

Aspectos generales

Título:	Herramientas moleculares y estrategias para la generación de mutantes en bacterias
Semestre:	2026-1
Sede:	Instituto de Química, UNAM
Horario:	martes y jueves 9:00-12:00
No. sesiones:	28
Duración de la sesión:	3.00
Cupo total:	4
Observaciones:	Los alumnos interesados podrán participar en la elaboración y como autores de un artículo de divulgación científica sobre la importancia de re bacterianas para el desarrollo de la ciencia el cual será sometido a una de las revistas de divulgación de ciencias de la UNAM. Aquí puedes revisar la publicación del curso pasado: https://elfaro.cic.unam.mx/como-entrenamos-a-las-bacterias-para-resolver-problemas-globales/?fbclid=IwY2xjawJW0rhleHRuA2FlbQlxMAABHROrN9kpYDD0G__fiLOXWuP8Xxu1jX3f8etD6IKP5WIMwNOIFm2cMG_Vzw_aem_pn

Tutor responsable

Nombre:	SELENE GARCÍA REYES
Entidad:	Instituto de Química
Email:	selene.garcia@iquimica.unam.mx
Teléfono:	0525556224770

Métodos de evaluación

MÉTODO	CANTIDAD	PORCENTAJE
Asistencia	28	20%
Examen teórico	3	30%
Práctica de PCR overlapping	1	10%
Presentación de proyecto final	1	40%

Integrantes

INTEGRANTE	ROL	HORAS	ACTIVIDAD COMPLEMENTARIA
SELENE GARCÍA REYES	Responsable	72.00	
ESTEFANÍA MORALES RUIZ	Profesor invitado (Externo)	6.00	
LUIS DAVID GINEZ VÁZQUEZ	Profesor invitado (Externo)	6.00	
		84/84	

Introducción

La ingeniería genética en bacterias es una disciplina fundamental en la biotecnología moderna, que permite la manipulación precisa del material genético de estos microorganismos para obtener mutantes con características específicas. En el contexto del avance científico y tecnológico actual, el diseño y la creación de mutantes bacterianos son herramientas poderosas para investigar la función de genes, desarrollar nuevas terapias y producir compuestos de interés biotecnológico. Este curso proporcionará a los participantes una comprensión profunda de los principios fundamentales y las técnicas avanzadas de ingeniería genética aplicadas a bacterias. Desde los conceptos básicos de la manipulación genética hasta las estrategias más avanzadas de diseño de mutantes, los estudiantes explorarán una variedad de temas clave en este campo emocionante y en constante evolución.

Objetivos

Proporcionar a los participantes los conocimientos teóricos necesarios para llevar a cabo la manipulación genética en bacterias con el fin de diseñar mutantes para diversas aplicaciones en investigación y biotecnología. Los participantes aprenderán técnicas avanzadas de ingeniería genética y desarrollarán habilidades para diseñar, crear y caracterizar mutantes bacterianos.

Temario

Sesión 1. (Dra. Selene García Reyes)

Tema 1: Introducción a la manipulación genética en bacterias

- 1.1. Fundamentos e importancia de la manipulación genética en la generación de mutantes.
- 1.2. Selección del gen a mutar ¿Qué fenotipo estoy buscando estudiar?
- 1.3. Tipos de mutaciones.

- 1.3.1. Mutaciones dirigidas por PCR: mutaciones puntuales, deleciones e inserciones.

Sesión 2 (Dra. Selene García Reyes)

- 1.3.2. Mutagénesis por recombinación homóloga: uso de técnicas de ingeniería genética como CRISPR-Cas9 y PCR overlapping.

Sesión 3 (Dra. Selene García Reyes)

- 1.3.3. Métodos químicos, físicos y biológicos para inducir mutaciones.
- 1.3.4. Mutaciones por inserción de transposones (librerías genómicas).

Sesión 4 (Dra. Selene García Reyes)

Tema 2: Métodos de transformación y preservación bacteriana.

- 2.1. Técnicas de transformación bacteriana ¿cuál elegir de acuerdo con mi bacteria de interés?
- 2.1.1. Fundamentos de la preparación de células químicamente competentes.
- 2.1.2. Fundamentos de la preparación de células electrocompetentes.
- 2.1.3. Fundamentos de la conjugación bacteriana.

Sesión 5 (Dra. Selene García Reyes)

- 2.2. Selección y mantenimiento de bacterias transformadas.

- 2.2.1. Manejo de antibióticos para selección ¿Qué antibiótico utilizar y en qué concentración? ¿Cómo se prepara el stock de antibiótico?
- 2.2.2. ¿Cómo preservar correctamente una bacteria a -80°C? Glicerol vs Medio Gherna de criopreservación.

Sesión 6 (Dra. Selene García Reyes)

Tema 3: Técnicas de PCR y diseño de oligonucleótidos para diferentes tipos de mutantes ejemplos.

- 3.1. Diseño de oligonucleótidos y PCR para generar una mutante puntual en el gen *pqsE* involucrado en la producción de metabolitos secundarios de *Pseudomonas aeruginosa*.
- 3.1.1. Fundamentos de la PCR inversa, digestión con la enzima de restricción DpnI, fosforilación con enzima y ligación.
- 3.1.2. Conociendo algunos kits comerciales de mutagénesis.

Sesión 7 (Dra. Selene García Reyes)

- 3.2. Diseño de oligonucleótidos y PCR overlapping para generar una mutante por doble recombinación homóloga en *Pseudomonas aeruginosa* utilizando un plásmido suicida.
- 3.2.1. Características de un plásmido suicida, ¿Cuáles opciones existen?
- 3.2.2. Transformación y selección de mutantes ¿Cómo se comprueba la mutación por PCR y fenotipos? ¿Cómo se cura una mutante con el plásmido pFLP2?

Sesión 8 (Dra. Selene García Reyes)

- 3.3. Mutación aleatoria por transposones.
- 3.3.1. Características y aplicación del plásmido pBTK24 para *Pseudomonas aeruginosa*.
- 3.3.2. Características y aplicación del plásmido pZXL5 para *Enterococcus faecium*.
- 3.3.3. Técnicas de selección y cribado de mutantes por transposones.

Sesión 9 (Dr. Luis David Giney Vázquez)

Tema 4. Construcción de mutantes en *E. coli* por el método Datsenko y. Wanner.

- 4.1. Diseño de oligonucleótidos.
- 4.2. Método de transformación y selección de mutantes.

Sesión 10 (Dra. Estefanía Morales Ruiz) 3 hrs, sesión online por Meet.

Tema 5. Diseño de mutantes en *Bacillus subtilis*.

- 5.1. Diseño de oligonucleótidos.
- 5.2. Métodos de transformación y selección de mutantes.

Sesión 11 (Dra. Selene García Reyes) 3 hrs.

Tema 6. Aplicaciones biotecnológicas de bacterias mutantes.

- 6.1. Sobreproducción de metabolitos secundarios.
- 6.2. Descubrimiento de nuevos antibióticos.

Sesión 12 (Dra. Selene García Reyes)

- 6.3. Mutantes bacterianas para la biorremediación ambiental.
- 6.4. Generación de plataformas seguras mediante mutaciones de genes de virulencia para la producción de metabolitos secundarios.

6.5. Discusión sobre los desafíos y oportunidades en la manipulación genética.

Sesión 13. (Dra. Selene García Reyes)

Tema 7. Práctica de PCR overlapping.

Sesión 14 (Dra. Selene García Reyes)

Tema: Exposición de proyecto final realizados durante el curso.

Cada participante contará con 20 min para exponer y justificar la metodología que empleará para realizar la mutante de interés. Las presentaciones serán calificadas de acuerdo con rúbrica.

Bibliografía

- Molecular Cloning a Laboratory Manual 4ta Edición. Descargar PDF: <https://www.cshlpress.com/pdf/sample/2013/MC4/MC4FM.pdf>
- *Pseudomonas aeruginosa* Methods and Protocols. Giovanni Berton, Silvia Ferrara. Edición 2024. Descargar en PDF: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-0716-3473-8#bibliographic-information>
- Snyder, L.A.S. (2020). *Bacterial Genetics and Genomics* (1st ed.). Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9780429293016>
- Choi KH, Schweizer HP. An improved method for rapid generation of unmarked *Pseudomonas aeruginosa* deletion mutants. *BMC Microbiol.* 2005 May 23;5:30. doi:10.1186/1471-2180-5-30. PMID: 15907219; PMCID: PMC1173109.
- Nelson MD, Fitch DH. Overlap extension PCR: an efficient method for transgene construction. *Methods Mol Biol.* 2011;772:459-70. doi: 10.1007/978-1-61779-228-1_27. PMID: 22065455.
- Jeyachandran S, Vibhute P, Kumar D, Ragavendran C. Random mutagenesis as a tool for industrial strain improvement for enhanced production of antibiotics: a review. *Mol Biol Rep.* 2023 Dec 15;51(1):19. doi: 10.1007/s11033-023-08975-4. PMID: 38100064.
- Trouillon J, Sentausa E, Ragno M, Robert-Genthon M, Lory S, Attrée I, Elsen S. Species-specific recruitment of transcription factors dictates toxin expression. *Nucleic Acids Res.* 2020 Mar 18;48(5):2388-2400. doi: 10.1093/nar/gkz1232. PMID: 31925438; PMCID: PMC7049718.