



Programa sinóptico de la unidad curricular: **GENÉTICA DE PROCARIOTAS**

Unidad Curricular: <b>Genética de Procariotas</b>					Unidad Responsable: Dpto. de Biología				
Datos Unidad Curricular		Modalidad			Tipo Dedicación		Dedicación Total Unidad Curricular		
Código	Semestre	T	P	L	HTSP	HTSNP	CA	Total Horas por Semana (HS=CA X 3)	Total Horas por Semestre (HS X 16)
181412	8	2	0	6	2	6	4	12	192
Prelaciones: Haber aprobado hasta el 7° semestre, es decir 117 CA									

HSTP: Horas semanales de trabajo que se realiza en el aula o laboratorio y requiere preparación y trabajo adicional

HTSNP: Horas semanales que se realizan en el aula o laboratorio y no requieren de preparación o trabajo adicional

CA: créditos académicos

**Justificación**

Esta unidad curricular electiva, que debería cursarse luego de haber aprobado Genética, se desarrolla como un curso dirigido al estudio de sistemas procariotas. El curso está concebido con el propósito de aportar conocimientos básicos que les permita a los estudiantes iniciarse en el estudio del manejo y aplicación de las manipulaciones genéticas con fines científicos y/o de aplicación práctica y en la Biotecnología. En este sentido, se estudian las propiedades genético-fisiológicas de ciertos elementos extra cromosomales naturales que han sido el soporte biológico clave en el desarrollo y progreso de las manipulaciones genéticas. Además, con el estudio de esta materia se pretende que el estudiante logre entender a cabalidad la importancia de los eventos de transposición en la historia evolutiva de todas las especies.

El curso está dirigido hacia el estudio de tres grandes aspectos:

**1)** Los elementos genéticos utilizados en la construcción de los sistemas huésped-hospedador para propiciar arreglos cromosomales, modificar el patrimonio genético de las especies, obtener fusión de genes, clonaje de genes particulares y su expresión, etc. Para ello se presentan los modelos de organización estructural y funcional de los elementos genéticos móviles (IS, Tn, fago Mu), plásmidos y episomas (fago λ, factor F, factores R y factores Col); se consideran las interacciones genéticas propias, y las que se establecen entre unos y otros, y con el hospedador.

**2)** Los mecanismos moleculares que participan en la transferencia de la información genética (transformación, transducción, conjugación), mantenimiento estable en el hospedador receptor (sistema de restricción-modificación, mecanismos de recombinación genética), posterior transmisión a la descendencia filial (heredabilidad estable).

**3)** Las metodologías utilizadas en las manipulaciones genéticas, tanto "*in vivo*" como "*in vitro*". Se discuten comparativamente las bases teóricas, aplicación, alcances y limitaciones, así como la utilidad de los elementos genéticos móviles y plásmidos en las técnicas de recombinación genética.



### **Requerimientos**

El estudiante debe haber aprobado el curso obligatorio Genética de la carrera de Biología. Es deseable que el estudiante del octavo/noveno semestre, donde se cursa esta unidad curricular, muestre un dominio técnico del idioma inglés.

### **Objetivo General**

Presentar de manera lógica, y centrado en la aplicabilidad práctica del conocimiento de los sistemas regulatorios en procariontes, los principales componentes moleculares, genéticos, bioquímicos y fisiológicos de los genomas de bacterias y de sus elementos extra-cromosomales, así como de la regulación derivada de la interacción propia y foránea de éstos y entre ellos.

### **Objetivos Específicos**

- Conocer las principales características de los genomas bacterianos que ayuden a comprender la regulación de su expresión, y la interacción de éste con elementos extra cromosomales residentes.
- Evaluar y conocer la diversidad de elementos extra cromosomales (elementos móviles, plásmidos y bacteriófagos) y su importancia en la adaptabilidad de las bacterias a diversos ambientes.
- Presentar con ejemplos prácticos los usos de los elementos móviles y las bacterias recombinantes en ciencia aplicada y ciencia básica.
- Aprender a interpretar y analizar literatura científica relacionada con el estudio molecular de bacterias y sus elementos extra cromosomales.

### **Contenidos**

#### **UNIDAD I. Estudios genéticos y fisiológicos de los elementos extracromosomales.**

**Tema 1. El Dogma Central de la Biología:** su aplicabilidad en procariontes y contribución de éstos a su validación universal. Principales eventos asociados con los procesos de replicación, transcripción y traducción en procariontes y diferencias principales con los organismos eucariotas. Las unidades básicas de organización genética en procariontes y su regulación: genes y operones, y la regulación positiva y negativa de su expresión. Regulación post-transcripcional por poliadenilación. El Código genético y el patrón de usaje de codones de las especies. Epigenética: modificaciones covalentes del ADN (metilación), arquitectura y compactación del nucleóide, proteínas tipo histonas en procariontes, ARNs reguladores. Mecanismos de regulación génica por *quórum sensing*.

**Tema 2. Elementos móviles o transponibles.** Descubrimiento. Clasificación de los elementos IS, Tn y Mu. Propiedades generales. Organización genética y funcional. Expresión de sus genes y regulación. Mecanismos de movilización integrativa y regulación del proceso. Integración mutagénica y sus efectos: aberraciones cromosomales, polaridad, terminación de transcripción y cambios en los mecanismos



de regulación. Comparación con la mutagénesis química. Ejemplos de elementos móviles en eucariotas. Origen e importancia evolutiva de los elementos móviles.

**Tema 3. El fago como modelo de diferenciación celular.** Ciclo de vida. Mapa genético lineal del fago. Organización funcional y transcripción de los genes: localización de promotores, operadores, señales de terminación y genes inmediatamente tempranos, tempranos y tardíos. Regulación de la expresión genética. Proteínas reguladoras y su modo de acción. Funciones aportadas por el huésped. Control de la síntesis del represor: establecimiento y mantenimiento de la lisogenia. Circuitos de control positivo y negativo durante el desarrollo lítico: funciones inmediatamente tempranas, tempranas y tardías. Lisogenia e inducción del profago. Participación de la proteína RecA y del sistema SOS. Replicación del ADN del fago: modos de replicación y funciones involucradas.

**Tema 4. F como modelo de factor sexual.** Propiedades generales. Organización genética y funcional del genoma de F. Sistema genético involucrado en la transferencia de F por conjugación. Movilización de marcadores cromosomales mediada por F y funciones involucradas. Transmisión del factor F: replicación vegetativa y su regulación. Incompatibilidad entre factores F y otros plásmidos. Exclusión de superficie.

**Tema 5. Factores R y factores Col.** Origen y clasificación. Importancia médica y ecológica. Organización genética y funcional. Factores R: genes de resistencia a drogas, control genético y mecanismo de resistencia; participación de los Tn. Factores Col: síntesis de colicina y su modo de acción. Fenómenos de inmunidad, resistencia y tolerancia. Mantenimiento y transmisión de los factores R y Col: replicación vegetativa y funciones involucradas; curación. Interacción entre plásmidos. Transferencia conjugacional e inhibición de la fertilidad (fi): sistema genético involucrado y mutantes *drd*. Formación de cointegrados: papel de los elementos IS y Tn. Movilización de plásmidos Tra.

**Tema 6. Transformación y transfección como procesos de transferencia de información genética.** Cinética de transformación y eficiencia de este proceso. Competencia de poblaciones bacterianas. Entrada del ADN donante y su expresión. Barreras genéticas: sistemas de restricción y modificación, CRISPRs. Mutantes del sistema y métodos de selección. Enzimas de restricción conocidas, modo de acción y utilidad en las manipulaciones genéticas "in vitro".

**Tema 7. Integración de la información genética en el genoma hospedador.** Recombinación generalizada: modelos propuestos a nivel molecular, funciones involucradas y papel de la proteína RecA. Comparación con el sistema de recombinación general red del fago. Procesos de recombinación aditiva. Modelo de Campbell para la integración específica y escisión del ADN del fago  $\lambda$ . Funciones involucradas. Mecanismo de integración y escisión del factor F y formación de cepas Hfr. Mecanismos de formación de partículas transductantes del fago  $\lambda$  y factores de la cabeza y de la cola. Comparación con la movilización integrativa (por transposición o translocación) de los IS, Tn y del fago Mu.

**UNIDAD 2. Manipulaciones genéticas en procariontas:**



**Tema 8. Técnicas de Ingeniería Genética "in vitro":** posibilidad de introducir ADN extranjero en una célula receptora. Necesidad de vehículos de clonaje o vectores. Propiedades de los vectores y de la célula receptora. Utilidad de los fagos y plásmidos. Fabricación de nuevos vectores, Métodos para obtener preparaciones de ADN. Métodos de clonaje para la obtención de moléculas de ADN híbridas o quimeras por recombinación "in vitro": utilidad de las enzimas de restricción, transferasas terminales y ligasas. Introducción del ADN quimera en células receptoras biológicamente funcionales (transformación y/o transfección) y selección de las células recombinantes que recibieron el clon. Métodos genéticos y ventajas de utilizar marcadores fenotípicos. Demostración de la presencia del clon. Métodos bioquímicos de selección. Métodos para la amplificación del clon. Ejemplos de clonaje de genes eucariotas en vectores procariotas y/o eucariotas y selección. Métodos de secuenciamiento de ADN y construcción de genotecas. Técnicas bioquímicas y de Biología Molecular de utilidad en las manipulaciones genéticas.

**Tema 9. La amplificación de genes: historia y métodos.** La amplificación por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): termocicladores, enzimas termoestables y diseño de iniciadores. Los programas de amplificación: desnaturalización, anillamiento y extensión. El clonaje TA. Variaciones de la amplificación por PCR. Técnicas para el análisis de la expresión genética: real time PCR, RT-PCR, Northern y Southern. Microarreglos. Fusiones génicas transcripcionales y traduccionales; sistemas de expresión homóloga y heteróloga. Marcadores moleculares: definición, tipos y usos. Clonación y transformación en mamíferos y plantas (transgénicos). Terapia génica.

**Tema 10. Técnicas de Endo-Ingeniería Genética.** Empleo de los elementos genéticos extra cromosomales en el clonaje "in vivo": fagos atemperados (fago  $\lambda$ ,  $\theta$ 80 y Mu), plásmidos y transposones. Utilidad de los transposones en una variedad de otras manipulaciones genéticas "in vivo". Fusión de genes y proteínas mediada por el fago Mu. Ejemplos de procesos involucrados en la transferencia de genes "in vivo" entre organismos procariotas y eucariotas: plásmido Ti de *Agrobacterium*.

### **Estrategias Metodológicas**

El instructor del curso hará amplio uso de material didáctico visual (fotos y películas) que permitan entender los conceptos que se expliquen en clases. Para complementar esta información, y hacer al estudiante participe de su propio proceso de aprendizaje, se asignarán artículos para seminarios y discusión en clases

### **Estrategias de Evaluación**

Se pretende evaluar el desempeño del estudiante con la realización de evaluaciones parciales (escritas u orales), la discusión de artículos, la asignación de tareas de desafío para la casa, así como la presentación de un seminario sobre alguna temática a escoger al inicio de cada periodo lectivo. Puede contemplarse, igualmente, la presentación de una propuesta de proyecto de investigación haciendo uso de los conocimientos adquiridos en la materia.



### **Bibliografía**

- Beckwith. J. & D. Zipser. (Eds.). The lactose operon. Cold Spring Harbor laboratory. 1970.
- Bukhari A. Shapiro J. & Adhya S. DNA inserion elements. plasmids and episomes. Cold Spring Harbor Laboratory.
- Cold Spring Harbor, New York, 1977.
- Davis. R., D. Botstein & J. Roth. (Eds.) Advanced Bacterial Genetic. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. 1980.
- Freifelder. D. Técnicas de Bioquímica y Biología Molecular. Ed. Reverte. S.A., 1979.
- Grinsted J. & Bennett P. (Eds.) Methods in Microbiology: Plasmis Technology, Academic Press. Vol. 21, 19 2nda. Ed., 1988.
- Lewin B. Gene Expressions. Jhon Wiley & Sons, London, 2nda. Ed., 1985.
- Lewin B. Gene Expressions: Bacterial genomes. Jhon Wiley & Sons, London, Vol. 1, 1975.
- Lewin B. Gene Expressions-3: Plasmids & Phages. Jhon Wiley & Sons, London, Vol. 3, 1977.
- Lewin B. Genes IV. Cell Press. Mass. Oxford University Press. Walton Street, Oxford OX2 6DP. 1990.
- Lewin B. Genes. Editorial Reverté. S.A. (versión española de Genes, 3ra. Ed.), 1991.
- Methods in Enzymology, vol. 204, 1991.
- Miller J. A Short course in Bacterial Genetics. cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992.
- Miller, J.H. Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1972.
- Rieger R., A. Michaelis & Green M. Glossary: Classical and Molecular. Ed. Spring-Verlag. Berlin Heidelberg NY. 7ta. Ed., 1991.
- Sambrook J., Fritsch & T. Maniatis. Molecular cloning, A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989. 2da. Ed.
- Serrano J. y García J: MAnual de Genética Molecular. Ed. Síntesis, 1990.
- Streips, U. & Yasbin, R. (Eds.). Modern Microbial Genetics, Willey-Liss, 1991.
- Symonds N., A. Toussaint, P Van de Putte & M. Home (Eds.). Phage Mu, Cold Spring Harbor Laboratory, Cols Spring Harbor, N.Y., 1987.
- Ternynck Th. y Avrameas. Técnicas inmunoenzimáticas, Grupo Editorial Iberoamericana, 1989.
- Towbin H. & J. Gordon. Immunoblotting and Dot Immunobinding, Current status and outlook. J. Immunol. Methods, 72: 313, 1984.