

PROGRAMA

Curso 1973. Encargados Dr. Marcelo Dankort

Mecanismos generales de Regulación Enzimática: Dr. Romano Piras.

1.- Conceptos generales sobre regulación enzimática (RE) y caminos metabólicos. Necesidad de la RE. Tipos de RE: regulación por cambios en la actividad enzimática y regulación por cambio de la concentración de enzima.

2.- RE. por cambios en la actividad enzimática.

A.- Caminos metabólicos: simples, ramificados, opuestos.

B.- Etapas regulables. Enzimas marcapasos, "Crossover Point".

C.- Propiedades de enzimas regulatorias. Alosterismo. Desensibilización.

D.- Regulación por "feed-back": Multiplicidad enzimática, inhibición concertada, inhibición cooperativa, inhibición acumulativa.

E.- Regulación por conversiones enzimáticas: fosforilación y adenilación.

3.- RE. por cambio de la concentración de enzima

A.- Inducción y Represión

B.- Control por la degradación de enzimas

BIBLIOGRAFIA

Rozengurt, E., y Jiménez de Asúa L "Los Mecanismos Básicos de la Regulación Metabólica" - Ciencia e Investigación 194 (1969)

Stadtman, E.R. "Allosteric Regulation of Enzyme Activity" - Adv. in Enzymol. 28, 41 (1965).

Holzer H. "Regulation of enzymes by enzyme-catalyzed chemical modification" Adv. in Enzymol. 32, 297 (1969)

SEMINARIO

"Regulación alostérica de la piruvato quinasa del hígado".

BIBLIOGRAFIA:

- 1) J. Biol. Chem. 244, 3142- 3147 (1969)
- 2) J. Mol. Biol. 6, 306- (1963)
- 3) J. Mol. Biol. 42, 88- (1965)

Síntesis y Degradación del glucógeno - Su Regulación
Dra. Clara R. Krisman de Fischman

I Estructura del glucógeno. Propiedades generales.

Fosforilasa de músculo - Fosforilasa b - Fosforilasa a - Dimero - Tetramero - Requerimientos para la actividad - Interconversión de las formas.

Enzimas que intervienen: Fosforilasa (a) - Fosfatasa - Fosforilasa (b) Kinasa - Efectos del Ca^{2+} - Adrenalina - 3'5' AMPcíclico - ciclase - Contracción muscular.

Fosforilasa de hígado - Defosfo-fosforilasa - Fosforilasa activa - Interconversión de ambas formas - Kinasa - Fosfatasa - Activadores - Papel de la fosforilasa en el control de la glucogenolisis - Regulación hormonal de la actividad fosforilásica.

II) Descubrimiento de la glucógeno sintetasa - Dificultades para admitir que la fosforilasa es la enzima sintetizante del glucógeno - Distribución de la glucógeno sintetasa - Efecto de la glucosa-6-fosfato - Otros metabolitos - Curva de pH.

Formas dependiente o independiente de la enzima glucógeno sintetasa - Interconversión entre ambas formas - Enzimas que participan en la interconversión: Kinasa - Fosfatasa - Efecto de hormonas: Adrenalina - Glucafon - Insulina - Corticoides - Papel de la Glucógeno sintetasa en la regulación de la síntesis del glucógeno - Esquema general de los mecanismos de regulación que participan en la degradación y síntesis del glucógeno. - Estudios preliminares sobre el mecanismo de iniciación de una molécula de glucógeno.

BIBLIOGRAFÍA

Textos comunes de bioquímica general.

Manners - Advances Carb. Chem. 12, 261 (1957)

Manners - " " " 17, 361

Ciba Foundation - Control of Glycogen Metabolism

Clara R. Krisman - Luis R. Marechal - Regulación Hormonal en el Metabolismo de los Hidratos de Carbono Recientes Progresos - Revista Arg. Endocrin. y Metabolismo 12, 102 (1966).

Clara R. Krisman - I. A. Algranati - Cura H. Goldemberg - Metabolismo del Glucógeno - Anales de la Sociedad Científica Argentina (1971) pag. 99, Número especial en Homenaje al Dr. I.P. Joloir.

Armando J. Farodi - El glucógeno particulado - Metabolismo - Estructura - Síntesis. Anales de la Soc. Cient. Arg. (1971) pag. 121

Romano Piras - Regulación de la Biosíntesis del glucógeno en mamíferos - Anales de la Soc. Cient. Arg. (1971) pag. 137.

Biosíntesis de polisacáridos en bacterias: Dr. Marcelo Dankert.

La pared celular. Polisacáridos de pared: mureínas, lipopolisacáridos y ácidos teicoicos. Funciones. Lipopolisacáridos. Lipido A. Muta ión S \rightarrow R. Polisacáridos R y O. Biosíntesis del polisacárido R. Efecto de fosfolípidos.

El polisacárido O. Su estructura. Biosíntesis. Intermediarios lipofílicos: prenol difosfato azúcares. Propiedades antigénicas del polisacárido O. Conversión por fago. El sistema *Salmonella anatum* - 15 - 34. Prenol-monofosfoazúcares. Otros sistemas. ácidos teicoicos, polisacáridos capsulares mureínas: Prenol fosfoquinasa.

BIBLIOGRAFÍA

J. Lennarz and V.G. Schor, Biochim. Biophys. Acta, 265, 417 (1972)

H. Nikaido and J. Adv. Carb. Chem. Biochem. 26, 351 (1971).

Otto Lüderitz, Angewandte Chemie 2, 692 (1971)

Robbins et al. Science, 158, 1536 (1967)

Derivados liposolubles de azúcares como intermediarios en
la biosíntesis de glicoproteínas

Dr. Nicolás Bohróns

Pronoles. Aislamiento y demostración de la estructura del dolicol monofosfato glucosa de hígado. Formación de un derivado del dolicol con aproximadamente 18 azúcares. Transferencia a una proteína.

Glicoproteínas. Definición, tipos de unión azúcar-amino-ácido. Estructura de la porción carbohidrato. Síntesis in vitro.

Un posible mecanismo de biosíntesis de glicoproteínas. Formación de dolicol difosfato acetil quitobiosa y dolicol difosfato oligosacáridomanosa.

Bibliografía

N.H. Bohróns y I.F. Leloir, Proc. Natl. Acad. Sc., 66 (1970) 153

N.H. Bohróns, A.J. Parodi y L.F. Leloir ibid 68 (1971) 2857

A.J. Parodi, N.H. Bohróns, I.F. Leloir y H. Garrinatti ibid 69 (1972) 3268

A.G. Spiro, New England J. Med. 281 (1969) 991

A. Gottschalk Glycoproteins, Elsevier, Amsterdam, p. 450

R.D. Marshall, Ann. R.v. Biochem. 4 (1972) 673

Diferenciación celular: Dr. Romano Piras

Cultivo de tejidos, diferentes tipos y usos. Parámetros del crecimiento celular. Inhibición por contacto. Cultivos asincrónicos y sincrónicos. El ciclo celular. Cultivos primarios y diferenciación *in vitro*. Células normales y tumorales. Líneas celulares. Transformación.

BIBLIOGRAFIA

Cells and Tissues in Culture (A. W. Millmor, Ed.) Academic Press, 1965.

The Cell Cycle (Fedilla, Caneron, Ed.) Academic Press, 1971.

Synchronously dividing mammalian cells. D.F. Peterson, R.L. Tobey & E.C. Anderson Fed. Proceedings 28, 1771 (1969).

Diferenciación en tejidos animales. Aspectos morfológicos y enzimáticos. Desdiferenciación. Estudio de algunos modelos: desarrollo embrionario, desarrollo tumoral y cultivo de tejidos.

BIBLIOGRAFIA

Groengavol O. "Enzymatic differentiation in mammalian tissues" - Essays in Biochemistry (Campbell - Dicksons, Eds.) Academic Press, N.Y. Vol. 7 Pag.159 (1971).

Knob, W.E. - The protoplasmic patterns of tissues and tumors. - American Scientist 60, 480 (1972).

Piras, R., Piras M.M. - The developmental formation of enzymes involved in glycogen metabolism. Enzyme 26, en pronta.

Shainberg, A. Yagil, G. & Yaffe, D. - Alteration of enzymatic activities during muscle differentiation *in vitro*. Develop. Biol. 25, 1, (1971).

Glicoproteínas: Dr. Héctor Carminatti

Aspecto biológico de las glicoproteínas. Importancia de la cadena glicosídica en los fenómenos de reconocimiento.

Papel de la glicoproteínas asociadas a membrana. Su influencia en el comportamiento social de las células.

Participación de las glicoproteínas en otros sistemas biológicos.

BIBLIOGRAFIA

Surface changes in transformed cells detected by lectins. - M.M. Burger Fed. Proc. 32, 91 (1973).

Glycoproteins. - R.G. Spiro - An. Rev. of Bioch. 32, 599 (1970).

Sugars, cell surface and the social life of cells. - N. Sharon - Rehovot - Winter 1972-73

Lectins: cell agglutinating and sugar - specific proteins. - N. Sharon and R. Lis - Science, 177, 949 (1972)

Carbohydrate in cell surface. - R.J. Winzler - International Rev. of Cytology 29, (1970).

The Glycoproteins. - Ed. A. Gottschalk - Elsevier Publishing Co. (de consulta)

Programa de trabajos prácticos generales

Purificación y propiedades de la piruvato quinasa de *Mucor rouxii*. Distribución de las isoenzimas en función de diferentes condiciones de cultivo. Preparación de la enzima a partir de células levadúriformes y de micolio cultivado con o sin hidratos de carbono: ruptura celular, centrifugación diferencial, fraccionamiento con sulfato de amonio, columnas de Sephadex G-25, cromatografía en columna de DEAE-Celulosa. Determinación de proteínas. Determinación de pirúvico. Curvas de tiempo de incubación y de concentración de enzima. Curva de concentración de sustrato (DEP), activación por Mn^{+2} . Curva de concentración de Mn^{+2} .

Clases teóricas correspondientes a los trabajos prácticos generales

Sistema biológico para el estudio de isoenzimas

Fenómeno del dimorfismo en relación al problema de la diferenciación celular. Características principales. Condiciones para determinar las diferentes morfologías. Inducción enzimática. Regulación. - Implicaciones biológicas. Bibliografía: Passeron, Teronzi - Febs. Letters, 6 (1970) 213 - Teronzi, Röbelino, Passeron. Eur. J. Biochem. 18, (1971) 9 Friedenthal, Rosolino, Passeron. Eur. J. Biochem. 35 (1973), 148. Röbelino, P. -

Enzimas

Curso de reacción y curvas de concentración de enzima. Curvas de concentración de sustrato. Ecuación de Michaelis. Actividad y actividad específica. Factores que influyen sobre la actividad enzimática. Inhibidores: competitivos y no-competitivos. Activadores. Enzimas regulatorias: cinética y mecanismos.

Bibliografía

White, Handler, Smith - Principles of Biochemistry
Mahler, Cordes - Biological Chemistry
Lochninger - Biochemistry
Dixon, Webb - Enzymes.

Isótopos radiactivos

Conceptos básicos. Núcleo Atómico. Radiactividad. Tipos de decaimiento. Unidades. Producción de isótopos radiactivos. Medición de la radiactividad.

Bibliografía

Radiactive tracers in Biology - Kamen (AF)
Isotopic Carbon - Calvin, Heidelberger, Reid, Tolbert, Yankwich
Isotopic tracers in Biochemistry and Physiology - Sacks

TRABAJOS PRACTICOS ESPECIALES

Se desarrollaran individualmente sobre uno de los siguientes temas:

- 1) Transglucosilación en tejidos vegetales.
- 2) Intermediarios lipofílicos en bacterias.
- 3) Estudio de las protoína-quininas durante el desarrollo embrionario y la diferenciación.
- 4) Síntesis de proteínas.
- 5) Síntesis de DNA en células animales.
- 6) Estudio de enzimas activantes de aminoácidos en bacterias termófilas.
- 7) Intermediarios lipofílicos en mamíferos.
- 8) Mecanismo de iniciación de la síntesis de glucógeno.
- 9) RNAPolimerasa - Control metabólico por AMP-cíclico.
- 10) ²-Fosfoglucomutasa.