

Aspectos generales

Título:	Herramientas de Biología Molecular y Biotecnología
Semestre:	2025-2
Sede:	Instituto de Investigaciones Biomédicas
Horario:	Miércoles de 10 a 14 horas
No. sesiones:	16
Duración de la sesión:	4.00
Cupo total:	15
Observaciones:	Este curso ha sido ofrecido en múltiples ocasiones y siempre hemos tenido solicitudes lo que refleja la necesidad del alumnado de este tipo de cursos. La parte del manejo de secuencia in silico con ejercicios en la computadora y el aprendizaje de softwares que les ayudan a planear bien su diseño de plásmidos de expresión les es muy útil y hemos expandido el número de horas en las que realizan ejercicios in silico. Por favor anunciar también el curso en los posgrados de CIENCIAS BIOMEDICAS CIENCIAS BIOLÓGICAS

Tutor responsable

Nombre:	ANA MARÍA CEVALLOS GAOS
Entidad:	Instituto de Investigaciones Biomédicas
Email:	amcevallos@biomedicas.unam.mx
Teléfono:	5556228222

Métodos de evaluación

MÉTODO	CANTIDAD	PORCENTAJE
Examen	3	75%
Participación en clase, entrega de tareas	1	25%

Integrantes

INTEGRANTE	ROL	HORAS	ACTIVIDAD COMPLEMENTARIA
ANA MARÍA CEVALLOS GAOS	Responsable	28.00	
ROMINA MA. DE LA PAZ RODRÍGUEZ SANOJA	Coordinador tutor	16.00	
OCTAVIO TONATIUH RAMÍREZ REIVICH	Profesor invitado (MDCBQ)	4.00	
DANIEL ALEJANDRO GUILLÉN SANTOS	Profesor invitado (Externo)	12.00	
KARINA ADAME BEAS	Profesor invitado (Externo)	4.00	
		64/64	

Introducción

"Herramientas de biología molecular en biotecnología" es un curso en donde se revisan las técnicas básicas empleadas en biología molecular, tanto de forma teórica como a través del desarrollo de ejercicios "in silico". Se busca que el alumno revise aspectos básicos de biología molecular, aprenda el manejo de software básico para la manipulación de secuencias de ADN y entienda como este conocimiento ha sido explotado para convertirlo en herramientas de gran utilidad para el desarrollo biotecnológico. Una parte importante del curso revisa las metodologías y programas más empleados en clonación y expresión de genes heterólogos ya que, la mayoría de los alumnos interesados en tomar este curso tendrán que utilizar estas técnicas durante el desarrollo de sus proyectos.

Objetivos

Que el alumno entienda los principios básicos de las técnicas de biología molecular más empleadas, que pueda utilizar este conocimiento para el mejor desarrollo de su proyecto y que pueda identificar y resolver los problemas más frecuentes que se presentan durante su uso.

Temario

1. Manejo de secuencias (teórico e in silico)

- a. Formateado de secuencias
- b. Manejo de secuencias (sentido, antisentido, reversa complementaria)
- c. Análisis de cromatogramas
- d. Blast
- e. Marcos de lectura
- f. Traducción

2. PCR y diseño de primers (teórico e in silico)

- a. Marco teórico
- b. Diseño de primers
- c. Cálculo de T_m y estructuras secundarias en diferentes programas
- d. cDNA para clonación

3. RT-PCR (teórico e in silico) parte 1

- a. Introducción y Fundamentos de PCR en Tiempo Real
- b. Sistemas de detección (SYBR Green y Taqman)
- c. Curvas estándar
- d. Construcción de una curva estándar
- e. Teoría del análisis de la curva de fusión
- f. Análisis de los resultados de la PCR en tiempo real de SYBR Green: análisis de la curva de fusión

4. RT-PCR (teórico e in silico) parte 2

- a. Identificar los factores que afectan el éxito de las reacciones de PCR en tiempo real:
- b. Eficiencia de amplificación
- c. Impacto de la eficiencia de un ensayo de PCR en los resultados de cuantificación
- d. Papel de la eficiencia de amplificación en la validación de ensayos
- e. Diseño y síntesis de cebadores y sondas
- f. Aplicaciones de PCR en Tiempo Real

5. Plásmidos

- a) Identificación de componentes plásmido (Ori, alfa-complementación, promotor, terminador, genes de selección)
- b) Obtención y caracterización de plásmidos
- c) Vectores de clonación de productos PCR Clonación (teórico e in silico).

6. Clonación por restricción

- a) Enzimas de Restricción
- b) Clonación con enzimas de restricción

7. Clonación independiente de ligasa (teórico e in silico)

- a) T4 DNA polimerasa
- b) Ensamblaje de Gibson

8. Expresión heteróloga de proteínas en E.coli

- Vectores de expresión en E. coli: promotores, terminadores, marco de lectura, etiquetas, inteínas
- Purificación de proteína recombinante
- Glicosilación

9. Expresión de genes heterólogos en células eucariontes (insectos, CHOs)

10. Mutación puntual

11. Recapitulación y ejercicios Clonación

Bibliografía

- Avelar M, Olvera C, Aceves-Zamudio D, Folch JL & Ayala M. 2017. Recombinant expression of a laccase from *Coriopsis gallica* in *Pichia pastoris* using a modified λ -factor preproleader. *Protein Expression and Purification* 136:14-19.
- Boye C, Arpag S, Francis M, DeClemente S, West A, Heller R, Bulysheva A. Reduction of plasmid vector backbone length enhances reporter gene expression. *Bioelectrochemistry*. 2022 Apr;144:107981. doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107981. Epub 2021 Oct 29. PMID: 34847374.
- Bulté D, Palomares L, Ramírez OT & Gómez C. 2018. Overexpression of the mitochondrial pyruvate carrier increases CHO cell and recombinant protein productivity and reduces lactate production in "Cell Culture Engineering XVI", A. Robinson, PhD, Tulane University R. Venkat, PhD, MedImmune E. Schaefer, ScD, J&J Janssen Eds, ECI Symposium Series, <http://dc.engconfintl.org/ccexvi/48>
- Fong BA, Wu WY & Wood DW. 2010. The potential role of self-cleaving purification tags in commercial scale processes. *Trends in Biotechnology* 28:272-279.
- Fu C, Wehr DR, Edwards J & Hauge B. Rapid one-step recombinational cloning. *Nucleic Acids Res*. 2008 May;36(9):e54.
- García-Quintanilla F, Iwashiki JA, Price NL, Stratilo, C & Feldman MF. 2014. Production of a recombinant vaccine candidate against *Burkholderia pseudomallei* exploiting the bacterial N-glycosylation machinery. *Frontiers in Microbiology* 5, article 381. doi: 10.3389/fmicb.2014.00381
- Guillén D, Moreno-Mendieta S, Aguilera P, Sánchez S, Farres A & Rodríguez-Sanoja R. 2013. The starch-binding domain as a tool for recombinant protein purification. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97:4141-4148.
- Jain A & Srivastava P. 2013. Broad host range plasmids. *FEMS Microbiol Lett* 348:87-96.
- Lichty JJ, Malecki JL, Agnew HD, Michelson-Horowitz, DJ & Tan S. 2005. Comparison of affinity tags for protein purification. *Prot. Exp. Purif.* 41:98-105.
- Liu Y & Huang H. 2018. Expression of single-domain antibody in different systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102:539-551
- Miranda-Ríos J. 2007. The THI-box Riboswitch, or How RNA Binds Thiamin Pyrophosphate. *Structure* 15:259-265.
- Oliveira C & Domingues L. 2018. Guidelines to reach high-quality purified recombinant proteins. *Appl Microbiol Biotechnol* 102:81-92
- Palomares L.A., Srivastava I.K., Ramírez O.T., Cox M.M.J. (2018) Glycobiotechnology of the Insect Cell-Baculovirus Expression System Technology. In: . *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg
- Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, & Slesarev AI. Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications. *Trends Biotechnol.* 2004 May;22(5):253-60.
- Ribeiro VT, de Sá Leitão ALO, de Paiva Vasconcelos LTC, Filho MAO, Martins DRA, de Sousa Júnior FC, Dos Santos ES. Use of plasmids for expression of proteins from the genus *Leishmania* in *Escherichia coli*: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020 May;104(10):4273-4280. doi: 10.1007/s00253-020-10548-5. Epub 2020 Mar 25. PMID: 32215706.
- Schwarz F, Huang W, Li C, Schulz BL, Lizak C, Palumbo A, Numa S, Neri D, Aebi M & Wang LX. 2010. A combined method for producing homogeneous glycoproteins with eukaryotic N-glycosylation. *Nature Chemical Biology* 6:264-266
- Tabor S & Charles CR. 1985. A bacteriophage T7 RNA polymerase/promoter system for controlled exclusive expression of specific genes (T7 DNA polymerase/T7 gene 5 protein/proteolysis/13-lactamase/rifampicin). *Proc. Nat. Acad. Sci.* 82:1074-1078.
- Tock MR & Dryden DT. The biology of restriction and anti-restriction. *Curr Opin Microbiol.* 2005 Aug;8(4):466-72.
- Umarov RK & Solov'yev VV. 2017. Recognition of prokaryotic and eukaryotic promoters using convolutional deep learning neural networks. *PLoS ONE* 12(2): e0171410. doi:10.1371/journal.pone.0171410