

QBA 2018
5



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. N° 504.115/14

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, **24 SEP 2018**

VISTO

La nota a fojas 33 presentada por la Dirección del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Bioquímica de Modificaciones Post-Traduccionales** para el año 2018.

CONSIDERANDO

- Lo actuado por la Comisión de Doctorado,
- Lo actuado por la Comisión de Posgrado,
- Lo actuado por la Comisión de Presupuesto y Administración,
- Lo actuado por este cuerpo en la sesión realizada en el día de la fecha,
- En uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

ARTÍCULO 1°: Aprobar el dictado del curso de posgrado **Bioquímica de Modificaciones Post-Traduccionales** de 120 hs. de duración, que será dictado por el Dr. Martín Monte con la colaboración de los Dres. Diego Ferreiro, Adriana Cochón, María del Carmen Ríos, Susana Correa, Silvia Moreno, Daniela Capiati y Fátima Ladelfa.

ARTÍCULO 2°: Aprobar el programa del programa del curso de posgrado **Bioquímica de Modificaciones Post-Traduccionales**, obrante a fs 35/39, para su dictado durante el segundo cuatrimestre de 2018.

ARTÍCULO 3°: Aprobar un puntaje máximo de cinco (5) puntos para la Carrera del Doctorado.

ARTÍCULO 4°: Aprobar un arancel de 1000 módulos. Disponer que los fondos recaudados ingresen en la cuenta presupuestaria habilitada para tal fin, y sean utilizados de acuerdo a la Resolución 072/03.

ARTÍCULO 5°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Biológica, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con fotocopia del programa incluida. Cumplido archívese.

Resolución CD N°
SP/ga/10/09/2018

2416

Dr. PABLO J. PAZOS
Secretario Adjunto de Posgrado
FCEyN - UBA

Dr. JUAN CARLOS REOREDA
DECANO



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica



obtendrán una visión química y estructural sobre la señalización intracelular que complementa los conocimientos generales de transducción de señales.

El primer módulo del curso está orientado a la comprensión, desde un punto de vista químico, de las principales modificaciones post-traduccionales que sufren las proteínas y su significado. En el segundo módulo se analiza cómo estas modificaciones alteran la estructura de las proteínas, incluyendo abordajes bioinformáticos. El tercer módulo integra a los dos módulos anteriores y describe la importancia de las modificaciones en el comportamiento de las proteínas en un contexto celular.

Las clases teóricas se complementan con Seminarios que involucran la lectura, análisis y discusión profunda de artículos de investigación relevantes en cada tópico. Estos Seminarios son preparados y expuestos por los alumnos y discutidos en clase con la intervención de alumnos y docentes.

Los trabajos prácticos están destinados a que los alumnos conozcan y realicen técnicas que les permitan detectar modificaciones post-traduccionales en distintos sistemas biológicos y comprender su importancia en las células.

PROGRAMA ANALITICO

Módulos teóricos

Unidad 1: Modificación por moléculas pequeñas

Modificación de proteínas por moléculas pequeñas: Aspectos químicos de la Fosforilación, Acetilación y Metilación. Donantes metabólicos ATP, Acetil-CoA, S-adenosin-metionina, SAM. Historia de la Fosforilación, su descubrimiento. Química de la reacción de Fosforilación de aminoácidos. Formación de anhídridos ácidos, de unión fósforo-nitrógeno y unión fósforo-azufre. Reacciones catalizadas por quinasas y fosfatasas. Secuencias consenso. Métodos de detección de fosforilación. Adición del grupo acetilo. Acetiltransferasas y deacetilasas. Mecanismos de reacción. Métodos de detección de proteínas acetiladas. Blancos de metilación: lisina y arginina. Formación de mono-, di- y trimetil-lisina. Arginina metil transferasas. Métodos de detección de proteínas metiladas.

Unidad 2: Modificación por glúcidos

Modificación de proteínas por glúcidos: aspectos químicos y bioquímicos de la glicosilación. Distintos tipos de glicosilación, azúcares predominantes, tipos de enlaces, estructura, síntesis y función. Unión de glicanos por la enzima OST. Mecanismos de reacción y reconocimiento de secuencias blanco. Péptido señal y retículo endoplasmático. Translocación co-traducciona. Métodos de estudio: Glicómica. Oligosacáridos y plegado de proteínas. Sistema



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica



calnexina/calreticulina. Procesamiento del oligosacárido. Control de calidad. Herramientas de análisis.

Unidad 3: Modificación por lípidos

Unión a lípidos: distintos tipos de lipidación: Prenilación y acilación. Farnesilación y geranilgeranilación. N-miristoilación y S-palmitoilación. Acilación espontánea y enzimática. Reacción de las Palmitoiltransferasas. Secuencias consenso. Ancla de glicosil fosfatidil inositol (GPI). Estructura y formación del ancla GPI. Métodos de aislamiento. Ejemplos y funcionalidad de las proteínas modificadas por lipidación. Métodos de detección. Dinámica de la lipidación. Switch electrostático como regulación. Ejemplo de lipidación de Ras: desarrollo de inhibidores de su unión a membrana.

Unidad 4: Modificación por unión covalente de péptidos

Conjugación de péptidos a proteínas: ubiquitinación, neddilación y sumoilación. Generalidades de la ubiquitinación, descubrimiento y relevancia. Estructura de la ubiquitina y aminoácidos reactivos. Sistemas enzimáticos de conjugación de péptidos. Complejidad en la actividad de la E1 (activación). E2 y la conjugación. Familias de E3 ubiquitina ligasas. Distintos tipos de mecanismos. Uniones isopeptídicas. Mono y poli ubiquitinación. La superficie de la ubiquitina: parches hidrofóbicos. Tipos de ramificación y el código de la ubiquitina. Enzimas que hidrolizan la unión de ubiquitina a lisinas. Conjugación de Nedd8 a proteínas. Neddilación y las Cullin Ring Ligases. Ubiquitinación y Neddilación, especificidad de los sistemas de conjugación y reconocimiento. Conjugación de SUMO a proteínas. Características y especificidad. Sitios blanco y consecuencias de la sumoilación. Proteínas ATG y su conjugación durante la autofagia. Ejemplos y destino de las proteínas modificadas. Métodos de detección.

Unidad 5: Modificación por proteólisis

Rotura de enlaces covalentes: proteólisis controlada como mecanismo de regulación de la función proteica. Hidrólisis de uniones peptídicas. Unión sustrato-proteasa. Exo-, amino- y carboxi-peptidasas. Clasificación por mecanismos de catálisis. Serina, Cisteína, Aspártico y metalo proteasas. Complejidad de las proteasas. Regulación, inhibidores y función fisiológica de las proteasas.

Unidad 6: Modificación espontánea de aminoácidos

Oxidación de aminoácidos como modificación post-traducciona: Especies reactivas del Oxígeno y del Nitrógeno. Radicales libres. Producción de radicales libres en sistemas biológicos. Estrés oxidativo. Parámetros de estrés oxidativo. Oxidación de proteínas. Función de proteínas dependientes del estado de óxido reducción celular. Grupos cisteína críticos y su efecto sobre la estructura y función proteica. El estado de óxido-reducción celular y la regulación de factores de transcripción dependientes. La relación GSSG/GSH y el destino celular. Deamidación: conversión de asparagina en ácido aspártico y de glutamina en ácido



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica



glutámico por deamidación. Reacciones químicas e intermediarios de la deamidación. Consecuencias de la deamidación. Generación de iso-aspartico. Deamidación y vida media de proteínas. Probabilidades de ocurrencia. Reparación del iso-aspartico. Ejemplo de cambio de actividad de proteínas deamidadas. Métodos de detección.

Unidad 7: Modificaciones post-traduccionales y cambios estructurales en proteínas

Reactividad de aminoácidos dependiendo de la estructura y contexto proteico; Teoría de la información, motivos lineales, sitios de reconocimiento y mecanismos de unión. Usos y abusos de las herramientas bioinformáticas. Modulación de la reactividad: inhibición y mimica molecular. Modulación del paisaje energético por modificaciones puntuales, robustez y sensibilidad. Aproximaciones evolutivas al estudio de mecanismos de regulación. Herramientas biofísicas utilizadas para el estudio de modificaciones post-traduccionales y los cambios asociados.

Unidad 8: Estudio de nuevas modificaciones post-traduccionales por espectrometría de masas. Generalidades de la espectrometría de masas. Funcionamiento de ESI y MALDI. Peptide mass fingerprint. Espectrometría de masas en tándem MS/MS. Estrategias de la identificación en la utilización de ESI y MALDI. Proteómica cuantitativa. Detección de modificaciones post-traduccionales mediante MS. Abordajes experimentales para estudiar distintas modificaciones en proteínas. Ejemplos de nuevos hallazgos de modificaciones post-traduccionales: la glutarilación.

Unidad 9: Modificaciones post-traduccionales y comportamiento de proteínas en células Estado de Glicosilación, interacciones y destino de las proteínas. Modificaciones post-traduccionales y localización celular de proteínas. Modificaciones post-traduccionales y formación de estructuras subcelulares, el ejemplo de los cuerpos nucleares de PML (PML-NBs). Modificaciones post-traduccionales e interacción proteína-proteína. Dominio proteicos de interacción con modificaciones post-traduccionales. Tipos de interacción. Estructura y función de dominios 14-3-3, SH2, Bromodominio, Cromodominio, dominios TUDOR. Ejemplo de Inhibidores de enzimas asociadas a Modificaciones post-traduccionales. Diseño de inhibidores con herramientas bioinformáticas.

Módulos prácticos

Actividades prácticas secas: Durante la cursada y en horarios de las Teóricas, se explicará la metodología de detección de modificaciones post-traduccionales por espectrometría de masas. Además, se llevarán a cabo clases con aproximación bioinformática en aulas de computación.

Trabajos prácticos de laboratorio: se desarrollarán al final de la cursada todos los días durante dos semanas. Durante estos trabajos prácticos se realizarán técnicas de detección de modificaciones post-traduccionales de distinto origen (ubiquitinación, glicosilación, lipidación



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica



y oxidación) en diferentes sistemas biológicos (células humanas en cultivo, levaduras y plantas). Además, se observará el efecto de mutaciones puntuales en sitios para modificaciones post-traduccionales en la localización sub-celular de proteínas (por microscopia).

Bibliografía

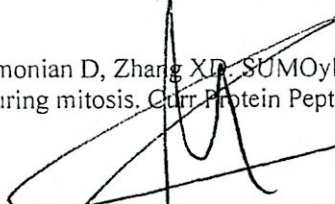
- Alam T, Alazmi M, Gao X, Arold ST. How to find a leucine in a haystack? Structure, ligand recognition and regulation of leucine-aspartic acid (LD) motifs. *Biochem J.* 2014 Jun 15;460(3):317-29.
- Chen CA, Manning DR. Regulation of G proteins by covalent modification. *Oncogene.* 2001 Mar 26;20(13):1643-52. Review.
- Del Rizzo PA, Trievel RC. Molecular basis for substrate recognition by lysine methyltransferases and demethylases. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Jun 17, S1874-9399
- Duncan K, Schäfer G, Vava A, Parker MI, Zerbini LF. Targeting neddylation in cancer therapy. *Future Oncol.* 2012 Nov;8(11):1461-70.
- Hebert DN, Garman SC, Molinari M. The glycan code of the endoplasmic reticulum: asparagine-linked carbohydrates as protein maturation and quality-control tags. *Trends Cell Biol.* 2005 Jul;15(7):364-70.
- Heun P. SUMO organization of the nucleus. *Curr Opin Cell Biol.* 2007 Jun;19(3):350-5.
- Hill BG, Bhatnagar A. Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. *J Mol Cell Cardiol.* 2012 Mar;52(3):559-67.
- Hudson DA, Gannon SA, Thorpe C. Oxidative protein folding: From thiol-disulfide exchange Reactions to the redox poise of the endoplasmic reticulum. *Free Radic Biol Med.* 2014 891-901.
- Hurtado-Guerrero R, Davies GJ. Recent structural and mechanistic insights into post-translational enzymatic glycosylation. *Curr Opin Chem Biol.* 2012 Dec;16(5-6):479-87.
- Kannicht, Christoph. Post-translational Modifications of Proteins. Tools for Functional Proteomics Series: Methods in Molecular Biology, 2008, Vol. 446. Humana Press
- Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem.* 2012;81:203-29.
- Mak WS, Siegel JB. Computational enzyme design: Transitioning from catalytic proteins to enzymes. *Curr Opin Struct Biol.* 2014 Jul 5;27C:87-94
- Martín ML, Busconi L. Membrane localization of a rice calcium-dependent protein kinase (CDPK) is mediated by myristoylation and palmitoylation. *Plant J.* 2000 Nov;24(4):429-35. Review.
- Novelli G, D'Apice MR. Protein farnesylation and disease. *J Inherit Metab Dis.* 2012 Sep;35(5):917-26.
- Roca M, Aranda J, Moliner V, Tuñón I. Modeling methods for studying post-translational and transcriptional modifying enzymes. *Curr Opin Chem Biol.* 2012 Dec;16(5-6):465-71.
- Van Damme E, Laukens K, Dang TH, Van Ostade X. A manually curated network of the PML nuclear body interactome reveals an important role for PML-NBs in SUMOylation dynamics. *Int J Biol Sci.* 2010 Jan 12;6(1):51-67.
- Wagner EJ, Carpenter PB. Understanding the language of Lys36 methylation at histone H3. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 Jan 23;13(2):115-26.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica



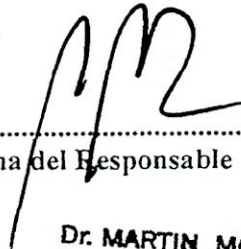
- Wan J, Subramonian D, Zhang XD. SUMOylation in control of accurate chromosome segregation during mitosis. *Curr Protein Pept Sci.* 2012 Aug;13(5):467-81.


Dr. Marcelo Marti

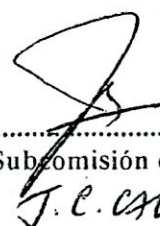
DIRECTOR

Dpto. QUÍMICA BIOLÓGICA

VºBº Del Departamento FCE y N - U.B.A.


Firma del Responsable

Dr. MARTIN MONTE
Dpto. QUÍMICA BIOLÓGICA
FCEN - UBA


VºBº de la Subcomisión de Doctorado

J. E. CASAB