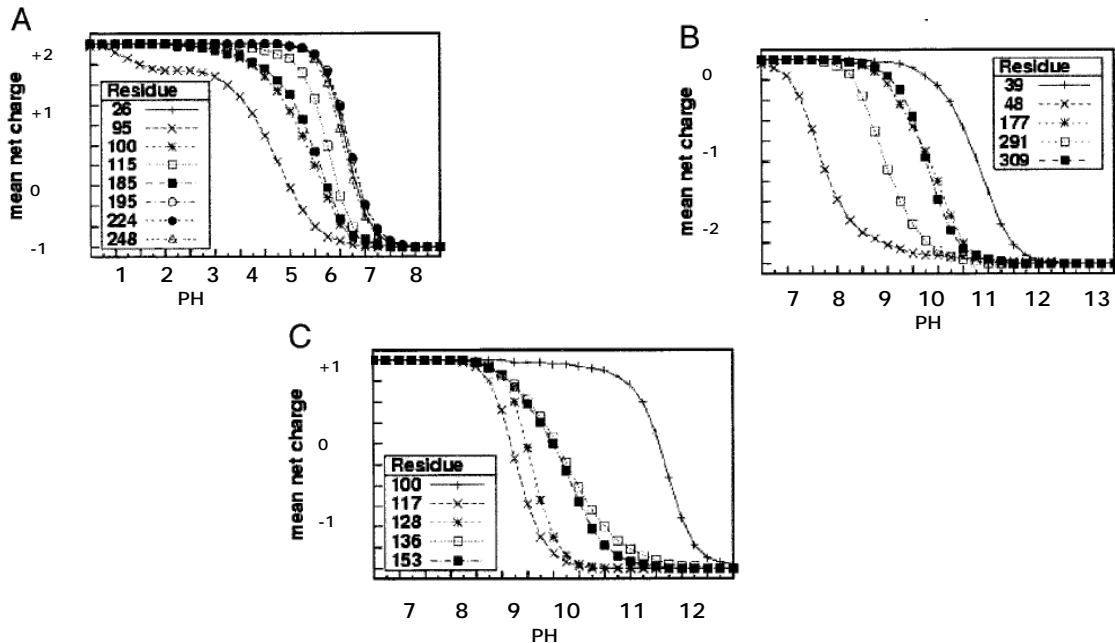


Primer Parcial Bioquímica I. 16 de Abril de 2004.

1. Recientemente se ha descrito que los aminoácidos que forman parte del sitio activo de una enzima poseen un comportamiento ácido-base diferencial con respecto al comportamiento del mismo tipo de aminoácidos en otra parte de la misma proteína. Usando este método se estudio las propiedades ácido-base de todas las Tyr, Lys e His de la enzima triosafosfato isomerasa. Los resultados de tal análisis se muestran a continuación.



En el gráfico A se estudiaron todas las His, en el B todas las Tyr y en el C las Lys. En el cuadro inserto en cada gráfico se muestran las posiciones de todas las His, Tyr y Lys de la proteína considerada.

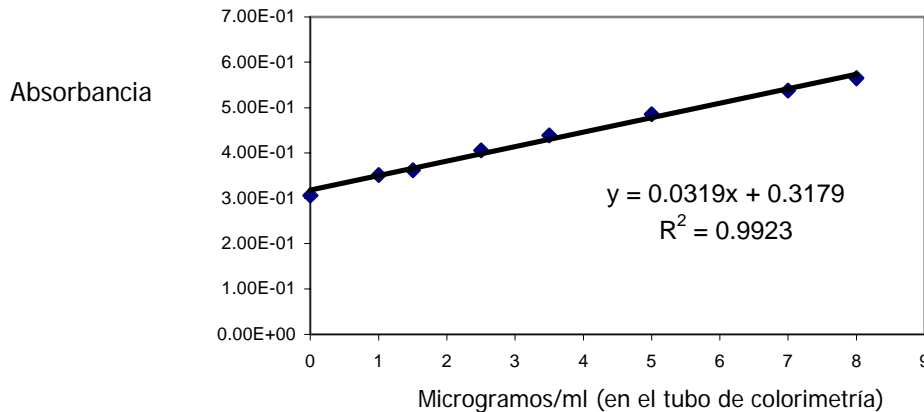
- Identifique que residuos en cada gráfico tienen un comportamiento ácido-base atípico.
- Proponga un entorno fisicoquímico que justifique el apartamiento de los aminoácidos identificados en el punto a del comportamiento ácido-base promedio.

2. Para una proteína citosólica recientemente purificada se quiere estimar el número de Cys presente en su secuencia. Se cree que algunas de las Cys están formando puentes disulfuro mientras que otras se encuentran como tioles libres. Esta proteína no presenta ninguna actividad enzimática conocida pero se sabe que presenta una fuerte actividad hemolítica cuando se agrega a una muestra de sangre de conejo.

- Defina una unidad de actividad biológica para la proteína.
- Proponga un experimento para demostrar la presencia de puentes disulfuros.

C. Proponga un experimento para determinar el número total de Cys presentes sin tener que secuenciar la proteína.

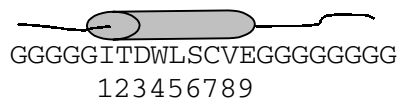
3. Para determinar la concentración de una proteína en una muestra de líquido cefalorraquídeo se empleó la técnica de Bradford. En el tubo de colorimetría la relación de los reactivos necesarios y la muestra es de 1/5.



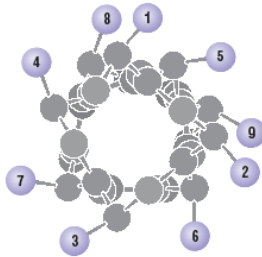
Basándose en los datos del gráfico diga cual/es de estos protocolos y/o razonamientos es correcto. Justifique su respuesta.

- La absorbancia de la muestra original es igual a 3.45. Con esta absorbancia calculo la concentración de la muestra usando la ecuación del gráfico. Este cálculo da un valor de 95.050 microgramos/ml de proteína en el líquido cefalorraquídeo.
- Se probaron distintas diluciones del líquido cefalorraquídeo. Usando una dilución de la muestra igual a 1/20 nos dio una absorbancia de 0.4514. Con esta absorbancia calculamos la concentración de proteína que es igual a 4.19 microgramos/ml con lo que nos da una concentración en el líquido cefalorraquídeo de 419 microgramos/ml.
- Se probaron distintas diluciones del líquido cefalorraquídeo. Usando una dilución de la muestra igual a 1/20 nos dio una absorbancia de 0.4514. Con esta absorbancia calculamos la concentración de proteína que es igual a 4.19 microgramos/ml con lo que nos da una concentración en el líquido cefalorraquídeo de 83.8 microgramos/ml.

4. Se está estudiando la conformación de una pequeña proteína que está formada por 4 polipéptidos cortos idénticos. La secuencia de estos péptidos es la siguiente:

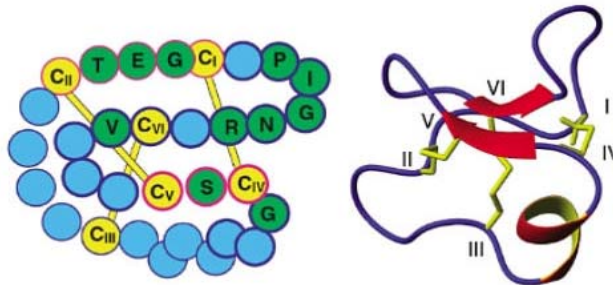


Como se ve en la figura los aminoácidos numerados del 1 al 9 son los que adoptan la estructura de alfa hélice. Sabiendo que su ubicación espacial es la que corresponde a una alfa hélice



- Podría predecir qué estructura terciaria adoptarían los 4 péptidos si se encuentran en solución acuosa?
- Que tipo de interacciones estabilizarían esa estructura?

5. En la siguiente figura se muestra la estructura de una proteína cíclica que cumple una función insecticida en plantas.



- Calcule el punto isoeléctrico de la misma. Describa el efecto de los siguientes reactivos al ser ensayados en una solución de la proteína cíclica.
- Nihidrina
- Lowry
- 2,4 dinitrofluorobenzeno (DNF, Reactivo de Sanger)
- Carboxipeptidasa
- Hidrólisis ClH 6N T = 100° C 20hs.
- β -mercaptoetanol

6. Indique en cada caso si la proposición es verdadera o falsa. Justifique todas sus respuestas.

- La estructura secundaria beta plegada es una estructura que se estabiliza mayormente por puentes de hidrógeno intracatenarios.

- b. El efecto hidrofóbico se debe mayormente al cambio de entropía que produce el plegado de una proteína partiendo de su estado desnaturalizado al estado nativo más compacto.
- c. El método de Biuret es más sensible que el de Lowry para determinar la concentración de proteínas en solución.
- d. La estructura nativa de una proteína es una estructura fija y única ya que debe unir un ligando de estructura fija.