



TITULACIÓ: Bioquímica

NOM DE L'ASSIGNATURA: 20162 Biologia molecular I

CURS: 2002/2003

CRÈDITS: 6

PROGRAMA DE TEORIA

1. DNA: ESTRUCTURA

Introducció: la Biologia Molecular en el període clàssic i a l'actualitat. Estructura del DNA B: el model de Watson i Crick; estructura del DNA en dissolucions aquoses. Desnaturalització i renaturalització del DNA: efecte de la temperatura i del pH; estabilització per apilament de bases. Conformacions de la cadena de ribosa-fosfat. Aparellaments de bases diferents dels proposats per Watson i Crick. Estudis de cristallografia de raigs X i de NMR d'oligonucleòtids: àngles de *twist*, *tilt*, *roll*, i *propeller twist*; desplaçament lateral (*slide*) entre parelles de bases. Estructura del DNA de forma A i Z. Estructura de les seqüències poli(dA)·poli(dT).

2. DNA CIRCULAR

DNA circular: descobriment i interpretació inicial de les seves propietats. Teorema topològic fonamental: relació entre el nombre d'enllaços topològics (L), el nombre de voltes de doble hèlix (T) i el nombre de superhèlixs (W) en una molècula de DNA circular; significat físic de L, T i W. Densitat superhelicoidal del DNA circular natural. Agents intercalats: canvis estructurals del DNA; efecte sobre la velocitat de sedimentació i la migració electroforètica. Topoisomerases: estructura i mecanisme d'actuació de les topoisomerases de tipus I i II. Electroforesi bidimensional de DNA circular. Implicacions biològiques de les propietats topològiques del DNA.

3. POLIMORFISME ESTRUCTURAL DEL DNA

Bases estructurals de la flexibilitat de la doble hèlix. Corbament intrínsec i induït per proteïnes. Importància biològica del corbament del DNA. Dobles hèlixs de DNA amb bases mal aparellades i amb les dues cadenes paral·leles. Estructures induïdes per la tensió superhelicoidal: regions de DNA monocadena; transicions B/Z; estructures cruciformes; hèlixs triples intramoleculares. Estructures intermoleculares: DNA circular concatenat i amb nusos; llaços D i R; unions de Holliday; hèlixs triples i quàdruples; possibles aplicacions biotecnològiques d'aquestes estructures. Estructures artificials: propietats i possibles aplicacions del PNA. Dinàmica del DNA en dissolució.

4. DNA: INFORMACIÓ LINEAL

Introducció: mapes genètics i mapes físics. Cinètica de reassociació del DNA: disseny experimental; físico-química de la reassociació; complexitat del DNA; significat biològic; importància de les tècniques

de hibridació en Biologia Molecular. Manipulació i anàlisi de molècules intactes de DNA cromosomal: microscòpia electrònica; electroforesi de camp pulsat. Modificació i restricció. Enzims de restricció: bases químiques del reconeixement de seqüències específiques de DNA; mapes de restricció; aplicacions en Enginyeria Genètica; polimorfisme de la longitud dels fragments de restricció.

5. SEQÜENCIACIÓ DEL DNA

Clonació molecular de DNA. Tècniques de purificació del DNA. Mètode químic de seqüenciació. Mètode enzimàtic. Mètodes fluorescents automàtics. Mètodes quimioluminescents. El genoma humà i altres genomes: genòmica. Perspectives de futur dels mètodes de seqüenciació i diagnòstic genètic. Síntesi automàtica d'oligonucleòtids.

6. DNA: EMPAQUETAMENT

Introducció: el problema biològic del emmagatzemament tridimensional de informació continguda en molècules d'estructura lineal. Empaquetament del DNA en virus i bacteris. Empaquetament del DNA en la cromatina del nucli cel·lular: el nucleosoma. Estructura del DNA i les proteïnes histones en la partícula nucli del nucleosoma: bases químiques de la interacció inespecífica entre proteïnes i DNA. Estructures d'ordre superior de la cromatina: fibres de cromatina; cromosomes metafàsics; matriu nuclear.

7. REPLICACIÓ

Implicacions funcionals de l'estructura del DNA: replicació semiconservadora del DNA. Mecanismes de replicació: avanç bidireccional de les forquetes (*E. coli*); cercle rodant (bacteriófag ϕ X174); llaç D (DNA mitocondrial). Mecanisme molecular de la replicació de DNA en *E. coli*: inici de la replicació en les seqüències oriC; el replisoma (helicasa, RNA primasa, DNA polimerases); proteïnes d'unió a DNA monocadena; DNA lligasa; topoisomerases. DNA polimerases I i III: estructura tridimensional; activitat polimerasa i exonucleasa; processivitat. Replicació del DNA en eucariotes: cicle cel·lular; seqüències de origen de replicació i nombre de replisomes; proteïnes del replisoma eucariòtic. Dinàmica dels nucleosomes durant la replicació de la cromatina. Altres enzims amb activitat DNA polimerasa: transcriptasa reversa; telomerasa. Importància biotecnològica de les DNA polimerases: millora dels mètodes de seqüenciació enzimàtica; obtenció de cDNA; marcatge de DNA (*nick translation*); reacció en cadena de la polimerasa (PCR). Reparació del DNA. Recombinació homòloga i altres reaccions de reordenament genètic.

8. TRANSCRIPCIÓ

Dogma central de la Biologia Molecular. RNA missatger. Transcripció en procariotes: estructura i funció dels enzims RNA polimerases; tècniques de *footprinting* per a la caracterització de promotors; dinàmica de l'associació de la RNA polimerasa amb el promotor; desenrotllament de la doble hèlix de DNA a la zona d'inici de la transcripció; problemes topològics durant l'elongació; acabament de la síntesi de RNA. Regulació de la transcripció en procariotes: l'operó lac i altres operons bacterians. Transcripció en eucariotes: RNA polimerases eucariòtiques; estructura del promotor; seqüències enaltidores (*enhancers*); factors de transcripció generals i específics. Motius estructurals de les proteïnes reguladores: hèlix-volta-

hèlix (*helix-turn-helix*); dits de zinc (*zinc fingers*); cremalleres de leucina (*leucine zippers*). Implicacions de l'estructura de la cromatina sobre la transcripció: cromatina condensada inactiva; mecanisme de la transcripció en presència de nucleosomes a la cromatina poc condensada. Processament postranscripcional del mRNA: seqüències poli(A) a l'extrem 3' i caputxes (*caps*) al 5'; introns i exons; processament del transcrit primari. Estudis a gran escala de la transcripció.

9. TRADUCCIÓ

El codi genètic. RNA de transferència. Aminoacil t-RNA sintetases. Estructura dels ribosomes. Síntesi de proteïnes: iniciació; elongació; acabament. Traducció en eucariotes: diferències respecte als procariotes; regulació. Modificacions postraduccionals. Localització cel·lular de les proteïnes: seqüències de senyal pel transport de proteïnes al seu punt de destí. Enginyeria de proteïnes: mutagènesi dirigida; producció de proteïnes d'interès en grans quantitats. Proteòmica.

PRÀCTIQUES

A les Llicenciatures de Bioquímica i Química aquesta assignatura no té pràctiques de laboratori. Les pràctiques de laboratori de Biologia Molecular a la Llicenciatura de Bioquímica es fan a les assignatures de Metodologia i Experimentació Bioquímica II i Biologia Molecular II

AVALUACIÓ

Examen amb preguntes teòriques i problemes relacionats amb la matèria explicada durant el curs.

BIBLIOGRAFIA

- Molecular Biology of the Gene (fourth edition). J.D. Watson et al. (1987) Benjamin/Cummings.
 - Fundamentals of Biochemistry. D. Voet et al. (2002) Wiley.
 - Molecular Biology of the Cell (fourth edition). B. Alberts et al. (2002) Garland Science.
 - Genes VII. B. Lewin (2000) Oxford University Press.
-
- DNA Replication (second edition). A. Kornberg & T. Baker (1992) Freeman.
 - Understanding DNA (second edition). C.R. Calladine & H.R. Drew (1997) Academic Press.
 - DNA Structure and Function. R.R. Sidney (1994) Academic Press.
 - Nucleic Acids: Structure Properties, and Functions. V.A. Bloomfield et al. (2000) University Science Books.
 - DNA-Protein Interactions. A. Travers (1993) Chapman and Hall.
 - Chromatin: Structure and Function (third edition). A. Wolffe (1998) Academic Press.
 - Dinàmica Estructural de Macromolècules. L. Cornudella (editor) (1998). Treballs de la Societat Catalana de Biologia (volum 48).
 - Recombinant DNA (second edition). J.D. Watson et al. (1983) Scientific American Books/Freeman.
 - Genomics: The Science and Technology behind the Humand Genome Project. CR. Cantor & C.L. Smith (1999) Wiley.
 - Biología Molecular e Ingeniería Genética. J. Luque & A. Herráez (2001) Hardcourt.

PROBLEMES/SEMINARIS:

1. Història de la Biologia Molecular

- The Coming of the Golden Age. G.S. Stent (1969) Doubleday and Co.
- A Century of DNA: A History of the Discovery of the Structure and Function of the Genetic Substance. F.H. Portugal & J.S. Cohen (1979) MIT Press.
- The Golden Helix: Inside Biotech Ventures. A. Kornberg (1995) University Science Books.

2. Estructura del DNA en dissolució

- Helical Periodicity of DNA Determined by Enzyme Digestion. D. Rhodes & A. Klug (1980)

Nature, 286, 573-578.

- Helical Repeat of DNA in Solution. J.C. Wang (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 200-203.

3. DNA circular

- Topology of DNA: When Manipulation Supports the Lack of "Space-filling" Imagination. G. Balliano & P. Milla (1997). Biochem. Education, 25, 209-210.
- Energetics of B-to-Z Transition in DNA. L.J. Peck & J.C. Wang (1983). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 6206-6210.

4. Seqüenciació de DNA

- Seqüenciació quimioluminescent. F. Gallego (1994) Tesi doctoral, UAB.
- Video sobre seqüenciació amb un aparell fluorescent automàtic (1993) LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska.

5. Empaquetament del DNA al nucli cel·lular

- Action of Micrococcal Nuclease on Chromatin and the Location of Histone H1. M. Noll & R.D. Kornberg (1977) J. Mol. Biol., 109, 393-404.
- Crystal Structure of the Nucleosome Core Particle at 2.8 Å resolution. K. Luger et al. (1997) Nature, 389, 251-260.
- Structure of the 300Å Chromatin Filament: X-Ray Diffraction from Oriented Samples. J. Widom, J & A. Klug (1985) Cell, 43, 207-213.
- Interdigitated Solenoid Model for Compact Chromatin Fibers. J.R. Daban & A. Bermúdez. (1998) Biochemistry, 37, 4299-4304.

6. Replicació i transcripció

- The Replication of DNA in *Escherichia coli*. M. Meselson & F.W. Stahl (1958). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 44, 671-682.
- Structure of the Repressor Operator Complex of Bacteriophage 434. J.E. Anderson, M. Ptashne & S.C. Harrison (1987) Nature, 326, 846-852.
- Changing the Binding Specificity of a Repressor by Redesigning an α -helix. R.P. Wharton & M. Ptashne (1985) Nature, 316, 601-605.
- Genes Fragmentados. P. Chambon (1981) Investigación y Ciencia, 58(julio), 22-35.