
USO DE LA SECUENCIA IRES ICS1-23 EN LA CONSTRUCCIÓN DE UN CASETE GÉNICO PARA CONTROLAR LA EXPRESIÓN SIMULTÁNEA DE LOS GENES REPORTEROS GCAMP6 Y TDTOMATO EN NEURONAS

**CARLOS CÁCERES TOLEDO
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

El estudio del sistema nervioso se ha facilitado con la utilización de genes reporteros, biosensores y el uso de vectores virales. Dentro de ellos se destacan por características los vectores adenoasociados recombinantes (AAVr). Sin embargo, el reducido tamaño de su genoma es su gran punto en contra, en especial cuando se desea producir la expresión de más de un gen. Una estrategia molecular que permite superar este problema corresponde al uso de secuencias de DNA cortas con actividad IRES (shortIRES), que permiten la traducción independiente de CAP en niveles similares a los observados con las secuencias IRES clásicas, como la del virus de la encefalomiocarditis (EMCV-IRES). En este estudio se utilizó una secuencia IRES sintética reportada y caracterizada en estudios anteriores, denominada ICS1-23, para la generación de un casete bicistrónico que permita la expresión de los genes que codifican para el biosensor de calcio GCaMP6 y el gen reportero tdTomato. Este casete debía ser subclonado dentro de un vector AAVr para generar una herramienta en el estudio de la actividad neuronal *in vivo*. Sin embargo, la obtención de bandas inespecíficas al momento de amplificar una de las secuencias redujo en parte el rendimiento de la clonación, por lo que no se logró generar el vector de expresión. Es necesaria la generación de este vector adenoasociado para evaluar la actividad IRES de la secuencia ICS1-23 tanto en cultivos celulares como *in vivo*.