

Llicenciatura de Bioquímica

Assignatura optativa: **ESPECTROSCÒPIA DE BIOMOLECULES.**

Curs 1997-1998

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

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

1. Introducció.

- 1.1. Interacció de la radiació electromagnètica amb la matèria.
- 1.2. Dispersió, absorció i emissió.

2. Espectroscòpia d'absorció en l'ultraviolat i visible.

- 2.1. Principis físics.
- 2.2. Disseny experimental.
- 2.3. Espectrofotometria d'absorció.
- 2.4. Aplicacions: estudi de proteïnes, àcids nucleics i altres cromòfors bioquímics.
- 2.5. Influència de l'entorn sobre l'espectre d'absorció: espectres de diferència i de derivades.

3. Espectroscòpia de fluorescència.

- 3.1. Bases físiques: característiques de l'emissió fluorescent, temps de vida de l'estat excitat.
- 3.2. Disseny experimental: problemàtica associada a les mesures de fluorescència.
- 3.3. 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.
- 3.4. Aplicació a l'anàlisi estructural de sistemes macromoleculars: fluoròfors intrínsecs i extrínsecs, accesibilitat, difusió rotacional, mesurament de distàncies.
- 3.5. Aplicacions a l'anàlisi Bioquímica i en Biologia Molecular.
- 3.6. Aplicació a estudis citològics: microscòpia de fluorescència, citofluorometria de flux.
- 3.7. Bases físiques i aplicacions d'altres fenòmens emissius: quimioluminescència i bioluminescència.

4. Espectroscòpia de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN).

4.1. Bases físiques del fenomen de la ressonància: spin nuclear, magnetització macroscòpica i model vectorial, perturbació del sistema i sistema de coordenades giratori.

4.2. Disseny experimental, questions instrumentals: imant, gradients, bobines per a la perturbació del sistema i la seva detecció, puls de 90°, concepte d'excitació selectiva, FID i transformació de Fourier. Quocient senyal/soroll.

4.3. Paràmetres que caracteritzen l'espectre de RMN d'una mostra biològica: àrea de la ressonància, desplaçament químic, multiplicitat (desacoblament). Relaxació, temps de relaxació T2 (concepte d'eco de spin) i T1. Efecte nuclear Overhauser.

4.4. Aplicacions de la RMN a l'estudi del metabolisme cel·lular d'organismes vius. Problemes instrumentals específics i informació accessible: anatomia morfològica i funcional, bioenergètica tisular, patrons metabòlics, marcatge de vies metabòliques.

4.5. Aplicacions de la RMN a l'estudi de l'estructura i la funció de proteïnes. Estudis funcionals amb RMN monodimensional. Estudis estructurals: el problema de l'assignació espectral a biopolimers, l'espectroscòpia bidimensional i multidimensional, assignació seqüencial i determinació de l'estructura secundària, calcul de l'estructura tridimensional.

4.6. Aplicacions de la RMN a l'estudi d'àcids nucleics i membranes biològiques.

5. Espectroscòpia d'infraroig.

5.1. Principis, disseny experimental i transformació de Fourier.

5.2. Interacció de la radiació d'infraroig amb les molècules. Modes de vibració. Les dissolucions aquoses.

5.3. Aplicació de tècniques matemàtiques per a la resolució de bandes superposades.

5.4. Determinació de l'estructura secundària de proteïnes: bandes de vibració dels enllaços amida. Bandes corresponents als aminoàcids.

5.5. Altres aplicacions: membranes, àcids nucleics, aplicacions biomèdiques.

6. Espectroscòpia de Ressonància Paramagnètica Electrònica (RPE, ESR).

6.1. Fonaments i disseny experimental.

6.2. Marcadors de spin covalents i no covalents: Espectres dels radicals nitròxid. Tipus d'informació obtenible. Inconvenients de la tècnica. Espectres de proteïnes marcades en dissolució: exemples. Espectres de mostres cristal·lines. Aplicacions en membranes biològiques.

6.3. Espectres dels metalls de transició. Aplicacions.

6.4. Saturació de transferència (ST-RPE).

6.5. Altres aplicacions en Biologia i Medicina.

BIBLIOGRAFIA

1. An Introduction to Spectroscopy for Biochemists. S.B. Brown, 1980. Academic Press.
2. Principles of Fluorescence Spectroscopy. J.R. Lakowicz, 1983. Plenum Press.
3. Biological Spectroscopy. I.D. Campbell i R.D. Dwek, 1984. Benjamin-Cummings.
4. NMR of proteins and nucleic acids. K. Wüthrich, 1986. Wiley.
5. NMR in Medicine and Biology. Structure determination, tomography, in vivo spectroscopy. K.H. Hausser i H.R. Kalbitzer, 1989. Springer-Verlag.
6. Espectroscòpia *in vivo* por resonancia magnética nuclear. J.M. García Segura, 1991. Eudema Universidad.
7. Fluorescent and Luminiscent Probes for Biological Activity. W.T. Masson, 1993. Academic Press
8. Fluorescence Spectroscopy. New Methods and Applications. O.S. Wolfbeis, 1993. Springer Verlag.
9. Biomolecular NMR Spectroscopy. J.N.S. Evans, 1995. Oxford University Press.
10. NMR and its applications to living systems, 2nd Edition. D.G. Gadian, 1995. Oxford University Press.
11. Infrared spectroscopy of biomolecules. H.H. Mantsch i D. Chapman, 1996, Wiley-Liss.

PRÀCTIQUES.

Tres sessions de treball/observació de laboratori:

1. Estudi del funcionament de: colorímetre, espectrofotòmetre de doble feix, espectrofotòmetre diode-array, espectrofluorímetre i densitòmetre d'absorció i fluorescència. Obtenció d'alguns espectres demostratius.
2. Pràctiques a l'aula d'informàtica d'assignació d'espectres de protó amb el paquet informàtic "Problem solving in NMR spectroscopy for IBM PC. Biosoft". Visita guiada al Servei de RMN de la UAB.
3. Adquisició i interpretació d'espectres d'infraroig d'una proteïna de membrana.