



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 2018)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
(OPTATIVOS LIC.BIOL.MOL.15/14) GENETICA MOLECULAR	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	15/14 -CD	2018	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
CIUFFO, GLADYS MARIA	Prof. Responsable	P.Tit. Exc	40 Hs
ALVAREZ, SERGIO EDUARDO	Prof. Colaborador	P.Adj Simp	10 Hs
ARCE, MARIA ELENA	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs
MANZUR, MARIA JIMENA	Auxiliar de Práctico	P.Adj Simp	10 Hs
TORRES BASSO, MARIA BELEN	Auxiliar 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
90 Hs	Hs	Hs	30 Hs	8 Hs

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

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
06/08/2018	16/11/2018	15	120

IV - Fundamentación

Los organismos responden a condiciones de su entorno a los efectos de dar las respuestas adecuadas. Es ampliamente conocido que solo una parte muy pequeña del genoma codifica para genes específicos y, de éstos, las células expresan un subconjunto necesario para el funcionamiento de cada tipo específico de células. En organismos superiores, ésta expresión diferencial de genes está cuidadosamente programada permitiendo tener células diferenciadas con funciones bien definidas y específicas. Para lograr este resultado final, durante el desarrollo se debe cumplir un intrincado programa de expresión espacio-temporal de genes. El presente curso abarca el estudio de procesos tales como el control molecular del ciclo celular, mecanismos de regulación de la expresión génica y una introducción a los procesos regulatorios de la Biología del desarrollo.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

Capacitar al alumno en la comprensión de los mecanismos moleculares de regulación de la expresión génica, a nivel transcripcional y traduccional en organismos procariontes y eucariontes.

- Estudiar el control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
- Capacitar al alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
- Proveer al alumno de las herramientas experimentales aplicables al estudio de los procesos de regulación de la expresión

génica.

promover en el alumno el análisis y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.

VI - Contenidos

TEMA 1: Organización del genoma. Diferentes estructuras del ADN y su rol en la regulación. Elementos genéticos que controlan la expresión génica. Promotores y Represores. Diferentes niveles de regulación. Control transcripcional y traduccional. Concepto de regiones regulatorias en ADN y ARNm. Importancia biológica de la regulación de la expresión génica.

TEMA 2: Ciclo celular. Etapas del ciclo celular. Sistemas de control de la división celular. Modelos que sirven para el estudio del ciclo celular. Levaduras como modelo. Eventos críticos en el ciclo celular. Regulación de la transición G2/M. El activador de la fase S. El gen CDC28/cdc2/cdk1, actividad proteína quinasa. Ciclinas mitóticas y ciclinas de fase G1. Ciclinas D y E, su regulación e interacción con otras proteínas. Inhibidores mitóticos. Rol de Rb en el control del crecimiento. MPF y CDC2. Ciclinas, su interacción con CDC2. Roles del complejo CDC2/ciclina. Mecanismos de fosforilación que controlan la activación del factor MPF. Métodos de estudio. Histona H3, funciones y mecanismo.

TEMA 3: Ciclo celular. Mecanismos protectores frente al daño de ADN. Proteínas antitumorales: p53, p73. Control de la división celular en organismos multicelulares. Control social de la división celular. Mecanismos de división celular en organismos multicelulares: factores de crecimiento. Como ciclan las células hacia el cáncer. Conceptos de cultivo celular: cultivo primario vs. líneas celulares: ventajas y desventajas.

TEMA 4: Mitosis. Regulación molecular del proceso de división celular. MPF, activación, enzimas participantes. Rol de las diferentes ciclinas. Control de la formación del huso acromático. Proteínas motoras en el ensamblaje del huso. Control del paso de Metafase a Anafase: degradación de las ciclinas. Citocinesis. Concepto de arresto celular. Modelos experimentales y métodos de estudio.

TEMA 5: La complejidad del genoma. Organización de los genes. Intrones y exones. Genes con información genérica y genes de diferenciación tisular. Regiones de control transcripcional. Regiones metiladas y control de la transcripción. Zonas
de repetición en tandem. Factores que regulan la expresión génica: agentes trans y cis activantes. Genes y secuencias que lo flanquean. Enhancers y su especificidad tisular.

TEMA 6: Regulación en procariotes. Organización en operones. El represor lac como modelo de estudio. Revisión de conceptos. El fago lambda: factores lambda y cro en el control de las fases lisogénica y lítica del fago. Análisis de experiencias que permitieron definir su mecanismo de control. Factores que condicionan las fases líticas y lisogénicas.

TEMA 7: La interacción ADN-proteína. La estructura del ADN y su rol en la interacción. Motivos Estructurales de proteínas de binding al ADN. CAP, lambda y cro pertenecen a la familia de motivos helice-turn-helice. Análisis estructural de la interacción DNA-proteína. Motivos hélice -loop-hélice, cierre de leucina y motivos de dedos de zinc. Aspectos determinantes de la estructura proteica. Reconocimiento específico de bases del ADN a secuencias y estructuras proteicas. Ejemplos de los diferentes motivos. Homodímeros y heterodímeros de cierre de leucina.

TEMA 8: Métodos de estudio de la regulación génica. Gel Shift para el estudio de proteínas con propiedad de binding al ADN y ARN. Ensayos de retardo en geles cualitativo y cuantitativo. Footprinting de ADN: principios, reactivos y análisis.

Genes reporteros: CAT, luciferasa, proteína fluorescente verde. Purificación de factores de transcripción por cromatografía de afinidad. Otras estrategias. Determinación de los contactos aminoácidos-nucleótidos. Reactivos de clivaje sitio-específico.

Footprinting in vivo. Ensayo de inmunoprecipitación de la cromatina (Chip).

TEMA 9: Proto-oncogenes. Motivos cierre de leucina, c-fos, c-jun y familia de proteínas. Interacción de ADN con receptores complejos de esteroides, tiroides y ácido retinoico. Biología de los receptores. Estructura del dominio y función. Subdominio. Interacciones ADN-receptor; especificidad de secuencia y reconocimiento.

Dimerización de receptores. Ejemplos y aplicaciones.

TEMA 10. La estructura de la cromatina como elemento regulatorio. Papel de las histonas, histonas acetilasas y desacetilasas, metilación, fosforilación, otros. Formación de complejos transcripcionales. Metilación del ADN e 'imprinting'. Factores que modifican la estructura de la cromatina y su rol epigenético.

TEMA 11: Control postranscripcional. ARN, estructura y estabilidad. Propiedades del ARN. Interacción ARN-proteínas. Estructura primaria y secundaria del ARN. Tipos comunes de interacciones. Interacciones aminoacil-tARN, nucleasas, función de los ribosomas y ensamblaje de virus.

Metabolismo del Fe. Proteínas involucradas. Evidencias de la regulación traduccional. Regulación de ferritina y el receptor de transferrina. Estrategias para identificar elementos respuesta en el ARNm. Aislamiento de proteínas con propiedad de binding al ARN.

TEMA 12: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosophila como modelo de estudio. El conocimiento de genes que regulan caracteres mediante técnicas de búsqueda de genética clásica. Clonado de los primeros genes por técnicas de DNA-recombinante. Tipos de genes que regulan el desarrollo. Polaridad antero-posterior y dorso ventral. Genes que definen la subdivisión del embrión: genes maternos, genes de segmentación y genes homeóticos. Concepto de discos embrionarios. Mecanismos de transducción de señal que involucra una proteína quinasa. Genes de segmentación. Mecanismo que regula la polaridad dorso-ventral.

TEMA 13: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores. Movimientos morfogénicos y mapa corporal. Centro organizador de Spemann. Células madre embrionarias o stem cell. Usos en la

generación de animales knock-out. Stem cell como células pluripotenciales. Stem cell neurales en el adulto. Memoria celular, determinación celular y valores posicionales. Métodos de estudio. Aplicaciones.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

Plan de Trabajos Prácticos Laboratorio

- Bioseguridad en el laboratorio.
- Cultivo de células eucariotas, subcultivo y transfección. Observación al microscopio de fluorescencia.
- Preparación de ARN total, extracción de tejidos animales y vegetales. Medición y cálculo de la concentración de ARN obtenido. Índice de pureza de la preparación.
- Purificación de ARNm a partir del ARN total, mediante cromatografía de afinidad. Separación en geles de agarosa. Observación y análisis.
- RT-PCR. Amplificación de un gen expresada por metodología de transcriptasa reversa y amplificación. Control del resultado en geles de agarosa no desnaturalizantes.
- Transferencia de ARN a membranas de nylon. Geles desnaturalizantes. Preparación de membrana para Northern blot. Observación de la transferencia.

Prácticos de Aula: Se trabaja con guías de estudio y de problemas sobre cada tema.

- Resolución de problemas aplicados a los diferentes temas, discusión de metodológicas y sus usos potenciales.
- Análisis de casos.

Seminarios: Análisis crítico y discusión de diferentes trabajos publicados referidos a los temas en estudio. Cada grupo de alumnos (2-3) analizará un seminario por grandes temas: ciclo celular, regulación y biología del desarrollo.

VIII - Regimen de Aprobación

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

- a. Se requiere una asistencia del 80 % a las clases teórico-prácticas.
- b. Se realizará una 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 desarrollar o proponer.
- d. Evaluación integradora que puede consistir en un seminario final, investigación bibliográfica o propuesta de un plan de trabajo.
- e. Para mantener la promoción, el alumno no puede reprobar ninguno de los parciales en primera instancia.

NOTA: La nota final se obtiene como promedio de las calificaciones obtenidas en parciales, seminarios, prácticos de laboratorio, nota de concepto, trabajo final.

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 y los siguientes.

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

g. Recuperaciones. El alumno tiene derecho a un máximo de 2 (dos) recuperaciones por parcial, de acuerdo a la reglamentación vigente.

Examen libre: se aplica a alumnos que han quedado libres en el cursado de la asignatura. Para su aprobación se requiere la aprobación de todos los parciales y prácticos de laboratorio previo a la evaluación oral.

Examen final: La modalidad es a libro abierto, pudiendo entregarse un seminario para su lectura y presentación sobre temas de la asignatura.

IX - Bibliografía Básica

- [1] 1. Biología Molecular de la célula. Lodish-7ma.edición.
- [2] 2. Recombinant DNA. Watson y col .2nd Edición (1992).
- [3] 3. Molecular Biology of the Gene. Watson y col. 7ma. Edición.
- [4] 4. Eukaryotic transcription factors- Lachtman- 4ta. Ed. 2004.
- [5] 5. Principios de Genética - Tamarin - Reverte 1996.
- [6] 6. Genética- Griffiths y col- Interamericana 1993.
- [7] 7. Principios de desarrollo. Wolpert.
- [8] 8. Biología del Desarrollo. Gilbert. 7ma. Edición. 2005.

X - Bibliografía Complementaria

- [1] - RNA-protein interactions.- Nagai y col.- Oxford 1994.
- [2] - Folletos explicativos de métodos de estudio de la interacción DNA-proteína.
- [3] - Seminarios: selección de publicaciones de revistas internacionales para su análisis.

XI - Resumen de Objetivos

- Capacitar al alumno en la comprensión de los mecanismos moleculares de regulación de la expresión génica, a nivel transcripcional y traduccional en organismos procariotas y eucariotas.
- Estudiar el control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
- Capacitar al alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
- Proveer al alumno de las herramientas experimentales aplicables al estudio de los procesos de regulación de la expresión génica.
- Promover en el alumno el análisis y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.

XII - Resumen del Programa

- TEMA 1. Elementos genéticos que controlan la expresión génica
- TEMA 2. Ciclo celular- Métodos de estudio.
- TEMA 3. Ciclo celular. regulación molecular.
- TEMA 4. Mitosis. Regulación molecular de la mitosis y citocinesis.
- TEMA 5. La complejidad del genoma. Organización de los genes.

TEMA 6. Regulación en procariotas.
TEMA 7. Regulación en eucariotas. Motivos estructurales de proteínas de binding a ADN.
TEMA 8. Métodos de estudio de la regulación génica.
TEMA 9. Proto-oncogenes y receptores de esteroides.
TEMA 10. Estructura de la cromatina y control transcripcional.
TEMA 11. Regulación a nivel post-transcripcional. Interacciones ARN-proteínas.
TEMA 12. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosófila como modelo de estudio.
TEMA 13. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales.

XIII - Imprevistos

La implementación de los prácticos de Laboratorios dependerá de la disponibilidad de reactivos.

XIV - Otros