

AMPLIACIÓ DE BIOLOGIA CEL·LULAR

Professora teoria i responsable pràctiques:

Dra Carme Nogués

Professores pràctiques:

Ester Antón

Assumpta Duran

Cristina Camprubí

Carme Nogués

Zaida Sarrate

OBJECTIUS

L'assignatura d'Ampliació de Biologia Cel·lular pretén mostrar a l'alumne les tècniques específiques en Biologia Cel·lular que no hagin estat descrites en altres assignatures troncal de la llicenciatura, així com els mecanismes cel·lulars que permeten el manteniment de l'estructura i la funcionalitat de la cèl·lula com un tot.

Quant a les pràctiques de laboratori, l'objectiu és mostrar a l'alumne les tècniques més bàsiques de cultiu de teixits; mentre que els problemes intenten ensinistrar a l'alumne en la interpretació i elaboració coherent de resultats obtinguts amb diferents dissenys experimentals.

PROGRAMA TEORIA

Tècniques bàsiques en Biologia Cel·lular

- 1. Cultius de teixits:** : Interès i aplicacions. Tipus de cultiu. Característiques de les línies cel·lular.
- 2. Tècniques de cultiu (I):** Condicions físiques del cultiu. Condicions biològiques de cultiu. Esterilització. Laboratoris de cultiu
- 3. Tècniques de cultiu (II):** Establiment cultiu primari, línies cel·lulars. Purificació cel·lular. Tècniques de separació cel·lular.
- 4. Tècniques de cultiu (III):** Caracterització cel·lular. Criopreservació. Quantificació
- 5. Microscopia òptica:** Descripció i utilitat dels diferents microscopis òptics.
- 6. Microscopia de fluorescència:** Fluorescència, Microscopi de fluorescència. Microscopi làser confocal. Microscopi làser scanning multifotó
- 7. Altres microscopis:** Descripció i utilitat d'altres microscopis utilitzats en biologia cel·lular.

Manteniment dels compartiments cel·lulars

- 8. Distribució de proteïnes i lípids:** Distribució de proteïnes: a partir mRNA, a partir cadena naixent, a partir pròpia proteïna. Distribució de lípids: transport vesicular, per ponts de contacte, transportadors proteics específics.
- 9. Transport bidireccional nucli-citoplasma:** Estructura del NPC. Composició química del NPC. Importació de proteïnes. Regulació de la importació. Exportació de proteïnes i RNAs. Regulació de l'exportació. Altres funcions de la Ran.
- 10. Biogènesi de mitocondris:** Importació de proteïnes als diferents compartiments. Proteïnes sintetitzades a la matriu mitocondrial. Creixement,

divisió i degradació mitocondrial. Distribució de mitocondris. Malalties genètiques mitocondrials (humanes). Estudis antropològics i forenses

11. Biogènesi de cloroplasts: Importació de proteïnes al cloroplast. DNA de cloroplasts. Herència del genoma dels cloroplasts. Organització i desorganització durant la mitosi.

12. Biogènesi de peroxisomes: Importació d'àcids grassos als peroxisomes. Importació de proteïnes a la matriu. Malalties humanes relacionades. Divisió dels peroxisomes. Moviment dels peroxisomes.

13. Transport vesicular: Vesícules de clatrina (CCV). Vesícules COP. Vesícules de caveolae. Reconeixement i fusió de vesícules

14. Biogènesi de reticle endoplasmàtic: Seqüència senyal. Cotraducció de proteïnes al RE. Translocació postraduccional de proteïnes al RE. Modificacions postraduccionals al RE. Degradació de proteïnes anòmales. Altres funcions del RE. Proteïnes residents al RE. Exportació de proteïnes cap al Golgi. Compartiment intermedi.

15. Biogènesi de Golgi: Modificacions de lípids. Modificacions de proteïnes. Transport de RE a Golgi i intraGolgi. Retenció de proteïnes residents de Golgi. Rescat de proteïnes escapades. Classificació i distribució de proteïnes al TGN. Desorganització durant la mitosi. Transport a través del citoesquelet

16. Biogènesi de lisosomes: Endosomes/Lisosomes. Transport d'enzims hidrolítics. Reciclatge dels receptors MPR. Transport de proteïnes de membrana. Aportació de material a degradar. Malalties relacionades amb els lisosomes.

17. Biogènesi de membrana plasmàtica: Membrana apical. Membrana basolateral. Tipus de transport. Empaquetament selectiu.. Enviament a l'atzar. Transcitosi

18. Secreció de proteïnes a l'espai extracel·lular: Constitutiva. Regulada Formació grànuls de secreció. Hidròlisi proteolítica específica. Exocitòsi

Control del cicle cel·lular

19. Regulació cicle cel·lular: Fases del cicle cel·lular. Control del cicle cel·lular. Mecanismes de regulació. Proteïnes kinases depenent de ciclines (CDKs). Fase G1. Model de punt de control per dues onades de resposta. Altres factors de control a G1. Fase S. Fase G2. Fase M

20. Apoptosi: Necrosi. Apoptosi. Diferències entre necrosi i apoptosi. Apoptosi en organismes unicel·lulars. Inductors i inhibidors de l'apoptosi. Gens implicats en el procés d'apoptosi. Canvis en el nucli. Apoptosi i cicle cel·lular. Apoptosi i càncer. Apoptosi i cèl·lules anòiques

21. Càncer. Proto-oncogens. Gens supressors de tumors. Cicle cel·lular, apoptosi i càncer.

Transmissió de senyals

22. Vies de senyalització: Tipus de comunicacions intercel·lulars. Bases de la comunicació intercel·lular. Components de les vies de senyalització. Tipus de senyals. Formes de comunicació. Receptors de senyals. Tipus de resposta. Amplificació i distribució del senyal. Regulació del senyal

23. Segons missatgers: cAMP. Activació PKA per cAMP. cGMP. Metabolisme de fosfolípids de inositol i inositol fosfats. Acció fosfolipasa C. Via Inositol trifosfat i alliberament de Ca^{2+} . Via Diacilglicerol i activació de PKC. Acció PI3-Kinasa. Paper del Ca^{2+} com a segon missatger. Altres missatgers. Molècula senyal NO. Receptors de NO

24. Transmissió de senyals via proteïna Ras: Ras proteïna. Funció de GAP i GEF. Raf-kinasa efector de Raf. Altres efectors

25. Transmissió de senyals via MAP kinases: Organització de les vies MAPK. Components de les vies. Senyals activadores de MAPK

26. Receptors de membrana associats a les Tyr-kinases: Citoquines. Activació receptors de citoquines. Via senyalització Jak-Stat. Transducció de senyals via integrines.

Regulació de l'expressió gènica

27. Introducció a la regulació de l'expressió gènica: Regulació gènica.

Nivells de control. Bases de la regulació

28. Regulació de la transcripció: Mecanisme general. Requeriments funcionals. Regulació repressors/activadors. Modificació proteïnes reguladores. Activadors transcripcionals. Regulació dels factors de transcripció (TF). Repressió específica. Accessibilitat al DNA.

29. Regulació post-transcripcional: Maduració mRNA. Poliadenilació alternativa. Splicing alternatiu. Transport mRNA. Estabilitat mRNA. Regulació nivells traducció

30. Regulació activitat enzimàtica: Per molècules efectores. Regulació alostèrica. Unió a activadors/inhibidors. Regulació per fosforilació. Regulació per proteòlisi. Degradació de proteïnes. Ubiquitin proteasome.

PRÀCTIQUES

- 1. Subcultiu d'una línia cel·lular establerta (cèl·lules VERO)**
- 2. Control del creixement d'un cultiu cel·lular**
- 3. Establiment d'un cultiu primari a partir de fetus de ratolí**
- 4. Detecció per immunofluorescència de microtúbuls en cèl·lules Vero**
- 5. Transfecció cel·lular amb plàsmids portadors de proteïnes fusionades amb proteïnes fluorescentes**
- 6. Detecció in vivo per immunofluorescència de diferents estructures cel·lulars (producte de la transfecció). Observació al microscopi làser confocal**
- 7. Obtenció del cariotip modal d'una línia cel·lular**
- 8. Congelació i descongelació de cèl·lules**
- 9. Detecció de cèl·lules apoptòtiques mitjançant Annexina-V-FLUOS**
- 10. Observació al microscopi electrònic de transmissió (TEM)**
- 11. Observació al microscopi electrònic de rastreig (SEM)**
- 12. Problemes**
- 13. Discussió dels resultats**

BIBLIOGRAFIA

Llibres de text:

- *Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 2002. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Garland Science. New York.
- *Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser CA., Krieger M., Scott, MP., Zipursky SL., Darnell J. 2003. Molecular and Cell Biology. 5th edition. WH. Freeman and Company. New York.
- *Pollard TD., Earnshaw WC. Cell Biology. 2002. Saunders (Elsevier Science).USA.

Llibres especialitzats:

- *Biochemistry of signal transduction and regulation. Gerhard Krauss (2nd edition). Wiley-VCH, 2001
- *Principles of nuclear structure and function. Peter R. Cook. Wiley-Liss, 2001
- *The molecular biology of programmed cell death. MD Jacobson, N McCarthy. Oxford University press, 2002
- *Culture of animal cells. A manual of basic technique (4th ed.) RI Freshney. Wiley-Liss, 2000

Revistes de revisió:

- *Current Opinion in Cell Biology. CB Current Biology
- *Trends in Cell Biology. Elsevier Trends Journals
- *Current opinion in structural biology. London: Current Biology

CRITERIS D'AVUACIÓ

Examen escrit amb preguntes àmplies a desenvolupar per part de l'alumne. Al menys una pregunta serà la resolució d'un problema semblant als que s'hagin dut a terme en les pràctiques d'aula.

Pràctiques de laboratori obligatòries. Seran avaluades al mateix laboratori.

Nota teoria + nota pràctiques = Nota assignatura

Teoria (90 % nota)

Preguntes curtes + problema = nota teoria

Pràctiques (10 % nota)

Assistència

7 dies → 1

6 dies → 0,5

5 dies → 0 (examen especial)

Valoració resultats diferents experiments

Assistència (>0) x resultats = nota pràctiques