



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

ES COPIA
Director de Cooperación
UNSL

SAN LUIS, - 2 OCT 2015

VISTO:

El Expediente EXP-USL: 8390/2015 mediante el cual se solicita la protocolización del Curso de Posgrado: **APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOINFORMÁTICA**; y

CONSIDERANDO:

Que el Curso de Posgrado se propone dictar en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia del 2 al 10 de noviembre de 2015, con un crédito horario de 60 horas presenciales y bajo la coordinación de la Dra. María Jimena MANZUR.

Que la Comisión Asesora de Posgrado de Ciencias Químicas de la Facultad Química, Bioquímica y Farmacia recomienda aprobar el curso de referencia.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis en su reunión del 8 de septiembre de 2015, analizó la propuesta y observa que el programa del curso, bibliografía, metodología de evaluación y docentes a cargo, constituyen una propuesta de formación de posgrado de calidad en su campo específico de estudio.

Que, por lo expuesto, el Consejo de Posgrado aprueba 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 1º.- Protocolizar el dictado del Curso de Posgrado: **APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOINFORMÁTICA**, en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia del 2 al 10 de noviembre de 2015, con un crédito horario de 60 horas presenciales.

Cpde RESOLUCIÓN R N°

1543

Jorge Raúl Quiñ
Vicerector - UNSL
al Rectorado RR N° 1515/15

Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaria de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2015 - Año del Bicentenario del Congreso de los Pueblos Libres"

ES 00 0
OSCAR GARCÍA
Director de Estudios
UNSL

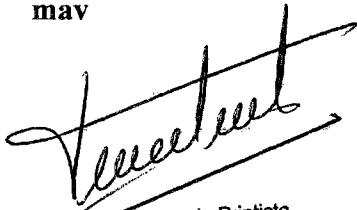
ARTÍCULO 2°.- Protocolizar el cuerpo docente constituido por: Responsable: Dr. Maximiliano **JURI AYUB** (DNI N° 23.709.301), Colaboradores: Dr. Leonardo Roque **SEGUIN** (DNI N° 25.526.825), Dra. María Jimena **MANZUR** (DNI N° 27.874.941), Dra. María Laura **MASCOTTI** (DNI N° 32.130.662), Auxiliares: Lic. María Belén **JERÉZ** (DNI N° 29.232.322), Lic. Andrea Constanza **MAYORDOMO** (DNI N° 33.539.027) todos de esta Casa de Altos Estudios.

ARTÍCULO 3°.- Aprobar el programa del Curso de referencia, de acuerdo al **ANEXO** de la presente disposición.-

ARTÍCULO 4°.- Comuníquese, insértese en el Libro de Resoluciones, publíquese en el Digesto Electrónico de la UNSL y archívese.-

RESOLUCIÓN R N°
mav

1543


Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaría de Posgrado
UNSL


Ing. Jorge Raúl Oguin
Vicedirector UNSL
a/c Rectorado RR N° 513/15



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2015 - Año del Bicentenario del Congreso de los Pueblos Libres"

ES
OBLIGATORIO
Director del Rectorado
UNSL

ANEXO

DENOMINACIÓN DEL CURSO: APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOINFORMÁTICA

UNIDAD ACADÉMICA RESPONSABLE: Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia

CATEGORIZACIÓN: Capacitación

RESPONSABLE: Dr. Maximiliano JURI AYUB

COLABORADORES: Dr. Leonardo Roque SEGUIN, Dra. María Jimena MANZUR, Dra. María Laura MASCOTTI

AUXILIARES: Lic. María Belén JERÉZ, Lic. Andrea Constanza MAYORDOMO

COORDINADORA: Dra. María Jimena MANZUR

CRÉDITO HORARIO: 60 horas

MODALIDAD DE DICTADO: Presencial

FECHA DE DICTADO DEL CURSO: 2 al 10 de noviembre de 2015

FECHA PREVISTA PARA ELEVAR LA NÓMINA DE ALUMNOS

APROBADOS: 16 de noviembre de 2015

DESTINATARIOS: Egresados con título de grado universitario en Lic. en Bioquímica, Farmacia, Lic. en Ciencias Biológicas, Lic. en Biología Molecular y en disciplinas afines a la temática del curso.

LUGAR DE DICTADO: Aula 44 Bloque I – Av. Ejército de los Andes 950 – San Luis.

CUPO: 15 personas.

FUNDAMENTACIÓN: Las Herramientas de Biología Molecular y Bioinformática estuvieron inicialmente al alcance de pocos laboratorios altamente especializados, debido al requerimiento de infraestructura e insumos costosos para su implementación, y a un campo de aplicación limitado a especialistas. Estos recursos se han vuelto cada vez más accesibles, haciendo factible la aplicación de estas metodologías en numerosas áreas de las Ciencias Básicas. Por lo tanto, resulta de suma importancia difundir, lo más ampliamente posible, los conocimientos necesarios para acceder a estas herramientas, diseñar los experimentos adecuados y optimizar su aplicación.

OBJETIVOS:

- Proporcionar los conocimientos básicos necesarios para el empleo de Herramientas de Biología Molecular y Bioinformática, con especial énfasis en los campos de la bioquímica y las ciencias biológicas.
- Asesorar al estudiante en el diseño experimental de aproximaciones moleculares para el desarrollo de su trabajo de posgrado.

Cpde RESOLUCIÓN R N°

1543

Ing. Jorge Raúl Oguin
Vice Rector - UNSL
de Rectorado RR N°
15/15

Dra. Alicia Marcela Prinieta
Secretaría de Posgrado
UNSL



[Faint handwritten signature]

- Introducir nuevas herramientas moleculares que serán de uso rutinario en un futuro cercano.

CONTENIDOS MÍNIMOS:

- Extracción y purificación de ácidos nucleicos.
- PCR convencional y PCR en tiempo real (qPCR).
- Búsquedas en bases de datos y análisis de secuencias.
- Taxonomía y Filogenia Molecular.
- Introducción al clonado y expresión de genes.
- Herramientas para el estudio de proteínas: extracción, electroforesis, *Western blot*, MALDI-TOF.
- Técnicas de secuenciación clásica (Sanger) y de alto rendimiento.
- Nuevas Herramientas Moleculares.

Práctico N° 1

Extracción de Ácidos Nucleicos. PCR. Clonado.

Práctico N° 2

Análisis de secuencias obtenidas a partir de secuenciación y filogenia molecular.

PROGRAMA:

Purificación de ácidos nucleicos.

Extracción y purificación de ácidos nucleicos: ADN genómico y ARN total. Descripción de métodos de extracción. Conservación de muestras para extracción. Extracción a partir de diferentes tipos de muestras. Cuidados en la manipulación de ADN y ARN. Cuantificación y determinación de pureza e integridad de ácidos nucleicos. Purificación a partir de geles de agarosa.

PCR

Definición y concepto de la PCR convencional o de punto final. Etapas de la PCR. Componentes y preparación de la mezcla de reacción. Tipos de PCR: *Multiplex*, *Nested* y RT-PCR. Diseño y optimización de la reacción: controles positivos y negativos, controles internos y externos. Problemas en la PCR: inhibición y contaminación. Áreas y flujos de trabajo en la técnica de PCR. Aplicaciones de la PCR.

PCR en tiempo real o qPCR.

Fundamentos de la qPCR. Funcionamiento del equipo. Visualización e interpretación de datos. qPCR vs PCR de tiempo final. Sistemas de detección. Diseño de oligos para qPCR. Validación del ensayo. Estrategias de cuantificación: relativa y absoluta. Cuantificación relativa de la expresión de génica. Aplicaciones de la qPCR.

Búsquedas en bases de datos y análisis de secuencias

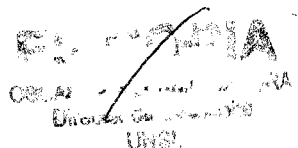
Bases de datos de secuencias de NCBI y EBI (genes, proteínas, genomas, etc.). Generación de bases de datos: origen, tipo y curado de datos almacenados. Uso de bases de datos de utilización frecuente. Búsqueda de secuencias de aminoácidos y

[Handwritten signature]
Ing. Jorge Raúl Oguin
Vicerrector - UNSL
al Rectorado RRW
15/5/15

[Handwritten signature]
Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado



nucleótidos: búsqueda por palabras y códigos, búsqueda mediante alineamientos locales (BLAST). Fundamentación teórica de alineamientos locales. Formato FASTA. Herramientas de BLAST. Análisis de resultados de búsquedas de BLAST. Cómo diseñar búsquedas según objetivos puntuales: ejemplos aplicados.

Taxonomía y Filogenia Molecular

Introducción a la Filogenia Molecular. Uso de secuencias de nucleótidos y proteínas para estudios taxonómicos. *Barcodes*. Genes clásicos utilizados en filogenia de plantas, animales y bacterias. Homología vs. Similitud. Construcción de alineamientos de secuencias. Tipos de alineamientos: global, local. Detección de región útil para realizar un estudio filogenético. Métodos de inferencia filogenética: distancia, máxima verosimilitud, bayesiano. Construcción y análisis de árboles filogenéticos.--

Introducción al clonado y expresión de genes

Conceptos básicos relativos al clonado de genes. Vectores utilizados para el clonado de ácidos nucleicos. Plásmidos; Propiedades básicas. Vectores de clonado. Estrategias de clonado: Sistema T-A: fundamentos y ventajas. Ensayos para confirmación de clones recombinantes (ensayo de restricción, PCR); Métodos de transformación de procariontes y eucariotas. Cultivos líquidos bacterianos. Obtención y purificación de ADN plasmídico y análisis en geles de agarosa. Vectores y estrategias de expresión en sistemas de bacterias y cultivos de células eucariotas mediante técnicas de ADN recombinante. Inducción de expresión de proteínas recombinantes, preparación de extractos proteicos.

Herramientas para el estudio de proteínas:

SDS-PAGE: fundamento, obtención y preparación de muestras. Aplicaciones en el análisis del grado de pureza de muestras proteicas o purificación usando CBB y/o tinción con plata, ensayo de actividad de proteasas. PAGE para separación y purificación de ácidos nucleicos.

Western Blot: fundamento, aplicaciones en la determinación de proteínas fosforiladas, clivadas, proteínas de fusión, diagnóstico de enfermedades. Cuantificación. Soluciones a problemas clásicos.

MALDI-TOF: fundamento de la espectrometría de masa. Preparación de muestra. Aplicación en la determinación de la huella peptídica de una proteína y comparación con bases de datos.

Nuevas Herramientas Moleculares.

Secuenciación de ADN. Secuenciación clásica (método de Sanger). Métodos de secuenciación de alto rendimiento. Ventajas y principales aplicaciones. Secuenciación rápida de genomas. Detección de variantes y polimorfismos individuales. Tipificación de poblaciones microbianas mediante ARN 16S. Detección de Enfermedades Genéticas. Detección y desarrollo de marcadores microsatélites. Microarreglos. Aplicaciones. Amplificación de ADN sin termociclador (isotérmica); LAMP. Ventajas y usos. Limitaciones. PCR digital.

Jorge Raul Olguin
Rector - UNSL
Rectorado RR N°
1515/15

Dra. Alicia Marcela Píntida
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

Trabajo Práctico 1: Extracción de Acidos Nucleicos. PCR y Clonado.

Extracción de ácidos nucleicos, diseño de *primers*, amplificación de gen de interés y clonado directo de productos de PCR en vectores T *overhangs*. Selección de recombinantes por colonias blancas y azules.

Trabajo Práctico 2: Análisis de secuencias obtenidas a partir de secuenciación y filogenia molecular.

Manejo y análisis de datos obtenidos a partir de secuenciación. Búsqueda empleando BLAST de la secuencia obtenida: análisis de resultados. Armado de set de datos de secuencias homólogas. Construcción y curado de alineamiento múltiple de secuencias. Construcción de árboles filogenéticos. Análisis de los resultados obtenidos en el contexto general.

SISTEMA DE EVALUACIÓN: Al inicio del curso, el estudiante propondrá un problema relacionado a su temática de tesis. Al final del curso, cada alumno expondrá un proyecto de trabajo haciendo uso de metodologías moleculares que le permitan abordar el problema planteado. Dicho proyecto se expondrá en forma de seminario.

BIBLIOGRAFÍA:

- Arroyo, M. I; Morales, G. P; Sosa, P. A; Carmona, J; Maestre, A. Amplificación isotérmica de ácidos nucleicos tipo LAMP para la detección de Plasmodium: nueva técnica diagnóstica. Revista de los estudiantes de la Universidad industrial de Santander. Vol.21 p158-175, 2008.
- Cutler, P. Protein Purification Protocols. 2nd edition. Human Press.
- Dorak T. Real Time PCR (Advanced Methods Series). Oxford: Taylor & Francis, 2006. Disponible *online* en: http://vetbiotech.um.ac.ir/parameters/vetbiotech/filemanager/new_admin/books/Real_time_PCR.pdf
- Green M.R; Sambrook J. Molecular Cloning: A laboratory manual. 4th edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York; 2012. Disponible *online* en: <http://www.cshlpress.com/pdf/sample/2013/MC4/MC4FM.pdf>
- Hayden, R. T; Gu, Z; Ingersoll, J; Abdul-Ali, D; Shi, L; Pounds, S; Caliendoc A. M. Comparison of Droplet Digital PCR to Real-Time PCR for Quantitative Detection of Cytomegalovirus Journal of Clinical Microbiology, Vol.51, No.2 p. 540-546, 2013.
- Higgs, PG & Atwood, TK. Bioinformatics and Molecular Evolution. Wiley-Blackwell, 2004.
- Lemey, P; Salemi, M; Vandamme, AM (eds). The Phylogenetic Handbook. A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing. Cambridge University Press, 2009.
- Meeker, N. D; Hutchinson, S. A; Ho, L; Trede, N. S. Method for isolation of PCR-ready genomic DNA from zebrafish tissues. Biotechniques **43**, 610-614 (2007)
- Morales Sanchez, Gallo Ramirez. Curso: Métodos Físicos-Químicos en Biotecnología.
- Nemirovsky, S,I; Córdoba, M; Zaiat, J.J; Completa, S.P; Vega, P.A; González-Morón D. Whole Genome Sequencing Reveals a De Novo SHANK3 Mutation in Familial Autism Spectrum Disorder. PLoS ONE 10(2) 2015, doi:10.1371/journal.pone.0116358

Ing. Jorge Raúl Olguín
Vice Rector - UNSL
al Rectorado
15/15

Dra. Alicia Marcela Primitista
Secretaría de Posgrado
UNSL



Universidad Nacional de San Luis
Rectorado

"2015 - Año del Bicentenario del Congreso de los Pueblos Libres"



- Primrose and Twyman. Principles of Gene Manipulation: Seventh Edition. ISBN: 978-1-118-65388-3 Disponible *online* en:
<https://pharmareview.files.wordpress.com/2015/04/principle-of-gene-manipulation-and-genomics-by-sandy-b-primrose-richard-twyman.pdf>
- Reiner Westermeier. Electrophoresis in Practice 4th edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2005
- Rudi, K; Zimonja, M; Trosvik, P; Næs, T. Use of multivariate statistics for 16S rRNA gene analysis of microbial communities. International Journal of Food Microbiology 120 p. 95-99, 2007.
- van Dijk E. L; , Auger, H; Jaszczyszyn, , Y; Thermes, C. Ten years of next-generation sequencing technology. Trends in Genetics, Vol.30, No. 9, 2014. Disponible *online* en :
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001>
- Walker, J.M. The Protein Protocols Handbook. 2nd edition. Human Press.

ARANCEL: Gratuito.

COSTOS Y FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Fondo para la Capacitación Gratuita de Docentes de la Subsecretaría de Políticas Universitarias, a través del Sindicato de Docentes, Investigadores de San Luis (SIDIU-SL).

Cpde RESOLUCIÓN R N°
mav

1543

Dra. Alicia Marcela Printista
Secretaria de Posgrado
UNSL

Ing. Jorge Raúl Olgún
Vice Rector - UNSL
a/c Rectorado RR N° 1515/15