



PLAN 2011

INGENIERÍA GENÉTICA MOLECULAR

CARRERA: LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

I. IDENTIFICACIÓN

- | | |
|-----------------------------|----------------------|
| 1. Código | : 44B |
| 2. Horas Semanales de Clase | : 6 |
| 2.1. Teóricas | : 3 |
| 2.2. Prácticas | : 3 |
| 3. Créditos | : 4 |
| 4. Pre-Requisito | : Genética Molecular |

II. JUSTIFICACIÓN

El surgimiento de la Ingeniería Genética o Tecnología del DNA¹ Recombinante ha generado descubrimientos asombrosos que han introducido avances sin precedentes en el área de las ciencias biológicas. La historia y los avances del conocimiento y los experimentos cruciales que dieron origen a la identificación del material genético son extremadamente interesantes e ilustrativos. El descubrimiento de la estructura tridimensional del DNA por Watson y Crick (1953) constituyen la piedra angular de la investigación biológica moderna. A partir de aquellos estudios pioneros en que se definió el código genético surgió la necesidad de generar ácidos nucleicos no naturales. Se inició entonces la era del desarrollo de técnicas que permitan sintetizar DNA *in vitro*. El objetivo de este curso es estudiar los fundamentos que permiten la manipulación del DNA sintético, la expresión de proteínas generadas *in vitro*, el estudio de la funcionalidad de esas proteínas y el conocimiento de las técnicas empleadas para llevar a cabo estos estudios.

III. OBJETIVOS

- Conocer el lenguaje utilizado en los experimentos de Ingeniería Genética.
- Comprender los fundamentos teóricos de la manipulación del DNA.
- Analizar las tecnologías aplicadas para realizar experimentos de manipulación de genes.
- Reconocer la tecnología de la expresión de genes en diferentes sistemas de expresión (en sistemas eucariotas y procariotas)
- Desarrollar destrezas en la comprensión de textos mediante la lectura y discusión crítica de publicaciones científicas recientes que aplican tecnología de ingeniería genética en modelos experimentales.

¹ Luego de consultar a especialistas sobre cada uno de los temas, se adaptaron algunos términos, en un intento de uniformizar el léxico en el campo de la bioquímica y de la genética molecular (Alberts, B. 2010. Nota de los traductores. En Biología Molecular de la Célula, pp. xxxiv–xxxv. Barcelona: Ediciones Omega).



IV. CONTENIDOS

A. UNIDADES PROGRAMÁTICAS

1. Vectores plasmídicos.
2. Enzimas de restricción.
3. Genotecas: Tipos, construcción y rastreo.
4. Estrategias, fundamentos y aplicaciones de técnicas de clonado molecular.
5. Transformación de células procariotas y eucariotas.
6. Expresión de proteínas recombinantes.
7. Técnicas de análisis de ácidos nucleicos, DNA y RNA.
8. Secuenciación del DNA.
9. Construcción y análisis de bibliotecas genómicas.

B. DESARROLLO DE LAS UNIDADES PROGRAMÁTICAS

1. Vectores plasmídicos

- 1.1. Vectores de clonación y expresión.
 - 1.1.1. Plásmidos.
 - 1.1.1.1. Clasificación de Plásmidos:
 - 1.1.1.2. Plásmidos F.
 - 1.1.1.3. Plásmidos R.
 - 1.1.1.4. Plásmidos Col.
 - 1.1.1.5. Plásmidos degradativos.
 - 1.1.1.6. Plásmidos virulentos.
 - 1.1.1.7. pUC118.
 - 1.1.1.8. ColE1.
 - 1.1.1.9. RP4.
 - 1.1.1.10. TOL.
 - 1.1.1.11. pTiAch5.
 - 1.1.2. Tipos de fagos según estructura.
 - 1.1.2.1. Bacteriófago lambda.
 - 1.1.2.2. M13
 - 1.1.3. Cósmidos.
 - 1.1.4. YAC.
 - 1.1.5. BAC.
 - 1.1.6. Fagémidos.

2. Enzimas de restricción

- 2.1. Definición.
- 2.2. Tipos de enzimas de restricción.
- 2.3. Aplicaciones.
- 2.4. Enzimas de uso más frecuente en la clonación molecular.
- 2.5. Selección de enzimas de restricción para la clonación molecular.

3. Genotecas: Tipos, construcción y rastreo

- 3.1. Tipos.



- 3.1.1. Biblioteca genómica.
- 3.1.2. Biblioteca de cDNA.
- 3.2. Construcción de una biblioteca genómica.
 - 3.2.1. Aislamiento del DNA genómico.
 - 3.2.2. Purificación del DNA genómico.
 - 3.2.3. Clonación de fragmentos del DNA genómico en los vectores elegidos.
- 3.3. Construcción de una biblioteca de cDNA.
 - 3.3.1. Extracción y purificación del mRNA.
 - 3.3.2. Control de la integridad del mRNA extraído.
 - 3.3.3. Producción del cDNA.
 - 3.3.4. Ligación del cDNA a un vector.
- 4. Estrategias, fundamentos y aplicaciones de técnicas de clonado molecular**
 - 4.1. Selección del vector.
 - 4.2. Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del DNA blanco.
 - 4.3. Ligación.
 - 4.4. Transformación.
 - 4.5. Amplificación de clones en placas de agar.
 - 4.6. Subclonación.
 - 4.7. Aplicaciones de la clonación molecular.
- 5. Transformación de células procariotas y eucariotas**
 - 5.1. Mecanismos.
 - 5.1.1. Competencia natural.
 - 5.1.2. Competencia artificial.
 - 5.1.2.1. Shock térmico.
 - 5.1.2.2. Electroporación.
 - 5.1.2.3. Biobalística.
 - 5.1.3. Transducción (viral).
- 6. Expresión de proteínas recombinantes**
 - 6.1. Vectores de expresión.
 - 6.1.1. Elementos de los vectores de expresión.
 - 6.1.2. Sistemas de expresión de genes en procariotas.
 - 6.1.3. Sistemas de expresión de genes en eucariotas.
 - 6.2. Expresión en bacterias.
 - 6.3. Expresión en levaduras.
 - 6.4. Expresión en células de insecto (Baculovirus).
 - 6.5. Expresión en células de mamífero.
- 7. Técnicas de análisis de ácidos nucleicos, DNA y RNA**
 - 7.1. Purificación de DNA y RNA.
 - 7.1.1. Fundamento teórico.
 - 7.1.2. Métodos de purificación de DNA.



- 7.1.3. Métodos de purificación de RNA.
- 7.1.4. Métodos de cuantificación de DNA.
- 7.2. Electroforesis.
 - 7.2.1. Geles de agarosa.
 - 7.2.2. Geles de poliacrilamida.
 - 7.2.3. Electroforesis capilar.
- 7.3. Hibridación.
 - 7.3.1. Fundamento teórico.
 - 7.3.2. Tipos de hibridación.
 - 7.3.3. Aplicaciones.
- 7.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
 - 7.4.1. Fundamento teórico.
 - 7.4.2. Tipos de PCR.
 - 7.4.3. Aplicaciones de la PCR.
- 8. Secuenciación del DNA**
 - 8.1. Historia y fundamento.
 - 8.2. Métodos de terminación de la cadena.
 - 8.3. Automatización de la secuenciación.
 - 8.4. Pirosecuenciación.
 - 8.5. Secuenciación de alto rendimiento.
 - 8.6. Aplicaciones.
- 9. Construcción y análisis de bibliotecas genómicas**
 - 9.1. Genómica estructural: mapas genéticos, mapas de restricción.
 - 9.2. Genómica funcional.
 - 9.3. Genómica comparativa.
 - 9.4. Proteómica.
 - 9.5. Transcriptómica.
 - 9.6. Otras ómicas.

C. OBJETIVOS PEDAGÓGICOS POR UNIDAD

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 1 “Vectores plasmídicos”, el estudiante será capaz de:

- Identificar los componentes principales de un vector de clonación o de expresión.
- Diferenciar los vectores de clonación y los vectores de expresión.
- Describir el vector más adecuado de acuerdo al tamaño del gen blanco que desee clonar.
- Conocer los vectores de clonación y expresión frecuentemente usados en la actualidad.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 2 “Enzimas de restricción”, el estudiante será capaz de:

- Conocer los tipos de enzimas de restricción existentes.



- Identificar las principales enzimas de restricción (procedencia y nombre).
- Manejar las temperaturas y sitios de corte de las enzimas.
- Seleccionar las enzimas de restricción más adecuadas de acuerdo al vector y el inserto elegido para el experimento.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 3 “Genotecas: Tipos, construcción y rastreo”, el estudiante será capaz de:

- Reconocer los tipos de genotecas y para qué sirven de acuerdo al estudio que se desee realizar.
- Entender cómo se purifica el material genético del genoma.
- Describir cómo se construye una biblioteca de cDNA.
- Describir cómo se liga el cDNA producido al vector elegido.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 4 “Estrategias, fundamentos y aplicaciones de técnicas de clonado molecular”, el estudiante será capaz de:

- Seleccionar el vector más adecuado de acuerdo al estudio.
- Describir la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa en la clonación.
- Explicar el fundamento de la ligación y transformación del gen blanco en un vector.
- Describir el proceso de amplificación de un clon.
- Describir la subclonación, su función y sus aplicaciones.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 5 “Transformación de células procariontas y eucariontas”, el estudiante será capaz de:

- Describir el proceso de la transformación y los mecanismos utilizados.
- Explicar la transducción en la expresión de virus.
- Conocer las ventajas, desventajas y las aplicaciones de los diferentes mecanismos de transformación.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 6 “Expresión de proteínas recombinantes”, el estudiante será capaz de:

- Explicar el proceso de expresión de una proteína recombinante.
- Seleccionar el mejor sistema de expresión de acuerdo al estudio que desee realizar.
- Describir las aplicaciones y las ventajas de las proteínas recombinantes.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 7 “Técnicas de análisis de ácidos nucleicos, DNA y RNA”, el estudiante será capaz de:

- Describir los diferentes métodos de purificación de ácidos nucleicos (DNA y RNA).
- Conocer las ventajas y desventajas de cada método.



- Explicar el fundamento de la electroforesis de ácidos nucleicos y los diferentes tipos de electroforesis utilizados.
- Definir qué es la hibridación, los tipos y las aplicaciones de la técnica.
- Detallar los fundamentos, los tipos y las aplicaciones de la reacción en cadena de la polimerasa.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 8 “Secuenciación del DNA”, el estudiante será capaz de:

- Describir el fundamento y los métodos de terminación de la cadena.
- Explicar los diferentes tipos de secuenciación.
- Conocer lo último en tecnología de secuenciación en la actualidad.

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 9 “Construcción y análisis de bibliotecas genómicas”, el estudiante será capaz de:

- Analizar mapas de restricción.
- Definir la genómica, proteómica y otras ómicas de aplicación en la actualidad.
- Explicar las aplicaciones actuales de esta rama de la ingeniería genética en áreas de la salud, agricultura, ganadería.
- Describir en forma global la tecnología del DNA recombinante, sus usos, la tecnología utilizada y el grado de avance a nivel mundial.

V. METODOLOGÍA

La metodología formativa incluirá:

- Clases magistrales con soporte audiovisual.
- Presentación y discusión de artículos científicos relacionados con cada unidad del programa, donde se explicarán y analizarán los fundamentos del trabajo y los métodos moleculares empleados.

VI. MEDIOS AUXILIARES

- Pizarra, marcadores y borrador.
- Textos básicos y de consulta.
- Publicaciones científicas.
- Cañón multimedia.
- Herramientas computacionales.

VII. ESTRATEGIAS DE ENSEÑANZA – APRENDIZAJE

Se dictarán clases magistrales siguiendo el marco teórico del programa. Se reforzarán los conceptos con videos y ejercicios que faciliten el aprendizaje a los alumnos. Además, se fomentará el hábito de la lectura y razonamiento utilizando publicaciones científicas de actualidad para que los estudiantes aprendan los conceptos y la terminología empleada en la disciplina. Se estimulará al estudiante para que investigue sobre temas relacionados al contenido programático en libros de texto y en publicaciones indexadas en

internet. Las clases prácticas permitirán al estudiante observar cómo se aplican los conceptos teóricos en la práctica.

VIII. EVALUACIÓN

Se evaluará la asimilación y comprensión de los conocimientos teóricos y prácticos así como la desenvolvura en las exposiciones desarrolladas como seminarios individuales y/o grupales.

La calificación se realizará acorde al reglamento académico de la FACEN.

IX. BIBLIOGRAFÍA

A. BÁSICA

- BROWN, T. 2008. *Genomas 3rd ed.*, Buenos Aires: Médica Panamericana, 764p.
- BROWN, T.A. 2010. *Gene cloning and DNA analysis an introduction 6th ed.*, Oxford: Wiley-Blackwell, 336p.
- GREEN, M. & SAMBROOK, J. 2012. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2028p.
- LEWIN, B. 2008. *Genes IX*. México: McGraw-Hill, 844p.
- HERRÁEZ SÁNCHEZ, Á. 2012. *Texto ilustrado e interactivo de Biología molecular e ingeniería genética 2nd ed.*, España: Elsevier España, S.L., 537p.
- NICHOLL, D.S.T. 2008. *An Introduction to Genetic Engineering 3rd ed.*, Cambridge; New York: Cambridge University Press, 348p.
- PRIMROSE, S.B. & TWYMAN, R. 2009. *Principles of Gene Manipulation and Genomics*, John Wiley & Sons, 667p.
- WATSON, J.D., MYERS, R.E., CAUDY, A.A. & WITKOWSKI, J.A. 2009. *DNA Recombinante: Genes y Genomas 3rd ed.*, Porto Alegre, Brasil: Artmed, 474p.

B. COMPLEMENTARIA

- FITZGERALD-HAYES, M. & REICHSMAN, F. 2009. *DNA and Biotechnology*, Academic Press, 401p.
- GIBSON & MUSE 2009. *A Primer of Genome Science, Third Edition 3rd ed.*, Sinauer Associates, Inc, 370p.
- KREBS, J.E., GOLDSTEIN, E.S. & KILPATRICK, S.T. 2012. *Lewin Genes Fundamentos 2nd ed.*, Editorial Medica Panamericana, 831p.
- SETLOW, J.K. ED. 2006. *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Boston, MA: Springer, 262p.
- WINK, M. ED. 2011. *An Introduction to molecular biotechnology: Fundamentals, Methods and Applications 2nd ed.*, Weinheim, Bergstr: Wiley-VCH, 636p.