

**DNA Recombinante: Fundamentos y Aplicaciones
Avanzadas**

Código: 42895

Créditos ECTS: 9

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
4313794 Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina	OT	0	A

La metodología docente y la evaluación propuestas en la guía pueden experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

Contacto

Nombre: Alicia Roque Córdova Roque Cordova

Correo electrónico: Alicia.Roque@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: español (spa)

Otras observaciones sobre los idiomas

El inglés es la lengua utilizada en la mayoría del material didáctico y en algunas sesiones de este Módulo.

Equipo docente

Joaquín Ariño Carmona

Josep Antoni Biosca Vaqué

Inmaculada Ponte Marull

Antonio Casamayor Gracia

Jaume Piñol Ribas

Nerea Roher Armentia

Irantzu Pallarés Goitiz

Alicia Roque Córdova Roque Cordova

Equipo docente externo a la UAB

Jordi Moreno Romero

Marcus Buschbeck

Prerequisitos

Para licenciados o graduados en Bioquímica, Biotecnología, Biología, Ciencias Biomédicas, Genética, Microbiología, Química, Informática, Física, Veterinaria, Farmacia o Medicina

En cualquier caso, se recomienda conocer las técnicas básicas de DNA recombinante.

Objetivos y contextualización

El objetivo principal del curso es el de proporcionar una formación avanzada y rigurosa, a la vez que didáctica, de la diversidad de técnicas de DNA recombinante, tanto básicas como avanzadas. Así, al finalizar el módulo el alumno habrá conseguido un conocimiento sólido sobre las diferentes técnicas que implican la manipulación de DNA recombinante utilizadas actualmente en los laboratorios de investigación, así como sus utilidades y limitaciones.

Al finalizar el módulo, el estudiante será capaz de:

1. Entender los procedimientos metodológicos e identificar las herramientas instrumentales actuales basadas en la tecnología del ADN recombinante para responder cuestiones esenciales en múltiples áreas de investigación, como son la estructura del ADN, la estructura y función de la cromatina, la evaluación de la expresión y su regulación, la traducción y la localización subcelular de las proteínas, etc.
2. Diseñar y realizar experimentos utilizando las técnicas experimentales de DNA recombinante más apropiadas para cada objetivo concreto.
3. Analizar e interpretar adecuadamente, así como evaluar de manera crítica, los datos experimentales tanto propios como publicados en la literatura científica.
4. Definir y comprender las técnicas específicas para determinados organismos utilizados como modelos de experimentación en los laboratorios de investigación, así como sus utilidades y limitaciones.

Competencias

- Analizar e interpretar correctamente los mecanismos moleculares que operan en los seres vivos e identificar sus aplicaciones.
- Analizar los resultados de investigación para obtener nuevos productos biotecnológicos o biomédicos para su transferencia a la sociedad.
- Aplicar las técnicas de modificación de los seres vivos o parte de ellos para mejorar procesos y productos farmacéuticos y biotecnológicos, o para desarrollar nuevos productos.
- Desarrollar el razonamiento crítico en el ámbito de estudio y en relación con el entorno científico o empresarial.
- Identificar y proponer soluciones científicas a problemas relacionados con la investigación biológica a nivel molecular y demostrar una comprensión de la complejidad bioquímica de los seres vivos.
- Integrar los contenidos en bioquímica, biología molecular, biotecnología y biomedicina desde el punto de vista molecular.
- Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.
- Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
- Trabajar individualmente y en equipo en un contexto multidisciplinario.
- Utilizar terminología científica para argumentar los resultados de la investigación y saber comunicarlos oralmente y por escrito.
- Utilizar y gestionar información bibliográfica y recursos informáticos relacionados con la bioquímica, la biología molecular o la biomedicina.

Resultados de aprendizaje

1. Analizar e interpretar adecuadamente, así como evaluar de manera crítica los datos experimentales tanto propios como publicados en la literatura científica.
2. Analizar los resultados de investigación para obtener nuevos productos biotecnológicos o biomédicos para su transferencia a la sociedad.
3. Decidir sobre el organismo más conveniente a utilizar en función de las necesidades concretas

4. Desarrollar el razonamiento crítico en el ámbito de estudio y en relación con el entorno científico o empresarial.
5. Diseñar y realizar experimentos utilizando las técnicas experimentales de DNA recombinante más apropiadas para cada objetivo concreto.
6. Distinguir las bases de las técnicas estándar más comúnmente utilizadas en el ámbito de la biología molecular.
7. Entender los procedimientos metodológicos e identificar las herramientas instrumentales actuales, sus ventajas y limitaciones, para la investigación en este campo (estructura de la cromatina, expresión génica y su regulación, procesamiento de los mRNAs, etc.).
8. Introducir las modificaciones necesarias para incrementar el rendimiento.
9. Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.
10. Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
11. Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
12. Trabajar individualmente y en equipo en un contexto multidisciplinario.
13. Utilizar terminología científica para argumentar los resultados de la investigación y saber comunicarlos oralmente y por escrito.
14. Utilizar y gestionar información bibliográfica y recursos informáticos relacionados con la bioquímica, la biología molecular o la biomedicina.

Contenido

El contenido de este módulo es el siguiente*:

1) Introducción a las técnicas de Biología Molecular básicas.

1.1. Principios de la clonación de genes y el análisis del DNA.

- Amplificación, marcaje y detección de los ác. nucleicos.
- Tipo de vectores, estrategias de clonación molecular del DNA y genotecas de ADN.
- Mutagénesis dirigida del ADN.

1.2. Aplicaciones de la clonación de genes y el análisis del ADN para el estudio de la expresión génica.

- Técnicas para el estudio de la expresión génica basadas en microarrays de DNA y en la secuenciación masiva del ADN (RT-PCR, Run On, microarrays de DNA, footprinting, análisis de promotores mediante genes reportero, secuenciación masiva desde mRNAs, CHIP-Seq, GRO-Seq, etc.).

2) Características de organismos modelo de uso común.

3) Técnicas para el estudio de los mecanismos epigenéticos que regulan la estructura de la cromatina y su implicación en la replicación, transcripción y reparación del DNA eucariota.

- Determinación de regiones heterocromatina y eucromatina (microscopía / sensibilidad a nucleasas / gradientes de densidad / curvas de precipitación de cromatina, etc.).

- Modificaciones de las histonas (código de las histonas). CHIP, ChIP-chip, ChIP-seq y otros.

- Metilación del DNA. Identificación metilación en una secuencia. Caracterización del grado de metilación en las islas CpG. Construcción del metiloma.

- Métodos de alta y baja resolución para caracterizar el posicionamiento de los nucleosomas y la identificación de los sitios de hipersensibilidad a nucleasas (End labelling, footprinting in vivo, LM-PCR, etc).

- Metodología de estudio de los Complejos remodeladores de la cromatina.
 - Técnicas para el estudio de la organización tridimensional del genoma (Hi-C).
 - Aplicaciones de las técnicas epigenéticas en el estudio de la impronta genética en plantas.
- 4) Estrategias de modificación de genomas y silenciamiento génico (RNA antisentido, técnicas de KO, ribozimas, transgénicos, uso de promotores regulables, etc.).
 - 5) Expresión de proteínas. Características de los diversos sistemas de expresión de proteínas (tipo de vectores, promotores, organismos, etc). Estudio de la localización intracelular de proteínas.
 - 6) Detección de interacción entre proteínas.
 - 7) Aplicaciones de la tecnología de ADN recombinante en industria y medicina (diagnóstico, ingeniería de anticuerpos, metabólica, etc).
 - 8) Presentación y defensa de un trabajo bibliográfico.
 - 9) Resolución de casos prácticos.
 - 10) Prácticas de laboratorio. 24h de prácticas de laboratorio distribuidas en 8 sesiones de duración variable (2-4h). Yeast two hybrid, PCR, análisis de datos de RNA-seq, inmunoprecipitación de cromatina, q-PCR, Bases de datos de secuencias de ADN y herramientas de análisis.
 - 11) Seminarios de expertos en los temas abarcados por el curso,
- *A menos que las restricciones impuestas por las autoridades sanitarias obliguen a una priorización o reducción de estos contenidos.

Metodología

Una parte de la docencia será presencial y comprenderá clases magistrales, el trabajo de laboratorio y la asistencia a las defensas de los trabajos bibliográficos como se detalla a continuación. Se excluye la asistencia a los seminarios programados, que forman parte del Módulo 2, Seminarios avanzados en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina.

Presencial / Dirigidas (60 h)

- Clases magistrales y seminarios: 32 h
- Trabajo de laboratorio 24 h
- Exposición y defensa de los trabajos bibliográficos: 4 h

Otro parte será de estudio autónomo por parte del alumno, e incluye la ejecución de pruebas y ejercicios planteados a lo largo del curso.

Autónomas

- Estudio autónomo del alumno: 67.5 h
- Pruebas teórico-prácticas a lo largo del curso (resolución de casos y problemas): 24 h

La preparación por parte de los alumnos de un trabajo bibliográfico será la principal actividad supervisada.

*La metodología docente propuesta puede experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

Nota: se reservarán 15 minutos de una clase dentro del calendario establecido por el centro o por la titulación para que el alumnado rellene las encuestas de evaluación de la actuación del profesorado y de evaluación de la asignatura o módulo.

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clases magistrales / expositivas	32	1,28	1, 3, 4, 6, 7, 8, 9
Dirigidas	4	0,16	2, 1, 4, 6, 7, 10, 9, 12, 14, 13
Prácticas de laboratorio	24	0,96	1, 5, 6, 7, 10, 11, 9, 12, 14
Tipo: Supervisadas			
Preparación de un trabajo bibliográfico	47	1,88	2, 1, 4, 6, 7, 10, 9, 12, 14, 13
Tipo: Autónomas			
Estudio autónomo del alumno	67,5	2,7	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 9, 12, 14
Pruebas teórico-prácticas a lo largo del curso (resolución de casos y problemas)	24	0,96	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 9, 12, 14

Evaluación

Para aprobar este módulo es necesario que la nota final, calculada como la media ponderada de las actividades de evaluación, sea de al menos 5 puntos.

En caso de que la nota final sea menor que 5 existe la posibilidad de presentarse al examen de recuperación. Para participar en la recuperación, el alumnado debe haber estado previamente evaluado en un conjunto de actividades el peso de las cuales equivalga a un mínimo de dos terceras partes de la calificación total de la asignatura o módulo. Por tanto, el alumnado obtendrá la calificación de "No Evaluable" cuando las actividades de evaluación realizadas tengan una ponderación inferior al 67% en la calificación final

Importante: Si se detecta plagio en alguno de trabajos entregados podrá comportar que el alumno suspenda el módulo entero.

*La evaluación propuesta puede experimentar alguna modificación en función de las restricciones a la presencialidad que impongan las autoridades sanitarias.

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Exposición y defensa oral de un trabajo bibliográfico	40%	0,5	0,02	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 9, 12, 14, 13
Prácticas de laboratorio	30%	2	0,08	2, 1, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 9, 12
Resolución de problemas presentados por los profesores a lo largo del curso	30 %	24	0,96	2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 14, 13

Bibliografía

* Molecular Cloning: A Laboratory Manual.

John J. Sambrook, David David William Russell.

Cold Spring Harbor Laboratory Press; 4th edition. 2012.

* Current Protocols in Molecular Biology

Ausubel et al.

J. Willey, 2012. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mbprefs98>

* Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction (6th edition).

T.A. Brown.

Wiley-Blackwell; 6th edition, 2013.

* Lewin's GENES XII.

Jones & Bartlett Learning. 2017.

* Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA.

Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak, Cheryl L. Patten.

ASM Press; 5th edition. 2017.

* Next-Generation DNA Sequencing Informatics.

Stuart M. Brown

Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013.

* Diverses revisions en revistes com: Current Opinion in Structural Biology, Trends in Biochemical Sciences, Trends in Biotechnology, Nature Biotechnology, Nature Methods, etc.

Software

A continuación, se enumeran las bases de datos y herramientas de análisis utilizadas en este módulo:

Bases de datos:

- NCBI Gene <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>

- SGD (<https://www.yeastgenome.org/>)

- Expasy (<https://www.expasy.org/>)

Herramientas de análisis:

- BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)

- Snapgene (<https://www.snapgene.com/>),

- GraphPad

- Bowtie2 v2.4.4 (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/index.shtml>)

- bowtie2-align-l.exe
- bowtie2-align-s.exe
- bowtie2-build-l.exe
- bowtie2-build-s.exe
- bowtie2-inspect-l.exe
- bowtie2-inspect-s.exe
- Running scripts in Python and Perl

- BWA-mem V.0.7.17 (<https://sourceforge.net/projects/bio-bwa/files/>)

- Cutadapt V3.4, running in Python 3.0. (<https://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>)

- featureCounts v2.0.2 (<https://sourceforge.net/projects/subread/files/subread-2.0.2/>)

- Glimmer3 V3.02 (<http://ccb.jhu.edu/software/glimmer/index.shtml>)

- Java

- Varna393.jar (<http://varna.lri.fr/index.php?lang=en&page=downloads&css=varna>)
- gview.jar V1.7 (<https://github.com/phac-nml/gview-wiki/wiki/Downloads>)
- VarScan.v2.3.4.jar (<https://sourceforge.net/projects/varscan/files/>)

- mEMBOSS suite V6.5 (<ftp://emboss.open-bio.org/pub/EMBOSS/>)

- vectorstrip
- Getorf

- NCBI blast suite V2.11 (<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/LATEST/>)

- blast_formatter.exe
- blastn.exe
- blastp.exe
- blastx.exe
- makeblastdb.exe

- Primer3 V2.4.0 (<https://sourceforge.net/projects/primer3/files/primer3/2.4.0/>)

- R-4.0.0

- ContigStats.R (<https://gist.github.com/jlhg/4642041>)
- FastqQuality.R
(<http://www.sthda.com/english/wiki/fastqcr-an-r-package-facilitating-quality-controls-of-sequencing-data-fo>)
- scrDESeq2.R (<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html>)
- tradis_essentiality.R (
https://github.com/sanger-pathogens/Bio-Tradis/blob/master/bin/tradis_essentiality.R)

- Samtools V1.12 (<http://www.htslib.org/download/>)

- SPAdes 3.15.2 (<https://cab.spbu.ru/software/spades/>)
- trf409.exe (<https://tandem.bu.edu/trf/trf.download.html>)
- Velvet V1.2.10 (<https://www.ebi.ac.uk/~zerbino/velvet/>)
 - velvetg.exe
 - velveth.exe