

Programa de GENÉTICA MOLECULAR

Carrera: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Genética Molecular*

Núcleo al que pertenece: *Obligatorio (Ciclo Superior)¹*

Profesoras/les: *Silvina M. Richard, Patricia V. Agostino, Daniel H. Grasso, Marcela Pilloff, Juan Carballeda*

Correlatividades previas: *Bioquímica Celular y Molecular (y requisitos de acceso al Ciclo Superior)*

Objetivos:

-Que las/os alumna/os comprendan las leyes de la herencia y la transmisión de las características a las siguientes generaciones, como también las enfermedades que pueden asociarse a ellas.

-Que las/os alumna/os relacionen la visión poblacional y la variación en la genética, como también el análisis de las variaciones y desviaciones y concepto de deriva, migración y mutaciones poblacionales.

-Que las/os alumna/os aprendan el modo en que la información contenida en el genoma se expresa y funciona de manera coordinada ("del gen a la proteína").

-Que las/os alumna/os comprendan las formas de división celular, división descontrolada y cáncer y los mecanismos de apoptosis y muerte celular.

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 las/os alumna/os desarrollen trabajos de monografías y exposiciones orales de clases abiertas para afianzar la comprensión de textos y entrar en confianza con su futuro desarrollo profesional.

-Que las/os alumna/os 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.

¹ En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo Básico. Para el Plan Res CS N° 181/03 pertenece al Núcleo Obligatorio.

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. División celular, cáncer y apoptosis. Mutación y reparación. Transcripción y control de la expresión de genes. Traducción y modificaciones postraduccionales. Glicobiología y lípidos. Mecanismos de control. Genética molecular del desarrollo. Metodologías experimentales.

Carga horaria semanal: 8 horas semanales

Programa analítico:

Programa analítico:

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 a modo introductorio para desarrollar con mayor profundidad en las materias siguientes:

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: División celular - Mutaciones y reparación del daño en el DNA: División celular, cáncer y apoptosis. Tipos de mutaciones. Cambios numéricos y estructurales de cromosomas. Mutaciones espontáneas e inducidas. Tipos de daño en el DNA. Reparación del DNA en procariontes y eucariotes. 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 procariontes y eucariotes), 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 procariontes. 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 eucariotes. Genoma nuclear y citoplásmico (mitocondrial). Cambios en la estructura del cromosoma. Organismos knock-out específicos de tejido. Estrategias de terapia génica.

Unidad 9: Transcripción y regulación de la expresión génica en procariontes. Estructura de una unidad de transcripción. Secuencias previas (*upstream*) y posteriores (*downstream*) al comienzo de la transcripción (+1) y secuencias codificantes. Sistemas procariontes. Mapeo de los extremos del producto de transcripción. Mecanismo general de la transcripción. RNA polimerasas. Tres fases: Iniciación, elongación, terminación. Ejemplos en procariontes: Niveles de regulación de la expresión. Promotor, operador y operón. Controles positivo y negativo. Inducción y Represión. El operón lac y otros ejemplos.

Unidad 10: Transcripción en eucariotes. 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 11: Regulación de la expresión génica en eucariotes. 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*. Biología y Genética del desarrollo.

Unidad 12: Traducción. Traducción de la información genética en procariontes y eucariotes. 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 13: 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. Lípidos y glicobiología. 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 a modo introductorio para desarrollar con mayor profundidad en las materias siguientes:

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.

Enfermedades genéticas. Genes responsables de enfermedades hereditarias. Anomalías Cromosómicas. Anomalías de gen único. Enfermedades poligénicas o multifactoriales. Métodos de diagnóstico molecular.

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 células epiteliales 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 0,7%, espectrofotometría (NANODROP).

Trabajo Práctico N°2: Caracterización de un marcador molecular asociado a los cromosomas sexuales y diferenciación sexual.

Se utilizará como ejemplo el gen de Amelogenina, ubicado en los cromosomas sexuales. Se amplificará mediante PCR un fragmento del gen AMG (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 herencia materna mediante análisis de ADNmt por PCR-RFLP (ETAPA 1).

Se amplificará mediante PCR un fragmento de la región D-Loop 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 2%.

Trabajo Práctico N°4: Determinación herencia materna mediante análisis de ADNmt por PCR-RFLP (ETAPA 2).

Digestión del fragmento correspondiente a la región D-Loop del DNA mitocondrial con la enzima MnlI. Estudio de los sitios de corte de MnlI en la secuencia de referencia de Anderson (Anderson et al. 1981); electroforesis en gel de poliacrilamida 10% y análisis de los RFLP. Exposición de papers de los alumnos.

Metodologías empleadas: Digestión 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

No habrá bibliografía obligatoria, sí de consulta y profundización de los contenidos. Las clases se armarán con la inclusión de numerosa bibliografía actualizada en cada cuatrimestre.

- **Lehninger Principles of Biochemistry**, Nelson, D.L. & Cox, M.M., (2017), 7° ed., W. H. Freeman Publishers. [En castellano: **Lehninger. Principios de Bioquímica**, Nelson, D.L. y Cox, M.M., 6 ed., Editorial Omega, España].
- **Molecular Cell Biology**. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Bretscher, A., Ploegh, H. & Darnel, J. (2016). 7° 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. (2016). 7ª ed. Editorial Médica Panamericana].

- **Genes XII**, Lewin, B. (2017). Oxford University Press, UK. [En castellano: **Genes IX** Lewin, B. (2015). Marbán Libros SRL, España].
- **Molecular Biology of the Cell**. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 6º ed. Garland Publishing, Inc. (2016). [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]

Se utilizará también una variedad de libros de Biología y Genética Molecular moderna, así como material de revistas científicas (*Science, Nature, Cell, Molecular Cell*, etc.).

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

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/>
- <http://www.tigr.org/>
- http://www.er.doe.gov/production/ober/HELSDRD_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://doegenomestolive.org/>

Organización de las clases:

Los contenidos del curso se desarrollan en clases teóricas, seminarios y trabajos de laboratorio. 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:

Los contenidos teóricos se evaluarán examinando a la/os estudiantes mediante dos pruebas parciales. Además, se tomará un examen de trabajos prácticos y se calificarán los informes de laboratorio, y se propondrán actividades del tipo monografías y seminarios de bibliografía científica, que también tendrán una exposición oral. La nota final de la asignatura quedará determinada por el promedio de las notas de los parciales + las notas de las monografías y exposición oral+ parcial de TPs.

Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.
- (b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumnos/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

Modalidad de evaluación exámenes libres:

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

CRONOGRAMA TENTATIVO

Semana	Tema/unidad	Actividad*			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Res Prob.	Lab.	
1	CLASE DE PRESENTACIÓN Estructura de la materia, encuesta, charla introductoria.	X	X		
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,	X	X		
2	Genética de Poblaciones. La visión poblacional, Variación genética: Equilibrio y desviación de H-W: Mutación, migración, deriva y selección.	X	X		
2	Estructura material genético Estructura del material genético I Naturaleza del material hereditario. Experiencias de Avery, Griffiths, Hershey & Chase y Messelson & Stahl. Acido desoxirribonucleico (DNA). Bases, nucleósidos y nucleótidos. Estructuras químicas y estabilidad. DNA B, A y Z. Desnaturalización (térmica, por solventes y agentes caotrópicos) y renaturalización. Efecto hipercrómico. Relación entre la naturaleza de las interacciones no covalentes y la estabilidad del dsDNA. T_m y densidad de flotación en función del % de CG. Estabilidad química del DNA (en comparación al RNA). Desnaturalización y renaturalización: termodinámica y cinética. Superenrollamiento. Estructura de los cromosomas eucarióticos. Histonas, nucleosomas. Grados de compactación: heterocromatina y	X	X		

	eucromatina. Bandas en los cromosomas. Centrómeros. Empaquetamiento del DNA y accesibilidad.		
3	Seminario material genético y genética de poblaciones.		X
3	TP N°1A: Extracción de DNA: Extracción de DNA a partir de muestras de mucosa bucal de los alumnos Patricia		X
4	TP N°1B: Extracción (2º parte) y cuantificación de DNA		X
4	Replicación del DNA I: Replicación semiconservativa (experimento de Meselson y Stahl). Mecanismo general de replicación: Orígenes de replicación. Esquemas de replicación de DNAs circulares: θ (<i>theta</i>) y círculo rodante (<i>RC, rolling circle</i>). Enzimas involucradas en procariontes y eucariotes. DNA polimerasas, helicasas. Exonucleasas. Topoisomerasas. Telomerasas.	X	X
5	TP N°2A: Amelogenina (amplificación). Caracterización del sexo de muestras de DNA mediante amplificación por PCR de secuencias del gen de amelogenina.		X
5	TP N°2B Amelogenina (revelado)		X
6	División celular, Mutaciones y reparación del daño en el DNA: División celular, cáncer y apoptosis. Tipos de mutaciones. Cambios numéricos y estructurales de cromosomas. Mutaciones espontáneas e inducidas. Tipos de daño en el DNA. Reparación del DNA en procariontes y eucariotes. Mecanismos de reparación: reversión directa del daño (fotorreactivación), escisión (de bases, de nucleótidos, mismatch), post-replicación (por recombinación, SOS).	X	X
6	Recombinación: Mecanismos moleculares de recombinación. Recombinación homóloga (estructuras de Holiday, situaciones en procariontes y eucariotes), 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 (<i>crossing over</i>). Recombinación de DNA y estructura del genoma humano. Recombinación durante la meiosis y conversión de genes (<i>crossing over</i>). <i>Unequal crossing over</i> .	X	X

7	Mecanismos de transposición. Estructuras y mecanismos de transposones procarióticos. Transposones replicativos y no replicativos. Transposición a través de intermediarios de RNA. Retroelementos (retrovirus, retrotransposones, pseudogenes procesados, etc.). Repaso y consultas	X	X	
7	Evaluación parcial 1 (1ª fecha)			X
8	Transcripción. Estructura de una unidad de transcripción. Secuencias previas (<i>upstream</i>) y posteriores (<i>downstream</i>) 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. Antibióticos. Regulación de la expresión génica en procariotas. Estabilidad relativa de los diferentes tipos de RNA. Programación temporal de la transcripción durante el ciclo de infección por bacteriófagos.	X	X	
8	TP N°3 Amplificación por PCR de fragmentos del DNA mitocondrial, digestión mediante enzimas de restricción, electroforesis en poliacrilamida, revelado, análisis y determinación de relaciones biológicas por linaje materno.		X	
9	TP N°4A: DNA Mitocondrial. Verificación de la amplificación y digestión.		X	
9	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: <i>capping</i> , <i>splicing</i> y poliadenilación. <i>Splicing</i> autocatalítico y spliceosomas.	X	X	
10	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. <i>Genetic imprinting</i> . Biología y genética del desarrollo.	X	X	
10	TP N°4B: DNA Mitocondrial Gel de poliacrilamida para verificación de RFLPS y discusión paper DNAm.		X	
11	Discusión y repaso entre toda, clase abierta a discusiones			X
11	Traducción. Traducción de la información genética en procariotas y eucariotas. Concepto de "un	X	X	

	gen, una proteína". Cistrones. ¿Uno o varios códigos genéticos? Complejos de iniciación de la traducción. Modelo de ribosoma de 3 sitios. Factores de elongación. Antibióticos y toxinas		
12	TP N°5: AZF (clase teórica) Técnicas biología molecular. Repaso TPs		X
12	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. Lípidos y glicobiología. 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 (<i>splicing</i> , <i>RNA editing</i> , <i>translational frameshifting</i> , procesamiento proteolítico, <i>splicing</i> de proteínas, etc.)	X	X
13	Consultas	X	X
13	Evaluación de TPs-		X
14	Evaluación parcial 2 (1ª fecha)		X
15	Consultas	X	
15	Recuperatorios 1 y 2		X
16		Mostración de parciales	
16	Examen integrador		X
17	Mostración de evaluaciones		
18	CIERRE Y ENTREGA DE ACTAS		