



Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino

Appunti universitari

Tesi di laurea

Cartoleria e cancelleria

Stampa file e fotocopie

Print on demand

Rilegature

NUMERO: 960

DATA: 08/05/2014

A P P U N T I

STUDENTE: Tortorici

MATERIA: Bioingegneria Chimica Riassunti

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.**

APPUNTI BIOCHIMICA

STEREISOMERI: molecole con gli stessi legami chimici, ma con diversa **configurazione** corrispondenti a una diversa disposizione degli atomi nello spazio. La configurazione è determinata da:

- **doppi legami**, attorno ai quali non c'è libertà di rotazione
- **centri chirali**, intorno ai quali i gruppi sostituenti sono disposti in una **maniera** specifica

Si distinguono:

ISOMERI GEOMETRICI (o isomeri cis-trans): differiscono per la disposizione dei gruppi sostituenti rispetto al doppio legame, intorno al quale non è possibile la rotazione. Hanno proprietà chimiche diverse.

CENTRI CHIRALI: atomi di C con 4 sostituenti diversi. Se in una molecola ci sono n centri chirali, possono esserci 2^n stereoisomeri.

ENANTIOMERI: stereoisomeri che sono immagini speculari l'uno dell'altro. Hanno proprietà chimiche simili, ma alcune proprietà fisiche diverse (rotazione del piano della luce polarizzata). Soluzioni equimolari dei due enantiomeri (**racemo**) non mostrano alcuna rotazione ottica.

DIASTEREISOMERI: stereoisomeri che non sono immagini speculari l'uno dell'altro.

CONFORMAZIONE: disposizione spaziale che i gruppi funzionali sono liberi di assumere grazie alla libertà di rotazione intorno a legami singoli.

EQUAZIONE DI GIBBS:
$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Con: $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

$\Delta G = 0 \Rightarrow$ equilibrio

$[x]_i$ = concentrazione iniziale

$[x]_{eq}$ = concentrazione all'equilibrio

pH: $pH = -\log_{10} [H^+]$



acido forte $\Rightarrow K_a$ alta

acido debole $\Rightarrow K_a$ bassa

$pK_a = -\log_{10} K_a$

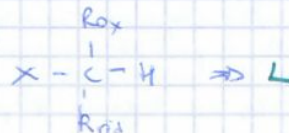
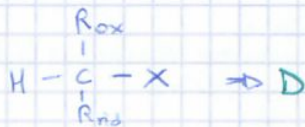
acido forte $\Rightarrow pK_a$ basso

AMMINOACIDI

Sono gli elementi costituenti (monomeri) delle proteine: sono **20** e sono composti da un gruppo **carbossilico** (-COOH), un gruppo **amminico** (-NH₂) e un gruppo **variabile** (R), tutti legati al carbonio α .

In tutti gli amminoacidi il C α è un centro chirale perché è legato a 4 gruppi diversi: l'unica eccezione è la glicina, che come gruppo R ha un H. Per ogni amminoacido sono possibili 2 stereoisomeri che, in particolare, sono enantiomeri.

La nomenclatura degli amminoacidi segue il **CRITERIO D/L**: tramite le proiezioni di Fischer si disegna la molecola posizionando il gruppo più ossidato in alto e quello più ridotto in basso. Se H è a sinistra la configurazione è D, se no è L:



In natura tutti gli amminoacidi sono L!

Perché il gruppo carbossilico è acido e quello amminico è basico, gli amminoacidi hanno comportamenti anfoteri. Possono essere scritti in forma **zwitterionica** (ione ibrido):

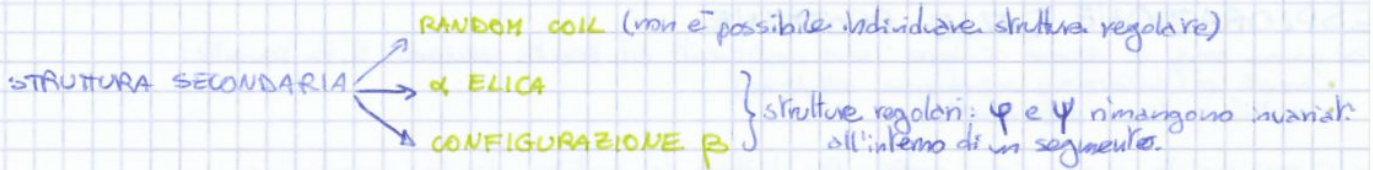


I gruppi R conferiscono proprietà diverse ai vari amminoacidi.

legame C α -N \Rightarrow angolo φ

legame C α -C \Rightarrow angolo ψ

I valori permessi di φ e ψ sono rappresentati nelle mappe di Ramachandran



α ELICA: 1 giro \Rightarrow 3,6 residui
passo \Rightarrow 5,4 Å

I gruppi R di ogni residuo si trovano all'esterno dell'elica. L'elica più comune è la destrogiro, con:

$\varphi = -57^\circ$
 $\psi = -47^\circ$ (l'elica levogiro è rara e ha i valori degli ang di invertiti.)

L' α -elica è stabilizzata da legami H che si formano tra l'H legato a N del residuo n e l'O legato a C del residuo $n+4$.

[Esistono anche altri tipi di elica, per es. 2,27 (\Rightarrow 2,2 residui per giro; 7 atomi per anello).]


La stabilità dell' α -elica può essere compromessa da:

- propensione intrinseca di un residuo a formare l' α -elica
- interazione fra gruppi R (soprattutto quelli lontani 3-4 residui)
- ingombro sterico di gruppi R adiacenti
- presenza di Prolina (Pro) e Glicina (Gly)

FOGLIETTI β : // \Rightarrow passo = 6,5 Å
anti:// \Rightarrow passo = 7 Å

Sono una struttura a zig-zag stabilizzata da legami H che non coinvolgono i residui R; questi ultimi sporgono dalla struttura con un'alternanza sopra-sotto.

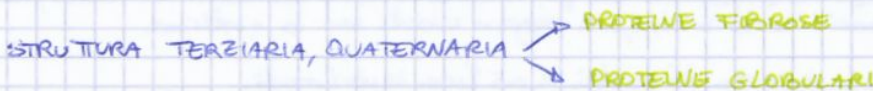
La struttura a foglietti β è resa possibile dai β -turn, che contengono spesso Gly e Pro.

anti:// 

// 

Gly perché è piccola e flessibile

Pro perché assume configurazioni cis, favorevole al β turn.



PROTEINE FIBROSE: La loro forma è determinata da un unico tipo di struttura secondaria. Hanno proprietà tali da conferire resistenza e/o elasticità alla struttura di cui fanno parte e sono insolubili in H $_2$ O.

Esempi:

- α -cheratina: ha una struttura ad elica con 3,5 residui per giro: questo comporta che le catene siano leggermente inclinate rispetto a una normale α -elica. Le catene sono lunghe circa 310 amminoacidi, composte dalle ripetizioni di 7 residui (di cui il 1° e il 4° quasi sempre idrofobici). A causa della interazione fra gruppi idrofobici, due catene si avvolgono su di loro formando un superavvolgimento.
cheratine dure \Rightarrow tanti ponti solfuro \Rightarrow capelli, corna, unghie
cheratine soffici \Rightarrow pochi ponti solfuro \Rightarrow pelle, callosità
- collagene: è costituito da una tripla elica che si avvolge in modo destrorso, formata da catene che si avvolgono in modo sinistrorso. La tripla elica ripete il Gly-X-Y: c'è un'elevata presenza di idrossiprolina (\Rightarrow molti OH \Rightarrow formazione di legami H). Come viene prodotto il collagene: la prolina-idrossilasi idrossila il pro-collagene e si forma la tripla elica; la N-proteinasi e la C-proteinasi staccano le parti globulari all'inizio e alla fine della molecola, ottenendo il collagene definitivo.
- fibrina della seta: è formata da foglietti β completamente estesi. È poco flessibile. L'unità ripetitiva è: Glicina-Serina-Glicina-Alanina-Glicina-Alanina
- placche amiloide: aggregati insolubili formati da foglietti β causa di molte malattie neurologiche.

PROTEINE GLOBULARI: sono formate da diversi motivi strutturali; rappresentano la maggior parte delle proteine.
Esempio: mioglobina; enzimi.

m \rightarrow possibili valori di φ e ψ } \Rightarrow possibili configurazioni: m^n
n \rightarrow numero di legami

ANTICORPI

Sono proteine preposte al riconoscimento e al legame di molecole estranee (antigeni: possono essere proteine, polisaccaridi o acidi nucleici) con lo scopo di sequestrarle. Gli anticorpi sono prodotti nell'organismo solo in risposta all'invasione di un antigene.

Sono costituiti da 4 catene peptidiche (2 grandi e 2 piccole) tenute insieme da ponti solfuro e assumono una forma a Y. Una parte delle catene è comune a tutti i tipi di anticorpi, mentre il sito di legame dell'antigene (posto sulle punte) varia.

Per verificare la presenza di un anticorpo o di un antigene in un campione si usa il **test ELISA**:

- 1) una superficie viene rivestita con campioni (antigeni)
- 2) le regioni non occupate dai campioni vengono riempite con una proteina non specifica
- 3) incubazione con anticorpo primario diretto contro l'antigene specifico
- 4) incubazione con anticorpo secondario unito a un enzima; il complesso si lega all'anticorpo primario
- 5) si aggiunge il substrato dell'enzima
- 6) la formazione di un prodotto colorato indica la presenza di un antigene specifico.

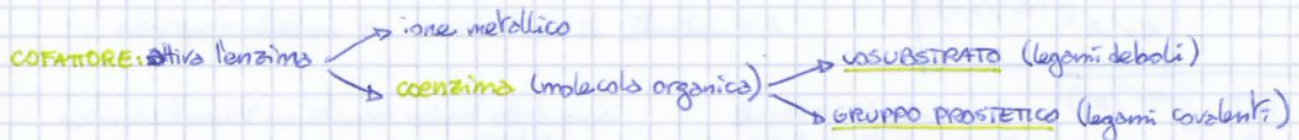
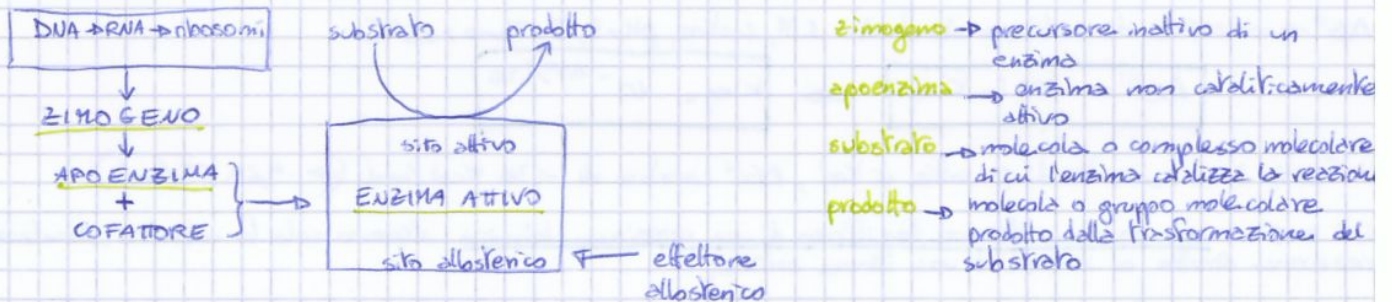
ENZIMI

Sono proteine in grado di catalizzare una reazione chimica; forniscono i substrati con un orientamento ottimale a formazione e rottura di legami. Stabilizzano gli stati di transizione in modo selettivo: in questo modo determinano quale delle molte reazioni potenziali deve realmente avvenire. Possono mediare l'interconversione tra diverse forme di energia.

Gli enzimi sono catalizzatori dei sistemi biologici, ma non tutti i catalizzatori biologici sono enzimi. La maggior parte delle reazioni chimiche dei sistemi biologici non avviene a velocità apprezzabile in assenza di enzimi.

Funzioni degli enzimi:

- possibilità di lavorare in successione (**pathway metabolico**)
- digestione negli animali
- trasduzione del segnale e regolazione dei processi cellulari
- possibilità di generare movimento
- pompe ioniche (trasporto attivo nella membrana cellulare)
- permettono ai virus di infettare le cellule.



sito attivo → zona dell'enzima in cui si lega il substrato (vi avviene la catalisi): 3-4 amminioacidi

sito allosterico → può bloccare o attivare l'enzima. Il suo substrato è l'**effettore allosterico**

- attivatore
- inibitore

OLENZIMA → parte cataliticamente attiva di un enzima (compresi i cofattori)

L'attività degli enzimi è determinata da struttura quaternaria e struttura terziaria.

Gli enzimi hanno elevati livelli di:

- **STEREOSPECIFICITÀ**: proprietà di una reazione chimica di prediligere come reagente un determinato stereoisomero
- **REGIOSELETTIVITÀ**: selettività nei confronti del legame su cui si va ad agire
- **CHIMIOSELETTIVITÀ**: selettività nei confronti di gruppi funzionali

NOMENCLATURA IUB: per ogni enzima identificazione del tipo A-B-C, con:

- A → nome substrato
- B → nome cofattore
- C → tipo di reazione catalizzata +asi

NOMENCLATURA IUBMB: per ogni enzima identificazione del tipo EC.A.B.C.D. (A,B,C,D → numeri), con:

- A → tipo principale di reazione (1-6)
- B → tipo di substrato
- C → natura del co-substrato
- D → numero ordinale dell'enzima

Dall'equazione di Michaelis-Menten si ricavo:

$$[S] \ll K_M \Rightarrow v_0 = \frac{V_{max}}{K_M} [S]$$

$$[S] \gg K_M \Rightarrow v_0 = V_{max}$$

K_M è la concentrazione di substrato che determina una velocità pari a $V_{max}/2$. È un valore unico per ogni coppia enzima-substrato.

Il numero di turnover K_{cat} rappresenta il numero di atti reattivi che ogni sito attivo catalizza nella unità di tempo.

$$K_{cat} = \frac{V_{max}}{[E]_{tot}}$$

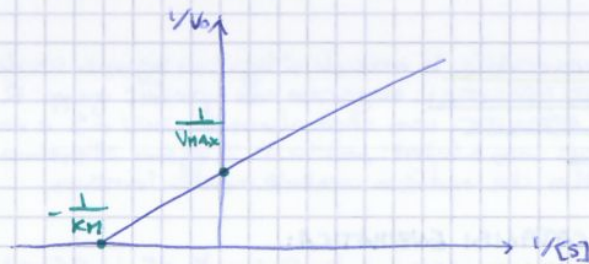
In condizioni fisiologiche: $0,01 \leq \frac{[S]}{K_M} \leq 1$

$\frac{K_{cat}}{K_M}$ è la misura dell'efficienza di un enzima. Se il rapporto è dell'ordine di $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ l'enzima catalizza una reazione ogni volta che incontra una molecola di substrato.

Per calcolare V_{max} dal grafico si ricorre a una trasformazione lineare:

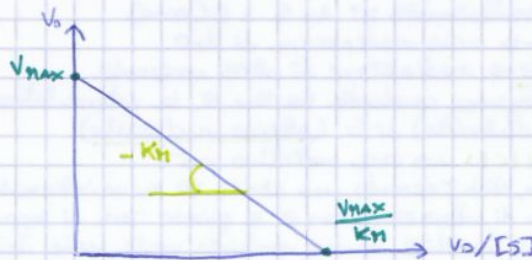
• LIEWEAVER-BURK:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



• Eadie-Hofstee:

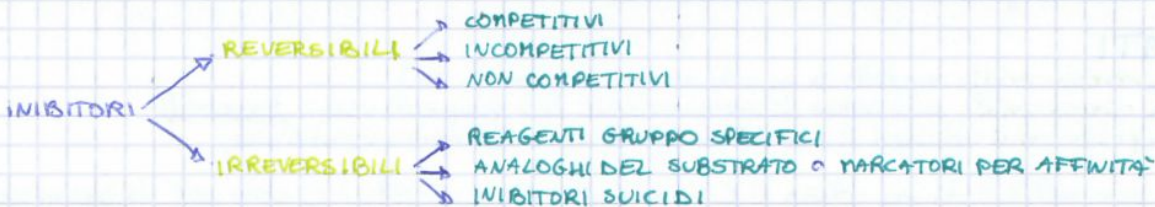
$$v_0 = V_{max} - \frac{v_0}{[S]} K_M$$



L'equazione di Michaelis-Menten non si può usare per enzimi allosterici, per i quali la relazione tra v_0 e $[S]$ ha un andamento sigmoideo. Questo è dovuto all'effetto di legami cooperativi tra enzima e substrato.

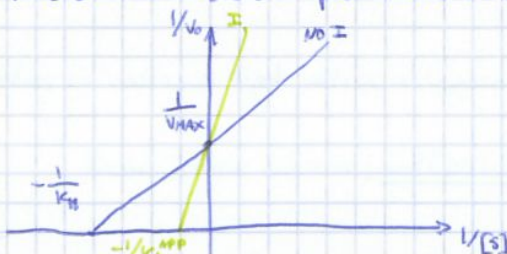
INIBIZIONE ENZIMATICA

È uno dei meccanismi fondamentali per il controllo dei sistemi biologici. Gli inibitori sono sostanze che riducono l'attività enzimatica influenzando il legame del substrato e/o il numero di turnover (⇒ agiscono su K_M e V_{max}).



Nell'inibizione reversibile la molecola si lega reversibilmente all'enzima (interazioni non covalenti).

INIBIZIONE COMPETITIVA: I si lega al sito attivo dell'E, quindi diminuisce la velocità di catalisi riducendo il numero di E accessibili a S. I può essere un analogo non metabolizzabile di S, un S alternativo per E o un prodotto di reazione. L'inibizione può essere rimossa con un aumento di S.

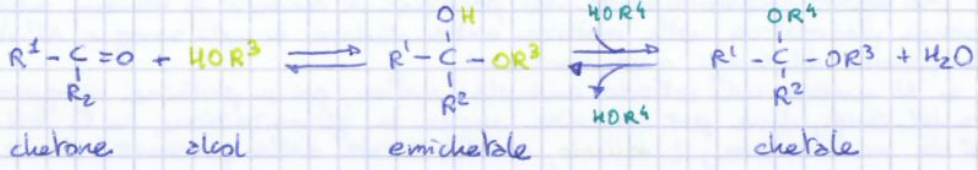
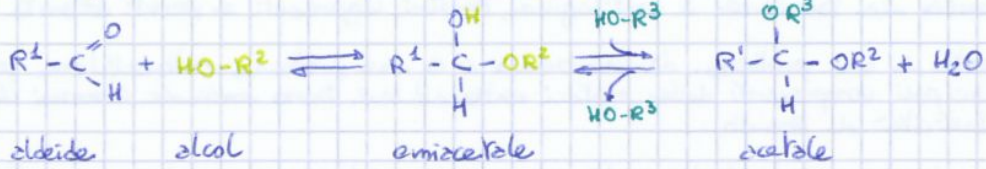


$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{[S] + \alpha K_M} \quad \text{con} \quad \alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} > 1$$

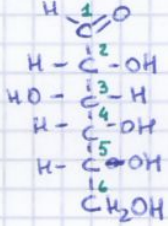
$$K_M^{app} > K_M$$

V_{max} invariata

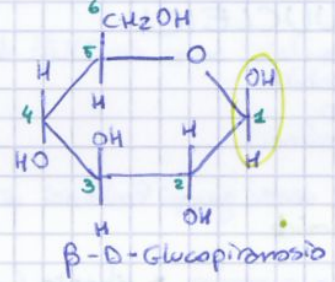
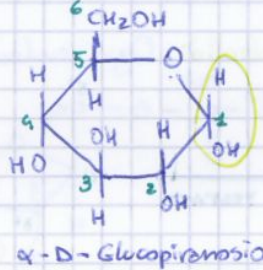
In soluzione acquosa i monosaccaridi con 4 o più C assumono una forma ciclica. Questo accade perché il gruppo carbonilico forma un legame covalente con l'O di un gruppo ossidrilico lungo la catena, formando emiacetali o emichetali.



Nella forma ciclica c'è un altro C asimmetrico, quindi si possono trovare altri 2 isomeri (le forme α e β). Gli anelli a 6 membri sono chiamati piranosio; quelli a 5 membri furanosio.

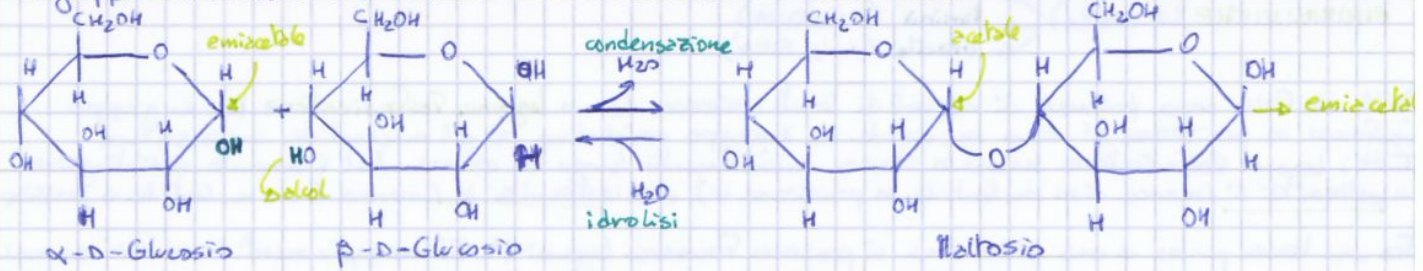


D-Glucosio ⇒



I monosaccaridi possono essere ossidati da agenti ossidanti deboli (per es ione rameico Cu²⁺). Gli zuccheri in grado di ridurre lo ione rameico sono detti zuccheri riducenti. Si sfruttava questa proprietà per valutare la quantità di zuccheri in sangue e urine nei casi sospetti di diabete mellito.

DISACCARIDI: sono costituiti da due monosaccaridi uniti da un legame O-glicosidico, che si forma fra il gruppo ossidrilico di uno zucchero e il C emiacetale di un altro.



L'estremità con un C emiacetale libero è detta estremità riducente.

- I principali disaccaridi sono:
- Maltosio = Glucosio + Glucosio
 - Lattosio = Galattosio + Glucosio
 - Saccarosio = Fruttosio + Glucosio

POLISACCARIDI: (o GLICANI) sono polimeri di monosaccaridi. Differiscono fra loro per tipo di unità monosaccaridica ricorrente, lunghezza della catena, tipo di legame glicosidico che unisce le unità e grado di ramificazione.

- omopolisaccaridi: (contengono un solo tipo di unità monomerica)
- eteropolisaccaridi: (contengono 2 o più tipi di unità monomerica)

Gli omopolisaccaridi possono avere funzione di riserva di energia o avere ruoli strutturali.

- RISERVA**
 - amido: polimero di Glucosio, si trova nelle piante
 - glicogeno: polimero di Glucosio, si trova negli animali. È formato da legami α 1-4 con ramificazioni su legami α 1-6
- STRUTTURA**
 - cellulosa: omopolisaccaride lineare non ramificato di glucosio in configurazione β
 - chitina

Un esempio di eteropolisaccaridi sono gli glicosamminoglicani (GAG) che compongono la matrice extracellulare. I GAG sono composti da unità disaccaridiche e si trovano solo negli animali (non nelle piante). Sono molecole ricche di carica negativa, cosa che le costringe ad assumere una struttura estesa in soluzione.

REPLICAZIONE DEL DNA

REAZIONE ESOTERMICA GRAZIE A T₁

Esistono 3 teorie sulla replicazione del DNA:

- ① replicazione **semiconservativa** (mezza elica madre per ciascuna delle due eliche figlie)
- ② replicazione **conservativa** (una elica madre e una elica figlia)
- ③ replicazione **discontinua** (basi della madre distribuite in maniera casuale alla figlia)

Si sintetizza un DNA arricchito utilizzando l'isotopo ¹⁵N, più pesante del ¹⁴N (più comune), poi si provoca una replicazione in un ambiente contenente solo ¹⁴N. Si esegue una ultra centrifugazione e si ottiene 1 fascia ~~distinta~~ singola.

Se fosse vera ②, si dovrebbero trovare 2 fasce distinte (una pesante e una leggera). Se fosse vera ③ si dovrebbero trovare più fasce. Nella seconda replicazione, invece se ne trovano 2.

È vera ①: nella prima generazione entrambi le molecole hanno 1 catena pesante e 1 leggera, quindi hanno tutte lo stesso peso. Nella seconda generazione, 2 molecole hanno 1 catena pesante e 1 leggera e 2 molecole hanno 2 catene leggere, quindi si trovano 2 fasce diverse.

La replicazione comporta lo srotolamento del pezzo di doppia elica coinvolto. Le due catene vengono replicate contemporaneamente, ma con modalità diverse. Il filamento 3'-5' (**leading strand**) viene replicato direttamente, mentre il filamento 5'-3' (**lagging strand**) subisce una replicazione semidiscontinua tramite i **frammenti di Okazaki**, pezzi di catena sintetizzati in direzione 3'-5' e uniti di seguito.

L'enzima **elicasi** srotola la doppia elica, formando una forcella di replicazione.

La **primasi** sintetizza un primer di RNA; necessario all'inizio della replicazione. C'è un primer di RNA all'inizio di ogni frammento di Okazaki.

La **giras** forma un avvolgimento del lagging strand per permettere la sintesi dei frammenti di Okazaki.

La **polimerasi III** replica il DNA. Questa enzima ha un meccanismo di controllo del nucleotide precedente: evita gli errori nella replicazione (limitati a 1 ogni 10⁶-10⁸ coppie di basi) e spiega la necessità del primer di RNA. La velocità di spostamento della forcella di replicazione è di **50 nucleotidi di /s**. Vista la chimica della molecola, non è una velocità elevata, ma viene compensata dall'arrivo della replicazione in più punti contemporaneamente del DNA.

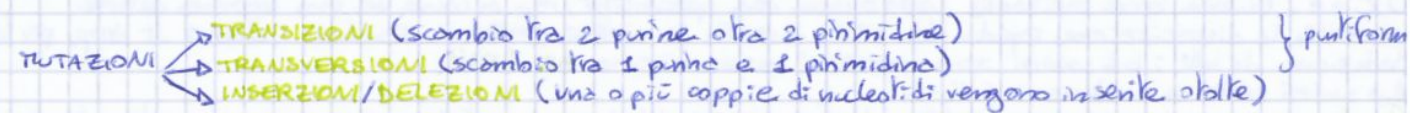
La **polimerasi I** unisce i frammenti di Okazaki e sostituisce il primer di RNA con del DNA (infatti ha anche un'attività di esonucleasi → taglia un legame tra nucleotidi).

La **ligasi** forma i legami non effettuati dalla polimerasi I.

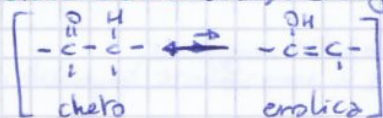
MUTAZIONI DEL DNA

Possono derivare da errori nella replicazione dovuti ad agenti esterni (agenti alchilanti, radiazioni ionizzanti).

Esempio: le radiazioni UV (200-300 nm) creano dei radicali nelle basi (soprattutto in T) che portano alla formazione di ciclobutili (cicli di 4 C) che causano distorsioni nella catena e quindi errori nella replicazione successiva.



5-bromo-uracile (5BU): è soggetto a una tautomeria cheto-enolica.



5BU in forma enolica si lega a G, ma è simile a T quindi provoca mutazioni: $A+T \rightarrow G+C$ e $G+C \rightarrow A+T$

H₂O₂: può rimuovere il gruppo -NH₂ da C, trasformandola in U. Provoca mutazioni: $G+C \rightarrow A+T$

Inoltre se si deammina A si forma **ipoxantina**, che mimica G. Provoca mutazioni: $T+A \rightarrow G+C$

Agenti intercalanti: molecole aromatiche e planari che si infilano tra 2 coppie di basi nella doppia elica. In fase di replicazione questa porta a inserzione o delezione di una o più coppie di nucleotidi.

Riparazioni delle mutazioni:

- **escissione di basi**: gli enzimi **DNA-glicosilasi** riconoscono le lesioni più comuni e rimuovono la base alterata scindendo il legame N-glicosidico. Ciò crea un sito apurinico o apirimidinico, detto sito AP o abasico. In seguito la DNA-polimerasi inserisce la base corretta e la ligasi completa il legame. Per es, il uracile è rimosso dall' uracile-N-glicosilasi.
- **escissione di nucleotidi**: viene rimossa una porzione di catena, generalmente lunga 27-29 nucleotidi negli eucarioti. La DNA-polimerasi sintetizza di nuovo il frammento asportato.
- **riparazione diretta**: non prevede la rimozione di basi o nucleotidi. Per esempio i ciclobutili provocati dai raggi UV vengono spezzati dalle **DNA-Fotoliasi** (non presenti nell'uomo).

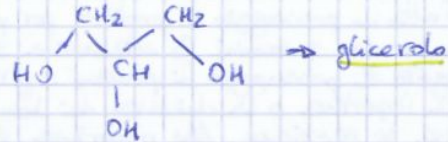
A riconoscere gli errori sono delle proteine specifiche: **hMSH2** e **hMLH1**.

TEST DI AMES: serve a identificare sostanze cancerogene (mutagene). Un disco di carta imbevibile della scienza da analisi è immerso in una coltura di salmonella del tipo depauperata della capacità di riprodursi senza istidina. Se la sostanza è mutagena, attiva una reversione, che consente al batterio di riprodursi anche senza istidina.

TEORIA DE BIOLOGICHE

Sono formate da un doppio strato lipidico interrotto da proteine. Gli elementi costituenti del doppio strato sono: **fosfolipidi**, **proteine** e **colesterolo**. La sua struttura è a **mosaico fluido**.

FOSFOLIPIDI:



I fosfolipidi hanno una testa idrofila e due code idrofobiche: sono molecole anfipatiche. In soluzione acquosa si dispongono in un doppio strato, con le teste all'esterno e le code all'interno. La saturazione o meno degli acidi grassi comporta delle irregolarità nel doppio strato.

La fluidità del doppio strato dipende da temperatura, dimensione e grado di saturazione delle code acetiche (acidi grassi). Al di sotto delle temperature fisiologiche, i fosfolipidi formano una fase di gel; al di sopra delle temperature fisiologiche, i fosfolipidi formano uno stato liquido disordinato. A temperature intermedie i fosfolipidi sono in uno **stato liquido ordinato**, nel quale sono permessi movimenti relativi tra le molecole.

COLESTEROLO: all'interno del doppio strato disturba l'ordine, rendendo più fluida la membrana. È uno **steroide**. La sua struttura è formata da 4 cicli alifatici (3 da 6C e 1 da 5C). Ha natura anfipatica. Nel sangue, il colesterolo viene trasportato da lipoproteine di 2 tipi:

- LDL** (lipoproteine a bassa densità): da fegato a cellule (colesterolo cattivo)
- HDL** (lipoproteine ad alta densità): da cellule a fegato (colesterolo buono)

PROTEINE: sono immerse nel doppio strato lipidico a intervalli irregolari e sono mantenute nella posizione corretta da interazioni idrofobiche. Normalmente il loro orientamento nel doppio strato è asimmetrico.

- integrati di membrana:** sono strettamente associate al doppio strato lipidico
- periferiche di membrana:** si associano alla membrana con interazioni elettrostatiche o legami H
- anfipatiche:** si trovano sia nel citosol che in associazione con le membrane

Esempi:

- proteina integrale → **porina batterica:** struttura a barile β (foglietti β che formano un cilindro)
- proteina periferica → **prostaglandina-H₂-sintasi:** il suo substrato è l'acido arachidonico; il suo prodotto promuove le infiammazioni ed è annullato dall'acido acetilsalicilico (aspirina).

Il trasporto attraverso la membrana può essere:

- mediato** → sfrutta una proteina
- non mediato** → senza l'intervento di proteine
- attivo** → contro gradiente di concentrazione, richiede energia
- passivo** → secondo gradiente di concentrazione

Le proteine coinvolte nel trasporto si dividono in:

- POMPE** → trasporto attivo
- CANALI** → trasporto passivo

~~Proteine~~ Inoltre si distinguono

- proteine trasportatrici → **uniporti:** (trasportano un solo substrato)
- sistemi di cotrasporto:** (trasportano 2 substrati)
 - **antiporti:** (2 soluti in direzioni opposte)
 - **simporti:** (2 soluti nella stessa direzione)

Quando il soluto da trasportare è uno ione, se la somma delle cariche tra ciò che viene portato dentro e fuori non è nulla si parla di **trasporto elettrogenico**.

Na⁺-K⁺-ATPasi: è un antiporto che per ogni molecola di ATP usata trasferisce 3 Na⁺ fuori dalla cellula e 2 K⁺ dentro: dunque il trasporto è elettrogenico.

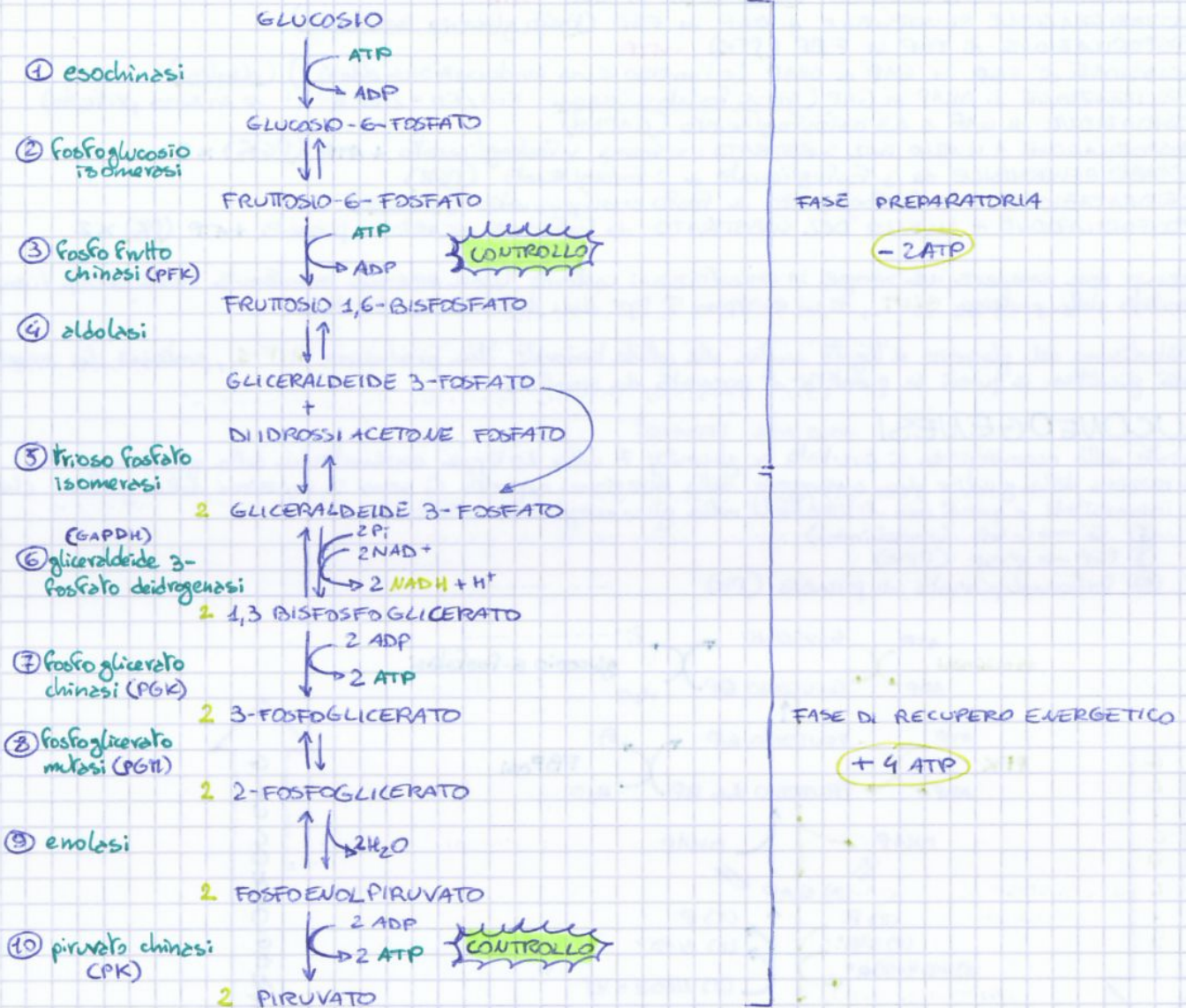
Ca²⁺-ATPasi: è una pompa per il trasporto di Ca²⁺. La concentrazione di Ca²⁺ all'interno della cellula è controllata anche dallo scambiatore sodio-potassio. La Ca²⁺-ATPasi è meno veloce dello scambiatore ma lavora a concentrazioni minori.

MDR: multi resistenza ai farmaci. È una proteina che sviluppa le cellule tumorali ed è in grado di espellere i farmaci. È poco specializzata: è formata da una sola catena polipeptidica con 2 gruppi che legano ATP. È simile al canale del Cloro (**CFTR**: un suo malfunzionamento provoca fibrosi cistica).

Aqueporine: canali per il passaggio di H₂O. Sono tanto specifiche che respingono i protoni.

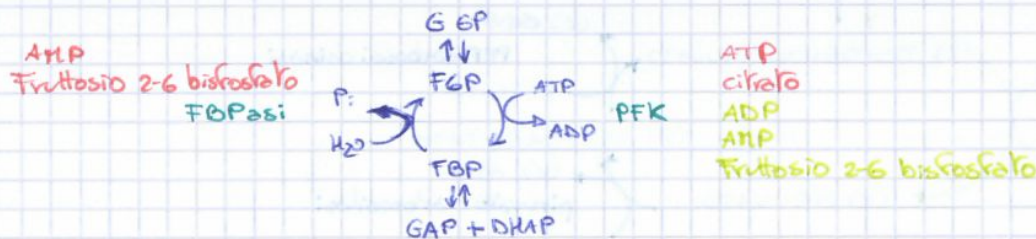
GLPF: canale per il glicerolo. Dimensionalmente potrebbe far passare anche H₂O, ma contiene un filtro con 2 residui amminocidici molto apolari e molto grassi che la respingono. Il glicerolo, essendo meno apolare, può passare.

Reazioni della glicolisi:



La reazione ③ ha $\Delta G < 0$, quindi costituisce un punto di controllo della glicolisi. I meccanismi di controllo sono 3 e sono comuni anche alla gluconeogenesi:

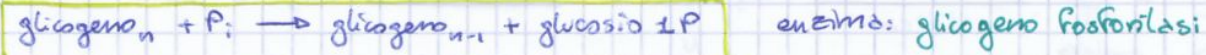
- regolazione da concentrazione del substrato: L'ATP è sia substrato che inibitore, mentre ADP, AMP e fruttosio 2-6 bisfosfato sono attivatori.
- adenilato chinasi (AK): catalizza la reazione $2 \text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$; quando AK provoca un aumento di [AMP] ne deriva un aumento dell'attività di PFK.
- ciclo del substrato: gli attivatori di PFK sono inibitori allosterici della fruttosio 1,6 bisfosfatasi (FBPasi).



Il fruttosio 2-6 bisfosfato è un effettore allosterico di PFK e FBPasi: legandosi a PFK ne aumenta l'affinità per il substrato, mentre legandosi a FBPasi ne diminuisce l'affinità. La formazione di fruttosio 2-6 bisfosfato avviene per fosforilazione di Fruttosio 6P ad opera di PFK-2 e viene de-fosforilato da FBPasi-2 (enzimi diversi da FBPasi e PFK). Il bilancio di queste 2 attività nel fegato è controllato dagli ormoni glucagone e insulina.

La reazione ⑩ è un'altra tappa di controllo perché ha $\Delta G < 0$, ma è meno importante rispetto a ③ perché è molto più avanti nella reazione complessiva. Il fruttosio 1,6 bisfosfato è un attivatore, mentre l'ATP è un inibitore.

Una delle fonti di alimentazione della glicolisi è il **GLICOGENO**.
 Il glicogeno è un polimero del glucosio tenuto insieme da legami glicosidici α1-4 (si tratta di legami elevati). La catena ha una estremità riducente (legame -C=O → aldeide) e una non riducente. Ogni 8-14 residui c'è una ramificazione formata da legami α1-6 glicosidici. In media ci sono 2 ramificazioni per catena. La ramificazione comporta che ci siano tante estremità non riducenti; solo una estremità riducente.
 Quando c'è bisogno di glucosio, lo si stacca dal glicogeno partendo dalle estremità non riducenti:

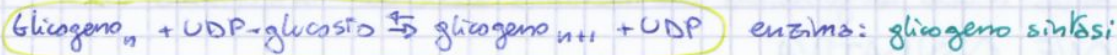
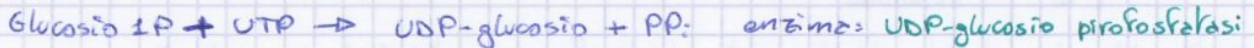


La glicogeno fosforilasi rompe i legami della catena lineare: la reazione ha ΔG < 0. A partire da 3 residui prima della ramificazione, la glicogeno fosforilasi non funziona più. L'enzima **deramificante** stacca le 3 unità di glucosio e le attacca all'estremità non riducente della catena. Resta un glucosio legato con legame α1-6; viene staccato dall'enzima deramificante, formando un glucosio libero che deve essere fosforilato con 1 ATP (10% del prodotto). L'enzima deramificante è più lento della glicogeno fosforilasi.

Afinché il glucosio possa essere usato nella glicolisi deve avvenire anche:



In caso di eccesso di glucosio si sintetizza glicogeno tramite un'altra via (perché la demolizione del glicogeno ha ΔG < 0). Il glucosio 1P viene convertito in UDP-glucosio:



CICLO DELL'ACIDO CITRICO

È caratteristico del metabolismo aerobico.

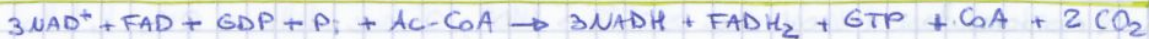
Metabolismo aerobico: produce più energia di quello anaerobico, ma è lento e forma pericolosi metaboliti di O⁻ (radicali liberi).

Il piruvato viene convertito in Acetil-CoA, molecola che concentra energia in un legame coestere. L'Acetil-CoA entra poi nel ciclo catalitico dell'acido citrico, detto anche ciclo di Krebs o ciclo degli acidi tricarbossilici.

Funzioni del ciclo dell'acido citrico:

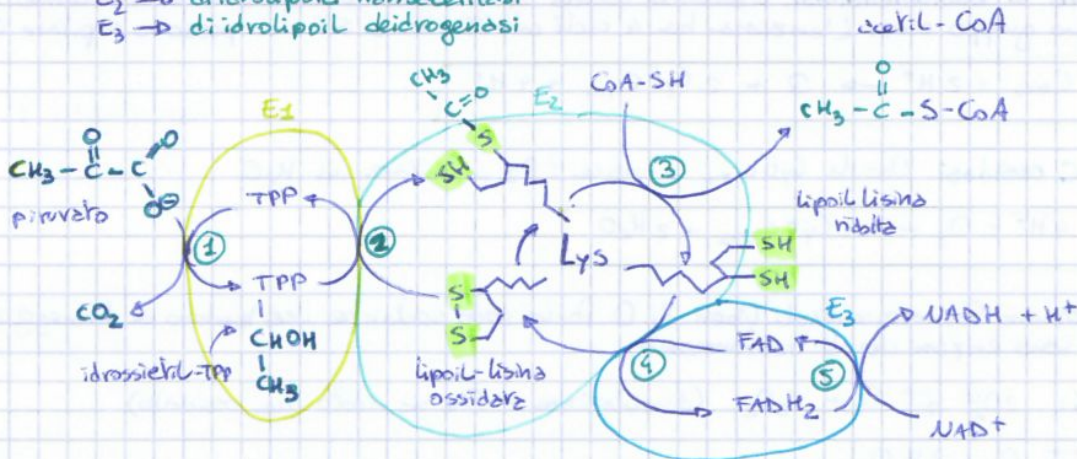
- ossidare C → si ossida 1 gruppo acetato a 2 CO₂ con trasferimento di 4 coppie di e⁻.
 - produrre 1 GTP
 - produrre precursori per la biosintesi di altri composti; (per es. amminiacidi o acidi grassi)
- Il ciclo procede lentamente se c'è già tanta energia.

Reazione totale:



OSSIDAZIONE DI PIRUVATO A ACETIL-COA: è una reazione che avviene prima del ciclo di Krebs. Viene catalizzata dal complesso della piruvato deidrogenasi. La reazione è una decarbossilazione ossidativa. Il complesso enzimatico è costituito da molte copie di 3 enzimi:

- E₁ → piruvato deidrogenasi
- E₂ → diidrolipoil transacetilasi
- E₃ → diidrolipoil deidrogenasi



- 1 E₁ toglie CO₂ al piruvato e forma idrossietil-TPP.
- 2 E₂ catalizza il trasferimento di 2 e⁻ e del gruppo acetilico da TPP a lipoil lisina ossidante.
- 3 E₂ catalizza una transesterificazione: l'acetile viene trasferito a Co-A e rimane lipoil lisina ridotta.
- 4 E₃ catalizza il trasferimento di 2 H al suo gruppo FAD, ripristinando lipoil lisina ossidante in E₂.
- 5 NAD⁺ ossida FADH₂ a FAD, diventando NADH + H⁺ e ripristinando la condizione iniziale dell'enzima.

SISTEMI NAVE 114

Nei muscoli:

GLICEROLO 3P: in presenza di NADH il diidrossiacetone fosfato si riduce a glicerolo 3P. Tramite il glicerolo 3P, una proteina di membrana del mitocondrio riduce FAD a FADH₂, che a sua volta riduce Q a QH₂. Usare FAD nella fosforilazione ossidativa, però, comporta la formazione di un nuovo gradiente (si perde il passaggio ①, entrando in ②).

In fegato e cuore:

MALATO / ASPARTATO: ossalacetato $\xrightarrow{\text{riduzione}}$ malato.

Il malato viene portato nei mitocondri

malato $\xrightarrow{\text{ossidato}}$ ossalacetato

ossalacetato \rightarrow aspartato

L'aspartato viene portato fuori dai mitocondri

aspartato \rightarrow ossalacetato

Nei mitocondri:

ATP / ADP Translocasi: si trova sulla membrana mitocondriale. Porta dentro ADP e fuori ATP.

OSSIDAZIONE COMPLETA DEL GLUCOSIO

glicolisi + piruvato \rightarrow acetyl-CoA + cicloacido citrico + fosfo. ~~metabolica~~ ^{ossidativa} = 30/32 ATP

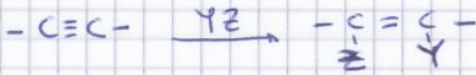
In certi casi la **proteina disaccoppiante** disaccoppia la produzione di gradiente protonico dalla produzione di ATP per produrre calore.

FLAGELLI

Sono un esempio di motore molecolare. Si muovono sfruttando un gradiente protonico e la loro velocità è di 25 $\mu\text{m/s}$ (10 volte la loro lunghezza per s). Il meccanismo è simile a quello della ATP sintasi. Il percorso del batterio è a zig-zag: il cambio di direzione è ottenuto invertendo il senso di rotazione del motore.

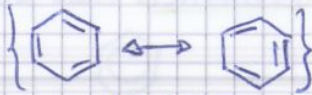
Se la proteina **CheY** è connessa al motore, essa provoca una rotazione in senso orario che fa girare il batterio su se stesso. In presenza di sostanze nutritive, CheY si stacca e il batterio può procedere in modo rettilineo. È un esempio di chemotassi (\Rightarrow segnalazione chimica).

Reazioni: **ADDIZIONE** di H_2, X_2, HX, H_2O



AROMATICI: struttura ad anello planare con nuvole di $4n+2 e^-$ ($n \rightarrow$ numero anelli)

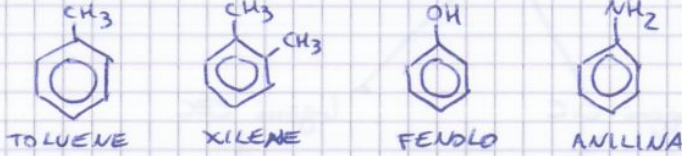
Risonanza:



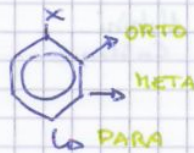
C-C benzene = $1,35 \text{ \AA}$ \rightarrow meno di C=C, più di C-C

BENZENE

Benzene sostituito:



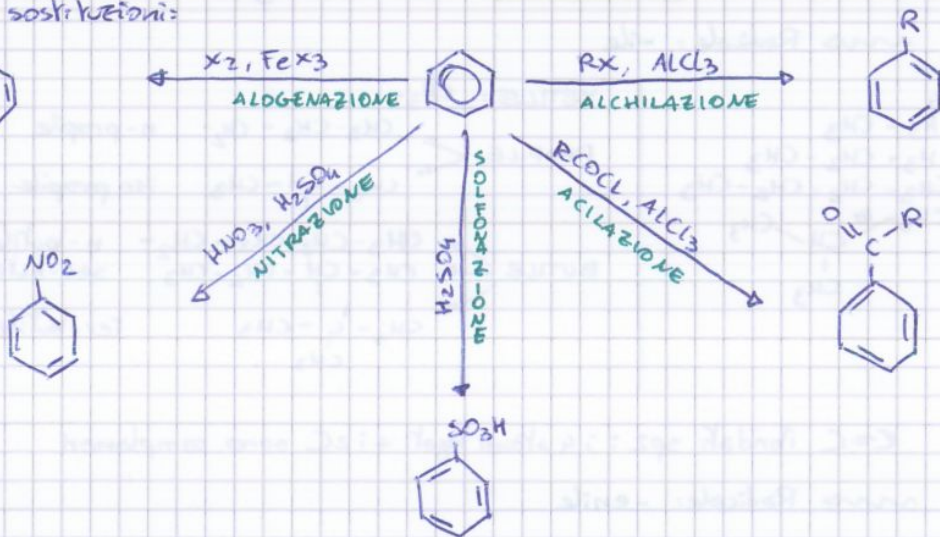
Benzene bisostituito:



Reazioni: **SOSTITUZIONE ELETTROFILA AROMATICA** - Meccanismo:



Possibili sostituzioni:



Nel caso di 2 sostituzioni: **SOSTITUENTI ATTIVANTI** \Rightarrow posizioni **ORTO e PARA**
SOSTITUENTI DISATTIVANTI \Rightarrow posizione **META**

ATTIVANTI:

FORTI: $-NH_2, -NHR, -NR_2, -OH$

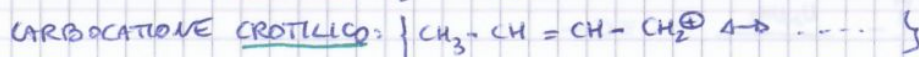
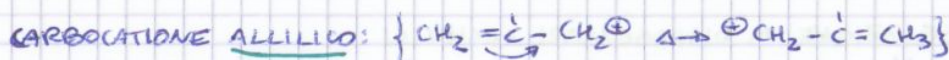
MEDI: $-OCH_3, -NHCOCH_3$

DEBOLI: $-C_6H_5, -CH_3$

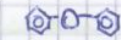
DISATTIVANTI:

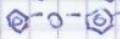
$-NO_2, -N(CH_3)_3^+, -CN, -COOH, -COOR, -SO_3H, -CHO, -COR$


ECCEZIONE: gli alogeni ($-F, -Cl, -Br, -I$) sono disattivanti, ma assumono posizione orto o para.



ETERI: spesso sono usati come solventi perché sono poco reattivi.

ETERI SEMPLICI (simmetrici): $R-O-R$; 

ETERI MISTI (asimmetrici): R^1-O-R^2 ; 

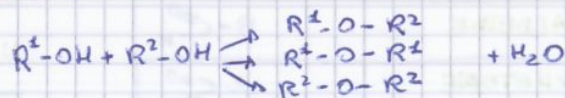
ETERI CICLICI (epossidi) \rightarrow  \rightarrow ossirano

gli epossidi sono molto reattivi!

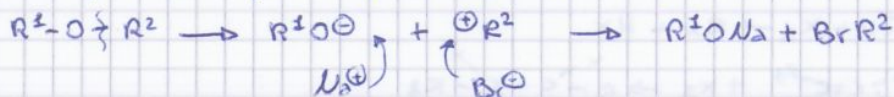
Preparazione:

• disidratazione di alcoli (SOLO per alcoli semplici!!): $R-OH + HO-R \rightarrow R-O-R + H_2O$

con alcoli misti si ottiene la miscela di più prodotti:

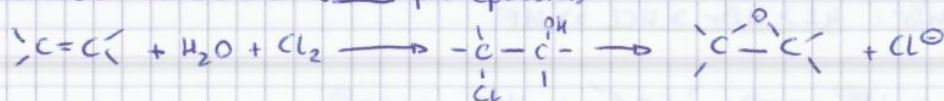


• retrosintesi (**SINTESI DI WILLIAMSON**): idealmente si parte dal prodotto che si vuole ottenere e lo si spezza per capire quali reagenti utilizzare.

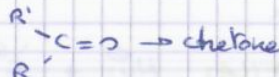
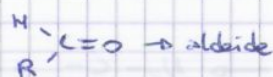


La reazione sarà: $R^1ONa + BrR^2 \rightarrow R^1-O-R^2 + NaBr$

• ossidazione di alcheni (SOLO per epossidi):

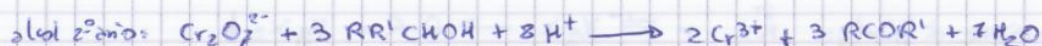
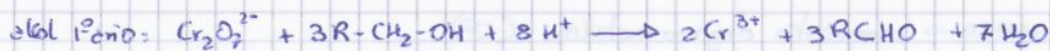


ALDEIDI e CHETONI:

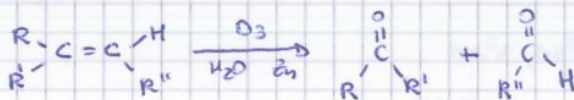


Preparazione:

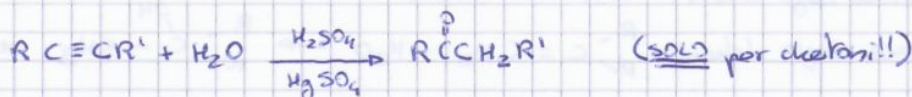
• ossidazione di alcoli 1° e 2° (ambiente acido: dicromato di sodio)



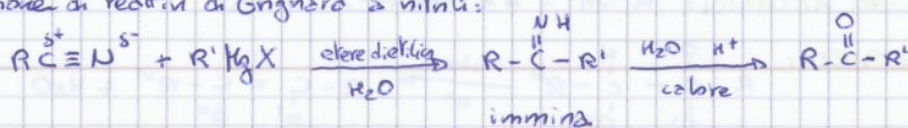
• ozonolisi di alcheni:



• idratazione di alchini:



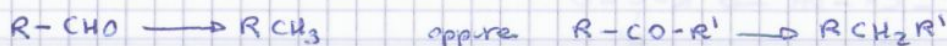
• addizione di reattivi di Grignard a nitrili:



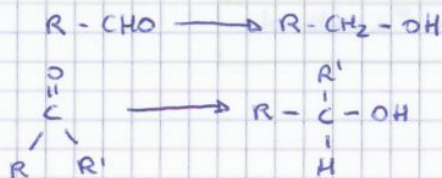
ATTENZIONE! Le immine sono **basi di Schiff**, cioè gruppi carbonilici mascherati.

Reazioni:

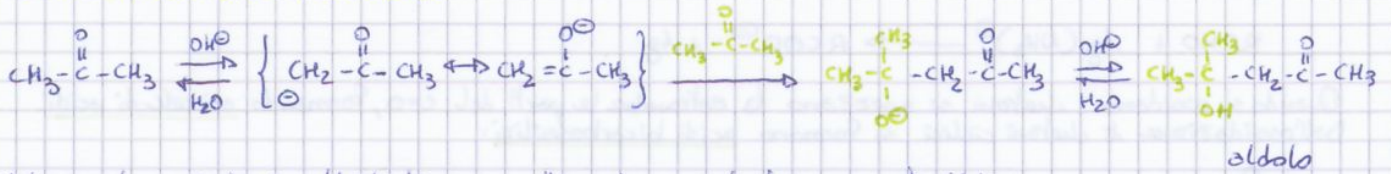
• **RIDUZIONE AD IDROCARBURI:**



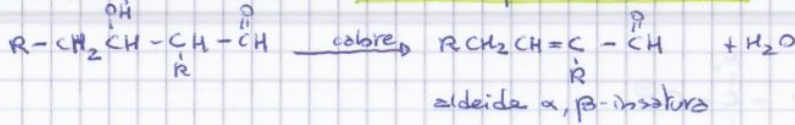
• **RIDUZIONE AD ALCOLI:**



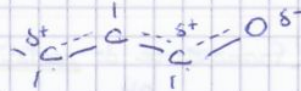
CONDENSAZIONE ALDOLICA:



Utilizzando 2 chetoni o aldeidi diversi si ottiene la miscela di 4 composti aldolici. Gli aldoli ottenuti possono essere disidratati per riscaldamento:

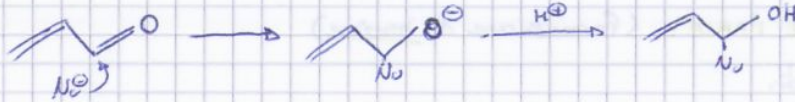


Il composto finale ha 3 forme di risonanza:

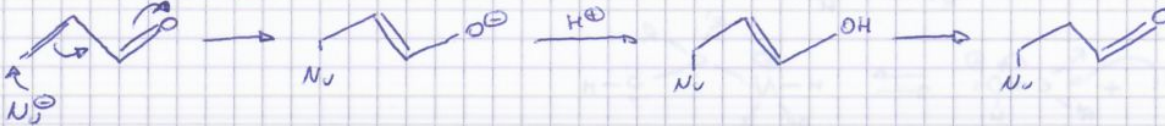


Ci sono 2 zone suscettibili di addizione nucleofila:

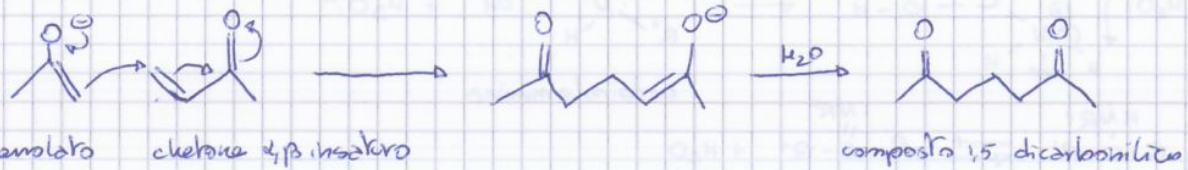
→ addizione diretta (o addizione 1,2): il Nu si attacca al C carbonilico:



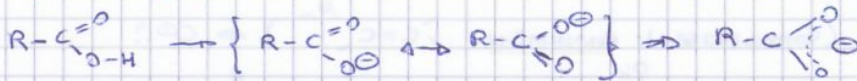
→ addizione coniugata (addizione 1,4): il Nu si attacca al C β :



→ reazione di Michael: addizione coniugata di un enolato (Nu debole) a un composto carbonilico α, β insaturo.



ACIDI CARBOSSILICI: composti: acidi causa risonanza ione carbossilato:

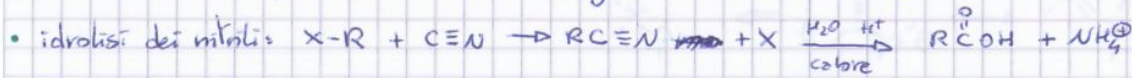


Gli acidi carbossilici sono intercole anfipatici.

Preparazione:

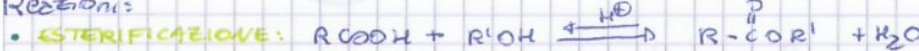


Questa reazione può essere usata per allungare catena carboniosa



• ossidazione di alcoli primari, aldeidi, catena laterale di α -chilbenzeni

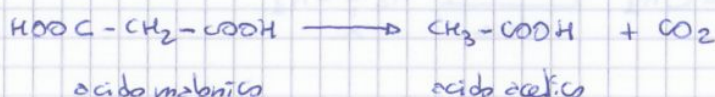
Reazioni:



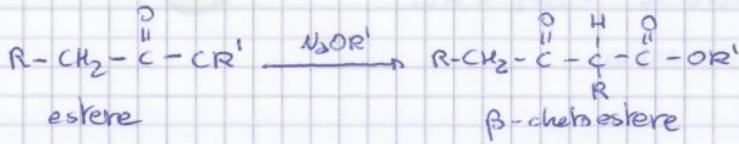
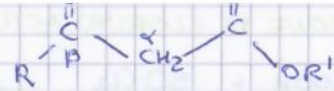
È una sest. ruzione nucleofila acidica: $\left\{ \begin{array}{l} \text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}- \rightarrow \text{acido} \\ \text{R}- \rightarrow \text{alchile} \end{array} \right.$



Reazione rara, ma avviene per i derivati dell'acido malonico:

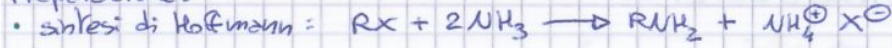


CONDENSAZIONE DI CLAISEN: usata per produrre β chetoesteri:



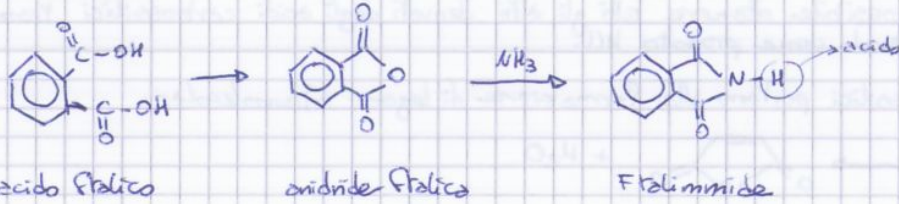
AMMINE: N ibridato sp^3 , ma solo 3 legami perché il vertice del tetraedro è un doppietto elettronico. N non è chirale! Le ammine sono basiche \Rightarrow nucleofila.

Preparazione:

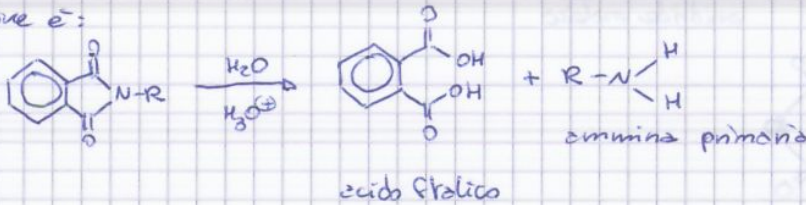


Serve eccesso di ammoniaca

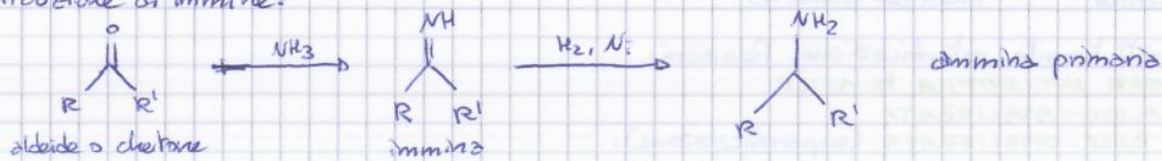
• sintesi di Gabriel: trasforma alogeno alchilico in una ammina farnia. Serve il sale di potassio della ftalimide.



La reazione è:

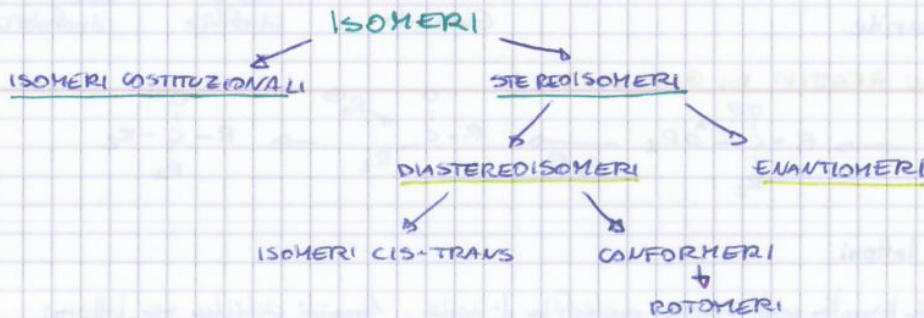


• riduzione di immine:



TIOLI o MERCAPTANI: $R-S-H$

TIOETERI: $R-S-R'$



I conformeri si possono trasformare l'uno nell'altro tramite rotazione intorno a un legame semplice. La conformazione più stabile è quella sfalsata, quella meno stabile quella eclissata.

sfalsata



eclissata:

