

Problema 1:

Se tiene una mezcla de 5 decapeptidos todos en concentraciones equimolares. Los distintos decapeptidos tienen las siguientes secuencias:

Ala-(Ala)₃-Glu-(Ala)₅

Ala-(Ala)₃-(Glu)₂-(Ala)₄

Ala-(Ala)₃-(Glu)₃-(Ala)₃

Ala-(Ala)₃-(Glu)₄-(Ala)₂

Ala-(Ala)₃-(Glu)₅-Ala

- Determine el PI para cada uno de los distintos decapeptidos
- Calcule el volumen de una solución de NaOH 0.1N para llevar a la solución equimolar (0.2M) de los 5 decapeptidos desde un PH=1 hasta un PH = 8. Considere usar aproximaciones justificando adecuadamente.
- Esquematice en el mismo gráfico de PH vs vol de NaOH la curva de titulación de la solución equimolar de los decapeptidos.

Problema 2:

Con los grandes avances de la biotecnología molecular, es posible contar con técnicas in vitro que permiten modificar o rediseñar la actividad de una determinada enzima ya sea para mejorar sus propiedades catalíticas o directamente para que catalice una reacción química nueva. De esta forma un laboratorio está interesado en rediseñar el sitio activo de la enzima carboxipeptidasa. Recordemos que esta enzima elimina el aminoácido carboxilotermino (R_n) por la reacción:



El laboratorio desea rediseñar la enzima para que libere el extremo carboxilo terminal de proteína donde el residuo R_{n-1} sea el aminoácido tirosina. Proponga que aminoácidos incorporaría al sitio activo de la carboxipeptidasa para interactuar con los siguientes grupos de la proteína sustrato. Explique en cada caso que tipo de interacciones esperaría tener y cual es el fundamento de dicha interacción:

- Residuos que interactúen y reconozca selectivamente a la Tyr y no a otros aminoácidos.
- Residuos que estabilicen el extremo carboxilo terminal de la proteína sustrato
- Residuos que estabilicen el grupo carbonilo y el imino del enlace peptídico que se va a cortar.

Problema 3:

Una enzima recientemente purificada de una bacteria contiene en su forma nativa 4 subunidades. A ud. le encomiendan diseñar protocolos experimentales para obtener más información sobre la enzima. En principio las preguntas que se desean contestar son:

- Las subunidades son iguales o distintas?
- Como se mantienen unidas las distintas subunidades?

- c. En el caso que las subunidades fueran distintas, cual de todas ellas es la más básica y cuál la más ácida.
- d. Cuál de las subunidades, sino todas, une el sustrato?
- e. El peso molecular de la forma nativa y de cada una de sus subunidades, por lo menos estimados por dos métodos independientes.

Para cada una de estas preguntas plantee un protocolo experimental que le permita contestarlas y llegar a una caracterización inequívoca.

Problema 4:

Una toxina proteica de un hongo venenoso se une a un receptor de los glóbulos rojos produciendo su hemólisis. Se quiere usar este hecho para definir una unidad biológica de la toxina y cuantificarla en 5 (f1,f2,f3,f4,f5) distintos extractos de distintas especies de hongos. Para esto se procedió de la siguiente manera:

1 ml de cada uno de los extractos se mezcló con 4 ml de sangre de cordero. Después de una centrifugación se midió la cantidad de hemoglobina en el sobrenadante usando el método de Lowry. Para esto se construyó una recta de calibración cuya ecuación es:

$$y = 14.5 x \quad R^2 = 0.99$$

Los resultados de esta determinación son

Fracción	F1	F2	F3	F4	F5
[Prot] mg/ml	0.01686	0.106	$8.43 \cdot 10^{-3}$	0.045	0.177

Además para cada una de las fracciones se determinó la diferencia en el número de glóbulos rojos (antes y después del agregado de la toxina). Para esto se tomó 1ml de cada uno de los extractos y se los mezcló con 4 ml de sangre de cordero.

Fracción	F1	F2	F3	F4	F5
Diferencia Número de GR (millones)	1	6	0.5	2.7	10.5

En base a estos datos:

- a. Defina 2 unidades de actividad biológica que describan la actividad hemolítica de la toxina
- b. Exprese las concentraciones de cada fracción en unidades de actividad biológica
- c.