

## Parcial 2: Biofísicoquímica de Metaloproteínas

### 1- Técnicas para la determinación de estructuras (20 puntos)

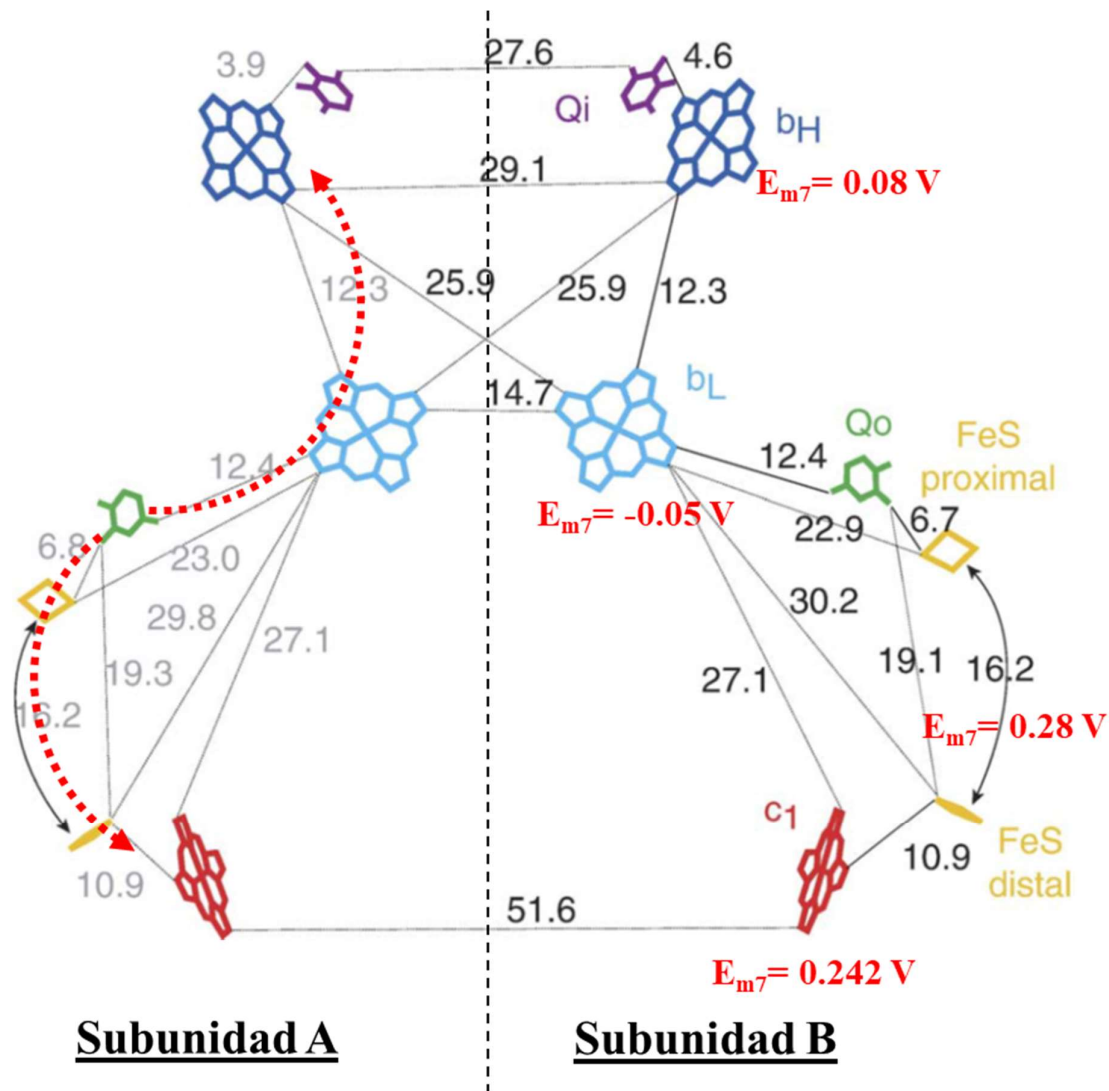
- a. En cristalografía de rayos X se necesita obtener una muestra de elevada pureza para luego obtener un cristal que posteriormente será sometido a radiación de rayos X. Tras esta experiencia se obtiene un mapa de difracción a partir del cual se puede resolver la estructura de una proteína:
  - i. ¿Qué instrumentos y/o instalaciones permiten medir este tipo de muestras?
  - ii. De acuerdo a la **Ley de Bragg**, ¿Cuándo se observará un “punto” en el mapa de difracción?
  - iii. ¿Qué mide la **Resolución** de una estructura resuelta a través de cristalografía de rayos-X?
  - iv. ¿Qué ventajas y desventajas posee cristalografía de **rayos-X** comparado **RMN estructural**?
- b. Si la biomolécula a la que pretende determinar su estructura es oligómero muy grande y no cristaliza en ninguna de las condiciones ensayadas ¿A qué técnica podría recurrir para resolver su estructura tridimensional? Justifique.

### 2- Transferencia electrónica en la fotosíntesis (30 puntos)

- a. Comente **desde el punto de vista evolutivo** porqué los pigmentos presentes en los Fotosistemas I y II absorben esa región del espectro EM y no en otra, *e.g.* el IR lejano, o el UV lejano.
- b. Explique los fenómenos de transferencia electrónica y enzimáticos del fotosistema II teniendo en cuenta:
  - i. Función de los pigmentos que no están involucrados directamente en la cadena de transferencia electrónica.
  - ii. Rol que cumple el par especial. ¿Para qué necesita absorber la energía de un fotón de luz visible?
  - iii. Rol del clúster de  $\text{CaMn}_4$ .
  - iv. ¿Cuántas moléculas de PlastoQuinona serán reducidas por el Fotosistema II por cada molécula de  $\text{O}_{2(g)}$  generada? Justifique con el balance redox pertinente.
- c. Indique qué reacciones y procesos lleva a cabo el Citocromo  $b_6f$ . ¿En qué serán usados los productos de dichas reacciones/procesos?

### 3- Transferencia electrónica en la Fosforilación oxidativa (30 puntos)

- a. Los hidratos de carbono, lípidos y algunos aminoácidos pueden ser metabolizados en una célula animal para obtener energía. Esta energía es transducida en forma de  $EMF \rightarrow PMF \rightarrow pool$  de ATP:
  - i. ¿Cuáles son las moléculas en las que se acumula la  $EMF$ ? ¿Dónde exactamente se encuentran esas moléculas en una célula de un animal de sangre caliente? Haga un dibujo simple de la célula y la organela en cuestión.
  - ii. ¿Cómo la  $EMF$  se convierte en  $PMF$ ? ¿Para qué es usada esta última?
- b. La succinato deshidrogenasa (Succinate:Ubiquinone OxidoReductase, *aka.* Complejo II) de la mitocondria es una enzima que cataliza la oxidación de succinato a fumarato ( $\text{Fumarate} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Succinate}$ ,  $E_{m7} = +0.031 \text{ Volts}$ ). La oxidación del Succinato ocurre en el sitio activo, el cual posee un cofactor orgánico llamado Flavina Adenina Dinucleotido ( $\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{FADH}_2$ ,  $E_{m7} = -0.080 \text{ Volts}$ ) en estado oxidado que recibe los 2 electrones del succinato.
  - i. Plantee las semi-reacciones redox que ocurrirán en el sitio activo, el balance neto y calcule  $E_{celda}$ . ¿Es esta reacción favorable desde el punto de vista termodinámico?
- c. El Citocromo  $bc_1$  (*Ubiquinol:Citochrome c OxidoReductase, aka.* complejo III) es una enzima clave en la cadena de transferencia de electrones de la fosforilación oxidativa que se encuentra en forma de dímero en la membrana mitocondrial.
  - i. Explique cuál es su función en la cadena de electrones.
  - ii. ¿Teniendo en cuenta las  $k_{ET}$ , sería posible que los electrones que van por los cofactores de una de una subunidad salten a los cofactores de la otra subunidad? Justifique.
  - iii. Explique (con las  $k_{ET}$ ) que sería más probable: Intercambio de electrones entre subunidades o Los electrones pasen al siguiente cofactor en la misma subunidad.



4- Ciclos biogeoquímicos del N, S, Cl, C (20 puntos)

- Nitrobacter winogradskyi* es una bacteria capaz de oxidar nitrito a nitrato para obtener electrones que puede crecer en condiciones aeróbicas en ausencia de una fuente de carbono orgánica expresando las enzimas del ciclo de Calvin.
  - Según la clasificación nutricional básica, ¿A qué grupo pertenece este tipo de metabolismo?
  - Los electrones obtenidos de la oxidación del nitrito a nitrato son transferidos hasta un aceptor terminal de electrones, ¿Cuál es este compuesto? Plantee las semi-reacciones balanceadas y reacción global sabiendo que  $(\text{NO}_3^- \rightleftharpoons \text{NO}_2^- / E_{m7} = +0.420 \text{ Volts})$  y  $(\frac{1}{2}\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} / E_{m7} = +0.816 \text{ Volts})$ .
- Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110 (**Bj**) es una bacteria usada masivamente como bioinoculante para evitar o disminuir el uso de fertilizantes químicos nitrogenados. **Bj** infecta el vegetal (soja) y establece una simbiosis en la cual la planta fornece azúcares a la bacteria, y esta le entrega  $\text{NH}_4^+$ .
  - ¿Qué enzima debe expresar **Bj** para poder fornecer con N a la planta y que reacción cataliza?
  - Teniendo en cuenta la energía necesaria para poder llevar a cabo la reacción planteada en el ítem anterior, explique porqué este proceso es favorable para *B. japonicum*.