

CURSO “SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS DE GENOMAS BACTERIANOS”

CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN

3 AL 10 NOVIEMBRE 2022 – 29h

Jueves 3 nov		
9:30h – 11:15h	Secuenciación masiva de genomas bacterianos. Estado actual y aplicaciones	Isabel Cuesta
11:15h – 11:30h	descanso	
11:30h – 14:30h	Incorporación de la secuenciación masiva en el laboratorio. Tecnologías de secuenciación masiva. La secuenciación por síntesis en Illumina. El secuenciador MiSeq. Kits y especificaciones	Ángel Zaballos
Viernes 4 nov		
9:00h – 14:00h	Extracción y caracterización de ácidos nucleicos.	Ángel Zaballos
	Uso de SPRI para la purificación, concentración y selección de ADN.	
	Preparación de librerías para secuenciación en Illumina	
	Kits de preparación de librerías de Illumina: PCR y PCR free	
	Kits de preparación de otros suministradores y robotización	
	Metagenómica 16S, preparación de librerías y análisis en MiSeq	
	Indexación. Índices sencillos y dobles e índices combinatoriales y únicos	
Lunes 7 nov		
9:00h – 11:45h	Cuantificación y agrupamiento (pooling) de librerías	Ángel Zaballos
	Normalización por saturación, qPCR y secuenciación analítica.	
	Preparación de samplesheets. IEM	
	Puesta en marcha del equipo MiSeq.	
	Parámetros de calidad en la secuenciación. Densidad de carga, Q30 y passing filters.	
	BaseSpace	
11:45h – 12:00h	descanso	
12:00h – 13:00h	Análisis de datos genómicos en bacteriología, opciones y metodologías	Isabel Cuesta
13:00h – 14:00h	Organización, almacenamiento y gestión de datos genómicos	Sara Monzón
Martes 8 nov		
9:30h – 10:30h	Análisis de calidad de datos genómicos	Sara Monzón
10:30h – 11:30h	Ensamblado de genomas	Isabel Cuesta
11:30h – 12:15h	Anotación de genomas	Isabel Cuesta
12:15h – 12:30h	descanso	
12:30h – 14:30h	Hands on, Entorno GALAXY, análisis de calidad, ensamblado y anotación	Sarai Varona
Miércoles 9 nov		
9:30h – 10:30h	Alineamiento frente a genoma de referencia y llamada a variantes: identificación de SNPs.	Sara Monzón
10:30h – 11:30h	Tipificación basada en perfil alélico o gene by gene	Isabel Cuesta
11:30h – 12:15h	Aproximación gene-by-gene vs SNPs	Sara Monzón
12:15h – 12:30h	descanso	
12:30h – 14:30h	Hands on, Entorno GALAXY, análisis de calidad, ensamblado y anotación	Sarai Varona
Jueves 10 nov		

9:30h – 12:15h	Resumen del curso. Estudio de un brote, diseño, secuenciación y análisis.	Ángel Zaballos, Isabel Cuesta & Sara Monzón
12:15h – 12:30h	descanso	
12:30h – 13:30h	Hands on, Entorno GALAXY, análisis de calidad, ensamblado y anotación	Sarai Varona

B1. Secuenciación masiva de genomas bacterianos. Estado actual y aplicaciones. **Isabel Cuesta**

Preparación para la incorporación de la secuenciación masiva en el laboratorio

Secuenciación de genomas bacterianos en el secuenciador Miseq

Extracción de ADN de diferentes matrices. ADN cromosómico y plásmidico. Cuantificación y caracterización de ADN: (Absorbancia UV, Fluorometría., Electroforesis en gel de agarosa y Bioanalizador.)

Uso de SPRI para la purificación, concentración y selección de ADN.

La secuenciación por síntesis en Illumina (Tecnologías, Equipos (iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, Novaseq) y Kits y especificaciones del equipo MiSeq.)

Preparación de librerías para secuenciación en Illumina: Fragmentación física y enzimática., Kits de preparación de librerías de Illumina: PCR y PCRfree, kits de preparación de otros suministradores y robotización.

Cuantificación y agrupamiento (pooling) de librerías para carga en el secuenciador. Normalización por saturación, qPCR y secuenciación analítica.

Indexación. Índices sencillos y dobles e índices combinatoriales y únicos.

Parámetros de calidad en la secuenciación. Densidad de carga, Q30 y passing filters.

La profundidad de secuenciación. Tamaño de genoma. Tamaño de la muestra. Efecto de la profundidad en el ensamblado de genomas. Duplicados de PCR.

B2. Análisis de datos genómicos en bacteriología, opciones y metodologías. **Isabel Cuesta**

B3. Montaje Unidad Bioinformática y Plan de Almacenamiento y gestión de datos genómicos

B4. Análisis de calidad de datos genómicos

B5. Ensamblado de genomas

B6. Alineamiento frente a genoma de referencia y llamada a variantes: identificación de SNPs.

B7. Tipificación basada en perfil alélico o gene by gene

B8. Anotación de genomas

B9. Caracterización de genomas. Genes de resistencia y de virulencia

Clases prácticas:

5h Análisis de datos en entorno Galaxy