



Curso de Post-grado
"Biología Celular del RNA"
Coordinadora: Graciela L. Boccaccio

Programa 2018

CONTENIDOS TEÓRICOS:

Módulo I: Regulación del ARN. 1. Proteínas de unión a RNA: generalidades y mecanismos de interacción. Regulación mutua entre proteínas y RNAs. Ejemplos. Regulación post-transcripcional en tripanosomas: Rol de RBPs en la coordinación de la expresión génica. 2. Modificaciones post-transcripcionales del ARN. Metilación y epigenética del ARN. Bases moleculares y función. 3. Estructura del ARN. Elementos de estructura secundaria. Estructura y dinámica de los ARN virales; relevancia en la replicación y traducción virales.

Módulo II: Splicing. Mecanismos y regulación del splicing alternativo en eucariotas. Relevancia funcional. Sumoilación y reacción de splicing. Vías de señalización, vía de AKT.

Módulo III: Traducción eucariota: 1) Regulación: Ejemplos, silenciamiento traduccional por estrés celular. Mecanismos moleculares: rol de 5' tRNAs, IRES y uORFs. 2) Uso de codones. Efecto de codones raros en la velocidad y la eficiencia de la traducción. Interacciones entre codones adyacentes y efecto de la base de oscilación ("wobble"). Ejemplos en patologías. Control de calidad co-traduccional (RQC); NSMD, NGD, NSD y atascamiento de polisomas. 3) Desregulación traduccional y patogénesis. mRNA con repeticiones en patologías: toxicidad del RNA y traducción independiente de ATG (*RAN translation*).

Módulo IV: ARN no-codificantes. 1- ARNs largos no codificantes (lncARN): características, funciones y técnicas analíticas relacionadas. Los lncRNA como precursores de pequeños ARNs (miRNAs, piRNAs, siRNAs, entre otros). Interacción de lncRNA con proteínas asociadas y sus consecuencias funcionales. Mecanismos moleculares en animales y plantas. Técnicas bioquímicas comúnmente utilizadas (ChIP, RIP, BiS, MeDIP, DRIP, ATAC, FAIRE, MNase, 3C/4C/HiC, ChiAPET, entre otras). 2- Biogénesis y función de ARNs pequeños (sncRNAs). Rol de miRNAs y otros sncRNAs en la homeostasis de organismos superiores (plantas y animales). Evolución de su biogénesis y funciones durante el desarrollo, defensa y en estabilidad genómica en plantas y animales. ARN circulares (circRNA). Estabilidad de miRNAs. Regulación en *cis* por modificaciones post-transcripcionales y en *trans* por sus propios targets.

Módulo V: Cuerpos de silenciamiento de RNA. Gránulos de Estrés, P-Bodies y cuerpos relacionados. Dinámica de gránulos de estrés y PBs. Determinantes moleculares y celulares de su agregación: motores moleculares, "crowding" citosólico, interacciones proteína-proteína mediadas por *prion-like*, secuencias repetitivas y/o de baja complejidad (LCR). Relevancia funcional de la formación de cuerpos de silenciamiento.

Módulo VI: Transporte subcelular de RNA. Relevancia durante el desarrollo embrionario temprano y en la polaridad neuronal. Motivos de RNA involucrados. Exportación de RNAm por el poro nuclear y por vías alternativas: evaginación de gránulos de RNA. Motores moleculares y adaptadores. Traducción localizada: Mecanismos moleculares y celulares.



TRABAJO PRÁCTICO:

Análisis de PBs y SGs en células de mamífero.

- I. Metodología general, herramientas y artefactos: anticuerpos y transfección de marcadores moleculares.
- II. Análisis cuantitativo automatizado de imágenes mediante algoritmos de MATLAB específicamente diseñados.
- III. Cuantificación del efecto del knockdown por RNAi de componentes de andamiaje y catalíticos de PBs.

SEMINARIOS: Cada estudiante realizará una presentación oral (45 min) de un artículo seleccionado por los docentes y relacionado a los temas de los módulos teóricos.

Exámen final escrito: Problemas y preguntas sobre todos los contenidos prácticos y teóricos del curso.



Bibliografía –Tópicos de Biología Celular Avanzada-Biología Celular del ARN 2018:

Clases teóricas y de seminarios

Modulo I:

- Ray et al. A compendium of RNA-binding motifs for decoding gene regulation. *Nature*. 2013;499(7457):172-7.
- Castello et al. RNA-binding proteins in Mendelian disease. *Trends Genet*. 2013 29(5):318-27.
- Castello et al. Insights into RNA biology from an atlas of mammalian mRNA-binding proteins. *Cell*. 2012 Jun 8;149(6):1393-406.
- Hentze and Preiss. The REM phase of gene regulation. *Trends Biochem Sci*. 2010 35(8):423-6.
- Ascano et al. FMRP targets distinct mRNA sequence elements to regulate protein expression. *Nature*. 2012 492(7429):382-6.
- Jia et al., Reversible RNA adenosine methylation in biological regulation. *Trends Genet*. 2013 29(2):108-15.
- Squires et al., Widespread occurrence of 5-MeC in human coding and non-coding RNA. *NAR*, 2012 40: 5023-5033 (*paper a discutir*)
- Villordo SM and Gamarnik AV. Differential RNA sequence requirement for dengue virus replication in mosquito and Mammalian cells. *J Virol*. 2013 87(16):9365-72.
- Gebhard LG et al. Functional RNA elements in the dengue virus genome. *Viruses*. 2011 (9):1739-56.
- Iglesias NG and Gamarnik AV. Dynamic RNA structures in the dengue virus genome. *RNA Biol*. 2011 8(2):249-57.
- Villordo SM, et al A balance between circular and linear forms of the dengue virus genome is crucial for viral replication. *RNA*. 2010 16(12):2325-35.
- Samsa MM, et al. Dengue virus capsid protein usurps lipid droplets for viral particle formation. *PLoS Pathog*. 2009 Oct;5(10):e1000632.
- Filomatori et al. A 5' RNA element promotes dengue virus RNA synthesis on a circular genome. *Genes Dev*. 2006; 20(16):2238-49.
- De Gaudenzi JG, Carmona SJ, Agüero F, Frasch AC. Genome-wide analysis of 3'-untranslated regions supports the existence of post-transcriptional regulons controlling gene expression in trypanosomes. *PeerJ*. 2013 Jul 30;1:e118. doi: 10.7717/peerj.118. Print 2013. PubMed PMID: 23904995; PubMed Central PMCID: PMC3728762.
- De Gaudenzi JG, Noé G, Campo VA, Frasch AC, Cassola A. Gene expression regulation in trypanosomatids. *Essays Biochem*. 2011;51:31-46. doi: 10.1042/bse0510031. Review. PubMed PMID: 22023440.
- Jäger AV, De Gaudenzi JG, Cassola A, D'Orso I, Frasch AC. mRNA maturation by two-step trans-splicing/polyadenylation processing in trypanosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(7):2035-42. Epub 2007 Jan 31. PubMed PMID: 17267594; PubMed Central PMCID: PMC1892994.
- De Gaudenzi J, Frasch AC, Clayton C. RNA-binding domain proteins in Kinetoplastids: a comparative analysis. *Eukaryot Cell*. 2005 Dec;4(12):2106-14. PubMed PMID: 16339728; PubMed Central PMCID: PMC1317496.
- Noé G, De Gaudenzi JG, Frasch AC. Functionally related transcripts have common RNA motifs for specific RNA-binding proteins in trypanosomes. *BMC Mol Biol*. 2008 Dec 8;9:107. doi: 10.1186/1471-2199-9-107. PubMed PMID: 19063746; PubMed Central PMCID: PMC2637893.
- Cassola A, De Gaudenzi JG, Frasch AC. Recruitment of mRNAs to cytoplasmic ribonucleoprotein granules in trypanosomes. *Mol Microbiol*. 2007 Aug;65(3):655-70. PubMed PMID: 17635187.
- D'Orso I, De Gaudenzi JG, Frasch AC. RNA-binding proteins and mRNA turnover in trypanosomes. *Trends Parasitol*. 2003 Apr;19(4):151-5. Review. PubMed PMID:12689640.

Módulo II:

- Risso G, Pelisch F, Pozzi B, Mammi P, Blaustein M, Colman-Lerner A, Srebrow A. Modification of Akt by SUMO conjugation regulates alternative splicing and cell cycle. *Cell Cycle*. 2013 Oct 1;12(19):3165-74. doi: 10.4161/cc.26183. Epub 2013
- Blaustein M, Pérez-Munizaga D, Sánchez MA, Urrutia C, Grande A, Risso G, Srebrow A, Alfaro J, Colman-Lerner A. Modulation of the Akt pathway reveals a novel link with PERK/eIF2 α , which is relevant during hypoxia. *PLoS One*. 2013 Jul 29;8(7):e69668. doi: 10.1371/journal.pone.0069668. Print 2013.
- Pelisch F, Risso G, Srebrow A. RNA metabolism and ubiquitin/ubiquitin-like modifications collide. *Brief Funct Genomics*. 2013 Jan;12(1):66-71. doi: 10.1093/bfpg/els053. Epub 2012 Nov 22. Review. PubMed PMID: 23178477.



- Risso G, Pelisch F, Quaglino A, Pozzi B, Srebrow A. Regulating the regulators: serine/arginine-rich proteins under scrutiny. *IUBMB Life*. 2012 Oct;64(10):809-16. doi: 10.1002/iub.1075. Epub 2012 Sep 3. Review. PubMed PMID: 22941908.
- Pelisch F, Pozzi B, Risso G, Muñoz MJ, Srebrow A. DNA damage-induced heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K sumoylation regulates p53 transcriptional activation. *J Biol Chem*. 2012 Aug 31;287(36):30789-99. doi:10.1074/jbc.M112.390120. Epub 2012 Jul 23. PubMed PMID: 22825850;
- Pelisch F, Khauv D, Risso G, Stallings-Mann M, Blaustein M, Quadrana L, Radisky DC, Srebrow A. Involvement of hnRNP A1 in the matrix metalloprotease-3-dependent regulation of Rac1 pre-mRNA splicing. *J Cell Biochem*. 2012 Jul;113(7):2319-29. doi: 10.1002/jcb.24103. PubMed PMID: 22345078; PubMed Central PMCID: PMC3927408.
- Pelisch F, Gerez J, Druker J, Schor IE, Muñoz MJ, Risso G, Petrillo E, Westman BJ, Lamond AI, Arzt E, Srebrow A. The serine/arginine-rich protein SF2/ASF regulates protein sumoylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Sep;107(37):16119-24. doi: 10.1073/pnas.1004653107.
- Blaustein M, Pelisch F, Srebrow A. Signals, pathways and splicing regulation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(11):2031-48. Epub 2007 Apr 8. Review. PubMed PMID: 17507279.
- Blaustein M, Pelisch F, Tanos T, Muñoz MJ, Wengier D, Quadrana L, Sanford JR, Muschietti JP, Kornblihtt AR, Cáceres JF, Coso OA, Srebrow A. Concerted of nuclear and cytoplasmic activities of SR proteins by AKT. *Nat Struct Mol Biol*. 2005 Dec;12(12):1037-44. Epub 2005 Nov 20.
- Pelisch F, Blaustein M, Kornblihtt AR, Srebrow A. Cross-talk between signaling pathways regulates alternative splicing: a novel role for JNK. *J Biol Chem*. 2005 Jul 8;280(27):25461-9. Epub 2005 May 10

Modulo III:

- Mori K et al: The C9orf72 GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTL/ALS. *Science*. 2013 339(6125):1335-8.
- Reddy and Pearson RAN translation: fragile X in the running. *Neuron*. 2013 78(3):405-8.
- Ash et al. Unconventional translation of C9ORF72 GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. *Neuron*. 2013. 77(4):639-46.
- Todd et al. CGG repeat-associated translation mediates neurodegeneration in fragile X tremor ataxia syndrome. *Neuron*. 2013 78(3):440-55.

Modulo V:

- Franks TM, Lykke-Andersen J (2008) The control of mRNA decapping and P-body formation. *Mol Cell* 32 (5):605-615
- Buchan JR, Parker R (2009) Eukaryotic stress granules: the ins and outs of translation. *Mol Cell* 36 (6):932-941
- Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, Closs EI, Filipowicz W (2006) Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress. *Cell* 125 (6):1111-1124
- Thomas et al (2011) RNA granules: the good, the bad and the ugly. *Cell Signal* 23 (2):324-334.
- Kato M, et al (2012) Cell-free formation of RNA granules: low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels. *Cell* 149 (4):753-767.
- Han et al. Cell-free formation of RNA granules: bound RNAs identify features and components of cellular assemblies. *Cell*. 2012 May 11;149(4):768-79.
- Loschi et al. Dynein and kinesin regulate stress-granule and P-body dynamics. *J Cell Sci*. 2009 122:3973-82.
- Buchan JR, et al Eukaryotic Stress Granules Are Cleared by Autophagy and Cdc48/VCP Function. *Cell*. 2013 153(7):1461-74.
- Arribere et al. Reconsidering movement of eukaryotic mRNAs between polysomes and P bodies. *Mol Cell*. 2011 44(5):745-58.
- Ivanov et al. Angiogenin-induced tRNA fragments inhibit translation initiation. *Mol Cell*. 2011 43(4):613-23.
- Yang and Schimmel. Functional expansion of the tRNA world under stress. *Mol Cell*. 2011;43(4):500-2.
- Perez Pepe, Fernandez Alvarez & Boccaccio, *Biochemistry* 2018.

Modulo VI:

- Lécuyer et al. Global analysis of mRNA localization reveals a prominent role in organizing cellular architecture and function. *Cell* (2007) 131: 174-187.
- Cajigas IJ, et al (2012) The local transcriptome in the synaptic neuropil revealed by deep sequencing and high-resolution imaging. *Neuron* 74 (3):453-466.



- Dix CI et al. Lissencephaly-1 promotes the recruitment of dynein and dynactin to transported mRNAs. *Biol.* 2013 ; 202(3):479-94.
- Speese SD, et al (2012) Nuclear envelope budding enables large ribonucleoprotein particle export during synaptic Wnt signaling. *Cell* 149 (4):832-846.
- Udagawa et al. (2012) Bidirectional control of mRNA translation and synaptic plasticity by the cytoplasmic polyadenylation complex. *Mol Cell* 47 (2):253-266.
- Huang YW et al (2012) Dual Regulation of miRNA Biogenesis Generates Target Specificity in Neurotrophin-Induced Protein Synthesis. *Cell* 148 (5):933-946.
- Giorgi C, et al (2007) The EJC factor eIF4AIII modulates synaptic strength and neuronal protein expression. *Cell* 130 (1):179-191.
- Baez MV et al Smaug1 mRNA-silencing foci respond to NMDA and modulate synapse formation. *J Cell Biol* 2011 195 (7):1141-1157.
- Pascual M. et al Synaptic activity regulated mRNA-silencing foci for the fine tuning of local protein synthesis at the synapse. *Commun Integr Biol* (2012) 5 (4):388-392.
- Majumdar et al (2012) Critical role of amyloid-like oligomers of Drosophila Orb2 in the persistence of memory. *Cell* 148 (3):515-529
- Kruttner et al (2012) Drosophila CPEB Orb2A mediates memory independent of its RNA-binding domain. *Neuron* 76 (2):383-395.
- Salazar AM, (2010) Regulation of synaptic Pumilio function by an aggregation-prone domain. *J Neurosci* 30

Trabajo Práctico:

- Perez-Pepe et al: BUHO: a MATLAB script for the study of stress granules and processing bodies by high-throughput image analysis. *PLoS One*. 2012;7(12):e51495.
- Kedersha N, et al. Real-time and quantitative imaging of mammalian stress granules and processing bodies. *Methods Enzymol*. 2008;448:521-52.
- Thomas MG, Luchelli L, Pascual M, Gottifredi V, Boccaccio GL. A monoclonal antibody against p53 cross-reacts with processing bodies. *PLoS One*.2012;7(5):e36447. doi: 10.1371/journal.pone.0036447. Epub 2012 May 10.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 490.327/07

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 28 AGO 2018

VISTO

La nota a fojas 238 presentada por la Dirección del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Tópicos de Biología Celular Avanzada: Biología Celular del RNA** para el año 2018.

CONSIDERANDO

- Lo actuado por la Comisión de Doctorado,
- Lo actuado por la Comisión de Posgrado,
- Lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración,
- Lo actuado por este cuerpo en la sesión realizada en el día de la fecha,
- En uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

ARTÍCULO 1°: Aprobar el dictado del curso de posgrado **Tópicos de Biología Celular Avanzada: Biología Celular del RNA** de 56 hs. de duración, que será dictado por la Dra. Graciela Boccaccio con la colaboración de los Dres. Anabella Srebrow, Ezequiel Surace, Dr. Javier de Gaudenzi, Andrea Gamarnik, Manuel de la Mata, Pablo A. Manavella, Federico Damian Ariel y Luis Aníbal Diambra.

ARTÍCULO 2°: Aprobar el programa del programa del curso de posgrado **Tópicos de Biología Celular Avanzada: Biología Celular del RNA**, obrante a fs 243/247, para su dictado del 12 de noviembre al 10 de diciembre de 2018.

ARTÍCULO 3°: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

ARTÍCULO 4°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, a la Dirección de Alumnos, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con fotocopia del programa incluida. Cumplido archívese.

Resolución CD N° **2092**
SP/ga/17/08/2018

Dr. PABLO J. PAZOS
Secretario Adjunto de Posgrado
FCEyN - UBA

Dr. JUAN CARLOS REBOREDA
DECANO