



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

129B
1984

CURSO SUPERIOR DE INGENIERIA GENETICA

Coordinador: Dr. Norberto D. Judewicz

Profesor Adjunto D.E. FCEyN (UBA) - Investigador Adjunto de la Carrera del CONICET.

Director: Dr. Héctor N. Torres

Profesor Titular D.E. FCEyN (UBA) - Investigador Superior de la Carrera del CONICET.

Profesores: Dra. Mirtha M. Flawiá

Profesora Asociada D.E. FCEyN (UBA) - Investigador Independiente de la Carrera del CONICET.

Dres. Héctor N. Torres y Norberto D. Judewicz (arriba mencionados)

Dra. Beatriz Méndez

Profesora Adjunta D.E. FCEyN (UBA).

Docentes Auxiliares: Dr. Alejandro A. Paladini

Jefe de Trabajos Prácticos FCEyN (UBA) - Profesional Principal del CONICET

Bqco Luis M. Molina y Vedia

Ayudante de Primera FCEyN (UBA) - Becario Perfeccionamiento del CONICET

Duración: 6/8/84 al 31/10/84.

Horas de clase: 30 hs. semanales.

DR. H. TORRES Carácter: Doctorado.

[Handwritten signature]

Aprobado por Resolución DN 275/85



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CURSO SUPERIOR DE INGENIERIA GENETICA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN INGENIERIA GENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR
Y FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES U.B.A.

Coordinador: Dr. Norberto D. Judewicz

Director: Dr. Héctor N. Torres

I - Curso Teórico

- 1 - Transformación: Transferencia de material genético por moléculas de DNA. Descubrimiento de la transformación y principios generales. Cinética del proceso. Estado y competencia. Permeabilización con iones de calcio.
- 2 - Conjugación: Transferencia de material genético entre bacterias. Identificación y selección de mutantes. Eficiencia de la transferencia. Alta frecuencia de recombinación (Hfr). Interacciones entre el factor F y el cromosoma. Inserción, excisión. Síntesis de DNA durante la conjugación. Integración del DNA donante. Activadores enzimáticos relacionados con la recombinación.
- 3 - Plásmidos: Propiedades básicas y tipos; plásmidos conjugativos y no conjugativos. Grupos de compatibilidad. Factor sexual. Factor R. Transferencia de R y F. Factores colicinogénicos. Construcción y caracterización de vectores de Ingeniería Genética. Plásmido pBR322. Plásmidos de B. subtilis, Streptomyces y levadura. Plásmidos lineales.
- 4 - Clivaje y ligado de las moléculas de DNA: Concepto de restricción y modificación. Enzimas de restricción. Nomenclatura. Unión de los extremos del DNA. DNA ligasas. Homopolímeros. Metilación del DNA.
- 5 - Transposones: Elementos de inserción simples IS. Sitios de integración. Secuencias repetidas e invertidas. Transposasas. IS y evolución. Formación de plásmidos conjugativos de resistencia a drogas. Tn-3, Tn-10, Tn-5, etc. Fago Mu: mecanismo de integración; replicación; ciclo lítico. El genoma MU como transposón y su utilización en el estudio de genes regulatorios en bacteria. Modelos de transposición. Transposición de eucariotes.

DR. H. TORRES.

Aprobado por Resolución DN 945/85

.... /



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

.... /

- 6 - Bacteriofago lambda (λ): El DNA de lambda como vector de clonado. Derivados de lambda: λ gt-WES y CHARON. Empaquetado "in vitro". Cósmodos y fágmidos.
- 7 - Estrategias de clonado: Enfoques generales para la preparación de una genoteca. Preparación del mRNA y su transcripción inversa. El DNA copia y su inserción en un vehículo de clonado. Selección de recombinantes y caracterización: métodos genéticos, inmunoquímicos y por hibridización de ácidos nucleicos. Aislamiento del DNA genómico, restricción y experimentos "shot-gun". Clonado de genes bacterianos.
- 8 - Métodos para la caracterización de secuencias genéticas: Mapas de restricción. Métodos de secuenciación del DNA. Métodos de hibridización DNA-DNA y RNA-DNA. Microscopía electrónica de híbridos. Método de la interrupción de la traducción. Secuenciación de RNA.
- 9 - Expresión del DNA en los clones: Estrategias para la obtención en E.coli de clones por mayor eficiencia de la transcripción y traducción. Promotores y terminadores de genes. Sitio de unión al ribosoma. Marco de lectura. Secuencia "leader". Estabilidad de las proteínas clonadas en E.coli. Secreción de proteínas al medio. Expresión en distintos huéspedes: B subtilis, Streptomyces y levadura.
- 10 - Clonado en células de mamíferos: Propiedades del virus SV40. El DNA del virus SV40 como vector; mapa de restricción. Construcción de vectores híbridos. Clonado de la globina y del interferón.
Algunos ejemplos de clonado y expresión de proteínas: Insulina. Somatomedina. Hormona de crecimiento. Interferones. El sistema de la nitrogenasa.
- 11 - Organización de los genes: Existencia de secuencia intercaladas; genes de globina y albúmina. Genes de "mosaico". Evolución de genes interrumpidos. Diversidad de los genes de inmunoglobulina y su evolución ontogenética. Pseudogenes. "Splicing" RNAs pequeños.
- 12 - Organización de los genes: El rRNA. Maduración de las secuencias de rRNA. Unidades de transcripción. Estructura de los espacios no transcriptos. Estructura de los "Clusters" de genes 5S. Organización y expresión de genes de histonas.

J. H. TORRES.

..... /

DRA. J. M. TOMIO
DIRECTORA ADJUNTA INTERINA




UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

II - Curso Práctico

- 1 - Métodos para la separación de ácidos nucleicos: centrifugación en gradientes y electroforesis en geles de agarosa.
- 2 - Preparación, purificación y caracterización por restricción de plásmidos.
- 3 - Clonado de una secuencia génica en pBR322.
- 4 - Análisis por computadora de las secuencias de DNA.


J. M. TOMIO
DIRECTORA ADJUNTA INTERINA
DTC. QUIMICA BIOLÓGICA

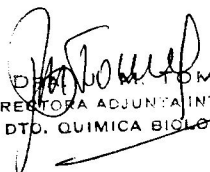

DR. H. TORRES.



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

BIBLIOGRAFIA

- Gene Expression Vol.2 "Eucaryotic Chromosomes" Benjamin Lewin. L. Wiley & Sons (1980).
- Principles of Gene Manipulation - Studies in Microbiology Vol.2 R.W.Old and S.B.Primrose. Univ. of California Press (1980).
- DNA Synthesis, A.Kornberg. Freeman & Co. S.Fco. (1979).
- M.Grunstein & Hogness,D. (1975) Proc.Natl.Acad.Sci. (USA) 72, 3961.
- Southern, E.M. (1975) J.Mol.Biol. 98, 503
- Maniatis,T., Herdison, et al (1978) Cell 15, 687.
- Wu, R. (1979) Recombinant DNA, Methods in Enzymology Vol.68 Acad.Press.
- Gene Expression Vol.1. "Bacterial Genomes" (1978) B. Lewin. J.Wiley & Sons.
- Genética Molecular Bacteriana Ed.Reverté (1982) A.Jiménez Sánchez y R.Guerrero.
- DNA Insertion elements, Plasmids and episomes. Bukhari et al (1977) Cold Spring Harbor, N.Y..


DRA. MARÍA TOMIC
DIRECTORA ADJUNTA INTERINA
D.T.O. QUÍMICA BIOLÓGICA


DR. HÉCTOR TORRES.