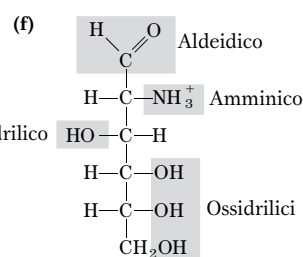
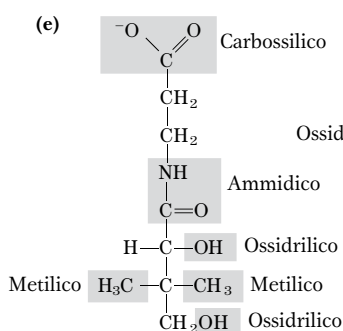
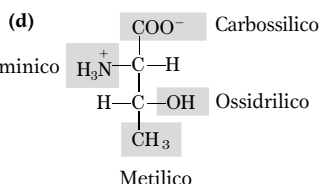
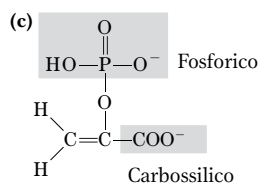
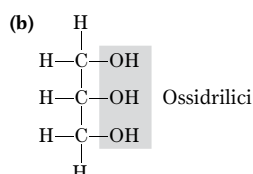
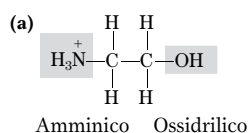


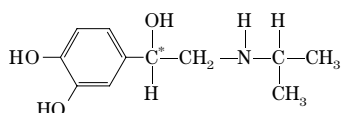
SOLUZIONI ABBREVIATE DEI PROBLEMI

CAPITOLO 1

- (a) Diametro della cellula ingrandita = 500 mm.
(b) $2,7 \times 10^{12}$ molecole di actina.
(c) 36 000 mitocondri.
(d) $3,9 \times 10^{10}$ molecole di glucosio.
(e) 50 molecole di glucosio per molecola di esochinasi.
- (a) 1×10^{-12} g = 1 pg (b) 10% (c) 5%.
- (a) 1,6 mm; 800 volte più lungo della cellula; il DNA deve essere strettamente avvolto. (b) 4000 proteine.
- (a) La velocità metabolica è limitata dalla diffusione, che a sua volta è limitata dall'area della superficie. (b) $12 \mu\text{m}^{-1}$ per il batterio; $0,04 \mu\text{m}^{-1}$ per l'ameba; il rapporto superficie/volume è 300 volte più alto nel batterio.
- 2×10^6 s (circa 23 giorni).
- Le molecole della vitamina ottenute dalle due fonti sono identiche; l'organismo non può distinguere le fonti; solo le impurità eventualmente associate possono dipendere dalla fonte.
-



8.

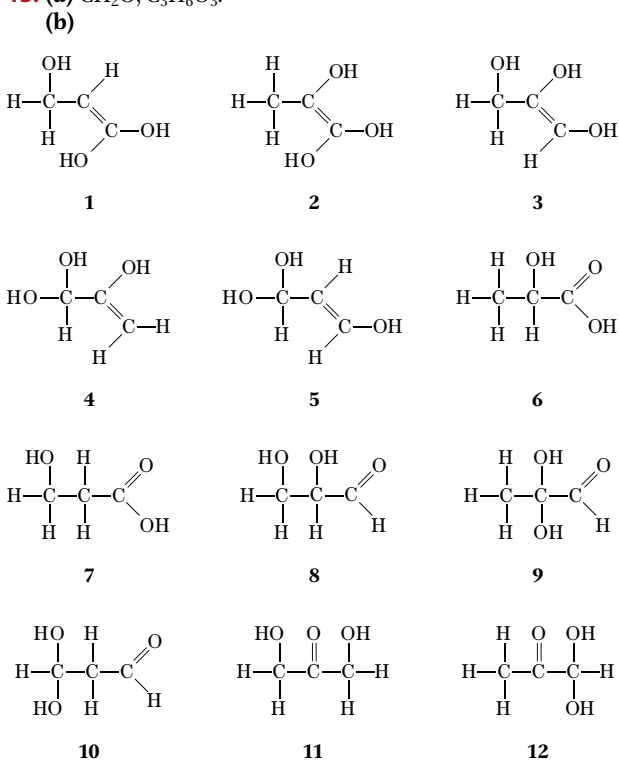


I due enantiomeri interagiscono in modo diverso con un "reettore" biologico chirale (una proteina).

- (a) Solo gli amminoacidi hanno il gruppo amminico; la separazione si può basare sulla carica o sul legame per affinità di questi gruppi. Gli acidi grassi sono meno solubili in acqua rispetto agli amminoacidi e i due tipi di molecole differiscono per forma e dimensione; queste differenze possono essere utilizzate per la separazione. (b) Il glucosio è una molecola più piccola di un nucleotide; la diversa dimensione po-

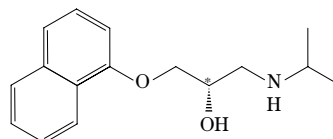
trebbe essere sfruttata per la separazione. Le basi azotate e/o i gruppi fosforici conferiscono ai nucleotidi proprietà specifiche (solubilità, carica), che possono essere usate per la separazione dal glucosio.

- È improbabile che il silicio possa servire da elemento organizzatore della vita, specialmente in un'atmosfera ricca di ossigeno come quella della Terra. Le lunghe catene di atomi di silicio non vengono prodotte con facilità, quindi non si potrebbero formare i polimeri necessari per le funzioni più complesse. L'ossigeno rompe i legami tra gli atomi di silicio, e i legami silicio-ossigeno sono molto stabili: ciò impedisce la rottura e la produzione continua di questi legami, un processo essenziale per la vita.
- Solo uno degli enantiomeri del composto era biologicamente attivo. La dexedrina è costituita da un solo enantiomero, mentre la benzedrina è una miscela racemica.
- (a) 3 molecole di acido fosforico; α -D-ribosio; guanina. (b) Colina, acido fosforico, glicerolo, acido oleico, acido palmitico. (c) Tirosina, glicina (2), fenilalanina, metionina.
- (a) CH_2O ; $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$.

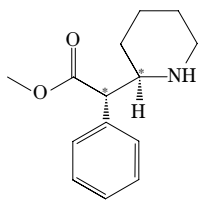


(c) X contiene un centro chirale; elimina tutto tranne **6** e **8**. (d) X contiene un gruppo funzionale acido; elimina **8**; la struttura **6** corrisponde ai dati. (e) La struttura **6**; non possiamo distinguere tra due possibili enantiomeri.

- Il composto mostrato nella figura è l'(*R*)-propranololo; il carbonio con il gruppo ossidrilico legato è il carbonio chirale. L'(*S*)-propranololo ha la seguente struttura:



15. Il composto mostrato nella figura è l'(*S,S*)-metilfenidato. L'(*R,R*)-metilfenidato ha la seguente struttura:

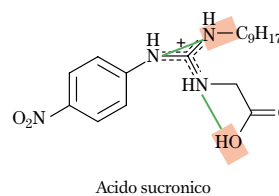
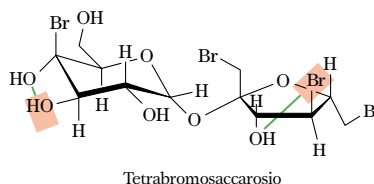
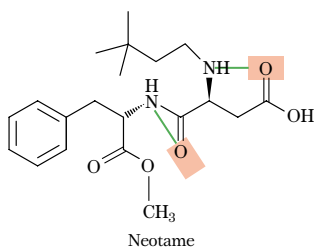
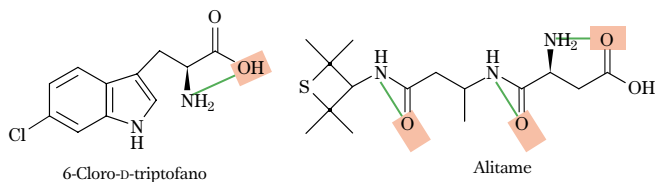
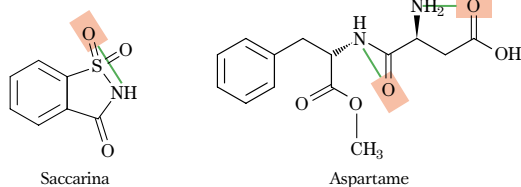
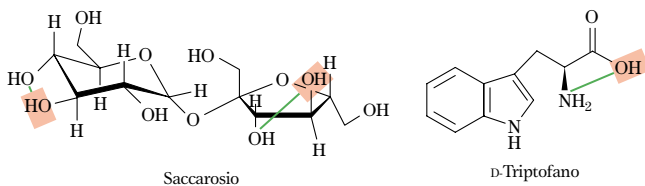
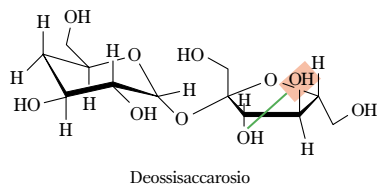


Gli atomi di carbonio chirali sono indicati dagli asterischi.

16. (a) Più negativo è il valore del ΔG° , maggiore è il valore della K_{eq} della reazione di legame. L'equilibrio viene sempre più spostato verso la formazione dei prodotti, quindi verso un legame sempre più forte (maggiore è la sensazione di dolce e più elevati sono gli MRS). (b) I saggi relativi alla sensazione di dolce eseguiti su animali richiedono molto tempo. Un programma computerizzato in grado di prevedere la sensazione di dolce, anche se non completamente attendibile, permetterebbe di progettare molto più rapidamente composti dal sapore dolce. Le molecole scelte potrebbero poi essere saggiate con i metodi convenzionali. (c) L'intervallo da 0,25 a 0,4 nm corrisponde a lunghezze di un singolo legame comprese tra 1,5 e 2,5. La figura in basso può essere utilizzata per costruire un righello approssimativo: gli atomi all'interno del rettangolo rosa si trovano tra 0,25 e 0,4 nm dall'origine del righello.



Vi sono molti possibili gruppi AH-B nelle molecole; alcuni sono mostrati qui di seguito.



(d) Innanzitutto, ogni molecola ha molti gruppi AH-B, quindi è difficile stabilire qual è quello importante. Poi, essendo il motivo AH-B molto semplice, numerose sostanze non dolci rientrano in questo gruppo. (e) Saccarosio e deossisaccarosio. Il deossisaccarosio non ha uno dei gruppi AH-B presenti nel saccarosio e ha un MRS leggermente inferiore a quello del saccarosio, come atteso se i gruppi AH-B sono importanti per il conferimento del sapore dolce. (f) Esistono molti esempi, tra cui i seguenti: (1) il D-triptofano e il 6-cloro-D-triptofano hanno lo stesso gruppo AH-B, ma valori di MRS molto diversi. (2) L'aspartame e il neotame hanno gli stessi gruppi AH-B, ma valori di MRS molto diversi. (3) Il neotame ha due gruppi AH-B e l'alitame ne ha tre, eppure il neotame è più di cinque volte più dolce dell'alitame. (4) Il bromo è meno elettronegativo dell'ossigeno, quindi dovrebbe indebolire il gruppo AH-B, eppure il tetrabromosaccarosio è molto più dolce del saccarosio. (g) Variando opportunamente i parametri, ogni modello può accordarsi con una serie di dati. Poiché lo scopo era quello di proporre un modello che prevedesse il valore del ΔG° di molecole per le quali non erano disponibili misure *in vivo*, i ricercatori avevano bisogno di dimostrare che il modello funzionava bene con molecole di cui non erano disponibili le misure. L'inaccuratezza del test basato su misure *in vivo* avrebbe dovuto dare ai ricercatori un'idea di come il modello si sarebbe comportato con nuove molecole. (h) LMRS è correlato con la K_{eq} , che è correlata esponenzialmente con il ΔG° ; quindi l'aggiunta di una quantità costante al ΔG° moltiplica il valore di MRS di una quantità costante. Sulla base dei valori dati alle strutture, una variazione del ΔG° di 1,3 kcal/mole corrisponde a una variazione del valore dell'MRS di 10 volte.

CAPITOLO 2

1. L'etanolo è polare, l'etano non lo è; il gruppo -OH dell'etanolo può formare legami idrogeno con l'acqua.
2. (a) 4,76 (b) 9,19 (c) 4,0 (d) 4,82.
3. (a) $1,51 \times 10^{-4}$ M (b) $3,02 \times 10^{-7}$ M (c) $7,76 \times 10^{-12}$ M.
4. 1,1
5. (a) $\text{HCl} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{Cl}^-$ (b) 3,3 (c) $\text{NaOH} \rightleftharpoons \text{Na}^+ + \text{OH}^-$ (d) 9,8.
6. 1,1.
7. $1,7 \times 10^{-9}$ moli di acetilcolina.
8. 0,1 M HCl.
9. (a) maggiore (b) più elevata (c) meno elevata.
10. 3,3 mL.
11. (a) RCOO^- (b) RNH_2 (c) H_2PO_4^- (d) HCO_3^- .
12. (a) 5,06 (b) 4,28 (c) 5,46 (d) 4,76 (e) 3,76.
13. (a) 0,1 M HCl (b) 0,1 M NaOH (c) 0,1 M NaOH.
14. (d) Il bicarbonato, una base debole, titola gli -OH, trasformandoli in $-\text{O}^-$, e rende il composto più polare e più solubile in acqua.
15. Lo stomaco; la forma neutra dell'aspirina presente al pH più basso è meno polare e passa attraverso la membrana con più facilità.

16. 9
 17. 7,4
 18. (a) pH da 8,6 a 10,6 (b) 4/5 (c) 10 mL (d) pH = pK_a - 2.
 19. 8,9
 20. 2,4
 21. 6,9
 22. 1,4
 23. NaH₂PO₄ · H₂O, 5,8 g/L; Na₂HPO₄, 8,2 g/L.
 24. [A⁻]/[HA] = 0,10.
 25. Mescolate 150 mL di 0,10 M sodio acetato e 850 mL di 0,10 M acido acetico.

26. Acido acetico; il suo pK_a è il più vicino al pH desiderato.

27. (a) 4,6 (b) 0,1 unità di pH (c) 4 unità di pH.

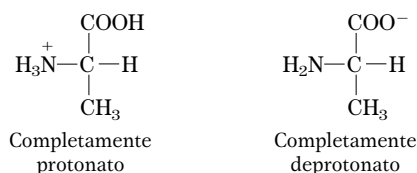
28. 4,3

29. 0,13 M acetato e 0,07 M acido acetico.

30. 1,7

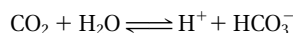
31. 7

32. (a)



(b) completamente protonato (c) zwitterione (d) zwitterione (e) completamente deprotonato.

33. (a) Il pH del sangue è controllato dal sistema tampone anidride carbonica-bicarbonato:



Durante l'ipoventilazione la [CO₂] aumenta nei polmoni e nel sangue arterioso, spostando l'equilibrio verso destra, la [H⁺] aumenta e il pH si abbassa. (b) Durante l'iperventilazione la [CO₂] diminuisce nei polmoni e nel sangue arterioso, riducendo la [H⁺] e aumentando il pH a valori superiori a 7,4. (c) Il lattato è un acido moderatamente forte e si dissocia completamente nelle condizioni fisiologiche, abbassando il pH del sangue e dei tessuti muscolari. L'iperventilazione rimuove gli ioni H⁺, aumentando il pH nel sangue e nei tessuti prima che si instauri un'acidosi.

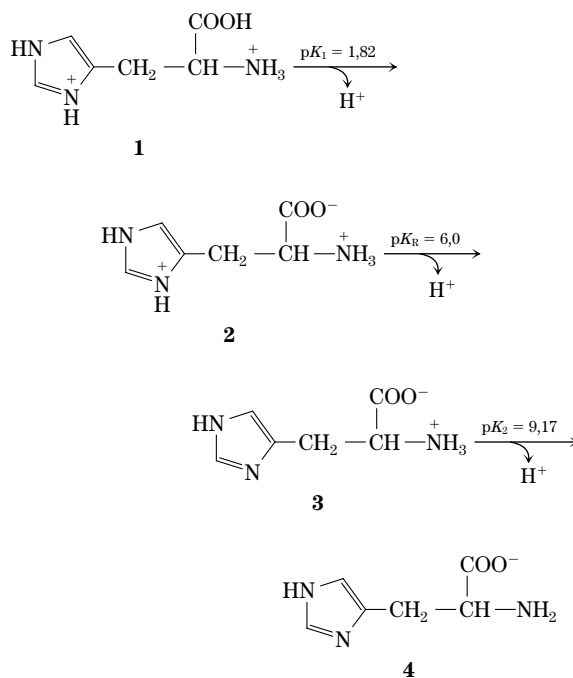
34. 7,4

35. Sciogliendosi più CO₂ nel sangue, aumenta la [H⁺] nel sangue e nei liquidi extracellulari, mentre il pH diminuisce: CO₂(d) + H₂O ⇌ H₂CO₃ ⇌ H⁺ + HCO₃⁻.

36. (a) Usate la sostanza nella sua forma di surfattante per emulsionare il petrolio versato, riunite il petrolio emulsionato e quindi passate alla forma non surfattante. Il petrolio e l'acqua si separano, e il petrolio può essere conservato per essere ancora utilizzato. (b) La costante di equilibrio è fortemente spostata a destra. L'acido più forte (pK_a più basso), l'H₂CO₃, dona un protone alla base coniugata dell'acido più debole (pK_a più elevato), l'amidina. (c) La forza del surfattante dipende dall'idrofilicità della sua testa polare: più idrofila è la testa, più potente è il surfattante. La forma amidinica protonata del surfattante è molto più idrofila di quella non protonata ed è quindi un surfattante più potente. (d) Punto A: amidinio; la CO₂ ha avuto tempo sufficiente per reagire con l'amidina, producendo la forma di ione amidinio. Punto B: amidina; l'Ar ha rimosso la CO₂ dalla soluzione, lasciando la forma amidinica. (e) La conduttività aumenta man mano che la forma amidinica non carica reagisce con la CO₂ per produrre la forma carica di ione amidinio. (f) La conduttività diminuisce man mano che l'argo rimuove la CO₂, spostando l'equilibrio verso la forma amidinica non carica. (g) Trattate l's-surf con la CO₂ per produrre il surfattante nella forma di ione amidinio, e usatelo per emulsionare il petrolio versato. Trattate l'emulsione con Ar, per rimuovere la CO₂ e produrre la forma amidinica non surfattante. Il petrolio si separerà dall'acqua e potrà essere recuperato.

CAPITOLO 3

1. I; determinate la configurazione assoluta a livello del carbonio α e poi confrontatela con la L- e la D-gliceraldeide.
 2. (a) I. (b) II. (c) IV. (d) II. (e) IV. (f) II e IV. (g) III. (h) III. (i) V. (j) III. (k) V. (l) II. (m) III. (n) V. (o) I, III e V.
 3. (a) pI > pK_a del gruppo carbossilico α e pI < pK_a del gruppo amminico α, per cui i due gruppi sono carichi (ionizzati). (b) 1 su 2,19 × 10⁷. Il pI dell'alanina è 6,01. Dalla Tabella 3.1 e dall'equazione di Henderson-Hasselbalch si deduce che 1/4680 gruppi carbossilici e 1/4680 gruppi amminici non sono carichi. La quantità di molecole di alanina con entrambi i gruppi non carichi è il prodotto di queste due frazioni.
 4. (a)-(c)

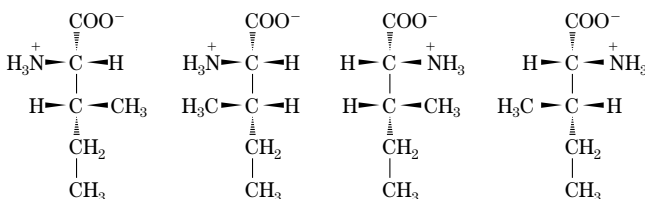


pH	Struttura	Carica netta	Migrazione
1	1	+ 2	Catodo
4	2	+ 1	Catodo
8	3	0	Non migra
12	4	- 1	Anodo

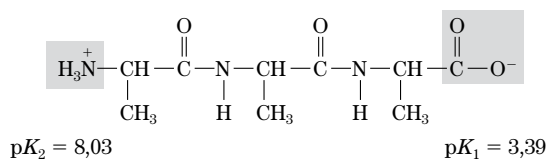
5. (a) Asp (b) Met (c) Glu (d) Gly (e) Ser.

6. (a) 2 (b) 4.

(c)



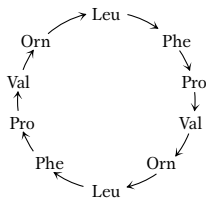
7. (a) Struttura a pH 7:



(b) L'interazione elettrostatica tra l'anione carbossilato e il gruppo amminico protonato dell'alanina nella forma zwitterionica altera favorevolmente la ionizzazione del gruppo carbossilico. Questa interazione elettrostatica favorevole di-

minuisce man mano che aumenta la lunghezza del poli(Ala), portando a un aumento della pK_1 . **(c)** La ionizzazione del gruppo amminico protonato annulla l'interazione elettrostatica favorevole evidenziata in **(b)**. Aumentando la distanza tra i due gruppi carichi, la rimozione del protone dal gruppo amminico nel poli(Ala) diventa più facile e quindi la pK_2 è più bassa. Gli effetti intramolecolari dei legami ammidici (legami peptidici) mantengono i valori dei pK_a più bassi di quanto sarebbero per un'ammina alchil-sostituita.

8. 75 000
 9. **(a)** 32 000. Gli elementi dell'acqua si perdono quando si forma un legame peptidico, quindi il peso molecolare del residuo del triptofano non è pari al peso molecolare del triptofano libero. **(b)** 2.
 10. La proteina ha quattro subunità, con una massa molecolare di 160, 90, 90 e 60 kDa. Le due subunità di 90 kDa (probabilmente identiche) sono legate da uno o più ponti disolfuro.
 11. **(a)** A pH 3, +2; a pH 8, 0; a pH 11, -1. **(b)** pI = 7,8.
 12. pI ≈ 1; i gruppi carbossilici; Asp e Glu.
 13. Lys, His, Arg; i gruppi fosforici carichi negativamente del DNA interagiscono con le catene laterali cariche positivamente degli istoni.
 14. **(a)** (Glu)₂₀ **(b)** (Lys-Ala)₃ **(c)** (Asn-Ser-His)₅ **(d)** (Asn-Ser-His)₅.
 15. **(a)** Lattività specifica dopo la tappa 1 è 200 unità/mg; dopo la tappa 2, 600 unità/mg; dopo la tappa 3, 250 unità/mg; dopo la tappa 4, 4000 unità/mg; dopo la tappa 5, 15 000 unità/mg; dopo la tappa 6, 15 000 unità/mg. **(b)** Tappa 4. **(c)** Tappa 3. **(d)** Sì. Lattività specifica non aumenta nella tappa 6; elettroforesi su gel di poliaccrilammide in presenza di SDS.
 16. **(a)** [NaCl] = 0,5 mM **(b)** [NaCl] = 0,05 mM.
 17. C eluisce per primo, B per secondo, A per ultimo.
 18. Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu.
 19.



Le frecce indicano l'orientamento dei legami peptidici, $-\text{CO} \rightarrow \text{NH}-$.

20. 88%, 97%. La percentuale (x) del corretto residuo amminoacidico rilasciato nel ciclo n è x_n/x . Tutti i residui rilasciati nel primo ciclo sono corretti, anche se l'efficienza della scissione non è perfetta.
 21. **(a)** Y (1), F (7) ed R (9). **(b)** Posizioni 4 e 9; K (Lys) è più frequente in 4, R (Arg) è invariante in 9. **(c)** Posizioni 5 e 10; E (Glu) è più frequente in entrambe le posizioni. **(d)** Posizione 2; S (Ser).
 22. **(a)** Peptide 2. **(b)** Peptide 1. **(c)** Peptide 2. **(d)** Peptide 3.
 23. **(a)** Ogni polipeptide lineare ha solo due tipi di gruppi amminici: il gruppo α -amminico dell'amminoacido aminoterminale, che è unico, e il gruppo ϵ -amminico di ognuno dei residui di lisina presenti. Tutti reagiscono con l'FDNB, formando i DNP derivati degli amminoacidi. L'insulina produce due differenti α -ammino-DNP derivati, quindi ha due terminazioni amminiche e di conseguenza è formata da due catene polipeptidiche, una con la Gly in corrispondenza della terminazione amminica, e l'altra con la Phe. Poiché il composto DNP-lisina è l' ϵ -DNP-lisina, la lisina non può essere un amminoacido N-terminale. **(b)** Sì. Nella catena A l'amminoacido aminoterminale è la Gly; nella catena B è la Phe; in B l'amminoacido in posizione 29 è la Lys (non terminale). **(c)** Phe-Val-Asp-Glu-; il peptide B1 mostra che il residuo aminoterminale è la Phe. Anche il peptide B2 contiene valina ma, non essendosi formato DNP-Val, questo residuo non si trova all'estremità amminica. La sequenza di B2 è quindi Phe-Val. Analogamente, la sequenza del peptide

B3 deve essere DNP-Phe-Val-Asp, e la catena A deve iniziare con la sequenza Phe-Val-Asp-Glu-. **(d)** No. È noto che la sequenza aminoterminale della catena A dell'insulina è in realtà Phe-Val-Asn-Gln-. L'Asn e la Gln nelle analisi effettuate secondo il metodo di Sanger appaiono come Asp e Glu, perché l'idrolisi forte del passaggio 7 idrolizza il legame ammidico dell'Asn e della Gln (insieme al legame peptidico), formando Asp e Glu. Sanger e collaboratori non erano in grado di distinguere l'Asp dall'Asn e il Glu dalla Gln a questo stadio della loro analisi. **(e)** La sequenza coincide esattamente con quella della Figura 3.24. Ciascun peptide della tabella fornisce le informazioni specifiche per stabilire quali residui Asx sono Asn o Asp, e quali residui Glx sono Glu o Gln.

Ac1: residui 20-21. La sequenza non può che essere Cys-Asx nella catena A; in questo peptide vi è ~1 gruppo ammidico, quindi la sequenza è Cys-Asn:

N-Gly-Ile-Val-Glx-Glx-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-Glx-Leu-Glx-Asx-Tyr-Cys-**Asn**-C

15 20

Ap15: residui 14-15-16. È la sola sequenza Tyr-Glx-Leu della catena A; vi è ~1 gruppo ammidico, quindi la sequenza è Tyr-Gln-Leu:

N-Gly-Ile-Val-Glx-Glx-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-**Gln**-Leu-Glx-Asx-Tyr-Cys-Asn-C

15 20

Ap14: residui 14-15-16-17. Vi è ~1 gruppo ammidico, e noi già sappiamo che il residuo 15 è Gln, quindi il residuo 17 deve essere Glu:

N-Gly-Ile-Val-Glx-Glx-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-**Glu**-Asx-Tyr-Cys-Asn-C

15 20

Ap3: residui 18-19-20-21. Vi sono ~2 gruppi ammidici, e noi sappiamo che il residuo 21 è Asn, quindi il residuo 18 deve essere Asn:

N-Gly-Ile-Val-Glx-Glx-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-**Asn**-Tyr-Cys-Asn-C

15 20

Ap1: residui 17-18-19-20-21, in accordo con l'attribuzione di Asn ai residui 18 e 21.

Ap5pa1: residui 1-2-3-4. Non vi sono gruppi ammidici, quindi il residuo 4 deve essere Glu:

N-Gly-Ile-Val-**Glu**-Glx-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-C

15 20

Ap5: residui da 1 a 13. Vi è ~1 gruppo ammidico, e noi sappiamo che il residuo 4 è un glutammato, quindi il residuo 5 deve essere Gln:

N-Gly-Ile-Val-Glu-**Gln**-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-

1 5 10

Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-C

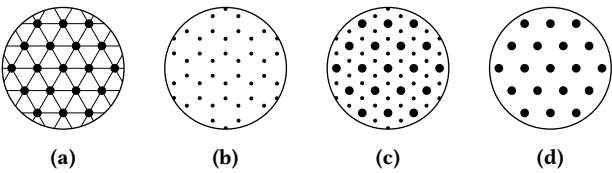
15 20

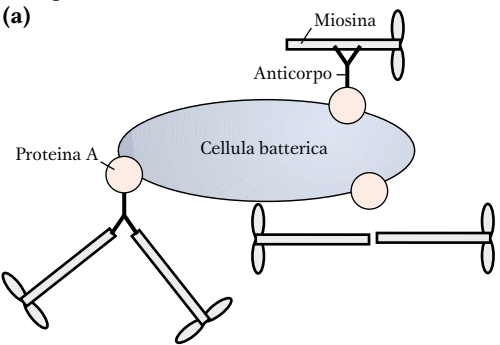
CAPITOLO 4

1. (a) I legami più corti hanno un ordine di legame maggiore (sono multipli invece che singoli) e sono più forti. Il legame C—N è più forte di un legame singolo e ha un carattere che è una via di mezzo tra un legame singolo e uno doppio. (b) La rotazione intorno al legame peptidico è difficoltosa a temperature fisiologiche per il suo carattere di doppio legame parziale.
2. (a) Le unità strutturali principali dei polipeptidi della fibra della lana (α -cheratina) sono giri successivi di α elica, spaziate da intervalli di 5,4 Å prodotti dall'avvolgimento avvolto. Il riscaldamento e l'allungamento della fibra producono catene polipeptidiche nella conformazione β estesa, in cui la distanza tra gruppi R adiacenti è di circa 7,0 Å. Quando il polipeptide assume di nuovo la sua conformazione ad α elica, la fibra si accorcia. (b) La lana trattata si accorcia quando le catene polipeptidiche sono convertite da una conformazione β estesa alla conformazione nativa ad α elica, in presenza di calore umido. I foglietti β della seta, con le loro catene laterali piuttosto piccole e molto ravvicinate, sono più stabili di quelli della lana.
3. Circa 42 legami peptidici al secondo.
4. A pH > 6 il gruppo carbossilico del poli(Glu) diventa protonato; la repulsione tra le cariche negative dei gruppi carbossilici deprotonati determina lo srotolamento. Analogamente, a pH 7 i gruppi amminici del poli(Lys) sono protonati; la repulsione tra queste cariche positive determina uno srotolamento.
5. (a) I legami disolfuro sono legami covalenti, molto più forti delle interazioni non covalenti che stabilizzano la maggior parte delle proteine. Essi uniscono trasversalmente tra loro le catene proteiche, aumentandone la rigidità, la resistenza meccanica e la durezza. (b) I residui di cistina (legami disolfuro) impediscono lo srotolamento completo della proteina.
6. $\phi = (f)$ e $\psi = (e)$.
7. (a) I ripiegamenti si formano con molta probabilità a livello dei residui 7 e 19; i residui di Pro nella configurazione *cis* si adattano molto bene ai ripiegamenti. (b) I residui di Cys nelle posizioni 13 e 24 possono formare un ponte disolfuro. (c) Superficie esterna: i residui polari e carichi (Asp, Gln, Lys); all'interno: i residui non polari e alifatici (Ala, Ile); Thr, pur essendo polare, ha un indice idropatico vicino a zero e quindi può trovarsi sia sulla superficie esterna sia all'interno delle proteine.
8. 30 residui amminoacidici; 0,87.
9. Tutti e tre. La struttura ripiegata, il cosiddetto "ripiegamento globinico", è un motivo che si trova in tutte le globine. Il polipeptide si ripiega formando un singolo dominio, che per la mioglobina rappresenta l'intera struttura tridimensionale.
10. La proteina (a), un barile β , è descritta dal grafico di Ramachandran (c) che, nel quadrante superiore sinistro, porzione in cui sono concentrati gli angoli di legame caratteristici della conformazione β , mostra la maggior parte delle conformazioni permesse. La proteina (b), costituita da una serie di α eliche, è descritta nel quadrante in basso a sinistra (d) del diagramma, dove è concentrata la maggior parte delle conformazioni possibili.
11. L'enzima batterico è una collagenasi, che può distruggere la barriera del tessuto connettivo dell'ospite, consentendo al batterio di invadere i tessuti. I batteri non contengono collagene.
12. (a) Il calcolo del numero di moli di DNP-valina formate per mole di proteina fornisce il numero di residui aminoterminali e di conseguenza il numero di catene polipeptidiche. (b) 4. (c) Catene diverse dovrebbero correre come bande discrete nell'elettroforesi su gel di poliacrilammide in presenza di SDS.
13. (a); ha più residui amminoacidici, che favoriscono la struttura ad α elica (vedi la Tabella 4.1).
14. (a) I residui aromatici sembrano svolgere un ruolo importante nella stabilizzazione delle fibrille amiloidi. Quindi, le molecole con sostituenti aromatici possono inibire la formazione dell'amiloide interferendo con l'impilamento o con l'associazione delle catene laterali aromatiche. (b) L'amiloide si forma nel pancreas in associazione al diabete di tipo 2, come accade nel cervello per il morbo di Alzheimer. Anche se le fibre amiloidi nelle due patologie coinvolgono proteine diverse, la struttura fondamentale dell'amiloide è simile in entrambe le malattie, quindi le fibre sono bersagli potenziali per quei farmaci progettati per distruggere l'amiloide.
15. (a) Fattore di trascrizione NF κ B, detto anche fattore di trasformazione RelA. (b) No. Si potrebbero ottenere risultati simili, ma con ulteriori proteine correlate. (c) La proteina ha due subunità. Ci sono varianti multiple delle subunità: le meglio caratterizzate sono 50, 52 o 65 kDa. Queste si appaiano l'una con l'altra per formare una varietà di omodimeri ed eterodimeri. La struttura di numerose varianti si può trovare nel database di PDB. (d) Il fattore di trascrizione NF κ B è una proteina dimerica che si lega a specifiche sequenze del DNA, iniziando la trascrizione di geni adiacenti. Uno di questi geni è la catena leggera κ delle immunoglobuline, dalla quale il fattore di trascrizione prende il nome.
16. (a) L'Aba è un buon sostituto, perché le catene laterali dell'Aba e della Cys hanno circa la stessa grandezza e la stessa idrofobicità. Però l'Aba non può formare ponti disolfuro, quindi non è un buon sostituto se sono presenti i ponti disolfuro. (b) Vi sono molte importanti differenze tra la proteina sintetizzata chimicamente e la proteasi dell'HIV prodotta dalle cellule umane, che potrebbero condurre alla sintesi di un enzima sintetico inattivo. (1) Anche se l'Aba e la Cys hanno dimensioni e grado di idrofobicità simili, l'Aba potrebbe non essere sufficientemente simile per produrre un avvolgimento proteico adatto alla funzione. (2) La proteasi HIV potrebbe richiedere la presenza di ponti disolfuro per l'attività. (3) Molte proteine cominciano a ripiegarsi mentre vengono sintetizzate sui ribosomi; la proteina sintetizzata in laboratorio si ripiega solo dopo che l'intera catena polipeptidica è stata sintetizzata. (4) Le proteine sintetizzate sui ribosomi possono interagire con i ribosomi mentre si ripiegano; questo non è possibile con la proteina sintetizzata chimicamente. (5) Il citosol è una soluzione più complessa del tampone usato nel lavoro di Milton; alcune proteine potrebbero richiedere l'intervento di proteine specifiche, tuttora sconosciute, per il corretto ripiegamento. (6) Le proteine sintetizzate nelle cellule spesso richiedono l'intervento delle chaperonine per ripiegarsi in modo corretto, ma le chaperonine non sono presenti nel tampone utilizzato. (7) Nelle cellule, la proteasi HIV viene sintetizzata come parte di una catena polipeptidica più lunga, che viene poi scissa proteoliticamente; la D-proteasi, invece, è stata sintetizzata come molecola singola. (c) Poiché l'enzima funziona con l'Aba che sostituisce la cisteina, i ponti disolfuro non svolgono un ruolo importante nello stabilizzare la struttura della proteasi dell'HIV. (d) *Modello 1*: si ripiegherebbe come la L-proteasi. *A favore*: la struttura covalente è la stessa (eccettuata la chiralità), quindi dovrebbe ripiegarsi come la L-proteasi. *Contro*: la chiralità non è una proprietà poco importante; la struttura tridimensionale è una proprietà fondamentale delle molecole biologiche. L'enzima sintetico non si ripiegherà come la L-proteasi. *Modello 2*: si ripiegherà secondo una struttura che è l'immagine speculare della L-proteasi. *A favore*: poiché i singoli componenti sono l'immagine speculare di quelli delle proteine biologiche, si ripiegherà formando l'immagine speculare. *Contro*: le interazioni che partecipano al ripiegamento delle proteine sono molto complesse, quindi le proteine sintetiche si potranno ripiegare molto probabilmente in forme diverse. *Modello 3*: si ripiegherà in una struttura diversa. *A favore*: le interazio-

ni coinvolte nel ripiegamento dei polipeptidi sono molto complesse, quindi la proteina sintetica probabilmente si ripiegherà in una forma diversa. *Contro*: poiché i singoli componenti sono l'immagine speculare di quelli delle proteine biologiche, si ripiegherà secondo una conformazione che è l'immagine speculare della L-proteasi. **(e) Modello 1.** L'enzima è attivo, ma con la forma enantiomerica del substrato biologico, ed è inibito dalla forma enantiomerica dell'inibitore biologico. Ciò suggerisce che la D-proteasi sia l'immagine speculare della L-proteasi. **(f)** L'Evans blu è achirale. Si lega ad ambedue le forme dell'enzima. **(g)** No. Poiché le proteasi contengono solo L-amminoacidi e riconoscono solo gli L-peptidi, la chimotripsina non dovrebbe digerire la D-proteasi. **(h)** Non necessariamente. A seconda dell'enzima, ognuno dei problemi elencati in (b) potrebbe contribuire alla sintesi di un enzima inattivo.

CAPITOLO 5

- La proteina B ha un'affinità più elevata per il ligando X. Essa verrà saturata per metà da X a concentrazioni molto più basse rispetto alla proteina A. La proteina A ha una K_d di 10^6 M^{-1} , la proteina B ha una K_d di 10^9 M^{-1} .
- (a)**, **(b)** e **(c)** hanno $n_H < 1,0$. L'apparente cooperatività negativa nel legame del ligando può essere causata dalla presenza di due o più tipi di siti di legame per il ligando con diversa affinità localizzati sulla stessa proteina o su proteine diverse nella stessa soluzione. Una cooperatività negativa apparente si osserva di solito in preparazioni proteiche eterogenee. I casi di cooperatività negativa vera ben documentati sono decisamente pochi.
- (a)** Diminuisce. **(b)** Aumenta. **(c)** Diminuisce. **(d)** Aumenta.
- $k_d = 8,9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.
- (a)** 0,5 nm (scorciatoia: la K_d è equivalente alla concentrazione del ligando, in cui $\theta = 0,5$). **(b)** Dal momento che ha una K_d più bassa, la proteina 2 è quella con l'affinità più elevata.
- Il comportamento cooperativo dell'emoglobina è dovuto all'interazione tra le subunità.
- (a)** L'osservazione che l'emoglobina A (HbA, materna) è saturata per il 60% quando la pO_2 è 4 kPa, mentre l'emoglobina F (HbF, fetale) è saturata per il 90% nelle stesse condizioni fisiologiche, indica che l'affinità per l' O_2 dell'HbF è maggiore di quella dell'HbA. **(b)** Nella placenta, l'affinità più elevata dell'HbF consente all'ossigeno di passare dal sangue materno a quello fetale. Il sangue fetale raggiunge la saturazione anche se l'affinità per l' O_2 dell'HbA è bassa. **(c)** L'osservazione che la curva di saturazione da O_2 dell'HbA si sposta verso destra in presenza di BPG, cosa che non accade con l'HbF, suggerisce che l'HbA legni il BPG più saldamente dell'HbF. Il legame differenziale del BPG alle due emoglobine può determinare la differenza nelle due affinità per l'ossigeno.
- (a)** Hb Memphis. **(b)** HbS, HB Milwaukee, Hb Providence, forse Hb Cowtown. **(c)** Hb Providence.
- Più saldamente. La difficoltà a formare tetrameri da parte di queste varianti emoglobiniche ne limiterà la cooperatività, e la curva di legame diventerà più iperbolica. Inoltre, il sito di legame del BPG non sarà presente. Il legame dell'ossigeno sarà più forte, perché lo stato dell'emoglobina in assenza di BPG è lo stato R, che lega saldamente l'ossigeno.
- (a)** $1 \times 10^{-8} \text{ M}$. **(b)** $5 \times 10^{-8} \text{ M}$. **(c)** $8 \times 10^{-8} \text{ M}$. **(d)** $2 \times 10^{-7} \text{ M}$. Si noti che da un riarrangiamento dell'Equazione 5.8 si ottiene $[L] = \theta K_d / (1 - \theta)$.
- Probabilmente l'epitopo è costituito da una struttura che è nascosta quando l'actina G polimerizza per formare l'actina F.
- Molti patogeni, compreso l'HIV, hanno sviluppato meccanismi con cui modificano ripetutamente le proteine di superficie a cui si legano inizialmente i componenti del sistema immunitario. Quindi, l'organismo affronta continuamente nuovi antigeni e ha bisogno di tempo per innescare una risposta immunitaria contro ciascuno di essi. Quando il sistema immunitario ha risposto a una variante, vengono create nuove varianti.
- Il legame dell'ATP alla miosina innesca la dissociazione della miosina dal filamento di actina. In assenza di ATP, actina e miosina si legano saldamente l'una all'altra.
- 

(a) La catena L è la catena leggera e la catena H è la catena pesante del frammento Fab di questa molecola di anticorpo. La catena Y è il lisozima. **(b)** Le strutture β sono predominanti nelle regioni variabili e costanti del frammento. **(c)** Il frammento della catena pesante di Fab, 218 residui aminoacidici; il frammento della catena leggera, 214; lisozima, 129. Meno del 15% della molecola di lisozima è in contatto col frammento Fab. **(d)** Nella catena H i residui che sembrano essere in contatto col lisozima comprendono Gly³¹, Tyr³², Arg⁹⁹, Asp¹⁰⁰, Tyr¹⁰¹. Nella catena L i residui che sembrano essere in contatto col lisozima comprendono Tyr³², Tyr⁴⁹, Tyr⁵⁰, Trp⁹². Nel lisozima i residui Asn¹⁹, Gly²², Tyr²³, Ser²⁴, Lys¹¹⁶, Gly¹¹⁷, Thr¹¹⁸, Asp¹¹⁹, Gln¹²¹ e Arg¹²⁵ sembrano essere situati in corrispondenza dell'interfaccia antigene-anticorpo. Non tutti questi residui sono adiacenti nella struttura primaria. Il ripiegamento della catena polipeptidica in alti livelli di struttura avvicina i residui non contigui per formare il sito di legame per l'antigene.
- (a)** La proteina con una K_d di $5 \mu\text{M}$ potrebbe avere alta affinità per il ligando L. Quando la K_d è $10 \mu\text{M}$, raddoppiando $[L]$ da 0,2 a $0,4 \mu\text{M}$ (valori ben al di sotto della K_d) potrebbe addirittura raddoppiare θ (l'effettivo valore di incremento è 1,96). Questa è una proprietà della curva iperbolica; a basse concentrazioni di ligando, θ è funzione lineare di $[L]$. D'altra parte, il raddoppio di $[L]$ da 40 a $80 \mu\text{M}$ (molto al di sopra della K_d , dove la curva di legame è approssimativamente il suo limite asintotico) può far aumentare θ soltanto di un fattore 1,1. I fattori di incremento sono identici per le curve generate dall'Equazione 5.11. **(b)** $\theta = 0,998$. **(c)** Potremmo ottenere varie risposte in relazione ai valori inseriti per i diversi parametri.
- (a)**


Il disegno non è in scala; ciascuna cellula ha molte più molecole di miosina sulla sua superficie. **(b)** L'ATP è necessario per fornire energia chimica per il movimento (vedi il Capitolo 13). **(c)** Un anticorpo che si lega alla coda della miosina, il sito di legame dell'actina, blocca il legame dell'actina e impedisce il movimento. Un anticorpo che si lega all'actina impedisce l'interazione actina-miosina e quindi il movimento. **(d)** Ci sono due possibili spiegazioni: (1) la tripsina taglia solo a livello dei residui di Lys e di Arg (vedi la Tabella 3.6), quindi non agisce su molti siti della proteina. (2) Non tutti i residui di Arg e Lys sono ugualmente accessibili alla tripsina; i siti più esposti sono quelli che vengono scissi per primi.

(e) Modello S1. Il modello cerniera prevede che i complessi perlina-anticorpo-HMM (con la cerniera) si muovano, mentre i complessi perlina-anticorpo-SHMM (senza la cerniera) non si muovano. Il modello S1 prevede che, data la presenza di S1 nei due complessi, entrambi dovrebbero muoversi. Il fatto che si muovano le perline con l'SHMM (senza la cerniera) è in accordo solo col modello S1. (f) Con meno molecole di miosina le perline potrebbero temporaneamente staccarsi dall'actina se la miosina si stacca. Le perline si muovono più lentamente perché occorre del tempo affinché si legni una seconda molecola di miosina. A più elevata densità di miosina, appena una molecola di miosina si stacca subito se ne lega un'altra, aumentando la velocità intrinseca dello spostamento. (g) Al di sopra di una certa densità, ciò che limita la velocità del movimento è la velocità con cui le molecole di miosina possono spostare le perline. Le molecole di miosina si stanno muovendo alla velocità massima e anche un'ulteriore aggiunta non avrebbe effetti sulla velocità. (h) Poiché la forza viene prodotta nelle teste S1, danneggiandole, è probabile che esse si inattivino, quindi l'SHMM non potrebbe più produrre movimento. (i) La struttura della testa S1 deve essere mantenuta da interazioni non covalenti abbastanza forti da mantenere la forma attiva della molecola.

CAPITOLO 6

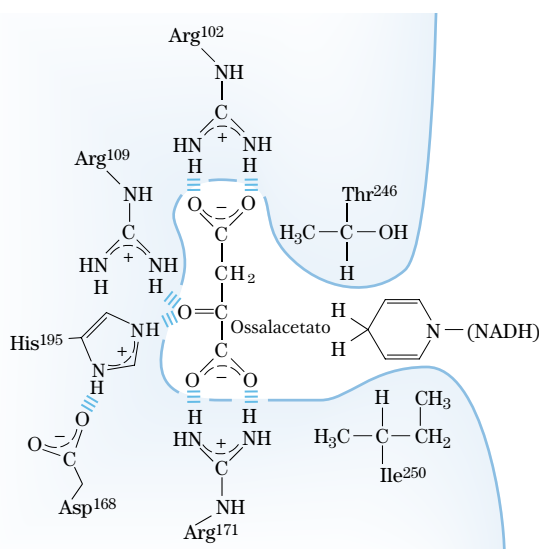
- L'attività dell'enzima che converte lo zucchero in amido viene distrutta mediante denaturazione al calore.
- $2,4 \times 10^{-6}$ M.
- $9,5 \times 10^8$ anni.
- Il complesso enzima-substrato è più stabile dell'enzima da solo.
- (a) 190 Å. (b) Il ripiegamento tridimensionale dell'enzima pone questi amminoacidi molto vicini tra loro.
- La velocità della reazione può essere misurata seguendo la diminuzione nell'assorbimento del NADH (a 340 nm) che si ha man mano che la reazione procede. Determinate il valore di K_m ; usando concentrazioni di substrato molto superiori al valore di K_m , misurate la velocità iniziale (la velocità di scomparsa di NADH, valutata spettroscopicamente) a diverse concentrazioni di enzima, e costruite un grafico correlando la velocità iniziale alla concentrazione di enzima. Si deve ottenere una linea retta, la cui pendenza dipende dalla concentrazione dell'LDH.
- (b), (e), (g).
- (a) $1,7 \times 10^{-3}$ M. (b) 0,33; 0,67; 0,91. (c) La curva superiore corrisponde all'enzima B ($[X] > K_m$ per questo enzima), la curva inferiore all'enzima A.
- (a) 400 s^{-1} . (b) $10 \mu\text{M}$. (c) $\alpha = 2$, $\alpha' = 3$. (d) Inibitore misto.
- (a) 24 nM. (b) $4 \mu\text{M}$ (V_0 è esattamente la metà di V_{\max} , quindi $[A] = K_m$). (c) $40 \mu\text{M}$ (V_0 è esattamente la metà di V_{\max} , quindi $[A] = 10$ volte la K_m in presenza dell'inibitore). (d) No. $k_{\text{cat}}/K_m = (0,33 \text{ s}^{-1})/(4 \times 10^{-6} \text{ M}) = 8,25 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, ben al di sotto del limite controllato dalla diffusione.
- $V_{\max} \approx 140 \mu\text{M}/\text{min}$; $K_m \approx 1 \times 10^{-5}$ M.
- (a) $V_{\max} = 51,5 \text{ mM}/\text{min}$; $K_m = 0,59 \text{ mM}$. (b) Inibizione competitiva.
- $K_m = 2,2 \text{ mM}$; $V_{\max} = 0,5 \mu\text{mol}/\text{min}$.
- Curva A.
- $k_{\text{cat}} = 2,0 \times 10^7 \text{ min}^{-1}$.
- Le ipotesi di base dell'equazione di Michaelis-Menten sono mantenute. La reazione è allo stato stazionario e la velocità è determinata da $V_0 = k_2/[ES]$. Le equazioni necessarie per risolvere per $[ES]$ sono:

$$[E_t] = [E] + [ES] + [EI] \quad \text{e} \quad [EI] = \frac{[E][I]}{K_1}$$

Il termine $[E]$ può essere ottenuto risolvendo l'Equazione 6.19. Il resto segue quanto descritto nella derivazione dell'equazione di Michaelis-Menten nel testo.

- Minimo $M_r = 29000$.

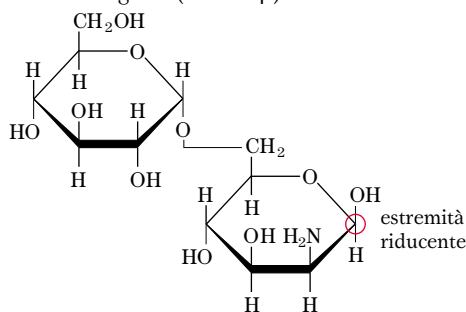
- L'attività dell'enzima della ghiandola prostatica è uguale all'attività fosfataseica totale di un campione di sangue meno l'attività fosfataseica in presenza di una quantità di trattato sufficiente per inibire completamente l'enzima della ghiandola prostatica.
- L'inibizione è mista. Poiché K_m sembra non cambiare in maniera apprezzabile, questo potrebbe essere il caso speciale di un'inibizione mista detta non competitiva.
- La $[S]$ alla quale $V_0 = V_{\max}/2\alpha'$ si ottiene quando tutti i termini eccetto V_{\max} della parte destra dell'Equazione 6.30, cioè $[S]/(\alpha K_m + \alpha' [S])$, sono uguali a $1/2 \alpha'$. Iniziate con $[S]/(\alpha K_m + \alpha' [S]) = 1/2 \alpha'$ e risolvetevi per $[S]$.
- L'optimum di attività si ottiene quando Glu^{35} è protonata e Asp^{52} è non protonata.
- (a) V_0 aumenta di un fattore pari a 1,96; $V_0 = 50 \mu\text{M s}^{-1}$; fattore di aumento = 1,048.
(b) Quando $\alpha = 2,0$, la curva si sposta a destra, all'aumento della K_m di un fattore 2. Quando $\alpha' = 3,0$, l'asintoto della curva (la V_{\max}) diminuisce di un fattore 3. Quando $\alpha = 2,0$ e $\alpha' = 3,0$, la curva sale per un breve tratto al di sopra della curva dove sia α che $\alpha' = 1,0$, a causa della diminuzione della K_m . Tuttavia, l'asintoto è più basso, perché V_{\max} diminuisce di un fattore 3. (c) Quando $\alpha = 2,0$, l'intercetta sull'asse delle x si sposta a destra. Quando $\alpha = 2,0$ e $\alpha' = 3,0$, l'intercetta sull'asse delle x si sposta a sinistra.
- (a) Nell'enzima non mutato, il substrato viene mantenuto correttamente unito al sito attivo tramite un legame idrogeno e un'interazione ione-dipolo tra la catena laterale carica dell'Arg¹⁰⁹ e il carbonile polare del piruvato. Durante la catalisi la catena laterale dell'Arg¹⁰⁹ stabilizza il carbonile polarizzato dello stato di transizione. Nel mutante il legame si riduce semplicemente a un legame idrogeno, il legame del substrato è più debole e la stabilizzazione ionica dello stato di transizione viene persa. L'attività catalitica di conseguenza diminuisce. (b) Poiché Lys e Arg hanno più o meno lo stesso ingombro e hanno ambedue una carica positiva, probabilmente hanno anche proprietà simili. Inoltre, poiché il piruvato si lega all'Arg¹⁷¹ presumibilmente per interazioni ioniche, è probabile che la sostituzione di Arg con Lys abbia scarso effetto sul legame del substrato. (c) La disposizione "a forchetta" allinea due gruppi carichi positivamente dei residui di arginina con gli ossigeni carichi negativamente del piruvato e facilita la formazione di due legami idrogeno e di interazioni ione-dipolo. Quando è presente la lisina, solo una di tali interazioni è possibile, quindi si riduce la forza dell'interazione. Il posizionamento del substrato è meno preciso. (d) Ile²⁵⁰ interagisce idrofobicamente con l'anello del NADH. Questo tipo di interazione non è possibile con la catena laterale idrofobica del residuo di Gln. (e) La struttura



è mostrata qui di seguito. **(f)** Lenzima mutante non lega il piruvato perché il gruppo metilico idrofobico del piruvato non interagisce con il gruppo guanidinico altamente idrofilico dell'Arg¹⁰². Il mutante lega l'ossalacetato per la forte interazione ionica tra la catena laterale dell'Arg¹⁰² e il carbossile dell'ossalacetato. **(g)** La proteina deve essere abbastanza flessibile da accogliere il gruppo ingombrante della catena laterale e il substrato più voluminoso.

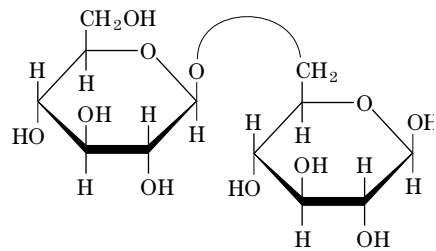
CAPITOLO 7

- Con la riduzione dell'ossigeno carbonilico a gruppo ossidrilico, la chimica del C-1 e del C-3 diventa la stessa. Il glicerolo, quindi, non è una molecola chirale.
- Gli epimeri differiscono per la configurazione intorno a un solo atomo di carbonio. **(a)** D-altrosio (C-2); D-glucosio (C-3); D-gulosio (C-4). **(b)** D-idosio (C-2); D-galattosio (C-3); D-allosio (C-4). **(c)** D-arabinosio (C-2); D-xilosio (C-3).
- La formazione dell'osazone distrugge la configurazione intorno all'atomo di carbonio C-2 dell'aldosio, per cui gli aldosi che differiscono solo per la configurazione a livello del C-2 danno origine allo stesso derivato, con lo stesso punto di fusione.
- Per convertire l' α -D-glucosio in β -D-glucosio, il legame tra il C-1 e l'ossidrile in C-5 (come nella Figura 7.6). Per convertire il D-glucosio in D-mannosio, o l' H o l' OH in C-2. L'interconversione tra le due conformazioni non richiede la rottura di alcun legame; questa è la differenza più importante tra configurazione e conformazione.
- No; il glucosio e il galattosio differiscono a livello del C-4.
- (a)** Tutti e due sono polimeri del D-glucosio, ma differiscono per il legame glicosidico: (β 1 \rightarrow 4) nella cellulosa, (α 1 \rightarrow 4) nel glicogeno. **(b)** Ambedue sono esosi, ma il glucosio è un aldoso, il fruttosio un chetoso. **(c)** Ambedue sono disaccaridi, ma il maltosio ha due unità di D-glucosio (α 1 \rightarrow 4), mentre il saccarosio ha un'unità di D-glucosio e una di D-fruttosio, unite con legame (α 1 \leftrightarrow 2 β).



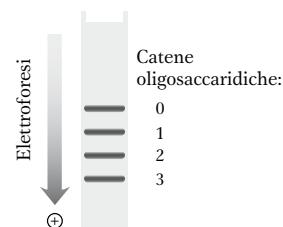
- Un emiacetale si forma quando un aldoso o un chetoso condensano con un alcol; un glicoside si forma quando un emiacetale condensa con un alcol (vedi la Figura 7.5).
- Il fruttosio ciclizza sia a furanosio sia a piranosio. Un aumento della temperatura sposta l'equilibrio verso il furanosio, la forma meno dolce.
- La velocità di mutarotazione è sufficientemente elevata da consentire per esempio il ripristino del β -D-glucosio quando viene consumato in una reazione enzimatica (in particolare se il glucosio viene completamente ossidato), convertendo la forma α -D-glucosio nella forma β -D-glucosio. La glucosio ossidasi è specifica per il glucosio e non riconosce altri zuccheri riducenti (come il galattosio) che reagiscono con il reagente di Fehling.
- (a)** Misurate la variazione di rotazione ottica nel tempo. **(b)** La rotazione ottica della miscela è negativa (invertita) relativamente a quella della soluzione di saccarosio. **(c)** -2° .
- Preparate uno sciroppo sciogliendo tanto saccarosio in acqua; aggiungete una piccola quantità di invertasi e ricoprite con cioccolato.
- Il saccarosio non ha atomi di carbonio anomeric liberi che possano subire una mutarotazione.

14.



Sì; sì.

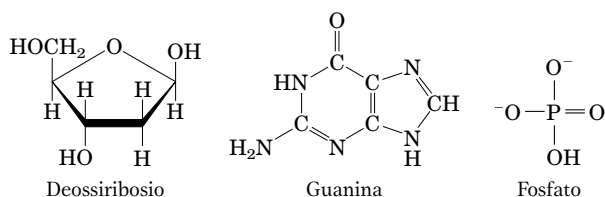
- LN-acetil- β -D-glucosammina è uno zucchero riducente; il suo C-1 può essere ossidato (vedi pagina 260). Il D-gluconato non è uno zucchero riducente; il suo C-1 si trova nello stato di ossidazione di un acido carbossilico. La GlcN(α 1 \leftrightarrow 1 α)Glc non è uno zucchero riducente; i carboni anomeric di entrambi i monosaccaridi sono coinvolti nella formazione del legame glicosidico.
- Luomo non ha l'enzima cellulasi nel tratto intestinale, quindi non può digerire la cellulosa.
- La cellulosa nativa è costituita da unità di glucosio legate con legami glicosidici (β 1 \rightarrow 4), che forzano il polimero a mantenere una conformazione estesa. Serie parallele di queste catene estese formano legami idrogeno intermolecolari e si aggregano per formare lunghe fibre, resistenti e insolubili. Il glicogeno è costituito da unità di glucosio legate con legami glicosidici (α 1 \rightarrow 4), che producono avvolgimenti nella catena e impediscono la formazione di lunghe fibre. Inoltre, il glicogeno è altamente ramificato e, poiché molti dei suoi gruppi ossidrilici sono esposti all'acqua, è fortemente idratato e disperso.
La cellulosa è un materiale strutturale delle piante, in cui i polisaccaridi si uniscono tra loro formando fibre insolubili. Il glicogeno è una forma di conservazione di combustibile metabolico cellulare negli animali. Granuli di glicogeno fortemente idratati vengono rapidamente scissi a livello delle loro numerose terminazioni non riducenti dalla glicogeno fosforilasi, e rilasciano glucosio 1-fosfato.
- La cellulosa è parecchie volte più lunga; essa assume una configurazione estesa, mentre l'amilosio ha una struttura elicoidale.
- 6000 residui/s.
- 11 s.
- Il modello a palle e bastoncini del disaccaride della Figura 7.18b non mostra alcun impedimento sterico, ma il modello a spazi pieni, che rappresenta gli atomi nelle loro reali grandezze relative, mostrerebbe diversi impedimenti nel conformero -170° , -170° , che non sono presenti nel conformero 30° , -40° .
- Le cariche negative sulla molecola di condroitin solfato si respingono a vicenda e costringono la molecola ad assumere una conformazione estesa. La molecola polare attira molte molecole di acqua, aumentando il suo volume molecolare. Nel solido disidratato ogni carica negativa è controbilanciata da uno ione positivo, e la molecola condensa.
- I residui amminoacidici carichi positivamente potrebbero legare i gruppi carichi negativamente dell'eparina. Infatti i residui di Lys dell'antitrombina III interagiscono con l'eparina.
- Otto possibili sequenze, 144 possibili legami e 64 possibilità stereochimiche, per un totale di 73 728 permutazioni.
- 25.



- 26.** Gli oligosaccaridi; le loro subunità possono combinarsi in molti più modi rispetto alle subunità amminoacidiche degli oligopeptidi. Ogni gruppo ossidrilico può partecipare alla formazione di legami glicosidici, e la configurazione di ogni legame glicosidico può essere α o β . I polimeri possono essere lineari o ramificati.
- 27. (a)** I residui in corrispondenza dei punti di ramificazione generano 2,3-di-*O*-metilglucosio; i residui che non hanno ramificazione producono 2,3,6-tri-*O*-metilglucosio. **(b)** 3,75%.
- 28.** Catene di unità di *D*-glucosio unite da legami (1→6) con occasionali ramificazioni originate da legami (1→3), con una ramificazione ogni 20 residui.
- 29. (a)** Il saggio consiste nel tentare di disciogliere solo parte del campione in una serie di solventi e quindi analizzare sia i materiali solubilizzati che non solubilizzati, per stabilire se la loro composizione è differente. **(b)** Se la sostanza è pura, tutte le molecole avranno la stessa composizione, quindi ciascuna frazione solubilizzata avrà la stessa composizione di ciascuna frazione non solubilizzata. Una sostanza non pura è una miscela di più composti. Quando la miscela viene trattata con un particolare solvente, alcuni suoi componenti possono solubilizzarsi e altri non possono. Ne risulta che le frazioni solubilizzate e quelle non solubilizzate avranno composizioni diverse. **(c)** Il saggio quantitativo permette ai ricercatori di essere certi che non è stata persa attività per degradazione. Quando si determina la struttura di una molecola è importante che il campione da analizzare sia costituito solo da molecole intatte (non degradato). Se il campione è contaminato con materiale degradato, i risultati saranno di difficile o forse anche di impossibile interpretazione. Un saggio qualitativo mette in evidenza l'attività, anche se si è verificata una significativa degradazione. **(d)** Risultati 1 e 2. Il risultato 1 è in accordo con la struttura nota, perché l'antigene di tipo B ha tre molecole di galattosio. Gli antigeni di tipo A e O ne hanno solo due. Anche il risultato 2 è in accordo, perché l'antigene di tipo A ha due amminozuccheri (*N*-acetilgalattosammina ed *N*-acetilglucosammina); i tipi B e O ne hanno solo uno (*N*-acetilglucosammina). Il risultato 3 non è in accordo con la struttura nota: per il tipo A, il rapporto glucosammina:galattosammina è di 1:1; per il tipo B è di 1:0. **(e)** I campioni erano probabilmente impuri e/o parzialmente degradati. I primi due risultati erano corretti, forse perché il metodo era solo parzialmente quantitativo e quindi non sufficientemente sensibile per rilevare misure inaccurate. Il terzo risultato è più quantitativo e quindi è più probabile che differisca dai valori previsti, perché i campioni erano impuri o degradati. **(f)** Un'esoglicosidasi. Se fosse un'endoglicosidasi, uno dei prodotti della sua azione sull'antigene O dovrebbe comprendere il galattosio, l'*N*-acetilglucosammina, o l'*N*-acetilgalattosammina, e almeno uno di questi due zuccheri dovrebbe inibire la degradazione. Poiché l'enzima non è inibito da nessuno di questi zuccheri, deve essere un'esoglicosidasi che rimuove solo lo zucchero terminale della catena. Lo zucchero terminale dell'antigene O è il fucosio, quindi il fucosio è il solo zucchero che potrebbe inibire la degradazione dell'antigene O. **(g)** L'esoglicosidasi rimuove l'*N*-acetilgalattosammina dall'antigene A e il galattosio dall'antigene B. Poiché il fucosio non è il prodotto di nessuna delle due reazioni, non impedirà la rimozione di questi zuccheri, quindi le sostanze formate non agiranno più come antigene A o B. I prodotti dovrebbero però essere attivi come antigene O, perché la degradazione si ferma a livello del fucosio. **(h)** Tutti i risultati sono in accordo con la Figura 10.15. (1) Il *D*-fucosio e l'*L*-galattosio, che proteggono contro la degradazione, non sono presenti in nessuno degli antigeni. (2) Lo zucchero terminale dell'antigene A è l'*N*-acetilgalattosammina, il solo zucchero che protegge l'antigene dalla degradazione. (3) Lo zucchero terminale dell'antigene B è il galattosio, il solo che protegge l'antigene dalla degradazione.

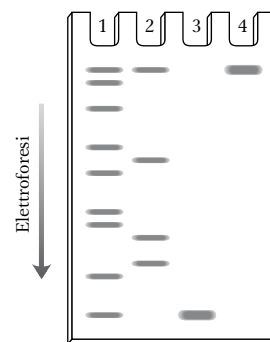
CAPITOLO 8

1. N-3 ed N-7
2. (5')GCGCAATATTTTGAGAAAATTTGCGC(3'); contiene un palindromo. Le singole catene possono formare strutture a forcina; le due catene possono formare una struttura cruciforme.
3. $9,4 \times 10^{-4}$ g.
4. **(a)** 40°; **(b)** 0°
5. L'elica di RNA è nella conformazione A; l'elica di DNA è in genere nella conformazione B.
6. Nel DNA degli eucarioti, circa il 5% dei residui di C è metilato. La 5-metilcitosina può deaminare spontaneamente e formare timina; le risultanti coppie G-T sono uno dei più comuni appaiamenti sbagliati nelle cellule degli eucarioti.
7. Più elevata.
8. In assenza della base, l'anello ribosidico può aprirsi per generare la forma aldeidica non ciclica, che, insieme alla perdita dell'interazione per impilamento, contribuisce in modo significativo ad alterare la stabilità del DNA.
9. CGCGCGTGCGCGCGCG.
10. L'impilamento delle basi negli acidi nucleici tende a ridurre l'assorbimento della luce UV. La denaturazione elimina l'impilamento delle basi, per cui l'assorbimento della luce UV aumenta.
11. 0,35 mg/mL.
- 12.



Solubilità: fosfato > deossiribosio > guanina. Il gruppo fosforico molto polare e lo zucchero sono all'esterno della doppia elica del DNA, esposti all'acqua; le basi idrofobiche sono all'interno dell'elica.

13. Se si omette il dCTP, quando viene incontrato il primo residuo di G nello stampo verrà incorporato il ddCTP e la polimerizzazione si fermerà. Si vedrà una sola banda nel gel.
- 14.



15. (5')P-GCGCCA(U)GC(3')-OH
(5')P-GCGCCA(U)G(3')-OH
(5')P-GCGCCA(U)(3')-OH
(5')P-GCGCCA(U)(3')-OH
(5')P-GCGCCA(3')-OH
(5')P-GCGCC(3')-OH
(5')P-GCGC(3')-OH
(5')P-GCG(3')-OH
(5')P-GC(3')-OH
e il nucleoside 5'-fosfato.
16. **(a)** L'acqua partecipa a molte reazioni biologiche, comprese quelle che producono mutazioni. Il basso contenuto di acqua nelle endospore riduce l'attività degli enzimi che causano le mutazioni e rallenta la velocità delle reazioni non enzimatiche di depurinazione, che sono reazioni idrolitiche.

(b) La luce UV induce la formazione dei dimeri di ciclobutano pirimidina. Poiché *B. subtilis* è un organismo del suolo, le spore possono trovarsi sulla superficie del suolo o nell'aria, dove sono sottoposte a una prolungata esposizione alla luce UV.

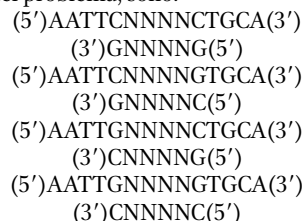
17. Il DMT è un gruppo bloccante che impedisce la reazione della base entrante.
18. (a) Destrorsa. La base alla terminazione 5' è l'adenina; all'altra terminazione 5' è la citidina. (b) Sinistrorsa. (c) Se non vi è possibile osservare la struttura in tre dimensioni, trovate altre soluzioni sul manuale oppure online.
19. (a) Sarebbe troppo facile! I dati di differenti campioni preparati da uno stesso organismo mostrano variazioni significative, e il recupero non è mai del 100%. I valori di C e T sono molto più affidabili di quelli di A e G; quindi è molto più facile concludere che campioni di uno stesso organismo hanno la stessa composizione in C e T. Ma anche se i dati per A e G non sono altrettanto affidabili, (1) le medie dei valori ottenuti per differenti tessuti sono abbastanza sovrapponibili; (2) la differenza che si osserva per i campioni ottenuti da uno stesso tessuto è la stessa che si osserva per i campioni di tessuti differenti; (3) per i campioni per i quali il recupero è sufficientemente alto i valori sono più affidabili. (b) La tecnica non avrebbe una sensibilità tale da individuare differenze tra cellule normali e cancerose. Il cancro è causato da mutazioni nel DNA, ma solo per pochissime coppie di basi su diversi milioni. Sarebbe impossibile identificarle con queste tecniche. (c) I rapporti A:G e T:C variano notevolmente tra le differenti specie. Per esempio, nel batterio *Serratia marcescens* ambedue i rapporti sono 0,4, suggerendo che il DNA contenga più G e C. Nell'*Haemophilus influenzae*, invece, i rapporti sono 1,74 e 1,54, suggerendo che il DNA contenga più A e T. (d) La conclusione 4 comporta che A sia uguale a T; la tabella mostra un rapporto A:T molto vicino a 1 in tutti i casi. Certo le variazioni osservate sono nettamente inferiori a quelle per A:G e T:C. G = C; di nuovo il rapporto G:C è molto vicino a 1, mentre gli altri rapporti variano notevolmente. (A + G) = (T + C); questo rapporto purine:pirimidine è a sua volta vicino a 1. (e) Le diverse frazioni "nucleo" rappresentano differenti regioni del DNA del germe di grano. Se il DNA fosse la monotona ripetizione di una sequenza, la composizione in basi di tutte le regioni sarebbe la stessa. Poiché differenti "nuclei" hanno sequenze diverse, la sequenza del DNA deve essere più complessa.

CAPITOLO 9

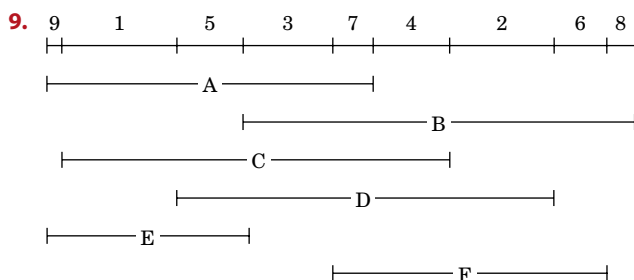
1. (a) (5') --- G(3') e (5')AATTC --- (3')
(3') --- CTAA(5') (3')G --- (5')
- (b) (5') --- GAATT(3') e (5')AATTC --- (3')
(3') --- CTAA(5') (3')TTAAG --- (5')
- (c) (5') --- GAATTAATTC --- (3')
(3') --- CTAAATTAAG --- (5')
- (d) (5') --- G(3') e (5')C --- (3')
(3') --- C(5') (3')G --- (5')
- (e) (5') --- GAATC --- (3')
(3') --- CTAAAG --- (5')
- (f) (5') --- CAG(3') e (5')CTG --- (3')
(3') --- GTC(5') (3')GAC --- (5')
- (g) (5') --- CAGAATC --- (3')
(3') --- GTCTAAG --- (5')
- (h) Metodo 1: tagliate il DNA con *EcoRI* come in (a). A questo punto si potrebbe trattare il DNA come in (b) o in (d); poi legare un frammento sintetico di DNA con la sequenza di riconoscimento di *BamHI* tra le due estremità piatte. Metodo 2 (più efficiente): sintetizzate un frammento di DNA con la struttura



Il frammento potrebbe legarsi facilmente alle estremità prodotte dalla rottura con *EcoRI*, potrebbe introdurre un sito *BamHI*, ma non potrebbe rigenerare il sito *EcoRI*. (f) I quattro frammenti (N = qualsiasi nucleotide), nell'ordine della discussione del problema, sono:



2. Il DNA del fago λ può essere impacchettato in particelle fagiche infettive solo se la sua lunghezza è compresa tra 40 000 e 53 000 coppie di basi. Poiché i vettori batteriofagici in genere contengono circa 30 000 coppie di basi (in due frammenti), essi non saranno impacchettati in particelle fagiche, a meno che non contengano un inserto di DNA sufficientemente lungo (da 10 000 a 23 000 coppie di basi).
3. (a) Plasmidi in cui l'originale pBR322 è stato rigenerato senza inserzione di frammenti di DNA eterologo; questi potrebbero conservare la resistenza all'ampicillina. Due o più molecole di pBR322 potrebbero essere legate insieme senza o con l'inserimento di DNA eterologo. (b) I cloni nelle corsie 1 e 2 hanno un frammento di DNA inserito con orientamento diverso. Il clone nella corsia 3 ha due frammenti di DNA uniti in modo che le estremità prossimali di *EcoRI* siano congiunte.
4. (5')GAAAGTCCGCGTTATAGGCATG(3')
(3')ACGTCTTTCAGGCGCGCAATATCCGTACTTAA(5')
5. Per il vostro test servirebbero primer di DNA, una DNA polimerasi stabile al calore, deossinucleosidi trifosfato e una macchina per PCR (un termociclatore). I primer potrebbero essere costituiti semplicemente da DNA contenente il ripetuto CAG. La catena di DNA mostrata è quella codificante, con orientamento 5' → 3' da sinistra verso destra. Il primer sul DNA a sinistra della sequenza ripetuta dovrebbe essere identico alla sequenza di 25 nucleotidi mostrata a sinistra della sequenza ripetuta CAG. Il primer sulla destra deve essere *complementare e antiparallelo* a una sequenza di 25 nucleotidi a destra della sequenza ripetuta CAG. Usando i primer, il DNA che comprende il ripetuto CAG potrebbe essere amplificato mediante PCR e la sua dimensione potrebbe essere determinata confrontandola con quella di marker dopo elettroforesi. La lunghezza del DNA dovrebbe riflettere quella del ripetuto CAG; questo potrebbe essere un test molto semplice per diagnosticare la malattia.
6. Progettate due primer per la PCR complementari al DNA del segmento delecto, che dirigano la sintesi del DNA nella stessa direzione. Non si formeranno prodotti della PCR, a meno che le terminazioni dei segmenti delecti non siano unite in una forma circolare.
7. Per emettere luce (anche molto fioca) la pianta che esprime la luciferasi della lucciola deve entrare in contatto con la luciferina, il substrato della luciferasi, prima che si possa generare il "bagliore" (anche se debole). La pianta che esprime la proteina fluorescente verde emette luce senza bisogno di un altro composto.
8. Primer 1: CCTCGAGTCAATCGATGCTG
Primer 2: CGCGCACATCAGACGAACCA
Si ricordi che tutte le sequenze di DNA sono sempre scritte in direzione 5' → 3', da sinistra a destra, che i due filamenti di una molecola di DNA sono antiparalleli e che entrambi i primer per la PCR devono avere come bersaglio le sequenze terminali, in modo che le loro estremità 3' siano orientate verso il segmento che deve essere amplificato. In laboratorio, scrivere una sequenza di un primer che si vuole acquistare con l'orientamento sbagliato può essere un errore molto dispendioso sia in termini di perdita di tempo sia in termini economici.



10. La produzione di anticorpi marcati è difficile e costosa. La marcatura di tutti gli anticorpi diretti contro tutte le proteine sarebbe impraticabile. Marcando invece una preparazione di anticorpi in grado di legarsi a tutti gli anticorpi di una determinata classe, si potrebbe utilizzare la stessa preparazione di anticorpi marcati per molti esperimenti di immunofluorescenza.

11. Esprimete la proteina nel ceppo di lievito 1 come proteina di fusione con uno dei domini di Gal4p, come dominio di legame del DNA. Utilizzando il ceppo di lievito 2, costruite una libreria in cui sia espressa praticamente ogni proteina del fungo come proteina di fusione con il dominio di interazione di Gal4p. Accoppiate la libreria del ceppo 1 con la libreria del ceppo 2 e osservate le colonie che appaiono colorate a causa dell'espressione del gene reporter. Queste colonie provengono generalmente da cellule accoppiate contenenti una proteina di fusione che interagisce con la vostra proteina bersaglio.

12. Coprite la zona 4, aggiungete la soluzione contenente T attivata, irradiate, lavate.

1. A-T 2. G-T 3. A-T 4. G-C

Coprite le zone 2 e 4, aggiungete la soluzione contenente G attivata, irradiate, lavate.

1. A-T-G 2. G-T 3. A-T-G 4. G-C

Coprite la zona 3, aggiungete la soluzione contenente C attivata, irradiate, lavate.

1. A-T-G-C 2. G-T-C 3. A-T-G 4. G-C-C

Coprite le zone 1, 3 e 4, aggiungete la soluzione contenente C attivata, irradiate, lavate.

1. A-T-G-C 2. G-T-C-C 3. A-T-G 4. G-C-C.

Coprite le zone 1 e 2, aggiungete la soluzione contenente G attivata, irradiate, lavate.

1. A-T-G-C 2. G-T-C-C 3. A-T-G-C 4. G-C-C-C

13. I primer possono essere utilizzati per sondare librerie contenenti lunghi cloni genomici al fine di identificare estremità contigue che si trovano le une vicine alle altre. Se le estremità contigue che affiancano un'interruzione sono abbastanza vicine, i primer possono essere utilizzati in PCR per amplificare direttamente il DNA frapposto che separa le estremità contigue, DNA che quindi può essere successivamente clonato e sequenziato.

14. ATSAAGWDEWEGGKVLHLDGKLNQRGALLELDIGAV

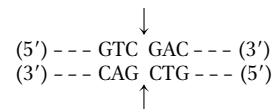
15. La stessa condizione patologica può essere provocata da difetti in due o più geni localizzati su cromosomi differenti.

16. (a) Le soluzioni di DNA sono molto viscosi, perché in soluzione le molecole molto allungate si avvolgono. Molecole più corte tendono ad avvolgersi di meno, quindi formano una soluzione meno viscosa. Ne consegue che una diminuzione della viscosità corrisponde a un accorciamento dei polimeri, causato dall'attività nucleasica. (b) Un'endonucleasi. Un'esonucleasi rimuove i singoli nucleotidi dalle terminazioni 5' o 3', e produce nucleotidi marcati con ^{32}P TCA-solubili. Un'endonucleasi ta-

glia il DNA in frammenti oligonucleotidici e produce pochi nucleotidi marcati con ^{32}P TCA-solubile o nessuno. (c) La terminazione 5'. Se il fosfato fosse incorporato all'estremità 3', la chinasi incorporerebbe una quantità significativa di ^{32}P , perché essa aggiunge il fosfato all'estremità 5'; il trattamento con la fosfatasi non avrebbe alcun effetto. In questo caso i campioni A e B incorporerebbero una quantità significativa di ^{32}P . Quando il fosfato permane all'estremità 5', la chinasi non può far incorporare altro ^{32}P , già presente nella stessa posizione. Il trattamento con la fosfatasi rimuove il fosfato in 5', quindi la chinasi potrà incorporare quantità significative di ^{32}P . Il campione incorporerà poco o nessun ^{32}P , mentre B incorporerà una quantità considerevole di ^{32}P , come fu infatti osservato. (d) Scissioni casuali produrranno frammenti di lunghezza casuale. La produzione di frammenti specifici indica che l'enzima è sito-specifico. (e) Rottura a livello del sito di riconoscimento. Ciò produce una sequenza specifica all'estremità 5' dei frammenti. Se la scissione avvenisse vicino, ma non all'interno del sito di riconoscimento, la sequenza all'estremità 5' dei frammenti sarebbe casuale. (f) I risultati sono espressi da due sequenze di riconoscimento, come mostrato qui di seguito, che vengono scisse dove indicato dalla freccia:



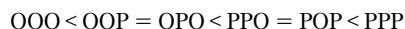
che produce i frammenti (5')pApApC e (3') TpTp; e



che produce i frammenti (5')pGpApC e (3') CpTp.

CAPITOLO 10

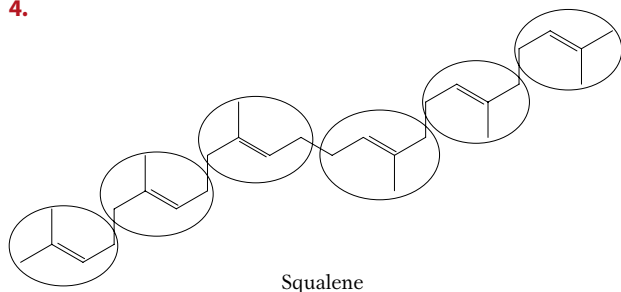
- Il termine "lipide" non si riferisce a una particolare struttura chimica. I lipidi si caratterizzano per la loro maggior solubilità nei solventi organici rispetto all'acqua.
- (a) Il numero di doppi legami *cis*. Ogni doppio legame *cis* causa un ripiegamento della catena idrocarburica, abbassando il punto di fusione. (b) Possono essere costruiti sei triacilgliceroli diversi. I punti di fusione sono:



dove O è l'acido oleico e P è l'acido palmitico. Più alto è il contenuto di acidi grassi saturi, più alto è il punto di fusione.

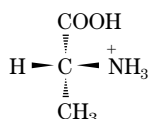
(c) Gli acidi grassi a catena ramificata aumentano la fluidità della membrana, in quanto fanno diminuire il grado di compattezza dei lipidi della membrana.

- La lecitina, un composto anfipatico, è un agente emulsionante che facilita la solubilizzazione del burro.
-

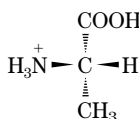


- l'essenza di menta è l'(R)-carvone; il cumino è l'(S)-carvone.

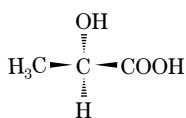
6.



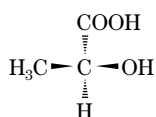
Acido (R)-2-aminopropanoico



Acido (S)-2-aminopropanoico



Acido (R)-2-idrossipropanoico

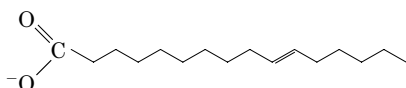


Acido (S)-2-idrossipropanoico

7. *Unità idrofobiche*: (a) 2 acidi grassi; (b), (c) e (d) 1 acido grasso e la catena idrocarburica di sfingosina; (e) nucleo steroideo e catena acilica.

Unità idrofiliche: (a) fosfoetanolamina; (b) fosfocolina; (c) D-galattosio; (d) diverse molecole di zuccheri; (e) un gruppo alcolico (OH).

8.

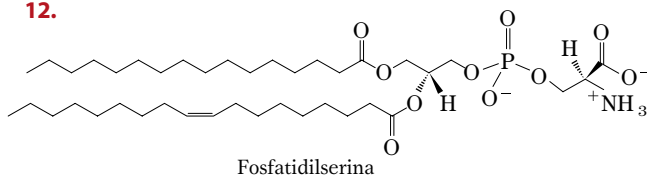


9. Riduce i doppi legami, il che aumenta il punto di fusione dei lipidi contenenti acidi grassi.

10. I triacilgliceroli dei grassi animali (il grasso) vengono idrolizzati dall'NaOH (saponificati) per produrre i saponi, che sono molto più solubili in acqua dei triacilgliceroli.

11. Non può essere che uno sfingolipide (sfingomielina).

12.



Fosfatidilserina

13. Le lunghe catene aciliche sature, quasi solide a temperatura ambiente, formano uno strato idrofobico, in cui un composto polare come l'acqua non può sciogliersi o diffondere.

14. (a) Il gruppo —OH libero sul C-2 e la testa polare della fosfocolina sul C-3 sono idrofilici; l'acido grasso sul C-1 della lisolecitina è idrofobico. (b) Alcuni steroidi come il prednisone inibiscono l'azione della fosfolipasi A₂, bloccando il rilascio di acido arachidonico dal C-2. L'acido arachidonico viene convertito in vari eicosanoidi, alcuni dei quali causano infiammazione e dolore. (c) La fosfolipasi A₂ rilascia l'acido arachidonico, un precursore degli eicosanoidi che hanno funzioni di protezione vitali per l'organismo; l'enzima demolisce anche i glicerofosfolipidi della dieta.

15. La parte della membrana lipidica che determina il gruppo sanguigno è l'oligosaccaride presente nella testa polare degli sfingolipidi di membrana (vedi la Figura 10.15). Lo stesso oligosaccaride è legato a certe glicoproteine di membrana, che servono anche come punti di riconoscimento degli anticorpi che distinguono i gruppi sanguigni.

16. Il diacilglicerolo è idrofobico e rimane nella membrana. L'inositolo 1,4,5-trisfosfato è fortemente polare, molto solubi-

le in acqua, e diffonde facilmente nel citosol. Entrambi sono secondi messaggeri.

17. Le vitamine idrosolubili vengono facilmente escrete con le urine e non possono essere immagazzinate. Le vitamine liposolubili sono poco solubili in acqua e vengono immagazzinate nei depositi di lipidi.

18. (a) Il glicerolo e il sale sodico degli acidi palmitico e stearico. (b) I sali di sodio della D-glicerolo 3-fosfocolina, con gli acidi palmitico e oleico.

19. Solubilità in acqua: monoacilglicerolo > diacilglicerolo > triacilglicerolo.

20. Dal primo composto eluito all'ultimo: colesteril palmitato e triacilglicerolo; colesterolo ed n-tetradecanolo; fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina; sfingomielina; fosfatidilserina e palmitato.

21. (a) Sotponete gli idrolizzati acidi di ogni composto a cromatografia (GLC o TLC su gel di silice) e confrontate il risultato con composti standard noti. *Idrolizzato di sfingomielina*: sfingosina, acidi grassi, fosfocolina, colina e fosfato. *Idrolizzato di cerebroside*: sfingosina, acidi grassi, zuccheri, ma non fosfato. (b) Lidrolisi con basi forti della sfingomielina produce sfingosina; la fosfatidilcolina produce glicerolo. Mediante cromatografia su strato sottile, identificate i composti presenti nell'idrolizzato confrontandoli con standard o mediante la loro reazione differenziale con FDNB (solo la sfingosina reagisce formando un composto colorato). Il trattamento con fosfolipasi A₁ o A₂ rilascia acidi grassi liberi dalla fosfatidilcolina, ma non dalla sfingomielina.

22. Fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina.

23. (a) Il GM1 e il globoside. Sia il glucosio che il galattosio sono "esosi", quindi il termine "esosio" nel rapporto molare si riferisce a glucosio + galattosio. I rapporti dei due gangliosidi sono: GM1, 1:3:1:1; GM2, 1:2:1:1; GM3, 1:2:0:1; globoside, 1:3:1:0. (b) Sì. Il rapporto corrisponde al GM2, il ganglioside caratteristico della malattia di Tay-Sachs (vedi il Box 10.1, Figura 1). (c) L'analisi è simile a quella usata da Sanger per determinare la sequenza aminoacidica dell'insulina. L'analisi di ciascun frammento rivela solo la sua *composizione*, non la *sequenza*; tuttavia, siccome ciascun frammento si forma per rimozione sequenziale di uno zucchero, possiamo trarre conclusioni anche sulla sua sequenza. La struttura del normale asialoganglioside è ceramide-glucosio-galattosio-galattosammina-galattosio, in accordo con quanto riportato nel Box 10.1 (eccetto che per il Neu5Ac, rimosso prima dell'idrolisi). (d) L'asialoganglioside del Tay-Sachs è ceramide-glucosio-galattosio-galattosammina, in accordo con il Box 10.1. (e) La struttura del normale asialoganglioside, GM1, è: *ceramide-glucosio* [(2 —OH coinvolti nel legame glicosidico; 1 —OH coinvolto nella struttura ad anello; 3 —OH (2,3,6) liberi per la metilazione)-galattosio (2 —OH nei legami; 1 —OH nell'anello; 3 —OH (2,4,6) liberi per la metilazione)-galattosammina (2 —OH nei legami; 1 —OH nell'anello; 1 —NH₂ invece di un —OH; 2 —OH (4,6) liberi per la metilazione)-galattosio (1 —OH nel legame; 1 —OH coinvolto nella struttura ad anello; 4 —OH (2,3,4,6) liberi per la metilazione)]. (f) Mancano due importanti informazioni. Come sono legati gli zuccheri fra di loro? Dove è legato il Neu5Ac?

CAPITOLO 11

1. Da una quantità nota di lipide usato, dalla sua massa molecolare e dall'area occupata dal monostrato quando comincia a resistere alla compressione (quando le forze necessarie aumentano drasticamente, come mostrato nel grafico dal rapporto forza/area) si può calcolare l'area per molecola.

2. I risultati ottenuti indicano la presenza di un doppio strato lipidico negli eritrociti di cane: una singola cellula, con un'area di 98 μm², ha un monostrato lipidico con un'area di 200 μm². Nel caso degli eritrociti umani o di pecora, i dati fanno

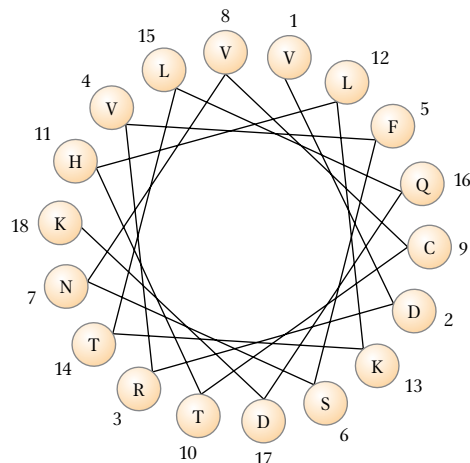
pensare a un monostrato, e non a un doppio strato. Infatti, ci sono diversi errori importanti in questi primi esperimenti; di recente, misure più accurate hanno dimostrato la presenza di un doppio strato in tutti i casi.

3. 63 molecole di SDS per micella.
4. (a) I lipidi che formano doppi strati sono molecole anfipatiche: essi contengono unità idrofiliche e unità idrofobiche. Per ridurre al minimo l'area idrofobica esposta all'acqua, questi lipidi formano foglietti bidimensionali con le unità idrofiliche esposte all'acqua e con le unità idrofobiche immerse all'interno del foglietto. Per evitare di dover esporre i bordi idrofobici all'acqua, il doppio strato si richiude su se stesso. (b) Questi foglietti formano delle superfici compatte che circondano le cellule e i compartimenti all'interno delle cellule (organelli).
5. 2 nm. Due molecole di palmitato poste coda contro coda occupano uno spazio di circa 4 nm, approssimativamente lo spessore del doppio strato.
6. Una diminuzione. Il movimento di singole molecole lipidiche nei doppi strati avviene più rapidamente a 37 °C, quando i lipidi sono nella fase "fluida", anziché a 10 °C, quando sono invece nella fase "solida".
7. 35 kJ/mole, non considerando l'effetto del potenziale elettrico transmembrana; 0,60 moli.
8. 13 kJ/mole.
9. La maggior parte dell'ossigeno consumato dal tessuto viene usata per la fosforilazione ossidativa, la principale fonte di ATP. Circa i due terzi dell'ATP sintetizzato nel rene vengono utilizzati per pompare gli ioni Na^+ e K^+ .
10. No; il simporto può trasportare molto più di un equivalente di Na^+ per ogni mole di glucosio trasportata.
11. L'estrazione con sali indica una localizzazione periferica di una proteina, mentre l'inaccessibilità alle proteasi nella cellula intatta indica una localizzazione interna. X ricorda una proteina periferica sulla superficie citosolica della membrana.
12. Le interazioni idrofobiche tra membrane lipidiche sono non covalenti, reversibili e consentono alle membrane di risaldarsi spontaneamente.
13. La temperatura dei tessuti alle estremità dell'organismo è in genere più bassa di quella dei tessuti della parte centrale dell'organismo. Se i lipidi devono restare fluidi a questa temperatura più bassa, essi devono contenere un'elevata quantità di acidi grassi insaturi; gli acidi grassi insaturi abbassano il punto di fusione della miscela lipidica.
14. Il costo energetico del movimento delle teste altamente polari, e qualche volta cariche, attraverso l'interno idrofobico del doppio strato è proibitivo.
15. A pH 7, il triptofano ha una carica positiva e una carica negativa, ma l'indolo è scarico. Il movimento dell'indolo meno polare attraverso il doppio strato lipidico è energeticamente più favorevole.
16. 3×10^{-2} s.
17. Trattate una sospensione di cellule con NEM non marcato in presenza di un eccesso di lattosio; togliete poi il lattosio e aggiungete NEM radiomarcato. La massa molecolare della banda radiomarcata (trasportatore) viene poi determinata con un'elettroforesi su poliaccrilammide in presenza di SDS (SDS-PAGE).
18. Costruite un grafico dell'indice idropatico; le regioni idrofobiche con 20 o più residui indicano la presenza di segmenti transmembrana. Determinate se la proteina negli eritrociti intatti reagisce con un reagente specifico per le ammine primarie impermeabile alla membrana; se è così, il trasportatore è di tipo I.
19. Il trasportatore della leucina è specifico per l'isomero L, ma al sito di legame possono accedere sia l'L-leucina sia l'L-valina. La riduzione della V_{\max} , che si osserva in assenza di Na^+ , indica che la leucina (o la valina) è trasportata da un simporto con Na^+ .

20. V_{\max} ridotta; K_t non modificata.

21. Circa l'1%; determinato calcolando l'area della superficie della cellula e delle 10 000 molecole di trasportatore [usando le dimensioni dell'emoglobina (che è circa 5,5 nm di diametro; pagina 171) come modello di proteina globulare].

22.



Gli amminoacidi con il più alto indice idropatico (V, L, F e C) si raggruppano su un lato dell'elica. Questa elica anfipatica probabilmente si inserisce nel doppio strato lipidico con la sua superficie idrofobica, esponendo l'altra superficie verso lo strato acquoso. In alternativa, un insieme di eliche può raggrupparsi con le superfici polari in contatto tra loro e le superfici idrofobiche nel doppio strato lipidico.

23. Circa 22. Per calcolare la frazione della superficie di membrana coperta dai fosfolipidi bisognerebbe conoscere (o calcolare) l'area della sezione trasversale media di una molecola di fosfolipide in un doppio strato (per esempio, da un esperimento come quello descritto nel Problema 1 di questo capitolo) e l'area della sezione trasversale media di una proteina di 50 kDa.
24. (a) L'aumento per residuo di un'α elica (Capitolo 4) è di circa $1,5 \text{ \AA} = 0,15 \text{ nm}$. Per attraversare i circa 4 nm del doppio strato un'α elica deve contenere almeno 27 residui; per sette segmenti, sono necessari 190 residui. Una proteina con M_r di 64 000 ha circa 580 residui. (b) Per localizzare le regioni transmembrana bisogna usare un grafico dell'indice idropatico. (c) Poiché circa metà di questa porzione del recettore dell'adrenalina è costituita da residui carichi, è probabile che esso rappresenti un'ansa intracellulare che connette due segmenti transmembrana adiacenti. (d) Poiché questa elica è composta per la maggior parte di residui idrofobici, è probabile che questa porzione del recettore sia una delle eliche che attraversano la membrana.
25. (a) *Modello A*: in accordo con i dati. Le due linee scure sono i due strati proteici, o le teste dei fosfolipidi, e lo spazio chiaro è il doppio strato lipidico o il *core* (parte centrale) idrofobico, rispettivamente. *Modello B*: non in linea con i dati. Questo modello comporta la presenza di una banda più o meno uniformemente colorata che circonda la cellula. *Modello C*: in accordo con i dati, con una riserva. Le due linee scure sono le teste dei fosfolipidi. La zona chiara rappresenta le code. Si suppone però che le proteine di membrana non siano visibili, perché non si colorano con l'osmio o perché non sono presenti nella porzione di membrana presa in considerazione. (b) *Modello A*: in accordo con i dati. Il doppio strato "nudo" (4,5 nm) + due strati di proteine (2 nm) raggiungono i 6,5 nm, un valore prossimo a quello osservato nella foto. *Modello B*: non in linea con i dati. Questo modello non fa previsioni sullo spessore della membrana. *Modello C*: poco chiaro. I risultati sono difficilmente adattabili a questo modello, che prevede che la membrana sia altrettanto spessa, o un po' più spessa (a causa delle proteine che potrebbero leggermente sporgere fuori della membrana), di un doppio strato "nudo". Il model-

lo potrebbe essere preso in considerazione solo se i valori più bassi attribuiti allo spessore della membrana fossero corretti, e se una considerevole quantità di proteine sporgesse fuori della membrana. **(c) Modello A:** poco chiaro. È difficile rapportare i dati con questo modello. Se le proteine sono legate alla membrana da interazioni ioniche, esse dovrebbero contenere un numero elevato di amminoacidi carichi, ma questo contrasta con quanto osservato. Inoltre, poiché lo strato di proteine dovrebbe essere molto sottile [vedi (b)], non vi sarebbe spazio sufficiente per una zona idrofobica delle proteine, e i residui idrofobici dovrebbero essere esposti verso il solvente. **Modello B:** in accordo con i dati. Le proteine sono costituite da una serie di residui idrofobici (che si ancorano nella membrana) e da una serie di residui idrofilici (che interagiscono con l'acqua). **Modello C:** probabile. Le proteine sono costituite da una miscela di amminoacidi idrofobici (che si ancorano all'interno della membrana) e da amminoacidi carichi (che interagiscono con l'acqua). **(d) Modello A:** non chiaro. Il risultato si adatta con molta difficoltà a questo modello, che prevede un rapporto esattamente pari a 2,0; ciò è difficilmente raggiungibile a pressioni intorno a quelle fisiologiche. **Modello B:** nessuno dei due. Questo modello non permette di fare previsioni sulla quantità di lipidi nella membrana. **Modello C:** probabile. L'area superficiale di alcune membrane può essere occupata da proteine e quindi il rapporto potrebbe essere inferiore a 2,0, come è stato osservato in molte condizioni fisiologicamente importanti. **(e) Modello A:** poco chiaro. Questo modello prevede che le proteine si trovino nella loro conformazione estesa, invece che globulare. Potrebbe essere in accordo con i dati solo se si ipotizzasse che le proteine adese sulla superficie della membrana avessero dei segmenti a elica. **Modello B:** in linea con i dati. Il modello prevede che le proteine siano per la maggior parte globulari (con qualche segmento a elica). **Modello C:** in linea con i dati. Il modello prevede la presenza di proteine per lo più globulari. **(f) Modello A:** poco chiaro. Le teste polari di fosforilamina sarebbero protette dallo strato proteico, ma solo se le proteine coprissero completamente la superficie cellulare e i fosfolipidi fossero protetti dall'azione della fosfolipasi. **Modello B:** in linea con i dati. La maggior parte delle teste polari è accessibile all'azione della fosfolipasi. **Modello C:** in linea con i dati. Tutte le teste polari sono accessibili alla fosfolipasi. **(g) Modello A:** non in linea con i dati. Le proteine sono completamente accessibili alla digestione con tripsina, e praticamente tutte andranno incontro a tagli multipli, in assenza di residui idrofobici protettivi. **Modello B:** non in linea con i dati. Praticamente tutte le proteine si trovano nel doppio strato lipidico e sono inaccessibili alla tripsina. **Modello C:** in linea con i dati. I segmenti proteici che attraversano tutta la membrana, o che sporgono fuori del doppio strato, sono protetti contro l'azione della tripsina; quelli esposti sulla superficie della membrana sono soggetti all'azione della tripsina. Le porzioni resistenti alla tripsina hanno una quantità elevata di residui idrofobici.

CAPITOLO 12

1. X è il cAMP; la sua produzione viene stimolata dall'adrenalina. **(a)** La centrifugazione sedimenta l'adenilil ciclasa (che catalizza la formazione del cAMP) nella frazione particolata. **(b)** L'aggiunta di cAMP stimola la glicogeno fosforilasi. **(c)** Il cAMP è stabile al calore; può essere preparato trattando l'ATP con idrossido di bario.
2. Al contrario del cAMP, il dibutirril cAMP attraversa facilmente la membrana plasmatica.
3. **(a)** Aumenta la [cAMP]. **(b)** Il cAMP regola la permeabilità all' Na^+ . **(c)** Rimpiazzate i liquidi e gli elettroliti persi.
4. **(a)** La mutazione rende R incapace di inibire la subunità C, quindi C è costantemente attiva. **(b)** La mutazione impedisce il legame del cAMP a R, quindi C è sempre inibita da R.
5. L'albuterolo determina un aumento della [cAMP], generando un rilassamento e un allargamento dei bronchi. Poiché i recettori β -adrenergici controllano molti altri processi, questo farmaco potrebbe avere effetti collaterali non desiderati: per renderli minimi bisogna trovare un agonista specifico per il sottotipo di recettori β -adrenergici presenti nel muscolo liscio dei bronchi.
6. Degradazione dell'ormone; idrolisi del GTP legato a una proteina G; degradazione, metabolismo o sequestro del secondo messaggero; desensibilizzazione del recettore; rimozione del recettore dalla superficie cellulare.
7. Fondete la CFP con la β -arrestina e la YFP col dominio citoplasmatico del recettore β -adrenergico, o viceversa. In ogni caso, illuminate a 433 nm e osservate sia a 476, sia a 527 nm. Se avviene l'interazione, l'intensità della luce emessa diminuirà fino a 476 nm, e aumenterà fino a 527 nm per aggiunta di epinefrina alle cellule che esprimono la proteina di fusione. Se l'interazione non avviene, la lunghezza d'onda della luce emessa rimarrà a 476 nm. Indichiamo alcuni motivi per cui questi eventi potrebbero non verificarsi: (1) le proteine di fusione sono inattive oppure incapaci di interagire; (2) non sono state traslocate dalla loro normale localizzazione subcellulare; (3) subiscono proteolisi.
8. La vasopressina agisce elevando il calcio citosolico $[\text{Ca}^{2+}]$ fino a valori di circa 10^{-6} M, attivando la proteina chinasi C. L'iniezione di EGTA bloccherà l'azione della vasopressina, ma non avrà alcun effetto sulla risposta al glucagone, che utilizza il cAMP, e non il calcio, come secondo messaggero.
9. L'amplificazione deriva da catalizzatori che attivano catalizzatori, in una cascata di amplificazione che coinvolge, in ordine, il recettore dell'insulina, IRS-1, Raf, MEK, ERK; ERK attiva un fattore di trascrizione che stimola la produzione di mRNA.
10. Una mutazione in *ras* nella proteina Ras che inattiva la sua attività GTPasica crea una proteina che, una volta attivata dal GTP, continua a innescare la divisione cellulare attraverso Raf, il segnale di risposta all'insulina.
11. *Proprietà comuni tra Ras e G_s :* entrambe possono legare GDP o GTP; entrambe sono attivate dal GTP; entrambe, una volta attivate, possono attivare enzimi a valle; entrambe hanno un'attività GTPasica intrinseca che le spegne dopo un certo periodo di attivazione. *Differenze tra Ras e G_s :* Ras è una piccola proteina monomeric; G_s è eterotrimerica. *Differenze funzionali tra G_s e G_i :* G_s attiva l'adenilil ciclasa, G_i la inibisce.
12. *Chinasi (fattori fra parentesi):* PKA (cAMP); PKG (cGMP); PKC (Ca^{2+} , DAG); Ca^{2+} /CaM chinasi (Ca^{2+} , CaM); chinasi ciclina-dipendente (ciclina); tirosina chinasi (ligando del recettore, come l'insulina); MAP chinasi (Raf); Raf (Ras); glicogeno fosforilasi chinasi (PKA).
13. G_s rimane nella forma attivata quando è legata all'analogo non idrolizzabile. L'iniezione dell'analogo prolunga quindi l'effetto dell'adrenalina in una cellula.
14. **(a)** Utilizzate un supporto legato all' α -bungarotossina per purificare l'AChR per cromatografia per affinità (vedi la Figura 3.17c). Estraiete la proteina dall'organo elettrico e passate la miscela attraverso la colonna cromatografica; l'AChR si lega selettivamente all' α -bungarotossina legata. Eluite l'AChR con un soluto che indebolisce le interazioni con l' α -bungarotossina. **(b)** Usate il legame della ^{125}I -bungarotossina per saggiare quantitativamente l'AChR durante la purificazione, con varie modalità. A ogni passaggio, saggiate l'AChR misurando il legame della ^{125}I -bungarotossina nelle proteine del campione, fino a che non si raggiunge la più elevata attività specifica dell'AChR (disintegrazioni/min della ^{125}I -bungarotossina legata per mg di proteine) nella preparazione finale.
15. **(a)** No. Se V_m dipendesse dalla permeabilità al K^+ (principalmente), secondo l'equazione di Nernst la V_m dovrebbe es-

- sere pari a -90 mV, non a -95 mV, come invece si osserva. Quindi qualche altra conduttanza deve contribuire al valore di V_m . **(b)** Lo ione cloro è probabilmente determinante per la V_m . Il valore della E_{Cl^-} è infatti -94 mV.
- 16. (a)** Quando è depolarizzata, la V_m della membrana dell'oo-cita varia da -60 mV a -10 mV. **(b)** L'effetto del KCl dipende dall'afflusso di calcio dal mezzo extracellulare.
- 17.** L'iperpolarizzazione dei bastoncelli deriva dalla chiusura dei canali per il calcio controllati dal voltaggio nella regione pre-sinaptica dei bastoncelli. La diminuzione della concentrazione di calcio intracellulare riduce il rilascio di un neuro-trasmittitore inibitorio che sopprime l'attività nel neurone successivo del circuito visivo. Quando questa inibizione viene rimossa in risposta a stimoli luminosi, il circuito diventa attivo e i centri visivi nel cervello vengono eccitati.
- 18. (a)** Sarebbe impedito l'afflusso di Na^+ e di Ca^{2+} nelle cellule in risposta alla luce; i coni non trasmetterebbero al cervello che il segnale è stato ricevuto. Poiché i bastoncelli non vengono coinvolti, i soggetti sarebbero in grado di vedere, ma non distinguerebbero i colori. **(b)** Sarebbe impedito l'efflusso del K^+ , il che condurrebbe alla depolarizzazione della membrana delle cellule β e al rilascio dell'insulina nel sangue. **(c)** L'ATP è il responsabile della chiusura dei canali; quindi i canali rimarrebbero aperti, impedendo la depolarizzazione della membrana delle cellule β e il rilascio dell'insulina.
- 19.** Gli individui con la malattia di Oguchi potrebbero avere un difetto della rodopsina chinasi o dell'arrestina.
- 20.** I bastoncelli non mostrerebbero più alcuna variazione del potenziale di membrana in risposta alla luce. Questo esperimento è stato eseguito. L'illuminazione non ha attivato la PDE, e l'enzima non ha ridotto significativamente i livelli di 8-Br-cGMP, che sono rimasti ben al di sopra di quelli necessari per mantenere aperti i canali ionici controllati. Quindi, la luce non ha avuto effetto sul potenziale di membrana.
- 21. (a)** In seguito all'esposizione al calore, i canali TRPV1 si aprono, causando un afflusso di Na^+ e di Ca^{2+} nel neurone sensoriale. Il neurone si depolarizza, innescando un potenziale d'azione. Quando il potenziale d'azione raggiunge la terminazione del neurone, viene rilasciato il neurotrasmettitore, che segnala al cervello la sensazione di calore. **(b)** La capsaicina simula gli effetti del calore, poiché apre i TRPV1 a basse temperature, trasmettendo una falsa sensazione di calore. Il valore molto basso della EC_{50} indica che anche una piccola quantità di capsaicina avrà un forte effetto sensorio. **(c)** A bassi livelli, il mentolo apre i canali TRPM8, provocando una sensazione di freddo. Ad alti livelli, sia i TRPM8 che i TRPV3 si aprono, trasmettendo una sensazione mista di caldo e di freddo, come quella che si prova con alcune caramelle al mentolo.
- 22. (a)** Questa mutazione può condurre a un'attivazione permanente del recettore della PGE_2 , che provoca una divisione cellulare non controllata, e all'insorgenza di un tumore. **(b)** Il gene virale potrebbe codificare una forma costitutivamente attiva del recettore, causando un segnale continuo per la divisione cellulare e per la formazione del tumore. **(c)** La proteina E1A potrebbe legarsi alla pRb e impedire il legame dell'E2F. L'E2F rimarrebbe costantemente attivo e la cellula si dividerebbe in modo incontrollato. **(d)** Le cellule polmonari non rispondono normalmente alla PGE_2 , perché non esprimono il recettore della PGE_2 . Mutazioni che conducono a un recettore della PGE_2 costitutivamente attivo non hanno effetti sulle cellule polmonari.
- 23.** Un normale gene soppressore dei tumori codifica una proteina che limita la divisione cellulare: una forma mutante della proteina porta alla soppressione della divisione cellulare, ma solo se uno dei due alleli codifica la proteina normale la funzione normale può continuare. Un normale oncogene codifica una proteina regolatrice che controlla la divisione cellulare, ma solo quando è presente un segnale appropriato (fattore di crescita). La versione mutante del prodotto oncogenico invia costantemente il segnale per la divisione, sia che il fattore di crescita sia presente o meno.
- 24.** I bambini che sviluppano più tumori in entrambi gli occhi nascono con tutte le cellule della retina che hanno una copia difettosa del gene *Rb*. All'inizio della loro vita diverse cellule hanno subito in modo indipendente una seconda mutazione che ha danneggiato la copia corretta del gene *Rb*, producendo un solo tumore. Un bambino che sviluppa un solo tumore possiede alla nascita due copie corrette del gene *Rb* in ciascuna cellula; mutazioni in entrambi gli alleli di *Rb* in una cellula (fenomeno molto raro) causano l'insorgenza di un solo tumore.
- 25.** Due cellule che esprimono lo stesso recettore superficiale possono avere differenti corredi di proteine bersaglio per la fosforilazione.
- 26. (a)** Il modello basato sulle cellule, che prevede diversi tipi di recettori presenti in cellule differenti. **(b)** Questo esperimento affronta il problema dell'indipendenza delle diverse sensazioni gustative. Anche se non vi sono i recettori per il dolce e/o per l'umami, le altre sensazioni gustative dell'animale sono normali; quindi, le sensazioni gustative del sapore piacevole e di quello spiacevole sono indipendenti. **(c)** Sì. La perdita della subunità T1R1 o della subunità T1R3 elimina la sensazione del gusto umami. **(d)** Ambedue i modelli. In entrambi i modelli, la rimozione di un recettore eliminerebbe la sensazione del gusto. **(e)** Sì. La perdita di una delle due subunità T1R2 e T1R3 annulla quasi completamente il gusto del dolce, ma l'eliminazione totale del gusto del dolce richiede la perdita di ambedue le subunità. **(f)** Una concentrazione di glucosio molto alta, l'organizzazione del T1R2 e, in misura minore, del T1R3, come omodimeri, possono favorire il gusto del dolce. **(g)** I risultati sono in accordo con ambedue i modelli, ma rafforzano le conclusioni degli autori del lavoro. Il legame del ligando può essere completamente separato dalla percezione del gusto. Se il ligando specifico per il recettore presente nelle "cellule per il gusto del dolce" lega una molecola, i topi preferiscono quest'ultima come composto dolce.

CAPITOLO 13

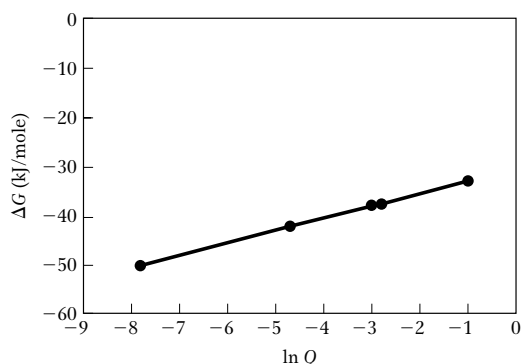
1. Considerate l'embrione di pollo come sistema di riferimento; i nutrienti, il guscio dell'uovo e il mondo esterno rappresentano l'ambiente circostante. La trasformazione di una singola cellula in pulcino riduce drasticamente l'entropia del sistema. Inizialmente, le parti dell'uovo al di fuori dell'embrione (l'ambiente circostante) contengono sostanze nutritive complesse (una condizione a bassa entropia). Durante l'incubazione, alcune di queste sostanze complesse vengono convertite in numerose molecole di CO_2 e H_2O (alta entropia). Tale aumento dell'entropia dell'ambiente circostante è maggiore della riduzione dell'entropia del pulcino (il sistema).
2. **(a)** $-4,8$ kJ/mole. **(b)** $7,56$ kJ/mole. **(c)** $-13,7$ kJ/mole.
3. **(a)** 262 **(b)** 608 **(c)** 0,30.
4. $K'_{eq} = 21$; $\Delta G'^{\circ} = -7,6$ kJ/mole.
5. -31 kJ/mole.
6. **(a)** $-1,68$ kJ/mole. **(b)** $-4,4$ kJ/mole. **(c)** A una certa temperatura, il valore di $\Delta G'^{\circ}$ di ogni reazione è fisso ed è definito in condizioni standard (in questo caso fruttosio 6-fosfato e glucosio 6-fosfato alla concentrazione di 1 M). Al contrario, ΔG è una variabile che può essere calcolata per ogni insieme di reagenti e per ogni concentrazione dei prodotti.
7. $K'_{eq} \approx 1$; $\Delta G'^{\circ} \approx 0$.
8. Di meno. L'equazione complessiva dell'idrolisi di ATP può essere scritta nel modo seguente:



(Questa è solo un'approssimazione poiché le specie ionizzate qui illustrate sono le principali, ma non le uniche forme presenti.) In condizioni standard (cioè $[ATP] = [ADP] = [P_i] = 1 \text{ M}$), la concentrazione dell'acqua è di 55 M e non cambia durante la reazione. Poiché vengono prodotti ioni H^+ nella reazione, per un'alta concentrazione di H^+ (pH 5,0) l'equilibrio sarebbe spostato a sinistra e verrebbe rilasciata una minore energia libera.

9. 10.

10.



Il ΔG della reazione di idrolisi dell'ATP è basso quando il rapporto $[ATP]/[ADP]$ è basso ($\ll 1$), aumenta quando il rapporto è alto. L'energia resa disponibile per la cellula da una certa $[ATP]$ è più bassa quando il rapporto $[ATP]/[ADP]$ diminuisce; è maggiore quando aumenta.

11. (a) $3,85 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}$; $[\text{glucosio 6-fosfato}] = 8,9 \times 10^{-8} \text{ M}$; no. (b) 14 M ; poiché la massima solubilità del glucosio è minore di 1 M , questo non è un passaggio accettabile. (c) 837 ($\Delta G^\circ = -16,7 \text{ kJ/mole}$); $[\text{glucosio}] = 1,2 \times 10^{-7} \text{ M}$; sì. (d) No; ciò richiederebbe una $[P_i]$ così alta che i sali fosfato dei cationi bivalenti precipiterebbero. (e) Trasferendo direttamente il gruppo fosfato dall'ATP al glucosio il potenziale di trasferimento del gruppo fosfato ("tendenza" o "pressione") dell'ATP viene utilizzato senza generare alte concentrazioni di intermedi. La parte essenziale di questo trasferimento è, ovviamente, la catalisi enzimatica.
12. (a) $-12,5 \text{ kJ/mole}$. (b) $-14,6 \text{ kJ/mole}$.
13. (a) 3×10^{-4} . (b) $68,7$. (c) 74×10^4 .
14. -13 kJ/mole .
15. $46,7 \text{ kJ/mole}$.
16. L'isomerizzazione sposta il gruppo carbonilico dalla posizione C-1 a C-2, permettendo così la scissione carbonio-carbonio tra gli atomi di carbonio C-3 e C-4. Senza l'isomerizzazione la scissione del legame avverrebbe tra il carbonio C-2 e il carbonio C-3, con la formazione di un composto a due atomi di carbonio, e uno a quattro.
17. Il meccanismo è lo stesso della reazione catalizzata dall'alcol deidrogenasi (vedi la Figura 14.14).
18. La prima tappa è l'inverso della condensazione aldolica (vedi il meccanismo dell'aldolasi, Figura 14.6); la seconda tappa è una condensazione aldolica (vedi la Figura 13.4).
19. (a) 46 kJ/mole . (b) 46 kg ; 68% . (c) L'ATP viene sintetizzato quando è necessario e poi scisso in ADP e P_i ; la sua concentrazione viene mantenuta allo stato stazionario.
20. Il sistema dell'ATP è in uno stato stazionario dinamico; la concentrazione di ATP rimane costante perché la velocità di consumo di ATP è uguale a quella di sintesi. Il consumo di ATP implica la liberazione del fosfato terminale (γ); la sintesi di ATP a partire da ADP comporta il ripristino di questo fosfato. Pertanto, il fosfato terminale subisce un rapido ricambio. Al contrario, il fosfato centrale (β) subisce un ricambio relativamente lento.
21. (a) $1,7 \text{ kJ/mole}$. (b) La pirofosfatasi inorganica catalizza l'idrolisi del pirofosfato e spinge la reazione complessiva verso la sintesi di acetyl-CoA.
22. 36 kJ/mole .

23. (a) $NAD^+/NADH$. (b) Piruvato/lattato. (c) La formazione di lattato. (d) $-26,1 \text{ kJ/mole}$. (e) $3,63 \times 10^4$.

24. (a) $1,14 \text{ V}$. (b) -220 kJ/mole . (c) Circa 4.

25. (a) $-0,35 \text{ V}$. (b) $-0,320 \text{ V}$. (c) $-0,29 \text{ V}$.

26. In ordine di tendenza crescente: (a), (d), (b), (c).

27. (c) e (d).

28. (a) Lo stato di minore energia e maggiore entropia si raggiunge quando la concentrazione del colorante è la stessa in ambedue le cellule. Se una giunzione tipo "nassa" permettesse un trasporto unidirezionale, una maggiore quantità del colorante finirebbe nell'oligodendrocita e una minore nell'astrocita. Ma questo corrisponderebbe a uno stato di maggiore energia e minore entropia rispetto allo stato di partenza, e violerebbe la seconda legge della termodinamica. Il modello di Robinson e collaboratori comporta decremento spontaneo di entropia, che è impossibile. In termini termodinamici, il modello comporta un passaggio spontaneo da uno stato di minore a uno stato di maggiore energia senza apporto di energia, che è termodinamicamente impossibile. (b) Le molecole, al contrario dei pesci, non mostrano un comportamento *direzionale*; esse si muovono a caso, seguendo la teoria dei movimenti browniani. La diffusione consiste in un trasferimento *netto* di molecole da una regione a più elevata concentrazione a una regione a concentrazione minore semplicemente perché è più probabile che una molecola che si trova dal lato a maggiore concentrazione entri in contatto con il canale di connessione. Considerate ciò come una via metabolica con un passaggio limitante: la terminazione stretta del canale. La terminazione stretta limita la velocità alla quale le molecole attraversano il canale perché il movimento a caso delle molecole rende meno probabile che esse attraversino la sezione più piccola. Ma la terminazione ampia del canale *non* agisce come un imbuto per le molecole, anche se potrebbe agire in questo senso per i pesci, perché le molecole non si "affollano" ai lati del canale come farebbero i pesci. La terminazione stretta limita la velocità del movimento in modo uguale in ambedue le direzioni. Quando le concentrazioni in ambedue i lati sono uguali, le velocità di movimento in ambedue le direzioni sono uguali e non si verificherà alcuna variazione di concentrazione. (c) I pesci fanno un comportamento *non casuale* e modulano il loro movimento in risposta all'ambiente. I pesci che entrano dalla parte larga dell'apertura del canale tendono a muoversi in avanti appunto perché questa è la loro tendenza, quindi si affollano man mano che si muovono verso la parte più stretta del canale. È facile per i pesci entrare dalla parte larga, ma essi non escono dalla nassa altrettanto rapidamente perché è meno probabile che entrino dalla parte più stretta. (d) Ci sono molte possibili spiegazioni, alcune delle quali proposte da coloro che hanno scritto all'editore e hanno criticato l'articolo. Eccone due. (1) *Il colorante potrebbe legarsi a una molecola nell'oligodendrocita*. Il legame rimuove in modo efficiente il colorante dal solvente e quindi non "conta" come soluto ai fini delle considerazioni termodinamiche, pur rimanendo visibile al microscopio a fluorescenza. (2) *Il colorante potrebbe essere sequestrato in un organello subcellulare dell'oligodendrocita*, o perché pompato attivamente a spese dell'ATP, oppure perché attirato da altre molecole dell'organello stesso.

CAPITOLO 14

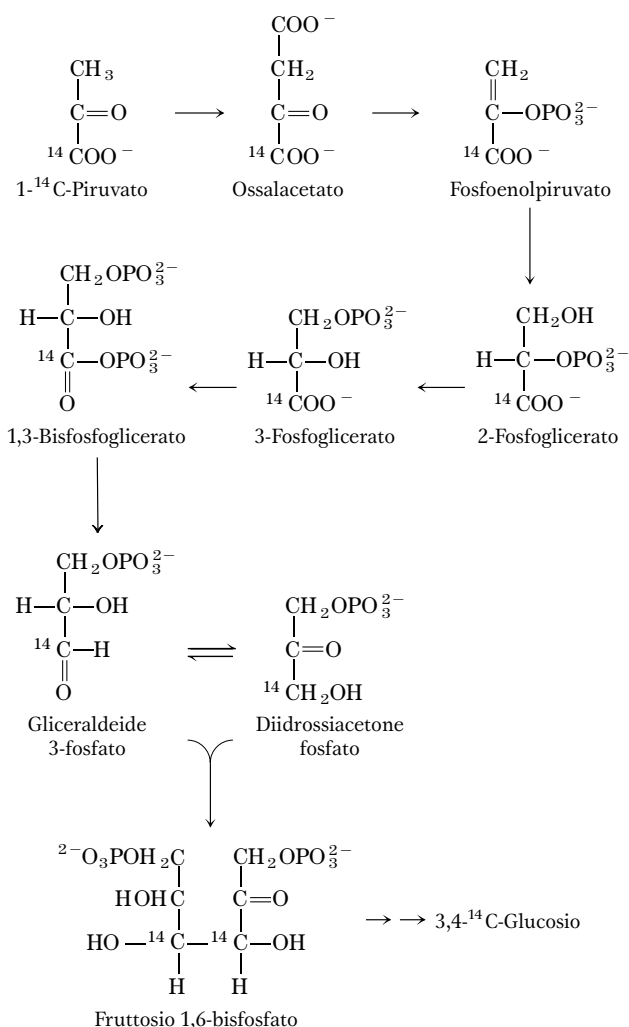
1. Equazione netta: $\text{glucosio} + 2ATP \rightarrow 2 \text{ gliceraldeide 3-fosfato} + 2ADP + 2H^+$; $\Delta G^\circ = 2,1 \text{ kJ/mole}$.
2. Equazione netta: $2 \text{ gliceraldeide 3-fosfato} + 4ADP + 2P_i \rightarrow 2 \text{ lattato} + 2NAD^+$; $\Delta G^\circ = -114 \text{ kJ/mole}$.
3. La GLUT2 (come la GLUT1) si trova nel fegato ed è sempre presente nella membrana plasmatica degli epatociti.

La GLUT3 è sempre presente nella membrana plasmatica di alcuni tipi di cellule nervose. La GLUT4 si trova normalmente sequestrata in vescicole delle cellule del muscolo e del tessuto adiposo, e si trasferisce nella membrana plasmatica solo in risposta all'insulina. Quindi, il fegato e il cervello possono captare il glucosio dal sangue indipendentemente dai livelli di insulina, mentre il muscolo e il tessuto adiposo captano il glucosio solo quando i livelli di insulina sono elevati in risposta a un aumento dei livelli ematici di glucosio.

4. $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+$; $K'_{\text{eq}} = 1,45 \times 10^4$.
5. $-8,6 \text{ kJ/mole}$.
6. (a) $^{14}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. (b) $[3-^{14}\text{C}]\text{glucosio}$ o $[4-^{14}\text{C}]\text{glucosio}$.
7. La fermentazione rilascia energia, che in parte viene conservata sotto forma di ATP e in parte viene dissipata sotto forma di calore. Se i fermentatori non venissero raffreddati, la temperatura salirebbe a un punto tale da uccidere i microrganismi.
8. I germogli di soia e il frumento contengono amido, un polimero del glucosio. L'amido viene demolito a glucosio dai microrganismi. Il glucosio, a sua volta, viene catabolizzato tramite la glicolisi a piruvato e, poiché questo processo avviene in assenza di ossigeno (è cioè una fermentazione), il piruvato viene ridotto ad acido lattico e a etanolo dai microrganismi. Se fosse presente ossigeno, il piruvato verrebbe ossidato ad acetil-CoA, quindi a CO_2 e H_2O . Alcune molecole di acetil-CoA, comunque, possono venire anche idrolizzate ad acido acetico (aceto) in presenza di ossigeno.
9. C-1. Questo esperimento dimostra la reversibilità della reazione dell'aldolasi. Il C-1 della gliceraldeide 3-fosfato è equivalente al C-4 del fruttosio 1,6-bisfosfato (vedi la Figura 14.7). La gliceraldeide 3-fosfato di partenza deve essere stata marcata in C-1. Il C-3 del diidrossiacetone fosfato diventa marcato nella reazione della triosio fosfato isomerasi, dando così origine alla marcatura del C-3 del fruttosio 1,6-bisfosfato.
10. No. Non vi sarebbe alcuna produzione anaerobica di ATP; la produzione aerobica di ATP sarebbe ridotta soltanto di poco.
11. No; la lattato deidrogenasi è necessaria per riciclare il NAD^+ a partire dal NADH formato durante l'ossidazione della gliceraldeide 3-fosfato.
12. La trasformazione del glucosio in lattato avviene quando le cellule del muscolo sono in carenza di ossigeno, e consente la produzione di ATP in carenza di ossigeno. Poiché il lattato può essere di nuovo trasformato in piruvato, il glucosio non viene totalmente consumato, perché il piruvato potrà essere ossidato aerobicamente quando verranno ripristinate le normali concentrazioni di ossigeno. Questa flessibilità metabolica permette all'organismo una maggiore adattabilità all'ambiente circostante.
13. Mediante la rimozione rapida dell'1,3-bisfosfoglicerato in un passaggio successivo favorevole, catalizzato dalla fosfoglicerato chinasi.
14. (a) Il 3-fosfoglicerato è il prodotto. (b) In presenza di arseniato non si ha una produzione netta di ATP in condizioni anaerobiche.
15. (a) La fermentazione alcolica ha bisogno di 2 molecole di P_i per mole di glucosio. (b) Il prodotto ridotto che si forma durante la riossidazione di NADH a NAD^+ è l'etanolo, e CO_2 è il secondo prodotto della conversione del piruvato in etanolo. Sì: il piruvato deve essere convertito in etanolo per consentire un rifornimento continuo di NAD^+ , utilizzato per l'ossidazione della gliceraldeide 3-fosfato. Si accumula fruttosio 1,6-bisfosfato, che si forma come intermedio nella glicolisi. (c) L'arseniato prende il posto del P_i nella reazione della gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi e forma un acil arseniato, che si idrolizza spontaneamente. Questo impedisce la for-

mazione di ATP, ma il 3-fosfoglicerato continua nella via glicolitica.

16. La niacina introdotta con la dieta viene utilizzata per sintetizzare il NAD^+ . Le ossidazioni NAD^+ -dipendenti fanno parte di processi ciclici, col NADH come trasportatore di elettroni (agente riducente); una molecola di NAD^+ può ossidare molte migliaia di molecole di glucosio, quindi la richiesta giornaliera di niacina con la dieta è relativamente bassa.
17. Diidrossiacetone fosfato + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow$ glicerolo 3-fosfato + NAD^+ (catalizzata da una deidrogenasi).
18. Deficienza di galattochinasi: galattosio (poco tossico); deficienza di UDP-glucosio: galattosio 1-fosfato uridil trasferasi: galattosio 1-fosfato (più tossico).
19. Le proteine vengono demolite in amminoacidi, che vengono utilizzati per la gluconeogenesi.
20. (a) Nella reazione della piruvato carbossilasi, la $^{14}\text{CO}_2$ viene aggiunta al piruvato, ma la fosfoenolpiruvato carbossichinasi rimuove la stessa CO_2 nel passaggio successivo. Pertanto, il ^{14}C non è (inizialmente) incorporato nel glucosio. (b)



21. Quattro equivalenti di ATP per molecola di glucosio.
22. La gluconeogenesi sarebbe fortemente endoergonica, e sarebbe impossibile regolare separatamente la glicolisi e la gluconeogenesi.
23. La cellula "spende" un ATP e un GTP per convertire il piruvato in PEP.
24. (a), (b) e (d) sono glucogenici; (c) ed (e) non lo sono.
25. Il consumo di alcol provoca una competizione per il NAD^+ tra il metabolismo dell'etanolo e la gluconeogenesi. Il problema è ulteriormente aggravato dall'esercizio fisico inten-

so e dal digiuno, in quanto in questi casi il livello di glucosio nel sangue è spesso basso.

26. (a) Il rapido aumento della glicolisi; l'aumento del piruvato e del NADH produce un aumento del lattato. (b) Il lattato si trasforma in glucosio attraverso il piruvato; questo è un processo più lento, perché la formazione di piruvato è limitata dalla disponibilità di NAD^+ , l'equilibrio dell'LDH è a favore del lattato e la conversione del piruvato in glucosio è un processo che richiede energia. (c) L'equilibrio della reazione dell'LDH è a favore della formazione di lattato.
27. Il lattato viene trasformato in glucosio nel fegato dalla gluconeogenesi (vedi le Figure 14.16 e 14.17). Un difetto nell'FBPasi-1 potrebbe impedire l'entrata del lattato nella via gluconeogenica negli epatociti, causando l'accumulo del lattato nel sangue.
28. Il succinato viene trasformato in ossalacetato, che passa nel citosol e viene convertito in PEP dalla PEP carbossichinasi. Sono necessarie due moli di PEP per produrre una mole di glucosio secondo la via mostrata nella Figura 14.17.
29. Se la via catabolica e quella anabolica del metabolismo del glucosio agissero simultaneamente, sarebbe attivo un ciclo futile dell'ATP, con consumo extra di ossigeno.
30. L'accumulo del ribosio 5-fosfato tenderebbe a forzare la reazione in direzione inversa per azione di massa (vedi l'Equazione 13.4). L'accumulo potrebbe anche influenzare altre reazioni metaboliche che coinvolgono il ribosio 5-fosfato come substrato o prodotto, per esempio le vie di sintesi dei nucleotidi.
31. (a) La tolleranza all'etanolo probabilmente coinvolge più geni, quindi il progetto di ingegnerizzazione sarebbe più complicato. (b) La L-arabinosio isomerasi (l'araA enzima) converte un aldoso in un chetoso spostando il carbonile di uno zucchero non fosforilato dalla posizione C-1 alla posizione C-2. Un simile enzima non è stato discusso nel capitolo; tutti gli enzimi descritti infatti agiscono su zuccheri fosforilati. Un enzima che catalizza questa reazione, ma con zuccheri fosforilati, è chiamato fosfoesiosio isomerasi. La L-ribulochinasi (araB) fosforila uno zucchero in C-5 usando il gruppo γ fosforico di un ATP. Molte reazioni del genere sono descritte in questo capitolo, compresa la reazione esochinasica. La L-ribuloso 5-fosfato epimerasi (araD) cambia di posizione i gruppi $-\text{H}$ e $-\text{OH}$ di un carbonio chirale di uno zucchero. Reazioni analoghe non sono state descritte in questo capitolo, ma lo saranno nel Capitolo 20 (vedi la Figura 20.13). (c) I tre enzimi ara convertirebbero l'arabinosio in xilulosio 5-fosfato attraverso la via seguente: arabinosio $\xrightarrow{\text{L-arabinosio isomerasi}}$ L-ribulosio $\xrightarrow{\text{L-ribulochinasi}}$ L-ribulosio 5-fosfato $\xrightarrow{\text{epimerasi}}$ xilulosio 5-fosfato. (d) L'arabinosio viene convertito in xilulosio 5-fosfato, come in (c), che entra nella via metabolica descritta nella Figura 14.23; il glucosio 6-fosfato prodotto viene quindi fermentato a etanolo e CO_2 . (e) Sei molecole di arabinosio + sei molecole di ATP vengono convertite in sei molecole di xilulosio 5-fosfato, che entrano nella via metabolica della Figura 14.23, per formare cinque molecole di glucosio 6-fosfato, ognuna delle quali è fermentata per produrre 3 ATP (entrano come glucosio 6-fosfato, non come glucosio), ovvero 15 ATP in totale. Si dovrebbero quindi formare 15 ATP - 6 ATP = 9 ATP da sei molecole di arabinosio. Gli altri prodotti sono 10 molecole di etanolo e 10 molecole di CO_2 . (f) Poiché la resa in ATP è minore, per una crescita equivalente a una crescita senza i geni aggiunti lo *Z. mobilis* ingegnerizzato deve fermentare più arabinosio, quindi deve produrre più etanolo. (g) Un modo che permetterebbe l'utilizzo dello xilulosio consisterebbe nell'aggiungere i geni di due enzimi: un analogo dell'enzima araD che converte lo xilulosio in ribosio cambiando le posizioni di $-\text{H}$ e $-\text{OH}$ in C-3, e un analogo dell'enzima araB che fosforila il ribosio in C-5. Il ribosio 5-fosfato formato entrerebbe così nella via metabolica esistente.

CAPITOLO 15

1. (a) 0,0293. (b) 308. (c) No. Q è molto più basso della K'_{eq} , indicando che nella cellula la reazione della PFK-1 è lontana dall'equilibrio; questa reazione è più lenta delle reazioni successive della glicolisi. Il flusso attraverso la via glicolitica è largamente determinato dall'attività della PFK-1.
2. (a) $1,4 \times 10^{-9}$ M. (b) La concentrazione fisiologica (0,023 mM) è 16 000 volte la concentrazione all'equilibrio; questa reazione non raggiunge l'equilibrio nella cellula. Molte reazioni nelle cellule non sono all'equilibrio.
3. In assenza di O_2 , la richiesta di ATP è soddisfatta dal metabolismo anaerobico del glucosio (fermentazione a lattato). Poiché l'ossidazione aerobica del glucosio produce molto più ATP della fermentazione, è necessaria una minore quantità di glucosio per produrre la stessa quantità di ATP.
4. (a) Ci sono due siti di legame per l'ATP: un sito catalitico e uno regolatorio. Il legame dell'ATP a un sito regolatorio inibisce la PFK-1, riducendo la V_{max} o aumentando la K_m per l'ATP a livello del suo sito catalitico. (b) Il flusso glicolitico è ridotto quando l'ATP è abbondante. (c) Il grafico indica che l'aumento della [ATP] sopprime l'inibizione da ATP. Poiché le riserve di nucleotidi adeninici sono piuttosto costanti, il consumo di ATP porta a un aumento della concentrazione di ADP. I dati indicano che l'attività della PFK-1 può essere regolata dal rapporto [ATP]/[ADP].
5. Il gruppo fosfato sul glucosio 6-fosfato è completamente ionizzato a pH 7, il che conferisce alla molecola una maggiore carica negativa. Poiché le membrane sono normalmente impermeabili alle molecole elettricamente cariche, il glucosio 6-fosfato non può passare dal circolo sanguigno alle cellule, quindi non può entrare nella via glicolitica e produrre ATP. (Questo avviene poiché il glucosio, una volta fosforilato, non può più uscire dalla cellula.)
6. (a) Nel muscolo, il glicogeno viene scisso per fornire energia (ATP) per mezzo della glicolisi. La glicogeno fosforilasi catalizza la conversione del glicogeno accumulato in glucosio 1-fosfato, che viene convertito in glucosio 6-fosfato, un intermedio della glicolisi. Durante un intenso esercizio fisico, il muscolo scheletrico richiede grandi quantità di glucosio 6-fosfato. Nel fegato, la scissione del glicogeno viene usata per mantenere costante la concentrazione di glucosio nel sangue negli intervalli tra i pasti (il glucosio 6-fosfato viene convertito in glucosio libero). (b) Nel muscolo in attività, la richiesta di ATP è molto elevata ed è necessario che il glucosio 1-fosfato sia prodotto rapidamente; per questo è necessaria un'elevata V_{max} .
7. (a) $[\text{P}_i]/[\text{glucosio 1-fosfato}] = 3,3/1$. (b) e (c) Il valore di questo rapporto nella cellula (>100:1) indica che la concentrazione del glucosio 1-fosfato è molto inferiore al valore all'equilibrio. La velocità con la quale il glucosio 1-fosfato viene rimosso (mediante il suo ingresso nella glicolisi) è maggiore della sua velocità di produzione (per mezzo della reazione della glicogeno fosforilasi). Ciò indica che il flusso di metaboliti è dal glicogeno al glucosio 1-fosfato e che la reazione della glicogeno fosforilasi rappresenta probabilmente il passaggio regolatorio della scissione del glicogeno.
8. (a) Aumenta. (b) Diminuisce. (c) Aumenta.
9. In stato di riposo: [ATP] alta; [AMP] bassa; [acetil-CoA] e [citrato] intermedia. Durante la corsa: [ATP] intermedia; [AMP] alta; [acetil-CoA] e [citrato] bassa. Il flusso di glucosio attraverso la via glicolitica aumenta durante lo sprint anaerobico poiché (1) l'inibizione dell'ATP della glicogeno fosforilasi e della PFK-1 è parzialmente rimossa; (2) l'AMP stimola entrambi gli enzimi; (3) bassi livelli di citrato e di acetil-CoA diminuiscono i loro effetti inibitori sulla PFK-1 e sulla piruvato chinasi, rispettivamente.
10. Un uccello migratore può fare affidamento sull'alta efficienza dell'ossidazione anaerobica dei grassi, così come un coniglio in corsa sul metabolismo anaerobico del glucosio. L'uccello riserva il suo glicogeno muscolare per le rapide necessità di bruciare energia in caso di emergenza.

11. **Caso A:** (f), (3); **Caso B:** (c), (3); **Caso C:** (h), (4); **Caso D:** (d), (6).
12. **(a)** (1) Tessuto adiposo: sintesi degli acidi grassi più lenta. (2) Muscolo: glicolisi, sintesi degli acidi grassi e sintesi del glicogeno più lente. (3) Fegato: glicolisi più veloce, gluconeogenesi, sintesi del glicogeno e sintesi degli acidi grassi più lente; via del pentosio fosfato invariata. **(b)** (1) Tessuto adiposo e (3) fegato: sintesi degli acidi grassi rallentata perché la carenza di insulina provoca l'inattivazione dell'acetil-CoA carbossilasi, il primo enzima della sintesi degli acidi grassi. La sintesi del glicogeno è inibita dalla fosforilazione cAMP-dipendente della glicogeno sintasi. (2) Muscolo: la glicolisi rallenta perché il GLUT4 non è disponibile, quindi il trasporto del glucosio è inibito. (3) Fegato: la glicolisi è inibita perché la PFK-2/FBPasi-2 è convertita nella forma in cui è attiva la FBPasi-2, diminuendo così la [fruttosio 2,6-bisfosfato], che stimola allostericamente la fosfofruttochinasi e inibisce la FBPasi-1; ciò spiega anche la stimolazione della gluconeogenesi.
13. **(a)** Elevati. **(b)** Elevati. **(c)** Elevati.
14. **(a)** La PKA non può essere attivata in risposta al glucagone o all'adrenalina, e la glicogeno fosforilasi non è attivata. **(b)** La PP1 rimane attiva, e può defosforilare la glicogeno sintasi (attivandola) e la glicogeno fosforilasi (inibendola). **(c)** La fosforilasi rimane fosforilata (attiva) e aumenta la demolizione del glicogeno. **(d)** La gluconeogenesi non può essere stimolata quando il livello del glucosio è basso, lasciando la concentrazione di glucosio nel sangue pericolosamente bassa durante i periodi di digiuno.
15. La diminuzione del livello ematico del glucosio provoca il rilascio di glucagone da parte del pancreas. Nel fegato, il glucagone attiva la glicogeno fosforilasi tramite la stimolazione della fosforilazione cAMP-dipendente e della gluconeogenesi, diminuendo la [fruttosio 2,6-bisfosfato] a opera della FBPasi-1.
16. **(a)** Ridotta capacità di mobilizzare il glicogeno; riduzione della disponibilità del glucosio nel sangue tra un pasto e l'altro. **(b)** Riduzione della capacità di diminuire il glucosio ematico dopo un pasto ricco di carboidrati; glicemia elevata. **(c)** Riduzione del fruttosio 2,6-bisfosfato (F26BP) nel fegato, con stimolazione della glicolisi e inibizione della gluconeogenesi. **(d)** Riduzione della F26BP, con stimolazione della gluconeogenesi e inibizione della glicolisi. **(e)** Aumento del trasporto degli acidi grassi e del glucosio; aumento dell'ossidazione di entrambi. **(f)** Aumento della conversione del piruvato in acetil-CoA; aumento della sintesi degli acidi grassi.
17. **(a)** Poiché ogni particella contiene circa 55 000 residui di glucosio, la corrispondente concentrazione di glucosio libero sarebbe $55\,000 \times 0,01 \mu\text{M} = 550 \text{ mM}$ o $0,55 \text{ M}$, che provocherebbe un pericoloso aumento della pressione osmotica della cellula (i liquidi corporei hanno un'osmolarità ben più bassa). **(b)** Più basso è il numero delle ramificazioni, più basso è il numero di terminazioni libere disponibili per la glicogeno fosforilasi, e minore è la velocità del rilascio del glucosio. Se non vi fossero ramificazioni, ci sarebbe un solo sito dove la fosforilasi potrebbe agire. **(c)** La parte esterna della particella sarebbe troppo "affollata" di residui di glucosio perché l'enzima possa avere la possibilità di scindere i legami e liberare il glucosio. **(d)** Il numero di catene raddoppia per ogni successivo intervento della fosforilasi in ogni filiera: il primo forma una filiera (2^0), il secondo 2 (2^1), il terzo 4 (2^2), e così via. Quindi per t interventi il numero di catene dopo l'ultimo intervento (C_A) sarà 2^{t-1} . **(e)** Il numero totale di catene sarà $2^0 + 2^1 + 2^2 + \dots + 2^{t-1} = 2^t - 1$. Ciascuna catena contiene g_c molecole di glucosio, quindi il numero totale di molecole di glucosio, G_T , è $g_c(2^t - 1)$. **(f)** La glicogeno fosforilasi può rilasciare tutte le molecole di glucosio di una catena di lunghezza g_c , meno quattro. Quindi ciascuna catena della parte esterna della particella potrà rilasciare $(g_c - 4)$ molecole di glucosio. Poiché vi sono 2^{t-1} catene sulla parte esterna, il numero di molecole che l'enzima può rilasciare, G_{PT} , è $(g_c - 4)(2^{t-1})$. **(g)** Il volume della sfera è $4/3 \pi r^3$. In questo caso, r è lo spessore di una filiera per il numero delle filiere, o $(0,12g_c + 0,35)t \text{ nm}$. Quindi $V_s =$

$4/3 \pi r^3 = (0,12g_c + 0,35)^3 t^3 \text{ nm}^3$. **(h)** Si può dimostrare algebricamente che il valore di g_c a cui corrisponde il valore massimo di f è indipendente da t . Scegliendo $t = 3$:

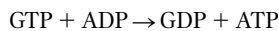
g_c	C_A	G_T	G_{PT}	V_s	f
5	4	35	4	11	5,8
6	4	42	8	19	9,7
7	4	49	12	24	12
8	4	56	16	28	14
9	4	63	20	32	15
10	4	70	24	34	16
11	4	77	28	36	16
12	4	84	32	38	17
13	4	91	36	40	17
14	4	98	40	41	17
15	4	100	44	42	16
16	4	110	48	43	16

Il valore ottimale di g_c (cioè al valore massimo di f) è 13. In natura g_c varia da 12 a 14, corrispondenti a valori di f vicini al valore ottimale. Se si sceglie un altro valore di t , i numeri differiranno, ma il valore ottimale di g_c sarà sempre 13.

CAPITOLO 16

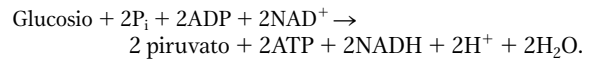
1. **(a)**
- 1** Citrato sintasi:
Acetil-CoA + ossalacetato + H₂O → citrato + CoA.
 - 2** Aconitasi:
Citrato → isocitrato.
 - 3** Isocitrato deidrogenasi:
Isocitrato + NAD⁺ → α-chetoglutarato + CO₂ + NADH.
 - 4** α-Chetoglutarato deidrogenasi:
α-Chetoglutarato + NAD⁺ + CoA → succinil-CoA + CO₂ + NADH.
 - 5** Succinil-CoA sintetasi:
Succinil-CoA + P_i + GDP → succinato + CoA + GTP.
 - 6** Succinato deidrogenasi:
Succinato + FAD → fumarato + FADH₂.
 - 7** Fumarasi:
Fumarato + H₂O → malato.
 - 8** Malato deidrogenasi:
Malato + NAD⁺ → ossalacetato + NADH + H⁺.
- (b), (c)** Tappa **1** CoA, condensazione; **2** nessuno, isomerizzazione; **3** NAD⁺, decarbossilazione ossidativa; **4** NAD⁺, CoA e tiamina pirofosfato, decarbossilazione ossidativa; **5** CoA, fosforilazione a livello del substrato; **6** FAD, ossidazione; **7** nessuno, idratazione; **8** NAD⁺, ossidazione.
- (d)** Acetil-CoA + 3NAD⁺ + FAD + GDP + P_i + 2H₂O → 2CO₂ + CoA + 3NADH + FADH₂ + GTP + 2H⁺.
2. Glucosio + 4ADP + 4P_i + 10NAD⁺ + 2FAD → 4ATP + 10NADH + 2FADH₂ + 6CO₂
3. **(a)** Ossidazione; metanolo → formaldeide + [H—H].
(b) Ossidazione; formaldeide → formiato + [H—H].
(c) Riduzione; CO₂ + [H—H] → formiato + H⁺.
(d) Riduzione; glicerato + H⁺ + [H—H] → gliceraldeide + H₂O.
(e) Ossidazione; glicerolo → diidrossiacetone + [H—H].
(f) Ossidazione; 2H₂O + toluene → benzoato + H⁺ + 3[H—H].
(g) Ossidazione; succinato → fumarato + [H—H].
(h) Ossidazione; piruvato + H₂O → acetato + CO₂ + [H—H].
4. Dalle formule di struttura vediamo che il rapporto H/C dell'acido esanoico (11/6) è più elevato di quello del glucosio (7/6). L'acido esanoico è più ridotto e genera più energia quando è completamente catabolizzato a CO₂ e H₂O.

5. (a) Ossidato; etanolo + $\text{NAD}^+ \rightarrow$ acetaldeide + $\text{NADH} + \text{H}^+$.
 (b) Ridotto; 1,3-bisfosfoglicerato + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow$
 gliceraldeide 3-fosfato + $\text{NAD}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$.
 (c) Immutato; piruvato + $\text{H}^+ \rightarrow$ acetaldeide + CO_2 .
 (d) Ossidato; piruvato + $\text{NAD}^+ \rightarrow$
 acetato + $\text{CO}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+$.
 (e) Ridotto; ossalacetato + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow$ malato + NAD^+ .
 (f) Immutato; acetoacetato + $\text{H}^+ \rightarrow$ acetone + CO_2 .
6. TPP: l'anello tiazolico si lega al carbonio α del piruvato, quindi stabilizza il carbanione risultante, agendo da pozzo di elettroni. *Acido lipoico*: ossida il piruvato a livello di acetato (acetil-CoA) e attiva l'acetato a tioestere. *CoA-SH*: attiva l'acetato a tioestere. *FAD*: ossida l'acido lipoico. *NAD⁺*: ossida il FAD.
7. L'assenza di TPP inibisce la piruvato deidrogenasi. Si accumula acido piruvico.
8. Decarbossilazione ossidativa; NAD^+ o NADP^+ ; α -chetoglutarato deidrogenasi.
9. Il consumo di ossigeno rappresenta la misura dell'attività dei primi due passaggi della respirazione cellulare: la glicolisi e il ciclo dell'acido citrico. L'aggiunta di ossalacetato o malato stimola il ciclo dell'acido citrico e pertanto stimola la respirazione. L'ossalacetato o il malato aggiunti svolgono un ruolo catalitico, poiché vengono rigenerati nell'ultima parte del ciclo dell'acido citrico.
10. (a) $5,6 \times 10^{-6}$. (b) $1,1 \times 10^{-8}$ M. (c) 28 molecole.
11. ADP (o GDP), P_i , CoA-SH, TPP, NAD^+ ; non l'acido lipoico, che è covalentemente legato all'enzima isolato.
12. Non verrebbero sintetizzati i coenzimi flavinici, FAD ed FMN. Poiché il FAD è necessario nel ciclo dell'acido citrico, la carenza delle flavine inibirebbe il ciclo.
13. L'ossalacetato abbandonerebbe il ciclo per la gluconeogenesi o per la sintesi dell'aspartato. L'ossalacetato verrebbe risintetizzato tramite le reazioni anaplerotiche, catalizzate dalla PEP carbossichinasi, dalla PEP carbossilasi, dall'enzima malico o dalla piruvato carbossilasi (vedi la Figura 16.16).
14. Il gruppo fosforico terminale del GTP può essere trasferito all'ADP tramite una reazione catalizzata dalla nucleoside difosfato chinasi, con una costante di equilibrio di 1,0:

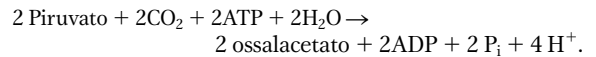


15. (a) $^- \text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ (succinato). (b) Il malonato è un inibitore competitivo della succinato deidrogenasi. (c) Un blocco del ciclo dell'acido citrico arresta la formazione di NADH, che arresta il trasferimento di elettroni, che arresta la respirazione. (d) Una quantità in eccesso di succinato (substrato) permette di superare l'inibizione competitiva.
16. (a) Aggiungendo [^{14}C]glucosio marcato uniformemente e controllando la liberazione di $^{14}\text{CO}_2$. (b) Ugualmente distribuito su C-2 e C-3 dell'ossalacetato; un numero infinito.
17. L'ossalacetato si equilibra con il succinato, in cui il C-1 e il C-4 sono equivalenti. L'ossalacetato derivato dal succinato è marcato in C-1 e in C-4, e il PEP che deriva dall'ossalacetato sarà marcato in C-1, precursore del C-3 e del C-4 del glucosio.
18. (a) C-1. (b) C-3. (c) C-3. (d) C-2 (gruppo metilico). (e) C-4. (f) C-4. (g) Ugualmente distribuito in C-2 e C-3.
19. La tiamina è necessaria per la sintesi del tiamina pirofosfato (TPP), un gruppo prostetico dei complessi enzimatici della piruvato deidrogenasi e dell' α -chetoglutarato deidrogenasi. Una carenza di tiamina riduce l'attività di questi complessi enzimatici e provoca l'accumulo dei precursori.
20. No. Per ogni due carboni che entrano come acetato, due lasciano il ciclo come CO_2 ; perciò non c'è sintesi di ossalacetato. L'ossalacetato può essere rimpiazzato con la carbossilazione del piruvato, una reazione anaplerotica.
21. Sì, il ciclo dell'acido citrico sarebbe inibito. L'ossalacetato è presente a concentrazioni relativamente basse nei mitocondri, quindi la sua rimozione tramite la gluconeogenesi tenderebbe a spostare l'equilibrio della reazione citrato sintasi verso l'ossalacetato.

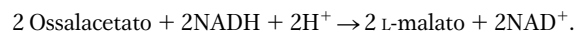
22. (a) Inibizione dell'aconitasi. (b) Il fluorocitrato; compete con il citrato; mediante un cospicuo eccesso di citrato. (c) Il citrato e il fluorocitrato sono inibitori della PFK-1. (d) Tutti i processi catabolici necessari per la produzione di ATP sono inibiti.
23. Nella glicolisi:



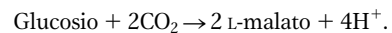
Quindi la piruvato carbossilasi catalizza la reazione:



Quindi la malato deidrogenasi catalizza la reazione:



che ricicla il coenzima nicotinammide in condizioni anaerobiche. L'intera reazione è



La reazione complessivamente produce quattro H^+ , che aumentano l'acidità e l'asprezza del vino.

24. Reazione netta: 2 piruvato + $\text{ATP} + 2\text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \alpha$ -chetoglutarato + $\text{CO}_2 + \text{ADP} + \text{P}_i + 2\text{NADH} + 3\text{H}^+$.
25. Il ciclo partecipa a processi sia catabolici, sia anabolici; per esempio, genera ATP tramite l'ossidazione dei substrati, ma fornisce anche precursori per la sintesi degli amminoacidi (vedi la Figura 16.16).
26. (a) Diminuisce. (b) Aumenta. (c) Diminuisce.
27. (a) Il citrato è prodotto dalla reazione della citrato sintasi su ossalacetato e acetil-CoA. La citrato sintasi può essere usata per una sintesi netta di citrato quando: (1) c'è un afflusso continuo di nuovo ossalacetato e acetil-CoA; (2) la sintesi di isocitrato è ridotta in un mezzo a basso contenuto di F^{3+} . L'aconitasi richiede F^{3+} e quindi un mezzo povero di F^{3+} riduce la formazione di aconitasi attiva.
 (b) Saccarosio + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ glucosio + fruttosio
 $\text{Glucosio} + 2\text{P}_i + 2\text{ADP} + 2\text{NAD}^+ \rightarrow$
 $2 \text{piruvato} + 2\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}.$
 $\text{Fruttosio} + 2\text{P}_i + 2\text{ADP} + 2\text{NAD}^+ \rightarrow$
 $2 \text{piruvato} + 2\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}.$
 $2 \text{Piruvato} + 2\text{NAD}^+ + 2\text{CoA} \rightarrow$
 $2 \text{acetil-CoA} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{CO}_2.$
 $2 \text{Piruvato} + 2 \text{CO}_2 + 2 \text{ATP} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow$
 $2 \text{ossalacetato} + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i + 4\text{H}^+.$
 $2 \text{Acetil-CoA} + 2 \text{ossalacetato} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$
 $2 \text{citrato} + 2\text{CoA}.$
- L'intera reazione è
 $\text{Saccarosio} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{P}_i + 2\text{ADP} + 6\text{NAD}^+ \rightarrow$
 $2 \text{citrato} + 2\text{ATP} + 6\text{NADH} + 10\text{H}^+.$
- (c) Si noti che l'intera reazione consuma NAD^+ . Poiché la quantità cellulare di questo coenzima nella forma ossidata è limitata, esso deve essere riciclato dalla catena di trasporto degli elettroni, con conseguente consumo di ossigeno. Quindi l'intera conversione di saccarosio in acido citrico è un processo aerobico e richiede ossigeno molecolare.
28. Il succinil-CoA è un intermedio del ciclo dell'acido citrico; il suo accumulo segnala la riduzione del flusso attraverso il ciclo e causa una riduzione dell'ingresso dell'acetil-CoA nel ciclo. La citrato sintasi, regolando la principale via ossidativa cellulare, regola la disponibilità di NADH e quindi il flusso di elettroni dal NADH all'ossigeno.
29. Il catabolismo degli acidi grassi fa aumentare la concentrazione di acetil-CoA, che stimola la piruvato carbossilasi. L'aumento risultante della concentrazione di ossalacetato stimola il consumo di acetil-CoA da parte del ciclo dell'acido citri-

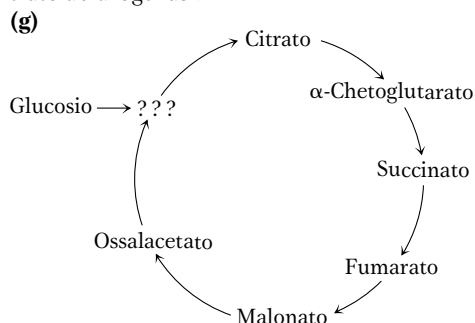
co e fa aumentare la concentrazione di citrato, che inibisce la glicolisi a livello della PFK-1. Inoltre l'aumento della concentrazione di acetil-CoA inibisce il complesso della piruvato deidrogenasi, rallentando l'utilizzo del piruvato ottenuto dalla glicolisi.

- 30.** L'ossigeno è necessario per rigenerare il NAD^+ a partire dal NADH prodotto dalle reazioni ossidative del ciclo dell'acido citrico. La riossidazione del NADH avviene durante la fosforilazione ossidativa mitocondriale.
- 31.** L'aumento del rapporto $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$ inibisce il ciclo dell'acido citrico per azione di massa a livello delle tre reazioni NAD^+ -riducenti. Elevate $[\text{NADH}]$ spostano l'equilibrio verso il NAD^+ .
- 32.** Verso il citrato; il ΔG della reazione della citrato sintasi in queste condizioni è di circa -8 kJ/mole .
- 33.** I passaggi 4 e 5 sono essenziali per la riossidazione del cofattore lipoammidico ridotto.
- 34.** Il ciclo dell'acido citrico è così importante che un difetto di uno qualunque degli enzimi del ciclo sarebbe probabilmente letale per l'embrione.
- 35.** Il primo enzima di ciascuna via è sotto reciproca regolazione allosterica. L'inibizione di una via sposta l'isocitrato sull'altra via.
- 36. (a)** Il solo processo nel tessuto muscolare che consuma quantità significative di ossigeno è la respirazione cellulare, quindi il consumo di O_2 è un buon indice della respirazione. **(b)** Le preparazioni di tessuto muscolare contengono una certa quantità di glucosio; il consumo di O_2 è dovuto alla sua ossidazione. **(c)** Sì. Perché la quantità di O_2 consumato aumenta quando si aggiungono citrato o 1-fosfoglicerolo, che possono fungere da substrati per la respirazione cellulare in questo sistema. **(d) Esperimento I:** il citrato causa un consumo di ossigeno molto più elevato di quanto ci si aspetterebbe dalla sua completa ossidazione. Ogni molecola di citrato sembra agire come se fosse molto più di una molecola. La sola possibile spiegazione è che ciascuna molecola di citrato agisca da catalizzatore. **Esperimento II:** la chiave sta nel calcolare l'eccesso di O_2 consumato in ogni campione in rapporto al consumo di ossigeno del controllo (campione 1).

Campione	Substrato(i) aggiunto(i)	μL di O_2 assorbiti	Eccesso di O_2 consumato (μL)
1	Nessuna aggiunta	342	0
2	0,3 mL di 0,2 M 1-fosfoglicerolo	757	415
3	0,15 mL di 0,02 M citrato	431	89
4	0,3 mL di 0,2 M 1-fosfoglicerolo + 0,15 mL di 0,02 M citrato	1385	1043

Se il citrato e l'1-fosfoglicerolo fossero semplici substrati della reazione, ci si dovrebbe aspettare che l'eccesso del consumo di ossigeno del campione 4 sia la somma dei singoli eccessi del consumo dei campioni 2 e 3 ($415 \mu\text{L} + 89 \mu\text{L} = 504 \mu\text{L}$). Invece l'eccesso del consumo quando ambedue i substrati sono presenti corrisponde a circa il doppio ($1043 \mu\text{L}$). Quindi il citrato aumenta la capacità del tessuto di metabolizzare l'1-fosfoglicerolo. Questo comportamento è tipico della catalisi. Ambedue gli esperimenti (I e II) sono necessari per convalidare l'ipotesi della catalisi. Il solo esperimento I dimostra che il citrato in qualche modo accelera la reazione, ma non è chiaro se agisce favorendo il metabolismo del substrato o attraverso qualche altro meccanismo. Il solo esperimento II non indica quale dei due composti, il citrato o l'1-fosfoglicerolo, è il catalizzatore. Insieme, i due esperimenti dimostrano che il citrato agisce da "catalizzatore" dell'ossidazione

dell'1-fosfoglicerolo. **(e)** Poiché il citrato viene consumato (vedi il campione 3), se agisce da catalizzatore deve essere rigenerato. Se la via metabolica prima consuma e poi rigenera il citrato, deve essere circolare anziché lineare. **(f)** Se la via viene bloccata a livello dell' α -chetoglutarato deidrogenasi, il citrato viene convertito in α -chetoglutarato, ma la via non procede oltre. L'ossigeno viene consumato per riossidazione del NADH prodotto dall'isocitrato deidrogenasi.



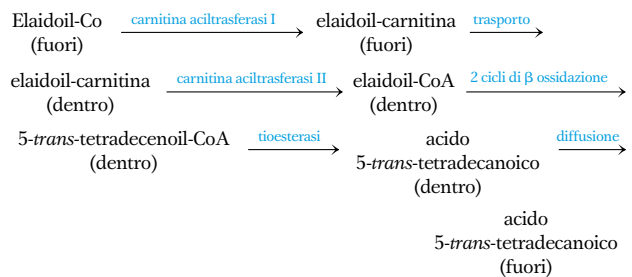
Questo ciclo differisce da quello della Figura 16.7, perché non comprende il *cis*-aconitato e l'isocitrato (tra il citrato e l' α -chetoglutarato), o il succinil-CoA, o l'acetil-CoA. **(h)** Stabilire una conversione quantitativa era essenziale per poter escludere una via metabolica ramificata, o altre vie più complesse.

CAPITOLO 17

- Nelle catene degli acidi grassi; gli atomi di carbonio degli acidi grassi sono più ridotti di quelli del glicerolo.
- (a)** $4,0 \times 10^5 \text{ kJ}$ ($9,6 \times 10^4 \text{ kcal}$). **(b)** 48 giorni. **(c)** Circa 0,21 kg/giorno.
- Il primo passaggio dell'ossidazione degli acidi grassi è analogo alla conversione del succinato in fumarato; il secondo passaggio, alla conversione del fumarato in malato; il terzo passaggio, alla conversione del malato in ossalacetato.
- Otto cicli; l'ultimo rilascia due molecole di acetil-CoA.
- (a)** $\text{R-COO}^- + \text{ATP} \rightarrow \text{acil-AMP} + \text{PP}_i$
 $\text{Acil-AMP} + \text{CoA} \rightarrow \text{acil-CoA} + \text{AMP}$
(b) Mediante l'idrolisi irreversibile di PP_i a 2P_i da parte della pirofosfatasi inorganica cellulare.
- Cis*- Δ^3 -dodecanoil-CoA; viene convertito in *trans*- Δ^2 -dodecanoil-CoA, e quindi in β -idrossidodecanoil-CoA.
- Quattro acetil-CoA e un propionil-CoA.
- Sì; parte del trizio viene rimossa dal palmitato durante le reazioni di deidrogenazione della β ossidazione. Il trizio liberato compare sotto forma di acqua triziata.
- I gruppi degli acidi grassi condensati con il CoA nel citosol vengono per prima cosa trasferiti alla carnitina, con liberazione di CoA, poi trasportati nel mitocondrio, dove vengono nuovamente condensati con il CoA. Le riserve di CoA citosoliche e mitocondriali vengono pertanto tenute separate e nessun CoA radioattivo del citosol penetra nel mitocondrio.
- (a)** Nel piccione predomina la β ossidazione; nel fagiano predomina la glicolisi anaerobica del glicogeno. **(b)** Il muscolo del piccione consumerebbe più ossigeno. **(c)** Gli acidi grassi contengono più energia per grammo rispetto al glicogeno. Inoltre, la demolizione anaerobica del glicogeno è limitata dalla tolleranza del tessuto alla produzione di lattato. Perciò il piccione, utilizzando il catabolismo degli acidi grassi, è un uccello idoneo a volare per lunghe distanze. **(d)** Questi enzimi sono gli enzimi che regolano le loro rispettive vie, quindi limitano la velocità di produzione di ATP.
- Il malonil-CoA non inibirebbe più l'entrata degli acidi grassi nel mitocondrio e la β ossidazione, quindi si instaurerebbe un ciclo futile in cui avvengono contemporaneamente sia la sintesi che la degradazione degli acidi grassi.

- 12. (a)** L'ingresso di acidi grassi nei mitocondri mediata dalla carnitina è il passaggio limitante dell'ossidazione degli acidi grassi. Il deficit di carnitina rallenta l'ossidazione degli acidi grassi; l'aggiunta di carnitina la accelera. **(b)** Tutto ciò determina un aumento della richiesta metabolica di ossidazione degli acidi grassi. **(c)** Il deficit di carnitina può essere causato dalla carenza di Lys, il suo precursore, o da un difetto in uno degli enzimi della sua via biosintetica.
- 13.** L'ossidazione dei grassi libera acqua metabolica; circa 1,4 L di acqua per 1 kg di tripalmitoglicerolo (il piccolo contributo del glicerolo alla massa della tripalmitina non viene considerato).
- 14.** I batteri possono essere usati per la completa ossidazione dell'idrocarburo a CO₂ e H₂O. Il contatto tra idrocarburi ed enzimi batterici può però essere difficile da conseguire. I nutrienti batterici come azoto e fosforo possono essere limitanti e inibirne la crescita.
- 15. (a)** M, 136; acido fenilacetico. **(b)** Pari.
- 16.** Poiché la riserva di CoA del mitocondrio è modesta, il CoA deve essere rigenerato da acetyl-CoA mediante la formazione dei corpi chetonici. Ciò consente il processo della β ossidazione, necessaria per la produzione di energia.
- 17. (a)** Il glucosio produce piruvato per mezzo della glicolisi, e il piruvato è la principale fonte di ossalacetato. Senza glucosio nella dieta la concentrazione di ossalacetato crolla e il ciclo dell'acido citrico rallenta. **(b)** Quelli con i numeri dispari; la conversione del propionato a succinil-CoA fornisce intermedi del ciclo dell'acido citrico e precursori a quattro atomi di carbonio per la gluconeogenesi.
- 18.** La β ossidazione dell'acido eptanoico, a numero dispari di atomi di carbonio, produce propionil-CoA, che può essere convertito in più tappe in ossalacetato, uno dei possibili precursori della gluconeogenesi. L'acido grasso a numero pari di atomi di carbonio non può fornire precursori della gluconeogenesi, perché viene interamente ossidato ad acetyl-CoA.
- 19.** La β ossidazione dell'ω-fluorooleato forma fluoroacetyl-CoA, che entra nel ciclo dell'acido citrico e produce fluorocitrato, un potente inibitore dell'aconitasi. L'inibizione dell'aconitasi blocca il ciclo dell'acido citrico. Non formandosi gli equivalenti riducenti per il blocco del ciclo dell'acido citrico, la fosforilazione ossidativa (sintesi di ATP) viene rallentata in modo letale.
- 20.** Ser sostituita da Ala: viene bloccata la β ossidazione mitocondriale. Ser sostituita da Asp: viene bloccata la sintesi degli acidi grassi e viene stimolata la β ossidazione.
- 21.** La risposta al glucagone o all'adrenalina viene prolungata, quindi gli adipociti mobilizzano una maggiore quantità di acidi grassi.
- 22.** Enz-FAD, avendo un potenziale standard di riduzione più positivo, è un accettore di elettroni migliore di NAD⁺, e la reazione procede nel senso dell'ossidazione dell'acil-CoA. Questo equilibrio più favorevole viene ottenuto con la spesa di 1 ATP; nella catena respiratoria viene prodotto soltanto 1,5 ATP per ogni FADH₂ ossidato (rispetto ai 2,5 prodotti per ogni NADH).
- 23.** Nove cicli; l'acido arachidico, un acido grasso saturo a 20 atomi di carbonio, produce 10 molecole di acetyl-CoA; le ultime due si formano entrambe nel nono ciclo.
- 24.** Vedi la Figura 17.12. Si forma [3-¹⁴C] succinil-CoA, che dà origine a ossalacetato marcato in C-2 e C-3.
- 25.** Acido fitanico → acido pristanico → propionil-CoA → → → succinil-CoA → succinato → fumarato → malato. Tutti gli atomi di carbonio del malato sarebbero marcati, ma il C-1 e il C-4 avrebbero solo la metà della marcatura rispetto al C-1 e al C-2.
- 26.** Lidrolisi di ATP nelle reazioni cellulari che richiedono energia preleva acqua con la reazione ATP + H₂O → ADP + P_i; quindi in condizioni stazionarie non c'è produzione netta di acqua.

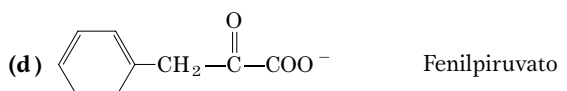
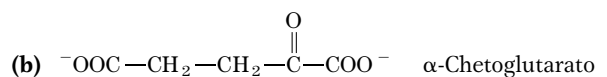
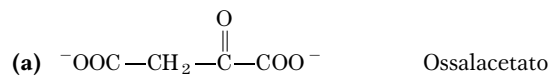
- 27.** La metilmalonil-CoA mutasi richiede il cofattore contenente cobalto che si forma dalla vitamina B₁₂.
- 28.** La massa perduta al giorno è di circa 0,66 kg, o di circa 140 kg in 7 mesi. La chetosi potrebbe essere evitata con la degradazione di proteine non essenziali che possano fornire gli scheletri amminoacidici per la gluconeogenesi.
- 29. (a)** Gli acidi grassi vengono convertiti in derivati del CoA da enzimi citoplasmatici. Gli acil-CoA entrano poi nel mitocondrio per essere ossidati. Poiché i ricercatori utilizzavano mitocondri isolati, essi dovevano usare i derivati del CoA. **(b)** Lo stearoil-CoA veniva rapidamente convertito in 9 molecole di acetyl-CoA tramite la β-ossidazione. Tutti gli intermedi reagiscono rapidamente e nessuno di essi è misurabile a livelli significativi. **(c)** Due cicli. Ciascun ciclo rimuove due atomi di carbonio, quindi due cicli convertono un acido grasso a 18 atomi di carbonio in un acido grasso a 14 atomi di carbonio e 2 acetyl-CoA. **(d)** La K_m è più elevata per l'isomero *trans* rispetto al *cis*, quindi è richiesta una maggiore concentrazione di isomero *trans* per ottenere la stessa velocità di demolizione. In altri termini, l'isomero *trans* si lega meno facilmente del *cis*, probabilmente per la differente forma molecolare, e anche se non si lega al sito attivo dell'enzima influenza il legame del substrato con l'enzima. **(e)** Il substrato della LCAD/VLCAD si accumula in modo differente, in rapporto al particolare substrato; è quanto ci si aspetta dalla tappa limitante di una via metabolica. **(f)** I parametri cinetici dimostrano che l'isomero *trans* è un substrato peggiore del *cis* per la LCAD, ma la differenza con la VLCAD è modesta. Essendo un substrato peggiore, l'isomero *trans* si accumula a livelli più alti del *cis*. **(g)** Una possibile via metabolica è mostrata qui di seguito ("fuori" e "dentro" si riferiscono ai mitocondri).



(h) È corretta in quanto i grassi *trans* vengono demoliti meno efficientemente dei grassi *cis*, quindi possono fuoriuscire dai mitocondri. Non è però corretto dire che i grassi *trans* non vengono demoliti; essi vengono demoliti, ma a velocità minore dei *cis*.

CAPITOLO 18

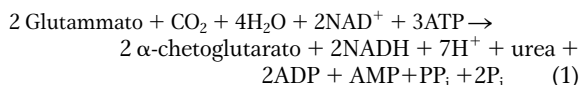
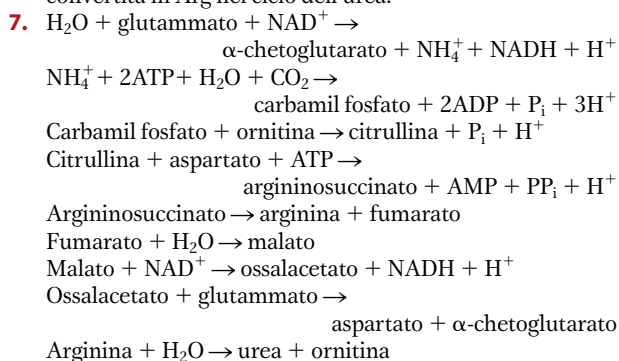
1.



2. Questo è un dosaggio che sfrutta reazioni accoppiate. Il prodotto della transaminazione lenta (piruvato) viene rapidamente consumato nella seguente "reazione ancil-

lare” catalizzata dalla lattato deidrogenasi, che consuma NADH. La velocità di scomparsa del NADH fornisce pertanto la misura della velocità della reazione dell'amminotrasferasi. La reazione dell'indicatore viene controllata osservando la riduzione di assorbimento del NADH a 340 nm con uno spettrofotometro.

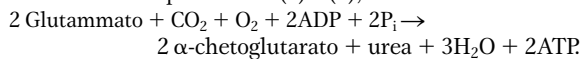
- LAlanina e la glutammina hanno ruoli specifici nel trasporto al fegato dei gruppi amminici dal muscolo e da altri tessuti extraepatici, rispettivamente.
- No. L'azoto dell'alanina può essere trasferito all'ossalacetato per transaminazione, con formazione di aspartato.
- Quindici moli di ATP per mole di lattato; 13 moli di ATP per mole di Ala, in caso di rimozione dell'azoto.
- (a) Il digiuno ha determinato un abbassamento della glicemia; la successiva somministrazione della dieta sperimentale ha portato al rapido catabolismo degli aminoacidi gluconici. (b) La deaminazione ossidativa ha causato un aumento dei livelli di ammoniaca; l'assenza di Arg (un intermedio del ciclo dell'urea) ha impedito la conversione dello ione ammonio in urea; l'Arg non viene sintetizzata dal gatto in quantità sufficiente per soddisfare le necessità imposte dall'esperimento. Questo suggerisce che l'Arg sia un aminoacido essenziale nella dieta del gatto. (c) L'ornitina viene convertita in Arg nel ciclo dell'urea.



Altre reazioni da considerare sono:



Sommando le equazioni da (1) a (4),



- Il secondo gruppo amminico introdotto nell'urea viene trasferito da Asp, che viene generato durante la transaminazione di Glu a ossalacetato, una reazione catalizzata dall'aspartato aminotrasferasi. Circa metà dei gruppi amminici escreti sotto forma di urea deve passare per la reazione dell'aspartato aminotrasferasi, rendendo questo enzima una delle aminotrasferasi più attive.
- (a) Una persona che assume soltanto proteine con la dieta deve usare gli aminoacidi come fonte energetica principale. Poiché il catabolismo degli aminoacidi richiede la rimozione dell'azoto sotto forma di urea, il processo utilizza enormi quantità di acqua per diluire ed eliminare l'urea nelle urine. Inoltre, gli elettroliti nella “proteina liquida” devono essere diluiti ed eliminati. Se la perdita d'acqua giornaliera attraverso i reni non viene compensata da un sufficiente apporto di acqua dall'esterno, si verifica una perdita netta di acqua corporea. (b) Considerando i benefici nutrizionali di una proteina, si deve tenere presente la quantità totale di

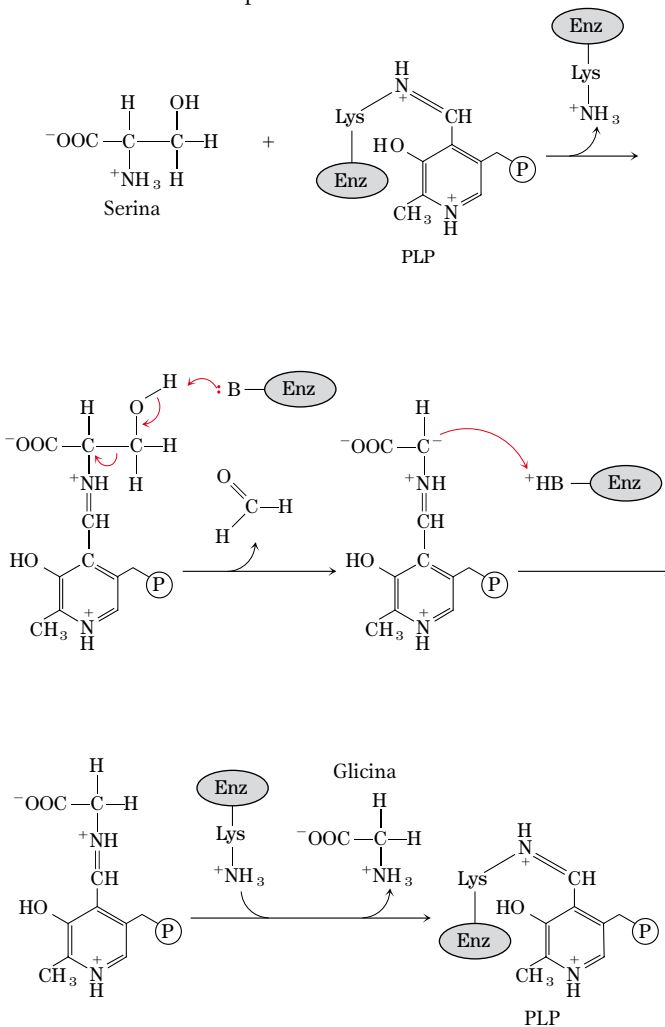
amminoacidi necessari per la sintesi proteica e la distribuzione degli aminoacidi nelle proteine della dieta. La gelatina contiene una distribuzione di aminoacidi nutrizionalmente sbilanciata. Se vengono ingerite grandi quantità di gelatina e l'eccesso di aminoacidi viene catabolizzato, la capacità del ciclo dell'urea può venire superata, portando a un'intossicazione uremica. Tutto ciò è ulteriormente complicato dal fatto che si può verificare una disidratazione causata da escrezione di eccessive quantità di urea. La combinazione di questi due fattori può portare al coma e alla morte.

- Lisina e leucina.
- (a) Fenilalanina idrossilasi; una dieta a basso contenuto di fenilalanina. (b) La normale via del metabolismo della fenilalanina, che prevede l'ossidazione a Tyr, è bloccata e Phe si accumula. (c) Phe viene trasformata in fenilpiruvato mediante transaminazione e poi in fenilpiruvato per riduzione. La reazione di transaminazione ha una costante di equilibrio di 1,0, e il fenilpiruvato si forma in grande quantità quando si accumula la fenilalanina. (d) A causa del deficit di produzione di Tyr, un precursore della melanina, il pigmento normalmente presente nei capelli.
- Il catabolismo degli scheletri carboniosi della valina, della metionina e dell'isoleucina è alterato perché non è presente una metilmalonil-CoA mutasi (un enzima che richiede il coenzima B₁₂). Gli effetti fisiologici del difetto di questo enzima sono descritti nella Tabella 18.2 e nel Box 18.2.
- La dieta vegetariana stretta è priva di vitamina B₁₂ e provoca quindi un aumento dell'omocisteina e del metilmalonato (a causa del deficit della metionina sintasi e della metilmalonato mutasi, rispettivamente) nei soggetti che l'hanno seguita per molti anni. I latticini forniscono una certa quantità di vitamina B₁₂ ai soggetti che seguono una dieta lattovegetariana.
- Le forme di anemia perniciosa trasmesse geneticamente in genere derivano da un difetto della via che media l'assorbimento della vitamina B₁₂ della dieta (vedi il Box 17.2). Poiché l'assorbimento intestinale è difettoso, queste forme di anemia perniciosa vengono trattate iniettando la vitamina B₁₂ direttamente nel torrente circolatorio.
- Il meccanismo è identico a quello della serina deidratasi (vedi la Figura 18.20a), con la differenza che il gruppo metilico extra della treonina viene ritenuto, con produzione di α-chetobutirrato invece di piruvato.
- (a) $^{15}\text{NH}_2\text{—CO—}^{15}\text{NH}_2$
(b) $^-\text{OO}^{14}\text{C—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}^{14}\text{COO}^-$
(c) $\text{R—NH—}\overset{\overset{^{15}\text{NH}}{\parallel}}{\text{C}}\text{—}^{15}\text{NH}_2$
(d) $\text{R—NH—}\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}\text{—}^{15}\text{NH}_2$
(e) Nessuna marcatura
(f) $^-\text{OO}^{14}\text{C—}\overset{\overset{^{15}\text{NH}_2}{\mid}}{\underset{\underset{\text{H}}{\mid}}{\text{C}}}\text{—CH}_2\text{—}^{14}\text{COO}^-$

- (a) Isoleucina $\xrightarrow{1} \text{II} \xrightarrow{2} \text{IV} \xrightarrow{3} \text{I} \xrightarrow{4} \text{V} \xrightarrow{5} \text{III} \xrightarrow{6}$ acetyl-CoA + propionil-CoA. (b) Passaggio 1 transaminazione, nessuna reazione analoga, PLP; 2 decarbossilazione ossidativa, analoga alla reazione della piruvato deidrogenasi, NAD⁺, TPP, lipoato, FAD; 3 ossidazione, analoga alla deidrogenazione del succinato, FAD; 4 idratazione, analoga all'idratazione del fumarato a malato, non è richiesto alcun

cofattore; ⑤ ossidazione, analoga alla deidrogenazione del malato a ossalacetato, NAD^+ ; ⑥ tiolisi (il contrario della condensazione aldolica), analoga alla reazione della tiolasi, CoA.

18. Un meccanismo probabile è:



La formaldeide (HCHO) prodotta nel secondo passaggio reagisce rapidamente con il tetraidrofolato nel sito attivo dell'enzima per produrre $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metilentetraidrofolato (vedi la Figura 18.17).

19. (a) Transaminazione; nessuna analogia nelle due vie; cofattore: piridossale fosfato. (b) Decarbossilazione ossidativa; analoga alla decarbossilazione ossidativa del piruvato ad acetil-CoA prima di entrare nel ciclo dell'acido citrico e a quella dell' α -chetoglutarato a succinil-CoA nel ciclo dell'acido citrico; cofattori: NAD^+ , FAD, lipoato e tiamina pirofosfato. (c) Deidrogenazione (ossidazione); analoga alla deidrogenazione del succinato a fumarato nel ciclo dell'acido citrico e dell'acil-CoA a enoil-CoA nella β ossidazione; cofattori: FAD. (d) Carbossilazione; nessun analogo nel ciclo dell'acido citrico o nella β ossidazione; cofattori: ATP e biotina. (e) Idratazione; analoga all'idratazione del fumarato a malato nel ciclo dell'acido citrico e dell'enoil-CoA a 3-idrossiacil-CoA nella β ossidazione; cofattori: nessuno. (f) Reazione aldolica inversa; analoga all'inverso della reazione della citrato sintasi nel ciclo dell'acido citrico; cofattori: nessuno.
20. (a) Leucina; valina; isoleucina. (b) Cisteina (derivata dalla cistina). Se la cisteina venisse decarbossilata come mostrato nella Figura 18.6, essa produrrebbe $\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$, che potrebbe poi essere ossidata a taurina. (c) Il sangue prelevato nel gennaio 1957 presentava livelli significativamente elevati di isoleucina, leucina, metionina e valina; le urine del gennaio 1957 contenevano livelli significa-

tivamente elevati di isoleucina, leucina, taurina e valina. (d) Tutti i pazienti avevano livelli elevati di isoleucina, leucina e valina sia nel sangue che nelle urine, e ciò faceva supporre un difetto nella demolizione di questi amminoacidi. Poiché le urine contenevano livelli elevati delle forme chetoniche di questi tre amminoacidi, il blocco della via metabolica doveva verificarsi dopo la deamminazione, ma prima della deidrogenazione (come mostrato nella Figura 18.28). (e) Il modello non spiega gli elevati livelli di metionina nel sangue e di taurina nelle urine. Gli elevati livelli di taurina potrebbero essere dovuti alla morte di cellule cerebrali nella fase finale della malattia. Gli elevati livelli di metionina nel sangue sono però difficilmente spiegabili; la via di degradazione della metionina non è correlata con la via di degradazione degli amminoacidi ramificati. L'aumento della metionina potrebbe essere un effetto secondario della sintesi di altri amminoacidi. È importante tenere presente che i campioni del gennaio 1957 furono prelevati da un soggetto prossimo alla morte, quindi comparare i risultati del sangue e delle urine con quelli di un individuo normale potrebbe non essere appropriato. (f) Sono necessarie le seguenti informazioni (in realtà ottenute da altri ricercatori). (1) L'attività deidrogenasica è significativamente ridotta o assente nei soggetti affetti dalla malattia con urine a sciroppo d'acero. (2) La malattia ereditaria è dovuta al difetto di un singolo gene. (3) Il gene difettoso è quello per la deidrogenasi. (4) Il gene difettoso porta alla produzione di un enzima inattivo.

CAPITOLO 19

- Reazione (1): (a), (d) NADH ; (b), (e) E-FMN; (c) NAD^+ / NADH ed E-FMN/FMN $_2$.
Reazione (2): (a), (d) E-FMN $_2$; (b), (e) Fe^{3+} ; (c) E-FMN/FMN $_2$ e $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$.
Reazione (3): (a), (d) Fe^{2+} ; (b), (e) Q; (c) $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ e Q/QH $_2$.
- La catena laterale rende l'ubichinone solubile nei lipidi e gli permette di diffondersi nella membrana semifluida.
- Dalla differenza del potenziale standard di ossidoriduzione ($\Delta E'^\circ$) per ogni coppia di semireazioni si può calcolare il $\Delta G'^\circ$. L'ossidazione del succinato da parte del FAD è favorita dalla variazione negativa di energia libera standard ($\Delta G'^\circ = -3,7 \text{ kJ/mole}$). L'ossidazione da parte del NAD^+ richiederebbe una notevole variazione positiva dell'energia libera standard ($\Delta G'^\circ = 68 \text{ kJ/mole}$).
- (a) Tutti i trasportatori ridotti; CN^- blocca la riduzione dell' O_2 da parte della citocromo ossidasi. (b) Tutti i trasportatori ridotti; in assenza di O_2 i trasportatori ridotti non vengono riossidati. (c) Tutti i trasportatori ossidati. (d) I trasportatori precoci più ridotti; i trasportatori tardivi più ossidati.
- (a) L'inibizione della NADH deidrogenasi da parte del rotenone rallenta il flusso di elettroni attraverso la catena respiratoria, che a sua volta rallenta la produzione di ATP. Se questo rallentamento è tale da non soddisfare la necessità di ATP dell'organismo, l'organismo stesso muore. (b) L'antimicina A è un forte inibitore dell'ossidazione del Q nella catena respiratoria, che agisce riducendo il trasferimento degli elettroni e causando le conseguenze descritte in (a). (c) Poiché l'antimicina A blocca completamente il flusso di elettroni verso l'ossigeno, essa è un veleno più potente del rotenone, che blocca il flusso di elettroni dal NADH ma non dal FADH $_2$.
- (a) La velocità di trasferimento di elettroni necessaria a soddisfare la richiesta di ATP aumenta, quindi il rapporto P/O diminuisce. (b) Alte concentrazioni di sostanze disaccoppianti determinano rapporti P/O vicini allo zero. Il rapporto P/O diminuisce e una maggiore quantità di materiale energetico de-

- ve perciò essere ossidata per produrre la stessa quantità di ATP. Il calore in eccesso prodotto da questa ossidazione fa aumentare la temperatura corporea.
- (c) L'aumento di attività della catena respiratoria in presenza di un agente disaccoppiante richiede la degradazione di ulteriore materiale energetico. Ossidando più materiale energetico (comprese le riserve adipose) per produrre la stessa quantità di ATP, si verifica un calo ponderale. Quando il rapporto P/O si avvicina a zero, l'assenza di ATP causa la morte.
7. La valinomicina si comporta da disaccoppiante. Si combina con gli ioni K^+ per formare un complesso che attraversa la membrana mitocondriale interna, dissipando il potenziale di membrana. La sintesi di ATP rallenta, provocando un aumento nella velocità di trasferimento degli elettroni. Il risultato è l'aumento del gradiente protonico, l'aumento del consumo di ossigeno e l'aumento del calore rilasciato.
 8. (a) La formazione di ATP è inibita. (b) La formazione di ATP è strettamente accoppiata al trasferimento di elettroni: il 2,4-dinitrofenolo è un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa. (c) Oligomicina.
 9. La malato deidrogenasi citosolica svolge un ruolo essenziale nel trasporto degli equivalenti riducenti attraverso la membrana mitocondriale interna mediante il trasporto a navetta malato-aspartato.
 10. (a) La glicolisi diventa anaerobica. (b) Il consumo di ossigeno cessa. (c) La formazione di lattato aumenta. (d) La sintesi di ATP scende a 2 ATP per molecola di glucosio.
 11. Nello stato stazionario la concentrazione di P_i intracellulare è molto più elevata di quella dell'ADP. Il P_i rilasciato nell'idrolisi dell'ATP varia in misura minima la sua concentrazione totale.
 12. La risposta all'aumento della [ADP] (a) è più veloce perché la risposta alla ridotta pO_2 (b) richiede la sintesi di proteine.
 13. (a) Il NADH viene riossidato mediante un trasferimento di elettroni invece che mediante fermentazione lattica. (b) La fosforilazione ossidativa è più efficiente. (c) L'elevato rapporto di azione di massa del sistema dell'ATP inibisce la fosfofruttochinasi-1.
 14. Potrebbe avvenire la fermentazione a etanolo anche in presenza di ossigeno; questo è un vantaggio, in quanto le condizioni anaerobiche sono difficili da mantenere. L'effetto Pasteur non viene osservato, in quanto il ciclo dell'acido citrico e il trasferimento degli elettroni sono inattivi.
 15. Un più efficiente trasferimento degli elettroni tra i due complessi.
 16. (a) Terreno esterno: $4,0 \times 10^{-8} M$; matrice: $2,0 \times 10^{-8} M$. (b) Il gradiente di $[H^+]$ fornisce 1,7 kJ/mole alla sintesi di ATP. (c) 21. (d) No. (e) Dal potenziale transmembrana.
 17. (a) $0,91 \mu\text{moli/s} \cdot g$. (b) 5,5 s; per mantenere un livello costante di ATP, la regolazione della produzione di ATP deve essere stretta e rapida.
 18. Circa $53 \mu\text{moli/s} \cdot g$. Una concentrazione di ATP allo stato stazionario di $7 \mu\text{moli/g}$ equivale a 10 ricambi delle scorte di ATP per secondo; le riserve dovrebbero durare circa 0,13 s.
 19. Le specie reattive dell'ossigeno reagiscono con le macromolecole, tra cui il DNA. Se un difetto mitocondriale porta a un'aumentata produzione di ROS, i geni nucleari che codificano i proto-oncogeni possono essere danneggiati, provocando moltiplicazione cellulare e cancro (vedi la Sezione 12.12).
 20. Varie gradazioni di eteroplasmia per il gene difettoso producono disfunzioni mitocondriali di diversa entità.
 21. La membrana mitocondriale interna è impermeabile al NADH, ma gli equivalenti riducenti del NADH vengono trasferiti indirettamente (tramite un sistema navetta) attraverso la membrana: essi vengono trasferiti all'ossalacetato nel citosol, il malato risultante viene trasportato nella matrice e il NAD^+ mitocondriale viene ridotto a NADH.
 22. Il ciclo dell'acido citrico rallenta, a causa dell'assenza di un accettore per gli elettroni del NADH. Il piruvato prodotto dalla glicolisi non può entrare nel ciclo come acetyl-CoA e si accumula; il piruvato accumulato viene transaminato ad alanina, che viene esportata nel fegato.
 23. La piruvato deidrogenasi è localizzata nei mitocondri; la gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi è localizzata nel citosol. Le miscele di NAD sono separate dalla membrana mitocondriale interna.
 24. L'assenza totale della glucocinasi (due alleli difettosi) rende impossibile il procedere della glicolisi a una velocità tale da portare la [ATP] al di sopra della soglia limite richiesta per la secrezione dell'insulina.
 25. I difetti del complesso II determinano un aumento della produzione delle ROS, quindi un danneggiamento del DNA, nonché mutazioni che portano a una divisione cellulare non regolata (cancro; vedi la Sezione 12.12). Non è chiaro perché il tumore è più frequente nel mesenteron.
 26. Per ottenere la massima velocità di fotosintesi, il fotosistema I (che assorbe la luce di 700 nm) e il fotosistema II (che assorbe la luce di 680 nm) devono agire simultaneamente.
 27. La massa in eccesso deriva dall'acqua consumata nell'intera reazione.
 28. I solfobatteri purpurei utilizzano l' H_2S come donatore di idrogeno nel processo di fotosintesi. Non si sviluppa ossigeno, dato che il fotosistema non è presente nel complesso che scinde l'acqua.
 29. 0,44.
 30. (a) Il flusso si ferma. (b) Rallenta; il flusso elettronico prosegue in parte attraverso la via ciclica.
 31. In presenza di luce viene stabilito un gradiente protonico. Quando vengono aggiunti ADP e P_i , la sintesi di ATP viene guidata dal gradiente, che si esaurisce in assenza di luce.
 32. Il DCMU blocca il trasferimento di elettroni tra il fotosistema II e il primo sito di produzione di ATP.
 33. In presenza della venturicidina, il movimento dei protoni attraverso il complesso CF_0CF_1 viene bloccato, e il flusso elettronico (liberazione dell'ossigeno) continua solo fino a quando il costo del pompaggio degli elettroni contro l'aumento del gradiente protonico non uguaglia l'energia libera disponibile in un fotone. Il DNP, dissipando il gradiente protonico, ristabilisce il flusso elettronico e la liberazione di ossigeno.
 34. (a) 56 kJ/mole. (b) 0,29 V.
 35. Dalla differenza dei potenziali di riduzione è possibile calcolare che, per la reazione redox, $\Delta G^\circ = 15 \text{ kJ/mole}$. Dalla Figura 19.48 è chiaro che l'energia dei fotoni in una regione dello spettro visibile è più che sufficiente per guidare questa reazione endoergonica.
 36. $1,35 \times 10^{-77}$; la reazione è molto sfavorevole! Nei cloroplasti l'energia luminosa permette di superare questa barriera.
 37. -920 kJ/mole .
 38. No; gli elettroni dall'acqua vanno verso l'accettore artificiale di elettroni Fe^{3+} e non verso il $NADP^+$.
 39. Circa una volta ogni 0,1 s; 1 su 10^8 viene eccitato.
 40. La luce a 700 nm eccita il fotosistema I, ma non il fotosistema II; gli elettroni si trasferiscono dal P700 al $NADP^+$, ma nessun elettrone si trasferisce dal P680 per rimpiazzarli. Quando la luce di 680 nm eccita il fotosistema II, gli elettroni tendono a fluire verso il fotosistema I, ma i trasportatori di elettroni tra i due fotosistemi diventano rapidamente e completamente ridotti.
 41. No; l'elettrone eccitato dal P700 ritorna a riempire il "buco elettronico" prodotto dalla luce. Il fotosistema II non è necessario per fornire elettroni e nessuna molecola di O_2 viene prodotta da H_2O . Il NADPH non viene prodotto perché l'elettrone eccitato ritorna al P700.
 42. (a) (1) La presenza di Mg^{2+} è in accordo con l'ipotesi che la clorofilla sia direttamente coinvolta nella catalisi della reazione di fosforilazione: $ADP + P_i \rightarrow ATP$ (2) Molti enzimi (o altre proteine) che contengono Mg^{2+} non sono enzimi fosfo-

rilanti, quindi la presenza di Mg^{2+} non prova il suo ruolo in reazioni di fosforilazione da parte della clorofilla. (3) La presenza di Mg^{2+} è essenziale per le proprietà fotochimiche della clorofilla: l'assorbimento della luce e il trasferimento degli elettroni. **(b)** (1) Gli enzimi catalizzano reazioni reversibili, per cui un enzima che in certe condizioni di laboratorio catalizza la rimozione di un gruppo fosforico in altre condizioni (per esempio, in condizioni cellulari) potrebbe catalizzare la formazione di un legame fosforico. Quindi è plausibile che la clorofilla possa essere coinvolta nel processo di fosforilazione dell'ADP. (2) Vi sono due possibili spiegazioni: la proteina della clorofilla è solo una fosfatasi e non catalizza la fosforilazione dell'ADP nelle condizioni intracellulari, oppure le preparazioni di estratti acellulari contengono un'attività fosfatasi contaminante, non coinvolta nel processo fotosintetico. (3) È probabile che la preparazione fosse contaminata da un'attività fosfatasi non fotosintetica. **(c)** (1) Questa leggera inibizione è ciò che dovremmo aspettarci se la proteina della clorofilla catalizzasse la reazione $ADP + P_i + \text{luce} \rightarrow ATP$. Al buio sarebbe favorita la reazione inversa, cioè la defosforilazione. In condizioni di illuminazione viene fornita energia, e l'equilibrio verrebbe spostato a destra, riducendo l'attività fosfatasi. (2) L'inibizione dovrebbe essere un artefatto dovuto ai metodi di isolamento o di saggio. (3) È poco probabile che i metodi di preparazione degli estratti grezzi usati allora preservassero l'integrità delle membrane dei cloroplasti, quindi l'inibizione deve essere un artefatto. **(d)** (1) In condizioni di illuminazione l'ATP viene sintetizzato, ma vengono consumati altri composti fosforilati. (2) In condizioni di illuminazione si produce glucosio, che viene metabolizzato nella respirazione cellulare per produrre ATP, con conseguenti variazioni dei livelli di altri composti fosforilati. (3) In condizioni di illuminazione viene prodotto ATP, mentre vengono consumati altri composti fosforilati. **(e)** L'energia della luce viene utilizzata per produrre ATP (come nel modello di Emerson), e viene anche utilizzata per produrre potere riducente (come nel modello di Rabinowitch). **(f)** La stechiometria approssimata per la fotofosforilazione (Capitolo 19) comporta che 8 fotoni producano 2 NADPH e circa 3 ATP. Due NADPH e 3 ATP sono necessari per ridurre una molecola di CO_2 (Capitolo 20). Quindi, come minimo, sono necessari 8 fotoni per molecola di CO_2 . Ciò è in buon accordo con le previsioni di Rabinowitch. **(g)** Poiché l'energia della luce viene usata per produrre sia ATP sia NADPH, ciascun fotone assorbito contribuisce per più di 1 ATP alla fotosintesi. Il processo di estrazione di energia della luce è più efficiente rispetto a quanto supposto da Rabinowitch, e una quantità di energia più che sufficiente si rende disponibile per il processo, anche in presenza di luce rossa.

CAPITOLO 20

- All'interno degli organismi subcellulari le concentrazioni di enzimi specifici e di metaboliti sono elevate; i pool di cofattori e intermedi vengono mantenuti separati; i meccanismi di regolazione agiscono sui singoli pool enzimatici.
- Questa osservazione suggerisce che l'ATP e il NADPH siano generati in presenza della luce e che siano essenziali per l'assimilazione della CO_2 ; la conversione si blocca quando il rifornimento di ATP e NADPH si esaurisce. Inoltre alcuni enzimi sono inattivati in assenza di luce.
- X è il 3-fosfoglicerato; Y è il ribulosio 1,5-bisfosfato.
- La ribulosio 5-fosfato chinasi, la fruttosio 1,6-bisfosfatasi, la sedoheptulosio 1,7-bisfosfatasi e la gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi; tutti questi processi vengono attivati mediante la riduzione di un legame disolfuro a due gruppi sulfidrilici liberi; lo iodoacetato reagisce in maniera irreversibile con i sulfidrilici liberi.
- Per portare avanti la reazione di scambio del disolfuro che attiva gli enzimi del ciclo di Calvin la tioredossina ha bisogno degli stessi gruppi sulfidrilici.
- La via riduttiva del pentosio fosfato genera ribulosio 1,5-bisfosfato a partire dai triosi fosfato prodotti durante la fotosintesi. La via ossidativa del pentosio fosfato fornisce NADPH per la biosintesi riduttiva e i pentosi fosfato per la sintesi dei nucleotidi.
- Entrambi i tipi di "respirazione" consumano O_2 e producono CO_2 . (La respirazione mitocondriale ha luogo anche negli animali.) La respirazione mitocondriale avviene continuamente; gli elettroni derivati dalle varie combustioni possono attraversare una catena di trasportatori nella membrana mitocondriale interna fino all' O_2 . La fotorespirazione avviene nei cloroplasti, nei perossisomi e nei mitocondri. La fotorespirazione si svolge durante il giorno, quando ha luogo la fissazione del carbonio; la respirazione mitocondriale avviene prevalentemente di notte o nei giorni nuvolosi. Lo schema del flusso di elettroni nella fotorespirazione è mostrato nella Figura 20.21; quello per la respirazione mitocondriale nella Figura 19.19.
- Secondo questa ipotesi dovrebbero esistere un'evoluzione diretta e un'evoluzione finalizzata a uno scopo, idea generalmente non accettata dai biologi evuzionisti. Altri processi, quali l'uso di combustibili fossili e la deforestazione, modificano la composizione atmosferica globale. Le piante C_4 , fissando la CO_2 in condizioni in cui la rubisco preferisce come substrato l' O_2 , contribuiscono a mantenere il rapporto CO_2/O_2 nell'atmosfera.
- (a)** Senza la produzione di NADPH da parte della via del pentosio fosfato le cellule non sarebbero in grado di sintetizzare i lipidi e gli altri prodotti di riduzione. **(b)** Senza la generazione di ribulosio 1,5-bisfosfato il ciclo di Calvin viene effettivamente bloccato.
- Nel granturco, la CO_2 viene fissata dalla via C_4 individuata da Hatch e Slack, in cui il fosfoenolpiruvato viene rapidamente carbossilato a ossalacetato (parte del quale viene transaminato ad aspartato) e ridotto a malato. Solo dopo la successiva decarbossilazione la CO_2 entra nel ciclo di Calvin.
- Misurate la velocità di fissazione del biossido di carbonio marcato ^{14}C in presenza di luce (durante il giorno) e al buio. La maggior fissazione al buio identifica la pianta CAM. Si potrebbe anche determinare l'acidità titolabile; attraverso questo metodo può essere misurata anche la quantità di acidi conservata nel vacuolo durante la notte.
- La reazione dell'isocitrato deidrogenasi.
- L'immagazzinamento consuma una mole di ATP per mole di glucosio 6-fosfato; questo rappresenta il 3,3% dell'ATP totale disponibile per il metabolismo del glucosio 6-fosfato (per esempio, l'efficienza dell'immagazzinamento è 96,7%).
- $[PP_i]$ è alta nel citosol poiché il citosol è assente la piruvato fosfatasi inorganica.
- (a)** Bassa $[P_i]$ nel citosol e alta [triosofosfato] nel cloroplasto. **(b)** Alta [triosofosfato] nel citosol.
- Il 3-fosfoglicerato è il prodotto primario della fotosintesi; $[P_i]$ aumenta quando la sintesi dipendente dalla luce dell'ATP a partire da ADP e P_i rallenta.
- (a)** L'equazione dell'allungamento del destrano a partire da un residuo di glucosio è:

$$\text{Saccarosio} + (\text{glucosio})_n \rightarrow (\text{glucosio})_{n+1} + \text{fruttosio}$$
(b) Il fruttosio generato dalla sintesi del destrano viene rapidamente metabolizzato dai batteri.
- La specie 1 è C_4 ; la specie 2, C_3 .
- (a)** Nei cloroplasti periferici; sia per **(b)** che per **(c)** nella sfera centrale.
- (a)** Per analogia con la fotosintesi ossigenica delle piante ($H_2O + CO_2 \rightarrow \text{glucosio} + O_2$), la reazione sarebbe $H_2S + O_2 + CO_2 \rightarrow \text{glucosio} + H_2O + S$. Questa reazione è la somma della riduzione della CO_2 da parte dell' H_2S ($H_2S + CO_2 \rightarrow \text{glucosio} + S$) e dell'apporto di energia ($H_2S + O_2 \rightarrow S + H_2O$). **(b)** L' H_2S e la CO_2 vengono prodotti chimica-

mente nei sedimenti degli abissi marini, ma l'O₂, come la maggior parte dell'O₂ terrestre, è prodotta dalla fotosintesi guidata dall'energia luminosa. **(c)** Nel saggio di Robinson e collaboratori ³H marca il C-1 del ribuloso 1,5-bisfosfato, quindi la reazione con la CO₂ produce una molecola di [³H]3-fosfoglicerato e una molecola di 3-fosfoglicerato non marcato; la reazione con l'O₂ produce una molecola di [³H]2-fosfoglicerato e una molecola di 3-fosfoglicerato non marcato. Quindi il rapporto tra [³H]3-fosfoglicerato e [³H]2-fosfoglicerato è uguale al rapporto tra carbossilazione e ossigenazione. **(d)** Se ³H marcasse il C-5, sia l'ossigenazione, sia la carbossilazione produrrebbero [³H]3-fosfoglicerato, e sarebbe quindi impossibile individuare la reazione in grado di generare il prodotto marcato; la reazione non potrebbe essere utilizzata per misurare Ω.

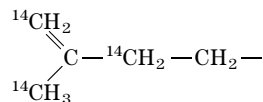
$$\begin{aligned} \text{(e) Sostituendo } \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]} &= \frac{0,00038}{0,2} = 0,0019 \text{ con} \\ \frac{V_{\text{carbossilazione}}}{V_{\text{ossigenazione}}} &= \Omega \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]} \text{ avremo} \\ \frac{V_{\text{carbossilazione}}}{V_{\text{ossigenazione}}} &= (8,6)(0,0019) = 0,016 \end{aligned}$$

La velocità dell'ossigenazione sarebbe quindi circa 60 volte la velocità della carbossilazione! **(f)** Se le piante terrestri avessero un Ω = 8,6, la carbossilazione avverrebbe a una velocità nettamente inferiore a quella dell'ossigenazione. Ciò corrisponderebbe a una bassa efficienza, quindi le piante terrestri dovrebbero avere un Ω nettamente più alto di 8,6. Il valore di Ω per le piante terrestri varia infatti da 10 a 250; ma anche con questi valori di Ω la velocità dell'ossigenazione rimane molto alta. **(g)** La reazione della rubisco utilizza l'O₂ allo stato gassoso. Alla stessa temperatura, le molecole di ¹³CO₂ diffondono più lentamente delle molecole più leggere di ¹²CO₂, quindi le molecole di ¹³CO₂ raggiungono il sito attivo (e vengono incorporate) più lentamente delle molecole di ¹²CO₂. **(h)** Perché la relazione sia veramente simbiotica, i vermi devono ottenere una parte sostanziale del loro carbonio dai batteri. La presenza della rubisco negli endosimbionti dimostra semplicemente che essi sono in grado di effettuare la chemosintesi, non che sono in grado di trasferire una porzione significativa del loro carbonio all'ospite. D'altro canto, la dimostrazione che il rapporto ¹³C:¹²C nell'ospite è più simile a quello dell'endosimbionte che a quello degli altri animali marini suggerisce che i vermi traggano la maggior parte del loro carbonio dai batteri.

CAPITOLO 21

- (a)** I 16 atomi di carbonio del palmitato derivano dagli 8 gruppi acetilici delle 8 molecole di acetyl-CoA. L'acetyl-CoA marcato con ¹⁴C dà origine al malonil-CoA marcato in C-1 e C-2. **(b)** Il pool metabolico di malonil-CoA, la fonte di tutti gli atomi di carbonio del palmitato eccetto il C-16 e il C-15, non diventa radioattivo in presenza di piccole quantità di acetyl-CoA marcato con ¹⁴C. Quindi, si forma solo [15,16-¹⁴C] palmitato.
- Sia il glucosio sia il fruttosio sono degradati a piruvato nella glicolisi. Il piruvato è convertito in acetyl-CoA dal complesso della piruvato deidrogenasi. Una parte di questo acetyl-CoA entra nel ciclo dell'acido citrico, che produce equivalenti riducenti (NADH e NADPH). Il trasferimento di elettroni all'O₂ nei mitocondri produce ATP.
- 8 Acetyl-CoA + 15ATP + 14NADPH + 9H₂O → palmitato + 8CoA + 15ADP + 15P_i + 14NADP⁺ + 2H⁺
- (a)** Tre atomi di deuterio per palmitato; tutti localizzati in C-16; tutte le altre unità bicarboniose derivano da malonil-CoA non marcato. **(b)** Sette atomi di deuterio per palmitato; localizzati in tutte le posizioni *pari*, eccetto la 16.

- Usando la molecola a tre atomi di carbonio malonil-CoA, la forma attivata dell'acetyl-CoA (si ricordi che la sintesi di malonil-CoA richiede ATP), il metabolismo è spinto nella direzione della sintesi di acidi grassi dalla liberazione esergonica di CO₂.
- Il passaggio limitante della sintesi degli acidi grassi è la carbossilazione dell'acetyl-CoA, catalizzata dall'acetyl-CoA carbossilasi. Elevate concentrazioni di citrato e di isocitrato indicano che esistono le condizioni favorevoli per la sintesi degli acidi grassi: un ciclo dell'acido citrico attivo fornisce grandi quantità di ATP, di nucleotidi piridinici ridotti e di acetyl-CoA. Il citrato stimola l'acetyl-CoA carbossilasi (aumenta la sua V_{max}). **(a)** Inoltre, poiché il citrato si lega più saldamente alla forma filamentosa dell'enzima (la forma attiva), l'alta concentrazione di citrato spinge l'equilibrio protomero ⇌ filamento verso la forma attiva. **(b)** Al contrario, il palmitil-CoA (il prodotto finale della sintesi degli acidi grassi) sposta l'equilibrio nella direzione della forma inattiva. Perciò, quando il prodotto finale della sintesi si accumula, la via biosintetica rallenta.
- (a)** Acetyl-CoA_(mit) + ATP + CoA_(cyt) → acetyl-CoA_(cyt) + ADP + P_i + CoA_(mit). **(b)** Un ATP per gruppo acetilico. **(c)** Sì.
- Il doppio legame del palmitoleato viene introdotto da un'ossidazione catalizzata dall'acil-CoA desaturasi, un'ossidasi a funzione mista che richiede O₂ come cosubstrato.
- 3 Palmitato + glicerolo + 7ATP + 4H₂O → tripalmitina + 7ADP + 7P_i + 7H⁺
- Nei ratti adulti, i triacilgliceroli immagazzinati vengono mantenuti a un livello stazionario attraverso un equilibrio tra le velocità di degradazione e di biosintesi. Quindi i triacilgliceroli del tessuto adiposo (grasso) subiscono un ricambio continuo e ciò spiega l'incorporazione dell'isotopo ¹⁴C proveniente dal glucosio della dieta.
- Reazione netta:
Diidrossiacetone fosfato + NADH + palmitato + oleato + 3ATP + CTP + colina + 4H₂O → fosfatidilcolina + NAD⁺ + 2AMP + ADP + H⁺ + CMP + 5P_i + 7 ATP per molecola di PC.
- La carenza di metionina provoca una riduzione dei livelli di adoMet, necessaria per la sintesi *de novo* della fosfatidilcolina. La via di salvataggio non utilizza adoMet, ma piuttosto la colina disponibile. Pertanto la PC può essere sintetizzata anche se la dieta non contiene metionina, finché è presente colina.
- L'isotopo ¹⁴C compare in tre posizioni nell'isoprene attivato:



- (a)** ATP. **(b)** UDP-glucosio. **(c)** CDP-etanolammina. **(d)** UDP-galattosio. **(e)** Acil-CoA. **(f)** S-adenosilmetionina. **(g)** Malonil-CoA. **(h)** Δ³-isopentenil pirofosfato.
- Il linoleato è necessario per la sintesi delle prostaglandine. Gli animali non sono in grado di trasformare l'oleato in linoleato, che quindi è per loro un acido grasso essenziale. Le piante invece possono trasformare l'oleato in linoleato, quindi forniscono agli animali il linoleato di cui necessitano (vedi la Figura 21.12).
- La tappa limitante nella biosintesi del colesterolo è la sintesi del mevalonato catalizzata dall'idrossimetilglutaril-CoA reductasi. Questo enzima viene regolato allostericamente dal mevalonato e dai derivati del colesterolo. Livelli elevati di colesterolo intracellulare riducono anche la trascrizione del gene che codifica la HMG-CoA reductasi.
- Quando i livelli del colesterolo diminuiscono in seguito al trattamento con una statina, le cellule cercano di compensare aumentando l'espressione del gene che codifica la HMG-CoA reductasi. Tuttavia le statine agiscono da inibitori com-

petitivi della HMG-CoA reduttasi, quindi riducono la produzione complessiva del colesterolo.

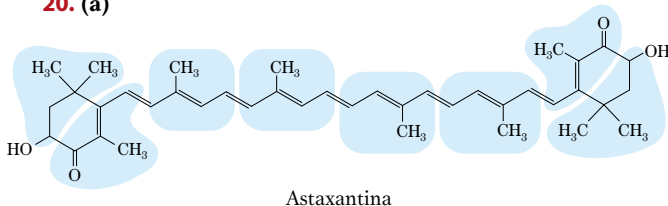
- 18.** Nota. Vi sono diverse alternative plausibili che lo studente potrebbe proporre in mancanza di una conoscenza dettagliata della letteratura su questo enzima. *Reazione tiolastica:* inizia con l'attacco nucleofilo di un residuo di Cys del sito attivo sul primo acetyl-CoA substrato, che spiazza il —S-CoA e forma un legame covalente tioesterico tra la Cys e il gruppo acetilico. Un gruppo basico dell'enzima estrae poi un protone dal gruppo metilico di un secondo acetyl-CoA, formando un carbanione che attacca il carbonio carbonilico del tioestere formato nella prima tappa. Il gruppo sulfidrilico del residuo di Cys viene spiazzato, e si forma il prodotto acetoacetyl-CoA.

Reazione HMG-CoA sintasica: inizia allo stesso modo, con un legame covalente tioesterico che si forma tra il residuo di Cys dell'enzima e il gruppo acetilico dell'acetyl-CoA, con spiazzamento del —S-CoA. Il —S-CoA si libera come CoA-SH, e l'acetoacetyl-CoA si lega all'enzima. Un protone viene estratto dal gruppo metilico dell'acetile legato all'enzima, formando un carbanione che attacca il carbonile del chetone dell'acetoacetyl-CoA substrato. Durante la reazione il carbonile viene convertito in uno ione ossidrilico, che verrà protonato per formare un —OH. Il legame tioesterico con l'enzima viene poi scisso idroliticamente per generare il prodotto HMG-CoA.

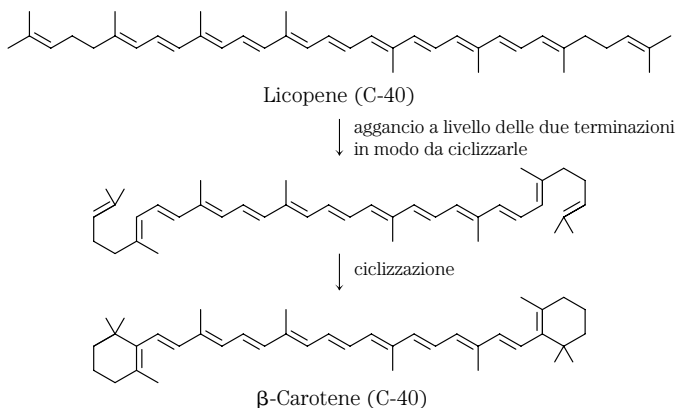
Reazione HMG-CoA reduttasica: due successivi ioni idruo derivati dal NADPH prima spiazzano il —S-CoA e poi riducono il gruppo aldeidico a gruppo ossidrilico.

- 19.** Le statine inibiscono l'HMG-CoA reduttasi, un enzima della via di sintesi degli isopreni attivati, precursori del colesterolo e di un'ampia gamma di isoprenoidi, compreso il coenzima Q (ubichinone). Perciò le statine potrebbero ridurre i livelli di enzima Q disponibile per la respirazione mitocondriale. Ubichinone viene assunto con la dieta, ma viene anche biosintetizzato; tuttavia il suo preciso fabbisogno non è stato ancora ben determinato, né è noto se il coenzima Q assunto con la dieta possa sopperire a una ridotta sintesi. La riduzione dei livelli di particolari isoprenoidi potrebbe tuttavia spiegare alcuni degli effetti collaterali delle statine.

20. (a)



(b) Testa a testa. Vi sono due modi per spiegarlo. Primo, la "coda" del geranylgeranyl pirofosfato ha una struttura ramificata dimetilica, come ambedue le terminazioni del fitoene. Secondo, nessun —OH libero si forma a seguito del rilascio del pirofosfato, suggerendo che le due "teste" —O—P—P— si leghino formando il fitoene.

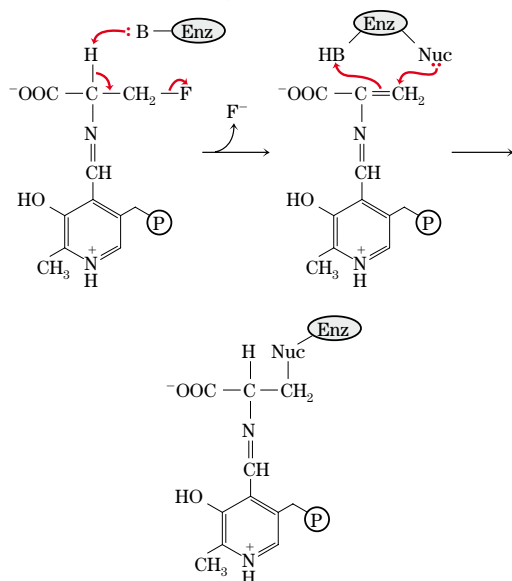


(c) Quattro cicli di deidrogenazione convertono quattro legami singoli in legami doppi. **(d)** No. Se si contano i legami singoli e doppi nella reazione riportata qui sotto, si vede che un legame doppio viene sostituito da due legami singoli. Quindi non vi è stata ossidazione, o riduzione, netta. **(e)** Tappe da ① a ③. L'enzima può convertire l'IPP e il DMAP in geranylgeranyl pirofosfato, ma non catalizza altre reazioni della via metabolica, come confermano i risultati ottenuti con gli altri substrati. **(f)** I ceppi da 1 a 4 sono privi del gene *crtE* e producono decisamente meno astaxantina dei ceppi da 5 a 8, nei quali il gene *crtE* è stato sovraespresso. Quindi, la sovrapproduzione del gene *crtE* conduce a un sostanziale aumento della produzione di astaxantina. Il ceppo selvatico di *E. coli* ha una certa attività riferibile alla tappa ③, ma questa tappa di conversione del farnesil pirofosfato in geranylgeranyl pirofosfato è molto limitante. **(g)** IPP isomerasi. Dal confronto tra i ceppi 5 e 6 si vede che l'inserimento del gene *ispA*, che catalizza le tappe ① e ②, ha scarso effetto sulla produzione di astaxantina, quindi le due tappe non sono limitanti. Tuttavia, se si confrontano i ceppi 5 e 7, si vede che l'inserimento del gene *idi* provoca un aumento notevole della produzione di astaxantina. Pertanto la reazione catalizzata dalla IPP isomerasi deve essere la tappa limitante quando il gene *crtE* viene sovraespresso. **(h)** Un basso livello (+), comparabile con quello dei ceppi 5, 6 e 9. Senza la sovraespressione del gene *idi*, la produzione di astaxantina è limitata dalla bassa attività IPP isomerasi e quindi dal limitato apporto di IPP.

CAPITOLO 22

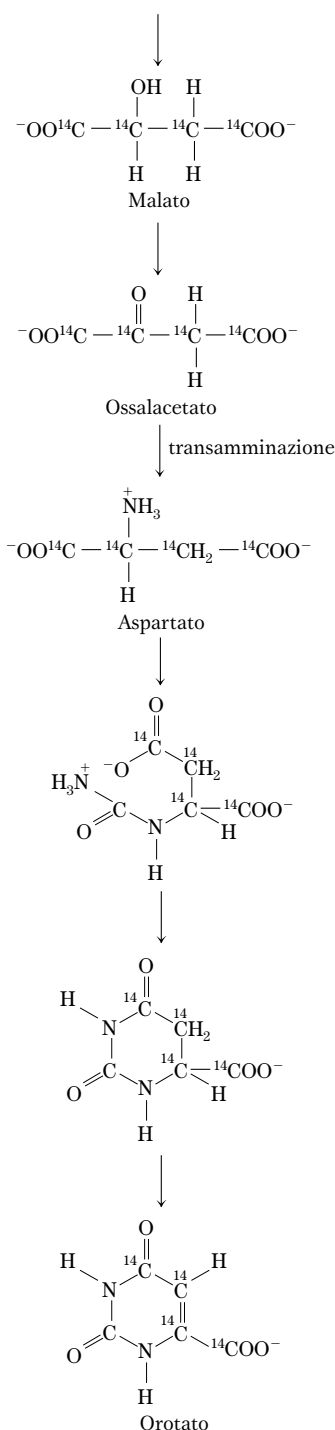
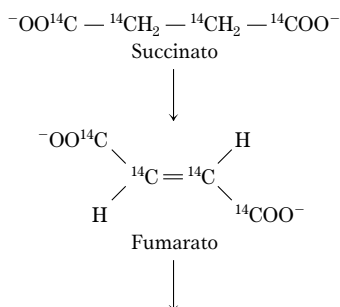
- Nella loro relazione simbiotica con la pianta, i batteri producono lo ione ammonio mediante la riduzione dell'azoto atmosferico, che richiede una grande quantità di ATP.
- Il trasferimento dell'azoto da NH_3 allo scheletro carbonioso può essere catalizzato da (1) glutammina sintetasi; (2) glutammato deidrogenasi. L'ultimo enzima produce glutammato, il donatore dell'amminogruppo in tutte le reazioni della transaminazione, necessarie per la formazione di amminoacidi per la sintesi proteica.
- Dapprima si forma un legame tra il PLP legato all'enzima e il substrato fosfoomoserina, che porta a un riarrangiamento che produce la chetimina a livello del carbonio α del substrato. Viene così attivato il carbonio β per l'eliminazione di un protone, che porta allo spiazzamento del fosfato e alla formazione di un doppio legame tra i carboni β e γ . Un riarrangiamento (che inizia con l'eliminazione di un protone a livello del carbonio del piridossale adiacente all'atomo di azoto amminico del substrato) rimuove il doppio legame tra i carboni α e β , e trasforma la forma chetiminica del PLP nella forma aldiminica. L'attacco dell'acqua sul carbonio β viene poi facilitato dal piridossale legato, cui fa seguito l'idrolisi del legame imminico tra il PLP e il prodotto, per generare la treonina.
- Gli ioni ammonio, che sono tossici, vengono convertiti in glutammina nei mammiferi, riducendo gli effetti tossici che si potrebbero avere sul cervello.
- $\text{Glucosio} + 2\text{CO}_2 + 2\text{NH}_3 \rightarrow 2 \text{ aspartato} + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$.
- Il dominio aminoterminale della glutammina è praticamente uguale in tutte le glutammina ammidotrasferasi. Un farmaco che avesse come bersaglio questo sito attivo probabilmente inibirebbe molti enzimi e produrrebbe molti più effetti collaterali di un inibitore più specifico rivolto solo verso il sito attivo carbossiterminale della sintetasi.
- Se esiste un deficit di fenilalanina idrossilasi, la via biosintetica della Tyr è bloccata e la Tyr deve essere introdotta con la dieta.
- Nella sintesi di adoMet viene rilasciato un residuo di trifosfato dall'ATP. L'idrolisi del trifosfato rende la reazione termodinamicamente più favorevole.

9. Se l'inibizione della glutammina sintetasi non fosse concertata, concentrazioni saturanti di istidina bloccherebbero l'enzima e interromperebbero la produzione di glutammina di cui il batterio ha bisogno per sintetizzare altri prodotti.
10. L'acido folico è il precursore del tetraidrofolato (vedi la Figura 18.16), necessario per la biosintesi della glicina (vedi la Figura 22.14), un precursore delle porfirine. Una carenza di acido folico potrebbe inoltre pregiudicare la sintesi dell'emoglobina.
11. Per i glicina auxotrofi: adenina e guanina; per i glutammina auxotrofi: adenina, guanina e citosina; per gli aspartato auxotrofi: adenina, guanina, citosina e uridina.
12. (a) Vedi la Figura 18.6, fase 2, per il meccanismo di reazione della racemizzazione degli amminoacidi. L'atomo F della fluoroalanina è un eccellente gruppo uscente. La fluoroalanina causa l'inibizione irreversibile (covalente) dell'alanina racemasi. Un meccanismo plausibile è il seguente (Nuc indica qualunque catena laterale amminoacidica nucleofila nel sito attivo dell'enzima):



(b) Lazaserina (vedi la Figura 22.51) è un analogo di Gln. Il gruppo diazoacetile è molto reattivo e forma legami covalenti con i nucleofili nel sito attivo della glutammina amidotrasferasi.

13. (a) Come mostrato nella Figura 18.16, il *p*-amminobenzoato è un componente dell' N^5, N^{10} -metilentetraidrofolato, il cofattore coinvolto nel trasferimento di unità monocarboniose. (b) In presenza di sulfanilammide, un analogo strutturale del *p*-amminobenzoato, i batteri sono incapaci di sintetizzare il tetraidrofolato, un cofattore necessario per convertire AICAR in FAICAR; quindi AICAR si accumula. (c) L'inibizione competitiva da parte della sulfanilammide dell'enzima coinvolto nella biosintesi del tetraidrofolato viene rimossa mediante l'aggiunta di un eccesso di substrato (*p*-amminobenzoato).
14. L'orotato marcato in ^{14}C si forma attraverso la via seguente (i primi tre passaggi fanno parte del ciclo dell'acido citrico):

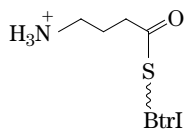


15. Gli organismi non accumulano i nucleotidi per utilizzarli come materiale energetico e non li degradano completamente, ma piuttosto li idrolizzano per liberare le basi, che possono essere recuperate mediante vie di salvataggio. Il basso rapporto C:N dei nucleotidi li rende cattive fonti di energia.
16. Il trattamento con allopurinolo ha due conseguenze biochimiche. (1) La conversione dell'ipoxantina in acido urico è inibita, causando accumulo di ipoxantina, che è più solubile e più facilmente escreta. Questo allevia i problemi clinici associati alla degradazione dell'AMP. (2) Anche la conversione della guanina in acido urico è inibita, causando accumulo di xantina, che sfortunatamente è meno solubile dell'acido urico. Questo causa la formazione di calcoli di xantina. Poiché la degradazione del GMP è mi-

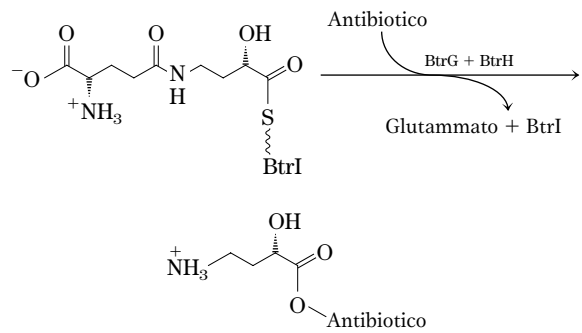
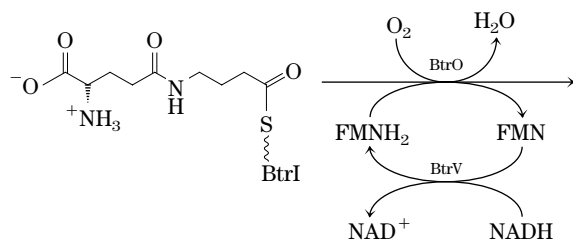
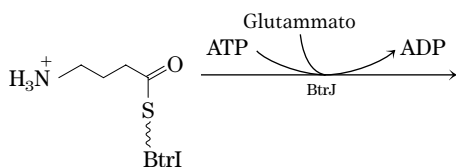
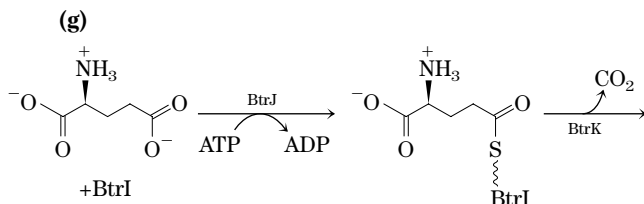
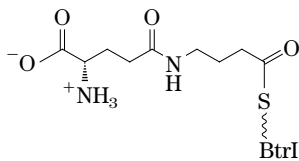
nore di quella dell'AMP, il danno renale causato dai calcoli di xantina è meno grave di quello provocato dalla gotta non trattata.

17. 5-Fosforibosil-1-pirofosfato; questo è il primo accettore di ammonio nella via biosintetica delle purine.

18. (a) Il gruppo α -carbossilico viene rimosso e un $-\text{OH}$ viene aggiunto al carbonio γ . **(b)** La BtrI ha omologia di sequenza con le proteine trasportatrici di acili. Il peso molecolare della BtrI aumenta se la proteina viene incubata in condizioni in cui CoA può essere aggiunto alla proteina stessa. L'aggiunta di CoA a un residuo di serina potrebbe sostituire un $-\text{OH}$ [peso formula (FW) 17] con un gruppo 4'-fosfopanteteinico (vedi la Figura 21.5). Questo gruppo ha la formula $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7\text{PS}$ (FW 356). Quindi, $11 \cdot 182 - 17 + 356 = 12 \cdot 151$, che è molto vicino all' M_r osservato di 12 153. **(c)** Il tioestere potrebbe formarsi col gruppo α -carbossilico. **(d)** Nelle reazioni più comuni per rimuovere il gruppo carbossilico α (vedi la Figura 18.6) il gruppo carbossilico deve essere libero. Inoltre, è difficile immaginare una reazione di decarbossilazione partendo da un gruppo carbossilico nella forma di tioestere. **(e)** $12 \cdot 281 - 12 \cdot 240 = 41$, vicino al peso molecolare della CO_2 (44). Poiché la proteina BtrK è quasi certamente una decarbossilasi, la sua struttura più probabile è quella decarbossilata:



(f) $12 \cdot 370 - 12 \cdot 240 = 130$. Acido glutammico ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$; M_r 147), meno l' $-\text{OH}$ (FW 17) rimosso nella reazione di glutammiazione, lascia un gruppo glutammilico di FW 130. Quindi la glutammiazione γ della molecola sopra indicata aumenta il suo M_r di 130. La proteina BtrJ può γ -glutamminare altri substrati, quindi può γ -glutamminare anche la molecola sopra riportata. Il sito più probabile è il gruppo amminico libero, quindi la struttura più probabile è la seguente:



CAPITOLO 23

- Sono riconosciuti da due differenti recettori, che si trovano in cellule diverse e che producono effetti diversi a valle.
- Livelli stazionari di ATP sono mantenuti dal trasferimento di gruppi fosforici dalla fosfocreatina all'ADP. Il composto 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene inibisce la creatina chinasi.
- L'ammoniaca è molto tossica per il tessuto nervoso, in particolare per il cervello. L'eccesso di ammoniaca viene eliminato dalla trasformazione del glutammato in glutamina, che poi viene trasferita al fegato, dove viene prodotta urea. La glutamina aggiuntiva deriva dalla trasformazione del glucosio in α -chetoglutarato mediante transaminazione dell' α -chetoglutarato in glutammato e trasformazione di quest'ultimo in glutamina.
- Gli amminoacidi glucogenici vengono utilizzati per la sintesi del glucosio per il cervello; altri vengono ossidati nei mitocondri nel ciclo dell'acido citrico.
- Dal glucosio, mediante la seguente via: glucosio \rightarrow diidrossiacetone fosfato (nella glicolisi); diidrossiacetone fosfato + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow$ glicerolo 3-fosfato + NAD^+ (nella reazione della glicerolo 3-fosfato deidrogenasi).
- (a)** Un aumento dell'attività muscolare fa aumentare anche la domanda di ATP, che comporta un incremento nel consumo di ossigeno. **(b)** Dopo una corsa veloce il lattato prodotto mediante la glicolisi anaerobica viene di nuovo convertito in glucosio e in glicogeno, processo che richiede ATP e quindi ossigeno.
- Il glucosio è la principale sostanza nutriente usata dal cervello. La decarbossilazione ossidativa TPP-dipendente del piruvato ad acetil-CoA è essenziale per completare il metabolismo del glucosio.
- 190 m.
- (a)** L'inattivazione è un sistema rapido per modificare la concentrazione di ormoni. **(b)** Livelli costanti di insulina sono mantenuti da uguali velocità di sintesi e di degradazione. **(c)** Altri sistemi usati per variare la concentrazione di un ormone sono le modificazioni nella velocità di rilascio dalle riserve, nel trasporto o nella conversione del pro-ormone in ormone attivo.
- Gli ormoni solubili in acqua si legano a recettori sulla superficie esterna della cellula, innescando la formazione di un secondo messaggero (cAMP) all'interno della cellula. Gli ormoni solubili nei lipidi possono attraversare la membrana cellulare e agiscono direttamente sulle loro molecole bersaglio o sui recettori.
- (a)** Il cuore e il muscolo scheletrico non hanno l'enzima glucosio 6-fosfatasi. Tutte le molecole di glucosio 6-fosfato entrano nella via glicolitica e in condizioni di carenza di ossigeno vengono convertite in lattato (per azione del piruvato). **(b)** In condizioni di "combattimento o fuga" diventa necessario elevare la concentrazione dei precursori glicolitici in preparazione di una maggiore attività muscolare. Gli intermedi fosforilati non possono uscire dalle cellule, in quanto la membrana non è permeabile alle specie cariche e il glucosio 6-fosfato non viene esportato dal trasportatore del glucosio. Il fegato deve quindi rilasciare glucosio per mantene-

re costante la concentrazione dello zucchero nel sangue. Il glucosio formato dall'idrolisi del glucosio 6-fosfato passa dal fegato al flusso sanguigno.

12. (a) Un eccessivo assorbimento del glucosio da parte del fegato genera ipoglicemia; diminuzione del catabolismo degli amminoacidi e degli acidi grassi. (b) La quantità di sostanze nutritive circolanti da usare per la sintesi di ATP è bassa. I danni cerebrali derivano dal fatto che il glucosio è la principale sostanza nutriente del cervello.
13. La tiroxina si comporta come un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa. I disaccoppianti abbassano il rapporto P/O e il tessuto deve aumentare la respirazione per ottenere la quantità necessaria di ATP. La termogenesi potrebbe anche dipendere da un aumento della velocità di utilizzo dell'ATP da parte dei tessuti stimolati dalla tiroide, in quanto un aumento della domanda di ATP corrisponde a un aumento della fosforilazione ossidativa e quindi della respirazione.
14. Poiché sono inattivi, i pro-ormoni possono essere conservati facilmente nei granuli di secrezione. L'attivazione è molto rapida e dipende da una scissione enzimatica in risposta a un appropriato segnale.
15. Negli animali molti precursori determinano la sintesi di glucosio (vedi la Figura 14.16). Nell'uomo i precursori principali sono il glicerolo, che deriva dai triacilgliceroli, e gli amminoacidi glucogenici, che derivano dalle proteine.
16. Il topo *ob/ob*, che inizialmente è obeso, perderà peso. Il topo *OB/OB* conserverà la sua massa corporea normale.
17. BMI = 39,3. Per un BMI di 25, il peso deve essere di 75 kg. Deve perdere 43 kg.
18. Ridotta secrezione di insulina. La valinomicina ha lo stesso effetto dell'apertura dei canali per il K^+ , permettendo l'uscita del K^+ e la conseguente iperpolarizzazione.
19. Il fegato non riceve il messaggio dell'insulina, quindi continua ad avere elevati livelli di glucosio 6-fosfatasi e di gluconeogenesi; i livelli di glucosio aumentano durante il digiuno e dopo un pasto ricco di glucosio. Gli elevati livelli di glucosio provocano il rilascio di insulina da parte delle cellule pancreatiche β ; di qui l'elevato livello di insulina nel sangue.
20. Alcune considerazioni da fare. Qual è la frequenza degli attacchi cardiaci attribuibili al farmaco? Come si può confrontare la frequenza di questi attacchi col numero di soggetti che non hanno avuto le conseguenze a lungo termine del diabete di tipo 2? Esistono altri farmaci disponibili con meno effetti collaterali indesiderati?
21. Senza l'attività glucosidasi intestinale l'assorbimento del glucosio derivante dal glicogeno e dall'amido della dieta diminuisce, riducendo l'aumento della glicemia dopo i pasti. Nell'intestino crasso i batteri intestinali fermentano gli oligosaccaridi non digeriti, e i gas prodotti provocano disturbi intestinali.
22. (a) La chiusura dei canali per il K^+ regolati dall'ATP depolarizza la membrana, provocando un aumento del rilascio dell'insulina. (b) Il diabete di tipo 2 è dovuto a una diminuita sensibilità all'insulina, non a un deficit della produzione di insulina; l'aumento dei livelli di insulina circolante riduce i sintomi associati alla malattia. (c) I soggetti affetti da diabete di tipo 1 hanno un deficit di cellule pancreatiche β , quindi la gliburide non avrà alcun effetto. (d) Lo iodio (l'atomo che sostituisce il cloro nella gliburide marcata) è un alogeno, come lo è il cloro, ma ha proprietà chimiche leggermente differenti. È possibile che la gliburide iodinata non si leghi alla proteina SUR. Se si legasse a una molecola diversa, l'esperimento produrrebbe un clonaggio del gene di una proteina sbagliata. (e) Anche se è stata "purificata" una proteina, la preparazione "purificata" potrebbe essere una miscela di proteine diverse che copurificano. In questo caso la sequenza amminoacidica potrebbe essere quella di una proteina che copurifica con il SUR. L'utilizzo del legame anticorpale per dimostrare che le sequenze del peptide sono presenti nel

SUR esclude questa possibilità. (f) Anche se il gene clonato codifica la sequenza di 25 amminoacidi trovata nel SUR, si potrebbe trattare di un gene che per caso codifica la stessa sequenza in un'altra proteina. In tal caso questo altro gene sarebbe molto probabilmente espresso in cellule differenti da quelle del gene SUR. I risultati dell'ibridazione dell'mRNA sono in linea con l'idea che il SUR cDNA in realtà codifichi la proteina SUR. (g) Eccesso di gliburide non marcata compete con la gliburide marcata per il sito di legame sulla proteina SUR. Ne risulta un legame significativamente inferiore di gliburide marcata, quindi viene determinata una radioattività bassa o nulla nella proteina di 140 kDa. (h) In assenza di un eccesso di gliburide non marcata la proteina di 140 kDa viene evidenziata solo in presenza del cDNA SUR putativo. L'eccesso di gliburide non marcata compete con la gliburide marcata, e non viene evidenziata la proteina di 140 kDa marcata con ^{125}I . Ciò dimostra che il cDNA produce una proteina che lega la gliburide dello stesso peso molecolare della SUR. Abbiamo pertanto un indizio importante per ritenere che il gene clonato sia in grado di codificare la proteina SUR. (i) Sono possibili anche altre evidenze sperimentali come: (1) esprimere il cDNA SUR putativo in cellule CHO (ovaio di criceto cinese) e dimostrare che le cellule trasformate hanno un'attività riconducibile al canale ATP-dipendente del K^+ ; (2) dimostrare che cellule HIT con mutazioni nel gene putativo SUR sono prive dell'attività ATP-dipendente del K^+ ; (3) dimostrare che animali sperimentali o pazienti con mutazioni del gene putativo SUR non sono in grado di secernere l'insulina.

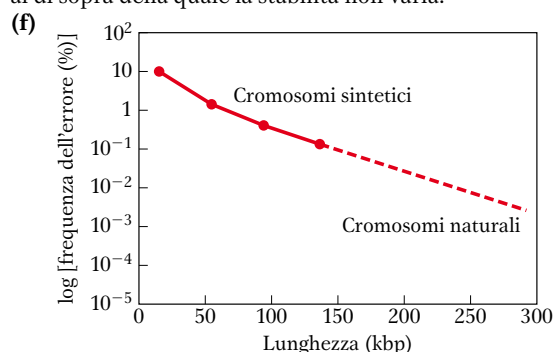
CAPITOLO 24

1. $6,1 \times 10^4$ nm; 290 volte più lungo della testa del fago T2.
2. Il numero dei residui di A non è uguale al numero dei residui di T, né il numero dei residui di G è uguale a quello di C, quindi il DNA non è una doppia elica a basi appaiate; infatti il DNA di M13 è costituito da una singola elica.
3. $M_r = 3,8 \times 10^8$; lunghezza = 200 μ m; $Lk_0 = 55\ 200$; $Lk = 51\ 900$.
4. Gli esoni del gene contengono 3 bp/amminoacido \times 192 amminoacidi = 576 bp. Le rimanenti 864 bp comprendono introni, forse una sequenza leader o una sequenza segnale e/o altre zone non codificanti del DNA.
5. 5000 coppie di basi. (a) Il valore non cambia poiché Lk non cambia se non si taglia e si riforma lo scheletro covalente del DNA. (b) Il valore diventa indefinito; per definizione un DNA circolare con una rottura su un filamento non ha Lk . (c) Il valore diminuisce; in presenza di ATP la girasi disavvolge il DNA. (d) Il valore non cambia; si suppone che nessuno dei due filamenti del DNA si sia rotto durante il processo di riscaldamento.
6. Perché l' Lk rimanga invariato la topoisomerasi deve introdurre lo stesso numero di superavvolgimenti positivi e negativi.
7. $\sigma = -0,067$; c' è una probabilità maggiore del 70%.
8. (a) Non definito; i filamenti del DNA rotto potrebbero essere separati e quindi non avere Lk . (b) 476. (c) 476; il DNA rotto è spesso rilassato, così la topoisomerasi non può provocare un cambiamento netto. (d) 460; la girasi più l'ATP modificano l' Lk , con incremento negativo di 2. (e) 464; le topoisomerasi di tipo I eucariotiche aumentano l' Lk del DNA parzialmente disavvolto o superavvolto negativamente con incrementi di 1. (f) 460; il legame dei nucleosomi non rompe nessun filamento di DNA e quindi non può modificare l' Lk .
9. Un'unità strutturale fondamentale presente nella cromatina si ripete ogni 200 coppie di basi circa; il DNA è accessibile alle nucleasi solo a intervalli di circa 200 coppie di basi. Un breve trattamento era insufficiente per tagliare il DNA in ogni punto accessibile, pertanto si è creata una scala di bande di DNA nei punti in cui la misura dei frammenti di DNA era pa-

ri a multipli di 200 coppie di basi. Lo spessore delle bande di DNA fa ritenere che la distanza fra i siti di scissione a volte possa variare. Per esempio, non tutti i frammenti nella banda più piccola sono lunghi esattamente 200 coppie di basi.

10. Un'elica destrorsa ha Lk positivo; un'elica sinistrorsa ha Lk negativo (come per esempio il DNA Z). Il decremento di Lk che si ottiene tramite il disavvolgimento di una molecola di DNA B circolare chiusa facilita la formazione di regioni di DNA Z all'interno di certe sequenze. (Vedi il Capitolo 8, pagina 301, per la descrizione di sequenze che permettono la formazione di DNA Z.)
11. (a) Entrambi i filamenti devono essere chiusi in maniera covalente e la molecola deve essere essa stessa circolare o saldata a entrambe le estremità. (b) È favorita la formazione di strutture a croce, di DNA Z sinistrorsi, di superavvolgimenti plectonemici o a solenoide e di DNA non avvolto. (c) DNA topoisomerasi II di *E. coli* o DNA girasi. (d) Lega il DNA nel punto dove si interseca con se stesso, taglia entrambi i filamenti di uno dei due segmenti incrociati, passa l'altro segmento attraverso il punto di rottura e poi risalda la rottura. Il risultato è una variazione di Lk di -2 .
12. Un centromero, i telomeri e una sequenza che si replica autonomamente o l'origine della replicazione.
13. Il nucleotide batterico è organizzato in domini lunghi circa 10 000 bp. La scissione a opera di un enzima di restrizione rilascia il DNA che fa parte di un dominio, non quello all'esterno del dominio. Quindi l'espressione dei geni che fanno parte del dominio scisso e che dipende dalla topologia del DNA sarà influenzata dalla scissione. I geni al di fuori del dominio non saranno influenzati.
14. (a) La banda più in basso nel gel, quella che è migrata più velocemente durante l'elettroforesi, è il DNA plasmidico a superavvolgimento negativo. La banda in alto è il DNA rilassato. (b) La DNA topoisomerasi I rilascia il DNA superavvolto. La banda in basso scomparirà e tutto il DNA convergerà nella banda in alto. (c) La DNA ligasi produce solamente un piccolo cambiamento nella distribuzione del DNA. Potranno comparire delle piccole bande minori vicino alla banda superiore, a causa della formazione di topoisomeri non proprio perfettamente rilassati dalla reazione di legazione. (d) La banda in alto sparirà e tutto il DNA sarà raggruppato nella banda in basso. Il DNA superavvolto della banda inferiore diventerà ancora più superavvolto e migrerà più velocemente.
15. (a) Quando le estremità del DNA vengono riunite per formare un circolo chiuso e rilassato, alcune copie di DNA sono completamente rilassate, ma altre rimangono in stati leggermente disavvolti o iperavvolti. Questo genera una distribuzione di topoisomeri centrata sulle specie più rilassate. (b) Superavvolto positivamente. (c) Il DNA rilassato nonostante l'aggiunta del colorante è il DNA con uno o ambedue i filamenti interrotti. I metodi di isolamento del DNA inevitabilmente provocano un certo numero di interruzioni di filamenti in alcune delle molecole circolari chiuse. (d) Approssimativamente $-0,05$. Questo valore può essere determinato semplicemente confrontando il DNA nativo con campioni il cui σ è noto. In entrambi i gel il DNA nativo migra vicino al campione con $\sigma = -0,049$.
16. 62 milioni (il genoma si riferisce al contenuto genetico aploide della cellula; la cellula è in realtà diploide, quindi il numero dei cromosomi è raddoppiato). Il numero proviene da 3,1 miliardi di coppie di basi diviso per 200 coppie di basi per nucleosoma (cioè 15,5 milioni di nucleosomi), moltiplicato per due copie di H2A per nucleosoma e moltiplicato ancora per due a causa dello stato diploide della cellula. Il numero di 62 milioni raddoppierà al momento della replicazione.
17. (a) Nella non disgiunzione, una cellula figlia e quelle che ne derivano ottengono due copie del cromosoma sintetico e sono bianche; l'altra cellula figlia e quelle che ne derivano non ottengono alcuna copia del cromosoma sinte-

tico e sono rosse. Ciò dà luogo a colonie per metà bianche e per metà rosse. (b) Nella perdita del cromosoma, una cellula figlia e quelle che ne derivano ottengono una copia del cromosoma sintetico e sono rosa; l'altra cellula figlia e quelle che ne derivano non ottengono alcuna copia del cromosoma sintetico e sono rosse. Ciò dà luogo a una colonia per metà rosa e per metà rossa. (c) Il centromero funzionale minimo deve essere inferiore a 0,63 kbp, poiché tutti i frammenti di questa dimensione o più grandi conferiscono una stabilità mitotica relativa. (d) I telomeri sono necessari per una replicazione corretta del DNA lineare; una molecola circolare di DNA può replicarsi senza i telomeri. (e) Più grande è il cromosoma, più fedele è la sua segregazione. Questi dati non mostrano né una grandezza minima al di sotto della quale il cromosoma sintetico è completamente instabile, né una grandezza massima al di sopra della quale la stabilità non varia.

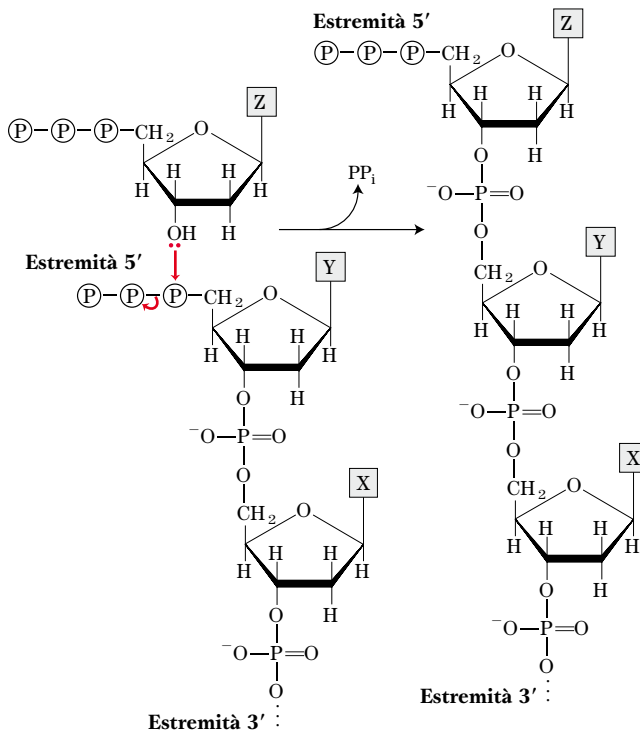


Come si vede dal grafico, anche se i cromosomi sintetici fossero lunghi quanto i cromosomi naturali di lievito, non sarebbero altrettanto stabili. Questo suggerisce che per la stabilità siano necessari elementi non ancora identificati.

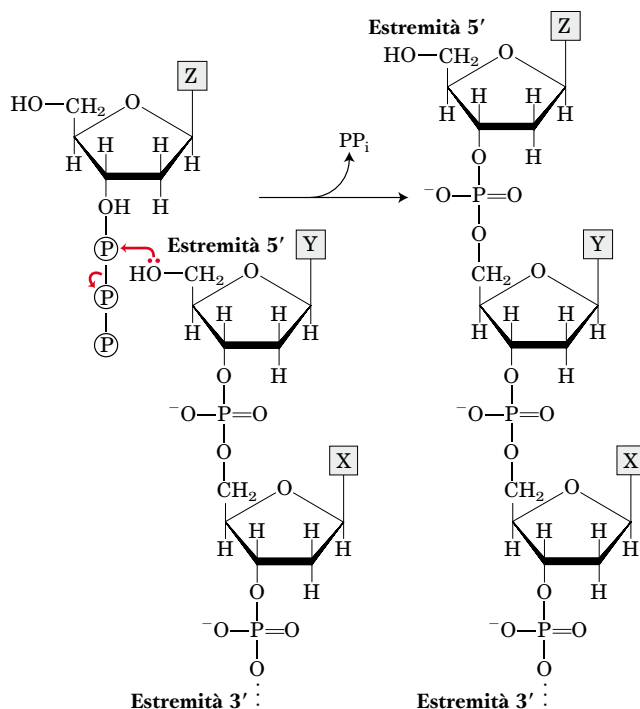
CAPITOLO 25

1. Se la replicazione si verificasse casualmente nella seconda generazione, tutto il DNA avrebbe la stessa densità e apparirebbe come una banda singola, e non come le due bande osservate nell'esperimento di Meselson-Stahl.
2. In questa estensione dell'esperimento di Meselson-Stahl, dopo tre generazioni il rapporto molare tra il DNA ^{15}N - ^{14}N e il DNA ^{14}N - ^{14}N è $2/6 = 0,33$.
3. (a) $4,42 \times 10^5$ giri. (b) 40 minuti; quando le cellule si dividono ogni 20 minuti, un ciclo replicativo inizia ogni 20 minuti, e ciascun ciclo comincia prima che quello precedente sia completato. (c) Da 2000 a 5000 frammenti di Okazaki. Questi frammenti sono lunghi da 1000 a 2000 nucleotidi e sono saldamente legati al filamento stampo a causa dell'accoppiamento delle basi. Ciascun frammento viene velocemente legato al filamento lento, in modo da preservare il corretto ordine dei frammenti.
4. A, 28,7%; G, 21,3%; C, 21,3%; T, 28,7%. Il filamento di DNA prodotto dalla catena stampo dovrebbe avere la seguente composizione: A, 32,7%; G, 18,5%; C, 24,1%; T, 24,7%. Il filamento di DNA prodotto dalla catena stampo complementare dovrebbe avere la seguente composizione: A, 24,7%; G, 24,1%; C, 18,5%; T, 32,7%. Si parte dall'ipotesi che le due catene stampo vengano replicate completamente.
5. (a) No. L'incorporazione di ^{32}P legato nel DNA è determinata dalla sintesi di nuovo DNA, che richiede la presenza di *tutti e quattro* i nucleotidi precursori. (b) Sì. Sebbene i quattro nucleotidi precursori debbano essere presenti perché la sintesi del DNA avvenga, solo uno di questi deve essere radioattivo perché si possa osservare la radioattività nel nuovo DNA. (c) No. La radioattività viene incorporata solo se il ^{32}P marcato è il fosfato α ; la DNA polimerasi che catalizza la reazione di incorporazione taglia via il pirofosfato, e quindi il gruppo fosfato presente in β e in γ .

6. **Meccanismo 1:** il 3'-OH del dNTP entrante attacca il fosfato α del trifosfato all'estremità 5' del filamento di DNA in fase di crescita, liberando il pirofosfato. Questo meccanismo utilizza i normali dNTP, e la catena in crescita del DNA ha sempre un trifosfato all'estremità 5'.



Meccanismo 2: questo meccanismo si avvale di un nuovo tipo di precursori, i nucleosidi 3'-trifosfato. L'estremità del DNA in fase di crescita ha un 5'-OH, che attacca il fosfato α di un deossinucleoside 3'-trifosfato entrante, liberando il pirofosfato. Si noti che questo meccanismo comporterebbe l'evoluzione di una via metabolica necessaria per la formazione dei deossinucleosidi 3'-trifosfato.



7. La DNA polimerasi contiene un'attività esonucleasica 3' → 5' che degrada il DNA e produce [32 P]dNMP. L'attività non è un'esonucleasi 5' → 3' poiché l'aggiunta di dNTP non marcati inibisce la produzione di [32 P]dNMP (l'attività di poli-

merizzazione dovrebbe sopprimere un'esonucleasi che corregge le bozze ma non un'esonucleasi che agisce a valle della polimerasi). L'aggiunta di pirofosfato dovrebbe generare [32 P]dNTP tramite l'inverso della reazione della polimerasi.

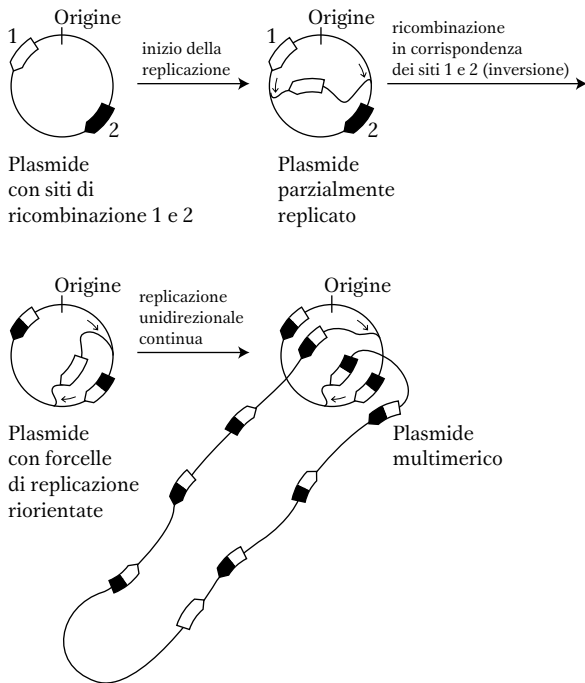
8. **Filamento guida:** precursori: dATP, dGTP, dCTP, dTTP (è necessario anche un filamento di DNA stampo e di DNA primer); enzimi e altre proteine: DNA girasi, elicasi, proteina che lega il DNA a singola elica, DNA polimerasi III, topoisomerasi e pirofosfatasi.

Filamento lento: precursori: ATP, GTP, CTP, UTP, dATP, dGTP, dCTP, dTTP (è necessario anche un RNA primer); enzimi e altre proteine: DNA girasi, elicasi, proteina che lega il DNA a singola elica, primasi, DNA polimerasi III, DNA polimerasi I, DNA ligasi, topoisomerasi e pirofosfatasi. È anche necessario il NAD^+ come cofattore della DNA ligasi.

9. I mutanti che contengono una DNA ligasi difettosa producono un duplex di DNA nel quale uno dei filamenti rimane in frammenti (come frammenti di Okazaki). Quando questo duplex viene denaturato la sedimentazione dà luogo a una frazione che contiene il singolo filamento intatto (la banda con massa molecolare alta) e a un'altra frazione che contiene i frammenti (la banda con massa molecolare bassa).
10. L'accoppiamento delle basi secondo il modello di Watson-Crick tra lo stampo e il filamento guida; l'attività di proof-reading e la rimozione dei nucleotidi inseriti in modo errato tramite l'attività 3'-esonucleasica della DNA polimerasi III. Sì, può essere. Poiché i fattori che assicurano la fedeltà della replicazione sono operativi sia nel filamento guida che nel filamento ritardato, quest'ultimo verrebbe probabilmente prodotto con lo stesso grado di fedeltà. Comunque, il maggior numero di reazioni chimiche distinte coinvolte nella produzione del filamento lento rispetto a quelle del filamento guida potrebbe causare il manifestarsi di una maggiore possibilità di errori.
11. Circa 1200 coppie di basi (circa 600 in ognuna delle direzioni).
12. Una piccola frazione (13 su 10^9 cellule) dei mutanti che richiedono istidina subisce spontaneamente una retromutazione e riacquista la capacità di sintetizzare l'istidina. L'aggiunta di 2-amminoantracene aumenta la percentuale di retromutazioni di circa 1800 volte, e questa è la ragione per cui esso viene definito mutageno. Poiché la maggior parte delle sostanze cancerogene è mutagena, il 2-amminoantracene probabilmente è cancerogeno.
13. La deaminazione spontanea della 5-metilcitosina (vedi la Figura 8.30) produce timina e quindi l'accoppiamento errato G-T. Questi accoppiamenti errati G-T sono tra gli errori più comuni nel DNA degli eucarioti. Il sistema di riparazione specializzato ripristina il corretto accoppiamento G=C.
14. (a) L'irradiazione ultravioletta produce dimeri di pirimidina, che nei fibroblasti normali vengono scissi con un processo che coinvolge la scissione del filamento danneggiato da parte di una specifica nucleasi di scissione. Quindi il filamento a singola elica denaturato contiene i molti frammenti prodotti dalla scissione, e la media della massa molecolare si abbassa. Questi frammenti di DNA a singolo filamento sono assenti nei campioni XPG, come indicato dal peso molecolare medio rimasto invariato. (b) L'assenza di frammenti nel DNA a singola elica nelle cellule XPG dopo l'irradiazione suggerisce che la nucleasi di scissione specifica sia difettosa o assente in queste cellule.
15. Durante la ricombinazione genetica omologa un intermedio di Holliday si può formare praticamente in qualsiasi punto tra i due cromosomi omologhi accoppiati. Una volta formato, il punto di ramificazione dell'intermedio si può muovere ampiamente mediante migrazione della ramificazione. Nella ricombinazione sito-specifica l'intermedio di Holliday si forma tra due siti specifici, e la migrazione della ramificazione è generalmente limitata da sequenze eterologhe su entrambi i lati dei siti di ricombinazione.

16. (a) Nei punti Y. (b) Nei punti X.

17. Una volta che la replicazione è avanzata dall'origine fino al punto dove un sito di ricombinazione è stato replicato e l'altro no, la ricombinazione sito-specifica non solo inverte il DNA tra i due siti di ricombinazione, ma cambia anche la direzione di una forcella di replicazione rispetto all'altra. Le forcelle si inseguono l'una con l'altra intorno al DNA circolare, generando copie multiple in tandem del plasmide. Il circolo multimerico può essere risolto in monomeri mediante ulteriori eventi di ricombinazione sito-specifica.



18. (a) Anche in assenza del mutageno avvengono mutazioni dovute a radiazioni, reazioni chimiche cellulari, e così via. (b) Il DNA è sufficientemente danneggiato, una frazione sostanziale di prodotti genici non è funzionale e le cellule non sono vitali. (c) Le cellule che hanno una diminuita capacità di riparare il DNA sono più sensibili ai mutageni. Poiché esse non riparano in modo accurato le lesioni causate dall'R7000, i batteri uvr^- mostrano un aumento della frequenza delle mutazioni e quindi possono subire effetti letali. (d) Nei ceppi uvr^+ , il sistema di riparazione per escissione rimuove le basi del DNA con l' $[^3H]R7000$ legato, diminuendo così nel tempo 3H presente nelle cellule. Nel ceppo uvr^- , il DNA non viene riparato e il livello di 3H aumenta man mano che l' $[^3H]R7000$ continua a reagire col DNA. (e) Tutte le mutazioni elencate nella tabella, eccetto quella da $A=T$ in $G=C$, mostrano un aumento significativo sopra il valore soglia. Ciascun tipo di mutazione è il risultato di un differente tipo di interazione tra l'R7000 e il DNA. Poiché tipi differenti di interazione non sono ugualmente probabili (per le differenti reattività, costrizioni steriche, ecc.), ne risultano mutazioni con frequenze diverse. (f) No. Solo quelle con una coppia di basi $G=C$ possono essere spiegate da questo modello. Quindi le mutazioni da $A=T$ in $C=G$ e da $A=T$ in $T=A$ possono essere dovute al legame dell'R7000 con una A o con una T. (g) L'R7000-G si appaia con A. Dapprima l'R7000 si lega alla coppia $G=C$, per formare la coppia $R7000-G=C$. (Si confronti questo con ciò che accade con CH_3-G nella Figura 25.27b.) Se la riparazione non avviene, un filamento viene replicato come $R7000-G=A$, che viene riparato in $T=A$. L'altro filamento è del tipo selvatico. Se la replicazione produce $R7000-G=T$, un meccanismo simile conduce alla coppia di basi $A=T$. (h) No. Confrontate i dati

delle due tabelle e tenete presente che le mutazioni intervergono con frequenze diverse.

$A=T$ in $C=G$: moderata in ambedue i ceppi, ma migliore riparazione nel ceppo uvr^+

$G=C$ in $A=T$: moderata in entrambi i ceppi; nessuna differenza reale

$G=C$ in $C=G$: più elevata nell' uvr^+ ; certamente è minore il grado di riparazione!

$G=C$ in $T=A$: elevata in ambedue i ceppi; nessuna differenza reale

$A=T$ in $T=A$: elevata in ambedue i ceppi; nessuna differenza reale

$A=T$ in $G=C$: elevata in ambedue i ceppi; nessuna differenza reale

Alcuni addotti possono essere riconosciuti da apparati per la replicazione meglio di altri, quindi vengono riparati più rapidamente. Ne risultano meno mutazioni.

CAPITOLO 26

- (a) 60-100 s. (b) Da 500 a 900 nucleotidi al secondo.
- Un errore in una singola base durante la replicazione del DNA, se non corretto, potrebbe determinare in una delle due cellule figlie, e in tutta la sua progenie, un cromosoma mutato. Un errore in una singola base nella trascrizione dell'RNA non ha effetti sul cromosoma; potrebbe portare però alla formazione di alcune copie difettose di una proteina, ma a causa del rapido turnover dell'mRNA molte copie della proteina potrebbero essere normali. La progenie di questa cellula sarebbe quindi normale.
- Le normali modificazioni post-trascrizionali all'estremità 3' (scissione e poliadenilazione) verrebbero inibite o bloccate.
- Poiché non codifica gli enzimi necessari per iniziare l'infezione virale, la catena stampo di RNA rimarrebbe inerte o verrebbe degradata dalle ribonucleasi cellulari. La replicazione della catena stampo di RNA e la propagazione del virus potrebbero avvenire solo se l'RNA replicasi intatta (RNA polimerasi RNA-dipendente) fosse introdotta nella cellula insieme alla catena stampo.
- AUGACCAUGAUUACG.
- (1) L'utilizzo di una catena stampo di acido nucleico; (2) la sintesi in direzione $5' \rightarrow 3'$; (3) l'utilizzo di nucleosidi trifosfato come substrato, con formazione di un legame fosfodiesterico e rilascio di PP_i . La polinucleotide fosforilasi forma legami fosfodiesterici, ma le altre sue proprietà sono diverse.
- Generalmente due: uno per scindere il legame fosfodiesterico di una giunzione introne-esone, l'altro per legare l'estremità libera dell'esone risultante all'esone posto all'altra estremità dell'introne. Se il nucleofilo nel primo passaggio fosse l'acqua, questo passaggio sarebbe un'idrolisi e sarebbe necessario solo un passaggio di transesterificazione per completare il processo di splicing.
- Molti snoRNA, necessari per le reazioni di modificazione degli rRNA, sono codificati negli introni. Se lo splicing non avviene, gli snoRNA non vengono prodotti.
- Questi enzimi non hanno attività esonucleasica $3' \rightarrow 5'$ di proofreading e hanno quindi un'alta percentuale di errore; la probabilità di un errore di replicazione che sia in grado di inattivare il virus è molto minore in un genoma piccolo che in uno più grande.
- (a) $4^{32} = 1,8 \times 10^{19}$. (b) 0,006%. (c) Per il passaggio di "selezione innaturale" utilizzata una resina cromatografica alla quale sia legata una molecola che sia l'analogo dello stato di transizione della reazione di idrolisi di un estere.
- Sebbene la sintesi dell'RNA venga rapidamente bloccata dalla tossina α -amanitina, ci vogliono parecchi giorni per degradare gli mRNA cruciali e le proteine nel fegato, causando la disfunzione epatica e la morte.
- (a) Dopo la lisi delle cellule e la loro parziale purificazione, l'estratto proteico potrebbe essere sottoposto a isolettrofocalizzazione. La subunità β potrebbe essere individuata

- 2. UUA AUGUAU, UUG AUGUAU, CUU AUGUAU, CUU AUGUAU, CUU AUGUAU, CUU AUGUAU, UUA AUGUAC, UUG AUGUAC, CUU AUGUAC, CUU AUGUAC, CUU AUGUAC, CUU AUGUAC.
- 3. No, perché quasi tutti gli amminoacidi hanno più di un codone (per esempio, Leu ne ha 6), e un dato polipeptide può essere codificato da un certo numero di diverse sequenze di basi. Tuttavia, poiché alcuni amminoacidi sono codificati da un solo codone e quelli codificati da molti codoni spesso hanno in comune lo stesso nucleotide in due delle tre posizioni possibili, *alcune parti* della sequenza dell'mRNA che codifica una proteina con una sequenza di amminoacidi nota possono essere previste con un alto grado di probabilità.
- 4. (a) (5')CGACGCGCGAAGUCAGGGGUGUUAAAG(3'). (b) Arg-Arg-Arg-Glu-Val-Arg-Gly-Val-Lys. (c) No; le catene complementari antiparallele nella doppia elica di DNA non hanno la stessa sequenza di basi in direzione 5' → 3'. l'RNA viene trascritto da un solo filamento specifico del duplex di DNA. l'RNA polimerasi deve quindi riconoscere e legarsi alla catena corretta.
- 5. Esistono due tRNA per la metionina: tRNA^{Met}, che è il tRNA d'inizio, e tRNA^{Met}, che può inserire la metionina in posizioni interne di un polipeptide. Solo fMet-tRNA^{Met} viene riconosciuto dal fattore d'inizio IF-2 e si allinea con AUG in posizione iniziale nel sito P del ribosoma nel complesso d'inizio. I codoni AUG in posizione interna dell'mRNA possono legare e incorporare solo Met-tRNA^{Met}.
- 6. Se lasciate agire la polinucleotide fosforilasi su una miscela di UDP e CDP, dove l'UDP è presente in concentrazione cinque volte maggiore del CDP, ne risulterà un polimero di RNA sintetico con molte triplette UUU (che codificano Phe), un numero minore di triplette UUC (Phe), UCU (Ser) e CUU (Leu), e un numero ancora inferiore di triplette UCC (Ser), CUC (Leu) e CCU (Pro), e il minor numero di CCC (Pro).
- 7. Un minimo di 583 gruppi fosfato ad alta energia (in base al fatto che ne vengono consumati quattro per ogni residuo amminoacidico aggiunto, tenuto conto che ci sono solo 145 passaggi di traslocazione). La correzione di qualsiasi errore richiede il consumo di due gruppi fosfato ad alta energia. Per la sintesi del glicogeno vengono utilizzati 292 gruppi fosforici ad alta energia. Il costo energetico extra richiesto per la sintesi della β-globina riflette il costo dell'informazione contenuta nella proteina. Sono necessari almeno 20 enzimi attivanti, 70 proteine ribosomiali, 4 rRNA, 32 o più tRNA, 1 mRNA e 10 o più enzimi ausiliari prodotti dalla cellula eucariotica per sintetizzare una proteina a partire dagli amminoacidi. La sintesi di una catena di glicogeno (α1 → 4) dal glucosio richiede solo 4 o 5 enzimi (vedi il Capitolo 15).

Codoni per la glicina	Anticodoni
(5')GGU	(5')ACC, GCC, ICC
(5')GGC	(5')GCC, ICC
(5')GGA	(5')UCC, ICC
(5')GGG	(5')CCC, UCC

- (a) L'estremità 3' e la posizione media. (b) Gli appaiamenti con gli anticodoni (5')GCC, ICC e UCC. (c) Gli appaiamenti con gli anticodoni (5')ACC e CCC.
- 9. (a), (c), (e) e (g); le mutazioni (b), (d) ed (f) non possono essere il risultato di una mutazione di una singola base; (b) ed (f) richiederebbero la sostituzione di due basi, e (d) richiederebbe la sostituzione di tutte e tre le basi.
- 10. (5')AUGAUAUUGCUAUCUUGGACU.
 Modificazioni: CC AU U C C
 U C A A
 G G G G
 Quattordici di 63 delle possibili modificazioni di una base potrebbero dar luogo a una mutazione non codificante.

- 11. I due codoni sul DNA che corrispondono a Glu sono GAA e GAG, i quattro codoni sul DNA che corrispondono a Val sono GTT, GTC, GTA e GTG. Un cambiamento di una singola base da GAA a GTA o da GAG a GTG potrebbe provocare la sostituzione da glutammato a valina nell'emoglobina delle cellule falciformi. Molto meno probabili sono i cambiamenti di due basi, da GAA a GTG, GTT o GTC, e da GAG a GTA, GTT o GTC.
- 12. L'isoleucina ha una struttura simile a quella di diversi altri amminoacidi, in particolare a quella della valina. La distinzione tra valina e isoleucina durante il processo di amminoacilazione necessita di un secondo filtro di correzione delle bozze (*proofreading*). L'istidina invece ha una struttura molto diversa da quella degli altri amminoacidi, che le permette una specificità di legame adeguata durante il processo di amminoacilazione del corrispondente tRNA.
- 13. (a) L'Ala-tRNA sintetasi riconosce l'accoppiamento di basi G³-U⁷⁰ nello stelo per l'amminoacido del tRNA^{Ala}. (b) Il mutante di tRNA^{Ala} inserirebbe residui di Ala nel codone che codifica Pro. (c) Un altro tipo di mutazione che potrebbe avere effetti simili è un'alterazione nel tRNA^{Pro} che gli permette di essere riconosciuto e amminoacilato dall'Ala-tRNA sintetasi. (d) La maggior parte delle proteine in una cellula potrebbe essere inattivata tramite queste mutazioni letali, che quindi non sono mai state osservate. Ciò rappresenta una potente spinta selettiva per il mantenimento del codice genetico.
- 14. IF-2: si dovrebbe formare il ribosoma 70S, ma poiché non vengono rilasciati i fattori di inizio non dovrebbe cominciare l'allungamento. EF-Tu: il secondo amminoacil-tRNA si dovrebbe legare al sito A del ribosoma, ma non si può formare alcun legame peptidico. EF-G: il primo legame peptidico si dovrebbe formare, ma il ribosoma non si dovrebbe muovere lungo l'mRNA lasciando libero il sito A per il legame di un nuovo EF-Tu-tRNA.
- 15. L'ultimo amminoacido aggiunto a una catena polipeptidica in crescita è l'unico legato covalentemente al tRNA e quindi è il solo legame tra il polipeptide e l'mRNA che lo codifica. L'attività di *proofreading* influenzerebbe questo legame, bloccando la sintesi del polipeptide e facendolo rilasciare dall'mRNA.
- 16. Il fatto che la proteina venga diretta al reticolo endoplasmatico, e da qui alla destinazione finale, dipende da ulteriori segnali. La proteina SRP si lega al segnale presente all'estremità aminoterminale durante le fasi iniziali della sintesi proteica, e dirige il polipeptide nascente e il ribosoma verso i recettori dell'ER. Poiché la proteina viene traslocata nel lume dell'ER non appena sintetizzata, la sequenza NLS non è mai accessibile alle proteine coinvolte nel trasporto verso il nucleo.
- 17. Il fattore di innesco è uno chaperone molecolare, che stabilizza una conformazione di ProOmpA disavvolta ed è quindi in grado di traslocare.
- 18. Un DNA con un minimo di 5784 coppie di basi; alcune sequenze codificanti devono essere totalmente o parzialmente sovrapposte.
- 19. (a) Le eliche si associano tramite interazioni idrofobiche e di van der Waals. (b) I gruppi R 3, 6, 7 e 10 si estendono a sinistra; i gruppi 1, 2, 4, 5, 8 e 9 si estendono a destra. (c) Una possibile sequenza è

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
N-Phe-Ile-Glu-Val-Met-Asn-Ser-Ala-Phe-Gln-C

(d) Una possibile sequenza di DNA per la sequenza amminoacidica in (c) è

Catena non stampo
(5')TTTATTGAAGTAATGAATAGTGCATTCCAG(3')
||||||||||||||||||||||||||||||||||||
(3')AAATAACTTCATTACTTATCAGCTAAGGTC(5')
Catena stampo

(e) Phe, Leu, Ile, Met e Val. Tutti sono idrofobici, ma il set non comprende *tutti* gli amminoacidi idrofobici; Trp, Pro, Ala e Gly non sono inclusi. (f) Tyr, His, Gln, Asn, Lys, Asp e Glu. Tutti questi amminoacidi sono idrofilici, anche se la Tyr è nettamente meno idrofila degli altri. Il set non comprende *tutti* gli amminoacidi idrofilici; Ser, Thr e Arg non sono presenti. (g) L'omissione di T dalla miscela esclude i codoni che iniziano e terminano in T, quindi viene esclusa la Tyr, che non è sufficientemente idrofila; inoltre, cosa ancora più importante, sono esclusi due possibili codoni di stop (TAA e TAG). Nessun altro amminoacido del set NAN viene escluso, omettendo T. (h) Le proteine che non sono ben ripiegate vengono spesso degradate nella cellula. Quindi, se un gene sintetico ha prodotto una proteina che forma una banda su SDS gel, è probabile che la proteina si sia ripiegata nel modo corretto. (i) Il ripiegamento proteico non dipende solo dalle interazioni idrofobiche e di van der Waals. Vi sono molti motivi che spiegano perché una sequenza proteica casuale non si avvolge per produrre la struttura a quattro eliche. Per esempio, legami a idrogeno tra catene idrofiliche laterali potrebbero alterare la struttura. Inoltre, non tutte le sequenze hanno la stessa tendenza a formare un'α elica.

CAPITOLO 28

- (a) I livelli di triptofano sintasi rimangono elevati anche in presenza di Trp. (b) I livelli restano ancora elevati. (c) I livelli diminuiscono rapidamente, impedendo una sintesi inutile di Trp.
- Le cellule di *E. coli* produrranno β-galattosidasi quando sono sottoposte a livelli elevati di agenti che danneggiano il DNA, come i raggi della luce UV. In queste condizioni RecA si lega al DNA cromosomico a catena singola e facilita la scissione autocatalitica del repressore LexA, rilasciando LexA dal suo sito di legame e permettendo la trascrizione dei geni a valle.
- (a) Espressione costitutiva dell'operone, a livello basso; molte delle mutazioni dell'operatore potrebbero diminuire la capacità di legare il repressore. (b) Espressione costitutiva, come in (a), o repressione costante, se la mutazione annulla la capacità di legare il lattosio e i composti correlati, quindi la risposta agli induttori. (c) Aumentata o diminuita espressione dell'operone (nelle condizioni in cui è indotto), a seconda che la mutazione renda il promotore più o meno simile, rispettivamente, alla sequenza consenso del promotore di *E. coli*.
- 7000 copie.
- 8×10^{-9} M, circa 10^5 volte maggiore della costante di dissociazione. Con 10 copie di repressore attivo nella cellula, il sito dell'operatore è sempre occupato dalla molecola del repressore.
- (a)-(e) Ogni condizione diminuisce l'espressione dei geni dell'operone *lac*.
- (a) Minore attenuazione della trascrizione. Il ribosoma che termina la traduzione della sequenza 1 non può procedere oltre e blocca la sequenza 2; la sequenza 2 è sempre disponibile per appaiarsi con la sequenza 3, impedendo la formazione della struttura dell'attenuatore. (b) Maggiore attenuazione della trascrizione. La sequenza 2 si appaia con meno efficienza con la sequenza 3; la struttura dell'attenuatore si forma con maggiore frequenza, anche quando la sequenza 2 non è bloccata da un ribosoma. (c) Nessuna attenuazione della trascrizione: la sola regolazione è quella esercitata dal repressore Trp. (d) L'attenuazione perde la sua sensibilità al tRNA del triptofano; diventa invece sensibile al tRNA dell'istidina. (e) L'attenuazione avviene molto di rado, o non avviene affatto. Le sequenze 2 e 3 bloccano sempre la formazione dell'attenuatore. (f) Attenuazione costante della trascrizione. L'attenuatore si forma sempre, indipendentemente dalla disponibilità del triptofano.
- L'induzione della risposta SOS potrebbe non avvenire, rendendo le cellule più sensibili agli alti livelli di DNA danneggiato.
- Ogni cellula di *Salmonella* potrebbe avere flagelli contenenti entrambi i tipi di proteine flagellari, e la cellula potrebbe essere vulnerabile ad anticorpi generati in risposta a entrambe le proteine.
- Durante la purificazione la polimerasi potrebbe aver perso un fattore dissociabile, necessario per la sua attività (per esempio un fattore per la specificità, simile alla subunità σ dell'enzima di *E. coli*).
- Proteina Gal4**

Dominio di legame del DNA Gal4	Dominio attivatore di Gal4
--------------------------------	----------------------------

Proteina ingegnerizzata

Dominio di legame del DNA del repressore Lac	Dominio dell'attivatore di Gal4
--	---------------------------------

La proteina ingegnerizzata non può legarsi al sito di legame di Gal4 del gene *GAL* (UAS_G) perché è priva del dominio di legame del DNA-Gal4. Modificate il sito di legame del DNA Gal4p per produrre la sequenza nucleotidica alla quale normalmente si lega il repressore Lac (usando i metodi descritti nel Capitolo 9).
- La metilammina. La reazione procede tramite l'attacco dell'acqua sul carbonio guanidinico dell'arginina modificata.
- LmRNA *bcd* necessario per lo sviluppo è fornito all'uovo dalla madre. L'uovo dovrebbe poi svilupparsi normalmente anche se il genotipo è bcd^-/bcd^- , se la madre ha un gene *bcd* normale e l'allele bcd^- è recessivo. La femmina adulta bcd^-/bcd^- sarà sterile poiché non potrà produrre e fornire all'uovo quantità normali di mRNA *bcd*.
- (a) Per il 10% di espressione (90% di repressione) il 10% del repressore si è legato all'induttore, e il 90% è libero e disponibile per legarsi all'operatore. Il calcolo utilizza l'Equazione 5.8 (pagina 169), con $\theta = 0,1$ e $K_d = 10^{-4}$ M.

$$\theta = \frac{[IPTG]}{[IPTG] + K_d} = \frac{[IPTG]}{[IPTG] + 10^{-4} \text{ M}}$$

$$0,1 = \frac{[IPTG]}{[IPTG] + 10^{-4} \text{ M}}$$

$$\text{così } 0,9[IPTG] = 10^{-5}$$

$$\text{o } [IPTG] = 1,1 \times 10^{-5} \text{ M}$$

Per il 90% di espressione, il 90% del repressore è legato all'induttore, quindi $\theta = 0,9$. Sostituendo i valori di θ e K_d nell'Equazione 5.8 si ottiene $[IPTG] = 9 \times 10^{-4}$ M. Quindi, l'espressione genica varia di 10 volte per una variazione di circa 10 volte della $[IPTG]$. (b) C'è da aspettarsi che i livelli delle proteine dell'operone *lac* siano bassi prima dell'induzione, aumentino durante l'induzione, per poi diminuire quando la sintesi si ferma e le proteine vengono degradate. (c) Come mostrato in (a), l'operone *lac* ha più livelli di espressione, anziché essere semplicemente acceso (on) o spento (off), quindi è privo della caratteristica A. Come mostrato in (b), l'espressione dell'operone *lac* diminuisce una volta che l'induttore viene rimosso, quindi non è presente la caratteristica B. (d) *GFP-on*: rep^{ts} e GFP sono espressi a livelli elevati; rep^{ts} reprime OP_{λ} , quindi non viene prodotta la proteina LacI. *GFP-off*: la proteina LacI è espressa a livelli elevati, LacI reprime OP_{lac} , quindi rep^{ts} e GFP non vengono prodotti. (e) L'IPTG commuta il sistema da GFP-off a GFP-on. L'IPTG

ha effetto solo quando LacI è presente, quindi coinvolge solo lo stato GFP-off. L'aggiunta dell'IPTG rimuove la repressione di OP_{lac} , permettendo l'espressione di rep^{ts} a livelli elevati (che spegne l'espressione di LacI) e l'espressione di GFP a livelli elevati. **(f)** Il trattamento al calore cambia il sistema da GFP-on a GFP-off. Il calore ha effetto solo quando rep^{ts} è presente, quindi coinvolge solo lo stato GFP-on. Il calore inattiva rep^{ts} e rimuove la repressione di OP_{λ} , permettendo l'espressione a livelli elevati di LacI. LacI quindi agisce a livello di OP_{lac} per reprimere la sintesi di rep^{ts} e di GFP. **(g)** *Caratteristica A*: il sistema non è stabile allo stato intermedio. A un certo punto un repressore agirà più di un altro, a causa delle fluttuazioni dell'espressione;

ciò interrompe l'espressione dell'altro repressore, e blocca il sistema in uno stato. *Caratteristica B*: una volta che un repressore viene espresso, esso impedisce la sintesi dell'altro; quindi il sistema rimane in uno stato anche quando lo stimolo di *switching* (commutazione) è stato rimosso. **(h)** Le cellule non esprimono mai un livello intermedio di GFP; il che conferma la caratteristica A. A concentrazione intermedia (X) dell'induttore, alcune cellule sono passate allo stato GFP-on, mentre altre non hanno ancora mutato stato, e rimangono allo stato GFP-off. Nessuna cellula si trova in uno stato intermedio. La distribuzione bimodale dei livelli di espressione a $[IPTG] = X$ è dovuta alla presenza di una popolazione di cellule in parte GFP-on e in parte GFP-off.