

19 FEB 2020



Nombre del curso o unidad curricular: Biología Molecular

Licenciaturas: Bioquímica, Ciencias Biológicas

Frecuencia y semestre de la formación al que pertenece la unidad curricular: Anual, Semestre Impar

Créditos asignados:

Lic. Bioquímica 12 créditos (Área Bioquímica Básica)

Lic. Ccias. Biológicas 12 créditos (Tramo Orientación – Área Celular y Molecular)

Nombre del/la docente responsable de la unidad curricular y contacto: Ana Cecilia Ramón,
anaramon@fcien.edu.uy

Requisitos previos:

Conocimientos de Bioquímica: Biomoléculas, estructura y función a nivel detallado (incluyendo lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos), bases de genómica, bases de bioenergética y metabolismo, metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas a nivel detallado (replicación del ADN, dogma central de la biología molecular, transcripción, código genético, traducción, mecanismos de regulación génica), y conocimientos de laboratorio en bioquímica general (purificación de proteínas y ácidos nucleicos, análisis de proteínas).

Conocimientos de Genética: Genoma eucariota, concepto de gen, niveles de organización de la cromatina, mitosis, meiosis. Mecanismos de la herencia, leyes de Mendel, fenotipo y genotipo, bases cromosómicas y moleculares de la herencia mendeliana, distancias genéticas, herencia cuantitativa. Plasticidad del material genético, mutación, recombinación, variaciones cromosómicas. Regulación de la expresión génica. De temas prácticos: conocimientos generales de técnicas moleculares aplicadas en genética.

Conocimientos de Biología Celular: organización molecular y roles de la membrana celular, organización del espacio subcelular, tránsito intracelular, organización general y funciones del núcleo, sistemas subcelulares de conversión de energía, multiplicación celular, diferenciación, comunicación celular. Técnicas de estudio en Biología celular.

Ejemplos unidades curriculares de Facultad de Ciencias u otros que aportan dichos conocimientos: Bioquímica, Biología Celular, Genética.



Conocimientos adicionales sugeridos:

Se sugieren otros contenidos de los cursos antes referidos (bases de biología del desarrollo, vías metabólicas) y además los contenidos de otros cursos, en especial temas de virología y genética microbiana y técnicas de rutina en microbiología.

Objetivos de la unidad curricular:

a) Herramientas, conceptos y habilidades que se pretenden desarrollar en la unidad curricular

Como objetivo general se pretende darle al estudiante información actualizada para comprender en profundidad las bases moleculares de fenómenos biológicos (clases teóricas), familiarizarse con las principales metodologías de uso en la investigación básica de la biología molecular (práctico de laboratorio) y entender artículos de investigación original sobre temas referentes a esta disciplina, incluyendo metodologías de actualidad (seminarios).

El objetivo de este curso es que los estudiantes adquieran una formación general en las bases moleculares de la vida, algo que ya comienzan a estudiar en los cursos de Biología Celular y Bioquímica I, pero que se ve en este curso en mayor profundidad. Además, en este curso se tratan los temas con un mayor énfasis a nivel de interacciones moleculares y estructura molecular, y con un fuerte énfasis en aspectos metodológicos. Se pretende que los estudiantes conozcan las técnicas más comunes de biología molecular, y que sepan por un lado interpretar resultados obtenidos con estas técnicas por otros autores, pero también que sepan cómo aplicar estas técnicas en diversos contextos, ya que hoy en día son de utilidad para muchas otras disciplinas.

Conocimientos y metodologías que se pretende desarrollar en el curso:

- Conceptos teóricos de Biología Molecular (ver programa detallado)
- Experiencia de laboratorio en técnicas de rutina de Biología Molecular (clonado, transformación, PCR, RT-qPCR, técnicas de extracción y análisis de ácidos nucleicos, electroforesis, etc.) y manejo de instrumental asociado (ej. termocicladores, equipos de electroforesis, etc.).
- Experiencia y aprendizaje en la realización de informes técnicos
- Experiencia y aprendizaje en la realización de presentaciones científicas
- Interpretación crítica de la bibliografía especializada
- Conocimientos básicos de bioinformática

b) En el marco del plan de estudios

En el marco de la formación profesional, ¿qué herramientas aporta esa unidad curricular en la formación profesional de ese estudiante?

Las herramientas que aporta este curso incluyen:

- Conceptos teóricos de Biología Molecular
- Experiencia de laboratorio en técnicas de Biología Molecular
- Experiencia y aprendizaje en la realización de informes técnicos
- Experiencia y aprendizaje en la realización de presentaciones científicas
- Conocimientos básicos de bioinformática



Temario sintético de la unidad curricular:

Teórico

Estructura y conformación de los ácidos nucleicos
Generalidades de las interacciones ADN-proteínas
Replicación del ADN
Genoma: procariotas y eucariotas
Genomas eucariotas
Regulación de la transcripción en procariotas
Regulación post transcripcional en procariotas
Transcripción en eucariotas.
Regulación de la transcripción en eucariotas.
Procesamiento y regulación post-transcripcional en eucariotas.
Cromatina, estructura y función
Traducción y síntesis de proteínas
Plegamiento de proteínas
Transducción de señales
Bases moleculares del desarrollo

Práctico

Módulo 1: Amplificación de un ADN genómico por PCR
Módulo 2: Clonación y Selección de moléculas recombinantes
Módulo 3: Bioinformática
Módulo 4: Análisis de expresión por PCR en tiempo real

Seminario: técnicas utilizadas en Biología Molecular

Técnicas generales para el análisis y detección de ácidos nucleicos y proteínas.
Localización a nivel celular y subcelular de la expresión génica
Aproximaciones "ómicas"
Interacciones ácidos nucleicos-proteína, proteína-proteína
Análisis de expresión por PCR en tiempo real
CRISPR/Cas

Temario desarrollado:

Temario de teórico

Estructura y conformación de los ácidos nucleicos (3 horas).

Composición química y componentes sillares. Polimerización. Propiedades físicas y químicas. Aplicaciones. Estudio comparativo de ADN y ARN, estructuras, tipos y función. Interacciones intra- e interhebra. Apareamiento de Watson y Crick y otros. Topología y Superenrollamiento. Métodos de estudio de las estructuras y conformaciones de los ácidos nucleicos.

Generalidades de las interacciones ADN- proteínas (1.5 horas).

Interacciones inespecíficas y específicas. Lectura indirecta y directa. Conformabilidad. Interacciones con proteínas: teoría modular, dominios de unión al ADN, al ARN y duales. Interacciones entre ácidos nucleicos. Interacciones con metabolitos. Métodos de estudio de las interacciones moleculares de los ácidos nucleicos.



Replicación del ADN (1.5 horas).

Conceptos generales. Aproximaciones experimentales. Aspectos químicos y bioquímicos. Las ADN polimerasas. Mecanismos: iniciación, elongación, terminación, en procariotas y eucariotas. Regulación de la replicación en procariotas y eucariotas. Herramientas y aplicaciones derivadas del conocimiento de la replicación

Genoma: procariotas (1.5 horas).

Estructura de genomas bacterianos. Genómica de bacterias: pan-genoma, genoma "core" y "accesorio". Organización del genoma procariota, características composicionales y causas de su variación a diferentes escalas. Tamaños de genomas y números de genes.

Genomas eucariotas (3 horas).

Paradoja del valor C: Tamaño genoma vs complejidad de los organismos. Estructura del gen eucariota. Número, densidad y tamaño de genes. Curvas CoT. Características composicionales. Secuencias repetidas: Tipos Características. Secuenciación de genomas: Metodologías Introducción al secuenciado de segunda generación

Regulación de la transcripción en procariotas (3 horas).

Inicio de la transcripción, promotores y métodos de estudio. Terminación de la transcripción, rho dependiente y rho independiente. Operones y regulones. Operón Lactosa, arabinosa y triptofano. Regulación positiva, negativa. Atenuación. Regulación transcripcional mediada por sustitución de la subunidad sigma 70 por factores alternativos. Regulación por el 6SRNA. La respuesta estricta mediada por ppGpp.

Regulación post transcripcional en procariotas (1.5 horas).

Regulación de la vida media del ARNm. Mecanismos de degradación del ARNm. El degradosoma. Métodos de análisis. sRNAs reguladores. Riboswitches. Termómetros de ARN. Regulación del inicio de la traducción.

Transcripción en eucariotas. (1.5 horas).

Flujo de la información genética en eucariotas. Distintos tipos de ARNs. Características generales de la transcripción, diferencias con procariotas. Los transcriptos eucariotas y sus características. Las ARN polimerasas- La ARN polimerasa II. El promotor eucariota, características. Comienzo de la transcripción. Complejo de Pre-iniciación. Factores. El complejo Mediador.

Regulación de la transcripción en eucariotas. (3 horas).

Características generales de la regulación de la expresión génica. Regulación al inicio de la transcripción.

Secuencias reguladoras. Proteínas y ARNs reguladores. Principios básicos y estructurales de Epigenética.

Procesamiento y regulación post-transcripcional en eucariotas. (3 horas).

Capeado del mensajero. Splicing (corte y empalme): mecanismos y funciones. El spliceosoma. Tipos de splicing trans-splicing. Splicing alternativo. Poliadenilación. Exportación del ARNm al citoplasma y localización sub-celular. Edición (editing) del ARNm. Procesamiento del ARN ribosomal y del ARN de transferencia. Degradación del ARNm y su regulación. ARNs pequeños no codificantes. Control traduccional. Regulones post-transcripcionales.

Cromatina, estructura y función epigenética (4.5 horas).

Estructura del nucleosoma. Histonas (histonas del núcleo central, histona "linker"). Niveles de compactación de la cromatina (¿existe la fibra de 30 nm niveles superiores de compactación). Territorios cromosómicos. Nucleosomas y replicación del ADN: ensamblado de nucleosomas. Posicionamiento nucleosomal. Nucleosomas y transcripción. Remodelado de la cromatina. Epigenética. Modificaciones covalentes de histonas. Código de histonas. Complejos remodeladores. Variantes de histonas. Metilación del ADN. Participación de ARNs no codificantes. Silenciamiento. Heterocromatina constitutiva (centrómero, telómeros) y facultativa. Variegación de efecto posicional. Impronta genómica. Herencia de los estados de la cromatina.

Traducción y síntesis de proteínas (3 horas).

Las moléculas y estructuras responsables. Los mecanismos. Especificidad y fidelidad. Biosíntesis de proteínas en membranas. Biogénesis del aparato traduccional (biosíntesis y ensamblado de los ribosomas, el ciclo de los tRNA, topogénesis). Patologías traduccionales. Antibióticos que actúan sobre la traducción. Regulación de la traducción en procariotas. Elementos reguladores que actúan en cis y en trans. Regulación de la traducción en eucariotas. Procesos de control, homeostasis y adaptación celular. Moléculas, acciones y mecanismos implicados en los procesos regulatorios. Mecanismos de regulación generales y específicos.

Plegamiento de proteínas. (1.5 horas)

Plegamiento de las proteínas: de la biología básica a la patología y la biotecnología. Métodos de estudio. Aspectos físico-químicos. Moléculas que asisten al plegamiento de las proteínas in vivo. Plegamiento post-traduccional y co-traduccional. Destino de las proteínas defectuosas. Degradación de las proteínas. Proteostasis. El sistema ubiquitina-proteasome. Control de calidad de la síntesis de proteínas en el retículo endoplásmico. La respuesta celular a la presencia de proteínas mal plegadas (UPR, unfolded protein response).

Transducción de señales (3 horas).

Generalidades sobre los mecanismos de comunicación celular. Formas de comunicación celular: tipos de señales, clases de receptores, vías de señalización. Interruptores moleculares. Dominios de interacción. Complejos de señalización. Principios de regulación de las vías. Ejemplos de vías de transducción de la señal. Canales iónicos controlados por ligando. Receptores de superficie acoplados a proteína G, segundos mensajeros, eventos de fosforilación. Receptores con actividad tirosin-quinasa, proteína Ras, módulo de MAP quinasa, PI-3 quinasa. Receptores asociados a tirosin-quinasa citosólicas, vía JAK-STAT. Receptores con actividad serina/treonina quinasa, proteínas Smad.

Bases moleculares del desarrollo (3 horas).

Introducción a la biología del desarrollo. Métodos para el estudio de la biología del desarrollo a nivel molecular. Mecanismos de comunicación entre células en el desarrollo, especificación y diferenciación celular (bases moleculares y genéticas). Conceptos y ejemplos de morfogénos. Morfogénesis. Genética y biología molecular del desarrollo en *Drosophila* en detalle como modelo. Comparaciones evolutivas de

los mecanismos conservados y particulares del desarrollo en animales.

Temas de actualidad (3 horas).



Temario de práctico

Módulo 1: Amplificación de un ADN genómico por PCR

- Diseño de cebadores
- Preparación de ADN
- Cuantificación de Ácidos Nucleicos
- PCR (reacción en cadena de la polimerasa)
- Electroforesis en agarosa de Ácidos Nucleicos

Módulo 2: Clonación y Selección de moléculas recombinantes

- Clonado
- Transformación de células
- Vectores de clonado
- Minipreparación de plásmidos
- Enzimas de restricción
- Geles de acrilamida

Módulo 3: Análisis de expresión por PCR en tiempo real

- Síntesis de ADNc a partir de ARNm
- Cálculos de eficiencia de los cebadores
- Utilización de genes de referencia
- Curvas de eficiencia y análisis de expresión de genes

Módulo 4: Bioinformática

- Visualización de secuencias de ácidos nucleicos
- Alineamientos de secuencias de ácidos nucleicos
- Análisis

Temario de seminario

Discusión de técnicas de uso común en Biología, basándose en la discusión de artículos científicos. Las técnicas discutidas incluyen:

- Técnicas generales para el análisis y detección de ácidos nucleicos y proteínas.
- PCR (RT-PCR, real time PCR, otras variaciones)
- Clonado (vectores, vectores de expresión, transformación).
- Expresión y purificación de proteínas.
- Southern blot
- Northern blot
- Western blot
- Localización a nivel celular y subcelular de la expresión génica
- Hibridación in situ
- Inmunohisto/citoquímica
- Reporteros fluorescentes (ej. GFP)
- Aproximaciones "ómicas"
- RNAseq (secuenciación masiva de ARN)
- Microarreglos
- Electroforésis 2D de proteínas
- Espectrometría de masas
- Interacciones ácidos nucleicos-proteína, proteína-proteína
- Ensayos de retardo en gel (EMSA).
- Crosslinking
- Ensayos de footprinting (por protección o por interferencia).

Carga horaria total: 96.5 hs



Carga horaria detallada:

a) Horas aula de clases teóricas: 40.5

b) Horas aulas de clases prácticas: 56

c) Horas sugeridas de estudio domiciliario durante el período de clase:

Sistema de ganancia de la unidad curricular

Tiene examen final: Si

Se exonera: No

Nota de exoneración (del 3 al 12):

a) **Características de las evaluaciones:**

El curso tiene las siguientes instancias de evaluación:

- Actuación en Seminarios y Laboratorio

Presentación oral de artículo en clases de Seminario (10 puntos)

Informes escritos de práctico, realizados al finalizar cada módulo (20 puntos en total).

- Dos parciales (50 puntos cada uno) con preguntas de múltiple opción y de preguntas escritas de desarrollo, incluyendo temas de teórico, práctico y seminario.

El examen final es en general escrito, constando de preguntas teóricas a desarrollar (2 de 3 planteadas) y ejercicios de resolución de problemas prácticos.

b) **Porcentaje de asistencia requerido para aprobar la unidad curricular:** 75

c) **Puntaje mínimo individual de cada evaluación y total:** 50

d) **Modo de devolución o corrección de pruebas:** Las pruebas corregidas son entregadas a los estudiantes y se establece una instancia de corrección ya sea colectiva o individual de los errores.

Iguá 4225 esq. Mataojo • 11.400 Montevideo – Uruguay
Tel. (598) 2525 0378 • (598) 2522 947 • (598) 2525 8618 al 73 ext 7 110 y 7 168 • Fax (598) 2525 8617



- Cromatografías de afinidad
- Co-inmunoprecipitaciones
- Pull-down
- Dobles híbridos de levadura.
- Genética directa y reversa (en organismos y en cultivos celulares):
- Mutagénesis generalizada y "screening" fenotípico
- Mutagénesis dirigida (knock-outs, mutaciones puntuales, CRISPR)
- Sobre-expresión de genes e introducción de genes (knock-in) genes reporteros
- Knock-down por interferencia de ARN (RNAi).



Bibliografía

a) *Básica:*

Recomendado para el temario de teórico

- Biología molecular del gen, 5ta edición. Watson, Baker, Bell, Gann, Levine, Losick. Editorial Panamericana (hay ediciones más recientes en inglés). Disponible en Biblioteca.

Recomendado para el temario de práctico

- Biología Molecular e Ingeniería genética. Luque y Herráez. Elsevier. Disponible en Biblioteca.

b) *Complementaria:*

- Biología Molecular de la Célula, 5ta edición. Alberts, Jonson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. Ed. Omega (hay ediciones más recientes en inglés). Disponible en Biblioteca.

- Molecular Cell Biology, 5th edition. Lodish y Berk. Ed. Freeman. Disponible online en el sitio de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>).

La bibliografía complementaria incluye artículos científicos y revisiones recientes de los temas, que son actualizadas en el EVA del curso.

Modalidad cursada: Presencial. Los teóricos también se encuentran disponibles en EVA

Metodología de enseñanza:

Teóricos: clases magistrales

Seminarios: presentación y discusión de artículos por parte de los estudiantes

Prácticos: resolución de un problema planteado a lo largo del semestre, utilizando de manera guiada diferentes técnicas de Biología molecular