

# INGENIERÍA GENÉTICA – 2023

## PROGRAMA ANALÍTICO

### PRIMERA PARTE

#### **UNIDAD 1**

Metodología del DNA recombinante. Objetivos generales del uso de estas metodologías. Panorama general de las estrategias más comunes utilizadas en ingeniería genética.

#### **UNIDAD 2**

Enzimas utilizadas en el clonado molecular. Enzimas de restricción y enzimas metilantes. DNA polimerasas. RNA polimerasa-DNA dependiente. Ligasas, quinasas, fosfatasas. Proteínas de unión a DNA.

#### **UNIDAD 3**

Características esenciales de los plásmidos. Los plásmidos como vectores de clonado. Desarrollo de nuevos plásmidos. Plásmidos comúnmente usados.

#### **UNIDAD 4**

Extracción y purificación de ácidos nucleicos. Manipulación de DNA plasmídico. Preparación en pequeña escala (*miniprep*). Preparación en gran escala (*maxiprep*).

#### **UNIDAD 5**

Electroforesis de ácidos nucleicos. Electroforesis en geles de agarosa. Electroforesis en geles de poliacrilamida. Electroforesis en condiciones nativas y en condiciones desnaturalizantes. Purificación de ácidos nucleicos a partir de geles de agarosa.

#### **UNIDAD 6**

Amplificación *in vitro* de DNA por PCR. Diseño de oligonucleótidos para actuar como *primers*. Optimización de una reacción de PCR. Variantes técnicas de la PCR. Reacciones de transcripción reversa para la generación de cDNA.

#### **UNIDAD 7**

Estrategias de clonado en plásmidos. Estrategias de ligación. Defosforilación de DNA plasmídico linealizado. Reacciones de ligación.

## **UNIDAD 8**

Metodologías para la introducción de DNA plasmídico en hospedadores adecuados. Preparación y transformación de *Escherichia coli* competentes. Electroporación.

## **UNIDAD 9**

Identificación de colonias bacterianas que contienen plásmidos recombinantes. Análisis de restricción. Análisis por  $\alpha$ -complementación. Inactivación insercional.

## **UNIDAD 10**

Preparación de bibliotecas de clones. Extracción, purificación y análisis de DNA genómico. Construcción y análisis de bibliotecas de DNA genómico. Bibliotecas transcriptómicas. Proyectos genoma.

## **UNIDAD 11**

Metodologías para la preparación de sondas de ácidos nucleicos. Técnicas basadas en el uso de isótopos radiactivos y técnicas basadas en reacciones colorimétricas o de luminiscencia (métodos no radiactivos). Sondas oligonucleotídicas sintéticas.

## **UNIDAD 12**

Metodologías para el rastreo y detección de recombinantes en bibliotecas de clones. Uso de anticuerpos y sondas de ácidos nucleicos. Búsqueda por hibridación: *Colony Blot*, *Dot Blot*, *Southern Blot*. Secuenciamiento de ácidos nucleicos.

## **UNIDAD 13**

Metodologías para la caracterización transcripcional de genes. Estudios de regiones promotoras. Caracterización de extremos de los mRNA. Detección de mRNAs mediante *Northern Blot*. Análisis de mRNAs mediante reacciones de RT-PCR. Caracterización de proteínas de unión a ácidos nucleicos.

## **UNIDAD 14**

Características esenciales de los bacteriofagos. Fagos con genoma de DNA de doble y simple cadena como vectores de clonado. Bacteriófago lambda. Fagos filamentosos: M13. Hospedadores bacterianos. Crecimiento, purificación y extracción de DNA. Clonado en *phagemids*. Identificación y análisis de recombinantes.

## **UNIDAD 15**

Características esenciales de los cósmidos. Cósmidos como vectores de clonado. Clonado en cósmidos. Construcción de bibliotecas de DNA genómico en cósmidos, fósidos, PACs y BACs. Amplificación y almacenamiento de las bibliotecas.

## SEGUNDA PARTE

### **UNIDAD 16**

Vectores de expresión. Expresión de genes clonados en *E. coli*. Detección y análisis de proteínas expresadas a partir de genes clonados. Optimización de la expresión de proteínas recombinantes.

### **UNIDAD 17**

Características de las inteínas. Utilización de inteínas para la expresión de proteínas. Desarrollo de plásmidos de expresión conteniendo secuencias que codifican para inteínas.

### **UNIDAD 18**

Mutagénesis *in vitro*. Generación de moléculas quiméricas por PCR. Mutagénesis de sitio dirigida mediante PCR. Mutagénesis al azar mediante PCR. Generación de bibliotecas de mutantes para un gen.

### **UNIDAD 19**

Mutagénesis genómica. Estudio de la función génica mediante generación de *Knock outs* y *Knock down*. Búsqueda de genes mediante mutagénesis genómica. Utilización de transposones.

### **UNIDAD 20**

Mapeo genómico. Técnicas basadas en genética clásica. FISH. Generación de paneles de células híbridas.

### **UNIDAD 21**

Metodologías de tipificación y diagnóstico. Técnicas basadas en RFLP. Técnicas basadas en hibridación. Técnicas basadas en PCR. *Multiplex* PCR. AFLP. Análisis filiatorios.

### **UNIDAD 22**

Metodologías actualizadas para la búsqueda de genes específicos en bibliotecas de genomas complejos. *Microarrays*. *Proteomics*. Nuevos sistemas de clonado. Introducción a metodologías y aplicaciones orientadas a emprendimientos.

## BIBLIOGRAFIA

- Molecular Cloning, a laboratory manual. Volume I – II. 2<sup>nd</sup> edition. J. Sambrook; E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, USA.
- Recombinant DNA. 2<sup>nd</sup> edition. J.D. Watson; M. Gilman; J. Witkowski and M. Zoller. 1992. Scientific American Books. W.H. Freeman and Company. New York. USA.
- Molecular genetics of Bacteria. Larry Snyder and Wendy Champness. 1997. American Society for Microbiology. Washington DC. USA.
- Genome Analysis. A laboratory manual. Volume 3. Cloning systems. 1999. Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- Mapping Genomics. A laboratory manual. Volume 4. Cloning systems. 1999. Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA. 3<sup>rd</sup> edition. 2003. B.R. Glick and J.J. Pasternak. ASM Press. Washington, USA.
- Plasmid Biology. 2004. Barbara E. Funnell and Gregory J. Phillips. American Society for Microbiology. Washington DC. USA.
- Plasmids, a practical approach. 1987. K.G. Hardy. IRL Press Limited. Oxford. England.
- Basic methods in molecular biology. 2<sup>nd</sup> edition. L. Davis. M. Kuehl. J Battey. Appleton & Lange, Norwalk. Connecticut.
- DNA Science: a first course in Recombinant DNA technology. 1990. D.A. Micklos and G.A. Freyer. Cold Spring Harbor Laboratory Press and Carolina Biological Supply Company. Cold Spring Harbor. USA.
- Recombinant DNA and Biotechnology. 2<sup>nd</sup> edition. 2001. ASM Press. Washington, USA.
- PCR Cloning protocols. Methods in Molecular Biology, vol. 57. 1997. B.A. White. Humana Press. Totowa, New Jersey, USA.
- Papers listados en: "Seminarios".
- Biología Celular y Molecular. Lodish. C571.6 BIO
- Biología Molecular de la Célula. Alberts. C571.6 BIO
- PCR. Carl. W. Dieffenbach, C547.84 PCR
- Exp. In molecular Biology. Slater C572.8 EXP
- Biología Molecular e Ingeniería Genética. C 572.8 LOQ
- Producción de Proteínas Recombinantes. C572.8 PRO
- DNA Finger printing. Kirby. C572.86