

PROGRAMA ANALÍTICO DEL CURSO "TOPICOS EN BIOFISICA MOLECULAR"

1. INTRODUCCIÓN A LA CÉLULA. Diversidad y características comunes de las células. Todas las células son procariotas o eucariotas. Célula procariota: características generales, pared celular, forma, tamaño, diversidad bioquímica. Célula eucariota: características generales, forma, tamaño, diferencias entre célula animal y célula vegetal. Organización molecular de las células eucariotas: la membrana plasmática, el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi, el núcleo, lisosomas, peroxisomas, cloroplastos y mitocondrias, el citoesqueleto. La evolución de la célula: la diversidad del genoma y el árbol de la vida; evolución de los genes. Integrando las células en tejidos: organización de las células y clasificación de los tejidos. Tejido epitelial: generalidades, tipos y función. Tejido conectivo: componentes, función. Tejido muscular: clasificación y descripción, función, mecanismo de contracción muscular. Biofísica de la contracción muscular. Tejido nervioso: componentes, funciones, potencial de membrana, transmisión sináptica, estructura-función de los canales iónicos, unión neuromuscular. Biofísica de los canales iónicos. Sangre: componentes y función.

2. FUNDAMENTOS QUÍMICOS. Conceptos básicos de la química de la vida. Propiedades físicas del agua: estructura del agua. El agua como solvente. El efecto hidrofóbico. Ósmosis y difusión. Propiedades químicas del agua: ionización del agua, constante de disociación del agua y pH. Equilibrio químico. Química ácido-base, definición de Brønsted-Lowry, constante de disociación de un ácido, pK y ecuación de Henderson-Hasselbalch. Soluciones tampones, curvas de titulación y el sistema tampón del bicarbonato (sangre-pulmones). Macromoléculas de las células: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos. Estructura, función, flujo de la información. Configuración molecular. Conformación molecular. Estereo-especificidad. Aminoácidos. Monosacáridos. Lípidos y membranas biológicas: composición, función, transporte a través de la membrana. Metabolismo y funciones de la célula: fundamentos, bioenergética,

3. PROTEÍNAS: estructura primaria, estructura tridimensional (secundaria, terciaria y cuaternaria). Tipos de proteínas. Enzimas. Estabilidad de las proteínas. Plegamiento de las proteínas. Función de las proteínas: mioglobina y hemoglobina, cooperatividad, proteínas del citoesqueleto y motores moleculares, receptores de membrana. Evolución de las proteínas.

4. ÁCIDOS NUCLEICOS Y LA INFORMACIÓN GENÉTICA: introducción a la estructura de los ácidos nucleicos. La doble hélice de ADN: geometría, flexibilidad, longitud de contorno y longitud de persistencia, superenrollamiento. Fuerzas que estabilizan las estructuras de los ácidos nucleicos. Función de los ácidos nucleicos. Repaso de los procesos de replicación, reparación y recombinación de ADN. Interacciones ADN-proteínas: factores de transcripción, endonucleasas de restricción, estructura del cromosoma eucariótico.

5. CÓMO SE ESTUDIAN LAS CÉLULAS. Visualización, aislamiento, fraccionamiento y cultivo de células. Microscopía óptica: observación de las distintas estructuras celulares y localización de moléculas dentro de las células. Microscopía Electrónica de transmisión y de barrido: métodos y aplicaciones.

6. CÓMO SE ESTUDIAN LAS MOLÉCULAS. Purificación y análisis de proteínas y de ácidos nucleicos: cromatografía, electroforesis, ultracentrifugación. Secuenciación de proteínas y de ácidos nucleicos. Manipulación de ADN: clonado, librerías de ADN, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante. RMN, cristalografía de rayos-X. Pinzamiento zonal de membrana (patch-clamp) para el estudio de canales iónicos: concepto y aplicaciones. Microscopías de alta resolución para el estudio de biomoléculas. Introducción, principios básicos, métodos relacionados y aplicaciones. Microscopías de barrido por sonda para el estudio desde

moléculas individuales hasta las células. Métodos de visualización y manipulación de moléculas individuales: AFM-espectroscopía de fuerza, pinzas ópticas, CARS.

1) Bibliografía

Libros de texto de Biología

- Molecular Biology of The Cell, Fourth Edition by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. Publisher: Garland Publishing Inc. Todas las ediciones.

Libros de texto de Bioquímica

- Biochemistry, Stryer, Publisher: W. H. Freeman. Todas las ediciones.

Libros de texto de Biofísica

- Biophysical chemistry, Part I-III, Cantor and Schimmel. Publisher: W. H. Freeman.
- Biophysics: an introduction. R. Cotteril. Publisher: Wiley.



microscopio de fluorescencia, analizar espectros de diferentes fluoróforos y discutir la configuración de los cubos (filtro de excitación, espejo dicróico y filtro de emisión) para cada muestra comparando los espectros de los fluoróforos utilizados y de los cubos disponibles en el microscopio. Además, calibrar la resolución del microscopio, obtener de imágenes en distintos canales, corregir ruido de fondo y sangrado espectral.

Las actividades consisten en observar muestras de nano y microesferas fluorescentes para la calibración de la resolución del microscopio (función de dispersión de punto o PSF) en el plano de la muestra. Se analizará también una muestra comercial de células marcada con tres sondas fluorescentes, así como las células preparadas y fijadas químicamente según el protocolo realizado en la práctica n° 3. Se caracterizará la uniformidad en la iluminación, el ruido de fondo y se analizará la presencia de sangrado espectral en caso de utilizarse varios canales. Se estudiará cómo afecta la resolución del microscopio en la visualización de los diferentes tipos de muestras.

Práctica de laboratorio n° 5: Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). Los objetivos de esta práctica son: identificar las partes y familiarizarse con el funcionamiento del Microscopio de Fuerza Atómica, obtener imágenes de topografía de muestras biológicas y utilizar al AFM a través de la espectroscopía de fuerza para desplegar moléculas individuales de la proteína Fibronectina.

Las actividades consisten en la preparación de muestras de moléculas de ADN individuales adsorbidas sobre sustratos de mica, y su visualización en los diferentes modos de operación del microscopio. De las imágenes obtenidas, se analizará la longitud de contorno de las moléculas y su espesor, teniendo en cuenta la resolución del microscopio. Se preparará también una muestra de la proteína fibronectina y se tomarán curvas de fuerza de desplegado de moléculas individuales en el modo espectroscopía de fuerza. Se calibrará la constante elástica de los sensores de fuerza utilizados y la sensibilidad del microscopio, para así cuantificar del análisis de las curvas de fuerza obtenidas los parámetros biofísicos relevantes: longitud de contorno y fuerza de desplegado de cada dominio molecular.

Práctica demostrativa de laboratorio: Microscopía Electrónica. Los objetivos de esta práctica son: identificar las partes y familiarizarse con el funcionamiento del Microscopio electrónico de Barrido, obtener imágenes de topografía de muestras biológicas y discutir la preparación de muestras y las aplicaciones.

3. Discusión de trabajos

La materia tratará las bases moleculares de biología, la bioquímica y diferentes técnicas biofísicas, y está orientada a estudiantes de física que estén interesados en abordar temas interdisciplinarios. Las revisiones que se discutirán son:

Thomas E. Fisher, Andres F. Oberhauser, Mariano Carrion-Vazquez, Piotr E. Marszalek and Julio M. Fernandez. The study of protein mechanics with the atomic force microscope. *TIBS* Vol. 24, pp. 379-384, 1999.

Roland Brock, György Vámosi, György Vereb, and Thomas M. Jovin. Rapid characterization of green fluorescent protein fusion proteins on the molecular and cellular level by fluorescence correlation microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 96, pp. 10123-10128, 1999- Biophysics.

Hernan E. Grecco, Philippe Bastians. *Live Cell Imaging: A Laboratory Manual*, Second Edition. Edited By Robert D. Goldman, Feinberg School of Medicine Northwestern University; Jason R. Swedlow, The University of Dundee; David L. Spector, Cold Spring Harbor Laboratory.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 494.488 / 2008

Buenos Aires,

18 NOV 2013

VISTO:

la nota presentada por el Dr Pablo Mininni, Director del Departamento de Física, mediante la cual eleva al Sr. Decano la información y el programa del curso de posgrado **Tópicos en biofísica molecular**, que dictará en el **segundo** cuatrimestre de 2013, la Dra. Lia Pietrasanta.

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado el 29/10/2013,
lo actuado por la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Posgrado,
lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo N° 113° del Estatuto Universitario,

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:

Artículo 1°: Autorizar el dictado del curso de posgrado **Tópicos en biofísica molecular**, de 128 hs. de duración.

Artículo 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado **Tópicos en biofísica molecular** (obrante a fs 29-30 y 33-34) en el expediente de la referencia.

Artículo 3°: Ratificar un puntaje máximo de cinco (5) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4°: Aprobar un arancel de 20 módulos. Disponer que los fondos recaudados en concepto de aranceles deberán ser utilizados conforme a la resolución CD 072/2003.

Artículo 5°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Física, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Subsecretaría de Posgrado (con fotocopia del programa incluida, fs 29-30 y 33-34). Cumplido, archívese.

Resolución CD N°
SP/med 29/10/2013

2718-1

Dr. JAVIER LÓPEZ DE CASENAVE
SECRETARIO ACADEMICO

Dr. JORGE ALIAGA
DECANO