

## PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA MOLECULAR Curs 1992-93

### 1. El cromosoma bacterià

Estructura del cromosoma bacterià. Components de l'aparell de replicació: primosomes i replisomes. Anatomia de l'origen de replicació: les caixes *dnaA*. Direcció de la replicació. El cicle cel·lular bacterià.

### 2. Expressió gènica en bacteris

Estructura dels promotors bacterians. La RNA polimerasa bacteriana. Gens solapats. Terminadors de la transcripció. Relació entre transcripció i traducció: mutacions polars. Control de la transcripció: les regions atenuadores, l'AMP cíclic i el ppGpp. Tipus d'operons bacterians i sistemes de regulació de la seva expressió. Organització genètica dels RNA ribosòmics procariòtics: processament del RNA procariòtic. Regulació per proteòlisi: els sistemes *lon* i "heat shock".

### 3. Mutagènesi bacteriana

Freqüència de mutació. Tipus de mutacions. Mutacions letals condicionals: mutacions sense sentit i mutacions termosensibles. Mutacions supressores intergèniques i intragèniques. Principals agents mutagènics. Estratègies de mutagènesi. Expressió de les mutacions: segregació i latència fenotípica.

### 4. Mecanismes de reparació

Reparació "mis-match". Fotoreactivació. Reparació per escissió. Reparació per recombinació. Reparació amb tendència a l'error o sistema SOS: funcions implicades i regulació de l'expressió. Sistema d'adaptació als agents alquilants.

### 5. Transducció bacteriana

Bacteriòfags atenuats i lítics. Els bacteriòfags Lambda i P22 com a models de lisogènia. Transducció generalitzada, especialitzada i preferent. Cotransducció. Localització fina de marcadors. Conversions fàgiques.

### 6. Transposons i seqüències d'inserció

Estructura molecular. Tipus de transposons. Regulació i mecanismes de la transposició. Mutagènesi amb transposons. Processos cel·lulars regulats per transposició.

### 7. Fusions gèniques en bacteris

Fusions d'operons i de proteïnes. Importància i aplicació de les fusions gèniques. Mètodes de construcció. Vectors de fusió: característiques generals. Utilització de transposons i del bacteriòfag Mu. Principals exemples de fusions gèniques.

### 8. Restricció bacteriana

Restricció i modificació del DNA. Enzimologia de la restricció i modificació. Reconeixement i unió dels enzims al DNA. Tipus d'enzims de restricció. Regulació *in vivo* de la restricció-modificació.

### 9. Plasmidis

Tipus i nomenclatura. Estructura molecular. Agregació i cointegració de plasmidis. Replicació. Grups d'incompatibilitat. Conjugació plasmídica en cèl·lules Gram-negatives i Gram-positives. Immunitat a la superinfecció. Importància dels plasmidis en l'evolució del món microbià.

### 10. Resistència plasmídica als antibiòtics

Mecanismes d'inactivació d'antibiòtics. Síntesi d'enzims alternatius: resistència a les sulfonamides. Impermeabilització de les cèl·lules als antibiòtics. Modificacions d'estructures cel·lulars per enzims plasmídics. Resistència als metalls pesants. Origen i evolució dels determinants genètics de la resistència als antibiòtics.

### 11. Transformació bacteriana

Transformació en bacteris Gram-positius: etapes en el procés de transformació. Transformació per marcadors cromosòmics i per replicons. Transformació en bacteris Gram-negatius: *Haemophilus influenzae* i *Escherichia coli*. Transfecció. Transformació de protoplasts. Electroporació. Disseny d'estratègies de transformació en bacteris.

### 12. Conjugació cromosòmica

Estructura molecular del plasmidi F. Soques Hfr i F'. Transferència i recombinació del DNA. Contrucció de mapes genètics. Inducció zigòtica. Altres sistemes de conjugació cromosòmica. Fusió de protoplasts.

### 13. Diferenciació en bacteris

Diferenciació morfològica a *Caulobacter*: etapes i regulació. Esporulació a *Bacillus subtilis*: control i cascades gèniques implicades. Desenvolupament multicel.lular a *Myxococcus xanthus*: bases moleculars del procés. Regulació de la síntesi de flagels bacterians.

### 14. Clonació de DNA en bacteris

Tipus de vectors i sistemes de clonació. Mètodes d'aïllament de gens i construcció de genoteques. Introducció de gens eucariòtics en bacteris: transcripció i traducció.

### 15. Mutagènesi dirigida en bacteris

Mutagènesi dirigida *in vivo* i *in vitro*. Reemplaçament de gens. Mètodes de mutagènesi *in vitro*. Aplicacions i legislacions internacionals.

## BIBLIOGRAFIA

### Textos generals:

Lewin, B. Genes IV Oxford University Press, 1991.

Smith-Keary, P. Genetic elements in *Escherichia coli*. McMillan Education, 1988.

Streips, U.N. & R.E. Yasbin (eds). Modern Microbial Genetics. Wiley-Liss, 1991.

### Textos complementaris:

Bennet, P.M. & J. Grinsted (eds.). Methods in Microbiology. Vol. 17. Academic Press, 1985.

Casadesús, J. & F. Ruiz - Berraquero. Microbiologia 1990. Publicaciones Universidad de Sevilla, 1990.

Hopwood, D.A. & K.E. Chater (eds). Genetics of Bacterial Diversity. Academic Press, 1989.

Levy, S.B. & R.V. Miller (eds). Gene Transfer in the Environment. McGraw-Hill, 1989.

Miller, J.H. (ed). Bacterial Genetic Systems. Methods in Enzymology Vol.204. Academic Press, 1991.

Neidhart, F. C. et al. (eds.) *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology. American Society for Microbiology, 1987.

Neidhart, F. C. et al.. Physiology of the Bacterial Cell. A Molecular Approach. Sinauer Associates, 1990.

Scaife, J., D. Leach & R. Galizzi. Genetics of Bacteria. Academic Press, 1985.

Curs 1992 - 93

PROGRAMA DE PRACTIQUES DE L'ASSIGNATURA  
MICROBIOLOGIA MOLECULAR

1. Anàlisi de la inducció de l'operó *lac* d'*E. coli*. Càlcul de la vida mitjana d'un mRNA bacterià.
2. Conjugacions plasmídiques interespecífiques.
3. Transformació d'*E. coli* amb DNA plasmídic.
4. Extracció i visualització de DNA plasmídic.
5. Anàlisi *in vivo* de l'afinitat del repressor LexA per l'operador SOS de diferents gèneres bacterians.
6. Obtenció de mutants mitjançant intercanvi de marcadors entre el cromosoma bacterià i un plasmidi suïcida.
7. Mutagènesi de gens plasmídics amb transposons continguts en bacteriòfags suïcides. Correlació entre grandàries gèniques i freqüències de mutació.
8. Clonació a *E. coli* de gens de resistència a antibiòtics. Detecció cromogènica dels clons recombinants.
9. Anàlisi per complementació gènica de la via biosintètica de carotens al bacteri fototròfic *Rhodobacter sphaeroides*.
10. Transferència de marcadors genètics per transducció. Càlcul de les freqüències de co-transducció.