

- 1) Você deve desenvolver uma cepa transgênica de levedura para produção muito eficiente de lactato. Cite as características que você procurará transformar nestes fungos para que eles produzam lactato de forma industrialmente competitiva, levando em conta:
  - a) Variação de temperatura suportada em relação à uma cepa selvagem.  
A cepa transgênica deve suportar temperaturas mais elevadas para manter fermentação por mais tempo que a selvagem, visto que a transformação de glicose à lactato é um processo altamente exergônico devido às reações catalisadas pela hexoquinase (-33kJ/mol), fosfofrutoquinase (-26kJ/mol) e piruvato-cinase (-17kJ/mol)
  - b) Variação de pH na qual a levedura funciona eficientemente em comparação à selvagem.  
A cepa transgênica deve suportar pH mais baixo que a selvagem para manter a fermentação por mais tempo, pois o produto final da fermentação, o ácido láctico, abaixa o pH do meio ao desprotonar-se espontaneamente em lactato.  
Justifique suas escolhas.
  
- 2) O metabolismo e o catabolismo são vias opostas. Quando as duas estão ativas simultaneamente, ocorre o que é chamado de ciclo fútil.
  - a) Defina Ciclo Fútil.  
Ciclo fútil é a ocorrência de duas vias metabólicas opostas simultaneamente, resultando numa perda de energia e tempo e ciclagem molecular de algum composto.
  - b) Como é regulado o metabolismo para determinar se ocorre catabolismo ou metabolismo em um determinado tecido ou célula?  
O metabolismo é regulado globalmente por hormônios, que determinam a atividade de enzimas (por exemplo por fosforilação) e intracelularmente por interações alostéricas entre moléculas e enzimas.
  
- 3) O ATP é dito uma molécula rica em energia. Ela contém três fosfatos em ligações de alta energia.
  - a) Quais são os tipos de ligação de alta energia no ATP?  
O ATP contém uma ligação anidro (C-O, energia baixa, mas utilizável) e duas ligações fosfodiéster (alta energia).
  - b) Considere a seguinte afirmação: A Hidrólise de ATP é utilizada para catalisar reações químicas. Esta afirmação é verdadeira ou falsa? Por que?  
Esta afirmação é verdadeira se considerarmos enzimas que acoplam a hidrólise do ATP à uma outra reação química. O ATP tem uma estrutura altamente energética devido à efeitos de ressonância e suas ligações fosfodiéster (30kJ/mol), mais fortes até mesmo que ligações Carbono-Nitrogênio. A quebra da ligação em si é endergônica, mas é seguida de uma série de reações e formação de estabilizações do ADP e do fosfato inorgânico formado, que resultam numa variação total de energia do sistema negativa. Esta variação causa alteração na conformação de enzimas específicas, que podem causar catálise de reações endergônicas. A

hidrólise, no entanto, em sua maior parte, gera energia térmica, com cerca de 60% da energia liberada sendo perdida na forma de aumento de energia térmica.

Nota: Muitos grupos consideraram a afirmação falsa pois em muitas reações há transferência de grupos fosfato para uma molécula intermediária, e não hidrólise. Apesar da afirmação acima estar correta, estas respostas serão consideradas, desde que corretamente justificadas.

- 4) Responda se as afirmações a seguir são verdadeiras ou falsas. Justifique a escolha de 3 que considerou falsa.
- a) Para que a energia proveniente das reações catabólicas possam ser utilizadas para a biossíntese e trabalho são necessárias moléculas “carregadoras” de energia. **Verdadeiro**
  - b) Apesar de termodinamicamente favorável, a hidrólise do ATP em meio aquoso não é cineticamente favorável (energia de ativação é alta). **Verdadeiro**
  - c) O ATP doa o grupo fosforil diretamente para outros compostos da célula, para que a hidrólise da ligação fosfoanidro ocorra, é necessário a presença de enzimas. **Falso, a transferência de grupos fosforila deve ser catalisada.**
  - d) Uma das razões do ATP ser uma “molécula energética” é a desestabilização por ressonância do fosfato inorgânico. **Falso, o fosfato inorgânico é estabilizado, e não desestabilizado, por ressonância.**
  - e) A concentração de ATP nas células é sempre maior que as concentrações de ADP e AMP. **Verdadeiro. Com exceção de células que estão em processo de morte celular por desregulação, falta de substratos energéticos ou mutadas malignamente. A concentração de ATP para ADP é na razão de cerca de 1000:1.**
  - f) O grupo fosforil do ATP não é transferido diretamente para o meio, mas para uma molécula intermediária (ou para a própria enzima), formando uma molécula ativada com uma ligação de alta energia. **Verdadeiro**
  - g) As coenzimas NADH, NADPH e FADH<sub>2</sub> são carreadoras de elétrons. **Verdadeiro**
  - h) Quanto maior o valor do  $\Delta G$  padrão, maior o valor da constante de equilíbrio padrão. **Falso, quanto maior o  $\Delta G$  padrão menor a constante de equilíbrio padrão.**
  - i) O  $\Delta G$  pode apresentar diversos valores diferentes pois depende da concentração dos reagentes, temperatura e outras variáveis do sistema. **Verdadeiro**
  - j)  $\Delta G$  indica velocidade ou mecanismo de reação. **Falso.  $\Delta G$  indica exclusivamente a variação entre a energia livre inicial e a final, sem incluir os diversos percursos termodinâmicos que podem ser atravessados ou inferir a velocidade do processo.**
  - k) As enzimas não alteram a variação de energia livre total de uma reação. **Verdadeiro**
  - l) Os organismos diminuem a entropia do meio. **Falso. Os organismos aumentam a entropia do meio.**
  - m) As vitaminas A, D e B estão presentes no NAD, FAD e Coenzima A, respectivamente. **Falso.**

NAD -> Vitamina B (Niacina)  
FAD -> Vitamina B<sub>2</sub> (Riboflavina)  
Coenzima A -> Vitamina B<sub>5</sub> (Ácido Pantotênico)

- 5) Explique por que a oxidação em etapas em vez de queima direta de nutrientes é uma importante estratégia metabólica.

A queima direta de nutrientes é um processo altamente exergônico, mas com enorme desperdício de energia na forma térmica para o meio. A oxidação em etapas permite a retirada controlada de elétrons até a total oxidação do substrato, e a regulação de cada passo essencial para permitir a coordenação do organismo ao fazê-lo, permitindo um melhor controle sobre o processo e a concentração de intermediários.

- 6) A aldolase catalisa a reação glicolítica: Frutose 1,6-bisfosfato -> gliceraldeído 3-fosfato + di-hidroxiacetona-fosfato. A variação de energia livre padrão para esta reação no sentido descrito é +23,8 KJ/mol. As concentrações dos três intermediários no hepatócito de um mamífero são frutose 1,6-bisfosfato=  $1.4 \times 10^{-5}$  M; gliceraldeído 3-fosfato=  $3 \times 10^{-6}$  M; di-hidroxiacetona-fosfato:  $1,6 \times 10^{-5}$  M. Qual é a variação de energia livre para essa reação na temperatura corporal (37°C)?

Temos que

$$\Delta G = \Delta G^{o'} + 2,3RT \log K$$

E, neste exercício:

$$K = \frac{[\text{Gliceraldeído} - 3P][\text{Di} - \text{hidroxiacetona-fosfato}]}{[\text{Frutose} - 1,6 - \text{bisfosfato}]} = \frac{[3 \cdot 10^{-6}][1,6 \cdot 10^{-5}]}{[1,4 \cdot 10^{-5}]} \\ = 3,4285 \cdot 10^{-6}$$

Assim, temos que, com  $R=8,314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  (constante dos gases) e  $T=310 \text{ K}$  (37°C):

$$\Delta G = +23800 + 2,3(8,314)(310) \log(3,4285 \cdot 10^{-6}) = 23800 + 2,3(2577,34)(-5,46489) \\ = 23,8 - (2,3)14,08487 = 23,8 - 32,395201 = -8,595201 \text{ KJ/mol}$$