



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

Bs.As. Noviembre 1° de 1990

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS AÑO 1990

ASIGNATURA: CITOQUIMICA DE ACIDOS NUCLEICOS

CARRERA/S : -

CARACTER: Post-grado, Doctorado (optativo)

DURACION DE LA MATERIA: Tres semanas

HORAS DE CLASE: a) Teóricas: 25 hs.

b) Problemas: -

c) Laboratorio: -

d) Seminarios: -

Total de horas: 25

ASIGNATURAS CORRELATIVAS: Química Biológica I y II

- Tema 1. PROGRAMA: Introducción a la metodología citoquímica. Objetivos y campos de aplicación. Tipos de reacciones. Problemas de fijación y de reactividad del sustrato. Uso de controles. Reactividad de los compuestos usados. Falsos positivos y falsos negativos. Evaluación de resultados.
- Tema 2. Citoquímica óptica y ultraestructural. Grupos químicos a ser demostrados. Mecanismos de reacción. Uniones iónicas, hidrofóbicas, covalentes, y puentes de hidrógeno. Reacciones orto - y metacromáticas. Afinidad, selectividad, especificidad e intensidad de reacciones citoquímicas.
- Tema 3. Estructura de ácidos nucleicos. Conformación de la pentosa y del enlace glucosídico. Polinucleótidos de cadena simple y doble. Tipos de hélice y detalles conformacionales. Canal mayor y canal menor. Formas A, B, y Z del DNA. Construcción de modelos moleculares.
- Tema 4. Organización citológica del DNA y del RNA. Complejos nucleoproteicos. Estructura de la cromatina y del ribosoma. Repercusión de la estructuración sobre la reactividad de los ácidos nucleicos.
- Tema 5. Demostración de grupos químicos en los ácidos nucleicos. Introducción a la reactividad de la pentosa, de las bases y del fosfato. Aspectos generales de la unión con pequeñas moléculas. Unión con monómeros y con agregados.

Algranati

Firma Coordinador.....
Dr. Israel D. Algranati

Huemmu

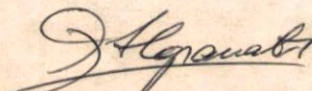
DE HECTOR CARMINATT.
DIRECTOR INTERINO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES




UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

//

- Tema 6. Propiedades ópticas de los ácidos nucleicos. Absorción electrónica. Propiedades de emisión de fluorescencia y de fosforescencia. Fenómenos de birrefringencia en solución y en estado sólido. Organización colestérica del DNA.
- Tema 7. Cromóforos. Colorantes y fluorocromos. Tipos de colorantes: iónicos, hidrofóbicos y reactivos. Colorantes orgánicos e inorgánicos. Compuestos de valencia mixta. Propiedades químicas y físicas.
- Tema 8. Estructura química de los cromóforos. Dobles enlaces conjugados y resonancia. Coplanaridad. Características espectrales de absorción y de emisión. Influencia del solvente, pH, fuerza iónica, temperatura, y presencia de sustratos y co-solutos. Colorantes no-cargados. Predicción de propiedades de tinción y de fluorescencia.
- Tema 9. Geometría de los cromóforos. Estructura plana y no-plana, rígida y flexible. Disipación de la energía del estado excitado. Fenómenos de hipo- e hiperemisión. Transferencia de energía entre cromóforos vecinos.
- Tema 10. Análisis citoquímico mediante métodos físicos. Microscopía de polarización. Casos de birrefringencia de la cromatina y significación. Dicroísmo lineal y fluorescencia polarizada. Aplicaciones en el estudio de estructuras celulares.
- Tema 11. El grupo fosfato. Reactividad hacia diferentes cationes. Reacciones de basofilia y de metacromasia; ejemplos más importantes. Competencia iónica: concentración crítica de electrolito. Cationes inorgánicos de interés: aluminio, indio, bismuto, plomo, lantánidos y actínidos. Formas de unión. Microanálisis de rayos X.
- Tema 12. Complejos metálicos con distintos ligandos. Propiedades de tinción y de fluorescencia. Lacas de hematoxilina con Al, Fe, Cr, In. Lacas de carmín y de galocianina. Ligandos fluorescentes de Al: hidroxiquilonina, antraquinonas, flavonoles. Compuestos simples y complejos de Ru. Estructuras quirales. Utilización e importancia citoquímica de las técnicas correspondientes.
- Tema 13. Metales pesados y contraste en microscopía electrónica de transmisión. Citoquímica ultraestructural del DNA y RNA. Técnicas selectivas: uranilo, uranilo-EDTA-plomo, indio, PTA, tungstato. Hidrólisis alcalina y técnicas de bloqueo.
- Tema 14. Otros métodos en citoquímica ultraestructural. Acriflavina-PTA, diaminobencidina-osmio, osmio/p-fenilendiamina, rojo de rutenio, compuestos de plomo, talio, platino y paladio. Selectividad y mecanismos de interacción.
- Tema 15. Intercalación de cromóforos en polinucleótidos de cadena doble. Características y formas de estudio de la unión intercalante. Fenómenos de afinidad y de intensidad de fluorescencia. Agentes competidores de la unión intercalativa. Mono- y bis-intercaladores. Intercaladores pesados. Ftalocianinas: azul alcian, azul cuprolínico.
- Tema 16. Compuestos intercalantes más usados en citoquímica. Acridinas. Fenantridinas. Azinas. Antibióticos antraciclínicos. Aspectos metodológicos de interés y aplicaciones. Reacciones orto- y metacromáticas de tinción y fluorescencia por tiazinas y acridinas; caracterización espectral.


Firma Coordinador.....
Dr. Israel D. Algranati


DR. HECTOR CARMINATTI



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

///

- Tema 17. Unión de ligandos no-rígidos al canal menor del DNA. Especificidad y mecanismos moleculares de interacción. Actividad biológica de los ligandos. Reconocimiento de secuencia como bases: factores estereoquímicos, contactos hidrofóbicos y puentes de hidrógeno. Estudio de co-solutos como sistemas modelo de la inserción al canal menor.
- Tema 18. Ligandos del canal menor más usados en citoquímica. Antibióticos oligopéptidos: netropsina y distamicina A. Bis-benzimidazoles: Hoechst 33258 y 33342. Diamidinas sintéticas: DAPI, DIPI, berenil. Trifenil- y difenil-metanos: verde de metilo y auramina. Otros compuestos. Aplicaciones en la caracterización de regiones cromosómicas ricas en adenina-timina.
- Tema 19. Demostración de deoxirribosa. Reacción de Feulgen. Bases del método. Concepción clásica y actual de la recoloración del reactivo de Schiff. Leuco-colorantes de trifenil-metano y de otros grupos. Reacción fluorescente. Importancia y principales aplicaciones de la reacción de Feulgen. Problemas en el análisis cuantitativo del DNA. Contraintenciones.
- Tema 20. Reacciones de tipo Feulgen. Reacciones por leuco-derivados acridínicos. Vertientes ultraestructurales. Feulgen-etilato de talio. Reactivos pesados de tipo Schiff. Rojo de rutenio. Amina de osmio. Plata-metenamina. Compuestos de bismuto. Derivados del ferroceno.
- Tema 21. Mezclas colorantes. Verde de metilo-pironina. Otros pares colorantes. Mecanismos de reacción. Giemsa. Interpretación de las formas de unión de los compuestos integrantes. Selectividad de los métodos de tinción de la cromatina y citoplasma basófilo con mezclas colorantes.
- Tema 22. Técnicas diferenciales para cromatina. Incorporación de precursores bromados: bromo-deoxiuridina. Fluorescencia y fotosensibilización. Estudio de patrones de replicación del DNA y de intercambio entre cromátidas hermanas. Técnicas de bandeado C y G. Efecto del tratamiento alcalino y de enzimas de restricción. Mecanismos de tinción diferencial.
- Tema 23. Métodos autorradiográficos, inmunocitoquímicos y enzimáticos. Nucleósidos y ligandos tritiados. Hibridización con sondas marcadas. Empleo de anticuerpos poli- y monoclonales contra diversos tipos de polinucleótidos y derivados de bases. Importancia actual de reacciones citoquímicas para el reconocimiento de secuencias del DNA. Enzimas marcadas. Técnica del oro coloidal.
- Tema 24. Citometría de flujo. Descripción del método y formas de representación de los datos. Análisis bi- y multiparamétricos. Uso de reacciones específicas de fluorescencia. Cromomicina y mitramicina; formas de unión al DNA. Aplicaciones más importantes de las técnicas de flujo; poblaciones celulares y fracciones sub-celulares.
- Tema 25. Evolución histórica de la metodología citoquímica para ácidos nucleicos. Importancia actual de su aplicación en el área biomédica. Implicaciones como campo de trabajo multidisciplinario. Perspectivas de mayor interés en el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas.

BIBLIOGRAFIA: -----

Firma Coordinador.....
Dr. Israel D. Algranati

DR. HECTOR CARMINATTI
DIRECTOR INTERINO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
Y NATURALES - U. B. A.