



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA

CURSO DE POSTGRADO O SEMINARIO

AÑO: 2018

- 1) **NOMBRE DEL CURSO/SEMINARIO:** Cristalografía de Proteínas
- 2) **NOMBRE Y APELLIDO DEL RESPONSABLE:** Dres. Sebastián Suarez y Marcelo Marti
- 3) **DOCENTES QUE COLABORAN EN EL DICTADO DEL CURSO:** Dres. Sebastián Klinke y Lucas Defelipe
- 4) **FECHA DE INICIACIÓN:** 16/07/2018 **FECHA DE FINALIZACIÓN:** 27/07/2018
- 5) **CANTIDAD DE HORAS TOTALES DE DICTADO:** 80
 - **TEÓRICAS:** 40
 - **CLASES TEÓRICAS-PRÁCTICAS:** 40
- 6) **FORMA DE EVALUACIÓN:** Examen final
- 7) **LUGAR DE DICTADO:** Departamento de Química Biológica y Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física.
- 8) **PUNTAJE QUE OTORGA PARA EL DOCTORADO:** 3
- 9) **Nº DE ALUMNOS:** Mínimo: 10 Máximo: 35
- 10) **ARANCEL PROPUESTO:** 3000 módulos
- 11) **PROGRAMA ANALÍTICO Y BIBLIOGRAFÍA DEL CURSO:**

Que el estudiante adquiera conocimientos básicos sobre cristalografía y difracción de rayos X de macromoléculas. Introducir al estudiante en la problemática de la obtención de cristales, obtención de datos de difracción de rayos X de monocristal, determinación estructural a través de resolución y posterior refinamiento de datos cristalográficos. Despertar particular interés por esta área de la ciencia, mostrando el instrumental que actualmente se posee en la FCEN y en el Instituto Leloir.

Clases Teóricas

Unidad 0: Estructura y Función de Biomoléculas

Biología Estructural y Biotecnología. Técnicas y resultados de la Biología Estructural. Niveles de organización estructural de las biomoléculas. Importancia biológica del agua. Interacciones no covalentes en medio acuoso. Ionización del agua, equilibrio iónico y sistemas reguladores. Estructura y propiedades de los aminoácidos. Estereoisomería y comportamiento ácido - base. Péptidos y enlace peptídico. Análisis de la composición de aminoácidos y de la secuencia de las proteínas. Introducción a las técnicas de purificación y caracterización de proteínas. Uso de las secuencias de proteínas para el análisis de relaciones evolutivas.

Caracterización estructural de macromoléculas. Métodos espectroscópicos y sus aplicaciones; espectroscopia de absorción, fluorescencia, dicroísmo circular, infrarrojo. Espectrometría de masas. Determinación de la estructura tridimensional de macromoléculas mediante resonancia magnética nuclear y difracción de rayos X.

Unidad 1: Cristalografía

El estado cristalino.

Naturaleza de las fuerzas interatómicas, distancias interatómicas, ideas empíricas del radio iónico, poliedros de coordinación, valencia electrostática, las ideas de Born, uniones covalentes.

Redes y Celdas Elementales

Redes, vectores translación, redes centradas, parámetros de red, celdas elementales, celda reducida (Niggli), simetría de redes, coordenadas atómica, ejemplos de estructuras simples: cobre, hierro, magnesio.

Direcciones y Planos cristalográficos.

Idea intuitiva a partir de la forma externa cristalina, planos cristalinos, ley de los índices racionales, índices de Miller, direcciones, ejes de zona, familias de planos y el espaciado interplanar: índices de Bragg, la red recíproca y algunas de sus propiedades.

Elementos y Operaciones de simetría puntuales

Elementos de simetría puntual: centro de inversión, plano especular, ejes de rotación, ejes de inversión, notación, combinación de elementos, los grupos puntuales, aplicaciones a los poliedros de coordinación (tetraedro, octaedro y cubo) y moléculas simples (benceno y metano).

Elementos y Operaciones de simetría cristalinos

Elementos de simetría con traslación, restricciones, planos con deslizamiento, ejes roto-translacionales, el plano con deslizamiento "d", redes de Bravais, sistemas cristalinos, grupos espaciales, representación, símbolos y notación, lectura de tablas e interpretación, la unidad asimétrica, relación entre V, Z y ρ , derivación de las coordenadas atómicas, las posiciones especiales, ejemplos y aplicaciones.

Unidad 2: Difracción

Conceptos matemáticos útiles

Función de Dirac, función de red, transformada de Fourier (ejemplos), producto de convolución (ejemplos).

Fuentes de radiación

Generación de rayos X, espectro discreto y continuo, fenómeno de absorción y filtros, generadores de tubo sellado y ánodo rotatorio, sincrotrón. Otras fuentes: electrones y neutrones.

Dispersión (Scattering) de ondas

Interferencia entre ondas (dispersión coherente e incoherente), redes de difracción, difracción por un cristal, enfoque de Bragg y Laue-Ewald, factor de forma atómico, factor de estructura, dispersión anómala, la re-aparición de la red recíproca, simetrías en la distribución de intensidades: grupos de Laue.

La experiencia de difracción por material cristalino

Difracción por muestras mono cristalinas, técnicas experimentales e instrumentos usuales, ventajas comparativas de cada método, factor de Lorentz-polarización, el problema de las fases: relación entre factor de estructura e intensidad, relación entre fases y coordenadas atómicas, cálculo de densidad electrónica.

Cristales reales

Efectos térmicos: factor de Debye-Waller, fenómeno de extinción primaria y secundaria, simetrías en la distribución de intensidades: regla de Friedel, pares de Bijvoet, aplicaciones en la determinación de la estructura absoluta.

Unidad 3: Obtención de cristales

Nucleación primaria y secundaria. Efectos de las impurezas presentes. Crecimiento de cristales. Polimorfos. Recristalización. Clase Práctica: Crecimiento y manejo de cristales proteicos.

Unidad 4: Resolución y refinamiento de estructuras cristalinas

Métodos directos: multisolución y adición simbólica.

Métodos de Fourier: Cálculo de la densidad electrónica, síntesis de Fourier, síntesis de Fourier diferencias. Diferencia en la determinación de las posiciones de los átomos pesados. Las diferencias cruzadas de Fourier. La dispersión anómala y su uso en la solución del problema de la fase. Método de la sustitución isomorfa múltiple

Métodos en el espacio recíproco: Métodos de átomo pesado, función de Patterson. Significado físico. Ejemplos de cálculo La síntesis de la diferencia de Patterson. Determinación de la posición de los átomos pesados en la celda unidad mediante el uso de la

diferencia de Patterson. Resolución del problema de la fase por remplazo molecular. Función de rotación y de traslación. Simetría no-cristalográfica. Interpretación de los mapas de densidad electrónica.

Refinamiento de la estructura. El refinamiento de las fases. El método MAD. Cuerpo rígido. Constrained y restrained. Uso de términos geométricos y energéticos en el refinamiento. Teoría de Cuadrados Mínimos, Aplicación a monocristales. Clase Práctica. Procesamiento de Datos, construcción del modelo y refinado.

Clase Prácticas

- 1) **Cristalización de Lisozima y Xilanas.**
- 2) **Selección y medición de monocristales.**
- 3) **Demostración de resolución de estructuras cristalinas.**
- 4) **Resolución individual de cristales previamente medidos en la clase 2.**
- 5) **Validación del método, armado de archivos cif, introducción a PDB.**
- 6) **Obtención y purificación de proteínas.**

Bibliografía

- Carmelo Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti, M. Catti - Fundamentals of Crystallography
- Hammond, The Basics of Crystallography and Diffraction Third Edition International union of Crystallography Texts on Crystallography.
- Waseda (2011), X Ray Diffraction Crystallography, Introduction, Examples and Solved Problems.
- Dessau M.A., Modis Y. (2011). Protein Crystallization for X-ray Crystallography. JoVE. 47. <http://www.jove.com/details.php?id=2285>, doi: 10.3791/2285

Dr. MARTIN MONTE
SECRETARÍA ACADÉMICO
Dpto. QUÍMICA BIOLÓGICA
F.C.E. y N. U.B.A.

VºBº Del Departamento

Firma del Responsable

VºBº de la Subcomisión de Doctorado