



Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino

Appunti universitari

Tesi di laurea

Cartoleria e cancelleria

Stampa file e fotocopie

Print on demand

Rilegature

NUMERO: 1206

DATA: 27/10/2014

A P P U N T I

STUDENTE: Bettale

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 di CARDELLI

Schemi

+

Temì d'esame svolti

+

Riassunti parti impo x l'esame

Val mio appello:

TESTI DA CORREGGERE

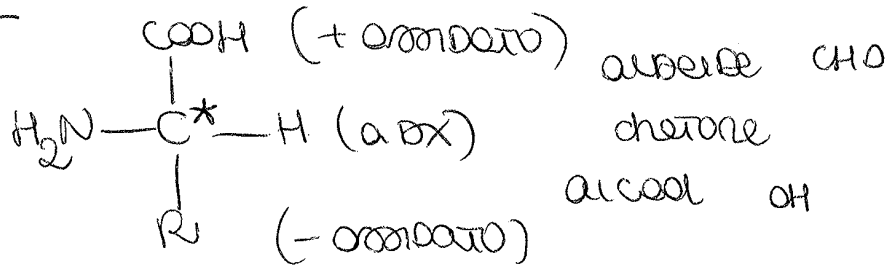
QUIZ

TESTI DA COMPLETARE

NO DOMANDE APERTE

AA

- ANFOTERI < GRUPPO CARBOSSILICO COO⁻ (acido)
GRUPPO AMMINICO NH₃⁺ (basico) prevale
- SONO TUTTI L



● classificazione

catena laterale (idrofobica) **anfatica** Gly, Ala, Val, Leu
Isoleu, Met

catena laterale (idrofobica) **aromatica** Pro, Phe, Tyr, Trp

idrofobi Gly, Ala, Val, Pro, Met, Ile,

GRUPPI **ossidabili** Ser, Thr, (Cys) → SH forma ponti disolfuro

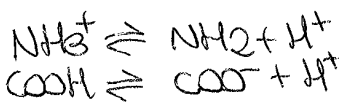
Basici Lys, Arg, His (NH₂)

acidi Asp, Glu, Asn, Gln (COOH)

polari Ser, Thr, Tyr, His, Cys, Asn, Gln, Trp

carica elettrica Asp, Glu, Lys, Arg

punto isoelettrico = pH in cui l'AA è completamente nella forma isoelettrica, in cui trova solo zwitterioni



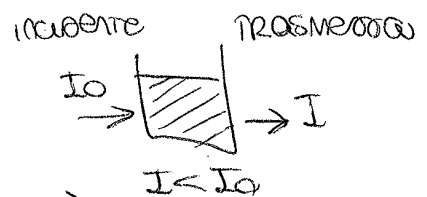
$$K_{eq} = \frac{[\text{A}][\text{H}^+]}{[\text{AH}]}$$

$$K_{eq} = \frac{[\text{NH}_2][\text{H}^+]}{[\text{NH}_3^+]}$$

$$K_{eq} = \frac{[\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{COOH}]}$$

assorbanza legge di Lambert-Beer

$$A = \frac{1}{T} \text{ con } T = \text{trasmissione} = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$



$$A = Ebc$$

trasparenza **assorbimento molar** per energia unitaria ad una certa λ e la sua densità ad un'area λ

ESPERIMENTI PROTEINE

← solubilità
 ← dimensioni
 ← carica (≠ pH)
 ← affinità di legame

● CENTRIFUGAZIONE DIFFERENZIALE (a diverse velocità)

separare proteine da cellule
 prima Break up, distribuzione membr. cell
 sedimentano prima gli organelli più pesanti poi i piccoli

cellula
 nuclei
 organelli
 citosol

Purificazione

● SALTING OUT = purificazione frazionata x saturazione

solubilità proteina ↓ ↑ concentrazione sali

la meno ionica precipita subito

● DIFFUSI (dimensioni)

membrana semipermeabile
 molecole piccole passano in soluzione

● CLAMATOGRAFIA x FRAZIONAZIONE SU GEL (dimensioni)

colonna con granuli porosi (polimere gel)
 molecole piccole si inseriscono dentro
 molecole grandi escono subito

GPC
 SEC

● CLAMATOGRAFIA a SCAMBIO IONICO

colonna con granuli carichi che interagiscono (aumento sale)
 proteina neutra, poco carica esce
 + sale
 proteina prima legate ora esce

● CLAMATOGRAFIA DI AFFINITÀ

proteina con affinità x granuli resterà attaccata mentre le altre escono

● ELETTROFORESI SU GEL DI POLIACRILAMMIDE (PAGE)

gel di preparazione poroso
 applico campo elettrico

} migrano sul polo opposto alla carica, ma si fermano in striati a seconda della dimensione

elettroforetogramma

diverse velocità $v = \frac{Ez}{f}$ $f = 6\pi\eta r$

anche in condizioni denaturanti con SDS che spezza tutte interazioni non covalenti (e mercaptoetandolo x ponti S-S)

oppure doppia separazione su gel si crea il gradiente di pH proteina si ferma nel pH = punto isoelettrico

↓ elettrofonesi
 ● biomercuriale

● UN'ALTRA CENTRIFUGAZIONE

separazione con gradiente di densità

$S = \frac{m(1 - \nu\rho)}{f} = \text{coefficiente di sedimentazione}$

ENZIMI proteina in grado di catalizzare una reazione chimica

- apoenzima
- cofattore / coenzima
- gruppo prostetico
- oloenzima
- zimogeno
- substrato
- prodotto
- sito attivo
- sito allosterico

- $\Delta G < 0$ esotergico spont
- $\Delta G = 0$ equilibrio
- $\Delta G > 0$ endotergico non spont

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[prod]}{[reag]}$$

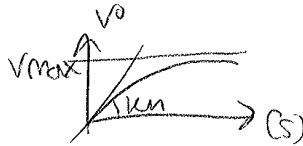
equilibrio
 se $\Delta G = 0, \Delta G^0 = -RT \ln \frac{[P]}{[R]} = -RT \ln K_{eq}$

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[R]} = 10^{-\frac{\Delta G^0}{2.303 RT}}$$

$R = 1.987 \cdot 10^{-3} \text{ kcal/mol}^\circ\text{C}$
 $T = 298 \text{ K}$

EQ DI MICHAELIS-MENTEN

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$



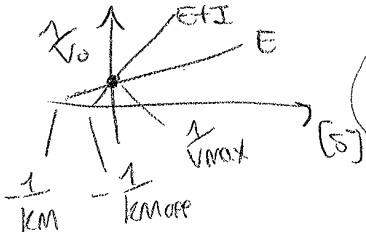
$$k_{cat} = \frac{n \cdot \text{turn over}}{[E]_T} = \frac{V_{max}}{[E]_T}$$

K_m concentrazione di $[S]$ quando $v = \frac{v_{max}}{2}$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

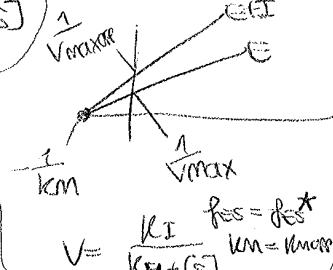
INIBIZIONE

• competitiva
 ↳ tendenza aumento $[S]$



$K_{mapp} = \alpha K_m / V_{maxapp} = \frac{V_{max}}{\alpha}$
 $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$
 $V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m \alpha + [S]}$

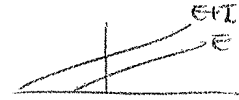
• non competitiva



$V = \frac{K_I}{K_m + [S]}$ $f_{es} = f_{es}^*$ $K_m = K_{mapp}$

$\frac{f_{es}}{f_{es}^*} = \frac{V_0}{V_{0app}}$

• incompetitiva

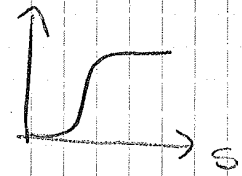


$$\frac{V_{max}}{K_m} = \frac{V_{max}^{app}}{K_m^{app}}$$

$f_{EI} = \frac{[I]}{K_I} \frac{1}{1 + \frac{[S]}{K_m} + \frac{[I]}{K_I}}$
 $f_{es}^* = \frac{[S]}{K_m + [S]}$ $f_{es} = \frac{[S]}{K_m + [S]} = f_{es}^*$

ENZIMI
ALLOSTERICI

SIGMOIDE
NEL COMPLESSO [ES] AD
MODIFICARE IL PROPRIO SITO ATTIVO



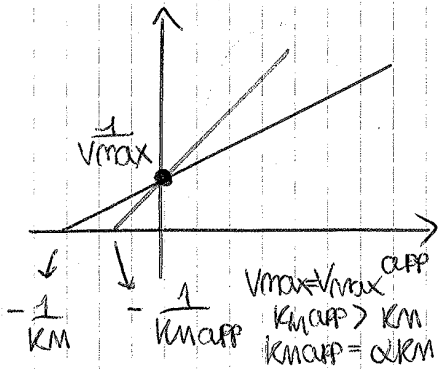
INIBIZIONE REVERSIBILE:

① COMPETITIVA

I ES COMPETONO X IL SITO ATTIVO

REMOVIBILE: ↑ [S]

$$v = \frac{V_{max} [S]}{\alpha K_M + [S]}$$



$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

$$f_{EI} = \frac{[E_0]}{[E]} = \frac{\frac{[I]}{K_I}}{1 + \frac{[S]}{K_M} + \frac{[I]}{K_I}}$$

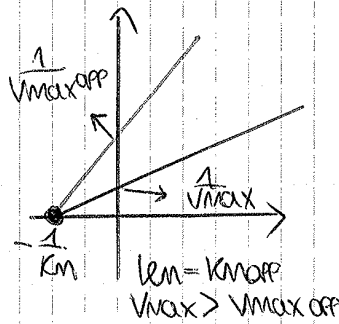
$$f_{ES} = \frac{[S]}{K_{Mapp} + [S]} < f_{ES} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

② NON COMPETITIVA

I SI LEGA A E O ES NON NEL SITO ATTIVO

NON REMOVIBILE
AE ↑ [S]

$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$



$$K_{Mapp} = \alpha K_M$$

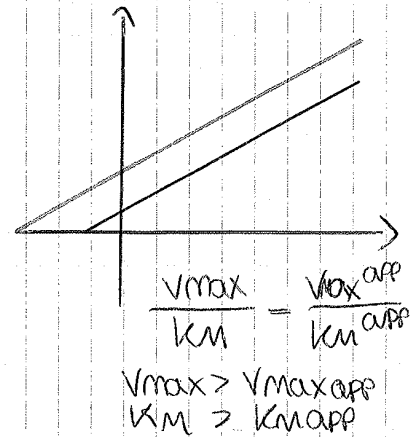
$$V_{maxapp} = \frac{V_{max}}{\alpha}$$

③ INCOMPETITIVA

I SI LEGA A ES

AE ↑ [S], L'INIBIZIONE AUMENTA

$$v = \frac{\frac{V_{max} [S]}{\alpha}}{\frac{K_M}{\alpha} + [S]} = \frac{V_{max} [S]}{K_M + \alpha [S]}$$



ASSORBIMENTO: LEGGE DI LAMBERT-BEER

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I_s} \right)$$

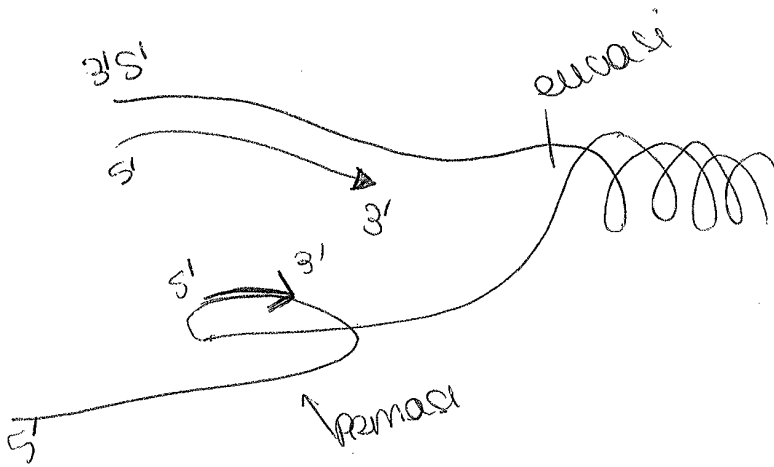
$$A = \epsilon c d < 1$$

coeff di estinzione molare [] = Molarità
 ↓
 cammino ottico

UNITA' MISURA

$$\text{dalton} = \frac{g}{mol}$$

$$M = \frac{mol}{l}$$



catena wa per
catena ritardata
DNA-polimerasi
PRIMER (RNA)
elicasi
PRIMASI = crea DNA
DNA LIGASI

- DNA-polimerasi non inizia la catena ex novo x il meccanismo di continuo → PRIMER
- TAGUA PRIMER
- TAGUA ERRORI
- ATTACCA NUCLEOTIDI
- TAGUA PRIMER DEL F.O.K. e simmetria nuovo DNA

● MUTAZIONI $\left\{ \begin{array}{l} \text{AGENTI OSHUANTI} \\ \text{RADIAZIONI IONIZZANTI (UV)} \end{array} \right.$

MUT. ANTIFORMI $\left\{ \begin{array}{l} \text{MUTAZIONE RR/RR} \\ \text{RR/RR} \\ \text{RR/RR} \\ \text{TRANSVERSIONE RR/RR} \end{array} \right.$

INSERZIONE
DELEZIONE
AGENTI INTERCALANTI

5BU
HNO₂

UN DNA RIMOTO DA URACILE-N-GLUCOSILASI + AP ENDONUCLEASI, CHE TAGUA IL DNA COSTI VENE RIMOTO IL PEZZO GIUSTO

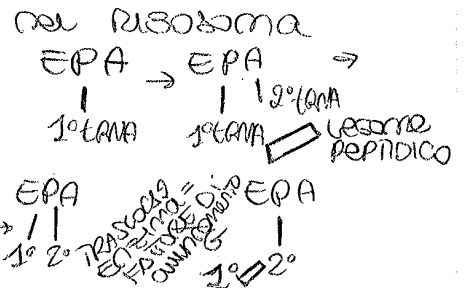
TEST DI AMER x SOSTANZE CANCEROGENE

● TRASCRIZIONE (+ lenta della replicazione)
RNA polimerasi : Come prima lesame Fosfato + PPI + 2Pi (H₂O)
inizia grazie ai FATTORI DI TRASCRIZIONE (PROTEINE)
+ proteina che attacca mRNA DA DNA SITI PROMOTORI SUL DNA
+ METILAZIONE / SPLICING IS INTRON (ESON)

TRNA MATURAZIONE $\left\{ \begin{array}{l} \text{AGGIUNTO ACC (LESAME X AD)} \\ \text{TACCO INTRON X SPLICING} \end{array} \right.$

● TRADUZIONE
tRNA $\left\{ \begin{array}{l} \text{ACC + AA} \\ \text{LESAME ESTEREO} \\ \text{OH-COO} \end{array} \right.$
omologazione (21)

Basì modificate! $\left\{ \begin{array}{l} \text{JGC} \\ \text{UCG} \\ \text{ACG} \\ \text{COC} \end{array} \right.$ riconosce 3 codone! x10 spara

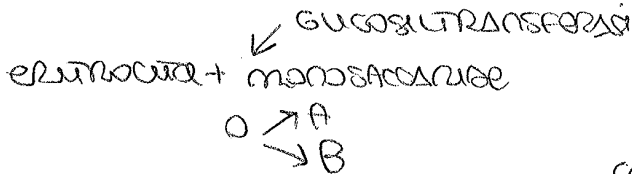


● GAG (GLUCOSAMMINOGUCANI)

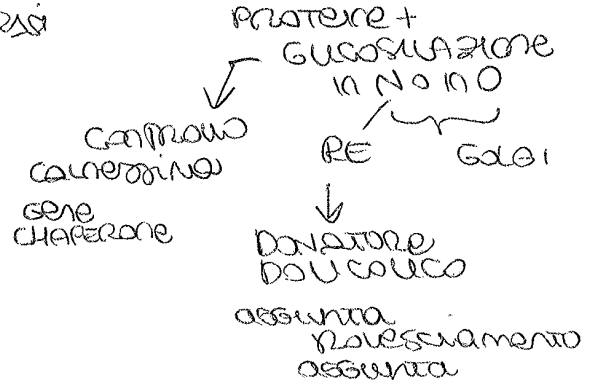
● GAG + Proteine =
PROTEOGUCANI

ACIDO IANNOICO
|
ASSIETICO

● DIGOSACCARIDI e GRUPPO SANGUIGNO



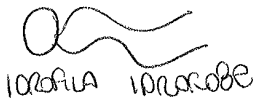
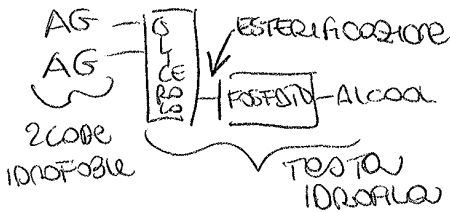
● GLUCOPROTEINE



LIPIDI

● FOSFOGLIPIDI (molecole anfipatiche)

micelle
liposomi
doppi strati



● TRIGLICERIDI

● STEROIDI

COLESTEROLO

ACIDI < BESA
I PENTA

TESTOSTERONE
PROGESTERONE

TUTTO IDROFOBO
TRONCO OH
IDROFILICO

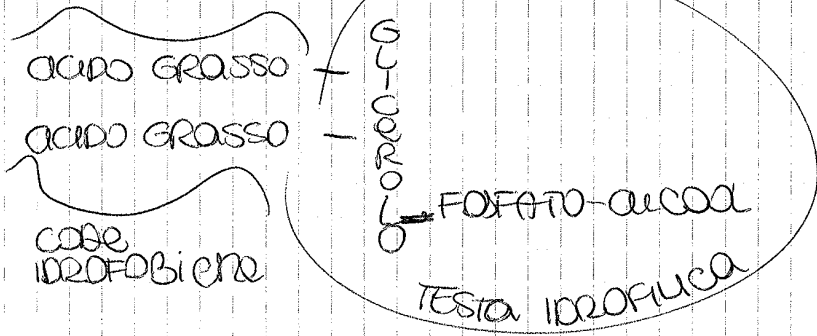
(ITRINA MEMBRANA)

↓
proprietà
viscoelastiche

HDL ✓
LDL X
aqua densita
Lipoproteina

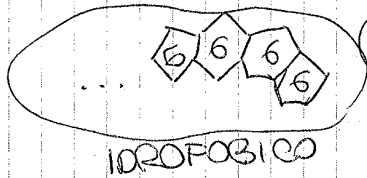
MEMBRANA

* FOSFOUPIDI



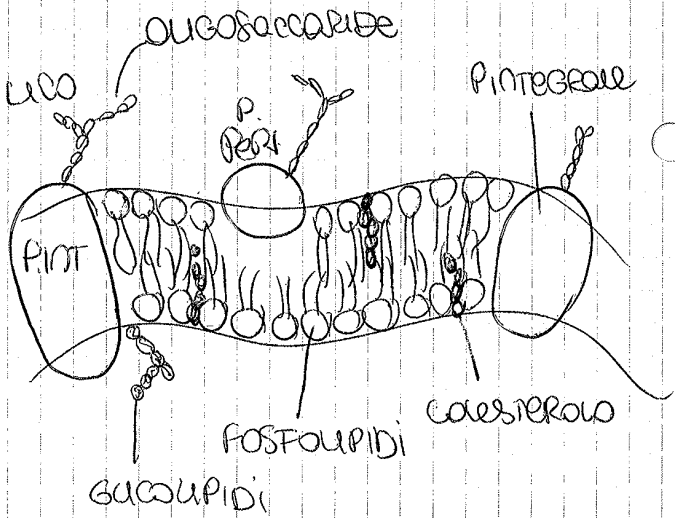
MEMBRANE
LIPOSOMA
MICELLE

* COLESTEROLO



* GUCOUPIDI

GLICOLIPIDI
FOSFOGLICERIDI
SFINGOMIELINA



$$\Delta G = RT \ln \frac{[A]_in}{[A]_out} + nF\Delta E$$

POSITIVO
PROTEINA
GRADIENTE

T. MEDICATO
ATTIVO
PROTEINA
CONTRO G
ATP

TION MEDICATO
DIFFUSIONE
IONFORI / CANALI NATURALI

● Pompa Na/K

E1

3Na⁺ presente da dentro

ATP

Formazione

rilascio ADP
E2 cambia conformazione

3Na⁺ fuori

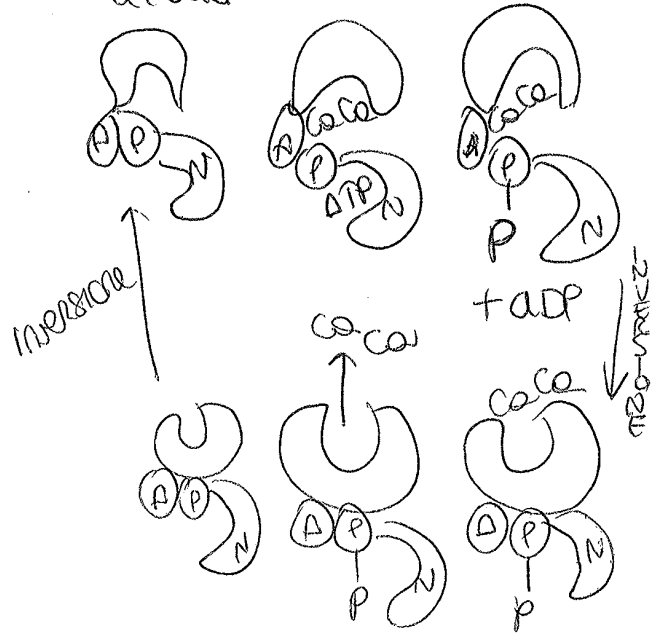
2K⁺ presente da fuori

ATP

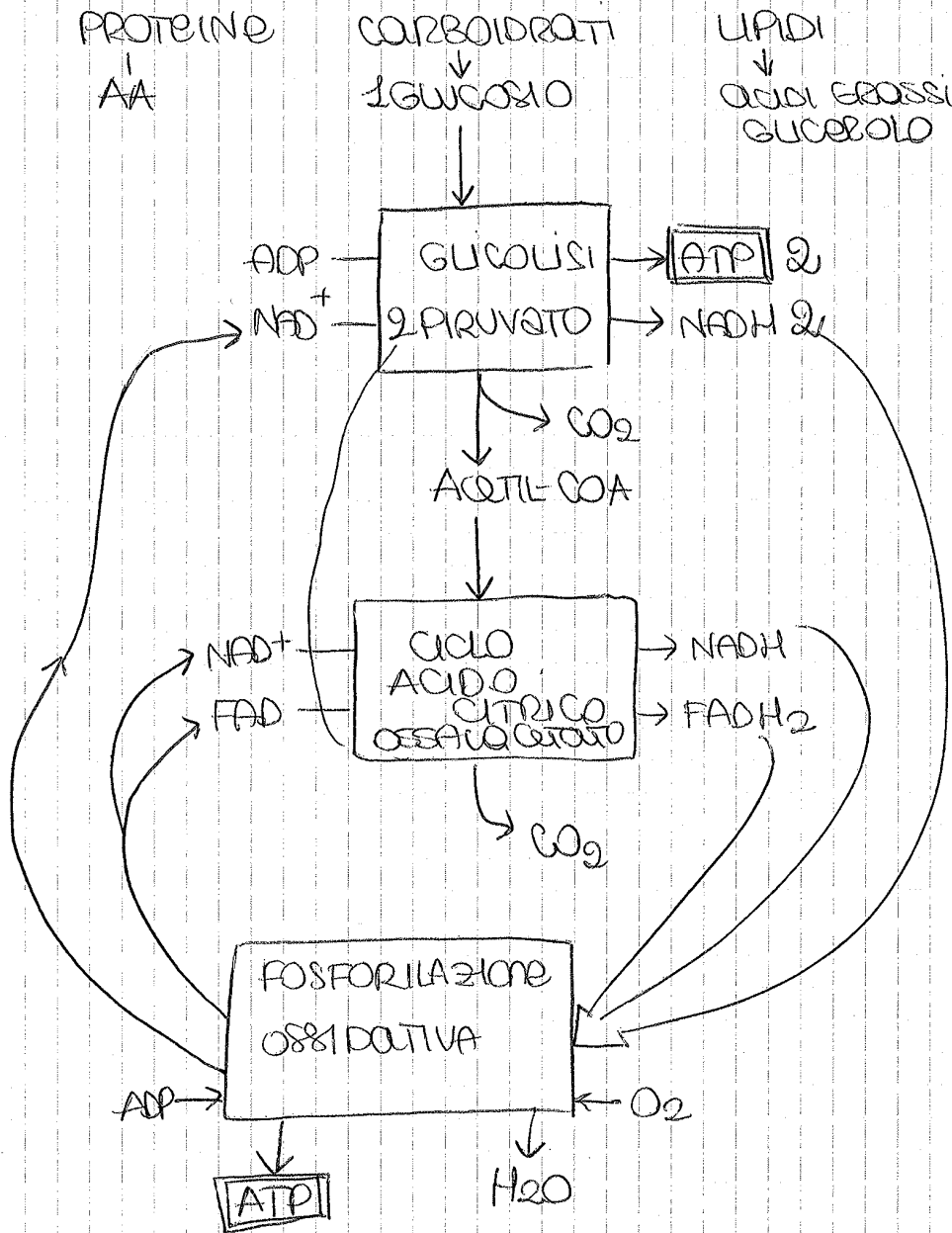
~~Formazione~~

fosforilazione
rilascio P
E2 cambia conformazione
2K⁺ dentro

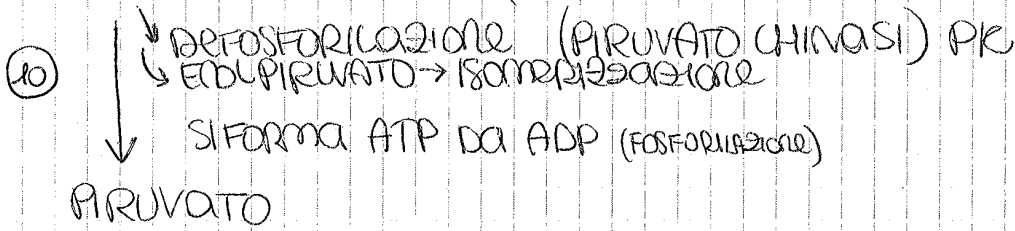
● Idem pompa Ca²⁺
da dentro (e)
a fuori



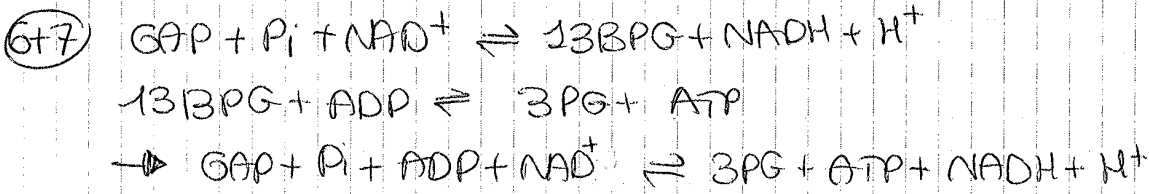
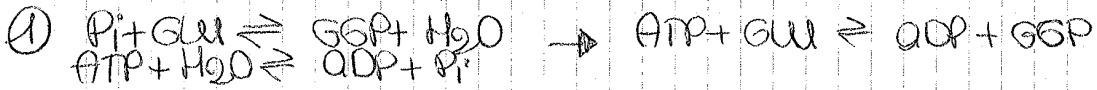
METABOLISMO



FOSFOENOLPIRUVATO (PEP)



GLUCOSE a GLU :
 FRU → F6P
 FRU → F1P
 D-GAL → G1P
 MAN → F6P
 GLICOGENO → G6P

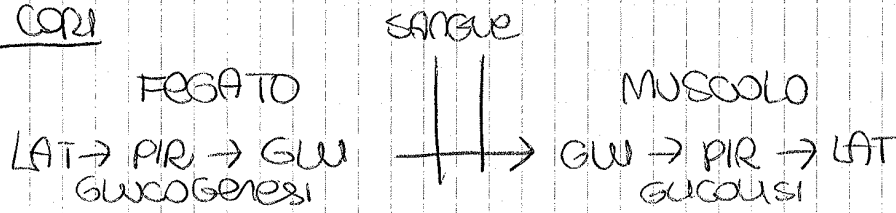


⑩

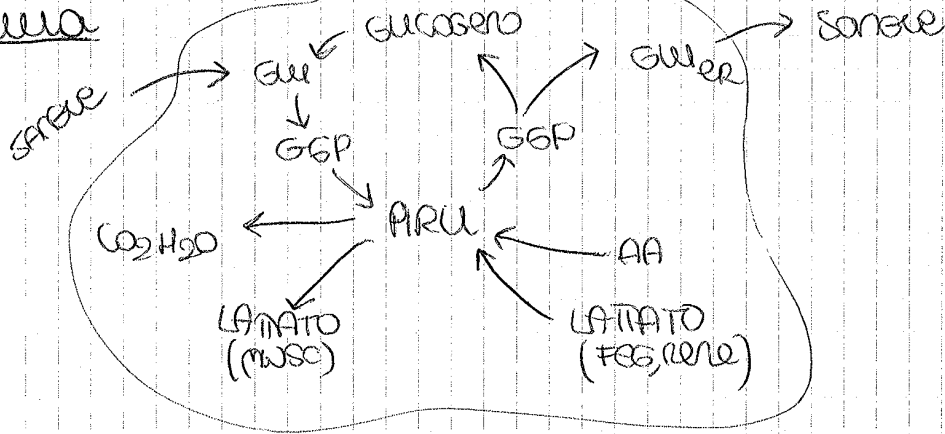
PFK
 attivato da ADP AMP
 inibito da ATP
 attivato da F6P BP (PFK2)
 inibito da F6P (FBPasi 2 FOSFORILATO)
 attivato da ADP ADENILATO CHINASI
 IL RLO INVERSO e- IL FBPasi
 attivato se FBPasi e- inibito } enzima Doppio

PK
 attivato se defosforilato
 inibito se fosforilato

CICLO CORI



CELLULA



GLUCOSIO

impacchettamento del glucosio

demolito con GP GUCOSIO FOSFORILASI (G1P)
 ED ENZ. DEMOLITANTE
 PO 8 FO GLUCOMUTASI G1P → G6P

sintetizzato con

UDP GLUCOSIO PIROFOSFORILASI
 PIROFOSFATASI INORGANICA
 GUCOSIO SINTASI
 $G1P + UTP \rightarrow UDP\text{-}GLUCOSIO + P_i$
 $P_i \rightarrow 2P_i$
 $UDP\text{-}GLUCOSIO \rightarrow UDP + GLUCOSIO$

BILANCIO

① Glicolisi

- 1) FOSFORILAZIONE GLUCOSIO - 1 ATP
- 3) FOSFORILAZIONE FRUTOSIO 6P - 1 ATP
- 7) DEFOSFORILAZIONE 2 1,3BPG + 2 ATP
- 10) DEFOSFORILAZIONE 2 PEP + 2 ATP
- 6) OSSIDAZIONE 2 GAP + 2 NADH

[BILANCIO NETTO GLICOLISI 2 ATP + 2 NADH]

② conversione Pyr in AcCoA + 2 NADH

③ ciclo acido citrico

- 2 succinil CoA → 2 succinina 3P + 2 ATP
- 2 malato + 2 α-chetoglutarato + 2 isocitrato → + 6 NADH
- 2 succinato → ox → + 2 FADH₂

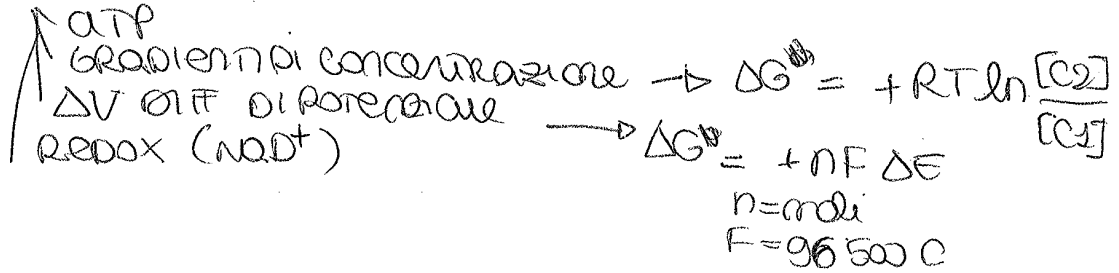
[siamo a 4 ATP, 8 NADH, 2 FADH₂]

④ ossidazione ox

- | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| trasporto 2 NADH (gluco) | $2 \times \frac{1}{2} S = 30 ATP$ |
| decarbossilazione ox di pir 2 NADH | $2 \times 2 S = 50 ATP$ |
| ciclo ac. 6 NADH | $6 \times \frac{1}{2} S = 15$ |
| ciclo ac. 2 FADH ₂ | $2 \times \frac{1}{2} S = 3$ |

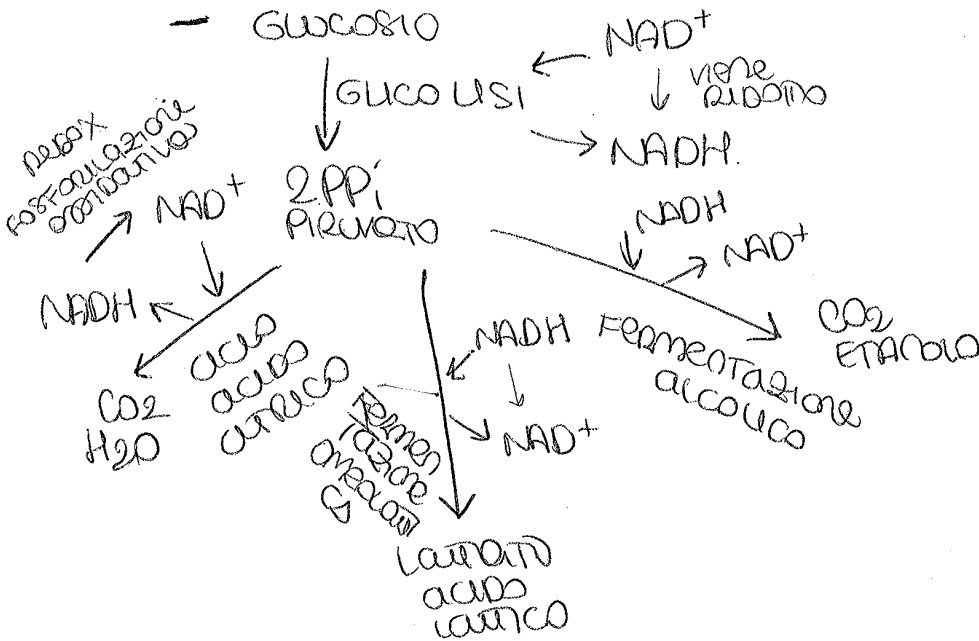
~~160~~
30 ATP

◦ CONSERVAZIONE ENERGIA



ex: FOSFORILAZIONE ADP → ATP + SPOSTAMENTO PROTONICO

◦ CONTROLLO METABOLISMO
 avere ENERGIA in BREVE TEMPO

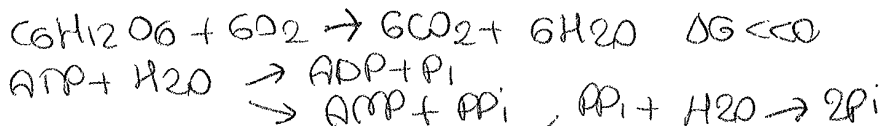
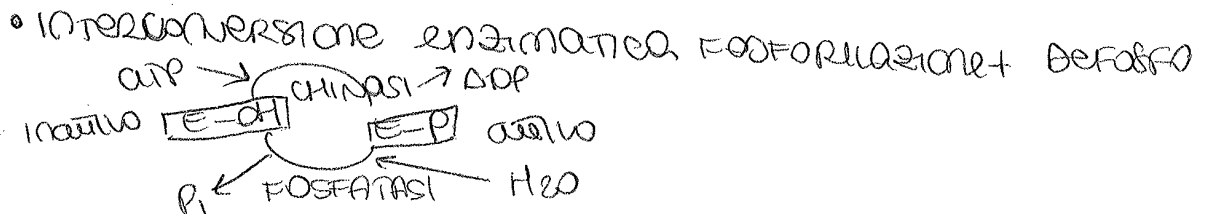


- reazioni con $\Delta G \ll 0$ prot. irreversibili
 precisa direzione, consumo di reagenti

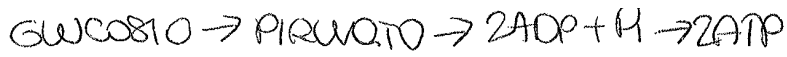
- tappa di comando: reaz. molto esp.

- via di ritorno differente

◦ Controllo di tipo alosterico ex feedback negativo
 ATP attivazione alosterica
 CTP inibizione a feedback alost. (candina trifosfato)
 Prodotto della via ATPase



GLICOLISI



- I) GLUCOSIO : 1/5 FORMAZIONE 2 G3P
2 ATP : GLICERALDEIDE 3 FOSFATO
- II) SUCROSA : 6/10 FORMAZIONE DI PPI
4 ATP : SOPPLIAMENTO

→ TOTALE



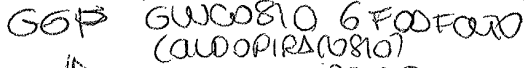
I) GLUCOSIO

1) $\Delta G < 0$



da solo inibisce il suo ruolo che coordina i 202 del P con ATP
che controlla ATP

FOSFORILAZIONE: attiviamo in P di GW
eochinasi (EK) grazie a idrossi ATP

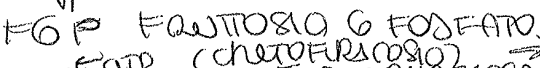


scatta + velocemente nel glucocinasi nel fegato

2) $\Delta G \approx 0$

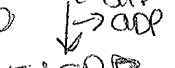


ISOMERIZZAZIONE: NH_3^+, COO^-
FOSFOGLUCOSIO ISOMERASI



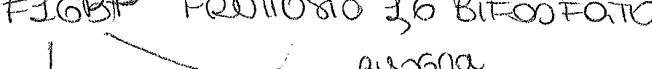
maggior simmetria!

3) $\Delta S < 0$

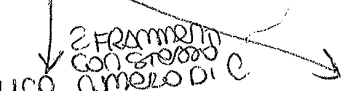


FOSFORILAZIONE: attivato P
FOSFOFRUTTOCHINASI (PFK)

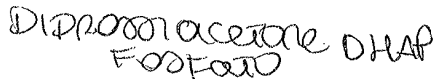
velocità complesso meccanismo di regolazione: attivato P, reaz. IRP, regola [substrato] adeninato chinasi reaz. inversa



4) $\Delta S > 0$
aldolasi
SISTOLE di glucosio
catalizza da 1 base
GAP GLICERALDEIDE 3 P
ALDOFOFO

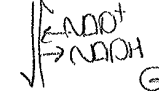


bussole rimovibile velocemente



regola [substrato] adeninato chinasi reaz. inversa

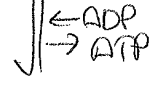
5) $\Delta S > 0$



ISOMERIZZAZIONE: omnia + fosforilazione da P
G3P DEIDROGENASI: catalisi acido GW / base His → GADPH

DHAP 1,3 BIFOSFOGLUCERATO: intermedio ad alta energia

6) $\Delta S < 0$



FOSFOGLUCERATO chinasi (PK)

3 FOSFOGLUCERATO

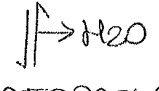
7)



ISOMERIZZAZIONE FOSFOGLUCERATO MUTASI (PFM)

2 FOSFOGLUCERATO (ALCOOL) 2PG

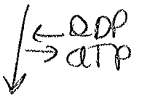
8)



ENOLASI

FOSFOENALPIRUVATO (ALCHENE) PEP

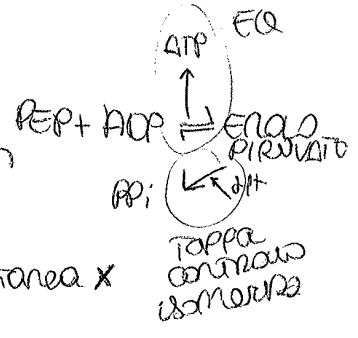
9)



PIRUVATO CHINASI (PK) ✓
secondo modo
il primo sarebbe una reazione spontanea x

PIRUVATO

→ 2 PIRUVATO



2 conf. TERMINA

EK, PFK, PK: regolazione TI → PFK INIBITO DA ATP si lega allo stato rimovibile inibito da AMP o ADP

③ **PFK** FOSFOFRUTTOCHINASI
 Reazione $\Delta G < 0$: IRREVERSIBILE
 attacca un P dell'ATP da F6P a FBP
 inibita da ATP su conformazione T

3 controlli:

① regolazione [substrato]

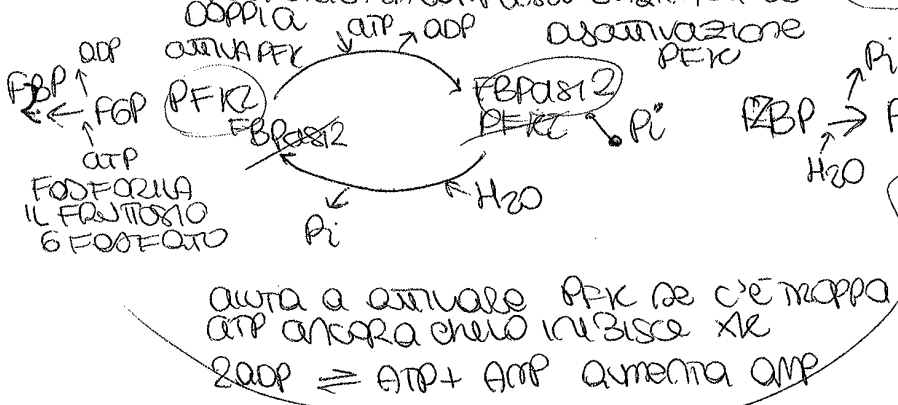
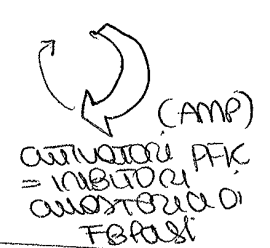
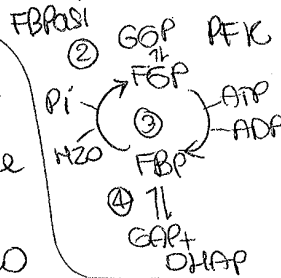
Tanto [S] ↑
 Più velocità

② adenilato chinasi

ormone glucagone
 attiva il suo recettore
 Recettore glucosio
 Fermare la glucolisi
 attiva l'adenilato chinasi, enzima che

trasforma ATP, attiva la proteina chinasi, A che fosforica un complesso enzimatico

③ ciclo del substrato
 reazione inversa catalizzata da FBPasi
 RIPOSO MUSCOLO CONTRAZIONE



TOGLI UN FOSFATO AL FRUTTOSIO 2,6 BIFOSFATO

aiuta a attivare PFK se c'è troppa ATP ancora che lo inibisce xk
 $2ADP \rightleftharpoons ATP + AMP$ aumenta AMP

prove sperimentali

⑤ **GAPDH** ⑥
 struttura e proprietà
 GW/HYS acido/base

prende un H⁺ / prende un H⁺
 dall'acido / dalla base

prende un H⁺
 dall'intermedio (enolato)
 enolico

GLICERALDEIDE 3 FOSFATO
 con GW, HYS diventa nuovo stato ionizzabile

FOSFORILAZIONE
 da Pi libero + riduzione NAD⁺/NADH

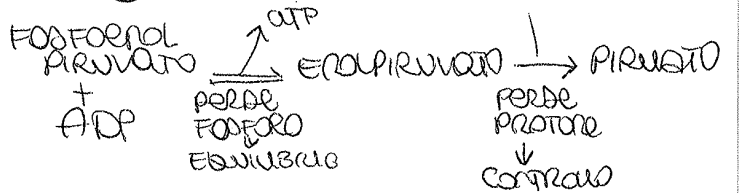
1,3 BIFOSFO GUCERATO
 intermedio a alta energia

base + H⁺ (trasferimento di idrogeno) → S⁺ + base
 che viene ridotto

rimane un ridozzante R⁻S

TRASFERIFICAZIONE
 ossida NADH
 arriva un Pi si attacca a S⁻ che si libera e si riprende H⁺

⑩ **PK**

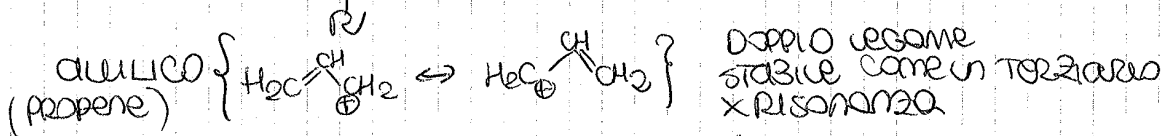
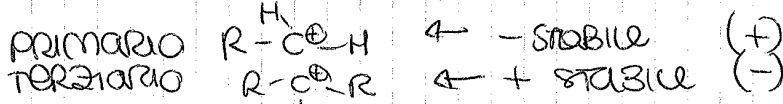


NO IONIZI SPONTANEA
 ma prova con PIRUVATO CHINASI (FOSFORILATA; con Pi = 0 attiva)
 (BIFOSFORILATA; senza Pi = 0 attiva)

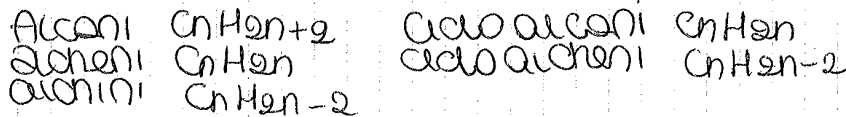
CHIMICA ORGANICA



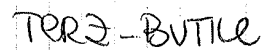
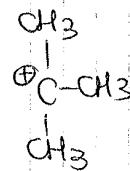
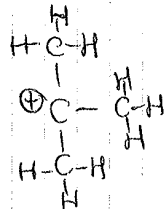
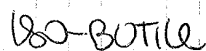
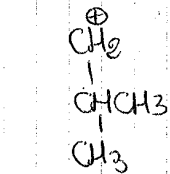
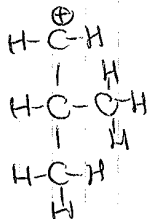
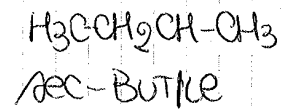
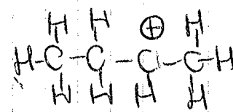
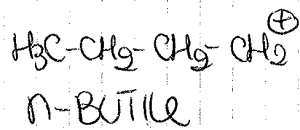
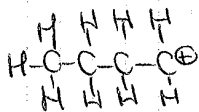
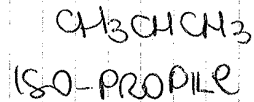
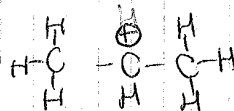
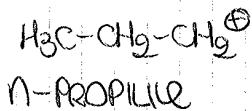
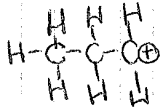
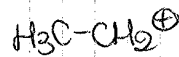
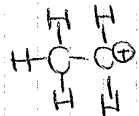
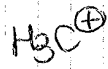
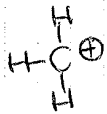
CARBOCATIONI / CARBOANIONI



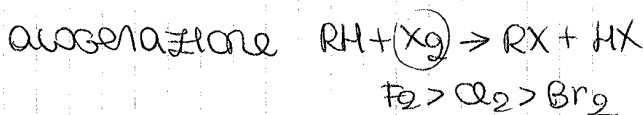
eleetrofilo / nucleofilo
 $\delta^- \delta^+$
 CH_3Mg-Br carboniolo mascherato



MET
ET
PROP
BUT
PENT
ES
ET



Combustione



alcol	$R-OH$	chetone	$R-\overset{O}{\parallel}C-R'$
etere	$R-O-R'$	acido carbonilico	$R-\overset{O}{\parallel}C-OH$
aldeide	$R-\overset{O}{\parallel}C-H$	ammina	$R-NH_2$ R_2NH R_3RN
estere	$R-\overset{O}{\parallel}C-OR'$	ammide	$R-\overset{O}{\parallel}C-NH_2$

- Preparare su ossigeno eterati
- da alcoli
 - da alcheni
 - da alcool $\rightarrow +H_2O / HCl + SO_2$

Reazioni:

- tornare a alcheni
- Formare reattivi di Grignard $\rightarrow RMgX = RX + Mg$
- sostituzioni nucleofile

- Preparare su alcool

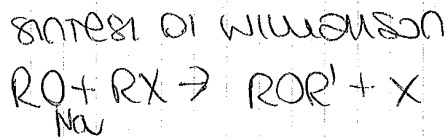
- alcheni + $H_2O \rightarrow$
- aldeide + R.G. $RMgX$
- chetone + R.G. $RMgX$

Reazioni:

- tornare a alcheni
- conver in alcolgenia
- ossidazione a aldeide / acido carb.

- Etere / etossi \leftarrow $\begin{matrix} \text{simmetrici} \\ \text{non sim/misti} \\ \text{alcoli} \end{matrix}$ \rightarrow condensazione di 2 alcool (colore)

- Epossidi Δ (da alchene)



2 alcool diversi danno 2 sim 1 non sim

- Preparare aldeide / chetone

- ossalica 1° ossalica 2°
- ozonolisi alchene (π)
- idrossilazione alchene (σ)
- Nitrili + R.G. $RMgX$

Reazioni

- riduzione
- ossid. acidi carb.
- idrataz \rightarrow diolo geminale
- 2 alcool \rightarrow emiacetale + alcool \rightarrow acetone + H_2O
- CH \rightarrow emichetale \rightarrow chetale
- + RNH_2 ammina \rightarrow (mm) + H_2O \rightarrow $\begin{matrix} RCR' \\ RCR' \end{matrix}$
- + R_2NH \rightarrow enammine

- condensazione aldolica

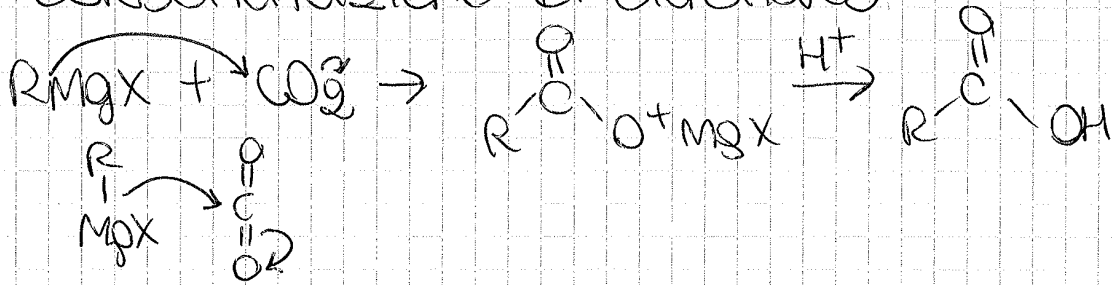
- Preparazione acidi:

- $RMgBr + CO_2$
- esterificazione di Fischer: $acido + alcool \rightleftharpoons estere + H_2O$

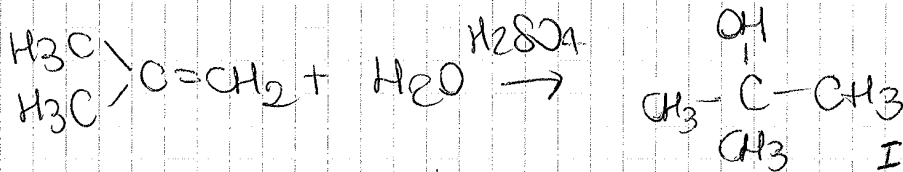
Reazione

a) sintesi di acido carbonatico

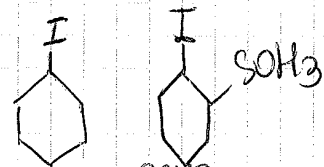
carbontatazione di Grignard



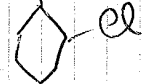
b) idratazione di alcheni a avere alcool



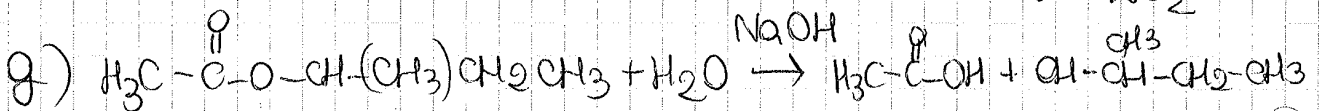
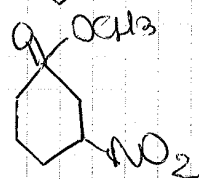
c) monosulfonazione di C₆H₅I



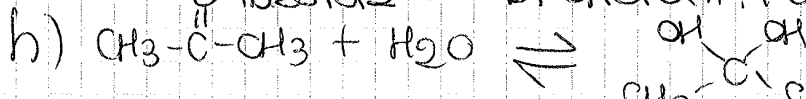
d) monochlorurazione di



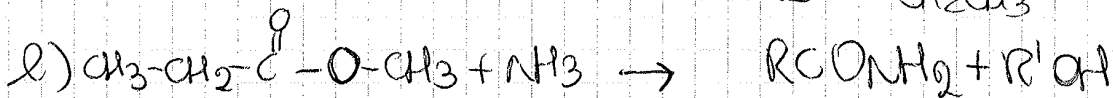
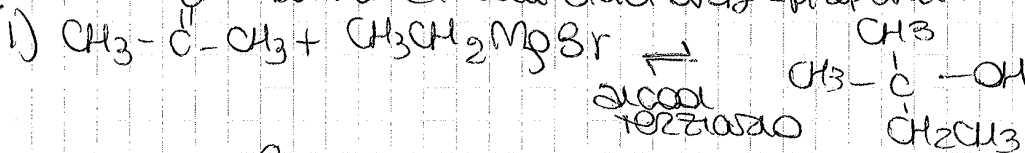
f) mononitrazione di



o idratazione di chetoni: formazione di dioli geminali

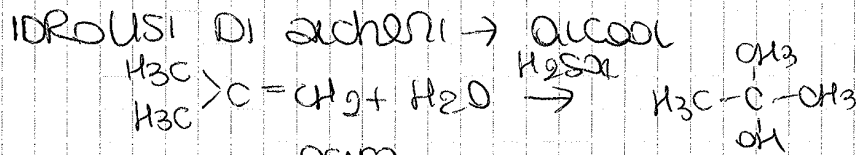


o addizione reattiva generata - preparazione alcool

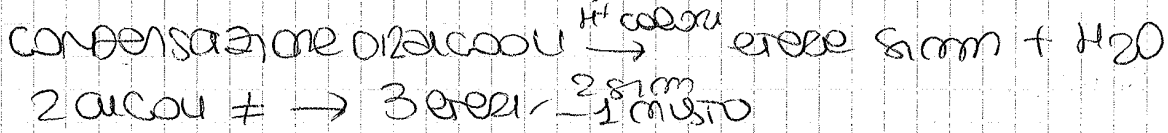
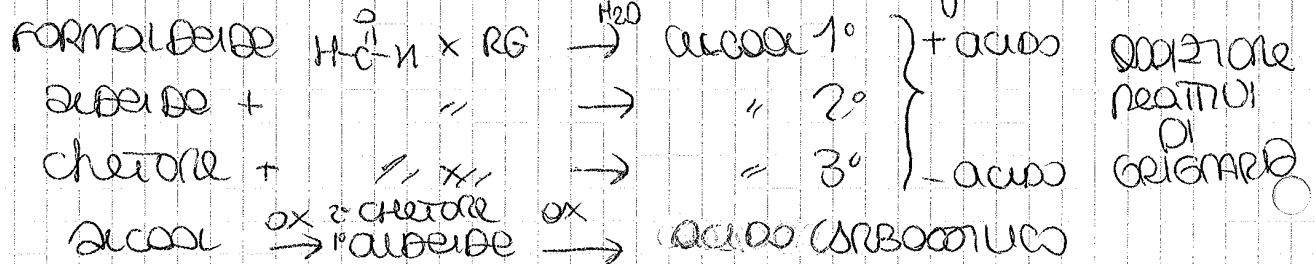


REAZIONI IMPO

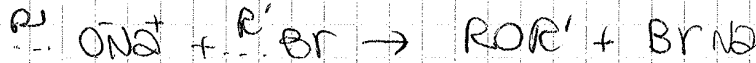
Idrossigenazione di alcheni (HCl) → acidi alogenidrici
(REGOLA MARKOVNIKOV)



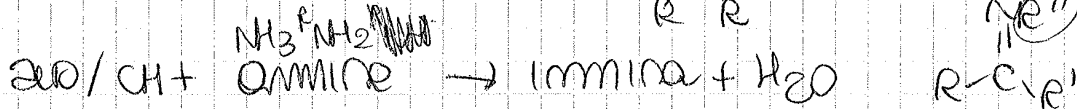
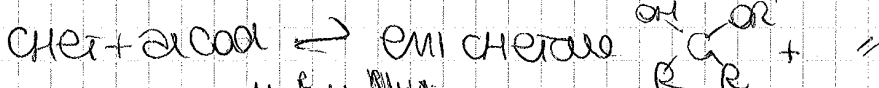
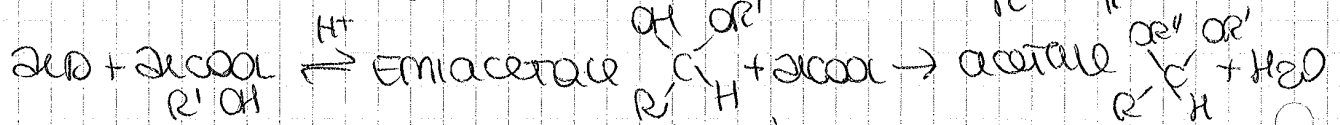
Formazione Reattivi Grignard $\text{RX} + \text{Mg} \rightarrow \text{RMgX}$



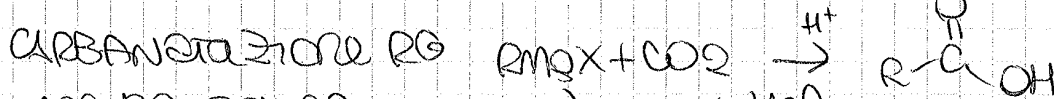
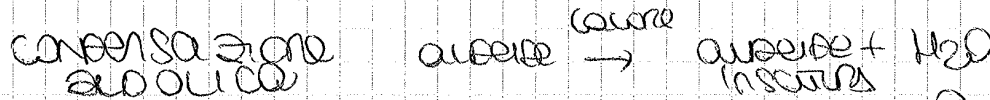
Sintesi di Williamson x produrre eteri misti



ALD/CHETONE + H₂O → DIOLI GEMINALE



NH → enammina

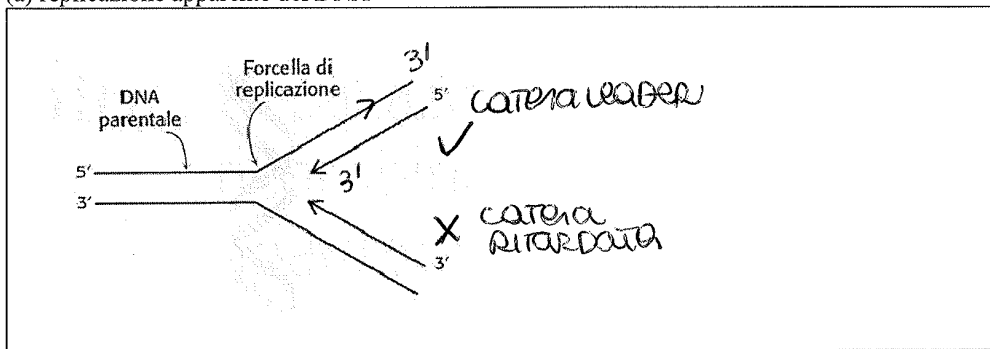


ALCOOL + ALCOOL → ESTERE + H₂O ESTERIFICAZIONE DI FISHER

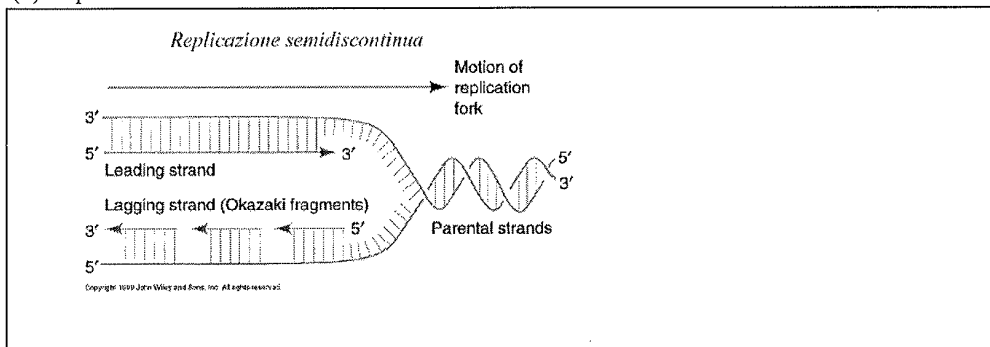


✓ **ESERCIZIO 4** *La sintesi delle molecole della vita* Schematizzare i meccanismi di:

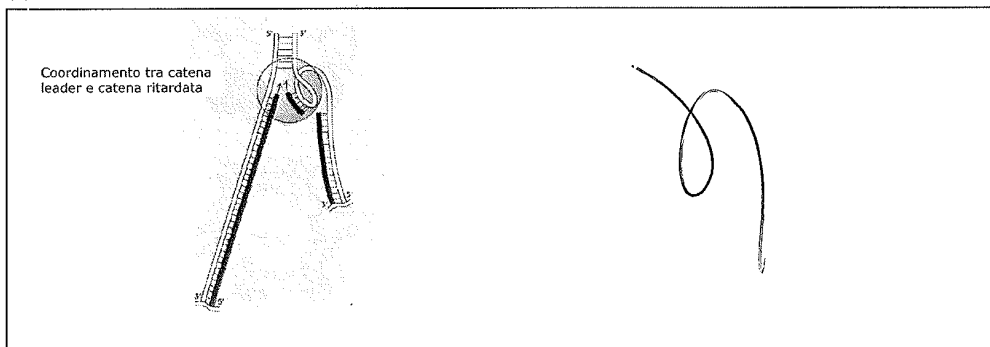
(a) replicazione apparente del DNA



(b) Replicazione semidiscontinua della catena ritardata



(c) coordinamento tra catena leader e catena ritardata



✓ **ESERCIZIO 5** *Le Proteine* Citare almeno un amminoacido associato alle seguenti proprietà:

- Catena laterale acida
- Catena laterale alifatica
- Catena laterale contenente zolfo
- Catena laterale aromatica

- Glu, Asp
- Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met
- Cys, Met,
- Tyr, Trp, Phe

e) Se $[S]=30\ \mu\text{M}$ quale frazione di molecole di enzima ha legato il substrato? Se $[I]=3\ \text{mM}$, quale frazione di molecole di enzima ha legato il substrato? (punteggio 0.4) ($f_{ES} = 0,83$, $f_{ES^*} = 0,75$)

✓ **FORMULE DA UTILIZZARE:**

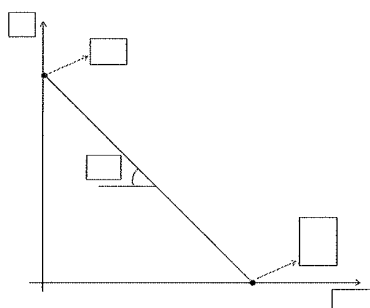
$$f_{ES^*} = \frac{[S]}{K_M^{app} + [S]} \quad f_{ES} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

✓ **ESERCIZIO 7 Enzimi 2**

(A) Dire se le affermazioni seguenti sono vere (V) o false (F). Spiegare il perché nel caso di affermazioni false. (punteggio totale 1.5 punti)

- a) Gli stati di transizione sono le specie a più elevata energia nelle vie di reazione. () V
- b) Ipotesi dell'adattamento indotto: complementarità tra substrato ed enzima dovuta a rigide conformazioni molecolari. **Teoria della "serratura chiave" oppure si basa su di una potenziale complementarità dell'enzima e del substrato, paragonabile alla complementarità esistente tra una mano e un guanto, più che tra una serratura ed una chiave)** F
- c) I virus contengono numerosi enzimi che permettono loro di infettare le cellule. () V
- d) Una reazione esoergonica avviene spontaneamente ed è caratterizzata da $\Delta G > 0$ (F $\Delta G < 0$) F
- e) Gli enzimi idrolitici non necessitano di un cofattore poiché la catalisi richiede solo la presenza di acqua () V
- f) Il valore di ΔG di una reazione è indipendente dalla via seguita dalla trasformazione () V

✓ (B) Completare il grafico (punteggio 0.5)



SOLUZIONE

[Handwritten scribbles]

Trasporto passivo mediato: la molecola viene trasportata da una proteina specifica da una zona ad alta conc. a quella a bassa conc.

Trasporto attivo mediato: la molecola viene trasportata da una proteina specifica da una zona a bassa conc. ad una ad alta conc. cioè contro il suo gradiente di conc. richiede l'accoppiamento con un processo eso-energetico

Trasporto non mediato: la sostanza diffonde nella direzione che annulla il suo gradiente di conc. ad una velocità proporzionale alla grandezza del gradiente. La velocità di diffusione dipende dalla sua solubilità nel nucleo non polare della membrana

ESERCIZIO 9 *Metabolismo 1* La concentrazione di lattato nel sangue aumenta nettamente durante uno scatto, e diminuisce lentamente dopo per circa un'ora. Che cosa determina il rapido aumento della concentrazione di lattato? Che cosa determina l'abbassamento della concentrazione di lattato dopo la corsa?

➔ **Il lattato si può accumulare o per aumentata produzione o per diminuito consumo. In assenza di ossigeno l'organismo risponde producendo più lattato. Il consumo di lattato può avvenire o per combustione a CO₂ e H₂O oppure per gluconeogenesi: entrambi i processi richiedono ossigeno. In situazioni anaerobiche il lattato si accumula. Quando si riforma una situazione di ossigenazione normale, il lattato viene usato nella gluconeogenesi.**

✓ **ESERCIZIO 10 *Metabolismo 2***:

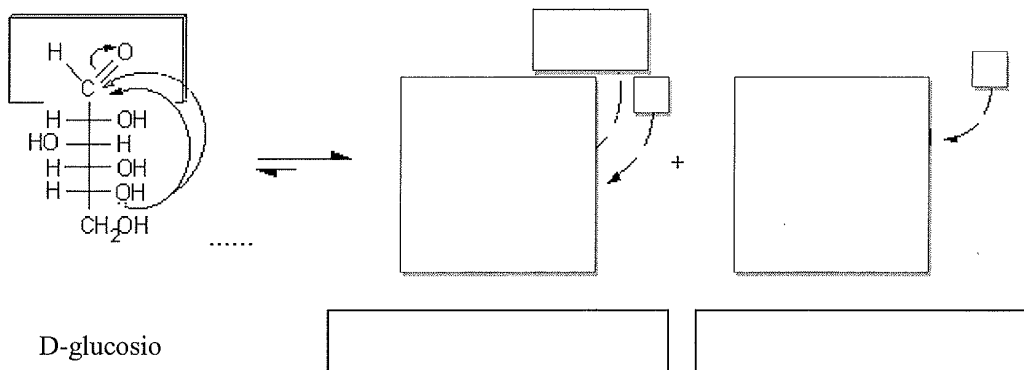
(a) Spiegate l'origine del nome dell'enzima aldolasi.

L'aldolasi catalizza l'inverso della condensazione aldolica del fruttosio-1,6-bisfosfato, per dare gliceraldeide-3-fosfato e diidrossiacetone fosfato.

✓ X (b) Quali enzimi nella glicolisi sono deidrogenasi NADH dipendenti?

Deidrogenasi NADH-dipendenti: gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi, lattato deidrogenasi e alcol deidrogenasi.

✓ **ESERCIZIO 11 *Carboidrati*** Si completi il seguente schema dicendo che tipo di legame chimico si forma

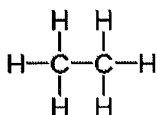


Compito di Bioingegneria Chimica 12/02/2013
Politecnico di Torino – Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica

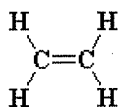
Nome e Cognome: _____ Matricola: _____ e-mail _____
 RISPONDERE UTILIZZANDO SOLO LO SPAZIO RIQUADRATO SUL FOGLIO, eventuali fogli aggiuntivi non verranno considerati ai fini della valutazione. (eccezione fatta per l'esercizio 6).
 PER L'AUTOVALUTAZIONE: OGNI DOMANDA VALE 3 PUNTI DIVISI EQUAMENTE NELLE SOTTODOMANDE CHE QUINDI POSSONO VALERE 0,5; 1; 1,5 PUNTI; E' necessario totalizzare almeno 1 punto nelle domande di Chimica Organica.

✓ 1. *Chimica Organica 1* Si scriva la formula e si determini il numero di ossidazione di ogni C per i seguenti composti: (a) etano (b) etilene (c) acetilene

(a) NO = -3; -3



(b) NO = -2; -2

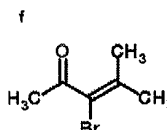
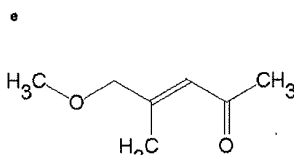
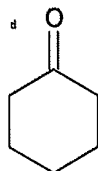
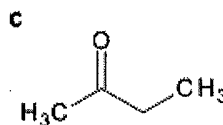
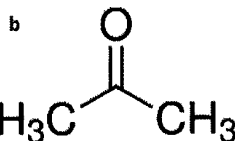
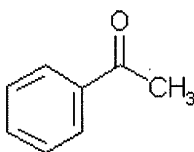


(c) NO = -1; -1

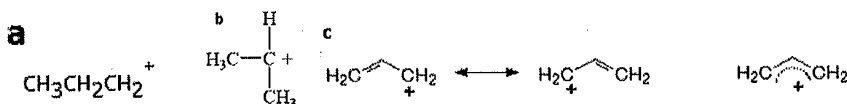


✓ 2. *Chimica Organica 2* Scrivere le formule di struttura dei seguenti composti:
 a. acetofenone (fenilmetilchetone) b. acetone c. metilacetone d. cicloesanonone e. 5-metossi-4-metilpent-3-en-2-one f. 3-bromo-4-metilpent-3-en-2-one

a



✓ 3. *Chimica Organica 3* Si scriva la formula dei carbocationi C3 elencati: a) n-propilico b) sec-propilico c) allilico, si dispongano in ordine di stabilità, si scrivano le forme di risonanza quando presenti.



ORDINE DI STABILITA' → n-propilico < sec-propilico = allilico

1- calcolo K_M e V_{max}

$$V_0 = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad \begin{matrix} A (3, 7.69) \\ B (5, 11.11) \end{matrix} \quad \left\{ \begin{array}{l} V_{0_A} = \frac{V_{max} \cdot [S]_A}{K_M + [S]_A} \\ V_{0_B} = \frac{V_{max} \cdot [S]_B}{K_M + [S]_B} \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} 7.69 = \frac{V_{max} \cdot 3}{K_M + 3} \\ 11.11 = \frac{V_{max} \cdot 5}{K_M + 5} \end{array} \right.$$

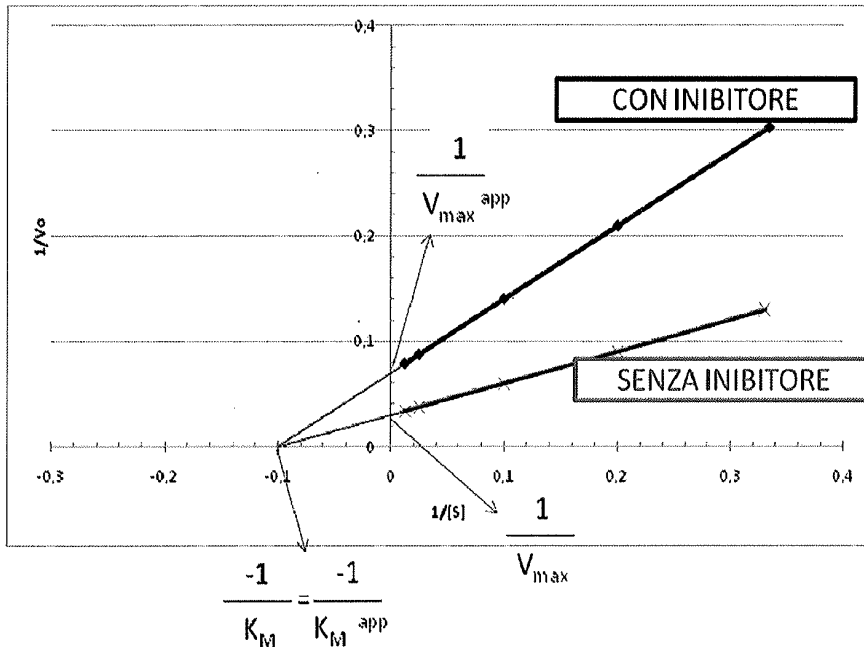
$$\begin{array}{ccc} \longrightarrow & K_M = 10.03 \mu\text{M} & \xrightarrow{\text{Arrotondando all'intero pi\`u vicino}} K_M = 10 \mu\text{M} \\ & V_{max} = 33.4 \mu\text{mol/min} & V_{max} = 33 \mu\text{mol/min} \end{array}$$

1- calcolo K_M^{APP} e V_{max}^{APP}

$$\begin{matrix} A (3, 3.30) \\ B (5, 4.76) \end{matrix} \quad \left\{ \begin{array}{l} V_{0_A} = \frac{V_{max}^{APP} \cdot [S]_A}{K_M^{APP} + [S]_A} \\ V_{0_B} = \frac{V_{max}^{APP} \cdot [S]_B}{K_M^{APP} + [S]_B} \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} 3.30 = \frac{V_{max}^{APP} \cdot 3}{K_M^{APP} + 3} \\ 4.76 = \frac{V_{max}^{APP} \cdot 5}{K_M^{APP} + 5} \end{array} \right.$$

$$\begin{array}{ccc} \longrightarrow & K_M^{APP} = 9.86 \mu\text{M} & \xrightarrow{\text{Arrotondando all'intero pi\`u vicino}} K_M^{APP} = 10 \mu\text{M} \\ & V_{max}^{APP} = 14.15 \mu\text{mol/min} & V_{max}^{APP} = 14 \mu\text{mol/min} \end{array}$$

GRAFICO di LINEWEAVER-BURK



b) Di quale tipo di inibizione si tratta? (non limitarsi a dire solo il nome, ma indicare i principali effetti del tipo di inibizione sulla cinetica dell'enzima)

- ✓ - Il sistema di trasporto che mantiene un gradiente di conc. di Na^+ e K^+ attraverso la membrana
- A) coinvolge l'enzima ATPase
 - B) muove gli ioni Na^+ dentro o fuori la cellula
 - C) è un sinporto
- ✓ - Il trasporto di ioni Ca^{2+} attraverso la membrana:
- A) è un trasporto mediato passivo
 - B) è un sistema a uniporto
 - C) mantiene la conc. di Ca^{2+} molto maggiore all'interno che all'esterno

Vere 1B, 2A, 3B

9. *Metabolismo* Molti enzimi della glicolisi appartengono a delle classi che ritroviamo spesso nel metabolismo. Quali tipi di reazioni sono catalizzate da ognuna di queste:

(a) chinasi (b) isomerasi (c) deidrogenasi

(a) Utilizzano un fosfato ad alta energia per fosforilare un substrato. (b) Cambiano la forma di una molecola senza alterarne la formula empirica (cioè, sostituiscono un isomero con un altro). (c) Cambiano lo stato di ossidazione di un substrato, con la rimozione degli idrogeni, e nello stesso tempo cambiano lo stato di ossidazione di un coenzima (NADH, FADH₂ etc.).

- ✓ 10. *Metabolismo 2*: Individuare la risposta giusta:

(a) Il prodotto finale della glicolisi è:

1: acetil-CoA ; 2: CO_2 3: acido piruvico (eventualmente convertito in acido lattico) 4: urea

3

(b) Quali vie metaboliche producono CO_2 e consumano l' O_2 ?

1: il ciclo di Krebs produce la CO_2 , la fosforilazione ossidativa consuma l' O_2
2: il ciclo di Krebs consuma l' O_2 e produce la CO_2
3: la fosforilazione ossidativa consuma l' O_2 e produce la CO_2
4: la fosforilazione ossidativa produce la CO_2 e il ciclo di Krebs consuma l' O_2

1

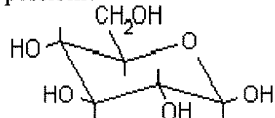
(c) Si definisce catabolismo:

1: l'insieme dei processi metabolici finalizzati alla produzione di energia
2: l'insieme dei processi metabolici finalizzati alla biosintesi delle molecole biologiche
3: l'insieme dei processi metabolici degradativi, solo alcuni dei quali sono finalizzati alla produzione di energia
4: l'insieme dei processi metabolici cellulari

3

2 anaerobismo 4 metabolismo

- ✓ 11. *Carboidrati*: Nella figura è rappresentato il β -D-glucopiranosio nella conformazione a sedia a) Si spieghi la sua nomenclatura completa, si indichino i centri chirali b) Quali altre rappresentazioni sono possibili?



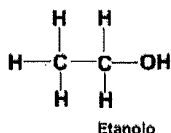
Compito di Bioingegneria Chimica 12/02/2013
Politecnico di Torino – Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica

Nome e Cognome: _____ Matricola: _____ e-mail _____
RISPONDERE UTILIZZANDO SOLO LO SPAZIO SUL FOGLIO, eventuali fogli aggiuntivi non verranno considerati ai fini della valutazione. (eccezione fatta per l'esercizio 6)
PER L'AUTOVALUTAZIONE: OGNI DOMANDA VALE 3 PUNTI DIVISI EQUAMENTE NELLE SOTTODOMANDE CHE QUINDI POSSONO VALERE 0,5; 1; 1,5 PUNTI; E' necessario totalizzare almeno 1 punto nelle domande di Chimica Organica.

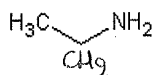
✓ 1. *Chimica Organica 1* Si scriva la formula e si determini il numero di ossidazione di ogni C per i seguenti composti: (a) etanolo (b) etilammina (c) etanolammina

SOLUZIONE:

(a) NO= -3;-1



(b) NO= -3,-1



(c) NO=-1,-1

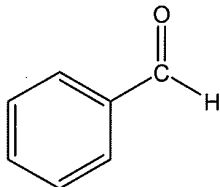


2. *Chimica Organica 2* Scrivere le formule di struttura dei seguenti composti:

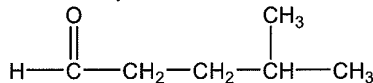
a. benzaldeide b. 4-metilpentanale c. 3-metil-2-pentanone d. 2-butenale e. 4-metil-3-penten-2-one f. metilisobutilchetone

SOLUZIONE:

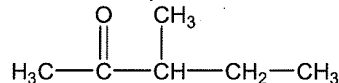
a. benzaldeide



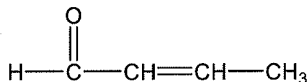
b. 4-metilpentanale



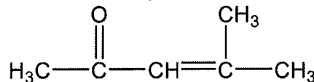
c. 3-metil-2-pentanone



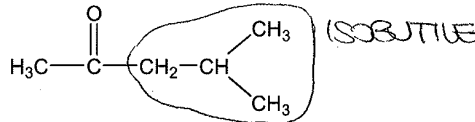
d. 2-butenale



e. 4-metil-3-penten-2-one



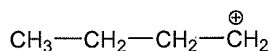
f. metilisobutilchetone



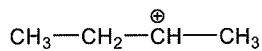
3. *Chimica Organica 3* Si scriva la formula dei carbocationi elencati: a) n-butilico < b) sec-butilico = c) crottilico < d) tert-butilico. I carbocationi sono disposti in ordine crescente di stabilità: spiegare.

SOLUZIONE:

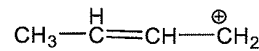
a. n-butilico



b. sec-butilico



c. crottilico



a) Usina è basica a pH protonato (carico) a pH 10 è deprotonato (neutro) cariche si respingono neutro! conformazione ordinata

b) glutammato è acido a pH protonato (neutro) a pH 10 è carico disordinato
 Fa l'incontrario della lisina

b = cammino ottico = 1cm

$0.8 \text{ cm}^{-1} = 14 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1} * 1 \text{ cm} * X \text{ mM} \Rightarrow X = 0.8 / 14 = 0.05714 \text{ mM}$

$1 \text{ mM} * V_i = 0.05714 \text{ mM} * V_f$

$V_f = V_i * 1 / 0.05714 = 17.5$

→ devo diluire 17.5 volte

- X 5. Le Proteine (a) Prove sperimentali indicano che la Poli-L-Lisina ha una struttura casuale a pH=7, ma diventa un α-elica a pH superiore a 10. Date una spiegazione di questa transizione pH dipendente. (b) Prevedete la dipendenza dal pH della transizione conformazionale del poli-L-glutammato

Tabella 3.4 Valori di pK_a di alcuni amminoacidi

Amminoacido	Valori di pK _a (a 25 °C)		
	Gruppo α-COOH	Gruppo α-NH ₃ ⁺	Gruppo laterale
Alanina	2,3	9,9	
Glicina	2,4	9,8	
Fenilalanina	1,8	9,1	
Serina	2,1	9,2	
Valina	2,3	9,6	
Acido aspartico	2,0	10,0	4,0
Acido glutammico	2,2	9,7	4,3
Istidina	1,8	9,2	6,0
Cisteina	1,8	10,8	8,3
Tirosina	2,2	9,1	10,3
Lisina	2,2	9,2	10,8
Arginina	1,8	9,0	12,5

Fonte: J. L. Edall J. Weisau, *Biophysical Chemistry*, Academic Press, 1971, pag. 6.

SOLUZIONE:

(a) La repulsione elettrostatica tra i gruppi ε-amminici protonati impedisce α-elica a pH 7. A pH 10 le catene laterali diventano deprotonate, permettendo la formazione dell'elica.

(b) il poli-L-glutammato ha struttura casuale a pH 7 e assume conformazione ad α-elica a pH < 4,5 per la protonazione dei gruppi γ-carbossilici

- ✓ 6. Enzimi 1 Le proprietà cinetiche di un enzima sono misurate in funzione della concentrazione di substrato in presenza e in assenza di un inibitore (I) alla concentrazione di 2mM.

[S] (μM)	Velocità (μmol/minuto)	
	Assenza di inibitore	Con Inibitore
3	8,5	3,848
5	12,3	6
10	18,5	10,338
40	29,7	22,582
80	33,1	28,136

- ✓ a) Quali sono i valori di K_M e V_{max} in presenza ed in assenza di inibitore? (K_M=10,16 μM; V_{max}=37,31 μmol/minuto; K_M^{APP}= 26,09 μM; V_{max}^{APP}=37,31 μmol/minuto)
- ✓ b) Di quale tipo di inibizione si tratta? (non limitarsi a dire solo il nome, ma indicare i principali effetti del tipo di inibizione sulla cinetica dell'enzima) (inibizione competitiva: > K_M e V_{max} inalterata)

8. *Canali e pompe ioniche* Quale è il costo in energia libera del pompaggio del Ca^{2+} dall'interno all'esterno di una cellula quando la concentrazione citosolica è $0,4 \mu\text{M}$ e quella extracellulare $1,5 \text{ mM}$ e il potenziale di membrana -60 mV . (a 37°C $-2.303 \text{ RT} = -1.42 \text{ kcal}$, $F=96500 \text{ C}$)

SOLUZIONE:

DATI:

$$[\text{dentro}] = 0,4 \mu\text{M} = 0,4 \cdot 10^{-6} \text{ M}$$

$$[\text{fuori}] = 1,5 \text{ mM} = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$\Delta E = E_{\text{dentro}} - E_{\text{fuori}} = -60 \text{ mV}$$

FORMULA da UTILIZZARE:

$$\Delta G_{A \text{ dentro} \rightarrow \text{fuori}} = R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[\text{fuori}]}{[\text{dentro}]}\right) + n \cdot F \cdot (E_{\text{fuori}} - E_{\text{dentro}})$$

Dove:

R = costante universale dei gas $8,31 \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{mol})$

T = temperatura espressa in **K**

n = carica dello ione

F = costante di Faraday 96500 C

1° TERMINE: contributo chimico: $R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[\text{fuori}]}{[\text{dentro}]}\right)$

$$R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[\text{fuori}]}{[\text{dentro}]}\right) = 8,31 \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{mol}) \cdot (37+273) \text{ K} \cdot \ln\left(\frac{1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}}{0,4 \cdot 10^{-6} \text{ M}}\right) = \underline{21200 \text{ J/mol}} = \underline{5,07 \text{ kcal/mol}}$$

$$1 \text{ cal} = 4,18 \text{ J}$$

2° TERMINE: contributo elettrico: $n \cdot F \cdot (E_{\text{fuori}} - E_{\text{dentro}})$

$$n \cdot F \cdot (E_{\text{fuori}} - E_{\text{dentro}}) = 2 \cdot 96500 \cdot 60 \cdot 10^{-3} = \underline{11500 \text{ J/mol}} = \underline{2,75 \text{ kcal/mol}}$$

$$\rightarrow \Delta G_{A \text{ dentro} \rightarrow \text{fuori}} = 21200 \text{ J/mol} + 11500 \text{ J/mol} = 32700 \text{ J/mol} = \underline{32,7 \text{ kJ/mol}} = \underline{7,82 \text{ kcal/mol}}$$

9. *Metabolismo* Nel metabolismo, il glucosio-6-fosfato (G6P) si può usare per la sintesi del glicogeno o per la glicolisi, oltre alle altre destinazioni. Qual è il costo, in termini di equivalenti di ATP, per depositare il G6P come glicogeno, invece di utilizzarlo nella glicolisi per ottenere energia? (Suggerimento: la struttura ramificata del glicogeno porta al rilascio del 90% dei residui di glucosio come glucosio-1-fosfato, e del 10% come glucosio.)

SOLUZIONE:

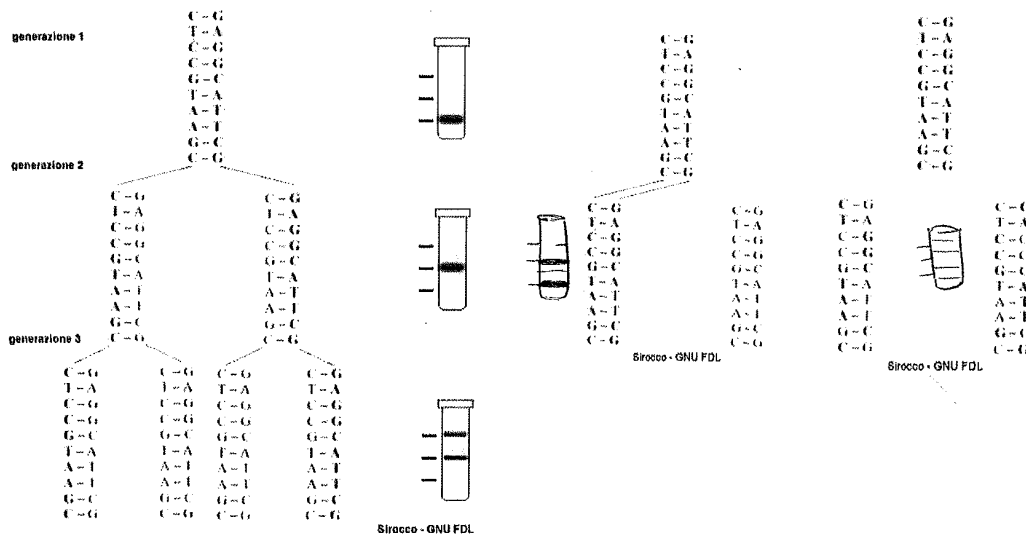
L'aggiunta di un residuo di glucosio al glicogeno "costa" un equivalente di ATP (UTP o UDP). Nella degradazione, circa il 90% dei residui di glucosio non richiedono ATP per produrre glucosio-1-fosfato. Il restante 10% richiede ATP per fosforilare il glucosio. In media, si consumano 0,1 ATP per residuo di glucosio. Perciò il "costo" globale è 1,1 ATP, in confronto ai tre ATP che possono derivare dal G-6-P mediante la glicolisi.

10. *Metabolismo 2: Enzimi e ciclo di Krebs* In presenza di quantità saturanti di ossalacetato, l'attività della citrato sintasi del cuore di maiale mostra una dipendenza dalla concentrazione dell'acetil-CoA con andamento sigmoidale, come riportato in figura.

**Politecnico di Torino – Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica
Compito 13/09/2012
Evoluzione Biochimica ed Elementi di Genetica**

Nome: _____ Matricola: _____ e-mail _____
 RISPONDERE UTILIZZANDO SOLO LO SPAZIO SUL FOGLIO (fatta eccezione per la parte grafica dell'esercizio 4)
 PER L'AUTOVALUTAZIONE: OGNI DOMANDA VALE 3 PUNTI DIVISI EQUAMENTE NELLE SOTTODOMANDE CHE QUINDI POSSONO VALERE 0,5; 1; 1,5 PUNTI

1. La sintesi delle molecole della vita Si descriva schematicamente L'esperimento di Matthew Meselson e Frank W. Stahl che dimostra il meccanismo semiconservativo di replicazione del DNA.



L'esperimento di Matthew Meselson e Frank W. Stahl del 1958 è stato fondamentale per determinare il meccanismo semiconservativo di replicazione del DNA.

All'epoca era già noto ed accettato il modello a doppia elica del DNA proposto da James Watson e Francis Crick. Questo modello prevedeva che le due eliche di DNA si appaiassero tra loro a formare una doppia elica mediante interazioni deboli (legami ad idrogeno, repulsione elettrostatica dei gruppi fosfato, interazione idrofobica delle basi azotate). Prevedeva inoltre che le due eliche interagissero a livello delle basi azotate, ed in particolare erano possibili solo gli appaiamenti complementari Adenina -- Timina e Citosina -- Guanina.

Watson e Crick proposero (in realtà in modo velato e senza portare alcuna dimostrazione) che, dato che gli appaiamenti possibili erano esclusivamente quelli appena citati, ognuna delle due eliche contenesse l'informazione necessaria a costruire l'elica complementare. Questo suggeriva un sistema semplice ed efficiente per replicare il materiale genetico: nel momento della replicazione le due eliche si sarebbero dovute separare ed ognuna di queste sarebbe servita da stampo per l'elica complementare.

In tal senso si parla di replicazione semiconservativa dal momento che nelle nuove doppie eliche uno dei due filamenti era presente nella doppia elica originale, l'altro è di nuova sintesi.

All'epoca dell'esperimento che ci si appresta a descrivere, oltre al modello della replicazione semiconservativa erano stati proposti altri due meccanismi: la replicazione conservativa e la replicazione distributiva.

La replicazione conservativa prevedeva che a partire da una doppia elica di DNA, in seguito alla replicazione se ne ottenessero due: la prima contenente entrambi i filamenti originari e la seconda contenente due filamenti complementari di nuova sintesi.

La replicazione distributiva poteva essere immaginata come una via di mezzo rispetto a quella semiconservativa e a quella conservativa

Schema dell'esperimento

Meselson e Stahl fecero crescere dei batteri in un terreno di coltura ricco dell'isotopo pesante 15N. Questi microorganismi metabolizzarono l'15N che quindi venne ad essere introdotto in molte molecole biologiche; tra queste molecole bisogna ricordare le basi azotate del DNA.

In questo modo il DNA presente nei batteri era un "DNA pesante", poiché inglobava atomi di azoto più pesanti della norma.

I due scienziati si assicuravano di mantenere i batteri in questo terreno di coltura per un tempo tale da garantire che tutto il DNA fosse effettivamente pesante.

Alcuni batteri furono poi prelevati, lisati e, con opportune tecniche di laboratorio, venne estratto il loro DNA. Quest'ultimo venne aggiunto ad una provetta contenente una soluzione concentrata di Cloruro di Cesio (CsCl 6M). La provetta fu poi centrifugata. In queste condizioni nella provetta si forma un gradiente di densità dal momento che il CsCl tende a concentrarsi verso il fondo della stessa.

Una volta che si è formato il gradiente di densità, il DNA (ma in generale qualunque molecola nella provetta) migra per fermarsi nella regione della soluzione che ha densità uguale alla sua.

Il DNA può essere messo in evidenza in seguito all'introduzione di particolari sostanze che si legano ad esso e divengono visibili se illuminate da luce ultravioletta.

Questa particolare tecnica prende il nome di centrifugazione in gradiente di densità e in questo contesto, come si capirà in seguito, serve a "pesare" il DNA estratto.

Ciò che si vide sperimentalmente fu una banda verso il fondo della provetta.

di K_M ? (b) Qual è il valore di V_{max} ? (c) Qual è il numero di turnover della penicillinasi in queste condizioni sperimentali? Assumete che esista un sito attivo per molecola.

inibizione incompetitiva

penicillina [S] quantità idrolizzata [V]	[S] (M)	[V] (Mol)	V_{max} (Mol/min)	K_M (M)	IEJT (mol ⁻¹ s ⁻¹)	num di turni
0	0	0	6,9404E-10	5,22E-06	3,39E-14	33,6
0,000001	1,1E-10	1000000	8090505051			
0,000003	2,5E-10	333333,3333	4000000000			
0,000005	3,4E-10	200000	294178471			
0,00001	4,9E-10	100000	222222222			
0,00003	5,8E-10	33333,3333	1724137331			
0,00005	6,1E-10	20000	163954262			

penicillina [S] quantità idrolizzata [V]	[S] (M)	[V] (Mol)	V_{max} (Mol/min)	K_M (M)	IEJT (mol ⁻¹ s ⁻¹)
0	0	0	-528062	0	0
0,000001	0,000000000080500000	1000000	1538463585		
0,000003	0,000000000000000000	333333,3333	30000000000		
0,000005	0,000000000100000000	200000	3080509091		
0,00001	0,000000000000000000	100000	839393333		
0,00003	0,000000000130000000	33333,3333	762307632		
0,00005	0,000000000135000000	20000	7407407407		

inibitore

[I] (M)	K_i (M)
0,0001	0,000025

penicillina [S] quantità idrolizzata [V]

[S] (M)	[V] (Mol)
0	0
0,000001	1000000
0,000003	3000000000
0,000005	1000000000
0,00001	1000000000
0,00003	3333333333
0,00005	1000000000

1/Quantità idrolizzata (1/nanomoli)

1/[S] (1/micromol)	1/V (1/nanomoli)
-1000000	0
-500000	0
0	0
500000	0
1000000	0
1500000	0

Quantità idrolizzata (nanomoli)

Penicillina (microM)	Quantità idrolizzata (nanomoli)
0	0
0,00001	1000000
0,00003	3000000000
0,00005	1000000000

1/Quantità idrolizzata (1/nanomoli)

1/[S] (1/micromol)	1/V (1/nanomoli)
-1000000	0
-500000	0
0	0
500000	0
1000000	0
1500000	0

Handwritten notes: $29,6 \cdot 10^3 \frac{g}{ml}$, $10^{-9} g$, $K_{DT} = \frac{V_{max}}{IEJT}$, $\frac{nmol}{s}$, $\frac{mol}{l}$

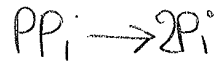
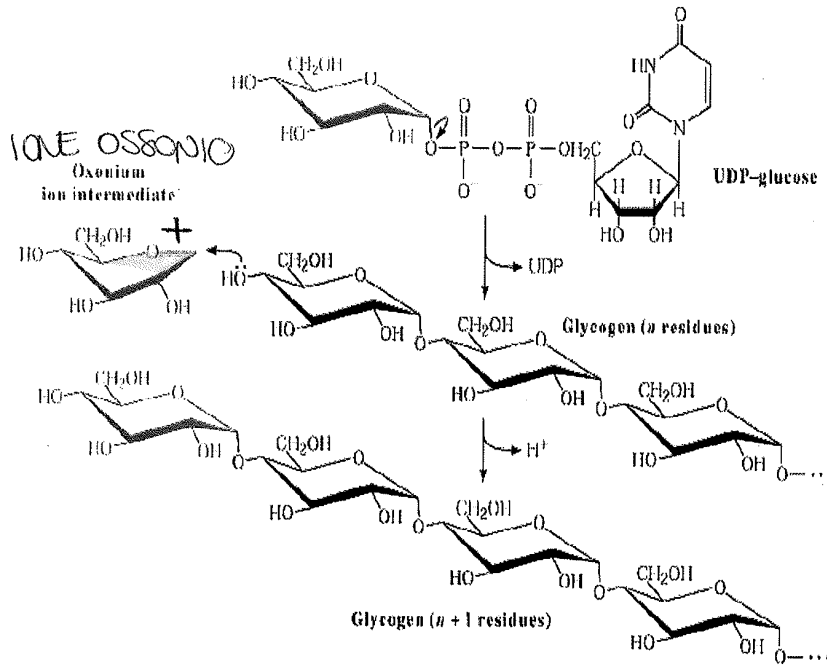
5. Sintesi delle Molecole della Vita 2: Si scriva accanto alla descrizione il nome corrispondente

- ✓ a. Enzima che catalizza la sintesi di RNA
 - ✓ b. Segmenti di RNA sintetizzati nella fase iniziale della replicazione del DNA
 - ✗ c. Catena della doppia elica di DNA che ha la stessa (a meno dello scambio U/T) sequenza di basi dell'RNA trascritto
 - ✓ d. Tripletta di basi nell'aminoaciltransfer RNA complementare alla tripletta sull'RNA messaggero
 - ✓ e. Enzima che, insieme alla DNA ligasi, completa la sintesi della catena ritardata durante la replicazione
 - ✗ f. Processo di spostamento del t-RNA dal sito P al sito E del ribosoma
- a. RNA polimerasi; b. primers; c. catena codificante; d. anticodone; e. DNA polimerasi I; f. traslocazione

6. Metabolismo /Pompe Ioniche Gli eritrociti maturi hanno una dipendenza assoluta dalla glicolisi per la produzione di ATP. Una deficienza di piruvato chinasi causa una anemia emolitica, la più comune malattia genetica della glicolisi. Quale potrebbe essere la relazione fra PK e lisi degli eritrociti?

PKO

GLUCOSIO + UTP

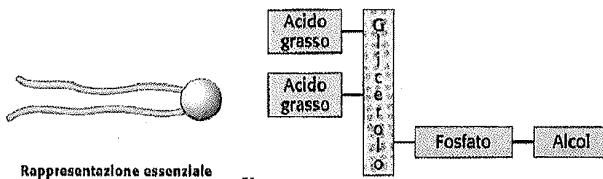


✓ c) Per un enzima che mostra la cinetica di Michaelis-Menten, qual è la velocità della reazione, V (come percentuale di V_{max}) osservata a $[S] = K_M$?
 $V = 0,5 V_{max}$

✓ 7. *Enzimi 2* L' enzima D-amminoacido ossidasi ha un numero di turnover molto alto perché i D-amminoacidi sono potenzialmente tossici. La K_M per l'enzima si trova nell'intervallo da 1 a 2 mM per gli amminoacidi aromatici e nell'intervallo da 15 a 20 mM per amminoacidi come serina, alanina, e gli amminoacidi acidi. Quali di questi amminoacidi sono i substrati preferiti dell'enzima, perché?

Amminoacidi aromatici

✓ 8. *Lipidi e Membrane cellulari* Si schematizzi la rappresentazione essenziale di un fosfolipide evidenziando le regioni polari e apolari e in un altro sketch i blocchi chimici costituenti



Rappresentazione essenziale

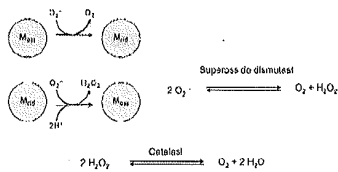
9. *Metabolismo 1* a) Quali reazioni della glicolisi sono reazioni accoppiate? b) Quali reazioni della glicolisi sono irreversibili fisiologicamente? c) Quali reazioni sono i punti di controllo della glicolisi?

a) Le reazioni catalizzate da esochinasi, fosfofruttochinasi, gliceraldeide3-fosfato deidrogenasi, fosfoglicerocinasi, e piruvatochinasi. b) Le reazioni catalizzate dall'esochinasi, dalla fosfofruttochinasi e dalla piruvato chinasi. c) I punti di controllo della glicolisi sono le reazioni catalizzate dall' esochinasi, dalla fosfofruttochinasi e dalla piruvato chinasi.

10. *Metabolismo 2*: Qual è il ruolo del fruttosio-2,6-bisfosfato come effettore allosterico?
Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico della fosfofruttochinasi (un enzima glicolitico) e un inibitore allosterico della fruttosio bisfosfato fosfatasi (un enzima della via della gluconeogenesi)

11. *Metabolismo 2*: Si descriva il sistema di rimozione dei derivati tossici dell'ossigeno molecolare

Rimozione di derivati tossici dell'ossigeno molecolare



X 6. *Enzimi* La vel di una reazione enzimatica a diverse [S] viene misurata in presenza ed in assenza di una sostanza A. La sostanza A è un attivatore o un inibitore ed eventualmente di che tipo?

[S] μM	V $\mu\text{M min}^{-1}$	VA $\mu\text{M min}^{-1}$
2,5	0,32	0,20
3,3	0,40	0,26
5,0	0,52	0,36
10,0	0,69	0,56

Calcolare K_M e V_{max} in presenza ed in assenza di A: I risultati sono in accordo con quelli dati prima?

R: bisogna costruire un diagramma di Lineweaver-Burk. Si ottengono due rette delle quali quella in presenza di A incontra l'asse y nello stesso punto della prima, ma ha una pendenza maggiore: A è un inibitore competitivo.

-1/ K_M	K_M	1/ V_{max}	V_{max}
-0,14	7,1	0,8	1,25
-0,08	12,5	0,8	1,25

In presenza di un inibitore competitivo V_{max} rimane costante ma la K_M apparente è più grande: ci vuole più substrato per raggiungere una certa velocità perché deve competere con l'inibitore.

✓ 7. *Canali e Pompe Ioniche* Gli ioni metallici (Ca^{2+} , Na^{+} ,.....) non attraversano le membrane per semplice diffusione perché:
 A) lo ione solvatato da molecole d'acqua è troppo grosso
 B) perché l'ambiente della membrana idrofobo non permette la diffusione di specie polari
 C) il loro trasporto deve essere controllato
 D) non c'è differenza di conc. che li faccia migrare

B

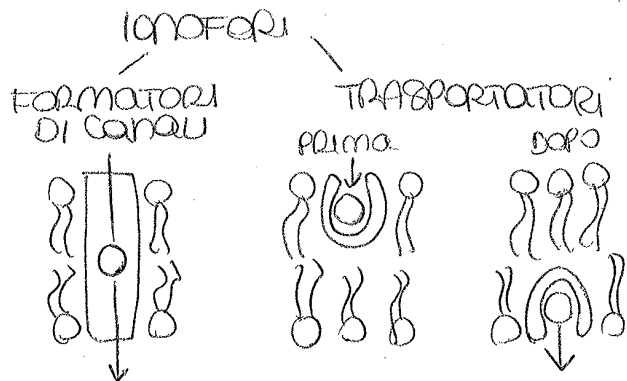
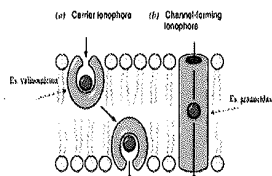
✓ 8. *Lipidi e Membrane cellulari* Si schematizzi con un disegno il meccanismo di trasporto da parte di uno ionoforo

Meccanismo di trasporto non mediato

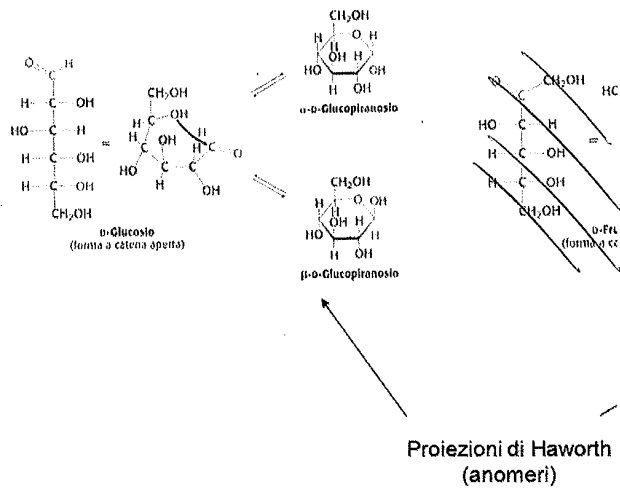
Gli ioni non possono attraversare lo strato lipidico se non attraverso canali naturali (es. porine per gli ioni metallici) o attraverso complessazione con molecole adatte: ionofori

Ionofori trasportatori es: valinomycin

Ionofori formatori di canali es: gramicidina



9. *Metabolismo I Il glicogeno* a) Perché è essenziale che lo stesso meccanismo che attiva la sintesi del glicogeno disattivi la glicogeno fosforilasi? b) Perché è un vantaggio che la rottura del glicogeno



● Basi

PIRIMIDINE $\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ anello} \\ \text{Adenina / Guanina} \end{array} \right.$

PURINE $\left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ anelli} \\ \text{Citosina / Uracile (RNA) / Timina (DNA)} \end{array} \right.$

accoppiamento

CG	(tie 2)	3 ponti H	DIFFERENZIATO x un GRUPPO METILICO CANTO CESTO AL CARBONIO (5) (NEUAT)
AT	(DNA)	2 ponti H	
AU	(RNA)		

- (A) : Adenina
 - RIBONUCLEOSIDE : Adenosina
 - DESSIRIBONUCLEOSIDE : DESSIADEOSINA
 - RIBONUCLEOSIDE TRIFOSFATO : Adenosina 5'-TRIFOSFATO
 - DESSIADEOSINA-5'-TRIFOSFATO
- (G) : Guanina
 - RIBO : GUANOSINA
 - DEO : DESSIGUANOSINA
 - 3FOS : GUANOSINA-5'-TRIFOSFATO
 - DESSIGUANOSINA-5'-TRIFOSFATO
- (C) : Citosina
 - RIBO : CITIDINA
 - DESS : DESSICITIDINA
 - 3FOS : CITIDINA-5'-TRIFOSFATO
 - DESSICITIDINA-5'-TRIFOSFATO
- (T) : Timina
 - RIBO : X
 - DESSIRIBONUCLEOSIDE : DESSITIMIDINA
 - 3FOS : DESSITIMIDINA-5'-TRIFOSFATO
- (U) : Uracile
 - RIBO : URIDINA
 - DESS : X
 - 3FOS : URIDINA-5'-TRIFOSFATO

$$A = \epsilon [AD]_x b$$

$$b = 1 \text{ cm} = 0,01 \text{ m}$$

$$[AD]_x = \frac{A}{\epsilon b} = \frac{0,8 \text{ mV cm}}{14 \cdot 1 \text{ cm}} = \frac{0,8}{14} \text{ mV} = 0,05714 \text{ mV}$$

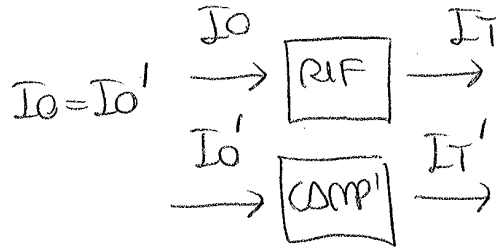
$$[AD]_i V_i = [AD]_x V_f$$

$$V_f = \frac{[AD]_i V_i}{[AD]_x} = 17,5 \text{ numero di volte da dividere}$$

● ASSORBANZA

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I_T} \right)$$

$$A = \log \left(\frac{I_T}{I_T'} \right)$$



● 20 AA PROTEINOGENICI

N PROTEINE CON 50 AA : 20^{50}

● MMOLARE MEDIA DI UN RESIDUO $(HN-CHR-CO)_{AA} = 110$

MMM DI PROTEINA CON 50 AA : $(110 \cdot 50) + \underbrace{18}_{1H_2O}$

● $N_A = 6 \cdot 10^{23}$

Massa totale di 1 molecola : $\frac{MMOLAROT...}{NA}$

Massa totale delle proteine : 20^{50} , massa tot 1 mol

ESAMI

⊙ METABOLISMO

① Cosa ↑ lattato RAPIDAM durante attività fisica?
Cosa ↓ " LENTAM. DOPO?

(GLUCOSI e SINTETIZZAZIONE ATP)
GLUCOGENESI

IL LATTATO SI ACCUMULA < AUMENTATA PRODUZIONE
DIMINUITO CONSUMO

- assenza O₂ : si produce ⊕ lattato

- con O₂ : si consuma il lattato < combustione ⊕ CO₂ H₂O
GLUCOGENESI

→ attività fisica / condizione anaerobica / accumulo lact
→ RIPOSO, ossigenazione normale / GLUCOGENESI

② origine del nome dell'enzima aldolasi

L'enzima aldolasi è utilizzato nella scissione di

GAP GUCERALDEIDE 3 FOSFATO a
- FRUTTOSIO 16 BIFOSFATO GAP
- DIIDROSSIACETONE FOSFATO DHAP

È CHIAMATO COSÌ PERCHÉ LA / QUESTA REAZIONE CHE CATALIZZA
È L'INVERSO DI UNA CONDENSAZIONE ALDOLOSA

③ QUALI ENZIMI DELLA GLUCOSI SONO DEIDROGENASI
NADH DIPENDENTI

GAP
↓ GUCERALDEIDE 3 FOSFATO DEIDROGENASI
~~3 FOSFOSUCCERATO~~ 1,3 BIFOSFOSUCCERATO
LATTATO DEIDROGENASI
ALCOL DEIDROGENASI

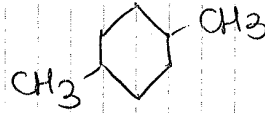
④ CHINASI : TRASFERIMENTO A 1 GP x FORMAZIONE UL RIBETRATO
ISOMERASI : ISOMERIZZAZIONE, CAMBIO STRUTTURA NO FORMULA
DEIDROGENASI : CAMBIO NUM STATO OX DEL RIBETRATO
E COENZIMA

⑤ PRODOTTO FINALE : GLUCOSI
(2NADH + 2ATP + 2PYR)

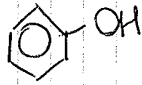
- 1 acetil CoA
- 2 CO₂
- ③ PRUVATO / ACIDO LATTICO
- 4 UREA

FORMULE STRUTTURA

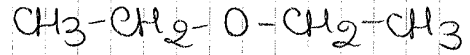
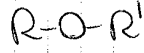
a) 1,4-DIMETIL CICLOESANO



b) FENOLO

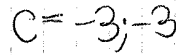
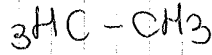


c) ETERE DI ETILICO

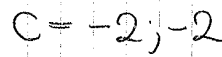
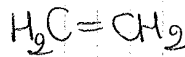


d) ACETATO DI ETILE

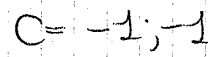
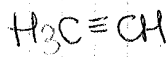
e) ETANO



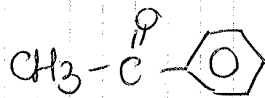
f) ETILENE → ETENE



g) ACETILENE → ETINO

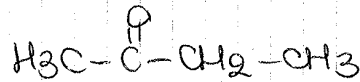


h) ACETO FENOLE (FENILMETILCHETONE)

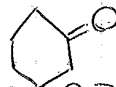


i) ACETONE

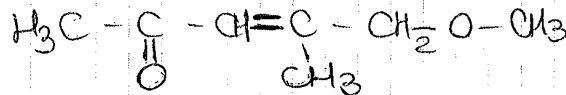
l) METIL ETILCHETONE



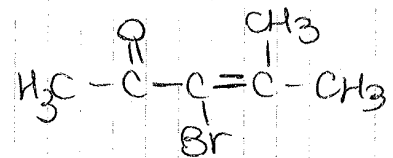
m) CICLOESANONE



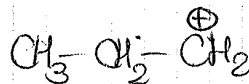
n) 5-METOSSIL-4-METILPENT-3EN-2ONE



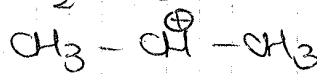
o) 3-BROMO 4METILPENT 3 en. 2 one



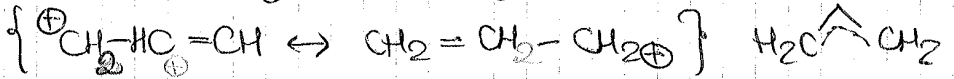
p) N-PROPIICO



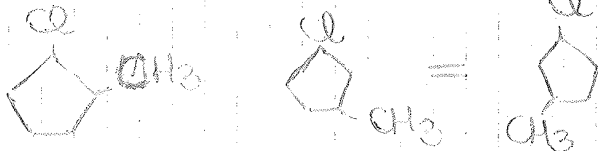
q) SEC-PROPIICO



r) ALLILICO

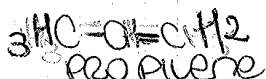
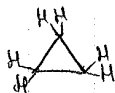


s) MONOCLOROISOPENTANI



t) C₃H₆

cicloPROPANO



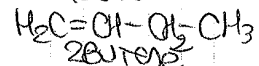
C₄H₈

cicloBUTANO

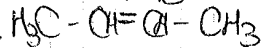


ISOBUTENE CH₂=C(CH₃)₂

1BUTENE



2BUTENE



↪ cis/trans / iso

METOSSI $-O-CH_3$

ALLILE $CH_2=CH-CH_3$

ISOBUTILE $-CH_2-CH_3 \begin{matrix} \swarrow CH_3 \\ \searrow CH_3 \end{matrix}$

CROTILICO $CH_3-CH=CH-CH_2^+$

ALLILAMMINA $CH_2=CH-CH_2-NH_2$

ACETATO DI METILE $CH_3-\overset{O}{\parallel}C-O-CH_3$

ISOPENTANO
$$\begin{array}{cccc} C & - & C & - & C & - & C \\ & & | & & & & \\ & & C & & & & \end{array}$$

NEOPENTANO
$$\begin{array}{c} C \\ | \\ C - C - C \\ | \\ C \end{array}$$