

Curso FUNDAMENTOS Y APLICACIONES DE CRISPR/CAS9 EN PLANTAS

Coordinadoras:

Alexandra Castro (acastro@fcien.edu.uy); Luciana Fleitas (lfleitas@fcien.edu.uy).

Docentes: Alexandra Castro, Luciana Fleitas, Sabina Vidal

Colaboradores: Selene Briano, Santiago Rondán

Docentes invitados

Carga horaria: 32 h (10 h teóricos y 15 h prácticos, 4 h talleres, 3 h seminarios)

Créditos: 4

Lugar: Facultad de Ciencias. Igúá 4225 CP 11400, Montevideo

Modalidad: presencial

Público objetivo: dirigido a estudiantes del Posgrado en Biotecnología, Ciencias Biológicas de PEDECIBA, y otros programas de posgrado. Estudiantes avanzados de grado con formación previa en biología molecular.

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 sus aplicaciones en el campo de la biología vegetal y agrobiotecnología.

Al finalizar el curso, los estudiantes deberán:

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

Inscripción: a través de la página web de bedelía de la Facultad de Ciencias o enviando un mail de interés a las coordinadoras del curso. En el mail se debe explicitar el programa de estudios al que pertenece. Códigos según programa del estudiante: B0040: grado; P2227: PEDECIBA y otros posgrados.

Modalidad de aprobación: la ganancia del curso se obtiene con el 80 % de asistencia a los prácticos y la presentación de un seminario. La aprobación del curso se obtiene por la presentación de un examen individual.

- Manipulación de CRISPR-Cas para edición génica: diseño de sgRNAs y construcciones génicas para expresión del sistema en células vegetales.
- Edición génica libre de ADN. Sistemas de expresión del sistema CRISPR/Cas
- Sistemas libres de ADN
- Tipos de vectores y diseño de construcciones génicas para expresión del sistema CRISPR-Cas vía transgénesis. Versatilidad del sistema CRISPR-Cas
- Variantes naturales y sintéticas de sistemas CRISPR-Cas y sus aplicaciones.
- Base editing, prime editing, regulación transcripcional y epigenética.
- Edición genómica basada en recombinación homóloga: fundamentos, diseño de construcciones y estrategias para mejorar la eficiencia.
- Desarrollos nacionales basados en edición génica

Talleres:

- Estrategias para la expresión de CRISPR-Cas en plantas
- Diseño de construcciones génicas para expresión del sistema CRISPR-Cas9.
- Diseño de sgRNAs.
- Detección eficiente de mutaciones en sitios blanco y no blanco.
- Estrategias para el genotipado de eventos editados.
- Programas para el análisis de secuencias editadas.

Contenido práctico:

- Diseño de gARNs.
- Síntesis de gARNs por transcripción *in vitro*. Purificación de sgRNAs.
- Análisis de la actividad de los complejos RNPs *in vitro* mediante corte sobre ADN blanco.
- Métodos estables y transitorios para análisis de la actividad de construcciones para edición génica. Preparación de protoplastos de *P. patens* y transfección de protoplastos. Análisis de la actividad CRISPR-Cas9 *in vivo* mediante transformación con *Agrobacterium rhizogenes*.

Bibliografía de referencia del curso:

- Bing Y, Harwood W, Que Q. (2023) Plant Genome Engineering. Methods and Protocols. In: Methods in Molecular Biology. Springer Nature. ISSN 1940-6029.
- Artículos científicos en EVA.
Fundamentos básicos de la edición genómica

Calendario de actividades: del 14 de octubre al 30 de Octubre de 2026. Lunes, Miércoles y Viernes de 14 a 19 hs.

Día 1

14:00-16:00: Fundamentos de CRISPR-Cas. Teórico.

16:15-19:00: Introducción a las actividades prácticas. Diseño de ARNs guía para edición de genes CV. Teórico-práctico.

Día 2 (Salón 308)

14:00-16:00: Sistemas de expresión del sistema CRISPR/Cas. Teórico.

16:15-19:00: Síntesis de ARN guía para edición de genes CV mediante transcripción *in vitro* y purificación de gARNs. Transformación de cotiledones de soja para producción de hairy roots editados para genes CV. Práctico.

Día 3 (Salón 308)

14:00-15:30: Versatilidad del sistema CRISPR/Cas: distintos sistemas y aplicaciones. Teórico.

15.45-19:00: Ensayo *in vitro* de actividad de ARNs guía. Extracción de ADN genómico a partir de hairy roots de soja y de plantas editadas en CV. Práctico

Día 4

14:00-15:00: Genotipado de eventos editados. Teórico.

15.15-19:00: PCRs para análisis en gel de agarosa y análisis de fragmentos de alta resolución. Análisis de HRFA para *hairy roots* secuenciación de líneas de CV editadas.

Día 5

14:00-19:00: Diseño de guías para edición de genes BAG. Producción de protoplastos y transformación con construcción para edición de genes BAG. Taller-Práctico

Día 6

13:00-18:00: PCRs de competencia para genes BAG. Análisis de PCR de competencia y deconvolución de secuencias para genes BAG. Práctico

Día 7

13:00-16:00: Charlas de aplicación sobre edición génica. EG en soja: Mejora de tolerancia a estrés abiótico: edición génica de promotores. Mejora de la calidad del grano de soja. Teórico

Día 8

13:00-16:00: Presentación de seminarios.

16:10-18:00: Cierre, discusión.