

|                            |  |
|----------------------------|--|
| Carácter del curso         | Obligatorio para las carreras de Químico, Químico Farmacéutico, Bioquímico Clínico e Ingeniería de Alimentos   |
| Semestre en que se dicta   | 5º Semestre  |
| Número de créditos         | 15   |
| Carga horaria semanal (hs) | <b>Clases teóricas:</b> 4 hs (3 clases de 1h 20 min c/u)<br><b>Curso Práctico:</b> comprende:<br>Clases <b>Teórico-prácticas</b> (6 hs)<br><b>Talleres</b> : 5 talleres, (25 hs)<br>Clases <b>Prácticas de Laboratorio:</b> 5 hs<br>Clases de <b>discusión y consulta:</b> 5 hs. |
| Previaturas                | ICB I, Química Analítica II, Química Orgánica 102 y Físicoquímica 102  |
| Cupo                       | -  |

**Estructura Responsable:**

Cátedra de Bioquímica-DEPBIO

**Docente Responsable:**

Laura Franco Fraguas

**Docentes Referentes:**

Los docentes que dictan la clase respectiva

**Objetivos:**

- i) Estudiar la química estructural de los componentes de la materia viva y la relación con su función biológica, así como la actividad de macromoléculas en solución y sus funciones de reconocimiento y unión, transporte y catálisis.
- ii) Presentar la bioquímica con rigor químico, enfocado en las estructuras de las biomoléculas, los mecanismos químicos y las relaciones evolutivas.
- iii) Alcanzar una visión integral del metabolismo, con especial énfasis en el organismo humano. Se estudian las secuencias metabólicas fundamentales y sus interrelaciones y mecanismos de regulación. Comprender la química de los procesos y sustancias que almacenan y transmiten la información biológica.
- iv) Priorizar la formación adecuada del estudiante en cuanto a criterios experimentales en la manipulación de biomoléculas y sobre las bases y fundamentos de las metodologías utilizadas para su aislamiento, purificación y caracterización. Se estudian métodos fundamentales de separación y caracterización de macromoléculas.

**Contenido:**

**Curso Teórico**

**1.- Estructura y diversidad funcional de proteínas.** Proteínas. Información genética y estructura proteica. Distintos niveles de organización de la molécula proteica: estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria; interacciones estabilizantes de las mismas. Concepto de motivos y dominios en la estructura proteica. Relación entre estructura primaria y los niveles superiores de organización de la molécula proteica.

Desnaturalización. Proteínas fibrosas (queratinas, fibroína, colágeno). Transporte y almacenamiento de oxígeno: funciones de la hemoglobina y la mioglobina. Comportamiento alostérico de la hemoglobina. Glicoproteínas; enlaces *N*- y *O*-glicosídicos. Inmunoglobulinas: estructura y función.

**2.- Enzimas.** Generalidades. Importancia biológica y funciones. Clasificación y nomenclatura de enzimas. Mecanismos generales de las reacciones enzimáticas. Formación del complejo enzima-sustrato. Concepto de sitio activo. Especificidad. Variaciones de la velocidad de reacción en función de las concentraciones de la enzima y el sustrato. Ecuación de Michaelis-Menten. Equilibrio y estado estacionario. Medida de la velocidad de reacción; representaciones gráficas (método directo). Transformaciones de la ecuación de Michaelis-Menten y determinación de  $K_m$  y  $V_m$ . Representaciones de Lineweaver-Burk y de Eadie-Hofstee. Conceptos de actividad enzimática y actividad específica. Número de recambio. Efecto del pH y de la temperatura sobre la actividad enzimática. Inhibidores competitivos y no competitivos. Coenzimas y grupos prostéticos. Cofactores orgánicos e inorgánicos. Isoenzimas. Biocatalizadores no proteicos: ribozimas.

**3.- Regulación de la actividad enzimática.** Enzimas reguladoras. Cooperatividad y regulación alostérica; moduladores. Regulación por modificación covalente (fosforilación, proteólisis limitada).

**4.- Introducción al metabolismo y Bioenergética.** Concepto de rutas catabólica, anabólica, anfibólica y anaplerótica. Bioenergética. Cambios de energía libre en las reacciones bioquímicas: reacciones endergónicas y exergónicas. Compuestos de alta energía y potencial de transferencia de grupo. Ciclo del ATP. Enzimas que intervienen en la transferencia de grupos fosfato. El principio del intermediario común en el acople energético. Reacciones acopladas. Macro- y micronutrientes. Estructura, propiedades y funciones de los nucleótidos.

**5.- Nucleótidos y ácidos nucleicos.** Estructura, propiedades y funciones de los nucleótidos. Naturaleza de los ácidos nucleicos: DNA y RNA; composición y estructura primaria. Estructuras secundaria y terciaria de los ácidos nucleicos. DNA: la doble hélice. Estructuras alternativas: hélices B, A y Z. Ácidos ribonucleicos: composición, estructura y propiedades; principales tipos de RNA (mensajero, ribosómico y de transferencia). Funciones biológicas de los ácidos nucleicos. RNA catalíticos.

**6.- Biosíntesis de ácidos nucleicos.** Mecanismos bioquímicos de la replicación del DNA; naturaleza semi-conservativa. Participación de DNA polimerasas, ligasas, primasas, helicasas, topoisomerasas y de factores proteicos. Mecanismo de la replicación en bacterias y sus tres fases: iniciación, elongación y terminación. Fragmentos de Okasaki. Transcripción del mensaje genético. El DNA como molde en la biosíntesis de RNA. Estructura y función de RNA polimerasas DNA dependientes. Mecanismos de la transcripción; iniciación: reconocimiento e interacción con centros promotores; elongación: burbujas de transcripción; terminación. Procesamiento y modificaciones post-transcripcionales del RNA.

**7.- Biosíntesis de proteínas.** El código genético y la biosíntesis de proteínas. Mecanismos de la biosíntesis de proteínas; participación de mRNA, tRNA y ribosomas. Acoplamiento de los tRNA a los aminoácidos: formación de los aminoacil-tRNA. Fidelidad de las aminoacil-tRNA sintetasas. Etapas de la traducción: iniciación, elongación y terminación; aspectos energéticos del proceso. Regulación de la traducción. Fases finales de la síntesis proteica: plegado y modificación covalente. Proteínas de secreción; mecanismos: secuencia señal, retículo endoplásmico rugoso, y partículas de reconocimiento de señal. Regulación de la transcripción en bacterias. Función de los promotores. Regulación de la terminación: factor rho. Modelo del operón lactosa en *E. coli*. Inducción y represión catabólica. Control positivo y negativo. Regulación postranscripcional.

**8.- Metabolismo de monosacáridos.** Digestión y absorción de glúcidos. Sistemas de transporte para glucosa (enterocito, hepatocito, adipocito, etc.). Importancia de la glucosa como metabolito. Vía glicolítica. Degradación aerobia y anaerobia. Destinos metabólicos del piruvato. Fermentaciones. Balance energético de la glicolisis. Regulación. Metabolismo de fructosa y galactosa. Degradación oxidativa de la glucosa: ruta de las pentosas fosfato. Fases oxidativa y no oxidativa. Su importancia en el metabolismo intermediario.

| Fecha    | MA-SGC-2-3    | V.02 |
|----------|---------------|------|
| 08/08/16 | Página 2 de 6 |      |

**9.- Mecanismos de acción hormonal y regulación del metabolismo.** Mecanismos de acción de la insulina, glucagón y adrenalina. Receptores y transducción de señales; función de la proteína G. El sistema de señalización de la adenilato ciclasa; cAMP como segundo mensajero. Otros sistemas de segundos mensajeros: la vía del fosfoinositósido. El receptor de insulina y otros receptores relacionados con actividad proteínica quinasa.

**10.- Metabolismo del glucógeno.** Procesos de biosíntesis y degradación del glucógeno; enzimas involucradas. Relación recíproca entre su síntesis y movilización.. Funciones de las reservas de glucógeno en el hígado y en el músculo. Regulación de los procesos de degradación y biosíntesis: a través del control alostérico directo y de la modificación covalente de glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa; efectos hormonales sobre el metabolismo del glucógeno.

**11.- Descarboxilación oxidativa del piruvato y ciclo de Krebs.** Transporte y oxidación del piruvato; mecanismo de acción del complejo piruvato deshidrogenasa y participación de coenzimas. Ciclo del ácido cítrico. Localización, fases, estequiometría y energética del ciclo. Regulación de la piruvato deshidrogenasa y del ciclo del ácido cítrico. Reacciones anapleróticas.

**12.- Transporte electrónico y fosforilación oxidativa.** Cadena respiratoria: localización y organización estructural. Transportadores electrónicos. Entrada de los diferentes sustratos de la cadena respiratoria. Fosforilación oxidativa. Eficiencia de la fosforilación oxidativa (relación P/O). El sistema enzimático para la síntesis de ATP. Mecanismo de la fosforilación oxidativa: acoplamiento quimiosmótico. Rendimientos energéticos del metabolismo oxidativo. Re-oxidación del NADH citoplasmático: sistemas de lanzaderas (del glicerolfosfato y malato/aspartato).

**13.- Fotosíntesis.** Estructura del cloroplasto. Pigmentos fotosintéticos. Fase luminosa: fotosistemas y transportadores de electrones. Fotofosforilación cíclica y no cíclica. Fase oscura: ciclo de Calvin. Mecanismos de fijación del CO<sub>2</sub> y formación de hexosas. Regeneración del aceptor. Balance energético y regulación de la fotosíntesis. Fotorrespiración. Plantas C<sub>3</sub> y C<sub>4</sub>. Biosíntesis de carbohidratos de reserva (sacarosa, almidón) en plantas.

**14.- Metabolismo de lípidos.** Digestión y absorción de lípidos; importancia de las sales biliares y mecanismos de la lipasa pancreática. Resíntesis de triglicéridos en el enterocito. Transporte de lípidos a los tejidos: quilomicrones. Lipoproteínas plasmáticas (VLDL, IDL, LDL, HDL): composición y funciones. Transporte y utilización del colesterol en los animales. Características metabólicas del tejido adiposo. Movilización de triglicéridos. Origen y catabolismo de los ácidos grasos. Activación y transporte de los ácidos grasos a la mitocondria.  
-Oxidación. Degradación de ácidos grasos insaturados. Rendimiento energético. ⚡ Cetogénesis. Utilización de cuerpos cetónicos.

**15.- Biosíntesis de lípidos.** Fuentes y transporte de acetil-CoA. Biosíntesis de ácidos grasos. Formación de malonil-CoA. Formación de palmitoil-CoA; ácido graso sintasa. Regulación. Elongación y desaturación. Ácidos grasos esenciales. Metabolismo de triglicéridos, fosfoglicéridos y esfingolípidos. Biosíntesis del colesterol; mecanismos bioquímicos en la formación de mevalonato como precursor del colesterol y su regulación; fases siguientes implicadas. Control de la biosíntesis del colesterol.

**16.- Metabolismo de proteínas y aminoácidos.** Digestión de proteínas. Absorción de aminoácidos. Catabolismo de aminoácidos; transaminaciones y desaminaciones. Destinos metabólicos del nitrógeno amínico. Mecanismos de excreción del amoníaco. Ciclo de la urea. Destinos del esqueleto carbonado de los aminoácidos. Balance de nitrógeno. Valor biológico de proteínas.

**17.- Gluconeogénesis.** Interrelación con la glucólisis. Participación de aminoácidos, glicerol, piruvato y lactato. Regulación. Participación de lípidos en plantas y microorganismos: ciclo del glioxilato.

| Fecha    | MA-SGC-2-3    | V.02 |
|----------|---------------|------|
| 08/08/16 | Página 3 de 6 |      |

**18.- Regulación del metabolismo.** Niveles de regulación. Papel de la compartimentación celular. Papel de las membranas. Regulación alostérica. Regulación de las enzimas por modificaciones covalentes. Proteólisis limitada. Regulación de la síntesis de enzimas: inducción y represión. Mecanismos de acción hormonal en la regulación e integración del metabolismo. Naturaleza jerárquica del control hormonal..

**19.- Integración del metabolismo.** Las tres fases principales en la producción de energía. Interrelaciones entre vías degradativas y biosintéticas. Metabolitos comunes como encrucijadas metabólicas. Participación de vitaminas en el metabolismo integrado. Interrelaciones entre el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Interdependencia de los principales órganos en el metabolismo de los combustibles en los vertebrados. Entradas y salidas de combustibles. División metabólica del trabajo entre los principales órganos (hígado, músculo, corazón, cerebro, tejido adiposo). Ciclos de Cori y glucosa-alanina.

### **Curso Práctico**

#### **A) Metodologías utilizadas en el aislamiento, purificación y caracterización de biomoléculas.**

Se estudia la secuencia de etapas en la purificación de una proteína a partir de su fuente natural: solubilización, estabilización, aislamiento y concentración, y los criterios de pureza del producto obtenido.

\*Extracción y fraccionamiento de proteínas. Métodos de separación basados en la solubilidad. Efectos de la concentración de sales, solventes orgánicos y polímeros; parámetros que influyen. Usos del sulfato de amonio

\*Métodos basados en la carga. Electroforesis. Cromatografía de intercambio iónico.

\*Métodos basados en el tamaño molecular. Cromatografía de filtración en geles.

\*Fundamentos de los procesos de diálisis y ultrafiltración.

\*Separaciones de biomoléculas basadas en fenómenos de bio-reconocimiento: cromatografía de afinidad.

\*Caracterización fisicoquímica de proteínas: Determinación de pesos moleculares: por filtración en geles y por electroforesis en geles de poliacrilamida.

\*Determinación de puntos isoeléctricos por isoelectroenfoque.

#### **B) Ejercicios prácticos.**

-Determinación de proteínas en muestras de origen biológico.

-Separación de una proteína y una sal inorgánica: Hemoglobina y sulfato férrico.

-Aislamiento y purificación de lisozima de clara de huevo. Seguimiento del proceso de purificación por análisis electroforético en geles de poliacrilamida. Parámetros indicadores de purificación y recuperación.

-Enzimas. Métodos de análisis enzimático. Determinación de la actividad enzimática y actividad específica. Unidades de actividad. Influencia del pH y la temperatura sobre la actividad enzimática: condiciones óptimas. Aplicaciones biotecnológicas.

-Digestión enzimática de moléculas nutrientes.

#### **C) Talleres.**

1.- Modelos estructurales de macromoléculas. Niveles de estructura proteica. Motivos estructurales; dominios. Modelos estructurales de proteínas estudiadas en el curso.

2.- Biosíntesis de ácidos nucleicos.

3.- Metabolismo de carbohidratos.

4.- Mecanismos de transferencia electrónica y generación de energía.

5- Integración y regulación metabólica

### **Bibliografía:**

**Textos recomendados (\*\*\*\*), opcionales (\*\*\*), de consulta (\*).**

(\*\*\*\*) Lehninger **Principios de Bioquímica.** David L. Nelson, Michael M. Cox.

Sexta Edición (2013). Ediciones Omega S.A.

| Fecha    | MA-SGC-2-3    | V.02 |
|----------|---------------|------|
| 08/08/16 | Página 4 de 6 |      |

(\*\*\*) Lehninger **Principios de Bioquímica**. David L. Nelson, Michael M. Cox. Tercera Edición (2001). Ediciones Omega S.A.

(\*\*\*\*) **Bioquímica**. Lubert Stryer, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko. Quinta/Sexta Edición (2003 / 2007). Editorial Reverté S.A.

(\*\*\*\*) **Fundamentos de Bioquímica**. D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt. Segunda Edición (2007). Editorial Médica Panamericana.

(\*\*\*\*) **Bioquímica**. C. K. Mathews, K. E. van Holde, K.G. Ahern. Cuarta Edición (2012). Addison-Wesley.

(\*\*\*) **Bioquímica**. C. K. Mathews, K. E. van Holde. Tercera Edición (2002). Mc Graw-Hill/Interamericana.

(\*) **Textbook of Biochemistry** (with clinical correlations). Thomas M. Devlin. Fifth Edition (2004). Wiley-Liss, Inc.

(\*) **Protein purification**. Principles and practice. Robert K. Scopes. Third Edition (1994). Springer-Verlag.

**Modalidad del Curso:**

|  | Teórico          | Practico               | Laboratorio | Otros (*) |
|--|------------------|------------------------|-------------|-----------|
| Asistencia Obligatoria                       | Asistencia libre | Asistencia obligatoria |             |           |
|  |                  |                        |             |           |
| Modalidad Flexible<br>(carga horaria mínima) |                  |                        |             |           |

(\*) Especificar (talleres, seminarios, visitas, tareas de campo, pasantías supervisadas, etc.)

**Régimen de ganancia:**

A partir del año 2010, en virtud de las disposiciones establecidas por Resolución del CFQ de fecha 25 de febrero de 2010 (Exp. N° 101160-003821-09), se seguirá el Régimen B para la evaluación de Cursos con Laboratorio correspondiente al Nuevo Plan 2000 (Resolución del CFQ del 21/03/01).

Las instancias a tomarse en cuenta a los efectos de su evaluación serán:

- actuación en los prácticos de laboratorio (40 puntos),
- dos exámenes parciales (P1 y P2, 10 y 20 puntos, respectivamente), los que versarán sobre la parte teórica y los talleres,
- un examen final global (EFG, 30 puntos) exonerable.

**Prácticos de Laboratorio (40 puntos).** Para evaluar la actuación en los prácticos de laboratorio, se considerará: el desempeño en el laboratorio, incluyendo manipulación, conocimiento de los ejercicios, y las evaluaciones orales y escritas.

**I) Para aprobar el curso práctico el estudiante deberá contar con:**

- √ Asistencia reglamentaria
- √ Un puntaje mínimo de 20 puntos (50%) en Prácticos de Laboratorio

**II) Para Exonerar el Exámen Final Global se deberá:**

- √ Aprobar el curso práctico (condiciones anteriores)
- √ Reunir un puntaje en P1+P2 ≥ 15 (50%)

**III) Para ganar el curso de la asignatura se deberá:**

√ Aprobar el curso práctico (item I)

√ Reunir un puntaje en los Parciales tal que:  $9 (30\%) \leq P1 + P2 < 15 (50\%)$

En este caso se puede rendir el examen sin límite en el tiempo.

**IV) En caso de aprobar el curso práctico pero no alcanzar el 30% de (P1+ P2),** se adquiere el derecho a rendir examen global solamente hasta que se dicte de nuevo el curso.

Por mayor información visitar la página del curso o consultar directamente en la estructura responsable de la asignatura.

|              |                   |             |
|--------------|-------------------|-------------|
| <b>Fecha</b> | <b>MA-SGC-2-3</b> | <b>V.02</b> |
| 08/08/16     | Página 6 de 6     |             |