



1821 Universidad de Buenos Aires

Resolución Consejo Directivo

Número:

Referencia: EX-2022-03400761- -UBA-DMESA#FCEN - POSTGRADO - Sesión
05/09/2022

VISTO:

La nota presentada por la Dirección del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado Bioquímica de Modificaciones Post-traduccionales (DOC8800424) para el año 2022,

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado,

lo actuado por la Comisión de Posgrado,

lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada el día 5 de septiembre de 2022,

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**

R E S U E L V E:

ARTÍCULO 1º: Aprobar el dictado del curso de posgrado Bioquímica de Modificaciones Post-traduccionales (DOC8800424) de 120 horas de duración, que será dictado por el Dr. Martín Monte con la colaboración de los Dres. Diego Ferreiro, Silvia Moreno y Adriana Cochón.

ARTÍCULO 2º: Aprobar el programa del curso de posgrado Bioquímica de Modificaciones Post-traduccionales (DOC8800424) que como anexo forma parte de la presente Resolución, para su dictado en el segundo cuatrimestre de 2022.

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

ARTÍCULO 4º: Establecer un arancel de CATEGORÍA 4 estableciendo que dicho arancel estará sujeto a los descuentos y exenciones estipulados mediante la Resolución CD N° 1072/19. 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 5º: Disponer que de no mediar modificaciones en el programa, la carga horaria y el arancel, el presente Curso de Posgrado tendrá una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la presente Resolución.

ARTÍCULO 6º: Comuníquese a todos los Departamentos Docentes, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Dirección de Movimiento de Fondos, a la Dirección de Presupuesto y Contabilidad, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con copia del programa incluida. Cumplido, pase QBIOLOGICA#FCEN y resérvese.

ANEXO

Programa

Bioquímica de Modificaciones Post-traduccionales

El presente curso tiene como finalidad profundizar el conocimiento sobre el aspecto químico de las principales modificaciones que sufren las proteínas durante la señalización y cómo estas modificaciones alteran su función, asociación con otras proteínas, localización celular y estructura. De esta manera los alumnos 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 postraduccionales en distintos sistemas biológicos y comprender su importancia en las células.

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, Sadenosin-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 metiltransferasas. 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-traduccional. Métodos de estudio: Glicómica. Oligosacáridos y plegado de proteínas. Sistema 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-iristoilación y S-palmitoilación. Acilación espontánea y enzimática. Reacción de las Palmitoiltransferasas. Secuencias consenso. Ancla de glicosilfosfatidilinositol (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 Ligasas. 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 óxidoreducción 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 glutámico por deamidación. Reacciones químicas e intermediarios de la deamidación. Consecuencias de la deamidación. Generación de isoaspártico. Deamidación y vida media de proteínas. Probabilidades de ocurrencia. Reparación del iso-aspártico. 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 mímica 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. Peptidemassfingerprtint. 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 posttraduccionales 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 proteicosde 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 bioinformaticas.

Módulo práctico

Actividades prácticas secas:

Utilización de herramientas informáticas para el estudio de estructura de proteínas y modificaciones postraduccionales que concluirá en la elaboración de un trabajo de investigación.

1. Utilización de herramientas informáticas para el análisis de datos provenientes de estudios de espectrometría de masas enfocados a la detección de modificaciones postraduccionales en proteínas. Se resuelven problemas y es dictado en colaboración con el personal del Centro de Estudios Químicos y Biológicos por Espectrometría de Masa (CEQUIBIEM-FCEN, UBA).
2. Trabajos prácticos húmedos: se desarrollarán al final de la cursada en días consecutivos. Durante estos trabajos prácticos se realizarán técnicas de detección de modificaciones post-traduccionales de distinto origen (ubiquitinación, glicosilación, lipidación y oxidación) en diferentes sistemas biológicos (células humanas en cultivo, levaduras y plantas). Además, se realizará un trabajo práctico sobre la detección de MPTs mediante espectrometría de masas. Los alumnos aprenderán sobre el trabajo que se realiza luego de obtener los espectros, cómo se procede y analiza y cómo se llega a los resultados finales.

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. *BiochimBiophysActa*. 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 qualitycontrol 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 thioldisulfide exchange Reactions to the redox poise of the endoplasmic reticulum. *Free RadicBiol Med.* 2014 891-901.
 - Hurtado-Guerrero R, Davies GJ. Recent structural and mechanistic insights into post-translational enzymatic glycosylation. *CurrOpinChem 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. *CurrOpinStruct 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 posttranslational and transcriptional modifying enzymes. *CurrOpinChem 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 PMLNBs 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.
 - 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.

