



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO



ICB
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS
Naturaleza - Ciencia - Humanismo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO
Instituto de Ciencias Básicas
Licenciatura en Ciencias Básicas
Orientación: Biología

BIOLOGIA MOLECULAR (B201)

2013

Asignatura Obligatoria.

Profesor: Dra. Marcela Alejandra Michaut

Auxiliar de docencia: Dra. Natalia Lorena Leiva

Carga horaria: 96 horas (48 horas prácticas; 48 horas teóricas)

Requisitos de Cursado: Q203A Química Biológica aprobada; B102 Biología Celular regularizada

EXPECTATIVAS DE LOGRO

- Conocer la estructura, organización y función de la materia viva en términos moleculares.
- Adquirir las bases teóricas necesarias para asimilar nueva información en este campo de estudio.

1- OBJETIVOS

Al finalizar el curso se espera que el alumno:

- 2-1. Aprenda los conceptos básicos sobre organización del genoma en procariotas y eucariotas.
- 2-2. Desarrolle el escepticismo crítico que permita al educando analizar contenidos, asociarlos y deducir soluciones a problemas concretos.
- 2-3. Profundice los conocimientos relacionados con la replicación, transcripción y traducción de células procariontes y eucariontes.
- 2-4. Conozca cómo se puede modificar la expresión génica en bacterias, células en cultivo, en plantas, ratones y otros modelos de organismos.
- 2-5. Conozca y use los conceptos básicos de la Bioinformática para diseñar y analizar herramientas de uso común en un laboratorio de Biología Molecular.

2- CONTENIDOS ANALÍTICOS

UNIDAD 1: DNA

Estructura primaria. Formación de la unión fosfodiéster. Bases nitrogenadas. Tautomería de bases. Regla de Chargaff. Cristalografía de Rosalind Franklin. Doble hélice: análisis de Watson y Crick, propiedades. Formas A, B y Z. Desnaturalización y renaturalización. Similitud y

complementariedad. Temperatura de fusión o de melting (T_m). Cuantificación de ácidos nucleicos. Concepto de $Cot_{1/2}$. Estructuras secundarias. Topología del DNA: números L, T y W. Superenrollamiento. Topoisomerasas: clasificación y mecanismos de acción. Estructura terciaria. Condensación del DNA en eucariotas: nucleosoma, cromatina, cromosomas.

UNIDAD 2: REPLICACIÓN DEL DNA

Características generales. Replicón: unidad de replicación. Sitios de iniciación en procariontes y eucariontes. Horquilla de replicación. Eventos de cebado en el origen. Replicación de la cadena adelantada y atrasada. Enzimas que participan en la replicación del DNA. DNA polimerasa. DNA helicasa. Primasa, DNA ligasa. Fragmentos de Okazaki. Modelo del trombón. Telómeros y mecanismo de acción de las telomerasas. Regulación de la replicación en eucariotas. Replicación y ciclo celular.

UNIDAD 3: PURIFICACIÓN, FRAGMENTACIÓN, SEPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN
Métodos de obtención de ácidos nucleicos. Determinación de concentración y pureza de ácidos nucleicos. Enzimas de restricción. Definición. Clasificación. Origen: Sistema de Modificación/Restricción bacteriana. Extremos cohesivos y romos. Secuencia palindrómica. Nomenclatura. Mapa de restricción. Isoesquizómeros. Electroforesis en geles de agarosa y de poliacrilamida. Secuenciación del DNA: método de Sanger. Secuenciación automática.

UNIDAD 4: VECTORES DE CLONACIÓN, TÉCNICAS DE TRANSFERENCIA E HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Plásmidos. Fago Lambda. Cósmidos. Fago P1. Cromosoma Artificial Bacteriano. Cromosoma Artificial de Levadura. Bibliotecas. Construcción de bibliotecas genómicas y de cDNA. Uso de sondas oligonucleotídicas sintéticas: síntesis, purificación y marcado. Preparación de sondas de DNA y RNA. Marcación radiactiva y no radiactiva. Transferencias a soportes sólidos e hibridaciones de DNA, RNA y proteínas. Southern blot. Northern blot. Western blot. Dot blot. Identificación de un clon. Hibridación "in situ". Microarrays.

UNIDAD 5: AMPLIFICACIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Enzimas termolábiles y termoestables. Termociclador. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa. Ventajas y desventajas. Función de cada componente. Optimización de protocolos de PCR. Diferentes tipos de PCR: Nested PCR, PCR múltiple, PCR reversa. PCR-Real Time. Otros tipos de PCR. Usos de la PCR en biología molecular y medicina forense.

UNIDAD 6: TRANSCRIPCIÓN

Estructura del RNA. Comparación con la estructura del DNA. Hipótesis del RNA como primer biopolímero. Síntesis de RNA mensajero, RNA de transferencia y RNA ribosomal. RNA polimerasa. Comparación con la DNA polimerasa. Interacción de la RNA polimerasa y el promotor. Secuencias consenso. Complejo transcripcional: promotores, factores y RNA polimerasas. Transcripción y procesamiento del RNA en eucariontes. Empalme del RNA mensajero. Diferentes tipos y funciones del RNA. Código genético. Operón lac.

UNIDAD 7: TRADUCCIÓN

Marcos de lectura abierta. El ribosoma: composición, asociación y disociación. Iniciación, prolongación y terminación de la traducción. Regulación dependiente de la traducción de la estabilidad de los RNA mensajeros y las proteínas. El código genético: reglas que lo rigen y características generales. Vectores de expresión. Priones.

UNIDAD 8: MUTACIONES Y REPARACIÓN DEL DNA

Definición. Nomenclatura. Agentes causantes de mutaciones. Mutaciones germinales y somáticas. Importancia de las mutaciones en la evolución. Mutaciones por efecto en la estructura: puntuales, inserciones, deleciones; duplicación génica, translocaciones cromosómicas, deleciones intersticiales, inversión cromosómica. Otros tipos de mutaciones. Generación de mutaciones, deleciones e inserciones. Transposones. Reparación de los errores de la duplicación y de las lesiones del DNA.

UNIDAD 9: REGULACIÓN GÉNICA

Regulación génica en procariontes. Principios de la regulación de la transcripción. Regulación de la iniciación de la transcripción: ejemplos de bacterias. Ejemplos de regulación génica en pasos ulteriores a la iniciación de la transcripción. El caso del fago lambda: estratos de regulación. Regulación génica en eucariontes. Mecanismos conservados de regulación de la transcripción desde las levaduras hasta los mamíferos. Integración de señales y control combinatorio. Represores de la transcripción. Silenciamiento génico por modificación de las histonas y el DNA. Los RNA en la regulación génica.

UNIDAD 10: MODELOS DE ORGANISMOS

Bacteriófagos. Bacterias. Levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*. Nemátodo *Caenorhabditis elegans*. Mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Ratón doméstico *Mus musculus*. Generación de animales genéticamente modificados.

UNIDAD 11: BIOLOGÍA MOLECULAR EN CÉLULAS ANIMALES Y PLANTAS

Cultivos celulares. Cultivos primarios. Líneas celulares. Métodos de transfección. Métodos químicos y físicos. Transfecciones transiente y estables. Aplicaciones. Laboratorio de cultivo celular. Generalidades. Equipamiento necesario para una sala de cultivo celular. Plantas transgénicas. Plásmido Ti de *Agrobacterium*. T-DNA como vector génico. Métodos de transferencia de ADN. Uso de *Arabidopsis* como modelo para el estudio molecular en plantas. Mejora genética de plantas.

UNIDAD 12: BIOINFORMÁTICA

Introducción a la Bioinformática. Importancia de la Bioinformática en Biología Molecular. Base de datos moleculares: búsqueda de secuencias de nucleótidos, proteínas, plásmidos, etc. Comparación de dos secuencias: uso del BLAST. Diseño y análisis de primers. Sitio Web NCBI: National Center for Biotechnology Information. Otros sitios webs de interés.

PLAN DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE LABORATORIO

- 1- Transformación de bacterias competentes con un plásmido recombinante
- 2- Purificación del ADN de un plásmido.
- 3- Digestión de ADN con endonucleasas de restricción. Visualización del plásmido intacto, linealizado y de sus fragmentos de restricción mediante electroforesis.
- 4- Reacción en cadena de la polimerasa: PCR

5- Tecnología del ADN recombinante: Producción de proteínas fluorescentes.

6- Transfección de células eucariotas. Visualización por microscopía confocal.

3- BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Watson, Baker, Bell, Gann, Levine, Losick. 2006. BIOLOGIA MOLECULAR DEL GEN. Editorial Médica Panamericana. España.
- Watson, Gilman, Witkowski, Zoller. 1997. RECOMBINANT DNA. Scientific American Books. New York.
- Lodish, Berk, Zipursky, Matsudaira, Baltimore, Darnell. 2002. MOLECULAR CELL BIOLOGY. Editorial Médica Panamericana. España.
- Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter, Peter. 2002. MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL. Garland Science. New York and London.

4- METODOLOGÍA DE ENSEÑANZA Y DE EVALUACIÓN DURANTE EL CURSADO

El desarrollo de los contenidos de la materia se hará a través de: a) clases teóricas, b) mostración de videos interactivos para comprender los procesos biológicos, c) guías de estudio dirigido y d) trabajos prácticos de aula. Paralelamente al desarrollo de las clases teóricas correspondientes, se desarrollarán los trabajos prácticos enumerados en los contenidos analíticos (ver punto 2).

Evaluación

1- De los Trabajos Prácticos de Laboratorio

- a. Cada trabajo práctico será evaluado mediante un cuestionario escrito antes de realizar el práctico.
- b. Se deberá aprobar de primera instancia el 50% de los cuestionarios de los laboratorios.
- c. Se deberá aprobar el 100% de los trabajos prácticos para rendir el correspondiente parcial.

2- Del Contenido Teórico:

- a. Se tomarán 3 parciales, cada uno de los cuales se aprobará con un 70%. Para rendir cada parcial, se deberá haber aprobado la totalidad de los trabajos prácticos correspondientes a cada parcial.
- b. En caso de inasistencia a un parcial por motivo de enfermedad, el alumno deberá justificar su inasistencia presentando certificado médico expedido por Sanidad Universitaria para tener opción a sólo una recuperación adicional.

5- CONDICIONES DE REGULARIDAD TRAS EL CURSADO

Son requisitos para que un alumno sea considerado **regular**:

- Haber asistido al 50% de las clases teóricas
- Aprobar el 100% de los trabajos prácticos
- El alumno debe aprobar al menos un parcial de primera instancia
- El alumno cuenta con dos instancias de recuperación de parciales y podrá usarlas como prefiera

- Aprobar el 100% de los parciales
- El porcentaje mínimo de aprobación de todos los parciales es 70%.
- Participar en todos los seminarios de la asignatura
- Participar en el simposio final de la asignatura
- El alumno que trabaja deberá presentar un certificado de trabajo y tendrá derecho a una recuperación adicional.

6- SISTEMA DE APROBACIÓN Y PROMOCIÓN DE LA ASIGNATURA

Alumno Promocional

El alumno podrá promocionar la materia si cumple las siguientes condiciones:

- Haber asistido al 80% de las clases teóricas
- Aprobar el 100% de los trabajos prácticos
- Aprobar de primera instancia dos parciales con un mínimo de 70%
- Hacer uso sólo de un recuperatorio de parcial
- Aprobar el examen integrador que será tomado luego de haber aprobado todos los parciales, el cual deberá ser aprobado con un mínimo de 70%. Este examen integrador final tiene por objetivo relacionar e integrar el contenido de la asignatura.
- En caso de que el alumno no aprobara el examen integrador quedará en condición de alumno regular
- Nota final: La nota final de la materia será igual al promedio de las calificaciones obtenidas en todos los parciales, seminarios, simposio e integrador.

Alumno Libre

El régimen de examen para un el alumno libre es el siguiente:

- Rendir un examen escrito el cual deberá ser aprobado con 70%.
- Desarrollar un trabajo práctico elegido por sorteo, explicando contenidos y fundamentos.
- Demostrar habilidad en el manejo de las herramientas de Bioinformática.
- Examen oral donde se evaluará el contenido analítico de la materia. Nota de aprobación: 70%.