



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 2005)  
 (Programa en trámite de aprobación)  
 (Presentado el 24/11/2005 12:04:12)

### I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
ESTRUCTURA DE MACROMOLECULAS	LIC.BIOL.MOLEC.	1/99	5	1c

### II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
AGUILAR, CARLOS FERNANDO	Prof. Responsable	P.TIT EXC	40 Hs

### III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
6 Hs	Hs	Hs	3 Hs	9 Hs

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

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
15/03/2005	17/06/2005	14	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

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.

### 2) Estructura Primaria.

Los 20 aminoácidos. Propiedades físicas y químicas.

### 3) Estructura Secundaria

Hélice alfa, hélice 310, hélice pi, fin de hélice (helix cap), dipolos en hélices.

Lamina beta (Beta sheet). Paralela y antiparalela. Torcimientos (beta twists), protuberancias (bulges)

Vueltas (Turns) Inversas y Horquilla beta (Reverse 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).

Espectroscopía por resonancia magnética nuclear. Espectroscopía de infrarrojo F T (Trasformada de Fourier).

Predicción de estructura secundaria. A través de homología, estadística y estereoquímica.

### 4) Estructura Supersecundaria

Introducción. 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.

### **5) Estructura terciaria.**

Introducción. Clasificación general de proteínas. Dominios. Proteínas de membrana. Proteínas estructurales y fibrosas. Enzimas. Otras proteínas globulares. Proteínas mosaico. Inmunoglobulinas y otros ejemplos.

### **6) Plegamientos en proteínas (protein folds).**

Introducción. Distintos tipos de plegamiento.

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.

### **7) Plegamiento y Flexibilidad**

Estabilidad de proteínas globulares. Factores cinéticos más importantes. Mecanismo de plegamiento. Formación de puentes disulfuro. Isomerización de prolinas. Chaperones

### **8) Estructura cuaternaria.**

Visión de conjunto. Simetría, ejemplos. Insulina como ejemplo de la relación entre estructura terciaria y cuaternaria.

Estructura cuaternaria de enzimas: enzimas multiméricas y complejos multienzimáticos. Grandes agrupaciones: estructuras fibrosas, estructuras filamentosas y virus.

### **9) Interacciones en proteínas.**

Interacciones proteína-proteína. Interacciones proteína-ácido nucleico. Interacciones de proteínas con otras macromoléculas biológicas: Inhibición. Regulación de ADN y proteínas. Hormonas y receptores. Lisis: de polipéptidos, proteinasas aspárticas como ejemplo. De polisacáridos, ejemplo: lizozima. De lípidos. De ácidos ribonucleicos, ejemplo: ribonucleasa A.

Cambios conformacionales: alosterismo. Hemoglobina.

### **10) Métodos:**

Purificación y cristalización de proteínas. Cristalografía de rayos X.

### **11) Aplicaciones:**

Diseño racional de drogas. Distintos ejemplos. El caso de los inhibidores de proteasa en SIDA y la hipertensión arterial.

Estabilidad en Proteínas: Proteínas hipertermofílicas. Factores que afectan estabilidad.

## **VII - Plan de Trabajos Prácticos**

Trabajos Prácticos de Laboratorio

1) Transformación de e. coli BL21

2) Expresión de una proteína ribosomal de T. cruzi: p2beta

3) Purificación de una proteína recombinante ribosomal p2beta usando una columna de afinidad. Problemas y análisis de publicaciones científicas relacionadas con esta metodología. Purificación de proteínas haciendo uso de aparatos. Técnicas de Fast protein liquid chromatography (FPLC) (BIOCAD/SPRINT)

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

Trabajos Prácticos de Aula

1) Construcción de elementos de estructura secundaria hélices alfa, beta sheet, etc. usando modelos plásticos.

2) Construcción de los distintos tipos de plegamiento usando modelos Garratt.

3) Interpretación de datos cristalográficos estructurales en trabajos de investigación.

4) Técnicas de Computación:

• Manejo de base de datos de secuencia y estructura.

• Conceptos básicos de programación en idioma Fortran 77.

• Alineamiento y Análisis de Secuencias.

- Predicción de estructura Secundaria.
- Modelado Molecular por Homología.
- Problemas : Ej. Dada una secuencia x , analizarla y especular acerca de su posible función, especificidad, actividad, estructura, evolución etc

## VIII - Regimen de Aprobación

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

- I. Se requiere una asistencia del 80% 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 costo de los mismos.
- VI. Ensayo o investigación bibliográfica sobre temas determinados por el profesor oportunamente.

Para alumnos regulares:

Asistencia del 70%

Aprobación de los parciales con el 40 %

Regimen de recuperaciones de acuerdo a las ordenanzas vigentes.

## IX - Bibliografía Básica

- [1] Referencias.
- [2] \* Protein structures and molecular properties. T. E. Creighton. Freeman and Company. New York.
- [3] \* Introduction to protein structure. C. Branden and J. Tooze. Garland Publishing, Inc. New York and London.
- [4] \* Protein architecture. A. M. Lesk. IRL Press.
- [5] .
- [6] \* Proteins. A theoretical perspective of dynamics, structure, and thermodynamics. C. Brooks, M. Karplus, B. M. Pettitt. Wiley Interscience.
- [7] .
- [8] \* Structure determination by X-ray crystallography. A. Ladd and R. Palmer. Plenum.
- [9] \* X-ray structure determination. G. Stout, L. Jensen. Wiley and Sons.
- [10] \* Protein crystallography. T. L. Blundell and L. N. Johnson. Academic Press.
- [11] \* Protein structure. T. E. Creighton. IRL Press.

[12] \* 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.

[8] \* Conformation of polypeptides and proteins. G. N. Ramachandran & V. Sasisekharan. Adv. Prot. Chem. vol 23, 283-437.

[9] \* Structure and action of proteins. R. E. Dickerson and Y. Geis. Harper and Row. London.

[10] \* The nature of the chemical bond. L. Pauling. Cornell University Press. New York.

[11] \* Solvent induced distortion and curvature of alpha-helices. T. Blundell, D. Barlow, N. Borkakoti and J. Thornton. Nature 306, 281-283.

[12] \* Helix geometry in proteins. D. Barlow and J. Thornton. J. Mol. Biol. 201, 601-619.

[13] 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

[14] \* Stereochemical quality of protein structures. A. L. Morris, M. W. MacArthur, E. G. Hutchinson and J. M. Thornton. Proteins 12, 345-364.

[15] \* Prediction of protein structure and the principles of protein conformation. G. D. Fasman. Plenum Press, New York.

[16] \* Virus structure and assembly. Casjens, Sherwood, ed. Jones and Bartlett Publishers, Inc., Boston.

[17] \* Biochemistry. L. Stryer. W. H. Freeman & Co., New York.

## 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. Purificación, cristalización y cristalografía de rayos X  
Aplicaciones. Diseño racional de drogas

## **XIII - Imprevistos**

--

<b>ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA</b>	
	<b>Profesor Responsable</b>
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	