

Aspectos generales

Título:	Cristalografía de proteínas
Programas de posgrado o planes de estudio en donde se ofertará adicionalmente:	
Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas	
Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas	
Área del conocimiento:	Bioquímica, biofísica y biología estructural
Semestre:	2025-1
Modalidad:	Tópico selecto
Horario:	Martes y Jueves de 16.00-18.00 H
No. sesiones:	32
Horas por sesión:	2.0
Total alumnos PDCB:	5
Total alumnos:	15
Videoconferencia:	No
Lugar donde se imparte:	INSTITUTO DE QUÍMICA
Informes:	Dras. Adela Rodríguez Romero y Alejandra Hernández Santoyo

Métodos de evaluación

MÉTODO	PORCENTAJE	NOTAS
Examen final	50%	
Participación en clases	10%	
Presentación del proyecto estructural asignado	40%	

Contribución de este curso/tópico en la formación del alumnado del PDCB:

Este curso proporciona las bases teórico-experimentales para llevar a cabo la determinación experimental de estructuras de proteínas, solas o en complejo con ligandos. Al final de curso los estudiantes habrán determinado la estructura terciaria y/o cuaternaria de una macromolécula y comprenderán cada una de las etapas involucradas en el proceso.

Profesor (a) responsable

Nombre:	Rodríguez Romero Adela
Teléfono:	(5255) 56 22 45 68 Ext. 24568
Email:	adela@unam.mx

Profesores (as) participantes

PARTICIPANTE	ENTIDAD O ADSCRIPCIÓN	SESIONES
--------------	-----------------------	----------

RODRÍGUEZ ROMERO ADELA Responsable	Instituto de Química	Análisis y discusión de artículos Análisis y discusión de artículos Criomicroscopía electrónica El problema de la fase. Reemplazo molecular. Programas utilizados para la obtención de fases. Dispersión anómala Esfera de Ewald. Simetría y grupos espaciales Estrategia de colecta de datos de difracción de rayos X EXAMEN Introducción Modelos estructurales: Propiedades conformacionales de las cadenas polipeptídicas. Estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria Procedimientos para mejorar las fases Sesión de Laboratorio Sesión de Laboratorio Sesión de Laboratorio Visita al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM-IQ-UNAM) • Bases de la difracción de rayos X • Espacio recíproco
HERNÁNDEZ SANTOYO ALEJANDRA Integrante	Instituto de Química	Afinamiento de los modelos cristalográficos Análisis de la calidad de los datos ;Patologías en los datos. Superposición de redes. Anisotropía Análisis y discusión de artículos Análisis y discusión de artículos Caracterización de datos de difracción de rayos X: Reducción y escalamiento de datos y Análisis de la calidad de los datos. Cristalización de proteínas. Diagramas de fase y métodos Factores que afectan el crecimiento y la calidad de los cristales Flexibilidad molecular y parámetros de movilidad atómica Fundamentos y metodologías Interacciones físicas que determinan las propiedades de las proteínas Métodos para optimizar la calidad de los cristales Sesión de Laboratorio Sesión de Laboratorio Sesión de Laboratorio Sesión de Laboratorio Validación y análisis de estructuras

Introducción

La cristalografía de proteínas es la técnica más desarrollada y poderosa para determinar la estructura de macromoléculas a nivel atómico. El impacto que ha tenido el conocimiento detallado de las estructuras de proteínas y ácidos nucleicos en diversas disciplinas ha sido muy significativo en las últimas décadas y promete ser de gran relevancia en las que están por venir. El contar con diversas estructuras de una macromolécula, ya sea en forma individual o en complejo con otras macromoléculas o con ligandos específicos, es de gran valor, tanto en el diseño como en el desarrollo de compuestos con valor farmacológico.

Este curso está enfocado a analizar los principios básicos de la cristalografía de proteínas. Los estudiantes adquirirán los conceptos teóricos fundamentales. Durante el curso se presentarán y se profundizará en las técnicas más modernas para la obtención de cristales y la resolución de estructuras por técnicas de difracción de rayos X. Asimismo, se realizará el análisis detallado de las mismas.

Temario

1. Introducción. (Adela Rodríguez, 6 de agosto: 2 horas)

- Métodos para determinar estructuras 3D
- Cristalografía, pasado, presente y futuro
- Aplicaciones de la cristalografía

2. Principios de la cristalografía de proteínas (Adela Rodríguez, 8, 13 y 15 de agosto: 6 horas)

- Bases de la difracción de rayos X
- Espacio recíproco
- La esfera de Ewald
- Simetría y grupos espaciales

3. Modelos estructurales (Adela Rodríguez, 20 de agosto: 2 h)

- Propiedades conformacionales de las cadenas polipeptídicas
- Estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria
- Interacciones físicas que determinan las propiedades de las proteínas (Alejandra Hernández, 22 de agosto: 2 horas)

4. Cristalización (Alejandra Hernández, 27 y 29 de agosto y 3 de septiembre: 6 horas)
 - Cristalización de proteínas.
 - Diagramas de fase y métodos.
 - Factores que afectan el crecimiento y la calidad de los cristales
 - Métodos para optimizar la calidad de los cristales
5. Colecta de datos
 - Estrategia de colecta (Adela Rodríguez, 5 de septiembre: 2 horas)
 - Visita al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM) (Adela Rodríguez, 10 de septiembre: 2 horas)
6. Caracterización de los datos
 - Reducción y Escalamiento de datos (Alejandra Hernández, 12, 17 de septiembre: 4 horas)
 - Análisis de la calidad de los datos
 - Patologías en los datos
 - Superposición de redes
 - Anisotropía
 - Programas utilizados en el escalamiento de datos (Laboratorio) (Alejandra Hernández y Adela Rodríguez, 19 y 24 de septiembre: 4 horas)
 - XDS, Mosflm, HKL3000
7. El problema de la fase
 - Reemplazo molecular (Adela Rodríguez, 26 de septiembre, 1o de octubre: 4 horas)
 - Programas utilizados para la obtención de fases
 - Dispersión anómala
 - Procedimientos para mejorar las fases
 - Obtención del modelo inicial (Laboratorio) (Alejandra Hernández y Adela Rodríguez, 3 y 8 de octubre: 4 horas)
8. Afinamiento de los modelos cristalográficos
 1. Fundamentos y metodologías (Alejandra Hernández, 10 y 15 de octubre: 4 horas)
 2. Programas utilizados para la obtención de fases y afinamiento de estructuras. (Laboratorio) (Alejandra Hernández y Adela Rodríguez, 17, 22 y 24 de octubre: 6 horas)
PHENIX
CCP4
COOT
 3. Flexibilidad molecular y parámetros de movilidad atómica (Alejandra Hernández, 29 de octubre: 2 horas)
9. Validación y análisis de estructuras (Alejandra Hernández, 31 de octubre: 2 horas)
 - Programa MolProbity, Gráfica de Ramachandran.
 - Factor B
 - Accesibilidad al disolvente
 - Contactos inter e intramoleculares
 - Superficie electrostática
 - Cavidades
 - Hidrofobicidad
 - Empaquetamiento
10. Criomicroscopía electrónica (Prof. Invitado: Dr. Marco Igor Valencia, 5 de noviembre: 2 horas)
11. Análisis y discusión de artículos (Alejandra Hernández y Adela Rodríguez, 7, 12, 14 y 19 de noviembre, 8 horas)
11. Examen final (Alejandra Hernández y Adela Rodríguez, 21 de noviembre: 2 horas)

Bibliografía

Biomolecular Crystallography. Principles, Practice, and Application to Structural Biology
Bernhard Rupp
Garland Science (2010)

Principles of Protein X-Ray Crystallography
Drenth, J.
Springer-Verlag 3a edición (2006)

Crystallography Made Crystal Clear: A Guide for Users of Macromolecular Models
Gale Rodhes.
Academic Press 2a edición (2000)

Protein crystallography
Blundell, T.L. and Johnson, L.N.

Academic press (1976)

Fundamentals of Crystallography

Giacovazzo, C., Monaco, H. L., Viterbo, D. and Scordari, F.

International Union of Crystallography Book Series, No. 2 (1994)

Practical protein crystallography

McRee, D.E.

Academic Press (1993)

Protein crystallization. Techniques, Strategies, and tips

Bergfors, T.M. (Ed)

International University Line (2001)

Crystallization of Nucleic Acids and Proteins: A Practical Approach

Ducruix, A. and Giege, R. (Eds)

Oxford University Press; 2a edición (1999)

Proteins. Structures and molecular properties

Creighton, T.E.

W.H. Freeman and company 2a edición

Introduction to protein structure

Branden, C. and Tooze, J.

Garland Publishing Inc (1999)

Protein structure and function / Gregory A. Petsko, Dagmar Ringe

London : New Science, 2004

NOTA: En cada tema se proporcionará bibliografía específica

Observaciones

Curso teórico-práctico. Las sesiones experimentales se realizarán en el Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas, que también está ubicado en el Instituto de Química de la UNAM.

En las sesiones prácticas se abordarán los siguientes puntos:

1. Se montarán pruebas de cristalización de proteínas utilizando la técnica de difusión de vapor en gota colgante, donde se evaluará el efecto de la concentración de proteína y del agente precipitante y del pH, entre otros parámetros. Se explicarán otros métodos incluyendo la cristalización en liposomas para proteínas de membrana. En esta sesión se explicará también el funcionamiento de un robot de cristalización (Art Robbins).
2. En la segunda sesión de laboratorio se visitará el Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM-IQ-UNAM) donde se realizará la colecta de datos de difracción de rayos X utilizando los cristales obtenidos en la sesión previa. En esta sesión se aprenderá a diseñar la estrategia más adecuada para la colecta y reducción de datos,
3. En las siguientes sesiones se seguirán todos los pasos para obtener la estructura terciaria de una proteína. A cada equipo (2 o 3 estudiantes) se le asignará un juego de datos de difracción de rayos X y se les explicará cada paso que se sigue hasta obtener la estructura 3D de la proteína asignada. En estas sesiones aprenderán a utilizar los programas más importantes en cada etapa como son CCP4, Phenix y COOT. Estas etapas incluyen:
 - a) Reducción de datos utilizando diferentes programas (HKL3000, XDS, MOSFLM y DIALS)
 - b) Obtención de las fases por reemplazo molecular y dispersión anómala sencilla.
 - c) Afinamiento de las estructuras. Se ajustará las cadenas polipeptídicas a los mapas de densidad electrónica hasta llegar a la mejor concordancia entre los factores de estructura observados y los calculados.
 - d) Validación de las estructuras 3D obtenidas para conocer la calidad del modelo y el proceso de depósito de los datos en el PDB
 - e) Análisis de las estructuras. Se utilizarán los programas más novedosos para el análisis de las estructuras.