

Comodoro Rivadavia, 24 de agosto de 2006.-

VISTO:

La nota entrada a FCN. N° 2124/06 presentada por el Dr. Héctor M. Álvarez, mediante la cual eleva el proyecto de Práctica Profesional a elección para la carrera de Bioquímica, y

CONSIDERANDO:

- Que la misma ha sido avalada por el Comité de Carrera del Departamento de Bioquímica.
- Que ha seguido el camino crítico correspondiente.
- Que cumple con las Resoluciones CAFCN. N° 234/92 y 057/99.
- Que el tema fue tratado en la IV sesión ordinaria del año en curso.

POR ELLO, EL CONSEJO ACADÉMICO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
RESUELVE

Art. 1°) Aprobar la **Práctica Profesional** propuesta por el Dr. Héctor M. Álvarez, en el marco de la Práctica Profesional a elección de la carrera de Bioquímica que se detalla a continuación: **“Lípidos de reserva en *Rhodococcus* sp. RHA1: fisiología y genética”** cuyos contenidos figuran en el Anexo que forma parte integrante del presente despacho.

Art. 2°) Regístrese, cúrsense las comunicaciones pertinentes, notifíquese a quien corresponda y cumplido, archívese.-

RESOLUCIÓN CAFCN. N° 436/06.-


MSC SUSANA PERES
Sec. Académica
Facultad de Ciencias Naturales
U.N.P.S.J.B.


Lic. ADOLFO GENINI
DECANO
Fac. De Ciencias Naturales
U.N.P.S.J.B.

ANEXO CPDE. R.CAFCN. N° 436/06.-

Práctica Profesional a Elección de Bioquímica - 2006

Cátedra Genética- Dpto. de Bioquímica

Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT)

Responsable: Dr. Héctor M. Álvarez (Prof. Adjunto Cátedra de Genética)

Colaboradores: Bioq. Roxana A. Silva (Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Genética)

Bioq. Adrián F. Álvarez (Auxiliar de Primera Cátedra de Genética)

Título: **Lípidos de reserva en *Rhodococcus* sp. RHA1: fisiología y genética.**

Objetivos:

Objetivo formal: el objetivo del presente trabajo es que el alumno realice sus prácticas utilizando razonamientos y las metodologías aplicadas durante el desarrollo del proyecto de investigación en curso en la Cátedra de Genética.

Objetivo específico: Caracterizar la cepa *Rhodococcus* sp. RHA1 respecto de su potencial genético y capacidad fisiológica para sintetizar y acumular lípidos de reserva a partir de diferentes sustratos.

Palabras claves: *Rhodococcus* sp. RHA1, triacilglicéridos, poli-(3-hidroxicanoatos), ceras.

Introducción:

Las bacterias del género *Rhodococcus* son reconocidas por su amplia versatilidad metabólica para degradar diferentes tipos de compuestos; muchos de ellos contaminantes del ambiente y por su capacidad de producir compuestos de interés biotecnológico, como por ejemplo triacilglicéridos (TAG), poli-(3-hidroxicanoatos) (PHA) y ceras (Bell et al. 1998. J. Appl. Microbiol. 85:195-210; Alvarez and Steinbüchel. 2002. Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:367-376). La acumulación de lípidos ha sido investigada con intensidad en los últimos diez años utilizando como modelo de estudio a la cepa *Rhodococcus opacus* PD630 (Alvarez HM. 2006. In: Triglycerides and Cholesterol Research. Editor: Linda T. Welson. Nova Science Publisher). Este microorganismo sintetiza grandes cantidades de TAG a partir de diferentes sustratos, pero no acumula PHA (Alvarez et al. 1996. Arch. Microbiol. 165:377-386). La acumulación de ceras solo ha sido evidenciada en la cepa PD630 como componentes menores de los lípidos celulares, principalmente durante el crecimiento de las células con fenildecano (Alvarez et al. 2002. Microbiology. 148:1407-1412).

La cepa *Rhodococcus* sp. RHA1 ha despertado el interés de los investigadores en general por su capacidad de degradar PCB y otros hidrocarburos aromáticos. La Universidad de British Columbia de Vancouver, Canadá, ha realizado el secuenciamiento del genoma completo de este microorganismo, a fin de incrementar el conocimiento de su bioquímica, fisiología y genética. En este contexto, recientemente se ha iniciado una colaboración científica entre el grupo de trabajo de la UBC y nuestro grupo de la UNPSJB a fin de realizar en conjunto estudios de genoma funcional e investigar aspectos básicos particulares en este microorganismo. Uno de los

ANEXO CPDE. R.CAFCN. N° 436/06.-

aspectos a estudiar es la capacidad de esta cepa para sintetizar, acumular y movilizar lípidos de reserva intracelulares bajo diferentes condiciones. En el presente trabajo se iniciarán los estudios en esta temática, utilizando la base de datos del proyecto genómico para el análisis de los genes relevantes para el proceso de acumulación de lípidos. Así mismo, se realizarán actividades experimentales de laboratorio para poner en evidencia la capacidad de la cepa RHA1 para sintetizar lípidos de reserva.

Bibliografía

La Cátedra cuenta con una variedad de libros del área que servirán de fuente de conocimientos básicos sobre el tema. Además se cuenta con bibliografía específicamente relacionada con el tema de estudio representada por artículos científicos de revistas tales como: Applied and Environmental Microbiology, Journal of Bacteriology, Archives of Microbiology, Applied Microbiology and Biotechnology, entre otros.

Metas:

- 4- Refinar las secuencias de los genes considerados relevantes para la síntesis, acumulación y movilización de PHA en la cepa RHA1.
- 5- Refinar las secuencias de los genes considerados relevantes para la síntesis, acumulación y movilización de ceras en la cepa RHA1.
- 6- Refinar las secuencias de los genes considerados relevantes para la síntesis, acumulación y movilización de TAG en la cepa RHA1.
- 7- Caracterizar la cepa seleccionada respecto de su capacidad de sintetizar y acumular TAG, PHA y ceras a partir de diferentes substratos.
- 8- Análisis de los resultados y conclusiones.

Actividades:

- 8- Lectura y análisis de la temática a desarrollar en la bibliografía actual.
- 9- Búsqueda y análisis de los genes que codifican enzimas y otras proteínas involucradas en la síntesis, acumulación y movilización de PHA.
- 10- Búsqueda y análisis de los genes que codifican enzimas y otras proteínas involucradas en la síntesis, acumulación y movilización de ceras.
- 11- Búsqueda y análisis de los genes que codifican enzimas y otras proteínas involucradas en la síntesis, acumulación y movilización de TAG.
- 12- Análisis de los lípidos de reserva acumulados por la cepa RHA1 a partir de diferentes substratos.
- 13- Análisis de la cinética de acumulación de lípidos de reserva en diferentes tiempos durante el cultivo de las células en condiciones de déficit de nitrógeno.
- 14- Análisis de los resultados, conclusiones y preparación del informe.

ANEXO CPDE. R.CAFCN. N° 436/06.-

Materiales y Métodos:

Materiales:

La Cátedra cuenta con los materiales, equipos y soporte financiero necesarios para la realización del presente trabajo. La presente Práctica será financiada con los subsidios obtenidos por nuestro grupo para la realización de los proyectos de investigación en curso.

Métodos:

Búsqueda y análisis de genes en la cepa RHA1: las secuencias de los genes y proteínas de interés serán obtenidas de la base de datos del Proyecto Genómico de *Rhodococcus* sp. RHA1. Se analizará la presencia de los genes de interés en el contexto de clusters u operones en el programa respectivo. Para el análisis de las secuencias, comparación de las secuencias con otros microorganismos, alineamientos y búsqueda de secuencias conservadas o motivos específicos, se utilizarán programas disponibles en Internet o programas específicos disponibles en la Cátedra de Genética. Para el análisis de los genes, se prevé una búsqueda bibliográfica y análisis detallado de publicaciones específicas para cada tipo de gen a investigar.

Análisis de los lípidos de reserva: se realizarán cultivos de la cepa RHA1 en medio mineral (MSM0,1- Schlegel) adicionados con diferentes fuentes de carbono y energía, como gluconato de sodio, acetato de sodio, hexadecano, hexadecanol, ácido 3-hidroxi-butírico y ácido valérico, entre otros. El análisis químico se llevará a cabo mediante extracción de lípidos totales con solventes orgánicos y separación por cromatografía en capa delgada (TLC) y por cromatografía gaseosa previa metanólisis, según trabajos previos (Alvarez et al. 1996. Arch. Microbiol. 165:377-386).

Cronograma:

Duración: 16 semanas.

Actividades	Semanas															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	x	x														
2		x	x	x	x	x										
3					x	x	x									
4							x	x	x	x	x	x	x	x		
5		x	x	x	x	x	x	x	x							
6										x	x	x	x	x		
7															x	x

Cantidad de alumnos: 1 (uno)

Cuatrimestre: segundo cuatrimestre