



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 2019)
 (Programa en trámite de aprobación)
 (Presentado el 03/07/2019 12:56:03)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
FISIOLOGÍA MOLECULAR	LIC. EN BIOLOGÍA MOLECULAR	15/14 -CD	2019	1° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
CIUFFO, GLADYS MARIA	Prof. Responsable	P.Tit. Exc	40 Hs
AGUIRRE, GERARDO ULISES	Prof. Colaborador	P.Adj Simp	10 Hs
RAMIREZ, DARIO CEFERINO	Prof. Colaborador	P.Adj Exc	40 Hs
ARCE, MARIA ELENA	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs
BLANCO, HELGA MYRNA	Auxiliar de Laboratorio	CONTRATO	10 Hs
FALCON, CRISTIAN ROBERTO	Auxiliar de Laboratorio	A.1ra Semi	20 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
120 Hs	60 Hs	30 Hs	30 Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoría con prácticas de aula y laboratorio	1° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
18/03/2019	28/06/2019	15	120

IV - Fundamentación

La genómica funcional es un campo de la biología molecular que propone usar la gran cantidad de datos proporcionados por los proyectos genómicos y transcriptómicos para describir funciones e interacciones entre genes y proteínas. La genómica funcional se centra en los aspectos dinámicos, como la transcripción de genes, la traducción, la regulación de la expresión génica y las interacciones proteína-proteína, a diferencia de los aspectos estáticos de la información genómica, como la secuencia de ADN o las estructuras. Los organismos responden a condiciones de su entorno a los efectos de dar las respuestas adecuadas. En organismos superiores, la expresión diferencial de genes está cuidadosamente programada permitiendo tener células diferenciadas con funciones bien definidas y específicas, capaces de responder o adaptarse a los cambios ambientales. 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. Durante el desarrollo se debe cumplir un intrincado programa de expresión espacio-temporal de genes que permite definir los ejes corporales y destino celular.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

1. Comprender que las respuestas fisiológicas, los programas de desarrollo y las funciones celulares dependen de redes

complejas de interacciones a diferentes escalas y niveles.

2. 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.
3. Comprender y manejar los diferentes modelos de estudio de los procesos biológicos y la lógica de su lección.
4. Adquirir entrenamiento en el uso de diversos modelos experimentales con la comprensión de los mecanismos moleculares de los diferentes procesos fisiológicos.
5. Estudiar el control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
6. Capacitar al alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
7. Promover en el alumno el análisis y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.

VI - Contenidos

TEMA 1: Fisiología Molecular y Genómica Funcional. Aplicaciones. Herramientas de la Genómica Funcional. Biología de Sistemas: Genómica, transcriptómica, proteómica, interactoma, metaboloma. Herramientas: DNA-seq, RNA-seq, Microarreglos, Chip-seq, Bases de Datos, modelos bioinformáticos. Fisiología celular: propiedades celulares. Exosomas.

TEMA 2: Organización del genoma. 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. Estrategias para la secuenciación del genoma. EL Proyecto del genoma humano. Secuenciación de alto rendimiento. Reconstrucción de contigs. Secuenciación del Exoma.

TEMA 3: Modelos en Biología. Uso de modelos en Biología: Modelos unicelulares, preparaciones tisulares. Cultivo de células: fraccionamiento subcelular, micropunch, cortes de tejido, órganos. Cultivo de tejidos: cultivo primario, cultivo secundario. Modelos de insectos. Huevos como modelo. Animales de experimentación. Modelos de animales transgénicos.

TEMA 4: Ciclo celular. Etapas del ciclo celular. Control de la división celular. Modelos usados para el estudio del ciclo celular. Levaduras como modelo. Regulación de la transición G2/M. El activador de la fase S. 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.

Mecanismos protectores frente al daño de ADN. Proteína antitumoral: p53. Control de la división celular en organismos multicelulares. Mecanismos de división celular en organismos multicelulares: factores de crecimiento.

TEMA 5: 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.

TEMA 6: Elementos genéticos que controlan la expresión génica. Factores que regulan la expresión génica: agentes trans y cis activantes. Genes y secuencias que lo
flanquean. Enhancers y su especificidad tisular. 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. Regulación en procariotes. Organización en operones. El represor lac como modelo de estudio. 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. Regulación de la

respuesta al estrés oxidativo en bacterias: el sistema OxyR and SoxRS.

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 hélice-turn-hélice.

Regulación en eucariotas. Estructura del gen eucariota. Papel de enhancers, mediadores, aislantes y reguladores a distancia. Motivos hélice-loop-hélice, cierre de leucina y motivos de dedos de zinc. Reconocimiento específico de bases del ADN a secuencias y estructuras proteicas. Ejemplos. Homodímeros y heterodímeros de cierre de leucina. Proto-oncogenes. Elemento AP1, motivos cierre de leucina, c-fos, c-jun y familia de proteínas. Interacción de ADN con receptores complejos de esteroides, tiroideos y ácido retinoico. La superfamilia de los receptores esteroidales. Estructura del dominio y función. Subdominio. Interacciones ADN-receptor; especificidad de secuencia y reconocimiento. Elementos respuesta a SP1, la familia AP2. La familia de proteínas NusG, motivo β -barrel.

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). Métodos de secuenciación de alto rendimiento. CHIP-seq.

TEMA 9: Fisiología molecular de la respuesta celular al estrés: Regulador maestro de la inflamación (TNF- α y LPS), metabólico (ácidos grasos libres), la hipoxia, estrés del retículo endoplásmico (alteración de la composición y plegamiento de proteínas), estrés hídrico (en vegetales), y el estrés oxidativo (biología redox). Sensor (receptores y otros sensores), vías de señalamiento (MAPK y MKP), regulador maestro (NF- κ B/AP1, HIF, Nrf1/2, XBP), genes bajo su control y efectos funcionales. Aspectos teórico-práctico para su estudio.

TEMA 10: Fisiología molecular en vegetales. Expresión génica en plantas. Generalidades: polimerasas; factores de transcripción; condensación de la cromatina y regulación; mecanismos epigenéticos. Regulación molecular del desarrollo reproductivo. Inducción de la floración y foto-periodo en plantas. Receptores - Fotoreceptores: generalidades. Fitocromo. Florígeno. Genes que regulan la floración. Vernalización y regulación genética.

TEMA 11. Estructura de la cromatina. Papel de las histonas en la regulación de la expresión génica. El complejo SWI/SNF como remodelador de la cromatina, dominio ATPasa. Histonas acetilasas (HAT) y desacetilasas (HDAC), metilación, fosforilación. Formación de complejos transcripcionales. Metilación del ADN e 'imprinting'. Factores que modifican la estructura de la cromatina y su rol epigenético.

TEMA 12: 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. HIV como modelo de estudio. Estrategias para identificar elementos respuesta en el ARNm. Aislamiento de proteínas con propiedad de binding al ARN.

TEMA 13: 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 14: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores. Movimientos

morfo genéticos y mapa corporal. Centro organizador de Spemman. Células madre embrionarias o stem cell. Usos en
La generación de animales knock-out. Concepto e importancia de las células madres y nicho de células madres. Totipotencia, pluripotencia, multipotencia. Diferenciación, de-diferenciación y trans-diferenciación celular: importancia en medicina molecular. Inducción artificial de la plenipotencia: Células pluripotentes inducidas (iPSC) y factores de transcripción involucrados e importancia biológica.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

Plan de Trabajos Prácticos Laboratorio

- Bioseguridad en el laboratorio.
- Estudio del proceso de diferenciación neuronal en células neuroblastoma. a. Manejo de cultivo celular. b. Evaluar el efecto del ácido retinoico sobre la diferenciación a neuronas de células de neuroblastoma. c. Adquirir entrenamiento en la observación del proceso de neuritogénesis.
- Respuesta celular al estrés. a. Estimulación de macrófagos con LPS. b. Evaluación de la activación de iNOS por Western blot. c. Determinación de la formación de NO, por reacción de Griess.
- Localización y expresión del receptor de Angiotensina II AT2 en un modelo de Parkinson. a. Introducir al alumno en el conocimiento de un modelo experimental de enfermedad de Parkinson. b. Ubicar anátomo-histológicamente la Substantia nigra en cerebro de rata. c. Obtener cortes histológicos, identificando el nivel de corte del cerebro mediante un atlas estereotaxico, en crióstato. d. Realizar ensayos de inmunofluorescencia en los cortes de tejido obtenidos.
- Identificación del polimorfismo M235T de Angiotensinogeno por PCR-RFLP en pacientes hipertensos. a. Manejar conceptos de estudio poblacional. b. Determinar la presencia del polimorfismo M235T del Angiotensinógeno en pacientes hipertensos y controles por PCR-RFLP. c. Evaluar los resultados.

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 reprobado 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 Celular y Molecular. Lodish y col. 7ma.ed.Médica Panamericana (2016).
- [2] 2. Recombinant DNA. Watson y col. 2nd Edición (1992).
- [3] 3. Molecular Biology of the Gene. Watson y col. 7ma. Ed. Interamericana (2014).
- [4] 4. Eukaryotic transcription factors- Lachman- 4ta. Ed. (2004).
- [5] 5. Genética- Griffiths y col- Interamericana-Mc Grauw Hill (2002).
- [6] 6. Principios de desarrollo. Wolpert J y col. 3era Ed. Médica Panamericana (2010)
- [7] 7. Biología del Desarrollo. Gilbert. 7ma. Edición. Médica Panamericana (2005).

X - Bibliografía Complementaria

- [1] 1. RNA-protein interactions.- Nagai y col.- Oxford 1994.
- [2] 2. Folletos explicativos de métodos de estudio de la interacción DNA-proteína. Protocols & Applications Guide. Promega Corporation.2nd Ed.
- [3] 3. Seminarios: selección de publicaciones de revistas internacionales para su análisis.
- [4] 4. Gomes L.H.F., Alves-Ferreira M., Carels N. (2015) Functional Genomics. In: Bahadur, Venkat Rajam, Sahijram L. (eds) Plant Biology and Biotechnology. Springer.
- [5] 5. Bunnik EM Le Roch KG. Adv Wound Care (New Rochelle). 2013 Nov;2(9):490-498. An Introduction to Functional Genomics and Systems Biology.
- [6] 6. Gasperskaja E, Kučinskas V . Acta Med Litu. 2017; 24(1):1-11.The most common technologies and tools for functional genome analysis.

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. Fisiología Molecular y Genómica Funcional.
- TEMA 2. Organización del genoma.
- TEMA 3. Modelos en Biología
- TEMA 4. Ciclo celular. Regulación molecular.
- TEMA 5. Mitosis. Regulación molecular de la mitosis y citocinesis.
- TEMA 6. Elementos genéticos que controlan la expresión génica. Regulación en procariotas.
- TEMA 7. La interacción ADN- proteína. Regulación en eucariotas.
- TEMA 8. Métodos de estudio de la regulación génica.
- TEMA 9. Fisiología molecular de la respuesta celular al estrés.
- TEMA 10. Fisiología molecular en vegetales.
- TEMA 11. Estructura de la cromatina y control transcripcional.
- TEMA 12. Regulación a nivel post-transcripcional. Interacciones ARN-proteínas.
- TEMA 13. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosófila como modelo de estudio.
- TEMA 14. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores.

XIII - Imprevistos

La concreción de los Trabajos Prácticos dependerá del adecuado funcionamiento de los equipos del área.

NOTA: EL PRÁCTICO NRO. 4 DE LABORATORIOS SE REALIZA CON PARTICIPACION DE LA PASANTE MA. MILAGROS CORREA.

XIV - Otros

--

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