



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Ref. Expte. N° 487.251/06

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, **30 JUL 2018**

VISTO

La notas a fojas 134 y 144 de la Dirección del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, mediante la cual eleva la información y el programa del curso de posgrado **Genética Molecular de Levaduras** para el año 2018,

CONSIDERANDO

- Lo actuado por la Comisión de Doctorado,
- Lo actuado por la Comisión de Posgrado,
- Lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración,
- Lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada en el día de la fecha,
- 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 1°: Aprobar el curso de posgrado **Genética Molecular de Levaduras** de 80 hs. de duración que será dictado por la Dra. Cecilia D'Alessio con la colaboración de los Dres. Alejandro Colman Lerner, Pablo Aguilar, Paula Portela, Javier Valdez Taubas y Diego Libkind.

ARTÍCULO 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado **Genética Molecular de Levaduras** obrante a fs. 138/139 para su dictado del 10 al 21 de septiembre de 2018.


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

ARTÍCULO 4°.- Aprobar un arancel de 1000 módulos. 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°.- Comuníquese a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Dirección del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, a la Dirección de Alumnos, a la Secretaría de Posgrado y a la Biblioteca de la FCEyN con fotocopia del programa incluida. Cumplido archívese.

RESOLUCION CD N° 1849
SP/ga/13/07/2018


Dr. BERNARDO GABRIEL LERNER
SECRETARIO DE POSGRADO
FCEN - UBA


Dr. JUAN CARLOS REBOREDA
DECANO



PROGRAMA ANALITICO

Parte Teórica:

Levaduras como modelo experimental de célula eucariota. Historia de su uso. Metabolismo: fermentación y respiración. Similitudes y diferencias entre *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. Ciclos de vida de ambas levaduras. Nomenclatura de *S. cerevisiae* y *S. pombe*. Levaduras en el árbol evolutivo. Otras levaduras de importancia: *Pichia pastoris* y *Candida albicans*.

Genética clásica y molecular en *Schizosaccharomyces pombe*. 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. Inserción/disrupción de múltiples 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 (mating type). 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 proteómica: Bioquímica genómica, Interactoma, proteómica 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. Microscopía de fluorescencia en levaduras. Visualización y cuantificación de tráfico 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 ("high throughput"). Descripción del sistema de doble híbrido, potencia y limitaciones. Historia del sistema y sus usos. Variantes un híbrido y trihíbrido. 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.

Bases de datos. Bases de datos troncales de levaduras: *Saccharomyces* genome database (SDG) y PomBase. Gene Ontology. Sitios para el acceso a protocolos. Ejemplos de búsquedas utilizando YeastMine y Genemania

Parte Práctica:

- Medios de cultivo, selección y cruzamiento de levaduras *S. pombe* y *S. cerevisiae*.
- Preparación de levaduras competentes. Transformación con plásmidos de expresión con promotores constitutivos y regulables. Criterios de elección de medios de selección
- Construcción de diploides por complementación intra- e intergénica
- Construcción de levaduras knock out para un gen específico. Determinación de recombinantes homólogos por PCR.
- Construcción de doble mutantes
- Determinación de mating type
- Esporulación. Disección de tetradas por micromanipulación de esporas. Análisis de esporas al azar.
- Determinación de fenotipos específicos de las esporas. Expresión de genes heterólogos. Rescate de fenotipos mutantes por complementación.
- Expresión de genes en la vía secretoria de levaduras. Endocitosis en tiempo real por microscopía confocal
- Microscopía de campo oscuro de levaduras haploides, diploides y cultivos esporulados
- 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*
- Interacción de proteínas *in vivo*: Ensayo de doble híbrido y detección de interacción entre dos proteínas y variantes mutadas por diferentes reporteros. Controles del sistema.

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 Schizosaccharomyces pombe 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 enzymology (2002) vol 350, 351 Ed. Guthrie and Fink
- "Molecular Genetics of Yeast. A Practical Approach". Ed. por J. R. Johnston. IRL Press.
- Guía de Trabajos Prácticos del curso.
- Artículos recientes publicados en revistas internacionales relacionados con los temas teóricos



Cecilia D' Alessio (Coordinadora)