



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)

### I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA	LIC. EN BIOTECNOLOGÍA	7/17-CD	2020	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. Co-Responsable	P.Adj TC	30 Hs
SEGUIN, LEONARDO ROQUE	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs
FALCON, CRISTIAN ROBERTO	Auxiliar de Práctico	A.1ra Simp	10 Hs

### III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
9 Hs	7 Hs	2 Hs	Hs	9 Hs

Tipificación	Periodo
C - Teoría con prácticas de aula	2° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
22/09/2020	18/12/2020	13	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 con fines de mejorar la producción de bienes, propiedades de seres vivos y servicios biotecnológicos mediante la Tecnología del ADN Recombinante.

### 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.
- Introducir a los alumnos a las estrategias para la obtención y el uso de los organismos genéticamente modificados.
- Estimular en el alumno la capacidad de interpretar y proponer experiencias sencillas de clonación y expresión de proteínas.

### VI - Contenidos

**BLOQUE I: HERENCIA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACION GENICA**

## **UNIDAD 1: Introducción a la genética mendeliana**

Los experimentos y las Leyes de Mendel. Dominancia incompleta. Penetrancia y expresividad. Alelos múltiples. Genes letales. Varios genes que afectan el mismo carácter. Interacción génica (intra e intergénica). Epistasia. Herencia citoplasmática. Características influidas y limitadas por el sexo. Fenómeno de imprinting. Herencia monogénica, poligénica y multifactorial. Símbolos genealógicos y genealogías.

## **UNIDAD 2: Estructura, función y niveles de organización de la los ácidos nucleicos**

Desnaturalización y renaturalización. Topología del ADN. Genes. Genomas; diferentes tipos (procariotas, eucariotas nucleares y de organelas), características diferenciales. Ciclo celular, división celular. Meiosis y la Teoría cromosómica de la herencia. Cromosomas. 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 3: Replicación y reparación del ADN**

Síntesis del ADN. Enzimología de la replicación del ADN. Burbuja y horquilla de replicación. Modelos de replicación. Orígenes de replicación. El proceso de replicación y su regulación: inicio, elongación y terminación. Fidelidad de la replicación. Inhibidores de la replicación. Telómeros y telomerasa: significado biológico. Recombinación homóloga. Conversión génica. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas. Mutaciones génicas y reparación: causa, mecanismos, consecuencias y reparación. Elementos transponibles: importancia biotecnológica.

## **BLOQUE II: FLUJO DE LA INFORMACION GENICA YSU REGULACION**

### **UNIDAD 4: Transcripción y procesamiento pos-transcripcional de los ARN**

Dogma central de la biología molecular y sus excepciones. Estructura y organización de los genes procariotas y eucariotas. Promotores, enhancers, silenciadores, exones e intrones. Secuencias de consenso, promotores bacterianos y eucariotas. Dominios de unión ADN-proteína. Factores de transcripción: intensificadores y silenciadores. Síntesis y procesamiento de los RNAm, RNAt y RNAr. Estructura y función de los RNAs. Mecanismos de regulación epigenética. RNA no codificantes. Interferencia por RNA (siRNA y microRNA). CRISPR y su importancia biotecnológica. Antibióticos y transcripción. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas.

### **UNIDAD 5: Traducción**

El código genético y sus características. Violación del código genético, Degeneración del código genético, codones con sentido y sin sentido, marco de lectura y codones de iniciación y terminación, cuasi-universalidad del código genético. El proceso de traducción: carga de aminoácidos a RNAt específicos, iniciación de la traducción, elongación y terminación. Estructura tridimensional de los ribosomas, polirribosomas, vigilancia del RNAm. Degradación de RNAm, RNA de transferencia-mensajero (RNAtm). Degradación no-Go. Plegamiento y modificaciones postraduccionales de las proteínas. Estudio comparativo entre procariotas y eucariotas. Traducción y antibióticos.

### **UNIDAD 6: Regulación de la expresión génica en procariotas**

Importancia de la regulación de la expresión génica en organismos. Genes estructurales, regulatorios, inducibles y constitutivos. Niveles de regulación de la expresión génica. El operón: estructura y regulación: Control negativo y positivo. Operones inducibles y reprimibles. Operones catabólicos y anabólicos. El Operón Lac. Diploides parciales, Mutaciones de Lac en genes estructurales y genes reguladores. Control positivo y represión por catabolitos. Operón triptófano en E. coli, Intensificadores bacterianos. Atenuación en el Operón Trp en E. coli y su significado biológico. Regulación de la expresión génica por RNA bacterianos: RNA antisentido, interruptores ribosómicos y ribozimas.

### **UNIDAD 7: Regulación de la expresión génica en eucariotas**

Concepto de expresión génica diferencial en el desarrollo de organismos multicelulares. Niveles de regulación de la expresión génica en eucariotas: estructura de la cromatina, hipersensibilidad a la DNasa I. Remodelación de la cromatina, modificación de las histonas: metilación y acetilación. Inmunoprecipitación de la cromatina (CHIP). Metilación del ADN. Regulación de la expresión génica al inicio de la transcripción, Activadores y coactivadores de la transcripción, represores de la transcripción, intensificadores y aisladores. Pausas en la transcripción. Corte y empalme alternativo, degradación de los RNA. Interferencia por RNA. Escisión y edición de los RNAs. Inhibición de la traducción, silenciamiento de la transcripción, degradación de RNAm independiente de slicer. Regulación de la expresión génica por modificación de la traducción y las proteínas sintetizadas. Diferencias fundamentales en la regulación de la expresión génica en procariotas y eucariotas.

### **BLOQUE III: ESTUDIO Y MANIPULACION DEL MATERIAL GENETICO**

**UNIDAD 8:** Aislamiento y análisis de los ácidos nucleicos.

Métodos de obtención de ADN (gonómico o plasmídico) y ARNs a partir de células animales, vegetales y microbianas. Determinación de la concentración y pureza del ADN y ARN. Electroforesis en geles desnaturizantes y no desnaturizantes. Detección mediante sondas específicas. Southern Blot y Northern Blot. Hibridación in situ. Principales aplicaciones. Secuenciación de ADN; método didesoxidinucléotidos (Sanger), automática y de nueva generación (NextGenerationSequencing; NGS).

#### **UNIDAD 9: 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 polimorfismos por PCR. Marcadores moleculares y significado biológico e importancia biotecnológica. 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 10: Tecnología del ADN recombinante.**

Tecnología del ADN recombinante. ¿Cómo y para qué construir el ADN quimérico? Principales enzimas usadas en Ingeniería Genética. Enzimas de restricción y modificación del ADN. Clasificación y aplicación de las enzimas de restricción. Restricción o digestión del ADN. Conectores. Polimerasas. Polimerasas ADN-dependiente. Polimerasa 1, fragmento Klenow, Polimerasa T7 (sequenasa), otras polimerasas. Características. Aplicaciones. Polimerasas ADN-independiente: transferasa terminal. Exonucleasas y endonucleasas. Ligasas. RNA-Polimerasas. Transcriptasa reversa. Usos y aplicaciones. Ligación. Vectores de clonación y expresión: tipos, características y condiciones experimentales. Proceso de clonado. Transformación y transfección de constructos: métodos, ventajas y desventajas. Selección de clones recombinantes. Bibliotecas genómicas y de ADN copia o exómico: selección y usos. Mutagénesis aleatoria y mutagénesis sitio-dirigida.

### **BLOQUE IV: OBTENCION DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS Y SUS APLICACIONES BIOTECNOLOGICAS**

**UNIDAD 11:** Aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante a la biotecnología.

Mejoramiento de organismos y de productos mediante ingeniería genética: aspectos económicos, sanitarios y éticos. 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. 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. Producción de proteínas recombinante. Sistemas de producción.

#### **UNIDAD 12: Obtención y uso de plantas genéticamente modificadas.**

Introducción de material genético exógeno en células vegetales. 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 13: Obtención y uso de animales genéticamente modificados.**

Métodos para la obtención de células animales modificadas genéticamente. Diferentes métodos de transfección. Transferencia estable y transitoria. Uso de marcadores de selección positivos y negativos. Recombinación homóloga y conversión génica. Células madre (stem cells): embrionarias (ESC), adultas (ASC) y programadas (iPSC). Generación de animales transgénicos y sus aplicaciones. Animales knock-out y knock-out condicionales o inducidos. Obtención de animales knock-out de cuerpo entero y célula específica. Animales como biorreactores.

#### **UNIDAD 14: Genómica, proteómica y metabolómica**

El gran campo de la Genómica. Mapeo y secuenciación de genomas. Estrategias “shotgun”, “clone by clone” e híbridas. Aplicación de la secuenciación masiva a genómica. Biología sintética. Tipos de homologías: genes homólogos, ortólogos y parálogos. Genómica funcional; estrategias masivas para el estudio funcional de los genes. Transcriptómica. Proteómica. Metabolómica. Micromatrices (microarrays) y matrices de proteínas. Proteómica estructural.

## VII - Plan de Trabajos Prácticos

Trabajos Prácticos de Aula:

Debido al aislamiento social preventivo y obligatorio Ordenado por el Gobierno Nacional y Provincial no se pueden dictar los trabajos prácticos de laboratorio por lo cual en este curso solo se dictarán los siguientes trabajos prácticos de aula dictados de forma virtual:

TP#1: Genética Mendeliana

TP#2: Estructura y Flujo de la Información Génica

TP#3: Regulación de la Expresión génica

TP#4: Técnicas de Biología Molecular

TP#5: Producción de Proteínas Recombinantes

TP#6: Bioinformática

TP#7: Diseño de Primers

Seminarios

Se prevén 2 clases de seminarios (total 8 seminarios) en las cuales los alumnos presentarán y discutirán con el resto de la clase y el equipo de cátedra de forma virtual.

## VIII - Regimen de Aprobación

EVALUACIÓN:

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 teóricas.
- b. Asistencia y aprobación del 100% de los trabajos prácticos de aula.
- c. Se realizará una evaluación continua mediante la participación activa en clases.
- d. Aprobación de tres evaluaciones parciales, con carácter teórico-práctico y metodología combinada de opción múltiple y a desarrollar o proponer.
- e. Para mantener la promoción, el alumno no puede reprobar ninguno de los parciales en primera instancia.
- f. Evaluación integradora que puede consistir en un examen escrito múltiple opción, investigación bibliográfica o propuesta de un plan de trabajo.

La nota final surge del promedio de las diferentes notas obtenidas en parciales, prácticos de aula, examen integrador y concepto.

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.

- g. Siendo el curso de carácter teórico-práctico, se requiere una asistencia a clases teóricas del 70%.
- h. Recuperaciones. El alumno tiene derecho a un máximo de 2 recuperaciones por parcial.

Los alumnos que no cumplan con los requerimientos de regularización serán considerados como libres.

No hay opción para rendir libre esta asignatura.

## IX - Bibliografía Básica

[1] Pierce B. A. 2020. Genetics: A conceptual approach. 7ma Ed. Ed. McMillan Learning. NY, USA. ISBN 978-1-319-29714-5.

[2] Griffiths, AJF; Doebly, J; Peichel, C; Wassarman, DA. 2020. Introduction to Genetic Analysis. 12th ed. Ed. W.H. Freeman. NY. USA. ISBN-13 : 978-1319114787, ISBN-10 : 1319114784.

[3] Pierce, B. Genética: Un enfoque conceptual. 5ta ed. Editorial Médica Panamericana. 2016. ISBN: 978-84-9835-216-0.

[4] Hartwell, LH; Goldberg, ML; Fischer, JL; Hood, L. Genetics from Genes to Genomes. 2017. 6th ed. Ed McGraw-Hill Education. ISBN: 978-1-259-70090-3.

[5] Brooker, RJ. Genetics. Analysis and Principles. 2018. 6th ed. Ed McGraw Hill Education.. ISBN: 978-1-259-61602-0

[6] Strachan, T & Read, AP. Human Molecular Genetics. 2019. CRC Press. Taylor & Francis Group. ISBN: 978-0-815-34589-3

[7] Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética: Conceptos, Técnicas y Aplicaciones en Ciencias de la Salud. J. Luke & Herraéz, A. Ed. Elsevier. 2006. ISBN: 84-8174-505-7.

- [8] Introduction to Genetic Analysis. 11th ed. 2015. Griffiths AJF; Wessler SR; Carroll, SB; Doebley J. ISBN-13: 978-1-4641-0948-5, ISBN-10: 1-4641-0948-6. Ed WH Freeman and Company. NY, USA.
- [9] Gene Biotechnology. Wu, W. y cols. 2nd Ed. Editorial CRC Press.
- [10] Molecular Biotechnology: Principles and applications of recombinant DNA. B.R. Clark; J.J. Pasternak & Patten, C.L. 4ed. ASM Press. 2010. ISBN: 97-8155-814-98-4.
- [11] Techniques in Genetic Engineering. Kurnaz, I.A. CRC Press, Tylor & Franciss Group. 2015. ISBN-13-978-1-4822-6090-8.
- [12] Recombinant Gene Expression. Reviews & Protocols. 2nd Ed. Blabas & Lorence. Humana Press. 2004. ISBN 1-58829-262-2.
- [13] RNA Methodologies: A laboratory Guide for isolation and characterization. R.E. Farrel Jr. 3rd ed. Ed. Elsevier Academic Press. 2005. ISBN. 0-12-249696-5.
- [14] Molecular Biology of the Gene. Watson, baker, Bell, Gann, Levine & Losick. 7ma Ed. Cold Spring harbor laboratories Press. 2014. ISBN-13: 978-0-321-76243-6
- [15] Genomas. T.A. Brown. 3rd ed. Ed. Medica Panamericana. 2008. ISBN: 978-950-06-1448-1.
- [16] Gene Cloning and DNA Analysis: An introduction. 2016. John Wiley and Sons. Ltd. ISBN: 978-1-119-07256-0.
- [17] Molecular Cell Biology. Lodish, Berk, Keiser, Krieger, Bretscher, Ploegh, Amon & Scott. 7th ed. 2014. ISBN-13: 978-1464183393.
- [18] Principles of Gene Manipulation. S.B. Primrose and R.M. Twymann. 7th Edition. Blackwell Publishers. 2006. ISBN: 978-1-118-65388-3

## X - Bibliografía Complementaria

- [1] Revistas de la especialidad
- [2] Nature Biotechnology
- [3] Biotechnology Journal
- [4] Animal Biotechnology
- [5] Plant Biotechnology
- [6] BMC Biotechnology
- [7] TRENDS in Biotechnology
- [8] Microbial Biotechnology

## XI - Resumen de Objetivos

- a. Introducir al alumno en conocimientos básicos de biología molecular.
- b. Introducir al alumno en la metodología del ADN recombinante y sus aplicaciones biotecnológicas.
- c. Proveer al alumno de conocimientos prácticos sobre metodología del ADN recombinante.
- d. Introducir a los alumnos a las estrategias para la obtención y el uso de los organismos genéticamente modificados.
- e. Estimular en el alumno la capacidad de interpretar y proponer experiencias sencillas de clonación y expresión de proteínas.

## XII - Resumen del Programa

### BLOQUE I: HERENCIA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN GÉNICA

UNIDAD 1: Introducción a la genética mendeliana

UNIDAD 2: Estructura, función y niveles de organización de los ácidos nucleicos

UNIDAD 3: Replicación y reparación del ADN

### BLOQUE II: FLUJO DE LA INFORMACIÓN GÉNICA

UNIDAD 4: Transcripción y procesamiento pos-transcripcional de los ARN

UNIDAD 5: Traducción

UNIDAD 6: Regulación de la expresión génica en procariontes

UNIDAD 7: Regulación de la expresión génica en eucariotas

### BLOQUE III: ESTUDIO Y MANIPULACIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

UNIDAD 8: Aislamiento y análisis de los ácidos nucleicos

UNIDAD 9: PCR y marcadores moleculares

UNIDAD 10: Tecnología del ADN recombinante.

## BLOQUE IV: OBTENCION DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS Y SUS APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

UNIDAD 11: Aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante a la biotecnología.

UNIDAD 12: Obtención y uso de plantas genéticamente modificadas

UNIDAD 13: Obtención y uso de animales genéticamente modificados

UNIDAD 14: Genómica, proteómica y metabolómica

### **XIII - Imprevistos**

Debido al Aislamiento Social Preventivo y Obligatorio impuesto por los Gobiernos Nacional y Provincial este curso será brindado y evaluado mediante una modalidad virtual. Se dispone de una Classroom con las clases grabadas in vivo vía Meet de las clases teórico-practico, prácticos de aula y seminarios.

Para el normal desarrollo de esta asignatura se requiere la colaboración de los siguientes docentes quienes son especialistas en los temas a desarrollar en TPs y teorías:

Dra María Pilar Ferraris (TP#1: Genética Mendeliana)

Dra Maria Elena Arce (TP#3: Regulación de la expresión génica)

Dra Belen Torres Basso (TP#7: Diseño de primers)

Dr. Arturo Gomez Berroso (TP#5: Obtención de proteínas recombinantes)

Dr. Gerardo Aguirre (Teórico-Practico – Obtención y uso de plantas genéticamente modificadas)

Dr Marcos David Muñoz (TP#7: Bioinformática Transcripcional)

### **XIV - Otros**