BIOLOGIA MOLECULAR (1988-89)

1.- Interacciones químicas no covalentes: importancia para la estructura e interacciones de biomoléculas. Interacciones electrostáticas. Fuerzas de Van der Waals, interacciones dipolares. Interacción hidrofóbica. Puente de hidrógeno.

2.- Técnicas instrumentales en biología molecular.Difracción de rayos X y de neutrones. Microscopía electrónica molecular. Sedimentación. Cromatografías(adsorción, intercambio iónico, afinidad, gases, líquida de alta presión, etc.).Filtración en gel. Electroforesis y electroenfoque. Técnicas radioquímicas. Espectroscopías (UV y visible, IR, DC, DRO, RMN, RSE, Raman-laser, espectrofluorimetría, etc). Otras técnicas auxiliares.

3.- Conformación de proteínas. Actualización de conocimientos acerca de la conformación y relación estructura-función en proteínas. Teoría modular de las proteínas. Estructura secundaria y supersecundaria. Módulos. Domínios. Patrones estructurales relacionados con función. Taxonomía de proteínas basada en sus patrones estructurales.Módulos domínios y evolución molecular de proteínas. Métodos de determinar la conformación de las proteínas. Predicción teórica de la conformación de proteínas. Ingeniería de proteínas.

4.- Plegamiento conformacional de las proteínas. Centros de nucleación. Modelos energéticos y modelos cinéticos de plegamiento de cadenas polipeptídicas. Intermediarios obligatorios. Estructura primaria y conformación nativa: importancia de ciertas posiciones. Modificaciones postraduccionales. Señales y patrones estructurales indicadores de destino. Ensamblaje de subunidades.

5.- Aislamiento y purificación de proteínas. Fases de un protocolo de aislamiento de proteínas. Factores a considerar durante el aislamiento con objeto de evitar la desnaturalización, etc. Técnicas de purificación.Criterios de determinación del nivel de purificación.

6.- Acidos nucleícos e información genética. Introducción histórica. Métodos de aislamiento, purificación y caracterización de DNA y RNA. Estructura de ácidos nucleícos. La doble hélice. Diferentes formas estructurales del DNA (B,A,Z,etc). Topología de las moléculas de DNA circulares: índice de enlace. Enzimas que modifican la conformación y topología del DNA.

7.- Métodos de secuenciación de ácidos nucleícos. Método del dideoxi. Método de Maxam y Gilbert. Métodos de secuenciación de RNA. Secuenciación automática.

8.- Contenido en DNA de los organismos procariotas y eucariotas. La Paradoja del Valor C. Métodos de estimación de número de genes en organismos eucariotas. Cinéticas Cot y sus aplicaciones. Otros métodos experimentales de analizar la organización interna de los genomas eucariotas. DNA repetitivo y DNA "egoista". Implicaciones evolutivas del "exceso" de DNA en organismos eucariotas.

9.- Estructura general del gen eucariota. Tamaño de los genes eucariotas. No colinearidad gen-mRNA en eucariotas: exones e intrones. Importancia e implicaciones evolutivas de esta organización del genoma.

10.- Cinéticas Rot. Cinéticas Rot de DNA en exceso. Cinéticas Rot de RNA en exceso. Aplicaciones de las cinéticas Rot : estimación del número de genes; del número de genes comunes entre diferentes células y tejidos; análisis de la complejidad de poblaciones de mRNA, etc.

11.- Reconocimiento a nivel molecular entre ácidos nucleícos y proteínas. Interacción inespecífica e interacción específica. Patrones estructurales de las proteínas que reconocen ácidos nucleícos. Ejemplos de represores, etc.

12.- Mecanismos de reordenación e intercambio del material genético. Recombinación homóloga y recombinanción no-homóloga. Secuencias de inserción y transposones. Mecanismo molecular de trasposición. Elementos genéticos móviles en eucariotas. Trasposición y mutación.

13.- RNA: clases de RNA. Características generales del RNA. Obtención y purificación de los mismos. El mRNA procariota y eucariota: características generales (vida media, mono y policistronismo, etc). mRNA eucariota: hnRNA; extremos 5' con caperuza y 3' con poliA. Secuencias lider. Mecanismos moleculares de madurado (escisión de intrones y empalme de exones). Ribozimas. Relación exón-dominio/módulo de proteínas e implicaciones evolutivas de la misma.

14.- tRNA. Estructura de los tRNAs y relación con su función. Reconocimiento del tRNA por parte de las aminoacilsintetasas. Supresores. Aspectos evolutivos relacionados con el tRNA. rRNA y ribosomas. Componentes del ribosoma. Características de las proteínas y rRNAs de los ribosomas procariotas y eucariotas. Métodos de reconstitución de la partícula ribosomal "nativa". Estructura secundaria rRNA.

15.- La síntesis protéica. El código genético.Excepciones a la universalidad del código. La transcripción. RNA polimerasas procariotas y eucariotas. Aislamiento y caracterización. Secuencias promotoras procariotas y eucariotas. Unidad transcripcional. Solapamiento de genes. La traducción. Etapas: activación, iniciación, elongación y terminación en procariotas y eucariotas. Factores que intervienen en cada fase. Energética de la traducción. Péptidos señal y mecanismos de secreción de proteínas. Modificaciones postraduccionales de la síntesis protéica. Síntesis peptídica no ribosomal.

16.- Técnicas de DNA recombinante ("ingeniería genética"). Operaciones básicas de las técnicas de rDNA. Enzimas utilizados en rDNA. Obtención de genes o de fragmentos de DNA(RNA) para clonar. Genotecas. Vectores de clonaje en organismos procariotas. Estrategias de clonaje. Métodos de detección y selección de recombinantes. Optimización de la expresión de genes recombinantes.

17.- Técnicas de DNA recombinante (II). Clonaje en organismos eucariotas. Vectores para rDNA en eucariotas. Transferencia de genes a células eucariotas. Organismos transgénicos. Aplicaciones de las técnicas de rDNA. Sondas y mapas génicos. Mutagénesis dirigida por oligonucleótidos. Ingeniería de proteínas.

18.- La cromatina. Componentes de la cromatina. Proteínas histonas y no-histonas. Estructura discontínua. Nucleosoma y cromatosoma. Distribución en fase de los nucleosomas. Niveles de estructuración superiores. Cromatina competente en transcripción o "activa". El cromosoma metafásico y su esqueleto protéico.

19.- Replicación del DNA y de la cromatina. Características: semiconservatividad, secuencialidad, sentido. Síntesis discontínua. Complejo multifactorial de replicación. Horquilla de replicación. Relación entre replicación y membrana. Replicación de la cromatina. Horquillas múltiples. Segregación de los nucleosomas. Metilación del DNA. Reparación del DNA. Mutagénesis.

20.- Regulación de la expresión génica. Procariotas. Fenómenos de inducción y represión enzimática. Experimentos que llevaron a postular el modelo de operón lac. Aislamiento de represor y operador. Promotores, operadores, etc. Represión por catabolito. Control positivo: operón ara. Doble promotor: operón gal. Mecanismos atenuadores. Antiterminación. Regulación autógena. Eucariotas. Diferencias más importantes