

Resúmenes de Congreso

VI Jornadas de Bioquímica y Biología Molecular de Lípidos y Lipoproteínas

Auspiciado por:

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, Santa Fe.

Comité Organizador

Lombardo, Yolanda B. (FBCB–UNL)
Bernal, Claudio (FBCB–UNL)
Chicco, Adriana (FBCB–UNL)
González, Marcela (FBCB–UNL)

Comité Científico

Aveldaño, Marta (INIBIBB–CONICET, Universidad Nacional del Sur)
Sterin–Speziale, Norma (IQUIFIB–CONICET, Universidad de Buenos Aires)
Gimenez, María Sofía (IMBIOSL–CONICET, Universidad Nacional de San Luis)
Caputto, Beatriz (CIQUIBIC–CONICET, Universidad Nacional de Córdoba)
Pasquaré, Susana (INIBIBB–CONICET, Universidad Nacional del Sur)

CONFERENCIAS PLENARIAS

1. Determinantes de localización de proteínas de membrana en compartimentos de la vía secretoria de células eucariotas. El rol de los dominios transmembrana

Determinants for localization of membrane proteins in compartments of the secretory pathway in eukaryotic cells. The role of trans-membrane domains

Corona, E. D. • Ambroggio, E. • Gonzalez

Montoro, A. • Quiroga, R. • Valdez–Taubas J. • Maccioni H. J.

CIQUIBIC (UNC–CONICET), Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

La identidad de los compartimentos de la vía secretoria de células eucariotas (retículo endoplásmico, complejo de Golgi, membrana plasmática, etc.) se define por la presencia de proteínas y lípidos que se

dos y separados por TLC. Las especies moleculares de glucosilceramida (GlcCer) y lactosilceramida (LacCer) fueron analizadas por MALDI TOF–TOF MS. Se detectaron siete especies moleculares de ceramida y sus correspondientes GlcCer y LacCer (d18:1/C16:0, d18:1/C18:0, d18:1/C20:0, d18:1/C22:0, d18:1/C24:1, d18:1/C24:0 y d18:1/C24:0h). Las células cultivadas en hipertonidad mostraron un aumento progresivo en el porcentaje de C24:0 y C24:1 GlcCer, a expensas de una disminución de los porcentajes de C16:0 y C22:0 GlcCer. En cambio, en las especies de LacCer se observó un aumento en el porcentaje de C16:0 LacCer y una disminución de C22:0 y C24:0 LacCer, luego de 48h de tratamiento. Estos resultados demuestran que el perfil de GSLs es modificado durante la progresión hacia la diferenciación de las células MDCK. Además, sugieren que durante este proceso se desarrolla cierta selectividad de longitud de cadena, favoreciendo la formación de especies moleculares de LacCer de cadena más corta.

C13 • Cambios en la distribución de esfingomielina, glicerofosfolípidos y colesterol en fracciones de membrana de células espermatogénicas en diferenciación

Santiago Valtierra, F. X. • Oresti, G. M. • Mateos, M. V. • Aveldaño, M. I.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, CONICET y Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Durante su proliferación y diferenciación, las células germinales sufren cambios de tamaño y forma que se acompañan de una activa remodelación de sus membranas. El

objetivo fue caracterizar la distribución de esfingomielina (SM) en relación con glicerofosfolípidos (GPL) y colesterol en fracciones de membrana de estas células. Se obtuvieron espermatoцитos en paquiteno, espermátidas redondas, y espermátidas tardías de rata, a partir de las cuales se aislaron fracciones de membrana livianas (ML), pesadas (MP) y extra pesadas (MEP). La ausencia de actividad 5' nucleotidasa probó el origen intracelular de las MEP, mientras que por la alta actividad de la enzima, las fracciones ML y MP demostraron provenir de la membrana plasmática. La proteína flotilina–1 se concentró en la fracción ML, indicando la presencia de dominios de membrana tipo raft en ella. De las tres fracciones, la MEP fue la más pobre en SM. En espermatoцитos, la fracción ML concentró más SM, y más colesterol, que la MP, mientras que en las dos espermátidas la ML tuvo más SM, pero menos colesterol, que la MP. En todos los tipos celulares, los GPL de las ML presentaron ácidos grasos saturados (16:0 y 18:0), mientras que en los GPL de las MP y de las MEP abundaron los PUFA, siendo 20:4n–6 mayor en las primeras y 22:5n–6 mayor en las segundas. Estos resultados muestran que en las células germinales el proceso de diferenciación afecta la distribución de SM, GPL y colesterol entre membranas, y aún en una misma membrana.

C14 • Diferentes agonistas de receptores PPARs modifican el metabolismo del ácido fosfatídico en núcleos de cerebelo de rata

Gaveglio, V.L. • Giusto, N.M. • Pasquaré, S.J. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, CCT – Bahía Blanca, UNS– CONICET.

Previamente hemos demostrado un activo metabolismo del ácido fosfatídico (PA) en núcleos aislados de cerebelo de rata. Se caracterizaron distintas actividades enzimáticas relacionadas con su metabolismo: la fosfatidato fosfohidrolasa (LPP), la diacilglicerol lipasa (DAGL), la monoacilglicerol lipasa (MAGL), la fosfolipasa A (PLA) y la lisoPA fosfohidrolasa (LPAPasa). Además, demostramos que estas vías están reguladas de manera diferente por el ácido trans-retinoico a través de un mecanismo no genómico aún no descrito. En este trabajo se estudia la modulación de estas actividades enzimáticas por ligandos de los receptores nucleares PPAR (receptores activados por factores de proliferación peroxisomal) como lo son diferentes ácidos grasos (AG) y sus derivados. Para ello, se parte de un homogenado de tejido cerebelar de rata adulta a partir del cual se obtienen los núcleos con un alto grado de pureza por centrifugación en un gradiente de sacarosa. Las actividades enzimáticas fueron ensayadas incubando los respectivos sustratos radiomarcados simultáneamente con los diferentes AG o sus derivados. Se observó que el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenoico estimulan la actividad DAGL un 80 %. La PGE2 también produjo un estímulo sobre esta actividad (128 %) mientras que la actividad de LPP disminuyó un 19 %. Estos resultados en su conjunto demuestran que en núcleos de células del sistema nervioso, el metabolismo de PA y de lípidos derivados de él es regulado por AG o por moléculas relacionadas, lo que podría estar involucrado en la expresión de genes, la diferenciación, la apoptosis o los procesos relacionados con la inflamación.

C15 • Regulación de la expresión génica del gen *CHKA* durante la diferenciación neuronal inducida por ácido retinoico

Domizi, P. • Banchio, C.
IBR-CONICET, Ocampo y Esmeralda, Rosario.

Una de las principales características de la diferenciación neuronal es la formación de neuritas. Para ello se requiere de la síntesis de *novo* de membrana. Durante la diferenciación inducida por ácido retinoico (AR), el aumento en la biosíntesis de fosfatidilcolina (PC), es sostenido, en parte, por la inducción de la expresión del gen *Chka*, por lo que nos planteamos dilucidar los mecanismos por los cuales el AR induce su expresión. Mediante análisis de fusiones reportera del promotor de *Chka* identificamos la mínima región necesaria para su respuesta al AR. La misma está compuesta por dos cajas denominadas Box 1 y Box 2. Hemos demostrado que el AR, mediante ERK1/2, aumenta los niveles de C/EBP, lo que promueve su reclutamiento sobre el Box1 e induce la expresión del gen *Chka*. Por su parte, el Box 2 está constituido por una secuencia palindromica, la cual no ha sido previamente caracterizada. Ensayando construcciones reporteras mutantes del promotor de *Chka* pudimos establecer que el Box 2 es responsable del 70% de su inducción por AR. Además, mediante ensayos de EMSA pudimos determinar que sobre el Box 2 se forma un complejo proteico, y actualmente estamos realizando ensayos con el fin de poder identificar a estas proteínas. En conclusión, para que el promotor de *Chka* sea capaz de responder al AR se requiere del Box 1 y Box 2. Ambos, mediante diferentes mecanismos, modulan su activación, permitiendo un incremento en los niveles de PC, necesarios durante la diferenciación.