

**PROGRAMA DE CURSO primavera 2021**

| Unidad Académica   |     |                             | Tipo de actividad curricular  |                                |
|--|-----|-----------------------------|---|--------------------------------|
| Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  |     |                             | Obligatoria   |                                |
| Semestre   | SCT | Horas de trabajo presencial |   | Horas de trabajo no presencial |
| 5  | 8   | 9                           |   | 3                              |
| Nombre de la actividad curricular  |     |                             | Requisitos  |                                |
| Estructura y Función de Proteínas  |     |                             | FísicoQuímica II<br>Bioquímica general  |                                |
| Competencias a las que contribuye el curso   |     |                             | Sub-competencias  |                                |
| <p>INV. 1. Indagar literatura científica y técnica, utilizando criterios de selección y pertinencia, discriminando lo relevante y dominando diversas herramientas de búsqueda de información.</p> <p>INV. 2. Aplicar el método científico para proponer y resolver problemas básicos y/o aplicados en sistemas biológicos, integrando el conocimiento de resultados experimentales y los mecanismos moleculares y las transformaciones químicas involucradas en los procesos biológicos.</p> <p>INV. 3. Comunicar conocimiento científico a públicos expertos y no expertos, a través de estrategias de divulgación y enseñanza del conocimiento científico, adaptándose al contexto sociocultural de los receptores y aprendices.</p> |     |                             | <p>INV. 1.2. Busca, obtiene e interpreta la información de la literatura científica y de las principales bases de datos biológicos.</p> <p>INV.2.1. Soluciona problemas químico biológico, mediante argumentaciones lógicas desde la racionalidad química-biológica en trabajos de laboratorio de investigación cumpliendo con las normas vigentes de seguridad, manipulación y eliminación de residuos químicos y/o biológicos, con respeto al medioambiente.</p> <p>INV.2.3. Diseña y/o ejecuta estrategias experimentales en forma autónoma, eficaz y eficiente, discriminando los métodos experimentales y la instrumentación más apropiada para el abordaje y la resolución de la problemática planteada.</p> <p>INV.2.4. Evalúa la validez de la hipótesis, mediante el análisis y la interpretación crítica de los datos experimentales.</p> |                                |
| PROPÓSITO GENERAL DEL CURSO  |     |                             |   |                                |
| <p>El Propósito de este curso es que el estudiante explique la estructura, la organización y los cambios conformacionales de las proteínas para analizar los mecanismos de reacción y regulación enzimática, así como, los fenómenos de interacción proteína-proteína y proteína-ligando.</p> <p>Diseña y ejecuta procedimientos experimentales para abordar el estudio de problemas relacionados con BQ de proteínas. Además, analiza e interpreta críticamente los resultados experimentales.</p> <p>Genera un texto de revisión bibliográfica actualizada. Asimismo, expone y argumenta las ideas contenidas en el texto frente a un público especializado.</p>   |     |                             |   |                                |

La metodología del curso incluye clases expositivas, discusiones teóricas de contenidos y resolución de problemas en sesiones de trabajos colaborativos, trabajos experimentales en laboratorio, revisión bibliográfica de un tema asignado en forma grupal y su presentación pública.

#### **RESULTADOS DE APRENDIZAJE**

RA1: Explica los mecanismos de catálisis de las enzimas.

RA2: Evalúa y aplica tanto modelos como metodologías para el estudio de cambios conformacionales, eventos de unión de ligando a proteína y de mecanismos de funcionamiento de proteínas.

RA3: Aplica los principios del equilibrio químico y la teoría del estado de transición para estudiar el mecanismo de plegamiento de las proteínas y su estabilidad estructural.

RA4: Genera un texto de revisión bibliográfica científica. Además, es capaz de plantear y defender las ideas contenidas en el texto frente a los profesores y compañeros.

RA5: Diseña y ejecuta procedimientos experimentales para abordar el estudio de problemas relacionados con BQ de proteínas. Comunica y discute con rigor científico los resultados experimentales.

#### Competencias genéricas que se desarrollan en este curso:

- Trabajo en equipo, el cual promueve a su vez el desarrollo tanto de habilidades comunicativas como sociales.
- Creatividad, enfatizado en la resolución de problemas.
- Ética y Responsabilidad tanto social como personal.

| RA a que contribuye la Unidad  | Número | Nombre de la Unidad  | Duración en Semanas  |
|--|--------|--|--|
| RA2, RA3 y RA4   | 01     | Mecanismos alostéricos de regulación enzimática  | 2  |
| <b>Contenidos</b>  |        | <b>Indicadores de desempeño</b>  | <b>Bibliografía por unidad</b>   |
| <p>Mecanismos de regulación alostérica de enzimas de rutas metabólicas controladas por retroalimentación.</p> <p>Modelos para el estudio de comportamiento cooperativo en enzimas alostéricas.</p> |        | <p>Explica el comportamiento sigmoide y cooperativo de estas enzimas con su sustrato e identifica la acción de los efectores alostéricos activadores e inhibidores en el comportamiento cinético de estas enzimas.</p> <p>Identifica con ejemplos el tipo de mecanismo (concertado o secuencial) en enzimas alostéricas, desde el punto de vista estructural y cinético.</p> <p>Interpreta resultados experimentales utilizando modelos alostéricos.</p> | <p>Gerhart J. From feedback inhibition to allostery: the enduring example of aspartate transcarbamoylase. FEBS Journal 281 (2014) 612–620.</p> <p>Changeux J-P. 50 years of allosteric interactions: the twists and turns of the models. Nature Reviews 14 (2013) 819-829.</p> |

| RA a que contribuye la Unidad   | Número | Nombre de la Unidad   | Duración en Semanas   |
|---|--------|---|---|
| RA2, RA4 y RA5  | 02     | Métodos para el estudio de la Estructura y Función de Proteínas   | Durante todo el curso<br>5  |
| <b>Contenidos</b>   |        | <b>Indicadores de desempeño</b>   | <b>Bibliografía por unidad</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Principios básicos de técnicas espectroscópicas para el estudio de la estructura y función de proteínas: técnicas espectroscópicas y de magnéticas. A) espectroscopía de fluorescencia; B) actividad óptica; C) resonancia magnética nuclear y electrónica.</li> </ul> |        | <p>Interpreta los espectros de fluorescencia, dicroísmo circular y de resonancia magnética nuclear y electrónica para obtener información respecto a los cambios conformacionales que experimentan las proteínas relacionados con su función.</p> | <p>Lakowicz JR. Principles of Fluorescence, 2006. 3th edition. Cap 1; cap 8 (8.1 a 8.5); cap 10 (10.1-10.3 y 10.5); cap 11 (11.1-11.3); cap 13 (13.1-13.4)</p> <p>Tinoco et al. Physical Chemistry. 2014. Caps 13 y 14.</p> |

|  |   |   |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Espectroscopía de fluorescencia: factores que gobiernan la intensidad de la emisión, propiedades de los grupos fluorescentes intrínsecos y extrínsecos, sensibilidad a cambios del medio ambiente, mediciones de distancia intercromóforos, seguimiento de unión de ligandos y de cambios conformacionales.</li> <li>• Tipos de mediciones de fluorescencia y las ecuaciones involucradas.</li> <li>• Resonancia magnética nuclear y electrónica: determinación del momento magnético, y las ecuaciones respectivas, análisis de los espectros, aplicaciones al estudio de macromoléculas y grupos paramagnéticos.</li> <li>• Metodologías de cromatografía y precipitación por sales para la purificación y concentración de proteínas.</li> <li>• Métodos para la producción y purificación de proteínas</li> </ul> | <p>A partir de los principios químicos y físicos que gobiernan la fluorescencia, diseña estrategias, de forma teórica y experimental, para estudiar los cambios conformacionales, mecanismos de reacción enzimática, estructura y plegamiento de proteínas, unión de ligandos a macromoléculas.</p> <p>Diseña estrategias experimentales de aplicación de mediciones de fluorescencia.</p> <p>Diseña estrategias para estudiar metaloproteasas e interacción proteína-ligando, mediante técnicas de NMR y de EPR.</p> <p>Diseña estrategias de purificación de proteínas.</p> | <p>Van Holde et al. 2006.<br/>Cap 9, 10, 11, 12, 15</p> |
|--|---|---|

| RA a que contribuye la Unidad   | Número | Nombre de la Unidad   | Duración en Semanas   |
|---|--------|---|---|
| RA1, RA4 y RA5  | 03     | Mecanismos de reacción  | 5   |
| Contenidos  |        | Indicadores de desempeño  | Bibliografía por unidad   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Principios de la cinética de multisustratos en estado estacionario: reacciones ordenadas, al azar (desordenadas) y ping pong (doble desplazamiento)</li> <li>Principios de cinética pre-estado estacionario/transiente. Descripción de metodologías de medición y análisis de los resultados de cinética de pre-estado estacionario, transiente y en condiciones de altas concentraciones de enzimas</li> <li>Mecanismos de catálisis enzimática: Catálisis intramolecular, por proximidad y orientación, ácido-básica, covalente (nucleofílica y electrofílica), electrostática, por iones metálicos, por unión preferencial al estado de transición.</li> <li>Mecanismos de reacción de enzimas como seril-proteasas, cisteinil-proteinas, ribonucleasa, lisozima, metaloenzima y quinasas.</li> </ul> |        | <p>Interpreta resultados cinéticos (estado estacionario, pre-estado estacionario y cinética rápida) para determinar el tipo de mecanismo cinético de las reacciones catalizadas por las enzimas.</p> <p>Explica cómo los mecanismos químicos de catálisis contribuyen al aumento de la velocidad de las reacciones enzimáticas y propone herramientas experimentales que permiten identificar los tipos de mecanismos de reacción involucrados y que dan cuenta de la función en una enzima.</p> <p>Diseña estrategias para determinación de mecanismos cinéticos y de residuos del sitio activo.</p> | <p>Voet D &amp; Voet J, Biochemistry, 2011. Cap 3, 13 y 14</p> <p>Cleland, W. W. (1963) The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products. Biochim. Biophys. Acta 67, 104–137.</p> <p>Ferhst A. Structure and mechanisms in protein science, 1999. Cap 1 sección F, Cap 2 secciones A-H, Cap 3 sección J Cap 5 secciones B, D, E, G, Cap 7 secciones A y B), Cap 9 secciones A y B, Cap 11 secciones A y C. Cap12 secciones A y B</p> <p>Cornish-Bowden A, Fundamentals of Enzyme Kinetics, 4th ed. 2009, Cap 8.</p> |

| RA a que contribuye la Unidad   | Número | Nombre de la Unidad  | Duración en Semanas   |
|---|--------|--|---|
| RA2, RA3y RA4   | 04     | Estructura y mecanismos de plegamiento de proteínas  | 2   |
| Contenidos  |        | Indicadores de desempeño   | Bibliografía por unidad   |
| <p>Mecanismos de plegamiento y mal plegamiento de proteínas como pregunta biológica fundamental.</p> <p>Hipótesis termodinámica de Anfinsen.</p> <p>Conceptos generales del equilibrio químico y barrera de energía libre para comprender los procesos de formación de la estructura de las proteínas y cambios conformacionales que experimentan las proteínas.</p> <p>Aplicación de diversas metodologías espectroscópicas para la determinación de la estabilidad de una proteína mediante desplazamiento de su equilibrio conformacional.</p> <p>Métodos de estudios cinéticos para caracterizar el mecanismo de plegamiento de las proteínas.</p> <p>Importancia de las interacciones cooperativas las proteínas en sus mecanismos de plegamiento y estabilidad estructural.</p> <p>Mal plegamiento de proteínas</p> |        | <p>Explica el proceso de plegamiento de una proteína como una búsqueda conformacional hacia un estado de mínima energía del sistema y el concepto de estabilidad conformacional.</p> <p>Utiliza modelos simples derivados de los principios químicos para extraer parámetros termodinámicos y cinéticos que describen el proceso de formación de estructuras en cadenas polipeptídicas.</p> <p>Relaciona el rol de las chaperonas en el plegamiento <i>in vivo</i> de las proteínas y las causas del mal plegamiento de estructura de proteínas.</p> | <p>Ferhst A. Structure and mechanisms in protein science, 1999, capítulo 17 y 18.</p> |

| RA a que contribuye la Unidad   | Número | Nombre de la Unidad   | Duración en Semanas   |
|---|--------|---|---|
| RA2 y RA5   | 05     | Bioquímica de Moléculas Individuales  | 1   |
| Contenidos  |        | Indicadores de desempeño  | Bibliografía por unidad   |
| <p>Conceptos generales de la manipulación de moléculas individuales, definición de términos, historia y estado de arte.</p> <p>Revisión de diferentes técnicas de manipulación como pinzas ópticas, microscopía de fuerza atómica, pinzas magnéticas, etc. Técnicas de visualización, como técnicas fluorescentes como fluorescencia de reflexión interna total (TIRF), fluorescencia confocal (FCS), etc.</p> <p>Estudios en proteínas y ácidos nucleicos a nivel de moléculas individuales.</p> |        | <p>Explica las diferencias conceptuales entre un sistema a nivel de muchas moléculas (<i>in multiplo</i>) con respecto a un sistema de moléculas individual (<i>in singulo</i>).</p> <p>Identifica las diferentes técnicas que existen para manipular moléculas individuales y conoce las aplicaciones de ellas.</p> <p>Diseña experimentos para estudiar sistemas a nivel de moléculas individuales.</p> | <p>Wilson, C.A.M. Single molecule studies by optical tweezers: folding and unfolding of glucokinase from <i>Thermococcus litoralis</i>. Tesis de doctorado, Universidad de Chile.</p> |

| Metodologías  | Requisitos de Aprobación y Evaluaciones del Curso   |
|---|---|
| Estas actividades incluyen evaluaciones en base a controles de seminarios, trabajos prácticos e informes de laboratorio, pruebas teóricas parciales, globales y elaboración de ensayo bibliográficos. | <p>Evaluación de 7 seminarios: 60 %</p> <p>Evaluación de laboratorios (test de entrada e informes): 10 %</p> <p>Ensayo bibliográfico: 30%</p> |
| Bibliografía Obligatoria  |   |
| Apuntes de clases de los profesores responsables de cada unidad.  |   |
| Año de vigencia del programa:   | 2021  |

|   |   |
|---|---|
| <b>Equipo responsable del programa:</b> | María Antonieta Valenzuela (coordinadora)<br>Lorena García (coordinadora)<br>Mauricio Baez<br>Christian A.M. Wilson<br>Andrés Barriga |
|---|---|

## CALENDARIO DE ACTIVIDADES ESTRUCTURA Y FUNCION DE PROTEINAS

Coordinadores: Profs. M Antonieta Valenzuela y Lorena García

LUNES: 14:00 a 18:15 hrs. Laboratorio 1 Edificio Prof Luis Nuñez o vía ZOOM

MARTES: 14:00 a 15:30 hrs. ZOOM

Viernes 14:00 a 15:30. ZOOM.

| <u>S</u> | <u>Día</u> | <u>Tema</u>  | <u>Docente</u>        |
|----------|------------|--|-----------------------|
| 1        | Ma 12/10   | Programa del curso<br>Entrega de los temas para los ensayos bibliograficos<br>Organización de los grupos de Laboratorio<br><br><b>Clase inaugural de del curso</b>                   | MAV, LG<br><br><br>LG |
|          | Vi 15/10   | <b>Módulo (01): Mecanismos alostéricos de regulación enzimática</b><br>Clase: Mecanismos de regulación alostérica de enzimas de rutas metabólicas controladas por retroalimentación. | LG                    |
| 2        | Lu 18/10   | <b>Módulo (01): Mecanismos alostéricos de regulación enzimática</b><br>Clase: Modelos para el estudio de comportamiento cooperativo en enzimas alostéricas                           | LG                    |
|          | Ma 19/10   | <b>Módulo (02): Métodos para el estudio de la estructura y función de proteínas</b><br>Clase: (a) Técnicas electroforéticas  | LG                    |
|          | Vi 22/10   | <b>Módulo (03): Mecanismos de reacción</b><br>Clase: Cinética de Multisustratos  | MAV                   |
| 3        | Lu 25/10   | <b>Laboratorio grupo 1:</b> Electroforesis en condiciones desnaturantes (SDS/PAGE)   | LG/MAV                |
|          | Ma 26/10   | <b>Seminario de regulación enzimática</b><br><b>Prueba 1 de módulo (01)</b>  | LG                    |
|          | Vi 29/10   | <b>Módulo (03): Mecanismos de reacción</b><br>Clase: Cinética pre-estado estacionario/transiente   | MAV                   |
|          | 1 al 5 Nov | <b>RECESO</b>  |                       |
| 4        | Lu 8/11    | <b>Laboratorio grupo 2:</b> Electroforesis en condiciones desnaturantes (SDS/PAGE)   | LG/MAV                |
|          | Ma 9/11    | <b>Seminario de estudios cinéticos asociados a mecanismos de reacción</b><br><b>Prueba 2 de módulo (03)</b>  | MAV                   |

|   |                |   |        |
|---|----------------|---|--------|
|   | Vi 12/11       | <b>Módulo (03): Mecanismos de Reacción</b><br>Clase: Estudio de aminoácidos catalíticos mediante modificación química             | MAV    |
| 5 | Lu 15/11       | <b>Laboratorio grupo 1:</b> Western Blot  | LG/MAV |
|   | Ma 16/11       | <b>Módulo (02): Métodos para el estudio de la estructura y función de Proteínas</b><br>Clase: b) Espectrometría de masas          | AB     |
|   | Vi 19/11       | <b>Módulo (03): Mecanismos de Reacción</b><br>Clase: Tipos de mecanismos de reacción  | MAV    |
| 6 | Lu 22/11       | <b>Laboratorio grupo 1:</b> Continuación de Western Blot  | LG/MAV |
|   | Ma 23/11       | <b>Seminario de Espectrometría de masas (módulo (02))</b>   | AB     |
|   | Vi 26/11       | <b>Módulo (02): Métodos para el estudio de la estructura y función de proteínas</b><br>Clase: c) Bases de la fluorescencia        | MAV    |
|   | 29/11-<br>3/12 | <b>RECESO</b>   |        |
| 7 | Lu 6/12        | <b>Laboratorio grupo 2:</b> Western Blot  | LG/MAV |
|   | Ma 7/12        | <b>Seminario de Mecanismos de reacción</b><br><b>Prueba 3 de módulo (03) incluye Espectrometría de masas</b>                      | MAV    |
|   | Vi 10/12       | <b>Módulo (02): Métodos para el estudio de la estructura y función de proteínas</b><br>Clase: d) Aplicaciones de la Fluorescencia | MAV    |
| 8 | Lu 13/12       | <b>Laboratorio grupo 2:</b> Continuación Western Blot   | LG/MAV |
|   | Ma 14/12       | <b>Módulo (02): Métodos para el estudio de la Estructura y Función de Proteínas.</b><br>Clase: e) Tipos de Técnicas fluorescentes | MAV    |
|   | Vi 17/12       | <b>Módulo (03): Mecanismos de reacción</b><br>Clase: Metaloenzimas  | MAV    |
| 9 | Lu 20/12       | <b>Laboratorio grupo 1:</b> Estudios cinéticos: progresión de una reacción y dependencia de la concentración de la enzima         | LG/MAV |
|   | Ma 21/12       | <b>Seminario de Fluorescencia</b><br><b>Prueba 4 de módulo (02)</b>   | MAV    |
|   | Vi 24/12       | <b>Módulo (02) Métodos para el estudio de la Estructura y Función de Proteína</b><br>f) Purificación de Proteínas                 | LG     |

|    |                |  |        |
|----|----------------|--|--------|
|    | 27 al<br>31/12 | <b>RECESO</b>  |        |
| 10 | Lu 3/01        | <b>Laboratorio grupo 1:</b> Continuación estudios cinéticos: secuencia de salida de productos  | LG/MAV |
|    | Ma 4/01        | <b>Módulo (04) Estructura y mecanismos de plegamiento de proteínas</b><br>Clases: Mecanismos de plegamiento y mal plegamiento de proteínas. Hipótesis termodinámica de Anfinsen, estabilidad de proteínas.   | MB     |
|    | Vi 7/01        | <b>Seminario de metaloenzimas</b><br><b>Prueba 5 de módulo (03)</b>  | MAV    |
| 11 | Lu 10/01       | <b>Laboratorio grupo 2:</b> Estudios cinéticos: progresión de una reacción y dependencia de la concentración de la enzima  | LG/MAV |
|    | Ma 11/01       | <b>Módulo (04) Estructura y mecanismos de plegamiento de proteínas</b><br>Clases: Conceptos generales del equilibrio químico y barrera de energía libre para comprender los procesos de formación de la estructura de las proteínas y cambios conformacionales que experimentan las proteínas. | MB     |
|    | Vi 14/01       | <b>Módulo (05) Bioquímica de Moléculas Individuales</b><br>Clases: Bases y manipulación de moléculas a nivel individual  | CW     |
| 12 | Lu 17/01       | <b>Laboratorio grupo 2:</b> Continuación estudios cinéticos: secuencia de salida de productos  | LG/MAV |
|    | Ma 18/01       | <b>Módulo (02) Métodos para el estudio de la Estructura y Función de Proteínas.</b><br>Clase: g) estudios de plegamientos de proteínas   | MB     |
|    | Vi 21/01       | <b>Seminario de Estructura y mecanismos de plegamiento de proteínas</b><br><b>Prueba 6 módulo (04)</b>   | MB     |
| 13 | Lu 24/01       |  |        |
|    | Ma 25/01       | <b>Entrega de Ensayo bibliográfico</b>   |        |
|    | Vi 28/01       | <b>Seminario de Moléculas individuales</b><br><b>Prueba 7 de módulo (05)</b>   | CW     |
|    |                | <b>RECESO UNIVERSITARIO 01.02-28.02</b>  |        |
| 14 | Ma 1/03        | <b>Defensa de Ensayos bibliográficos (2 grupos)</b>  | LG/MAV |
|    | Vi 4/0,3       | <b>Defensa de Ensayos bibliográficos (2 grupos)</b>  | LG/MAV |
| 15 | Lu 7/03        | <b>Defensa de Ensayos bibliográficos (4 grupos)</b>  | LG/MAV |
|    | Ma 8/03        | <b>Defensa de Ensayos bibliográficos (2 grupos)</b>  | LG/MAV |

|  |          |   |        |
|--|----------|---|--------|
|  |          |   |        |
|  | Vi 11/03 | <b>Presentación de Ensayos bibliográficos</b> | LG/MAV |

Profesores coordinadores: MAV: María Antonieta Valenzuela; LG: Lorena García.

Profesores participantes: MB: Mauricio Báez. CW: Christian Wilson. AB: Andrés Barriga.

**ACTIVIDADES DE ASISTENCIA OBLIGATORIAS:** su ausencia requiere justificación a través de Asistente Social

- 1.- Laboratorios con test de entrada e informe
- 2.- Seminarios con Prueba
- 3.- Reuniones de los estudiantes con el tutor del Ensayo Bibliográfico
- 4.- Defensa privada de los Ensayos Bibliográficos
- 5.- Presentación pública de los Ensayo Bibliográficos