

CENTRO DE
BIOLOGIA MOLECULAR

Memoria 1975-1978

Centro de Biología Molecular
C.S.I.C. y U.A.M.
Canto Blanco. Madrid-34 (Spain)

"Con mi afecto y admiración, y el de la Princesa Sofía, asegurándoles que en el presente, y sobre todo en el futuro, seguiremos muy de cerca las vicisitudes del Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", y velaremos por el progreso de la ciencia y los científicos españoles"

S.A.R. D.Juan Carlos¹

Los años 1975 a 1978 han sido muy importantes para el Centro de Biología Molecular. Durante su transcurso ha culminado un largo proceso de programación y estudio, convirtiéndose en realidad la iniciativa del Prof. Severo Ochoa: el Instituto de Biología Molecular, de la Universidad Autónoma, y los Institutos de Biología del Desarrollo y Bioquímica de Macromoléculas y la Sección de Genética del Desarrollo, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, se han unido para constituir el Centro

de Biología Molecular "Severo Ochoa", como centro propio del C.S.I.C.. La ilusión y los proyectos de muchos años se han convertido en realidad. La acción conjunta de los grupos de trabajo que integran el Centro se traducirá, y en esta labor pondremos el mayor empeño, en una organización de investigación científica de alto nivel y magnitudes suficientes, que pueda contribuir dignamente al desarrollo internacional de la Bioquímica y la Biología Molecular.

¹Dedicatoria suscrita por los entonces Príncipes de España, D. Juan Carlos y Dña. Sofía, en el libro que recoge la labor realizada por el Profesor Severo Ochoa y que le fué entregado, con motivo de su 70 cumpleaños, el día 27 de Septiembre de 1975, al inaugurarse el Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa".

Si, según Bachelard, "la investigación es una organización de riesgos", el objetivo de constituir este Centro tenía múltiples riesgos adicionales. Establecer una íntima coordinación entre centros universitarios y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas; tratar de conseguir una estructura ágil tanto desde un punto de vista funcional como administrativo; procurar la distribución, en su justa medida, de las funciones investigadoras y docentes; fomentar la existencia de órganos de asesoramiento científico de gran prestigio, con la concurrencia de quienes tienen amplia experiencia e imaginación; aportar los medios instrumentales y económicos necesarios y, sobre todo, el ambiente distendido que es imprescindible para el desarrollo de la actividad científica... Todo ello constituía una bella empresa, ciertamente, pero también un auténtico reto para quienes asumían la responsabilidad de llevarla a cabo. Se ha recorrido un amplio trecho, pero todavía es largo el camino que tenemos por delante hasta configurar el futuro que todos deseamos.

Es justo expresar el más profundo reconocimiento al Prof. Severo Ochoa, artífice de esta obra, precedente y expectativa para otras actividades en la estructuración científica de España. Gratitud extensiva a todos quienes, desde el primer momento, han trabajado denodadamente para hacerla posible. A todos, repito, pero considero justo mencionar expresamente los nombres de Javier Corral, Eladio Viñuela y David Vázquez. Al Ministerio de Educación y Ciencia, al Consejo Superior de Investigaciones Científicas y a la Universidad Autónoma de Madrid, por las dotaciones que han aportado y por el respaldo que en todo momento han tenido a bien prestar al Centro. A la Comisión del Descuento Complementario de la Seguridad Social, a la Dirección General de Sanidad, a la Comisión Mixta del acuerdo de Cooperación Técnica entre los Estados Unidos y España y a la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, por las subvenciones y ayudas concedidas, que han sido -y siguen siendo- fundamentales para la marcha del Centro. Y por último, pero en el primer lugar que corresponde a su ran-

go y a la particular atención que nos han prestado, a S.S. M.M. los Reyes D. Juan Carlos y Dña. Sofía, que quisieron distinguirnos inaugurando este Centro y redactaron las frases, que tanta seguridad nos infunden, que figuran en el encabezamiento de esta presentación. Tenemos confianza en el futuro, porque la tenemos en la calidad y dedicación de quienes constituyen los diversos grupos de investigación del Centro.

El Centro de Biología Molecular pretende hacer aportaciones de interés en unos campos que contribuyan al prestigio científico de nuestro país y a solucionar problemas de importancia para el bienestar del hombre. Si bien, dada la naturaleza de la investigación que desarrollamos, el móvil principal de nuestras actividades es participar en el incremento de los conocimientos en Bioquímica y Biología Molecular, estimamos que es conveniente no perder nunca de vista que todos los conocimientos alcanzados deben ponerse, en último término, a disposición de la comunidad humana. Por ello, el Centro orienta algunas de sus líneas

de investigación hacia la resolución de problemas de interés inmediato, normalmente de índole sanitaria (subnormalidad psíquica, virus de la peste porcina africana, etc.).

Dado el extraordinario desarrollo de la Bioquímica y Biología Molecular en estos últimos años, constituye una tarea progresivamente difícil encauzar la investigación hacia caminos cuyo horizonte no desaparezca en poco tiempo. La prospectiva de las grandes cuestiones constituye una actividad apasionante, pero de una enorme complejidad. En cualquier caso, queda claro que -sin dejarnos de importar mucho el ritmo- interesa principalmente discurrir en la dirección adecuada.

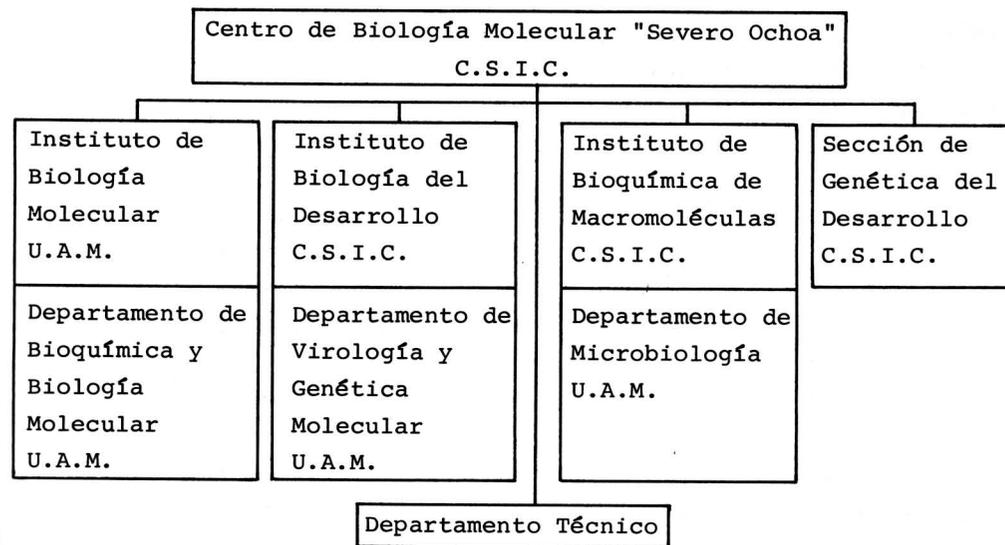
En las páginas que siguen se presentan, pormenorizadas, las líneas desarrolladas entre 1975 y 1978, y las actividades de los miembros del Centro. Constituyen un fiel reflejo de la capacidad y vocación que todos los miembros del Centro de Biología Molecular, desde el personal auxiliar al directivo, han sabido poner en el trabajo, a pesar de las circunstancias excepcionales que nuestro país ha vivido en este periodo de tiempo. Reconocerlo así, es un

grato deber de justicia.

Quiero terminar esta presentación, expresando el firme convencimiento de que el Centro de Biología Molecular seguirá progresando y consolidando la hermosa trayectoria que se ha trazado. Trabajando juntos, en una atmósfera de convivencia y amplia participación. Abiertos todos de par en par a la libre discusión y la crítica, ingredientes insustituibles en una comunidad científica. Una comunidad sin escalones ni fronteras, en donde la única jerarquía se establece sobre la base de los conocimientos adquiridos y de la labor realizada. Donde sólo la argumentación prevalece y no existe otra posición de relieve que aquella que se asienta, precisamente, sobre lo que constituye el mismo fundamento de su existencia: el conocimiento y el esfuerzo demostrado en incrementarlo.

Federico Mayor
Director
Centro de Biología Molecular

ORGANIZACION CIENTIFICA



El organo rector del Centro de Biología Molecular es la Junta de Dirección.

La Junta de Dirección constituye el órgano regulador y ejecutivo del Centro y está integrada por el Profesor Severo Ochoa en calidad de Presidente del mismo, los Directores de los tres Institutos y el de la Sección de Genética del Desarrollo, los de los tres Departamentos Universitarios, el Director Técnico y el Administrador, así como por los representantes de cada una de las siguientes Juntas:

- Junta de Personal Investigador
- Junta de Graduados

- Junta de personal Administrativo, de Ayudas a la Investigación y de Funciones Conexas.

Ocupa el cargo de Director del Centro de Biología Molecular el Dr.D.Federico Mayor Zaragoza.

Igualmente la normativa precisa de funcionamiento de las diversas areas y actividades, se encuentra reglada y controlada por las Juntas siguientes:

- Junta de Biblioteca
- Junta de Animalario
- Junta de Cursos y Seminarios
- Junta de Seguridad Biológica

PERSONAL

INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR
Y DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA
Y BIOLOGIA MOLECULAR

Dirigido por Federico Mayor

Plantilla: 21

Aragón, María del Carmen
Alonso, Carlos
Benavides, Jesús
Benito, Manuel
García, María José
García, Predestinación
Giménez, Cecilio
Izquierdo, Marta
Machado, Alberto
Manso, Rafael
Maties, Milagros
Mayor, Federico
Medina, José María
Merinero, Begoña
Moreno, Francisco José
Nuñez de Castro, Ignacio
Pagés, Montserrat
Satrústegui, Jorgina
Ugarte, Magdalena
Valdivieso, Fernando
Valle, Juan Antonio del

Estudiantes Graduados: 13

Alcover, Andrés
Andrés, Antonio

Bogonez, Elena
Chico, Enrique
Cubero, Ana María
Cuezva, José Manuel
García, María Luisa
Guerrero, Isabel
Llorente, Nieves
López, Josefina
Sánchez-Olavarría, Jesús
Roda, Elena de
Rosario, Paula

Asistentes técnicos:

Alamo, Juana
Baranda, Concepción
Baranda, Patrocinio
Bermejo, Adoración
Borreguero, Natividad
Chamorro, Margarita
García, Josefa
García, Juan
González, Antonia
Gutierrez, Blanca
Hernández, Carmen
Jiménez, Antonio
Laforga, Begoña
Luengo, Carmen
Mateos, Antonio Alfonso
Morales, Juana

Morales, Ramón
Mora-Gil, María Victoria
Naranjo, Miguel
Reina, Isabel
Reina, Nieves
Sanz, Paloma
Taravillo, Miguel

INSTITUTO DE BIOQUIMICA DE MACRO-
MOLECULAS Y DEPARTAMENTO DE MI-
CROBIOLOGIA

Dirigido por David Vázquez

Plantilla: 17

Amils, Ricardo
Barbacid, Mariano
Cabrer, Bartolomé
Carrasco, Luis
Conde, Francisco Pedro
Fernández, María del Carmen
García-Ballesta, Juan Pedro
Guerrero, María del Carmen
Hernández, Francisco
Jiménez, Antonio
Modolell, Juan
Palacián, Enrique
Pellicer, Angel
Reyes, Ramón
Santamaría, Francisco
Vázquez, David
Zaera, Eulalio

Científicos visitantes: 2

Dolz, Humberto
León, Gloria

Estudiantes Graduados: 17

Alonso, Miguel Angel
Baez, Adriana
Bernabeu, Carmelo

Cabañas, María Jesús
Campuzano, Sonsoles
Contreras, Antonio
Correas, Isabel
Fresno, Manuel
Girbés, Tomás
González, Antonio
Juan, Fernando
López, Abelardo
Martínez, Octavio
Pérez, Miguel
Pintor, José Antonio
Sánchez, Francisco
Sánchez, Lucas

Asistentes técnicos:

Camacho, Mercedes
Fernández, María del Carmen
Jiménez, Pilar
Martín, Asunción
Ochoa, Pilar
Ramos, María de los Angeles

INSTITUTO DE BIOLOGIA DEL DE-
SARROLLO Y DEPARTAMENTO DE VI-
ROLOGIA Y GENETICA MOLECULAR

Dirigido por Eladio Viñuela

Plantilla:

Avila, Jesús
Beato, Miguel
Carrascosa, Angel
Carrascosa, José
Domingo, Esteban
Escarmís, Cristina
Enjuanes, Luis
García, María del Carmen
Haro, Cesar de
Hermoso, José Miguel
Méndez, Enrique
Nieto, Antonio
Ochoa, Severo
Ortín, Juan
Ramírez, Galo
Rodríguez-Candela, José Luis
Salas, José
Salas, Margarita
Salas, María Luisa
Fernández-Santarén, Juan
Sierra, José Manuel
Talavera, Antonio
Viñuela, Eladio

Científicos visitantes:

Krawiec, Steven
Wiche, Gerhard

Estudiantes graduados:

Almendral, José María
Barriocanal, Javier
Camacho, Ana
Corcés, Victor G.
García, Juan Antonio
Jiménez, Fernando
Kuznar, Juan
Lombardero, Manuel
Manrique, Esteban
Melero, José Antonio
Morales, Victoria
Moreno, Miguel Angel
Moya, Fernando
Peñalva, Miguel Angel
Perez-Mellado, Rafael
Perucho, Manuel
Rodriguez, Marta
Sanz, Antonio
Vicente, Oscar
Villa, Salvador
Villafruela, María Jesús
Villanueva, Nieves
Villasante, Alfredo

Asistentes técnicos:

Barat, Ana
Cano, Eloisa
Corral, Margarita
Cubero, Inmaculada
Dávila, Mercedes
Fonturbel, Nieves
García, Isabel
Gijón, Victoria

Hermoso, Carmen
Hermoso, María Dolores
Moore, Lynn
Ocaña, Francisca
Redondo, Alfonsa
Vega, María Rosa
Zaragoza, Pilar

SECCION DE GENETICA DEL DESA-
RROLLO

Dirigida por Antonio García-
Bellido

Plantilla:

Capdevila, María Paz
Ferrús, Alberto
García-Bellido, Antonio
Morata, Ginés
Ripoll, Pedro
Santamaría, Pedro

Científicos visitantes:

Baguñá, Jaime
Gingle, Allan
Gubb, David
Kerridge, Steward
Kiss, Istuan
Lo Schiavo, Fiorella
Roberts, David
Simpson, Pat
Turco, Emilia
Whittle, Robert

Asistentes técnicos:

Andreu, Ana Cristina
Andrés, Rosario
Benito, María Jesús
Calleja, Manuel
Cibreiro, Carmela
Chana, Angeles

Garrido, Pilar
González, Rosa
Reoyo, Elena
Sánchez, Begoña

DEPARTAMENTO TECNICO

Dirigido por Javier Corral

Alcaide, Felipe
Alonso, Pilar
Arnau, Miguel
Blanco, José Luis
Bordallo, Evaristo
Caballero, Martín
Conde, Teodoro
Cordón, Pedro Pablo
Corral, Javier
Cortés, Joaquín
Cruz, Soledad de la
Díaz, Eladio
Fernández, Alfonso
Fuertes, Miguel Angel
Galán, José María
García, José Antonio
García, Enrique
García, Juan Luis
Gil, María Jesús
Gilarranz, Mercedes
Gómez, Tomás
González, Miguel
Gutierrez, Manuel
Gutierrez, Rosario
Lázaro, José María
Lozano, Miguel
Llorente, Montserrat
Manzanares, Juan Antonio
Martín, María del Rosario
Mateos, María Dolores
Muñoz, José Antonio
Pablo, María Luisa de

Palacín, Javier
Perez, Miguel Angel
Pices, Manuel
Ramos, Agustín
Rodríguez, José
Rueda, Esteban
Sanchez, Antonia
Seguido, Lorenzo
Torre, Javier de la
Ureña, Dionisio
Vallejo, Luis
Zuñiga, Ceferino

LINEAS DE INVESTIGACION

RESUMENES

REGULACION METABOLICA (CICLO DE KREBS)

A. Machado, J. Satrústegui,
A. de Andrés (desde 1977),
E. Bogonez (desde 1978)
Asistencia técnica:
V. Mora-Gil

Nuestro laboratorio ha estudiado anteriormente la regulación del ciclo de los ácidos tricarbóxicos en levaduras crecidas en condiciones de hipoxia. La anaerobiosis conduce a la ruptura del ciclo de Krebs en dos ramas. Una con función oxidativa que produce 2-oxoglutarato con fines puramente biosintéticos, la otra rama de características reductivas, mantiene la función anfibólica del camino metabólico original (1). Actualmente estamos interesados en contestar algunas cuestiones que surgieron en los trabajos ya descritos, estas son: 1) ¿cual es el papel de la mitocondria en la inducción por oxígeno de las enzimas del ciclo de Krebs? y 2) ¿cual es la función fisiológica de la isocitrato deshidrogenasa dependiente de NADP?.

Hemos estudiado la participación de la mitocondria y del citoplasma en el proceso de

inducción por oxígeno de varias enzimas del ciclo de Krebs, con la ayuda de antibióticos que actúan sobre la síntesis de proteínas de uno u otro compartimento celular. Nuestros resultados confirman la influencia de la mitocondria sobre el desarrollo de la capacidad respiratoria así como sobre la síntesis de las enzimas de la matriz mitocondrial. Estos resultados indican que es necesaria la maquinaria de síntesis de proteínas mitocondrial para la iniciación de la síntesis citoplasmática de las enzimas estudiadas (2). La enzima glutamato deshidrogenasa dependiente de NADP de levaduras crecidas en anaerobiosis es inactivada durante la oxigenación mientras que otras enzimas son inducidas. Hemos demostrado que esta inactivación es irreversible y desencadenada por el ayuno de la fuente de carbono,

siendo además el resultado de una inactivación específica de la enzima (3). En la actualidad seguimos estudiando este proceso.

La oxidación del isocitrato en células eucarióticas, es llevada a cabo por dos deshidrogenasas diferentes en su requerimiento en nucleótidos. La enzima ligada al NAD es considerada como exclusivamente catabólica. Sin embargo la función de la deshidrogenasa dependiente de NADP no es bien conocida. Una función posible de esta enzima podría ser la producción de NADPH. Nosotros hemos demostrado que esta es la principal función de la isocitrato deshidrogenasa NADP en *Tetrahymena pyriformis*, organismo eucariote unicelular que no tiene ningún otro camino metabólico productor de NADPH. La isocitrato deshidrogenasa NADP está regulada por NADPH, de igual manera a como se supone es regulado el ciclo de las pentosas fosfato (4). La oxidación mitocondrial del isocitrato mediante la actuación consecutiva de las reacciones catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa NADP y la transhidrogenasa independiente

de energía produce 2-oxoglutarato y NADH. Este sería un camino alternativo para la producción de NADH cuando la enzima dependiente de NAD se encuentre inhibida. Hemos encontrado una razón constante entre la isocitrato deshidrogenasa y la transhidrogenasa en distintos órganos de mamíferos, lo cual es consistente con que estas enzimas pertenezcan a un camino común, de oxidación del isocitrato en la mitocondria (5).

En la actualidad seguimos trabajando en este problema, en particular en la significación fisiológica de la isocitrato deshidrogenasa NADP de corazón que presenta una actividad especialmente elevada.

Publicaciones:

1. Machado, A., I. Nuñez de Castro, y F. Mayor. 1975. Mol. and Cel. Biochem. **6**: 93-100.
2. Satrústegui, J. y A. Machado. 1977. Arch. Biochem. Biophys. **184**: 355-368.
3. Satrústegui, J. y A. Machado. 1978. FEMS Lett. **4**: 171-175.
4. Vidal, P. y A. Machado. 1977. Mol. and Cel. Biochem. **17**: 151-156.
5. Chico, E., J. Satrústegui, y

- A.Machado. 1977. *Biochimie* 59: 933-934.
6. Garland, R.C., J.Satrústegui, S.Glueckson-Waelsch y C.F.Cori. 1976. *P.N.A.S. USA* 73: 3376-3380.
7. Malo, P., M.D.Laviña, E.L. Rodríguez Echandia, y A. Machado. 1977. *J.Neurochem.* 29: 729-733.

ETIOLOGIA MOLECULAR DEL RETRASO MENTAL EN LAS ENFERMEDADES METABOLICAS HEREDITARIAS

F.Valdivieso, M.C.Aragón, J.Benavides, M.L.García, C.Giménez

A pesar del gran número de estudios sobre la patogénesis de la fenilcetonuria, la etiología del retraso mental que acompaña a este defecto enzimático hereditario no está aun aclarada. Con el fin de determinar como la fenilalanina ejerce su efecto, se llevaron a cabo estudios en ratas con fenilcetonuria inducida experimentalmente. También se estudió el efecto in vitro de los metabolitos de la fenilalanina sobre las actividades de los enzimas del cerebro. Para obtener un modelo experimental de fenilcetonuria, las ratas se trataron con p-clorofenilalanina -un inhibidor de la fenilalanina hidroxilasa in vivo- y esculina -un antagonista de la pteridina - y se inyectaron con fenilalanina. La inhibición de la fenilalanina hidroxilasa da lugar a un aumento en la concentración de la fenilalanina y consecuentemente de sus metabolitos en la sangre y en los tejidos de los animales

fenilcetonúricos. Las concentraciones de fenilalanina en la sangre y en el cerebro de las ratas con fenilcetonuria inducida experimentalmente son similares a las que se encuentran en los tejidos de pacientes fenilcetonúricos.

Está claramente demostrado que los cuerpos cetónicos en el cerebro en desarrollo son sustratos importantes para la respiración y para la producción del acetyl-CoA necesario para la síntesis de los lípidos implicados en los procesos de mielinización. Puesto que el desarrollo del cerebro coincide con el periodo de máxima mielinización, cualquier inhibición en la utilización de los cuerpos cetónicos durante las primeras etapas del desarrollo del cerebro puede tener efectos perjudiciales sobre la mielinización y esta puede ser, al menos en parte, responsable del retraso mental en la fenilcetonuria.

Los estudios de los efectos de la fenilalanina y sus metabolitos sobre las actividades enzimáticas responsables de la utilización de los cuerpos cetónicos en el cerebro de

ratas lactantes, indican que el fenilpiruvato inhibe marcadamente la 3-hidroxibutirato deshidrogenasa y la 3-oxoácido CoA transferasa, siendo este último el enzima clave de la utilización de los cuerpos cetónicos. La inhibición de estos enzimas conduciría a una disminución en la disponibilidad del acetyl-CoA para la respiración dentro de la mitocondria, así como para el suministro del esqueleto carbonado para el colesterol y para la síntesis de ácidos grasos en el citoplasma.

Publicaciones:

1. Valdivieso, F., C.Giménez, y F.Mayor. 1975. *Biochem.Med.* 12: 72-78.
2. Valdivieso, F., C.Giménez, y F.Mayor. 1976. *Rev.Esp.Fisiol.* 32: 153-156.
3. Benavides, J., C.Giménez, F.Valdivieso, y F.Mayor. 1976. *Biochem.J.* 160: 217-222.
4. Giménez, C., J.Benavides, M.Sánchez-Rubiales, F.Valdivieso y F.Mayor. 1977. *Mol. Cell.Biochem.* 16: 9-16.
5. Valdivieso, F., M.Ugarte, M.Matfés, C.Giménez y F.Mayor. 1977. *J.Ment.Def.Res.* 21: 95-102.

6. Aragón, M.C., C. Giménez, F. Valdivieso y F. Mayor. 1978. *J. Neurochem.* 30: 649-650.
7. García, L., J. Benavides, F. Valdivieso, F. Mayor, y G. Giménez-Gallego. 1978. *C. Biochem. Biophys. Res. Comm.* 82: 738-744.
8. Aragón, M.C., C. Giménez, M.B. Allen, y D.G. Walker. 1978. *Biochem. Soc. Trans.* 6: 176.

HOMEOSTASIS ENERGETICA DURANTE EL PERIODO PERINATAL

J.M. Medina, F.J. Moreno (1977 Brown University, R.I., USA), M. Benito, J.M. Cuezva (Case Wester Reserve University, Cleveland, Ohio, USA), J.P. García Ruis (desde 1978), A. Cubero (desde 1978), M. Chamorro (Asistencia técnica).

El mantenimiento del continuo aporte de energía a los tejidos conlleva la existencia de mecanismos de regulación muy refinados que controlan el suministro y/o consumo de los diversos sustratos metabólicos. Los principales sustratos metabólicos son la glucosa, ácidos grasos y cuerpos cetónicos, así como los triglicéridos provenientes de las lipoproteínas de baja densidad exportadas por el hígado. Sin embargo, tanto los ácidos grasos como los cuerpos cetónicos son sustratos alternativos de la glucosa, siendo liberados o sintetizados sólo cuando la glucosa se produce en cantidades insuficientes. En este sentido, las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos y glucosa se encuentran interrelacionadas merced a la

existencia del denominado ciclo glucosa/ácidos grasos.

Nuestras investigaciones se han orientado hacia el estudio de diversas situaciones caracterizadas por cambios drásticos en las necesidades energéticas. Así, hemos estudiado la estimulación de las vías metabólicas de la gluconeogénesis (1-3) y cetogénesis (4) como respuesta a la gluconeólisis hepática inducida experimentalmente, así como el funcionamiento del ciclo glucosa/ácidos grasos tras el consumo de la reserva de glucógeno hepático. Por otro lado, se ha estudiado la regulación de la lipólisis en tejido adiposo (6,7) y la interrelación lipogénesis en hígado (8).

Por último, hemos abordado recientemente el estudio de la homeostasis energética durante las dos primeras horas de vida extrauterina (prelactancia) así como el efecto de la "prematuridad" sobre los requerimientos energéticos del recién nacido.

Publicaciones:

1. Moreno, F.J., L. Sánchez-Urrutia, J.M. Medina, F. Sánchez-Medina, y F. Mayor. 1975.

Biochemical Journal 150: 51-58.

2. Moreno, F.J., M. Benito, F. Sánchez-Medina, J.M. Medina y F. Mayor. 1976. *Mol. and Cel. Biochem.* 13: 89-93.
3. García-Bueno, M., M. Benito, F.J. Moreno y J.M. Medina. 1978. *Mol. and Cel. Biochem.* 19: 75-80.
4. Benito, M., F.J. Moreno, J.M. Medina y F. Mayor. 1978. *Rev. Esp. Físio.* 34: 93-96.
5. Benito, M., F.J. Moreno, J.M. Medina y F. Mayor. 1978. *Arch. Biochem. Biophys.* 188: 21-25.
6. Fain, J.N., R.E. Shepherd, C.C. Malbon, y F.J. Moreno. 1978. En "The Physiology of Lipids and Lipoproteins in Health and in Disease". J.N. Dietschy, editor. American Physiological Society, Bethesda. 213-228.
7. Malbon, C.C., F.J. Moreno, R.J. Cabelli y J.N. Fain. 1978. *J. Biol. Chem.* 253: 671-677.
8. Benito, M. y D.H. Williamson. 1978. *Biochem. J.* 176: 331-334.

REGULACION DEL METABOLISMO HIPOXICO EN LEVADURAS Y GLUCOLISIS AEROBIA EN CELULAS DE TUMOR ASCITICO DE EHRLICH

I. Nuñez de Castro (en 1975 Biochemisches Institut der Universität, Freiburg I. Br. West Germany), E. Chico (desde 1976), N. Llorente (desde 1975-1976), J.S. Olavarría (desde 1976) C. Baranda (Asistencia técnica)

Se ha elegido a la levadura como modelo experimental para el estudio de la regulación metabólica en condiciones hipóxicas. Los experimentos llevados a cabo en nuestro laboratorio han corroborado un funcionamiento no cíclico del ciclo tricarbóxico, que tiene como resultado una rama oxidativa desde oxalacetato a 2-oxoglutarato y una rama reductora desde el oxalacetato a succinato. La citrato sintasa ha sido descrita como un enzima clave en la regulación del ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Se ha estudiado la actividad de esta enzima en levaduras crecidas en diferentes condiciones hipóxicas. Los niveles de esta enzima parecen estar regulados por la

capacidad de la célula para utilizar el oxígeno (1). Las deshidrogenasas dependientes de NAD^+ están fuertemente reprimidas en las células hipóxicas. Los requerimientos de intermediarios metabólicos para la biosíntesis están suministrados a través de las enzimas ligadas al $NADP^+$, que producen $NADPH$, acetato, 2-oxoglutarato y glutamato (2).

Cuando la glucólisis es la única fuente para la obtención de energía a intermediarios metabólicos, otros productos finales como succinato, glicerol y alanina (3) ponen de manifiesto la existencia de otras vías alternativas para la obtención de NAD^+ requerido por la célula. Se ha estudiado también el efecto del

glicerol como inductor de la deficiencia respiratoria en levaduras.

El problema de la regulación de la glucólisis en otros modelos bioquímicos ha comenzado a ser estudiado. Hemos encontrado un efecto Crabtree inducido por la fructosa en hepatocitos aislados de ratas alimentadas (4). Igualmente nos ha interesado la relación entre la glucólisis aerobia y el metabolismo del nitrógeno en células de tumor ascítico de Ehrlich. El efecto Crabtree es aumentado por el amonio. Resultados preliminares sugieren, que en presencia de amonio, aparecen alanina, glutamato y aspartato como productos finales de la glucólisis y que por el contrario la producción de lactato disminuye.

Publicaciones:

1. Nuñez de Castro, I., J.M. Arias de Saavedra, A. Machado y F. Mayor. 1976. *Mol. and Cel. Biochem.* 12: 161-169.
2. Llorente, N. y I. Nuñez de Castro. 1977. *Rev. Esp. Fisiol.* 33: 135-142.
3. Chico, E., J.S. Olaverría, y I. Nuñez de Castro. 1978. *Antonie van Leeuwenhoek J.*

Microbiol. Serol. 44: 193-201.

4. Chico, E., J.S. Olaverría, y I. Nuñez de Castro. 1978. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 83, 1422-1429.
5. Nuñez de Castro, I. y H. Holzer. 1976. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 357: 727-734.

ESTRUCTURA Y FUNCION DE CROMOSOMAS

C.Alonso, M.Pagés (desde 1977), M.I.López, I.Guerrero, A.Alcober (desde 1977), M.Izquierdo (desde 1978). Asistencia técnica:P.Baranda.

La localización intracromosomal y la función de las secuencias únicas y repetitivas del DNA en los organismos eucarióticos es un problema todavía sin dilucidar (1). La hipótesis es que la mayoría de las secuencias del DNA de repetitividad intermedia (100-1000) juegan un papel importante en el control de la regulación génica. En este presupuesto se podría predecir que las unidades funcionales de gran longitud deberían ser más ricas en secuencias repetidas que las de pequeño tamaño. Es decir que habría una diferencia en cuanto al número de secuencias repetidas entre las bandas ricas en DNA y las que no lo son tanto. Se ha observado que la distribución de las secuencias repetidas a lo largo de la estructura cromosomal no es al azar y que la actividad específica de los segmentos cromosomales

no es la misma (2). Algunas regiones están formadas por largas secuencias de DNA único con algunas secuencias de repetitividad intermedia intercaladas mientras otras regiones cromosomales contienen secuencias de repetitividad intermedia separadas por fragmentos de DNA único.

Los experimentos de hibridación *in situ* han indicado que en *D.hydei* el gen que codifica para el 5S ribosomal está en cromosomas politénicos en la banda 2-23B₁₋₂. La región adyacente 2-23B₂ es un lugar que forma un puff de pequeñas dimensiones que contienen partículas RNP. El contenido haploide de la banda 2-23B₁₋₂ es equivalente a un DNA de un peso molecular de 10⁸. Esta cantidad de DNA es del orden de la necesaria para codificar todas las moléculas 5S que se conoce existen en *Drosophila* (3).

Los cromosomas politénicos

una vez fijados en condiciones apropiadas pueden transcribir utilizando la polimerasa endógena. El marcaje radioactivo está localizado preferencialmente en bandas encontrándose algún marcaje también en bandas y puffs (4).

El RNA nuclear y citoplasmático complementario a la región 2-48BC en *D.hydei* se ha hibridado *in situ*. La hibridación a este lugar cromosomal es 5 veces mayor cuando se utiliza RNA nuclear que cuando se utiliza RNA polisomal. Esto no ocurre cuando se hace el mismo experimento con el RNA de los demás puffs inducidos por calor. El RNA polisomal 2-48BC está poliadenilado y tiene un peso molecular de 15S en glándulas salivales (5).

En *D.hydei* los fragmentos de poli A procedentes del RNA citoplasmático tienen de 80-170 nucleótidos. Los fragmentos de poli A del RNA nuclear son de 40-70 y 170 nucleótidos. La hibridación *in situ* del ³H poli U indica que los fragmentos de dA están distribuidos a lo largo de todos los cromosomas (6). Núcleos aislados también transcriben RNA poliadenilado que hibridan *in situ* a sitios

específicos de los cromosomas (7). Los fragmentos de poli A son de 80 nucleótidos (8).

Se ha diseñado un método microespectrofotométrico de ultra violeta con objeto de calcular cantidades absolutas de DNA en cromosomas politénicos (9). Mientras que las cantidades de DNA de regiones específicas (2-48BC y 5-93D) no cambian durante la formación de puffs, las cantidades de RNA y proteína aumentan en un factor de 2 y 2,5 respectivamente. La T_m del DNA de la región 2-48BC difiere en 10°C dependiendo de que la región esté o no en forma de puff. Es muy probable que durante la formación del puff parte del DNA se desestabilice teniendo como consecuencia un cambio en la transcripción como indican experimentos autoradiográficos (7).

Publicaciones:

1. Alonso, C. 1975. Bull. Fund. Giménez Diaz. pp. 54-69.
2. Alonso, C., M. Pagés, y M. I. López. 1977. Cell. Biol. Int. Reports 1: 325-333.
3. Alonso, C. y H. D. Berendes. 1975. Chromosoma 51: 347-356.
4. Pagés, M. y C. Alonso. 1976.

- Exp. Cell. Research 98: 120-126.
5. Lubsen, N.H., P.G.A. Sondermeyer M. Pagés, y C. Alonso. 1978. Chromosoma 65: 199-212.
 6. Alonso, C., M. Pagés, y M.L. García. 1977. Biochem. Biophys. Acta 479: 235-245.
 7. Pagés, M. y C. Alonso. 1976. Acta Embriol. Exp. 3: 355-372.
 8. Alonso, C. 1977. En Conferencias Coloquio sobre Investigaciones Biológicas. Bol. Fund. Juan March. pp. 33-38.
 9. Alonso, C., M. Pagés y E. Barberá. 1978. Drosophila Information Service 52: 149.
 10. Pagés, M. y C. Alonso. 1978. Nucleic Acid Research 5: 549-562.

BIOSINTESIS DE PROTEINAS

J. Modolell, M.J. Cabañas (desde 1977), B. Cabrer (1975 y 1978), S. Campuzano (desde 1976), T. Girbés (hasta 1977), M.C. Guerrero (1978), O. Martínez (desde 1976), M.J. San-Millán (hasta 1976), D. Vázquez. Asistencia técnica, P. Ochoa.

El trabajo de investigación en nuestro laboratorio se ha dedicado a esclarecer el proceso de la polimerización de la cadena polipeptídica. Presentaremos los aspectos de mayor interés.

Utilizando un sistema in vitro altamente purificado conteniendo polisomas endógenos de Escherichia coli y factores de polimerización, hemos demostrado que la incorporación de un amino ácido a una cadena polipeptídica va acompañada de la hidrólisis de dos moléculas de GTP (1). Utilizando un sistema purificado distinto conteniendo poli U y N-acetil-fenilalanil-tRNA, hemos encontrado que el Gpp(NH)p, un análogo no hidrolizable del GTP, estimula la síntesis lenta de N-acetilpolifenilalanil-tRNA (2,3). Este resultado indica que la hidrólisis de GTP está principalmente

relacionada con el desprendimiento de los factores de polimerización del ribosoma.

Hemos estudiado la interacción del EF-G, el factor que cataliza la translocación ribosómica, con los nucleótidos de guanosina y el ribosoma. Se ha encontrado que el complejo GDP·EF-G·ribosoma·ácido fusídico se forma en polisomas a pesar del efecto desestabilizante del peptidil-tRNA, explicando así el efecto inhibitor del ácido fusídico sobre la síntesis de polipéptido (4). Además, la presencia de este complejo no interfiere con la reacción catalizada por la peptidil transferasa (5). Se ha determinado la estabilidad y las constantes de disociación de complejos formados con ribosomas 70S, subunidades 50S y polisomas (6). También se ha estudiado el mecanismo de formación y disociación de estos complejos. Los resultados muestran que los complejos guanosín nucleotido·EF-G son intermediarios obligados y sugieren que el factor EF-G sufre modificaciones conformacionales durante su interacción con el ribosoma (7). Los antibióticos aminoglucosídicos de los grupos de las estreptomici-

nas, kanamicinas, gentamicinas y neomicinas inhiben el reciclaje de los complejos guanosín nucleotido·EF-G·ribosoma, demostrando un nuevo efecto de estos antibióticos (8). También se ha encontrado una heterogeneidad en la población de moléculas de EF-G (9). Durante un tiempo se pensó que los antibióticos tiostreptón y ácido fusídico eran inhibidores específicos de la translocación, pero posteriormente se demostró que son predominantemente inhibidores de la fijación del aminoacil-tRNA al ribosoma. Sin embargo, el antibiótico peptídico viomicina parece ser un verdadero inhibidor de la translocación ya que detiene la síntesis de proteínas y confina el peptidil-tRNA a una posición no reactiva con la puomicina (10). Los antibióticos aminoglucosídicos de los grupos higromicina, kanamicina, neomicina y gentamicina, pero no estreptomicina, también interfieren con la translocación (11-13). Puesto que estas drogas inducen errores en la traducción del mensaje genético, estos resultados indican la existencia de una íntima relación entre los

procesos de la translocación y del reconocimiento del aminoacil-tRNA.

La conformación de las partículas ribosómicas se ha estudiado utilizando reactivos químicos. Se han detectado diferencias en la reactividad para con la N-etil-maleimida de los grupos sulfidrilo de subunidades ribosómicas y partículas 70S, y de partículas 70S libres y complejadas en polisomas (14). Además, streptomycin y viomicina modifican la susceptibilidad a la iodación catalizada por lactoperoxidasa de por lo menos cinco y nueve proteínas ribosómicas, respectivamente (15).

Los procesos de la polimerización de las cadenas peptídicas y su terminación, así como los efectos de antibióticos en la translocación se han resumido en sendas revisiones (16,17).

Publicaciones:

1. Cabrer, B., M.J. San Millán, D. Vázquez y J. Modolell. 1976. *J. Biol. Chem.* **251**: 1718-1722.
2. Modolell, J., T. Girbés y D. Vázquez. 1975. *FEBS Letters* **60**: 109-113.

3. Girbés, T., D. Vázquez y J. Modolell. 1976. *Eur. J. Biochem.* **67**: 257-265.
4. San Millán, M.J., D. Vázquez y J. Modolell. 1975. *Eur. J. Biochem.* **57**: 431-440.
5. Modolell, J. y D. Vázquez. 1976. *FEBS Letters* **68**: 203-207.
6. San Millán, M.J., D. Vázquez y J. Modolell. 1977. *Eur. J. Biochem.* **75**: 593-600.
7. Girbés, T., D. Vázquez y J. Modolell. 1977. *Eur. J. Biochem.* **81**: 473-481.
8. Girbés, T., S. Campuzano, D. Vázquez y J. Modolell. 1977. *Eur. J. Biochem.* **81**: 483-490.
9. Girbés, T., D. Vázquez y J. Modolell. 1976. *Mol. Biol. Reports* **2**: 401-406.
10. Modolell, J. y D. Vázquez. 1977. *Eur. J. Biochem.* **81**: 491-497.
11. Cabañas, M.J., D. Vázquez y J. Modolell. 1978. *Eur. J. Biochem.* **87**: 21-27.
12. Cabañas, M.J., D. Vázquez y J. Modolell. 1978. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **83**: 991-997.
13. Vázquez, D., M.J. Cabañas y J. Modolell. 1978. *Proceedings del Meeting of European Producers of Antibiotics.* Granada, 1-2 June. pp 1-34.

14. Modolell, J. y D. Vázquez. 1976. En "Ribosomes and RNA Metabolism". *Proceedings del Second International Symposium on Ribosomes and Ribonucleic Acid Metabolism.* J. Zelinka y J. Balan, editores. Publishing House of the Slovak Academy of Sciences. Bratislava, Checoslovaquia. **2**: 259-268.
15. Martínez, O., D. Vázquez y J. Modolell. 1978. *FEBS Letters* **87**: 21-25.
16. Modolell, J. y D. Vázquez. 1975. En "MTP International Review of Sciences". *Synthesis of Amino Acids and Proteins.* Biochemistry. H.R.V. Arnstein, editor. Butterworth-University Park Press. London-Baltimore. **7**: 137-178.
17. Modolell, J., T. Girbés y D. Vázquez. 1978. En "Gene Expression". *Proceedings del 11 Congreso de la FEBS.* Copenhague, Dinamarca. 14-19 Agosto 1977. B.F.C. Clark, *et al.*, editores. Pergamon Press. Oxford y Nueva York. **43**: 79-87.

ESTRUCTURA Y FUNCION DEL RIBOSOMA

J.P. García Ballesta, R. Amils (desde Septiembre 1977), C. Bernabeu, F. Hernandez (hasta Mayo 1976), F. Juan (desde Septiembre 1977), G. Leon (desde Septiembre 1978), M. Perez, R. Reyes (hasta Septiembre 1977), F. Sanchez (desde Septiembre 1976). Asistencia técnica, M. del Carmen Fernández.

El centro peptidil transferasa del ribosoma de *Escherichia coli* cataliza la formación de enlaces peptídicos durante el proceso de síntesis de proteínas en la célula. Nuestro grupo de trabajo ha investigado los componentes ribosómicos que forman parte de este centro catalítico tratando de dilucidar su papel en el mecanismo de la catálisis. Simultáneamente se han estudiado las características estructurales del sitio de interacción con el ribosoma de los antibióticos que inhiben la peptidil transferasa, como cloranfenicol, esparsomicina y eritromicina.

Usando partículas ribosómicas deficientes en ciertas proteínas, hemos podido excluir

la relación directa de la proteína L11 con el centro activo de la peptidil transferasa y con el sitio de fijación del antibiótico tiosreptón (8). Esta proteína había sido propuesta por otros investigadores como pieza fundamental de ambas actividades ribosómicas. Mediante técnicas análogas, se ha confirmado el papel clave que la proteína L16 juega en la formación del enlace peptídico y en el sitio de fijación de los inhibidores de la peptidil transferasa (12). La reconstitución parcial de la subunidad ribosómica mayor en presencia de proteínas ribosómicas inactivadas químicamente, ha permitido demostrar que la proteína L16 es una pieza crítica en la arquitectura global del ribosoma (1,11). La modificación química específica del RNA o de las proteínas ribosómicas mediante reactivos apropiados ha proporcionado evidencia de que el rRNA es también una pieza importante en la actividad peptidil transferasa, conclusión que se ha podido confirmar con experimentos que han analizado la resistencia de la actividad a la acción de proteasas (12). Estos resulta-

dos sugieren que el rRNA no es un componente pasivo en la estructura ribosómica sino que de alguna forma está directamente envuelto en la actividad de la partícula.

Estudios llevados a cabo con ribosomas de células eucariotes (levadura e hígado de rata) nos han permitido identificar algunos de los componentes relacionados con la peptidil transferasa de estas partículas (6,7,10). Estos resultados han sido complementados usando técnicas de marcaje por afinidad con derivados de aminoacil-tRNA (13) y poliaminas (14,15).

Publicaciones:

1. Vázquez, D., A. Jiménez, L. Sánchez, R. Reyes, C. Bernabeu y J.P.G. Ballesta. 1975. En "Organization and Expression of the Viral Genome. Molecular Interactions in Genetic Translation". Proceedings del 10° Meeting de la Federation of European Biochemical Societies. F. Chapeville y M. Grunberg-Manago, editores. North-Holland/American. Elsevier, Amsterdam. 39: 243-259.

2. Hernández, F., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1975. *Biochemistry* 14: 1503-1508.
3. Ballesta, J.P.G., C. Bernabeu, F. Hernández y D. Vázquez. 1976. En "Ribosomes and RNA Metabolism". Proceedings del 2° International Symposium on Ribosomes and Ribonucleic Acid Metabolism. Editores J. Zelinka y J. Balan. Publishing House of the Slovak Academy of Sciences. Bratislava, Checoslovaquia. 2: 269-282.
4. Luzón, C. y J.P.G. Ballesta. 1976. *Eur. J. Biochem.* 65: 207-212.
5. Ballesta, J.P.G., M.J. Waring y D. Vázquez. 1976. *Nucleic Acids Research* 3: 1307-1322.
6. Reyes, R., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1976. *Eur. J. Biochem.* 67: 267-274.
7. Reyes, R., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1976. *Biochim. Biophys. Acta* 435: 317-332.
8. Bernabeu, C., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1976. *Eur. J. Biochem.* 69: 233-241.
9. Ballesta, J.P.G. y D. Vázquez. 1977. En *Genetica Microbiana*. Editorial Alhambra, S.A. Madrid, pp. 54-87.
10. Reyes, R., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1977. *Eur. J. Biochem.* 73: 25-31.
11. Hernández, F., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1977. *Eur. J. Biochem.* 78: 267-272.
12. Bernabeu, C., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1977. *Eur. J. Biochem.* 79: 469-472.
13. Pérez, M., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1978. *Mol. Gen. Genetics* 163: 29-34.
14. Bernabeu, C., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1978. *Biochim. Biophys. Acta* 518: 290-297.
15. Reyes, R., D. Vázquez y J.P.G. Ballesta. 1978. *Biochim. Biophys. Acta* 521: 229-234.

ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPICOS

A. Jiménez, A. Baez (hasta Marzo 1978), M. Barbacid (hasta Octubre 1974), L. Carrasco (hasta Noviembre 1975), A. Contreras (hasta Diciembre 1975), I. Co-reas (de Octubre 1977 hasta Septiembre 1978), H. Dolz (desde Octubre 1978), C. Fernández-Puentes (hasta Septiembre 1977) M. Fresno (hasta Septiembre 1977), A. González (desde Enero 1976), L. Sánchez (hasta Septiembre 1977), F. Santamaría (desde Septiembre 1977), A. Santos (hasta Julio 1976), D. Vázquez, E. Zaera (desde Abril 1978). Asistencia técnica, A. Martín.

Numerosos inhibidores detienen el crecimiento celular al bloquear algún paso específico del proceso de la síntesis de proteínas. Estamos dedicados al estudio del modo de acción de esta clase particular de inhibidores con el fin de, no solo explicar el mecanismo de su inhibición de la síntesis de proteínas, sino también para conocer la estructura y la función del ribosoma. Además, el estudio de la organización y regula-

ción genética de los componentes ribosómicos es posible mediante el análisis de los ribosomas de mutantes celulares resistentes a antibióticos. Los principales materiales biológicos elegidos han sido la bacteria Escherichia coli y la levadura Saccharomyces cerevisiae.

Los siguientes compuestos se han caracterizado como inhibidores específicos del centro peptidil transferasa del ribosoma eucariótico: los derivados de las Amaryllidaceae narcicla-

sina, hemantamina, pretazettina, licorina y pseudolicorina (5,9,10,24,26,38); los alcaloides de Cephalotaxus harringtonia harringtonina, isoharringtonina y homoharringtonina (30); la sustancia de Brucea antidysenterica bruceantina (41) y el antibiótico antelmicina (hikizimicina) (46). Mediante el estudio de la fijación cuantitativa de ^3H -anisomicina (3) y de ^{14}C -tricolorina (17) a diferentes preparaciones de ribosomas eucarióticos, bloqueados en diferentes estados específicos de la traducción, se han detectado cambios conformacionales del ribosoma durante el proceso de traducción. También se realizaron otros estudios similares con ^{14}C -cloranfenicol en preparaciones de ribosomas procarióticos (28). La afinidad de los antibióticos por su sitio de fijación variaba considerablemente en dependencia con el estado ribosómico. Los efectos sinérgicos de las estreptograminas A y B en E. coli se explicó por el incremento en la afinidad de ^3H -estreptogramina B por el ribosoma en presencia de es-

treptogramina A (27). Las glicoproteínas vegetales abrina y ricina actúan inactivando catalítica e irreversiblemente el ribosoma eucariótico. Las dos toxinas inhiben específicamente la fijación del aminoacil-tRNA impidiendo la interacción del factor de elongación EF-1 con el ribosoma (5,4,21). El antibiótico aminoglucosídico higromicina B detiene la síntesis de polipéptidos impidiendo la translocación inducida por el factor de elongación EF-2 e induce errores durante la traducción de poli U por ribosomas de levadura (45).

Criptopleurina, emetina y tubulosina se han clasificado como inhibidores específicos de la translocación dependiente del factor de elongación EF-2 y de GTP en ribosomas eucarióticos (2,19,33,45). La translocación no enzimática en polisomas de levadura, que tiene lugar a altas concentraciones de potasio (1 M KCl), es inhibida por cicloheximida y pederina (que son también inhibidores de translocación enzimática), pero resulta inalterada por criptopleurina, emetina y tubulosina (33). Dado que estos alcaloides actúan en la subunidad 40S (34) y peder-

rina y cicloheximida actúan sobre la subunidad 60S, los resultados anteriores sugieren que la translocación no enzimática tiene lugar mediante un cambio conformacional en el ribosoma y/o en el peptidil-tRNA, inducido por una concentración elevada de potasio. Todo ello llevaría la colocación del terminal 3' del peptidil-tRNA en el sitio donador del centro peptidil-transferasa (33).

Los mutantes de levadura resistentes a criptopleurina se han agrupado en dos clases diferentes. Clase I, los cuales presentan elevados niveles de resistencia a emetina y tubulosina y clase II, que son menos resistentes a tubulosina y emetina que los mutantes de la clase I. Estos dos fenotipos se expresan en la subunidad 40S y las mutaciones son alélicas. En diploides heterocigóticos (sens/res) se expresan el gen sensible y el de resistencia y a bajas concentraciones de criptopleurina hay semidominancia de resistencia sobre sensibilidad (34).

Un mutante de levadura resistente a tricodermina pre-

senta resistencia cruzada a varios inhibidores del centro peptidil transferasa. Los inhibidores que se fijan cerca o al sitio de unión de tricodermina son los antibióticos tricotecénicos, anisomicina y el grupo de la narciclasina de los derivados de las Amaryllidaceae, harringtonina y bruceantina. Sin embargo los ribosomas mutantes son sensibles a otros inhibidores de la formación de enlace peptídico (antibióticos 4-amino-hexosil-citosínicos y esparsomicina), los cuales se piensa que se fijan a un sitio diferente al de tricodermina (8-11,30,41).

Publicaciones:

1. Barbacid, M., A. Contreras y D. Vázquez. 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 395: 347-354.
2. Barbacid, M., M. Fresno y D. Vázquez. 1975. *J. Antibiotics* 28: 453-462.
3. Barbacid, M. y D. Vázquez. 1975. *J. Mol. Biol.* 93: 449-463.
4. Carrasco, L., C. Fernández-Puentes y D. Vázquez. 1975. *Eur. J. Biochem.* 54: 499-503.
5. Carrasco, L. M. Fresno y D. Vázquez. 1975. *FEBS Letters*

52: 236-239.

6. Carrasco, L. y D. Vázquez. 1975. *Eur. J. Biochem.* 50: 317-323.
7. Giménez Martín, G. y D. Vázquez. 1975. En *Historia Universal de la Medicina*. L. Entralgo, editor. Salvat Editores, S.A. Madrid, España. 7: 47-50.
8. Jiménez, A., L. Sánchez y D. Vázquez. 1975. *FEBS Letters* 55: 53-56.
9. Jiménez, A., L. Sánchez y D. Vázquez. 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 383: 427-434.
10. Jiménez, A., L. Sánchez y D. Vázquez. 1975. *FEBS Letters* 60: 66-70.
11. Jiménez, A. y D. Vázquez. 1975. *Eur. J. Biochem.* 54: 483-492.
12. Jiménez, A. y D. Vázquez. 1975. En *Aspectos Actuales en la Transmisión de Información Genética de Microorganismos*. A. Portolés y F. Baquero, editores. Sociedad Española de Microbiología. Madrid, España. pp. 105-162.
13. Olsnes, S., C. Fernández-Puentes, L. Carrasco y D. Vázquez. 1975. *Eur. J. Biochem.* 60: 281-288.
14. Vázquez, D. 1975. En "Antibiotics III: Mechanism of Action of Antimicrobial and Antitumor Agents". J.W. Corcoran y F.E. Hahn, editores. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, Nueva York. pp. 521-534.
15. Vázquez, D. 1975. En "Antibiotics III: Mechanism of Action of Antimicrobial and Antitumor Agents". J.W. Corcoran y F.E. Hahn, editores. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-Nueva York. pp. 459-479.
16. Vázquez, D., A. Jiménez, L. Sánchez, R. Reyes, C. Bernabeu y J.P.G. Ballesta. 1975. En "Organization and Expression of the Viral Genome. Molecular Interactions in Genetic Translation". Proceedings del 10º Congreso de la Federation of European Biochemical Societies. F. Chapeville y M. Grunberg-Manago, editores. North-Holland/American. Elsevier. 39: 243-259.
17. Cannon, M., A. Jiménez y D. Vázquez. 1976. *Biochem. J.* 160: 137-145.
18. Carrasco, L., C. Fernández-Puentes y D. Vázquez. 1976. *Mol. Cel. Biochem.* 10: 97-122.
19. Carrasco, L., A. Jiménez y D. Vázquez. 1976. *Eur. J. Biochem.*

- 64: 1-5.
20. Contreras, A. y D. Vázquez. 1976. Proceedings del Congreso Nacional de Microbiología. Salamanca, 1-4 Octubre, 1975. Fundación G. Zambón. Milan, Italia. pp. 185-201.
 21. Fernández-Puentes, C., L. Carrasco y D. Vázquez. 1976. *Biochemistry* 15: 4364-4369.
 22. Fresno, M., L. Carrasco y D. Vázquez. 1976. *Eur. J. Biochem.* 68: 355-364.
 23. Jiménez, A. 1976. *Trends in Biochemical Sciences* 1: 28-30.
 24. Jiménez, A., A. Santos, G. Alonso y D. Vázquez. 1976. *Biochim. Biophys. Acta* 425: 342-348.
 25. D. Vázquez. 1976. En "Reflections on Biochemistry". A. Kornberg, B. L. Horecker, L. Cornudella y J. Oró, editores. Pergamon Press. Oxford-Nueva York-Paris-Frankfurt. pp. 347-356.
 26. Baez, A., M. Angoso, G. Alonso y D. Vázquez. 1977. *Biochimie* 59: 751-753.
 27. Contreras, A. y D. Vázquez. 1977. *Eur. J. Biochem.* 74: 549-551.
 28. Contreras, A. y D. Vázquez. 1977. *Eur. J. Biochem.* 74: 539-547.
 29. Fernández-Puentes, C. y D. Vázquez. 1977. *FEBS Letters* 78: 143-146.
 30. Fresno, M., A. Jiménez y D. Vázquez. 1977. *Eur. J. Biochem.* 72: 323-330.
 31. Fresno, M. y D. Vázquez. 1977. Proceedings de la International Conference on Translation of Natural and Synthetic Polynucleotides. A. B. Legocki, editor. University of Agriculture, Poznan. pp. 124-126.
 32. Jiménez, A. 1977. En *Aspectos Actuales de las Relaciones Huésped-Parásito e Intermicrobianas*. A. Portolés. Sociedad Española de Microbiología. Madrid. 2: 55-74.
 33. Jiménez, A., L. Carrasco y D. Vázquez. 1977. *Biochemistry* 16: 4727-4730.
 34. Sánchez, L., D. Vázquez y A. Jiménez. 1977. *Mol. Gen. Genetics* 156: 319-326.
 35. Vázquez, D., A. Contreras, M. Fresno y A. Jiménez. 1977. Proceedings de la International Conference on Translation of Natural and Synthetic Polynucleotides. A. B. Legocki, editor. University of Agriculture, Poznan. pp. 380-385.
 36. Vázquez, D. 1977. En *Mono-grafías Básicas de la Sociedad Española de Microbiología: Aspectos Actuales de las Relaciones Huésped-Parásito e Intermicrobianas*. A. Portolés y F. Baquero, editores. Madrid. 2: 41-54.
 37. Vázquez, D. 1977. En *Avances de la Bioquímica*. L. Cornudella, J. Oró, C. F. de Heredia y A. Sols, editores. Salvat Editores, S. A. Barcelona. pp. 435-450.
 38. Baez, A. y D. Vázquez. 1978. *Biochim. Biophys. Acta* 518: 95-103.
 39. Braña, M. F., J. M. Castellano, A. Jiménez, A. Llombart (Sn), F. P. Rabadán, M. Roldán, C. Roldán, A. Santos y D. Vázquez. 1978. *Current Chemotherapy*, pp. 1216-1217.
 40. Conde, F. P., C. Fernández-Puentes, M. T. V. Montero y D. Vázquez. 1978. *FEMS Microbiology Letters* 4: 349-355.
 41. Fresno, M., A. González, D. Vázquez y A. Jiménez. 1978. *Biochim. Biophys. Acta* 518: 104-112.
 42. Fresno, M. y D. Vázquez. 1978. *Eur. J. Biochem.* 83: 169-178.
 43. Santamaría, F., F. Reyes y R. Lahoz. 1978. *J. Gen. Microbiol.* 109: 287-293.
 44. Vázquez, D. 1978. En "International Review of Biochemistry. Amino Acid and Protein Biosynthesis II". H. R. V. Arnstein, editor. University Park Press. Baltimore. 18: 169-232.
 45. González, A., A. Jiménez, D. Vázquez, J. Davies y D. Schindler. 1978. *Biochim. Biophys. Acta* 521: 459-469.

ESTRUCTURA Y FUNCION DE PROTEINAS

E. Palacián (desde Septiembre de 1976), F. Hernández (desde Octubre de 1978), A. López-Rivas (desde Enero de 1977), J.A. Pintor-Toro (desde Enero de 1977)

Hemos utilizado agentes acilantes para disociar ribosomas de Escherichia coli en proteínas ribosómicas y partículas deficientes en proteínas. Encontramos que la modificación de ribosomas por los anhídridos acético, maleico y succinico, está acompañada de inactivación de la síntesis polipeptídica, GTPasa dependiente de factor EFG y disociación del ribosoma 70S en subunidades 50S y 30S.

El tratamiento con anhídrido 2,3-dimetilmaleico inactiva la síntesis polipeptídica y disocia proteínas ribosómicas. La regeneración de los grupos amino modificados a pH 6, es seguida de reactivación y reconstitución de los ribosomas. Previamente a la regeneración de los grupos amino, las partículas ribosómicas y proteínas desprendidas pueden

ser separadas por centrifugación, lo que permite la preparación de nuevas partículas deficientes en proteínas. Las partículas ribosómicas obtenidas por tres tratamientos sucesivos a una razón molar de reactivo a ribosoma igual a 16.000 carecen de las proteínas S1, S2, S3, S10, S13, S14, L7, L8, L10, L11, L12 y L20 y han perdido parte de las proteínas S4, L1, L6, L16 y L25.

Estas partículas son distintas de las descritas previamente. El procedimiento nuevo utilizado para obtener partículas ribosómicas deficientes en proteína, es suave y puede ser útil para disociar otras estructuras conteniendo proteínas además de ribosomas.

También hemos tratado ribosomas de E. coli con N-bromosuccinimida. Encontramos que la modificación con éste reactivo

a una razón molar de reactivo a ribosomas de 10, estuvo acompañada de un 100-200% de incremento en síntesis de polifenilalanina, mientras que no se observó cambio en la actividad peptidiltransferasa.

La hibridación de las subunidades tratadas y no tratadas mostró que la estimulación es producida por la modificación de la subunidad 50S. La estimulación es el resultado de un incremento en la velocidad de síntesis de polifenilalanina, sin activación de los ribosomas inactivos presentes en la preparación. El tratamiento está acompañado también por la aparición, en centrifugación en gradiente de sacarosa, de un pico intermedio entre ribosomas 70S y subunidades 50S.

El resultado sugiere que este pico intermedio está producido por un equilibrio rápido de asociación disociación entre subunidades 50S y 30S modificadas. La estimulación es producida por modificación de grupos sulfhidrilo por la N-bromo succinimida. La modificación estimulativa decrece en 5 ó 6 el número de grupos SH por ribosoma reactivos

con 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoato).

Publicaciones:

1. Pintor-Toro, J.A., D. Vázquez y E. Palacián. 1978. FEBS Letters 87: 125-128.
2. López-Rivas, A., D. Vázquez y E. Palacián. 1978. Eur. J. Biochem. 92: 121-128.

REGULACION DE LA TRADUCCION EN CELULAS INFECTADAS POR VIRUS

L.Carrasco (desde Noviembre 1977), M.A.Alonso (desde Septiembre 1978), C.Fernández-Puentes, M.Fresno y R.Reyes (desde Septiembre 1978). Asistencia técnica, A.Ramos.

El desarrollo de un virus en su célula huésped produce una interferencia con las funciones celulares (2,3). Los mecanismos exactos mediante los cuales el virus es capaz de adueñarse del metabolismo celular no se conocen aún con exactitud. Nosotros hemos propuesto que uno de los factores usados por el virus es la modificación de la membrana plasmática de la célula huésped (1,2). Basándonos en el hecho de que las condiciones iónicas óptimas para la síntesis de proteínas virales y celulares in vitro son diferentes, propusimos que la traducción preferente de los mRNA virales que tiene lugar in vivo se debe a un incremento gradual de la concentración de iones monovalentes en el citoplasma de la célula infectada. El modelo de la membrana averiada

(2) supone que la modificación de la membrana es llevada a cabo por un componente viral.

En apoyo de este modelo hemos observado que varios mRNA virales que se traducen en la célula infectada en el momento que ocurre la inhibición de la síntesis de proteínas de la célula huésped, poseen un óptimo más alto de iones monovalentes para su traducción in vitro. Además, la mayor parte de la síntesis de proteínas virales en las células infectadas por picornavirus tiene lugar después de que la membrana plasmática se ha averiado. Esto se demostró mediante el uso de inhibidores de la traducción que son impermeables para las células normales. Estos inhibidores bloquean de manera específica la traducción en las células infectadas por virus, debido a que estas células tie-

nen una permeabilidad alterada a compuestos de bajo peso molecular (4,6). Estos resultados se han ampliado a otros grupos de virus citolíticos tales como los togavirus, herpesvirus, papovavirus y rabdovirus. Creemos que esta inhibición selectiva de las células infectadas por virus indica nuevas posibilidades para el diseño de agentes antivíricos.

Parte de este trabajo fue llevado a cabo por Luis Carrasco en colaboración con A.E.Smith en el Imperial Cancer Research Fund. de Londres.

Publicaciones:

1. Carrasco, L. y A.E.Smith. 1976. Nature 264: 807-809.
2. Carrasco, L. 1977. FEBS Letters 76: 11-15.
3. Smith, A.E. y L.Carrasco. 1978. En "International Review of Biochemistry. Amino Acids and Protein Biosynthesis II". H.R.V. Arnstein, editor. University Park Press. Baltimore. 18: 261-311.
4. Carrasco, L. 1978. Nature 272: 694-699.

5. Contreras, A., D.Vázquez, y L.Carrasco. 1978. J.Antibiotics 31: 598-602.

REGULACION DE LA TRADUCCION EN CELULAS INFECTADAS POR VIRUS

L. Carrasco (desde Noviembre 1977), M.A. Alonso (desde Septiembre 1978), C. Fernández-Puentes, M. Fresno y R. Reyes (desde Septiembre 1978). Asistencia técnica, A. Ramos.

El desarrollo de un virus en su célula huésped produce una interferencia con las funciones celulares (2,3). Los mecanismos exactos mediante los cuales el virus es capaz de adueñarse del metabolismo celular no se conocen aún con exactitud. Nosotros hemos propuesto que uno de los factores usados por el virus es la modificación de la membrana plasmática de la célula huésped (1,2). Basándonos en el hecho de que las condiciones iónicas óptimas para la síntesis de proteínas virales y celulares in vitro son diferentes, propusimos que la traducción preferente de los mRNA virales que tiene lugar in vivo se debe a un incremento gradual de la concentración de iones monovalentes en el citoplasma de la célula infectada. El modelo de la membrana averiada

(2) supone que la modificación de la membrana es llevada a cabo por un componente viral.

En apoyo de este modelo hemos observado que varios mRNA virales que se traducen en la célula infectada en el momento que ocurre la inhibición de la síntesis de proteínas de la célula huésped, poseen un óptimo más alto de iones monovalentes para su traducción in vitro. Además, la mayor parte de la síntesis de proteínas virales en las células infectadas por picornavirus tiene lugar después de que la membrana plasmática se ha averiado. Esto se demostró mediante el uso de inhibidores de la traducción que son impermeables para las células normales. Estos inhibidores bloquean de manera específica la traducción en las células infectadas por virus, debido a que estas células tie-

nen una permeabilidad alterada a compuestos de bajo peso molecular (4,6). Estos resultados se han ampliado a otros grupos de virus citolíticos tales como los togavirus, herpesvirus, papovavirus y rabdovirus. Creemos que esta inhibición selectiva de las células infectadas por virus indica nuevas posibilidades para el diseño de agentes antivíricos.

Parte de este trabajo fue llevado a cabo por Luis Carrasco en colaboración con A.E. Smith en el Imperial Cancer Research Fund. de Londres.

Publicaciones:

1. Carrasco, L. y A.E. Smith. 1976. Nature 264: 807-809.
2. Carrasco, L. 1977. FEBS Letters 76: 11-15.
3. Smith, A.E. y L. Carrasco. 1978. En "International Review of Biochemistry. Amino Acids and Protein Biosynthesis II". H.R.V. Arnstein, editor. University Park Press. Baltimore. 18: 261-311.
4. Carrasco, L. 1978. Nature 272: 694-699.

5. Contreras, A., D. Vázquez, y L. Carrasco. 1978. J. Antibiotics 31: 598-602.

VIRUS ONCOGENICOS

*M.Barbacid (desde Octubre 1977)
En colaboración con S.A.
Aaronson, Laboratory of
Cellular and Molecular Biology.
N.I.H. Bethesda, Maryland,
20014. U.S.A.*

Durante los últimos años se ha aclarado el mecanismo básico del ciclo de replicación de los virus tipo C de mamíferos. Sin embargo, hay poca o ninguna información sobre los procesos por los cuales estos virus causan leucemias en sus huéspedes naturales. Básicamente, se han propuesto dos tipos de mecanismos: a) los virus tipo C de mamíferos inductores de leucemias tienen un gen (distinto de los genes gag, pol y env implicados en la replicación) denominado leu cuyo producto de transcripción y/o traducción es responsable del efecto oncogénico; b) la replicación de los virus tipo C puede causar una alteración en el proceso de diferenciación de una célula específica (por ejemplo, un precursor de la médula osea) que explicaría los cambios neoplásicos observados

en la leucemia.

Hemos diseñado unos experimentos con la intención de que puedan ayudar a esclarecer este dilema. Hemos pensado que el análisis del potencial oncogénico de virus recombinantes entre la estirpe fuertemente tumorigénica Rauscher-MuLV y el todavía no oncogénico y endógeno BALB:virus-2 debería rendir evidencia para la existencia del gen leu.

Se ha encontrado que dos condiciones experimentales son precisas para obtener recombinantes entre estos dos virus: a) la replicación activa de los dos virus parentales y b) el diseño de condiciones de crecimiento específicas para los recombinantes. El limitado ámbito de huéspedes del Rauscher-MuLV, el cual solo crece en células de origen murino y las propiedades xenofóbicas del BALB:virus-2 hacen muy difícil el

seleccionar una línea celular apropiada para el crecimiento de ambos virus. Afortunadamente, hemos encontrado que BALB:virus-2 se replica en ciertas líneas celulares (WM-C) derivadas de embriones de ratón silvestre. El segundo requerimiento se cumplió utilizando un mutante de Rauscher MuLV sensible a la temperatura (ts). Al agregar fluidos sobrenadantes de células WM-C doblemente infectadas a células de ratón NIH/3T3 (restricativas para la replicación del Rauscher-MuLV-ts) y subir la temperatura a 39°C (restricativa para la replicación del Rauscher-MuLV-ts), solo pueden crecer los virus recombinantes que poseen el gen env del Rauscher-MuLV y los genes de BALB:virus-2 necesarios para reparar las lesiones del Rauscher-MuLV-ts.

Los virus se clonaron por dilución a punto final después de infectar células individuales. Cada clon de virus se creció en masa y los productos de su traducción se analizaron por competición en radioinmunoensayo con cada una de las proteínas conocidas de los virus de la leucemia

murina. Entre ellas, las proteínas estructurales p15, p12, p30 y p10 codificadas por el gen gag, la transcriptasa reversa (solo del Rauscher-MuLV) y la glicoproteína de cubierta gp 70. Los resultados de este análisis nos han permitido confirmar la naturaleza recombinante de los virus clonados y obtener un mapa genético parcial de sus genomas.

Se están llevando a cabo experimentos in vivo para determinar el potencial oncogénico de cada virus recombinante. Estos experimentos deberían proporcionar información que ayude a esclarecer el mecanismo o mecanismos por los cuales los virus-C de mamíferos causan la leucemia.

Publicaciones:

1. Stephenson, J.R., M.Barbacid, S.R.Tronek, S.Hino y S.A. Aaronson. 1977. En "Recent Advances in Cancer Research". R.Gallo, editor. CRC Press, Inc.Cleveland.
2. Krakower, J.M., M.Barbacid y S.A.Aaronson. 1977. J.Virol. 22: 331-339.
3. Krakower, J.M., M.Barbacid y S.A.Aaronson. 1977. J.Virol.

24: 1-7.

4. Barbacid, M., S.R. Tronick y S.A. Aaronson. 1978. *J. Virol.* 25: 129-137.
5. Barbacid, M., K.C. Robbins, S. Hino y S.A. Aaronson. 1978. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 75: 923-927.
6. Barbacid, M. y S.A. Aaronson. 1978. *J. Biol. Chem.* 253: 1408-1414.

Estos experimentos se llevaron a cabo en el Laboratory of Cellular and Molecular Biology, N.I.H. Bethesda, Maryland. 20014. U.S.A.

CONTROL DE LA EXPRESION GENETICA Y MORFOGENESIS DEL BACTERIOFAGO Ø29 DE BACILLUS SUBTILIS

M. Salas, A. Camacho (desde Enero 1975 hasta Julio 1976), J. Corral (desde Enero 1976), E. Domingo (desde Septiembre 1976 hasta Julio 1977), C. Escarmis (desde Septiembre 1976), J.A. García (desde Abril 1977), J. M. Hermoso (desde Enero 1977), S. Krawiec (desde Septiembre 1978), M. Lombardero (desde Diciembre 1977), J. Carrascosa (hasta Octubre 1976, desde Octubre 1978), E. Mendez (desde Junio 1976 hasta Febrero 1978), V. Morales (desde Diciembre 1977), M.A. Peñalva (desde Mayo 1977), R. Pérez Mellado, M. Rodríguez Inciarte (hasta Noviembre 1978), A. Sanz (desde Septiembre 1978), N. Villanueva, E. Viñuela. Asistencia técnica, N. Fonturbel, V. Gijón (hasta Diciembre 1977), P. Zaragoza (hasta Octubre 1977)

El bacteriophago Ø29 de B. subtilis contiene un DNA lineal de doble banda de masa molar $12 \times 10^6 \text{ g mol}^{-1}$ con una proteína, p³, unida covalentemente a los extremos 5', que es esencial para la replicación del DNA viral (15). El fago tie-

ne una estructura bastante compleja con una cabeza alargada con fibras, una proteína de elongación de la cápsida, un cuello con un collar y doce apéndices, y una cola (3). Estamos interesados en los aspectos siguientes del sistema: 1) función del complejo DNA-proteína p³ en la replicación del fago, 2) estructura del complejo DNA-proteína, 3) localización física de las regiones de control en el DNA de Ø29 y 4) estructura y morfogénesis de la partícula viral.

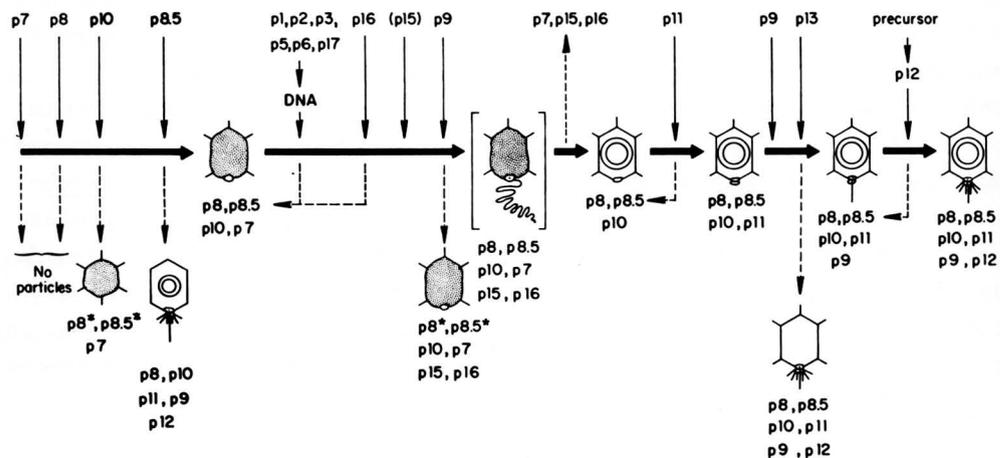
Experimentos de subida de temperatura en bacterias infectadas con mutantes ts en el cistrón 3 han indicado que p³ está implicada en la iniciación de la replicación del DNA de Ø29. Por otra parte, la infección de B. subtilis su⁻ con mutantes sus3 produce síntesis de DNA viral mientras que la infección restrictiva con mutantes ts3 no da lugar a síntesis de DNA del fago. Hemos demostrado que la proteína p³ paterna presente en los mutantes sus3 puede iniciar la síntesis del DNA viral produciendo una ronda de replicación puesto que la in-

fección de bacterias su⁻ crecidas en isótopos pesados, con mutantes sus3 produce DNA viral de densidad híbrida. Se está determinando actualmente la secuencia de nucleótidos en los dos extremos del DNA de Ø29 así como el tipo de enlace entre la proteína p³ y el DNA.

El DNA de Ø29 tiene siete sitios específicos de unión para la RNA polimerasa de B. subtilis. Su localización es consistente con la distribución de genes tempranos y tardíos y con el mapa de transcripción.

Se ha determinado el número de subunidades de las proteínas que forman la partícula viral y se ha propuesto un modelo estructural del fago (3). Se ha establecido una ruta morfogenética única para el ensamblaje de la partícula de Ø29 mediante análisis de las estructuras producidas después de la infección restrictiva de B. subtilis con mutantes sus y ts (10,11) y por complementación in vitro (17) (ver figura). Se ha purificado la proteína p¹², que forma los apéndices del cuello del fago, y se ha demostrado su papel en la adsorción de Ø29 a B. subtilis. Se está estudiando actualmente la función de proteínas no es-

RUTA MORFOGENETICA PARA EL ENSAMBLAJE DEL FAGO Ø 29



Publicaciones:

1. Carrascosa, J.L., F. Jiménez, E. Viñuela y M. Salas. 1975. *Eur. J. Biochem.* **44**: 375-381.
2. Camacho, A., J.L. Carrascosa, E. Viñuela y M. Salas. 1975. *Anal. Biochem.* **69**: 395-400.
3. Viñuela, E., A. Camacho, F. Jiménez, J.L. Carrascosa y M. Salas. 1976. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* **276**: 29-35.
4. Mellado, R.P., E. Viñuela y M. Salas. 1976. *Eur. J. Biochem.* **65**: 213-223.
5. Mellado, R.P., F. Moreno, E. Viñuela, M. Salas, B.E. Reilly y D.L. Anderson. 1976. *J. Virol.* **19**: 495-500.
6. Inciarte, M.R., J.M. Lázaro, M. Salas y E. Viñuela. 1976. *Virology* **74**: 314-323.

7. Carrascosa, J.L. A. Camacho, F. Moreno, F. Jiménez, R.P. Mellado, E. Viñuela y M. Salas. 1976. *Eur. J. Biochem.* **66**: 229-241.
8. Inciarte, M.R., E. Viñuela y M. Salas. 1976. *Eur. J. Biochem.* **71**: 77-83.
9. Viñuela, E. y M. Salas. 1976. En "Reflections on Biochemistry". A. Kornberg, B.L. Horecker, L. Cornudella y J. Oró, editores. Pergamon Press. Oxford-Nueva York-Paris-Frankfurt. pp. 293-300.
10. Camacho, A., F. Jiménez, J. de la Torre, J.L. Carrascosa, R.P. Mellado, C. Vásquez, E. Viñuela y M. Salas. 1977. *Eur. J. Biochem.* **73**: 39-55.
11. Jiménez, F., A. Camacho, F. de la Torre, E. Viñuela y M. Salas. 1977. *Eur. J. Biochem.* **73**: 57-72.
12. Mellado, R.P., E. Méndez, E. Viñuela y M. Salas. 1977. *J. Virol.* **24**: 378-382.
13. Salas, M., J.L. Carrascosa, F. Jiménez, A. Camacho y F. Moreno. 1977. En *Genética Microbiana*. Editorial Alhambra, S.A., Madrid. pp. 1-34.
14. Viñuela, E. y M. Salas. 1977. En *Avances de la Bioquímica*.

Salvat Editores, S.A., Barcelona. pp. 423-434.

15. Salas, M., R.P. Mellado, E. Viñuela y J.M. Sogo. 1978. *J. Mol. Biol.* **119**: 269-291.
16. Sogo, J.M., M.R. Inciarte, J. Corral, E. Viñuela y M. Salas. 1978. *J. Mol. Biol.* **126**: 1-27.

REGULACION DE LA SINTESIS DE PROTEINAS EN CELULAS EUCARIOTICAS

S.Ochoa, C.de Haro (desde Enero 1976), J.M.Sierra, O.Vicente (desde Enero 1978). Asistencia técnica, F.Ocaña.

Durante los últimos años, primero en el Roche Institute of Molecular Biology, Nutley, New Jersey, y desde Septiembre, 1977, en el Centro de Biología Molecular, Madrid, nuestro laboratorio ha estado implicado en el estudio de los mecanismos moleculares de la expresión genética a nivel de la traducción de RNA mensajero.

Con este fin hemos utilizado dos sistemas de células eucarióticas, embriones del crustáceo Artemia salina y reticulocitos de conejo. El sistema de A.salina fue muy útil para relacionar algunos aspectos de la traducción de mRNA con el desarrollo de estos embriones (1-7).

Recientemente hemos centrado nuestra atención en la regulación de la síntesis de proteínas en reticulocitos de conejo. La traducción de mRNA en lisados de reticulocitos

se inhibe muy rápidamente si la mezcla de incubación carece de hemina o contiene glutatión oxidado (GSSG) o RNA de cadena doble. El inhibidor de la traducción formado en ausencia de hemina es una proteína quinasa independiente de AMP cíclico que cataliza la fosforilación de eIF-2. Nosotros hemos demostrado que este inhibidor se activa mediante fosforilación de un pro inhibidor, reacción catalizada por una proteína quinasa dependiente de cAMP (8). La hemina bloquea la activación de la quinasa de eIF-2, inhibiendo la activación por cAMP de la proteína quinasa dependiente de cAMP (9,10). Hemos demostrado la existencia de quinasa de eIF-2 en otros organismos muy alejados evolutivamente de los mamíferos como son A.salina y germen de trigo (11). Así mismo hemos demostrado que a las concentraciones bajas (10-20 nM) a las que

eIF-2 está presente en los lisados, este factor es prácticamente inactivo en ausencia de un factor adicional que, al igual que eIF-2, se encuentra presente en lavados de sal elevada de ribosomas. Este factor se denomina ESP (proteína estimuladora de eIF-2). Nosotros encontramos que la fosforilación de eIF-2 por la quinasa de eIF-2 inhibe la interacción de eIF-2 con ESP. Este es el mecanismo probable por el que la quinasa de eIF-2 inhibe la traducción (12,13).

Durante el último año nos hemos concentrado fundamentalmente en el estudio del inhibidor de síntesis de proteínas inducido en presencia de GSSG en lisados de reticulocitos. Hasta el momento presente se desconoce el modo de acción de este inhibidor así como su mecanismo de activación. No obstante, algunos datos experimentales recientes de otros laboratorios apoyan la hipótesis de que la inhibición de la síntesis de proteínas inducida por GSSG en lisados suplementados con hemina, es consecuencia de la activación de una quinasa de eIF-2. Nuestros resultados

han confirmado esta observación y han demostrado además que la activación de esta quinasa de eIF-2 no es controlada por hemina. Esta activación parece tener lugar por un mecanismo en el que no existe fosforilación, posiblemente a través de la oxidación de grupos sulfhidrilo de la molécula precursora. Sería interesante determinar si el pro inhibidor activado por GSSG es la misma entidad molecular que el pro inhibidor regulado por hemina. El inhibidor dependiente de GSSG podría ser activado in vivo cuando los reticulocitos carecen de fuente de energía, necesaria para mantener los niveles elevados de glutatión reducido presente en estas células. Estamos intentando justificar y caracterizar el inhibidor con el fin de establecer claramente su modo de acción sobre la iniciación de la traducción de mRNA, así como su mecanismo de activación.

Publicaciones:

1. Sierra, J.M., D.Meier y S. Ochoa. 1974. Proc.Natl.Acad. Sci. U.S.A. 71: 2693-2697.
2. Filipowicz, W., J.M.Sierra y S.Ochoa. 1975. Proc.Natl.

- Acad.Sci. 72: 3947-3951.
3. Muthukrishnan, S., W. Filipowicz, J.M.Sierra, G. W.Both, A.J.Shatkin y S. Ochoa. 1975. J.Biol.Chem. 250: 9336-9341.
 4. Filipowicz, W., J.M.Sierra, C.Nombela, S.Ochoa, W.C. Merrick y W.F.Anderson. 1976. Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 73: 44-48.
 5. Sierra, J.M., W.Filipowicz y S.Ochoa. 1976. Biochem. Biophys. Res. Comm. 69: 181-189.
 6. Filipowicz, W., Y.Furichi, J.M.Sierra, S.Muthukrishnan, A.J.Shatkin y S.Ochoa. 1976. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 73: 1559-1563.
 7. Lee-Huang, S., J.M.Sierra, R.Naranjo, W.Filipowicz y S.Ochoa. 1977. Arch.Biochem. Biophys. 180: 276-287.
 8. Datta, A., C.Haro, J.M.Sierra y S.Ochoa. 1977. Proc.Natl. Acad.Sci. U.S.A. 74: 1463-1467.
 9. Datta, A., C.Haro, J.M.Sierra y S.Ochoa. 1977. Proc. Natl.Acad.Sci. U.S.A. 74: 3326-3329.
 10. Datta, A., C.Haro y S.Ochoa. 1978. Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 75: 1148-1152.
 11. Sierra, J.M., C.Haro. A.Datta, y S.Ochoa. 1977. Proc. Natl Acad.Sci. U.S.A. 74: 4356-4359.
 12. Haro, C., A.Datta y S.Ochoa. 1978. Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 75: 243-247.
 13. Haro, C. y S.Ochoa. 1978. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 75: 2713-2716.

REGULACION HORMONAL DE LA EXPRESION GENETICA

J.L.R-Candela, F.Moya (hasta Julio 1976), A.Nieto. En cooperación con M.Beato, Marburg, RFA. Asistencia técnica, M.R. Vega, M.D.Hermoso

En el endometrio de coneja, la progesterona y el estradiol inducen la síntesis de una proteína específica, uteroglobina, que llega a constituir el 50% de las proteínas del líquido uterino. Se está estudiando este sistema como un modelo de la acción de las hormonas esteroides ováricas. La uteroglobina se ha purificado hasta homogeneidad y se han determinado sus estructuras cuaternaria y primaria. Esta proteína está compuesta de dos subunidades idénticas, de 70 aminoácidos, unidas entre sí por dos puentes disulfuro e interacciones no covalentes (4,5). Se ha purificado el RNA mensajero de la uteroglobina y se ha traducido en sistemas libres de células. Los análisis de los inmunoprecipitados han demostrado que la uteroglobina se sintetiza como un precursor, o preute-

roglobina, conteniendo un péptido adicional de 20-30 aminoácidos (3).

La terminación de las cadenas polipeptídicas nacientes de polirribosomas de endometrio, indicó que solo uteroglobina se libera de polisomas unidos a membranas mientras que preuteroglobina y pequeñas cantidades de uteroglobina se liberan de polisomas desprovistos de membranas. Esto sugiere que el péptido adicional de la preuteroglobina es la llamada "señal", descrita para otras proteínas de secreción. La inducción de uteroglobina por hormonas se ha estudiado en explantes de endometrio incubados *in vitro*. El estradiol aumenta 5-10 veces la síntesis de uteroglobina. Los niveles de RNA mensajero de la uteroglobina también aumentan, en paralelo con la síntesis de la proteína, lo que sugiere que la inducción por hormonas es

debida a un aumento de la síntesis de RNA mensajero específico de uteroglobina.

Publicaciones:

1. Moya, F., A. Nieto y J. L. R-Candela. 1975. Eur. J. Biochem. 55: 407-413.
2. Nieto, A., J. J. L-Fando, y J. L. R-Candela. 1975. Gen. Comp. Endocrinol. 25: 259-263.
3. Beato, M. y A. Nieto. 1976. Eur. J. Biochem. 64: 15-25.
4. Nieto, A., H. Ponstingl y M. Beato. 1977. Arch. Biochem. Biophys. 180: 82-92.
5. Ponstingl, H., A. Nieto, M. Beato. 1978. Biochemistry 17: 3908-3912.

INTERACCIONES CELULARES EN EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO

G. Ramírez, J. Gómez Barriocanal (desde Septiembre 1978), E. Manrique (desde Enero 1976), S. Villa (desde Enero 1977), M. J. Villafruela (desde Enero 1978). En cooperación con N.W. Seeds (University of Colorado, USA hasta 1976), E. Escudero (Universidad Autónoma, Fac. Ciencias desde Septiembre 1978). Asistencia técnica A. Barat (desde Abril 1976).

El sistema nervioso, en general, se compone de una serie de estructuras, con cierta independencia ontogénica, que en un momento determinado del desarrollo establecen conexiones estructurales y funcionales, unas con otras, constituyendo un sistema integrado de mayor capacidad operativa que la simple suma de las partes. Nuestra idea es tratar de entender los mecanismos que regulan dichas interacciones y su programación genética.

El sistema visual de las aves constituye un modelo sencillo para estudiar la integración de dos componentes discretos, la retina y el tectum ópti-

co, en un sistema visual maduro y funcional. Ambas estructuras tienen un periodo de crecimiento autónomo tras el cual degenerarían de no establecer conexiones mutuas. Ello implica que este primer periodo de desarrollo autónomo no solamente tiene la finalidad aparente de crear dichas estructuras, sino también de prepararlas para una interacción específica, espacial y temporalmente, dentro del plan maestro de constitución del sistema visual.

Dentro de este marco conceptual hemos desarrollado una serie de líneas experimentales. Por ejemplo, es posible interferir con una relación retino-tectal normal destruyendo un ojo (en un pollo) en diferentes momentos del desarrollo embrionario. Si esta operación tiene lugar antes del primer contacto entre las fibras del nervio óptico y el tectum podemos estudiar cómo se desarrolla un lóbulo óptico sin aferencias retinianas. Si la destrucción del ojo se hace justo el día antes de la eclosión podemos ver el efecto que la deprivación sensorial tiene en la maduración post-

natal del tectum.

Dentro de otra línea metodológica, es posible disociar las células embrionarias retinianas y tectales, antes de la formación de la conexión retino-tectal, y cultivarlas, bien por separado, o mezcladas en proporciones conocidas para ver la diferencia entre su capacidad de desarrollo en aislamiento, y en situación de interacción *in vitro*. Los parámetros utilizados para valorar la función, en las diversas situaciones experimentales, están relacionados con la neurotransmisión ya que ésta probablemente constituye la base de la especificidad funcional en el sistema nervioso.

Mediante estas estrategias, hemos podido demostrar que el reconocimiento retino-tectal depende de factores temporales y topográficos, y que la interacción subsiguiente se manifiesta mediante cambios específicos de los perfiles de desarrollo de la neurotransmisión.

Publicaciones

1. Ramírez, G. 1977. Neurochem. Research 2: 417-425.
2. Ramírez, G. 1977. Neurochem.

Research 2: 427-438.

3. Ramírez, G. y N.W. Seeds. 1977. *Devel. Biol.* 60: 153-162.
4. Seeds, N.W., G. Ramírez y M. J. Marks. 1977. En "Cell Cultures and Its Application. R.T. Acton y J.D. Lynn, editores. Academic Press, Nueva York. pp. 23-37.

VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA

E. Viñuela, J.M. Almendral (desde Septiembre 1978), L. Enjuanes (hasta Junio 1976), J. Santarén (desde Octubre 1978), J. Kuznar (desde Octubre 1976), A.L. Carrascosa, M.A. Moreno, J. Ortín (desde Septiembre 1975 hasta Agosto 1977), M.L. Salas (desde Octubre 1977), J. Salas (desde Octubre 1977), A. Talavera (desde Julio 1977), A. Villasante (desde Mayo 1977) hasta Septiembre 1978). Asistencia técnica, E. Cano, I. Cubero

El virus de la peste porcina africana (VPPA) es un deoxivirus citoplasmático e icosaédrico que posee envuelta. El virus infecta cerdos domésticos dando lugar a una enfermedad aguda letal o a una infección persistente con hiperglobulinemia y formación de anticuerpos no neutralizantes. Nosotros estamos interesados en los siguientes aspectos del VPPA: 1) La estructura del virión, 2) la bioquímica de las células infectadas con el VPPA y 3) la respuesta inmunológica al VPPA y a antígenos específicos de VPPA.

El VPPA purificado contiene

una molécula de DNA de doble banda con una masa molar de 100×10^6 g mol⁻¹ (2). El DNA se asemeja al del virus de la vacuna en que posee conexiones entre las bandas sensibles a nucleasa S1, que están probablemente localizadas cerca de los extremos de la molécula. El VPPA contiene alrededor de 25 proteínas estructurales y una serie de actividades enzimáticas. Entre éstas, hay una actividad RNA polimerasa dependiente de DNA que no requiere la adición de DNA exógeno.

El VPPA infecta principalmente células del sistema retículoendotelial. Los glóbulos blancos del cerdo sensibles a VPPA son los monocitos diferenciados *in vitro* a macrófagos (1). Los macrófagos humanos, de gallina, conejo, cobaya, hamster o rata no son capaces de propagar el VPPA (2). Hemos desarrollado un microensayo de hemadsorción de VPPA así como un ensayo de plaqueo de VPPA adaptado a crecer en la línea VERO de fibroblastos de riñón de mono verde africano (3).

El virus induce la síntesis de al menos 36 proteínas en células infectadas. Una de

ellas es una DNA polimerasa dependiente de DNA sensible a fosfonoacetato y a fosfonofor-miato. Este enzima es codificado por el virus ya que hemos obtenido mutantes de VPPA resistentes a fosfonoacetato (5). Las células VERO enucleadas no sintetizan DNA de VPPA. La función o funciones nucleares que se requieren para la síntesis del DNA del virus podrían ser alguno o algunos enzimas necesarios para la replicación del DNA o la transcripción del RNA (4).

Publicaciones:

1. Enjuanes, L., A.L. Carrascosa, M.A. Moreno y E. Viñuela. 1976. *J. Gen. Virol.* 32: 471-477.
2. Enjuanes, L., A.L. Carrascosa, y E. Viñuela. 1976. *J. Gen. Virol.* 32: 479-492.
3. Enjuanes, L., I. Cubero y E. Viñuela. 1977. *J. Gen. Virol.* 34: 455-463.
4. Ortín, J. y E. Viñuela. 1977. *J. Virol.* 21: 902-912.
5. Moreno, M.A., A.L. Carrascosa, J. Ortín y E. Viñuela. 1978. *J. Gen. Virol.* 93: 253-258.

MICROTUBULOS

*J. Avila (desde Junio 1976),
V.G. Corces (desde Junio 1976),
R. Manso (desde Febrero 1978),
A. Villasante (desde Octubre
1978), G. Wiche (desde Mayo has-
ta Septiembre 1977).*

Los microtúbulos son estructuras proteicas, posiblemente implicadas en diversas funciones celulares, p.e. movilidad celular, transporte intracelular, formación del citoesqueleto y movimiento cromosómico. Nosotros pretendemos estudiar este último aspecto, el movimiento de los cromosomas en mitosis.

Los movimientos cromosómicos tienen posiblemente lugar mediante la interacción de los microtúbulos del huso acromático con una región del cromosoma, el cinetocoro. Nuestro objetivo es el conocimiento de este proceso a nivel molecular. La región centromérica del cromosoma está compuesta de proteína y DNA, mientras los microtúbulos están formados por una proteína mayoritaria, tubulina y diversas proteínas asociadas al microtúbulo (MAPs). Resulta-

dos iniciales indicaron que la tubulina no se une a DNA, mientras las MAPs muestran afinidad por él. Las MAPs se fraccionaron en polipéptidos de alto peso molecular (HMWs) y factor tau observándose que ambas fracciones tienen afinidad por el ácido nucleico; sin embargo el tipo de interacción con él es diferente. HMWs tienen una mayor capacidad de unión a DNA eucariótico o poli dAdT que a DNA procariótico, mientras el factor tau se une con una eficiencia parecida a los diferentes DNAs (1).

Hemos fraccionado el DNA de ratón en DNA satélite y DNA mayoritario y se ha estudiado la afinidad de la unión de las HMW por ambos tipos de DNA. Los resultados que obtuvimos indicaron que añadiendo la misma cantidad de proteína, ésta une una mayor proporción de DNA satélite que de DNA mayoritario

(2); como el DNA satélite se localiza en la región centromérica de cromosomas metafásicos, hemos sugerido un modelo que postula que la unión del microtúbulo al cromosoma in vivo se realiza a través de la interacción del DNA satélite con las HMWs.

Publicaciones:

1. González Corces, V., J. Salas, M.L. Salas y J. Avila. 1978. Eur. J. Biochem. 86: 473-479.
2. Wiche, G., V.G. Corces y J. Avila. 1978. Nature 273: 403-405.
3. González Corces, V. y J. Avila. 1978. Eur. J. Biochem. 83: 529-535.

REGULACION DE LA DIVISION DE CELULAS ANIMALES EN CULTIVO

*J. Salas (hasta Octubre 1977),
J. Avila (desde Septiembre 1975
hasta Junio 1976), V.G. Corces
(desde Octubre 1975 hasta Junio
1976), J.A. Melero (hasta Marzo
1975), A. Pellicer (hasta Sep-
tiembre 1976), M. Perucho (has-
ta Enero 1977), M.L. Salas (has-
ta Octubre 1977)*

La regulación del ciclo de división es un problema fundamental en biología celular. En fibroblastos mantenidos en cultivo existen formas de control del crecimiento que pueden reconocerse por la morfología de las colonias, la incapacidad de crecer en cultivos en suspensión y la sensibilidad a "inhibición por contacto" de la división celular. Los virus oncogénicos son capaces de liberar a las células de estas formas de restricción del crecimiento. El problema del control del crecimiento se ha abordado mediante el estudio de la síntesis de proteínas con afinidad por el DNA en líneas celulares normales y transformadas por virus oncogénicos (2). Se encontró que, en cultivos en reposo, la

síntesis de una de estas proteínas, P8, es mucho mayor en las líneas transformadas que en las no transformadas. En experimentos con células sincronizadas, se observó que la síntesis de la P8, así como la de otra proteína mayoritaria con afinidad por el DNA, P6 (4), estaba descontrolada a lo largo del ciclo de división en las líneas transformadas. La P8 ha sido identificada como el enzima glicolítico gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa. La síntesis descontrolada de este enzima a lo largo del ciclo de división en fibroblastos transformados por virus podría estar relacionada con la glicolisis alterada de las células tumorales (5). La proteína P6 se ha caracterizado como tubulina, el componente mayoritario de los microtúbulos celulares. Sin embargo, se encontró que la tubulina homogénea no interacciona con el DNA. En contraste ciertas proteínas de alto peso molecular asociadas con los microtúbulos (MAPs) tienen una gran afinidad por el DNA. Estudios sobre la especificidad de la interacción de las MAPs con el

DNA sugieren que estas proteínas se unen con mas afinidad a DNA eucariótico que a DNA de fagos (7).

Se ha examinado la presencia de poli A polimerasa en líneas normales y transformadas (1). Los resultados indican que existen dos formas de poli A polimerasa, denominadas IIA y IIB, en cultivos en crecimiento y estacionarios de células normales y transformadas. Las formas IIA y IIB se han purificado y caracterizado. Sus propiedades sugieren que la función biológica de estos enzimas es la poliadenilación postranscripcional de los RNA mensajeros (6). Una forma adicional, poli A polimerasa I, se ha detectado en células normales en reposo, pero no en fase exponencial, mientras que fibroblastos transformados tanto en fase logarítmica como en reposo contienen cantidades comparables de este enzima. Este hallazgo puede indicar que la poli A polimerasa I se encuentra descontrolada en las células transformadas cuando están creciendo exponencialmente.

Publicaciones:

1. Pellicer,A., J.Salas y M.L.

- Salas. 1975. Biochim. Biophys. Acta 378: 107-118.
2. Melero,J.A., M.L.Salas, J. Salas y I.A.Macpherson. 1975. J.Biol.Chem. 250: 3683-3689.
3. Melero,J.A., J.Salas y M. L.Salas. 1976. Biochim. Biophys.Acta 437: 462-476.
4. Melero,J.A., M.L.Salas y J.Salas. 1976. Eur.J. Biochem. 67: 341-348.
5. Perucho,M., J.Salas y M.L. Salas. 1977. Eur.J.Biochem. 81: 557-562.
6. Pellicer,A., J.Salas y M. L.Salas. 1978. Biochim. Biophys.Acta 519: 149-162.
7. Corces,V.G., J.Salas, M.L. Salas y J.Avila. Eur.J. Biochem. 86: 473-479.

VARIABILIDAD GENETICA DE VIRUS

J.Ortín (desde Enero 1978), E. Domingo (desde Enero 1978). Asistencia técnica, M.Dávila

El polimorfismo genético es un fenómeno bien documentado, que ha sido descrito tanto en eucariontes como en bacterias y bacteriófagos. Desde 1978 hemos enfocado nuestro interés en virus RNA como sistemas modelo para el estudio de la heterogeneidad genética presente en poblaciones naturales, su origen y sus implicaciones en la evolución adaptativa de cepas virales.

Como sistemas modelo para este estudio hemos escogido los virus de fiebre aftosa y de gripe, debido a su conocida variabilidad antigénica. Los principales objetivos de este estudio son los siguientes: 1) Análisis de la heterogeneidad genética a nivel de RNA de poblaciones naturales de virus de fiebre aftosa y de gripe humana. 2) Variabilidad genética in vitro de los virus de fiebre aftosa y de gripe humana. 3) Fidelidad de replicación de RNA de dichos virus en sistemas acelulares in vitro y 4) Estudios

sobre competencia genética de poblaciones virales in vitro.

Durante 1978 hemos puesto a punto en el laboratorio métodos para la producción, marcaje radioactivo, purificación y ensayo de placa de ambos tipos de virus, así como para el análisis de los RNAs marcados por digestión con RNasa T1 y fingerprint.

Resultados preliminares sobre el análisis del RNA de aislados virales de ambos tipos de virus indican la presencia de variaciones en las secuencias que sugieren una abundante heterogeneidad genética en estos virus.

ANÁLISIS GENÉTICO DEL DESARROLLO DE DROSOPHILA

A. García-Bellido, M.P. Capdevila, A. Ferrús, G. Morata, P. Ripoll P. Santamaría. En cooperación con B.S. Baker y A.T. Carpenter (Universidad de California en San Diego, U.S.A.) y P.A. Lawrence (M.R.C. Laboratorio de Biología Molecular. Cambridge. Inglaterra). Asistencia técnica: A.C. Andreu, M.R. Andrés, M.J. Benito, M. Calleja, P. Garrido, M. R. González, C. Cibreiro, E. Reoyo, B. Sanchez.

Nuestro campo de estudio en general es el análisis genético de los procesos de desarrollo en Drosophila. Hemos prestado especial atención a los discos imaginales, estructuras formadas por las células que van a diferenciar todos los elementos cuticulares del adulto. Los resultados que se obtuvieron durante los últimos cuatro años pueden ser agrupados en cuatro capítulos: 1) Desarrollo normal de los discos imaginales. 2) Genes homoeóticos. 3) Mutantes morfogenéticos y 4) Genética de células somáticas.

Las características del desarrollo de los discos imagi-

nales han sido estudiadas principalmente por análisis de mosaicos. Hemos publicado el trabajo en extenso sobre el descubrimiento de "compartimentos" en el disco de ala (1). Los compartimentos son regiones de la cutícula diferenciadas por grupos discretos de células segregados cualitativamente unos de otros durante el desarrollo. Este descubrimiento fue facilitado por el desarrollo de la llamada "técnica Minute" (2) una técnica basada en una más rápida proliferación de las células normales en un disco Minute. Una caracterización más completa de los mutantes Minute (3) ha revelado que esta técnica es válida para todos los brazos cromosómicos.

La interacción entre células Minute de crecimiento lento y células normales ha sido estudiada en mosaicos producidos en el desarrollo temprano, particularmente en referencia al fenómeno de competición celular (4). Los resultados muestran que este fenómeno solo ocurre dentro de los compartimentos durante el período de proliferación celular.

El análisis del desarrollo temprano del disco torácico mostró que la segregación de compartimentos anterior-posterior ocurre alrededor del período de blastodermo, antes que las células originarias de discos ventrales y dorsales se hayan segregado (5). Todas las células fundadoras del compartimento anterior y del posterior se agrupan entre sí en áreas coherentes, estando ambos primordios localizados muy juntos o adyacentes en el embrión (6).

También hemos demostrado que la cutícula de la cabeza está compartimentalizada de una forma similar a la de las estructuras torácicas (7), aunque en este caso la segregación anterior-posterior se establece más tarde en el desarrollo que en los discos torácicos y la orientación de los compartimentos está invertida con respecto al eje longitudinal del animal.

Se estudió asimismo el problema del mantenimiento de las restricciones de compartimentos durante regeneración. Células aisladas de discos maduros fueron inducidas a proliferar en cultivos in vivo. Estas células parece que mantienen las res-

tricciones que tienen lugar en el desarrollo temprano mientras que no respetan las tardías.

Las implicaciones de la teoría de los compartimentos en el desarrollo normal se discutieron en varios artículos de revisión (9,10,11).

Los genes homeóticos se consideran genes clave en el desarrollo ya que especifican caminos de desarrollo tomados por ciertos grupos de células. Nuestro trabajo con genes homeóticos se ha dirigido hacia el análisis de su modo de acción.

Hemos encontrado que los genes bithorax se requieren continuamente desde el principio del desarrollo (12). El camino de desarrollo de las células puede ser alterado hasta tarde en el desarrollo dependiendo del nivel de actividad génica (12,13). La función de los genes bithorax se expresa en afinidades celulares específicas de las células afectadas (14). El mecanismo de activación de los genes bithorax se analizó induciendo fenocopias de bithorax. Este método experimental ha demostrado que la activa-

ción ocurre en el estadio de blastodermo y desde ese momento es permanente. Los resultados de estos experimentos nos han llevado a sugerir un modelo para el mecanismo de control de la función bithorax (20).

Hemos establecido asimismo que la existencia de la restricción entre compartimentos anterior y posterior requiere la función normal del gen engrailed exclusivamente en el compartimento posterior de los discos torácicos (16,17).

Otro mutante homeótico, wingless, parece afectar la segregación de los compartimentos torácicos y apendicular en los discos imaginales de ala y halterio (18) aunque en este caso el modo de acción parece ser diferente.

Los mecanismos de activación y función de los genes homeóticos y su conexión con los procesos de compartimentalización han sido discutidos en varios artículos de revisión (19, 20,21,22).

Se conocen en *Drosophila* muchas mutaciones que alteran características morfológicas. Hemos estudiado varias de ellas con el objetivo de entender el mecanismo morfogénico normal

que afectan. Los análisis clonal y de fenocopias de un grupo de mutantes que causan cortes en las alas (ct⁶ y Bx^J) sugieren que estos mutantes afectan la adhesividad celular durante la proliferación. De sus efectos sobre el margen del ala se concluye que la diferenciación de las células a ambos lados del borde del compartimento dorsal-ventral resulta de interacción mutua (23). El análisis de varios mutantes que afectan las venas del ala sugiere que el patrón morfológico normal de aquellas resulta de la inducción de células de la superficie dorsal del ala sobre células de la superficie ventral que están determinadas independientemente (24).

El estudio de los mutantes del sistema achaete-scute ha mostrado que la función normal de esos genes se requiere para la inervación de quetas y sensilas. Un factor letal embrionario presente en este sistema carece de las funciones normales del sistema nervioso central (25).

Los mutantes viables corresponden a alelos de una pequeña fracción (alrededor

del 10%) de los genes y solo unos pocos afectan morfogénesis. Por tanto, para comprender la morfogénesis es necesario estudiar los alelos letales. Hemos desarrollado un método para inducir, aislar y estudiar mutantes morfogénicos (letales en individuos homocigóticos) directamente en clones de células homocigóticas (26). Los resultados obtenidos en este estudio han sido discutidos en un artículo de revisión (27).

El efecto en células somáticas de la homocigosis para mutaciones letales puntuales inducidas con EMS (28) ha sido analizado en mosaicos genéticos (29). Los resultados muestran que el 50% de los letales son viables en ginandromorfos; por lo menos el 25% muestran competencia celular en el disco imaginal de ala y un 10% son letales celulares autónomos. Para estudiar genes en su condición totalmente amorfa se ha estudiado en células epidérmicas la homocigosis para 30 deficiencias, que variaban entre 2 y 30 bandas de los cromosomas politénicos, (30). Encontramos que el 12% de las bandas contiene un gen necesario para viabili-

dad celular. La similitud de los resultados obtenidos con mutaciones puntuales y los obtenidos con deficiencias sugieren que hay alrededor de 5.000 genes para viabilidad en el genoma de *Drosophila*, corroborando así estimaciones independientes previas.

El grado en que homología y apareamiento cromosómico durante interfase son prerequisites para la recombinación mitótica ha sido estudiado usando cromosomas XY y Y marcados (31) y cromosomas con inversiones (32). Los resultados muestran que la homología, la polaridad y el apareamiento son necesarios para que ocurra recombinación mitótica. El hecho de que inversiones supriman intercambios mitóticos fuera de la región invertida sugiere que el apareamiento de cromosomas homólogos debe ser muy íntimo.

Hemos estudiado el efecto de varias mutaciones que se sabe afectan la meiosis, sobre procesos mitóticos. Mientras algunas de estas mutaciones son específicas de meiosis otras afectan también la mitosis. Algunos mutantes causan segregaciones anorma-

les de los centromeros durante la mitosis. Otros afectan la estabilidad cromosómica. Análisis de estos últimos sugiere que hay al menos dos mecanismos independientes de reparación del DNA.

Publicaciones:

1. García-Bellido, A., P. Ripoll y G. Morata. 1976. *Develop. Biol.* 48: 132-147.
2. Morata, G. y P. Ripoll. 1975. *Develop. Biol.* 42: 211-221.
3. Ferrús, A. 1975. *Genetics* 79: 589-599.
4. Ferrús, A. y García-Bellido. 1977. *Wilhelm Roux'Archiv.* 182: 93-106.
5. Lawrence, P.A. y G. Morata. 1977. *Develop. Biol.* 56: 40-51.
6. García-Bellido, A. y A. Ferrús. 1975. *Wilhelm Roux'Arch.* 178: 337-340.
7. Morata, G. y P.A. Lawrence. 1978. *Nature* 247: 473-474.
8. García-Bellido, A. y R. Nothiger. 1976. *Wilhelm Roux'Arch.* 180: 189-206.
9. García-Bellido, A. 1975. En "Cell Patterning". CIBA Foundation 29: 161-182.
10. García-Bellido, A. 1975. *ICN-UCLA Symposium on Molecular and Cellular Biology*. D. McMahon

y C. Fred Fox, editores. 2: 40-59.

11. Lawrence, P.A. y G. Morata. 1976. En "Insect Development" P.A. Lawrence, editor, pp. 132-143.
12. Morata, G. y A. García-Bellido. 1976. *Wilhelm Roux'Arch.* 179: 125-143.
13. Morata, G. 1975. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 34: 19-31.
14. García-Bellido, A. y E.B. Lewis. 1976. *Develop. Biol.* 48: 400-410.
15. Capdevila, M.P. y A. García-Bellido. 1978. *Wilhelm Roux'Arch.* 185: 105-126.
16. Morata, G. y P.A. Lawrence. 1975. *Nature* 255: 614-617.
17. Lawrence, P.A. y G. Morata. 1976. *Develop. Biol.* 50: 321-337.
18. Morata, G. y P.A. Lawrence. 1977. *Develop. Biol.* 56: 227-240.
19. García-Bellido, A. 1977. *Amer. Zool.* 17: 613-629.
20. García-Bellido, A. y M.P. Capdevila. 1978. En "The Clonal Basis of Development" S. Subtelny y I.M. Sussex, editores. Academic Press Nueva York. pp. 3-21.
21. Morata, G. y P.A. Lawrence. 1977. *Nature* 265: 211-216.
22. Morata, G. y P.A. Lawrence. 1978. En "The Clonal Basis of Development". S. Subtelny y I.M. Sussex, editores. Academic Press Nueva York. pp. 45-60.
23. Santamaría, P. y A. García-Bellido. 1975. *Wilhelm Roux'Arch.* 178: 233-245.
24. García-Bellido, A. 1977. *Wilhelm Roux'Arch.* 182: 93-106.
25. García-Bellido, A. y P. Santamaría. 1978. *Genetics* 88: 460-486.
26. Ferrús, A. y A. García-Bellido. 1976. *Nature* 260: 425-426.
27. García-Bellido, A. y P. Ripoll. 1978. En "Results and Problem in Cell Differentiation" W. Gehring, editor. Springer-Verlag. 9: 119-156.
28. Ripoll, P. 1976. *Genética Ibérica* 28: 173-185.
29. Ripoll, P. 1977. *Genetics* 86: 357-376.
30. García-Bellido, A. y P. Ripoll. 1978. *Nature* 273: 339-340.
31. Ripoll, P. y A. García-Bellido. 1978. *Genetics* 90: 93-104.
32. García-Bellido, A. y F. Wandosell. 1978. *Mole. Genetics* 161: 317-321.
33. Baker, B.S., J.B. Boyd, A.T.

- C.Carpenter, M.M.Green, T.
D.Nguyen, P.Ripoll y P.D.
Smith. 1976. Proc.Nat.Acad.
Sci. U.S.A. 73: 4140-4144.
34. Baker,B.S., A.T.C.Carpenter
y P.Ripoll. 1978. Genetics
90: 531-578.

ACTIVIDADES DOCENTES

Tesinas de Licenciatura:

Fernández Diaz, Manuel. "Efecto de la administración de glucosa sobre la inducción de la fosfoenolpiruvato carboxi-
cinasa (E.C.4.1.1.32) causada por la administración de ácido nicotínico". (1976).
Caliani Mela, Josefa. "Estudio de la desnaturalización y re-
naturalización del DNA cromosomal en las reacciones de
hibridación *in situ*". (1976).
García Bueno, Mariano. "Iso-
enzimas de la lactato deshi-
drogenasa hepática después
del tratamiento con agentes
glucogenolíticos". (1976).
Sánchez Martínez, Demetrio.
"Estudio de la desnaturaliza-
ción del DNA bajo ciertas con-
diciones experimentales (fuer-
za iónica, pH, formamida y
formaldehído)". (1976).
López Domingo, M. Isabel.
"Distribución intracromosomal
del DNA y de secuencias repe-
titivas en un autosoma. El
cromosoma cuarto de *Drosophi-
la hydei*". (1976).

García García, M^a Luisa. "Revi-
sión de los factores que deter-
minan la hibridación en filtros
e *in situ* y comparación de la
eficiencia de los dos sistemas
en condiciones idénticas de
reacción". (1976).
Sánchez Olavarria, Jesús M^a.
"Efecto del suero y de la hi-
droxiurea sobre el ciclo repro-
ductivo de células de mamífero
(BHK) en cultivo". (1976).
Sánchez Rubiales, Manuel. "Es-
tudio cinético y efecto del fe-
nilpiruvato sobre la actividad
malato deshidrogenasa (E.C.1.
1.1.37) citoplasmática y mito-
condrial de hígado de cerebro
de rata". (1976).
Fernández Belda, Francisco José.
"Utilización de sustratos res-
piratorios por mitocondrias
aisladas de cerebro de rata du-
rante el desarrollo". (1977).
Abad de Castro, Pilar. "Control
morfológico y de contaminacio-
nes micoplasmáticas en cultivos
de células de mamíferos". (1977)
Duran Alvarez, Angel. "Mecanis-
mo de acción bimodal de la hi-
droxiurea sobre la síntesis de

DNA en cultivos de células
BHK 21/I₁". (1977).

Alonso Castellano, José Luis.
"Estudio de la síntesis resi-
dual de DNA en células BHK-21
inhibidas por HU". (1977).

Perez Lucas, Francisco Javier.
"Características cinéticas de
la piruvato cinasa tipo L
(E.C.2.7.1.40) de hígado de
rata tras la administración
de ácido nicotínico o gluca-
gón". (1977).

Pariente Alonso, Felix. "Meca-
nismo de acción de la hidro-
xiurea: posibilidades de pre-
vención de su efecto inhibi-
dor sobre la síntesis de DNA".
(1977).

Guerrero Vega, Maria Isabel.
"Aislamiento y caracteriza-
ción de la membrana luminal
de túbulo renal de la rata".
(1977).

Lacal Ruiz, Jose María. "Efec-
to del disulfirán sobre el
metabolismo de los ácidos
grasos en hepatocitos aisla-
dos procedentes de ratas ayu-
nadas". (1977).

Gallego Aguagil, María Eugenia.
"Y-glutamyl transpeptidasa de
cerebro de rata. Actividad
durante el desarrollo". (1977).
Alcover Santos, Andrés. "Aná-
lisis de ácidos grasos de ca-

dena corta. Detección de orgá-
nico acidemias". (1977).

Sánchez Picazo, Maria Isabel.
"Efecto del NH₄⁺ *in vivo* sobre
la inducción de "Puffing" y
la actividad de la glutamina
sintetasa en larvas de *Droso-
phila hydei*". (1978).

Benlloch Marin, Amparo. "Carac-
terísticas bioquímicas de la
deficiencia respiratoria indu-
cida por glicerol en *Saccharo-
myces cerevisiae*". (1978).

Tesis doctorales:

Pages Torrens, Montserrat. "Sín-
tesis de RNA que contiene poli
A en los núcleos aislados de
las glándulas salivales de *Dro-
sophila hydei*. Hibridación *in
situ* del hn RNA y mRNA". (1976).
Satrústegui Gil-Delgado, Jorgina.
"Inducción de diversas enzimas
por aireación de células de
Saccharomyces cerevisiae culti-
vadas en anaerobiosis. Estudio
de la influencia de los siste-
mas de síntesis de proteínas
mitocondrial y citoplasmático".
(1976).

Benito de las Heras, Manuel
Román. "Regulación del ciclo
glucosa/ácidos grasos y de la
cetogénesis después de la glu-
cogenolisis inducida por ácido

nicotínico". (1976).

Benavides Yanguas, Jesús. "Metabolismo de cuerpos cetónicos en fenilcetonuria". (1976).

Llorente Agudo, Nieves. "Función biológica de las aldehído deshidrogenasas NAD^+ y NADP^+ de levadura". (1977).

Rosario Saavedra, Paula. "Inhibición de la cetogénesis por sustratos gluconeogénicos en hepatocitos aislados de rata". (1977).

Cuezva Marcos, José Manuel.

"Efecto de la hipomadurez fetal en el mantenimiento de la homeostasis calórica neonatal". (1978).

Cursos:

1975-1978. Bioquímica, Bioquímica y Química Orgánica (8 meses cada uno). Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1975-1978. Enzimología, Bioquímica Estructural, Fisiología Animal, Fisiología Vegetal, Genética del Desarrollo, Bioquímica Metabólica I y II, Biofísica y Patología Molecular. (4 meses cada uno). Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

Cursos de doctorado:

1975-1976. Bases Moleculares de la Morfogénesis y Diferenciación, Regulación Metabólica, Enzimología, Patología Molecular. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1976-1977. Morfogénesis y Diferenciación, Organización Cromosómica, Enzimología. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1977-1978. Patología Molecular, Regulación Metabólica, Genética del Desarrollo, Enzimología. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E INSTITUTO DE BIOQUIMICA DE MACROMOLECULAS

Tesinas de Licenciatura:

Santos, Gregorio Angel. "Modo de acción de diversos citostáticos" (1975).

Bernabeu Quirante, Carmelo.

"Modificación funcional de ribosomas producida por mercurio (II). Estimulación de la actividad peptidil transferasa". (1975).

Martínez Montero, Octavio.

"Relaciones estructura-función en el ribosoma de Escherichia coli: Estudios de modificación enzimática de proteínas ribosómicas mediante iodinación catalizada por lactoperoxidasa". (1976).

Perez Gosalvez, Miguel. "Marcaje por afinidad del centro peptidiltransferasa en el ribosoma de Saccharomyces cerevisiae". (1976).

González Aguilar, Antonio.

"Estudio de la acción de bruceantina e higromicina B sobre la elongación de la cadena peptídica en organismos eucarióticos". (1977).

Alonso Lebrero, Miguel Angel

"Efecto de ionóforos sobre

la síntesis de proteínas en la levadura Saccharomyces cerevisiae". (1978).

Correas Hornero, Isabel. "Modo de acción de los antibióticos aminoglucosídicos en ribosomas eucarióticos". (1978).

Juan Vidales, Fernando. "Actividad peptidil-tRNA hidrolasa de la proteinasa K". (1978).

Tesis doctorales:

San Millán Vergé, Ma José. "Estudios sobre la polimerización de las cadenas peptídicas en Escherichia coli. Mecanismo de acción del ácido fusídico y estequiometría de la polimerización". (1975).

Contreras Jiménez, Antonio. "Interacción de sustratos y antibióticos con el ribosoma". (1976).

Hernández Sanchez, Francisco. "Estructura y función del ribosoma de Escherichia coli: Estudios de reconstitución parcial y función de proteínas ribosómicas". (1976).

Reyes Bori, Ramón. "Caracteri-

zación fisicoquímica y funcional del ribosoma de hígado de rata. Implicación de los componentes ribosómicos en la actividad de la partícula".

(1976).

Sánchez Rodríguez, Lucas. "Obtención y caracterización de mutantes de la levadura Saccharomyces cerevisiae alterada en la biosíntesis de proteínas". (1976).

Baez Bermejo, Adriana. "Estudios sobre el sitio y modo de acción de narciclasina". (1977).

Bernabeu Quirante, Carmelo. "Análisis estructural y funcional de los centros activos del ribosoma de Escherichia coli". (1977).

Fresno Escudero, Manuel. "Iniciación de la síntesis de proteínas en organismos superiores. Sistemas modelo. Subunidades nativas. Modo de acción de inhibidores". (1977).

Cursos:

1976-1978. Microbiología General (8 meses). Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1977-1978. Microbiología, Inmunología (4 meses cada uno).

Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

Cursos de doctorado:

1975-1976. Mecanismos de Acción de Antibióticos, Genética y Tecnología de Levaduras. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA Y GENETICA MOLECULAR E INSTITUTO DE BIOLOGIA DEL DESARROLLO

Tesinas de Licenciatura:

Villasante Atienza, Alfredo. "Caracterización de las fosfoproteínas con afinidad por el DNA aisladas de fibroblastos en cultivo". (1975).

Villanueva Vico, Nieves. "Aislamiento de mutantes sensibles a temperatura en los cistrones R y P del bacteriófago Ø29". (1975).

Villa González, Salvador. "Ensayo del receptor de acetilcolina en cerebro de rata". (1977).

García Alvarez, Juan Antonio. "Morfogénesis del bacteriófago Ø29. Orden de actuación de las proteínas p15, p16 y TP1". (1977).

Villafruela, María Jesus. "Aparición de formas moleculares de la acetilcolinesterasa durante el desarrollo del sistema visual del pollo" (1978).

Peñalva Soto, Miguel Angel. "Función de la proteína p3 en la replicación del DNA del bacteriófago Ø29 de Bacillus subtilis". (1978).

Vicente Meana, Oscar. "Estudios sobre el mecanismo de inhibición de la síntesis de proteínas por glutatión oxidado en reticulocitos de conejo". (1978).

Tesis doctorales:

Rodríguez-Inciarte, Marta. "Mapa físico del DNA del bacteriófago Ø29". (1975).

Enjuanes Sánchez, Luis. "Estudios sobre el virus de la peste porcina africana crecido en monocitos". (1975).

Camacho Pedrero, Ana. "Morfogénesis del bacteriófago Ø29 en mutantes afectados en las proteínas estructurales". (1975).

Melero Fondevila, José Antonio. "Proteínas con afinidad por el DNA en células normales y transformadas". (1975).

Jiménez González-Anleo, Fernando. "Morfogénesis del bacteriófago Ø29 en mutantes afectados en las proteínas no estructurales". (1976).

Pérez Mellado, Rafael. "Genética del bacteriófago Ø29." (1976).

Perucho Martínez, Manuel. "Purificación y propiedades de una

proteína (P8) con afinidad por el DNA obtenida de fibroblastos en cultivo". (1976).

Pellicer Garrido, Angel. "Poli A polimerasas en células normales y transformadas por virus oncogénicos". (1976).

Moya Rodríguez, Fernando. "Biosíntesis de la calcitonina: evidencia de un precursor" (1976).

López Carrascosa, Angel. "Virus de la peste porcina africana: Adaptación y proteínas inducidas en células VERO". (1978).

González Corces, Victor. "Interacción de las proteínas contráctiles con el DNA". (1978).

Cursos:

1975-1978. Genética Molecular (4 meses). Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid.

1976-1978. Genética Molecular I y II, Virología, Bioquímica Física (4 meses cada uno). Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1977-1978. Química Física de los Procesos Biológicos, Interacciones Macromoleculares (4 meses cada uno). Facultad

de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

Cursos de doctorado:

1975-1976. Virología Molecular. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

1976-1977. Virología Molecular, Interacciones Macromoleculares. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

SECCION DE GENETICA DEL DESARROLLO

Tesis doctorales:

Ferrús Gamero, Alberto. "Aislamiento y caracterización de mutantes morfogenéticos en Drosophila melanogaster". (1976).

Capdevila Bermejo, M^a Paz.

"Base genética de las fenocopias de los mutantes bithorax de Drosophila melanogaster". (1977).

SEMINARIOS

- F.A.Ayala
Department of Genetics
University of California
Davis, California
- T.Cabezón
Université Libre de
Bruxelles
Bruselas, Belgica
- B.Cabrer
Instituto de Bioquímica
de Macromoléculas
Centro de Biología Molecular
Universidad Autónoma de
Madrid
Madrid, España
- A.Camacho
University of Chicago
Chicago, Illinois, USA
- M.Cannon
University of London
King's College
Londres, Inglaterra
- J.L.Carrascosa
Biozentrum
University of Basel
Basilea, Suiza
- J.Castillo
Instituto de Investigaciones Científicas de
Venezuela
Caracas, Venezuela
- L.Cronenberger
Max-Planck-Institut für
Molekulare Genetik
Berlin, Alemania
- J.E.Davies
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin, USA
- L.R.Denes
University of Chicago
Chicago, Illinois, USA
- J.M.R.Delgado
Centro Santiago Ramón y
Cajal
Madrid, España
- R.L.Delgado
Laboratoire de Photophysique
Moléculaire
Université de Paris-Sud
Paris, Francia
- J.M.Dellacha
Departamento de Química
Biológica. Facultad de
Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina
- L.Enjuanes
Frederick Cancer Research
Center
Frederick, Maryland, USA
- P.Esponda
Instituto de Biología Celular
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Madrid, España
- M.Esteban
Department of Microbiology
Rutgers Medical School
Rutgers, Nueva Jersey, USA
- J.Fain
Brown University, Providence
Rhode Island, USA
- W.Fiers
Laboratorium Voor
Moleculaire Biologie
Gent, Belgica
- A.M.Galarza
Departamento de Bioquímica
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense
de Madrid, España
- J.M.Gancedo
Instituto de Enzimología
del C.S.I.C.
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de
Madrid, España
- R.M.Gaze
National Institute for
Medical Research
Londres, Inglaterra
- E.Gelpi
Instituto de Biofísica
y Neurobiología
Barcelona, España
- M.Gosalvez
Centro Nacional de Investigaciones Médico Quirúrgicas. Clínica Puerta
de Hierro
Madrid, España
- M.Green
University of California
Davis, California, USA
- M.Guirao
Departamento de Anatomía
Universidad de Granada
- B.Hardesty
University of Texas
Austin, Texas, USA
- L.H.Hartwell
University of Washington
Seattle, Washington, USA
- E.Herrera
Cátedra de Fisiología General. Facultad de Biología
Universidad de Barcelona
Barcelona, España
- J.R.Herrera
Departamento de Genética
y Biología Molecular
Centro de Investigaciones
y Estudios Avanzados del
I.N.P.
Mexico
- J.Ito
Scripps Clinic and Research
Foundation
La Jolla, California, USA
- M.Izquierdo
University of Edinburg
Edimburgo, Escocia
- I.Janda
Institute of Microbiology
Czechoslovakian Academy of
Sciences
Praga, Checoslovaquia

T.Jao
 Universidad de Puerto Rico
 Mayaguez, Puerto Rico

J.L.Jorcano
 Max-Planck-Institut
 Berlin, Alemania

D.Kerridge
 University of Cambridge
 Cambridge, Inglaterra

T.Koller
 Institut fur Zellbiologie
 ETH Zurich. Suiza

E.Kuechler
 University of Vienna
 Viena, Austria

J.A.Lake
 University of California
 Los Angeles, CA, USA

P.A.Lawrence
 Medical Research Laboratory
 of Molecular Biology
 Cambridge, Inglaterra

D.I.Lindsley
 University of California
 San Diego, California, USA

H.F.Lodish
 Massachusetts Institute of
 Technology. Cambridge,
 Massachusetts, USA

R.Marco
 Instituto de Enzimología
 del C.S.I.C.
 Facultad de Medicina
 Universidad Autónoma de
 Madrid, España

M.Miranda
 Institute of Biophysics
 University of Janeiro
 Rio de Janeiro, Brasil

F.Murillo
 Departamento de Genética
 Facultad de Ciencias
 Sevilla, España

E.H.McConkey
 University of Colorado
 Colorado, USA

S.Olsnes
 Norsk Hydro's Institute
 for Cancer Research
 Oslo, Noruega

A.Parmeggiani
 Ecole Polytechnique
 Palaiseau, Francia

A.M.Pascual
 Universidad Complutense
 de Madrid, España

A.Pellicer
 Columbia University
 New York City, New York, USA

M.Perucho
 Max-Planck-Institute
 Berlin, Alemania

L.Philipson
 University of Uppsala
 Medical Center
 Uppsala, Suecia

W.Piepersberg
 University of Regensburg
 Regensburg, Alemania

D.F.Poulson
 Yale University
 New Haven, Connecticut, USA

A.Rich
 Massachusetts Institute
 of Technology
 Cambridge, Massachusetts
 USA

D.B.Roberts
 Oxford University
 Oxford, Inglaterra

G.Semenza
 Laboratorium fur Biochimie
 Eidgenossische Technische
 Hochschule
 Zurich, Suiza

L.Slobin
 Cornell University
 Ithaca, Nueva York, USA

W.Stone
 University of Wisconsin
 Madison, Wisconsin, USA

P.R.Smith
 Biozentrum. University of
 Basel
 Basilea, Suiza

G.Thomas
 Friedrich Miescher
 Institute
 Basile, Suiza

A.A.Villena
 London Hospital Medical
 College
 Londres, Inglaterra

S.R.Wagle
 Department of Pharmacology
 University of Indiana
 Bloomington, Indiana, USA

M.Waring
 Cambridge University
 Cambridge, Inglaterra

K.Weber
 Max-Planck-Institut fur
 Biophysikalische Chemie
 Berlin, Alemania

I.G.Wool
 University of Chicago
 Chicago, Illinois, USA

T.Wright
 University of Virginia
 Charolotte, Virginia, USA

CONGRESOS

Congreso sobre "Developmental
 Genetics of Drosophila"
 Organizado por P.Ripoll y A.
 García Bellido. Madrid. Sep-
 tiembre 1976.

Congreso sobre "Ribosomes".
 Organizado por D.Vázquez. Sa-
 lamanca. Junio 1978.

XVII Reunión de la Sociedad
 Española de Bioquímica. Orga-
 nizado por el Instituto de
 Biología Molecular. Madrid.
 Octubre 1978.

