



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

AÑO 1983

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO: Química Biológica, "Programa de Ingeniería Genética y Biología Molecular
INGENI - CONICET"

ASIGNATURA: "REGULACION METABOLICA"

CARRERA: Curso de post-grado

ORIENTACION: Química Biológica

DURACION DE LA MATERIA: 3 meses.

HORAS DE CLASES: a) Teóricas: 180hs

B) Problemas: 25 hs

c) Laboratorio: 100hs

d) Seminarios: 25 hs

e) Totales: 330 hs

COORDINADORA: Dra. María Susana Di Bernardo de Passeron. Profesora Titular dedicación exclusiva. Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. U.B.A.

DIRECTORA: Dra. Hirtha M. Flaviá. Profesora Asociada del Instituto de Investigaciones Bioquímicas Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. U.B.A. INIBI-CONICET.

PROGRAMA TEORICO.

Bioenergética: Leyes de la Termodinámica. Concepto de energía libre y entropía. Termodinámica de los sistemas abiertos. Concepto de caminos metabólicos y su estructura. Reacciones acopladas, reacciones anabólicas, catabólicas y anfibólicas. Transferencia de grupos y concepto de energía de unión.

Cinética Enzimática: Orden de reacción. Teoría de los equilibrios rápidos. Teoría del estado estacionario. Inhibición enzimática; sus tipos. Activación enzimática. Teoría de los sistemas alostéricos; modelos. Catálisis enzimática; modelos.

Regulación de la actividad enzimática: Niveles de regulación. Inducción y represión. Modificaciones covalentes de las enzimas. Proenzimas. Fosforilación enzimática. Adenilación enzimática. Interacción de enzimas con macromoléculas y metabolitos. Circuitos de retroinhibición y/o modulación. Concepto de sistemas de amplificación en cascada. Concepto de isoenzimas.

Estructura y función de las membranas biológicas: Componentes y modelos de estructura de las membranas. Modelo de Danielli y Dawson. Unidad de membrana. Modelo de Singer y Nicholson; concepto de fluidez. Métodos para el estudio de las membranas. Sistemas modelos: interfases agua-aire; membranas negras; liposomas.

Funciones asociadas a membranas:

Receptores:

Receptores de membrana y acción hormonal. Relación entre "binding" y actividad biológica. Identificación: consideraciones generales. Ensayos de "binding" a células y membranas. Cinética de la interacción hormona-receptor. Análisis del "Steady state". Cooperatividad

Aprobado por Resolución CA 386/83

...///



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

negativa versus heterogeneidad. Plot de Scatchard. Solubilización de receptor. Receptores localizados en las membranas.

Insulina:

Generalidades. Ensayo. Localización subcelular. Modificaciones enzimáticas. Linfocitos y transformación. Purificación del receptor.

Toxina del cólera. Receptor del glucagón. Receptores de narcóticos. Receptores adrenérgicos y colinérgicos.

Desensibilización y "down-regulation". Naturaleza de estos fenómenos. Endocitosis de los receptores. El receptor como entidad separada de la adenilato ciclasa. Transferencia de receptores.

Modo de acción hormonal - Nucleótidos cíclicos:

Adenilato ciclasa.

Localización: relación con los fosfolípidos; peso molecular. Características termodinámicas de la reacción. Acción de los nucleótidos sobre la adenilato ciclasa. Efecto del GTP P (NH) P. Desensibilización. Activación por fluoruro, glucagón, toxina del cólera. Solubilización.

Estimulación hormonal de la adenilato ciclasa. Acoplamiento del receptor a la enzima.

Papel del GTP, Ca^{++} , lípidos y movilidad de la membrana.

Mecanismos de "coupling" receptor-adenilato ciclasa. Regulación del "binding" del receptor. Papel del GTP y Mg^{++} . Subunidades de la adenilato ciclasa. Purificación y parámetros moleculares. Experimentos de reconstitución del sistema holociclasa.

La información genética: su estructura y forma de transferencia.

Estructura del DNA: modelo de Watson y Crick. El código genético; su ambigüedad y tipos. Señales de puntuación. El sitio de unión al ribosoma. Marcos de lectura. Superposición de genes. Estructura de la cromatina; el nucleosoma. Intrones y exones. Concepto de DNA repetitivo.

La replicación del material genético:

Concepto de replicación. El modelo semiconservativo. Etapas del proceso replicativo.

Origen de replicación. El tenedor replicativo. Fragmentos de Okazaki y el "priming" de la replicación. Sistemas enzimáticos afectados al proceso replicativo. Topoisomerasas. Sistemas de reparación y enzimas involucradas. Algunos modelos de replicación: replicación del fago OX174; replicación del fago; teoría del círculo rodante; replicación del virus de polio; replicación del cromosoma bacteriano; replicación en eucariotes. Acción de antibióticos sobre la replicación.

La transcripción del material genético:

Etapas y características del proceso de transcripción. Concepto de operón, promotor gen operador y genes estructurales. Modelos de operones.

El ácido ribonucleico y sus diferentes especies:

Las RNA polimerasas bacterianas; factores proteicos que las regulan. Las RNA polimerasas eucarióticas; factores regulatorios. Concepto de inducción, represión, pausa y terminación;

[Handwritten signature]

Aprobado por Resolución CA 386/83

...///



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

características y regulación.

Procesamiento de las diferentes especies de RNA. El proceso de "splicing". Poliadenilación y formación del "cap". Modificación de los RNA. Acción de antibióticos, sobre la transcripción.

La traducción del mensaje genético

Estructura de los RNA de transferencia y el proceso de aminoacilación. Estructura del RNA mensajero. Estructura del ribosoma. Etapas en el proceso de traducción. Concepto de polisoma. El ciclo del ribosoma. El proceso de iniciación; complejo de iniciación y factores que intervienen. El proceso de translocación y los factores de elongación. La terminación de la traducción y la disociación de los ribosomas. Concepto de polaridad. Mecanismos generales de regulación de la síntesis de proteínas. Acoplamiento transcripción-traducción. Procesos de fosforilación y síntesis de globina. Regulación por disponibilidad de factores. Mecanismos de acción de antibióticos.

Modificaciones post-traduccionales de las proteínas:

Tipos de proteínas y tipos de polisomas. Proteínas de exportación y de membrana. Teoría del "péptido-senal". Glicosilación de proteínas y sus tipos. El ciclo de los isoprenil-fosfato-azúcares. Otras modificaciones post-transcripcionales: hidroxilación, alquilación y fosforilación, etc.

PROGRAMA PRACTICO.

1. Purificación de una enzima.
2. Determinación de parámetros cinéticos y moleculares.
3. Regulación hormonal.
4. Técnicas físicas para el estudio de macromoléculas: Ultracentrifugación en gradientes de densidad, volúmenes parciales específicos y constante de sedimentación. Filtración en geles; concepto de radio de Stokes. Cromatografía de intercambio iónico e hidrofóbico. Electroforesis en geles. Enfoque isoeléctrico. Espectrofotometría y espectrofluorimetría de macromoléculas; sus distintos tipos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Enzyme Kinetics Irwin Segel Ed. 1972.
- 2.- Cellular Energy Metabolism and Its Regulation. D. Atkinson. Acad. Press.
- 3.- Adv. in Cyclic Nucleotide Research Vol 14 (1981).
- 4.- Adv. in Cyclic Nucleotide Research Vol 13 (1980)
- 5.- Annual Rev. of Biochemistry Vol. 49 (1980).

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

DR. M. SUSANA D. B. DE PASSERON
DIRECTORA
DID. QUIMICA BIOLÓGICA

Aprobado por Resolución CA 386/83