

INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA FISICA , I.

Primera parte. Primer cuatrimestre de 1964.

1. Manometría y Metabolismo. Gases ideales. Ecuación general de estado; sus aplicaciones. Mezclas gaseosas ideales. Presión parcial y fracción molar. Teoría cinética de gases ideales. Gases reales. Solubilidad de gases en líquidos. Métodos manométricos en Bioquímica. Respirómetro de Warburg a volumen constante: K_{O_2} . Relaciones fundamentales: aplicaciones. Termobarómetro. Control de temperatura. Absorción de O_2 y CO_2 . Modos de expresar los resultados. Método directo para CO_2 , CO_2 y CO_3H^- . Ecuación de Henderson - Hasselbach; limitaciones y unidades, uso práctico, nomogramas. Uso del Buffer de bicarbonato para medir la producción de ácido en condiciones anaeróbicas. Influencia del carbonato. "Método indirecto" de Warburg. Ejemplos. Técnicas manométricas y metabolismo.
2. Soluciones de microsolutos. No - electrolitos. Propiedades coligativas. Soluciones electrolíticas. Equilibrios iónicos. Teoría de ácidos y bases. Curvas de titulación. Teoría de las atracciones interiónicas. Electrolitos fuertes. Coeficientes de actividad de electrolitos. Hidratación de iones. Química de la respiración. Balance ácido - base. Físicoquímica de la sangre: consideraciones generales. Curvas de disociación de CO_2 . Interacción de O_2 y CO_2 en la sangre y en soluciones de hemoglobina. Trabajos de Roughton.
3. Termodinámica en Bioquímica Nociones fundamentales de termodinámica química. Primero y segundo principio de la termodinámica. Energía interna y entalpía. Calores de reacción. Entropía. Energías de ligadura. Energía libre y constante de equilibrio. Potencial químico. Potencial de transferencia de grupo. Energía de ligadura y ligadura rica en energía: distinción entre ambos conceptos, ejemplos. Aplicación de la termodinámica y del equilibrio químico a sistemas bioquímicamente importantes: 1) el equilibrio fumarato-malato. 2) síntesis. 3) la energía libre standard de hidrólisis de la adenosinatri-fosfato (ATP). Trabajos de Krebs, de Levinton y Meister, de Benzinger y colaboradores, de Alberty y colaboradores. Energía libre y metabolismo. Energía libre asociada a algunas reacciones típicamente bioquímicas. Acoplamiento de potenciales, síntesis bioquímica y los mecanismos al nivel molecular. Termodinámica estadística y Biología. Entalpía y entropía de inactivación térmica. Entropía de una célula bacteriana: la transferencia de entropía en los organismos vivientes.
4. Cinética química. Velocidades de reacción. Orden y molecularidad. Velocidad específica de reacción. Análisis de los resultados obtenidos en una investigación cinética: métodos. Reacciones de orden cero, de primer orden y de segundo orden. Reacciones que no tienen un orden simple. Reacciones gaseosas y en solución; influencia de la fuerza iónica. Reacciones opuestas. Catálisis. Ley de Arrhenius. Complejo activado. Energía de activación. El factor frecuencia. Idea general sobre la teoría de las colisiones. Ideas fundamentales sobre la teoría absoluta de las velocidades de reacción; entropía de activación. Método del "estado estacionario".
5. Cinética de las reacciones enzimáticas. Antecedentes; trabajos de Brown y Henry sobre inversión enzimática de la sacarosa. Hipótesis de Brown sobre el complejo enzima-sustrato. Carácter bifásico de las reacciones enzimáticas. Reacciones con un solo sustrato. Ley de Michaelis - Menten; constante de Michaelis. La modificación de Briggs - Haldane. Los tratamientos de Michaelis - Menten y Van Slyke - Cullen como casos límites de la ley de Briggs - Haldane. Análisis de los resultados experimentales: diversos métodos. Cálculo de constantes. Inhibición por sustrato. Centros activos e inactivos sobre

la enzima. Inhibición competitiva y no-competitiva. Efecto de la temperatura. Inactivación térmica. Naturaleza de la interacción enzima-substrato. Algunas consideraciones sobre mecanismos de la acción enzimática, estructura de la enzima y función y especificidad de la enzima.

INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA FISICA, II.

Segunda parte. Segundo cuatrimestre, 1964.

6. Oxido-reducción biológica. A) La unión química y la geometría de las moléculas. Teoría moderna de la estructura atómica. Orbitales atómicos y moleculares. Configuraciones electrónicas. Uniones químicas y energías de interacción: Van der Waals, polares (compuestos covalentes), unión hidrógeno, unión metálica, unión iónica. Energías de ionización y electronegatividades. Orbitales híbridos. Resonancia.
B) Conceptos fundamentales en electroquímica. Electrones simples. Acoplamiento de electrones. Potenciales standard de oxidación. Ecuación de Nernst. Transferencia intermolecular de electrones: transferencia de uno y dos electrones. Electrones secundarios de referencia. Pilas. Medición de pH. Buffers de oxido-reducción: su uso para la determinación de E° de sistemas de interés biológico. Oxidación uni- y bivalente. Efecto de ionización en las reacciones redox. Relaciones entre energía libre (ΔF) y potenciales de óxido-reducción. Relación entre la capacidad de combinación de enzimas y potencial de óxido-reducción. Trabajos de Theorell y Michaelis. El equilibrio de semi-quinona. La escala rH de Dixon. Importancia biológica del potencial de óxido-reducción.
7. Amino-ácidos, péptidos y proteínas. Propiedades anfotéricas. Iones dipolares. Fundamentos de la estructura iónica dipolar de amino-ácidos. Anfólitos simples y anfólitos polivalentes. Ácidos polivalentes. Constantes microscópicas y macroscópicas: caso del ácido glutámico. Determinación espectroscópica de constantes microscópicas: ionización de la cisteína. Punto isoeléctrico e isoiónico. Equilibrios iónicos en soluciones de anfólitos polivalentes (proteínas): ecuación de Linderström - Lang. Efectos electrostáticos: beta-lactoglobulina, ovoalbumina, ribonucleasa. Curvas de titulación. Contribución de las propiedades ácido-básicas a la dilucidación de problemas de estructura.
8. Equilibrios de membrana y fenómenos electrocinéticos. Equilibrios de Gibbs-Donnan. Relación de distribución. Propiedades. Efecto Donnan y punto isoeléctrico. Potenciales de membrana. Presión osmótica de soluciones macromoleculares: el término osmótico de Donnan. Tratamiento de Scatchard: efecto de la carga neta del ión coloidal no difusible. Electro-ósmosis y potencial de corriente. Electroforesis y potencial de sedimentación. Electroforesis simple, libre (Tiselius). Ideas generales sobre la teoría de la doble capa eléctrica.
9. Tamaño y forma de macromoléculas. Revisión general de los métodos más importantes. Difusión. Método del vidrio poroso (Northrup). Velocidad de sedimentación. Equilibrio de sedimentación. Fórmulas de Svedberg. Método de Archibald. Viscosidad y difusión en soluciones macromoleculares. Hidratación y asimetría molecular. Efecto electroviscoso. "Scattering": su aplicación a la determinación de tamaño y forma de macromoléculas; R_{90} . Presión osmótica. Ultrafiltración. Films monomoleculares. Cromatografía de adsorción y partición. Cromatografía y electroforesis sobre papel. Constantes moleculares de algunas proteínas.

...///...

10. Estructura. Estructura de proteínas y ácidos nucleicos. Estructura primaria secundaria y terciaria: Linderström - Lang y Pauling. Configuraciones espaciales y modelos helicoidales. Macromoléculas rígidas y a cadenas flexibles. Substitución isomórfica. Unión hidrógeno. Desnaturalización de proteínas y DNA. Configuración tridimensional de la molécula de DNA. Actividad biológica y estructura.

TR A B A J O S P R A C T I C O S .

Primer parte.

Jefe de Trabajos Prácticos: Dr. José SCHWARCZ.
Lic. Mario R.E. Jellinek.

1. GASES Experiencias de Boyle. Leyes de gases ideales, su verificación experimental. Cálculo del coeficiente térmico a presión constante del nitrógeno. Cálculo de R. Ecuación general de estado y de Van der Waals. Cálculo de las constantes de Van der Waals del anhídrido carbónico.
2. Determinación de densidades y pesos moleculares de vapores y líquidos volátiles orgánicos por el método de Victor Meyer.
3. Determinación de la densidad absoluta del CO₂ por el método de la ampolla.
4. SOLUCIONES . Determinación de pesos moleculares de sustancias en solución por el método del descenso crioscópico.
5. Determinación del peso equivalente de un ácido orgánico desconocido.
6. Curva de titulación de un ácido fuerte con una base débil y de un ácido débil con una base fuerte con diferentes indicadores. Acidimetría. Alcalimetría. Cálculo de pK de un ácido débil.
7. pH-metría : Electrodo diversos. Uso de nomogramas para la preparación de Buffers de pH y fuerza iónica dadas. Calibración de un pH-metro.
8. Termoquímica. Calorimetría. Determinación de calores de reacción de disolución. Reacciones entre iones. Calibración de un calorímetro.
9. Cinética Química. Velocidad específica de hidratación de acetato de etilo (Método conductimétrico).
10. Velocidad específica de inversión de la sacarosa (Método polarimétrico).
11. Cinética de una reacción enzimática: Determinación de la constante de Michaelis-Menten para el sistema urea-ureasa (Método fotocolorimétrico). Cálculo de constantes termodinámicas a partir de datos cinéticos.
12. Oxido-reducción. Determinación del potencial standard de oxidación en base al uso de buffers de oxido-reducción. Influencia del pH.
13. Curvas de titulación de anfólitos. Titulación de aminoácidos. Determinación de pK₁ y pK₂.
14. Viscosimetría y potenciometría: pH isoelectrico de proteínas en base a medidas de viscosidad.

...///...

15. Adsorción. Isoterma de adsorción de Freundlich y de Langmuir.
 16. Cromatografía en papel: (de aminoácidos y azúcares) : Cromatografía monodimensional ascendente, descendente, horizontal y circular. Cromatografía bidimensional. Análisis de ingógnitas.
 17. Cromatografía en papel de hidrolizados proteicos : Análisis cualitativo por cromatografía bidimensional.
 18. Cromatografía en columna. Cromatografía de absorción en óxido de aluminio. Determinación de los grados de Brockman. Uso del fraccionador automático y colorímetro a red de difracción.
 19. Cromatografía de partición sobre ácido silícico. Separación de dinitro-fenil aminoácidos.
 20. Cromatografía sobre resinas de intercambio iónico, su preparación. Gradientes de elución, su comprobación potenciométrica y conductimétrica.
-