

Espectroscopía de biomoléculas

Código: 100905
Créditos ECTS: 6

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OT	4	0

Contacto

Nombre: Joan-Ramon Daban

Correo electrónico: JoanRamon.Daban@uab.cat

Uso de idiomas

Lengua vehicular mayoritaria: catalán (cat)

Algún grupo íntegramente en inglés: No

Algún grupo íntegramente en catalán: No

Algún grupo íntegramente en español: No

Equipo docente

Josep Bartomeu Cladera Cerda

Silvia Lope Piedrafità

Prerequisitos

Tener aprobadas las asignaturas: Técnicas Instrumentales Básicas y Técnicas Instrumentales Avanzadas.

Objetivos y contextualización

Gran parte del conocimiento científico de la Naturaleza se basa en el estudio de varios fenómenos de absorción y emisión que ocurren cuando la radiación electromagnética interactúa con la materia. En biociencias se utilizan las técnicas espectroscópicas con mucha frecuencia, pero desafortunadamente muchos profesionales se limitan a aplicar como usuarios estas técnicas sin tener conocimientos científico-técnicos lo suficientemente bien fundamentados como para poder aprovechar todas las potencialidades de las diversas espectroscopias. En esta asignatura se pretende realizar un estudio en profundidad de los fundamentos científicos y técnicos de las principales técnicas espectroscópicas de interés para la Bioquímica y Biología Molecular: espectroscopia de absorción en la región ultravioleta y visible; espectroscopia de fluorescencia y quimioluminiscencia; espectroscopía de resonancia magnética nuclear; espectroscopia en la región infrarroja; dicroísmo circular. En todos los casos se estudiarán muy detalladamente los instrumentos, y las aplicaciones analíticas y estructurales, que estas técnicas tienen en diversos campos de las ciencias de la vida.

Competencias

- Aplicar las técnicas principales de utilización en sistemas biológicos: métodos de separación y caracterización de biomoléculas, cultivos celulares, técnicas de DNA y proteínas recombinantes, técnicas inmunológicas, técnicas de microscopía...
- Colaborar con otros compañeros de trabajo
- Definir la estructura y función de las proteínas y describir las bases bioquímicas y moleculares de su plegamiento, tráfico intracelular, modificación post-traducciona l y recambio
- Diseñar experimentos y comprender las limitaciones de la aproximación experimental

- Gestionar la información, organización y planificación del trabajo
- Identificar la estructura molecular y explicar la reactividad de las distintas biomoléculas: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos
- Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
- Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
- Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas
- Percibir claramente los avances actuales y los posibles desarrollos futuros a partir de la revisión de la literatura científica y técnica del área de Bioquímica y Biología Molecular
- Tener y mantener un conocimiento actualizado de la estructura, organización, expresión, regulación y evolución de los genes en los seres vivos
- Utilizar las metodologías analíticas para el ensayo de la actividad biológica de los componentes celulares, en especial enzimas, tanto in vitro como in vivo

Resultados de aprendizaje

1. Aplicar las técnicas espectroscópicas y microscópicas que permiten localizar moléculas específicas en las células y determinar la actividad enzimática
2. Colaborar con otros compañeros de trabajo
3. Describir en profundidad las técnicas espectroscópicas y de difracción para establecer la estructura de las biomoléculas y de los complejos supramoleculares de la materia viva
4. Describir en profundidad los métodos biofísicos que permiten conocer la estructura y propiedades dinámicas del DNA y de la cromatina
5. Describir las bases científico-técnicas en las que se fundamenta el conocimiento de la estructura y propiedades químicas de las biomoléculas
6. Diseñar experimentos y comprender las limitaciones de la aproximación experimental
7. Explicar en profundidad los métodos biofísicos que permiten conocer la estructura y propiedades dinámicas de las proteínas
8. Gestionar la información, organización y planificación del trabajo
9. Identificar los avances científicos y técnicos en temas biofísicos
10. Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
11. Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
12. Pensar de una forma integrada y abordar los problemas desde diferentes perspectivas

Contenido

1. Introducción

- 1.1. Interacción de la radiación electromagnética con la materia.
- 1.2. Dispersión, absorción y emisión.

2. Espectroscopia de absorción en la región ultravioleta y visible

- 2.1. Principios físicos
- 2.2. Diseño experimental.
- 2.3. Espectrofotometría de absorción.
- 2.4. Aplicaciones: estudio de proteínas, ácidos nucleicos y otros cromóforos bioquímicos.
- 2.5. Influencia del entorno sobre el espectro de absorción: espectros de diferencia y de derivadas.

3. Espectroscopia de fluorescencia y quimioluminiscència

- 3.1. Bases físicas: conversión interna, relajación vibracional, relajación emisiva y no emisiva.

3.2. Diseño experimental: problemas asociados con las mediciones de fluorescencia, estrategias y componentes que permiten aumentar la sensibilidad.

3.3. Fluorescencia resuelta en el tiempo: tiempo de vida del estado excitado, instrumentos de medición del tiempo de vida; aplicaciones bioquímicas.

3.4 Fenómenos que pueden afectar la emisión fluorescente: efectos del entorno y del disolvente, quenching colisional de la fluorescencia, polarización, formación de dímeros excitados (excímers), transferencia de energía.

3.5. Aplicación al análisis estructural de sistemas macromoleculares: fluoróforos intrínsecos y extrínsecos, accesibilidad, difusión rotacional, medición de distancias.

3.6. Aplicaciones analíticas en Bioquímica y Biología Molecular.

3.7. Aplicación a los estudios de la Biología Celular: microscopía de fluorescencia, citofluorimetría de flujo.

3.8. Bases físicas y las aplicaciones de otros fenómenos emisivos: quimioluminiscencia y bioluminiscencia.

4. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

4.1. Introducción. Bases físicas del fenómeno de la resonancia: spin nuclear, condición de resonancia, magnetización macroscópica y modelo vectorial, sistema de coordenadas giratorio.

4.2. Diseño experimental, cuestiones instrumentales: imán, bobines para la perturbación del sistema y su detección, pulso de radiofrecuencia, señal de RMN (FID) y transformada de Fourier. Coeficiente señal/ruido.

4.3. Parámetros que caracterizan el espectro de RMN de una muestra biológica. Área de la resonancia. Desplazamiento químico. Multiplicidad. Relajación: tiempos de relajación T2 (concepto de eco de spin) y T1. Efecto nuclear Overhauser e hiperpolarización.

4.4. Aplicaciones biomédicas de la RMN. Información accesible: anatomía morfológica y funcional. Fundamentos de la imagen por resonancia magnética. Gradientes de campo magnético y concepto de excitación selectiva, concepto de espacio k, contraste en las imágenes de RM. Espectroscopia de resonancia magnética single/multivoxel y patrones metabólicos. Aplicaciones en estudios preclínicos y clínicos.

5. Espectroscopia y microscopia de infrarrojo.

5.1 La interacción de la radiación infrarroja con las moléculas. Modos vibracionales.

5.2 El interferómetro de Michelson. Principios, diseño experimental y transformada de Fourier. El interferograma. La apodización.

5.3 Aspectos prácticos: espectros en suspensión acuosa. Ventajas de la espectroscopia FTIR.

5.4 Técnicas matemáticas de resolución de bandas: derivación, deconvolución y ajuste de bandas.

5.5 Proteínas. Bandas vibracionales asociadas a la amida I y estructura secundaria de proteínas. Espectroscopia de diferencia.

5.6 Lípidos y membranas biológicas. Estudios termotrópicos.

5.7 Microscopia de infrarrojo y luz de sincrotrón.

Ejemplos i casos de investigación con espectroscopia y microscopia de infrarrojo.

6. Dicroísmo circular (CD).

6.1 Principios. Actividad óptica. Elipticidad. El espectro de dicroísmo circular.

6.2 Instrumentación.

6.3 Estructura secundaria de proteínas. Ejemplos.

Metodología

Teoría. Los profesores explicarán gran parte del contenido del temario con el apoyo de material audiovisual que estará disponible a los estudiantes en el Campus Virtual (CV) de la asignatura con antelación al comienzo de cada uno de los temas del curso. Para poder seguir las explicaciones, los estudiantes deben traer el material del CV a clase. Estas sesiones tratarán de las partes más conceptuales de la asignatura. Otras partes de la asignatura deben ser estudiadas de manera autónoma por los estudiantes. Los profesores indicarán exactamente qué temas tendrán que ser estudiados de esta manera y material docente que deberá utilizarse.

Problemas. Los profesores propondrán problemas/trabajos científicos relacionados con la Espectroscopia de Biomoléculas. La manera concreta de desarrollar cada tipo de problema/trabajo científico se indicará en clase o en el CV. Los alumnos formarán pequeños grupos para resolver y hacer exposiciones orales i escritas de los problemas/trabajos científicos propuestos.

Prácticas. Para adquirir conocimientos técnicos sobre los instrumentos actuales relacionados con la espectroscopía se realizarán sesiones de prácticas en diversos Servicios Científico-Técnicos y Laboratorios de la UAB: Laboratorio de Luminescencia i Espectroscopia de Biomoléculas; Servicio de Microscopia; Servicio de Resonancia Magnética; Laboratorio de Biofísica.

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clases de teoría	36	1,44	1, 4, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12
Tipo: Supervisadas			
Prácticas	9	0,36	1, 2, 4, 3, 5, 6, 7, 8
Preparación en grupo de una exposición pública de problemas/trabajos científicos	6	0,24	1, 2, 4, 3, 5, 7, 8
Tutoría	6	0,24	1, 4, 3, 5, 7, 9, 12
Tipo: Autónomas			
Estudio individual	55,5	2,22	1, 4, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Preparació de problemas/trabajos científicos	30	1,2	1, 2, 4, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12

Evaluación

La calificación se basa en cuatro elementos:

- (1)Exposición de problemas/trabajos científicos en clase (evaluación de grupo): máximo 1 punto (10%).
- (2)Entrega de informes de problemas/trabajo científicos (evaluación de grupo): máximo 1 punto (10%).
- (3)Evaluación de participación en prácticas: máximo 1 punto (10%)

(4) Prueba final de contenido teórico: máximo 7 puntos (70%).

Se superará a la asignatura cuando la suma de las calificaciones obtenidas sea ≥ 5 puntos (sobre un máximo de 10).

Se considerará no evaluable cuando la valoración de las actividades de evaluación realizadas por el estudiante no le permita alcanzar la calificación total de 5 (en el supuesto de que hubiese obtenido la más alta nota en todas ellas).

Las fechas de revisión de las pruebas se indicará con un mínimo de 2 días de antelación.

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Evaluación de la presentación de problemas/trabajos científicos	10%	0,75	0,03	1, 2, 4, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Evaluación de prácticas	10%	0,75	0,03	1, 2, 4, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
Evaluación de problemas/trabajos científicos	10%	0,75	0,03	1, 4, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12
Examen final	70%	5,25	0,21	1, 4, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12

Bibliografía

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. Espectroscopía 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.

Durante el curso se indicarán artículos científicos originales y enlaces web.