



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

SAN LUIS, 16 JUN 2014

VISTO:

El Expediente EXP-USL: 3216/2014 mediante el cual se solicita la protocolización del Curso de Posgrado: **DIAGNÓSTICO MOLECULAR APLICADO A LA CLÍNICA**; y

CONSIDERANDO:

Que el mencionado Curso se dictará en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia desde el 1° al 23 de agosto de 2014 bajo la responsabilidad de la Dra. Silvia Mabel **VARAS**, Colaboradoras: Dra. María Gabriela **LACOSTE** quién también realiza funciones de coordinación, Dra. Mariana Lucila **FERRAMOLA** y la Dra. Mariela Janet **CORIA**, Auxiliar: Bqco. José Luis **ARIAS** todos de la Universidad Nacional de San Luis, con un crédito horario de 60 horas presenciales.

Que el Comité Científico del Programa de Posgrado en Bioquímica y Ciencias Biológicas sugiere la aprobación del Curso propuesto.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis en su reunión del 3 de junio de 2014, luego de su análisis acordó aprobar la propuesta como Curso de Posgrado, según lo establecido en Ordenanza CS N° 23/09.

Que corresponde su protocolización.

Por ello y en uso de sus atribuciones

EL RECTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

RESUELVE:

ARTÍCULO 1°.- Protocolizar el dictado del Curso de Posgrado: **DIAGNÓSTICO MOLECULAR APLICADO A LA CLÍNICA**, en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia desde el 1° al 23 de agosto de 2014 bajo la responsabilidad de la Dra. Silvia Mabel **VARAS** (DNI N° 17.665.475), Colaboradoras: Dra. María Gabriela **LACOSTE** (DNI N° 28.055.484) quién también realiza funciones de coordinación, Dra. Mariana Lucila **FERRAMOLA** (DNI N° 30.815.106) y la

Cpde RESOLUCIÓN R N° **786**

[Firma]
Dr. Félix Osvaldo Quintas
Rector
U.N.S.L.

[Firma]
Dra. Alicia Marcela Píritola
Secretaría de Posgrado
U.N.S.L.



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

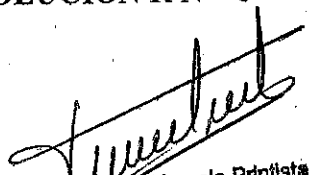
ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

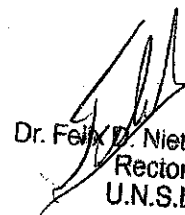
Dra. Mariela Janet **CORIA** (DNI N° 26.112.449), Auxiliar: Bqco. José Luis **ARIAS** (DNI N° 28.113.302) todos de la Universidad Nacional de San Luis, con un crédito horario de 60 horas presenciales.

ARTÍCULO 2°.- Aprobar el programa del Curso de referencia, de acuerdo al **ANEXO** de la presente disposición.-

ARTÍCULO 3°.- Comuníquese, insértese en el Libro de Resoluciones y archívese.-

RESOLUCIÓN R N° 786
may


Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaría de Posgrado
U.N.S.L.


Dr. Félix D. Nieto Quintas
Rector
U.N.S.L.



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

ANEXO

DENOMINACIÓN DEL CURSO: DIAGNÓSTICO MOLECULAR APLICADO A LA CLÍNICA

UNIDAD ACADÉMICA RESPONSABLE: Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia

CATEGORIZACIÓN: Capacitación

RESPONSABLE: Dra. Silvia Mabel VARAS

COLABORADORAS: Dra. María Gabriela LACOSTE, Dra. Mariana Lucila FERRAMOLA, Dra. Mariela Janet CORIA

AUXILIARE: Bqco. José Luis ARIAS

COORDINADORA: Dra. María Gabriela LACOSTE

CRÉDITO HORARIO: 60 horas

MODALIDAD DE DICTADO: Presencial

FECHA DE DICTADO DEL CURSO: 1º al 23 de agosto de 2014

FECHA PREVISTA PARA ELEVAR LA NÓMINA DE ALUMNOS

APROBADOS: 3 de septiembre de 2014

DESTINATARIOS: Egresados con título de grado universitario en Medicina, Bioquímica, Lic. en Bioquímica, Lic. en Enfermería, Lic. en Nutrición, Técnicos de Laboratorio y en disciplinas afines a la temática del curso.

LUGAR DE DICTADO: Aula 44 de Posgrado y Laboratorio de Química Biológica – UNSL

CUPO:

- Laboratorio: 15 personas.
- Clases Teóricas: Sin límite.

FUNDAMENTACIÓN: En la actualidad, las técnicas de biología molecular son esenciales en el laboratorio clínico. Representan una herramienta para el diagnóstico, confirmación y seguimiento de numerosas patologías neonatales, metabólicas y proliferativas. El dictado del Curso se fundamenta en la necesidad de los egresados de carreras biomédicas de adquirir mayor conocimiento y destreza en la realización de técnicas de biología molecular aplicables al diagnóstico de distintas enfermedades humanas.

OBJETIVOS:

General: brindar al egresado actualización en temas de biología molecular y entrenamiento en técnicas moleculares realizables en un laboratorio clínico, que sirvan para la detección molecular de alteraciones a nivel de ADN que sean origen de distintas patologías humanas.

Cpde RESOLUCIÓN R N° 786

[Firma]
Dra. Rosa B. Alzate Quintas
Rector
U.N.S.L.

[Firma]
Dra. Alicia Marcela Primitiva
Secretaría de Posgrado
U.N.S.L.



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

Particulares:

- Manejar distintos protocolos para la obtención adecuada de muestras biológicas que serán posteriormente utilizadas en estudios moleculares.
- Diseñar y llevar a cabo un protocolo molecular de interés biomédico.
- Detectar y resolver los problemas prácticos del uso de técnicas moleculares: preparación de reactivos, contaminación, uso de controles, etc.
- Adquirir entrenamiento en la interpretación de geles e informe de resultados.
- Conocer las posibilidades que ofrecen las técnicas de biología molecular en el diagnóstico clínico de cáncer, enfermedades hereditarias y metabólicas.

CONTENIDOS MÍNIMOS:

- Tema N° 1: Genoma Humano. Proyecto Genoma Humano. Controversias Éticas. Obtención de muestras biológicas para estudios de ADN.
- Tema N° 2: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Historia, definición, ventajas y desventajas.
- Tema N° 3: Técnicas moleculares utilizadas para la determinación de deleciones e inserciones.
- Tema N° 4: Diseño de oligonucleótidos.
- Tema N° 5: Técnicas moleculares utilizadas para la determinación de mutaciones puntuales.
- Tema N° 6: PCR en tiempo real. Fundamentos.
- Tema N° 7: Nuevas plataformas diagnósticas usadas en screening moleculares.
- Tema N° 8: Seminarios: búsqueda bibliográfica. Planteo de trabajos de investigación en áreas biomédicas. Planteo de hipótesis y plan de trabajo.

PROGRAMA:

- Tema N° 1: Genoma Humano. Proyecto Genoma Humano. Controversias Éticas. Mutaciones más comunes según HGMD (Human Gene Mutation Database). Deleciones y Mutaciones puntuales. Estrategias de laboratorio. Material e instrumental usado en un laboratorio de biología molecular.
- Tema N° 2: Extracción y aislamiento de ácidos nucleicos. Cuantificación, Caracterización: electroforesis de ADN. Enzimas de restricción
- Tema N° 3: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Historia, definición, ventajas y desventajas. Eficiencia de una PCR: equilibrio entre especificidad, rendimiento y fidelidad. Requisitos para una amplificación selectiva. Variables que afectan el rendimiento. Tipos de ADN polimerasas: *Taq*, *Tli*, *Pfu*: orígenes y características. Optimización de una reacción de PCR: elección de los iniciadores o cebadores, temperatura de hibridación (*annealing*), concentración de magnesio, nucleótidos y número de ciclos. Fase "plateau": causas.
- Tema N° 4: Técnicas moleculares utilizadas para la determinación de deleciones e inserciones: MLPA, GAP-PCR, PCR-Multiplex. Otras variantes de PCR: SSCP, DGGE, RT-PCR.
- Tema N° 5: Diseño de oligonucleótidos. Uso de herramientas de Internet para la búsqueda de secuencias de un gen en particular y diseño de cebadores o iniciadores. Uso del BLAST.

Dr. Félix Quintas
Rector
U.N.S.L.

Dra. Alicia Marcote
Secretaria de Posgrado
U.N.S.L.

Cpde RESOLUCIÓN R N°

786



ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho

Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

Tema N° 6: Técnicas moleculares utilizadas para la determinación de mutaciones puntuales. RFLP-PCR (ER-PCR), MAS-PCR, ARMS-PCR, mutagénesis dirigida por PCR, Dot blot y Dot Blot reverso.

Tema N° 7: PCR en tiempo real. Fundamentos. Aplicaciones en estudios genéticos, virales y microbiológicos.

Tema N° 8: Nuevas plataformas diagnósticas utilizadas en screening moleculares: Dot Blot-r (reverse dot blot hybridization), OLA (oligonucleotide ligation assay), Tepnel (Elucigene), xTAG, MOL-PCR (assay multiplex oligonucleotide ligation-PCR). Fundamentos. Discusión de seminarios.

Tema N° 9: Seminarios: búsqueda bibliográfica. Planteo de trabajos de investigación en bioquímica clínica. Planteo de hipótesis y plan de trabajo.

TRABAJOS PRACTICOS DE LABORATORIO:

TP1: Diseño de oligonucleótidos: uso de programas para diseño de cebadores o iniciadores. Análisis (Chequeo) de secuencias. Búsqueda de secuencias de corte de enzimas de restricción.

TP2: Extracción de sangre por punción venosa. Extracción de ADN por la técnica de "salting out". Determinación de índice de pureza y cuantificación.

TP3: PCR-I: Identificación de mutaciones por mutagénesis dirigida por PCR. Detección de portadores de la mutación $\Delta F508$ en el gen CFTR. PCR y corte con enzima de restricción. Preparación y armado de geles de poliacrilamida no desnaturalizantes. Siembra de productos. Tinción de geles. Informe.

TP4 PCR-II: RFLP-PCR. Determinación del polimorfismo N314D para detección del Alelo Duarte en Galactosémicos. PCR y corte con enzima de restricción del producto amplificado. Armado y corrida de geles de agarosa. Observación de resultados e informe.

TP5 PCR-III: MAS-PCR: detección de 4 mutaciones: $\Delta F508$, G542X, N1303K Y G551D en el gen del CFTR mediante el uso de cebadores alelo específicos. Armado y corrida de geles de agarosa. Observación de resultados e informe.

TP6 PCR-IV: Integración final y discusión de los resultados hallados. Exposición de seminarios.

SISTEMA DE EVALUACIÓN: La evaluación se lleva a cabo en forma continua a través de exposición de seminarios y planteo y discusión trabajos de investigación biomédica.

BIBLIOGRAFÍA:

- Jian Ye, George Coulouris, Irena Zaretskaya, Ioana Cutcutache, Steve Rozen and Thomas L Madden. 2012. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics* 13:134: 1-11
- Liliana C. Rossetti, Karen G. Scheps, Amanda Binaghi, María S. Abreu, Mariana T. Mansilla, Viviana Varela. 2010. Diagnóstico molecular de mutaciones beta talasémicas, genotipos complejos. *HEMATOLOGIA*, Vol. 14 N° 2: x-x Abril-Junio.
- Umair Mahmood, Muhammad Imran, Salma Iqbal Naik, Huma Arshad Cheema, Anjum Saeed, Muhammad Arshad, Saqib Mahmood: Detection of common mutations in the GALT gene through ARMS. 2012. *Gene* 509, 291-294
- Michael R. Knowles and Mitchell Drumm. The Influence of Genetics on Cystic Fibrosis Phenotypes. 2012. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 1-13.

Cpde RESOLUCIÓN R N°

786

Dr. Felicitas Quintas
Rector
U.N.S.L.

Dra. Patricia Marcela Printista
Secretaria de Posgrado
U.N.S.L.



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

ES COPIA
CAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

- Panayiotis G. Menounos and George P. Patrinos. 2010. Mutation Detection by Single Strand Conformation Polymorphism and Heteroduplex Analysis. Book: *Molecular Diagnostics*. Chapter 4. Second Edition, 45-58.
 - Graham R. Taylor and Carol A. Delaney. 2010. Detection of Genomic Duplications and Deletions. Book: *Molecular Diagnostics*. Chapter 12. Second Edition, 1715-182
 - David M. Holtzman, Joachim Herz and Guojun Bu. 2012. Apolipoprotein E and Apolipoprotein E Receptors: Normal Biology and Roles in Alzheimer Disease *Cold Spring Harb Perspect Med.*; 1-23.
 - E. Castellanos-Rizaldos, Pingfang Liu, Coren A. Milbury, Minakshi Guha, Angela Brisci, Laura Cremonesi, Maurizio Ferrari, Harvey Mamon, and G. Mike Makrigrigorgos. 2012. Temperature-Tolerant COLD-PCR Reduces Temperature Stringency and Enables Robust Mutation Enrichment. *Clinical Chemistry* 58:7; 1130-1138
 - Lap-Chee Tsui and Ruslan Dorfman. 2013. The Cystic Fibrosis Gene: A Molecular Genetic Perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med.*; 1-16
 - Ramandeep Singh, Babu R. Thapa, Gurjit Kaur, Rajendra Prasad. 2012. Biochemical and molecular characterization of GALT gene from Indian galactosemia patients: Identification of 10 novel mutations and their structural and functional implications. *Clinica Chimica Acta* 414; 191-196
 - Gerard T. Berry et al. The adult galactosemic phenotype. 2012. *J Inherit Metab Dis.* 35:279-286
 - Swee Lay Thein. 2013. The Molecular Basis of b-Thalassemia. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*; 1-24
 - Barrett AN, McDonnell TC, Chan KC, Chitty LS. Digital PCR analysis of maternal plasma for noninvasive detection of sickle cell anemia. 2012. *Clin Chem.* 58(6):1026-32
 - Saavedra-Matiz CA, Isabelle JT, Biski CK, Duva SJ, Sweeney MI, Parker AL, Young AJ, Diantonio LL, Krein LM, Nichols MJ, Caggana M. Cost-Effective and Scalable DNA Extraction Method from Dried Blood Spots. 2013. *Clin Chem.* 59(7):1045-51
 - Beck J, Bierau S, Balzer S, Andag R, Kanzow P, Schmitz J, Gaedcke J, Moerer O, Slotta JE, Walson P, Kollmar O, Oellerich M, Schütz E. Digital Droplet PCR for Rapid Quantification of Donor DNA in the Circulation of Transplant Recipients as a Potential Universal Biomarker of Graft Injury. 2013. *Clin Chem.* 59(12):1732-41
 - Montgomery JL. Influence of PCR Reagents on DNA Polymerase Extension Rates Measured on Real-Time PCR Instruments. *Clin Chem.* 2013. 59(1):325-34
 - Li D, Chiu H, Chen J, Zhang H, Chan DW. Integrated analyses of proteins and their glycans in a magnetic bead-based multiplex assay format. *Clin Chem.* 2013 Jan;59(1):315-24
 - Raitoharju E, Oksala N, Lehtimäki T. MicroRNAs in the Atherosclerotic Plaque. *Clin Chem.* 2013 Dec;59(12):1708-21.
 - Tsai PC, Liao YC, Wang YS, Lin HF, Lin RT, Juo SH. Serum microRNA-21 and microRNA-221 as Potential Biomarkers for Cerebrovascular Disease. *J Vasc Res.* 2013;50(4):346-54.
- Arunkanth Ankala, Madhuri Hegde. Genomic Technologies and the New Era of Genomic Medicine January 2014. *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 16, Issue 1, Pages 7-10.

Dr. Fernando Quintas
Rector
U.N.S.L.

Dra. Alicia Marzotta
Secretaría de Posgrado
U.N.S.L.



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2014 - Año de Homenaje al Almirante Guillermo Brown,
en el Bicentenario del Combate Naval de Montevideo"

ES COPIA
OSCAR GUILLERMO SEGURA
Director de Despacho
UNSL

- Valeria D'Argenio, Giulia Frisso, Vincenza Precone, Angelo Boccia, et al. DNA Sequence Capture and Next-Generation Sequencing for the Molecular Diagnosis of Genetic Cardiomyopathies. *Journal of Molecular Diagnostics*. Vol. 16, Issue 1, Pages 32-44
- Larissa V. Furtado, Helmut C. Weigelin, Kojo S.J. Elenitoba-Johnson, Bryan L. Betz Detection of MPL Mutations by a Novel Allele-Specific PCR-Based Strategy. 2013 *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 15, Issue 6, Pages 810-818
- Wanjun Zhou, Ge Wang, Xuefeng Zhao, Fu Xiong, y col. A Multiplex qPCR Gene Dosage Assay for Rapid Genotyping and Large-Scale Population Screening for Deletional α -Thalassemia. 2013. *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 15, Issue 5, Pages 642-651.

ARANCEL: \$600 (pesos seiscientos).

BECAS: Se ofrece dos media beca para Docentes de la UNSL.

COSTOS Y FUENTE DE FINANCIAMIENTO: El dinero recaudado con los aranceles se destinará a la compra de reactivos e insumos para el dictado del curso.

Cpde RESOLUCIÓN R N° **786**
may


Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaria de Posgrado
U.N.S.L.


Dr. Felix D. Nieto Quintas
Rector
U.N.S.L.