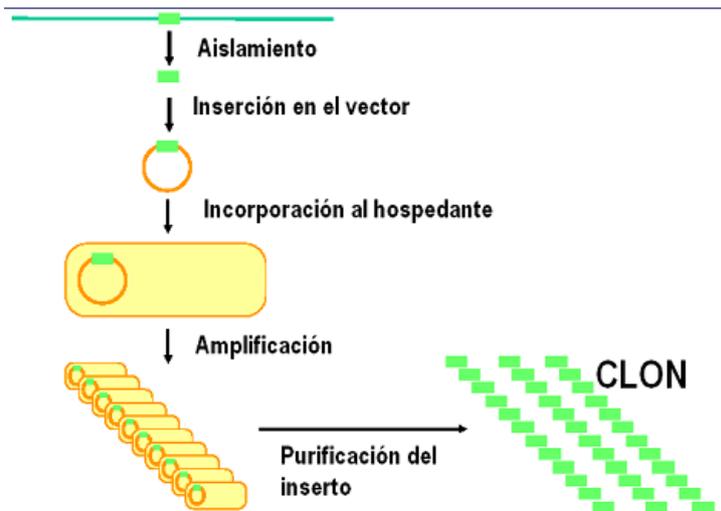


Introducción

- ⇒ **INGENIERÍA GENÉTICA**: formación de nuevas combinaciones de material genético por inserción de moléculas de ácidos nucleicos – aislados del resto de componentes del organismo – en cualquier sistema vectorial que permita su propagación continua.
- ⇒ Sinónimos:
 - ⇒ Tecnología del ADN recombinante
 - ⇒ Clonaje génico
 - ⇒ Manipulación génica

Clonación de genes



Librerías

- ⇒ **LIBRERÍA**: conjunto de clones de fragmentos de un cromosoma.
- ⇒ Existen dos tipos de librerías
 - ⇒ Librería ADN_g : el ADN de esta librería es el fragmento completo extraído del organismo, con sus exones e intrones.
 - ⇒ Librería ADN_c : el ADN de esta librería se obtiene a partir de un ARN_m mediante una transcriptasa reversa. Este ADN no tiene los intrones, sólo posee los exones de la célula a la que corresponde.
- ⇒ Diferencias entre ADN_g y ADN_c :
 - ⇒ El ADN_g tiene toda la secuencia genética y el ADN_c tiene la secuencia exónica.
 - ⇒ El ADN_g es igual para todas las células de un mismo organismo, el ADN_c es específico para cada tipo celular.

Aplicaciones

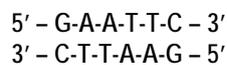
- ⇒ A partir de **tejidos celulares** se puede obtener un **gen clonado** que puede utilizarse para:
 - ⇒ Secuenciar nucleótidos:
 - ⇒ **OBTENER LA ESTRUCTURA GENÉTICA.**
 - ⇒ Obtener la secuencia de aminoácidos.
 - ⇒ **DETERMINAR LA ESTRUCTURA PROTEICA.**
 - ⇒ Utilizar una sonda molecular.
 - ⇒ **DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CONGÉNITAS.**
 - ⇒ Obtención de un producto génico.
 - ⇒ **INDUSTRIA FARMACÉUTICA.**
 - ⇒ Introducción en células adecuadas.
 - ⇒ **TERAPIA GÉNICA.**
 - ⇒ **ORGANISMOS TRANSGÉNICOS.**
 - ⇒ **KNOCK OUT.**

Aislamiento de genes

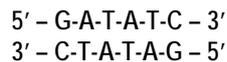
- ⇒ Métodos físicos
 - ⇒ Agitación
 - ⇒ Sonificación
- ⇒ Síntesis química
 - ⇒ Oligonucleótidos pequeños
- ⇒ Enzimas de restricción
- ⇒ Obtención de ADN_c a partir de ARN_m

Endonucleasas de restricción

- ⇒ Atacan por **secuencias específicas** al ácido nucleico.
- ⇒ Son sintetizadas por bacterias como mecanismo de defensa contra los bacteriófagos.
- ⇒ Las bacterias metilan las secuencias contenidas en su DNA para que este no sea degradado.
- ⇒ Pueden **cortar** de **dos** maneras distintas.
 - ⇒ **Extremos pegajosos**: Las hebras de ADN quedan cortadas a distinta altura.



- ⇒ **Extremos romos**. Las hebras de ADN quedan a la misma altura.



Obtención de ADN_c

- ⇒ Se obtiene un ARN_m extraído de una célula concreta.
- ⇒ El ARN_m se hibrida con un cebador para la cola poliA.
- ⇒ Se realiza una copia en ADN mediante una transcriptasa reversa.
- ⇒ Se degrada en ARN mediante una ARNasa.
- ⇒ Sintetizamos una hebra complementaria al ADN mediante una ADN polimerasa, un fragmento de ARN en el inicio actúa como cebador.

Vectores génicos

- ⇒ **Plásmido** (8-9 kb)
- ⇒ **Fago λ** (12 kb en la inserción; 22 kb delección o sustitución)
- ⇒ **Cósmidos** (45kb)
- ⇒ **Fago P1** (70-100 kb)
- ⇒ **PAC** (130-150 kb)
- ⇒ **BAC** (120 – 300 kb)
- ⇒ **YAC** (250 – 400 kb)
- ⇒ Todos los vectores son para hospedarse en *E. Coli*, excepto el YAC que es para *levaduras*.

Utilidad

- ⇒ Se debe realizar en las células adecuadas: genes en oocitos o espermatozoides animales.
 - ⇒ **Transgénicos**
 - ⇒ **Knock out**
 - ⇒ **Terapia génica**
 - ⇒ Células madre
 - ⇒ Adición de genes antagónicos al gen mutado que pueda compensar su efecto negativo.