



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica
Pabellón II 4° piso, Ciudad Universitaria
(1428) Buenos Aires, Argentina

PROGRAMA ANALÍTICO DEL CURSO: TEORÍA Y PRÁCTICA DE LA INTERACCIÓN LIGANDO-RECEPTOR

PARTE TEÓRICA:

- 1.- Concepto de señal y elementos que intervienen. Tipos de sistemas de señalización: sistema nervioso, sistema inmune, sistema hormonal. Tipos de respuesta: endócrina, parácrina, autócrina, yuxtacrina. Concepto de receptor: características del receptor y del ligando: especificidad, saturabilidad, reversibilidad, afinidad. Tipos de ligandos y de fuerzas de interacción. Relación entre estructura y función. Concepto de un eje jerárquico de respuesta hormonal: glándula productora, tejido efector, retroalimentación. Ejemplos.
- 2.- Estrategia y tácticas en estudios de unión a receptor: información que se obtiene. Estrategias básicas: base matemática, asociación y disociación, unión al equilibrio, comparación de unión con datos farmacológicos. Procedimientos experimentales: determinación del tiempo de asociación, disociación, curva de saturación, inhibición de la unión. Artificios en los estudios de unión y cómo evitarlos: pureza del trazador, actividad específica, inestabilidad del receptor, oclusión del receptor, contaminación, separación, depleción de ligando, estado de no equilibrio. Preparación de ligando radiactivos y de fracción receptora: uso de homogeneizados, células aisladas, preparaciones solubles. Ejemplos para hormonas proteicas y esteroideas.
- 3.- Análisis e interpretación de la unión al equilibrio. Actividad específica del ligando: análisis por autodesplazamiento. Máxima capacidad de unión. Experimentos por saturación, competencia y desplazamiento. Especificidad de la unión. Descripción de la ley de acción de masas para la unión de un solo ligando. Unión a sitio único o a múltiples sitios no interactuantes. Efecto de la presencia de otros ligandos: competición. Análisis de desplazamiento: EC_{50} . Relación entre EC_{50} y K_d : aproximación de Cheng-Prusoff y análisis más exacto de Rodbard-Munson. Tipos de ecuaciones lineales: Rosenthal, Scatchard, Wilkinson. Gráfico lineal directo. Sistemas cooperativos: alosterismo, modelos generales.
- 4.- Relación entre unión y respuesta: sistemas en estado estacionario. Modelos ternarios de interacción ligando-receptor-proteína G. Comparación entre constante de afinidad y respuesta medida. Saturación de respuesta y de unión. Comparación entre sistema ligando-receptor y radioinmunoensayo. Bioensayo: determinación de la actividad biológica de un ligando.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica
Pabellón II 4° piso, Ciudad Universitaria
(1428) Buenos Aires, Argentina

PARTE EXPERIMENTAL:

-Módulo de análisis computacional:

Se tomarán como base los programas Ligand y Allfit (Rodbard-Munson) y se lo utilizará en modelos de experimentos por saturación, competencia homogénea y heterogénea, cooperatividad en la unión. Sitios únicos o múltiples. Se analizarán los diversos gráficos obtenidos y la forma de expresar los resultados. Se utilizarán los programas comerciales GraphPad y SigmaPlot como alternativas para esos programas, comparando los resultados entre ellos.

-Seminarios:

Los alumnos deberán presentar un seminario sobre el tema, o dos de acuerdo con el número de inscriptos.

-Video mostrativo:

A los alumnos se les mostrará un video donde se incluye la preparación de muestras para realizar estudios de interacción ligando-receptor desde el manejo del animal, repaso del sistema endocrino y manipulación del tejido hasta la obtención de los resultados finales.

-Examen final:

Los alumnos deberán resolver casos reales de resultados de interacción ligando-receptor que incluirán los temas vistos en teórica.

Bibliografía:

Se entregarán a los alumnos las fotocopias o PDFs necesarios para el seguimiento del curso.

Sugerida:

-Farmacología Molecular: receptores, transducción de señales y activación de genes. Marcelo G. Kazanietz. Universidad Nacional de Quilmes. (2003)

-Receptor-ligand interactions: a practical approach. EC Hulme. IRL Press (1992)

-Thermodynamics and kinetics for the biological sciences. Gordon C. Hammes. Wiley Interscience. (2000)

-Principios de Bioquímica. Lehninger. 5ta edición. Omega. (2007)



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica
Pabellón II 4° piso, Ciudad Universitaria
(1428) Buenos Aires, Argentina

-Fundamentos de Bioquímica. Voet y Voet. Panamericana. (2007)

Artículos científicos:

-Analysis of Receptor-Ligand Interactions Attie AD, Raines RT. *J Chem Education* 72 (2): 119-124, 1995

-Kinetic analysis of estrogen receptor ligand interactions. Rich RL, Hoth LR, Geoghegan KF, Brown TA, LeMotte PK, Simons SP, Hensley P, Myszka DG. *PNAS* 99 (13): 8562-8567, 2002

-Establishment of in vitro binding assay of high mobility group box-1 and S100A12 to receptor for advanced glycation endproducts: heparin's effect on binding. Liu R, Mori S, Wake H, Zhang J, Liu K, Izushi Y, Takahashi HK, Peng B, Nishibori M. *Acta Med Okayama*. 63(4): 203-11, 2009

-Engineering the glycosaminoglycan-binding affinity, kinetics and oligomerization behavior of RANTES: a tool for generating chemokine-based glycosaminoglycan antagonists. Brandner B, Rek A, Diedrichs-Möhrling M, Wildner G, Kungl AJ. *Protein Eng Des Sel*. 22(6): 367-73, 2009

-Structural basis for negative cooperativity in growth factor binding to an EGF receptor. Alvarado D, Klein DE, Lemmon MA. *Cell* 142(4): 568-79, 2010

-High- and Low-Affinity Epidermal Growth Factor Receptor-Ligand Interactions Activate Distinct Signaling Pathways. Krall JA, Beyer EM, MacBeath G. *PLoS ONE* 6 (1): 1-10, 2011