



- **Lugar donde se llevará a cabo**

Aulas, Laboratorios y Sala de Computación. Campus Universitario de la Universidad Nacional de Villa María. Av. Arturo Jauretche 1555. Villa María (C.P. 5900), Córdoba, Argentina.

- **Duración**

Duración de la actividad (semanas)	1 (una)		
Cuatrimestre:	Segundo		
Horas de clases	Totales	Presenciales	A distancia
Teóricas	20	20	
Prácticas/Problemas	4	4	
Laboratorio	16	16	
Seminarios			
HORAS SEMANALES	40	40	
HORAS TOTALES	40	40	

- **Sistema de evaluación y acreditación**

Evaluación escrita, individual y de carácter obligatorio. Los conceptos teóricos y prácticos se evaluarán mediante un informe en el que el estudiante proponga la aplicación de las técnicas en su tema de investigación o ámbito laboral.

- **Metodología de Enseñanza**

Las estrategias a utilizar constan de **clases expositivas-coloquiales** con soporte visual para el desarrollo de los contenidos teóricos, en ellas se propiciará la generación de espacios para consolidar conocimientos previos de los estudiantes y/o intercambiar ideas. Asimismo, se realizarán **trabajos prácticos de laboratorio** en los cuales se llevarán a cabo las reacciones de PCR. Esta estrategia tiene como objetivos favorecer el aprendizaje de los contenidos teóricos; ejercitar el diseño experimental y adquirir destreza en la utilización de reactivos, material y equipamiento de laboratorio relacionado a la temática del curso. Se destinará además una clase al **análisis y discusión de los resultados** como cierre de las actividades prácticas.



La evaluación del curso propuesta pretende fomentar la aplicación de los contenidos desarrollados a la realidad académica y/o laboral de cada uno de los participantes.

- **Programa Analítico del Curso**

Programa Analítico del Curso:

PCR Convencional

PCR Generalidades. Fundamento. Métodos de extracción de ácidos nucleicos de muestras simples y complejas. Optimización. Diseño de primers. Consideraciones prácticas. Variantes: Nested PCR, Multiplex PCR, PCR touchdown, *in situ* PCR, RT-PCR.

Aplicaciones I: PCR aplicada a la identificación de procariotas. Genotyping y métodos basados en secuencias. Nociones de metagenómica y Bioinformática.

Aplicaciones II: genómica aplicada a diferentes modelos de estudio.

PCR cuantitativa

Introducción y fundamentos de la PCR cuantitativa. Cuantificación relativa (qPCR y RT-qPCR) y absoluta. Sistemas de detección (SYBR Green y Taqman). Equipamiento, reactivos y consideraciones para la organización del laboratorio de biología molecular.

Aplicaciones I: cuantificación relativa para estudiar expresión génica. Determinación de la eficiencia de un ensayo de expresión génica. Purificación de ARN. Evaluación de su cantidad y calidad. Tratamiento con ADNasa. Retrotranscripción (un paso y dos pasos). Controles necesarios. Cuantificación relativa (Método del Delta delta Ct o Ct comparativo). Consideraciones sobre MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments).

Aplicaciones II: cuantificación absoluta aplicada a diferentes modelos de estudio.



Trabajos prácticos de laboratorio:

PRÁCTICO 1: Extracción y purificación de ADN.

PRÁCTICO 2: PCR convencional aplicada a la detección de genes de interés.

PRÁCTICO 3: Extracción y purificación de ARN.

PRÁCTICO 4: RT-qPCR

PRÁCTICO 5: Análisis y discusión de resultados.

• **Cronograma de actividades**

Día	Tema	Horas	Tipo de Actividad®/ Modalidad	Docente
Lunes 27/11	Generalidades de Biología Molecular y PCR convencional	4	Clase Teórica/Presencial	Dra. Romina Bachetti Dra. Paula Isaac Dra. Carolina Morgante Dra. Carina Porporatto
	Extracción y purificación de ADN	4	Práctico 1	Dra. Romina Bachetti Mgter. Virginia Angiolini
Martes 28/11	APLICACIONES I: Genética para identificación de microorganismos Nociones de metagenómica	3	Clase Teórica/Virtual	Dr. Daniel Kurth
	APLICACIONES II: Genómica aplicada a la biorremediación	1	Clase Teórica/Virtual	Dr. Danilo Pérez-Pantoja
	PCR convencional aplicada a la detección de genes de interés	4	Práctico 2	Dra. Romina Bachetti Dra. Paula Isaac
Miércoles 29/11	Generalidades de PCR cuantitativa (qPCR)	4	Clase teórica/Presencial	Dra. Luciana Bohl Dra. Verónica Felipe
	Extracción y purificación de ARN	4	Práctico 3	Dra. Luciana Bohl



				Dra. Verónica Felipe Dra. Laura Breser Mgter. Virginia Angiolini
Jueves 30/11	APLICACIONES I: Cuantificación relativa para estudiar expresión génica	2	Clase Teórica/Presencial	Dra. Luciana Bohl Dra. Verónica Felipe
	APLICACIONES II: qPCR absoluta para la detección de fitopatógenos	2	Clase Teórica/Virtual	Dra Flavia Loto
	RT qPCR	4	Práctico 4	Dra. Luciana Bohl Dra. Verónica Felipe Mgter. Virginia Angiolini Dra. Laura Breser
Viernes 1/12	APLICACIONES II: Diagnóstico del virus de la influenza A mediante la utilización de sondas Taqman	2	Clase Teórica/Presencial	Dra. Laura Soriano
	APLICACIONES II: qPCR absoluta, cuantificación de bacterias en cultivo mixto	2	Clase Teórica/Presencial	Dra. Paula Isaac
	Análisis y discusión de resultados	4	Práctico 4	Dra. Luciana Bohl Dra. Verónica Felipe Mgter. Virginia Angiolini Dra. Paula Isaac Dra. Romina Bachetti

© Teórico, teórico-práctico, laboratorio



- **Material Bibliográfico**

- Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., & Struhl, K. (1992). Short protocols in molecular biology. *New York*, 275, 28764-28773.
- Berardo, N., Bohl, L., Porporatto, C., Nader-Macias, M. E. F., Bogni, C., & Pellegrino, M. (2020). Intramammary inoculation with lactic acid bacteria at dry-off triggers an immunomodulatory response in dairy cows. *Beneficial Microbes*, 11(6), 561-572.
- Bohl, L. P., Isaac, P., Breser, M. L., Orellano, M. S., Correa, S. G., de Talamoni, N. G. T., & Porporatto, C. (2021). Interaction between bovine mammary epithelial cells and planktonic or biofilm *Staphylococcus aureus*: The bacterial lifestyle determines its internalization ability and the pathogen recognition. *Microbial Pathogenesis*, 152, 104604.
- Bohl LP, Bachetti R, Felipe V, Isaac P. Guía de trabajos prácticos. Año 2023.
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellems, J., Huggett, J., Kubista, M., ... & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments.
- Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellems J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T, Pfaffl MW, Shipley GL, Vandesompele J, Wittwer CT. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem*. 2009 Apr;55(4):611-22. doi: 10.1373/clinchem.2008.112797.
- Dorak, M. T. (Ed.). (2007). *Real-time PCR*. Taylor & Francis.
- Farias, M. E., Rasuk, M. C., Gallagher, K. L., Contreras, M., Kurth, D., Fernandez, A. B., ... & Visscher, P. T. (2017). Prokaryotic diversity and biogeochemical characteristics of benthic microbial ecosystems at La Brava, a hypersaline lake at Salar de Atacama, Chile. *PLoS One*, 12(11), e0186867.
- Isaac, P., Bohl, L. P., Romero, C. M., Berdini, L. R., Breser, M. L., De Lillo, M. F., ... & Porporatto, C. (2023). Teat-apex colonizer *Bacillus* from healthy cows antagonizes mastitis-causing *Staphylococcus aureus* biofilms. *Research in Veterinary Science*, 163, 104968.
- Jacquat, A. G., Usseglio, V. L., Bohl, L., Achimón, F., Porporatto, C., Areco, V. A., ... & Dambolena, J. S. (2021). Response of physically mature maize embryos to *Fusarium verticillioides* volatiles: An insight into lipoxygenase pathways. *Journal of Stored Products Research*, 91, 101782.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Vandesompele, J., Kubista, M., Pfaffl, M. W., Logan, J., Edwards, K., & Saunders, N. (2009). Real-time PCR: current technology and applications. *Reference gene validation software for improved normalization*, 2, 47-64.
- Tindall, B. J., Rosselló-Móra, R., Busse, H. J., Ludwig, W., & Kämpfer, P. (2010). Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(1), 249-266.