



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Licenciatura en Cs. Biológicas

Int. Güiraldes 2620
 Ciudad Universitaria - Pab. II, 4° Piso
 CPA: C1428EHA Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 ARGENTINA.

☎: +54 11 4576-3349

☎ **Fax:** +54 11 4576-3384

Conmutador: 4576-3300 Int.: 206

<http://www.bg.fcen.uba.ar>

Carrera: Licenciatura en Ciencias Biológicas

Código de la carrera: 05

Código de la materia:

Biología Molecular de Eucariotas Inferiores

CARÁCTER:			[SI / NO]	
Curso obligatorio de licenciatura (plan 1984)			NO	
Curso optativo de licenciatura (plan 1984)			SI	
Duración de la materia:	16 Semanas	Cuatrimestre en que dicta:	2°	Cuatrimestre
Frecuencia en que se dicta:		Anualmente		
Horas de clases semanales:	Discriminado por:	Hs.		
	Teóricas	4		
	Problemas			
	Laboratorios	40*		
	Seminarios	4		
Carga horaria semanal:		8		
Carga horaria total cuatrimestral:		<u>164</u>		

*5 días corridos al final de la cursada (8hs)

Asignaturas correlativas:	Genética I, Ecología General, Microbiología e Inmunología
Forma de Evaluación:	2 parciales teóricos, aprobación con 6 puntos, promoción sin final con 8 puntos, sino final obligatorio

Profesor/a a cargo:	Dr. Martín Vázquez
Firma y Aclaración:	

Fecha: / /

Biología Molecular de Eucariotas Inferiores

Programa

1) Introducción:

- Teorías sobre el origen de los eucariontes. Ubicación filogenética y taxonómica de los organismos que se estudiarán durante la materia.
- Los casos especiales: **Dobles endosimbiontes (Cryptomonad y Chlorarachnean)**.
- **Nucleomorphs y Microsporidia**, el paradigma de la compactación y reducción de los genomas eucariotas.

2) **Amitocondriados: Parabasalia** (Ej. *Trichomonas vaginalis*) y **Diplomonadida** (Ej. *Giardia spp*) y **Entamoeba**:

- Ubicación filogenética y morfología. Ciclos de vida. Importancia sanitaria.
- Hidrogenosomas, estructura y función. Transporte de proteínas del citosol a hidrogenosomas. Hipótesis para explicar el origen de los hidrogenosomas.
- Mitosomas: organelas anaerobias derivadas de las mitocondrias en *Giardia* y *Entamoeba*
- Mecanismos de formación de quistes en *Giardia lamblia*.
- Transcripción y regulación de la expresión génica. Estructura Genómica comparativa entre *Giardia*, *Trichomonas* y *Entamoeba*
- Genes VSP (Variant-specific Surface Protein) en *Giardia* y variación antigénica.
- Mecanismo de resistencia a metronidazol mediado por ferredoxina

3) **Kinetoplastida** (Ej. *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp*):

- Ubicación filogenética y morfología. Ciclos de vida, importancia sanitaria.
- Estructura del flagelo y del cuerpo basal.
- El glicosoma: origen, estructura y función. Metabolismo energético, cadena respiratoria. Transporte de proteínas al glicosoma.
- Glicoproteínas de superficie: anclas de fosfatidil inositol, síntesis y tráfico intracelular. Moléculas relacionadas con la adhesión e invasión a la célula hospedadora: transialidasa y mucinas de *T. cruzi*. *Leishmania spp*: proteasas, factores de virulencia y sobrevivencia en lisosomas (triptanotona, lipofosfoglicano-LPG y gp63).

- ADN nuclear, cromosomas: tamaños, cariotipo, polimorfismo cromosómico. Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE). Telómeros y telomerasas. Histonas y genes de histonas.
- Minicromosomas: estructura y segregación durante la mitosis.
- Expresión génica: RNA polimerasas. Promotores. Secuencias regulatorias. Cis y trans-splicing. Transcripción policistrónica: genes de la VSG (Variant Surface Glycoprotein) de *T. brucei*, regulación de la expresión relacionada con la variación antigénica.
- Manipulación genética de tripanosomátidos: transfección transitoria y estable. Desarrollo de vectores: promotores y marcadores de selección. Cromosomas artificiales, “knock out” de genes, clonado por complementación.
- RNA interferencia: Descubrimiento, Funciones en los kinetoplastidos, mecanismos moleculares, utilización como herramienta en genómica funcional.
- KDNA: El kinetoplasto: maxicírculos y minicírculos. Organización genómica y replicación. La modificación del Dogma central de la biología Molecular: RNA editing: origen, mecanismos y evolución

4) **Euglenida** (Ej. *Euglena gracilis*):

- Ubicación filogenética y morfología. Ciclo de vida.
- El cloroplasto. Transporte de proteínas al cloroplasto.
- Genoma del cloroplasto y genoma mitocondrial. Evidencias moleculares que relacionan estrechamente a estos protozoarios con los tripanosomátidos.
- Mecanismos de splicing y splicing alternativo. Intrones y “twintrones”.

5) **Apicomplexa: Plasmodium spp y Toxoplasma gondii:**

- Ubicación filogenética y morfología. Ciclos de vida, importancia sanitaria.
- Vacuola parasitófora y vacuola digestiva. Organelas relacionadas con la invasión: micronemas, roptrías y gránulos densos.
- Fase hepática de la malaria: infección y moléculas asociadas con la invasión.
- Infección de glóbulos rojos por *Plasmodium spp*. Cultivo in vitro. Transporte, tráfico y secreción de macromoléculas en glóbulos rojos infectados. Moléculas asociadas con la invasión.
- Manipulación genética de *Plasmodium spp* y *Toxoplasma gondii*: transfección transitoria y estable. Vectores, promotores y marcadores de selección. Ejemplos de knock out de genes en *Plasmodium spp*: proteína rica en histidinas asociada a *knobs* (KAHRP), proteína del “circunsporozoíto” (CSP) y proteína del esporozoíto relacionada con

trombospondina (TRAP). Ejemplos de knock out de genes en *Toxoplasma gondii*: genes de las proteínas ROP1 y SAG1.

- Cromosomas: tamaños y polimorfismo cromosómico. Telómeros y telomerasas.
- Organización genómica y expresión: promotores y polimerasas. Intrones y splicing.
- La mitocondria y el apicoplasto. ADN mitocondrial y ADN plástido. Origen, replicación transcripción y procesamiento del RNA.
- Genes rADN en *Plasmodium spp*: número de copias, distribución en el genoma, variabilidad genética y regulación de la expresión de isoformas propias de cada estadio.
- Mecanismos de variación antigénica: variación antigénica (Ej. PfEMP), polimorfismo alélico (Ej. PfMSP1).
- Inmunidad contra *Plasmodium spp*. Mecanismos de evasión. Knobs y citoadherencia a células endoteliales. Malaria cerebral y citoquinas.
- Virulencia de *Toxoplasma gondii*: papel de las citoquinas, óxido nítrico y proteínas del choque térmico.
- Desarrollo de vacunas anti-maláricas.
- Drogas contra *Plasmodium spp* y *Toxoplasma gondii*: modo de acción y mecanismos de resistencia. Resistencia a cloroquina, pirimetamina y sulfonamida. Apicoplastos y microtúbulos como blancos para el desarrollo de drogas.

6) Phylum Ciliata: Paramecium y Tetrahymena spp):

Ubicación filogenética y morfología. Ciclos de vida.

- Micro y macronúcleo. Origen del ADN del macronúcleo. Reordenamiento programado del ADN. Escisión de los elementos IES (internal eliminated sequences).
- Particularidades del código genético.
- Regulación de la transcripción relacionada con la variación antigénica.
- Transfección de *Paramecium tetraurelia*: métodos y vectores.
- Self-splicing y ribozimas en *Tetrahymena spp*.

7) Mycetozoa: Dictyostelium Discoideum

- Dictyostelium como modelo de Estructura social, morfogénesis y diferenciación celular de eucariotas pluricelulares.
- Ciclo de vida: modelo de desarrollo, diferenciación y motilidad celular.
- Respuesta a señales de segundos mensajeros: AMPc
- Kinoma de Dictyostelium.

- Regulación de la expresión genica, estructura genómica, elementos extracromosomales (rDNA genes)
- El genoma completo de Dictyostelium: información obtenida. Estrategia de HAPPY mapping.

8) Ciclo celular, Transducción de señales, homeostasis del calcio y apoptosis en eucariontes inferiores.

- Ciclo celular en el modelo Kinetoplastidos
- Kinomas: Quinasas de proteínas: clasificación y regulación.
- El calcio como segundo mensajero
- Homeostasis del calcio. Organelas de almacenamiento: acidocalcisomas.
- Apoptosis

9) Eco-Epidemiología Molecular: Modelo de *Trypanosoma cruzi*

- Conceptos y evoluciones de linajes en *T. cruzi*
- Detección de parásitos en vectores y hospedadores mamíferos por PCR: diferentes tipos de PCR. Detección en fluidos y tejidos. PCR in situ. PCR cuantitativa. La reacción de PCR como método de diagnóstico.
- Antígenos parasitarios como reactivos de diagnóstico. Búsqueda y caracterización. Expresión de antígenos como proteínas recombinantes. Empleo de proteínas recombinantes en métodos serológicos.
- Comparación de los métodos de detección de parásitos con métodos serológicos. Validación de los métodos. Ensayos de campo. Conceptos de sensibilidad, especificidad y reproducibilidad

10) Proyectos genoma:

- Métodos de secuenciado genómico, estrategias y vectores. Mapas físicos vs. "whole genome shotgun" (WGS).
- Genomas de Eucariotas. Ensamblados de genomas complejos (WGA, Whole Genome Assembly). Contigs, Unitgs, Scaffolds.
- Técnicas de estudio: bibliotecas genómicas en cósmidos, fósidos, YACs, BACs, PACs. Screening, filtros de alta densidad, automatización.
- Concepto de EST: bibliotecas de cADN normalizadas, ESTs.
- Grado de avance de los proyectos genoma de los organismos tratados en la materia (*Giardia*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Dictyostelium*).
- Genomas completos de los TriTryps: *Leishmania*, *T. brucei* y *T. cruzi*
- PlasmoDB, GeneDB.

11) Post-genómica:

- Transcriptomas: análisis de gran escala de expresión genética a nivel de genoma: Técnicas de SAGE y DNA MicroArrays. Construcción, usos, aplicaciones.
- Proteomas: Análisis de proteomas. Geles bidimensionales. Espectrometría de masas, MALDI-TOF y MSMS. Mapas de interacciones proteicas a nivel de genoma. Técnicas: Doble híbrido en levaduras, Tap-Tag, FRET/BRET, Protein-Chips.
- Redes de interacción RNA-Proteína. Técnicas de tres híbridos en levadura, CLIP y análisis de gran escala de interacciones usando microarrays.
- Post-genómica en Plasmodium y TriTryps

12) Bioinformática:

- Determinando función de los genes a partir de los datos de secuencia. Bioinformática: Búsquedas y análisis de secuencias por BLAST (blastn, blastp, blastx, tblastn, tblastx, PSI-blast). Análisis de motivos, dominios y patrones (Pfam, SMART, HMMER, MEME/MAST). Anotación de genomas en la bases de datos (Glimmer, Gene Ontology). Visualización de genomas: Artemis, ACT.
- Métodos y consideraciones estadísticas para el análisis de Microarrays. Ejemplos del uso de microarrays en Plasmodium (PlasmoDB).