

CURSO ACADÉMICO 2008 – 2009

TITULACIÓN: BIOLOGÍA

INGENIERÍA GENÉTICA

CÓDIGO: 200810543

Departamento de adscripción: Parasitología, Ecología y Genética
Área de conocimiento: Genética

Ciclo: 2º Curso: 5º Tipo: Optativa Créditos: 7,5 (4,5T + 3P) Carácter: Cuatrimestral
Periodo lectivo en que se imparte: Segundo cuatrimestre
Dirección web de la asignatura:

HORARIO DE CLASES TEÓRICAS					
http://webpages.ull.es/users/viccebiol/					
SEGUNDO CUATRIMESTRE					
GRUPO CT01			GRUPO CT02		
Día	Horario	Aula	Día	Horario	Aula
Martes	de 18:30 a 19:30 h	4			
Miércoles	de 18:30 a 19:30 h	4			
Jueves	de 18:30 a 19:30 h	4			
HORARIO DE CLASES PRÁCTICAS*:			LUGAR DE REALIZACIÓN DE LAS PRÁCTICAS:		
Fecha prevista de inicio: abril			<input checked="" type="checkbox"/> Laboratorio <input type="checkbox"/> Campo/mar		
Turno: mañana			<input type="checkbox"/> Aula <input type="checkbox"/> Aula de informática		
Horario: de 09:00 a 14:00 h					
* para más detalles http://webpages.ull.es/users/viccebiol/					

PROFESORADO:

Teoría:

Vicente Martínez Cabrera

Grupo: CT01

Prácticas:

Vicente Martínez Cabrera
 Ana M^a González Matilla
 José M^a Larruga Riera
 Rosi Fregel Lorenzo

COORDINADOR/ES DE LA ASIGNATURA:

Vicente Martínez Cabrera

Teoría y Practicas

LUGAR Y HORARIO DE TUTORIAS:

Vicente Martínez Cabrera:

Atenderá a los alumnos en: Departamento (Área de Genética) en la Fac. de Biología
 Lunes de 09:00 a 11:00
 Miércoles de 09:00 a 11:00
 Viernes de 09:00 a 11:00

Teléfono (opcional):

Correo electrónico (opcional): vcabrera@ull.es

Ana M^a González Matilla:

Atenderá a los alumnos en: Departamento (Área de Genética) en la Fac. de Biología
 Lunes de 11:00 a 15:00

Viernes de 13:00 a 15:00

Teléfono (opcional):

Correo electrónico (opcional): amglez@ull.es

José M^a Larruga Riera:

Atenderá a los alumnos en: Departamento (Área de Genética) en la Fac. de Biología

Lunes de 16:00 a 19:00

Miércoles de 16:00 a 19:00

Teléfono (opcional):

Correo electrónico (opcional): jlarruga@ull.es

OBJETIVOS DE LA ASIGNATURA:

Asimilación de las técnicas fundamentales empleadas en ingeniería genética y su aplicación en las distintas áreas de la biología molecular.

METODOLOGÍA DOCENTE:

- | | |
|---|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Clase magistral. | <input type="checkbox"/> Salidas al mar. |
| <input checked="" type="checkbox"/> Seminarios. | <input type="checkbox"/> Visitas. |
| <input checked="" type="checkbox"/> Prácticas de laboratorio. | <input checked="" type="checkbox"/> Trabajo, individual o en grupo. |
| <input type="checkbox"/> Prácticas en aula. | <input checked="" type="checkbox"/> Exposición oral. |
| <input type="checkbox"/> Aula de informática | <input type="checkbox"/> Docencia Virtual. |
| <input type="checkbox"/> Prácticas de campo. | <input type="checkbox"/> Otras. |

PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS:**SÍNTESIS y AMPLIFICACIÓN DE ACIDOS NUCLEICOS**

1. Síntesis artificial de oligonucleótidos. Síntesis en soporte sólido por el método del betacianoetil fosforamidito. Preparación de nucleósidos protegidos. Fosfitilación de nucleósidos. Preparación de soportes sólidos. Ciclo de síntesis.
2. Cuantificación por tritilo. Desprotección y liberación del soporte. Purificación por PAGE. Purificación por cromatografía. Modificación de los oligos. Aplicaciones de los oligos.
3. Amplificación de DNA por PCR. Ciclo básico. Optimización: Hot start PCR. Touchdown PCR. Booster PCR. PCR descontaminante. Long-range PCR.
4. Mutagénesis y recombinación por PCR. Deleciones. Inserciones. Mutaciones puntuales. Mutagénesis al azar. PCR recombinante.
5. Clonaje por PCR. RT-PCR. 5' y 3' RACE-PCR. PCR inversa. Vectors PCR. Análisis de genotecas por PCR. Clonaje de productos de PCR. PCR coloidal. Expresión "in vivo" e "in vitro" de productos de PCR.
6. PCR cuantitativa. Cuantificación de DNA y RNA por PCR. PCR competitiva. PCR a tiempo real: Caracterización por análisis de curvas de fusión. Cuantificación. Detección de polimorfismos génicos.
7. Amplificación de DNA circular por círculo rodante (RCA). Amplificación isotérmica de genomas completos (WGA).

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA

8. Subdivisión del genoma: Restricción. Paneles híbridos por irradiación. Aislamiento de cromosomas activados por fluorescencia (FACs). Microdissección cromosómica.
9. Separación de grandes segmentos de DNA: Electroforesis en campos pulsantes.
10. Clonaje de grandes segmentos de DNA: YACs, BACs, PACs, HACs.
11. Mapas genómicos genéticos. Polimorfismos moleculares: RFLPs, microsatélites, SNPs, RAPDs, CAPs, AFLPs. Análisis de haplotipos en células haploides o diploides por PCR.
12. Mapas genómicos citogenéticos por hibridación: FISH.
13. Mapas genómicos físicos: Contiguos por perfiles de restricción, STS, EST, STC.

14. Secuenciación genómica: Secuenciación capilar automática por fluorescencia.
15. Nuevas técnicas de secuenciación: Resecuenciación por hibridación a microchips. Secuenciación por espectrometría de masas. Pirosecuenciación.
16. Estrategias de secuenciación genómica: Subclonaje. Deleciones solapantes. Secuenciación por perdigonada. Secuenciación sistemática. Secuenciación de discontinuidades.
17. Aislamiento génico: Clonaje posicional. Zoo-blotting. Islas CpG. Sondas de cDNA. Sondas genómicas. Homología bases de datos. Aislamiento génico por recombinación asociada a transformación (TAR).

EXPRESIÓN GENICA

18. Expresión de proteínas en E.coli. Vectores basados en promotor-RNA polimerasa de T7. Vectores basados en lambda. Estrategias de optimización.
19. Expresión de proteínas en E.coli: Proteínas de fusión. Secreción de proteínas. Purificación y aislamiento. Mejoras debidas a PCR: Cajetines de expresión.
20. Introducción de DNA en células de mamíferos: Método del fosfato cálcico. Método DEAE-dextrano. Electroporación. Liposomas.
21. Expresión de proteínas en células de mamíferos: Marcadores seleccionables en eucariotes. Marcadores amplificables en eucariotes.
22. Expresión transitoria en células COS y vectores derivados de SV40. Expresión amplificada usando DHFR y células CHO.
23. Identificación de secuencias reguladoras: Genes reporteros: CAT, luciferasa, GUS, Proteína verde fluorescente.
24. Nuevos sistemas de inducción y regulación de la expresión génica: Expresión controlada por tetraciclina.

MANIPULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA:

25. Mutagénesis dirigida. Mutagénesis por oligonucleótidos. Selección por el sistema uracilouracil-N-glicosilasa-dUTPasa.
26. Silenciamiento génico. Diana génica. Knockout génico. Mutagénesis insercional.
27. Silenciamiento por interferencia de RNA.

EXPRESIÓN GENOMICA

28. Transcriptoma. Métodos de expresión diferencial (Differential display). Hibridación a conjuntos ordenados de cDNA (microarrays). Análisis en serie de la expresión genómica (SAGE).
29. Interacciones DNA-proteína. Interacciones RNA-proteína.
30. Interacciones proteína-proteína: Trampa dihíbrida. Expresión y presentación en fagos (Phage display).

ANIMALES TRANSGÉNICOS:

31. Células embrionarias troncales totipotentes. Células adultas troncales pluripotentes. Aislamiento y mantenimiento.
32. Métodos de construcción. Microinyección. Infección retroviral de células embrionarias. Segregación de quimeras. Transplante nuclear. Animales modelo en medicina. Animales productores en biotecnología.
33. Integración transgénica al azar. Integración por recombinación homóloga. Vectores trampa. Selección positivo-negativa. Selección por activadores (enhancers). Selección por promotores. Selección Cre-LoxP.
34. Expresión transgénica. Silenciamiento por knock-out. Efectos de posición cromosómica. Promotores mínimos e intensificadores tejido específicos. Aisladores de la expresión.

APLICACIONES MEDICAS DE LA INGENIERIA GENETICA

35. Diagnóstico de mutaciones génicas. RFLPs. Discriminación alélica por primers modificados. Hibridación específica con ASOs (Oligos alelo específicos). Sondas fluorescentes.

36. Terapia génica. Sistemas no virales de manipulación celular. Sistemas virales.

37. Terapia génica. Vectores virales más usados: Retrovirales. Adenovirales. Adeno-asociados. Derivados de herpes.

38. Terapia génica por expresión transgénica: Tratamiento del ADA. Tratamiento de hipercolesterolemia familiar.

39. Terapia génica por silenciamiento: Bloqueo de transcripción por triple hélice. Bloqueo de transcripción por RNAi. Bloqueo de traducción con oligos antisentido. Bloqueo de la traducción por ribozimas. Bloqueo del producto por intra-anticuerpos.

40. Terapia génica contra agentes infecciosos. Terapia génica contra el cáncer .

PROGRAMA DE CONTENIDOS PRÁCTICOS:

El objetivo es la caracterización de regiones desconocidas de DNA que flanquean a una conocida usando PCR inversa.

DIA 1

Extracción de DNA genómico total y enriquecimiento de DNA mitocondrial. Cuantificación en geles de agarosa.

DIA 2

Cuantificación por espectrofotómetro del DNA obtenido el día anterior. Digestión de diferentes concentraciones de DNA con diferentes restrictasas.

DIA 3

Circularización de los fragmentos restringidos por ligado. Precipitación del DNA circularizado. Montar PCR inversa con los cebadores adecuados.

DIA 4

Separar los productos de PCR obtenidos el día anterior en geles de agarosa. Montar una PCR de reamplificación picando las bandas escogidas como DNA molde.

DIA 5

Comprobar los resultados de la reamplificación por electroforesis en geles de agarosa. Precipitar el DNA amplificado. Montar reacciones de secuenciación para llevar al servicio de secuenciación.

En los intervalos libres los alumnos podrán, opcionalmente, obtener su propio DNA a partir de frotis bucales y, tras amplificación por PCR y restricción, averiguar el haplogrupo de DNA mitocondrial al que pertenecen

EVALUACIÓN:

Se realizan dos exámenes parciales y dos finales para cada parcial, que constan, fundamentalmente, de preguntas de teoría tipo test y/o cortas y problemas, de diversas dificultades. Aunque pueden optar a ser evaluados mediante la exposición de dos artículos, uno de técnicas y otro de investigación. También deben presentar un cuaderno de prácticas donde se recoge el desarrollo del experimento y sus vicisitudes. Los exámenes de cada parte de la asignatura son eliminatorios.

La calificación final obtenida en la asignatura consistirá en la media obtenida en las pruebas correspondientes a cada bloque temático. Está valoración, tanto parcial como final, podrá ser influida por méritos positivos que el alumno haya adquirido mediante su participación constructiva en la realización o dinámica de los seminarios y de las clases de problemas.

CALENDARIO DE EXÁMENES (el aprobado en Junta de Facultad):

<http://webpages.ull.es/users/vicebiol/>

Diciembre: 19-dic, mañana, aula A

Enero: a fijar entre el 8 y el 13

Febrero:

Primer llamamiento:

Segundo llamamiento:

Junio:

Primer llamamiento: 5-jun, tarde, aulas
A y C

Segundo llamamiento: 15-jun,
mañana, aulas A y C

Julio: 13-jul, mañana, aula A

NORMAS DEL CURSO:

Se refuerza la asimilación de los conceptos del programa con la lectura y exposición por parte de cada alumno de un artículo técnico y un artículo de investigación y la crítica de los artículos expuestos por el resto de la clase. La asistencia a estas exposiciones y la participación activa en las mismas son obligatorias.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA:

Se recomienda a los alumnos que en lugar de usar libros consulten directamente en la red, usando buscadores generales y Medline.

PÁGINAS WEB DE INTERÉS:

OBSERVACIONES: