

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA DE MICROORGANISMOS (BBM, A-36)

PROGRAMA ANALÍTICO

Unidad 1: Filogenia Molecular. Metagenómica. Organización de la célula procariota.

Filogenia molecular. División de la vida en tres dominios: *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. Similitudes y diferencias entre los tres dominios. Ecología microbiana: análisis de comunidades microbianas por métodos independientes de cultivo. Metagenómica. Organización de la célula procariota. Estructura y función de las partes de la célula bacteriana. Adaptaciones estructurales de las arqueas.

Unidad 2: Genética bacteriana.

Mutaciones: tipos. Plásmidos: propiedades, control del número de copia, mecanismos de particionamiento, incompatibilidad. Elementos genéticos móviles: Secuencias de inserción (IS) y Transposones bacterianos (Tn). Características y mecanismos de transposición.

Mecanismos de intercambio genético en microorganismos. Conjugación, mecanismo, cepas Hfr. Competencia, transformación natural y artificial.

Recombinación. Modelos. Recombinación homóloga, sitio específica e ilegítima. Recombinación en bacterias: mecanismo, enzimas.

Bacteriófagos. Desarrollo lítico y lisogenia. Transducción generalizada (fagos P1 y P22) y especializada (fago λ). Importancia biológica y aplicaciones prácticas

Técnicas de ADN recombinante. Vectores. Construcción y análisis de bibliotecas. Mutagénesis con transposones. Construcción de fusiones génicas. Reemplazo génico. Genómica, transcriptómica y proteómica. Biotecnología.

Unidad 3: Metabolismo.

Vista general del metabolismo. Fosforilación a nivel de sustrato (SLP). Fosforilación acoplada al transporte de electrones (ETP). Utilización de glucosa por las vías de Embden-Meyerhorf-Parnas (EMP), Entner-Doudoroff (ED) y Ciclo de la Pentosa Fosfato (PP). Ciclo del Acido tricarboxílico (TCA). Reacciones anapleróticas. Modificaciones de las rutas centrales en bacterias crecidas bajo diferentes condiciones.

Membrana celular procariota: propiedades y funciones. Diferencias entre las membranas de bacterias y arqueas. Sistemas de transporte de solutos: mecanismos pasivos y activos. Sistemas de las fosfotransferasas (PTS). Mecanismos de exportación de proteínas en las bacterias: Vía de secreción general (Sec), sistemas Sec dependientes, sistema de las argininas gemelas (Tat), sistemas de secreción en bacterias patógenas (tipo I, tipo III).

Rutas biosintéticas principales. Biosíntesis de las unidades estructurales ("building blocks") y macromoléculas. Mecanismos de asimilación de P, N y S en las bacterias. Biosíntesis del péptidoglicano y del lipopolisacárido (LPS) en las bacterias Gram negativas.

Diversidad de las vías metabólicas en microorganismos. Utilización de la luz por los procariotas: Fotosíntesis oxigénica (cianobacterias) y anoxygenica (bacterias púrpura y verdes del S). Fotomorfogénesis. Regulación del metabolismo fotosintético y respiratorio en la bacteria púrpura no sulfúrea *Rhodobacter sphaeroides*.

Rutas de fijación de carbono(CO₂) en los procariotas aerobios y anaerobios: ciclo de Calvin-Benson, ruta reductiva del TCA, ruta reductiva del acetil-coA, ruta del

hidroxipropionato. Asimilación de compuestos de 2C en las bacterias: Ciclo del Glioxilato.

Oxidación de compuestos inorgánicos. Bioenergética y metabolismo del carbono en los microorganismos quimiolitótrofos. Bacterias del hidrógeno, del azufre, oxidadoras de hierro, amonio y nitrito.

Utilización de polímeros extracelulares. Vías de oxidación de compuestos orgánicos. Comparación entre las rutas EMP, ED y PP. Modificaciones de estas rutas en las arqueas. Metabolismo aeróbico y anaeróbico. Composición de las cadenas respiratorias en diferentes microorganismos. Regulación del metabolismo aeróbico y anaeróbico. Modificación del TCA en bacterias anaeróbicas. Respiración anaeróbica. Reducción de nitrato y desnitrificación. Reducción de sulfato. Metanogénesis. Fermentaciones: tipos.

Fijación de nitrógeno (N₂).

Adaptaciones bioquímicas y fisiológicas de los procariotas a los ambientes extremos (extremófilos). Alcalófilos, acidófilos, termófilos.

Unidad 4: Regulación génica y transducción de señales.

Expresión génica y mecanismos regulatorios en bacterias. Operones, regulones y redes de regulación global. Técnicas de estudio de la expresión génica global en los procariotas: RAP-PCR, *microarrays*, electroforesis 2D.

Regulación génica en situaciones de estrés (fase estacionaria, esporulación). Control génico durante la división y diferenciación celular. Transducción de señales: Sistemas de dos componentes. Características generales. Quimiotaxis en *Escherichia coli*.

Comunicación célula-célula en las bacterias: *Quorum sensing*. Comunicación en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Procesos regulados por *quorum sensing*: bioluminiscencia, virulencia, formación de biofilms, producción de antibióticos, fase estacionaria.

Programa de Trabajos Prácticos

- **TPs de laboratorio.** Los trabajos prácticos se desarrollan en forma intensiva en las cinco últimas semanas de la cursada (12 hs por semana).

TP1: **“Ecología microbiana”**. (Tres clases). Su objetivo es observar el desarrollo diferencial de microorganismos aislados de ambientes naturales según sus capacidades metabólicas en una columna de tierra o agua. Este TP se complementa con la identificación de la biodiversidad presente en la columna mediante técnicas moleculares usadas en microbiología ambiental. Se usarán cebadores específicos de los RNAs 16S que permitan identificar bacterias y arqueas mediante la amplificación del ADN genómico de la muestra ambiental (y de cultivos puros) por PCR.

TP2: **“Versatilidad metabólica de *Rhodobacter sphaeroides*”**. (Tres clases). Se realizan cultivos de este microorganismo en distintas condiciones y se analiza su respuesta frente a las mismas. Se utiliza una cepa pura de *R. sphaeroides* así como aislamientos obtenidos a partir de las columnas de Winogradsky.

TP3: “**Quimiotaxis en *E. coli***”.(Ocho clases). El objetivo del TP consiste en transferir mutaciones en componentes del sistema de transducción de señales para quimiotaxis. Se utiliza la técnica de transducción generalizada con el bacteriófago P1 de *E. coli*. Posteriormente, las mutaciones son complementadas mediante la transformación con plásmidos de expresión conteniendo la copia salvaje (wt) del gen mutado. Los fenotipos de las cepas salvajes, mutantes y transformantes son verificados en placas con antibióticos y mediante la utilización de técnicas específicas para el estudio de la quimiotaxis (ensayo de "swarming").

- **Seminarios.** Exposición y discusión de artículos de publicaciones periódicas.

- **Resolución de problemas.** Resolución y discusión de problemas basados en datos experimentales.

Bibliografía General

Brock, Biology of Microorganisms. 13th Ed. Madigan, M.T., Martinko, J., Stahl, D., Clark D.P. 13 th Ed. Benjamin Cummings (2012)

Brock, Biology of Microorganisms. 12th Ed. Madigan, M.T. and Martinko, J.M. , Dunlap, P. and Clarke, D. Pearson Prentice Hall (2009).

Bacterial Physiology and Metabolism. 1st edition. Kim, B.H. and Gadd, G.M. Cambridge University Press (2008).

Introducción a la Microbiología. 9na Ed. Tortora G.J., Funke, B.R., Case, C.L. Editorial Médica Panamericana (2007).

Archaea. Molecular and Cellular Biology. R. Cavicchioli. ASM Press. Washington DC (2007).

Microbe. M. Schaechter, J.L. Ingraham, Neidhardt, F.C. ASM Press Washington DC (2006).

Fundamental Bacterial Genetics. Ed. By N. Trun and J. Trempy. Blackwell Science Ltd. N, Y. (2004).

Bibliografía Específica

La bibliografía básica se complementa con artículos de revisión y específicos de publicaciones periódicas de Microbiología.