



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

(Programa del año 2018)
 (Programa en trámite de aprobación)
 (Presentado el 31/10/2018 23:28:51)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA	LIC. EN BIOTECNOLOGÍA	7/17-CD	2018	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
RAMIREZ, DARIO CEFERINO	Prof. Responsable	P.Adj Exc	40 Hs
MARSA, SILVANA MARIEL	Prof. Colaborador	P.Adj TC	30 Hs
FERRARIS, MARIA DEL PILAR	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs
SEGUIN, LEONARDO ROQUE	Auxiliar de Práctico	JTP Semi	20 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
8 Hs	4 Hs	2 Hs	2 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	17/11/2018	15	120

IV - Fundamentación

La Biología Molecular ha alcanzado en la actualidad un nivel de conocimiento de los genomas, de la manipulación del ADN y la consecuente aplicación en la obtención de organismos genéticamente modificados que impacta sensiblemente en la sociedad. En la presente asignatura se propone capacitar al alumno para comprender los fundamentos del funcionamiento de los organismos a nivel molecular y adquirir conocimientos para la manipulación de los mismos con fines de mejorar la producción de bienes, propiedades y servicios biotecnológicos mediante la Tecnología del ADN Recombinante.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

- Introducir al alumno en conocimientos básicos de biología molecular.
- Introducir al alumno en la metodología del ADN recombinante y sus aplicaciones biotecnológicas.
- Proveer al alumno de conocimientos prácticos sobre metodología del ADN recombinante.
- Estimular en el alumno la capacidad de interpretar y proponer experiencias sencillas de clonación y expresión de proteínas.

VI - Contenidos

BLOQUE I: HERENCIA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACION GENICA

UNIDAD 1: Introducción a la genética mendeliana

Los experimentos y las Leyes de Mendel. Dominancia incompleta. Penetrancia y expresividad. Alelos múltiples. Genes letales. Varios genes que afectan el mismo carácter. Interacción génica (intra e intergénica). Epistasia. Herencia citoplasmática. Características influidas y limitadas por el sexo. Fenómeno de imprinting. Herencia monogénica, poligénica y multifactorial. Símbolos genealógicos y genealogías.

UNIDAD 2: Estructura, función y niveles de organización de la los ácidos nucleicos

Desnaturalización y renaturalización. Topología del ADN. Genes. Genomas; diferentes tipos (procariotas, eucariotas nucleares y de organelas), características diferenciales. Ciclo celular, división celular. Meiosis y la Teoría cromosómica de la herencia. Cromosomas. Pseudogenes. ADN satélite. Duplicación y segregación de los cromosomas. El nucleosoma. Estructura cromatínica de orden superior. Regulación de la estructura cromatínica. Armado del nucleosoma. Características de los cromosomas en metafase.

UNIDAD 3: Replicación y reparación del ADN

Síntesis del ADN. Enzimología de la replicación del ADN. Burbuja y horquilla de replicación. Modelos de replicación. Orígenes de replicación. El proceso de replicación y su regulación: inicio, elongación y terminación. Fidelidad de la replicación. Inhibidores de la replicación. Telómeros y telomerasa: significado biológico. Recombinación homóloga. Conversión génica. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas. Mutaciones génicas y reparación: causa, mecanismos, consecuencias y reparación. Elementos transponibles: importancia biotecnológica.

BLOQUE II: FLUJO DE LA INFORMACION GENICA

UNIDAD 4: Transcripción y procesamiento pos-transcripcional de los ARN

Dogma central de la biología molecular y sus excepciones. Estructura y organización de los genes procariotas y eucariotas. Promotores, enhancers, silenciadores, exones e intrones. Secuencias de consenso, promotores bacterianos y eucariotas. Dominios de unión ADN-proteína. Factores de transcripción: intensificadores y silenciadores. Síntesis y procesamiento de los RNAm, RNAt y RNAr. Estructura y función de los RNAs. Mecanismos de regulación epigenética. RNA no codificantes. Interferencia por RNA (siRNA y microRNA). CRISPR y su importancia biotecnológica. Antibióticos y transcripción. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas.

UNIDAD 5: Traducción

El código genético y sus características. Violación del código genético, Degeneración del código genético, codones con sentido y sin sentido, marco de lectura y codones de iniciación y terminación, cuasi-universalidad del código genético. El proceso de traducción: carga de aminoácidos a RNAt específicos, iniciación de la traducción, elongación y terminación. Estructura tridimensional de los ribosomas, polirribosomas, vigilancia del RNAm. Degradación de RNAm, RNA de transferencia-mensajero (RNAtm). Degradación no-Go. Plegamiento y modificaciones postraduccionales de las proteínas. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas. Traducción y antibióticos.

UNIDAD 6: Regulación de la expresión génica en procariotas

Importancia de la regulación de la expresión génica en organismos. Genes estructurales, regulatorios, inducibles y constitutivos. Niveles de regulación de la expresión génica. El operón: estructura y regulación: Control negativo y positivo. Operones inducibles y reprimibles. Operones catabólicos y anabólicos. El Operón Lac. Diploides parciales, Mutaciones de Lac en genes estructurales y genes reguladores. Control positivo y represión por catabolitos. Operón triptófano en E. coli, Intensificadores bacterianos. Atenuación en el Operón Trp en E. coli y su significado biológico. Regulación de la expresión génica por RNA bacterianos: RNA antisentido, interruptores ribosómicos y ribozimas.

UNIDAD 7: Regulación de la expresión génica en eucariotas

Concepto de expresión génica diferencial en el desarrollo de organismos multicelulares. Niveles de regulación de la expresión génica en eucariotas: estructura de la cromatina, hipersensibilidad a la DNasa I. Remodelación de la cromatina, modificación de las histonas: metilación y acetilación. Inmunoprecipitación de la cromatina (CHIP). Metilación del ADN. Regulación de la expresión génica al inicio de la transcripción, Activadores y coactivadores de la transcripción, represores de la transcripción, intensificadores y aisladores. Pausas en la transcripción. Corte y empalme alternativo, degradación de los RNA. Interferencia por RNA. escisión y edición de los RNAs. Inhibición de la traducción, silenciamiento de la transcripción, degradación de RNAm independiente de slicer. Regulación de la expresión génica por modificación de la traducción y las

proteínas sintetizadas. Diferencias fundamentales en la regulación de la expresión génica en procariotas y eucariotas.

BLOQUE III: ESTUDIO Y MANIPULACION DEL MATERIAL GENETICO

UNIDAD 8: Aislamiento y análisis de los ácidos nucleicos.

Métodos de obtención de ADN (gonómico o plasmídico) y ARNs a partir de células animales, vegetales y microbianas. Determinación de la concentración y pureza del ADN y ARN. Electroforesis en geles desnaturizantes y no desnaturizantes. Detección mediante sondas específicas. Southern Blot y Northern Blot. Hibridación in situ. Principales aplicaciones. Secuenciación de ADN; método didesoxidinucléotidos (Sanger), automática y de nueva generación (NextGenerationSequencing; NGS).

UNIDAD 9: PCR y marcadores moleculares

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). ADN polimerasas termoestables. Principios y estrategias de optimización de protocolos de PCR. Diseño de primers. Identificación de los productos de PCR. RT-PCR. Nested PCR. PCR multiplex. Detección de mutaciones y polimorfismos por PCR. Marcadores moleculares y significado biológico e importancia biotecnológica. Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP). Amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD). Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados por PCR (AFLPs). VNTR. Minisatélites. Microsatélites (SSRs). Polimorfismo de nucleótido simple (SNPs). Origen de la variación y comparación. QTL. Mapeo por asociación. EST. Microarray o microarreglos.

UNIDAD 10: Tecnología del ADN recombinante.

Tecnología del ADN recombinante. ¿Cómo y para qué construir el ADN quimérico? Principales enzimas usadas en Ingeniería Genética. Enzimas de restricción y modificación del ADN. Clasificación y aplicación de las enzimas de restricción. Restricción o digestión del ADN. Conectores. Polimerasas. Polimerasas ADN-dependiente. Polimerasa 1, fragmento Klenow, Polimerasa T7 (sequenasa), otras polimerasas. Características. Aplicaciones. Polimerasas ADN-independiente: transferasa terminal. Exonucleasas y endonucleasas. Ligasas. RNA-Polimerasas. Transcriptasa reversa. Usos y aplicaciones. Ligación. Vectores de clonación y expresión: tipos, características y condiciones experimentales. Proceso de clonado. Transformación y transfección de constructos: métodos, ventajas y desventajas. Selección de clones recombinantes. Bibliotecas genómicas y de ADN copia o exómico: selección y usos. Mutagénesis aleatoria y mutagénesis sitio-dirigida.

BLOQUE IV: APLICACIONES BIOTECNOLOGICAS

UNIDAD 11: Aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante a la biotecnología.

Mejoramiento de organismos y de productos mediante ingeniería genética: aspectos económicos, sanitarios y éticos. Producción de proteínas recombinantes en bacterias por Ingeniería Genética. Ejemplos y utilidades. Vectores para uso en otros organismos; levaduras, organismos superiores. Concepto de vectores de origen viral. Levaduras como modelo de célula eucariota. Vectores de uso en levaduras: tipos de vectores. Integración en el genoma. Obtención de células establemente transformadas. Recombinación homóloga. Producción de proteínas recombinante. Sistemas de producción.

UNIDAD 12: Obtención y uso de plantas genéticamente modificadas.

Introducción de material genético exógeno en células vegetales. Diferentes estrategias; plásmido Ti, biobalística, vectores virales. Análisis comparativo de ventajas y limitaciones. Plantas transgénicas de interés agronómico. Variedades resistentes a herbicidas y plagas. Uso de plantas transgénicas como “biorreactores” para producción de proteínas recombinantes.

UNIDAD 13: Obtención y uso de animales genéticamente modificados.

Obtención de células animales modificadas genéticamente. Diferentes métodos de transfección y selección: precipitación con fosfato de Ca, electroporación, liposomas, vectores virales. Retrovirus y obtención de células establemente transformadas. Usos y aplicaciones. Transferencia estable y transitoria. Uso de marcadores de selección positivos y negativos. Recombinación homóloga. Crossing-over en la meiosis. Células totipotentes (stem cells): obtención, transformación. Generación de animales transgénicos. Diferentes metodologías: reemplazo nuclear, microinyección nuclear, uso de vectores virales. Animales transgénicos: modelo de estudio y aplicaciones. Usos de animales transgénicos; modelos experimentales, producción de proteínas recombinantes. Obtención de animales knock-out de cuerpo entero y célula específica. Knock-out

versus knock-out condicionales versus knock-down.

UNIDAD 14: Genómica, proteómica y metabolómica

Mapeo y secuenciación de genomas. Estrategias “shotgun”, “clone by clone” e híbridas. Aplicación de la secuenciación masiva a genómica. Biología sintética. Tipos de homología: genes homólogos, ortólogos y parálogos. Genómica funcional; estrategias masivas para el estudio funcional de los genes. Transcriptómica. Proteómica. Metabolómica. Micromatrices (microarrays) y matrices de proteínas. Proteómica estructural.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

Trabajos Prácticos de Aula:

1. Genética Mendeliana.
2. Estructura de los ácidos nucleicos, replicación y PCR.
3. Transcripción y Procesamiento de los ARNs.
4. Código genético y traducción.
5. Regulación de la expresión génica en procariontes.
6. Regulación de la expresión génica en eucariotes.
7. Técnicas de biología molecular.
8. Técnicas de Ingeniería Genética I: Herramientas de Ingeniería Genética
9. Técnicas de Ingeniería Genética II: Clonación y expresión en organismos eucariotes y procariontes.
10. Microarrays y herramientas bioinformáticas: transcriptómica
11. Técnicas inmunológicas y bioquímicas para el análisis proteómico.

Trabajos Prácticos de Laboratorio:

1. Extracción y purificación de ADN y ARN.
2. Métodos separativos en geles de agarosa
3. RFLP-PCR o tetraprimers
4. Práctico integrador: Producción, purificación y análisis de una proteína recombinante.

VIII - Regimen de Aprobación

EVALUACIÓN:

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 teóricas.
- b. Asistencia y aprobación del 100% de los trabajos prácticos de aula y de laboratorio.
- c. Se realizará una evaluación continua mediante la participación activa en clases.
- d. Aprobación de tres evaluaciones parciales, con carácter teórico-práctico y metodología combinada de opción múltiple y a desarrollar o proponer.
- e. Para mantener la promoción, el alumno no puede reprobar ninguno de los parciales en primera instancia.
- f. Evaluación integradora que puede consistir en un examen escrito opción múltiple, investigación bibliográfica o propuesta de un plan de trabajo.

La nota final surge del promedio de las diferentes notas obtenidas en parciales, prácticos de aula, laboratorio, trabajo final y concepto.

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 teóricas del 70%.
- g. Recuperaciones. El alumno tiene derecho a un máximo de 2 recuperaciones por parcial.

Los alumnos que no cumplan con los requerimientos de regularización serán considerados como libres.

No hay opción para rendir libre esta asignatura.

IX - Bibliografía Básica

- [1] Genética. Un enfoque Conceptual. B. A. Pierce. 5ta Ed. Ed Panamericana. 2016. ISBN: 978-84-9835-392-1.
- [2] Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética: Conceptos, Técnicas y Aplicaciones en Ciencias de la Salud. J. Luke & Herraéz, A. Ed. Elsevier. 2006. ISBN: 84-8174-505-7.
- [3] Gene Biotechnology. Wu, W. y cols. 2nd Ed. Editorial CRC Press.
- [4] Molecular Biotechnology: Principles and applications of recombinant DNA. B.R. Clark; J.J. Pasternak & Patten, C.L. 4ed. ASM Press. 2010. ISBN: 97-8155-814-98-4.
- [5] Recombinant Gene Expression. Reviews & Protocols. 2nd Ed. Blabas & Lorence. Humana Press. 2004. ISBN 1-58829-262-2.
- [6] Gene Cloning and DNA Analysis: An introduction. 2016. John Wiley and Sons. Ltd. ISBN: 978-1-119-07256-0.
- [7] Molecular cell Biology. Lodish, Berk, Keiser, Krieger, Bretscher, Ploegh, Amon & Scott. 7th ed. 2014. ISBN-13: 978-1464183393.
- [8] Recombinant DNA. J.D. Watson. 2nd Edición. Ed. Freeman, W.H. 1992. ISBN: 9780716722823
- [9] Principles of Gene Manipulation. S.B. Primrose and R.M. Twymann. 7th Edition. Blackwell Publishers. 2006. ISBN: 978-1-118-65388-3

X - Bibliografía Complementaria

- [1] Molecular Biology of the Gene. Fifth Edition. James D. Watson, Tania A. Baker, Stephen P. Bell, Alexander Gann, Michael Levine, Richard Losick. Editorial Panamericana. ISBN:978-84-7903-505
- [2] Genética. J.A. Griffiths. Editorial S.A. Mcgraw-Hill/Interamericana de España. ISBN: 9788448160913
- [3] RNA Methodologies: A laboratory Guide for isolation and characterization. R.E. Farrel Jr. 3rd ed. Ed. Elsevier Academic Press. 2005. ISBN. 0-12-249696-5.
- [4] Molecular Biology of the Gene. Watson, baker, Bell, Gann, Levine & Losick. 7ma Ed. Cold Spring harbor laboratories Press. 2014. ISBN-13: 978-0-321-76243-6
- [5] Genomas. T.A. Brown. 3rd ed. Ed. Medica Panamericana. 2008. ISBN: 978-950-06-1448-1.

XI - Resumen de Objetivos

- a. Introducir al alumno en conocimientos básicos de biología molecular.
- b. Introducir al alumno en la metodología del ADN recombinante y sus aplicaciones.
- c. Proveer al alumno de conocimientos prácticos sobre metodología del ADN recombinante,
- d. Estimular en el alumno la capacidad de interpretar y proponer experiencias sencillas de clonación y expresión de proteínas.

XII - Resumen del Programa

BLOQUE I: HERENCIA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN GÉNICA

UNIDAD 1: Introducción a la genética mendeliana

UNIDAD 2: Estructura, función y niveles de organización de la los ácidos nucleicos

UNIDAD 3: Replicación y reparación del ADN

BLOQUE II: FLUJO DE LA INFORMACIÓN GÉNICA

UNIDAD 4: Transcripción y procesamiento pos-transcripcional de los ARN

UNIDAD 5: Traducción

UNIDAD 6: Regulación de la expresión génica en procariotas

UNIDAD 7: Regulación de la expresión génica en eucariotas

BLOQUE III: ESTUDIO Y MANIPULACIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

UNIDAD 8: Aislamiento y análisis de los ácidos nucleicos

UNIDAD 9: PCR y marcadores moleculares

UNIDAD 10: Tecnología del ADN recombinante

BLOQUE IV: APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

UNIDAD 11: Aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante a la biotecnología

UNIDAD 12: Obtención y uso de plantas genéticamente modificadas

UNIDAD 13: Obtención y uso de animales genéticamente modificados

XIII - Imprevistos

La ejecución de los Trabajos Prácticos de Laboratorio estará supeditada a la disponibilidad de insumos para la ejecución de los mismos.

Para este curso se cuenta con la participación de:

La Dra Gladys Ciuffo y el Dr Gerardo Aguirre quienes dictan una clase relacionada a las aplicaciones de la Ingeniería Genética a la Biotecnología animal y vegetal, respectivamente.

El Dr Arturo Gomez Barroso dicta un Trabajo Práctico de Laboratorio referido a la expresión de una proteína recombinante en E. coli.

XIV - Otros

ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA	
	Profesor Responsable
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	