

**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:  $\alpha$ -hélice, conformación  $\beta$
  - 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