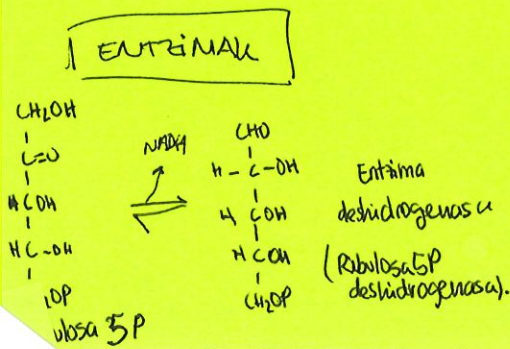


BIOENERGETIKA



zeneko entzimak (PGI) glukosa-6-fosfata (G6P) fruktosa-6-fosfata (F6P) proportzioak 2:1 izan arte.

a) kalkulatu haren oreka-konstantea eta erreazioaren ΔG° balioa. mugituko den erreazio hau, substratu eta produktuen hasierako kontzentrazioak $[G6P] = 0.1 \text{ mM}$ eta $[F6P] = 2 \text{ mM}$ direnean. Zergatik?

b) zima hori gehitu ondoren, hasieran $[F6P] = 60 \text{ mM}$ izanik?

→ *globulo gorriak*

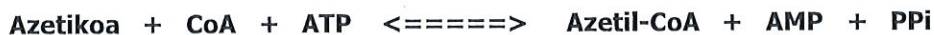
c) $[F6P] = 1.6 \text{ mM}$ denean eta ATParen hidrolisiaren $\Delta G^\circ = -7300 \text{ J/mol}$ kontutan hartuta:

zatiketa aipatutako egoeran

- ATParen hidrolisiaren oreka-konstantea
- Hematietako $[ADP] = 0.2 \text{ mM}$ denean, zein izango da $[ATP]$? (hematietako egoeran)

- Zer izango litzakete pirofosfataren **orekako** kontzentrazioa, pirofosfata inorganikoaren bidez hidrolizatu ondoren, orekako $[P_i] = 20 \text{ mM}$ denean? ($\Delta G^\circ = -7 \text{ kcal/mol}$)
- Glukosa glukosa-6-fosfata (G6P) fosforila daiteke hexokinasak katalizatutako erreazioaren bidez, ATPren desfosforilazioarekin akoplatzen delako, nahiz eta glukosaren fosforilazioa endergonikoa izan. Behar dituzun ΔG° balioak taulatik lortu.
 - Idatzi zelulan gertatzen den erreazioa eta kalkulatu haren ΔG° balioa
 - Kalkulatu oreka-konstantea 25°C -an.

- Ondoko erreazio kontutan hartuta eta ΔG° balioen taulako datuetaz baliatuz:



- Asmatu erreazioa katalizatzen duen entzimaren izena
 - Kalkulatu erreazioaren oreka-konstantea.
 - Kalkulatu orekako azetil-CoA-ren kontzentrazioa, beste konposatu guztien kontzentrazioak 10 mM -ekoak balira.
 - Azaldu zergatik ATP AMPra hidrolizatzen den, ADPra egin beharrean, apurtutako lotura biak antzekoak izanda.
- Arratoiaren burmuinean ATP, ADP eta P_i -aren kontzentrazioak 2.6 , 0.75 eta 2.7 mM dira, eta *E. coli* bakterioan 8.0 , 1.0 eta 8.0 mM , hurrenez hurren. Kalkulatu ATParen sintesiaren ΔG balioa kasu bietan. Erabili 37°C .
 - 70 kilogramoko pertsona batek $2200 \text{ kcal/eguneko}$ behar du bere mantenturako. Kalkulatu eguneari zenbat gramo ATP sintetizatuko lukeen, energia horren erdia soilik metabolismorako beharrezkoa duen ATPa sintetizatzeke erabiliko balu. (Adenina = 135, erribosa = 150, azido fosforikoa = 98).
- P.M*
- NAD^+/NADH eta pirubato/laktato erreox bikoteen potentzialak -0.32 eta -0.19 V dira hurrenez hurren. Zein bikote konjugatuk galduko ditu elektroiak errezago? Erredox potentzialen balioetan oinarriturik, erreazio honen ΔG° balioa kalkulatu.
 - Zein da konposatu oxidatzaile indartsuena?
 - Erreazioak berez zein aldetara joko du hurrengo baldintzatan: substratu eta produktuen kontzentrazioak 1 M -ean, 25°C -an eta $\text{pH} = 7.0$ an?
 - Kalkulatu erreazioaren oreka-konstantea 25°C -an
 - Disoluzio indargetu batean fumarato eta FADH_2 kontzentrazioak 1.1 mM -ekoak dira. Mitokondrioko proteina bat gehitu ondoren, FAD askatzen da ondoko abiadurarekin: $0.6 \mu\text{mol/min}$. Bikote konjugatuen erreox potentzial estandar biokimikoak $E^\circ'(\text{Fu/Su}) = +0.03 \text{ V}$ eta $E^\circ'(\text{FAD}/\text{FADH}_2) = -0.03 \text{ V}$ badira, erantzun hurrengo galderak:

- a) Idatzi gertatzen den erreakzioa. Zein da entzimaren izena eta sailkapena?
 b) Zenbat katal erabili dira saioan?
 c) Zein izango da oreka konstantea?
 d) Kalkulatu orekako sukzinato eta FADaren kontzentrazioak (berdinak direla suposatuz), FADH_2 eta fumaratoarena $=0.2 \text{ mM}$ balira?
10. Mitokondrian badago konplexu entzimatikoa bat non elektroioak sukzinatetik ($E^{\circ'} = +0.04 \text{ V}$) zitokromora ($E^{\circ'} = +0.22 \text{ V}$) mugitzen diren.
- a) Idatzi gertatzen den erreakzioa.
 b) Aipatu parte hartzen duten konplexuak.
 c) Kalkulatu erreakzio honi dagokion oreka konstantea
 d) Kalkulatu fumarato/sukzinato erlazioa orekan c zit erreduzitua/c zit oxidatua = 100 denean.
11. Mitokondrioetako arnas kateko elektroio-transferentzia erreakzio garbi honen ekuazioaren bidez adieraz daiteke:

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + 1/2 \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$$
- a) Zenbatekoa da arnas kateko elektroio-fluxuaren $E^{\circ'}$ balioa?
 b) Kalkulatu prozesu horren $\Delta G^{\circ'}$.
 c) Zenbat ATP molekula sor daitezke gehienez prozesu horretan, ATParen sintesiarako energia aske estandarra $\Delta G^{\circ'} = 30,5 \text{ kJ/mol}$ bada? Eta zelulan 50 kJ/mol dela kontuan hartuta?
12. Kalkulatu zein den elektrodo baten indar elektroeragilea (voltetan) azpiko kasuetan, elektrodoa NAD^+ eta NADH nahasirik dauzkan disoluzioan jarrita eta erreferentzia gisa $0,00 \text{ V}$ -eko $E^{\circ'}$ duen elektrodoa erabiliz (7ko pH-an eta 25°C -an):
- a) $1 \text{ mM } \text{NAD}^+$ eta $10 \text{ mM } \text{NADH}$
 b) $1 \text{ mM } \text{NAD}^+$ eta $1 \text{ mM } \text{NADH}$
 c) $10 \text{ mM } \text{NAD}^+$ eta $1 \text{ mM } \text{NADH}$
13. Egoera estandarretan, erreakzio hauetatik zein gertatuko da adierazitako noranzkoan, erreakzio horiek entzima egokiek katalizatzen dituztela aintzat hartuta? (Datuak Principles of Biochemistry)
- a) $\text{Malatoa} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{oxalazetatoa} + \text{NADH} + \text{H}^+$
 b) $\text{Azetoazetatoa} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \beta\text{-hidroxibutiratoa} + \text{NAD}^+$
 c) $\text{Pirubatoa} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{laktatoa} + \text{NAD}^+$
 d) $\text{Pirubatoa} + \beta\text{-hidroxibutiratoa} \rightarrow \text{laktatoa} + \text{azetoazetatoa}$
 e) $\text{Malatoa} + \text{pirubatoa} \rightarrow \text{oxalazetatoa} + \text{laktatoa}$
 f) $\text{Azetaldehidoa} + \text{sukzinatoa} \rightarrow \text{etanola} + \text{fumaratoa}$
14. Malatoa deshidrogenasak Krebs zikloan katalizatzen duen erreakzioaren $\Delta G^{\circ'}$ 30 kJ/mol da. Jakinda NAD^+/NADH bikotearen $E^{\circ'} = -0,32 \text{ V}$ dela, eta: $\text{Malatoa} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{oxalazetatoa} + \text{NADH} + \text{H}^+$
- a) Zein da oxalazetato/malato bikotearen $E^{\circ'}$?
 b) Zein da erreakzioaren K_{eq} ? Zein informazio ematen digu parametro honek?
 c) Kontuan eukita arratoiaren gibelako mitokondrioetan malatoaren kontzentrazioa $0,20 \text{ mM}$ izaten dela, kalkulatu oxalazetatoaren kontzentrazioa pH7an $\{\text{NAD}^+/\text{NADH}\} = 10$ denean.
15. Azido trikarboxilikoaren zikloan zehar, sukzinato deshidrogenasak bi elektroio transferitzen dizkio mitokondrioko elektroio garraio-kateari. Jakinda hurrengo bikoteen erreodox potentzialak:
- | | |
|----------------------------------|--------------------------------|
| Fumaratoa/Sukzinatoa | $E^{\circ'} = +0,03 \text{ V}$ |
| UQ/UQH ₂ | $E^{\circ'} = +0,04 \text{ V}$ |
| O ₂ /H ₂ O | $E^{\circ'} = +0,82 \text{ V}$ |
- a) Kalkulatu sukzinato deshidrogenasak katalizatutako erreakzioaren $\Delta G^{\circ'}$.

$$\text{Sukzinatoa} + \text{ubikinona} \rightarrow \text{fumaratoa} + \text{ubikinola}$$
- b) Kalkulatu elektroio-garraio osoaren $\Delta G^{\circ'}$
 c) Prozesu osoa ATParen sintesiarekin akoplatuta egongo balitz, zenbat ATP/ $2e^-$ molekula sortuko lirarteke egoera estandarretan? Konparatu emaitzak ATParen sintesiaren $\Delta G^{\circ'} = 30,5 \text{ kJ/mol}$ erabiliz eta zelulako egoerako datuarekin ($\Delta G = 50 \text{ kJ/mol}$).

BIOENERGETIKA - ARIKETAK

1. Glukosa 6 fosfato isomerasa (PGI)



a) oreka-kostantea eta ΔG° balioa

$$K_{\text{oreka}} = \frac{|\text{Poreko}|}{|\text{Soreko}|} = \frac{1}{2} = 0,5$$

$$\Delta G^{\circ} = -R \cdot T \ln K_{\text{oreka}} = -8,315 \text{ J} \cdot 298 \text{ K} \cdot \ln 0,5 = 1716,49 \text{ J}$$

b) Zein norantzerantz mugitu erreakzioa hasierako kontzentrazioak direnean?

$$[G6P] = 10 \text{ mM}$$

$$[F6P] = 2 \text{ mM}$$

zergatik?

EGOERA BILOGIKOA $K_{\text{oreka}} \neq Q$

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + R \cdot T \cdot \ln Q$$

$$\Delta G = 1716,49 \text{ J} + 8,315 \text{ J} \cdot 298 \text{ K} \cdot \ln \frac{2 \cdot 10^{-3} \text{ M}}{10 \cdot 10^{-3} \text{ M}} = -2271,48 \text{ J}$$

Erreakzioa eskumatara mugituko da **ENDERGONIKOA** delako **EXERGONIKOA**

c) Zehaztu G6P eratzeko da entzima gelatu ondoren $[F6P] = 60 \text{ mM}$ itatik

$$[F6P] = 60 \text{ mM} \quad \text{baditugu}$$

$$0,5 = \frac{[F6P] - [G6P]}{[G6P]} \implies 0,5 = \frac{60 \cdot 10^{-3} \text{ M} - x}{x}$$

$$0,5x + x = 60 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$x = 0,04 \text{ M}$$

0,04M [G6P] eratzeko dira eta
0,02M [F6P] geratzeko dira.

2. Hemen ditako $[P_i] = 1,6 \text{ mM}$ eta ATP hidrolisian $\Delta G^{\circ} = -7300 \text{ cal/mol}$



a) ATP/ADP zehaztea aipatutako egoeran.

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + R \cdot T \cdot \ln Q$$

$$-12000 \text{ cal/mol} = -7300 \text{ cal/mol} + 2 \text{ cal} \cdot 298 \text{ K} \cdot \ln Q$$

$$\ln Q = -7,885 \implies Q = 3,76 \cdot 10^{-4}$$

$$Q = \frac{[\text{ADP}][P_i]}{[\text{ATP}]} \implies \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}]} = \frac{[P_i]}{Q} = \frac{1,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}}{3,76 \cdot 10^{-4}} = 4,255$$

$$\text{ATP/ADP} = 4,255$$

b) ATP hidrolisaren oreka kostantea

$$\Delta G = 0 \quad \text{OREKAN} \implies \Delta G^{\circ} = -R \cdot T \cdot \ln K_{\text{oreka}}$$

$$-7300 \text{ cal/mol} = -2 \text{ cal} \cdot 298 \text{ K} \ln K_{\text{oreka}}$$

$$\ln K_{\text{oreka}} = -12,24 \implies K_{\text{oreka}} = 2,08 \cdot 10^5$$

c) $[ADP] = 0,2 \text{ mM}$

$[ATP] ?$

$$\frac{ATP}{ADP} = 4,324 \implies ATP = 4,324 \cdot 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ M} = \boxed{8,648 \cdot 10^{-4} \text{ M}}$$

3) Pirofosfataren orekako kontzentrazioa, pirofosfatasa inorganikoa bidez hidrolizatu ondoren, $[P_i] = 20 \text{ mM}$ denean?

$\Delta G^{\circ} = -7 \text{ kcal/mol}$



$\Delta G^{\circ} = -R \cdot T \cdot \ln K_{orek}$

$-7000 \text{ cal} = -2 \cdot 298 \cdot \ln K_{orek}$

$\boxed{\ln K_{orek} = 1,261 \cdot 10^5}$

$$K_{orek} = \frac{[P_i]^2}{[PP_i]} \implies 1,261 \cdot 10^5 = \frac{[20 \cdot 10^{-3}]^2}{PP_i}$$

$\boxed{PP_i = 3,17 \cdot 10^{-9} \text{ M}}$

4) Glukosa 6 fosfato (G6P) fosforila hexokinasa bidez, ATP desfosforilazioarekin aloplatu.

ΔG° taulatik lortu.

a) Idati erreakzioa eta kalkulatu ΔG°



$K_{orek} > 1$

b) oreka konstantea $T=25^{\circ}\text{C}$ -tan.

$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_{orek}$

$-16,7 \text{ kJ} = -8,31 \cdot 10^{-3} \text{ kJ} \cdot 298 \text{ K} \cdot \ln K_{orek}$

$\ln K_{orek} \cdot 6,743 \longrightarrow \boxed{K_{orek} = 848,70}$

5) Azetiko + CoA + ATP \rightleftharpoons Azetil CoA + AMP + PP_i

!!!!

→ a) Entzimenaren izena

Azetil CoA digosa sintetasa

b) kalkulatu erreak. koreka



$\boxed{\Delta G^{\circ} = -14,2 \text{ kJ/mol}}$

$\Delta G^{\circ} = -R \cdot T \cdot \ln K_{orek}$

$-14,2 \text{ kJ/mol} = -8,31 \cdot 10^{-3} \text{ kJ} \cdot 298 \text{ K} \cdot \ln K_{orek}$

$\ln K_{orek} = 5,724$

$\boxed{K_{orek} = 309,25}$

e) Azeil CoA orekako kontzentrazioa beste gutxienez 10mlu direlarik.

$$K_{orek} = \frac{[Azeil CoA] [AMP] [PPi]}{[Azeilo] [CoA] [ATP]}$$

$$K_{orek} = 309,25 = \frac{x \cdot 10^{-3} \cdot 10^{-3}}{10^{-3} \cdot 10^{-3} \cdot 10^{-3}}$$

$$x = 3,0925 \text{ M}$$

Hau eta da zelulan inoiz gertatzen. Baita handiegiak dira.

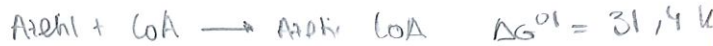
d) ATP AMP-ra zergatik hidrolizatzen ADP-ra egin beharrean.

Aportatuko loturak antzekoak izan dira.

$$\Delta G^{\circ} (\text{ATP/AMP}) = -45,6 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G^{\circ} (\text{ATP/ADP}) = -30,5 \text{ kJ/mol}$$

ATP/ADP erreakzioa exergonikoa izan da erreakzio osoa endergonikoa izango ditad



Erreakzioa eta loturak biokimikoki gertatuko ΔG° positiboa izango delako.

$$\Delta G^{\circ} = 0,9 \text{ kJ}$$

PPi (pifosfatasa) hidrolizatzen egiten dena k



$$[2,6] \quad [0,75] \quad [2,7] \text{ mM}$$

$$\text{E coli bakterioan} \quad [8,0] \quad [1,0] \quad [8,0] \text{ mM}$$

kalkulatu ATP sintesia 37°C-tan.



$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln Q$$

• Arratoiaren burmuinean

$$\Delta G = 30,5 \text{ kJ} + 8,31 \cdot 10^{-3} \cdot 310 \text{ K} \cdot \ln \frac{[2,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}]}{[0,75 \cdot 10^{-3} \text{ M}][2,7 \cdot 10^{-3} \text{ M}]}$$

$$\Delta G = 30,5 \text{ kJ} + 8,31 \cdot 10^{-3} \cdot 310 \cdot 7,15$$

$$\Delta G = 48,93 \text{ kJ/mol}$$

• E coli

$$\Delta G = 30,5 \text{ kJ} + 8,31 \cdot 10^{-3} \cdot 310 \text{ K} \cdot \ln \frac{8 \cdot 10^{-3}}{1 \cdot 10^{-3} \cdot 8 \cdot 10^{-3}}$$

$$\Delta G = 30,5 \text{ kJ} + 17,79$$

$$\Delta G = 48,29 \text{ kJ/mol}$$

1. Arraia

ATP-ak ez du beharrik ΔG° erreakzioa biokimikoki gertatzen uztia eta biologikoki gertatu ahal erregulazio desberdinen bidez.

2. Arraia



PPi hidrolizatzen joera espontaneoa dauka erreakzio exergonikoa delako. Oudonot produktua aportatzen erreakzioak ordea berreskuratzen esumara desplazatu da.

PIROFOSFATASA ENZIMA PPi hidrolizatzen esumara mugitzen da.

7) 70 kilogramo 2200 kcal / eguneko

Zenbat gramo ATP sintetizatuko lukeen energia erdia erabilita.

$$\frac{2200 \text{ kcal}}{2} = 1100 \text{ kcal metabolismoarako sibilik}$$

$$PM(ATP) = 579 \text{ g}$$



$$\frac{1 \text{ mol}}{7,3 \text{ kcal}} = 1100 \text{ kcal} = 150,68 \text{ mol ATP}$$

$$150,68 \text{ mol ATP} \cdot \frac{579 \text{ g}}{1 \text{ mol ATP}} = 87246 \text{ g} \longrightarrow \boxed{87,24 \text{ kg ATP}}$$

8) $NAD^+ / NADH$ pinbato / laktato

$$E_1 = -0,32 \text{ V}$$

$$E_2 = -0,19 \text{ V}$$

Zen bikoite konjatuak gauduko ditu elektroiak erretago?

ΔG^0 balioa kalkulatu.

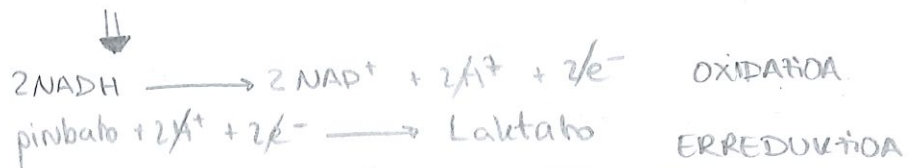
a) oxidatzaile indartsuena

$E_2 > E_1$ Beraz pinbato / laktato itzango da oxidatzaile sendoena.

b) $[S]$ eta $[P] = 1 \text{ M}$

$$T = 25^\circ \text{C}$$

$$pH = 7$$



$$\boxed{\Delta E = E(\text{ered}) - E(\text{oxidatu})}$$

$$\Delta E = -0,19 \text{ V} - (-0,32 \text{ V}) = 0,13$$

$$\boxed{\Delta E = 0,13}$$

$$\boxed{\Delta G^{0'} = -n \cdot F \cdot \Delta E} \implies \Delta G^{0'} = -2 \text{ elektroi} \cdot 96500 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{V}} \cdot 0,13 \text{ V} =$$

$$E = (+) \longrightarrow \Delta G^{0'} = (-)$$

$$\boxed{\Delta G^{0'} = -25090 \text{ J/mol}}$$

$$\Delta E = \Delta E^{01} + \frac{0,026}{n} \ln \frac{[S]}{[P]}$$

$$|\Delta E = 0,13V| \rightarrow \Delta G < 0$$

$$\Delta G = \Delta G^{01} + RT \ln Q \rightarrow \Delta G^{01} = \Delta G \text{ orduan eguango da}$$

$$\Delta G = 25090J/mol + 8,31J \cdot 298K \cdot \ln 1 \rightarrow 0$$

$$|\Delta G = \Delta G^{01} \text{ OREKAN}|$$

c) $\Delta G^{01} = -R \cdot T \cdot \ln korek$

$$\frac{25090J/mol}{8,31J \cdot 298K} = \ln korek$$

$$\ln korek = 10,13 \rightarrow |korek = 25127,66|$$

9) [Fumarato] eta [FADH₂] 1,1mM. Mitokondioko proteina bat gelitu ondoren FAD askatzen da 0,6 μmol/min.

$$E^{01} (Fu/Su) = 0,03V$$

$$E^{01} (FAD/FADH_2) = -0,03V$$



$$\Delta E^{01} = E^{01} (\text{erredutitua}) - E^{01} (\text{oxidatua}) = 0,03V - (-0,03V) = 0,06V$$

SUKINATO DESHIDROGENASA

b) Zenbat katal?

$$\frac{0,6 \mu\text{mol}}{1 \text{min}} \cdot \frac{1 \text{min}}{60 \text{s}} = 0,01 \mu\text{mol/s}$$

$$\frac{0,01 \mu\text{mol}}{\text{seg}} \cdot \frac{1 \text{mol}}{10^{-6} \text{mol}} = |10^{-8} \text{ katal}|$$

c) Korek?

$$\Delta G^{01} = -n F E^{01}$$

$$\Delta G^{01} = -2 \cdot 96500 \cdot (-0,06V) = 11580 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G^{01} = -R \cdot T \cdot \ln korek$$

$$(-11,58 \cdot 10^3 \text{ J/mol}) = -8,31 \text{ J/mol} \cdot 298 \cdot \ln korek$$

$$\frac{-11,58 \cdot 10^3}{-8,31 \cdot 298} = \ln korek = 4,6761$$

$$|korek = 107,35|$$

UNITATE ENTZIMATIKOAK

Unitatea (U): minutuko 1 μmol subs. eraldatzen duen entzima kantitatea.

$$1U = 1 \mu\text{mol S/min}$$

Katal (Kat): segunduko 1 mol subs. eraldatzen duen entzima kantitatea.

$$1 \text{ katal} = 1 \text{ mol S/s}$$

$$1U/mg \rightarrow 1 \mu\text{mol S/min} \cdot \text{mg prot}$$

d) sukinato eta FAD kontzentrazioak

FADH₂ eta fumarato 0,2mM

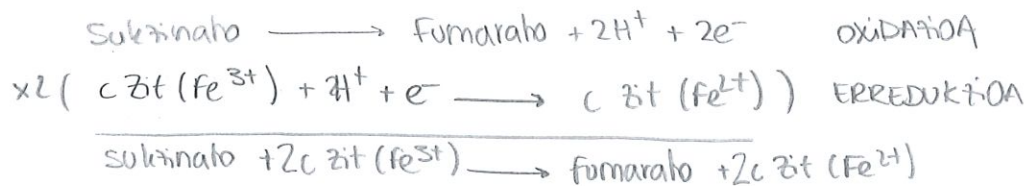
$$korek = \frac{[Sukinato][FAD]}{[Fumarato][FADH_2]}$$

$$107,35 = \frac{x^2}{(2 \cdot 10^{-4})(2 \cdot 10^{-4})}$$

$$x^2 = 4,294 \cdot 10^6 \rightarrow |x = 2,2 \cdot 10^{-3} \text{ M}|$$

10) Mitokondrian kompleksu erditasiko bat. Elektroial soluzinatetik ($E^0 = 0,04V$) c zitokromoa ($E^0 = 0,22V$) mugitu.

a) Erreakzio ditua



$$\Delta E^0 = E^0(\text{erredk}) - E^0(\text{oxid}) = 0,22V - 0,04V = 0,18V$$

$$\boxed{\Delta E^0 = 0,18V}$$

b) Aipatu parte hartzen duten konplexuak

Arnas kateko bigarren konplexua da c zitokromoa

c) kalkulatu oreka konstantea.

$$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot \Delta E^0$$

$$\Delta G^0 = -2 \cdot 96,500 \cdot 0,18V = -34,740 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln k_{\text{orek}} \longrightarrow \frac{-34,740 \text{ J/mol}}{-8,31 \cdot 298} = 14,028$$

$$\boxed{k_{\text{orek}} = 1,23 \cdot 10^6}$$

d) soluzinato FAD kontzentrazioak berdinak izanik, FADH₂ eta fumaratoa 0,2mta bada? ~~0,2mta bada?~~

$$\frac{c \text{ zit erreduzitua}}{c \text{ zit oxidatua}} = 100$$

$$k_{\text{orek}} = \frac{[P]}{[S]} = \frac{[fom] \cdot [zit Fe^{2+}]^2}{[sul] \cdot [zit Fe^{3+}]^2} = 1,23 \cdot 10^6$$

$$\frac{[fom]}{[sul]} = \frac{1,23 \cdot 10^6}{100^2} = 123,675$$

$$\boxed{fom/sul = 123,675}$$

11) elektro-transferentzia



$$E^0(NAD^+/NAD) = -0,32V \quad E^0(O_2/H_2O) = 0,816V$$

a) zenbatekoa da arnas kateko elektro fluxuen E^0 balioa?

$$\Delta E^0 = E^0(\text{erredk}) - E^0(\text{oxid}) = 0,816V - (-0,32V) = 1,136V$$

b) kalkulatu prozesu horren ΔG^0

$$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot E^0 = -2 \cdot 96,5 \cdot 1,136V = (-220,02 \text{ kJ/mol})$$

c) zenbat ATP geratuena? $\Delta G^0 = 30,5 \text{ kJ/mol}$ zelulan 50 kJ/mol dela?

$$\frac{220,02}{30} \approx 7 \text{ inguru ATP teorikoki} \quad \frac{220}{50} = 4,4 \text{ ATP}$$

12) pH=7 eta 25°C. Elektrodo baten indar elektroeragilea

a) 1mM NAD⁺ eta 10mM NADH

$$E = E^{\circ} + \frac{0,026}{n} \ln \left\{ \frac{S}{P} \right\}$$

$$E + \frac{\boxed{RT}}{nF} \ln \frac{[e^- \text{ hartzaile}]}{[e^- \text{ emaitza}]}$$

↓ 0,026

13) Zein erreakzio gaitzeko da adierazitaiko ugaritzaia?

a) Malatoa + NAD⁺ → oxalazetato + (NADH + H⁺)

$$E^{\circ}(\text{Oxal/mal}) = -0,166V \quad \Delta E^{\circ} = -0,32V - (-0,166V) = -0,154V$$

$$E^{\circ}(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,32$$

b) Azetato + NADH + H⁺ → β-hidroxi butirato + NAD⁺

$$E^{\circ}(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,32V \quad \Delta E^{\circ} = 0,24V - (-0,32V) = \boxed{0,022V}$$

$$E^{\circ}(\text{Azetato}/\beta\text{hidr}) = 0,34V$$

c) Pirubato + NADH + H⁺ → Laktato + NAD⁺

$$E^{\circ}(\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,32V \quad \Delta E^{\circ} = -0,185 - (-0,32V) = \boxed{0,135V}$$

$$E^{\circ}(\text{Pirubato}/\text{laktato}) = 0,185V$$

d) Pirubato + β-hidroxi butirato → laktato + azetatoazetato.

$$\Delta E^{\circ} = -0,185V - (-0,346) = \boxed{0,161V}$$

e) Malato + pirubato → oxalazetato + laktato. $\Delta E^{\circ} = -0,19V$

f) Azetaldehido + sukzinato → etanol + fumarato

$$\Delta E^{\circ} = -0,193V - 0,031V = -0,224V$$

14) $\Delta G^{\circ} = 30kJ/mol$

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



a) oxalazetato / malato bikotzaren E° ?

$$\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot E^{\circ}$$

$$30kJ/mol = -2 \cdot 96,5 \cdot E^{\circ} \rightarrow E^{\circ} = (-0,155V)$$

$$(-0,155V) = -0,32V - (x) \rightarrow \boxed{x = -0,16V}$$

b) Konek? Zein informazio eratorriko parametro horiek?

$$\Delta G^{\circ} = -R \cdot T \cdot \ln \text{konek}$$

$$-10^3 \cdot 30kJ/mol = -8,31J/mol \cdot 298 \cdot \ln \text{konek}$$

$$\ln \text{konek} = -12,11 \rightarrow \boxed{\text{konek} = 5,47 \cdot 10^{-8}}$$

oreka konstantea oso txikia dela.

c) errazierata (0,20mM) NAD⁺/NADH = 10

$$5,6 \cdot 10^{-6} = \frac{[\text{Oxal}][\text{NADH}]}{[0,2 \cdot 10^{-3}][\text{NAD}]}$$

$$5,6 \cdot 10^{-6} \cdot 10 \cdot 0,2 \cdot 10^{-3} = [\text{Oxal}] = \boxed{1,12 \cdot 10^{-8} M}$$

115 Añdo s'itikoareu ñikba

Fumarato / sukínato $E^0 = 0,03V$

UQ / UQH₂ $E^0 = 0,04V$

O₂ / H₂O $E^0 = 0,82V$

a) ΔG^0 sukínato + ubikinona \rightarrow fumarato + ubikinona

$\Delta E^0 = 0,04V - 0,03V = 0,01V$

$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot E^0 = -2 \cdot 96,5 \cdot 0,01V = \boxed{-1,93 \text{ kJ/mol}}$

b) Elektroi garraio osoa:

$\Delta E^0 = 0,82V - 0,03V = 0,79V$

$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot E^0 = -2 \cdot 96,5 \cdot 0,79V = \boxed{-152,47 \text{ kJ/mol}}$

c) ATP sintesiarekin akoplatuta \rightarrow ATP/ $2e^-$

$\Delta G^0 = 80,5 \text{ kJ}$

$\Delta G = 50 \text{ kJ}$

5ATP/ $2e^-$ egoera estandarretan
3 ATP zelulan.

$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K_{orek}$

mm BETI Molametera pasatu

$R = 8,315$ $R = 2 \text{ cal/mol} \cdot K$

Unitateak jarraituz gogoratu

$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln Q$

kcal \rightarrow cal pasatu beti

E(+) \rightarrow erreduzitu oxidatzaile

E(-) \rightarrow oxidatu / erreduzituak elektroak emen.

$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot \Delta E$

$F = 96500J$

$\Delta G = \Delta G^0$ OREKATU

$\Delta E^0 = E(\text{ered}) - E(\text{oxid})$

Hasierekoa - azkenia

$(\text{kcal} - 4,184)$

$E = 8,315 J/mol$
 2 cal

TABLE 13-1 Some Physical Constants and Units Used in Thermodynamics

Boltzmann constant, $k = 1.381 \times 10^{-23}$ J/K
 Avogadro's number, $N = 6.022 \times 10^{23}$ mol⁻¹
 Faraday constant, $\mathcal{F} = 96,480$ J/V · mol
 Gas constant, $R = 8,315$ J/mol · K
 (= 1.987 cal/mol · K)

Units of ΔG and ΔH are J/mol (or cal/mol)
 Units of ΔS are J/mol · K (or cal/mol · K)
 1 cal = 4.184 J

Units of absolute temperature, T , are Kelvin, K
 25 °C = 298 K
 At 25 °C, $RT = 2.479$ kJ/mol
 (= 0.592 kcal/mol)

TABLE 13-4 Standard Free-Energy Changes of Some Chemical Reactions at pH 7.0 and 25 °C (298 K)

Reaction type	$\Delta G'^{\circ}$	
	(kJ/mol)	(kcal/mol)
Hydrolysis reactions		
Acid anhydrides		
Acetic anhydride + H ₂ O → 2 acetate	-91.1	-21.8
ATP + H ₂ O → ADP + P _i	-30.5	-7.3
ATP + H ₂ O → AMP + PP _i	-45.6	-10.9
PP _i + H ₂ O → 2P _i	-19.2	-4.6
UDP-glucose + H ₂ O → UMP + glucose 1-phosphate	-43.0	-10.3
Esters		
Ethyl acetate + H ₂ O → ethanol + acetate	-19.6	-4.7
Glucose 6-phosphate + H ₂ O → glucose + P _i	-13.8	-3.3
Amides and peptides		
Glutamine + H ₂ O → glutamate + NH ₄ ⁺	-14.2	-3.4
Glycylglycine + H ₂ O → 2 glycine	-9.2	-2.2
Glycosides		
Maltose + H ₂ O → 2 glucose	-15.5	-3.7
Lactose + H ₂ O → glucose + galactose	-15.9	-3.8
Rearrangements		
Glucose 1-phosphate → glucose 6-phosphate	-7.3	-1.7
Fructose 6-phosphate → glucose 6-phosphate	-1.7	-0.4
Elimination of water		
Malate → fumarate + H ₂ O	3.1	0.8
Oxidations with molecular oxygen		
Glucose + 6O ₂ → 6CO ₂ + 6H ₂ O	-2,840	-686
Palmitate + 23O ₂ → 16CO ₂ + 16H ₂ O	-9,770	-2,338

TABLE 13-6 Standard Free Energies of Hydrolysis of Some Phosphorylated Compounds and Acetyl-CoA (a Thioester)

	$\Delta G'^{\circ}$	
	(kJ/mol)	(kcal/mol)
Phosphoenolpyruvate	-61.9	-14.8
1,3-bisphosphoglycerate (\rightarrow 3-phosphoglycerate + P_i)	-49.3	-11.8
Phosphocreatine	-43.0	-10.3
ADP (\rightarrow AMP + P_i)	-32.8	-7.8
ATP (\rightarrow ADP + P_i)	-30.5	-7.3
ATP (\rightarrow AMP + PP_i)	-45.6	-10.9
AMP (\rightarrow adenosine + P_i)	-14.2	-3.4
PP_i (\rightarrow 2 P_i)	-19.2	-4.0
Glucose 1-phosphate	-20.9	-5.0
Fructose 6-phosphate	-15.9	-3.8
Glucose 6-phosphate	-13.8	-3.3
Glycerol 1-phosphate	-9.2	-2.2
Acetyl-CoA	-31.4	-7.5

TABLE 13-7 Standard Reduction Potentials of Some Biologically Important Half-Reactions, at pH 7.0 and 25 °C (298 K)

Half-reaction	E'° (V)
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0.771
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0.421
Cytochrome <i>f</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>f</i> (Fe^{2+})	0.365
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (ferricyanide) + $e^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0.36
Cytochrome a_3 (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome a_3 (Fe^{2+})	0.35
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.295
Cytochrome <i>a</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>a</i> (Fe^{2+})	0.29
Cytochrome <i>c</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>c</i> (Fe^{2+})	0.254
Cytochrome c_1 (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome c_1 (Fe^{2+})	0.22
Cytochrome <i>b</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>b</i> (Fe^{2+})	0.077
Ubiquinone + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ubiquinol + H_2	0.045
Fumarate $^{2-}$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ succinate $^{2-}$	0.031
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at standard conditions, pH 0)	0.000
Crotonyl-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ butyryl-CoA	-0.015
Oxaloacetate $^{2-}$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ malate $^{2-}$	-0.166
Pyruvate $^-$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ lactate $^-$	-0.185
Acetaldehyde + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ethanol	-0.197
FAD + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ FADH $_2$	-0.219*
Glutathione + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 reduced glutathione	-0.23
$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$	-0.243
Lipoic acid + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ dihydrolipoic acid	-0.29
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADH	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADPH	-0.324
Acetoacetate + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ β -hydroxybutyrate	-0.346
α -Ketoglutarate + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ isocitrate	-0.38
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at pH 7)	-0.414
Ferredoxin (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ ferredoxin (Fe^{2+})	-0.432

Source: Data mostly from Loach, P.A. (1976) In *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edn (Fasman, G.D., ed.), Physical and Chemical Data, Vol. 1, pp. 122-130, CRC Press, Boca Raton, FL.

* This is the value for free FAD; FAD bound to a specific flavoprotein (for example succinate dehydrogenase) has a different E'° that depends on its protein environments.

(+) reduktion
elektronen aufnahme
oxidationsmittel

(-) oxidati
elektronen abgabe
reduktionsmittel

Azetil-CoA mitokondriatik zitratoduan garraiatzeko: zitratoduan

Azetil-CoA + OA \rightarrow Zitratu

Mitokondriaren mintz bikoitza zeharkatzen da OA berri ere mitokondriara sartu behar da.

• Malato moduan \rightarrow ATP bakoaren kontsumoa dakar

• Pirubato moduan \rightarrow 2 ATP kontsumoa dakar OA lortu arte.

BIDE METABOLIKOAK

markatuta dagoen glukosaz, pirubatoa lortu dugu glikolisiaren bidez. Zein pirubatoaren markaketa? Pirubato guztia egongo da markatuta? Glukosaren marka, zenbatekoa izango da pirubato mol bakoitzaren erradiaktibitatea?

(ik hasita) hartidura laktikoaren eta alkoholikoaren erreakzio orokorrak.

markatuta badago, Krebs zikloko zenbatgarren itzulian hasiko litzateke

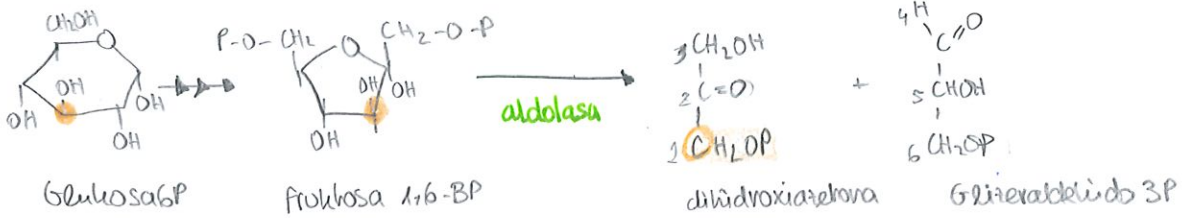
- Zenbat ATP lor dezakegu gehienez 1 mol glukosaren oxidazio osoan, H₂O eta CO₂-raino, giharretan eta gibelean?
- Zein karbonotan agertuko da ¹⁴C-aren erradiaktibitatea eratzten diren glukosa-6-fosfato molekula berrietan, landare bati markatutako CO₂-aren pulsu erradiaktibo bakarra ematen zaionean? (bide osoa idatzi).
- Zenbat ATP eta NADPH behar dira bizidun fotosintetizatzailetan CO₂ molekula bat finkatzeko eta zein erreakziotan. Eta landare krasulazeoetan zenbat ATP erabiltzen dira CO₂ bakoitzeko Calvin zikloa hasi baino lehenago?
- Arratoi bati elikagai modura karbono bikoitietan markatuta dagoen azido palmitiko ematen badiogu:
 - Idatzi palmitikoaren oxidazio osoari dagokion erreakzioa
 - Zenbat ATP molekula ekoizten dira oxidazio osoan?
 - Arratoiak CO₂ markatuta kanporatuko du? Zein biratan?
 - Arratoiaren odolean ager daiteke glukosa markatuta? Agertzekotan, zein karbonotan?
- Kalkulatu palmitatoaren sintesiaren estekiometria glukosatik hasita eta hepatozito osoetan zein hepatozitoen homogenatuan (mintzak apurturik).
- Azetil-CoA karboxilasa izeneko entzimak zitratoa du aktibatzaile eta palmitil-CoA inhibitzaile alosterikotzat. Kokatu entzimaren funtzio katalitiko bide metaboliko egokian eta azaldu logikoki aipatutako modulatzaile alosteriko bien zergatia.
- Azido palmitikoaren sintesiak 14 NADPH molekula behar ditu zitosolean. Hauetatik 8 azetil-CoA molekulak mitokondriotik ateratzean lortzen dira; nola lor daitezke bestak?
- Idatzi glutamato deshidrogenasak katalizatzen duen erreakzioa eta kalkulatu haren substratuaren oxidazio osoan lor daitezkeen ATP mol kopurua.
- Idatzi entzima honek katalizatzen duen erreakzioa: Alanina--(α -oxoglutarato) aminotransferasa edo glutamato—pirubato transaminasa.
- Nola lor daiteke alanina animalietan soilik glukosa eta amoniakoa erabiliz, ezagutzen dituzun entzimen bidez? Idatzi entzimen izena eta erabilitako energia eta ahalmen erreduzitzailearen balantzea egin.
- Nola lor daiteke glutamatoa animalietan soilik glukosa eta amoniakoaz, ezagunak dituzun entzimen laguntzarekin. Idatzi entzimen izena eta erabilitako energia eta ahalmen erreduzitzailearen balantzea egin.
- Nola lor daiteke aspartatoa glukosa, amonioa eta CO₂ erabiliz? Azaldu energiaren balantzea.

16. Animaliak ezin dugu azetil-CoA-tik glukosa sintetizatu, baina arratoi bati erradiaktiboki markatutako azetatoa emanez gero, giharretako glukogenoa erradiaktiboki markatuta dagoela (^{14}C) topa dezakegu. Azaldu hau metabolikoki nola gerta daitekeen.
17. Guztiz degradatu hiru estearatoz esterifikatuta dagoen glizerol mol bat, eta kalkulatu haren katabolismo osoan zenbat ATP mol lor daitezkeen gehienez.
18. Glutamato aminoazidoaren bide metabolikoa jarraitu egoera fisiologiko desberdinetan:
 - a) energia maila baxua eta lana egin behar
 - b) bazkaldu ondorengo lo kuluxkan

Bidearen laburpentxoak egin egoera bakoitzean (hitzez); gero, erreakzio guztiak idatzi behar diren koenzima eta ATP (edo baliokideak) guztiaz. Glutamatoaren nitrogenu eta karbono atomoak erradiaktiboki markatuta badaude, zein molekula agertuko dira markatuta? Adierazi bideak eskematikoki

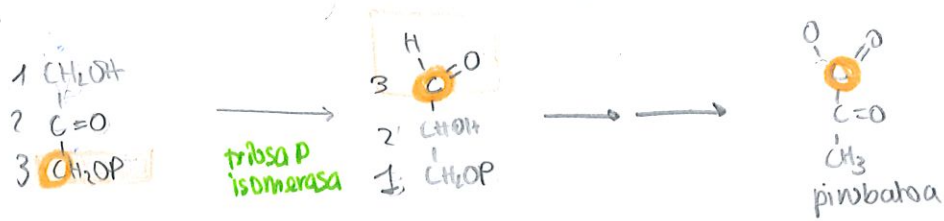
BIDE METABOLIKOAK

1 Glukosaren 3. karbonoa markatuta, pinbatatu non?
Glikolisia (zitosolean)



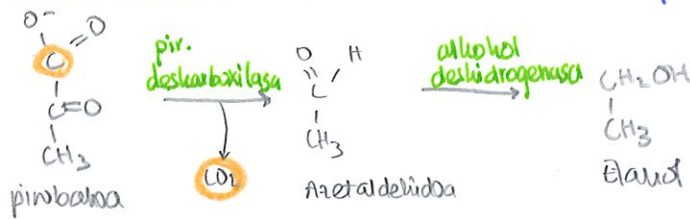
prestakuntza fasea

Dihidroxiacetona 6P birtutea da glikolisia jarrai dezan. Oreaktibo oso gertu egon arren, 6P glikolisia agortzean DHAP isomerizatu egingo da.



- Soilik pinbato erdietau egingo da markatuta.
- $\frac{8 \mu\text{Ci/mol}}{2} = 4 \mu\text{Ci/mol}$ pinbatokoa izango da.

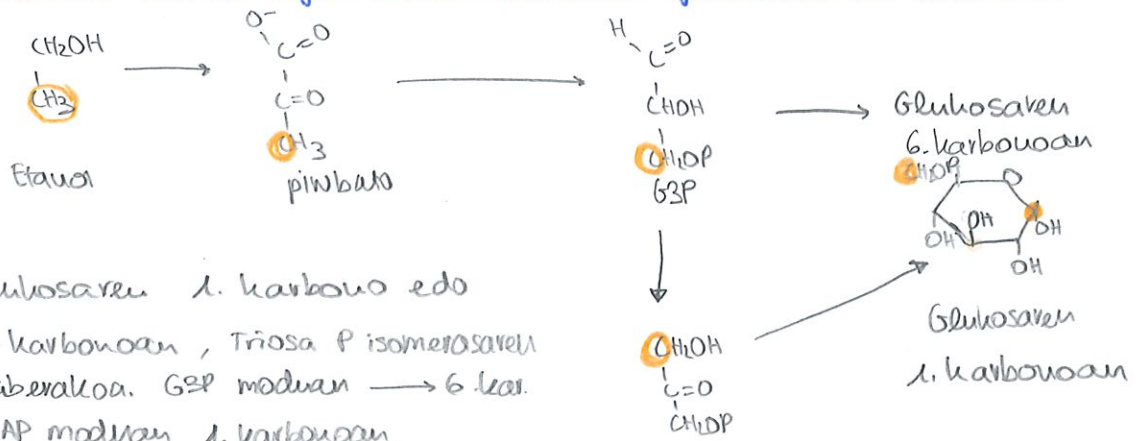
- Hartidura alkoholikoaren ondorioz non egingo litzaiteke markatuta?



Hartidura alkoholikoa (zitosolean)

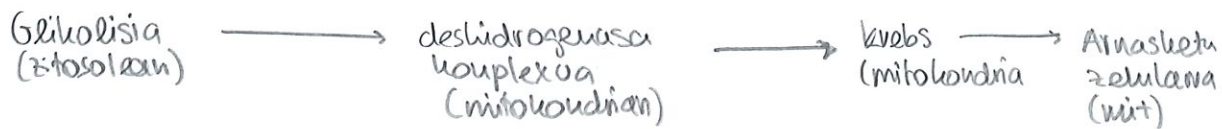
karbono dioxidoa ageriko da markatuta.

- Etanolaren metiloa ageri bada markatuta glukosaren zein karbono?



Glukosaren 1. karbono edo 6. karbonoan, Triosa P isomerasaren arabera. 6P moduan \longrightarrow 6. kar. DHAP moduan 1. karbonoan

kalkulatu glukosaren oxidazio osoa:

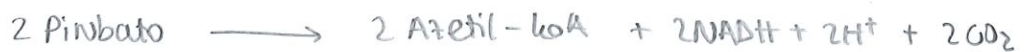


Glikolisia



• 2 (NADH + H⁺) zitosolikoak mitokondriara garraiaturak itan behar dira.

Pinbato deshidrogenasa koplekua



KREBS



Garraioa

• 2 NADH zitotokotik muskulu eta korbimean G3P anetika bidet sartzen dira mitokondriaren geruzen arteko guruzen.

• Anetika honetan NADH-ak FADH₂ bezala sartuko dira elektroien garraioan



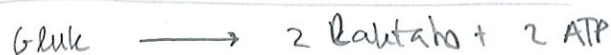
• Gibel eta giltzaren bitartean uretako aspartato anetika erabiliko da eta NADH bezala sartuko dira.



2 Gliko laktiduretarako erreakzio osoak



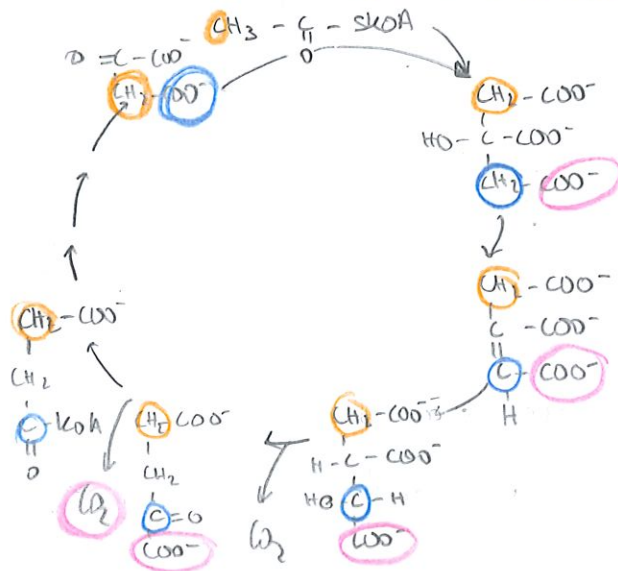
Harta. Laktikoa



Harta. Alkoholikoa



3 Azeil-KoA metiloa markatuta krebs zikloko zenbatgarren itzulia hasiko ditazteke CO₂ erreaktiboa askatzen?



- 1. bira
- 2. bira
- 3. bira

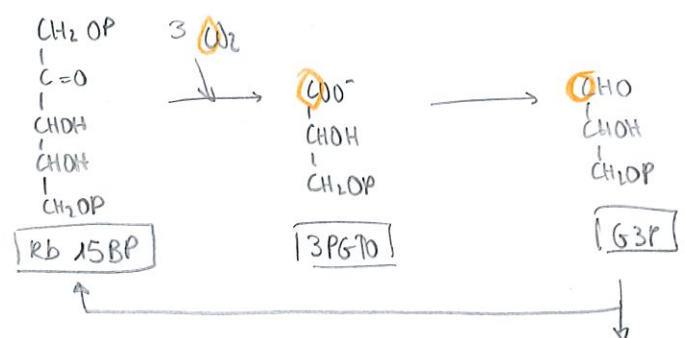
3. biran hasiko dira karbonoak CO₂ bezala askatzen.

Fumardo molekula simetrikoa denez bi aukera egon daitezke.

4 Zenbat ATP lor dezakegu 1mol glukosaren oxidatiorik gihar etu gibelean?

32 ATP malato laspartato anetika erabilita gibelean
30 ATP G3P anetika erabilita giharretan.

5 zein karbonotan agertuko da G6P molekula berietan CO₂ markatuean?



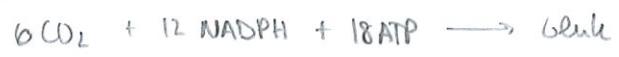
G3P bezala sartzen bada glukoneogenesisan fruktosaren 4. karbonoa izatera pasatuko da eta horrela glukosaren 4. Glukosaren 3. edo 4. karbonoa agertuko da markatuta.

G3P → PHAP izatera pasatuko balita Triosa P isomerasaren bidez 3. karbonoa izatera pasako litzaiteke.

6 Zenbat ATP NADPH behar dira CO₂ bat finkatzele? Landare krantlateoetan? zenbat ATP lantzen zikloa bako lehen?

CO₂ bat finkatzele 2 NADPH eta 3 ATP behariko dira.

Erreakzio orokorra



Landare krantlateoetan

ATP bat gelinago behariko dute baina AMP-ra ligandotien denez P_i eratuko da.



3) Azaldu bati karbono bikoitak markatzen palmitikoa

a) Oxidazio orain dagoen erredito ondoren

Palmitikoa (Ganta azidoa)

- AKTIBATIO ENERGETIKOA (mitosolean)
- GARRAIOA MITOKONDRIORA (karnitin anelka) (eta dago energia kontsumoan)
- β OXIDAZIOA

1) AKT. ENG



2) β oxid. 16 karbono / 2 = 8 bira - 1 = 7



→ 2 ATP kontsumoa dagoela kontsideratzen da ATP-a ez dagoela gutxi hidrolizatzen.

b) Zenbat ATP molekula?



$$24 \text{NADH} \cdot 2,5 \text{ATP} = 60,5 \text{ATP}$$

$$15 \text{FADH}_2 \cdot 1,5 \text{ATP} = 22,5 \text{ATP}$$

$$8 \text{GTP} = 8 \text{ATP}$$

$$108 \text{ATP} - 2 \text{ATP} \text{ aktibatiboak} = 106 \text{ATP} \text{ erdituko dira}$$

c) Azalduak CO_2 markatuta konparatuko du? Zein bira? (Karbono bikoitak markatuta.)

karbono bikoitak markatuta badaude ganta azidoaren metilo aldeak egongo dira markatuta.



Beraz, krebsen zikloan Azeil-KOA sartzerakoan 3 bira askatu daitezke. Ez dabilgo zelatzi fumaratoa karbono simetrikoa dena? eta dabilgo? zenbateraino karbonoak itatera pasatuko du. oxalatetatoarekin batera azidoaren karbono biraen karbono itatera pasatuko da. fitratuan.

d) Azidoaren odolatu ager daitezke glukosa markatuta? Zein karbonotan.

Bai. Itan ere glukosa behar dagoen oxalatetatoa sintetizatzen da glukosa. Azeil-KOA krebs-zikloan sartzen da eta lehen bira markatutako metilo oxalatetatoaren 2. metilo itatera pasatuko da.

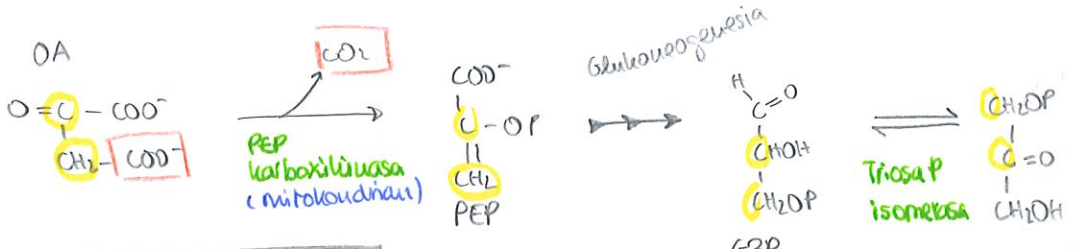
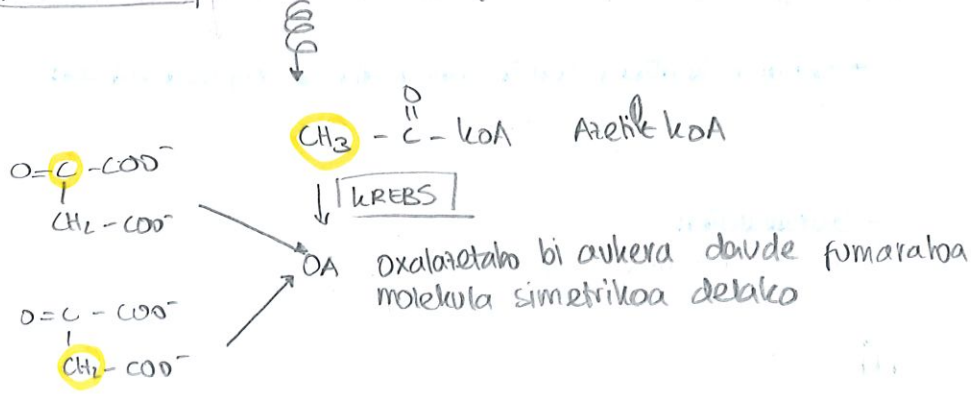


Erreakzio anaplerotiko honen bidez, oxaloretatoa mitokondrio barnean PEP bihurtzen da eta hau mitokondriatik irteeran glukoneogenesisian sartuko da.

Bertan PEP G3P bihurtuko da eta Triosa P isomerasaren bidez DHAP-ra eraldatzen bada glukosaren 2 karbonoa erago da markatuta. G3P berrala geratzen bada, 5 karbonoa.

Krebs-ikloan fumaratoa simetrikoa dena eta doligu zelatzi mehatz zenbatgarren karbonoa dagoen markatuta (2. edo 3. karbonoa).

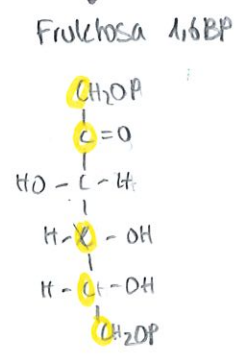
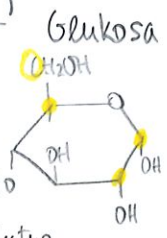
β oxidazioa 7 bira erago dira eta 8 Azeil-koa osatu.



- 1 edo 6. karbonoak
- 2 edo 5. karbonoak

Dolean ager daiteke glukosa markatua?

Glukoneogenesisia odolaren HO sibilie ematen bada agertuko da glukosa markatua odolaren. Gibelak sibilie du ekiko glukosa 6 fosfatasa azitima fosfato taldea hidrolizatzele.



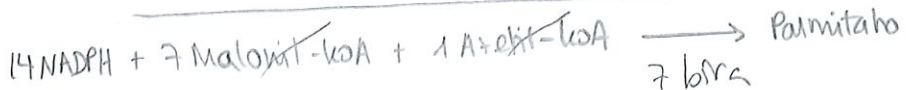
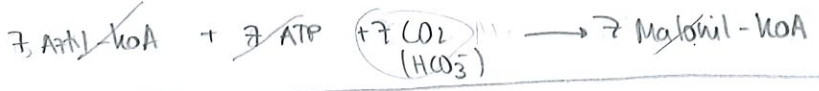
8 Palmitatoaren sintesiaren estekiometria glukosatik abiatuta.

- Hepatito osoetan
- Hepatito homogenatuetan.

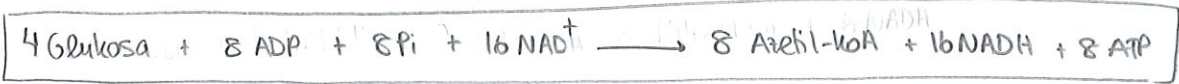
Glukosa → Glikolisia

→ Azeil-kOA → GA-en sintesia → 16 karbono behar → 8 Azeil-kOA

• Aukibatua
• Sintesia



ERREAKTIO ORDOKORRA

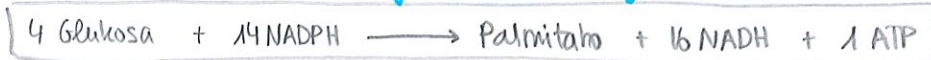


Palmitatoaren sintesia



Azeiloen garraioa mitokondriatik zitosolera zitrato moduan egiten da. Honek ATP bax gelaiagoreen kontsumoa dakar Azeil-koA Bakoitzeke.

- Garraioa kontuan hartu gabe zelula homogenatu batean:



- Garraioazulain:

-1 ATP edo -2 ATP Azeil-koA bakoitzeke.

9 Azeil-koA karboxilasak zitrato du aktibatzaile eta palmitil-koA inhibitzaileak. kokatu entzimaren aktibitate katabolikoa. Azido modulatzaile abstenitu bien terगत।

Zitrato kontzentrazio handiak krebs-zikloa etenda dagoela adieraten du. Bestela honen oxidazioa emango liteke ATP osko dagoenem organismoan krebs-en zikloa inhibituta geratuko da. Ondorioz, zitrato pilaketak palmitato, gantz azidoen sintesiko bidezidoreen sartuko da.

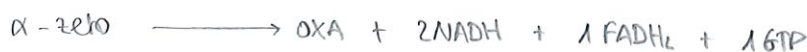
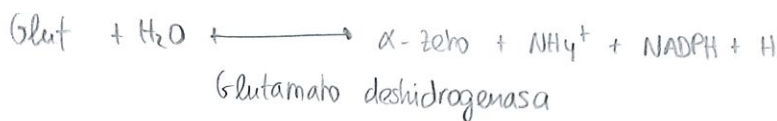
Palmitil-koak alderantzizko bidea adieraten du. Malonitoaren oroketa eta da beharretikoa, gantz-azidoak ez direnak behar. Badawdelako ualiko.

10 Azido palmitikoaren sintesiak 4NADPH behar ditu. Honek 8 azeil-koA mitokondriatik ateratzean, bestek?

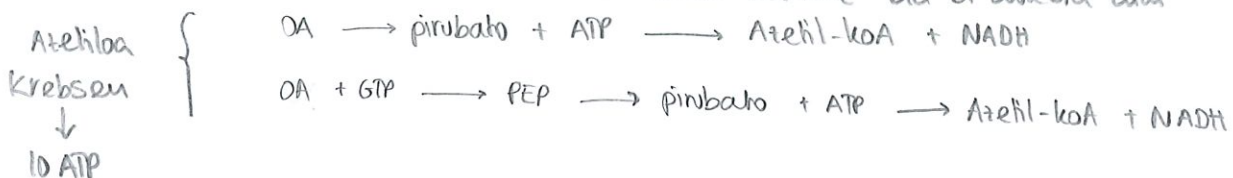
Zitrato moduan ateratzean mitokondriatik OA pinbatu moduan sartien bada NADPH-ak lortuko dira.

Beste NADPH-ak pentosa fosfatoen bidezidor oxidatibotik lortu daitezke

11 Glutamato deshidrogenasak katalizatzen duen erreakzioa kalkulatu haren substratoaren oxidazioan lor daitezkeen ATPak.



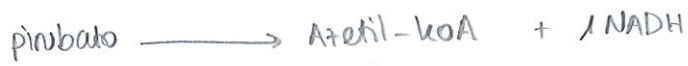
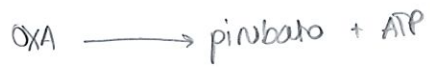
Oxaloasetatoa azeilo moduan atara daitezke eta bi aukora ditu



Glutamatoaren etekin metabolikoa:



Krebs zirkloa



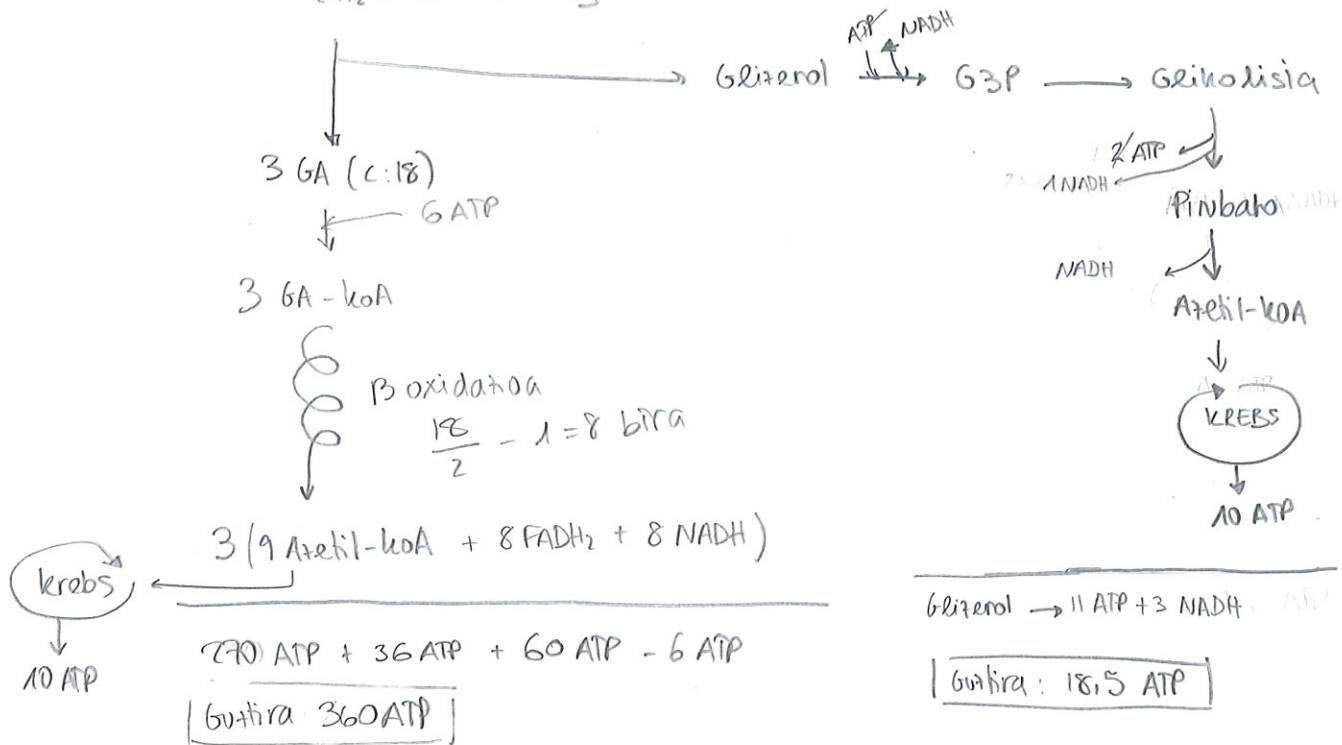
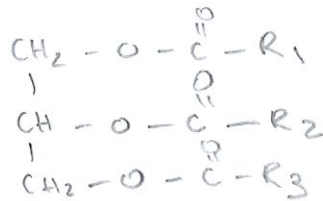
10 ATP

Gutira : 23,5 ATP

PEP markatua glukoneogenesisian gora igoko da glukosa eratu arte eta ondoren glukosa markatua hori glukogenesis itzartuko da.

17) Gantz degradatu hiru esteratoz esterifikatuta dagoen mota bat glicerol, eta kalkulatu katabolismo osoko ATP-ak.

• Lipasa batek triglizeridoaren hiru gantz-akidoak hidrolizatuko ditu.



Triglizerido baten oxidatiodan 378,5 ATP eratuko dira

18) glutamatoaren bidezko jarraitu:

a) energia maita baxua eta lana egin behar denean

Energia beharra bada oso garrantzitsua izango da ATParen ekoizpena. Horretarako, desaminatua jasango du eta sartuko α -zetooglutaratoa Krebs-en zikloan sartuko da.

b) batkide endorengo ikuslaxkan

Et dagoener energia beharrik glutamatoa desaminatu ahaliko da eta α -zetooglutaratoa duabolismoan erabiliko da Krebs-zikloan sartzean behararen arabera bide bat aukeratuko du. Itan ere, da, tria triglizeridoak, proteinak, glukosa sintetisa daitezke bestatik, kolesterola ere...

1. bideridorra hartuta



Guthra: 23,5 ATP

2. bideridorra hartuta $-1 \text{ ATP} \longrightarrow 22,5 \text{ ATP}$

12 Idati entima honek katalizatzen duen erreakzioa

Ala + α -oxoglutarato aminotransferasa edo glutamato pinbato transaminasa



glutamato pinbato transaminasa

13 Nola lor daiteke alanina animalietan glukosari eta amoniakoa erabiliz? Idati entimen izena eta erabilitako energia.



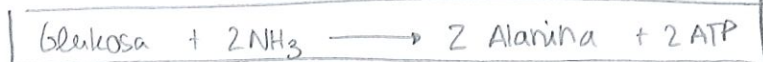
Pinbatetik irtenean Alanina sor daiteke transaminazioz, inolako ATP gasturik eduki gabe.



Bera erabilitako glutamatoak erreduzatzeko Glutamato deshidrogenasa erabili behar dugu.

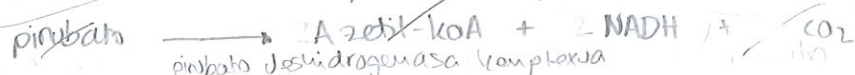


NADPH eta NADH ekibaleentziak jaten baditugu haien artean desagertuko dira.



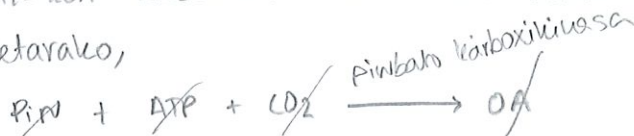
Beraz, gure organismoak gaitu da alanina glukosatik sintetizatzen

14 Nola lor daiteke glutamatoa animalietan soilik glukosari eta amoniakoa, eragunak dituzten entimen laguntzarekin. Idati entimen izena eta erabilitako energia eta ahalmen erreduktorearen balantzea.



Azetil-KoA Krebs-en zikloan sar dauden oxalazetato behar dugu:

Hortetarako,

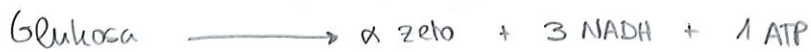


Orain, Krebs-zikloan sartuko da α -zeto eman arte



α -zeto glutarato daukagunez,





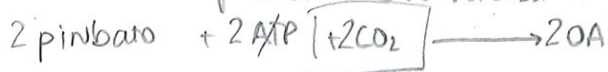
Gutira: 8,5 ATP

15) Nola lor daiteke Aspartatua glukosa amonioa eta CO₂ erabiliz? Arazdu energetiko balantzea.

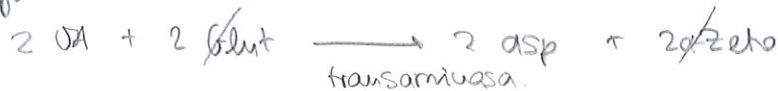
Aspartatua oxalazetato eta glutamatetik eratzen da. Horretarako, glukosa lehenik pinbatora oxidatu behar duzu: zitosolean glikolisi bidez.



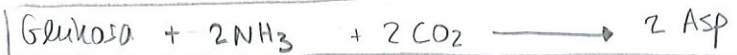
Pinbatetik oxalazetato eratu daiteke glukoneogenesiko entzima bat erabiliz: pinbato karboxilasaⁿ.



Oxalazetatoa mitokondrian glutamatoarekin batuzean aspartatua lorriko duzu



Baina ez ditzagun glutamatoak beste erreakzio bat falta zaigun:



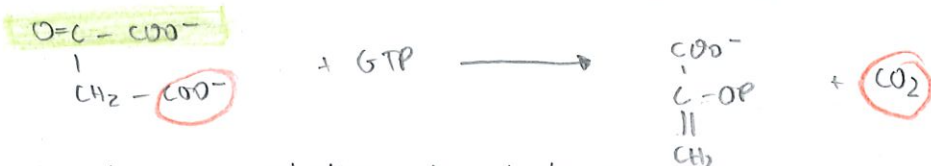
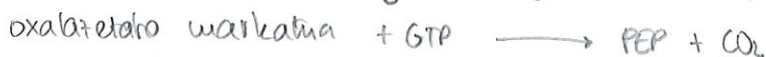
Ez da energetik behar eta dagoiteu. Enerjia balantzea = 0

16) Animalidean gluukosa Azeil-KoA-tik sintetizatu. Baina arraboiarekin glukogenoa markatuta dagoen da. Zergatik?

Azetatua markatuta emaner gero, 2 Azeil-KoA-k ere markatuta ageriko dira. Krebs-tilkloan sartzean oxalazetatoa eratuiko da eta hau ere markatuta egongo da Azeil-KoA-rekin karbonoak hirugarren bultan askatzen direlako CO₂ betala.



oxalazetato mitokondrialak pinbato karboxilasa-rekin bidez fosfoenpinbato beharriko da eta PEP glukoneogenesian sartuko da:

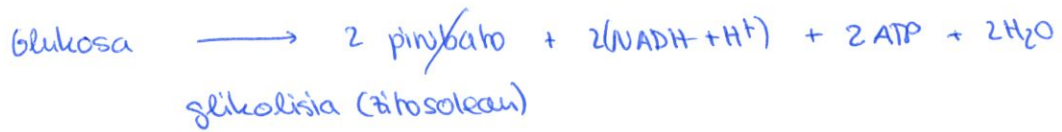


CO₂ betala askatzen den karbonoa Azeil-KoA-rekin karbonoetaniko bat izan daiteke pimarato eta sukinato molekulek erabat berdina direlako. Ondorioz, arastoa gaitzen duzu.

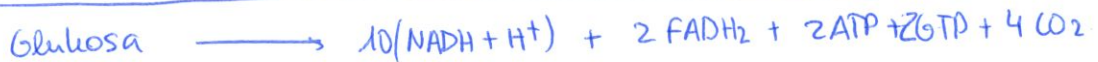
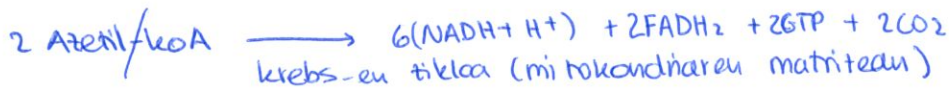
Baina suposa denagun ez direla karbono horiek gaitzen.

ARIKETAK

→ Glukosaren oxidazioa



Pibatoa problema gabe sartuko da mitokondrian.



$$10(\text{NADH} + \text{H}^+) \cdot \frac{2,5 \text{ ATP}}{1 \text{ NADH} + \text{H}^+} = 25 \text{ ATP}$$

$$2 \text{ FADH}_2 \cdot \frac{1,5 \text{ ATP}}{\text{FADH}_2} = 3 \text{ ATP}$$

$$\frac{4 \text{ ATP} (2 \text{ ATP} + 2 \text{ GTP})}{}$$

32 ATP (giltzurrun eta gibelean)

* mullato anetika erabilita

Muskulu eskeletiko eta burmuinean garrantzia desberdina da.

NADH + H⁺ FADH₂ betala sartzen da elektrooi garrantzian.

Komplexu sortutako NADH + H⁺-ak Glicerol-3P anetika bidet sartuko da ingurune intermembranera (geruta arteko ingurura)

Glikolisia soilik ezateu da zitosolean



Berat

$$8 \text{ NADH} + \text{H}^+ \cdot 2,5 = 20 \text{ ATP}$$

$$4 \text{ FADH}_2 \cdot 1,5 = 6 \text{ ATP}$$

$$+ 4 \text{ ATP}$$

30 ATP muskulu
giltzurrunean

→ G3P-ren oxidazioa

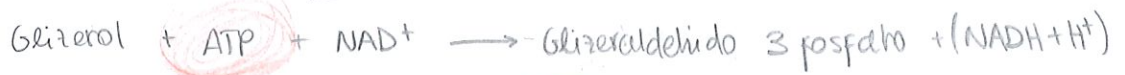


$$\hookrightarrow 2 \cdot 2,5 = 5 \text{ ATP}$$

$$\boxed{\text{GUTIRA} = 17 \text{ ATP}}$$

2- GLIZEROLAREN OXIDAZIOA

1. pausua: G3P ATP bateu kontsumo dago.

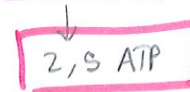


2. pausua: Glikolisia

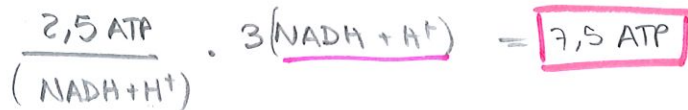
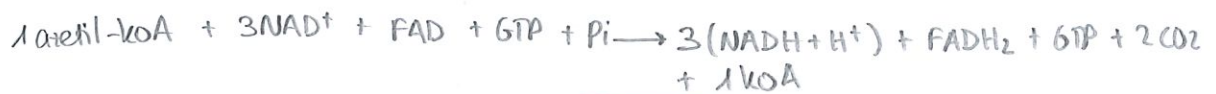
Errendimendu fasean integratuko da eta 2ATP erituko dira bidean.



3 pausua: pirubato Azetil koA-n bihurtu Krebsen zikloan sartzeko.



4 pausua: Krebsen zikloa



Edertu!

Sofia Marcos

1- AZIDO PALMITIKOAREN β OXIDATIOA

Azido palmitikoa $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$

Gantzi azido saturatua edo osea.

1. Pausua - Gantzi azidoaren aktibazioa (zitosolean)



Azil-CoA sintetasa

(\times 2 ATP-ren gastua bezala-
kontsideratu daitezke)

2. Pausua - Garraioa mitokondriora zehar (Karnitinaren anetka)

3. Pausua - β oxidazioa mitokondrioran

Bira bakortzean 2 karbono askatu

16 karbono \longrightarrow 8 Azetil CoA eta 7 bira amango ditu $(n-1)$

Bira bakortzean lorpena = 1 FADH_2 eta 1 $\text{NADH} + \text{H}^+$ + Azetil CoA

Berat 7 biratan 7FADH_2 eta $7 (\text{NADH} + \text{H}^+)$ eratuko dira eta 8 Azetil CoA

4. Pausua - Elektronen garraioa (mitokondrioren mintzean)

$$\frac{1,5 \text{ ATP}}{1 \text{ FADH}_2} \cdot 7 \text{ FADH}_2 = 10,5 \text{ ATP}$$

$$\frac{2,5 \text{ ATP}}{\text{NADH} + \text{H}^+} \cdot 7 (\text{NADH} + \text{H}^+) = 17,5 \text{ ATP}$$

5. Pausua - Krebs-en zikloa

1 Azetil koA bakortzean:



\longrightarrow 8 azetil-koatik

$$- 24 (\text{NADH} + \text{H}^+) \longrightarrow \frac{2,5 \text{ ATP}}{\text{NADH}} \cdot 24 \text{ NADH} = 60 \text{ ATP}$$

$$- 8 \text{ FADH}_2 \longrightarrow \frac{1,5 \text{ ATP}}{\text{FADH}_2} \cdot 8 \text{ FADH}_2 = 12 \text{ ATP}$$

$$- 8 \text{ ATP} \equiv \text{GTP} \longrightarrow 8 \text{ ATP}$$

$$\underline{\underline{80 \text{ ATP}}}$$

GUZTIRA ATP

$$10,5 \text{ ATP} + 17,5 \text{ ATP} + 80 \text{ ATP} = 108 \text{ ATP} - 2 \text{ ATP} = 106 \text{ ATP}$$

1. GAIA - BIOENERGETIKA - OINARRIAK

BIOENERGETIKA: Energia itahi bitidunetan nola eraldatzen den ikertzen duen diriplina.

Energia -transdukzioaren azterketa kuantitatiboa eta transdukzio baten oinarriak duzuden prozesu kimikoen itaera eta funtzioa attertzean datza.

Hau da, prozesu biologikoen ikuspegi termodinamikoa maila molekularrean.

Energiaren beharra: Itahi bitidunek etengabeko energia askea behar (kanpo-inguruti)

- Lan mekanikoa → utzirketa muskularra / mugimendu zelularra
- Molekula eta ioien garraio aktiboa
- Makromolekulen eta bestelako biomolekulen sintesia

Bitidunak: haiubat iturritatik lotu eta lau biologikora bideratu.

• Ingonenetik C hartzeko moduaren arabera:

- **AUTOTROFO:** CO₂ hartu karbono iturri gisa

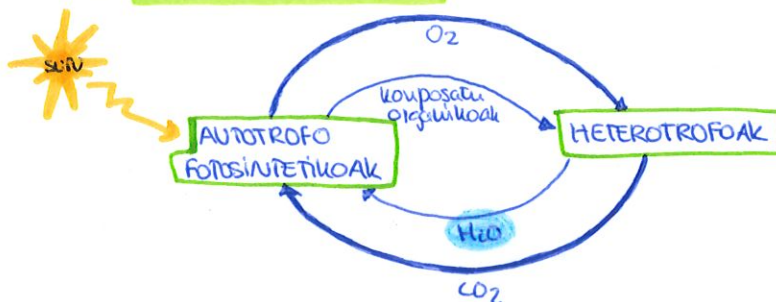
kimiotrofoak: karbono -molekulen oxidazioaren bidez sortu makromolekulak. Energia erreaktio inorganikoetatik lortzen dute (errektio exergonikoetatik).

fototrofoak: argi -energia energia kimiko bihurtzen dute. CO₂ karbono iturri gisa erabiltzen dute

- **HETEROTROFOAK:** molekula konplexuak erabiltzen dituzte karbono iturri gisa (Adb. glukosa)

Ziklo biokimikoak: organismo bitien osagai bakoitzaren partaidetza duten prozesu ziklikoak. Etengabeko birziklatze prozesua.

- **Karbonoaren zikloa**

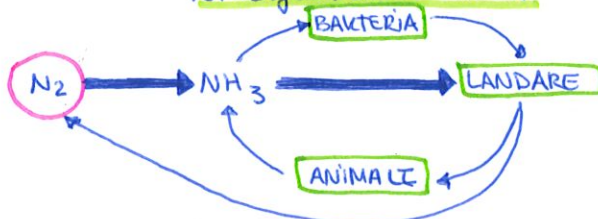


• Heterotrofoak biltzean deskonposatzaileek CO₂ kanporatu eta lurra C.

• Autotrofo fotosintetikoak:

- Landare
- Alga
- Zianobakterioak

- **Nitrogenoaren zikloa**



• Bakterioek **NITRIFIKAZIOA** guztatu:

- nitrosoak → NH₃ → (NO₂⁻)
- nitro bakter → (NO₂⁻) → (NO₃²⁻)

• Landareek **DESINTRIFIKAZIOA**

Nitrogenoa atmosferara bidali eta lurra pobretu.

• Animaliek **AMONIFIKAZIOA** landareetatik elikatuta NO₃⁻ → NH₄⁺ bihurtu.

• Azotobacter Rhizobium eta zianobakterioak N₂ → NH₃ erreduzitu eta landareek erabiliko dute tozeu tozeu.

METABOLISMOA: Zelulan edo organismoan gertatzen diren transformazio kimiko guztiaren batura, antzeko katalizatutako baliabeteen erreakzio seriea osatuta dago. Sistema multientzimatikoa.

Funtzioak:

- Eguli energia eta elikagaiak energia kimiko bihurtu.
- Manteugai molekulek zehula beraren molekulek bildakatu.
- Aintzindari monomerekoak \rightarrow polimerizatu (prot., lipido, azido nukleikoak ...) sortu.
- Zelularen funtzio espezifikoetarako behar diren biomolekulak sintetizatu eta degradatu.

Faseak:

- **KATABOLISMOA** (endekapen fasea): molekula organikoa konplexuak eta erreduzitutako harriak eta azken produktu sinpleago eta oxidatuetan bihurtu.
 - Prozesu exergonikoak dira eta energia aska askatzen dute $ATP / NADH + H^+ / NADPH / FADH_2$
 - Energia hainko hidrogeno eta elektroiak
 - Bide konbergenteak: hasierako konposatu kopuru handian oinarritutako azken produktu gutxi.
 - "LISIA"
- **ANABOLISMOA** (erakuntza-fasea): molekula baxuak eta oxidatutako molekula konplexuak eta erreduzituetan eratu.
 - Prozesu endergonikoak dira eta energia aska behar dute $ATP \rightarrow ADP + P_i$
 - Molekulen erredukzioa eragiten duten H^+ eta elektroiak
 - Bide dibergenteak: azken produktuen antzesun handia hasierako kopuru txikian oinarrituta.
 - "GENESIA"

Erregulazioa:

- **ENTZIMA ALOSTERIKOAK:** modulatuak, aktibatuak zein inhibituak diren erakuntza beraien aktibitate katalitikoa alda dezakete.
- **ERREGULAZIO HORMONALA**
- **KONTZENTRATZIOAREN ARABERAKO ERREGULAZIOA** (entzimak duten)

Magnitudeak:

- GIBBS-EN ENERGIA ASKEA (ΔG)
- ATP eta ENERGIA-TRUKAK
- ERREDOX ERREAKTIO BIOLOGIKOAK

MAGNITUDE TERMODINAMIKOAK

1- GIBBS-EN ENERGIA ASKEA (ΔG)

Erreakzio biokimikoak: izaki bizidunetan gertatzen diren erreakzio biokimikoak dira eta naturan ematen diren erreakzio fisiko-kimikoen legeak betetzen dituzte. TERMODINAMIKAREN LEGEAK BETE

Baldintza zehatzak:

- ingurune urtsuetan
- presio eta tenp konstanteetan
- pH fisiologikoa
- entzimek katalizatuta.

1. LEGEA: ENERGIA KONTSERBATIOAREN LEGEA

- Edotein proteso fisiko-kimikotan onibertsoreen energia konstantea da.
- Energia eraldatu edo baneratu, baina ezin daiteke sortu eta deuseitu.

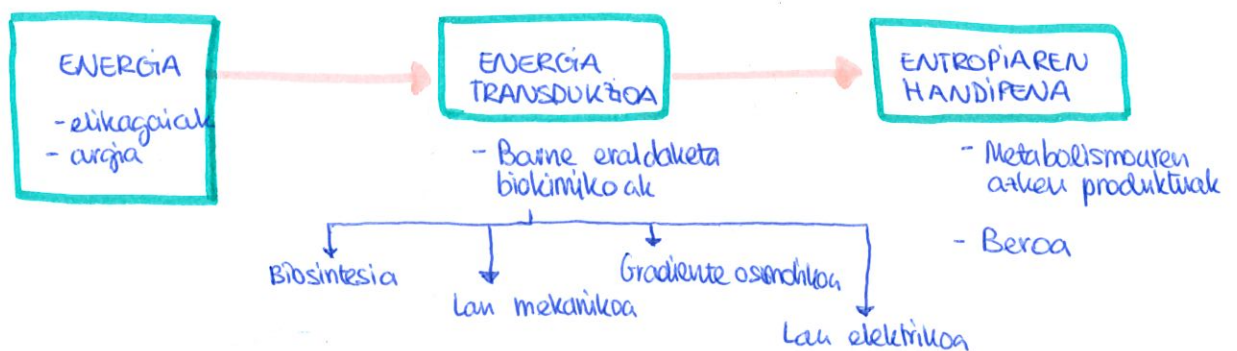
2. LEGEA: UNIBERTSOA GERO ETA DESORDENATUAGO DA

- Protesu natural gathien entropia handitu egingo da.

• SISTEMA BIZIAK: ingurunea baino askot ere ordenatuagoak dira, baina sistema irekiak dira.

Ez daude inoiz ingurunearekin orekan, elkarrekintza konstantean baitik.

- Energia aldatzeko adierazleko entropia (S), entalpia (H) eta Gibb-sen energia askea erabili.



J/mol edo cal/mol

• ENTROPIA (S): barneko aldaketa edo ordena.

$\Delta S > 0 \rightarrow$ desordenatuago

$\Delta S < 0 \rightarrow$ ordenatuago

• ENTALPIA (H): energia askapena edo bere-edukia.

$\Delta H < 0 \rightarrow$ EXOTERMIKOA (beroa askatu).

$\Delta H > 0 \rightarrow$ ENDOTERMIKOA (beroa irabati).

Egoera - funtzioa ←

- hasiera / bukaerako egoeraren araberakoa.

- Et erreakzioaren abiadurari buruz informazioak ematen.

• GIBBS-EN ENERGIA ASKEA (G): prozesu batean, sistemak lana egiteko erabili dezakeen energia.

$\Delta G < 0 \rightarrow$ EXERGONIKOA (beretkoa)

$\Delta G > 0 \rightarrow$ ENDERGONIKOA (ez -spontaneoa)

$\Delta G = 0$ oreka teorikoa.

HAIEN ARTEKO ERLATIOA (presio / temp. konstantetan)

$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$

ΔG negatiboa erreakzioa espontaneoki gertatzen da.

Organismoek energia askea hartu eta kuantitate bera bero eta entropia moduan kumporatu mantendu behar -ordea.

Energia askea (ΔG) -ren aldaketa korek -arekin erlatibotuta

$$K_{orek} = \frac{[C]_{orek}^C [D]_{orek}^D}{[A]_{orek}^A [B]_{orek}^B} \quad [] = M$$

Sistema erreaktionatzaileak orekarantz jotzeko joera du.

ΔG° -ren aldaketa txikiak korek aldaketa handia eragin

Beti orekan

$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_{orek}$

Korek < 1 $\Delta G^{\circ}(+)$ P \rightarrow E

Korek > 1 $\Delta G^{\circ}(-)$ E \rightarrow P

Korek = 1 $\Delta G^{\circ}(0)$ E \rightleftharpoons P

Et da erreakzioa gertatuko teorikoki

\rightarrow Biologikoki, hala ere, gaitari daitezke kontzentrazioaren arabera erregulazio bidez

• ENERGIA ASKEAREN ALDAKETA ESTANDARRA (ΔG°)

T = 25°
P = 1atm
[P]_o = [S]_o = 1M
pH = 0

Baldintza zehaztatzen eta artifizialki aldatutako baldintzak. (Tanka estanda-rtetan adierazita).

• ENERGIA ASKEAREN ESTANDAR BIOKIMIKOA (ΔG°)

pH = 7
[H₂O] = 55,5M (kte)
[Mg²⁺] = 1mM (kte)

teorian itaten jarraitzen du.

ΔG° = produktuen eta substratuen arteko energia askearen edukiaren diferentzia
 $\Delta G^{\circ} = (\Sigma G_p - \Sigma G_s)$

• BENETAKO ΔG (ΔG)

- Erreakzioa gertatzen den bitartean ΔG txikiagotu orekara heldu arte.
- Produktuak sortu betain pronto erabilizak bezelako erreakzioa et da orekara itzuli inoiz.
- ΔG balioak maximoak dira
- Et du abiadurarekin zerikusirik.

$\Delta G^{0'}$ = egoera estandarretan gertatzen den energia askaren aldaketa da.
KONSTANTEA: Balio beretik eta aldaetara erreakzio bakoitzarentzat.

ΔG = erreakzio jakin baten energia aska errealaren aldaketa. Benetan darduen kontzentrazioaren eta temp funtzioa.

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$\Delta G = 0$ OREKAN DAGOENEAN Q bezala adieraz daitezke

$$Q \neq K_{orek}$$

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln K_{orek}$$

BERET GERTATZKO ET LIRATEKEEN ERREAKTIOAK GERTA DAITEZKE ZELULAN
ERREAKTIO EXERGONIKOEKIN AKOPLATZEN BADIKA

2- ATP ETA ENERGIA -TRUKAK (sistema biologikoetan, energia aska energia kimiko bihurtzen da batzuetan).

Energia handiko konposatuak

- zelula heterotrofoak $ADP + P_i \rightarrow ATP$ sintetizatzen erabiltzen dute energia
- ATP protezu endergonikoei eman (energia iturria)
- ATP eta fosfatiduen konposatuak energia gordailu gisa.
- ATP energia askatu $\begin{cases} \rightarrow \text{hidrolisi bidez} \\ \rightarrow \text{talde transferentzia bidez.} \end{cases}$

Energia handiko loturak ($\Delta G^{0'} < -25 \text{ kJ/mol}$)

- 1- ANTHIDRIDO LOTURAK (bi atiduen artean) Atidoak desberdinak direnean haien artean energia altuagoa. Isimariorearen bidez konposatuak egokortasuna lortu.
- 2- FOSFONOL: FOSFONOLPIRUBATA
- 3- TIUESTERRA
- 4- ESTERRA
- 5- FOSFOAMIDA

ATP

- zelularteko energiaren bitartekaria
- Energiaren aloplamendua erduraduna
- Bi modu desberdin hidrolizatzele



- Hidrolisia energiakoa izan arren zelulan ATP en da hidrolizatzen ΔG altua duelako.

$$T = 25^\circ C$$

$$\Delta G^{0'} = -31 \text{ kJ/mol}$$

$$[ATP] = 2,25 \text{ mM}$$

$$[ADP] = 0,25 \text{ mM}$$

$$[P_i] = 1,65 \text{ mM}$$

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln Q$$



$$\Delta G = \frac{-31 \text{ kJ}}{\text{mol}} + 8,315 \cdot 10^{-3} \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \cdot 298 \text{ K} \cdot Q$$

$$\Delta G = -31 \text{ kJ/mol} + 8,315 \cdot 10^{-3} \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \cdot 298 \text{ K} \ln \frac{0,25 \cdot 10^{-3} \text{ M} \cdot 1,65 \cdot 10^{-3} \text{ M}}{2,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}}$$

$$\boxed{\Delta G = -51,8 \text{ kJ/mol}}$$

Oinarri kimikoa

KARGA: hidrolisi ostean lau kargen aldarapeu elektrostatikoa arindu.



ERESONANTZIA: P_i eresonantziat egokortu



SOLBATAZIOA: produktuen hidratazio maila ATP baino handiagoa.

Metabolismoaren konposatu fosforilaturak

- zelulan fosforilo taldea daramaten metabolito ugari daude.
- Hidrolisian $\Delta G^{0'}$ desberdinak dituzte.
- fosforilo molekula batek bestera pasa daiteke $\Delta G^{0'}$ negatiboa den bitartean.

ATP SINTESISIA

- substratu mailako fosforilazioa: fosfato taldearen transferentzia (oso motela)
- Arnasketa bidez: proteien puzpaketa (ATP asko loritu).

SUBSTRATU MAILAKOAK: $ADP \rightarrow ATP$ -ra fosforilatzen da.

ATP KONSUMIOA

- Glikolisiaren hasierak (anabolikoa da)
- Bide biosintetikokoak
- Gantzio aktiboa
- Muskuluen uzkordura.

Energiaren aloplamendua

① AKOPLAMENDU KIMIKOA: fosforiloaren transferentzia zuzena.

ATP-aren zati bat substratu ala entzimarekin kobalenteke lotzen da eta ondorioz bitarteko molekula horren energia leuditzen da.

Energia honi beste lotura kobalente bat bitarteko erabiltzen da.

ENTZIMAK:

- KINASAK: fosforotransferasak dira. fosforoa beste molekula bati igaro



- LIGASAK: ATP-aren hidrolisiaren energia beste lotura bat eratzeke erabiltzen dute. BAINA PRODUKTUA EZ DA GU FOSFORILATUTA.



} Erreakzio aloplama

② AKOPLAMENDU MEKANIKOA: ATP-aren jardueran duten proteinetan ATP-aren hidrolisiak proteinaren konformazio aldaketa eragiteko du akitibitate edo inaktibitate.

ATP-aren pinkapena et-kobalentea da.

Adb. Miozina / aktina konplexuan

③ GARRAIO AKTIBOA: ATP-aren hidrolisiak proteinaren konformazio aldaketa eragiten du eta ondorioz miutzaren alde batek besteak itxi edo molekulek garraiatzen dira.

Gradiente elektrokimikoak gertatu → zelulek bere partikula bete dituzke.
Miutz potentzialak (neuronetan).

Adb. Na^+/K^+ pompa

3 - ERREDOX ERREAKTIO BIOLOGIKOAK

- Atomoen oxidazio zeharkia aldaketan duten erreakzio kimikoak
- Elektroien transferentzia egoten da.
- Atomoek elektroiak hartu edo galtzeko perra dute.
- Elektroia bat oxidatu → beste bat ereduatzen

KATABOLISMOA → oxidazioa: O_2 -rekin erreaktionatu eta H^+ galdin

ANABOLISMOA → ERREDUKTIOA: H_2 -rekin lotu eta e^- irabati.

elektropositibo → → → elektronegatibo

ELEKTROI TRANSFERENTZIA

- Elektroien transferentzia zuzena
- Oxigenoarekin erreaktionatzen
- Hidrogeno-atomoen transferentzia
- Hidrogenoaren transferentzia

ERREDOX POTENTIALA (E)

- Espezie kimiko batek elektroia hartuko duen ipera. ELEKTROAFINITATEAREN NEURRIA DA
- 2 erredox bikote espontaneoki transferitu e-
- Erredukzio-potentiala afinitate horren neurria.
- Esperimentalki neur daiteke.

ERREDOX POTENTIALA ESTANDARRA (E°)

- Baldintza estandarretan neuritua.
- Beste potential positiboetara
- Erreferentia bikote erdia bestelakoan E° kalkulatzeko.

ERREDOX POTENTIAL ESTANDAR BIKIMIKOA (E°')

- pH kontuan hartu
- E°' ez da zero
- Elektroialak elektropositiboagoetara (E°' > 0)

ERLATIOA

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{hartzaitze}]}{[\text{e}^- \text{ emaitze}]}$$

$$F = 96500 \text{ J/V} \cdot \text{mol}$$

$$\Delta E = E^{\circ'} (\text{hartzaitze}) - E^{\circ'} (\text{emaitze})$$

Elektroi garraiotsaileak: elektroialak hartzen espezializatutako koentzimek transferitzen taie. Metabolismoan itzulgarriki oxidatzen eta erreduzitzen diren molekulak.

NAD(P)/NAD(P)H: nikotina adenina dinukleotidoa, deshidrogenasa askoren kofaktore

FAD eta FMN: flabina mono/di-nukleotidoak
Eritroflabina bitaminak.
E°' desberdina, proteinaren arabera

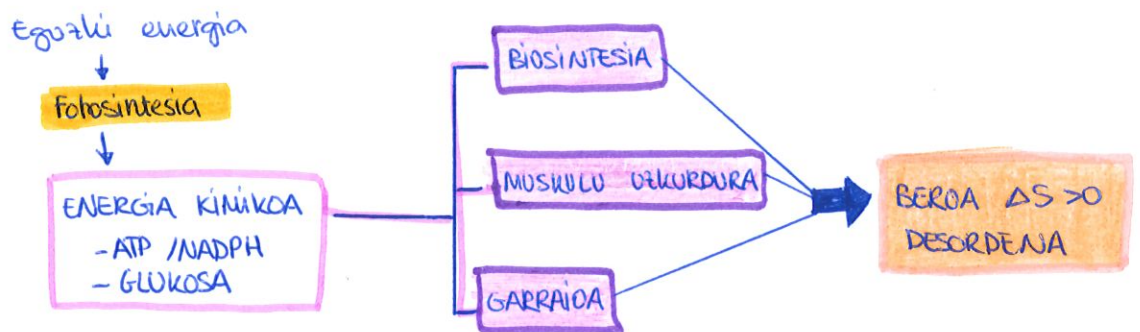
2. GAIA: ZELULAREN METABOLISMOA

METABOLISMOA: zelula eta organismoetan gertatzen diren erreakzio biokimiko eta prozesu fisiko-kimiko multzoa da. Prozesu konplexu haseki bitaren oinarria dira maila molekularrean. Haseki zelularen funtzio desberdinak bete daitezke ahalbidetzen dute: ugaltzea, hazia eta estroiturak mantendu.

Erreakzio haseki baldintza kimiko zelularen gertatu behar dira. pH-aren aldaketa minimoak konposatuak eta entimen propietateak alda ditzake- telako (pH, temperatura, presioa).

* Karbonoaren zikloari lotuta dago.

- **KATABOLISMOA:** degradatzailea, energia askatzen da, ATP eta e⁻ garraiatzaileak kurbegenteak
- **ANABOLISMOA:** biosintetikoak, energia erabiltzailea, ATP hidrolizatu edo koentzima erreduktiboak oxidatu.



FUNTZIOAK

- elikagariak degradatortiki **energia kimikoa** lortzea
- Mantentuzko molekula **zelula beraren molekula** bilakatea.
- Aitzindan monomekula **polimeratu**
- Zelularen **funtzio espezializatuetan** behar diren biomolekulak sintetizatu eta degradatu.

BIDE METABOLIKOAK: entzima taldeak modu sekuentzialean jarduten prozesu metabolikoen bidezko. Sistema entzimario bakoitzaren entzima erregulatzaile bat dago.

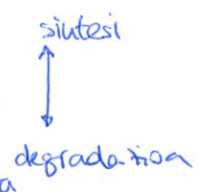
- **KATABOLIKOAK:** (degradazio, oxidazio)
- **ANABOLIKOAK:** (sintesia, erredukzioa)
- **ANFIBOLIKOAK:** (eraldaketak) badaude bidezko bidezko anabolikoki bai katabolikoki jardun ahal dituztenak.

Bide metabolikoki oso koordinatuta dago. Bitartekari asko behar dira zelularen funtzio antzekariko eta bakoitzaren konzentrazioak oso erregulatuta egon behar dira. Bitartekari bidez erreakzio metabolikoki haren artean konektatzea lortzen da.

Hala ere, **er** dira **guztira bide adierantzikoak** anabolismo/katabolismo. Alde bidezko **erreakzio** batzuk **irrebernitu** dira anaxi termodinamikoez gain. (AS). Besteak bide biala **espatialki banatuta** daude. Beraz denbora desberdinetan gertatzen dira.

KONZEPTU BIOLOGIKOAK

- Itzalek **elikagaietako** **meupelotasuna** dute. (aa - batzuk inguririk hartu behar)
- **Mobagaritasun metabolikoa** (itali bakoitzak elikagia beharrezko duen konposatura eraldatzen du).
- **Ekonomia metabolikoa**
 - ↳ Entzima konstitutiboak
 - ↳ Entzima induzgarriak
- **Biomolekulu berriak** → **OREKA DINAMIKOA**
- **Kompartimentazio** metabolikoa zelula eukariotikoetan → **organulu bidez banatuta eta bitartekarien bidez konektatuta.**

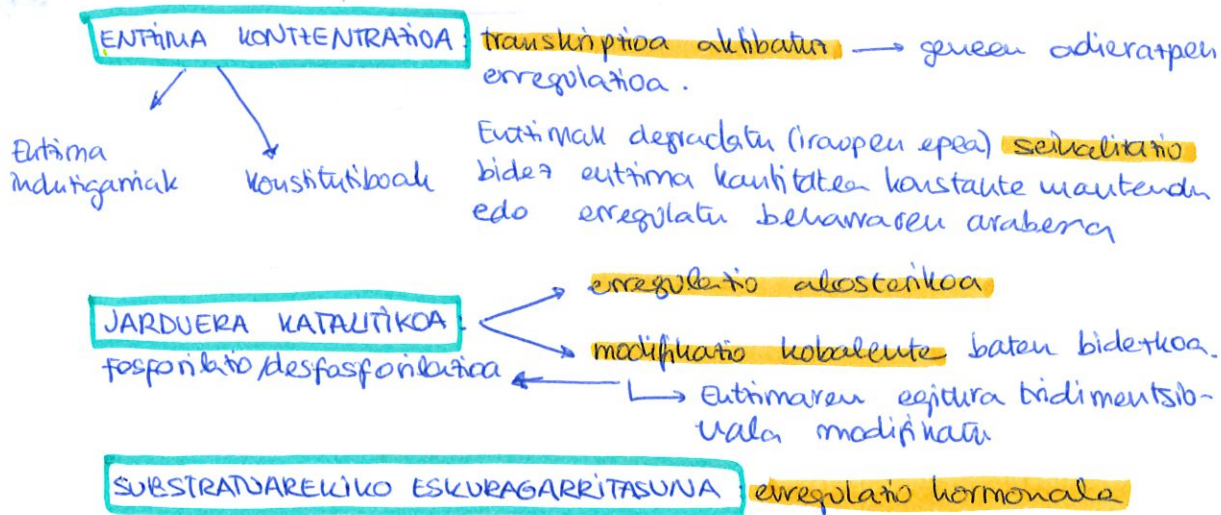


ENTZIMEN ANTOLAKUNTZA

- Antolakuntza gabe
- Kompleku multientzimatikoz
- Egitura supramolekular bati bita

ERREGULATIOA

- Erregulatio mailak



- Erregulatio mekanismoak

- [S] / [P] kontzentrazioak
- Inhibitaileen eragin itera
- Entzimaren modifikazio kobalentea
- Entzima alosterikoen modulataileak
 - ↳ Aktibatzaile
 - ↳ Inhibitaile

ERREGULATIO MAILAK

- **ENTZIMA KONZENTRATZIOA**: entzima kontzentrazioak erreakzioaren abiadura kontrol dezake. kontrol hau efektiko zelulak bi mekanismo dituzte: alde batetik, kode genetikoaan sinuzi prozesua erregulatu daiteke seinaleetatik bidet. Bestetik, degradazio prozesua.

Entzima motak:

- **Entzima konstituzioak**: kontzentrazio konstantean mautentzen diren entzimak zelula espezifiko batean.
- **Entzima induzitiboak**: substratu baten presentziaren orien sinetizatzen direnak, edo substratu horren ausentzian.

- JARDUERA KATALITIKOA

- substrato / produkto kontzentrazioa
 - pH-a
 - kofaktorea
 - temperatura
 - inhibitzaileen bidet
- inhibitzaile kompetitiboa
→ inhibitzaile akompetitiboa
→ erregulatio alosterikoa

- **ZELULAREN KONPARTIMENTAZIOA**: zelula barruko organuluaren isolamenduak metabolismoaren kontrola ahalbidetzen du. Barrera fisikoa eta antolaketa espazialak substrato eta kofaktore espezifikoak momentu konkretuetan agertzea lortzen dute.

Organulu baten espezializazioa → mitokondrio / kloroplasto.
Organuluaren ausentziak edo geliegaitko presentziak zelulak desberdintzen ditu funzio desberdinak konstituzioaren.

- **ERREGULATIO HORMONALA** organismo multizelularretan gelienbat. Glandula endokrinakko sintetizatko seinaleen bidet. Metilan kimikotzat jarduten dute. Gelienetan lotura kobalente itzalgari bidet entzimen konformazioa aldatuta truki konpartitzen da.

ERREGULATIO MAILAK

- ENTZIMEN KONZENTRATZIOA: transkriptioa eta entzimen degradazioa orien.
- ENTZIMEN JARDUERA KATALITIKOA
 - Erre. Alosterikoa
 - Modifikazio kobalente → ASFORIL.
- SUBSTRATUAREN KONTZENTRATZIOA ERREGULATIO HORMONALA.

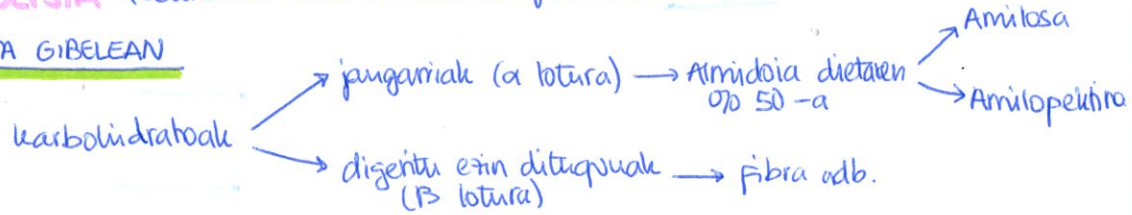
ERREGULATIO MEKANISMOAK

- S/P kontzentrazioak
- Inhibitzaileen eragine
- modifikazio kobalente
- modulatuak alosterikoak

3. KARBOHIDRATEN METABOLISMOA

3.1 GLIKOLISIA (zelularen bide metaboliko garrantzitsuenak)

MUSKULU ETA GIBELEAN



• Fasaak:

- Prestakuntza fasea
- Errendimendu fasea

• Bitartekari fosforlatuak

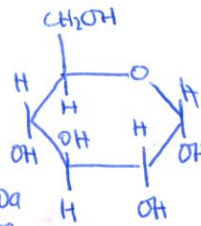
- hidrolisia eta ATP sintesia akoplatuta.
- fosfato talde ionizatuak zelulatik irteeraz daitezten. Gibeletik soilik kanporatu daitezke odelera.

• 3 eratalo transformazio kimikoak

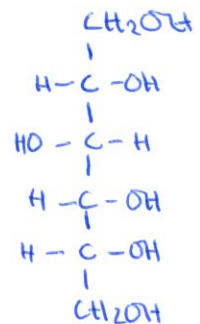
- Glukosa → pinbato
- ADP-ren fosforilazioa
- NADH-ren erredukzioa.

• Bitarteko fosforlatuak

- energia metabolikoaren kontserbazioa
- akzio bako energia baliagotzen dute.



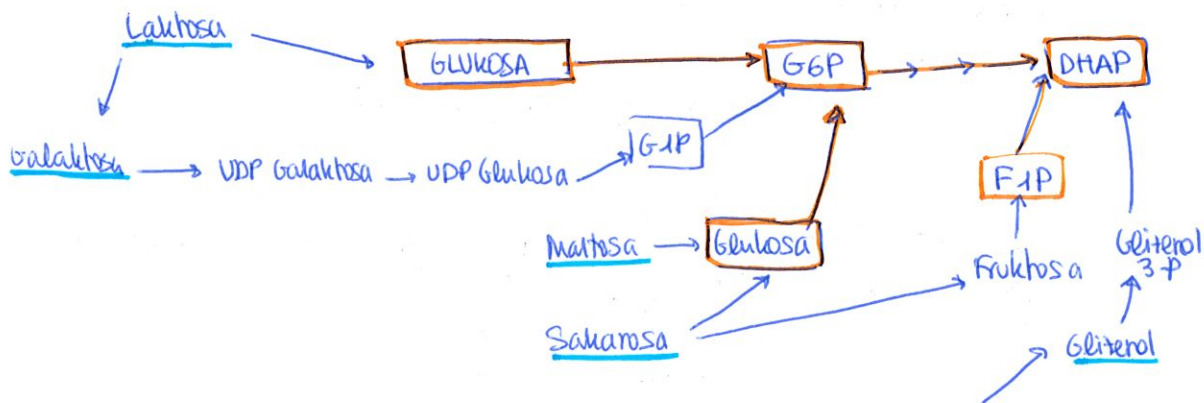
GLUKOSA



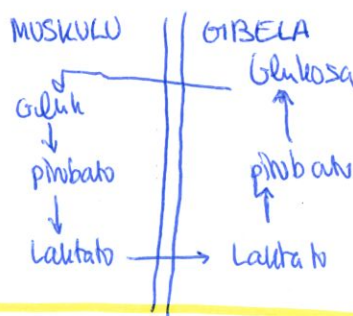
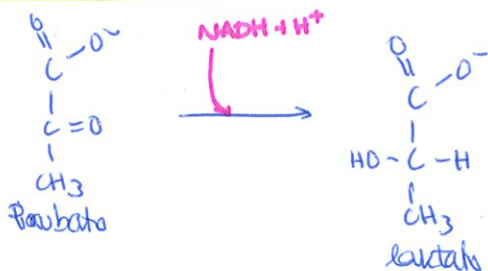
GLIKOLISIA PROZESU ITZULETINA DA

ENTZIMAK

- HK- 1. **HEXOKINASA** (Glukokinasa) → glukosa lotzean konformazio aldaketa eta molekula deshidratatzen. ATP beharria
- PHOSA- 2. **FOSFATOKINASA** isomerasa (esteroespezifikoa)
- 1-PFK- 3. **1-FOSFOPHOSFATOKINASA** (erregulazio puntu nagusia)
- Aldasa- 4. **ALDOLASA** (esteroespezifikoa)
- TPISO- 5. **TRIOSA P ISOMERASA**
- DESH- 6. **G3P DESHIDROGENASA** (oxidazio eta fosforilazio) 2 pausotan gertatzen.
- PGTD-K- 7. **FOSFOGITERATO KINASA** (substrato uakilako fosforilazioa)
- PGTD-M- 8. **FOSFOGITERATO MUTASA** (Mg²⁺ erabiltzen)
- Enolasa- 9. **ENOLASA** (deshidratazioa)
- PK- 10. **PINBATO KINASA** (itxuletua) substrato uakilako fosforilazioa.



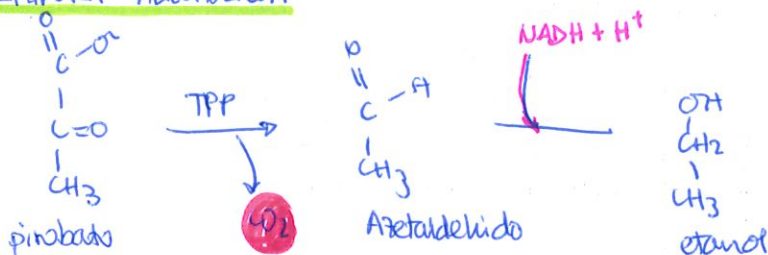
TRATAMENDUA LAKTIDA



HELBORDAK

- Bidefidomarraren abiadura zelularen beharrei egokitzuta egotea.
- Sintesi degradazio one berean egokitzuak eta egotea.

TRATAMENDUA ALKOHOLIKOA

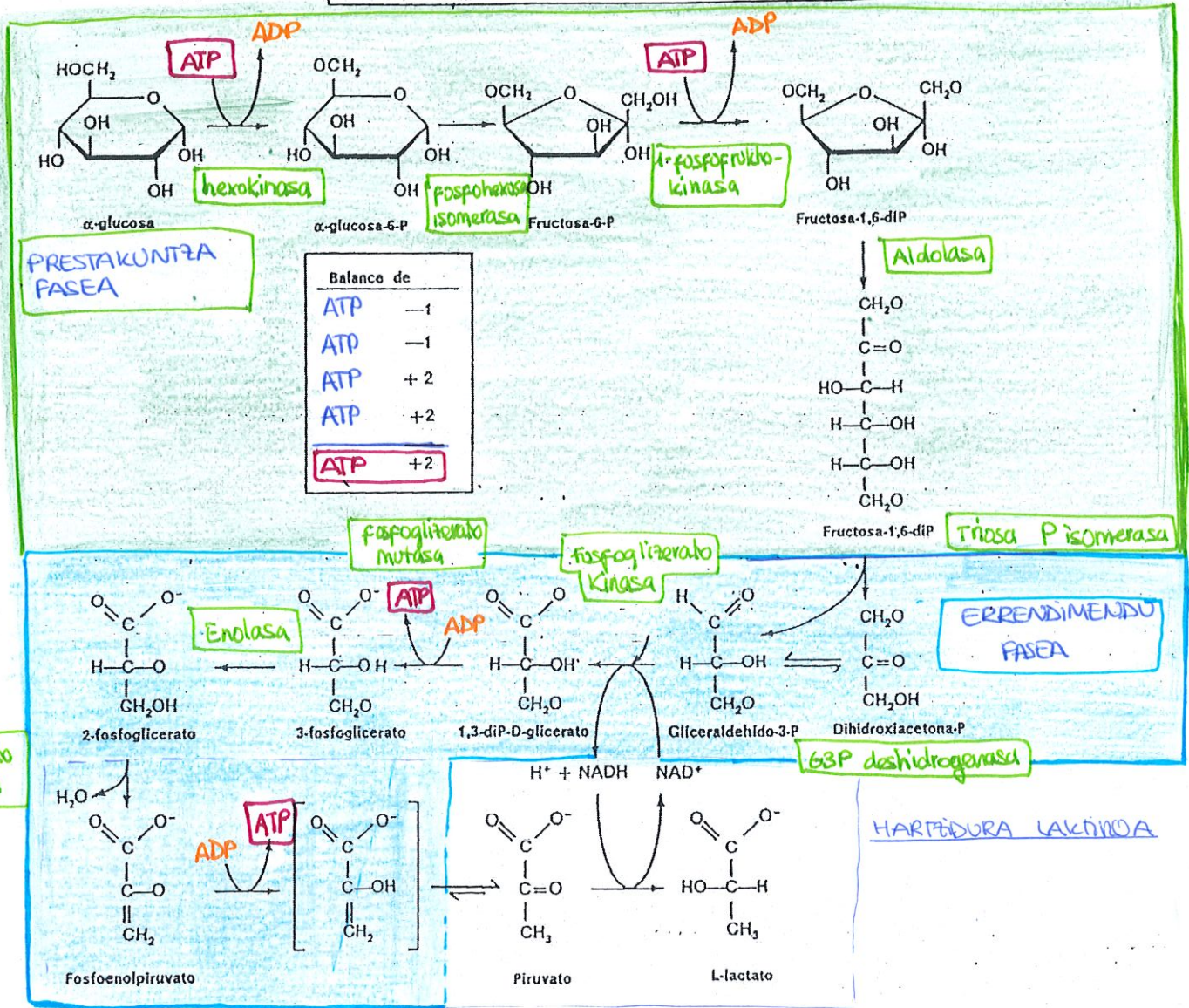
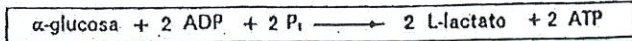


GLIKOLISIAREN ERREGULATIOA

- Energiaren araberakoa
 - ATPak inhibitu
 - AMPak aktibatzen
- Entzimen araberakoa
 - HK → G6P inhibitu alosterikoki (muskulu) F6P inhibitu alosterikoki (gibelan)
 - 1-PFK → Fruktosa 2,6 bis fosfato eta AMP aktibatzen ATP, tiritato, H⁺ inhibitu
 - PK → F-1,6 BP aktibatzen ATP, Alamina inhibitu

Glicolisis anaerobia

Reacción global:



A partir de la reacción por cada molécula de glucosa se originan dos moléculas de metabolito.

Table 15-2 Reactions of glycolysis

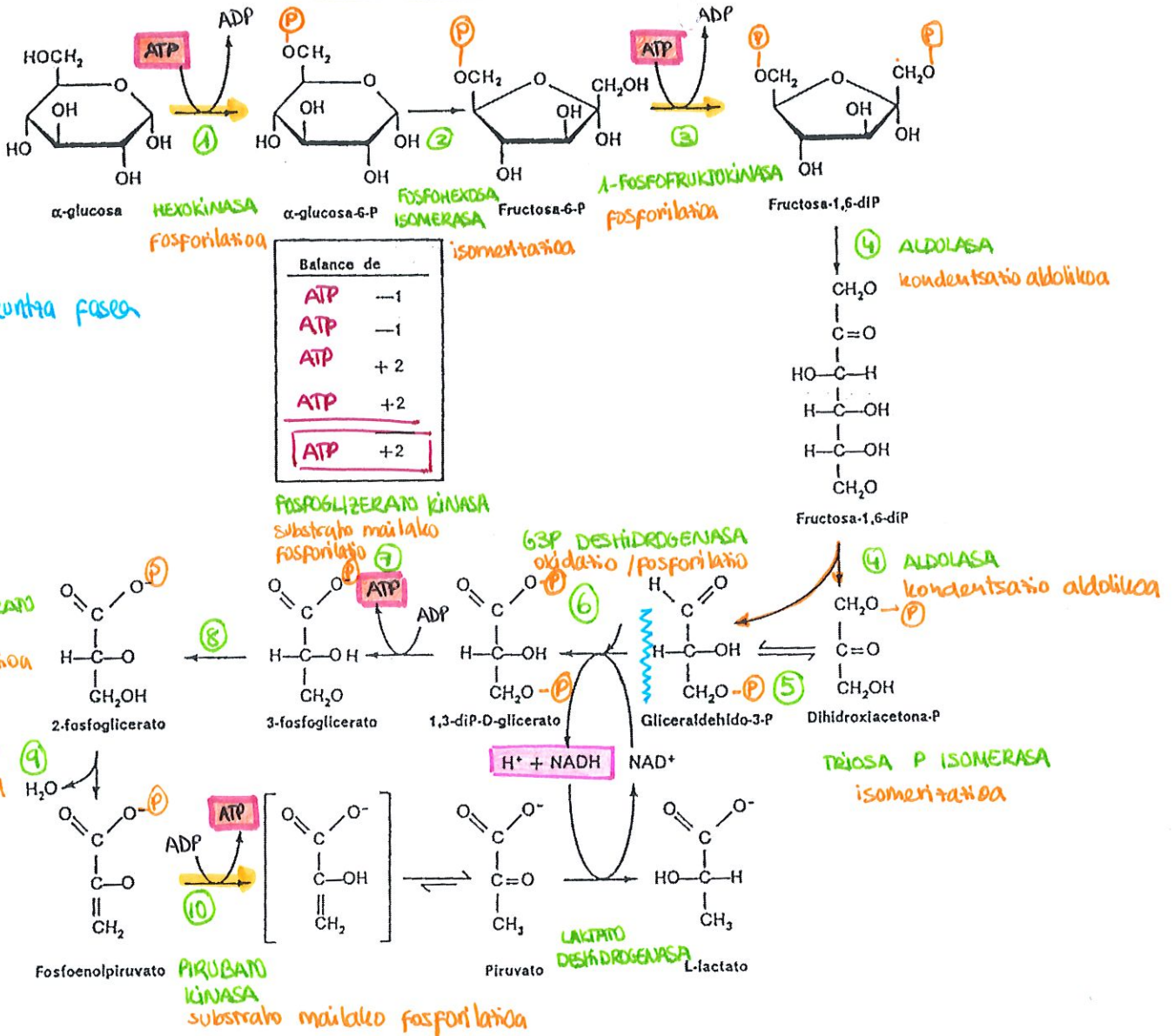
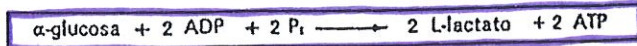
Step	Reaction	Enzyme	Type*	ΔG°	ΔG
1	Glucose + ATP \longrightarrow glucose 6-phosphate + ADP + H ⁺	Hexokinase	a	-4.0	-8.0
2	Glucose 6-phosphate \rightleftharpoons fructose 6-phosphate	Phosphoglucose isomerase	c	+0.4	-0.6
3	Fructose 6-phosphate + ATP \longrightarrow fructose 1,6-bisphosphate + ADP + H ⁺	Phosphofructokinase	a	-3.4	-5.3
4	Fructose 1,6-bisphosphate \rightleftharpoons dihydroxyacetone phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate	Aldolase	e	+5.7	-0.3
5	Dihydroxyacetone phosphate \rightleftharpoons glyceraldehyde 3-phosphate	Triose phosphate isomerase	c	+1.8	+0.6
6	Glyceraldehyde 3-phosphate + P _i + NAD ⁺ \rightleftharpoons 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H ⁺	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	f	+1.5	-0.4
7	1,3-Bisphosphoglycerate + ADP \rightleftharpoons 3-phosphoglycerate + ATP	Phosphoglycerate kinase	a	-4.5	+0.3
8	3-Phosphoglycerate \rightleftharpoons 2-phosphoglycerate	Phosphoglyceromutase	b	+1.1	+0.2
9	2-Phosphoglycerate \rightleftharpoons phosphoenolpyruvate + H ₂ O	Enolase	d	+0.4	-0.8
10	Phosphoenolpyruvate + ADP + H ⁺ \longrightarrow pyruvate + ATP	Pyruvate kinase	a	-7.5	-4.0

Note: ΔG° and ΔG are expressed in kcal/mol. ΔG , the actual free-energy change, has been calculated from ΔG° and known concentrations of reactants under typical physiological conditions.

*Reaction type: (a) Phosphoryl transfer (b) Phosphoryl shift (c) Isomerization (d) Dehydration (e) Aldol cleavage (f) Phosphorylation coupled to oxidation

Glicolisis anaerobia

Reacción global:



A partir de la reacción por cada molécula de glucosa se originan dos moléculas de metabolito.

Table 15-2
Reactions of glycolysis

Step	Reaction	Enzyme	Type*	ΔG°	ΔG
1	Glucose + ATP \longrightarrow glucose 6-phosphate + ADP + H ⁺	Hexokinase	a	-4.0	-8.0
2	Glucose 6-phosphate \rightleftharpoons fructose 6-phosphate	Phosphoglucose isomerase	c	+0.4	-0.6
3	Fructose 6-phosphate + ATP \longrightarrow fructose 1,6-bisphosphate + ADP + H ⁺	Phosphofructokinase	a	-3.4	-5.3
4	Fructose 1,6-bisphosphate \rightleftharpoons dihydroxyacetone phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate	Aldolase	e	+5.7	-0.3
5	Dihydroxyacetone phosphate \rightleftharpoons glyceraldehyde 3-phosphate	Triose phosphate isomerase	c	+1.8	+0.6
6	Glyceraldehyde 3-phosphate + P _i + NAD ⁺ \rightleftharpoons 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H ⁺	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	f	+1.5	-0.4
7	1,3-Bisphosphoglycerate + ADP \rightleftharpoons 3-phosphoglycerate + ATP	Phosphoglycerate kinase	a	-4.5	+0.3
8	3-Phosphoglycerate \rightleftharpoons 2-phosphoglycerate	Phosphoglyceromutase	b	+1.1	+0.2
9	2-Phosphoglycerate \rightleftharpoons phosphoenolpyruvate + H ₂ O	Enolase	d	+0.4	-0.8
10	Phosphoenolpyruvate + ADP + H ⁺ \longrightarrow pyruvate + ATP	Pyruvate kinase	a	-7.5	-4.0

Note: ΔG° and ΔG are expressed in kcal/mol. ΔG , the actual free-energy change, has been calculated from ΔG° and known concentrations of reactants under typical physiological conditions.

*Reaction type: (a) Phosphoryl transfer (c) Isomerization (e) Aldol cleavage
(b) Phosphoryl shift (d) Dehydration (f) Phosphorylation coupled to oxidation

Insulina: glikolisia aktibatu

Glukagona: glukoneogenesia aktibatu

3.2. GLUKONEOGENESIA

Izaki et-autotrofoetan ezten den bideider metabolikoa. Autotrofoetan Calvinen ziklo bidez.

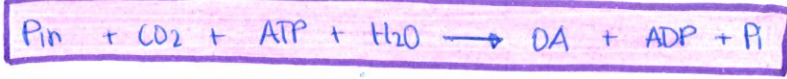
EZAUGARRIAK

- Glikolisiaren erreakzio batzuk konpartitzen ditu.
- Energia beharra dago (prozesu anabolikoa).
- Garunak, nerbio-sistema, giltzurrun-muina, testikulu, eritrozito eta embrioi elurrek erregai bakarriak.
- Glukoneogenesia: GIBELEAN ETA GILTZURRUNETAN SOILIK
- Zitoxal eta mitokondrioan



ENTZIMAK - Glikolisiako 3 erreakzio itxurainak saieteko beste entzima batzuk erabiliko dira

- PKXL - Pirubato karboxilasa: pirubatoa oxalazetatoan bihurtuko du. Entzima hau mitokondrian aurkitzen da. Ezin da bertatik irten. Biotina du kofaktoretzat.



Erreakzio anaplerotikoa da oxalazetato kontzentrazioa konstante mantentzeko.

- Mdash - Malato deshidrogenasa: oxalazetatoa mitokondriatik irten daiten malatoa erreduzitzen da eta zitoxalean berri oxalazetatoa itxuriko da entzima beraren laguntzararik.
 * soilik PEP mitokondria kanpoan sintetizatzen bada.

- PEPK - PEP karboxikinasa: oxalazetato fosfoenolpirubato bihurtuko da.



- fosforlatio
- deskarboxilazio
kasu honetan, PEP mitokondria zein zitoxalean sintetizatu daitezke. (zitoxalean NADH-reu erabilera, malatoa kanporatzeke).

- F-1,6BP - Fruktosa 1,6 bisfosfatasa: Fruktosa, 1-6 bisfosfato fruktosa-6 fosfatoa bihurtu.

- G-6PSA - Glukosa -6- fosfatasa: (Mg^{2+} behar du) Hepatozito eta giltzurrun zeluletako erretikulu endoplasmatikoaan soilik.
ETA DA ATANIK LORTZEN, P_i BAITAK.

ERREGULAZIOA - Glukosa behar denean Krebs-en zirkloa inhibituta geratzen da eta oxalazetatoa PEP eratzeko erabiltzen da.

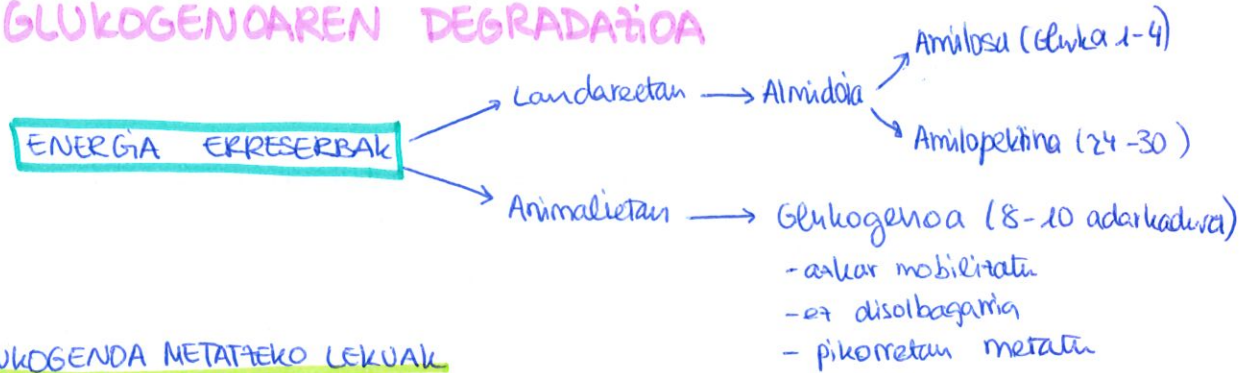
PKXL → ADP inhibititu (ATP behar duelako erreakzioa gaitzuteko)
AzetilkoA aktibatu

PEPK → ADP inhibititu

F1,6BP → F-2,6-BP eta AMP inhibititu (energia beharra)
Zitoxaloa (Glikolisi gelin.ezi) Aktibatu.

F-2,6-BP glukoneogenesiko eta glikolisiho bitartekoan bat da.
Honau kontzentrazioan bi bideak erregulatzen.
Hospitalatan odoloko glukagono maila aztertzeke erabiltzen da.

3.3. GLUKOGENOAREN DEGRADAZIOA



GLUKOGENDA METATEKO LEKUAK

- Gibela: odoleko glukosa maila erregulatu
- Muskulua: uzkurduzarako beharretara → aniketa fisiko gogorrean erabili daitekeen konposatu bakarra.
 * muskuluko glukosak ezin zeluletatik iten.



ENTZIMAK

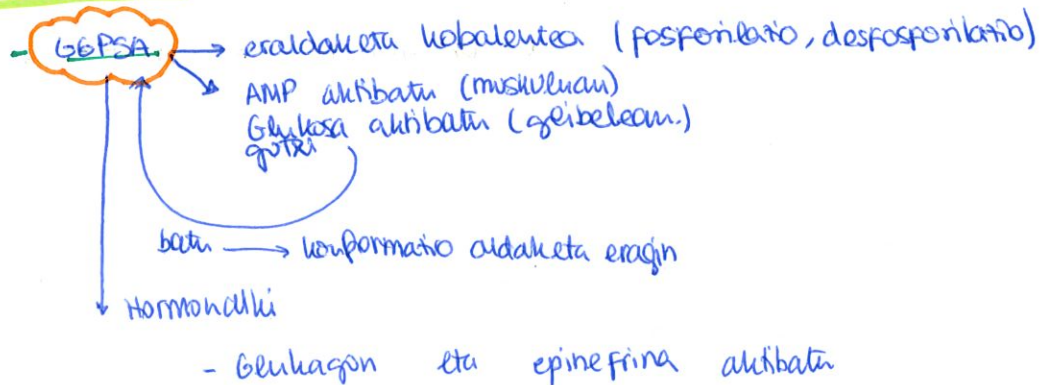
- GGPSA - Glukogeno fosforilasa: mitar ez-erredutitzailetarile glukosari molekulek banantzean datu. (PLP koenzima)
 - Hidrolisia
 - Fosforilasia

Abantailak:

- Glukosa fosforilatu askatzen da.
- Glukosa - 1-P ezin zelula kanpora iten.

- E.Des - Entzima desadurkatzailea:
 → α(1→4) adurkatutako katea kate zentralera transferia
 → α(1-6) lotura apurtu.
- PGmut - Fosfoglukomutasa: G-1-P → G-6-P isomerazioa gertatu.
- G6Psa - Glukosa - 6-fosfatasa: glukosa aska HEPATIZITIDETAN (Gibelean) Mintzelu proteina da EE-an.

ERREGULAZIOA



3.4. GLUKOGENOAREN SINTESIA

Animalia - elun gaitzetan gertatzen da baina garrantzi gelieneko elunak muskulu eskeletiko eta gibel dira

- + muskuluan esfortsarako ATP modu eraz eta atkar batean ekoizteko
- + gibeluan edleko glukosa maila mantentzeko.



ENTZIMAK

BEHARREKOA GLUKOGENINA PROTEINA OTIL HASTEKO

- G.S - Glukogeno sintasa: glukogeno kateak eratzen ditu n(1-4) loturen bidez. Substratua UDP glukosa. Mutur et-eredutzaileketa lotzen ditu.

Entzima laguntzaileak

- U.6PSA - UDP-glukosa fosforilasa: Glukosa + urdina lotu substratua lortzeko.



- E. Adar - Entzima adarkatzailea: arrib a(1,4) \longrightarrow 1,6 bitartu (transglukosikasa). 6 \rightarrow 7 glukosilo hondar ebaki eta adarkatu

ERREGULAZIOA

- GS - ~~G1P~~ \rightarrow fosforilazio / desfosforilazio (et-aktibo) (aktibo)
- ADP inhibitu abstenikoki
- G6P aktibatu abstenikoki

Glukogenoa 12-14 karbonoko adarkatutako ditu glukosa estura-garriago iratu dezaten zelulek.

Glukogeno sintasak eta glukogeno fosforilasak elkar erregulatuko dira.

ALMIDOIAREN SINTESIA - kloroplastotatik

- Almidoi sintasa entzimak ADP-glukosa almidoi katea lotzen du. Gogoratu almidoia adarkatua ere iratu daitezkeela (Amilosa, amilopektina)

SAKAROSAREN SINTESIA - sukrosa -6-P sintasa (UDP-glukosa + F6P)

LAKTOSAREN SINTESIA - Alurdunaldi etapan aktibatua.

- Galaktosil transferasa: (UDP-galaktosa + N azetil-glukosamina)

DEGRADAZIOA	SINTESIA
GLUKOGENO FOSFORILASA	GLUKOGENO SINTASA
ENTZIMA DESADARKATZAILA	ENTZIMA ADARKATZAILA
FOSFOGLUKOMUTASA	UDP-GLUKOSA FOSFORILASA
GLUKOSA -6 FOSFATASA	

3.5 PENTOSA FOSFATEN BIDEA - FOSFOGLUKONATOAREN BIDEA DORRA

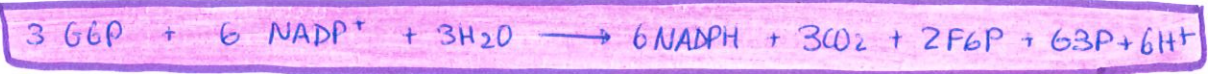
EZAUGARRIAK

- Helburua NADPH eta Ribosa -5-P lortzea da (ADN-rako)
- Zitოსolem gertatzen da.
- Egun adiposo, ugartu-gonimetan, azal adrenalean, gibelean...
- NADPH eta/edo R-5-P behar deneak aktibatzen da.

NADPH-a behar den sintesi erreaktibak:

- Gantz azidoen biosintesia
- kolesterolearen biosintesia
- Neurotransmisoreen biosintesia
- Nukleotidoen biosintesia

Detoxifikazio erreaktibetan ere parte hartzen du. Adarkadura oxidatua erreduzitzen ditu. Adb. Eritrositatean.



FASEAK

- OXIDATIBOA - ITZULEZINA (hexosak birziklatu)



ENTZIMAK

- G6P deshidrogenasa: 1. oxidazioa
- 6-fosfoglukonolaktasa: eratuina
- Fosfoglukonato deshidrogenasa: 2. oxidazioa

PENTOSA FOSFATEN BIDEA DORRA

1. BIDEA: R5P behar. Glikolisia esan G3P/F6P lortu eta atal ez-oxidatiboa sartuko da.
2. BIDEA: NADPH eta R5P. atal oxidatiboa emango da.
3. BIDEA: NADPH, atal oxidatiboa eta sarturiko ribulosa G6P birziklatu da atal ez-oxidatiboan. (Birziklapena)
4. BIDEA: NADPH + ATP (energia) atal oxidatiboa eta F6P/G3P glikolisia sartu ATP lorteko.

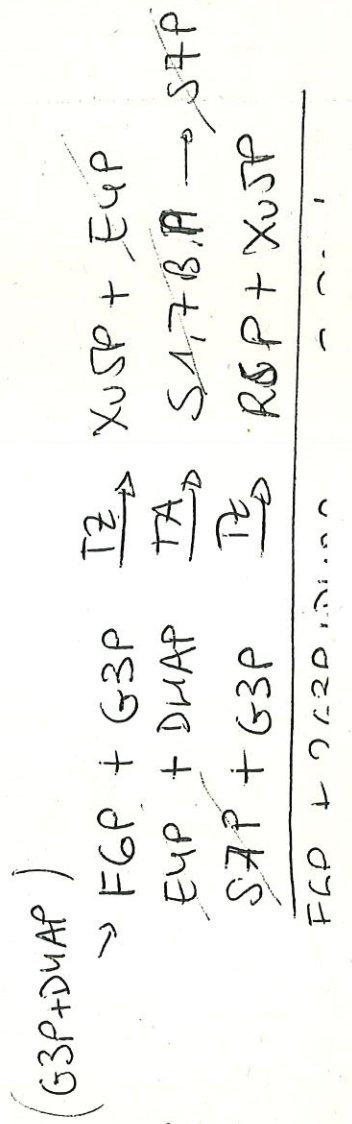
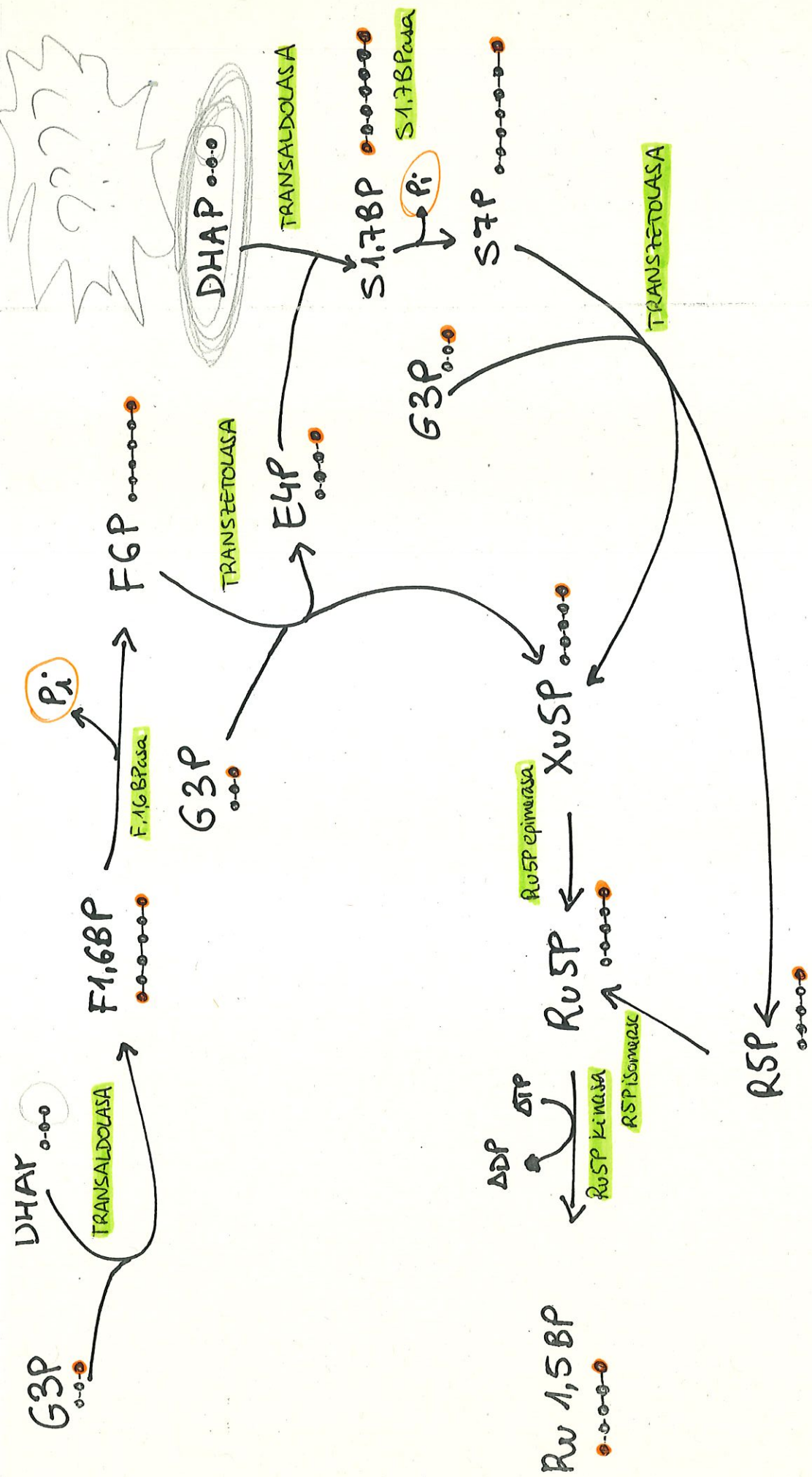
- Ez OXIDATIBOA - ITZULGARRIA

ENTZIMAK

- Eribulosa 5P isomerasa: (pentosa isomerasa) Ribulosa → Ribosa
- Eribulosa 5P epimerasa: Ribulosa → Xilulosa
- Transketolasa: 2 karbonoko zatia transferitu. (TPP koentzima)
- Transaldolasa: 3 karbonoko zatia transferitzen ditu.

ERREGULATIOA

- NADPH behar denean glukosa partzialki oxidatu eta pentosak birziklatu glukosatik berri.
- NADPH + pentosa: ez birziklatu
- NADPH eta energia: atal oxidatiboa eta F6P + G3P glikolisia degradatu.
- Pentosa: atal itzulgarria buntuko da soilik.



3. Pentosen berziklepene

4. GAIA: AZIDO ZITRIKOAREN ZIKLOA

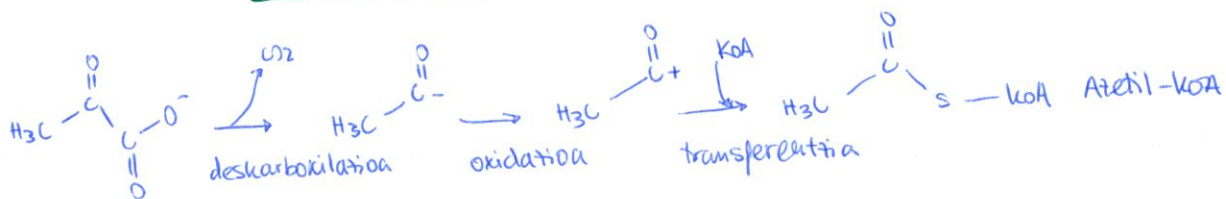
4.1. PIRUBATOAREN DESKARBOXILATIO OXIDATZAILEA

Pirubato deshidrogenasa konplexuak katalizatzen du eta pirubatoa krebsen ziklorako prestatzen dute. (mitokondrioon gertatzen da). Erreakzio iturkitina.



ENTZIMAK (konplexu berean dauden entzimak):

- E1**: pirubato deshidrogenasa - TPP, B₁
- E2**: dihidrolipoil transasetilasa - Azido lipoilkoa
- E3**: dihidrolipoil deshidrogenasa - FAD / NAD



PAUSUAK

- Deskarboxilazioa: pirubatoak TPP-rekin erreaktionatu eta deskarboxilazioa gertatu.
- Oxidazioa: Hidroxietilo taldea azido lipoilkora transferitu. Hidroxietilo taldea oxidatu eta S-S erreduzitu.
- Transferyentzia: Azeil koA osatu eta Azido lipoilkoaren birtiklopena. FADH₂-ren eratzea.

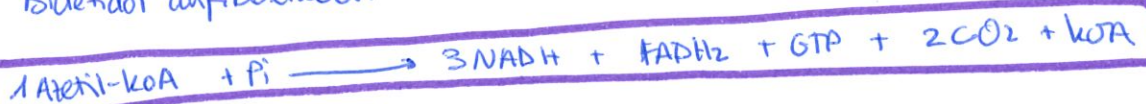
ERREGULATZIOA

- Produktuen inhibitioz: azeitikoA + NADH
- E1-reu fosforilazio desfosforilazio (inaktibatzen)
- Hormonen bidetko erregulazioa - glukagonak inhibit.

4.2. AZIDO ZITRIKOAREN ZIKLOA

Mitokondrioen matrizean gertatu.

Bidetidor anfibolikoa.



5.3 FOTOFOSFORILATIAO - Argiak eragindako ADP-aren fosforilatua.

ORGANISMOAK

- zenbait bakterio
- eukarioto unizelularak
- landareak

Erreakzio orokorra



ROBERT HILL - 1937an



DCPIP hartzailea erabili eta daturu argi energia energia kimiko bilakatu zuten.

ORGANISMO FOTOSINTETIZATZAILEAK

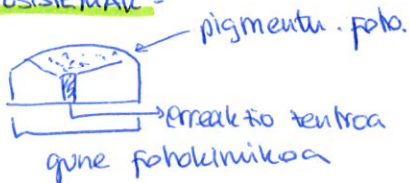
- fotosintesi ez-oxigenikoa (bakterioak)
- fotosintesi oxigenikoa (zianobakterio eta landare)

FOTOFOSFORILATIAO $\rightarrow e^-$ uretik NADP^+ -ra argi itxien bidez \rightarrow protoiak pompatu \rightarrow ATP sortu.

- Elektroi garraiatazaileak:

- I, II fotosistemak, b6f zitokromoen konplexua, ferredoxina-NADP oxidoreduk.
- Prot. mugikor solugariak: plastozianina
- Prot. mug. ez-solugariak: plastokinaona eta ferredoxina
- Mol. elk. garraiatazaileak: pigmentu xurgatzaileak

FOTOSISTEMAK -



Fluoreszentzia: energia galera bat dago. Energia pixkanaka galtzen duen heluean argia igortzen du.

Elektroi bakarra igortzen da

Uhin luzeera gero eta urrenago po, orduan eta maila energetiko handiagoa, zabalera gutxiagoa uhinak igotzen dira. $E = hc/\lambda$

Beraz, landareak eta dira urdin koloreko uhin-eneretiko titrikatuko eta ez da fotosintetisik emango. fotosistemak 680-700 uhin-eneren artean kitzikatu direlako.

- Pigmentu fotosintetizatzaileak:

Tirakoideen mintetan dago eta argia xurga derakete uhin-enera baxuetan. Pigmentu batetik bestera erresonantzia igor daitezke gune foto kimikora. Bertan fotooxidatu eta elektroi Zn bat geratuko da.

Fotosistemako a klorofila ez-egonkortuta egongo da beste fotosistema 1 etik elektroiak bereganatu arte.

- Taldeak:

- Klorofila: argi-xurgatzaile nagusiak. Eratan tetrapirrolinokoma.
- Pigmentu laguntzaileak:
 - karotenoidak: β karoteno, xantofiloak
 - fikobilinak: Alga-zianobakterioak.

Fikozantina / fikozianina

KLOROFILAK

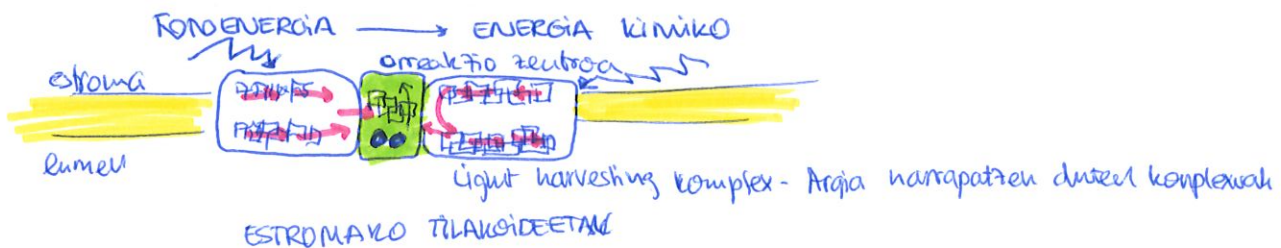
- Landare berde gutietan
- Law eratan pirrotiko
- motak:
 - a klorofila (gutietan)
 - b klor. (goi mailako landare)
 - c klor. alga maroi eta protozoetan.
- bak bakteriochlorofila

PIGMENTU LAGUNTZAILEAK
(gero eta bikoita/bakuru lotura geluago eduki, igorriko duen kolorea gormakara mugitu).

- FIKOBILINAK: xianobakterio, alga gormak.
- KAROTENOIDEAK

Pigmentu fotosintetizatzaileen antolaketa: Pigmentuak unitate funtzionaletan antolatzen dira fotosistemak dira. 200 klorofila inguru, karotenoide eta proteina osaturik daude eta bertako udeak gutxi xurgatu dezakete argia.

A klorofila bikoite batek soilik bilortu dezake argi energia energia kimiko, fotooxidazioa. Pigmentu laguntzaileek erresonantzia bidez bideratuko dute argi energia klorofila bikoitera.



Antena konplexua (LHC): Argi energia biltzen duten egiturak dira. Tilakoideen mintzetan daude. Pigmentuak mintz proteinei batuta daude.

Elektronen garraiatazaileak:

- 1- klorofila berria
- 2- feofitina
- 3- menaquinona (QA)
- 4- Fe (eta hemoa)
- 5- ubinolina (QB)

	Fotosistema I	Fotosistema II
Fig. emaitze	klorofila a700	klorofila a680
e emaitze	ferredoxina	feofitina
e-hartzaile	plastocianina	H ₂ O

Bi konplexuak era koordinatuan funtzionatu dute, fosforilazio α -zirkuluaren deribatu proteoan. O₂ eta ATP ekoizten dira. 6 protonak pompatu dira (4 b6 konplexuan eta 2 H₂O-ren fotolisisik).

II FOTOSISTEMA - dimeroa -transmuntz proteina

Antena pigmentuek argi fohi bat xurgatu eta energia P680ra transferitu. e⁻ bat gaitzen du.

Feofitina P680 kitzkatu e⁻ bat hartu. e⁻ honi plastolinolua molekulara pasatu eta zikloromo b6f-arte. Honek 4 protonak pompatu ditu.

Sortutako elektroien-erria beste elektroien bates beteko da.

URAREN APURKETA FOTOLITIKOA

PSII konplexuak uraren apurketa bultzatzen du. $2H_2O \rightarrow 4H^+ + 4e^- + O_2$

Urakik lortutako 4H⁺-ak lumenen aseritako dira baina 4e⁻-ak ez dira zuzenean P680^{*}-ra igarriko. **Banau-banau** transferituko dira

homodimeroa ←

b6f-konplexua - elektroiak plastolinolatik plastocianinara

H⁺ pompatu ditu lumenera, elektroien fluxu zirkulu zehar α -zirkuluaren. Elektroiak **banau-banau** igorri.

Plastotianina - Cu gune bat daukan proteina e⁻ garraiagarria.

- fitoklordeen lumenean aurkitzen da eta b6F konplexuarekin jasotzen ditu e⁻-ak.



Ondorioz PSI-reu elektroia ura birziklatu egingo da.

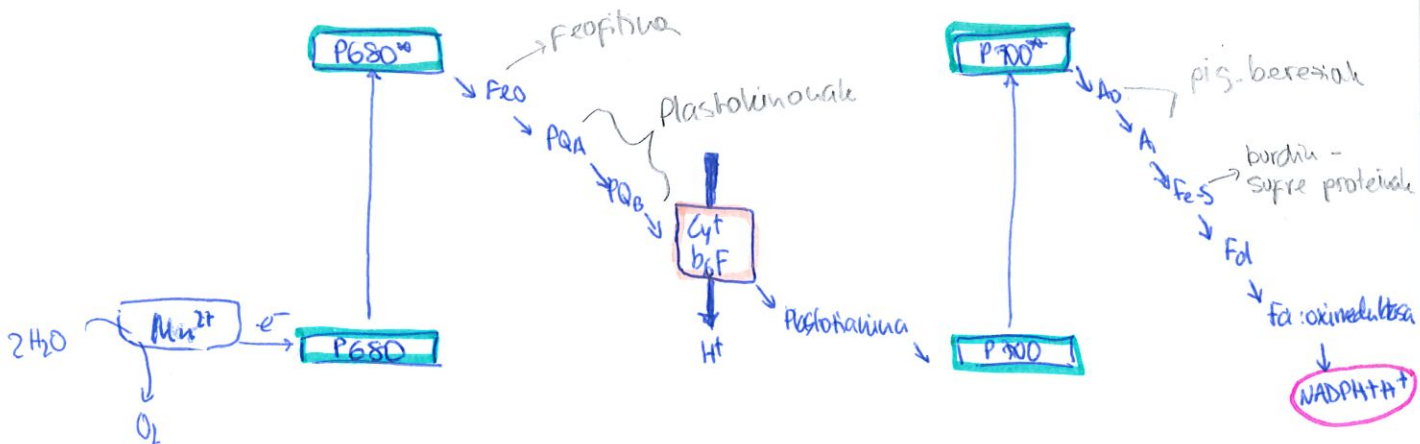
FOTOSISTEMA I - fotoi bat xurgatzean kitzikatu eta P700⁺ sortu. P700⁺ elektroia hartzaile - klorofiliko batetara igaroko da. (A0)

A0 hartzaileak A1-en igaroko du eta honen Fe-S eta a-kloro ferredoxinari.

Fotosistema egoera egokiora beregautuko du b6F-tik garraiagarria e⁻ beregautuz.

Ferredoxina: fitokloroen estromen aurkitzen den proteina solugarria

e⁻ bat tranferritzen du NADP⁺-ri. Horretarako ferredoxina - NADP oxidoreduktasa erabiltzen da.



ELEKTROI-FLUXU ZIKLOA

Batutan ferredoxinak NADP^{+} -ri elektroia emon baino, zikloromo b6F-ri ematen diotako. Horrela, proteoi gehiago pompatu dira eta ATP ekoizteko emendatuko da, baino eta da $\text{NADPH} + \text{H}^{+}$ -rik sortuko.

Kloroplastoen indar protobigiaratzaileak eta du osagai elektrikoak. fitoklordeen munitza Cl^{-} eta Mg^{2+} izekiko iragazkorra da. karga elektriko neutralizatzen da.

MITOKONDRIO / KLOROPLASTEN FOSFORILATIOAK

berdintasunak

- gune itxia behar
- elektroia-garraiagarria eta pompaketa dago
- proteinek asimetriko kokatuta
- ATP sintasak.

ezberdinalak

- Elektroia-fluxuaren uerantza
- Gradiente osagaiak desberdinalak.

6. LIPIDUEN METABOLISMOA: GA OXIDATIOA

- Molekula hidrofobikoak
- Garraio sistema berezia
- Degradatio sintesia banatuta.

Askot ere gantz geliatzio daukago gure gorputzean glukogeno pilaketa baino. Gainera, hauen kaloria kopurua askot handiagoa da.

Gantz azido iturrirak:

- dietako koipeetatik
- metabolatiko koipeetatik
- sintetik

Batuetan energia ituri ballana bihurtzen da organismoarentzat. Adb. migrazioan, hibernatze duten bizidunak.

Oso eupaketatuak izaten dira eta energia maila handikoak.

OSO ERREDUZITIBAL ETA DESHIDRATATIBAL

Beharrezko gantzen funtzioa digestioan

1. Dietan harturiko elikagaiak emulsionatu heste mediarrean mixelak sortuz.
2. Hesteko lipasek triatilgliteridoak degradatu xurgatuak izan daitezke.
3. Hesteko mukosak xurgatuz, triatilgliterido berriz eratzen dira.
4. kolesterol + apolipoproteinak = tilomikroak
5. Odoretik elunetara.
6. Kapilareetan berriz ere degradatu eta zelulan sartzean energia beharrezko araberak oxidatu edo erreduzitu.

Lipoproteinak - ez dira uretan disolbatzen (hidrosolugaitzak)

Garraio konplexua dute: gantz eta kolesterol lipoproteina bilakatu. Egitura esferikoak dira.

- Gaineratzen hidrofilikak: apoproteinak, fosfolipidoen atal polarra, kolesterol askeak
- Barnealdeak: prot. fosfolip. alde hidrofobikoa eta kolesterol esterifikatua.

Saillkapena (dentsitate arabera)

Kilomikroak: TGA garraioa hestetik gibelera (bata ere TG)

LDL: kolesterol garraioa gibel - elunetara

VLDL: TGA endogeno garraioa. Gibeletik elun periferikoetara.

HDL: kolesterol garraioa elunetik gibelera. → Kilomikroak eratzen

datorriaren arabera

→ Lipido exogeno: hestetik elunetara TG/kol

→ Lipido endogeno: garraioa gibeletik elun periferikoetara

Triatilgliterido metabolik hormona sendak bat izatean triatilgliterol lipasa aktibatzen eta triatilgliteridoak hidrolizatzen dira. Gibeletik beharrezko araberak degradatu edo glukolizatu sartuko da. GA seroalbuminarekin garraiatzen izango da.

Adrenalina eta glukagorik adenilato ziklasa aktibatzen eta honela triatilgliterol lipasa fosforilatuko du TG-koen apurketa abiartuz.

Triatilgliteridoak - kolesterol + palmitiko + oleiko + linoleiko

- molekula oso erreduzitibak, energia handia eman.
- kimikoki egokiorak, metabolizatu egokiak
- Urte gabekoak (ura erreparatu) Pisu gutxia energia ituri erabilgarria.

Gantz azidoen garraioa - ein mitokondrioan beharrezko

karnitina anetika erabiliko dute → mitokondrioan sartu.

AH1-karnitina / karnitina garraiatzailea.

GANTZ AFDJEN DEGRADATIA

- Aktibazio energetikoa (2 ATP GASTUA)



- Gantza mitokondriara karnitina anetika (eta energia gastea) mitokondriako matrizea sartu.

- β -oxidazioa

- oxidazio \rightarrow trans egitura behar

- hidratazio

- oxidazio

- tolesia \rightarrow Azeiti-KoA bat askatu.

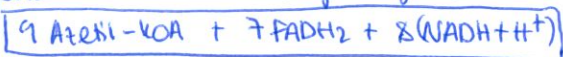


GANTZ AFDJEN ASEGABEAK (lotura bikoitadunak)

Elikagaietako lotura bikoitak cis itaten dira eta gure entzima estereoespezifikoak trans eron jarraitzen dute soilik.

• OLEIKOA (C18:1) (cis- Δ^9) - FADH₂ bat gutxiago sortzen da.

isomerasak cis-trans egituragatik aldatu. Entzimat lehen oxidazioa eta der gertatu behar. FADH₂ gutxiago ekarri.



• AFIDO LINDOLEIKOA (C18:2) ($\Delta^9,12$)

lehen lotura bikoitza oleikoan bezala konpondu. FADH₂ bat gutxiago deshidrogenasak eta duetako jardunak.

Bigarren lotura bikoitzaan aldiz entzimat eta du lotura bikoitak detektatzen erreduktasa eta isomerasak jardun.



KARBONO KOPURU BAKOITADUNAK - organismo itsastarrak.

Azkan birtan \rightarrow Azeiti-KoA

\rightarrow propionil-KoA \rightarrow 3 erreakzio gelaigo \rightarrow

Sukziniil-KoA bihurtu

KREBS

β OXIDAZIOA PEROXISOMETAN - GA oso larri eta adarkatuak direnean.

H₂O2 sortuko da.

Sortutako Azeiti-KoA garraiatu mitokondriara. NADH-ak ere. \rightarrow gantza \rightarrow anetkaren arebeakoa

ERREGULAZIOA

NADH-ak inhibitza

Az-KoA inhibitza

Malonil-KoA-ek gantza aidoak mitokondriara sartzea eragozten. Karnitina anitranferasa inhibitza. Azeiti asko dagoenean Malonila eratu eta horrek karnitina anetika inhibitza da.

LANDAREEK METABOLIKO GANTZAK GLUKOSAREN ERABERAKO ERABILIA (HATIAK, glikoxisomak)



ANIMALIOK ERN DUGU GANTZ AFIDOTIK GLUKOSA ERATU
bata ere oxaloasetatitik glukosa eratzen daitezke krebs zirkuluan sartzen bada.

GORPUTZ ZETONIKOAK - Gibelean - mitokondriak

Elun periferikoetara garraiatzeko dira erregai faktu dagoenean. Gantz azidoak odoleki garraiatzeko modua ere izan daitezke.

Bi azetil-koa kondentsatzen dira. Azetato eta koA askatu. Azetokoa deskarboxiazioa agertzen da eta hidroxibutiratoa erredukzioz.

Odoleki garraiatzeko izen ostean Krebs - zirkloan sartuko dira Azetil-koak oxidatzeko iratzeko eta ATP lortzeko.

ketoasil - koA transferasa \longrightarrow muskulu, bikoza, eta gantzean soilik GIBELAN ET.

DIABETES INKONTROLATUA EDO BARAUALDIAN

Hepatozitoetan glukosa sintetizatu eta oxalatetatoiki odoleko kontzentrazioa mantendu. Gantz-azidoak azetil-koara oxidatu. Krebs moteldu. Azetil-koA pilatu.

GENIEGIZKO SINTESIAK \longrightarrow ATIDOTIA (komposatu azidoak direlako).

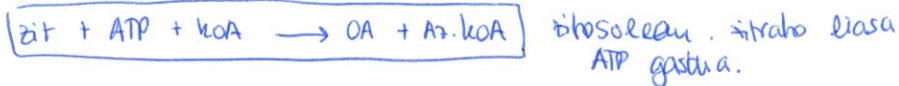
Gibela $\begin{cases} \longrightarrow \text{Gorputz zetonikoak muskulu, bikoza, burbuinera} \\ \longrightarrow \text{Azetil-koA} \longrightarrow \text{oxa} \longrightarrow \text{glukosa} \longrightarrow \text{elunetara.} \end{cases}$

ODOLEKO PH - a uldatu gorputz zetonikoak.

6.2 - LIPIDEN SINTESIA - zitosolean - Energia maila altua dagoenean.

PAUSUAK

1- Azetil-koA -ren garraioa mitokondrialik zitosolera zitratu luodian.



2- Aktibazio energetikoa - Azetil-koA karboxilasa entzima erregulatzen da



3- Azetilkoak erakatea

- kondentsazio
- erredukzio
- desidratazio
- erredukzio

} NADPH beharra
Pentosa fosfato bidea

ACP proteina eta GA talden lotzen dituen sistemak hidrolisi-energia aske handia termodynamikoki fabrikatu GA sintesia.

7. GAIA : PROTEINEN KATABOLISMOA

Proteinak energetiko gisa erabili daitezke baina haiei funtzio ugaria proteinen sintesia da egiturarako eta zelularen funtzioak betetzeko.

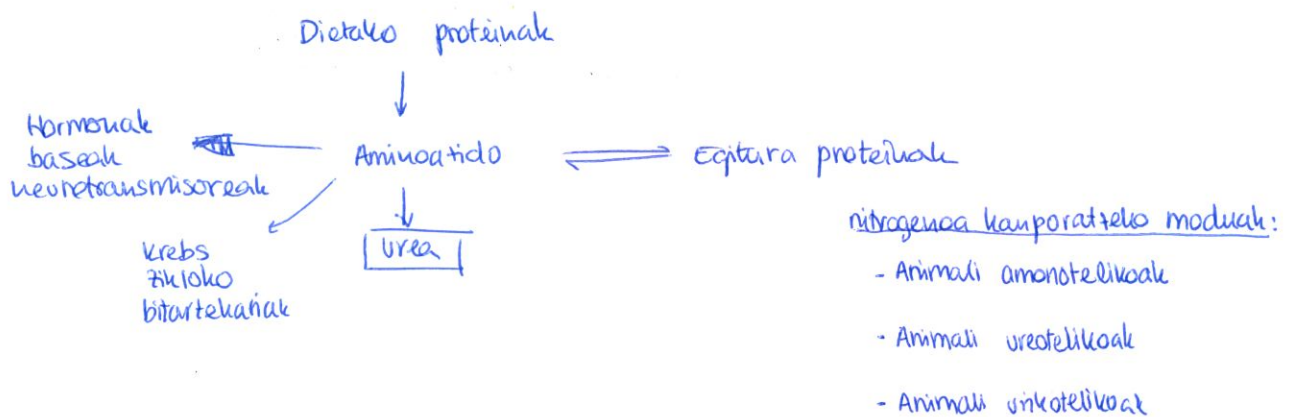
karbhidratoen gabezia aa metabolismoa eruzdalu egiten da.

Elikagaiarekin batera ireusitako proteinak aktiboki garraiatzen dira hestetik organismoa, urdilean proteinak aminoatidoetara degradatu ostean. Dietaik apartze, organismoa gai da beste kalibeste aminoatido sortzeko.

Izan ere, zeluletako proteinak etengabe dabiltza berritzen.

Gizakiok azukre eta lipidoen oxidazioz energiaren %90 -a lortzen dugu. Gaiuntzeko, aa-en eskeleto karbonodunen oxidazioz. Aa-ik degradazio oxidatiboa jasari detatu:

- Zelula proteinen sintesi / degradazioa
- Dietaik proteina asko dituzenean (aa-k ezin baitira metatu).
- Baraualdian edo diabetes et-kontrolatuak (karbhidrato gabezia dagoenean).



AMINOATIDEN DEGRADAZIOA

Aminoatidoen amino taldeak iraitzi egin behar dira (amoniako toxikoa delako). Karbono kateak aminoatido bakoitzeko desberdinak direnez, degradazio bide desberdinetatik egiten da: Aminoatidoen α -zetoatidoak.

- Aa proteinak sintetizatzen
- Energia beharrez α -zetoatidoak KREBS-en oxidatu
- Energia handia beharrez aa-k glukogeno edo triazilglicerido bilakatu.

Aminoatidoen katabolismoko protezuak:

- 1) TRANSAMINAZIOA
- 2) DESAMINAZIO OXIDAZIOA
- 3) GLUTAMINA ETA ALANINAREN SINTESI GARRAIOA

1) TRANSAMINAZIOA

Behar et diren aminoatidoak glutamato, alanina edo glutamatuara aldatzen dira gibelean amino taldea guz detaten.



Transaminasien bitartez, aminoatidoetako amino taldeak glutamatuara garraiatzen dira elon peñferikoetan. Gibelean garraiatzeko glutamina bilakatuak dira eta gibelean berri glutamato



DESAMINATIO OXIDATZALEA

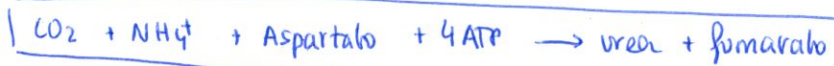
Glutamato deshidrogenasak glutamatoaren aminoak aska dezake. (gibeleko mitokondrian).

GLUT/ALA SINTESI ETA GARRAIOA

Alaninak lotri zikloa aprobetxatuz Alaninak aminoak garraiatzen du glikometatik gibelerara. Gibelean pinbatua askatu eta glutamatoa urearen zikloa sartuko da. Gibelean, amino taldeak urearen zikloan sartuko dira eta urea sintetizatu ostean tenperatura itzango da gemoile.

UREAREN ZIKLOA

- Gibeleko zeluletan
- Ornitina eta zitulina aminoatido et-proteinoak behar dira.



urea



ZELULETAKO AMINOAZIDOEN JATORRIA

- Dietako proteinoak - urdailan degradatu
 - traktu gastrointestinalerako proteasak
 - Aminoazidoen garraio sistema
- Zeluletako proteinen degradazioz
 - zeluletako proteasak
 - Lisosoma
 - zitosolikoa
- Biosintesia
 - Aminoatido eta esentzialen sintesia.

BIDE METABOLIKOAK - ENTZIMAK

GLIKOLISIA

- Hk - Hexokinasa
- PtsA - fosfohexosa
- 1-PFK - 1-fosfofruktokinasa
- Ald-sa - Aldolasa
- TP-iso - Triosa fosfato isomerasa
- DESh - G3P deshidrogenasa
- P6Dek - fosfoglicerato kinasa
- P6TD.M - fosfoglicerato mutasa
- Eno1 - Enolasa
- P.k - Pirubato kinasa

HARTIDURA LAKTIKA

- Lak.dh - Laktoato deshidrogenasa

HARTIDURA ALKOHOLIKOA

- Pir.dh - pirubato deskarboxilasa
- Alk.dh - alkohol deshidrogenasa

GLUKONEOGENESIA

- Pkxl - pirubato karboxilasa
- M.desh - malato deshidrogenasa
- PEPxl - PEP karboxilkinasa
- G6P.sa - glukosa-6-fosfatasa (gizabelean bakarrik).

GLUKOGENOAREN DEGRADATZIOA

- G6P.SA - glukogeno fosforilasa
- E.des.A - Enzima desedarkatzailea
- P6.mut - fosfoglukomutasa
- G6P.sa - glukosa sei fosfatasa

GLUKOGENOAREN SINTESIA

- G6P.sim - glukogeno sintasa
- UDP-G.P - UDP glukosa fosforilasa
- glukogenina proteina beharretikoa da de novo sortzeko.

ALMIDOIAREN SINTESIA

- Alm.sin - Almido sintasa

LAKTOSAREN SINTESIA

- Gal.tr galaktosil transferasa

PENTOSA FOSFATEN BIDEA

- G6P.dh - G6P deshidrogenasa
- lak.ksa - 6-fosfoglukonatokinasa
- P6TD.dh - fosfoglukonato deshidrogenasa
- R5P-iso - erribosa 5P isomerasa
- R5P-ep - erribosa 5P epimerasa
- TZ - Transketolasa
- TA - transaldolasa

CALVINEN ZIKLOA

- Errib - erribulosa - 1,5-BP karboxilasa
- 3PG.ki - Fosfoglicerato kinasa
- G3P.dh - G3P deshidrogenasa

PIRUBATO DESHIDROGENASA KONPLEXUA

Rinubatoaren deskarboxilazio oxidatzailea

- E1 dihidropiruil transasetilasa
- E2 pirubato deshidrogenasa
- E3 dihidropiruil deshidrogenasa

ATZIDO ZITRIKOAREN ZIKLOA

- zit.sin - zitrato sintasa
- Alk.sa - Akonitasa (deshidrogenasa)
- Iso.dh - Isotitrato deshidrogenasa
- zet.dh - α -zetoglutarato deshidrogenasaren konplexua
- Suk.sn - sukzinit-koA sintetasa
- suk.dh - sukzinato deshidrogenasa
- F.licr. - fumarato hidratasa
- Mal.dh - Malato deshidrogenasa

FOSFORILAZIO OXIDATZAILA

- Q - ubinona (Q koentzima)
- zit. - zitokromoa (Hemo taldearen prot. zirkulak)
- Cys - kurdin - sufre proteindak
- I.konplexua - NADH - ubinona oxidoreduktasa
- II.komp. - sukzinato deshidrogenasa (krebis)
- III.komp. - ubinona z zitokromo oxidoreduktasa (b2, zit)
- IV.komp. - z zitokromo oxidasa

ESTRES OXIDATZAILA

- su.ox.d - superokido dismutasa
- Glut.pr - Glutathion perokidasa
- katal. - katalasa

FOSFORILAZIO OXIDATZAILA

- ATP.sn - ATP sintasa (3 gure).
- Termogenina proteina

FOTOFOSFORILAZIOA

- I fotosistema I
- II fotosistema II

BIDE METABOLIKOAK - ERREAKTIO ORDOKORRAK

GLIKOLISIA (zitosolean)



HARTIDURA LAKTIKOA (zitosolean)



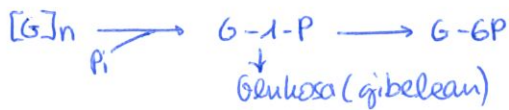
HARTIDURA ALKOHOLIKOA (zitosolean)



GLUKONEOGENESIA (mitokondrio / zitosolean)



GLUKOGENOAREN DEGRADATIOA (zitosolean)



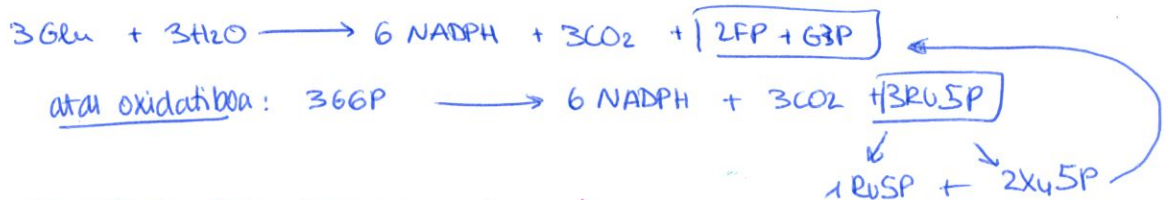
GLUKOGENOAREN SINTESIA (zitosolean)



SAKAROSAREN SINTESIA (zitosolean)



PENTOSA FOSFATEN BIDEZIDORRA (zitosolean)



CALVIN ZIKLOA (kloroplastoaren estroman)



→ estromatiko zitosolera garraiagarriko sistema antiportea DHAP/Pi



PIRUBATOAREN DESKARBOXILATIO OXIDATZAILEA



KREBS-EU ZIKLOA



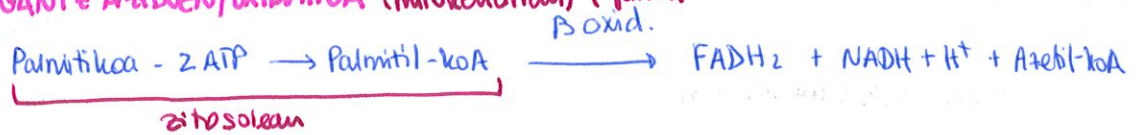
ELEKTROI KATEA



FOTOFOSFORILATIOA



GANTZ AZIDOEN OXIDAZIOA (mitokondrian) (garraioa karnitin anetza).

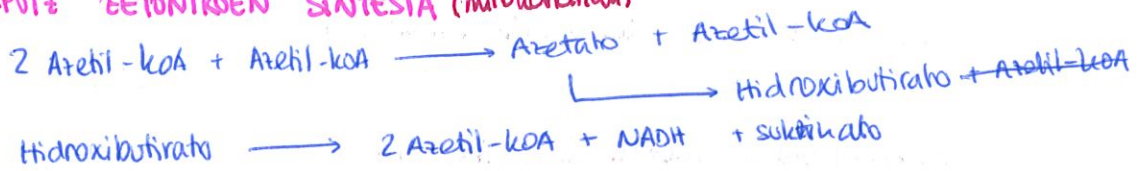


- Lotura bikotia dutenean
Oleikoa (FADH₂ 1 gutxiago)
Az. Linoleikoa (-FADH₂ / -NADPH)

KARBONO BIKOTIDUN GANTZ AZIDOAK



GORPUTZ BERTONIKEN SINTESIA (mitokondrian)



GA sintesia (zitosolean)

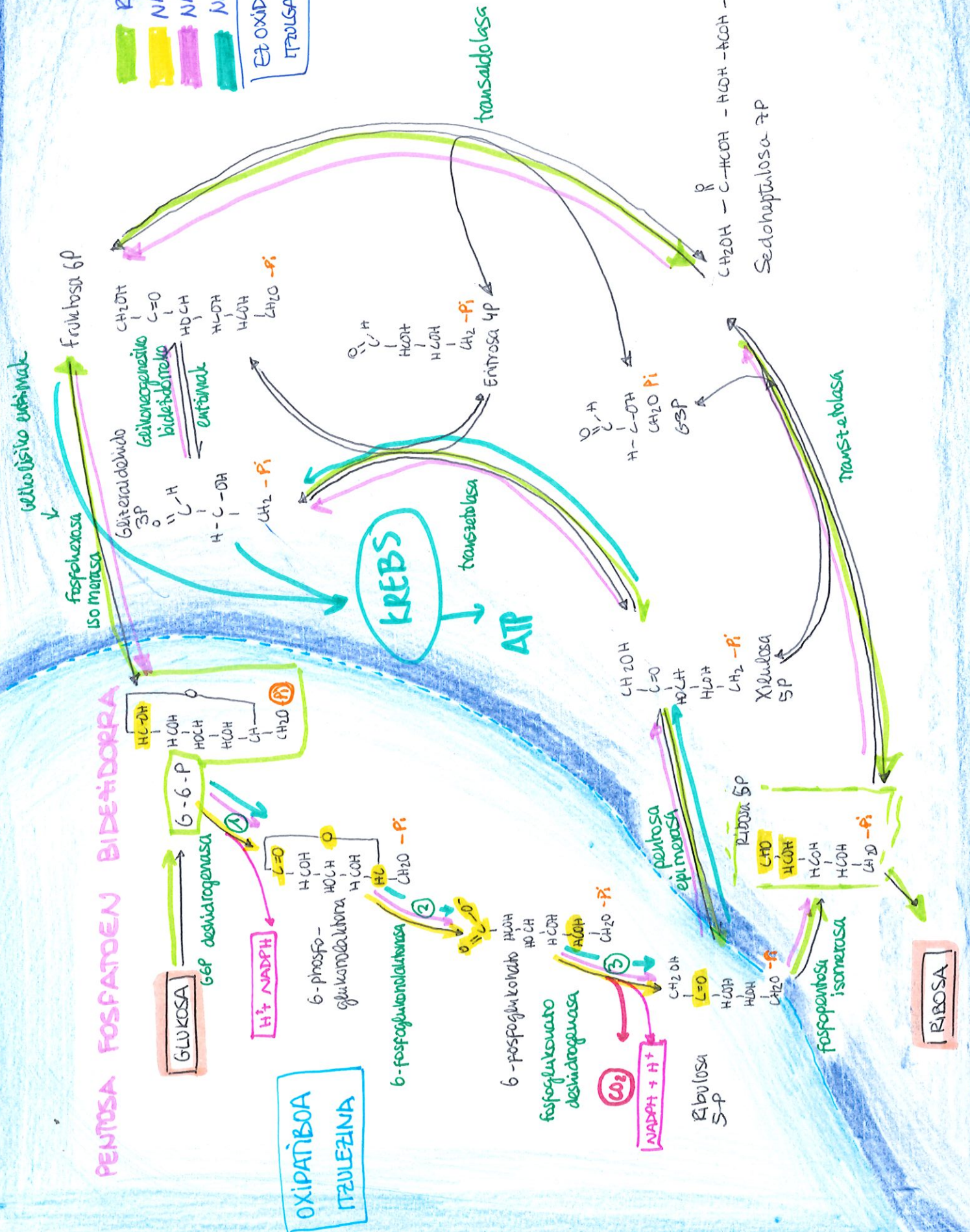


UREAREN ZIKLOA (zitosa / mitokondrian)



PENTOSA FOSFATEN BIDEHIDROA

- RSP behar denoan
 - NADPH / RSP
 - NADPH soilu
 - NADPH / ATP
- OXIDATIBOA
ITRULGARIRIA



OXIDATIBOA
ITRULGARIRIA

KREBS

ATP

transaldolasa

transketolasa

transketolasa

Sedoheptulosa 7P

pentosa
epimerasa

fospopentosa
isomerasa

RIBOSA

3.6. CALVIN ZIKLOA karbonoaren funkapena bitidun fotosintetikatasteetan.

Landareek eta izaki fotosintetikoek glukosa almidoi bezala metatzeko dute kloroplastoetan.

ATALAK:

- Karbono dioxidoaren funkapena (itxortzea) (karboxilazioa)



Errubisko entzimak katalizatuko du erreakzioa. 5 karbonodun konposatu batekin 3 karbonodun bi konposatu lotuko dira. Kloroplastoen estrokan dago.

- Triosen erredukzioa (C3):

• $3\text{-fosfogliterato} + ATP \longrightarrow 1,3\text{BPgliterato}$
(glikolisiko erreakzioetako bat da) 3PG kinasak jarduten du.

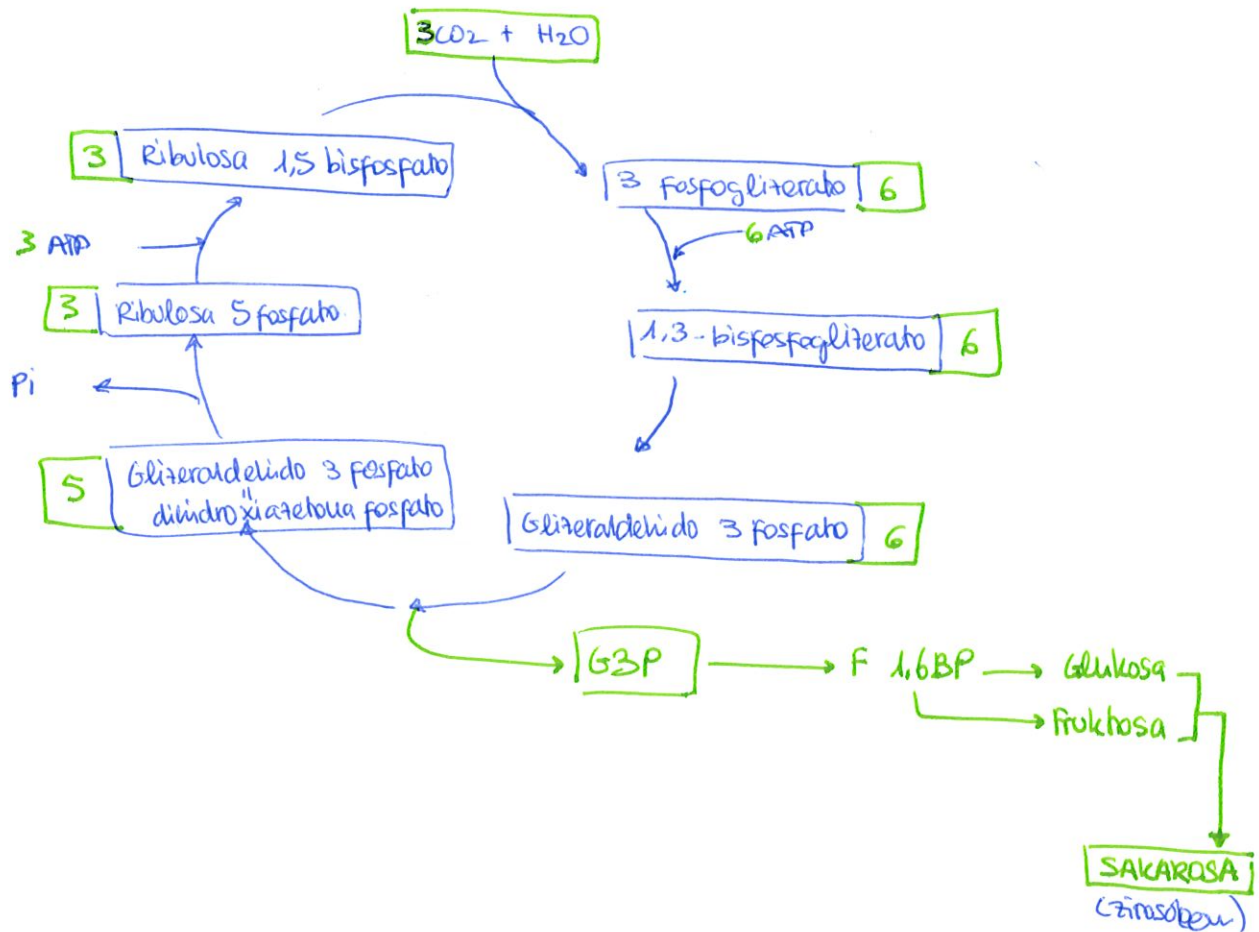
• $1,3\text{Pgliterato} + NADPH \longrightarrow 3\text{GP}$ (G3P deshidrogenasa)

(elektroi garaietan lotuko NADPH-a erabiliko da).

Gliteraldehido 3 fosfato bi erabiliz glukosa molekula bat lotu daiteke.

- Pentosen birziklapena (Ru5P kinasak erabili behar izateko).

(Calvinen zikloan da pentosen birziklapen osoa agertzen, laboriketa bati).



ERREGULAZIOA

- 2-karboxiarabinitoa inhibitzailea
- pH optimoa argiaren eragindako H^+ gradientearekin egokitua.
 Mg^{2+} altua dagoenaren antibata
- Calvin ziklokoa (ilunpeko fasea kontsideratua): argipeko erreakzioetan ferredokina erredutitzen da eta horrek beste eutima batzuen SH taldeak erredutituz antibaten da.

FOTODARNASKETA: errobiskoren oxigenasa jarduerak.

Errobiskok oxigenoa funka detake. Adibidez, temperatura igotzean oxigenoaren liko apinitatea are handiagoa da. (eboluzio-altas moduan uter daiteke).

↓

fotosintesiaren eraginkortasuna asko murrizten.



Arara da fosfoglikolatoa etela metabolikoki erabilgarria eta glikolatoaren errekuerariarako CO_2 -ren galera eta O_2/ATP kontsumoa dakar.

Peroxisoma eta mitokondrietan gertatzen da birziklapena.



AZTERKETA EREDUA

- Gaurtzak karbohidratoak baino energia-erreserba hobeagoak dira. Zergatik? Zergatik gordetzen ditugu bietako erreserbak?

baita azidoak paketatzerako orduan, eta dute unik behar eta pilatutako triglizerido gutxi pisua sailik energia torpenerako da. Glukogenoaren kasuan pisu gutxiago daukate pikonek baino lortzen dituzten energia oso berrira da konparatuz.

Azidoak betala, GA (C:16) batetik 106 ATP lor ditzakegu eta aldiz glukosa mo1 batetik 32 ATP.

Ezinez konposatu bakoitzak funtzio bat betetzen du gure organismoan. Glukogeno pilaketak azidoak glukosa maila konstante mantentzea laguntzen digu.

Bestetik, triglizeridoak, kolesterolak eta beste konposatu batzuk sintetizatzen dira. ~~Itan ere~~, Gainera energia iturri garrantzitsuak dira.

Azkenik, burmuina eta muskulua glukosa daukate energia iturri bakarrik. Ezin ditzate gaur azidoak degradatu. Barnealdietan gorputz zeharrik eraten dira gabeleku glukosa ordaintzeko.

- Oso erredutitu eta deshidratatuak dira karbohidrato pisu berdinekoen energia bikoitza baino gehiago metatzen dute.
- Kimikoki egonkorak dira. Gorputzean metatzeko aproposak.
- Unik gabe metatzen dira \rightarrow pisu gutxi erabilgarria izango da.

- Garunak, herbio-sistemak, giltzurrun-muinak, testikulu, eritrosito...
- glukosa daukate erregai iturri bakarrik.
- Odosteko glukosa maila mantentzen lagunduz.

- Zergatik eraten da ATParen sintesia mitokondrioko barne muntza permeabilitatearen bidez.

Peter Mitchell-ek teoria kimiosmolikoa plazaratu zuen, defendatuz ATParen ekoizpena gradiente kimiosmoliko baten ondoriozkoa dela.

Elektroi garrantziko konplexuek prohoiak puzpuztean muntza arteko ingurueren gradiente bat eraten dute baino muntza erabat iragarraitza baita noizentzat.

ATP sintetasatik prohoiak izaniko dira gradientearen alde energia gasturik egin gabe eta apionitate β -ren bitartekoa aktibatzen du.

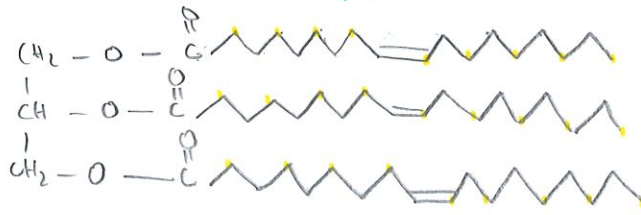
Ondorioz ATP eraten da.

Gradiente hori desagertzen bada prohoiak eta du pasibeki muntza zeharrik eta et dagoenak sintesia gertatzen ez diren alibario-energia, eta da ATP-rik eratuko.

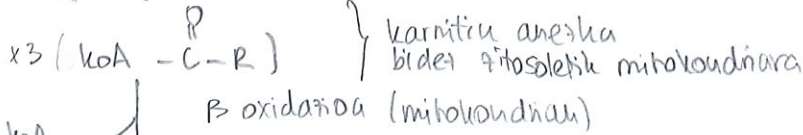
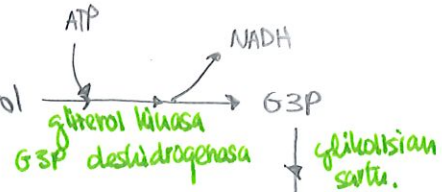
Artahoi bat elikatuko (^{14}C) Amino azidoa ($18:1$) Δ^9 erabili da. GA-en karbono bikoiti gutxiak orratziboa izanik.

trioleina (trigliceridoa).

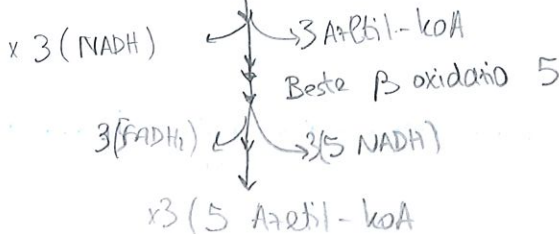
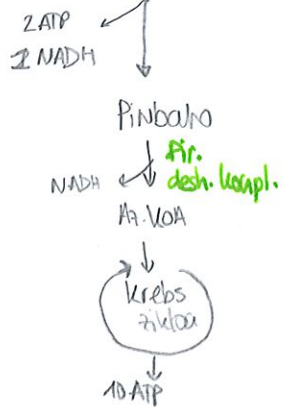
a) oxidazio osoa markatuta jarraituko.



triglicerol lipasa

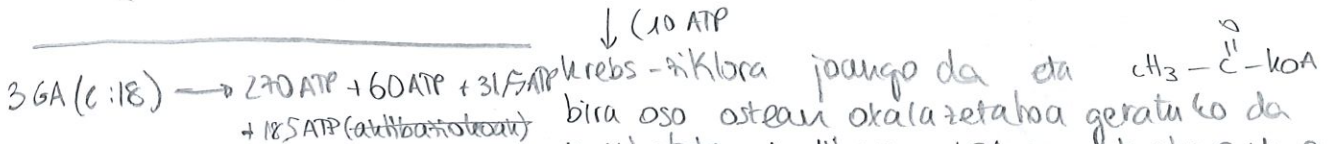
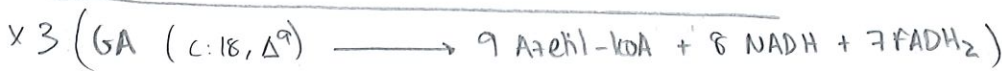


metilo taldeak agertuko dira markatuta.



Glicerol \rightarrow 11 ATP + 3 NADH

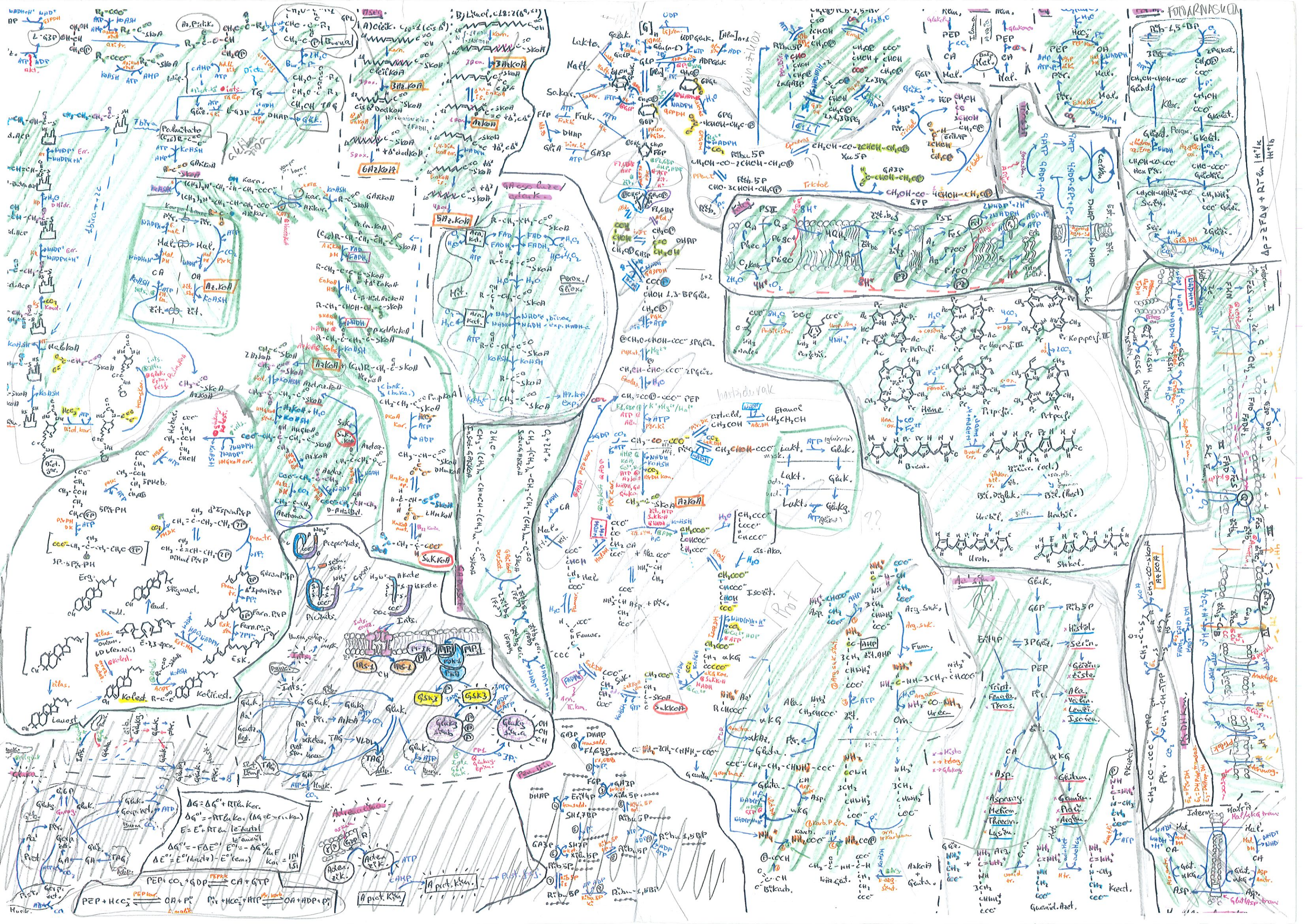
Grua 18,5 ATP



Grua: 374 ATP



Kontuan hartu behar dugu funtzioa eta sukintaboa molekula simetrikoki direla.



BIOKIMIKA I-ko LABORATEGIA

1. Laborategiko arauak:

- Laborategian nahitaez bata soinean eraman behar da.
- Azidoekin eta disolbatzaile organikoekin lanean eskularruak zein betaurrekoak erabili.
- Adi irakurri errektiboan etiketan substantzien toxikotasunari buruzko informazioa.
- Hondakin mota desberdinak banandu.
- Lanpostuak zein garbitokiak (harriak) txukun mantendu.
- Prestatutako disoluzio guztiak zuzen eta argi identifikatu: izena, kontzentrazioa, pH-a eta data. Ohar zaituzte lanpostuan aurki ditzakezun materialaren bolumenaz, eta kontuan hartu biokimikan erabiltzen diren bolumen, pisu eta kontzentrazioaren unitateak.
- Pipetak ez dira disoluzio botiletan zuzenean sartu behar; gutxi gora behera behar den bolumena beste prezipitatu-ontzi batera pasako da eta bertatik pipeteatuko da.
- Kristalezko pipetak udare batez edo plastikozko enbolo batez erabiliko dira (**ahoz zuzenean inoiz ez**).
- Mikropipeta automatikoak erabiltzeko modu zehatza dago, irakurri beheko azalpena.
- Experimentua amaitzean, erabilitako material guztia garbitu, jarritako etiketa guztiak ezabatu eta amaieran ur destilatuz pasa eta utzi lehortzen iragazki-paperaren gainean.
- Laborategi barruan ezin da ezer jan edo edan.



2. Ur destilatua:

loi eta ez-purutasunik gabeko ura, soilik H₂O molekulez osatutako ura da. Erabiliko da:

- Disoluzio guztiak prestatzeko.
- Material guztia garbitzeko.
- Ur destilatuaren botilak husten direnean, berriro bete. Lanpostu bakoitzean eta harrietan ere botila bana egon behar da.

1. ARIKETA: Pipeta automatikoak erabiltzen ikastea

Mikropipetak likidoen bolumen zehatzak hartzeko erabiltzen dira. Har dezaketeen bolumenaren arabera 3 mota daude:

- 2µl -20µl (punta horiak)
- 20µl -200µl (punta horiak)
- 200µl-1000µl (punta urdinak)

Erabiltzean kontuan izan beharrekoak:

- Pipetak beti bertikalean mantendu behar dira.
- Mikropipeten enboloak 3 posizio desberdin ditu:
 - 1.- Berezkoa edo sakatu gabekoa.
 - 2.-Erdikoa: Enboloa 1. mugaraino sakatuta, likidoa xurgatzeko.
 - 3.- Guztiz sakatuta edo husteko posizioa. Pipeta husteko, nahikoa da enboloa azken mugaraino sakatzea.

Erabileraren prozedura:

- bolumena aukeratu (pipetak buruan duen gurpiltxo biratuz)
- punta egokia ezarri
- hutsik (airean) enboloa 1. mugaraino sakatu.
- horrela mantenduz, disoluzioan punta sartu
- GELDIRO askatu hatzamarra
- Hartutako likidoa saio-hodian hustu pipetako enboloa azken mugaraino sakatuz

Mikropipetak erabiltzen ikasteko, pisatu 150 µl, eta 0.5 ml ur destilatari dagokion masa prezipitatu-ontzi txiki batean. Bolumen bakoitzarekin errepikatu masaren neurketa 2 aldiz. Gogoratu aldi bakoitzean balantza (*) tara zehaztea. Erabilitako pipeta ondo dabilela uste duzu? Zergatik? *BAI, ORO ZEHATZA DA*

1mg — 1000µg

1ml — 1000µl

	150 µl	500 µl
1	<i>0,15mg</i>	<i>0,5 mg</i>
2	<i>0,15mg</i>	<i>0,5mg</i>

* Balantza: Masak neurtzeko

- balantza piztu
- pisatzeko erabiliko dugun ontzia balantza gainean ipini eta tara (T) sakatu
- dagokion sustantzia pisatu

2. ARIKETA: pH-aren neurketa. Indargetzaile baten prestaketa

pH tirak: disoluzio baten pH-ren gutxi gora beherako balioa zein den jakiteko balio du. Neurketa azkarra baina ez oso zehatza.

pH-metroa: disoluzio baten pH balio zehatza neurtzeko balio du. Disoluzio baten pH-a doitzeko pH-metroa erabiltzen da, izan ere, modu jarraian neurtzen baitu bertan gertatzen diren pH aldaketa txikiak.



pH tirak



pH-metroa

Praktika honetan disoluzio indargetzaile bat prestatu behar duzue. Azido edo base bat gehitzerakoan pH aldaketa txikiak jasaten duen disoluzioari deritzo indargetzaile.

Behar den materiala:

- 100 ml-ko bi matrize aforatu, plastikozko botilak, prezipitatu-ontziak
- Irabiagailu magnetikoa eta eulia
- pH-metroa
- pH erreferentziak (kasu honetan pH 4 eta pH 7)
- Balantza, espatula
- Tris basea (hautsa)

Prestatu 100 ml Tris/HCl 100 mM pH 7,5:

- Kalkulatu zenbat Tris hauts (Tris(hydroximetil)aminometano) pisatu behar den 100 ml Tris/HCl 100 mM pH 7,5ko disoluzioa prestatzeko.
- Pisatu Tris hautsa eta gehitu 70 ml ur destilatatu. Utzi irabiatzen Tris-a disolbatu arte.
- pH-metroa kalibratu pH 4 eta pH 7 erreferentziako disoluzioekin.
- Disolbatutako Tris disoluzioaren pH-a neurtu. Zein da neurtutako pH balioa?
- Azken pH-a 7,5 izateko, zer gehitu behar zaio soluzioari, HCl edo NaOH?
- Gehitu kristalezko Pasteur pipeta batekin astiro HCl edo NaOH (zuek uste duzuen). pH 7,5ra hurbiltzen doan heinean kontuz gehitzen denarekin, pH-ak ez dezan pH 7,5ko balioa gaingitu. Zenbat bolumen gehitu behar izan duzue?
- pH egokia denean, doitu bolumena (100 ml-raino) matrize aforatu batean ur destilatuarekin. Neurtu berriz ere pH-a: Zein da neurtutako pH balioa?
- Zergatik da garrantzitsua biokimikan ur-medioen pH-a konstante mantentzea? pH aldaketa bortitz batek (adibidez: pH 7tik pH 2ra), zein ondorio izango lituzke zelula batean?

3. ARIKETA: Indargetzailearen diluzioa

- Prestatu 4 bider diluituagoa den beste disoluzio bat (100 ml), aurreko Tris/HCl 100 mM pH 7,5 disoluzio indargetzaitetik abiatuta, beste matraxe batean. Zein izango da Tris-aren kontzentrazio berria?
- Disoluzio berriaren pH-a neurtu eta apuntatu. Nolako pH dauka?

• 100mL ko tris/HCl 100mM -eko pH 7,5 duen disoluzio bat.



$$\frac{100 \text{ mmol}}{1 \text{ L}} \cdot 0,1 \text{ L} = 10 \text{ mmol}$$

$$\frac{106 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \cdot 10 \cdot 10^{-3} \text{ mol} = \boxed{1,06 \text{ g}}$$
 tris hau da hartu behar du.

- 70mL ur destilatua gehitu. tris disolbatu irabiatu.
- pH erabili kalibratu ariago kalibratu ezin behar da. Lehenik pH 4-ko disoluzio bat jarri behar du. Ondoren pH 7.
- Zein da neurtutako pH balioa? 9,4 pH-a (Basikoa).
- Ondoren pasteur pipeta batekin HCl gehitu gehien 7,5-era hurbildu zedin. 9ml gutxi gorabehera
- doitu bolumena (100mL - raino). Zein da pH-a? 7,5 da.
- Garraiatzea da ur medicean pH-a konstante mantentzea proteina eta desnaturalizatzeko edo konposatuak aldatzeko ez jasateko.
- Ez da pH-a aldatuko ur destilatua gehitu ditzake.

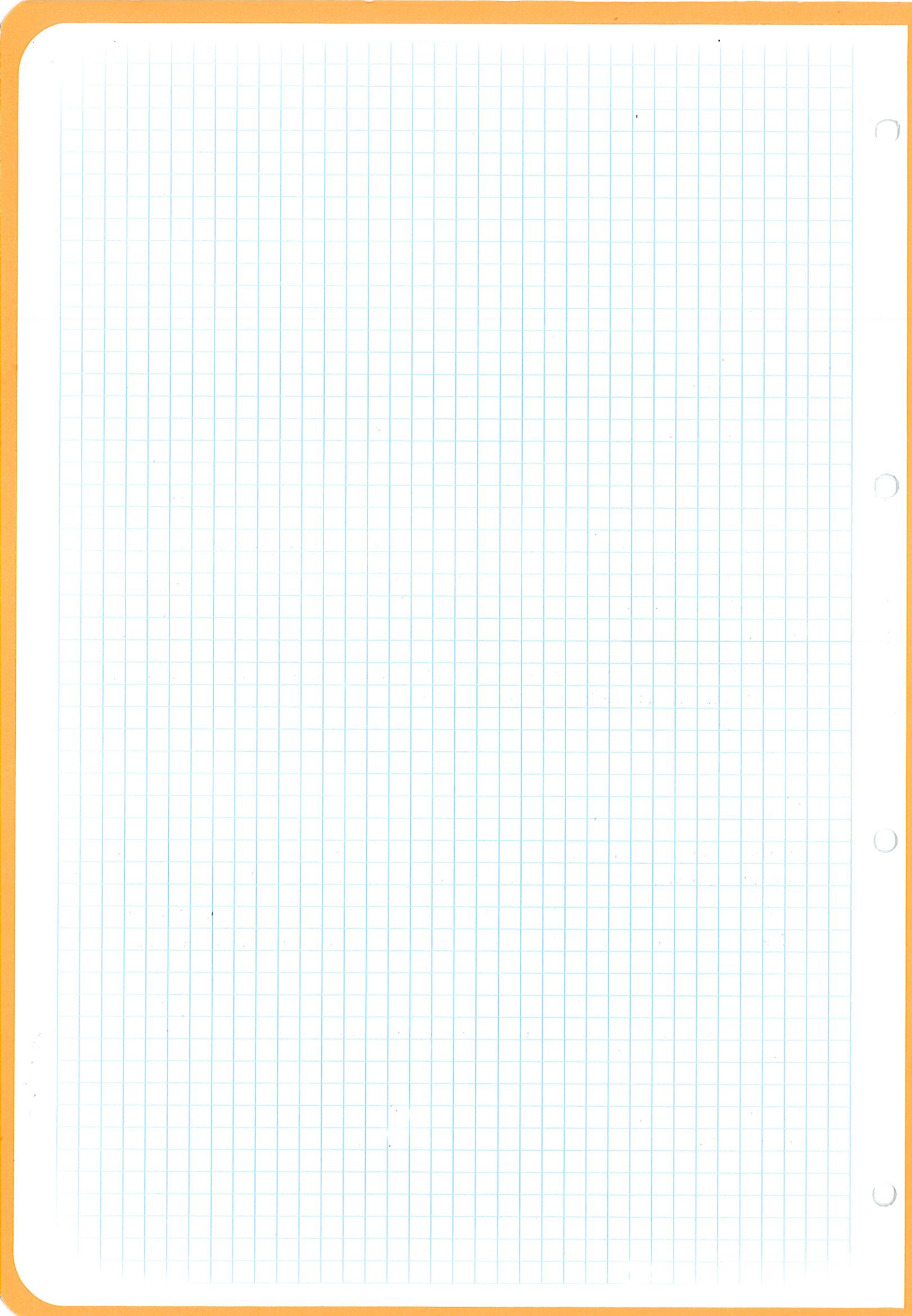
3. ARIKETA: INDARGETZAILAREN DISOLUTIOA

- Lau bider diluituago den disoluzio bat prestatzean bere Tris kontzentrazioa txikitzen esango da. Horregatik itango da diluituagoa
- Disoluzio berraren pH-a aldatu esango da ur-disoluzio gehiago dagoenez kontzentrazioa aldatu delako ere.

pH altuagoa itango da, H⁺ kontzentrazioa txikiagoa.

pH-a berdina itango da ur destilatua gehitu ditzake.

Sistema indargetzaile bat denez, pH aldatetarik egonkortzen dituzte.



○

○

○

○

SAKAROSAREN KONTZENTRAZIOA NEURTZEA GOSARIKO ZEREALETAN

(1. Eguna: Sakarosaren kalibrapena)

1. SARRERA

Praktika honen helburua, gosariko zereal desberdinen sakarosa kontzentrazioa neurtzea da; horrela jakin ahal izango dugu zenbat azukre gehitzen zaien elikagai hauei.

Talde bakoitzak marka desberdineko zerealak erabiliko ditu praktika egiteko eta amaieran emaitza guztiak konparatuko dira.

Praktika 2 egunetan egingo da:

1. **Sakarosaren kalibrapen-zuzena:** Disakaridoaren kontzentrazio ezagunetatik abaiaturik, kontzentrazio ezezaguna duen disoluzio baten sakarosa-kontzentrazioa kalkulatu daiteke metodo espektrofotometrikoak erabiliz (kolorimetria). Kasu honetan, DNS (azido 3,5-dinitrosalizilikoa) erreaktiboaren bidez garatuko da kolorea, sakarosarekin erreakzionatzen duena HCl-z hidrolizatu ondoren.
2. **Dializatutako zerealen sakarosa kuantifikatzea:** Dializatutako zereal baten lagin batean sakarosaren kontzentrazioa kalkulatu, hurrengo talde baterako dialisia prestatu eta aurretiaz egindako dialisi-soluzioa iodoaz tratatu behar da, dialisia ongi burutu den jakiteko.

1.1. Metodo espektrofotometrikoak

Espektrofotometroen bidez, konposatu baten kolorea analiza daiteke era kuantitatiboan zein kualitatiboan. Kolorimetria delako metodo espektrofotometrikoa, substantzia jakin baten kontzentrazioa kalkulatzeko erabili ohi da. Horretarako uhin-luzera jakin batean konposatu horrek xurgatzen duen argiaren intentsitatea neurtzen da. Kolorimetriak Lambert-Beer legean oinarritzen dira:

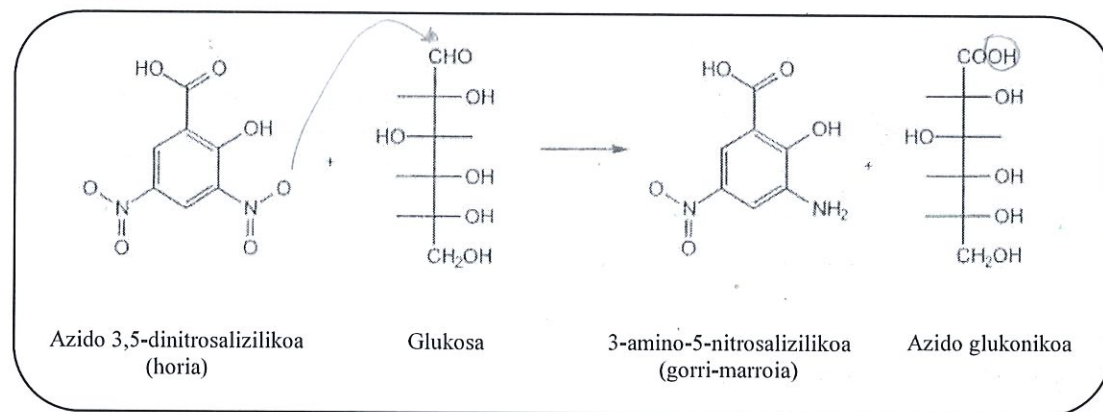
$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

A = neurtutako xurgapena (absorbantzia)
 ϵ = uhin-luzera bateko iraugitze-koefiziente molarra ($M^{-1}cm^{-1}$)
c = argia xurgatzen duten molekulen kontzentrazioa (M)
l = laginaren zehar pasatzen den argiaren ibilbidearen luzeera (estandarretan 1 cm)

Beraz, absorbantzia eta argia xurgatzen duten molekulen arteko kontzentrazioa zuzenki proporzionalak dira.

sakarosa \rightarrow fruktosa + glukosa

Praktika honetan kuantitatiboki sakarosaren kontzentrazioa aztertuko da. Sakarosak kolorerik ez duenez, koloredun molekula batekin erreakzionarazi behar da kolorearen bidez haren kantitatea kuantifikatu ahal izateko. Honetarako azido 3,5-dinitrosalizilikoa (DNSa) erabiliko da. Hala ere, erreaktibo honek ahalmen erreduzitzailea duten azukreekin erreakzionatzen du soilik; hau da, monosakaridoekin edo karbono anomerikoaren hidroxiloa aske duten disakaridoekin. Sakarosaren kasuan karbono anomeriko biek lotura glikosidikoan parte hartzen dutenez, disakarido honek bere ahalmen erreduzitzailea galduta du. Kolorea ematen duen erreakzioa gerta dadin, DNSarekin erreakzionatu aurretik, disakaridoa glukosa eta fruktosara hidrolizatu behar da. Horretarako azido indartsua erabiltzen da, esaterako klorhidrikoa (HCl), eta laginak tenperatura altuetan inkubatu.



2.1. Materiala

- Pipeta automatikoa (200-1000 μ l)
- Beirazko pipetak (5 eta 10 ml)
- 14 saio-hodi handi eta kolorimetroarako saio-hodi berezia
- Prezipitazio-ontzi bat
- Ur-bainua (ura irakiten)
- Espektrofotometroa

2.2 Erreaktiboak

- Sakarosa disoluzioa (10mM)
- DNS
- 2 M HCl
- 2 M NaOH

2.3. Metodoa

2.3.3. Sakarosa-patroia

Ondoko tauletan agertzen diren moduan prestatu behar dira saio-hodiak:

- Sakarosaren bolumen desberdinak jarri (A taulan)
- Ur destilatua gehitu 8 ml izan arte.

A. Taula: 8 ml-ko saio-hodiak

Saio-hodia	0	1	2	3	4	5
Sakarosa 10 mM (ml)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
H ₂ O destilatua (ml)	8	7,5	7	6,5	6	5,5

Saio-hodi guztiek 8 ml dutenean, orduan hidrolisi azidora pasa daiteke:

- 1 ml HCl 2 M gehitu behar zaie guztiei
- irabiatu saio-hodiak
- irakiten dagoen ur-bainuan sartu 10 minutuz (B taula)

B. Taula: Azido-hidrolisia

Saio-hodia	0	1	2	3	4	5
HCl 2 M (ml)	1	1	1	1	1	1
100°C-tan berotu 10 minutuz	+	+	+	+	+	+
Uretan hoztu	+	+	+	+	+	+

- Berotze-aldia bukatuta, saio-hodiak atera eta ur hotzetan sartu (prest izan ura izotzarekin).
- Guztiei 1 ml NaOH 2 M gehitu. (C taula)
- Berotzearen ondorioz bolumen galera txiki bat egoten denez, 1 ml ur destilatu bota behar zaio saio-hodi bakoitzari.
- Irabiatu saio-hodiak (C taula)

C. Taula: 10 ml-ko saio-hodiak

Saio-hodia	0	1	2	3	4	5
NaOH 2M (ml)	1	1	1	1	1	1
H ₂ O destilatua (ml)	1	1	1	1	1	1

OHARRA: DNSa gehitzerakoan eskularruak erabili behar dira. Saio-hodien edukia hondakin azidoen ontzira botako dira amaieran!

Kolorimetria:

- Kolorimetroa piztu eta uhin-luzera 540 nm-tan ezarri (utzi 5 min egonkortzen)
- 10 ml-ko saio-hodi bakoitzetik 2 ml pasa behar dira saio-hodi garbietara.
- Saiodi bakoitzari mililitro bat (1 ml) DNS gehitu.
- Ur-bainuan 5 minutuz berotu eta, ondoren, ur hotzetan hoztu.
- 7 ml ur destilatua gehitu eta irabiatu

Saio-hodi berriak	0	1	2	3	4	5
Aurrekotik hartuta (ml)	2	2	2	2	2	2
DNS (ml)	1	1	1	1	1	1
Berotu 5 minutuz 100°C	+	+	+	+	+	+
Hoztu	+	+	+	+	+	+
H ₂ O destilada (ml)	7	7	7	7	7	7
irabiatu	+	+	+	+	+	+

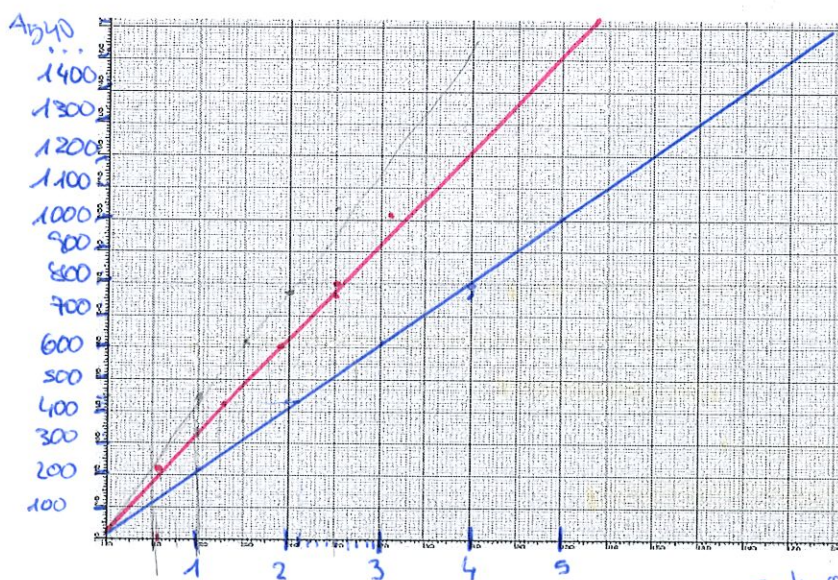
- Kolorimetroa doitu "zuria" erabiliz ([sakarosa] = 0 mM)
- Saio-hodi egokian (5 ml) xurgapenak neurtu (A₅₄₀) sakarosa-kontzentrazio txikien duenarekin hasita. Datuak azpiko taulan apuntatu.
- Saio-hodien likidoa ez bota harraskatik, hasierako saio-hodira itzuli eta amaieran hondakin azidoen ontzira botako dira.

3. EMAITZAK

1. Saio-hodi bakoitzean jarritako sakarosaren kontzentrazioak kalkulatu (mM). Diluzioa kontuan hartu!
2. Irudikatu sakarosaren kontzentrazioa (mM-tan) neurtutako xurgapenen aurka: A₅₄₀ vs [sakarosa] (mM)
3. Sakarosaren xurgapen-koefiziente molarra (edo milimolarra) kalkulatu (ε). $\epsilon = \frac{A}{CI}$

(Bater beste 0'467)

Saio-hodi-zenbakia	0	1	2	3	4	5
[sakarosa] (mM)		0,5	1	1,5	2	2,5
A ₅₄₀		217	437	618	765	1047



$$\epsilon_1 = \frac{0'217}{0,5} = 0'434$$

$$\epsilon_2 = \frac{0'437}{1} = 0'437$$

$$\epsilon_3 = \frac{0'618}{1,5} = 0'412$$

$$\epsilon_4 = \frac{0'765}{2} = 0'3825$$

$$\epsilon_5 = \frac{1'047}{2,5} = 0'418$$

Sakarosa (mM)

Sakarosaren kuantifikazioa gosariko zerealean (2. eguna)

Dializatutako zerealen sakarosa kuantifikatzea: Dializatutako zereal baten lagin batean sakarosaren kontzentrazioa kalkulatu, hurrengo talde baterako dialisia prestatu eta aurretiaz egindako dialisi-soluzioa iodoaz tratatuko da, dialisia ongi burutu den jakiteko.

1.1. Dialisia

Teknika honen bidez molekulak tamainaren arabera bana daitezke. Dializatu nahi dugun lagina dialisi-mintz batez beste konpartimentu batetik banatzen da. Mintzak diametro jakineko poroak dituzenez, molekula txikiak (12.000 Dalton baino txikiagoak) erraz pasa daitezke; handiagoak, aldiz, barruan geratuko dira. Zerealak dialisiaren poltsan sartzen dugunean, karbohidrato txikiak (monosakarido eta disakaridoak) arazorik gabe aterako dira kanpoko soluziora (ur destilatua), barruko eta kanpoko kontzentrazioak berdindu arte, baina polisakaridoak, haien tamaina handia dela eta, barruan geratuko dira. Hori frogatzeko, kanpoko zein barruko laginak hartuko dira iodoaz erreakzionatzen dutenetz aztertzeko.

2.1. Materiala

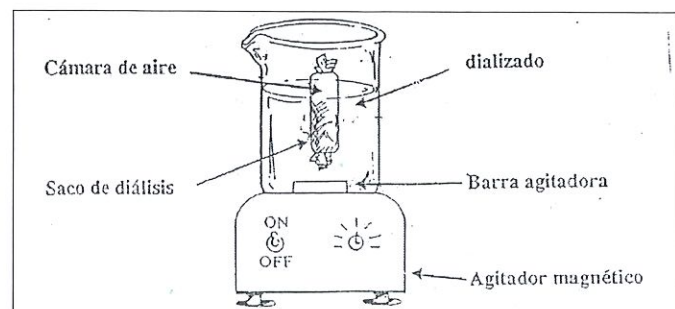
- Pipeta automatikoa (200-1000 µl)
- Beirazko pipetak (5 eta 10 ml)
- 12 saio-hodi handi
- Kolorimetrorako saio-hodi berezia
- Prezipitazio-ontziak
- Ur-bainua
- Espektrofotometroa,
- Pasteur pipeta
- Dialisi-hodia eta pintzak (edo haria)
- Zerealak
- Izotza
- Eskularruak
- Parafilma eta artaziak.

2.2. Erreaktiboak:

- Azido 3,5-dinitrosalizilikoa (DNS)
- 2 M Azido klorhidrikoa (HCl)
- 2 M Sodio hidroxidoa (NaOH)
- 2 M NaCl
- Iodoa (I₂ 0,01M KI 0,01M-tan)

2.3. Metodoa: Zerealen dialisiaren prestateta

- Zereal mota bakoitzeko gramo bat pisatu eta morteroan birrindu.
- 10 ml ur destilatuan diluitu.
- Dialisi-poltsa zati bat moztu (15 cm edo) eta prezipitatu-ontzi batean ur destilatuaz ondo busti (izan ditzaketen molekulak garbitzeko).
- Poltsaren mutur bat itxi korapilo baten bidez, eta beste muturretik zehar, kontu handiz, inbutuaz lagunduta, zerealen lagina barrura sartu.
- Poltsa itxi hari-korapilo edo pintza egoki baten bidez, aire-ganbara txiki bat utzirik.
- Behin ondo itxita, 100 ml ur destilatua duen ontzi batean sartu, eta euliarekin irabiagailu magnetikoaren gainean ezarri 24 orduz (izena eta data jarrita).



2.3.2. Almidoiaren detekzioa:

- 20 ml-ko beirazko bi saio-hodi hartu, izendatu eta dializatutako zerealen laginean almidoiaren edukia egiaztatzeko:
 - a) **barruko** dialisako soluzioetatik **100 µl hartu (A)**, eta
 - b) **kanpokotik ml bat (B)**
- Iodo disoluziotik 100 µl gehitu saio-hodi bakoitzari (A-ri zein B-ri)
- Saio-hodien kolorea deskribatu eta arrazonatu kolore desberdinen zergatia.

Barruko lagina ordinarri egindako almidoiaren presentzia baino kanpoko laginaren presentzia du.

2.3.3. Zerealen laginen prestaketa

Ondoko tauletan agertzen diren moduan prestatu behar dira saio-hodiak **bikoiztuta**.

- Dializatutako soluziotik laginak hartu 4 eta 6 ml-koak (C1, C2) (A taulan)
- 6 ml-ko beste lagin bat ere hartuko da, hidrolizatuko ez dena (EH= ez hidrolizatua). Horrela, zerealak berez izan ditzaketen monosakarido erreduzitzaileak kuantifika daitezke.
- "Zuria" gisa erabiliko den saio-hodia ere prestatu
- Guztiei ur destilatua gehitu 8 ml izan arte.

A. Taula: 8 mlko saio-hodiak

Saio-hodia	0	C1	C1'	C2	C2'	EH	EH'
Lagina (ml)	0	4	4	6	6	6	6
ur destilatua (ml)	8	4	4	2	2	2	2
hidrolisia	+	+	+	+	+	-	-

Saio-hodi guztiek 8 ml dutenean, orduan hidrolisi azidora pasa daiteke:

- gehitu 1 ml HCl 2 M bakarrik sakarosa hidrolizatu behar den saio-hodiei
- Beste bi saio-hodiei (EH) ez gehitu edo egin ezer oraindik
- Irabiatu
- Irakiten dagoen ur-bainuan sartu 10 minutuz (B taula)

B. Taula: Azido-hidrolisia

Saio-hodia	0	C1	C1'	C2	C2'	EH	EH'
Lagina (ml)	0	4	4	6	6	6	6
ur destilatua (ml)	8	4	4	2	2	2	2
hidrolisia	+	+	+	+	+	-	-
HCl 2M (ml)	1	1	1	1	1	-	-
100°C-tan 10 min	+	+	+	+	+	-	-
Uretan hoztu	+	+	+	+	+	-	-

- Berotze-aldia bukatuta, saio-hodiak atera eta ur hotzetan sartu (prest izan ura izotzarekin).
- 1 ml NaOH 2 M gehitu sakarosa hidrolizatu behar den saio-hodiei
- Hidrolizatu ez diren bi saio-hodiei 2 ml NaCl gehitu (neutralizazioa: 1 ml HCl 2M + 1 ml NaOH 2M)
- Orain saio-hodi guztiak 10 ml dute gutxi gorabehera.
- Irabiatu saio-hodien irabiagailuaz (C taula)



C. Taula: 10 mlko saio-hodiak

Saio-hodia	0	C1	C1'	C2	C2'	EH	EH'
NaOH 2M (ml)	0	1	1	1	1	-	-
NaCl 2M (ml)	-	-	-	-	-	2	2
irabiatu	+	+	+	+	+	+	+

Oharra: Aurrera jarraitu baino lehen, saio-hodi bakoitzetik 2 ml hartu behar dira eta saio-hodi garbietara pasa behar dira. Berdin izendatu.

Kolarearen garapena: DNS errektiboa.

- Kolorimetroa piztu eta uhin-luzera 540 nm-tan ezarri (utzi 5 min egonkortzen)
- 10 ml-ko saio-hodi bakoitzetik 2 ml pasa behar dira saio-hodi garbietara.
- Saiodi bakoitzari mililitro bat (1 ml) DNS gehitu.
- Ur-bainuan 5 minutuz berotu eta, ondoren, ur hotzetan hoztu.
- 7 ml ur destilatua gehitu eta irabiatu saio-hodien irabiagailuaz.
- Saio-hodi egokian (5 mlkoan) xurgapena neurtu (A_{540})
- Kolorimetroa doitu "zuria" erabiliz ([sakarosa] = 0 mM)
- Saio-hodi egokian (5 ml) xurgapenak neurtu (A_{540}) sakarosa-kontzentrazio txikien duenarekin hasita. Datuak azpiko taulan apuntatu.
- Saio-hodien likidua ez bota arritik, hasierako saio-hodira itzuli eta amaieran hondakin azidoen ontzira botako dira.

Saio-hodia	0	C1	C1'	C2	C2'	EH	EH'
Pasatutako ml	2	2	2	2	2	2	2
DNS (ml)	1	1	1	1	1	1	1
100°C-tan 5 min	+	+	+	+	+	+	+
Uretan hoztu	+	+	+	+	+	+	+
Ur destilatua (ml)	7	7	7	7	7	7	7
irabiatu	+	+	+	+	+	+	+
A ₅₄₀	0	442	441	548	568	226	252

441.5
558
139

3. EMAITZAK

Hidrolizatutako laginen xurgapena kontuan izanda, eta aurreko praktikan lortutako xurgapen-koefizienteaz, azpiko taula bete eta lagin bakoitzeko sakarosaren edukia kalkulatu. Beste taldeen emaitzekin konparatu. Sakarosaren pisu molekularra 342,30 da.

	(C1) (4 ml)	(C2) (6 ml)	(EH) (6 ml)
A ₅₄₀	0,4415	0,558	0,139
sakarosa saio-hodian (mM)	0,75mM	1,235mM	0,333mM
Sakarosa (mmol) /ml dializatua	0,2356mmol/ml	0,441mmol/ml	0,2238mmol/ml
sakarosa (mg/ml)	4,0310mg/ml	0,136mg/ml	—
sakarosa (mg/g zereal) (110 ml) %	0,446%	19,36mg	—

sakarosa: C₁₂H₂₂O₁₁ → 342 g 0,342

Oharra: Azken bolumena 110 ml dela suposatu (100 ml dialisiko ontzian eta 10 ml dialisi-poltsaren barnean).

4. GALDERAK

- 4.1. Zergatik egiten da dialisia 4 °C-tan? *Giro temperaturak bakterio em... garmak ager daiterke.*
- 4.2. 25 °C-tan egingo balitz, arinago ala astiroago iritsiko litzateke orekara? *Astiroago. Erreakzioak askarrago gertatzen direlako*
- 4.3. Aldatu da dialisi-poltsaren bolumena? Zergatik? *Bai. Osmosiaren ondorioz, barneko kontzentrazioa orekatzeko ura sartu da.*
- 4.4. Guztiz hidrolizatutako 1 mM sakarosa-diluzio baten A₅₄₀ kalkulatu (DNSaren metodoa erabiliz), 1 mM den glukosazko diluzio batena 500 M⁻¹ cm⁻¹ eta fruktosarena 300 M⁻¹ cm⁻¹ izanik.

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

$c = 0,001 M$
 $\epsilon = 500 M^{-1} \cdot cm^{-1}$
 $l = 1$

A₁ = 0,5

A₂ = 0,3

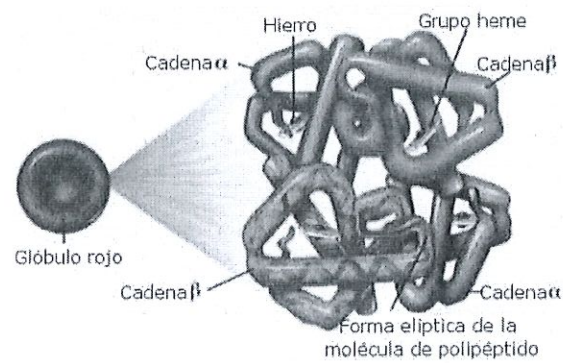
MAKROMOLEKULEN KROMATOGRAFIA: GEL IRAGAZPENA

1.- HELBURUA

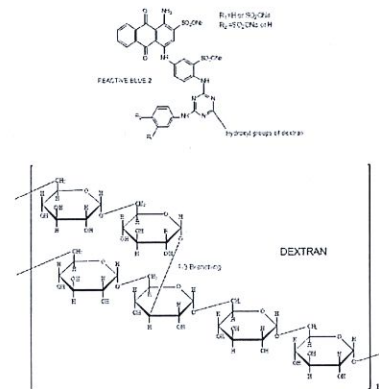
Soluzio berean nahastuta dauden hemoglobina eta dextrano urdina banatzea gel iragazpeneko kromatografia bidez.

2.- BANATU BEHARREKO MAKROMOLEKULAK

Hemoglobina ugaztunen eritrozitotan oxigenoaren garraioaz arduratzen den **proteina** da. Binaka berdinak diren 4 azpiunitatez dago osatua (2α eta 2β) eta hauek **lotura ez-kobalente** bidez **elkartzen** dira proteinaren egitura kuartenario esferikoa definituz. Polipeptido bakoitzak hemo talde prostetiko bat dauka. Hemo taldea burdin atomo bat lotuta duen eraztun tetrapirroliko bat da. Hain zuzen ere burdin atomoa da oxigenoari batu eta molekulari gorri kolorea ematen diona. Proteinaren masa molekularra **64500 Da** da. **Dextrano urdina** aldiz, **2000 kDa**-ko **polisakarido** bat da, **610 nm**-tako uhin luzeerako argia xurgatzeko ahalmena daukana.



Hemoglobina



Dextrano urdina

3.- GEL-IRAGAZPENEN KROMATOGRAFIA: OINARRI TEORIKOA

Gel-iragazpeneko kromatografian makromolekulak **tamainuaren arabera banatzen** dira. Teknika hau, **itxura esferikoa** daukaten molekulekin **erabiltzen da**, hala nola **proteina globularrekin**. Kromatografia honetan, kromatografia guztietan bezala 2 fase bereizten dira:

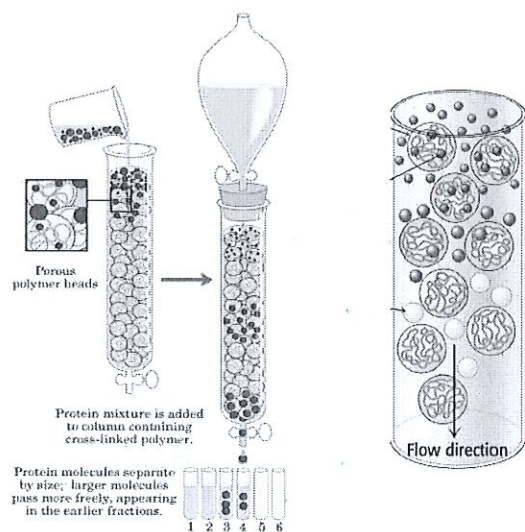
- Fase geldikorra:** zutabearen barrunbea betetzen dagoen **matrize hidrofilo** eta **solugaitza**. Matrizea, diametro jakin bateko porodun partikulez osatutako **polimeroa** da.
- Fase mugikorra:** Zutabetik pasatzen den **disoluzio indargetzaileari** deritzo.

Makromolekulen nahastura zutabetik pasatzean, **tamaina txikiko molekulak** **matrizeko partikulen poroetan** zehar **difunditzen** dira eta horrenbestez denbora dexente behar izango

dute zutabe guztia zeharkatzeko. Aldiz **molekula handiak** ez direnez poroetan sartzen, **ibilbide zuzenagoa** eginez zutabetik lehenago ateratzen dira.

Matrizea polimero ezberdinez osatu daiteke. Iragazteko ahalmenez gain (partikula eta poroen neurriak), jatorri kimikoaren arabera ere sailkatu daitezke polimero hauek. Batzuk jatorri naturala daukate (polisakaridoak), SEPHADEX adibidez; beste batzuk aldiz sintetikoak dira (poliakrilamidazko gelak) eta badaude bien nahasturaz osatutakoak, SEPHACRYL esateko.

Guk praktikan erabiliko dugun zutabeak **1-100 KDa bitarteko molekulak banatzeko balio du.**





Gel iragazpeneko kromatografiaren irudikapena

4.- MATERIALA

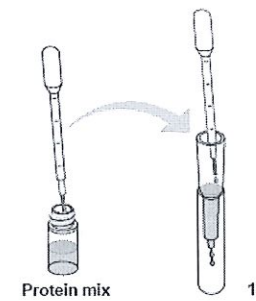
- Makromolekulen nahastura
- Soluzio indargetzailea
- 12 eppendorf sai-hodi (zenbatu 10, 1tik 10ra)
- Gel iragazpeneko kromatografia zutabea
- Pipetak

5.- PROZEDURA

<p>1.- Lanpostuan 10 eppendorf sai-hodi izan behar dituzu, makromolekulen nahasketa lagina eta kromatografia-indargetzailea (prezipitatu-ontzi batean). Zenbatu saio-hodiak zutabetik ateratakoa jasotzeko.</p>	
<p>2.- Kromatografia-zutabearen tapakiak kendu, fase mugikorra eluitzeko. Ziurtatu indargetzailea ondo sartzen dela zutabearen zehar (fase geldikorrean) eta behatu erretxinaren goiko azalera ez dadila lehor gelditu. ADI! Erretxinaren goizko azalera lehortu baino lehen, itxi beheko tapa.</p>	 <p>W1270 - W1290</p>

3.- Hartu makromolekulen nahastura eta, **tapa itxita**, zutabearen gainazalean **astiro ezarri** pasteur pipeta batez eta kontu handiz (gela ukitu gabe).

4.- Tapakia ireki eta utzi indargetzaile tanta batzuk erortzen, lagina erretxinan guztiz sartzeko. **Itxi tapakia** berriro eta, kontu handiz, **indargetzaile tanta batzuk** gehitu goiko azalean (**250 µl**). Tapakia berriro ireki.



5.- Indargetzailea gehitzen joan (6-8 ml) lehen **makromolekula irteerara hurbildu** arte eta orduan hasi 0.5 ml-ko laginak **saio-hodietan jasotzen**. Hoberena da pipeta zutabearen horman ipintzea, eta indargetzailea erortzen astiro uztea inguru osoan, erretxina arrotu gabe.

6.- Ondoren, **segi jasotzen** zutabetik **ateratakoa bestelako saiodietan** (0.5 ml saiodiko), bigarren makromolekularen eluzioa amaitu arte.

7.- Zutabea **12 ml indargetzaileaz garbitu** eta, amaitzean, ipini zutabearen tapakiak ez lehortzeko.

8.- Gorde saiodiak eta pseudokromatograma eraiki

6.- EMAITZAK: Pseudokromatogramaren adierazpena

Kromatografia batetik eskuratutako frakzioetan proteinak detektatzeko haien ezaugarri orokor bat erabiltzen da, 280 nm-tako argiaren xurgapen ahalmena. Posible da ere proteinen kontzentrazioa kalkulatzeko metodo kolorimetrico batez, Bradford metodoaren bidez esateko. Proteinen kontzentrazioaz eta eluzio-bolumenaz (frakzioen zenbakia) irudikatutako adierazpen grafikoari kromatograma deritzo.

Praktika honetan banatu beharreko molekulek kolorea dutenez, begi bistaz bereiz daitezke.

Egin pseudokromatograma bat begiz antzematen duzuen kolorearen intentsitatean oinarrituz, frakzioei 0 eta 5 arteko balioak emanaz. Kolorearen intentsitatea ordenatuen ardatzean eta frakzio-zenbakia abzisetan irudikatu.

7.- GALDERAK

- Zutabeen sartutako molekula nahasketak ze kolore dauka? Zergatik?
- Banatutako bi molekuletatik zein atera da lehenengo zutabetik? Zergatik?
- Zein saioiditan dago hemoglobina kontzentrazioirik handiena? Eta dextrano urdinarena?
- Gel-iragazpeneko kromatografia zutabe batek 80.000 Da-etako kanporatze-muga dauka. Zutabe hau erabili ezkerreko hemoglobina (60000 Da) frakzionatuta ala kanporatua izango litzateke? Eta urdin dextranoa (2000 KDa)
- Mioglobina (17 KDa), hemoglobina (60 KDa) eta miosinaz (180 KDa) osatutako proteina nahasketa bat gel iragazpeneko kromatografia erabilita banatuz gero, zein izango litzake eluitutako proteinen ordena?
- Zergatik neurtzen da argiaren xurgapena 280 nm-tan proteinak detektatu nahi denean?
- Makromolekulak banatzeko erabili duzun metodoa egokia iruditu zaizu? Zergatik? Komentatu emaitzak
- Gel iragazpeneko kromatografia bidez makromolekulak tamainaren arabera banatzen dira, baina tamaina bereko makromolekulak banatu nahi izanez gero, ze metodo erabiliko zenuke?

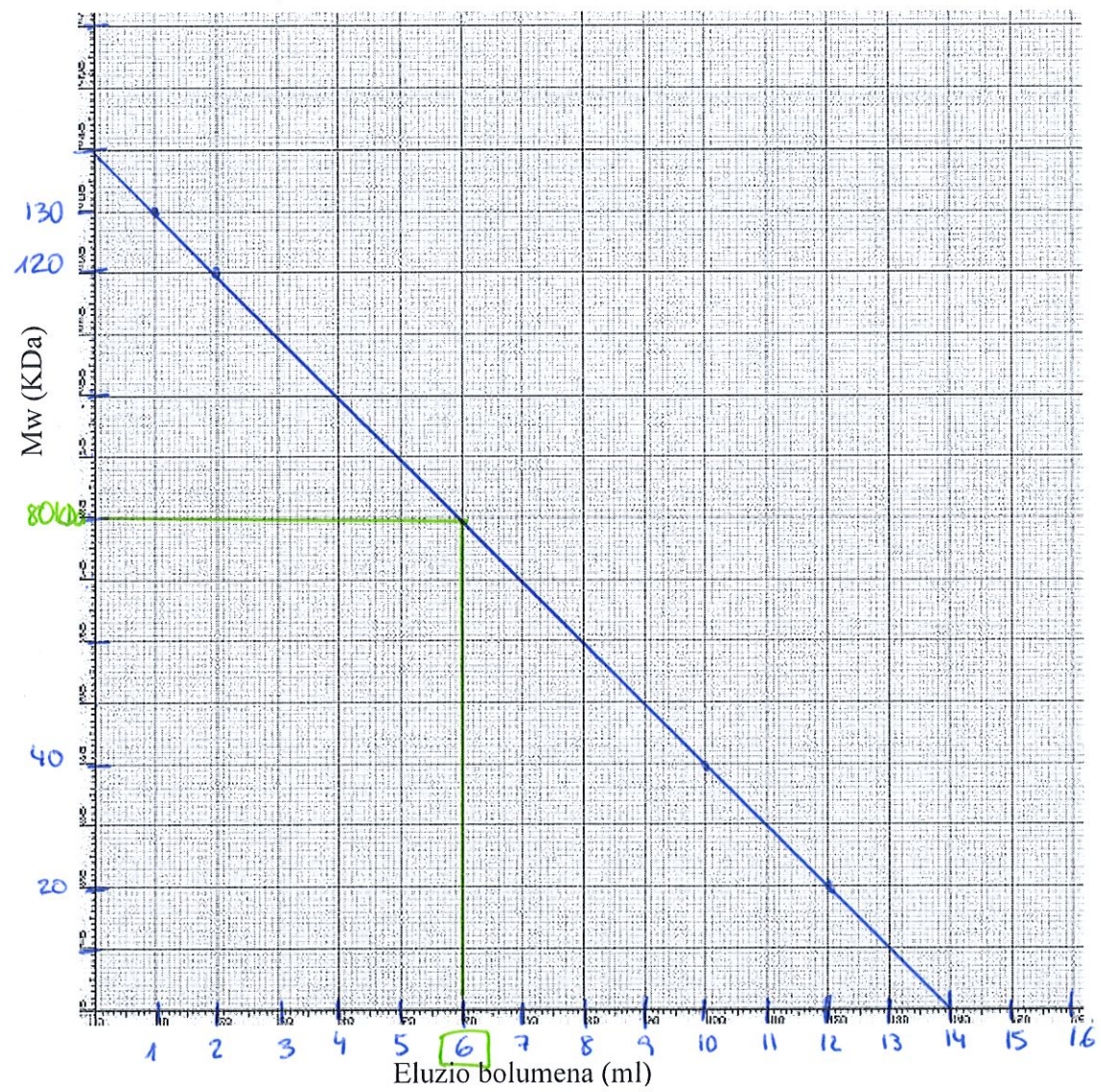
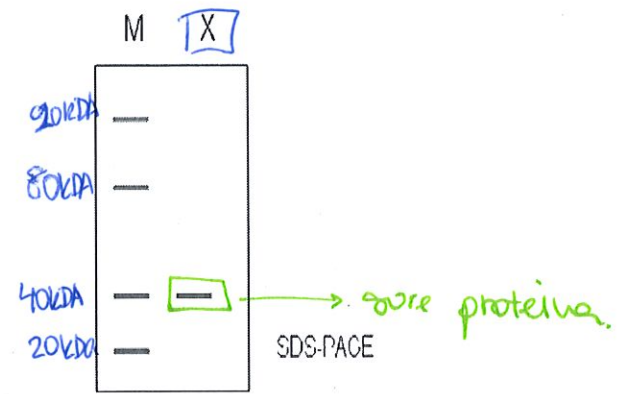
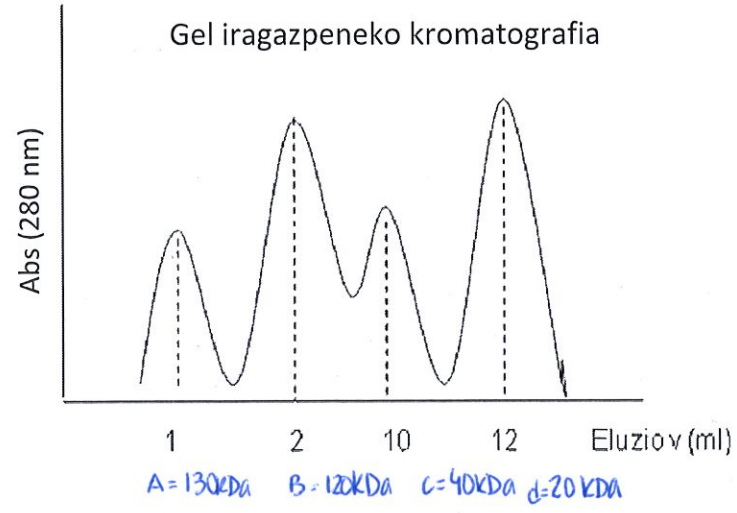
8.- ARIKETA

Ikertu nahi dugun proteinaren (X) masa molekularra ezagutu nahi dugu. Horretarako gel iragazpeneko kromatografia egin ziren. Lehendabizi, kromatografia zutabea masa molekular (Mw) ezaguneko 4 proteinekin kalibratu da (A= 130 KDa, B = 120 KDa, C = 40 KDa, D = 20 KDa)(ikusirik kromatogramako irudia). X proteinaren eluzio bolumena 6 ml bada:

- a) Zein da X proteinaren Mw (masa molekularra)?

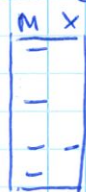
Horrez gain X proteina SDS-PAGE gel batean migratu eta coomassiz tindatu da ondoko irudia lortuz. Markatzaileko proteinak honakoak dira: D = 20 KDa , C = 40 KDa, F = 80 KDa, E = 90 KDa

- a) Zein da X proteinaren Mw?
- b) Ze proteina mota da?



Gure x proteinaren elutio bolumena 6 ml.

• SDS-PAGE gel batean migratu da gure X proteina. Tundatu ostean ondorengo irudia ageri zigu.

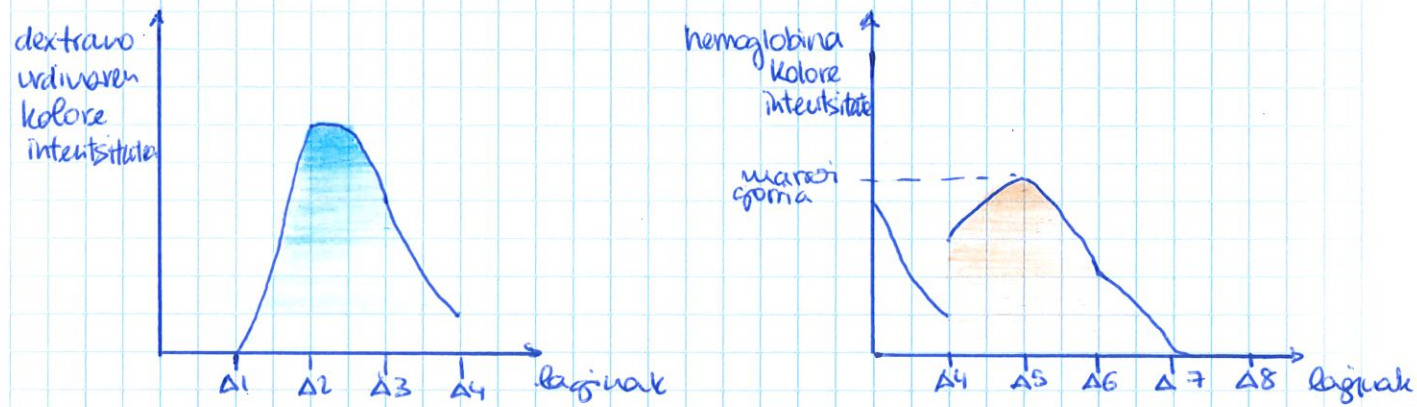


Baldintza desnaturalizatuaketan, egitura sekundarioa apurtzen da. Ondorioz, gure proteinaren α -pionitateak kanatuta esango dira.

Irudian X proteinaren masa 40kDa-koa dela dio, baina azuneko metodoaren bidez 80kDa zela.

Beraz, ondorioztatu dezakegu gure X proteina dimeroa dela eta 40kDa-ko bi α -pionitateak osatuta daigola.

6. ENAITZAK: pseudokromatografiaren adierazpena



7. ARIKETA - GALDERAK

- urdin berdea, hemoglobina (kolore gorrikoa) eta dextrano ordina dituzelako.
- Dextrano ordina molekula handiagoa delako.
- Bostgarren saiaduan dago hemoglobina kontzentrazioa handiena. Dextrano kontzentrazio handiena aldiz, bigarren saiadian.
- 80.000 Da = 80 kDa kanporatze-muga badauka, 60.000 Da frakzionatuta irteerako da baina dextrano ordina 2000 kDa aldiz et. Dextranoa jarraian irteerako da.
- Lehena miosina (180 kDa), ondoren hemoglobina (60 kDa) eta azkenik mioglobina (17 kDa).
- Lotura bikaitz konfinkatuak izpi ultramoreak xurgatzen dituzelako.
- Bai. Molekula bik erabat banatuko gai izan gitezake.
- Tamaina berako molekulek banatu behar baditugu, fokatze isoelektiko edo elektroforesi bidez egin daitezke.

8. ARIKETA

a) X proteinaren kromatogramatik informazioa ateratu ondoren, balio horiek grafika bat sortu dugu.

Ondoren, gure eluzioa 6 ml-koa denet 80 kDa izango dituela gure proteinak ondorioztatzen dugu.

???

TOPAN: elutio balumerak: proteina batek behar dituen ml kopurua gel iragatzera pasatzen da.