

PROGRAMA TEORICO

MEMBRANAS BIOLÓGICAS.

Estructura-biogénesis. Lípidos. Proteínas. Canales. Uniones. Componentes y modelos de estructura de membranas. Modelo de Danielli y Dawson. Unidades de membranas. Modelo de Singer y Nicholson: concepto de fluidez. Métodos para el estudio de membranas. Sistemas modelos: interfases agua-aire. Membranas negras. Liposomas.

Membranas. Dinámica. Interacción célula-célula. Matriz extracelular. Endocitosis. Exocitosis. Transporte. Dominios clatrina. *Coated vesicles*. Receptores. Reciclaje.

REGULACION DE LAS FUNCIONES ASOCIADAS A MEMBRANAS.

Receptores. Receptores de membrana y acción hormonal. Relación entre *binding* y actividad biológica. Identificación. Consideraciones generales. Ensayos de *binding* a células y membranas. Cinética de la interacción hormona-receptor. Análisis del *steady state*. Cooperatividad negativa versus heterogeneidad. Plot de Scatchard. Solubilización de receptores. Purificación. Parámetros moleculares e hidrodinámicos.

Receptor de insulina. Generalidades. Ensayo y localización. Modificaciones enzimáticas. Cromatografía de afinidad. Purificación del receptor. Subunidades. Endocitosis. Función de los distintos polipéptidos. Proteínas quinasas de serina y tirosina. Mecanismos de autofosforilación del receptor. Relación con los oncogenes y la transformación celular. Clonado molecular del receptor. Análisis de los diferentes dominios de la secuencia. Homología con factores de crecimiento.

Toxina del cólera. Receptores. GM1. Estructura de la toxina. *Binding* de las subunidades. Activación de la adenilil ciclasa. Modelo del receptor móvil. Toxina *pertussis*. Estructura. Modo de acción. Interacción con subunidades inhibitorias.

Receptor del glucagón. Caracterización. Solubilización. Purificación.

Receptores alfa y beta adrenérgicos. Farmacología. Agonistas y antagonistas. Activación de la Gs de adenilil ciclasa. Interacción receptor-enzima. Purificación. Topografía. Zonas transmembranas. Localización de los sitios de *binding*. Glicosilación. Fosforilación. *Coupling* con la adenilil ciclasa. Proteínas quinasas del receptor. Desensibilizaciones homólogas y heterólogas. Homología con receptores de rodopsina y muscarínicos. Clonado. Híbridos.

Receptores de narcóticos. Enkefalinas. Endorfinas. Tipos de receptores. Estructura. Segundos mensajeros. Inhibición de la adenilil ciclasa. Mecanismos de analgesia. Relación con hormonas hipofisarias.


Dra. MIRTHA M. FLAWIA
PROFESOR TITULAR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UBA

APROBADO POR REGULAR

CD 424/87

Receptores de acetil colina. Muscarínicos y nicotínicos. Estructura y localización. Interacción lípidos-proteínas. Clonado. Zonas transmembranas. Fosforilación. Glicosilación. Unión al ligando. Cooperatividad entre los sitios. Formación del canal iónico. Interacción con G_i , etc.

REGULACION DE LA ACCION HORMONAL. NUCLEOTIDOS CICLICOS.

Adenilil ciclasa. Localización. Peso molecular de la holoenzima. Características termodinámicas de la reacción. acción de los nucleótidos sobre la actividad enzimática. Efecto del GTP. GTP análogos. F, Al, toxinas y hormonas. Parámetros hidrodinámicos y moleculares.

Componente catalítico. Interacción con el componente regulatorio. Regulación. Purificación. Forskolina y Mn^{++} .

Componentes regulatorios. Subunidades estimuladoras e inhibitoras (G_s - G_i). Subunidades. Criterios para caracterizar una proteína G. Funciones reguladas por G. Estructuras moleculares. Interacciones ligando-proteína G. Receptores proteína G. Proteínas G y efectores. Proteínas G y membranas. Modificaciones covalentes, ADP ribosilación. Actividad de GTPasa. Diferentes tipos de G (G_s , G_i , G_o , G_p , etc.) Clonado molecular; zonas de homología de secuencias. Modelo de Halliday. Fusión de membranas. Reconstitución de sistemas. Liposomas.

Regulación del mecanismo de visión. Receptor de rodopsina. Transducción. Fosfodiesterasa y guanilato ciclasa. Interacción entre las distintas subunidades. Retinitis pigmentosa. Mutante rd.

Receptores olfatorios y gustativos. Regulación. Caracterización y segundos mensajeros.

Adenilil ciclasa en eucariotes inferiores y procariotes. Control por el AMP cíclico del crecimiento y la diferenciación. Proto y holociclasas. Adenilil ciclasa de *Neurospora crassa*, *Mucor rouxii*, *Trypanosoma cruzi*, etc. Reconstitución de sistemas: receptor G-C. Subunidades homólogas y heterólogas. Anticuerpos monoclonales. Evolución de los distintos componentes proteicos. Adenilil ciclasa de cianobacterias y rizobium. Purificación y caracterización.

Adenilil ciclasa de plantas superiores. Localización. Purificación. Regulación por Ca y calmodulinas. Proteínas G. Localización. ADP ribosilación. Regulación por la luz. Guanilato ciclasas. Localización, caracterización y regulación por auxinas y citoquininas.

Genes ras. Proteínas target, p21. GTPasa de los genes ras. Localización. Relación con G_s . Fosforilación. Binding de GTP. Expresión de genes ras en *E. coli*. Mutantes. Relaciones con: adenilil ciclasa, crecimiento celular, utilización de fuentes de carbono, etc. Clonado y secuenciación. Genes ras humanos. Oncogen ras.


Dra. MIRTHA M. FLAWIA
PROFESOR TITULAR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNA

APROBADO POR RESOLUCION CD 424/97

REGULACION DE LOS NIVELES DE AMP CICLICO.

Proteínas quinasas y fosfodiesterasas. Tipos de quinasas. Localización. Estructura. Separación. Rotulación de las subunidades. Quinasas dependientes e independientes de AMP cíclico.

Regulación de las señales extracelulares. Mecanismos asociados a Ca y calmodulina. Calmodulina. Estructura y función. Activación de enzimas. Regulación de la concentración intracelular de Ca^{2+} . Hormonas que lo movilizan. Inhibidores del sistema.

Proteína quinasa C. Rol como señal de superficie. Actividad promotora de tumores. Turnover de los fosfolípidos del inositol. Diacilglicerol. Respuesta celular. Esteres de forbol.

Proteínas quinasas que fosforilan tirosina. Sustratos. Interrelación del sistema quinasas de serina, tirosina y treonina.

Ciclo celular. Regulación del crecimiento celular. Oncogenes. Relación con factores de crecimiento. Sistemas de fosfoinosítidos.


REGULACION DE LA EXPRESION DE GENES.

Animales transgénicos. Introducción de genes heterólogos en animales. Construcción de genes por fusión. Secuencias reguladoras. Promotores. Metalotioneína. Integración de los genes heterólogos en el DNA cromosómico. Inducción de la expresión. Expresión en ratones transgénicos. Metilación de los nuevos genes. Transmisión hereditaria.

Expresión del gen de la hormona del crecimiento. Promotores. Regulación. Integración. Análisis del DNA-RNA y proteínas de fusión. Inducción de la expresión. Corrección de enfermedades hereditarias. Thyl; elastasa. Antígenos de SV40; c myc; c fos; alfa fotoproteína, insulina, gamma y beta globina; protamina, beta lactoglobulina, etc. Regulación de promotores. Terapias génicas. Corrección y obtención de mutantes.

Regulación de la expresión de genes en plantas. Agrobacterium tumefaciens. Infección. Plásmido Ti; T-DNA; genes vir. Regulación. Inducción. Siringonas y flavonoides. Proceso de transferencia. Octopinas y nopalinas. Genes marcadores. Genes quimeras. Expresión de genes bacterianos en plantas. Plantas resistentes a plaguicidas, antibióticos e insectos. Clonado de genes lux. Expresión. Genes regulados por fitocromos y luz.

Regulación de la fijación de nitrógeno. Simbiosis bacteria-leguminosa. Infección y nodulación. Propiedades y estructura del nódulo. Genes. Bacteroide. Nitrogenasas. Purificación. Cinética de la fijación. Subunidades. Genes que codifican los distintos polipéptidos. Operon nif. Genes regulatorios y estructurales. Glutamino sintetasa. Utilización del NH_3 . Inhibición por el O_2 . Regulación de la expresión de los genes nif. Mutantes.

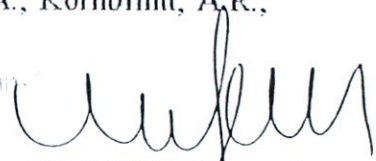

Dra. MIRTHA M. FLAWIA
PROFESOR TITULAR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UDA

PROGRAMA PRACTICO

- Caracterización, purificación y regulación de adenilil ciclasas de eucariotes inferiores y superiores.
- Proteínas G: purificación y caracterización, actividad GTPasa, unión de GTP y ADP ribosilación.
- Reconstitución de sistemas heterólogos R-G-C.
- Transducción de señales en plantas.
- Purificación parcial de quinasas de proteína C de cerebro. Dependencia de Ca^{2+} y fosfolípidos.

15.- BIBLIOGRAFIA

- Genetic analysis of hormone-sensitive adenylate cyclase. Gary L. Johnson, Harvey R. Kaslow, Zvi Farfel and Henry R. Bourne. *Adv. In Cyclic Nucl. Res.*, Vol. 13 (1980).
- Protein kinase activities in *Neurospora crassa*. Judewicz, N.D., Glikin, G.C. y Torres, H.N. *Arch. Biochem. Biophys.* 206, 87 (1980).
- Mn^{2+} - dependent adenylate in rat testis: Purification and properties. Kornblihtt, A.R., Flawiá, M.M. y Torres, H.N. *Biochemistry* 20, 1262 (1981).
- Adenosine 3'5' phosphate in fungi. P11, M. *Microbiological Reviews*, Vol. 45, 462 (1981).
- Purification and properties of the regulatory component (G/F) of adenylate cyclase. Paul C. Sternweis, John K. Northup, Emanuel Hanski, Leonard S. Schleifer, Murray D. Smigel and Alfred G. Gilman. *Adv. In Cyclic Nucl. Res.*, Vol. 14 (1981).
- Reconstitution of the primary action of an hormone receptor using solubilized components. Michael Schramm, Yoav Citri, Gera Neufeld, Mira Korner and Sara Eimerl. *Adv. In Cyclic Nucl. Res.*, Vol. 14 (1981).
- Cyclic nucleotide phosphodiesterase activities in *Neurospora crassa*. Téllez-Istón, M.T., Glikin, G.C. y Torres, H.N. *Biochem. J.* 203, 611 (1982).
- Soluble adenylate cyclase activity in *Neurospora crassa*. Reig, J.A., Kornblihtt, A.R., Flawiá, M.M. y Torres, H.N. *Biochem.* 207, 43 (1982).


Dra. MIRTHA M. FLAWIÁ
PROFESOR TITULAR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UBA

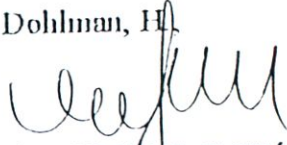
APROBADO POR RESOLUCION

00424/97

- Reconstitution of an hormone-sensitive adenylate cyclase with membrane extracts from *Neurospora crassa* and avian erythrocytes. Flawiá, M.M., Kornblihtt, A. R., Reig, J.A. and Torres, H.N. *J. Biol. Chem.* 258, 8255 (1983).
- Monoclonal antibodies to *Neurospora* adenylate cyclase. Molina y Vedia, L., Torruella, M., Altar, R., Podestá, E., Reig, J.A., Flawiá, M.M. y Torres, H.N. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 113, 778 (1983).
- G proteins and dual control of adenylate cyclase. Alfred G. Gilman. *Cell* 36 (3), 577-579 (1984).
- Message transmission: Receptor controlled adenylate cyclase system. Michael Schram and Zvi Selinger. *Science* 225, 1350-1356 (1984).
- Stimulatory GTP regulatory unit Ns and the catalytic unit of adenylate cyclase are tightly associated: mechanistic consequences. Hadas Arad, Jurg P. Rosenbusch and Alexander Levitzki. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 81, 6579-6583 (1984).
- Effects of guanine nucleotide and Mg on human erythrocyte Ni and Ns, the regulatory components of adenylate cyclase. Juan Codina, John O. Mildegrandt, Lutz Birnbaumer and Ronald D. Sekana. *J. Biol. Chem.* 259, 11408-11418 (1984).
- Purification and properties of the inhibitory guanine nucleotide-binding regulatory component of adenylate cyclase. Gary M. Bokoch, Toshicki Katada, Shon K. Northrup, Michio Ui and Alfred G. Gilman. *J. Biol. Chem.* 259 (6), 3560-3567).
- Reconstitution of a hormone-sensitive adenylate cyclase system, the pure β -adrenergic receptor and guanine nucleotide regulatory protein confers hormone responsiveness on the resolved catalytic unit. Richard A. Cerione, David R. Sibley, Juan Codina, Jeffrey L. Benovic, John Winslow, Eva J. Neer, Lutz Birnbaumer, Marc G. Caron and Robert J. Lefkowitz. *J. Biol. Chem.* 259 (16), 9979-9982 (1984).
- Mutant "ras" proteins and cell transformation. Rob Newbold. *Nature* 310, 628-629 (1984).
- The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumor promotion. Nishizuka, Y. *Nature* 308, 693 (1984).
- Regulatory protein. Miles D. Houslay. *Trends Biochem. Sci.*, vol. 9, 39-40 (1984).
- Activation of *Neurospora crassa* soluble adenylate cyclase by calmodulin. Reig, J.A., Téllez-Iñón, M.T., Flawiá, M.M. y Torres, H.N. *Biochem. J.* 221, 541 (1984).
- Characterization of *Neurospora crassa* cAMP phosphodiesterase activated by calmodulin. Téllez-Iñón, M.T., Ullón, R., Torruella, M. y Torres, H.N. *Mol. Biochem. Parasitol.* 17, 143 (1985).


 Drn. MIRTHA M. FLAWIÁ
 PROFESOR TITULAR
 FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
 UBA

- Calmodulin and Ca²⁺-dependent cyclic AMP phosphodiesterase activity in *Trypanosoma cruzi*. Téllez-Iñón, M.T., Ulloa, R., Torruella, M. y Torres, H.N. *Mol. Biochem. Parasitol.* 17, 143 (1985).
- The G-protein of retinal rod outer segments (Transducin). Nelly Bennett and Yves Dupont. *J. Biol. Chem.* 260, 4156-4168 (1985).
- Involvement of circular intermediates in the transfer of T-DNA from *Agrobacterium tumefaciens* to plant cells. Konkilikova, Z., Wang, K., Van Montagu, M. and Zembryski, P. *Nature* 313, 193 (1985).
- *Trypanosoma cruzi* adenylate cyclase activity. Purification, characterization and preparation of monoclonal antibodies. Torruella, M., Flawiá, M.M. Eisenschlos, C., Molina y Vedia, L., Rubinstein, C. y Torres, H.N. *Biochem. J.* 234, 145 (1986).
- Reconstitution of a hormone-sensitive adenylate cyclase with membranes from rat liver and *Trypanosoma cruzi*. Flawiá, M.M., Torruella, M., Eisenschlos, C. y Torres, H.N. *Biochem. J.* 236, 185 (1986).
- Evidence for the existence of an Ns type regulatory protein in *Trypanosoma cruzi* membranes. Eisenschlos, C., Paladini, A., Molina y Vedia, J., Torres, H.N. y Flawiá, M.M. *Biochem. J.* 237, 913 (1986).
- Studies and perspectives of protein kinase C. Nishizuka, Y. *Science* 233, 305-312 (1986).
- A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with maize gene. Meyer, P., Forkmann, G. y Saedler, H. *Nature* 330, 667 (1987).
- Expression and assembly of functional bacterial luciferase in plants. Koncz, C., Olsson, O., Landridge, W., Szdey, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 131 (1987).
- Did vertebrate signal transduction mechanisms originate in eukaryotic microbes. Jansses, P. *TIBS* 12, 457 (1987).
- Regulation of ciliary adenylate cyclase by Ca²⁺ in *Paramecium*. Justin, M. and Nelson, D. *Biochem. J.* 246, 337 (1987).
- Hormone genes and crown gall disease. *TIBS* 12, 271 (1987).
- G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Ann. Rev. Biochem.* 56, 615 (1987).
- The multiple membrane spanning topography of the β_2 adrenergic receptor. Dohilman, H., Benovic, J., Caron, M. y Lefkowitz, R., *J. Biol. Chem.* 262, 14282 (1987).


 Dra. MIRTHA M. FLAWIÁ
 PROFESOR TITULAR
 FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
 UBA

- Molecular basis of transmembrane signal transduction in *Dictyostelium discoideum*. Janssens, P., Van Haasterb, P. *Microbiological Reviews*, vol. 51, 396 (1987).
- The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. Hanks, S.K., Quinn, A.M. y Hunter, T. *Science* 241, 42-52 (1988).
- Cellular regulators. *Methods in Enzymol.* 139 Eds. A.R. Means and Conn. P.M. (1987).
- Heart and bone tumors in transgenic mice. Behringer, R., Peschon, J., Messing, A., Garside, C., Palmiter, R. and Brinster, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 2648 (1988).
- Receptor classes and the transmitter gated ion channels. Barnard, E. *TIBS* 17, (1992).
- G protein-coupled receptors. Shine et al. *Current in Cell Opinion* 4, (1992).
- Rhodopsin of the rod cell. *J. Biol. Chem.* 267 (1992).
- On target with a new mechanism for the regulation of protein phosphorylation. *TIBS* 18 (1993).

Fecha

Firma Profesor Firma Director

Aclaración firma Sello aclaratorio

Dra. MIRTHA M. FLAWIÁ
 PROFESOR TITULAR
 FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
 UBA