

Ministerio de Cultura y Educación Universidad Nacional de San Luis Facultad de Química Bioquímica y Farmacia Departamento: Bioquimica y Cs Biologicas Area: Biologia 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. To		Total		
120 Hs	60 Hs	20 Hs	40 Hs	

Tipificación	Periodo	
B - Teoria 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 metabolítos 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 telomeros, 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, acido 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. miroarrays, 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. Telomeros 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, Osker, Orthodenticle, Hunchback y su regulación por pumilo 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 microARNs.

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-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/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 mARN a partir de ARN total mediante cromatografía de afinidad y separación en geles de agarosa y/o poliacrilamida desnaturalizantes.
- 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 desnaturalizantes.
- Geles desnaturalizantes 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 dircto (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 Gograffe (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 reprobar 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 Bolg 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 - Bibliografia 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. 5ft 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. 1rst 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