



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

CURSO TEÓRICO- PRÁCTICO DE POSGRADO:

ANÁLISIS DE POBLACIONES BACTERIANAS EN EL AMBIENTE MEDIANTE TÉCNICAS DE PCR Y MARCADO EN FRÍO

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) 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.
- 3) 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
- 4) 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.
- 5) Técnicas de marcado y detección en frío. Comparación con métodos de marcación radioactivos. Aplicaciones. Marcado con biotina y digoxigenina. Sustratos quimioluminiscentes.

Q. B. 2002

13

13



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

PROGRAMA PRÁCTICO

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.

Sistema modelo terrestre: Detección de genes que codifican para péptidos no ribosomales con actividad antimicrobiana en muestras de rizosfera de soja y en aislamientos pertenecientes al género *Bacillus*.

- 1) Extracción de DNA de muestras de suelo y de cultivos de cepas pertenecientes al género *Bacillus* aisladas de muestras de suelo.
- 2) Detección de genes de péptido sintasas, enzimas responsables de la síntesis de péptidos no ribosomales con actividad antimicrobiana, a partir del ADN total del suelo y de los cultivos de los aislamientos de *Bacillus* sp .