

14. PROGRAMA ANALITICO

Genética Molecular de
Levaduras No 2004.

5

Parte Teórica:

Cultivo de levaduras. Similitudes y diferencias entre *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. Ciclos de vida de ambas levaduras. Mating, meiosis y esporulación. Cinética de crecimiento. Nomenclatura de *S. cerevisiae* y *S. pombe*. Análisis de tetradas. Métodos de mapeo genético: mapeo meiótico.

Sistemas de transformación de levaduras. Transformación-Electroporación. Sistemas de obtención de mutantes. Sistemas de selección y contraselección. Clonado por complementación. Vectores. Promotores constitutivos, inducibles y reprimibles en *S. cerevisiae* y *S. pombe*. Expresión homóloga y heteróloga.

Disrupción génica en levaduras haploides y diploides. Detección de recombinantes homólogos e ilegítimos. Viabilidad de la disrupción. Micromanipulación de esporas.

Aplicaciones biotecnológicas de las levaduras. Aplicaciones, fisiología, cepas disponibles, técnicas genéticas. Aplicaciones clásicas: industrias panadera, enológica y cervecera. Criterios de selección y desarrollo de cepas. Procesos productivos.

Parte Práctica:

- Inoculación de cultivos líquidos y sólidos con levaduras
- Preparación de levaduras competentes y electrocompetentes
- Transformación con plásmidos de expresión con promotores constitutivos y regulables
- Selección en medios adecuados
- Construcción de diploides
- Preparación de levaduras knock out para un gen específico
- Disección de tetradas por micromanipulación de esporas
- Determinación de viabilidad del knock out
- Determinación de fenotipos específicos de las esporas: expresión de genes.
- Microscopía de levaduras haploides, diploides y cultivos esporulados
- Determinación de mating type

15.- BIBLIOGRAFIA

- "Guide to yeast genetics and molecular and cell biology" Part B, Part C. Ed. Guthrie and Fink. Methods in enzymology (2002) vol 350, 351 Academic Press
- "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.
- "Molecular Genetics of Yeast. A Practical Approach". Ed. por J. R. Johnston. IRL Press.

- Alfa, C.; Fantes, P.; Hyams, J.; McLeod, M y Wabrik, E. (1993) *Experimens with Fission Yeast: A laboratory course manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Forsburg, S. *on-line Fission yeast handbook* (www.bio.uva.nl/pombe/handbook)
- Guia de Trabajos Prácticos del curso.

FECHA 1 de marzo de 2003

FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Cecilia D' Alessio

Olga Castro

FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:

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