



Ministerio de Cultura y Educación  
Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia  
Departamento: Bioquímica y Cs Biológicas  
Área: Biología Molecular

(Programa del año 2012)

### I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
ESTRUCTURA DE MACROMOLECULAS	LIC. EN BIOLOGIA MOLECULAR	11/06	2012	1° cuatrimestre

### II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
AGUILAR, CARLOS FERNANDO	Prof. Responsable	P.Tit. Exc	40 Hs
GOMEZ BARROSO, JUAN ARTURO	Responsable de Práctico	JTP Exc	40 Hs

### III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
Hs	Hs	Hs	Hs	8 Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoría con prácticas de aula y laboratorio	1° Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
14/03/2012	22/06/2012	15	120

### IV - Fundamentación

La asignatura Estructura de Macromoléculas está ubicada en el primer cuatrimestre del quinto año de la carrera Licenciatura en Biología Molecular. Esta decisión se fundamenta en el hecho de que los contenidos de la asignatura que describen la relación estructura-función en macromoléculas biológicas permiten complementar idealmente los conceptos aprendidos en cursos anteriores.

La importancia estratégica de la Biología Molecular Estructural cuya metodología principal es la Cristalografía de rayos X en el desarrollo de la biotecnología y de las industrias farmacéutica y química es analizado por Daniel Goldstein en el capítulo tres de su libro Biotecnología, Universidad y Política titulado SIN CRISTALOGRAFIA DE RAYOS X NO HAY BIOTECNOLOGIA POSIBLE. A continuación transcribo algunas de sus palabras que ilustran claramente este tema.

"El conocimiento de la arquitectura molecular de las macromoléculas catalíticas e informativas de la biología hace posible:

i) Comprender los mecanismos químicos de la acción catalítica de las enzimas y las ribozimas, el funcionamiento de los ácidos nucleicos auxiliares y las condiciones estructurales que confieren las diversas propiedades fisiológicas a los ácidos nucleicos informacionales.

ii) Modificar macromoléculas para cambiar a voluntad sus funciones y sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

iii) Inventar nuevas macromoléculas con nuevas funciones

iv) Diseñar a medida moléculas capaces de modificar las funciones biológicas de macromoléculas informacionales o catalíticas específicas.

Como es imposible comprender cabalmente la función de las macromoléculas informacionales y catalíticas sin conocer sus arquitecturas moleculares, y dada la imposibilidad de deducirla a partir de la composición química, la biología molecular estructural constituye una disciplina fundamental y necesaria para solucionar todo problema bioquímico."

Es importante destacar que los proyectos de investigación que se están desarrollando como consecuencia de la

implementación de esta asignatura implican la resolución de la estructura tridimensional de macromoléculas y de sus complejos supramoleculares a través de la cristalografía de rayos X. Esta es una especialidad que no existía en nuestro país siendo la Universidad Nacional de San Luis pionera en su desarrollo.

## V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

El objetivo general de este curso es introducir los principios básicos de Estructura de Macromoléculas biológicas (Proteínas y Ácidos nucleicos) con el propósito de estudiar la relación estructura-función complementando idealmente los conceptos aprendidos en cursos anteriores.

Unido al aprendizaje de conceptos básicos el alumno será capacitado en conceptos básicos de programación necesarios para el dominio de programas de computación necesarios para el análisis de estructuras.

## VI - Contenidos

**1) Geometría de la unión peptídica. Fuerzas de interacción intra e intermoleculares: Introducción. Interacciones, fuerzas y energía. La aproximación de Born Oppenheimer. Interacciones covalentes: modelos simplificados de interacción. Enlace covalente, ángulos de enlace, ángulos diedros. Interacciones no covalentes: electrostáticas, inducción y dispersión, repulsión, enlace de hidrógeno. Efecto del solvente e interacciones hidrofóbicas. Efecto dieléctrico y efecto hidrofóbico. Funciones de energía potencial. Minimización de energía. Dinámica molecular. Estructura del Agua.**

2) Estructura Primaria. Los 20 aminoácidos.. Clasificación y propiedades físicas y químicas.

3) Estructura Secundaria y Súper-secundaria. Hélice alfa, hélice 3.10, hélice pi, fin de hélice (helix cap), Propiedades estructurales. Lámina beta (Beta sheet). Paralela y antiparalela. Torcimientos (beta twists), protuberancias (bulges). Vueltas (Turns). Vueltas Inversas y Horquilla beta (Reverse Turns and beta hairpins). Conformación de la cadena lateral. Diagrama de Ramachandran. Identificación de la estructura secundaria: Identificación en estructuras tridimensionales. Diagramas de ángulo (angle plots). Uniones puente de Hidrógeno. Diagramas de distancia. Identificación sin la estructura tridimensional. Espectroscopía de dicroísmo circular (circular dichroism spectroscopy). Predicción de estructura secundaria. Horquillas beta de 2 residuos. Esquinas beta (Beta corners) y horquillas de hélice (helix hairpins). Esquinas alfa (alfa corners) y E-F hand. Hélice-vuelta-hélice (Helix-turn-helix). Motivos beta-alfa-beta (beta-alfa-beta motifs) Coiled Coil. Principios generales de empaquetamiento de estructura secundaria en proteínas. Introducción. Empaquetamiento hélice-hélice. Empaquetamiento sheet-sheet. Empaquetamiento hélice-sheet. Métodos.

4) Estructura terciaria. Introducción. Dominios. Distintos tipos de plegamiento en proteínas (protein folds). Plegamientos en los cuales la estructura secundaria es casi exclusivamente alfa. Ejemplos. Plegamientos beta. Plegamientos alfa/beta. Plegamientos alfa+beta. Proteínas pequeñas con enlace disulfuro.

5) Plegamiento y Flexibilidad Estabilidad de proteínas globulares. Factores cinéticos más importantes. Mecanismo de plegamiento. Formación de puentes disulfuro. Isomerización de prolinas. Chaperones. Inherently disordered proteins (IDP). Métodos.

6) Estructura cuaternaria. Visión de conjunto. Simetría, ejemplos. Insulina y Hemoglobina como ejemplos de la relación entre estructura terciaria y cuaternaria. Alostereismo, Cooperatividad, Regulación. Estructura cuaternaria de enzimas: enzimas multiméricas y complejos multienzimáticos. Grandes agrupaciones: estructuras fibrosas, estructuras filamentosas y virus.

7) Clasificación general de proteínas. Proteínas Globulares. Enzimas. Lisis: de polipéptidos (proteinasas aspárticas), de polisacáridos (ejemplo: lisozima), de lípidos y de ácidos nucleicos (ribonucleasa A). Proteínas de membrana. Ejemplos. Proteínas estructurales y fibrosas. Proteínas mosaico. Inmunoglobulinas y otros ejemplos.

8) Interacciones en proteínas. Interacciones proteína-proteína. Interacciones proteína-ácido nucleico. Interacciones de proteínas con otras moléculas biológicas: Inhibición. Regulación de ADN y proteínas. Hormonas y receptores.

9) Métodos y Aplicaciones. Preparación de proteínas para estudios estructurales: sobre-expresión, solubilización, re-plegado, purificación y cristalización de proteínas. Introducción a la Cristalografía de rayos X. Modelado por homología. Diseño racional de drogas.

## VII - Plan de Trabajos Prácticos

Trabajos Prácticos de Laboratorio:

1) Expresión de proteínas recombinantes.

2) Purificación de proteína recombinante usando una columna de afinidad. Problemas y análisis de publicaciones científicas relacionadas con esta metodología.

3) Purificación de proteínas haciendo uso de aparatos. Técnicas de Fast protein liquid chromatography (FPLC) (BIOCAD/SPRINT)

4) **Cristalización de Proteínas:** Cristalización de lisozima por el método de fase de vapor por gotas colgantes y métodos batch. Problemas

Trabajos Prácticos de Aula:

- 1) **INTERACCIONES:** Análisis de las propiedades de los diferentes tipos de interacciones implicados en la estructura de proteínas. Resolución de cuestionario y análisis de publicaciones.
- 2) **AMINOÁCIDOS:** Clasificación y propiedades de los diferentes aminoácidos. Cuestionario y análisis de publicaciones.
- 3) **ESTRUCTURA SECUNDARIA:** Identificación de ángulos de enlace y construcción de elementos de estructura secundaria hélices (alfa, beta sheet, etc.) utilizando modelos plásticos. Cuestionario y análisis de publicaciones (DC, RMN, predictores).
- 4) **PLEGAMIENTO Y ESTRUCTURA TERCIARIA:** Análisis y construcción de los distintos tipos de plegamiento usando los modelos Garratt. Cuestionario y análisis de publicaciones, tema: IDP.
- 5) **ESTRUCTURA CUATERNARIA:** Análisis y construcción de modelos de estructura cuaternaria utilizando modelos Garratt. Cuestionario y análisis de publicaciones.
- 6) **PROTEÍNAS FIBROSAS:** Análisis de publicaciones y seminarios, tema: enfermedades neurodegenerativas.
- 7) **PROTEÍNAS DE MEMBRANA:** Análisis de publicaciones y seminarios.
- 8) **INTERACCIONES EN PROTEÍNAS:** Análisis de publicaciones y seminarios, tema: interacciones proteína-proteína, proteína-DNA, proteína-RNA, proteína-polisacáridos y proteína-lípidos.
- 9) **CRISTALOGRAFÍA:** Interpretación de datos cristalográficos estructurales en trabajos de investigación.
- 10) **TÉCNICAS DE COMPUTACIÓN:** Manejo de base de datos de secuencia y estructura. Alineamiento y Análisis de Secuencias. Predicción de Estructura Secundaria. Visualización de estructuras tridimensionales. Modelado Molecular por Homología. Problemas relacionados.

## VIII - Regimen de Aprobación

Se propone una evaluación continua con la posibilidad de Promoción sin examen.

I. Se requiere una asistencia del 70% a las clases teórico-prácticas.

II. Se realizará una evaluación continua del alumno a través de su participación en clase y mediante seminarios a presentar por los alumnos.

III. Aprobación de evaluaciones parciales escritas con carácter teórico práctico en las cuales se usará la modalidad de preguntas con opción múltiple cuando sea posible.

IV. Para mantener la condición de alumno promocional los parciales deberán ser aprobados con el 70% en primera instancia. En caso de que no se alcance este porcentaje en cualquiera de las evaluaciones escritas habrá una evaluación integradora oral al finalizar el curso que comprenderá todos los temas evaluados en los exámenes parciales. Esta evaluación integradora oral estará abierta a alumnos que habiendo aprobado con el 70% quieran aumentar su nota.

V. Aprobación de Trabajos Prácticos de Laboratorio, los cuales tienen el carácter de irrecuperables por sus características y el alto costo de los mismos.

VI. Ensayo o investigación bibliográfica sobre temas determinados por el profesor oportunamente que serán presentados como simposio abierto a la comunidad.

Para alumnos regulares:

Asistencia del 50%

Aprobación de los parciales con el 40%

Las recuperaciones serán orales de acuerdo a las ordenanzas vigentes.

## IX - Bibliografía Básica

[1] Protein structures and molecular properties. T. E. Creighton. Freeman and Company. New York.

[2] Introduction to protein structure. C. Branden and J. Tooze. Garland Publishing, Inc. New York and London.

[3] Protein architecture. A. M. Lesk. IRL Press.

[4] Proteins. A theoretical perspective of dynamics, structure, and thermodynamics. C. Brooks, M. Karplus, B. M. Pettitt. Wiley Interscience.

[5] Structure determination by X-ray crystallography. A. Ladd and R. Palmer. Plenum.

[6] X-ray structure determination. G. Stout, L. Jensen. Wiley and Sons.

[7] Protein crystallography. T. L. Blundell and L. N. Johnson. Academic Press.

[8] Protein structure. T. E. Creighton. IRL Press.

[9] Principles of protein structure. G. E. Schulz and R. H. Schirmer. New York. Springer-Verlag.

## X - Bibliografía Complementaria

- [1] Protein purification. R. K. Scopes. Springer-Verlag.
- [2] Methods in Enzymology. Guide to protein purification. Edited by M. P. Deutscher.
- [3] Methods in Enzymology. Diffraction methods for biological macromolecules. Volume 114. Part A.
- [4] Methods in Enzymology. Diffraction methods for biological macromolecules. Volume 115. Part B.
- [5] Protein Folding. T. E. Creighton. W. H. Freeman. New York.
- [6] The anatomy and taxonomy of protein structure. J. S. Richardson. Adv. Protein Chem 34, 167-339.
- [7] NMR of proteins and nucleic acids. K. Wüthrich. Wiley. New York. Conformation of polypeptides and proteins. G. N. Ramachandran & V. Sasisekharan. Adv. Prot. Chem. vol 23, 283-437.
- [8] Structure and action of proteins. R. E. Dickerson and Y. Geis. Harper and Row. London.
- [9] The nature of the chemical bond. L. Pauling. Cornell University Press. New York.
- [10] Solvent induced distortion and curvature of alpha-helices. T. Blundell, D. Barlow, N. Borkakoti and J. Thornton. Nature 306, 281-283.
- [11] Helix geometry in proteins. D. Barlow and J. Thornton. J. Mol. Biol. 201, 601-619.
- [12] Conformation of beta-hairpins in protein structures. A systematic classification with applications to modelling by homology, electron density fitting and protein engineering. B. L. Sibanda and J. M. Thornton. J. Mol Biol. 206, 759-777
- [13] Stereochemical quality of protein structures. A. L. Morris, M. W. MacArthur, E. G. Hutchinson and J. M. Thornton. Proteins 12, 345-364.
- [14] Prediction of protein structure and the principles of protein conformation. G. D. Fasman. Plenum Press, New York.
- [15] Virus structure and assembly. Casjens, Sherwood, ed. Jones and Bartlett Publishers, Inc., Boston.
- [16] Biochemistry. L. Stryer. W. H. Freeman & Co., New York.
- [17] Trabajos recientemente publicados

## XI - Resumen de Objetivos

La importancia estratégica de la Biología Molecular Estructural cuya metodología principal es la Cristalografía de rayos X en el desarrollo de la biotecnología y de las industrias farmacéutica y química es analizado por Daniel Goldstein en el capítulo tres de su libro Biotecnología, Universidad y Política titulado SIN CRISTALOGRAFIA DE RAYOS X NO HAY BIOTECNOLOGIA POSIBLE. A continuación transcribo algunas de sus palabras que ilustran claramente este tema.

"El conocimiento de la arquitectura molecular de las macromoléculas catalíticas e informativas de la biología hace posible:  
i) Comprender los mecanismos químicos de la acción catalítica de las enzimas y las ribozimas, el funcionamiento de los ácidos nucleicos auxiliares y las condiciones estructurales que confieren las diversas propiedades fisiológicas a los ácidos nucleicos informacionales.

ii) Modificar macromoléculas para cambiar a voluntad sus funciones y sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

iii) Inventar nuevas macromoléculas con nuevas funciones

iv) Diseñar a medida moléculas capaces de modificar las funciones biológicas de macromoléculas informacionales o catalíticas específicas.

Como es imposible comprender cabalmente la función de las macromoléculas informacionales y catalíticas sin conocer sus arquitecturas moleculares, y dada la imposibilidad de deducirla a partir de la composición química, la biología molecular estructural constituye una disciplina fundamental y necesaria para solucionar todo problema bioquímico."

Es importante destacar que los proyectos de investigación que se están desarrollando como consecuencia de la implementación de esta asignatura implican la resolución de la estructura tridimensional de macromoléculas y de sus complejos supramoleculares a través de la cristalografía de rayos X. Esta es una especialidad que no existía en nuestro país siendo la Universidad Nacional de San Luis pionera en su desarrollo.

## XII - Resumen del Programa

Fuerzas de interacción intra e inter moleculares.

Estructura primaria. Propiedades Físico-químicas de los 20 aminoácidos.

Estructura Secundaria. Helices. Lámina beta. Vueltas.

Diagrama de Ramachandran

Identificación de la estructura secundaria

Estructura Super-secundaria

Principios generales de empaquetamiento de elementos estructura secundaria en proteínas.

Estructura Terciaria

Tipos de Plegamientos en Proteínas

Estructura Cuaternaria. Virus

Interacciones en Proteínas. Inhibición

Métodos. Preparación, cristalización y cristalografía de rayos X

Aplicaciones. Diseño racional de drogas

### **XIII - Imprevistos**

Ante la ocurrencia de algún imprevisto, se evaluará cada caso en particular, ajustándose a la normativa vigente.

### **XIV - Otros**