

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

U.B.A.

1.- DEPARTAMENTO/INSTITUTO de INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

2.- CARRERA de: a) Licenciatura en Ciencias Biológicas

ORIENTACION.....

b) Doctorado y/o Post-Grado en.....

c) Profesorado en...---.....

d) Cursos Técnicos en Meteorología...---.....

e) Cursos de Idiomas...---.....

3.- 1° CUATRIMESTRE ..... Año: 1995

4.- N° DE CODIGO DE CARRERA 05

5.- MATERIA **Química Biológica II "A"** N° DE CODIGO 6021

6.- PUNTAJE PROPUESTO ----

7.- PLAN DE ESTUDIO Año 1957 (Mod 1960 y post) y 1984

8.- CARACTER DE LA MATERIA Optativa

9.- DURACION Cuatrimestral

10.- HORAS DE CLASE SEMANAL:

- |                |      |                      |       |
|----------------|------|----------------------|-------|
| a) Teóricas    | 6 hs | d) Seminarios        | -- hs |
| b) Problemas   | 3 hs | e) Teórico-problemas | -- hs |
| c) Laboratorio | 3 hs | f) Teórico-prácticas | -- hs |
|                |      | g) Totales Horas     | 12 hs |

11.- CARGA HORARIA TOTAL 192 hs

12.- ASIGNATURAS CORRELATIVAS Químicas Biológica (para Biólogos)

13.- FORMA DE EVALUACION Exámenes parciales y final.  
Seminarios y monografía

## 14. PROGRAMA ANALITICO

### PLEGAMIENTO DE PROTEINAS

#### Introducción:

- El enlace peptídico y su espacio conformacional
- Periodicidad y estructura secundaria
- Estructura terciaria y cuaternaria

#### Fuerzas que determinan la estructura proteica:

Puentes de Hidrógeno. van der Waals. Interacciones iónicas. Efecto hidrofóbico.  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  y  $C_p$  de los procesos de plegamiento. Temperatura y plegamiento proteico. El papel del solvente en la estructura proteica.

#### Técnicas experimentales para el estudio de la estructura tridimensional de las proteínas en solución:

- Cromatografía de exclusión por tamaño, Radio de Stokes
- Dicroísmo circular
- Fluorescencia
- NMR
- Intercambio de Deuterio

#### La reacción de Plegamiento

El problema del plegamiento *in vitro*. Intermediarios cinéticos e intermediarios cinéticamente atrapados.

Estructura de los intermediarios de plegamiento. "Molten Globule states".

Distintas teorías sobre el proceso del plegamiento. Plegamiento *in vivo* e *in vitro*: diferencias y similitudes.

#### Aspectos biotecnológicos del proceso de plegamiento

- Estructura de los cuerpos de inclusión de *E. Coli*
- Plegamiento de proteínas desnaturalizadas por desnaturalizantes químicos.
- Plegamiento y potencial Redox del medio.

#### Diseño de Proteínas

Breve reseña histórica y potencialidad del método. Balance de situación.

Qué se aprendió sobre el plegamiento de proteínas a partir del diseño de proteínas.

## APLICACION DE LA QUIMICA DE PROTEINAS AL ESTUDIO DEL ENSAMBLE Y TRANSPORTE DE POLIPEPTIDOS

- Modificación química de proteínas: bases metodológicas
- Reactivos bifuncionales: entrecruzamientos proteína-proteína.
- Digestión proteica por métodos químicos o enzimáticos
- Aislamiento e identificación de péptidos-HPLC
- Secuenciación de péptidos
- Obtención de proteínas transgénicas. Marcación radiactiva de proteínas

## INTERCAMBIO TIOL/DISULFURO

Constantes de equilibrio y cinéticas. Control de las actividades enzimáticas. Formación e isomerización de los puentes disulfuro en las proteínas. Protein disulfuro isomerasa. Multifuncionalidad de la protein disulfuro isomerasa. Tiorredoxinas. Estructura primaria y tridimensional. Conservación evolutiva del sitio activo. Comparación estructural y funcional entre los estados oxidado y reducido. Comparación estructural y funcional con la protein disulfuro isomerasa. Reducción de ribonucleótidos. Reducción de sulfato. DNA polimerasa del fago T7. Ensamble de los fagos f1 y M13. Activación de las enzimas fotosintéticas. Tiorredoxinas eucarióticas. Funciones. Aspectos de la inclusión de tiorredoxinas en proteínas quiméricas. Protein disulfuro oxidorreductas en bacterias. El grupo de proteínas DsbA: DsbA, DsbB, DsbC. Estructura. Comparación con la protein disulfuro isomerasa y las tiorredoxinas. Implicaciones para el plegamiento de proteínas. Isomerización de la unión peptídica. Prolil-isomerasas. Catálisis. Sinergismo con la protein disulfuro isomerasa. Rol en el plegamiento de las proteínas.

## PROCESADO PROTEOLITICO Y PLEGAMIENTO DE PROTEINAS

- 1) Proteasas: Exo y endoproteasas. Proteinasas. Clases, inhibidores.
- 2) El péptido señal. Funciones en "targeting" y plegamiento.
- 3) Proteasas que cortan el péptido señal.
- 4) El pro-dominio: su papel como facilitador del plegamiento correcto y como inhibidor de la enzima madura. Su importancia para la expresión de proteínas recombinantes.
- 5) Proteinasas de procesamiento. Especificidad.
- 6) Serin y cistein proteinasas como ejemplos de zimógenos y su activación. Autoprocesamiento. La cruzipaína de *Trypanosoma cruzi*: mecanismo de procesamiento.

## INFLUENCIA DE LA N-GLICOSILACION EN EL PLEGAMIENTO DE GLICOPROTEINAS EN EL RETICULO ENDOPLASMICO

- 1) Síntesis y procesamiento de oligosacáridos unidos a asparagina (N-oligosacáridos) en el retículo endoplásmico.
- 2) N-oligosacáridos en glicoproteínas maduras.
- 3) Efecto de la N-glicosilación y el procesamiento en el plegamiento, secreción y degradación en el retículo endoplásmico de glicoproteínas.
- 4) Efecto de la composición en monosacáridos y la remoción de restos de glucosa en la maduración de glicoproteínas.
- 5) Efecto de mutaciones de la síntesis de N-oligosacáridos y del procesamiento de glicoproteínas
- 6) Ciclo de re-glucosilación y de-glucosilación de glicoproteínas no correctamente plegadas.
- 7) Plegamiento de glicoproteínas *in vivo*
- 8) Calnexina y sus propiedades semejantes a lectinas.
- 9) El ciclo de re-glucosilación y de-glucosilación y el rol de la calnexina.
- 10) Otros efectos de N-oligosacáridos en el plegamiento de glicoproteínas.

## TRAFICO INTRACELULAR DE PROTEINAS

- Equilibrio celular
- Principios y mecanismos del transporte de proteínas.
- Transporte a mitocondrias y a plástidos.
- Transporte retículo endoplásmico
- Ensamble *in organello*

## ENSAMBLE DE PROTEINAS *IN VIVO*

- El paradigma del plegamiento de proteínas.
- Ensamble de proteínas *in vivo*
- Chaperonas moleculares (familias de chaperones: HSP90, 70, 60, etc)
- Modelos propuestos. Rol secuencial de chaperones.
- Modificación post-traducciona *in vivo*

## PROTEINAS DE MEMBRANAS

Bacteriodospina. Rodopsina. Centro de reacción fotosintético. Colicina A. Receptor nicotínico. Bomba de calcio. Péptidos. Gramicidina A.

## BIOQUIMICA VEGETAL

Modulación de la asimilación fotosintética de CO<sub>2</sub>. Regulación de la expresión génica por la luz. Partición de los compuestos entre la fuente y el destino. Formación de los órganos de reserva. Ciclo celular. Organogénesis. Rol de las plantas transgénicas en la caracterización de los mecanismos. Rediseño de los productos vegetales para biotecnología. Interacción planta-bacteria. Fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico. Patogenicidad.

Asimilación fotosintética de CO<sub>2</sub>. Ciclo de Benson - Calvin. Modulación por la luz. Histiéresis enzimática. Regulación mediante Rubisco-Activasa y el sistema de ferredoxina - tioredoxina.

Partición del fotosintato. Biosíntesis del almidón plastídico. Exportación de las triosas fosfato. Translocador fosfato.

Biosíntesis de la sacarosa.

Regulación de la distribución del fotosintato en el citoplasma.

Reducción del sulfato y el nitrato.

Distribución de hidratos de carbono en plantas. Concepto de tejido fuente y destino.

Vías de conducción: simplástica y apoplástica, estructura de plasmodesmos.

Puntos de regulación en la distribución de hidratos de carbono. Control de la carga al floema.

Antisentido de genes que interfieren con el proceso. Identificación de los transportadores .

Antisentido de los translocadores.

Regulación de la expresión de proteínas de reserva por sacarosa. ADP-glucosa pirofosforilasa, patatina, fosforilasa. Secuencias en cis y factores en trans involucrados en la inducción por sacarosa.

Regulación de la síntesis y degradación del almidón.

Reacciones biosintéticas de síntesis de almidón. Iniciación de la biosíntesis de almidón.

Regulación de la síntesis de ADP-glucosa. Localización de las enzimas de biosíntesis de almidón en tejidos vegetales no fotosintéticos y en amiloplastos. Propiedades de las enzimas de biosíntesis de almidón. Identificación del locus waxy como el gen estructural para la almidón sintasa I unida al grano de almidón. Aislamiento del gen estructural de la proteína waxy. ADP-glucosa pirofosforilasa: Propiedades regulatorias y estructurales.

Aspectos moleculares del crecimiento y división de la célula vegetal. Meristemas. Polaridad celular. Elongación y neoformación de pared celular. Microtúbulos. Tráfico vesicular.

Reconocimiento célula -célula. Incompatibilidad. Continuidad citoplasmática. Función de la pared celular: desarrollo del concepto de matriz exocelular.

Regulación de la expresión de genes en plantas por fitocromo. Introducción. Diferentes especies de fitocromo. Pfr lábil y estable. Familias de genes de fitocromo. Expresión de los genes de fitocromo. Estudio de expresión en plantas transgénicas. Sobreexpresión de fitocromo A y B. Mutantes de fitocromo A y B. Vías de traducción de la señal de fitocromo. Interacción con hormonas.

Interacción Rhizobium-leguminosas

Clasificación. Eventos tempranos en la interacción.

Flavonoides. Estructura. Función. Factores nod. Estructura. Biosíntesis. Genética.

Regulación de la expresión de los factores nod.

Polisacáridos bacterianos (succinoglucano, LPS,  $\beta$ -1,2-glucano)

Vías de infección y tipos de nódulos.

Curvamiento del pelo radicular e iniciación del tubo de infección.

Inducción y formación del nódulo.

Ocupación del nódulo por las bacterias. Bacteroides.

Fijación de nitrógeno.

Nitrogenasa. Genética y regulación de la expresión de los genes *nif* y *fix*.

Polisacáridos bacterianos. Biosíntesis. Pared celular. Exopolisacáridos.

Interacción Planta - Bacteria

*Agrobacterium* y la transformación de la célula de la planta.

Proceso de infección. Interacción productiva. Colonización, adherencia. Genes de *Agrobacterium* involucrados en la tumorigénesis.

Genes *virG*, *virA*. Regulación de la expresión de los genes *vir*.

Moléculas señales liberadas por *Agrobacterium*. Moléculas señales liberadas por la planta.

Procesamiento del T-DNA. Transferencia del T-DNA. Integración del T-DNA al cromosoma de la planta.

Expresión del T-DNA en la célula de la planta. Producción de opinas.

Rango del huésped.

Comparación con la conjugación bacteriana.

Manipulación genética con *Agrobacterium*.

**15.-BIBLIOGRAFIA**

- Introduction to Protein Structure: C. Branden & J. Tooze; Garland Publishing Inc., 1991
- Revistas de Bioquímica y Biología Molecular
- Photobiological Techniques, D.P. Valenzano et al. Plenum Press, N.Y. (1991)
- Plant Cell Biology: a practical approach. IRL Press Oxford, 1994
- Chloroplasts, J. Kenneth Hooper. Plenum Press, N/Y. (1984)
- Gene Transcription. B.D. Hanes. IRL Press Oxford (1993)
- A.L. Joyner. Gene targeting. IRL Press Oxford (1993)
- Publicaciones periódicas de la literatura científica.

**FIRMA PROFESOR:**

Aclaración firma: Dr. Ricardo Wolosiuk

**FECHA:**

18/5/95

**FIRMA DIRECTOR:****Sello Aclaratorio:**

Dr. LUIS A. QUESADA ALLUÉ  
DIRECTOR TITULAR  
Instituto de Investigaciones  
Bioquímicas FCEvN - UBA