



# **“Programa de Vinculación de Científicos y Tecnólogos”**

Fortalecimiento del Capital Humano para I+D

**REPORTE: ALEXANDRA CLARISSA BAYER WILDBERGER**

**PR**  **CIENCIA**

PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

# OBJETIVO

**Fortalecimiento de capacidades del capital humano calificado con que cuenta el país.**

Mediante **estancias de investigación científica o transferencia tecnológica** que permita la interacción entre científicos y tecnólogos de probada experiencia y que contribuya a la generación de nuevos conocimientos.

## Las áreas convocadas:

Naturales y Exactas; Médicas y de la Salud; Agrícolas; Ingenierías y Tecnologías; Sociales y Humanidades.





CONSEJO NACIONAL  
**DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**



**GOBIERNO NACIONAL**

Construyendo el Futuro hoy





UNIVERSITÄT  
OSNABRÜCK



CONSEJO NACIONAL  
**DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**



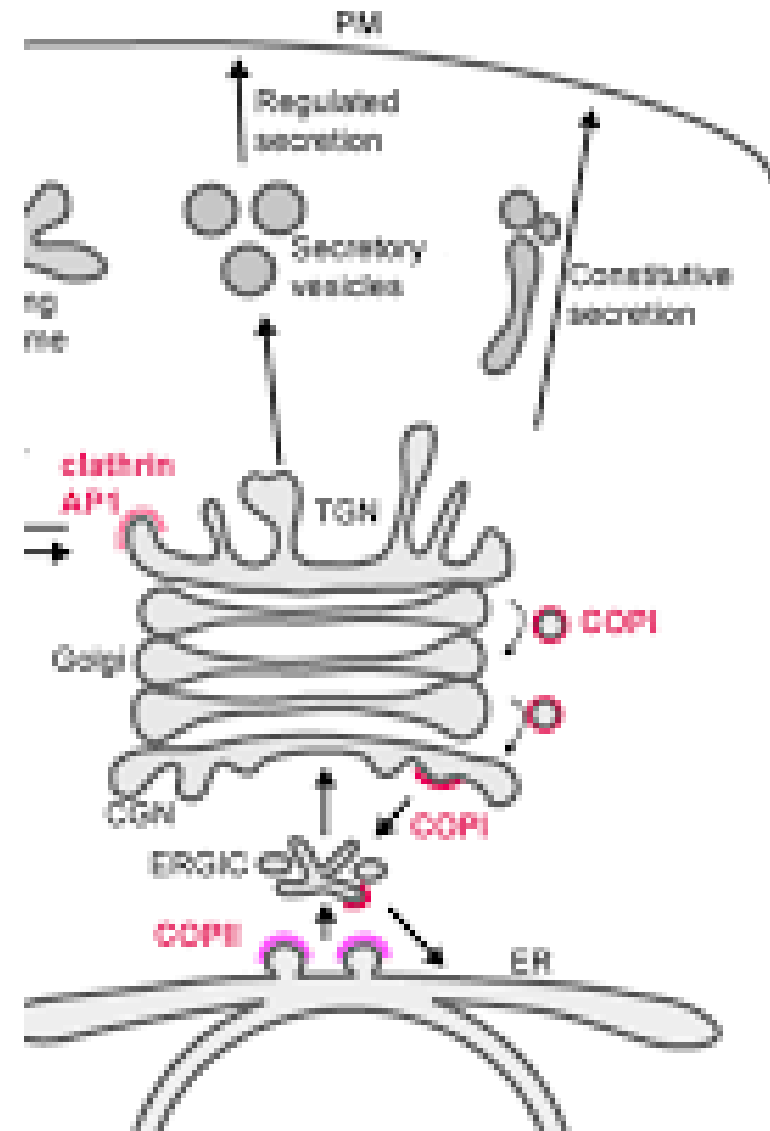
**GOBIERNO NACIONAL**  
Construyendo el Futuro hoy

# TEMA

Our research is focussed on the machinery responsible for **membrane dynamics (fission and fusion) at endosomes and lysosomes/yeast vacuoles.**

## Main interests :

1. small regulators, the Rab GTPases Rab5 (Vps21) and Rab7 (Ypt7), and their interaction partners, in particular the tethering complexes CORVET and HOPS
2. **membrane contact sites of vacuoles**

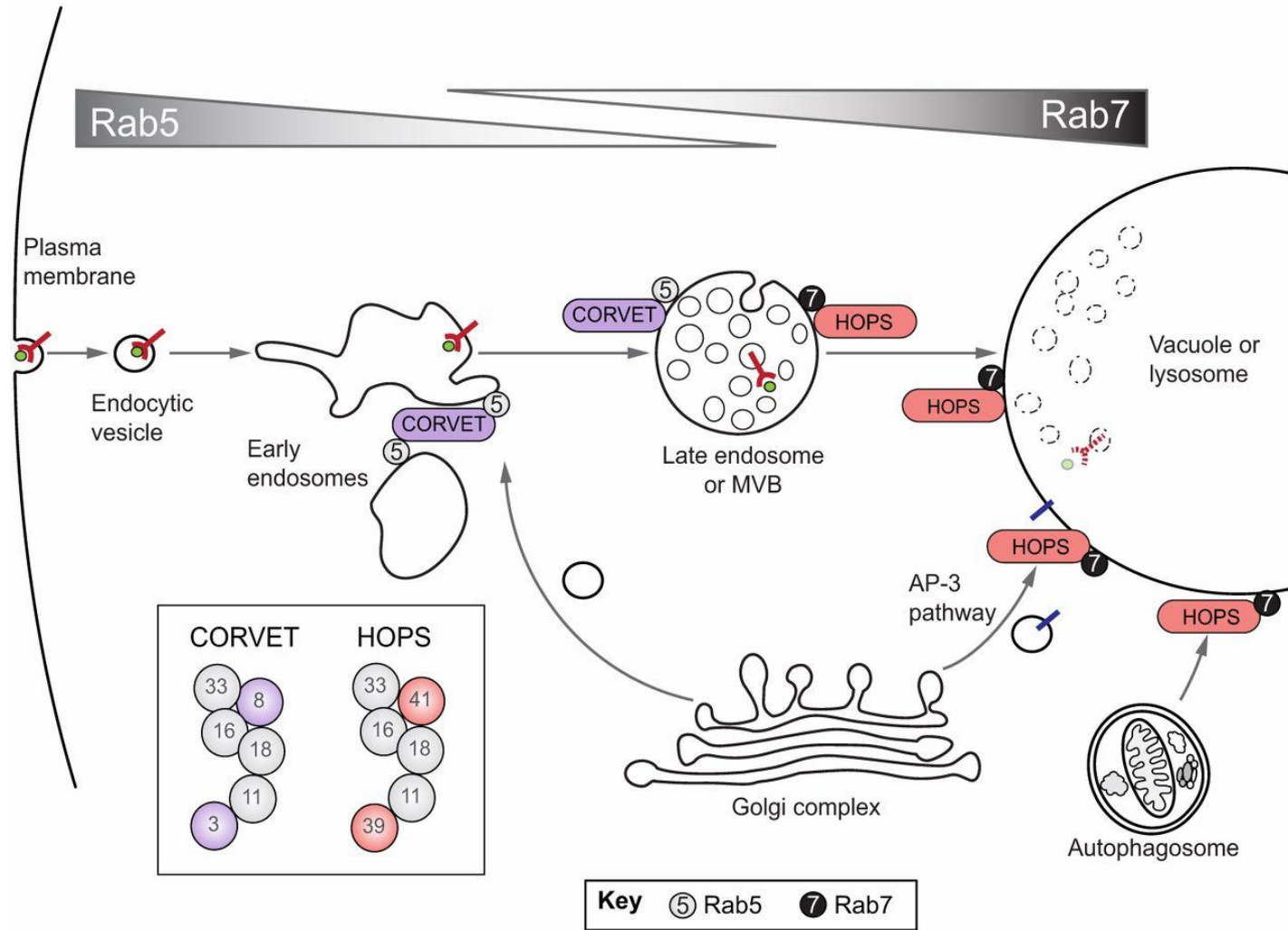


# MEMBRANE CONTACT SITES

Inter-organelle membrane contact sites are zones where *heterologous membranes*, usually the endoplasmic reticulum plus a partner organelle, come into close apposition.

These sites are very poorly understood because so few of their components have been identified; however, it is clear that they are specialised for traffic of material and information between the two membranes.

# Schematic representation of CORVET and HOPS function within the endolysosomal pathway.



Henning J. kleine Balderhaar, and Christian Ungermann J  
 Cell Sci 2013;126:1307-1316



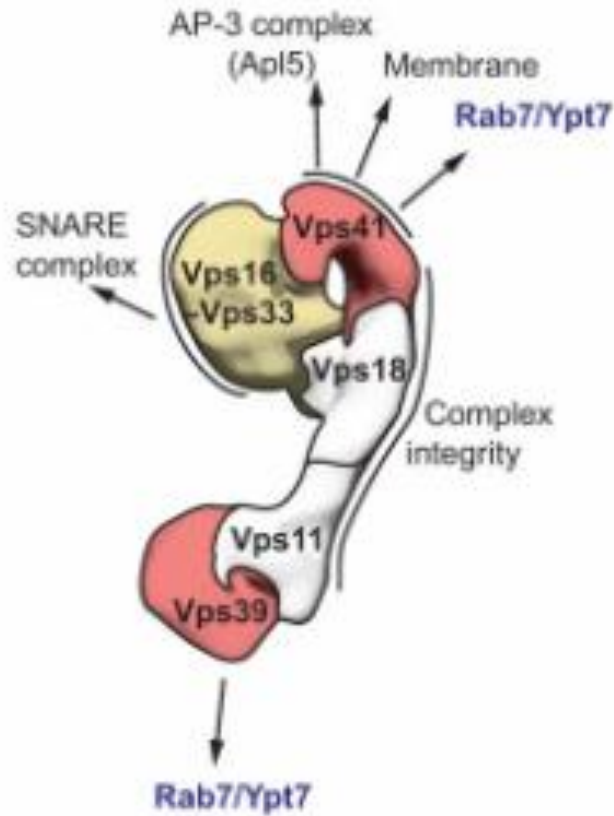
These membrane contact sites (MCSs) are domains where two membranes come to close proximity, typically less than 30 nm.

MCSs are **established and maintained** in durable or transient states **by tethering structures**, which keep the two membranes in proximity, but *fusion* between the membranes *does not take place*.

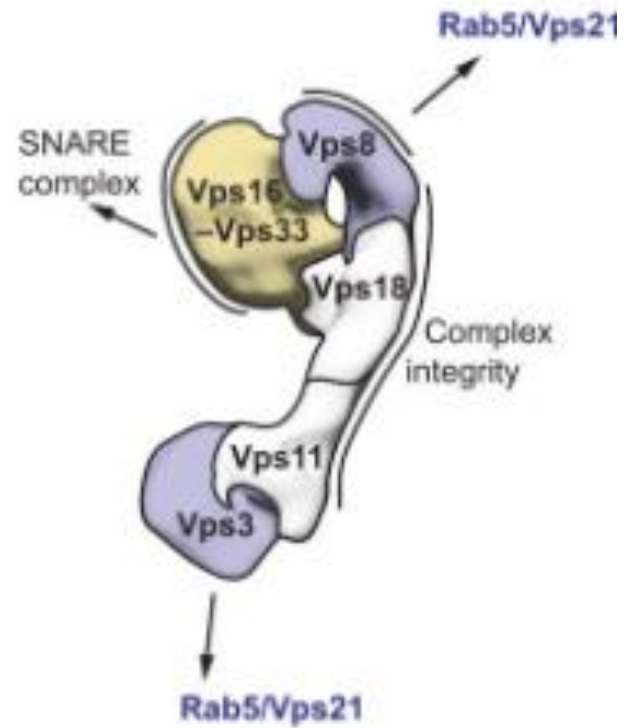
Since the endoplasmic reticulum (ER) is the most extensive cellular membrane network, it is thus not surprising to find the ER involved in most MCSs within the cell.

The ER contacts diverse compartments such as **mitochondria, lysosomes, lipid droplets, the Golgi apparatus, endosomes and the plasma membrane.**

C



HOPS



Model of CORVET

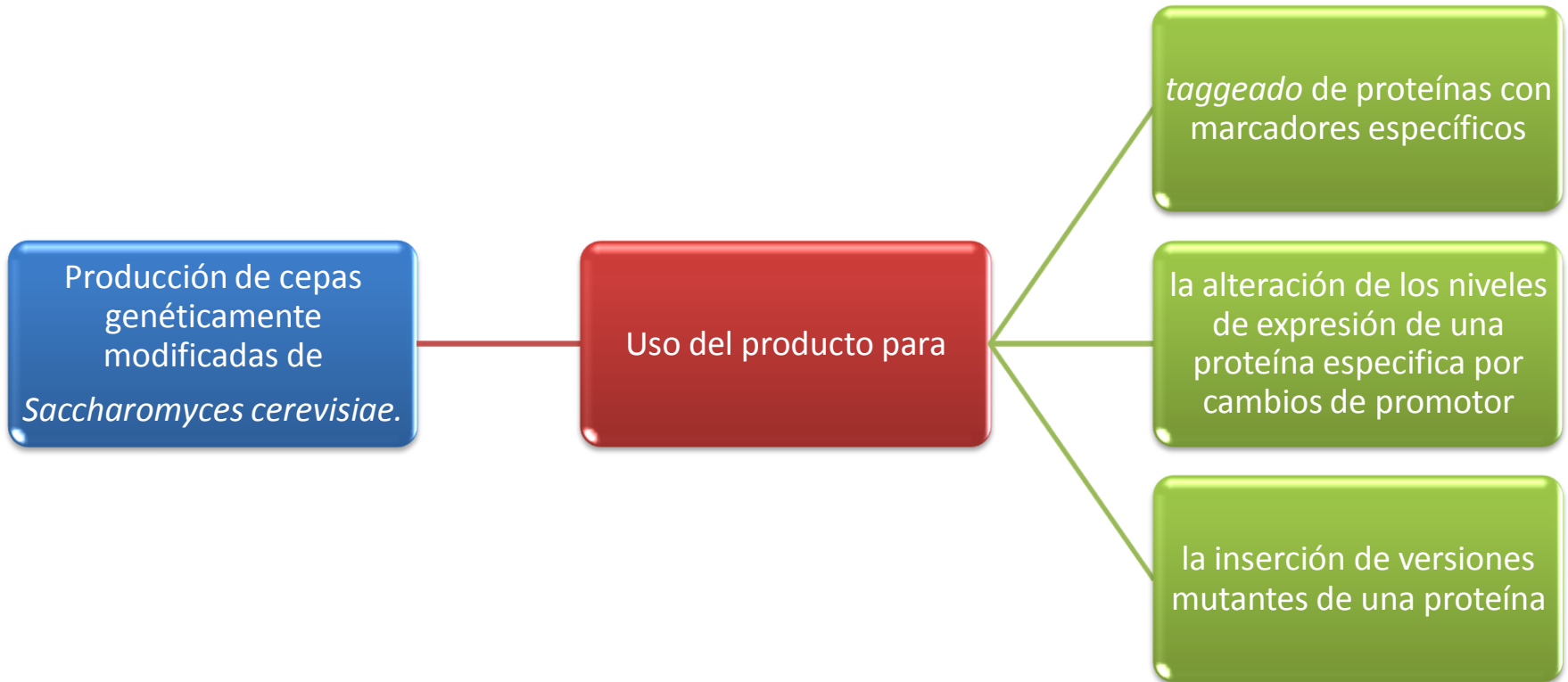


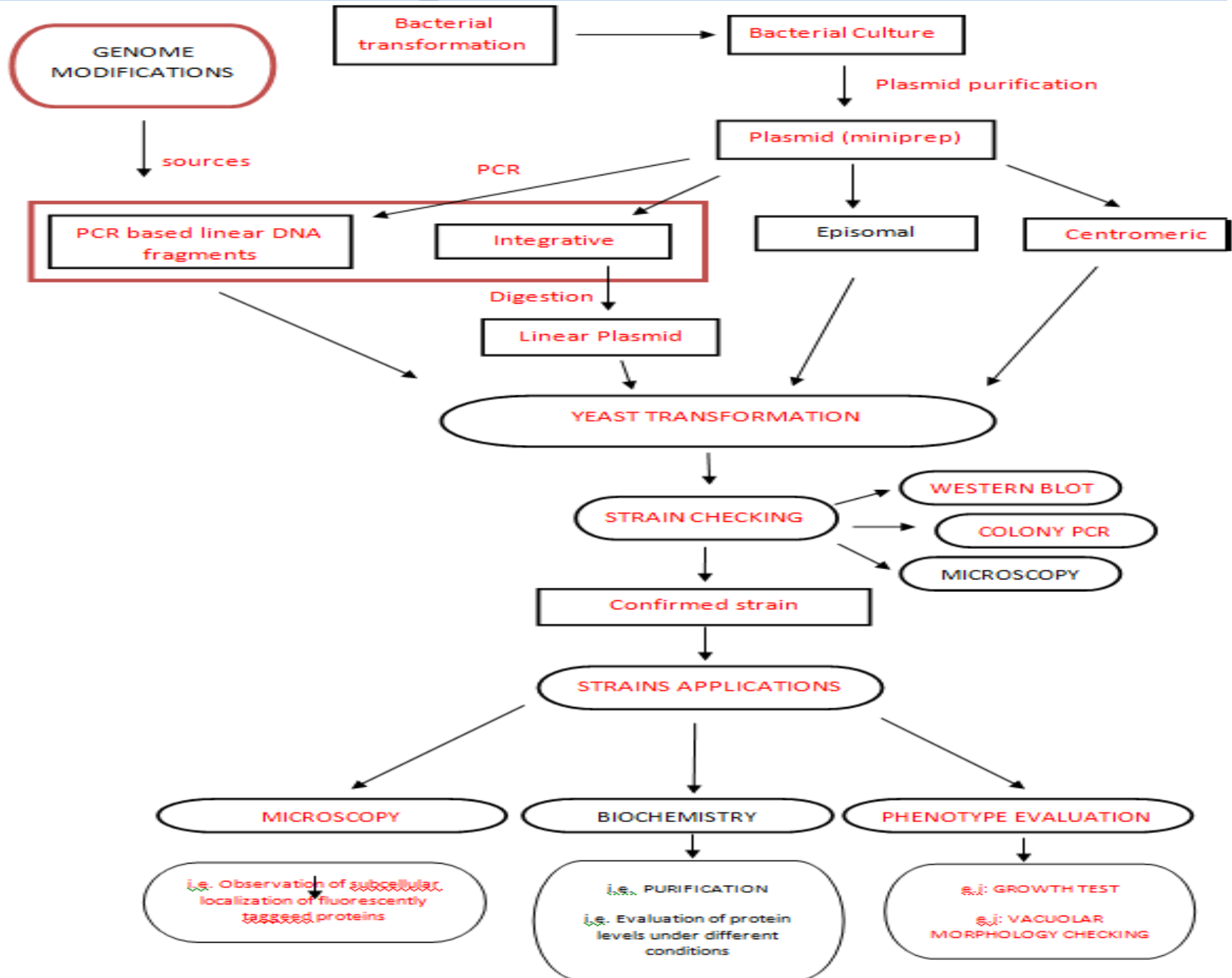
CONSEJO NACIONAL  
DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA



GOBIERNO NACIONAL  
Construyendo el Futuro hoy

# ACTIVIDAD DURANTE LA ESTANCIA





# Generación de nuevas cepas de *S. cerevisiae*

## *-Plásmidos:*

- a) Electroporación y células competentes para la electroporación.
- b) Transformación por choque térmico y células químicamente competentes.

## *-Fragmentos lineales de ADN obtenidos por PCR*

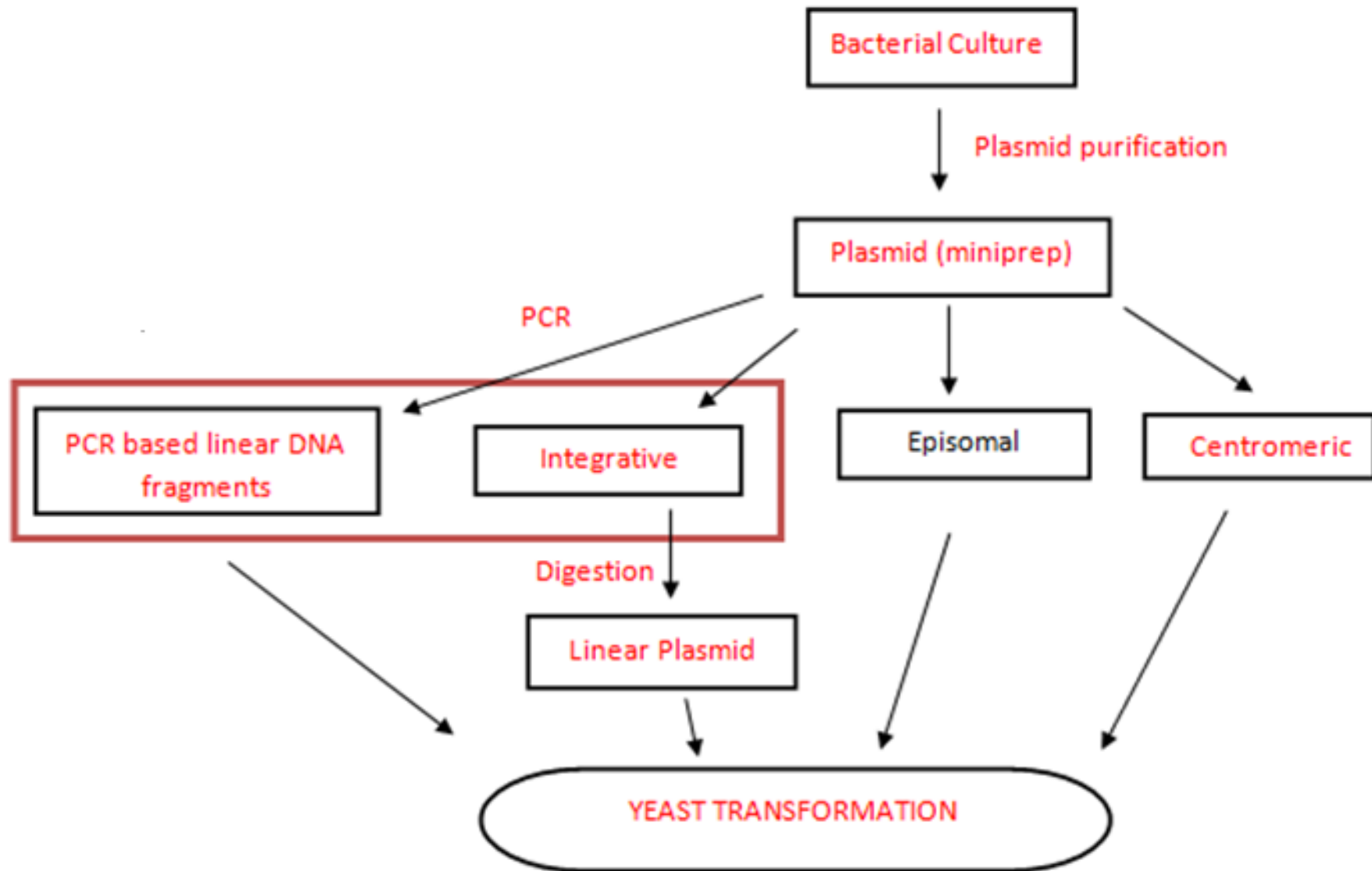
*Transformación por choque térmico y células  
químicamente competentes*

*VIDEO...*



CONSEJO NACIONAL  
**DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**





# *PURIFICACION*

*VIDEO...*



CONSEJO NACIONAL  
**DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**





# ***POLYMERASE CHAIN REACTION***

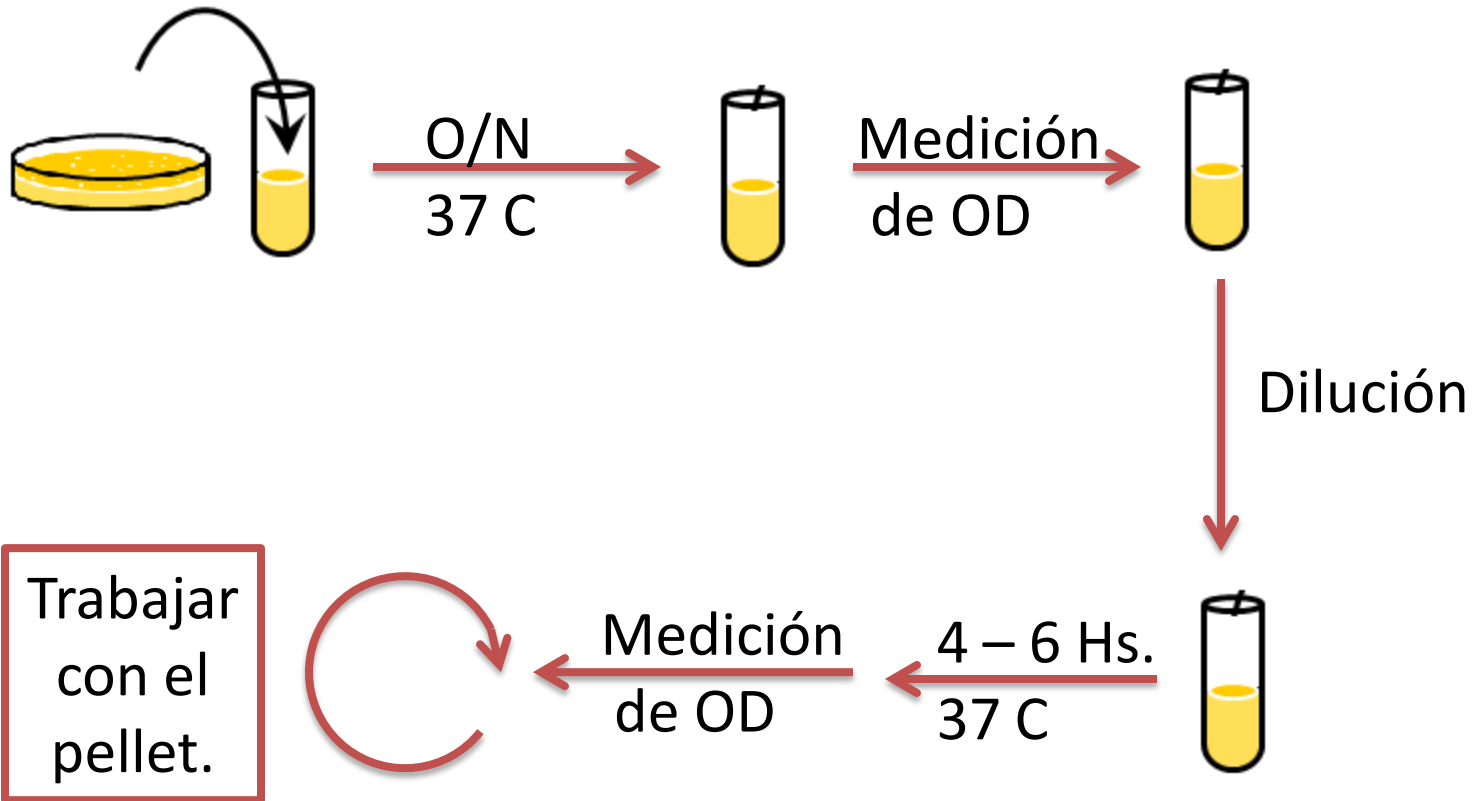
***VIDEO...***



CONSEJO NACIONAL  
**DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**



# Transformación de *S. cerevisiae*



# Elementos requeridos

- Células de levaduras
- PEG
- DNA de Interés
- DNA Carrier
- Acetato de Litio

# Hipótesis:

- Los iones de litio neutralizan la carga negativa de las moléculas de **ADN**, de la misma manera que lo hace con la carga en **la bicapa fosfolipídica**.
- Es probable que al mismo tiempo genere pequeños huecos en la membrana plasmática permitiendo el paso de los ácidos nucleicos.
- Las cadenas simples de ADN introducidas sirven de *carriers* para el plásmido al momento de ser transferidos al interior de la célula y tal vez lo proteja de la acción de endonucleasas.
- El **PEG** es probable que sirva para acercar el ADN a una aposición más próxima a la membrana, usualmente es utilizado para promover la fusión de membranas y se cree que altera la disposición del agua alrededor de la membrana.

El ADN utilizado para la transformación debe llevar consigo el *marcador de selección* detectable mediante *screening*:

- Cassette de resistencia a un antibiótico
- Un gen que permite la reversión de una auxotrofia.

# Chequeo de clones

Para la confirmación de que las cepas obtenidas son las deseadas, los clones obtenidos de la transformación son chequeados por uno o más de los siguientes procedimientos:

- a) Colony PCR + Electroforesis en gel de agarosa
- b) SDS-PAGE y Western Blot
- c) Microscopia

# Colony PCR + Electroforesis en gel de agarosa

1. las células transformadas son lisadas por procedimientos térmicos a fin de que liberen su ADN.
2. Primers diseñados para unirse específicamente al ADN insertado pueden ser utilizados si el fragmento de ADN tiene a la secuencia de interés en su estructura.
3. La presencia o ausencia del amplicón de PCR y el tamaño del producto son determinados luego por electroforesis en gel de agarosa.

# GEL DE POLIACRILAMIDA (PAGE)

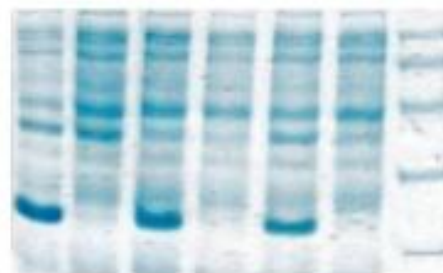
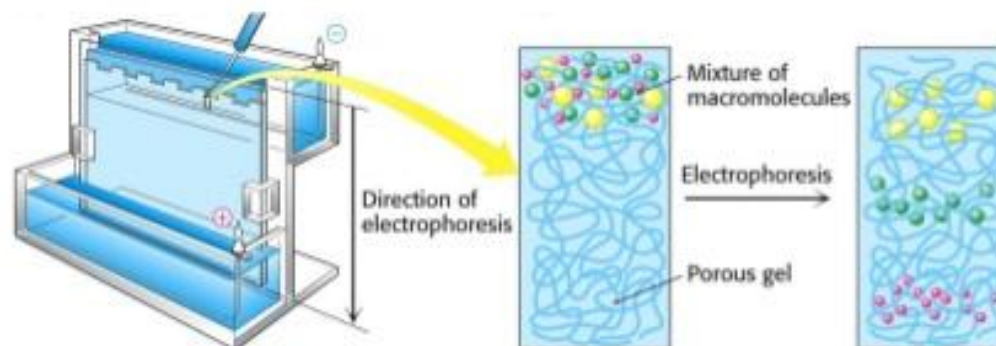
**Soporte:** Gel de Poliacrilamida

\* Polimerización de dos componentes: **Acrilamida + Bisacrilamida**

\* Variación de la concentración → variación del tamaño de poro

↑ [poliacrilamida] ↓ tamaño poro

## Electroforesis vertical



***SDS PAGE y  
Western Blot***

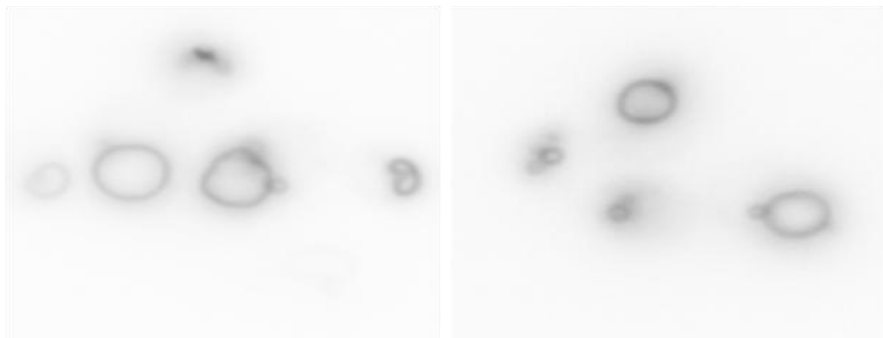
1. Preparación del gel
2. Montaje de la cubeta
3. Aplicación de la muestra
4. Electroforesis
5. Detección por tinción:  
Azul de Coomassie  
Sales de plata



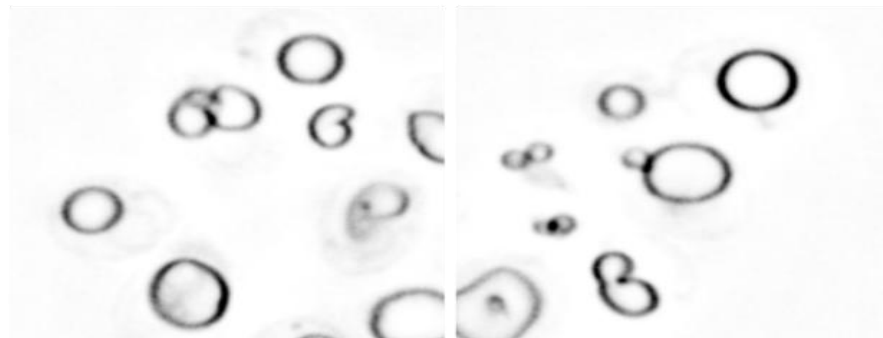
Si las cepas se confirman como las deseadas, estas se encuentran disponibles para aplicaciones subsecuentes, como ser:

- **Microscopia:** observación y análisis de localización de estructuras subcelulares, de su dinámica o interacción de proteínas marcadas con fluorescencia.
- **Procedimientos Bioquímicos:** purificación de proteínas y complejos proteínicos, evaluación de los niveles de proteínas en diferentes condiciones, evaluación de modificaciones post-traduccionales, entre otros.
- **Evaluación de fenotipos:** evaluación de diferentes aspectos en células de levaduras luego de modificaciones genéticas como ser: morfología, curva de crecimiento o resistencia a factores de estrés o drogas.

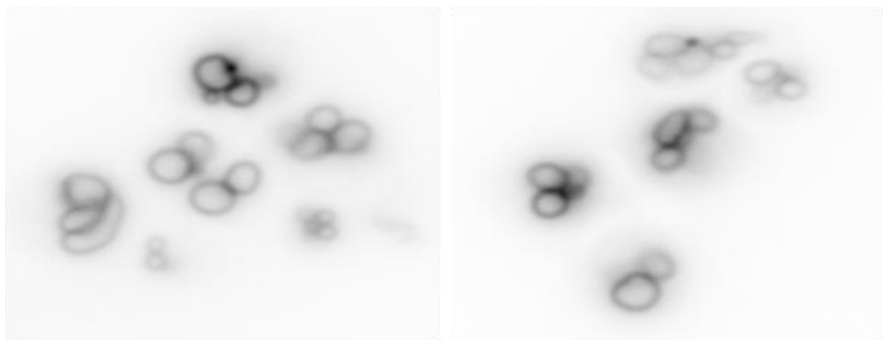
wt



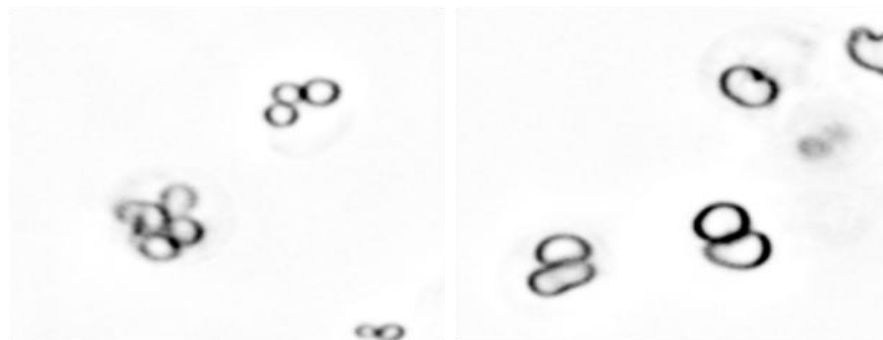
mdm1 $\Delta$



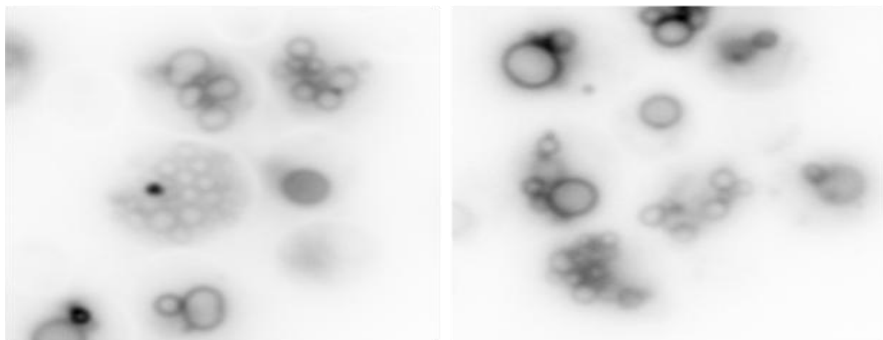
*lam6 $\Delta$  nvj1 $\Delta$*



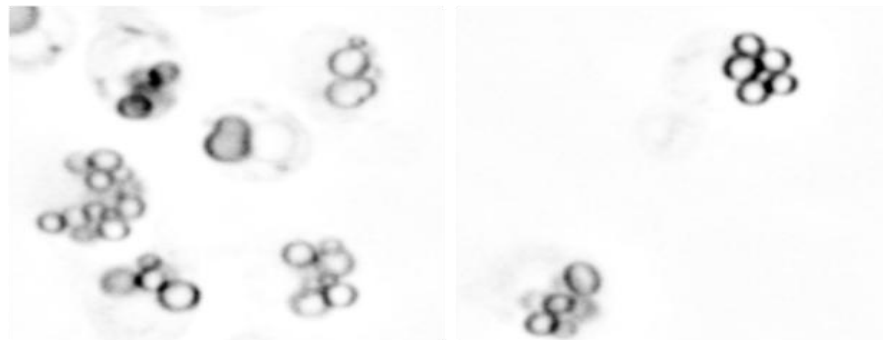
*lam6 $\Delta$  nvj1 $\Delta$  mdm1 $\Delta$*



*vac8 $\Delta$*



*vac8 $\Delta$  mdm1 $\Delta$*



**FOTOS**



# PROCIENCIA

PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FORTALECIMIENTO  
DEL CAPITAL  
HUMANO PARA  
LA I+D



SISTEMA DE  
INVESTIGADORES  
DEL PARAGUAY

## PROCIENCIA

- Proyectos Institucionales
- Proyectos Asociativos
- Proyectos de Ciencia, Tecnología y Sociedad
- Proyecto de Iniciación de Investigadores
- Programa de Apoyo para la Formación de Docentes-Investigadores
- Programa de Vinculación de Científicos y Tecnólogos

1 2 3

CONACYT organiza Taller sobre Programas de Mejoramiento de la Competitividad



## ¿Qué es el SPI?

El Sistema de Postulación a Instrumentos del Conacyt, es una herramienta que le permite a los interesados en postularse a los diferentes llamados que realiza ésta institución, desde la web.

Este sistema funciona en combinación con el nuevo sistema CVPy y maneja un único usuario y contraseña.

Los usuarios del CVPy, ya sea de la versión anterior o la actual no necesitan registrarse, pueden acceder a varios sistemas con sus credenciales que venían utilizando con el anterior sistema CVPy.

Si desea obtener mayor información de una Convocatoria puede registrarse en SPI, luego, si lo desea, podrá Postularse por el llamado que desee.



## Inicio de Sesión

[¿Olvidó su contraseña?](#)

## Registro

Si aún no posee un Usuario y Contraseña, complete el siguiente formulario con sus datos



## Buscador de CVs



[Avanzado](#)

## ¿Qué es el CVpy?

El CVpy es un software para el ingreso de los CVs de investigadores que es administrado por el CONACYT, y constituye un instrumento de todo el Sistema Nacional de Investigadores del Paraguay - SNIP, y como tal su uso es compartido mediante acuerdos de cooperación con las instituciones que manejen fondos competitivos para financiamiento de actividades de Ciencia, Tecnología e Innovación.

El mismo se basa en el Sistema Curriculum Vitae on-line del Uruguay, el cual se basa en el CV- Lac (Currículum Vitae Latinoamericano y el Caribe ) particularmente en la tecnología y metodología desarrollada por el CNPq/Brasil (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Se constituye así un Sistema de Información que atenderá los requerimientos nacionales en relación a la generación de indicadores para identificar impactos de diversas fuentes de financiamiento sobre la productividad científica del Sistema Nacional de Investigadores del Paraguay - SNIP, la productividad por área de conocimiento, investigador e







## Inicio de Sesión

[Acceder](#)

[¿Olvidó su contraseña?](#)

## Registro

Si aún no posee un Usuario y Contraseña, complete el siguiente formulario con sus datos

-  Curriculum
-  Imprimir/Exportar
-  Publicar
-  Ayuda
-  Diccionarios
-  Referencias



## Alexandra Clarissa Bayer

*Bioquímica* C.I.: 4.233.823 Pasaporte : 4233823  
Femenino  
Nacido el 05-03-1992 en Ciudad del Este , Paraguay . De nacionalidad Paraguaya.

  
Agregar Sección

**Áreas de Actuación** + Agregar 

**Formación Académica** + Agregar 

**Formación Complementaria** + Agregar 

**Idiomas** + Agregar 

**Actuación Profesional**  Editar 

## Alexandra Clarissa Bayer Wildberger

Bioquimica

Nombre en citas bibliográficas:

Sexo: Femenino

Nacido el 05-03-1992 en Ciudad del Este, Paraguay. De nacionalidad Paraguaya.

### Información de Contacto

Mail: [alexandrabayerw@gmail.com](mailto:alexandrabayerw@gmail.com)

### Áreas de Actuación

1 Ciencias Médicas y de la Salud, Ciencias de la Salud, Ciencias y Servicios de Cuidado de la Salud , Bioquimica

### Formación Académica/Titulación

- |                |   |
|----------------|---|
| 2015-2015      | Especialización/Perfeccionamiento - Diplomado en Análisis Instrumental con Énfasis en HPLC<br>Universidad Católica "Nuestra Señora de la Asunción, Campus Alto Paraná, Paraguay, Año de Obtención: 2015 |
| 2015-En Marcha | Especialización/Perfeccionamiento - Especialización en Docencia Universitaria.<br>Universidad Católica "Nuestra Señora de la Asunción" Campus Alto Paraná., Paraguay, Año de Obtención: 2015            |
| 2010-2014      | Grado - Bioquímica<br>Universidad Católica "Nuestra Señora de la Asunción" - Campus Alto Paraná. Facultad de Ciencias de la Salud,  |





**Aunque a todos les está permitido pensar,  
muchos se lo ahorran.**

**Curts Goetx.**

**Universidad  
Católica**  
*“Nuestra Señora de la Asunción”*

