

**CURSO “BIOMEMBRANAS: ESTRUCTURA, APLICACIONES Y SEÑALIZACIÓN
CELULAR. BIOTECNOLOGÍA DE TENSIOACTIVOS BIOLÓGICOS”**

Profesorado:

Francisco José Aranda Martínez (fjam@um.es; 968-364760) (Prof. responsable)

Juan Carmelo Gómez Fernández (jcgomez@um.es; 968-364866)

Antonio Ortiz López (ortizbq@um.es; 968-364788)

María Senena Corbalán García (senena@um.es; 968-364775)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

37 horas teóricas 17 horas prácticas 96 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos:

- Comprender los fundamentos teóricos y experimentales de la estructura y función de las biomembranas y sus aplicaciones.
- Conocer la clasificación y bases moleculares de funcionamiento de los principales transductores de señales relacionados con las membranas biológicas. Comprender como se produce la diversidad de transductores de señales y sus distintas regulaciones a partir de combinaciones distintas de moléculas proteicas con los lípidos de las membranas.
- Establecer las bases estructurales y funcionales de los procesos de fusión de membranas. Conocer los modelos más actualizados que explican estos procesos de fusión de membranas en sistemas biológicos, así como algunas de las aproximaciones experimentales para su estudio.
- Estudio de los procedimientos experimentales para la producción de tensioactivos biológicos y de sus principales características físico-químicos, bioquímicas y biológicas. Repasar las principales aplicaciones de índole biotecnológica de este tipo de compuestos.

Programa Teórico:

1. Estructura de las Biomembranas. Perspectiva histórica. Microscopía electrónica de biomembranas. Composición comparada de diversos tipos de biomembranas.
2. Los lípidos de las biomembranas. Descripción de estructuras y propiedades físicoquímicas. Fases líquido-cristalinas. Membranas lipídicas modelo: liposomas. Tipos. Preparación. Caracterización de tamaños y volumen encapsulado.
3. Caracterización física de las dispersiones lipídicas. Diagramas de fases. Calorimetría diferencial de barrido, microscopía electrónica de criofractura, dispersión de rayos X, espectroscopia de RMN de ^{31}P y de ^2H , espectroscopía de infrarrojo, espectroscopía de fluorescencia.
4. Propiedades polimórficas de fase de especies lipídicas individuales y de mezclas lipídicas. Partículas lipídicas. Polimorfismo lipídico y las propiedades de forma de los lípidos. Compartimentación en una membrana continua. Relación con las membranas biológicas. Polimorfismo lipídico y propiedades de la membrana. Péptidos y polimorfismo lipídico. Modulación de la función de las proteínas por los lípidos. Modelo del mosaico metamórfico.
5. Fusión de membranas en sistema modelo. Técnicas experimentales para el estudio de la fusión de membranas en sistemas modelo. Visión general del modelo vigente para explicar el mecanismo de estos procesos.
6. Fusión de membranas biológicas. Fusión de membranas en virus con envuelta. Fusión intracelular de membranas. Exocitosis.
7. Estructura y función de las balsas lipídicas (rafts). Bases físico químicas. Metodos de estudio. Manipulación de los componentes. Visualización en membranas modelo. Biogénesis y tamaño. Nomenclatura. Función.
8. Aplicaciones de los liposomas: membranas modelo, vehículos de fármacos, cosmética, vehículos de genes, sangre artificial. Asimetría de las biomembranas. Aplicaciones a los biomateriales. Biocompatibilidad.
9. Proteínas de biomembranas. Tipos. Modos de estudio de las proteínas de biomembranas. Movilidad. Fotoblanqueo y recuperación de fluorescencia. Morfologías más comunes de proteínas intrínsecas de biomembranas. Estudio de algunos ejemplos.
10. Interacción lípido-proteína intrínseca de biomembrana. Reconstitución de proteínas. Técnicas biofísicas utilizadas. Estudios de monocapas lipídicas en la interfase agua-

aire. Aplicación al estudio de la interacción lípido-proteína. Películas de Langmuir-Blodgett. Aplicaciones en Biotecnología y Biomateriales.

11. Estudio del mecanismo de interacción con la membrana de los distintos dominios proteicos implicados en la señalización celular. Dominios C1, C2, PH, PX, FYVE, ENTH, ANTH, Tubby y FERM.

12. Estudio de la estructura y función de proteínas periféricas de membrana implicadas en señalización celular. Casos concretos de familias proteicas: Proteínas Quinasas C y D; Fosfolipasas C y D; Proteínas quinasas involucradas en el metabolismo de los fosfatidilinositoles; Fosfatasa de lípidos; diacilglicerol quinasas; Factores intercambiadores de nucleótidos de pequeñas GTPasas (GEFs); Proteínas activadoras de GTPasas (GAPs).

13. Tensioactivos y fenómenos de superficie. Propiedades fisicoquímicas de los tensioactivos de aplicación al estudio de las membranas. Calorimetría Isotérmica de Titulación (ITC) para la determinación del coeficiente de reparto y la solubilización de membranas por tensioactivos.

14. Tensioactivos biológicos. Mecanismos biosintéticos de compuestos de peso molecular bajo. Genética de compuestos con actividad superficial. Producción de tensioactivos biológicos. Actividades biológicas. Biofísica de los tensioactivos microbianos. Aplicaciones biotecnológicas

Programa Práctico:

1. Preparación de liposomas y medida de su capacidad de encapsulación.
2. Representación gráfica mediante programas de ordenador de dominios proteicos implicados en señalización a través de membranas.
3. Estudio mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la transición de fase de gel a cristal líquido en sistemas de fosfatidilcolina. Efecto de la longitud de la cadena hidrocarbonada y del colesterol.
4. Estudio de la agregación de vesículas unilamelares pequeñas (SUV) de fosfatidilserina por cationes divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+})
5. Determinación de la concentración micelar crítica (CMC) de tensioactivos catiónicos.

Trabajo Personal del Alumno:

Búsqueda bibliográfica, preparación de un seminario de investigación relacionado con el tema del curso, estudio y comprensión de la materia correspondiente al programa.

Bibliografía:

- Lipid-protein interactions in biological membranes: a structural perspective (2003) A.G. Lee, *Biochim. Biophys. Acta* 1612, 1-40.
- Phospholipid bilayers, *Physical Principles and Models*, G. Cevc y D. Marsh. Wiley Interscience, 1990.
- Lipids, molecular organization, physical functions and technical applications (1994) K. Larson, The Oily Press.
- Lipid rafts: elusive or illusive? (2003) *Cell* 115, 377-388.
- Membrane Fluidity in Biology, R.C. Aloia ed. Academic Press, 1983.
- Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, D.E. Vance y J. Vance eds. Elsevier, 1991.
- Membrane Fusion J. Wilschut y D. Hoekstra eds. Marcel Dekker, 1991.
- Solubilization of membranas by detergents (1975) A. Helenius y K. Simons, *Biochim. Biophys. Acta* 415, 29-79.
- Biosurfactants. Production, properties and applications, N. Kosaric ed., Maecel Dekker, 1993.
- Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: PKC as a paradigm (2003) A.C. Newton, *Biochem. J.* 370, 361-371.
- Fluorescence resonance energy transfer (FRET) microscopy imaging of live cell protein localizations (2003) Sekar, R.B., Periasamy, A. *J. Cell Biol.* 160, 629-33.
- Ca²⁺ bridges the C2 membrane-binding domain of PKCa directly to phosphatidylserine (1999) Verdager, N., Corbalan-Garcia, S., Ochoa, W.F., Fita, I. and Gomez-Fernandez, J.C. *EMBO J.* 18, 6329-6338.
- Phosphoinositide Recognition Domains (2003) Lemmon, M.A. *Traffic* 4, 201-213.
- Membrane-protein interactions in cell signaling and membrane trafficking (2005) Cho, W. and Stahelin, R.V. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 34, 119-51.

Metodología:

1. Lección magistral participativa.
2. Discusiones en grupo.
3. Estudios bibliográficos sobre tema monográficos para cada alumno.
4. Exposición en seminario de los temas monográficos preparados por cada alumno.

Criterios de evaluación:

- Se tendrá en cuenta el trabajo bibliográfico realizado, la preparación y exposición de un seminario de investigación relacionado con la materia. La asistencia a las clases y una prueba de evaluación final en la que los alumnos habrán de contestar durante 60 minutos a un tema que se les propondrá, escogido del programa.