



EDUCACIÓN PERMANENTE
Facultad de Química

Herramientas moleculares para la identificación y caracterización de hongos y levaduras

Fecha: 28 de mayo al 1 de junio de 2018

Horario: Lunes a viernes de 9 a 13 y 14 a 18

Lugar: Cátedra de Microbiología. Facultad de Química. Universidad de la República.

Programa

Día 1

Mañana

- Principios básicos sobre identificación molecular de hongos
- Identificación a nivel de especie:
 - Regiones génicas utilizadas para la identificación.
 - Bases de datos

Tarde

- Análisis multigénico en la determinación de especies fúngicas
- Pasos del análisis molecular:
 - Extracción ADN de hongos filamentosos y levaduras.
 - Purificación de ADN. Amplificación de regiones de interés.
- Secuenciación masiva
- Presentación de los trabajos prácticos.

Día 2

Mañana

- Comparación de diferentes métodos para extracción de ADN de la muestra problema (convencional y kit comercial)
- Visualización (Electroforesis) y cuantificación de ADN (Qubit, Nanodrop) del ADN extraído
- Amplificación de la región seleccionada para identificar el hongo problema

Tarde (Teórico - Práctico. Salón rojo)

- Visualización de gel PCR

- Análisis de secuencias (purificación de secuencias, comparación con base de datos).
- Búsqueda de secuencias tipo
- Construcción de árboles filogenéticos (Teórico)
- Utilización de programa Mega
- Construcción de árboles filogenéticos

Día 3

Mañana

- RFLP.
- Cálculo de tamaño de peso molecular
- Visualización, estimación del tamaño molecular y cuantificación de los amplicones obtenidos
- Uso de programas para análisis de restricción. (Webcutter. Nebcutter). Elección de una enzima de restricción para la identificación a nivel de especie dentro de un contexto dado.
- RFLP práctico

Tarde

- Uso y diseño de primers específicos en identificación de hongos y levaduras
- Tipificación: subespecie, quimiotipo, cepa. Métodos: RAPD, AFLP. Microsatélites, RFLP mitocondrial

Día 4

Mañana

Cuantificación de hongos por Real Time PCR.

- Presentación de caso particular. Análisis de curvas y resultados.

Tarde

- Casos aplicados

Día 5

Mañana (Salón rojo)

- Presentación grupal del trabajo práctico
- Discusión de resultados

Tarde (Salón rojo)

- Prueba teórica

Las situaciones problema del curso práctico:

1. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Pleurotus*
2. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de levadura proveniente de la Antártida
3. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Penicillium* causante de moho azul en manzana.
4. Identificación de un aislamiento de levadura proveniente de un hemocultivo
5. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Fusarium* patógeno de trigo

Práctica adicional

El cuarto día del práctico se agregará además una práctica adicional en la que cada grupo recibirá una muestra de trigo para determinar por PCR en tiempo real el grado de contaminación de la misma con *Fusarium graminearum*. Se analizarán los resultados en forma grupal.