



FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR | fcien.edu.uy



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

CURSO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO 2016

Práctico: **“Manipulación génica en embriones de pez cebra”**

Docente responsable: **Flavio Zolessi**
Ayudante: **Camila Davison**

Introducción:

El embrión de pez cebra (*Danio rerio*) presenta múltiples ventajas para la experimentación en Biología del Desarrollo, entre las cuales se cuentan la sencillez de mantenimiento de los adultos y de obtención de huevos fértiles, embriones que son pequeños y transparentes hasta etapas avanzadas del desarrollo y la gran accesibilidad a la manipulación genética. Esta va desde la expresión permanente o transitoria de genes exógenos (transgénesis), la existencia de una gran biblioteca de mutantes relativamente bien caracterizada, la reducción de la expresión mediante oligómeros antisentido (como los morfolidos) o, en los últimos años, la posibilidad de realizar knock-outs génicos dirigidos (por ejemplo mediante la técnica de CRISPR).

El objetivo de este práctico es aproximar a los estudiantes de Biología del Desarrollo a algunas de estas tecnologías y su aplicación en embriones de pez cebra.

Esquema del práctico:

Día 1 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 1:30 hs

- Breve introducción teórica al pez cebra como especie experimental.
- Selección de adultos transgénicos (Atoh7:Gap-EGFP) para reproducción.

Día 2 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 2:30 hs

- Selección de embriones de 1-4 células.
- Microinyección de embriones con morfolidos.

Día 3 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 1 h

- Observación, selección y limpieza de embriones.

Día 4 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 1 h

- Observación en fluorescencia, selección y fijación de embriones

Día 5 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 1 h

- Lavado y contratinción fluorescente (ADN y filamentos de actina).

Día 6 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 2 h

- Montaje in toto de embriones.

Día 7 – Día y hora a confirmar - Institut Pasteur de Montevideo - 3 h

- Observación en microscopio confocal.

Bibliografía básica:

- The Zebrafish Book –Westerfield M. - http://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html
- Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R., Ullman B. & Schilling T.F. (1995), Stages of Embryonic Development of the Zebrafish, Developmental Dynamics 203:253-310
- Bill BR, Petzold AM, Clark KJ, Schimmenti LA, Ekker SC (2009) A primer for morpholino use in zebrafish. Zebrafish. 6(1):69-77. doi: 10.1089/zeb.2008.0555.