

QUILMES, 23 FEB 2009

VISTO el Expediente N° 827-0101/09, y

CONSIDERANDO:

Que por el citado Expediente la Secretaría de Posgrado de la Universidad tramita el curso de doctorado denominado "Producción de proteínas heterólogas en microorganismos procariotas".

Que a través de la Resolución (CS) N° 283/05, se aprueba el Reglamento de Cursos y Seminarios de Posgrado de la Universidad.

Que el mencionado curso constituye un aporte relevante a la formación de posgrado en las especialidades involucradas.

Que los antecedentes académicos y profesionales de los docentes a cargo del dictado del mismo, garantizan calidad y solvencia en el desarrollo de los contenidos especificados.

Que la evaluación del citado curso ha cumplido con los requisitos estipulados en el Art. 6° del Reglamento de Cursos y Seminarios de Posgrado de esta Casa de Altos Estudios.

Que la presente se dicta en virtud de las atribuciones conferidas al Rector por el Art. 72° del Estatuto Universitario.

Por ello,

EL RECTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

RESUELVE:

ARTÍCULO 1°: Aprobar el dictado del curso de doctorado denominado "Producción de proteínas heterólogas en microorganismos procariotas", cuyo programa y características generales se detallan en el Anexo I de la presente Resolución.

ARTÍCULO 2°: Designar como docentes expositores para el dictado del curso al Dr. Anderson Miyoshi y al Lic. Axel Hollmann.

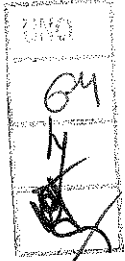
ARTÍCULO 3°: Disponer que el curso tenga una duración total de cuarenta (40) horas y que pueda dictarse hasta el Ciclo Lectivo 2011.

00147

ARTÍCULO 4º: Establecer un cupo máximo de quince (15) alumnos, y en el caso que los postulantes excedan esa cifra, el docente a cargo realizará la selección correspondiente.

ARTÍCULO 5º: Regístrese, practíquense las comunicaciones de estilo y archívese.

RESOLUCIÓN (R) N°: 00147



Mg. Alfredo Alfonso
Secretario General
UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Gustavo Eduardo Lugones
Rector
Universidad Nacional de Quilmes

ANEXO I

Título del Curso de Doctorado: "Producción de proteínas heterólogas en microorganismos procariotas".

Lugar de Realización: UNQ - Roque Sáenz Peña 352, Bernal.

Docentes Expositores: Dr. Anderson Miyoshi y Lic. Axel Hollmann.

Carga horaria: 40 horas.

Fecha de realización: año 2009 con aprobación hasta el 2011.

Destinatarios: Graduados en: Biotecnología, Bioquímica, Ciencias Biológicas y Microbiología.

Objetivos:

Actualización en sistemas y técnicas de clonado y expresión génica en bacterias Gram positivas.

Importancia académica:

El dominio de las técnicas de clonado y expresión génica en bacterias Gram positivas resulta imprescindible para la formación de profesionales que se dediquen a la genética y la biología molecular de microorganismos.

Contenidos y bibliografía:

MÓDULO I - PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS HETERÓLOGAS EN MICROORGANISMOS PROCARIOTAS

DÍA I

UNQ
61
7
[Signature]

9:30 – Presentación

10.00 – Unidad 1. Introducción y clonado en microorganismos procariotas. Breve reseña de las diferentes técnicas de clonado en procariotas y conceptos básicos de ingeniería genética y biología molecular (vectores, enzimas de restricción, etc.). (Teórico).

12:30 – Intervalo

00147

14:30 – Unidad 1 (continuación). Clonado y expresión en microorganismos procariotas. Técnicas de clonado en procariotas, utilización de promotores inducibles y constitutivos, genes reporteros, genes de selección, métodos de screening, vectores de clonado, vectores de expresión y métodos de transformación bacteriana (Teórico).

16:00 – Intervalo

16:30 – Unidad 2: Expresión genética en microorganismos procariotas. Técnicas de expresión, mecanismos de regulación génica, métodos de inducción y represión de genes, métodos de detección de expresión, direccionamiento proteico (Teórico).

DÍA II

9:30 – Unidad 3: Expresión y purificación de proteínas heterólogas. Técnicas de expresión, mecanismos de regulación génica, métodos de inducción y represión de genes, métodos de detección de expresión. Métodos de purificación de proteínas (Teórico).

12:00 – Intervalo

14:00 – Unidad 4. Nociones de informática: análisis computacional básico para el clonado de secuencias de interés. Mediante ambas clases (teórica y práctica) se pretende que los alumnos aprendan a utilizar técnicas de bioinformática para diseñar y evaluar vectores de clonado y expresión así como estrategias de clonado y represión de genes de interés (Teórico-Práctico).

MÓDULO II - CLONADO Y EXPRESIÓN GÉNICA EN BACTERIAS GRAM-POSITIVAS

DÍA III

9:00 – Unidad 5: Introducción al clonado y expresión genética en bacterias Gram-positivas: "overview" (Teórico).

10:30 – Intervalo

11:00 – Unidad 5 (continuación). Clonado y expresión génica en bacterias Gram-positivas. Estrategias de clonado en bacterias Gram positivas, particularidades, sistemas de clonado y expresión desarrollados hasta el momento (promotores, sistemas de direccionamiento, inductores y represores) (Teórico).

12:30 – Intervalo

14:30 – Unidad 6. Utilización biotecnológica de bacterias Gram-positivas: modelo de bacterias lácticas. Conceptos básicos de las bacterias del ácido láctico (características metabólicas y fisiológicas, propiedades de los productos probióticos). Aplicaciones de las bacterias lácticas en industria y medicina. (Teórico).

16:00 – Unidad 7. Sistemas de expresión génica para uso en bacterias lácticas: modelo Lactococcus lactis. Promotores utilizados en Gram positivas y en L. lactis, vectores de clonado y expresión utilizados en bacterias lácticas, Sistemas de expresión NICE (ventajas y desventajas variables) (Teórico).



00147

DÍA IV

9:00 – Unidad 8. Sistema XIES (Xylose-Inducible Expression System). Características de este sistema de expresión (promotor, genes de selección, inductores y represores), Ventajas y desventajas respecto a otros sistemas de expresión para bacterias lácticas (Teórico).

12:00 – Intervalo

14:00 – Trabajo Práctico I: Clonado en *L. lactis*.

16:00 – Intervalo

16:30 – Trabajo Práctico II: Inducción y Represión del sistema.

DÍA V

9:00 – Trabajo Práctico III: Análisis mediante Western blot.

12:00 – Intervalo

14:00 – Evaluación

Los trabajos prácticos tendrán como objetivo general presentar a los alumnos las técnicas más empleadas para el clonado y la expresión en bacterias Gram positivas (digestión, ligación, obtención de plásmidos, PCR, inducción y represión de la expresión génica mediante azúcares, Western blot).

Bibliografía.

1. Carr FJ, Cill D and MAIDA N. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey Critical Reviews in Microbiolog. 2002., 28(4):281–370.

2. Cortes-Perez NG, Azevedo V, Alcocer-Gonzalez JM, Rodriguez-Padilla C, Tamez-Guerra RS, Corthier G, Gruss A, Langella P, Bermudez-Humaran LG. Cell-surface display of E7 antigen from human papillomavirus type-16 in *Lactococcus lactis* and in *Lactobacillus plantarum* using a new cell-wall anchor from lactobacilli. J Drug Target. 2005. 13(2):89-98.

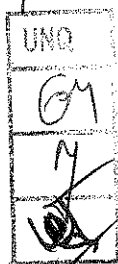
3. Detmer A, Glenting J. Live bacterial vaccines - a review and identification of potential hazards Microbial Cell Factories 2006, 5:23 doi:10.1186/1475-2859-5-23.

4. Dieye Y, Udai S, Clier F, Gruss A, Picard JC. Design of a Protein-Targeting System for Lactic Acid Bacteria. JOURNAL OF BACTERIOLOGY, 2001. 4157–4166.

5. F.A. Dorella FA, Estevam EM, Cardoso PG, Savassi BM, Oliveira SC, Azevedo V, Miyoshi A. An improved protocol for electrotransformation of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Veterinary Microbiology. 2006, 114: 298–303.

6. Freitas DA, Leclerc S, Miyoshi A, Oliveira SC, Sommer PS, Rodrigues L, Correa Junior A, Gautier M, Langella P, Azevedo VA, Le Loir Y. Secretion of *Streptomyces tendae* antifungal protein 1 by *Lactococcus lactis*. Braz J Med Biol Res. 2005. 38(11):1585-92.

7. Guimaraes VD, Gabriel JE, Lefevre F, Cabanes D, Gruss A, Cossart P, Azevedo V, Langella P. Internalin-expressing *Lactococcus lactis* is able to invade small intestine of guinea pigs and deliver DNA into mammalian epithelial cells. *Microbes Infect.* 2005. 7(5-6):836-44.
8. Le Loir, Y.; Azevedo, V.; Oliveira, S. C.; Freitas, D. A.; Miyoshi, A.; Bermúdez-Humarán, L. G.; Nouaille, S.; Ribeiro, L. A.; Leclercq, S.; Gabriel, J. E.; Guimaraes, V. D.; Oliveira, M. n.; Charlier, C.; Gautier, M.; Langella, P. Protein Secretion in *Lactococcus lactis*: an efficient way to increase the overall heterologous production. *Microbial Cell Factories* 2005. 4(2):1-13.
9. Le Loir, Y.; Gruss, A.; Erlich, S. D.; Langella, P. A nine-residue synthetic propeptide enhances secretion efficiency of heterologous proteins in *Lactococcus lactis*. *J. Bacteriology.* 1998. 180:1895-1903.
10. Miyoshi A, Bermudez-Humaran LG, Ribeiro LA, Le Loir Y, Oliveira SC, Langella P, Azevedo V. Heterologous expression of *Brucella abortus* GroEL heat-shock protein in *Lactococcus lactis*. *Microb Cell Fact.* 2006. 23; 5:14.
11. Miyoshi A, Jamet E, Commissaire J, Renault P, Langella P, Azevedo V. A xylose-inducible expression system for *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiol Lett.* 2004 15; 239 (2):205-12.
12. Miyoshi A, Poquet I, Azevedo V, Commissaire J, Bermudez-Humaran L, Domakova E, Le Loir Y, Oliveira SC, Gruss A, Langella P. Controlled Production of Stable Heterologous Proteins in *Lactococcus lactis*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 2002, 68: 3141–3146.
13. Miyoshi, A., Azevedo, Vasco. 2004. Novas utilizações biotecnológicas e terapêuticas das bactérias do ácido láctico In *Gênômica*, edited by Luís Mir. e ed 1. Vol. 1, 801-818. São Paulo: Editora Atheneu.
14. Nouaille S, Ribeiro LA, Miyoshi A, Pontes D, Le Loir Y, Oliveira SC, Langella P, Azevedo V. Heterologous protein production and delivery systems for *Lactococcus lactis*. *Genet Mol Res.* 2003. 31; 2 (1):102-11. Review.
15. Pontes, D. S.; Dorella, F. A.; Ribeiro, L. A.; Miyoshi, A.; Le Loir, Y.; Gruss, A.; Oliveira, S. C.; Langella, P.; Azevedo, V. Induction of Partial Protection in Mice after Oral Administration of *Lactococcus lactis* Producing *Brucella abortus* L7/L12 Antigen. *Journal of Drug Targeting.* 2004 1-5.
16. Robinson, K.; Chamberlain, L. M.; Schokfield, K. M. Oral vaccination of mice against tetanus with recombinant *Lactococcus lactis*. 1997. 70:1507-1517.
17. Rochat T, Miyoshi A, Gratadoux JJ, Duwat P, Sourice S, Azevedo V, Langella P. High-level resistance to oxidative stress in *Lactococcus lactis* conferred by *Bacillus subtilis* catalase KatE. *Microbiology.* 2005. 151:3011-8.
18. Vos WM, Hugenholtz J, Engineering metabolic highways in Lactococci and other lactic acid Bacteria. *TRENDS in Biotechnology* Vol.22 No.2 February 2004.
19. Vos WM, Kleerebezem M, Kuipers OP. Expression systems for industrial Gram-positive bacteria with low guanine and cytosine content. *Current opinion in Biotechnology.* 1997, 8:547-553.



20. Wells, J. M.; Wilson, P. W.; Norton, P. M.; Le Page, R. W. A model system for the investigation of heterologous protein secretion pathways in *Lactococcus lactis*. Appl. Environ. Microbiol. 1993. 59:3954-3959.

Metodología: Teórico-práctico

Modalidad: Presencial

Requisitos de asistencia: Asistencia al 80 % del total de las clases.

Evaluación: Trabajo Final.

Certificación: Certificados de Asistencia y Aprobación de la UNQ.

Cupo máximo: 15 alumnos.

Arancel:

Arancel general de \$ 400.-

Los egresados de la Universidad están exentos del pago.

Presupuesto:

La realización del curso quedará sujeta a que la recaudación de fondos garantice la cobertura de su presupuesto.

Requerimientos:

Los Currícula de los docentes constan de fs. 8 a 27 del Expediente N° 827-0101/09.

ANEXO DE RESOLUCIÓN (R) N°:

00147



Mg. Alfredo Alfonso

Gustavo Eduardo Lugones
Rector
Universidad Nacional de Quilmes