

ANEXO

1. IDENTIFICACIÓN DE LA ASIGNATURA

Nombre de la asignatura: Ingeniería Genética Verde

Carácter de la asignatura: Optativa

Cátedra/Área/Departamento: Cátedra de Genética – Departamento de Biología Aplicada y Alimentos

Carrera: Tecnicatura en Floricultura

Período lectivo: 2022 2024

2. CARACTERÍSTICAS DE LA ASIGNATURA

Duración: Bimestral

Docentes responsables de la asignatura y equipo docente: Dra. Gabriela Conti y Lic. Pablo Leonel Peralta Roa.

Carga horaria para el estudiante: CUARENTA (40) horas – DOS y MEDIO (2 ½) créditos

Correlativas requeridas: Genética.

Modalidad: Curso

3.

FUNDAMENTACIÓN

La ingeniería genética hace referencia al conjunto de estrategias, métodos y herramientas que permiten manipular directamente el material genético o sus productos tanto para investigación básica, con el fin de incrementar los conocimientos de los principios fundamentales de un fenómeno biológico, o aplicada, para la obtención de un servicio o producto útil (incluido un ser vivo) y, por tanto, de interés económico o social. Una de las técnicas más extendidas es la de transferir unidades genéticas específicas de unos organismos a otros (transgénesis), casi sin limitación, salvando así las barreras naturales de intercambio genético. Esta forma de ingeniería biológica, dentro del gran área de la biotecnología moderna, ofrece un sinfín de aplicaciones que van desde la producción de fármacos de manera rentable (insulina, hormona de crecimiento, etc), de vacunas (Hepatitis B), enzimas para la industria química (detergentes en polvo para disolver machas), enzimas para la industria alimenticia (para la elaboración de quesos y en la obtención de jugos frutales) hasta la generación de nuevas variedades vegetales o razas de animales resistentes enfermedades o a condiciones adversas, así como también con capacidades genéticas útiles como mayor producción, calidad, o con fines de remediación de ambientes contaminados, entre otras. Los contenidos impartidos en esta materia son de importancia fundamental para la formación profesional de aquellos estudiantes que consideren al mejoramiento genético y la biotecnología vegetal una posible salida laboral, ya sea incorporándose a empresas biotecnológicas, laboratorios de diagnóstico, entre otras, así como también para quienes deseen realizar tareas relacionadas a la investigación básica y/o aplicada en biología molecular.

4.

OBJETIVOS

En la materia se pretende que los estudiantes adquieran destreza en el manejo de diferentes técnicas de ingeniería genética aplicadas a una de las secuencias experimentales básicas de un laboratorio de biología molecular de plantas: clonado y aislamiento de genes de organismos eucariotas mediante la técnica de PCR, manipulación de vectores plasmídicos en bacterias (*Escherichia coli* y *Agrobacterium tumefaciens*), transformación genética de plantas (*Nicotiana benthamiana*).

5. CONTENIDOS

Unidad 1.

Teoría: Revisión de Genética Molecular: estructura del ADN, ARN y proteínas; expresión génica (transcripción y traducción) y etapas regulatorias de la expresión génica. Conceptos básicos de Ingeniería Genética.

Trabajo Práctico 1: Extracción de ADN de material vegetal (35S:GFP:NOS *Arabidopsis thaliana*) según el método Dellaporta. Iniciación en el empleo y manipulación de

equipamientos de laboratorio (pipetas, centrífugas, reactivos, etc)

Unidad 2.

Teoría: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): fundamentos de la técnica, condiciones de la reacción, diseño de oligonucleótidos.

Trabajo Práctico 2: Cálculos y Preparación de la reacción de PCR (amplificación del gen GFP a partir del ADN extraído en el TP1), diseño del programa y uso del termociclador.

Unidad 3.

Teoría: Técnicas de Electroforesis. Fundamentos. Geles de Agarosa y Poliacrilamida, aplicaciones.

Trabajo Práctico 3: preparación de un gel de agarosa, corrida electroforética de las reacciones de PCR obtenidas en el TP2 y de las muestras de ADN obtenidas en el TP1.

Unidad 4.

Teoría: Clonados I: Concepto de clonación y de vectores de clonado; tipos de vectores; procedimientos de clonado, uso de enzimas de restricción. Transformación de bacterias y Sistemas de selección.

Trabajo Práctico 4: Clonado del gen GFP en dos vectores de entrada (pTOPO/GW y/o pGEM-T): reacción de Ligación; transformación química de *Escherichia coli* DH5 α y selección en placas de Petri con antibióticos y/o IPTG + X-gal.

Unidad 5.

Teoría: Clonados II: Aplicaciones de clonados: librerías, aislamiento y/o expresión. Tipos de vectores de expresión, concepto y sistemas de recombinación homóloga. Fundamentos sobre extracción de ADN plasmídico.

Trabajo Práctico 5: Observación de placas de Petri con colonias de *E.coli* transformadas (visualización colonias blancas y azules en transformaciones con pGEM-T). Extracción de ADN plasmídico. Digestión con enzimas de restricción para chequeo de plásmidos recombinantes.

Unidad 6.

Teoría: Revisión de transformación genética de plantas mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

Trabajo Práctico 6: Corrida electroforética para confirmación de plásmidos transformados con GFP. Reacción de recombinación homóloga en vectores de expresión pK2GW7. Transformación de *Agrobacterium tumefaciens* competentes de la cepa GV3101 en modo teórico (electroporación).

Unidad 7.

Teoría: Expresión transitoria de proteínas en plantas: usos y aplicaciones. Modos de detección. Bases teóricas para la elaboración de un póster donde se presenten resultados experimentales.

Trabajo Práctico 7. Expresión transitoria de GFP en *Nicotiana benthamiana*: preparación de medio para infiltración de agrobacterias recombinantes. Manipulación de material vegetal y procedimiento de agroinfiltración.

6. METODOLOGÍA DIDÁCTICA y FORMAS DE INTEGRACIÓN DE LA PRÁCTICA

Se dictarán clases teórico-prácticas que se inician con una explicación de los fundamentos teóricos de los experimentos a realizar y la revisión del protocolo experimental general del curso y particular de cada clase. En paralelo, los docentes plantean conflictos cognitivos para motivar al estudiante, quien debe tratar de resolver el problema planteado haciendo uso activo del conocimiento.

La metodología didáctica está basada en el principio de “aprender haciendo” y para ello, cada estudiante dispondrá al inicio del curso de una planta de *Arabidopsis thaliana* transgénica (portadora del gen GFP) que será utilizada para obtener dicho gen (extracción de ADN, aislamiento, detección y clonado). Una vez obtenido el gen GFP, cada estudiante tendrá que trabajar en su “propio experimento”, en el que su gen GFP será seguidamente manipulado en sistemas de clonado y expresión en procariontes (bacterias) para ser finalmente transferido a *Nicotiana benthamiana* (otra especie de planta), donde será expresado y se observará el producto de su expresión (proteína GFP).

Las primeras 7 clases se dictarán en el laboratorio de Agrobiotecnología de la Cátedra de Genética de la FAUBA y la última clase consistirá en un viaje a los laboratorios del Instituto de Biotecnología, en el Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas de INTA Castelar, donde se observarán las instalaciones, infraestructura y equipamientos de laboratorio. También allí se observarán los resultados del último experimento (visualización de la fluorescencia de GFP en la planta transformada mediante luz UV).

Finalmente, a modo de actividad integradora (que será evaluada en la última clase), los estudiantes confeccionarán un poster donde presentarán un trabajo de investigación y los resultados obtenidos, basándose en ideas propias y/o en los resultados y metodologías utilizadas en un artículo científico ya publicado, donde puedan ser aplicados los contenidos impartidos en la asignatura. La selección del tema para el poster y la elaboración del mismo serán acompañados por los docentes.

7.

FORMAS DE

EVALUACIÓN Y APROBACIÓN DE LA ASIGNATURA

Los estudiantes deberán cumplir con el 75% de asistencias a clase. Además, las evaluaciones constarán de:

- a) UN (1) examen escrito, en la clase número 7, en el que se evaluará la comprensión y adquisición de los contenidos impartidos en la asignatura. En esa evaluación deberán obtener una calificación individual final de cuatro (4) o más puntos en una escala numérica de 0-10. La calificación mínima de cuatro (4) puntos implica que el estudiante demuestra haber alcanzado al menos el 60% de los contenidos, competencias o capacidades fijadas como objetivos del curso.
- b) En la última clase se realizará un viaje obligatorio al Instituto de Biotecnología de CICVyA – INTA Castelar. Allí se realizará una evaluación en modalidad oral, mediante la presentación de un poster con algún proyecto (propio o con resultados obtenidos a partir de un artículo científico publicado en el área de biotecnología vegetal) donde el estudiante aplique los conocimientos adquiridos en el curso. En esa evaluación deberán obtener una calificación individual final de cuatro (4) o más puntos en una escala numérica de 0-10, indicativa de haber demostrado un buen desempeño en la presentación oral.
- c) En el transcurso de la materia, los estudiantes serán evaluados constantemente mediante preguntas orales al inicio de cada clase evaluando el tema de la clase anterior y/o conceptos necesarios para el desarrollo de la clase, es por ello que

La nota final estará conformada por:

- El examen escrito (a) que consta de una incidencia del 50% de la nota final.
- La exposición oral (b) con una incidencia en la nota final de 40%.
- Las preguntas en las clases (c) con una incidencia del 10% sobre la nota final.

El estudiante que no cumpla con los requisitos establecidos quedará en condición de “Libre” como única condición alternativa.

8.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía obligatoria

Material didáctico propio: Curso Teórico-Práctico Ingeniería Genética Verde, Cátedra de Genética, FAUBA.

Bibliografía complementaria

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter Garland Science; N.Y. 2002. Molecular Biology of the Cell. 4th edition.

Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks, 1983. A plant DNA miniprep: Version II. Plant Mol. Biol. Rep., 1: 19-21.

Echegaray V., Rubinstein C. y Mroginski L. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal.

Ediciones INTA, 2004. www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/biotec.htm

Ferreira, M.E. and Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. EMBRAPA-CENARGEN, 1996.

Guía de Ingeniería Genética Verde. Cátedra de Genética. FAUBA.

Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C. and Gelbart, W. M. An Introduction to Genetic Analysis. W.H. Freeman, 2000.

Griffiths, A; Wessler, S.; Lewontin,R. y Carroll, S. 2008. Genética. Parte II del ADN al fenotipo. 9ª Edición en español. McGraw-Hill: 265-453.

Levitus, Echenique, Rubinstein, Hopp y Mroginski. *Bioteconología y Mejoramiento Vegetal II*. Argenbio, Eds. INTA. 2010.

Libros online: Benavides F. J. y Guénet J.L. Manual de genética de roedores de laboratorio: Principios básicos y aplicaciones. Universidad de Alcalá, Laboratory Animals LTD y SECAL, España, 2003.

CL.



Anexo Resolución Consejo Directivo

Hoja Adicional de Firmas

1821 Universidad de Buenos Aires

Número:

Referencia: ANEXO del programa de la asignatura optativa Ingeniería Genética Verde de la carrera de AGRO - EX-2022-00827553-

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 4 pagina/s.