

Biologia Cel·lular

Codi: 234001

Tipus: Obligatòria

Coordinadors: Manuel Reina, Jesús Ureña, Jees Pérez- Clausell y Fernando Aguado

Objectius:

Metodologia: Les classes s'impartiran amb ordinador i canó de projeccions. Els alumnes podran obtenir previamente el material de l'assignatura a la assignatura al Campus Virtual de la UB (<http://campusvirtual.ub.edu/>), així com podran accedir a treballs, tasques i exercicis d'autoavaluació tot fent servir Moodle

Criteris d'avaluació: Es realitzarà avaluació continuada : activitats presencials de l'alumne (proves de coneixement (test) / debats / correccions a classe), semipresencials (lectures i tasques al Campus virtual), així com una prova final de coneixements (test + problemes).

Pràctiques : Obligatòries. Abans d'assistir s'han d'haver fet les tasques semipresencials (Moodle) i aprovat el test de coneixements.

Programa de teoria:

1. Citoesquelet

1.0. Introducció

- Característiques moleculars: expressió i formes moleculars
- Equilibri fracció soluble/insoluble: cinètica molecular i proteïnes associades

1.1. Actina

1.1.1. Molècula.

- Expressió i control. Dominis funcionals de G. Formes moleculars. Modificacions postraduccionals

1.1.2. Equilibri G/F *in vitro*: Polimerització

- Cinètica de polimerització/despolimerització (gràfica). Nucleació. Polarització. Concentració crítica. Drogues que afecten la cinètica de polimerització

1.1.3. Equilibri G/F *in vivo*: Proteïnes associades a l'actina

- Control temporal i espacial de l'equilibri G/F *in vivo*. Orientació dels filaments en la cèl·lula. Organització 3D del citoesquelet d'actina: filaments i feixos 1D, xarxes 2D i xarxes 3D.
- Proteïnes associades que controlen la polimerització:
- Proteïnes que controlen la formació de superestructures (feixos i xarxes 2D i 3D)
- Proteïnes que controlen l'organització perifèrica del citoesquelet d'actina
- Proteïnes motores i associades

1.1.4. Regulació funcional de les proteïnes associades a l'actina

- Quinases)
- Família Rho i els seus efectors
- Fosfatidilinositols
- Ca²⁺

1.2. Tubulina

1.2.1. Molècula

- Expressió i control. Factors reguladors de la dimerització. Dominis funcionals. Formes moleculars. Modificacions postraduccionals

1.2.2. Equilibri dímer/microtúbul *in vitro*: Polimerització

- Cinètica de polimerització/despolimerització (gràfica). Nucleació. Inestabilitat dinàmica. Polarització. Concentració crítica. Microtúbuls estables. Drogues que afecten la cinètica de polimerització

1.2.3. Equilibri dímer/microtúbul *in vivo*: Proteïnes associades als MT

- Control temporal i espacial de l'equilibri dímer/microtúbul *in vivo*. MTOC,s. Orientació dels microtúbuls en la cèl·lula. Organització 3D del citoesquelet de tubulina: feixos i estructures altament ordenades (axonema i fus mitòtic).
- Proteïnes que controlen la polimerització
- Proteïnes que controlen la formació de superestructures
- Proteïnes motores

1.2.4. Regulació de les proteïnes associades a microtúbuls

- Fosforilació
- Ca^{2+} /calmodulina

1.3. Filaments intermedis

1.3.1. Molècula

- Expressió i control. Dominis funcionals del polipèptid. Classes de gens (VI-VII) i agrupacions de proteïnes (A-D). Els IF com a marcadors de determinació/diferenciació:distribució cel·lular. Modificacions postraduccional.

1.3.2. Equilibri tetràmer/filament *in vitro*: Polimerització

- Homopolimerització/heteropolimerització. Agregació lateral i elongació. Constitució dels filaments.

1.3.3. Equilibri tetràmer/filament *in vivo*: Proteïnes associades als IF (IFAP)

- Proteïnes d'integració lateral
- Proteïnes d'anclatge terminal
- Proteïnes d'organització 2D i 3D.
- Models d'organització espacial i de transport

1.3.4. Regulació de les IFAP

- Fosforilació: el model del cicle polimerització/despolimerització de les lamines nuclears

1.4. Citoesquelet vegetal

2. Matriu extracel·lular. Adhesió cel·lular. Senyalització intracel·lular

2.1. Matriu extracel·lular

2.1.1. Elements i funcions

- Elements amb gran capacitat de polimerització: fibres
- Elements amb reduïda capacitat de polimerització: homoligòmers i heteroligòmers estructurals.
- Elements d'alta solubilitat: aigua, ions, factors de creixement, hormones, inhibidors enzimàtics.
- Funcions: suport i regulació cel·lular, transport i magatzematge molecular, organització, defensa i reparació tissulars

2.1.2. Matriu animal

- Fibres: Col·làgens de polimerització linial (I, II, III, V, XI); Col·làgens formadors de xarxes 2D/3D (IV, VIII, X); Fibres elàstiques (component amorf, component fibril·lar, EBP, EMILIN)
- Oligòmers: Col·làgens connectors de fibres (VI i VII); Col·làgens no matricials (C1q, surfactants, etc); Glicoproteïnes (laminina, fibronectina, vitronectina, osteonectina, etc...); Proteoglicans i agregats de proteoglicans (expressió cel·lular i extracel·lular)

2.1.3. Matriu vegetal

- Fibres: cel·lulosa
- Oligòmers: Hemicel·luloses (xiloglucans, xilans, β -glucans); Polisacàrids neutres (arabinans, galactans, arabinogalactans); Pectines (poligalacturonans, ramnogalacturonans); Glicoproteïnes (extensines, AGP,s, tionines, enzims, lectines)

2.2. Adhesió

2.2.1. Característiques de les molècules adhesives

- Dominis d'afinitat
- Funció regulable a diferents nivells
- Variabilitat en l'afinitat i especificitat
- Conceptes de receptor, contrareceptor, lligand, homofilia i heterofilia
- Senyalització associada

2.2.2. Mecanismes reguladors de les interaccions adhesives

- Prevalència
- Polaritat
- Conformació/afinitat
- Maduració alternativa de l'mRNA i canvis postraduccional

2.2.3. Integrines

2.2.3.1. Característiques de l'adhesió mitjançada per integrines

- Processos cel·lulars mediat per integrines: adhesió a la matriu extracel·lular i la seva organització, control i reorganització del citoesquelet d'actina
- Contrarceptors implicats en l'adhesió: molècules de la matriu, Ig,s adhesives, cadherina E, ADAM,s
- Contrarceptors no implicats en l'adhesió: MMP,s, complement, invasines
- Afinitat i avidesa

2.2.3.2. Característiques moleculars

- Famílies de subunitats \forall i \exists . Dimerització. Patrons d'expressió tissular
- Dominis funcionals extracel·lulars i intracel·lulars. Interaccions dels dominis extracel·lulars (caveolina-1, TM4, IAP, uPAR). Interaccions dels dominis citoplasmàtics (talina, paxilina, \forall -actinina,)
- Formació dels complexos adhesius (complexes focals, adhesions focals, adhesions fibril·lars, podosomes, hemidesmosomes) i senyalització derivada.

2.2.3.3. Senyalització derivada de l'adhesió per integrines

- Senyalització centrífuga i centrípeta
- Regulació de les activitats tirosínquinasa (famílies FAK i Syk): regulació del cicle cel·lular (proliferació-MAPK, supervivència-Akt, diferenciació-Myc-Mad-Max), del citoesquelet (perifèric, expansions, migració-Rho) i metabolisme (fosfolípids, PIK,s) expressió gènica.
- Regulació de les activitats de ser/thr quinasas (ILK).
- Senyalització derivada de les interaccions directes
- Altres processos cel·lulars modulats per l'adhesió per integrines: alcalinització citoplasmàtica, Ca^{2+} intracel·lular, metabolisme dels fosfatidilinositols i inositols fosfats, migració cel·lular.

2.2.4. Cadherines

2.2.4.1. Característiques de l'adhesió mitjançada per cadherines

- Adhesió intecel·lular. Cadherines i control de la massa dels teixits
- Contrarceptors en les interaccions homofíliques i heterofíliques

2.2.4.2. Característiques moleculars

- Subfamílies: clàssiques, desmosomals i protocadherines. Dominis extracel·lulars. Dimerització funcional. Dominis intracel·lulars
- Interacció amb el citoesquelet d'actina (catenines i placoglobina): Bandes d'adhesió. Interacció amb filaments intermedis (desmocollines i desmoplaquines): Desmosomes
- Regulació de les bandes d'adhesió per fosforilació de cadherines i \exists -catenina; control per Rho

2.2.4.3. Senyalització derivada de l'adhesió per cadherines

- Modulació de la família Rho: regulació del citoesquelet perifèric i la migració cel·lular
- Regulació de la massa de \exists -catenina soluble: control de l'adhesió i control transcripcional (via Wnt-Axina-GSK-APC)

2.2.5. Immunoglobulines

2.2.5.1. Característiques de l'adhesió mitjançada per immunoglobulines

2.2.5.2. Característiques moleculars

2.2.5.3. Senyalització derivada de l'adhesió mitjançada per immunoglobulines

- Interaccions de N-CAM amb les quinasas FAK i Fyn (outside-in). Fosforilació de dominis citoplasmàtics per Ras-MAPK, CKII i Cek5 (inside-out)

2.2.6. Selectines

2.2.6.1. Característiques de l'adhesió mitjançada per selectines

- Adhesió intercel·lular. Control de la migració de leucòcits

2.2.6.2. Característiques moleculars

- Dominis extracel·lulars. Contrarceptors heterofílics (integrines de la família $\exists 2$) i homofílics. Dominis intracel·lulars. Interaccions amb el citoesquelet d'actina.

2.2.6.3. Senyalització derivada de l'adhesió mitjançada per selectines

- Selectina E-SHP2-Shc-Grb2-SOS-Ras-Raf1-MEK-ERK1/2-cfos
- Modificacions en el Ca^{2+} intracel·lular i reorganització del citoesquelet d'actina.

2.2.7. Proteoglicans i ADAM

- Característiques moleculars. Famílies de proteoglicans (sindecà-1 a 4) i ADAM amb característiques adhesives (fertilines \forall i \exists). Contrarceptors.

- Exemples de senyalització: ADAM15/ vía Src i Sindecà-4/PKC \forall

2.3. Senyalització

2.3.1. Introducció

- La cèl·lula com RECEPTOR, INTEGRADOR, TRANSDUCTOR i EFECTOR de senyals. Control del cicle cel·lular (proliferació, diferenciació i apoptosi), de la fisiologia cel·lular (vies i compartiments) i de les seves relacions amb l'exterior (emissió de senyals, moviment i adhesió cel·lular)

2.3.2. Recepció i transducció

- Constant d'afinitat. Receptors en membrana (polipèptids, derivats de l'àcid araquidònic, neurotransmissors, adhesió cel·lular) i la seva associació a canals iònics, proteïnes G i altres activitats enzimàtiques. Receptors citoplasmàtics/nuclears (hormones tiroidees, esteroides, retinoides, vitamina D, guanilatciclase per l'NO)

- Mecanismes i molècules intermediàries de la transducció (PI/IP, ions -potencial de membrana i Ca^{2+} -, AMPc/GMPc, ATP/ADP, GTP/GDP, fosforilació/defosforilació, expressió gènica)

- Canals iònics

- Proteïnes G trimèriques

- Altres activitats enzimàtiques (receptors guanilat ciclase, receptors tirosínquinase, receptors tirosínfosfatase, receptors associats a tirosínquinase, receptors ser/thr quinase. Proteïnes adaptadores (Shc, Grb2, Sos)

- Xarxes de senyalització i mòduls d'acoblament (paxilina, FAK, etc)

3. Transport i compartimentació intracel·lular

3.0. Introducció

- Transport molecular (proteïnes i lípids) i transport membranós i massiu (membrana i càrrega soluble). Orígens i destinacions del transport. Senyals de localització.

- Traducció proteica: regulació del trànsit des dels complexos mRNA/Proteïna als polipèptids: factor d'iniciació (IF) i factors d'elongació (EF). Destinacions dels polipèptids: magatzematge, translocació nuclear, translocació ER co-traducciona i post-traducciona, translocació a membrana per modificacions postraduccionals (farnesil, geranil, GPI), translocació a través de membrana plasmàtica i ER per transportadors ABC, translocació klistosomal, translocació a mitocondris, cloroplasts i peroxisomes. Senyals de localització i de residència.

3.1. Transport nuclear

- Importació i exportació nuclears: difusió lliure, difusió facilitada i transport mitjançat per senyal.

- Elements del transport mitjançat per senyal: carioferines (importines, transportines i exportines), Ran, RanGAP1, RCC1, NTF2, senyals d'importació (NLS, M9, m3G) i exportació (NES, m7G/REF/TAP).

- Mecanismes d'exportació/importació. Regulació pel cicle Ran i per fosforilació dels senyals d'importació/exportació.

3.2. Translocació ER

- Dominis funcionals del ER: síntesi proteica, síntesi de membrana, magatzem de Ca^{2+} i vesiculació/transport. Síntesi de membrana: sintases, síntesi asimètrica i microdominis lipoproteics (raft i altres)

- Translocació co-traducciona: SRP, receptor SRP, translocó/Sec61, complexe Sec62/63, TRAM, BiP

- Translocació post-traducciona: models bacteriana i de llevat

- Processament post-traducciona: proteòlisi, replegament i dimerització (xaperones), control de qualitat. Altres modificacions post-traduccionals no localitzades en el ER.

- Retrotranslocació: proteïnes Hrd i enzims conjugadors de ubicuitina

- Resposta front a proteïnes mal plegades o estrès: proteïnes IRE i Hac1p

3.3. Importació proteica mitocondrial

- Compartimentació mitocondrial. Senyals d'importació. Xaperones i transportadors citoplasmàtics. Complexes Tom, Tim, GIP. Processament proteic intramitocondrial. Xaperones matricials. Redistribució als diferents compartiments funcionals.

3.4. Importació proteica al cloroplast

- Compartimentació mitocondrial. Senyals d'importació. Xaperones i transportadors citoplasmàtics. Complexes Toc i Tic. Processament proteic estromàtic. Xaperones estromàtiques. Redistribució als diferents compartiments funcionals.

3.5. Importació proteica als peroxisomes

- Variabilitat funcional dels peroxisomes. Peroxines. Senyals d'importació PTS1 i PTS2. Importació.

3.6. Degradació proteica

- Lisosomes: importació de proteïnes integrals de membrana i d'enzims
- Proteasomes: components i regulació.

3.7. Transport vesicular

- Transport per vesícules nues i recobertes: endocitosi, exocitosi i transport entre compartiments. Generalitats del transport per vesícules recobertes: COP I, COPII, adaptadors/clatrina.
- Components:
 - * Proteïnes de coberta (clatrina/adaptadors, COP I, COP II, AP3)
 - * Molècules reguladores de la polimerització (ARF, Sar1p, GAPs, GEFs, PI)
 - * Receptors i contrareceptors dels compartiments (v-SNARE i t-SNARE)
 - * Proteïnes de fusió (SNAP, NSF)
 - * Proteïnes reguladores del direccionament-fusió (Rab, efectors de Rab, PL)
 - * Transport ER-Golgi i intraGolgi

3.8. Exocitosi-endocitosi

- Secreció constitutiva i regulada: compartiments d'origen, transport i fusió amb membrana plasmàtica. Càrregues solubles i membrana. Regionalització membranosa: dominis caveoles-raft-glicosinapsi.
- Endocitosi: endocitosi mitjançada per receptor, endocitosi de fase fluida, fagocitosi. Endosomes i reciclatge de membrana.

3.9. Resolució dubtes Transport i Compartimentació intracel·lular

4. Cicle cel·lular

4.0. Introducció

- Fases del cicle cel·lular. Característiques
- Cicles cel·lulars *in vivo*
- Cicle cel·lular en cèl·lules embrionàries
- Tipus principals de control del cicle cel·lular: alternança de fases i control de doble replicació
- Concepte de *checkpoint*

4.1. Maquinària del cicle cel·lular

4.1.1. Quinases dependents de ciclins

- Característiques
- CDKs en diferents organismes (llevats, plantes, mamífers)
- Expressió i mecanismes de control

4.1.2. Ciclines

- Característiques
- Ciclines en diferents organismes (llevats, plantes, mamífers)
- Ciclines implicades en la progressió del cicle cel·lular. Especificitat
- Expressió. Control transcripcional i post-traducciona

4.2. Regulació de l'activitat dels complexos CDK-ciclina

4.2.1. Activació dels complexos CDK-ciclina per CAK

- Fosforilació per CAK
- Regulació de CAK
- CAK i el factor de transcripció basal TFIID

4.2.2. Proteïnes inhibidores dels complexos CDK-ciclina

- Família d'inhibidors INK4 (= Família de p16): p15, p16 i p18
 - * Propietats. Especificitat. Mecanisme d'inhibició
- Família d'inhibidors Cip/Kip (= Família de p21): p21, p27 i p57
 - * Propietats. Especificitat. Mecanisme d'inhibició

4.2.3. Enzims que modifiquen covalentment a les CDKs

- Quinases Wee1 i Myt1
- Família de fosfatases Cdc25

4.3. Control de la mitosi

4.3.1. Control de la transició G2/M

- L'MPF i la seva activitat
- Regulació de l'activitat de l'MPF per CAK, Wee1/Myt1 i Cdc25

4.3.2. Control de la transició metafase/anafase

- El cromosoma metafàsic
 - * Cohesines
 - * Cinetocors
- Regulació de la transició metafase/anafase
 - * Mad i Bub
 - * APC i Cdc20
 - * Segurines i separases

4.4. Control de la transició G1/S

- Ciclines D. Control transcripcional (factors de creixement i dependència de l'ancoratge)
- Activació dels complexos CDK4-ciclina D, CDK6-ciclina D i CDK2-ciclina E
- Proteïna del retinoblastoma
- Família de factors de transcripció E2F
- Regulació de la proteïna del retinoblastoma
- Punt de restricció
- Quiescència
- Complexos CDK-ciclina de G1 i diferenciació cel·lular

4.5. Control de la fase S

- Formació del complex pre-replicatiu: ORC, MCM i Cdc6/Cdc18)
- Activació dels orígens de replicació. Paper de CDK2-ciclina A, Cdc7/Dbf4 i Cdc45
- Control de doble replicació

4.6. Control del cycle cel·lular en resposta al dany en el DNA i als estímuls mitogènics inapropiats

4.6.1. p53

- Funció i característiques
- p53 i la lligasa d'ubiquitina Mdm2

4.6.2. Regulació de p53

- Estabilització i activació de p53 en resposta al dany en el DNA
- Estabilització i activació de p53 en resposta a estímuls mitogènics inapropiats

4.6.3. Regulació del cycle cel·lular per p53, ATM, ATR, Chk1 i Chk2

- Control de les transicions G1/S i G2/M (p21, 14.3.3 Φ)
- Reparació del DNA (Gadd 45 i BRCA1)
- Apoptosi (Bax)

4.7. Senescència cel·lular

- Característiques
- Senescència cel·lular i envelliment dels organismes
- Telòmers i telomerasa
- Longitud dels telòmers i senescència cel·lular

4.8. Oncogens i proteïnes supressores de tumors

4.9. Apoptosi

- Apoptosi vs necrosi. Homeostasi tissular: apoptosi/proliferaçió. L'apoptosi en els mecanismes de defensa
- Control de l'apoptosi: senyals extracel·lulars (supervivència [IGF-1/2, IL-3] i de mort [FAS-L, TNF α]) i senyals intracel·lulars (dany ADN, balança vies de senyalització, etc).
- Control de l'apoptosi: família Bcl-2 i porus associat a la transició a la permeabilitat mitocondrial: citocrom C, canal aniònic i ciclofilina D.
- Control de l'apoptosi: vies p53, PI3K- Akt/PKB

Programa de Seminaris:

- o Seminaris metodològics inclosos a les sessions de teoria.

Programa de pràctiques:

- o **Requisit : Haver fet les tasques semipresencials al Campus virtual y aprovat el test d'avaluació de coneixements (3 oportunitats amb dos dies de diferència).**
- o 5 sessions de 6 hores al laboratorio del Dept de Biología Celular
- o Manteniment d'un cultiu cel·lular
- o Tècniques de congelació i descongelació de cél.lules
- o Inmunocitoquímica
- o Microscopía de fluorescència
- o Mètodes de determinació de la citotoxicitat
- o Mètodes de mesura de la proliferació cel·lular

Bibliografia:

- Molecular Cell Biology, Lodish et al., 5th edition, Freeman ed, (2004)
- Molecular Biology of the Cell, Alberts et al., 4th edition, Garland Press (2002)
- Cell Biology. A laboratory Handbook. Ed. Julio Celis. (1999). Academic Press. 2^a Edición.
- Culture of animal cells. Freshney, RI (1999). John Wiley and Sons. Ltd.
- Current Protocols in Cell Biology. (2001). John Wiley & Sons. Ltd.
- Flow cytometry and cell sorting. Radbruch A. (1999) Springer Verlag.
- Methods in Cell Biology
- Plant cell and Tissue culture for the production of food ingredients. Tong-Jen F (1999) Kluwer Academic.
- Tissue engineering. Morgan JR., Yarmush ML (1999). Humana press.
- The www virtual library of Cell Biology
- ([www. vlib.org/Science/Cell_Biology/methods.shtml](http://www.vlib.org/Science/Cell_Biology/methods.shtml))

* **Assignatures prèvies recomanades:** Citologia, Histologia, Bioquímica, Genètica