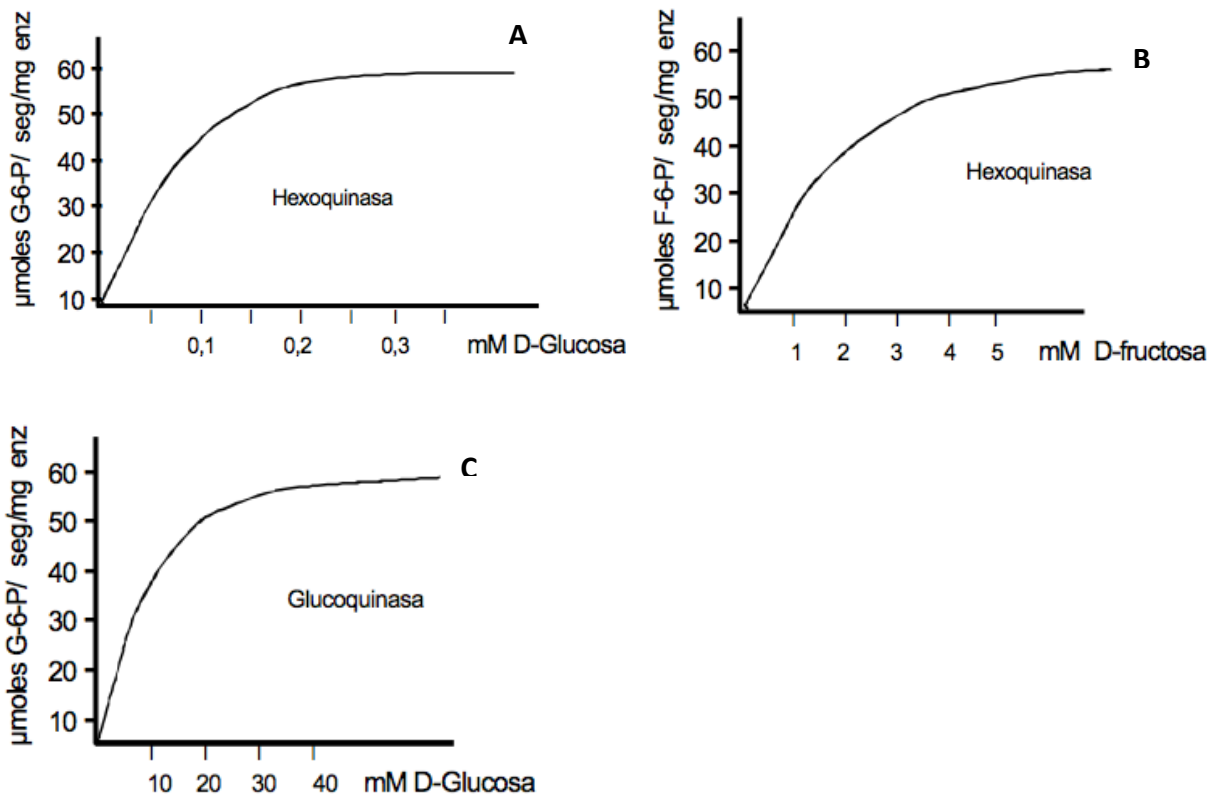


Las siguientes gráficas muestran las características cinéticas de dos enzimas capaces de catalizar la fosforilación de monosacáridos, la hexoquinasa y la glucoquinasa. Las siguientes preguntas están referidas a los datos representados en las gráficas y a los conocimientos ya adquiridos con respecto a estas enzimas.



1/16. La glucosa ingresa a las células a través de los transportadores de membrana y puede ser fosforilada por la enzima glucoquinasa en:

- a. las células de hígado
- b. las neuronas
- c. las células musculares
- d. todas las células del organismo

Todas las células del organismo poseen la enzima hexoquinasa, sin embargo la glucoquinasa es específica de los hepatocitos y de las células de los islotes pancreáticos.

2/17. Si en los ensayos correspondientes a las gráficas mostradas se adiciona una alta concentración de Glucosa-6-fosfato, observamos lo siguiente:

- a. se inhibe la producción de glucosa-6-fosfato catalizada por la glucoquinasa.

- b. se inhibe la producción de glucosa-6-fosfato catalizada por la hexoquinasa.
- c. se inhibe la producción de glucosa-6-fosfato catalizada por ambas enzimas.
- d. no hay inhibición en ninguno de los dos casos.

La hexoquinasa es inhibida directamente por su producto, la glucosa-6-fosfato. La glucoquinasa no.

3/18. Ambas enzimas presentan una cinética de Michaelis-Menten, como se observa en las gráficas. Respecto al K_m de ambas enzimas en la reacción de fosforilación de la glucosa, indique lo correcto:

- a. el K_m de la glucoquinasa es mayor que el de la hexoquinasa
- b. el K_m de la glucoquinasa es igual al de la hexoquinasa
- c. el K_m de la glucoquinasa es menor al de la hexoquinasa.

En las gráficas A y C del problema se puede estimar el valor aproximado del K_m de cada una de las enzimas para la glucosa como sustrato. En ambas gráficas la velocidad máxima corresponde a un valor aproximado de $60 \mu\text{moles/seg/mg}$, por lo que el valor de la mitad de la V_{max} es aproximadamente $30 \mu\text{moles/seg/mg}$. Ese valor corresponde a un valor de concentración de sustrato cercano a 0.05 mM para la hexoquinasa y de aprox. 10 mM para la glucoquinasa (esos son los K_m para ambas enzimas)

4/19. En la gráfica B se muestra la reacción de fosforilación de la Fructosa por la hexoquinasa. Si comparamos los datos de esta gráfica con los datos de fosforilación de la glucosa por esta enzima, podemos afirmar que

- a. la glucosa es el sustrato preferencial de la enzima
- b. la fructosa es el sustrato preferencial de la enzima
- c. ambos son igualmente preferenciales.

Podemos ver que la hexoquinasa cataliza la reacción de fosforilación tanto de la glucosa, como de la fructosa. Sin embargo, si observamos los valores de las concentraciones de ambos sustratos vemos que para una misma concentración de sustrato, la velocidad que se alcanza es mayor para fosforilación de la glucosa que de la fructosa.

5/20. Si la concentración de glucosa en sangre es de 1 mM (situación de ayuno), podemos afirmar que:

- a. la hexoquinasa se encuentra saturada
- b. la glucoquinasa se encuentra saturada
- c. ambas enzimas se encuentran saturada

d. ninguna de las dos enzimas se encuentra saturada

Para asegurarnos que la enzima esta en condiciones de velocidad máxima debemos tener una concentración de sustrato igual o mayor a 10 veces el valor del K_m . Como vimos en la gráfica, el K_m para la glucosa de la hexoquinasa es de 0.05 mM y el de la glucoquinasa es de 10 mM. Por lo tanto a una concentración de 1mM de glucosa la hexoquinasa se encuentra en condiciones de V_{max} (o saturada) y la glucoquinasa no.

6/21. Indique lo correcto respecto a la velocidad inicial de la reacción catalizada por una enzima:

- a. aumenta con el tiempo
- b. aumenta con la concentración de enzima
- c. aumenta con el aumento del ΔG de la reacción
- d. aumenta con el aumento del K_m

La Velocidad inicial para cualquier concentración de sustrato que pongamos es mayor si aumentamos la concentración de enzima.

7/22. La fructosa se comporta como un inhibidor competitivo de la reacción de fosforilación de la glucosa por la hexoquinasa. Por lo tanto, si agregásemos fructosa al estudio de la actividad de la hexoquinasa con glucosa, observaríamos que:

- a. el K_m aumenta
- b. el K_m disminuye
- c. la V_{max} aumenta
- d. la V_{max} disminuye
- e. el K_m y la V_{max} no se modifican

En presencia de un inhibidor competitivo, el K_m de la enzima por el sustrato se modifica (se le llama K_m aparente), aumentando, de forma que se necesita mas concentración del sustrato para alcanzar los mismos valores de Velocidad. La velocidad máxima no se afecta.

8/23. Sabiendo que la concentración de enzima usada para el ensayo de la glucoquinasa en la gráfica C fue de 0.05 mM, y el valor de V_{max} en esas condiciones fue de 60 $\mu\text{M}/\text{seg}$, indique cual será el valor de V_{max} si la concentración de enzima es de 0.025 mM.

- a. 1.2 $\mu\text{M}/\text{seg}$
- b. 2.4 $\mu\text{M}/\text{seg}$
- c. 30 $\mu\text{M}/\text{seg}$
- d. 60 $\mu\text{M}/\text{seg}$
- e. 72 $\mu\text{M}/\text{seg}$

$V_{max} = k_{cat} [Enzima]$,

podemos de esta manera saber que la concentración de enzima del ensayo es directamente proporcional a la Velocidad máxima que se alcanza.

9/24. La reacción de fosforilación de la glucosa es la siguiente:



los dos procesos acoplados en esta reacción son:

- a. la hidrólisis del ATP y de la glucosa-6-fosfato
- b. la hidrólisis del ATP y la síntesis de la glucosa-6-fosfato
- c. la síntesis de ATP y la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato
- d. la síntesis de ATP y de la glucosa-6-fosfato.

Para poder fosforilar a la glucosa (síntesis de glucosa -6- P), se acopla esa reacción que es endergónica, a un proceso exergónico como la hidrólisis del ATP.

10/25. Sabiendo que el ΔG° de la reacción planteada es de $-16.7 \text{ kJ.mol}^{-1}$ podemos calcular el valor de ΔG real para una situación de la célula en que las concentraciones son:

[Glucosa] = 5 mM

[ATP] = 1 mM

[Glucosa-6-fosfato] = 0.5 mM

[ADP] = 0.1 mM

considere el valor de RT para los cálculos como: $2.479 \text{ kJ.mol}^{-1}$

Indique cual es el valor de ΔG para estas condiciones:

- a. -5.3 kJ.mol^{-1}
- b. $-28.1 \text{ kJ.mol}^{-1}$
- c. 0 kJ.mol^{-1}
- d. $+5.3 \text{ kJ.mol}^{-1}$
- e. $+28.1 \text{ kJ.mol}^{-1}$

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[\text{glucosa-6-P}][\text{ADP}]}{[\text{glucosa}][\text{ATP}]} = -16.7 + 2.479 \times (-4.6) = -28.1$$

11/26. Indique cuál de las siguientes afirmaciones es correcta:

a. Toda reacción exotérmica se produce espontáneamente. **No. Las reacciones espontáneas son las exergónicas, es decir con liberación de energía.**

El $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, es decir que ni la entalpía (ΔH) ni la entropía (ΔS) de una reacción solas nos permiten predecir lo que ocurre con la espontaneidad o no de esa reacción.

b. Si el ΔS de una reacción es positivo, su ΔG será negativo **misma explicación que anterior**

c. El ΔG estándar de una reacción es el ΔG de la reacción cuando la misma está en equilibrio. El ΔG estándar es el valor de ΔG para esa reacción cuando esta se encuentra en condiciones estándar (P, T, pH y concentraciones de reactivos y productos)

d. El ΔG estándar (ΔG°) de una reacción es una constante Es un único valor para cada reacción, ya que hay una única situación estándar.

e. En el equilibrio se igualan las concentraciones de productos y reactivos. NO. El equilibrio de una reacción es cuando las velocidades de la reacción directa y la de la reacción inversa son iguales. Por lo tanto no ocurre ningún cambio neto en esa reacción. Ese equilibrio puede estar en cualquier valor relación de concentraciones de los reactivos y los productos. En el equilibrio, esa relación de concentraciones corresponde a la K_{eq} .

12/27. Uno de los destinos posibles de la glucosa-6-fosfato es la glucólisis, indique cuales de las siguientes enzimas consiste en un punto de regulación de esa ruta:

- a. Glucosa-6-fosfato isomerasa
- b. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
- c. Aldolasa
- d. Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
- e. Piruvato quinasa Es uno de los tres puntos de regulación de la vía.

13/28. Indique cuál de las siguientes enzimas de la glucólisis cataliza uno de los pasos de síntesis de ATP en la ruta.

- a. Hexoquinasa
- b. Fosfofructoquinasa-1
- c. Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
- d. Piruvato quinasa Ultimo paso de la glucólisis, se cataliza la formación de piruvato y ATP a partir del fosfoenolpiruvato y el ADP

14/29. El balance global de la ruta glucolítica es el siguiente:

- a. $\text{Glucosa} + 2 \text{NAD}^+ + 2 \text{ADP} + 2 \text{Pi} \rightarrow 2 \text{Piruvato} + 2 \text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{ATP}$
- b. $\text{Glucosa} + 2 \text{NAD}^+ + 4 \text{ADP} + 4 \text{Pi} \rightarrow 2 \text{Piruvato} + 2 \text{NADH} + 2\text{H}^+ + 4\text{ATP}$
- c. $\text{Glucosa} + 2 \text{NAD}^+ + 2 \text{ADP} + 2 \text{Pi} \rightarrow 2 \text{Lactato} + 2 \text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{ATP}$
- d. $\text{Glucosa} + 2 \text{NAD}^+ + 4 \text{ADP} + 4 \text{Pi} \rightarrow 2 \text{Lactato} + 2 \text{NADH} + 2\text{H}^+ + 4\text{ATP}$

El balance global de una vía incluye solamente lo que ingresó en la vía y los productos de la vía en forma neta.

15/30. Con respecto a la regulación de la fosfructoquinasa-1 (PFK-1) es correcto afirmar:

- a. el ATP es un modulador negativo de la enzima
- b. la fructosa-1,6-bisfosfato es el principal inhibidor de la enzima . No es modulador
- c. la fructosa-2,6-bisfosfato es el principal inhibidor de la enzima. Es un modulador positivo, presente y fundamental en la regulación de la velocidad de la vía en los hepatocitos.

Material de apoyo de Bioquímica- 1er parcial BCM- CBCC1- 2013

1. Enzimas.

Para toda concentración de sustrato: $V_o = k_{cat} [ES]$

Para concentración saturante de sustrato corresponde a: $V_{max} = k_{cat} [E_{total}]$

Ecuación de Michaelis- Menten: $V_o = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$

2. Bioenergética

Boltzmann constant, $k = 1.381 \times 10^{-23} \text{ J/K}$
Avogadro's number, $N = 6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
Faraday constant, $\mathcal{F} = 96,480 \text{ J/V} \cdot \text{mol}$
Gas constant, $R = 8.315 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ (= 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, $RT = 2.479 \text{ kJ/mol}$ (= 0.592 kcal/mol)

para una reacción de tipo: $A + B \rightleftharpoons C + D$

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

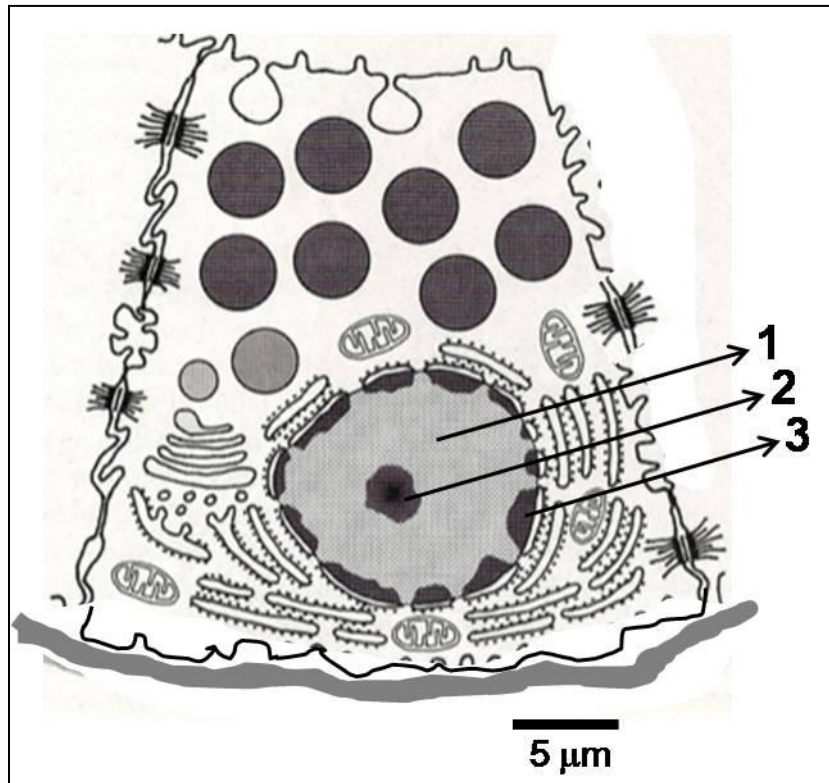
$$\Delta G^{o'} = -RT \ln K_{eq}$$

Cuando la reacción alcanza el equilibrio: $v_1 = v_{-1}$, por lo tanto $k_1 [A][B] = k_{-1} [C][D]$

Como k_1/k_{-1} es la constante de equilibrio (K_{eq}), tenemos que $K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$ para los valores de concentración de los metabolitos en el equilibrio.

En las reacciones de óxido-reducción tenemos que:

$$\Delta G^{o'} = n\mathcal{F}\Delta E^o$$



La figura representa una microfotografía electrónica de una célula epitelial perteneciente a un acino seroso de la parótida. Estas células acinares secretan amilasa (o ptialina), una enzima digestiva con capacidad de hidrolizar glucógeno y almidón.

1/16. Como se observa en la figura las células acinares están unidas entre sí por desmosomas. Usted intenta extraer para su análisis las proteínas de membrana que forman parte de los desmosomas ¿Cuál de las siguientes soluciones utilizaría para lograr su extracción?:

- a) Solución a pH 4
- b) Solución a pH 9
- c) Solución conteniendo detergente
- d) Solución con proteasas

Las proteínas integrales de membrana requieren la acción de detergentes que desensamblen la bicapa lipídica de la membrana para poder ser extraídas. Los cambios de pH y de fuerza iónica no las pueden aislar de las membranas. Las proteasas hidrolizan proteínas por lo que no pueden ser utilizadas.

2/17. ¿Cuál de los siguientes tratamientos desestabilizaría los desmosomas que unen las células acinares?

- a) Estabilización de los microtúbulos.
- b) Desensamblaje de los microtúbulos.
- c) Estabilización de los filamentos de actina.
- d) Desensamblaje de los filamentos intermedios.

Los elementos del citoesqueleto que brindan resistencia mecánica a los desmosomas son los filamentos intermedios.

3/18. Desde un punto de vista funcional, los desmosomas:

- a) permiten la comunicación directa del citoplasma de una célula con el de la célula vecina.
- b) sellan el espacio extracelular.
- c) otorgan gran resistencia mecánica al tejido.
- d) son los sitios donde tiene lugar la endocitosis mediada por receptor.

La función de los desmosomas es otorgar resistencia mecánica a los tejidos. Las uniones que sellan el espacio extracelular son las uniones estrechas o tight junctions, y las uniones que permiten el pasaje de moléculas de una célula a la vecina son las uniones gap. Las vesículas endocíticas se originan en depresiones de la membrana denominadas "depresiones cubiertas" o "hoyos recubiertos" (*coated pits*) y no constituyen ningún tipo de unión intercelular.

4/19. ¿Cuál de las siguientes proteínas de membrana permite que estas células se asocien entre sí como muestra la figura?

- a) integrinas
- b) cadherinas
- c) transportadores de calcio
- d) selectinas

Las cadherinas median uniones homofílicas entre células de un tejido. Las integrinas median la adhesión de las células a la matriz extracelular. Las selectinas son moléculas adhesivas que median la fijación a residuos glucídicos. Los transportadores de calcio no intervienen en la constitución de uniones adhesivas.

5/20. Usted desea marcar el glicocáliz celular con radioactividad. Para ello incubó las células con una molécula precursora marcada radioactivamente. ¿Con cuál de las siguientes moléculas marcadas radioactivamente incubaría a las células?:

- a) Aminoácidos.
- b) Colesterol.
- c) Nucleótidos.
- d) Monosacáridos.

El glicocáliz es la cubierta glucídica de la membrana plasmática. En consecuencia para marcarlo radioactivamente deben suministrarse monosacáridos (con nucleótidos marcaríamos ácidos nucleicos, con aminoácidos marcaríamos proteínas, y el colesterol produciría marcas en las bicapas lipídicas).

6/21. Usted está estudiando la secreción de amilasa por células acinares en cultivo. Para ello inhibe la expresión de la proteína SRP (partícula de reconocimiento de la señal) que reconoce la señal de importación al retículo endoplásmico. ¿Cuál es el resultado esperado de este experimento?

- a) la amilasa será secretada normalmente.
- b) la amilasa se acumulará en el retículo endoplásmico.
- c) la amilasa será degradada en los lisosomas.
- d) la amilasa quedará en el citosol.

Al carecer de SRP la célula no podrá incorporar la proteína portadora de péptido señal al retículo endoplásmico rugoso, y la síntesis continuará en el citosol.

7/22. Continuando con el análisis en cultivo de la secreción de la amilasa, usted modifica el gen de la amilasa de modo que la célula sintetizará una proteína que carece de los primeros 30 aminoácidos del extremo N-terminal. ¿Cuál es el resultado esperado de este experimento?

- a) la amilasa modificada será secretada normalmente.
- b) la amilasa modificada se acumulará en el retículo endoplásmico.
- c) la amilasa modificada será degradada en los lisosomas.
- d) la amilasa modificada quedará en el citosol.

La modificación descrita elimina el péptido señal de la proteína, por lo que no podrá ser translocada al retículo endoplásmico rugoso y continuará su síntesis en el citosol.

8/23. A continuación, en otro experimento, usted modifica el gen de la amilasa de modo que la célula sintetizará una proteína con el extremo N-terminal intacto pero que carecerá de los últimos 30 aminoácidos del extremo C-terminal. ¿Cuál sería el resultado esperado de este experimento?

- a) la amilasa modificada será secretada normalmente.
- b) la amilasa modificada se acumulará en el retículo endoplásmico.
- c) la amilasa modificada será degradada en los lisosomas.
- d) la amilasa modificada quedará en el citosol.

La modificación propuesta no afectará la translocación al retículo endoplásmico, por lo que la proteína sintetizada será secretada normalmente al espacio extracelular.

9/24. El siguiente experimento que realiza consiste en modificar el gen de la proteína de cubierta COPII de forma que la célula no logra ensamblar este tipo de cubiertas. ¿Cuál sería el resultado esperado de este experimento?

- a) la amilasa será secretada normalmente.
- b) la amilasa se acumulará en el retículo endoplásmico.
- c) la amilasa será degradada en los lisosomas.
- d) la amilasa quedará en el citosol.

La cubierta COP II es necesaria para el brotamiento de las vesículas que transportan materiales desde el retículo endoplásmico a la red cis del aparato de Golgi. Impedir la formación de cubiertas COP II tendrá como resultado la interrupción de este tránsito de materiales, por lo que la proteína será acumulada en el retículo endoplásmico.

10/25. Finalmente, usted realiza una modificación del gen de la amilasa de modo que la proteína expresará la secuencia KDEL (Lis-Asp-Glu-Leu). ¿Cuál sería el resultado de dicha modificación?

- a) la amilasa será secretada normalmente.
- b) la amilasa se acumulará en el retículo endoplásmico.
- c) la amilasa será degradada en los lisosomas.
- d) la amilasa quedará en el citosol.

Las proteínas con la secuencia KDEL que se encuentran en el aparato de Golgi son reconocidas por receptores específicos que las secuestran en vesículas que participan en el transporte retrógrado y por lo tanto dirigidas al retículo endoplásmico. La expresión de la secuencia KDEL en la proteína tendría como resultado su traslado continuo hacia el retículo endoplásmico.

11/26. Si observara las células acinares tal como la mostrada en la figura, al microscopio óptico con una resolución de 0,4 μm (micrómetros) y utilizando un aumento de 900X (objetivo de 60X y un ocular de 15X) ¿cuál de las siguientes estructuras podría observar?:

- a) Desmosomas.
- b) Nucléolo.
- c) Cisternas del retículo endoplásmico rugoso.
- d) Ribosomas libres.

El nucléolo es la única de las estructuras subcelulares mencionadas que se encuentra por encima del límite de resolución del instrumento descrito.

12/27. Dada la composición en organelos de esta célula, si la colorea con hematoxilina-eosina y la analiza con el microscopio óptico usted espera observar:

- a) basofilia citoplásmica
- b) núcleo intensamente eosinófilo
- c) presencia de mitocondrias basófilas
- d) filamentos intermedios abundantes

Basofilia significa que el elemento capta colorantes básicos, en este caso la hematoxilina. En las preparaciones histológicas los principales componentes ácidos en la célula (y por lo tanto basófilos) son los ácidos nucleicos. Por lo tanto el núcleo es basófilo. En el tipo celular representado en la figura, cuya función es la síntesis y secreción de una proteína (amilasa) la abundancia de retículo endoplásmico rugoso (y por lo tanto ARN) determina que el citoplasma también capte hematoxilina y sea por lo tanto basófilo.

13/28. Con respecto a las estructuras señaladas en la figura con 1,2 y 3, indique cuál de las siguientes afirmaciones es correcta:

- a) 2 indica el sitio donde se sintetiza el ARNr.
- b) 3 indica la ubicación de la cromatina que está siendo transcripta activamente
- c) 1 indica la localización de la lámina nuclear.

(1) indica la eucromatina (cromatina desplegada, siendo transcripta activamente) y(3) la heterocromatina (compactada, inactiva). (2) indica la ubicación del nucléolo, que es la estructura donde se localiza la síntesis de ARNr.

14/29. La célula representada en el esquema posee microvellosidades en su superficie apical, las cuales mantienen su estructura gracias a un eje citoesquelético que presenta la siguiente característica:

- a) en la base de cada microvellosidad se localiza un cuerpo basal
- b) está asociado con moléculas de dineína
- c) está formado por el mismo tipo de proteínas que constituyen la lámina nuclear
- d) puede ser afectado por el tratamiento con citocalasina (una droga que desestabiliza los filamentos de actina)

Las microvellosidades presentan un eje citoesquelético de filamentos de actina. La lámina nuclear está formada por filamentos intermedios. Las cilias tienen en su base un cuerpo basal como centro organizador de microtúbulos a partir del cual se organizan los microtúbulos que forman su eje citoesquelético. Las moléculas de dineína se encuentran formando parte del sistema citoesquelético ciliar.

15/30. El movimiento de las vesículas secretorias hacia la membrana apical de la célula está mediado por su unión a proteínas motoras asociadas a elementos del citoesqueleto. Las vesículas secretorias se asocian a:

- a) laminas
- b) kinesinas
- c) dineínas
- d) profilinas

Profilina es una proteína reguladora de la polimerización/despolimerización de actina en las células. Las laminas son proteínas constituyentes de la lámina nuclear. Las dineínas son proteínas motoras asociadas a microtúbulos que se desplazan hacia el extremo menos de los microtúbulos (en las células, hacia el centro organizador de microtúbulos, el centriolo, ubicado en la proximidad del núcleo celular). Son las kinesinas los motores microtubulares capaces de trasladar carga hacia los sectores más alejados del núcleo celular (extremo +).