



PEDECIBA
MEC-UDELAR

PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS
Ministerio de Educación y Cultura - Universidad de la República

Área Química

Sub-Área: Química Orgánica

Nombre del curso: Curso Avanzado de Elucidación Estructural de Carbohidratos (CAEEC)

Docentes responsables:

- Carolina Fontana (Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte - SRA Facultad de Química, Udelar)
- Fernando Ferreira (Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Udelar)

Docentes participantes:

- Carolina Fontana (Departamento de Química del Litoral, CENUR Litoral Norte - SRA Facultad de Química, Udelar)
- Fernando Ferreira (Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Udelar)
- Cristina Olivaro (Espacio de Ciencia y Tecnología Química, Centro Universitario de Tacuarembó, Udelar)

Lugar de dictado:

- Los teóricos, prácticos y seminarios se dictarán presencialmente en Paysandú, Tacuarembó y/o Montevideo.
- El laboratorio 1 se realizará en el Centro Universitario de Tacuarembó.
- El laboratorio 2 se realizará en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni, Paysandú.

Audiencia: Está dirigido a investigadores y estudiantes de posgrado de Química y Bioquímica. También podrán cursar estudiantes de grado que tengan aprobado el curso de Química Orgánica 104 de la Facultad de Química (o tengan formación equivalente)

Créditos: 6

Cupo: Mínimo 5 – Máximo 20

Régimen de Ganancia: Se deberán cumplir las siguientes condiciones:

- Asistencia al 80% de las clases.
- Preparación y presentación de un seminario.
- Aprobación de una prueba escrita al final del curso.

Objetivos: Este curso pretende introducir al estudiante a distintas técnicas que se emplean actualmente en la caracterización de oligo- y polisacáridos, tanto desde el punto de vista de su estructura, conformación y dinámica, así como también su tamaño y forma. Se mencionarán además técnicas para el estudio de interacciones proteína-carbohidrato y aspectos básicos de bioinformática para el estudio de información genética relacionada con la biosíntesis de estas biomoléculas.

En el curso se utilizarán principalmente polisacáridos bacterianos como ejemplos, pero las herramientas en las que se profundizarán serán de utilidad para el estudio de cualquier tipo de glicoconjugado. Se destinarán horas prácticas para el entrenamiento en el uso de herramientas informáticas (softwares y bases de datos), relevantes para el análisis de información genética, datos de espectroscopía de RMN, espectrometría de masas y modelado molecular, entre otros. Se realizarán dos prácticas de laboratorio húmedo, en los que los estudiantes aplicarán los conocimientos impartidos durante el curso. Finalmente se destinará un día para la presentación de seminarios por parte de los estudiantes, enfocados en temas relacionados con la temática del curso.

Programa Detallado

Teóricos

- 1. Conceptos generales sobre la estructura de carbohidratos (2 hrs).** Importancia biológica. Estructura química, conceptos básicos de nomenclatura (recomendaciones IUPAC, notación estándar y SNFG, etc.). Variedad estructural de carbohidratos.
- 2. Polisacáridos bacterianos y vacunas polisacarídicas (2 hrs).** Generalidades sobre la estructura de lipopolisacáridos (LPS) y aspectos biosintéticos. Polisacáridos capsulares (CPS) y ejemplos de vacunas polisacarídicas. Exopolisacáridos (EPS).
- 3. Espectrometría de masas de carbohidratos (2 hrs).** Repaso sobre conceptos generales de espectrometría de masas. Tratamientos para el estudio de carbohidratos. Fragmentaciones típicas de carbohidratos.
- 4. Espectroscopía de RMN de carbohidratos 1 (2hrs).** Repaso de conceptos básicos de RMN, desplazamientos químicos de ^1H , ^{13}C , ^{15}N y ^{31}P , y constantes de acoplamiento. Experimentos 2D básicos para estudios estructurales: $^1\text{H},^1\text{H}$ -TOCSY, $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC, $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC y $^1\text{H},^1\text{H}$ -NOESY.
- 5. Espectroscopía de RMN de carbohidratos 2 (2 hrs).** Experimentos avanzados: supresión de agua, análisis de protones intercambiables, $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC de banda selectiva, experimentos de ^{31}P ($^1\text{H},^{31}\text{P}$ -HMBC y $^1\text{H},^{31}\text{P}$ -hetero-TOCSY) y ^{15}N ($^1\text{H},^{15}\text{N}$ -HSQC y $^1\text{H},^{15}\text{N}$ -HMBC). Análisis de la estructura primaria y secuencia de carbohidratos. Estimación del tamaño de PS (identificación del extremo terminal, y medidas de coeficientes de difusión).
- 6. Análisis de la estructura tridimensional de carbohidratos y sus interacciones con otras biomoléculas (2 h).** Aspectos conformacionales de monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Técnicas de espectroscopía de RMN para el estudio de la conformación y dinámica de carbohidratos. Estudio de interacciones proteína-carbohidrato por espectroscopía de RMN y Modelado Molecular.
- 7. Métodos de obtención, purificación y análisis fisicoquímico de carbohidratos (2 hrs).** Aislamiento de oligo- y polisacáridos de fuentes naturales. Métodos de purificación (cromatografía de exclusión por tamaño, intercambio iónico, etc.). Análisis de componentes y determinación de la configuración absoluta. Dispersión de luz láser multiángulo (MALS), dispersión de luz dinámica (DLS).

Prácticos:

- **Práctico 1 (4hrs):** Empleo de herramientas informáticas (softwares y bases de datos) para el estudio la estructura y conformación de carbohidratos.
- **Práctico 2 (4hrs):** Análisis bioinformático del clúster de genes de un antígeno O-específico.

- **Práctico 3 (4hrs):** Análisis estructural de un oligo/polisacárido utilizando espectroscopía de RMN.
- **Práctico 4 (4 hrs):** Análisis conformacional de un oligo/polisacárido utilizando espectroscopía de RMN y modelado molecular.

Laboratorios:

- **Laboratorio 1 (4 hrs):** Análisis de un oligosacárido utilizando espectrometría de masas.
- **Laboratorio 2 (4 hrs):** Determinación del peso molecular promedio de un polisacárido utilizando experimentos de RMN de difusión, y por integración de señales del extremo terminal.