

Bioquímica de Modificaciones Postraduccionales

Coordinador de la materia: Prof. Martín Monte (mmonte@qb.fcen.uba.ar)

Objetivos particulares y parciales:

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 la estructura y fisiología proteica. 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 focaliza en 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.

Horario:

Martes y Jueves 14 a 17h.

En esos horarios se llevan a cabo las clases teóricas y los seminarios. Los trabajos prácticos se desarrollan al final de la cursada durante días consecutivos.

TRABAJOS PRÁCTICOS

Actividades practicas 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.

Los trabajos prácticos de laboratorio se desarrollarán al final de la cursada durante días consecutivos en una semana completa. Durante estos trabajos prácticos se realizarán técnicas de detección de modificaciones post-traduccionales de distinto origen (ubiquitinación, glicosilación, 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 subcelular de proteínas (por microscopía).

FORMA DE EVALUACIÓN

Dos parciales que se aprueban con un mínimo 5 (cinco) puntos.

La materia se promociona con un promedio de 7 (siete) puntos y cada uno de los parciales deberá ser aprobado en su primera instancia (sin recuperatorio).

Se requerirá además la aprobación de los informes correspondientes a los trabajos prácticos y la participación del alumno en Seminarios.

En caso de alcanzar la promoción, la nota final resultará de la calificación de los parciales teóricos promediada por una nota de concepto que resultará del desempeño del alumno en los trabajos prácticos y seminarios.

PROGRAMA ANALITICO

Modificación covalente de proteínas I:

Unión a pequeñas moléculas: Fosforilación, Acetilación y Metilación. Unión a glúcidos: aspectos químicos y bioquímicos relevantes. Distintos tipos de glicosilación, azúcares predominantes, tipos de enlaces, estructura, síntesis y función. Unión a lípidos: distintos tipos de lipidación: ancla de glicosil fosfatidil inositol, N-miristoilación, prenilación y S-palmitoilación. Ejemplos y funcionalidad de las proteínas modificadas. Métodos de detección. Secuencias consenso.

Modificación covalente de proteínas II:

Unión a péptidos: ubiquitinación, neddilación y sumoilación. Ejemplos y destino de las proteínas modificadas. Métodos de detección. Secuencias consenso. Rotura de enlaces covalentes: proteólisis controlada como mecanismo de regulación de la función proteica.

Modificación de proteínas por Oxidación:

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.

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 postraduccionales y los cambios asociados.

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. Modificaciones post-traduccionales e interacción proteína-proteína. Inhibidores de enzimas asociadas a Modificaciones post-traduccionales. Diseño de inhibidores.

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.
- 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.