



Nombre de la actividad curricular: BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

Modalidad de la actividad: Curso teórico-práctico.

Carácter: Optativo

Docentes responsables: Dra. Carina Argüelles

Dr. Cristian Rojas

Carga horaria teórica 25 hs

Carga horaria práctica 30 hs

Carga horaria total 55 hs

Duración en semanas: a determinar

Objetivos de la actividad curricular: Ofrecer a los alumnos una visión general teórica de los métodos utilizados para la transformación genética de plantas y el análisis de las mismas. Familiarizar a los alumnos con las prácticas y manejo usuales en el laboratorio de Biología Molecular y de cultivo de tejidos vegetales. Concientizar a los alumnos de la necesidad e importancia del uso de tecnologías como la del ADN recombinante, de un modo responsable y controlado. Discutir las implicancias actuales y futuras de las técnicas expuestas en el curso. Difundir y promover la Biotecnología Vegetal en el ámbito académico y privado como herramienta de progreso y bienestar de la provincia de misiones

Contenidos de la actividad curricular

Sistema de transformación mediado por *Agrobacterium*. Cultivo in vitr: BY2. Extracción de ADN plasmidial y genómico. Extracción de RNA. Genes reporte GUS, GFP. Técnicas de detección de transgenes: Southern, PCR. Sistema de Clonado Gateway y convencional. Silenciamiento de transgenes RNAi, PTGS, Quelling. Plantas transgénicas uso en Ciencia Básica y Aplicada.

Modalidad de evaluación: Examen final escrito.



Bibliografía seleccionada para la actividad curricular:

La bibliografía esta detallada por tema y puede oportunamente sufrir alguna modificación.

- Agrobacterium:

1. Zupan, JR. Zambrysky P. Transfer of T-ADN from Agrobacterium to the plant cell. (1995) Plant Physiology 107:1041-1047
2. van der Fits L, Deakin E, Hoge, H, Memelink J. (2000) The ternary transformation system: constitutive virG on a compatible plasmid dramatically increases Agrobacterium-mediated plant transformation. Plant Molecular Biology 43:495-502.
3. Mehrotra S, Rahman LU, Kukreja AK (2010) An extensive case study of hairy-root cultures for enhanced secondary-metabolite production through metabolic-pathway engineering. Biotechnol Appl Biochem 56(4):161-72
4. Gelvin SB. (2010) Plant proteins involved in Agrobacterium-mediated genetic transformation. Annu Rev Phytopathol 48:45-68

- Cultivo in vitro:

5. Criqui M, Weingartner M, Capron A, Parmentier Y, Shen W, Heberle-Bors E, Bögre L and Genschik P. (2001) Criqui Sub-cellular localisation of GFP-tagged tobacco mitotic cyclins during the cell cycle and after spindle checkpoint activation. The Plant Journal 28(5), 569-581
6. Sagawa Y. (1991) Clonal propagation of orchids. Plant tissue culture manual C1:4-7.
7. Dodds and Roland Hornung (2011) Lauric acid improves the growth of zygotic coconut (Cocos nucifera L.) embryos in vitro. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Published on line: 5 March 2011
8. Shi C, Yang H, Wei C, Yu O, Zhang Z, Jiang C, Sun J, Li Y, Chen Q, Xia T, Wan X (2011) Deep sequencing of the Camellia sinensis transcriptome revealed candidate genes for major metabolic pathways of tea-specific compounds. BMC Genomics 28;12(1):131

- ADN plasmidial y genómico:

9. Ouenzr B, Hartmann C, Rode A, Benslimane A. (1998) Date Palm ADN Mini-preparation without Liquid Nitrogen. Plant Molecular Biology Reporter 16:263-269
10. Rogers S, Bendich A. (1988) Extraction of ADN from plant tissues. Plant molecular biology manual. A6:1-11
11. Zhong L, Scharer J, Moo-Young M, Fenner D, Crossley L, Honeyman CH, Suen SY, Chou CP (2011) Potential application of hydrogel-based strong anion-exchange membrane for plasmid DNA purification. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 879(9-10):564-72.



12. Moreira PA, Oliveira DA (2011) Leaf age affects the quality of DNA extracted from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae), a tropical tree species from the Cerrado region of Brazil. *Genet Mol Res* 10(1):353-8.

- Genes reporter:

13. Guivarc'h A, Carneiro M, Vilaine F, Pautot V, Chriqui D. (1996) Tissue-specific expression of the rol A gene mediates morphological changes in transgenic tobacco. *Plant molecular biology* 30:125-134

14. Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, Ward W, Prasher D. (1994) Green fluorescent protein as marker for gene expression. *Science* 263:802-805.

15. Ghim CM, Lee SK, Takayama S, Mitchell RJ (2010) The art of reporter proteins in science: past, present and future applications. *BMB Rep* 43(7):451-60

16. Wee CW, Dinneny JR (2010) Tools for high-spatial and temporal-resolution analysis of environmental responses in plants. *Biotechnol Lett* 32(10):1361-71.

- Detección de transgenes:

17. Slightom J, Drong R, Chee P. Polymerase chain reaction: gene detection, inverse PCR, and genetic engineering. *Plant molecular biology manual*. F4:1-24

18. Wang H, Qui M, Cutler J. A simple method for preparing plant samples for PCR. (1993) *Nucleic acids research* 21:4153-4154.

19. Fan X, Ren P, Dhal S, Bejerano G, Goodman SB, Druzin ML, Gambhir SS, Nayak NR (2011) Noninvasive monitoring of placenta-specific transgene expression by bioluminescence imaging. *PLoS One* 6(1):e16348

20. Wu JJ, Liu YW, Sun MX (2011) Improved and high throughput quantitative measurements of weak GFP expression in transgenic plant materials. *Plant Cell Rep*. 2011 Feb 17.

- Gateway:

21. Karimi M, Inzé D, Depicker A. (2002) Gateway vectors for *Agrobacterium*-mediated plant transformation. *Trends in plant science* 7:193-195

22. Liu Y, Schiff M, Dinesh-Kumar SP (2002). Virus-induced gene silencing in tomato. *Plant J*.31:777-86.

23. Khan RS, Ntui VO, Chin DP, Nakamura I, Mii M (2010) Production of marker-free disease-resistant potato using isopentenyl transferase gene as a positive selection marker. *Plant Cell Rep*. Epub. Dec 24, 2010



24. Batista M, Marchini FK, Celedon PA, Fragoso SP, Probst CM, Preti H, Ozaki LS, Buck GA, Goldenberg S, Krieger MA (2010) A high-throughput cloning system for reverse genetics in *Trypanosoma cruzi*. BMC Microbiol 13;10:259

El curso se orienta hacia la discusión de artículos recientes, publicados en revistas especializadas como:

1. Plant Molecular Biology
2. Nucleic acids research
3. Trends in Plant Science
4. Plant Physiology
5. Annual Review of Phytopathology
6. PLoS
7. Biotechnology Applied Biochemistry
8. Genetics and Molecular Research
9. BMC Genomics.