

PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA MOLECULAR

Prof. Dr. Jordi Barbé

Horari i lloc de consultes:

Despatx: C3-423

Dilluns i Dijous de 15:30 a 17:30 h

Divendres de 9:30 a 11:30

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. Xarxes multigèniques: tipus i regulació.

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. El sistema cèl.lula bacteriana - bacteriòfag

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. 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.

8. 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.

9. Mobilització del cromosoma bacterià

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.

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. 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.

13. 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.

14. 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:

Josef, F. & J. Guespin-Michel. Prokaryotic Genetics. Genome organization, transfer and plasticity. Blackwell Scientific Publications, 1993.

Dale, J.W. Molecular Genetics of Bacteria (2nd Edition). John Wiley & Sons, 1994.

Birge, E.A. Bacterial and Bacteriophage Genetics (3rd Edition) Springer-Verlag, 1994.

Lewin, B. Genes V. Oxford University Press, 1994.

Textos complementaris:

Casadesús, J. (ed). Microbiología y Genética Molecular. Publicaciones Universidad de Huelva, 1996.

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

Maloy, S.R., J.E. Cronan & D. Freifelder. Microbial Genetics. Jones and Bartlett Publishers, 1994.

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, 1996.

Sonenshein, A.L., J.A. Hoch & R. Losick (eds). *Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria. Biochemistry, physiology, and Molecular Biology. American Society for Microbiology, 1993.

Summers, D.K. The Biology of Plasmids, Blackwell Science, 1996.