

## Programa de BIOQUIMICA I

**Carrera/s:** *Licenciatura en Biotecnología*

**Asignatura:** *Bioquímica I*

**Núcleo al que pertenece:** *Obligatorio (Ciclo Inicial)*

**Profesores:** Parisi, Gustavo Daniel; Wall, Luis Gabriel; Agaras, Betina; Gabbarini, Luciano; Carbajal, María Laura.

**Correlativas previas:** *Fisicoquímica y Química Orgánica I*

**Objetivos:** Que la/os estudiantes comprendan las bases químicas y fisicoquímicas de la biología y aprendan a interpretar datos experimentales con los cuales construir un modelo de trabajo e interpretación de la biología

### **Contenidos mínimos:**

Biomoléculas: estructura, propiedades fisicoquímicas y funciones biológicas. Relación entre Estructura y Función Biológica: aminoácidos, péptidos y proteínas; nucleótidos y ácidos nucleicos; hidratos de carbono y polisacáridos; lípidos y membranas. Enzimas, cinética enzimática, factores que modulan la actividad enzimática. Métodos de purificación y caracterización de biomoléculas.

**Carga horaria semanal:** 6 horas semanales

### **Programa analítico:**

- **Unidad 1:** Introducción a la Bioquímica. Objeto de estudio. Relación con otras ramas de las ciencias exactas y sociales. Composición química de la materia viva. Leyes que la gobiernan. Biomoléculas. Clasificación global de las mismas, criterios utilizados. Lógica molecular de los organismos vivos.
- **Unidad 2:** Agua: propiedades físicoquímicas, propiedades ácido – base. Ácidos y bases débiles. pH. Soluciones reguladoras de pH. Ecuación de Henderson – Hasselbach. Importancia de los sistemas reguladores de pH en la materia viva. Análisis de las funciones del agua en la materia viva a partir de las propiedades anteriormente enunciadas. Interacciones débiles (no

covalente) entre moléculas que involucran cargas o densidades de carga: interacción iónica, interacciones de Van der Waals, puente de Hidrógeno. Efecto hidrofóbico e Interacción hidrofóbica. Fundamento termodinámico de las interacciones no covalentes. Variación de la fuerza de la interacción con la temperatura.

- **Unidad 3:** Hidratos de carbono: clasificación. Monosacáridos y polisacáridos. Azúcares simples y complejos. Propiedades físicas. Actividad óptica. Isómeros ópticos: nomenclatura y clasificación. Importancia biológica de los isómeros. Propiedades químicas. Enlace glicosídico. Carbono hemiacetalico. Fenómeno de mutarrotación. Racemización. Azúcares reductores y no reductores. Analítica de hidratos de carbono. Determinaciones cuali y cuantitativas. Técnicas de separación. Hidrólisis ácida – base. Azúcares ácidos. Aminoazúcares. Otros hidratos de carbono complejos. Interacción con otras biomoléculas. Funciones biológicas de los distintos tipos de hidratos de carbono.
  
- **Unidad 4:** Lípidos: clasificación. Estructura y función biológica de las distintas clases de lípidos. Lípidos simples y complejos. Ácidos grasos. Glicéridos. Fosfolípidos. Esfingolípidos. Cerebrósidos. Gangliósidos. Esteroides. Detergentes iónicos. Detergentes no iónicos. Propiedades físicas y químicas de los distintos lípidos. Técnicas de separación, análisis y determinación de lípidos en general y de las distintas clases de lípidos. Micelas. Concentración micelar crítica. Vesículas. Liposomas. Unidad de membrana. Estructura de membranas biológicas. Propiedades físicas y químicas. Interacciones con otras biomoléculas. Proteínas de membrana, características estructurales.
  
- **Unidad 5:** Ácidos nucleicos: clasificación y funciones biológicas. Bases nitrogenadas más comunes de los ácidos nucleicos. Tautomería. Nucleósidos y nucleótidos. Análisis de su estructura molecular, en términos bioenergéticos y estructurales. Polinucleótidos: propiedades físicas. Determinación espectroscópica de ácidos nucleicos. Propiedades químicas. Determinación colorimétrica de ácidos nucleicos. Propiedades ácido – base. Hidrólisis alcalina de ARN. Estructuras de ADN y ARN. Fuerzas e interacciones que determinan estas estructuras. Relación entre estructura y función. Desnaturalización térmica. Agentes desnaturalizantes. Superenrolamiento. Técnicas de separación y análisis de ácidos nucleicos. Ultracentrifugación zonal e isopícnica. Interacción de ácidos nucleicos con otras biomoléculas.

- **Unidad 6:** Aminoácidos naturales, modificados y no naturales. Clasificación de los aminoácidos naturales. Propiedades físicas. Espectroscopía ultravioleta. Ley de Lambert y Beer. Propiedades químicas. Propiedades ácido – base. Grupos ionizables. Titulación de aminoácidos. Reactividad del grupo amino. Reactividad del grupo carboxilo. Reactividad de los grupos presentes en los restos R de los aminoácidos naturales. Unión peptídica: estructura molecular y características estéricas. Titulación de péptidos. Carga neta.
- **Unidad 7:** Proteínas: clasificación y funciones biológicas. Proteínas simples y complejas. Propiedades físicas y químicas de los polipéptidos. Conformación de péptidos y proteínas. Parámetros estructurales. Niveles de estructura: primaria, secundaria, suprasecundaria, terciaria y cuaternaria. Fuerzas en interacciones que determinan la conformación de las proteínas en sus distintos niveles estructurales. Dominios: significado biológico e interpretación evolucionista de la existencia de dominios. Relación entre estructura y función. Desnaturalización. Agentes desnaturalizantes. Interacción de proteínas con otras biomoléculas.
- **Unidad 8:** Análisis de proteínas y péptidos. Cuantificación química y biológica. Determinación espectrofotométrica. Métodos colorimétricos. Otros métodos. Técnicas de determinación del peso molecular. Técnicas de separación, análisis y purificación de proteínas y péptidos basadas en su tamaño molecular, propiedades iónicas y propiedades de hidrofobicidad. Diferentes técnicas electroforéticas en geles de poliacrilamida y otros soportes. Actividad específica, rendimiento y grado de purificación.
- **Unidad 9:** Catalizadores biológicos. Características particulares. Enzimas y ribozimas. Cofactores, coenzimas y grupos prostéticos. Sustrato. Condiciones de reacción. Clasificación de enzimas. Especificidad. Sitio de unión al sustrato. Sitio activo. Mecanismos de reacción. Catálisis ácido – base. Catálisis enzimática. Grupos reactivos en los catalizadores biológicos.
- **Unidad 10:** Cinética enzimática. Velocidad de reacción. Dependencia de la velocidad inicial de reacción con la concentración de enzima y de sustrato. Velocidad máxima de una mezcla de reacción. Modelo y ecuación de Michaelis – Menten para enzimas monosustrato. Definición de unidad de actividad enzimática. Unidades arbitrarias e internacionales. Actividad específica. Parámetros cinéticos de una reacción enzimática:  $K_M$ ,  $k_{cat}$ , constante de

especificidad. Significado de los mismos. Medición de la actividad enzimática. Determinación de  $v_{\max}$  y  $K_M$ .

- **Unidad 11:** Inhibición de las reacciones enzimáticas. Inhibidores reversibles e irreversibles. Modelos de inhibición competitiva, no competitiva y acompetitiva. Efecto del pH sobre la cinética enzimática. Variación de los parámetros cinéticos con el pH. Efecto de la temperatura sobre las cinéticas enzimáticas. Energía de activación. Ecuación de Arrhenius.
- **Unidad 12:** Enzimas alostéricas. Efectores homotrópicos y heterotrópicos. Activadores e inhibidores. Características cinéticas de las 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.

## TRABAJOS PRACTICOS DE LABORATORIO

Durante el curso se realizan los siguientes Trabajos Experimentales de laboratorio,

### TP N°1: Interacciones intermoleculares

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Estudiar distintas interacciones moleculares en proteínas cristalizadas, usando el software libre ViewerLite Lite, que permite visualizar moléculas. Se evalúa el efecto de la distancia y la disposición espacial sobre la formación de las interacciones débiles entre aminoácidos y nucleótidos, y la importancia de estas en la estructura de las macromoléculas que conforman.

### TP N°2: Caracterización de glúcidos y cuantificación de glucosa

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Identificar distintas soluciones problema, aplicando reacciones que reconocen determinadas propiedades de los azúcares, y estimar la concentración de glucosa de una solución incógnita utilizando un método enzimático. Se llevan a cabo 5 reacciones químicas que permiten identificar soluciones de glucosa, fructosa, sacarosa, ribosa y manitol. Además, se prepara una curva de calibración para cuantificar una muestra incógnita de glucosa.

### TP N°3: Cálculo de la Concentración Micelar Crítica

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Determinar la concentración micelar crítica (CMC) de los detergentes SDS y Tritón X100, y

observar el efecto de la fuerza iónica del medio en el valor de CMC del detergente SDS. Utilizando una sonda solvatocrómica, se registran los cambios en el espectro de absorción de las soluciones de detergentes a medida que se aumenta la concentración de éstos. Luego, se obtienen los valores de CMC a partir de los gráficos de absorbancia relativa en función de la concentración de detergente.

#### **TP N°4: Estructura de proteínas**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Caracterizar distintos plegamientos y encontrar parámetros que identifican a los distintos elementos de estructura secundaria mediante la evaluación de estructuras cristalinas de diferentes proteínas con el software libre ViewerLite Lite.

#### **TP N°5: Purificación virtual de proteínas**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Realizar una simulación de purificación de proteínas es que se familiaricen con las distintas técnicas de purificación y análisis de proteínas utilizando el software libre ProteinLab. Partiendo de diferentes mezclas proteicas disponibles en el programa, se busca llegar a la obtención de una proteína pura empleando criteriosamente métodos de purificación convencionales (*salting-in*, *salting-out*, precipitación por calor, cromatografías, SDS-PAGE).

#### **TP N°6: Desalado y cuantificación de hemoglobina**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Observar el fenómeno de exclusión molecular en una columna cromatográfica, aprovechando las propiedades redox de la hemoglobina, y cuantificar el eluato obtenido mediante la técnica de Bradford. A partir de una solución de metahemoglobina se realiza una exclusión molecular, obteniendo oxihemoglobina como eluato. Se realiza una curva de calibración con seroalbúmina bovina como estándar para cuantificar la solución de oxihemoglobina recuperada.

#### **TP N°7: Separación de proteínas mediante electroforesis**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Dilucidar la composición de cadenas polipeptídicas de una proteína utilizando electroforesis en gel de acrilamida en condiciones desnaturalizantes, tanto en presencia como en ausencia de un agente reductor; visualizar la sensibilidad de la tinción del gel para detectar una proteína; y calcular el PM de una proteína a partir de un SDS-PAGE. Para ello se siembran soluciones de diferente concentración de seroalbúmina bovina, una muestra de IgG con o sin tratamiento con un agente reductor, y una alícuota del eluato de hemoglobina obtenido en el TP N°6. Esta siembra se realiza

en dos geles con diferente concentración de poliacrilamida, lo cual permite conocer la capacidad de resolución de esta técnica.

#### **TP N°8: Determinación de una actividad enzimática**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Cuantificar la actividad de una preparación de fosfatasa ácida comercial y observar el efecto de la cantidad de enzima y sustrato en la velocidad de una reacción catalizada enzimáticamente. Se preparan diferentes mezclas de reacción con el sustrato sintético PNFP, y se toman alícuotas a determinados tiempos durante 15' para calcular luego la velocidad de reacción de cada una.

#### **TP N°9: Efecto de pH y temperatura en la actividad enzimática**

Objetivos y breve descripción de las actividades que se realizan: Determinar el pH óptimo para la actividad de la fosfatasa ácida, y evaluar el efecto de la temperatura sobre la actividad y sobre la estabilidad de dicha enzima. Por un lado, se preparan mezclas de reacción con igual concentración de sustrato y diferentes condiciones de pH. Por el otro, se preparan mezclas con el mismo búfer, pero se incuban en las diferentes condiciones de temperatura a evaluar. En todos los casos, se toman alícuotas a diferentes tiempos durante 15' para calcular luego la velocidad de reacción de cada una

**Bibliografía:** Cualquier libro de Bioquímica dirigido a ciencias biológicas, bioquímicas, biotecnológicas, médicas. Son libros que incluyen un fundamento fisicoquímico de la biología y tratan de desarrollar el paradigma "estructura-función" a partir de la estructura y propiedades fisicoquímicas de las diferentes biomoléculas. Siempre las últimas ediciones son más recomendables por tener información actualizada pero dado que este curso apunta a conceptos muy básicos, los mismos no se han modificado en los últimos 30 años y las actualizaciones se discuten en clase. Algunos ejemplos de autores recomendados son:

- Donald Voet y Judith G. Voet
- Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox
- Campbell MK y Farrell SO
- Mathews-Van Holde-Ahren
- Geoffrey L. Zubay

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

**Organización de las clases:** Las clases se desarrollan en dos modalidades, en el aula y en el Laboratorio. En el aula se desarrollan los temas teóricos y luego los mismos se discuten sobre la base de resolución de problemas a modo de seminarios con la participación activa de los alumnos.

Las clases de Trabajos Prácticos cuentan con una Guía de TP que los alumnos deben traer leída a clase, hay una explicación previa del mismo, realización de la experiencia y análisis de resultados. La entrega de Informe es opcional. Los TP se evalúan dentro de cada Examen Parcial.

**Modalidad de evaluación:** La materia se evalúa para su Promoción a través de 3 exámenes Parciales que comprenden los siguientes temas

P1 – Hidratos de Carbono, Nucleótidos y Ácidos Nucleicos, Lípidos

P2 – Aminoácidos, Péptidos y Proteínas

P3 – Enzimas y Cinética Enzimática

Los exámenes parciales cuentan de preguntas teóricas, resolución de problemas sobre los diferentes temas y preguntas específicas de la parte correspondiente de Laboratorios. De este modo la evaluación de cada parcial se hace en dos partes, los conceptos de las clases teóricas y de problemas, los conceptos de los trabajos prácticos. Cada parte se evalúa de 0 a 10 y la nota final del Parcial se compone de un 60% de la parte Teórica y 40% de la parte Práctica para los Parciales P2 y P3 y de una 70-30 para el P1.

Para Promocionar hay que aprobar con al menos 4 la parte práctica de todos los Parciales.

**Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:**

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.

(b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos.

Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los alumnos que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador en las instancias que la UNQ destine para tal fin.

**Modalidad de evaluación exámenes libres:**

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas y problemas de aplicación.

**CRONOGRAMA TENTATIVO**

Semana	Tema/unidad	Actividad*				Evaluación
		Teórico	Práctico			
			Res Prob	Lab.	Otros Especificar	
1	Introducción – Biomoléculas	Teórico				
2	Hidratos de Carbono	Teórico – Problemas				
3	Hidratos de Carbono	Teórico – LABORATORIO				
4	Nucleótidos y Ácidos Nucleicos	Teórico – Problemas				
5	Lípidos	Teórico – Problemas				
6	Lípidos – Aminoácidos	Teórico - LABORATORIO				
7	Repaso – EXAMEN PARCIAL	Problemas				P1
8	Péptidos – Proteínas	Teórico – Problemas				
9	Separación y Cuantificación de Proteínas	Teórico - Problemas				
10	Separación y Cuantificación de Proteínas	LABORATORIO				
11	Electroforesis – Exclusión Molecular	LABORATORIO				
12	Repaso – EXAMEN PARCIAL	Problemas				P2
13	Enzimas – Cinética Enzimática	Teórico – Problemas				

14	Inhibidores de Enzimas – Determinación Km y Vmax	Teórico - LABORATORIO	
15	Efecto pH y temperatura en Enzimas	Teórico - LABORATORIO	
16	Enzimas alostéricos - Repaso	Teórico – Problemas	
17	Repaso – EXAMEN PARCIAL	Problemas	P3
18	RECUPERACIONES PARCIALES - INTEGRADOR	Evaluación	P1-3 / I

\*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD