

EJERCICIOS - MÓDULO 1

Sección Biofísica
 Facultad de Ciencias, Universidad de la República

➤ Movimiento Browniano

- 1) A partir de la observación del movimiento de una partícula en un plano, explique:
 - a) Cómo se obtiene el “*Desvío Cuadrático Medio*”.
 - b)Cuál es su significado físico y su variación temporal.

- 2) Calcule la dependencia de la constante de difusión con el volumen, para partículas esféricas sometidas a Movimiento Browniano en un medio acuoso, a temperatura y viscosidad constantes.

- 3) Se investiga la difusión de partículas esféricas microscópicas suspendidas en glicerol a densidad constante. Se determinaron para varias partículas de masas $M_1; M_2; \dots; M_n$, las constantes de difusión $D_1; D_2; \dots; D_n$. Todos los experimentos se realizaron a temperatura constante. A partir de estas determinaciones, proponga algún método para calcular el coeficiente de viscosidad del glicerol.

- 4) Un colorante de moléculas esféricas difunde en agua en un tubo de vidrio cilíndrico horizontal, a partir de una posición inicial en que se encuentra todo concentrado en la mitad del tubo (en $t = 0, x = 0$). ¿Cómo podría determinar el tamaño de las moléculas del colorante utilizando medidas ópticas del perfil de concentración en distintas unidades de tiempo?

- 5) El “*Desplazamiento Medio*” de una partícula browniana en un tiempo “ Δt ” es de 2 cm. ¿Cuál sería el “*Desplazamiento Medio*” de esa partícula, en el mismo lapso “ Δt ”, pero en un medio de viscosidad cuatro veces mayor?

➤ **Receptor Ligando**

1) Se mide por procedimiento de diálisis de equilibrio, la función r de saturación para un receptor en función de la concentración de ligando, según la siguiente tabla

$[L]$ ($\times 10^{-4} M$)	r
0.2	0.35
0.4	0.60
0.6	0.75
0.8	0.85
1.0	1.00
1.5	1.15
2.5	1.45
3.5	1.50
5.0	1.75

- Construir los siguientes gráficos:
 Directo (r vs L)
 Scatchard (r vs r/L)
 Lineweaver-Burk ($1/r$ vs $1/L$)
 Langmuir-Hines (L/r vs L)
- Obtener la ecuación de la recta para las linealizaciones planteadas en a).
- ¿Tiene argumentos para decidir si la función de saturación $r = r(L)$ corresponde a una hipérbola rectangular?
- Determinar, si es posible, el número de sitios por molécula de receptor (n) y la constante de disociación del complejo receptor ligando (K_d).

2)

a) Demostrar que, si el modelo de Hill describe el comportamiento del receptor, el gráfico de Hill ($\ln(Y/(1 - Y))$ vs $\ln([L])$) de los datos debería dar una recta.

b) Proponga un procedimiento gráfico para determinar si las variables x e y están relacionadas mediante la ecuación que se propone y en caso afirmativo una forma de estimar los valores de los parámetros a y b .

$$\text{i) } y = \frac{a}{x} + b$$

$$\text{ii) } y = a^2x^2 + 2abx + b^2$$

$$\text{iii) } y = e^{(ax - \sqrt{b})(ax + \sqrt{b})}$$

$$\text{iv) } y = a \operatorname{sen}(xy + b)$$

3) Se realizan medidas de unión de una hormona a un receptor, mediante una técnica que permite evaluar la fracción de sitios ocupados del receptor, en función de la concentración de hormona libre, en equilibrio. Los datos se muestran en la tabla siguiente:

$[L]$ ($\times 10^{-4} M$)	Y
0.0070	0.0381
0.0090	0.0681
0.011	0.113
0.015	0.247
0.020	0.456
0.025	0.636
0.030	0.759
0.035	0.835
0.040	0.883
0.060	0.955
0.090	0.979
0.11	0.985

- a) ¿Es la unión en este sistema hormona-receptor cooperativa?
 - b) Si respondió afirmativamente, ¿puede decirse que se aplica el modelo de Hill?
 - c) Calcular el número de Hill extremo y comentar la curva que se obtiene al realiza el gráfico de Hill.
- 4) Se estudia la función de saturación de dos receptores A y B , cuyos pesos moleculares no han podido aún ser precisamente determinados. La dependencia de las fracciones de saturación Y_A e Y_B de las concentraciones L_A y L_B respectivas está dada en las siguientes tablas:

$[L] (\times 10^{-4} M)$	Y_A
0.4	0.05
0.8	0.47
1.0	0.69
1.2	0.82
1.4	0.89

$[L] (\times 10^{-4} M)$	Y_B
0.01	0.42
0.04	0.058
0.10	0.68
0.50	0.81
1.00	0.86
1.50	0.88

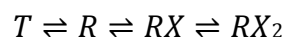
Realice el gráfico directo de los datos. Decida si la unión de estos ligandos con sus receptores es cooperativa.

- En caso afirmativo, diagnostique de qué tipo de cooperatividad se trata en cada caso y determine el número de Hill extremo.
- ¿Por qué no es posible utilizar la función r para describir el proceso de saturación de estos receptores?

➤ EJERCICIOS COMPLEMENTARIOS

Estos ejercicios tienen una complejidad mayor y pueden ser omitidos en una primera aproximación

6) El modelo de Adair es fenomenológico y no explica por qué cambian las constantes microscópicas de afinidad en cada paso. Uno de los modelos que explica la cooperatividad positiva es el propuesto por Monod, Wyman y Changeaux (MWC). En este, se supone que la molécula receptora puede estar en dos estados que conservan la simetría interna y que el ligando se une preferentemente a una de las formas. Un caso extremo (unión exclusiva) ilustra muchas de las propiedades del modelo. Para un dímero de unión exclusiva, el esquema de reacciones puede escribirse



En donde X representa al ligando, K_R es la constante microscópica de asociación de la forma R (que es única, no cambia paso a paso); L es la constante de equilibrio entre las dos formas libres del receptor R y T ($L = [T]/[R]$).

- Escribir la función de saturación en términos de las constantes dadas y de la concentración de ligando libre en el equilibrio.
- Comparar la ecuación obtenida con la del dímero de Adair. Escribir las constantes de asociación de Adair en términos de las del modelo de MWC.

- c) Analizar la dependencia de la cooperatividad de los diferentes parámetros
- d) Dar una explicación intuitiva de por qué este modelo es cooperativo.

7) Utilizando argumentos combinatorios demuestre la fórmula que relaciona las constantes macroscópicas con las microscópicas para oligómeros simétricos. (ver en el Anexo del Práctico Interacción Receptor Ligando, "Algunas consideraciones estadísticas").