

**ENZIMOLOGIA Y ESTRUCTURA DE PROTEINAS
(BT 57A)**

Profesor encargado: **Juan Pablo Rodríguez**

Horario de Clase: Martes: 12,00-13,30 hrs.
Jueves: 12,00-13,30 hrs.
Viernes: 16,15-17,45 hrs. (Clase Auxiliar).

Lugar: Sala

Trabajos Prácticos: Jueves: 14,30 - 18,00 hrs.

Lugar: INTA

Objetivos del Curso: Proporcionar los conocimientos teóricos que entreguen las bases para una utilización adecuada de las proteínas en la industria biotecnológica y alimentaria, y las bases teóricas del mecanismo de acción de las enzimas, lo que permitirá comprender su utilidad en procesos industriales.

Profesores: Barbara Andrews (F. Ciencias. Físicas y Matemáticas)
Juan Asenjo (F. Ciencias. Físicas y Matemáticas)
Romilio Espejo (INTA)
Miguel Llanos (INTA)
Juan Pablo Rodríguez (INTA)

Trabajos Prácticos: Alejandro Erices (INTA)

Evaluación del Curso:

Controles: 75%
Seminarios y Trabajos Prácticos: 25%

Contenido del Curso:

Semana 1.). M. Llanos

I. Estructura de Proteínas

a) Aminoácidos

- Configuración D y L
- Zwitterions
- Grupos radicales
- Propiedades ácido - base
- Curvas de titulación

Semana 2.). M. Llanos

b) Proteínas

- * Estructura primaria:
 - Secuencia de aminoácidos
 - Enlace peptídico
 - Estructura - función

Semana 3). M. Llanos

- * Estructuras superiores:
 - Estructura secundaria: α -hélice, conformación β
 - Estructura terciaria
 - Estructura cuaternaria
 - Enlaces que estabilizan estructuras superiores

- * Interacciones:
 - Proteína - Proteína
 - Proteína - Solvente
 - Proteína - Ligando

Semana 4 y 5.. J.P. Rodríguez

c) Análisis de proteínas

- c.1. Espectroscopía de absorción:
 - Principios básicos
 - UV/Vis
 - Infrarroja
 - Fluorescencia molecular
 - Análisis espectroscópico de moléculas orgánicas
 - Efecto de la estructura sobre la absorción
 - Actividad óptica
 - Dicroísmo circular
 - Nociones de resonancia magnética

CONTROL 1:

Semanas 6 y 7). *R. Espejo, M. Llanos, J.P. Rodríguez*

c.2. Tamaño y forma de macromoléculas:

- Hidrodinámica de partículas
- Difusión de macromoléculas
- Centrifugación y ultracentrifugación
- Pesos moleculares y sedimentación
- Electroforesis uni y bidireccional
- Cromatografía de exclusión molecular, de intercambio iónico, de afinidad.
- Cromatografía líquida de alta presión.
- Cristalografía de rayos X
- Difracción y fluorescencia
- Determinación de estructuras moleculares

Semana 8. (*B. Andrews*)

- d) Cuerpos de Inclusión:**
- Formación
 - Aislamiento
 - Solubilización
 - Re-enrollamiento (refolding) de las proteínas

Semanas 9, 10 y 11). *J.P. Rodríguez*

II. Enzimología.

a) Estructura y función de enzimas

* Reacciones Químicas:

- Energía Libre.
- Energía de Activación
- Catalizadores

* Mecanismo de reacción:

- Sitio activo
- Estado de Transición
- Modificación de aminoácidos
- Mutagénesis sitio-dirigida
- Catálisis ácido-base general
- Catálisis covalente
- Efecto de orientación y proximidad

Semana 12. (31 Mayo-4 Junio). J.P. Rodríguez

* Biomoléculas con actividad catalítica:

Anticuerpos

RNA

* Enzimas Inmovilizadas

CONTROL 2: 10 Junio (14,30 hrs)

Semanas 13-14. (7-18 Junio). J. Asenjo

b) Cinética Enzimática:

Ecuaciones de velocidad de reacción

Modelo Michaelis-Menten

Teoría de estado estacionario: Briggs-Haldane

Concepto de equilibrio, velocidad inicial y estado estacionario

Evaluación de parámetros cinéticos (Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee; métodos computacionales directos)

Activación e inhibición por sustrato

Reacciones de dos sustratos

Reacciones reversas

Efectos de pH y temperatura: denaturación

Sistemas heterogéneos: sustratos insolubles

Número de Damköhler, módulo de Thiele

Semana 15 (21-25 Junio). J. Asenjo.

c) Reactores enzimáticos:

Enzimas inmovilizadas

Difusión y reacción, factor efectividad

Cinética de reactores enzimáticos

Reactores batch, CFSTR y flujo pistón

d) Aplicaciones de ingeniería de enzimas e ingeniería de proteínas.

Mutagénesis sitio dirigida y mutagénesis al azar.

CONTROL 3: 24-25 Junio

Ultimo día de Clases: 25 de Junio

Examen: 28 Junio-10 de Julio.

Referencias Generales.

- Principles of Biochemistry
Albert L. Lehninger
- Biochemistry
Lubert Stryer
- Biochemistry
Donals Voet and Judith G. Voet
- Biochemistry
David E. Metzler
- Introduction to Biophysical Methods for Protein and Nucleic Acid Research
Edited by Jay A. Glasel and Murray P. Deutscher
- Organic Chemistry.
Robert T Morrison and Robert N. Boyd
- Methods in Enzymology, Vol XLIV
Immobilised Enzymes. Edited by Klauss Mosbach