UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA INSTITUTO DE QUÍMICA DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

DISCIPLINA: **IQB-248 - BIOQUÍMICA EQ** PRÉ-REQUISITOS: QUÍMICA ORGÂNICA II FÍSICO-OUÍMICA I

CARGA HORÁRIA TOTAL: 90(noventa) horas

Curso Teórico: 60 horas (30 aulas de 2 horas de duração) Curso Experimental: 30 horas (10 aulas de 3 horas de duração)

OBJETIVOS:

O conteúdo programático desta disciplina dirigida aos alunos da Escola de Química visa ministrar conhecimentos envolvendo as principais biomoléculas e suas propriedades químicas e físico-químicas, atividade enzimática e cinética, as principais vias metabólicas e sua integração e alguns fundamentos da evolução biológica.

EMENTA:

CURSO TEÓRICO:

- 1. Introdução à Bioquímica e células
- 2. Aminoácidos
- 3. Peptídios e proteínas
- 4. Enzimas
- 5. Bioenergética
- 6. Oxidações biológicas
- 7. Metabolismo
- 8. Ácidos Nucléicos
- 9. Fundamentos da evolução biológica

CURSO EXPERIMENTAL

- 1) Espectrofotometria: varredura do espectro
- 2) Aminoácidos: reações específicas e geral e cromatografia em papel
- 3) Aminoácidos: eletroforese e cromatografia de troca iônica
- 4) Proteínas: solubilidade e dosagem
- 5) Glicídios redutores: dosagem
- 6) Cinética enzimática: curva de progresso, efeito da concentração de enzima, efeito da temperatura
- 7) Cinética enzimática: determinação de Km e Vmax
- 8) Cinética enzimática: inibição

PROGRAMA ANALÍTICO

CURSO TEÓRICO:

- 1) Introdução à Bioquímica e células (2 aulas)
- Importância da Bioquímica para a Engenharia Química e interfaces com outras Ciências
- Introdução à célula: estruturas, organelas organismos eucariontes e procariontes
- Componentes químicos das células ligações químicas e biomoléculas
- Catabolismo e anabolismo
- Transformações energéticas nas células

2) Aminoácidos (2 aulas)

- Estrutura geral, polaridade, aspecto nutricional
- Propriedades físico-químicas: ponto de fusão, solubilidade, isomeria, absorção no UV, anfoterismo, pK, pI, curva de titulação

3) Peptídios e proteínas (4 aulas)

- Função das proteínas e peptídios
- Peptídios: ligação peptídica e propriedades anfotéricas
- Níveis de organização das proteínas: estruturas primária, secundária, terciária e quaternária
- Proteínas globulares X fibrosas
- Comparação de estruturas primárias e evolução das espécies dendogramas
- Desnaturação, efeito da força iônica e do pH na solubilidade das proteínas
- Técnicas de fracionamento: cromatografias (filtração em gel, troca iônica, e de afinidade), eletroforese e imunodetecção

4) Enzimas (4 aulas)

- Importância na biotecnologia
- Natureza, centro ativo, coenzimas e cofatores
- Especificidade, atividade enzimática, purificação: rendimento X atividade específica
- Curva de progresso, velocidade inicial
- Fatores que influenciam a velocidade inicial: concentração de enzima e de substrato, efeito do pH e da temperatura
- Cinética de Michaelis-Menten Km e Vmáx. Método de Lineweaver-Burk
- Inibição competitiva e não-competitiva
- Regulação da atividade enzimática: alosteria, fosforilação e proteólise

5) Bioenergética (1 aula)

- Processo endo/exergônicos
- Papel do ATP Potencial de transferência de fosfato
- Síntese de ATP a nível de substrato
- Estado de equilíbrio x estado estacionário

6) Oxidações biológicas (2 aulas)

- Relação da variação de energia livre de Gibbs com a constante de equilíbrio e com o potencial redox
- Cadeia respiratória: complexos enzimáticos, carreadores: localização e função
- Síntese de ATP a nível de cadeia respiratória fosforilação oxidativa e fotofosforilação

7) <u>Metabolismo - Estudo das vias do metabolismo de carboidratos: suas estratégias e regulações (10 aulas)</u>

- Glicólise e Ciclo do ácido cítrico oxidações x fermentações
- Via das pentoses
- Gliconeogênese
- Degradação e síntese de polissacarídeos glicogênio
- Degradação e síntese de ácidos graxos
- Integração metabólica

8) Ácidos Nucléicos (**5 aulas**)

- Nucleotídeos estrutura do DNA e RNA.
- Organização do DNA em procariontes e eucariontes: gene, genoma, cromossoma plasmídeo.
- Forças que estabilizam a estrutura da dupla hélice desnaturação/re-naturação
- Fluxo da informação genética replicação, mutações x reparo, transcrição, edição do RNA, tradução.
- Controle da expressão gênica.
- Técnicas e estratégias de biologia molecular: enzimas de restrição, mapas de restrição, seqüenciamento, clonagens.

9) Fundamentos de evolução biológica (2 aulas)

- Evolução estrutural duplicação do gene, amplificação gênica e seleção
- Relação genética evolutiva através da comparação de seqüências de nucleotídeos
- Cronômetros da evolução estrutura do citocromo c e RNA ribossomal.

PROGRAMA ANALÍTICO CURSO EXPERIMENTAL

- 1) Varredura de espectro (curva de absorção) e curva padrão
- Considerações sobre espectrofotometria.
- Leis de Lambert-Beer: dedução matemática: relação absorvância e concentração.
- Varredura de espectros com diferentes concentrações de dois corantes: metilorange e azul de bromo fenol.
- Varredura de espectro com mistura dos dois corantes.
- Análise dos espectros de absorção obtidos nas experiências acima.
- Escolha do comprimento de onda ideal de trabalho: proporcionalidade da concentração e absorvância máxima.
- Curva padrão de dosagem para os dois corantes.

2) Cromatografia e eletroforese em papel de aminoácidos – Reações específicas

- Cromatografia em papel: fundamento físico: análise das fases envolvidas: escolha do solvente; solubilidade relativa dos componentes da amostra entre as duas fases : determinação do Rf.
- Mecanismo da cromatografia em papel: cromatografia mono e bidimensional: adequação do uso; vantagens de cada tipo: fundamentos químicos das revelações para aminoácidos com Ninidrina.
- Eletroforese de aminoácidos: escolha do pH do tampão; condições adequadas para o fracionamento: ponto isoelétrico; polarização de aminoácidos.
- Reações específicas para prolina, arginina, histidina, tirosina, triptofano e cisteína fundamentos e condições de reação: aplicações.

3) <u>Dosagem e curva padrão de proteínas por método de biureto e de glicídios redutores pelo método do ácido 3,5 dinitrosalicílico</u>

- Fundamentos químicos.
- Condições de reação.
- Obtenção da curva.
- Aplicação prática da curva.

4) Curva de solubilidade em função de pH e força iônica

- Determinação da solubilidade de uma proteína em vários pHs.
- Conceito de ponto isoelétrico.
- Determinação da curva de solubilidade em função da força iônica "salting-in" e "salting-out".

5) Cromatografia de troca iônica

- Tipos de resinas trocadoras comerciais (aniônicas e catiônica); forma protonada e forma sódica das resinas Dowex; mecanismo da cromatografia de troca iônica: escolha de resina a ser usada.
- Fatores que afetam o fracionamento: pH, força iônica, afinidade. Ativação da resina Preparo da coluna e fracionamento de aminoácidos.

6) Cinética Enzimática: Tempo e Temperatura

- Mecanismo de ação enzimática.
- Influência do tempo: curva de progresso de reação.
- Traçado e análise da curva; conceito de velocidade inicial.
- Influência da temperatura: aplicação da equação de Arrhenius; conceito de energia de ativação; traçado e análise da curva.

7) <u>Cinética enzimática: Concentração de substrato e inibição</u>

- Influência da concentração de substrato: constante de Michaelis; determinação prática; relação Km x afinidade enzima-substrato.
- Influência de inibidor competitivo na cinética enzimática.
- Caracterização prática da inibição competitiva e determinação da constante de inibição.

BIBLIOGRAFIA:

- Voet, D., Voet, J.G. **Biochemistry**, 2^a ed., New York: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- Devlin, T.M. **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation,** 4^a ed., New York: Wiley-Liss, 1997.
- Lehninger, A, Nelson, D.L., Cox, M.M. **Principles of Biochemistry,** 3^a ed., New York: Worth Publishers, Inc., 2000.
- Stryer, L. Biochemistry, 7^a ed.,. New York: W.H. Freeman and Co., 1999.
- Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Química. Departamento de Bioquímica.
- Cursos Práticos em Bioquímica. 11ª ed. Rio de Janeiro, 2002. 187 p.

CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA INSTITUTO DE QUÍMICA DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

DISCIPLINA: IQB-368 - BIOQUÍMICA EQ

PRÉ-REQUISITO: QUÍMICA ORGÂNICA II E FISICO-QUÍMICA I CARGA HORÁRIA TOTAL: 90 horas (teoria: 60 h + experimental: 30 h)

Objetivos:

O conteúdo programático desta disciplina dirigida aos alunos da Escola de Química visa ministrar conhecimentos envolvendo as principais biomoléculas e suas propriedades químicas e físico-químicas, atividade enzimática e cinética, as principais vias metabólicas e sua integração e alguns fundamentos da evolução biológica.

Ementa

Curso Teórico

- Introdução à Bioquímica e Células
- Aminoácidos
- Peptídeos e proteínas
- Enzimas
- Bioenergética
- Oxidações biológicas
- Metabolismo
- Ácidos Nucléicos
- Fundamentos da evolução biológica

Curso Experimental

- Espectrofotometria: varredura do espectro
- Aminoácidos: reações específicas e geral e cromatografia em papel
- Aminoácidos: eletroforese e cromatografia de troca iônica
- Proteínas: solubilidade e dosagem
- Glicídios redutores: dosagem
- Cinética enzimática: curva de progresso, efeito da concentração de enzima, efeito da temperatura
- Cinética enzimática: determinação de Km e Vmax

Bibliografia:

- Voet, D., Voet, J.G. **Biochemistry**, 2^a ed., New York: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- Devlin, T.M. **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation,** 4ª ed., New York: Wiley-Liss, 1997.
- Lehninger, A, Nelson, D.L., Cox, M.M. **Principles of Biochemistry,** 3^a ed., New York: Worth Publishers, Inc., 2000.
- Stryer, L. Biochemistry, 7^a ed.,. New York: W.H. Freeman and Co., 1999.
- Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Química. Departamento de Bioquímica. **Cursos Práticos em Bioquímica.** 10 ed. Rio de Janeiro, 2000. 298 p.