

**NOMBRE: Genética e Ingeniería del DNA (GID)**

**PROFESOR RESPONSABLE:** Araceli Castillo Garriga

**PROFESORES PARTICIPANTES**

Beuzón López, Carmen (Facultad de Ciencias, Universidad Málaga)

Casadesús Pursals, Josep (Facultad de Biología, Universidad Sevilla)

Castillo Garriga, Araceli (Facultad de Ciencias, Universidad Málaga)

Grande Pérez, Ana (Facultad de Ciencias, Universidad Málaga)

Llave Correas, César (Centro de Investigaciones Biológicas, CIB-CSIC)

Rodríguez Bejarano, Eduardo (Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga)

Ruiz Albert, Javier (Facultad de Ciencias, Universidad Málaga)

**DESCRIPTORES**

Mecanismos de regulación génica. Regulación transcripcional. Transporte y procesamiento del RNA. Regulación de la traducción. Procesamiento de proteínas. Cromatina. Epigenética. Pequeños RNAs. Silenciamiento génico post-transcripcional y transcripcional.

Clonación de DNA (restringidas, Gateway, Goldenbraid etc.), vectores, mutagénesis, hibridaciones, análisis de la expresión génica, aislamiento y localización de genes y proteínas. TALEN/CRISPR/Cas.

**OBJETIVOS DEL APRENDIZAJE**

El curso contempla dos objetivos fundamentales:

a) que los estudiantes conozcan con detalle los procesos moleculares de expresión génica, desde el DNA hasta la síntesis del polipéptido codificado por el gen correspondiente, y cómo estos procesos pueden regularse en respuesta a señales, por la acción de proteínas o de pequeñas moléculas de RNA. En el curso se repasan todos los niveles de regulación haciéndose énfasis en aquellos mecanismos en los que los estudiantes tienen una menor formación: la regulación por pequeños RNAs y la regulación epigenética.

b) que los estudiantes conozcan las bases moleculares de la tecnología del DNA recombinante, así como las técnicas y herramientas utilizadas en dichos procesos. El curso incluye una práctica en la que se obtendrán bacterias genéticamente modificadas para expresar marcadores fluorescentes que permitan su seguimiento por métodos de microscopía, mediante el uso de varias de las herramientas y conceptos descritos.

Los contenidos se trabajarán mediante los siguientes métodos de aprendizaje:

- clases teóricas
- clases prácticas (Clonación mediante recombinación en *E. coli*)

- clases de discusión
- clases de problemas
- talleres prácticos (diseño de clonaciones o de oligos para su uso en PCR o RT-qPCR (aula de informática), búsqueda y caracterización de pequeños RNAs (aula de informática), etc.)
- contenidos virtuales
- actividades a realizar por los estudiantes cuya evaluación contribuirá a la evaluación final del curso.

Con estos contenidos se quiere completar y actualizar el conocimiento sobre regulación génica y modificación de DNA de los estudiantes, de forma que reciban una base de conocimiento esencial para cursar otras asignaturas del Master como “Biotecnología Microbiana”, “Producción de proteínas recombinantes”, Cultivo *in vitro* y transformación de plantas”, “Genómica, Proteómica y Metabolómica”, “Producción de anticuerpos” o “Cultivo y manipulación de células animales. Terapia génica”.

Nº DE CREDITOS ECTS: 5 (4 Teóricos y 1 Práctico)

TIPO: Obligatorio

SECUENCIA: 2ª trimestre

CARÁCTER: Teórico/ Práctico

DESARROLLO: Presencial /semipresencial

EVALUACIÓN: Examen final de contenidos Teóricos 65% de la nota. Examen final de contenidos prácticos 20%. Actividades adicionales 15%.

## BLOQUES TEMATICOS

*Tema 1.* Genes regulables. Niveles de regulación génica: regulación transcripcional, post-transcripcional, traduccional y post-traduccional. Las moléculas reguladoras: proteínas y RNA. Regulación transcripcional. Estructura y función de los promotores: secuencias reguladoras y sus características. Factores de transcripción. Estructura, propiedades y tipos de factores de transcripción en virus y procariotas: ejemplos. Estructura, propiedades y tipos de factores de transcripción en virus y eucariotas: ejemplos. Regulación post-transcripcional Procesamiento del RNAhn: splicing, estabilidad del RNAm. Ejemplos. Regulación traduccional. Regulación de la lectura de los RNA. RNA policistrónicos. Fases de lectura solapadas. Cambios de fase. Estructura del complejo de traducción. Regulación postraduccional. Modificaciones post-traduccionales y sus

implicaciones en la regulación de la expresión de los genes. Procesamiento de proteínas. Fosforilación, acetilación, glicosilación, sumoilación, nediación.

*Tema 2.* Regulación mediada por pequeños RNA. Descubrimiento de los pequeños RNAs. Tipos de pequeños RNAs. Los miRNA. Mecanismos de regulación mediada por pequeños RNA: silenciamiento génico postranscripcional.

*Tema 3.* DNA, cromatina y cromosomas. Eucromatina y heterocromatina. Regulación a nivel transcripcional. Marcas epigenéticas y epigenoma. Pequeños RNAs y cromatina. Fenómenos epigenéticos.

*Tema 4.* Clonación de DNA y vectores. Clonación clásica. Clonación por PCR. Clonación por topoisomerasas. Clonación Gateway. Clonación Goldenbraid. Vectores plasmídicos de bacterias y levaduras. Vectores virales. Cromosomas artificiales. Vectores lanzadera. Vectores de expresión en bacterias, levaduras, plantas y mamíferos. Sistemas de entrega. Aislamiento e identificación de genes. Identificación de clones por métodos genéticos: selección, contraselección, complementación..

*Tema 5.* Técnicas de detección y localización espacial de genes y proteínas: hibridación "in situ". Localización de la expresión: uso de la GFP y GUS, etc. Técnicas de marcaje y de preparación de sondas. Proximity ligation assay. Técnicas de estudio de la expresión génica: RT-PCR cuantitativa (RT-qPCR), PCR digital (dPCR). SmartFlare RNA Detection Probes. nCounter gene expression system. Edición de los genomas de organismos superiores (TALEN/CRISPR/Cas).

*Tema 6.* Una breve introducción a la medicina molecular: Cumplimiento de la ley de Adams en la Biotecnología. Enfermedades humanas con componente genético (hereditarias y degenerativas). Diagnóstico molecular de enfermedades humanas. Terapia génica de defectos genéticos recesivos y dominantes. Terapia génica *in vitro* e *in vivo*. Vectores virales y no virales para terapia génica. Recombinación ectópica y recombinación homóloga de genes. Terapias moleculares alternativas a la terapia génica: RNA antisentido, RNA de interferencia, ribozimas. Enfermedades epigenéticas. Terapia de enfermedades epigenéticas.

### **BIBLIOGRAFIA BASICA**

- Lewin, B (2007) Genes IX. Jones and Bartlett Publishers. Massachussets.
- Watson, JD; Baker TA; Bell, SP; Gann A; Levine M, Losick R (2007) Molecular Biology of the Gene Sixth Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York
- Watson, JD; Witkowski JA; Myers RM; Caudy AA (2006) Recombinant DNA: Genes and Genomics: A short course. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York

- C. David Allis (Editor), Thomas Jenuwein (Editor), Danny Reinberg (Editor), Marie-Laure Caparros (Editor) (2007) Epigenetics. Cold Spring Harbor. New York
- Bruce Stillman David Stewart (2006) Regulatory RNAs. Cold Spring Harbor. New York

***Páginas web:***

- <http://epigenome.eu/es/>
- <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/38394/title/Top-10-Innovations-2013/>