

Asignatura: Bioquímica I

Carrera: Bioquímica

Ciclo lectivo: 2017

Docente/s: Dr. J. Fabricio Lareu (Coordinador); Lic. Ma. Soledad Collado (Auxiliar).

Carga horaria semanal: 7 horas semanales

Fundamentación

Si bien la importancia de esta asignatura se desprende de su propio nombre, cabe destacar que esta es la primera de todas las químicas, en las que el alumno comienza a internarse en la enorme complejidad de los procesos que ocurren en un organismo, desde un punto de vista físico-químico. Así, las familias de compuestos vistos en Química Orgánica, comienzan a formar moléculas más complejas; los mecanismos estudiados justifican la formación de las mismas.

Podríamos decir, que esta será la asignatura que estudie a las biomoléculas. Si bien se las estudiará desde un punto de vista descriptivo y se hará referencia a su nomenclatura y propiedades físico-químicas, se hará especial hincapié en la relación estructura-función como núcleo de análisis de cada una de ellas. En relación a esto último, se tomará como una unidad de estudio en sí misma el estudio de aquellas proteínas con funciones catalíticas.

Los conocimientos impartidos en esta asignatura, deberán convertirse en subsumidores de la práctica totalidad de las materias posteriores. Para comprender Inmunología, habrá que comprender lo que es un anticuerpo. Para comprender las bases de la genética, habrá que comprender lo que es un nucleótido; para comprender la generación de un potencial de membrana, habrá que conocer las propiedades de los lípidos que la constituyen, y de las proteínas que la atraviesan; para hablar de metabolismo se necesitará hablar de todas ellas.

De esta manera la asignatura propone un recorte curricular centrado en el estudio de las principales moléculas biológicas (aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas, cofactores, enzimas); sus características físico-químicas y la relación estructura-función de cada una de ellas

Objetivos:

Son objetivos específicos de la materia:

Que el alumno adquiera un conocimiento significativo de los temas detallados en el programa. No presentar a los contenidos como productos acabados, sino más bien como frutos de procesos históricos, culturales, y científicos.

Que el alumno adquiera las habilidades y destrezas propias de un laboratorio de Química Biológica. Que comprenda los principales métodos de purificación, obtención, síntesis y análisis de las biomoléculas estudiadas.

Que se logre una perfecta coordinación entre los conocimientos adquiridos en química orgánica y aquellos a ser aprendidos en Bioquímica II, cuyo eje central es el análisis de las principales rutas metabólicas del organismo.

Son objetivos no específicos de la materia:

Situar al alumno en un contexto de descubrimiento, con el fin de que el alumno pueda discutir y evaluar los alcances y límites de cada uno de los modelos estudiados.

Que el alumno adquiera conocimientos acerca de las nuevas tecnologías en el manejo de información y procesamiento de datos. Que el alumno sea capaz de autogestionar su propia bibliografía y estudio; y realice sus propias búsquedas bibliográficas.

Que el alumno se acerque a la lectura de literatura científica y comience a familiarizarse con el uso del idioma inglés en la lectura de algunos textos, para poder situarse de esta manera en el límite del conocimiento actual.

Contenidos mínimos:

Biomoléculas: estructura y propiedades químicas. Aminoácidos, péptidos y proteínas. Hidratos de carbono. Lípidos. Ácidos nucleicos. Terpenos y compuestos relacionados. Esteroides. Funciones de

las biomoléculas en el organismo vivo: estructurales, enzimáticas, almacenamiento y transmisión de energía, almacenamiento y transmisión de información. Métodos de purificación, síntesis y caracterización de biomoléculas. Catálisis y cinética enzimática. Alostereismo e inhibición enzimática

Unidades temáticas:

Unidad 1

Introducción a la Bioquímica. Marco histórico y Objeto de estudio. Relación con otras ramas de las ciencias. Composición química de la materia viva. Leyes que la gobiernan. Concepto de “modelo” en la ciencia actual.

Biomoléculas. Clasificación global de las mismas; criterios utilizados. Unidades a utilizar y dimensiones. Situación en cuanto a la complejidad de una célula: mapas metabólicos y mapas de vías de transducción, como ejemplos de dicha complejidad.

Unidad 2

Agua: propiedades físico – químicas; cohesión; constante dieléctrica. propiedades ácido – base. Ácidos y bases débiles. pH en sistemas vivos. Soluciones reguladoras de pH. Polaridad, fuerzas intermoleculares y Efecto hidrofóbico; fundamento termodinámico del mismo. Importancia del puente de hidrógeno. Teoría de Grotthuss del “salto de protón”. Análisis y fundamentación de la importancia del agua en la estructura de un ser vivo a partir de las propiedades anteriormente enunciadas. Hidratación iónica; esferas de hidratación y movilidad iónica. Estado líquido y modelo de “flickering clusters”.

Unidad 3

Aminoácidos naturales, modificados y no naturales. Clasificación de los aminoácidos naturales. Estereoquímica y aminoácidos D y L. Propiedades físicas y químicas. Espectroscopía ultravioleta. Ley de Lambert y Beer. Propiedades ácido – base. Grupos ionizables y estructuras zwitterion. Titulación de aminoácidos. Característica e importancia de los grupos presentes en los restos R de los aminoácidos naturales, relación a su función. Unión peptídica: Adición nucleofílica. Estructura molecular y características estéricas del enlace peptídico. Representaciones de Ramachandran. Titulación de péptidos. Técnicas de separación de aminoácidos y péptidos por distintos procesos cromatográficos. Determinación cuantitativa de los mismos. Determinación de la estructura primaria. Método de Sanger. Utilización de peptidasas para el análisis de la secuencia aminoacídica. Síntesis de péptidos de Merrifield.

Unidad 4

Proteínas: clasificación y funciones biológicas. Proteínas simples y complejas. Propiedades físicas y químicas de los polipéptidos. Análisis de proteínas. Determinación espectrofotométrica. Métodos colorimétricos. Movilidad electroforética y electroforesis. Técnicas de determinación del peso molecular. Técnicas de separación, análisis y purificación de proteínas basadas en su tamaño molecular, propiedades iónicas y propiedades de hidrofobicidad. Conformación de péptidos y proteínas. Niveles de estructura: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. Análisis termodinámico de la conformación de una proteína, y análisis de las interacciones que determinan sus distintos niveles estructurales. Dominios y motivos (estructuras supersecundarias): significado biológico e interpretación evolucionista de la existencia los mismos. Relación entre estructura y función. Protein Data Bank. Secuencias consenso. PROSITE. Desnaturalización y agentes desnaturalizantes. Interacción de proteínas con otras biomoléculas.

Unidad 5

Catalizadores y catalizadores biológicos. Marco histórico. Análisis termodinámico y cinético. Enzimas y ribozimas. Cofactores, coenzimas y grupos prostéticos. Nomenclatura y clasificación de enzimas. Sustrato y sitio activo. Condiciones de reacción. Especificidad. Sitio de unión al sustrato. Estado de

transición y energía de activación. Mecanismos de reacción. Catálisis ácido – base general y específica. Catálisis enzimática. Grupos reactivos en los catalizadores biológicos. Análisis de estructura-función.

Cinética enzimática. Velocidad de reacción. Dependencia de la velocidad inicial de reacción con la concentración de enzima y de sustrato. Velocidad máxima (cinética de saturación). Cinética del estado estacionario para enzimas monosustrato y su contrastación con la ecuación de Michaelis – Menten. Definición de unidad de actividad enzimática. Unidades arbitrarias e internacionales. Actividad específica. Parámetros cinéticos de una reacción enzimática (K_m , k_{cat} , V_{max} , constante de especificidad, proeficiencia): alcances y significados. Significado de los mismos. Medida de la actividad enzimática. Determinación de v_{max} y K_m por métodos analíticos y gráficos.

Inhibición de las reacciones enzimáticas: Inhibidores reversibles e irreversibles. Modelos de inhibición competitiva, no competitiva y mixta. Efecto del pH sobre la cinética enzimática. Variación de los parámetros cinéticos con el pH Y la temperatura.

Enzimas alostéricas y reacciones acopladas. Efectores homotrópicos y heterotrópicos. Activadores e inhibidores. Características cinéticas de los enzimas alostéricas: dependencia de la velocidad inicial con la concentración de enzima, sustrato y otros factores. Parámetros cinéticos: $S_{0.5}$, número de sitios aparentes n ; significado. Ecuación de Hill. Función reguladora de las enzimas alostéricas y su vinculación con la complejidad de las rutas bioquímicas. Hemoglobina como ejemplo de regulación alostérica (análisis estructura-función).

Unidad 6

Ácidos nucleicos: Heterociclos. Bases nitrogenadas más habituales. Tautomería y pH. Nucleósidos y nucleótidos. Análisis de su estructura, en términos bioenergéticos y estructurales. Polinucleótidos: clasificación y funciones biológicas. Propiedades físicas y químicas. Estructuras de ADN: Leyes de Chargaff. Modelo de Watson y Crick; Fuerzas e interacciones que lo justifican. Propiedades ácido – base. Otras estructuras del ADN. Relación entre estructura y función. Desnaturalización térmica. Agentes desnaturizantes. Superenrolamiento. ARN: secuencias palindrómicas y forma estructural (bucles, protuberancias, horquillas). Determinación espectroscópica de ácidos nucleicos. Determinación colorimétrica de ácidos nucleicos. Síntesis de oligonucleótidos. Técnicas de separación de nucleótidos y determinación de la secuencia de oligonucleótidos por el método de Sanger. Reacción en cadena de la polimerasa. Ultracentrifugación zonal e isopícnica. Interacción de ácidos nucleicos con otras biomoléculas. Otras funciones de los nucleótidos.

Unidad 7

Hidratos de carbono: clasificación y nomenclatura. Actividad óptica: Monosacáridos vistos como estereoisómeros de aldosas y cetosas. Azúcares modificados. Propiedades físicas. Importancia biológica de los isómeros. Propiedades químicas. Enlace glicosídico y análisis conformacional. Carbono hemiacetalico. Fenómeno de mutarrotación. Racemización. Disacáridos. Polisacáridos de reserva y estructurales. Azúcares reductores y no reductores. Glucosaminoglucanos. Proteoglucanos y glucoproteínas. Glucolípidos. Ejemplos de importancia de glucoconjugados. Glucocalix. Importancia de los hidratos de carbono en el reconocimiento celular. Analítica de hidratos de carbono; metilación exhaustiva; utilización de glucosidasas. Técnicas de separación.

Unidad 8

Lípidos: Distintas clasificaciones de acuerdo a su estructura y función. Lípidos simples y complejos. Ácidos grasos: nomenclatura; saturados e insaturados. Ácidos ω . Ácidos esenciales. Acilgliceroles y Fosfolípidos: estructuras y funciones. Esfingolípidos: Cerebrósidos, Gangliósidos y globósidos. Terpenos y sus derivados: colesterol y esteroides. Derivados del ácido araquidónico. Fosfolipasa y su importancia farmacológica. Detergentes iónicos y no iónicos. Propiedades físicas y químicas de los distintos lípidos. Análisis termodinámico de lípidos en agua (efecto hidrofóbico): generación de micelas, liposomas, y membranas. Concentración micelar crítica. Vesículas. Liposomas. Estructura de membranas biológicas: distribución de lípidos y flipasas. Propiedades físicas y químicas. Modelo de

mosaico fluido: limitaciones y agregados. Microdominios lipídicos y Rafts. Interacciones de lípidos con otras biomoléculas. Técnicas de separación, análisis y determinación de lípidos en general y de las distintas clases de lípidos.

Unidad 9

Introducción al metabolismo. Significado biológico y físico – químico del metabolismo. Conceptos de anabolismo y catabolismo. Coexistencia y funcionamiento coordinado de ambas vías. Ciclo fútil. Niveles de estudio. Significado del metabolismo intermediario. Fuentes primarias de energía metabólica. Principales intermediarios de energía y poder reductor de la célula. Conceptos de potencial redox y potencial de transferencia de fosfato aplicados al análisis del metabolismo. Rol de las membranas en los procesos metabólicos. Concepto de lanzaderas. Regulación del metabolismo. Lógica de los puntos de regulación y los mecanismos que allí operan. Niveles de regulación: celular y organismo multicelular. Técnicas que se aplican al estudio y análisis del metabolismo.

Bibliografía Obligatoria:

- Bioquímica . Second Edition. Voet, Donald, Voet, Judith G. 3° edición-Buenos Aires. Panamericana, 2006.
- Lehninger. Principios de Bioquímica. Quinta edición. Nelson & Cox. Ed. Omega Barcelona (2009).

Bibliografía de consulta:

- Biochemistry. Sixth edition. Mary J. Campbell. Shawn O. Farrell. Thomson Brookes/cole. Canada. (2009)
- Biochemistry. 4th edition. Horton H.R., Moran, L.A., Ochs R.S. Rawn J.D., Scrimgeour K.G. Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A (2002).
- Biochemistry 2nd Edition. D. Metzler. Academic Press. 2003.
- Bioquímica. Sexta edición. Stryer, L. Berg, J.M. & Tymoczko, J. Ed. Reverté (2008).
- Biochemistry. The molecular basis of life. Third Edition. Mckee-Mckee. McGraw-Hill (2004)
- Bioquímica. Cuarta edición. Devlin, T.M. Ed. Reverté (2004).
- Bioquímica. 4.^a edición. Christopher K. Mathews, K.E. Van Holde, Dean R. Appling, Spencer J. Anthony-Cahill. Pearson Educación. Madrid (2013).
- Lippincott's Illustrated Reviews. Biochemistry. 6th edition. Denise R. Ferrier. PhD. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. Philadelphia (2014)
- Proteins: Structures and Molecular Properties, Second Edition. Creighton, T.E. Ed. Freeman & Co. (1993).

Propuesta Pedagógico-Didáctica:

La cursada cuatrimestral constará de 12 clases teóricas y 12 clases prácticas (de laboratorio o modalidad taller). Así se tendrán 7 horas semanales de trabajo áulico: 3 en el desarrollo de los temas teóricos, y 4 en el desarrollo de la parte práctica y de taller.

Se dictarán clases de discusión-exposición intentando lograr la participación permanente del alumno, situándolo siempre que se pueda en un contexto de descubrimiento con el fin de dar profundidad a los modelos presentados, mostrando sus alcances y límites.

Se utilizarán herramientas computacionales (específicamente el programa *Protein Purification*, Andrew Booth, Faculty of Biological Science Univ. of Leeds, UK. como herramienta, y la base de datos *PDB, Protein Data Bank* como fuente de información) para el manejo de técnicas de purificación de proteínas comúnmente utilizadas con el objetivo de desarrollar y estudiar las distintas metodologías en una marcha de purificación de biomoléculas. Se pretende, además, que el estudiante desarrolle así, la capacidad de plantear hipótesis, previamente al uso de un simulador.

Se realizarán trabajos prácticos sobre técnicas de cuantificación, caracterización y análisis de biomoléculas, así como la determinación de los parámetros cinéticos de una reacción catalizada por una enzima.

Por último, se brindará al alumno guías de ejercitación, con diversas situaciones problemáticas, buscando siempre el desarrollo de capacidades de hipotetización, y el alcance de un aprendizaje más profundo y significativo.

LISTA DE TRABAJOS EXPERIMENTALES:

1. TP Laboratorio: **Introducción al Laboratorio, Espectrofotometría:** Utilización del instrumental. Sensibilidad, precisión y exactitud. Evaluación de estos parámetros en micropipetas. Construcción de un espectro de absorción y medición de la DO.
2. TP Laboratorio: **Cuantificación de Proteínas.** Metodo de Bradford-Lowry
3. TP Laboratorio: **Purificación de Proteínas *in silico*.**
4. TP Laboratorio: **Electroforesis:** SDS-PAGE
5. TP: Laboratorio: **Cinética enzimática:** Determinación de los parámetros K_m y V_{max} .

Régimen de aprobación:

Se realizarán dos evaluaciones parciales escritas, que constarán de preguntas acerca del contenido impartido, y de situaciones problemáticas.

Ambos exámenes contarán con sus evaluaciones recuperatorias respectivas, con la misma modalidad.

Además se les pedirá la entrega de un informe individual de cada trabajo práctico realizado.

El desempeño del alumno en el laboratorio será evaluado permanentemente en cuanto al desarrollo de habilidades y destrezas. Será obligatoria la presentación de informes escritos elaborados por los alumnos (con posibilidad de reelaboración).

Para promocionar la asignatura, el alumno debe tener 7 (siete), o más puntos de promedio en las evaluaciones sean estas parciales o recuperatorios, debiendo tener una nota igual o mayor a 6 (seis) puntos en cada una de éstas.

En el caso de que el alumno obtenga una nota de 4 (cuatro) o más puntos pero menos de 7 (siete) puntos de promedio en las evaluaciones, deberá rendir examen final que aprobará con una nota no menor a 4 (cuatro) puntos.

Para estar en condiciones de rendir el examen final, por el cual se acredita la asignatura el alumno deberá cumplimentar con el 75 % de asistencia a las clases y aprobar las evaluaciones previstas.

Los criterios de evaluación se ajustan al Reglamento Académico vigente (Resolución CS N° 43/14 disponible en la siguiente dirección web de la UNAJ: https://www.unaj.edu.ar/wp-content/uploads/2015/11/Resol-CS-0043-14-Reglamento-Academico_web.pdf).