

Espectroscòpia de biomolècules**2013/2014**

Codi: 100905

Crèdits: 6

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	OT	4	0

Professor de contacte

Nom: Joan-Ramon Daban Balaña

Correu electrònic: JoanRamon.Daban@uab.cat

Utilització d'idiomes

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Algun grup íntegre en anglès: No

Algun grup íntegre en català: No

Algun grup íntegre en espanyol: No

Prerequisits

Haver aprovat les assignatures: Tècniques Instrumentals Bàsiques i Tècniques Instrumentals Avançades

Objectius

Gran part del coneixement científic de la Natura està basat en l'estudi de diversos fenòmens d'absorció i d'emissió que es produeixen quan la radiació electromagnètica interacciona amb la matèria. En biociències es fan servir molt freqüentment tècniques espectroscòpiques, però malauradament molts professionals es limiten a aplicar com usuaris aquestes tècniques sense tenir coneixements científico-tècnics prou ben basats com per aprofitar totes les potencialitats de les diverses espectroscòpies. En aquesta assignatura en pretén fer un estudi aprofundit dels fonaments científics i tècnics de les principals tècniques espectroscòpiques d'interès per a la Bioquímica i Biologia Molecular: espectroscòpia d'absorció en la regió visible i ultraviolada; espectroscòpia de fluorescència i quimioluminescència; espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear; espectroscòpia en la regió de l'infraroig; dicromisme circular. En tots els casos s'estudiaran molt detalladament els instruments, i les aplicacions analítiques i estructurals, que aquestes tècniques tenen en diversos camps de les ciències de la vida.

Competències

Bioquímica

- Aplicar les tècniques principals d'utilització en sistemes biològics: mètodes de separació i caracterització de biomolècules, cultius cel·lulars, tècniques de DNA i proteïnes recombinants, tècniques immunològiques, tècniques de microscòpia...
- Col·laborar amb altres companys de treball.
- Definir l'estructura i la funció de les proteïnes i descriure les bases bioquímiques i moleculars del seu plegament, el trànsit intracel·lular, la modificació posttraduccional i el recanvi.
- Dissenyar experiments i comprendre les limitacions de l'aproximació experimental.
- Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
- Identificar l'estructura molecular i explicar la reactivitat de les diferents biomolècules: carbohidrats, lípids, proteïnes i àcids nucleics.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
- Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.
- Percebre clarament els avenços actuals i els possibles desenvolupaments futurs a partir de la revisió de la literatura científica i tècnica de l'àrea de bioquímica i biologia molecular.

- Tenir i mantenir un coneixement actualitzat de l'estructura, l'organització, l'expressió, la regulació i l'evolució dels gens en els éssers vius.
- Utilitzar les metodologies analítiques per a l'assaig de l'activitat biològica dels components cel·lulars, en especial enzims, tant in vitro com in vivo.

Resultats d'aprenentatge

1. Aplicar les tècniques espectroscòpiques i microscòpiques que permeten localitzar molècules específiques a les cèl·lules i determinar l'activitat enzimàtica.
2. Col·laborar amb altres companys de treball.
3. Descriure amb profunditat els mètodes biofísics que permeten conèixer l'estructura i les propietats dinàmiques del DNA i de la cromatina.
4. Descriure en profunditat les tècniques espectroscòpiques i de difracció que permeten establir l'estructura de les biomolècules i dels complexos supramoleculars de la matèria viva.
5. Descriure les bases científicotècniques en què es fonamenta el coneixement de l'estructura i les propietats químiques de les biomolècules.
6. Dissenyar experiments i comprendre les limitacions de l'aproximació experimental.
7. Explicar amb profunditat els mètodes biofísics que permeten conèixer l'estructura i les propietats dinàmiques de les proteïnes.
8. Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
9. Identificar els avenços científics i tècnics en temes biofísics.
10. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
11. Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
12. Pensar d'una forma integrada i abordar els problemes des de diferents perspectives.

Continguts

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 i quimioluminescència

3.1. Bases físiques: conversió interna, relaxació vibracional, relaxació emissiva i no emissiva.

3.2. Disseny experimental: problemàtica associada a les mesures de fluorescència, estratègies i components que permeten augmentar la sensibilitat.

3.3. Fluorescència resolta en el temps: temps de vida de l'estat excitat, instruments de mesura, aplicacions bioquímiques.

3.4 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.

3.5. Aplicació a l'anàlisi estructural de sistemes macromoleculars: fluoròfors intrínsecs i extrínsecs, accessibilitat, difusió rotacional, mesurament de distàncies.

3.6. Aplicacions a l'anàlisi Bioquímica i en Biologia Molecular.

3.7. Aplicació a estudis de Biologia Cel·lular: microscòpia de fluorescència, citofluorometria de flux.

3.8. Bases físiques i aplicacions d'altres fenòmens emissius: quimioluminescència i bioluminescència.

4. Espectroscòpia de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN)

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

4.2. Disseny experimental, qüestions instrumentals: imant, bobines per a la pertorbació dels sistema i la seva detecció, puls de 90°, 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. Relaxació: temps de relaxació T_2 (concepte d'eco de spin) i T_1 . Efecte nuclear Overhauser i hiperpolarització.

4.4. Aplicacions biomèdiques de la RMN. Informació accessible: anatomia morfològica i funcional (gradients i concepte d'excitació selectiva, contrast a les imatges de RM, concepte d'espai k). Bioenergètica tisular i patrons metabòlics. Espectroscòpia de ressonància magnètica single/multivoxel, i aplicacions a estudis preclínic i clínics.

5. Espectroscòpia d'infraroig

5.1. Interacció de la radiació d'infraroig amb les molècules. Modes de vibració.

5.2. Principis, disseny experimental i transformació de Fourier. L'interferograma. L'apodització.

5.3. Aspectes pràctics: les dissolucions aquoses. Avantatges de la transformació de Fourier.

5.4. Aplicació de tècniques matemàtiques per a la resolució de bandes superposades. Derivades, desconvolucions i ajust de bandes.

5.5. Proteïnes: bandes de vibració dels enllaços amida. Bandes corresponents als aminoàcids. Espectroscòpia de diferència. Determinació de l'estructura secundària. Intercanvi H/D. Espectres de dicroïsme.

5.6. Altres aplicacions: Lípids, membranes, àcids nucleics, aplicacions biomèdiques.

6. Dicroïsme Circular (CD)

6.1. Fonaments. Activitat òptica. Espectre de dicroïsme circular.

6.2. Instrumentació.

6.3. Estructura secundària de proteïnes. Polipèptids en conformacions α , β i aperiòdica. Quantificació de l'estructura secundària. Espectres de CD de les cadenes laterals.

6.4. Exemples: hemoglobina, ribonucleasa, pèptids relacionats amb la malaltia d'Alzheimer.

Metodologia

Teoria. Els professors explicaran gran part del contingut del temari amb el suport de material audiovisual que estarà a disposició dels estudiants al Campus Virtual (CV) de l'assignatura amb antelació a l'inici de cadascun

dels temes del curs. Per poder seguir bé les explicacions, els estudiants han de portar el material del CV a classe. Aquestes sessions tractaran de les parts més conceptuals de l'assignatura. Altres parts de l'assignatura hauran d'ésser estudiades de manera autònoma per part dels alumnes. Els professors indicaran exactament quins temes s'han d'estudiar d'aquesta manera i el material docent que cal fer servir.

Problemes. Els professors proposaran problemes/treballs científics relacionats amb temes d'espectroscòpia de biomolècules. La manera concreta de desenvolupar cada tipus de problema/treball científic s'indicarà a classe o al CV. Els alumnes faran petits grups per resoldre i fer exposicions orals i escrites dels problemes/treballs científics proposats.

Pràctiques. Per tal d'adquirir coneixements tècnics sobre els equipaments actuals relacionats amb l'espectroscòpia es faran sessions de pràctiques en diversos Serveis Científico-Tècnics i Laboratoris de la UAB: Laboratori de Luminescència i Espectroscòpia de Biomolècules; Servei de Microscòpia; Servei de Ressonància Magnètica; Laboratori de Biofísica.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes teòriques	39	1,56	1, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12
Tipus: Supervisades			
Presentació pública de problemes/treballs científics	6	0,24	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8
Pràctiques	9	0,36	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
Tutoria	6	0,24	1, 3, 4, 5, 7, 9, 12
Tipus: Autònomes			
Estudi personal	52,5	2,1	1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Preparació de problemes/treballs científics	30	1,2	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12

Avaluació

Avaluació

La qualificació es basarà en 4 elements:

- (1) Exposició pública de problemes/treballs científics a classe (avaluació grupal): màxim 1 punt (10%).
- (2) Lliurament d'informes de problemes/treballs científics (avaluació grupal): màxim 1 punt (10%).
- (3) Avaluació de la participació en pràctiques: màxim 1 punt (10%)
- (4) Prova final de continguts teòrics: màxim 7 punts (70%)

Es superarà l'assignatura quan la suma de les qualificacions obtingudes sigui 5 punts (sobre un màxim de 10)

Es considerarà no presentat quan la valoració de totes les activitats d'avaluació realitzades per l'alumne no li permeti assolir la qualificació global de 5 (en el supòsit que hagués obtingut la màxima nota en totes elles)

Les dates de revisió de les proves s'indicarà amb antelació mínima de 2 dies.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Avaluació de problemes/treballs científics	10%	0,75	0,03	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12
Avaluació de pràctiques	10%	0,75	0,03	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Avaluació presentació de problemes/treballs científics	10%	0,75	0,03	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Avaluació prova final	70%	5,25	0,21	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12

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. Fluorescence Spectroscopy. New Methods and Applications. O.S. Wolfbeis, 1993. Springer Verlag.
 8. Biomolecular NMR Spectroscopy. J.N.S. Evans, 1995. Oxford University Press.
 9. NMR and its Applications to Living Systems, 2nd Edition. D.G. Gadian, 1995. Oxford University Press.
 10. Infrared Spectroscopy of Biomolecules. H.H. Mantsch i D. Chapman, 1996, Wiley-Liss.
 11. Técnicas Instrumentales de Análisis en Bioquímica. J-M. García Segura y col., 1999, Editorial Síntesis, Madrid
 12. Fluorescent and Luminiscent Probes for Biological Activity. W.T. Mason, 1999. Academic Press
 13. Magnetic Resonance in Chemistry and Medicine. Ray Freeman, 2003. Oxford University Press.
 14. Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences. Werner Schmidt, 2005. Wiley-VCH.
 15. Spectroscopy for the Biological Sciences. Gordon G. Hammes, 2005. Wiley-Interscience.
 16. Physical principles and techniques of protein chemistry. Sydney J. Leach Ed., 1973. Academic Press.
 17. In vivo NMR Spectroscopy. Principles and Techniques. 2nd Edition. Robin A. de Graff, 2007. Wiley.
 18. Fluorescence Applications in Biotechnology and Life Sciences. Ewa M. Goldys Ed., 2009. Wiley-Blackwell.
- Articles científics originals i enllaços web que s'aniran indicant durant el curs, a classe i al CV.