



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Comisión de Carrera de Ciencias Biológicas

<http://cccbfcen.wixsite.com/cccb>

Int. Güiraldes 2620

Ciudad Universitaria - Pab. II, 4º Piso

CPA: C1428EHA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 ARGENTINA.

☎: +54 11 4576-3349 / 5285-8665

I

Asignatura: *Biología Molecular de Microorganismos Eucariotas*

Carrera: Licenciatura en Ciencias Biológicas	Código de la carrera: 05
CARÁCTER:	Código de la asignatura:
Curso obligatorio de licenciatura (plan 2019)	Tache lo que no corresponde
Curso electivo/optativo de licenciatura (plan 2019)	NO/ SI
	Electivo/ Optativo

Duración de la asignatura (en semanas)	16
Cuatrimestre(s) en que dicta (indicar cuatrimestre o verano):	2
Frecuencia en que se dicta (cuatrimestral, anual, bianual, etc.)	Anual

ACTIVIDAD	Horas semanales	Número de semanas	Horas totales
Teóricas	4	16	64
Problemas	4	2	8
Laboratorios	6	8	48
Seminarios	4	10	40
Teórico- prácticos o Teórico- problemas	-	-	-
Si corresponde, especifique las horas de otras actividades (salidas de campo, etc.)			
Carga horaria semanal máxima	25		
Carga horaria semanal mínima	10		
Carga horaria total:	160		

Asignaturas correlativas:	<u>Genética, Ecología General y Química Biológica</u>
Forma de Evaluación:	2 Parciales teóricos, aprobación con 6 puntos, promoción sin final con 8 puntos. Evaluación de TPs y de seminarios.

OBJETIVOS II

Fomentar en los estudiantes el pensamiento crítico a través del estudio de procesos biológicos "no tradicionales" presentes en los microorganismos eucariotas, contraponiendo estos con los ya conocidos en otros organismos modelo. Profundiza el estudio de mecanismos únicos presentes en organismos patógenos como la variación antigénica, entre otros.

CONTENIDOS MÍNIMOS (ya aprobados Anexo IV Plan 2019)

Teorías sobre el origen de los organismos eucariotas. Dobles endosimbiontes: Cryptomonad y Chlorarachnean. Compactación y reducción de los genomas eucariotas: Nucleomorphs y Microsporidia. Adaptaciones biológicas y aspectos morfológicos particulares, ciclos de vida y mecanismos moleculares sobresalientes (Ej. Variación antigénica, transcripción policistrónica, trans-splicing, ARN interferencia, edición de ARN) de distintos grupos de microorganismos eucariotas. Amitocondriados: Parabasalia (Ej. *Trichomonas vaginalis*) y Diplomonadida (Ej. *Giardia spp*) y Entamoeba. Kinetoplastida (Ej. *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp*). Apicomplexa: *Plasmodium spp* y *Toxoplasma gondii*. Phylum Ciliata: *Paramecium* y *Tetrahymena spp*). Mycetozoa: *Dictyostelium discoideum* como modelo de Estructura social, morfogénesis y diferenciación celular de eucariotas pluricelulares. Eco-Epidemiología Molecular: Modelo de *Trypanosoma cruzi*. Proyectos genoma, Post-genómica y Bioinformática aplicada a los organismo en estudio.

PROGRAMA ANALÍTICO

1) Introducción:

- Teorías sobre el origen de los organismos eucariotas. Ubicación filogenética y taxonómica de los organismos que se estudiarán durante la materia.
- Los casos especiales: Dobles endosimbiontes (Cryptomonads 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 anaeróbicas derivadas de las mitocondrias en *Giardia* y Entamoeba.
- 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.

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 (tripanotiona, lipofosfoglicano-LPG y gp63).
- ADN nuclear, cromosomas: tamaños, cariotipo, polimorfismo cromosómico. Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE). Telómeros y telomerasas. Histonas y genes de histonas.
- Expresión génica: RNA polimerasas. Promotores. Secuencias regulatorias. Cis y trans-splicing. Transcripción policistronica: genes de la VSG (Vartant 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 kinetoplastos, 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, roptrias 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 "circunsporozoito" (CSP) y proteína del esporozoito relacionada con trombospondina (TRAP). Ejemplos de knock out de genes en *Toxoplasma gondii*: genes de las proteínas ROPI 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 del 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. PfMSPI).
- 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.
- 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 génica, estructura genómica, elementos extracromosomales (rDNA genes).
- El genoma completo de *Dictyostelium*: información obtenida.

8) Ciclo celular, Transducción de señales, homeostasis del calcio y apoptosis en microorganismos eucariotas unicelulares:

- 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, Units, Scaffolds.
- Técnicas de estudio: bibliotecas genómicas en cósmidos, fósmidos, 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 spp*, *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, DNA MicroArrays y RNAseq. 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. 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 microarray en Plasmodium (PlasmoDB).

BIBLIOGRAFIA III

Bibliografía obligatoria

Se utilizarán las revisiones, comentarios y actualizaciones que aparecen en las revistas internacionales de investigación periódica.

Bibliografía optativa

- 1) Pierce, B.A. 2016. Genética. Un enfoque conceptual. (5ª edición). Ed. Médica Panamericana.
- 2) Watson, J.D.; Baker, T.A.; Bell, S. P.; Gann, A.; Levine, M.; Losick, R. 2016. Biología Molecular del Gen. (7ª Edición). Editorial Médica Panamericana.
- 3) Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick. 2018. Lewin's Genes XII. Jones and Bartlett Publishers.
- 4) Brown, T.A. 2008. Genomas. (3ª Edición). Ed. Médica Panamericana.

Profesores/as a cargo:	Guillermo Daniel Alonso
Firmas y Aclaraciones	Fecha: 30 de mayo de 2018

CONTENIDOS DESGLOSADOS **IV**

a) Clases de Problemas

1. Practica de ejercicios correspondientes a los temas vistos para el primer parcial: Que el alumno vuelque a situaciones problemáticas y que analice en figuras extraídas de publicaciones los conceptos vistos en clases teóricas.
2. Practica de ejercicios correspondientes a los temas vistos para el segundo parcial: Que el alumno vuelque a situaciones problemáticas y que analice en figuras extraídas de publicaciones los conceptos vistos en clases teóricas.

b) Prácticos de Laboratorio

1. **Trabajo Práctico in silico: Biología de sistemas y análisis bioinformáticos de genes y proteínas:** Que el alumno realice un estudio detallado a partir del análisis de diferentes conjuntos de datos de plasmodium (secuencias, microarray, proteoma e interactoma), y que los integre reconstituyendo una ruta metabólica.
2. **Trabajo Práctico in silico: Bioinformática de genes y proteínas. Genómica comparativa con los TriTryps:** Que el alumno se familiarice con el uso de las distintas bases de datos disponibles para el análisis de secuencias y la detección de dominios y señales en proteínas.
3. **Introducción al ciclo de vida de *Dictyostelium discoideum*. Observación de los distintos estadios del desarrollo y ensayo de quimiotaxis:** Que el alumno observe el ciclo completo de desarrollo de *D. discoideum* y que analice y discuta las condiciones nutricionales y la presencia de señales extracelulares que inducen la quimiotaxis.

4. **Visualización de la expresión génica específica de tipo celular en *D. discoideum*. Uso de genes reporteros: β -galactosidasa y proteína verde fluorescente (GFP):** Que el alumno se familiarice con dos técnicas diferentes para el estudio de la expresión génica mediante la utilización de genes reporteros y que observe la expresión diferencial de genes según el linaje celular específico durante el desarrollo de *D. discoideum*. Que integre esta información con los conceptos teóricos y que la discuta.
5. **Eletroporación de *Crithidia fasciculata*, un tripanosomátido no patógeno para el humano, con un vector que expresa a la GFP:** Que el alumno se familiarice con el cultivo y la manipulación mediante técnicas de biología molecular con un tripanosomátido no patógeno para el humano. Que incorpore una técnica de transfección de uso frecuente en tripanosomas.
6. **Inducción de *Leishmania tarentolae* T7-TR transfectada con la construcción pLEXSY_IE-blecherry4:** Que el alumno se familiarice con la manipulación de otro tripanosomátido no patógeno para el humano. Que el alumno incorpore el protocolo experimental de la inducción controlada de la expresión génica y que analice los resultados obtenidos.

c) Seminarios

1. **Amitocondriados.** Que los alumnos presenten 2 trabajos publicados en la modalidad "Back to Back" los que analizando un set de datos similar arriban a conclusiones antagónicas sobre el origen de los hidrogenosomas. Mediante la discusión fomentar el análisis crítico de los resultados y las posibles interpretaciones de los experimentos. Luego se presenta un tercer trabajo, posterior con acceso a mayor información.

2. **Biología celular de kinetoplástidos.** Que los alumnos se familiaricen con trabajos donde se estudian procesos no comunes de la biología de kinetoplastidos. Estimular en el alumno el pensamiento crítico y la propia interpretación de los resultados entregando el trabajo a presentar sin la discusión original de los autores y pidiendo a los alumnos que elaboren una propia.
3. **Genética de kinetoplástidos.** Que el alumno se familiarice con las técnicas de estudios genéticos en tripanosomátidos y que fortalezca el pensamiento crítico y la interpretación de resultados. Para tal fin, en esta clase de seminarios se trabajará con dos publicaciones carentes de la discusión original y una tercera publicación donde los estudiantes solo tendrán acceso a las figuras y en base a ellas deberán realizar la presentación.
4. **Variación antigénica.** Que el alumno elabore hipótesis y proponga metodologías para el estudio de la variación antigénica. En uno de los trabajos se presenta el caso de un trabajo publicado en "Nature" por un grupo argentino y se discute sobre lo necesario para alcanzar una publicación de tan alto impacto.
5. **Trabajo retractado por el comité editorial de la revista "Cell".** Que el alumno se familiarice sobre el proceso de publicación, el concepto de retracción por parte del autor y la retracción desde el comité editorial. Confiabilidad de las publicaciones y como se salvan errores.
6. **Toxoplasma.** Que los estudiantes complementen temas discutidos en teóricas y que mediante la presentación de un trabajo (publicado en "Science") del cual solo se les brindan las figuras (muy completas y con un gran contenido

de información para extraer) ejerciten la interpretación de resultados y la discusión de los mismos.

7. **Plasmodium.** Que los estudiantes complementen temas discutidos en teóricas y que mediante la presentación de un trabajo del cual solo se les brindan las figuras ejerciten la interpretación de resultados y la discusión de los mismos.
8. **Posgenómica.** Que los alumnos se familiaricen con los estudios posgenómicos y la interpretación de los mismos ya que luego los aplicarán en los trabajos prácticos.
9. **Ciliados.** Que el alumno se familiarice con el desarrollo del macronúcleo de los ciliados y que lo hagan enfrentando el mayor desafío disponiendo para la presentación solo de las figuras de la publicación en un orden no determinado.
10. **Dictyostelium.** Que el alumno conozca la amplia gama de estudios en los que se utiliza Dictyostelium como modelo experimental y que se familiarice con este organismo que será utilizado en los trabajos prácticos.

d) Teórico-Práctico o Teórico-Problemas

No contemplado en la presente propuesta.

e) Salidas de campo/viajes^V.

No contemplado en la presente propuesta.

ANEXO II Adjuntar un ejemplo del cronograma de la Materia, o de los cronogramas en caso de que tenga distintas formas (cuatrimestrales, verano, etc.) ^{VI}

Martes	Viernes	Martes	Viernes
Agosto		Octubre	
15	18	10	13
Introducción	Amitocondriados	Toxoplasma	Plasmodium 1
Nucleomorphs, microsporidia	Intro Seminarios		
22	25	17	20
Intro Kinetoplastidos	Energía en kinetos	Plasmodium 2	Sem 6 Toxoplasma
Kinetos Membranas	Sem1, Amitocondriados	Plasmodium 3	
29		24	27
Kinetos genética 1		Post-genómica	Sem 7, Plasmodium
Septiembre		31	
	1	Bioinformática	
	Sem2, Kinetos Bio Celular		
5		Noviembre	
Kinetos genética 2	8		3
	Clase de Problemas 1		Sem8, Post-Genómica
12	15	7	10
Ciclo celular y señales	Sem3, Kinetos Genética	Ciliados	Clase de Problemas 2
19	22	14	17
Kinetos genética 3	Sem4, Variación Antigenica	Dictyostelium	Sem9, Ciliados
26	29	21	24
Eco-epidemiología molecular	Sem5, Cell Retracted	Inmunología molecular kinetos	Sem10, Dictyostelium
Octubre		28	
3	6	Problemas	
Repaso/Problemas	PARCIAL 1		
		Diciembre	
		1	
		PARCIAL 2	
TPs corridos a final de cuatrimestre (aprox. 6hs diarias)			
Diciembre		Diciembre	
4	5	8	11
TPs	TPs	Feriado	TPs
6	7	12	13
TPs	TPs	TPs	TPs

Notas:

^I El contenido de este documento se ratificará o rectificará bianualmente

^{II} Objetivos: redactados en función de los aprendizajes buscados (no en función de lo que los docentes hacen para alcanzar esa meta). Por ejemplo, la redacción de cada objetivo debería comenzar con alguna frase como "Que los/as estudiantes sean capaces de... conozcan... comprendan..., etc."

Por favor evitar frases *imprecisas* (ej.; "Se hará énfasis en las distintas estrategias y en las distintas metodologías de estudio") o *incorrectas* (ej.; "El docente fomentará...")

Si un el objetivo es que el/la estudiante priorice el espíritu crítico sobre dogmas, entonces, debería estar redactado de ese modo, en términos de lo que debe lograr el/la estudiante. Si se incluyen estos objetivos cognitivos de largo plazo como el anterior deben ser coherentes con las actividades y evaluaciones que permitan alcanzar los mismos. Para la elaboración y/o redacción de los objetivos puede consultar al CEFIEC a través de los emails: emeinardi@gmail.com o leomgalli@gmail.com

^{III} Bibliografía obligatoria. De manera optativa bibliografía sugerida para ampliar temas.

^{IV} De acuerdo a lo indicado en los ítems de “Actividad”: Títulos y muy breve descripción del tema a desarrollar, de 160 caracteres como máximo.

^V Máximo: 320 caracteres.

^{VI} Los cronogramas pueden ser enviado en cualquier formato.