



DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Roque Saenz Peña 352- (B1876BXD) Bernal – Buenos Aires – Argentina

PROGRAMA de GENETICA MOLECULAR

Carrera/s: LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

Asignatura:

GENETICA MOLECULAR

Núcleo al que pertenece:

Obligatorio

Profesor/es:

Comisión A: Dra. Silvina M. Richard/ Dra. Patricia V. Agostino

Comisión B: Dr. Daniel H. Grasso /Dra. Marcela Pilloff

Asignaturas previas necesarias para favorecer el aprendizaje:

*Para iniciar este curso del ciclo de Licenciatura, los alumnos deberán haber aprobado el ciclo de **Diploma en Ciencia y Tecnología**; en particular, se requiere haber aprobado **Introducción a la Biología Celular y Molecular y Bioquímica I**.*

Objetivos:

*Que los alumnos comprendan el modo en que la información contenida en el genoma se expresa y funciona de manera coordinada ("del gen a la proteína"). Se parte de los conocimientos adquiridos en **Introducción a la Biología Molecular y Celular** y en **Bioquímica I**, poniendo especial énfasis en el estudio del DNA y el RNA. En la primera parte del curso se analizan los ácidos nucleicos a nivel estructural y se describen los procesos elementales de expresión de la información genética.*

"Que los alumnos comprendan el modo en que la información genética es modulada (a nivel de la transcripción, del procesamiento del RNA y de la traducción) hasta dar lugar a la formación de una gran diversidad de tipos celulares partiendo de la misma información heredada. Por otra parte, se desarrollan temas relacionados con las aplicaciones de las metodologías moleculares a la caracterización y tipificación de genomas.



Contenidos mínimos:

Leyes de la herencia y mecanismos. Genética de poblaciones. Estructura del material genético. Determinación y análisis de secuencias de ácidos nucleicos. Genética evolutiva. Replicación del ADN. Mutación y reparación. Transcripción y control de la expresión de genes. Traducción y modificaciones postraduccionales. Mecanismos de control. Genética molecular del desarrollo. Metodologías experimentales.

Carga horaria semanal: 8 horas

Programa analítico:

Unidad 1: Leyes de la herencia y mecanismos. Mecanismos de la herencia: alelos, genes. Leyes de Mendel. Teoría cromosómica de la herencia. Determinación del sexo. Herencia Ligada al sexo. Mutaciones, tipos de mutaciones cromosómicas.

Unidad 2: Genética de Poblaciones. La visión poblacional, variación genética. Equilibrio y desviación de H-W: Mutación, migración, deriva y selección. Genética evolutiva

Unidad 3: Estructura del material genético. Experimentos que vincularon la herencia con el ADN. Estructura y tipos de elementos en genomas procarióticos (“¿un cromosoma?”, megaplásmidos, plásmidos, episomas). Estructura de los cromosomas eucarióticos. Histonas, nucleosomas. Grados de compactación: heterocromatina y eucromatina. Bandas en los cromosomas. Centrómeros. Empaquetamiento del DNA y accesibilidad. Determinación y análisis de secuencias de ácidos nucleicos.

Unidad 4: Replicación del DNA. Replicación semiconservativa (experimento de Meselson y Stahl). Mecanismo general de replicación: Orígenes de replicación. Esquemas de replicación de DNAs circulares: θ (*theta*) y círculo rodante (*rolling circle*, *RC* o σ). Enzimas involucradas en procariotas y eucariotas. DNA polimerasas, helicasas. Exonucleasas. Topoisomerasas. Telomerasas. Control de la replicación. Ciclo celular. Sistemas de partición de genomas. Estrategias de conservación de plásmidos. Sistemas de replicación *in vitro*: aplicaciones en la amplificación y secuenciamiento de ácidos nucleicos. Replicación de cromosomas lineales. Telomerasa (estructura y función).

Unidad 5: Mutaciones y reparación del daño en el DNA: Tipos de mutaciones. Cambios numéricos y estructurales de cromosomas. Mutaciones espontáneas e inducidas. Tipos de daño en el DNA. Reparación del DNA en procariotas y eucariotas. Mecanismos de reparación: reversión directa del daño (fotorreactivación), escisión (de bases, de nucleótidos, *mismatch*), post-replicación (por recombinación, SOS).



Unidad 6: Recombinación: Mecanismos moleculares de recombinación. Recombinación homóloga (estructuras de Holiday, situaciones en procariotas y eucariotas), sitio específica (integración y escisión del fago λ y P1, genes de inmunoglobulinas y diversidad de productos génicos) y no homóloga. Recombinación homóloga durante la meiosis y conversión de genes (*crossing over*).

Unidad 7: Elementos genéticos móviles. Estructuras y mecanismos de transposones procarióticos. Transposones replicativos y no replicativos. Transposición a través de intermediarios de RNA. Retroelementos (retrovirus, retrotransposones, pseudogenes procesados, etc.).

Unidad 8: Recombinación de DNA y estructura del genoma humano. Recombinación durante la meiosis y conversión de genes (*crossing over*). *Unequal crossing over*. Evolución de secuencias repetidas en genomas de eucariotas. Genoma nuclear y citoplásmico (mitocondrial). Cambios en la estructura del cromosoma. **Organismos transgénicos. Terapia génica.** Transgénesis de organismos multicelulares. Crispr-Cas. Organismos *knock-out* específicos de tejido. Estrategias de terapia génica.

Unidad 9: Transcripción. Estructura de una unidad de transcripción. Secuencias previas (*upstream*) y posteriores (*downstream*) al comienzo de la transcripción (+1) y secuencias codificantes. Sistemas procariotas. Mapeo de los extremos del producto de transcripción. Mecanismo general de la transcripción. RNA polimerasas. Tres fases: Iniciación, elongación, terminación.

Unidad 10: Regulación de la expresión génica en procariotas. Niveles de regulación de la expresión. Promotor, operador y operón. Controles positivo y negativo. Inducción y Represión. El operón *lac*. Estudio de la interacción DNA-proteína (*binding assays*, *footprint*). Otros operones: arabinosa, triptofano, Atenuación Riboswitch. Programación temporal de la transcripción durante el ciclo de infección por bacteriófagos.

Unidad 11: Transcripción en eucariotas. Tipos de RNA polimerasas. Sensibilidad diferencial a α -amanitina; inhibición con actinomicina D. Promotores de tres clases. RNA polimerasa II. Factores de la transcripción (TF). "TATA Binding Proteins" (TBP) y sus proteínas asociadas. RNA mensajero. RNA ribosomal. RNA de transferencia. Procesamiento: *capping*, *splicing* y poliadenilación. *Splicing* autocatalítico y spliceosomas

Unidad 12: Regulación de la expresión génica en eucariotas. Regulación de la actividad de los TF. Hormonas esteroideas. Factores de crecimiento. Tipos de receptores: citoplásmicos, nucleares y de membrana (GPCR, RTK). Cascadas de señalización. Expresión génica y desarrollo. Acetilación de histonas. Metilación. *Genetic imprinting*.



Unidad 13: Traducción. Traducción de la información genética en procariotas y eucariotas. Concepto de "un gen, una proteína". Cistrones. ¿Uno o varios códigos genéticos?

Complejos de iniciación de la traducción. Modelo de ribosoma de 3 sitios. Factores de elongación.

Unidad 14: Direccionamiento de proteínas, plegamiento y procesamiento.

Retículo endoplásmico y aparato de Golgi. Retículo endoplásmico rugoso (RER) y liso (REL). Aparato de Golgi: estructura y función. Lisosomas y vesículas secretorias. Proteínas de membrana. Proteínas destinadas al núcleo, a mitocondrias y a cloroplastos.

Diferencias entre la secuencia de DNA y el producto final de la expresión génica (*splicing*, *RNA editing*, *translational frameshifting*, procesamiento proteolítico, *splicing* de proteínas, etc.)

Actividades prácticas

Las actividades prácticas están conformadas por seminarios de discusión de *papers*, de resolución de problemas y trabajos experimentales.

Temas desarrollados en clases de actividades prácticas:

Metodologías experimentales: técnicas corrientes en genética molecular.

Electroforesis de DNA y RNA. *Southern* y *Northern blots*. Electroforesis de proteínas y *Western blot*. Determinación de secuencias nucleotídicas de DNA y RNA. Reacción en cadena de polimerasa (PCR: *polymerase chain reaction*). Mapeos por protección a nucleasa S1 y RNasas, etc.

DNA Recombinante y estudios genómicos. Aislamiento de DNA. Enzimas

modificadoras del DNA. Vectores de clonado y de expresión. Bibliotecas genómicas y de cDNA. Identificación de clones. Tipos de sondas. Expresión de genes clonados en bacterias, levaduras, células de mamíferos e insectos. Animales y plantas transgénicas. Terapia génica. Estudios genómicos. Mapas.

Trabajos experimentales:

Trabajo Práctico N°1: ***Extracción de ADN de mucosa bucal.***

Se realizará el aislamiento de ADN total humano a partir de muestras de células de mucosa bucal de alumnos y familiares. Visualización y Cuantificación de ADN total. Metodologías empleadas: protocolo de extracción de ADN, electroforesis en gel de agarosa 0,8%.

Trabajo Práctico N°2: ***Caracterización de un polimorfismo genómico asociado a los cromosomas sexuales.*** Se utilizará como ejemplo un gen polimórfico ubicado en los cromosomas sexuales. Se amplificará mediante PCR



un fragmento del gen de amelogenina (que posee un tamaño diferente en los cromosomas X e Y) y el resultado se analizará mediante electroforesis en gel de agarosa. Metodologías empleadas: amplificación por PCR, electroforesis en gel de agarosa 2%.

Trabajo Práctico N°3: Determinación de un índice de familiaridad mediante análisis de ADN mit por PCR-RFLP (ETAPA 1).

Se amplificará mediante PCR un fragmento de la región HVR-I del ADN mitocondrial humano y el producto de amplificación se analizará mediante electroforesis en gel de agarosa. Metodologías empleadas: amplificación por PCR, electroforesis en gel de agarosa 1%.

Trabajo Práctico N°4: Determinación de un índice de familiaridad mediante análisis de ADN mit por PCR-RFLP (ETAPA 2).

Digestión del fragmento correspondiente a la región HVR-I del DNA mitocondrial con la enzima Mnl I. Estudio de los sitios de corte de Mnl I en la secuencia de referencia de Anderson et al.; electroforesis en gel de poliacrilamida 10% y análisis de los RFLP. Discusión de papers. Metodologías empleadas: Corte de ADN con enzimas de restricción, electroforesis en gel de poliacrilamida 10%.

Trabajo Práctico N°5: Detección de deleciones en el cromosoma Y mediante multiplex PCR.

Utilización de conceptos aprendidos (como PCR multiplex) para el estudio de microdeleciones correspondientes a la región de los genes AZF (factor de azoospermia) y su correlación con infertilidad y cáncer testicular. Clase teórica. Se utilizará el resto del tiempo disponible en el laboratorio para consultas y para completar discusión de conceptos y papers

Bibliografía (obligatoria y de consulta):

OBLIGATORIA:

- **Lehninger Principles of Biochemistry**, Nelson, D.L. & Cox, M.M., (2012), 6° ed., W. H. Freeman Publishers. [En castellano: **Lehninger. Principios de Bioquímica**, Nelson, D.L. y Cox, M.M., (2007) 5° ed., Editorial Omega, España].
- **Molecular biology of the gene**. Watson, James D., Nancy H. Hopkins, Jeffrey W. Roberts, Joan A. Steitz, and A. M. Weiner. (2013), 7° ed., Benjamin/Cummings. [En castellano: **Biología Molecular del gen**. Watson, J.D., Baker, T.A., Bell, S.P., Gann, A., Levine, M., Losick, R. (2006), 5° ed., Editorial Médica Panamericana].
- **Molecular Cell Biology**. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Bretscher, A., Ploegh, H. & Darnel, J. (2007). 6° ed. W.H. Freeman & Co. New York. [En castellano: **Biología Celular y Molecular**. Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Zipursky, S.L. & Darnel, J. (2005). 5ª ed. Editorial Médica Panamericana].



DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Roque Saenz Peña 352- (B1876BXD) Bernal – Buenos Aires – Argentina

- **Genes IX**, *Lewin, B.* (2007). Oxford University Press, UK. [En castellano: **Genes VIII** *Lewin, B.* (2004). Marbán Libros SRL, España].
- **Molecular Biology of the Cell**. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 5º ed. Garland Publishing, Inc. (2008). [En castellano: **Biología Molecular de la Célula**. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J.D. (2008). 5ª ed., Editorial Omega]
- **Modern Genetic Analysis**. Griffiths, A.J.F., Gelbart, W.M., Miller, J.H., Lewontin, R.C. (2002) 2º ed. Macmillan Higher Education. [En castellano: **Genética Moderna**. Griffiths, A.J.F., Gelbart, W.M., Miller, J.H., Lewontin, R.C. (2000) McGraw-Hill - Interamericana de España, SAU].
- **Molecular Biology**. Weaver, R. (2011) 5º ed. McGraw-Hill Education.
- **The Cell (A molecular Approach)**. Cooper, G.M., & Hausman, R.E. (2013) 6º ed. Sinauer Associates, Inc.
- **Biochemistry**. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. & Stryer, L. (2011), 7º Ed., Freeman & Co.

CONSULTA:

- **Molecular Biotechnology – Principles and applications of recombinant DNA**, B. R. Glick, J. J. Pasternak, & C. L. Patten (2009). 4º Edition, ASM Press.
- **Human Molecular Genetics**. *Strachan, T. & Read, A.P.* (2003) 3º ed. Garland Science/Taylor & Francis Group.
- **Biochemistry**, *Zubay, G.*, (1998). 4th ed. Wm. C. Brown & Sons, Oxford
- **Biochemistry**, *Voet, D. & Voet, J.*, (1995) 4th ed. John Wiley & Sons.

Se utilizará una variedad de libros de Biología y Genética Molecular moderna así como material de revistas científicas (*Science, Nature, Cell, Molecular Cell*, etc.), el cual aún no está disponible en libros de texto.

SITIOS DE INTERES EN INTERNET:

Acceso a libros de texto

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>
- <http://bcs.whfreeman.com/biochem5/>
- <http://www.worthpublishers.com/lehninger/>
- <http://www.ergito.com/index.jsp>

Información actualizada y herramientas (distintos niveles de complejidad)

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- <http://vector.cshl.org/dnaftb/index.html>
- <http://www.nhgri.nih.gov:80/DIR/VIP/Glossary/>
- <http://www.bis.med.jhmi.edu/Dan/DOE/intro.html>
- <http://gslc.genetics.utah.edu/>
- <http://bioinformatics.weizmann.ac.il/cards/>
- <http://library.advanced.org/18617/>



DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Roque Saenz Peña 352- (B1876BXD) Bernal – Buenos Aires – Argentina

- <http://www.tigr.org/>
- http://www.er.doe.gov/production/ober/HELSDR_top.html
- <http://www.ornl.gov/hgmis/>

Nivel introductorio (y de divulgación)

- <http://www.ncbe.reading.ac.uk/>
- <http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/BIOBK/BioBookTOC.html>
- <http://doegenomestolife.org/>

Organización de las clases:

Los contenidos del curso se desarrollan en clases teóricas (bimodalidad presencial/virtual), seminarios y trabajos de laboratorio. Se utilizan artículos originales de la bibliografía científica para discutir estrategias experimentales que permiten generar los conocimientos. Los trabajos experimentales incluyen la discusión de las estrategias y metodologías para resolver problemas concretos. La realización de trabajos de laboratorio persigue el afianzamiento de los conocimientos desarrollados en seminarios y clases teóricas y el entrenamiento práctico en el laboratorio de biología molecular.

Modalidad de evaluación:

La evaluación se ajusta al Régimen de Estudio vigente aprobado por la Universidad Nacional de Quilmes según Resolución (CS) 04/08

Se evalúa al alumno mediante dos pruebas parciales. El 80% del contenido de éstas corresponde a temas tratados en clases teóricas, seminarios y discusión de papers, y el 20% restante a temas de trabajos experimentales. Existen dos oportunidades para aprobar cada uno de los dos parciales. Aquellos alumnos que hayan aprobado ambos parciales con un puntaje superior a 70 (sobre un total de 100 puntos) aprobarán el curso sin otra evaluación. Los alumnos que hayan aprobado las evaluaciones parciales con calificaciones menores (aprobando no menos del 50% del contenido de cada evaluación), se someterán a un examen integrador o un coloquio, de acuerdo al rendimiento demostrado a lo largo del curso