

Indice generale

1 La biochimica e l'organizzazione delle cellule 1

- 1.1 Temi fondamentali 1
- 1.2 Fondamenti chimici della biochimica 3
- 1.3 Gli esordi della biologia: l'origine della vita 5
 - La Terra e la sua età 5
 - Connessioni biochimiche:* Perché le formule di struttura sono così importanti 6
 - Le biomolecole 7
 - Dalle molecole alla cellula 11
- 1.4 La più grande distinzione biologica – procarioti ed eucarioti 14
- 1.5 Le cellule procariotiche 16
- 1.6 Le cellule eucariotiche 16
- 1.7 Cinque regni, tre domini 22
 - Connessioni biochimiche:* Estremofili: il "toast" dell'industria biotecnologica 25
- 1.8 C'è un punto d'incontro per tutte le cellule? 25
- 1.9 Dinamiche biochimiche 27
- 1.10 L'energia e le sue forme 29
- 1.11 Spontaneità nelle reazioni biochimiche 30
- 1.12 La termodinamica e la vita 31
 - Connessioni biochimiche:* Entropia e probabilità 32
 - Riassunto 33
 - Esercizi di ricapitolazione 34
 - Bibliografia 36

2 L'acqua: il solvente delle reazioni biochimiche 37

- 2.1 Acqua e polarità 37
 - Le proprietà solventi dell'acqua 38
- 2.2 Legami idrogeno 42
 - Altri legami idrogeno biologicamente importanti 45
 - Connessioni biochimiche:* Come la chimica di base influisce sulla nostra vita: l'importanza del legame idrogeno 46
- 2.3 Acidi, basi e pH 47
- 2.4 Le curve di titolazione 51
- 2.5 I tamponi 53

- Connessioni biochimiche:* Scelta dei tamponi 59
- Connessioni biochimiche:* Alcune conseguenze fisiologiche del sistema tampone del sangue 60
- Connessioni biochimiche:* Acido lattico – non sempre un nemico 61

Riassunto 61

Esercizi di ricapitolazione 62

Bibliografia 64

3 Gli amminoacidi e i peptidi 65

- 3.1 Struttura tridimensionale degli amminoacidi 65
 - 3.2 I singoli amminoacidi: struttura e proprietà 66
 - Amminoacidi non comuni 70
 - Connessioni biochimiche:* Amminoacidi e neurotrasmettitori 72
 - 3.3 Gli amminoacidi si comportano sia da acidi che da basi 73
 - 3.4 Il legame peptidico 77
 - 3.5 Piccoli peptidi fisiologicamente attivi 79
 - Connessioni biochimiche:* Gli amminoacidi si trovano in diversi contesti 79
 - Connessioni biochimiche:* Aspartame, il peptide dolce 80
 - Connessioni biochimiche:* La fenilchetonuria – piccole molecole che hanno grandi effetti 82
 - Connessioni biochimiche:* Ormoni peptidici – molecole più piccole con grandi effetti 83
- Riassunto 84
- Esercizi di ricapitolazione 84
- Bibliografia 86

4 La struttura tridimensionale delle proteine 87

- 4.1 Struttura e funzione delle proteine 87
- 4.2 La struttura primaria delle proteine 88
- 4.3 La struttura secondaria delle proteine 89
 - Strutture periodiche negli scheletri delle proteine 89
 - Connessioni biochimiche:* Proteine complete e nutrizione 90
 - Irregolarità nelle strutture regolari 93
 - Strutture supersecondarie e domini 93
 - La tripla elica del collagene 93
 - Due tipi di conformazione delle proteine: fibrose e globulari 97

- 4.4 La struttura terziaria delle proteine** 98
Le forze coinvolte nella struttura terziaria 99
La mioglobina: un esempio di struttura proteica 102
Denaturazione e rinaturazione 104
- 4.5 La struttura quaternaria delle proteine** 106
L'emoglobina 106
I cambiamenti conformazionali che accompagnano le funzioni dell'emoglobina 108
- 4.6 La dinamica del ripiegamento delle proteine** 112
Le interazioni idrofobiche: un argomento di studio della termodinamica 114
L'importanza di un corretto ripiegamento 116
Chaperoni per il ripiegamento delle proteine 116
Connessioni biochimiche: Prioni e malattia 118
Riassunto 119
Esercizi di ricapitolazione 120
Bibliografia 121
- 5 Le tecniche di purificazione e caratterizzazione delle proteine** 123
- 5.1 Estrazione di proteine in forma pura dalle cellule** 123
- 5.2 Cromatografia su colonna** 124
- 5.3 Elettroforesi** 129
- 5.4 Determinazione della struttura primaria di una proteina** 132
Scissione della proteina in peptidi 133
Determinazione della sequenza dei peptidi: il metodo di Edman 134
Connessioni biochimiche: Come recuperare tutto 139
Riassunto 139
Esercizi di ricapitolazione 140
Bibliografia 142
- 6 Il comportamento delle proteine: gli enzimi** 143
- 6.1 Gli enzimi sono catalizzatori biologici molto efficaci** 143
- 6.2 Aspetti cinetici e aspetti termodinamici** 143
Connessioni biochimiche: Enzimi come marcatori di malattie 145
- 6.3 Equazioni di cinetica enzimatica** 146
- 6.4 Legame enzima-substrato** 148
- 6.5 Esempi di reazioni catalizzate da enzimi** 150
- 6.6 L'approccio di Michaelis-Menten alla cinetica enzimatica** 152
- 6.7 Inibizione enzimatica** 159
Connessioni biochimiche: Informazioni pratiche ottenute da dati cinetici 160
Connessioni biochimiche: Inibizione enzimatica nel trattamento dell'AIDS 165
Riassunto 166
Esercizi di ricapitolazione 166
Bibliografia 168
- 7 Il comportamento delle proteine: enzimi, meccanismi e controllo** 171
- 7.1 Il comportamento degli enzimi allosterici** 171
- 7.2 Il modello concertato e il modello sequenziale per gli enzimi allosterici** 175
- 7.3 Controllo dell'attività enzimatica mediante fosforilazione** 179
- 7.4 Zimogeni** 182
- 7.5 Natura del sito attivo** 183
- 7.6 Reazioni chimiche coinvolte nel meccanismo d'azione degli enzimi** 188
Connessioni biochimiche: Gli enzimi catalizzano comuni reazioni di chimica organica 190
- 7.7 Il sito attivo e gli stati di transizione** 192
Connessioni biochimiche: Famiglie di enzimi: le proteasi 193
- 7.8 Coenzimi** 194
Connessioni biochimiche: Anticorpi catalitici anti-cocaina 196
Connessioni biochimiche: Catalizzatori per la "green chemistry" 198
Riassunto 198
Esercizi di ricapitolazione 199
Bibliografia 200
- 8 I lipidi e le proteine sono associati nelle membrane biologiche** 201
- 8.1 La definizione di lipide** 201
- 8.2 La natura chimica dei vari tipi di lipidi** 201
Connessioni biochimiche: I lipidi e la sclerosi multipla 208
- 8.3 Le membrane biologiche** 208
Connessioni biochimiche: Burro contro margarina: qual è più salutare? 212

- 8.4 Le proteine di membrana** 213
- 8.5 Il modello a mosaico fluido della struttura della membrana** 215
Connessioni biochimiche: Le membrane in medicina 216
- 8.6 Le funzioni delle membrane** 216
Connessioni biochimiche: Le gocce lipidiche non sono solo grandi sfere di grasso! 221
- 8.7 Le vitamine liposolubili e le loro funzioni** 222
 Vitamina A 222
 Vitamina D 222
Connessioni biochimiche: La chimica della visione 225
 Vitamina E 226
 Vitamina K 226
- 8.8 Le prostaglandine e i leucotrieni** 228
Connessioni biochimiche: Perché dovremmo mangiare più salmone? 230
 Riassunto 231
 Esercizi di ricapitolazione 231
 Bibliografia 231

9 Gli acidi nucleici: come la struttura trasporta l'informazione

 235

- 9.1 I livelli di struttura negli acidi nucleici** 235
- 9.2 La struttura covalente dei polinucleotidi** 235
Connessioni biochimiche: L'albero genealogico del DNA 240
- 9.3 La struttura del DNA** 241
Connessioni biochimiche: Cosa rende una tripla elica utile nella progettazione di farmaci? 247
- 9.4 La denaturazione del DNA** 249
- 9.5 I principali tipi di RNA e le loro strutture** 250
Connessioni biochimiche: Il Progetto Genoma Umano: un tesoro o un vaso di Pandora? 251
Connessioni biochimiche: Perché i gemelli identici non sono identici 257
 Riassunto 258
 Esercizi di ricapitolazione 258
 Bibliografia 260

10 La biosintesi degli acidi nucleici: la replicazione

 261

- 10.1 Il flusso dell'informazione genetica nella cellula** 261
- 10.2 La replicazione del DNA** 262
 Replicazione semiconservativa 262

- 10.3 La DNA polimerasi** 265
 La replicazione del DNA è semidiscontinua 265
DNA polimerasi di E. coli 267
- 10.4 Le proteine richieste nella replicazione** 270
 Superavvolgimento e replicazione 270
 La reazione della primasi 271
 Sintesi ed unione di nuovi filamenti di DNA 272
- 10.5 Proofreading e riparazione** 273
Connessioni biochimiche: Perché il DNA contiene timina e non uracile? 276
- 10.6 La replicazione del DNA eucariotico** 278
Connessioni biochimiche: La risposta SOS in *E. coli* 279
 DNA polimerasi eucariotiche 281
Connessioni biochimiche: Telomerasi e cancro 282
 La forcella di replicazione eucariotica 282
 Riassunto 285
 Esercizi di ricapitolazione 285
 Bibliografia 286

11 La trascrizione del codice genetico: la biosintesi dell'RNA

 287

- 11.1 Visione d'insieme della trascrizione** 287
- 11.2 La trascrizione nei procarioti** 288
 RNA polimerasi di *Escherichia coli* 288
 Struttura del promotore 289
 Inizio della catena 290
 Allungamento della catena 291
 Terminazione della catena 293
- 11.3 La regolazione della trascrizione nei procarioti** 295
 Fattori σ alternativi 295
 Enhancer 295
 Operoni 296
 Attenuazione della trascrizione 300
- 11.4 La trascrizione negli eucarioti** 303
 Struttura dell'RNA polimerasi II 304
 Promotori di Pol II 305
 Inizio della trascrizione 306
 Allungamento e terminazione 307
- 11.5 La regolazione della trascrizione negli eucarioti** 309
 Enhancer e silencer 309
Connessioni biochimiche: TFIID – Come ottenere il massimo dal genoma 310

viii Indice generale

- Elementi di risposta 311
Interferenza ad RNA 314
Connessioni biochimiche: CREB – La più importante proteina di cui si sia mai sentito parlare? 315
- 11.6 I motivi strutturali nelle proteine che legano il DNA 315**
Domini di legame al DNA 315
Motivi elica-giro-elica (HTH) 315
Dita di zinco 317
Motivo a cerniera di leucina con regione basica 317
Domini di attivazione della trascrizione 318
- 11.7 Le modificazioni post-trascrizionali dell'RNA 319**
RNA transfer ed RNA ribosomale 319
RNA messaggero 319
La reazione di splicing: strutture "a cappio" e snurp 322
Splicing alternativo dell'RNA 323
Connessioni biochimiche: Lupus: una malattia autoimmune che coinvolge la maturazione dell'RNA 323
- 11.8 I ribozimi 324**
Connessioni biochimiche: Proofreading nella trascrizione? L'RNA riempie un'altra parte mancante 326
- Riassunto 327**
Esercizi di ricapitolazione 328
Bibliografia 329

12 La sintesi proteica: la traduzione del messaggio genetico 331

- 12.1 La traduzione del messaggio genetico 331**
- 12.2 Il codice genetico 332**
Appaiamento codone-anticodone e vacillamento 334
- 12.3 L'attivazione degli amminoacidi 338**
- 12.4 La traduzione nei procarioti 340**
Architettura dei ribosomi 340
Inizio della catena 341
Allungamento della catena 343
Terminazione della catena 345
Il ribosoma è un ribozima 346
Connessioni biochimiche: Il 21° amminoacido? 348
Polisomi 349
- 12.5 La traduzione negli eucarioti 351**
Inizio della catena 351
Allungamento della catena 353

- Terminazione della catena 353
Trascrizione e traduzione accoppiate negli eucarioti? 354

12.6 La modificazione post-traduzionale delle proteine 354

12.7 La degradazione delle proteine 355

Connessioni biochimiche: Chaperoni molecolari: prevenzione di associazioni inappropriate 356

Connessioni biochimiche: Le mutazioni silenti non sono sempre silenti 357

Connessioni biochimiche: Come ci adattiamo alle altitudini elevate? 359

Riassunto 360

Esercizi di ricapitolazione 360

Bibliografia 362

13 Le tecniche di biotecnologia degli acidi nucleici 363

13.1 La purificazione e la rilevazione degli acidi nucleici 363

Tecniche di separazione 363

Metodi di rilevazione 364

13.2 Le endonucleasi di restrizione 365

Molte endonucleasi di restrizione producono "estremità coesive" 366

13.3 Il clonaggio 368

Utilizzo delle "estremità coesive" per costruire il DNA ricombinante 368

13.4 L'ingegneria genetica 375

La ricombinazione del DNA avviene in natura 376

I batteri come "fabbriche di proteine" 376

Connessioni biochimiche: Ingegneria genetica in agricoltura 377

Vettori di espressione di proteine 378

Ingegneria genetica negli eucarioti 379

Connessioni biochimiche: Proteine umane ottenute con tecniche di ricombinazione genetica 381

13.5 Le librerie di DNA 382

Connessioni biochimiche: Proteine di fusione e purificazioni rapide 383

Trovare un singolo clone in una libreria di DNA 384

13.6 La reazione a catena della polimerasi 386

13.7 Il DNA fingerprinting 388

Connessioni biochimiche: CSI: Biochimica – Usi forensi dei test sul DNA 389

I polimorfismi della lunghezza dei frammenti di restrizione: un metodo potente per l'analisi forense 391

13.8 Il sequenziamento del DNA 393

Connessioni biochimiche: RNA interference – Il modo più nuovo per studiare i geni 394

13.9 La genomica e la proteomica 396

Il potere dei microarray – La tecnologia robotica incontra la biochimica 397

Array di proteine 398

Riassunto 400

Esercizi di ricapitolazione 401

Bibliografia 403

14 I virus, il cancro e l'immunologia 405**14.1 I virus 405**

Famiglie di virus 405

Il ciclo vitale dei virus 406

14.2 I retrovirus 410

Connessioni biochimiche: I virus sono usati per terapia genica 412

14.3 Il sistema immunitario 412

L'immunità innata – Le prime linee di difesa 414

L'immunità acquisita: aspetti cellulari 416

Funzioni delle cellule T 416

Le cellule T della memoria 420

Il sistema immunitario: aspetti molecolari 421

La distinzione del self (proprio) dal non-self (estraneo) 422

Connessioni biochimiche: Gli RNA virali superano in astuzia il sistema immunitario 424

14.4 Il cancro 425

Gli oncogeni 427

I geni soppressori di tumori 429

Virus e cancro 430

Virus che aiutano a curare il cancro 431

Connessioni biochimiche: Attaccare i sintomi invece della malattia? 434

Riassunto 435

Esercizi di ricapitolazione 435

Bibliografia 436

15 L'importanza delle variazioni di energia e del trasferimento di elettroni nel metabolismo 439**15.1 Gli stati standard per le variazioni di energia libera 439****15.2 Lo stato standard modificato per le applicazioni biochimiche 440**

Connessioni biochimiche: Gli organismi viventi necessitano di energia – Come ne fanno uso? 441

15.3 La natura del metabolismo 442

Connessioni biochimiche: Gli esseri viventi sono sistemi termodinamici unici 443

15.4 Il ruolo delle reazioni di ossidazione e di riduzione nel metabolismo 444**15.5 I coenzimi nelle reazioni redox di importanza biologica 445****15.6 L'accoppiamento della produzione e utilizzo dell'energia 448****15.7 Il coenzima A nell'attivazione delle vie metaboliche 453**

Riassunto 457

Esercizi di ricapitolazione 457

Bibliografia 459

16 I carboidrati 461**16.1 Gli zuccheri: struttura e stereochimica 461****16.2 Le reazioni dei monosaccaridi 469**

Connessioni biochimiche: La vitamina C è correlata agli zuccheri 471

16.3 I principali oligosaccaridi 475

Connessioni biochimiche: Frutti, fiori, colori vivaci e usi medicinali 476

Connessioni biochimiche: L'intolleranza al lattosio: perché molte persone non bevono il latte? 478

16.4 Le strutture e le funzioni dei polisaccaridi 478

Connessioni biochimiche: Perché le fibre alimentari sono salutari? 483

16.5 Le glicoproteine 487

Connessioni biochimiche: Diete a basso contenuto di carboidrati 488

Connessioni biochimiche: Le glicoproteine e le trasfusioni di sangue 488

Riassunto 489

Esercizi di ricapitolazione 489

Bibliografia 491

17 La glicolisi 493**17.1 Il significato generale della glicolisi 493**

Connessioni biochimiche: Biocarburanti dalla fermentazione 496

17.2 La trasformazione del glucosio, un composto a sei atomi di carbonio, in gliceraldeide-3-fosfato, un composto a tre atomi di carbonio 497

x **Indice generale**

- 17.3 **La gliceraldeide-3-fosfato viene convertita in piruvato** 502
- 17.4 **Il metabolismo anaerobico del piruvato** 510
Connessioni biochimiche: Qual è la correlazione tra il metabolismo anaerobico e la carie dentale? 513
Connessioni biochimiche: La sindrome alcolica fetale 514
- 17.5 **La produzione di energia nella glicolisi** 515
Riassunto 516
Esercizi di ricapitolazione 517
Bibliografia 518

18 I meccanismi di riserva e di regolazione nel metabolismo dei carboidrati 519

- 18.1 **Come viene prodotto e degradato il glicogeno** 519
Connessioni biochimiche: Perché gli atleti si danno da fare per accumulare glicogeno? 526
- 18.2 **La gluconeogenesi produce glucosio dal piruvato** 527
- 18.3 **La regolazione del metabolismo dei carboidrati** 531
- 18.4 **Il glucosio viene talvolta dirottato nella via dei pentosi fosfato** 536
Connessioni biochimiche: La via dei pentosi fosfato e l'anemia emolitica 540
Riassunto 541
Esercizi di ricapitolazione 541
Bibliografia 543

19 Il ciclo dell'acido citrico 545

- 19.1 **Il ruolo centrale del ciclo dell'acido citrico nel metabolismo** 545
- 19.2 **Il significato generale del ciclo dell'acido citrico** 546
- 19.3 **La trasformazione del piruvato in acetil-CoA** 549
- 19.4 **Le singole reazioni del ciclo dell'acido citrico** 552
Connessioni biochimiche: I veleni vegetali e il ciclo dell'acido citrico 555
- 19.5 **Il bilancio energetico e il controllo del ciclo dell'acido citrico** 560
- 19.6 **Il ciclo del glicossilato: una via collaterale** 562

- 19.7 **Il ciclo dell'acido citrico nel catabolismo** 564
- 19.8 **Il ciclo dell'acido citrico nell'anabolismo** 565
Connessioni biochimiche: Perché gli animali non possono utilizzare le stesse fonti di energia usate da piante e batteri? 569
- 19.9 **Correlazioni con l'ossigeno** 571
Riassunto 571
Connessioni biochimiche: Perché perdere peso è così difficile? 572
Esercizi di ricapitolazione 573
Bibliografia 575

20 Il trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa 577

- 20.1 **Il ruolo del trasporto degli elettroni nel metabolismo** 577
- 20.2 **I potenziali di ossido-riduzione nella catena di trasporto degli elettroni** 578
- 20.3 **L'organizzazione dei complessi di trasporto degli elettroni** 581
- 20.4 **Il collegamento fra il trasporto degli elettroni e la fosforilazione** 588
- 20.5 **Il meccanismo di accoppiamento nella fosforilazione ossidativa** 591
- 20.6 **Gli inibitori della respirazione possono essere utilizzati per lo studio del trasporto degli elettroni** 594
- 20.7 **I sistemi navetta** 597
Connessioni biochimiche: Com'è correlato il tessuto adiposo bruno con l'obesità? 597
- 20.8 **La resa di ATP dall'ossidazione completa del glucosio** 599
Connessioni biochimiche: Gli sport e il metabolismo 600
Riassunto 601
Connessioni biochimiche: Il lato oscuro dello sport 602
Esercizi di ricapitolazione 603
Bibliografia 605

21 Il metabolismo dei lipidi 607

- 21.1 **I lipidi sono coinvolti nella produzione e nella conservazione dell'energia** 607
- 21.2 **Il catabolismo dei lipidi** 607
- 21.3 **La resa energetica dell'ossidazione degli acidi grassi** 612

21.4 Il catabolismo degli acidi grassi insaturi e degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio 614

21.5 I corpi chetonici 616

21.6 La biosintesi degli acidi grassi 618

Connessioni biochimiche: I corpi chetonici e l'efficace perdita di peso 619

21.7 La sintesi degli acilgliceroli e dei lipidi complessi 626

Connessioni biochimiche: Un gene responsabile dell'obesità 626

Triacilgliceroli 627

Connessioni biochimiche: L'acetil-CoA carbossilasi — Un nuovo bersaglio nella lotta all'obesità? 628

21.8 La biosintesi del colesterolo 631

Connessioni biochimiche: Aterosclerosi 640

Riassunto 641

Esercizi di ricapitolazione 642

Bibliografia 644

22 La fotosintesi 645

22.1 I cloroplasti sono gli organelli in cui avviene la fotosintesi 645

Connessioni biochimiche: La relazione tra la lunghezza d'onda e l'energia della luce 649

22.2 I fotosistemi I e II e le reazioni alla luce della fotosintesi 649

Come il fotosistema I riduce il NADP⁺? 653

22.3 La fotosintesi e la produzione di ATP 656

Connessioni biochimiche: Alcuni erbicidi inibiscono la fotosintesi 658

22.4 Implicazioni evolutive della fotosintesi in presenza e in assenza di ossigeno 658

22.5 La fase buia della fotosintesi fissa la CO₂ 660

22.6 La fissazione della CO₂ nelle piante tropicali 664

Connessioni biochimiche: I geni del cloroplasto 664

Riassunto 668

Esercizi di ricapitolazione 668

Bibliografia 670

23 Il metabolismo dell'azoto 671

23.1 Metabolismo dell'azoto: una panoramica 671

23.2 Fissazione dell'azoto 672

Connessioni biochimiche: Perché il contenuto di azoto nei fertilizzanti è così importante? 673

23.3 Inibizione a feedback nel metabolismo dell'azoto 674

23.4 Biosintesi degli amminoacidi 676

23.5 Amminoacidi essenziali 685

23.6 Catabolismo degli amminoacidi 685

Eliminazione dell'azoto in eccesso 686

Connessioni biochimiche: L'acqua e l'eliminazione dei rifiuti azotati 687

Connessioni biochimiche: La chemioterapia e gli antibiotici: come trarre vantaggio dalla necessità di acido folico 691

23.7 Biosintesi delle purine 691

Anabolismo dell'inosina monofosfato 691

23.8 Catabolismo delle purine 694

Connessioni biochimiche: La sindrome di Lesch-Nyhan 696

23.9 Biosintesi e catabolismo delle pirimidine 697

L'anabolismo dei nucleotidi pirimidinici 697

Il catabolismo delle pirimidine 700

23.10 Conversione di ribonucleotidi in deossiribonucleotidi 700

23.11 Conversione di dUDP in dTTP 701

Riassunto 703

Esercizi di ricapitolazione 703

Bibliografia 705

24 Integrazione del metabolismo: i segnali cellulari 707

24.1 Le connessioni tra le vie metaboliche 707

24.2 Biochimica e nutrizione 708

Connessioni biochimiche: Consumo di alcol e dipendenza 709

Connessioni biochimiche: Il ferro: un esempio di fabbisogno di un minerale 712

La piramide alimentare 712

24.3 Ormoni e secondi messaggeri 716

Gli ormoni 716

I secondi messaggeri 720

AMP ciclico e proteine G 720

Lo ione calcio come secondo messaggero 722

Recettori tirosina-chinasici 724

24.4 Gli ormoni e il controllo del metabolismo 725

24.5 L'insulina e i suoi effetti 728

I recettori dell'insulina 729

Effetto dell'insulina sull'assorbimento del glucosio 729

12. **Problema** L'RNA è spesso definito come la prima molecola "biologicamente attiva". Quali sono le due proprietà o attività, chiave dell'evoluzione, presentate dall'RNA? *Suggerimento:* Né le proteine né il DNA presentano *entrambe* queste proprietà.
13. **Problema** Perché lo sviluppo della catalisi è importante per lo sviluppo della vita?
14. **Problema** Quali sono i due vantaggi principali della catalisi enzimatica negli organismi viventi, rispetto ad una semplice catalisi chimica come quella acida o basica?
15. **Problema** Perché lo sviluppo di un sistema codificante è importante per lo sviluppo della vita?
16. **Problema** Commentate il ruolo dell'RNA nella catalisi e come materiale codificante nelle teorie delle origini della vita.
17. **Problema** Considerate che sia ragionevole l'ipotesi secondo cui la cellula potrebbe essersi originata sottoforma di solo citoplasma senza membrana cellulare?

1.4 La più grande distinzione biologica - procarioti ed eucarioti

18. **Domanda di verifica** Elencate cinque differenze tra procarioti ed eucarioti.
19. **Domanda di verifica** I siti dove avviene la sintesi proteica sono diversi nei procarioti e negli eucarioti?

1.5 Le cellule procariotiche

20. **Problema** Immaginate che uno scienziato annunci di avere scoperto i mitocondri nei batteri. Tale scoperta potrebbe essere vera?

1.6 Le cellule eucariotiche

21. **Domanda di verifica** Disegnate una cellula animale ideale e identificatene le parti con nome e funzione.
22. **Domanda di verifica** Disegnate una cellula vegetale ideale e identificatene le parti con nome e funzione.
23. **Domanda di verifica** Quali sono le differenze tra l'apparato fotosintetico di una pianta e quello di un batterio?
24. **Domanda di verifica** Quali organelli sono circondati da una doppia membrana?
25. **Domanda di verifica** Quali organelli contengono DNA?
26. **Domanda di verifica** Quali organelli sono i siti delle reazioni che liberano energia?
27. **Domanda di verifica** Indicate in che modo i seguenti organelli differiscono in termini di struttura e funzione: apparato del Golgi, lisosomi, perossisomi, gliosomi. Cosa li accomuna?

1.7 Cinque regni, tre domini

28. **Domanda di verifica** Elencate i cinque regni nei quali gli organismi viventi sono suddivisi e fornite almeno un esempio di un organismo appartenente ad ogni regno.
29. **Domanda di verifica** Quale regno è costituito da organismi procariotici? Quali da organismi eucariotici?
30. **Domanda di verifica** Elencate i tre domini nei quali sono suddivisi gli organismi viventi e indicate come questo schema differisce dallo schema di classificazione a cinque regni.

1.8 C'è un punto di incontro per tutte le cellule?

31. **Problema** Quali sono i vantaggi dell'eucariote (rispetto al procariote)?
32. **Problema** Mitocondri e cloroplasti contengono DNA, che assomiglia di più al DNA procariotico che a quello nucleare. Usate questa informazione per suggerire come si siano originati gli eucarioti.
33. **Problema** Prove fossili indicano che i procarioti esistono da circa 3,5 miliardi di anni, mentre gli eucarioti hanno solo 1,5 miliardi di anni. Suggeste perché, nonostante il minor tempo avuto per evolversi, gli eucarioti siano molto più diversificati (un numero di specie maggiore) dei procarioti.

1.9 Dinamiche biochimiche

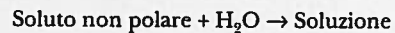
34. **Domanda di verifica** Quali processi sono favoriti: quelli che richiedono energia o quelli che la liberano?

1.10 L'energia e le sue forme

35. **Domanda di verifica** Il termine della termodinamica "spontaneo" si riferisce ad un processo che avviene velocemente?

1.11 Spontaneità nelle reazioni biochimiche

36. **Connessioni biochimiche** Per il processo



quali sono i segni di $\Delta S_{\text{universale}}$, $\Delta S_{\text{sistema}}$, and $\Delta S_{\text{ambiente}}$? Come giustificate ogni risposta? (ΔS_{surr} è riferito alla variazione di entropia dell'ambiente circostante, dato dal $\Delta S_{\text{universale}}$ meno il $\Delta S_{\text{sistema}}$).

37. **Domanda di verifica** Quale dei seguenti è un processo spontaneo? Spiegate la risposta per ogni processo.

- L'idrolisi dell'ATP a dare ADP e P_i
- L'ossidazione del glucosio a formare CO_2 e H_2O da parte di un organismo
- La fosforilazione dell'ADP ad ATP
- produzione di glucosio ed O_2 da CO_2 e H_2O nella fotosintesi

38. **Problema** In quale dei seguenti processi aumenta l'entropia? In ogni caso spiegate perché aumenta o non aumenta.

- Una bottiglia di ammoniaca è aperta. L'odore subito si espande nella stanza.
- Cloruro di sodio disciolto in acqua.
- Una proteina è completamente idrolizzata nei suoi amminoacidi costituenti.

Suggerimento: Per le domande dalla 39 alla 41, considerate l'equazione $\Delta G = \Delta H - T(\Delta S)$.

39. **Problema** Perché è necessario specificare la temperatura quando compiliamo una tabella di valori di ΔG ?

40. **Problema** Perché l'entropia di un sistema dipende dalla temperatura?

41. **Problema** Una reazione a 23°C ha un $\Delta G = 1 \text{ kJ mol}^{-1}$. Perché è possibile che questa reazione diventi spontanea a 37°C ?

42. **Problema** L'urea si dissolve molto velocemente nell'acqua, ma la soluzione diventa molto fredda quando l'urea si dissolve. Com'è possibile che ciò avvenga? Sembra che la soluzione assorba energia.

43. **Problema** La reazione $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + P_i$ sarà accompagnata da un incremento o da un decremento di entropia? Perché?

1.12 La termodinamica e la vita

44. **Problema** L'esistenza degli organelli nelle cellule eucariotiche rappresenta un livello di organizzazione più alto rispetto ai procarioti. Come ciò può incidere sull'entropia dell'Universo?

45. **Problema** Perché è vantaggioso per una cellula disporre di organelli? Discutete questo concetto dal punto di vista della termodinamica.

46. **Problema** In quale struttura pensate che ci sia una più alta entropia: nella sua ben nota forma a doppia elica o nel DNA a filamenti separati?

47. **Problema** Come potreste modificare la risposta alla domanda 31 alla luce delle nozioni di termodinamica?

48. **Problema** Quale è la probabilità che cellule conosciute possano evolversi in un pianeta gassoso e gigantesco come Giove?

49. **Problema** Quale considerazione termodinamica è possibile svolgere per trovare una risposta alla domanda 48?

50. **Problema** Se le cellule a noi note potessero svilupparsi in un altro pianeta del nostro Sistema Solare, dove sarebbe più probabile che ciò avvenisse, su Marte o su Giove? Perché?

51. **Problema** Il processo di ripiegamento delle proteine avviene in senso spontaneo per la termodinamica. Esso genera una confor-

mazione altamente più ordinata che ha una più bassa entropia rispetto all'organizzazione non ripiegata delle proteine. Come può essere possibile ciò?

52. **Problema** In biochimica, il processo esoergonico di conversione del glucosio ed ossigeno ad anidride carbonica ed acqua, nel metabolismo aerobico, può essere considerato l'inverso della fo-

tosintesi, in cui l'anidride carbonica e l'acqua sono convertite in glucosio ed ossigeno. Vi aspettate che entrambi i processi siano esoergonici, entrambi endoergonici, o uno esoergonico e l'altro endoergonico? Perché? Vi aspettate che entrambi i processi avvengano nello stesso modo? Perché?

Bibliografia

Il progresso della ricerca in biochimica è molto rapido e la letteratura relativa è vasta e in continua crescita. Ogni anno sono pubblicati molti testi e un gran numero di riviste di ricerca di base e riviste scientifiche riportano delle ricerche originali. Alla fine di ogni capitolo sono forniti i riferimenti a questa letteratura. Un riferimento particolarmente utile è *Scientific American*; i suoi articoli includono visioni d'insieme degli argomenti trattati. *Trends in Biochemical Sciences* e *Science* (una rivista pubblicata settimanalmente dall'American Association for the Advancement of Science) sono più avanzati, ma possono essere utili come fonte di informazione primaria su un certo argomento. Oltre al materiale cartaceo, molte informazioni sono ora disponibili su supporto informatico. *Science* ap-

pare regolarmente sui siti Internet di interesse e ha il proprio sito Internet all'indirizzo <http://www.sciencemag.org>. Molte riviste oggi sono su Internet. Alcune richiedono l'abbonamento e molte università e biblioteche universitarie ne sono provviste, in modo che le riviste siano disponibili per gli studenti e per le facoltà in questo formato. Altre sono gratuite. PubMed è un servizio del governo statunitense. Contiene gli articoli delle discipline biomediche ed ha collegamenti con essi. Il suo indirizzo è <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>. Inoltre vari database forniscono accesso istantaneo alla struttura delle proteine e degli acidi nucleici. Verrà fornita anche la bibliografia per le fonti informatiche.

- Allen, R.D. The Microtubule as an Intracellular Engine. *Sci. Amer.* 256 (2), 42-49 (1987). [È discusso il ruolo del lattice microtubulare e dei microtubuli nel movimento degli organelli].
- Barinaga, M. The Telomerase Picture Fills In. *Science* 276, 528-529 (1997). [Un articolo della sezione Research News circa l'identificazione della componente catalitica della telomerasi, l'enzima che sintetizza i telomeri (le estremità dei cromosomi)].
- Cairns-Smith, A.G. The First Organisms. *Sci. Amer.* 252 (6), 90-100 (1985). [Una presentazione dell'ipotesi che i processi di vita primordiali avessero nell'argilla e non nel "brodo primordiale" dei primi oceani].
- Cairns-Smith, A.G. *Genetic Takeover and the Mineral Origins of Life*. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press, 1982. [Una presentazione dell'ipotesi che la vita ebbe inizio nell'argilla].
- Cech, T.R. RNA as an Enzyme. *Sci. Amer.* 255 (5), 64-75 (1986). [Una discussione sul modo in cui l'RNA può tagliare se stesso e ricongiungere i suoi frammenti].
- Chen, I. The Emergence of Cells during the Origin of Life. *Science* 314, 1558-1559 (2006). [Un riassunto particolarmente chiaro sulle teorie attuali].
- de Duve, C. The Birth of Complex Cells. *Sci. Amer.* 274 (4), 50-57 (1996). [Un premio Nobel riassume l'endosimbiosi e altri aspetti della struttura e funzione cellulare].
- Duke, R., D. Ojcius, and J. Young. Cell Suicide in Health and Disease. *Sci. Amer.* 275 (6), 80-87 (1996). [Un articolo sulla morte cellulare negli organismi sani e la mancanza di essa nelle cellule cancerose].
- Eigen, M., W. Gardiner, P. Schuster, and R. Winkler-Oswatitsch. The Origin of Genetic Information. *Sci. Amer.* 244 (4), 88-118 (1981). [Una presentazione della tesi che l'RNA sia stato il materiale codificante originario].
- Horgan, J. In the Beginning. ... *Sci. Amer.* 264 (2), 116-125 (1991). [Un articolo sui nuovi sviluppi nello studio sulle origini della vita].
- Knoll, A. The Early Evolution of Eukaryotes: A Geological Perspective. *Science* 256, 622-627 (1992). [Un confronto tra le prove biologiche e geologiche relative all'argomento].
- Lee, D., J. Granja, J. Martinez, K. Severin, and M.R. Ghadri. A Self-Replicating Peptide. *Nature* 382, 525-528 (1996). [Un esempio di articolo di ricerca, in questo caso si fornisce evidenza che la trasmissione del codice e la catalisi possono essere effettuati da peptidi così come dall'RNA].
- Madigan, M., and B. Marrs. Extremophiles. *Sci. Amer.* 276 (4), 82-87 (1997). [Un resoconto dei vari tipi di archeobatteri che vivono in condizioni estreme e degli enzimi che possono essere purificati da questi organismi].
- Morell, V. Life's Last Domain. *Science* 273, 1043-1045 (1996). [Un articolo della sezione Research News circa il genoma dell'archeobatterio *Methanococcus jannaschii*. Questa è la prima sequenza genomica ottenuta per gli archeobatteri. Da leggere insieme all'articolo di ricerca a pag. 1058-1073 dello stesso numero].
- Pennisi, E. Laboratory Workhorse Decoded: Microbial Genomes Come Tumbling In. *Science* 277, 1432-1434 (1997). [Un articolo della sezione Research News circa il genoma del batterio *Escherichia coli*. Questo organismo è molto usato nei laboratori di ricerca, rendendo il suo genoma particolarmente importante tra le dozzine di genomi batterici finora ottenuti. Da leggere insieme all'articolo di ricerca a pag. 1453-1474 dello stesso numero].
- Robertson, H. How Did Replicating and Coding RNAs First Get Together? *Science* 274, 66-67 (1996). [Una breve rassegna sui possibili resti di un "mondo a RNA"].
- Rothman, J.E. The Compartmental Organization of the Golgi Apparatus. *Sci. Amer.* 253 (3), 74-89 (1985). [Una descrizione delle funzioni dell'apparato del Golgi].
- Waldrop, M. Goodbye to the Warm Little Pond? *Science* 250, 1078-1079 (1990). [Teorie e fatti circa il ruolo dell'impatto dei meteoriti sulla Terra nell'origine e sviluppo della vita].
- Weber, K., and M. Osborn. The Molecules of the Cell Matrix. *Sci. Amer.* 253 (4), 100-120 (1985). [Una descrizione estesa del citoscheletro].
- Woese, C.R. Archaeobacteria. *Sci. Amer.* 244 (6) 98-122 (1981). [Una descrizione dettagliata delle differenze tra gli archeobatteri e altri organismi].

Perché l'acqua possiede proprietà così uniche ed interessanti? L'acqua possiede proprietà uniche per una molecola delle sue dimensioni, quali i punti di fusione e di ebollizione molto alti. Ciò è dovuto all'estesa rete di legami idrogeno che si stabilisce tra le diverse molecole d'acqua. Ogni molecola d'acqua possiede due fonti di parziale carica positiva e due di parziale carica negativa. Questo permette all'acqua di formare aggregati solidi e legami con molte altre molecole d'acqua allo stato liquido. Dissolvere questa fitta rete di legami idrogeno richiede una grande quantità di energia, e di conseguenza l'acqua fonde e bolle a temperature più alte di ogni altra molecola delle sue dimensioni.

Cosa sono gli acidi e le basi? Gli acidi sono composti che rilasciano ioni idrogeno (protoni) quando si dissolvono in un solvente acquoso. In altre parole, sono donatori di protoni. Le basi sono accettori di protoni.

Cos'è il pH? La definizione matematica di pH consiste nel logaritmo negativo della concentrazione di ioni idrogeno. È la misura dell'acidità di una soluzione. Più è basso il pH, più è acida la soluzione. Il logaritmo fa sì che la variazione di un'unità di pH corrisponda ad una variazione di dieci volte della concentrazione di ioni idrogeno.

Perché vogliamo conoscere il pH? Conoscere il pH è importante poiché molte reazioni biologiche richiedono un intervallo di pH molto stretto. Ad esempio, un enzima che è attivo a pH 7,0, potrebbe inattivarsi completamente a pH 8,0. Affinché un esperimento funzioni, bisogna controllare il pH delle soluzioni che si usano in laboratorio. Anche se in alcuni organelli si possono verificare variazioni locali di pH, la cellula deve mantenere un pH vicino alla neutralità per sopravvivere.

Come funzionano i tamponi? Il funzionamento dei tamponi si

basa sulla natura degli acidi deboli e delle basi coniugate che compongono. Se si aggiungono ioni idrogeno ad un tampone, questi reagiscono con la base coniugata a formare un acido debole. Si aggiungono ioni idrossido ad un tampone, essi reagiscono con l'acido debole a formare acqua e la base coniugata dell'acido. In questo modo, vengono consumati gli ioni H^+ o OH^- aggiunti ad un tampone. Ciò mantiene il pH molto più stabile rispetto a quanto verrebbe se lo stesso acido o la stessa base fossero aggiunti ad una soluzione non tamponata.

Come si sceglie un tampone? La scelta del tampone è determinata in primo luogo dal pH che si desidera mantenere nell'esperimento. Ad esempio, se stiamo conducendo un esperimento e occorre che la soluzione si mantenga ad un pH di 7,5, cerchiamo un tampone con un pK_a prossimo a 7,5, dal momento che i tamponi sono più efficaci quando il pH si trova vicino al pK_a del tampone stesso.

Come si prepara un tampone in laboratorio? Il modo più conveniente per preparare un tampone è quello di aggiungere in un contenitore sia la forma dell'acido che della base debole del composto con cui si vuole preparare il tampone, acqua, quindi, misurare il pH con un pHmetro. Il pH sarà o troppo alto o troppo basso. Si aggiunge quindi un acido o una base forte finché il tampone non raggiunge il pH desiderato. Si porta quindi, a volume in modo che la concentrazione del composto sia corretta.

Sistemi tampone di importanza fisiologica I tamponi non sono un semplice sistema artificiale utilizzato in laboratorio. I sistemi viventi sono tamponati da composti che esistono in natura. I tamponi fosfato e carbonato ci aiutano a mantenere il pH fisiologico a valori prossimi a 7,0.

Esercizi di ricapitolazione

2.1 Acqua e polarità

- Problema** Perché l'acqua è necessaria per la vita?
- Problema** Come sarebbe la biochimica se gli atomi non differissero in elettronegatività?

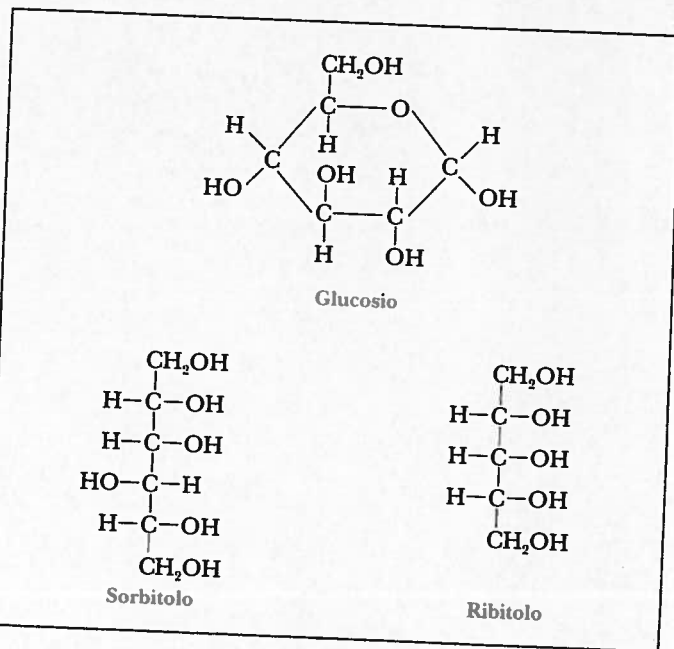
2.2 Legami idrogeno

- Domanda di verifica** Quali macromolecole presentano i legami idrogeno come parte integrante della loro struttura?
- Connessioni biochimiche** In che modo i legami idrogeno sono coinvolti nel trasferimento dell'informazione genetica?
- Problema** Spiegare perché non sono stati osservati legami idrogeno tra molecole di CH_4 .
- Problema** Disegnare tre esempi di molecole che possono formare legami idrogeno.
- Domanda di verifica** Quali sono i requisiti per la formazione di legami idrogeno tra le molecole? (Quali atomi devono essere presenti e partecipare a tali legami?)
- Problema** Molte proprietà dell'acido acetico possono essere spiegate in termini di un dimero tenuto assieme da legami idrogeno. Proporre una struttura per tale dimero.
- Problema** Quante molecole d'acqua potrebbero formare legami idrogeno *direttamente* con il glucosio? E con il sorbitolo o il ribitolo?
- Problema** L'RNA e il DNA hanno entrambi gruppi fosfato carichi negativamente come parte integrante della loro struttura. Vi aspettate che gli ioni che possono legarsi agli acidi nucleici siano carichi negativamente o positivamente? Perché?

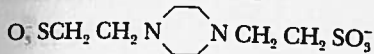
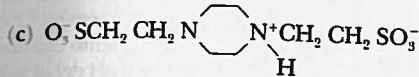
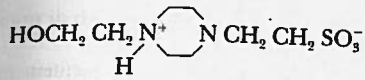
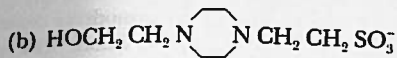
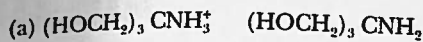
2.3 Acidi, basi e pH

- Domanda di verifica** Identificate gli acidi e le basi coniugate nelle seguenti coppie di sostanze:

(a) $(CH_3)_3NH^+ / (CH_3)_3N$



- (b) $H_3N-CH_2COOH / H_3N-CH_2-COO^-$
- (c) $H_3N-CH_2-COO^- / H_2N-CH_2-COO^-$
- (d) $-OOC-CH_2-COOH / -OOC-CH_2-COO^-$
- (e) $-OOC-CH_2-COOH / HOOC-CH_2-COOH$
- Domanda di verifica** Identificate gli acidi e le basi coniugate nelle seguenti coppie di sostanze:



13. **Problema** L'aspirina è un acido il cui pK_a è 3,5; la sua struttura contiene un gruppo carbossilico. Per essere assorbita nel flusso sanguigno, deve passare attraverso la membrana che ricopre lo stomaco e l'intestino tenue. Le molecole elettricamente neutre possono passare più facilmente delle molecole cariche attraverso una membrana. Vi aspettate che sia assorbita più aspirina nello stomaco, dove il pH del succo gastrico è circa 1, o nell'intestino tenue, dove il pH è circa 6? Spiegate la risposta.

14. **Domanda di verifica** Perché il pH cambia di una unità se la concentrazione dello ione idrogeno cambia di un fattore 10?

15. **Esercizio** Calcolate la concentrazione di ioni idrogeno, $[\text{H}^+]$, per ognuna delle seguenti sostanze:

- Plasma, pH 7,4
- Succo d'arancia, pH 3,5
- Urina umana, pH 6,2
- Ammoniaca per uso domestico, pH 11,5
- Succo gastrico, pH 1,8

16. **Esercizio** Calcolate la concentrazione di ioni idrogeno, $[\text{H}^+]$, per ognuna delle seguenti sostanze:

- Saliva, pH 6,5
- Fluido intracellulare del fegato, pH 6,9
- Succo di pomodoro, pH 4,3
- Succo di pompelmo, pH 3,2

17. **Esercizio** Calcolate la concentrazione di ioni idrossido, $[\text{OH}^-]$, per ognuna delle sostanze dell'Esercizio 16.

2.4 Le curve di titolazione

18. **Domanda di verifica** Definite i seguenti concetti:

- Costante di dissociazione acida
- Forza acida
- Anfipatico
- Capacità tamponante
- Punto equivalente
- Idrofilico
- Idrofobico
- Non polare
- Polare
- Titolazione

19. **Problema** Guardate la Figura 2.15 e la Tabella 2.18. Quale composto della tabella darebbe una curva simile a quella della figura? Perché?

20. **Problema** Guardate la Figura 2.15. Se aveste condotto la titolazione usando TRIS invece del fosfato, come sarebbe risultata la curva di titolazione rispetto alla figura? Spiegate.

2.5 I tamponi

21. **Connessioni biochimiche** Elencate i criteri usati per scegliere un tampone per una reazione biochimica.

22. **Connessioni biochimiche** Qual è la relazione tra pK_a e l'intervallo efficace di un tampone?

23. **Esercizio** Qual è il rapporto $[\text{CH}_3\text{COO}^-]/[\text{CH}_3\text{COOH}]$ in un tampone acetato a pH 5,00?

24. **Esercizio** Qual è il rapporto $[\text{CH}_3\text{COO}^-]/[\text{CH}_3\text{COOH}]$ in un tampone acetato a pH 4,00?

25. **Esercizio** Qual è il rapporto di TRIS/TRIS- H^+ in un tampone TRIS a pH 8,7?

26. **Esercizio** Qual è il rapporto di HEPES/HEPES- H^+ in un tampone HEPES a pH 7,9?

27. **Esercizio** Come preparereste 1 litro di tampone fosfato 0,050 M a pH 7,5 utilizzando K_2HPO_4 cristallino e una soluzione di HCl 1,0 M?

28. **Esercizio** Il tampone richiesto nell'Esercizio 27 si può anche preparare utilizzando NaH_2PO_4 cristallino e una soluzione di NaOH 1,0 M. Come procedereste?

29. **Esercizio** Calcolate il pH di una soluzione tampone preparata mescolando 75 mL di acido lattico 1,0 M (si veda Tabella 2.6) e 25 mL di lattato di sodio 1,0 M.

30. **Esercizio** Calcolate il pH di una soluzione tampone preparata mescolando 25 mL di acido lattico 1,0 M con 75 mL di lattato di sodio 1,0 M.

31. **Esercizio** Calcolate il pH di una soluzione tampone che contiene acido acetico 0,10 M (Tabella 2.6) e acetato di sodio 0,25 M.

32. **Esercizio** Un manuale di laboratorio riporta una ricetta per preparare 1 L di un tampone TRIS 0,0500 M con un pH 8,0: sciogliere 2,02 g di TRIS (base libera, PM = 121,1 g/mol) e 5,25 g di TRIS idrocloruro (forma acida, PM = 157,6 g/mol) in un volume totale di un litro. Verificate che questa ricetta sia corretta.

33. **Esercizio** Se miscelate volumi uguali di HCl 0,1 M e TRIS 0,20 M (si veda Tabella 2.8, forma con l'ammina libera), la soluzione risultante sarebbe un tampone? Perché sì o perché no?

34. **Esercizio** Quale sarebbe il pH della soluzione descritta nell'Esercizio 33?

35. **Esercizio** Se avete 100 mL di un tampone TRIS 0,10 M a pH 8,3 (Tabella 2.8) e aggiungete 3,0 mL di HCl 1 M, quale sarà il nuovo pH?

36. **Esercizio** Quale sarà il pH della soluzione dell'Esercizio 35 se vengono aggiunti 3,0 mL di HCl 1 M?

37. **Esercizio** Mostrate che, per un acido debole puro in acqua, $\text{pH} = (\text{p}K_a - \log [\text{HA}])/2$.

38. **Esercizio** Qual è il rapporto delle concentrazioni di ione acetato e acido acetico indissociato in una soluzione che ha un pH di 5,12?

39. **Connessioni biochimiche** Dovete fare avvenire una reazione enzimatica a pH 7,5. Un amico suggerisce un acido debole con un pK_a di 3,9 come base del tampone. Questa sostanza con la sua base coniugata costituirà un tampone adatto? Perché sì o perché no?

40. **Esercizio** Se il tampone suggerito nell'Esercizio 39 fosse preparato, quale sarebbe il rapporto base coniugata/acido coniugato?

41. **Connessioni biochimiche** Suggeste un intervallo di pH adatto per ognuna delle seguenti sostanze:

- Acido lattico ($pK_a = 3,86$) e il suo sale sodico
- Acido acetico ($pK_a = 4,76$) e il suo sale sodico
- TRIS (si veda la Tabella 2.8, $pK_a = 8,3$) nella sua forma protonata e nella sua forma con l'ammina libera.
- HEPES (si veda la Tabella 2.8, $pK_a = 7,55$), nella sua forma zwitterionica e nella sua forma anionica.

42. **Connessioni biochimiche** Quali dei tamponi elencati nella Tabella 2.8 scegliereste per preparare un tampone a pH = 7,3? Spiegate perché.

43. **Esercizio** La soluzione impiegata nell'Esercizio 27 è detta 0,050 M, anche se né la concentrazione della base libera né quella dell'acido coniugato è 0,050 M. Perché la concentrazione corretta è proprio 0,05 M?

44. **Problema** Nella Sezione 2.4 abbiamo detto che al punto di equivalenza della titolazione dell'acido acetico *praticamente tutto* l'acido è stato convertito in ione acetato. Perché non diciamo che *tutto* l'acido acetico è stato convertito in ione acetato?

45. **Esercizio** Definite la capacità tamponante. Come differiscono in capacità i seguenti tamponi? Come differiscono nel pH? tampone a: 0,01 M Na_2HPO_4 e 0,01 M NaH_2PO_4 tampone b: 0,10 M Na_2HPO_4 e 0,10 M NaH_2PO_4 tampone c: 1,0 M Na_2HPO_4 e 1,0 M NaH_2PO_4

46. **Connessioni biochimiche** Se cercate di preparare un tampone

- HEPES a pH 8,3 e avete a disposizione sia l'HEPES acido che l'HEPES base adatti, con quale iniziereste e perché?
47. **Connessioni biochimiche** In genere sappiamo che un tampone ideale è quello che ha il pH uguale al suo pK_a . Fate un esempio di una situazione in cui sarebbe vantaggioso avere un tampone con 0,5 unità in più rispetto al suo pK_a .
48. **Domanda di verifica** Quale qualità degli zwitterioni rende i loro tamponi ottimali?
49. **Problema** Molti dei tamponi elencati nel capitolo, come l'HEPES e il PIPES, sono stati creati affinché potessero avere delle caratteristiche ottimali, come la resistenza ai cambiamenti di pH con la diluizione. Perché la resistenza ai cambiamenti di pH con la diluizione è vantaggiosa?
50. **Problema** Un'altra caratteristica dei tamponi moderni come l'HEPES è che il loro pH cambia poco con variazioni della temperatura. Perché ciò è ottimale?
51. **Problema** Identificate gli zwitterioni nell'elenco di sostanze della Domanda 11.
52. **Connessioni biochimiche** Un trattamento frequentemente raccomandato per far passare il singhiozzo è trattenere il respiro. La condizione risultante, l'ipoventilazione, causa un aumento dell'anidride carbonica nei polmoni. Prevedete gli effetti sul pH del sangue.

Bibliografia

- Allen, D., and H. Westerblad. Lactic Acid – The latest performance enhancing drug. *Science* **305**, 1112-1113 (2004) [Un articolo che confuta certe credenze sull'accumulo di acido lattico e la fatica muscolare].
- Barrow, G.M. *Physical Chemistry for the Life Sciences*, 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1981. [Le reazioni acido-base sono discusse nel Capitolo 4, con le curve di titolazione trattate in dettaglio].
- Fasman, G.D., ed. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology: Physical and Chemical Data Section*, 2 vols., 3rd ed. Cleveland: The Chemical Rubber Company, 1976. [Include una sezione sui tamponi e istruzioni per preparare soluzioni tampone (vol.1, pp. 353-378). Altre sezioni trattano tipi importanti di biomolecole].
- Ferguson, W.J., and N.E. Good. Hydrogen Ion Buffers. *Anal. Biochem.* **104**, 300-310 (1980). [Descrizione di utili tamponi zwitterionici].
- Gerstein, M., and M. Levitt. Simulating Water and the Molecules of Life. *Sci. Amer.* **279** (5), 101-105 (1998). [Descrizione dei modelli al computer per studiare le interazioni delle molecole d'acqua con DNA e proteine].
- Hellmans, A. Getting to the Bottom of Water. *Science* **283**, 614-615 (1999). [Recenti ricerche indicano che il legame idrogeno può avere un carattere covalente, influenzando le proprietà dell'acqua].
- Jeffrey, G.A. *An Introduction to Hydrogen Bonding*. New York: Oxford Univ. Press, 1997. [Una trattazione avanzata (della lunghezza di un libro) dei legami idrogeno. Il Capitolo 10 è dedicato ai legami idrogeno nelle molecole biologiche].
- Olson, A., and D. Goodsell. Visualizing Biological Molecules. *Sci. Amer.* **268** (6), 62-68 (1993). [Un resoconto di come la grafica al computer può essere utilizzata per rappresentare struttura e proprietà molecolari].
- Pauling, L. *The Nature of the Chemical Bond*, 3rd ed. Ithaca, N.Y.: Cornell Univ. Press, 1960. [Un classico. Il Capitolo 12 è dedicato ai legami idrogeno].
- Pedersen, T.H., O.B. Nielsen, G.D. Lamb, and D.G. Stephenson. Intracellular Acidosis Enhances the Excitability of Working Muscle. *Science* **305**, 1144-1147 (2004) [Uno dei primi articoli sull'acido lattico ed i suoi effetti sulla contrazione muscolare].
- Rand, R. Raising Water to New Heights. *Science* **256**, 618 (1992). [Una breve visione d'insieme sul contributo dell'idratazione all'assemblaggio delle molecole e alla catalisi enzimatica].
- Westhof, E., ed. *Water and Biological Macromolecules*. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1993. [Una serie di articoli sul ruolo dell'acqua nell'idratazione delle macromolecole biologiche e sulle forze che intervengono nella formazione di complessi macromolecolari e nelle interazioni tra le cellule].

Riassunto

Perché è così importante definire la struttura tridimensionale degli amminoacidi? Gli amminoacidi, che sono le unità monomeriche delle proteine, hanno in comune la struttura generale, con un gruppo amminico e un gruppo carbossilico legati allo stesso atomo di carbonio. La natura della catena laterale, definita gruppo R, determina le differenze tra gli amminoacidi. Ad eccezione della glicina, gli amminoacidi possono esistere in due forme, indicate come L e D. Questi due stereoisomeri sono immagini speculari non sovrapponibili. Gli amminoacidi che si trovano nelle proteine sono della forma L, ma alcuni amminoacidi D si trovano in natura.

Perché le catene laterali degli amminoacidi sono così importanti? Uno schema di classificazione degli amminoacidi può essere basato sulla natura delle loro catene laterali. Due criteri particolarmente importanti sono la natura polare o non polare della catena laterale e la presenza nella catena laterale di un gruppo acido o basico.

Quali amminoacidi hanno le catene laterali non polari? (gruppo 1) Esiste un gruppo di amminoacidi con catene laterali non polari. Le catene laterali sono per la maggior parte gruppi alifatici o idrocarburi aromatici o loro derivati.

Quali amminoacidi hanno le catene laterali polari elettricamente neutre? (gruppo 2) Un secondo gruppo di amminoacidi ha catene laterali che contengono atomi elettronegativi quali ossigeno, azoto e zolfo.

Quali amminoacidi hanno gruppi carbossilici nelle catene laterali? (gruppo 3) Due amminoacidi, l'acido glutammico e l'acido aspartico, hanno gruppi carbossilici nelle loro catene laterali.

Quali amminoacidi hanno le catene laterali basiche? (gruppo 4) Tre amminoacidi - istidina, lisina e arginina - hanno catene laterali basiche.

Quali amminoacidi si trovano meno frequentemente nelle proteine? Alcuni amminoacidi si trovano solo in alcune proteine. Questi derivano da amminoacidi comuni che vengono modificati dopo che la proteina è stata sintetizzata nella cellula.

Cosa succede quando si titola un amminoacido? Negli amminoacidi liberi a pH neutro, il gruppo carbossilico è carico negativamente e il gruppo amminico è carico positivamente. Amminoacidi senza gruppi carichi nella catena laterale esistono in soluzione neutra come zwitterioni, senza una carica netta. Le curve di titolazione degli amminoacidi indicano gli intervalli di pH nei quali i gruppi titolabili perdono o acquistano un protone. Anche le catene laterali degli amminoacidi possono contribuire ai gruppi titolabili; la carica (se esiste) sulla catena laterale deve essere presa in considerazione quando si determina la carica netta dell'amminoacido.

Quali sono i gruppi che negli amminoacidi formano il legame peptidico? I peptidi si formano con l'unione del gruppo carbossilico di un amminoacido con il gruppo amminico di un altro amminoacido tramite un legame covalente (ammidico). Le proteine sono costituite da catene polipeptidiche; il numero di amminoacidi in una proteina è in genere 100 o più. Il gruppo peptidico è planare; questo limite stereochimico è importante nel determinare la struttura tridimensionale di peptidi e proteine.

Quali sono alcune funzioni biologiche svolte da piccoli peptidi? Piccoli peptidi, che contengono da due ad alcune dozzine di residui di amminoacidi, possono avere marcati effetti fisiologici negli organismi.

Esercizi di ricapitolazione

3.1 Struttura tridimensionale degli amminoacidi

1. **Domanda di verifica** In che cosa gli amminoacidi-D differiscono dagli amminoacidi-L? Qual è il ruolo biologico dei peptidi che contengono amminoacidi-D?

3.2 I singoli amminoacidi: struttura e proprietà

2. **Domanda di verifica** Quale amminoacido non è tecnicamente un amminoacido? Quale amminoacido non contiene un atomo di carbonio chirale?

3. **Domanda di verifica** Citate un amminoacido in cui il gruppo R contiene: un gruppo ossidrilico; un atomo di zolfo; un secondo atomo di carbonio chirale; un gruppo amminico; un gruppo ammidico; un gruppo acido; un anello aromatico; una catena laterale ramificata.

4. **Domanda di verifica** Identificate gli amminoacidi polari, gli amminoacidi aromatici e quelli che contengono zolfo, in un peptide con questa sequenza di amminoacidi:

Val—Met—Ser—Ile—Phe—Arg—Cys—Tyr—Leu

5. **Domanda di verifica** Identificate gli amminoacidi non polari e gli amminoacidi acidi nel seguente peptide:

Glu—Thr—Val—Asp—Ile—Ser—Ala

6. **Domanda di verifica** Esistono altri amminoacidi oltre agli usuali

20 che si trovano nelle proteine? Se sì, come vengono incorporati nelle proteine? Date un esempio di tali amminoacidi e di una proteina in cui si trovano.

3.3 Gli amminoacidi si comportano sia da acidi che da basi

7. **Esercizio** Predite la forma ionizzata predominante dei seguenti amminoacidi a pH 7: acido glutammico, leucina, treonina, istidina, arginina.

8. **Esercizio** Disegnate le strutture dei seguenti amminoacidi, indicando le forme cariche che esistono a pH 4: istidina, asparagina, triptofano, prolina e tirosina.

9. **Esercizio** Predite le forme predominanti degli amminoacidi dell'Esercizio 8 a pH 10.

10. **Esercizio** Calcolate il punto isoelettrico dei seguenti amminoacidi: acido glutammico, serina, istidina, lisina, tirosina, arginina.

11. **Esercizio** Mostrate una curva di titolazione per l'amminoacido cisteina e indicate i valori di pK_a per tutti i gruppi titolabili. Indicate anche il pH al quale l'amminoacido non possiede carica netta.

12. **Esercizio** Mostrate una curva di titolazione per l'amminoacido lisina e indicate i valori di pK_a per tutti i gruppi titolabili. Indicate anche il pH al quale l'amminoacido non possiede carica netta.

13. **Esercizio** Un chimico organico è in genere soddisfatto di una

resa del 95%. Se sintetizaste un polipeptide e realizzaste una resa del 95% per ogni residuo di amminoacido aggiunto, quale sarebbe la vostra resa totale dopo l'aggiunta di 10 residui (al primo amminoacido)? E dopo l'aggiunta di 50 residui? E dopo 100 residui? Queste rese sarebbero "soddisfacenti" dal punto di vista biochimico? Come si evitano in biochimica delle basse rese?

14. **Esercizio** Mostrate una curva di titolazione per l'acido aspartico e indicate i valori di pK_a per tutti i gruppi titolabili. Indicate anche l'intervallo di pH in cui la coppia acido-base coniugata Asp⁺1 e Asp⁰ possa agire come tampone.
15. **Problema** Suggeste una ragione per cui gli amminoacidi sono in genere più solubili a pH estremi di quanto lo siano a pH neutro. (Notate che ciò non significa che siano insolubili a pH neutro).
16. **Problema** Scrivete delle equazioni che mostrano le reazioni di dissociazione ionica dei seguenti amminoacidi: acido aspartico, valina, istidina, serina, lisina.
17. **Problema** Sulla base delle informazioni fornite nella Tabella 3.2, esiste un amminoacido che possa agire da tampone a pH 8? Se sì, quale?
18. **Problema** Se aveste un amminoacido di fantasia correlato all'acido glutammico, ma in cui l'idrogeno legato al carbonio γ è sostituito da un altro gruppo amminico, quale potrebbe essere la forma predominante di questo amminoacido a pH 4, 7 e 10 se il valore di pK_a è 10 per l'unico gruppo amminico?
19. **Problema** Quale sarebbe il pI per l'amminoacido di fantasia descritto nel Problema 18?
20. **Problema** Identificate i gruppi carichi nel peptide mostrato nella Domanda 4 a pH 1 e a pH 7. Qual è la carica netta di questo peptide a questi due valori di pH?
21. **Problema** Considerate i seguenti peptidi:
Phe—Glu—Ser—Met e Val—Trp—Cys—Leu.
Questi peptidi hanno cariche nette differenti a pH 1? E a pH 7? Indicate le cariche a entrambi i valori di pH.
22. **Problema** Nei seguenti due gruppi di amminoacidi, quale amminoacido si potrebbe distinguere più facilmente dagli altri due sulla base di una titolazione?
(a) gly, leu, lys
(b) glu, asp, ser
23. **Problema** L'amminoacido glicina potrebbe essere alla base di un sistema tampone? Se sì, in quale intervallo di pH sarebbe utile?

3.4 Il legame peptidico

24. **Domanda di verifica** Mostrate le strutture di risonanza del gruppo peptidico.
25. **Domanda di verifica** In che modo le strutture di risonanza del gruppo peptidico contribuiscono alla disposizione planare di questo gruppo di atomi?
26. **Connessioni biochimiche** Quali amminoacidi o loro derivati sono dei neurotrasmettitori?
27. **Connessioni biochimiche** Che cos'è la monoammina ossidasi e qual è la sua funzione?
28. **Problema** Considerate i peptidi Ser-Glu-Gly-His-Ala e Gly-His-Ala-Glu-Ser. In che cosa differiscono questi peptidi?
29. **Problema** Vi aspettereste che le curve di titolazione dei due peptidi nel Problema 28 differiscano? Perché sì o perché no?
30. **Problema** Quali sono le sequenze di tutti i tripeptidi possibili che contengano gli amminoacidi serina, leucina e fenilalanina?

Utilizzate le abbreviazioni a tre lettere per esprimere la vostra risposta.

31. **Problema** Rispondete al Problema 30 utilizzando la simbologia a una lettera per gli amminoacidi.
 32. **Problema** La maggior parte delle proteine contiene più di 100 residui amminoacidici. Se decidete di sintetizzare un polipeptide di 100 residui, con 20 amminoacidi diversi disponibili per ogni posizione, quante molecole differenti potrete ottenere?
 33. **Connessioni biochimiche** Qual è la base stereochimica dell'osservazione che la D-aspartil-D-fenilalanina ha un gusto amaro, mentre la L-aspartil-L-fenilalanina è molto più dolce dello zucchero?
 34. **Connessioni biochimiche** Perché un bicchiere di latte caldo dovrebbe conciliare il sonno la sera?
 35. **Connessioni biochimiche** Cosa converrebbe assumere prima di un esame, un bicchiere di latte o un pezzo di formaggio? Perché?
 36. **Problema** Cosa potreste dedurre (o sapere) sulla stabilità degli amminoacidi, se paragonata a quella di altre unità fondamentali di biopolimeri (zuccheri, nucleotidi, acidi grassi, ecc.)?
 37. **Problema** Se sapeste tutto sulle proprietà dei 20 amminoacidi comuni (proteici), sareste capaci di predire le proprietà di una proteina (o di un grosso peptide) da essi costituita?
 38. **Problema** Suggeste una ragione per cui gli amminoacidi tiroxina e idrossiprolina siano prodotti da modifiche post-traduzionali degli amminoacidi tirosina e prolina, rispettivamente.
 39. **Problema** Considerate i peptidi Gly—Pro—Ser—Glu—Thr (catena aperta) e Gly—Pro—Ser—Glu—Thr con un legame peptidico tra la treonina e la glicina. Questi peptidi sono chimicamente uguali?
 40. **Problema** Vi aspettate di poter separare mediante l'elettroforesi i peptidi del Problema 39?
 41. **Problema** Suggeste una ragione per la quale la biosintesi degli amminoacidi e, di conseguenza, delle proteine, non potrebbe avvenire in un organismo la cui unica fonte di cibo fossero i carboidrati.
 42. **Problema** State studiando con un amico che disegna la struttura dell'alanina a pH 7. Essa possiede un gruppo carbossilico ($-\text{COOH}$) e un gruppo amminico ($-\text{NH}_2$). Cosa gli suggerireste?
 43. **Problema** Suggeste una ragione o delle ragioni per cui gli amminoacidi polimerizzano per formare proteine che hanno relativamente pochi legami covalenti crociati nella catena polipeptidica.
 44. **Problema** Suggeste quale effetto si avrebbe sulla struttura dei peptidi se il gruppo peptidico non fosse planare.
 45. **Problema** Speculate sulle proprietà di proteine e peptidi se nessuno degli amminoacidi standard contenesse zolfo.
 46. **Problema** Speculate sulle proprietà delle proteine che si potrebbero formare se gli amminoacidi non fossero chirali.
- ### 3.5 Piccoli peptidi fisiologicamente attivi
47. **Domanda di verifica** Quali sono le differenze strutturali tra gli ormoni peptidici ossitocina e vasopressina? Come differiscono nella loro funzione?
 48. **Domanda di verifica** In che cosa differiscono le forme ossidata e ridotta del glutatione?
 49. **Domanda di verifica** Che cosa è un'encefalina?
 50. **Problema** L'enzima D-amminoacido ossidasi, che converte i D-amminoacidi nella forma α -cheto, è uno degli enzimi più potenti del corpo umano. Suggeste una ragione per la quale questo enzima debba avere una tale attività.

Esercizi di ricapitolazione

4.1 Struttura e funzione delle proteine

- Domanda di verifica** Trovate la corrispondenza tra le seguenti affermazioni relative alla struttura delle proteine ed i livelli di organizzazione appropriati. (i) Struttura primaria; (ii) struttura secondaria; (iii) struttura terziaria; (iv) struttura quaternaria.
 - Disposizione tridimensionale di tutti gli atomi
 - Ordine dei residui di amminoacidi nella catena polipeptidica
 - Interazione tra le subunità nelle proteine che consistono di più di una catena polipeptidica
 - La disposizione dello scheletro polipeptidico con i legami idrogeno
- Domanda di verifica** Definite gli effetti della denaturazione sulla struttura secondaria, terziaria e quaternaria.
- Domanda di verifica** Qual è la natura della struttura "casuale" delle proteine?

4.2 La struttura primaria delle proteine

- Problema** Suggeste una spiegazione per l'osservazione che le proteine non possono essere denaturate reversibilmente quando sono chimicamente modificate, in modo che specifiche catene laterali abbiano una diversa natura chimica.
- Problema** Razionalizzate le seguenti osservazioni.
 - La serina è il residuo amminoacidico che può essere sostituito con il minimo effetto sulla struttura e sulla funzione della proteina.
 - La sostituzione del triptofano determina il maggiore effetto sulla struttura e sulla funzione della proteina.
 - Sostituzioni come Lys → Arg e Leu → Ile hanno di solito un effetto molto lieve sulla struttura e sulla funzione della proteina.
- Problema** La glicina è un residuo amminoacidico molto conservato nelle proteine (cioè si trova nella stessa posizione nella struttura primaria di proteine correlate). Suggeste un motivo per il quale ciò possa avvenire.
- Problema** Una mutazione che cambia un residuo di alanina di una proteina in uno di isoleucina porta alla perdita di attività. Si ristabilisce l'attività quando un'ulteriore mutazione nello stesso sito cambia l'isoleucina in glicina. Perché?
- Problema** Uno studente di biochimica analizza il processo di cottura della carne per esercitarsi sulla denaturazione delle proteine. Commentate la validità di questa osservazione.
- Connessioni biochimiche** La sindrome da immunodeficienza combinata grave (SCID) è caratterizzata dalla mancanza completa del sistema immunitario. Sono stati ottenuti in laboratorio ceppi di topo con la SCID e quando questi topi SCID, che portano la predisposizione genetica alle malattie da prioni, sono infettati con PrP^{Sc}, non sviluppano le malattie da prioni. Come si correlano questi fatti alla trasmissione delle malattie da prioni?
- Connessioni biochimiche** Un ceppo isolato di ovini è stato identificato in Nuova Zelanda. La maggior parte di queste pecore presenta il gene per la predisposizione allo scrapie, ma nessuna di esse ha sviluppato la malattia. Come si correlano questi fatti alla trasmissione delle malattie da prioni?

4.3 La struttura secondaria delle proteine

- Domanda di verifica** Elencate tre differenze principali tra proteine fibrose e globulari.
- Connessioni biochimiche** Che cos'è il rapporto dell'efficienza proteica?
- Connessioni biochimiche** Quale alimento ha il più elevato PER?
- Connessioni biochimiche** Quali sono gli amminoacidi essenziali?

- Connessioni biochimiche** Perché gli scienziati cercano di creare alimenti geneticamente modificati?
- Domanda di verifica** Cosa sono gli angoli di Ramachandran?
- Domanda di verifica** Che cos'è un ripiegamento β ?
- Domanda di verifica** Che cos'è un ripiegamento inverso? Disegnate due tipi di ripiegamenti inversi.
- Domanda di verifica** Elencate alcune differenze tra le forme di struttura secondaria ad α -elica e foglietto β .
- Domanda di verifica** Elencate alcune delle possibili combinazioni di α -elica e foglietti β nelle strutture supersecondarie.
- Domanda di verifica** Perché si incontra frequentemente la prolina nei punti in cui la catena polipeptidica forma un angolo sia nella mioglobina che nell'emoglobina?
- Domanda di verifica** Perché la glicina deve trovarsi a intervalli regolari nella tripla elica del collagene?
- Problema** Ascoltate il commento secondo il quale la differenza tra la lana e la seta è la stessa che c'è tra le strutture ad elica e quelle a foglietto pieghettato. Lo considerate un punto di vista valido? Perché sì o perché no?
- Problema** I vestiti di lana si restringono se lavati in acqua calda e quelli di seta no. Suggeste una spiegazione sulla base delle informazioni ottenute da questo capitolo.

4.4 La struttura terziaria delle proteine

- Domanda di verifica** Disegnate due legami idrogeno, uno che fa parte di una struttura secondaria e l'altro di una struttura terziaria.
- Domanda di verifica** Disegnate una possibile interazione elettrostatica tra due amminoacidi di una catena polipeptidica.
- Domanda di verifica** Disegnate un ponte disolfuro tra due cisteine di una catena polipeptidica.
- Domanda di verifica** Disegnate una regione di una catena polipeptidica che mostra una tasca idrofobica contenente catene laterali non polari.
- Problema** I termini *configurazione* e *conformazione* appaiono nella descrizione della struttura molecolare. In che cosa differiscono?
- Problema** In teoria, una proteina potrebbe assumere un numero virtualmente infinito di configurazioni e conformazioni. Suggeste alcune caratteristiche delle proteine che ne limitano drasticamente il numero reale.
- Problema** Qual è il livello più elevato di struttura proteica che si trova nel collagene?

4.5 La struttura quaternaria delle proteine

- Domanda di verifica** Elencate due similarità e due differenze tra emoglobina e mioglobina.
- Domanda di verifica** Quali sono i due amminoacidi chiave vicino al gruppo eme nella mioglobina e nell'emoglobina?
- Domanda di verifica** Qual è il più alto livello organizzativo nella mioglobina? E nell'emoglobina?
- Domanda di verifica** Suggeste in che modo la differenza tra le funzioni dell'emoglobina e della mioglobina si riflette nelle forme delle loro rispettive curve di legame con l'ossigeno.
- Domanda di verifica** Descrivete l'effetto Bohr.
- Domanda di verifica** Descrivete l'effetto del 2,3-bisfosfoglicerato sul legame dell'ossigeno all'emoglobina.
- Domanda di verifica** In cosa differisce la curva di legame per l'ossigeno dell'emoglobina fetale da quella dell'emoglobina adulta?
- Domanda di verifica** Qual è la differenza importante tra gli amminoacidi della catena β e quelli della catena γ dell'emoglobina?
- Problema** Nell'emoglobina ossigenata il pK_a delle istidine in po-

sizione 146 sulla catena β è pari a 6,6. Nell'emoglobina deossigenata, il pK_a di questi residui è 8,2. Come si può correlare questa informazione con l'effetto Bohr?

41. **Problema** State studiando con un'amica che vi racconta l'effetto Bohr. Dice che nei polmoni l'emoglobina lega l'ossigeno e rilascia ioni idrogeno; di conseguenza, il pH aumenta. Prosegue dicendo che nel tessuto muscolare metabolicamente attivo l'emoglobina libera ossigeno e lega ioni idrogeno e quindi il pH diminuisce. Siete d'accordo con il suo ragionamento? Perché sì o perché no?
42. **Problema** In che modo la differenza tra la catena β e la catena γ dell'emoglobina giustificano le differenze tra Hb A e Hb F nel legare l'ossigeno?
43. **Problema** Provate a spiegare la ragione per cui gli individui con il tratto dell'anemia falciforme hanno problemi respiratori durante i voli ad altitudini elevate.
44. **Problema** Un feto omozigote per l'emoglobina S ha una emoglobina F normale?
45. **Problema** Perché l'emoglobina fetale è essenziale per la sopravvivenza degli animali placentali?
46. **Problema** Perché vi aspettereste di trovare l'emoglobina F in adulti affetti da anemia falciforme?
47. **Problema** Quando la deossiemoglobina fu isolata per la prima volta in forma cristallina, il ricercatore che ottenne questo risultato notò che i cristalli cambiavano colore dal rosso al marrone, e cambiava anche la forma, mentre li osservava al microscopio. Cosa accadeva a livello molecolare? *Suggerimento:* i cristalli venivano montati su di un vetrino da microscopio con un coperchio non chiuso ermeticamente.

4.6 La dinamica del ripiegamento delle roteine

48. **Problema** Avete scoperto una nuova proteina, la cui sequenza

mostra circa il 25% di omologia con la ribonucleasi A. Come potreste predire, piuttosto che determinare sperimentalmente, la sua struttura terziaria?

49. **Problema** Discutete dal punto di vista energetico il ripiegamento delle proteine sulla base delle informazioni fornite in questo capitolo.
50. **Problema** Andate al sito RCSB della Banca Dati delle Proteine (<http://www.rcsb.org/pdb>). Date una breve descrizione della proteina prefoldina che potrete ritrovare tra gli *chaperoni*.
51. **Domanda di verifica** Che cosa è uno chaperone?
52. **Connessioni biochimiche** Che cosa è un prione?
53. **Connessioni biochimiche** Quali sono le principali malattie causate da prioni anormali?
54. **Connessioni biochimiche** Quali sono le strutture secondarie che differiscono tra un prione normale e uno infettivo?
55. **Domanda di verifica** Quali sono alcune delle malattie causate dallo scorretto ripiegamento delle proteine?
56. **Domanda di verifica** Che cosa induce le proteine ad aggregare?
57. **Problema** Quali altre possibili organizzazioni del gene della globina potrebbero esistere se non ci fosse bisogno dello chaperone della globina?
58. **Connessioni biochimiche** Qual è la natura di quella mutazione del prione che porta a estrema sensibilità alle malattie da prioni?
59. **Connessioni biochimiche** Che cosa preoccupa alcuni ricercatori in merito al tempo di incubazione delle malattie da prioni?
60. **Connessioni biochimiche** Quali aspetti della trasmissione della scrapie o di altre encefalopatie spongiformi le rendono assimilabili a malattie genetiche? E quali le rendono assimilabili a malattie trasmissibili?

Bibliografia

- Couzin, J. The Prion Protein Has a Good Side? You Bet. *Science* 311, 1091 (2006).
- Ellis, R.J., and Pinheiro, T.J.T. Danger-Misfolding Proteins. *Nature* 416, 483-484 (2002).
- Ensrink, M. After the Crisis: More Questions about Prions. *Science* 310, 1756-1758 (2005).
- Ferguson, N.M., A.C. Ghan, C.A. Donnelly, T. J. Hagenaars, and R.M. Anderson. Estimating the Human Health Risk from Possible BSE Infection of the British Sheep Flock. *Nature* 415, 420-424 (2002). [Il titolo dice tutto].
- Gibbons, A. and M. Hoffman. New 3-D Protein Structures Revealed. *Science* 253, 382-383 (1991). [Esempi dell'uso della cristallografia ai raggi X per determinare la struttura delle proteine].
- Gierasch, L.M. and J. King, eds. *Protein Folding: Deciphering the Second Half of the Genetic Code*. Waldorf, Md: AAAS Books, 1990. [Una raccolta di articoli sulle recenti scoperte relative ai processi di ripiegamento delle proteine. Sono messi in evidenza i metodi sperimentali per studiare il ripiegamento delle proteine].
- Hall, S. Protein Images Update Natural History. *Science* 267, 620-624 (1995). [Combinazione della cristallografia ai raggi X e dei programmi al computer per produrre immagini di struttura delle proteine].
- Hauptmann, H. The Direct Methods of X-ray Crystallography. *Science* 233, 178-183 (1986). [Discussione sui progressi dei metodi per effettuare i calcoli relativi alla determinazione della struttura delle proteine; basata sul discorso di un Premio Nobel. Quest'articolo si dovrebbe leggere insieme a quello di Karle e fornisce punti di vista in contrasto con gli articoli di Perutz, entrambi i quali descrivono le pietre miliari della cristallografia delle proteine].
- Helfand, S.L. Chaperones Take Flight. *Science* 295, 809-810 (2002). [Un articolo sull'uso degli chaperoni per combattere il morbo di Parkinson].
- Holm, L., and C. Sander. Mapping the Protein Universe. *Science* 273, 595-602 (1996). [Un articolo sull'uso delle banche dati sulla struttura delle proteine per predire la struttura tridimensionale delle proteine. Fa parte di una serie di articoli sui computer in biologia].
- Karle, J. Phase Information from Intensity Data. *Science* 232, 837-843 (1986). [Un discorso di un Premio Nobel sulla cristallografia ai raggi X. Vedi le note sull'articolo di Hauptmann].
- Kasha, K.J. Biotechnology and the World Food Supply. *Genome* 42 (4), 642-645 (1999). [Le proteine sono frequentemente introdotte in modo inadeguato con la dieta di molte persone nel mondo e le biotecnologie possono essere di aiuto per questa situazione].
- Legname, G., I.V. Baskakov, H.B. Nguyen, D. Riesner, F.E. Cohen, S.J. DeArmond, and S.B. Prusiner. Synthetic Mammalian Prions. *Science* 305, 673-676 (2004).
- Luzzato, L., and R. Notaro. Haemoglobin's Chaperone. *Nature* 417, 703-705 (2002).
- Mitten, D.D., R. MacDonald, and D. Klonus. Regulation of Foods Derived from Genetically Engineered Crops. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10, 298-302 (1999). [Possibili influenze dell'ingegneria genetica sulla disponibilità di alimenti, specialmente delle proteine].
- O'Quinn, P.R., J.L. Nelssen, R.D. Goodband, D.A. Knabe, J.C. Woodworth, M.D. Tokach, and T.T. Lohrmann. Nutritional Value of a Genetically Improved High-Lysine, High-Oil Corn for Young Pigs. *J. Anim. Sci.* 78 (8), 2144-2149 (2000). [La disponibilità di amminoacidi influenza le proteine formate].

Riassunto

Se una reazione avviene spontaneamente, significa che sarà più veloce? La spontaneità termodinamica non può dirci se una reazione sarà più veloce. La velocità di una reazione è una proprietà cinetica controllata dalla natura dello stato energetico del complesso ES e dello stato di transizione. Gli enzimi aumentano la velocità della reazione creando una situazione in cui la distanza tra lo stato di transizione e il complesso ES su un diagramma di energia viene ridotta.

Una reazione avverrà più velocemente se si aumenta la temperatura? Una reazione chimica può avvenire più velocemente a temperature più elevate. Tuttavia, quando la reazione è catalizzata da un enzima, questo è vero solo in un range specifico di temperature. Se la temperatura aumenta eccessivamente, l'enzima viene denaturato e la velocità della reazione viene diminuita drasticamente, anche sino a zero.

La velocità di una reazione dipende sempre dalla concentrazione dei reagenti? In molte situazioni la concentrazione dei reagenti influenza la velocità di una reazione enzimatica. Tuttavia, nel caso in cui la quantità di enzima sia molto piccola e il substrato sia invece presente a concentrazioni saturanti, tutte le molecole di enzima sono legate al substrato. L'aggiunta di ulteriore substrato in queste condizioni non comporterà un aumento della velocità della reazione. In questa situazione l'enzima sta già lavorando alla sua V_{max} e la cinetica è di ordine zero.

Perché gli enzimi si legano ai substrati? Gli enzimi e i substrati si attraggono l'un l'altro mediante interazioni non covalenti, come le interazioni elettrostatiche. Gli amminoacidi presenti nel sito attivo di un enzima, dove viene legato il substrato, hanno uno specifico orientamento. Dal diagramma dell'energia si potrà evidenziare che l'energia del complesso ES è minore rispetto all'energia di E ed S presi singolarmente.

Perché chimotripsina e ATCase hanno curve di velocità diverse? La chimotripsina e l'aspartato transcarbamilasi hanno cinetiche diverse. La chimotripsina è un enzima non allosterico e presenta una cinetica iperbolica. L'ATCase è un enzima allosterico. È formato da più subunità e il legame di una molecola di substrato influenza il legame della molecola successiva. Questo enzima presenta una cinetica sigmoideale.

Come possiamo calcolare K_M e V_{max} da un grafico? K_M e V_{max} possono essere calcolate costruendo un grafico in cui si riporta la velocità in funzione della [S]. Tuttavia, si può ottenere un valore più preciso utilizzando il grafico di Lineweaver-Burk in cui si riporta $1/V$ in funzione di $1/[S]$. In un grafico di questo tipo l'intercetta con l'asse delle y corrisponde a $1/V_{max}$, da cui si può ricavare il valore di V_{max} . L'intercetta con l'asse delle x corrisponde a $-1/K_M$, da cui si può ottenere il valore di K_M .

Qual è il significato di K_M e di V_{max} ? Dal punto di vista matematico, K_M corrisponde alla concentrazione di substrato a cui la velocità è pari a $V_{max}/2$. Rappresenta inoltre una misura approssimativa dell'affinità tra l'enzima e il substrato: un basso valore di K_M indica, infatti, un'affinità elevata. V_{max} indica quanto velocemente l'enzima può generare il prodotto in condizioni saturanti di substrato.

Come possiamo riconoscere un inibitore competitivo? Confrontando il grafico di Lineweaver-Burk di una reazione non inibita con quello della corrispondente reazione inibita, è possibile identificare l'inibitore come inibitore competitivo se le curve si intersecano sull'asse delle y.

Come possiamo riconoscere un inibitore non competitivo? Nel caso di un inibitore non competitivo, le rette del grafico di Lineweaver-Burk si intersecano sull'asse delle x.

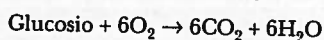
Esercizi di ricapitolazione

6.1 Gli enzimi sono catalizzatori biologici molto efficaci

- Domanda di verifica** In che modo l'efficienza catalitica degli enzimi viene paragonata a quella dei catalizzatori non enzimatici?
- Domanda di verifica** Tutti gli enzimi sono proteine?
- Esercizio** La velocità della reazione di scissione del perossido d'idrogeno catalizzata dalla catalasi è circa 10^7 volte maggiore rispetto alla velocità della stessa reazione non catalizzata. Se la reazione non catalizzata avviene in un anno, in quanto tempo avviene la reazione catalizzata dalla catalasi?
- Problema** Fornite due motivazioni del fatto che l'efficienza di catalizzatori enzimatici è da 10^3 a 10^5 volte maggiore rispetto a quella di catalizzatori semplici come H^+ o OH^- .

6.2 Aspetti cinetici e aspetti termodinamici

- Domanda di verifica** Per la reazione del glucosio con l'ossigeno, per produrre biossido di carbonio e acqua,



il ΔG° è $-2880 \text{ kJ mol}^{-1}$, una reazione fortemente esoergonica. Tuttavia un campione di glucosio può essere tenuto per un tempo indefinito in atmosfera di ossigeno. Conciliate queste due affermazioni.

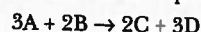
- Problema** In natura, è possibile che lo stesso enzima catalizzi una reazione in entrambi i sensi (in un senso e nel senso opposto) se il ΔG° è di $-0,8 \text{ kcal mol}^{-1}$? Se fosse di $-5,3 \text{ kcal mol}^{-1}$?
- Problema** Suggeste una spiegazione del perché, scaldando una

soluzione contenente un enzima, la sua attività diminuisce notevolmente. Perché spesso la diminuzione dell'attività è minore quando la soluzione contiene elevate quantità di substrato?

- Problema** Viene proposto un modello per spiegare come avviene una reazione catalizzata da un enzima. I dati inerenti la velocità della reazione ottenuti sperimentalmente si adattano al modello all'interno dell'errore sperimentale. Questa è una prova sufficiente della validità del modello oppure no?
- Problema** La presenza di un catalizzatore è in grado di alterare la variazione di energia libera standard di una reazione chimica?
- Problema** Qual è l'effetto di un catalizzatore sull'energia di attivazione di una reazione?
- Problema** Un enzima catalizza la formazione di ATP a partire da ADP e ione fosfato. Qual è il suo effetto sulla velocità di idrolisi dell'ATP ad ADP e ione fosfato?
- Problema** La presenza di un catalizzatore può aumentare la quantità di prodotto ottenuto in una reazione?

6.3 Equazioni di cinetica enzimatica

- Domanda di verifica** Per la reazione ipotetica



la velocità, determinata sperimentalmente, è

$$\text{Velocità} = k[A]^1[B]^1$$

Qual è l'ordine della reazione rispetto ad A? E rispetto a B? Qual è l'ordine totale della reazione? Suggeste quante moleco-

le di A e B possono essere coinvolte nel meccanismo dettagliato della reazione.

14. **Problema** L'enzima lattato deidrogenasi catalizza la reazione
 Piruvato + NADH + H⁺ → Lattato + NAD⁺

Il NADH assorbe la luce a 340 nm nella regione del vicino UV dello spettro elettromagnetico, il NAD⁺ non possiede questa proprietà. Suggeste un metodo sperimentale per seguire la velocità di questa reazione, supponendo di avere uno spettrofotometro capace di misurare la luce a questa lunghezza d'onda.

15. **Problema** Si potrebbe utilizzare un pHmetro per valutare l'andamento della reazione descritta nel Problema 14? Perché è possibile o perché non è possibile?

16. **Problema** Indicate un motivo per cui è necessario far avvenire le reazioni enzimatiche in una soluzione tampone.

6.4 Legame enzima-substrato

17. **Domanda di verifica** Elencate le differenze che esistono tra i modelli chiave-serratura e dell'adattamento indotto per il legame di un substrato ad un enzima.

18. **Domanda di verifica** Utilizzando un diagramma dell'energia, mostrate perché il modello chiave-serratura porterebbe a un meccanismo enzimatico inefficiente. *Suggerimento:* ricordate che, perché un enzima sia un catalizzatore efficiente, deve essere minima la distanza dallo stato di transizione.

19. **Problema** Se le altre condizioni non cambiano, qual è un potenziale svantaggio di un enzima nell'avere un'affinità molto elevata per il suo substrato?

20. **Problema** Amminoacidi che sono molto lontani tra loro nella sequenza amminoacidica di un enzima possono essere essenziali per la sua attività catalitica. Questa considerazione che cosa suggerisce riguardo il sito attivo dell'enzima?

21. **Problema** Se solo pochi degli amminoacidi di un enzima sono coinvolti nella sua attività catalitica, perché l'enzima è formato da un numero così elevato di amminoacidi?

22. **Problema** Un chimico sintetizza un nuovo composto che può essere strutturalmente analogo allo stato di transizione di una reazione enzimatica. Dati sperimentali dimostrano che questo composto inibisce fortemente la reazione enzimatica. È verosimile che questo composto sia davvero un analogo dello stato di transizione?

6.5 Esempi di reazioni catalizzate da enzimi

23. **Domanda di verifica** Mostrate graficamente come la velocità di una reazione dipende dalla concentrazione del substrato nel caso di un enzima che segue la cinetica di Michaelis-Menten e nel caso di un enzima allosterico.

24. **Domanda di verifica** Tutti gli enzimi seguono la cinetica di Michaelis-Menten? Per quali enzimi non è valida l'equazione di Michaelis-Menten?

25. **Domanda di verifica** Come è possibile riconoscere un enzima che non segue la cinetica di Michaelis-Menten?

6.6 L'approccio di Michaelis-Menten alla cinetica enzimatica

26. **Domanda di verifica** Mostrate graficamente come la velocità di una reazione dipende dalla concentrazione dell'enzima. Una reazione può essere saturata con l'enzima?

27. **Domanda di verifica** Definite lo stato stazionario ed esprimete la vostra opinione circa l'importanza di questo concetto nelle teorie della reattività enzimatica.

28. **Domanda di verifica** Qual è la relazione tra il numero di turnover di un enzima e la V_{max}?

29. **Esercizio** Per un enzima che segue la cinetica di Michaelis-Menten, qual è la velocità della reazione, V (come percentuale di V_{max}), osservata ai seguenti valori?

- (a) [S] = K_M
 (b) [S] = 0,5K_M

(c) [S] = 0,1K_M

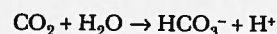
(d) [S] = 2K_M

(e) [S] = 10K_M

30. **Esercizio** Determinate i valori di K_M e V_{max} per la decarbossilazione di un β-chetoacido in base ai seguenti dati.

Concentrazione del substrato (mol L ⁻¹)	Velocità (mM min ⁻¹)
2,500	0,588
1,000	0,500
0,714	0,417
0,526	0,370
0,250	0,256

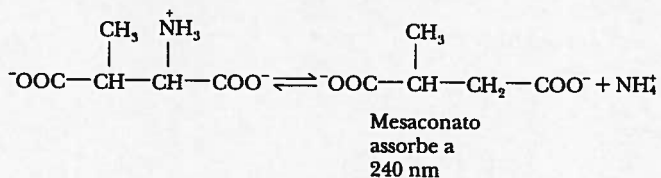
31. **Esercizio** I dati cinetici riportati nella seguente tabella sono stati ottenuti per la reazione catalizzata dall'anidrasi carbonica tra biossido di carbonio ed acqua per produrre bicarbonato e ione idrogeno



(H. De Voe e G.B. Kistiakowsky, *J. Am. Chem. Soc.* 83, 274, 1961). In base a questi dati, determinare K_M e V_{max} per la reazione.

Concentrazione di biossido di carbonio (mmol L ⁻¹)	1/Velocità (M ⁻¹ sec)
1,25	36 × 10 ³
2,50	20 × 10 ³
5,00	12 × 10 ³
20,00	6 × 10 ³

32. **Esercizio** L'enzima β-metilasparsi catalizza la deamminazione del β-metilasparsato



- (V. Williams e J. Selbin, *J. Biol. Chem.* 239, 1636, 1964). La velocità della reazione è stata determinata seguendo l'assorbanza del prodotto a 240 nm (A₂₄₀). Dai dati seguenti, calcolate il valore di K_M per la reazione. In che cosa il metodo di calcolo differisce da quello degli Esercizi 30 e 31?

Concentrazione del substrato (mmol L ⁻¹)	Velocità (ΔA ₂₄₀ min ⁻¹)
0,002	0,045
0,005	0,115
0,020	0,285
0,040	0,380
0,060	0,460
0,080	0,475
0,100	0,505

33. **Esercizio** L'idrolisi di un peptide contenente fenilalanina è catalizzata dalla α-chimotripsina con i seguenti risultati. Calcolate K_M e V_{max} della reazione.

Concentrazione del peptide (M)	Velocità (M min ⁻¹)
2,5 × 10 ⁻⁴	2,2 × 10 ⁻⁶
5,0 × 10 ⁻⁴	5,8 × 10 ⁻⁶
10,0 × 10 ⁻⁴	5,9 × 10 ⁻⁶
15,0 × 10 ⁻⁴	7,1 × 10 ⁻⁶

34. **Esercizio** In base al valore di V_{max} ottenuto nell'Esercizio 30, calcolate il numero di turnover (costante di velocità catalitica) assumendo che si utilizzano 1×10^{-4} moli di enzima.
35. **Esercizio** Supponete di eseguire un esperimento di cinetica enzimatica e di calcolare una V_{max} di 100 μmol di prodotto per minuto. Se ogni saggio utilizzava 0,1 mL di una soluzione di enzima che aveva una concentrazione di 0,2 mg/mL, quale sarebbe il numero di turnover se l'enzima avesse un peso molecolare di 128000 g/mol?
36. **Problema** L'enzima D-amminoacido ossidasi ha un numero di turnover veramente molto alto perché i D-amminoacidi sono potenzialmente tossici. La K_M per l'enzima è compresa tra 1 e 2 mM per gli amminoacidi aromatici e tra 15 e 20 mM per amminoacidi come serina, alanina e gli amminoacidi acidi. Quali di questi amminoacidi sono i substrati preferiti dell'enzima?
37. **Problema** Perché è utile riportare in grafico i dati delle reazioni enzimatiche sotto forma di una retta piuttosto che di una curva?
38. **Problema** In quali condizioni possiamo assumere che K_M indichi l'affinità di legame tra il substrato e l'enzima?

6.7 Inibizione enzimatica

39. **Domanda di verifica** Come si può distinguere tra inibizione competitiva e non competitiva in termini di K_M ?
40. **Domanda di verifica** Perché un inibitore competitivo non cambia la V_{max} ?
41. **Domanda di verifica** Perché un inibitore non competitivo non cambia la K_M apparente?
42. **Domanda di verifica** Distinguate i meccanismi molecolari dell'inibizione competitiva e non competitiva.
43. **Domanda di verifica** L'inibizione enzimatica è reversibile in tutti i casi?
44. **Domanda di verifica** Perché il grafico di Lineweaver-Burk è utile per analizzare i dati cinetici di reazioni enzimatiche?
45. **Domanda di verifica** Dove si intersecano le rette in un grafico di Lineweaver-Burk nel caso di una inibizione competitiva? E nel caso di una inibizione non competitiva?
46. **Esercizio** Disegnate i grafici di Lineweaver-Burk per il comportamento di un enzima per il quale sono disponibili i seguenti dati sperimentali.

[S] (mM)	V , in assenza di inibitore (mmol min^{-1})	V , in presenza di inibitore (mmol min^{-1})
3,0	4,58	3,66
5,0	6,40	5,12
7,0	7,72	6,18
9,0	8,72	6,98
11,0	9,50	7,60

- Quali sono i valori di K_M e V_{max} per la reazione inibita e per quella non inibita? L'inibitore è competitivo o non competitivo?
47. **Esercizio** Per la seguente reazione dell'aspartasi (vedi Domanda di verifica 32) in presenza dell'inibitore idrossimetilaspártato, determinate la K_M e indicate se l'inibizione è competitiva o non competitiva.

[S] (molarità)	V , in assenza di inibitore (unità arbitrarie)	V , in presenza di inibitore (le stesse unità arbitrarie)
1×10^{-4}	0,026	0,010
5×10^{-4}	0,092	0,040
$1,5 \times 10^{-3}$	0,136	0,086
$2,5 \times 10^{-3}$	0,150	0,120
5×10^{-3}	0,165	0,142

48. **Problema** È un bene (o un male) che gli enzimi possano essere inibiti reversibilmente? Perché?
49. **Problema** L'inibizione non competitiva è un caso limite in cui il legame dell'inibitore non influenza l'affinità dell'enzima per il substrato e viceversa. Suggeste come apparirebbe un grafico di Lineweaver-Burk per un inibitore che avesse uno schema di reazione simile a quello di pag. 162 (reazione di inibizione non competitiva), ma in cui il legame dell'inibitore abbassasse l'affinità di EI per il substrato.
50. **Connessioni biochimiche** Siete stati ingaggiati da una compagnia farmaceutica per lavorare allo sviluppo di farmaci per il trattamento dell'AIDS. Quali informazioni di questo capitolo vi saranno utili?
51. **Problema** Vi aspettate che l'inibitore irreversibile di un enzima si leghi con interazioni covalenti o non covalenti? Perché?
52. **Problema** Vi aspettereste che la struttura di un inibitore non competitivo di un dato enzima sia simile a quella del suo substrato?

Bibliografia

- Althaus, I., J. Chou, A. Gonzales, M. Deibel, K. Chou, F. Kezdy, D. Romero, J. Palmer, R. Thomas, P. Aristoff, W. Tarpley, e F. Reuser. Kinetic Studies with the Non-nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor U-88204E. *Biochemistry* 32, 6548-6554 (1993). [Quale ruolo può avere nella ricerca sull'AIDS la cinetica enzimatica].
- Bachmair, A., D. Finley, e A. Varshavsky. *In Vivo* Half-Life of a Protein Is a Function of Its Amino Terminal Residue. *Science* 234, 179-186 (1986). [Un esempio particolarmente impressionante della relazione tra la struttura e la stabilità delle proteine].
- Bender, M.L., R.L. Bergeron, e M. Komiyama. *The Bioorganic Chemistry of Enzymatic Catalysis*. New York: Wiley, 1984. [Una discussione sul meccanismo delle reazioni enzimatiche].
- Cohen J. Novel attacks on HIV Move Closer to Reality. *Science* 311, 943 (2006). [Un breve riassunto dei recenti progressi nella lotta contro l'AIDS].
- Danishefsky, S. Catalytic Antibodies and Disfavored Reactions. *Science* 259, 469-470 (1993). [Un breve review sull'impiego di anticorpi come base di catalizzatori "fatti su misura" per reazioni specifiche].
- Dressler, D. e H. Potter. *Discovering Enzymes*. New York: Scientific American Press, 1991. [Un testo ben illustrato che introduce importanti concetti relativi alla struttura e alla funzione degli enzimi].
- Dugas, H., e C. Penney. *Bioorganic Chemistry: A Chemical Approach to Enzyme Action*. New York: Springer-Verlag, 1981. [Discute sistemi modello e anche gli enzimi].
- Fersht, A. *Enzyme Structure and Mechanism*, 2nd ed. New York: W.H. Freeman, 1985. [Una trattazione approfondita dell'attività enzimatica].
- Hammes, G. *Enzyme Catalysis and Regulation*. New York: Academic Press, 1982. [Un buon testo di base sui meccanismi enzimatici].
- Kraut, J. How Do Enzymes Work? *Science* 242, 533-540 (1988). [Discussione avanzata sul ruolo dello stato di transizione nella catalisi enzimatica].
- Lerner, R., S. Benkovic, e P. Schultz. At the Crossroads of Chemistry and Immunology: Catalytic Antibodies. *Science* 252, 659-667 (1991). [Articolo che mostra come gli anticorpi possano legarsi a quasi tutte le molecole di interesse e quindi catalizzare delle reazioni di tali molecole].

Come si possono identificare i residui amminoacidici essenziali? Esistono diverse questioni ancora aperte circa gli eventi che avvengono a livello del sito attivo di un enzima nel corso di una reazione. Alcune delle più importanti di queste questioni riguardano la natura dei residui amminoacidici che svolgono un ruolo cruciale, la loro disposizione spaziale e il meccanismo della reazione. L'uso di reagenti marcati e della cristallografia ai raggi X ci ha permesso di determinare quali sono gli amminoacidi che sono localizzati nel sito attivo e sono essenziali per il meccanismo catalitico.

In che modo la geometria del sito attivo influenza la catalisi? La chimotripsina è un buon esempio di enzima del quale è noto il meccanismo d'azione. Sono stati determinati i residui amminoacidici fondamentali per la catalisi, la serina 195 e l'istidina 57. La struttura tridimensionale completa della chimotripsina, compresa l'architettura del sito attivo, è stata determinata mediante cristallografia ai raggi X.

In che modo gli amminoacidi cruciali intervengono nella catalisi operata dalla chimotripsina?

L'attacco nucleofilo da parte della serina è la caratteristica principale del meccanismo di reazione, che prevede la formazione di un legame idrogeno tra l'istidina e la serina. La reazione avviene in due stadi. Nel primo stadio, la serina è un nucleofilo e si forma un intermedio acil-enzima. Nel secondo stadio, l'acqua agisce come un nucleofilo e l'intermedio acil-enzima viene idrolizzato.

Quali sono i tipi di reazione più comuni? È noto che meccanismi comuni delle reazioni di chimica organica, come la sostituzione nucleofila e la catalisi generale acido-base, sono utilizzati anche per la catalisi enzimatica.

Come si può determinare la natura dello stato di transizione? Per spiegare la natura della catalisi ci si è valse dell'uso di analoghi dello stato di transizione, cioè di molecole che mimano lo stato di transizione. Questi composti di solito si legano all'enzima meglio del substrato naturale e aiutano a verificarne il meccanismo d'azione. Possono anche essere utilizzati per progettare la sintesi di potenti inibitori o per creare anticorpi con attività catalitica chiamati abzymi.

Esercizi di ricapitolazione

7.1 Il comportamento degli enzimi allosterici

- Domanda di verifica** Quali aspetti distinguono gli enzimi soggetti al controllo allosterico da quelli che seguono l'equazione di Michaelis-Menten?
- Domanda di verifica** Qual è il ruolo metabolico dell'aspartato transcarbamilasi?
- Domanda di verifica** Quali molecole si comportano come effettori positivi (attivatori) dell'ATCasi? Quale molecola agisce da inibitore?
- Domanda di verifica** Il termine K_M si usa con gli enzimi allosterici? Come è correlato all'inibizione competitiva e non competitiva? Spiegate.
- Domanda di verifica** Che cos'è un sistema K?
- Domanda di verifica** Che cos'è un sistema V?
- Domanda di verifica** Che cos'è un effetto omotropico? Che cos'è un effetto eterotropico?
- Domanda di verifica** Qual è la struttura della ATCasi?
- Domanda di verifica** Come si esprime il comportamento cooperativo degli enzimi allosterici in un grafico in cui viene riportata la velocità di reazione in funzione della concentrazione del substrato?
- Domanda di verifica** Il comportamento degli enzimi allosterici diventa più o meno cooperativo in presenza di inibitori?
- Domanda di verifica** Il comportamento degli enzimi allosterici diventa più o meno cooperativo in presenza di attivatori?
- Domanda di verifica** Spiegate che cosa significa $K_{0,5}$.
- Problema** Spiegate l'esperimento usato per determinare la struttura dell'ATCasi. Che cosa succede all'attività enzimatica e alle attività regolatrici quando le subunità sono separate?

7.2 Il modello concertato e il modello sequenziale per gli enzimi allosterici

- Domanda di verifica** Quali sono le differenze tra il modello concertato e quello sequenziale utilizzati per spiegare il comportamento degli enzimi allosterici?
- Domanda di verifica** Quale modello allosterico può spiegare la cooperatività negativa?
- Domanda di verifica** Quali condizioni favoriscono una maggiore cooperatività secondo il modello concertato?

- Domanda di verifica** Che cosa indica il termine L nel modello concertato? Che cosa indica il termine α ?
- Problema** È possibile immaginare dei modelli per il comportamento degli enzimi allosterici diversi da quelli che abbiamo visto in questo capitolo?

7.3 Controllo dell'attività enzimatica mediante fosforilazione

- Domanda di verifica** Qual è la funzione di una proteina chinasi?
- Domanda di verifica** Quali amminoacidi sono spesso fosforilati dalle chinasi?
- Problema** Quali vantaggi può avere la cellula associando il processo di fosforilazione al controllo allosterico?
- Problema** Spiegate in che modo la fosforilazione è coinvolta nella funzione dell'ATPasi sodio-potassio.
- Problema** Spiegate in che modo la glicogeno fosforilasi è controllata allostericamente e da modificazioni covalenti.

7.4 Zimogeni

- Domanda di verifica** Indicate tre proteine soggette ad un meccanismo di controllo che coinvolge l'attivazione di uno zimogeno.
- Connessioni biochimiche** Elencate tre proteasi e i loro substrati.
- Domanda di verifica** In che modo la coagulazione del sangue è correlata agli zimogeni?
- Problema** Spiegate perché la scissione del legame tra l'arginina 15 e l'isoleucina 16 del chimotripsinogeno attiva lo zimogeno.
- Problema** Perché è necessario o vantaggioso per l'organismo sintetizzare gli zimogeni?
- Problema** Perché è necessario o vantaggioso per l'organismo sintetizzare precursori inattivi di ormoni?

7.5 Natura del sito attivo

- Domanda di verifica** Quali sono i due amminoacidi essenziali presenti nel sito attivo della chimotripsina?
- Domanda di verifica** Perché la reazione catalizzata dalla chimotripsina procede in due fasi?
- Problema** Descrivete brevemente il ruolo della catalisi nucleofila nel meccanismo di reazione della chimotripsina.
- Problema** Spiegate la funzione dell'istidina 57 nel meccanismo della chimotripsina.

34. **Problema** Spiegate perché la seconda fase del meccanismo della chimotripsina è più lenta della prima.
35. **Problema** Spiegate perché il pK_a dell'istidina 57 è importante per il suo ruolo nel meccanismo di azione della chimotripsina.
36. **Problema** Un inibitore che marca specificamente la chimotripsina a livello dell'istidina 57 è l'*N*-tosilamido-L-feniletile clorometil chetone. Come modifichereste la struttura di quest'inibitore per marcare il sito attivo della tripsina?

7.6 Reazioni chimiche coinvolte nel meccanismo d'azione degli enzimi

37. **Problema** Quali proprietà degli ioni metallici ne fanno degli utili cofattori?
38. **Connessioni biochimiche** La seguente osservazione è vera o falsa? Perché? "I meccanismi della catalisi enzimatica non hanno niente in comune con quelli incontrati in chimica organica."
39. **Problema** Che cosa si intende per catalisi acida generale relativamente ai meccanismi enzimatici?
40. **Problema** Spiegate la differenza tra un meccanismo S_N1 e S_N2 .
41. **Problema** Quale dei due meccanismi di reazione citati nel Problema 40 può causare la perdita della stereospecificità? Perché?
42. **Problema** Viene eseguito un esperimento per valutare la validità di un meccanismo ipotizzato per una reazione enzimatica. I risultati sono in accordo con il modello in modo esatto (nei limiti dell'errore sperimentale). Ciò prova che il meccanismo è corretto? Perché sì o perché no?

7.7 Il sito attivo e gli stati di transizione

43. **Problema** Quali caratteristiche dovrebbe possedere un analogo dello stato di transizione della reazione catalizzata dalla chimotripsina?
44. **Problema** Quale relazione intercorre tra un analogo dello stato di transizione e il modello dell'adattamento indotto della cinetica enzimatica?
45. **Problema** Spiegate come un ricercatore può produrre un abzim. Qual è la funzione di un abzim?
46. **Connessioni biochimiche** Perché la dipendenza dalla cocaina non può essere trattata con un farmaco che blocca il recettore della cocaina?
47. **Connessioni biochimiche** Spiegate in che modo gli abzimi possono essere utilizzati nel trattamento della dipendenza da cocaina.

7.8 Coenzimi

48. **Domanda di verifica** Elencate tre coenzimi e le loro funzioni.
49. **Domanda di verifica** Quale relazione intercorre tra i coenzimi e le vitamine?
50. **Domanda di verifica** Quale tipo di reazione utilizza la vitamina B_6 ?
51. **Problema** Suggeste un ruolo per i coenzimi basato su meccanismi di reazione.
52. **Problema** Un enzima utilizza NAD^+ come coenzima. Utilizzando la Figura 7.19, predite se uno ione H^- marcato radioattivamente tenderà a trovarsi preferenzialmente su un lato dell'anello della nicotinammide piuttosto che sull'altro lato.

Bibliografia

- Collins, T. J., and C. Walter. Little Green Molecules *Sci Amer.* **294** (3): 82-90 (2006). [Un articolo che descrive le caratteristiche di molecole prodotte con proprietà simili a quelle degli enzimi e che sono in grado di eliminare l'inquinamento].
- Danishefsky, S. Catalytic Antibodies and Disfavored Reactions. *Science* **259**, 469-470 (1993). [Una breve rassegna sull'utilizzo da parte dei chimici degli anticorpi come base di catalizzatori "confezionati" per reazioni specifiche].
- Dressler, D., and H. Potter. *Discovering Enzymes*. New York: Scientific American Press, 1991. [Un libro ben illustrato che introduce importanti concetti sulla struttura e sulla funzione degli enzimi].
- Koshland, D., G. Nemethy, and D. Filmer. Comparison of Experimental Binding Data and Theoretical Models in Proteins Containing Subunits. *Biochem.* **5**, 365-385 (1966).
- Kraut, J. How Do Enzymes Work? *Science* **242**, 533-540 (1988). [Una discussione avanzata sul ruolo degli stati di transizione nella catalisi enzimatica].
- Landry, D.W. Immunotherapy for Cocaine Addiction. *Sci. Amer.* **276**, 42-45 (1997). [Una descrizione dell'utilizzazione degli anticorpi nel trattamento dell'assuefazione alla cocaina].
- Landry, D.W., K. Zhao, G.X.Q. Yang, M. Glickman, and T.M. Georgiadis. Antibody Catalyzed Degradation of Cocaine. *Science* **259**, 1899-1901 (1993). [Una descrizione di come gli anticorpi possono degradare una droga che dà assuefazione].
- Lerner, R., S. Benkovic, and P. Schultz. At the Crossroads of Chemistry and Immunology: Catalytic Antibodies. *Science* **252**, 659-667 (1991). [Una rassegna sul modo in cui gli anticorpi possono legarsi a quasi tutte le molecole di interesse e quindi catalizzare alcune reazioni di quella molecola].
- Marcus, R. Skiing the Reaction Rate Slopes. *Science* **256**, 1523-1524 (1992). [Un breve sguardo di livello avanzato sugli stati di transizione delle reazioni].
- Monod, J., J. Wyman, and J.-P. Changeux. On the Nature of Allosteric Transitions: A Plausible Model. *J.Mol.Biol.* **12**, 88-118 (1965).
- Sigman, D. ed. *The Enzymes*. Vol. 20, *Mechanisms of Catalysis*. San Diego: Academic Press, 1992. [Parte di una collana di libri sugli enzimi e sulla loro struttura e funzione].
- Sigman, D., and P. Boyer, eds. *The Enzymes*. Vol. 19, *Mechanism of Catalysis*. San Diego: Academic Press, 1990. [Parte di una collana di libri sugli enzimi e sulla loro struttura e funzione].

Riassunto

Cosa sono i lipidi? I lipidi sono composti insolubili in acqua e solubili in solventi organici non polari. Un gruppo di lipidi è costituito da composti a catena aperta, con un gruppo di testa polare ed una lunga coda non polare; questo gruppo comprende gli acidi grassi, i triacilgliceroli, i fosfoacilgliceroli, gli sfingolipidi e i glicolipidi. Un secondo gruppo importante consiste nei composti ad anelli fusi, gli steroidi.

Acidi grassi Gli acidi grassi sono acidi carbossilici che presentano o meno doppi legami nella loro porzione idrocarburica.

Triacilgliceroli I triacilgliceroli sono la forma di deposito degli acidi grassi, in cui la parte acida è esterificata a glicerolo.

Fosfoacilgliceroli I fosfoacilgliceroli differiscono dai triacilgliceroli poiché presentano una porzione contenente fosforo, esterificata a glicerolo. Questi composti sono importanti componenti delle membrane biologiche.

Cere e sfingolipidi Le cere sono esteri di acidi grassi e alcoli a catena lunga. Gli sfingolipidi non contengono glicerolo, ma come parte integrante della loro struttura presentano un alcool a catena lunga detto sfingosina.

Glicolipidi Nei glicolipidi un carboidrato è legato covalentemente ad un lipide.

Steroidi Gli steroidi hanno una struttura caratteristica ad anelli fusi. Tutti gli altri lipidi sono composti a catena aperta.

La struttura del doppio strato lipidico Una membrana biologica consiste di una parte lipidica e di una parte proteica. La parte lipidica è un doppio strato, orientato con i gruppi delle teste polari a contatto con il mezzo acquoso all'interno ed all'esterno della cellula, e le parti non polari del lipide all'interno della membrana.

In che modo la composizione del doppio strato lipidico influisce sulle sue proprietà? La presenza di acidi grassi insaturi tra i componenti della membrana conferisce ad essa una maggiore fluidità. Frequentemente, avviene un movimento laterale delle molecole di lipidi all'interno di uno strato di una membrana.

In che modo le proteine sono associate al doppio strato lipidico delle membrane? Le proteine che fanno parte delle membrane possono essere proteine periferiche, se si trovano sulla superficie della membrana, o integrali, se giacciono all'interno del doppio strato lipidico. Vari motivi strutturali, ad esempio fasci di 7 α -eliche, sono caratteristici delle proteine che attraversano le membrane.

Come interagiscono le proteine e il doppio strato lipidico nella membrana? Il modello a mosaico

fluidico descrive l'interazione di lipidi e proteine nelle membrane biologiche. Le proteine "fluttuano" nel doppio strato lipidico.

Come avviene il trasporto attraverso le membrane? Tre sono le funzioni importanti che avvengono nelle o sulle membrane. La prima, il trasporto attraverso la membrana, può interessare sia il doppio strato lipidico sia le proteine di membrana. (La seconda, la catalisi, è attuata da enzimi legati alla membrana.) Il trasporto delle sostanze attraverso le membrane biologiche richiede un consumo di energia da parte della cellula? Nel trasporto passivo, una sostanza si muove da una zona a maggiore concentrazione verso una a minore concentrazione, senza alcun dispendio energetico da parte della cellula. Il trasporto attivo implica il movimento delle sostanze contro un gradiente di concentrazione, una situazione analoga al pompaggio dell'acqua verso la sommità di una collina. Per il trasporto attivo è necessaria energia, oltre ad una proteina di trasporto. La pompa ionica sodio-potassio è un esempio di trasporto attivo.

Come funzionano i recettori di membrana? I recettori proteici sulla membrana legano sostanze biologicamente importanti che scatenano nella cellula una risposta biochimica. Il primo passo affinché alcune sostanze biologicamente attive esplicino la loro funzione è il legame al sito di un recettore proteico sull'esterno della cellula. L'interazione tra il recettore e le sostanze attive alle quali si lega è molto simile al riconoscimento enzima-substrato. L'azione di un recettore dipende frequentemente da un cambiamento di conformazione della proteina. I recettori possono essere proteine canale con un sito ove il legame del ligando apre transientemente un canale proteico attraverso cui sostanze come gli ioni possono fluire in direzione di un gradiente di concentrazione.

Qual è il ruolo fisiologico delle vitamine liposolubili? Le vitamine liposolubili sono idrofobiche, il che spiega le loro proprietà di solubilità. Un derivato della vitamina A ha un ruolo cruciale nella visione. La vitamina D controlla il metabolismo del calcio e del fosforo, influenzando l'integrità strutturale delle ossa. Si conoscono le proprietà antiossidanti della vitamina E; le altre sue funzioni metaboliche non sono stabilite con certezza. La presenza della vitamina K è necessaria per il processo di coagulazione del sangue.

Cosa hanno a che fare le prostaglandine e i leucotrieni con i lipidi? L'acido arachidonico, un acido grasso insaturo, è il precursore di prostaglandine e leucotrieni, composti che hanno svariate attività fisiologiche. La stimolazione della contrazione della muscolatura liscia e l'induzione dell'infiammazione sono comuni alle due classi di composti. Le prostaglandine sono coinvolte anche nel controllo della pressione sanguigna e nell'inibizione dell'aggregazione delle piastrine nel sangue.

Esercizi di ricapitolazione

8.1 La definizione di lipide

1. **Domanda di verifica** Le proteine, gli acidi nucleici e i carboidrati sono raggruppati in virtù delle caratteristiche strutturali comuni alle sostanze di ciascun gruppo. In base a quali proprietà una sostanza viene catalogata nel gruppo dei lipidi?

8.2 La natura chimica dei vari tipi di lipidi

2. **Domanda di verifica** Quali caratteristiche strutturali hanno in comune un triacilglicerolo ed una fosfatidiletanolamina? In che cosa differiscono le strutture di questi due tipi di lipidi?

3. **Domanda di verifica** Disegnate la struttura di un fosfoacilglicerolo contenente glicerolo, acido oleico, acido stearico e colina.

4. **Domanda di verifica** Quali caratteristiche strutturali hanno in comune una sfingomielina ed una fosfatidilcolina? In che cosa differiscono le strutture di questi due tipi di lipidi?

5. **Domanda di verifica** Avete appena isolato un lipide puro che contiene soltanto sfingosina ed un acido grasso. A quale classe di lipidi appartiene?

6. **Domanda di verifica** Quali caratteristiche strutturali ha in comune uno sfingolipide con le proteine? Ci sono similarità funzionali?

7. **Domanda di verifica** Scrivete la formula di struttura di un triacilglicerolo ed indicate il nome delle parti che lo costituiscono.

8. **Domanda di verifica** In che cosa la struttura degli steroidi differisce da quella degli altri lipidi discussi in questo capitolo?
9. **Domanda di verifica** Quali sono le caratteristiche strutturali delle cere? Quali sono alcuni usi comuni di questo tipo di composti?
10. **Problema** Qual è più idrofilo, il colesterolo o i fosfolipidi? Giustificate la vostra risposta.
11. **Problema** Scrivete un'equazione, con la formula strutturale, per la saponificazione del triacilglicerolo della Domanda 7.
12. **Problema** Le piante delle regioni aride hanno in genere rivestimenti superficiali di cera. Suggeste perché questo rivestimento è importante per la sopravvivenza delle piante.
13. **Problema** Nel reparto di produzione dei supermercati, i vegetali e la frutta (per esempio i cetrioli) sono rivestiti con la cera per le spedizioni e la conservazione. Suggeste il motivo di questa procedura.
14. **Problema** Il tuorlo d'uovo contiene una quantità elevata di colesterolo, ma anche una quantità elevata di lecitina. Da un punto di vista alimentare e sanitario, come si complementano queste molecole?
15. **Problema** Nella preparazione di salse in cui sono mescolati acqua e burro fuso, si aggiunge il tuorlo d'uovo per prevenire la separazione di fase. Perché il tuorlo d'uovo previene la separazione? *Suggerimento:* il tuorlo d'uovo è ricco di fosfatidilcolina (lecitina).
16. **Problema** Quando gli uccelli acquatici hanno le penne sporche di greggio a seguito di una perdita di petrolio, essi vengono ripuliti dai soccorritori per rimuovere la sostanza dalle loro penne. Perché dopo la pulizia non sono liberati immediatamente?

8.3 Le membrane biologiche

17. **Domanda di verifica** Quali dei seguenti lipidi *non* si trovano nelle membrane animali?
 - (a) Fosfogliceridi
 - (b) Colesterolo
 - (c) Triacilgliceroli
 - (d) Glicolipidi
 - (e) Sfingolipidi
18. **Domanda di verifica** Quale(i) delle seguenti affermazioni è (sono) compatibile(i) con ciò che si conosce sulle membrane?
 - (a) Una membrana consiste di uno strato di proteine disposte "a sandwich" tra due strati di lipidi.
 - (b) La composizione dello strato lipidico interno e di quello esterno è la stessa in ogni membrana.
 - (c) Le membrane contengono glicolipidi e glicoproteine.
 - (d) Il doppio strato lipidico è una componente importante delle membrane.
 - (e) Si formano legami covalenti tra lipidi e proteine nella maggior parte delle membrane.
19. **Problema** Perché alcune industrie alimentari dovrebbero trovare economicamente vantaggioso reclamizzare i loro prodotti (per esempio i triacilgliceroli) sottolineandone la composizione in acidi grassi poliinsaturi con doppi legami *trans*?
20. **Problema** Suggeste un motivo per il quale gli oli vegetali parzialmente idrogenati sono ampiamente usati negli alimenti confezionati.
21. **Connessioni biochimiche** Il crisco è costituito da oli vegetali, che sono in genere liquidi. Perché il crisco è solido? *Suggerimento:* leggete l'etichetta.
22. **Connessioni biochimiche** Perché l'American Heart Association ha raccomandato l'uso dell'olio di canola o dell'olio di oliva piuttosto che dell'olio di cocco per cucinare?
23. **Problema** Nei doppi strati lipidici si verifica una transizione ordine-disordine simile alla fusione di un cristallo. In un doppio

strato lipidico in cui la maggior parte degli acidi grassi sono insaturi, vi aspettereste che questa transizione si verifici a una temperatura più bassa, a una temperatura più alta, o alla stessa temperatura rispetto a un doppio strato lipidico in cui gli acidi grassi sono per la maggior parte saturi? Perché?

24. **Connessioni biochimiche** Discutete brevemente la struttura della mielina ed il suo ruolo nel sistema nervoso.
25. **Problema** Suggeste una ragione per la quale le membrane cellulari dei batteri fatti crescere a 20°C tendono ad avere proporzioni più elevate di acidi grassi insaturi rispetto alle membrane dei batteri della stessa specie fatti crescere a 37°C. In altre parole, i batteri fatti crescere a 37°C hanno una proporzione più elevata di acidi grassi saturi nella loro membrana cellulare.
26. **Problema** Suggeste una ragione per la quale gli animali che vivono nei climi freddi tendono ad avere proporzioni più elevate di residui di acidi grassi poliinsaturi nei loro lipidi rispetto agli animali che vivono nei climi caldi.
27. **Problema** Qual è la spinta energetica per la formazione del doppio strato lipidico?

8.4 Le proteine di membrana

28. **Domanda di verifica** Date una definizione di *glicoproteina* e di *glicolipide*.
29. **Domanda di verifica** Tutte le proteine associate alle membrane attraversano la membrana da una parte all'altra?
30. **Problema** Una membrana è costituita dal 50% in peso da proteine e dal 50% in peso di fosfogliceridi. Il peso molecolare medio dei lipidi è 800 Da e il peso molecolare medio delle proteine è 50.000 Da. Calcolate il rapporto molare tra lipidi e proteine.
31. **Problema** Suggeste una ragione per la quale lo stesso sistema di proteine muove gli ioni sodio e potassio dentro e fuori la cellula.
32. **Problema** Supponete di essere impegnati nello studio di una proteina di trasporto degli ioni dentro e fuori la cellula. Vi aspettereste di trovare i residui non polari all'interno o all'esterno della molecola proteica? E i residui polari? Perché?

8.5 Il modello strutturale a mosaico fluido della membrana

33. **Problema** Quali affermazioni sono in accordo con il modello a mosaico fluido delle membrane?
 - (a) Tutte le proteine di membrana sono legate all'interno della membrana.
 - (b) Sia le proteine sia i lipidi mostrano una diffusione trasversale (flip flop) dall'interno all'esterno della membrana.
 - (c) Alcune proteine e lipidi mostrano una diffusione laterale lungo la superficie interna o esterna della membrana.
 - (d) I carboidrati sono legati covalentemente all'esterno della membrana.
 - (e) Il termine "mosaico" si riferisce alla disposizione dei soli lipidi.

8.6 Le funzioni delle membrane

34. **Problema** Suggeste una ragione per la quale gli ioni inorganici come K⁺, Na⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ non attraversano le membrane biologiche per diffusione semplice.
35. **Problema** Quali affermazioni sono in accordo con quanto noto riguardo al trasporto attraverso le membrane?
 - (a) Il trasporto attivo fa muovere le sostanze da una regione in cui la concentrazione è più bassa ad una in cui la concentrazione è più elevata.
 - (b) Il trasporto non coinvolge pori o canali delle membrane.
 - (c) Le proteine di trasporto possono portare le sostanze nella cellula.

8.7 Le vitamine liposolubili e le loro funzioni

36. **Domanda di verifica** Qual è la correlazione strutturale tra la vitamina D₃ e il colesterolo?
37. **Domanda di verifica** Indicate una proprietà chimica importante della vitamina E.
38. **Domanda di verifica** Che cosa sono le unità di isoprene? In che maniera tali unità si collegano con il materiale trattato in questo capitolo?
39. **Domanda di verifica** Elencate le vitamine liposolubili e definite il ruolo fisiologico di ognuna.
40. **Connessioni biochimiche** Qual è il ruolo dell'isomerizzazione *cis-trans* del retinale nella visione?
41. **Problema** Perché è possibile sostenere che la vitamina D non sia una vitamina?
42. **Problema** Spiegate perché alte dosi di vitamine liposolubili sono tossiche.
43. **Problema** Perché alcuni antagonisti della vitamina K possono agire come anticoagulanti?

44. **Problema.** Perché molti supplementi vitaminici sono commercializzati come antiossidanti? Come si correla ciò con quanto discusso in questo capitolo?
45. **Problema** Un amico che si preoccupa della propria salute vi chiede se mangiare carote fa meglio alla vista o alla prevenzione del cancro. Che cosa direste al vostro amico? Perché?

8.8 Prostaglandine e leucotrieni

46. **Connessioni biochimiche** Definite gli acidi grassi omega-3.
47. **Domanda di verifica** Quali sono le principali caratteristiche strutturali dei leucotrieni?
48. **Domanda di verifica** Quali sono le principali caratteristiche strutturali delle prostaglandine?
49. **Problema** Elencate due classi di composti derivati dall'acido arachidonico. Sugerite una ragione per cui la ricerca biomedica è molto interessata a questo settore.
50. **Connessioni biochimiche** Definite una possibile correlazione tra il materiale di questo capitolo e l'integrità delle piastrine del sangue.

Bibliografia

- Barinaga, M. Forging a Path to cell Death. *Science* **273**, 735-737 (1996). [Un articolo delle "Research News" che descrive un processo che apparentemente manca alle cellule cancerose e che dipende dall'interazione tra proteina e recettore sulla superficie cellulare].
- Bayley, H. Building Doors into Cells. *Sci. Amer.* **277** (3), 62-67 (1997). [L'ingegneria delle proteine può creare canali artificiali per i farmaci nelle membrane].
- Beckman, M. Great Balls of Fat. *Science* **311**, 1232-1234 (2006). [Un articolo sulle gocce lipidiche e la loro natura simile ad un organello].
- Bretscher, M.S. The Molecules of the Cell Membrane. *Sci. Amer.* **253** (4), 100-108 (1985). [Una descrizione particolarmente ben illustrata del ruolo di lipidi e proteine nelle membrane cellulari].
- Brown, M.S., and J.L. Goldstein. A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis. *Science* **232**, 34-47 (1986). [Una descrizione del ruolo del colesterolo sulle malattie cardiache].
- Dautry-Varsat, A., and H.F. Lodish. How Receptors Bring Proteins and Particles into Cells. *Sci. Amer.* **250** (5), 52-58 (1984). [Una descrizione dettagliata dell'endocitosi].
- Engelman, D. Crossing the Hydrophobic Barrier: Insertion of Membrane Proteins. *Science* **274**, 1850-1851 (1996). [Una breve rassegna sui processi mediante i quali le proteine transmembrana si associano al doppio strato lipidico].
- Hajjar, D., and A. Nicholson. Atherosclerosis. *Amer. Scientist* **83**, 460-467 (1995). [Le basi cellulari e molecolari dei depositi di lipidi nelle arterie].
- Karow, J. Skin so Fixed. *Sci. Amer.* **284** (3), 21 (2001). [Una discussione sui liposomi utilizzati per far arrivare gli enzimi di riparazione del DNA alle cellule cutanee].
- Keuhl, F.A., and R.W. Egan. Prostaglandins, Arachidonic Acid and Inflammation. *Science* **210**, 978-984 (1980). [Una discussione sulla chimica di questi composti e sui loro effetti fisiologici].
- Wood, R.D., M. Mitchell, J. Sgouros, and T. Lindahl. Human DNA repair genes. *Science* **291** (5507), 1284-1289 (2001).

Riassunto

Che cosa sono gli stati standard? In qualsiasi condizione, la variazione di energia libera può essere confrontata con la variazione di energia libera in condizioni standard (ΔG°), dove la concentrazione di tutti i reagenti nella soluzione è 1 M.

Cosa hanno a che vedere gli stati standard con le variazioni di energia libera? Le variazioni di energia libera nelle condizioni standard possono essere correlate alla costante di equilibrio di una reazione mediante l'equazione $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$

Perché abbiamo bisogno di uno stato standard modificato per le applicazioni biochimiche? Siccome in natura le reazioni biochimiche non avvengono alla concentrazione degli ioni idrogeno di 1 M, spesso viene usato uno stato standard biochimico ($\Delta G^\circ'$) dove $[H^+] = 1 \times 10^{-7} M$ (pH = 7,0).

Che cos'è il metabolismo? Il metabolismo è l'insieme di reazioni delle biomolecole cellulari. La demolizione delle molecole più grandi per ottenere molecole più piccole è definita catabolismo. Le reazioni delle molecole più piccole per produrre molecole più grandi e più complesse fanno parte dell'anabolismo. Il catabolismo e l'anabolismo sono vie separate, non uno l'inverso dell'altro. Il metabolismo è la base biochimica di tutti i processi vitali.

Come sono coinvolte le reazioni di ossido-riduzione nel metabolismo? Il catabolismo è un processo ossidativo che rilascia energia; l'anabolismo è un processo riduttivo che richiede energia. Nelle reazioni di ossido-riduzione (redox) gli elet-

troni sono trasferiti da un donatore a un accettore. L'ossidazione è la cessione di elettroni e la riduzione è l'acquisto di elettroni.

Quali sono le reazioni dei principali coenzimi ossidoriduttivi? In molte reazioni redox biologicamente importanti sono coinvolti coenzimi, come il NADH e il FADH₂. Questi coenzimi appaiono in molte reazioni come una delle semireazioni che possono essere scritte per una reazione redox.

Come fanno le reazioni che producono energia a far avvenire quelle che richiedono energia?

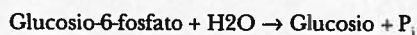
L'accoppiamento delle reazioni che producono energia con quelle che richiedono energia è un aspetto centrale del metabolismo di tutti gli organismi. Nel catabolismo, le reazioni ossidative sono accoppiate alla produzione endoergonica di ATP mediante la fosforilazione dell'ADP. Il metabolismo aerobico è un modo più efficiente di utilizzare l'energia chimica delle sostanze nutritive rispetto al metabolismo anaerobico. Nell'anabolismo, l'idrolisi esoergonica del legame ad alta energia dell'ATP libera l'energia necessaria per far avvenire le reazioni riduttive endoergoniche.

Perché il coenzima A rappresenta un buon esempio di attivazione? Il metabolismo procede a stadi e i molti stadi consentono efficiente produzione e utilizzo dell'energia. Il processo di attivazione, che produce intermedi ad alta energia, avviene in molte vie metaboliche. La formazione di legami tioesterici nella reazione degli acidi carbossilici con il coenzima A è un esempio del processo di attivazione che ha luogo in diverse vie.

Esercizi di ricapitolazione

15.1 Gli stati standard per le variazioni di energia libera

- Domanda di verifica** Esiste una relazione tra la variazione di energia libera per una reazione e la sua costante di equilibrio? Se esiste, qual è?
- Problema** Cosa vi suggeriscono le seguenti frasi sulla possibilità che una reazione possa procedere così com'è scritta?
 - La variazione di energia libera standard è positiva.
 - La variazione di energia libera è positiva.
 - La reazione è esoergonica.
- Problema** Considerate la reazione



$$K_{eq} = \frac{[\text{glucosio}][\text{P}_i]}{[\text{glucosio-6-fosfato}]}$$

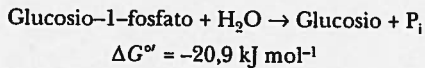
A pH 8,5 e a 38°C, il valore di K_{eq} è 122. Potete determinare la velocità di reazione da questa informazione?

15.2 Lo stato standard modificato per le applicazioni biochimiche

- Domanda di verifica** Perché è necessario definire degli stati standard modificati per le applicazioni biochimiche della termodinamica?
- Domanda di verifica** Quali delle seguenti affermazioni sullo stato standard modificato per la biochimica sono vere? Per ognuna, spiegate perché sì o perché no.
 - $[H^+] = 1 \times 10^{-7} M$, non 1 M.
 - La concentrazione di tutti i soluti è $10^{-7} M$.
- Domanda di verifica** Come potete riconoscere se l'energia libera di Gibbs data per una reazione è relativa agli stati standard della chimica o della biologia?
- Domanda di verifica** Si può usare la proprietà termodinamica ΔG° per prevedere la velocità di una reazione in un organismo vivente? Perché sì o perché no?
- Esercizio** Calcolate i ΔG° per i seguenti valori di K_{eq} : 1×10^4 , 1, 1×10^{-6} .
- Esercizio** Per l'idrolisi dell'ATP a 25°C (298 K) e pH 7, $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}^+$, l'energia libera standard di idrolisi (ΔG°) è $-30,5 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($-7,3 \text{ kcal mol}^{-1}$), e la variazione di entalpia standard (ΔG°) è $-20,1 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($-4,8 \text{ kcal mol}^{-1}$). Calcolate la variazione di entropia standard (ΔS°) per la reazione, sia in joule che in calorie. Perché ci dobbiamo aspettare per la risposta un segno positivo, vista la natura della reazione? *Suggerimento:* Riguardatevi una parte di materiale dal Capitolo 1.
- Esercizio** Considerate la reazione $A \rightleftharpoons B + C$, in cui $\Delta G^\circ = 0,00$.
 - Qual è il valore di ΔG (non ΔG°) quando le concentrazioni iniziali di A, B e C sono 1 M, $10^{-3} M$ e $10^{-6} M$?
 - Provate a eseguire gli stessi calcoli per la reazione $D + E \rightleftharpoons F$, con le concentrazioni nello stesso ordine.
 - Provate a eseguire gli stessi calcoli per la reazione $G \rightleftharpoons H$, se le concentrazioni sono 1 M e $10^{-3} M$ per G e H, rispettivamente.
- Esercizio** Confrontate le vostre risposte per le parti (a) e (b) con quella della parte (c) dell'Esercizio 10. In base alle vostre risposte alle parti (a), (b) e (c), come influiscono sulla reazione le concentrazioni dei reagenti e dei prodotti?
- Esercizio** Il valore di ΔG° per la reazione citrato \rightarrow isocitrato è $+6,64 \text{ kJ mol}^{-1} = +1,59 \text{ kcal mol}^{-1}$. Il valore di ΔG° per la rea-

zione isocitrato → α-ketoglutarato è di $-267 \text{ kJ mol}^{-1} = -63,9 \text{ kcal mol}^{-1}$. Qual è il valore di ΔG° per la conversione di citrato in α-ketoglutarato? Questa reazione è esoergonica o endoergonica? Spiegate il perché.

13. **Esercizio** Se si può scrivere una reazione $A \rightarrow B$, e il ΔG° è 20 kJ mol^{-1} , quale dovrebbe essere il rapporto substrato/prodotto affinché la reazione sia termodinamicamente favorita?
14. **Esercizio** Tutti i composti fosforilati elencati nella Tabella 15.1 subiscono reazioni di idrolisi allo stesso modo dell'ATP. La seguente equazione illustra la situazione per il glucosio 1-fosfato.



Utilizzando i valori dell'energia libera della Tabella 15.1, dite se le reazioni seguenti procederanno nella direzione scritta, e calcolate i ΔG° della reazione, assumendo che i reagenti siano inizialmente presenti in un rapporto molare di 1:1.

- (a) $\text{ATP} + \text{Creatina} \rightarrow \text{Creatina fosfato} + \text{ADP}$
 (b) $\text{ATP} + \text{Glicerolo} \rightarrow \text{Glicerolo-3-fosfato} + \text{ADP}$
 (c) $\text{ATP} + \text{Piruvato} \rightarrow \text{Fosfoenolpiruvato} + \text{ADP}$
 (d) $\text{ATP} + \text{Glucosio} \rightarrow \text{Glucosio-6-fosfato} + \text{ADP}$
15. **Problema** È possibile usare l'equazione $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$ per ricavare il valore di ΔG° dalle informazioni fornite nella domanda 3?
16. **Problema** Perché i valori di ΔG° non sono applicabili 'rigorosamente' ai sistemi biochimici?

15.3 La natura del metabolismo

17. **Domanda di verifica** Suddividete i seguenti termini in due gruppi correlati: catabolismo, che richiede energia, riduttivo, anabolismo, ossidativo, che produce energia.
18. **Connessioni biochimiche** Commentate l'affermazione che l'esistenza della vita è una violazione del secondo principio della termodinamica, aggiungendo concetti tratti in questo capitolo a quelli visti nel Capitolo 1.
19. **Problema** Vi aspettereste che la produzione di zuccheri da parte delle piante durante la fotosintesi sia un processo esoergonico o endoergonico? Date una spiegazione della risposta.
20. **Problema** Vi aspettereste che la biosintesi di una proteina in un organismo a partire dagli amminoacidi che la costituiscono sia un processo esoergonico o endoergonico? Date una spiegazione della risposta.
21. **Problema** Gli adulti sintetizzano nel corso della giornata grosse quantità di ATP, ma il loro peso corporeo non cambia in modo significativo. Nello stesso periodo di tempo, non cambiano in modo apprezzabile neanche la struttura e la composizione del loro corpo. Spiegate questa apparente contraddizione.

15.4 Il ruolo delle reazioni di ossidazione e di riduzione nel metabolismo

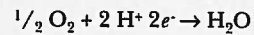
22. **Domanda di verifica** Identificate le molecole ossidate e ridotte nelle seguenti reazioni e scrivete le semireazioni.
 (a) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO} + \text{NADH} \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+$
 (b) $\text{Cu}_2^+(\text{aq}) + \text{Fe}_2^+(\text{aq}) \rightarrow \text{Cu}^+(\text{aq}) + \text{Fe}^{3+}(\text{aq})$
23. **Domanda di verifica** Per ognuna delle reazioni della Domanda 22, individuate l'agente ossidante e l'agente riducente.

15.5 I coenzimi nelle reazioni redox di importanza biologica

24. **Domanda di verifica** Quali caratteristiche strutturali hanno in comune NAD^+ , NADP^+ e FAD ?
25. **Domanda di verifica** Qual è la differenza strutturale tra NADH e NADPH ?
26. **Domanda di verifica** In che modo la differenza tra NADH e NADPH ha effetto sulle reazioni alle quali partecipano?
27. **Problema** Quali delle seguenti affermazioni sono vere? Per ognuna, spiegate il perché.
 (a) Tutti i coenzimi trasportano gli elettroni.
 (b) I coenzimi non contengono atomi di fosforo o zolfo.

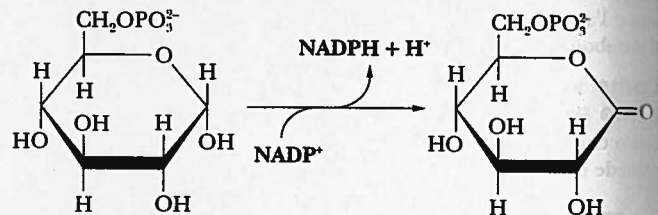
(c) La generazione di ATP è un modo per immagazzinare l'energia.

28. **Problema** Una reazione biochimica trasferisce 60 kJ mol^{-1} (15 kcal mol^{-1}) di energia. Quale processo generale è con più probabilità implicato in questo trasferimento? Quale cofattore (o cosubstrato) dovrebbe essere usato? Quale cofattore non verrebbe probabilmente usato?
29. **Problema** Le semireazioni seguenti hanno un ruolo importante nel metabolismo.



Quale delle due è una semireazione di ossidazione? Quale delle due è una semireazione di riduzione? Scrivete l'equazione per la reazione globale. Qual è l'agente ossidante (accettore di elettroni)? Qual è l'agente riducente (donatore di elettroni)?

30. **Problema** Disegnate le molecole di NAD^+ e FAD , mostrando come si spostano gli elettroni quando le due molecole sono ridotte.
31. **Problema** C'è una reazione nel metabolismo dei carboidrati in cui il glucosio-6-fosfato reagisce con il NADP^+ per dare 6-fosfoglucono-δ-lattone e NADPH :

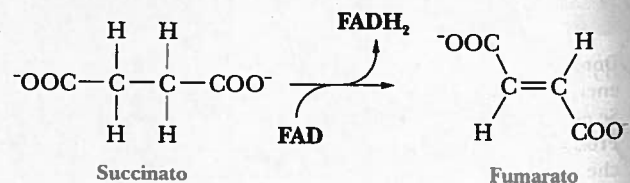


Glucosio-6-fosfato

6-Fosfoglucono-δ-lattone

In questa reazione, quale sostanza è ossidata e quale è ridotta? Quale sostanza è l'agente ossidante e quale l'agente riducente?

32. **Problema** C'è una reazione in cui il succinato reagisce con il FAD per dare fumarato e FADH_2 :



Succinato

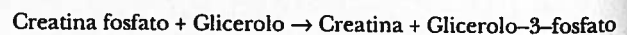
Fumarato

In questa reazione, quale sostanza è ossidata e qual è ridotta? Quale sostanza è l'agente ossidante e quale l'agente riducente?

33. **Problema** Suggeste una ragione per la quale le vie cataboliche generalmente producono NADH e FADH_2 , mentre le vie anaboliche usano in genere NADPH .

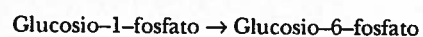
15.6 L'accoppiamento della produzione e utilizzo dell'energia

34. **Esercizio** Quali concentrazioni di substrato sarebbero necessarie per rendere favorevole la reazione dell'Esercizio 14(c)?
35. **Esercizio** Usando i dati della Tabella 15.1, calcolate il valore di ΔG° per la reazione



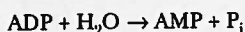
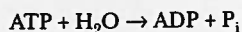
Suggerimento: Questa reazione avviene in stadi. Nel primo stadio si forma l'ATP e nel secondo stadio il gruppo fosfato è trasferito dall'ATP al glicerolo.

36. **Esercizio** Utilizzando le informazioni della Tabella 15.1, calcolate il valore di ΔG° per la seguente reazione.



37. **Esercizio** Dimostrate che l'idrolisi dell'ATP ad AMP e 2 P_i rilascia la stessa quantità di energia in ognuna delle due vie che seguono.

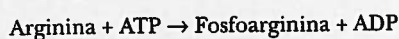
Via 1



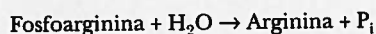
Via 2



38. **Esercizio** L'energia libera standard per la reazione



è +1,7 kJ mol⁻¹. Da questa informazione e da quelle della Tabella 15,1, calcolate il ΔG° per la reazione:

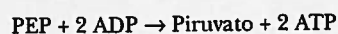


39. **Problema** In quali forme ioniche si trovano di solito l'ATP e l'ADP presenti nelle cellule? Questa informazione ha qualche influenza sulla variazione di energia libera per la conversione dell'ATP ad ADP?
40. **Problema** Commentate l'energia libera di idrolisi del fosfato dell'ATP (-30,5 kJ mol⁻¹; -7,3 kcal mol⁻¹) rispetto a quella degli altri fosfati organici (es. zuccheri fosfati, creatina fosfato).
41. **Problema** Un vostro amico ha visto degli integratori di creatina in un negozio che vende cibo sano e vi chiede il perché. Che cosa gli rispondete?

42. **Problema** Vi aspettereste un aumento o una diminuzione dell'entropia nell'idrolisi della fosfatidilcolina nelle sue parti costituenti (glicerolo, due acidi grassi, acido fosforico e colina)? Perché? Spiegate la risposta.

43. **Problema** Spiegate e mostrate perché il fosfoenolpiruvato è un composto ad alta energia.

44. **Problema** La produzione di ATP e piruvato da ADP e fosfoenolpiruvato è una reazione molto favorita. Data la variazione dell'energia libera standard per questa reazione accoppiata, perché non ha luogo la seguente reazione?



45. **Problema** Brevi periodi di esercizio, come una corsa, sono caratterizzati dalla produzione di acido lattico e dalla condizione definita debito di ossigeno. Commentate ciò, alla luce di quanto discusso in questo capitolo.

15.7 Il coenzima A nell'attivazione delle vie metaboliche

46. **Problema** Perché il processo di attivazione rappresenta una strategia utile nel metabolismo?
47. **Problema** Qual è la logica molecolare che rende una via con un certo numero di variazioni di energia relativamente piccole più vantaggiosa rispetto ad una reazione singola con una grande variazione di energia?
48. **Problema** Spiegate perché molte vie biochimiche hanno inizio con il legame del coenzima A alla molecola con cui la via ha inizio.
49. **Problema** Suggeste una ragione per la quale le vie cataboliche generalmente producono NADH e FADH₂, mentre le vie anaboliche usano in genere NADPH.
50. **Problema** Se la parte reattiva del coenzima A è il tioestere, perché la molecola è così complessa?

Bibliografia

Due riferimenti a raccolte in più volumi che trattano dettagliatamente aspetti specifici del metabolismo. Uno di questi è la terza edizione di *The enzymes* (P.D. Boyer, ed., New York: Academic Press), una serie che viene prodotta dal 1970. L'altro, *Comprehensive Biochemistry* (M. Florkin e E.H. Stotz eds., New York: Elsevier), è prodotto dal 1962.

Atkins, P. W. *The Second Law*. San Francisco: W. H. Freeman, 1984. [Una gradevole discussione non matematica sulla termodinamica].

Chang, R. *Physical Chemistry with Application to Biological Systems*, 2nd ed. New York: Macmillan, 1981. [Il Capitolo 12 contiene una trattazione dettagliata della termodinamica].

Fasman, G. D., ed. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd ed. Sec. D, *Physical and Chemical Data*. Cleveland. CRC Press, 1976.

[Il volume 1 contiene dei dati relativi all'energia libera di idrolisi di molti composti importanti, specialmente di fosfati organici].

Harold, F. M. *The Vital Force: A Study of Bioenergetics*. New York: W. H. Freeman, 1986. [Aspetti energetici di molti processi vitali importanti].

Hinkle, P. C., and R. E. McCarty. How Cells Make ATP. *Sci. Amer.* 238 (3), 104-125 (1978). [Un trattato fatto molto bene, anche se un po' datato, sull'accoppiamento dell'energia].

Prigogine, I., and I. Stengers. *Order Out of Chaos*. Toronto: Bantam Press, 1984. [Una trattazione particolarmente accessibile della termodinamica dei sistemi biologici. Prigogine ha vinto il Premio Nobel per la Chimica nel 1977 per le sue ricerche pionieristiche sulla termodinamica dei sistemi complessi].

Esercizi di ricapitolazione

17.1 Il significato generale della glicolisi

- Domanda di verifica** Quale reazione o quali reazioni che abbiamo incontrato in questo capitolo richiedono ATP? Quale reazione o quali reazioni producono ATP? Elencate gli enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono e che producono ATP.
- Domanda di verifica** Quale reazione o quali reazioni che abbiamo incontrato in questo capitolo richiedono NADH? Quale reazione o quali reazioni richiedono NAD⁺? Elencate gli enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono NADH e NAD⁺.
- Domanda di verifica** Quali sono i possibili destini metabolici del piruvato?

17.2 La trasformazione del glucosio, un composto a sei atomi di carbonio, in gliceraldeide-3-fosfato, un composto a tre atomi di carbonio

- Domanda di verifica** Spiegate l'origine del nome dell'enzima aldolasi.
- Domanda di verifica** Definite gli *isoenzimi* e date un esempio dal materiale discusso in questo capitolo.
- Domanda di verifica** Perché esistono gli isoenzimi?
- Domanda di verifica** Perché la formazione del fruttosio-1,6-bisfosfato è la tappa obbligata della glicolisi?
- Problema** Dimostrate che la reazione Glucosio → 2 Gliceraldeide-3-fosfato è leggermente endoergonica ($\Delta G^{\circ} = 2,2 \text{ kJ mol}^{-1} = 0,53 \text{ kcal mol}^{-1}$), cioè non è lontana dall'equilibrio. Utilizzate i dati della Tabella 17.1.
- Problema** Qual è il vantaggio metabolico dell'esistenza sia dell'esochinasi che della glucocinasi per fosforilare il glucosio?
- Problema** Quali sono le conseguenze metaboliche dell'incapacità di produrre la subunità M della fosfofruttochinasi?
- Problema** In che modo si osserva che l'azione dell'esochinasi è compatibile con la teoria dell'adattamento indotto relativa al meccanismo d'azione degli enzimi?
- Problema** Come agisce l'ATP come effettore allosterico nel meccanismo di azione della fosfofruttochinasi?

17.3 La gliceraldeide-3-fosfato viene convertita in piruvato

- Domanda di verifica** Da che punto della glicolisi tutte le reazioni si considerano in doppio?
- Domanda di verifica** Quali enzimi discussi in questo capitolo sono deidrogenasi NADH dipendenti?
- Domanda di verifica** Definite la *fosforilazione a livello del substrato* e date un esempio dalle reazioni discusse in questo capitolo.
- Domanda di verifica** Quali reazioni sono i punti di controllo della glicolisi?
- Domanda di verifica** Quali molecole sono inibitori della glicolisi? Quali sono attivatori?
- Domanda di verifica** Esistono molte deidrogenasi a NADH che hanno siti attivi simili. Quale parte della gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi dovrebbe essere la più conservata anche in altri enzimi?
- Domanda di verifica** Molti enzimi della glicolisi appartengono a delle classi che si trovano spesso nel metabolismo. Quali tipi di reazioni sono catalizzate da ognuna di queste?
 - Chinasi
 - Isomerasi
 - Aldolasi
 - Deidrogenasi
- Domanda di verifica** Qual è la differenza tra una isomerasi e una mutasi?
- Problema** La reazione del 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato è una reazione redox? Spiegate.
- Problema** Mostrate l'atomo di carbonio che cambia stato di ossidazione durante la reazione catalizzata dalla gliceraldeide-3-fos-

fato deidrogenasi. Qual è il gruppo funzionale che si modifica durante la reazione?

- Problema** Discutete la logica della natura di inibitori e attivatori allosterici della glicolisi. Perché vengono utilizzate queste molecole?
- Problema** Molte specie hanno un terzo tipo di subunità della LDH che si trova in modo predominante nei testicoli. Se questa subunità, chiamata C, fosse espressa negli altri tessuti e si potesse combinare con le subunità M e H, quanti isoenzimi della LDH sarebbero possibili? Quale sarebbe la loro composizione?
- Problema** Le subunità M e H della lattato deidrogenasi hanno forma e dimensioni molto simili, ma differiscono nella composizione in amminoacidi. Se l'unica differenza tra le due fosse un acido glutammico nella subunità H al posto di una serina nella subunità M, come si separerebbero i cinque isoenzimi della LDH mediante elettroforesi, utilizzando un gel a pH 8,6? (Si veda il Capitolo 5 per i dettagli sull'elettroforesi).
- Problema** Perché la formazione del fruttosio-1,6-bisfosfato è una reazione su cui può essere esercitato un controllo nella via glicolitica?
- Problema** Livelli elevati di glucosio-6-fosfato inibiscono la glicolisi. Se la concentrazione di glucosio-6-fosfato diminuisce, l'attività si recupera. Perché?
- Problema** Le vie metaboliche sono per la maggior parte relativamente lunghe e sembrano molto complesse. Per esempio, ci sono dieci reazioni chimiche individuali nella glicolisi, che convertono il glucosio in piruvato. Suggeste una ragione di tale complessità.
- Problema** Si sa che il meccanismo della reazione catalizzata dalla fosfogliceromutasi prevede come intermedio l'enzima fosforilato. Se il 3-fosfoglicerato è marcato radioattivamente con il ³²P, il prodotto della reazione, il 2-fosfoglicerato, non è marcato. Ipotezzate un meccanismo che spieghi questi fatti.

17.4 Il metabolismo anaerobico del piruvato

- Domanda di verifica** Cosa ha a che fare con la birra il materiale discusso in questo capitolo? Cosa ha a che fare con il muscolo stanco e dolorante?
- Domanda di verifica** Se l'acido lattico è il prodotto di accumulo dell'intensa attività muscolare, perché spesso si somministra il lattato di sodio ai pazienti ospedalieri per via endovenosa?
- Domanda di verifica** Qual è lo scopo metabolico della produzione di acido lattico?
- Problema** Utilizzando le formule di Lewis con gli elettroni indicati da puntini, mostrate esplicitamente il trasferimento degli elettroni nelle seguenti reazioni redox:
 - Piruvato + NADH + H⁺ → Lattato + NAD⁺
 - Acetaldeide + NADH + H⁺ → Etanolo + NAD⁺
 - Gliceraldeide-3-fosfato + NAD⁺ → 3-Fosfoglicerato + NADH + H⁺
- Problema** Discutete brevemente il ruolo della tiamina pirofosfato nelle reazioni enzimatiche, utilizzando il materiale di questo capitolo per illustrare la vostra esposizione.
- Problema** Qual è la caratteristica della TPP che la rende utile nelle reazioni di decarbossilazione?
- Connessioni biochimiche** Il beriberi è una malattia causata dalla mancanza di vitamina B₁ (tiamina) nella dieta. La tiamina è il precursore della tiamina pirofosfato. Considerando ciò che avete appreso in questo capitolo, perché non sorprende che gli alcolisti tendano a sviluppare questa malattia?
- Problema** È noto tra i cacciatori che la carne degli animali che hanno corso fino alla morte è amara. Suggeste una spiegazione per quest'osservazione.
- Problema** Qual è il vantaggio metabolico della conversione del glucosio a lattato, in cui non c'è ossidazione o riduzione netta?
- Connessioni biochimiche** Le cellule cancerose crescono così rapidamente da avere un metabolismo anaerobico molto accelera-

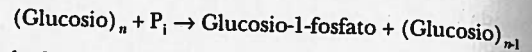
to rispetto alla maggior parte dei tessuti corporei, specialmente nel centro del tumore. Si possono utilizzare i farmaci che avvelenano gli enzimi del metabolismo anaerobico nel trattamento del cancro? Perché sì o perché no?

17.5 La produzione di energia nella glicolisi

40. **Problema** Spiegate come è stata calcolata la resa energetica del 33% per la glicolisi anaerobica.
41. **Domanda di verifica** Qual è il guadagno netto di molecole di ATP nelle reazioni della glicolisi?
42. **Domanda di verifica** Perché il ricavo reale di ATP è diverso rispetto alla risposta alla domanda 41?
43. **Domanda di verifica** Quali reazioni della glicolisi sono reazioni accoppiate?
44. **Domanda di verifica** Quali reazioni della glicolisi sono irreversibili fisiologicamente?
45. **Problema** Mostrate con una serie di reazioni l'energetica della fosforilazione dell'ADP da parte del fosfoenolpiruvato.
46. **Problema** Quale dovrebbe essere la resa netta di ATP per la gli-

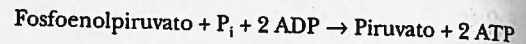
colisi quando il fruttosio, il mannosio e il galattosio sono usati come composti di partenza? Giustificate la vostra risposta.

47. **Problema** Nel muscolo, il glicogeno è demolito mediante la seguente reazione:



Quale dovrebbe essere la resa in ATP nel muscolo, se la fonte di glucosio fosse il glicogeno?

48. **Problema** Utilizzando la Tabella 17.1, dite se la seguente reazione è termodinamicamente possibile:



49. **Problema** La reazione mostrata nella domanda 8 esiste in natura? Se no, perché?
50. **Problema** Secondo la Tabella 17.1, molte reazioni hanno valori molto positivi di $\Delta G'^{\circ}$. Come si può spiegare ciò, considerando che queste reazioni avvengono nella cellula?
51. **Problema** Secondo la Tabella 17.1, quattro reazioni hanno valori positivi di ΔG . Come si può spiegare ciò?

Bibliografia

- Bodner, G.M. Metabolism: Part I, Glycolysis, or the Embden-Meyerhoff Pathway. *J. Chem. Ed.* **63**, 566-570 (1986). [Un sunto chiaro e conciso della via. Fa parte di una serie di lavori sul metabolismo dei carboidrati e dei lipidi].
- Boyer, P.D., ed. *The Enzymes*, Vols. 5-9. New York: Academic Press, 1972. [Una classica referenza, con articoli di review, sugli enzimi glicolitici; la lattato deidrogenasi e l'alcol deidrogenasi sono trattate nel Volume 10].
- Florkin, M., and E.H. Stotz, eds. *Comprehensive Biochemistry*. New York: Elsevier, 1967. [Un'altra referenza classica. Il Volume 17, *Carbohydrate Metabolism*, tratta la glicolisi].
- Karl, P.I., B.H.J. Gordon, C.S. Lieber, and S.E. Fisher. Acetaldehyde Production and Transfer by the Perfused Human Placental Cotyledon. *Science* **242**, 273-275 (1988). [Un lavoro che descrive alcuni dei processi coinvolti nella sindrome alcolica fetale].
- Light, W.J. *Alcoholism and Women, Genetics, and Fetal Development*. Springfield, Ill.: Charles C. Thomas Publishers, 1988. [Un testo che dedica ampio spazio alla sindrome alcolica fetale].
- Lipmann, F.A. Long Life in Times of Great Upheaval. *Ann. Rev. Biochem.* **53**, 1-33 (1984). [Le reminiscenze di un premio Nobel la cui ricerca ha fortemente contribuito alla delucidazione del metabolismo dei carboidrati. Lettura molto interessante per i tratti autobiografici ed i contributi dell'autore alla biochimica].

Sezione 18.4 Sommario

- Nella via dei pentosi fosfato avvengono due processi importanti. Uno è la formazione di zuccheri a cinque atomi di carbonio, in particolare il ribosio, un componente dell'RNA.
- L'altro processo è la formazione di NADPH, un agente riducente richiesto in molte reazioni anaboliche.

Riassunto

Come avviene la degradazione del glicogeno? Il glicogeno può essere rapidamente degradato per formare glucosio in risposta a una richiesta energetica. La glicogeno fosforilasi utilizza fosfato per scindere un legame $\alpha(1 \rightarrow 4)$, formando glucosio-1-fosfato e una molecola di glicogeno accorciata di un glucosio. L'enzima deramificante aiuta nella degradazione della molecola a livello dei legami $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

In che modo è formato il glicogeno a partire dal glucosio? Quando un organismo ha a disposizione un rifornimento extra di glucosio, più di quanto sia immediatamente necessario come fonte di energia ottenuta con la glicolisi, sintetizza il glicogeno, un polimero del glucosio. La glicogeno sintasi catalizza la reazione fra una molecola di glicogeno e UDP-glucosio, aggiungendo una molecola di glucosio al glicogeno mediante un legame $\alpha(1 \rightarrow 4)$. L'enzima ramificante muove segmenti della catena di glucosio in modo da dare origine a punti di ramificazione $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

In che modo è regolato il metabolismo del glicogeno? I meccanismi di regolazione assicurano che la sintesi e la degradazione del glicogeno non siano simultaneamente attive, una situazione che sprecherebbe energia.

Perché l'ossalacetato è un intermedio nella gluconeogenesi? La conversione del piruvato (il prodotto della glicolisi) in glucosio avviene con un processo chiamato gluconeogenesi, che non è esattamente l'inverso della glicolisi. La glicolisi comprende tre passaggi irreversibili. Uno di questi passaggi è la conversione del fosfoenolpiruvato in piruvato. È più favorevole convertire il piruvato in ossalacetato per facilitare la conversione a fosfoenolpiruvato.

Qual è il ruolo degli zuccheri fosfati nella gluconeogenesi? L'idrolisi degli zuccheri fosfati è energeticamente favorevole; in questo modo questi passaggi hanno l'effetto di invertire i primi stadi della glicolisi, che richiedono energia.

In che modo alcuni enzimi chiave regolano il metabolismo dei carboidrati? La glicogeno sintasi e la

glicogeno fosforilasi sono regolate in modo reciproco dalla fosforilazione. La glicolisi e la gluconeogenesi sono regolate in punti diversi, i più importanti dei quali sono la fosfofruttochinasi e la fruttosio bis-fosfatasi.

In che modo organi diversi condividono il metabolismo dei carboidrati? Nella stessa cellula, la glicolisi e la gluconeogenesi non sono molto attive contemporaneamente. Quando la cellula ha bisogno di ATP, la glicolisi è più attiva; quando c'è poca richiesta di ATP, è più attiva la gluconeogenesi. La glicolisi e la gluconeogenesi partecipano al ciclo di Cori. La suddivisione del lavoro tra il fegato e il muscolo fa sì che la glicolisi e la gluconeogenesi avvengano in organi diversi, per soddisfare le richieste di un organismo.

Perché il primo e l'ultimo passaggio della glicolisi giocano un ruolo nella regolazione del metabolismo dei carboidrati? Anche l'esochinasi e la piruvato chinasi, gli enzimi che catalizzano rispettivamente il primo e l'ultimo passaggio, costituiscono importanti punti di regolazione. Essi provocano il rallentamento della via quando non è necessaria energia e la accelerano quando ce n'è la necessità.

Quali sono le reazioni ossidative della via dei pentosi fosfato? La via dei pentosi fosfato è una via alternativa per il metabolismo del glucosio. In questa via, zuccheri a cinque atomi di carbonio, compreso il ribosio, sono prodotti dal glucosio. Nelle reazioni ossidative della via si produce anche NADPH.

Quali sono le reazioni non ossidative della via dei pentosi fosfato e perché sono importanti? Le reazioni non ossidative della via dei pentosi fosfato producono zuccheri a cinque atomi di carbonio, in particolare il ribosio. Esse sono importanti quando un organismo ha minore necessità di NADPH, ma necessita di zuccheri.

In che modo è regolata la via dei pentosi fosfato? La regolazione della via consente all'organismo di modulare i livelli relativi della produzione degli zuccheri a cinque atomi di carbonio e di NADPH, sulla base delle sue richieste.

Esercizi di ricapitolazione

18.1 Come viene prodotto e degradato il glicogeno?

1. **Domanda di verifica** Perché è essenziale che i meccanismi che attivano la sintesi del glicogeno disattivino la glicogeno fosforilasi?
2. **Domanda di verifica** In che cosa differisce la fosforilasi dall'idrolisi?
3. **Domanda di verifica** Perché è un vantaggio che la demolizione del glicogeno generi il glucosio-6-fosfato e non il glucosio?
4. **Domanda di verifica** Descrivete brevemente il ruolo dell'UDPG nella biosintesi del glicogeno.

5. **Domanda di verifica** Indicate due meccanismi di regolazione coinvolti nella biosintesi del glicogeno. Date un esempio per ognuno.
6. **Problema** Il guadagno netto di ATP nella glicolisi differisce quando il materiale di partenza è il glicogeno invece del glucosio? Se è così, qual è la variazione?
7. **Problema** Nel metabolismo, il glucosio-6-fosfato (G6P) può essere usato per la sintesi del glicogeno o per la glicolisi, oltre ad altre destinazioni. Qual è il costo, in termini di equivalenti di ATP, per depositare il G6P come glicogeno, invece di utilizzarlo nella glicolisi per ottenere energia? *Suggerimento:* la struttura ramifica-

ta del glicogeno porta al rilascio del 90% dei residui di glucosio come glucosio-1-fosfato e del 10% come glucosio.

8. **Problema** Come differirebbe il costo di immagazzinare come glicogeno il glucosio-6-fosfato (G6P) dalla risposta ottenuta nel Problema 7, se il G6P fosse utilizzato per ottenere energia nel metabolismo aerobico?
9. **Connessioni biochimiche** State programmando un'escursione impegnativa e vi consigliano di mangiare molti alimenti ricchi di carboidrati, come il pane e la pasta. Suggeste una ragione per questo consiglio.
10. **Connessioni biochimiche** Mangiare caramelle, ricche di saccarosio piuttosto che di carboidrati complessi, aiuterebbe a costituire depositi di glicogeno?
11. **Connessioni biochimiche** Sarebbe vantaggioso mangiare una caramella con un elevato contenuto di zucchero raffinato *immediatamente* prima di iniziare l'escursione impegnativa del Problema 9?
12. **Problema** La concentrazione di lattato nel sangue aumenta rapidamente durante uno scatto e dopo diminuisce lentamente per circa un'ora. Che cosa determina il rapido aumento della concentrazione di lattato? Che cosa determina l'abbassamento della concentrazione di lattato dopo la corsa?
13. **Problema** Un ricercatore afferma di avere scoperto una forma variante del glicogeno. La differenza è che possiede poche ramificazioni (circa ogni 50 residui di glucosio) e che le ramificazioni sono lunghe soltanto tre residui. È possibile che questa scoperta sia confermata da lavori successivi?
14. **Problema** Qual è la fonte di energia necessaria per incorporare i residui di glucosio nel glicogeno? Come viene usata?
15. **Problema** Perché è utile avere un innesco nella sintesi del glicogeno?
16. **Problema** La reazione di sintesi del glicogeno è esoergonica o endoergonica? Qual è la ragione della vostra risposta?
17. **Problema** Qual è l'effetto sulla gluconeogenesi e sulla sintesi di glicogeno di (a) un aumento del livello di ATP, (b) una diminuzione della concentrazione del fruttosio-1,6-bisfosfato e (c) un aumento della concentrazione del fruttosio-6-fosfato?
18. **Problema** Descrivete brevemente il significato di "going for the burn" (produrre acido lattico) in un allenamento, considerando ciò che è stato trattato in questo capitolo.
19. **Problema** Suggeste una ragione per la quale degli zuccheri nucleotidici, come l'UDPG, e non zuccheri fosfati, come il glucosio-6-fosfato, hanno un ruolo nella sintesi del glicogeno.

18.2 La gluconeogenesi produce glucosio dal piruvato

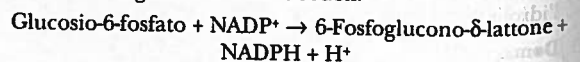
20. **Domanda di verifica** Quali reazioni in questo capitolo richiedono acetil-CoA o biotina?
21. **Domanda di verifica** Quali stadi della glicolisi sono irreversibili? Quali implicazioni ha questa osservazione sulle reazioni per cui la gluconeogenesi differisce dalla glicolisi?
22. **Domanda di verifica** Qual è il ruolo della biotina nella gluconeogenesi?
23. **Domanda di verifica** In che cosa il ruolo del glucosio-6-fosfato nella gluconeogenesi differisce da quello nella glicolisi?
24. **Problema** L'avidina, una proteina che si trova nel bianco d'uovo, si lega così fortemente alla biotina da inibire gli enzimi che richiedono biotina. Qual è l'effetto dell'avidina sulla formazione del glicogeno? E sulla gluconeogenesi? E sulla via dei pentosi fosfato?
25. **Problema** In che modo l'idrolisi del fruttosio-1,6-bisfosfato determina l'inversione di una delle reazioni fisiologicamente irreversibili della glicolisi?

18.3 La regolazione del metabolismo dei carboidrati

26. **Domanda di verifica** Quale reazione o reazioni discussa/e in questo capitolo richiede/ono ATP? Quale reazione o reazioni produce/ono ATP? Elencate gli enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono e producono ATP.
27. **Domanda di verifica** Qual è il ruolo del fruttosio-2,6-bisfosfato come effettore allosterico?
28. **Domanda di verifica** In che cosa differiscono la glucochinasi e l'esochinasi rispetto alla funzione?
29. **Domanda di verifica** Che cos'è il ciclo di Cori?
30. **Problema** I primi biochimici chiamavano i cicli del substrato "cicli futili". Che cosa potrebbe averli indotti a scegliere questo nome? Perché è un termine improprio?
31. **Problema** Perché è vantaggioso che nel metabolismo del glicogeno siano coinvolti due meccanismi di regolazione - regolazione allosterica e modificazione covalente?
32. **Problema** Come si possono conseguire diversi tempi di risposta nei meccanismi di regolazione?
33. **Problema** In che modo i meccanismi di regolazione nel metabolismo del glicogeno portano all'amplificazione della risposta a uno stimolo?
34. **Problema** Perché vi aspettereste di vedere che le reazioni dei cicli del substrato coinvolgono enzimi diversi per direzioni diverse?
35. **Problema** Suggeste una ragione o delle ragioni per cui il ciclo di Cori avviene nel fegato e nei muscoli.
36. **Problema** Spiegate in che modo il fruttosio-2,6-bisfosfato può partecipare a più di una via metabolica.
37. **Problema** Come possono essere controllate indipendentemente la sintesi e la degradazione del fruttosio-2,6-bisfosfato?
38. **Problema** Qual è il vantaggio per gli animali di convertire in glucosio l'amido ingerito e poi di incorporare il glucosio in glicogeno?

18.4 Il glucosio è talvolta dirottato nella via dei pentosi fosfato

39. **Domanda di verifica** Elencate tre differenze in struttura o funzione tra NADH e NADPH.
40. **Domanda di verifica** Quali sono quattro destini metabolici possibili del glucosio-6-fosfato?
41. **Connessioni biochimiche** Qual è il collegamento tra gli argomenti trattati in questo capitolo e l'anemia emolitica?
42. **Domanda di verifica** Mostrate in che modo la via dei pentosi fosfato, che è collegata alla via glicolitica, può:
 - (a) produrre sia NADPH che pentosi fosfato, in quantità circa uguali;
 - (b) produrre principalmente o unicamente NADPH;
 - (c) produrre principalmente o unicamente pentosi fosfato.
43. **Domanda di verifica** Qual è la differenza principale tra la transchetolasi e la transaldolasi?
44. **Connessioni biochimiche** Elencate due modi di funzionamento del glutazione nei globuli rossi.
45. **Domanda di verifica** La tiamina pirofosfato partecipa alle reazioni della via dei pentosi fosfato? Se è così, in che modo?
46. **Problema** Utilizzando le formule di Lewis con gli elettroni in forma di puntini, mostrate esplicitamente il trasferimento degli elettroni nella seguente reazione redox.



Il lattone è un estere ciclico che costituisce un intermedio nella produzione del 6-fosfogluconato.

47. **Problema** Suggeste un motivo per il quale un agente riducente diverso (NADPH) viene usato nelle reazioni anaboliche piuttosto che il NADH, che partecipa a quelle cataboliche.

48. **Problema** Spiegate in che modo la via dei pentosi fosfato possa rispondere al fabbisogno di una cellula di ATP, NADPH e ribosio-5-fosfato.

49. **Problema** Perché è ragionevole aspettarsi che il glucosio-6-fosfato sia ossidato a lattone (si veda il Problema 46) e non ad un composto a catena aperta?

50. **Problema** Se un'epimerasi prendesse il posto di un'isomerasi per la catalisi delle reazioni di rimescolamento, quale sarebbe l'effetto sulla via dei pentosi fosfato?

Bibliografia

Florkin, M., and E.H. Stotz, eds. *Comprehensive Biochemistry*. New York: Elsevier, 1967. [Una referenza classica. Il volume 17, *Carbohydrate Metabolism*, tratta la glicolisi e argomenti correlati].

Horecker, B. L. in Florkin, M., and E.H. Stotz, eds. *Comprehensive Biochemistry*. New York: Elsevier, 1964. Transaldolase and Transketolase. [Il Volume 15 *Group Transfer Reactions* è una rassegna su questi due enzimi e sul loro meccanismo di azione].

Lipmann, F. A Long Life in Times of Great Upheaval. *Ann. Rev. Biochem.* 53, 1-33 (1984). [I ricordi di un premio Nobel le cui ricer-

che hanno dato un contributo importante alla comprensione del metabolismo dei carboidrati. Una lettura molto interessante, dal punto di vista autobiografico e dei contributi dati dall'autore alla biochimica].

Shulman, R. G., and Rothman, D. L. Enzymatic Phosphorylation of Muscle Glycogen Synthase: A Mechanism for Maintenance of Metabolic Homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 7491-7495 (1996). [Un articolo approfondito sul flusso metabolico e la modificazione covalente degli enzimi].

Quanti enzimi sono necessari per convertire il piruvato in acetil-CoA? Il piruvato viene prodotto dalla glicolisi nel citosol della cellula, mentre il ciclo dell'acido citrico è localizzato nella matrice mitocondriale; il piruvato, quindi, deve prima essere trasportato all'interno del mitocondrio, dove incontra la piruvato deidrogenasi, un grosso complesso multienzimatico costituito da tre enzimi coinvolti nella produzione di acetil-CoA e da due enzimi con funzioni di controllo. La reazione richiede numerosi cofattori, che comprendono il FAD, l'acido lipoico e la TPP.

Le singole reazioni del ciclo dell'acido citrico. L'acetil-CoA viene condensato con l'ossalacetato per produrre il citrato, un composto a sei atomi di carbonio. Il citrato viene isomerizzato a isocitrato, che va quindi incontro ad una decarbossilazione ossidativa che dà origine ad α -chetoglutarato, un composto a cinque atomi di carbonio. Questo, a sua volta, subisce un'ulteriore decarbossilazione ossidativa, dando origine a succinil-CoA, un composto a quattro atomi di carbonio. Le due reazioni di decarbossilazione ossidativa producono anche NADH. Il succinil-CoA viene convertito in succinato con la concomitante produzione di GTP. Il succinato viene ossidato a fumarato con produzione di FADH₂. Il fumarato viene trasformato in malato, che viene poi ossidato ad ossalacetato con la produzione di un altro NADH.

La via metabolica nel suo complesso ha un ΔG° di $-77,7 \text{ kJ mol}^{-1}$. Nel corso del ciclo, partendo dal piruvato, vengono prodotte quattro molecole di NADH ed una di FADH₂. Complessivamente, comprendendo il GTP che si forma direttamente e la riossidazione dei coenzimi ridotti nella catena di trasporto degli elettroni, il ciclo dell'acido citrico produce 25 ATP.

Come la reazione catalizzata dalla piruvato deidrogenasi controlla il ciclo dell'acido citrico? C'è anche un punto di controllo al di fuori del ciclo, la reazione in cui il piruvato è decarbossilato ossidativamente per produrre acetil-CoA.

Come si verifica il controllo nel ciclo dell'acido citrico? All'interno del ciclo dell'acido citrico, i tre punti di controllo sono le reazioni catalizzate dalla citrato sintasi, l'isocitrato deidrogenasi e il complesso dell' α -chetoglutarato deidrogenasi.

In generale, ATP e NADH sono inibitori; ADP e NAD⁺ sono attivatori degli enzimi nei punti di controllo.

Nelle piante e nei batteri, esiste una via correlata al ciclo dell'acido citrico, il ciclo del gliossilato. Le due decarbossilazioni ossidative del ciclo dell'acido citrico sono aggirate. Questa via è determinante per la capacità delle piante di convertire l'acetil-CoA in carboidrati, un processo che non avviene negli animali.

Come un gigantesco centro di traffico della vita, nel ciclo dell'acido citrico convergono numerose vie. Molti membri delle tre

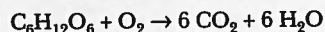
classi fondamentali di nutrienti, proteine, lipidi e carboidrati, vengono metabolizzati a molecole più piccole, che possono attraversare la membrana mitocondriale ed entrare nel ciclo dell'acido citrico a livello di uno degli intermedi. In questo modo, il ciclo ci permette di ottenere energia dagli alimenti che introduciamo. I carboidrati e molti aminoacidi possono entrare nel ciclo sia come piruvato sia come acetil-CoA. I lipidi entrano come acetil-CoA. Per effetto della reazione di transaminazione che può coinvolgere il glutammato e l' α -chetoglutarato, quasi tutti gli aminoacidi possono dare origine a glutammato, e quindi ad α -chetoglutarato, che può entrare nel ciclo. Numerose altre vie determinano l'entrata nel ciclo di aminoacidi sotto forma di succinato, fumarato o malato.

Mentre il ciclo dell'acido citrico avviene nei mitocondri, molte reazioni anaboliche sono localizzate nel citosol. L'ossalacetato, il materiale di partenza della gluconeogenesi, è un componente del ciclo dell'acido citrico. Il malato, ma non l'ossalacetato, può essere trasportato attraverso la membrana mitocondriale. Dopo che il malato è stato trasportato dai mitocondri al citosol, può essere convertito in ossalacetato mediante la malato deidrogenasi, un enzima che richiede NAD⁺. Il malato, che attraversa la membrana mitocondriale, partecipa al metabolismo dei lipidi, in una reazione in cui il malato è decarbossilato ossidativamente per dare piruvato, da un enzima che richiede NADP⁺ e produce NADPH.

Com'è correlato l'anabolismo dei lipidi al ciclo dell'acido citrico? La reazione catalizzata dall'enzima malico è una fonte importante di NADPH per l'anabolismo dei lipidi, che si aggiunge a quella costituita dalla via dei pentoso fosfati.

Com'è correlato il metabolismo degli aminoacidi con il ciclo dell'acido citrico? Molti degli intermedi del ciclo dell'acido citrico sono il punto di partenza di vie anaboliche che danno origine ad aminoacidi e acidi grassi, così come a porfirine o pirimidine.

La glicolisi e il ciclo dell'acido citrico costituiscono la parte essenziale della reazione complessiva di ossidazione del glucosio:



Il glucosio appare nella glicolisi. Le reazioni di decarbossilazione nel ciclo dell'acido citrico giustificano la produzione di CO₂. Al contrario, l'ossigeno, che fa parte dell'equazione, non compare fino all'ultimo passaggio della catena di trasporto degli elettroni. Se la disponibilità di ossigeno è insufficiente, la catena di trasporto degli elettroni non sarà in grado di utilizzare i nucleotidi ridotti prodotti dal ciclo dell'acido citrico, che dovrà stesso rallentare. Se in questa situazione la richiesta energetica continua, il piruvato prodotto dalla glicolisi viene trasformato anaerobicamente in lattato.

Esercizi di ricapitolazione

19.1 Il ruolo centrale del ciclo dell'acido citrico nel metabolismo

- Domanda di verifica** Quali vie sono coinvolte nel metabolismo anaerobico del glucosio? Quali vie sono coinvolte nel metabolismo aerobico del glucosio?
- Domanda di verifica** Quante molecole di ATP possono essere prodotte anaerobicamente da una molecola di glucosio? E aerobicamente?
- Domanda di verifica** Quali sono i diversi nomi che definiscono la via discussa in questo capitolo?
- Domanda di verifica** Cosa si intende con l'affermazione che una via è anfibolica?

19.2 Il significato generale del ciclo dell'acido citrico

- Domanda di verifica** In quale parte della cellula avviene il ciclo dell'acido citrico? È una parte della cellula diversa da quella in cui avviene la glicolisi?
- Domanda di verifica** In che modo il piruvato proveniente dalla glicolisi viene a contatto con il complesso della piruvato deidrogenasi?
- Domanda di verifica** Quali accettori di elettroni partecipano al ciclo dell'acido citrico?
- Domanda di verifica** Quali sono le tre molecole prodotte nel ci-

clo dell'acido citrico che costituiscono una fonte diretta o indiretta di composti ad alta energia?

19.3 Trasformazione del piruvato in acetil-CoA

9. **Domanda di verifica** Quanti enzimi costituiscono la piruvato deidrogenasi dei mammiferi? Quali sono le loro funzioni?
10. **Domanda di verifica** Descrivete brevemente il duplice ruolo dell'acido lipoico nel complesso della piruvato deidrogenasi.
11. **Domanda di verifica** Qual è il vantaggio dell'organizzazione del complesso della PDH?
12. **Domanda di verifica** Nella reazione della PDH, troviamo dei cofattori che provengono da quattro vitamine diverse. Quali sono?
13. **Problema** Disegnate le strutture delle unità carboniose attivate legate alla tiamina pirofosfato in tre enzimi che contengono questo coenzima. *Suggerimento:* la tautomerizzazione cheto-enolica può essere inserita nella figura.
14. **Problema** Preparate uno schema che mostri come le singole reazioni catalizzate dai tre enzimi del complesso danno origine alla reazione complessiva.

19.4 Le singole reazioni del ciclo dell'acido citrico

15. **Domanda di verifica** Perché la reazione catalizzata dalla citrato sintasi è considerata una reazione di condensazione?
16. **Domanda di verifica** Che cosa si intende con il nome "sintasi" per un enzima?
17. **Connessioni biochimiche** Che cos'è il fluoroacetato? Per quali scopi è utilizzato?
18. **Domanda di verifica** Dal punto di vista stereochimico, qual è la caratteristica della reazione catalizzata dall'aconitasi?
19. **Domanda di verifica** In quali reazioni aerobiche del piruvato si produce CO_2 ?
20. **Domanda di verifica** In quali reazioni aerobiche del piruvato si producono i trasportatori di elettroni ridotti?
21. **Domanda di verifica** Quale reazione è catalizzata dalla isocitrato deidrogenasi e quale dall' α -chetoglutarato deidrogenasi?
22. **Domanda di verifica** Quali sono le somiglianze e le differenze tra le reazioni catalizzate dalla piruvato deidrogenasi e dall' α -chetoglutarato deidrogenasi?
23. **Domanda di verifica** Che cosa si intende con il termine "sintetasi" per un enzima?
24. **Domanda di verifica** Perché possiamo dire che la produzione di un GTP è equivalente alla produzione di un ATP?
25. **Domanda di verifica** Quali sono le principali differenze tra le ossidazioni del ciclo dell'acido citrico che utilizzano il NAD^+ come accettore di elettroni e l'ossidazione che utilizza il FAD?
26. **Domanda di verifica** L'ATP è un inibitore competitivo del legame del NADH alla malato deidrogenasi, come l'ADP e l'AMP. Sugerite una base strutturale di questa inibizione.
27. **Domanda di verifica** La conversione del fumarato in malato è una reazione redox (di trasferimento di elettroni) o no? Date una ragione della vostra risposta.
28. **Problema** Abbiamo visto uno dei quattro possibili isomeri dell'isocitrato, quello prodotto dall'aconitasi. Scrivete le configurazioni degli altri tre.
29. **Problema** Mostrate con le formule di Lewis le parti appropriate della molecola in cui si perdono gli elettroni nelle conversioni seguenti:
 - (a) piruvato in acetil-CoA
 - (b) isocitrato in α -chetoglutarato
 - (c) α -chetoglutarato in succinil-CoA
 - (d) succinato in fumarato
 - (e) malato in ossalacetato

19.5 Il bilancio energetico e il controllo del ciclo dell'acido citrico

30. **Domanda di verifica** Quali reazioni del metabolismo aerobico

del piruvato nel ciclo dell'acido citrico sono dei punti di controllo?

31. **Domanda di verifica** Descrivete le diverse possibilità di controllo della PDH.
32. **Domanda di verifica** Quali sono i due inibitori più comuni delle reazioni del ciclo dell'acido citrico e della reazione catalizzata dalla piruvato deidrogenasi?
33. **Problema** Come un aumento del rapporto ADP/ATP influenza l'attività dell'isocitrato deidrogenasi?
34. **Problema** Come un aumento del rapporto NADH/NAD^+ influenza l'attività della piruvato deidrogenasi?
35. **Problema** Vi aspettate che il ciclo degli acidi tricarbossilici sia più o meno attivo quando la cellula ha un alto rapporto ATP/ADP e un alto rapporto NADH/NAD^+ ? Giustificate la vostra risposta.
36. **Problema** Vi aspettate che il ΔG° di idrolisi di un tioestere sia: (a) grande e negativo, (b) grande e positivo, (c) piccolo e negativo, (d) piccolo e positivo? Giustificate la vostra risposta.
37. **Problema** L'acetil-CoA e il succinil-CoA sono entrambi tioesteri ad alta energia, ma la loro energia chimica è utilizzata in modi diversi. Elaborate questo concetto.
38. **Problema** Alcune reazioni del ciclo dell'acido citrico sono endoergoniche. Mostrate come nel complesso il ciclo è esoergonico (si veda la Tabella 19.2).
39. **Problema** Come potrebbe essere correlata con il ciclo dell'acido citrico l'espressione "milking it for all it's worth" (nulla deve andare sprecato)?
40. **Problema** Usando le informazioni dei Capitoli 17-19, calcolate la quantità di ATP che può essere prodotta a partire da una molecola di lattosio metabolizzata aerobicamente attraverso la glicolisi e il ciclo dell'acido citrico.

19.6 Il ciclo del glicosilato: una via collaterale

41. **Domanda di verifica** Quali enzimi del ciclo dell'acido citrico non si ritrovano nel ciclo del glicosilato?
42. **Domanda di verifica** Quali sono le reazioni peculiari del ciclo del glicosilato?
43. **Connessioni biochimiche** Perché è possibile che i batteri, ma non gli esseri umani, sopravvivano avendo come unica fonte di carbonio l'acido acetico?

19.7 Il ciclo dell'acido citrico nel catabolismo

44. **Domanda di verifica** Descrivete le varie finalità del ciclo dell'acido citrico.
45. **Problema** Gli intermedi della glicolisi sono fosforilati, ma non quelli del ciclo dell'acido citrico. Sugerite una ragione di ciò.
46. **Problema** Discutete la decarbossilazione ossidativa, utilizzando una reazione di questo capitolo per illustrare la vostra spiegazione.
47. **Problema** Molte bibite contengono acido citrico per conferire l'aroma. È un buon nutriente?

19.8 Il ciclo dell'acido citrico nell'anabolismo

48. **Domanda di verifica** Il NADH è un coenzima importante nei processi catabolici, mentre il NADPH compare nei processi anabolici. Spiegate come si può effettuare uno scambio tra i due.
49. **Connessioni biochimiche** Quali sono le reazioni anaplerotiche nei mammiferi?
50. **Problema** Perché l'acetil-CoA è considerato la molecola centrale del metabolismo?

19.9 Correlazioni con l'ossigeno

51. **Problema** Perché il ciclo dell'acido citrico è considerato parte del metabolismo aerobico, anche se l'ossigeno molecolare non appare in nessuna reazione?

... Durante il processo di trasporto degli elettroni, avvengono numerose reazioni nelle quali trasportatori ridotti, i quali devono donare elettroni sia protoni, vengono accoppiati con trasportatori che possono accettare solo elettroni. In questi passaggi, gli ioni idrogeno sono spinti dal lato esterno della membrana mitocondriale interna, causando la formazione di un gradiente di pH. L'energia contenuta nella separazione chimica e di carica degli ioni idrogeno è utilizzata per fosforilare l'ADP ad ATP, nel momento in cui gli ioni idrogeno ritornano all'interno dei mitocondri attraverso l'ATP sintasi.

Che cos'è l'accoppiamento chemiosmotico? Due meccanismi, il meccanismo chemiosmotico ed il meccanismo di accoppiamento conformazionale, sono stati proposti per spiegare l'accoppiamento del trasporto elettronico e della produzione di ATP.

L'accoppiamento chemiosmotico è il meccanismo più accreditato per spiegare la modalità con cui il trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa sono accoppiati. Secondo questo meccanismo, il gradiente di protoni è collegato direttamente al processo di fosforilazione. Il modo in cui il gradiente di protoni porta alla produzione di ATP dipende dal canale ionico che attraversa la membrana mitocondriale interna; questi canali sono caratteristici della struttura dell'ATP sintasi. I protoni ritornano nella matrice attraverso i canali dei protoni nella porzione F_0 dell'ATP sintasi. Il flusso di protoni è accoppiato alla formazione di ATP, che avviene nell'unità F_1 .

Che cos'è l'accoppiamento conformazionale? Nel meccanismo dell'accoppiamento conformazionale, il gradiente di protoni è correlato indirettamente alla produzione di ATP. Esperimenti recenti mostrano che l'effetto del gradiente di protoni non è la formazione di ATP, ma il rilascio dell'ATP strettamente legato dalla sintasi in seguito ad un cambiamento conformazionale.

Gli inibitori della respirazione hanno una connessione con i complessi respiratori? Il funzionamento della catena di trasporto degli elettroni è stato chiarito da

esperimenti con gli inibitori della respirazione. Questi inibitori bloccano specificatamente il trasferimento degli elettroni in punti precisi dei complessi respiratori. Esempi sono CO e CN⁻, che bloccano entrambi il passaggio finale della catena di trasporto degli elettroni, ed il rotenone, che blocca il trasferimento degli elettroni dalla NADH reduttasi al coenzima Q. Quando avviene uno di questi blocchi, esso causa un "impilamento" di elettroni a monte del blocco stesso, dando luogo ad un trasportatore ridotto che non può essere ossidato. Appurando quale trasportatore veniva intrappolato nello stato ridotto e quale nello stato ossidato, è stata stabilita la sequenza fra i vari trasportatori.

In che modo i sistemi navetta differiscono fra loro? Due sistemi navetta - lo shuttle glicerolo-fosfato e lo shuttle malato-aspartato - trasferiscono gli elettroni, ma non il NADH prodotto nelle reazioni citosoliche, nel mitocondrio. Nella prima delle due navette, che si trova nei muscoli e nel cervello, gli elettroni sono trasferiti al FAD; nella seconda, che si trova nel rene, nel fegato e nel cuore, gli elettroni sono trasferiti al NAD⁺. Con il sistema navetta malato-aspartato, sono prodotte 2,5 molecole di ATP per ogni molecola di NADH citosolico, a differenza delle 1,5 molecole di ATP nel caso dello shuttle glicerolo-fosfato, e ciò influenza la resa complessiva di ATP nei diversi tessuti.

Sono generate approssimativamente 2,5 molecole di ATP per ogni molecola di NADH che entra nella catena di trasporto degli elettroni e 1,5 molecole di ATP per ogni molecola di FADH₂. Quando il glucosio è metabolizzato anaerobicamente, gli ATP prodotti al netto sono quelli ottenuti nel passaggio di fosforilazione diretta a livello del substrato. Questo porta ad un totale di soli 2 ATP per glucosio che entra nella glicolisi. Quando il piruvato generato dalla glicolisi può entrare nel ciclo dell'acido citrico e le molecole di NADH e FADH₂ risultanti sono riossimate attraverso la catena di trasporto degli elettroni, sono prodotte un totale di 30 o 32 molecole di ATP, a seconda dei due possibili sistemi navetta utilizzati.

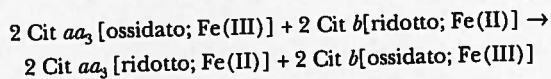
Esercizi di ricapitolazione

20.1 Il ruolo del trasporto degli elettroni nel metabolismo

- Domanda di verifica** Riassumete brevemente gli stadi della catena di trasporto degli elettroni dal NADH all'ossigeno.
- Domanda di verifica** Il trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa sono lo stesso processo? Perché sì o perché no?
- Problema** Elencate le reazioni del trasporto degli elettroni che liberano energia sufficiente per determinare la fosforilazione dell'ADP.
- Problema** Mostrate in che cosa le reazioni della catena di trasporto degli elettroni differiscono da quelle del Problema 3 quando il FADH₂ è il punto di partenza per il trasporto degli elettroni. Mostrate in che cosa le reazioni che producono energia sufficiente per spingere la fosforilazione dell'ADP differiscono da quelle della via il cui punto di partenza è il NADH.
- Problema** In che modo la struttura mitocondriale contribuisce al metabolismo aerobico, in particolare all'integrazione del ciclo dell'acido citrico e del trasporto degli elettroni?

20.2 I potenziali di ossido-riduzione nella catena di trasporto degli elettroni

- Domanda di verifica** Perché è ragionevole paragonare il processo del trasporto degli elettroni ad una batteria?
- Domanda di verifica** Perché tutte le reazioni della Tabella 20.1 sono scritte come reazioni di riduzione?
- Esercizio** Utilizzando le informazioni della Tabella 20.2, calcolate il ΔG° della seguente reazione:



- Esercizio.** Calcolate E° della seguente reazione:

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$$
- Esercizio.** Calcolate E° della seguente reazione:

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{Piruvato} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{Lattato}$$
- Esercizio.** Calcolate E° della seguente reazione:

$$\text{Succinato} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{Fumarato} + \text{H}_2\text{O}$$
- Esercizio.** Per la seguente reazione, identificate il donatore di elettroni e l'accettore di elettroni, e calcolate E° .

$$[\text{FAD}] + 2 \text{ Cit } c (\text{Fe}^{2+}) + 2 \text{H}^+ \rightarrow [\text{FADH}_2] + 2 \text{ Cit } c (\text{Fe}^{3+})$$
- Esercizio** È energeticamente più favorevole l'ossidazione del succinato a fumarato da parte del NAD⁺ o da parte del FAD? Date una motivazione per la vostra risposta.
- Problema** Commentate il fatto che la riduzione del piruvato a lattato, catalizzata dalla lattato deidrogenasi, è fortemente esoergonica (ricordate il Capitolo 15), anche se la variazione di energia libera standard per la semireazione

$$\text{Piruvato} + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightarrow \text{Lattato}$$
è positiva ($\Delta G^\circ = 36,2 \text{ kJ mol}^{-1} = 8,8 \text{ kcal mol}^{-1}$), il che indica una reazione endoergonica.

20.3 L'organizzazione dei complessi di trasporto degli elettroni

- Domanda di verifica** Che cosa hanno in comune i citocromi con l'emoglobina o la mioglobina?

16. **Domanda di verifica** Perché i citocromi sono diversi da emoglobina e mioglobina, in termini di attività chimica?
17. **Domanda di verifica** Quali dei seguenti composti non fanno parte dei complessi della catena respiratoria? Citocromi, flavoproteine, proteine ferro-zolfo, coenzima Q.
18. **Domanda di verifica** Esiste un complesso della catena respiratoria che partecipa al ciclo dell'acido citrico? Se sì, che ruolo ha?
19. **Domanda di verifica** Tutti i complessi della catena respiratoria generano abbastanza energia per fosforilare l'ADP ad ATP?
20. **Problema** Due studenti di biochimica devono utilizzare i mitocondri isolati dal fegato di ratto in un esperimento sulla fosforilazione ossidativa. Le istruzioni dell'esperimento indicano l'aggiunta alla miscela di reazione di citocromo *c* isolato da una qualunque fonte. Perché c'è bisogno dell'aggiunta di citocromo *c*? Perché la fonte può non essere la stessa di quella dei mitocondri?
21. **Problema** La citocromo ossidasi e la succinato-CoQ ossidoreduttasi sono isolate dai mitocondri e sono incubate, in presenza di ossigeno, insieme al citocromo *c*, al coenzima Q ed al succinato. Quale reazione complessiva di ossido-riduzione ci si può aspettare?
22. **Problema** Quali sono i due vantaggi del fatto che i componenti della catena di trasporto degli elettroni siano integrati nella membrana mitocondriale interna?
23. **Problema** Riflettete sulle implicazioni evolutive delle somiglianze strutturali e delle differenze funzionali dei citocromi da un lato e della mioglobina dall'altro.
24. **Problema** L'evidenza sperimentale suggerisce fortemente che la porzione proteica dei citocromi si sia evoluta più lentamente (come stimato in base al numero di variazioni di amminoacidi per milione di anni) della porzione proteica dell'emoglobina e della mioglobina, ed anche più lentamente degli enzimi idrolitici. Suggeste una spiegazione di ciò.
25. **Problema** Qual è il vantaggio di avere trasportatori di elettroni mobili oltre a grossi complessi di trasportatori legati alla membrana?
26. **Problema** Qual è il vantaggio di avere un ciclo Q per il trasporto degli elettroni, nonostante la sua complessità?
27. **Problema** Perché le reazioni del trasferimento degli elettroni dei citocromi differiscono per i potenziali standard di ossido-riduzione, anche se tutte le reazioni implicano la stessa reazione di ossido-riduzione del ferro?
28. **Problema** C'è una differenza fondamentale tra le reazioni a uno e a due elettroni nella catena di trasporto degli elettroni?
29. **Problema** Qual è la ragione fondamentale delle differenze delle proprietà spettroscopiche tra i citocromi?
30. **Problema** Quali potrebbero essere alcune delle difficoltà che si incontrano nella rimozione dei complessi della catena respiratoria dalla membrana mitocondriale interna per studiarne le proprietà?

20.4 Il collegamento fra il trasporto degli elettroni e la fosforilazione

31. **Domanda di verifica** Descrivete il ruolo della porzione F_1 dell'ATP sintasi nella fosforilazione ossidativa.
32. **Domanda di verifica** L'ATP sintasi mitocondriale è una proteina integrale di membrana?
33. **Domanda di verifica** Definite il rapporto P/O e dite perché è importante.
34. **Domanda di verifica** In che senso l'ATP sintasi mitocondriale è una proteina motore?
35. **Problema** Qual è il rapporto approssimativo P/O che ci si può attendere se i mitocondri intatti sono incubati in presenza di ossigeno, con aggiunta di succinato?
36. **Problema** Perché è difficile determinare un valore esatto del rapporto P/O?
37. **Problema** Quali sono alcune difficoltà per la determinazione

del numero esatto di protoni pompato attraverso la membrana mitocondriale interna dai complessi della catena respiratoria?

20.5 Il meccanismo di accoppiamento nella fosforilazione ossidativa

38. **Domanda di verifica** Riassumete brevemente i concetti principali dell'ipotesi dell'accoppiamento chemiosmotico.
39. **Domanda di verifica** Perché la produzione di ATP necessita di una membrana mitocondriale intatta?
40. **Connessioni biochimiche** Descrivete brevemente il ruolo dei disaccoppianti nella fosforilazione ossidativa.
41. **Domanda di verifica** Qual è il ruolo del gradiente di protoni nell'accoppiamento chemiosmotico?
42. **Connessioni biochimiche** Perché una volta il dinitrofenolo era utilizzato come farmaco dietetico?
43. **Problema** Criticate la seguente affermazione: "Il ruolo del gradiente di protoni nella chemiosmosi è di fornire energia per fosforilare l'ADP".

20.6 Gli inibitori della respirazione possono essere utilizzati per lo studio del trasporto degli elettroni

44. **Domanda di verifica** Qual è l'effetto di ognuna delle seguenti sostanze sulla catena di trasporto degli elettroni e sulla produzione di ATP? Indicate in particolare su quali reazioni agisce.
 - (a) Azide
 - (b) Antimicina A
 - (c) Amytal
 - (d) Rotenone
 - (e) Dinitrofenolo
 - (f) Gramicidina A
 - (g) Monossido di carbonio
45. **Domanda di verifica** Come possono essere utilizzati gli inibitori della respirazione per indicare l'ordine dei componenti nella catena di trasporto degli elettroni?
46. **Problema** Qual è la differenza fondamentale tra i disaccoppianti e gli inibitori della respirazione?

20.7 I sistemi navetta

47. **Domanda di verifica** Perché la resa di ATP dell'ossidazione completa di una molecola di glucosio nel muscolo e nel cervello è diversa da quella che avviene in fegato, cuore e reni? Qual è il motivo fondamentale di questa differenza?
48. **Problema** Lo shuttle malato-aspartato ha una resa di circa 2,5 moli di ATP per ogni mole di NADH citosolico. Perché la natura utilizza lo shuttle glicerolo-fosfato, che ha una resa di soli 1,5 moli di ATP?

20.8 La resa di ATP dall'ossidazione completa del glucosio

49. **Esercizio** Che resa di ATP ci si può aspettare dall'ossidazione completa di ognuno dei seguenti substrati da parte della reazione della glicolisi, del ciclo dell'acido citrico e della fosforilazione ossidativa?
 - (a) Fruttosio-1,6-bisfosfato
 - (b) Glucosio
 - (c) Fosfoenolpiruvato
 - (d) Gliceraleide-3-fosfato
 - (e) NADH
 - (f) Piruvato
50. **Esercizio** La variazione di energia libera ($\Delta G^\circ'$) per l'ossidazione del complesso citocromo aa_3 da parte dell'ossigeno molecolare è $-102,3 \text{ kJ} = -24,5 \text{ kcal}$ per ogni mole di coppie di elettroni trasferite. Qual è il numero massimo di molecole di ATP che si potrebbero produrre nel processo? Quante moli di ATP sono di fatto prodotte? Qual è l'efficienza del processo, espressa come percentuale?

procede mediante una via diversa dalla β -ossidazione. L'acetyl-CoA è trasportato nel citosol dove viene convertito a malonil-CoA. Alcune delle più importanti differenze fra il catabolismo e l'anabolismo degli acidi grassi sono la richiesta della biotina nell'anabolismo, ma non nel catabolismo, e la necessità di NADPH nell'anabolismo invece del NAD⁺ nel catabolismo.

Qual è il meccanismo d'azione dell'acido grasso sintasi? La biosintesi degli acidi grassi avviene nel citosol, ed è catalizzata da un complesso multienzimatico organizzato chiamato acido grasso sintasi.

Come avviene la biosintesi dei fosfoacilgliceroli? La maggior parte dei lipidi complessi, come i triacilgliceroli, i fosfoacilgliceroli e gli sfingolipidi, ha come precursori gli acidi grassi. Nel caso dei fosfoacilgliceroli, due acidi grassi e acido fosforico sono aggiunti ad uno scheletro di glicerolo. L'aggiunta dei gruppi rimanenti richiede nucleosidi trifosfati e differisce tra mammiferi e batteri.

Come avviene la biosintesi degli sfingolipidi? Questi acidi grassi sono legati allo scheletro della sfingosina per

produrre ceramide. Altri componenti, tra cui gli zuccheri, sono aggiunti a produrre gangliosidi e altri composti.

Perché l'HMG-CoA è molto importante nella biosintesi del colesterolo? Nel caso degli steroidi, il composto di partenza è l'acetyl-CoA. Le unità di isoprene sono formate dall'acetyl-CoA nelle prime fasi di un lungo processo, che porta infine alla sintesi di colesterolo. L'HMG-CoA è un intermedio chiave e la sua formazione è un target per farmaci che abbassano il livello di colesterolo.

Come il colesterolo funge da precursore di altri steroidi? Il colesterolo è il precursore di altri steroidi, tra cui acidi biliari, ormoni sessuali, glucocorticoidi e mineralcorticoidi.

Qual è il ruolo del colesterolo nelle malattie cardiache? Il colesterolo deve essere trasportato nel flusso sanguigno; questo coinvolge un certo numero di classi di lipoproteine. Una classe è quella delle LDL (lipoproteine a bassa densità o "colesterolo cattivo"), un'altra sono le HDL (lipoproteine ad alta densità o "colesterolo buono"). Sia il colesterolo della dieta che fattori genetici influenzano il ruolo del colesterolo nelle malattie cardiache.

Esercizi di ricapitolazione

21.1 I lipidi sono coinvolti nella produzione e nella conservazione dell'energia

1. **Problema** (a) I principali composti di deposito dell'energia negli animali sono i grassi (ad eccezione che nei muscoli). Quale potrebbe essere il vantaggio di ciò? (b) Perché le piante non utilizzano i grassi/oli come composti più importanti di deposito dell'energia?

21.2 Il catabolismo dei lipidi

- Domanda di verifica** Qual è la differenza tra le fosfolipasi A₁ ed A₂?
- Domanda di verifica** In che modo sono attivate, con gli ormoni, le lipasi?
- Domanda di verifica** Qual è lo scopo metabolico del legame di un acido grasso con il coenzima A?
- Domanda di verifica** Schematizzate il ruolo della carnitina nel trasporto nel mitocondrio delle molecole di acil-CoA. Quanti enzimi sono implicati? Come sono denominati?
- Domanda di verifica** Qual è la differenza tra l'ossidazione catalizzata dall'acil-CoA deidrogenasi e quella catalizzata dalla β -idrossi-CoA deidrogenasi?
- Domanda di verifica** Disegnate un acido grasso a sei atomi di carbonio e mostrate dove si crea il doppio legame durante la prima reazione della β -ossidazione. Qual è l'orientamento di questo legame?
- Problema** Perché la degradazione dell'acido palmitico (si veda Esercizio 12) ad otto molecole di acetyl-CoA richiede sette, e non otto, cicli del processo di β -ossidazione?
- Problema** Data la natura ormonale dell'attivazione delle lipasi, quale via dei carboidrati sarebbe nelle stesse condizioni attivata o inibita?

21.3 La resa energetica dell'ossidazione degli acidi grassi

- Domanda di verifica** Confrontate le rese energetiche del metabolismo ossidativo del glucosio e dell'acido stearico. Per essere precisi, calcolatele sulla base degli equivalenti di ATP per atomo di carbonio, e anche di equivalenti di ATP per grammo.
- Domanda di verifica** Che cosa genera più ATP – gli equivalenti

di elettroni ridotti formati nella β -ossidazione attraverso la catena di trasporto degli elettroni o l'acetyl-CoA generato dalla β -ossidazione attraverso il ciclo dell'acido citrico e la catena di trasporto degli elettroni?

- Esercizio** Calcolate la resa di ATP per l'ossidazione completa di una molecola di acido palmitico (16 carboni). In che modo questo valore differisce da quello ottenuto per l'acido stearico (18 carboni)? Considerate le fasi della β -ossidazione, il procedere dell'acetyl-CoA nel ciclo dell'acido citrico ed il trasporto degli elettroni.
- Problema** Si dice frequentemente che i cammelli immagazzinano acqua nelle loro gobbe per i lunghi viaggi nel deserto. Come modifichereste questa affermazione sulla base delle informazioni acquisite in questo capitolo?

21.4 Il catabolismo degli acidi grassi insaturi e degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio

- Domanda di verifica** Descrivete brevemente in che modo la β -ossidazione di un acido grasso a catena dispari si differenzia da quella di un acido grasso a catena pari.
- Domanda di verifica** Sentite dire da un collega che l'ossidazione degli acidi grassi insaturi richiede esattamente lo stesso gruppo di enzimi dell'ossidazione degli acidi grassi saturi. L'affermazione è vera o falsa? Perché?
- Domanda di verifica** Quali sono gli enzimi specifici necessari per β -ossidare un acido grasso monoinsaturo?
- Domanda di verifica** Quali sono gli enzimi specifici necessari per β -ossidare un acido grasso polinsaturo?
- Esercizio** Calcolate la resa netta di ATP dalla degradazione completa di un acido grasso saturo contenente 17 atomi di carbonio. Considerate le reazioni di β -ossidazione, il procedere dell'acetyl-CoA attraverso il ciclo dell'acido citrico ed il trasporto degli elettroni.
- Esercizio** Calcolate la resa netta di ATP dall'acido oleico (18:1 Δ^9). *Suggerimento:* ricordate la reazione che evita l'acil-CoA deidrogenasi.
- Esercizio** Calcolate la resa netta di ATP dall'acido linoleico (18:2 $\Delta^9,12$). Assumete per questo calcolo che la perdita di un NADPH equivalga alla perdita di un NADH.

31. **Problema** Quanti cicli di β -ossidazione sono richiesti per un acido grasso a 17 atomi di carbonio?

32. **Problema** È stato più volte asserito che dagli acidi grassi non si può ottenere una resa *netta* in carboidrati. Perché si ritiene che un acido grasso a catena dispari in piccola misura contraddica questa regola?

21.5 I corpi chetonici

23. **Domanda di verifica** In quali condizioni si producono i corpi chetonici?

24. **Domanda di verifica** Schematizzate brevemente le reazioni della produzione dei chetoni.

25. **Problema** Per quale ragione un medico dovrebbe odorare l'alito di un paziente diabetico appena svenuto?

26. **Problema** Perché un alcolista può avere "il fegato grasso"?

27. **Problema** Un amico che sta provando a dimagrire si lamenta del sapore strano che sente in bocca al mattino. Dice che sembra che le otturazioni si stiano sciogliendo e prova un gusto metallico che lo infastidisce. Che cosa gli rispondereste?

21.6 La biosintesi degli acidi grassi

28. **Domanda di verifica** Mettete a confronto le vie di degradazione e biosintesi degli acidi grassi. Quali caratteristiche hanno in comune queste due vie? In che cosa sono diverse?

29. **Domanda di verifica** Schematizzate le reazioni della produzione di malonil-CoA da acetil-CoA.

30. **Domanda di verifica** Qual è l'importanza metabolica del malonil-CoA?

31. **Domanda di verifica** Nella degradazione degli acidi grassi, incontriamo il coenzima A, la matrice mitocondriale, i doppi legami *trans*, gli L-alcoli, la β -ossidazione, il NAD⁺ e il FAD, l'acetil-CoA ed enzimi individuali. Quali sono i corrispondenti nella sintesi degli acidi grassi?

32. **Domanda di verifica** In che cosa differiscono le due reazioni redox di β -ossidazione rispetto alle loro controparti nella sintesi degli acidi grassi?

33. **Domanda di verifica** In che cosa l'ACP è simile al coenzima A? In che cosa si differenzia?

34. **Domanda di verifica** Qual è lo scopo di avere un'ACP come gruppo attivante distinto nella sintesi degli acidi grassi?

35. **Domanda di verifica** Perché il linoleato ed il linolenato sono considerati acidi grassi essenziali? Quale reazione della produzione degli acidi grassi polinsaturi non può avvenire nei mammiferi?

36. **Problema** È possibile convertire gli acidi grassi in altri lipidi senza intermedi di acil-CoA?

37. **Problema** Qual è il ruolo del citrato nel trasporto dei gruppi acetile dal mitocondrio al citosol?

38. **Problema** Nel mitocondrio, è presente una carnitina aciltransferasi a catena corta che può prendere i gruppi acetile dell'acetil-CoA e trasferirli alla carnitina. Come si può correlare ciò con la biosintesi dei lipidi?

39. **Problema** Nella sintesi degli acidi grassi, il malonil-CoA, e non l'acetil-CoA, è usato come "gruppo condensante". Suggeste una ragione di ciò.

40. **Problema** (a) Dove abbiamo incontrato in un precedente capitolo qualcosa di paragonabile all'azione della proteina trasportatrice di acili (ACP) della sintesi degli acidi grassi? (b) Qual è la caratteristica cruciale della funzione dell'ACP?

21.7 La sintesi degli acilgliceroli e dei lipidi complessi

41. **Domanda di verifica** Qual è la fonte di glicerolo nella sintesi dei triacilgliceroli?

42. **Domanda di verifica** Qual è il gruppo attivante usato nella formazione dei fosfoacilgliceroli?

43. **Domanda di verifica** Quali sono le differenze tra la sintesi della fosfatidiletanolamina nei procarioti e negli eucarioti?

21.8 La biosintesi del colesterolo

44. **Domanda di verifica** Qual è l'importanza delle unità di isoprene nella biosintesi del colesterolo ed in altre vie biochimiche?

45. **Domanda di verifica** È preparato un campione di colesterolo, utilizzando come precursore acetil-CoA marcato con ¹⁴C sul gruppo carbossilico. Quali atomi di carbonio del colesterolo sono marcati?

46. **Domanda di verifica** Quali molecole hanno come precursore il colesterolo?

47. **Problema** Quale caratteristica strutturale hanno in comune tutti gli steroidi? Quali sono le implicazioni biosintetiche di questa caratteristica comune?

48. **Problema** Nella sintesi degli steroidi, lo squalene è ossidato a squalene epossido. Questa reazione è in qualche modo inusuale, perché sia un agente riducente (NADPH) che un agente ossidante (O₂) sono necessari. Perché sono richiesti entrambi?

49. **Problema** Perché il colesterolo deve essere veicolato da proteine di trasporto e non può circolare liberamente nel sangue?

50. **Problema** Un farmaco che riduce il colesterolo nel sangue ha l'effetto di stimolare la produzione dei sali biliari. In che modo da ciò può conseguire un abbassamento del colesterolo nel sangue? *Suggerimento:* ci sono due modi.

Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 1

1.1 Temi fondamentali

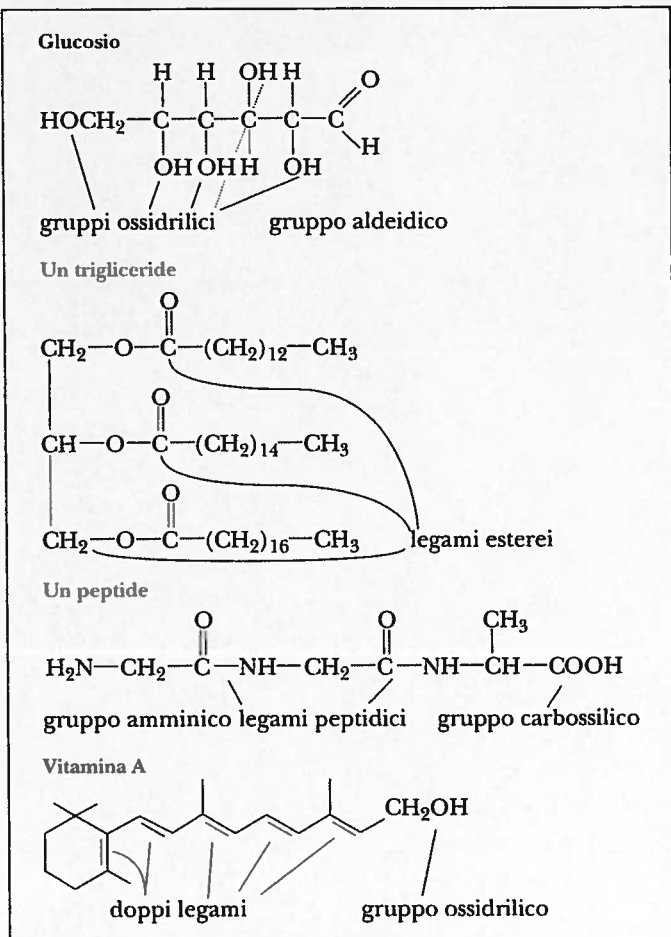
- Un polimero è una molecola molto grande, costituita da piccole unità (monomeri) unite tra loro. Una proteina è un polimero formato da aminoacidi uniti tra loro. Un acido nucleico è un polimero formato da nucleotidi uniti tra loro. La catalisi permette di incrementare la velocità delle reazioni chimiche, rispetto a reazioni non catalizzate. I catalizzatori biologici sono generalmente proteine; le uniche eccezioni sono alcuni tipi di RNA, che possono catalizzare alcune reazioni del loro metabolismo. Il codice genetico è il mezzo mediante il quale l'informazione sulla struttura e funzione di tutto ciò che è vivente è trasmessa da una generazione alla successiva. La sequenza di purine e pirimidine nel DNA contiene il codice genetico (in alcuni virus il materiale codificante è l'RNA).

1.2 Fondamenti chimici della biochimica

- L'elenco seguente fornisce l'accoppiamento corretto tra i gruppi funzionali e i composti che contengono quel gruppo funzionale.

Gruppo amminico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$
Gruppo carbonilico (chetone)	CH_3COCH_3
Gruppo ossidrilico	CH_3OH
Gruppo carbossilico	CH_3COOH
Gruppo carbonilico (aldeide)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$
Gruppo tiolico	CH_3SH
Legame estereo	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$
Doppio legame	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}_3$
Legame ammidico	$\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$
Etere	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$

- I gruppi funzionali dei composti sono:



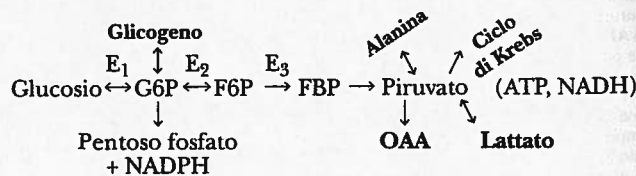
- Prima del 1828, la teoria del vitalismo sosteneva che i composti organici potessero essere sintetizzati soltanto dagli organismi viventi e che non fossero alla portata delle ricerche di laboratorio. La sintesi di Wöhler mostrò che i composti organici, come quelli inorganici, non richiedevano una spiegazione vitalistica, ma piuttosto obbedivano alle leggi della chimica e della fisica ed erano perciò oggetto delle ricerche di laboratorio. In seguito il concetto fu esteso alla disciplina biochimica, molto più complessa ma anch'essa oggetto di sperimentazione.
- L'urea, come tutti i composti organici, ha la stessa struttura molecolare che sia prodotta o meno da un organismo vivente.
-

Chimica	Organica	Biochimica
Solventi	Variabili (maleodoranti)	Acqua (generalmente)
Concentrazioni	Alte	Basse (mM, μM , nM)
Uso di un catalizzatore?	Solitamente no	Quasi sempre (enzimi)
Velocità	Min, h, gg	μsec , nsec
Temperatura	Variabile (alta)	Isotermica, temperatura ambiente
Resa	Scarsa-buona (90%)	Alta (può raggiungere il 100%)
Reazioni secondarie	Spesso*	No
Controllo interno	Poco	Molto elevato**
Polimeri (come prodotto)	Solitamente no	Generalmente si (proteine, acidi nucleici, saccaridi)
Forza di legame	Elevata (covalente)	Elevata, debole (nei polimeri)
Distanze di legame	Non rilevanti	Rilevanti
Compartimentazione	No	Si (specialmente negli eucarioti)
Enfasi	Una reazione	Vie interconnesse (livelli di controllo** alternativi)†
Sistema	Chiuso o aperto	Aperto (aumentare $+\Delta G$)

* Esempio di reazioni collaterali: Glucosio \rightarrow G6P \rightarrow G1P \rightarrow G2P.

** Livelli di controllo: enzima, ormone, gene.

† Esempio di alternative:



- 5; 7 se sono possibili i due derivati del ciclopropano.
- 13 alcoli diversi, 11 aldeidi/chetoni, 10 epossidi e 10 eteri.
- Gli esordi della biologia: l'origine della vita**
- Si ritiene generalmente che il carbonio sia la base possibile di tutte le forme di vita, terrestri o extraterrestri.
- 18 residui darebbero 20^{18} oppure $2,6 \times 10^{23}$ possibilità. Perciò sarebbero necessari 19 residui per avere almeno un numero di Avogadro ($6,022 \times 10^{23}$) di possibilità.
- Il numero è 4^{40} o $1,2 \times 10^{24}$, cioè due volte il numero di Avogadro.
- L'RNA è capace sia di codificare che di catalizzare.
- La catalisi consente agli organismi viventi di fare avvenire le reazioni chimiche in modo molto più efficace che in assenza di catalizzatore.
- Due fra i vantaggi più ovvi sono la specificità e la velocità; lavorano inoltre a temperatura costante o producono poco calore.
- Il codice permette la riproduzione delle cellule.
- Rispetto al codice, sono stati prodotti polinucleotidi di tipo RNA da monomeri, in assenza di RNA preesistente da copiare o di un enzima che catalizzasse il processo. L'osservazione che delle molecole esistenti di RNA potessero catalizzare la loro trasformazione, suggerisce che il DNA abbia avuto un ruolo nella catalisi. Con questo doppio ruolo, l'RNA può essere stata la molecola originaria per codificare macromolecole informazionali all'origine della vita.

17. È improbabile che le cellule possano essere nate come puro citoplasma, senza una membrana plasmatica. La presenza della membrana protegge i componenti cellulari dall'ambiente esterno ed evita che si disperdano. Le molecole all'interno di una cellula possono reagire con più facilità se sono vicine tra loro.

1.4 La più grande distinzione biologica – procarioti ed eucarioti

18. Le 5 differenze tra procarioti ed eucarioti sono: (1) i procarioti non hanno un nucleo ben definito, mentre gli eucarioti hanno un nucleo delimitato da una doppia membrana rispetto al resto della cellula. (2) I procarioti hanno solo una membrana plasmatica (cellulare); gli eucarioti hanno un sistema complesso di membrane interne. (3) Le cellule eucariotiche contengono organelli delimitati da membrana, le cellule procariotiche no. (4) Le cellule eucariotiche sono di norma più grandi di quelle procariotiche. (5) I procarioti sono organismi a singola cellula, mentre gli eucarioti possono essere sia pluricellulari che unicellulari.
19. La sintesi proteica ha luogo sui ribosomi, sia nei procarioti che negli eucarioti. Negli eucarioti i ribosomi possono essere legati al reticolo endoplasmatico o liberi nel citoplasma; nei procarioti, si trovano soltanto liberi nel citoplasma.

1.5 Le cellule procariotiche

20. È improbabile che nei batteri si trovassero i mitocondri. Questi organelli eucariotici sono delimitati da una doppia membrana e i batteri non hanno un sistema di membrane interne. I mitocondri che si trovano nelle cellule eucariotiche sono all'incirca delle stesse dimensioni della maggior parte dei batteri.

1.6 Le cellule eucariotiche

21. Si veda la Sezione 1.6 per le funzioni delle parti di una cellula animale, mostrate in Figura 1.10(a).
22. Si veda la Sezione 1.6 per le funzioni delle parti di una cellula vegetale, mostrate in Figura 1.10(b).
23. Nelle piante verdi la fotosintesi avviene nel sistema di membrane dei cloroplasti, che sono dei grossi organelli delimitati da membrana. Nei batteri fotosintetici si trovano estensioni della membrana plasmatica nell'interno della cellula chiamate cromatofori, che sono i siti della fotosintesi.
24. I nuclei, i mitocondri e i cloroplasti sono delimitati da una doppia membrana.
25. I nuclei, i mitocondri e i cloroplasti contengono tutti DNA. Il DNA che si trova nei mitocondri e nei cloroplasti è diverso da quello nucleare.
26. I mitocondri svolgono una certa percentuale delle reazioni ossidative della cellula che producono energia. Sono i siti primari della sintesi di ATP.
27. L'apparato del Golgi è coinvolto nel legame dei carboidrati alle proteine e nella secrezione delle sostanze dalla cellula. I lisosomi contengono enzimi idrolitici, i perossisomi contengono la catalasi (necessaria per il metabolismo dei perossidi) e i gliossisomi contengono gli enzimi necessari alle piante per il ciclo del gliossilato. Tutti questi organelli appaiono come delle sacche appiattite circondate da una singola membrana.

1.7 Cinque regni, tre domini

28. Il regno Monera comprende i batteri (ad es. *E. coli*) e i cianobatteri. I Protisti comprendono *Euglena*, *Volvox*, *Amoeba* e *Paramecium*. I funghi comprendono le muffe e i funghi propriamente detti. Le piante comprendono i licopodi e le querce. Gli animali comprendono i ragni, i salmoni, i serpenti a sonagli, i pettirossi e i cani.
29. Il regno Monera consiste di procarioti. Gli altri quattro regni consistono di eucarioti.
30. Il regno Monera è suddiviso nei domini Eubacteria ed Archaea sulla base delle differenze biochimiche. Il dominio degli Eukaria consiste di quattro regni di organismi eucariotici.

1.8 C'è un punto d'incontro per tutte le cellule?

31. Il vantaggio principale è quello di avere compartimenti (organelli) con funzioni specializzate (e perciò suddivisione del lavoro). Un altro vantaggio è che le cellule possono essere più grandi senza che il rapporto superficie-volume sia critico grazie alla compartimentazione.
32. Si veda la discussione sulla teoria endosimbiotica nella Sezione 1.8.
33. Si veda la Domanda 32. La suddivisione del lavoro nella cellula determina un'efficienza maggiore e un aumento del numero di individui. A sua volta questo consente maggiori opportunità per l'evoluzione e la distinzione in specie.

1.9 Dinamiche biochimiche

34. I processi che liberano energia sono favoriti.

1.10 L'energia e le sue forme

35. Il termine "spontaneo" significa energeticamente favorevole. Non significa necessariamente veloce.

1.11 Spontaneità nelle reazioni biochimiche

36. Un sistema consiste di un soluto non polare e acqua. Le molecole quando iniziano a formare la soluzione sono in una condizione di disordine, per cui il ΔS_{mix} è positivo, ma piccolo. Il ΔS_{mix} è negativo e grande, per-

ché è conseguenza di una variazione di entalpia sfavorevole associata alla formazione della soluzione (ΔH_{mix}).

37. I processi (a) e (b) sono spontanei, mentre i processi (c) e (d) non lo sono. I processi spontanei comportano un aumento del disordine (aumento di entropia universale, ΔH_{mix}) e hanno un ΔG° negativo, a temperatura e pressione costanti, mentre una situazione opposta è vera per un processo non spontaneo.
38. In tutti i casi, vi è un aumento di entropia e lo stato finale di un processo ha più possibilità di possedere disposizioni di molecole a caso rispetto allo stato iniziale.
39. Dall'equazione che prevede il prodotto di ΔS per T , si evince che il valore di ΔG è temperatura dipendente.
40. Se si considera l'entropia come il valore della dispersione di energia, quando ci troviamo ad alte temperature, le molecole possono avere più possibilità di aumentare le loro disposizioni, perché si ha un aumento della cinetica molecolare.
41. Considerando un valore di ΔS positivo, un aumento di temperatura comporterà un aumento del contributo di $-\Delta G$ della componente dell'entropia alla variazione di energia complessiva.
42. Uno scambio di calore, che porta ad un raffreddamento, è indice di un cambiamento di entalpia, o di ΔH , nella variazione di energia totale. La variazione di entropia dovrebbe essere abbastanza alta da compensare la variazione di entalpia e sommarsi al $-\Delta G$ complessivo.
43. Ci sono molti modi in cui due molecole, ADP e P_i, possano disporsi a caso rispetto ad una singola molecola di ATP: in questo caso aumenterebbe l'entropia.

1.12 La termodinamica e la vita

44. L'abbassamento di entropia richiesto per dare origine agli organelli comporta una maggiore entropia nell'ambiente, così aumenta l'entropia dell'universo nell'insieme.
45. La compartimentazione degli organelli porta i componenti delle reazioni a trovarsi in prossimità gli uni con gli altri. La variazione di energia della reazione non è interessata, ma la disponibilità dei componenti la richiede per procedere più velocemente.
46. La molecola di DNA avrà un'entropia più alta quando è separata nei singoli filamenti, questo perché ci sono due filamenti isolati invece che un doppio filamento, ed i singoli filamenti posseggono una più alta mobilità conformazionale.
47. Si veda la risposta alla Domanda 43. È alquanto improbabile che le cellule si siano originate come citoplasma puro, ma la questione della vicinanza dei reagenti è qui più rilevante rispetto alla variazione di energia di una data reazione.
48. Sarebbe improbabile che le cellule di un tipo a noi sconosciute possano evolversi da una massa di gas. La mancanza di solidi e di liquidi sulla base dei quali si possano formare aggregati potrebbe fare un'enorme differenza.
49. La disponibilità di materiali differenti dai quali avrebbe avuto origine la Terra e le condizioni di temperatura e di pressione erano molto diverse da oggi.
50. Su Marte, perché le condizioni sono molto simili a quelle della Terra.
51. Un numero energeticamente favorevole di interazioni guida il processo di ripiegamento delle proteine, aumentando, alla fine, l'entropia dell'Universo.
52. La fotosintesi è un processo endoergonico, richiedendo energia luminosa dal Sole. La completa ossidazione aerobica del glucosio è esoergonica ed è la fonte di energia per molti organismi, compreso l'uomo. Sarebbe ragionevole aspettarsi che i due processi avvengano in ordine differente, provvedendo a fornire energia per la reazione endoergonica.

Capitolo 2

2.1 Acqua e polarità

1. La disponibilità unica dell'acqua a formare legami idrogeno determina le proprietà di molte biomolecole importanti. L'acqua inoltre può agire sia da acido che da base e ciò le conferisce una grande versatilità nelle reazioni biochimiche.
2. Se gli atomi non differissero in elettronegatività, non si avrebbero legami polari. Questo avrebbe un drastico effetto su tutte le reazioni che interessano gruppi funzionali contenenti ossigeno o azoto, ovvero nella maggior parte delle reazioni biochimiche.

2.2 Legami idrogeno

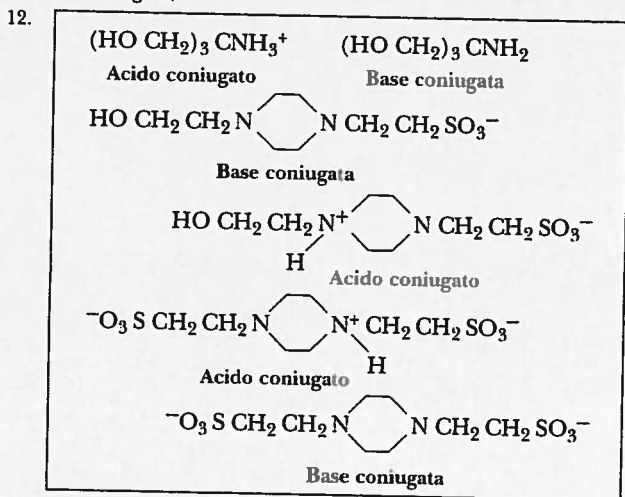
3. I legami idrogeno nelle proteine e negli acidi nucleici sono una parte importante della loro struttura.
4. La replicazione del DNA e la sua trascrizione in RNA richiede legami idrogeno tra le basi complementari che mantengono uniti i filamenti dell'elica del DNA.
5. Il legame C-H non è sufficientemente polare da creare una distribuzione degli elettroni molto disomogenea alle sue estremità. Inoltre, non ci sono coppie di elettroni spaiati che fungano da accettori di legami idrogeno.

A-2 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

- Molte molecole possono formare legami idrogeno. Esempi possono essere H_2O , CH_3OH , NH_3 .
- Perché un legame sia definito legame idrogeno, deve avere un idrogeno legato covalentemente ad O, N o F. Questo idrogeno forma quindi un legame idrogeno con un altro O, N o F.
- In un dimerico di acido acetico unito da legami idrogeno, la porzione $-OH$ del gruppo carbossilico sulla molecola 1 forma un legame idrogeno con la porzione $-C=O$ del gruppo carbossilico sulla molecola 2, e viceversa.
- Glucosio = 17, sorbitolo = 18, ribitolo = 15; ogni gruppo alcolico può formare legami con 3 molecole d'acqua e l'ossigeno dell'anello con 2. Gli zuccheri alcolici legano più degli zuccheri corrispondenti.
- Gli ioni carichi positivamente si legheranno agli acidi nucleici come conseguenza dell'attrazione elettrostatica con i gruppi fosfato carichi negativamente.

2.3 Acidi, basi e pH

- (a) $(CH_3)_3NH^+$ (acido coniugato), $(CH_3)_3N$ (base coniugata)
 (b) $^+H_3N-CH_2-COOH$ (acido coniugato), $^+H_3N-CH_2-COO^-$ (base coniugata)
 (c) $^+H_3N-CH_2-COO^-$ (acido coniugato), $H_2N-CH_2-COO^-$ (base coniugata)
 (d) $^-OOC-CH_2-COOH$ (acido coniugato), $^-OOC-CH_2-COO^-$ (base coniugata)
 (e) $^-OOC-CH_2-COOH$ (base coniugata), $HOOC-CH_2-COOH$ (acido coniugato)



- L'aspirina è elettricamente neutra al pH dello stomaco e può passare attraverso la membrana più facilmente che nell'intestino tenue.
- La definizione di pH è $-\log[H^+]$. Per la funzione logaritmica, una variazione di concentrazione di 10 volte porterà a una variazione di pH di 1. Il log di 10 è 1, il log di 100 è 2, ecc.
- Plasma sanguigno, pH 7,4
 Succo d'arancia, pH 3,5
 Urina umana, pH 6,2
 Ammoniaca per uso domestico, pH 11,5
 Succo gastrico, pH 1,8
- Saliva, pH 6,5
 Fluido intracell. (fegato), pH 6,9
 Succo di pomodoro, pH 4,3
 Succo di pompelmo, pH 3,2
- Saliva, pH 6,5
 Fluido intracell. (fegato), pH 6,9
 Succo di pomodoro, pH 4,3
 Succo di pompelmo, pH 3,2

$[H^+] = 4,0 \times 10^{-8} M$
$[H^+] = 3,2 \times 10^{-4} M$
$[H^+] = 6,3 \times 10^{-7} M$
$[H^+] = 3,2 \times 10^{-12} M$
$[H^+] = 1,6 \times 10^{-2} M$
$[H^+] = 3,2 \times 10^{-7} M$
$[H^+] = 1,6 \times 10^{-7} M$
$[H^+] = 5,0 \times 10^{-5} M$
$[H^+] = 6,3 \times 10^{-4} M$
$[OH^-] = 3,2 \times 10^{-8} M$
$[OH^-] = 7,9 \times 10^{-8} M$
$[OH^-] = 2,0 \times 10^{-10} M$
$[OH^-] = 1,6 \times 10^{-11} M$

2.4 Le curve di titolazione

- (a) La costante numerica è uguale al rapporto tra la concentrazione dei prodotti della dissociazione e la concentrazione della forma acida non dissociata: $([H^+][A^-])/[HA]$.
 (b) La descrizione qualitativa o quantitativa di quanto acido (HA) si dissocia a ione idrogeno.
 (c) La proprietà di una molecola che ha una regione polare e una non polare.
 (d) La quantità di acido o base che si può aggiungere a un tampone prima di notare una netta variazione di pH.
 (e) Il punto di una curva di titolazione in cui l'acido o la base aggiunta è uguale alla quantità di tampone inizialmente presente.
 (f) La proprietà di una molecola rapidamente solubile in acqua (cioè, che è "amico dell'acqua").
 (g) La proprietà di una molecola insolubile in acqua (cioè, che ha "paura dell'acqua").

- (h) La proprietà di una molecola che non è solubile in acqua. La proprietà di un legame covalente in cui c'è una condivisione equa degli elettroni e non si ha momento dipolare (carica parziale).
- (i) La proprietà di una molecola solubile in acqua. La proprietà di un legame covalente in cui c'è una condivisione non equa degli elettroni e si ha momento dipolare (carica parziale).
- (j) Un esperimento in cui si aggiunge gradualmente acido o base ad una soluzione di un composto e si misura il pH in funzione della quantità di sostanza aggiunta.

19. Per ottenere una curva di titolazione simile a quella in Figura 2.15, dobbiamo titolare un composto che abbia un pK_a il più possibile vicino a quello di $H_2PO_4^-$. Secondo la Tabella 2.8, MOPS ha un pK_a di 7,2, che è il valore più vicino.

20. La curva di titolazione per il TRIS sarebbe spostata verso destra rispetto a quella per il fosfato. Il punto di flesso si troverebbe a pH 8,3 piuttosto che a pH 7,2.

2.5 I tamponi

- Il pK di un tampone sarà vicino al valore di pH del tampone desiderato e la sostanza scelta non interferirà con la reazione considerata.
- L'intervallo di pH ottimale è quello che prevede la differenza di una sola unità più alta o più bassa rispetto al suo pK_a .
- Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$5,00 = 4,76 + \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$0,24 = \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = \log \text{ inverso di } 0,24 = \frac{1,7}{1}$$

24. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$4,00 = 4,76 + \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$-0,76 = \log \left(\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} \right)$$

$$\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = \log \text{ inverso di } -0,76 = \frac{0,17}{1}$$

25. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[TRIS]}{[TRIS-H^+]}\right)$$

$$8,7 = 8,3 + \log \left(\frac{[TRIS]}{[TRIS-H^+]}\right)$$

$$0,4 = \log \left(\frac{[TRIS]}{[TRIS-H^+]}\right)$$

$$\frac{[TRIS]}{[TRIS-H^+]} = \text{inverso di } \log 0,4 = \frac{2,5}{1}$$

26. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[HEPES]}{[HEPES-H^+]}\right)$$

$$7,9 = 7,55 + \log \left(\frac{[HEPES]}{[HEPES-H^+]}\right)$$

$$0,35 = \log \left(\frac{[HEPES]}{[HEPES-H^+]}\right)$$

$$\frac{[HEPES]}{[HEPES-H^+]} = \log \text{ inverso di } 0,35 = \frac{2,2}{1}$$

27. A pH 7,5, il rapporto $[\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ è 2/1 ($\text{p}K_a$ di $\text{H}_2\text{PO}_4^- = 7,2$), calcolato utilizzando l'equazione di Henderson-Hasselbalch. K_2HPO_4 è la fonte della forma basica, e si deve aggiungere HCl per convertire un terzo di esso nella forma acida, secondo il rapporto base/acido di 2/1. Pesate 8,7 g di K_2HPO_4 (0,050 moli, in base al peso formula di 174 g/mole), scioglietelo in una piccola quantità di acqua distillata, aggiungete 16,7 mL di HCl 1 M (libera 1/3 di 0,05 moli di idrogenioni, che convertono un terzo delle 0,05 moli di HPO_4^{2-} in H_2PO_4^-) e diluite a 1 litro la miscela risultante.

28. Un rapporto 2/1 tra la forma basica e la forma acida è ancora necessario, perché il pH del tampone è lo stesso in entrambi i problemi. NaH_2PO_4 è la fonte della forma acida e si deve aggiungere NaOH per convertire due terzi di esso nella forma basica. Pesate 6,0 g di NaH_2PO_4 (0,05 moli, in base al peso formula di 120 g/mole), scioglietelo in una piccola quantità di acqua distillata, aggiungete 33,3 mL di NaOH 1 M (libera 2/3 di 0,05 moli di ione idrossido, che converte due terzi delle 0,05 moli di H_2PO_4^- in HPO_4^{2-}), e diluite a 1 litro la miscela risultante.

29. Dopo il miscelamento, la soluzione tampone (100 mL) contiene acido lattico 0,75 M e lattato di sodio 0,25 M. Il $\text{p}K_a$ dell'acido lattico è 3,86. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-]}{[\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 3,86 + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-]}{[\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 3,86 + \log(0,25 \text{ M}/0,75 \text{ M})$$

$$\text{pH} = 3,86 + (-0,48)$$

$$\text{pH} = 3,38$$

30. Dopo il miscelamento, la soluzione tampone (100 mL) contiene acido lattico 0,25 M e lattato sodico 0,75 M. Il $\text{p}K_a$ dell'acido lattico è 3,86. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-]}{[\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 3,86 + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-]}{[\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 3,86 + \log(0,75 \text{ M}/0,25 \text{ M})$$

$$\text{pH} = 3,86 + 0,48$$

$$\text{pH} = 4,34$$

31. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 4,76 + \log\left(\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}\right)$$

$$\text{pH} = 4,76 + \log(0,25 \text{ M}/0,10 \text{ M})$$

$$\text{pH} = 4,76 + 0,40$$

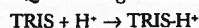
$$\text{pH} = 5,16$$

32. Sì, è corretto. Calcolate i quantitativi in moli delle due forme ed inseriteli nell'equazione di Henderson-Hasselbalch. (2,02 g = 0,0167 moli e 5,25 g = 0,0333 moli).

33. La soluzione è un tampone perché contiene uguali concentrazioni di TRIS nella forma acida e di ammina libera. Quando le due soluzioni sono miscelate, le concentrazioni della soluzione risultante (in assenza di reazione) sono 0,05 M HCl e 0,1 M TRIS a causa della diluizione. L'HCl reagisce con metà quantità di TRIS presente, convertendolo in 0,05 M TRIS (nella forma protonata) e 0,05 M TRIS (nella forma di ammina libera).

34. Tutti i tamponi che hanno concentrazioni uguali delle forme acida e basica avranno un pH uguale al suo $\text{p}K_a$. Quindi il tampone della Domanda 33 avrà un pH di 8,3.

35. Calcolate prima le moli di tampone che avete: 100 mL = 0,1 litri, e 0,1 L di tampone TRIS 0,1 M corrispondono a 0,01 moli. Poiché il tampone si trova al suo $\text{p}K_a$, sono presenti uguali concentrazioni delle forme acida e basica, per cui la quantità di TRIS è di 0,005 moli e la quantità di TRIS-H^+ è di 0,005 moli. Se poi aggiungete 3 mL di HCl 1 M, avrete aggiunto 0,003 moli di H^+ . Questo reagirà come segue:



finché non si esaurirà qualcosa, cioè H^+ , perché è il reagente limitante. Le nuove quantità possono essere calcolate come mostrato di seguito:

$$\text{TRIS-H}^+ = 0,005 \text{ moli} + 0,003 \text{ moli} = 0,008 \text{ moli}$$

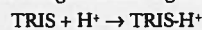
$$\text{TRIS} = 0,005 \text{ moli} - 0,003 \text{ moli} = 0,002 \text{ moli}$$

Ora inserite questi valori nell'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = 8,3 + \log\left(\frac{[\text{TRIS}]}{[\text{TRIS-H}^+]}\right) = 8,3 + \log(0,002/0,008)$$

$$\text{pH} = 7,70$$

36. Calcolate prima le moli di tampone che avete: sapendo che 100 mL = 0,1 L e in 0,1 L di tampone TRIS 0,1 M sono presenti 0,01 moli. Considerando che il pH del tampone è 7,70, noi sappiamo dalla Domanda 35 che la quantità di TRIS è 0,002 moli e la quantità di TRIS-H^+ è 0,008 moli. Se poi aggiungete 1 mL di HCl 1 M, significa che avrete aggiunto 0,001 moli di H^+ . Questo reagirà come segue:



finché non verrà a mancare qualcosa, e cioè il TRIS, dato che è il reagente limitante. Tutto il TRIS verrà convertito in TRIS-H^+ :

$$\text{TRIS-H}^+ = 0,01 \text{ moli}$$

$$\text{TRIS} = \sim 0 \text{ moli}$$

In questo modo abbiamo utilizzato tutta la capacità tampone del TRIS. Ora abbiamo 0,001 moli di H^+ in circa 0,1 litri di soluzione. Ciò equivale a 0,01 M H^+ .

$$\text{pH} = -\log 0,01$$

$$\text{pH} = 2,0$$

37. $[\text{H}^+] = [\text{A}^-]$ per l'acido puro, perciò, $K_a = [\text{H}^+]^2/[\text{HA}]$

$$[\text{H}^+]^2 = K_a \times [\text{HA}] \quad -2 \log [\text{H}^+] = \text{p}K_a - \log [\text{HA}]$$

$$\text{pH} = 1/2 (\text{p}K_a - \log [\text{HA}])$$

38. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch: $[\text{Ione acetato}]/[\text{acido acetico}] = 2,3/1$.

39. Una sostanza con un $\text{p}K_a$ di 3,9 ha un intervallo tamponante da 2,9 a 4,9. Non tamponerà in modo efficace a pH 7,5.

40. Utilizzate l'equazione di Henderson-Hasselbalch. Il rapporto di A/HA sarebbe di 3981 a 1.

41. In tutti i casi, l'intervallo di pH adatto ricopre un intervallo di unità pH pari a $\text{p}K_a \pm 1$ unità di pH.

(a) Acido lattico ($\text{p}K_a = 3,86$) e il suo sale sodico: pH 2,86-4,86

(b) Acido acetico ($\text{p}K_a = 4,76$) e il suo sale sodico: pH 3,76-5,76

(c) TRIS (si veda Tabella 3.4, $\text{p}K_a = 8,3$) nella sua forma protonata e nella sua forma con l'ammina libera: pH 7,3-9,3

(d) HEPES (si veda Tabella 3.4, $\text{p}K_a = 7,55$) nella sua forma zwitterionica e nella sua forma anionica: pH 6,55-8,55

42. Molti dei tamponi sarebbero adatti, cioè TES, HEPES, MOPS e PIPES; tuttavia il tampone migliore sarebbe il MOPS perché il suo $\text{p}K_a$ di 7,2 è il più vicino al pH desiderato di 7,3.

43. Le concentrazioni dei tamponi sono tipicamente riportate come somma delle due componenti ioniche.

44. Al punto di equivalenza della titolazione, rimane una piccola quantità di acido acetico, per via dell'equilibrio $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{COO}^-$. Rimane una piccola quantità, diversa da zero, di acido acetico.

45. La capacità tamponante si basa sulle quantità delle forme acida e basica presenti nella soluzione tampone. Una soluzione con un'elevata capacità tamponante può reagire con una grossa quantità di acido o base aggiunta senza una significativa variazione di pH. Una soluzione con una bassa capacità tamponante può reagire solo con delle quantità relativamente piccole di acido o base prima di mostrare delle variazioni di pH. Più il tampone è concentrato, maggiore è la sua capacità tamponante. Il primo tampone qui elencato ha una capacità tamponante 10 volte inferiore rispetto al secondo, che a sua volta ha una capacità tamponante dieci volte inferiore del terzo. Tutti e tre i tamponi hanno lo stesso pH, poiché hanno tutti le stesse quantità relative delle forme acida e basica.

46. Sarebbe molto più efficace partire con una base HEPES. Per preparare un tampone con un pH superiore al $\text{p}K_a$, significa che predominerà la forma basica quando avrete finito di prepararlo. In genere è più semplice convertire una parte della forma basica in quella acida che la forma acida in quella basica.

47. In un tampone con un pH superiore al $\text{p}K_a$, la forma basica prevale. Questo potrebbe essere utile per tamponare una reazione che produce H^+ , giacché ci sarà abbondanza della forma basica, che reagirà con gli idrogenioni.

48. Gli zwitterioni tendono a non interferire con le reazioni biochimiche.

49. È vantaggioso utilizzare un tampone che possa mantenere un pH stabile anche se le condizioni del saggio cambiano. La diluizione potrebbe essere uno dei possibili cambiamenti.

50. È vantaggioso utilizzare un tampone che possa mantenere un pH stabile anche se le condizioni del saggio cambiano. Una variazione di temperatura è una possibilità di cambiamento.

51. L'unico zwitterione è $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$.

52. L'ipoventilazione fa diminuire il pH del sangue.

A-4 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 3

3.1 Struttura tridimensionale degli aminoacidi

1. Gli aminoacidi D- e L- hanno una stereochimica differente intorno al carbonio- α . I peptidi che contengono i D-aminoacidi si trovano nelle pareti cellulari dei batteri e in alcuni antibiotici.

3.2 I singoli aminoacidi: struttura e proprietà

2. La prolina tecnicamente non è un aminoacido. La glicina non contiene atomi di carbonio chirali.

3. Qui di seguito sono elencati gli aminoacidi il cui gruppo R contiene: un gruppo ossidrilico (serina, treonina, tirosina); un atomo di zolfo (cisteina, metionina); un secondo atomo di carbonio chirale (isoleucina, treonina); un gruppo amminico (lisina); un gruppo ammidico (asparagina, glutammina); un gruppo acido (aspartato, glutammato); un anello aromatico (fenilalanina, tirosina, triptofano); una catena laterale ramificata (leucina, valina).

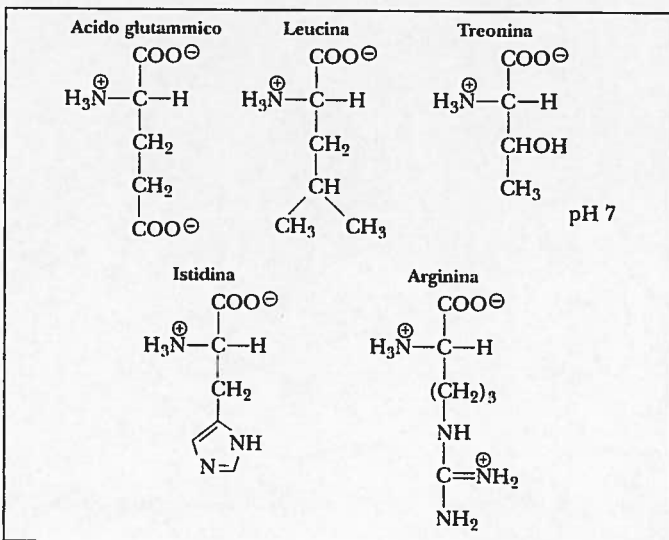
4. Nel peptide Val-Met-Ser-Ile-Phe-Arg-Cys-Tyr-Leu, gli aminoacidi polari sono Ser, Arg, Cys e Tyr; gli aminoacidi aromatici sono Phe e Tyr e gli aminoacidi che contengono zolfo sono Met e Cys.

5. Nel peptide Glu-Thr-Val-Asp-Ile-Ser-Ala, gli aminoacidi non polari sono Val, Ile e Ala; gli aminoacidi acidi sono Glu e Asp.

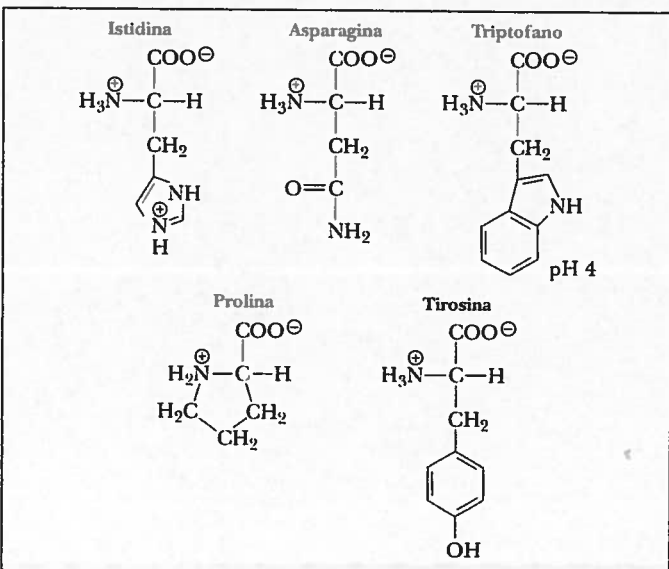
6. Gli aminoacidi diversi dai 20 usuali sono prodotti per variazione di un aminoacido comune. Si veda in Figura 3.5 la struttura di alcuni aminoacidi modificati. L'idrossiprolina e l'idrossilisina si trovano nel collagene; la tiroxina si trova nella tiroglobulina.

3.3 Gli aminoacidi si comportano sia da acidi che da basi

7. Le forme ionizzate dei seguenti aminoacidi a pH 7: acido glutammico, leucina, treonina, istidina e arginina sono le seguenti:



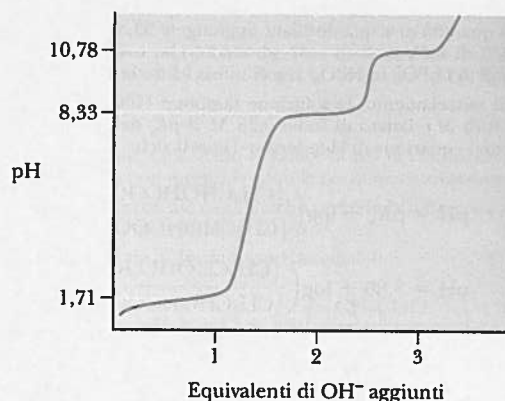
8.



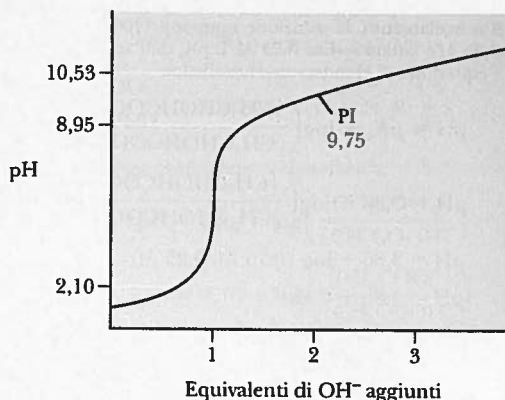
9. Istidina: l'imidazolo è deprotonato, il gruppo α -amminico è prevalentemente deprotonato. Asparagina: il gruppo α -amminico è deprotonato. Triptofano: il gruppo α -amminico è prevalentemente deprotonato. Prolina: il gruppo α -amminico è parzialmente deprotonato. Tirosina: il gruppo α -amminico è prevalentemente deprotonato, il gruppo ossidrilico fenolico è approssimativamente una miscela 50-50 delle forme protonata e deprotonata.

10. Acido glutammico è 3,25; serina, 5,7; istidina, 7,58; lisina, 9,75; tirosina, 5,65; arginina, 10,75.

11. La cisteina non ha carica netta a pH 5,02 = (1,71 + 8,33)/2 (si veda la curva di titolazione sotto).

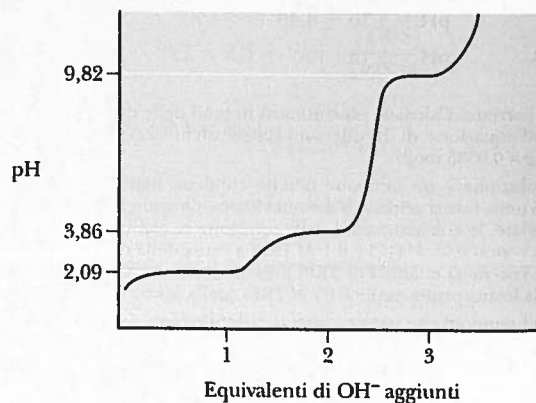


12.



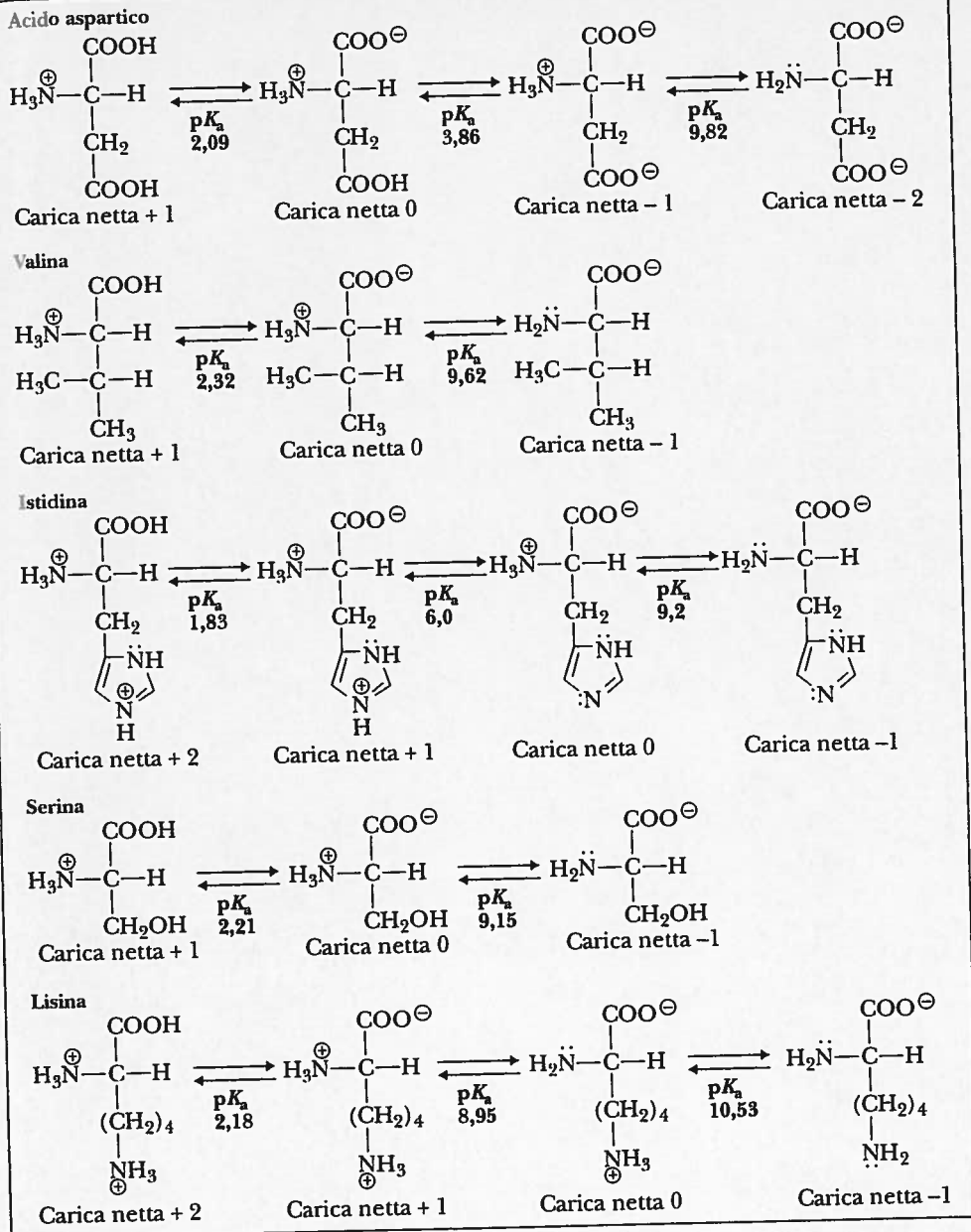
13. In tutti i casi, la resa è di 0,95ⁿ. Ciò significa una resa del 60% per 10 residui, dell'8% per 50 residui e dello 0,6% per 100 residui. Non sono rese soddisfacenti. La specificità degli enzimi aggira il problema.

14. La coppia coniugata acido-base agisce da tampone nell'intervallo di pH 1,09-3,09.



15. Hanno carica netta a valori di pH estremi e le molecole tendono a respingersi. Quando la carica molecolare è zero, gli aminoacidi possono aggregarsi più facilmente.

16. Le reazioni di dissociazione ionica dei seguenti aminoacidi: acido aspartico, valina, istidina, serina e lisina sono le seguenti:



17. Il $\text{p}K_a$ della ionizzazione dei gruppi tiolici della cisteina è 8,33, per cui questo amminoacido può fungere da tampone nelle forme $-\text{SH}$ e S^{\ominus} in un intervallo di pH 7,33-9,33. I gruppi α -amminici dell'asparagina e della lisina hanno valori di $\text{p}K_a$ 9 di 8,80 e 8,95, rispettivamente; anche questi sono dei possibili tamponi, ma sono entrambi prossimi all'estremità dei loro intervalli di pH.
18. A pH 4, il gruppo α -carbossilico è deprotonato a carbossilato, il gruppo carbossilico della catena laterale è ancora protonato per più del 50% ed entrambi i gruppi amminici sono protonati. A pH 7, sia il gruppo α -carbossilico che il gruppo carbossilico della catena laterale sono deprotonati a carbossilato ed entrambi i gruppi amminici sono protonati. A pH 10, sia il gruppo α -carbossilico che il gruppo carbossilico della catena laterale sono deprotonati a carbossilato, uno dei gruppi amminici è prevalentemente deprotonato e l'altro gruppo amminico è una miscela delle forme protonata e deprotonata.
19. Il pI si riferisce alla forma nella quale entrambi i gruppi carbossilici sono deprotonati ed entrambi i gruppi amminici sono protonati a pH 6,96.
20. A pH 1, i gruppi carichi sono il gruppo NH_3^{\oplus} sulla valina N-terminale e il gruppo guanidinico protonato sull'arginina, che danno una carica netta +2. I gruppi carichi a pH 7 sono gli stessi che a pH 1, con l'aggiunta del gruppo carbossilato sulla leucina C-terminale, dando luogo ad una carica netta +1.
21. Entrambi i peptidi, Phe-Glu-Ser-Met e Val-Trp-Cys-Leu, hanno una carica +1 a pH 1 a causa del gruppo amminico N-terminale protonato. A pH 7, il peptide sulla destra non ha carica netta a causa del gruppo amminico N-terminale protonato e della carica negativa sul carbossilato

C-terminale ionizzato. Il peptide a sinistra ha carica netta -1 a pH 7, a causa del gruppo carbossilato della catena laterale del glutammato, oltre alle cariche dei gruppi N-terminale e C-terminale.

22. (a) La lisina per il gruppo amminico della catena laterale; (b) la serina per la mancanza di un carbossile della catena laterale.
23. La glicina è usata di frequente come componente principale di un tampone nell'intervallo acido prossimo al $\text{p}K$ del suo gruppo carbossilico. L'intervallo del tampone utile è da pH 1,3 a 3,3.

3.4 Il legame peptidico

24. Si veda Figura 3.10.
25. Le strutture di risonanza contribuiscono alla struttura planare, conferendo al legame CON parziale carattere di doppio legame.
26. Tirosina, triptofano e loro derivati.
27. Una monoammina ossidasi è un enzima che degrada i composti con un gruppo amminico, compresi i neurotrasmettitori; di conseguenza, può controllare lo stato mentale di una persona.
28. I due peptidi differiscono nella sequenza di amminoacidi ma non nella composizione.
29. Le curve di titolazione dei due peptidi hanno quasi la stessa forma. I valori di $\text{p}K_a$ dei gruppi α -amminico e α -carbossilico sono differenti. Un lavoro molto attento mostra delle lievi differenze nei valori di $\text{p}K_a$ della catena laterale per le diverse distanze dei gruppi carichi alle estremità del peptide. Tali differenze sono particolarmente marcate nelle proteine.

A-6 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

30. Asp-Leu-Phe; Leu-Asp-Phe; Phe-Asp-Leu; Asp-Phe-Leu; Leu-Phe-Asp; Phe-Leu-Asp
 31. DLF; LDF; FDL; DFL; LFD; FLD
 32. Otterreste $20^{100} \approx 1,27 \times 10^{130}$ molecole, cioè circa 10^{84} il volume della Terra. Lo stesso calcolo per un pentapeptide fornisce risultati più comprensibili.
 33. La diversa stereochimica dei due peptidi porta a legami diversi con i recettori del gusto, con quelli del gusto dolce per uno e del gusto amaro per un altro.
 34. L'elevata concentrazione di triptofano nelle proteine del latte può far inalzare leggermente i livelli di serotonina, che ha un effetto sedativo.
 35. Il triptofano presente nel latte vi renderà sonnolenti, mentre la tiramina presente nel formaggio dovrebbe far aumentare l'attenzione.
 36. Sono relativamente stabili perché sono zwitterioni. Essi hanno generalmente punti di fusione elevati.
 37. Con un minimo dubbio, no. Confrontate la previsione delle proprietà dell'acqua con quelle dell'idrogeno e dell'ossigeno, in forma atomica o molecolare. Se conoscesti le proprietà della proteina, potreste fare in qualche misura l'inverso.
 38. Gli amminoacidi tirosina e idrossiprolina si trovano in pochissime proteine. Il codice genetico non li comprende e sono prodotti rispettivamente da modificazioni della tirosina e della prolina.
 39. Questi due peptidi sono chimicamente diversi. La catena aperta ha un C-terminale e un N-terminale libero, ma il peptide ciclico ha solo legami peptidici.
 40. Sia il C-terminale che l'N-terminale del peptide a catena aperta possono essere carichi a valori appropriati di pH, il che non è il caso del peptide ciclico. Questo può fornire una base per la separazione mediante elettroforesi.
 41. I carboidrati non sono una fonte dell'azoto necessario per la biosintesi degli amminoacidi.
 42. Suggeste che il vostro amico mostri il gruppo carbossilico come carbossilato carico ($-\text{COO}^-$) e il gruppo amminico in forma carica ($-\text{NH}_3^+$).
 43. Pochissime catene laterali hanno gruppi funzionali che possono formare legami crociati.
 44. Sarebbero possibili molte più conformazioni, a causa della libera rotazione intorno al legame peptidico.
 45. Non sarebbero possibili legami disolfuro crociati all'interno di catene polipeptidiche o tra esse, dando più conformazioni possibili. Non sarebbero possibili reazioni di ossido-riduzione che coinvolgano gruppi solfitici e disolfuro.
 46. La grossa differenza sarebbe la perdita di stereospecificità nella conformazione di un qualunque peptide o proteina. Ciò avrebbe drastiche conseguenze per le reazioni della proteina.
- 3.5 Piccoli peptidi fisiologicamente attivi**
47. L'ossitocina ha una isoleucina in posizione 3 e una leucina in posizione 8; stimola la contrazione della muscolatura liscia dell'utero durante il travaglio e della ghiandola mammaria durante l'allattamento. La vasopressina ha una fenilalanina in posizione 3 e una arginina in posizione 8; stimola il riassorbimento dell'acqua da parte dei reni, facendo così aumentare la pressione sanguigna.
 48. La forma ridotta del glutatione consiste di tre amminoacidi con un gruppo sulfidrilico; la forma ossidata consiste di sei amminoacidi e può essere considerata il risultato del legame tra due molecole di glutatione ridotte attraverso un ponte disolfuro.
 49. Le encefaline sono dei pentapeptidi (Y-G-G-F-L, l'encefalina leucina, e Y-G-G-F-M, l'encefalina metionina) e sono analgesici naturali.
 50. Nella maggior parte dei casi, i D-amminoacidi sono tossici. Si trovano in natura negli antibiotici e nelle pareti cellulari batteriche.

Capitolo 4

4.1 Struttura e funzione delle proteine

1. (a) (iii); (b) (i); (c) (iv); (d) (ii).
2. Quando una proteina è denaturata, le interazioni che determinano le strutture secondaria, terziaria ed eventualmente quaternaria sono destabilizzate dalla presenza dell'agente denaturante. Solo la struttura primaria resta intatta.
3. Le regioni casuali di una proteina non contengono motivi strutturali ripetuti, come α -elica o foglietto β -ripiegato, ma le caratteristiche tridimensionali di queste regioni della proteina sono le stesse nelle varie molecole. Perciò, il termine "casuale" è improprio.

4.2 La struttura primaria delle proteine

4. Quando una proteina è modificata covalentemente, la sua struttura primaria cambia. La struttura primaria determina la struttura tridimensionale finale della proteina. La modificazione impedisce il processo di ripiegamento.

5. (a) La serina ha una catena laterale piccola che può ben adattarsi in tutti gli ambienti relativamente polari.
(b) Il triptofano ha la catena laterale più grande tra tutti i comuni amminoacidi e ha la tendenza a richiedere un ambiente non polare.
(c) La lisina e l'arginina sono entrambe degli amminoacidi basici; lo scambio di uno con l'altro non avrebbe un'influenza significativa sul pK_a della catena laterale. Un ragionamento simile si applica alla sostituzione di una leucina non polare con una isoleucina non polare.
6. La glicina è spesso un residuo conservato, perché ha una catena laterale così piccola da adattarsi in spazi in cui non entrerebbero residui più grandi.
7. Quando l'alanina è sostituita dall'isoleucina, non c'è abbastanza spazio nella conformazione nativa per la catena laterale dell'isoleucina, più grande. Di conseguenza, si verifica una variazione abbastanza significativa nella conformazione della proteina, che perde l'attività. Quando a sua volta l'isoleucina è sostituita da una glicina, la presenza di una catena laterale più piccola fa sì che la proteina riassuma la sua conformazione nativa.
8. La carne consiste in gran parte di proteine e grassi animali. Le temperature utilizzate nella cottura della carne sono di solito più che sufficienti a denaturare la porzione proteica.
9. Le malattie prioniche sono state collegate al sistema immunitario. Si ritiene che le proteine prioniche viaggino nel sistema linfatico legate ai linfociti e che, alla fine, arrivano nel tessuto nervoso, dove questi iniziano a trasformare la proteina prionica in una anomala (un prione).
10. Sebbene esista una forte predisposizione genetica ad ammalarsi di scrapie, questa da sola non causerebbe la malattia. La malattia deve essere scatenata dall'ingestione di un prione la cui conformazione è già alterata, PrP^{Sc}.

4.3 La struttura secondaria delle proteine

11. Forma, solubilità e tipo di funzione biologica (statica, strutturale rispetto a dinamica, catalitica).
 12. L'indice di efficienza di una proteina (PER) è una misura arbitraria del contenuto di amminoacidi essenziali di un dato tipo di proteina.
 13. Le uova hanno il PER più elevato.
 14. Gli amminoacidi essenziali sono quelli che devono essere assunti con la dieta, perché l'organismo non li può sintetizzare in quantità sufficiente.
 15. Le ragioni per creare alimenti geneticamente modificati includono l'incremento del contenuto in proteine, il prolungamento della scadenza, l'aumento della resistenza a insetti o ad altri organismi e la limitazione dell'uso dei pesticidi per coltivarli.
 16. Gli angoli che i piani dei legami ammidici formano nella rotazione intorno al carbonio α . Gli angoli sono entrambi zero quando i due piani si sovrappongono in modo tale che il gruppo carbonilico di uno entri in contatto con il gruppo amminico dell'altro.
 17. Un rigonfiamento β è un'irregolarità comune non ripetitiva che si ritrova nei foglietti β antiparalleli. Si verifica un allineamento impreciso tra le catene del foglietto β , che causa la sporgenza verso l'esterno di un lato.
 18. Un ripiegamento inverso è una regione di un polipeptide nella quale la direzione cambia di circa 180° . Ce ne sono di due tipi - quelli che contengono la prolina e quelli che non la contengono. Si veda per gli esempi la Figura 4.6.
 19. L' α -elica non è completamente estesa ed i suoi legami idrogeno sono paralleli alla direzione della catena proteica. La struttura a foglietto β -ripiegato è quasi completamente estesa ed i suoi legami idrogeno sono perpendicolari alla direzione della catena proteica.
 20. L'unità $\alpha\alpha$, l'unità $\beta\alpha\beta$, il labirinto β , la chiave greca, il barile β .
 21. La geometria del residuo di prolina è tale che non entra perfettamente nell' α -elica, ma entra perfettamente in un ripiegamento inverso. Si veda Figura 4.10(c).
 22. La glicina è l'unico residuo sufficientemente piccolo da entrare perfettamente in un punto cruciale della tripla elica del collagene.
 23. Il componente principale della lana è la proteina cheratina, che è un esempio classico di struttura ad α -elica. Il componente principale della seta è la proteina fibroina, che è un esempio classico di struttura a foglietto β -ripiegato. L'affermazione è in qualche modo una semplificazione, ma è fondamentalmente valida.
 24. La lana, costituita prevalentemente dalla proteina cheratina, si restringe a causa della sua conformazione ad α -elica. Essa può stirarsi e poi restringersi. La seta è costituita prevalentemente dalla proteina fibroina, che ha la conformazione a foglietto β completamente estesa, con una tendenza molto minore a stirarsi o a restringersi.
- 4.4 La struttura terziaria delle proteine**
25. Si veda la Figura 4.2 per un legame idrogeno che fa parte dell' α -elica (struttura secondaria). Si veda la Figura 4.13 per un legame idrogeno che fa parte di una struttura terziaria (legami idrogeno fra catene laterali).

26. Si veda la Figura 4.13 per le interazioni elettrostatiche, che si potrebbero verificare tra le catene laterali di lisina e di aspartato.
27. Si veda la Figura 4.13 per un esempio di un legame disolfuro.
28. Si veda la Figura 4.13 per un esempio di legami idrofobici.
29. La *configurazione* si riferisce alla posizione dei gruppi dovuta ai legami covalenti. Degli esempi sono gli isomeri *cis* e *trans* e gli isomeri ottici. La conformazione si riferisce alla posizione di gruppi nello spazio dovuta a una rotazione intorno ai legami singoli. Un esempio è la differenza tra le conformazioni eclissata e sovrapposta dell'etano.
30. Cinque caratteristiche limitano le configurazioni e conformazioni possibili di una proteina. (1) Anche se ognuno dei 20 amminoacidi potrebbe occupare tutte le posizioni, ne viene utilizzato uno soltanto, dettato dal gene che codifica per quella proteina. (2) Sia un amminoacido D- che L- potrebbero essere utilizzati in ciascuna delle posizioni (ad eccezione della glicina), ma sono utilizzati soltanto amminoacidi L. (3) Il gruppo peptidico è planare, per cui sono possibili solo configurazioni *cis* e *trans*. La forma *trans* è più stabile ed è quella che si trova generalmente nelle proteine. (4) Gli angoli ϕ e ψ possono assumere teoricamente tutti i valori tra 0° e 360° , ma alcuni angoli non sono possibili a causa dell'ingombro sterico; angoli stericamente permessi possono non avere interazioni stabilizzanti, come invece avviene nell' α -elica. (5) La struttura primaria determina una struttura terziaria ottimale, in base ad "una seconda metà del codice genetico".
31. Tecnicamente il collagene ha una struttura quaternaria perché ha catene polipeptidiche multiple. Tuttavia, la trattazione della struttura quaternaria riguarda prevalentemente le subunità delle proteine globulari e non fibrose come il collagene. Molti scienziati ritengono che la tripla elica del collagene sia un esempio di struttura secondaria.
- #### 4.5 La struttura quaternaria delle proteine
32. *Similarità*: entrambe contengono il gruppo eme; entrambe legano l'ossigeno; la struttura secondaria è prevalentemente ad α -elica. *Differenze*: l'emoglobina è un tetramero, mentre la mioglobina è un monomero; il legame dell'ossigeno con l'emoglobina è cooperativo e non cooperativo con la mioglobina. Un prione è una proteina potenzialmente infettiva che si trova nei mammiferi in molteplici forme, spesso concentrate nel tessuto nervoso. Esso rappresenta una forma anomala di una normale proteina cellulare che tende a formare delle placche che distruggono il tessuto nervoso. È stato scoperto che sono trasmissibili da specie a specie.
33. I residui cruciali sono istidine in entrambe le proteine.
34. Il livello di organizzazione più elevato della mioglobina è terziario. Quello dell'emoglobina è quaternario.
35. La funzione dell'emoglobina è il trasporto dell'ossigeno; la sua curva di legame sigmoidale riflette il fatto che può facilmente legare l'ossigeno a pressioni relativamente alte e rilasciare ossigeno a pressioni più basse. La funzione della mioglobina è di deposito dell'ossigeno; di conseguenza, è facilmente saturata con l'ossigeno a basse pressioni, come è mostrato dalla sua curva iperbolica di legame.
36. In presenza di H^+ e CO_2 , che si legano entrambi all'emoglobina, la capacità dell'emoglobina di legare l'ossigeno diminuisce.
37. In assenza del 2,3-bisfosfoglicerato, il legame dell'ossigeno da parte dell'emoglobina è simile a quello della mioglobina, caratterizzato dalla mancanza di cooperatività. Il 2,3-bisfosfoglicerato si lega al centro della molecola di emoglobina, aumenta la cooperatività, stabilizza la conformazione deossigenata dell'emoglobina e modula il legame dell'ossigeno, in modo che possa essere facilmente rilasciato nei capillari.
38. L'emoglobina fetale lega l'ossigeno più fortemente dell'emoglobina adulta. Si veda Figura 4.25.
39. L'istidina 143 di una catena β è sostituita da una serina di una catena γ .
40. L'emoglobina deossigenata è un acido più debole (ha un pK_a più alto) dell'emoglobina ossigenata. In altre parole, l'emoglobina deossigenata lega H^+ più fortemente dell'emoglobina ossigenata. Il legame di H^+ (e di CO_2) con l'emoglobina favorisce il cambiamento della struttura quaternaria nella forma deossigenata dell'emoglobina.
41. L'errore principale nel ragionamento della vostra amica è un'inversione della definizione del pH, che è $pH = -\log [H^+]$. Se il rilascio o il legame dello ione idrogeno da parte dell'emoglobina fosse il fattore principale nell'effetto Bohr, la variazione di pH sarebbe opposta rispetto a quella effettivamente osservata. La risposta dell'emoglobina alle variazioni di pH è l'aspetto centrale. Quando il pH aumenta, la concentrazione di ioni idrogeno diminuisce, e viceversa.
42. La sostituzione di una istidina con una serina nella catena γ rimuove un amminoacido carico positivamente che avrebbe potuto interagire con il BPG. Perciò ci sono meno ponti salini da rompere e il legame è più debole in confronto alla catena β .
43. Gli individui con il tratto dell'anemia falciforme hanno una emoglobina anomala. Ad altitudini elevate c'è meno ossigeno e la concentrazione della forma deossigenata dell'emoglobina anomala aumenta. Si può legare meno ossigeno, il che causa le difficoltà respiratorie osservate.
44. Nell'emoglobina fetale la composizione in subunità è $\alpha_2\gamma_2$, con la sostituzione delle catene β con le catene γ . La mutazione falciforme riguarda la catena β , per cui il feto omozigote per HbS ha un'emoglobina fetale normale.
45. Le affinità relative per l'ossigeno consentono che esso sia assunto dalle cellule fetali dall'Hb materna.
46. Poiché gli individui con la malattia falciforme sono cronicamente anemici, sono prodotte alcune cellule con l'Hb fetale, per aiutare a superare le difficoltà del sistema di distribuzione dell'ossigeno.
47. La forma cristallina è cambiata perché è entrato ossigeno sotto il vetrino, trasformando la deossiemoglobina in ossiemoglobina.
- #### 4.6 La dinamica del ripiegamento delle proteine
48. Questo livello di sequenza omologa è marginale per l'uso di modelli comparativi. Sarebbe meglio provare quel metodo, ma poi comparare i risultati con quelli ottenuti dall'approccio dell'identificazione a foglietto.
49. Il ripiegamento delle proteine è guidato da diversi processi. Il primo, che è quello più intuitivo, coinvolge le interazioni dirette dei gruppi funzionali che formano i legami covalenti, le attrazioni elettrostatiche e i legami idrogeno. Questo spiega perché parti della proteina sono attratte l'una all'altra e perché una proteina dovrebbe assumere una forma che renda possibili queste interazioni. Tuttavia, il processo di ripiegamento di una proteina è guidato fortemente dall'effetto entropico. Ci riferiamo alle interazioni idrofobiche per spiegare il perché le regioni non polari di una proteina tendono a raggrupparsi solitamente nella parte più interna della proteina. Tuttavia, in realtà, non sono le interazioni tra gli amminoacidi non polari a guidare questo processo. È effettivamente l'aumento di entropia del solvente, l'acqua. Quando le regioni idrofobiche della proteina vengono relegate nella parte inferiore, le molecole d'acqua che circondano la proteina sono molto più libere di ruotare e si muovono con meno costrizioni. Perciò, ciò che guida gran parte del processo di ripiegamento delle proteine non è un cambio di ΔH per il legame di specifici amminoacidi, ma piuttosto un aumento di ΔS del solvente.
50. Si veda la banca dati delle proteine.
51. Uno chaperone è una proteina che aiuta un'altra proteina a ripiegarsi correttamente ed evita che si associ con altre proteine prima di avere assunto la sua forma finale matura.
52. Un prione è una proteina potenzialmente infettiva che si trova nei mammiferi in molteplici forme, spesso concentrate nel tessuto nervoso. Esso rappresenta una forma anomala di una normale proteina cellulare che tende a formare delle placche che distruggono il tessuto nervoso. È stato scoperto che è trasmissibile da specie a specie.
53. È stato scoperto che varie encefalopatie sono causate da prioni. Nelle mucche, la malattia causata dai prioni è chiamata encefalopatia spongiforme bovina o più comunemente "morbo della mucca pazza". Nelle pecore la malattia è chiamata scrapie. Negli uomini è chiamata malattia di Creutzfeldt-Jacob.
54. La forma normale della proteina prionica ha un contenuto di α -elica più elevato rispetto al foglietto β . La forma anomala ha un contenuto aumentato di foglietto β .
55. Le malattie di Alzheimer, di Parkinson e di Huntington sono causate dall'accumulo di depositi proteici che derivano da aggregati formati a causa del mancato corretto ripiegamento delle proteine. In questo capitolo si è dato uno sguardo alla malattia da prioni. Quando i prioni non sono correttamente ripiegati possono causare l'encefalopatia spongiforme, anche detta malattia della mucca pazza, e la forma umana, il morbo di Creutzfeldt-Jacob.
56. Gli aggregati proteici si formano quando espongono aree sulla superficie della proteina che sono non polari. Proteine che si legano attraverso queste regioni non polari formano aggregati. Un esempio è la malattia da prioni nei quali un'area di una normale molecola che dovrebbe essere un α -elica assume invece la conformazione a foglietto β .
57. La radice del problema con i geni delle globine e la questione della formazione dell'emoglobina si basa sul fatto che ci sono due geni per l' α -globina per ogni gene della β -globina, dove all'interno dell'emoglobina le due forme si combinano in rapporto 1:1. Perciò, una possibile soluzione teorica è che il rapporto in realtà sia 2:1 per questi geni. Un'altra questione è che i due geni sono su diversi cromosomi. E sono controllati separatamente. Se i due geni fossero vicini e posti sullo stesso cromosoma potrebbero essere controllati insieme dallo stesso segnale e prodotti nelle corrette quantità.
58. La sequenza del prione mutato che conferisce una maggiore sensibilità alla malattia è la sostituzione di un amminoacido della metionina in posizione 129.
59. Qualsiasi malattia con un lungo periodo di incubazione è potenzialmente più seria di molte altre che vengono riconosciute. Dopo aver scoperto che la malattia da prioni può trasmettersi da una specie all'altra e la comparsa della paura della BSE in UK nel tardo 1990, i ricercatori sono preoccupati che questa potrebbe essere ancora silente nell'uomo essen-

A-8 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

do portata da un prione latente che non si è ancora sviluppato. Lo stesso problema potrebbe colpire bovini e ovini. Il fatto che non ci sia stata ancora un'epidemia non ci garantisce che non ci potrà essere in futuro.

60. Noi sappiamo che l'encefalopatia spongiforme ha caratteristiche sia di malattia ereditaria che trasmissibile. Da un lato, gli animali possono essere infettati mangiando carne o altri tessuti che portino il prione malato. Come ha mostrato l'esempio delle pecore della Nuova Zelanda, anche quelle che sono molto sensibili alla malattia da prioni possono non ammalarsi se non vengono a contatto con la proteina malata. Tuttavia la predisposizione ad ammalarsi ha anche una componente ereditaria. La proteina prionica presenta molte mutazioni note, alcune delle quali possono rendere l'individuo molto suscettibile alla malattia. Queste mutazioni possono essere monitorate e possono passare lungo la linea famigliare.

Capitolo 5

5.1 Estrazione di proteine in forma pura dalle cellule

- Utilizzando un omogeneizzatore Potter-Elvehjem o un sonicatore.
 - Se dovete mantenere l'integrità strutturale degli organelli subcellulari, un Potter-Elvehjem sarebbe più adatto perché ha un'azione più delicata. Per utilizzare questo strumento il tessuto deve essere sufficientemente tenero, come il fegato.
 - Il "salting out" è un processo in cui un sale fortemente ionico è utilizzato per ridurre la solubilità di una proteina, finché non è più in soluzione e si può centrifugare. Il sale forma legami ione-dipolo con l'acqua della soluzione, che rende l'acqua meno disponibile a idratare la proteina. Le catene laterali non polari incominciano a interagire con le molecole proteiche e diventano insolubili.
 - Il contenuto e la disposizione degli amminoacidi rendono alcune proteine più solubili di altre. Una proteina che ha in superficie amminoacidi più polari sarà più solubile di una con più amminoacidi idrofobici in superficie.
 - Omogeneizzate le cellule del fegato utilizzando un omogeneizzatore Potter-Elvehjem. Centrifugate l'omogenato a $500 \times g$ per sedimentare le cellule integre e i nuclei. Centrifugate il sovrantante a $15.000 \times g$ e prendete il precipitato, che contiene i mitocondri.
 - No, i perossisomi e i mitocondri hanno proprietà di sedimentazione sovrapponibili. Per separare i due organelli si dovrebbero utilizzare altre tecniche, come la centrifugazione in gradiente di saccarosio.
 - Se le proteine sono citosoliche, una volta rotte le cellule potreste centrifugare a $100.000 \times g$ e tutti gli organelli si troverebbero nel precipitato. Il vostro enzima si troverebbe nel sovrantante, insieme agli altri del citosol.
 - Isolate i mitocondri mediante una centrifugazione differenziale o in gradiente di saccarosio. Usate una diversa tecnica di omogeneizzazione combinata con un detergente forte per rilasciare l'enzima dalla membrana.
 - Esistono delle tavole che indicano quanti grammi di solfato di ammonio $[(NH_4)_2SO_4]$ si devono aggiungere per avere una certa percentuale di saturazione. Un buon programma sarebbe prendere l'omogenato e aggiungere solfato di ammonio sufficiente ad ottenere una soluzione satura al 20%. Lasciate il campione in ghiaccio per 15 minuti, quindi centrifugate. Separate il sovrantante dal precipitato. Saggiare entrambi per la proteina con la quale state lavorando. Aggiungete ancora solfato di ammonio al sovrantante, per arrivare ad una soluzione satura al 40% e ripetete il processo. In questo modo scoprirete quale deve essere la percentuale di saturazione di solfato di ammonio per far precipitare la proteina.
 - Un'omogeneizzazione sufficientemente forte sarebbe in grado di liberare dai perossisomi, che sono fragili, la proteina solubile X. Una centrifugazione a $15.000 \times g$ farebbe sedimentare i mitocondri (rotti o intatti). Nel sovrantante ci sarebbe quindi la proteina X ma non quella Y. Le tecniche di congelamento e scongelamento e quelle di sonicazione arriverebbero allo stesso risultato, oppure mitocondri e perossisomi potrebbero essere separati dall'inizio mediante centrifugazione in gradiente di saccarosio.
- ### 5.2 Cromatografia su colonna
- (a) Dimensioni, (b) capacità specifica di legarsi a un ligando, (c) carica netta.
 - Le proteine più grandi eluiscono prima; le più piccole eluiscono alla fine. Le proteine più grandi sono escluse dall'interno delle particelle del gel, in modo da avere minor spazio disponibile da percorrere. In sintesi, percorrono una distanza inferiore e quindi eluiscono prima.
 - Un composto può essere eluito aumentando la concentrazione di sale o aggiungendo un ligando mobile che abbia un'affinità più elevata per la proteina legata rispetto al ligando sulla resina stazionaria. Il sale è più economico ma meno specifico. Un ligando specifico può essere più efficace ma è spesso costoso.
 - Un composto può essere eluito aumentando la concentrazione salina o variando il pH. Il sale è economico, ma può essere non specifico per una particolare proteina. La variazione di pH può essere più specifica in uno stretto intervallo di pI, ma estremi di pH potrebbero anche denaturare la proteina.
 - L'aumento della concentrazione salina è relativamente sicuro. La maggior parte delle proteine eluisce in questo modo e conserva l'attività nel caso degli enzimi. Se necessario, il sale si può rimuovere successivamente per dialisi. Una variazione di pH sufficiente a rimuovere la carica può far denaturare le proteine. Molte proteine non sono solubili al punto isoeletttrico.
 - I componenti di base della maggior parte delle resine sono agarosio, cellulosa, destrano o poliaccrilammide.
 - Si veda la Figura 5.7.
 - Entro l'intervallo di separazione di una colonna per gel filtrazione, le molecole eluiranno secondo una relazione lineare tra il logaritmo del loro peso molecolare ed i volumi di eluizione. Si può far correre una serie di standard, per calibrare la colonna e, quindi, si può determinare un peso molecolare incognito, misurando il suo volume di eluizione e confrontandolo con una curva standard.
 - Entrambe le proteine sarebbero eluite insieme nel volume morto e non sarebbero separate.
 - Si, la β -amilasi sarebbe eluita nel volume morto, ma la BSA sarebbe inclusa nelle particelle di gel della colonna, eluendo più lentamente.
 - Allestite una colonna a scambio anionico, come la Q-Sepharose (ammina quaternaria). Equilibrate la colonna a pH 8,5, un pH al quale la proteina X ha carica netta negativa. Ponete sulla colonna un omogenato contenente la proteina X e lavate con il tampone iniziale. La proteina X si legherà alla colonna. Quindi eluite con un gradiente salino.
 - Utilizzate una colonna a scambio cationico, come la CM-Sepharose, ed equilibratela a pH 6. La proteina X avrà carica positiva e si legherà alla colonna.
 - Con un'ammina quaternaria, la resina della colonna ha sempre una carica netta positiva e non vi dovete preoccupare che il pH del vostro tampone alteri la forma della colonna. Con un'ammina terziaria, c'è un idrogeno dissociabile, la resina può essere positiva o avere carica neutra a secondo del pH del tampone.
 - Il modo più facile sarebbe quello di utilizzare un gradiente di saccarosio per separare prima i mitocondri dai perossisomi. Quindi rompete i mitocondri con una forte centrifugazione o una sonicazione. Centrifugate i mitocondri. Il precipitato dovrebbe contenere la proteina B e il sovrantante la proteina A. Ci potrebbero essere ancora dei contaminanti, ma possono essere eliminati con un gel filtrazione su Sephadex G-75, che dovrebbe separare C da A e B e, quindi, con una cromatografia a scambio ionico su Q-Sepharose a pH 7,5. L'enzima B dovrebbe essere neutro ed eluire, mentre l'enzima A dovrebbe legarsi alla colonna.
 - L'acido glutammico dovrebbe eluire prima, perché il pH della colonna è vicino al suo pI. La leucina e la lisina saranno cariche positivamente e si legheranno alla colonna. Per eluire la leucina, innalzate il pH fino a circa 6. Per eluire la lisina, innalzate il pH fino a circa 11.
 - Un solvente mobile non polare farà muovere più velocemente gli amminoacidi non polari, per cui la fenilalanina sarà eluita per prima, seguita dalla glicina e quindi dall'acido glutammico.
 - Gli amminoacidi non polari si legheranno prevalentemente alla fase stazionaria, per cui l'acido glutammico sarà il più veloce, seguito dalla glicina e poi dalla fenilalanina.
 - Una soluzione proteica da una preparazione di solfato di ammonio è fatta passare attraverso una colonna per gel filtrazione dove le proteine di interesse saranno eluite nel volume morto. Il sale, poiché è molto piccolo, si muoverà lentamente attraverso la colonna. In questo modo le proteine lasceranno indietro il sale e usciranno dalla colonna senza di esso.
- ### 5.3 Elettroforesi
- Dimensioni, forma e carica.
 - Agarosio e poliaccrilammide.
 - Poliaccrilammide.
 - Il DNA è la molecola più comunemente separata tramite elettroforesi su agarosio, sebbene anche le proteine possano essere separate con questo supporto.
 - Quelle con il rapporto più elevato carica/massa si muoverebbero più velocemente. Si devono considerare tre variabili; la maggior parte delle elettroforesi sono allestite in modo da eliminare due delle variabili in modo che la separazione avvenga per dimensioni o per carica, ma non per entrambe.
 - Elettroforesi su gel di poliaccrilammide in sodio dodecilsolfato. Con la SDS-PAGE, si eliminano le differenze di carica e di forma delle proteine, in modo che il solo parametro che determini la migrazione sia la dimensione della proteina.
 - L'SDS si lega alla proteina in un rapporto costante di 1,4 g di SDS per grammo di proteina. Riveste di cariche negative la proteina e le conferisce una forma di gomitolo casuale. Così si eliminano le differenze di carica e di forma.
 - In un gel di poliaccrilammide usato nella cromatografia per filtrazione su

gel, le proteine più grandi possono muoversi intorno alle particelle di gel, avendo così un percorso più breve da percorrere ed eluendo più velocemente. Nell'elettroforesi, le proteine sono forzate ad attraversare la matrice e, quindi, se sono più grandi viaggiano più lentamente a causa del maggiore attrito.

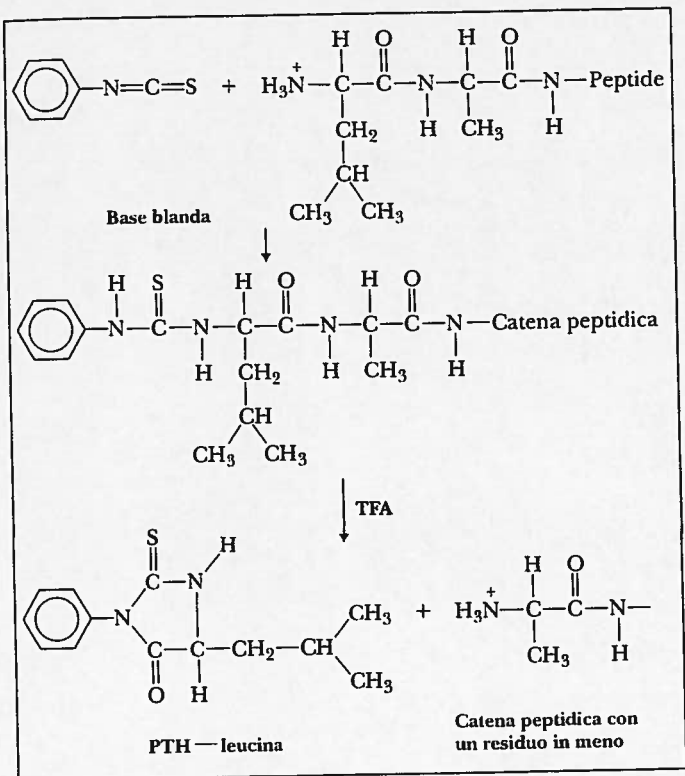
37. Il PM è 37.000 Da.

5.4 Determinazione della struttura primaria di una proteina

38. La degradazione di Edman fornirà l'identità dell'ammino-acido N-terminale nel suo primo ciclo, perciò non è necessario effettuare un esperimento a parte.

39. Vi potrebbe dire se la proteina sia pura o costituita da subunità.

40.



41. La quantità di reattivo di Edman deve essere esattamente uguale alla quantità di N-terminali della prima reazione. Se il reattivo di Edman non è sufficiente, una parte degli N-terminali non reagirà. Se ce n'è troppo, anche una parte degli amminoacidi in seconda posizione reagiranno. In ogni caso, ci saranno in piccola quantità derivati PTH contaminanti. Questo errore si incrementa con il numero di cicli, fino al punto in cui saranno rilasciati due amminoacidi nella stessa quantità e non si potrà stabilire con certezza quale sia quello corretto.
42. Nel primo ciclo, il primo e il secondo amminoacido dell'estremità N-terminale possono reagire ed essere rilasciati come derivati PTH. Si avrebbe un duplice segnale, senza poter stabilire qual è l'N-terminale.
43. Val-Leu-Gly-Met-Ser-Arg-Asn-Thr-Trp-Met-Ile-Lys-Gly-Tyr-Met-Gln-Phe
44. Met-Val-Ser-Thr-Lys-Leu-Phe-Asn-Glu-Ser-Arg-Val-Ile-Trp-Thr-Leu-Met-Ile
45. È possibile che la vostra proteina non sia pura e abbia bisogno di ulteriori passaggi di purificazione prima di arrivare ad un singolo polipeptide. È anche possibile che la proteina abbia delle subunità, per cui catene polipeptidiche multiple potrebbero generare il risultato contraddittorio.
46. Ci sono due frammenti il cui C-terminale non è lisina né arginina, per i quali la tripsina è specifica. Normalmente ci dovrebbe essere un solo frammento che termina con un amminoacido diverso da Arg o Lys e sapremmo immediatamente che si trattava del C-terminale. L'istidina è un residuo basico, anche se è di solito neutro e perciò non reagisce con la tripsina. È possibile che, al pH dell'ambiente di reazione, l'istidina risultasse carica positivamente e fosse riconosciuta dalla tripsina.
47. Vi potrebbe mettere al corrente della concentrazione relativa dei diversi amminoacidi. Questo è importante, perché vi aiuterebbe a programmare meglio gli esperimenti di sequenza. Per esempio, se avete una proteina nella cui composizione non fossero presenti amminoacidi aromatici, sarebbe una perdita di tempo fare una digestione con la chimotripsina.

48. Il bromuro di cianogeno sarebbe inutile, per l'assenza di metionina. La tripsina andrebbe un po' meglio, poiché la proteina è costituita per il 35% da residui basici. La tripsina però frammenterebbe la proteina in più di 30 peptidi, che sarebbero molto difficili da analizzare.

49. La chimotripsina sarebbe una buona scelta. Ci sono più di quattro residui di amminoacidi aromatici. La proteina di 100 amminoacidi dovrebbe essere scissa almeno quattro volte, dando dei frammenti di 20-30 amminoacidi di lunghezza, di cui può essere effettivamente determinata la sequenza mediante degradazione di Edman.

50. Funzionerebbe meglio se i residui aromatici fossero distribuiti nella proteina. In quel modo, sarebbero generati dei frammenti delle dimensioni adatte. Se tutti e quattro i residui aromatici fossero presenti nei primi dieci amminoacidi, ci sarebbe un frammento lungo, di cui non potrebbe essere determinata la sequenza.

51. La proteomica consiste nell'analisi sistematica completa dell'insieme delle proteine di un organismo, il suo proteoma. Così come abbiamo imparato il dogma centrale della biologia molecolare (DNA → RNA → proteina), le attuali tecnologie rendono gli scienziati in grado di descrivere il DNA intero di un organismo come suo genoma, tutti gli RNA come il suo trascrittoma e tutte le proteine prodotte come il suo proteoma. Comprendere il flusso di proteine di una cellula significa comprendere il suo metabolismo.

52. La proteina esca è costruita legando un particolare tag o "etichetta". La proteina esca interagisce con le proteine cellulari di interesse e poi si lega, attraverso il proprio tag, a una colonna di affinità. In questo modo, le proteine cellulari di interesse possono essere identificate e isolate.

53. Ci sono molte assunzioni dietro gli esperimenti descritti nelle connessioni biochimiche di pagina 139. Una di queste è che si assume che la natura del tag non cambi la capacità di legame della proteina stessa. Per esempio, se l'aggiunta di un tag rende il legame alla proteina più o meno probabile, le conclusioni tratte sul legame delle proteine cellulari potrebbero essere non corrette. Per esempio, si potrebbe concludere che due proteine interagiscono per permettere le loro funzioni metaboliche, ma questo legame potrebbe essere un artefatto delle condizioni dell'esperimento. Si dovrebbe inoltre assumere che l'aggiunta del tag alla proteina non cambi l'affinità tra il tag stesso e la colonna di affinità.

Capitolo 6

6.1 Gli enzimi sono catalizzatori biologici molto efficaci

1. I catalizzatori enzimatici sono di molti ordini di grandezza più efficienti dei catalizzatori non enzimatici.
2. La maggior parte degli enzimi sono proteine, ma esistono anche alcuni RNA catalitici (ribozimi).
3. Circa 3 secondi (1 anno × 1 evento/10⁷ eventi × 365 giorni/anno × 24 ore/giorno × 3600 secondi/ora = 3,15 secondi).
4. Gli enzimi mantengono i substrati in posizioni favorevoli e si legano efficacemente allo stato di transizione per stabilizzarlo. Bisogna sottolineare il fatto che *tutti* i catalizzatori abbassano l'energia di attivazione, quindi questa non è una funzione particolare degli enzimi.

6.2 Aspetti cinetici contro aspetti termodinamici

5. La reazione del glucosio con l'ossigeno è una reazione favorita dal punto di vista termodinamico, come si può evidenziare dal valore negativo della variazione di energia libera. Il fatto che il glucosio possa essere tenuto in atmosfera di ossigeno riflette gli aspetti cinetici della reazione, che prevedono il superamento della barriera dell'energia di attivazione.
6. Per quanto riguarda la prima domanda, molto probabilmente, le concentrazioni locali (concetto dell'azione di massa) potrebbero facilmente determinare la direzione della reazione. Per quanto riguarda, invece, la seconda domanda, probabilmente no; le concentrazioni locali solo raramente sarebbero sufficienti a superare un ΔG° relativamente grande, di -5,3 kcal, della reazione inversa. (Si veda, comunque, la reazione dell'alcolasi nella glicolisi).
7. Riscaldando una proteina la si denatura. L'attività enzimatica dipende dalla corretta struttura tridimensionale della proteina. Il legame con il substrato può rendere più difficile la denaturazione della proteina.
8. I risultati non provano che il meccanismo sia corretto, perché i risultati di esperimenti diversi potrebbero contraddire il meccanismo proposto. In quel caso, il meccanismo dovrebbe essere modificato per essere in accordo con i nuovi risultati sperimentali.
9. La presenza di un catalizzatore influisce sulla velocità di una reazione. La variazione di energia libera standard è una proprietà termodinamica che non dipende dalla velocità della reazione. Di conseguenza, la presenza del catalizzatore non ha alcun effetto sull'energia libera standard.
10. La presenza di un catalizzatore abbassa l'energia di attivazione di una reazione.
11. Gli enzimi, come tutti i catalizzatori, determinano un aumento della velocità della reazione in entrambe le direzioni in eguale misura.

A-10 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

12. La quantità di prodotto ottenuta in una reazione dipende dalla costante di equilibrio. Un catalizzatore non è in grado di influenzare questa costante.

6.3 Equazioni di cinetica enzimatica

13. La reazione è di primo ordine rispetto ad A, di primo ordine rispetto a B e di secondo ordine complessivo. È probabile che il meccanismo dettagliato della reazione coinvolga una molecola di A e una di B.

14. Il modo più semplice per seguire la velocità di questa reazione è quello di monitorare nel tempo la diminuzione di assorbanza a 340 nm. La diminuzione di questo valore riflette la scomparsa del NADH.

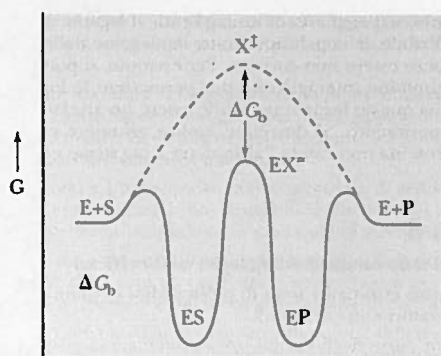
15. L'utilizzo di un pHmetro non sarebbe un buon modo per seguire la velocità della reazione. Probabilmente state facendo avvenire questa reazione in una soluzione tampone, per mantenere il pH relativamente costante. Se non state facendo avvenire la reazione in una soluzione tampone, correte il rischio di avere una denaturazione acida dell'enzima.

16. Gli enzimi tendono ad avere valori ottimali di pH compresi in un range molto ristretto. È necessario assicurarsi che il pH della miscela di reazione corrisponda al valore ottimale. Ciò è vero specialmente per reazioni che richiedono o producono ioni idrogeno.

6.4 Legame enzima-substrato

17. Nel modello chiave-serratura, il substrato si adatta perfettamente in una proteina rigida, il cui sito attivo ha una forma ben definita. Nel modello dell'adattamento indotto, l'enzima è sottoposto ad un cambiamento conformazionale quando si lega al substrato. Il sito attivo prende forma attorno al substrato.

18. Nessuna destabilizzazione, di conseguenza nessuna catalisi.



Nessuna destabilizzazione,
quindi nessuna catalisi

19. Il complesso ES si troverebbe in una "buca energetica", con una conseguente energia di attivazione elevata per raggiungere lo stato di transizione.

20. Gli amminoacidi che si trovano lontani nella sequenza amminoacidica possono essere vicini nella struttura tridimensionale, a causa del ripiegamento della proteina. Gli amminoacidi critici si trovano nel sito attivo.

21. La struttura globale della proteina è necessaria per assicurare la corretta sistemazione degli amminoacidi nel sito attivo.

22. La forte inibizione indica uno stretto legame al sito attivo. Perciò, è molto probabile che il composto sia un analogo di uno stato di transizione.

6.5 Esempi di reazioni catalizzate da enzimi

23. Si vedano le Figure 6.6 e 6.7.

24. Non tutti gli enzimi seguono la cinetica di Michaelis-Menten. Il comportamento cinetico degli enzimi allosterici non segue l'equazione di Michaelis-Menten.

25. Il grafico della velocità rispetto alla concentrazione di substrato è sigmoide per un enzima allosterico, ma iperbolico per un enzima che segue l'equazione di Michaelis-Menten.

6.6 L'approccio di Michaelis-Menten alla cinetica enzimatica

26. La velocità della reazione rimane la stessa aumentando la concentrazione di enzima. È in teoria possibile, ma molto improbabile, che una reazione sia saturata dall'enzima.

27. L'assunzione dello stato stazionario è che la concentrazione del complesso enzima-substrato non varia apprezzabilmente nell'intervallo di tempo in cui avviene l'esperimento. Si stabilisce che la velocità di comparsa del complesso sia eguale alla velocità della sua scomparsa, semplificando le equazioni della cinetica enzimatica.

28. Numero di turnover = $V_{\max}/[ET]$.

29. Utilizzate l'Equazione 6.16.

$$V = 0,5 V_{\max};$$

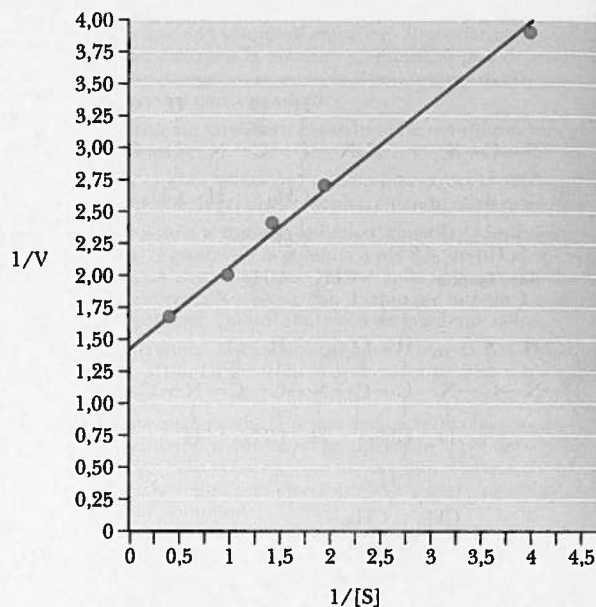
$$V = 0,33 V_{\max};$$

$$V = 0,09 V_{\max};$$

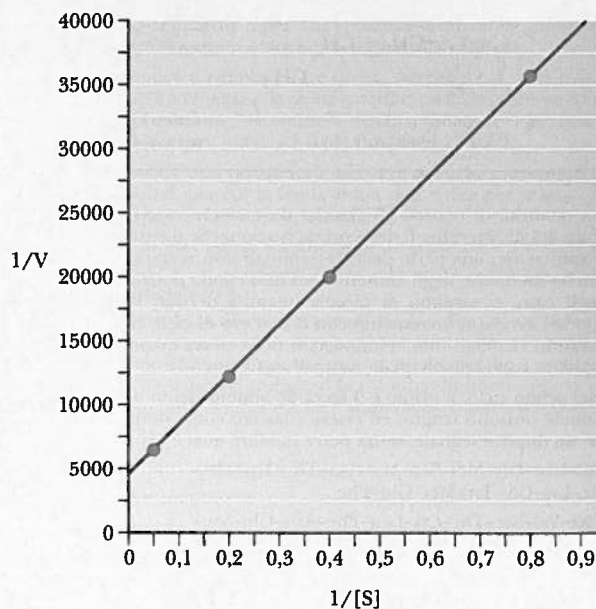
$$V = 0,67 V_{\max};$$

$$V = 0,91 V_{\max}.$$

30. Si veda il grafico: $V_{\max} = 0,681 \text{ mM min}^{-1}$, $K_M = 0,421 \text{ M}$.

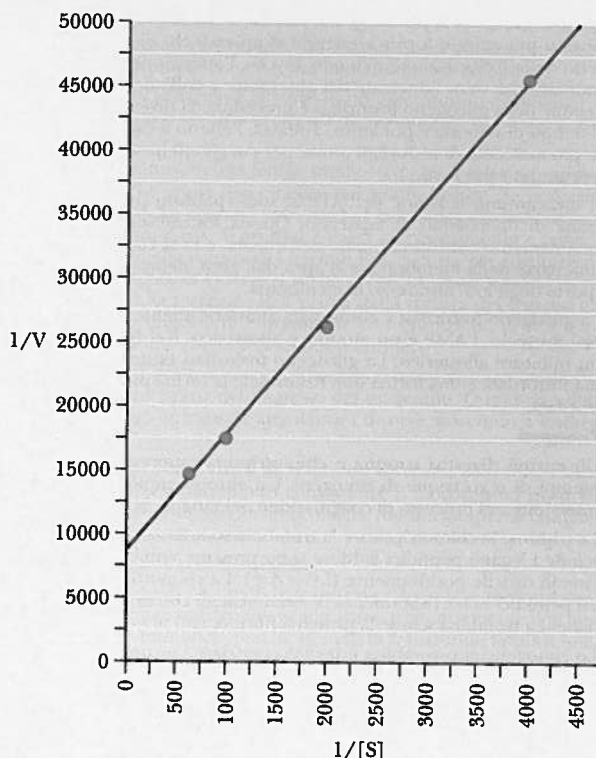


31. Si veda il grafico: $V_{\max} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ M sec}^{-1}$, $K_M = 1,6 \times 10^8 \text{ M}$.

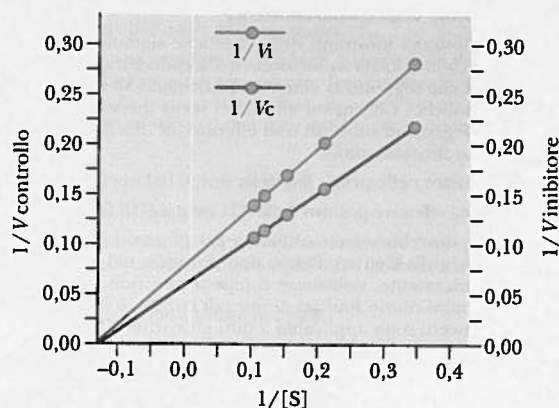


32. Si veda il grafico: $K_M = 2,86 \times 10^{-2} \text{ M}$. Le concentrazioni non sono state determinate direttamente. Per praticità sono stati invece utilizzati valori di assorbanza.

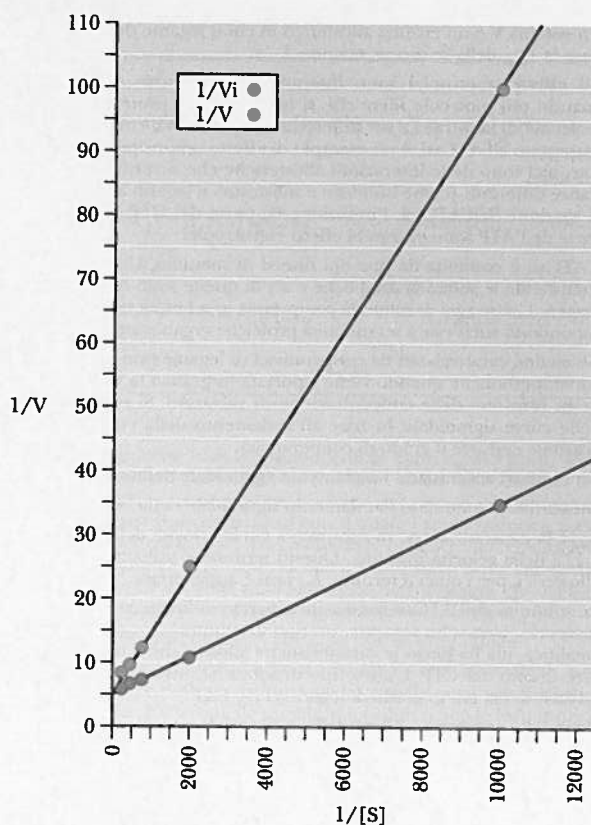
33. Si veda il grafico: $V_{\max} = 1,32 \times 10^3 \text{ M min}^{-1}$, $K_M = 1,23 \times 10^3 \text{ M}$.



46. $K_M = 7,42 \text{ mM}$; $V_{\max} = 15,9 \text{ mmol min}^{-1}$; inibizione non competitiva.



47. Inibizione competitiva, $K_M = 6,5 \times 10^{-4}$. Qui il punto cruciale è che V_{\max} è la stessa, nei limiti dell'errore. Alcune concentrazioni sono date con una sola cifra significativa.



34. Il numero di turnover è $20,43 \text{ min}^{-1}$.
35. Il numero di moli di enzima è $1,56 \times 10^{-10}$. Il numero di turnover è pari a 10.700 sec^{-1} .
36. Il basso valore di K_M per gli amminoacidi aromatici indica che saranno preferibilmente ossidati.
37. È più facile rilevare le deviazioni di singoli punti da una linea retta che da una curva.
38. L'assunzione che la K_M è un indice dell'affinità di legame tra il substrato e l'enzima è valida quando la velocità di dissociazione del complesso enzima-substrato in prodotto ed enzima è molto più bassa della velocità di dissociazione del complesso in enzima e substrato.

6.7 Inibizione enzimatica

39. Nel caso dell'inibizione competitiva, il valore di K_M aumenta, mentre resta invariato nell'inibizione non competitiva.
40. Un inibitore competitivo blocca il legame, non la catalisi.
41. Un inibitore non competitivo non varia l'affinità dell'enzima per il suo substrato.
42. Un inibitore competitivo si lega al sito attivo di un enzima, impedendo il legame del substrato. Un inibitore non competitivo si lega a un sito diverso dal sito attivo, causando un cambiamento di conformazione che rende il sito attivo meno disponibile a legare il substrato e a convertirlo in prodotto.
43. L'inibizione competitiva può essere evitata aggiungendo una quantità adeguata di substrato, ma ciò non vale per tutti i tipi di inibizione enzimatica.
44. Un grafico di Lineweaver-Burk è utile perché permette di ottenere una linea retta. È più semplice determinare se dei punti possono adattarsi meglio ad una retta che non ad una curva.
45. In un grafico di Lineweaver-Burk per l'inibizione competitiva, le linee si intersecano in corrispondenza dell'intercetta con l'asse delle y, che corrisponde a $1/V_{\max}$. In un grafico di Lineweaver-Burk per l'inibizione non competitiva, le linee si intersecano in corrispondenza dell'intercetta con l'asse delle x, che corrisponde a $-1/K_M$.

48. È molto positivo nel caso degli inibitori non competitivi; gran parte del controllo metabolico dipende dall'inibizione a feedback da parte di inibitori non competitivi a valle. La domanda è forse controversa nel caso degli inibitori competitivi, che si incontrano molto meno comunemente *in vivo*. Alcuni antibiotici, tuttavia, sono inibitori competitivi (vantaggioso per il malato, svantaggioso per i batteri).
49. Saranno variate sia la pendenza che l'intercetta. Le linee si intersecheranno al di sopra dell'asse delle x, a valori negativi di $1/[S]$.
50. Non tutti i farmaci contro l'AIDS sono inibitori enzimatici, ma una classe importante di tali farmaci inibisce la proteasi dell'HIV. Dovreste avere chiaro i concetti riguardanti il legame del substrato, l'inibizione e il legame dell'inibitore.
51. Un inibitore irreversibile è legato mediante legami covalenti. Le interazioni non covalenti sono relativamente deboli e si rompono facilmente.
52. Un inibitore non competitivo non si lega al sito attivo di un enzima. Non è necessario che la sua struttura sia correlata a quella del substrato.

Capitolo 7

7.1 Il comportamento degli enzimi allosterici

1. Gli enzimi allosterici mostrano delle cinetiche sigmoidali quando si riporta in grafico la velocità in funzione della concentrazione del substrato. Gli enzimi che seguono la cinetica di Michaelis-Menten mostrano cinetiche iperboliche. Gli enzimi allosterici sono spesso costituiti da più subunità e il legame di substrati o di effettori ad una subunità influenza il legame delle altre subunità.
 2. È un enzima usato nelle prime fasi della sintesi del nucleotide citidina.
 3. L'ATP funge da effettore positivo della ATCase e il CTP funge da inibitore.
 4. Il termine K_M dovrebbe essere utilizzato per gli enzimi che mostrano cinetiche di Michaelis-Menten. Perciò non si utilizza nel caso di enzimi allosterici. Tecnicamente, inibizione competitiva e non competitiva sono anche dei termini riferiti limitatamente agli enzimi di Michaelis-Menten, anche se i concetti sono applicabili a tutti gli enzimi. Un inibitore che si lega a un enzima allosterico nello stesso sito del substrato assomiglia a un inibitore competitivo classico. Uno che si lega a un sito differente assomiglia a un inibitore non competitivo, ma le equazioni e i grafici caratteristici dell'inibizione competitiva e non competitiva non valgono allo stesso modo per gli enzimi allosterici.
 5. Un sistema K è un enzima allosterico in cui il legame dell'inibitore altera il valore di $S_{0,5}$, la concentrazione apparente di substrato necessaria per raggiungere un mezzo di V_{max} .
 6. Un sistema V è un enzima allosterico in cui il legame dell'inibitore fa variare la V_{max} della reazione, ma non $S_{0,5}$.
 7. Gli effetti omotropici sono interazioni allosteriche che si verificano quando più molecole identiche si legano a una proteina. Il legame di molecole di substrato a siti differenti di un enzima, come il legame dell'aspartato all'ATCase, è un esempio di effetto omotropico. Gli effetti eterotropici sono delle interazioni allosteriche che si verificano quando sostanze differenti (come inibitore e substrato) si legano alla proteina. Nella reazione dell'ATCase, l'inibizione da parte del CTP e l'attivazione da parte dell'ATP sono entrambi effetti eterotropici.
 8. L'ATCase è costituita da due tipi diversi di subunità. Un tipo di subunità comprende le subunità catalitiche e sei di queste sono organizzate in due trimeri. L'altro tipo di subunità comprende le subunità regolatrici, che corrispondono anch'esse a sei subunità proteiche organizzate in tre dimeri.
 9. Gli enzimi caratterizzati da cooperatività di legame non presentano delle curve iperboliche quando viene riportata in grafico la velocità di reazione in funzione della concentrazione di substrato. Si ottengono, infatti, delle curve sigmoidali. In base all'andamento della curva sigmoidale è possibile dedurre il grado di cooperatività.
 10. Gli inibitori accentuano l'andamento sigmoidale della curva.
 11. Gli attivatori attenuano l'andamento sigmoidale della curva.
 12. $K_{0,5}$ è la concentrazione di substrato a cui la velocità della reazione è pari a 1/2 della velocità massima. Questo termine è utilizzato per gli enzimi allosterici, per i quali il termine K_M non è appropriato.
 13. Le subunità dell'ATCase sono state separate utilizzando un composto del mercurio. Una volta separate, un tipo di subunità ha conservato l'attività catalitica, ma ha perso le caratteristiche allosteriche e la possibilità di essere inibito dal CTP. L'altro tipo di subunità, invece, non aveva attività ATCase, ma era in grado di legare ATP e CTP.
- ### 7.2 Il modello concertato e il modello sequenziale per gli enzimi allosterici
14. Nel modello concertato, tutte le subunità di un enzima allosterico si trovano nella stessa conformazione, T o R. Sono in equilibrio tra loro in ogni enzima che abbia un rapporto caratteristico di T/R. Nel modello sequenziale, le subunità cambiano da T a R individualmente.
 15. Il modello sequenziale può spiegare la cooperatività negativa, perché un substrato che si lega alla forma T potrebbe indurre altre subunità a passare alla forma T, riducendo in questo modo l'affinità di legame.
 16. Un elevato rapporto T/R favorisce la cooperatività. Anche un più alto valore di costante di dissociazione per il legame del substrato alla forma T favorisce la cooperatività.
 17. Il valore L è il rapporto delle forme T/R all'equilibrio. Il valore c corrisponde al rapporto delle costanti di dissociazione del substrato rispetto alle due forme dell'enzima, quindi $c = K_R/K_T$.
 18. Sono possibili diversi modelli. Non sappiamo mai con certezza come funzionano gli enzimi, piuttosto noi possiamo ipotizzare un modello che spieghi il comportamento osservato. Tuttavia, è possibile che anche un altro modello possa spiegarlo altrettanto bene.
- ### 7.3 Controllo dell'attività enzimatica mediante fosforilazione
19. Una chinasi è un enzima che fosforila una proteina, utilizzando come donatore del fosfato un fosfato ad alta energia, come l'ATP.
 20. La serina, la treonina e la tirosina sono i tre amminoacidi che vengono fosforilati più frequentemente nelle proteine, bersaglio delle chinasi. Un altro amminoacido che viene fosforilato spesso è l'aspartato.
 21. L'effetto allosterico può essere più veloce perché si basa sul semplice

equilibrio di legame. Per esempio, se l'AMP è un attivatore allosterico della glicogeno fosforilasi, l'aumento immediato di AMP, che si verifica quando i muscoli si contraggono, può far sì che la fosforilasi del muscolo diventi più attiva e fornisca energia ai muscoli che si contraggono. L'effetto della fosforilazione richiede, invece, l'attivazione di una cascata ormonale, che viene innescata dal glucagone o dall'adrenalina. La fosforilazione della glicogeno fosforilasi è preceduta da diversi passaggi, per cui il tempo di risposta è più lento. Tuttavia, l'effetto a cascata produce molte più molecole di fosforilasi attiva, per cui gli effetti sono più prolungati nel tempo e più forti.

22. Il meccanismo d'azione dell'ATPasi sodio-potassio prevede la fosforilazione di un residuo di aspartato. Questa fosforilazione determina un cambiamento conformazionale dell'enzima e fa sì che esso si chiuda da una parte della membrana e si apra dall'altra, determinando così il trasporto degli ioni attraverso la membrana.
 23. La glicogeno fosforilasi è controllata allostericamente da varie molecole. Nel muscolo, l'AMP è un attivatore allosterico. Nel fegato, il glucosio è un inibitore allosterico. La glicogeno fosforilasi esiste anche in una forma fosforilata e una forma non fosforilata; la forma più attiva è quella fosforilata.
- ### 7.4 Zimogeni
24. Gli enzimi digestivi tripsina e chimotripsina rappresentano dei classici esempi di regolazione di zimogeni. Un altro esempio è la proteina che interviene nel processo di coagulazione del sangue, la trombina.
 25. La tripsina, la chimotripsina e la trombina sono tutte proteasi. La tripsina scinde i legami peptidici laddove sono presenti amminoacidi con catene laterali cariche positivamente (Lys e Arg). La chimotripsina scinde i legami peptidici in corrispondenza di amminoacidi con catene laterali aromatiche. La trombina scinde la proteina fibrinogeno per dare la fibrina.
 26. Lo zimogeno protrombina è tagliato per dare l'enzima attivo trombina. La trombina, quindi, scinde una molecola solubile, il fibrinogeno, per dare una molecola insolubile, la fibrina. La fibrina è una proteina che interviene nella formazione del coagulo di sangue.
 27. Il chimotripsinogeno è uno zimogeno inattivo. Su di esso agisce la tripsina, che scinde i peptidi in corrispondenza di residui basici, come l'arginina. Quando la tripsina effettua un taglio tra arginina e isoleucina, il chimotripsinogeno diventa semiattivo, formando la π -chimotripsina. Questa molecola digerisce ulteriormente se stessa, formando l' α -chimotripsina attiva. In seguito al primo taglio proteolitico si libera il gruppo α -amminico dell'isoleucina che viene a trovarsi in prossimità del sito attivo dell' α -chimotripsina ed è indispensabile per la sua attività.
 28. Gli zimogeni sono spesso trattati come enzimi digestivi, prodotti in un tessuto e utilizzati in un altro. Se l'enzima fosse attivo immediatamente dopo la sua produzione, digerirebbe altre proteine della cellula causando grossi danni. Prodotto come zimogeno, può essere sintetizzato in tutta sicurezza e trasportato ai tessuti digestivi degli organi, come stomaco o intestino tenue, dove può essere attivato.
 29. Ciò assicura una risposta più rapida quando c'è richiesta dell'ormone. L'ormone è già sintetizzato e richiede in genere la rottura di uno o più legami perché sia attivo. L'ormone può essere attivato e reso disponibile su richiesta.

7.5 Natura del sito attivo

30. La serina e l'istidina sono i due amminoacidi più importanti presenti nel sito attivo della chimotripsina.
31. La fase iniziale determina il rilascio del primo prodotto e implica la formazione di un intermedio acil-enzima. Questa fase è più veloce della seconda, in cui l'acqua entra nel sito attivo e rompe il legame acil-enzima.
32. Nel primo stadio della reazione il gruppo ossidrilico della serina è il nucleofilo che attacca il legame peptidico del substrato. Nel secondo stadio, l'acqua è il nucleofilo che attacca l'intermedio acil-enzima.
33. L'His57 effettua una serie di reazioni che implicano una catalisi generale basica, seguita da catalisi acida generale. Nella prima fase della reazione sottrae un idrogeno alla Ser195, agendo come una base generale. Ciò è immediatamente seguito da reazione di catalisi acida, dove fornisce l'idrogeno al gruppo ammidico del legame peptidico che si sta rompendo. Uno schema simile si ritrova nella seconda fase della reazione.
34. La prima fase è più veloce per varie ragioni. La serina in posizione 195 è un nucleofilo forte per l'attacco nucleofilo iniziale. Forma quindi un intermedio acil-enzima. Nella seconda fase, il nucleofilo è l'acqua, che impiega tempo per diffondere verso il punto giusto per effettuare l'attacco nucleofilo. Non è, inoltre, un nucleofilo altrettanto forte quanto la serina. Quindi, ha bisogno di più tempo per effettuare il suo attacco nucleofilo e rompere l'intermedio acil-enzima rispetto a quello di cui necessita la serina per crearlo.
35. L'His57 esiste sia nella forma protonata che deprotonata durante la reazione della chimotripsina. Il suo pK_a di 6,0 rende possibile ciò nell'intervallo fisiologico di pH.
36. Invece di utilizzare un gruppo della fenilalanina (simile al substrato usuale della chimotripsina), usate un composto azotato contenente un gruppo basico simile al substrato usuale della tripsina.

7.6 Reazioni chimiche coinvolte nei meccanismi degli enzimi

37. Fungono da acidi di Lewis (accettori di coppie di elettroni) e possono prendere parte ai meccanismi di catalisi enzimatica.
38. Falso. I meccanismi della catalisi enzimatica sono gli stessi incontrati in chimica organica, solo che operano in un ambiente complesso.
39. La catalisi acida generale è la parte di un meccanismo enzimatico in cui un amminoacido o un'altra molecola dona uno ione idrogeno a un'altra molecola.
40. S_N1 sta per sostituzione nucleofila unimolecolare. Il termine unimolecolare significa che segue una cinetica del primo ordine. Se la reazione è $R:X + Z \rightarrow R:Z + X$, con una reazione S_N1 la velocità dipende dalla rottura del legame tra R e X. Il gruppo Z entra successivamente e rapidamente, in confronto alla rottura del legame R:X. S_N2 sta per sostituzione nucleofila bimolecolare. Questo si verifica, con lo stesso schema di reazione, se Z attacca la molecola R:X prima della rottura del legame tra R e X. Perciò sono importanti entrambe le concentrazioni, di R:X e Z, e la velocità mostra una cinetica di secondo ordine.
41. La reazione S_N1 porta a una perdita di stereospecificità, quando il gruppo X si allontana prima dell'ingresso del nucleofilo. Questo significa che il nucleofilo può entrare da angolazioni diverse, portando a isomeri differenti.
42. I risultati non provano che il meccanismo sia corretto, perché risultati di esperimenti diversi potrebbero contraddire il meccanismo proposto. In quel caso, il meccanismo dovrebbe essere modificato per accordarsi con i nuovi risultati sperimentali.

7.7 Il sito attivo e gli stati di transizione

43. Un buon analogo di uno stato di transizione dovrebbe avere un atomo di carbonio tetraedrico in cui si trovava originariamente il gruppo carbonilico ammidico, poiché lo stato di transizione implica una forma tetraedrica transitoria. Dovrebbe anche avere degli atomi di ossigeno sullo stesso atomo di carbonio, per cui ci sarebbe una specificità sufficiente per il sito attivo.
44. Secondo il modello dell'adattamento indotto, l'enzima e il substrato devono entrambi spostarsi e modificarsi per adattarsi perfettamente l'uno all'altro. Perciò, il reale adattamento non è tra l'enzima e il substrato, ma tra l'enzima e lo stato di transizione del substrato nella sua evoluzione a prodotto. In questo modello, un analogo di uno stato di transizione si adatterà bene all'enzima.
45. Un abzyme si crea iniettando in un animale ospite un analogo dello stato di transizione di una reazione di interesse. L'animale ospite produrrà anticorpi contro la molecola estranea e questi anticorpi avranno dei punti specifici di legame, che mimano l'ambiente enzimatico intorno a uno stato di transizione. Lo scopo è la creazione di un anticorpo con attività catalitica.
46. La cocaina blocca il riassorbimento del neurotrasmettitore dopamina a livello delle sinapsi. In questo modo la dopamina rimane più a lungo nel sistema, ipereccitando il neurone e conducendo i segnali di benessere al cervello, determinando la dipendenza. L'uso di un farmaco per bloccare un recettore non sarebbe utile in caso di dipendenza da cocaina e probabilmente comporterebbe un'eliminazione meno efficiente della dopamina.
47. La cocaina può essere degradata da uno specifico enzima capace di idrolizzare un legame estereo presente nella struttura della cocaina. Durante questa idrolisi, la cocaina deve passare attraverso uno stato di transizione che modifica la sua struttura. Anticorpi catalitici, diretti contro lo stato di transizione dell'idrolisi della cocaina, idrolizzano la cocaina in due prodotti di degradazione innocui: l'acido benzoico e l'ecgonina metil estere. Quando è degradata, la cocaina non può bloccare il riassorbimento della dopamina. Non si ha un prolungamento dello stimolo neuronale e gli effetti della dipendenza dalla droga svaniscono nel tempo.

7.8 Coenzimi

48. Nicotinamide adenin dinucleotide, ossido-riduzione; flavin adenin dinucleotide, ossido-riduzione; coenzima A, trasferimento di acile; piridossal fosfato, transaminazione; biotina, carbossilazione; acido lipoico, trasferimento di acile.
49. La maggior parte dei coenzimi deriva da composti che chiamiamo vitaminc. Per esempio, la nicotinamide adenin dinucleotide deriva da una vitamina del gruppo B: la niacina. Il flavin adenin dinucleotide deriva dalla riboflavina.
50. La vitamina B₆ è la fonte di piridossal fosfato, utilizzato nelle reazioni di transaminazione.
51. I coenzimi possono intervenire negli stessi meccanismi di reazione in cui

intervengono gli amminoacidi. Per esempio, uno ione metallico può fungere da acido o base generale. Alcune parti di un coenzima, come il carbene reattivo della tiamina pirofosfato, possono fungere da nucleofili durante la catalisi della reazione.

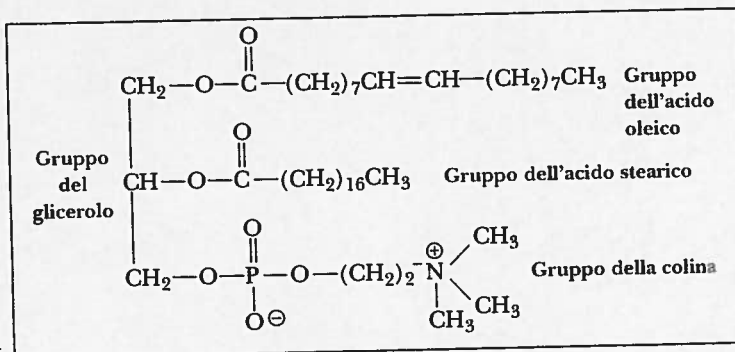
52. Sì, ci sarebbe una preferenza. Poiché il coenzima ed il substrato saranno racchiusi nell'enzima, lo ione idruo deriverebbe da un gruppo funzionale presente in una posizione fissa. Perciò, l'idruo dovrebbe posizionarsi su un lato specifico dell'anello della nicotinamide.

Capitolo 8
8.1 La definizione di lipide

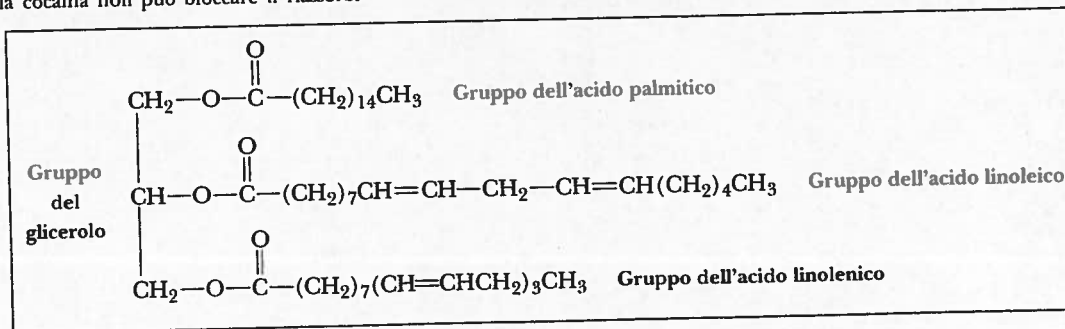
1. Le proprietà di solubilità (insolubili nei solventi acquosi o polari, solubili nei solventi non polari). Alcuni lipidi non sono strutturalmente correlati.

8.2 La natura chimica dei vari tipi di lipidi

2. In entrambi i tipi di lipidi, il glicerolo è esterificato con acidi carbossilici, con tre di questi legami esterei nei triacilgliceroli e due nelle fosfatidiletanolammine. La differenza strutturale sta nella natura del terzo legame estere sul glicerolo. Nelle fosfatidiletanolammine, il terzo gruppo ossidrilico del glicerolo è esterificato non con un acido carbossilico, ma con un acido fosforico. L'acido fosforico è a sua volta esterificato con una etanolamina. (Si vedano le Figure 8.2 e 8.5).
- 3.



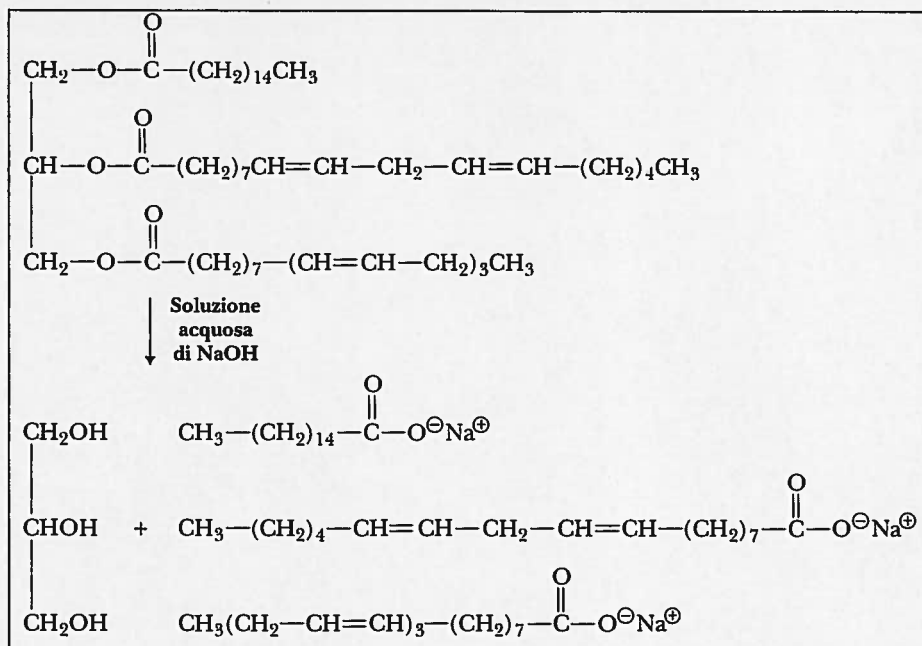
4. Sia le sfingomieline che le fosfatidilcoline contengono acido fosforico esterificato con un amminoalcol, che deve essere la colina nel caso di una fosfatidilcolina e può essere la colina nel caso di una sfingomielina. Differiscono per il secondo alcol con il quale l'acido fosforico è esterificato. Nelle fosfatidilcoline, il secondo alcol è il glicerolo, che ha formato anche due legami esterei con due acidi carbossilici. Nelle sfingomieline, il secondo alcol è un altro alcol amminico, la sfingosina, che ha formato un legame ammidico con un acido grasso. (Si veda la Figura 8.6).
5. Questo lipide è una ceramide, che è un tipo di sfingolipide.
6. Gli sfingolipidi contengono legami ammidici, come le proteine. Entrambi possono avere delle parti idrofobiche e delle parti idrofiliche ed entrambi possono trovarsi nelle membrane cellulari, ma le loro funzioni sono diverse.
7. È possibile una qualunque combinazione di acidi grassi.



8. Gli steroidi contengono una struttura caratteristica ad anello fuso, a differenza di altri lipidi.
9. Le cere sono esteri di acidi carbossilici a lunga catena e alcoli a lunga catena. Tendono a ritrovarsi come rivestimenti protettivi.
10. I fosfolipidi sono più idrofili del colesterolo. Il gruppo fosfato è carico e l'alcol legato è carico o polare. Questi gruppi interagiscono prontamente con l'acqua. Il colesterolo ha un singolo gruppo polare, un -OH.

A-14 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

11.



12. Il rivestimento superficiale ceroso è una barriera che previene la perdita di acqua.
13. La superficie di cera mantiene il prodotto fresco, evitando la perdita d'acqua.
14. Il colesterolo non è molto solubile in acqua, ma la lecitina è un buon detergente naturale e, di fatto, fa parte delle lipoproteine che trasportano nel sangue i grassi meno solubili.
15. La lecitina del tuorlo d'uovo funge da agente emulsionante, formando vescicole chiuse. I lipidi del burro (frequentemente triacilgliceroli) sono trattenuti nelle vescicole e non formano una fase separata.
16. La rimozione dell'olio rimuove anche gli oli naturali e le cere dalle piume, che si devono rigenerare prima che l'uccello possa essere liberato.

8.3 Le membrane biologiche

17. I triacilgliceroli non si trovano nelle membrane animali.
18. Le affermazioni (c) e (d) sono in accordo con le nostre conoscenze sulle membrane. Il legame covalente tra lipidi e proteine [affermazione (e)] si ritrova in alcuni motivi di ancoraggio, ma altrimenti non è diffuso. Le proteine "galleggiano" nei doppi strati lipidici, invece di essere disposte "a sandwich" tra essi [affermazione (a)]. Le molecole più voluminose tendono a trovarsi nello strato lipidico esterno [affermazione (b)].
19. L'opinione pubblica è concorde nel ritenere salutari gli acidi grassi polinsaturi. La configurazione *trans* conferisce una consistenza più appetibile. Tuttavia, di recente, sono sorte controversie su quanto effettivamente tali prodotti mimino i grassi saturi.
20. Gli oli vegetali parzialmente idrogenati hanno la consistenza desiderata per molti alimenti, come l'oleomargarina e i componenti dei cibi da consumare davanti alla TV.
21. Molti dei doppi legami sono stati saturati. Il crisco contiene "oli vegetali parzialmente idrogenati".
22. Le malattie cardiache hanno una minore incidenza in associazione con diete a basso tenore di acidi grassi saturi.
23. La temperatura di transizione è più bassa in un doppio strato lipidico con acidi grassi prevalentemente insaturi, in confronto ad un altro che possiede un'alta percentuale di acidi grassi saturi. Il doppio strato ricco di acidi grassi insaturi si presenta più disordinato di quello con un'alta percentuale di acidi grassi saturi.
24. La mielina è un rivestimento multistrato formato principalmente da lipidi (con alcune proteine) che isola gli assoni delle cellule nervose, facilitando la trasmissione degli impulsi nervosi.
25. Alle temperature più basse, la membrana avrebbe la tendenza ad essere meno fluida. La presenza di più acidi grassi insaturi tende a compensare ciò, aumentando la fluidità di una membrana rispetto ad un'altra, alla stessa temperatura, che abbia una proporzione più elevata di acidi grassi saturi.
26. La percentuale più elevata di acidi grassi insaturi nelle membrane nei climi freddi facilita la fluidità della membrana.
27. Le interazioni idrofobiche tra le code idrocarburiche sono la forza trainante principale nella formazione dei doppi strati lipidici.

8.4 Le proteine di membrana

28. Una glicoproteina è formata da legami covalenti tra un carboidrato e una proteina, mentre un glicolipide è formato da legami covalenti tra un carboidrato e un lipide.
29. Le proteine associate alle membrane non devono attraversare la membrana. Alcune possono essere parzialmente immerse in essa ed altre ancora si associano alla membrana in virtù di interazioni covalenti con la sua parte esterna.
30. In un campione di membrana di 100 g, ci sono 50 g di proteine e 50 g di fosfogliceridi.

$$50 \text{ g di lipide} \times \frac{1 \text{ mole di lipide}}{800 \text{ g di lipide}} = 0,0625 \text{ moli di lipide}$$

$$50 \text{ g di proteina} \times \frac{1 \text{ mole di proteina}}{50.000 \text{ g di proteina}} = 0,001 \text{ moli di proteina}$$

Il rapporto molare tra lipidi e proteine è 0,0625/0,001, o 62,5/1.

31. La natura sceglie ciò che funziona. Questo è un utilizzo efficiente di una grossa proteina e dell'energia dell'ATP.
32. In una proteina che attraversa la membrana, i residui non polari sono quelli esterni; interagiscono con i lipidi della membrana cellulare. I residui polari sono nell'interno e rivestono il canale attraverso il quale gli ioni entrano ed escono dalla cellula.

8.5 Il modello a mosaico fluido della struttura della membrana

33. Le affermazioni (c) e (d) sono corrette. Normalmente non si osserva diffusione trasversale [affermazione (b)], e il termine "mosaico" si riferisce al tipo di distribuzione delle proteine nel doppio strato lipidico [affermazione (e)]. Le proteine periferiche sono anche considerate parte della membrana [affermazione (a)].

8.6 Le funzioni delle membrane

34. Le membrane biologiche sono ambienti altamente non polari. Gli ioni carichi hanno la tendenza ad essere esclusi da tali ambienti, piuttosto che a dissolversi in essi, come dovrebbero fare per passare attraverso la membrana per semplice diffusione.
35. Le affermazioni (a) e (c) sono corrette; l'affermazione (b) non è corretta, perché gli ioni e le molecole più grandi, specialmente quelle polari, richiedono proteine canale.

8.7 Le vitamine liposolubili e le loro funzioni

36. Il colesterolo è un precursore della vitamina D₃; la reazione di conversione implica l'apertura dell'anello.
37. La vitamina E è un antiossidante.
38. Le unità di isoprene sono gruppi a 5 atomi di carbonio che hanno un ruolo nella struttura di vari prodotti naturali, comprese le vitamine liposolubili.
39. Si veda la Tabella 8.3.

40. L'isomerizzazione *cis-trans* del retinale nella rodopsina induce la trasmissione di un impulso al nervo ottico ed è l'evento fotochimico primario della visione.
 41. La vitamina D può essere sintetizzata dall'organismo.
 42. Le vitamine liposolubili si accumulano nel tessuto adiposo, con effetti tossici. Le vitamine idrosolubili vengono escrete, il che riduce drasticamente le possibilità di intossicazione.
 43. La vitamina K ha un ruolo nel processo della coagulazione del sangue. Il blocco della sua azione può avere effetto anticoagulante.
 44. Le vitamine A ed E eliminano i radicali liberi, che possono provocare un danno ossidativo alle cellule.
 45. Mangiare carote fa bene per entrambe le cose. La vitamina A, abbondante nelle carote, ha un ruolo nella visione. Diete che includono grosse quantità di vegetali sono associate con una più bassa incidenza del cancro.
- 8.8 Le prostaglandine e i leucotrieni**
46. Un acido grasso omega-3 ha un doppio legame sul terzo carbonio dall'estremità del metile.
 47. I leucotrieni sono acidi carbossilici con 3 doppi legami coniugati.
 48. Le prostaglandine sono acidi carbossilici che includono nella loro struttura un anello a 5 atomi.
 49. Le prostaglandine e i leucotrieni sono derivati dell'acido arachidonico. Essi hanno un ruolo nell'infiammazione e negli attacchi allergici e di asma.
 50. Le prostaglandine delle piastrine del sangue possono inibire la loro aggregazione. Questo è uno degli effetti fisiologici importanti delle prostaglandine.

Capitolo 9

9.1 I livelli di struttura degli acidi nucleici

1. (a) Si ritiene comunemente che il DNA a doppia elica sia dotato di una struttura secondaria (l'avvolgimento a doppia elica), terziaria (il superavvolgimento 'supercoil') e quaternaria (la sua associazione con le proteine).
- (b) Il tRNA ha una struttura terziaria con più ripiegamenti e giri tridimensionali.
- (c) In genere, l'mRNA viene considerato una struttura primaria, presentando strutture ulteriori di scarso rilievo.

9.2 La struttura covalente dei polinucleotidi

2. La timina, a differenza dell'uracile, ha un gruppo metilico attaccato al carbonio 5.
3. L'adenina ha un gruppo amminico legato al carbonio 6, mentre l'ipoxantina ha un gruppo carbonile.

A	Adenina	Adenosina-5'-trifosfato deossadenosina-5'-trifosfato
G	Guanina	Guanosina-5'-trifosfato deossiguanosina-5'-trifosfato
C	Citosina	Citidina-5'-trifosfato deossicitidina-5'-trifosfato
T	Timina	Deossitimidina-5'-trifosfato
U	Uracile	Uridina-5'-trifosfato

5. L'ATP è formato da adenina, ribosio e da tre fosfati legati all'ossidrile 5' del ribosio. Lo stesso vale per il dATP, ma in questo caso lo zucchero è il deossiribosio.
6. La sequenza sul filamento opposto per ciascuna delle sequenze è (si leggono tutte 5' → 3'):

ACGTAT	ATACGT
AGATCT	AGATCT
ATGGTA	TACCAT
7. Esse sono delle sequenze di DNA, per la presenza della timina e non dell'uracile.
8. (a) Certamente sì! Se c'è qualcosa che bisogna augurarsi che non si perda, questo è il "deposito" delle istruzioni genetiche. (Potete paragonarlo all'efficienza di un computer al quale siano stati cancellati tutti i file *.exe).
- (b) Nel caso dell'RNA messaggero, sì. L'mRNA è il vettore di informazioni per la sintesi proteica, ma è necessario solo fino a quando è richiesta una particolare proteina. Se il messaggero non fosse degradato, la sintesi della proteina proseguirebbe anche oltre alle necessità, ne deriverebbe una perdita di energia, con vari possibili effetti nocivi. Gli mRNA, quindi, devono avere una breve durata (minuti); nel caso in cui sia necessaria una maggior quantità di proteina, verrà generato più mRNA.

9. Quattro tipi di basi differenti - adenina, citosina, guanina ed uracile - costituiscono la maggioranza delle basi nell'RNA, ma non sono le uniche. Vi sono anche un certo numero di basi modificate, soprattutto nel tRNA.
10. Questa speculazione è scaturita dal fatto che il ribosio possiede tre gruppi ossidrilici, che possono essere esterificati ad acido fosforico (alle posizioni 2', 3' e 5'), mentre il deossiribosio ha degli ossidrilici liberi soltanto nelle posizioni 3' e 5'.
11. L'idrolisi dell'RNA viene fortemente stimolata dalla formazione di un intermedio fosfodiesterico ciclico 2'-3'. Il DNA, mancante del gruppo ossidrilico 2', non può formare l'intermedio; esso è dunque relativamente resistente all'idrolisi.

9.3 La struttura del DNA

Struttura	Tipo di acido nucleico
Eliche di forma A	RNA a doppio filamento
Eliche di forma B	DNA
Eliche di forma Z	DNA con ripetizione di sequenze CGCGCG
Nucleosomi	Cromosomi eucariotici
DNA circolare	DNA batterico, mitocondriale, plasmidico

- 12.
13. Si veda la Figura 9.8.
14. Le affermazioni (c) e (d) sono vere; quelle (a) e (b) non lo sono.
15. È vero. Nei solchi c'è spazio per un legame e accesso alle coppie di basi.
16. Il solco maggiore e quello minore del DNA-B sono caratterizzati da dimensioni sostanzialmente diverse (ampiezza), a differenza di quelli del DNA-A, più simili in ampiezza.
17. L'affermazione (c) è vera; quelle (a) e (b) non lo sono. L'affermazione (d) è valida per la forma B del DNA ma non per le forme A e Z.
18. Il superavvolgimento si riferisce a ulteriori avvolgimenti del DNA nello stesso senso o in senso opposto a quello della doppia elica. Il superavvolgimento positivo si riferisce ad un giro ulteriore del DNA dovuto ad un ulteriore avvolgimento dell'elica prima della chiusura delle estremità, che determinano il DNA circolare. Una topoisomerasi è un enzima che genera una rottura a singolo filamento nel DNA superavvolto, allenta il superavvolgimento del DNA circolare chiuso e lo ricompono. Il superavvolgimento negativo si riferisce allo svolgimento della doppia elica prima che la chiusura delle estremità produca il DNA circolare.
19. Il ripiegamento (torsione) "a pala d'elica" è un movimento delle due basi di una coppia poste sullo stesso piano.
20. Una sequenza AG/CT è una piccola sezione di un DNA a doppio filamento, nel quale un filamento è 5'-AG-3' e l'altro 5'-CT-3'.
21. Il ripiegamento (torsione) "a pala d'elica" riduce la forza del legame idrogeno, ma sottrae la regione idrofobica della base dall'ambiente acquoso, rendendola entropicamente più favorevole.
22. Il DNA B presenta un'elica destrorsa con dimensioni specifiche (10 coppie di basi per giro, differenze significative tra solco maggiore e minore, ecc.). Il DNA Z è una doppia elica levogira con dimensioni diverse (12 coppie di basi per giro, solco maggiore e minore simili, ecc.).
23. I superavvolgimenti positivi nel DNA circolare saranno levogiri.
24. La cromatina è un complesso di DNA e proteine basiche che si trova all'interno dei nuclei eucariotici. (Si veda la Figura 9.16).
25. Si veda la figura nel riquadro delle Connessioni biochimiche sul DNA a tripla elica.
26. Il superavvolgimento negativo, l'avvolgimento del nucleosoma e la forma Z del DNA.
27. Si lega al DNA, formando delle anse intorno a se stessa. In seguito, taglia entrambi i filamenti di DNA da una parte dell'ansa, fa passare le estremità attraverso un'altra ansa e le ricuce.
28. Gli istoni sono delle proteine molto basiche con numerosi residui di arginina e lisina che hanno catene laterali cariche positivamente a pH fisiologico. Da ciò deriva l'attrazione tra il DNA e gli istoni, poiché il DNA ha i fosfati con carica negativa: Istone-NH₃⁺ attira la catena -O-P-O-DNA. Gli istoni, una volta acetilati, perdono la loro carica positiva: Istone-NH-COCH₃. Essi pertanto non esercitano più attrazione sui fosfati del DNA. La situazione è ancora più sfavorevole nel caso in cui essi siano fosforilati: in questo caso, sia l'istone che il DNA avrebbero delle cariche negative.
29. Gli appaiamenti delle basi adenina-guanina occupano più spazio di quello a disposizione all'interno della doppia elica, a differenza di quelli citosina-timina, troppo piccoli perché coprano la distanza tra i siti ai quali sono legate le basi complementari. Di norma, non ci si aspetterebbe di trovare questi appaiamenti nel DNA.
30. I gruppi fosfato del DNA hanno una carica negativa a pH fisiologico. Se fossero più strettamente raggruppati, come accade nel centro di una lunga fibra, ne deriverebbe una repulsione elettrostatica. Una tale struttura sarebbe instabile.
31. La percentuale di citosina eguaglia quella della guanina, del 22%. Que-

A-16 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

- sto tipo di DNA, pertanto, ha un contenuto pari al 44% di G-C; il restante 56% è costituito da A-T. La percentuale di adenina eguaglia quella di timina; rispettivamente esse costituiranno una percentuale pari al 28%.
32. Se il DNA non presentasse una struttura a doppia elica, non vi sarebbe più la necessità delle coppie G=C e A=T.
33. La distribuzione delle basi non la condizione A=T e G=C ed il totale delle purine non eguaglierebbe quello delle pirimidine.
34. Lo scopo del Progetto Genoma Umano è la determinazione della sequenza completa del genoma umano. Alla base, ci sono varie ragioni. Alcune sono legate alla ricerca di base (vale a dire, una conoscenza migliore dello scibile, soprattutto sulla nostra specie). Altre motivazioni sono di origine medica (cioè una comprensione maggiore delle malattie genetiche e del controllo che presiede alla crescita e allo sviluppo). Alcune di queste possono essere confrontate in natura, osservando le somiglianze e le differenze tra i genomi di altre specie. Il nostro DNA è al 99% lo stesso di quello dello scimpanzé, eppure siamo sostanzialmente diversi. Una conoscenza approfondita del nostro genoma ci aiuterà a capire cosa distingue l'uomo dagli altri primati e non primati.
35. Ci sono varie considerazioni di ordine legale ed etico riguardo alla terapia genica nell'uomo. Alcune hanno una matrice morale e filosofica: abbiamo il diritto di manipolare il DNA? Vogliamo fare le veci di Dio? È giusto permettere l'esistenza di uomini "su misura"? Altre sono di origine scientifica: Abbiamo le conoscenze per poterlo fare nel modo giusto? Cosa succederebbe se commettessimo un errore? E se si verificasse la morte di un paziente che, se sottoposto ad una terapia diversa, sarebbe sopravvissuto?
36. Il vantaggio consisterebbe nell'informare la gente sullo stile di vita da scegliere. Un individuo con un genotipo determinante l'aterosclerosi potrebbe cambiare regime alimentare ed adottare precocemente abitudini volte a poterla scongiurare. Si potrebbero anche assumere medicine a scopo preventivo. Gli svantaggi riguarderebbero gli aspetti legali sul diritto di essere messi a conoscenza di tali informazioni. Un datore di lavoro potrebbe escludere dei possibili impiegati, basandosi su un marcatore del genotipo indicante una propensione all'uso di droghe, alcol o la predisposizione ad una futura malattia. Ne potrebbe scaturire un sistema di caste basato sulla genetica.
37. Qualsiasi sistema coinvolto nella replicazione del DNA mediante la DNA polimerasi deve avere un innesco che dia avvio alla reazione; esso può essere un RNA o un DNA, a condizione che sia legato al filamento stampo che viene letto. In tal modo, basterà conoscere una parte sufficiente della sequenza perché venga generato l'innesco corretto.
- ### 9.4 La denaturazione del DNA
38. Gli appaiamenti delle basi A-T presentano due legami idrogeno, mentre quelli G-C ne hanno tre. Per demolire la struttura di un DNA, ricco in appaiamenti G-C sarà necessaria più energia e una temperatura più elevata.
- ### 9.5 I principali tipi di RNA e le loro strutture
39. Si vedano le Figure 9.20 e 9.25.
40. Un piccolo RNA nucleare (snRNA) si trova nel nucleo eucariotico ed è coinvolto nelle reazioni di splicing di altri tipi di RNA. Un snRNP è una piccola particella nucleare ribonucleoproteica, un complesso di un piccolo RNA nucleare e proteine che catalizza lo splicing dell'RNA.
41. L'rRNA è il tipo più grande, il tRNA quello più piccolo.
42. L'mRNA ha la più piccola quantità di struttura secondaria (legami idrogeno).
43. Le basi di una catena a doppia elica sono parzialmente nascoste al fascio luminoso di uno spettrofotometro da altre basi poste nelle immediate vicinanze, come se fossero all'ombra di altre basi. Nel momento in cui i filamenti si svolgono, queste basi vengono esposte alla luce e l'assorbono. Pertanto l'assorbimento aumenta.
44. L'interferenza dell'RNA è il processo attraverso il quale piccoli RNA impediscono l'espressione dei geni.
45. Si hanno più legami idrogeno nel tRNA piuttosto che nell'mRNA. La struttura ripiegata del tRNA, che determina il suo legame ai ribosomi nel corso della sintesi proteica, dipende dalla disposizione degli atomi con legami idrogeno. La sequenza codificata dall'mRNA deve essere accessibile per guidare l'ordine degli amminoacidi nelle proteine e non deve essere resa inaccessibile dai legami idrogeno.
46. Esse impediscono legami idrogeno intramolecolari (che si verificano nel tRNA attraverso le comuni associazioni A-U e C-G), facendo in modo che si determinino le anse "vitali" per la sua funzione, tra le quali quella dell'anticodone è la più importante.
47. Il turnover dell'mRNA dovrebbe essere abbastanza rapido da poter garantire una rapida risposta da parte della cellula, nel caso di richiesta di proteine specifiche. Le subunità ribosomiali, inclusa la loro componente di rRNA, possono essere riciclate per più cicli di sintesi proteica. Ne deriva che l'mRNA si degrada più rapidamente rispetto all'rRNA.
48. Un errore nel DNA arrecherebbe un danno maggiore, poiché sarebbe diffuso in ciascuna suddivisione cellulare. Un errore nella trascrizione determinerebbe una molecola di RNA errata, che può essere sostituita con una versione corretta nella trascrizione successiva.
49. L'mRNA eucariotico si forma inizialmente nel nucleo mediante la trascrizione del DNA. L'mRNA trascritto viene poi modificato per la rimozione degli introni, con l'aggiunta di una coda di poli-A al 3' e del "cap" all'estremità 5'. Si ottiene in tal modo l'mRNA finale, che nella maggior parte dei casi viene trasportato fuori dal nucleo per la traduzione effettuata dai ribosomi.
50. I numeri 50S, 30S, ecc. si riferiscono ad una velocità relativa di sedimentazione in un'ultracentrifuga e non possono essere sommati direttamente. Sono vari i fattori che influenzano le caratteristiche di sedimentazione oltre al peso molecolare, come la forma e la densità.

Capitolo 10

10.1 Il flusso dell'informazione genetica nella cellula

1. La replicazione è la produzione di nuovo DNA da un DNA stampo. La trascrizione è la produzione di RNA da uno stampo di DNA. La traduzione è la sintesi di proteine guidata dall'mRNA, che riflette la sequenza di basi del DNA.
2. Falso. Nei retrovirus il flusso di informazioni segue la direzione RNA → DNA.
3. Il DNA costituisce la copia permanente delle informazioni genetiche, mentre l'RNA è transitorio. La cellula potrebbe sopravvivere alla produzione di alcune proteine mutanti, ma non ad una mutazione del DNA.

10.2 Replicazione del DNA

4. La replicazione semiconservativa del DNA indica che una nuova molecola di DNA neosintetizzata presenta un filamento di nuova sintesi oltre a quello del DNA originale. Gli esperimenti che hanno provato la replicazione semiconservativa si basano sulla centrifugazione in gradiente di densità (Figura 10.3). Se la replicazione fosse un processo conservativo, il DNA originale avrebbe due filamenti pesanti, mentre tutti i DNA di recente formazione avrebbero due filamenti leggeri.
5. Una forcilla di replicazione è il punto in cui si forma il nuovo DNA. I due filamenti originali di DNA si separano e su ciascuno di essi se ne forma uno nuovo.
6. L'origine della replicazione è determinata da una bolla nel DNA. Due sono i punti, su estremità opposte, dove si costituiscono le nuove catene polinucleotidiche (Figura 10.4).
7. Perché due filamenti di DNA si separino, è necessario lo svolgimento dell'elica.
8. Se nell'esperimento originale di Meselson-Stahl fossero stati adoperati frammenti di DNA più lunghi, i risultati non avrebbero dato un esito netto. Il DNA avrebbe potuto rappresentare più generazioni nello stesso tempo, se i batteri non fossero stati sincronizzati nella loro fase di sviluppo.
9. La replicazione richiede la separazione dei filamenti del DNA. Ciò non potrebbe accadere se il DNA non fosse svolto.

10.3 La DNA polimerasi

10. La maggior parte degli enzimi DNA polimerasi esplica anche un'attività di esonucleasi.
11. La DNA polimerasi I è essenzialmente un enzima di riparo. La DNA polimerasi III è responsabile principalmente della sintesi del nuovo DNA. Si veda la Tabella 10.1.
12. La processività di una DNA polimerasi è il numero di nucleotidi incorporati prima che l'enzima si stacchi dallo stampo. Maggiore è il numero, più efficiente sarà il processo di replicazione.
13. I reagenti sono i deossiribonucleotidi trifosfati. Essi forniscono non solo la porzione da inserire (il deossiribonucleotide), ma anche l'energia per la reazione ($dNTP \rightarrow NMP \text{ inserito} + PP_i, PP_i \rightarrow 2P_i$).
14. L'idrolisi del prodotto pirofosfato impedisce la reazione inversa mediante la rimozione di un prodotto.
15. Un filamento del nuovo DNA adopera il filamento dall'estremità 3' alla 5' in qualità di stampo. Il problema si viene a creare con il filamento dall'estremità 5' alla 3'. La natura risolve la questione utilizzando brevi tratti di questo filamento per sintetizzare un certo numero di frammenti di DNA. A legarli interverrà, poi, la DNA ligasi (Figura 10.5).
16. L'estremità 3' libera è necessaria quale sito cui si legheranno i nucleotidi aggiunti. Un certo numero di farmaci antivirali rimuove, in un modo o nell'altro, l'estremità 3'.
17. Un grande ΔC° negativo assicura che la reazione di ritorno di depolimerizzazione non si verifichi. Un "eccesso di energia" è una strategia comune quando diventa cruciale che il processo non assuma la direzione opposta.
18. La sostituzione nucleofila è un meccanismo di reazione comune; il gruppo ossidrilico dell'estremità 3' del filamento del DNA in accrescimento ci fornisce un esempio di nucleofilo frequentemente riscontrabile.

19. In alcuni enzimi, vi è un sito di riconoscimento, che si differenzia dal sito attivo. Nel caso specifico della DNA polimerasi III, un morsetto scorrevole tiene uniti la parte restante dell'enzima e lo stampo. Ciò garantisce un alto grado di processività.

10.4 Le proteine richieste per la replicazione del DNA

20. Tutti e quattro i deossiribonucleosidi trifosfati, il DNA stampo e la DNA polimerasi, tutti e quattro i ribonucleosidi trifosfati, la primasi, l'elicasi, la proteina legante il singolo filamento, la DNA girasi, la DNA ligasi.
21. Il DNA viene sintetizzato dall'estremità 5' all'estremità 3' ed il nuovo filamento è antiparallelo al filamento stampo. Uno dei filamenti è esposto dall'estremità 5' all'estremità 3', come conseguenza dello svolgimento. Brevi tratti del nuovo DNA vengono sintetizzati sempre in direzione antiparallela dall'estremità 5' all'estremità 3' e sono legati mediante la DNA ligasi. Si veda la Figura 10.5.
22. La DNA girasi introduce un punto di snodo prima che si formi la forcella di replicazione. La primasi sintetizza il primer dell'RNA. La DNA ligasi lega i nuovi piccoli filamenti per formarne altri di maggiori dimensioni.
23. Nel processo di replicazione porzioni di DNA ad un solo filamento sono complessate a proteine specifiche.
24. La DNA ligasi salda le interruzioni nel nuovo DNA.
25. L'innescò della replicazione del DNA è una breve sequenza di RNA alla quale si lega la catena del DNA in accrescimento.
26. Vi sono degli enzimi specifici per tagliare il DNA e determinare un'alterazione del grado di superavvolgimento alla forcella di replicazione, che è responsabile della continuazione del processo.
27. La DNA polimerasi III non inserisce un deossiribonucleotide senza controllare che la base precedente sia corretta. È necessaria una base precedente anche per poter verificare che quella base faccia parte di un ribonucleotide.

10.5 Proofreading e riparazione

28. Nel momento in cui un nucleotide errato viene introdotto in una catena di DNA in fase di accrescimento, come risultato di un appaiamento di basi errato, la DNA polimerasi funge da esonucleasi-3', rimuovendo il nucleotide errato. Lo stesso enzima incorpora il nucleotide esatto.
29. Nell'*E. coli* possono esserci due tipi di attività esonucleasica per la DNA polimerasi I, che assolve alla funzione di enzima di riparo.
30. Un'esonucleasi introduce un "nick" nel DNA in prossimità del sito dei dimeri di timina. La DNA polimerasi I si comporta come una nucleasi, recidendo i nucleotidi errati; in seguito, la stessa DNA polimerasi, incorpora quelli esatti. La DNA ligasi riunisce i frammenti.
31. Nel DNA, la citosina si deammina spontaneamente in uracile. La presenza di un gruppo metile extra indica chiaramente che la timina è propria di quella posizione e non la citosina che si è deaminata.
32. All'incirca 5.000 libri: 10^{10} caratteri/errore \times 1 libro / (2×10^6 caratteri) = 5×10^3 libri/errore.
33. $1000/\text{caratteri}/\text{al secondo} \times 1 \text{ parola}/5 \text{ caratteri} \times 60 \text{ secondi}/\text{minuto} = 12.000 \text{ parole}/\text{minuto}$.
34. $1 \text{ secondo}/1000 \text{ caratteri} \times 10^{10} \text{ caratteri}/\text{errore} \times 107 \text{ secondi}/\text{errore} \times 16,5 \text{ settimane}/\text{errore}$ senza interruzione.
35. I procarioti metilano il loro DNA immediatamente dopo il processo di replicazione. Ciò contribuisce al processo di riparo degli appaiamenti errati. Gli enzimi che effettuano il processo sono in grado di riconoscere il filamento esatto grazie ai suoi gruppi metile. Il filamento appena formato, che contiene la base inesatta, non presenta gruppi metile.
36. Il DNA viene continuamente danneggiato da fattori ambientali e da mutazioni spontanee. Nel caso di accumulo di errori del genere, possono insorgere deleteri cambi di amminoacidi o delle delezioni. Di conseguenza, le proteine essenziali, incluse quelle che presiedono al controllo della divisione cellulare ed alla morte programmata della cellula, diventeranno inattive o iperattive, provocando infine il cancro.
37. I procarioti hanno almeno un meccanismo estremo di riparo per affrontare seri danni al DNA. Questo meccanismo, detto risposta SOS, comprende il crossing over (ricombinazione meiotica) del DNA. La replicazione diventa molto incline agli errori, ma adempie il bisogno di sopravvivenza della cellula.
- 10.6 La replicazione del DNA eucariotico
38. Gli eucarioti, di solito, hanno più origini di replicazione, a differenza dei procarioti che ne hanno soltanto una.
39. Le caratteristiche generali della replicazione del DNA negli eucarioti e nei procarioti sono simili. La differenza sostanziale consiste nella mancanza di attività esonucleasica in alcune delle DNA polimerasi degli eucarioti. Dopo la sintesi, il DNA eucariotico viene complessato alle proteine, diversamente da quanto avviene per quello procariotico.
40. Gli istoni sono delle proteine che complessano il DNA eucariotico. La loro sintesi deve avvenire con la stessa velocità di quella del DNA. Le proteine ed il DNA, quindi, si devono combinare appropriatamente.
41. (a) La replicazione del DNA eucariotico ha a che vedere con gli istoni; la

molecola di DNA lineare negli eucarioti è una molecola dalle dimensioni maggiori e richiede un trattamento specifico alle estremità. (b) Negli organelli sono utilizzate delle polimerasi speciali.

42. Gli eucarioti presentano più DNA polimerasi, che di solito sono molecole di grandi dimensioni. Le DNA polimerasi eucariotiche, in genere, non hanno attività esonucleasica. Negli eucarioti si riscontrano più origini di replicazione e brevi frammenti di Okazaki. Si veda la Tabella 10.5.
43. Nel ciclo delle cellule eucariotiche, durante la fase S, esistono dei meccanismi per fare in modo che la sintesi del DNA avvenga solo una volta. La preparazione per la sintesi del DNA può aver luogo, come infatti accade, nella fase G₁, ma la sincronizzazione effettiva della sintesi avviene sotto stretto controllo.
44. Se l'enzima telomerasi fosse disattivato, la sintesi del DNA, probabilmente cesserebbe. Quest'enzima evita che lo stampo dell'estremità 3' sia sottoposto a degradazione nel corso di ciascun ciclo di sintesi del DNA. La degradazione è a sua volta determinata dalla rimozione dell'innescò del l'RNA ad ogni ciclo di sintesi del DNA.
45. Se la sintesi degli istoni avvenisse più velocemente rispetto a quella del DNA, sarebbe eccessivamente svantaggioso investire l'energia necessaria alla sintesi proteica. Gli istoni non avrebbero DNA a cui legarsi.
46. I fattori permissivi della replicazione (RLF) sono delle proteine che si legano al DNA eucariotico. Essi devono il proprio nome al fatto che la replicazione non può attuarsi finché essi non si siano legati. Si è scoperto che alcune proteine RLF sono citosoliche. Esse possono accedere al cromosoma soltanto quando la membrana nucleare, nel corso della mitosi, si dissolve. Fino a quando esse restano legate, la replicazione non può avvenire. Questa proprietà lega la replicazione eucariotica del DNA al ciclo cellulare. Una volta che gli RLF si sono legati, il DNA è in grado di replicarsi.
47. La sintesi avverrà più velocemente nei procarioti. Il DNA è più piccolo e l'assenza di compartimenti all'interno della cellula agevola il processo. Negli eucarioti, la replicazione del DNA è connessa al ciclo cellulare e le cellule procariotiche possono moltiplicarsi più velocemente rispetto a quelle eucariotiche.
48. Nella reazione della trascrittasi inversa, un singolo filamento di RNA serve da stampo per la sintesi di ciascun filamento di DNA. Il DNA, a sua volta, serve da stampo per la sintesi di un secondo filamento di DNA.
49. Il DNA circolare non presenta estremità. Questo evita la necessità di conservare l'estremità 3' all'atto della rimozione dell'innescò dell'RNA. I telomeri e la telomerasi non sono necessari per la replicazione del DNA circolare.
50. La presenza di una DNA polimerasi che agisce solo nei mitocondri suffragga l'opinione che questi organelli derivino da batteri incorporati per endosimbiosi. Originariamente, nel corso dei primi stadi evolutivi, i batteri erano organismi allo stato libero.

Capitolo 11

11.2 La trascrizione nei procarioti

1. Per la trascrizione del DNA in RNA non è richiesto alcun innescò.
2. L'RNA polimerasi di *E. coli* ha un peso molecolare di circa 500.000 dalton e 4 tipi diversi di subunità. Essa utilizza un filamento di DNA stampo per guidare la sintesi dell'RNA, catalizzando la polimerizzazione dall'estremità 5' all'estremità 3'.
3. La composizione in subunità dell'oloenzima è $\alpha_2\beta\beta'\sigma$.
4. L'enzima "core" manca della subunità σ , a differenza dell'oloenzima.
5. Il filamento utilizzato dall'RNA polimerasi quale stampo per l'RNA è detto filamento stampo, filamento non codificante, filamento antisenso o filamento (-). L'altro filamento, la sequenza che corrisponde all'RNA prodotto, fatta eccezione per la variazione T-U, è detto filamento non stampo, filamento codificante, filamento senso o filamento (+).
6. La regione del promotore è la porzione di DNA alla quale si lega l'RNA polimerasi all'inizio della trascrizione. Questa regione si trova a monte (più vicina all'estremità 3' dello stampo di DNA) del gene effettivo. Le regioni promotore del DNA di molti organismi presentano delle sequenze comuni (sequenze consenso). Le sequenze consenso, di frequente, si trovano a 10 e 35 coppie di basi a monte dell'inizio della trascrizione.
7. Andando dall'estremità 5' verso quella 3' del filamento codificante, l'ordine è il seguente: sito Fis, elemento UP, elemento -35, Pribnow box e TSS.
8. La terminazione inurinesca della trascrizione comporta la formazione di un'ansa a forcina nell'RNA in formazione, che blocca l'RNA polimerasi su una regione ricca di coppie di basi A-U. Questo determina la terminazione della trascrizione ed il rilascio del trascritto. La terminazione Rho-dipendente spesso si risolve in un'ansa a forcina ma, inoltre, una proteina Rho si lega all'RNA spostandosi verso la bolla di trascrizione. Nel momento in cui la proteina Rho raggiunge la bolla di trascrizione, avviene la terminazione.
9. Si veda la Figura 11.1. Il filamento di DNA in alto è un filamento non stampo, poiché non viene adoperato per sintetizzare l'RNA. Esso è detto filamento codificante, in quanto ha la stessa sequenza dell'RNA prodotto, fatta eccezione per la sostituzione della T con la U. È detto filamento

A-18 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

senso, perché la sequenza dà la sequenza corretta degli aminoacidi nel prodotto proteico. È detto ancora filamento (+) perché possiede la sequenza corretta. Il filamento in basso è detto filamento stampo, in quanto viene utilizzato per sintetizzare l'RNA. È anche un filamento non codificante, perché la sua sequenza non corrisponde all'RNA prodotto. È anche antisense e filamento (-) per lo stesso motivo.

11.3 La regolazione della trascrizione nei procarioti

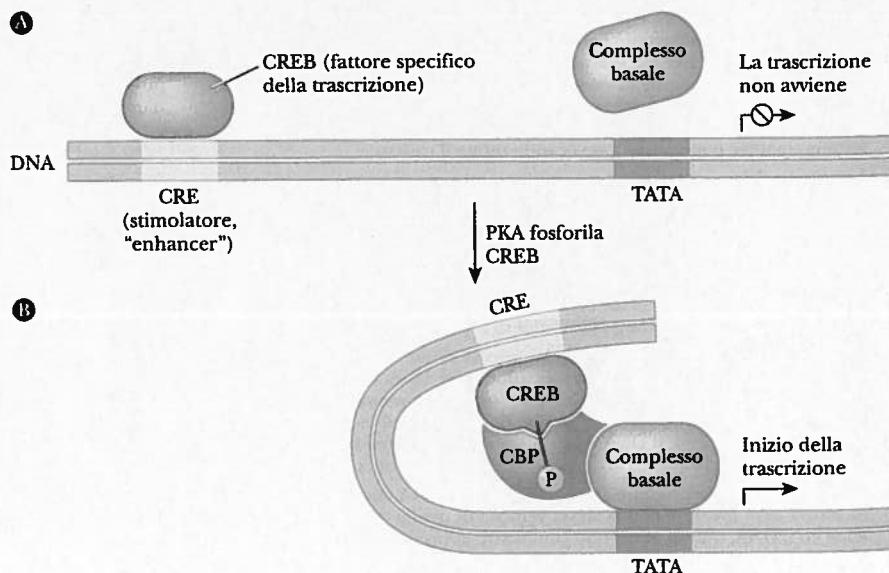
- Un induttore è una sostanza che guida la trascrizione dei geni strutturali in un operone. Un repressore è una sostanza che impedisce la trascrizione dei geni strutturali in un operone.
- Il fattore σ è una subunità dell'RNA polimerasi procariotica. Esso guida la polimerasi ai promotori specifici; costituisce, inoltre, una delle strategie di controllo dell'espressione genica nei procarioti.
- σ^{70} è la normale subunità σ dell'RNA polimerasi di *E. coli*. Essa dirige l'RNA polimerasi verso la maggior parte dei geni trascritti in circostanze normali. σ^{32} è una subunità alternativa, prodotta quando le cellule vengono fatte crescere a temperature elevate. Essa dirige l'RNA polimerasi verso altri geni, che devono essere espressi nelle condizioni di shock termico.
- La proteina di attivazione dei geni catabolici è un fattore trascrizionale di *E. coli*, che stimola la trascrizione dei geni strutturali dell'operone *lac*. Essa risponde ai livelli di cAMP, in modo che l'operone *lac* sia trascritto solo quando le cellule devono usare il lattosio come combustibile.
- L'attenuazione della trascrizione è il processo che si riscontra nei procarioti nel quale la trascrizione può continuare o essere abortita prematuramente in base alla traduzione concomitante dell'mRNA prodotto. Spesso è osservabile nei geni i cui prodotti proteici portano alla sintesi degli aminoacidi.
- Un operone consiste in un gene operatore, un gene promotore e geni strutturali. Quando un repressore si lega all'operatore, l'RNA polimerasi non può legarsi al promotore per dare inizio alla trascrizione dei geni strutturali. Nel caso in cui sia presente un induttore, esso si lega al repressore, rendendolo inattivo. In tal modo, il repressore inattivo non può più legarsi all'operatore. Ne deriva che l'RNA polimerasi può legarsi al promotore, determinando l'eventuale trascrizione dei geni strutturali.
- Si veda la Figura 11.5.
- Con il fago SPO1, che infetta il batterio *B. subtilis*, il virus presenta una varietà di geni, detti geni precoci, trascritti dall'RNA polimerasi dell'ospite, utilizzando la sua subunità regolare σ . Uno dei geni virali precoci codifica per una proteina detta gp28. Questa proteina è un'altra subunità σ , che guida l'RNA polimerasi affinché trasciva di preferenza più geni virali durante la fase intermedia. I prodotti della fase di trascrizione intermedia sono gp33 e gp34, che insieme costituiscono un altro fattore σ , che guida la trascrizione dei geni tardivi.
- Si veda la Figura 11.14. Quando il livello di triptofano è basso, il *trp*-tRNA^{trp} diviene limitante. Ciò determina il posizionamento dei ribosomi sui codoni del triptofano sull'mRNA. Con i ribosomi nella posizione suddetta, può formarsi l'ansa di antiterminazione, la trascrizione non viene interrotta e può esserci la produzione dell'mRNA completo. Se il ribosoma non si posiziona in quel modo, si forma l'ansa di terminazione e l'mRNA guida e l'RNA polimerasi si dissociano.

11.4 La trascrizione negli eucarioti

- Gli esoni sono porzioni di DNA espresse, vale a dire, esse appaiono nella sequenza delle basi del prodotto finale dell'mRNA. Gli introni sono delle sequenze intermedie che non appaiono nel prodotto finale, essendo rimosse durante lo splicing dell'mRNA.
- Vi sono tre RNA polimerasi negli eucarioti, rispetto a quella unica presente nei procarioti. Esistono più fattori trascrizionali negli eucarioti, compresi i loro complessi necessari per reclutare la polimerasi. L'RNA viene elaborato ampiamente dopo la trascrizione negli eucarioti e, nella maggior parte dei casi, l'mRNA deve abbandonare il nucleo perché possa avvenire la traduzione; nei procarioti, invece, la traduzione e la trascrizione possono avvenire contemporaneamente.
- L'RNA polimerasi I produce la maggior parte degli rRNA. L'RNA polimerasi II produce gli mRNA. L'RNA polimerasi III produce i tRNA, la subunità 5S ribosomiale ed i piccoli RNA nucleari.
- La prima componente include una varietà di elementi a monte, che agiscono da enhancer e silencer. Tra questi, due tipi comuni sono prossimi al promotore centrale e sono la GC box (-40), che presenta una sequenza consenso GGGCGG, e la CAAT box (con un'estensione fino a -110), con una sequenza consenso GGCCAATCT. La seconda componente, alla posizione -25, è la TATA box, che ha una sequenza consenso

TATAA(T/A). La terza componente comprende il sito d'inizio della trascrizione alla posizione +1 ed è circondata da una sequenza detta elemento iniziatore (*Inr*). La componente finale è un possibile regolatore a valle.

- I fattori di trascrizione generali sono TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF e TFIIF. TFIID è anche la proteina legante la TATA box ed è associata ai TAF (fattori associati a TBP).
 - La sua funzione principale è quella di fattore di trascrizione generale coinvolto nella formazione di un complesso aperto per l'inizio della trascrizione. Si lega all'unità basale ed è coinvolto nella fusione del DNA mediante un'attività di elicasi, come pure nella dissociazione dal promotore mediante fosforilazione del CTD dell'RNA polimerasi. Inoltre, esso ha un'attività chinasi ciclina-dipendente. In tal modo, il TFIIF è coinvolto nel legare la trascrizione alla divisione cellulare. È anche coinvolto nei meccanismi di riparo del DNA.
- ### 11.5 La regolazione della trascrizione negli eucarioti
- L'elemento da shock termico risponde ad una temperatura elevata. L'elemento di risposta ai metalli risponde alla presenza di metalli pesanti, come il cadmio, e l'elemento di risposta all'AMP ciclico controlla una grande varietà di geni in base ai livelli di cAMP all'interno della cellula.
 - CREB è un fattore trascrizionale che si lega all'elemento di risposta al cAMP. È coinvolto nella trascrizione di centinaia di geni sulla base dei livelli di cAMP nella cellula. Nel momento in cui c'è cAMP, CREB viene fosforilato e questo gli permette di legarsi alla proteina di legame a CREB, che connette l'elemento CRE all'apparato basale della trascrizione, stimolandola.
 - La regolazione negli eucarioti presenta delle complicazioni maggiori. La regolazione procariotica è controllata dalla scelta di una particolare subunità σ , dalla natura dei promotori e dall'uso dei repressori/induttori. Negli eucarioti, vi sono più elementi promotori, fattori trascrizionali e co-attivatori. Inoltre, il DNA deve essere rilasciato dalle proteine istoniche e, quindi, la trascrizione del DNA è legata alle modificazioni istoniche.
 - Nel momento in cui inizia la produzione di mRNA, i ribosomi sono legati ed iniziano la traduzione. Una sequenza guida (leader) sull'mRNA codifica un peptide guida. È possibile che si formino delle anse nell'mRNA in più modi. Alcune combinazioni di anse provocano la fine della trascrizione. La velocità alla quale il ribosoma è capace di muoversi sull'mRNA controlla quale combinazione di anse formare; di norma, tale velocità è controllata dal livello di un tRNA specifico, disponibile per la traduzione.
 - Supponendo che esista una velocità basale di trascrizione di un dato gene, un enhancer si legherebbe ad un fattore trascrizionale, determinando un maggior livello di trascrizione, mentre un silencer si legherebbe ad un fattore trascrizionale, riducendo il livello di trascrizione al di sotto della velocità basale.
 - Un elemento di risposta è un elemento "stimolatore", che si legherà ad un fattore trascrizionale specifico, determinando l'incremento della velocità di trascrizione di geni bersaglio. Nel caso degli elementi di risposta, in ogni caso, si tratta di una risposta ad un segnale cellulare generico, quale la presenza del cAMP, dei glucocorticoidi o dei metalli pesanti. Gli elementi di risposta possono esplicare una funzione di controllo su un vasto numero di geni ed un dato gene può trovarsi sotto il controllo di più di un elemento di risposta.
 - Come illustrato di seguito, la proteina CREB si lega all'elemento CRE. Nel momento in cui viene fosforilata, essa si lega anche alla CBP e costruisce un ponte con il complesso trascrizionale basale.



32. TFIID è uno dei fattori di trascrizione generali per l'RNA polimerasi II. Esso è costituito in parte da una proteina che si lega alla TATA box dei promotori eucariotici. Vi sono poi molte proteine, dette TAF o fattori associati alla TBP, associate in complesso con la TATA box e la TBP.
33. L'affermazione è falsa. Molti promotori eucariotici sono dotati di TATA box, ma vi sono dei geni che non la possiedono.
34. La fase di allungamento della trascrizione dei procarioti è controllata mediante diverse strategie. Vi sono dei siti di pausa, dove l'RNA polimerasi generalmente esita. C'è anche un'antiterminazione, in cui l'RNA polimerasi può trascrivere oltre un normale punto di terminazione. Il fattore di trascrizione generale TFIIF stimola l'allungamento e l'inizio del processo, aiutando l'RNA polimerasi II a leggere attraverso i siti di pausa. Un fattore di allungamento separato, il TFIIS, viene detto fattore di rilascio dell'arresto, perché consente all'RNA polimerasi di ricominciare la trascrizione dopo l'interruzione al sito di pausa. Vi sono anche delle proteine, dette P-TEF ed N-TEF, che agiscono positivamente o negativamente sull'allungamento.
35. La CREB è un fattore trascrizionale ubiquitario coinvolto nella regolazione della trascrizione di numerosi geni. Quando i livelli di cAMP sono elevati, viene fosforilata; questo stimola l'attivazione dei geni. Si ritiene che la trascrizione mediata da CREB sia responsabile della proliferazione cellulare, del differenziamento cellulare, della spermatogenesi, del rilascio di somatostatina e dello sviluppo delle cellule T mature, della protezione delle cellule nervose in condizioni di ipossia, dei ritmi circadiani, della resistenza allo sforzo, della regolazione della gluconeogenesi, della regolazione della trascrizione della fosfoenolpiruvato carbossichinasi e della lattato deidrogenasi, dell'apprendimento e dell'immagazzinamento nella memoria a lungo termine.
36. I domini acidi, i domini ricchi in glutammina ed i domini ricchi in prolina.

11.6 I motivi strutturali nelle proteine che legano il DNA

37. I motivi elica-giro-elica, le "zinc finger" (dita di zinco) e la regione basica a cerniera di leucina.
38. I motivi principali delle proteine che si legano al DNA sono l'elica-giro-elica, le "zinc fingers" (dita di zinco) e la regione basica a cerniera di leucine. I motivi elica-giro-elica sono organizzati in modo che una delle due eliche entri nel solco maggiore del DNA. Le "zinc fingers" sono formate da complessi di cisteina e/o istidina con ioni di zinco. Attorno a questo complesso, si forma un'ansa nella proteina; queste anse entrano nel solco maggiore del DNA. Può accadere che più anse si avvolgano intorno al solco maggiore del DNA. La regione basica a cerniera di leucine ha due domini. Uno è costituito da una regione di leucine spaziate tra loro da sette amminoacidi. In tal modo, esse si trovano posizionate sullo stesso lato di un'a-elica; ciò le mette in grado di costituire un dimero con un'altra proteina simile. La regione basica è ricca di lisine ed arginine, che la legano strettamente allo scheletro del DNA mediante attrazioni elettrostatiche.

11.7 Le modificazioni post-trascrizionali dell'RNA

39. Gli introni vengono escissi. Le basi sono modificate. Una coda di poli-A viene aggiunta all'estremità 3' dell'mRNA. Un "cap" viene posto sull'mRNA all'estremità 5'.
40. Una delle snURP, la U-1, costituisce il bersaglio per la distruzione da parte del proprio sistema immunitario.
41. Essi hanno ambedue delle isoforme multiple, create da splicing alternativi dell'mRNA.
42. La rifinitura (trimming) è necessaria per ottenere trascritti di RNA di misura idonea. Spesso, vari tRNA sono trascritti in un'unica lunga molecola e devono essere rifiniti affinché si possano ottenere dei tRNA attivi.
43. L'aggiunta del cap, la poliadenilazione e lo splicing delle sequenze codificanti rappresentano le modificazioni dell'mRNA eucariotico.
44. Le snRNP sono piccole particelle ribonucleoproteiche nucleari. Esse costituiscono il sito dello splicing dell'mRNA.
45. L'RNA, oltre al suo ruolo tradizionale in forma di tRNA, rRNA ed mRNA, assolve altre funzioni, quali le reazioni di splicing, quelle di trimming (rifinitura) e la reazione di sintesi peptidica della peptidil transferasi. È stata dimostrata la produzione di alcuni piccoli RNA; essi fungono da silenziatori di geni, legandosi a sequenze specifiche di DNA e bloccandone la trascrizione.
46. Si veda la Figura 11.34.
47. Con il Progetto Genoma Umano, si è tratta la conclusione che noi esseri umani abbiamo una quantità di geni molto inferiore rispetto a quanto si credeva; ciononostante sembra che abbiamo una struttura biologica e biochimica di maggiore complessità. Una possibile risposta riguardo il motivo per cui così pochi geni siano in grado di dare origine a così tante proteine, è la loro produzione mediante splicing differenziali dell'mRNA. In tal modo, la stessa quantità di DNA sarebbe in grado di generare più prodotti genici.

11.8 I ribozimi

48. Un ribozima è un RNA con un'attività catalitica, senza l'intervento del sito attivo di una proteina. La porzione catalitica della RNasi P è un ribozima. Un esempio classico ci è dato dall'autosplicing dell'rRNA di *Tetrahymena*; recentemente, è stato provato che l'attività della peptidil transferasi del ribosoma è, in realtà, un ribozima.

49. Sono noti due meccanismi di autosplicing dell'RNA. Nei ribozimi del Gruppo I, una guanina esterna è legata covalentemente al sito di giunzione, rilasciando un'estremità dell'introne. L'estremità libera dell'esone prodotto attacca l'estremità dell'altro esone, per effettuare lo splicing. L'introne cicizza (Figura 11.34). I ribozimi del gruppo II hanno un meccanismo a lariat (cappio). Il 2'-OH di un'adenina interna attacca il sito di splicing (Figura 11.36).

50. Le proteine sono catalizzatori molto più efficienti degli RNA, in quanto presentano una più ampia variabilità strutturale e, pertanto, sono capaci di modificare il loro sito attivo in modo da ottenere la massima efficienza da una reazione.

Capitolo 12

12.1 La traduzione del messaggio genetico

1. Si veda la Figura 12.1.

12.2 Il codice genetico

2. Un codice nel quale due basi codificano per un singolo amminoacido genera solo 16 (4×4) possibili codoni, il che è insufficiente per codificare i 20 amminoacidi.
3. Un codice degenerato è un codice nel quale più triplette codificano lo stesso amminoacido.
4. Nella tecnica per i saggi di legame, varie molecole di tRNA, una delle quali è marcata radioattivamente con ^{14}C , sono mescolate ai ribosomi ed ai trinucleotidi sintetici legati ad un filtro. Se la marcatura radioattiva viene rivelata sul filtro, allora si può dedurre che quel dato tRNA si è legato alla tripletta. Gli esperimenti di legame possono essere ripetuti finché sono assegnate tutte le triplette.
5. La base "vacillante" ("wobble") può essere uracile, guanina o ipoxantina.
6. I codoni UAA, UAG ed UGA sono dei segnali di stop. Essi non vengono riconosciuti da nessun tipo di tRNA, ma da proteine dette fattori di rilascio. Il fattore di rilascio non solo blocca il legame di un nuovo amminoacil-tRNA, ma influenza anche l'attività della peptidil transferasi, in modo che il legame tra l'estremità carbossilica del peptide ed il tRNA venga idrolizzato.
7. Notate che la sequenza nel codone dell'mRNA è invertita, poiché la sintesi dell'mRNA è antiparallela.
- (a) La posizione 1 ha un effetto intermedio. In tutti i casi, si ottiene un amminoacido diverso quando cambia la purina. I cambi, di norma, sono conservati; solo 4 tra i 16 possibili sono in grado di generare differenze idrofobiche-idrofiliche. Per i nostri fini, la glicina non sarà considerata né idrofobica né idrofila. La proteina che ne deriva ha una maggiore probabilità di funzionamento rispetto ad una variazione nella seconda base, ma inferiore in confronto ad una variazione nella terza base.
- (b) La posizione 2 contiene il maggior numero di informazioni: da ogni cambiamento deriva un amminoacido diverso. In questo caso, comunque, vi sono grosse probabilità (75%) che la mutazione sia di tipo conservativo, con un amminoacido idrofobico che va a sostituirne un altro, in modo che la proteina abbia ancora una buona possibilità di funzionare. Una mutazione concernente la serina o la treonina (25% di possibilità) altererebbe la polarità, ma non introdurrebbe una mutazione sulla catena laterale; la proteina potrebbe ancora funzionare.
- (c) C'è un'alta possibilità di mutazione nel tipo di amminoacido, incluse differenze di carica; le possibilità che scaturisca una proteina con una funzione appropriata sono veramente scarse.
- (d) La posizione 3 contiene il minor numero di informazioni. C'è una possibilità elevata di ottenere lo stesso amminoacido. La proteina, in tal modo, avrebbe una buona possibilità di funzionare.
8. Il concetto di "vacillamento" stabilisce che le prime due basi di un codone rimangono le stesse, mentre c'è spazio per una variazione nella terza base. Questo è quanto si osserva sperimentalmente.
9. L'ipoxantina è la più versatile delle basi "vacillanti"; essa può appaiarsi con le basi adenina, citosina o uracile.
10. È alquanto logico. Quando i codoni di un dato amminoacido presentano uno o due nucleotidi in comune, è meno probabile che una mutazione generi una proteina non funzionale. Il valore di questa caratteristica per la sopravvivenza ne garantisce la selezione nel corso dell'evoluzione.
11. Un codice ambiguo permetterebbe variazioni nella sequenza amminoacidica delle proteine. Di conseguenza, si osserverebbe un cambiamento nella loro funzione, compresa la formazione di un numero di proteine non funzionali.
12. Le variazioni nel codice genetico dei mitocondri avallano l'ipotesi che essi siano vissuti in qualità di batteri liberi in uno stato remoto dell'evoluzione.

12.3 L'attivazione degli amminoacidi

13. L'idrolisi dell'ATP in AMP e PP_i fornisce l'energia per il funzionamento della fase di attivazione.

A-24 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

43. La consapevolezza che l'infiammazione alimenta la progressione del cancro ha portato alcuni scienziati a ritenere che si dovrebbe dedicare più tempo a focalizzare i sintomi piuttosto che la cura. Essi ritengono possibile che, nonostante l'esistenza di potenziali cellule tumorali, queste potrebbero non crescere né diffondersi mai se fossimo in grado di fermare lo stato infiammatorio.

Capitolo 15

15.1 Gli stati standard per le variazioni di energia libera

1. Sì, c'è una relazione che rappresenta uno dei punti più importanti di questo capitolo. Essa può essere espressa con l'equazione $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$.
 2. L'affermazione (a) indica che la reazione non procederà nel modo in cui è scritta se non sarà accoppiata ad una reazione esoergonica. L'affermazione (b) indica che la reazione procederà solo se accoppiata ad una reazione esoergonica. L'affermazione (c) indica che la reazione potrà procedere spontaneamente come scritta.
 3. L'informazione qui fornita riguarda la termodinamica della reazione, non la sua cinetica. Non è possibile prevedere la velocità della reazione.
- ### 15.2 Lo stato standard modificato per le applicazioni biochimiche
4. In genere, lo stato standard termodinamico si riferisce alla condizione in cui $pH = 0$. Esso non è molto utile in biochimica.
 5. La prima affermazione è vera, ma non la seconda. Lo stato standard dei soluti è definito normalmente come attività unitaria (1 M). Nei sistemi biologici, il pH si trova di frequente nell'intervallo della neutralità (cioè, H^+ è prossimo a 10^{-7} M); la modifica è fatta per praticità. L'acqua è un solvente, non un soluto, ed il suo stato standard è il liquido puro.
 6. La simbologia ΔG° indica uno stato standard biologico. Se l'apice "primo" è omissso, è riferito al suo stato standard chimico.
 7. No, non c'è alcuna relazione tra la grandezza termodinamica ΔG° e la velocità. Il ΔG° riflette la condizione di equilibrio a condizioni standard. La velocità è una grandezza cinetica, basata sulla capacità di un enzima di catalizzare la reazione e sull'effettiva concentrazione del substrato nella cellula.
 8. Assumendo una sola cifra significativa, 20 kJ mol^{-1} , 0 kJ mol^{-1} , 130 kJ mol^{-1} .
 9. $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$ e $\Delta S^\circ = 34,9 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1} = 8,39 \text{ cal mol}^{-1}\text{K}^{-1}$. Ci sono due specie dal lato dei reagenti e tre dal lato dei prodotti, il che rappresenta un aumento del disordine.
 10. Assumendo 298 K ed una cifra significativa, (a) -50 kJ ; (b) -20 kJ ; (c) -20 kJ .
 11. Le concentrazioni dei substrati e dei prodotti possono avere influenza sul ΔG reale di una reazione, portandolo da zero ad un valore elevato, come nella parte (a). Il ΔG è negativo quando c'è una maggiore quantità di substrato rispetto al prodotto.
 12. Il ΔG° complessivo è $-260,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ o $-62,3 \text{ kcal mol}^{-1}$. La reazione è esoergonica, perché ha un ΔG° fortemente negativo.
 13. Maggiore di 3333 a 1.
 14. La reazione (a) non procederà come scritto: $\Delta G^\circ = +12,6 \text{ kJ mol}^{-1}$. La reazione (b) procederà come scritto: $\Delta G = -20,8 \text{ kJ mol}^{-1}$. La reazione (c) non procederà come scritto: $\Delta G^\circ = +31,4 \text{ kJ mol}^{-1}$. La reazione (d) procederà come scritto: $\Delta G^\circ = -18,0 \text{ kJ mol}^{-1}$.
 15. Sì, se si effettuano le correzioni per la differenza di temperatura e di concentrazione rispetto ai valori standard.
 16. Qui sono implicati due aspetti. (a) Molto raramente si trovano concentrazioni standard *in vivo*; i valori reali di ΔG (non ΔG°) dipendono dalle concentrazioni locali, specialmente se il numero delle specie di reagenti e prodotti non è lo stesso. (b) I valori di ΔG° si applicano rigorosamente solo a sistemi chiusi che possono raggiungere l'equilibrio. I sistemi biochimici, invece, sono in generale sistemi aperti e non raggiungono l'equilibrio. Se fossimo all'equilibrio, saremmo morti. Le vie metaboliche coinvolgono serie di reazioni e le stesse vie metaboliche sono interconnesse, compresi quei processi che assumono materiali dall'ambiente e rilasciano nell'ambiente i prodotti di scarto.

15.3 La natura del metabolismo

17. Gruppo 1: Catabolismo, ossidativo, fornisce energia. Gruppo 2: Anabolismo, riduttivo, richiede energia.

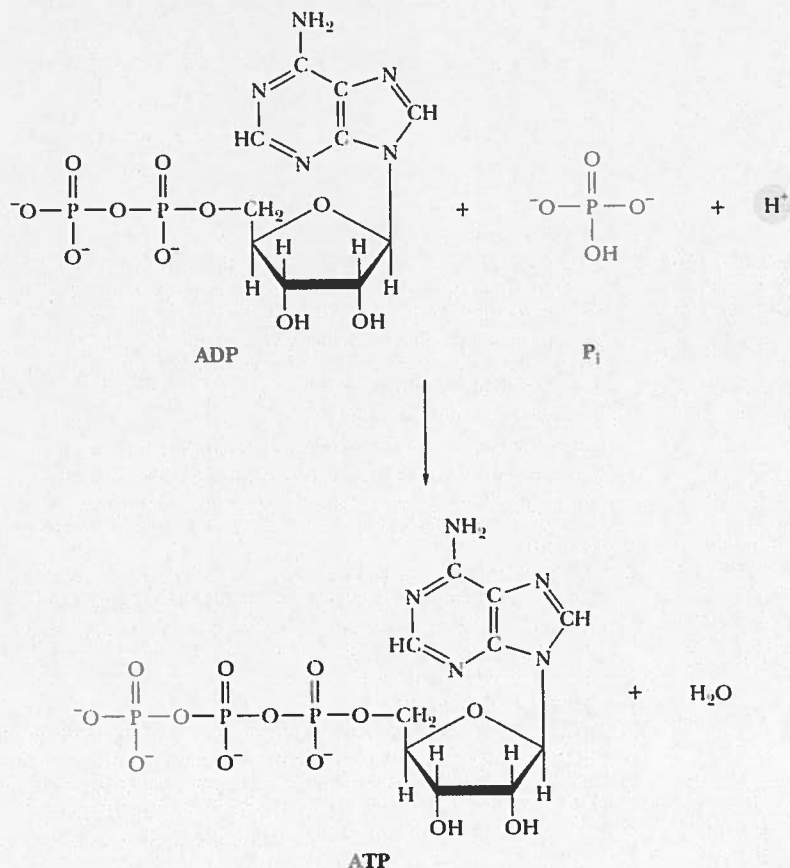
18. La diminuzione locale dell'entropia associata agli organismi viventi è bilanciata dall'aumento dell'entropia dell'ambiente dovuto alla loro presenza. L'accoppiamento delle reazioni determina una dispersione complessiva di energia nell'ambiente.
 19. La sintesi degli zuccheri da parte delle piante nel processo di fotosintesi è endoergonica e richiede energia luminosa proveniente dal Sole.
 20. La biosintesi delle proteine è endoergonica ed è accompagnata da una grande diminuzione di entropia.
 21. L'ATP generato costantemente dagli organismi viventi è utilizzato come fonte di energia chimica per i processi endoergonici. C'è un costante ricambio di molecole, ma nessuna variazione netta.
- ### 15.4 Il ruolo delle reazioni di ossidazione e di riduzione nel metabolismo
22. (a) Il NADH viene ossidato, $H^+ + NADH \rightarrow NAD^+ + 2e^- + 2H^+$. L'acetaldeide è ridotta, $CH_3CH_2CHO + 2e^- + 2H^+ \rightarrow CH_3CH_2CH_2OH$
(b) Fe^{2+} viene ossidato: $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^-$. Cu^{2+} viene ridotto: $Cu^{2+} + e^- \rightarrow Cu^+$
 23. (a) L'acetaldeide è l'agente ossidante; il NADH è l'agente riducente.
(b) Cu^{2+} è l'agente ossidante; Fe^{2+} è l'agente riducente.
- ### 15.5 I coenzimi nelle reazioni redox di importanza biologica
24. NAD^+ , $NADP^+$ e FAD contengono tutti un gruppo ADP.
 25. L'ossidrilile 2' del ribosio legato all'adenina è esterificato con un gruppo fosfato nel caso del NADPH.
 26. C'è un modesto effetto nelle reazioni. Entrambi sono coenzimi coinvolti in reazioni di ossido-riduzione. La presenza del fosfato serve a distinguere due insiemi distinti di coenzimi, tali che possano essere mantenuti rapporti differenti di $NADPH/NADP^+$ rispetto a $NADH/NAD^+$.
 27. Nessuna delle affermazioni è vera. Alcuni coenzimi sono coinvolti nelle reazioni di trasferimento di gruppi (si ricordi il Capitolo 7). Molti coenzimi contengono gruppi fosfato ed il coenzima A contiene lo zolfo. L'ATP non rappresenta una riserva di energia, ma viene prodotto quando richiesto.
 28. Il processo coinvolge probabilmente una reazione redox. Il cofattore utilizzato è probabilmente il NAD^+ o il NADPH in un processo anabolico. Il FAD non dovrebbe essere usato, perché la sua variazione di energia libera è troppo bassa.
 29. La seconda semireazione (quella che coinvolge il NADH) è quella di ossidazione, mentre la prima semireazione (quella che coinvolge O_2) è quella di riduzione. La reazione globale è: $\frac{1}{2} O_2 + NADH + H^+ \rightarrow H_2O + NAD^+$. O_2 è l'agente ossidante e NADH è l'agente riducente.
 30. Si vedano le Figure 15.3 e 15.4.
 31. Il glucosio-6-fosfato viene ossidato ed il $NADP^+$ viene ridotto. Il $NADP^+$ è l'agente ossidante ed il glucosio-6-fosfato è l'agente riducente.
 32. Il FAD viene ridotto ed il succinato viene ossidato. Il FAD è l'agente ossidante ed il succinato è l'agente riducente.
 33. È importante che ci siano due gruppi distinti di coenzimi redox. Nel citosol, il rapporto $NAD^+/NADH$ è elevato, ma lo è anche il rapporto $NADPH/NADP^+$. Questo significa che le reazioni anaboliche possono avvenire nel citosol contemporaneamente a quelle cataboliche, come la glicolisi. Se non ci fossero due gruppi di coenzimi distinti, in nessuna localizzazione cellulare sarebbe permesso sia il catabolismo che l'anabolismo. Con due agenti riducenti diversi, ma strutturalmente correlati, si contribuisce a mantenere le reazioni anaboliche e cataboliche distinte le une dalle altre.
- ### 15.6 L'accoppiamento della produzione e utilizzo dell'energia
34. Il rapporto tra substrati e prodotti dovrebbe essere 321258 a 1.
 35. Creatina fosfato + ADP \rightarrow Creatina + ATP; $\Delta G^\circ = -12,6 \text{ kJ mol}^{-1}$
ATP + Glicerolo \rightarrow ADP + Glicerolo-3-fosfato; $\Delta G^\circ = -20,8 \text{ kJ mol}^{-1}$
Creatina fosfato + Glicerolo \rightarrow
Creatina + Glicerolo-3-fosfato; $\Delta G^\circ = -33,4 \text{ kJ mol}^{-1}$
 36. Glucosio-1-fosfato \rightarrow Glucosio + P_i ; $\Delta G^\circ = -20,9 \text{ kJ mol}^{-1}$
Glucosio + P_i \rightarrow Glucosio-6-fosfato; $\Delta G^\circ = +12,5 \text{ kJ mol}^{-1}$
Glucosio-1-fosfato \rightarrow Glucosio 6-fosfato; $\Delta G^\circ = -8,4 \text{ kJ mol}^{-1}$
 37. In entrambe le vie, la reazione globale è $ATP + 2H_2O \rightarrow AMP + 2 P_i$. I parametri termodinamici, come l'energia, sono additivi. L'energia globale è la stessa, perché la via globale è la stessa.
 38. Fosfoarginina + ADP \rightarrow Arginina + ATP; $\Delta G^\circ = -1,7 \text{ kJ mol}^{-1}$
ATP + $H_2O \rightarrow$ ADP + P_i ; $\Delta G^\circ = -30,5 \text{ kJ mol}^{-1}$
Fosfoarginina + $H_2O \rightarrow$ Arginina + P_i ; $\Delta G^\circ = -32,2 \text{ kJ mol}^{-1}$

39. L'ATP è meno stabile dell'ADP e del P_i a causa della distribuzione delle cariche e della perdita della stabilizzazione per risonanza presente nello ione fosfato isolato. Si verifica una stabilizzazione (dispersione di energia) quando l'ATP è idrolizzato, portando ad una variazione di energia libera negativa.



oppure in formula di struttura.

$$\Delta G^{\circ'} = 30,5 \text{ kJ mol}^{-1} \\ = 7,3 \text{ kcal mol}^{-1}$$



40. L'ATP si trova in una posizione intermedia; perciò, l'ATP è posizionato in maniera ideale per fungere da donatore di fosfato oppure (come ADP) da accettore di fosfato, a seconda delle concentrazioni locali.
41. La creatina fosfato può fosforilare l'ADP ad ATP. Qui c'è un "germe di verità" biochimica, ma l'efficacia di tale supplemento è un altro argomento.
42. C'è un grosso aumento di entropia che accompagna l'idrolisi di una molecola in 5 molecole distinte.
43. Il PEP è un composto ad alta energia, perché la sua idrolisi rilascia energia in virtù della stabilizzazione di risonanza del fosfato inorganico rilasciato e della tautomeria cheto-enolica possibile per il suo prodotto, il piruvato. Si veda la Figura 15.8.
44. Il fatto che una reazione sia termodinamicamente favorita non significa che avverrà *in vivo*. Anche se sembra esserci abbondante energia per catalizzare la produzione di 2 ATP dal PEP, non c'è nessun enzima che catalizzi questa reazione.
45. Gli scatti ed gli esercizi fisici di breve durata si basano, come fonte di energia, sul metabolismo anaerobico, con la produzione di acido lattico. Periodi prolungati di esercizio si basano anche sul metabolismo aerobico.
- 15.7 Il coenzima A nell'attivazione delle vie metaboliche**
46. In una via metabolica, un passaggio di attivazione porta ad un successivo passaggio esoergonico. Questo è analogo al modo in cui i chimici organici cercano di legare un buon gruppo uscente per il passaggio successivo in una serie di reazioni.
47. Piccole variazioni di energia coinvolgono generalmente condizioni blande. Inoltre, reazioni del genere sono più sensibili a variazioni relativamente lievi di concentrazione e, quindi, sono più facilmente controllabili.
48. I tioesteri sono composti ad alta energia. La possibile dissociazione dei prodotti di idrolisi e la stabilizzazione per risonanza dei prodotti facilitano la reazione.
49. L'utilizzazione del coenzima A ha molteplici vantaggi. Produce composti ad alta energia attivando le fasi iniziali delle vie metaboliche. È utilizzato come marcatore per "destinare" una molecola ad una particolare via. È di grandi dimensioni e non può attraversare le membrane, per cui la compartimentazione delle vie può essere influenzata dai metaboliti che si legano ad esso.
50. Le dimensioni e la complessità della molecola la rendono più specifica per delle particolari reazioni enzimatiche. Inoltre, non può attraversare le membrane, per cui gli acil-CoA e gli altri derivati del CoA possono essere compartimentati.

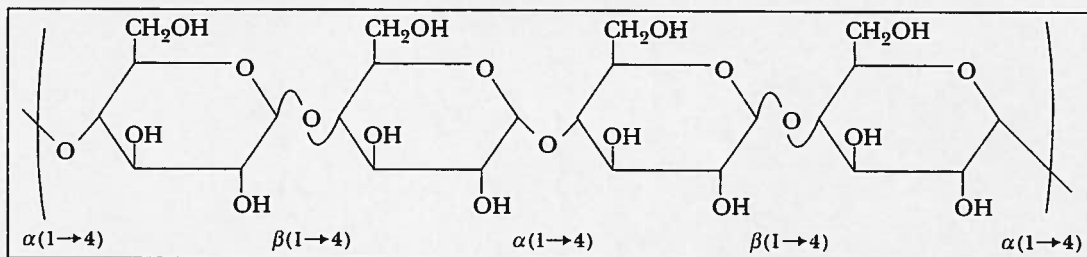
Capitolo 16

16.1 Gli zuccheri: struttura e stereochimica

1. Un polisaccaride è un polimero di zuccheri semplici, che sono dei composti contenenti un gruppo carbonilico singolo e vari gruppi ossidrilici. Un furanosio è uno zucchero ciclico contenente un anello a 5 membri simile a quello del furano. Un piranosio è uno zucchero ciclico contenente un anello a 6 membri simile a quello del pirano. Un aldoso è uno zucchero contenente un gruppo aldeidico; un chetoso è uno zucchero contenente un gruppo chetonico. Un legame glicosidico è il legame acetalico tra due zuccheri. Un oligosaccaride è un composto formato dal legame di più zuccheri semplici (monosaccaridi) mediante legami glicosidici. Una glicoproteina è costituita da una proteina legata covalentemente a degli zuccheri.

A-28 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

33. Ci si aspetta che questo polimero abbia un ruolo strutturale. La presenza del legame β -glicosidico lo rende adatto come alimento solo per animali come le termidi o per i ruminanti, come le mucche e i cavalli; questi animali ospitano nel loro tratto digestivo dei batteri capaci di attaccare i legami β .



34. A causa della ramificazione, la molecola di glicogeno dà luogo ad un certo numero di molecole di glucosio disponibili simultaneamente, quando viene idrolizzata per produrre energia. Una molecola lineare potrebbe produrre soltanto una molecola di glucosio per volta.
35. Il tratto digestivo di questi animali contiene dei batteri che dispongono dell'enzima per idrolizzare la cellulosa.
36. Gli esseri umani non hanno l'enzima che idrolizza la cellulosa. Inoltre, la struttura fibrosa della cellulosa la renderebbe troppo insolubile per essere digerita, anche se gli uomini avessero l'enzima necessario.
37. L'enzima β -amilasi è una esoglicosidasi, che degrada i polisaccaridi dalle estremità. L'enzima α -amilasi è una endoglicosidasi, che scinde i legami glicosidici interni.
38. La fibra lega nell'intestino molte sostanze tossiche e fa diminuire il tempo di transito, per cui le sostanze tossiche come quelle cancerogene sono rimosse più velocemente dall'intestino rispetto ad una situazione di dieta a basso contenuto di fibre.
39. Una cellulasi (enzima che degrada la cellulosa) ha bisogno di un sito attivo che possa riconoscere i residui di glucosio uniti da un legame β -glicosidico ed idrolizzare quel legame. Un enzima che degrada l'amido ha gli stessi requisiti riguardo ai residui di glucosio uniti da un legame α -glicosidico.
40. Ci si può aspettare che i legami crociati abbiano un ruolo nella struttura dei polisaccaridi, che ne determina la forza meccanica. Degli esempi sono la cellulosa e la chitina. Questi legami crociati possono essere facilmente formati grazie al gran numero di legami idrogeno. (Si veda la Figura 16.19).
41. La sequenza dei monomeri in un polisaccaride non è codificata geneticamente e, in questo senso, non contiene informazione.
42. Può essere utile che un polisaccaride abbia varie estremità, caratteristica di un polimero ramificato, e non le due estremità di un polimero lineare. Questo è il caso in cui è necessario rilasciare residui dalle estremità il più velocemente possibile. Con i polisaccaridi, ciò è consentito dai legami glicosidici $1 \rightarrow 4$ e $1 \rightarrow 6$ nei residui di un punto di ramificazione.
43. La chitina è un materiale adatto all'esoscheletro degli invertebrati per la sua forza meccanica. I filamenti dei singoli polimeri formano tra essi legami crociati grazie ai legami idrogeno, che conferiscono forza. La cellulosa è un altro polisaccaride con analoghi legami crociati e può avere un ruolo simile.
44. La parete cellulare batterica non è composta in larga misura da proteine. I polisaccaridi si formano con facilità e conferiscono una forza meccanica notevole. È possibile che abbiano un ruolo importante.
45. Gli atleti provano ad accrescere le loro riserve di glicogeno prima di una gara. Il modo più diretto per aumentare la quantità di questo polimero è assumere carboidrati.
46. Lo iodio è il reattivo da aggiungere alla miscela di reazione nella titolazione. Quando si raggiunge il punto finale, una goccia di iodio in più produrrà, in presenza dell'indicatore, un caratteristico colore blu.
47. L'eparina è un anticoagulante. La sua presenza previene la coagulazione del sangue.
48. I legami glicosidici si possono formare tra gli ossidrili della catena laterale dei residui di serina o treonina e gli ossidrili dello zucchero. Inoltre, c'è la possibilità di formazione di un legame estereo tra il gruppo carbossilico della catena laterale di aspartato o glutammato e gli ossidrili dello zucchero.

16.5 Le glicoproteine

49. Le glicoproteine sono molecole in cui i carboidrati sono legati covalentemente alle proteine; hanno un ruolo nella membrana cellulare eucariotica, frequentemente come siti di riconoscimento per molecole esterne. Gli anticorpi (immunoglobuline) sono glicoproteine.
50. La parte glicidica delle glicoproteine dei gruppi sanguigni è responsabile della differenza antigenica.

Capitolo 17

17.1 Il significato generale della glicolisi

1. Reazioni che richiedono ATP: fosforilazione del glucosio a glucosio-6-fosfato e fosforilazione del fruttosio-6-fosfato a fruttosio-1,6-bisfosfato. Reazioni che producono ATP: trasferimento di un gruppo fosfato dall'1,3-bisfosfoglicerato all'ADP e trasferimento di un gruppo fosfato dal fosfoenolpiruvato all'ADP. Enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono ATP: esochinasi, glucochinasi e fosfofruttochinasi. Enzimi che catalizzano le reazioni che producono ATP: fosfoglicerato chinasi e piruvato chinasi.
2. Reazioni che richiedono NADH: riduzione del piruvato a lattato e riduzione dell'acetaldeide ad etanolo. Reazioni che richiedono NAD⁺: ossidazione della gliceraldeide-3-fosfato ad 1,3-bisfosfoglicerato. Enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono NADH: lattato deidrogenasi ed alcol deidrogenasi. Enzimi che catalizzano le reazioni che richiedono NAD⁺: gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi.
3. Il piruvato può essere convertito in lattato, etanolo o acetil-CoA.

17.2 Trasformazione del glucosio, un composto a sei atomi di carbonio, in gliceraldeide-3-fosfato, un composto a tre atomi di carbonio

4. L'aldolasi catalizza l'inverso della condensazione aldolica del fruttosio-1,6-bisfosfato, per dare gliceraldeide-3-fosfato e diidrossiacetone fosfato.
5. Gli isoenzimi sono enzimi oligomericici con lievi differenze nella composizione in amminoacidi nei diversi organi. Ne sono esempi la lattato deidrogenasi e la fosfofruttochinasi.
6. Gli isoenzimi consentono un controllo sottile dell'attività di un enzima, perché possa rispondere alle diverse necessità della cellula. Per esempio, nel fegato la lattato deidrogenasi è molto spesso utilizzata per convertire il lattato in piruvato, ma la reazione nel muscolo è spesso quella inversa. La presenza di isoenzimi diversi nel fegato e nel muscolo fa sì che queste reazioni avvengano in maniera ottimale.
7. Il fruttosio-1,6-bisfosfato può soltanto partecipare alle reazioni della glicolisi. I componenti della via fino a questo punto possono avere diversi destini metabolici.
8. Sommate i valori di ΔG° mol⁻¹ per le reazioni da glucosio a gliceraldeide-3-fosfato. Il risultato è 2,5 kJ mol⁻¹ = 0,6 kcal mol⁻¹.
9. I due enzimi possono avere localizzazioni diverse nei tessuti e diversi parametri cinetici. La glucochinasi ha una K_M più elevata per il glucosio rispetto all'esochinasi. Perciò, in condizioni di bassa concentrazione di glucosio, il fegato non potrà convertire il glucosio in glucosio-6-fosfato, utilizzando il substrato che è necessario per qualche altro tessuto. Quando la concentrazione del glucosio è molto più alta, però, la glucochinasi funzionerà, aiutando a fosforilare il glucosio, in modo da immagazzinarlo come glicogeno.
10. Nel fegato degli individui ai quali manca il gene che dirige la sintesi della forma M dell'enzima può avvenire la glicolisi, ma questi individui soffrono di debolezza muscolare perché non possiedono l'enzima nel muscolo.
11. La molecola dell'esochinasi cambia drasticamente forma legandosi al substrato e ciò è coerente con la teoria dell'adattamento indotto per un enzima che si adatta al suo substrato.
12. L'ATP inibisce la fosfofruttochinasi e ciò è coerente con il fatto che l'ATP è prodotto dalle reazioni successive della glicolisi.

17.3 La gliceraldeide-3-fosfato viene convertita in piruvato

13. Dal punto in cui l'aldolasi scinde il fruttosio-1,6-bisfosfato in diidrossiacetone fosfato e gliceraldeide-3-fosfato, tutte le reazioni della via sono raddoppiate (in genere è mostrata la via che parte da una sola molecola di gliceraldeide-3-fosfato).
14. Deidrogenasi NADH-dipendenti: gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi, lattato deidrogenasi ed alcol deidrogenasi.
15. L'energia libera dell'idrolisi di un substrato è la forza energetica trainante della fosforilazione a livello del substrato. Un esempio è la conversione della gliceraldeide-3-fosfato in 1,3-bisfosfoglicerato.

16. I punti di controllo della glicolisi sono le reazioni catalizzate dall'esochinasi, dalla fosfofruttochinasi e dalla piruvato chinasi.
17. L'esochinasi è inibita dal glucosio-6-fosfato. La fosfofruttochinasi è inibita dall'ATP e dal citrato. La piruvato chinasi è inibita da ATP, acetil-CoA ed alanina. La fosfofruttochinasi è stimolata da AMP e fruttosio-2,6-bisfosfato. La piruvato chinasi è stimolata da AMP e fruttosio-1,6-bisfosfato.
18. La porzione del sito attivo che lega il NADH dovrebbe essere la più conservata, perché molte deidrogenasi utilizzano questo coenzima.
19. (a) Utilizzano un fosfato ad alta energia per fosforilare un substrato.
 (b) Cambiano la forma di una molecola senza alterarne la formula empirica (cioè, sostituiscono un isomero con un altro).
 (c) Realizzano una scissione aldolica di uno zucchero che porta a due zuccheri più piccoli o a derivati dello zucchero.
 (d) Cambiano lo stato di ossidazione di un substrato con la rimozione degli idrogeni e, nello stesso tempo, cambiano lo stato di ossidazione di un coenzima (NADH, FADH₂, ecc.).
20. Isomerasi è un termine generico per un enzima che cambia la forma di un substrato senza alterare la sua formula empirica. Una mutasi è un enzima che sposta un gruppo funzionale, come un fosfato, in un altro sito della molecola del substrato.
21. La reazione del 2-fosfoglicerato per dare fosfoenolpiruvato è una disidratazione (perdita di acqua) e non una reazione redox.
22. Il carbonio-1 della gliceraldeide è il gruppo aldeidico. Esso cambia lo stato di ossidazione trasformandosi in acido carbossilico, che viene simultaneamente fosforilato.
23. L'ATP è un inibitore di molte reazioni della glicolisi, così come di altre vie cataboliche. Lo scopo delle vie cataboliche è la produzione di energia ed alti livelli di ATP indicano che la cellula ha già energia sufficiente. Il glucosio-6-fosfato inibisce l'esochinasi ed è un esempio di inibizione da prodotto. Un livello elevato di glucosio-6-fosfato può indicare che è reso disponibile sufficiente glucosio dalla demolizione del glicogeno, o che le reazioni enzimatiche successive della glicolisi procedono lentamente. In ogni caso, non c'è motivo di produrre altro glucosio-6-fosfato. La fosfofruttochinasi è inibita da una particolare molecola di effettore, il fruttosio-2,6-bisfosfato, i cui livelli sono controllati dagli ormoni. È anche inibita dal citrato, il quale indica che c'è sufficiente energia derivante dal ciclo dell'acido citrico, probabilmente dalla degradazione dei grassi e degli amminoacidi. La piruvato chinasi è anche inibita dall'acetil-CoA, la cui presenza indica che gli acidi grassi sono in corso di utilizzo per generare energia con il ciclo dell'acido citrico. La funzione principale del-

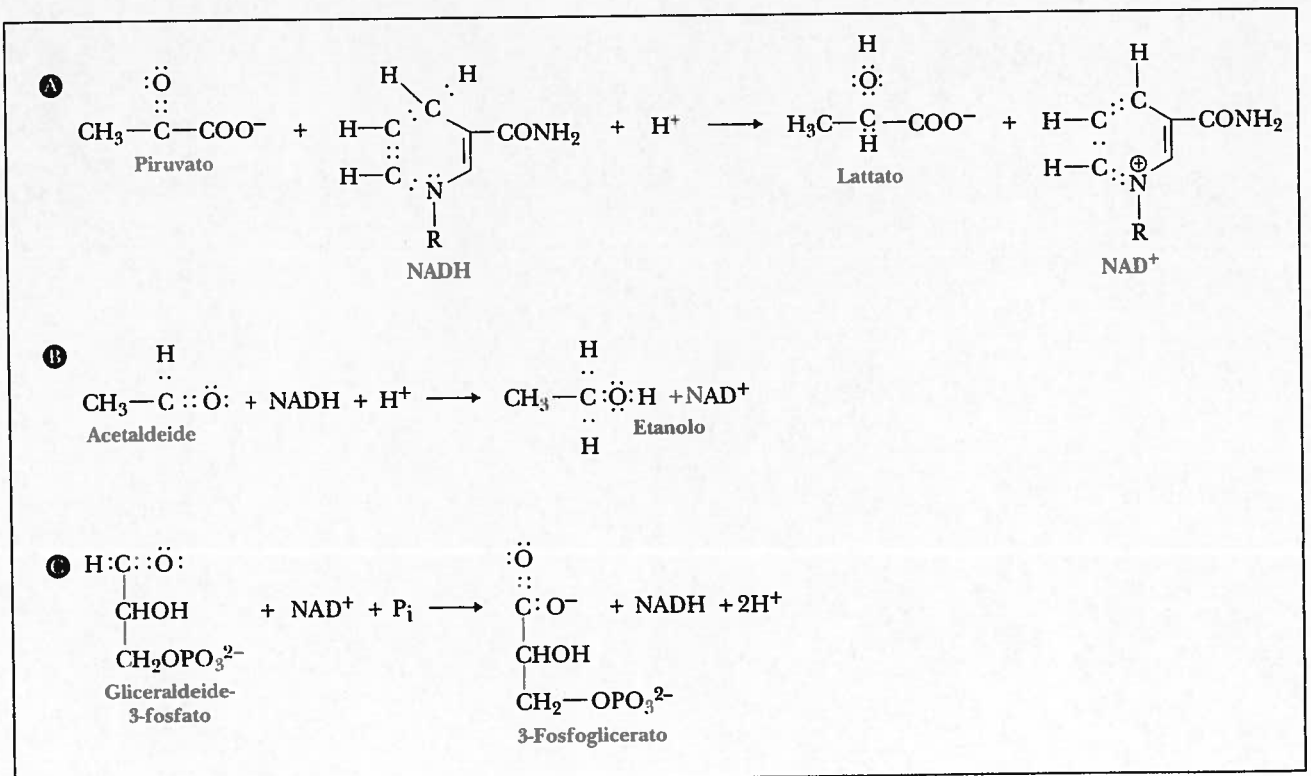
la glicolisi è di rifornire il ciclo dell'acido citrico di unità carboniose. Quando questi scheletri carboniosi possono provenire da altre fonti, la glicolisi è inibita per preservare il glucosio per altri scopi.

24. Ci sarebbero 15 isoenzimi possibili della LDH, che mettono insieme le tre differenti subunità in combinazioni di quattro. Oltre ai cinque isoenzimi contenenti soltanto M ed H, ci sarebbero anche C₄, CH₃, C₂H₂, C₃H, CH₂M, C₂HM, C₃M, CHM₂, C₂M₂ e CM₃.
25. L'acido glutammico ha una catena laterale acida, con un pK_a di 4,25. Quindi, sarebbe carico negativamente a pH 8,6 e la subunità H si muoverebbe in direzione dell'anodo (+) più velocemente della subunità M. Perciò LDH 1, che è H₄, migrerebbe più lontano. LDH 5, che è M₄, si muoverebbe di meno, mentre gli altri enzimi migrerebbero tra i due estremi proporzionalmente al loro contenuto di H.
26. La formazione del fruttosio-1,6-bisfosfato è la fase obbligata della via glicolitica. È anche una delle reazioni della via che richiedono energia.
27. Il glucosio-6-fosfato inibisce l'esochinasi, l'enzima responsabile della sua formazione. Poiché il G-6-P è consumato nelle reazioni successive della glicolisi, l'inibizione è rimossa.
28. Con poche eccezioni, una reazione biochimica tipicamente comporta un'unica modificazione chimica del substrato. Di conseguenza, sono necessarie più reazioni per raggiungere l'obiettivo ultimo.
29. L'enzima contiene un gruppo fosfato legato ad un amminoacido adatto, come serina, treonina o istidina. Il substrato dona il suo gruppo fosfato dalla posizione C-3 ad un altro amminoacido sull'enzima, ricevendo di conseguenza quello che si trovava inizialmente sull'enzima. Perciò, il P³² che si trovava sul substrato è trasferito all'enzima, mentre un fosforo non marcato è posizionato in C-2.

17.4 Il metabolismo anaerobico del piruvato

30. La schiuma della birra è dovuta alla CO₂ prodotta nella fermentazione alcolica. La stanchezza ed il dolore muscolari sono in parte causati da un accumulo di acido lattico, un prodotto della glicolisi anaerobica.
31. Il problema dell'acido lattico è che si tratta di un acido. L'H⁺ prodotto dalla formazione dell'acido lattico causa la sensazione di bruciore muscolare. Il lattato di sodio è la base debole coniugata dell'acido lattico. È riconvertito in glucosio attraverso la gluconeogenesi nel fegato. La somministrazione in vena di lattato di sodio è un buon sistema per apportare una fonte indiretta di glucosio nel sangue.
32. Lo scopo della reazione che produce acido lattico è la riduzione del piruvato, in modo tale che il NADH possa essere ossidato a NAD⁺, necessario per la reazione catalizzata dalla gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi.

33.

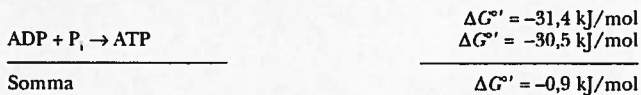


A-30 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

34. La tiamina pirofosfato è il coenzima per il trasferimento di unità bicarboniose. È necessaria per la catalisi della piruvato decarbossilasi nella fermentazione alcolica.
35. La porzione importante della TPP è l'anello a cinque membri, dove tra un azoto e uno zolfo si trova un atomo di carbonio. Questo carbonio forma un carbanione estremamente reattivo, in quanto può effettuare un attacco nucleofilo sui gruppi carbonilici, portando alla decarbossilazione di vari composti in diverse vie.
36. La tiamina pirofosfato è un coenzima richiesto nella reazione catalizzata dalla piruvato decarbossilasi. Poiché questa reazione fa parte del metabolismo dell'etanolo, ne sarà disponibile una quantità minore per le reazioni di altri enzimi che richiedono questo coenzima.
37. Gli animali che hanno corso fino a morire hanno accumulato nei loro tessuti muscolari grosse quantità di acido lattico, responsabile del gusto acido della carne.
38. La conversione del glucosio in lattato, invece che in piruvato, ricicla il NADH.
39. Ciò è possibile e viene fatto. Questi veleni colpiscono anche altri tessuti, compresi la pelle, i capelli, le cellule del rivestimento dell'intestino e, specialmente, il sistema immunitario ed i globuli rossi. Le persone in chemioterapia sono in genere più sensibili alle malattie infettive delle persone in buona salute e spesso sono in qualche modo anemiche.

17.5 La produzione di energia nella glicolisi

40. L'energia liberata da tutte le reazioni della glicolisi è 184,5 kJ mol glucosio⁻¹. L'energia liberata dalla glicolisi permette la fosforilazione di due molecole di ADP ad ATP per ogni molecola di glucosio, immobilizzando 61,0 kJ mol glucosio⁻¹. La stima dell'efficienza del 33% deriva dal seguente calcolo (61,0/184,5) x 100 = 33%.
41. C'è un guadagno netto di due molecole di ATP per ogni molecola di glucosio consumata nella glicolisi.
42. La resa "lorda" è di quattro molecole di ATP per molecola di glucosio, ma le reazioni della glicolisi richiedono due ATP per glucosio.
43. Le reazioni catalizzate da esochinasi, fosfofruttochinasi, gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi, fosfoglicerochinasi e piruvato chinasi.
44. Le reazioni catalizzate dall'esochinasi, dalla fosfofruttochinasi e dalla piruvato chinasi.
45. Fosfoenolpiruvato → piruvato + P_i
 $\Delta G^{\circ} = -61,9 \text{ kJ mol}^{-1} = -14,8 \text{ kcal mol}^{-1}$
 ADP + P_i → ATP
 $\Delta G^{\circ} = 30,5 \text{ kJ mol}^{-1} = -7,3 \text{ kcal mol}^{-1}$
 Fosfoenolpiruvato + ADP → Piruvato + ATP
 $\Delta G^{\circ} = -31,4 \text{ kJ mol}^{-1} = -7,5 \text{ kcal mol}^{-1}$
46. La resa netta di ATP della glicolisi è la stessa, 2 molecole di ATP, quando è utilizzato uno qualsiasi dei tre substrati. L'energetica della conversione degli esosi in piruvato è la stessa, indipendentemente dal tipo di esoso.
47. Partendo dal glucosio-1-fosfato, la resa netta di ATP è di 3 molecole, perché una delle reazioni di inizio non è più utilizzata. Perciò, il glicogeno è un combustibile per la glicolisi più efficiente del glucosio libero.
48. Fosfoenolpiruvato + ADP → Piruvato + ATP



Perciò, la reazione è termodinamicamente possibile nelle condizioni standard.

49. No, la reazione mostrata nell'Esercizio 48 non avviene in natura. Possiamo assumere che nessun enzima in grado di catalizzarla si sia evoluto. La natura non è efficiente al 100%.
50. Un ΔG° positivo non implica necessariamente che la reazione abbia un ΔG positivo. Le concentrazioni dei substrati possono determinare un ΔG° negativo a partire da un ΔG° positivo.
51. L'intera via può essere considerata una grande reazione accoppiata. Se, perciò, l'intera via ha un ΔG negativo, una reazione individuale può avere un ΔG positivo, e la via può ancora procedere.

Capitolo 18

18.1 Come viene prodotto e degradato il glicogeno

1. Queste due vie avvengono nello stesso compartimento cellulare e, se avvenissero contemporaneamente, ne risulterebbe un ciclo futile di idrolisi di ATP. L'utilizzo dello stesso meccanismo per attivarle/disattivarle reciprocamente è altamente efficiente.
2. Nella fosforolisi, si scinde un legame inserendovi gli elementi dell'acido

fosforico, mentre nell'idrolisi la scissione ha luogo inserendovi gli elementi dell'acqua.

3. Il glucosio-6-fosfato è già fosforilato. Questo porta al risparmio di un equivalente di ATP nelle prime reazioni della glicolisi.
4. Ogni residuo di glucosio è aggiunto alla molecola in crescita di glicogeno per trasferimento dall'UDPG.
5. La glicogeno sintasi è soggetta a modificazione covalente e a regolazione allosterica. L'enzima è attivo nella forma fosforilata ed inattivo se defosforilato. L'AMP è un inibitore allosterico della glicogeno sintasi, mentre l'ATP ed il glucosio-6-fosfato ne sono attivatori allosterici.
6. C'è un guadagno netto di tre, invece di due, equivalenti di ATP quando il glicogeno, invece del glucosio, è il materiale di partenza della glicolisi.
7. L'aggiunta di un residuo di glucosio al glicogeno "costa" un equivalente di ATP (da UTP ad UDP). Nella degradazione, circa il 90% dei residui di glucosio non richiede ATP per produrre glucosio-1-fosfato. Il restante 10% richiede ATP per fosforilare il glucosio. In media, si consumano 0,1 ATP per residuo di glucosio. Perciò, il "costo" globale è 1,1 ATP, in confronto ai tre ATP che possono derivare dal G-6-P mediante la glicolisi.
8. Il costo in termini di ATP è lo stesso, ma più di 30 equivalenti di ATP possono derivare dal metabolismo aerobico.
9. L'assunzione di alimenti ad elevato contenuto di carboidrati nei giorni che precedono un'attività intensa ha lo scopo di accumulare depositi di glicogeno nell'organismo. Il glicogeno sarà disponibile per fornire l'energia necessaria.
10. Il disaccaride saccarosio può essere idrolizzato a glucosio e fruttosio, i quali possono essere entrambi prontamente convertiti in glucosio-1-P, il precursore immediato del glicogeno. Questo non è il modo usuale per effettuare il carico (o riserva) di glicogeno.
11. Probabilmente no, perché lo zucchero somministrato inizialmente provocherà un rapido aumento dei livelli di insulina, cui seguirà un abbassamento dei livelli di glucosio nel sangue ed un aumento dei depositi di glicogeno nel fegato.
12. Lo scatto è essenzialmente anaerobico e produce lattato dal glucosio mediante la glicolisi. Il lattato è, quindi, riciclato a glucosio mediante la gluconeogenesi.
13. È poco probabile che questa scoperta sia confermata da altri ricercatori. La struttura altamente ramificata del glicogeno è ottimizzata per il rilascio del glucosio su domanda.
14. Ogni residuo di glucosio aggiunto ad una catena di glicogeno in crescita proviene dal uridina difosfato glucosio. La scissione del legame fosfoesterico con il nucleoside difosfato fornisce l'energia necessaria.
15. L'enzima che catalizza l'aggiunta di residui di glucosio ad una catena di glicogeno in crescita, non può formare un legame tra residui isolati di glucosio, da qui il bisogno di un innesco.
16. La reazione della glicogeno sintasi è globalmente esoergonica, perché è accoppiata all'idrolisi di un estere fosforico.
17. (a) L'aumento del livello di ATP favorisce sia la gluconeogenesi che la sintesi del glicogeno.
 (b) La diminuzione del livello di fruttosio-1,6-bisfosfato tenderebbe a stimolare la glicolisi, piuttosto che la gluconeogenesi o la sintesi di glicogeno.
 (c) I livelli di fruttosio-6-fosfato non hanno marcati effetti regolatori su queste vie metaboliche dei carboidrati.
18. Il "bruciore muscolare" in un allenamento si riferisce alla sensazione che accompagna l'accumulo di acido lattico. Questo, a sua volta, deriva dal metabolismo anaerobico del glucosio nel muscolo.
19. Gli zuccheri nucleotidi sono difosfati. Il risultato netto è l'idrolisi a due ioni fosfato, che rilascia più energia e spinge l'aggiunta di residui di glucosio al glicogeno nella direzione della polimerizzazione.

18.2 La gluconeogenesi produce glucosio dal piruvato

20. Reazioni che richiedono acetil-CoA: nessuna. Reazioni che richiedono biotina: carbossilazione del piruvato ad ossalacetato.
21. Tre reazioni della glicolisi sono irreversibili in condizioni fisiologiche. Queste sono la produzione di ATP dal fosfoenolpiruvato, la produzione di fruttosio-1,6-bisfosfato dal fruttosio-6-fosfato e la produzione di glucosio-6-fosfato dal glucosio. Queste reazioni sono aggirate nella gluconeogenesi; le reazioni della gluconeogenesi differiscono in questi punti da quelle della glicolisi e sono catalizzate da enzimi differenti.
22. La biotina è la molecola alla quale l'anidride carbonica si lega nel suo processo di trasferimento al piruvato. La reazione produce ossalacetato, che quindi partecipa alle reazioni successive della gluconeogenesi.
23. Nella gluconeogenesi, il glucosio-6-fosfato è defosforilato a glucosio

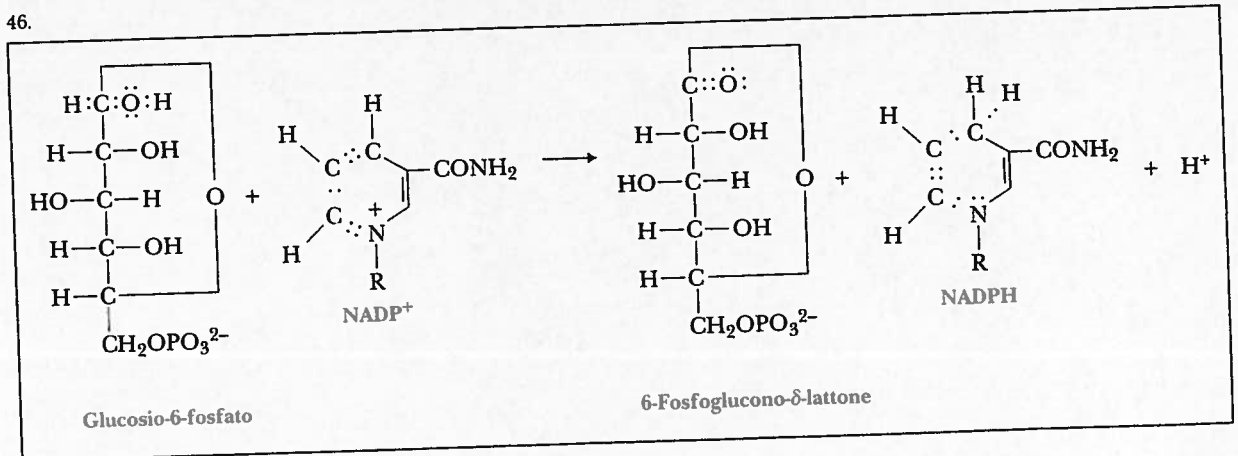
(l'ultima reazione della via); nella glicolisi, viene isomerizzato a fruttosio-6-fosfato (una delle prime reazioni della via).

24. Dei tre processi - formazione del glicogeno, gluconeogenesi e via dei pentosi fosfato - solo uno, la gluconeogenesi, coinvolge un enzima che richiede biotina. L'enzima in questione è la piruvato carbossilasi, che catalizza la conversione del piruvato in ossalacetato, una delle prime reazioni della gluconeogenesi.
 25. L'idrolisi del fruttosio-1,6-bisfosfato è una reazione fortemente esoergonica. La reazione inversa nella glicolisi, la fosforilazione del fruttosio-6-fosfato, è irreversibile a causa dell'energia fornita dall'idrolisi di ATP.
- 18.3 La regolazione del metabolismo dei carboidrati**
26. Reazioni che richiedono ATP: formazione di UDP-glucosio da glucosio-1-fosfato ed UTP (richiesta indiretta, perché è necessario ATP per rigenerare l'UTP), rigenerazione di UTP e carbossilazione del piruvato ad ossalacetato. Reazioni che producono ATP: nessuna. Enzimi che catalizzano reazioni che richiedono ATP: UDP-glucosio fosforilasi (richiesta indiretta), nucleoside fosfato chinasi e piruvato carbossilasi. Enzimi che catalizzano le reazioni che producono ATP: nessuno.
 27. Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico della fosfofruttochinasi (un enzima glicolitico) ed un inibitore allosterico della fruttosio bisfosfato fosfatasi (un enzima della via della gluconeogenesi).
 28. L'esochinasi può aggiungere un gruppo fosfato ad uno qualsiasi dei vari zuccheri a sei atomi di carbonio, mentre la glucochinasi è specifica per il glucosio. La glucochinasi ha una più bassa affinità per il glucosio dell'esochinasi. Di conseguenza, la glucochinasi tende ad agire con un eccesso di glucosio, in particolare nel fegato. L'esochinasi è l'enzima comune per la fosforilazione degli zuccheri a sei atomi di carbonio.
 29. Il ciclo di Cori è una via in cui si verifica il ciclo del glucosio, dovuto alla glicolisi nel muscolo e alla gluconeogenesi nel fegato. Il sangue trasporta il lattato dal muscolo al fegato ed il glucosio dal fegato al muscolo.
 30. I cicli di substrato sono futili, nel senso che non c'è variazione netta, eccetto che per l'idrolisi di ATP. Tuttavia, essi consentono un incremento della regolazione delle reazioni opposte, quando queste sono catalizzate da enzimi diversi.
 31. Due meccanismi di regolazione consentono una modulazione fine della regolazione ed anche una possibile amplificazione. Entrambi i meccanismi sono in grado di dare una risposta rapida alle condizioni, nell'ordine dei millisecondi nel caso della regolazione allosterica e da secondi a minuti nel caso di modificazione covalente.
 32. Meccanismi di regolazione differenti hanno intrinsecamente scale temporali differenti. La regolazione allosterica può avvenire nel giro di millisecondi, mentre la regolazione covalente impiega un periodo di tempo che va dai secondi ai minuti. La regolazione genetica ha una scala temporale più lunga.
 33. L'aspetto più importante dello schema dell'amplificazione è che i meccanismi di regolazione influenzano gli agenti che sono essi stessi dei catalizzatori. Un incremento di più potenze di dieci è ulteriormente incrementato di molte potenze di dieci.
 34. Gli enzimi, come tutti i catalizzatori, accelerano allo stesso modo la rea-

zione diretta e quella inversa. L'esistenza di catalizzatori diversi è l'unico modo che assicura una regolazione indipendente sulle velocità dei processi diretto ed inverso.

35. Il tessuto muscolare utilizza grosse quantità di glucosio e nel processo si forma lattato. Il fegato è un sito importante della gluconeogenesi, che ricicla il lattato in glucosio.
 36. Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico della fosfofruttochinasi (un enzima glicolitico) ed un inibitore allosterico della fruttosio bisfosfato fosfatasi (un enzima della via della gluconeogenesi). Esso, pertanto, svolge un ruolo in entrambe le vie, che non sono l'una l'inverso dell'altra.
 37. La concentrazione di fruttosio-2,6-bisfosfato in una cellula dipende dal bilancio tra la sua sintesi (catalizzata dalla fosfofruttochinasi-2) e la sua degradazione (catalizzata dalla fruttosio-bisfosfatasi-2). Gli enzimi che regolano la formazione e la degradazione del fruttosio-2,6-bisfosfato sono regolati essi stessi da un meccanismo di fosforilazione/defosforilazione.
 38. Il glicogeno è più estesamente ramificato dell'amido. È una forma di deposito di glucosio più utile per gli animali, perché il glucosio può essere più facilmente mobilizzato quando c'è una richiesta di energia.
- 18.4 Il glucosio è talvolta dirottato nella via dei pentosi fosfato**
39. Il NADPH ha un gruppo fosfato in più rispetto al NADH (in posizione 2' dell'anello di ribosio della porzione di adenina della molecola). Il NADH è prodotto nelle reazioni ossidative che generano ATP. Il NADPH è un agente riducente nelle biosintesi. Gli enzimi che utilizzano NADH come coenzima sono diversi da quelli che richiedono NADPH.
 40. Il glucosio-6-fosfato può essere convertito in glucosio (gluconeogenesi), glicogeno, pentosi fosfato (via dei pentosi fosfato) o piruvato (glicolisi).
 41. L'anemia emolitica è causata dal funzionamento difettoso della via dei pentosi fosfato. C'è una carenza di NADPH, che contribuisce indirettamente all'integrità dei globuli rossi. La via dei pentosi fosfato è l'unica fonte di NADPH per i globuli rossi.
 42. (a) Utilizzano soltanto le reazioni ossidative;
(b) utilizzano le reazioni ossidative, le reazioni della transaldolasi e della transchetolasi e la gluconeogenesi;
(c) utilizzano le reazioni glicolitiche e l'inverso delle reazioni della transaldolasi e della transchetolasi.
 43. La transchetolasi catalizza il trasferimento di unità a due atomi di carbonio, mentre la transaldolasi catalizza il trasferimento di unità a tre atomi di carbonio.
 44. Nei globuli rossi, è necessaria la presenza della forma ridotta del glutamione per mantenere nella forma ridotta i gruppi sulfidrilici dell'emoglobina e di altre proteine, ma anche per mantenere nella forma ridotta il Fe(II) dell'emoglobina. Il glutamione preserva anche l'integrità dei globuli rossi reagendo con i perossidi, che altrimenti degraderebbero le catene degli acidi grassi della membrana cellulare.
 45. La tiamina pirofosfato è un cofattore necessario per la funzionalità della transchetolasi, un enzima che catalizza una delle reazioni della parte non ossidativa della via dei pentosi fosfato.

46.



A-32 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

47. L'esistenza di agenti riducenti diversi per le vie anaboliche e cataboliche serve a tenere le vie metabolicamente separate. In tal modo, esse sono soggette a regolazione indipendente e non si ha spreco di energia.
48. Se una cellula richiede NADPH, avvengono tutte le reazioni della via dei pentosi fosfato. Se una cellula richiede ribosio-5-fosfato, la parte ossidativa della via può essere aggirata; avvengono solo le reazioni non ossidative. La via dei pentosi fosfato non ha un effetto significativo sui livelli cellulari di ATP.
49. Il legame estereo viene scisso più facilmente di tutti gli altri legami dell'anello dello zucchero. La reazione successiva della via è l'idrolisi di questo legame.
50. Le reazioni di rimescolamento della via dei pentosi fosfato presentano sia una epimerasi che una isomerasi. Senza una isomerasi, tutti gli zuccheri coinvolti sarebbero chetozuccheri, che non sono substrati della transaldolasi, uno degli enzimi chiave del processo di rimescolamento.

14. Si veda la Figura 19.4.

19.4 Le singole reazioni del ciclo dell'acido citrico

15. In una reazione di condensazione si forma un nuovo legame carbonio-carbonio. La reazione dell'acetil-CoA con l'ossalacetato per produrre citrato implica la formazione di tale legame carbonio-carbonio.
16. Significa che la reazione catalizzata dall'enzima genera il prodotto senza richiedere un apporto diretto di energia da parte di un fosfato ad alta energia. Perciò, la citrato sintasi catalizza la sintesi del citrato senza utilizzare a questo scopo l'ATP.
17. Il fluoroacetato è un veleno prodotto naturalmente da alcune piante ed è anche un veleno contro insetti indesiderati. È velenoso perché è utilizzato dalla citrato sintasi per produrre fluorocitrato, un inibitore del ciclo dell'acido citrico.
18. La reazione comporta la conversione di una molecola achirale (il citrato) in una chirale (isocitrato).
19. La conversione del piruvato in acetil-CoA, dell'isocitrato in α -chetoglutarato e dell' α -chetoglutarato in succinil-CoA.
20. La conversione del piruvato in acetil-CoA, dell'isocitrato in α -chetoglutarato, dell' α -chetoglutarato in succinil-CoA, del succinato in fumarato e del malato in ossalacetato.
21. Questi enzimi catalizzano decarbossilazioni ossidative.
22. Le reazioni procedono con lo stesso meccanismo ed utilizzano gli stessi cofattori. La differenza è nel substrato iniziale, che è piruvato o α -chetoglutarato. Nel corso della reazione, la piruvato deidrogenasi trasferisce un'unità acetilica e l' α -chetoglutarato deidrogenasi un'unità succinilica.
23. Una sintetasi è un enzima che sintetizza una molecola ed utilizza nel processo un fosfato ad alta energia.
24. Il GTP è equivalente all'ATP perché un enzima, la nucleoside difosfato chinasi, ha la capacità di interconvertire GTP ed ATP.
25. Gli enzimi che riducono il NAD⁺ sono tutti enzimi solubili della matrice, mentre la succinato deidrogenasi è legata alla membrana. Le deidrogenasi a NAD⁺ catalizzano tutte ossidazioni che interessano atomi di carbonio ed ossigeno, come l'ossidazione di un gruppo alcolico ad aldeide e di un'aldeide ad acido carbossilico. La deidrogenasi a FAD ossida un legame singolo carbonio-carbonio a doppio legame.
26. Nella struttura del NADH c'è la porzione del nucleotide adenilico, per la quale esiste uno specifico sito di legame nelle deidrogenasi NADH-dipendenti.
27. La conversione del fumarato in malato è una reazione di idratazione e non una reazione redox.
- 28.

Capitolo 19

19.1 Il ruolo centrale del ciclo dell'acido citrico nel metabolismo

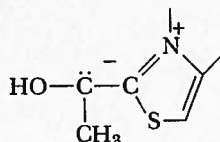
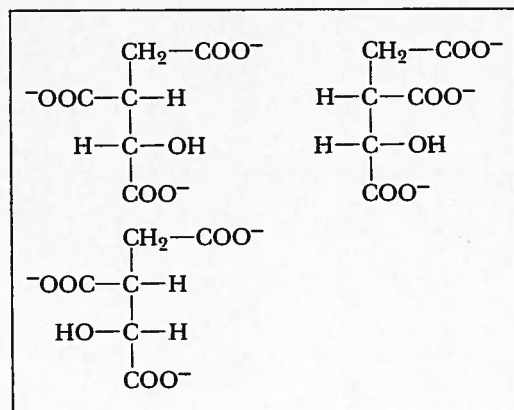
1. La glicolisi anaerobica è la via principale per il metabolismo anaerobico del glucosio. Si può anche considerare la via dei pentosi fosfato. La glicolisi aerobica ed il ciclo dell'acido citrico sono responsabili del metabolismo aerobico del glucosio.
2. Anaerobicamente, si possono produrre due molecole di ATP da una molecola di glucosio. Aerobicamente, questo numero va da 30 a 32, in base al tessuto considerato.
3. Il ciclo dell'acido citrico è anche chiamato ciclo di Krebs, ciclo degli acidi tricarbossilici o ciclo TCA.
4. Anfibolico significa che la via partecipa sia al catabolismo che all'anabolismo.

19.2 Il significato generale del ciclo dell'acido citrico

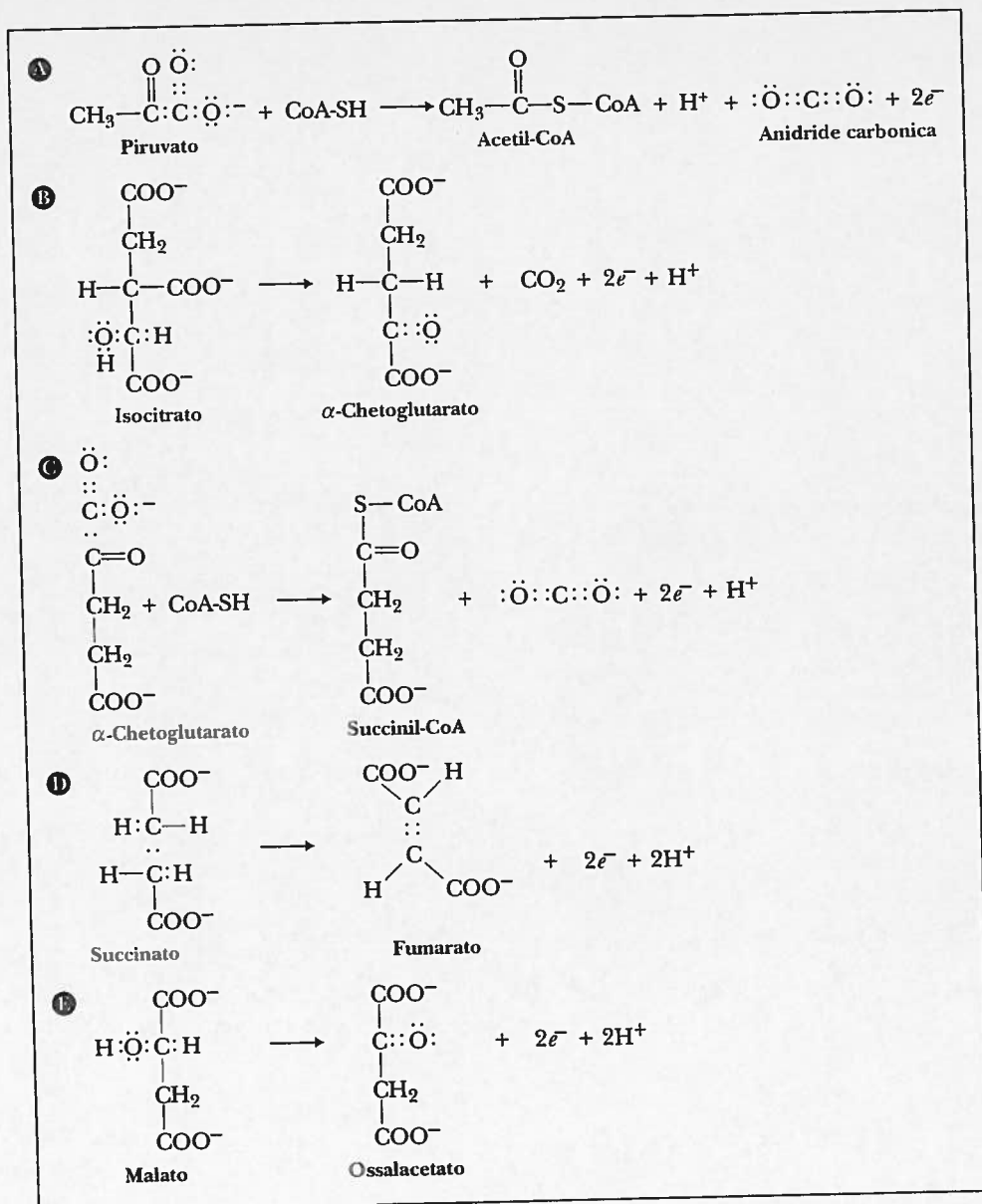
5. Il ciclo dell'acido citrico avviene nella matrice mitocondriale. La glicolisi avviene nel citosol.
6. Esiste un trasportatore nella membrana mitocondriale interna che consente al piruvato del citosol di passare nei mitocondri.
7. NAD⁺ e FAD sono gli accettori primari di elettroni del ciclo dell'acido citrico.
8. NADH e FADH₂ sono le fonti indirette dell'energia prodotta nel ciclo dei TCA. Il GTP è la fonte diretta dell'energia.

19.3 La trasformazione del piruvato in acetil-CoA

9. Ci sono cinque enzimi che fanno parte del complesso della piruvato deidrogenasi nei mammiferi. La piruvato deidrogenasi trasferisce un'unità a due atomi di carbonio alla TPP e rilascia CO₂. La diidrolipoil transacetilasi trasferisce l'unità acetilica a due atomi di carbonio all'acido lipoico e poi al coenzima A. La diidrolipoil deidrogenasi ri ossida l'acido lipoico e riduce il NAD⁺ a NADH. La piruvato deidrogenasi chinasi fosforila il complesso della PDH. La PDH fosfatasi rimuove il fosfato.
10. L'acido lipoico partecipa sia alle reazioni redox che a quelle di trasferimento di acili.
11. Ci sono cinque enzimi, tutti spazialmente vicini, per un efficiente trasferimento dell'unità acetilica tra le molecole ed un efficiente controllo del complesso mediante fosforilazione.
12. La tiamina pirofosfato deriva dalla tiamina, una vitamina del gruppo B. L'acido lipoico è una vitamina. Il NAD⁺ deriva dalla niacina, una vitamina del gruppo B. Il FAD deriva dalla riboflavina, una vitamina del gruppo B.
- 13.



29.



19.5 Il bilancio energetico e il controllo del ciclo dell'acido citrico

30. Le reazioni sono catalizzate da piruvato deidrogenasi, citrato sintasi, isocitrato deidrogenasi ed α -chetoglutarato deidrogenasi.
31. La PDH è controllata allostericamente. È inibita da ATP, acetil-CoA e NADH. Inoltre, è soggetta a controllo per fosforilazione. Quando la PDH chinasi fosforila il complesso della PDH, questo diviene inattivo. La rimozione del fosfato da parte della PDH fosfatasi riattiva il complesso.
32. ATP e NADH sono i due inibitori più comuni.
33. Se la quantità di ADP in una cellula aumenta rispetto alla quantità di ATP, la cellula ha bisogno di energia (ATP). Questa situazione non soltanto favorisce le reazioni del ciclo dell'acido citrico, che rilasciano energia, attivando l'isocitrato deidrogenasi, ma stimola anche la formazione di NADH e FADH₂ per la produzione di ATP mediante la catena di trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa.
34. Se la quantità di NADH in una cellula aumenta rispetto alla quantità di NAD⁺, la cellula ha completato un certo numero di reazioni che liberano energia. È meno importante che il ciclo dell'acido citrico sia attivo; il risultato è che diminuisce l'attività della piruvato deidrogenasi.
35. Il ciclo dell'acido citrico è meno attivo quando una cellula ha rapporti ATP/ADP e NADH/NAD⁺ elevati. Entrambi i rapporti indicano una "carica energetica" elevata nella cellula, il che è indice di un fabbisogno minore delle reazioni del ciclo dell'acido citrico, che rilasciano energia.
36. I tioesteri sono composti "ad alta energia" che hanno un ruolo nelle reazioni di trasferimento di gruppi; di conseguenza, il loro ΔG° di idrolisi è grande e negativo, in modo da poter fornire l'energia per la reazione.

37. L'energia rilasciata dall'idrolisi dell'acetil-CoA è necessaria per la reazione di condensazione che porta al legame della porzione acetilica all'ossalacetato, producendo il citrato. L'energia rilasciata dall'idrolisi del succinil-CoA spinge la fosforilazione del GDP, con formazione di GTP.

38. La Tabella 19.2 mostra che la somma delle energie delle singole reazioni è -44,3 kJ (-10,6 kcal) per ogni mole di acetil-CoA che entra nel ciclo.

39. L'espressione è correlata all'estrazione intensiva di energia dai composti intermedi mediante reazioni redox. Compresa la reazione della piruvato deidrogenasi, cinque reazioni su nove sono reazioni redox (rispetto ad una su dieci della glicolisi). Di conseguenza, l'energia è estratta rapidamente dai composti del carbonio (producendo CO₂ priva di energia) e trasferita al NAD⁺ e al FAD per un successivo utilizzo.

40. Il lattosio è un disaccaride costituito da glucosio e galattosio. Non c'è dispendio di energia nell'idrolisi del legame tra i due monosaccaridi, per cui essenzialmente si devono considerare due esosi. Poiché il metabolismo di ogni esoso produce la stessa quantità di energia, il metabolismo aerobico del lattosio porterebbe da 60 a 64 ATP, a seconda del tessuto e del sistema navetta utilizzato.

19.6 Il ciclo del glicosilato: una via collaterale

41. Isocitrato deidrogenasi, α -chetoglutarato deidrogenasi e succinil-CoA sintetasi.
42. La conversione dell'isocitrato in succinato e gliossilato, catalizzata dall'isocitrato liasi, e la conversione del gliossilato e dell'acetil-CoA in malato, catalizzata dalla malato sintasi.

A-34 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

43. I batteri che hanno il ciclo del glicolato possono convertire l'acido acetico in amminoacidi, carboidrati e lipidi, mentre gli esseri umani possono utilizzare l'acido acetico soltanto come fonte di energia o per produrre lipidi.

19.7 Il ciclo dell'acido citrico nel catabolismo

44. Il ciclo dell'acido citrico è la via metabolica centrale ed è un produttore indiretto di energia. Riceve il combustibile dalle altre vie in molti punti e genera trasportatori di elettroni ridotti che entrano nella catena di trasporto degli elettroni. È anche coinvolto nell'anabolismo, poiché molti dei suoi intermedi possono essere utilizzati per la sintesi di altri composti.

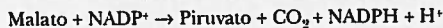
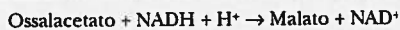
45. Il ciclo dell'acido citrico ha luogo nella matrice mitocondriale, delimitata da una membrana che ha una permeabilità più selettiva rispetto alla membrana plasmatica.

46. Nella decarbossilazione ossidativa, la molecola ossidata perde un gruppo carbossilico come biossido di carbonio. Esempi di decarbossilazione ossidativa includono la conversione del piruvato in acetil-CoA, dell'isocitrato in α -chetoglutarato e dell' α -chetoglutarato in succinil-CoA.

47. Sì, l'acido citrico non soltanto è degradato completamente a biossido di carbonio ed acqua, ma è anche prontamente assorbito all'interno del mitocondrio.

19.8 Il ciclo dell'acido citrico nell'anabolismo

48. La seguente serie di reazioni scambia il NADH con il NADPH.



49. Un certo numero di reazioni, in cui gli amminoacidi sono convertiti in intermedi del ciclo dell'acido citrico, sono considerate anaplerotiche. Inoltre, piruvato + CO_2 può formare ossalacetato attraverso la piruvato carbossilasi.

50. Molti composti possono formare acetil-CoA, come i grassi, i carboidrati e molti amminoacidi. L'acetil-CoA può anche formare grassi e corpi chetonici, oppure entrare direttamente nel ciclo dell'acido citrico.

19.9 Correlazioni con l'ossigeno

51. Il NADH ed il FADH_2 , prodotti nel ciclo dell'acido citrico sono i donatori di elettroni nella catena di trasporto degli elettroni legata all'ossigeno. Per questa connessione, il ciclo dell'acido citrico è considerato parte del metabolismo aerobico.

Capitolo 20

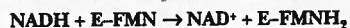
20.1 Il ruolo del trasporto degli elettroni nel metabolismo

1. Gli elettroni sono trasferiti dal NADH ad una proteina contenente flavina e poi al coenzima Q. Dal coenzima Q, gli elettroni passano al citocromo b, poi al citocromo c, mediante il ciclo Q, e quindi ai citocromi a ed a_3 . Dal complesso dei citocromi a/ a_3 , gli elettroni alla fine sono trasferiti all'ossigeno.

2. Il trasporto di elettroni e la fosforilazione ossidativa sono due processi differenti. Il trasporto degli elettroni richiede i complessi respiratori della membrana mitocondriale interna, mentre la fosforilazione ossidativa richiede l'ATP sintasi, anch'essa localizzata nella membrana mitocondriale interna. Il trasporto degli elettroni può avvenire in assenza di fosforilazione ossidativa.

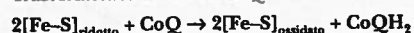
3. In tutte le reazioni, gli elettroni sono trasferiti dalla forma ridotta di uno dei componenti alla forma ossidata del componente successivo della catena. La simbologia [Fe-S] si riferisce a una qualsiasi delle numerose proteine ferro-zolfo.

Reazioni del complesso I



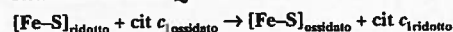
Liberazione di energia sufficiente a produrre ATP

Trasferimento al coenzima Q



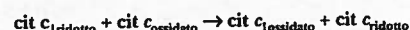
Reazioni del complesso III

Reazioni del ciclo Q

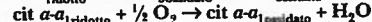
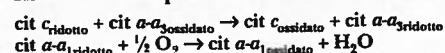


Liberazione di energia sufficiente a produrre ATP

Trasferimento al citocromo c

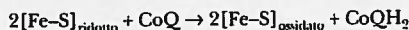
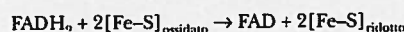


Reazioni del complesso IV



Liberazione di energia sufficiente a produrre ATP

4. Quando il FADH_2 è il punto di partenza del trasporto degli elettroni, gli elettroni sono trasferiti dal FADH_2 al coenzima Q, in una reazione catalizzata dal Complesso II che aggira il Complesso I.



5. La struttura mitocondriale relega nella matrice i trasportatori di elettroni ridotti prodotti dal ciclo dell'acido citrico. In questo luogo, essi sono vicini ai complessi respiratori della catena di trasporto degli elettroni, che trasferirà gli elettroni dai trasportatori prodotti nel ciclo dell'acido citrico all'ossigeno, l'ultimo a ricevere elettroni ed idrogeni.

20.2 I potenziali di ossido-riduzione nella catena di trasporto degli elettroni

6. La catena di trasporto degli elettroni fa traslocare con mezzi chimici le particelle cariche. L'interconversione dell'energia chimica in energia elettrica è proprio ciò che fa una batteria.

7. Le reazioni sono tutte scritte nella stessa direzione, a scopo di comparazione. Per convenzione, sono scritte come reazioni di riduzione e non di ossidazione.

8. $\Delta G^\circ = -60 \text{ kJ/mol}$.

9. Sommiamo le semireazioni della Tabella 20.1.

	$E^\circ (V)$
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	-0,320
Questa è la direzione errata, per cui invertiamo l'equazione ed il segno della differenza di potenziale.	
$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^-$	0,320
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,816
<hr/>	
$\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$	1,136

10. Sommiamo le semireazioni della Tabella 20.1.

	$E^\circ (V)$
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	-0,320
Questa è la direzione errata, per cui invertiamo l'equazione ed il segno della differenza di potenziale.	
$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^-$	0,320
$\text{Piruvato} + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{Lattato}$	-0,185
<hr/>	
$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{Piruvato} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{Lattato}$	0,135

11. Sommiamo le semireazioni della Tabella 20.1.

	$E^\circ (V)$
$\text{Fumarato} + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{Succinato}$	0,031
Questa è la direzione errata, per cui invertiamo l'equazione ed il segno della differenza di potenziale.	
$\text{Succinato} \rightarrow \text{Fumarato} + 2\text{H}^+ + 2e^-$	-0,031
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,816
<hr/>	
$\text{Succinato} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{Fumarato} + \text{H}_2\text{O}$	0,785

12. Il citocromo è il donatore di elettroni e la porzione flavinica è l'accettore di elettroni. Ancora una volta sommiamo le semireazioni della Tabella 20.1.

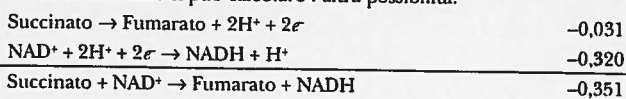
	$E^\circ (V)$
$\text{Citocromo } c(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Citocromo } c(\text{Fe}^{2+})$	0,254
Questa è la direzione errata, per cui invertiamo l'equazione ed il segno della differenza di potenziale.	
$2 \text{Citocromo } c(\text{Fe}^{2+}) + 2e^- \rightarrow 2 \text{Citocromo } c(\text{Fe}^{3+})$	-0,254
$[\text{FAD}] + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow [\text{FADH}_2]$	0,091
<hr/>	
$[\text{FAD}] + 2 \text{Cit } c(\text{Fe}^{2+}) + 2\text{H}^+ \rightarrow [\text{FADH}_2] + 2 \text{Cit } c(\text{Fe}^{3+})$	-0,163

Questo è il valore massimo per una flavina legata. Il segno negativo indica che questa reazione non avverrà come è scritta, perché non è energeticamente favorita.

13. Ecco una spiegazione basata sui potenziali standard di riduzione.

	$E^\circ (V)$
$\text{Fumarato} + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{Succinato}$	0,031
Questa è la direzione errata, per cui invertiamo l'equazione ed il segno della differenza di potenziale.	
$\text{Succinato} \rightarrow \text{Fumarato} + 2\text{H}^+ + 2e^-$	-0,031
$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{FADH}_2$	-0,219
<hr/>	
$\text{Succinato} + \text{FAD} \rightarrow \text{Fumarato} + \text{FADH}_2$	-0,250

Nello stesso modo si può calcolare l'altra possibilità.



Entrambi i potenziali di riduzione indicano una reazione che non è energeticamente favorita, ancor meno col FAD che con il NAD⁺. Altri fattori entrano in gioco, comunque, in una cellula vivente. Il primo è che la reazione non avviene nelle condizioni standard, alterando i valori dei potenziali di riduzione. Il secondo è che i trasportatori di elettroni ridotti (NADH e FADH₂) sono riossidati. Anche l'accoppiamento delle reazioni qui considerate con altre le rende meno sfavorevoli.

14. La semireazione di ossidazione $NADH + H^+ \rightarrow NAD^+ + 2H^+ + 2e^-$ è fortemente esoergonica ($\Delta G^\circ = -61,3 \text{ kJ mol}^{-1} = -14,8 \text{ kcal mol}^{-1}$), come la reazione globale Piruvato + NADH + $H^+ \rightarrow$ Lattato + NAD⁺ ($\Delta G^\circ = -25,1 \text{ kJ mol}^{-1} = -6,0 \text{ kcal mol}^{-1}$).

20.3 L'organizzazione dei complessi di trasporto degli elettroni

15. Contengono tutti il gruppo eme, con differenze minori nelle catene laterali dell'eme nella maggior parte dei citocromi.
16. I citocromi sono le proteine deputate al trasporto degli elettroni; il ferro dell'eme si alterna tra gli stati Fe(II) e Fe(III). La funzione dell'emoglobina e della mioglobina riguarda il trasporto e l'immagazzinamento dell'ossigeno, rispettivamente. Il ferro rimane nello stato Fe(II).
17. Il coenzima Q non è legato a nessuno dei complessi respiratori. Si muove liberamente nella membrana mitocondriale interna.
18. Una parte del Complesso II catalizza la conversione del succinato in fumarato nel ciclo dell'acido citrico.
19. Tre dei quattro complessi respiratori generano sufficiente energia per fosforilare l'ADP ad ATP. L'unica eccezione è il Complesso II.
20. Il citocromo c non è legato strettamente alla membrana mitocondriale e può facilmente andar perso nel corso di un frazionamento cellulare. Questa proteina è così simile nella maggior parte degli organismi aerobi, che il citocromo c di una fonte può essere sostituito facilmente con il citocromo c di un'altra fonte.
21. Succinato + $1/2 O_2 \rightarrow$ Fumarato + H_2O .
22. I componenti sono nell'orientamento giusto per il rapido trasferimento degli elettroni da un componente al successivo; se i componenti fossero in soluzione, la velocità sarebbe limitata dalla velocità di diffusione. Un secondo vantaggio, che è di fatto una necessità, è che i componenti sono posizionati nel modo giusto per facilitare il trasporto dei protoni dalla matrice allo spazio intermembrana.
23. Da un punto di vista evolutivo, due funzioni diverse possono essere svolte da strutture identiche o quasi identiche, con differenze minime nelle porzioni proteiche. L'organismo risparmia una quantità di energia notevole non dovendo evolvere e far funzionare due vie.
24. Qui il punto chiave non è il sito attivo, che ha una bassa tolleranza per le mutazioni, ma le molecole cui sono associate le proteine in questione. I citocromi sono legati alla membrana e si devono associare ad altri membri della catena di trasporto degli elettroni; la maggior parte delle mutazioni tende ad interferire con il preciso adattamento e perciò non sono conservate (sono letali). Le globine, pur essendo solubili, formano ancora delle associazioni, per cui possono essere tollerate più mutazioni, con alcuni limiti. Gli enzimi idrolitici sono solubili e non possono associarsi ad altri polipeptidi, eccetto i substrati. Possono tollerare una proporzione di mutazioni più elevata.
25. Il fatto di avere trasportatori mobili di elettroni, oltre ai complessi respiratori legati alla membrana, fa sì che il trasporto degli elettroni possa utilizzare il complesso più prontamente disponibile e non ogni volta lo stesso.
26. Il ciclo Q rende possibile una facile transizione da trasportatori di due elettroni (NADH e FADH₂) a trasportatori di un elettrone (citocromi).
27. L'ambiente proteico del ferro differisce in ognuno dei citocromi, causando differenze del potenziale di riduzione.
28. Tutte le reazioni della catena di trasporto degli elettroni sono reazioni di trasferimento di elettroni, ma alcune possono trasferire uno o due elettroni, a seconda dei casi.
29. I gruppi eme differiscono lievemente nei vari tipi di citocromi. Questa è la differenza principale, a parte alcune modifiche dovute ai diversi ambienti proteici.
30. I complessi respiratori contengono più proteine, alcune delle quali di grandi dimensioni. Questa è la prima difficoltà. Come la maggior parte delle proteine legate alla membrana, i componenti dei complessi respiratori sono facilmente denaturati dalla rimozione dal loro ambiente.

20.4 Il collegamento fra il trasporto degli elettroni e la fosforilazione

31. La porzione F₀ dell'ATP sintasi mitocondriale, che si proietta nella matrice, è il sito della sintesi di ATP.

32. La porzione F₀ dell'ATP sintasi mitocondriale si trova nella membrana mitocondriale interna, mentre la porzione F₁ si proietta nella matrice.
33. Il rapporto P/O fornisce il numero di moli di P_i consumate nella reazione $ADP + P_i \rightarrow ATP$ per ogni mole di atomi di ossigeno consumata nella reazione $1/2 O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O$. È una misura dell'accoppiamento della produzione di ATP con il trasporto degli elettroni.
34. La parte F₁ dell'ATP sintasi mitocondriale ha un dominio stazionario (il dominio α, β, δ) ed uno che ruota (il dominio γ). Questa è la stessa disposizione delle parti di un motore.
35. Ci si può attendere un rapporto P/O di 1,5 perché l'ossidazione del succinato comporta il passaggio degli elettroni al coenzima Q tramite una flavoproteina intermedia, aggirando il primo complesso respiratorio.
36. I valori esatti dei rapporti P/O sono difficili da determinare, per la complessità dei sistemi che pompano i protoni e che fosforilano l'ADP. Il numero di molecole di ADP fosforilate è direttamente correlato al numero di protoni pompate attraverso la membrana. Questo numero è stato oggetto di controversie. È stato difficile per chimici e biochimici accettare una stechiometria incerta.
37. Le difficoltà nella determinazione del numero di protoni pompate attraverso la membrana mitocondriale interna dai complessi della respirazione sono dovute al fatto di lavorare con grossi assemblaggi di proteine che, per essere attive, devono essere inserite nell'ambiente della membrana. Con il miglioramento dei metodi sperimentali, il compito diventa meno difficile.

20.5 Il meccanismo di accoppiamento nella fosforilazione ossidativa

38. Il meccanismo dell'accoppiamento chemiosmotico è basato sulla differenza della concentrazione di ioni idrogeno tra lo spazio intermembrana e la matrice dei mitocondri in respirazione attiva. Il gradiente di ioni idrogeno si crea con il pompaggio di protoni che accompagna il trasferimento di elettroni. Il riflusso di ioni idrogeno verso la matrice attraverso un canale nell'ATP sintasi è accoppiato direttamente alla fosforilazione dell'ADP.
39. Una membrana mitocondriale intatta è necessaria per la compartimentazione, che è a sua volta necessaria per il pompaggio dei protoni.
40. I disaccoppianti annullano il gradiente di protoni, dal quale dipende la fosforilazione ossidativa.
41. Nell'accoppiamento chemiosmotico, il gradiente di protoni è correlato alla produzione di ATP. Il gradiente di protoni porta a dei cambiamenti di conformazione in varie proteine, permettendo il rilascio dall'ATP sintasi dell'ATP strettamente legato, come conseguenza di questo cambio di conformazione.
42. Il dinitrofenolo è un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa. Lo scopo era quello di dissipare energia sotto forma di calore.
43. L'energia rilasciata quando i protoni passano attraverso le particelle F è di fatto utilizzata per causare cambi di conformazione nelle proteine F₁, rilasciando in questo modo l'ATP. La conformazione "tesa" (una delle tre) fornisce un ambiente idrofobico nel quale l'ADP è fosforilato con l'aggiunta di P_i senza richiesta immediata di energia.

20.6 Gli inibitori della respirazione possono essere utilizzati per lo studio del trasporto degli elettroni

44. (a) L'azide inibisce il trasferimento di elettroni dai citocromi aa_3 all'ossigeno.
 (b) L'antimicina A inibisce il trasferimento di elettroni dal citocromo b al coenzima Q nel ciclo Q.
 (c) L'amytal inibisce il trasferimento di elettroni dalla NADH reductasi al coenzima Q.
 (d) Il rotenone inibisce il trasferimento degli elettroni dalla NADH reductasi al coenzima Q.
 (e) Il dinitrofenolo è un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa.
 (f) La gramicidina A è un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa.
 (g) Il monossido di carbonio inibisce il trasferimento di elettroni dai citocromi aa_3 all'ossigeno.
45. Esistono dei metodi per determinare la quantità di componenti ossidati e ridotti della catena di trasporto degli elettroni in un campione. Se si aggiunge un inibitore della respirazione, si accumuleranno la forma ridotta del componente prima del punto di blocco della catena e la forma ossidata del componente immediatamente dopo il punto di blocco.
46. I disaccoppianti annullano il gradiente di protoni creato dal trasporto degli elettroni, mentre gli inibitori della respirazione bloccano il flusso di elettroni.

20.7 I sistemi navetta

47. L'ossidazione completa del glucosio produce 30 molecole di ATP nel muscolo e nel cervello e 32 ATP nel fegato, nel cuore e nei reni. Ciò dipende fondamentalmente dai diversi meccanismi navetta per il trasferimento ai mitocondri degli elettroni derivanti dal NADH, prodotto nel citosol mediante la glicolisi.

A-36 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

48. Il "prodotto" (nella matrice) del trasporto della navetta malato-aspartato è il NADH, mentre quello della navetta glicerolo-fosfato è il FADH₂. La seconda navetta può perciò andare *contro* un gradiente di concentrazione di NADH transmembrana, a differenza della prima.

20.8 La resa di ATP dall'ossidazione completa del glucosio

49. (a) 34; (b) 32; (c) 13,5; (d) 17; (e) 2,5; (f) 12,5.

50. La resa massima di ATP, approssimata al numero intero più vicino, è 3.

$$102,3 \text{ kJ rilasciati} \times \frac{1 \text{ ATP}}{30,5 \text{ kJ}} = 3,35 \text{ ATP}$$

Di fatto si produce un solo ATP, per cui l'efficienza del processo è

$$\frac{1 \text{ ATP}}{3 \text{ ATP}} \times 100 = 33,3\%$$

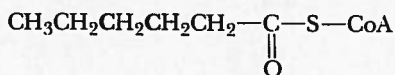
Capitolo 21

21.1 I lipidi sono coinvolti nella produzione e nella conservazione dell'energia

- (a) Per organismi mobili (per esempio, un colibrì migratore), il peso può essere un fattore critico ed è certamente vantaggioso racchiudere la maggior parte dell'energia nel minor peso. Un colibrì di 2,5 g ha bisogno di un supplemento di 2 g di grasso per l'energia necessaria alla migrazione, che comporta un aumento del peso corporeo dell'80%. La quantità di energia equivalente immagazzinata come glicogeno sarebbe di circa 5 g, con un incremento del peso corporeo del 200%, ma così l'uccello non potrebbe mai alzarsi dal suolo!
- (b) Per le piante immobili, il peso non è un fattore critico e serve più energia per la sintesi del grasso/olio che per quella dell'amido. (La seconda legge della termodinamica stabilirebbe che l'energia ottenuta dall'olio sia minore di quella spesa per fare l'olio. Se volete, potete verificare ciò numericamente). Nel caso dei semi delle piante, l'energia "compatta" è benefica perché il seme deve essere autosufficiente, finché non si sia verificata una crescita sufficiente a consentire la fotosintesi.

21.2 Il catabolismo dei lipidi

- La fosfolipasi A₁ idrolizza il legame estereo con il carbonio 1 dello scheletro di glicerolo, mentre la fosfolipasi A₂ idrolizza il legame estereo con il carbonio 2 dello scheletro.
- Un segnale ormonale attiva l'adenilato ciclasi, che produce cAMP. Questo attiva la proteina chinasi, che fosforila le lipasi, attivandole.
- Gli acil-CoA sono dei composti ad alta energia. L'acil-CoA ha energia sufficiente per iniziare il processo della β-ossidazione. Il CoA è anche un marcatore che indica che la molecola è destinata all'ossidazione.
- I gruppi acile sono esterificati con la carnitina per attraversare la membrana mitocondriale interna. Questo avviene mediante delle reazioni di transesterificazione dall'acil-CoA alla carnitina e dall'acil-carnitina al CoA (si veda la Figura 21.5).
- L'acil-CoA deidrogenasi rimuove gli idrogeni da atomi di carbonio adiacenti, creando un doppio legame e utilizzando il FAD come coenzima. La β-idrossi-CoA deidrogenasi ossida un gruppo alcolico a gruppo chetonico e utilizza come coenzima il NAD⁺.
-



I due atomi di carbonio mostrati in grassetto sono quelli tra i quali si formerà il doppio legame. L'orientamento sarà *trans*.

- Sette legami carbonio-carbonio si rompono nel corso della β-ossidazione (si veda la Figura 21.6).
- Nel fegato, dovrebbero aver luogo la degradazione del glicogeno e la gluconeogenesi; nel muscolo, la degradazione del glicogeno e la glicolisi.

21.3 La resa energetica dell'ossidazione degli acidi grassi

- Si ottengono 6,7 molecole di ATP per ogni carbonio e 0,42 ATP per grammo di acido stearico, rispetto a 5 molecole di ATP per carbonio e 0,17 ATP per grammo di glucosio. Si ottiene più energia disponibile dall'acido stearico che dal glucosio.
- L'elaborazione dell'acetyl-CoA attraverso il ciclo dell'acido citrico e la catena di trasporto degli elettroni produce più energia dell'elaborazione del NADH e FADH₂ prodotti nella β-ossidazione.
- Da sette cicli di β-ossidazione: 8 acetyl-CoA, 7 FADH₂, 7 NADH. Da 8 acetyl-CoA che entrano nel ciclo dell'acido citrico: 8 FADH₂, 24 NADH, 8 GTP. Dalla riossidazione di tutti i FADH₂ e NADH: 22,5 ATP da 15

FADH₂, 77,5 ATP da 31 NADH. Da 8 GTP: 8 ATP. Subtotale: 108 ATP. Due equivalenti di ATP usati nella fase di attivazione. Totale: 106 ATP. Il totale per l'acido stearico era 120 ATP.

- Le gobbe dei cammelli contengono lipidi che possono essere degradati come fonte di acqua metabolica, piuttosto che acqua come tale.
- 4 Il catabolismo degli acidi grassi insaturi e degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio
 - Per un acido grasso a catena dispari, la β-ossidazione procede normalmente fino all'ultimo ciclo. Quando restano 5 atomi di carbonio, quel ciclo di β-ossidazione rilascia un acetyl-CoA ed un propionil-CoA. Il propionil-CoA non può essere ulteriormente metabolizzato con la β-ossidazione; tuttavia, un gruppo distinto di enzimi converte il propionil-CoA in succinil-CoA, che può successivamente entrare nel ciclo dell'acido citrico.
 - Falso. L'ossidazione ad acetyl-CoA degli acidi grassi insaturi richiede una isomerizzazione *cis-trans* ed un'epimerizzazione, reazioni che non si ritrovano nell'ossidazione degli acidi grassi saturi.
 - Per un acido grasso monoinsaturo, è necessario un enzima supplementare, l'enoil-CoA isomerasi.
 - Per un acido grasso polinsaturo, sono necessari due enzimi supplementari, l'enoil-CoA isomerasi e la 2,4-dienoil-CoA reductasi.
 - Da sette cicli di β-ossidazione: 7 acetyl-CoA, 1 propionil-CoA, 7 FADH₂, 7 NADH. Dal processamento di 7 acetyl-CoA nel ciclo dell'acido citrico: 7 FADH₂, 21 NADH, 7 GTP. Dalle reazioni a partire dal propionil-CoA: 21 ATP per la conversione a succinil-CoA, 11 GTP dal ciclo dell'acido citrico, 1 NADH ed 1 FADH₂ dal ciclo dell'acido citrico. Dalla riossidazione di tutti i FADH₂ e NADH: 22,5 ATP da 15 FADH₂ e 72,5 ATP da 29 NADH. Da 8 GTP: 8 ATP. Subtotale: 103 ATP. Due equivalenti di ATP usati nella fase di attivazione ed 1 equivalente di ATP usato nella conversione in succinil-CoA. Totale: 100 ATP.
 - Un acido grasso saturo a 18 atomi di carbonio ha una resa di 120 ATP. Per un acido grasso monoinsaturo, il doppio legame elimina la reazione che produce FADH₂, per cui l'acido oleico renderebbe 1,5 ATP in meno, per un totale di 118,5 ATP.
 - Un acido grasso saturo a 18 atomi di carbonio ha una resa di 120 ATP. Per un acido grasso diinsaturo con i legami in posizione Δ⁹ e Δ¹², il primo doppio legame elimina un FADH₂, il secondo doppio legame utilizza un NADPH, che immaginiamo abbia lo stesso costo del NADH. Perciò, si perdono in totale 4 ATP in confronto ad un acido grasso saturo, per un totale di 116 ATP.
 - Servirebbero sette cicli di β-ossidazione per il rilascio di 14 atomi di carbonio come acetyl-CoA e gli ultimi tre atomi di carbonio sarebbero rilasciati come propionil-CoA.
 - I grassi non possono produrre una resa netta di glucosio, perché devono entrare nel ciclo dell'acido citrico come acetyl-CoA, una molecola a due atomi di carbonio. Nelle prime reazioni del ciclo, sono rilasciati due atomi di carbonio come CO₂. Tuttavia, un acido grasso a catena dispari può essere considerato parzialmente gluconogenico, poiché i tre carboni finali diventano succinil-CoA ed entrano nel ciclo dell'acido citrico dopo le reazioni di decarbossilazione. Perciò, questo succinil-CoA supplementare può essere successivamente indirizzato come malato nella gluconeogenesi senza alterare il livello degli intermedi del ciclo dell'acido citrico.
- 21.5 I corpi chetonici
 - I chetoni sono prodotti quando c'è uno squilibrio nel catabolismo dei lipidi in rapporto al catabolismo dei carboidrati. Se gli acidi grassi sono ossidati per produrre acetyl-CoA, ma l'ossalacetato è insufficiente perché è dirottato verso la gluconeogenesi, le molecole di acetyl-CoA si combineranno per formare i corpi chetonici.
 - Due acetyl-CoA si combinano per formare acetoacetyl-CoA. Questo può quindi rilasciare il coenzima A per dare acetoacetato, che può essere convertito in β-idrossibutirrato oppure in acetone.
 - Se la ragione dello svenimento è il diabete non controllato, il medico si aspetta di avvertire l'acetone nell'alito, poiché gli zuccheri altrimenti inutilizzati sono convertiti in grassi e corpi chetonici.
 - L'etanolo è convertito in acetaldeide e poi in acido acetico. Gli uomini possono utilizzare l'acido acetico soltanto per l'energia o convertirlo in acidi grassi e altri lipidi.
 - Il gusto metallico può essere dovuto all'acetone, indicando che il vostro amico potrebbe avere un lieve stato di chetosi. Informatevi se il vostro amico abbia consultato un dottore per una dieta e magari raccomandategli di smettere una dieta con un così basso contenuto calorico e di bere più acqua per purificare maggiormente.
- 21.6 La biosintesi degli acidi grassi
 - Caratteristiche in comune: coinvolgimento di acetyl-CoA e tioesteri, ogni ciclo di degradazione o sintesi coinvolge unità a due atomi di carbonio. Differenze: il malonil-CoA è implicato nella biosintesi, non nella degradazione; i tioesteri coinvolgono il CoA nella degradazione, le proteine

trasportatrici di acili nella biosintesi; la biosintesi avviene nel citosol, la degradazione nella matrice mitocondriale; la degradazione è un processo ossidativo che richiede NAD⁺ e FAD e produce ATP con la catena di trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa, mentre la biosintesi è un processo riduttivo che richiede NADPH ed ATP.

29. Stadio 1: la biotina è carbossilata utilizzando lo ione bicarbonato (HCO₃⁻) come fonte del gruppo carbossilico. Stadio 2: la biotina carbossilata è portata in prossimità dell'acetil-CoA legato all'enzima da una proteina trasportatrice di biotina. Stadio 3: il gruppo carbossilico è trasferito all'acetil-CoA, formando malonil-CoA.
30. È una molecola destinata alla sintesi degli acidi grassi. È anche un potente inibitore della carnitina aciltransferasi I, bloccando in questo modo la β-ossidazione.
31. ACP, citrato, citosol, doppi legami *trans*, D-alcoli, β-riduzione, NADPH, malonil-CoA (fatta eccezione per un acetil-CoA) e un complesso enzimatico multifunzionale.
32. Nella β-ossidazione, il FAD è il coenzima della prima reazione di ossidazione, mentre il NAD⁺ è il coenzima della seconda. Nella sintesi degli acidi grassi, il NADPH è il coenzima di entrambe. Il gruppo β-idrossi-acile nella β-ossidazione ha configurazione L, mentre nella sintesi degli acidi grassi ha configurazione D.
33. Hanno entrambi un gruppo fosfopantoteinico all'estremità attiva. Nel coenzima A, questo gruppo è legato al 2'-fosfo-AMP, mentre nell'ACP è legato ad un residuo di serina di una proteina.
34. L'ACP è una molecola che marca i gruppi acile per la sintesi degli acidi grassi e può essere gestita separatamente dai gruppi acil-CoA. Inoltre, l'ACP lega i gruppi acile, funzionando come un "braccio oscillante" che li tiene uniti al complesso dell'acido grasso sintasi.
35. Il linoleato e il linolenato non possono essere sintetizzati dall'organismo e devono essere ottenuti da fonti alimentari. I mammiferi non possono formare doppi legami oltre quello sull'atomo di carbonio 9 degli acidi grassi.
36. Gli intermedi acil-CoA sono essenziali per la conversione degli acidi grassi in altri lipidi.
37. Il gruppo acetile condensa con l'ossalacetato per formare il citrato, che può attraversare la membrana mitocondriale. I gruppi acetile sono rigenerati nel citosol con la reazione inversa.
38. Se si forma l'acetil-carnitina nella matrice del mitocondrio, può essere trasferita nel citosol mediante la carnitina traslocasi. Perciò, questo potrebbe costituire un altro modo per trasferire le unità acetiliche fuori dai mitocondri per le sintesi.
39. È necessaria energia per condensare un gruppo acetile con l'acido grasso in fase di sintesi. In teoria, ciò si potrebbe ottenere con l'acetil-CoA, utilizzando ATP. In pratica, l'ATP è utilizzato per convertire l'acetil-CoA in malonil-CoA; la condensazione della porzione acetilica del malonil-CoA è in parte spinta dalla decarbossilazione che l'accompagna e non richiede energia supplementare. Una possibile ragione di ciò è evitare una confusione metabolica tra le vie di sintesi e degradazione, il che è forse di particolare importanza nei procarioti (privi di compartimentalizzazione); si potrebbe verificare che un acetil-CoA proveniente dalla degradazione sia utilizzato immediatamente per la sintesi. Malonil-CoA sottintende "sintesi"; acetil-CoA sottintende "degradazione".
40. (a) Il "braccio oscillante" del lipolato del complesso della piruvato deidrogenasi. (b) Il "braccio" o trasportatore di ACP muove il gruppo su cui si deve agire da un enzima all'altro (evitando un processo limitato dalla diffusione e posizionando anche in modo corretto gruppi chiave). Nel caso dell'ACP, il gruppo sul quale agire (carbonio b) è sempre alla stessa distanza dall'ACP, indipendentemente dalla lunghezza dell'acido grasso in fase di sintesi, e perciò il gruppo critico si trova sempre in prossimità del sito attivo dei vari enzimi interessati.

21.7 La sintesi degli acilgliceroli e dei lipidi complessi

41. Il glicerolo proviene dalla degradazione di altri acilgliceroli o dal glicerolo-3-fosfato derivante dalla glicolisi.
42. Il gruppo attivante che si trova sull'acilglicerolo è la citidina difosfato.
43. Nei procarioti, il CTP reagisce con l'acido fosfatidico per dare un CDP-diacilglicerolo. Questo reagisce con la serina per dare la fosfatidilserina, che decarbossila a fosfatidiletanolammina. Negli eucarioti, la CDP-etanolammina reagisce con un diacilglicerolo per dare fosfatidiletanolammina.

21.8 La biosintesi del colesterolo

44. Nella biosintesi degli steroidi, 3 molecole di acetil-CoA condensano per formare il mevalonato a 6 atomi di carbonio, che genera poi un'unità di isoprene a 5 atomi di carbonio. Una seconda e poi una terza unità di isoprene condensano, dando luogo prima ad un'unità a 10 atomi di carbonio e poi a 15 atomi di carbonio. Due delle unità a 15 atomi di carbonio condensano, formando il precursore del colesterolo a 30 atomi di carbonio.

45. Si veda la Figura 21.24.

46. Acidi biliari ed ormoni steroidei.

47. Tutti gli steroidi hanno una struttura caratteristica ad anelli condensati, che indica un'origine biosintetica comune.

48. Per formare l'eossido, è necessario un atomo di ossigeno della molecola di O₂. Il NADPH è necessario per ridurre l'altro atomo di ossigeno ad acqua.

49. Il colesterolo non è polare e non può dissolversi nel sangue, che è un mezzo acquoso.

50. I sali biliari sono formati a partire dal colesterolo ed il colesterolo è portato dall'organismo all'intestino attraverso i fluidi biliari.

Capitolo 22

22.1 I cloroplasti sono gli organelli in cui avviene la fotosintesi

1. In autunno, la clorofilla all'interno delle foglie viene a mancare ed il giallo e il rosso dei pigmenti accessori, divenuti visibili, conferiscono alle foglie il tipico colore "autunnale".
2. I germogli di fagiolo vengono coltivati al buio per evitare che diventino verdi, altrimenti la maggior parte degli acquirenti non li comprerebbe.
3. Il ferro ed il manganese nei cloroplasti; il ferro ed il rame nei mitocondri. Osservate che si tratta di tutti metalli di transizione, che possono essere facilmente sottoposti a reazioni redox.
4. Sia i cloroplasti che i mitocondri presentano una membrana interna ed una esterna. Entrambi hanno un proprio DNA e dei ribosomi. I cloroplasti, in ogni modo, presentano una terza membrana, la membrana tilacoidale.
5. La clorofilla ha un anello di ciclopentanone fuso con un anello tetrapirrolico, caratteristica che non ricorre nell'eme. La clorofilla contiene magnesio, mentre l'eme contiene ferro. Essa, a differenza dell'eme, presenta una lunga catena laterale a base di unità di isoprene.
6. Le clorofille assorbono solo una porzione relativamente piccola dello spettro visibile. I pigmenti accessori catturano la luce a lunghezze d'onda supplementari. Ne consegue che la maggior parte dello spettro visibile può essere intrappolata nel corso delle reazioni della fase luminosa.
7. C'è più di una prova che attesta l'evoluzione dei cloroplasti da organismi batterici indipendenti.

22.2 I fotosistemi I e II e le reazioni alla luce della fotosintesi

8. In genere, la sintesi del NADPH nei cloroplasti è l'opposto dell'ossidazione del NADH nei mitocondri. Il flusso netto di elettroni nei cloroplasti è l'inverso di quello nei mitocondri, sebbene i trasportatori coinvolti siano diversi.
9. Quando la luce colpisce il centro di reazione di *Rhodospseudomonas*, la coppia speciale di clorofille viene portata ad uno stato eccitato di energia. Un elettrone è indotto a transitare dalla coppia speciale ai pigmenti accessori, inizialmente attraverso la feofitina, poi il menachinone e, infine, l'ubichinone. L'elettrone perso dalla coppia speciale di clorofille viene sostituito da uno ceduto da un citocromo solubile, che poi si allontana. La separazione di carica costituisce un accumulo di energia (si veda la Figura 21.9).
10. Nel Fotosistema I (PSI) e nel Fotosistema II (PSII), l'energia della luce è necessaria per portare le clorofille del centro di reazione ad un livello energetico maggiore. L'energia serve a generare agenti riducenti forti abbastanza da far passare gli elettroni al componente successivo della via di trasporto.
11. No. La maggior parte delle clorofille è rappresentata da molecole che intrappolano la luce, trasferendo l'energia alla coppia speciale che partecipa alle reazioni alla luce.
12. La catena di trasporto degli elettroni dei cloroplasti, come quella dei mitocondri, consiste in proteine, come la plastocianina, e complessi di proteine, come il complesso dei citocromi *b₆f*. Essa contiene trasportatori mobili di elettroni, quali la feofitina ed il plastocinone (l'equivalente del coenzima Q); questo vale anche per la catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri.
13. Probabilmente, la catena di trasporto degli elettroni dei cloroplasti. I cloroplasti generano l'ossigeno molecolare e i mitocondri lo utilizzano. L'atmosfera primordiale quasi sicuramente era carente di ossigeno. Soltanto quando la fotosintesi introdusse l'ossigeno nell'atmosfera, se ne determinò la necessità.
14. Il trasporto degli elettroni e la produzione di ATP sono accoppiati dallo stesso meccanismo nei mitocondri e nei cloroplasti. In entrambi i casi, l'accoppiamento dipende dalla generazione di un gradiente di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna o attraverso la membrana tilacoidale.
15. Nei mitocondri, sia il gradiente di protoni (chimico) che quello elettrochimico (basato sulle cariche) contribuiscono all'energia potenziale to-