

SFI5854 - Termodinâmica de Sistemas Biológicos

Segundo Semestre - 2010

Leandro Martínez

leandro@ifsc.usp.br

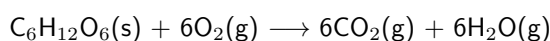
Lista de Exercícios I - Revisão de Termodinâmica

1. Uma reação química foi feita em um recipiente e observou-se um aumento de temperatura de 4°C. O meio reacional era composto essencialmente de água, aproximadamente 100g, e dos produtos e reagentes em concentrações baixas. Qual o calor liberado pela reação?
2. Descreva uma máquina em que calor seja transformado em trabalho. Descreva uma máquina em que trabalho seja transformado em calor. Discuta se este processo poderia ser repetido de forma indefinida pelo acoplamento das duas máquinas.
3. Um gás ideal é aquele no qual as partículas não interagem. Sabendo que a temperatura pode ser calculada diretamente a partir das velocidades médias dos átomos, responda: (a) Qual a variação de temperatura envolvida na expansão de um gás contra vácuo? (b) Qual o calor envolvido nessa expansão?
4. Em um gás real, as moléculas interagem. Em curtas distâncias a interação é repulsiva, porque as moléculas tem volume. Em distâncias maiores as interações são atrativas, do tipo Van der Waals. Um gás é, naturalmente, pouco denso. Considerando esses fatores, descreva microscopicamente o fenômeno de expansão de um gás real contra vácuo, e qual deve ser a variação de temperatura associada.
5. Um gás ideal foi expandido à pressão atmosférica, constante, de 1 a 4 litros. Qual o trabalho realizado pelo gás? Qual o calor envolvido na transformação? Qual a variação da energia interna do gás?
6. Um mol de gás ideal foi expandido reversivelmente a temperatura constante de 25°C de 1 a 4 litros. Qual o trabalho realizado pelo gás? Qual o calor envolvido na transformação? Qual a variação de entropia do gás?
7. Qual a entalpia da reação do item 1?
8. A reação do item 1 libera um gás e foi refeita em recipiente fechado. Em seguida, o recipiente foi aberto e o gás se dissipou. Durante todo o processo a pressão sofreu variações, mas a temperatura e pressão inicial e final foram as mesmas do item 1. Qual a entalpia da reação realizada desta forma?
9. Qual a variação de energia livre de Gibbs do gás do item 5?
10. **Desafio:** Um modelo binomial pode ser usado para representar de forma simplificada a probabilidades relativas de micro e macroestados termodinâmicos. Use a aproximação de Stirling ($\ln N! = N \ln N - N$, N grande) para mostrar que o máximo da distribuição binomial ocorre em $N/2$. Discuta como isso se relaciona com a observação macroscópica de um sistema termodinâmico.
11. A dissolução do cloreto de sódio em água a 25°C é espontânea e endotérmica. Faça um gráfico qualitativo da entalpia em função do avanço da reação. Faça um gráfico qualitativo da entropia em função do avanço da reação. Faça um gráfico qualitativo da energia livre de Gibbs em função do avanço da reação.
12. A ciclização do ATP formando AMP-Cíclico, uma molécula importante na sinalização de processos intracelulares, é feita por enzimas conhecidas como Adenylyl-ciclases. Estas enzimas contém íons Mg^{2+} no sítio ativo para estabilizar o estado de transição e as cargas de um dos produtos, o pirofosfato. A reação pode ser escrita como:



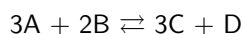
A reação é espontânea mas muito lenta sem a catálise enzimática. Faça um gráfico mostrando a energia de produtos e reagentes em função do avanço da reação na presença ou ausência de catalisador. Qual a sua expectativa com relação à entropia relativa de produtos e reagentes?

13. Em um recipiente fechado, uma quantidade de água líquida evapora até que ocorra saturação do vapor. Faça um gráfico ilustrando qualitativamente a variação de energia livre neste processo. Faça outro gráfico mostrando como varia o potencial químico do vapor, e indique no mesmo gráfico o potencial químico do líquido.
14. Etanol e água são solúveis em qualquer proporção. No entanto, sua separação só pode ser feita por destilação até uma fração de 96% de etanol em água. Isto quer dizer que o vapor de uma mistura de 96% de etanol em água tem a mesma proporção dos componentes que o líquido. Em proporções menores de etanol, a água evapora em proporção maior do que aquela do líquido. Em proporções maiores de etanol, este evapora em proporções maiores do que as da mistura líquida. Analise as relações entre o potencial químico de cada uma das espécies nas fases líquida e gasosa, nas três situações possíveis (proporção etanol/água menor que 96%, igual a 96% e maior que 96%).
15. Considere a reação de combustão da glicose:



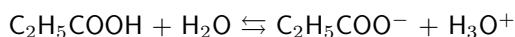
(a) Usando argumentos qualitativos, discuta a variação de entropia associada a esta reação. (b) Dado que a reação é exotérmica, discuta qual a dependência espontaneidade da reação com a temperatura. Faça um gráfico de ΔG em função da temperatura para ilustrar a resposta.

16. Considere a reação



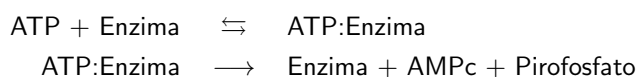
(a) Escreva as equações de velocidade da reação em função de cada um dos reagentes ou produtos. (b) Escreva a equação da variação da energia livre de Gibbs em função de um avanço δ da reação e do potencial químico de produtos e reagentes. (c) Encontre a equação geral que define a condição de equilíbrio em função dos potenciais químicos.

17. Considere a equação de dissociação do ácido acético em solução aquosa,



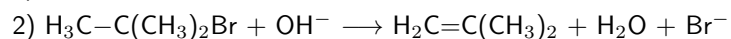
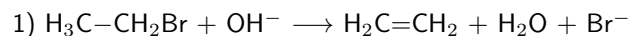
(a) Supondo uma solução de ácido acético foi diluída, faça um gráfico mostrando qualitativamente a evolução temporal das concentrações do ácido protonado e da base conjugada. (b) Escreva as equações da velocidade da reação de dissociação em função da concentração do ácido, supondo que a dissociação segue o mecanismo representado pela equação acima. (c) Obtenha a equação integrada da concentração em função do tempo e confirme o aspecto qualitativo do gráfico que você desenhou no item (a).

18. A reação enzimática da pergunta 12 ocorre primeiro pela formação do complexo ATP:Enzima, que é seguida pela ciclização do ATP e liberação dos produtos. O mecanismo pode ser escrito da seguinte forma:



Imagine que a reação de ciclização (segunda etapa) é muito mais rápida que a formação do complexo. Neste caso, procure mostrar em um gráfico, de forma qualitativa: (a) A concentração de ATP em função do tempo. (b) A concentração do complexo ATP:Enzima em função do tempo.

19. Duas reações de eliminação foram estudadas:



Observou-se que a velocidade da reação (1) depende da concentração de base no meio, enquanto que a da reação (2) não. (a) Qual das duas reações deve acontecer em mais de uma etapa? (b) Sabendo que cargas positivas em átomos de carbono são estabilizadas pela presença de substituintes volumosos, proponha um mecanismo para a segunda reação. (c) Faça uma analogia da reação (2) e da reação de catálise enzimática da pergunta 18, e discuta as semelhanças das dependências temporais das concentrações de produtos, reagentes e intermediários.

SFI5854 - Termodinâmica de Sistemas Biológicos

Segundo Semestre - 2010

Leandro Martínez

leandro@ifsc.usp.br

Lista de Exercícios II - Equilíbrio de associação de ligantes

1. Escreva todos os equilíbrios envolvidos na dupla protonação de um aminoácido de Glicina. Escreva as equações das constantes de equilíbrio (na forma de constantes de dissociação).
2. Mostre a forma geral da curva de titulação de um ácido diprótico (com dois grupos tituláveis). Indique os dois pontos de equivalência e explique seu significado, quando os dois grupos tituláveis tem afinidades muito diferentes.
3. Quando os dois grupos tituláveis tem as mesmas afinidades por prótons, escreva a que equilíbrios macroscópicos correspondem os pontos de equivalência do gráfico do item 2.
4. No caso da Glicina, os pKa's dos grupos carboxilato e amina são 9,78 e 2,35. Discuta a natureza dos pontos de equivalência da titulação de uma solução de Glicina.
5. Quando uma espécie tem dois sítios de ligação totalmente equivalentes, uma titulação resulta na observação de dois pontos de equivalência macroscópicos, que são observados em concentrações de titulante (ácido, base ou qualquer ligante) uma quatro vezes maior que outra. Demonstre.
6. Suponha que uma proteína tem dois sítios de ligação. Escreva todos os equilíbrios microscópicos de associação envolvidos.
 - (a) Qual a relação entre as constantes de dissociação das quatro reações quando os sítios são equivalentes e não-interagentes? Explique.
 - (b) Qual a relação entre as constantes de dissociação das quatro reações quando os sítios são não-equivalentes e não-interagentes? Explique.
 - (c) Qual a relação entre as constantes de dissociação quando os sítios são equivalentes, mas interagem?
 - (d) Qual a relação entre as constantes de dissociação quando os sítios são não-equivalentes e interagentes?
7. Generalize a demonstração da relação entre as constantes de equilíbrio macroscópicas do item 5 para o caso de sítios não-equivalentes, mas independentes.
8. Mostre usando o resultado da questão anterior que os sítios da Glicina são essencialmente não-interagentes.
9. Geralmente usa-se

$$\nu = \frac{\sum_{i=1}^N n_i [\text{PL}_{n_i}]}{\sum_{i=0}^N [\text{PL}_i]}$$

como uma medida de afinidade. Explique o significado dos termos desta equação.

10. A fluorescência de um ligante pode mudar drasticamente com sua entrada no sítio ativo de uma proteína. Suponha que a proteína tem dois sítios. Descreva qualitativamente o experimento, indicando: 1) Quais concentrações são conhecidas pelo pesquisador. 2) Quais concentrações podem ser conhecidas diretamente uma vez que é feita a medida. Por que a formulação da constante de afinidade ν do item anterior é razoável neste contexto.

11. Mostre que em uma solução contendo uma proteína de múltiplos sítios não-interagentes, a concentração da espécie $[PL_2]$ é

$$[PL_2] = \frac{[P][L]^2}{K_1K_2}$$

12. Qual a fórmula geral correspondente ao item anterior para uma espécie qualquer $[PL_i]$?

13. Estude, a partir da equação do item anterior, como chegar à equação de Scachardt,

$$\frac{\nu}{[L]} = \frac{N}{k'} - \frac{\nu}{k'}$$

14. Desenhe um gráfico de Scachardt, para N sítios equivalentes e não-interagentes, e mostre a partir de quais parâmetros é possível obter o número de sítios e a constante de dissociação microscópica dos sítios.

15. Estude a dedução da equação de Scachardt para dois sítios não equivalentes e não-interagentes,

$$\frac{\nu}{[L]} = \frac{1}{k'_2 + [L]} + \frac{1}{k'_2 + [L]}$$

16. Desenhe um gráfico de Scachardt para dois sítios não-equivalentes e não interagentes. Explique como você faria para obter as constantes de dissociação microscópicas dos dois sítios a partir deste gráfico.

17. Mostre as relações entre constantes microscópicas e macroscópicas de um sistema de dois sítios, e indique quais as relações entre as constantes que diferenciam sítios competitivos, não-interagentes, e cooperativos.

18. Deduza quanto deve valer $\nu/[L]$ em um sistema de N sítios interagindo de forma perfeitamente cooperativa.

19. Desenhe um gráfico de Hill para um sistema de 4 sítios que interagem de forma perfeitamente cooperativa. Mostre, no mesmo gráfico, a curva correspondente a um sistema não-interagente. Mostre ainda algumas situações intermediárias, indicando para cada caso qual seria a constante de Hill correspondente.

20. Escreva todas as reações envolvidas no equilíbrio químico da protonação da Glicina. Escreva todas as equações correspondentes às constantes de dissociação de todas as reações, e escreva também os balanços de massa e carga, durante uma titulação com hidróxido de sódio. Imagine que você mediu o pH de uma solução de Glicina para várias concentrações de hidróxido de sódio adicionado.

(a) Faça um gráfico que indique qualitativamente qual o pH em função da quantidade de ácido adicionada.

(b) Escreva o problema de encontrar a concentração de todas as espécies em solução na forma de um problema de otimização, que leve em conta as informações conhecidas e os dados experimentais obtidos.

(c) Se você tiver inclinações computacionais e interesse em resolver você mesmo o problema, instale o pacote ALGENCAN (de <http://www.ime.usp.br/~egbirgin/tango>, e siga as instruções de como programar um problema, preferencialmente usando a interface com AMPL, que facilita as coisas.

(d) Se você não tem inclinações computacionais, lembre-se da formulação acima e, o dia que tiver que realmente resolver um problema deste tipo, procure alguém que trabalha com otimização e mostre o problema formulado dessa forma.

SFI5854 - Termodinâmica de Sistemas Biológicos

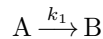
Segundo Semestre - 2010

Leandro Martínez

leandro@ifsc.usp.br

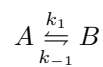
Lista de Exercícios III - Catálise enzimática

1. Escreva a lei de velocidade, na forma de taxa de consumo do reagente A, para a reação



Integre a equação diferencial e obtenha a lei de velocidade, sabendo que a concentração inicial de A é $[A]_0$. Desenhe a curva de $[A]$ em função do tempo.

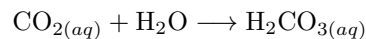
2. Em reações unimoleculares do tipo



a concentração do reagente A varia segundo

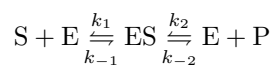
$$[A] = ([A]_0 - [A]_{eq})e^{-(k_1+k_{-1})t} + [A]_{eq}$$

- (a) Escreva as equações diferenciais que descrevem as variações das concentrações de A e B com o tempo.
- (b) Mostre graficamente como varia a concentração do reagente A quando sua concentração inicial é menor ou maior que a concentração de equilíbrio.
3. Explique o conceito no qual se baseia o método do isolamento para a determinação da dependência da cinética de uma reação com a concentração de um reagente. Discuta, com base neste conceito, por que para a reação de hidratação do dióxido de carbono em água,



a lei de velocidade pode ser escrita simplesmente por $-d[\text{CO}_2]/dt = k[\text{CO}_2]$.

4. Explique o conceito de um experimento de cinética química no qual se obtém a velocidade da reação em função da concentração de apenas um reagente usando o método das velocidades iniciais. Faça um gráfico ilustrando os vários experimentos envolvidos.
5. O modelo mais simples de mecanismo de catálise enzimática é o de Michaelis-Menten,



em que S é o substrato, E é a enzima e P é o produto. ES é um complexo enzima-substrato.

- (a) Escreva as equações diferenciais que descrevem a variação da concentração do substrato, do complexo e do produto em função das espécies envolvidas na reação.
- (b) Escreva as equações de balanço de massa para a enzima e para o substrato.
- (c) Deduza a equação de Michaelis-Menten usando a aproximação do estado estacionário, isto é, $d[\text{ES}]/dt = 0$.
- (d) Deduza a equação de Michaelis-Menten usando a aproximação de equilíbrio, isto é, $k_1, k_{-1} \gg k_2, k_{-2}$.

6. Mostre que a velocidade máxima em um mecanismo do tipo Michaelis-Menten é $V_{max} = k_2[E]_0$.
7. Mostre que a constante de Michaelis-Menten, K_m , pode ser obtida a partir de um gráfico de velocidade em função da concentração de substrato quando $v = V_{max}/2$. Ilustre graficamente esta condição.
8. Faça um gráfico de $1/v$ em função de $1/[S]$. Mostre que este gráfico deve ser uma reta com coeficiente angular K_m/V_{max} , coeficiente linear $1/V_{max}$, e que a interseção na abscissa ocorre para $1/[S] = -1/K_m$.
9. Mostre que quando a concentração de substrato é pequena, a velocidade de uma reação do tipo Michaelis-Menten assume um comportamento que se assemelha à velocidade de uma reação bimolecular de uma única etapa.
10. Procure na literatura a eficiência enzimática de 4 enzimas, e compare estas eficiências com a velocidade de reações controladas por difusão.
11. Um estudo cinético da reação reversa de uma catálise do tipo Michaelis-Menten permite a obtenção da constante de equilíbrio da reação em função das constantes de velocidade, segundo

$$K_{eq} = \frac{V_{max,S}/K_m}{V_{max,P}/K_P}$$

Mostre, usando as definições de $V_{max,S}$, K_m , $V_{max,P}$ e K_P que esta equação de fato corresponde à constante de equilíbrio da reação $S \rightleftharpoons P$.

12. Na inibição competitiva, o inibidor e o substrato competem pela enzima livre em solução, pela formação de um complexo enzima-substrato ou um complexo enzima-inibidor. Escreva as equações químicas envolvidas. Supondo que o equilíbrio de formação de ambos os complexos são atingidos rapidamente, escreva os quocientes reacionais associados a cada equilíbrio e o balanço de massa para a enzima.
13. Uma catálise inibida por um inibidor competitivo apresenta uma cinética da forma

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + [S]}$$

onde $V_{max} = k_2[E]_0$ e $\alpha = 1 + [I]/K_I$.

- (a) Mostre que a velocidade máxima da reação não se altera.
- (b) Mostre que para uma dada velocidade, a concentração de substrato necessária para atingir a mesma velocidade na reação inibida é maior.
- (c) Faça um gráfico de velocidade em função da concentração ilustrando o comportamento cinético da reação inibida em relação à reação não inibida.
14. Deduza a equação do item anterior usando as equações da questão 12 e a condição $-d[S]/dt = k_2[ES]$, válida no início da reação, quando $[P] \sim 0$
15. Explique por que $-d[S]/dt = k_2[ES]$ é válida no início da reação.
16. Faça um gráfico linearizado, de $1/v$ em função de $1/[S]$, que ilustre o comportamento cinético de uma reação inibida por um inibidor competitivo em comparação com um uma reação não-inibida. Mostre que o coeficiente angular é $\alpha K_m/V_{max}$, que o coeficiente linear não muda e é $1/V_{max}$, e que a interseção com a abscissa é $-1/(\alpha K_m)$.

17. Na inibição *incompetitiva*, o inibidor forma um complexo com o complexo enzima-substrato, que impede o prosseguimento da reação. O inibidor, por outro lado, não forma um complexo com a enzima livre. Assumindo que o equilíbrio de formação dos complexo enzima-substrato e enzima-substrato-inibidor são rapidamente atingidos, escreva os quocientes reacionais relevantes e o balanço de massas da enzima.

18. Mostre que no início da reação a velocidade da reação inibida por um inibidor incompetitivo é

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + \alpha'[S]}$$

com $\alpha' = [I]/K_{ES} + 1$.

19. Mostre que na inibição incompetitiva a velocidade máxima da enzima é alterada. Faça um gráfico da velocidade da reação em função da concentração de substrato que ilustre este comportamento.

20. Faça um gráfico linearizado de $1/v$ em função de $1/[S]$ para uma catálise inibida incompetitivamente. Mostre que o coeficiente angular não se altera, mas que a interseção na ordenada é α'/V_{max} , sendo V_{max} a velocidade da reação não inibida.

21. Na inibição mista, o inibidor pode formar um complexo com a enzima livre, mas também pode se associar ao complexo enzima-substrato. Escreva as reações envolvidas, os quocientes reacionais e o balanço de massas da enzima.

22. Mostre que a velocidade da reação de uma catálise inibida de forma mista pode ser descrita, dentro da aproximação de equilíbrio, por

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$$

com α e α' definidos como anteriormente.

23. Ilustre o resultado experimental de uma inibição mista através de um gráfico de $1/v$ em função de $1/[S]$. Mostre no gráfico o valor do coeficiente angular, do coeficiente linear e da concentração quando a reta intersepta a ordenada.

24. Um caso particular de inibição mista é aquele em que a associação do substrato e do inibidor à enzima são independentes. Isto é, a associação do substrato não altera a afinidade do inibidor pela enzima, e a associação do inibidor não altera a afinidade do substrato pela enzima. Mostre que, neste caso, a interseção das retas do item anterior com a ordenada ocorrem todas no mesmo ponto, independentemente da concentração ou natureza do inibidor, em $1/[S] = -1/K_m$. Note que, neste caso, a inibição acontece sem uma variação perceptível de K_m . Este tipo de inibição é conhecido como inibição não-competitiva (mas deveria ser chamada inibição não-interagente).

25. Pense sobre o seguinte assunto: A inibição competitiva pode ser considerada um caso particular da inibição mista, no qual a afinidade do substrato é nula quando o inibidor se liga na enzima, e vice-versa. A inibição incompetitiva, por sua vez, pode ser considerada como um caso particular da inibição mista quando a afinidade do inibidor pela enzima só é apreciável quando o substrato está ligado. No caso mais simples, substrato e inibidor competem pelo mesmo sítio de ligação na inibição competitiva. Ao mesmo tempo, no caso mais simples de inibição incompetitiva, o sítio de ligação do inibidor é composto também pelo substrato no sítio ativo.

SFI5854 - Termodinâmica de Sistemas Biológicos

Segundo Semestre - 2010

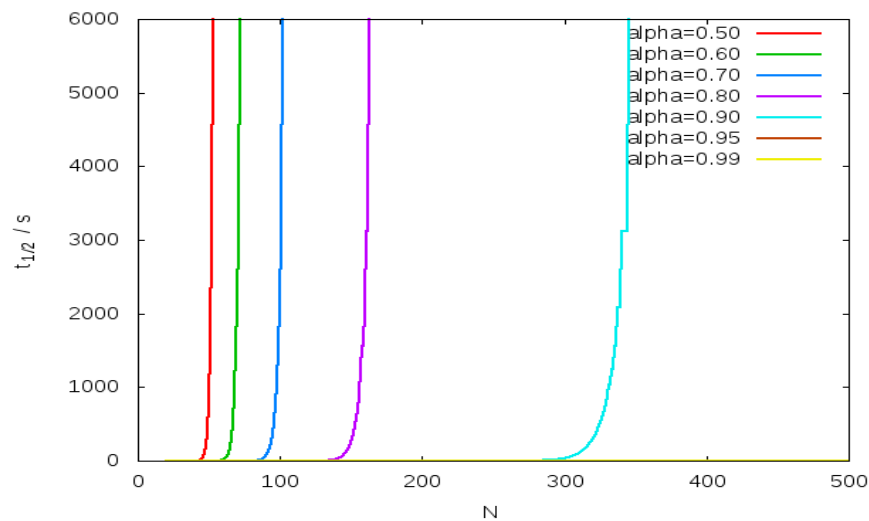
Leandro Martínez

leandro@ifsc.usp.br

Lista de Exercícios IV - Enovelamento de proteínas

1. Considere um polímero unidimensional de $N + 1$ átomos, portanto com N ligações. Cada ligação tem comprimento l e pode estar "para a direita" ou "para a esquerda". Qual o número total de configurações que esse polímero pode assumir?
2. Se, no polímero do item 1, N_E é o número de ligações para a esquerda e N_D é o número de ligações para a direita, qual é o comprimento do polímero, definido pela distância entre suas extremidades? Coloque a resposta em função de N_D e N .
3. Quantas configurações do polímero com N_D ligações para a direita existem ($N_D \leq N$)?
4. Admitindo que todas as configurações do polímero têm igual probabilidade, qual a probabilidade de encontrar uma configuração com N_D ligações para a direita? Qual é o comprimento mais provável? Desenhe uma curva mostrando qualitativamente a probabilidade de encontrar um determinado comprimento da cadeia polimérica em função do comprimento.
5. Considere que o polímero dos itens anteriores é uma proteína. Há apenas uma configuração funcional, a configuração "nativa". Qual a probabilidade de observação da configuração nativa? Qual a probabilidade de uma configuração nativa se o polímero tem 100 ligações? É possível que a estrutura nativa tenha a mesma estabilidade que as estruturas desenoveladas (ou seja, uma solução de proteína poderia apresentar função nestas condições)?
6. Supondo que a estrutura nativa é totalmente estável (isto é, uma vez atingida é mantida): Qual seria o estado de equilíbrio de uma população de proteínas inicialmente com configurações aleatórias?
7. Considerando sua resposta do item anterior, discuta se medidas termodinâmicas de equilíbrio podem fornecer alguma informação sobre o *mecanismo* de enovelamento de proteínas.
8. O estudo do *mecanismo* de enovelamento de proteínas envolve o estudo da cinética do processo, isto é, do tempo necessário para que uma população de proteínas desenoveladas evolua para uma população contendo uma proporção significativa de estruturas nativas. Faça um gráfico mostrando a probabilidade de uma proteína de 2 resíduos (uma ligação) permanecer desenovelada em função do tempo, supondo que a cada tempo τ a ligação é perturbada de maneira aleatória e pode atingir a configuração correta com 50% de probabilidade, considerando a suposição do item 6.
9. Qual a equação que descreve $P(t)$, a probabilidade da proteína permanecer desenovelada, de acordo com o item anterior?
10. Faça as mesmas análises dos dois itens anteriores para uma proteína de 3 resíduos (duas ligações).
11. Qual a fórmula de $P(t)$, a probabilidade da proteína permanecer desenovelada, para uma proteína com $N + 1$ resíduos (N ligações)?
12. Qual a fórmula de $P_e(t)$, a probabilidade de uma proteína de N ligações se enovelar no tempo t ?
13. Quanto tempo ($t_{1/2}$) é necessário para que 50% das proteínas descritas pelos modelos dos itens anteriores tenham se enovelado (em função de N e τ)?

14. Discuta valores $t_{1/2}$ em função de N para um tempo característico de mudanças conformacionais de $\tau = 1$ ns. Considerando que proteínas devem se enovelar na escala de tempo de microssegundos a minutos, qual é o valor máximo aproximado de N que este mecanismo permite? Este mecanismo pode explicar o enovelamento das proteínas reais?
15. Mostre como deve ser a equação correspondente à do item 13 se a probabilidade de uma perturbação levar à conformação correta for, em lugar de 50%, uma probabilidade diferente α .
16. O gráfico abaixo mostra o logaritmo de $t_{1/2}$ em função do tamanho da cadeia, para diferentes valores de α . Discuta os resultados observados, considerando que proteínas formadas por uma única cadeia raramente tem mais de 600 resíduos.



17. De acordo com a distribuição de Boltzmann, que a probabilidade de observação de um estado com energia E_i é proporcional a $e^{-E_i/RT}$. Deduza qual a diferença de energia entre um estado correto e um incorreto em função da probabilidade α de que a perturbação leve ao estado correto.
18. Discuta, de acordo com o item anterior, se uma probabilidade de 95% para estados corretos, por ligação, é razoável do ponto de vista físico-químico.
19. A diferença de energia deduzida no item anterior deve ser maior se o número de estados incorretos (degenerescência) for maior que o número de estados corretos, por ligação. Suponha que g_i é o número de estados incorretos por ligação, e $g_c = 1$ é o número de estados corretos (apenas um). Neste caso, a probabilidade de observação de um estado incorreto é proporcional a $g_i e^{-E_i/RT}$, de acordo com Boltzmann. Inclua esta correção na equação do item 17.
20. Para $\alpha = 0.95$, mostre como deve variar a diferença de energia $E_c - E_i$ para diferentes valores de g_i (com $g_c = 1$).
21. Qual a energia total deste modelo polimérico com N_c ligações corretas e N_i ligações incorretas, se uma ligação correta tem energia E_c e uma incorreta tem energia E_i ?
22. Qual o número de configurações que tem energia total E_T em função do número de ligações corretas, N_c ?
23. Desenhe a distribuição de energias em função do número de ligações incorretas.

24. Desenhe a distribuição do número de configurações em função da energia, da energia mínima até a energia do estado com 50% de configurações incorretas.
25. Desenhe o funil de energias a que a distribuição do item anterior corresponde. Explique sua representação. Faça também um desenho qualitativo de um funil de energias para um sistema de maior complexidade.
26. Sabendo que a proteína Barnase tem uma entalpia de enovelamento da ordem de $100 \text{ kcal} \times \text{mol}^{-1}$, e tem 110 resíduos, discuta o ganho energético por resíduo em comparação com os cálculos feitos nos itens anteriores. O ganho de energia por resíduo é uma explicação totalmente convincente, ou totalmente suficiente?
27. Desenhe uma curva típica da variação de uma propriedade física proporcional à concentração da espécie nativa, em um experimento de desenovelamento de uma proteína que se desenovela sem intermediários.
28. Escreva, para o sistema de dois estados, a equação química que representa o equilíbrio e a equação da constante de equilíbrio.
29. A constante de equilíbrio (a uma determinada temperatura T) de um desenovelamento reversível de dois estados pode ser obtida a partir de medidas de absorção de luz (por exemplo), por

$$K(T) = \frac{\epsilon_T(T) - \epsilon_N(T)}{\epsilon_D(T) - \epsilon_T(T)},$$

onde ϵ_T , ϵ_D e ϵ_N são as absorvidades molares total, da espécie desnaturada e da espécie nativa. Mostre que esta equação corresponde à constante de equilíbrio.

30. A partir da constante de equilíbrio, mostre como obter a energia livre de Gibbs, a entalpia, a entropia e a capacidade calorífica a pressão constante do processo.
31. Qual a equação diferencial que descreve a variação da concentração da estrutura nativa em um equilíbrio envolvendo apenas dois estados?
32. Resolva a equação diferencial do item anterior, e mostre que a cinética de desenovelamento é mono-exponencial.
33. Em um desenovelamento com intermediários, a fração *aparente* de proteína desenovelada é dada por

$$\frac{\epsilon_T - \epsilon_N}{\epsilon_D - \epsilon_N} = f_D + \sum_i f_i \frac{\epsilon_i - \epsilon_N}{\epsilon_D - \epsilon_N},$$

onde f_D e f_i é a fração de proteína desenovelada e de cada um dos intermediários. Explique por que o lado esquerdo da equação acima é chamado de *fração desenovelada aparente*, f_{app} .

34. Mostre que a constante de equilíbrio *aparente* (que supõe um desenovelamento de dois estados), é dada por

$$K_{app} = \frac{f_{app}}{1 - f_{app}}$$

35. Discuta por que o estudo do desenovelamento de uma proteína usando diferentes técnicas de prova pode elucidar a presença ou ausência de intermediários. Baseie-se na relação entre a constante de equilíbrio aparente e a equação da fração aparente desenovelada dos itens anteriores, levando em conta a fração correspondente aos intermediários.

36. Discuta o estudo experimental de desenovelamento de uma proteína, por temperatura, sabendo que esta proteína sofre precipitação em uma escala de tempo da ordem da escala de tempo dos experimentos. Desenhe gráficos qualitativos dos experimentos que permitiriam ao pesquisador identificar que há um processo competindo com o processo de desenovelamento.