

19 FEB 2020

**Nombre del curso o unidad curricular:** Físicoquímica Biológica



**Licenciaturas:** Bioquímica, Ciencias Biológicas

**Frecuencia y semestre de la formación al que pertenece la unidad curricular:** Anual, semestre impar

**Créditos asignados:**

Ciencias Biológicas 10 (Tramo Orientación – Área Científico Básica)  
Bioquímica 10 (Área Química)

**Nombre del/la docente responsable de la unidad curricular y contacto:** Ana Denicola  
(denicola@fcien.edu.uy)

**Requisitos previos:** Es recomendable conocimientos previos de Química Orgánica, Bioquímica, y Físicoquímica

**Ejemplos unidades curriculares de Facultad de Ciencias u otros que aportan dichos conocimientos:** Química Orgánica (Química II), Bioquímica, Físicoquímica I.

**Conocimientos adicionales sugeridos:**

Estructura de macromoléculas biológicas. Proteínas, ácidos nucleicos. Interacciones moleculares, termodinámica molecular. Métodos generales de bioquímica, separación y purificación de proteínas.

**Objetivos de la unidad curricular:**

**a) Herramientas, conceptos y habilidades que se pretenden desarrollar en la unidad curricular**

El objetivo del curso es que el estudiante conozca los distintos métodos biofísicos de caracterización de macromoléculas biológicas. Primero hacia una caracterización estructural, en los distintos niveles de complejidad (estructura primaria, secundaria, terciaria, cuaternaria), para luego aprovechar estas

aproximaciones experimentales en la caracterización de interacciones con ligandos y entre macromoléculas biológicas, que representan los primeros pasos para entender su funcionalidad.

## **b) En el marco del plan de estudios**

Área química



**En el marco de la formación profesional, ¿qué herramientas aporta esa unidad curricular en la formación profesional de ese estudiante?**

**Conocimiento general de bases y aplicaciones de herramientas de análisis en bioquímica.**

**Temario sintético de la unidad curricular:**

**Repaso de estructura de macromoléculas biológicas.**

**Métodos espectroscópicos para la caracterización estructural de macromoléculas biológicas:**

**Absorción UV-Vis,**

**Fluorescencia, Infrarrojo, Raman, Dicroísmo circular, Resonancia magnética nuclear (NMR), Resonancia paramagnética electrónica (EPR).**

**Métodos hidrodinámicos, de separación y caracterización: Sedimentación, Dispersión de luz, Electroforesis, Cromatografía, Solubilidad, Espectrometría de masas, Cristalografía de proteínas.**

**Unión de ligandos a macromoléculas**

**En cada tema, la idea es dar los fundamentos fisicoquímicos de cada metodología tratada en el curso para estudiar la estructura de macromoléculas biológicas, en particular proteínas y ácidos nucleicos. No se da cada tema en profundidad sino que se prioriza que el estudiante sepa la información que brinda cada una de las aproximaciones experimentales, sus ventajas y desventajas, el nivel de estructura de la macromolécula al que atiende.**

**Temario desarrollado:**

**Estructura de macromoléculas biológicas. Análisis conformacional y fuerzas que determinan su estructura: Van der Waals, enlace de hidrógeno, enlace disulfuro, interacciones electrostáticas, hidrofóbicas.**

## **MÓDULO I) MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS**

**Técnicas utilizadas en el estudio de caracterización e identificación de macromoléculas biológicas y su función. Espectroscopía de absorción UV-Visible.**

**Fluorescencia. Espectros de excitación y emisión. Fluorescencia intrínseca y extrínseca. Influencia del medio en la emisión de fluorescencia.**

**Desactivación ("quenching") de fluorescencia. FRET. Anisotropía**

**Dicroísmo circular. Elipticidad. Aplicaciones al estudio de polipéptidos y polinucleótidos.**

**Espectroscopía infrarrojo. FTIR. Espectro vibracional de biopolímeros. Espectro Raman. Resonancia Raman.**

**Resonancia magnética nuclear (RMN). Principios generales. Corrimiento químico. Desdoblamiento spin-spin.**

Determinación de estructura química. RMN de proteínas y polinucleótidos sistemas biológicos.

Resonancia paramagnética electrónica (EPR). Similitudes y diferencias con RMN. Condición de resonancia.

Desdoblamiento hiperfino. Estudios por EPR de radicales libres, complejos proteicos metálicos.

Cristalografía de macromoléculas. Principios generales. Determinación de la estructura molecular de proteínas por difracción de Rayos X.

Integración de métodos espectroscópicos

## MÓDULO II) MÉTODOS HIDRODINÁMICOS, DE SEPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

Solubilidad de proteínas. Salting in y salting out.

Velocidad de sedimentación. Determinación del coeficiente de sedimentación (S). Equilibrio de sedimentación. Ultracentrifugación analítica, en solvente homogéneo, en gradiente de densidad.

Electroforesis de proteínas y ácidos nucleicos. Electroforesis nativa y desnaturalizante, isoelectroenfoque, bidimensional, capilar.

Cromatografía de proteínas. Cromatografía de intercambio iónico, exclusión molecular, afinidad, hidrofóbica.

Dispersión de luz por proteínas (DLS, MALS). Determinación de coeficiente de difusión y masa de proteínas.

Espectrometría de masa. Bases de espectrometría de masa aplicable a péptidos y proteínas. Instrumentación.

Fragmentación e identificación de proteínas. Cuantificación. Aplicaciones en bioquímica.

## MÓDULO III) UNIÓN DE LIGANDOS A MACROMOLÉCULAS

Unión de macromoléculas a ligandos. Importancia de las interacciones con moléculas pequeñas y otras macromoléculas. Equilibrio con uno o varios sitios de unión (independientes y dependientes). Gráficos tipo Scatchard.

Calorimetría ITC para estudiar unión a macromoléculas

Integración de métodos hidrodinámicos, de separación y caracterización

## MÓDULO IV) Prácticos

### Ciclo 1: Purificación de Hemoglobina

Día 1: Purificación de glóbulos rojos por gradiente de densidad. Preparación de soluciones

Día 2: Cromatografía de intercambio iónico

Día 3: Espectros diferenciales de hemoglobina

Día 4: Electroforesis SDS-PAGE de las distintas fracciones

Día 5: Discusión de resultados, ejercicios y parcial

### Ciclo 2: Purificación GST recombinante

Día 1: Cromatografía de afinidad

Día 2: Medidas de concentración proteica

Día 3: Análisis electroforético de las distintas fracciones



**Día 4: Medidas de actividad EgGST1**

**Día 5: Discusión de resultados, ejercicios y parcial**



**Ciclo 3: Aplicaciones de la Fluorescencia en Bioquímica**

**Día 1: Espectros de excitación y emisión de distintos fluoróforos. Efecto de la polaridad del disolvente.**

**Quenching de la fluorescencia de la albúmina por yoduro**

**Día 2: Unión de ANSA (ligando) a la albúmina (macromolécula). Gráficos de Scatchard.**

**Día 3: Ejercicios, discusión de los resultados y parcial**

**Día 4: Preparación de los seminarios.**

**Día 5: Seminarios (discusión de artículos científicos relacionados con la metodología desarrollada en el curso).**

---

## **Bibliografía**

---

### **a) Básica:**

**C. R. Cantor y P.R. Schimmel. "Biophysical chemistry". W.H. Freeman and Co. (ed.) 1985.**

**D. Freifelder. "Physical biochemistry. Applications to biochemistry and molecular biology". W.H. Freeman and Co. (ed.) 1982.**

**R.K. Scopes. "Protein purification. Principle and practice". 3rd. Ed. Springer-Verlag (1994)**

**K.E. van Holde, W. Curtis Johnson, P. Shing Ho. "Principles of Physical Biochemistry". Prentice Hall. 1998.**

### **b) Complementaria:**

---

**Modalidad cursada: Presencial teórico y práctico**

---

**Metodología de enseñanza: Clases teóricas, ejercicios, presentaciones de estudiantes, prácticos de laboratorio.**

---

**Carga horaria total: 89**

---

**Carga horaria detallada:**

**a) Horas aula de clases teóricas: 35**

**b) Horas aulas de clases prácticas: 54**

**c) Horas sugeridas de estudio domiciliario durante el período de clase:**



---

**Sistema de ganancia de la unidad curricular**

**Tiene examen final: Si**

**Se exonera: No**

**Nota de exoneración (del 3 al 12):**

**a) Características de las evaluaciones:**

**La evaluación para tener derecho a examen se desarrolla en el práctico (asistencia obligatoria) y consta de 8 instancias:**

**3 informes semanales de prácticos**

**3 parciales semanales escritos múltiple opción y ejercicio**

**1 presentación seminario**

**1 valoración trabajo en el laboratorio**

**La evaluación para aprobar el curso se desarrolla en forma de examen individual escrito de desarrollo.**

**b) Porcentaje de asistencia requerido para aprobar la unidad curricular: 90**

**c) Puntaje mínimo individual de cada evaluación y total: 60**

**d) Modo de devolución o corrección de pruebas:**

---

**Iguá 4225 esq. Mataojo • 11.400 Montevideo – Uruguay**  
**Tel. (598) 2525 0378 • (598) 2522 947 • (598) 2525 8618 al 23 ext. 7 110 y 7 168 • Fax (598) 2525 8617**

