

DISCIPLINA DE BIOQUÍMICA (QBQ215)
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - PERÍODO NOTURNO

PROFESSORES:

Profa. Dra. Ana Maria Carmona-Ribeiro amcr@usp.br Bloco 10 Sup, sala 1057

Prof. Dr. S. Chuck Farah (Coordenador) chsfarah@iq.usp.br Bloco 0, sala 10

MONITORES:

Doutoranda Ângela Aguirres Fachel afachel@iq.usp.br Bloco 12 Inf., sala 1200

Doutorando Alex Willian Arantes Monteiro alexw@iq.usp.br Bloco 0 Inf., Sala 7

INTRODUÇÃO E NORMAS GERAIS

A disciplina de Bioquímica (QBQ215-noturno) compreende o programa de módulos mostrado no calendário das páginas 4 e 5. Cada módulo focaliza um tópico a ser desenvolvido em um dia de aula, envolvendo 3 atividades:

- a) Aula expositiva pelo professor;
- b) Grupo de discussão: centrados em questões objetivas, e;
- c) Fechamento do tema pelo professor que analisará as questões discutidas em grupo.

Os grupos de discussão: serão formados por até 6 alunos (max.), organizados no primeiro dia de aula permanecendo fixos por todo o curso.

AVALIAÇÃO

A avaliação de desempenho será composta dos seguintes itens:

- a) Provas em grupo (pg1 a pg8), que consistirão num trabalho em grupo para resolução de questões objetivas por um período de 2 - 3 h (definido pelo professor);
- b) Provas escritas individuais de avaliação (P1, P2 e P3).

O cálculo da media final será feito através da seguinte fórmula:

$$\text{Média final} = 0.25 \times P1 + 0.30 \times P2 + 0.35 \times P3 + 0.10 \times ((\sum pg)/8)$$

Haverá uma única prova substitutiva para substituir uma das provas individuais de avaliação. Reposições de PG estão vedadas. A presença em todas as atividades é obrigatória, e uma lista de presença será passada em todos os dias de aula. Alunos que alcançarem a média final $\geq 5,0$ e mostrarem frequência $\geq 70\%$ estarão aprovados. Somente aqueles cuja média for no mínimo igual a 3,0 e apresentarem frequência $\geq 70\%$ poderão fazer a prova de recuperação.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

A bibliografia recomendada envolve 2 livros textos em português:

TORRES, B. B. & MARZZOCCO, A. **Bioquímica Básica**.

VOET, D. ; VOET, J. & PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**.

Mas existem outros excelentes textos de Bioquímica, em geral em inglês, como os exemplos abaixo, que poderão ser usados com igual proveito.

VOET, D. & VOET, J. **Biochemistry**.

STRYER, L.; BERG, J. M. AND TYMOCZKO, J. L. **Biochemistry**.

LEHNINGER, A. L. **Principles of Biochemistry**.

CALENDÁRIO DE MÓDULOS E ATIVIDADES 2006

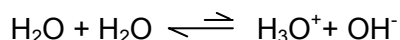
DATA	#	TÍTULO	
JULHO	31	1	INTRODUÇÃO ÁGUA, ÁCIDOS, BASES, pH E SISTEMA TAMPÃO.
AGOSTO	2	2	AMINOÁCIDOS
	5	3	PEPTÍDEOS
	7	4	PROTEÍNAS
	9	5	pg1
	12	6	PROTEÍNAS: ESTRUTURA PRIMÁRIA
	14	7	PROTEÍNAS: ESTRUTURA SECUNDÁRIA
SETEMBRO	16	8	ESTRUTURA TERCIÁRIA DE PROTEÍNAS
	19	9	ESTRUTURA TERCIÁRIA DE PROTEÍNAS
	21	10	MIOGLOBINA E HEMOGLOBINA
	23	11	pg2
	26	12	ENZIMAS
	28	13	ENZIMAS
	30	14	CINÉTICA ENZIMÁTICA
	2	15	pg3
	11	16	REVISÃO
	13	17	P1
OUTUBRO	16	18	FAMÍLIAS DE PROTEÍNAS, BIOINFORMÁTICA
	18	19	FAMÍLIAS DE PROTEÍNAS, BIOINFORMÁTICA
	20	20	ÁCIDOS GRAXOS e FOSFOLÍPÍDEOS
	23	21	MEMBRANAS BIOLÓGICAS
	25	22	MECANISMOS DE TRANSPORTE ATRAVÉS MEMBRANAS
	27	23	ESTRUTURA DE AÇÚCARES E CARBOIDRATOS
	30	24	pg4
	2	25	TERMODINÂMICA DE REAÇÕES QUÍMICAS E VIAS METABÓLICAS
4	26	GLICÓLISE	
7	27	CICLO DE KREBS	
9	28	CADEIA RESPIRATÓRIA E POTÊNCIAS REDOX	
11	29	FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA	

	14	-	Não haverá aula
	16	30	pg5
	18	31	GLICONEOGÊNESE
	21	32	METABOLISMO DE GLICOGÊNIO
	23	33	pg6
	25	34	P2
	28	35	BETA OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS
	30	36	SÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS
NOVEMBRO	1	37	VIA DOS PENTOSSES E A SÍNTESE DE NADPH
	4		Não haverá aula
	6	38	QUILOMICRONS, HDL, VLDL, LDL, COLESTEROL
	8	39	METABOLISMO DE NITROGÊNIO, URÉIA E AMINOÁCIDOS
	11	40	AÇÃO HORMONAL
	13	41	AÇÃO HORMONAL
	15		Não haverá aula
	18	42	pg7
	20	43	INTEGRAÇÃO METABÓLICA
	22	44	INTEGRAÇÃO METABÓLICA
	25	45	pg8
	27	46	NUTRIÇÃO
	29	47	NUTRIÇÃO
DEZEMBRO	2	48	FOTOSSÍNTESE
	4	49	P3
	6	50	período de estudo
	9	51	Substitutiva
	18	52	Recuperação

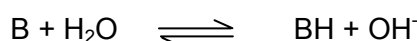
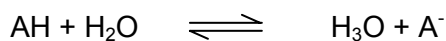
ÁGUA, REAÇÃO ÁCIDO-BASE, pH E SISTEMA TAMPÃO.

1. A molécula de água, H₂O, apresenta um ângulo de 104,5 graus entre as duas ligações O-H, dando-lhe um caráter altamente polar. Além disso, o átomo de O possui 2 pares de elétrons livres, permitindo a formação de ligações (ou pontes) de H entre moléculas vizinhas. Esta estrutura dá à água propriedades físicas e químicas de enorme importância biológica.

2. A água se ioniza através de uma reação ácido-base:



A reação ácido-base se caracteriza pela troca de prótons entre pares conjugados de ácidos e bases. A água pode se comportar como ácido e como base:



Estas são reações de equilíbrio, às quais correspondem constantes de equilíbrio definidas. Por exemplo:

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}][\text{H}_2\text{O}]}$$

K mede a afinidade relativa das bases, de cada par ácido-base conjugados (AH/ A⁻ e H₃O⁺/ H₂O), por prótons. Fala-se comumente em constante de dissociação de um ácido (K_a), significando: **K_a = K [H₂O] = $\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$** , onde [H₂O] é essencialmente constante (55 M).

3. [H⁺] é a concentração hidrogeniônica e os valores de [H⁺] para a maioria das soluções são muito baixos e difíceis de serem comparados. Um valor mais prático é conhecido como pH:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+].$$

como $1/[\text{H}^+] = 1/K \times [\text{A}^-]/[\text{AH}]$

pode-se obter $\text{pH} = -\log K + \log [\text{A}^-]/[\text{AH}]$

por analogia $-\log K = \text{pK}$

e **$\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{A}^-]/[\text{AH}]$**

Conclui-se que pK é numericamente igual a pH da solução na qual as concentrações molares do ácido e sua base conjugada são iguais (ie $\log [\text{A}^-]/[\text{AH}] = 0$).

A igualdade $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{A}^-]/[\text{AH}]$ é conhecida como **Equação de Henderson-Hasselbach**.

4. Ácidos são classificados de acordo com sua força relativa, ou seja, de acordo com sua capacidade de transferir um próton para a água. Ácidos com constantes de dissociação menores do que aquela de H₃O⁺ (que, por definição, é igual a 1 em soluções aquosas (vê se consegue confirmar porquê!)) são só parcialmente ionizados em soluções

aquosas e são conhecidos como ácidos fracos ($K < 1$). Já os ácidos fortes têm constantes de dissociação maiores que a de H_3O^+ , sendo quase completamente ionizados em soluções aquosas ($K > 1$).

5. Tampões são sistemas aquosos que tendem a resistir a variações no seu pH quando pequenas quantidades de ácido (H^+) ou base (OH^-) são adicionadas. Um sistema tampão consiste de um ácido fraco (o doador de prótons) e sua base conjugada (o aceptor de prótons). É comum encontrarmos os seguintes símbolos para representar um ácido (AH ou BH^+) e sua base conjugada (A^- ou B).
6. A adição de ácido forte (H^+) ou base forte (OH^-) a uma solução aquosa de um ácido fraco, por exemplo, ácido acético ($\text{pK}_a = 4,76$), causa pequenas variações de pH, se a solução estiver a um pH próximo do pK do ácido. Este comportamento define um tampão ácido-base.

Grupos de discussão

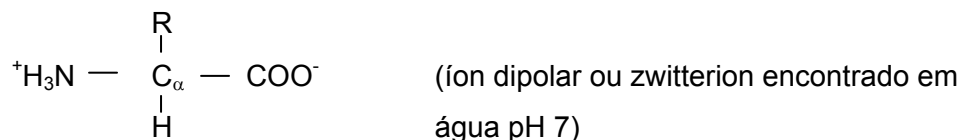
- 1.) Defina ácidos e bases no conceito de Brønsted, mostrando exemplos.
- 2.) a) Qual o pH de soluções 0,1M dos ácidos fortes HCl e HNO_3 .
b) Usar a equação Henderson-Hasselbach para calcular o grau de dissociação dos ácidos fracos a) H_2S ($K_a = 1 \times 10^{-7}$) e b) ácido acético ($K_a = 2 \times 10^{-5}$) em soluções 0,1M. Qual o respectivo pH dessas soluções.
- 3.) Esquematize a curva de titulação de 1 litro de uma solução de 0.1 M H_3PO_4 com uma solução de 10 M NaOH , colocando pH (eixo y) em função de volume de base adicional (eixo x). Indicar os pontos na titulação (volumes de NaOH) em que o pH equivale cada um dos pK_a s do ácido.
- 4.) Indique como se pode preparar 1L de um tampão a $\text{pH} = 7,0$, capaz de manter o pH estável com adição de 10mL de HCl 0,1M, dispondo-se das soluções:
 - a) 1M H_3PO_4
 - b) 1M ácido acético
 - c) 1M NaOH
- 5.) Desenhar a estrutura de gelo, mostrando pontes de hidrogênio entre moléculas de água.

O que acontece quando o gelo derrete? Porquê água líquida em 4°C é mais denso do que gelo em 0°C?

6.) Desenhar a estrutura de NaCl no estado sólido e também no estado aquoso, neste último, destacando suas interações com água.

AMINOÁCIDOS.

1. Aminoácidos, bases purínicas e pirimidínicas, nucleosídeos e nucleotídeos, hexoses (como glicose), são componentes monoméricos dos principais polímeros biológicos, ou seja, proteínas, ácidos nucleicos (DNA e RNA) e polissacarídeos (glicogênio, amido e celulose). Aminoácidos, bases, nucleosídeos e nucleotídeos são muito solúveis em água e possuem grupos funcionais que participam em reações ácido-base. Glicose também é altamente solúvel em água, mas não participa em reações ácido-base.
 - i. Há 20 aminoácidos que compõem proteínas (Tabela 1), todos mostrando a fórmula geral:

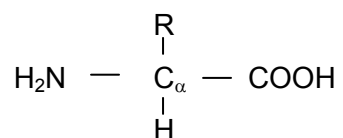


2. Aminoácidos podem ser agrupados em classes com base nas propriedades dos seus grupos radicais (R), em particular sua polaridade ou tendência de interagir com água em pH biológico ($\pm 7,0$).
3. Todos os aminoácidos livres comportam como ácidos polipróticos. Quando um aminoácido cristalino é dissolvido em água, ele pode agir como um ácido ou como uma base. O grupo carboxílico mostra um pK em torno de 2,0, enquanto o grupo amino tem um pK entre 9,0 e 10,0. Portanto, no pH fisiológico (pH 7,0), a maioria das moléculas de todos os aminoácidos estão na forma de íons dipolares (zwitterions). **Chama-se pI de um aminoácido o pH da solução na qual suas moléculas possuem carga líquida nula.** Na cadeia lateral (-R) os aminoácidos apresentam grupos funcionais, entre os quais existem grupos ácido-base.

4. O carbono α dos aminoácidos, excetuando-se a glicina, é assimétrico, fazendo com que estas substâncias tenham atividade ótica e, portanto, apresentem pares de isômeros óticos.

Grupo de discussão:

- 1.) Quais dos aminoácidos têm dois carbonos quirais e qual deles não possui isomeria ótica?
- 2.) Mostre por que a seguinte forma associada de um aminoácido não pode ser encontrada em solução aquosa.



- 3.) O etanol não tem caráter ácido em água, enquanto fenol e ácido acético se dissociam em solução aquosa, sendo o ácido acético ($\text{pK}=4,8$) mais forte que o fenol ($\text{pK}=10$). Como se pode explicar o comportamento destes três compostos em água a partir de suas estruturas moleculares?
- 4.) Esquematize a curva de titulação da glicina com NaOH a partir de $\text{pH}=1$ e do ácido aspártico com HCl a partir de $\text{pH}=11$. Coloque o pH na ordenada e, na abscissa, a quantidade de equivalentes de ácido ou base forte.
- 5.) a) Quais os pontos isoelétricos de glicina ($\text{pKs}=2,5$ e $9,5$), ácido aspártico ($\text{pKs}=2,5$; $4,0$ e $9,5$), lisina ($\text{pKs}=2,5$; $9,5$ e 10) e histidina ($\text{pKs}=2,5$; $6,0$ e $9,5$)?
- b) Calcular as cargas líquidas (aproximadas) de ácido aspártico, lisina **ou** histidina nos seguintes pHs: pH 1, pH 8, pH 11
- 6.) Tentar classificar os aminoácidos em termos da natureza química dos seus grupos radicais: a) ionizáveis ou não ionizáveis, b) ácidos ou básicos, c) polares ou não polares, d) hidrofílicos ou hidrofóbicos, e) alifáticos ou aromáticos, f) lineares ou ramificados e g) pequenos e grandes.

TABELA 1

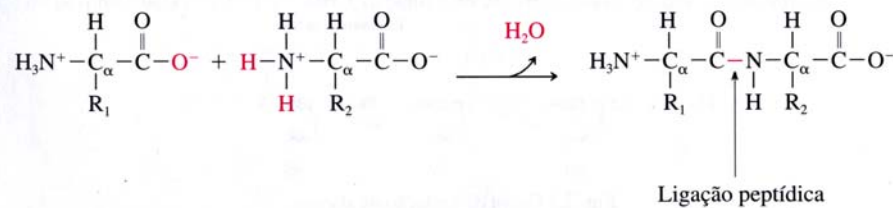
Apolares (Hidrófobos)	
	Glicina (Gly)
	Alanina (Ala)
	Valina (Val)
	Leucina (Leu)
	Isoleucina (Ile)
	Metionina (Met)
	Prolina (Pro)
	Fenilalanina (Phe)
	Triptofano (Trp)

Polares (Hidrófilos)	
Polares sem carga	
	Serina (Ser)
	Treonina (Thr)
	Cisteína (Cys)
	Asparagina (Asn)
	Glutamina (Gln)
	Tirosina (Tyr)
Polares com carga positiva (Básicos)	
	Lisina (Lys)
	Arginina (Arg)
	Histidina (His)
Polares com carga negativa (Ácidos)	
	Aspartato (Asp)
	Glutamato (Glu)

Fig. 2.1 Estrutura e classificação dos aminoácidos.

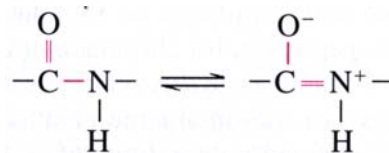
ESTRUTURA PRIMÁRIA DE PROTEÍNAS.

1. A descrição da estrutura das proteínas é dividida em quatro níveis de organização: estrutura primária, secundária, terciária e quaternária.
2. A estrutura primária se refere à seqüência de aminoácidos que compõem a proteína. Trata-se, portanto, da estrutura de ligações covalentes. **A principal ligação covalente entre aminoácidos é a ligação peptídica.** Os aminoácidos podem formar polímeros através da ligação do grupo carboxila de um aminoácido com o grupo amino de outro. Esta ligação carbono-nitrogênio chamada ligação peptídica, é obtida por exclusão de uma molécula de água. Quimicamente, a formação da ligação peptídica pode ser representada pela seguinte equação:



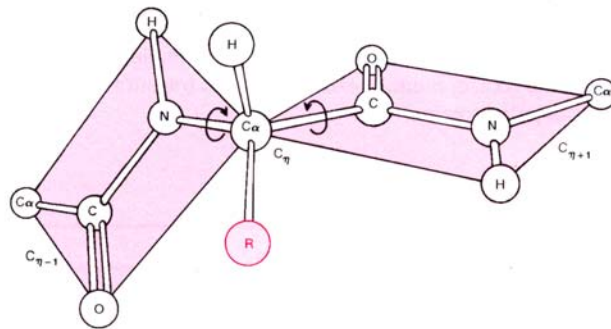
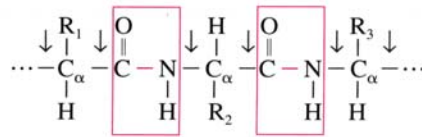
Esta reação, como esta escrita, jamais ocorre nos seres vivos. A união dos aminoácidos por ligação peptídica não é feita por reação direta entre eles, mas através de um complexo aparato de síntese protéica, que inclui ribossomos, ácidos ribonucléicos, várias proteínas e enzimas num processo chamado “tradução”. A equação mostra apenas o resultado líquido do processo.

3. As propriedades da ligação peptídica impõem restrições ao dobramento do polímero formado. A ligação peptídica apesar de ser representada por um único traço de ligação, tem características intermediárias entre uma ligação simples e uma dupla ligação, devido as interações entre duas formas de ressonância.

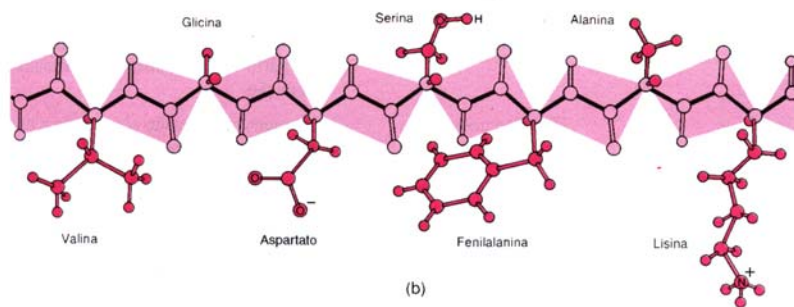


A consequência desse caráter parcial de dupla ligação é que não há possibilidade de rotação em torno da ligação peptídica. Assim sendo, os quatro átomos dos grupamentos que participam da ligação peptídica ficam dispostos em um plano rígido, constituindo o que se costuma chamar de grupo peptídico ou unidade peptídica (vide

retângulos) Notar também que os dois carbonos alfa (C_{α}) vizinhos de cada ligação peptídica também se encontram o plano.



(a)



(b)

Marzzocco & Torres, Bioquímica Básica.

O polímero formado pode, portanto, ser visualizado como uma cadeia constituída por unidades planares (unidades peptídicas), unidas entre si com uma articulação flexível: o carbono α . Esta cadeia chama-se cadeia polipeptídica. As proteínas podem ser formadas por uma ou mais cadeias polipeptídicas.

4. Todavia, existem pontos de dobramento entre as unidades peptídicas rígidas, graças a possibilidade de rotação em torno das ligações com o carbono alfa ($N-C_{\alpha}$ e $C_{\alpha}-C$), que são ligações efetivamente simples (vide figura acima). Estas ligações são chamados phi (ϕ) e psi (ψ) respectivamente.
5. A cadeia polipeptídica pode ser dividida entre a **cadeia principal** e as **cadeias laterais** (grupos R) ligados aos carbonos alfa.

Grupo de discussão:

- 1.) Defina estrutura primária, secundária, terciária e quaternária de uma proteína, dando exemplos.
- 2.) Esquematize a estrutura de uma ligação peptídica.
- 3.) **a)** Desenhar o tripeptídeo Ala-Asp-His. **b)** Calcular o seu pl. **c)** Calcular sua carga líquida em pH 1, pH 6,0 e pH 12.
- 4.) Com os dados abaixo, defina a seqüência do peptídeo analisado: **a)** hidrólise ácida total resultou em: Arg, Tyr, Leu, Ala, Glu Lys, Ser e Pro; **b)** dansilação e hidrólise produziu: dansil-Leu; **c)** dois ciclos consecutivos de degradação de Edman liberaram, respectivamente Leu e Tyr; **d)** tripsina liberou 2 peptídeos cujas composições, após hidrólise ácida total, foram, respectivamente (Tyr, Leu, Arg,) e (Ser, Glu, Pro, Ala Lys); **e)** carboxipeptidase A não liberou nada, mas carboxipeptidase C liberou Ser; **f)** endopeptidase V8 liberou o tripeptídeo Lys-Pro-Ser e um pentapeptídeo que, tratado com carboxipeptidase C, liberou Ala.
- 5.) Mostre a reação de óxido-redução da cisteína que é importante na estrutura de peptídeos.

ESTRUTURA SECUNDÁRIA E TERCIÁRIA DE PROTEÍNAS.

1. A estrutura secundária é definida pela conformação local do esqueleto de ligações peptídicas que compõe o eixo da proteína. Esta conformação local pode ser explicitamente expressa através dos ângulos phi (ϕ) e psi (ψ) (vide acima). Em geral, certas combinações de ângulos phi (ϕ) e psi (ψ) são permitidas enquanto outras não são permitidas devido a impedimentos estéricos entre átomos de grupos vizinhos. Este princípio pode ser resumido numa diagrama de Ramachandran (Figura 1).

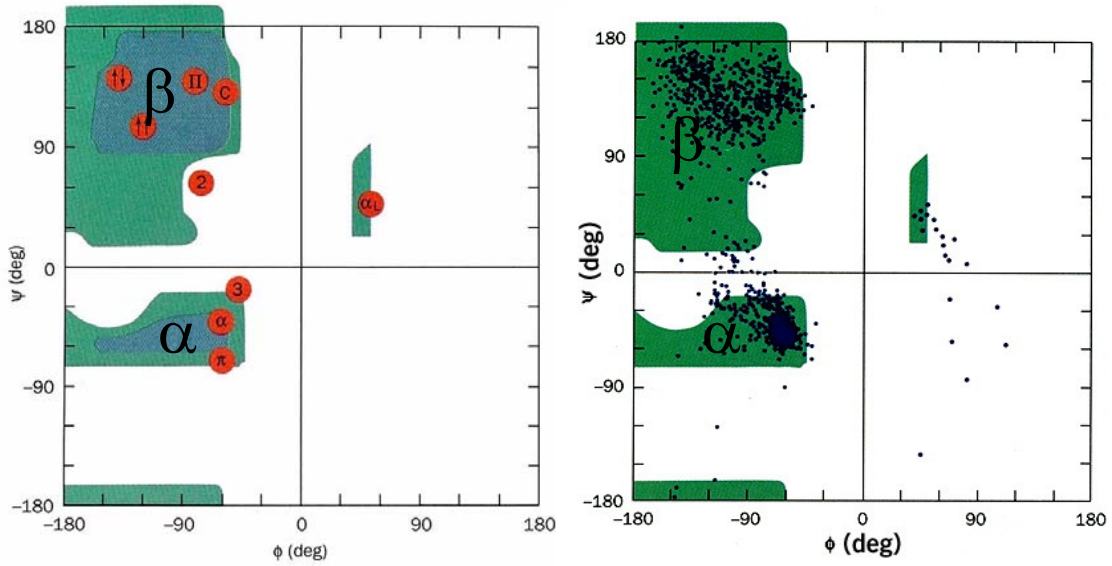


FIGURA 1: Diagramas de Ramachandran. Esquerda: Estruturas secundárias correspondentes às combinações estericamente permitidas para ângulos phi e psi. Direita: ângulos observados para todas as ligações em 12 proteínas com estruturas de alta resolução determinadas por cristalografia.

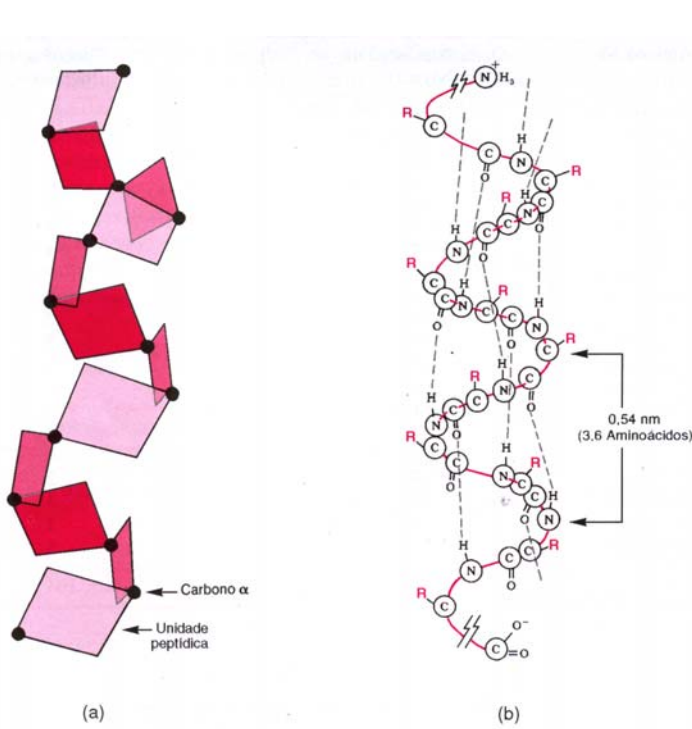


Figura 2: alfa hélice

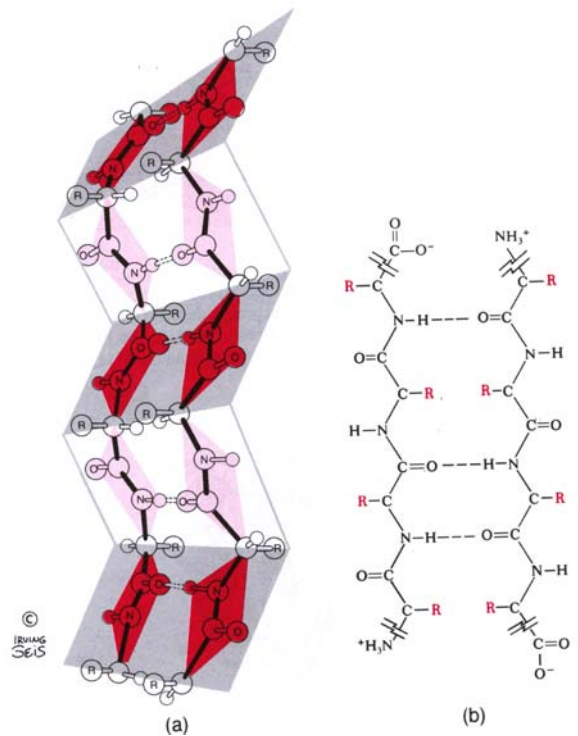
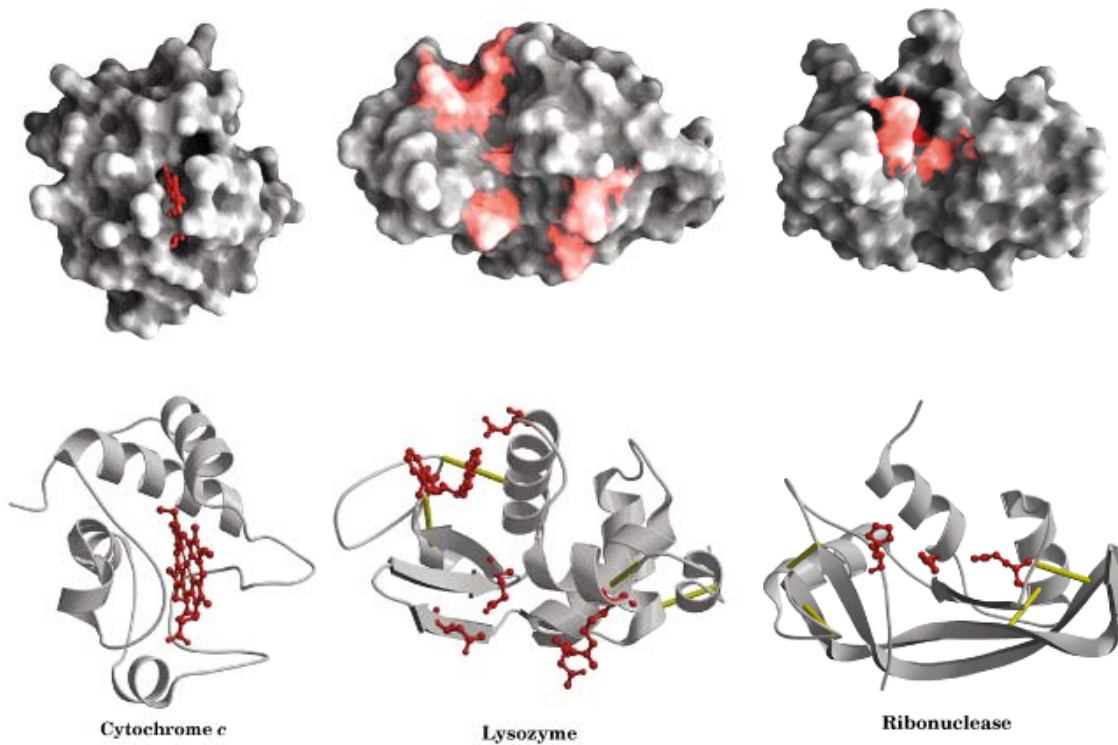


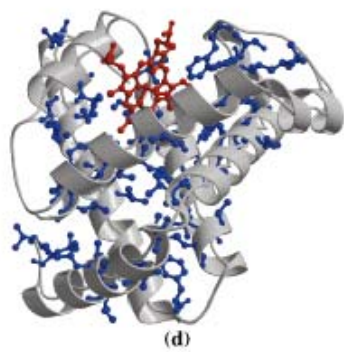
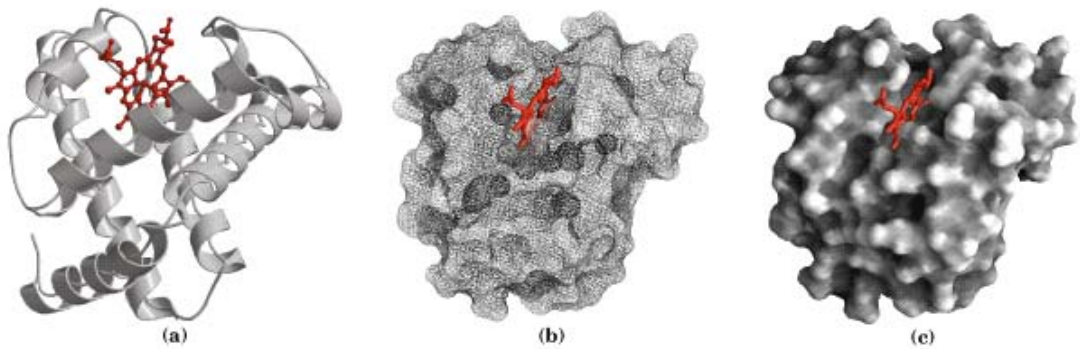
Figura 3: folha beta

2. Há duas estruturas secundárias principais: α -hélice (Figura 2) e folha β pregueada (Figura 3), que são estruturas organizacionais regulares e repetitivas. Estas duas estruturas podem ser caracterizadas por combinações de ângulos phi e psi (Figura 1) adotadas pela cadeia principal. Além de α -hélice e folha β , as proteínas globulares mostram também alças de formas definidas, mas irregulares e não repetitivas.
3. A estrutura terciária descreve o arranjo tridimensional da cadeia principal da proteína, incluindo a disposição espacial das cadeias laterais dos aminoácidos. Há muitas possibilidades de arranjos tridimensionais para a estrutura terciária das proteínas.
- a. As propriedades bioquímicas e biológicas de uma proteína são determinadas pelo arranjo tridimensional de sua cadeia, isto é, pela sua estrutura terciária. Logo, nas condições fisiológicas a proteína adquire uma estrutura terciária bem definida e necessária à sua função, que é conhecida como **estrutura nativa**. O desarranjo da estrutura terciária leva à perda de função da proteína, processo que é genericamente chamado de desnaturação.
 - b. Em proteínas pequenas a estrutura primária define a estrutura terciária nativa da proteína. Nestes casos os processos de desnaturação e renaturação da estrutura da proteína são reversíveis. A estrutura nativa é a conformação da proteína de menor nível de energia livre (G) e é alcançada espontaneamente (processo exergônico). O exemplo clássico desse comportamento é dado pela proteína Rnase A, uma enzima que no seu estado nativo catalisa a hidrólise de RNA. Para proteínas grandes o processo de desnaturação é irreversível e o fenômeno de alcance da conformação nativa é complexo e ainda mal entendido.
 - c. A estrutura tridimensional das proteínas é mantida por ligações fracas como pontes de H, ligações iônicas e interações hidrofóbicas. A exceção é a ponte de dissulfeto (-S-S-) que, apesar de covalente, é importante na manutenção da conformação nativa de proteínas.
 - d. Proteínas possuem muitos grupos ionizáveis através de reação ácido-base, cujos pKs variam enormemente. O pI de uma proteína é definido como pH da solução na qual a carga líquida da molécula de proteína é nula.

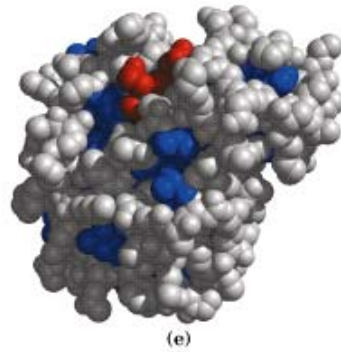
4. Existem muitas maneiras diferentes para apresentar estruturas tridimensionais de proteínas.



Estrutura de mioglobina de baleia, uma proteína globular típica



Fita (azul = Hφ)



modelo “space-filling”

Topografia
de superfície

Grupo de discussão:

- 1.) Distinga estrutura secundária e terciária de uma proteína. Dê exemplos.
- 2.) Descreva α -hélice e folha β pregueada. Aponte as diferenças essenciais entre estas formas de estrutura secundária, encontradas em peptídeos.
- 3.) Discutir as duas diagramas de Ramachandran apresentadas na Figura 1 e relaciona ela com as estruturas apresentadas nas Figuras 2 e 3.
- 4.) Descreva a experiência clássica de Anfinsen com a enzima ribonuclease A, indicando sua conclusão principal. Qual o papel das pontes de dissulfeto na manutenção da estrutura nativa (terciária) da ribonuclease. Conceitue estrutura nativa e desnaturação de proteínas, mostrando o que isso tem a ver com a atividade enzimática da ribonuclease A. Que função termodinâmica promove espontaneamente a transição da ribonuclease de desnaturada para nativa?
- 5.) Duas proteínas, apesar de terem diferenças quanto a alguns de seus aminoácidos, são capazes de desempenhar a mesma função. Explique como isto é possível.
- 6.) Pesquisar informações sobre a estrutura de hemoglobina. Descrever a sua estrutura terciária e quaternária. Descrever as mudanças na estrutura quaternária que acontecem devido à ligação de oxigênio.
- 7.) O que é efeito hidrofóbico e qual o seu papel na manutenção da estrutura terciária das proteínas? Qual o fator preponderante no efeito hidrofóbico: o entálpico ou o entrópico? Explique qualitativamente sua resposta.
- 8.) Mostre porque uréia desorganiza a α -hélice.

CINÉTICA ENZIMÁTICA.

1. Enzimas são catalisadores biológicos cuja natureza química é proteica. A natureza proteica das enzimas lhes proporciona alto grau de especificidade.
2. A grande maioria das reações biológicas não ocorre, ou ocorrem a velocidades baixíssimas nas condições fisiológicas de pH e temperatura. Logo, as reações biológicas, em geral, necessitam de catálise para ocorrer, isto é, necessitam de enzimas. Para cada reação há uma enzima específica.
3. Na reação genérica $A \rightarrow B$ a direção espontânea da reação é dada pela variação de energia livre, ΔG^0 , conforme esquematizado no gráfico da Figura 1.

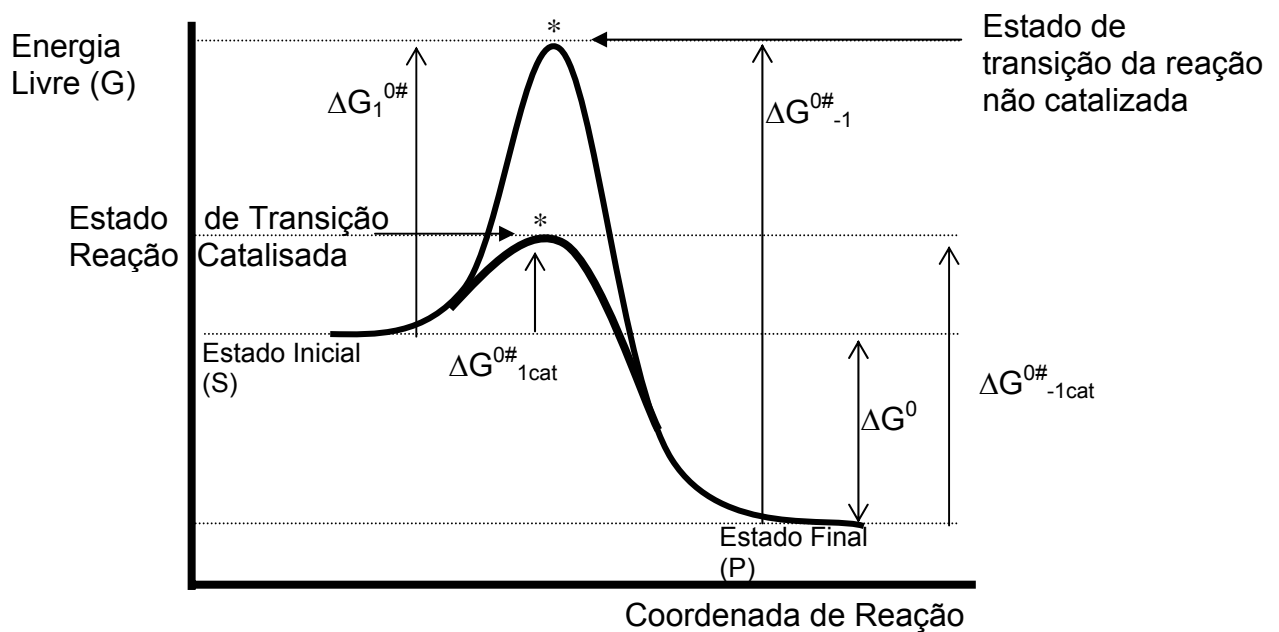
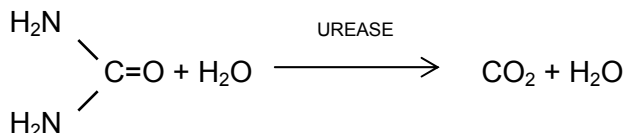


FIGURA 1

ΔG^0 é uma constante que se relaciona com a constante de equilíbrio da reação pela expressão $-\Delta G^0 = 2.3 RT \log K$. Por outro lado, as velocidades das reações $A \rightarrow B$ e $B \rightarrow A$ ou, respectivamente, as constantes de velocidade k_1 e k_{-1} não dependem do ΔG^0 da reação, mas dos, respectivos, $\Delta G_1^{0\#}$ e $\Delta G_{-1}^{0\#}$, que por sua vez só dependem da energia livre (G) do estado de transição (energias de ativação). **A enzima (catalisador) não muda o ΔG^0 da reação, pois catalisadores não interferem com os estados inicial e final das reações,**

mas mudam o “caminho” da reação e, por conseqüência diminuem a energia do Estado de Transição.

4. Uréia é uma substância muito estável em água, mas que pode ser rapidamente decompostas por hidrólise se a reação for catalisada pela **enzima urease**:



Trata-se de reação de primeira ordem, onde $v=k_1[\text{uréia}]$, apesar da equação estequiométrica indicar a existência de 2 reagentes. Esta reação pode ser acompanhada em tubo de ensaio no laboratório. As Tabelas 1 e 2 mostram resultados obtidos na prática.

TABELA 1

Tubo nº	Tempo (minuto)	NH ₃ (μmoles)
1	0	0
2	2	0.084
3	4	0.168
4	6	0.252
5	8	0.336
6	10	0.420

Concentração da uréia: 5mM, Concentração da urease: 0.1μg/ml

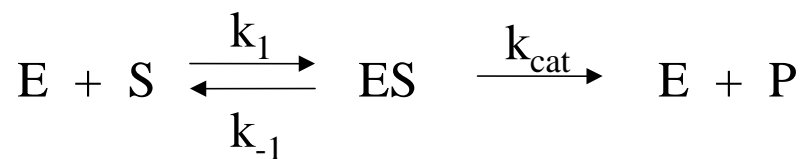
Volume de reação: 1ml, Temperatura: 30°C

Os dados da Tabela 1 mostram que a velocidade da reação é constante ao longo do tempo estudado. Já os dados da Tabela 2 mostram variações relativamente complexas da **velocidade de reação em função da concentração da uréia** para um período de 10 minutos de reação. Os dados da Tabela 2 permitem medir experimentalmente duas constantes importantes das reações enzimáticas V_{max} (v máximo) e K_m (constante de Michaelis) através da equação $v = V_{\text{max}}[\text{S}] / (K_m + [\text{S}])$

TABELA 2

Tubo nº	Uréia (mM)	Urease (µg)	NH ₃ (µmoles)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

O significado de V_{max} e K_m são definidos no modelo de cinética enzimática proposto por Michaelis e Menten no início do século passado onde ES é um **complexo enzima – substrato** formado antes de conversão do substrato em produtos.



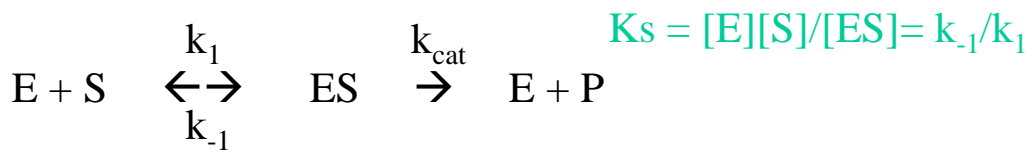
A derivação da **equação Michaelis – Menten**

$$v = V_{max}[S] / (K_m + [S]) = k_{cat}[E_t][S] / (K_m + [S])$$

é apresentada na figura da próxima página.

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

Velocidade naquela [S] → V_0
 Velocidade máxima → V_{\max}
 Concentração do substrato → [S]
 K_m → K_{diss} aparente do Complexo enzima-substrato
 Fração de E_{tot} na forma de ES = $[S]/(K_{\text{diss}} + [S])$



Velocidade de reação = $d[P]/dt = k_{\text{cat}}[ES]$

Podemos assumir que $d[ES]/dt = 0$ (assunção de estado estacionário)

Logo: taxa de formação de ES = taxa de sua destruição

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

$$k_1\{[E_{\text{TOT}}] - [ES]\}[S] = (k_{-1} + k_{\text{cat}})[ES]$$

$$k_1[E_{\text{TOT}}][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_{\text{cat}})[ES]$$

$$k_1[E_{\text{TOT}}][S] = k_1[ES][S] + (k_{-1} + k_{\text{cat}})[ES]$$

$$k_1[E_{\text{TOT}}][S] = [ES]\{k_1[S] + (k_{-1} + k_{\text{cat}})\}$$

$$[ES] = k_1[E_{\text{TOT}}][S] / \{k_1[S] + (k_{-1} + k_{\text{cat}})\}$$

$$[ES] = [E_{\text{TOT}}][S] / \{[S] + (k_{-1} + k_{\text{cat}})/k_1\}$$

$$[ES] = [E_{\text{TOT}}][S] / \{[S] + K_M\} \text{ onde } K_M = (k_{-1} + k_{\text{cat}})/k_1$$

Logo: velocidade = $k_{\text{cat}}[E_{\text{TOT}}][S]/(K_M + [S])$

$$V_0 = V_{\max}[S]/(K_M + [S]) \text{ onde } V_{\max} = k_{\text{cat}}[E_{\text{TOT}}]$$

Notar que $K_M = (k_{-1} + k_{\text{cat}})/k_1$

Logo, se $k_{-1} \gg k_{\text{cat}} \rightarrow K_M = k_{-1}/k_1 = K_s = [E][S]/[ES] =$
 Constante de dissociação do complexo ES (enzima-substrato)

Condição de equilíbrio rápido
 Entre E, S e ES.

5. Substâncias que reduzem a atividade de uma enzima são chamadas **inibidores**. Em termos gerais, inibidores podem atuar em várias maneiras. Aqui vamos focalizar em **inibidores que ligam reversivelmente com a enzima com constantes de dissociação K_i** . Estes tipos de inibidores podem atuar em duas maneiras diferentes: a) Eles podem competir com o substrato para o mesmo sítio de ligação na superfície da enzima livre. Neste caso são chamados **inibidores competitivos** ou b) Eles podem ligar em em outro sítio na enzima livre (E) e/ou no complexo enzima-substrato (ES). Estes inibidores são chamados **inibidores mistos/não-competitivos** se podem ligar a E e ES e são chamados **acompetitivos** se ligam somente ao complexo ES.

6. A presença de um inibidor competitivo se manifesta em uma mudança no valor do K_m
 $K_{m_{obs}} = K_m(1+[I]/K_i) = \alpha K_m$ **onde $(1+[I]/K_i)$**

7. A presença de um inibidor mista/não-competitivo se manifesta em uma mudança nos valores do K_m e no valor do V_{max}

$$K_{m_{obs}} = K_m(1+[I]/K_i)/(1+[I]/K_i') = \alpha K_m / \alpha'$$

$$V_{max_{obs}} = V_{max} / \alpha'$$

8. A presença de um inibidor incompetitivo se manifesta em uma mudança nos valores do K_m e no valor do V_{max}

$$K_{m_{obs}} = K_m / (1+[I]/K_i) = K_m / \alpha'$$

$$V_{max_{obs}} = V_{max} / \alpha'$$

Grupo de discussão:

- 1.) As velocidades de uma reação enzimática foram determinadas para diversas concentrações de substrato, conforme a tabela abaixo:

[S] (μM)	V ($\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$)
5	22
10	39
20	65
50	102
100	120
200	135

Os gráficos de, respectivamente, V em função de [S] e 1/V em função de 1/[S] podem servir para determinar K_M e V_{max} ? Como?

- 2.) Numa reação enzimática, o valor de V_{max} , mas não o de K_M é diretamente proporcional à concentração da enzima? Justifique.
- 3.) A velocidade inicial de uma reação enzimática em função da concentração do substrato S, na ausência e na presença dos inibidores A e B segue os dados da tabela abaixo:

[S] (μM)	Velocidade ($\mu\text{mol/L} \times \text{min}$)		
	Sem I	Com Inibidor A	Com Inibidor B
1,25	1,72	0,98	1,01
1,67	2,04	1,17	1,26
2,5	2,63	1,47	1,72
5,0	3,33	1,96	2,56
10,0	4,17	2,38	3,49

- a. Qual é a classe dos inibidores A e B?
- b. Determine V_{max} e K_M na ausência e presença dos inibidores.
- 4.) Utilizando-se dos valores de K_M e V_{max} determinados nas questões 1 e 3, esquematize num mesmo gráfico, para as duas reações, V em função da concentração de substrato,

expressa em múltiplos de K_M . No eixo dos Y ajuste arbitrariamente as escalas para cada reação fazendo coincidir os pontos de $V = V_{max}$. Como são as curvas para duas reações? Justifique o resultado.

- 5.) O que são enzimas alostéricas? Defina utilizando-se de gráficos esquemáticos de V em função de $[S]$, compare uma enzima michaeliana (da questão 4) com uma enzima alostérica positiva e com uma enzima alostérica negativa.

MECANISMOS DE CATÁLISE ENZIMÁTICA.

1. **Catálise ácido/base – catálise por transferência de prótons.** A catálise ácida é um processo no qual a transferência parcial de prótons de um ácido para o estado de transição diminui a energia livre do estado de transição de uma reação. A reação pode ser também estimulada por uma catálise básica se a taxa de reação aumentar com a abstração de um próton por uma base. Algumas reações podem ser sujeitas simultaneamente a ambos os processos, caracterizando uma catálise ácido-base. Em reações catalizadas por enzimas os ácidos e bases catalizadores são grupos específicos ionizáveis da enzima localizados no seu **sítio ativo/sítio catalítico**. A mutarrotação da glicose (Figura 1) e a catálise da ribonuclease pancreática bovina A (RNase A) (Figura 2) são exemplos de catálise ácido-base.

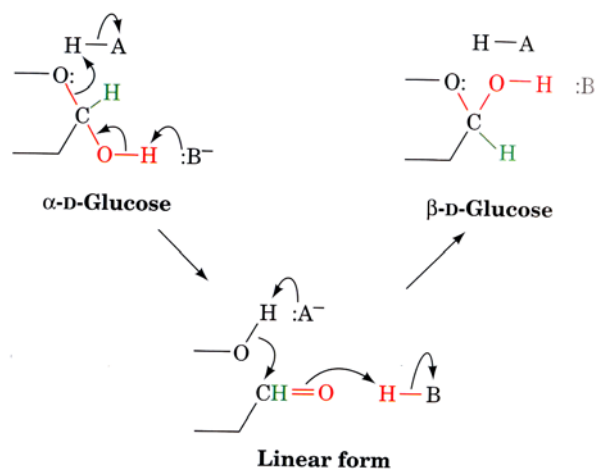


Figura 1

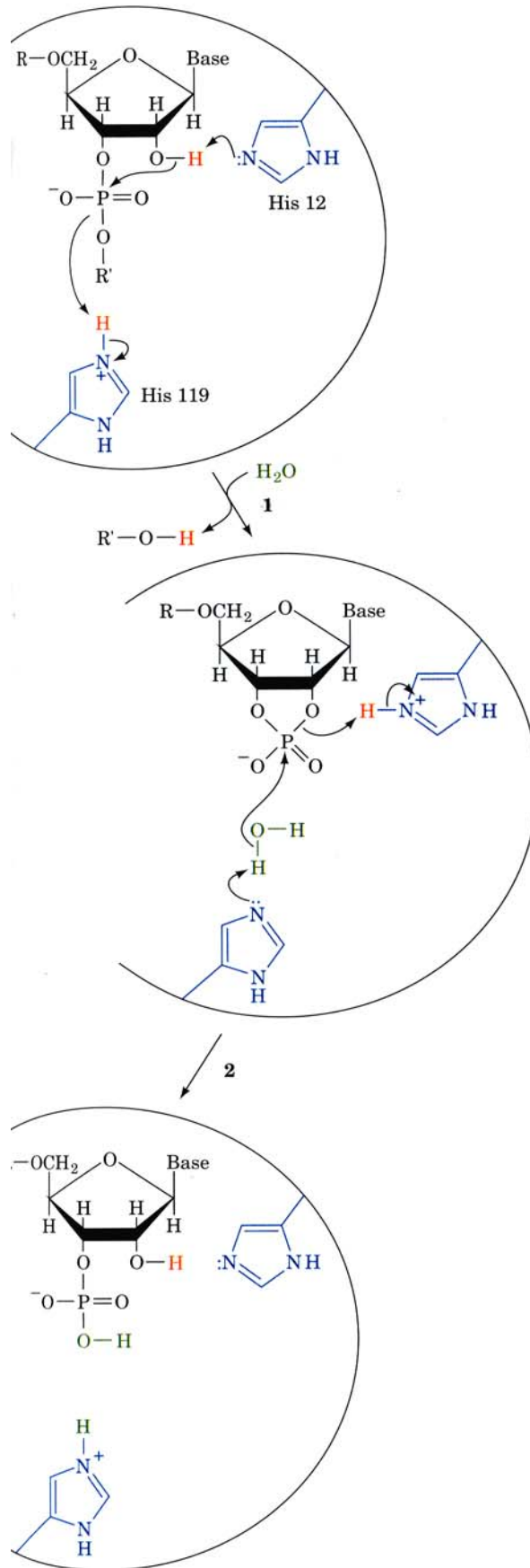
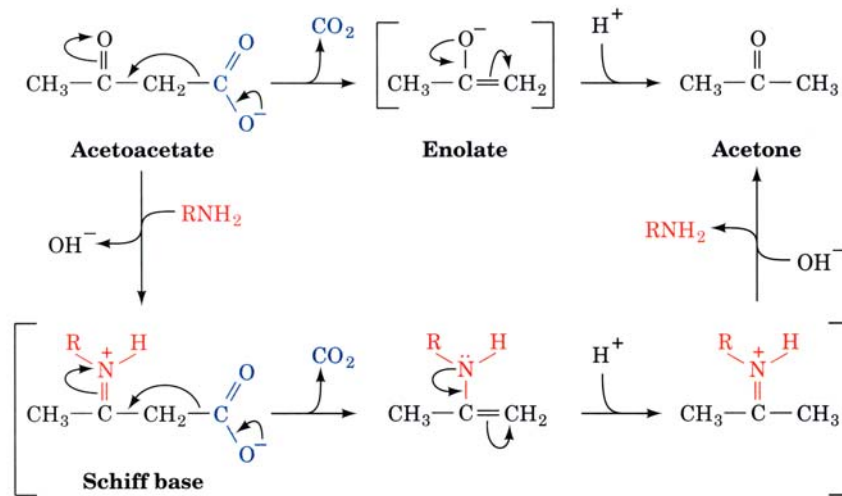
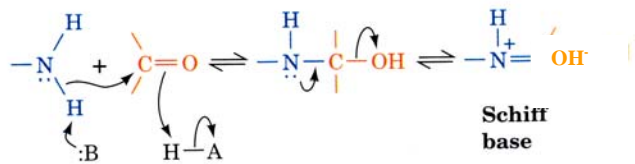


Figura 2:
Ribonuclease A

2. Catálise covalente envolve a aceleração da taxa de reação através da formação transiente de uma ligação covalente substrato-catalisador. A descarboxilação do acetoacetato é um exemplo deste processo:



No primeiro estágio desta reação, a amina faz um ataque nucleofílico ao grupo carbonila do acetoacetato formando uma base de Schiff (ligação imina).



O átomo de nitrogênio protonado do intermediário covalente atua como um receptor de elétrons reduzindo assim o caráter de alta energia do enolato. A catálise covalente possui estágios nucleofílicos e eletrofílicos. A catálise covalente pode ser dividida conceitualmente em três estágios:

- 1) A reação nucleofílica entre o catalisador e o substrato formando uma ligação covalente.
- 2) A perda de elétrons do centro da reação pelo catalisador agora eletrofílico.
- 3) A eliminação do catalisador que é uma reação essencial para retornar ao estágio 1.

Grupo de discussão:

- 1.) Examine a reação de hidrólise de RNA catalisada pela RNase A para verificar que se trata de um mecanismo de catálise ácido-base.
- 2.) Faça o gráfico da velocidade de uma reação enzimática em função do pH para uma enzima estável entre pHs 3 e 12, considerando que o substrato não possui grupos ionizáveis e a atividade enzimática exige no centro ativo uma carboxila ($pK_a = 5$) desprotonada e um grupo amino ($pK_a = 9$) protonado.
- 3.) Definir catálise eletrostática. Procure um exemplo de uma enzima que utiliza esta estratégia.
- 1.) Descrever o mecanismo empregado pelas serina proteases (tripsina, quimiotripsina, elastase, etc) para hidrolizar ligações peptídicas. Descrever todas as etapas da reação. Quais tipos de catálise são empregados em cada uma das etapas?

LÍPIDEOS, MEMBRANAS & TRANSPORTE.

1. Lípidos ou lipídeos são substâncias biológicas solúveis em solventes orgânicos, como clorofórmio e metanol e, praticamente, insolúveis em água. Os lípidos compreendem: a) ácidos graxos, em geral na forma de triacilgliceróis; b) glicerofosfolípidos; c) esfingolípidos; d) colesterol e derivados. Este módulo se restringe a ácidos graxos e triacilgliceróis.

2. Ácidos graxos são ácidos carboxílicos com longas cadeias hidrocarbonadas, encontrados na forma de tri-ésteres de glicerol. A maioria possui um número par de C, predominando os de 16 (ácido palmítico) e os de 18C (ácido oléico). Grande parte apresenta dupla ligação (insaturado) e muitos são poli-insaturados.

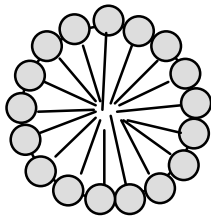
3 As propriedades físicas dos ácidos graxos dependem do grau de insaturação da cadeia hidrocarbonada. As moléculas dos ácidos graxos saturados são muito flexíveis, facilitando a atração e coesão entre si. Duplas ligações entre C impõe rigidez à cadeia, tornando-a menos flexível e limitando a coesividade entre as moléculas do ácido graxo. Em consequência disso,

a temperatura de fusão (transição de fase sólido/líquido)diminui com o grau de insaturação dos ácidos graxos.

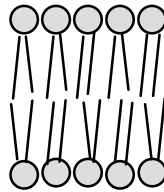
4. Os triacilglicerídeos desempenham um papel de reserva de energia metabólica. Algumas de suas propriedades físico-químicas são ideais para essa função: a) elevado grau de redução de seus C, maximizando a quantidade de energia livre liberada na oxidação e b) alta hidrofobicidade, permitindo estocagem livre de água (estoques anidros). Não é por acaso que os triglicerídeos compõe cerca de 90% da reserva de energia metabólica e também da dieta lipídica dos humanos.

5. Moléculas anfifílicas, como lipídeos com uma única cauda hidrofóbica, ácidos graxos livres e detergentes, quando em solução aquosa e acima de um limiar de concentração (**concentração micelar crítica ou cmc**) formam agregados globulares chamados micelas.

6. Por outro lado, lipídeos com duas caudas hidrofóbicas, como glicerofosfolipídeos e esfingolipídeos, tendem a formar bicamadas lipídicas, que são a base estrutural das membranas biológicas.

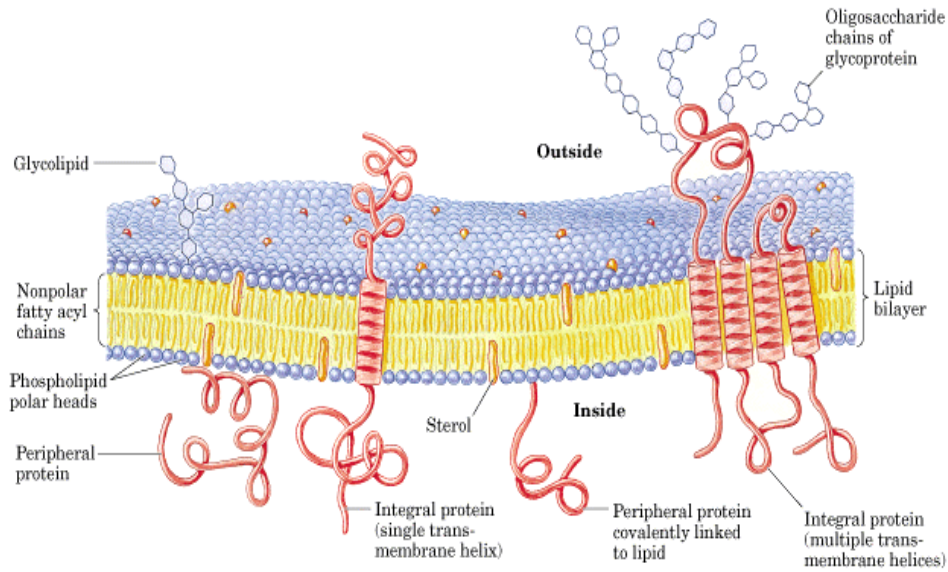


Micela



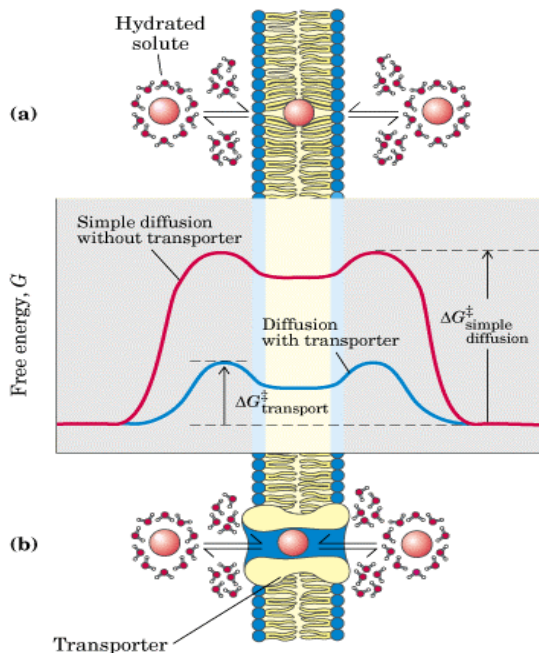
Bicamada

7. As membranas biológicas são compostas por proteínas associadas a uma matriz de bicamada lipídica. As proteínas que compõe as membranas pertencem a duas categorias: a) integrais ou intrínsecas e b) periféricas ou extrínsecas. Este arranjo estrutural foi originalmente proposto em 1972 por Singer e Nicholson como o modelo de mosaico fluído para as membranas biológicas, que plenamente confirmado por resultados experimentais estruturais e funcionais.



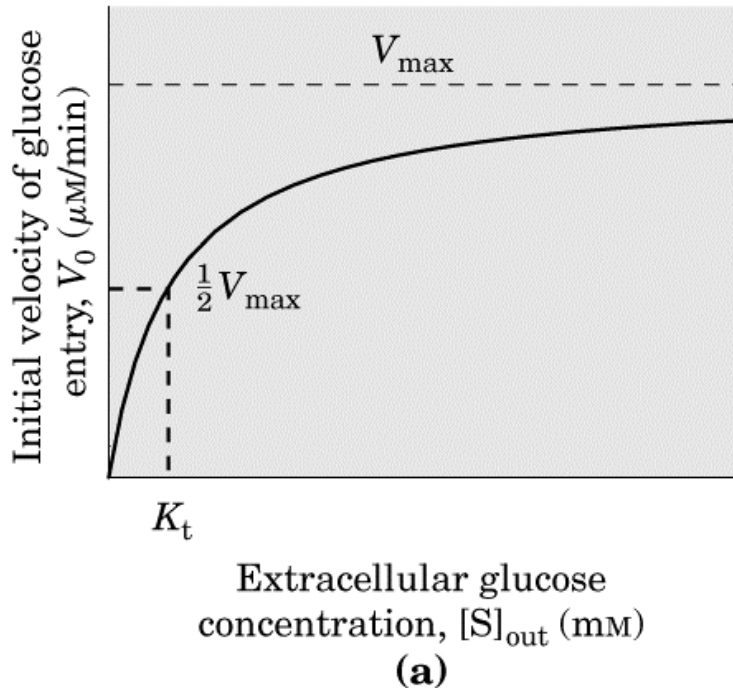
Modelo de mosaico fluido para membranas biológicas

8. As membranas são barreiras hidrofóbicas que oferecem grande resistência à passagem de solutos hidrofílicos, cuja permeação exige proteínas transportadoras específicas, conforme esquematizado na figura abaixo. Desta maneira a membrana, através de transportadores específicos, regula o transporte de metabolitos entre compartimentos celulares.



9. Um exemplo clássico de transporte é a tomada de glicose pela hemácia mediada por um transportador específico, cuja velocidade depende da concentração externa de glicose e

obedece a uma curva hiperbólica de saturação já bem conhecida da cinética enzimática, sendo K_t análogo a K_M :



Esta forma de transporte é conhecida como transporte passivamente mediado ou difusão facilitada. Trata-se de um processo exergônico, pelo qual o soluto, no caso a glicose, atravessa espontaneamente a membrana indo do compartimento de maior para o de menor concentração.

10. Existem 5 transportadores conhecidos que mediam a difusão facilitada de glicose em humanos: GLUT1 a 5, cujos K_t s são diferentes para atender as necessidades funcionais dos tecidos nos quais são expressos. GLUT1 é o transportador em hemácias, já GLUT2 é expresso no fígado e células beta do pâncreas, enquanto GLUT4 aparece no músculo esquelético e tecido adiposo, etc.

11. Mas, no epitélio do intestino a glicose obtida da dieta é transportada para dentro da célula contra o gradiente de concentração, portanto através de um processo endergônico que exige consumo de energia metabólica para ocorrer e é referido como transporte ativo. Neste caso o transportador é chamado simport, pelo qual a glicose é transportada junto com Na^+ e é termodinamicamente possível porque existe um gradiente eletroquímico de Na^+ de fora para dentro da célula. Há múltiplas formas de transporte ativo, das quais este exemplo da glicose é apenas uma delas. Grande parte da energia metabólica consumida pelas células se deve à manutenção da enorme diversidade de transportadores que promovem a transferência de metabolitos e íons contra gradientes de concentração.

Grupo de discussão:

- 1.) O que é concentração micelar crítica. Como varia tamanho e forma de micelas formadas por anfifílicos de uma única cauda hidrocarbonada? Explique.
- 2.) Uma hipótese central na pesquisa de membranas é que os lipídeos da membrana devem ser fluídos (em oposição a "congelados") a fim de que a membrana possa desempenhar suas funções. O apoio para esta hipótese é fornecido pela observação de que a composição de ácido graxo das membranas pode ser alterada pelas condições nas quais a bactéria cresce. Por exemplo, se a bactéria está crescendo em temperatura menor que a normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados (relativas ao conteúdo de ácido graxo saturado) estão acima do normal.
Contrariamente, se a bactéria está crescendo em temperatura acima da normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados nos lipídeos da membrana (relativas aos ácidos graxos saturados) estão abaixo do normal.
 - (a) Sugira razões para o fato de que o conteúdo lipídico na membrana bacteriana deve ser fluido para que a membrana intacta opere apropriadamente.
 - (b) Explique como a alteração observada nos níveis dos ácidos graxos insaturados relativa aos níveis dos ácidos graxos saturados, em diferentes temperaturas de crescimento, apóia a hipótese da fluidez da membrana.
- 3.) Forneça uma explicação termodinâmica para o fato de que moléculas de fosfolipídeo difundem rapidamente no plano da bicamada, mas muito lentamente mudam de uma face à oposta.
- 4.) Descreva os mecanismos pelos quais detergentes extraem proteínas integrais de membrana, mantendo-as em solução.
- 5.) Explique porque soda funciona bem para desentupir pias entupidas com gordura animal.
- 6.) Para saber se uma bactéria tomava leucina e etileno glicol por transporte mediado ou não mediado, foram feitas medidas de velocidade inicial de tomada em função da concentração de ambas substâncias, resultando na tabela fornecida abaixo. O que você conclui do exame dessa tabela? Explique e calcule K_t e V_{max} se encontrar evidências de transporte mediado.

Componente	Concentração [M]	Velocidade Inicial (unidades arbitrárias)
Leucina	1×10^{-6}	110
	2×10^{-6}	220
	5×10^{-6}	480
	1×10^{-5}	830
	3×10^{-5}	1700
	1×10^{-4}	2600
	5×10^{-4}	3100
	1×10^{-3}	3200
Etileno glicol	1×10^{-3}	1
	5×10^{-3}	5
	0,01	10
	0,05	50
	0,1	100
	0,5	500
	1,0	1000

7.) Células epiteliais de intestino de camundongo isoladas em cultura transportam L-leucina e D-leucina mostrando K_t (mM) e V_{max} , respectivamente iguais a: 0,24 e 420 para L-leucina e 4,7 e 310 para D-leucina, ambos em presença de Na^+ no meio de cultura. Mas na ausência de Na^+ , L-leucina mostra 0,24 e 23 enquanto D-leucina mostra 4,7 e 5 para K_t (mM) e V_{max} , respectivamente. Classifique esse transportador de leucina quanto ao tipo e mecanismos de ação. Que efeitos você esperaria se nesse meio de cultura fosse colocada valinomicina (ionóforo de Na^+)? E se fosse dissolvida ouabaína (inibidor da ATPase Na^+/K^+) no meio de cultura? Explique.

8.) *O pH e a absorção de drogas.* A droga aspirina, intensamente prescrita, é um ácido fraco com um pK_a de 3,5. A aspirina é absorvida para o sangue através das células de revestimento do estômago e do intestino delgado. Para uma substância ser absorvida ela deve atravessar facilmente a membrana celular. A passagem através da membrana celular é determinada pela polaridade da molécula: moléculas iônicas (carregadas) e moléculas altamente polares passam lentamente, enquanto aquelas neutras e hidrofóbicas passam rapidamente. Como o pH do suco gástrico é cerca de 1 e o pH no intestino delgado, cerca de 6, pergunta-se:

- Escreva por fórmulas estruturais a ionização reversível da aspirina.
- Onde a aspirina é mais absorvida para a corrente sanguínea, no estômago ou no intestino delgado? Justifique claramente a sua escolha.

AÇÚCARES: ESTRUTURA E FUNÇÃO.

1. Os carboidratos são compostos que apresentam a fórmula empírica $(CH_2O)_n$ ($n >$ ou $= 3$), sendo funcionalmente poliidroxiáldeídos ou poliidroxicetonas. Os carboidratos mais simples são os monossacarídeos, que se apresentam na formas de aldoses ou cetoses, conforme o grupo funcional carbonílico que possuem, isto é, respectivamente, aldeído ou cetona. Há duas trioses: o gliceraldeído, uma aldotriose, e a diidroxiacetona, uma cetotriose (Figura 1). O gliceraldeído apresenta um carbono (C2) assimétrico, dando origem a dois isômeros ópticos, as formas D e L (Figura 2). Já a diidroxiacetona não possui C assimétrico e, por isso, não mostra esse tipo de isomeria. Os outros monossacarídeos podem ser derivados pelo crescimento da cadeia destas duas trioses. A Figura 3 mostra a família D derivada do D-gliceraldeído, cujas fórmulas estruturais planares obedecem as regras de Fisher.

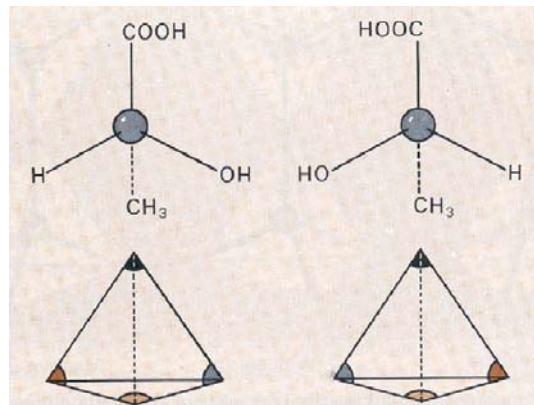
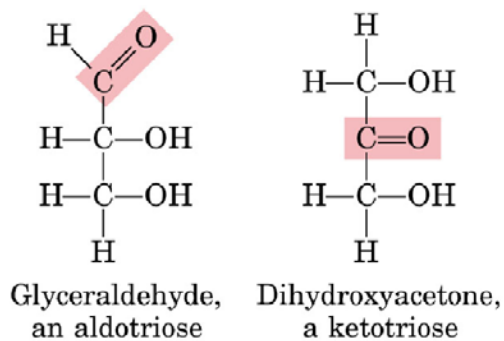


Figura 1

Figura 2: Carbono quiral ou carbono assimétrico.

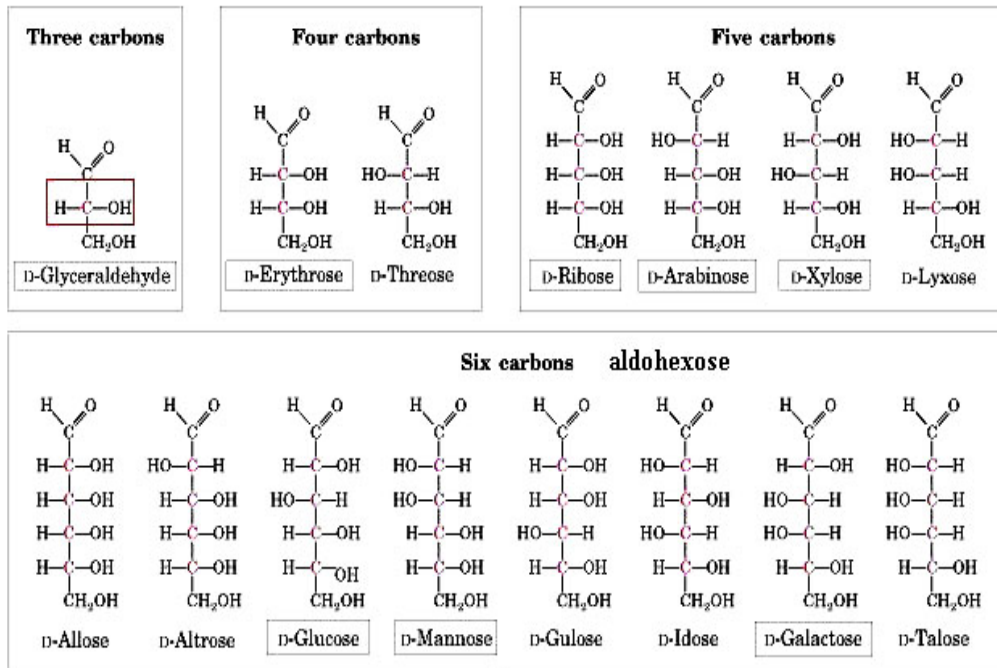
Relações estereoquímicas das aldoses

Aldose mais

simples (aldotriose)

aldotetrose

aldopentose



D-Aldoses
(a)

Figura 2

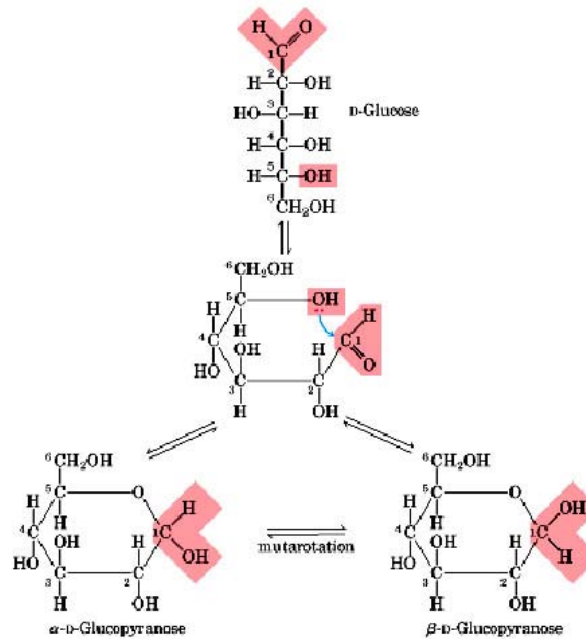
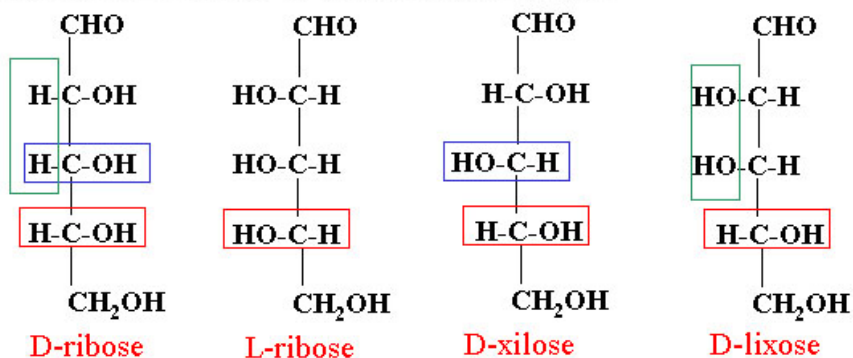


Figura 3

O aumento da cadeia do monossacarídeo leva ao aparecimento de novos Cs assimétricos e, portanto mais isômeros estruturais, também chamados estereoisômeros. O número de isômeros é dado pela expressão 2^n onde n é o número de carbonos assimétricos. Por exemplo, em aldexoses há 4 Cs assimétricos, logo o número de isômeros é $2^4 = 16$, sendo 8 da forma D e 8 da forma L. Mas, as estruturas lineares como representadas na Figura 3 tanto para pentoses como para hexoses são poucos estáveis em solução, formando estruturas cíclicas segundo a reação mostrada na Figura 4. Esta é uma reação bem conhecida da química orgânica, pela qual um álcool (OH) faz uma adição nucleofílica à carbonila de um aldeído, formando um composto de condensação da conhecido como hemiacetal. No caso do exemplo da Figura 4 a hexose é a D-glicose e, como a figura mostra, a ciclização leva ao aparecimento de uma outra isomeria estrutural devido às duas posições possíveis do OH do C1 em relação ao plano do anel, gerando os isômeros α e β . É importante enfatizar que o OH do C1 não é quimicamente equivalente aos demais OHs que são alcoólicos, sendo por isso chamado de OH glicosídico. A existência do OH glicosídico permite que todos os monossarídeos sejam oxidados em condições brandas pelo reagente de Fehling, uma reação de oxido-reação na qual os OHs alcoólicos não participam.

Estereoisômêros / Enantiomeros / Diastereomeros / Epímeros / Anômêros

Possíveis estereoisômeros 2^n ; n= número dos centros quirais



Enantiomeros: todos os centros quirais diferentes

Epímeros: apenas um centro quiral diferente

Diastereomer (qualquer par de estereoisômeros que não são enantiomeros)

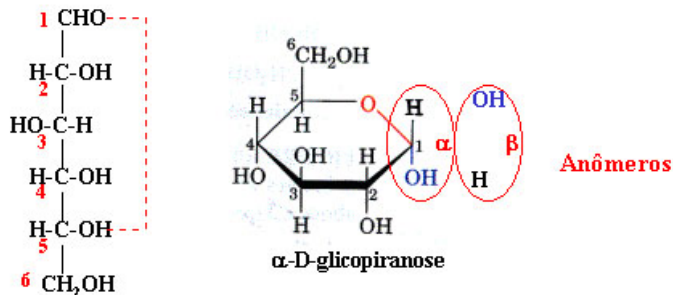
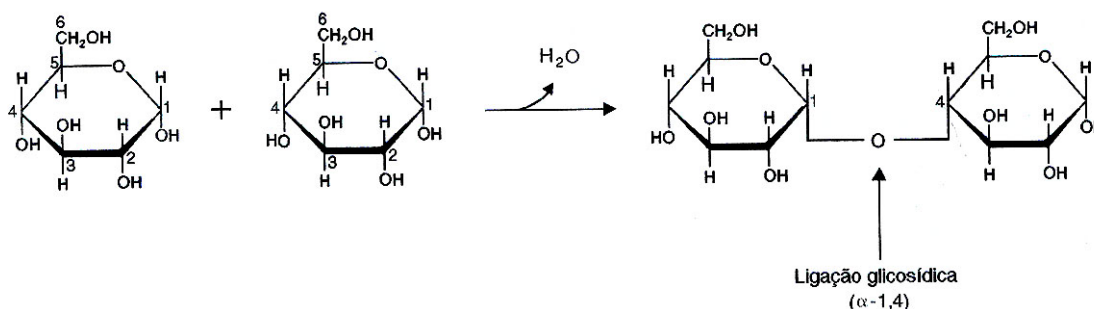


Figura 4

2. Conforme exemplificado na Figura 4 há uma nomenclatura especificamente designada para distinguir pares de estereoisômeros. Enantiômeros possuem estruturas isoméricas que são uma imagem especular da outra, por exemplo, cada membro da família D de hexoses mostrada na Figura 3 tem um, e, somente um, enantiômero na família L. São epímeros pares de estereoisômeros que diferem apenas pela configuração de um C assimétrico. São anômeros os dois isômeros resultantes da posição do OH glicosídico do C1 na estrutura cíclica da hexose. E, finalmente, são denominados diastereoisômeros pares de isômeros que não caem em nenhuma das categorias anteriores.
3. Ligação glicosídica: os monossacarídeos podem se apresentar na forma de oligo ou polissacarídeos, onde os monômeros são ligados através de ligações glicosídicas. Oligossacarídeos são formados por um pequeno número de monossacarídeos, resultantes da condensação de um OH glicosídico com um OH alcoólico, como exemplificado abaixo pela dimerização de duas moléculas de α -glicose por ligação 1-4, originando o dissacarídeo maltose:



Caso a ligação glicosídica envolva a condensação dos dois OHs glicosídicos como é o caso da trealose, uma α 1-1-diglicose, o dissacarídeo não pode ser oxidado pelo reagente de Fehling (dissacarídeo não redutor). Já a maltose, que possui um OH glicosídico livre é um dissacarídeo redutor, sendo oxidado pelo reagente de Fehling.

4. Polissacarídeos são polímeros constituídos de centenas ou milhares de resíduos de monossacarídeos, geralmente glicose, formando cadeias lineares, como a celulose (β 1-4-poliglicose), ou cadeias ramificadas, como o glicogênio e o amido. O glicogênio é altamente ramificado, as suas cadeias lineares são formadas por ligações α 1-4-glicosídicas e suas ramificações decorrem de ligações α 1-6-glicosídicas (Figura 6). O glicogênio apresenta uma única extremidade redutora livre (C1 no resíduo final na última molécula de glicose da cadeia) e inúmeras extremidades não redutoras.

A partir das extremidades não redutoras há acréscimo ou retirada de resíduos do polímero. Portanto, as moléculas de glicogênio não têm tamanho definido.

Glicogênio

Poli (α 1-4) (α 1-6) glicose

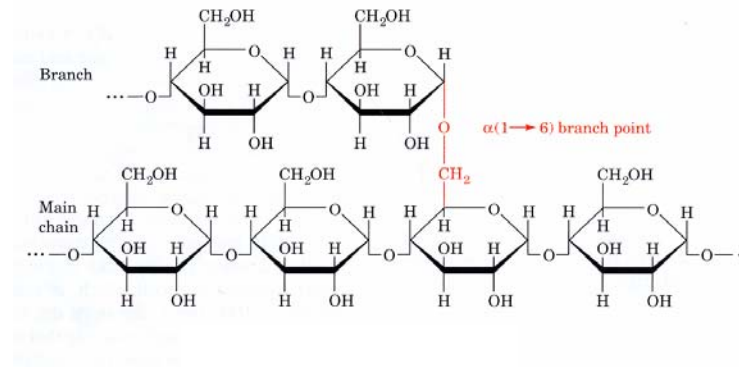


Figura 6

Grupo de discussão:

- 1.) Desenhe o conjunto dos isômeros de D-aldoses de 6 C, através das fórmulas de projeção de Fisher. Quantos epímeros possui uma hexoaldose. Identifique todos os epímeros de D-glicose. Existem pares enantioméricos na família D de monossacarídeos. Explique.
- 2.) Descreva o fenômeno da mutarotação de D-glicose, incluindo as reações químicas pertinentes com as respectivas fórmulas estruturais dos reagentes. O que este fenômeno tem a ver com os conceitos de C anomérico e anomeros.
- 3.) Compare os dissacarídeos maltose e sacarose, identificando a ligação glicosídica em cada caso. Por que maltose é redutora e sacarose não é.
- 4.) Analise a estrutura do glicogênio. Procure destacar as vantagens e desvantagens da função deste polímero como composto de reserva energética.
- 5.) Verifique as principais características dos polissacarídeos estruturais, comparando celulose, quitina e glicosaminoglicanos (estes também chamados mucopolissacarídeos).
- 6.) A porção de natureza sacarídica de algumas glicoproteínas pode servir como sítio de reconhecimento celular. Para desempenhar esta função, os oligossacarídeos ou

glicoproteínas devem ter a capacidade de formar um grande número de diferentes estruturas. Qual dos dois pode produzir uma maior variedade de estruturas: oligopeptídeos compostos de cinco resíduos de diferentes aminoácidos ou oligossacarídeos compostos de cinco resíduos de diferentes monossacarídeos? Explique.

7.) Frutose, o principal açúcar do mel, é comumente usada como adoçante de alimento. Este açúcar na forma β -D-piranosose é provavelmente a substância mais doce conhecida. A forma β -D-furanose é muito menos doce.

a) Quais são as estruturas da β -D-frutopiranosose e β -D-frutofuranose?

b) A doçura do mel diminui ao deixá-lo em repouso e ao mesmo tempo aumentando a temperatura. Explique.

8.) *Interconversão das formas de D-galactose.* Uma solução recém-preparada da forma α de D-galactose (1g/ml em um tubo polarimétrico de 1 dm) mostra uma rotação óptica de $+150,7^\circ$. Quando deixada em repouso por um longo período de tempo a rotação decresce gradualmente até atingir um valor de equilíbrio igual a $+80,2^\circ$. Em contraste, uma solução recém-preparada (1g/ml) da forma β mostra rotação óptica de apenas $+52,8^\circ$. Quando esta solução é deixada em repouso por várias horas a rotação aumenta até o valor de equilíbrio igual a $+80,2^\circ$, valor idêntico àquele observado para a α -D-galactose.

a) Escreva as fórmulas de projeção de Haworth das formas α e β da D-galactose. Qual característica distingue as duas formas?

b) Por que a rotação de uma solução recém-preparada da forma α decresce gradualmente com o tempo? Explique por que soluções das formas α e β (de concentrações iguais) atingem o mesmo valor de rotação óptica no equilíbrio?

c) Calcule a composição percentual das duas formas de galactose no equilíbrio.

TERMODINÂMICA.

1. A variação de energia livre padrão é diretamente relacionada à constante de equilíbrio:

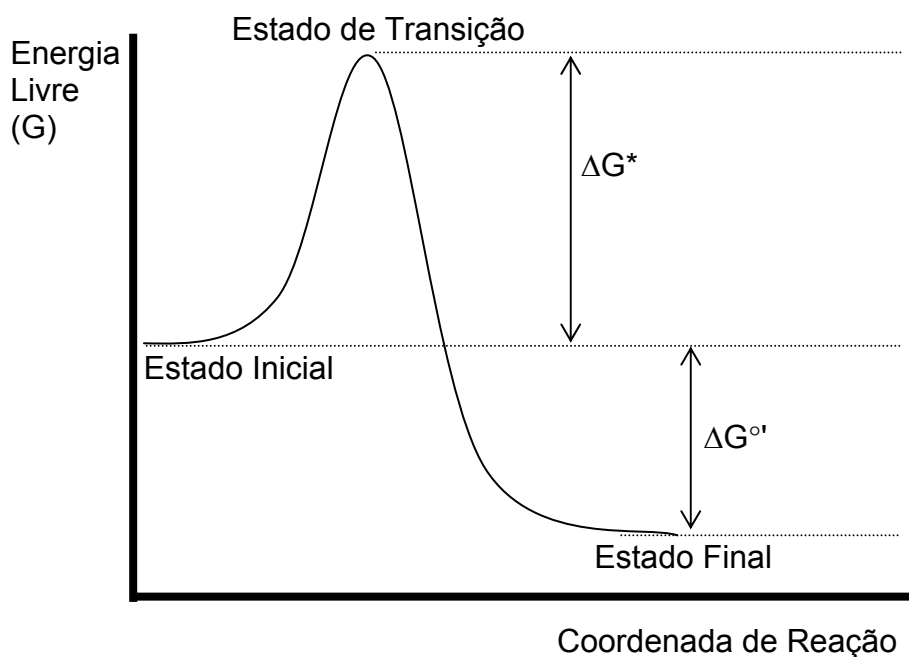
$$\Delta G^\circ = -2.3RT \log K_{eq}$$

2. A composição de um sistema de reação (uma mistura de reagentes e produtos) tende a uma variação contínua até que o equilíbrio é alcançado. No equilíbrio, as taxas de reação para um lado e para outro são exatamente iguais. As concentrações de reagentes e produtos no equilíbrio definem a constante de equilíbrio. Na reação:

A + B \leftrightarrow C + D, a constante de equilíbrio é dada por:

$$K_{eq} = [C][D] / [A][B]$$

3. Quando um sistema não está em equilíbrio, ele tende ao equilíbrio, e a magnitude desta tendência pode ser medida como a variação de energia livre da reação, ΔG . A energia livre de Gibbs (G), uma propriedade termodinâmica, é definida pela equação: $G = H - TS$, onde H, T e S são respectivamente entalpia, temperatura absoluta e entropia, todas também propriedades termodinâmicas.
4. Numa transição de estado a temperatura (T) e pressão constantes (condições comuns às reações bioquímicas) a variação de G (ΔG) é: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$.
Se se trata de uma reação bioquímica, ΔH é o calor de reação. Quando ΔH é positivo a reação é endotérmica, se ΔH for negativo a reação é exotérmica. Nestas condições, a espontaneidade da reação é definida pelo valor de ΔG : se ΔG é negativo, a reação é espontânea, sendo denominada exergônica. Se, ao contrário, ΔG for positivo, a reação não ocorre espontaneamente e é denominada endergônica. Portanto, a reação ocorre no sentido em que a energia livre total diminui.
4. No equilíbrio, $\Delta G = 0$. Logo, é possível demonstrar a validade das seguintes igualdades:
$$\Delta G = \Delta G^\circ + 2,3 RT \log B/A \longrightarrow B/A = K \longrightarrow \Delta G^\circ = - 2,3 RT \log K$$
5. Em condições padrão, à 25°C (298K), com concentrações de reagentes e produtos iguais a 1M, pH = 0, a variação de energia livre é considerada padrão, ou ΔG° . Entretanto, a maioria das reações bioquímicas ocorrem em pH 7,0, para as quais utiliza-se $\Delta G^{\circ'}$.
6. O diagrama abaixo mostra esquematicamente como varia G com o desenvolvimento da reação, indicado no eixo das abcissas como coordenada de reação

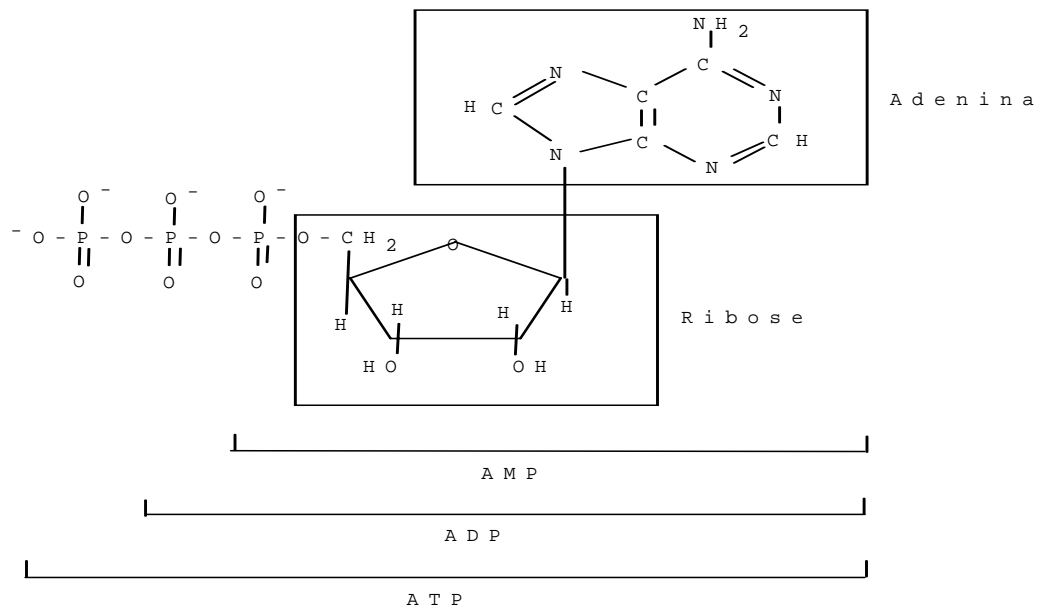


Para que a reação ocorra, necessariamente tem-se $G_{\text{final}} < G_{\text{inicial}}$, isto é, ΔG é negativo. Um ponto importante a ser destacado é que o valor de ΔG permite prever se a reação pode ocorrer, mas não a velocidade com que a reação atinge o equilíbrio. A velocidade de reação depende da energia livre do Estado de Transição que é maior que do que o dos reagentes no Estado Inicial, isto é, ΔG^* é positivo. Quanto maior o valor de ΔG^* , menor será a velocidade de reação.

7.) Na reação genérica $A \rightarrow B$ a velocidade (v) é proporcional a $[A]$, isto é, $v_1 = k_1[A]$. A velocidade da reação inversa será, conseqüentemente, $v_{-1} = k_{-1}[B]$. k_1 e k_{-1} são constantes de velocidade e reações como $A \rightarrow B$ e $B \rightarrow A$ são ditas de primeira ordem, porque as suas respectivas velocidades dependem de concentração molar de um único reagente elevado à potência 1. As constantes de velocidade k_1 e k_{-1} são diferentes da constante de equilíbrio da reação, $K = [B]/[A]$. No estado de equilíbrio, por definição, $v_1 = v_{-1}$ e, portanto, formalmente, $K = k_1/k_{-1}$. As reações representadas pelas equações seguintes: $2A \rightarrow B$ e $A + B \rightarrow C$ são de segunda ordem, cujas velocidades são, respectivamente, $v = k_A[A]^2$ e $v = k_{AB}[A][B]$. Notar que a ordem da reação não coincide necessariamente com a estequiometria da equação química.

6. As quinases formam uma classe muito importante e abundante de enzimas, que se caracterizam por catalisar a transferência de um grupo fosfato de alta energia para uma outra substância receptora.

7. São chamados compostos de alta energia substâncias orgânicas com o grupo fosfato em ligações anidrido ou fosfoenol, cuja hidrólise libera fosfato inorgânico (Pi) com um ΔG^0 negativo e em valor absoluto superior a 8kcal/mol. Outros compostos fosforilados com o fosfato em ligações ester ou tioester também mostram um ΔG^0 de hidrólise negativo, mas de valor absoluto da ordem de 3kcal/mol. Estas classes de compostos estão ilustradas na Tabela 3. O principal composto fosforilado da célula é o ATP; cuja fórmula estrutural está na Figura 2. O ATP possui fosfato em ligações anidrido e ester, aos quais correspondem ΔG^0 de hidrólise de, respectivamente, -8kcal/mol e -3,5kcal/mol. **Todas estas reações são, portanto, muito voltadas para os produtos de hidrólise, sendo praticamente irreversíveis. No entanto, nenhuma destas reações ocorre na célula a velocidade significativa se não houver catálise por uma enzima específica, da classe das fosfatases.**



ATP = Adenosina 5'-trifosfato

<p>Na célula: $[ATP] + [ADP] + [AMP] = \text{Constante}$</p>

FIGURA 2

TABELA 3 Compostos fosforilados

$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{C}-\text{O}-\text{(P)} \\ \\ \text{CH}_2 \end{array}$	+	H_2O	\longrightarrow	$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 13.000 \text{ cal/mol}$
Fosfoenol				cetona		ácido	
$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{C}-\text{O}-\text{(P)} \\ \\ \text{O} \end{array}$	+	H_2O	\longrightarrow	$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 8.000 \text{ cal/mol}$
Anidrido fosfórico				ácido		ácido	
$\text{R}-\text{O}-\text{(P)}$	+	H_2O	\longrightarrow	$\text{R}-\text{OH}$	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 3.000 \text{ cal/mol}$
Éster fosfórico				álcool		ácido	
$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}-\text{S}-\text{CoA} \\ \\ \text{O} \end{array}$	+	H_2O	\longrightarrow	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	+	HS-CoA	$\Delta G^{0'} = - 3.000 \text{ cal/mol}$
Tioéster				ácido		tioálcool	
ATP	+	H_2O	\longrightarrow	ADP	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 8.000 \text{ cal/mol}$
Adenosina trifosfato				ácido		ácido	
ADP	+	H_2O	\longrightarrow	AMP	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 8.000 \text{ cal/mol}$
Adenosina difosfato				ácido		ácido	
AMP	+	H_2O	\longrightarrow	A-OH	+	P_i	$\Delta G^{0'} = - 3.500 \text{ cal/mol}$
Adenosina monofosfato				álcool (Adenosina)		ácido	
$\text{P}_i = \text{fosfato inorgânico} = \text{HPO}_4^{2-} (\text{pH}=7,4)$ $\text{(P)} = \text{PO}_3^{2-}$	Na célula: $[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}] = \text{constante}$						

9. No metabolismo é muito importante a transferência de fosfatos de um composto fosforilado de alta energia para outro. Uma das reações chave deste tipo é:



$$\Delta G^{\circ} = -5 \text{ kcal/mol}$$

Como esta reação não ocorre sem catálise, seu controle pela célula é feito através de uma enzima quinase específica.

10. Além das quinases que catalisam a transferência de grupo fosfato do ATP para metabólitos, existem as quinases que tem como substratos proteínas, genericamente referidas como quinases de proteína ou, simplesmente, proteína-quinases.

Há alguns milhares de proteína-quinases diferentes em um organismo, que catalisam a transferência de fosfato de ATP para o grupo OH da cadeia lateral de resíduos específicos de serina e treonina formando um éster de fosfato. As reações deste tipo são genericamente chamadas de fosforilações e são modificações covalentes que causam mudança de conformação das proteínas, alterando sua atividade biológica. Por exemplo, um grande número de enzimas são fosforiladas para sofrer uma transição do estado inativo ao ativo ou vice-versa. Mais raramente as proteínas são fosforiladas no grupo enólico de resíduos de tirosina.

Grupo de discussão:

- 1.) Defina reações exotérmicas e endotérmicas. Qual a relação entre estes conceitos e a função termodinâmica entalpia?
- 2.) Defina reações exergônicas e endergônicas. Qual a relação destes conceitos com ΔG° .
- 3.) ΔG° é característico de cada reação (**desde que a temperatura seja constante**) e não varia com as concentrações de reagentes e produtos no equilíbrio. ΔG , por outro lado, não é característico da reação, podendo assumir qualquer valor em função das concentrações iniciais de reagentes e produtos (**quociente Q na expressão de ΔG**).

Mostre por que estas afirmações são verdadeiras discutindo a expressão que relaciona ΔG^0 e ΔG .

- 4.) Na reação genérica **A**→**B** $K_{eq}=10^3$. Qual o valor de ΔG^0 ? No ponto de equilíbrio as concentrações molares de A e B podem variar? Como varia ΔG com as concentrações molares iniciais de **A** e **B**?
- 5.) Ainda para a reação **A**→**B** (questão 4) proponha uma condição na qual a reação inversa seja espontânea. Mostre que a sua proposta é possível calculando o respectivo ΔG . Esta questão possui múltiplas respostas ou apenas uma resposta única?
- 6.) Para a reação **A**→**B** (questão 4), se a constante de velocidade de primeira ordem, k_1 for igual a 10, qual deve ser o valor da constante k_{-1} para a reação inversa? Para um mesmo K, constante de equilíbrio, pode haver múltiplos valores de k_1 e k_{-1} ? Qual a interpretação termodinâmica para a sua resposta?
- 7.) Considerando a equação $\Delta G^0 = -2,3 RT \log K$, sendo: $R = 1,98 \times 10^{-3} \text{ kcal/mol}^\circ\text{K}$; $T = 298\text{K}$ e $2.3 RT = 1,36 \text{ kcal/mol}$. Calcule os valores de ΔG^0 quando K varia de 10^5 a 10^{-5} . Faça uma tabela.
- 8.) Porque a hidrólise de ATP necessita catálise enzimática, sendo este um composto rico em energia? Utilize-se do gráfico esquemático de variação de G (energia livre) em função de coordenada de reação para responder a esta questão, definindo estado de transição e energia de ativação.

GLICÓLISE.

1. A glicólise é a principal via catabólica da glicose compreendendo as 10 reações enzimaticamente catalisadas que são mostradas na figura abaixo e cuja estequiometria total pode ser observada na equação química seguinte:

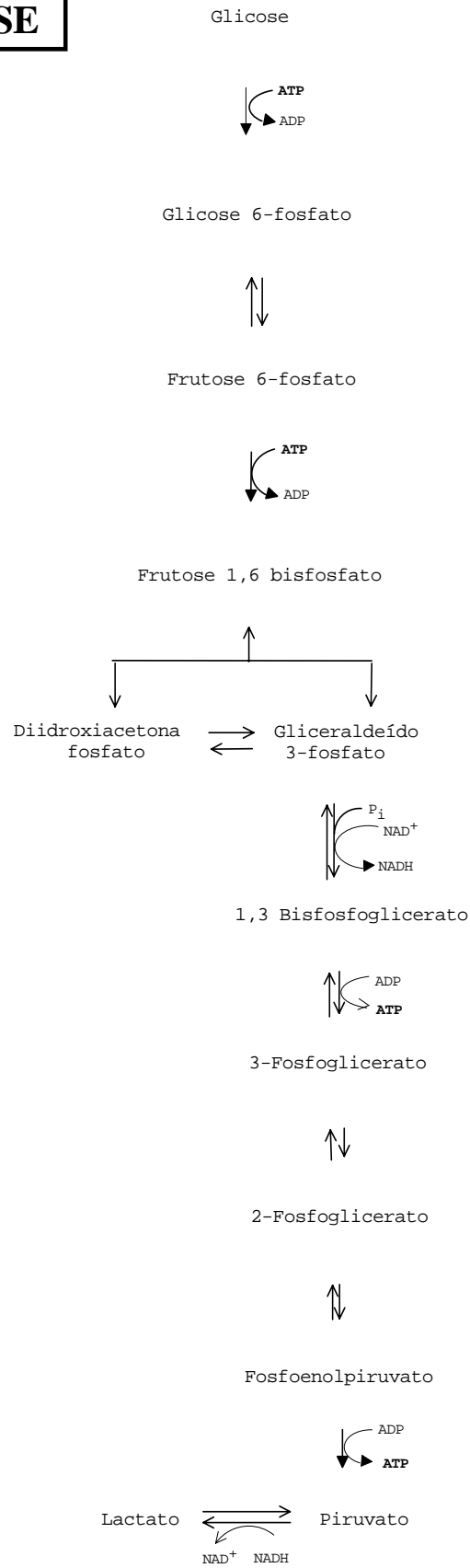
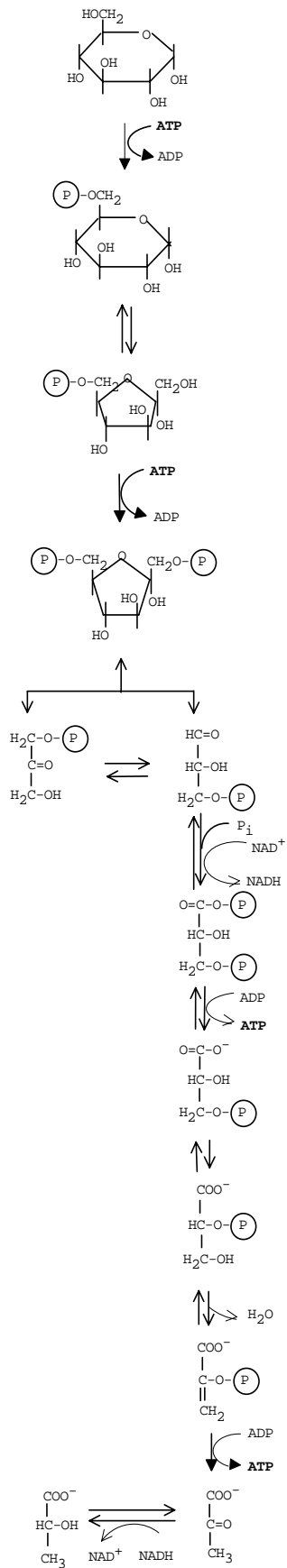


A glicólise, como todas as vias catabólicas, é exergônica e à equação acima corresponde um $\Delta G^{\circ} = -43,4 \text{ kJ/mol}^{-1}$. Mas, o dado da variação de energia livre mais interessante é em termos de ΔG , cujo valor exato depende de cada célula específica, por exemplo, em músculo cardíaco estima-se que seja igual a $-74,0 \text{ kJ/mol}^{-1}$.

2. A finalidade da glicólise é obtenção de energia, como a equação estequiométrica indica, cada molécula de glicose é degradada a duas de piruvato e parte da energia livre liberada nesta degradação é retida nos produtos na forma de 2 NADH e 2 ATP.
3. A reação que permite a obtenção de NADH é a única de oxido-redução da glicólise, pela qual gliceraldeído-3-P é oxidado a glicerato-1,3-bisP, através da ação oxidante de NAD^+ catalisada pela enzima gliceraldeído desidrogenase. A manutenção da capacidade oxidante da glicólise exige que NADH seja re-oxidada a NAD^+ , uma alternativa para isso é apresentada na figura, através da reação pela qual NADH reduz piruvato a lactato, recuperando NAD^+ . Esta alternativa ocorre no músculo esquelético com baixos níveis de O_2 .
4. Já ATP é produzido em duas reações distintas pelas quais um radical fosforil é transferido de, respectivamente, glicerato-1,3-P e P-enolpiruvato para ADP, em transferências catalisadas por glicerato-1,3-P-quinase e P-enolpiruvato-quinase. Esta maneira de fosforilação de ADP é conhecida como fosforilação a nível do substrato, para distingui-la da fosforilação oxidativa da mitocôndria que será vista mais adiante.
5. Na glicólise, há 3 reações de fosforilação irreversíveis catalisadas, respectivamente, pela hexoquinase, fosfofrutoquinase e piruvato-quinase, que funcionam como marca-passos da via, cuja regulação se dá por um elaborado sistema de controle alostérico das enzimas.
6. Diversas outras hexoses, como frutose, galactose e manose, também são metabolizadas pela via glicolítica.
7. A glicólise em condições anaeróbicas tem energética e funções variadas, conforme o organismo. Cabe fazer dois destaques importantes.
8. Em vertebrados, encontram-se músculos esqueléticos muito pobres em mitocôndria, que são especializados para produzir ATP a partir de glicólise anaeróbica, cuja energética obedece a seguinte reação geral: $\text{Glicose} \rightarrow 2\text{Lactato} + 2\text{H}^+$; $\Delta G^{\circ} = -196\text{kJ/mol}$. Mas, parte dessa energia livre liberada que seria dissipada (61kJ/mol) é retida na forma de 2ATP produzidos por mol de glicose degradada. Deve-se ainda enfatizar que o lactato não é descartado, pois vai ser aproveitado no fígado, aonde é reoxidado a piruvato, alternativa metabólica importante a ser examinada mais à frente.

9. Leveduras mostram um exemplo de glicólise anaeróbica na forma da fermentação alcoólica, segundo a reação geral: $\text{Glicose} \rightarrow 2\text{Etanol} + \text{CO}_2$; $\Delta G^{\circ} = -235\text{kJ/mol}$. Aqui também parte da energia livre, $+61\text{kJ/mol}$, é mantida com a produção de 2ATP. A parte final da fermentação alcoólica compreende duas reações: a primeira envolve a descarboxilação de piruvato e liberação de acetaldeído, catalisada pela enzima piruvato-carboxilase, que não existe em animais. Na segunda reação a desidrogenase alcoólica catalisa a redução do acetaldeído por NADH.

GLICÓLISE



Grupo de discussão:

- 1.) Classifique as reações da glicólise, destacando as que são de óxido-redução.
- 2.) Equacione a reação de oxidação de gliceraldeído-3-fosfato, destacando o oxidante e o redutor.
- 3.) Na reação do item 2.) parte da energia é utilizada para produzir ATP. Mostre como isso é possível, equacionando as etapas relevantes da reação. Defina fosforilação ao nível do substrato.
- 4.) Equacione a reação líquida da transformação de glicose em piruvato. Como é regenerada a capacidade oxidante do sistema NAD^+/NADH necessária à atividade glicolítica nos glóbulos vermelhos humanos (que não têm mitocôndria) e na cultura de levedo sem O_2 (fermentação).
- 5.) Examine uma tabela com as 10 reações da via glicolítica que contenha, respectivamente, o $\Delta G^{0'}$ e o ΔG das reações. Quais são as reações irreversíveis da glicólise?
- 6.) Porque os valores de $\Delta G^{0'}$ e de ΔG da mesma reação podem ser diferentes? Para decidir se a via glicolítica numa determinada célula é reversível ou irreversível, que valor é mais relevante, $\Delta G^{0'}$ ou ΔG ?
- 7.) Uma pessoa incapaz de executar exercícios físicos intensos e prolongados teve suas enzimas analisadas. Todas as enzimas da via glicolítica estavam em concentração normal, com exceção da fosfoglicerato mutase muscular.
 - a) Como será afetada a produção de energia metabólica em uma célula que apresenta baixos níveis desta enzima?
 - b) Como será afetada a produção de Lactato na ausência desta enzima? [Referência: Di Mauro, S.; Miranda, A.F.; Kahn, S.e Gitlin, K. - Human muscle phosphoglycerate mutase deficiency *Science* 1981, vol. 212, 1277-1279.
- 8.) Calcular a porcentagem de energia armazenada pela célula ao degradar glicose pela via glicolítica. Sabe-se que:

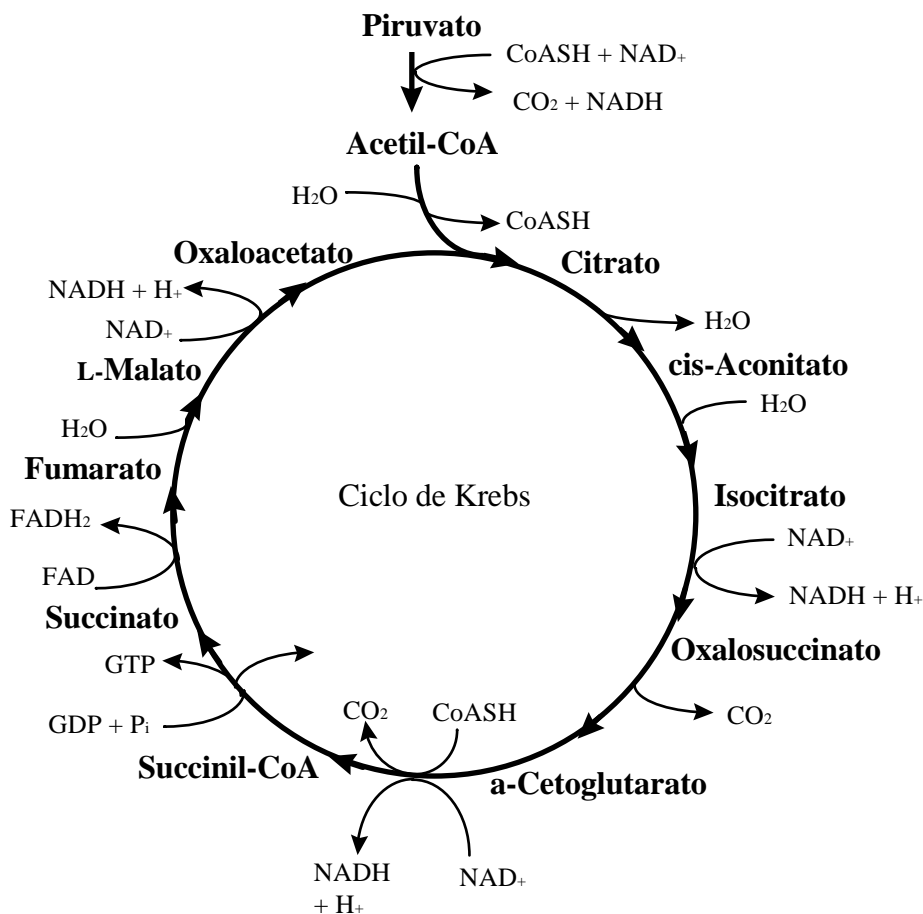


CICLO DE KREBS

1. Em condições aeróbicas, o destino do piruvato produzido na glicólise é sofrer uma descarboxilação oxidativa catalisada pela piruvato desidrogenase, que é um complexo multienzimático existente no interior da mitocôndria de eucariotos. Portanto, o piruvato precisa entrar na mitocôndria para ser degradado por essa via. A reação geral é a seguinte: **Piruvato + CoA + NAD⁺ → Acetil-CoA + NADH + CO₂**
2. O acetilCoA resultante da metabolização do piruvato é totalmente oxidado no ciclo do ácido cítrico, também chamado ciclo de Krebs, conforme a seguinte reação geral:
Acetil-CoA + 3NAD⁺ + FAD + GDP + P_i → 2CO₂ + 3NADH + FADH₂ + GTP + CoA
O ciclo de Krebs, esquematizado na figura, compreende 8 reações, envolvendo 8 enzimas e 8 ácidos carboxílicos, di e tri-ácidos, todos dispersos na matriz da mitocôndria. Portanto, começando no piruvato e passando pelo acetilCoA, ocorre oxidação completa desses metabolitos liberando 3CO₂ sem participação de O₂ molecular. Os agentes oxidantes em todas as reações são NAD⁺ ou FAD e as formas reduzidas destas co-enzimas (NADH + FADH₂), resultantes do processo, só são reoxidadas na cadeia respiratória, uma via especializada que se localiza na membrana mitocondrial interna e será considerada mais adiante.
3. O ciclo de Krebs, conforme sua reação geral indica, é essencialmente catabólico, pois promove a oxidação do radical acetil a 2CO₂ e retém parte da energia livre desta reação na forma de coenzimas reduzidos que, posteriormente, servirão à produção de ATP através da fosforilação oxidativa. Para cumprir esta função basta que os 8 intermediários do ciclo ocorram em concentrações catalíticas. Mas, o ciclo possui outra função, além da catabólica, diversos de seus intermediários alimentam as vias de síntese de aminoácidos, lipídeos e glicose, isto é, o ciclo tem também função anabólica e, portanto, deve ser classificado como anfibiólico. Para que o ciclo desempenhe concomitantemente ambas as funções, catabólica e anabólica, as concentrações dos intermediários são mantidas e controladas através de um complexo sistema de reações auxiliares, conhecidas como reações anapleróticas. Um exemplo de reação anaplerótica é a carboxilação de piruvato para obter oxalacetato, catalisada pela enzima piruvato carboxilase.

4 A transformação de piruvato em acetil-CoA, é uma reação para a qual convergem diversas vias catabólicas e anabólicas, além da glicólise. Por esse motivo a piruvato desidrogenase está sujeita a um controle altamente elaborado, compreendendo dois níveis de regulação: a) controle alostérico através da inibição pelo produto, exercido por NADH e acetil-CoA; b) modificação covalente reversível da subunidade E₁ da enzima, por fosforilação/desfosforilação.

5. As enzimas citrato sintase, isocitrato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase são as reguladoras do fluxo metabólico através do ciclo de Krebs e estão sujeitas a controle alostérico, envolvendo NADH como inibidor e Ca⁺ e ADP como ativadores.



Grupo de discussão:

- 1.) Escrever a reação de formação de acetil-CoA a partir de piruvato e indicar:
 - a) as 5 coenzimas necessárias
 - b) as vitaminas envolvidas
 - c) a sua localização celular

- 2.) Como é a equação química, estequiometricamente equilibrada, que representa a oxidação de acetil-CoA no ciclo de Krebs? Como se pode medir o rendimento do ciclo de Krebs em termos de coenzimas reduzidos (poder redutor) e ATP (“ligações de fosfato de alta energia”).

- 3.) Identifique os tipos de reações que ocorrem no ciclo de Krebs, mostrando as respectivas equações químicas.

- 4.) Equacione a descarboxilação oxidativa de α -cetoglutarato a succinato, respeitando a estequiometria da reação. Mostre as etapas que compõem esta reação com as respectivas enzimas e coenzimas.

- 5.) Quais são as enzimas do ciclo de Krebs sujeitas a regulação? Explique como cada uma delas é regulada.

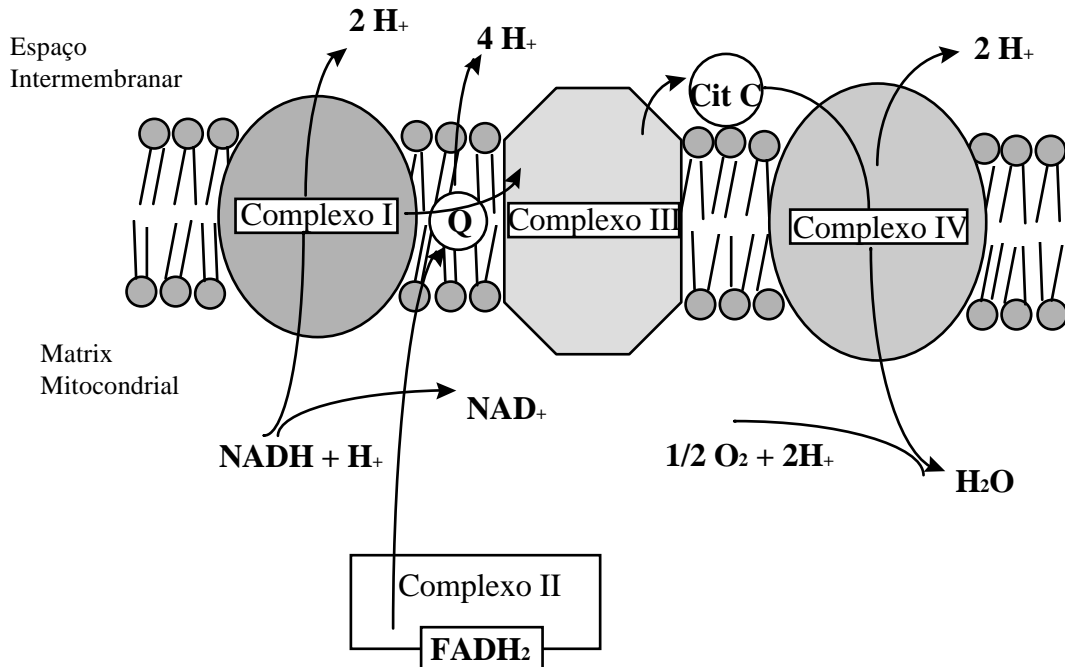
- 6.) Explique porque piruvato é estequiometricamente convertido a CO_2 na respiração de fatias de músculo mantidas em solução fisiológica, enquanto oxalacetato e citrato tem efeito catalítico neste mesmo processo. Mostre porque a respiração pode ser sustentada pelo consumo estequiométrico de citrato, mas não de acetato, quando o ciclo de Krebs é inibido por malonato.

- 7.) Dispondo das enzimas necessárias, a adição de que compostos fará aumentar a concentração de oxaloacetato em um sistema “in vitro” que contém mitocôndrias: acetil-CoA, piruvato, glutamato, citrato ou ácidos graxos?

- 8.) Uma suspensão de mitocôndrias, suplementada com acetil-CoA marcada com C^{14} , produz CO_2 marcado apenas quando suprida de oxigênio. Em condições anaeróbias, a adição de azul de metileno restaura a produção de CO_2 marcado, observando-se também a descoloração do corante (azul de metileno reduzido é incolor). Explique estes dados.

CADEIA RESPIRATÓRIA E FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA.

1. Fosforilação oxidativa é o processo bioquímico pelo qual a oxidação de NADH e $FADH_2$, produzidos na glicólise e ciclo de Krebs, ocorre acoplada à produção de ATP, a partir de $ADP + Pi$. Este processo se dá na cadeia respiratória ou cadeia de transporte de elétrons, que compreende um conjunto ordenado de enzimas e transportadores de elétrons inseridos na membrana interna da mitocôndria.
2. A cadeia respiratória contém 4 complexos, **I, II, III e IV**, ordenados por ordem crescente de potencial redox, indo do potencial padrão de $NAD^+/NADH$ ($E^{0'} = -0,315V$) ao do O_2/H_2O ($E^{0'} = +0,815V$). Os elétrons são transferidos do **complexo I** ou **II** para o **complexo III** pela **coenzima Q** (ou ubiquinona), e do **complexo III** para o **complexo IV** pelo **citocromo C** para chegar ao O_2 . NADH e $FADH_2$, cedem elétrons, respectivamente, aos complexos I e II. A transferência exergônica de elétrons do nível redox de NADH para o de O_2 ($\Delta E^{0'} = 1,130V$) envolve uma diferença de energia livre liberada ($\Delta G^{0'} = -218kJ/mol$) que é em parte retida pelo transporte de H^+ do lado interno para o externo da membrana, criando o gradiente eletroquímico de prótons que permitirá “empurrar” o processo endergônico de fosforilação de ADP por Pi para gerar ATP, através da bomba de prótons que constitui a ATP sintase (também conhecida com F_1F_0 -ATPase).



3. A ATP sintase é distinta e fisicamente separada da cadeia de transporte de elétrons. A transferência de $2e^-$ de NADH até O_2 envolve um $\Delta G^{0'} = -218 \text{ kJ/mol}$, que gera um incremento no gradiente de prótons suficiente para mover a ATP sintase, permitindo a produção de 3 moles de ATP ($\Delta G^{0'} = +30,5 \text{ kJ/mol}$). Nestas condições, a ATP sintase trabalha com uma eficiência termodinâmica igual a 42%. É, no entanto, necessário destacar que quando os $2e^-$ saem do nível redox de FADH_2 , formam-se apenas 2ATP. Naturalmente, para uma melhor medida da real eficiência termodinâmica da fosforilação oxidativa seria preciso estimar o ΔG da transferência de elétrons em vez do $\Delta G^{0'}$.
4. A grande quantidade de energia livre que seria dissipada na oxidação completa da glicose a CO_2 e H_2O [$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O}$; $\Delta G^{0'} = -2823 \text{ kJ/mol}$] é aproveitada para produção de ATP, graças quase exclusivamente ao processo de fosforilação oxidativa, rendendo 38ATP por mol de glicose (incluindo neste total 2ATP da glicólise e 2 do ciclo de Krebs).
5. Vários mecanismos da cadeia de transporte de elétrons e de seu acoplamento à síntese de ATP foram elucidados através da utilização de inibidores e desacopladores, entre os quais estão: rotenona, amital, antimicina A, cianeto e DNP.
- Rotenona e amital inibem a redução dos complexo I e III por NADH .
 - Antimicina A inibe o transporte de elétrons no complexo II.
 - Cianeto inibe o transporte no complexo IV.

– DNP é desacoplador, pois promove o “vazamento” de H^+ , levando à dissipação do gradiente de prótons e contínuo transporte de elétrons, desacoplado da síntese de ATP.

5. A síntese de ATP a partir de ADP e P_i na mitocôndria, que é catalisada pela ATP sintase, é dirigida pelo processo de transporte de elétrons. Mas como a ATP sintase é fisicamente separada das proteínas do transporte de elétrons, a energia livre liberada no transporte de elétrons deve ser conservada em uma forma que possa ser utilizada pela ATP sintase.

A energia livre do transporte de elétrons é conservada pelo bombeamento de H^+ da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, criando um gradiente de H^+ através

Grupo de discussão:

1.) Definir potencial de óxido-redução (E), potencial de óxido-redução padrão (E°) e potencial de óxido-redução padrão bioquímico (E°').

2.) Entre os transportadores universais de elétrons da cadeia respiratória estão NAD^+ e os nucleotídeos de flavina (FAD e FMN), quais são as diferenças entre estes transportadores de elétrons quanto a potencial redox e forma de interação com as enzimas com as quais atuam?

3.) Classifique os seguintes inibidores quanto a seus mecanismos de ação na cadeia respiratória: a) rotenona; b) antimicina A; c) oligomicina e d) DNP (2,4-dinitrofenol).

4.) Descreva o mecanismo de ação do DNP (2,4-dinitrofenol), mostrando porque o mecanismo de ação deste inibidor é uma demonstração experimental importante da hipótese quimiosmótica da fosforilação oxidativa.

5.) Porque F_1 e F_0 são ambos necessários para a síntese de ATP?

6.) Em mitocôndrias isoladas, o transporte de elétrons não ocorre na ausência de ADP e P_i , mesmo que haja abundância de succinato para fornecer elétrons. Como se explica

que mitocôndrias nessas condições passam a transportar elétrons e consumir oxigênio se forem tratadas com DNP?

7.) A relação entre energia livre padrão de uma reação e o potencial redox é:

$$\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E_0'$$
onde n é o número de elétrons transferidos

F é a constante de Faraday ($F = 23.60 \text{ cal V}^{-1}$)

$\Delta E_0'$ é o, diferença de potencial padrão da dupla redox.

A uma solução 1 M de NAD^+ , NADH, Piruvato e Lactato, adicionou-se lactato desidrogenase:



$$E_0' (\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,32 \text{ V}$$

$$E_0' (\text{Piruvato}/\text{Lactato}) = -0,19 \text{ V}$$

Em que sentido a reação ocorrerá?

À medida que a reação ocorre, como variam esses potenciais redox?

8.) Na hipótese do acoplamento quimiosmótico, a energia que começa na forma de potencial químico de redução/oxidação, é convertida na forma de potencial próton-motriz e finalmente é convertida na forma de potencial químico de ATP. Qual é a diferença entre o potencial químico (G) e o potencial elétrico (\square) de um soluto distribuído dos dois lados de uma membrana? Defina “força próton-motriz”.

GLICONEOGÊNESE.

1. O fígado humano precisa manter níveis mínimos da glicose circulante, porque cérebro e hemácias dependem quase exclusivamente de glicose para produção de energia. No entanto, a reserva de glicogênio hepático não é suficiente para essa finalidade. Por isso, o fígado sintetiza glicose de novo a partir de lactato, piruvato, glicerol, intermediários do ciclo de Krebs e aminoácidos, através de uma via anabólica chamada de gliconeogênese.

No jejum, mesmo o jejum de poucas horas, a gliconeogênese é a principal fonte da glicose liberada pelo fígado na circulação.

2. A glicólise, como já foi visto, é uma via catabólica com a finalidade de produzir energia na forma de **2NADH + 2ATP** a partir da degradação de glicose a piruvato de acordo com a equação química seguinte:



A gliconeogênese tem a finalidade de sintetizar glicose a partir de piruvato, isto é, faz o caminho metabólico inverso ao da glicólise. Mas, a gliconeogênese, contrariamente à glicólise, é muito endergônica. Para produzir glicose a partir de piruvato necessitam-se **2NADH+4ATP+2GTP**, conforme a estequiometria indicada na equação abaixo:



3. A gliconeogênese utiliza enzimas glicolíticas reversivelmente, mas três dessas enzimas, a hexoquinase, a fosfofrutoquinase e a piruvato quinase, catalizam reações com ΔG° muito negativo, sendo essencialmente irreversíveis. Estas reações são substituídas na gliconeogênese por reações exergônicas, tornando termodinamicamente favorável a síntese de glicose a partir de piruvato. Destas reações, as duas primeiras correspondentes às enzimas hexoquinase e fosfofrutoquinase, são substituídas por reações simples de hidrólise de ligação fosfo-éster, catalisadas, respectivamente, pelas enzimas glicose-6-P-fosfatase e frutose-1,6-bis-fosfatase. Já a terceira reação, que permite a volta de piruvato para P-enolpiruvato é mais complexa e se dá em duas etapas catalisadas, respectivamente, por piruvato-carboxilase e P-enolpiruvato-carboxiquinase.

4. O balanceamento entre glicólise e gliconeogênese é coordenadamente controlado por um complexo sistema de regulação enzimática, envolvendo interações alostéricas e modificações covalentes. Todo esse controle está concentrado nas 3 reações nas quais glicólise e gliconeogênese seguem reações independentes, irreversíveis e opostas, que são: 1) glicose / glicose-6-P; 2) frutose-6-P / frutose-1,6-bisP; 3) P-enolpiruvato / piruvato.

Grupo de discussão:

- 1.) Explique como a hemácia mantém glicose a 5 mM e G6P a 0,0083 mM, se a conversão de glicose em G6P é muito exergônica. Como seriam afetadas as concentrações relativas dos intermediários da glicólise se a glucoquinase ($K_m = 5\text{mM}$) fosse colocada artificialmente na hemácia em lugar da hexoquinase ($K_m = 0,1\text{mM}$)?
- 2.) Na gliconeogênese, como são revertidas as reações de glicose \rightarrow G6P e F6P \rightarrow F-1,6-BP, que são altamente exergônicas. Conceitue ciclo fútil.
- 3.) A reversão da reação de PEP + ADP \rightarrow piruvato + ATP não pode ocorrer por um processo relativamente fácil como a reversão de glicose + ATP \rightarrow G6P + ADP. Qual é a solução bioquímica que os sistemas biológicos utilizam para ir de piruvato a PEP?
- 5.) Qual é o consumo de energia na síntese de glicose a partir de piruvato, medido em equivalentes de ATP. Indique as reações onde há consumo. Compare o rendimento da via glicolítica com o consumo da gliconeogênese, são iguais ou diferentes?
- 6.) Um procedimento comum para determinação da efetividade de compostos como precursores da glicose é colocar um animal em jejum até que os estoques de glicogênio do fígado sejam depletados e então administrar o substrato em questão. Um substrato que leva a um aumento líquido no glicogênio hepático é chamado de glicogênico pois ele deve primeiro ser convertido em glicose-6-fosfato. Mostre por meio de reações enzimáticas conhecidas quais das seguintes substâncias são glicogênicas:
 - a) succinato,
 - b) glicerol,
 - c) acetil CoA,
 - d) piruvato e
 - e) butirato.

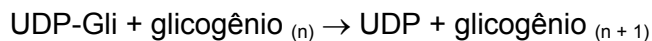
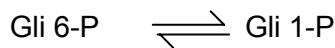
Escreva as fórmulas estruturais das substâncias relacionadas de (a) a (e).

- 7.) Citar os efetadores alostéricos positivos e negativos de fosfofrutoquinase e frutose 1,6 bisfosfatase no fígado. Quais são as consequências destes efetadores no fluxo relativo dos metabolitos através da neoglicogênese e da glicólise?
- 8.) O nível de frutose 2,6 bisfosfato nos hepatócitos varia com a disponibilidade da glicose: é baixo no jejum e alto após as refeições. Como isso se explica em termos das reações catalisadas por fosfofrutoquinase-2 e frutose 2,6 bisfosfatase.

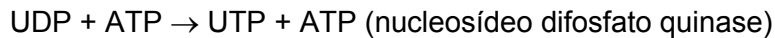
METABOLISMO DO GLICOGÊNIO.

1. O glicogênio é um polissacarídeo que funciona como forma de reserva de energia em animais e microrganismos. Em animais, o glicogênio está depositado no fígado, um órgão central de reserva de energia, e, também, nos músculos, onde é degradado localmente. O glicogênio hepático é exportado para manter a glicemia.
2. A natureza polimérica e semi-solúvel do glicogênio constitui-se numa maneira perfeita de armazenar energia na forma de glicose. O estoque de glicogênio do fígado na forma de glicose causaria tamanha pressão osmótica, que a viabilidade do hepatócito seria impossível.
3. O glicogênio é um polímero de α -D-glico-piranosose altamente ramificado. Na cadeia os monômeros são interligados por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4); nos pontos de ramificação a ligação também é glicosídica, mas α (1 \rightarrow 6).
4. A glicose, na forma de glicose-1-P, é liberada da reserva de glicogênio pela fosforólise da ligação α (1 \rightarrow 4) da extremidade não redutora do polímero. Esta reação é catalisada pela glicogênio fosforilase.
5. A glicogênio fosforilase degrada até restarem 4 resíduos antes de uma ramificação até que a enzima desramificadora transfere 3 dos 4 resíduos para outra extremidade da cadeia de glicogênio formando uma nova ligação α (1 \rightarrow 4). O resíduo restante está ligado a cadeia pela ligação α (1 \rightarrow 6) que é hidrolisada pela enzima desramificadora através de sua atividade α (1 \rightarrow 6) glicosidase.

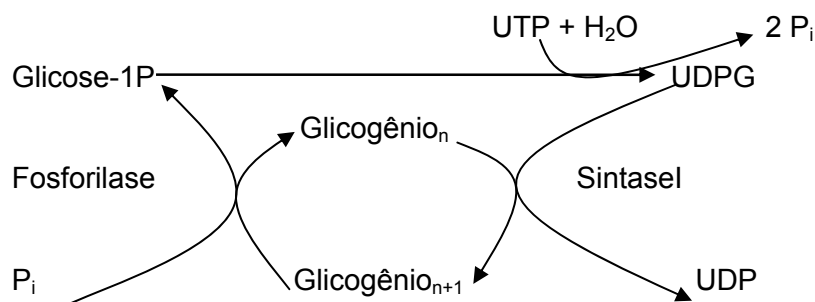
- Glicose-1-fosfato é convertida a glicose-6-fosfato pela fosfoglicomutase, esta pode ser liberada pela circulação no fígado pela ação da glicose-6-fosfatase ou degradada pelo músculo.
- A síntese do glicogênio se dá através de via uma diferente da de degradação. A glicose-1-P é primeiro ativada à uridinadifosfato-glicose, ou simplesmente UDP-G. UDP-G é o substrato da glicogênio sintase que catalisa a adição de um resíduo de glicose ao carbono 4 da glicose de uma extremidade não redutora do glicogênio, liberando ainda como produto UDP. Esta reação necessita de cadeias glicogênicas pré-existentes que funcionam como PRIMER da reação, oferecendo extremidades não redutoras para reagir com UDP-G.



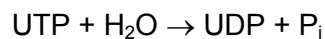
O UDP é convertido a a UTP as custas da utilização de ATP:



- A glicogênio fosforilase e glicogênio sintase formam um ciclo que, respectivamente, libera e deposita glicose-1-P no estoque da glicogênio:



É fácil notar que se estas enzimas funcionarem concomitantemente o ciclo será FÚTIL, cujo único resultado líquido será dissipação de energia através da reação:



Conclui-se que, necessariamente, no hepatócito estas enzimas são coordenadamente reguladas, isto é, quando a fosforilase é ativada para mobilizar glicose-1-P, a sintase é desativada, e vice-versa, conforme a necessidade celular.

9. Ambas fosforilase e sintase são reguladas por fosforilação (modificação covalente) em resíduos específicos de serina, reações catalisadas pela mesma proteína-quinase que possui dupla especificidade, sendo por isso chamada de sintase-fosforilase quinase. A fosforilase e a sintase são espécies fosforiladas, portanto a fosforilação, catalisada pela sintase-fosforilase quinase, causa ativação da fosforilase e inativação da sintase.
10. A fosforilase a e a sintase I (formas ativas), por um lado, e a fosforilase b e a sintase D (formas não ativas), por outro, são, respectivamente interconversíveis. Para tanto é necessário que fosforilase a e a sintase I sejam desfosforiladas, através de uma reação que requer catálise. A principal enzima, catalisadora comum destas desfosforilações, é a fosfoproteína fosfatase 1.
11. A integração metabólica requerida pelo bom funcionamento do organismo faz com que as interconversões coordenadas da fosforilase e sintase do glicogênio no fígado, por fosforilação, sejam controladas extracelularmente por hormônios específicos, principalmente: adrenalina, glucagon e insulina.
12. As formas inativas fosforilase b e sintase D são intracelularmente estimuladas por fatores alostéricos positivos, por razões de economia interna do metabolismo celular, independentemente de controle hormonal. São estimuladores alostéricos da fosforilase b e sintase D, respectivamente, 5'-AMP e glicose-6P.

Grupo de discussão:

- 1.) A ativação de glicose-1-fosfato (G1-P), requer a clivagem de uma ligação de alta energia, liberando PP_i . Considere os passos de ativação de G1-P e a reação de regeneração de UTP e analise o gasto de energia necessário para a síntese de glicogênio. Compare o gasto de energia para a adição de um resíduo de glicose ao glicogênio, com a obtenção de energia a partir da liberação de glicose na degradação do glicogênio.
- 2.) Qual a finalidade das reservas de glicogênio do fígado e músculo? Qual a principal diferença bioquímica entre esses tecidos?

- 3.) Equacione as etapas de mobilização da glicose a partir do glicogênio no fígado e no músculo. Mostre:
- a.) no fígado (desde a fosforólise até a liberação de glicose no plasma);
 - b.) no músculo (desde a fosforólise até o aproveitamento na glicólise).
- 4.) Qual a função da hidrólise de PP_i no controle da síntese de glicogênio?
- 5.) Esquematize as etapas de degradação total do glicogênio, indicando as enzimas envolvidas, reagentes e produtos da reação.
- 6.) Mostre como são coordenadas síntese e degradação do glicogênio. Restrinja-se à ativação e inativação da fosforilase e da sintase, explicando a natureza do processo e as enzimas envolvidas. (Não considere o controle hormonal)

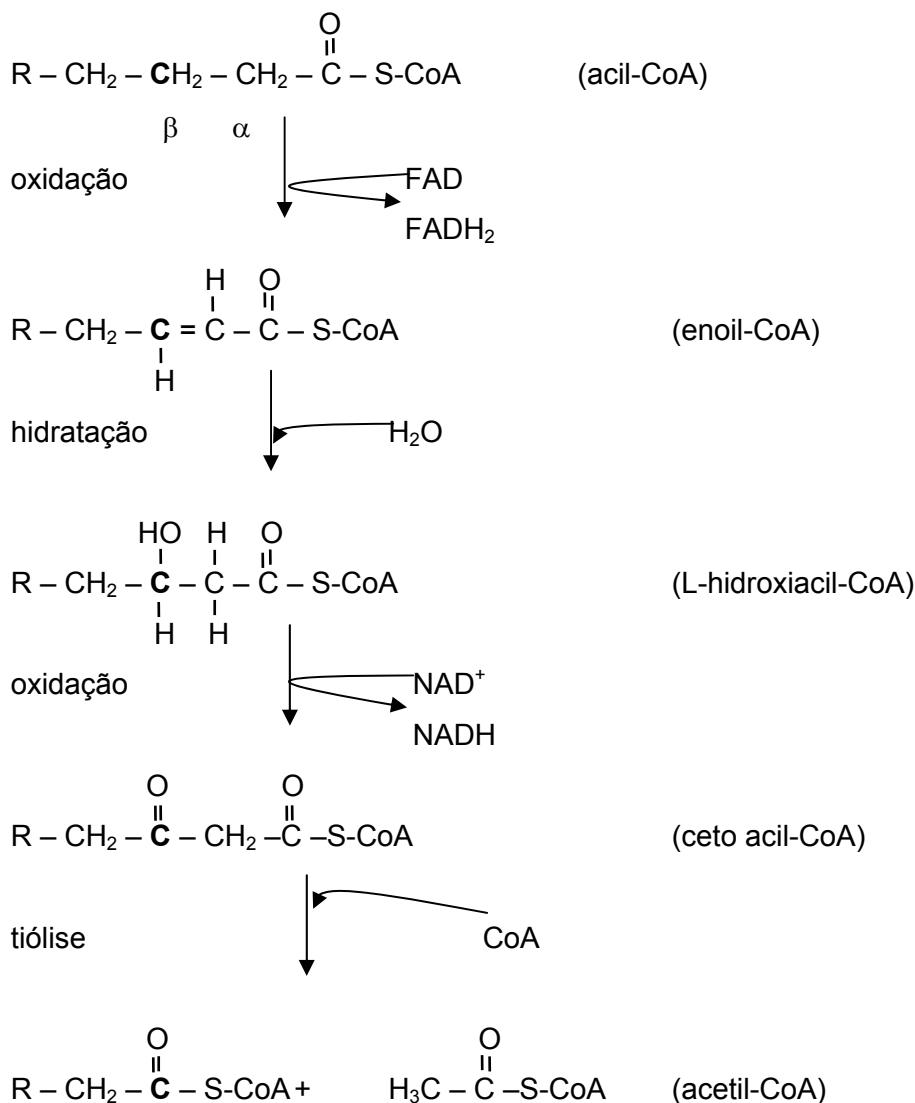
METABOLISMO DE ÁCIDOS GRAXOS

1. Os triacilglicerídeos desempenham um papel de reserva de energia metabólica. Algumas de suas propriedades físico-químicas são ideais para essa função: a) elevado grau de redução de seus C, maximizando a quantidade de energia livre liberada na oxidação e b) alta hidrofobicidade, permitindo estocagem livre de água (estoques anidros). Não é por acaso que os triglicerídeos compõe cerca de 90% da reserva de energia metabólica e também da dieta lipídica dos humanos.

2. A reserva de triacilglicerídeos do tecido adiposo é mobilizada através da hidrólise a glicerol e ácidos graxos livres, catalisada por lípase específica. Os ácidos graxos livres são carregados pela corrente sanguínea na forma de complexos com albumina, que representa 50% da proteína do plasma. Ácidos graxos livres são muito insolúveis, a ~ 1 microM formam micelas, que são altamente tóxicas.

3. A via catabólica de degradação de ácidos graxos para produção de ATP ocorre na matriz mitocondrial e se chama beta-oxidação. Esta via leva à clivagem sequencial da cadeia do ácido graxo em pares de C, liberando a cada ciclo: 1 acetilCoA, 1 NADH e 1 FADH₂ (ver reações abaixo), que alimentarão, respectivamente, o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória. Mas, a beta-oxidação exige previamente uma ativação inicial que consome 1 ATP e libera o ácido graxo na forma de acilCoA. Esta etapa preliminar de ativação se dá associada à membrana externa da mitocôndria e, a transferência da acilCoa para dentro da mitocôndria, é mediada pela carnitina.

Reações de um ciclo de beta-oxidação.

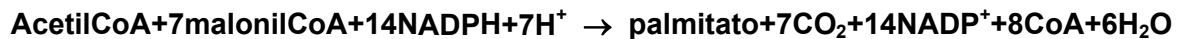


4. A oxidação completa de uma molécula de palmitato (16C) a CO_2 e H_2O , através da beta-oxidação, ciclo de Krebs e cadeia respiratória, rende 129ATP. É importante destacar que este rendimento, medido em ATP/mol-oxidado, é muito superior ao da oxidação completa de açúcares e proteínas, pois a oxidação de um ácido graxo leva à liberação de 37,6kJ/g de energia livre, enquanto oxidação de açúcares ou proteínas libera apenas 16,7kJ/g.

5. Os ácidos graxos são sintetizados no citosol por via anabólica própria que adiciona sequencialmente unidades de 2C á cadeia em crescimento. Esta via é alimentada por acetilCoA, mas só a primeira unidade de 2C entra como acetilCoA, as subseqüentes são na forma de malonilCoA. Portanto, o acetilCoA precisa ser previamente ativado a

malonilCoA, por carboxilação e consumo de 1ATP, para permitir a reação de condensação, levando ao crescimento da cadeia do ácido graxo de uma unidade de 2C, por ciclo de síntese. A ativação de acetilCoA é catalisada pela acetilCoA-carboxilase, uma enzima sujeita a controle complexo, envolvendo regulação alostérica e ativação / desativação por modificação covalente (fosforilação / desfosforilação).

6. A síntese de palmitato (16C) é altamente endergônica, obedecendo a seguinte estequiometria:



A elongação da cadeia além de 16C e a inserção de duplas ligações é feita por outros sistemas enzimáticos especializados, que se localizam na membrana do retículo endoplasmático. Mas, mamíferos não possuem enzimas para introduzir duplas ligações em cadeias de ácidos graxos acima do C9. Por isso, linoleato (18:2) e linolenato (18:3), são ácidos graxos essenciais que precisam ser adquiridos pela dieta.

7. É importante destacar que animais degradam eficientemente glicose até acetilCoA pela glicólise e assim podem converter C de açúcar em cadeias de lipídeo de reserva. Mas, estes organismos não podem fazer o caminho de volta de cadeias de ácido graxo para glicose, pois não possuem reações que convertam acetilCoA em piruvato ou oxalacetato.

Grupo de discussão:

- 1.) Ponto de fusão dos ácidos graxos. Os pontos de fusão de uma série de ácidos graxos de 18 átomos de carbono são: ácido esteárico (69,9°C), ácido oléico (13,4°C), ácido linoléico(-5°C) e ácido linolénico (-11°C). Que aspecto estrutural destes ácidos graxos de 18 carbonos pode ser correlacionado com o ponto de fusão? Forneça uma explicação molecular para esta tendência do ponto de fusão.
- 2.) Mostre como os ácidos graxos são ativados antes de serem degradados. Em que compartimento celular isso ocorre?

- 3.) Aonde e sob que forma são estocados os ácidos graxos? Como os ácidos graxos da reserva metabólica são mobilizados para serem oxidados na matriz mitocondrial?
- 3.) Explique os passos da β -oxidação dos ácidos graxos, partindo de uma molécula de palmitato. Calcule o rendimento energético da oxidação completa de palmitato a CO_2 e H_2O .
- 5.) Na β -oxidação, a cadeia de ácidos graxos é degradada aos pares de carbono. Na síntese de ácidos graxos, a cadeia cresce também aos pares de carbono. No entanto, o precursor na elongação da cadeia, durante a síntese, é malonil-CoA e não acetil-CoA. Explique porquê.
- 6.) Equacione as etapas que compõem o conjunto de reações que permitem adicionar acetil-CoA à cadeia de ácido graxo crescente durante a síntese de palmitato. Mostre que etapa torna o processo favorecido termodinamicamente.
- 7.) Compare a β -oxidação e a biossíntese de palmitato, mostrando diferenças e semelhanças em:
- carregadores de grupos acila;
 - reações de óxido-redução;
 - coenzimas de óxido-redução;
 - gasto ou produção de energia em termos de equivalentes de ATP e de coenzimas redutoras.
- 8.) Mostre como se dá a oxidação do ácido oléico.

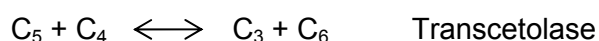
CICLO DAS PENTOSSES.

1. Muitas funções celulares que envolvem reações endergônicas são efetuadas graças à hidrólise exergônica de ATP. Outras reações endergônicas, como a síntese de ácidos graxos e colesterol e a fotossíntese, requerem NADPH, que tem um grande poder redutor.
2. O grupo fosforila no carbono 2 de uma das unidades de ribose do NADPH o diferencia de NADH. NADH é oxidado pela cadeia respiratória para gerar ATP, enquanto que NADPH serve como um doador de elétrons em reações biossintéticas redutoras.
3. Na via das pentoses, NADPH é gerado quando a glicose-6-fosfato é oxidada a ribose-5-fosfato, que é um açúcar de 5 carbonos, componente de vários compostos importantes, como ATP, CoA, NAD⁺, FAD, RNA e DNA.
4. A via das pentoses também catalisa a interconversão de açúcares de 3, 4, 5, 6 e 7 carbonos, em uma série de reações não oxidativas que ocorrem no citosol.
5. As reações da via das pentoses são as seguintes:
 - glicose-6-fosfato é desidrogenado e convertido a ribulose-5-fosfato, em três reações, produzindo 2 NADPH + H⁺.
 - ribulose-5-fosfato é isomerizada a ribose-5-fosfato.

Nestas reações, 2 NADPH + H⁺ e uma ribose-5-fosfato são gerados para cada glicose-6-fosfato oxidada.

- ribose-5-fosfato é convertida a gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato pela transcetolase e transaldolase. A transcetolase catalisa a transferência de unidades de C2 de uma cetose para uma aldose. A transaldolase transfere unidades de C3 de uma aldose para uma cetose.

As reações de transcetolase e transaldolase criam uma ligação reversível entre a via das pentoses e a via glicolítica. O resultado dessas reações é a formação de 2 hexoses e 1 triose a partir de 3 pentoses:



6. O excesso de ribose-5-fosfato formado pela via das pentoses pode ser completamente convertido em intermediários da via glicolítica.

7. A primeira reação da via das pentoses, a desidrogenação da glicose-6-fosfato, é praticamente irreversível. E é essa a reação em que a via das pentoses é controlada. O fator regulatório mais importante é o nível de NADP^+ , o receptor de elétrons na oxidação da glicose-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona. Além disso, NADPH compete com NADP^+ pela ligação à enzima. A parte não oxidativa da via das pentoses é controlada principalmente pela disponibilidade de substratos.
8. A via percorrida pela glicose-6-fosfato depende da necessidade celular de $\text{NADPH} + \text{H}^+$, ribose-5-fosfato e ATP:
- Quando muito mais ribose-5-fosfato é requerida que $\text{NADPH} + \text{H}^+$, a maior parte de glicose-6-fosfato é convertida a frutose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato pela via glicolítica, a transaldolase e a transcetolase convertem esses em ribose-3-fosfato.
 - Quando a necessidade de $\text{NADPH} + \text{H}^+$ e ribose-5-fosfato estão balanceadas, a reação predominante é a formação de 2 NADPH e uma ribose-5-fosfato de glicose-6-fosfato pela fase oxidativa da via das pentoses.
 - Quando muito mais $\text{NADPH} + \text{H}^+$ é requerido que ribose-5-fosfato, a glicose-6-fosfato é completamente oxidada a CO_2 , ou convertida a piruvato.

Grupo de discussão:

- 1.) Mostre a parte oxidativa do ciclo das pentoses com as equações das reações envolvidas, indicando os agentes oxidantes e a origem do carbono presente no CO_2 liberado.
- 2.) Compare NADH e NADPH , indicando suas funções no metabolismo de carboidratos. Explique porque a via da pentose-fosfato é muito mais ativa no tecido adiposo que no músculo.
- 3.) Quando há necessidade de NADPH , o ciclo das pentoses pode funcionar dando um resultado líquido que equivale à oxidação total de glicose a CO_2 . Explique este processo através das respectivas reações estequiometricamente equilibradas.

- 4.) Ribose 5-fosfato pode ser obtida para a síntese de nucleotídeos através da via das pentoses, com ou sem oxidação da glicose. Mostre como isso é possível com as respectivas equações químicas.

- 4.) Explique como a via da pentose–fosfato é controlada, tendo em vista que grande parte das reações dessa via é reversível.

- 6.) Compare as reações catalisadas por transaldolases e transcetolases, indicando reagentes, produtos e a natureza das reações.

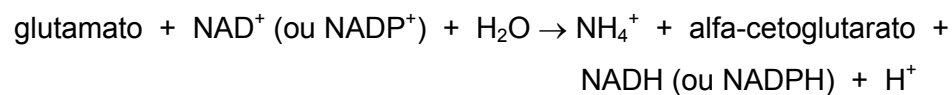
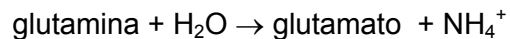
METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS.

1. Em animais, o N do grupo amino dos aminoácidos são eficientemente obtidos a partir de NH_4^+ pelas reações catalisadas pelas enzimas desidrogenase glutâmica e glutamina sintetase, fornecendo, respectivamente, glutamato e glutamina.
2. Ainda em animais de forma geral, os aminoácidos alanina e aspartato podem ser obtidos a partir de, respectivamente, piruvato e oxalacetato, através da reação de transaminação tendo glutamato como doador de grupo amino. Outros aminoácidos exigem reações adicionais, além da transaminação para sua síntese final. Mas, como regra, os esqueletos de C dos aminoácidos são obtidos a partir dos intermediários da glicólise, do ciclo de Krebs e do ciclo das pentoses.
3. Há, no entanto, aminoácidos que não podem ser sintetizados por animais devido a falta do precursor que fornece o esqueleto de C. Estes são ditos aminoácidos essenciais e tem que ser obtidos na dieta. Por exemplo, humanos tem que conseguir da dieta 9 aminoácidos essenciais.
4. Triglicerídeos e glicogênio são compostos de reserva, mobilizados quando há necessidade de energia. Em animais, não existem espécies de proteína com funções de reserva energética, mas no jejum prolongado proteínas são hidrolisadas para liberar aminoácidos que serão catabolisados para produção de energia. O fígado é o centro de catabolização de aminoácidos.

5. O catabolismo de aminoácidos envolve a eliminação de N na forma de NH_4^+ e a transformação dos esqueletos de C em intermediários da glicólise e do ciclo de Krebs.
6. Duas reações principais permitem a eliminação do amino grupo. Diversos aminoácidos podem transferir o grupo amino para o alfa-cetoglutarato numa reação catalisada por transaminases:



Por outro lado, glutamina e glutamato podem ser desaminados em reações catalisadas pela glutaminase e desidrogenase glutâmica, respectivamente:



O cátion amônio é tóxico, sendo utilizado para a síntese de glutamina ou convertido em uréia no ciclo correspondente, para fins de excreção.

8. Aminoácidos como alanina, aspartato e glutamato são ditos glicogênicos porque podem ser convertidos em, respectivamente, piruvato, oxalacetato e alfa-cetoglutarato, que, por sua vez, podem ser transformados em fosfoenolpiruvato para síntese de glicose. Já os aminoácidos leucina e lisina são chamados cetogênicos por produzirem exclusivamente acetilCoA como produto de degradação, portanto servindo à síntese de corpos cetônicos, mas não de glicose.

Grupo de discussão:

- 1.) Como é a reação de transaminação e qual a sua importância para o metabolismo de aminoácidos?
- 2.) A amônia pode ser tóxica para a mitocôndria hepática? Como se explica bioquimicamente esta toxidez? Que reações e respectivas enzimas protegem a mitocôndria da toxidez de amônia?
- 3.) Uma das duas principais reações de entrada de NH_3 no metabolismo é a reação catalisada pela glutamina sintetase. Mostre a equação dessa reação. Qual a importância da glutamina para o metabolismo? Dê exemplos.

- 4.) O que são aminoácidos glicogênicos e cetogênicos? Dê exemplos e explique mostrando as reações relevantes do metabolismo.

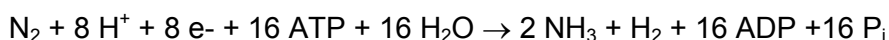
- 5.) Humanos sintetizam parte dos aminoácidos que precisam, o restante é obtido da dieta e por isso, chamados essenciais. Mostre, com as reações pertinentes, porque e como alguns aminoácidos são sintetizados por humanos e qual a limitação que impede a síntese dos essenciais.

- 6.) Animais em geral não possuem reservas na forma de proteínas ou qualquer outra macromolécula nitrogenada. Quais as conseqüências desse fato para o balanço de nitrogênio nesses organismos em condições de alimentação abundante e de jejum acentuado?

CICLO DO NITROGÊNIO.

1. Os gases mais abundantes no ar atmosférico, O_2 e N_2 , são essenciais para a existência da vida biológica no planeta Terra, mas divergem quanto à reatividade química. O O_2 tem propriedades de radical livre reagindo com relativa facilidade, daí servir muito bem como oxidante final na respiração de todos os organismos. Já o N_2 possui uma tripla ligação altamente estável que lhe confere baixíssima reatividade química. Apesar disso, o N_2 gasoso da atmosfera é a fonte do elemento N que garante a vida na Terra. Por essas razões físico-químicas a redução do N_2 atmosférico pelos sistemas biológicos tem características muito peculiares.
2. A redução química do N_2 a NH_3 exige condições drásticas, 500 graus Celsius de temperatura e 300 atm de pressão, certamente incompatíveis com a vida biológica. Mas bactérias especializadas do gênero *Rhizobium*, que são simbiotes de plantas leguminosas, reduzem eficientemente N_2 a NH_4^+ , uma espécie química totalmente compatível com o metabolismo de todos os organismos. Portanto, o N_2 fixado por essa simbiose entre planta e bactéria garante a disponibilidade do elemento N para todas as formas de vida terrestre. As bactérias fixadoras de N_2 possuem um complexo enzimático singular, a nitrogenase. A reação de redução do N_2 a NH_4^+

(fixação de nitrogênio), qual envolve um redutor poderoso a grande investimento de energia na forma de ATP, é catalisado pela nitrogenase, qual usa NADPH + H⁺ como doador de elétrons:



3. A volatilidade do NH₄⁺ (NH₃ + H⁺) não favorece sua permanência no solo, mas existem bactérias autotróficas de vida livre, muito abundantes e largamente disseminadas, que são especializadas na oxidação do cátion amônio a nitrito e nitrato para fins de obtenção de energia metabólica. Desta maneira o elemento N é estavelmente depositado no solo na forma de espécies químicas, sais de nitrito e nitrato, que são eficientemente absorvidas pelas raízes das plantas e prontamente reduzidas a NH₄⁺ no interior da célula vegetal.

As etapas sumariamente mencionadas compreendem o ciclo do nitrogênio na natureza: a) redução do N₂ a NH₄⁺; b) oxidação de NH₄⁺ a nitrito e nitrato; c) redução de nitrito e nitrato a NH₄⁺ e d) transformação do elemento N de inorgânico para orgânico com a síntese de aminoácidos a partir de NH₄⁺, reação possível em todas as formas de organismos biológicos.

Grupo de discussão:

- 1.) CO₂ e N₂ existem na atmosfera e são fontes dos elementos C e N para os seres vivos. CO₂ é eficientemente fixado pelas plantas em geral através da fotossíntese. N₂ por outro lado, apesar de extremamente abundante, 70 a 80% do ar, não é fixado pela grande maioria das plantas, que necessitam espécies reduzidas ou oxidadas de N₂ para a síntese de compostos nitrogenados. Somente algumas poucas formas de bactérias têm a capacidade de fixação de N₂. Compare o processo de fixação de CO₂ com o de fixação de N₂, e procure mostrar porque as plantas fixam muito bem CO₂, mas não N₂.
- 2.) Equacione a reação da nitrogenase e mostre aonde ocorre.
- 3.) Qual é a função de compostos nitrogenados na respiração anaeróbica? Descreva a respiração anaeróbica identificando doadores e aceptores de elétrons ?

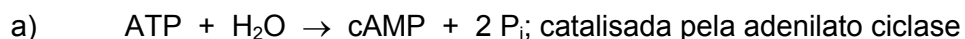
- 4.) Certas bactérias oxidam NH_3 a nitritos e nitratos, enquanto plantas e bactérias em geral reduzem nitritos e nitratos a NH_3 . Qual a função da redução de nitritos e nitratos na vida desses organismos?
- 5.) Cianobactérias conseguem fazer fotossíntese e fixação de nitrogênio no mesmo tempo. Explique como isso ocorre.
- 6.) Compare as vias de assimilação de amônia em organismos ricos e deficientes em nitrogênio.

CONTROLE HORMONAL DO METABOLISMO e INTEGRAÇÃO METABÓLICA.

1. A regulação metabólica é feita de interferência direta de determinadas reações químicas que compõem o metabolismo, aumentando ou reduzindo sua velocidade. O resultado direto deste processo é a maior oferta de substratos ou acúmulo de metabólitos que acabará por influenciar outras vidas dependentes destes compostos e a forma mais eficiente de regulação desta rede é aumentar a concentração ou alterar a eficiência da enzima.
2. Pode se controlar a síntese ou degradação enzimática; também se pode modular a atividade enzimática através de mudanças conformacionais da própria enzima provocada através da ligação de compostos ou grupos na cadeia peptídica: regulação alostérica e regulação por modificação covalente. A concentração enzimática também pode variar conforme a oferta do substrato; alteração mediada através de hormônios.
3. Hormônios são sinais químicos que permitem a comunicação entre células. São sintetizados em células glandulares para atingir células alvo através da circulação sanguínea. As células alvo respondem a hormônios específicos por possuírem os respectivos receptores hormonais. A ligação do hormônio ao receptor segue uma reação de equilíbrio semelhante à interação enzima-substrato: $\text{H} + \text{R} \rightarrow [\text{RH}]$: a constante de dissociação de RH (KD), correspondente à reação inversa é muito baixa - (10^{-12} a 10^{-9} M) - devido à alta afinidade entre hormônio e receptor.
4. Uma parte importante dos receptores hormonais são proteínas integrais de membrana, muitas das quais tem, atualmente, sua estrutura primária conhecida e sua

estrutura tridimensional modelada, em consequência da clonagem e seqüenciamento dos seus respectivos genes. Por exemplo, o receptor β -adrenérgico do hormônio adrenalina, encontrado em hepatócito e outros tipos celulares, possui um peso molecular de 64 kD, compreendendo uma única cadeia peptídica que, de maneira serpentiforme, atravessa a membrana 7 vezes, deixando do lado extracelular, a extremidade N-terminal e 3 alças, e do lado intracelular, outras 3 alças mais a extremidade C-terminal. A porção extracelular do receptor contém o sítio de ligação da adrenalina, enquanto a porção intracelular se associa a um trímero de proteínas conhecidas como proteína-G, por ter um sítio específico para ligação do nucleotídeo GTP. São hoje conhecidos mais de 1000 receptores, de múltiplos hormônios, com esta estrutura básica formando a superfamília chamada dos receptores associados a proteína-G. A função deste receptor é transduzir o sinal “adrenalina” de fora para dentro da célula, processo que é mediado pelas proteínas-G. Há também receptores presentes no citoplasma nuclear e citoplasmático e neste caso, o hormônio precisa ter alta solubilidade a lipídeos, atravessando a membrana plasmática como os hormônios esteróides para encontrar o seu receptor dentro da célula.

4. Os hormônios estão envolvidos no metabolismo em dois níveis: indução ou repressão gênica de determinadas enzimas ou através da modificação covalente: A fosforilação é mediada pelas proteínas quinases que transferem o grupo fosfato do ATP para resíduos específicos de serina, treonina e tirosina, formando uma ligação éster fosfórico ou a retirada do grupo fosfato é catalisada pela ação de fosfoproteínas fosfatases através da hidrólise.
5. A ligação de adrenalina ao receptor β -adrenérgico acoplado a proteína G ativa a enzima adenilato ciclase através da ativação da subunidade α (por ligação de GTP), presente na face interna da membrana citoplasmática, qual ativa a adenilato ciclase, catalisando a formação de cAMP a partir de ATP e desencadeando a transdução de sinal. A descoberta de cAMP, por Sutherland e colaboradores há cerca de 40 anos, levou à criação do conceito do segundo mensageiro da ação hormonal, sendo cAMP o primeiro a ser descrito, e permitiu dar início à progressiva compreensão dos mecanismos de ação do receptor de adrenalina. Devemos lembrar que os primeiros mensageiros químicos extracelulares são os hormônios. cAMP tem efeito transiente e é hidrolisada pela ação da fosfodiesterase. Na célula, o balanço entre as reações de síntese (a) e degradação (b) regula a concentração intracelular do cAMP.



b) $cAMP + H_2O \rightarrow AMP$; catalisada pela fosfodiesterase.

7. A base da ação metabólica do cAMP é a ativação alostérica de uma quinase cujos substratos são proteínas, sendo conhecida como proteína quinase dependente de cAMP, ou simplesmente PKA (*Protein Kinase dependent on cAMP*). A PKA, uma vez ativada, catalisa a fosforilação ativadora (modificação covalente) de uma cascata de proteínas quinases que terminam na fosforilação da fosforilase a e da sintase do glicogênio, causando, respectivamente, a ativação e a inativação dessas enzimas. O resultado final dessa seqüência de ativações enzimáticas, com alternância de regulação alostérica e modificação covalente, é a fosforólise do glicogênio liberando glicose-1P, comandada por sinais hormonais extracelulares.

8. Os efeitos de ativação ou não da via dependem do receptor ativado, no caso dos receptores α adrenérgicos, os efeitos de α_1 são mediados através dos íons cálcio e a ativação de α_2 leva a inibição da via de adenilato ciclase. Há casos aonde a proteína G é do tipo G_s sendo ativadora de adenilato ciclase e do tipo G_R inibindo a adenilato ciclase. Algumas toxinas podem ativar ou bloquear a via de transdução de sinal: toxina da cólera e a toxina da coqueluche.

9. Dois hormônios são os principais responsáveis pelo equilíbrio da concentração da glicose circulante: Glucagon e insulina.

10. O glucagon é um hormônio que tem efeitos equivalentes ao da adrenalina no controle do metabolismo do glicogênio: possui um receptor da família dos receptores acoplados a proteína-G e ativa a cascata que se inicia com cAMP/PKA. Este é liberado em condições de hipoglicemia ativando processos degradativos para manutenção da glicemia sanguínea. A PKA (proteína quinase ativada por cAMP) fosforila a fosforilase quinase tornando-a ativa. A fosforilase quinase fosforila agora glicogênio fosforilase. A glicogênio fosforilase ativada (quando fosforilada, glicogênio fosforilase b \rightarrow a) catalisa a hidrólise de resíduos de glicose do glicogênio liberando grupos de glicose-1-fosfato. No mesmo tempo, a fosforilase quinase, ativada pela cascata do receptor de glucagon-proteína-G, cAMP/PKA, fosforila a glicogênio sintase, a qual se torna inativa quando fosforilada (sintase I \rightarrow sintase D).

b) A insulina tem efeito oposto, promove a absorção de glicose pelo fígado e músculos e usa deposição nas reservas de glicogênio. Mas é importante notar que a insulina tem mecanismos de ação totalmente diferentes da adrenalina e do glucagon. Os receptores de insulina não pertencem à família dos receptores acoplados a proteína-G e não têm ação sobre a adenilato ciclase. Seus receptores são do grupo de receptores cujo domínio

intracelular apresenta atividade intrínseca de proteína-quinase de tirosina. A insulina estimula fosfoproteínas fosfatases. Para reverter a ação do glucagon, a insulina promove a ativação da fosfoproteína fosfatase que catalisa a desfosforilação da glicogênio fosforilase e da glicogênio sintase, levando a inativação da primeira (fosforilase a → b) e ativação da segunda (sintase D → sintase I). Desta forma o fluxo glicose→glicogênio é favorecido. O transporte da glicose no interior das células com a atuação da insulina é um processo passivo mediado por uma família de permeases denominadas GLUT (glicose transporter).

11. Respostas celulares rápidas desencadeadas por hormônios só podem ser obtidas através da ativação, ou da inibição, de enzimas pré-existentes. Hormônios esteróides (por exemplo cortisol) quando secretados difundem-se pela membrana citoplasmática e ligam-se ao seus receptores intracelulares os quais, quando ativados, promovem no núcleo a regulação do metabolismo pela indução da transcrição de genes que codificam enzimas específicas, levando à síntese de novo das proteínas correspondentes, fenômeno conhecido como indução enzimática. Mas o mecanismo de indução enzimática desencadeado por hormônios resulta necessariamente numa resposta celular lenta, uma vez que os RNAs mensageiros (mRNAs) precisam ser transcritos, processados, transportados para o citoplasma e finalmente traduzidos para produzir as proteínas enzimáticas exigidas.

12. A adrenalina estimula uma resposta local no músculo. A liberação de adrenalina é induzida por estímulo nervoso autônomo em situações de perigo, exercício físico, e hipoglicemia e induz a degradação do glicogênio com os fins de fornecer glicose-1-fosfato como fonte de energia para atividades musculares que permitem ao animal reagir a estas situações.

13. Regulação da glicólise e gliconeogênese

A glicólise é uma das vias metabólicas principais para o fornecimento de energia. No fígado, encontra-se também a gliconeogênese, a qual é, de forma geral, uma via antagônica da glicólise. A regulação das duas vias é feita de forma recíproca, isto é, quando uma delas está ativa, a outra está inibida. Há três vias sob controle metabólico: as conversões reversíveis de: (i) glicose para glicose-6-fosfato (hexoquinase e glicose-6-fosfatase); (ii) frutose-6-fosfato e frutose-1,6-bisfosfato (fosfofrutoquinase e frutose-1,6-bisfosfatase; e (iii) fosfoenolpiruvato e piruvato (piruvato quinase e fosfoenolpiruvato carboxiquinase, piruvato carboxilase).

A fosfofrutoquinase é o principal ponto de regulação da glicólise. AMP e frutose-2,6-bisfosfato agem como efetadores alostéricos positivos. A formação de frutose-2,6-bisfosfato está sob controle hormonal. Em condições de hipoglicemia, o glucagon estimula a produção de cAMP no fígado. Isso ativa a PKA a fosforilar e inativar a fosfofrutoquinase e ativar a frutose-bisfosfatase-2, diminuindo a concentração de frutose-2,6-bisfosfatase. Como resultado, o equilíbrio entre as reações de fosfofrutoquinase é alterado, em favor da síntese de frutose-6-fosfato, aumentando o fluxo gliconeogênico e a síntese de glicose-6-fosfato. Ao contrário, em condições de hiperglicemia, as concentrações de cAMP diminuíram, e o conseqüente aumento de frutose-2,6-bisfosfato ativa a fosfofrutoquinase e promove a glicólise.

Grupo de discussão:

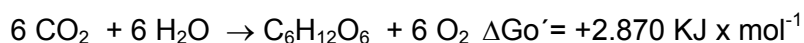
- 1.) Os hormônios podem ser de natureza química muito diferente, por exemplo, adrenalina, uma catecolamina, e glucagon, um peptídeo. Apesar disso, desencadeiam o mesmo processo metabólico no fígado, isto é, mobilização de glicose da reserva de glicogênio. Se um hormônio é um sinal químico, como é possível que substâncias quimicamente tão diferentes transmitam a mesma sinalização metabólica para o hepatócito?
- 2.) O sinal hormonal, por exemplo, da adrenalina no hepatócito, é rapidamente decodificado e amplificado numa cascata que alterna ativações alostéricas e reações enzimáticas. Mostre quais são os fundamentos desse processo que garantem essa rapidez e amplificação.
- 3) As vias metabólicas clássicas como, por exemplo, a glicólise e a via de biossíntese de ácidos graxos, cuidam da grande massa do trabalho metabólico, como, respectivamente, produção e armazenamento de energia. Há, no entanto, vias ou circuitos, quantitativamente insignificantes, mas fundamentais, para o controle das vias metabólicas massivas. Os circuitos, ou vias regulatórias, acionados pelos hormônios pertencem a este grupo. Que circuito regulatório permite à adrenalina promover a glicólise no músculo e a gliconeogênese no fígado?

- 4.) O nível de glicose no sangue após um período de jejum é de aproximadamente 0,8 mg/ml (4 mM). Depois da ingestão de alimentos, o nível de glicose passa a ser de aproximadamente 1,2 mg/ml (6 mM). Explique porque os níveis de glicose variam tão pouco em situações alimentares tão diferentes. Como esses níveis são controlados?
- 5.) A indução enzimática é uma importante forma de adaptação do hepatócito às necessidades metabólicas do organismo, mas não serve para respostas ultra-rápidas como a mobilização de glicose da reserva de glicogênio. Explique porquê.
- 6.) A concentração de ATP na célula está em torno de 5 mM. A quantidade total de ATP é pequena e é fonte primária de energia para o funcionamento celular. Por outro lado, o ATP é também o reagente que permite gerar cAMP, um dos mais importantes sinais químicos intracelulares de regulação metabólica. Além disso, cabe lembrar que todos os efeitos regulatórios do cAMP decorrem da ativação da enzima quinase de proteína dependente de cAMP, conhecida como PKA. Tendo em conta todos estes fatos conhecidos, qual deve ser a ordem de grandeza da constante de ativação (K_a , semelhante a K_m) de PKA por cAMP? Justifique sua resposta.

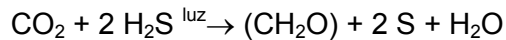
FOTOSSÍNTESE

1. A fotossíntese é o processo pelo qual a energia luminosa é transformada em energia química e poder redutor, armazenada nas moléculas de ATP e $\text{NADH} + \text{H}^+$. Num segundo passo fase escura (na verdade, fase independente de luz) a energia armazenada é utilizada para síntese de glicose a partir de $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. A fotossíntese ocorre nos cloroplastos, uma organela que, como a mitocôndria, possui uma membrana externa altamente permeável e uma membrana interna praticamente impermeável, separadas por um espaço intermembranar.

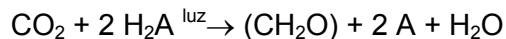
A equação geral da fotossíntese é:



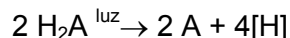
3. As reações dependentes de luz ocorrem na membrana tilacóide e envolvem processos semelhantes ao transporte de elétrons e fosforilação oxidativa da mitocôndria. As reações independentes de luz ocorrem no estroma.
4. Os primeiros estudos de fotossíntese realizados levaram à conclusão de que CO₂ era a fonte do O₂ gerado na fotossíntese. Em 1931, entretanto, demonstrou-se que bactérias fotossintetizantes anaeróbicas, sintetizam glicose a partir de CO₂, sem gerar O₂:



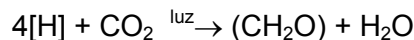
5. A reação geral da fotossíntese pode ser demonstrada como segue:



Em cianobactérias, H₂A é H₂S, e em plantas, H₂O. Isso sugere que a fotossíntese seja um processo de duas fases, nos quais a energia solar é utilizada para oxidar H₂A (fase clara):



e o agente redutor resultante [H] subsequentemente reduz CO₂ (fase escura):



6. O principal fotorreceptor na fotossíntese é a clorofila. A luz absorvida pelas clorofilas antena e pigmentos acessórios é transferida para centros de reação fotossintéticos, onde ocorrem as principais reações da fotossíntese.
7. Plantas e cianobactérias utilizam o poder redutor gerado pela oxidação de H₂O dirigida pela luz para produzir NADPH.
8. A produção de O₂ na fotossíntese requer 2 fotossistemas: **Fotossistema I** (P700) gera um forte agente redutor, capaz de reduzir NADP⁺, e concomitantemente, um oxidante fraco; **Fotossistema II** (P680) gera um forte agente oxidante, capaz de oxidar H₂O, e concomitantemente, um redutor fraco. O redutor fraco reduz o oxidante fraco. Assim, fotossistemas I e II precisam funcionar em série para acoplar a oxidação da H₂O com a redução de NADP⁺ (transferência de elétrons de H₂O para NADP⁺, formando O₂ e NADPH + H⁺).
9. Quando iluminado, o FS II passa para uma forma excitada e perde elétrons, os quais são transportados por reações de óxido-redução para o fotossistema I. O PS I iluminado fornece elétrons para a redução de NADP⁺. Como resultado temos a oxidação do FS II e a redução do FS I. A reposição de elétrons em PS II é feita por elétrons provenientes da oxidação de água e, em PSI, por elétrons emitidos por PSII.

10. Os componentes envolvidos no transporte de elétrons de H_2O para $NADP^+$ com produção de $NADPH + H^+$ estão organizados em três partículas, que estão ligadas a membrana tilacóide: (1) fotossistema II; (2) complexo do citocromo b_6f ; (3) fotossistema I (fotofosforilação não-cíclica).
11. Os cloroplastos geram ATP de maneira muito semelhante à da mitocôndria, ou seja, através do acoplamento da dissipação de um gradiente de prótons à síntese de ATP.
12. Na fotofosforilação cíclica, os elétrons emitidos por P700 (PSI) são transferidos ao complexo citocromo b_6f , retornando finalmente a P700. Não há síntese de $NADPH + H^+$, nem liberação de oxigênio.
13. Na fase clara da fotossíntese, ATP e $NADPH + H^+$ são sintetizados, e esses são utilizados na fase escura para a síntese de carboidratos. A via pela qual as plantas incorporam CO_2 em carboidratos é denominada de Ciclo de Calvin.
14. O ciclo de Calvin engloba duas fases: (1) a fase de produção, na qual 3 moléculas de ribulose-5-fosfato reagem com 3 moléculas de CO_2 , gerando 6 moléculas de gliceraldeído-3-fosfato, com o gasto de 9 ATPs e 6 $NADPH + H^+$; (2) a fase de recuperação, na qual os átomos de carbono de 5 gliceraldeído-3-fosfato entram em uma série de reações para dar origem a 3 ribulose-5-fosfato, com as quais o ciclo recomeça.

Grupo de discussão:

- 1.) Porque as folhas das plantas são verdes? Explique em termos de composição e espectro de absorção dos pigmentos foliares.
- 2.) Há muito tempo, foi observado que a eficiência da fotossíntese, medida em termos de O_2 produzido por energia luminosa absorvida, cai drasticamente quando uma fonte de luz monocromática alcança o comprimento de onda de 700 nm (queda no vermelho). Além disso, observou-se também que a aplicação concomitante de um feixe de luz de baixa intensidade e comprimento de onda de 650 nm complementava a luz vermelha de 700 nm, recuperando a eficiência fotossintética de liberar O_2 . Que importância teve no passado a descoberta deste fenômeno e qual a explicação atual para sua existência?

- 3.) O que é fotofosforilação cíclica e no que difere da fotofosforilação não cíclica? Quando o $[NADPH + H^+ / NADP^+]$ é alto, a produção de O_2 durante fotofosforilação é suprimida. Explique o fenômeno considerando os papéis dos dois fotossistemas.
- 4.) Porque a descoberta da reação de Hill, em 1939, deu apoio à hipótese anterior de Van Niel, propondo que o O_2 da fotossíntese vem da água?
- 5.) Compare a fase clara da fotossíntese com o processo de respiração na mitocôndria, indicando diferenças e semelhanças.
- 6.) Sabe-se que a produção de O_2 na fotossíntese requer o funcionamento de dois fotossistemas. Explique resumidamente como ocorre a interação entre os dois fotossistemas, incluindo doador e receptor de elétrons no processo.

Grupo de discussão (cont.):

- 1.) Compare a fase clara da fotossíntese com o processo de respiração na mitocôndria, indicando diferenças e semelhanças.
- 2.) Sabe-se que a produção de O_2 na fotossíntese requer o funcionamento de dois fotossistemas. Explique resumidamente como ocorre a interação entre os dois fotossistemas, incluindo doador e receptor de elétrons no processo.
- 3.) Explique como algumas bactérias anaeróbicas podem realizar a fotossíntese.
- 4.) Explique como organismos fotossintetizantes sintetizam carboidratos a partir de CO_2 e H_2O .
- 5.) Explique a regulação do ciclo de Calvin, mencionado as enzimas-chave sujeitas a regulação e como as reações da fase controlam o processo da fixação de CO_2 .

6.) Quando uma suspensão de algas verdes é iluminada na ausência de CO₂ e depois incubada no escuro com CO₂ radiomarcado [¹⁴CO₂], o ¹⁴CO₂ é convertido em [¹⁴C]-glicose por um curto tempo. Qual é o significado dessa observação e como ele está relacionado com as reações luminosas da fotossíntese? Por que cessa a conversão de ¹⁴CO₂ depois um curto intervalo de tempo?

Tópicos	Animações
Biomoléculas: Carboidratos, Lipídios, aminoácidos e proteínas	
<u>carboidratos</u>	http://www.wisc-online.com/objects/index_tj.asp?objid=AP13104
glicose na água	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/carbohydrates/glucose.swf
ligação glicolítica	http://www.tvdsb.on.ca/westmin/science/sbioac/biochem/condense.htm
<u>lipídeos e membrana</u>	http://www.johnkyrk.com/cellmembrane.html
lipídeos	http://www.wisc-online.com/objects/index_tj.asp?objid=AP13204
lipídeos	http://www.wisc-online.com/objects/index_tj.asp?objid=AP1101
lipoproteína tutorial	http://www.chem.purdue.edu/chm333/lipoproteins.swf
triglicérides	http://www.tvdsb.on.ca/westmin/science/sbioac/biochem/triglyc.htm
<u>aminoácido e proteínas</u>	http://www.tvdsb.on.ca/westmin/science/sbioac/biochem/amino.htm
aminoácido e proteínas	http://www.johnkyrk.com/aminoacid.html
estrutura proteína	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/proteins/protein%20structure.swf
aa e proteínas	http://www.wisc-online.com/objects/index_tj.asp?objid=AP13304
desnaturação proteína	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/nonmajorsbiology/proteinstructure.html
proteínas	http://www.specialedprep.net/MSAT%20SCIENCE/Cellular%20Biology/Proteins1.htm#HOW
<u>Enzimas</u>	
energia de transição	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/transition%20state.swf
enzima - substrato	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/enzyme.swf
enzima - substrato	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/prox-orient.swf
enzima - substrato	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/biochem.path.swf
enzima - substrato	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/G-3-P%20mech..swf
regulação alostérica	http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/enzymes/allosteric.swf
cinética enzimática tutorial	http://www.chem.purdue.edu/chm333/enzyme_kinetics.swf
inibição enzimática tutorial	http://www.chem.purdue.edu/chm333/enzyme_inhibition.swf
<u>Glicólise</u>	
glicólise	http://www.science.smith.edu/departments/Biology/Bio231/glycolysis.html
glicólise	http://www.johnkyrk.com/glycolysis.html
destino do piruvato	interactive animation
<u>Gliconeogênese e Ciclo de Krebs</u>	
ciclo de Krebs	http://www.science.smith.edu/departments/Biology/Bio231/krebs.html
ciclo de Krebs	http://www.johnkyrk.com/krebs.html
gliconeogênese	interactive animations
comparação entre gliconeogênese e glicólise	http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz15/15-22.html
<u>Cadeia de Transporte de Elétrons e Fosforilação Oxidativa</u>	
cadeia transporte de eletrons	http://www.johnkyrk.com/mitochondrion.html

cadeia transporte de eletrons	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/electrontransport.html
cadeia transporte de eletrons	http://www.science.smith.edu/departments/Biology/Bio231/etc.html
Fotossíntese	
fotossíntese e respiração	http://www.teachnet.ie/projects.asp?url=http%3A%2F%2Fwww%2Eteachnet%2Eie%2Ffoneill&pid=34
fotossíntese	http://www.johnkyrk.com/photosynthesis.html
fotossíntese	http://www.science.smith.edu/departments/Biology/Bio231/calvin.html
B-oxidação de ácidos graxos	
metabolismo ácidos graxos	http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/fatty_acid_metabolism/fatty_acid_metabolism.htm
beta oxidação	http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/fatty_acid_metabolism/fatty_acid_metabolism.htm
Síntese de ácidos graxos	
biossíntese	http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/fatty_acid_metabolism/fatty_acid_metabolism.htm
Comparação entre biossíntese e oxidação ac graxos	http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz19/19-19.html
Catabolismo de proteínas / Ciclo da uréia	
ciclo da ureia	http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz20/20-8.html
Síntese e degradação do glicogênio	
controle hormonal do metabolismo de glicogenio	http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz15/15-21.html
glicogenio	http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz15/15-20.html
Material genético e fluxo da informação gênica	
DNA	http://www.johnkyrk.com/DNAanatomy.html
estrutura cromossomo	http://www.johnkyrk.com/chromosomestructure.html
dogma central	interactive animation
Replicação e transcrição	
Replicação	http://www.bioteach.ubc.ca/TeachingResources/MolecularBiology/DNAReplication.swf
Replicação	http://www.johnkyrk.com/DNAreplication.html
transcrição	http://www.johnkyrk.com/DNAtranscription.html
operon lac	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/lacoperon.html
transcrição	http://www-class.unl.edu/biochem/gp2/m_biology/animation/gene/gene_a2.html
comparação transcrição eucarioto e procarioto	http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072437316/student_view0/chapter15/animations.html#
Tradução e tecnologia do DNA Recombinante	
síntese proteínas	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/molecularbiology/proteinsecretion fla.html

síntese proteínas	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/molecularbiology/lifecycleprotein fla.html
Tradução	http://www.johnkyrk.com/DNAtranslation.html
Tradução	http://www-class.unl.edu/biochem/gp2/m_biology/animation/gene/gene_a3.html
DNA recombinante (TUDO)	http://www.dnalc.org/ddnalc/resources/animations.html
eletroforese em gel	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/gelectrophoresis.html
DNA chip	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/dnachips.html
PCR	http://www.people.virginia.edu/~rjh9u/pcranim.html
PCR	http://www.abpishools.org.uk/resources/poster-series/pcr/pcranim.asp
PCR	http://www.rvc.ac.uk/Extranet/DNA_1/7_PCR.htm
RT-PCR	http://www.bio.davidson.edu/courses/Immunology/Flash/RT_PCR.html
Clonagem	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/molecularbiology/plasmidcloning fla.html
microarrays	www.bio.davidson.edu/courses/genomics/chip/chip.html
OUTROS SITES INTERESSANTES	
célula	http://www.johnkyrk.com
célula vegetal	http://www.life.uiuc.edu/cgi-bin/plantbio/cell/cell.cgi
célula 3D interativa	http://biologica.concord.org/webtest1/Shout3d_cell_6_1_00/v2_frameset.htm
evolução organelas celulares	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/nonmajorsbiology/organelles.html
fusão membranas celulares	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/nonmajorsbiology/vesiclebudding.html
Buffer / tamponamento	http://www.tvdsb.on.ca/westmin/science/sbioac/biochem/buffer.htm
Chemical basis of life	http://www.tvdsb.on.ca/westmin/science/sbioac/biochem/Bioacu1.htm
várias animações processos biológicos mitose, meiose, etc...	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/biology/biology.html
pulse chase experiment	http://www.sumanasinc.com/webcontent/anisamples/majorsbiology/pulsechase/pulsechase.html
quiz função orgânica	http://www.execulink.com/~ekimmel/on_4.htm
biologia celular	http://www.biochem4schools.org/results_topic.htm?qry=cell_biology&Sort=Site_Name&Printver=1
biochem4schools (vários processos biológicos/bioquímicos)	http://www.biochem4schools.org/results_topic.htm?qry=cell_biology&Sort=Site_Name&Printver=1
web animation and information	http://www.chem.purdue.edu/chm333/web%20Site%202.htm
interactive animations	http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/animations.htm
vários tópicos em bioquímica	http://science.nhmccd.edu/biol/bio1int.htm#biochem
diversos	http://www.stolaf.edu/people/giannini/biological%20ananimations.html
voet	http://www.wiley.com/college/fob/anim/
outras opções (enzimas, replicação DNA, etc.)	http://www.lewport.wnyric.org/jwanamaker/animations.htm
vias metabólicas	http://www.infochembio.ethz.ch/links/en/biochem_metabolismus_lehr.html
cell biology	http://www.bbc.co.uk/education/asguru/biology/01cellbiology/index.shtml
mapa metabólico	http://www.sigmaldrich.com/img/assets/4202/MetabolicPathways_updated_4.19.05.pdf