

**Curso de Posgrado**  
**"Tópicos Avanzados en Biología Celular del ARN"**  
**Coordinación:** Graciela L. Boccaccio

**CONTENIDOS TEÓRICOS (Clases teóricas y de seminarios):**

**Módulo I: Regulación transcripcional y post-transcripcional**

**1) Nuevos conceptos en regulación transcripcional.**

Generalidades de la complejidad transcripcional, el genoma no codificante: estabilidad y localización de transcritos, efectos en la regulación transcripcional (por ejemplo, fenómenos de *imprinting*). Generación de RNAs a partir de elementos regulatorios (enhancers y promotores bidireccionales), su posible impacto en la función de enhancers y promotores, y en la evolución de nuevos genes.

2) Regulación del splicing alternativo. Mecanismos y regulación del splicing alternativo en eucariotas. Relevancia funcional. Sumoilación y reacción de splicing. Regulación por sumoilación de la maquinaria y de moduladores del splicing. Regulación del splicing por estímulos extracelulares. Vía de AKT en la regulación de factores de splicing. Consecuencias biológicas.

**3) Nuevas funciones de las proteínas de unión a RNA:**

Generalidades y mecanismos de interacción. Dominios canónicos y no canónicos de unión a RNA. Estructura modular. Regulación mutua entre proteínas y RNAs. El interactoma del RNA: descripción de estrategias experimentales avanzadas. Significancia biológica del "RNA interactoma" en distintos modelos biológicos. Redes RNA-proteína y su potencial regulatorio en distintos procesos celulares (metabolismo energético, autofagia).

**4) Regulación post-transcripcional en tripanosomas:**

Trans-splicing: mecanismo e implicancias. Regulación de la expresión génica en los distintos estadios del parásito. Rol de RBPs en la coordinación de la expresión de genes funcionalmente relacionados, su estabilidad y traducción. Concepto de "Regulón". Comparación con eucariotas superiores.

**Módulo II: Traducción**

- 1) Control de calidad co-traducciona (RQC), "NoGoDecay" y "NoStopDecay". Mecanismos subyacentes: colisión entre ribosomas, ubiquitinación de subunidades ribosomales, adición de alaninas y treoninas en el C-terminal de polipéptidos (CATilación) y formación de agregados citosólicos. Ejemplos en patologías. RNAs codificantes con repeticiones (mutaciones de expansión de tri o hexanucleóticos) en patologías: toxicidad del RNA y traducción independiente de ATG (*RAN translation*). Acumulación de péptidos repetitivos, su interacción con organelas citosólicas y estructuras nucleares. Formación de dsRNAs con apareamiento imperfecto y activación de la respuesta inmune. Consecuencias celulares y patogénesis.

**2) Organelas sin membrana.**

Gránulos de Estrés (SGs), P-Bodies (PBs) y cuerpos relacionados. Dinámica de gránulos de estrés y PBs. Determinantes moleculares y celulares de su agregación: motores moleculares, "crowding" citosólico, interacciones proteína-proteína mediadas por *prion-like*, secuencias repetitivas y/o de baja complejidad (LCR). Modelos biofísicos: aciertos y limitaciones. Relevancia funcional de la

formación de cuerpos de silenciamiento. Su efecto en silenciamiento traduccional y en estabilidad de mRNAs. SGs y PBs como centros de señalización.

### 3) Transporte subcelular de RNA.

Relevancia durante el desarrollo embrionario temprano y en la polaridad neuronal. Motivos de RNA involucrados. Exportación de RNAm por el poro nuclear y por vías alternativas: evaginación de gránulos de RNA. Motores moleculares y adaptadores. Traducción localizada y asociada a mitocondrias: Mecanismos moleculares y celulares.

## **Modulo III: ARN no-codificantes en plantas y animales**

### 1) ARNs largos no codificantes (lncARN):

Características, funciones y técnicas analíticas avanzadas. Los lncRNA como precursores de pequeños ARNs (miRNAs, piRNAs, siRNAs, entre otros). Interacción de lncRNA con proteínas asociadas y sus consecuencias funcionales. Mecanismos moleculares en animales y plantas. Técnicas bioquímicas comúnmente utilizadas (ChIP, RIP, BiS, MeDIP, DRIP, ATAC, FAIRE, MNase, 3C/4C/HiC, ChiAPET, entre otras). lncRNAs como “scaffold” o “esponjas” de proteínas

### 2) Avances en la biogénesis y función de ARNs pequeños (sncRNAs).

Rol de miRNAs y otros sncRNAs en la homeostasis de organismos superiores (plantas y animales). Evolución de su biogénesis y funciones durante el desarrollo, defensa y en estabilidad genómica en plantas y animales. Estabilidad de miRNAs. Regulación en *cis* por modificaciones post-transcripcionales y en *trans* por sus propios targets. ARN circulares (circRNA). Biogénesis por “backsplicing” y otros mecanismos. Funciones novedosas de circRNA. Potencial codificante.

## **Modulo IV: ARN extracelulares**

Mecanismos de secreción de RNAs y acción biológica. El autofagosoma y cuerpos multivesiculares en la secreción de RNAs. RNAs extracelulares asociados o no a membranas, composición y estabilidad de ribonucleopartículas extracelulares. Estrategias experimentales: aciertos y artefactos. RNAs extracelulares en señalización inter-celular en la respuesta de estrés y en la respuesta inmune.

## **TRABAJO PRÁCTICO**

### Estrategias de imágenes para el estudio de PBs, SGs y mRNAs

Metodología general, herramientas y artefactos: uso de anticuerpos y transfección de marcadores moleculares. Especificidad y sensibilidad de los anticuerpos comerciales disponibles: limitaciones. Reporteros fluorescentes: ventajas y limitaciones: alteraciones de la estequiometría de los múltiples componentes de PBs y sus consecuencias.

Single molecule FISH: metodología general y aplicaciones.

## **SEMINARIOS:**

Cada estudiante realizará una presentación oral de un artículo seleccionado por los docentes y relacionado a los temas de los módulos teóricos. Se incentivará a la audiencia de estudiantes a formular preguntas sobre el tema expuesto, seguido de una discusión general.

## **EXÁMEN FINAL ESCRITO:**

Resolución de problemas y desarrollo de temas teóricos sobre todos los contenidos prácticos y teóricos del curso.