



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

(Programa del año 2008)

I - Oferta Académica

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

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
----------------	----------------	--------------	-------------------

III - Características del Curso

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

Tipificación	Periodo
---------------------	----------------

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas

IV - Fundamentación

A partir de la finalización de la secuenciación del genoma humano, se conoce que una pequeña parte del mismo codifica para genes específicos, mientras grandes regiones tienen otras funciones. El establecimiento de un programa de diferenciación celular o de desarrollo de un organismo en formación es parte del programa preciso de control de la expresión génica. En este curso se estudian las bases moleculares de los mecanismos que regulan la expresión génica, su implicancia en el control de procesos de diferenciación celular 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.
- Entrenar al alumno en el uso de recursos experimentales de uso común en el 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 e iniciarlo en el diseño experimental.

VI - Contenidos

TEMA 1: Elementos genéticos que controlan la expresión génica. Organización de los genes en operones. Promotores. Represores. Enhancers. Diferentes niveles en el control de la expresión génica. Concepto de regiones regulatorias en ADN y ARNm.

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. Rol de Rb en el control del crecimiento. MPF, Ciclinas y su interacción con CDC2. Roles del complejo CDC2/ciclina. Mecanismos de fosforilación que controlan la activación del factor MPF. Métodos y sistemas modelos de estudio. fosforilación de la Histona H3.

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. Concepto de apoptosis, importancia en el desarrollo y su regulación: rol de las caspasas.

TEMA 4: Mitosis: fases y su control molecular. 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 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. Genes reporteros: CAT, luciferasa, proteína fluorescente verde. Purificación de factores de transcripción por cromatografía de afinidad. Footprinting de ADN: principios, reactivos y análisis. Determinación de los contactos aminoácidos-nucleótidos. Reactivos de clivaje sitio-específico. Técnicas de Fe²⁺-EDTA. Footprinting in vivo. Ensayo de inmunoprecipitación de la cromatina (Chip).

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 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. CAP, lambda 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.

Determinación de la estructura de una proteína. Motivos hélice-turn-hélice. Hélice-loop-hélice. Cierre de leucina. Motivos de dedos de zinc. 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.

TEMA 9: Interacciones ARN-proteínas. Estructura primaria y secundaria del ARN. Tipos comunes de interacciones. Interacciones aminoacil-tARN, nucleasas, función de los ribosomas y ensamblaje del complejo ribosomal. Control postraduccion. 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. Ejemplos y aplicaciones.

TEMA 11: La estructura de la cromatina como elemento regulatorio. Papel de las histonas, histonas acetilasas y deacetilasas, metilación, fosforilación. Formación de complejos transcripcionales.

TEMA 12: 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 13: Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores. Movimientos morfogénicos 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 desnaturizantes.
- RT-PCR. Amplificación de un gen a partir de cDNA obtenido por metodología de transcriptasa reversa y amplificación. Control del resultado en geles de agarosa no desnaturizantes.
- Ensayo de retardo en geles. Reconocimiento DNA-proteína en geles de poliacrilamida no desnaturizante.
- Northern blot: Separación de RNA en geles desnaturizantes. transferencia por capilaridad a membranas de Nylon. Visualización de la transferencia por tinción.

Prácticos de Aula

- Resolución de problemas, discusión de metodologías 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 preguntas 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.

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 cuatro recuperaciones en total.

IX - Bibliografía Básica

- [1] 1. Molecular Cell Biology. Alberts y col. 3ra. Edición.
- [2] Biología Molecular de la Célula. Lodish- 4ta. edi. 2003
- [3] 2. Recombinant DNA. Watson y col .2nd Edición (1992).
- [4] 3. Molecular Biology of the Gene. Watson y col. 4ta. Edición..
- [5] 4. Eukaryotic Transcription factors - \$ta- Ed. Latchman.
- [6] 5. Principios de Genética - Tamarin - Reverte 1996.
- [7] 6. Genética- Griffiths y col- Interamericana 1993.

X - Bibliografía Complementaria

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

XI - Resumen de 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.

XII - Resumen del Programa

- TEMA 1: Elementos genéticos que controlan la expresión génica
- TEMA 2: Ciclo celular- Modelos de Estudio.
- TEMA 3: Ciclo celular- Etapas- Daño al ADN.
- TEMA 4. Mitosis- Regulación molecular de la mitosis y citocinesis.
- 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 a ADN.

TEMA 9. Interacciones ARN-proteínas- Regulación a nivel traduccional.
TEMA 10. Interacción de ADn con receptores de esteroides.
TEMA 11. Estructura de la cromatina.
TEMA 12. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo. Drosófila como modelo de estudio.
TEMA 13. Mecanismos celulares y moleculares que controlan el desarrollo en animales superiores.

XIII - Imprevistos