



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

(Programa del año 2020)  
(Programa en trámite de aprobación)  
(Presentado el 27/07/2022 11:25:51)

### I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
INGENIERÍA GENÉTICA Y GENÓMICA	LIC. EN BIOLOGÍA MOLECULAR	15/14 -CD	2020	2° cuatrimestre

### II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
JURI AYUB, MAXIMILIANO	Prof. Responsable	P.Adj Simp	10 Hs
MANZUR, MARIA JIMENA	Prof. Co-Responsable	P.Adj Simp	10 Hs
CARMONA VIGLIANCO, NATALIA EVE	Responsable de Práctico	JTP Semi	20 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 - Teoria con prácticas de aula y laboratorio	2° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
10/08/2020	20/11/2020	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 estudiante en el diseño, desarrollo y evaluación de diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al estudiante en la comprensión de las metodologías de obtención de organismos modificados genéticamente.
- Capacitar al estudiante para la ejecución y evaluación de diseños y resultados experimentales.
- Desarrollar el espíritu crítico en lxs estudiantes 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 derivados de 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 de doble híbrido en levaduras.

### **TEMA 6. Bioinformática**

Ingeniería Genética Post-Genómica. Análisis de bancos de datos de proyectos genómicos. 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 policationicos. 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 plásmido Ti de Agrobacterium tumefaciens como vector. Vectores binarios. Métodos de transformación in planta. Generación de plantas genéticamente modificadas. 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**

Para alcanzar la regularidad de la asignatura el estudiante deberá aprobar los dos exámenes parciales con 60% o más y llevar a cabo los trabajos prácticos de laboratorio y aula.

El estudiante tendrá derecho a dos recuperatorios por cada parcial.

La asistencia a los trabajos prácticos de aula y laboratorio es obligatoria.

La asistencia a las clases teóricas es opcional.

No habrá régimen promocional.

El examen final (tanto para el alumno libre como regular) será oral y a programa abierto.

### **IX - Bibliografía Básica**

[1] Principles of Gene Manipulation: Seventh Edition. Primrose, Twyman and Old. Disponible online en la página de la asignatura: [http://docs.wixstatic.com/ugd/48902d\\_320192e3481e4d328795af008f6a64dc.pdf](http://docs.wixstatic.com/ugd/48902d_320192e3481e4d328795af008f6a64dc.pdf)

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

[3] Material Didáctico para lxs Estudiantes:

## 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 estudiante en el diseño, desarrollo y evaluación de diferentes estrategias de clonación de ácidos nucleicos.
- Capacitar al estudiante en la comprensión de las metodologías de obtención de organismos modificados genéticamente.
- Capacitar al estudiante para la ejecución y evaluación de diseños y resultados experimentales.
- Desarrollar el espíritu crítico en lxs estudiantes 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 subclonado

TEMA 5. Bibliotecas

TEMA 6. Bioinformática

TEMA 7. Proyectos genómicos

TEMA 8. Transfección de células animales

TEMA 9. Estrategias avanzadas de manipulación genética

TEMA 10. Transgénesis en animales.

TEMA 11. Transgénesis en plantas

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

## XIII - Imprevistos

Dada la situación epidemiológica en la que se encuentra la provincia con respecto a la pandemia y que la asignatura se desarrolla durante el período de cuarentena, las clases teóricas se dictarán mediante plataformas informáticas y las actividades de prácticos de laboratorio y evaluaciones, se completarán de acuerdo a lo que dispongan oportunamente las autoridades provinciales y universitarias.

## XIV - Otros

<b>ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA</b>	
	<b>Profesor Responsable</b>
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	