



Fundamento y aplicaciones de CRISPR/Cas9 como herramienta para la ingeniería de precisión de genomas de plantas.

FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR fcien.edu.uy

IGUÁ 4225 ESQ. MATAOJO, TEL: 25258618 EXT 7232

LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR VEGETAL

Fecha: 6-11 de noviembre de 2019

Lugar: Facultad de Ciencias

Coordinadora: Sabina Vidal (svidal@fcien.edu.uy)

Público objetivo:

El curso está dirigido a estudiantes del Posgrado en Biotecnología o en Ciencias Biológicas de PEDECIBA, que tengan formación previa en biología molecular y una buena comprensión lectora y oral del idioma inglés.

Descripción del curso:

Es un curso intensivo teórico-práctico en el cual se abordará el tema de la edición genómica con énfasis en organismos vegetales. El curso proporcionará una visión general acerca de los principios y el uso de CRISPR/Cas9 y otros sistemas similares, partiendo desde los conceptos y aplicaciones más básicas hasta las avanzadas. Los estudiantes se familiarizarán con las herramientas necesarias para el diseño de construcciones génicas y otros componentes del sistema, la selección de vectores y estrategias apropiadas para cada proyecto y el análisis de los resultados obtenidos a partir del uso de esta tecnología. Las actividades prácticas tienen como objetivo producir Cas9 recombinante y ARN guía y evaluar la actividad de los complejos de ribonucleoproteínas sobre un ADN molde, tanto in vitro como in vivo en células vegetales.

Objetivos del curso:

El curso busca aportar las herramientas conceptuales y metodológicas para comprender y promover el uso del sistema CRISPR/Cas9 para la investigación y desarrollo en el campo de la biología vegetal.

Al finalizar el curso, los estudiantes deberán:

1. Conocer los fundamentos básicos, el mecanismo de acción, el potencial y las limitaciones de la edición genómica usando CRISPR/Cas9.
2. Ser capaces de diseñar los distintos componentes específicos de CRISPR/Cas9 e incorporar su uso en proyectos de investigación.
3. Ser capaces de analizar los resultados obtenidos mediante la tecnología CRISPR/Cas9.
4. Estar capacitados para comprender y adaptar próximos desarrollos en el campo de la edición genómica.

Contenido teórico:

Fundamentos básicos y aplicaciones del sistema CRISPR/Cas9 y otros sistemas similares. Diseño de componentes del sistema para modificaciones de tipo knockout, knockin, reemplazo alélico. Métodos de “delivery” del sistema CRISPR/Cas en plantas. Detección eficiente de mutaciones. Estrategias, eficiencia y metodologías para la edición genómica de distintos cultivos (soja, lechuga, *Nicotiana* sp). Biología sintética de plantas: un sistema modular para la ingeniería del genoma usando gRNA-Cas9 y el sistema GoldenBraid.

Contenido práctico:

Las actividades prácticas estarán centradas en la producción y purificación de Cas9, producción de ARN guía y el análisis de la actividad de los complejos ribonucleoproteicos *in vitro* e *in vivo* (en protoplastos de células vegetales).

Docentes:

Dr. Wayne Parrott: Department of Crop and Soil Sciences, University of Georgia, EEUU.
Dra. Lien D. Bertier: University of California-Davis, Genome Center, Michelmore lab. EEUU.

Dr. Diego Vicente Orzáez: Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Departamento de Biotecnología y Mejora Vegetal de Especies Cultivadas, Valencia, España.

Dra Alexandra Castro: Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias.
Mag. Luciana Fleitas: Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias.
Dra. Sabina Vidal: Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias.

Cupo máximo: 25 estudiantes.

Carga horaria: 45 h

Créditos sugeridos: 6

Modalidad de evaluación:

El curso contará con una evaluación oral en forma de presentación y discusión de seminario.

Cronograma:

Fecha/horario	6-Nov	7-Nov	8-Nov	9-Nov	11-Nov
9:30-12:30	Fundamentos teóricos Introducción a las actividades prácticas	Purificación de Cas9 (IEX/SDS-PAGE). Producción de ARNg (IVT)	Producción de protoplastos, Transformación RNP	Evaluación de actividad Cas9-ARNg en protoplastos	Workshop/ presentación de seminarios y discusión
13:30-18:30	Purificación de Cas9 recombinante (IMAC)	Ensayo <i>in vitro</i> de actividad Cas9-ARNg Producción de protoplastos	Ensayo <i>in vivo</i> de actividad Cas9-gRNA		Workshop/ presentación de seminarios y discusión