

## Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas

### INGENIERIA GENÉTICA DE PLANTAS

#### COORDINADORES:

DRS. LUISA A. LOPEZ OCHOA Y MONICA SANTOS MENDOZA

TEMA	CLASES	HORAS
IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE GENES EN PLANTAS	6	9
TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE	2	3
MÉTODOS DE TRANFERENCIA DE GENES EN PLANTAS	3	4.5
TRANSFORMACION DE PLANTAS Y CARACTERIZACION DE TRANSGENES	6	9
HERENCIA Y EXPRESIÓN DE TRANSGENES EN PLANTAS	3	4.5
ESTRATEGIAS DE MODIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN PLANTAS	3	4.5
APLICACIONES CIENTÍFICAS DE LA INGENIERÍA GENÉTICA DE PLANTAS	3	4.5
APLICACIONES COMERCIALES DE LA INGENIERÍA GENÉTICA DE PLANTAS	3	4.5
BIOSEGURIDAD Y SOCIEDAD	3	4.5
TOTAL	32	48

PERIODICIDAD: UNA VEZ POR AÑO, SEMESTRE DE PRIMAVERA, MARTES Y JUEVES DE 11 A 12:30

#### PREINSCRIPCIONES:

Habrá preinscripciones al curso durante los semestres 2009-II y 2010-II, para hacer un sondeo del número de alumnos interesados, la preinscripción se podrá hacer directamente a los correos electrónicos: [luisa\\_lopez@cicy.mx](mailto:luisa_lopez@cicy.mx), [monicasm@cicy.mx](mailto:monicasm@cicy.mx)

#### I. CONTENIDO PROGRAMÁTICO

## UNIDAD 1. IDENTIFICACIÓN, AISLAMIENTO Y SECUENCIACIÓN DE GENES EN PLANTAS

- 1.1 Estructura de los genes de plantas
- 1.2 Genomas de plantas (cloroplasto y nuclear)
  - 1.3 Secuenciación del DNA
  - 1.4 Métodos de identificación de genes
  - 1.5 Mapas genéticos
  - 1.6 Métodos de aislamiento de genes

## UNIDAD 2. TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE

- 2.1 Aislamiento de ácidos nucleicos:
  - 2.1.1 Aislamiento de DNA genómico
  - 2.1.2 Aislamiento de RNA vegetal y síntesis de cDNA
  - 2.1.3 Aislamiento de Plásmidos
- 2.2 Selección del vector de transformación:
  - 2.2.1 Tipos de vectores: cointegrados, vectores binarios, etc.
  - 2.2.2 Promotores, terminadores, intrones, etc.
  - 2.2.3 Marcadores de selección y genes reporteros
  - 2.2.4 Fusiones de proteínas (etiquetas de epítopes, proteínas fluorescentes)
  - 2.2.5 Vectores comunes para la transformación de plantas
- 2.3. CONSTRUCCIÓN DE PLÁSMIDOS con enzimas de restricción y ligación
  - 2.3.1 Enzimas para manipular DNA
  - 2.3.1 Amplificación por PCR adicionando sitios de restricción
  - 2.3.2 Análisis de restricción o amplificación por PCR y electroforesis
  - 2.3.3 Ligación de fragmentos de DNA
- 2.4. CONSTRUCCIÓN DE PLÁSMIDOS por recombinación
  - 2.4.1 Gene gateway
  - 2.4.2 Sistema Cre-Lox
- 2.5. Transformación de *Escherichia coli* y *A. tumefaciens*

## UNIDAD 3. MÉTODOS DE TRANSFERENCIA DE GENES

- 3.1. Métodos biológicos: *Agrobacterium tumefaciens*
- 3.2. Métodos físicos: bombardeo de partículas, electroporación, desestabilización de membranas, microinyección y fibras de carbono

## UNIDAD 4. TRANSFORMACIÓN DE PLANTAS Y CARACTERIZACIÓN DE TRANSGENES

- 4.1 Transformación *in vitro*
  - 4.1.1 Protoplastos
  - 4.1.2 Embriogénesis somática
  - 4.1.3 Organogénesis

- 4.1.4 Microesporas
- 4.2 Transformación *in planta*
- 4.3. Transformación de cloroplastos
  
- 4.4. Caracterización de transgenes
  - 4.4.1 Presencia de T-DNA: PCR y análisis de Southern blot
  - 4.4.2 Presencia de transcritos: Dot y Northern blot, RT-PCR, hibridación *in situ*.
  - 4.4.3 Presencia de la proteína producto: análisis de Western blot, ELISA, impresión de tejido, inmunohistoquímica

#### UNIDAD 5. HERENCIA Y EXPRESIÓN DE TRANSGENES EN PLANTAS

- 5.1 Segregación de transgenes
- 5.2 Silenciamiento de trasgenes
- 5.3 Variación en la expresión génica
- 5.4 Estrategias para reducir la variación

#### UNIDAD 6. ESTRATEGIAS DE MODIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN PLANTAS

- 6.1 Sobreexpresión génica
- 6.2 Interferencia en la expresión génica
  - 6.2.1 Expresión antisentido
  - 6.2.2 VIGS
  - 6.2.3 RNAi
- 6.3 Expresión dirigida
  - 6.3.1 Hacia organelos
  - 6.3.2 Hacia tejidos y órganos
- 6.4 Sistemas inducibles
  - 6.4.1 Temperatura
  - 6.4.2 Sistemas inducibles químicamente

#### UNIDAD 7. APLICACIONES CIENTÍFICAS DE LA INGENIERÍA GENÉTICA DE PLANTAS

- 7.1 Identificación de la función génica (mutantes por Inserción de T-DNA)
- 7.2 Estudio de la expresión génica (elementos cis-reguladores, transposon tagging)
- 7.3 Identificación de complejos de proteínas
- 7.4 Estudio de las vías de transducción de señales
- 7.5 Estudio del metabolismo secundario
- 7.6 Estudio de la diferenciación celular y desarrollo

#### UNIDAD 8. APLICACIONES COMERCIALES DE LA INGENIERÍA GENÉTICA DE PLANTAS

- 8.1. Resistencia a plagas y enfermedades de cultivos
- 8.2. Resistencia a herbicidas
- 8.4. Tolerancia a factores ambientales adversos

- 8.5. Producción de vacunas en plantas
- 8.6. Modificación de carbohidratos y aceites (biocombustibles)
- 8.7. Control del transferencia lateral de genes en plantas

#### UNIDAD 9. BIOSEGURIDAD Y SOCIEDAD

- 9.1. Legislación de organismos genéticamente modificados
  - 9.1.1 Protocolo de Cartagena
  - 9.1.2 Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados
  - 9.1.3 Legislación estadounidense
  - 9.1.3 Legislación europea y asiática
- 9.2. Impactos adversos de los organismos genéticamente modificados
  - 9.2.1 En la salud humana
  - 9.2.2 Impactos ambientales
  - 11.2.3 Impactos económicos
- 9.4. Compañías Biotecnológicas, Universidades y Centros de Investigación, Organizaciones Ambientalistas y no gubernamentales, medios de comunicación

## II. OBJETIVO GENERAL

Introducir a estudiantes graduados a los conocimientos básicos y aplicados de la Biología Molecular que actualmente se utilizan para transformar genéticamente plantas de interés científico ó agroindustrial.

## III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1. Preparar al estudiante en los conceptos generales de la ingeniería genética en plantas.
- 2. Informar al estudiante del manejo de las diferentes metodologías utilizadas en la ingeniería genética en plantas
- 3. Ayudar al estudiante a comprender las potencialidades y limitaciones de la ingeniería genética.

## IV. UBICACIÓN DE LA MATERIA (PREREQUISITOS):

Prerequisitos

Genética Molecular  
Equivalentes: Biotecnología I  
(para la opción del posgrado en Biotecnología), Genética, Biología Celular, etc.)

#### **IV. METODOLOGÍA.**

El curso constará de 48 horas.

El alumno será evaluado con los siguientes parámetros:

Dos exámenes escritos	45%
Elaboración de proyecto	25%
Presentaciones y participación en clases	30%

##### **a) Presentaciones**

Dos sesiones de 1.5 hrs por semana para la presentación del tema a cargo del responsable y la discusión de artículos por parte de los estudiantes, bajo la supervisión del responsable, con un total de 48hrs de clase.

##### **b) Participación en clases**

Independientemente de la presentación y discusión de artículos por parte de los estudiantes, se otorgará una calificación por la participación activa en los diferentes temas y artículos de la clase.

##### **c) Proyecto**

La evaluación final de los estudiantes consistirá en elaborar una propuesta para transformar genéticamente una especie vegetal. La propuesta consistirá de un Título, Introducción, Objetivos, Hipótesis, Materiales y Métodos, Referencias y Calendario de Actividades. La extensión será de 20 páginas a doble espacio.

La aprobación mínima aprobatoria es de OCHENTA (80) puntos.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Genetic Modification of Plants: Methods and Applications** by Edwin B. Herman, Editor, Agricell Report. April, 2009.

**Plant Biotechnology: The Genetic Manipulation of Plants** by Adrian Slater, Nigel W. Scott, and Mark R. Fowler (Jun 2, 2008) # 372 pages. Oxford University Press, USA; 2 edition (June 2, 2008) ISBN: 978-0199282616

**Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques and Applications** by C. Neal Stewart Jr. 372 pages Publisher: Oxford University Press, USA; 2 edition (June 2, 2008) ISBN: 978-0470043813

**Recombinant Proteins From Plants: Methods and Protocols.** Faye, LoiAc; Gomord, Varonique (Eds.) 2009, XVIII, 358 p. 59 illus., 8 in color., ISBN: 978-1588299789

**Genomics-Assisted Crop Improvement, Volume 1: Genomics Approaches and Platforms** By Varshney, Rajeev (Editor), Tuberosa, Roberto (Editor) Publisher: Springer. Textbook ISBN 978-1402072940

**Genomics-Assisted Crop Improvement, Volume 2: Genomics Applications in Crops** By Varshney, Rajeev (Editor), Tuberosa, Roberto (Editor) Springer ISBN: 1402062966

**Applied Plant Biotechnology.** Chopra, V. L., Malik, V. S. and Bhat, S. R. (1999) Science Publishers, Inc., USA, ISBN 1-57808-033-9.

**Methods in Plant Molecular Biology: A Laboratory Course Manual.** Maliga, P. *et al.* (1995) Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, ISBN 0-87969-386-X

**Concepts of genetics** de William, S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte Spencer, Michael A. Palladino-2008. ISBN 9780321524041

**Molecular Biology of the Cell.** Fifth Edition Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. December 2007 ISBN 978-0815332183

**Genomes 3**, by Brown T. A., 3rd Edition 3 by Terry Brown (2008) ISBN-10: 9780815341383 Pages: 711

**Modern Genetic Analysis, Integrating genes and genomes.** Second Edition. By A. Griffiths, William M. Gelbart, Jeffrey H. Mieller, Richard C. Lewontin. Editorial W. H. FREEMAN and Co. New York. Textbook ISBN 9780716743828 Publisher: W. H. Freeman; (February 22, 2002)

**Antibodies: A Laboratory Manual** by Ed Harlow and David Lane. # 726 pages # Publisher: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1 edition (December 1, 1988) # Language:

**Bioinformatics and Molecular Evolution.** by Paul G. Higgs and Teresa K. Attwood. 384 pages. Publisher: Wiley-Blackwell (February 18, 2005)

**Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis** by David W. Mount. # 692 pages # Publisher: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2 edition (July 1, 2004) # Language: English ISBN 9780879697129

**Short Protocols in Molecular Biology.** 3rd edition, Ausubel, F. *et al.*, (1997) Wiley, New York, USA, ISBN 0-471-13781-2.

**Gene Cloning an Introduction.** 3rd edition, Brown, T.A. (1995) Chapman & Hall, London, UK, ISBN 0-412-62240-8.

**Molecular Cloning: A Laboratory Manual.** 3rd edition, Sambrook, J. and Russell, D. (2000) Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA ISBN 0-879-69309-6