

GUIA DOCENTE DE LA ASIGNATURA
DESCRIPTION OF INDIVIDUAL COURSE UNIT

1.- Nombre de la asignatura/módulo/unidad y código Course title and code	BIOLOGÍA MOLECULAR
2.- Nivel (Grado/Postgrado) Level of course (Undergraduate/Postgraduate)	Grado
3.- Plan de estudios en que se integra Programme in which is integrated	Licenciatura en Biología
4.- Tipo (Troncal/Obligatoria/Optativa) Type of course (Compulsory/Elective)	Optativa
5.- Año en que se programa year of study	5º
6.- Calendario (Semestre) Calendar (Semester)	anual
7.- Créditos teóricos y prácticos Credits (theory and practics)	9 créditos LRU (9 teóricos, 0 prácticos)
8.- Créditos expresados como volumen total de trabajo del estudiante (ECTS) Number of credits expressed as student workload (ECTS)	9 ECTS (225 horas de trabajo del estudiante)
9.- Prerrequisitos y recomendaciones (E, esencial; R, recomendado; H, ayuda) Prerequisites and advises (E, essential; R, recommended; H, helpful)	E: Haber cursado la asignatura troncal de Bioquímica R H
10. Objetivos (expresados como resultados de aprendizaje y competencias) Objectives of the course (expressed in terms of learning outcomes and competences)	<ul style="list-style-type: none"> - Complementar los conocimientos del alumno en las bases conceptuales y metodológicas de manipulación y caracterización "in vitro" de ácidos nucleicos y de las técnicas fundamentales de manipulación genética, con especial énfasis en los aspectos prácticos y operativos. - Dotar al alumno de la perspectiva necesaria para entender las potencialidades y las limitaciones de las tecnologías del DNA recombinante en el momento actual, su carácter preeminentemente tecnológico y su utilidad polivalente en muy diversas áreas de aplicación, estimulando en el alumno la reflexión crítica y el debate ético sobre su utilización, desde una perspectiva profesional, cualificada y responsable. - Capacitar al alumno para comprender los problemas del control de la expresión génica en bacterias y en eucariotas. Se pretende que no sólo sepa lo que ya se conoce con la máxima actualidad, sino que entienda la magnitud de lo que se desconoce, los retos para el futuro. Asimismo, el alumno debe ser capaz de acceder a la nueva información bibliográfica, asimilándola adecuadamente. - Proporcionar al alumno la formación básica necesaria para la comprensión y correcta interpretación de la literatura científica en el campo de la Biología molecular (Ingeniería Génica y Control de la expresión génica) y campos relacionados.
11.- Programa Course contents	Programa de clases teóricas I. CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA I.A. CONTROL GÉNICO EN EUBACTERIAS TEMA 1.- Actualización de conceptos generales. Control de la iniciación de la transcripción. Cinética. Eficiencia de los promotores. Regulación positiva y negativa; inducción y represión. TEMA 2.- Mecanismos de represión. Especificidad de la unión represor-operador. Mecanismos de activación. Potenciadores bacterianos. Otros controles positivos. Unión de las proteínas reguladoras al DNA: análisis de los motivos HTH y $\beta\alpha$. ¿Un código de reconocimiento (a)? TEMA 3.- Integración de mecanismos de control en operones concretos. El operón lactosa. Control múltiple de varios operones por la CRP. Operones <i>gal</i> , <i>mal</i> y <i>ara</i> . Otros circuitos reguladores globales: genes SOS, respuesta al choque térmico, esporulación en <i>B. subtilis</i> . Otras formas de control sobre la RNA polimerasa. TEMA 4.- El control de las proteínas reguladoras. Sistemas no lineales y complejidad. Modelización de sistemas reguladores. TEMA 5.- Otros mecanismos de control de la transcripción. Uso de "promotores vecinos" (alternativos, divergentes) en el control génico. Proteínas <i>histone-like</i> . Topoisomería del DNA. Metilación del DNA. Cambios en la secuencia del DNA. TEMA 6.- Control del avance de la transcripción. Control de la terminación. TEMA 7.- Control de la traducción. Controles positivos y negativos de la iniciación por proteínas y por RNAs. Control de la terminación. Control mediante cambio de fase de lectura: intrones traducionales. Control de la degradación de los mRNAs. Control de la degradación proteica. Corte y empalme proteico. Integración de los procesos reguladores. I.B. CONTROL GÉNICO EN EUCARIOTAS TEMA 8.- Estrategias del control génico eucariótico: jerarquía, combinatoria, redes. Control del inicio de la transcripción. Factores de

transcripción: motivos estructurales. ¿Un código de reconocimiento (b)?

TEMA 9.- **Visión "clásica" de las RNAP.** Características de los promotores. Factores generales de transcripción: ensamblaje *in vitro*. La holoenzima RNAP. Otros factores. Potenciadores. Mecanismos de represión y de activación. Los complejos mediadores.

TEMA 10.- **Nucleosomas y actividad génica.** Modificaciones químicas de las histonas. Complejos con actividad HAT y HADT. Complejos remodeladores de la cromatina. *Locus control regions*. Elementos *boundary*.

TEMA 11.- **Control mediante reordenación génica: tipo de emparejamiento en levaduras.** Mecanismos silenciadores. Otros mecanismos de generación de estados celulares estables. Control mediante amplificación génica.

TEMA 12.- **Control mediante metilación del DNA.** Control del avance y la terminación de la transcripción.

TEMA 13.- **Control del procesamiento de los mRNAs: corte y empalme, poliadenilación, edición.** Transporte del RNA al citoplasma. Controles negativos y positivos de la traducción. Estabilidad de los mRNAs. Destino de las proteínas recién sintetizadas. Control de la degradación proteica.

II.- TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE

TEMA 14.- **Revisión de las técnicas de transformación, clonación y expresión de DNA en células procariotas.** Vectores de clonación de origen plasmídico en procariotas : estudio detallado de pBR322 y derivados. Estrategias de clonación en *E. coli*. Vectores de clonación de origen vírico. Vectores derivados de lambda. Vectores monocatenarios de M13. Clonación de *E. coli* mediante cósmidos.

TEMA 15.- **Optimización de sistemas de expresión en eucariotas.** Optimización de promotores. Optimización de transcritos y mensajeros. Preferencia codónica. Estabilidad de vectores de expresión. Toxicidad de los productos de expresión. Sistemas de Expresión de alto rendimiento. Secreción de proteínas recombinantes, Estabilidad y análisis de los productos de expresión.

TEMA 16.- **Obtención de genotecas en E. coli.** Genotecas genómicas y genotecas de cDNA. Estrategias de rastreo y utilización de genotecas. Manipulación y análisis de librerías de cDNA. Librerías substractivas de cDNA.

TEMA 17.- **Mutagénesis dirigida: concepto, estrategias y vectores específicos.** Métodos de selección "in vivo" e "in vitro". Mutagénesis dirigida mediante PCR. Mutagénesis en "cassette" y empleo de genes sintéticos. Vectores específicos de mutagénesis y secuenciación.

TEMA 18.- **Transformación y clonación en Saccharomyces.** Vectores de levadura. Obtención de plásmidos mediante recombinación homóloga. Promotores de levadura. Expresión y secreción de proteínas recombinantes en levadura.

TEMA 19.- **Sistemas de transformación en plantas.** Cultivos de tejidos y células. Preparación de protoplastos. Transformación mediada por *Agrobacterium*. Plásmidos Ti. Mapas genéticos y expresión de T-DNA. Vectores Ti binarios. Plásmidos R i. Transfección de protoplastos de células vegetales. Empleo de microproyectiles de DNA. Empleo de vectores de origen vírico : CaMV y TMV. Expresión regulada de genes recombinantes en plantas.

TEMA 20.- **Transformación de células animales.** Co-transfección. Marcadores genéticos y genes "chivatos". Vectores de origen plasmídico : pSV y pRSV. "Targeting" genético en células animales : recombinación genética y reemplazamiento alélico. Vectores animales de origen viral. Vectores de SV40. Vectores de BPV. Vectores de Baculovirus . Vectores de Retrovirus. Vectores de Adenovirus.

TEMA 21.- **Transformación de células germinales animales : conceptos básicos.** Transformación, clonación y expresión de DNA heterólogo en oocitos de *Xenopus*. Elementos P de *Drosophila*. Mamíferos transgénicos. "Targeting" específico de tejidos animales. Incorporación de nuevas tecnologías y aplicaciones de animales transgénicos. Terapias génicas y cancer.

TEMA 22.- **Alcance y aplicaciones de las técnicas de manipulación génica.** DNA "fingerprinting". Aplicaciones al diagnóstico, paleontología, antropología y medicina forense. Aplicaciones al diseño de fármacos: Librerías de exposición en fago ("phage display"). Explotación de organismos transgénicos.

Programa de clases de problemas

A lo largo del Curso se propondrán cuestiones, casos prácticos, resultados de investigación o propuestas de experimentos que serán puntualmente discutidos en seminarios específicos.

- Problemas de control de la expresión génica.
- Problemas de ingeniería genética.

Libros

- Genes VIII. Lewin, B, Oxford Univ. Press, 2003. [Genes VII, Marbán, 2001 (2000)].
- Molecular Biology of the Cell, 4th ed., Alberts, B., *et al.* Garland Pub., 2002. [Biología molecular de la célula (3ª ed.). Omega, 1999 (1996)].
- Molecular Cell Biology, 5th ed. Lodish, H., *et al.* W. H. Freeman, 2003. Biología celular y molecular (4ª ed.). Editorial médica panamericana, 2002 (2000)].
- Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. Luque, J., y Herráez, Á. Ed. Harcourt, 2001.
- Principles of Gene Manipulation (fifth Edition, reprinted). R. W. Old, S. B. Primrose (1995). Blackwell Science. Oxford.
- Baculovirus Expression Vectors : A Laboratory Manual. D. R. O'Reilly, L. K. Miller, V. A. Luckow (1992). Freeman and Company. New York.
- DNA Cloning 1. A Practical Approach. Core Techniques (Second Edition, reprinted). D. M. Glover and B. D. Hames eds. (1996). IRL Press. Oxford.
- DNA Cloning 2. A Practical Approach. Expression Systems (Second Edition, reprinted). D. M. Glover and B. D. Hames eds. (1996). IRL Press. Oxford.
- Basic Methods in Molecular Biology. L. G. Davis, M. D. Dibner, J. F. Battey. (1986). Elsevier Science Publishing Co., Inc. New York.
- ADN recombinante : Introducción a la Ingeniería Genética. J. D. Watson, J. Tooze, D. T. Kurtz (1988) Editorial Labor. Barcelona.
- Methods in Enzymology : Guide to molecular cloning techniques. Vol 152. S. P. Colowicks, N. O. Kaplan, S. L. Berger, A. R. Kimmel. Academic Press, New York.
- Molecular Cloning : A Laboratory Manual (2nd Edit.). J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis (1989) Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, NY.
- Concept in Protein Engineering and Design. P. Wrede, G. Schneider. (1994). Walter de Gruyter, Berlin.
- Methods in Enzymology Vol.68 : Recombinant DNA. Academic Press Inc. New York.
- Methods in Enzymology Vol.100: Recombinant DNA (Part B). Academic Press Inc. New York.
- Methods in Enzymology Vol.101: Recombinant DNA (Part C). Academic Press Inc. New York.
- Methods in Enzymology Vol.153: Recombinant DNA (Part D). Academic Press Inc. New York.
- Methods in Enzymology Vol.154 : Recombinant DNA (Part E). Academic Press Inc. New York.
- Methods in Enzymology Vol.185: Gene Expression Technology. Academic Press Inc. New York.

12. Bibliografía recomendada

Recommended reading

Revistas (con revisiones)

- Cell.
- Current Biology.
- Current Opinion in Cell Biology.
- Current Opinion in Genetics and Development.
- Investigación y Ciencia.
- Microbiological Reviews.
- Mundo científico.
- Nature.
- Science.
- Trends in Biochemical Sciences.
- Trends in Genetics.

Libros anuales de revisiones

- Annual Reviews of Biochemistry.
- Annual Reviews of Genetics.

Internet

- Lodish, Molecular Cell Biology 4e: <http://www.whfreeman.com/lodish/>
- Lewin, Genes VII - Illustration Resource: <http://www.oup.co.uk/best.textbooks/biochemistry/genesvii/illustrations/>

Recursos:

- <http://www.highveld.com/molbiol.html>
- <http://www.bioxeo.com/palbioca.htm>
- <http://www.bmbq.uma.es/av/>

Revistas "on line" de la Universidad:

- <http://www.uqr.es/%7Ebiblio/>
- Biomednet (Medline): www.bmn.com
- European Bioinformatic Institute: <http://www.ebi.ac.uk>
- European Molecular Biology Laboratory: <http://www.embl.de>

13.Métodos docentes

Teaching methods

- Clases magistrales. Se trata de presentaciones multimedia. Los alumnos disponen con antelación de fotocopias del material presentado; además, pueden acceder a él a través de Internet. Se incentiva la discusión crítica.
- Clases de problemas. Se presentan a los alumnos cuestiones y problemas de dificultad variable. Estimulan la reflexión sobre la información obtenida en las clases de teoría y reafirman y extienden los conocimientos. Los alumnos deben resolver los problemas de forma individual y en la clase se discuten y resuelven.
- Seminarios. Los alumnos buscan temas relacionados con la Biología molecular y realizan revisiones bibliográficas. Se recomienda que lo hagan en pequeños grupos. Se debe realizar una presentación pública del trabajo.
- Tutorías. Orientación a los alumnos. Resolución de dudas y dificultades.

14.Actividades y horas de trabajo estimadas

Activities and estimated workload (hours)

Teoría (7 créditos)	70 horas	70 horas presenciales	70 horas estudio	140 horas
Problemas (2 créditos)	20 horas	20 horas presenciales	40 horas estudio	60 horas
Seminario	15 horas		15 horas estudio	15 horas
Tutorías personalizadas	1 horas			1 horas
Búsquedas en la red	6 horas			6 horas
examen final teoría	3 horas			3 horas
TOTAL = 9 ECTS				225 horas

15.Tipo de evaluación y criterios de calificación

Assessment methods

- Examen teórico, principalmente de resolución de problemas. Los alumnos conocerán previamente (en las clases de "Seminarios y problemas") los "modelos" de preguntas que se pueden encontrar. Se dirá, en el texto del examen, el valor de cada pregunta. Realizado el examen, se tendrá acceso a los detallados criterios de evaluación del profesor.
- Será necesario para aprobar la adecuada realización de las prácticas.
- Para la nota final se considerará la realización de trabajos bibliográficos u otros estudios. Estos trabajos podrán ser valorados hasta con 3 puntos (sobre un máximo de 10). Se detallarán en lo posible los criterios de evaluación de este tipo de tareas.

16.Nombre del profesor(es) y dirección de contacto para tutorías

Name of lecturer(s) and address for tutoring

Hilario Ramírez Rodrigo: hilario@uqr.es
Juan Antonio Aguilera Mochón: jmochon@uqr.es