



Ministerio de Cultura y Educación
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia
Departamento: Bioquímica y Cs Biológicas
Área: Biología Molecular

(Programa del año 2018)
(Programa en trámite de aprobación)
(Presentado el 27/04/2018 12:22:03)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
INGENIERIA GENETICA	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	11/06	2018	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 Simp	10 Hs
CASTRO, MELINA GABRIELA	Auxiliar de Práctico	A.1ra Simp	10 Hs
MUÑOZ, MARCOS DAVID	Auxiliar de Práctico	A.1ra Simp	10 Hs
CAMPOS, LUDMILA ESTEFANIA	Auxiliar de Laboratorio	A.1ra Simp	10 Hs
JEREZ, MARIA BELEN	Auxiliar de Laboratorio	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
Hs	4 Hs	2 Hs	2 Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoría con prácticas de aula y laboratorio	1° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
12/03/2018	22/06/2018	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, sus principales usos y aplicaciones, y también sus limitaciones. Se discutirán también aspectos éticos, epistemológicos y políticos relacionados con la disciplina, y nuevos conflictos que surgen del avance técnico disciplinar. Finalmente, se abordarán textos que interpelen al futuro egresado como sujeto social y político.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

- Capacitar al alumno para que diseñe, desarrolle y evalúe diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al alumno en la comprensión de las metodologías de obtención de organismos modificados genéticamente.
- Capacitar al alumno para el procesamiento y evaluación de diseños y resultados experimentales.
- Desarrollar el espíritu crítico tanto dentro del ámbito disciplinar como fuera del mismo.

VI - Contenidos

TEMA 1. Conceptos básicos de Ingeniería Genética

Ingeniería genética. Bases para la obtención de organismos genéticamente modificados. Alcances, aplicaciones y limitaciones. Ventajas intrínsecas del uso de microorganismos para investigación genética. Escherichia coli como

herramienta en Ingeniería Genética. Mutantes metabólicas y selección. Fagos bacterianos. Transformación de E coli con moléculas de ADN. Diferentes técnicas utilizadas. Transformación de otros organismos.

TEMA 2. Manipulación y modificación de ADN in vitro

Manipulación enzimática del ADN. Endonucleasas de restricción. Requerimientos de las enzimas, condiciones experimentales. Usos y aplicaciones. DNA Polimerasas DNA-dependientes: propiedades, requerimientos. 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 básicos

Vectores utilizados para el clonado de ácidos nucleicos. Plásmidos: propiedades básicas. Vectores de clonado basados en plásmidos de E. coli. Vectores de expresión. Vectores de fusión; importancia de la fase de clonado. Vectores de clonado para plantas y para células animales. Vectores de expresión para células no bacterianas; levaduras, plantas, animales. Vectores derivado bacteriofagos; lambda, fagos monocadena.

TEMA 4. Estrategias de clonado y subclonado

Construcción de moléculas híbridas de ADN. Unión de moléculas de ADN. ADN ligasas. Rellenado 3' 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; Clonado sin ligasa, sin enzimas de restricción e independiente de secuencia (SLIC; Sequence- and Ligation-Independent Cloning). Diseño de estrategias de clonado. Ejemplos. 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 específica de sitio (sistema Gateway). Mutagénesis sitio dirigida. Mutagénesis al azar. Evolución dirigida.

TEMA 5. Bibliotecas

Construcción y screening de bibliotecas de ADN. Biblioteca genómica vs. biblioteca de ADNc, análisis comparativo. Tamaño requerido de una biblioteca. 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. Clonado diferencial. Sistema del doble híbrido en levaduras.

TEMA 6. Bioinformática

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

TEMA 7. Proyectos genómicos

Proyectos genómicos. Proyectos tradicionales; generación de bibliotecas y secuenciación por Sanger. Bibliotecas genómicas y de cDNA. Secuenciación masiva (Next Generation Sequencing; NGS). Proyectos Genómicos mediante NGS. Proyectos transcriptómicos. Diferencias cuanti y cualitativas entre Proyectos de secuenciación tradicional y NGS. Cambio de paradigma. Metagenómica. NGS en salud humana: detección de mutaciones raras. Ejemplos. Implicancias éticas y sociales. Principios éticos del manejo de la información genética.

TEMA 8. Transfección de células animales

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 de baculovirus para superproducción de proteínas animales.

TEMA 9. Estrategias avanzadas de manipulación genética

Gene targeting por recombinación homóloga. Inactivación de genes (knock-out). Sustitución de genes (knock in). Sistema Cre-loxP. Inactivación por silenciamiento génico postranscripcional (knock down). Diferentes estrategias de knock down. Otras estrategias de inactivación génica. Métodos masivos de inactivación génica (genómica funcional); gene trapping, Poly A trapping. Edición genómica (CRISPR/Cas9).

TEMA 10. Transgénesis en animales.

Estrategias básicas de obtención de animales transgénicos. Diferencias metodológicas y resultados esperados. Formación de quimeras y clones. Reemplazo nuclear, implantación de células transgénicas en blastocisto, microinyección. Uso de promotores regulables y específicos de tejido. Producción de proteínas en animales transgénicos. Aplicaciones prácticas. Modelos de laboratorio y usos biotecnológicos. Ejemplos.

TEMA 11. Transgénesis en plantas

Estrategias básicas de obtención de plantas transgénicas. Modelo de estudio; Arabidopsis thaliana, Nicotiana tabacum. Uso del plasmido Ti de Agrobacterium tumefaciens como vector. Vectores binarios. Métodos de transformación in planta. La generación plantas genéticamente modificadas. La resistencia a herbicidas. Resistencia a virus e insectos. Cultivos transgénicos de primera, segunda y tercera generación. Producción de diferentes moléculas en plantas transgénicas (molecular farming). Genetic use restriction technology (GURT).

TEMA 12. Limitaciones y conflictos (en formato de debate)

Reduccionismo genético para explicar características fenotípicas y enfermedades. Importancia y riesgos del almacenamiento de la información genética (Bancos de Datos Genéticos). Influencia del desarrollo tecnológico sobre el modelo de sociedad, y viceversa. Influencia del Estado y del mercado sobre ambos.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

Los trabajos prácticos de laboratorio se llevan a cabo siguiendo normas estándar de bioseguridad.

Trabajos prácticos de laboratorio.

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

Trabajos prácticos de aula.

1. Enzimas de restricción
2. Metilación del ADN
3. Clonado.

Trabajos prácticos de Bioinformática.

1. Diseño de primers, análisis de sitios de restricción, búsqueda de secuencias por homología.
2. Análisis de secuencias exónicas e intrónicas, alineamientos múltiples y diseño de primers degenerados.

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 la página de la asignatura: http://docs.wixstatic.com/ugd/48902d_320192e3481e4d328795af008f6a64dc.pdf

[2] Apuntes de la asignatura: <http://jimemanzur80.wixsite.com/ing-genetica-unsl/clases>

X - Bibliografía Complementaria

[1] Diferentes trabajos científicos, material ppt y material sobre ética y debates pueden hallarse en:

[2] <http://jimemanzur80.wixsite.com/ing-genetica-unsl/libros>

[3] <http://jimemanzur80.wixsite.com/ing-genetica-unsl/seminarios>

XI - Resumen de Objetivos

- Capacitar al alumno para que diseñe, desarrolle y evalúe diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al alumno en la comprensión de las metodologías de obtención de organismos modificados genéticamente.
- Capacitar al alumno para el procesamiento y evaluación de diseños y resultados experimentales.
- Desarrollar el espíritu crítico tanto dentro del ámbito disciplinar como fuera del mismo.

XII - Resumen del Programa

TEMA 1. Conceptos básicos de Ingeniería Genética

TEMA 2. Manipulación y modificación de ADN in vitro

TEMA 3. Vectores básicos

TEMA 4. Estrategias de clonado y succionado

TEMA 5. Bibliotecas

TEMA 6. Bioinformática

TEMA 7. Proyectos genómicos

TEMA 8. Transfección de células animales

TEMA 9. Estrategias de manipulación genética

TEMA 10. Transgénesis en animales.

TEMA 11. Transgénesis en plantas

TEMA 12. Limitaciones y conflictos (en formato de debate)

XIII - Imprevistos

XIV - Otros

ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA	
Profesor Responsable	
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	