

Biomembranas: estructura, aplicaciones y señalización celular

Profesorado:

- **Responsable:** Juan Carmelo Gómez Fernández
- **Profesor:** M. Senena Corbalán García

Programa:

1. Estructura de las Biomembranas. Perspectiva histórica. Microscopía electrónica de biomembranas. Composición comparada de diversos tipos de biomembranas.
2. Los lípidos de las biomembranas. Descripción de estructuras y propiedades físico-químicas. Fases líquido-cristalinas: esmécticas, nemáticas e isotrópicas. Fases cúbicas, micelares y hexagonales. Preferencia de adopción de cada fase en función de la estructura de los lípidos. Metaestabilidad.
3. Membranas lipídicas modelo: liposomas. Tipos. Preparación. Caracterización de tamaños y volumen encapsulado. Fluidez de membrana y mesofases termotrópicas. Homeostasis de la fluidez en biomembranas.
4. Caracterización física de las dispersiones lipídicas. Diagramas de fases. Calorimetría diferencial de barrido, microscopía electrónica de criofractura, dispersión de rayos X, espectroscopia de RMN de ^{31}P y de ^2H , espectroscopia de infrarrojo, espectroscopia de fluorescencia.
5. Aplicaciones de los liposomas: membranas modelo, vehículos de fármacos, cosmética, vehículos de genes, sangre artificial. Asimetría de las biomembranas. Aplicaciones a los biomateriales. Biocompatibilidad.
6. Proteínas de biomembranas. Tipos. Modos de estudio de las proteínas de biomembranas. Movilidad. Fotoblanqueo y recuperación de fluorescencia.
7. Morfologías más comunes de proteínas intrínsecas de biomembranas. Estudio de algunos ejemplos.
8. Interacción lípido-proteína intrínseca de biomembrana. Reconstitución de proteínas. Técnicas biofísicas utilizadas.
9. Estudios de monocapas lipídicas en la interfase agua-aire. Aplicación al estudio de la interacción lípido-proteína. Películas de Langmuir-Blodgett. Aplicaciones en Biotecnología y Biomateriales.
10. Estudio de proteínas de membranas implicadas en señalización celular: diferentes clases y ejemplos.
11. Dominios proteicos más importantes que interaccionan con lípidos de la membrana y que están implicados en señalización celular: C1, C2, PH, PX.
12. Modo de localización en bases de datos informáticas de nuevas proteínas y dominios implicados en interacción con fosfolípidos de biomembranas.

Adicionalmente, cada alumno habrá de realizar un estudio utilizando bibliografía original obtenida de revistas de investigación, sobre un tema relacionado con el curso, y habrá de exponerlo durante 30 minutos en clase.

Objetivos pedagógicos:

Transmitir un conocimiento de las bases generales de nuestro conocimiento sobre las biomembranas, así como sobre la metodología y bibliografía más importantes.

Bibliografía:

-Lipid-protein interactions in biological membranes: a structural perspective (2003) A.G. Lee, Biochim. Biophys. Acta 1612, 1-40.

-Phospholipid bilayers, Physical Principles and Models, G. Cevc y D. Marsh. Wiley Interscience.

-Lipids, molecular organization, physical functions and technical applications (1994) k. Larson, The Oily Press.

-Lipid rafts: elusive or illusive? (2003) Cell 115, 377-388.

- The PX domain: a new phosphoinositide-binding module (2002) C.D. Ellson, S. Andrews, L.R. Stephens and P.T. Hawkins, Journal of Cell Science 115, 1099-1105.

- Structural mechanism of endosome docking by FIVE domain (2001) T. Kutateladze and M. Overduin, Science 291, 1793-1796.

- A Ras by any other name (2001) D. Bar-Sagi, Mol. Cell. Biol. 21, 1441-1443.

- Autoinhibition of Sos by intramolecular interactions (2002) B.E. Hall, S-S Yang and D. Bar-Sagi, *Frontiers in Bioscience* 7, d288-294, January 1.
- The role of the PH domain in the signal-dependent membrane targeting of Sos. (1997) R.H. Chen, S. Corbalan-Garcia and D. Bar-Sagi, *EMBO J.* 16, 1351-1359.
- Activation mechanisms of conventional protein kinase C isoforms are determined by the ligand affinity and conformational flexibility of their C1 domains.(2003) Ananthanarayanan B, Stahelin RV, Digman MA, Cho W. *J Biol Chem.* 278, 46886-94.
- Computer modeling of the membrane interaction of FYVE domains (2003) Diraviyam K, Stahelin RV, Cho W, Murray D. *J Mol Biol.* 328, 721-36.
- Membrane targeting by C1 and C2 domains (2001) Cho W. *J Biol Chem.* 276, 32407-10.
- C2-domains, structure and function of a universal Ca²⁺-binding domain (1998) Rizo J, Sudhof TC. *J Biol Chem.* 273, 15879-82.
- Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: PKC as a paradigm (2003) A.C. Newton, *Biochem. J.* 370, 361-371.
- Membrane binding C2-like domains (in press) N. Verdaguer, S. Corbalan-Garcia, W.F. Ochoa, J.C. Gomez-Fernandez and I. Fita, *Handbook of Metalloproteins.*
- Fluorescence imaging of physiological activity in complex systems using GFP-based probes (2003) Miyawaki A. *Curr Opin Neurobiol.* 13, 591-6.
- Using FRAP and mathematical modeling to determine the in vivo kinetics of nuclear proteins (2003) Carrero G, McDonald D, Crawford E, de Vries G, Hendzel MJ. *Methods* 29, 14-28.
- Fluorescence resonance energy transfer (FRET) microscopy imaging of live cell protein localizations (2003) Sekar RB, Periasamy A. *J Cell Biol.* 160, 629-33.
- Ca²⁺ bridges the C2 membrane-binding domain of protein kinase C α directly to phosphatidylserine (1999) Verdaguer, N., Corbalan-Garcia, S., Ochoa, W.F., Fita, I. and Gomez-Fernandez, J.C. *EMBO J.* 18, 6329-6338.
- Structure of the C2 domain from novel protein kinase C ϵ . A membrane binding model for Ca²⁺-independent C2 domains (2001) Ochoa, W.F., Garcia-Garcia, J., Fita, I., Corbalan-Garcia, S., Verdaguer, N. and Gomez-Fernandez, J.C. *J. Mol. Biol.* 311, 837-49.
- Determination of the calcium-binding sites of the C2 domain of PKC α that are critical for its translocation to the plasma membrane (1999) Corbalan-Garcia, S., Rodríguez-Alfaro, J.A. and Gomez-Fernández, J.C. *Biochem. J.* 337, 513-521.
- Structural characterization of the C2 domain of novel PKC ϵ (2001) García-García, J., Gómez-Fernandez, J.C. and Corbalan-García, S. *Eur. J. Biochem.* 268, 1107-1117.
- Characterization of the membrane binding mode of the C2 domain of PKC ϵ (2003) Corbalan-García, S., Sánchez-Carrillo, S., García-García, J. and Gomez-Fernandez, J.C. *Biochemistry* 42, 11669-11681.
- Additional binding sites for anionic phospholipids and calcium ions in the crystal structures of complexes of the C2 domain of PKC α (2002) Ochoa, W.F., Corbalan-Garcia, S., Eritja, R., Rodriguez-Alfaro, J.A., Gomez-Fernandez, J.C., Fita, I. and Verdaguer, N. *J. Mol. Biol.* 320, 277-91.
- Role of the Ca²⁺/phosphatidylserine binding region of the C2 domain in the translocation of PKC α to the plasma membrane(2003). (2003) Bolsover, S., Gomez-Fernandez, J.C. and Corbalan-Garcia, S. *J Biol Chem.* 278, 10282-10290.
- Identification of the phosphatidylserine binding site in the C2 domain that is important for PKC α activation and in vivo cell localization (2001). Conesa-Zamora, P., López-Andreo, J, Gomez-Fernandez, J.C. and Corbalan-Garcia, S. *Biochemistry* 40, 13898-13905.
- A new phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-binding site located in the C2 domain of PKC α (2003).Corbalán-Garcia, S., García-García, J., Rodríguez-Alfaro, J.A. and Gomez-Fernandez, J.C. *J. Biol. Chem.* 278, 4972-4980.
- Role of the lysine-rich cluster of the C2 domain in the phosphatidylserine-dependent activation of PKC α .(2004) Rodríguez-Alfaro, J.A., Gomez-Fernandez, J.C. and Corbalán-Garcia, S. *J. Mol. Biol.*
- The simultaneous production of phosphatidic acid and diacylglycerol is essential for the translocation of PKC ϵ to the plasma membrane in RBL-2H3 cells (2003).López-Andreo, J, Gomez-Fernandez, J.C. and Corbalan-Garcia, S. *Mol. Biol. Cell* 14, 14885-95.
- C2 domains of protein kinase C isoforms alpha, beta, and gamma: activation parameters and calcium stoichiometries of the membrane-bound state (2002).Kohout SC, Corbalán-García, S., Torrecillas A, Gomez-Fernandez JC, Falke JJ. *Biochemistry* 41, 11411-24.
- Structural study of the C2 domains of the classical PKC isoenzymes using infrared spectroscopy and two-dimensional infrared correlation spectroscopy (2003).Torrecillas, A., Corbalán-García, S., and Gomez-Fernandez JC. *Biochemistry* 42, 11669-81.

Metodología:

1. Lección magistral participativa.
2. Discusiones en grupo.
3. Estudios bibliográficos sobre tema monográficos para cada alumno.
4. Exposición en seminario de los temas monográficos preparados por cada alumno.

Criterios de evaluación:

Evaluación. Se tendrá en cuenta el trabajo bibliográfico realizado, la asistencia a las clases y una prueba de evaluación final en la que los alumnos habrán de contestar durante 60 minutos a un tema que se les propondrá, escogido del programa.