
**CONSTRUCCIÓN DE UN CASETE BICISTRÓNICO PARA LA
EXPRESIÓN DE TDTOMATO Y GCAMP6 MEDIANTE EL USO DE LA
SECUENCIA P2A EN NEURONAS**

**LUIS VALDÉS BERRÍOS
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

En el estudio del sistema nervioso es fundamental evaluar al mismo tiempo la estructura y la función neuronal. En este contexto, se han utilizado de forma individual biosensores de calcio (GCaMPs) y proteínas fluorescentes (TdTomato) como reporteros de actividad y morfología respectivamente. En este trabajo se propuso diseñar una estrategia molecular para permitir la expresión de ambos reporteros. Los vectores adenoasociados recombinantes (VAAr) se han convertido en una herramienta versátil para la incorporación de material genético exógeno en neuronas. Su principal limitante es el reducido tamaño genómico, por lo que usualmente son utilizados como vectores monocistrónicos. Bajo este contexto, es ideal el uso de secuencias pequeñas que permiten la expresión bicistrónica, como las secuencias 2A/CHYSEL, en comparación con otras técnicas de expresión bicistrónica. Debido a que se ha descrito la efectividad de la secuencia 2A del Teschovirus porcino (P2A), se utilizó el método Splicing by overlap extension (SOEing) para la generación del casete de expresión bicistrónica TdTomato-P2AGCaMP6. Si bien fue posible llegar a la construcción del casete, durante la amplificación de uno de los fragmentos se obtuvo un bajo rendimiento debido a la amplificación de productos inespecíficos, lo que retrasó toda la estrategia, impidiendo concretar la generación del vector de expresión, necesario para evaluar la actividad de la secuencia P2A en un contexto neuronal in vitro.