

**PROGRAMA DE BIOQUÍMICA. CURSO TEÓRICO. (PLAN 1980).**

**1.- Introducción.** Concepto de Bioquímica. Composición molecular de los seres vivos. Macromoléculas biológicas.

**2.- Estructura de proteínas.**

Importancia biológica de aminoácidos y péptidos. Clasificación de los aminoácidos. Los aminoácidos como electrolitos; curvas de titulación; puntos isoiónico e isoelectrico.

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. Diversidad funcional de las proteínas. Proteínas fibrosas (queratinas, fibroína, colágeno). Desnaturalización.

**3.- Enzimas.** Generalidades. Importancia biológica y funciones. Mecanismos generales de las reacciones enzimáticas. Formación del complejo enzima-sustrato. Concepto de sitio activo. Especificidad. Coenzimas y grupos prostéticos. Cofactores orgánicos e inorgánicos.

Isoenzimas. Clasificación y nomenclatura de enzimas.

Cinética enzimática. 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.

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.

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

Inhibidores competitivos y no competitivos.

**4.- Estructura y función de membranas biológicas.** Composición y organización estructural. Modelos.

Fenómenos de transporte; su diferenciación de la difusión simple. Características del transporte mediado pasivo y activo. Mecanismos uniport, simport, antiport.

Transporte activo primario y secundario.

Sistemas de transporte para glucosa (enterocito, hepatocito, adipocito, etc.). Sistemas de transporte de iones (bomba de  $Na^+/K^+$ , bomba de  $Ca^{++}$ ).

**5.- 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.

**6.- Metabolismo de carbohidratos.** Digestión y absorción de glúcidos. 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.

**7.- 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.

**8.- 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.

**9.- 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. Ciclo del glioxilato: una variante anabólica del ciclo del ácido cítrico.

**10.- 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).

**11.- Metabolismo de lípidos I.**

Digestión, absorción y transporte de lípidos. Lipoproteínas plasmáticas.

Características metabólicas del tejido adiposo.

Catabolismo de los ácidos grasos. Activación y transporte de los ácidos grasos a la mitocondria.  $\beta$ -Oxidación. Degradación de ácidos grasos insaturados. Rendimiento energético.

Cetogénesis. Utilización de cuerpos cetónicos.

**12.- Metabolismo de lípidos II.**

Fuentes y transporte de acetyl-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 mevalonato como precursor del colesterol y su regulación.

### **13.- 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.

### **14.- Gluconeogénesis.** Interrelación con la glucólisis. Participación de aminoácidos, glicerol, piruvato y lactato. Regulación.

Participación de lípidos en plantas y microorganismos: ciclo del glioxilato.

### **15.- 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). RNA catalíticos.

Moléculas de DNA y RNA in vivo. Funciones biológicas de los ácidos nucleicos.

### **16.- Replicación y reparación del DNA.** Concepto de gen y genoma. Expresión de los genes. Mecanismos bioquímicos de la replicación del DNA; naturaleza semiconservativa. 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. Replicación en eucariotas; DNA polimerasas, nuclear y mitocondrial. Principales diferencias con la replicación en procariotas. Reparación del DNA.

### **17.- Transcripción del mensaje genético; modificaciones postranscripcionales.**

El DNA como molde en la biosíntesis de RNA. Estructura y función de RNA polimerasas DNA dependientes, bacterianas y eucariotas. Mecanismo de la transcripción; iniciación: reconocimiento e interacción con centros promotores; elongación: burbujas de transcripción; terminación. Procesamiento y modificaciones post-transcripcionales del RNA. Intrones y exones. Procesamiento de transcritos eucarióticos primarios: formación de caperuza en extremo 5', corte y empalme ("splicing"), y poliadenilación en extremo 3'.

### **18.- Código genético y biosíntesis de proteínas.** Experimentos de elucidación del código. Características. Degeneración del código genético. Señales de iniciación y terminación. Universalidad del código.

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 sintetetas. Etapas de la traducción: iniciación, elongación y terminación; aspectos energéticos del proceso.

Polirribosomas. 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.

**19.- Mecanismos de control de la expresión genética.** Diferentes niveles de regulación. 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. Regulación de la transcripción en eucariotas.

**20.- 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. 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 fosfoinosítido. El receptor de insulina y otros receptores relacionados con actividad proteína quinasa. Mecanismos de acción de hormonas esteroideas.

**21.- 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, proteínas y ácidos nucleicos. 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. Regulación hormonal del metabolismo de los combustibles; acciones de la insulina, glucagón y adrenalina. Respuestas al estrés metabólico: inanición, diabetes.

### **CURSO PRACTICO.**

#### **A) Metodología utilizada en el aislamiento y estudio de proteínas.**

1. Determinación de proteínas en muestras de origen biológico.
2. Desnaturalización de proteínas.
3. Métodos de separación basados en la solubilidad. Efectos de la concentración de sales; parámetros que influyen. Usos del sulfato de amonio.
4. Métodos basados en la carga. Electroforesis. Cromatografía de intercambio iónico.
5. Métodos basados en el tamaño molecular. Cromatografía de filtración en geles. Fundamentos de los procesos de diálisis y ultrafiltración.
6. Caracterización fisicoquímica de una proteína:  
Determinación de pesos moleculares: por filtración en geles y por electroforesis en geles de poliacrilamida.  
Determinación de puntos isoelectrónicos por isoelectroenfoque.  
Criterios de pureza de una preparación proteica.
7. Métodos para concentrar proteínas: liofilización, diálisis contra soluciones concentradas de polímeros, precipitación por sales, etc.

- B) Modelos estructurales proteicos.** Niveles de estructura proteica. Motivos estructurales. Dominios. Estructura de proteínas utilizadas en el curso práctico.
- C) Aislamiento y purificación de enzimas.**  
 Determinación de la actividad específica. Criterios de pureza de la preparación, aplicados a cada etapa del proceso de purificación.  
 Influencia del pH y la temperatura sobre la actividad enzimática. Estabilidad y condiciones óptimas.  
 Estudios cinéticos. Determinación de  $V_{\max}$  y  $K_m$ . Inhibidores. Determinación del tipo de inhibición.
- D) Aplicaciones biotecnológicas de enzimas.**
- E) Identificación de intermediarios metabólicos.**
- F) Digestión enzimática de moléculas nutrientes.**
- G Ejercicios asistidos por PC sobre procesos metabólicos.**

### **BIBLIOGRAFIA.**

- \* **BIOQUIMICA.** C. K. Mathews, K. E. van Holde.  
 Segunda Edición (1998) Mc Graw-Hill/Interamericana.
- \* **PRINCIPIOS DE BIOQUIMICA.** Lehninger, Nelson, Cox.  
 Segunda Edición (1993). Omega.
- \* **Textbook of BIOCHEMISTRY.** Thomas M. Devlin.  
 With clinical correlations.  
 Fourth Edition (1997). Wiley-Liss.
- \* **BIOQUIMICA.** Lubert Stryer. Vols. I y II.  
 Cuarta Edición (1995). Reverté.
- \* **Harper's BIOCHEMISTRY.** R. Murray, D. Granner, P. Mayes, V. Rodwell.  
 24th Edition (1996). Appleton & Lange.
- \* **BIOQUIMICA.** J. D. Rawn. Vols. I y II.  
 (1989). Interamericana.
- \* **PROTEIN PURIFICATION.** Robert K. Scopes.  
 Principles and practice.  
 Third Edition (1994). Springer-Verlag.

### **GANANCIA DEL CURSO.**

La ganancia o pérdida del curso práctico se determinará empleando los siguientes elementos de juicio, obtenidos en el desarrollo del mismo:

1. Asistencia reglamentaria.
2. Realización de la totalidad de los ejercicios prácticos.
3. Presentación de informes escritos sobre los ejercicios realizados.
4. Aprobar dos pruebas escritas de evaluación sobre conocimientos relacionados con los ejercicios prácticos, incluyendo su fundamento teórico.

Las mismas deberán ser aprobadas para continuar con el curso práctico, disponiendo de una instancia de recuperación aquellos alumnos que no aprueben en primera instancia.

5. Resolución de un trabajo práctico y elaboración del correspondiente informe.
6. Evaluación oral de conocimientos relacionados con la realización del trabajo práctico.