

Temari per a l'assignatura optativa de la Llicenciatura de Bioquímica :

ESPECTROSCOPIA DE BIOMOLECULES.

6 crèdits (3 Teoría + 1,5 problemes + 1,5 pràctiques).

Professors: Joan Ramon Daban, Carles Arús i Esteve Padrós.

Professor responsable pel curs 1994-95: Carles Arús.

1. Introducció. Interacció de la radiació electromagnètica amb la materia: dispersió, absorció i emissió.
2. Espectroscòpia d'absorció en l'ultraviolat i visible. Principis físics. Disseny experimental. Aplicacions: estudi de proteïnes, àcids nucleics i altres cromòfors bioquímics. Espectrofotometria d'absorció. Influencia de l'entorn sobre l'espectre d'absorció: espectres de diferència i de derivades.
3. Espectroscòpia de fluorescència. Bases físiques: característiques de l'emissió fluorescent, temps de vida de l'estat excitat. Disseny experimental: problemàtica associada a les mesures de fluorescència. Fenòmens que poden afectar l'emissió fluorescent: efectes de l'embolcall i del dissolvent, quenching col.lisional de la fluorescència, polarització, formació de dímers excitats (excímers), transferència d'energia. Aplicació a l'anàlisi estructural de sistemes macromoleculars: fluoròfors intrínsecs i extrínsecs, accesibilitat, difusió rotacional, mesurament de distàncies. Aplicacions a l'anàlisi Bioquímica i en Biologia Molecular. Aplicació a estudis citològics: microscòpia de fluorescència, citofluorometria de flux. Bases físiques i aplicacions d'altres fenòmens emissius: quimioluminescència i bioluminescència.
4. Espectroscòpia de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN).
 - 4.1.Bases físiques del fenòmen de la ressonància.
 - 4.2.Disseny experimental, questions instrumentals, quotient senyal/soroll.
 - 4.3.Paràmetres que caracteritzen l'espectre de RMN d'una mostra biològica: àrea de la ressonància, desplaçament químic, multiplicitat (desacoblamet), temps de relaxació T2 i T1. Efecte nuclear Overhauser.
 - 4.4. Aplicacions de la RMN a l'estudi de l'estructura i la funció de

proteïnes: el problema de l'asignació espectral a biopolimers, l'espectroscòpia bidimensional i multidimensional, assignació seqüencial i determinació de l'estructura secundària, calcul de l'estructura tridimensional.

4.5. Aplicacions de la RMN a l'estudi de l'estuctura d'àcids nucleics: distàncies observables, assignació de ressonàncies, conformació d'àcids nucleics.

4.6. Aplicacions de la RMN a l'estudi de membranes biològiques.

4.7. Aplicacions de la RMN a l'estudi del metabolisme cellular d'organismes vius: problemes instrumentals específics i informació accessible.

5. Espectroscòpia de Ressonància Paramagnètica Electrònica (RPE). Fonaments i disseny experimental. Aplicacions generals. Marcadors de spin covalents i no covalents: Espectres dels radicals nitròxid, efecte de la viscositat i la temperatura, caracterització dels espectres de RPE, tipus d'informació obtenible, inconvenients de la tècnica, espectres de proteïnes marcades en dissolució, exemples, espectres de mostres cristalines, efecte de la orientació, orientació dels marcadors de spin en membranes biològiques. Saturació de transferència (ST-RPE): Exemples en Biologia i Medicina.

6. Espectroscòpia d'infraroig. Principis, disseny experimental i la transformació de Fourier. Interacció de la radiació d'infraroig amb les molècules. Modes de vibració. Determinació de l'estuctura secundària de proteïnes. Bandes de vibració dels enllaços amida. Aplicació de tècniques matemàtiques per a la resolució de bandes superposades. Les dissolucions aquoses. Altres aplicacions: membranes, àcids nucleics, aplicacions biomèdiques.

BIBLIOGRAFIA

1. An Introduction to Spectroscopy for Biochemists. S.B. Brown, 1980. Academic Press.
2. Nuclear magnetic resonance and its applications to living systems. D.G. Gadian, 1982. Clarendon Press.
3. Principles of Fluorescence Spectroscopy. J.R. Lakowicz, 1983. Plenum Press.

4. Biological Spectroscopy. I.D. Campbell i R.D. Dwek, 1984. Benjamin-Cummings.
5. NMR of proteins and nucleic acids. K. Wüthrich, 1986. Wiley.
6. NMR in Medicine and Biology. Structure determination, tomography, in vivo spectroscopy. K.H. Hausser i H.R. Kalbitzer, 1989. Springer-Verlag.
7. Espectroscopía in vivo por resonancia magnética nuclear. J.M. García Segura, 1991. Eudema Universidad.
8. Fluorescence Spectroscopy. New Methods and Applications. O.S. Wolfbeis, 1993. Springer Verlag.

PRÀCTIQUES.

Tres sessions de treball/observació de laboratori:

1. Estudi del funcionament de: colorímetre, espectrofotòmetre de doble feix, espectofotòmetre diode-array, espectrofluorímetre i densitòmetre d'absorció i fluorescència. Obtenció d'alguns espectres demonstratius.
2. Determinació de la corba de titulació de la beta-alanilhistidina per RMN de protó. Calcul del pH d'una dissolució model i del pH intracel·lular del múscul de granota en repòs i contracció per RMN de protó.
3. Adquisició i interpretació d'espectres d'infraroig d'una proteïna de membrana.

AVALUACIÓ DE L'ASSIGNATURA.

- Examen final amb preguntes curtes/problems i una secció de tipus test: 8 punts.
- Qualificació de pràctiques: 2 punts.

S'aprovarà amb un 5 sobre 10.