

Resolución Consejo Directivo

TA 1	· /				
	1	m	Δ 1	rn	

Referencia: EX-2022-04826955- -UBA-DMESA#FCEN -POSGRADO-Genética Molecular de Levaduras - SESION 19/09/2022

VISTO:

La nota presentada por la Dirección del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado Genética Molecular de Levaduras (DOC8800161) para el año 2022,

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado,

lo actuado por la Comisión de Posgrado,

lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada el 19 DE SEPTIEMBRE DE 2022 en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

RESUELVE:

ARTÍCULO 1º: Aprobar el dictado del curso de posgrado Genética Molecular de Levaduras (DOC8800161) de 80 horas de duración, que será dictado por la Dra. Cecilia D'Alessio con la colaboración de los Dres. Alejandro Colman Lerner, Paula Portela, Pablo Aguilar, Javier Valdez Taubas, Diego Libkind, Diego Libkind, Boris Stambuk, Alejandra Guberman.

ARTÍCULO 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado Genética Molecular de Levaduras (DOC8800161) que como anexo forma parte de la presente Resolución, para su dictado en el segundo cuatrimestre de 2022.

ARTÍCULO 3°: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

ARTÍCULO 4°: Establecer un arancel de CATEGORÍA 3 estableciendo que dicho arancel estará sujeto a los descuentos y exenciones estipulados mediante la Resolución CD N° 1072/19. Disponer que los fondos recaudados ingresen en la cuenta presupuestaria habilitada para tal fin, y sean utilizados de acuerdo a la Resolución 072/03.

ARTÍCULO 5°: Disponer que de no mediar modificaciones en el programa, la carga horaria y el arancel, el presente Curso de Posgrado tendrá una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la presente Resolución.

ARTÍCULO 6º: Comuníquese a todos los Departamentos Docentes, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con copia del programa incluida. Cumplido, pase a FISIOLOGIA#FCEN y resérvese.

ANEXO

Programa

Levaduras como modelo experimental de célula eucariota. Historia de su uso. Metabolismo: fermentación y respiración. Similitudes y diferencias entre Saccharomyces cerevisiae y Schizosaccharomycespombe. Ciclos de vida de ambas levaduras. Nomenclatura.. Levaduras en el árbol evolutivo. Otras levaduras de importancia: Pichiapastoris y Candidaalbicans.

Genética clásica y molecular en Schizosaccharomycespombe. Construcción de levaduras diploides. Meiosis, esporulación y ligamiento. Análisis de tetradas. Disrupción génica en un paso por recombinación. Detección de recombinantes homólogos e ilegítimos. Vectores, promotores y marcadores genéticos de S. pombe. Tecnología Gateway para el clonado en vectores de S.pombe. Tagging genómico. Colecciones de deleciones y de fusiones a GFP. Localizoma. Robots para la manipulación de mutantes a gran escala.

Herramientas genéticas para la investigación en biología molecular y celular en Saccharomyces cerevisiae. Sistemas de transformación de levaduras. Marcadores genéticos. Clonado por complementación y por gap repair. insercion/disrupcion de multiples fragmentos de PCR. Vectores. Promotores constitutivos, inducibles y reprimibles en S. cerevisiae. Mutantes, mutagénesis, sistemas de selección, contraselección y screening. Análisis de genes esenciales. Mutaciones condicionales y supresoras. Expresión homóloga y heteróloga. Genómica funcional.

Transducción de señales en S.cerevisiae. Ejemplo con la determinación del tipo sexual (matingtype). Mecanismo del cambio de sexo. Apareamiento (mating), rutas de MAP kinasas.

Biología de sistemas. Homeostasis molecular. Genotipo y fenotipo. Análisis de interacciones genéticas sintéticas, fitness. Medida cuantitativa de interacciones genéticas. Epistasis. Sistemas y propiedades de los sistemas. Análisis genético usando colecciones ordenadas de deleciones. Ontología genética. Redes.

Estudios bioquímicos y funcionales a nivel proteómico. Levaduras como sistema de expresión. Estrategias de clonado y etiquetado a nivel genómico. Análisis a escala proteomica: Bioquímica genómica, Interactoma, proteomica de modificaciones post-traduccionales, proteómica cuantitativa, localizoma, análisis funcional en levaduras S. cerevisiae.

Biología celular en levaduras. Transporte intracelular en S. cerevisiae. Vía secretoria. Mutantes sec. Screening de mutantes de la vía endocítica. Microscopia de fluorescencia en levaduras. Visualización y cuantificación de trafico de vesículas usando proteínas fluorescentes. Análisis de imágenes.

Sistemas de doble híbrido. Interacciones no covalentes entre proteínas. Detección sistemática de interacciones proteína-proteína con metodología a gran escala ("highthroughput"). Descripción del sistema de doble híbrido, potencia y limitaciones. Historia del sistema y sus usos. Variantes un híbrido y trihibrido. Vectores, operadores, reporteros de interacción.

Aplicaciones biotecnológicas de las levaduras. Levaduras industriales. Mejoramiento de la fermentación. Aplicaciones clásicas: industrias panadera, enológica y cervecera. Uso en la producción de biocombustibles. Criterios de selección y desarrollo de cepas. Procesos productivos. Fisiología, cepas disponibles, técnicas genéticas.

Expresión de proteínas recombinantes en Pichiapastoris. Expresión intra y extracelular, vectores, cepas y protocolos.

Bases de datos. Bases de datos troncales de levaduras: Saccharomycesgenomedatabase

(SDG) y PomBase. Gene Ontology. Sitios para el acceso a protocolos.

Actividades prácticas propuestas

Prácticas de Laboratorio:

- Medios de cultivo, selección y cruzamiento de levaduras S. cerevisiae y S. pombe. Construcción de mutantes simple y múltiples por metodologías de genética clásica y molecular
- Preparación de levaduras competentes. Transformación con plásmidos de expresión con promotores constitutivos y regulables. Criterios de elección de medios de selección
- Ingeniería de levaduras para el mejoramiento de la producción de bioetanol: Construcción de levaduras knockout para un gen específico que mejora la producción de etanol de primera generación (a partir de la fermentación de sacarosa). Determinación de recombinantes homólogas por PCR.
- Determinación enzimática de niveles de etanol para evaluar la capacidad fermentativa de las cepas obtenidas.
- Expresión de genes heterólogos: rescate de fenotipos mutantes por complementación.
- Interacción de proteínas in vivo: Ensayo de doble hibrido y detección de interacción entre dos proteínas y variantes mutadas por diferentes reporteros. Controles del sistema de doble híbrido.
- Microscopía confocal de proteínas fusionadas a reporteros fluorescentes. Colección de fusiones a GFP. Localización subcelular. Visualización de organelas de levaduras S. pombe y S. cerevisiae. Endocitosis en tiempo real por microscopia confocal.

Seminarios:

Se elegirán trabajos originales relevantes para la formación en genética de levaduras que serán presentados por los estudiantes. Se enfatizará en que se destaque de cada trabajo la metodología utilizada para responder una pregunta biológica más que el problema en particular. Se asignarán los trabajos priorizando los intereses y necesidades técnicas de cada estudiante. Asimismo, se discutirán las aplicaciones del contenido del curso a los proyectos individuales de los alumnos.

BIBLIOGRAFIA

- "Fission Yeast: A laboratory manual". Hagan, I.M.; Carr, A.M., Grallert, A y Nurse, P. (2016) Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- "A Brief History of Schizosaccharomycespombe Research: A Perspective Over the Past 70 Years" (2016) Genetics. Jun;203(2):621-9.
- -"Guide to yeast genetics and molecular and cell biology" Part B, Part C. Academic Press
- "YeastBook: An Encyclopedia of the Reference Eukaryotic Cell" / Alan G. Hinnebusch (ed.). Bethesda, MD: GSA, 2011-2014, http://www.genetics.org/site/misc/yeastbook.xhtml
- -"The molecular and cellular biology of the yeast saccharomyces" Ed. por Broach, J.Pringle J., Jones E Cold Spring Harbor Laboratory Press (1991). Volúmenes I, II y III.
- Methods in enzimology (2002) vol 350, 351 Ed. Guthrie and Fink
- "Molecular Genetics of Yeast. A Practicall Approach". Ed. por J. R. Johnston. IRL Press.
- Artículos recientes publicados en revistas internacionales relacionados con los temas teóricosN.J. Macintosh. Academic Press (1994)