



Programa sinóptico de la unidad curricular: **LABORATORIO DE BIOQUÍMICA**

Unidad Curricular: Laboratorio de Bioquímica						Unidad Responsable: Dpto. de Biología				
Datos Curricular		Unidad			Modalidad		Tipo Dedicación		Dedicación Total Unidad Curricular	
Código	Semestre	T	P	L	HSTP	HSTNP	CA	Total Horas por Semana dedicación del estudiante (HS=CA X 3)	Total Horas por Semestre (HS X 16)	
151009	5	0	0	6	1	5	3	9	128	
Prelaciones: Laboratorio de Química Orgánica, Bioquímica										

HSTP: Horas semanales de trabajo que se realiza en el aula o laboratorio y requiere preparación y trabajo adicional

HSTNP: Horas semanales que se realizan en el aula o laboratorio y no requieren de preparación o trabajo adicional

CA: créditos académicos

Justificación

La unidad curricular Laboratorio de Bioquímica tiene la función de ofrecer a los estudiantes un complemento práctico de los conocimientos teóricos. Para lograr este objetivo, los estudiantes realizarán experimentos y cálculos bioquímicos, interpretando y discutiendo los resultados obtenidos. El conocimiento de técnicas de laboratorio adquirido capacitará al estudiante para desempeñarse profesionalmente en la investigación básica o en aplicaciones de la bioquímica y la biología molecular.

Requerimientos

Conocimientos básicos de aritmética, álgebra, cálculo diferencial e integral, estequiometría, equilibrio, reacciones químicas y de óxido-reducción, nociones de termodinámica, Química Orgánica, nociones de electromagnetismo.

Objetivo general

Capacitar al estudiante con las herramientas prácticas necesarias, que le permitan descifrar la vida desde los puntos de vista químico y cuantitativo. Al término del curso, el estudiante tendrá la capacidad de seguir un protocolo e interpretar los resultados utilizando fuentes bibliográficas.

Objetivos específicos

- Dominar el vocabulario básico utilizado en experimentos bioquímicos.
- Desarrollar destrezas manuales en la manipulación de objetos, herramientas y reactivos de laboratorio.
- Comprender los principios fundamentales de las técnicas usadas para realizar las prácticas de laboratorio propuestas.



- Aprender técnicas básicas para el aislamiento y caracterización de macromoléculas biológicas.
- Familiarizarse con técnicas para el análisis de enzimas.
- Aplicar conocimientos básicos de química, matemática y física a cálculos bioquímicos.
- Aprender a interpretar y discutir resultados experimentales usando fuentes bibliográficas.

Contenido

Práctica N°1: Preparación de disoluciones acuosas

Molaridad. Normalidad. Número de Avogadro. Osmolaridad. Concentraciones basadas en el peso. Fuerza iónica. Dilución de soluciones concentradas. Determinación de pH. Preparación de soluciones tampón (buffer).

Práctica N°2 y 3: Los aminoácidos y péptidos

Propiedades ácido-base de los aminoácidos. Cálculo del punto isoeléctrico (pI) y de la carga eléctrica de aminoácidos, péptidos y proteínas. Titulación de aminoácidos. Electroforesis y Cromatografía como técnicas para la separación de aminoácidos, péptidos y proteínas.

Práctica N°4: Visualización de Proteínas

Utilización del Programa RASMOL para visualizar la estructura de las proteínas (primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria). Análisis de las fuerzas que estabilizan esas estructuras.

Práctica N°5: Espectrofotometría

Energía electromagnética. Espectrofotómetros. Utilidad de la espectrofotometría como una técnica analítica para los bioquímicos. Ley de Lambert Beer. Cálculos de concentración de sustancias mediante espectrofotometría. Determinación del coeficiente de extinción molar.

Práctica N°6: Estudio de las Enzimas

Técnicas de purificación basados en la solubilidad, carga y tamaño de las proteínas. Evaluación de las estrategias de purificación (tabla de purificación). Determinación de la actividad de las enzimas. Significado del término Unidad internacional (1U) de enzima.

Práctica N°7: Factores que afectan la actividad enzimática

Análisis de los factores que afectan la actividad enzimática (pH, la temperatura y la fuerza iónica). Efecto de la concentración de enzima sobre la actividad enzimática. Determinación del tiempo adecuado para la realización de la cinética enzimática (modelos Invertasa o β -galactosidasa).

Práctica N°8: Cinética Enzimática

Determinación de las constantes cinéticas de las enzimas (modelos Invertasa o β -galactosidasa): constante de Michaelis-Menten (K_m) y velocidad máxima (V_{max}) y la actividad molecular de la enzima (k_{cat}). Estudios del efecto de un inhibidor (sobre la actividad de Invertasa o β -galactosidasa). Determinación del tipo de inhibición:



competitiva, no competitiva y acompetitiva. Determinación de la constante de inhibición (K_i).

Práctica N°9: Uso de Isótopos en Bioquímica

Detección de isótopos radiactivos. Decaimiento de la radiactividad, ecuaciones. Significado del Curie (Ci). Cálculos para la determinación de la concentración de metabolitos marcados radioactivamente. Seguimiento del progreso metabólico de átomos de metabolitos, teóricamente marcados con carbono catorce (^{14}C) en diferentes vías metabólicas.

Práctica N°10: Estudio de la glucólisis

Estudio de la glucólisis a partir de la determinación del consumo de glucosa y producción de lactato por eritrocitos de rata.

Práctica N°11: Expresión del gen *lacZ*

Inducción de la expresión del gen *lacZ* (β -galactosidasa) con IPTG y Lactosa. Crecimiento diauxico de *E. coli*, medición de la actividad β -galactosidasa y medición del consumo de lactosa a lo largo del crecimiento de *E. coli*.

Práctica N°12: Aislamiento del ADN

Técnicas para el aislamiento y análisis del ADN. Propiedades Físicoquímicas del ADN. Métodos espectrofotométricos para la determinación de la concentración de los ácidos nucleicos.

Estrategias metodológicas

La enseñanza de esta unidad curricular se hará mediante clases teóricas y resolución de ejercicios prácticos con el acompañamiento del profesor, además se harán sesiones prácticas de laboratorio en las que el estudiante podrá familiarizarse con las técnicas bioquímicas básicas.

Estrategias de evaluación

Las competencias adquiridas por los estudiantes serán evaluadas mediante dos exámenes parciales (40%), pruebas cortas (30%) antes de cada práctica y elaboración de informes (30%).

Bibliografía

- Bohinski, R. 1991. Bioquímica. Addison Wesley.
- Chang, R. 2006. Principios esenciales de química general. McGraw-Hill.
- Copeland, R. A. 2000. Enzymes. A practical Introduction to structure, mechanism, and data analysis. Wiley.
- Lesk, A. M. 2003. Introduction to protein architecture. Oxford University Press.
- Lodish, H., A. Berk, C. A. Kaiser, M. Krieger, y M. P. Scott. 2004. Biología Celular y Molecular. Editorial Médica Panamericana.
- Marangoni, A. 2003. Enzyme Kinetics: a modern Approach. Wiley.
- Nelson, D. L., y M. M. Cox. 2008. Lehninger Principles of Biochemistry. W. H. Freeman.
- Segel, I. H. 1976. Biochemical calculations. Wiley.



- Segel, I. H. 1993. Enzyme Kinetics Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady State Enzyme Systems. Wiley.
- Stryer, L., J. M. Berg, y J. L. Tymoczko. 2002. Bioquímica. Editorial Reverté.
- Voet, D., y Voet, J. 2004. Biochemistry. Wiley.