

48
9B.
52

1.- Generalidades.

DNA y transmisión de información. Genes. Transducción por fagos. Estabilidad bioquímica del DNA. Localización. DNA y ciclo celular. Aislamiento y purificación de DNA. Métodos de centrifugación: Sedimentación por velocidad (límite móvil y zonal. Medio homogéneo y gradiente) y Equilibrio de sedimentación. Factores actuantes en cada caso y utilidad práctica.

2.- Estructura del DNA I - Procariotes.

Regla de Chargaff. Estructura primaria y secundaria (Watson y Crick). Desnaturalización y renaturalización. Factores que influyen. Análisis de secuencia de nucleótidos (Sanger y Coulson, Fago X174).

Estructuras superiores: Cromosoma circular de *E. coli* (Cairns), plegamiento y "loops" (Worcel y Burgi). Concepto de superhelicidad (Vinograd). Demostración de la estructura del DNA del fago X174 (Sinsheimer). Estructura del fago lambda (extremos cohesivos). Enzimas relajantes.

3.- Estructura del DNA II - Eucariotes.

Composición de la cromatina. Unidades estructurales repetitivas. DNA asociado a nucleosomas. Núcleo nucleosomal. DNA espaciador. Identidad entre las unidades repetitivas física y bioquímica. Asociación de las histonas (R. Kornberg). Octámero. Auto-asociación de histonas y DNA. Compactación del DNA en los nucleosomas Superhelicidad y nucleosomas. Heminucleosomas. Nucleofilamento. Fibras solenoidales. Papel de H1. Loops. Estructura de los cromosomas metafásicos. Papel de las proteínas no histónicas (Laemmli).

4.- Duplicación del DNA.

Procariotes: Semiconservaticidad (Meselson y Stahl). Horquilla de replicación (Cairns). Velocidad. Replicación múltiple (Wake). Periodicidad (Nagata y Meselson) Bidireccionalidad (Masters y Broda). Origen de replicación asociado a membrana (Suzuka). Eucariotes: Múltiples replications por cromosoma. Velocidad. Síntesis discontinua (Kriegstein). Bidireccionalidad.

5.- Cantidad y calidad de la información genética.

Heterogeneidad en el contenido de DNA de distintas especies. DNA catélites. Reasociación de DNA (Britten y Kohne). Secuencias repetitivas. Longitud y distribución. Hibridización "in situ". Función de los DNA repetitivos (repetitividad media y alta). Posible mecanismo de procedencia de las secuencias repetitivas.

6.- Mecanismo de replicación a nivel molecular: ADN polimerasa I de Kornberg y sus actividades anexas; requerimientos, dirección y velocidad de síntesis. Síntesis discontinua: segmentos de Okazaki. Ligasa: propiedades, cofactores, mecanismo de acción.

7.- El caso del fago Φ X174: propiedades. Circularidad. Las formas replicativas: síntesis. Multiplicación de las formas replicativas. Síntesis del ADN viral. Fidelidad de la copia: Síntesis "in vitro" de un ADN infeccioso.

8.- Iniciación de la replicación: el caso del fago M13. Inhibición por Rifampicina. ARN iniciador. Especificidad de la iniciación: La proteína desenrollante del ADN. Modo de acción. Iniciación en el Φ X 174: resistencia a la Rifampicina. Necesidad de un ARN iniciador y su unión covalente al ADN naciente. El multicomplejo enzimático de la iniciación: el caso del fago G 4. Estructura secundaria del ARN iniciador. Iniciación "in vivo" en bacterias: el ARN en los segmentos de Okazaki. Tamaño. Unión al extremo 5' del ADN: estructura.

- 9.- Elongación de las cadenas del ADN: Las enzimas α y β . Formación de cadenas virales. El modelo del círculo rodante. Extensión a otros ADN circulares y lineales. La mutante de De Lucia y Cairns: ADN polimerasas II y III. Propiedades: su papel en la síntesis del ADN. ADN polimerasas en células eucariontes.
- 10.- ARN. Estructura general. Composición de bases. Propiedades. Diferentes clases de ARNs.
- 11.- ARN de transferencia. Estructura primaria, secundaria y terciaria. Presencia de bases raras; demostración de la estructura primaria.
- 12.- Funcionalidad del tRNA. Carga del aminoácido. Especificidad de la carga. Extremo CCA terminal. Función del tRNA como supresor de mutaciones. Genes que codifican para el tRNA. Precursores del tRNA.
- 13.- Aminoacil tRNA sintetasas. Propiedades generales. Regulación.
- 14.- RNA ribosomal. Clases principales en sistemas eucariontes y procariotes. Composición de bases. Codificación de los genes para el ARN ribosomal. Amplificación genética. Redundancia de los genes ribosomales.
- 15.- Biosíntesis y maduración del ARN ribosomal. Precursores, diferentes etapas de la maduración, presencia de bases metiladas, función de las mismas.
- 16.- ARN mensajero. Función. Descubrimiento. Propiedades generales. Hibridización. Biogénesis. ARN polidisperso nuclear. Presencia de poli A en el extremo 3'. Estructura particular del extremo 5'.
- 17.- ARN polimerasa de procariotes. Purificación. Propiedades. Estructura. Subunidades y función; mecanismo cíclico de la subunidad sigma. Factores de terminación, Complejos de iniciación y elongación.
- 18.- ARN polimerasa de eucariontes. Presencia de isoenzimas. Clasificación. Propiedades. Función de cada una de ellas.
- 19.- Regulación de la síntesis de ARN. AMP cíclico en sistemas bacterianos. Proteína receptora. Aislamiento. Propiedades. Función.
- 20.- Regulación de la síntesis de ARN por nucleótidos de guanosina. Aislamiento y estructura de los mismos. Síntesis. Genes que intervienen. Inhibición de la iniciación de síntesis del ARN ribosomal. Síntesis de proteínas en la respuesta "stringent" y "relaxed".
- 21.- Ciclo ribosomal en bacterias y sistemas eucariontes. Ribosomas. Polisomas. Código genético. Factores de iniciación, elongación y terminación. Rol del GTP. Regulación de la iniciación en sistemas de reticulocitos.

-----oo00oo-----

