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 2016)
(Programa en trámite de aprobación)
(Presentado el 15/09/2016 14:21:39)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA	LIC. EN BIOTECNOLOGÍA	10/12 -CD	2016	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
RAMIREZ, DARIO CEFERINO	Prof. Responsable	P.Adj Exc	40 Hs
CIUFFO, GLADYS MARIA	Prof. Colaborador	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

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	**Teóricas**	**Prácticas de Aula**	**Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.**	**Total**
4 Hs	Hs	2 Hs	2 Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoria con prácticas de aula y laboratorio	2º Cuatrimestre

Duración			
Desde	**Hasta**	**Cantidad de Semanas**	**Cantidad de Horas**
09/08/2016	19/11/2016	15	120

IV - Fundamentación

El conocimiento de la estructura, función y flujo de la información genica de los organismos es la base esencial para luego aproximarse a la tecnología del ADN recombinante. Por ello este curso proveerá al alumno los conceptos y herramientas básicas de biología molecular para entender e intervenir en la genética de los organismos con fines biotecnológicos. Se pondrá incapie en el uso sustentable y eficiente de las técnicas de manipulación del genoma de los organismos para mejorar productos y servicios.

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

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.

UNIDAD 2: 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 desnaturalizantes y no desnaturalizantes. Detección mediante sondas específicas. Southern Blot y Northern Blot. Hibridación in situ. Principales aplicaciones. Secuenciación de ADN; método didesoxidinucleotidos (Sanger), automática y de nueva generación (NextGenerationSequencing; NGS).

UNIDAD 3: 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 4: 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. Impronta genómica. Empalme (splicing) alternativo de exones. Dominios de unión ADN-proteína. Factores de transcripción: intensificadores y silenciadores.

UNIDAD 5: 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 polimorfirmos por PCR. RFLP. 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.Polimerasa 1, 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. Integracion 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 (stemcells): 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 PRACTICOS DE AULA:
Estructura de DNA y RNA
Replicación
Transcripción y Traducción
Regulación de la expresión génica
Análisis de proteínas

TRABAJOS PRACTICOS DE LABORATORIO:
Extracción y purificación de ADN. Métodos separativos en geles de agarosa
PCR- Análisis en geles de agarosa.
Práctico integrador: Producción y purificación de una proteína recombinante.

VIII - Regimen de Aprobación

PROMOCION

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.

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

REGULARIZACION

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 recuperaciones por parcial.

IX - Bibliografía Básica

[1] Pierce, BA. Genética: Un Enfoque Conceptual. 2016. 5th ed. ED Medica Panamericana. ISBN: 978-84-9835-392-1.
[2] Biología Molecular de la Célula. Lodish-4ta.ed. 2003.
[3] Recombinant DNA. Watson y col .2nd Edición (1992).
[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] Genética. J.A. Griffiths . Editorial S.A. McGraw-Hill/Interamericana de España. ISBN: 9788448160913
[6] Genomas. Tercera Edición. Brown. Editorial Panamericana. ISBN: 978-950-06-1448-1
[7] Principles of Gene Manipulation. Seventh Edition. Primrose and Twymann. ISBN: 978-1-118-65388-3

X - Bibliografia Complementaria

[1] Glick, BR; Posternak, JJ & Patten, CL. 2010. 4th ed. Molecular Biotecnology. Principles and Applications of Recombinant DNA. ED: ASM Press. ISBN: 978-1-55581-498-4.
[2] Animal Biotecnology: Models in Discovery and Translation. 2014. (doi:10.1016/B978-0-12-416002-6.01001-4). Verna & Singh. Academic Press. ISBN-13: 9780123914347
[3] Animal Cell Biotecnology in Biologics Production. 2014. Ed. by Hauser, Hansjörg / Wagner, Roland. ISBN 978-3-11-027896-5.
[4] Animal Biotecnology. Shenoy M. 2007. LAXMI Publications Ltd. New Delhi. India

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: PCR y 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

La ejecución de los Trabajos Prácticos de Laboratorio estará siperditada a la disponibilidad de los reactivos necesarios.

Dada la diversidad de temas y para una efectiva ejecución de este programa se solicitará la colaboración de los siguientes docentes del Area Biología Molecular:
Lic. Maria Cecilia Della Vedova (dictado de 2 TP de laboratorio)
Dr. Gerardo Aguirre (dictado de 3 clases teórico-práctico)
Dra Maria Belen Torres Basso (Dictado de un TP de laboratorio y un taller de bioinformática)
Dra Emilse Sanchez (dictado de un TP de aula)

XIV - Otros

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