

No 5779 9. B.

39. 2/10  
1986



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES.

DEPARTAMENTO: QUIMICA BIOLOGICA.

ASIGNATURA: CLONADO Y EXPRESION EN  $\lambda$  GT 11.

DURACION DEL CURSO: Desde el 3 de noviembre hasta el

14 de noviembre de 1986.

HORAS DE CLASES: a) Teóricas: 10 hs.; b) Prácticas: 29 hs.

c) Seminarios: 6 hs. TOTAL= 45 hs.

CARRERA: Curso de post-grado.

A DICTARSE EN: Instituto de Investigaciones en Ingeniería

Genética y Biología Molecular (INGEBIO).

Aprobado por Resolución **CD 862/86**

  
Dra. Celia E. Coto  
Directora Interina  
Departamento de Química Biológica



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CURSO: "CLONADO Y EXPRESION EN  $\lambda$ gt II"

PROGRAMA DE CLASES TEORICAS

Lunes 3 de noviembre, 10 hs.: Introducción teórica al fago  $\lambda$ gtII

Miércoles 5 de noviembre, 9 hs: Síntesis de un ADN copia. Diferentes métodos.  
Fundamento teórico de las diferentes reacciones necesarias para la síntesis.

Viernes 7 de noviembre, 14 hs.: Rastreo inmunológico de bibliotecas de ADN copia y genómicas de expresión

Martes 11 de noviembre, 9 hs: Diferentes tipos de vectores para el clonado de expresión.

Viernes 14 de noviembre, 15 hs.: Evaluación de los resultados obtenidos en función de los diversos proyectos que encararán los participantes del curso en sus respectivos Laboratorios.  
Ej.: Clonado de antígenos de Trypanosoma cruzi.

Dra. Celia E. Coto  
Directora Interina  
Departamento de Química Biológica



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

### BIBLIOGRAFIA

- 1) Huynh, Thanh V.; Young, Richard A.; Davis, Ronald W.; Constructing and Screening cDNA Libraries in  $\lambda$ gt10 and  $\lambda$ gt 11; en DNA cloning, Vol.1, a practical approach - Edited by D.M. Glover, (IRL Press, Oxford, Washington DC) 1985.
- 2) Maniatis, T.; Fritsch, E.F.; Sambrook, J.; Molecular Cloning, a Laboratory Manual - Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- 3) Young, R.A.; Davis, R.W.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1983, 80, 1194-1198.
- 4) Weinberger, C.; Hollenberg, S.M.; Ong, E.S.; Harmon, J.M.; Brower, S.T.; Cidrowski, J.; Thompson, E.B.; Rosenfeld, M.G.; Evans, R.M.; Science 1985, 228, 740-742.
- 5) Enea, V.; Arnot, D.; Schmidt, E.C.; Cochrane, A.H.; Gwadz, R.W.; Nussenzweig, R.S.; Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1984, 81, 7520-7524.

Dra. Celia E. Coto  
Directora Interina  
Departamento de Química Biológica



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CURSO: "CLONADO Y EXPRESION EN  $\lambda$ gt11"

PROGRAMA DE TRABAJOS PRACTICOS

Lunes 3 de noviembre de 1986

Mañana

- Presentación del Curso y objetivos
- Introducción teórica

Tarde

- Síntesis de ADN copia ( 1ra y 2da. cadena)
- Control de la incorporación de radioactividad en la 1ra. cadena
- Confección de columnas G100

Martes 4 de noviembre

Mañana

- Cromatografía del ADN copia doble cadena en columnas G100

Tarde

- Tratamiento con la nucleasa S1
- Controles sobre filtro y por electroforesis en gel de agarosa del ADN copia obtenido luego de las diferentes etapas

Miércoles 5 de noviembre

Mañana

- Tratamiento con la Eco RI metilasa

Tarde

- Tratamiento con la enzima de Kleenow
- Ligado del ADN copia con los linkers Eco RI



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Jueves 6 de noviembre

Mañana y tarde

- Confección de una columna Biogel A 50
- Discusión sobre los resultados obtenidos y la continuación de las experiencias
- Preparación de las bacterias Y1090 para el rastreo inmunológico
- Preparación de las cajas de Petri-LB/amplicilina para titular la biblioteca y preparar el rastreo inmunológico

Viernes 7 de noviembre

Mañana

- Digestión del ADN copia por EcoRI

Tarde

- Columna Biogel A 50
- Control por gel de agarosa de las diferentes fracciones de la columna

Sábado 8 de noviembre

Mañana

- Ligado del ADN copia con los brazos defosforilados del vector  $\lambda$ gt11

Lunes 10 de noviembre

Mañana

- Empaquetamiento de los ADN ligados

Tarde

- Titulación de los fagos recombinantes en placas de 10 cm.
- Siembra de una biblioteca de ADN copia de Trypanosoma cruzi sobre placas de 15 cm. para un primer rastreo inmunológico (se utilizará para este rastreo la biblioteca de ADN copia construida en noviembre de 1985 en el Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas del INGEBI)



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

- Transferencia de la biblioteca de *Trypanosoma cruzi* sembrada anteriormente sobre filtros de nitrocelulosa embebidos en IPTG.

Martes 11 de noviembre

Mañana

- Evaluación de las titulaciones
- Ligado del resto del ADN complementario con los brazos del vector

Tarde

- Primera vuelta del rastreo inmunológico de la biblioteca de *Trypanosoma cruzi*
  - . Tratamiento de los filtros con los anticuerpos
  - . Lavados
  - . Revelado por el método Avidina-Biotina peroxidasa
  - . Aislamiento de los fagos positivos en esta primera vuelta del rastreo inmunológico

Miércoles 12 de noviembre

Mañana y tarde

- Empaquetamiento de los ADN copia ligados el día anterior y siembra de los fagos
- Segunda vuelta del rastreo inmunológico: serán confirmados (o no) los positivos de la primera vuelta de la biblioteca de *Trypanosoma cruzi*

Jueves 13 de noviembre

Mañana y tarde

- Tratamiento de los filtros de la segunda vuelta del rastreo inmunológico
- Aislamiento de los fagos positivos de la segunda vuelta con vistas a la tercera vuelta de rastreo inmunológico
- Evaluación de los resultados obtenidos luego del . ligado y empaquetamiento y siembra realizada el día anterior



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Viernes 14 de noviembre

Mañana y tarde

- Ejemplo de amplificación de una biblioteca
- Discusión sobre los métodos de identificación de los clones positivos
- Evaluación de los resultados y conclusiones generales.

Dra. Celia E. Coto  
Directora Interina  
Departamento de Química Biológica



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CURSO: "CLONADO Y EXPRESION EN  $\lambda$ gt11"

SEMINARIOS

Jueves 6 de noviembre, 18 hs.:

"Human T-cell clones recognize a mayor M.leprae protein antigen expressed in E.coli"

Mustafa, A.S.; Gill, H.K.; Nerland, A.; Britton, W.J.; Mehra, V.; Blooms, B.R.; Young, R.A.; Godal, T.; Nature 319, 1986, 63-66.

Lunes 10 de noviembre, 18 hs.:

"Rationale for Development of a Synthetic Vaccine Against Plasmodium faiciparum Malaria"

Zavala, F.; Tam, J.P.; Hollingdale, M. R.; Cochrane, A.H.; Quakyi, I.; Nussenzweig, R. S.; Nussenzweig, V.; Science 228, 1985, 1436-1440.

Jueves 13 de noviembre, 18 hs.:

"Identification of Human Glucocorticoid Receptor Complementary DNA Clones by Epitope Selection"

Weinberger, C.; Hollenberg, S.M.; Harmon, J.M.; Brower, S.T.; Cidlowski, J.; Thompson, E.B.; Rosenfeld, M. G.; Evans, R.M.; Science 1985, 228, 740-742.

Dra. Celia E. Coto  
Directora Interina  
Departamento de Quimica Biologica





UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

- 1) Denominación del Curso:  
"Clonado y Expresión en  $\lambda$  gt II"
- 1-a) Carácter del Curso:  
Doctorado, ampliación del conocimiento y actualización.
- 2) Fecha de iniciación:  
3 de noviembre de 1986  
Fecha de finalización:  
14 de noviembre 1986
- 3) A dictarse en:  
Departamento Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, e,  
Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA  
Vuelta de Obligado 2490, 2º Piso - 1428 Buenos Aires.
- 4) Responsables:  
Dres. Héctor N. Torres y Mariano Levin
- 5) Cantidad de horas semanales: 45
- 5-a) Número de horas semanales de clases teóricas: 10
- 5-b) Número de horas semanales de seminarios: 6
- 5-c) Número de horas semanales de trabajos prácticos: 29
- 6) Condiciones de Ingreso:  
Egresados de la Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, Fac. de Farmacia y Bioquímica, Fac. de Medicina, Fac. de Agronomía, Fac. de Veterinaria (UBA). Carreras similares de otras Universidades Nacionales y de América Latina.
- 7) Número de alumnos: 15
- 8) Forma de evaluación: Exámen final
- 8-a) Certificado de aprobación: SI



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

- 9) Puntaje propuesto de acuerdo con el carácter del curso: 3
- 10) Número de código:
- 11) Se acompaña despacho de la Sub-Comisión Departamental con el Vo. Bo. del Director del Departamento
- 12) Se propone un arancel de 200 módulos, teniendo como base el valor de Australes (el que rija en ese momento)
- 13) Fecha final de recepción de las solicitudes:  
30 de septiembre 1986
- 14) Informe de la selección final:  
10 de octubre 1986
- 15) Director del Curso:  
Dr. Héctor N. Torres; (Dr. Mariano Levin, coordinador)