English version at the end of this document

Ano Letivo	2019-20
Unidade Curricular	BIOQUÍMICA ANALÍTICA
Cursos	BIOQUÍMICA (1.º ciclo)
Unidade Orgânica	Faculdade de Ciências e Tecnologia
Código da Unidade Curricular	14921077
Área Científica	BIOQUÍMICA
Sigla	
Línguas de Aprendizagem	Português
Modalidade de ensino	Presencial
Docente Responsável	Dina Cristina Fernandes Rodrigues da Costa Simes

DOCENTE	TIPO DE AULA	TURMAS	TOTAL HORAS DE CONTACTO (*)
Dina Cristina Fernandes Rodrigues da Costa Simes	OT; PL; T; TP	T1; TP1; PL1; OT1	30T; 15TP; 15PL; 5OT

* Para turmas lecionadas conjuntamente, apenas é contabilizada a carga horária de uma delas.

ANO	PERÍODO DE FUNCIONAMENTO*	HORAS DE CONTACTO	HORAS TOTAIS DE TRABALHO	ECTS
2º	S2	30T; 15TP; 15PL; 5OT	168	6

* A-Anual;S-Semestral;Q-Quadrimestral;T-Trimestral

Precedências

Sem precedências

Conhecimentos Prévios recomendados

Recomenda-se que o aluno já tenha realizado Bioquimica I e Tecnicas Laboratoriais de Analise.

Objetivos de aprendizagem (conhecimentos, aptidões e competências)

O objectivo da disciplina de Bioquímica analítica é o estudo dos métodos e técnicas utilizadas no isolamento, identificação, quantificação e caracterização de biomoléculas. Serão destacadas as aplicações com proteínas. São particularmente relevantes para a disciplina de Bioquímica Analítica, as matérias lecionadas em Bioquímicas I, Técnicas laboratoriais de análise, Bioquímica Física e Bioquímica Estrutural.

Conteúdos programáticos

- Princípios gerais de bioquímica analítica
- Rutura de tecidos e células.
- Centrifugação.
- Filtração e diálise.
- Determinação quantitativa de proteínas, lípidos e hidratos de carbono
- Sequenciação e análise de pureza de proteínas.
- Cromatografia.
- Electroforese.
- Imunoensaios
- Determinação de afinidade de macromoléculas para ligandos específicos.
- Contagem e caracterização de células.
- Quantificação de enzimas e substratos.
- Preservação de amostras biológicas.

Demonstração da coerência dos conteúdos programáticos com os objetivos de aprendizagem da unidade curricular

Conhecimento e compreensão dos fundamentos teóricos das principais técnicas analíticas usadas em bioquímica, incluindo o tipo de equipamentos e instrumentos disponíveis.Rigor no planeamento e execução de procedimentos práticos, bem como no tratamento, análise e apresentação de resultados experimentais.

Metodologias de ensino (avaliação incluída)

O exame final constará de uma prova escrita versando toda a matéria teórica e prática leccionada. No exame a parte teórica terá uma ponderação de 70% e a pratica 30%. Caso existam duas frequências a nota final será a média aritmética da classificação das duas provas sendo condição necessária a nota de cada uma das frequências não ser inferior a 7,0 valores e a média de ambas totalizar 10 valores . Para admissão a exame (alunos inscritos na UC pela primeira vez), é obrigatoria a frequencia das aulas TP e Praticas (4/5).

Demonstração da coerência das metodologias de ensino com os objetivos de aprendizagem da unidade curricular

Programa detalhado

<u>Programa teórico</u> :

Princípios gerais de bioquímica analítica

Ruptura de tecidos e células. Tecidos, culturas de células eucariotas e procariotas

Centrifugação. Princípios teóricos. Tipos de centrífugas e de rotores. Centrifugação diferencial e com gradientes de densidades. Ultracentrifugação.

Filtração e diálise. Tipos de membranas e aplicações. Ultrafiltração.

Determinação quantitativa de proteínas, lípidos e hidratos de carbono ? Métodos químicos.

Sequenciação e análise de pureza de proteínas . Determinação da composição total de aminoácidos. Determinação de peso molecular. Determinação do número de subunidades. Determinação de aminoácidos N-terminais e C-terminais. Identificação de pontes de enxofre. Sequenciação de aminoácidos através da degradação de Edman.

Cromatografia. Aplicações na análise de proteínas. Cromatografias de filtração em gel, troca iónica, fase reversa, interacção hidrofóbica e de afinidade. Cromatografia líquida de alta eficiência.

Electroforese. Princípios teóricos. Meios de suporte e formatos. Sistema Laemmli. Condições nativas e desnaturantes. Focagem isoeléctrica e electroforese 2D.

Imunoensaios Anticorpos monoclonais e policlonais. Interacção antigéno/anticorpo. Purificação de anticorpos. Imunoensaios (ELISA, Western blot, imunoprecipitação, imunocitologia e FACS).

Determinação de afinidade de macromoléculas para ligandos específicos. Princípios teóricos.

Contagem e caracterização de células. Hemocitómetro. Contador Coulter. Citometria de fluxo.

Quantificação de enzimas e substratos. Formatos de ensaios. Unidades. Aplicações em análises clínicas.

Preservação de amostras biológicas. Condições de armazenamento de proteínas e ácidos nucleicos, produtos sanguíneos, células e tecidos. Armazenamento de longo termo à temperatura ambiente.

<u>Programa prático</u> :

Preparação de extractos proteicos. Centrifugação e concentração (aula 1)

Cromatografia de afinidade e dialise (aula 2)

SDS-PAGE (aula 3/4)

Western-blot (aula 3/4)

ELISA (aula 5)

<u>Programa teórico-prático</u> :

As aulas teórico-práticas vão consistir na resolução e discussão de exercícios relacionados com a matéria teórica e prática. Nas aulas TP serão ainda feitas apresentações pelos alunos de artigos científicos relacionados com o programa teórico e prático.

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Bibliografia principal

Wilson, K. and Walker, J. M. (2018) *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology* . 8th Edition, Cambridge University Press

Mikkelsen, S. R. and Cortón, E. (2016) *Bioanalytical Chemistry. 2nd Ed.* Wiley

Holme, D.J. and Peck, H. (1998 *) Analytical Biochemistry* . 3rd Edition, Longman Publishers

Switzer, R. and Garrity, L. (1999) *Experimental Biochemistry* , 3 rd ed. Freeman

Scopes, R. K. (1993) *Protein purification: Principles and Practice* , 3 rd ed. Springer Verlag

Cault, V. and McClenaghan, N. (2009) *Understanding Bioanalytical Chemistry: Principles and Applications.* Wiley

Alexandre Quintas, Ana Ponces, Arnaldo Videira, (2008) Bioquímica- *Organização molecular da vida* . LIDEL

Academic Year	2019-20
Course unit	ANALYTICAL BIOCHEMISTRY
Courses	BIOCHEMISTRY (1st Cycle)
Faculty / School	FACULTY OF SCIENCES AND TECHNOLOGY
Main Scientific Area	BIOQUÍMICA
Acronym	
Language of instruction	Portuguese
Teaching/Learning modality	Presential
Coordinating teacher	Dina Cristina Fernandes Rodrigues da Costa Simes

Teaching staff	Type	Classes	Hours (*)
Dina Cristina Fernandes Rodrigues da Costa Simes	OT; PL; T; TP	T1; TP1; PL1; OT1	30T; 15TP; 15PL; 5OT

* For classes taught jointly, it is only accounted the workload of one.

Contact hours

T	TP	PL	TC	S	E	OT	O	Total
30	15	15	0	0	0	5	0	168

T - Theoretical; TP - Theoretical and practical ; PL - Practical and laboratorial; TC - Field Work; S - Seminar; E - Training; OT - Tutorial; O - Other

Pre-requisites

no pre-requisites

Prior knowledge and skills

Biochemistry I and Analytical Laboratory techniques

The students intended learning outcomes (knowledge, skills and competences)

Understanding the chemical structures and biochemical characteristics of the main biomolecules (proteins, saccharides, lipids, nucleic acids). Understanding the structure-function relationship of biomolecules. Understanding the principles of the analytic methods used in biochemistry. Study of the methods and techniques involved in the isolation, identification, purification, characterization and quantification of the major Biomolecules with special emphasis in the proteins

Syllabus

General principles in Analytical Biochemistry

Tissue homogenization and cell lysis methods

Centrifugation methods.

Dialysis and filtration methods.

Quantification methods for biomolecules.

Methods of sequencing and analysis of proteins.

Chromatography.

Electrophoresis.

Immunoassays.

Affinity ligand assays.

Flow cytometry and cell sorting.

Quantification of enzymes and substrates.

Biological sample preservation methods

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Demonstration of the syllabus coherence with the curricular unit's learning objectives

Knowledge and comprehension of the theoretical bases of the biochemical analytical methodologies currently used in Biochemistry, including the type of equipment and instrumentation. Accuracy in the planning and execution of practical procedures. Treatment and analysis of the data and presentation of results.

Teaching methodologies (including evaluation)

The final exam will consist of a written test thast includes all the theoretical and practical material taught. The exam theoretical part will have a weighting of 70% and the practical 30%. In alternative, the final exam grade could be the arithmetic mean of the classification of the two partial exams although minimum 7/20 in each of them and the average should be 10/20. For exam admission the student has to attend 4/5 of practical and theoretical-practical lessons.

Demonstration of the coherence between the teaching methodologies and the learning outcomes

Detailed program

Theoretical program :

General principles in Analytical Biochemistry

Tissue homogenization and cell lysis methods

Centrifugation methods. Type of centrifuges. Differential and gradient centrifugation. Ultracentrifugation

Dialysis and filtration methods. Ultrafiltration. Applications.

Quantification methods for biomolecules. Proteins, lipids and carbohydrates

Methods of sequencing and analysis of proteins. Total amino acid analysis, number of protein subunits, Amino acid sequencing analysis (C-Terminal, N-terminal)

Chromatography. Gel filtration, ionic exchange, affinity, reverse phase, hydrophobic interaction. Applications in purification of biomolecules.

Electrophoresis. Theoretical principles. Laemmli system. SDS-PAGE. 2D electrophoresis.

Immunoassays. Monoclonal and polyclonal antibodies. Antibody purification. Immunoassays (ELISA, Western blot, immunoprecipitation, immunohistology FACS, MACS)

Affinity ligand assays.

Flow cytometry and cell sorting.

Quantification of enzymes and substrates. Clinical applications.

Biological sample preservation methods

Practical program

Protein extraction. Centrifugation and concentration. Class 1

Affinity Chromatography and dialysis. Class 2

SDS-PAGE (class 3/4)

Western-blot (class 3/4)

ELISA (class 5)

Program of theoretical-practical lessons

The practical classes will consist in solving exercises and discussion related to theoretical contents. The attendance to theoretical-practical/practical classes are compulsory. The student must attend 4/5 of theoretical-practical and practical classes. This rule applies only to students enrolled in the course for the first time or that have never been admitted to exam. The students will also select and present research articles that include the application of analytical techniques that are part of the program.

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Main Bibliography

Wilson, K. and Walker, J. M. (2018) *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology* . 8th Edition, Cambridge University Press

Mikkelsen, S. R. and Cortón, E. (2016) *Bioanalytical Chemistry. 2nd Ed.* Wiley

Holme, D.J. and Peck, H. (1998 *) Analytical Biochemistry* . 3rd Edition, Longman Publishers

Switzer, R. and Garrity, L. (1999) *Experimental Biochemistry* , 3 rd ed. Freeman

Scopes, R. K. (1993) *Protein purification: Principles and Practice* , 3 rd ed. Springer Verlag

Cault, V. and McClenaghan, N. (2009) *Understanding Bioanalytical Chemistry: Principles and Applications.* Wiley

Alexandre Quintas, Ana Ponces, Arnaldo Videira, (2008) Bioquímica- *Organização molecular da vida* . LIDEL