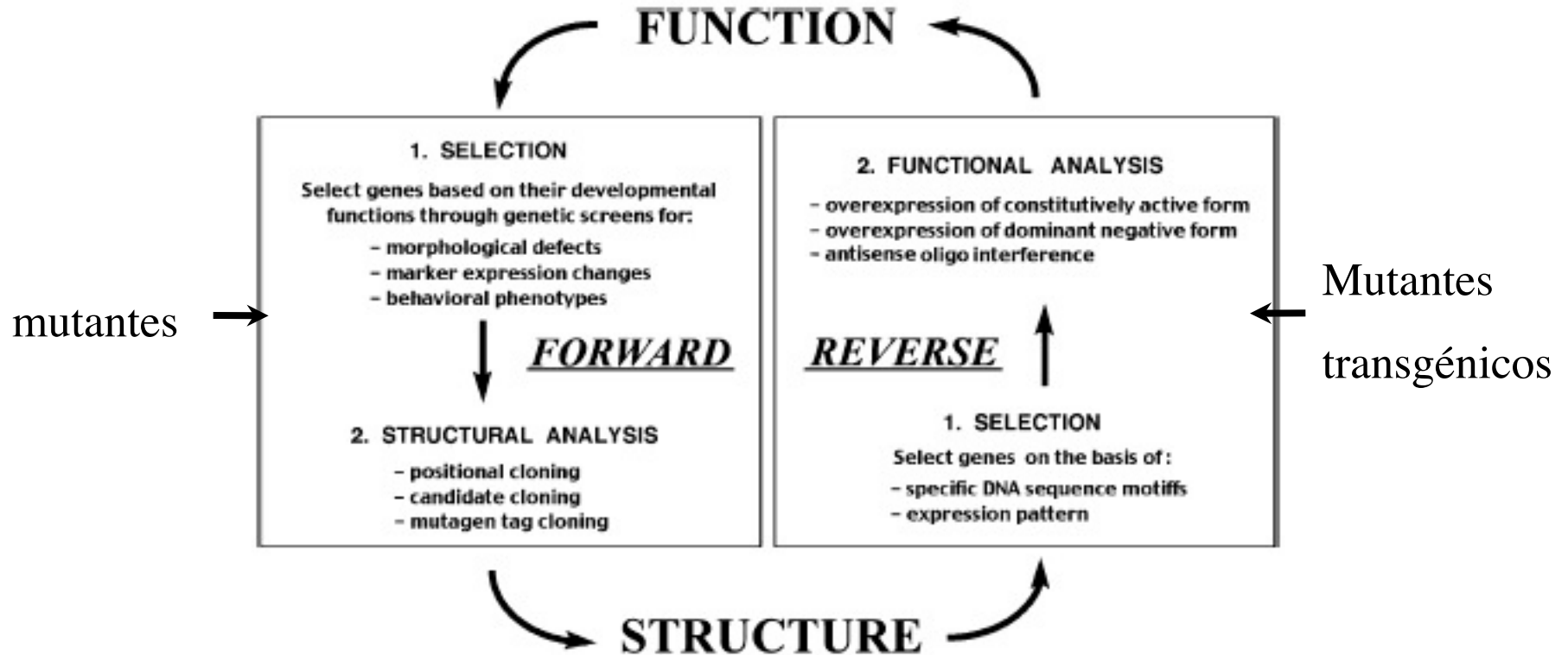
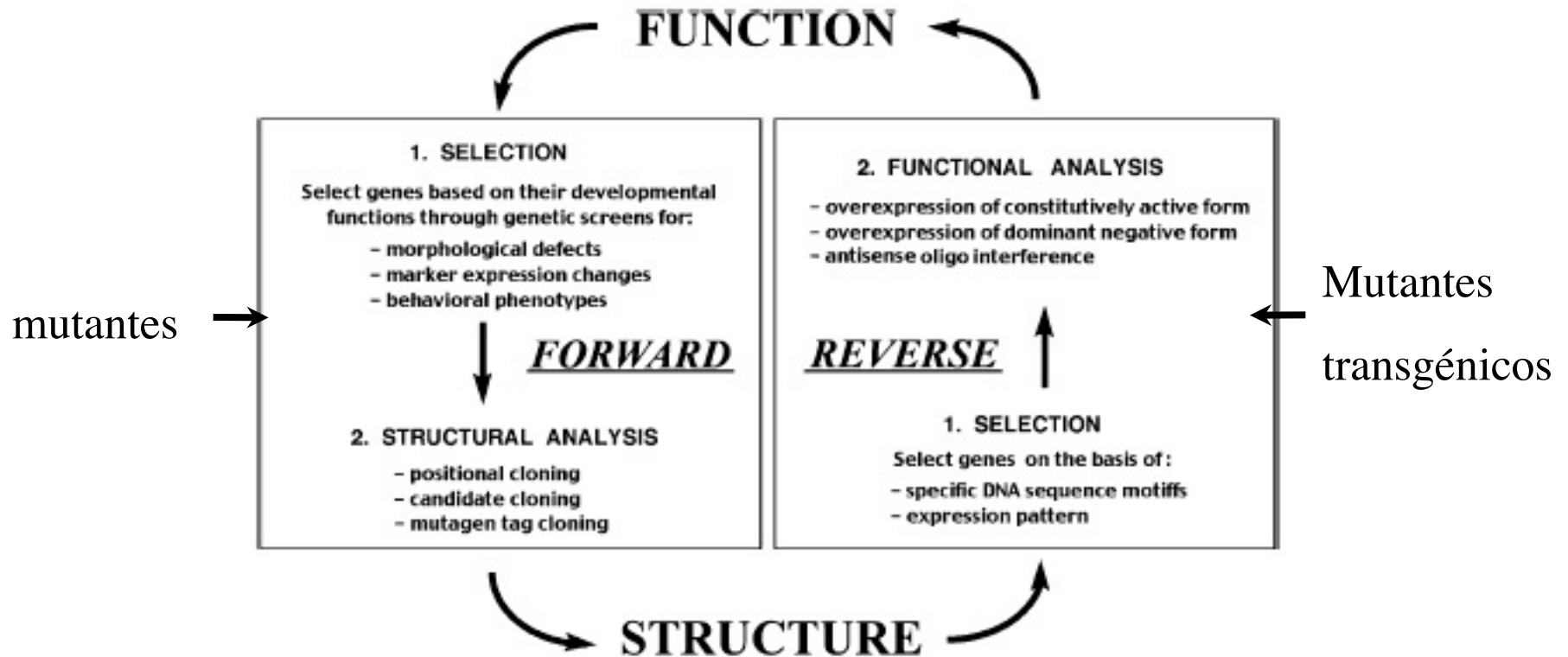


Genética: relación estructura-función



Genética: relación estructura-función



Ganancia y pérdida de función

Ganancia de función:

- Transfección (transiente o estable)
- Transgénesis

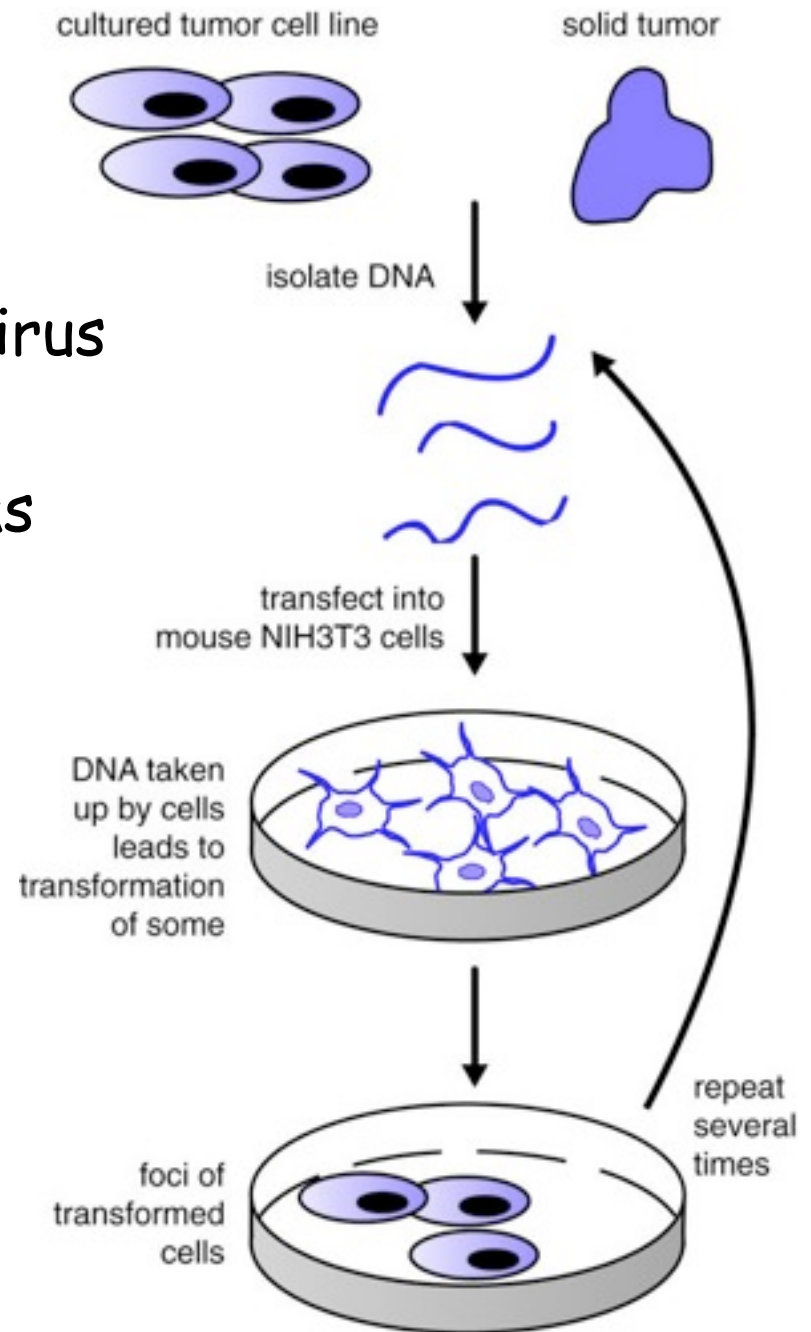
Pérdida de función:

- Antisentido/Dominantes negativos
- Mutagénesis (al azar o dirigida)

Inicios de transfección:

DNA viral: células producen virus

DNA de células transformadas



Transfección.

Transiente o transitoria:

No hay integración en el genoma

No se requiere selección

Experimentos de corto plazo (1-3 días)

Estable:

Requiere selección

Integración (como es?)

puede causar rearrreglos genómicos, mutaciones

baja frecuencia

Es heteróloga

Se genera una línea celular propagable.

Formas de transfectar:

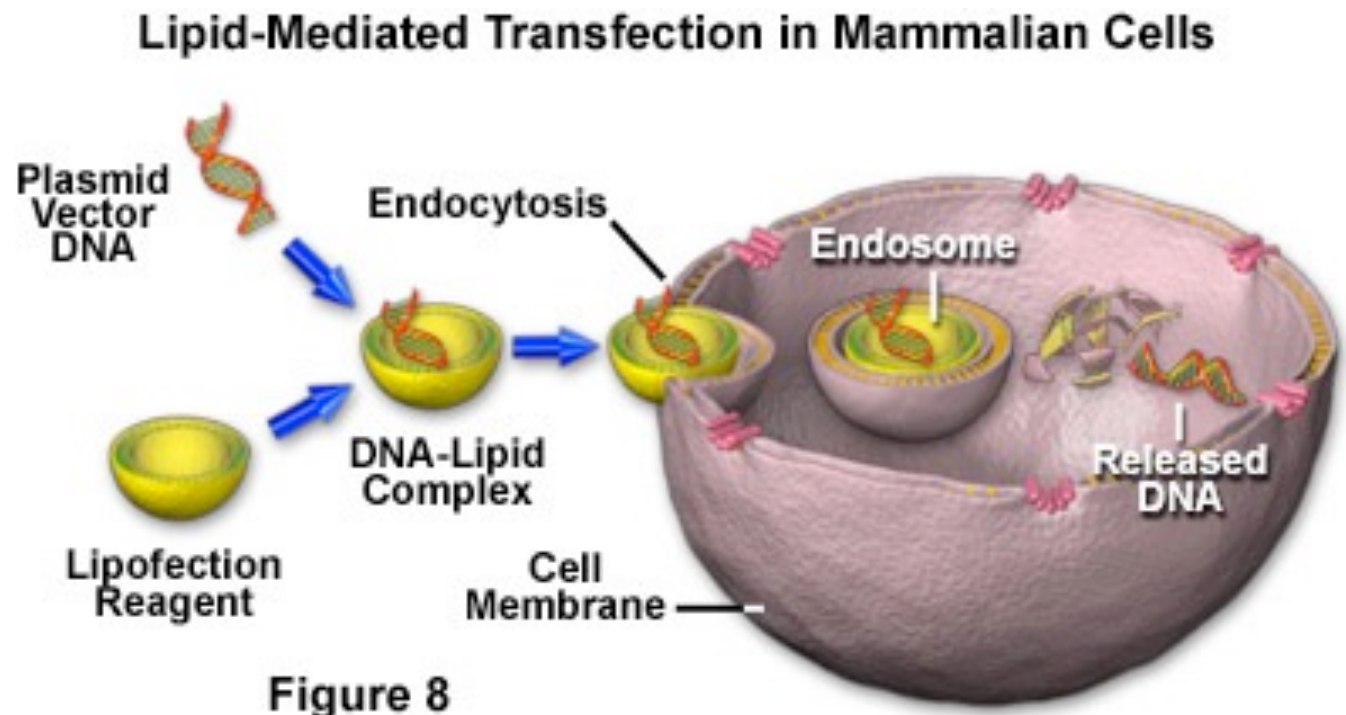
Fosfato de Ca

Electroporación

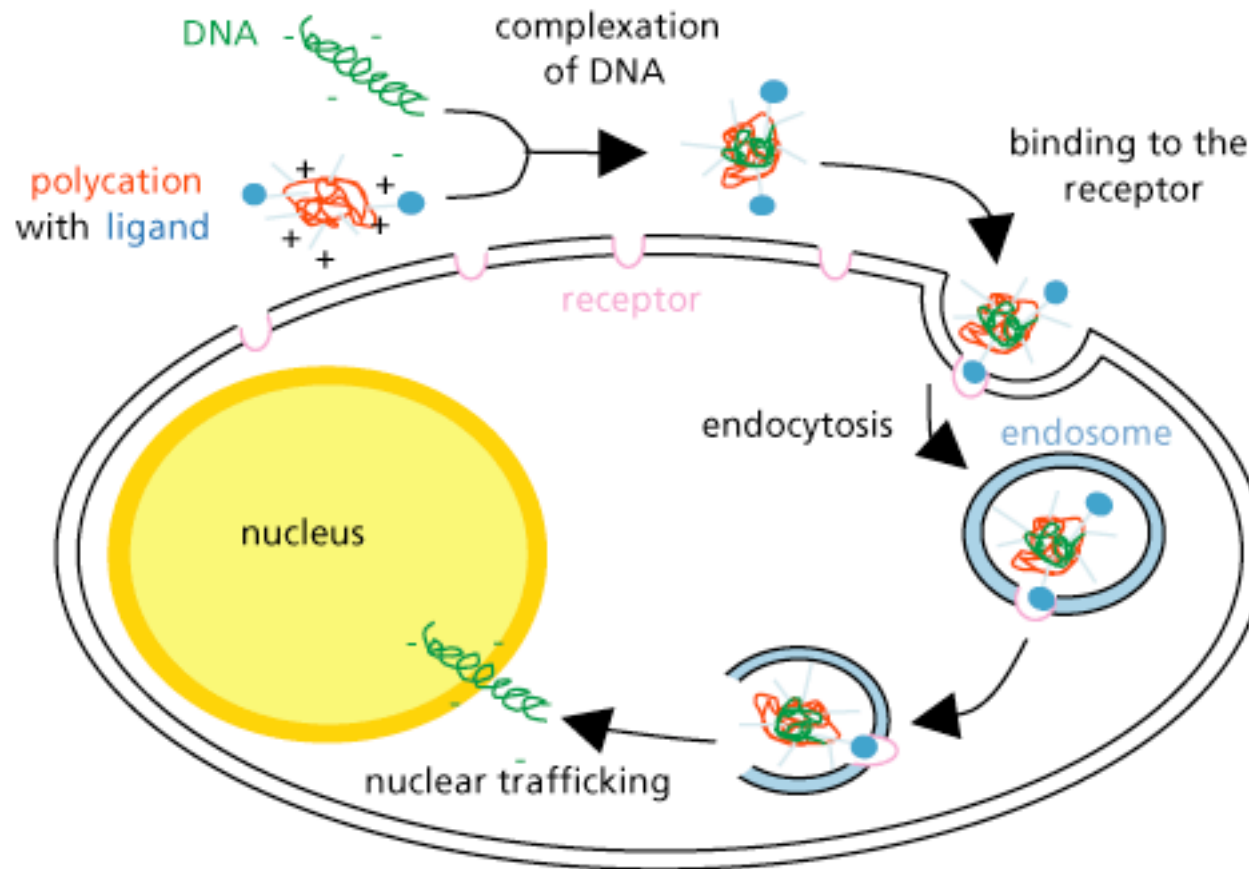
Lipofección

Virus

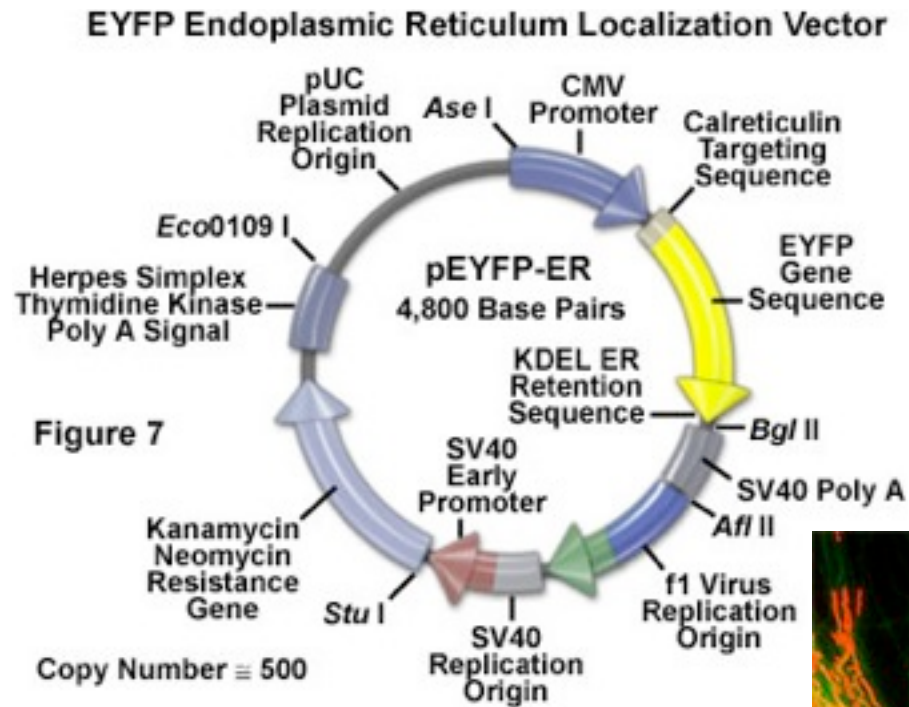
"Gene gun"



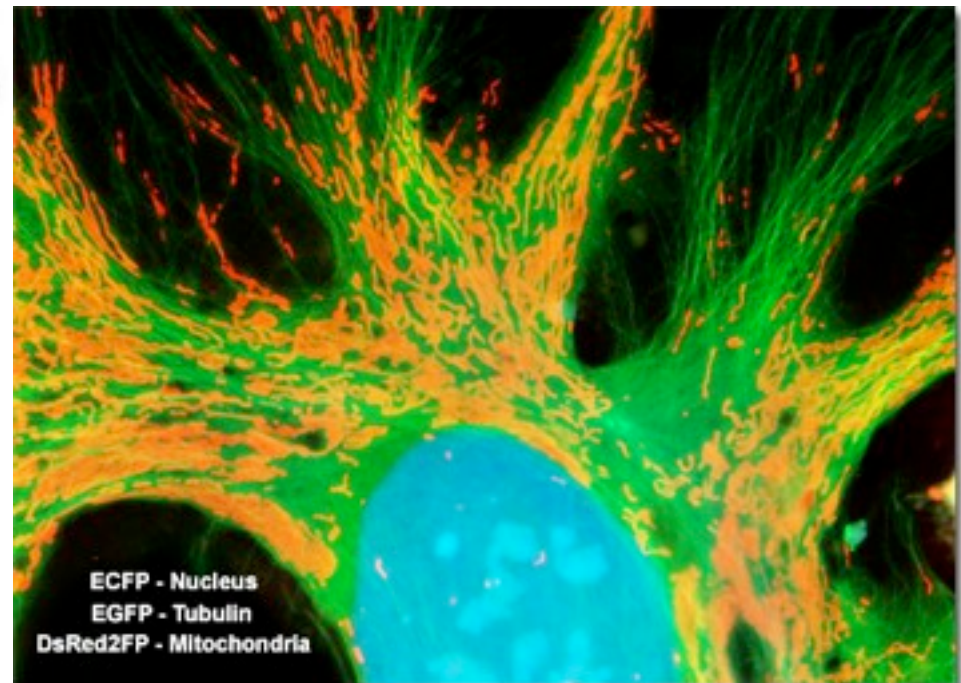
Transfección dirigida



Genes reporteros - cotransfección...vector mínimo? Control de exp?

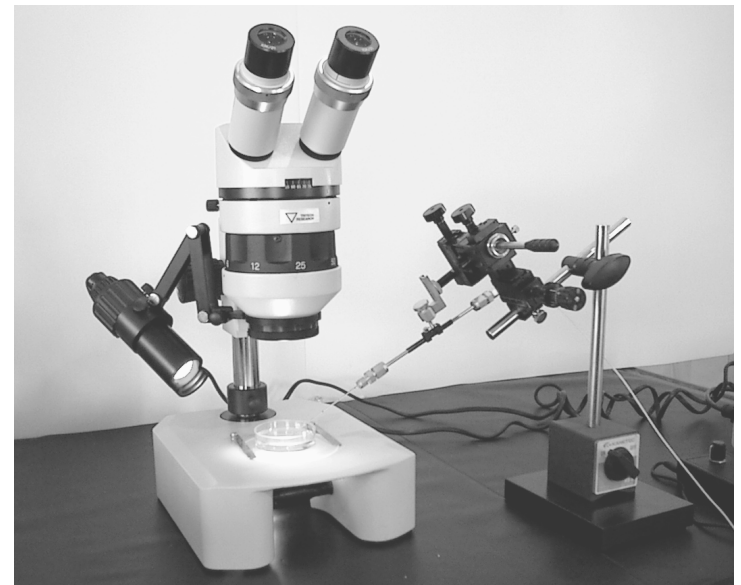


destinación de proteína:



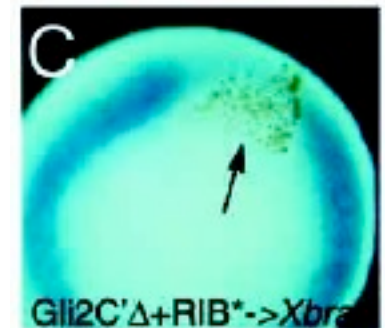
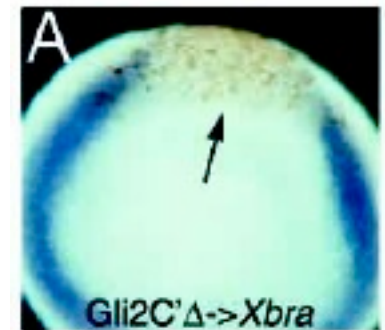
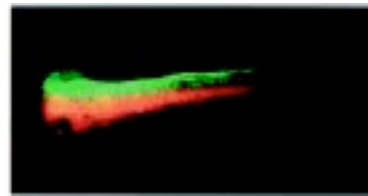
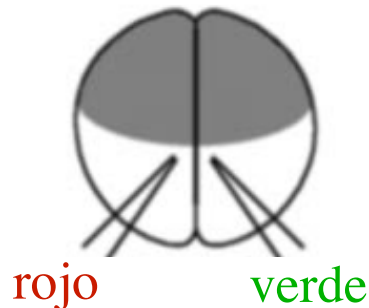
Modificación de la expresión génica en tejidos u organismos

- **Ganancia** de función:
 - Transiente
(Microinyección de ácidos nucleicos)
 - Estable
(Transferencia génica o transgénesis)

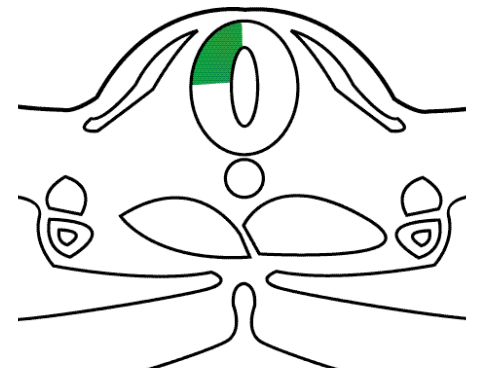
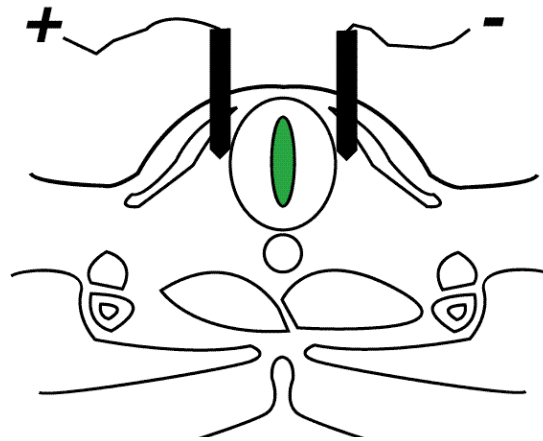
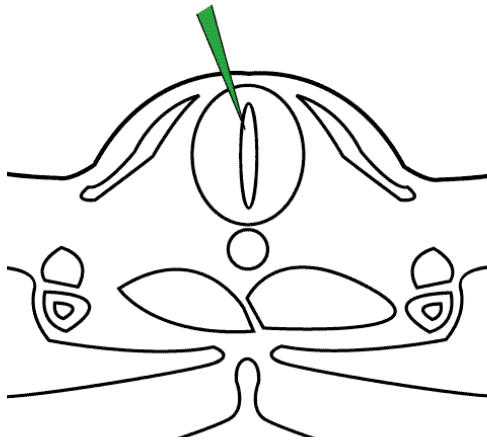


Modificación de la Expresión Génica

- Ganancia de función:
 - Microinyección de mRNA
 - Electroporación
 - Infección con retrovirus
 - Transgénesis

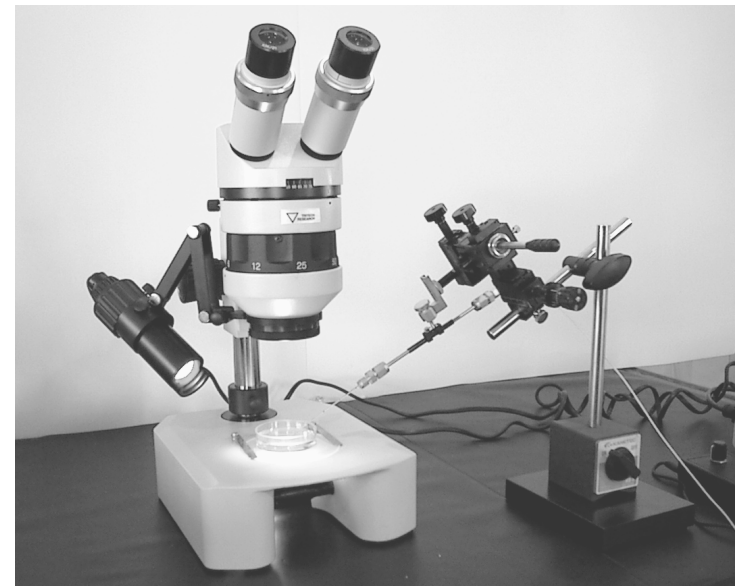


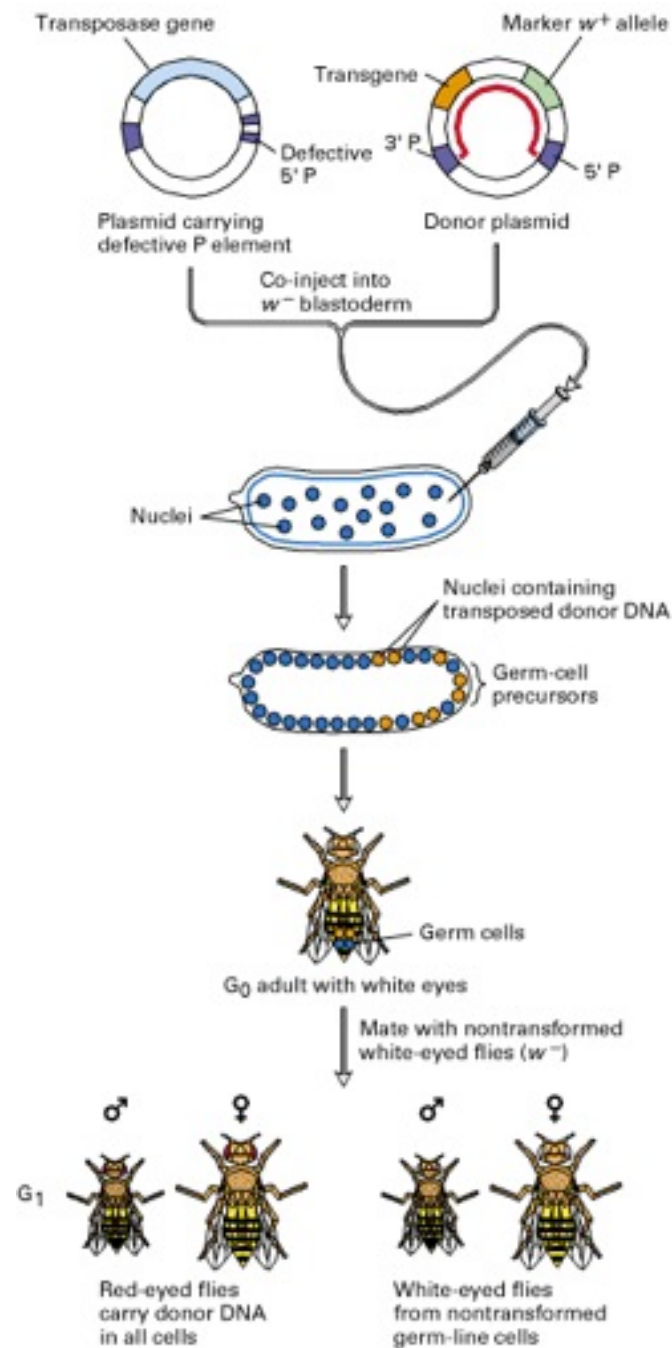
In ovo electroporation



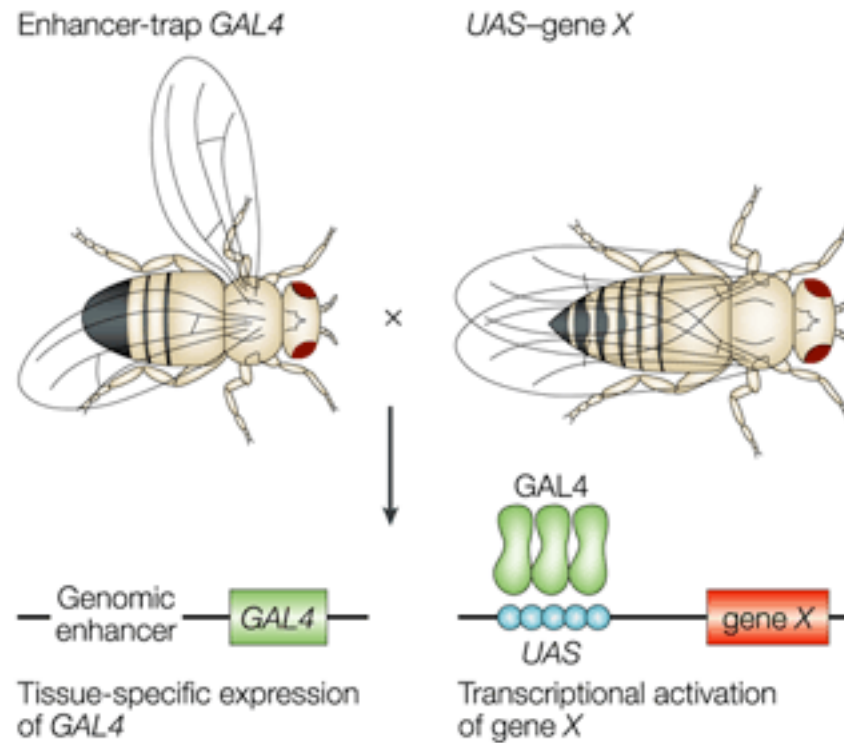
Modificación de la Expresión Génica

- Ganancia de función:
 - Microinyección de mRNA/DNA
 - Transgénesis
(microinyección,
transposones, retrovirus,
electroporación)





Sistema Gal4/UAS de expresión génica en *Drosophila*



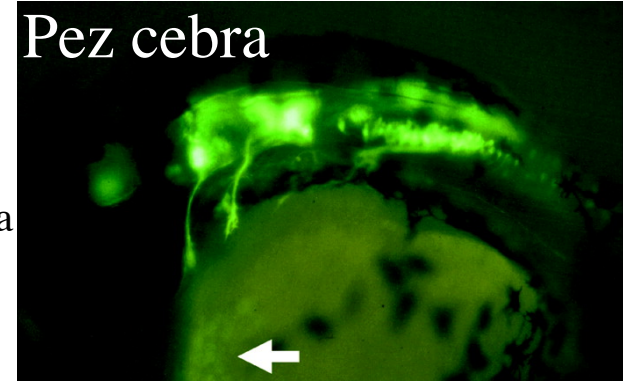
Nature Reviews | **Genetics**

Transgénesis en Vertebrados

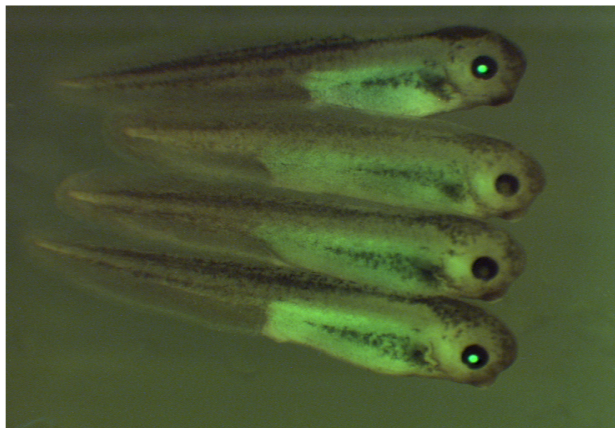
Ratón



Pez cebra



Microinyección → ? → Línea transgénica



Xenopus



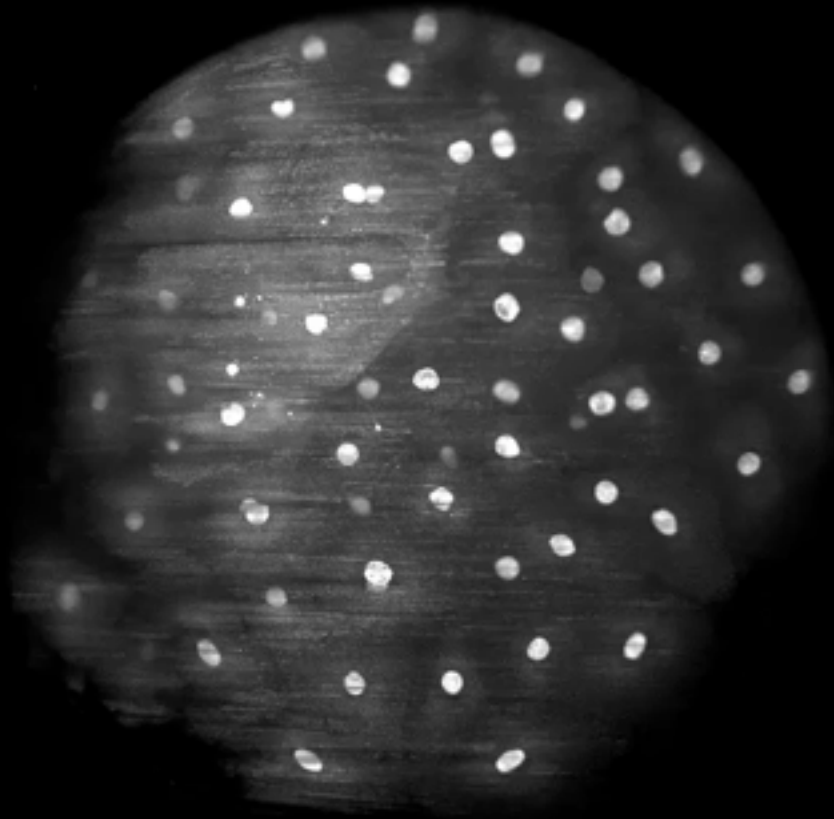
Núcleo

Núcleo

100 min

future dorsal side

future dorsal side

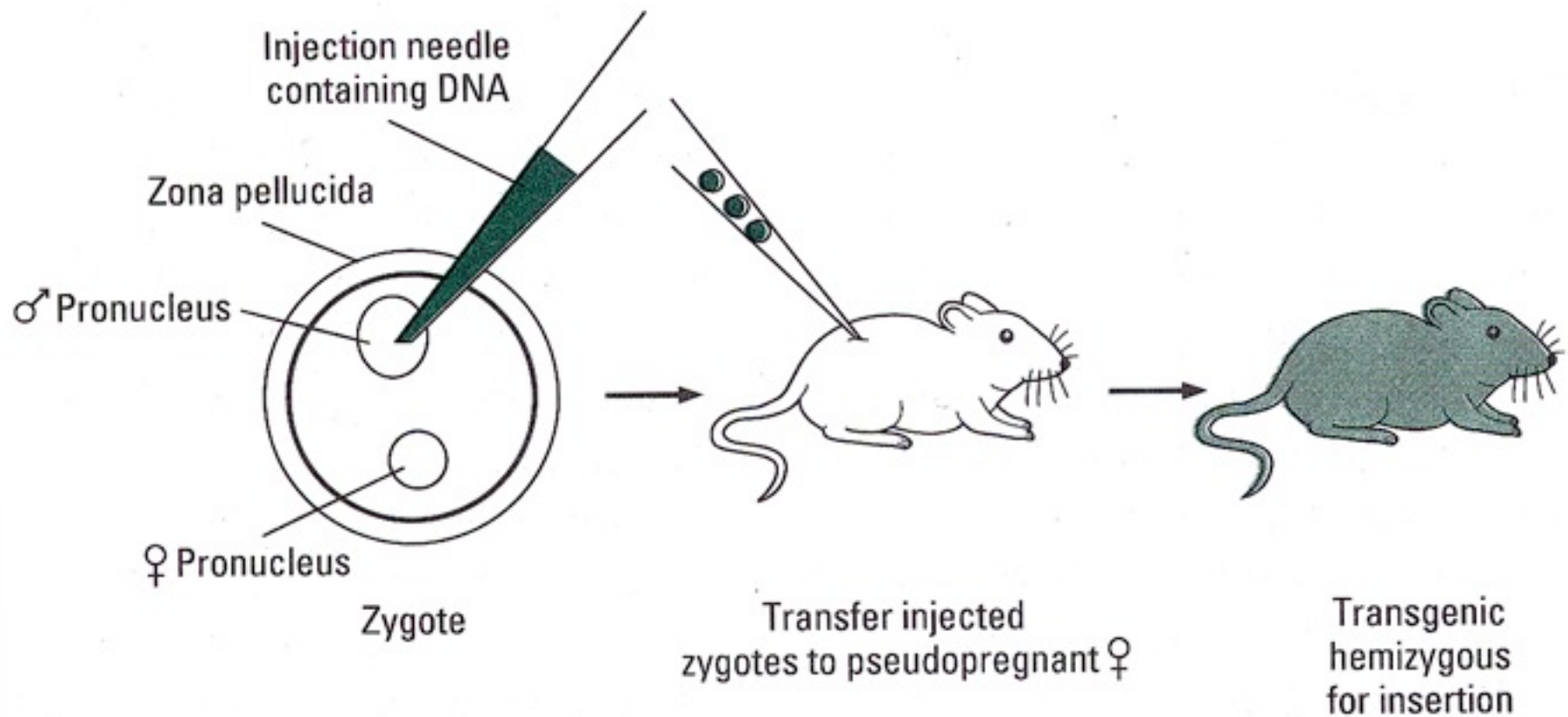


animal view

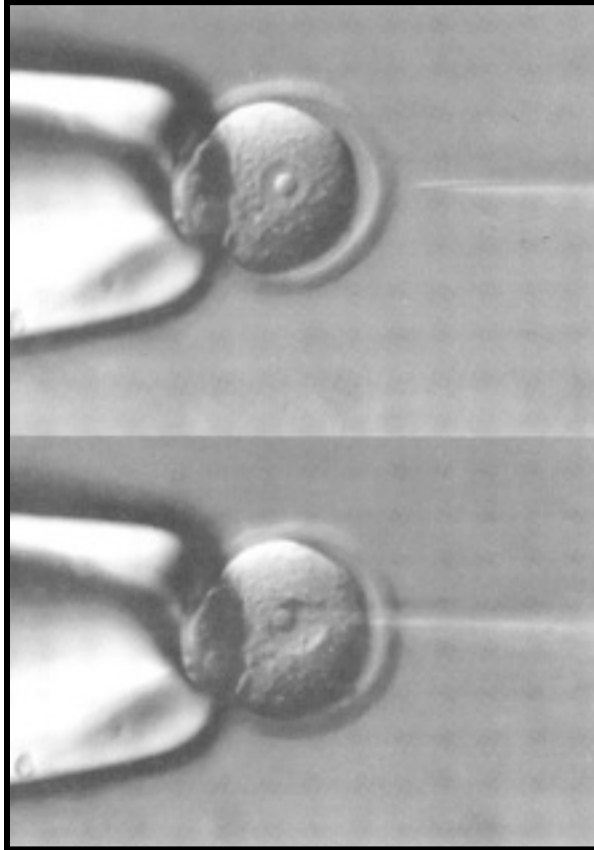


vegetal view

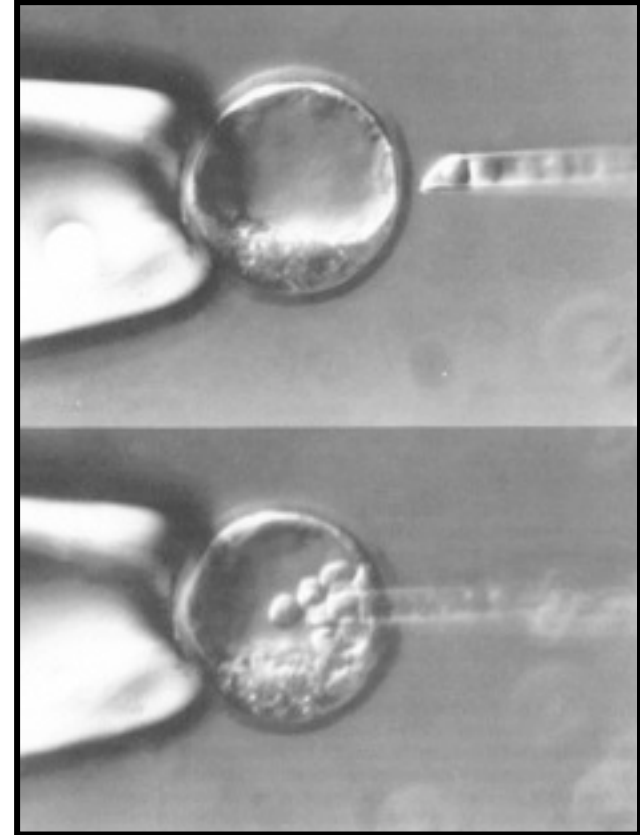
Mamíferos: inyección en el cigoto



Cómo obtener Ratones transgénicos

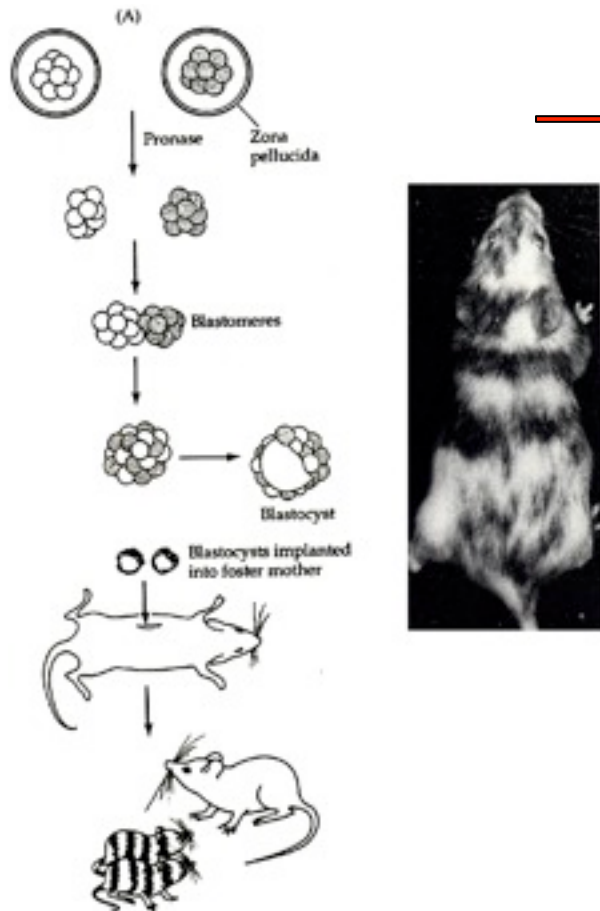


Inyección de DNA exógeno
a nivel de cigoto

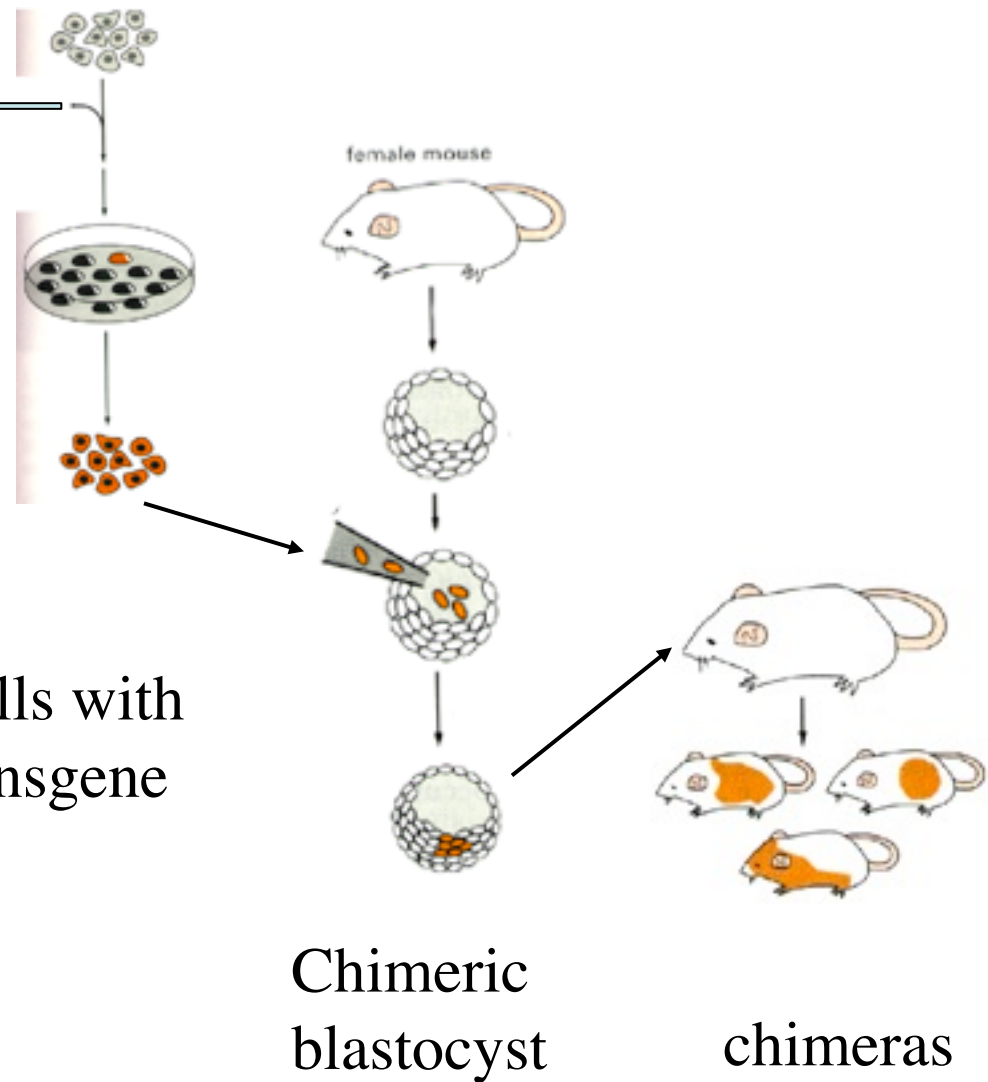


Inyección de células troncales
Embrionarias manipuladas en el blastocisto

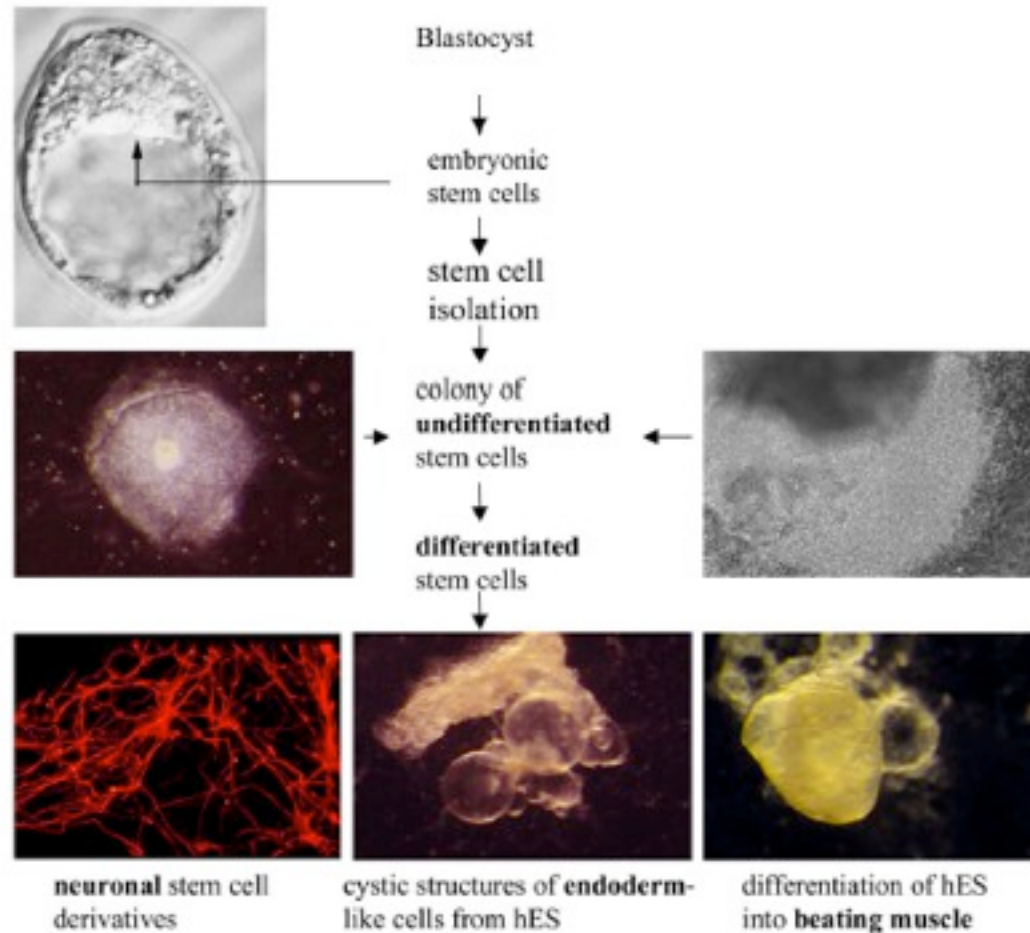
Mouse Chimeras



Making Transgenic Mice



Crecimiento y diferenciación de células ES en cultivo



Tipos celulares obtenidos:

- Neuronas
- Células pancreáticas
- Cartílago, hueso
- Cardiomiocitos
- Cél.hematopoéticas
- Cél.endoteliales
- Hepatocitos

Modificación de la Expresión Génica

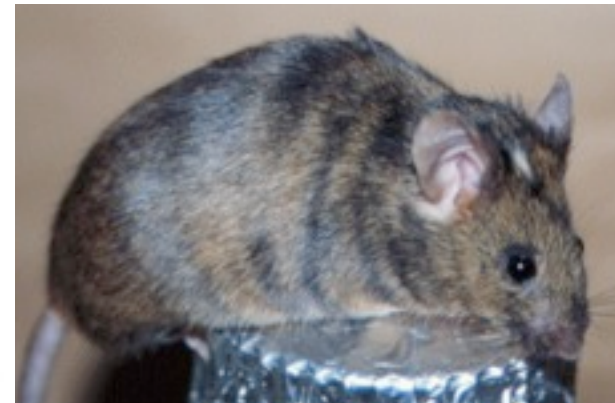
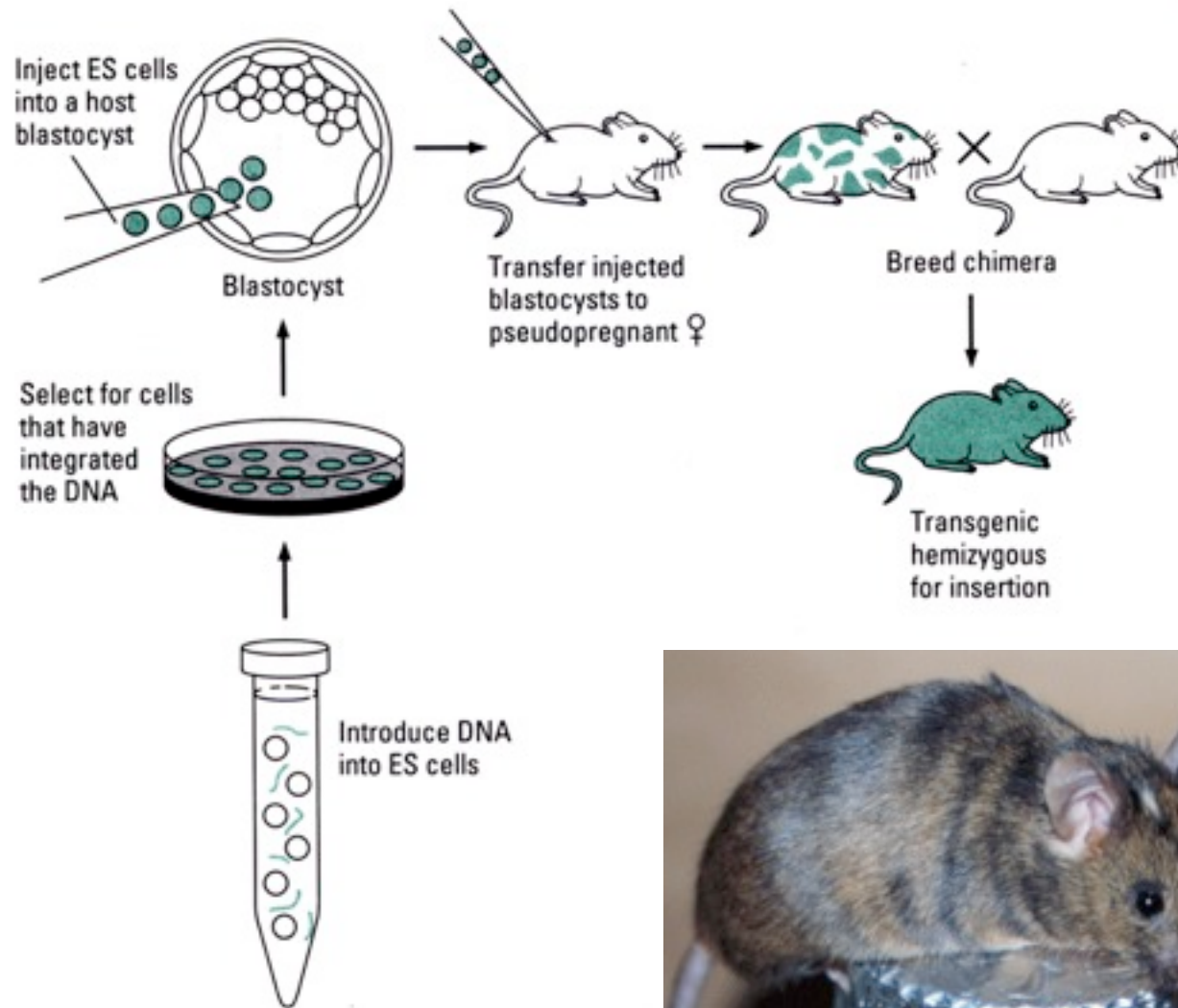
- Pérdida de función:

- Transiente:

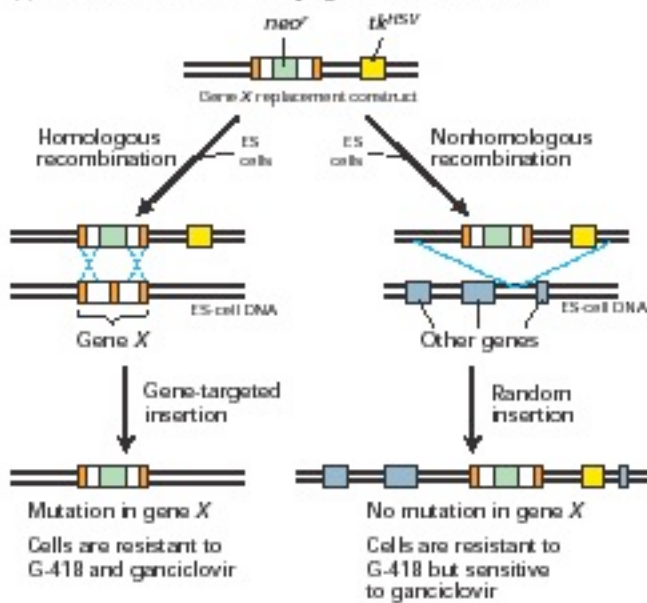
- Estable

Mutantes---> -dirigidos, knock out
-al azar (mutagénesis)

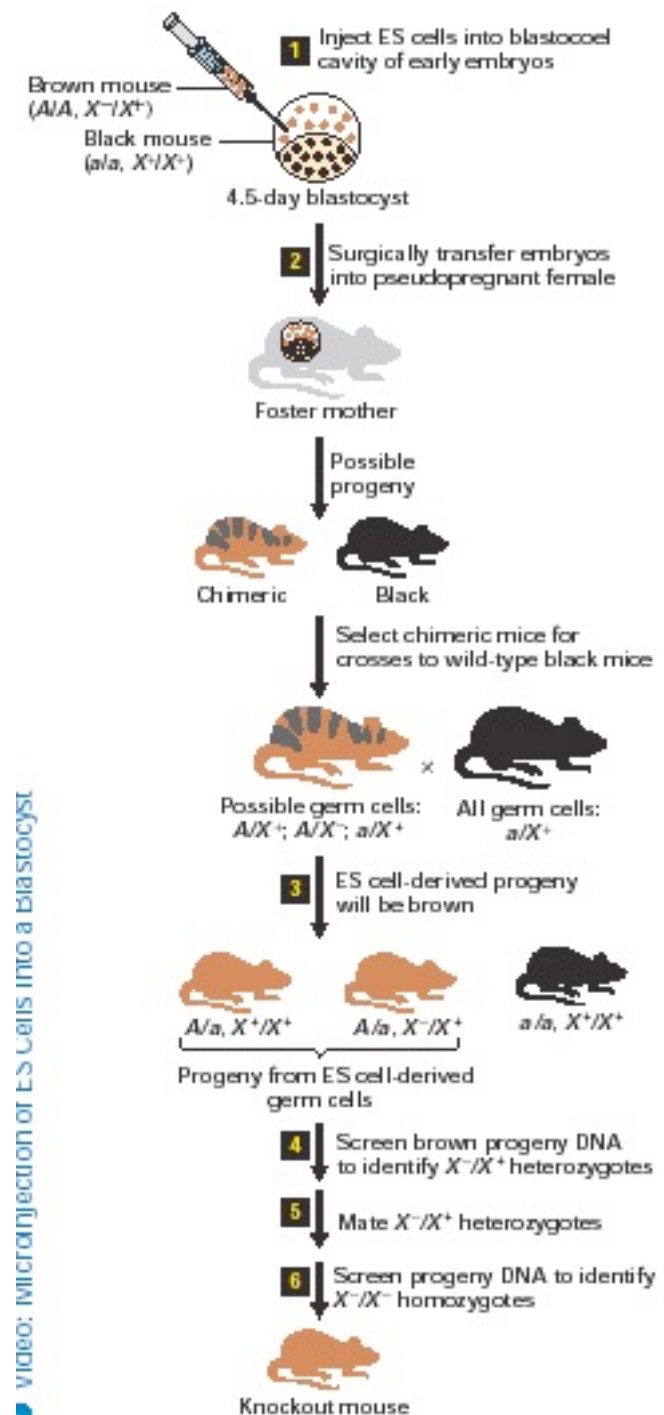
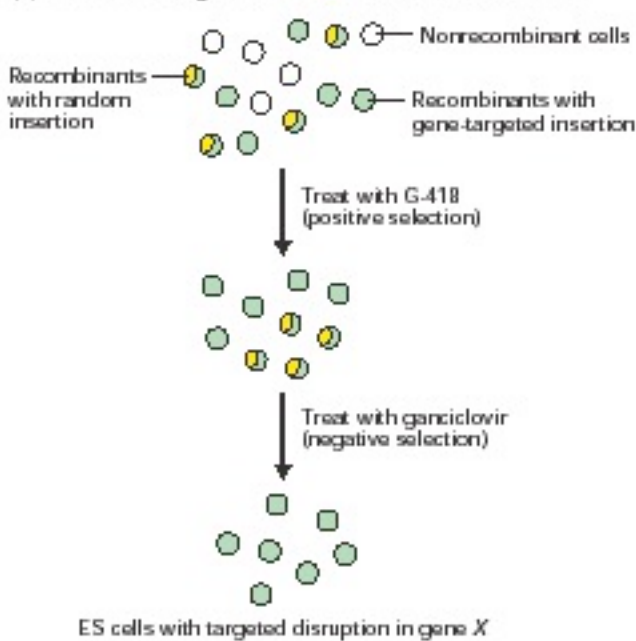
Genetic Alterations made in ES cells can be Transmitted through the Germline of Chimeric mice



(a) Formation of ES cells carrying a knockout mutation



(b) Positive and negative selection of recombinant ES cells



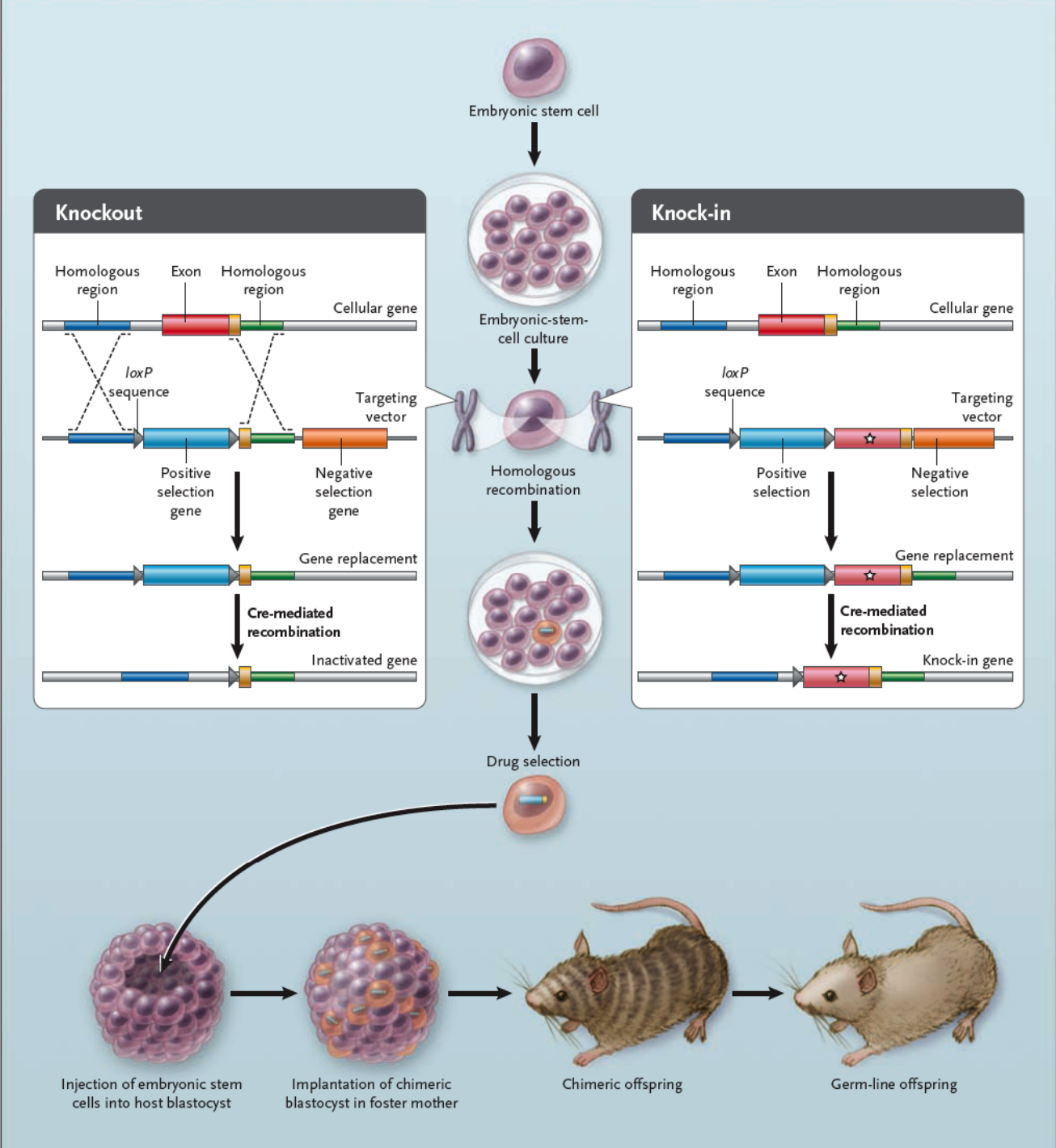
video: Microinjection of ES cells into a blastocyst

Premio Nobel 2007: Knock outs y recombinación homóloga en mamíferos

Cells with random integrants are killed during negative selection via treatment with gancyclovir or FIAU [1-(2 -deoxy-2 -fluoro- β -Darabinofuranosyl)-5-iodouracil], compounds that require phosphorylation by HSV-tk to inhibit DNA synthesis. An ~2000-fold enrichment of targeted clones can occur with this type of vector. Even with positive and negative selection, a substantial number of ES cell clones that arise in culture are false positive, since HSV-tk can be inactivated before recombination by events like partial deletions. The

Sitios loxP

Knock In



Cell, Vol. 87, 1317–1326, December 27, 1996, Copyright ©1996 by Cell Press

Subregion- and Cell Type–Restricted Gene Knockout in Mouse Brain

?

Modificación de la Expresión Génica

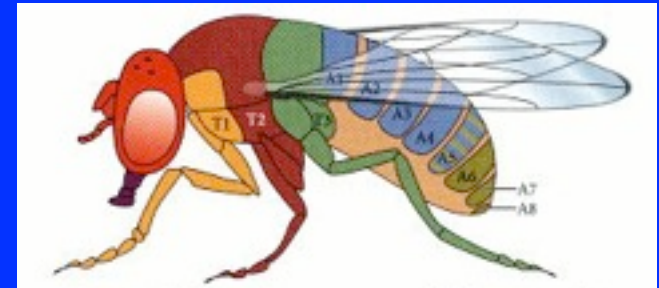
- Pérdida de función:

- Transiente:

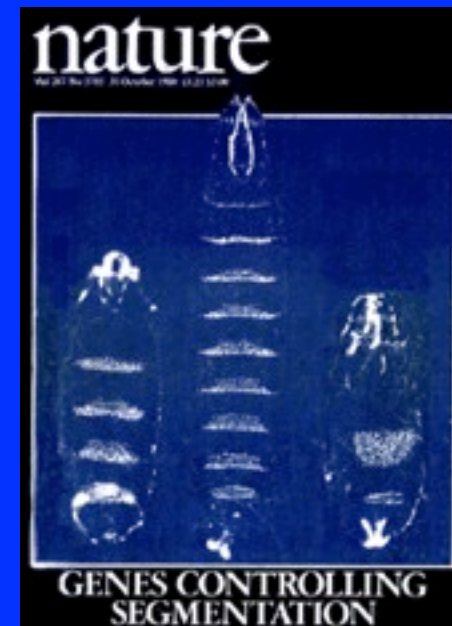
- Estable

Mutantes---> dirigidos, knock out
al azar (mutagénesis)

Mutantes, rastreos génicos



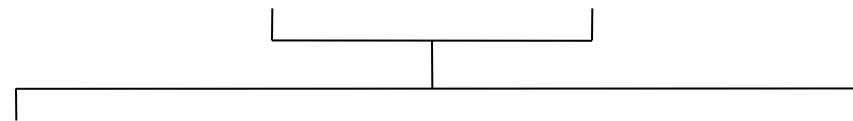
Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschaus
Heidelberg 1980
(Premio Nobel en 1995)



G₀  (±/-) ← ENU

F₁  ±/- X  ±/±

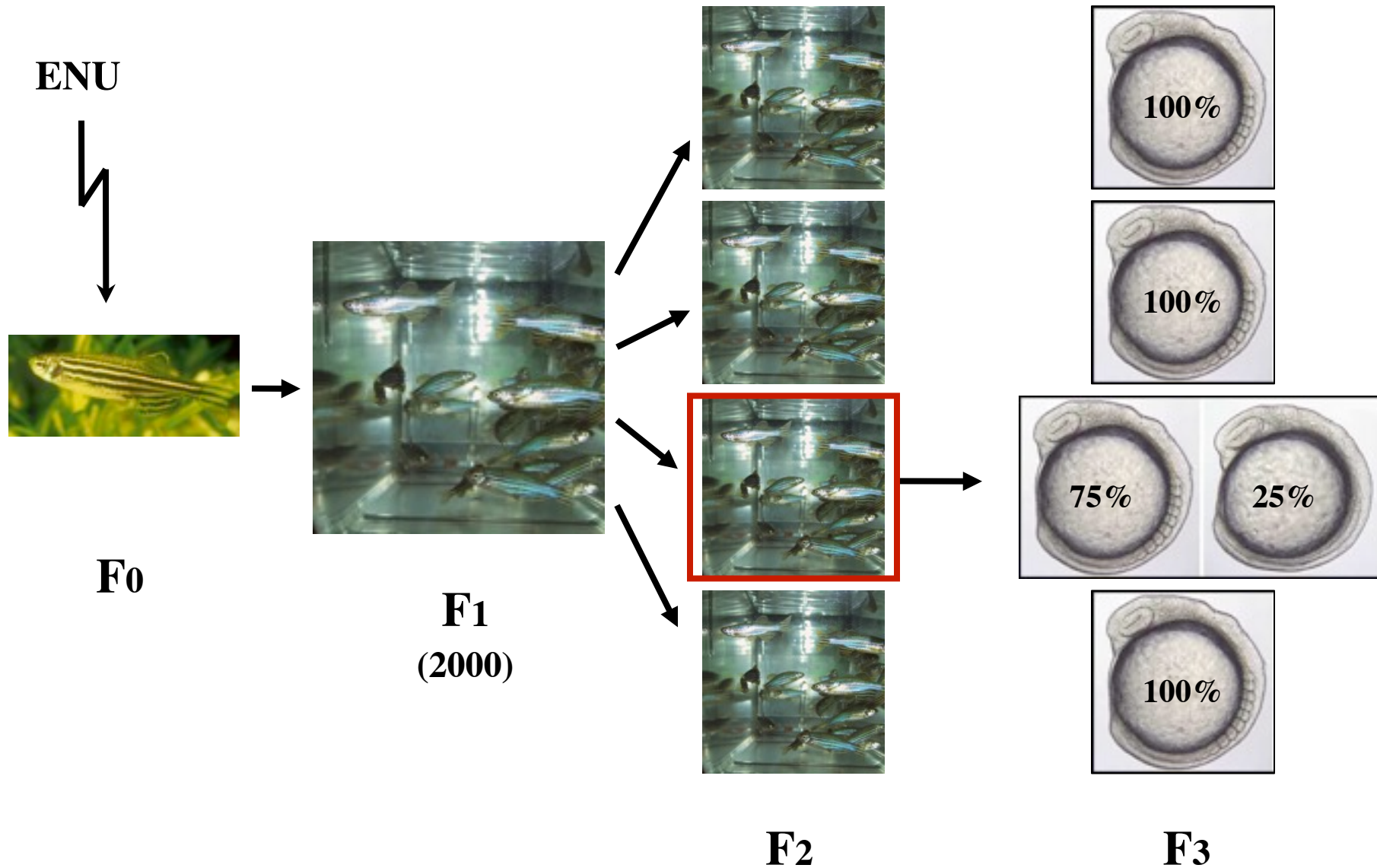
F₂  ±/±  ±/- X  ±/-  ±/±



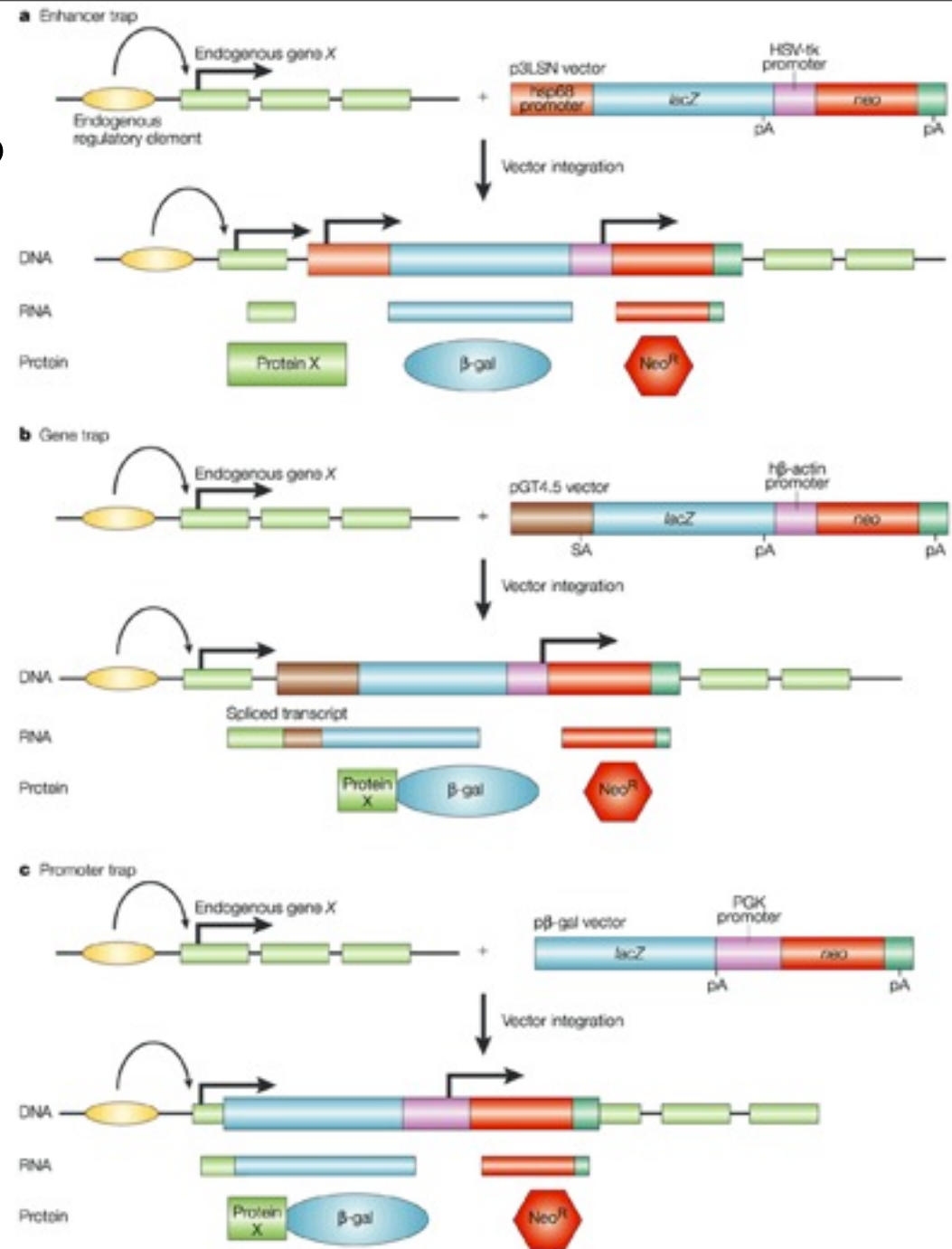
F₃  ±/±  ±/-  ±/-  -/-

Esquema de mutagénesis en tres generaciones

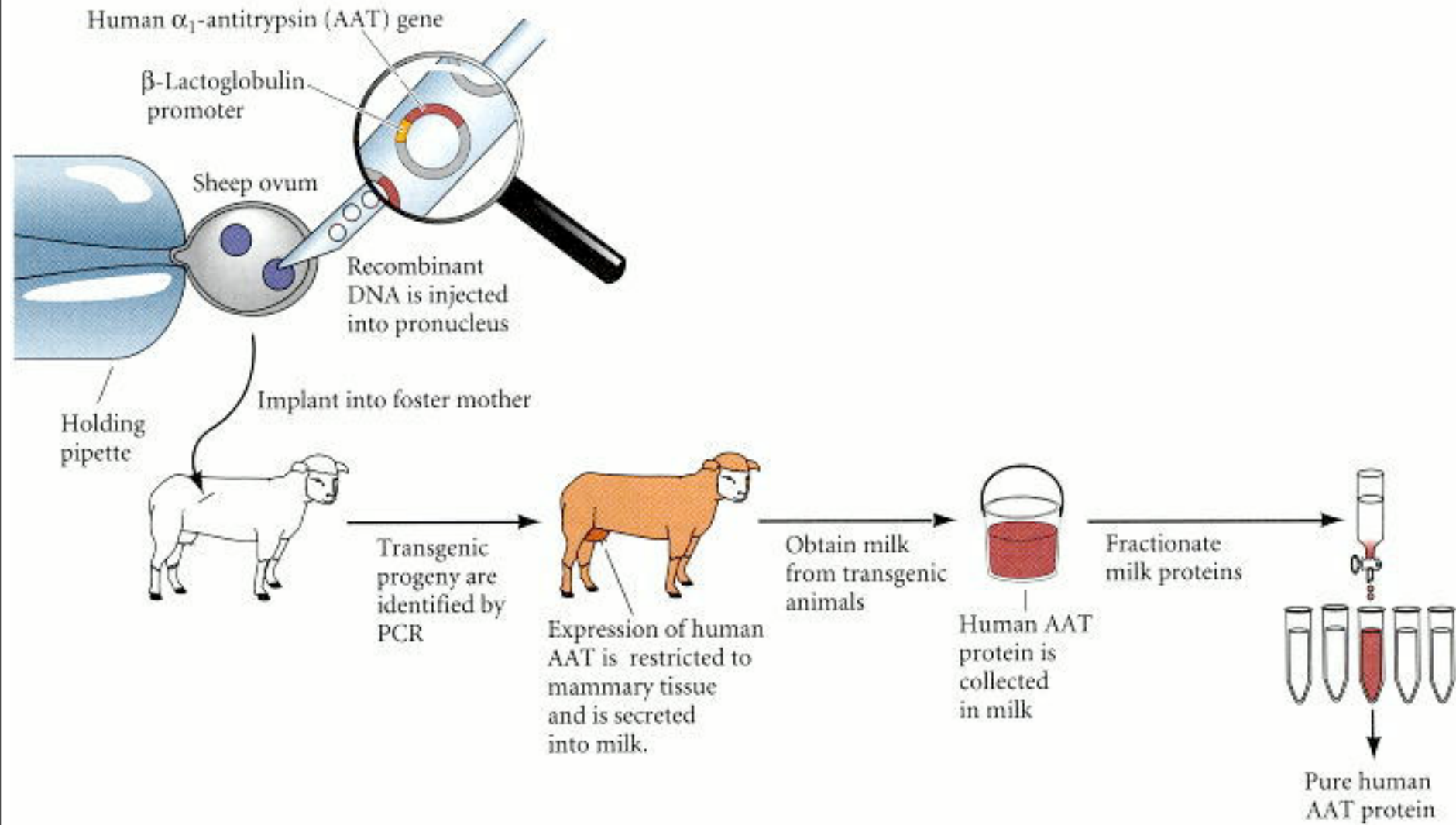
Nüsslein-Volhard/Driever 1996



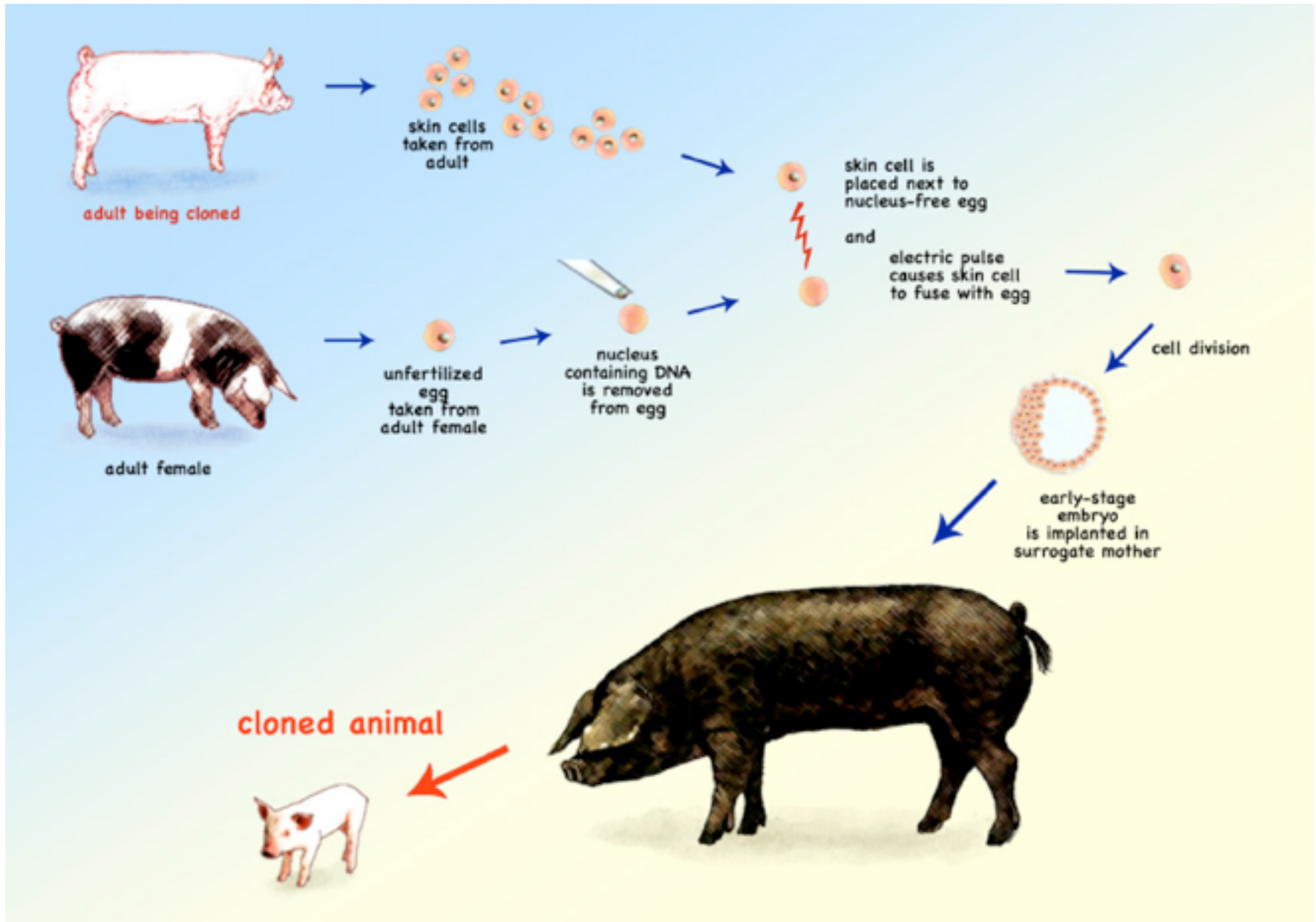
Técnicas de análisis genómico
que involucran transgénesis:
"Atrapando" genes.
¿Cuales son mutagénicos?



Aplicaciones biotecnológicas



Clonación



Salmón transgénico

