

5609

PROGRAMA DE BIOLOGIA MOLECULAR (Curso 1981-82)

- 1- Interacciones químicas intermedias y débiles en la estructura de las biomoléculas: Interacciones electrostáticas. Dipolos instantáneos. Fuerzas de Van der Waals. La interacción hidrofóbica. Puente de hidrógeno.
- 2- Técnicas experimentales en Biología Molecular:  
Difracción de rayos X y de neutrones. Microscopía Electrónica. Centrifugación preparativa y analítica. Cromatografías de adsorción de intercambio iónico y de afinidad. Gel filtración. Electroforesis y electroenfoque. Técnicas radioquímicas. Técnicas inmunológicas. Espectroscopías de IR, UV, NMR, EPR, Ramán y espectrofluorimetría. Otras técnicas auxiliares.
- 3- Las Proteínas(revisión):  
Revisión de los modelos actuales acerca de la estructura de las proteínas. Estructura secundaria y supersecundaria: Teoría de Dominios. Clasificación de las proteínas según sus dominios. Métodos de predicción de la estructura secundaria. Estructura terciaria y cuaternaria. Dominios y Evolución molecular de las proteínas. Métodos generales de aislamiento y purificación de proteínas.
- 4- Acidos Nucleicos: DNA(I)  
Los A.N. como portadores de la información genética: introducción histórica. Métodos de aislamiento y purificación del DNA. Caracterización del DNA. La estructura del DNA: formas A, B, C, D,  $\Psi$  y Z. Enzimas que modifican la conformación del DNA.
- 5- DNA(II)  
Métodos de secuenciación de los A.N. Método de Sanger-Coulson. Método de Maxam-Gilbert. Modificaciones recientes. Secuenciación de RNA.
- 6- DNA(III). Contenido en DNA de los organismos vivientes: La paradoja del Valor C. Estimación del número de genes en los organismos eucariotas. Cinéticas de Cot de reasociación de DNA. DNA repetitivo y DNA satélite. Otros métodos experimentales de estudiar la organización interna del genoma. Implicaciones evolutivas del DNA repetitivo "DNA"egoísta".



- 7- DNA(IV). Inestabilidad interna del material génico:  
Transposones. Secuencias de inserción (elemento IS). Especificidad de los elementos transponibles. Posible mecanismo molecular de la inserción de los elementos transponibles. Posible papel regulatorio y evolutivo. Plásmidos y Transposones..
- 8- DNA(V). El Problema del reconocimiento específico a nivel molecular entre los A.N. y las proteínas.
- 9- La Cromatina: Componentes de la cromatina eucariota. Las histonas: características y clasificación. Las proteínas no-histonas. La estructura discontinua de la cromatina. El nucleosoma. Niveles de estructuración superiores. El "andamiaje" proteico del cromosoma metafásico.
- 10- Replicación del DNA: Características: semiconservatividad, secuencialidad, sentido. Síntesis discontinua. Complejo multifactorial de replicación. Metilación del DNA y replicación. Relación entre replicación y membrana. Replicación en Eucariotas: El Replicón. Segregación de los nucleosomas.
- 11- Ingeniería Genética. Operaciones básicas de la I.G. Endonucleasas de restricción. Obtención de genes o fragmentos de DNA a clonar. Vectores para I.G. Métodos de detección de recombinantes. Expresión de genes recombinantes. Problemas de seguridad y regulaciones de los experimentos. Aplicaciones de la I.G. y resultados hasta el momento. Una nueva técnica: Los Hibridomas.
- 12- El RNA: Clases y características generales. Obtención y purificación de cada uno de ellos. mRNA: experimentos que llevaron a su predicción y a la demostración de su existencia. Características generales del mRNA: vida media, tamaño, mono y policistronismo. Complementariedad respecto al DNA.
- 13- mRNA eucariota. Su precursor nuclear: el hnRNA. Extremo 5': CAP su estructura y posible función. Secuencias leader e hipótesis de la "señal" en relación con el mecanismo de la traducción. Extremo 3': poli A y posible función. Secuencias del extremo 3'. Asociación con proteínas (mRNP). Metilación. El mecanismo de rotura y empalme: exones e intrones y su posible significado funcional y evolutivo.



- 14- tRNA. La hipótesis del Adaptador. Reconocimiento del codón. Aislamiento y secuenciación de tRNA. Estructura secundaria y terciaria e importancia de las mismas en relación con su función. Problema del reconocimiento por parte de las aminoacilsintetasas. Regulación de la producción de tRNA en función de la demanda. Aspectos evolutivos relacionados con el tRNA.
- 15- rRNA y ribosomas. Componentes del ribosoma: características de las proteínas y rRNAs de procariotas y eucariotas. Métodos de estudio y localización de los componentes. Métodos de reconstitución de la partícula ribosomal "nativa". Experimentos que demostraron que la síntesis proteica tiene lugar en los ribosomas. Reconocimiento mRNA. Ribosoma en eucariotas: hipótesis del "mecanismo de barrido" deslizando o saltatorio.
- 16- Otros RNAs. RNA cromosómico. cRNA. dsRNA. snRNA. Otros RNAs menores reguladores.
- 17- La Síntesis proteica(I). Primeras hipótesis(enzimática, del modelo de copia directa, etc.). El código genético: introducción histórica. Experimentos previos que permitieron su posterior determinación. Métodos de Nirenberg y de Khorana. Código y excepciones a su universalidad. Relaciones entre aminoácido y tríplete y problemas evolutivos que plantea.
- 18- Transcripción: Los RNA polimeras de procariotas y eucariotas. Aislamiento y características. Sentido. Inhibidores de la transcripción.
- 19- Traducción. Sentido. Etapas: activación, iniciación, elongación y terminación. Factores que intervienen en procariotas y en eucariotas. Problemas de aislamiento y estudio de su función. Energética de la traducción. Modificaciones postraduccionales de las proteínas. Inhibidores de la traducción. Síntesis proteica no ribosomal: sistemas enzimáticos en los que tiene lugar. Utilización de aminoácidos D. y L. Implicaciones evolutivas.
- 20- Regulación de la expresión génica:(I) Procariota. Fenómenos de adaptación enzimática en procariotas. Experimento de Monod-Jacob y Pardee que les llevó a postular el modelo del operon lac. Aislamiento del represor y del operador. Características de ambos. Promotores. Represión por catabolito. Generalización del modelo del operon y posibles sistemas de control. Mecanismo del Atenuador. Mecanismo de regulación autógena. Mecanismo de antiterminación. Control positivo (operon ara). Oligonucleótidos reguladores en procariotas. Regulación de la replicación.



21- II. Regulación en eucariotas: generalidades y problemas que plantea su determinación. Nivel transcripcional y postranscripcional. Relación con la complejidad del mRNA eucariota y sus precursores. Fenómenos de la determinación y de la diferenciación celular: Modelos de Britten-Davidson y de Georgiev. El problema de las proteínas reguladoras en eucariotas: posibles enfoques experimentales. Proteínas no histonas como reguladoras. Hormonas y regulación: Sistema de las hormonas esteroideas. Sistema TAT. Amplificación génica durante la diferenciación celular. Regulación a nivel Traduccional. Sistema Hemin: dsRNA y tcrRNA: Modelo de Britten-Davidson. dsRNA y proceso de traducción en reticulocitos. Interferón y dsRNA. Oligonucleótidos reguladores en eucariotas. Regulación de la replicación y de la división celular.

Professor: Dr. Enrique Querol

Curs : 5<sup>e</sup> Biologiques

Vist i plaui,

Signati:

Olandi A. Arribas

Cap de Departament

Data: 13/2/86