



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 2015)  
 (Programa en trámite de aprobación)  
 (Presentado el 24/11/2015 10:45:45)

### I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA	LIC. EN BIOTECNOLOGÍA	10/12 -CD	2015	2° cuatrimestre

### II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
CIUFFO, GLADYS MARIA	Prof. Responsable	P.Tit. Exc	40 Hs
MARSA, SILVANA MARIEL	Prof. Colaborador	P.Adj TC	30 Hs
GOMEZ BARROSO, JUAN ARTURO	Auxiliar de Laboratorio	JTP Exc	40 Hs
MANZUR, MARIA JIMENA	Auxiliar de Laboratorio	JTP Exc	40 Hs

### III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
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
10/08/2015	20/11/2015	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 especies transgénicas 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 y sus aplicaciones biotecnológicas.

### 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.
- 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

**UNIDAD 1: ÁCIDOS NUCLEICOS**  
 Estructura del ADN. Topología del ADN. Tautomería de las bases. Tipos de ADN. Desnaturalización y renaturalización. Estructura del ARN. Genes. Genomas; diferentes tipos (procariotas, eucariotas nucleares y de organelas), características diferenciales. Cromosomas; definición y diferentes tipos. Plásmidos. Genomas de fagos y virus. 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. Interacciones ADN proteínas en los centrómeros y los telómeros. Organización de los genes en el genoma nuclear. Familias de genes. Arquitectura interna del núcleo eucarionte.

## **UNIDAD 2: REPLICACIÓN Y REPARACIÓN DEL ADN**

Síntesis del ADN. Mecanismo de las ADN polimerasas. Diferentes ADN polimerasas. Horquilla de replicación. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas. Replicación de ADN de organelas. Iniciación de la duplicación del ADN. Selección y activación del origen por la proteína iniciadora. Regulación de la iniciación de la replicación. Elongación de la replicación. Terminación de la replicación. Mantenimiento de los extremos de una molécula de ADN lineal, Telomerasa. Lesiones del ADN. Reparación. Reparación por escisión. Corrección de errores de replicación. Reparación de roturas del ADN.

## **UNIDAD 3: EXPRESIÓN Y REGULACIÓN GÉNICA EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS**

Estructura de genes procariota y eucariotas (promotores, enhancers, silenciadores, exones e intrones). Transcripción y traducción. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas: procesamiento de ARNm (cap 5', empalme de exones, poliadenilación). Control de la expresión génica. Diferentes niveles de regulación: transcripción, estabilidad del ARNm, procesamiento del ARNm, degradación del ARNm (silenciamiento post-transcripcional), regulación de la traducción. Regulación coordinada de genes procariotas (operones). Operón lac (regulación positiva y negativa). Operón triptófano. Atenuación. El bacteriófago Lambda (represores y activadores de la transcripción). Mecanismos de regulación epigenética: metilación del ADN. Acetilación de histonas. Impronta genómica. Empalme (splicing) alternativo de exones. Dominios de unión ADN-proteína. Factores de transcripción: intensificadores y silenciadores.

## **UNIDAD 4: AISLAMIENTO Y ANÁLISIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS**

Métodos de obtención de ADN y ARN. Determinación de la concentración y pureza del ADN y ARN. Purificación de ADN total, genómico, plasmídico. Purificación de ARN total, ARNm, microARNs, etc. Electroforesis en geles desnaturizantes y no desnaturizantes. Detección mediante sondas específicas. Southern Blot y Northern Blot. Hibridación in situ. Principales aplicaciones. 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. RFLP. Secuenciación de ADN; método dideoxinucleotidos (Sanger), automática y de nueva generación (Next Generation Sequencing; NGS).

## **UNIDAD 5: MARCADORES MOLECULARES**

Marcadores moleculares clásicos. Isoenzimas. 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.

## **UNIDAD 6: TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE**

Tecnología del ADN recombinante. ¿Cómo y para qué construir el ADN quimérico? Enzimas de restricción y modificación del ADN. Clasificación de Enzimas de Restricción. Usos de las mismas. Enzimas de Tipo II. Aplicaciones. Condiciones experimentales. Polimerasas. Polimerasas ADN-dependiente. ADN Polimera I, fragmento Klenow, Polimerasa T7 (sequenasa), otras polimerasas. Características. Aplicaciones. Polimerasas ADN-independiente: transferasa terminal. Ligasas. RNA-Polimerasas. Transcriptasa reversa. Usos y aplicaciones. Plásmidos y Vectores. Características. Proceso de clonado. Ligación. Concepto de ADN recombinante.

## **UNIDAD 7: APLICACIONES de la TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE**

E. coli como herramienta. Transformación. Selección de clones recombinantes. Vectores de clonado plasmídicos. Vectores de clonación bacteriofágicos. Características. Vectores de expresión. Requerimiento de un buen sistema de expresión. 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. Cósmidos, cromosomas artificiales BACs y YACs. 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. Cromosomas artificiales de levaduras (YACs). Producción de proteínas recombinante. Sistemas de producción.

## **UNIDAD 8: OBTENCIÓN Y USO DE PLANTAS MODIFICADAS GENETICAMENTE**

Introducción de material genético exógeno en plantas. 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 9: OBTENCIÓN Y USO DE ANIMALES MODIFICADOS GENETICAMENTE**

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.

## **UNIDAD 10: GENÓMICA Y PROYECTOS GENÓMICOS**

Mapeo y secuenciación de genomas. Estrategias “shotgun”, “clone by clone” e híbridas. Aplicación de la secuenciación masiva a genómica. Genómica funcional; estrategias masivas para el estudio funcional de los genes. Transcriptómica. Proteómica. Metabolómica.

## **VII - Plan de Trabajos Prácticos**

Trabajos Prácticos de Laboratorio:

- Extracción y purificación de ADN y ARN a partir de células procariotas y eucariotas.
- PCR y RFLP.
- Análisis de VNTRs humanos como marcadores moleculares.
- Transformación, selección y clonado.
- Producción, purificación de proteína recombinante.

Trabajos Prácticos de Aula: Bioinformática, uso de enzimas de restricción, vectores.

## **VIII - Regimen de Aprobación**

Regularidad:

- \_ Aprobación de parciales con 60% o más (tres recuperatorios).
- \_ Trabajos Prácticos.
- \_ Examen Final a programa abierto.

Libre:

- \_ Examen sobre trabajos prácticos.
- \_ Examen Final a programa abierto.

## **IX - Bibliografía Básica**

[1] -Genética. J.A. Griffiths . Editorial S.A. Mcgraw-Hill/Interamericana de España. ISBN: 9788448160913

[2] -Genomas. Tercera Edición. Brown. Editorial Panamericana. ISBN: 978-950-06-1448-1. Disponible on line en:

[3]

<https://books.google.com.ar/books?id=4tYIcM0dsBwC&printsec=frontcover&dq=gen%C3%B3mica+Brown&hl=es&sa=X&ved=0ahUKewjK9orlkKfJAhWCNpAKHdLLBI4Q6wEIGzAA#v=onepage&q=gen%C3%B3mica%20Brown&f=false>

[4] - 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

[5] - Principles of Gene Manipulation. Seventh Edition. Primrose and Twymann. ISBN: 978-1-118-65388-3 Disponible online en:

[6]

<https://pharmareview.files.wordpress.com/2015/04/principle-of-gene-manipulation-and-genomics-by-sandy-b-primrose-richard-twyman.pdf>

[7] -Recombinant DNA. Second Edition. James D. Watson. ISBN: ISBN 0-7506-1511-7.

## **X - Bibliografía Complementaria**

## **XI - Resumen de Objetivos**

- Introducir al alumno en conocimientos básicos de biología molecular.
- Introducir al alumno en la metodología del ADN recombinante y sus aplicaciones.
- 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.

## **XII - Resumen del Programa**

Unidad 1: Ácidos Nucleicos  
Unidad 2: Replicación y Reparación del ADN  
Unidad 3: Expresión y Regulación Génica en Procariotas y Eucariotas  
Unidad 4: Aislamiento y Análisis de Ácidos Nucleicos  
Unidad 5: Marcadores Moleculares  
Unidad 6: Tecnología del ADN Recombinante  
Unidad 7: Aplicaciones de la Tecnología del ADN Recombinante  
Unidad 8: Obtención y Uso de Plantas Modificadas Genéticamente  
Unidad 9: Obtención y Uso de Animales Modificados Genéticamente  
Unidad 10: Genómica y Proyectos Genómicos

## **XIII - Imprevistos**

## **XIV - Otros**

<b>ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA</b>	
	<b>Profesor Responsable</b>
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	