

Sistema del Doble Híbrido de Gal 4 para el estudio de Interacciones proteicas (2000)

316

14. PROGRAMA ANALITICO

TEORICO

▪ Screening de dobles híbridos

- 1) Construcción de una biblioteca de fusión con el Dominio de Activación de Gal 4
- 2) Búsqueda de interacción de proteínas con el Sistema de Doble Híbrido (I)
- 3) Búsqueda de interacción de proteínas con el Sistema de Doble Híbrido (II)
- 4) Alternativas para la detección de falsos positivos en el Sistema de Doble Híbrido.

▪ Análisis de las Interacciones en el Sistema de Doble Híbrido

- 1) Disección de la relevancia biológica de las interacciones múltiples
- 2) Screening de Dobles Híbridos y Ciclo Celular
- 3) Análisis por Dobles Híbridos de redes de regulación genética

▪ Metodologías Alternativas para el estudio de Interacciones de Proteínas

- 1) Sistema de Doble híbrido de bacteria basado en la reconstitución de un camino de transducción de señales
- 2) Cross-linking químico

TRABAJO PRACTICO

- 1) Entendiendo a las levaduras: cepas de levaduras, condiciones de cultivo de levaduras, técnicas de siembra y transformación de levaduras
- 2) Vectores en uso en el Sistema de Doble Híbrido: Dominios de Activación de Gal 4 y Dominios de Unión a DNA de Gal 4
- 3) Uso de placas SD-TL, SD-ATL y SD-HATL
- 4) Screening de una biblioteca híbrida de levadura
- 5) Identificación de Positivos y Falsos Positivos
- 6) Rescate de Plásmidos a partir de Clones Positivos
- 7) Identificación y Purificación de Insertos para su secuenciación

15.- BIBLIOGRAFIA

- Regulation of cell adhesion and anchorage-dependent growth by a new beta1-integrin-linked protein kinase. Gregory E. Hannigan, Chungyee Leung-Hagesteijn, Linda Fitz-Gibbon, Marc G. Coppelino, Galina Radeva, Jorge Filmus, John C. Bell and Shoukat Dedhar. Nature. Vol. 379, N° 4, 91-96 (1996).
- The activation domain of the maize transcription factor Opaque-2 resides in a single acidic region. Dirk Schmitz, Stefan Lohmer, Francesco Salami and Richard D. Thompson. Nucleic Acids Research, Vol. 25, N° 4 756-763 (1997).

31

- Analysis of a peptide hormone-receptor interaction in the yeast two-hybrid system. Jianwei Zhu and C. Ronald Kahn. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 94, 13063-13068 (1997).
- Cullin-3 targets cyclin E for ubiquitination and control S phase in mammalian cells. Jeffrey D. Singer, Mark Gurian-West, Bruce Clurman, and James M. Roberts. Genes & Development 13: 2375-2387 (1999).
- A mechanism for Rb/p130-mediated transcription repression involving recruitment of the CtBP corepressor. Alison R. Meloni, Eric J. Smith, and Joseph R. Nevins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 96, 9574-9579 (1999).
- Neural restrictive silencer factor recruits mSin3 and histone deacetylase complex to repress neuron-specific target genes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 96, N° 24, 13691-13696 (1999).
- Isolation of a novel histone deacetylase reveals that class I and class II deacetylases promote SMRT-mediated repression. Genes & Development 14: 55-66 (2000).

FECHA

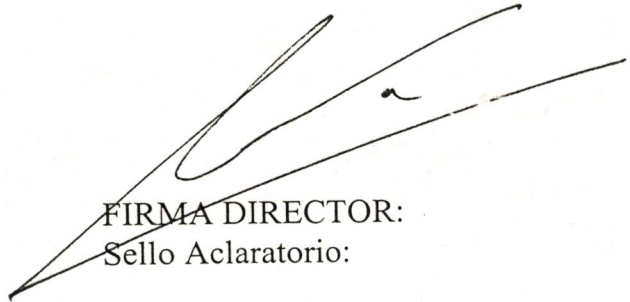
FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Dr. Osvaldo Podhajcer



FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:



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