

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

- 1.-DEPARTAMENTO: QUIMICA BIOLOGICA
- 2.-CARRERA DE: b) Doctorado y/o Post-Grado en Química, Biología y carreras afines
- 3.-2do. CUATRIMESTRE DE 1999
- 4.-Nº DE CODIGO DE CARRERA: ---
- 5.-MATERIA: **Análisis de poblaciones bacterianas en el ambiente mediante técnicas de PCR y marcado en frío.**
- Nº DE CODIGO: aún no posee por tratarse de un curso nuevo
- 6.-PUNTAJE PROPUESTO:
- 7.-PLAN DE ESTUDIO AÑO: ---
- 8.-CARACTER DE LA MATERIA: **posgrado**
- 9.-DURACION: **2 semanas**
- 10.-HORAS DE CLASE SEMANALES: **32**
 - a) Teóricas: **10**
 - b) Problemas: ---
 - c) Laboratorios: **22**
 - d) Seminarios: ---
 - e) Teórico-problemas: ---
 - f) Teórico-prácticas: ---
 - g) Total: **32**
- 11.-CARGA HORARIA TOTAL: **64**
- 12.-ASIGNATURAS CORRELATIVAS: **graduados en Química, Biología, Bioquímica, Ing. Agrónomica**
- 13.- FORMA DE EVALUACION: **examen final**
- 14.-PROGRAMA ANALITICO: **se adjunta**
- 15.-BIBLIOGRAFIA: **se adjunta**

Fecha 8/7/99

Firma Profesor

Firma Director

Aclaración

Sello

Dr. BEATRIZ S. MENDEZ
DIRECTORA
Dpto. QUIMICA BIOLOGICA
F.C.E. y N. - UBA

Programa Teórico:

- 1) Sobrevida de bacterias en ecosistemas naturales y artificiales. Sistemas oligotróficos. El proceso de ayuno y los fenómenos celulares asociados. Los sistemas de respuesta global y supervivencia al ayuno. Rol de los polímeros de reserva en la respuesta al ayuno.
- 2) Los ecosistemas agrícolas. Dinámica de poblaciones microbianas del suelo. Competencia saprofítica y competencia interespecífica en las bacterias fijadoras de nitrógeno. Especies del género *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. Rol y perspectiva de las bacterias fijadoras de nitrógeno en los agroecosistemas.
- 3) Microcosmos. Características de microcosmos acuáticos y terrestres. Aplicaciones en distintos tipos de estudios. Extrapolación de los resultados obtenidos en los microcosmos a los ambientes naturales. Ejemplos.
- 4) Fundamentos de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa. Métodos de obtención de DNA bacteriano a partir de muestras del ambiente. Detección de genes importantes para la supervivencia. Detección de cepas productoras
- 5) Uso de la técnica de PCR para la detección de microorganismos del suelo. Limitaciones y perspectivas. Secuencias REP y ERIC. Aplicación a bacterias fijadoras de N₂ para monitorear microorganismos de interés agrícola.
- 6) Técnicas de marcado y detección en frío. Comparación con métodos de marcación radioactivos. Aplicaciones. Marcado con biotina y digoxigenina. Sustratos quimioluminiscentes.


Programa práctico

Sistema modelo terrestre: Distinción entre poblaciones de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*

- 1) Recuperación de ADN de muestras de suelo, nódulos de leguminosas y cultivos puros
- 2) Uso de la técnica de PCR para monitoreo y diferenciación
- 3) Utilización de diferentes primers para su identificación

Sistema modelo acuático: Detección de genes responsables de la síntesis de polifosfato en comunidades bacterianas acuáticas.

- 1) Recuento directo de bacterias mediante el método de naranja de acridina.
- 2) Obtención de DNA bacteriano a partir de muestras del Río de la Plata
- 3) Diseño de primers para la detección de genes polyP.
- 4) Amplificación de genes polyP a partir de muestras naturales, cálculo de límites de detección a partir de cepas control.
- 5) Obtención de sondas mediante PCR.
- 6) Verificación de la amplificación por Southern. Marcación de sondas y detección utilizando biotina y quimioluminiscencia.


Dra. BEATRIZ S. MENDEZ
DIRECTORA
Dpto QUIMICA BIOLÓGICA
F.C.E. y M. - UBA

BIBLIOGRAFIA

Caetano-Anolles, G., B.J. Bassam & P.M. Gresshoff. (1991). DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/Technology* 9: 553-556

Frans J. DE Bruijn. (1992) Use of Repetitive (Repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl. Env Microbiol.* 58, 2180-2187

Gurtler, V., V.A. Wilson, & B.C. Mayall. (1991) Classification of medically important *Clostridia* using restriction endonuclease site differences of PCR-amplified 16s RNA. *J. Gen Microbiol.* 137: 2673-2679

Lupski, J.R. & G.E. Weinstock. (1992). Short, interspersed repetitive DNA sequences in prokaryotic genomes. *J. Bacteriol.* 174: 4525-4529

Steffan, R.J. & Atlas, R.M.. (1991). Polymerase chain reaction: applications in environmental microbiology. *Annu. Rev. Microbiol.* 45, 137-161

Vandamme, P., B. Pot, M. Gillis, P. De Vos, K. Kersters & J. Swings (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microb. Rev.* 60, 407-438

Wei Zheng & S. Kathariou. (1995) Differentiation of Epidemic-associated strains of *Listeria monocytogenes* by restriction fragment length polymorphism in a gene region essential for growth at low temperatures (4°C). *Appl. and Env. Microbiol.* 61, 4310-4314

Welsh, J. & M. McClelland (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18, 7213-7218

Welsh, J. & M. McClelland (1992). PCR-amplified length polymorphisms in tRNA intergenic spacers for categorizing staphylococci. *Mol. Microbiol.* 6, 1673-1680