

3. ARIKETA: Indargetzailearen diluzioa

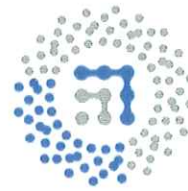
- Jada prestatu duzuen Tris/HCl 100 mM pH 7,5 disoluzio indargetzailetik abiatuta prestatu 4 bider diluituagoa den beste disoluzio bat (100 ml), matraze garbi batean. Azaldu nola prestatu duzun disoluzio berria. Zein izango da prestatutako Tris disoluzioaren kontzentrazio berria?

~~100 ml Tris disoluzioa / 4 = 25 ml tris disoluzio hartu behar da~~
~~100 ml Tris disoluzioa / 4 = 25 ml tris disoluzio hartu behar da~~
~~100 ml Tris disoluzioa / 4 = 25 ml tris disoluzio hartu behar da~~

- 100ml Tris disoluzioa / 4 = 25ml tris disoluzio hartu behar da
 ditugu 100mlko 25mlko disoluzio bat bertan 75ml H₂O gehituz.
- Disoluzio berriaren kontzentrazioa 25mMkoa izan da.

- Disoluzio berriaren pH-a neurtu eta apuntatu. Ze pH dauka? Zergatik?

7,5. Ur destilatuekin (substantzia neutroa, pH 7) diluitu dugunean,
 ez bada isuririk zortu, beraz pHak bere horretan iraun
 du.



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

- Kalkulatu zenbat Tris hauts (Tris(hydroximetil)aminometano) pisatu behar den 100ml Tris/HCl 100 mM pH 7,5ko disoluzioa prestatzeko. (Tris Mw 121 gr/mol)

$$0,1M = \frac{n}{0,1l} \quad n = 0,01 \text{ mol Tris} \quad 0,01 \text{ mol} \cdot \frac{121g}{1 \text{ mol}} = 1,21g \text{ Tris}$$

- Pisatu Tris hautsa eta gehitu 70 ml ur destilatu. 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?

$$pH = 10,02$$

- Azken pH-a 7,5 izateko, zer gehitu behar zaio soluzioari, HCl edo NaOH? Zergatik?

HCl, azido bat izaki disoluzioaren pHa jaitsiko duelako; izan ere $HCl + H_2O \rightarrow H_3O^+ + Cl^-$ erreakzioa gertatzen da eta hidronio ione kontzentrazioa handituko da.

- 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 gainditi.

- pH egokia denean, doitu bolumena (100 ml-raino) matraze aforatu batean ur destilatuarekin. Neurtu berriz ere pH-a; Zein da neurtutako pH balioa?

$$pH = 7,5$$

- 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?

Enzimak eta beste zenbat proteinen desnaturalizazioa ekarriko luke zelularen hainbat funtzioetan eraginez funtzio hauek desestaltuta geldu arte, batzuetan zelula hil arte ere.

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. Nahikoa da pH tira disoluzio batean sartzea segituan disoluzioaren gutxi gora beherako pHa ezagutzeko.



pH tirak



pH-metroa

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

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

pH-metroa erabiltzen hasi aurretik ezinbestekoa da kalibratuta egotea. Kalibratzeko, mahai gainean dagoen protokoloa jarraitu behar da. pH-metroa kalibratzearen helburua, aparatuari pH ezaguneko bi disoluzio erakutsi eta hauen pH-a zein den "esatea" da. Horrela, pH-metroak neurketa horiek erreferentzi gisa erabilia, ondoren guk sartuko diogun pH ezezaguneko disoluzioaren pHa zein den kalkulatu ahal izango du.

Behar den materiala: (ziurtatu material guztia daukazuela eta erabiltzen dakizuela)

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



1. PRAKTIKA: *Pipeta automatikoak erabiltzen ikastea. pH-aren neurketa. Indargetzaile baten prestaketa*

1. ARIKETA: *Pipeta automatikoak erabiltzen ikastea*

Mikropipetak likidoen bolumen txiki zehatzak hartzeko erabiltzen dira. Har dezaketen bolumenaren arabera pipeta desberdinak daude eta kolore desberdinetako puntak jarri behar zaizkie:

- 1 l -10 l (punta zuriak)
- 2 l -20 l (punta horiak)
- 10 l -100 l (punta horiak)
- 20 l -200 l (punta horiak)
- 200 l -1000 l (punta urdinak)

Erabiltzean kontuan izan beharrekoak:

- Behin punta jarrita pipetak beti bertikalean mantendu behar dira. Pipetari buelta eman eta puntarekin hartutako likidoak pipeta barruko filtroa ikutuz gero pipeta izorratu egiten da.
- Mikropipeten enboloak edo gurpiltxoak 3 posizio desberdin ditu:
 - 1.- Berezkoa edo *sakatu gabekoa*.
 - 2.-*Erdikoa*: Enboloa 1. mugaraino sakatuta. Likidoa xurgatzen hasi aurretik pipetak izan dezakeen airea kentzeko.
 - 3.- *Gutziz sakatuta* edo husteko posizioa. Pipeta husteko, nahikoa da enboloa azken mugaraino sakatzea.

Erabileraren prozedura:

- a) Pipetaren gurpiltxoa biratuz finkatu hartu nahi den bolumena. Pipeta batzuk segurua daukatenez ezinbestekoa da gurpiltxoa biratzen hasteko segurua kentzea. Behin bolumena finkatuta segurua jarri behar da gurpiltxoa ez dadin mugitu.
- b) Pipetari dagokion punta jarri.
- c) Pipetaren punta airean dagoela likidoa ukitu gabe, enboloa 1. mugaraino sakatu.
- d) **horrela mantenduz**, punta disoluzioan sartu.
- e) **GELDIRO** askatu atzamarra likidoa poliki-poliki puntan sartu dadin. Atzamarra arin askatuz gero arriskua dago likidoa puntan zehar azkar igotzeko eta pipetaren filtroa bustitzeko.
- f) Hartutako likidoa saio-hodian hustu pipetako enboloa poliki-poliki azken mugaraino sakatuz.



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 erreaktiboen etiketetan 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 zaitetz 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 beharko 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:

Ioi 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.



Mikropipetak erabiltzen ikasteko, **pisatu 150 μ l, eta 0,5 ml ur destilaturi dagokion masa** prezipitatu-ontzi txiki baten eta balantza baten laguntzaz. Bolumen bakoitzarekin erreplikatu masaren neurketa 2 aldiz (2 erreplika egin). Gogoratu aldi bakoitzean balantzan (*) tara zehaztea. Erabilitako pipeta ondo dabilela uste duzu? Zergatik?

	150 μ l	500 μ l
Errepika 1 (mg)	148 μ g	484 μ g
Errepika 2 (mg)	149 μ g	482 μ g

***Balantza:** Masak neurtzeko

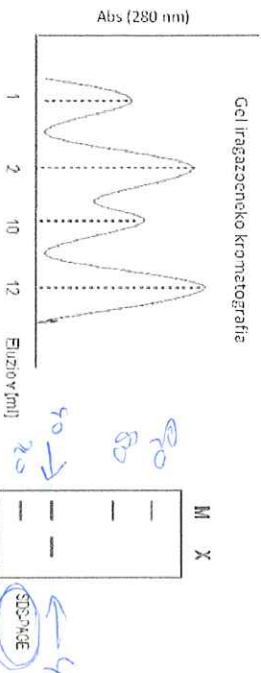
- Balantza piztu.
- Pisatzeko erabiliko dugun ontzia balantza gainean ipini eta **tara** (T) sakatu.
- Espatula edo koilara baten laguntzaz ipini neurtu nahi den sustantzia ontzian.
- Behin balantzak ematen duen masaren balioa egonkortuta apuntatu.
- Amaitzean balantza itzali eta garbitu.

2. Banatutako bi molekuletatik zein aterra da lehenengo zutabetik? Zergatik?
3. Zein saioltan dago hemoglobina kontzentrazioirik handiena? Eta dextrano urdinarena?
4. Gel-iragazpeneko kromatografia zutabe batek 80.000 Da-etako kanporatze-muga dauka. Zutabe hau erabili ezkerreko hemoglobina (60000 KDa) frakzionatuta ala kanporatuta izango litzateke? Eta urdin dextranoa (2000 KDa) - Mfoglobina (17 KDa), hemoglobina (60 KDa) eta miosina (180 KDa) osatutako proteina nahasketara bat gel iragazpeneko kromatografia erabiltza banatuz gero, zein izango litzake eluitutako proteinen ordena?
5. Zergatik neurtzen da argiaren xurgapena 280 nm-tan proteinak detektatu nahi denean?
6. Makromolekulak banatzeko erabili duzun metodoa egokia iruditu zaizu? Zergatik? Komentatu emaitzak.
7. Gel iragazpeneko kromatografia bidez makromolekulak tamainaren arabera banatzen dira, baina tamaina bereko makromolekulak banatu nahi izanez gero, ze metodo erabiliko zenitke?
8. 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) (ikusi 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?



5

Handwritten notes:
 KDa: 130, 120, 20, 40
 1, 2, 10, 12
 * 40 kDa proteina
 * 20 kDa proteina
 * 40 kDa proteina
 * 20 kDa proteina
 * 40 kDa proteina
 * 20 kDa proteina

BIOKIMIA (GL)

1. Praktika

Prestatu 100ml Tris/HCl 100mM pH 7.5

• Zebat g tris harus berapa dirid?

$$\text{Tris Mw} = 121 \text{ g/mol} \quad 0.1 \text{ M} = 100 \text{ mM} \\ 0.1 \text{ l} = 100 \text{ ml}$$

$$0.1 \text{ mol/l} = \frac{n}{0.1 \text{ l}}$$

$$n = 0.1 \text{ mol/l} \cdot 0.1 \text{ l} = 0.01 \text{ mol}$$

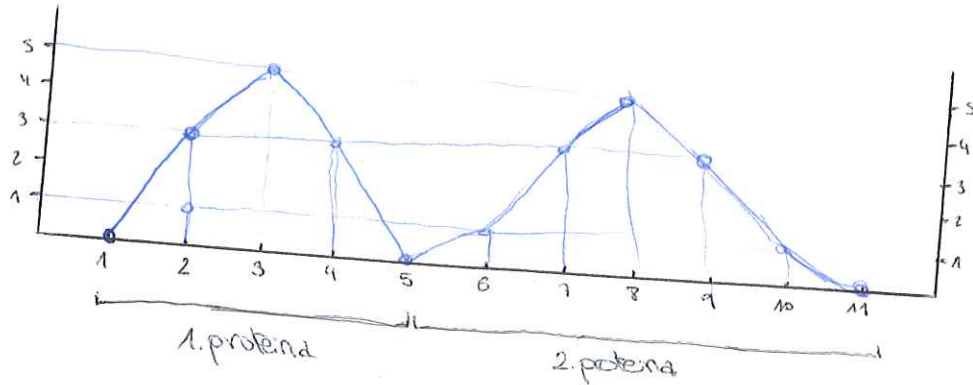
$$0.01 \text{ mol} \cdot \frac{121 \text{ g}}{1 \text{ mol}} = 1.21 \text{ g Tris}$$

1.21 g Tris presto beharo dituju

4. praktika



1. Pseudokromatograma



2. Zein atara da lehenengoa? Zergaitik?

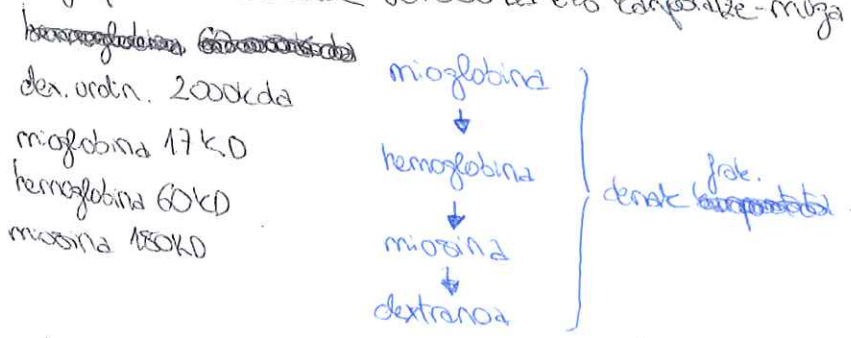
Handiena atara da lehenengoa, ez delako erretxinaren poroetan kabitzen, eta beraz azararen jisten dena kromatografiaren atarian behera. Tiberena, ordea, poroetan azkar barreiatzen beraz azkarago jaisten da.

3. Zein eragindak dira hemoglobineren kontz. handiena? Eta dextranarena?

6-7. etan hemoglobina gehien (2. taldak)

2-3. etan dextrano urdin gehiena (1. taldak)

t. Gel iragazkerako atabe batek 80.000 Da eta konpartize-muga dauka



4. Zergaitik neuritzen da argiaren xurgapena 280nm-tan proteinak detektatzearekin?

Proteinetan triptofena dagoelako, eta horrek 280nm-ko ^{luzerako} argi xurgatzen du. Beraz 280nm-tan neuritako proteinen kontzentrazioa zehazteko erabiltzen da.

6. Metoda espekia? Zergatik?

Bai Tamaina horren esberdintasun izaki (bata proietatle sartzen da, besteak) zutabeen behara abiatuta oso esberdintasun jaitako dira, eta erari berezi dhal izango d'it.

7. Tamaina esberdina baltza zein teknika?

Kargaren arabera, elektroforesa, pHaren arabera...

8. A = 120 kDa

B = 120 kDa

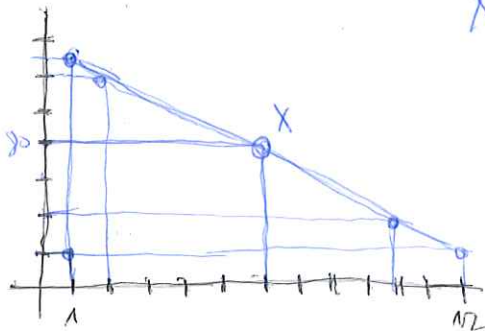
C = 40 kDa

D = 20 kDa

a)

X → GMR tan agitu da

Xen masa molekulara ≈ 80 kDa



b) SDS-PAGE

D = 20 kDa

E = 40 kDa

F = 80 kDa

G = 90 kDa



→ gure X molekulara 40 kDa izango d'it

Seguratu proteina monomertza izango da, SDS-PAGEA erabiliz izateko.

TEORIA

Makromolekulak tamainaren arabera banatzen dituzte gyl-iragazkerako kromatografiak.

2 fase bereizten da

- Fase gelikorra: Zutabe berrak matrice hidrofobo eta soluzioa

↳ Diametro jakin batek poroetan partikula osatutako polymera

- Fase mugikorra: Zutabeak partaen den disoluzio indarguztazilea

Makromolekula txikiak poroetan sartzen dira - Astiro-
handiak zuzenean - azkarago-

2/3 praktikak: Sakarosa ren neurketa

TEORIA

Dialisia: Sakarosa kontzentrazio neurto ahala izateko gainontzeko polisakarido berzgarrik banandu.

Kolorimetria: Argiaren uhin luzeera (λ) neurteko.
(substantzia batzuk argiaren zenbait partikula xurgatu)

• Substantziaren kontzentrazioa eta argi xurgatu (foto) kantitatea zuzenle prop.

Kolorimetria espetra elektromagnetikaren abele ikusgarria dastera (380nm-780nm λ)

- Absorbantziak neurtaen ditu

Lambert-Beer legea

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

A = absorbantzia
 ϵ = xurgatze koefiziente molarra (espezifkoa) $M^{-1} \text{cm}^{-1}$
C = kontzentrazioa (M)
l = argiak disoluzioan zehar egariko dist (cm) (gehienetan 1cm)

EMAITZAK / GALDERAK

3. Kontzentrazio gradientea dela eta hainbat molekula zaku karpura izaro drebeteo "minta" entropiatara difusioa zeharkatuz.

4. 1mM sakarosa $A_{540} \text{ pm} = 392'3$

gf. $500 M^{-1} \text{cm}^{-1}$
fr. $300 M^{-1} \text{cm}^{-1}$

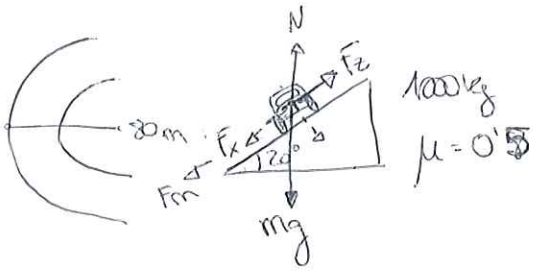
$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad A = \left(\frac{500 + 300}{2} \right) \cdot 1 \text{cm} \cdot 0.001 \text{M}$$

$A = 0.4$

6. Kanporatu gabeko eta DNSarekin erreakzioan dutako sakarosa kuantifikatze

FISIKA

1.



$$\Sigma F = F_x + F_m - F_z$$

$$F_x = mg \cos 20 \quad F_z = m\omega^2 r$$

$$F_m = mg \mu$$

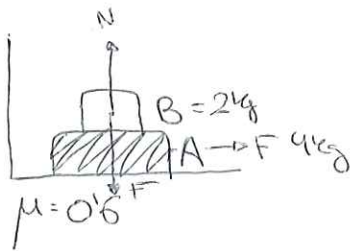
$$\Sigma F = ma$$

$$mg \cos 20 + mg \mu - m\omega^2 r = m \cdot a = 0$$

$$g \cos 20 + g \cdot 0.5 - \omega^2 \cdot 20 = 0$$

$$\sqrt{\frac{g \cos 20 + g \cdot 0.5}{20}} = \omega \quad \omega =$$

2.

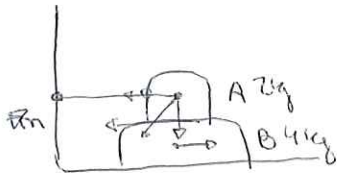


$$\Sigma F_{AB} = m \cdot a$$

$$\Sigma F_{AB} = F_{AB} - F_m \quad F_{AB} = F_m$$

$$F_m = 10 \cdot 6 \cdot 0.6 = 20N = F_{AB}$$

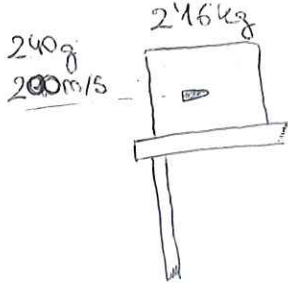
$$F_B = 20N = 10 \cdot 2kg$$



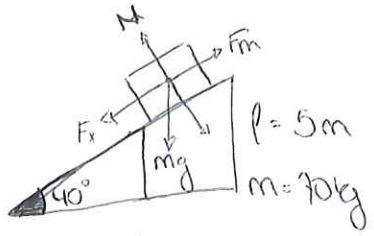
$$F_B = F - F_{m1} - F_{m2}$$

~~$$F_B = F - F_{m1} - F_{m2}$$~~

1.



6.



$$V^2 = V_0^2$$

Dissolution

1. 50g Ph-Ce

50g Ph-Br

a) P

$$P_A = P_T \cdot X_A$$

$$P_A = X \cdot P_{\text{pure A}}$$

$$P_A = X_{\text{Phce}} \cdot P_{\text{Phce}}$$

$$X_{\text{Phce}} = \frac{\text{mol Phce}}{\text{mol total}} = \frac{0.44}{0.44 + 0.32} = 0.58$$

$$X_{\text{PhBr}} = 0.42$$

$$\text{mol Phce} \rightarrow n_{\text{Phce}} = 50 \text{g Phce} \cdot \frac{1 \text{ mol Phce}}{112.5 \text{g}} = 0.44 \text{ mol}$$

$$n_{\text{PhBr}} = 50 \text{g PhBr} \cdot \frac{1 \text{ mol PhBr}}{158.7 \text{g}} = 0.32 \text{ mol}$$

$$P_{\text{Phce}} = 1.86 \cdot 10^4 \text{ Pa}$$

$$P_{\text{PhBr}} = 1 \cdot 10^4 \text{ Pa}$$

$$b) 1.86 \cdot 10^4 + 1 \cdot 10^4 = 2.86 \cdot 10^4 \text{ Pa}$$

$$c) Y_{\text{Phce}} = 0.65$$

7. 25°C 500g H₂O 100g (C₁₂H₂₂O₁₁) P_Δ ΔP_Δ

$$500 \text{g H}_2\text{O} = 0.5 \text{ mol}$$

$$PV = nRT \quad P = \frac{0.172 \cdot 0.082 \cdot 273}{0.15} = 14.29 = P_{\Delta}$$

$$100 \text{g C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \frac{1 \text{ mol}}{342 \text{ g}} = 0.292 \text{ mol}$$

8. 293K

$$P_{\text{etanol}} = 44.5 \text{ torr (pura)}$$

$$P_{\text{met}} = 88.8 \text{ torr (pura)}$$

a) 60mg etanol
40mg metanol

$$0.06 \text{ g etanol} \cdot \frac{1 \text{ mol etanol}}{46 \text{ g etanol}} = 0.0013 \text{ mol etanol} \quad \chi_e = \frac{0.0013}{0.0025} = 0.51$$

$$0.04 \text{ g metanol} \cdot \frac{1 \text{ mol metanol}}{32 \text{ g metanol}} = 0.00125 \text{ mol metanol} \quad \chi_m = \frac{0.00125}{0.0025} = 0.49$$

$$P_e = 44.5 \cdot 0.51 = 22.695 \text{ torr} \quad P_t = 66.201 \text{ torr}$$

$$P_m = 88.8 \cdot 0.49 = 43.512 \text{ torr}$$

$$\frac{P_e}{P_t} = \chi_e = 0.343$$

$$\frac{P_m}{P_t} = \chi_m = 0.657$$

b) 40M metanola 293K

0.4M 0.4mol met

0.6mol et

4. 100g/105g soluti 373.4K (iraketa) $k_f = 1.86$

Uraren 373.15K

0.016 mol soluti

$$373.4 - 373.15 = k_f \cdot \text{molalitatea}$$

$$0.3 = 1.86 \cdot \text{molalitatea} \quad m = 0.16$$

$$0.016 \text{ mol} \cdot \frac{5 \text{ g soluti}}{1 \text{ g soluti}} = \frac{1 \text{ g soluti}}{x}$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ mol} &\text{---} x \\ 0.016 \text{ mol} &\text{---} 5 \text{ g} \end{aligned}$$

1. Gaia: BIKIMIKA ETA BIOMOLEKULAK

◦ Bizidunak \Rightarrow Zelula \Rightarrow konplexu supramolekularrak \Rightarrow makromolekulak \Rightarrow monomeroak

\rightarrow Bioelementuak:

- Primarioak (%96) CHONPS
- Sekundarioak (10i esentzialak (%4) Ca^{2+} , Cl^- , Mg^{2+} , K^+ , Na^+)
- Oligoelementuak / traza elementuak Ezinbestekoak + Aldakorrak

\Rightarrow Bioelementu primarioak

- C: karbonoak azken dituen egitura tetraedrikoak funtzio biologikoak determinatu
- Elementu gutxi konbinatuak talde funtzional ugari.
- S: Jarduera katalitiko + entzima/proteinen osagai.
- P: ATP + Azido nukleiko

\Rightarrow Oligoelementuak

- Cu: hemocianina (krustazeoen odol) + Entzimen ko-faktore
- I: tiroxina (metabolismoa aktibatzen)
- Fe: Oxigenoaren garraioa

\rightarrow Bioelementuen funtzioak

- Egiturakoa (CHON)
- Eskeletikoa (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Si)
- Energetikoa (CHON)
- Katalitikoa (Co, Cu, Fe, I)
- Osmotikoa (K^+ , Na^+ , Cl^-)

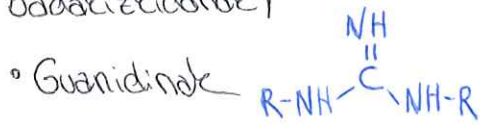
∇ Biomolekula ez-organikoak (karbonoge)

∇ Biomolekula organikoak (C)

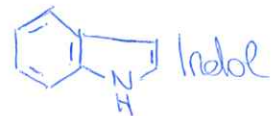
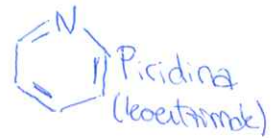
\rightarrow Atomo - Atomo loturak

- Lotura kobalente ez-polarra ($\Delta E < 0.4$)
- Lotura kobalente polarra ($0.4 < \Delta E < 1.7$)
- Lotura ionikoa ($1.7 < \Delta E$)

→ Talde funtzionalak
(- badakizkidanak)



↓ Heterozikloak



- BIOMOLEKULUEN 3D EGITURA -

→ Isomeria formula molekular ezberdina, konfigurazio espazial ezberdina

- Isomeria estrukturala

Kate isomeria

Posizio isomeria

Funtzio isomeria

- Estereoisomeria

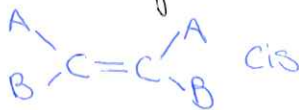
Geometrikoa (cis/trans)

Optikoa (enantiomeroak) → $\left\{ \begin{array}{l} \text{Diastereoisomeroak} \\ \text{Epimeroak} \\ \text{Meso konposatuak} \end{array} \right.$

→ ESTEREOISOMERIA

- Atomeen arteko loturak berdinak, kokapen tridimentsional ezberdina -

◦ Isomero geometrikoak (Cis/trans)



C=C lotura erin biratu



→ $\begin{array}{c} A \quad \quad C \\ \diagdown \quad \diagup \\ B \quad \quad D \end{array}$ kasuan Z = elentrisun handierako taldeak alde berean
E = " " " " alde ezberditan

◦ Isomero optikoak (enantiomeroak)

- Atomo/gune kirala/asimetrikoa dago (4 ordekatutako ezberdina)

- Propietate ezberdina bakarra: Argi polarizatuaren desbideratzea

→ Dextroak (d) + : Argi polarizatu eskuinean

→ Leβοak (l) - : Argi polarizatu ezkerrera

* Talde oxidatzenetik urrutien dagoen C asimetrikoak duen OH taldearen orientazioak

D/L nomenklatura determinatu

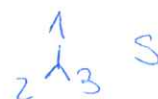
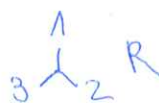
• L = OH taldea ezkerrera

• D = OH taldea eskuinean

- Aminozidoak D/L izen dituzte

- %50 l + %50 d nahaste rasemikoa

Azken taldea alresa botatzen



• Isomero optikoak (jarraipena)

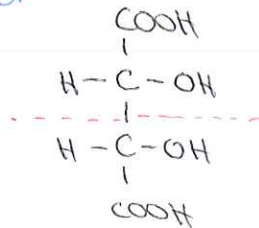
• Diastereoisomeroak +1'5 C kirak, ez dira elkarren isurlo irudi

↳ Epimeroak C kirak baten konfigurazioan desberdintzen direnak

↳ Ezaugarri fisiko / kimiko eberdinak

• Meso konposatuak Simetriadun C kirak bat baino gehiagoko molekulu artean

• Aktibitate optikoak ez



* Esterasez perflotasuna Esteren isomero eberdinak desberdintzeko ahalmena (hartzaileak eta entsimek)

⇒ KONFIGURAZIOA ETA KONFORMAZIOA

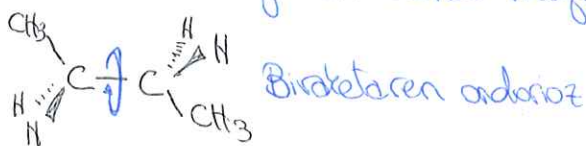
• Konfigurazioa

- Molekula organikoaren antolatzea espaziale

- Lotura bikoteak eta zentro kirak baldintzatuta

• Konformazioa

- Lotura baten inguruan libreki mugitu daitezkeen taldeen jarraia espazial zehatziak



→ konfigurazio 1 → konformazio ardo

(alternatiba  epontkorrena eta jarria)

2. Gaia: URA

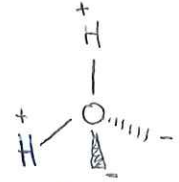
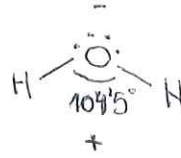
⇒ Uraren ezaugarri kimikoak

- Konfigurazio tetraedrikoa, geometria angeluarra

- Lotura kobalente polarra (2 polo)

↳ Hidrogeno loturak sartzeko gaitasuna

• Elektroi pare ez-partekatutak gure negatibo partzial → 4 hidrogeno lotura (lotura)



⇒ Uraren ezaugarri fisikoak

1- Likidua 0°-100°C

2- Dentsitate aldaketa anormala T-retiko (0°-4°C) (likido > solido)

3- Bero espezifiko handia (termoerregulazioa)

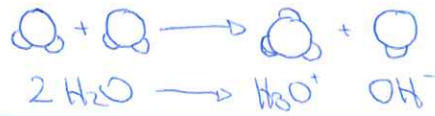
4- Iazera dipolarra (disolbatzailea)

- Molekula hidrofiliikoak

• Polarra direnak hidrogeno loturak

• Ionek ioi-dipolo elkarrekintzak

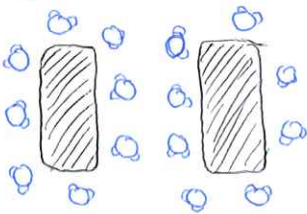
UR molekulek anfiteroak (anfitioak)



NaCl-ren (ioi) solbatazioa

- Molekula hidrofobikoak

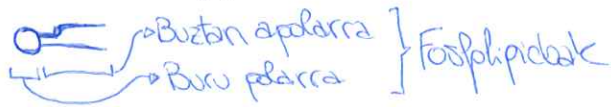
• Apolarra (ur molekulek oso modu ordenatuan kokatzen dira elen gabe)



— Unibertsoak entropia handitzera jotzen du
 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$
 ($\Delta G < 0$ espontaneoa)



- Molekula anfipatikoa



• Mizelak

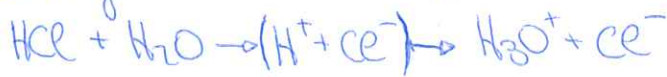
• Bizkusa lipidikoa

⇒ Azidoak eta baseak

• Brönsted-Lowry Substantzia azidoa protokak emateko gai dena
Substantzia basekoa protokak hartzeko gai dena

• Azido eta base sendoak

- Uretan guztiz disoziatzen dira



• Azido eta base ahulak

- Uretan partzialki disoziatzen dira

• Disoziazio maila disoziazio konstante baten (K_a/K_b) araberakoa

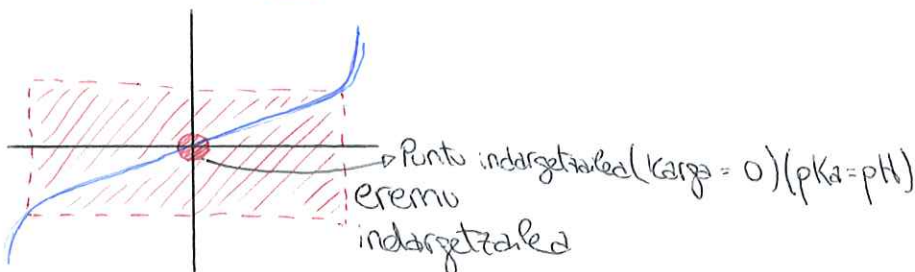
$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \rightarrow pK_a = -\log K_a$$

⇒ Titulazio kurbak

• Disoluzio baten azido kantitatea (K_a) ezagutzeko

$$pH = pK_a + \log \frac{[gatzak]}{[azidoak]} \quad (\text{Henderson-Hasselbalch})$$

• Gatz bakoitzak (batiuek) eremu indargetzaile bat pHa base sendo baten presentzian kte. mantentzeko



⊕ Indarjiztaileak (dizio)

- Azido (H^+) edo base (OH^-) kantitate trakeki eraginoko ptt alaketak leundu ditzaiteen ur sistema.

- Ezaugarriak

- Indarjiztailearen (= tanpa sistema) azido ahularen izaera determinatzen du pKa
- pKa gatz/azido proportzio erlatiboaren arabera
- pKa ez da aldatzen azido edo base arautzeak egin arte
- Ahalmen indarjiztaile maximoa pKa = ptt (p. i.)

* Zelula barruan → Fosfatoak

Odolean → Azido karbonikoa / Bikarbonato

↳ Hemoglobina (HbH) / Hemoglobinatza (HbO_2^-)

3. Gaia: PROTEINAK

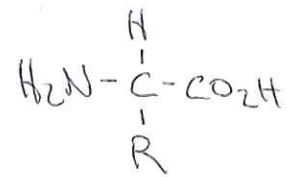
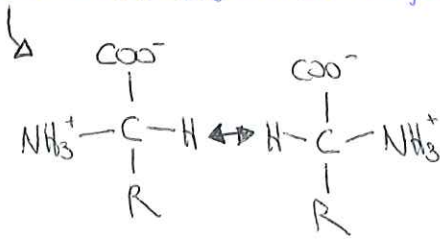
⇒ Proteinen funtzio biologikoak

- Entzimatikoa
- Defentsa
- Uzkurtzea/higadura
- Egitura/Estrukturala
- Garraiatzailea
- Mantentzea/metaketa
- Erregulatzailea

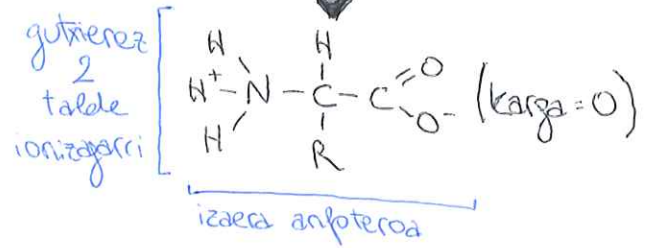
⇒ Aminoazidoak

• α posizioan amino talde bat duten azido organikoak

• Estereoisomeroa (enantiomeroak) beti (Gly. ez)



forma zwitterionikoa
ion dipolarra



- Aminoaziduen sailkapena

- R ez polar (apolar) alipatikoa
- R polar ez kargatua
- R aromatikoa
- R + kargatua
- R - kargatua

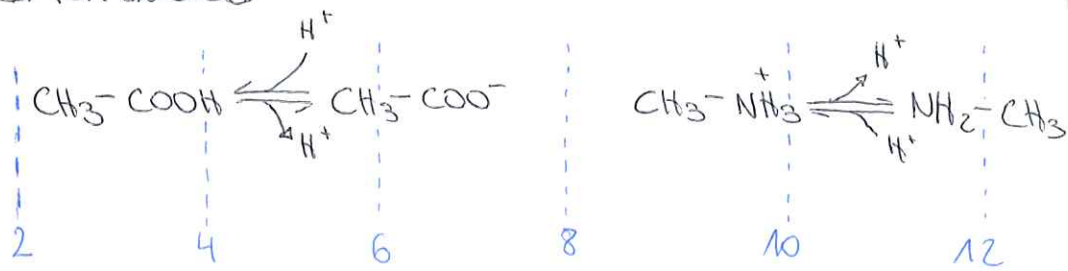
- Izaera anfoterikoa

• $\oplus \leftrightarrow$ zwitterion $\leftrightarrow \ominus$ (2 talde indargetzaile)

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} \quad | \text{karga netoa} = 0 |$$

↳ puntu isoelektrikoa —↳ izateko behar den pIa

• pKa-ren aldatzea



→ Amino kate ionizagarriak

• A.a azidoak: R = COOH

- karga netoa +1, 0, -1, -2 (COOH, NH₂ aldatzeak) $\left[pI = \frac{pK_1 + pK_R}{2} \right]$

• A.a basikoak: R = NH₂

- karga netoa +2, +1, 0, -1 $\left[pI = \frac{pK_R + pK_2}{2} \right]$

→ Aminoazido esaldatuak

• Esaldutako batzuk iragankorak eta itzulgarriak, proteinen funtzioan eragin (fosforilazio, acetilazio, metilazio...)

- Ezohikoak

(ohikoan eratorri)

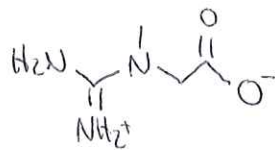
• kolajenon, miozinen...

→ Aminoazido ez proteikoak

• L-ornitina

• Zitrulina

• Kreatina



} zereale molekula bezala joko dezakete (neurotransmisore)

→ Peptidoak

• Biologikoki aktiboak diren peptidoak

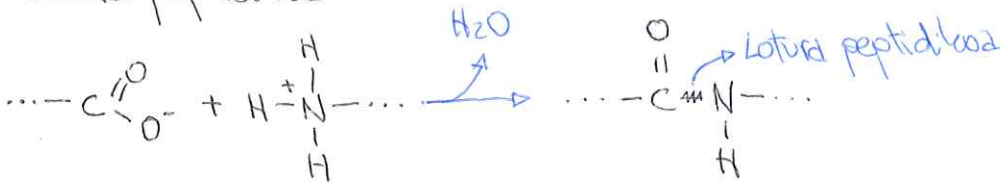
- Oxitosina - T-20/enfektivide
- Bradikina - Gramizidina
- Aspartama - Glutamin
- Entzefalina

• Oligopeptido < polipeptido < proteina

$$n \leq 10 \quad 10 < n < 100 \quad n \geq 100$$

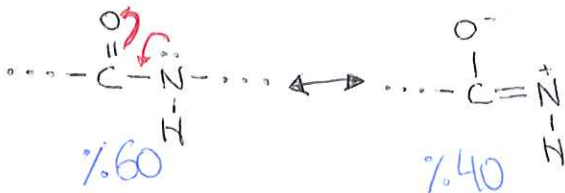
n = aminoazido kopurua

→ Lotura peptidikoa



$\Delta G = +21 \text{ kJ/mol}$ beraz ez da espontaneoa

• Erresonantzia du



Lotura bikoitzetako zuzenak du } Loturaren inguruko angeluek
Trans konfigurazioa } peptidoaren egitura baldintzatzen dute

• Azido base ezagunak

- α -amino eta α -karboxilo taldeek H^+ eta OH^- zati
- pK antzekoak
- R talde ionizagarriak

• Lotura peptidikoen hidrolisia

- Azido edo base sendoen bidez
- Proteasen bidez (Adb Pepsina)

⇒ Proteinak

- Sailkapenak:

A → Erizpide funtzionalak (kate kop.)

- Proteina monomerikoak
- Proteina oligomerikoak
- Azpunitate anitzeko proteina

B → Erizpide kimikoak (osagaiaren arabera)

- Sinpleak (aminoazidoak soilik) (A RNAasa)

- Konjokatuek (beste osagai kimiko batzuk [tarte prostetikoak])

- ↳ Lipoproteina TP Lipidoak (odoleko β_1) 1
- ↳ Glikoproteina TP Karbohidratoak (G immuglobina) 2
- ↳ Fosfoproteina TP PO_3^- (kaseina) 3
- ↳ Hemoproteina TP hemo (hemoglobina) 4
- ↳ Flaboproteina TP Flabina-nt (sukzinato deshidrogenasa) 5
- ↳ Metaloproteina TP (Fe, Zn, Ca, Mo, Cu) 6

C → Egitura erizpideak

- Globularak (pepsina)
- Zuntz forma (kolajena)

D → Funtzio erizpideak

* Ikus: Proteinen funtzio biologikoak (8. orri)

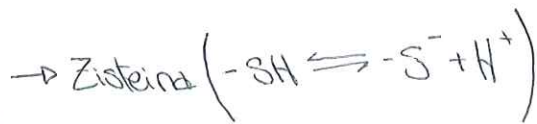
⇒ Proteinen propietate biokimikoak

- Solubilitatea

- Proteinek R hidrofobiko(bat) eta R hidrofilikoak
- Uetan disolba daitezke

- Ahalmen indarguztaria

- Albo kate ionizagarriak
- $-COOH + NH_3^+$ ionizagarriak



↓
Talde ionizagarriek pKa estandarra baldintzatzen

⇒ Proteinen egitura

- 4 egitura maila

- Egitura primarioa → Azen ordenamendu lineal espezifikoa] elkarrekintza kobalenteak
- Sekundarioa → α helizea] Aminozidoen ordenamendu espazial espez.
- Tertzarioa → Polipeptido katea] Elkarrekintzak ez kobalenteak
- Kuaternarioa → Azpunitate elkarrak]

- Konformazio notitia egokortzen duten elkarrekintzak

↓
Kobalenteak C-C (apurtzeko 90 kcal/mol)
S-S (apurtzeko 50 kcal/mol)

↓
Ez-kobalenteak

↳ Irteerak (3-7 kcal/mol)

↳ Hidrogeno zubak (1-7 kcal/mol)


↳ Van der Waals (<1 kcal/mol)

↳ Hidrofobikoak

1- Egitura primarioa

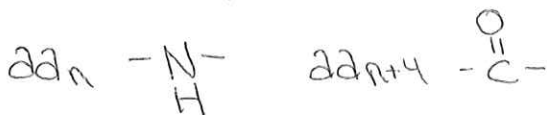
- Aminoazido sekuentzia (lotura peptidikoa)
- Espezie ezberdinetako prot. homologoek sekuentzia homologoak

2- Egitura sekundarioa (α helix)

- Egitura helikoidalak 
- β harizpiak eta β birak/lealondoak ere bada
- Egitura suprasekundarioak eta disegituratutako gureak ere eman ditezake

α helizeak

(ester zen estek) \rightarrow Van der Waals eta HZ intramole.



Amino mutura



Mutur karboxilikoa

- α helizea (ia ia) osarik osatutako prot \rightarrow Mioglobina/Bakteriorodopsina
- Beste helize batzuk

3_{10} helizea (3aa bitako)

%10-%15 helize egitura
Aspartatoak eponekoak
HZeak

π helizea (4,1aa bitako)

%15 helize egitura (α helizea + 1aa)
HZe eta lekoak

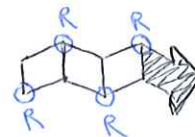
β egitura (sekundarioa)

- β orri tolestua (kate polipeptidikoen zig-zag konf)

Gutxienez 2 kate, eponekoak

COO^- NH_3^+ artean HZ

R taldeak gora eta behea inoiztatuta



- β orri paraleloa edo antiparaleloa

β orri tolestuak elkarren artean HZe z lotuta

β egitura (jarraipena)

- β birak/ukalondak

Orokorrean 4aa (Asn, Gly, Pro mitiko)

Egitura suprasekundarioak

Egitura sekundarioan 2 eremu edo zehar + beraien arteko loturak

- α helizeak

helize-bira-helize

Superhelizeak helizeak (coiled coil)

- β orridurak

β urteila

β upela

β meandroiak

- $\alpha + \beta$ egitura

$\alpha - \beta - \alpha$

Rossmann egitura

3. Egitura tertziarioa

(proteina oso baten disposizioa 3D-tan)

- "Urrunduta" dauden aminoazidoen arteko elkarrekintzak bideratua
↳ estereotipoki, espazioan urrun

⇒ Proteina globularrak

- Oro har mintze proteinak

- Uretan disolbagarriak (R. hidrofiliko eta hidrofoiloak)

- Elkarrekintza motak

- Disulfuro zubiak S-S (Cys-Cys)

- Elkarrekintza elektrostatikoa (oi-oi)

- HZ (dipzipo)

- Elkarrekintza hidrofobikoak

- VdW

→ Zuntz proteinak

Oro har egitura sekundarioa (so badly located)
 Disolbatzenak uretan
 Estrukturala eta higkorra

(I) α -helizea (disulfuro zubiak b. baturak)

F. estrukturala (α -keratina)

→ Super: nildutako zkatu (coil-coil)
 monomera → protopirua → proteinetxera

(II) β konformazioa

Piru leun eta malguak (fibroina)

(III) Kolajeno helize hiridortza

Tentsio handia (kolajenoa)

→ Tropokolajenoa (3 α , l-helizeen coil coil desintegratzen)

(IV) Birbatutako elastina katea

2 noranzkoetan tenkatuko gai (elastina)

4. Zorizko konformazioa

→ Egitura zehatzak gabeko funtzio zehatz eta espezifikoaren proteinak
 → Dinamikoak

5. Proteinon egitura kuarternarioa

Tolesdura Informazio lineala konformazio 3D funtzional bakarrera daraman prozesua

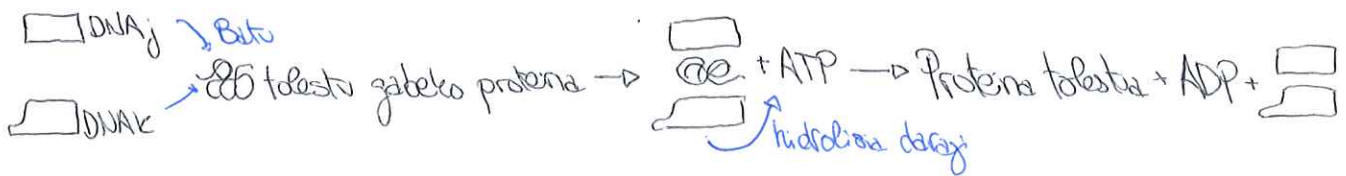
Termodinamikoki espontaneoa
 Konformazio matiboa (biologikoki aktiboa da)

↓
 denaturalizazioa

• Temperaturak denaturalizatzen du proteina bat espontaneoki berraturalizatu daiteke

★ TXAPERORI MOLEKULARRAK

Proteinak hiribiltzen dituzten egiturak (Energia [ATP] gaitza)



⇒ Proteinak azterteko prozedura

• Proteinak erazteka → Proteinen purifikazioa → Proteinen azterketa

- Frakzionamendu teknikeak

Proteinak modu selektiboan lortzeko (puruak)

1- Prezipitazio selektiboa

Proteinak batak prezipitatuzea beste batak disoluzioan mantentuz

⇒ Proteinen soluzioaren aldatu behar

• T (Hzapuntu)

• Disolbatzaile organikoak (elkarrekinak (H₂O) hautsi)
(efektu hidrofobiko eragari)

• pH (elkarrekinak elektrostatiak murrindu)

• Indar ioniko (gatzak soluzioaren gainean grabatu)

• Agente kaptiboak (guanidino kloruroa + Au) + deterjenteak

Soluzioaren baldintza

- Prezipitazio isoelektrikoa

• pH = pI danean aldatuz desagertu elkarrekinak hidrofobikoak + Vd/W zortza

↳ Interakzio lokalak gertatu → Proteinak agregatu eta prezipitatu

- Gatz bidezko prezipitazioa

• Gatzak disoluzioan sartutako hodei ionikoak makromolekulak arteko interakzio zuzenak ekidin → Ez da desnaturatzen

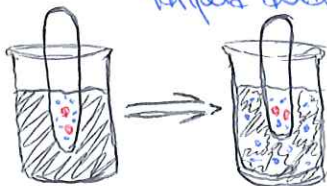
→ Hurbarria da (dialisia) + errosa eta merkea

• Gehiegatiko gatzak makromolekulen hidratazio H₂O molekula "baitu"

2- Tamainaren araberako purifikazioa (DIALISIA)

Molekulak (tribat) kentzeko

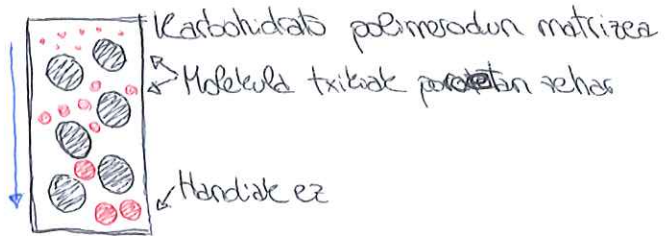
Tanpaa aldatzeko



3- Zutabeen egindako Kromatografia

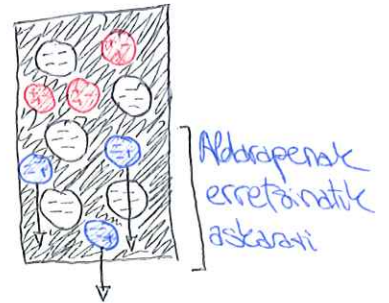
Proteina ezberdinek karga, hidrofobizitate, tamaina edo t/faren arabera matrizearen bitartean elkarrekin ezin ondorioa zutabe batean banatzea.

- Gel ingurapena (SEC)
- Proteinak tamainaren arabera



- Elektrolite ionikoa (IEC)

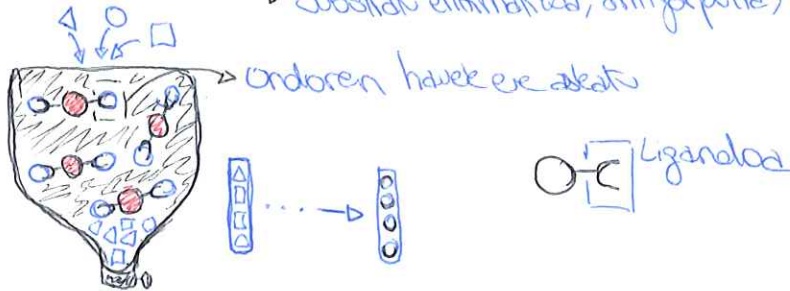
- pH konkretu batean proteinek karga netoaren arabera banatu
- Matrizeak 2 erretzina mota duzaituzte proteinen arabera
 - Proteinek K^- bako, erretzinek Le^+ eta alderantziz
- * Metodo $pH < \text{proteinen } pI$ proteinek karga positiboa
 $pH > \text{proteinen } pI$ —————> negatiboa



4- Afinitate Kromatografia

Ligandoei modu espezifikoan lotzeko ahalmena duten proteinen banaketa

↳ Substrat entzimatikoa, antigoproteina, hormona, lektina ...



- Immunoprezipitazioa

Ligandoa "biraklatzen" da

Leherenag bereizketa eta gero ligandutik askatu

⇒ Elektrofesi bidezko proteinen banaketa

Molekula kargatuak eremu elektrikoan banatzen dira

$$\mu = V/E = Z/f \rightarrow \text{karga netoa / murrizkadura koef.}$$

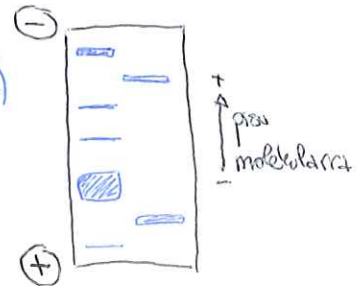
- ↳ molekulen mugikortasun elektroforetikoa
- ↳ Aldiakira / potentzial elektrikoak

• Metodo analitikoak

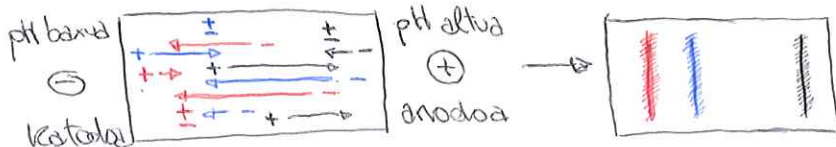
• Puntuan maila zehatu → gutxi-prabehariko pisu molekulara → puntu isoelektrikoa

⇒ SDS-PAGE

- Negatiboki kargatutako detergentea da
- Proteinaren lotzen zati hauen egitura tertziarioa hautsirik (destelatu)
- Proteina negatibo txikienak hondora, handienak erditik (gela)



⇒ Proteinen banaketa. Ideatze isoelektrikoko bidez



pI.aren arabera antolatzen dira proteinak.
pH gradientearen arabera

⇒ Detekzio espezifikoak: Western blot / Plapaketak

• SDS-PAGE bidezko proteinen banaketa

↳ Transfektzia: Proteinak akrilamida bidez zelatik mitraduluz bidez edo PVDF inkinata

↳ Detekzioa

⇒ Sekuentziagailuak

• Edman degradazioan esker proteina sekuentzia laburrak automatikoki lortu

1. Lehen aminoazidoa markatuz zikloak sortu

2. Ziklo bakoitzean askatzen den aminoazidoa kromatografiarekin identifikatu

0 → Egitura zehazteko metodoak

• X izpien bidezko difrakzioa

- Proteina lagina kristalazatu (atomo oro posizio bakarrean)
- X izpietan (0,1 nm uhina luzera) irratatu
 - Norabide ezberdinetan difraktatzen da atomeen posizioaren arabera
- Difrakzio patroia matematikoki tratatu esakua lortzeko

• Beste teknika batzuk

- RMN (erresonantzia magnetiko nuklearra)
- Cryo-EM: Kriomikroskopia elektronikoa
- DC: Dikromosmo zirkularra
- IR: Espektroskopia infragorria

4. Gaia: ENTZIMAK

• Katalizatzaile biologikoak

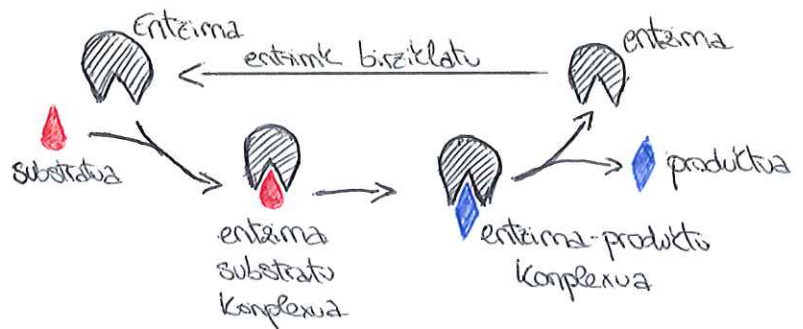
- Zelulako erreakzio gehienak katalizatzen dituzten proteina globularak
- Gaironterako erreakzioak RNA katalitikoak

• Ezaugarri orokorrak

- Ahalmen katalitiko handia ($V_{\text{max}} = n \cdot 10^6 - 10^{12}$) \rightarrow konfirmazioaren mende
- Ez dituzte termodinamikoki posible ez diren erreakzioak ahalbidetzen ($\Delta G > 0$)
- Espezifitate handia
- Erregulazioa jasari dezakete \rightarrow Desnaturalizatu ezten ahalmen katalitiko zaldtu

• Entzimek gure aktiboa

- Substratua batzeko gure bat
- Erreakzioa katalizatzeo gure bat



• Entzimaren propietateak

• pH-a

- Entzimaren jardura katalitiko baldintzatzen du
- Entzima bakoitzak pH espezifiko bat
- Tanpoi sistemak pHa kte. mantentzeko (hemoglobina)

• Temperatura

- Muturreko tenperaturan proteinak desnaturalizatu

• Talde prostetikoak

- Entzimari kobalenteak edo estu loturiko

Kofaktorea (inorganikoa) ioiak	} gaironterako asko
- Koentzima (organikoa)

- Aparentzima (ez aktiboa) + Talde prostetikoak = Holozentzima (aktiboa)

⇒ Entzimen sailkapena

* / zeharrena Substratua, erreakzio mota + asia

1. Oxidoberriduktasak

- Elektron transferentzia erreakzioak
- RedOx erreakzioak
- Dehidrogenasak (NAD⁺/NADH), oxidasa, oxigenasa

2. Transferasak

- Talde-transferentziako erreakzioak

3. Hidrolasak

- Hidrolasi erreakzioak (lotura kobalenteak hautsi)

4. Liasak

- C-C/C-N/C-O/C-S loturak hautsi, unak erabil gabe

5. Isomerasak

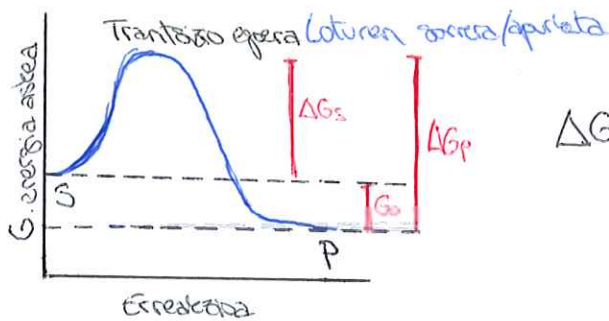
- Isomero bihurtzeko taldeen barne transferentziak

6. Ligasak

- Bi molekulen arteko lotura katalizatu ATPren hidrolasi erabiltz (E)

⇒ Katalisi entzimatikoa

Substratua ⇌ Produktua



$\Delta G_0 = G_p - G_s$

- $\Delta G_0 < 0$ espontaneoa
- $\Delta G_0 = 0$ orekan
- $\Delta G_0 > 0$ ez espontaneoa

• Aktibazio energia

- Tenperatura joko batean substrato mola bat trantsizio egoera eramateko behar den energia
- Substratuaren onarimiko egoera eta trantsizio egoeren energia aldea
- Erreakzio abiaduraren lotura

$V = k[S]$ $k = A e^{-E_a/RT}$ $\downarrow E_a \Rightarrow \uparrow V$

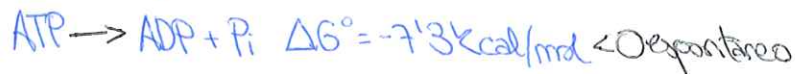
Entzimek E_a txikiak V handitu
Ez dute erreakzioaren ΔG_{es} keq aldatzen

◦ Gune aktiboa

- Substratuak espezifikoak: lotzeko aminoazidoak + aminoazido katalitikoak
- Substratua batzen duten aminoazidoak
 - Egitura primarioa (sekuentzia) urrun egon daiteke
 - Egitura tridimensionalak daudionez hurbil → Disparatuak espezifitatearena
 - Hidroketan izan ezite zulo hidrofobikoak
- Aminoazido katalitikoak
 - Erreakzioa aurrera eramaten laguntza eratu edo hutsa

◦ Erreakzio akoplatuak

ADB.

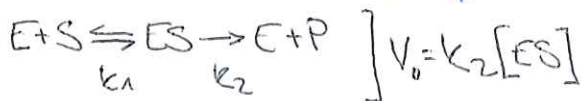


⇒ Entzimen zinetika

- Zenbat S denbora unitate batean P bitartean den

$V = k[S]$ k = proportzionaltasun koea. Erreakzioaren azidaren erreaktibotasuna

- Entzima-substratu konplexuaren kontzentrazioaren nepe
- Eta konplexuaren disoziazio konstantearen nepe



- ES konplexua sortzeko abiadura

$V_1 = k_1 [E][S]$ edo $V_1 = k_1 ([E_t] - [ES]) \cdot [S]$

$[E_t] = [E] + [ES]$

Erreakzioa orekan denean
 $V_1 = V_2$
 $V_1 = k_1 [E][S] = (k_{-1} + k_2) [ES]$

- ES konplexua desagerteko abiadura

$V_2 = k_{-1} [ES] + k_2 [ES] = (k_{-1} + k_2) [ES]$

- [ES] ezin da esperimentalki lotu $[S] \gg [E_t] \rightarrow V_0 = V_{max} / ([E_t] = [ES])$

• $[S]$ [E] baino askoz handiagoa denez

$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad \left. \vphantom{V_0} \right\} \text{entzimak duen substratarekiko afinitatea}$$

• Entzimaren saturazio kontzeptua

- Substratua zehitu ahala V handitu entzimak saturatu arte

⇒ Saio entzimatikoa

- Entzimaren jarduera katalitikoaren antzeko baldintza optimoetan in vitro

• Zer hartu behar da kontuan?

- Erreakzioa (estetometriak)
- Kofaktoreak / koentzimak
- $[E] \ll [S]$ (entzimaren kont. esangurua)
- Ingurumenaren optimoa

- Produktuaren agerpena eta substratuaren desagertzea neuritzea

- Saiaren emaitza

- Entzimaren substratarekiko afinitatea (K_m)
- Entzimaren kontzentrazioa zehatu behar $S \rightarrow P$ ren abiadura

• Unitate entzimatikoa

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

$$1\text{katal} = 1\text{mol S/s} \quad 1\mu\text{katal} = 1\mu\text{mol S/s} \quad \left. \vphantom{1\text{katal}} \right\} \text{jardueraren entzimatikoa}$$

- Jarduera espezifikoa

$1U/\text{mg}$ entzimaren puntaren buruzko informazioa

• Aktibitate molekularra (K_{kat})

- Entzima molekula batak denbora unitatean eraldatzen dituen S molekuletak

$$V_{\max} = K_{\text{kat}} [E] \quad K_{\text{kat}} = \frac{S_{\text{mol}}}{E_{\text{mol}} \cdot s} \quad \text{unitatea } 1/s = s^{-1}$$

• Ziklo katalitikoa (Z_k)

- Entzima molekula batak egun optimoan S molekula 1 katalitiko behar duen denbora

$$Z_k = 1/k_{\text{kat}}$$

• Eraginkortasun katalitikoa = k_{kat} / K_m

Entzimen jardura erregulazio mekanismoak

Erregulazioa: inhibizioa

- Inhibitzio bidez: Entzimen espezifitate bidez jardura katalitikoak ospatzen duen molekula.

1. Inhibizio italezina

• Jardura entzimotikoa behar bezala gertatu da. Kobalenteak: loturak inhibitzioak oro har (Zariri)

2. Inhibizio ituzgarria

• Inhibitzioaren ostean entzimek bere jardura katalitiko berrestuta daude (oro har ez kobalente)

• Kompetitiboa Lehian (karera) → substratu gehiagoren emaitza berak

• A-kompetitiboa Lehian gabe

• Mistoa (ez-kompetitiboa $\alpha = \alpha'$ $K_i = K_i'$)

Inhibitzio mota	Ituzgarritasun V_{max}	Ituzgarritasun K_m
gabe	V_{max}	K_m
Komp.	V_{max}	K_m
A-komp.	V_{max}/α'	K_m/α'
Mistoa	V_{max}/α'	$\alpha K_m/\alpha'$
Ez-komp.	V_{max}/α'	K_m

V_{max} : Abiadura maximoa

K_m : Entzimen substratuekiko afinitatea

α : $\frac{1 + [I]}{K_i}$

K_i → inhibitzioaren konstantea

V_{max}' } ituzgarritasunak
 K_m' }

Erregulazioa: aktibazio proteolitikoa

- Entzimen funtzionatu ahal izateko proentzimaren aa bidezko lotura peptidikoak hidrolizatu

- Prozesu ituzgarria

Entzima erregulatzaileak

- Bide metabolikoen abiadura erregulatzeko dute

- Gehesetan haren

- Senak ezberdner menpe

* Entzima alosteroak

- T (kentsu) edo R (erlaxatu)

- Gure aktiboa + modulatzaileak loturako gure alosteroak

- Positiboak R egoan daude (aktibatzaile alosteroak) [substratu bera]

- Negatiboak T egoan daude (inhibitziole entzimotikak) [produktu bera]

• Zinetika $K_{0.5} = \frac{1}{2} V_{max}$ (substratu molekula +, abiadura +)

* Esaldaketa kobalentea

- Kimiak Proteinen Ser/Thr/Tyr/His hondakie + Pi
- Fosforak Pi taldeak hidrolizatu

5. gaia: Karbohidratoak

• Polihidroxialdehido / polihidroxi zetona $(CH_2O)_n$

⇒ Gluzidoen funtzioak

- Energia eta karbono iturri (sakarosa)
- Energia emaria (almidoa + glikojena)
- Egitura / Babesa
 - Molekulasakaridoak (konjuntiboa)
 - Zelulosa (pareta)
 - Peptidoglikanoa (bakterio pareta)
 - Kitina (exoskeletoak)
- Zeharbazia
- Azido nukleotidoak

⇒ Sailkapena

- Monosakaridoak
 - Simpleak
 - Eratornioak
- Oligosakaridoak ($n \leq 10$)
- Polisakaridoak ($n > 10$)
 - Homo
 - Hetero

1. Monosakarido simpleak

- Simpleak, zido kristalno disolbagarriak
- Aldehido / Zetona + $\geq OH + 3-9 C \rightarrow$ Triosak, tetrosak...
 - ↳ Aldosak
 - ↳ Zetosak
- Aldotriosa, Zetotriosa...

⇒ Isomeriak

- Polarimetria (Azukreen errotazio ahalmena neuritzea)
- L/D enantiomeroak bereizteko
 - L - OH ezkerrean (alde oxidatibetik uraren aldean karbonoan)
 - D - OH eskuinean
- Lebozia / destrozia argi polarizatu...
 - l (-) eskuera desbideatu
 - d (+) ezkerre desbideatu

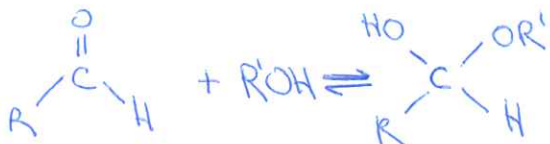
◦ Monosakariduen esteroisomerioak

- Aldosak 2^{n-2} esteroisomero ($2^{n-2}/2 D, 2^{n-2}/2 L$)
- Zetosak 2^{n-3} esteroisomero

◦ Monosakariduen ziklazioa

- 5-6 C duen monosakaridoak ziklatzen dira C asimetriko berrak antza anomerikoa
- 6 aldereko eraztunak pirano / 5 aldereko furano.

- Aldosen ziklazioa "anomerizazioa"



Aldehidoa + alkohola \rightleftharpoons hemiazetala

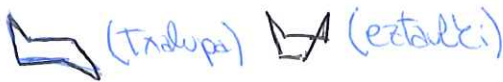
C asimetrikoak 2 forma esteroisomertan
 α (uretan)
 β (piranatan)
 Piranoak domito

- Zetosen ziklazioan furanoak

* Mutaerrotazioa

- Anomeren arteko konbertsioan forma irekia birtartekari.
- Uretan irxi-ireki.

- Piranosa eraztunak

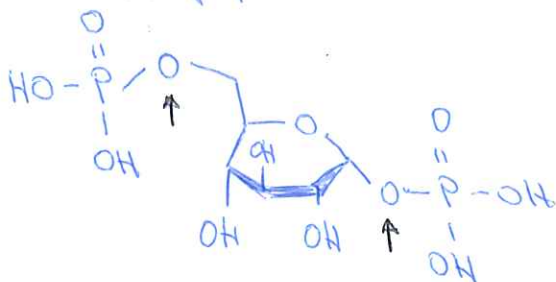


Lotuzen azaldu bertekari paralelo
 Lotuzen etekunak bertekari perpendicularak.

◦ Monosakariduen eratorriak

- Desaminazuzerak (alkohol talde ereduak bat)
- Aminozuzerak (NH₂ gehituta)
- Aldehidak (karbonylo talde ereduak, polialkoholak)
- Azukre azidoak (oxidatuz -COOH)
- Ester fosforikoak (DNA/RNA) monosak + P_i

► Mintz glikoprot. eta glikolip.



• Monosakaridoen erreakzio kimikoak

- Ahalmen erredukzioa



- Karbono antrikoa aske egon zera azalera oxidazioa beste konposatuak erreduzitu
- Odo eta gero azalera kantitate neurriak ahalmen erredukzioa reaktu.

- Glukosipen eraketa

- Lotura glikosidiko eraketa (kondentsazio erreakzioa)
- Hidrogeno hartu da.

2. Oligosakaridoak

- 2-10 monosakarido (disakarido, tri-, tetra...)

- Lotura O-glikosidiko α edo β

- 1 \rightarrow 4 edo 1 \rightarrow 6

- Monosakarido baten OH baten Kanonizazioa

- Disakaridoak lotura glikosidiko (azido azidoa aipatu daiteke)

- C asimetria aske duen disakaridoak erreduzitu da.
- Carometria loturan parte hartzen ez-erreduktore

3. Polisakaridoak

• Ezagarrak fisiko / kimikoak

- Lotura glikosidiko ugari biltzeko monosakaridoak
- Loturako H_2O azaldu
- PMaltua
- Ez du kristalitate
- Ez du zapate geroak
- Ez du ahalmen erredukzioa

◦ Homopolisakaridoak

- Erreserba polisakaridoak

• Almidoia (amiloza + amilopektina) Landareetan

- mitur erreduzitzailea + ez erreduzitzailea
- Energia behar denean hidrolizatu

• Glukogenoa (Animalietan)

- Muskulu eta gibel (mitokondrioen inguruan)
- Energia behar denean hidrolizatu

◦ Heteropolisakaridoak

- Erreserba polisakaridoak

• Inulina

- Liridak

• Mutopolisakaridoak

• GAG-ak

• Proteoglikanoak

- Adurkaturak

• Peptidoglikanoak

• Az. teituroak

• Lipopolisak.

• Glikokonginturak

glikoproteinak

glikolipidurak

* Egitura polisakaridoak

• Kitina

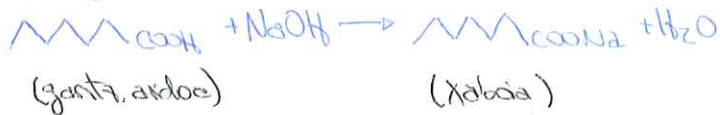
• Zelulosa

6. Gaia: Lipidoak

► Funtzio biologikoak

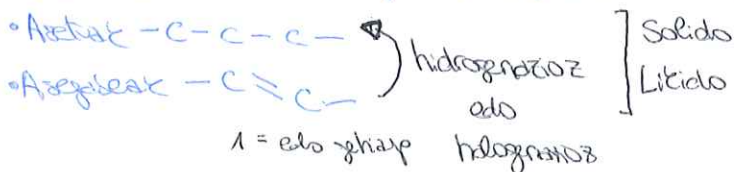
- 1- Energia
 - Gantz azido → ATP
- 2- Energia biltegia
 - Tripl zeridoak, gantz azido biltegia
- 3- Ur biltegia
 - Oso erreserbita dauden molekulatan ur molekula asko
- 4- kalitateko termiko eta bero elkorde
 - Chiri adrean marroan termogenesa
- 5- Estrukturala
 - Mintz biologikoak (fosfolipidoak)
 - Babesa (eztoa)
- 6- Informazioa
 - Hormonak + seinaleak intramolekularrak
- 7- Funtzio katalitikoak
 - Bitaminak, ko-faktore

◦ Saponifikazioa



1. Gantz azidoak

- Kate luze (4-36 C) azidomonokarbonilkoak
- C kopuru bikoitia
- Odoan zardburritak gantzak (uretan disolbatzen)



o Gantz azidoen esaterriak

- Hidrocarburoak (destarboxilazioa)
- Gantz alkoholak (erreakzio totala)
- Gantz aldehidok (erreakzio partziala)
- Gantz amoniak (NH_2)
- Eukosanoideak (az. azotidontzaren esaterri)

2. Azilglicerolak

- o Glicerola + gantzak \rightarrow azilglicerola (hidrolisi hutsa daitezke)
esterifikazioa

3. Ezkoak

- o Lipido bakarreak
- o Uretan oso disolagarriak
- o Eraso p. ($60^\circ\text{C} - 100^\circ\text{C}$)

4. Glicerofosfolipidoak

- o Glicerola + 2 Gantz azido + P_i (alkohol bakarrekoak)
- o Buz polara + Buztan apolarra (pH 7an ionizaketa)

5. Etsfingolipidoak

- o Etsfingolipido (Etsfingolip. + P_i)
- o Glikoetsfingolipido

o Gantz azido gabeko lipidoak (ez saponifikagarri)

- Terpenoide eta karotenoideak

- Terpenoaren esaterriak
- Pigmento fotosintetikoak

- Esteroideak

- o Esteroaren erakintzen esaterriak
- Esteroak
- Azido eta gata bilanak
- Hormona esteroideak
- Kortikoidak

- Lipido pirrolikoak



Pirrola Bilobina, klorofila...

Biokimika I # daformuladan

Proteinak

$$pI = \frac{pk_1 + pk_2}{2}$$

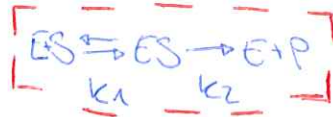
↳ puntu iselektirikoa (karga netoa = 0 den pH-a)

$$\left[\begin{array}{l} pI = \frac{pk_1 + pk_R}{2} \text{ (aa azidoak } R = \text{COOH)} \\ pI = \frac{pk_2 + pk_R}{2} \text{ (aa batenkat } R = \text{NH}_2) \end{array} \right.$$

Entzimak

$$v = k[S] \quad k = Ae^{-EA/RT} \quad EA = \text{aktibazio energia}$$

↳ proporcionaltasun legea.



ES konplexua sortzeko abiadura $v_1 = k_1[E][S]$

ES konplexua desagertzeko abiadura $v_2 = k_{-1}[ES] + k_2[ES] = (k_{-1} + k_2)[ES]$

$$[S] \gg [E] \text{ danean } v_0 = v_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Entzimen substratuarekiko afinitatea K_m ($\frac{1}{2} v_{\max}$ lortzeko behar den $[S]$)

Unitate entzimatiakoak

1U = 1 $\mu\text{mol S/min}$ (jardueraz entzimatikoa)

1katal = 1 mol S/s / 1 $\mu\text{katal} = 1 \mu\text{mol S/s}$ (jardueraz entzimatikoa)

1U/mg jardueraz espezifikoa (mg entzimaa)

Ziklo katalitikoak $Z_k = 1/k_{\text{katal}}$

Eragin koefiziente katalitikoak $E_k = k_{\text{katal}} / K_m$

Aktibitate molekularra k_{katal}

$$v_{\max} = k_{\text{katal}} [E_c] \quad k_{\text{katal}} = \frac{\text{S mol}}{\text{E mol} \cdot \text{s}} \quad (\text{s}^{-1})$$

• Indikatorreak

$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \quad pK_a = -\log K_a$$