



Ministerio de Cultura y Educación
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia
Departamento: Bioquímica y Cs Biológicas
Area: Biología Molecular

(Programa del año 2012)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
GENETICA MOLECULAR	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	11/06	2012	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
RAMIREZ, DARIO CEFERINO	Prof. Responsable	P.Adj Exc	40 Hs
ALVAREZ, SERGIO EDUARDO	Prof. Co-Responsable	P.Adj Simp	10 Hs
ARCE, MARIA ELENA	Responsable de Práctico	A.1ra Exc	40 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
120 Hs	60 Hs	20 Hs	40 Hs	6 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoría con prácticas de aula y laboratorio	2° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
06/08/2012	16/11/2012	14	120

IV - Fundamentación

En este curso se pondrá hincapié en las bases moleculares de la diversidad de seres vivos y de la respuesta al estrés en sus diversas formas; y como este afecta la expresión génica, diferenciación celular y el desarrollo.

Se pondrá énfasis en la respuesta al estrés biológico, físico, químico, inflamatorio, genómico y metabólico. Este estrés puede ser producido, entre otros por envejecimiento, enfermedades orgánicas, contaminantes ambientales, fármacos, microRNAs en alimentos, cambios en la cantidad de metabolitos primarios y secundarios, deficiencias nutricionales en etapas claves del desarrollo, agroquímicos, infecciones, aditivos alimentarios y radiaciones. El resultado intermediario de esta respuesta a estresores son mutaciones, estrés del retículo endoplásmico, cambios en la estabilidad de mRNAs, alteraciones en las vías de señalamiento, acortamiento de los telómeros, modificaciones epigenéticas y cambios en la expresión de microRNAs.

Esto resulta en cambios en la expresión de ciertos genes (no efecto, sobreexpresión o represión) que afectan la cantidad y la expresión temporal-espacial de proteínas, cambios en la estabilidad de estas proteínas, alteraciones del ciclo celular y alteraciones temporarias o permanentes en la diferenciación celular y el desarrollo.

Para entender estos procesos será necesaria la aplicación racional de las herramientas y conocimientos de los cursos de Biología Celular Avanzada, Biología Molecular, Bioquímica Avanzada y Genética. Los conocimientos adquiridos en este curso le permitirán al alumno comprender y aplicar los conceptos de Ingeniería Genética, Biotecnología y Estructura de Macromoléculas.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

1. Entrenar al alumno en el uso racional y ético de los recursos de laboratorio de uso común en el estudio de los procesos de regulación de la expresión génica.

2. Promover en el alumno habilidades para la presentación de la información científica en entrevistas de trabajo, reportes de laboratorio y reuniones científicas.
3. Fomentar en el alumno el análisis y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.
4. Capacitar al alumno, sobre la base del entendimiento de estos procesos, en el diseño de nuevos proyectos dirigidos a entender la regulación de la expresión génica y la biología de los seres vivos, mejoramiento y preservación de la calidad de la vida sana, encontrar nuevas estrategias para intervenir en ciertas enfermedades o en la biología de parásitos, y mejoramientos biotecnológicos de la resistencia de animales y plantas a cambios ambientales.

VI - Contenidos

Unidad 1: Control de la expresión génica I: Complejidad del genoma. Niveles de control de la expresión génica. Control transcripcional. Promotor central y secuencias regulatorias cis localizadas upstreams y downstreams de la secuencia codificante, elementos promotores distales, secuencias enhancer, aisladoras. Interacción de las secuencias regulatorias con factores de transcripción en el control de la expresión génica y significado biológico. Especificidad de gen, tejido y organismo. Conformación de la cromatina y su rol regulatorio. Modelos y métodos para el estudio de los elementos génicos en procariotas y eucariotas.

Unidad 2: Control de la expresión génica II: Cambios epigenéticos, causas, mecanismos y efectos sobre la expresión génica. Interacciones ADN-receptor e impacto en la regulación génica. Regulación de la expresión génica por receptores nucleares. Interacción de ADN con receptores esteroideos, tiroideos, PPARs, ácido retinoico y sirtuinas. El operon Lac como modelo de regulación de la expresión génica. Control post-transcripcional y postraduccional. Modelos y métodos de estudio.

Unidad 3: El fago lambda como modelo primitivo de regulación génica. El fago lambda. Análisis de las experiencias que permitieron definir su mecanismo de control. Organización génica y regulación. Cascada de transcripción lítica. Mantenimiento del estado profago. El curso lítico y el rol de CII, N y Cro. Regulación de las funciones de CII y CIII. Control de las fases lisogénica y lítica del fago. Funciones genéticas e influencias externas. Co-expresión de los genes líticos y lisogénicos desde el mismo operón. El rol de Cro en el crecimiento lítico.

Unidad 4: Métodos y bioseguridad en el laboratorio de Genética Molecular. Bioseguridad en el laboratorio de genética molecular. Purificación de DNA y RNA, control de calidad del material génico purificado. Ensayo de retardo en geles para el estudio de factores de transcripción y proteínas que interaccionan con el ARN. Inmunoprecipitación de cromatina (CHIP) y sus variaciones. microarrays, real-time PCR, transcriptasa reversa PCR, genes reporteros, purificación de factores de transcripción, análisis de modificaciones epigenéticas, microscopia confocal e hibridización in situ.

Unidad 5: Regulación del ciclo celular. Eventos críticos en el ciclo celular. Regulación de la transición en el ciclo celular y el rol de las CDKs/ciclinas. Checkpoints en las fases G1, G2 y M, su regulación y significado biológico. Detección y respuesta celular al daño del material genético: arresto celular, senescencia, proliferación y muerte celular. Telómeros y telomerasa y su significado en cáncer y envejecimiento. Modelos y métodos de estudio.

Unidad 6: Regulación de la diferenciación celular. Genes de programación de la diferenciación celular y su regulación. Regulación de genes de especificidad tisular. Cambios fenotípicos en respuesta a presiones extrínsecas (ambientales) e intrínsecas (enfermedad de base). Bases moleculares de la programación transitoria y permanente a linajes celulares específicos. Métodos y aplicaciones.

Unidad 7: Stem cells. Líneas celulares, cultivos primarios y stem cells o células madre. Stem cells embrionarias (ESC), adultas (ASC) y pluripotentes inducibles (iPSC). Nichos de stem cells y control genético de su movilidad. Reprogramación nuclear y pluripotencia de stem cells. Stem cells en el envejecimiento y el cáncer. Aplicaciones biotecnológicas y terapéuticas. Modelos y métodos de estudio.

Unidad 8: Regulación génica del desarrollo. Organismos modelos: ventajas y desventajas. Tipos de genes que regulan el desarrollo en Drosófila: Genes maternos y embrionarios. Polaridad antero-posterior y dorso-ventral. Gradiente de morfógenos. Regulación de genes que definen la subdivisión del embrión: genes maternos, embrionarios, de segmentación y homeóticos. Factores de transcripción involucrados y su regulación: Bicoid, Oskar, Orthodenticle, Hunchback y su regulación por Pumilio y Nanos. Discos embrionarios. Control del desarrollo en animales superiores: Movimientos morfogénicos y mapa corporal. Centro organizador de Spemann-Mangold. Modelos y técnicas de estudio.

Unidad 9: microARNs en la regulación de la expresión génica. El rol regulatorio del ARN (ARN de interferencia (iARN) y microARN (miR)). Biogénesis de los microARNs. Mecanismo de acción. Stress y regulación de la expresión de microARN.

Perfil y análisis funcional de microARNs. MicroARN y su rol en el control de la expresión génica, ciclo celular, diferenciación celular y el desarrollo. El rol de los microARN en la regulación procesos patológicos y en terapéutica. Modelos y métodos para el estudio de microARNs.

Unidad 10: Control transcripcional de la respuesta inflamatoria. Estresores, sensores, señalamiento y niveles de control. La respuesta celular a la endotoxina bacteriana y su regulación como modelo. Efecto de alteración en el balance redox sobre los mecanismos transcripcionales, post-transcripcionales y traduccionales. Regulación del factor de transcripción Nrf-2/elemento de respuesta antioxidante (ARE) y NF- κ B. Factores de transcripción involucrados; efectos epigenéticos, arquitectura de la cromatina, co-reguladores y regulación negativa (A20). Rol de los ARN largos no-codificantes. Estrés del retículo endoplásmico y sus mecanismos de control de la expresión génica y muerte celular. Modelos y métodos experimentales.

Unidad 11: Regulación de la expresión génica en hipoxia. Concepto de hipoxia y su significado biológico. Detección, señalamiento y regulación de la expresión génica en ambientes de hipoxia. Concepto de inflamación hipóxica (HIF-1 α /HRE y su interacción con otros factores de transcripción). Hipoxia y plasticidad génica de los macrófagos en tumores y el tejido graso. Bases genómicas de la reprogramación metabólica (Efecto Warburg) en hipoxia. Hipoxia como factor de presión en el destino y diferenciación celular y el desarrollo. Modelos y métodos experimentales.

Unidad 12: Regulación de la expresión génica por nutrientes. Conceptos y alcances de la Nutrigenética y nutrigenómica. Dieta y nutrientes bioactivos. Interacción nutriente-gen. Regulación de la expresión génica, diferenciación celular y desarrollo por nutrientes. Importancia de los cambios epigenéticos y microARN en el control de la expresión génica por nutrientes bioactivos. Diferencias individuales en la respuesta genómica a los nutrientes. Control del cáncer y enfermedades metabólicas mediante factores dietarios y metabolitos.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

1. Laboratorios

- Preparación de ARN total a partir de células y tejidos animales.
- Purificación de mRNA a partir de ARN total mediante cromatografía de afinidad y separación en geles de agarosa y/o poliacrilamida desnaturizantes.
- Reverse transcriptasa PCR y real time PCR. Diseño de un set de primers y amplificación de un gen mediante rt-PCR. El gen de GAPDH como control. Control de los resultados en geles no desnaturizantes.
- Geles desnaturizantes y transferencia a membranas de nylon para Northern blot.
- Ensayo del gen reportero para estudiar actividad de factores de transcripción.

2. Seminarios en diferido (Offline) y directo (Online): 40-50 minutos. Para complementar las clases teórico-prácticas.

- iBioseminars (Pre-grabados): dictados por investigadores del HHMI, NIH y Premios Nobels en diferentes tópicos de la asignatura para complementar clases teórico—prácticas. Disponibles en el Blog de la cátedra.
- Stem cells (Online): Dr. Rebecca Lim. University of Monach, Victoria. Australia.
- microRNA (Online): Dr. Zili Zhai. University of Chicago. IL. USA.
- Microarray (On-line): Dr. Bart Frank. Genomic Facility OMRF.
- Generación y uso de modelos de ratones genéticamente modificados (Online): Dr. Rodrigo Franco, University of Nebraska, LN, USA; o Dr. Sylvia Goggraffe (University of Florida, USA).

3. Prácticos de Aula

- Manejo de bases de datos bibliográficos (EndNote): su uso en edición de manuscritos.
- Seminarios presentados por alumnos (30 mins): análisis crítico de resultados experimentales publicados en revistas de alto impacto relacionados a los temas en estudio.
- Guía para la preparación y defensa de planes de trabajo.

VIII - Regimen de Aprobación

ALUMNOS PROMOCIONALES:

Se propone una evaluación del curso por promoción sin examen final, para lo cual se deben cumplir los siguientes requerimientos:

- a. Asistencia del 80 % a las clases teórico-prácticas.
- b. Aprobación de la evaluación continua mediante seminarios a presentar por los alumnos y participación activa en clases.

- c. Aprobación de tres evaluaciones parciales, con carácter teórico-práctico y metodología combinada de opción múltiple y a libro abierto.
- d. Evaluación integradora consistirá en la elaboración, presentación y defensa de un plan de trabajo en temas consensuado entre el Prof. Responsable y el alumno.
- e. Para mantener la promoción, el alumno no puede reprobado ninguno de los parciales en primera instancia. La calificación mínima para aprobar es de 7 (siete).

ALUMNOS REGULARES:

Los alumnos que pierdan la opción de promoción o que no reúnan los requisitos de materias correlativas, podrán regularizar la asignatura. Para ello, deben cumplir con los requisitos a-d.

f. Siendo el curso de carácter teórico-práctico, se requiere una asistencia a clases del 70%.

g. Recuperaciones. El alumno tiene derecho a 4 recuperaciones, y no puede recuperar un parcial en más de dos oportunidades, de acuerdo a la reglamentación vigente.

IX - Bibliografía Básica

- [1] Lodish, A.; Berk, A.; Matsudaira, P. Kaiser, C.A.; Kreiger, M.; Scott, M.P.; Zipursky, L.; Darnell, J. 2003. Molecular Cell Biology. 5th Edition. ISBN-10: 0716743663. Publisher: W. H. Freeman.
- [2] Compendium of Molecular Genetics. Edición 2012. Autor: Ramirez DC, Arce, ME & Gomez-Mejiba, SE. Una compilación de artículos reviews de los últimos 5 años que abordan de una forma comprehensiva los tópicos de cada unidad. Disponible para alumnos online por DropBox y en el blog de la cátedra con figuras en colores.
- [3] Compendium of Techniques in Molecular Genetics and Biotechnology. Edición 2012: Authors: Ramirez, DC; Arce, ME & Gomez-Mejiba, SE. Una compilación de protocolos publicados en los últimos 5 años que aplican las técnicas mas utilizadas en el laboratorio de Genética Molecular y Biotecnología. Disponible para alumnos online mediante dropbox y en el blog de la cátedra.
- [4] Compendium of Seminars on Molecular Mechanisms of Molecular Genetics. Edición 2012. Ramirez, DC; Arce, ME and Gomez-Mejiba, SE. Una selección de artículos publicados en los últimos 2 años en los cuales los alumnos podrán discutir de forma critica datos relacionados a los tópicos del programa. Disponible para alumnos online mediante dropbox y en el Blog de la cátedra.
- [5] Blogs de Genética Molecular-UNSL: <http://geneticamolecular2012.blogspot.com.ar/> y <http://moleculargeneticsunsl.blogspot.com/>. Estos contienen información referente a los temas abordados y los links para los seminarios pregrabados. Estos serán el link para la comunicación entre docentes y el alumno.

X - Bibliografía Complementaria

- [1] Alberts, B; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J.D. 2002. Biología Molecular de la Célula. 3ra Edición. ISBN 84-282-1011-X. Editorial OMEGA.
- [2] Watson, J.D; Baker, T.A; Bell, S.P.; Gann, A.; Levine, M.; Losick, R. 2004. Molecular Biology of the Gene. 2004. 5th Edition. Editorial CSHL Press.
- [3] Humphrey, T. & Brooks, G. 2005. Methods in Molecular Biology, vol. 296, Cell Cycle Control: Mechanisms and Protocols. eISBN 1-59259-857-9. Humana Press Inc.
- [4] Gilbert, S.F. 2010. Development Biology. 9th Edition. ISBN 978-0-87893-558-1.
- [5] Strachan, T. & Read, A. 2010. Human Molecular Genetics. 4th Edition. ISBN-10: 0815341490. Garland Science.
- [6] Sambamurty, A.V.S.S. 2007. Molecular Genetics. 1st Edition. ISBN-10: 1842654152. Publisher: Alpha Science Intl Ltd.

XI - Resumen de Objetivos

- Capacitar al alumno en la comprensión de los mecanismos de regulación de la expresión génica con un eje central en respuesta presiones intrínsecas y extrínsecas.
- Estudio del control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
- Capacitación del alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
- Conocimiento y uso seguro de los recursos de laboratorio de uso común en el estudio de los procesos de regulación de la expresión génica.
- Capacitación del alumno para el procesamiento y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el

XII - Resumen del Programa

Unidad 1: Control de la expresión génica I

Unidad 2: Control de la expresión génica II

Unidad 3: El fago lambda como modelo primitivo de regulación génica

Unidad 4: Métodos y bioseguridad en el laboratorio de Genética Molecular

Unidad 5: Regulación del ciclo celular

Unidad 6: Regulación de la diferenciación celular

Unidad 7: Stem cells

Unidad 8: Regulación génica del desarrollo

Unidad 9: microRNAs en la regulación de la expresión génica

Unidad 10: Control transcripcional de la respuesta inflamatoria

Unidad 11: Regulación de la expresión génica en hipoxia

Unidad 12: Regulación de la expresión génica por nutrientes

XIII - Imprevistos

1- La ejecución de los trabajos prácticos propuestos estará supeditada a la disponibilidad de fondos adecuados para la compra de insumos para su concreción.

2- La presentación de seminarios online (en directo) dependerá de la disponibilidad de un aula apropiada para el intercambio y dialogo entre alumno/docente/disertante en vivo.

XIV - Otros