

Insl. Inv. bioq
2004



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

U.B.A.

1.- DEPARTAMENTO: INSTITUTO de INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

2.- CARRERA de: a) Licenciatura en...---.....ORIENTACION:---

b) Doctorado y/o Post-Grado en Ciencias Químicas y Biológicas

c) Profesorado en...---

d) Cursos Técnicos en Meteorología...--- *Teórico - labor - Seminarios*

e) Cursos de Idiomas...---

3.- 1er. CUATRIMESTRE.....Año: 2004

4.- N° DE CODIGO DE CARRERA...**51 y 55**

5.- MATERIA QUIMICA BIOLOGICA SUPERIOR Proteínas: Química, estructura-y función

N° DE CODIGO **B031**

6.- PUNTAJE PROPUESTO **5 puntos**.....

7.- PLAN DE ESTUDIO Año --

8.- CARACTER DE LA MATERIA **Optativa**

9.- DURACION **10 semanas**

10.- HORAS DE CLASE SEMANAL:

- | | | | |
|----------------|--------------|----------------------|----------------|
| a) Teóricas | 9 hs | d) Seminarios | 1,2 hs |
| b) Problemas | -- hs | e) Teórico-problemas | -- hs |
| c) Laboratorio | 30 hs | f) Teórico-prácticas | -- hs |
| | | g) Totales Horas | 40,2 hs |

11. CARGA HORARIA TOTAL **402 hs**.....

12.- ASIGNATURAS CORRELATIVAS Egresados de Cs. Químicas, Ciencias Biológicas, Medicina, Farmacia, Bioquímica, etc.

13.- FORMA DE EVALUACION: **Informe, Seminarios y Examen Final**

14. PROGRAMA ANALITICO

Parte Teórica:

Plegamiento asistido y localización intracelular de proteínas

El congestionado ambiente celular. ¿No será que existe una actividad de foldasa? Chaperones moleculares, diversidad de estructuras y funciones. Hsp100, Hsp90, Hsp70 y Hsp60 en el plegado proteico y en la respuestas al "stress". Identificación de sitios de unión a Hsp70. Localización intracelular de proteínas. Los protein-translocasa de mitocondrias y plástidos. Modelos de translocación de polipéptidos y participación de chaperones. Expresión transgénica para la producción de precursores. Utilización del sistema de carnada para detectar interacciones. Proteólisis para el estudio de la interacción y el plegado de proteínas en sistemas complejos.

Plegamiento de glicoproteínas in vivo

Reacciones de glicosilación en el ER y Golgi. Secreción de proteínas. Control de calidad de plegamiento más allá del ER. Degradación de glicoproteínas mal plegadas en proteasomas y/o Golgi. Enfermedades asociadas a mal plegamiento de glicoproteínas.

Control de calidad de plegamiento en el RE

Sistemas de chaperonas en el RE: BiP, CNX/CRT, PDI. Control de calidad de plegamiento: GT. N-glicosilación: un posible código del estado de plegamiento de glicoproteínas. Métodos experimentales para el estudio in vivo de interacciones proteicas. División de trabajo entre chaperonas.

Introducción al plegamiento de proteínas

Introducción de métodos de estudio: fluorescencia y dicroísmo circular. Métodos al equilibrio, modelo de dos estados y criterios para definirlo. Métodos cinéticos, desplegamiento y replegamiento. Modelos de plegamiento: difusión-colisión, embudos y paisajes conformacionales

Mecanismo de plegamiento y formación de amiloides

Enfermedades asociadas a plegamiento normal de proteínas. Mecanismos de formación de amiloides. Cinética y termodinámica. Relación entre estabilidad proteica, intermediarios de plegamiento y tendencia a la formación de amiloides. Características de las protofibras e intermediarios globulares y patogenicidad asociada. Formación de amiloides a partir de proteínas no asociadas a enfermedades amiloides. Modelo de formación de fibras.

Amiloides y enfermedades degenerativas

Proteínas amiloides: definición, propiedades, organización fibrilar. Tipos de amiloidosis humanas. Amiloidogénesis in vivo: balance producción-eliminación, estructura primaria, mutantes, proteínas asociadas. Toxicidad celular. Enfermedades neurodegenerativas y amiloides.

Modelos de evolución de proteínas

Evolución molecular e inferencia filogenética. Modelos de sustitución de nucleótidos. Modelos de sustitución de codones. Modelos de sustitución de aminoácidos. Modelos de sustitución que tienen en cuenta la estructura protéica. Modelos de divergencia secuencial con restricciones funcionales y estructurales.





Ingeniería de proteínas por evolución dirigida

Diseño racional de proteínas vs. diseño por mutagénesis al azar. Técnicas de mutagénesis al azar. Mutagénesis química. Mutagénesis en una cepa "mutadora" de *E. coli*. Mutagénesis por PCR ("PCR error-prone"). Técnicas de recombinación *in vitro*. "DNA shuffling". Staggered extension process (StEP). Sequence homology-independent protein recombination (SHIPREC). Aplicación de la evolución dirigida de proteínas en la industria y en la investigación básica.

Cristalización de proteínas

Conceptos termodinámicos básicos. Conceptos de solubilidad. Teoría de la nucleación. Métodos de crecimiento cristalino. Análisis de datos experimentales. Predicción de las condiciones de precrystalización de proteínas. Difracción de rayos-X. Métodos y aparatos utilizados para difracción. Análisis de datos de difracción de cristales de proteínas. Resolución de estructuras mediante métodos computacionales. Construcción de modelos moleculares.

Introducción a la cristalografía de proteínas

Fenómenos de interferencia y difracción. Instrumental utilizado. Difracción de rayos X: el Factor de estructura. El problema de las fases. Resolución de estructura: Método de Patterson. Cálculo de mapas de densidad electrónica: Building. Refinamiento. Validación: Ramachandran, RMS-Z, factores B, Rfree, etc.

La Resonancia Magnética Nuclear como herramienta de la Biología Estructural

El fenómeno RMN. Interacción entre núcleos: parámetros estructurales. Asignación espectral de proteínas. Marcado isotópico y experimentos multidimensionales. Cálculo estructural de proteínas. RMN dinámico: experimentos y cálculo de parámetros dinámicos

Regulación de proteínas por sistemas redox

Tioles: pKa, potencial redox. Intercambio tiol/disulfuro. Protein-disulfuro óxido-reductasas. Tiorredoxina. Glutarredoxina. Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno.

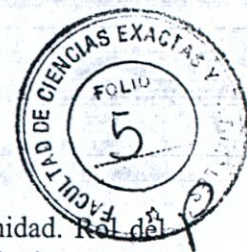
Proteínas de membrana

Identificación de proteínas blanco. Mapeo de la interfase lípido-proteína. Análisis de interacciones lípido-lípido y lípido-proteína. Estudio de fenómenos dinámicos. Penetración de proteínas en bicapas.. Translocación de proteínas a través de membranas. Fusión de membranas mediada por péptidos y proteínas

Interacciones lípido-proteína

Características de la interfase lípido-proteína. Modelo de adsorción de anfífilos en monocapa. Métodos para la evaluación de afinidades relativas. Características de las interacciones: Especificidad vs. Promiscuidad. El desajuste hidrofóbico en membranas naturales y artificiales. Efectos sobre la función biológica de proteínas de membrana.

Interacción proteína-proteína



Análisis estructural y funcional de las interfaces de unión entre proteínas. Especificidad y afinidad. Rol del agua. Métodos utilizados para estudiar cuali y cuantitativamente interacciones entre proteínas. La interacción antígeno-anticuerpo como modelo de interacción proteína-proteína.

Interacción proteína-DNA

Estructura y propiedades de ácidos nucleicos. Fuerzas de interacción entre ácidos nucleicos y proteínas. Interacciones no específicas. Ejemplos. Reconocimiento específico. Ejemplos

Interacción proteína-carbohidratos

Bases moleculares de la interacción de proteínas con carbohidratos. Ejemplos: lectinas, moléculas de adhesión celular, enzimas.

Proteínas de unión a RNA

Funciones celulares en que intervienen. Dominios proteicos de reconocimiento de RNA (RBDs). Elementos en la molécula de RNA blanco de RBDs. Especificidad de la unión.

Métodos para estudiar la interacción entre macromoléculas.

Conceptos constantes de interacción cinéticas y al equilibrio. Biosensores, principio y utilización. Calorimetría de titulación (ITC), principios y aplicaciones. Fluorescencia, utilización *in vitro* e *in vivo*.

Microscopía de fuerza atómica de macromoléculas

Principios, diseño y operación del AFM. Componentes básicos de un AFM: sensor de fuerza, barredor piezoeléctrico, sistema de detección. Interacciones entre el sensor de fuerza y la muestra. Regímenes de trabajo: contacto, no-contacto y contacto intermitente. Modos de operación y tipos de imágenes: fuerza constante (altura calibrada), fuerza variable (resolución atómica). Mecanismo de formación de la imagen en AFM. Ventajas y limitaciones de AFM. Aplicaciones biológicas: 1-Observación de macromoléculas, células, tejidos, procesos dinámicos como actividad enzimática, replicación de ADN, etc. 2-Curvas de fuerza: aplicación en el estudio de propiedades mecánicas de macromoléculas, estudios de elasticidad en células.

Proteómica y espectrometría de masa.

Concepto de proteómica, consideraciones prácticas y aplicaciones. Utilización de espectrometría de masa en sistemas biológicos.

Parte Práctica:

Trabajo de iniciación a la investigación en alguno de los laboratorios del Instituto de Investigaciones Bioquímicas, bajo la supervisión de los encargados de la materia y del profesor correspondiente.



15.- BIBLIOGRAFIA

Introduction to Protein Structure, C. Branden and J. Tooze Garland Publishing, Inc. New York and London, 1999.

Crystallization of Biological Macromolecules. Edited by Alexander McPherson. CSHL Press, New York 1999 (USA).

Proteins. Structures and molecular properties. Edited by Thomas Creighton. W. H. Freeman and Company, New York, 1996.

Trabajos novedosos, relevantes, recientemente publicados en revistas de nivel internacional (Nature, Science, Cell, J. Biological Chemistry, Embo J., J. Molecular Cell Biology, Plant Physiology, PNAS, J. Mol. Biol. Biochemistry, etc.)

Reviews sobre el tema publicados en revistas de nivel internacional (Current Opinion, Immunology Today, Current Biology, etc.).

FECHA 22/10/04
FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Dr. Fernando Goldbaum

FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:

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