



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

(Programa del año 2020)
(Programa en trámite de aprobación)
(Presentado el 03/04/2024 20:51:07)

I - Oferta Académica

| Materia | Carrera | Plan | Año | Período |
|---------------------|----------------------------|--------------|------|-----------------|
| BIOQUIMICA AVANZADA | LIC. EN BIOLOGÍA MOLECULAR | 15/14 -CD | 2020 | 1° cuatrimestre |

II - Equipo Docente

| Docente | Función | Cargo | Dedicación |
|-------------------------|-------------------------|------------|------------|
| ALVAREZ, SERGIO EDUARDO | Prof. Responsable | P.Adj Simp | 10 Hs |
| CIUFFO, GLADYS MARIA | Prof. Colaborador | P.Tit. Exc | 40 Hs |
| SEGUIN, LEONARDO ROQUE | Responsable de Práctico | JTP Exc | 40 Hs |
| ZARATE, JUAN MANUEL | 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 |
| 6 Hs | Hs | Hs | 2 Hs | 8 Hs |

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

| Duración | | | |
|------------|------------|---------------------|-------------------|
| Desde | Hasta | Cantidad de Semanas | Cantidad de Horas |
| 11/03/2020 | 19/06/2020 | 15 | 120 |

IV - Fundamentación

El presente curso está destinado a alumnos de 4to año de Lic. en Biología Molecular. Tiene como finalidad comprender mecanismos celulares y moleculares relevantes en la fisiología celular tanto en condiciones normales como patológicas, con especial énfasis en procesos de reconocimiento y la respuesta de las células a estímulos provenientes del medio ambiente. En una primera fase del curso se examinarán los procesos de interacción hormona-receptor y droga-receptor desde el punto de vista bioquímico y farmacológico. Se analizan diferentes metodologías relacionadas a la caracterización bioquímica de los receptores, el estudio de la interacción ligando-receptor y de sus mecanismos de transducción. Finalmente se estudiarán mecanismos de recepción del mensaje y transducción del mismo al medio intracelular siempre en el contexto de procesos fisiológicos de relevancia como proliferación y crecimiento celular, apoptosis, estrés oxidativo, inflamación y cáncer. Los temas teóricos serán integrados mediante la lectura y el análisis de artículos de investigación relevantes. El curso tiene una modalidad teórico-práctica, con activa participación de los alumnos, a través de seminarios y discusión de problemas. Los Trabajos Prácticos de laboratorio, requieren de una modalidad en un módulo compacto de 30 hs, que se dictan en una semana dedicada exclusivamente a la práctica.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

1. Permitir que el alumno comprenda los procesos de reconocimiento y su importante rol en el funcionamiento del organismo.
2. Capacitar al alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los

mismos.

3. Capacitación experimental del alumno en técnicas de laboratorio de uso común en el estudio de mecanismos de transducción de señal.

4. Lograr que el alumno integre los mecanismos moleculares dentro del contexto global de procesos fisiopatológicos importantes para el funcionamiento celular.

VI - Contenidos

Programa Desarrollado

TEMA 1. El reconocimiento molecular en procesos bioquímicos. Interacción hormona-receptor, droga-receptor, enzima-sustrato, DNA-proteína de binding, etc. Procesos físico-químicos que determinan el reconocimiento molecular. Tipos de energías de interacción que participan en los procesos mencionados.

TEMA 2. Técnicas bioquímicas de uso común del laboratorio bioquímico. Métodos separativos: filtración por tamices moleculares. Cromatografía por intercambio iónico. Cromatografía de afinidad. Ultrafiltración. Solubilización y determinación de concentración de proteínas.

TEMA 3. Principios de separación y aplicaciones. SDS-PAGE. Separación de proteínas. Western e inmunoblotting para la identificación de proteínas. Inmunoprecipitación como método de análisis, identificación y purificación de proteínas. Pull down. Ultra centrifugación. Aplicaciones.

Métodos de importancia en Biología Molecular. Proteómica: MALDI-TOF. RNA de interferencia: Aplicaciones

TEMA 3. Receptores. Concepto de receptores. Propiedades del receptor biológico. Teoría de receptores. Curva de saturación. Gráfico de Scatchard. Interpretación de resultados experimentales. Estimación del Kd y N. Significado de los sitios de binding. Cinética del binding de receptores Curvas de asociación-disociación. Estimación del Kd a partir del estudio cinético. Estudios de competencia: curvas de desplazamiento. Estimación de IC50 y Ki. Métodos de estudio y análisis de resultados.

TEMA 4. Receptores de membrana: aspectos prácticos del estudio de receptores de membrana. Métodos de preparación. Ensayo de binding. Métodos de separación del ligando 'libre' del ligando 'unido'. Solubilización de receptores. Aspectos experimentales. Caracterización bioquímica y molecular de los receptores. Análisis de casos. Resolución de problemas.

TEMA 5. Clasificación de los receptores sobre la base de su estructura y mecanismos de transducción. Estructura de los receptores y mecanismos de transducción. Diferentes tipos de señales según el tipo de receptor. Receptores acoplados a canales iónicos. Receptores acoplados a proteína G (GPCRs). Receptores con propiedades autocatalíticas.

TEMA 6. Proteínas G. Diferentes tipos de proteína G y su acoplamiento. Control dual de la adenilato ciclasa. Acoplamiento a la adenilato ciclasa vía la subunidad α_s (estimuladora) o α_i (inhibitoria). Activación de proteína quinasa A (PKA).

TEMA 7. Modelos de receptor. Modelo de dos estados del receptor y modelo de tres estados. Mutantes CAM: mutantes constitutivamente activadas. Significado biológico de las mismas. Situaciones patológicas. Resolución de problemas. Regulación 'up' y 'down' del número de receptores. Desensibilización.

TEMA 8. Mensajeros intracelulares: formas de acoplamiento, señalización intracelular y sus métodos de estudio. Ensayos in vitro o in vivo para el estudio de la respuesta biológica. Metabolismo de inositol fosfato como respuesta a la activación de receptores. Recambio de fosfolípidos. Proteínas G involucradas. Diferentes niveles de regulación. Activación de proteínas quinasas por DAG (diacilglicerol). Movilización de iones Ca^{++} y activación de proteína quinasa C. Mecanismos asociados a proliferación: PI3K y AKT.

TEMA 9. Receptores autocatalíticos. Autofosforilación y proteínas tirosina quinasas. Mecanismos de fosforilación y defosforilación de proteínas. Activación de tirosina quinasas. Estructura del dominio catalítico. Proteínas tirosina fosfatasas. Cascadas de proteínas fosforiladas y activación de MAP quinasas. Dominios de unión a fosfoproteínas. Mutantes constitutivamente activos y dominantes negativos. Cross-talk entre receptores.

TEMA 10. Receptores asociados a enzimas. Receptores de citoquinas y activación de la vía JAK-STAT. Receptores de TGFB y las proteínas Smad. Relación con procesos de desarrollo y regulación génica. Interacción en la activación de diferentes proteínas quinasas. Receptores de histidina quinasa en plantas.

TEMA 11. Muerte celular programada: Apoptosis. Necrosis vs apoptosis. Morfología. Mecanismos intrínsecos y extrínsecos. Señalización: Caspasas; citocromo C. Métodos de estudio. Anexina-Ioduro de propidio.

TEMA 12: Estrés oxidativo. Especies reactivas: ¿cómo se generan?. Peroxidasa, NADPH oxidasa. Antioxidantes: Superoxido dismutasa, catalasa, glutatión. Peroxidación de macromoléculas: lípidos, DNA y proteínas. Relación con diversos procesos fisiopatológicos: apoptosis, cáncer, hipoxia. El NO como intermediario en la transducción de señales. Interrelación entre distintas células mediada por la formación de NO. Estrés del retículo endoplásmico. Especies reactivas y enfermedades inflamatorias. Métodos para detectar radicales libres.

TEMA 13: Cáncer e inflamación. Características básicas. El factor NF-kB como regulador de ambos procesos. Vía clásica vs vía alternativa. Ubiquitinación. Métodos de estudio. Microambiente tumoral. Mecanismos de resistencia: paradoja de las

VII - Plan de Trabajos Prácticos

La guía de Trab. Pcos. contiene las medidas de seguridad para trabajar en el laboratorio.

1. Ensayo de binding- Práctico mostrativo con soluciones simuladas.
2. Práctico de Bioinformática: búsqueda bibliográfica a través de la Medline.
3. Ultrafiltración: Filtros microcon
4. Preparación de membranas a partir de tejido de rata.
5. Solubilización de proteínas.
6. Determinación de la concentración de proteínas mediante absorbancia a 280 nm y mediante la metodología de Bradford.
7. Ensayos de fosforilación de proteínas
8. Separación de proteínas mediante SDS-PAGE.
9. Transferencia de proteínas a una membrana de nitrocelulosa o PVDF.
10. Reconocimiento de proteínas tirosina fosforiladas mediante Western blot.

SEMINARIOS: se propondrán seminarios de discusión de trabajos de reciente publicación sobre los temas desarrollados durante el curso de las revistas Cell, J.Biol. Chem., Nature u otros de interés para el desarrollo del curso.

Es importante mencionar que la realización de los trabajos prácticos propuestos depende de la disponibilidad de fondos asignados al Área de Biología Molecular y a la asignatura en particular.

VIII - Regimen de Aprobación

EVALUACION: Se propone una evaluación continua del curso con posibilidad de 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 del alumno a través de su participación en clase, evaluaciones y mediante seminarios a presentar por los alumnos.
- c. Aprobación de tres evaluaciones parciales, con carácter teórico- práctico. Incluye resolución e interpretación de figuras y problemas combinada con preguntas de opción múltiple.
- d. Para mantener la condición de alumno promocional, los parciales deben ser aprobados en primera instancia.
- e. Aprobación de los trabajos prácticos de laboratorio, los cuales tienen el carácter de irrecuperables por sus características y el costo de los mismos.
- f. Evaluación integradora que puede consistir en un seminario final, investigación bibliográfica o propuesta de un plan de trabajo y seminario, determinado por el profesor oportunamente.

Para alumnos regulares:

Se deben cumplir los requisitos anteriores, a excepción del f, con las siguientes modificaciones:

- a. Asistencia requerida 70%.
- b. Régimen de recuperaciones: de acuerdo a las ordenanzas vigentes.

Examen para alumnos regulares

- a. Se enviará al alumno un "paper" relacionado a temas de la asignatura 48 hs antes del examen. El alumno deberá prepararlo y exponerlo. El examen además incluye una integración con diversos temas de la asignatura.

Examen para alumnos libres

Se usará la misma metodología que para alumnos regulares con el siguiente agregado:

- a. Previo al examen, el alumno deberá rendir y aprobar los tres parciales y un coloquio sobre el trabajo práctico de laboratorio

IX - Bibliografía Básica

[1] [1] 1. Biología Molecular de la Célula - 3ra. Edición. Autores: Albert y col.

[2] [2] 2. Recombinant -DNA- 2nd. Edition. Autores: Watson, J.D, Gilman, M., Witkowski, J. and Zoller, L Editorial: Scientific

[3] American Books-.

[4] [3] 3. Biología Celular y Molecular- Lodish, y col. 4ta. Ed. 2003.

[5] [4] 4. G-proteins as mediators of cellular signalling processes. M.D. Houslay and G. Milligan.

[6] [5] 5. Receptor-effector coupling. Hulme E.C.(Ed.). IRL Press

[7] [6] 6. Receptor-Ligand interactions. A practical approach. Hulme E.C. (Ed.) IRL Press
[8] [7] 7. Protein purification. A practical approach. IRL Press
[9] [8] 8. Affinity Chromatography. Pharmacia.

X - Bibliografía Complementaria

[1] [1] 1. Phosphatases in Cell metabolism and signal transduction. Vincent J.B. y Crowder, M.W. Springer-Verlag, Germany.
[2] 1995.
[3] [2] 2. Revistas como Cell, Nature, J. Biol. Cell, Science y PNAS entre otras. Publicaciones periódicas de donde se elegirán
[4] los seminarios.

XI - Resumen de Objetivos

1. Permitir que el alumno comprenda los procesos de reconocimiento y su importante rol en el funcionamiento del organismo.
2. Capacitar al alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
3. Capacitación experimental del alumno en técnicas de laboratorio de uso común en el estudio de mecanismos de transducción de señal.
4. Lograr que el alumno integre los mecanismos moleculares dentro del contexto global de procesos fisiopatológicos importantes para el funcionamiento celular.

XII - Resumen del Programa

TEMA 1. El reconocimiento molecular en procesos bioquímicos.
TEMA 2. Técnicas bioquímicas de uso común del laboratorio bioquímico.
TEMA 3. Principios de separación y aplicaciones.
TEMA 3. Receptores.
TEMA 4. Receptores de membrana.
TEMA 5. Clasificación de los receptores.
TEMA 6. Proteínas G.
TEMA 7. Modelos de receptor.
TEMA 8. Mensajeros intracelulares.
TEMA 9. Receptores autocatalíticos.
TEMA 10. Receptores asociados a enzimas.
TEMA 11. Muerte celular programada.
TEMA 12: Estrés oxidativo.
TEMA 13: Cáncer e inflamación.

XIII - Imprevistos

La programación podría verse afectada en caso de huelgas o enfermedad de docentes.
La realización de los Trabajos Prácticos está condicionada a la disponibilidad de recursos.
En este año (2020) la pandemia COVID-19 impidió la realización de trabajos prácticos. Las clases y seminarios se llevaron a cabo con la modalidad virtual

XIV - Otros

ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA

Profesor Responsable

Firma:

Aclaración:

Fecha: