

14. PROGRAMA ANALITICO

Parte Teórica:

- Dr. Lino Barañao

Hormonas esteroides. Estructura. Biosíntesis: Fuentes de colesterol, pasos limitantes.
Proteínas transportadoras plasmáticas.
Receptores nucleares. Estructura. Funciones de los distintos dominios. Secuencias de respuesta hormonal. Interacción con co-activadores y co-represores.
Farmacología de los receptores estrogénicos.
Alteraciones genéticas.

- Dr. Juan Carlos Calvo

Ligandos y Receptores.
Receptores de Superficie y Ligandos. Análisis cinético. Transducción intracelular de señales.
Receptores acoplados a proteínas G. Adenilil ciclasa y canales iónicos. Fosfolipasa C. Control señalético de la expresión génica. Receptores con dominio de tirosina kinasas. MAP-kinasas. Otras cascadas señaléticas. Receptores hormonales.

- Dr. Omar Coso

Unidad X: Map-quinasas.

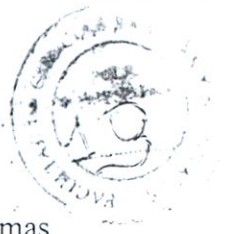
Perspectiva histórica, Primeros Oncogenes, Ras, Raf. Map-Quinasa Erk-2. Quinasas de fosforilación dual, MEK. Proteínas quinasas activadas por stress. Clonado de JNK o JUN-Quinasa. MEK quinasa. JUN-Quinasa quinasa o SEK. Participación de pequeñas proteínas G de la familia Rho. Factores intercambiadores de GTP y GAPs. Multiplicidad de aproximaciones para probar la participación de Rac y Cdc42 en la transducción de señales a JNK. Otras MAP-Quinasas activadas por stress, p38. Nuevas quinasas intermediarias, MLK3, MKK4 y MKK6. Proteínas de andamiaje: Ste5, JIP-1. Variedad de métodos para cuantificar la actividad de las MAP-Quinasas. Sub-familia de Erk-5. Quinasas relacionadas a p38: Erk-6 y SAPK4.

Unidad X + 1: Factores de transcripción de la familia AP-1. Jun y Fos como oncogenes virales. Correlación con sus contrapartes en mamíferos. Familia Jun: JunB y JunD. JNKs regulan la actividad de c-Jun. Antígenos relacionados a Fos: Fra-1 y Fra-2 conforman junto con c-Fos y FosB la familia Fos. Dominios característicos en los factores de transcripción AP-1. Variedad de métodos para estudiar su funcionamiento:

EMSAs, Fusiones con GAL-4 y Ensayos de genes reporteros.

- Dr. Omar Pignataro

Receptores con actividad tirosina quinasa. Fosfatidilinositol-3-quinasa (Dr Omar Pignataro)
Receptores asociados a tirosinas quinasas: Insulina, EGF y PDGF.
Dimerización y autofosforilación. Sustratos fosforilables: IRS 1, 2, 3 y 4. Moléculas adaptadoras y camino del Ras. Dominios de interacción con fosfotirosinas. SH2. Estructura heterodimérica de la PI-3-K: subunidades regulatoria (p85) y catalítica (p110). Distintas isoformas. Herramientas para el estudio



de la PI-3-K y sustratos fosforilables. Mecanismo de activación de p85 por IRS. Formación de fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP3). Activación de PDK/PKB por PIP3. Activación de enzimas por PDK/PKB. Respuestas biológicas de la insulina mediadas por PI-3-K.

Receptores asociados a tirosinas quinasas. JAK y STAT (Dr. Omar Pignataro)

Receptores asociados a tirosinas quinasas. Familia de receptores de citoquinas clase 1 y sus ligandos.

Familia de receptores de prolactina y hormona de crecimiento Familia de las Janus quinasas (JAK), asociación a receptores, mecanismo de activación y sustratos. Proteínas STAT (transductores de señalización y activadores de la transcripción), reclutamiento del complejo receptor, fosforilación, dimerización, traslocación al núcleo y regulación de genes blanco.

- **Dr. Fernando Pitossi**

Resumen de la clase sobre transducción de señales durante la apoptosis

La apoptosis es un proceso por medio del cual la célula muere sin extravasar su contenido al medio extracelular y por lo tanto, no genera inflamación. Es un proceso necesario tanto para el desarrollo como para el mantenimiento de la homeostasis del organismo. Las ejecutoras finales del proceso apoptótico son las caspasas, proteasas que pueden clasificarse en iniciadoras y efectoras. Tanto las señales apoptóticas provocadas por la privación de factores de crecimiento, el daño del ADN o las moléculas que actúan a través de receptores de muerte convergen en la activación de caspasas como ruta final del camino apoptótico. Los sistemas de regulación de la apoptosis son variados. Los gatillados por la privación de factores de crecimiento son generalmente controlados por la familia de proteínas relacionadas con bcl-2 e incluyen la liberación de citocromo c mitocondrial como una de las señales de la ruta de señalización. La apoptosis producida por la activación de receptores de muerte (TNF, FAS) se produce por variadas interacciones proteína-proteína entre dominios de muerte. Asimismo existen "cross-talks" entre los distintos caminos apoptóticos por lo que la decisión de una célula de entrar o no en apoptosis es un proceso complejo que depende no solo de la señal extracelular y el tipo de célula sino del contacto molecular intracelular del momento en que la célula recibe el estímulo.

- **Dr. Osvaldo Podhajcer**

Estructura de integrinas, caracterización de los componentes de la vía de señalización, focal adhesion kinase, SH2, src, pequeñas GTPasas, Rho, Rac, cdc42, correlación entre la vía de señalización y el fenotipo celular, migración y proliferación. Rol de Shc en la transducción de integrinas hacia MAP kinasas. Uso de dominantes negativos y construcciones constitutivamente activas. Integrinas y muerte celular por anoikis. Co-activación de receptores de integrinas y de factores de crecimiento y su acción a nivel de la activación de la cascada de MAP kinasas.

- **Dr. Luis A. Quesada Allué**

NFkB en insectos

Caseta de Genes del sistema dorso-ventral de insectos. Sistema Toll y Toll-like de transducción de señales. Cascadas disparadas por antígenos. Inmunidad innata en insectos y vertebrados. TLR's dorsal, dif y NFkB. Péptidos antimicrobianos. Cascada de Imd.



- **Dr. Tomás Santa Coloma**

NFkB

Transducción de señales. Vía de IL-1beta, NFkB. Regulación del gen CFTR por IL-1beta.
Estrategias de estudio: Display diferencial, microarrays y doble híbridos; microscopía confocal, nuevas tecnologías. Genes dependientes de la actividad de CFTR. Inhibidores específicos de vías de transducción; dominantes negativos y su importancia para poder distinguir correlaciones de relaciones causa-efecto.

- **Dr. Pablo Wappner**

Factores de crecimiento en Drosophila

La clase se centrará sobre la función de las vías del receptor de EGF y de TGF-b en el desarrollo embrionario de Drosophila melanogaster. En particular, se hará énfasis sobre los mecanismos que controlan el procesamiento proteolítico de ligandos del receptor de EGF y sobre la regulación de la localización intracelular de los mismos por parte de chaperonas de transporte. En la vía TGF-b se analizará la función de las actividades antagónicas de los ligandos de la familia BMP con moléculas de la familia de las cordinas.

Vía Wnt / Wingless

Se discutirá la vía de transducción de señales Wnt/Wingless analizando de manera cronológica cómo se fueron descubriendo los elementos que participan en esta vía. Se hará énfasis sobre los experimentos genéticos llevados a cabo en Drosophila melanogaster que llevaron a la identificación de ligandos, receptores, efectores positivos e inhibidores de la transducción de la señal. Se discutirá en detalle la función de la proteína Armadillo/b-catenina en relación con sus diferentes dominios y sus mecanismos de regulación.

Parte Práctica:

Técnicas básicas de Biología Molecular y Bioquímica para el estudio de Protein kinasas, MAP kinasas y factores de transcripción. (Northern blots, geles de retardo, Western blots, Inmunohistoquímica)

15.- BIBLIOGRAFIA

Bibliografía General

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

Bibliografía Específica



Dr. Omar Pignataro

- Shepherd et al. (1998). Phosphoinositide-3-kinase: The key switch mechanism in insulin signaling. *Biochemical Journal* 333:471-490
- Vanhaesebroeck et al. (2000). The PI3K-PDK1 connection: More than just a road to PKB *Biochemical Journal* 346:561-576
- Gillooly et al. (2001). Cellular functions of phosphatidylinositol-3-phosphate and FYVE domain proteins *Biochemical Journal* 355:249-258
- Bole-Feysot et al. (1998). Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews* 19 (3):225-268

Dr. Lino Barañao

Beato, M Klug, J. Steroid hormone receptors: an update.
Human reproduction Update 2000, Vol 6 No3 pp 225-236

Dr. Osvaldo Podhajcer

- Signaling from Rho to the Actin Cytoskeleton Through Protein Kinases ROCK and LIM-kinase. M. Maekawa, T. Ishizaki, S. Boku, N. Watanabe, A. Fujita, A. Iwamatsu, T. Obinata, K. Ohashi, K. Mizuno, S. Narumiya. *Science*, Vol. 285, 895-898.(1999).
- Integrins can collaborate with growth factors for phosphorylation of receptor tyrosine kinases and MAP kinase activation: roles of integrin aggregation and occupancy of receptors. S. Miyamoto, H. Teramoto, J.S. Gutkind and K.M. Yamada. *The Journal of Cell Biology*, Vol. 135, 6, Part 1. 1633-1642 (1996).
- RAC1/P38 MAPK signalling pathway β -integrin-induced interleukin-8 production in human natural killer cells. F. Mainiero, A. Soriani, R. Strippoli, J. Jacobelli, A. Gismondi, M. Piccoli, L. Frati and A. Santoni. *Immunity*, Vol. 12, 7-16. (2000).
- Integrin Function: Molecular Hierarchies of Cytoskeletal and Signaling Molecules. S. Miyamoto, H. Teramoto, O.A. Coso, J. Silvio Gutkind, P. D. Burbelo, S. K. Akiyama and K.M. Yamada. *The Journal of Cell Biology*, Vol. 131, 3, 791-805 (1995).
- The Adaptor Protein Shc Couples a Class of Integrins to the Control of Cell Cycle Progression. K. K. Wary, F. Mainiero, S.J. Isakoff, E. E. Marcantonio and F.G. Giancotti. *Cell*, Vol. 87, 733-743, (1996).
- Integrins and anoikis. S.M. Frisch and E. Ruoslahti. *Current Opinion in Cell Biology*, 9: 701-706 (1997).



- Integrin signalling and tyrosine phosphorylation: just the FAKs? D.D. Schlaepfer and T. Hunter. Trends in Cell Biology. Vol 8. 151-157 (1998).
- Geometric Control of Cell Life and Death. C.S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G.M. Whitesides, D. E. Ingber. Science. 276. 1425-1428 (1997).
- Integrin signalling: specificity and control of cell survival and cell cycle progression. F.G. Giancotti. Current Opinion in Cell Biology. 9: 691-700 (1997).
- Integrin associated proteins. M.E. Hemler. Current Opinion in Cell Biology. 10: 578-585 (1998).
- Science Vol. 285: 1028-1032, 1999.
- Current Opinion in Cell Biology. Vol 9: 691-700, 1997.
- Current Opinion in Cell Biology. Vol 9: 701-706, 1997.
- Current Opinion in Cell Biology. Vol 9: 707-713, 1997.

Dr. Omar Coso

Coso et al, (1995) J. of Biol. Chem. 270, 5620-5624.
Coso et al (1995) Cell, 81, 1137-1146.
Teramoto et al (1996) J. of Biol. Chem. 271, 25731-25734.
Coso et al, (1996) J. of Biol. Chem. 271, 3963-3966.
Coso et al, (1997) J. of Biol. Chem. 272, 20691-20697. Coso O.A. (2000) Map quinasas (MAPK). En "Farmacologia Molecular" Universidad Nacional de Quilmes Ed.: Marcelo Kazanietz. Coso O.A. (2000) Factores de Transcripcion de las Familias Jun y Fos: AP-1. En "Farmacologia Molecular" Universidad Nacional de Quilmes Ed.: Marcelo Kazanietz.

Dr. Fernando Pitossi

- The Bcl-2 Protein Family: Arbiters of Cell Survival. J.M. Adams and S. Cory. Science. Vol. 281, 1322-1326 (1998).
- Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. S.J. Baker and E.P. Reddy. Oncogene. 17 (25) 3261-3270. (1998).
- The Bcl-2 family and cell death regulation. K. Newton and A. Strasser. Current Opinion in Genetics & Development. 8: 68-75 (1998).
- Signal transduction pathways that regulate cell survival and cell death. T. Dragovich, C.M. Rudin and C.B. Thompson. Oncogene 17 (25): 3207-3213 (1998).
- Bcl-2 family proteins. J.C. Reed. Oncogene 17 (25): 3225-3236. (1998).

- Caspases: the proteases of the apoptotic pathway. G. Nuñez, M.A. Benedict, Y.Hu and N. Inohara. Oncogene 17 (25): 3237-3245 (1998).
- Cell suicide for beginners. Martin Raff. Nature. 396: 119-122 (1998).
- Death-inducing functions of ligands of the tumor necrosis factor family: a Sanhedrin verdict. D. Wallach, A.V. Kovalenko, E.E. Varfolomeev and M. P. Boldin. Current Opinion in Immunology, 10: 279-288 (1998).

FECHA

FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Dr. Luis A. Quesada Allué

FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:

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