

Programa de TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR Y GENETICA

Carrera: Tecnicatura Universitaria en Biotecnología

Asignatura: Técnicas de Biología Molecular y Genética

Núcleo al que pertenece: Básico Obligatorio

Profesora: Dra. Maia Cabrera

Pre requisitos: Fundamentos de la Biología Celular y Molecular

Objetivos:

Es Objetivo de esta materia que las personas estudiantes logren:

La comprensión teórica y la adquisición de conocimientos prácticos de las técnicas de Biología Molecular y del área de Genética que le permitan adquirir y analizar información, trabajar en equipo y desarrollar habilidades en el manejo de las técnicas y el criterio para la toma de decisiones; lo que favorecerá su adaptación a situaciones reales de su futura carrera profesional.

Para ello es necesario fomentar el desarrollo de pensamiento crítico así como la capacidad analítica que le permita entender cómo se aborda un problema biológico desde el punto de vista molecular y aplicar el razonamiento científico para la identificación de las técnicas de experimentación que permitan adquirir nuevos conocimientos.

Asimismo plantear los experimentos adecuados para responder a una nueva pregunta e interpretar correctamente los resultados para lo cual la persona que curse la asignatura deberá aprender las debilidades y fortalezas de las técnicas moleculares para llegar a tener un juicio crítico sobre las mismas.

Para ello se abordarán conceptos básicos correspondientes a dichas áreas en relación a las características estructurales de los componentes sub-celulares y las técnicas asociadas de aislamiento, expresión y cuantificación tanto en organismos procarionotas como eucariotas. Se estimulará la participación en clase, se fomentarán las discusiones durante el desarrollo de las mismas, se analizarán los resultados obtenidos en los trabajos prácticos y las variables que pueden influir en cada caso.

Finalmente, se espera que la persona estudiante aprenda a investigar en las fuentes bibliográficas y a difundir los resultados obtenidos durante las prácticas de laboratorio, a través de la realización de informes.

Las unidades de competencia de la materia se orientan a:

1. Adquirir una base teórica sólida acerca de los procesos moleculares que rigen el funcionamiento de los seres vivos.
2. Conocer los métodos científicos por los que se ha llegado a estos conocimientos y entender la base de las técnicas empleadas en un laboratorio de Genética y Biología Molecular.
3. Manejar las técnicas más utilizadas de un laboratorio de Genética y Biología Molecular y conocer los elementos básicos de un laboratorio de estas características.

En el laboratorio, se practicarán algunas de las técnicas más significativas e ilustrativas de esta actividad científica buscando que el alumno sea capaz de:

1. Conocer el fundamento de cada técnica y sus limitaciones
2. Determinar los reactivos y equipamientos necesarios para llevarlas a cabo
3. Manejar los equipos necesarios para el desarrollo de la técnica o identificar la forma de adquirir las habilidades oportunas.

4. En el caso de que sea posible el uso de técnicas alternativas, estimar cuál o cuales resultan mas adecuadas para alcanzar el objetivo que se desea.
5. Redactar los protocolos a seguir en cada caso para ser usados a posteriori por el o por otros miembros del equipo.
6. Recoger de forma sistemática los resultados obtenidos y deducir las conclusiones que deriven de las mismas.
7. Adquirir el criterio necesario para determinar en cada caso el número de experimentos y las réplicas necesarias para que los resultados resulten significativos desde el punto de vista estadístico.
8. Redactar en la forma adecuada un informe científico donde se recojan tanto las bases, como la metodología a seguir, los resultados que se obtengan y una discusión de los mismos a la vista de los conocimientos previos.

Durante la primera etapa se dictarán el mayor número de clases teóricas que constituirá la base para poder realizar los ensayos de laboratorio, los cuales se concentrarán en la segunda mitad del cuatrimestre.

Además, al comenzar cada jornada de laboratorio se tomará un pequeño examen (parcialito) relacionado con la temática experimental a desarrollar.

Contenidos mínimos: Ingeniería genética. Clonado molecular. Técnicas de evaluación de ácidos nucleicos y secuenciación. Producción de proteínas recombinantes. Métodos experimentales para medir proteínas. Microscopía óptica, electrónica y de fluorescencia. Microscopía confocal. Técnicas interactómicas.

Carga horaria semanal: 6 hs

Programa analítico:

Unidad 1 - Introducción. Estructura de los ácidos nucleicos.

Concepto, objetivo e historia de la Biología Molecular y la Genética. Aplicaciones de la Biología Molecular. DNA y RNA: estructura y características. Estructura química del DNA. Conformación tridimensional del DNA: la doble hélice. Tamaño y forma del DNA. Superenrollamiento. Estructura del RNA. Estructura química del RNA. Tipos de RNA: características.

Unidad 2 - Replicación del ADN.

Características de la replicación del DNA. Mecanismo del proceso de replicación. Enzimas y proteínas implicadas en el proceso de replicación. Replicación en procariontes. Replicación en eucariotes. Regulación. Reparación del DNA.

Unidad 3 - Transcripción

Transcripción del DNA en procariontes. RNA polimerasa. Etapas: Inicio. Elongación. Terminación. Transcripción en eucariotes. RNA polimerasas. Secuencias promotoras. Factores de transcripción. Etapas: Inicio. Elongación. Terminación. Maduración de los RNAs.

Unidad 4- Traducción: el código genético y la biosíntesis de proteínas

Visión global del proceso de traducción. El código genético. Estructura, características y papel de los ribosomas. El RNA de transferencia como molécula adaptadora.

Activación de los aminoácidos. Aminoacil-tRNA sintetasas. Etapas. Inicio. Elongación. Terminación. Maduración postraducciona.

Unidad 5 -Proteínas

Tipos de enlace. Enlaces peptídicos. Aminoácidos. Estructura proteica: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. Funciones proteicas. Agentes desnaturizantes. Degradación proteica. Enzimas y anticuerpos mono y policlonales

Unidad 6 - Regulación de la expresión génica en procariontes

Características generales. Centros reguladores de los operones. Elementos que constituyen un operón. Operón lac: uso en biología molecular. Plásmidos. Transformación.

Unidad 7 - Regulación de la expresión génica en eucariotes

Características generales. Regulación epigenética. Metilación del DNA. Regulación transcripcional. Promotores y proteínas que regulan la transcripción.Regulación post-transcripcional. Maduraciones alternativas. Regulación traduccional. snRNA en la regulación de la transcripción. Mecanismo de silenciamiento génico. RNA antisentido en la regulación de la traducción.

Unidad 8 -Estructura del ADN y Mitosis

Cromosomas. Bandeos cromosómicos. Cromatina. Nucleosomas. Hetero u eucromatina. Mitosis: fases. Huso mitótico. Drogas que afectan la mitosis. Cariotipo. Etapas del ciclo celular eucariota. El ciclo celular en mamíferos: puntos de control proteínas involucradas. Principales proteínas de la maquinaria de control del ciclo celular y su mecanismo de acción. Métodos de evaluación de la mitosis. Citometría de flujo. Fluorocromos. Tinción del ADN.

Unidad 9 - Mutaciones y reparación del ADN

Mutaciones génicas. Test de Ames. Rotura doble hebra y recombinación homóloga y su rol en la recombinación meiótica. Transposones.

Unidad 10.- Aislamiento de macromoléculas

Homogeneización celular. Aislamiento de células. Lisis celular. Protocolos y principios de extracción de ADN plasmídico y eucariota: lisis alcalina, fenol-cloroformo y CTAB. Kits y métodos automatizados. Cuantificación del ADN. Protocolos y principios de extracción de ARN y cuantificación. Conservación de las muestras. Geles de agarosa. Protocolos y principios de extracción de proteínas. Cuantificación de proteínas. SDS-page. Western blot.

Unidad 11. Corte y separación del ADN

Enzimas de restricción. Separación de fragmentos de DNA: electroforesis. Visualización de los fragmentos separados. Técnicas basadas en RFLP. Southern blot. Aplicaciones.

Unidad 12 - Secuenciación del ADN. Bioinformática.

Secuenciación del DNA. Métodos de secuenciación. Proyectos genoma humano y otros genomas secuenciados. Secuenciación de Sanger y NGS.

Unidad 13 - Cultivo celular

Cultivo celular: líneas celulares y cultivos primarios. Componentes del cultivo celular. Equipamiento y materiales. Contaminaciones comunes. Cinéticas de crecimiento. Repique y recuento celular. Condiciones básicas de cultivo celular. Microscopía.

Unidad 14. Reacción en cadena de la polimerasa

Fundamento de la PCR. Tipos de PCR. Marcadores moleculares: tipos y aplicaciones. Reacciones de transcripción reversa para la generación de cDNA. Análisis de mRNAs mediante reacciones de RT-PCR. Aplicaciones prácticas. PCR en tiempo real: principales características y aplicaciones. Tipos de sondas

Unidad 15- CRISPR

CRISPR-CAS9-Inmunidad bacteriana- Edición de genes.

Unidad 16- T. Práctico de Laboratorio N° 1 BIOINFORMATICA: DISEÑO DE PRIMERS. HERRAMIENTAS BIOINFORMATICAS PARA CLONACION DE FRAGMENTOS ESPECIFICOS EN VECTORES DE EXPRESION.**Unidad 17 T. Práctico de Laboratorio N° 2 AISLAMIENTO DE ADN EUCARIOTA Y PROCARIOTA. CUANTIFICACION MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE LUZ ULTRAVIOLETA. PCR: PREPARACION Y AMPLIFICACION.****Unidad 18- T. Práctico de Laboratorio N° 3 CORTE CON ENZIMAS DE RESTRICCIÓN. CORRIDA ELECTROFORETICA. INTERPRETACION DE RESULTADOS.****Unidad 19- T. Práctico de Laboratorio N° 4 EXTRACCION DE PROTEINAS. CUANTIFICACION. SDS PAGE. WB****Unidad 20- T. Práctico de Laboratorio N° 5 CULTIVO DE TEJIDOS DE CELULAS EUCARIOTAS. CALCULO DE PARAMETROS BASICOS DE CULTIVOS. CONDICIONES BASICAS DE MANTENIMIENTO. MICROSCOPIA.****Bibliografía obligatoria:**

- Molecular Biology of the Cell (6th edition). Alberts, Johnson, Lewis et al. Garland Science, Taylor & Francis Group (2015).
- Molecular Cloning - Sambrook & Russel - Vol. 1, 2, 3
- GENETICS ANALYSIS AND PRINCIPLES 6TH EDITION By BROOKER
- Introduction to Genetic Analysis 10th Anthony J.F. Griffiths, Susan R. Wessler, Sean B. Carroll.

Organización de las clases:

- La asignatura se desarrollará a través de una modalidad teórico-práctica, con clases de una extensión de 6 horas, dos veces por semana, a lo largo de un cuatrimestre.
- La metodología de trabajo se basará en el diálogo y la participación permanente, tanto en el aula como durante las actividades prácticas en el laboratorio.
- Las estrategias de aprendizaje incluirán actividades prácticas, elaboración de informes de estas actividades, exposiciones orales por parte de los estudiantes, estudios de casos y situaciones problemáticas con búsqueda de información científica.
- Los contenidos serán desarrollados atendiendo en cada caso a los conocimientos previos con los que cuentan los alumnos, las relaciones que pueden establecerse entre esos contenidos previos y los que se desarrollarán, y las conexiones que se puedan mencionar con temáticas específicas del área de la programación.

- A través de la lista de la materia y grupo virtual, quienes cursen la asignatura podrán plantear preguntas relativas a la materia, réplicas y contrarréplicas a todos los miembros. Se generarán respuestas individuales o grupales y el personal docente a cargo del dictado de clases y trabajos prácticos supervisarán los intercambios entre los miembros del grupo en forma asincrónica, procurando la participación e interacción entre el alumnado.
- Los conocimientos teóricos serán afianzados a través de la resolución de problemas y cuestionarios.

Modalidad de evaluación:

Evaluación: 2 evaluaciones parciales, con contenido teórico y ejercicios en los que se apliquen los conocimientos desarrollados en las clases. Examen final integrador.

Para aprobar los exámenes parciales se requiere una nota mínima de 4 (cuatro) puntos sobre un total de 10 (diez) puntos, incluyendo la correcta resolución de, al menos un 40% del puntaje de cada tema incluido en el examen.

Los mecanismos de evaluación en modalidades libre y presencial de esta asignatura están reglamentados según Régimen de estudios vigente de la UNQ (Res. CS 201/18):

Las asignaturas podrán ser aprobadas mediante un régimen regular, mediante exámenes libres o por equivalencias.

Las instancias de evaluación parcial serán al menos 2 (dos) en cada asignatura y tendrán carácter obligatorio. Cada asignatura deberá incorporar al menos una instancia de recuperación.

El/la docente a cargo de la asignatura calificará y completará el acta correspondiente, consignando si el/la estudiante se encuentra:

- a) Aprobado (de 4 a 10 puntos)
- b) Reprobado (de 1 a 3 puntos)
- c) Ausente
- d) Pendiente de Aprobación.

Se considerará Ausente a aquel estudiante que no se haya presentado/a a la/s instancia/s de evaluación pautada/s en el programa de la asignatura.

Modalidad libre

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	Unidad	Actividad			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Cuestionario	Laboratorio	
1	U1: Introducción. Estructura de los ácidos nucleicos.	X			
2	U2: Replicación del ADN. U3 Transcripción	X			
3	U4: Traducción: el código genético y la biosíntesis de proteínas. U5: Proteínas.	X	X		
4	U6: Regulación de la expresión génica en procariontes. Cuestionario	X			
5	U7: Regulación de la expresión génica en eucariontes	X			
6	U8: Estructura del ADN y Mitosis.	X	X		
7	U9: Mutaciones y reparación del ADN	X			Primer Parcial
8	U10: Aislamiento de macromoléculas	X	X		
9	U11: Corte y separación del ADN. U12: Secuenciación del ADN. Bioinformática.	X			
10	U13: Cultivo celular	X			
11	U14: Reacción en cadena de la polimerasa. U15: CRISPR	X	X		
12	Práctico de Laboratorio Nº 1			X	

13	Práctico de Laboratorio Nº 2			X	
14	Práctico de Laboratorio Nº 2			X	
15	Práctico de Laboratorio Nº 2			X	
16	Práctico de Laboratorio Nº 2			X	
17					Segundo Parcial
18					Integrador