

# Ingeniería Genética II

## Guía de repaso

- 1) Encuentre una definición para el **Clonado molecular**.
- 2) Esquematice y detalle los elementos mínimos (mencionando su función) que debe contener una **plataforma de clonado** si la misma es:
  - a) un plásmido,
  - b) el genoma de un virus de *Escherichia coli* de dsDNA,
  - c) el genoma de un virus de mamíferos de cccdsDNA.
- 3) Identifique metodologías posibles para obtener los fragmentos considerados como **insertos** en el **clonado molecular**.
- 4) Identifique cuáles **enzimas** son importantes para la realización de un **clonado molecular**.
- 5) Esquematice las **construcciones genéticas** necesarias para cumplir con los objetivos que se mencionan a continuación, detallando cada uno de sus componentes funcionales:
  - a) Producir una proteína recombinante en *Escherichia coli*.
  - b) Producir una proteína recombinante en células de mamífero.
  - c) Localizar en una célula humana la ubicación de una proteína particular.
  - d) Realizar un *knock out* por reemplazo de un gen particular de *E. coli*.
  - e) Realizar un *knock out* por interrupción de un gen particular de *E. coli*.
  - f) Realizar un *knock in* en *Escherichia coli* de una ruta metabólica compuesta por 3 enzimas (sin afectar genes de la bacteria), organizando a la misma como un operón.

- 6) Proponer TODOS los pasos experimentales necesarios para expresar la proteína que se indica a continuación en el vector pET22b. Incluya la secuencia de los *primers* que requiera sintetizar e indique las condiciones de la PCR.

```

atgttgagtcctgccaacggggagcagctccacctggtgaactatgtggaggactacctggactccatc
M L S P A N G E Q L H L V N Y V E D Y L D S I
aagtcacctgcctttcgacttgcagagaaatgtctcgtgatgctgggagatcgacgcgaaataccaagag
E S L P F D L Q R N V S L M R E I D A K Y Q E
atcctgaaggagctagacgagtgctacgagcgttcagtcgagacagacggggcgagaagcggcg
I L K E L D E C Y E R F S R E T D G A Q K R R
atgctgcactgtgtgcagcgcgcgtgatccgcagccaggagctgggagcagagaagatccagatcgtg
M L H C V Q R A L I R S Q E L G D E K I Q I V
agccagatggtggagctggtggagaaccgcagcggcagggtggacagccacgtggagctggttcgaggcg
S Q M V E L V E N R T R Q V D S H V E L F E A
cagcaggagctgggagcagacagtgaggcaacagcggcaaggttggcgcggacaggcccaatggcgatgcg
Q Q E L G D T V G N S G K V G A D R P N G D A
gtagcgcagctctgacaagcccaacagcaagcgtcacggcggcagcgcgcaacaacgagaaccgtgagaac
V A Q S D K P N S K R S R R Q R N N E N R E N
gctccagcaaccacgaccacgacgagcggcgcctcgggacacccaaggagaagaaggccaagacctcc
A S S N H D H D D G A S G T P K E K K A K T S
aagaagaagaagcgtccaaggccaaggcggagcgcgagaggcgtcccctgcccagctccccatcgacc
K K K A G R S K A K A E R E A S P A D L P I D P
aacgaaccacgactgctgtgcaaccaggtctcctatggggagatgatcggtgagcagaacgacgag
N E P T Y C L C N Q V S Y G E M I G C D N D E
tgccccatcgagtggttccacttctcgtgctggggctcaatcataaaccgaaggcaagtggtactgt
C P I E W F H F S C V G L N H K P K G K W Y C
cccaagtgcgggggggagaacgagaagaccatggacaaagccctggagaaatccaaaaagagagggct
P K C R G E N E K T M D K A L E K S K K E R A
tacaacaggtag
Y N R

```

**Factor VIII**

```

          Promotor T7          Operador lacI
AGATCTCGATCCCGCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCCCTCTAGAAATAATTTTGTT
TAACTTTAA[GAAGGA]GATATA[CATATG]AAATACCTGCTGCCGACCCTGCTGCTGGTCTGCTGCTCCTCGCTGCCAGCGGGCG
          RBS          Ndel          pel B
ATGGCC[GGCCATGG]ATATCGGAATTAATTTCCGATCCGGATATCCGAGCTCCGTCGACAAGCTTGGGGCCGCCCTCGAGCACC
pel B          NcoI          BamHI          EcoRV          SacI          Sall          HindIII          XhoI His-tag
ACCACCACCACCACTGAAGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCAGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCA[CCGCTGAGCAATAACTAG]
          His-tag          STOP
CATAACCCCTTGGGGCCTCTAACCGGGTCTTGAGGGGTTTTTTT
Terminador T7

```

**pET-22b**