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 2007)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
GENETICA MOLECULAR	LIC.BIOL.MOLEC.	1/99	4	2c

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
CIUFFO, GLADYS MARIA	Prof. Responsable	P.TIT EXC	40 Hs
ARCE, MARIA ELENA	Auxiliar de Práctico	A.2DA SIM	10 Hs

III - Características del Curso

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

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

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
06/08/2007	09/11/2007	14	120

IV - Fundamentación

Es ampliamente conocido que una parte muy pequeña del genoma codifica para genes específicos y, de éstos, sólo una subconjunto de los mismos se expresa en cada tipo específico de células. En organismos superiores, ésta expresión diferencial de genes está cuidadosamente programada permitiendo tener células diferenciadas con funciones bien definidos y específicos. Para lograr este resultado final, en el desarrollo se debe cumplir un intrincado programa de expresión espacio-temporal de genes. El presente curso abarca el estudio de procesos tales como el control del ciclo celular, mecanismos de regulación de la expresión génica y el crecimiento y desarrollo.

V - Objetivos

· Capacitar al alumno en la comprensión de los mecanismos de regulación de la expresión génica, a nivel transcripcional y traduccional.
· Estudio del control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
· Capacitación del alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
· Conocimiento de los recursos de laboratorio de uso común en el estudio de los procesos de regulación de la expresión génica.
· Capacitación del alumno para el procesamiento y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.

VI - Contenidos

TEMA 1: Elementos genéticos que controlan la expresión génica. Organización de los genes en operones. Promotores. Represores. Enhancers. Elementos ´cis´y ´trans regulatorios. Modelos de control de la expresión génica en procariotas. Control transcipcional y traduccional. Concepto de regiones regulatorias en ADN y ARNm. Estructura de la cromatina y regulación de genes.

TEMA 2: Ciclo celular. Etapas del ciclo celular. Sistemas de control de la división celular. Modelos que sirven para el estudio del ciclo celular. Levaduras como modelo. Eventos críticos en el ciclo celular. Regulación de la transición G2/M. El activador de la fase S. El gen 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. Papel de Rb en el control del crecimiento. MPF y CDC2. Ciclinas, su interacción con CDC2. Mecanismos de fosforilación que controlan la activación del factor MPF. Métodos y sistemas modelo de estudio.

TEMA 3: Ciclo celular. Efectos del daño de ADN sobre el complejo ciclina E/CDC2. Proteínas antitumorales: p53. Control de la división celular en organismos multicelulares. Control social de la división celular. Mecanismos de división celular en organismos multicelulares: factores de crecimiento. Como ciclan las células hacia el cáncer. Conceptos de cultivo celular: cultivo primario vs. líneas celulares: ventajas y desventajas.

TEMA 4: 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, complejo APC. Citocinesis. Concepto de arresto celular. Modelos experimentales.

TEMA 5: 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. Zonas de repetición en tandem. Factores que regulan la expresión génica: agentes trans y cis activantes. Genes y secuencias que lo flanquean. Motivos estructurales reconocidos por el ADN. Enhancers y su especificidad tisular.

TEMA 6: 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: experimento del nucleotido faltante. Determinación de los contactos aminoácidos-nucleótidos. Reactivos de clivaje sitio-específico. Tecnicas de Fe+2-EDTA. Contactos energéticamente importantes.

TEMA 7: Regulación en procariotes. Motivos Estructurales de proteínas de binding al ADN. El represor lac como modelo de estudio. Revisión de conceptos. El fago lamdba: 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. CAP, lamba y cro pertenecen a la familia de motivos helice-turn-helice. Análisis estructural de la interacción DNA-proteína.

TEMA 8: Motivos Estructurales de proteínas de binding al ADN.
Familias de factores de transcripción. Motivos hélice-turn-hélice. Hélice-loop-hélice. Cierre de leucina. Motivos de dedos de zinc, b- barril, motivo de hojas b. Aspectos determinantes de la estructura proteica. Reconocimiento específico de bases del ADN a secuencias y estructuras proteicas. Ejemplos de los diferentes motivos. Homodimeros y heterodimeros de cierre de leucina. Receptores de hormonas tiroideas, glucocorticoideas y de esteroides. Homeodominios y heterodominios.

TEMA 9: Interacciones ARN-proteínas. Estructura primaria y secundaria del ARN. Tipos comunes de interacciones. Interacciones aminoacil-tARN, ensamblaje del complejo ribosomal. Control postraduccional. Regulación de ferritina y el receptor de transferrina. Metabolismo del Fe. Proteínas involucradas. Evidencias de la regulación traduccional. Estrategias para identificar elementos respuesta en el ARNm. Estudio de interacciones de binding. Aislamiento de proteínas con propiedad de binding al ARN.

TEMA 10: Interacción de ADN con receptores complejos de esteroides, tiroides y ácido retinoico. Biología de los receptores. Estructura del dominio y función. Subdominio. Interacciones ADN-receptor. Especificidad de secuencia y reconocimiento. Dimerización de receptores. Métodos empleados para su estudio: retardo en geles, ensayo de binding al complejo ADN-avidina-biotina (ensayo ABCD). Uso de genes reporter (cloranfenicol acetiltransferas, CAT), o sistema luciferasa. Ejemplos.

TEMA 11: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosofila 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 homeoticos. 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 12: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores. Movimientos morfogeneticos y mapa corporal. Centro organizador de Stemman. Células madre embrionarias o stem cell. Usos en la generación de animales knock-out. Stem cell como células pluripotenciales. Stem cell neurales en el adulto. Memoria celular, determinación celular y valores posicionales. Modelos de estudio. Aplicaciones a tejidos específicos.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

Laboratorio

· Preparación de ARN total, extracción de tejidos animales. Medición y cálculo de la concentración de ARN obtenido. Índice de pureza de la preparación.

· Purificación de ARNm a partir del ARN total, mediante cromatografía de afinidad. Separación en geles de agarosa desnaturalizantes.

· RT-PCR. Amplificación de una proteína expresada por metodología de transciptasa reversa y amplificación. Control del resultado en geles de agarosa no desnaturalizantes.

· Geles desnaturalizantes y Transferencia a membranas de Nylon para Northern blot.
- Ensayo de retardo en geles- Interacción ADN-proteína.

Prácticos de Aula
· Resolución de problemas, 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.

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 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.
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.

Régimen de alumnos regulares
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.
f. Siendo el curso de carácter teorico-práctico, se requiere una asistencia a clases del 70%.
g. el alumno tiene derecho a cuatro recuperaciones en total.

IX - Bibliografía Básica

[1] 1. Molecular Cell Biology. Alberts y col. 3ra. Edición.
[2] 2. Recombinant DNA. Watson y col .2nd Edición (1992).
[3] 3. Molecular Biology of the Gene. Watson y col. 4ta. Edición..
[4] 4. Eukaryotic transcription factors. 4th. Ed. D.S Latchman.
[5] Elsevier Academic Press.. 2004.
[6] 5. Biología Celular y Molecular. Lodish et al. Ed. Med.
[7] Panamericana. 4ta. ed. 2003.
[8] 6. Genética- Griffiths y col- Interamericana 1993.
[9] 7. Pinciples of Developments. Wolpert- 2002
[10] Biología Celular y Molecular- Lodish.et al. Ed. Panamericana -2003.

X - Bibliografia Complementaria

[1] 8. DNA-protein: structural interactions.- Oxford - 1995
[2] 9. RNA-protein interactions.- Nagai y col.- Oxford 1994.
[3] 10. Mechanism of Protein Folding.- Pain y col.- Oxford 1994
[4] 11. Selección de trabajos recientes para seminarios de las revistas: Nature, Science y Cell.

XI - Resumen de Objetivos

OBJETIVOS DEL CURSO (no más de 200 palabras):
· Capacitar al alumno en la comprensión de los mecanismos de regulación de la expresión génica, a nivel transcripcional y traduccional.
· Estudio del control de procesos vitales como el ciclo celular y el desarrollo.
· Capacitación del alumno en el análisis y evaluación de trabajos publicados, promoviendo una actitud crítica en el análisis de los mismos.
· Conocimiento de los recursos de laboratorio de uso común en el estudio de los procesos de regulación de la expresión génica.
· Capacitación del alumno para el procesamiento y evaluación de resultados experimentales con una actitud crítica y en el diseño experimental.

XII - Resumen del Programa

TEMA 1: Elementos genéticos que controlan la expresión génica.

TEMA 2: Ciclo celular. Etapas del ciclo celular. Sistemas de control de la división celular.
TEMA 3: Ciclo celular. Efectos del daño de ADN.
TEMA 4: Mitosis. Regulación molecular del proceso de división celular
TEMA 5: La complejidad del genoma. Organización de los genes
TEMA 6: Métodos de estudio de la regulación génica.
TEMA 7: Regulación en procariotes.
TEMA 8: Motivos Estructurales de proteínas de binding al ADN
TEMA 9: Interacciones ARN-proteínas- Regulación a nivel traduccional.
TEMA 10: Interacción de ADN con receptores complejos de esteroides
TEMA 11: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosofila como modelo de estudio.
TEMA 12: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores

XIII - Imprevistos

Dado que la asignatura cuenta con solamente un Auxiliar de docencia para atender a los alumnos, en caso de enfermedad o traslado por razones académicas, las actividades seran reprogramadas.