

INGENIERÍA GENÉTICA II

Introducción

La **biotecnología moderna** puede definirse como la aplicación de entidades biológicas que habitan/ron este planeta -enteras o sus partes-, o el uso de otras entidades sintéticas –enteras o sus partes- (siendo en ambos casos previamente manipuladas genéticamente y en forma deliberada), con el fin último de generar bienes y/o servicios útiles para el ser humano. Tales aplicaciones incluyen tanto la producción de nuevos conocimientos biológicos, como la prestación de servicios y la generación de productos. Muchos de ellos han revolucionado nuestras vidas, y prometen continuar haciéndolo de manera drástica. Siendo que en este momento histórico de la civilización humana las ciencias de la información adquieren un rol destacadísimo, la biotecnología se posiciona junto con la informática como uno de los procesos culturales con mayor impacto directo en la vida diaria presente y futura, ya sea por el alcance de sus logros tecnológicos o por la profunda interpelación que provoca a nivel filosófico, y en consecuencia, en el terreno legal.

En tal contexto, la **ingeniería genética** es la disciplina que posibilita la manipulación de la información genética, transformándose en el brazo metodológico de la biotecnología moderna. En la **Licenciatura en Biotecnología** de la Universidad Nacional de Quilmes, ya abordados y comprendidos los conceptos mínimos asociados a los procedimientos experimentales que soportan tales manipulaciones, la asignatura **Ingeniería Genética II** se posiciona pretendiendo profundizar dichos enfoques, construyéndose sobre lo previamente impartido para a partir de allí discutir y comprender todas las nuevas tecnologías disponibles y sus alcances.

Objetivos de la asignatura

Los objetivos de **Ingeniería Genética II** son los siguientes:

- *Que el estudiante tenga conocimientos amplios sobre sintaxis génica para a partir de allí, entender la información genómica y a su vez, poder plantear estrategias que deriven en su manipulación deliberada.*
- *Que el estudiante sea capaz de formular planes de trabajo de Investigación y Desarrollo donde la ingeniería genética sea central en el enfoque metodológico.*
- *Que el estudiante se familiarice con la literatura científica original, tomándola como referente en la construcción y divulgación del conocimiento.*
- *Que el estudiante se familiarice con el trabajo de laboratorio centrado en biología celular y molecular.*

Para cumplir con estos objetivos, se utilizará un enfoque de aula-taller donde se discutirán los conocimientos y metodologías empleando literatura científica adecuada, y donde se propiciará el planteamiento de planes de trabajo para satisfacer objetivos específicos disciplinares. En tanto, el trabajo de laboratorio se manejará como un espacio donde los estudiantes deberán tomar un rol activo y participativo tal cual sucede en la vida profesional.

Programa analítico

A continuación se describen los **contenidos**, separados en **9 módulos**, y cada uno de ellos a su vez dividido en **fundamentos, teoría y prácticos** potenciales de laboratorio. Cabe destacarse que los trabajos experimentales en esta instancia se mencionan como entidades separadas e independientes, cuando en realidad se buscará encadenarlos de una manera lógica para transformarlos en un proyecto de investigación y desarrollo denominado: “*Desarrollo de una plataforma viral como sistema de expresión de proteínas recombinantes en contextos eucariotas y como vehículo para terapia génica in vivo*”.

MÓDULO 1: INGENIERÍA GENÉTICA Y CLONADO MOLECULAR

Fundamentos: La *biotecnología moderna* necesita de la *Ingeniería genética*, y ésta de las metodologías del *clonado molecular*. Por ello, en esta etapa se contextualizará a la biotecnología en función de sus alcances, y se reverá todo lo relativo a las técnicas tradicionales que permiten realizar construcciones genéticas para diversos fines. A partir de allí, se profundizará en todos los nuevos sistemas de clonado molecular basados en integrasas y en otras actividades enzimáticas.

Contenidos teóricos: Definiciones sobre biotecnología clásica y moderna, impactos y perspectivas. La genética como ciencia central en la biología. Sujetos de manipulación: biodiversidad de organismos y virus. Modelos celulares y de organismos enteros para la experimentación. Ingeniería Genética. Clonado Molecular tradicional. Técnicas estándares de identidad para ácidos nucleicos: mapas físicos, hibridación, PCR, secuenciación. Nuevos sistemas de clonado molecular. Métodos de transferencia horizontal de ácidos nucleicos a células procariotas y eucariotas.

Contenidos prácticos: Diseño de construcciones genéticas *in silico* utilizando diferentes estrategias para el clonado molecular (tradicionales y nuevas). Cultivo de células eucariotas y transfección de ácidos nucleicos.

MÓDULO 2: TECNOLOGÍAS GENÓMICAS

Fundamentos: Para generar bienes y servicios útiles basados en ingeniería genética es vital en primer lugar disponer de información de secuencias y de conocimiento sobre la función de cada uno de los componentes del gen y de los genomas. En esta etapa se analizarán cuestiones generales de sintaxis génica y citogenética, y se describirán todos los nuevos procedimientos para la adquisición de información genómica. Además, se discutirán metodologías moleculares para la identificación y cuantificación de genomas en muestras problema.

Contenidos teóricos: Arquitectura y sintaxis génica en los genomas de bacterias, arqueas, eucariotas, organelas y virus. Moviloma. Epigenómica. Técnicas citogenéticas. Proyectos genomas y nuevos métodos de secuenciación. Proyectos asociados y aplicaciones en la determinación de genomas de individuos y de fósiles. Metagenómica. Identificación molecular de genomas por diversos métodos enzimáticos y sus aplicaciones en el diagnóstico: *Real Time* PCR, métodos isotérmicos, *whole genome amplification*, entre otros.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada. Identificación y cuantificación de DNA viral mediante métodos enzimáticos (PCR semicuantitativa, *Real Time-PCR*).

MÓDULO 3: TECNOLOGÍAS TRANSCRIPTÓMICAS

Fundamentos: La constitución de la materia viva, o su fenotipo, deriva de una compleja interacción entre la información contenida en los genomas y el ambiente. Ya descritos los nuevos procedimientos para la adquisición de secuencias en el módulo anterior, y discutidos algunos aspectos centrales de la sintaxis génica, nos abocaremos a visibilizar los nuevos conceptos relativos a la transcripción, a los transcriptos, y a su regulación. A partir de ellos discutiremos aplicaciones concretas y se analizarán las tecnologías actuales de análisis global de transcriptomas.

Contenidos teóricos: Transcripción de genomas y su regulación. RNA de interferencia y microRNAs. *Splicing* alternativo y *trans-splicing*. Ribozimas. Técnicas para la determinación global de transcriptomas y sus aplicaciones. Microarreglos para

la evaluación de transcriptomas. Metodologías de *knock down* génico en organismos y modelos celulares.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada. Aplicación de RNA de interferencia en el modelo animal *Caenorhabditis elegans*.

MÓDULO 4: TECNOLOGÍAS PROTEÓMICAS

Fundamentos: Los genomas poseen numerosos genes, donde cada una de estas secuencias puede ser capaz de generar varios transcritos, y a su vez, cada uno de estos puede producir más de un polipéptido. En consecuencia, la proteómica es una ventana de análisis en biología molecular de suma trascendencia. En función de ello, en este módulo se reverán los procesos de traducción proteica y todas las tecnologías actuales útiles para la determinación y comparación de proteomas.

Contenidos teóricos: Traducción de proteínas y su regulación. Modificaciones postraduccionales típicas según organismos y función. Caracterización de proteínas *in vitro* e *in vivo*. Técnicas para la determinación global de proteomas. Electroforesis bidimensional, espectroscopias de masas y secuenciación peptídica. Aplicaciones.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada.

MÓDULO 5: TECNOLOGÍAS INTERACTÓMICAS

Fundamentos: Comprendidas las metodologías actuales de generación de conocimiento sobre información genómica, transcriptómica y proteómica, pasaremos a analizar las tecnologías asociadas a la determinación de los mapas de interacciones entre las moléculas de la célula, lo cual derivará en descubrir parte de la compleja red que transforma a la materia viva en un sistema activo capaz de transformar energía, consumir insumos del ambiente, y responder ante sus estímulos e injurias.

Contenidos teóricos: Metodologías *high throughput* para la determinación de interacciones intermoleculares en la célula, *in vivo* e *in vitro* (ácidos nucleicos entre sí, ácidos nucleicos con proteínas, proteínas con proteínas). Aplicaciones.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada.

MÓDULO 6: MUTAGÉNESIS GENÓMICA

Fundamentos: Los módulos anteriores se centran en la descripción molecular de la materia viva sumando procedimientos aplicables a cualquier entidad biológica que habita este planeta. A partir de aquí, utilizaremos dicha información para discutir las tecnologías vigentes que existen para manipular organismos y virus de un modo deliberado.

Contenidos teóricos: Definición y utilidad de OGMs (Organismos Genéticamente Modificados) y VGMs (Virus Genéticamente Modificados). Clonación de organismos. Fecundación y desarrollo en organismos eucariotas. Mutagénesis genómica dirigida: métodos tradicionales y modernos. Sistema Cre-loxp. Genética reversa en virus. Aplicaciones en la biodiversidad y ejemplificación de casos. Mutagénesis genómica al azar para estudios de genómica funcional: métodos tradicionales y modernos. Aplicaciones y ejemplificación de casos.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada. Diseño de construcciones genéticas *in silico*. Mutagénesis genómica dirigida sobre un virus.

MÓDULO 7: EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS EN CONTEXTOS HETERÓLOGOS

Fundamentos: Las proteínas son moléculas trascendentes para la vida, lo cual deriva en que su producción se ha transformado en central para diversas aplicaciones que van desde la salud hasta las industrias. En este módulo se discutirán varios sistemas de expresión de proteínas en contextos heterólogos y su utilidad en función de las características de los polipéptidos y en los costos para su producción.

Contenidos teóricos: Definición de proteínas recombinantes y aplicaciones. Sistemas libres de células. Sistemas bacterianos. Sistemas para Levaduras y otros hongos. Sistemas de células eucariotas en cultivos *in vitro*. Sistemas virales para células de mamíferos. Los baculovirus como sistemas de expresión en eucariotas. Organismos como biorreactores.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada. Utilización de baculovirus para la expresión de una proteína en células de insecto y/o larvas.

MÓDULO 8: TERAPIA GÉNICA

Fundamentos: El componente genético en el desarrollo de una enfermedad presenta diferente relevancia en función de su impacto. En ciertos casos, determinadas mutaciones condicionan la generación de cuadros clínicos de alta incapacidad y riesgo de muerte, siendo la única oportunidad de cura la aplicación de nueva información genética. En dicho contexto, se discutirán los procedimientos en desarrollo sobre terapia génica y las tecnologías disponibles para encararla.

Contenidos teóricos: Relevancia del componente genético en el desarrollo de enfermedades. Identificación de acciones terapéuticas. Terapia génica *in vivo*. Vehículos virales y no virales. Genes terapéuticos. Ejemplificación de casos. Terapia génica *ex vivo*. Relevancia de las células madre. Ejemplificación de casos. Terapia génica germinal.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada. Evaluación de un vehículo viral en un organismo modelo.

MÓDULO 9: BIOLOGÍA SINTÉTICA

Fundamentos: En los últimos años, la biología dio un salto cualitativo y dejó de interesarse sólo en comprender los mecanismos moleculares que gobiernan a la naturaleza viva, sino también a modificarlos de manera tal de reprogramar a los organismos y virus, o incluso a sintetizarlos a medida. Este nuevo escenario

revolucionario promete transformar a la biotecnología tal la cual la conocemos, poniéndola en una nueva dimensión nunca antes vista.

Contenidos teóricos: Definiciones e historia sobre la biología sintética. Síntesis *de novo* de DNA. Virus y Organismos sintéticos. Ingeniería de sistemas biológicos para diversas aplicaciones. Reescritura y/o reconstrucción de información genética. Biosensores. Estudio de casos.

Contenidos prácticos: Taller de literatura científica asociada.

Bibliografía

Todos los temas aquí presentados tendrán el soporte bibliográfico dado por artículos y revisiones científicas publicadas en reconocidas revistas internacionales.