

14. PROGRAMA ANALITICO

El objetivo de la presente materia es el adiestramiento de post-grado en técnicas generales de uso tanto en el laboratorio académico de investigación como en laboratorios comerciales e industriales.

Cada alumno realiza un programa práctico constituido por 2 Trabajos Prácticos intensivos (módulos), de entre 16 posibles.

En cada módulo práctico se desarrollan en forma minuciosa una o dos técnicas principales y varias auxiliares en forma personal. Se considera que el alumno que aprueba un práctico está en condiciones de llevar a cabo las técnicas aprendidas, en condiciones similares, en forma profesional.

Teóricas:

Los alumnos asisten a las teóricas correspondientes a todos los módulos prácticos no pudiendo faltar a las clases teóricas correspondientes a los módulos prácticos que realizará.

Prácticos:

De acuerdo a la orientación de su carrera y a las vacantes en cada combinación, el alumno se inscribe y realiza 2 prácticos intensivos, con sus correspondientes seminarios y sesiones de instrucción. Además el alumno realiza una exposición frente al resto de alumnos y profesores sobre uno o más trabajos de la bibliografía relacionados con el tema de la práctica realizada.

▪ **Dr. Luis Quesada Allué**

TALLER GENERAL DE TECNICAS ELECTROFORESIS EN GELES. TRANSFERENCIA DE PROTEINAS

Geles de poliacrilamida mono y bi-dimensionales nativos y desnaturalizados. Geles de agarosa para ADN. Geles de actividad enzimática. "Western blot".

▪ **Dr. Héctor Carminatti /Dr. Radrizzani**

LOCALIZACION CELULAR Y SUBCELULAR DE PROTEINAS AL MICROSCOPIO CONFOCAL.

Inmunodetección de proteínas en cultivo de células y microscopía

▪ **Dr. Víctor Idoyaga**

DETERMINACION DE LOS EFECTOS DE CITOSTÁTICOS SOBRE LA PROLIFERACION TUMORAL.

Cultivo de tejido. Medición de síntesis de DNA

Determinación del índice de proliferación de las células tumorales en presencia de un citostático que actúa sobre la fase S del ciclo celular.

▪ **Dr. Víctor Idoyaga**

CLONADO E IDENTIFICACION DE UN FRAGMENTO DE cDNA DE TOPOISOMERASA II EN CORTEZA EMBRIONARIA DE RATA.

Clonado en bacterias. Mapeo de restricción.

Clonado de un fragmento de cDNA correspondiente a la topoisomerasa II de rata en E.

coli. Identificación del fragmento purificado mediante miniprep y un mapeo de restricción.

74

- **Dr. Luis Ielpi**
SECUENCIACION DE UN FRAGMENTO DE ADN. ANALISIS DE LOS DATOS.
Determinación de la secuencia de nucleótidos de un fragmento de ADN por el método de Sanger, también conocido como el método de terminación de la cadena. Secuencia de un fragmento empleando el kit de Sequenasa II y ³⁵S-ATP, preparación y corrida de un gel de poliacrilamida con doble descarga de muestra, transferencia del gel a papel Whatman 3MM, autorradiografía, y revelado. Enseñanza práctica de lectura de la secuencia de nucleótidos. Análisis de la secuencia obtenida (porcentaje de G+C, zonas promotoras, análisis de RNA-mensajero, en base de datos (blastn, blastp, blastx), marcos de lectura abiertos, traducción, posible función bioquímica, estructura secundaria, hidrofobicidad, segmentos de aminoácidos.

- **Dr. Marcelo Dankert**
ELECTROFORESIS PULSANTE
Una técnica para fraccionar partículas de alto peso molecular. Su aplicación a la separación de cromosomas de levadura.

- **Dr. Fernando Goldbaum**
CRISTALIZACIÓN DE PROTEÍNAS
*Método de "hanging drop" y "Sitting drop".
Cristalización en geles*

- **Dr. Gonzalo de Prat Gay**
ESTUDIOS DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y DICROISMO CIRCULAR
Desnaturalización de proteínas en el equilibrio y espectroscopia de fluorescencia. Dicroísmo circular de proteínas.

- **Dr. Israel Algranati**
DETERMINACION DE AMPLIFICACION GENICA POR ANALISIS DE HIBRIDIZACION.
*Preparación de DNA – Digestión con enzimas de restricción – hibridización - Southern – Preparación de sonda específica por PCR..
Después de preparar DNA genómico de un parásito (Crithidia fasciculata) se lo digiere con varias enzimas de restricción y se prepara los fragmentos por electroforesis en agarosa. Se realiza la transferencia a una membrana de Nylon que se hibridiza con una sonda específica radiactiva preparada por PCR.*

- **Dr. Pablo Wappner**
TECNICAS DE INMUNOHISTOQUIMICA EN DROSOPHILA MELANOGASTER. UTILIZACION DE LINEAS TRANSGENICAS.
*Microscopía óptica, contraste de interferencia, contraste de fase, fluorescencia, Uso de GFP, inmuno-detección in situ.
Manejo básico de líneas normales, mutantes y transgénicas de Drosophila melanogaster. Cruzamientos basados en el sistema binario de Gal4/UAS. Análisis de los resultados por inmunotinción de embriones revelando tanto con reacción de peroxidasa como por técnicas fluorescentes. Se observarán también líneas expresando la proteína verde fluorescente.*



- **Dr. Luis Quesada Allué**
LIPIDOS: ANALISIS ELEMENTAL
Métodos de extracción o eliminación de lípidos. Cromatografía columnas y TLC: Separación y análisis de lípidos neutros y polares. Cromatografía de adsorción en Ac. sílicico. Cromatografía de intercambio aniónico. Saponificación e hidrólisis ácida.. Análisis en capa fina.

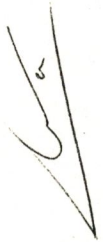
- **Dr. Marcelo Dankert**
CELULAS ELECTROPORADAS COMO SISTEMA ENZIMATICO
Electroporación. Cromatografía en columna. Cultivos.

- **Dr. Ricardo Wolosiuk**
ANALISIS ESPECTROFLUOROMETRICO DE LA REDUCCION DE PUENTES DISULFURO EN PROTEINAS.
Fluorescencia intrínseca y extrínseca en proteínas. Actividad protein disulfuro reductasa. La reducción de los puentes disulfuro en las proteínas será analizada por las variaciones en la fluorescencia de emisión de sondas intrínsecas (residuo triptofano) o extrínsecas (anilin naftalen sulfónico).

- **Dr. Roberto Staneloni**
AMPLIFICACIÓN DE ADN POR PCR
Mutaciones. Sustituciones, PCR. Amplificación de un fragmento de ADN por PCR. Este fragmento corresponde al promotor del gen Cab. Purificación del fragmento en gel de Agarosa y ligado a un vector de alto número de copias. Purificación de ADN y análisis de los clones por PCR.

- **Dra. Graciela Boccaccio**
TRANSFECCION DE GENES EN CELULAS EUCARIOTAS CON VECTORES PLASMIDICOS
Cultivo de líneas celulares. Transfección de plásmidos mediada por liposomas. Inmunofluorescencia. GFP como reportero de transfección.

- **Dr. FERNANDO PITOSI**
UTILIZACION DE VECTORES ADENOVIRALES PARA TRANSFERENCIA GENETICA
Generación y utilización de adenovirus recombinantes.





15.- BIBLIOGRAFIA GENERAL

Trabajos novedosos, relevantes, recientemente publicados en revistas de nivel internacional (Nature, Science, Cell, J. Biological Chemistry, Embo J., J. Molecular Cell Biology, Plant Physiology, etc.)

(La bibliografía específica de cada Trabajo Práctico se entrega al comienzo de cada Práctico)

FECHA 11/03/03

FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Dr. Luis Quesada Allue

FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:

Dr. LUIS A. QUESADA ALLUE
DIRECTOR TITULAR
Instituto de Investigaciones
Bioquímicas - FCEyN - UBA