

Curso:**Fotoreceptores Biológicos. Función, Estructura, Fotofísica y Fotoquímica.
Fotofísica y fotoquímica de los correspondientes cromóforos.**

Chascomús, Octubre 8-12, 2012

Silvia E. Braslavsky

1. Principios de Fotoquímica
2. Principios básicos de algunas técnicas ópticas para el estudio de procesos fotofísicos y fotoquímicos
 - a. Fluorescencia de estado estacionario
 - b. Fluorescencia resuelta en el tiempo, conteo de fotones
 - c. fotólisis de destello (flash photolysis) con láseres de ns y detección óptica de especies transitorias
 - d. Optoacústica resuelta en el tiempo
 - e. Deflexión fototérmica de un haz de luz (photothermal beam deflection)
3. Reacciones fotoquímicas de importancia en fotoreceptores biológicos
 - a. isomerizaciones *cis-trans*
 - b. procesos de transferencia de energía
 - c. fotosensibilización, producción de oxígeno singlete molecular
 - d. principios de transferencia de electrones, teoría semiclásica de Marcus
 - e. reacciones de estados triplete
4. Descripción y clasificación de fotoreceptores biológicos
 - a. Antenas
 - b. Conversores de energía solar en energía química (complejos de proteína-clorofila, bacteriorodopsina, proteorodopsina)
 - c. Sensores de cantidad y calidad de luz: rodopsina de mamíferos, insectos, aves, pulpo, fitocromos de plantas, algas y bacterias, rodopsinas sensoras en bacterias, xantopsinas (*e.g.*, proteína fotoactiva amarilla), criptocromos, fototropinas y sus dominios LOV (sensores de Luz, Oxígeno y Voltage), Proteínas BLUF
 - d. Enzimas foto-reparadoras del ácido desoxyribonucleico (fotoliasas)
5. Fotofísica y fotoquímica de los cromóforos presentes en los diversos fotoreceptores. Comparación de la fotofísica en solución y en presencia de la respectiva apo-proteína.
 - a. Clorofilas, fotofísica y fotoquímica de porfirinas y clorinas
 - b. Retinales
 - c. Tetrapirroles de cadena abierta
 - d. ácido para-hydroxicinámico
 - e. Flavinas
 - f. pterinas
 - g. hipocrelinas
6. Estudios fotofísicos y fotoquímicos con algunos de los fotosensores
 - a. Fitocromos
 - b. Rodopsinas sensoras en bacteria

- c. proteína fotoactiva amarilla
 - d. fototropinas
7. Estudios con compuestos y sistemas modelos
- a. cromóforos isomerizables: retinales, carbocianinas
 - b. reacciones intermoleculares de transferencia de electrones
 - c. reacciones intramoleculares de transferencia de electrones en sistemas biomiméticos. Supermoléculas.
 - d. transferencia de electrones en unidades fotosintéticas desprovistas de antena.
8. Sensibilidad magnética en animales e insectos. Migración estacional. Mecanismos de formación de pares iónicos por excitación con luz UV.

Modalidad de dictado:

El curso constará de 40 horas de clase.

Si fuese posible se incluirán trabajos de laboratorio

- (i) determinación de espectro de fluorescencia en estado estacionario de una muestra,
- (ii) medición de una señal de transiente óptico, *e.g.*, excitando $\text{Ru(II)(bpy)}_3^{2+}$ a 450 nm y detección a 380 nm de $[\text{Ru(III)(bpy)}_2(\text{bpy}^-)]^{2+}$,
- (iii) medición de una señal de optoacústica [*e.g.*, excitando Ru(bpy)_3^{2+} en agua] y comparación con una referencia,
- (iv) medición de la emisión resuelta en el tiempo de Ru(bpy)_3^{2+} en agua, tiempo de vida ca. 500 ns.

Examen

El examen consistirá en una evaluación de un trabajo recientemente publicado acerca de alguno de los sistemas estudiados. El informe consistirá en dos páginas (espacio 1.5) contestando las siguientes preguntas:

1. Cuál fué el objetivo del trabajo ?
2. De qué cromóforo (s) se trata en este trabajo ?
3. Qué métodos se han utilizado para alcanzar los objetivos planteados ?
4. Cuáles son las conclusiones de este trabajo ?
5. Pueden sugerirse otros métodos ?
6. Considera que hay conclusiones cuestionables ?
7. Qué ideas nuevas le sugiere este trabajo: otros sistemas a los que se pueden aplicar estos métodos, otros métodos para estudiar este (estos) sistema(s) ?
8. Ha buscado (encontrado) trabajos que citen a este trabajo, controversias ?

El examen será enviado por correo electrónico a Silvia Braslavsky aproximadamente 1 mes después de terminado el curso.

Literatura

Fotoquímica y Fluorescencia

Richard P. Wayne "Principles and Applications of Photochemistry" Oxford Science Publications, Oxford Univ. Press, 1988, ISBN 0-19-855233-5 Pbk

J. C. Scaiano, ed. *Handbook of Organic Photochemistry*, Vol. II, CRC Press Inc., Boca Raton (1989).

A. M. Braun, M.-T. Maurette, E. Oliveros. *Photochemical Technology*, Wiley, Chichester, (1991).

G. J. Kavarnos. *Fundamentals of Photoinduced Electron Transfer*. VCH Publishers, Inc. New York (1993).

W. M. Horspool, P. S. Song, eds., *Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, CRC Press, Boca Raton, pp 1736, (1995).

S. E. Braslavsky, "Glossary of Terms used in Photochemistry" (IUPAC Recommendations 2006), *Pure Appl. Chem.*, Vol. 79, No. 3, pp. 293–465, 2007.

<http://www.iupac.org/publications/pac/pdf/2007/pdf/7903x0293.pdf>

Técnicas

Bernard Valeur "Molecular Fluorescence, Principles and Applications", Wiley-VCH, 2002, ISBN 3-527-29919-X

Deconvolución en espectroscopía de emisión: J. M. Beechem, E. Gratton, M. Ameloot, J. R. Knutson, L. Brand. Chapter 5 in *Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. 2 Principles* (J. R. Lakowicz, ed.), Plenum Press, New York (1991).

R. Bonneau, J. Wirz, A. D. Zuberbühler. *Methods for the Analysis of Transient Absorbance Data*, Technical Report. *Pure Appl. Chem.* **69**, 979–992 (1997),
<http://www.iupac.org/reports/1997/6905bonneau/index.html>

S.E. Braslavsky, G.E. Heibel, Time-resolved photothermal and photoacoustic methods applied to photoinduced processes in solution, *Chem. Rev.* **92**, 1381-1410 (1992).

T. Gensch, C. Viappiani, Time-resolved photothermal methods: accessing time-resolved thermodynamics of photoinduced processes in chemistry and biology, *Photochem. Photobiol. Sc.* **2**, 699–721 (2003).

Fotosensores biológicos

"Biological Photosensors", Editorial, S.E. Braslavsky, *Photochem. Photobiol. Sc.* **3**, E3-E4 (2004).

J. J. Casal, C. Fankhauser, G. Coupland, M. A. Blazquez, Signalling for developmental plasticity, *Trends in Plant Science* **9**, 309-314 (2004).

J. J. Casal, L. G. Luccioni, K. A. Oliverio, H. E. Bocalandro, Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in *Arabidopsis*, *Photochem. Photobiol. Sc.* **2**, 625-636 (2003).

M. A. van der Horst, K. J. Hellingwerf, Photoreceptor proteins, "star actors of modern times": A review of the functional dynamics in the structure of representative members of six different photoreceptor families, *Acc. Chem. Res.* **37**, 13-20 (2004).

A. Losi, S. E. Braslavsky, The time-resolved thermodynamics of the chromophore-protein interactions in biological photosensors as derived from photothermal measurements, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **5**, 2739-2750 (2003).

S.E. Braslavsky, W. Gärtner, Phytochrome photoconversions, K. Schaffner, *Plant, Cell & Environment* **20**, 700-706 (1997).

W. Gärtner, S. E. Braslavsky, The Phytochromes: Spectroscopy and Function, in *Photoreceptors and light signaling* (Ed. A. Batschauer), *Comprehensive Series in Photosciences*, Vol. 3, Royal Soc. Chemistry, Cambridge, UK, Chapter 3, pp. 136-180 (2004).

W. R. Briggs, J. M. Christie, Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors, *Trends Plant. Sc.* **7**, 204-210 (2002).

Kasahara, M., T.E. Swartz, M. A. Olney, A. Onodera, N. Mochizuki, H. Fukuzawa, E. Asamizu, S. Tabata, H. Kanegae, M. Takano, J. M. Christie, A. Nagatani and W. R. Briggs Photochemical properties of the flavin mononucleotide-binding domains of the phototropins from *Arabidopsis*, rice, and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* **129**, 762-773 (2002).

A. Losi, The bacterial counterparts of plant phototropins, *Photochem. Photobiol. Sc.* **3**, 566-574 (2004).

A. Sancar, Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors, *Chem. Rev.* **103**, 2203-2237 (2003).

Digital photobiology Compendium: <http://www.photobiology.info/>

Oxygeno Singlete, un experimento virtual

<http://www.photobiology.info/Experiments/Nonell-Tarr.html>

S. Nonell and M. Tarr, Time Resolved Singlet Oxygen Spectroscopy - A Virtual Experiment

Supermoleculas bioinspiradas en las unidades fotosintéticas

D. Gust, T. A. Moore and A. L. Moore, Mimicking photosynthetic solar energy transduction, *Acc. Chem. Res.* **34**, 40-48 (2001).

V. Martínez Junza, A. Rizzi, K. A. Jolliffe, N. J. Head, M. N. Paddon-Row, S. E. Braslavsky, Conformational and photophysical studies on porphyrin-containing donor-bridge-acceptor compounds. Charge separation in micellar nanoreactors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 4114-4125 (2005).

Aplicaciones especiales de optoacústica inducida por laseres y deflección fototérmica de un haz

S. Nonell, P.F. Aramendía, K. Heihoff, R.M. Negri, S.E. Braslavsky, Laser-Induced Optoacoustics Combined with Near-IR Emission. An Alternative Approach for the Determination of Intersystem Crossing Quantum Yields Applied to Porphycenes, *J. Phys. Chem.* **94**, 5879-5883 (1990).

- P.J. Schulenberg, W. Gärtner, S. E. Braslavsky, Time-Resolved Volume Changes during the Bacteriorhodopsin Photocycle: A Photothermal Beam Deflection Study, *J. Phys. Chem.* **99**, 9617-9624 (1995).
- B. Wegewijs, J.W. Verhoeven, S.E. Braslavsky, Volume Changes Associated with Intramolecular Exciplex Formation in a Semiflexible Donor-bridge-Acceptor Compound, *J. Phys. Chem.* **100**, 8890-8894 (1996).
- A. Feis, B. Wegewijs, W. Gärtner, S. E. Braslavsky, Role of Triplet State in Retinal Photoisomerization as studied by Laser-Induced Optoacoustic Spectroscopy", *J. Phys. Chem. B* **101**, 7620-7627 (1997).
- T. Gensch, K. J. Hellingwerf, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, Photoequilibrium in the Primary Steps of the Photoreceptors Phytochrome A and Photoactive Yellow Protein, *J. Phys. Chem. A* **102**, 5398-5405 (1998).
- C. D. Borsarelli, S. E. Braslavsky, Volume Changes correlate with Enthalpy Changes during the Photoinduced Formation of the MLCT State of Ruthenium (II) Bipyridine Cyano Complexes in the Presence of Salts. A Case of Entropy-Enthalpy Compensation Effect, *J. Phys. Chem. B* **102**, 6231-6238 (1998).
- C. D. Borsarelli, S. E. Braslavsky, Enthalpy, Volume, and Entropy Changes Associated with the Electron-Transfer Reaction Between the ³MLCT state of Ru(bpy)₃⁺² and Methylviologen Cation in Aqueous Solutions. A Laser-Induced Optoacoustic Study, *J. Phys. Chem. A* **103**, 1719-1727 (1999).
- T. Gensch, C. Viappiani, S. E. Braslavsky, Structural Volume Changes upon Photoexcitation of Porphyrins. Role of the Nitrogen-Water Interactions, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 10573-10582 (1999).
- A. Losi, I. Michler, W. Gärtner, S.E. Braslavsky, Time-resolved Thermodynamic Changes Photoinduced in 5.12-*trans*-Locked Bacterio-rhodopsin. Evidence that Retinal Isomerization is Required for Protein Activation, *Photochem. Photobiol.* **72**, 590-597 (2000).
- A. Losi, A.A. Wegener, M. Engelhard, S.E. Braslavsky, Enthalpy-Entropy Compensation in a Photocycle: The K to L Transition in Sensory Rhodopsin II from *Natronobacterium pharaonis*, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 1766-1767 (2001).
- A. Losi, I. Yruela, M. Reus, A.R. Holzwarth, S.E. Braslavsky, Structural Changes Upon Excitation of D1-D2-Cyt *b*₅₅₉ Photosystem II Reaction Centers Depend on the β-Carotene Content, *Photochem. Photobiol. Sc.* **3**, 722-729 (2003).
- A. Losi, T. Gensch, M.A. van der Horst, K.J. Hellingwerf, S.E. Braslavsky, Hydrogen-Bond Network Probed by Time-Resolved Optoacoustic Spectroscopy: The Case of Photoactive Yellow Protein and the Effect of E46Q and E46A Mutations, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 2229-2236 (2005).