



Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino

**Appunti universitari**

**Tesi di laurea**

**Cartoleria e cancelleria**

**Stampa file e fotocopie**

**Print on demand**

**Rilegature**

NUMERO: 761

DATA: 30/10/2013

# **A P P U N T I**

STUDENTE: Romeo

MATERIA: Bioingegneria Chimica

Prof. Ciardelli

Il presente lavoro nasce dall'impegno dell'autore ed è distribuito in accordo con il Centro Appunti.

Tutti i diritti sono riservati. È vietata qualsiasi riproduzione, copia totale o parziale, dei contenuti inseriti nel presente volume, ivi inclusa la memorizzazione, rielaborazione, diffusione o distribuzione dei contenuti stessi mediante qualunque supporto magnetico o cartaceo, piattaforma tecnologica o rete telematica, senza previa autorizzazione scritta dell'autore.

**ATTENZIONE: QUESTI APPUNTI SONO FATTI DA STUDENTIE NON SONO STATI VISIONATI DAL DOCENTE.  
IL NOME DEL PROFESSORE, SERVE SOLO PER IDENTIFICARE IL CORSO.**

Bioingegneria Chimica

prof. Cardelli Gianluca

ESAME: 10 domande a risposta aperta o chiusa tra cui anche esercizi, successivamente discussione del compito

LIBRI: Brown, "Chimica Organica", Edises Napoli

Berg, "Biochimica", Zanichelli

Nelson, "Introduzione alla Biochimica", Zanichelli

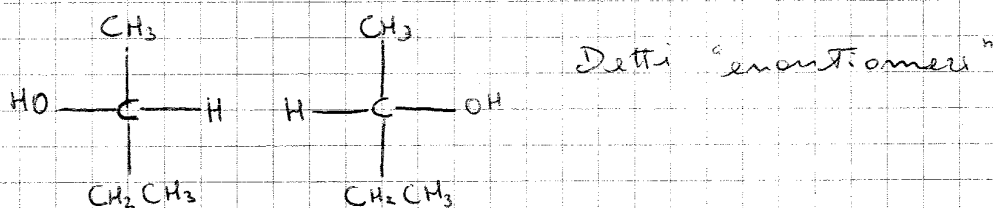
La maggior parte degli enzimi presenta una notevole specificità per la reazione catalizzata e per i substrati coinvolti.

In particolare essi mostrano elevatissimi livelli di stereospecificità, regioselettività e chemoselettività.

#### • Stereospecificità:

È la proprietà di una stessa reazione chimica di generare stereoisomeri diversi, o di prediligere come reagente un ben determinato stereoisomero.

Per stereoisomeri si intendono particolari isomeri che hanno la stessa connettività ma differiscono per la loro disposizione spaziale; ad esempio:



#### • Regioselettività:

È la caratteristica chimica di procedere preferenzialmente con la rottura o la formazione di determinati legami tra quelli possibili, con la produzione di un determinato composto chimico.

#### • Chemoselettività:

Proprietà di un composto chimico di reagire preferenzialmente solo con alcuni gruppi funzionali.

## \* Energia libera (Gibbs)

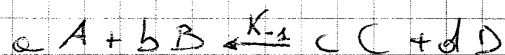
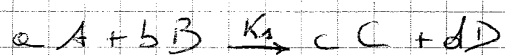
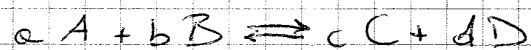
Una reazione che avviene spontaneamente ha un  $\Delta G < 0$  (reazione esoergonica).

Un sistema in equilibrio che non può modificarsi ha  $\Delta G = 0$ .

Una reazione che non avviene spontaneamente ha  $\Delta G > 0$  (reazione endoergonica).

Il valore di  $\Delta G$  è indipendente dalla via seguita dalla trasformazione.

Riceviamo l'equazione di  $\Delta G$



$K_1, K_{-1}$ : costanti che descrivono la velocità delle reazioni

Velocità:

$$\begin{cases} v_1 = K_1 [A]^c [B]^b \\ v_2 = K_{-1} [C]^c [D]^d \end{cases} \quad \text{All'equilibrio } v_1 = v_2 \Rightarrow \frac{K_1}{K_{-1}} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^c [B]^b} = K_{eq}$$

$$\Delta G = G_{\text{prodotti}} - G_{\text{reagenti}}$$

$\mu_x$  = "potenziale chimico"

$\mu_x^\ominus$  = potenziale in condizioni standard: 1 atm, 25°C, 1 mol/l

$$\mu_x = \mu_x^\ominus + RT \ln p_x$$

$$\Delta G = \underbrace{c\mu_C^\ominus + d\mu_D^\ominus - a\mu_A^\ominus - b\mu_B^\ominus}_{\Delta G^\ominus} + RT \ln \left( \frac{p_C \cdot p_D}{p_A \cdot p_B} \right) \rightarrow \text{pressioni}$$

$\downarrow$  costante dei gas

$$\Delta G = \Delta G^\ominus + RT \ln \left( \frac{[C][D]}{[A][B]} \right)$$

Ipotesizzando il pH=7 e la reazione all'equilibrio si ottiene:

$$\Delta G^\ominus = -RT \ln \left( \frac{[C][D]}{[A][B]} \right) = -RT \ln K_{eq}$$

$$\ln K_{eq} = -\frac{\Delta G^\ominus}{RT} \rightarrow K_{eq} = e^{-\frac{\Delta G^\ominus}{RT}}$$

variazione dell'energia libera standard

$$\begin{cases} R = 1,987 \times 10^{-3} \frac{\text{Kcal}}{\text{mol} \cdot \text{deg}} \\ T = 298 \text{ K} \end{cases} \rightarrow K_{eq} = 10^{-\frac{\Delta G^\ominus}{1,986}}$$

Si ottiene infine:

$$V = v[S^*] = \frac{d[P]}{dt} = \frac{k_2}{k_1} [S] e^{-\frac{AG^\ddagger}{RT}}$$

$k_B \rightarrow$  costante di Boltzmann

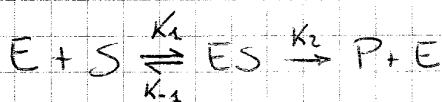
### • Cinetica enzimatica

In una tipica reazione enzimatica l'enzima catalizza la conversione di S a P.

All'inizio la reazione procede da S verso P; successivamente, siccome [P] aumenta, la velocità della reazione inversa aumenterà fino al raggiungimento dell'equilibrio (gli enzimi catalizzeranno sia la reazione diretta che quella inversa).

### + Equazione di Michaelis-Menten

$$v_0 = \frac{v_{max}[S]}{K_m + [S]}$$



$\left\{ \begin{array}{l} E: \text{ enzima} \\ P: \text{ prodotto} \end{array} \right.$

Per tempi di reazione piccoli ( $[P] < 5\%$ ) la reazione inversa è considerata trascurabile e la velocità iniziale sarà:  $v_0 = k_2 [ES] = \frac{d[P]}{dt}$

Non conosciamo, però, la concentrazione di ES poiché appartiene ad uno stadio intermedio.

Allora possiamo fare le seguenti considerazioni

• velocità formazione ES  $\rightarrow k_1[E][S]$

• velocità scissione ES  $\rightarrow k_{-1}[ES] + k_2[ES] = (k_{-1} + k_2)[ES]$

Ipotizziamo di trovarci nello stadio stazionario, si può così eguagliare le due velocità:

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

## \* Inibizione enzimatica

L'attività enzimatica può essere inibita in due modi:

- (1) inibizione irreversibile: la molecola inibitrice si lega con un legame covalente ad un residuo amminico coinvolto nel meccanismo catalitico dell'enzima (farmaci).
- (2) inibizione reversibile: la molecola si lega all'enzima diminuendo l'attività catalitica. Di solito è una molecola simile al substrato che però non verrà sottoposta a trasformazione chimica.

Queste due modalità possono essere suddivise in classi minori. Per quanto riguarda l'inibizione reversibile si ha:

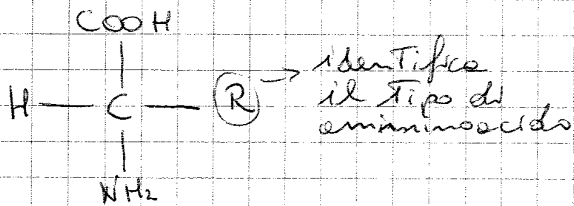
- + **Competitiva**: l'inibitore (I) e S competono per lo stesso sito attivo. Si avrà una minore disponibilità di siti attivi, diminuendo la velocità di catalisi.
- + **Non competitiva**: I si può legare all'enzima o al complesso ES in un sito differente da quello del substrato. Agisce diminuendo il numero di molecole di S trasformate in prodotto.
- + **Incompetitiva**: I si lega solo al complesso ES quindi l'inibizione aumenta al crescere del substrato.

## • Inibitori irreversibili

Possono essere utilizzati per riconoscere gruppi funzionali a livello del sito attivo dell'enzima.

Si suddividono in: reagenti gruppo-specifici, analoghi del substrato o marcatori per affinità, inibitori suicidi.

+ I reagenti gruppo-specifici reagiscono con specifici gruppi R di amminoacidi; esempio



+ I marcatori per affinità sono molecole simili al substrato dell'enzima e modificano covalentemente i residui del sito attivo. Sono specifici.

+ Gli inibitori suicidi sono spesso substrati modificati e sono il mezzo più specifico per modificare il sito attivo. L'inibitore si lega ad E come fosse un S e viene processato nella catalisi, questo crea un intermedio chimico che modifica e inibisce l'enzima.

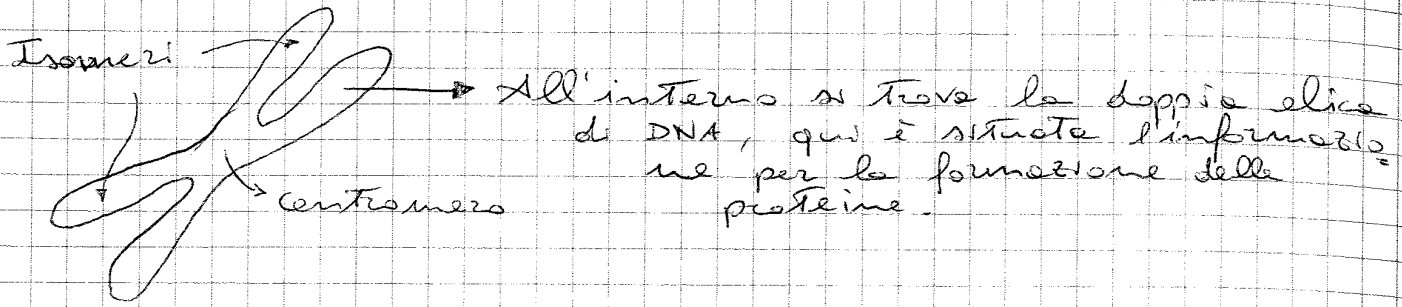
## \* Meccanismi di catalisi

- 1) Catalisi acido-base: Trasferimento di ioni  $\text{H}^+$
- 2) Catalisi covalente: si forma un legame tra E e S
- 3) Catalisi mediata da ioni metallici
- 4) Catalisi per interazione elettrostatica
- 5) Catalisi dovuta a effetti di prossimità o orientamento
- 6) Catalisi favorita dal legame preferenziale dello stato di transizione.



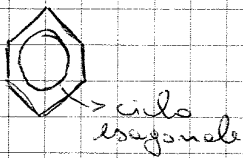


## • Cromosomi



## • Le basi azotate

Detta anche basi nucleotidiche, sono formate da sequenze di zuccheri e gruppi fosforici. Vengono anche dette basi aromatiche poiché alla base della loro formazione vi è il benzene.



Adenina e Guanina sono "purine" cioè presentano due anelli aromatici.

Citosina, timina e uracile sono "pirimidine" poiché hanno un solo anello.

Le basi azotate legano tra di loro grazie a legami idrogeno: A-T hanno 2 legami, C-G ne hanno 3!

## \* Evoluzione Biochimica

Caratteristiche principali di ogni reazione sono.

+ Entalpia:  $H$ , determina se una reazione acquista o cede calore all'ambiente.

+ Entropia:  $S$ , determina il disordine. L'entropia dell'ambiente (universo) è sempre un valore positivo, cioè aumenta sempre.

+ Energia libera:  $G$ , determina se una reazione avviene spontaneamente o no.

## • Ipotesi del brodo primordiale

Si pensa che la formazione di componenti sia avvenuta grazie alla presenza di lampi e fulmini in zone della Terra in cui era presente un'alta concentrazione di componenti come  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$  e  $\text{NH}_3$ .

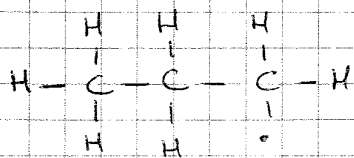
Per quanto riguarda la storia della genetica, si pensa che le prime proteine venivano sintetizzate da polipeptidi, amminoacidi precursori di quelli attuali. Siccome però essi non erano in grado di replicarsi autonomamente, sono comparsi gli acidi nucleici (in grado di riprodursi anche senza enzimi). Si scrive così alla formazione dell'RNA prima e alla duplicazione del DNA dopo.

Da un gene di tRNA primordiale si formarono poi gli altri 20, ognuno per contenere un amminoacido diverso.

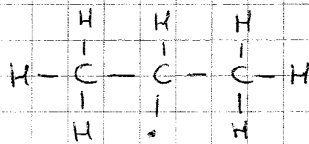
Ribozima → molecola catalitica in grado di tagliare RNA

## • Formazione della membrana cellulare

Molecole simili e saponi si autoassemblano formando microscopici compartimenti simili a membrane; macromolecole vengono incapsulate nei compartimenti mentre molecole più piccole possono attraversare la membrana per portare nutrienti ed energie. L'informazione genetica viene poi trasmessa a generazioni successive duplicando la sequenza genetica e distribuendola fra le cellule figlie.



È detto: 1-propile  
 n-propile  
 normal



2-propile  
 isopropile  
 [sec-propile]

Attenzione a non confondere propano con propene, quest'ultimo ha una sola riduzione.

### • Butene

$\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  È l'1-butene, si può ottenere ponendo il doppio legame anche all'altra estremità.

$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$  È il 2-butene, il legame al centro permette di avere isomeri: di tipo cis- e trans-.

### • Acetilene



Distinguiamo in questi idrocarburi la presenza di due tipi di legame:

- legame  $\sigma$  (tra C e H): si ha tra nucleo e nucleo
- legame  $\pi$  (tra gli orbitali p non ibridati di C): si formano sul piano superiore e inferiore dell'asse nucleo-nucleo.

## \* Famiglie di composti organici

### • Alcoli [R-OH]

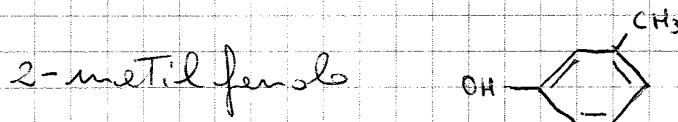
Sono composti organici in cui si ha <sup>la</sup> sostituzione di un H con un gruppo funzionale OH.

R → "gruppo alchilico"

Ar → "gruppo arilico"

### • ArOH → Fenolo

I fenoli sono composti il cui suffisso è dato dal componente che si viene ad aggiungere; esempio:

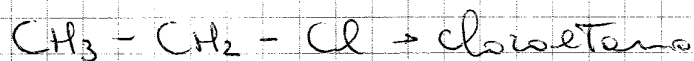


Dal fenolo si ottiene il corrispettivo sale

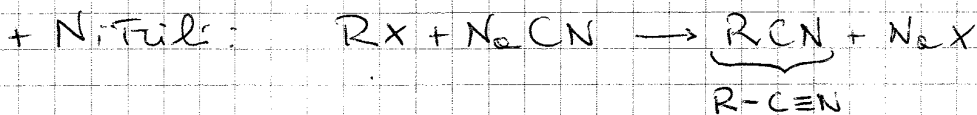
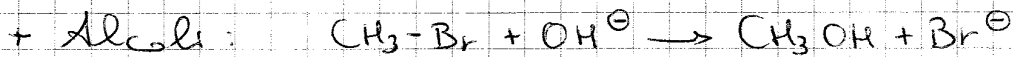


### • Alogeni-derivati [R-X]

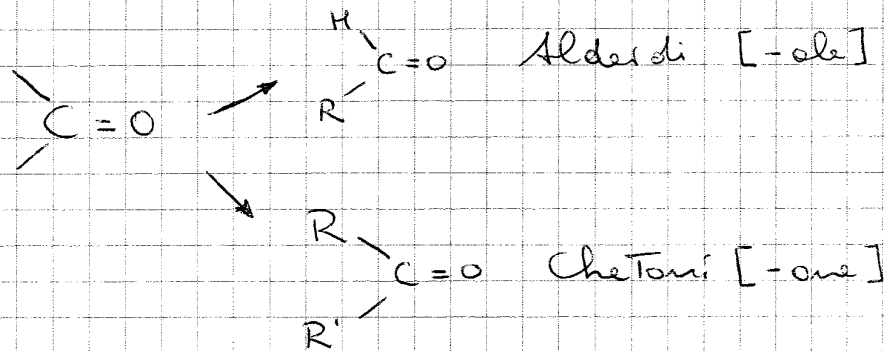
Si ottengono per sostituzione di un idrogeno con un alogenuro



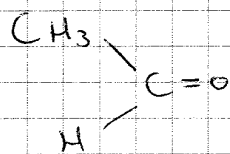
Dagli alogenoderivati possono formarsi anche altri composti



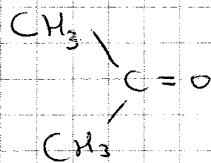
• Gruppi Carbonilici



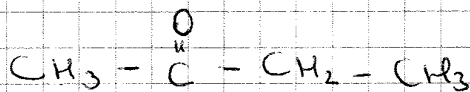
Esempi



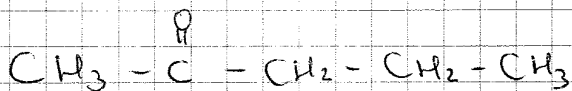
"Etanale,  
Acetaldeide  
o Aldeide  
Acetica"



"Propanone,  
Acetone o  
Dimetilchetone"

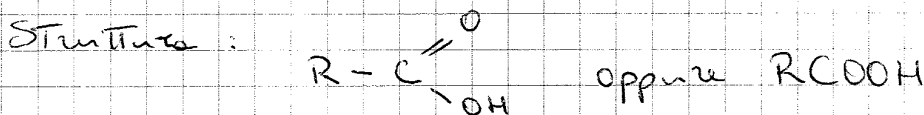


"Butanone o Metil-etil chetone"

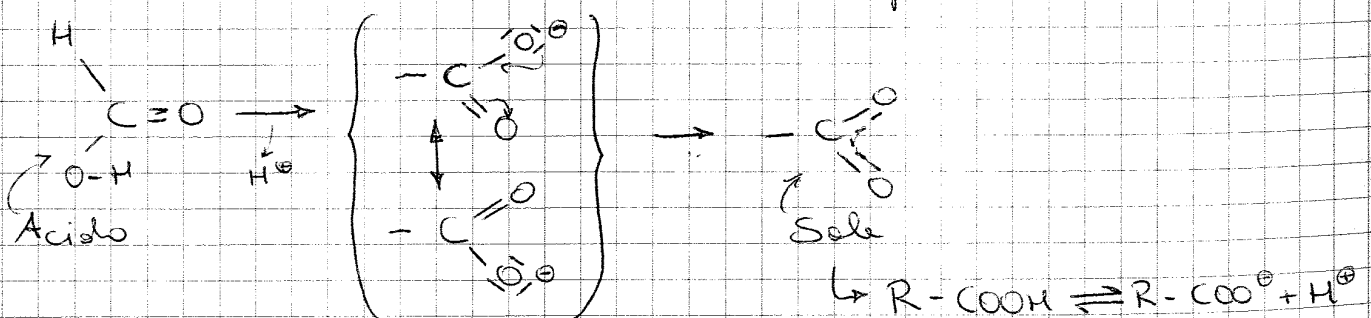


"Metil-n-propil chetone  
o 2-pentanone"

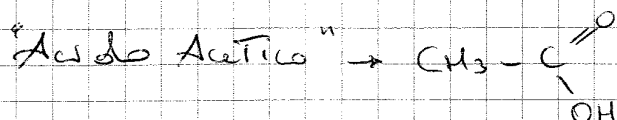
• Gruppo Carbossilico



Gli acidi carbossilici hanno 2 forme di risonanza

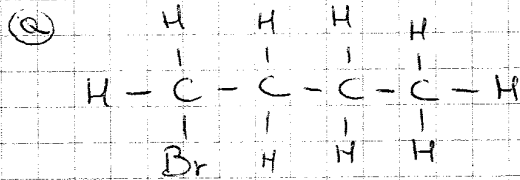
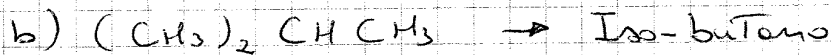
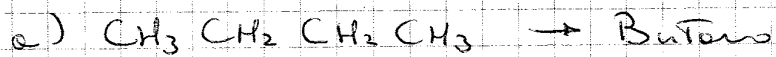


La preparazione degli acidi carbossilici può essere fatta per ossidazione di alcoli primari e aereni



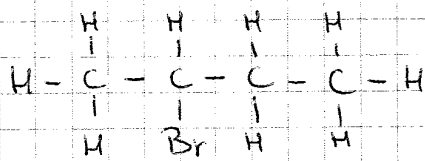
\* Esercizi

(1) Si elenchino i monobromoderivati di



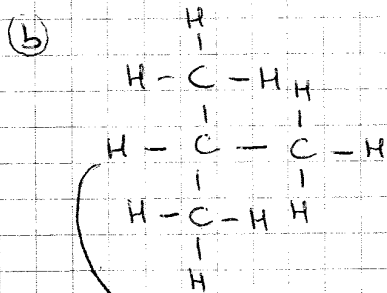
1-Bromometano

Bromuro di n-butano



2-Bromometano

Bromuro di iso-butano



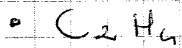
1 bromo, 2 metil propano

Bromuro di iso-butile

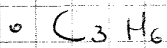
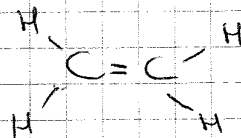
2 bromo, 2 metil propano

Bromuro di ter-butile

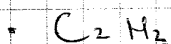
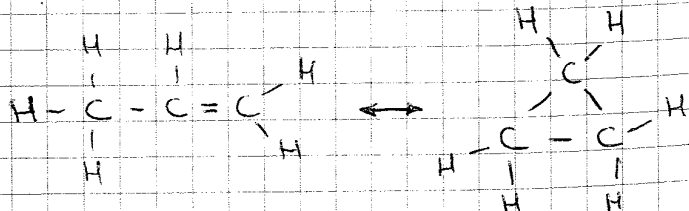
(2) Formule di struttura per:



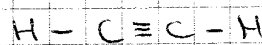
↓  
Etere o Etilene



↓  
Propene o Propilene



↓  
Etino o Acetilene

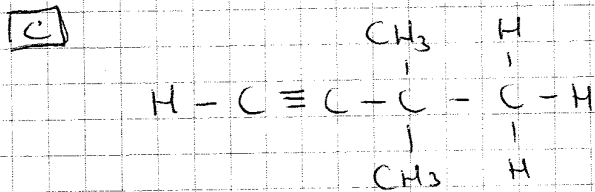
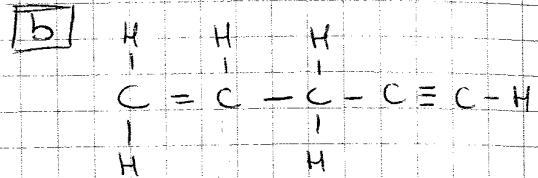
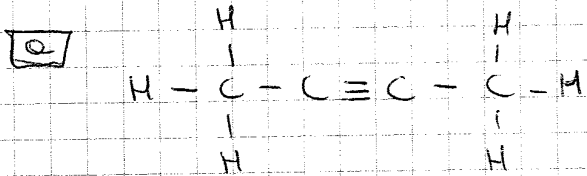


(5) Formule di struttura per:

(a) 2-butino

(b) 1-penten-4-ino

(c) 3,3-dimetil-1-butino



(6) Numero di ossidazione per ogni C

a)  $\text{CH}_4 \rightarrow$  Metano; -4

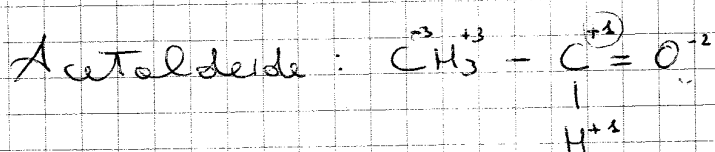
b)  $\overset{-2}{\text{C}}\overset{+3}{\text{H}_3}\overset{-2}{\text{O}}\overset{+1}{\text{H}} \rightarrow$  Metanolo; -2

c)  $\text{CH}_3\overset{+3}{\text{N}}\overset{-2}{\text{H}_2} \rightarrow$  Metilammina; -2

d)  $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2 \rightarrow$  Etere; -2

e)  $\text{H}_2\text{CO} \rightarrow$  Aldeide (formaldeide), 0

f)  $\text{HCOOH} \rightarrow$  Acido carbonico (Acido formico), +2

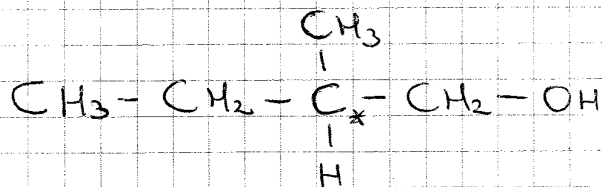


La distinzione di due enantiomeri può essere fatta, esclusivamente, tramite un polarimetro: uno strumento in grado di misurare l'angolo di inclinazione della luce dopo aver incrociato una specifica molecola.

Un importante valore, ricavabile dal polarimetro è il "potere rotatorio specifico"  $\rightarrow [\alpha] = \frac{\alpha}{l \times d}$

- Esempio

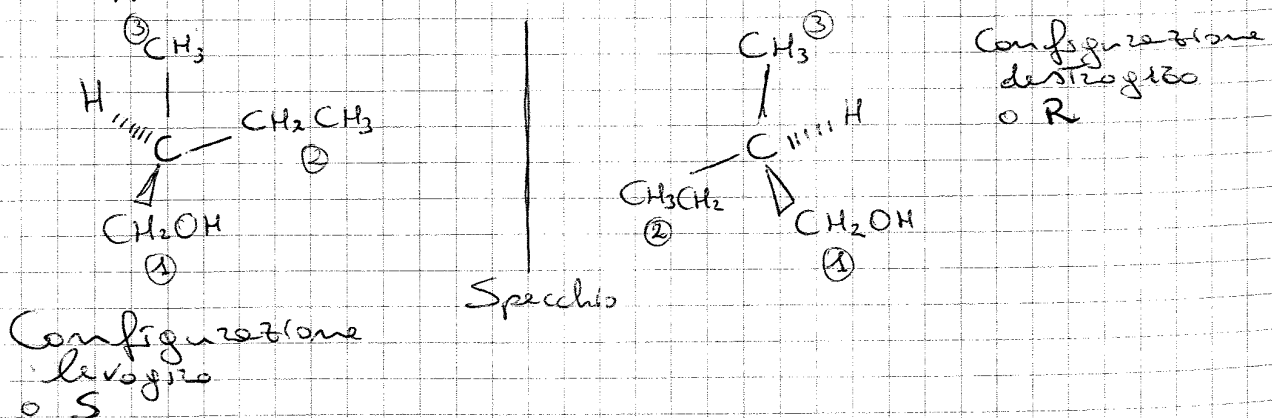
Dimetil - butanolo



$$[\alpha]_D^{20} = -5,90^\circ$$

Gli enantiomeri vengono classificati dalla IUPAC numerando i gruppi legati al carbonio (escluso H) dal più pesante al più leggero; si guarda la sequenza di numeri dal più piccolo al più grande e si definiscono così gli isomeri in base al giro: enantiomero "destrogiro" (D) oppure "levogiro" (L).

- Rappresentazione spaziale

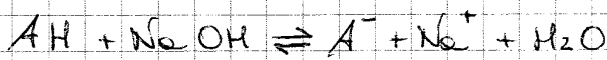




Altri tipi di amminoacidi sono gli acidi e basici. I primi sono acidi proprio perché posseggono una catena laterale acida, cioè  $\text{COO}^-$  (gruppo carbossilico), appartengono a questo gruppo gli "amminidi", tra cui l'asparagina.

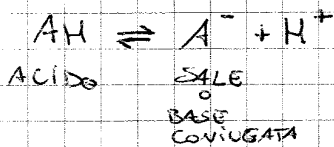
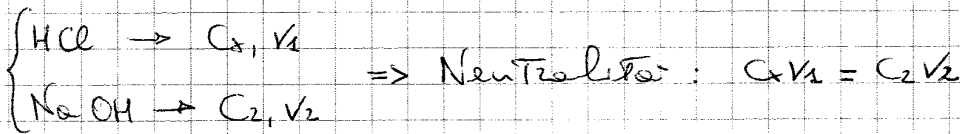
Gli amminoacidi basici contengono un altro gruppo amminico, il primo è la Lisina.

• Titolazione Acido - Base



$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]} \rightarrow -\log K_a = \log \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]} - \log [\text{H}^+]$$

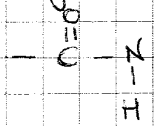
$$\text{p}K_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$



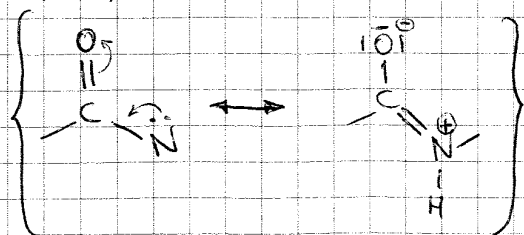
All'equilibrio  $[\text{A}^-] = [\text{AH}]$

$\text{OH}^- \rightarrow$  Basico       $\text{H}^+ \rightarrow$  Acido

\* Legame Peptidico

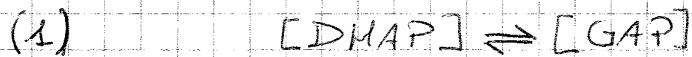


È il legame che tiene unite le molecole di amminoacidi. È un legame più corto di quello singolo ( $1,3\text{\AA}$  invece di  $1,5\text{\AA}$ ). Questo suggerisce la proprietà di poter avere formule di risonanza:



Il carbonio è ibridizzato  $sp^2$ !

## ■ Esercitazione 31/10

All'equilibrio si ha:  $K_{eq} = 0,0475$ 

$$T = 25^\circ C$$

$$[DHAP] = 2 \times 10^{-4} M$$

$$[GAP] = 3 \times 10^{-6} M$$

$$pH = 7$$

a)  $\Delta G^\circ = ?$  (all'equilibrio)b)  $\Delta G = ?$ 

c) Discutere il valore (segno)

Svolgimento

[a] 
$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \left( \frac{[GAP]}{[DHAP]} \right) \neq K_{eq}$$

$$-RT \ln K'_{eq} = -1,987 \times 10^{-3} \frac{\text{Kcal}}{\text{molK}} \cdot 298 K \cdot \ln(0,0475)$$

$$\Delta G^\circ = 1,80 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

$$\{1 \text{ cal} = 4,184 \text{ J}\}$$

[b]

$$\Delta G = 1,80 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}} + 1,987 \times 10^{-3} \frac{\text{Kcal}}{\text{molK}} \cdot 298 K \cdot \ln \left[ \frac{3 \times 10^{-6}}{2 \times 10^{-4}} \right]$$

$$\Delta G = -0,69 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

[c] Il segno del risultato è dipeso dalle concentrazioni delle due componenti della reazione.

[b] Ricavare il numero dei Turnover

Per ipotesi si ha: 1 sito attivo per enzima.

La condizione principale è che l'enzima sia saturo, quindi a velocità massima.

$$K_{cat} = \frac{v_{max}}{\text{moli di sito attivo}} \rightarrow \frac{\text{moli}}{\text{moli di enzima}}$$

$$v_{max} = 0,6875 \frac{\text{mmoli}}{\text{min}} = 0,01144 \times 10^{-4} \frac{\text{moli}}{\text{s}}$$

$$\text{Moli di enzima} = \frac{10^{-9}}{29,6 \times 10^{-3}} = 0,0338 \cdot 10^{-12} \text{ moli}$$

Segue che:

$$K_{cat} = 337,3 \text{ s}^{-1}$$

(3)

Proprietà cinetiche di un enzima in funzione della concentrazione di substrato con e senza inibitore:

[S] ( $\mu\text{M}$ )	Senza I	Con I
3	10,20	4,20
5	14,87	6,61
10	22,67	11,60
30	34,83	23,44
90	42,44	35,40

a) Valore di  $K_M$  e  $v_{max}$  con e senza inibitore?

b) Di che inibitore si tratta?

c) Costante di legame dell'inibitore?

Svolgimento

$$v_{max} = 4,747 \cdot 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{min}}$$

$$K_M = 1,1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

Utilizzando i calcoli dell'esercizio 2!

In presenza di inibitore

$$f_{EI} = \frac{[EI]}{[E]_{TOT}} \rightarrow \frac{[E][I]}{K_I}$$

$$[E] + [ES] + [EI]$$

$$\downarrow$$

$$\frac{[E][S]}{K_m}$$

$$f_{EI} = \frac{\frac{[I]}{K_I}}{1 + \frac{[S]}{K_m} + \frac{[I]}{K_I}} = \frac{1,82}{3,73} = 0,488$$

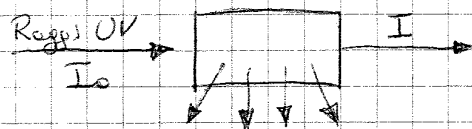
• Fluorescenza

Un altro metodo di misurazione delle proteine (quanto è lunga e quali amminoacidi contiene) è sfruttare il fenomeno della fluorescenza.

La fluorescenza è l'assorbimento molecolare dell'energia luminosa (fotone) ad una certa lunghezza d'onda e la sua ri-emissione ad un'altra lunghezza d'onda.

Non appartiene comunque a tutti gli amminoacidi, devono avere una struttura adatta.

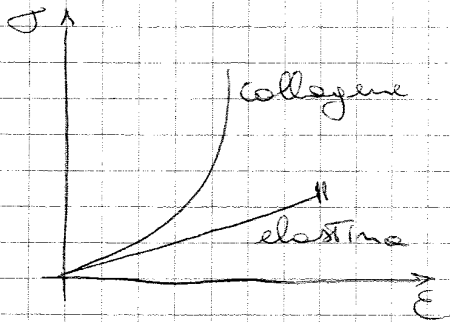
Il vantaggio della fluorescenza è che può essere facilmente individuata, poiché viene emessa in tutte le direzioni.



"Ogni volta che si vede luce verde vuol dire che il gene sta producendo una proteina"

## + Elastina

Ha un comportamento elastico già con poca trazione che si prolunga fino a rottura -

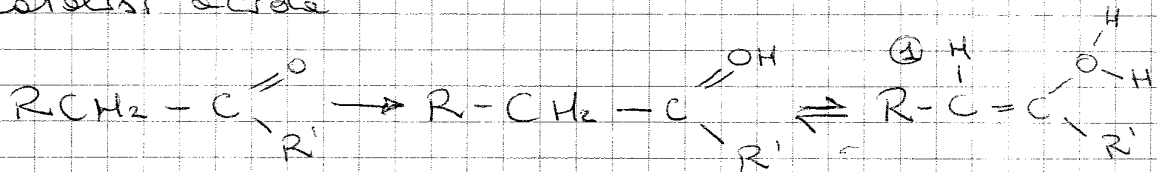


Questo comportamento è dovuto ai legami tra i due elementi di elastina (elastomero), detti "cross link", che sono leggeri e ne permettono l'elasticità.

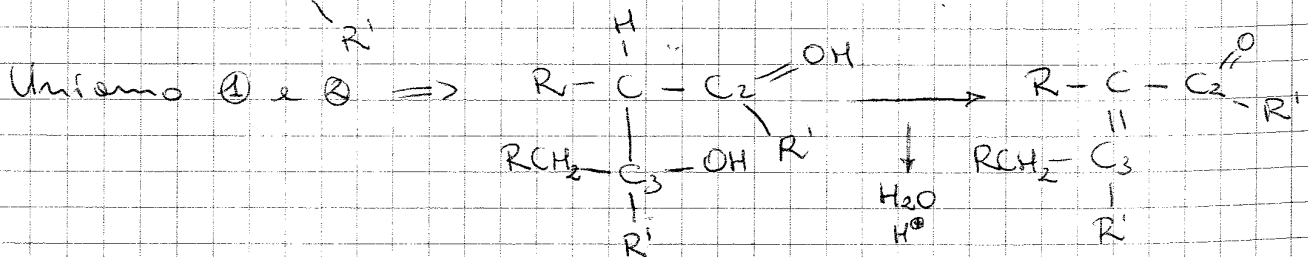
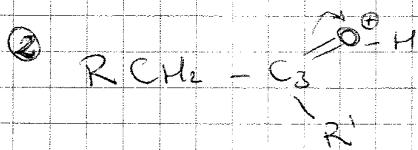
Principalmente questi legami sono di tipo covalente tra residui di leucina (amminoacido con  $R = (CH_2)_4NH_2$ ).

### • Condensazione Aldolica

#### 1) Catalisi acida

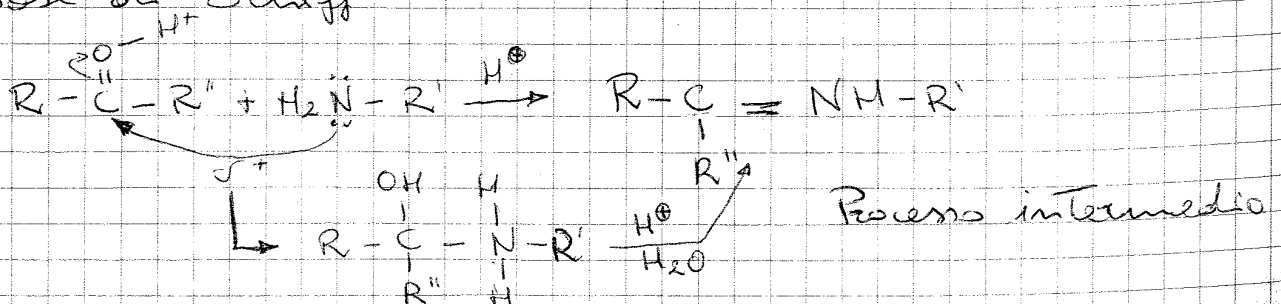


L'equilibrio di forme strutturali presente a destra effettua un processo detto di "Tautomeria cheto - enolica".  
Esiste anche una forma di risonanza:



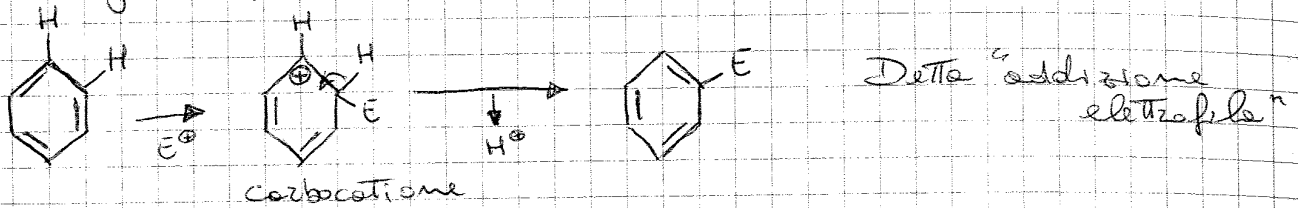
#### 2) Catalisi basica

Basi di Schiff



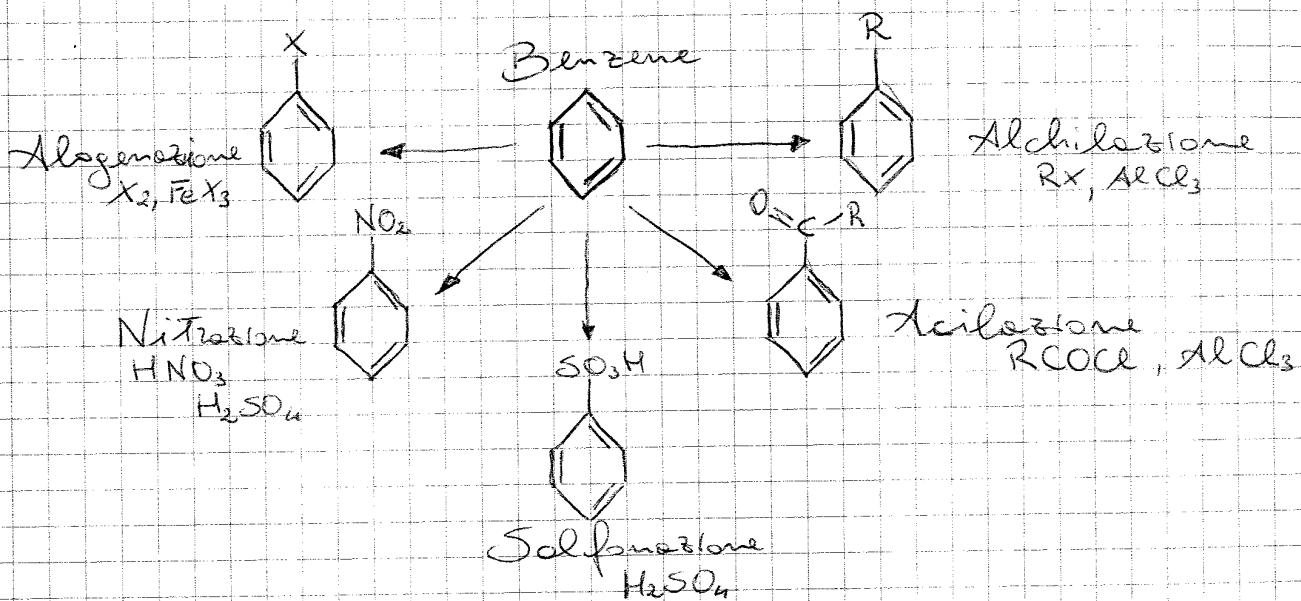
## • Reazioni del benzene

Avvengono per sostituzione elettrofila aromatica

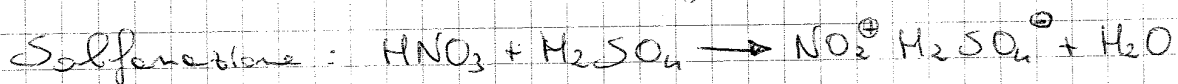
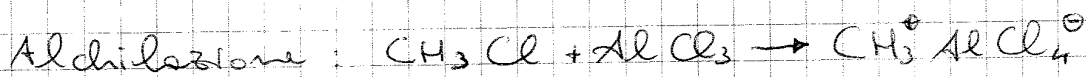


$E^+$  è l'elettrofilo (nel nostro caso è  $CH_3^+$ ) -

Il benzene perde  $H^+$  perché vuole mantenere la sua aromaticità. Si ha una "eliminazione" di  $H^+$ .

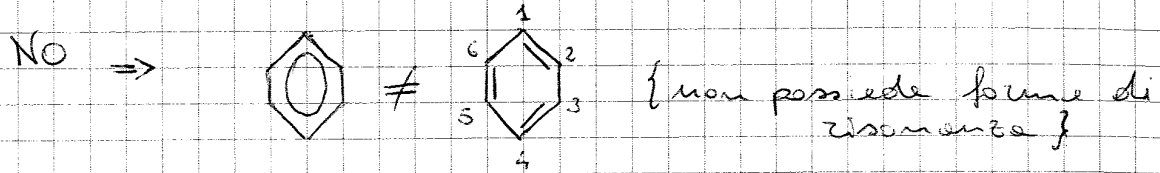


### Esempi



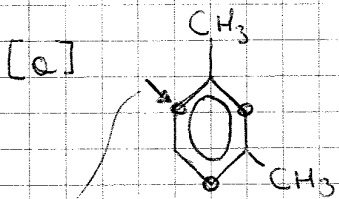
■ Esercizio 16/11

1) Il benzene è una molecola planare con angoli di legame tutti a  $120^\circ$ . È uguale al 1,3,5-cicloesatriene?



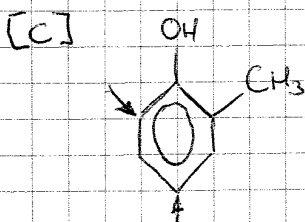
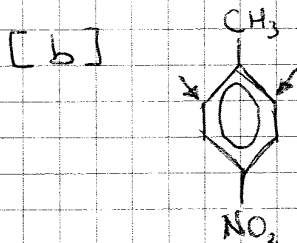
2) Si indichi con una freccia la posizione che, con maggior probabilità, può essere soggetta ad una sostituzione elettrofila

- a) m-xilene
- b) p-nitrotoluene
- c) o-metilfenolo



È la più probabile poiché a destra c'è il problema dell'ingombro di orbitali provenienti dagli H del  $\text{CH}_3$ !

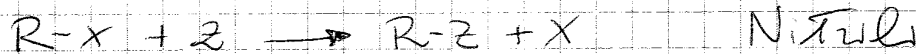
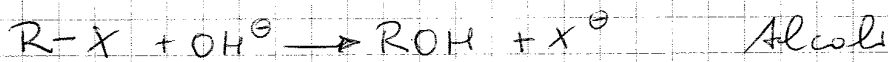
La sostituzione avviene con più probabilità nelle posizioni orto- e para-; siccome lo xilene ha il suo secondo sostituente in posizione meta-, la probabilità sarà nulla in para.



## \* Reazioni degli idrocarburi alifatici

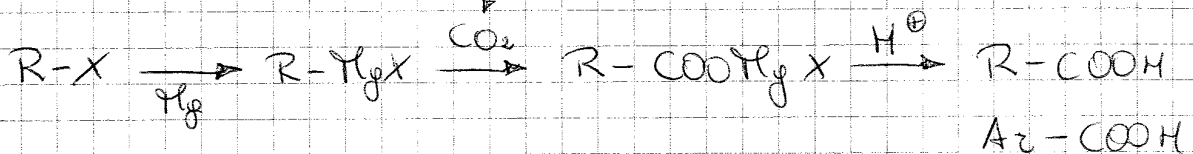
### + Derivati alogenati

Per sostituzione di un alogenuro si possono ottenere alcoli o nitrili, attraverso una sostituzione nucleofila



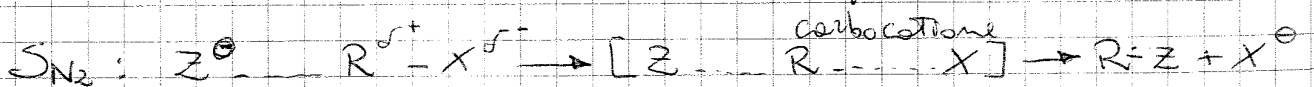
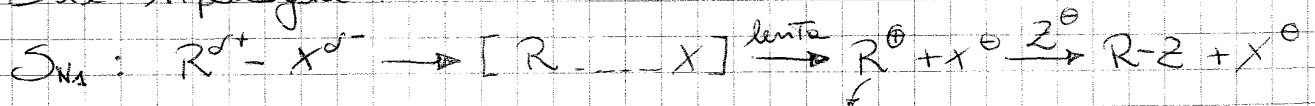
### + Acidi Carbossilici

Si ottengono per carbonatazione dei reattivi di Grignard:



### + Sostituzione nucleofila alilica

Due tipologie:



La velocità di una reazione è condizionata solo dalla velocità dello stadio più lento.

Si nota, anche facilmente, che  $S_N1$  è più lenta di  $S_N2$

Per  $S_N1 \rightarrow v \propto [RX]$

Per  $S_N2 \rightarrow v \propto [RX][Z]$

Se  $Z$  è un nucleofilo allora si preferisce la tipologia

$S_N2$  poiché più veloce.

Un motivo perché invece può essere preferibile usare

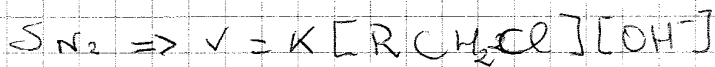
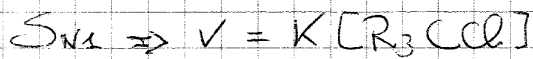
$S_N1$  anziché  $S_N2$  è la presenza dell'ingombro sterico

nell'ultima tipologia.

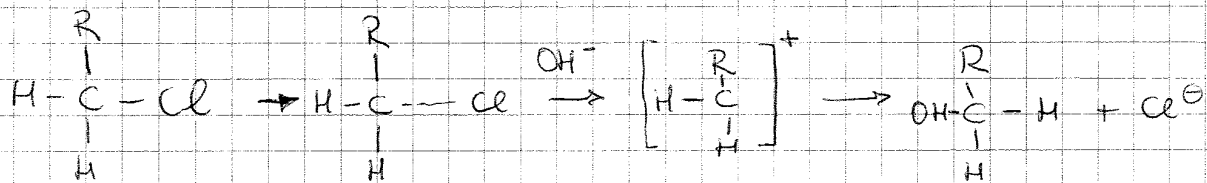


### + Reazioni di sostituzione

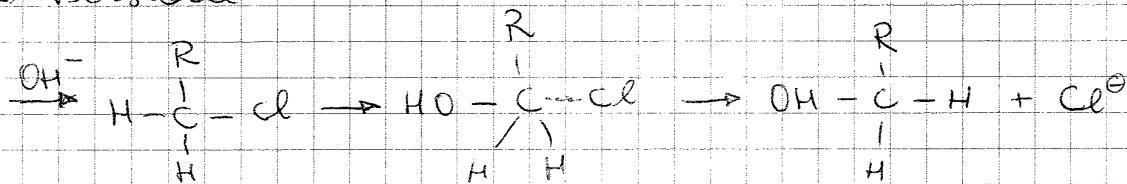
La velocità di reazione non dipende dalla  $[OH^-]$ , questo significa che controlla la reazione e non presiede l'intervento dell'ossidrilico. Questo implica la rottura di un legame C-alogeno formando un carbocatione intermedio relativamente stabile. Il carbocatione reagisce poi rapidamente con l' $OH^-$



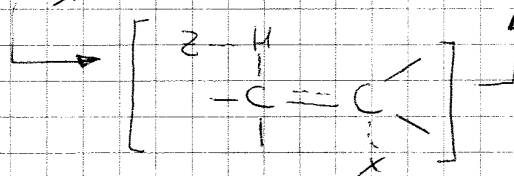
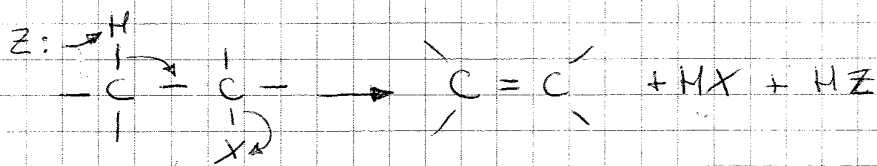
### Reazione



### Inversione



### + Reazioni di eliminazione

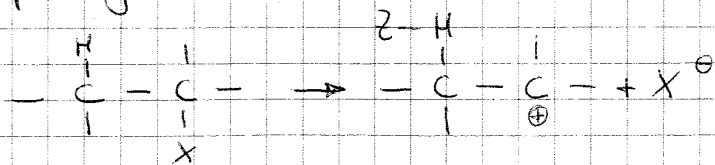


Tipologia E<sub>2</sub>

$$v_2 \propto [RX][Z^-]$$

Bimolecolare

Tipologia E<sub>1</sub>



$$v_1 \propto [RX]$$

Monomolecolare

## Tipologie

### [1] Centrifugazione differenziale

La raccolta dei diversi costituenti è effettuata tramite break-up (distruzione della membrana) e centrifugazione.

### [2] Precipitazione frazionata per soltura

Detta anche "salting out", viene aggiunto un sale nella soluzione in cui si trova la proteina. Il sale lega con altre componenti facendo precipitare il composto interessato.

### [3] Dialisi

Utilizzato per eliminare molecole piccole, si pone in soluzione una membrana che racchiude la miscela sotto osservazione. Questa membrana sarà semipermeabile e permetterà solo a molecole piccole di andare in soluzione; rimarranno così solo le molecole più grandi, cioè le proteine.

### [4] Cromatografia per filtrazione su gel

La miscela che vogliamo purificare (fase mobile) è posta al di sopra di un gel, sostanza con matrice porosa e solida (fase stazionaria).

Viene fatta gocciolare una soluzione salina sulla miscela che, pian piano, scivolerà lungo il gel.

Quest'ultimo si comporta come un filtro e farà passare soltanto determinate sostanze verso una via effluente.

• Voluntazione quantitativa

Una volta estratta la proteina da studiare o analizzare, bisognerà fornire dati numerici che la descrivono; essi sono:

- Proteina totale
- Attività totale
- Attività specifica
- Resa
- Livello di purificazione

Esiste poi un altro metodo per purificare una soluzione: l'ultracentrifugazione.

Essa sfrutta la differenza di peso e densità tra le molecole nel campione. Quest'ultimo è posto in una provetta, al di sopra di una soluzione che ha diversa densità al suo interno. Così costituita, la provetta viene messa in centrifuga e si otterranno le varie sedimentazioni di proteine.

Un valore importante è il coefficiente di sedimentazione:

$$S = \frac{m(1 - \nu\rho)}{f}$$

$$1S = 10^{-13} \text{ sec}$$

↳ unità Svedberg

$m$  = massa della particella

$\nu$  = volume specifico parziale

$\rho$  = densità della soluzione

$f$  = coefficiente frizionale

↳  $6\pi\eta r$

+ Elettroforetogramma

È il grafico riguardante l'elettroforesi. In ordinata troviamo le masse molecolari e in ascissa la mobilità relativa (o elettroforetica).

↓

$$\mu = \frac{V}{E}$$

dove  $V = \frac{Ez}{f}$  ← carica netta

## \* Sequenziamento

Cioè identificazione di come sono disposti gli amminoacidi in una proteina.

Esistono vari modi:

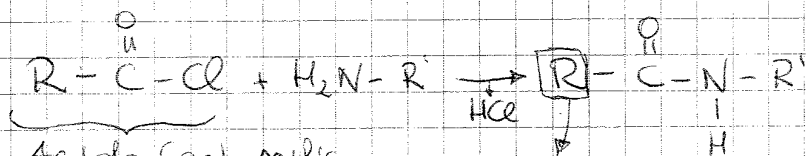
### [1] Composizione amminoacidica

Viene studiato il profilo di eluzione della proteina.

Per primi vengono eluiti gli AA di tipo acido (perché non vengono trattenuti dalla colonna), seguono altri AA non acidi neutri (pH più alto) cioè quelli che hanno catene R alifatiche senza polarità. Infine gli amminoacidi basici.

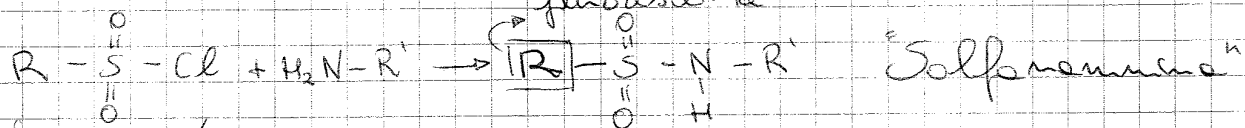
Questo metodo però non permette di determinare la sequenza di AA.

### [2] Determinazione del Residuo amminoterminale



Acido Carbossilico  
se invece di Cl → OH

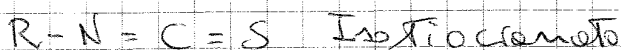
gruppo fluorescente



Acido solfonico  
con -OH

### [3] Degradazione di Edman

Si utilizzano come reagenti i fenilisotiocianati; permettono di dividere un amminoacido per volta nella degradazione.



## • Informazioni ottenute dal sequenziamento

Questo argomento è alla base degli studi della proteomica. Grazie al sequenziamento delle proteine si ottiene:

- Confronto con le altre proteine a sequenza nota
- Informazioni sulle vie seguite dall'evoluzione
- Identificazione di sequenze che determinano una certa proteina e ne controllano le modifiche
- Preparazione di anticorpi specifici contro la proteina di interesse
- Preparazione di sonde genetiche.

## \* Gli anticorpi

Sono proteine preposte al riconoscimento e al legame con molecole estranee con lo scopo di sequestrarle.

Hanno una struttura complessa, con 4 gruppi carbossilici e 4 gruppi amminoterminali.

Sono prodotti dall'organismo solo quando vi è una invasione di molecole estranee; è lo stesso antigene a determinare la produzione di un anticorpo.

## + Anticorpi monoclonali

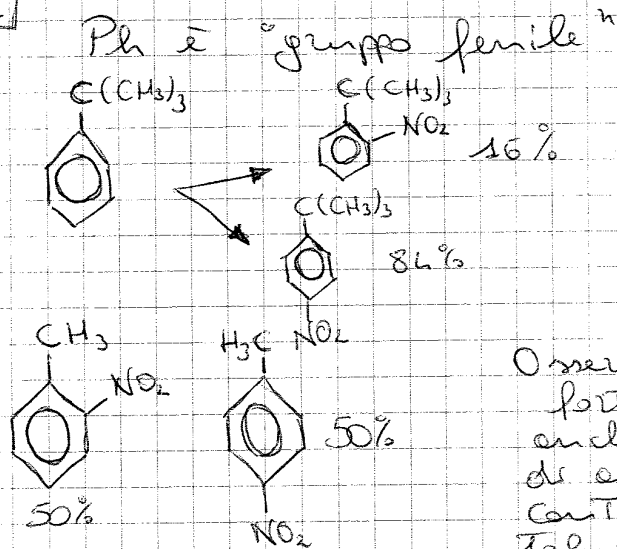
Si sfrutta l'esistenza di un mieloma (cellula tumorale); questo produce di conseguenza anticorpi in maniera continua.

2) Si spieghino le seguenti affermazioni:

a) la nitrazione del Ph C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> dà solo il 16% di prodotto orto, mentre il Ph CH<sub>3</sub> dà il 50%

b) Di tutti gli alogenuri arilici, il PhF dà per nitrazione la più piccola quantità di orto

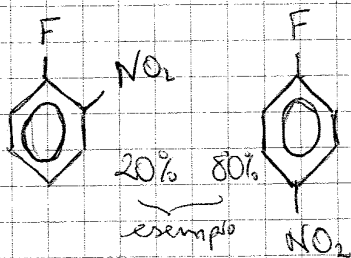
a)



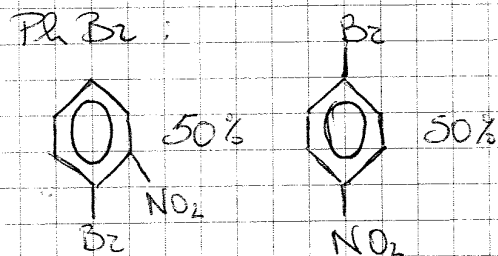
È dovuto all'ingombro sterico del C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. Per questo si formerà con più probabilità il para!

Osservazione: il nitrato NO<sub>2</sub> è fortemente disattivante, quindi anche se CH<sub>3</sub> promuove l'aggiunta di altri reagenti, ci sarà NO<sub>2</sub> a contrastare. Per questo il dinitrato talmente si forma con poca probabilità e il TNT è instabile.

b)

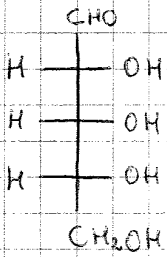


Consideriamo, per confronto:

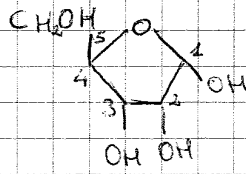


Il fluoro è il più elettronegativo tra gli alogenuri, quindi attira a sé elettroni più fortemente di tutti; per questo il composto sarà più stabile con NO<sub>2</sub> in posizione para!

\* La sintesi delle molecole della vita



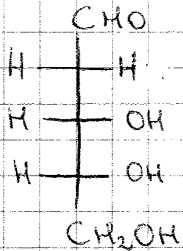
RNA



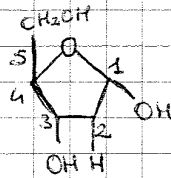
D-ribosio

Forma aperta  
o di Fischer

Forma chiusa  
o pentagonale



DNA

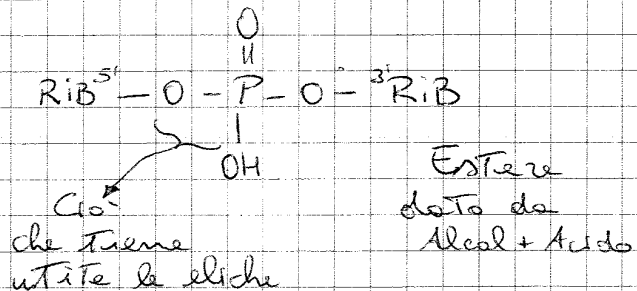
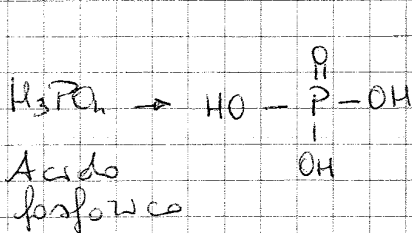
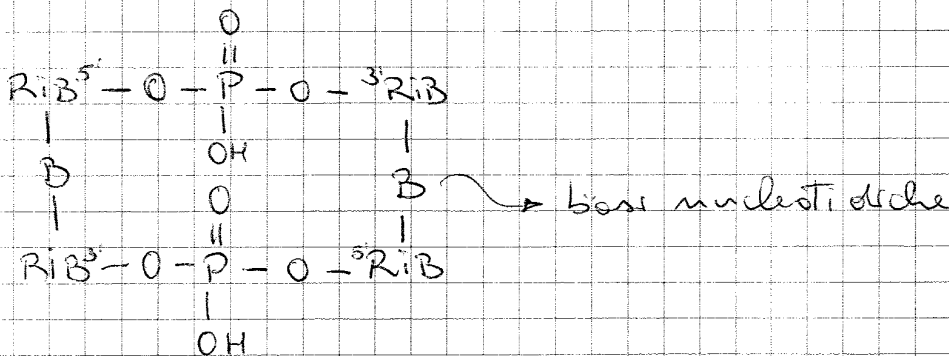


D-2-desossi-ribosio

→ questa è la  
differenza strutturale  
con l'RNA

Le posizioni più importanti nel D-2-desossiribosio sono la 3' e la 5', poiché sono quelle che si legano al gruppo fosfato per formare il legame che serve, in seguito, alla base dell'elica!

• Esempio di pezzo di DNA



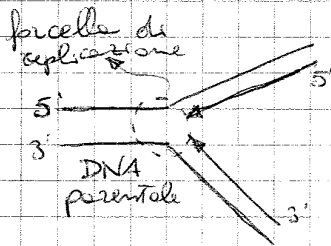
## \* Retrovirus

Virus a RNA, così chiamati perché l'informazione genetica passa dall'RNA al DNA.

Queste particelle contengono due copie di una molecola di RNA a singola catena. Entrate nella cellula, dell'RNA viene prodotta una molecola di DNA da un enzima virale detto "trascrittasi inversa". Il genome formato viene incorporato nel DNA cromosomico dell'ospite e così si replica insieme a tutto il DNA normale durante le divisioni cellulari.

## \* Replicazione del DNA

Dal punto di vista chimico possiamo considerarlo una sostituzione nucleofila.



Osservando queste ipotesi di replicazione notiamo che la catena di DNA antiparallela si divide in due: la catena "leader" che viene trascritta

da 5' verso 3' con continuità e poi la seconda catena, detta "ritardata" che viene fatta crescere, anch'essa, in direzione 5' → 3'. Studiando più da vicino le due catene figlie si è osservato che (essendo il DNA antiparallelo) la catena ritardata veniva replicata in direzione 3'. Come era possibile?

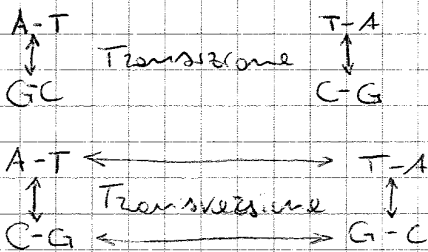
Okazaki, usando la tecnica di marcatura ( $^3\text{H-T}$ ) scopri che erano presenti, sulla catena secondaria, solo frammenti di DNA, formati discontinuamente. [frammenti di Okazaki].



## + Mutazioni

- **Raggi UV**: le radiazioni dovute all'irraggiamento UV provocano la formazione di radicali liberi (elettroni che ne cacciano altri per creare legami). Viene promossa la formazione di anelli ciclobutilici tra i residui di timina. La catena viene modificata e interferisce nei momenti di trascrizione e replicazione.

- **Tipologie**: si distinguono due tipi: mutazioni puntiformi (Transizione o Transversione) e inserzione-delezione (vengono tolte o inserite coppie di nucleotidi)



- **Basi alterate**: il bromouracile, per esempio, è simile a T. Per questo motivo riesce ad accoppiarsi a G e induce mutazione A-T → G-C. Oppure viene incorporato al posto di C e genera G-C → A-T.

- **Mutazioni indotte da agenti alchilanti**: sostanze come l'acido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) mimano il comportamento delle basi azotate, inserendosi al loro posto.

- **Agenti intercalanti**: sostanze aromatiche, tipo i coloranti, provocano mutazioni per inserzione o delezione. Queste sostanze si inseriscono determinando uno spostamento delle basi azotate (la distanza raddoppia).

## \* Trascrizione del DNA

La sequenza di DNA viene trascritta in una molecola di mRNA. Ciò avviene grazie all'RNA polimerasi: subunità che scotele il DNA e lo trattiene in modo da trascriverlo (copie 50 nucleotidi al s!).

Ci sono porzioni di DNA che vengono sempre trascritti, sono i "Geni costitutivi"; altri vengono trascritti solo quando è necessario, sono i "Geni repressi".

La trascrizione inizia vicino ai siti promotori e termina in siti detti "terminatori".

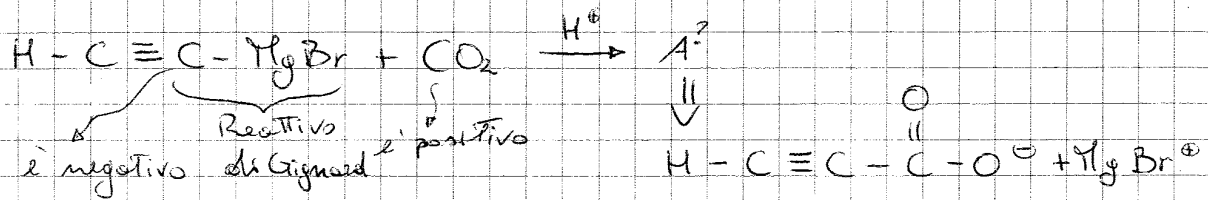
Il primo sito è detto anche "TATA box", la parte finale contiene, invece, molte basi GC che permettono alla doppia elica di DNA di chiudersi.

## + Proteina rho (ρ)

Puo' ospitare al suo interno (nel suo canale) un mRNA. Aggancia l'mRNA ed inizia ad eseguire la RNA polimerasi. Siccome il contatto tra i due enzimi è sterico si ha il distacco della catena.

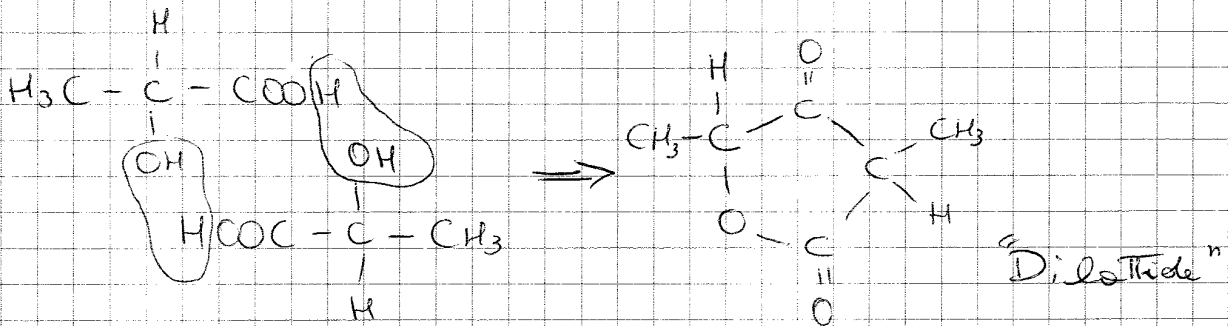
L'mRNA, dopo esser stato trascritto viene modificato più volte. Il processo di modificazione più importante è lo "Splicing" (o processo di maturazione): l'mRNA viene ecceduto in "introni", cioè porzioni di mRNA che non troveremo mai negli mRNA maturi.

(5) Indicare la struttura del composto A:

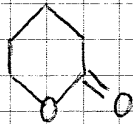


Si come è già presente  $\text{H}^+$ , otteniamo che A è un acido carbossilico:  $\text{H}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{COOH}$

(6) Suggestire una struttura del prodotto  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$  che si ottiene per riscaldamento dell'acido lattico:  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$  o  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ .



Il prodotto è un estere ciclico, detto anche lattone.  
 Schema strutturale:



La fedeltà della sintesi proteica richiede un riconoscimento accurato dei codoni (l'anticodone) che sono costituiti da 3 basi azotate, da far combaciare col codone dell'mRNA.

• Meccanismo di sintesi:

La molecola di tRNA serve come un adattatore che si lega a ciascun codone e che trasporta con sé l'amminoacido destinato ad essere inserito nella catena proteica.

Ogni molecola di amminoacil-tRNA sintetizzata richiede l'equivalente di due molecole di ATP.

Il ribosoma, nella sua subunità inferiore, contiene un "Tunnel" in cui passa l'mRNA che deve essere letto; esso inizia nel sito di formazione del legame peptidico.

La catena peptidica nascente passerà attraverso il Tunnel.

Il ciclo di sintesi inizia nel sito P delle subunità superiori ribosomiali; nel sito A si lega un amminoacil-tRNA;

quando entrambi i siti sono occupati si forma un nuovo legame peptidico. tRNA e mRNA vengono spostati grazie a

un enzima, "fattore di allungamento G" (indispensabile perché la sintesi avvenga), che allontana il tRNA senza

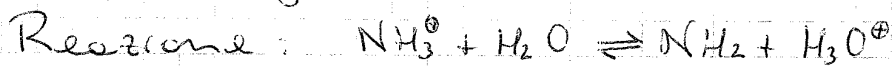
amminoacido dal sito P al sito E. Il tRNA vuoto si dissocia, l'altro occupa il sito P e un altro giunge nel sito A.

Tutto il ciclo continua fino a quando l'mRNA non è completamente letto.

## Svolgimento

- Consideriamo ①

$$pK_a = -\log K_a \rightarrow K_a = 10^{-9,3} = 5 \times 10^{-10} \text{ di } \text{NH}_2$$



$$\text{Siccome: } K_a = \frac{[\text{NH}_2][\text{H}^{\oplus}]}{[\text{NH}_3^{\oplus}]}$$

$$\text{per } \text{pH} = 3 \rightarrow 5 \times 10^{-10} = \frac{[\text{NH}_2]}{[\text{NH}_3^{\oplus}]} 10^{-3}$$

$$\frac{[\text{NH}_2]}{[\text{NH}_3^{\oplus}]} = 5 \times 10^{-7}$$

↳ Questo valore è  $< 1$ , quindi ci dice che la concentrazione di  $\text{NH}_3^{\oplus}$  è maggiore; cioè, ovvero, in questo caso, una carica positiva in più

$$\text{per } \text{pH} = 8 \rightarrow \frac{[\text{NH}_2]}{[\text{NH}_3^{\oplus}]} = 5 \times 10^{-2} \rightarrow \text{Ancora } < 1 \text{ quindi una carica positiva in più (+)}$$

$$\text{per } \text{pH} = 11 \rightarrow \frac{[\text{NH}_2]}{[\text{NH}_3^{\oplus}]} = 50 \rightarrow \text{prevali } \text{NH}_2 \text{ che è neutro, quindi non ci saranno cariche in più (0)}$$

Gli stessi calcoli possono essere ripetuti per gli altri  $\text{NH}_2$  (3 e 4).

- Consideriamo adesso ②



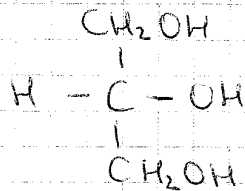
$$K_a = \frac{[\text{COO}^{\ominus}][\text{H}^{\oplus}]}{[\text{COOH}]} = 10^{-4,25}$$

$$\text{per } \text{pH} = 3 \rightarrow \frac{[\text{COO}^{\ominus}]}{[\text{COOH}]} = \frac{10^{-4,25}}{10^{-3}} = 10^{-1,25} \rightarrow \text{prevali } \text{COOH}, \text{ quindi la neutralità (0)}$$

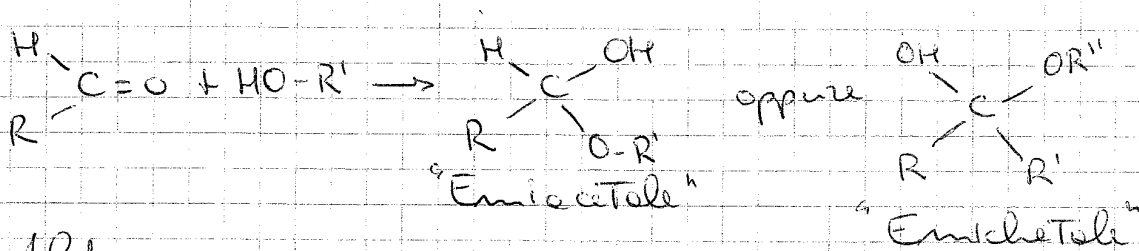
$$\text{per } \text{pH} = 8 \rightarrow \frac{[\text{COO}^{\ominus}]}{[\text{COOH}]} = \frac{10^{-4,25}}{10^{-8}} = 10^{3,75} \rightarrow \text{prevali } \text{COO}^{\ominus}, \text{ quindi } (-1)$$

$$\text{per } \text{pH} = 11 \rightarrow \text{prevali } \text{COO}^{\ominus} \text{ e quindi una carica negativa}$$

• Gliceralde



• Reazioni



+ Aldosi

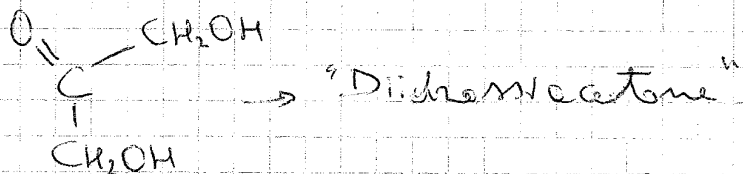


La catena emente aggiungendo  $\text{CH}_2$  e  $\text{OH}$  alla catena.

Subito dopo D-Glic. Troviamo

Eritrosio e Treosio, entrambi D ma con disposizione del nuovo  $\text{CH}_2\text{OH}$  diversa; sono detti "diastereoisomeri", hanno gli stessi componenti ma configurazione invertite.

+ Chetosi



Anche in questo caso gli altri monosaccari di si ottengono per aggiunta di  $\text{CH}_2$  e  $\text{OH}$ !

## • Polisaccaridi

Formati dal legame di più monosaccaridi.

Svolgono un ruolo essenziale nella costituzione di riserve d'energia e mantenimento della integrità strutturale di un organismo.

Troviamo in questo gruppo: Amido e Glicogeno (il primo nei vegetali e il secondo negli animali); sono formati da tanti glucosio uniti da legame glicosidico.

L'amido ha due strutture: ramificate (legami 1 a 6) e lineare (1-4); queste ramificazioni servono per rallentare i processi di scissione del glucosio.

Ai polisaccaridi appartiene anche la cellulosa; formata da legami  $\beta$  1,4 del glucosio, per questo si presta bene alla strutturazione in fibre.

## • Glicosaminoglicani (GAG)

Si trovano sulla superficie delle cellule animali e nella matrice extracellulare, sono costituiti da unità disaccaridiche ripetitive di natura glucidica. Tra essi conosciamo l'acido ialuronico (fatto da unità emmiche in ripetizione).

## \* Glicoproteine

Sono i gruppi di carboidrati che si legano covalentemente a differenti proteine (in numero minore rispetto ai proteoglicani).

Molte di esse sono componenti delle membrane cellulari e svolgono funzioni importanti come l'adesione tra cellule (spermatozoo-ovulo).

Il legame tra glucosio e proteine è detto "glicosilazione" e avviene, grazie ad un enzima detto "donatore glicosilico", nel lume del reticolo endoplasmatico o nell'apparato del Golgi.

## + Sistema di controllo della qualità

Una glicoproteina ripiegata correttamente si trasferisce al complesso del Golgi dopo aver rimosso una unità di glucosio.

Se la proteina non è ripiegata o ripiegata correttamente, riceverà un residuo di glucosio (glucosiltransferasi). Questo si legano alla calnexina, una proteina che aiuta a trovare il ripiegamento corretto.

Le proteine correttamente piegate non verranno sottoposte di nuovo a glicosilazione.



per  $\text{pH} = 12$

$$\frac{[\text{NH}_2]}{[\text{NH}_3^+]} = \frac{10^{-9,39}}{10^{-12}} = 10^{3,39} \Rightarrow \text{neutralità (0)}$$

$$\frac{[\text{COO}^-]}{[\text{COOH}]} = \frac{10^{-2,02}}{10^{-12}} = 10^{10,02} \Rightarrow \text{negatività (-1)}$$

Osserviamo quindi che, a  $\text{pH} = 2$  si ha una carica positiva in più, nel caso  $\text{pH} = 12$  si avrà una carica negativa in più!

Lo stesso identico calcolo può essere effettuato per (b)

(2) L'elemento strutturale fondamentale dell' $\alpha$ -cheratina è l' $\alpha$ -elica.

Quanti legami peptidici si formano al secondo per avere la crescita del capello di un uomo?  
(20 cm)

$$\left\{ \begin{array}{l} 3,6 \text{ residui per giro} \\ 5,4 \text{ \AA di passo} \end{array} \right. \quad 1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm}$$

Ogni residuo permette la formazione di un legame peptidico.

$$1 \text{ residuo minima} \rightarrow \frac{5,4}{3,6} \times 10^{-8} \text{ cm} = 1,5 \times 10^{-8} \text{ cm}$$

$$\text{In 1 cm} \rightarrow \frac{20}{1,5 \times 10^{-8}} = 1,3 \times 10^9 \text{ legami}$$

$$1 \text{ secondo} = 31.536.000$$

$$\text{Quindi: } \frac{1,33 \times 10^9}{31.536.000} = 42 \text{ al secondo}$$

[2] Per un enzima che segue le cinetiche di Michaelis-Menten, qual'è il valore di  $V_{max}$  se  $V_0$  è uguale a  $1 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$  e  $K_M = \frac{1}{10}$  ?

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad V_{max} = \frac{V_0(K_M + [S])}{[S]}$$

$$V_0 = 1 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \quad \text{e} \quad [S] = \frac{1}{10} K_M$$

$$\text{Segue che: } V_{max} = \frac{1 \cdot \left(K_M + \frac{1}{10} K_M\right)}{\frac{1}{10} K_M} = 11 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$$

• Esempio esercizio d'esame

Le proprietà cinetiche di un enzima sono misurate in funzione della concentrazione di substrato in presenza d'inibitore e in sua assenza (concentrazione  $100 \mu\text{M}$ )

Velocità $\left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}\right)$		[S] ( $\mu\text{M}$ )
No I	Con I	
0,12	0,0697	1
0,25	0,1	3
0,3262	0,1206	10
0,442	0,121	100

a) Calcolare  $K_M$  e  $V_{max}$  in presenza d'inibitore

b) Di quale tipo d'inibizione si tratta?

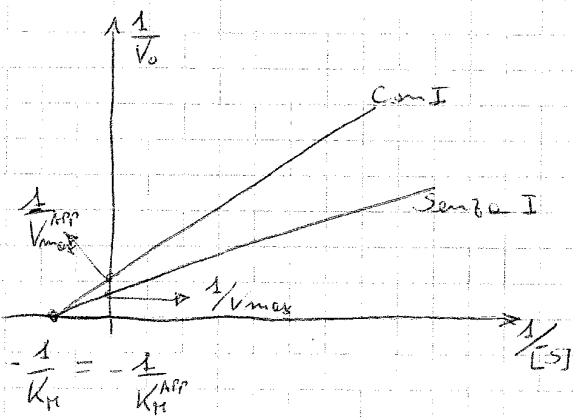
[3] Concentrazione dell'inibitore  $100 \mu\text{M}$

[S] ( $\mu\text{M}$ )	$N_0$ I	$V_{\text{max}}$ ( $\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$ )	Con I
3	10,4		2,03
5	14,5		2,97
10	22,5		4,52
30	33,8		6,95
90	40,5		8,46

- Qual'è il valore di  $K_M$  e  $V_{\text{max}}$  in presenza di questo inibitore?
- Di quale inibizione si tratta?
- Qual'è la costante di dissociazione?
- Per  $[S] = 30 \mu\text{M}$  determinare  $f_{0,5}$ .

Senza inibitore  $\rightarrow y = 0,2311x + 0,021$

Con inibitore  $\rightarrow y = 1,1014x + 0,1051$



Inibizione non competitiva

Mettenendo a sistema le due equazioni si ricavano le coordinate:  $(-0,0904, 0)$

Ponendo, invece,  $x=0$  si ottiene

$$y = \frac{1}{V_{\text{max}}^{\text{APP}}} = 0,1051 \rightarrow V_{\text{max}}^{\text{APP}} = 9,515 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$$

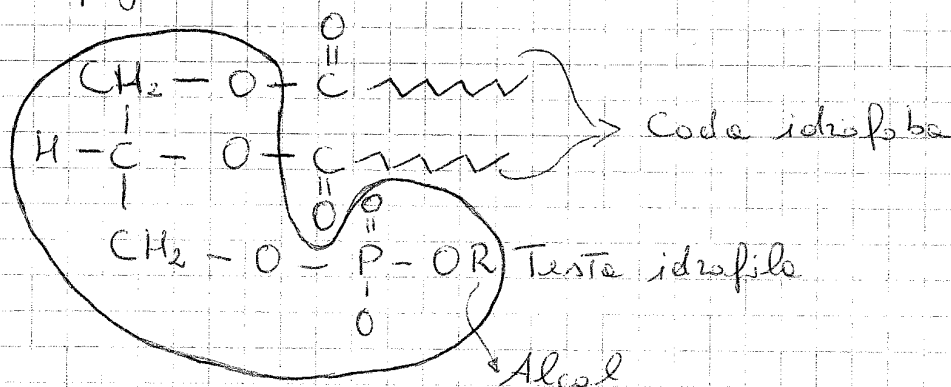
## + Fosfolipidi

Sono i componenti principali del doppio strato lipidico delle membrane cellulari, insieme alle proteine e al colesterolo.

Una molecola fosfolipidica è costruita a partire da quattro tipi di molecole: acidi grassi, fosfato, una piattaforma su cui si attaccano gli acidi grassi e un alcol legato al fosfato.

Gli acidi grassi forniscono una barriera idrofobica mentre il resto della molecola ha proprietà idrofiliche (per permettere l'interazione con l'ambiente circostante). La piattaforma può essere costituita da glicerolo (alcol con 3 atomi di C da cui derivano i fosfogliceridi) oppure la sfingosina.

### • Fosfogliceride



I gruppi ossidrilici sugli atomi di carbonio C-1 e C-2 del glicerolo sono esterificati con i gruppi carbossilici delle due catene di acidi grassi.

## \* Membrane

La formazione delle membrane è una conseguenza della natura anfipatica delle molecole fosfolipidiche (cioè la presenza contemporanea di strutture idrofiliche e idrofobiche).

Queste caratteristiche permettono la formazione di micelle (strutture globulari) oppure di un doppio strato lipidico. Quest'ultima è quella più favorita sia dai fosfolipidi che dai glicolipidi in mezzi acquosi. La formazione del doppio strato è un processo di autoassemblaggio: le code idrofobiche di ciascuno strato interagiscono tra loro formando un interno idrofobico, le teste idrofile interagiscono con il mezzo acquoso da ciascuna parte del doppio strato.

Tra le code si hanno attrazioni dovute alle forze di Van der Waals, mentre tra le teste polari e le molecole d'acqua sono di tipo elettrostatico e legami a idrogeno.

Ogni tipo di membrana possiede caratteristiche distintive determinate dalle proteine associate; distinguiamo due classi principali:

- proteine integrali
- proteine periferiche

Mediano tutte le funzioni di membrana.

#### + Prostaglandina H<sub>2</sub> sintesi

Enzima che catalizza la conversione dell'acido arachidonico in prostaglandina H<sub>2</sub>.

Quest'ultima promuove l'infiammazione e modula la secrezione di acido gastrico. È classificata come proteina integrale benché non sia propriamente immersa nella membrana.

#### + Peroxisomas

Sono piccoli organelli circondati da membrane singole ricchi di ossidasi (enzimi che utilizzano ossigeno molecolare per ossidare sostanze organiche). L'ossidazione produce gruppi acetilici ma non forma ATP, l'energia è infatti convertita in calore.

Sono responsabili dell'ossidazione degli acidi grassi e della demolizione di sostanze tossiche.

#### • Gemmazione e fusione di membrane

Le membrane devono essere in grado di separarsi o unirsi per captare, trasportare e rilasciare molecole.

La gemmazione è il processo di produzione di protuberanze sulla membrana.

## + Ionofori

Sono molecole adatte al trasporto di ioni. Possono essere trasportatori (la valinomina) oppure formatori di canali (la gramicina).

Uno ionoforo può dissipare un gradiente di concentrazione non generabile.

## + Trasportatore del glucosio

Consente di equilibrare la conc. di glucosio attraverso la membrana, senza contemporaneamente il trasporto con altre molecole più piccole.

È una proteina trans-membrana asimmetrica con siti di legame esposti su tutti e due i lati.

## • Processo di trasporto attraverso la membrana

Possono essere mediati o non mediati, richiedere o meno energia a seconda che il passaggio sia contro o a favore il gradiente di concentrazione. Il trasporto energetico può essere legato alla rottura dei legami chimici come quello fosfato o dell'annullamento dei gradienti protonici.

In ogni momento vi sarà una parte impegnata ad accogliere ingredienti e una parte impegnata nel rilascio di ATP.

#### • Pompe ioniche

Sfruttano l'energia data dall'ATP; la più presente sulle membrane cellulari è la pompa sodio-potassio.

In generale, abbiamo diverse tipologie di proteine per il trasporto: "uniporto" (trasportano un solo elemento alla volta), "simporto" (trasportano due elementi contemporaneamente nella stessa direzione) e "antiporto" (due elementi in direzioni opposte).

Lo scopo delle pompe Na/K è quello di controllare la concentrazione del sodio all'interno della cellula. Se non funzionassero in modo adeguato, l'acqua, seguendo la pressione osmotica, entrerebbe provocando la lisi delle cellule.

#### • $Ca^{2+}$ -ATPasi

È un altro tipo di pompa che regola la concentrazione di calcio per la contrazione muscolare, il rilascio di neurotrasmettitori, demolizione del glicogeno e il metabolismo ossidativo.



## + Sistemi di trasporto passivo

Sono canali molto selettivi che non richiedono energia.

Un esempio è l'aquaporina (AQP); in essa, il flusso d'acqua è regolato da gradienti idraulici o osmotici. Le aquaporine possono essere inibite da ioni di Hg.

Un altro importante sistema di trasporto passivo è il "glucosio facilitator" (GlpF) che ha una particolare selettività per il glucosio e mostra una minore permeabilità all'acqua nonostante i pori siano di diametro maggiore.

→ AQP: nella parte superiore del filtro, i legami idrogeno vengono inibiti; per via della grandezza del poro, qui si trovano le arginine, gruppi basici che respingono i protoni; si ha una rotazione dell'orientazione delle molecole d'acqua.

→ GlpF: il filtro convolge molto meno acqua per le caratteristiche idrofobiche del canale.

## • Ricezione dell'odore

Ogni neurone olfattivo esprime un solo singolo gene tra le centinaia disponibili (la determinazione però di quale debba essere espresso è in gran parte casuale).

Il composto odoroso si lega ad una proteina transmembrana (il recettore olfattivo), si innescano le trasduzioni del segnale che determinano un potenziale d'azione.

Il recettore, legato, attiva la proteina G $\alpha$  (specifica della cella olfattiva) che rilascia GDP.

Questa si lega a GTP (guanosina trifosfato) e si stacca dalla subunità  $\beta\gamma$ . La subunità  $\alpha$ , dove è presente GTP, si lega all'adenilato ciclasi (proteina), la cui azione determina un aumento della concentrazione intracellulare di cAMP (adenosina monofosfato ciclica). Questo aumento attiva un canale cationico che permette l'ingresso di calcio e altri cationi nella cellula.

Si depolarizza la membrana del neurone sostenendo il potenziale d'azione.

Ogni composto odoroso attiva una combinazione unica e caratteristica di recettori.