Ministerio de Cultura y Educación **(Programa del año 2015)**
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia
Departamento: Bioquimica y Cs Biologicas
Area: Biologia Molecular

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
INGENIERIA GENETICA	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	11/06	2015	1° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
JURI AYUB, MAXIMILIANO	Prof. Responsable	P.Adj Simp	10 Hs
MANZUR, MARIA JIMENA	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs
LAPADULA, WALTER JESUS	Auxiliar de Práctico	A.1ra Simp	10 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
2 Hs	4 Hs	Hs	2 Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoria con prácticas de aula y laboratorio	1º Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
16/03/2015	26/06/2015	15	120

IV - Fundamentación

Ingeniería Genética es una asignatura destinada a los alumnos de la carrera de Lic. en Biología Molecular. A lo largo del curso el alumno conocerá los aspectos fundamentales de la manipulación genética y sus principales usos y aplicaciones.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

- Capacitar al alumno para que evalúe y desarrolle diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al alumno en la comprensión de las metodologías de obtención de animales y plantas transgénicos y knock-outs génicos.
- Capacitar al alumno para el procesamiento y evaluación de diseños y resultados experimentales, y para el análisis de trabajos publicados en revistas de divulgación científica, con una actitud crítica.

VI - Contenidos

TEMA 1.
Ingeniería genética. Bases para la obtención de organismos genéticamente modificados. Alcances, Aplicaciones y limitaciones. E. coli como herramienta en Ingeniería Genética. Ventajas intrínsecas del uso de microorganismos para investigación genética. Mutantes metabólicas y selección. Fagos bacterianos. Transformación de E coli con moléculas de ADN. Diferentes técnicas utilizadas. Transformación de otros organismos. Mini-, midi- y maxi- preparaciones de ADN plasmídico.
TEMA 2.
Manipulación enzimática del ADN. Endonucleasas de restricción. Requerimientos de las enzimas, condiciones

experimentales. Usos y aplicaciones. DNA Polimerasas DNA-dependientes: propiedades, requerimientos. Fragmento Klenow de la DNA Pol I de E. coli, propiedades remanentes. Usos. Polimerasas provenientes de fagos: T4 y T7 polimerasas. DNA Polimerasas termoestables: Taq, fragmento Stoeffel, rTth. . Polimerasas de alta fidelidad: Pfu y Pushion. Características diferenciales, propiedades y aplicaciones. Transcriptasas Reversas. RT-PCR, secuenciación automática. Enzimas utilizadas para modificar y para el marcado radiactivo de ácidos nucleicos. Fosfatasas, quinasas, ligasas, transferasa terminal.

TEMA 3.

Vectores utilizados para el clonado de ácidos nucleicos. Plásmidos: propiedades básicas. Vectores de clonado basados en plásmidos de E. coli. Vectores de clonado basados en los bacteriófagos M13 y f1. Vectores de clonado basados en el fago lambda. Vectores de clonado para plantas y para células animales. Vectores de expresión en procariotas y eucariotas. Vectores de fusión. Importancia de la fase de clonado.

TEMA 4.

Construcción de moléculas híbridas de ADN. Unión de moléculas de ADN. ADN ligasas. Rellenado y eliminación de extremidades 5'. Desfosforilación. Incorporación de sitios de clonado múltiples. Inserción de adaptadores. Colas de homopolímeros. Clonado de ADN en diferentes vectores. Genes sintéticos. Optimización de codones. Métodos de clonado sin ligasa.

TEMA 5.

Conversión de ARNm en ADN doble cadena. Subclonado de fragmentos de ADN. Clonado de productos de PCR. Sistema T-A overhangs. Fundamento y ventajas. Sistema de la topo-isomerasa. Selección por gen de control de muerte celular (cassette tóxico). Subclonado por recombinación (sistema Gateway). Mutagénesis al azar. Evolución dirigida. Mutagénesis sitio dirigida.

TEMA 6.

Construcción y screening de bibliotecas de ADN. Biblioteca genómica vs. biblioteca de ADNc, ventajas comparativas. Normalización de bibliotecas de cDNA. Construcción de bibliotecas de ADN, amplificación. Screening de bibliotecas mediante diferentes metodologías: por homología de secuencia, reconocimiento de la proteína, por actividad, por complementación funcional. Análisis mediante sustracción. Screening de bancos de expresión de DNA: aislamiento del gen por ensayo funcional. Sistema del doble híbrido en levaduras. Differential display de mRNA. Microarrays.

TEMA 7.

Transferencia de genes en células de mamíferos. Objetivos. Transfección de ADN en células eucariotas. Diferentes técnicas: Fosfato de Calcio, DEAE-Dextran, electroporación, lípidos catiónicos, bombardeo e inyección de ADN. Elección de la célula y del sistema de transfección. Transformación transitoria vs. Transformación estable. Selección de transfectantes. Diferentes aplicaciones. Vectores de transferencia de ADN. Ventajas comparativas de sistemas virales. Vectores virales: Retrovirus, Lentivirus, Adenovirus, Virus asociado a adenovirus. Vectores sintéticos asociados a ADN plasmídicos bacterianos: lípidos catiónicos, polímeros policatiónicos. Vectores de expresión. Sistema Vaccinia y Baculovirus.

TEMA 8.

Gene targeting por recombinación homóloga. Inactivación de genes (knock-out). Knock-out simple y doble. Sistema Cre-loxP. Inactivación por knock down. ARN antisentido. Diferentes estrategias de ARN interferencia. Otras estrategias de inactivación. Oligonucleótidos modificados.

TEMA 9.

Estrategias básicas de obtención de animales transgénicos. Uso de promotores regulables y específicos de tejido. Producción de proteínas en animales transgénicos. Aplicaciones prácticas. Inyección pronuclear. Clonado.

TEMA 10.

Estrategias básicas de obtención de plantas trangénicas. Aplicaciones prácticas. La generación de nuevas plantas y nuevos alimentos. La resistencia a herbicidas. Resistencia a virus e insectos. Genómica funcional y nutricional. Producción de diferentes moléculas en plantas transgénicas (molecular farming).

TEMA 11.

Aplicaciones de la Ingeniería genética. Terapia génica. Diseño de vectores controlables para aplicación clínica. Proyectos genómicos. Secuenciación de nueva generación. Pirosecuenciación. Metagenómica. Perspectivas futuras. Principios éticos del manejo de la información genética.

TEMA 12.

BIOINFORMÁTICA: Ingeniería Genética Post-Genómica. Análisis de bancos de datos de proyectos geonómicos. Proyectos terminados y no terminados. Anotado de secuencias. Secuencias genómicas y de ADNc. ESTs. Análisis por homología. BLAST: blastn, blastp, blastx, tblastn, tblastx.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

1) Clonado de productos de PCR. Selección de recombinantes por colonias blancas y azules.
2) Generación de una variante truncada de una proteína mediante digestión enzimática.
3) Mutagénesis sitio dirigida mediante PCR.
4) Bioinformática.

VIII - Regimen de Aprobación

Promoción:
_ Aprobación de parciales con 80% o más (un recuperatorio).
_ Trabajos Prácticos.
_ Exposición de seminarios.
_ Trabajo Final.
Regularidad:
_ Aprobación de parciales con 60% o más (tres recuperatorios).
_ Trabajos Prácticos.
_ Exposición de seminarios.
_ Examen Final a programa abierto.
Libre:
_ Examen sobre trabajos prácticos.
_ Examen Final a programa abierto.

IX - Bibliografía Básica

[1] Principles of Gene Manipulation: Seventh Edition. Primrose, Twymann and Old. Disponible online en: https://biokamikazi.files.wordpress.com/2013/06/gene-and-genomics.pdf

X - Bibliografia Complementaria

[1] Diferentes trabajos científicos, material ppt y material sobre ética y debates pueden hallarse en: http://www.unslingenieriagenetica.blogspot.com.ar/search?updated-min=2011-01-01T00:00:00-08:00&updated-max=2012-01-01T00:00:00-08:00&max-results=31

XI - Resumen de Objetivos

- Capacitar al alumno para que evalúe y desarrolle diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al alumno en la comprensión de las metodologías de obtención de animales y plantas transgénicos y knock-outs génicos.
- Capacitar al alumno para el procesamiento y evaluación de diseños y resultados experimentales, y para el análisis de trabajos publicados en revistas de divulgación científica, con una actitud crítica.

XII - Resumen del Programa

TEMA 1.
Bases y origen de la Ingeniería genética.
TEMA 2.
Manipulación enzimática del ADN.
TEMA 3.
Tipos de vectores utilizados en ingeniería genética.
TEMA 4.
Construcción de moléculas híbridas de ADN.
TEMA 5.
Vectores con aplicaciones específicas.
TEMA 6.
Construcción y screening de bibliotecas de ADN.
TEMA 7.
Transferencia de genes en células de mamíferos.

TEMA 8.
Modificación genética de células animales.
TEMA 9.
Estrategias básicas de obtención de animales transgénicos.
TEMA 10.
Estrategias básicas de obtención de plantas trangénicas.
TEMA 11.
Aplicaciones de la Ingeniería genética.
TEMA 12.
Bioinformática.

XIII - Imprevistos

XIV - Otros