

ANÁLISIS GENÓMICO

Curso de grado y de post-grado, con validez para la Licenciatura en Ciencias Biológicas FCEyN-UBA.

Duración: "Cuatrimestral" (curso de verano). Desde el 31 de enero hasta el 17 de marzo 2012. Tres clases semanales regulares distribuidas de la siguiente manera:

Ver cronograma. Generalmente, martes y jueves de 8.00 a 17.00 hs con clases teóricas y de laboratorio en INTA Castelar. Sábados de 9 a 17 hs con clases teóricas y de Seminarios en la Facultad.

Cantidad de horas de clases semanales: 26 horas

CARGA HORARIA TOTAL: 208 hs.

La materia consta de clases de:

- 1) recapitulación de temas teóricos,
- 2) teórico-prácticas de discusión de publicaciones
- 3) trabajos prácticos de laboratorio

Las clases de laboratorio y teórico-prácticas de discusión son obligatorias y lo que se evalúa es que el estudiante llegue a manejar los conceptos básicos detrás de las herramientas necesarias para la interpretación, análisis crítico y resolución de los problemas que reflejan experimentos científicos históricos y críticos del campo de la Genómica.

Inscripción: Estudiantes o graduados de Ciencias Biológicas por el sistema electrónico de la facultad (<http://www.inscripciones.fcen.uba.ar/gesta/alumno>). Los graduados de otras facultades deberán tramitar en el Departamento de Alumnos su inscripción abonando el correspondiente arancel fijado por la facultad.

Lugar de Realización: Auditorio del CICVyA –CNIA y Laboratorio de Genómica Estructural y Funcional – CICVyA, Unidad Integrada INTA Castelar-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA (en proceso de renovación de convenio).

Requisitos:

Alumnos avanzados o Graduados en Ciencias Biológicas (con las correspondientes correlativas aprobadas) o graduados en Ciencias Químicas, Agronomía, Veterinaria, Biotecnología, Bioquímica, Medicina o carreras afines que cuenten con una buena formación previa en biología molecular. Los postulantes deberán estar familiarizados con la lectura y análisis de publicaciones internacionales en idioma inglés.

1. Contenidos mínimos

1. Mapeo físico de genomas
2. Secuenciación genómica
3. Proyectos de secuenciación genómica (microorganismos)
4. Proyectos de secuenciación genómica (organismos superiores)
5. Bioinformática
6. Mapeo comparativo y sintonía evolutiva
7. Evaluación de recursos genéticos y diversidad funcional
8. Metagenómica
9. Genética reversa, mutómica y caracterización funcional de genes
10. Transcriptómica
11. Proteómica
12. Metabolómica
13. Interactómica, miRNAómica y otras X-ómicas
14. Biología de sistemas

2. Correlativas: Biología Molecular o Genética Molecular.

3. Carácter de la asignatura: Optativa

9.- DURACION: cuatrimestral (curso de verano)

10.- HORAS DE CLASE SEMANAL:

- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| a) Teóricas hs 10 | d) Seminarios hs 6 |
| b) Problemas hs 0 | e) Teórico-problemas .. hs 0 |
| c) Laboratorio hs 10 | f) Teórico-prácticas hs 0 |

Totales: Horas 26

11.- CARGA HORARIA TOTAL: 208 hs

13.- FORMA DE EVALUACION: Un parcial teórico integrativo, Parcialitos semanales sobre el contenido de los TP de laboratorio, Exposición de Seminarios (trabajo científico reciente asignado al comienzo del curso), Resolución de un problema bioinformático basado en datos propios o provistos por los docentes y Examen final (en caso de no promocionar).

14.- PROGRAMA ANALITICO:

1. MAPEO FISICO DE GENOMAS

Clonado molecular de genomas en cósmidos, cromosomas artificiales de bacterias (BACs) o de levaduras (YACs). Búsqueda de clones solapados o contigs. Programas bioinformáticos involucrados. Caracterización de clones genómicos: fingerprinting, sequence-tagged sites (STS), zoo-blotting, hibridación con EST (secuencias indicadoras expresadas, expressed-tagged sequences). Hibridación *in situ*: GISH y FISH, Electroforesis en Gel de agarosa bajo Campo Pulsado (PFGE), fusión de células somáticas humanas y de roedores, utilización de aneuploides y líneas con delecciones cromosómicas, selección de cromosomas activados por fluorescencia (*fluorescence-activated chromosome sorting*, FACS), caminado cromosómico y clonado posicional (chromosome walking y landing).

2. SECUENCIACION GENOMICA

Aspectos metodológicos de la secuenciación a gran escala, principios de funcionamiento de los secuenciadores automáticos, lectura e interpretación de los resultados, creación de bases de datos y análisis informático de los mismos, principales programas informáticos. Envío de información a bancos de secuencias: obtención de número de entrada (*accession number*) y registro de la secuencia. Estadística y programas informáticos involucrados. GeneBank y utilización de recursos *vía INTERNET* (Blast, Phred, Phrap) para validación, curado de secuencias y búsqueda de homologías y solapamientos con otras secuencias nucleotídicas ya ingresadas al banco.

3. PROYECTOS DE SECUENCIACION GENOMICA (MICROORGANISMOS)

Genomas virales: organización genómica de virus animales y vegetales. Metodologías de clonado, secuenciación y concepto de clon heterogéneo, variabilidad genética y teoría de las cuasiespecies. Proyectos de secuenciación de genomas bacterianos. *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucilla abortus*, etc. Proyectos de secuenciación de genomas eucarióticos: protozoos (*Babesia bovis*).

4. PROYECTOS DE SECUENCIACION GENOMICA (ORGANISMOS SUPERIORES)

El proyecto del genoma humano. Proyectos de secuenciación y mapeo de genomas vegetales y animales: *Arabidopsis thaliana*, arroz, tomate, girasol, el genoma de ratón y el genoma bovino.

5. BIOINFORMÁTICA

7
IUP

Utilización práctica de herramientas informáticas disponibles para el análisis de problemas clásicos y aplicados al análisis de datos de expresión génica (micromatrices), secuenciación (Sequencing Analysis v5.2), genotipificación y mapeo con marcadores moleculares SSR, SNP y AFLP (GeneMapper) y filogenia.

6. MAPEO COMPARATIVO Y SINTENIA EVOLUTIVA

Evolución de la organización genómica en taxones relacionados y conservación de los mapas genómicos: macro- y micro-sintenia. Utilización para caminado cromosómico saltando especies y aprovechamiento de genes ortólogos. Disección molecular de genomas: evolución poliploide genómica, origen tetraploide del maíz, hexaploide de las *Brassica*, etc.

7. EVALUACION DE RECURSOS GENETICOS Y DIVERSIDAD FUNCIONAL

Bancos de germoplasma y genotecas: conservación *in vivo*, *in vitro* e *in silico*, muestreo, evaluación de la diversidad genética y funcional. Búsqueda orientada de secuencias genómicas. Uso de mapas genéticos para la explotación y selección de genes. Estrategias para el enriquecimiento de marcadores en áreas específicas del genoma. Obtención de marcadores a partir de datos de sintenia.

8. METAGENÓMICA

Secuenciación directa de ADN en muestras complejas. El ejemplo de la caracterización de microorganismos del suelo. Taxonomía molecular. Confección de catálogos de diversidad genética. Descubrimiento de nuevos genes. Bioinformática relacionada.

9. GENÉTICA REVERSA, MUTÓMICA Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE GENES

Métodos de complementación funcional por transgénesis: expresión permanente o transitoria de construcciones genéticas por sobreexpresión, por reemplazo alélico involucrando *knock out* estructural o silenciamiento (*knock out* funcional) por ARN interferente o antisentido. Técnica de VIGS (*virus induced gene silencing*). Generación y análisis de mutantes de inserción o de punto. El caso de la mutoteca de cebada. Técnicas de TILLinG (*targeted induced lesions in genomes*) y EcoTILLinG

10. TRANSCRIPTÓMICA

Construcción de clonotecas de EST (expressed sequence-tags), su secuenciación y curado bioinformático. El caso del girasol. Construcción de macro y micro matrices (chips) de ADNc y oligonucleótidos. Sus usos en estudios de genómica funcional. Métodos alternativos: SAGE. Bioinformática relacionada.

11. PROTEÓMICA

Generación de patrones de electroforesis bidimensional. Análisis de datos. Microsecuenciación de aminoácidos. Uso del MALDI-tof. Estudio de estructura de proteínas y su predicción bioinformática. El caso de los epitopes funcionales en inmunógenos.

12. METABOLÓMICA

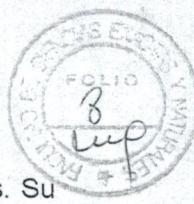
Estudio y caracterización de metabolitos en muestras biológicas. Principios de cromatografía gaseosa, líquida aplicada y espectrometría de masa a la generación de perfiles metabólicos. Tipos de metabolitos detectados. Su informatización para la creación y uso de una base de datos. Aplicaciones prácticas.

13. INTERACTÓMICA, miRNA-ÓMICA y otras X-ÓMICAS

Interacciones de proteínas entre sí, proteínas con ácidos nucleicos y receptor-ligando. Técnicas inmunolectrónicas (inmunoprecipitación), de doble híbrido en levaduras, bacterias y plantas. Exposición en fármacos (phage display) y otras técnicas alternativas. Micromatrices de miRNAs y estudio de homeostasis de expresión de los mismos. Variaciones en la interacción hospedante-patógeno. Lipidómica, resistómica y otras X-óMICAS.

14. BIOLOGÍA DE SISTEMAS

¿Qué es la biología de sistemas? El enfoque sistémico. Propiedades emergentes de los sistemas. Su integración con las aproximaciones genómicas y moleculares. Informática relacionada: construcción de modelos y constatación práctica de dichos modelos. El ejemplo de la apoptosis.



Seminarios

Lectura, exposición y discusión por parte de alumnos y docentes de publicaciones originales recientes de revistas periódicas internacionales. Los trabajos serán seleccionados para ofrecer una visión actualizada de los últimos avances en la temática teórica del curso. Cada participante realiza una completa actualización de un tema específico sintetizada mediante al menos una exposición durante el desarrollo del curso y redactado como informe. Más específicamente, los cursantes se agruparán de a dos o de a tres para realizar una completa actualización de temas claves y específicos (*reviews* y las principales publicaciones que les sirven de base) del estado del arte en temas de genómica aplicada. Las revisiones serán seleccionadas por los docentes responsables y los cursantes podrán elegir, dentro de cierto margen, los temas de su interés para ponerse en contacto con el docente y preparar las exposiciones en forma acorde.

Trabajos prácticos (laboratorio)

- Utilización de SSR y SNP en genotipificación (fingerprinting) en humanos y plantas.
- Prospección (*screening*) de una genoteca en cromosomas artificiales de bacterias (BACs)
- Funcionamiento de un **secuenciador automático**, lectura e interpretación de los resultados.
- Elaboración de **bases de datos** y análisis informático de los mismos.
- Dos ejemplos prácticos de **proyectos genómicos** en marcha (tomate y girasol). Envío de información al GeneBank: obtención de número de entrada (*accession number*) y registro de la secuencia. Utilización de recursos *via INTERNET*. Búsqueda de homologías y solapamientos con otras secuencias nucleotídicas ya ingresadas al banco.
- Hibridación *in situ*: GISH y FISH
- Detección de secuencias por **PCR en tiempo real**
- Utilización de secuenciación nucleotídica para estudios de **evolución molecular**
- Técnicas de *knock out* funcional por **RNA interferente** en transgénicas silenciadas de *Nicotiana benthamiana* y **VIGS**
- Interpretación de resultados de la aplicación de micromatrices (**chips** de ADN) a experimentos de infección de células con *Mycobacterium tuberculosis* (agente causante de la tuberculosis humana).
- Interpretación de resultados de electroforesis bidimensional (**proteómica**)
- Uso e interpretación de datos de **metabolómica** de tomate en un GC-MS-tof
- Técnica de **doble híbrido** en bacterias
- Visitas al Servicio de Huellas Digitales Genéticas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (UBA), al IFEVA de la Facultad de Agronomía (UBA) y al Centro Nacional de Genética Médica.

BIBLIOGRAFIA:

Textos básicos

- *Comparative Genomics: Basic and Applied Research* 2007 James R. Brown, CRC, London
- *From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology* 2002 Jeremy W Dale and Malcolm von Schantz John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, Inglaterra. básico
- *Genomes 3 (3rd edition)* 2006 Terry Brown, John Wiley & Sons. BIOS Scientific Publishers, Ltd. Hoboken, New Jersey.
- *Genomics, gene expression and DNA arrays* 2000 David J. Lockhart & Elizabeth A. Winzeler Nature 405: 827-836 Se puede bajar de: <http://rcmi.rcm.upr.edu/research/lockhart.pdf>
- *Human Genetics and Genomics (Human Genetics: A Problem-Based Approach)* 3 edition 2006 Bruce R. Korf, Wiley-Blackwell, NY.

- *Introduction to Genomics* 2007 Arthur Lesk, Oxford University Press, USA.
- *Plant Genomics and Proteomics* 2004 Christopher A. Cullis, John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- *Recombinant DNA: Genes and Genomics: A Short Course* 3 edition 2006 James D. Watson, Richard M. Myers, Amy A. Caudy, Jan A. Witkowski, W. H. Freeman.
- *Short Guide to the Human Genome* 2008 Stewart Scherer, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Textos especializados (la cátedra dispone de copias electrónicas en pdf para la libre consulta por parte de los cursantes)

- *Analysing Gene Expression: A Handbook of Methods: Possibilities and Pitfalls* 2003 S. Lorkowski y P. Cullen, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- *Bioinformatique. Génomique et post-génomique* 2006 Frédéric Dardel y François Képès Translated into English by Noah Hardy John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, England.
- *Cereal Genomics* 2005 P.K. Gupta y R.K. Varshney, Kluwer Academic Publishers, New York.
- *Computational And Statistical Approaches To Genomics*, 2 Ed 2006 Wei Zhang e Ilya Shmulevich, Springer Science+Business Media, Inc. New York.
- *DNA Microarrays* 2007 Ulrike A Nuber, Taylor & Francis Group, LLC, New York.
- *DNA Sequencing Protocols*, 2nd ed. en *Methods in Molecular Biology*, vol. 167 C. A. Graham y A. J. M. Hill, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *Functional Genomics Methods and Protocols* 2004 Michael J. Brownstein y Arkady B. Khodursky en *Methods in Molecular Biology* 224 Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *Functional Genomics: Methods and Protocols* en *Methods in Molecular Biology* vol. 224 M. J. Brownstein y A. Khodursky , Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *Gene Mapping, Discovery, and Expression: Methods and Protocols* 2006 M. Bina en *Methods in Molecular Biology*, vol. 338 Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *Genetic Engineering, Volume 27* 2006, J. K. Setlow, Springer Science+Business Media, Inc., New York.
- *Genetics and Genomics of Soybean* 2008 G. Stacey, Springer Science+Business Media, LLC. New York.
- *Genomic Disorders: The Genomic Basis of Disease* 2006 J. R. Lupski and P. Stankiewicz, Humana Press, Totowa, NJ.
- *Genomics, Proteomics and Vaccines* 2004 Guido Grandi, John Wiley & Sons, Ltd. Hoboken, New Jersey.
- *Genomics-Assisted Crop Improvement Vol. 1: Genomics Approaches and Platforms* 2007 R.K. Varshney y R. Tuberosa, Springer Science+Business Media, LLC, New York.
- *Large-Scale Genome Sequence Processing* 2006 Masahiro Kasahara y Shinichi Morishita, Imperial College Press, London.
- *Metabolomics* 2007 W. Weckwerth, en *Methods and Protocols Methods in Molecular Biology* vol. 358, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *Microarray Data Analysis: Methods and Applications* 2007 M. J. Korenberg , en *Methods in Molecular Biology*, vol. 377, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- *The Handbook of Plant Genome Mapping: Genetic and Physical Mapping* 2005 Khalid Meksem y Gunter Kahl, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- *The New Science of Metagenomics Revealing the Secrets of our Microbial Planet* 2007 The National Academies Press, Washington.