

CDL CHIMICA



Corso di Biochimica (6
CFU) 48 ore

Prof.ssa **Alessandra Olianas**



Prof.ssa Alessandra Olianas

Dip. Scienze della Vita e dell'Ambiente
Sezione Biomedica (laboratorio di Biochimica)
Tel. 0706754507 (studio)

Ricevimento studenti: **si riceve per appuntamento**

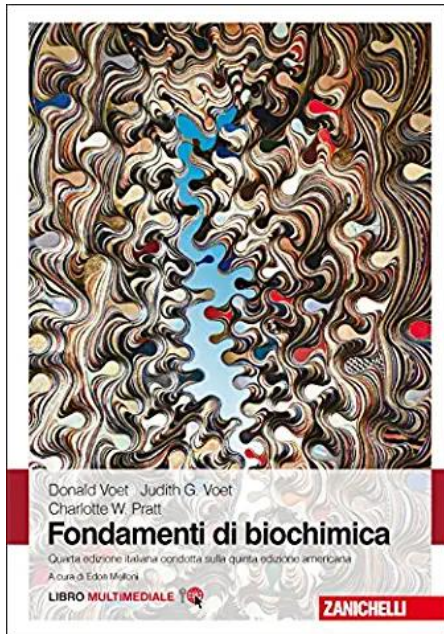
olianas@unica.it



Nelson, Cox.
**I Principi di Biochimica di
Lehninger.** Zanichelli



Berg, Tymoczko,
Stryer.



Voet, Voet, Pratt.
**Fondamenti di
Biochimica.**
Zanichelli



Campbell, Farrell,
Biochimica.
Edizione

NUCLEOTIDI

RUOLI BIOLOGICI:

- a) Forma di energia utilizzata nel metabolismo cellulare (ATP, GTP)
- b) Entrano a far parte della struttura di cofattori enzimatici (coenzimi) e di intermedi metabolici
- c) Costituiscono gli **ACIDI NUCLEICI**



Hanno la funzione di conservare, trasmettere e modulare l'informazione genetica e di tradurla nella sintesi di proteine.

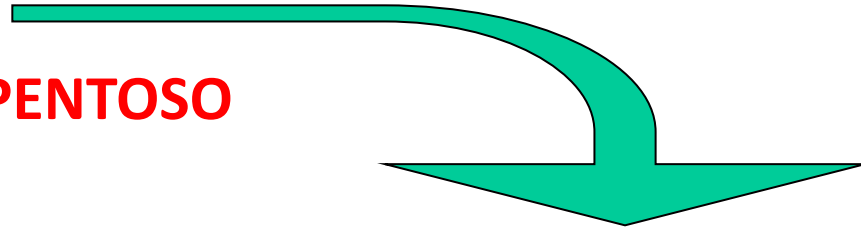
Le informazioni da cui dipende la vita di ogni organismo vivente sono codificate nella sequenza nucleotidica degli acidi nucleici, e sono utilizzate per produrre le proteine, tutte le biomolecole e i vari componenti cellulari.

I nucleotidi sono costituiti da:

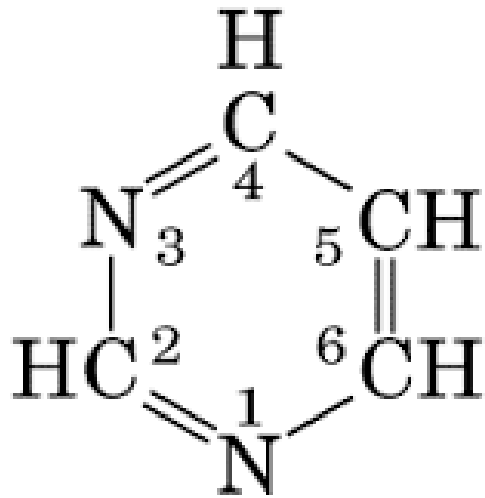
BASE AZOTATA

ZUCCHERO ALDOPENTOSO

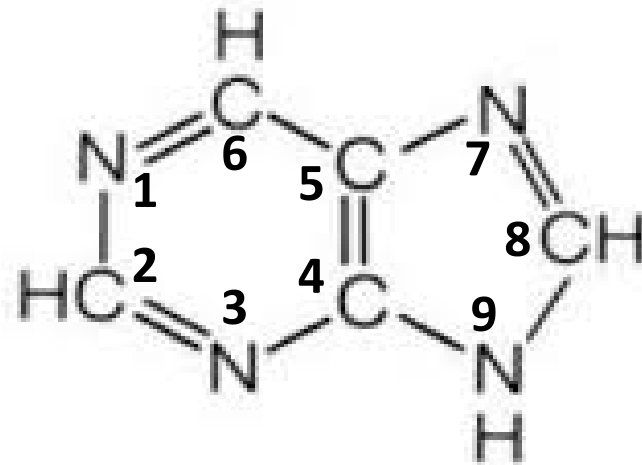
FOSFATO



Composti eterociclici aromatici che derivano da:

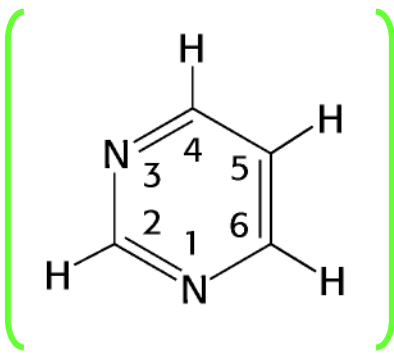


PIRIMIDINA

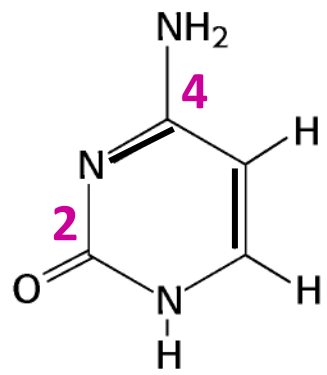


PURINA

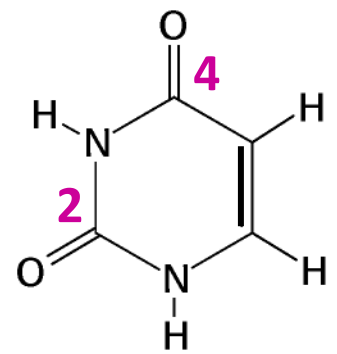
PIRIMIDINE



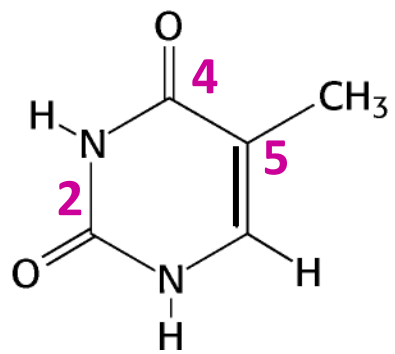
Pirimidina



CITOSINA (C)



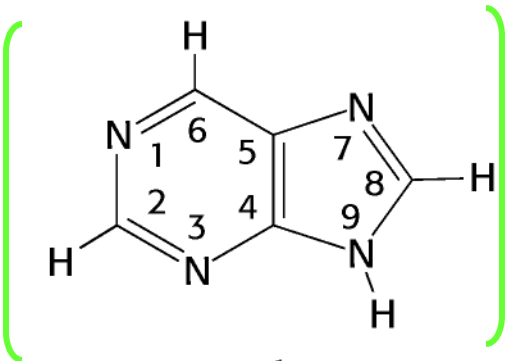
URACILE (U)



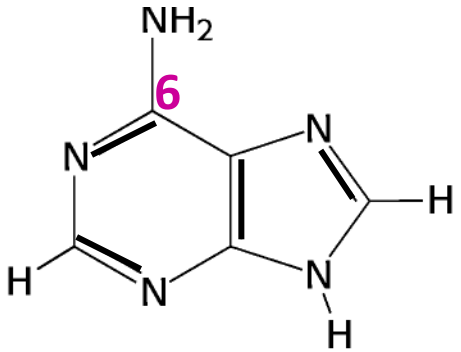
TIMINA (T)

Le basi azotate sono composti idrofobici debolmente basici e poco solubili a pH neutro.

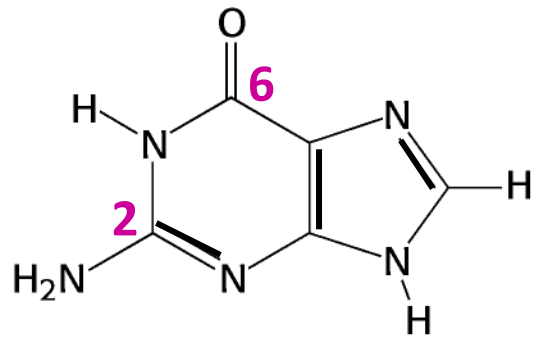
PURINE



Purina



ADENINA (A)



GUANINA (G)

Sono composti altamente **coniugati** e per effetto della risonanza risultano essere **planari** e capaci di **assorbire nell'UV**, hanno un massimo di assorbimento a **260 nm**

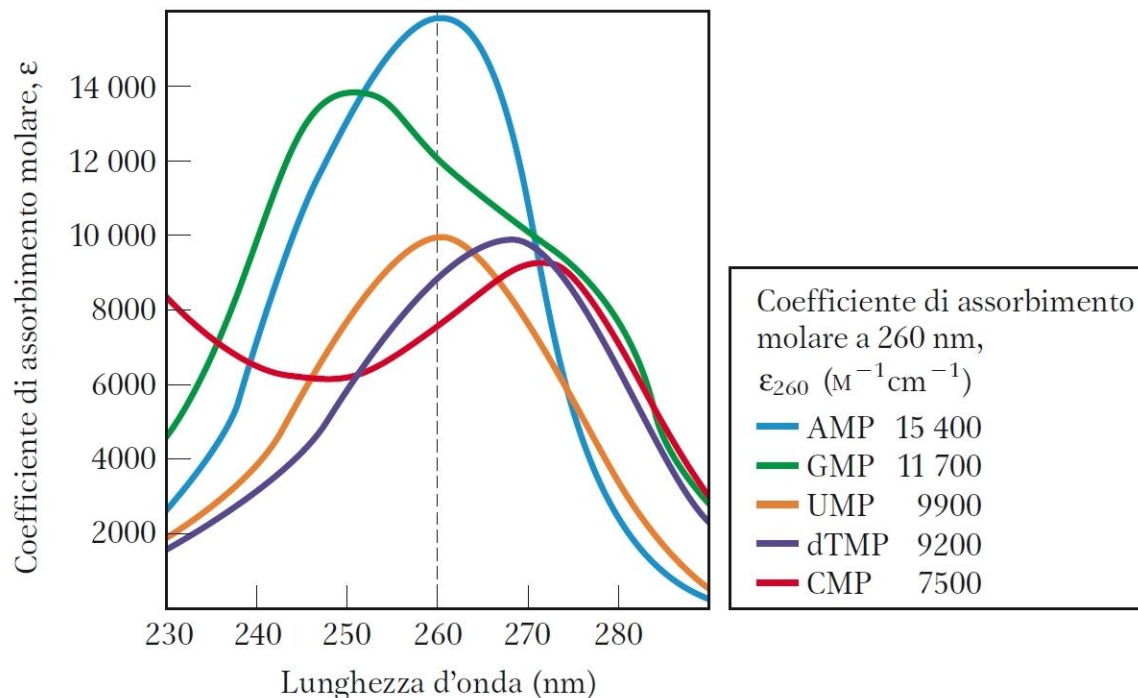


Figura 8.10 Spettri di assorbimento della luce dei principali nucleotidi. Gli spettri di assorbimento sono mostrati sotto forma di variazione del coefficiente di assorbimento molare. I suoi valori (ϵ_{260}), a 260 nm e a pH 7,0, sono riportati nella tabella a fianco. Gli spettri dei corrispondenti ribonucleotidi

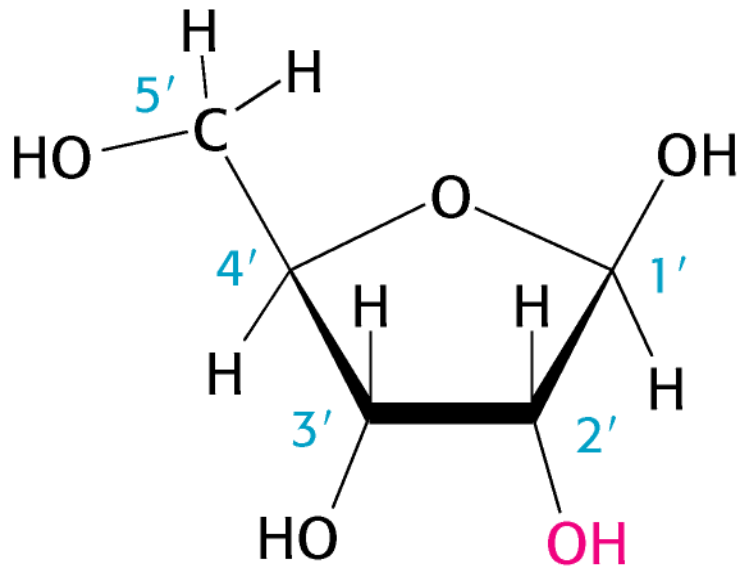
e deossiribonucleotidi, come pure quelli dei nucleosidi, sono essenzialmente identici. Per una miscela di nucleotidi, le misure di assorbimento della luce vengono effettuate usando una luce con una lunghezza d'onda di 260 nm (linea verticale tratteggiata).

Lo **ZUCCHERO** dei nucleotidi è un monosaccaride aldopentoso:

D-RIBOFURANOSIO o D-2-DEOSSIRIBOFURANOSIO

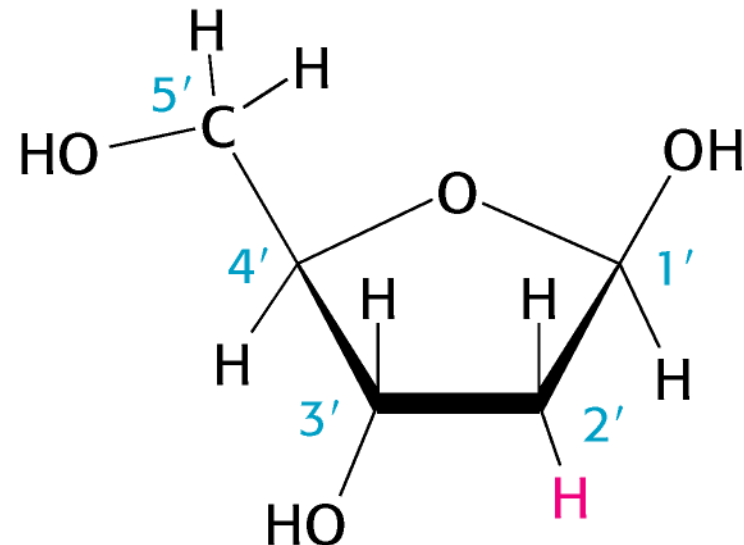
In configurazione β sempre ad anello

(numerazione con numeri apostrofati)



Ribosio

Nei ribonucleotidi e
negli acidi ribonucleici

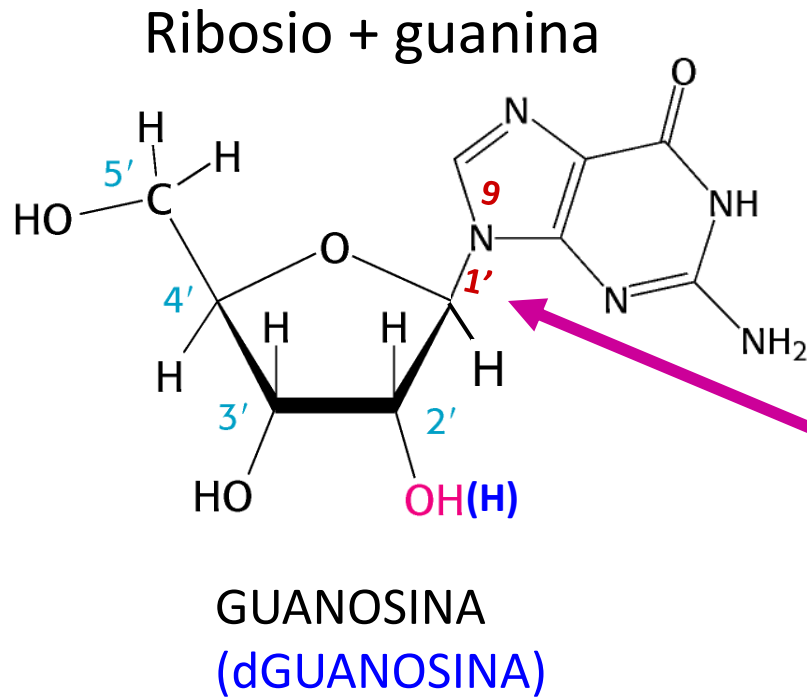


Deossiribosio

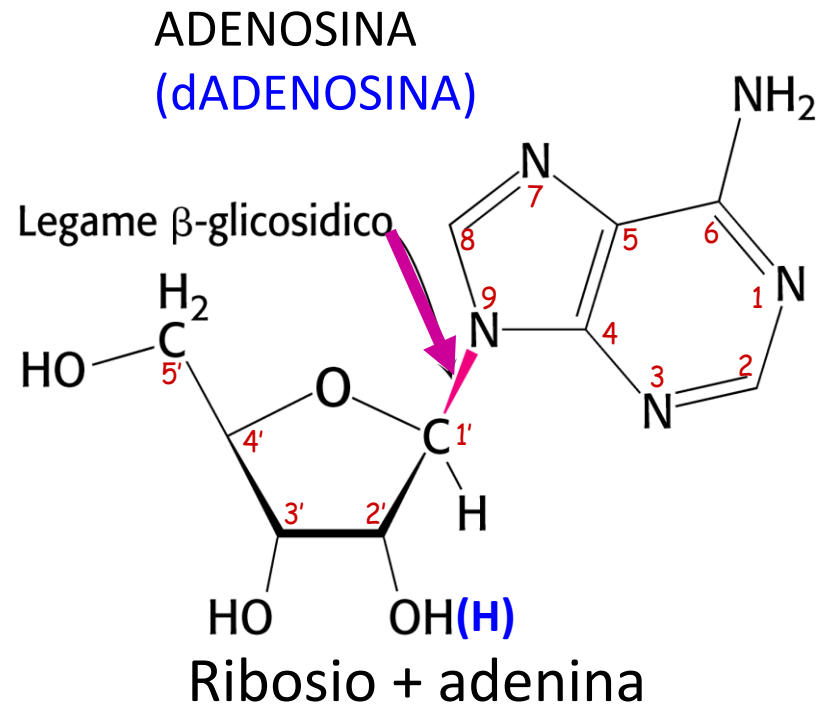
Nei deossi-ribonucleotidi e
negli acidi deossi-ribonucleici

Quando la base azotata si lega allo zucchero si ottiene un NUCLEOSIDE.

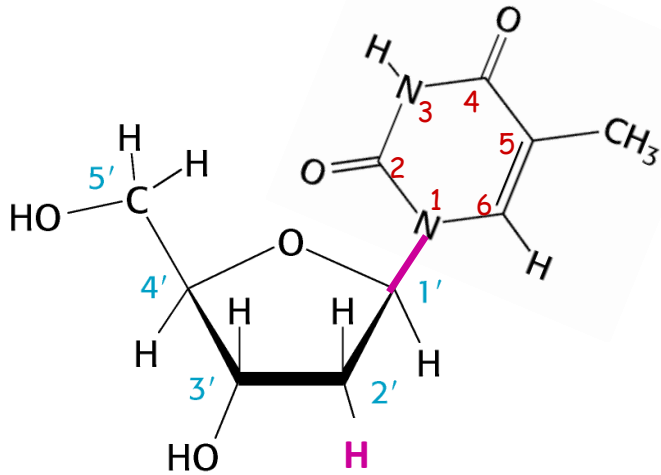
La base azotata è legata allo zucchero tramite un legame β -N-glicosidico



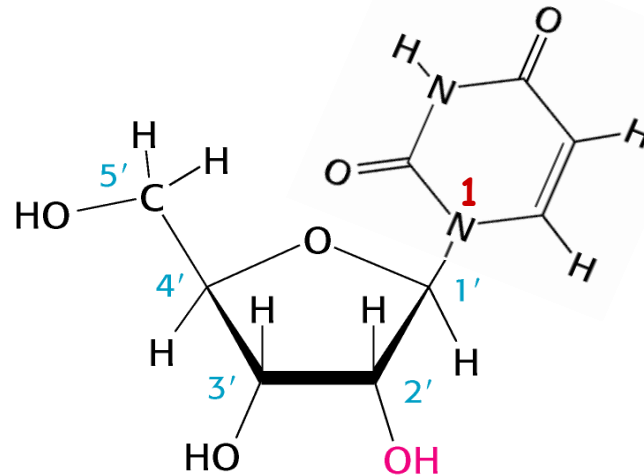
Nucleosidi purinici
Legame fra il carbonio anomero C-1' del ribosio e l'azoto N-9 della base azotata



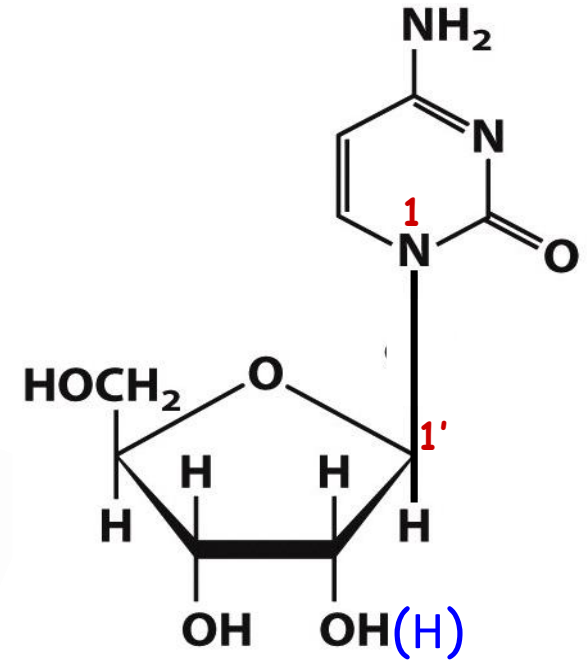
Nucleosidi pirimidinici: si formano dal legame β -N-glicosidico fra il C-1' (anomerico) dello zucchero e l'azoto N-1 della base azotata



dTIMIDINA
La timina si lega solo con il D-2deossi-RIBOSIO



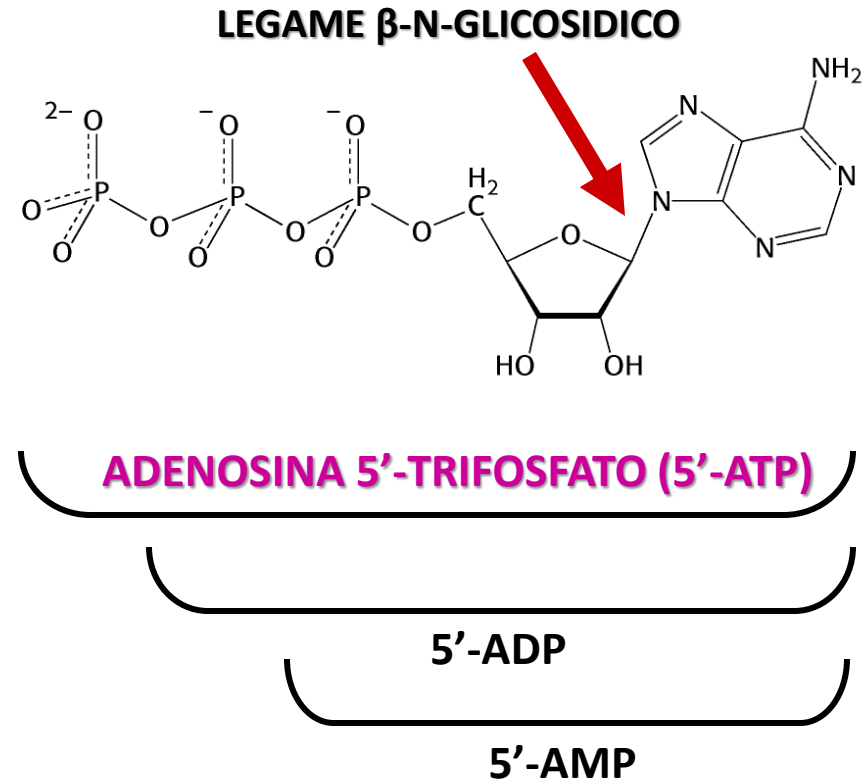
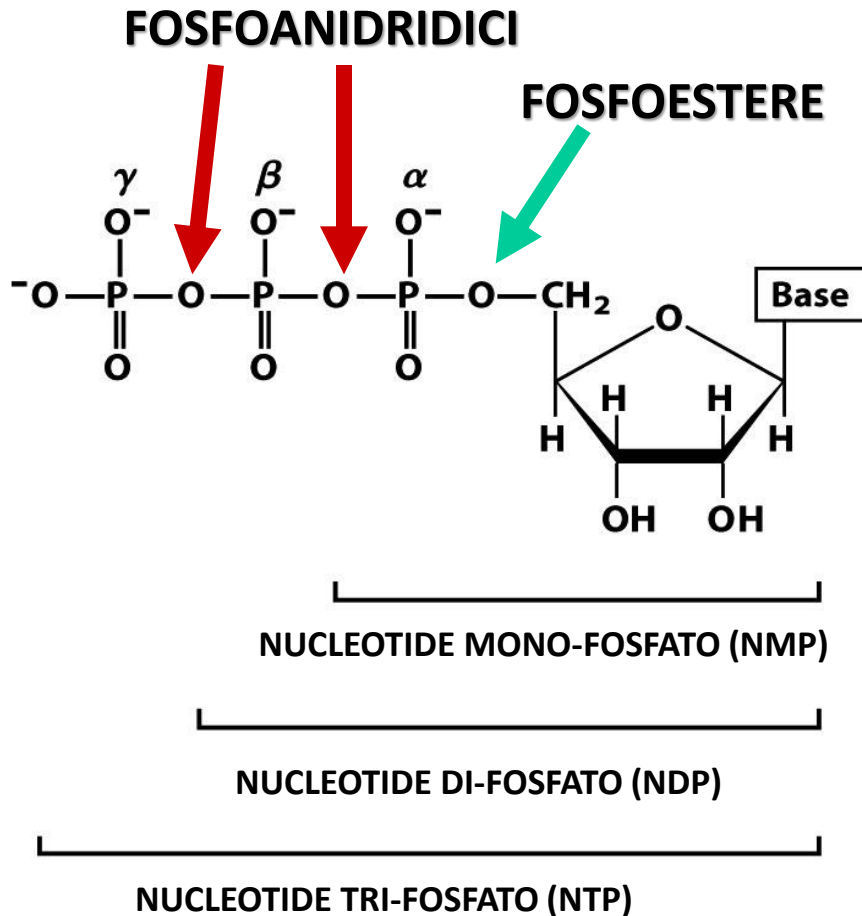
URIDINA
L'uracile si lega solo con il D-ribosio



CITIDINA
Si può legare con RIBOSIO o con 2-deossi-RIBOSIO

Quando il NUCLEOSIDE è fosforilato si costituisce il NUCLEOTIDE.

IL FOSFATO è legato allo ZUCCHERO tramite un legame FOSFOESTERE con il gruppo alcolico in C-5' del ribosio. Il legame fra il gruppo fosforico α e quello β e il legame fra il gruppo fosforico β e quello γ sono FOSFOANIDRIDICI, ad alto contenuto energetico.



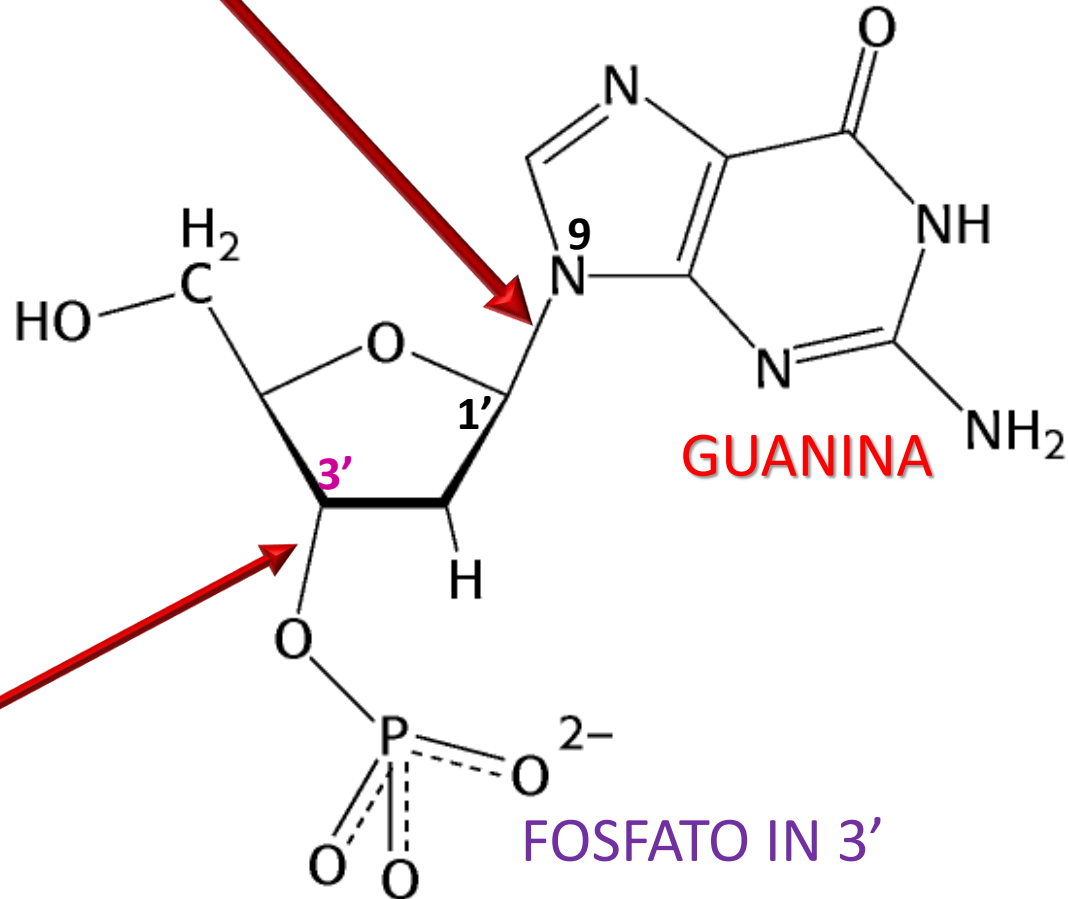
Le cellule contengono anche nucleotidi con gruppi P in posizioni diverse:

in posizioni diverse:

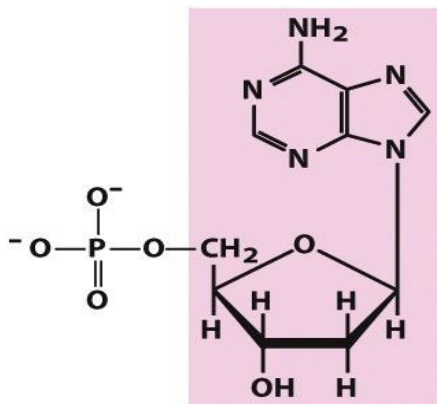
LEGAME β -N-GLICOSIDICO (1 \rightarrow 9)

D-deossi-Ribosio

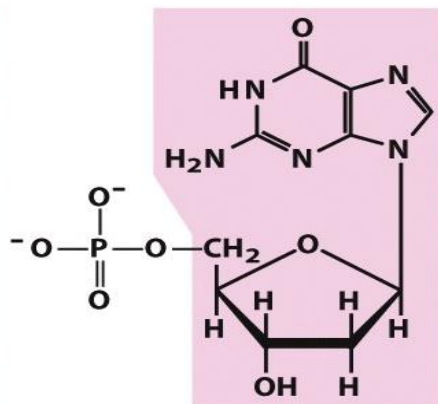
LEGAME ESTERE



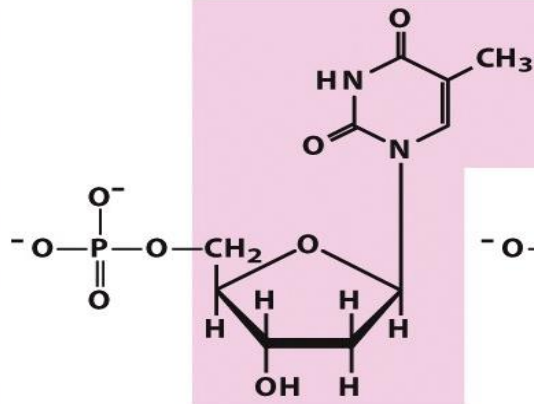
DEOSSIGUANOSINA-3'-
MONOFOSFATO (3'-dGMP)



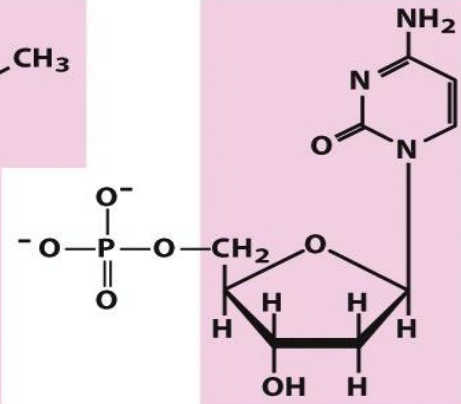
Deossi-adenosina
5'-monofosfato
A, dA, dAMP



Deossi-guanosina
5'-monofosfato
G, dG, dGMP

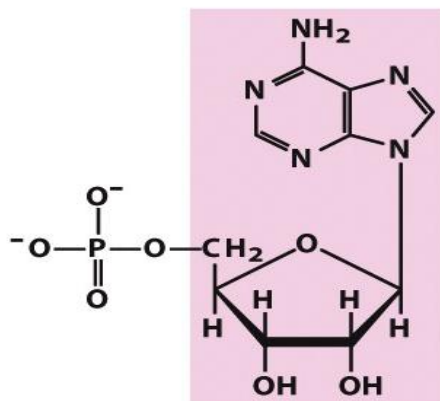


Deossi-timidina
5'-monofosfato
T, dT, dTMP

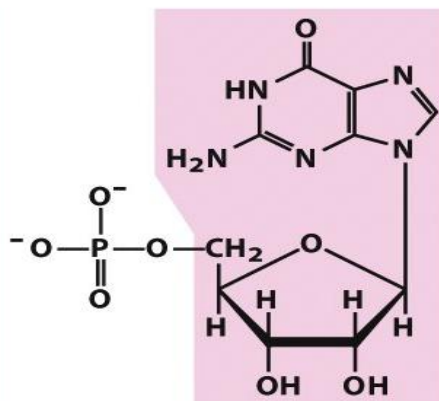


Deossi-citidina
5'-monofosfato
C, dC, dCMP

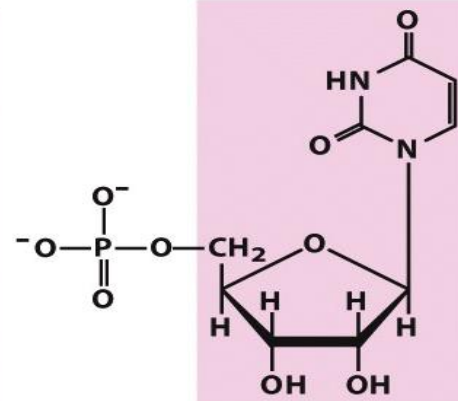
DEOSSIRIBONUCLEOTIDI 5'-monofosfato



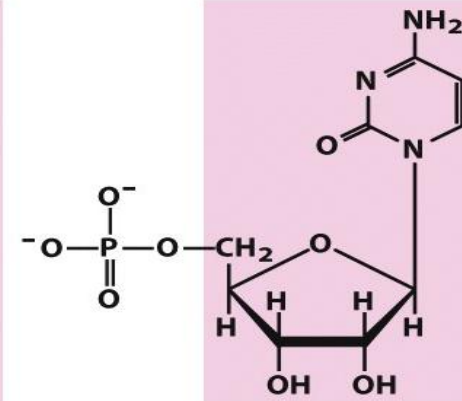
adenosina
5'-monofosfato
A, AMP



guanosina
5'-monofosfato
G, GMP



uridina
5'-monofosfato
U, UMP

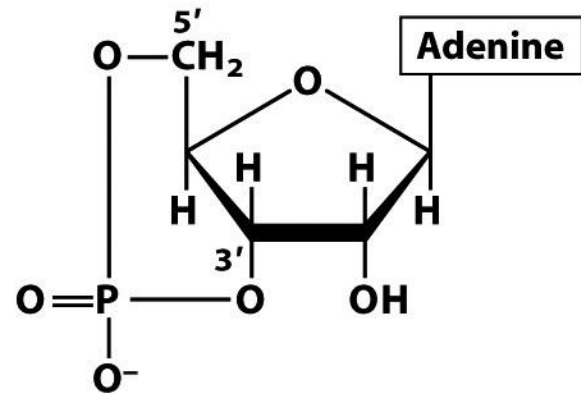


citidina
5'-monofosfato
C, CMP

RIBONUCLEOTIDI 5'-monofosfato

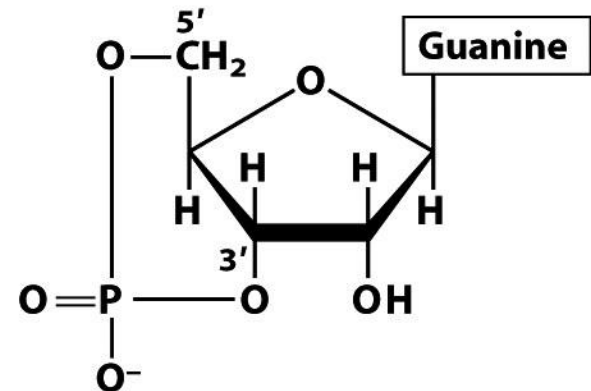
NUCLEOTIDI MONOFOSFATO CICLICI

Gruppo fosfato si lega il ribosio con 2 legami estere, in 5' e in 3'



AMP ciclico (cAMP)
Adenosina 3',5'-ciclico-
monofosfato

Secondi messaggeri cellulari, coinvolti nei processi di trasduzione del segnale.

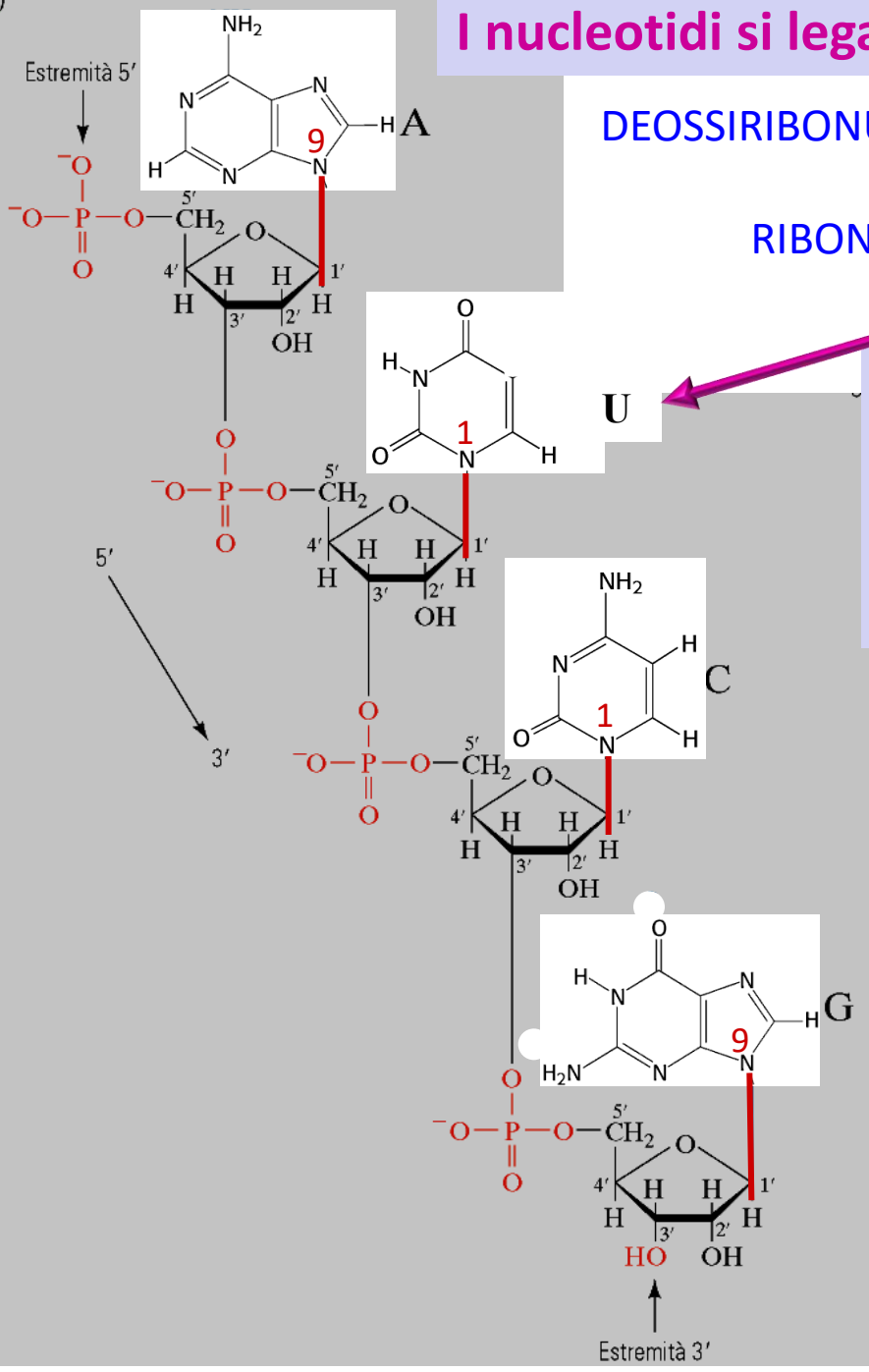


GMP ciclico (cGMP)
Guanosina 3',5'-ciclico-
monofosfato

I nucleotidi si legano tra loro a formare gli ACIDI NUCLEICI

DEOSSIRIBONUCLEOTIDI >>> AC. DEOSSIRIBONUCLEICI (DNA)

RIBONUCLEOTIDI >> AC. RIBONUCLEICI (RNA)



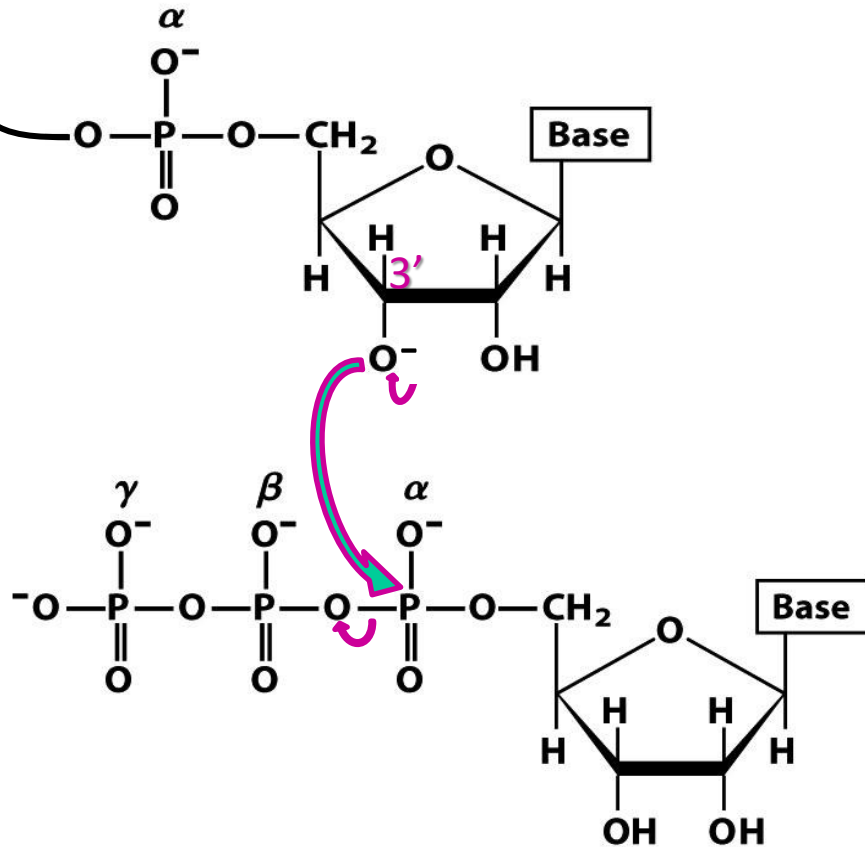
Gli ac. nucleici sono catene di nucleotidi legati attraverso un legame (o ponte) **FOSFODIESTERE** che si forma fra il gruppo OH in 3' di un nucleotide e il C-5' fosforilato del nucleotide successivo.

Lo scheletro dell'ac. Nucleico è formato dall'**alternanza di fosfato/ribosio (deossiribosio)**, e ogni zucchero dello scheletro lega una base azotata

Ogni catena polinucleotidica si differenzia dalle altre per la sua sequenza nucleotidica (sequenza di basi)

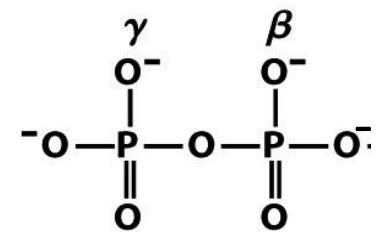
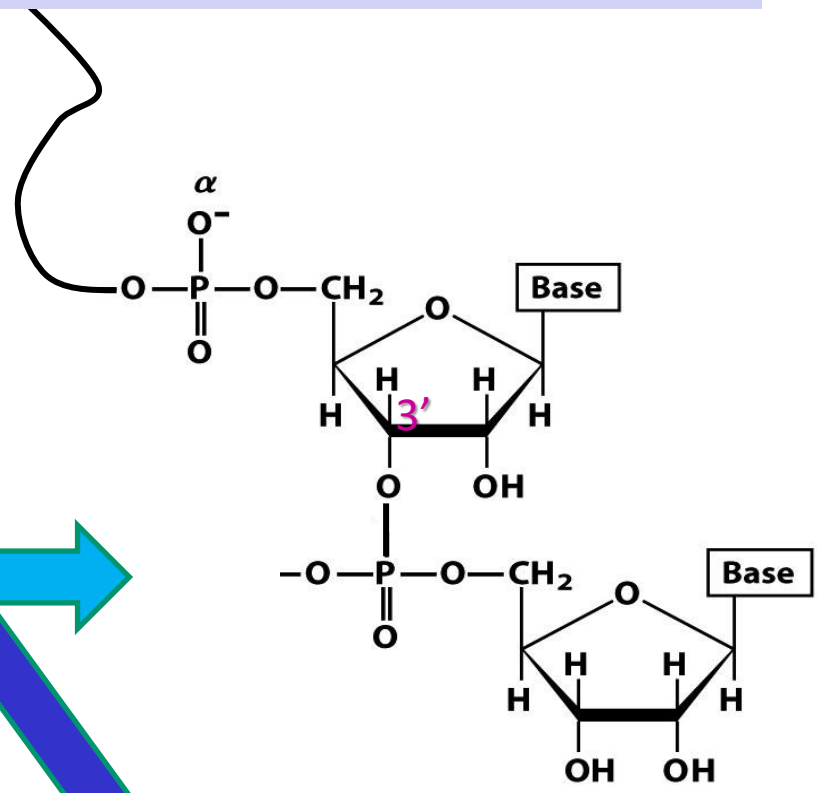
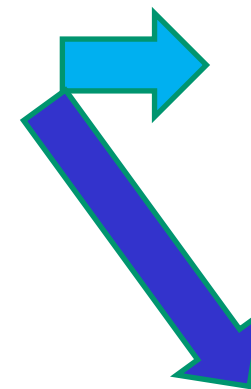
LEGAME FOSFODIESTERE

ESTREMITA' 3' DELLA CATENA
POLINUCLEOTIDICA



I nucleotidi si legano tra loro a formare
gli ACIDI NUCLEICI

+



PIROFOSFATO

Lo scheletro del DNA e dell'RNA è altamente idrofilico per via dei gruppi OH che formano legami H con l'H₂O, e dei gruppi fosfato carichi negativamente che interagiscono con proteine, ioni metallici o ammine.

→ Tutti i ponti fosfodiesterici 3'-5' hanno lo stesso orientamento lungo tutta la catena di DNA o di RNA, che quindi ha una sua polarità e parte dall'estremità 5' sino a giungere all'estremità 3'

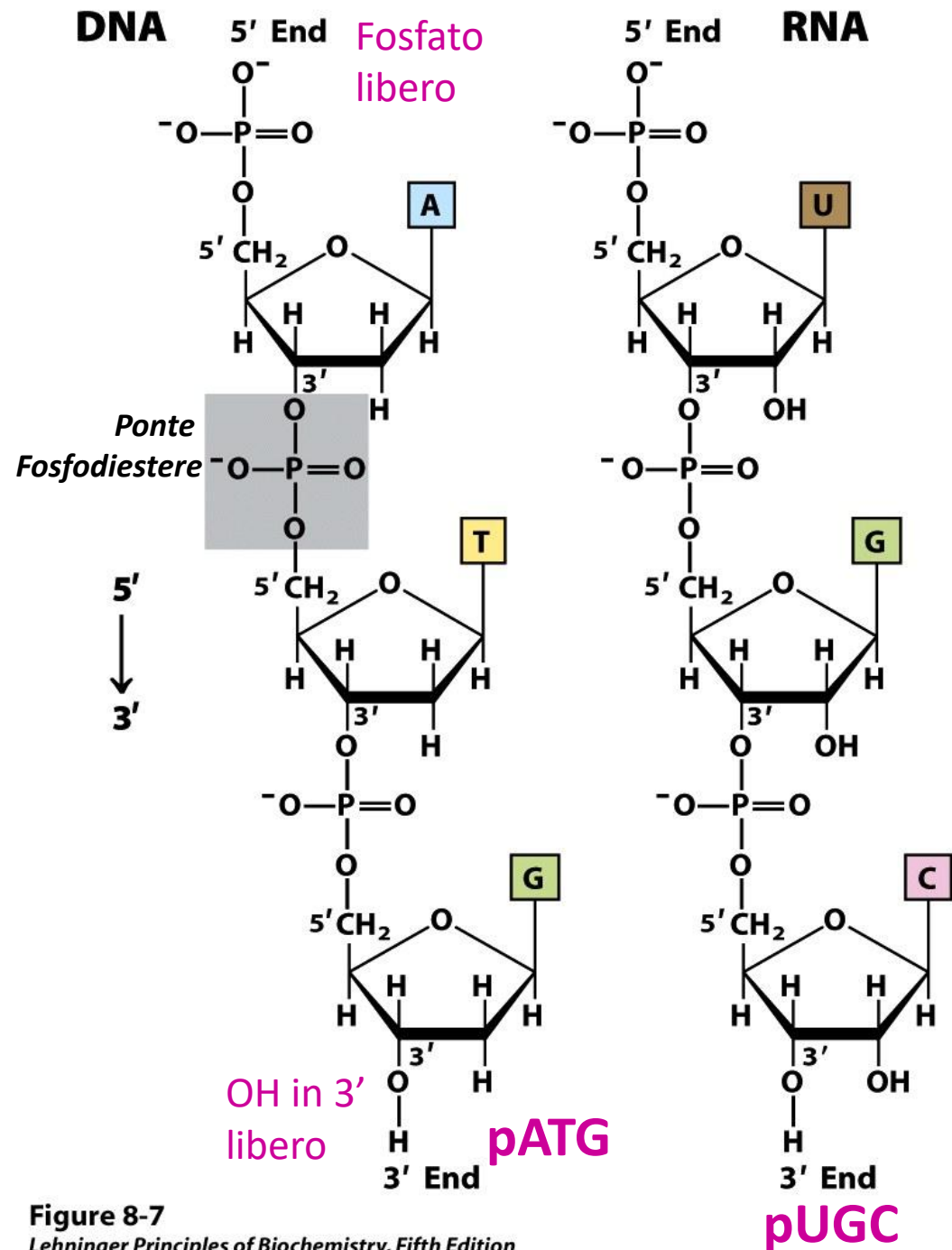


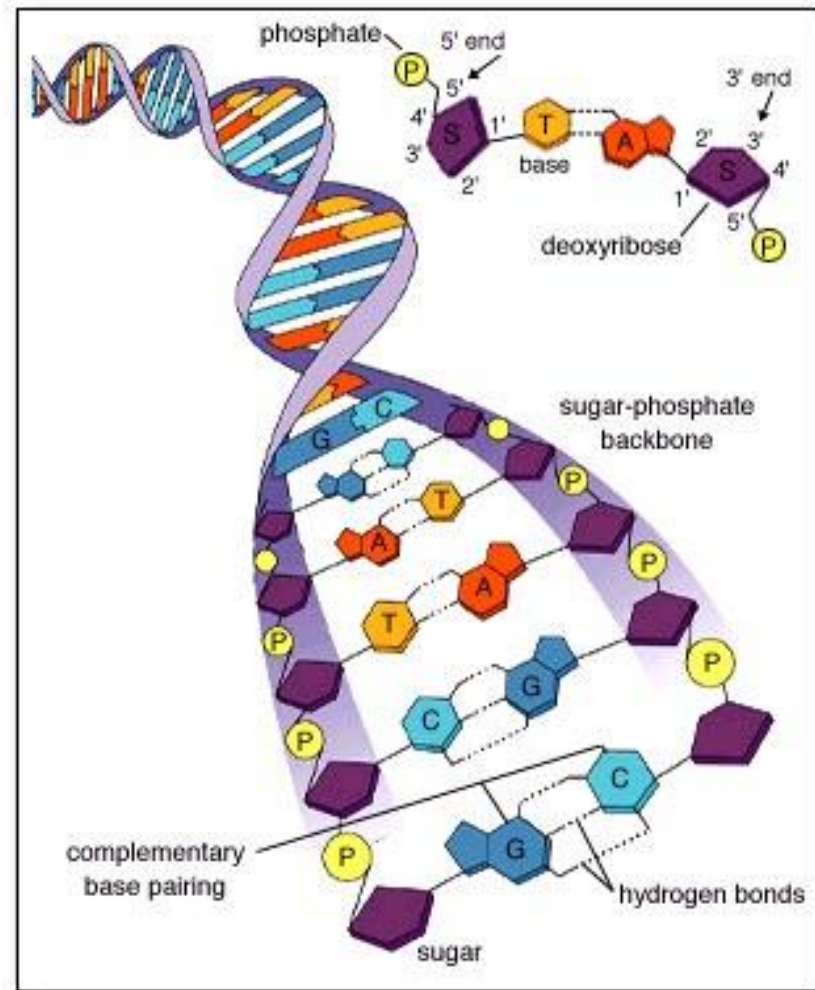
Figure 8-7

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

DNA (struttura di Watson e Crick)

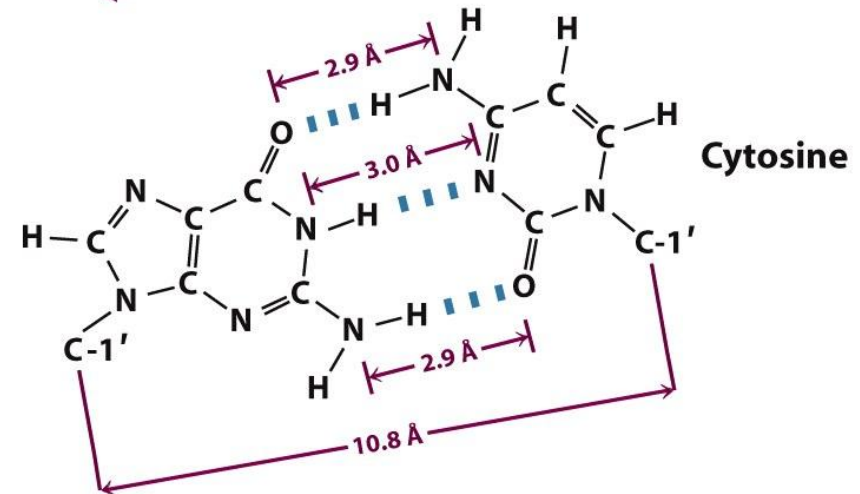
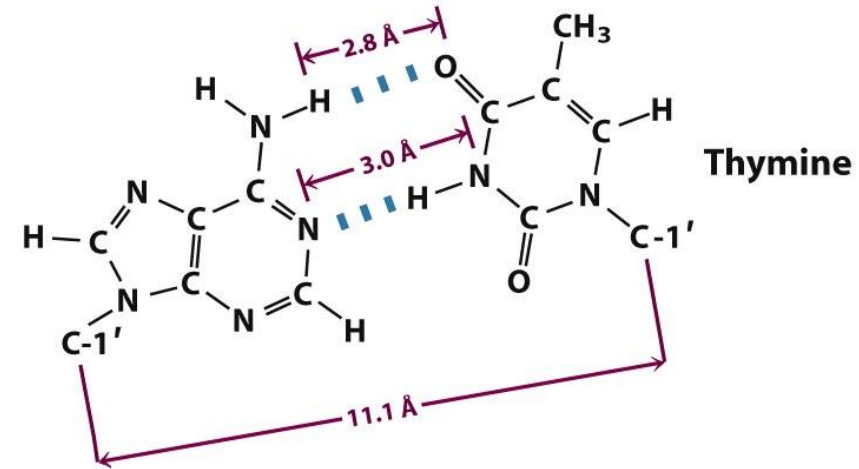
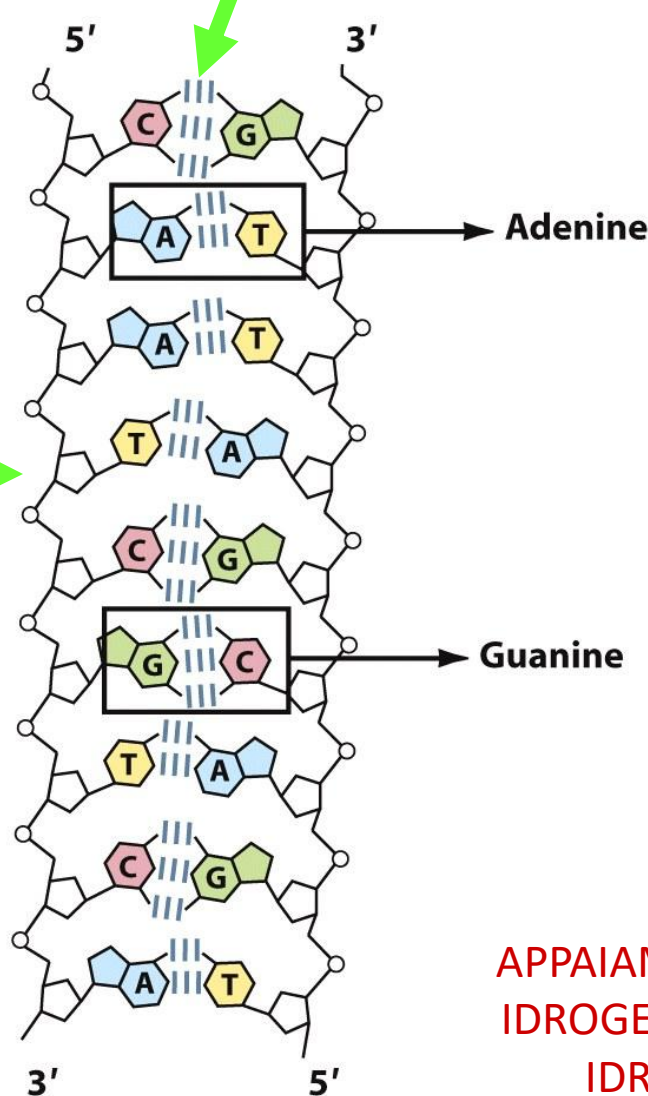
- ❖ Costituito da 2 catene lineari di deossiribonucleotidi, che si associano a formare un doppio filamento.
- ❖ I due filamenti si uniscono tramite legami idrogeno tra le loro basi azotate.
- ❖ L'appaiamento delle basi è altamente specifico: avviene tra basi complementari: **Guanina>Citosina**, **Adenina>Timina**.
- ❖ I due filamenti che costituiscono il DNA sono **COMPLEMENTARI**.
- ❖ In ogni molecola a doppio filamento di DNA, in qualsiasi specie vivente, **A e T, così come G e C, sono presenti in quantità equimolari** (regola di Chargaff)



- ❖ Tutte queste caratteristiche sono state dedotte a partire da osservazioni sperimentali e costruendo su queste un modello strutturale: B-DNA (Watson e Crick)

I due filamenti complementari del DNA sono antiparalleli: uno è in direzione 5'-3' e l'altro in direzione 3'-5'.

parte interna idrofobica

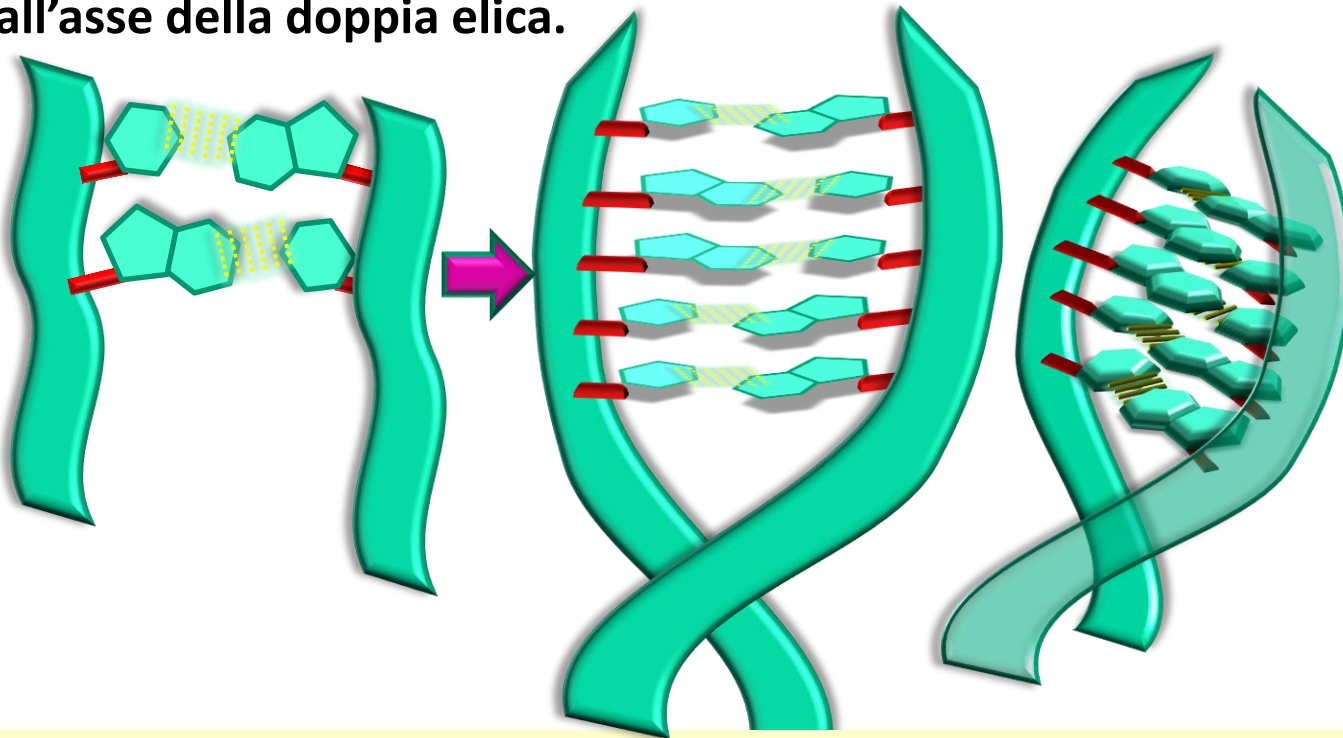


APPAIAMENTO DELLE BASI AZOTATE: 2 LEGAMI IDROGENO FRA ADENINA E TIMINA, 3 LEGAMI IDROGENO FRA GUANINA E CITOSINA

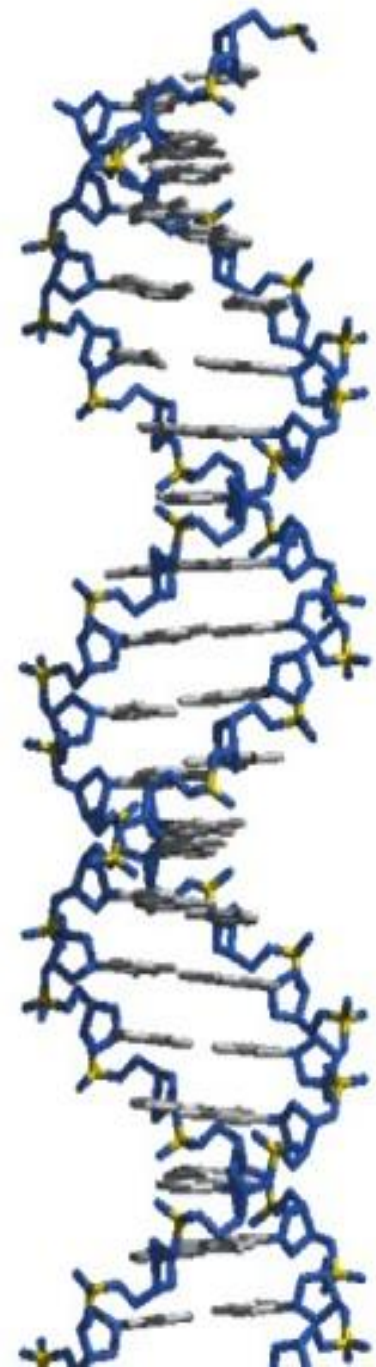
Figure 8-11
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Il doppio filamento si avvolge su se stesso a formare una doppia elica destrorsa

In seguito all'appaiamento, le coppie di basi si **IMPILANO** l'una sull'altra e si dispongono quasi **PERPENDICOLARMENTE** all'asse della doppia elica.



L'impilamento delle coppie di basi è stabilizzato da interazioni da impaccamento (idrofobiche e di van der Waals) che inducono la rotazione destrorsa degli scheletri zuccherofosfato.



RNA (AC. RIBONUCLEICO)

- Struttura a **singolo filamento** polinucleotidico.
- **Uracile (U)** in sostituzione di **timina (T)**
- **Ribosio** al posto di **deossi-ribosio**

La **Conformazione** può essere:

1) **casuale** in presenza di sostanze denaturanti

2) **elica a singolo filamento**

(impilamento delle basi e stabilizzazione tramite forze di van der Waals e idrofobiche)

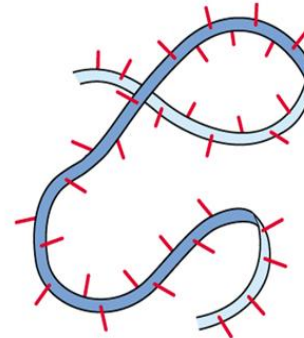
3) se la catena polinucleotidica possiede **regioni**

AUTOCOMPLEMENTARI

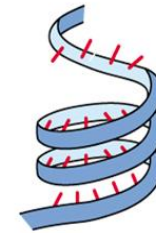
(appaiamenti A::U e G::C)

si formano delle strutture a

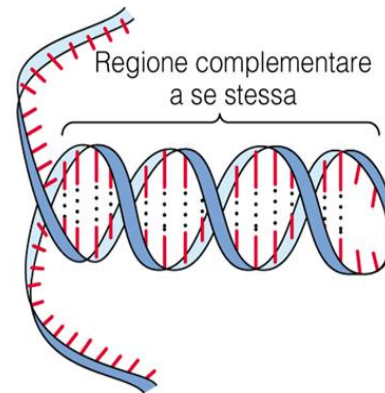
forcina a doppia elica



(a) Struttura ad avvolgimento casuale



(b) Struttura con le basi impilate (elica a singolo filamento)



(c) Formazione di una forcina in una regione di autoappaiamento (doppia elica)

Classi principali di RNA

- a) RNA RIBOSOMIALE (rRNA):** costituisce i ribosomi insieme a specifiche proteine (ribonucleoproteine). Coinvolti nel processo di traduzione del codice genetico (sintesi proteica). ca 80% dell'RNA cellulare
- b) RNA transfer (tRNA):** RNA con funzione di trasporto, legano gli amminoacidi e li trasferiscono ai ribosomi perché siano incorporati nelle proteine nascenti. Contengono basi minori. ca 15% dell'RNA cellulare
- c) RNA messaggero (mRNA):** codificano la sequenza amminoacidica di una proteina, trasportano l'informazione per la sintesi proteica dal DNA ai ribosomi. Un'mRNA è sintetizzato sullo stampo di una regione di DNA che codifica per una data proteina (gene). 5-10% dell'RNA cellulare
- d) Small RNA (sRNA):** sono piccole molecole di RNA con funzione catalitica, intervengono nei processi di modificazione del tRNA o dell'mRNA dopo la loro sintesi.

ENZIMI:

- Le reazioni nei sistemi biologici avverrebbero troppo lentamente senza la **catalisi**.
- Assicurare un efficiente metabolismo
- Enzimi funzionano da **catalizzatori biologici** nelle reazioni cellulari
- Sono **PROTEINE GLOBULARI** (fanno eccezione i ribozimi a RNA)
 - **Aumentano la velocità di una reazione** =favoriscono una reazione
 - .Aumentano la Velocità di una reazione di 10^6-10^{20} volte rispetto alla velocità delle reazioni non catalizzata)
 - I catalizzatori non enzimatici aumentano le velocità di una reazione di 10^2-10^4 volte.

table 8-5

Some Rate Enhancements Produced by Enzymes

Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

Proprietà degli Enzimi

Specificità molto elevata:

- Distinguono tra stereoisomeri di uno stesso composto
- Catalizzano un solo tipo di reazione o reazioni affini.

■ lavorano in condizioni blande di temperatura e pH

Condizioni di reazione più blande rispetto alla catalisi chimica

($T < 100^{\circ}\text{C}$; pH neutro, pressione atmosferica).

■ Le reazioni avvengono all'interno di siti specifici «siti attivi»

Proprietà degli Enzimi

Molti enzimi sono regolati

Le attività catalitiche variano in risposta alla concentrazione di sostanze diverse dal substrato

- Quando un enzima funziona correttamente **non si formano mai prodotti secondari di reazione** (che potrebbero essere potenzialmente tossici per la cellula)

Durante la reazione l'enzima può essere **temporaneamente modificato** ma alla fine del processo ritorna nel suo stato originario, un enzima viene **«riciclato»** in modo da poter prendere parte alla stessa reazione numerose volte.

Importanza della catalisi:

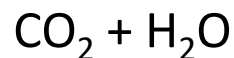
ENZIMI:



Presenza di ossigeno



Tempi lunghissimi (anni)



Reazione estremamente
ESOERGONICA



Rilascia energia per le
funzioni del nostro organismo
In pochi secondi.

Gli enzimi sono Proteine globulari

Struttura primaria, secondaria, terziaria e quaternaria



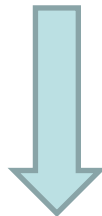
Fondamentali per l'attività catalitica

Enzimi non hanno necessità di gruppi chimici

Enzimi che hanno necessità di gruppi chimici (Cofattori)

- **Cofattori inorganici:** Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}
- se debolmente legati (K, Mg, o Ca) partecipano al legame del substrato (enzimi attivati da metallo).
- se strettamente legati (Fe, Zn, e Co) partecipano direttamente alla reazione (metalloenzimi).

- **Cofattori organici (Coenzimi):** molecole organiche o metallorganiche



Precursori di vitamine o metaboliti.

Legano covalentemente la proteina viene definito *gruppo prostetico*

TABELLA 11.6 Metalli ed elementi presenti in tracce che risultano importanti come cofattori enzimatici

Metallo	Enzima	Ruolo del metallo
Fe	Citocromo ossidasi	Ossidazione/riduzione
Cu	Acido ascorbico ossidasi	Ossidazione/riduzione.
Zn	Alcol deidrogenasi	Favorisce il legame del NAD ⁺
Mn	Istidina ammonio-liasi	Contribuisce alla catalisi per sottrazione di elettroni
Co	Glutammato mutasi	Co è parte del coenzima cobalamina
Ni	Ureasi	Sito catalitico
Mo	Xantina ossidasi	Ossidazione/riduzione?
V	Nitrato riduttasi	Ossidazione/riduzione?
Se	Glutatione perossidasi	Sostituisce un S in una cisteina del sito attivo

Vitamin	Coenzyme	Reactions Involving These Coenzymes
Thiamine (vitamin B ₁)	Thiamine pyrophosphate	Activation and transfer of aldehydes
Riboflavin (vitamin B ₂)	Flavin mononucleotide; flavin adenine dinucleotide	Oxidation–reduction
Niacin (B3)	Nicotinamide adenine dinucleotide; nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	Oxidation–reduction
Pantothenic acid (B5)	Coenzyme A	Acyl group activation and transfer
Pyridoxine (B6)	Pyridoxal phosphate	Various reactions involving amino acid activation
Biotin (B7)	Biotin	CO ₂ activation and transfer
Lipoic acid	Lipoamide	Acyl group activation; oxidation–reduction
Folic acid (B9)	Tetrahydrofolate	Activation and transfer of single-carbon functional groups
Vitamin B ₁₂ Cobalamina	Adenosyl cobalamin; methyl cobalamin	Isomerizations and methyl group transfers

MOLTI COENZIMI SONO DERIVATI DALLE VITAMINE

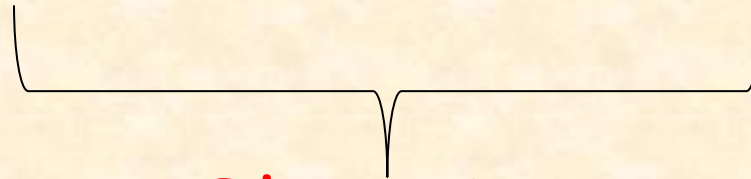
<u>Coenzyme</u>	<u>Reaction catalyzed</u>	<u>Vitamin source</u>
Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfers- decarboxilation	Thiamine (Vitamin B ₁)
Flavin adenine dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (electron transfers)	Riboflavin (Vitamin B ₂)
Nicotinamide adenine dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (hydride transfers)	Nicotinamide (niacin) (B3)
Coenzyme A	Acyl transfers	Pantothenic acid (B5)
Pyridoxal phosphate	Amino group transfers	Pyridoxine (Vitamin B ₆)
Coenzyme B ₁₂	Alkylation reactions	Cobalamin (Vitamin B ₁₂)
Biocytin	Carboxylation reactions	Biotin (B7)
Tetrahydrofolic acid	One-carbon transfers	Folic acid
Lipoic acid	Acyl transfers	—

Struttura generale degli enzimi

Parte proteica:

Apoenzima o apoteina

+ **Parte non-proteica**



Oloenzima





Sito attivo: rivestito da residui aminoacidici che legano il substrato e catalizzano la reazione

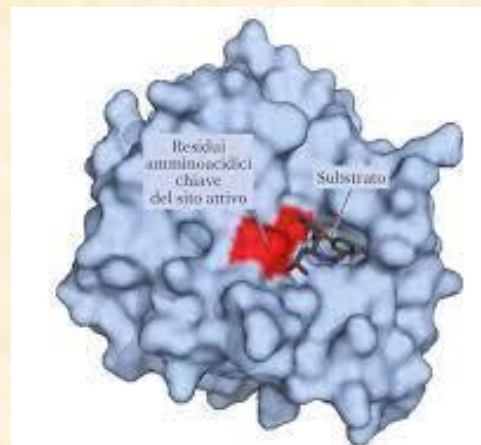


Figura 6.1 Legame di un substrato al sito attivo di un enzima. L'enzima mostrato è la chimotripsina, col substrato legato. Alcuni residui importanti nel sito attivo sono indicati dalla macchia rossa sulla superficie dell'enzima. [Fonte: PDB ID: 7GCH, K. Brady et al., *Biochemistry* 29:7600, 1990.]

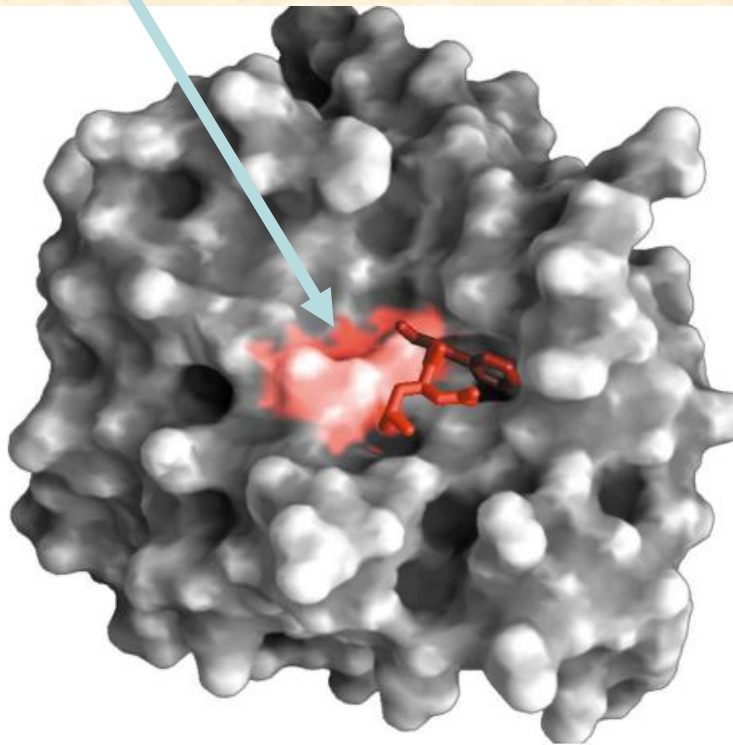
Gli enzimi sono Proteine globulari

Struttura primaria, secondaria, terziaria e quaternaria

Fondamentali per l'attività catalitica

Possono avere dimensioni variabili

sito attivo o sito catalitico



Alterazioni in siti distanti dal sito attivo possono ridurre o annullare l'attività dell'enzima

Nomenclatura enzimi

I nomi venivano assegnati sulla base del nome del substrato

Ureasi (catalizza l'idrolisi dell'urea)

Pepsina (dal greco digestione)

Lisozima (capacità di lisare la parete batterica)

DNA polimerasi (catalizza la polimerizzazione dei nucleotidi per formare il DNA)

Il numero degli enzimi identificati aumentavano

IUB= International Union of Biochemistry



Classificazione degli enzimi

Alcuni nomi tradizionali ancora utilizzati:

Pepsina

Enzima proteolitico del succo gastrico.

Deriva dal *pepsinogeno*.

La trasformazione del pepsinogeno in pepsina è indotta dall'acido cloridrico gastrico

Papaina

Enzima proteolitico della classe delle idrolasi (proteasi).

Prodotta dai frutti della papaia,



Nomenclatura enzimi

Nel 1961 la Commissione per gli Enzimi (EC) dell'Unione Internazionale di Biochimica propone un sistema di nomenclatura e classificazione basato sul tipo di reazione catalizzata e sul nome del substrato di ciascun enzima.

Suffisso –asi dal nome del substrato.

Nomenclatura enzimi

Suffisso **-asi** dal nome del substrato.

Gli enzimi sono suddivisi in 6 classi (sulla base della reazione chimica catalizzata)

-NOME SISTEMATICO (classificazione EC a quattro cifre)

-NOME COMUNE

1. Ossidoreduttasi Catalizzano delle reazioni di ossidoriduzione, per esempio:

$$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\text{C}}-\text{H}-\text{COO}^- + \text{NAD}^+ \xrightleftharpoons[\text{Lattato deidrogenasi}]{\text{Lattato}} \text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Lattato Piruvato

2. Transferasi Catalizzano il trasferimento di gruppi contenenti C, N o P, per esempio:

$$\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{C}}-\text{H}-\text{COO}^- + \text{THF} \xrightleftharpoons[\text{Serina idrossimetil transferasi}]{\text{Serina}} \text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{THF}^+$$

Serina Glicina

3. Idrolasi Catalizzano la scissione dei legami mediante l'aggiunta di acqua, per esempio:

$$\text{NH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Ureasi}} \text{CO}_2 + 2 \text{NH}_3$$

Urea

4. Liasi Catalizzano la scissione dei legami C-C, C-S e di certi legami C-N, per esempio:

$$\text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- \xrightarrow[\text{Piruvato decarbossilasi}]{\text{Piruvato}} \text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{H} + \text{CO}_2$$

Piruvato Acetaldeide

5. Isomerasi Catalizzano la racemizzazione di isomeri ottici o geometrici, per esempio:

$$\text{OOC}-\underset{\text{O}}{\text{C}}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CoA} \xrightleftharpoons[\text{Metilmalonil CoA mutasi}]{\text{Metilmalonil CoA}} \text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CoA}$$

Metilmalonil CoA Succinil CoA

6. Ligasi Catalizzano la formazione di legami tra carbonio e O, S o N, accoppiata all'idrolisi di fosfati ad alta energia, per esempio:

$$\text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{CO}_2 \xrightarrow[\text{Piruvato carbossilasi}]{\text{Piruvato}} \text{OOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$$

Piruvato Ossalacetato

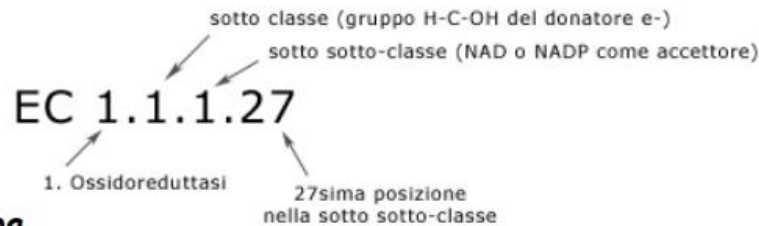
Classificazione EC a quattro cifre E.C: A,B,C,D)

A: classe di appartenenza

B: sottoclasse (tipo di substrato)

C: sotto sotto-classe (tipo di accettore, coenzima)

D: numero di serie dell'enzima (posizione dell'enzima nella sotto sottoclasse)



Esempio di numerazione di un enzima.

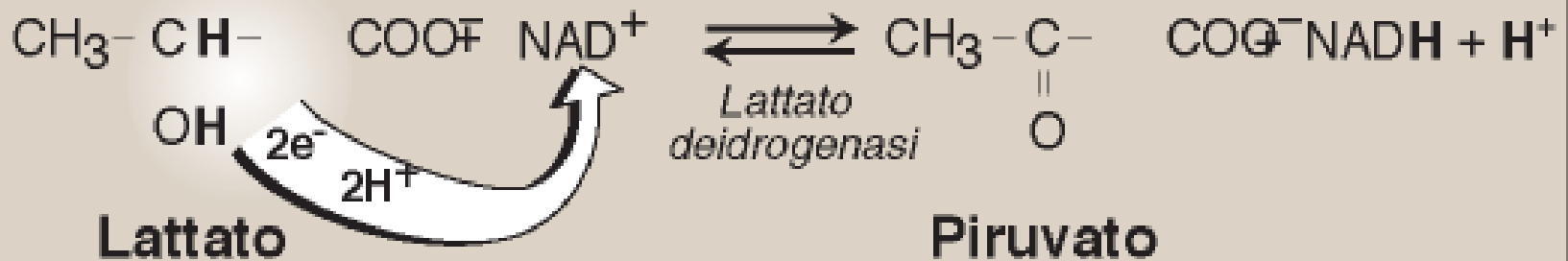
L'enzima è la lattico deidrogenasi; nome sistematico: L-lattato:NAD ossidoreduttasi

La reazione è : L-lattato + NAD+ = piruvato + NADH + H+

<p>1. Ossidoreduttasi</p> <p>Catalizzano delle reazioni di ossidoriduzione, per esempio:</p> $\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{COO}^- + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p>Lattato Piruvato</p> <p><i>Lattato deidrogenasi</i></p>
<p>2. Transferasi</p> <p>Catalizzano il trasferimento di gruppi contenenti C, N o P, per esempio:</p> $\text{CH}_2=\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{COO}^- + \text{THF} \rightleftharpoons \text{CH}_2-\underset{\text{NH}_3^+}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{THF}$ <p>Serina Glicina</p> <p><i>Serina idrossimetil transferasi</i></p>
<p>3. Idrolasi</p> <p>Catalizzano la scissione dei legami mediante l'aggiunta di acqua, per esempio:</p> $\text{NH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2 \text{NH}_3$ <p>Urea </p> <p><i>Ureasi</i></p>
<p>4. Liasi</p> <p>Catalizzano la scissione dei legami C-C, C-S e di certi legami C-N, per esempio:</p> $\text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- \rightarrow \text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{CH}} + \text{CO}_2$ <p>Piruvato Acetaldeide</p> <p><i>Piruvato decarbossilasi</i></p>
<p>5. Isomerasi</p> <p>Catalizzano la racemizzazione di isomeri ottici o geometrici, per esempio:</p> $\text{OOC}-\underset{\text{O}}{\text{CH}}(\text{CH}_3)-\text{C}-\text{CoA} \rightleftharpoons \text{OOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CoA}$ <p>Metilmalonil CoA Succinil CoA</p> <p><i>Metilmalonil CoA mutasi</i></p>
<p>6. Ligasi</p> <p>Catalizzano la formazione di legami tra carbonio e O, S o N, accoppiata all'idrolisi di fosfati ad alta energia, per esempio:</p> $\text{CH}_3-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{OOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ <p>Piruvato Ossalacetato</p> <p><i>Piruvato carbossilasi</i></p>

1. Ossidoreduttasi

Catalizzano delle reazioni di ossidoriduzione, per esempio:



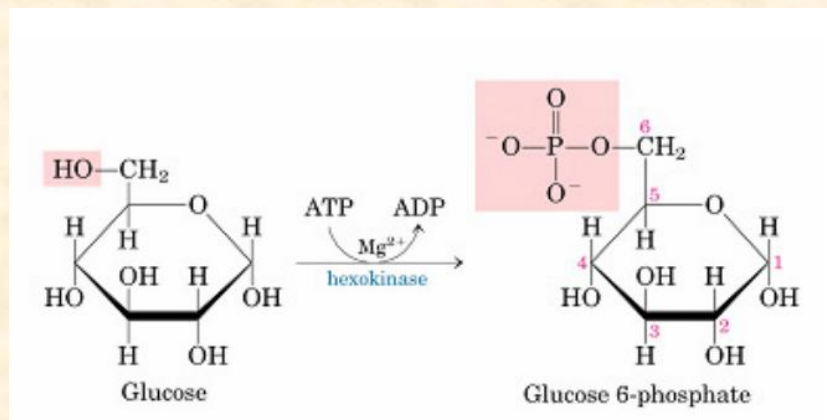
2. Transferasi

Catalizzano il trasferimento di gruppi contenenti C, N o P, per esempio:

ATP + Glucosio \rightarrow ADP + Glucosio 6-fosfato

Enzima: transferasi (E.C. ., 2.7.1.1)

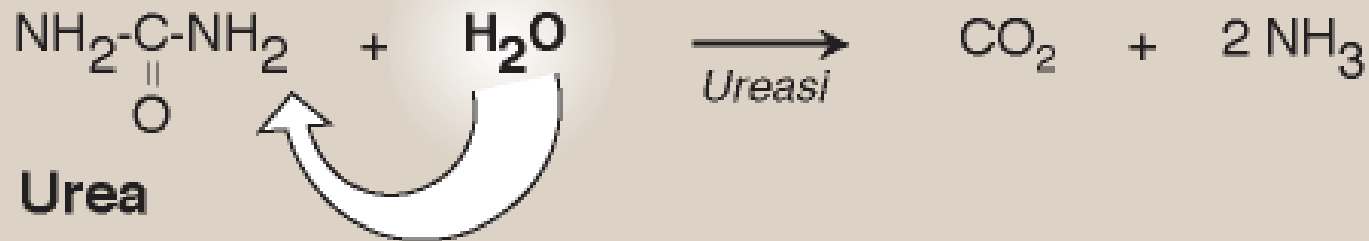
Nome comune: Esochinasi



- **classe** (reazione catalizzata): transferasi **2**
- **sottoclasse** (substrato o legame coinvolto): fosfotransferasi **7**
trasferimento di un gruppo fosfato
- **sotto-sottoclasse**: un gruppo **ossidrilico** come accettore **1**
- **numero di serie** nell'ambito della sotto-sottoclasse **1**

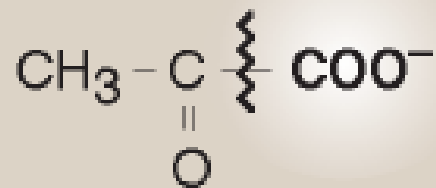
3. Idrolasi

Catalizzano la scissione dei legami mediante l'aggiunta di acqua, per esempio:



4. Liasi

Catalizzano la scissione dei legami C–C, C–S e di certi legami C–N, per esempio:



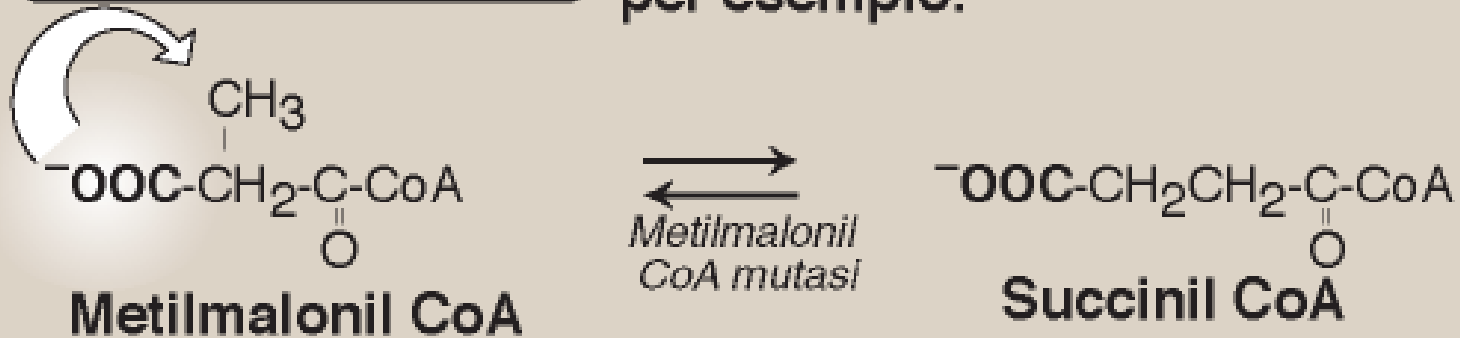
Piruvato



Acetaldeide

5. Isomerasi

Catalizzano la racemizzazione di isomeri ottici o geometrici, per esempio:



6. Ligasi

Catalizzano la formazione di legami tra carbonio e O, S o N, accoppiata all'idrolisi di fosfati ad alta energia, per esempio:

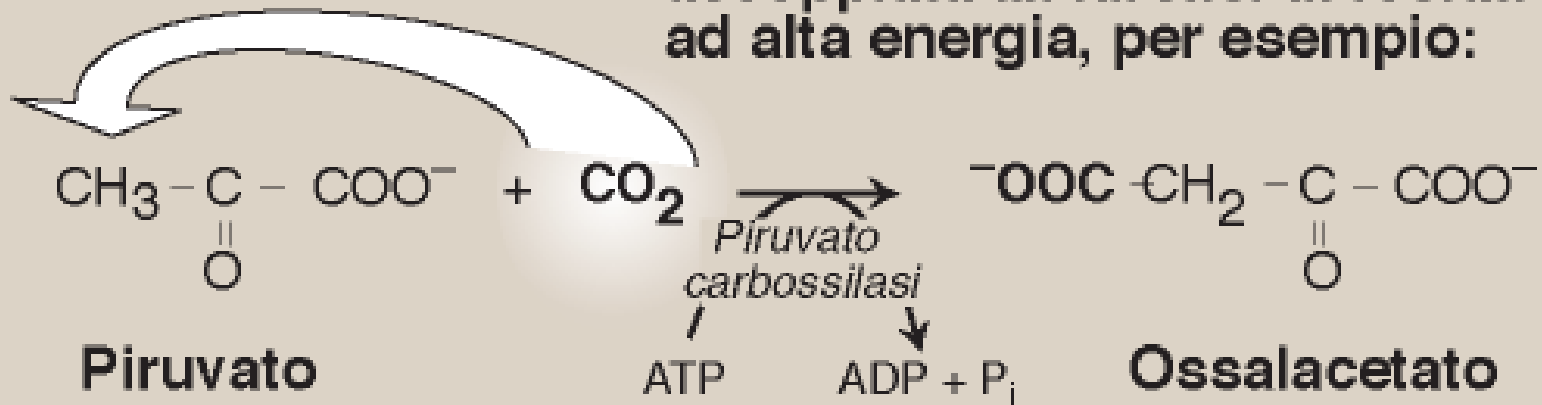
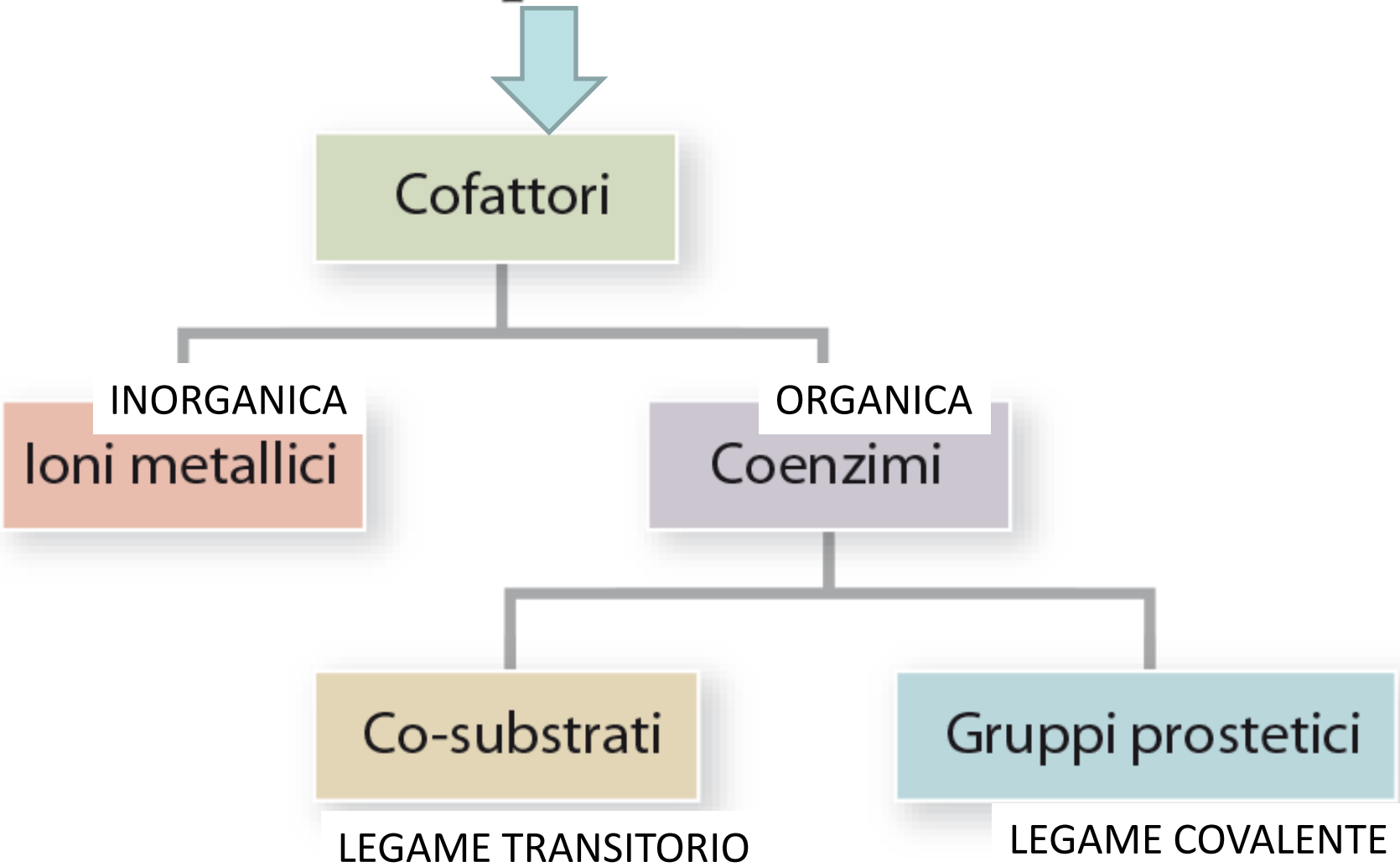


TABELLA 13.1 Classificazione sistematica degli enzimi secondo la commissione per gli enzimi

Numero E.C.	Nome sistematico e sottoclassi	Numero E.C.	Nome sistematico e sottoclassi
1	<i>Ossidoriduttasi</i> (reazioni di ossido-riduzione)	4	<i>Liasi</i> (scissione del legame con mezzi diversi dall'idrolisi o dall'ossidazione)
1.1	Azione sul gruppo CH-OH dei donatori		
1.1.1	Con NAD o NADP come accettore	4.1	Liasi C-C
1.1.3	Con O ₂ come accettore	4.1.1	Carbossi liasi
1.2	Azione sul gruppo $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$ dei donatori	4.1.2	Aldeide liasi
1.2.3	Con O ₂ come accettore	4.2	Liasi C-O
1.3	Azione sul gruppo di donatori CH-CH	4.2.1	Idrolasi
1.3.1	Con NAD o NADP come accettore	4.3	Liasi C-N
2	<i>Transferasi</i> (trasferimento di gruppi funzionali)	4.3.1	Ammonio liasi
2.1	Trasferimento di gruppi C-1	5	<i>Isomerasi</i> (reazioni di isomerizzazione)
2.1.1	Metiltransferasi	5.1	Racemasi ed epimerasi
2.1.2	Idrossimetiltransferasi e formiltransferasi	5.1.3	Azione sui carboidrati
2.1.3	Carbossiltransferasi e carbamoiltransferasi	5.2	Isomerasi <i>cis-trans</i>
2.2	Trasferimento di residui aldeidici o chetonici	6	<i>Ligasi</i> (formazione di legami con scissione di ATP)
2.3	Aciltransferasi	6.1	Formazione di legami C-O
2.4	Glicosiltransferasi	6.1.1	Amminoacido-RNA ligasi
2.6	Trasferimento di gruppi contenenti N	6.2	Formazione di legami C-S
2.6.1	Amminotransferasi	6.3	Formazione di legami C-N
2.7	Trasferimento di gruppi contenenti P	6.4	Formazione di legami C-C
2.7.1	Con un gruppo alcolico come accettore	6.4.1	Carbossilasi
3	<i>Idrolasi</i> (reazioni di idrolisi)		
3.1	Scissione del legame estere		
3.1.1	Idrolasi di esteri carbossilici		
3.1.3	Idrolasi monoesterica fosforica		
3.1.4	Idrolasi diesterica fosforica		

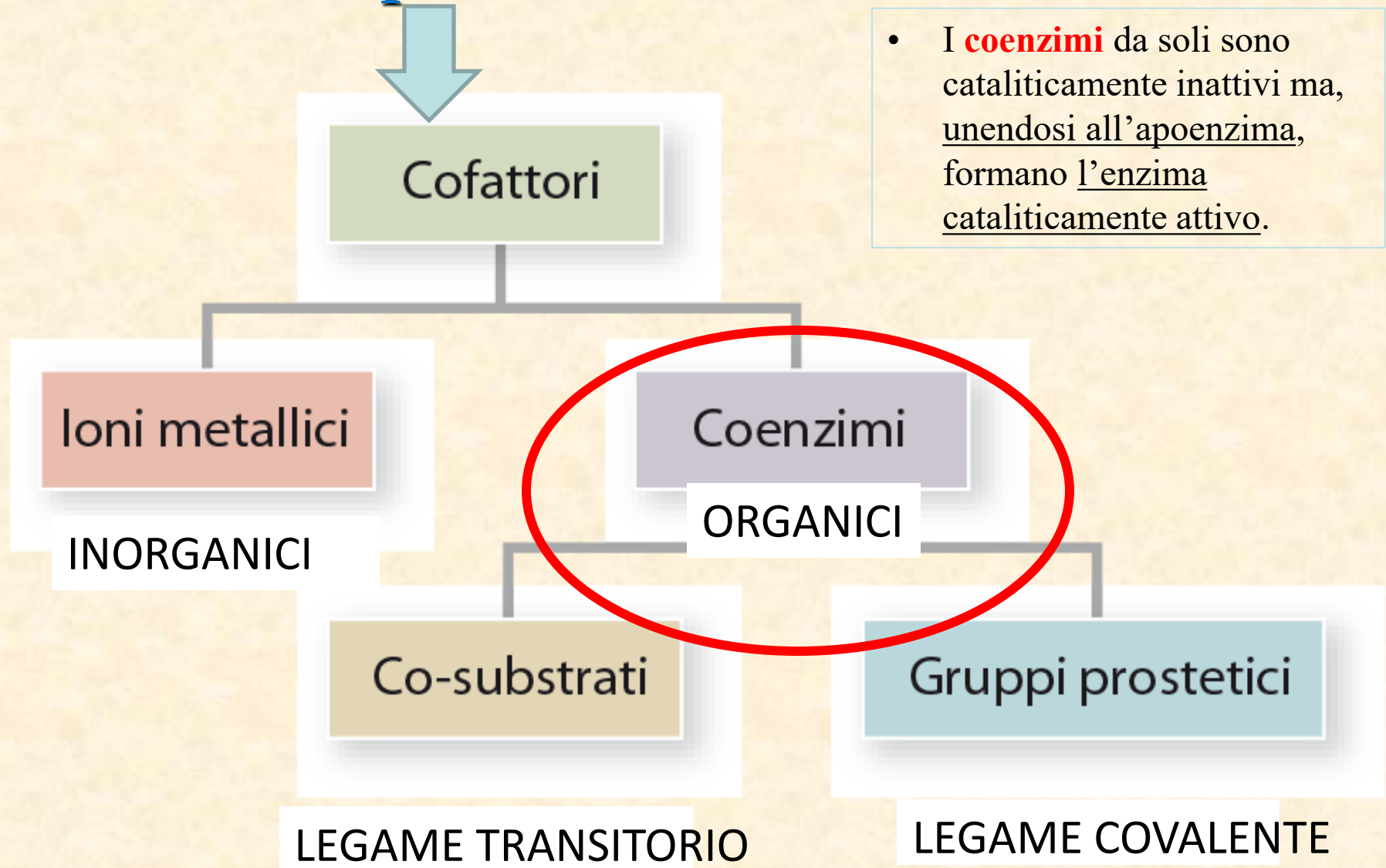
Parte non-proteica



Parte non-proteica

Parte proteica: **apoenzima**

- I **coenzimi** da soli sono cataliticamente inattivi ma, unendosi all'apoenzima, formano l'enzima cataliticamente attivo.



COENZIMI

La maggior parte dei coenzimi deriva dalle **vitamine**.

Per diventare coenzima, la vitamina subisce delle trasformazioni che vanno dalla semplice fosforilazione (uno dei casi più comuni) a trasformazioni più complesse.

La trasformazione della **vitamina in coenzima** avviene all'interno delle cellule ed è di natura enzimatica.

VITAMINE

Molecole organiche non sintetizzabili

idrosolubili

Vitamina C

Vit. Complesso B

Tiamina (B1)

Riboflavina (B2)

Niacina (B3)

Biotina (B7)

Ac. Pantotenico (B5)

Ac. Folico

Piridossina (B6)

Cobalamina (B12)

Ac. Lipoico

liposolubili

Vitamina A (retinolo, β -carotene)

Vitamina D (colecalfiferolo)

Vitamina K (fillochinone)

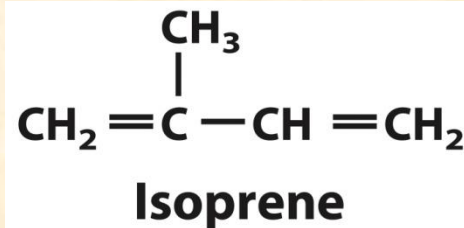
Vitamina E (tocoferolo)

Coenzima Q (Ubichinone)

Altamente idrofobiche, contengono anelli e lunghe catene alifatiche (costituite dal ripetersi di unità isoprenoidi).

Sono assunte con la dieta

Sono modificate e attivate nell'organismo



Vitamin	Coenzyme	Reactions Involving These Coenzymes
Thiamine (vitamin B ₁)	Thiamine pyrophosphate	Activation and transfer of aldehydes
Riboflavin (vitamin B ₂)	Flavin mononucleotide; flavin adenine dinucleotide	Oxidation–reduction
Niacin (B3)	Nicotinamide adenine dinucleotide; nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	Oxidation–reduction
Pantothenic acid (B5)	Coenzyme A	Acyl group activation and transfer
Pyridoxine (B6)	Pyridoxal phosphate	Various reactions involving amino acid activation
Biotin (B7)	Biotin	CO ₂ activation and transfer
Lipoic acid	Lipoamide	Acyl group activation; oxidation–reduction
Folic acid (B9)	Tetrahydrofolate	Activation and transfer of single-carbon functional groups
Vitamin B ₁₂ Cobalamina	Adenosyl cobalamin; methyl cobalamin	Isomerizations and methyl group transfers

MOLTI COENZIMI SONO DERIVATI DALLE VITAMINE

<u>Coenzyme</u>	<u>Reaction catalyzed</u>	<u>Vitamin source</u>
Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfers-decarboxilation	Thiamine (Vitamin B ₁)
Flavin adenine dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (electron transfers)	Riboflavin (Vitamin B ₂)
Nicotinamide adenine dinucleotide	Oxidation-reduction reactions (hydride transfers)	Nicotinamide (niacin) (B3)
Coenzyme A	Acyl transfers	Pantothenic acid (B5)
Pyridoxal phosphate	Amino group transfers	Pyridoxine (Vitamin B ₆)
Coenzyme B ₁₂	Alkylation reactions	Cobalamin (Vitamin B ₁₂)
Biocytin	Carboxylation reactions	Biotin (B7)
Tetrahydrofolic acid	One-carbon transfers	Folic acid
Lipoic acid	Acyl transfers	—

NAD, FAD, UBICHINONE



COENZIMI che coadiuvano l'azione di enzimi che catalizzano reazioni di **ossidoriduzione (ossidoriduttasi, deidrogenasi)**

FAD

B₂ (riboflavina)

B₃ (niacina)

NAD

enzimi che **calatizzano le reazioni di ossido-riduzione** di molte vie metaboliche

Classificazione	Tipo di reazione catalizzata
1. Ossidoreduttasi	Reazioni di ossidoriduzione (<i>ossidasi, reduttasi</i>)
2. Trasferasi	trasferimento di gruppi funzionali
3. Idrolasi	idrolisi (utilizzano acqua per rompere i legami)
4. Liasi	lisi del substrato con formazione di doppi legami
5. Isomerasi	isomerizzazione
6. Ligasi	formazione di legami accoppiata all'idrolisi di ATP (anche denominate "sintetasi")

ISOMERI

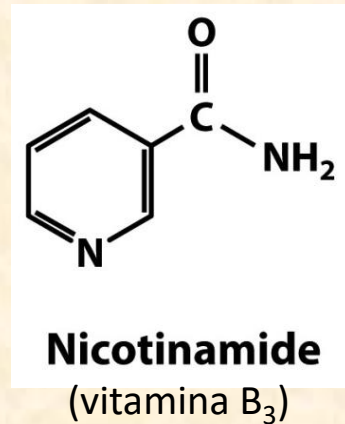
Gliceraldeide \rightleftharpoons Diidrossiacetone

Coenzimi nicotinammidici

NAD⁺ (NICOTINAMMIDE ADENINA DINUCLEOTIDE)

NADP⁺ (NICOTINAMMIDE ADENINA DINUCLEOTIDE FOSFATO)

Derivano dall'acido nicotinico (niacina) o dalla nicotinammide (**vitamina B₃**)

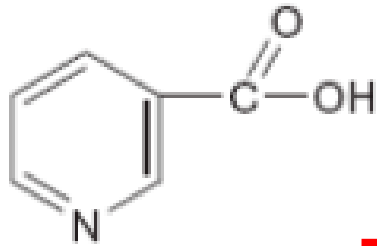


Sono coinvolti nelle reazioni di ossido-riduzione catalizzate dalle DEIDROGENASI

Trasferiscono **2 elettroni e 1 protone** al substrato sotto forma di ione idruro (**:H⁻**)

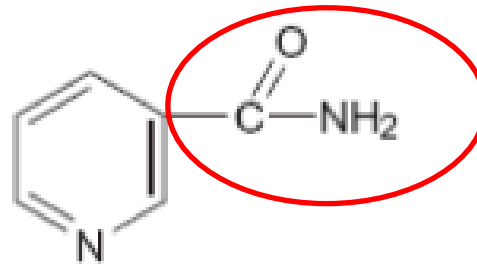
Sono associati al sito attivo dell'enzima attraverso interazioni elettrostatiche (co-substrato)

NIACINA o acido nicotinico o Vitamina B3 (o PP, Pellagra Preventing)



acido nicotinico

Precursore
(catabolismo del
triptofano)



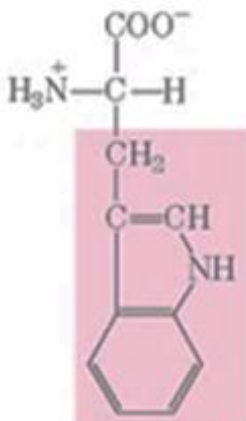
nicotinamide

Forma attiva
della vitamina



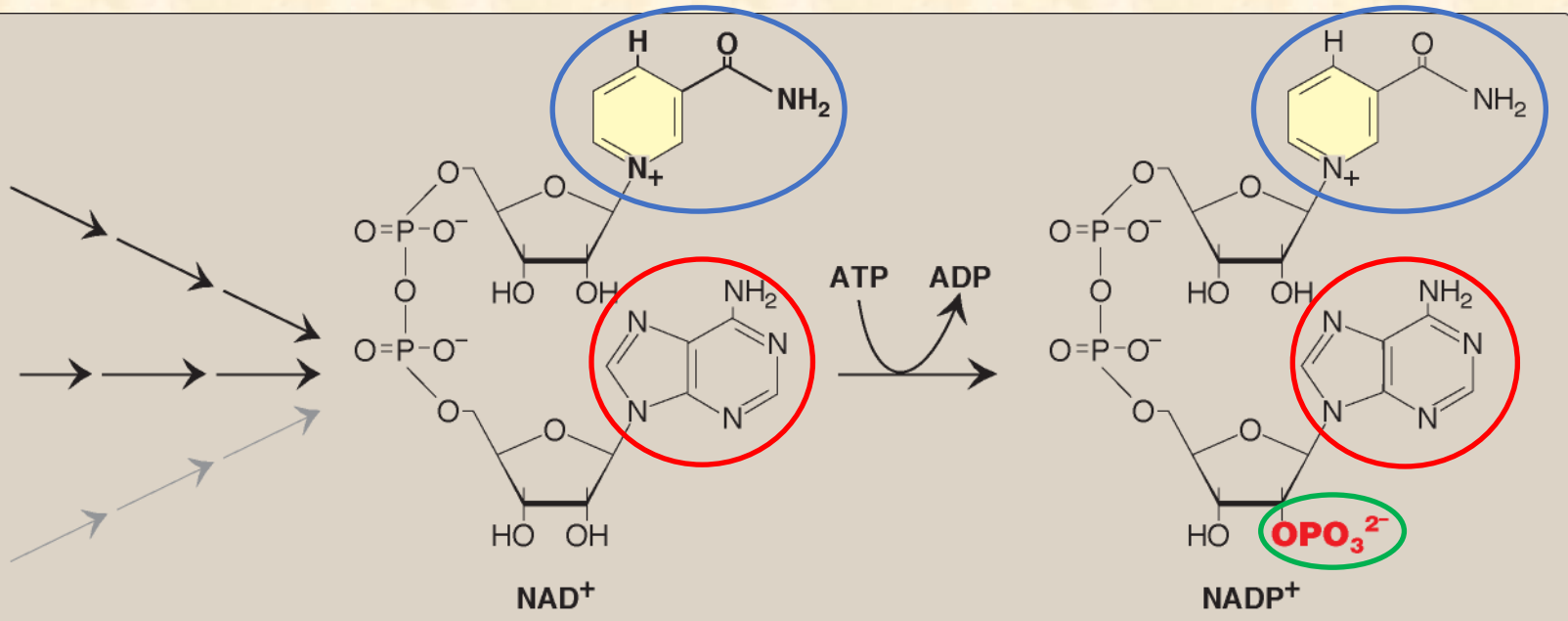
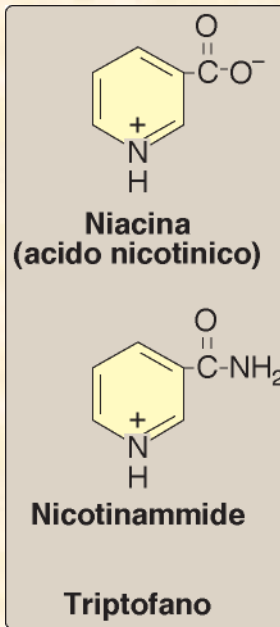
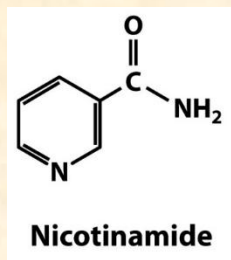
Precursore del
 NAD^+ e
 NADP^+

Gruppo
ammidico



Tryptofano

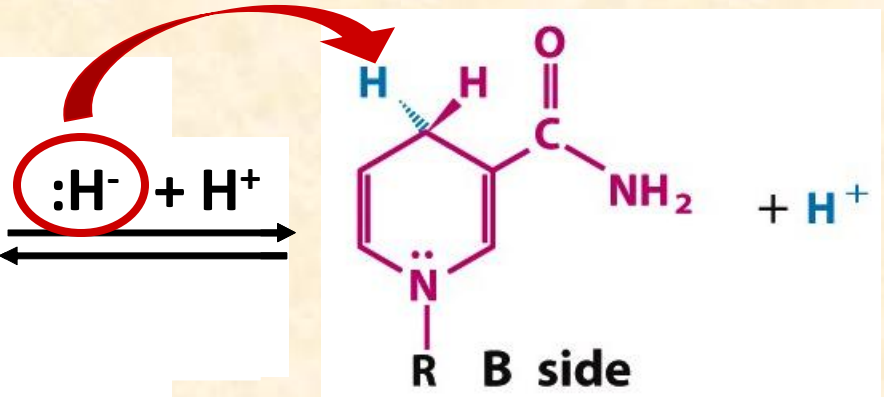
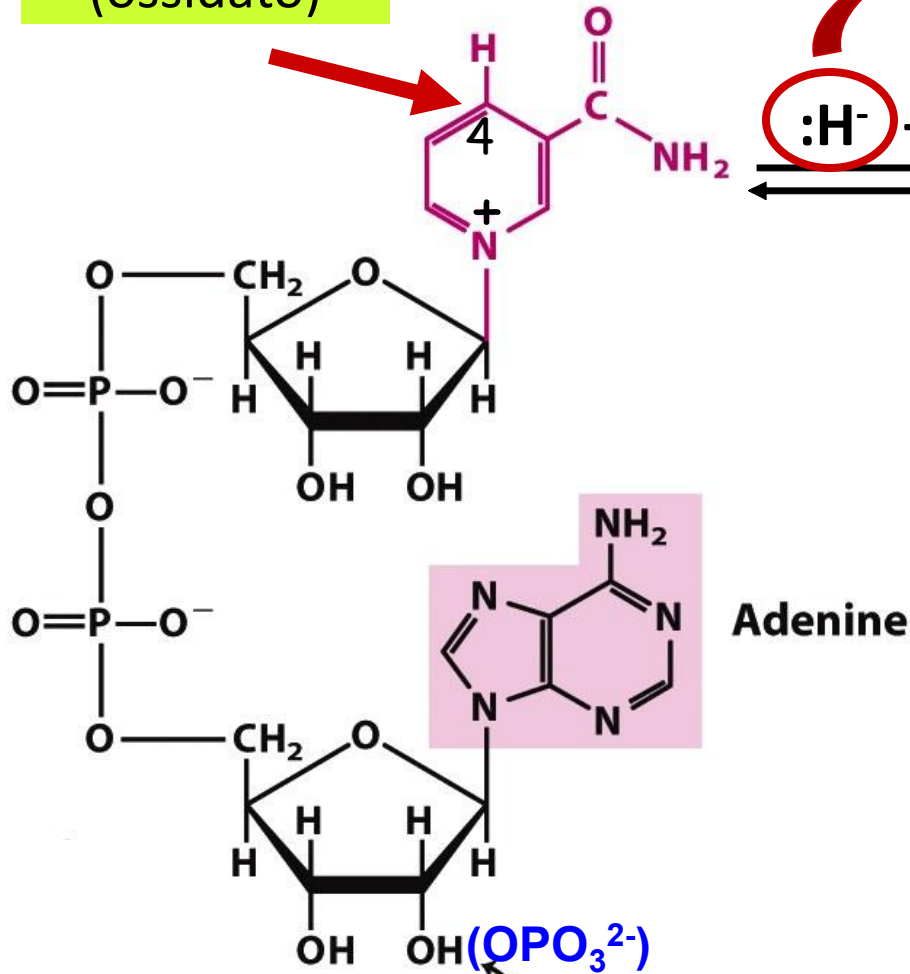
Struttura e biosintesi del NAD⁺ e del NADP⁺.



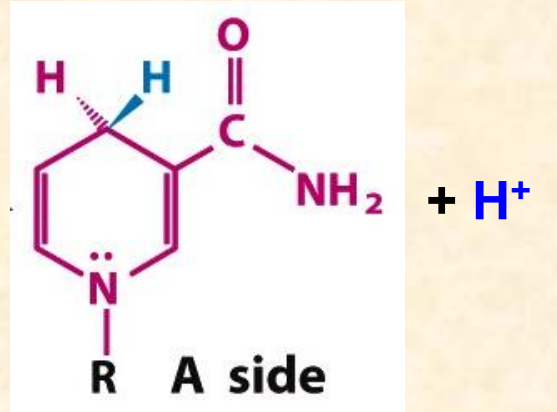
NAD⁺ (NICOTINAMMIDE
ADENINA DINUCLEOTIDE)

NADP⁺ (NICOTINAMMIDE
ADENINA DINUCLEOTIDE
FOSFATO)

NAD⁺
(ossidato)



NADH (NADPH) (ridotto)

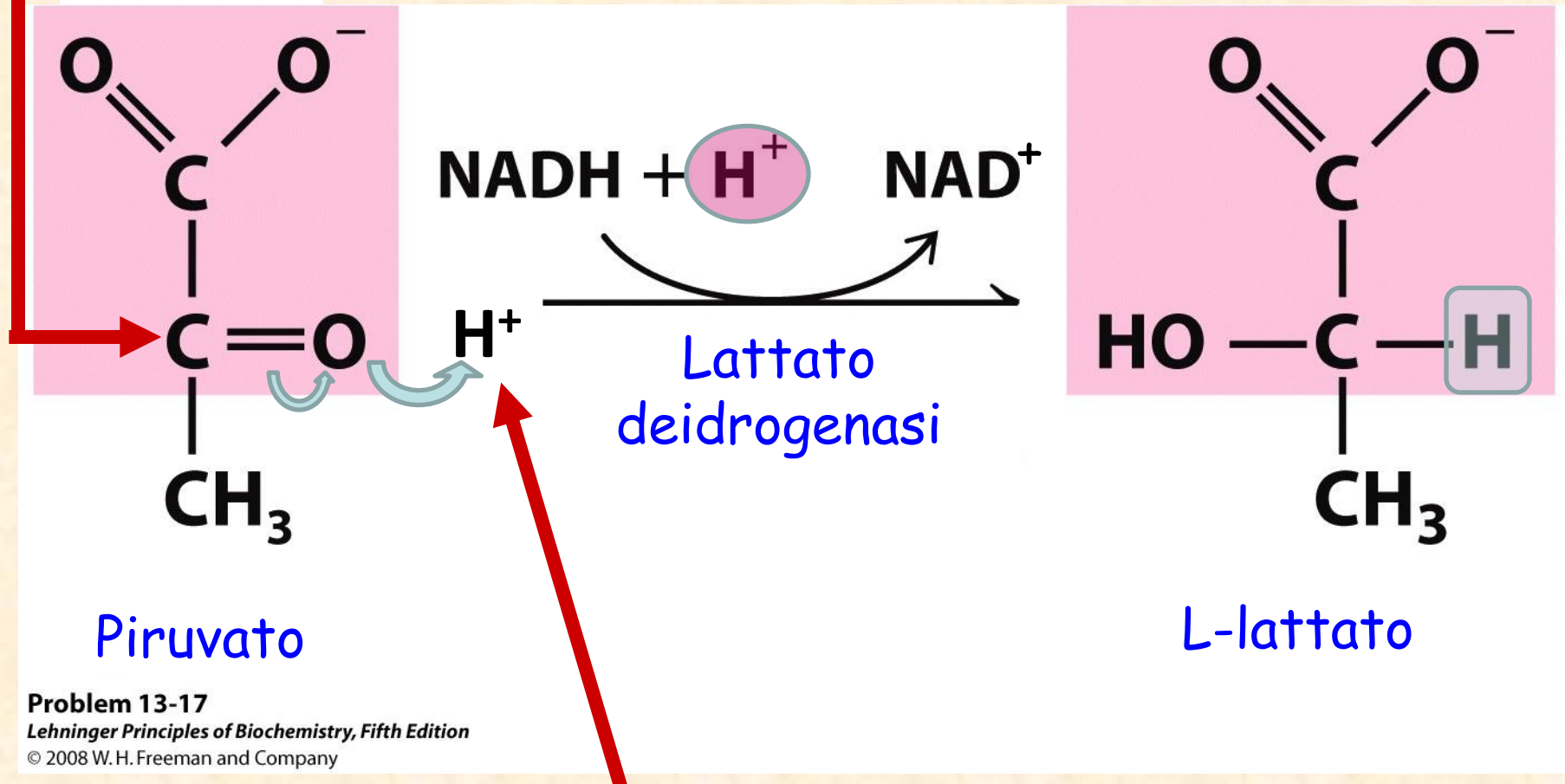
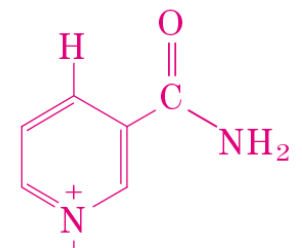
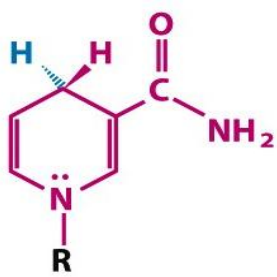


NADP⁺ → fosfato in posizione 2
ossidato

L'attacco dello ione idruro può avvenire sopra (A) o sotto (B) il piano dell'anello nicotinamidico

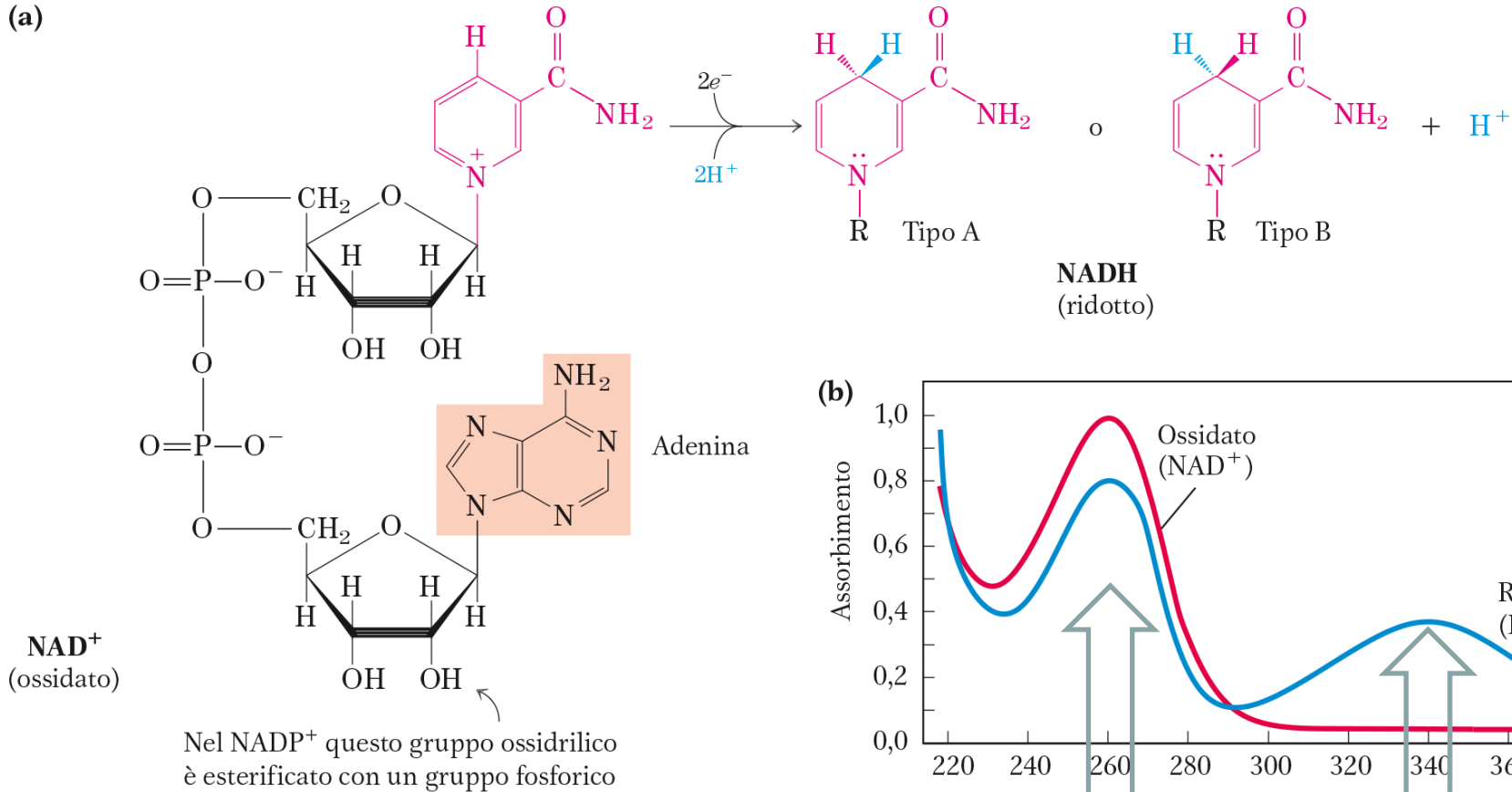
Figure 13-24a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Uno ione idruro :H^- è trasferito dal C-4 del NADH al C-2 del piruvato

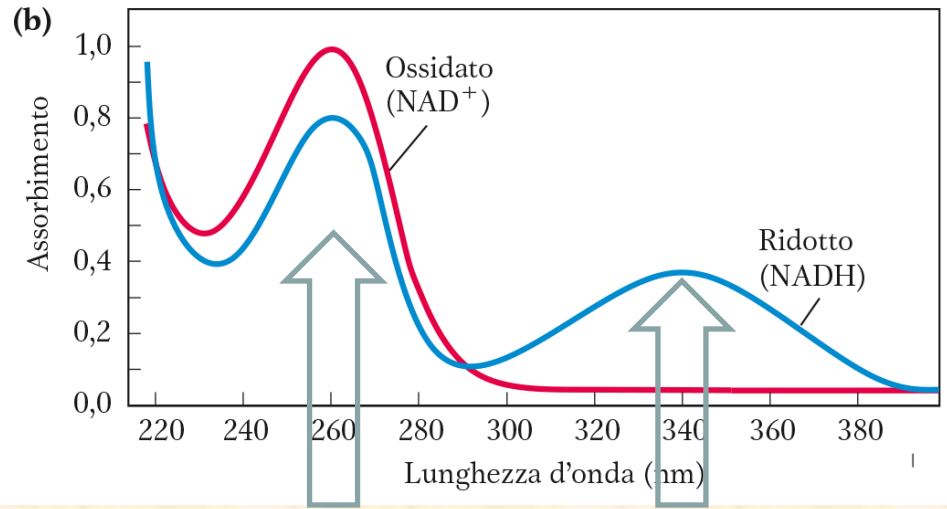


Uno ione H^+ è trasferito da un residuo di His del sito attivo dell'enzima sull'ossigeno carbonilico che diventa un ossidrile

(a)



(b)

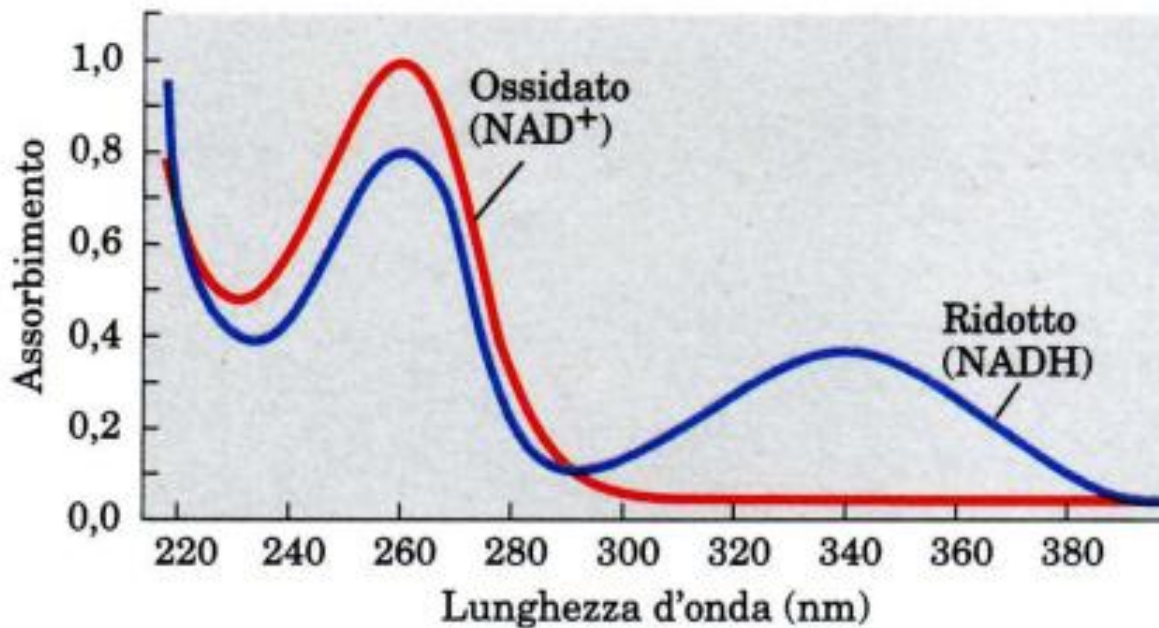


Assorbimento
della base
azotata

Assorbimento
dell'anello
nicotinammidico
ridotto

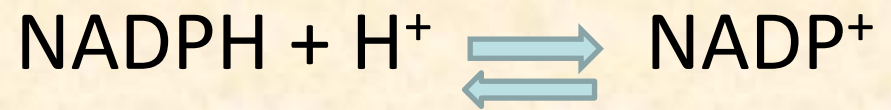
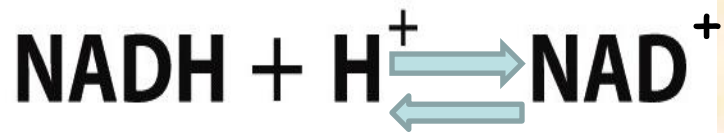
Gli enzimi contenenti $\text{NAD}^+/\text{NADH} + \text{H}^+$ possono essere monitorati mediante l'utilizzo di tecniche spettrofotometriche

Una proprietà di notevole importanza per quanto riguarda i coenzimi piridinici è la loro capacità di assorbire le lunghezze d'onda attorno a **340 nm allo stato ridotto**, ma non allo stato ossidato



☞ **Il picco a 270 nm** è caratteristico della **porzione adenosinica** e non si modifica con lo stato riduttivo

☞ **Il picco a 340 nm** è caratteristico esclusivo dello **stato ridotto**. È determinato dal differente assetto elettronico dell'**anello piridinico della nicotinammide**



Vitamina B3

1
Fondamentale per la formazione del NAD e del NADP

2
Si trova vegetali lievito di birra, cereali e carne

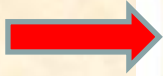
3
La carenza può causare la pellagra che provoca dermatite, diarrea e demenza

COREBO

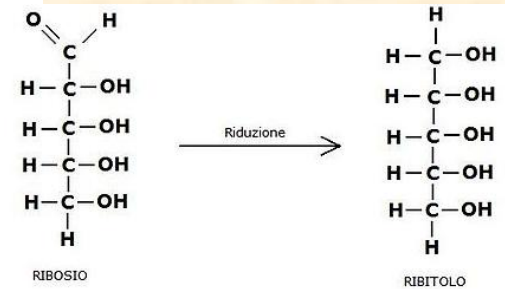
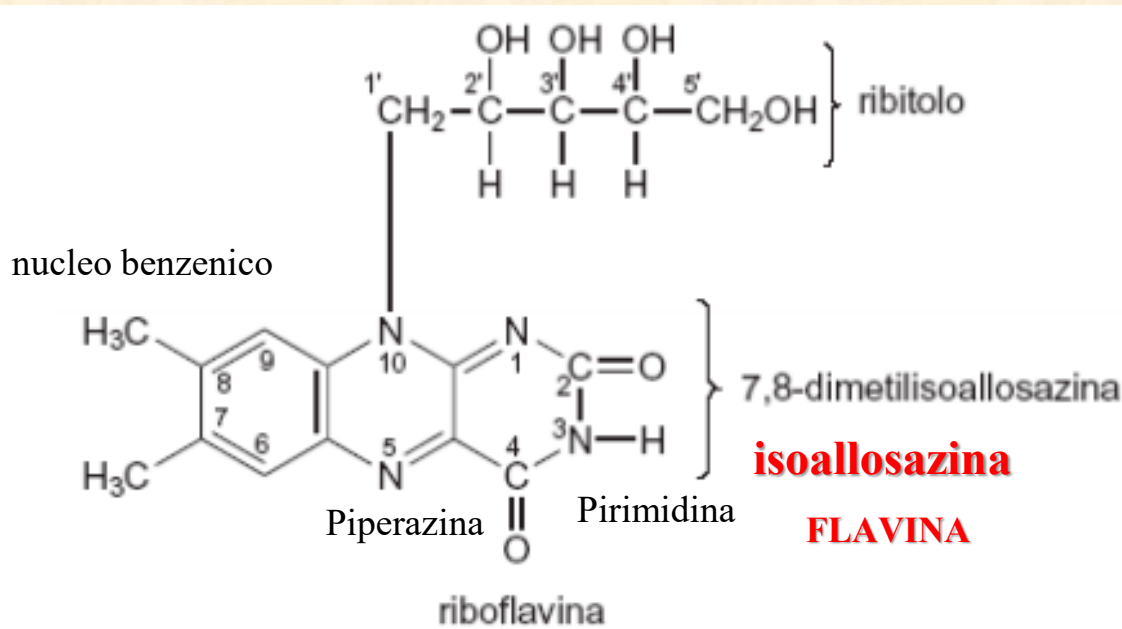
Malattia delle 3 D

Alcuni enzimi NAD(P⁺) dipendenti

Enzima	Coenzima	Reazione catalizzata (via metabolica)
Gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi	NAD ⁺	Ossidazione della 3-gliceraldeide in 1,3-bisfosfoglicerato (glicolisi).
Lattato deidrogenasi	NADH	Riduzione del piruvato a lattato (fermentazione lattica).
Alcol deidrogenasi	NADH	Riduzione dell'acetaldeide ad etanolo (fermentazione alcolica).
Isocitrato deidrogenasi	NAD(P) ⁺	Ossidazione dell'isocitrato ad α -chetoglutarato (ciclo di Krebs).
α -Chetoglutarato deidrogenasi	NAD ⁺	Ossidazione dell' α -chetoglutarato a succinil-CoA (ciclo di Krebs).
Malato deidrogenasi	NAD ⁺	Ossidazione del malato ad ossalacetato (ciclo di Krebs).
Glutammato deidrogenasi	NAD(P) ⁺	Deamminazione ossidativa del glutammato ad α -chetoglutarato.
β -Chetoacil-ACP reduttasi	NADPH	Riduzione dell'acetoacil-ACP in D- β -idrossibutiril-ACP (biosintesi degli acidi grassi).
Enoil-ACP reduttasi	NADPH	Riduzione del trans- Δ^2 -butenil-ACP a butirril-ACP (biosintesi degli acidi grassi).



Vitamina B2 (riboflavina)



COENZIMI FLAVINICI



Trasportata al fegato (legata all'albumina) viene successivamente trasformata in **flavin-mononucleotide (FMN)** e **flavin-adenin-dinucleotide (FAD)**, le due forme coenzimatiche

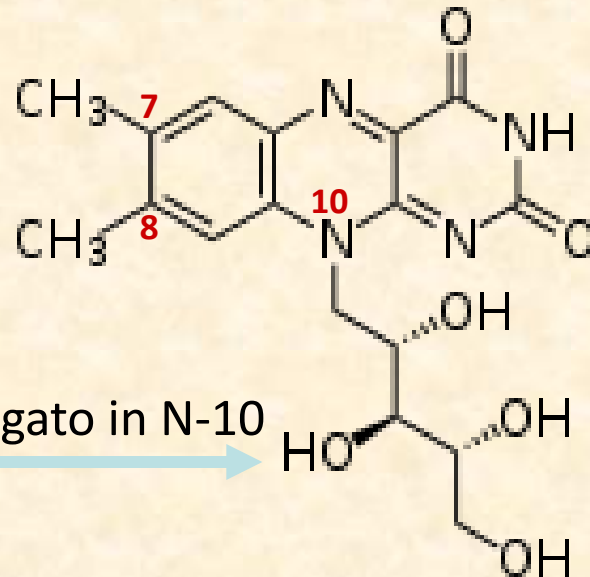
COENZIMI FLAVINICI

FAD (FLAVINA ADENINA DINUCLEOTIDE)

FMN (FLAVINA MONONUCLEOTIDE)

Derivano dalla riboflavina (vitamina B2)

7,8-dimetil-isoallossazina



Ribitolo legato in N-10

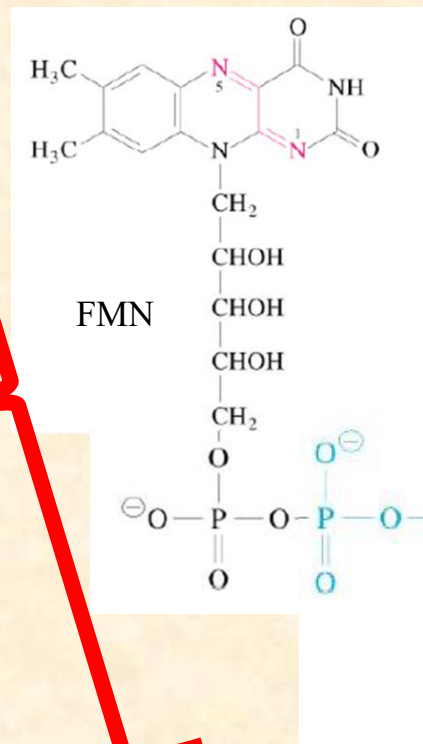
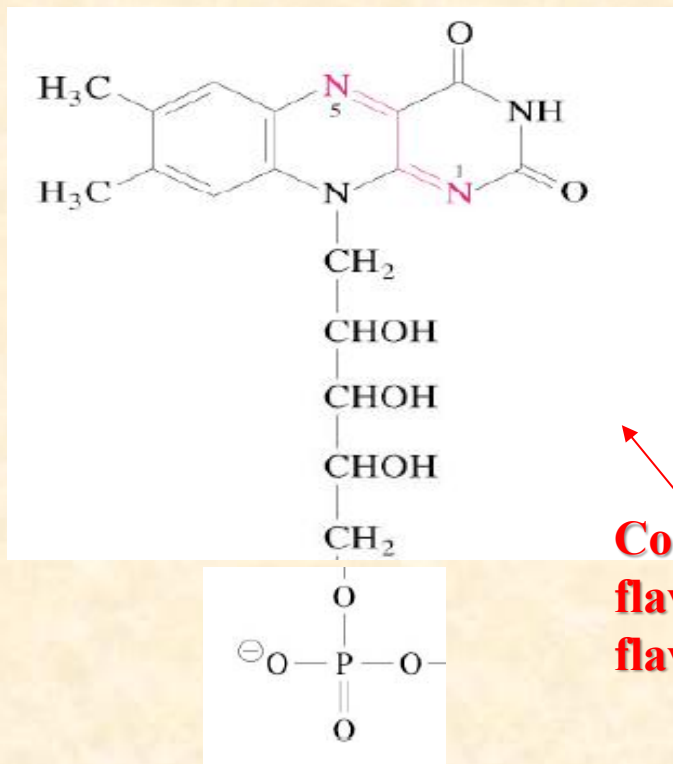
Sono saldamente associati (in qualche caso anche covalentemente) al sito attivo di **DEIDROGENASI** chiamate *flavoproteine*.

Partecipano a reazioni di ossidoriduzione in cui possono accettare o rilasciare **2 elettroni e 2 protoni** (due atomi di idrogeno)

La riboflavina fa parte del coenzima di alcune ossido-reduttasi, nelle forme di:

flavina-mononucleotide (FMN)

flavina-adenina-dinucleotide (FAD)



Coenzimi flavinici delle flavoproteine

Riboflavina +
fosfato

AMP

Forma completamente ossidata

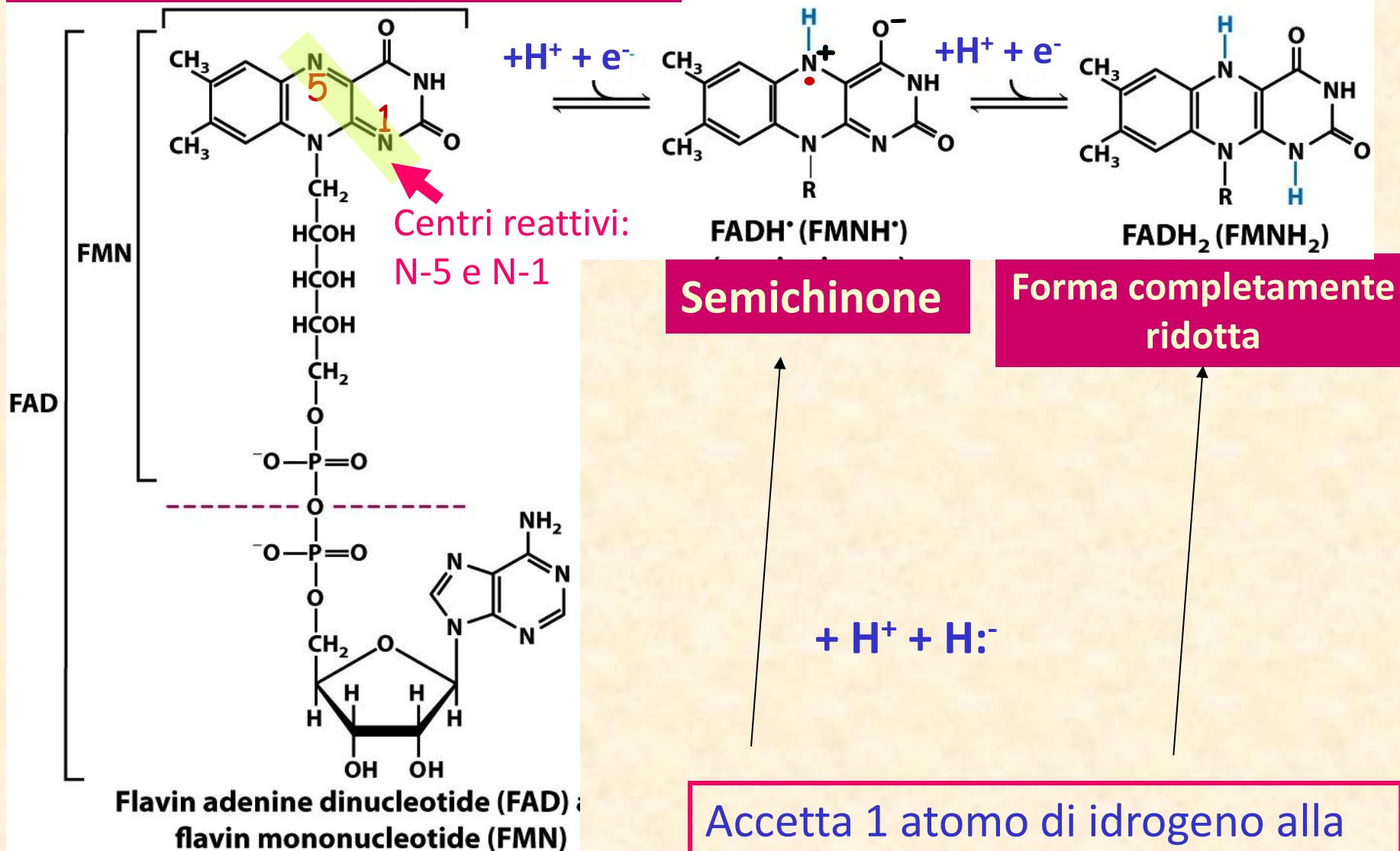


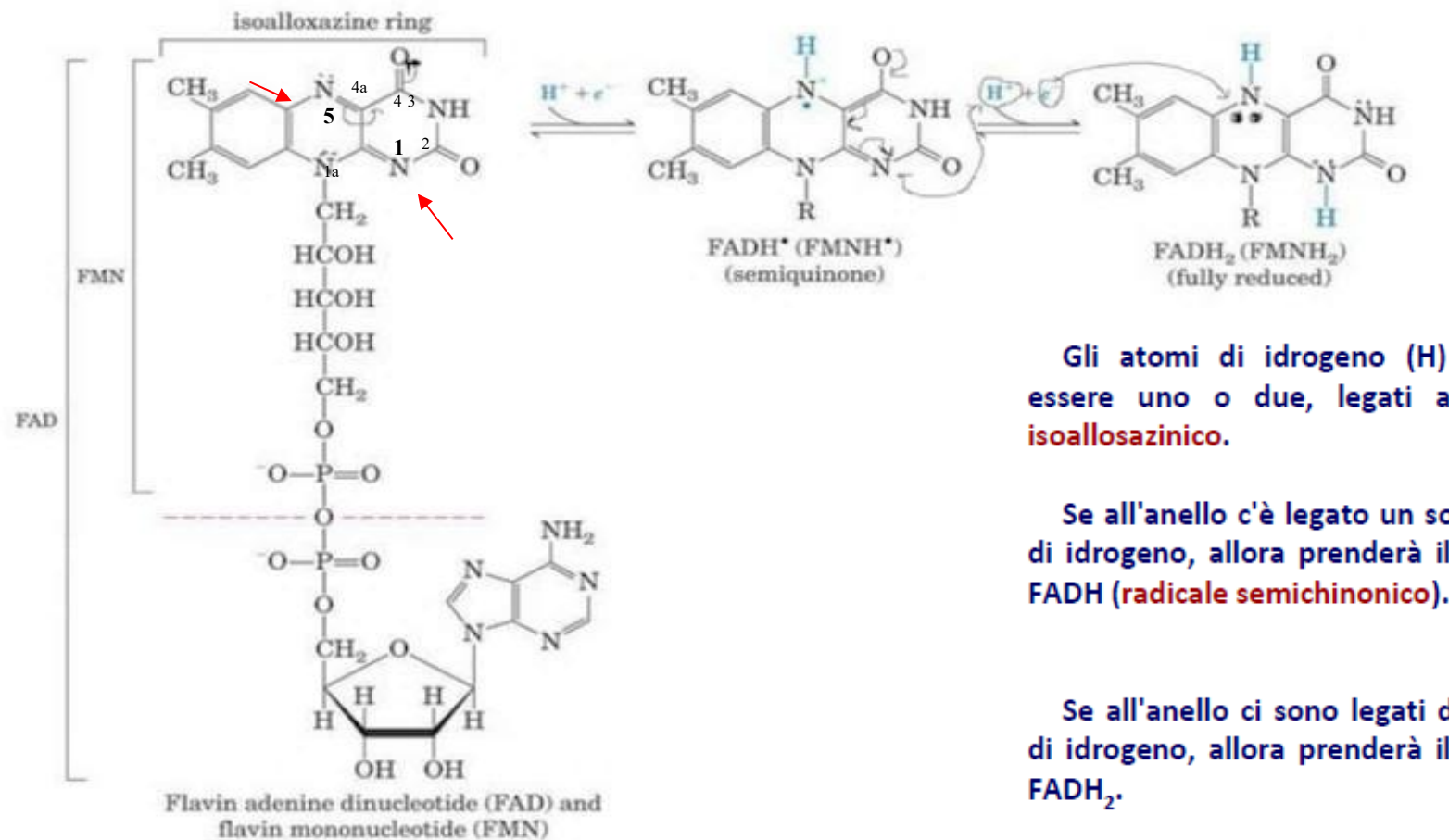
Figure 13-27

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Accetta 1 atomo di idrogeno alla volta oppure 2 insieme

Sono coenzimi delle ossidoreduttasi: possono acquistare e cedere elettroni e protoni



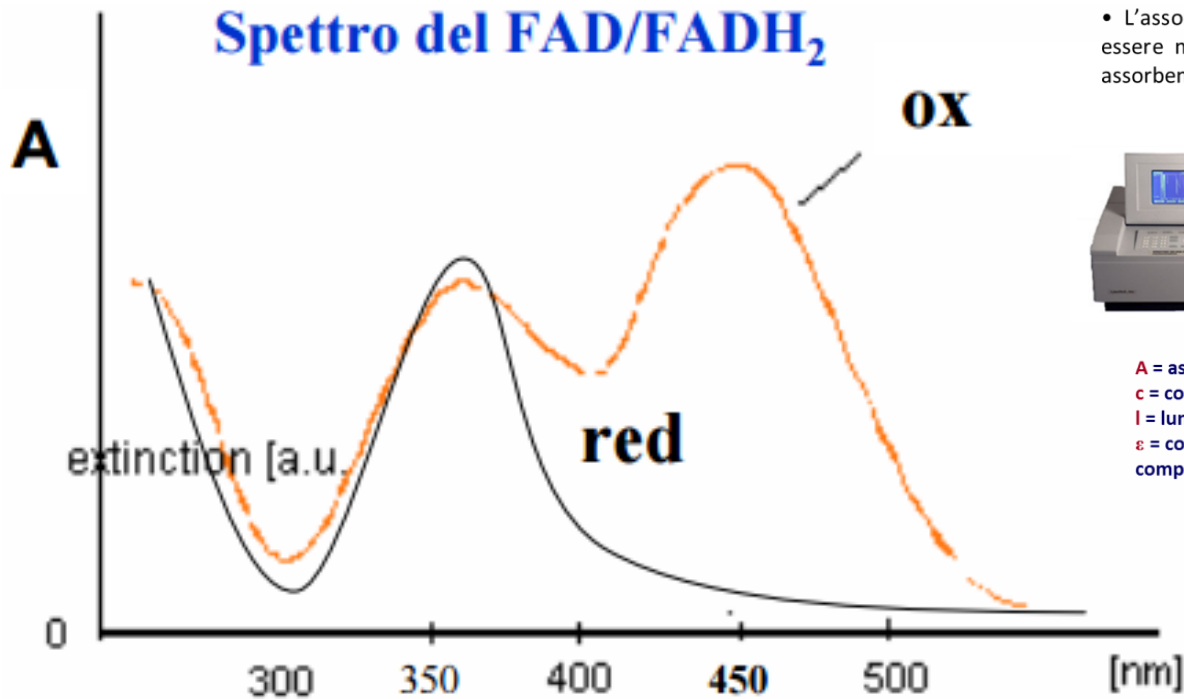
Gli atomi di idrogeno (H) possono essere uno o due, legati al **gruppo isoallosazinicco**.

Se all'anello c'è legato un solo atomo di idrogeno, allora prenderà il nome di **FADH** (**radicale semichinonico**).

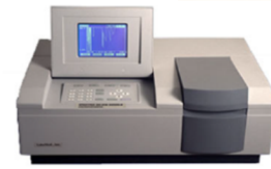
Se all'anello ci sono legati due atomi di idrogeno, allora prenderà il nome di **FADH₂**.

Struttura del FAD e del FMN.

Gli enzimi contenenti FAD/FADH possono essere monitorati mediante l'utilizzo di tecniche spettrofotometriche

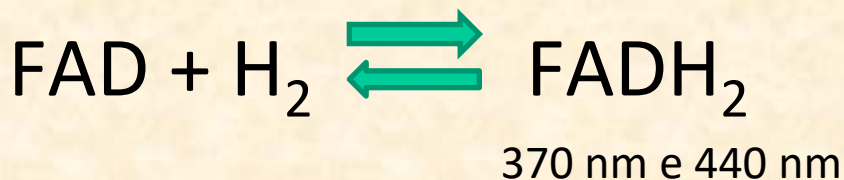


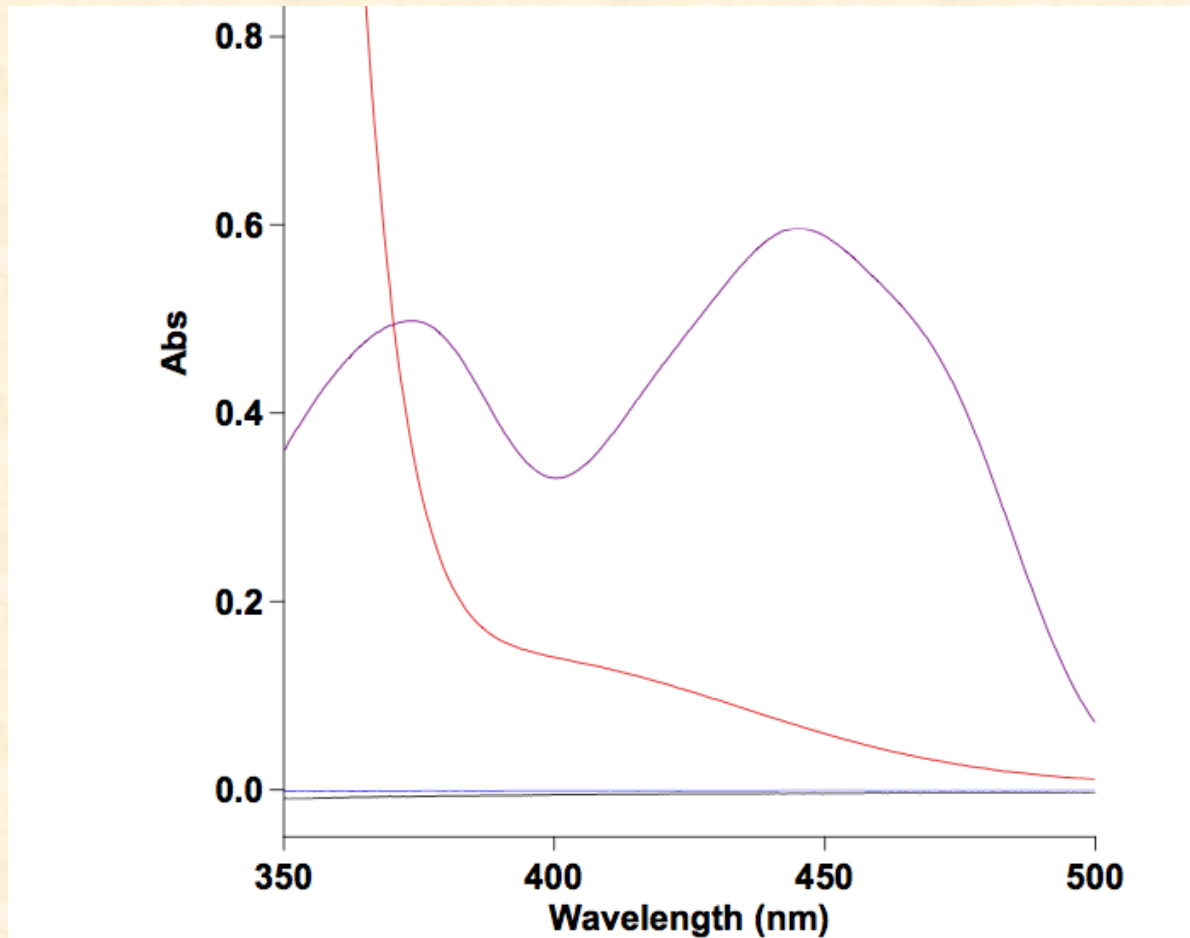
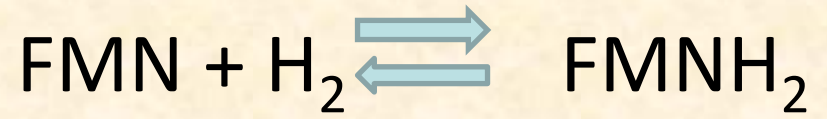
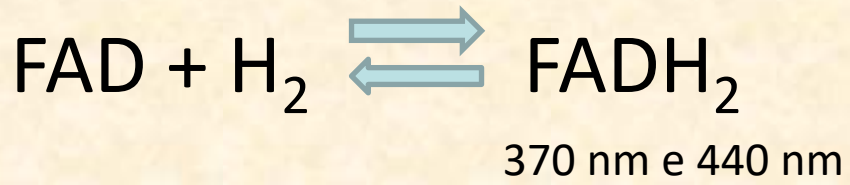
- L'assorbimento di luce alla lunghezza d'onda a 280 nm può essere messo in relazione con la concentrazione della sostanza assorbente mediante la **LEGGE DI LAMBERT E BEER**



$$A = \epsilon c l$$

- A** = assorbimento ad una determinata lunghezza d'onda;
- c** = concentrazione della sostanza espressa in moli per litro di soluzione;
- l** = lunghezza del cammino ottico espressa in cm;
- ϵ** = coefficiente di estinzione molare (assorbimento di una soluzione 1M del composto in esame, quando questa è attraversata per 1cm dalla luce incidente).





Vitamina B2 o riboflavina

Fonte alimentare: Carne, Frutta secca e legumi

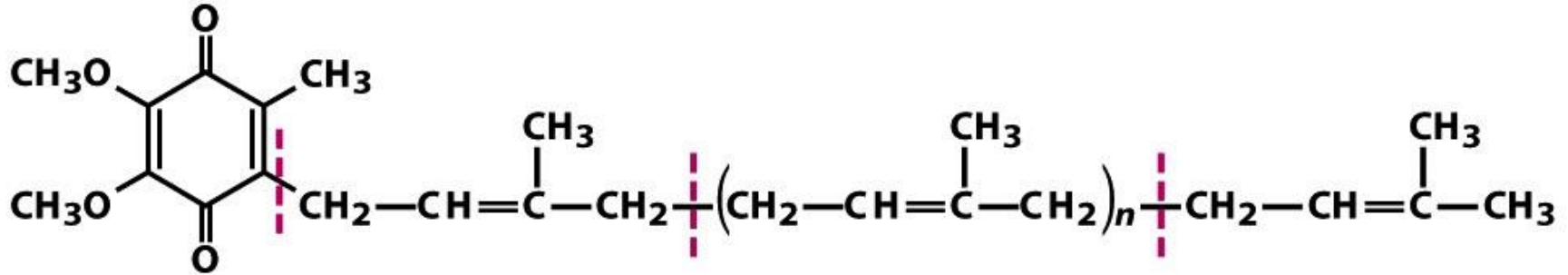
Carenza di vitamina B2:

- Infiammazione degli angoli della bocca (stomatite angolare)
- Infiammazione della lingua (glossite)

UBICHINONE (COENZIMA Q): benzochinone (polare)

liposolubile

con 4 sostituenti uno dei quali è una lunga catena isoprenoide (10 unità nei mammiferi).



UBICHINONE

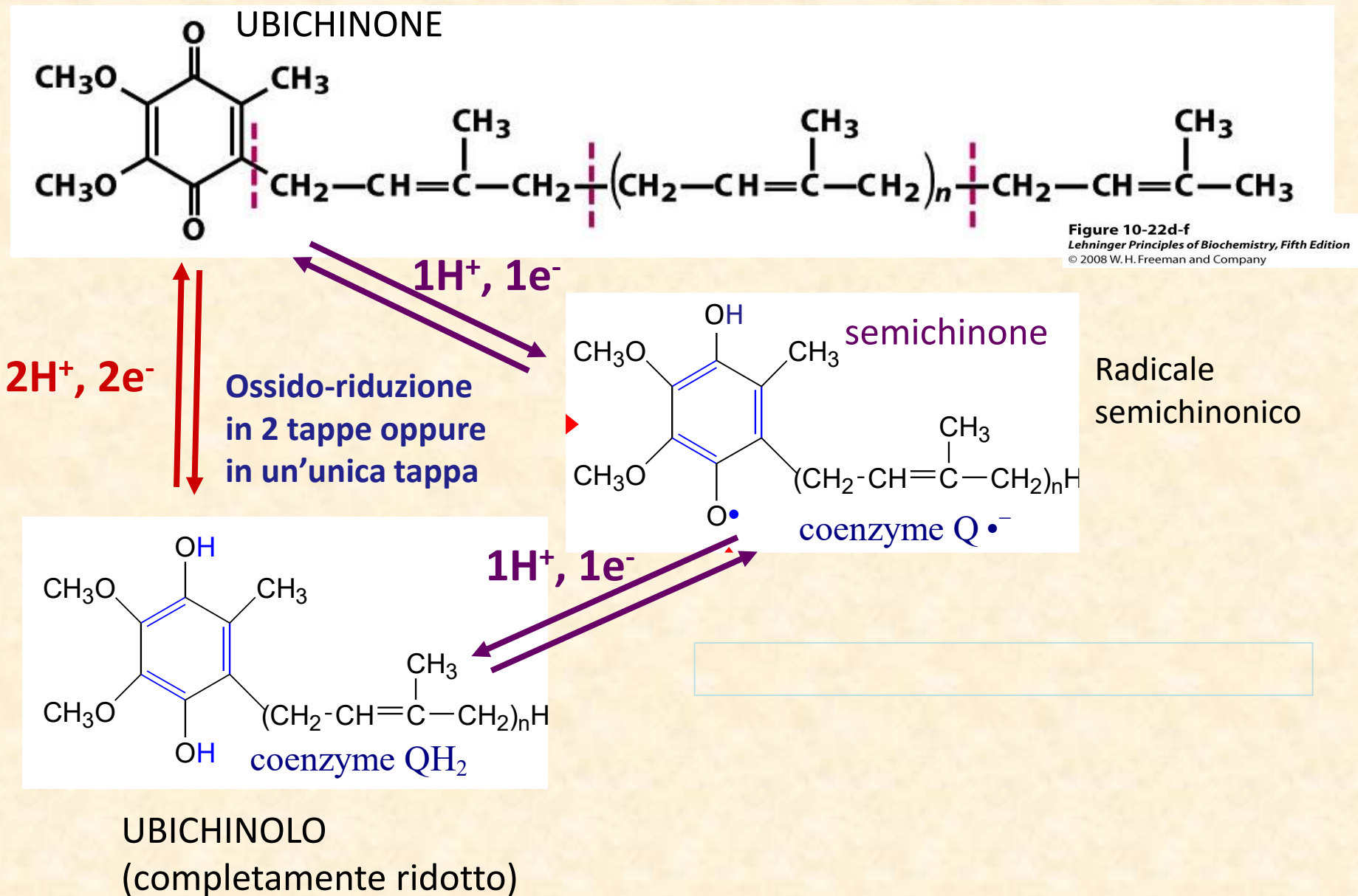
(completamente ossidato)

Figure 10-22d-f
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Ha 3 stati di ossidazione (Ubichinone, semichinone e ubichinolo
Ubichinolo (forma completamente ridotta) QH₂)

- Molecola molto piccola
- Può solubilizzarsi nel doppio strato lipidico delle membrane.
- Può diffondere nella membrana mitocondriale interna.
- Trasporta sia elettroni che protoni (Importante ruolo nella catena di trasporto mitocondriale)-

(completamente ossidato) Accetta 2 elettroni e due protoni

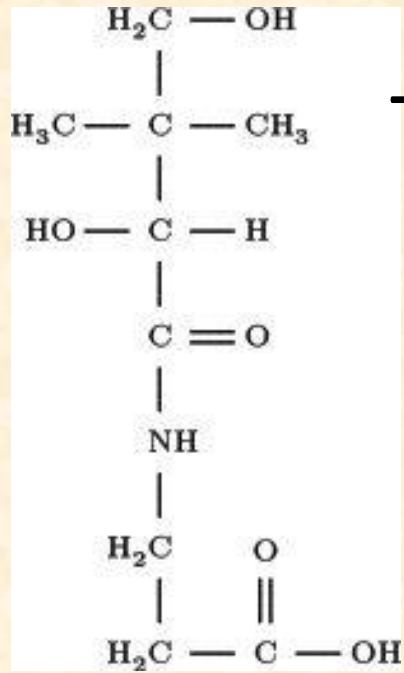


COENZIMA A (CoA)

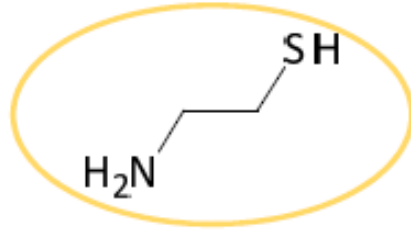


Trasportatore di **gruppi acilici**

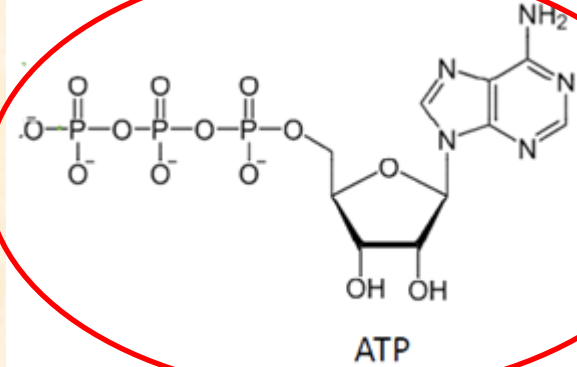
Deriva dalla **vitamina B5 (ac. pantotenico)**



acido pantotenico
(vitamina B₅)

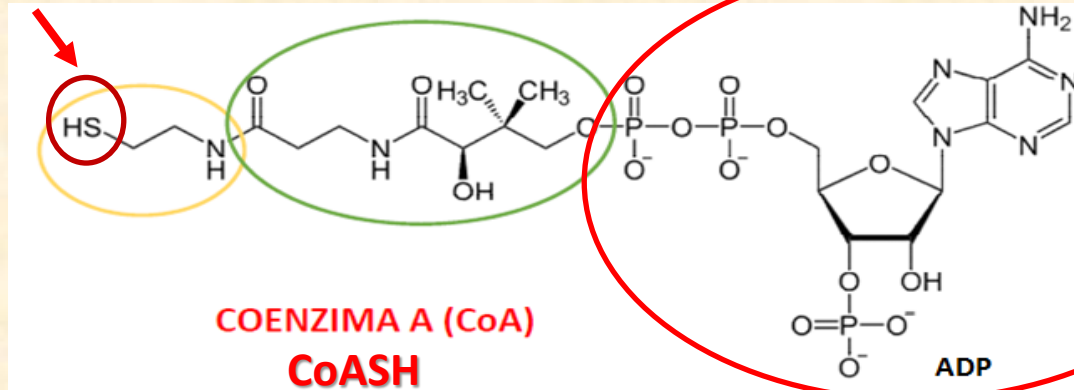


mercaptoetilammina



ATP

Parte attiva della
molecola



COENZIMA A (CoA)
CoASH

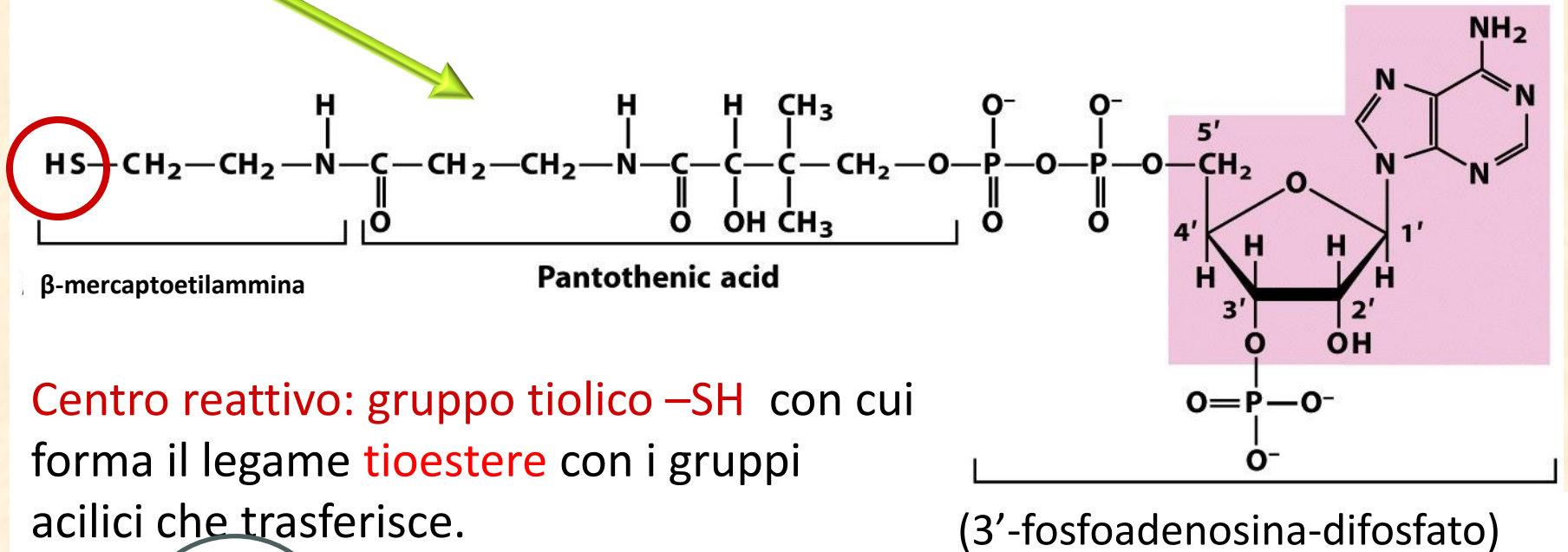
ADP

(3'-fosfoadenosina-difosfato)

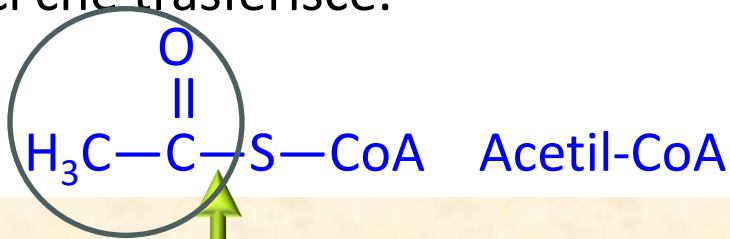
L'acido pantotenico lega una molecola di **mercaptoetilammina**
e una molecola di **ADP a partire dall'ATP**

COENZIMA A (HS-CoA) Trasferimento di gruppi acilici in reazioni di ossidazione di molecole energetiche e di biosintesi di carboidrati e lipidi.

Deriva dalla vitamina B5 (ac. pantotenico)

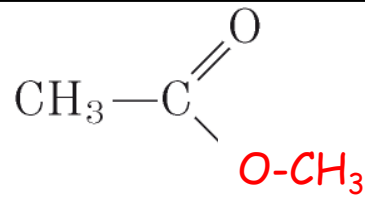


Centro reattivo: gruppo tiolico -SH con cui forma il legame **tioestere** con i gruppi acilici che trasferisce.

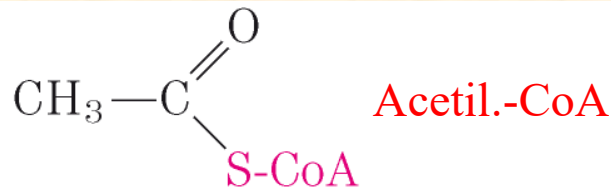


Quando si forma un legame tioestere viene conservata energia metabolica che può essere utilizzata per promuovere altri processi.

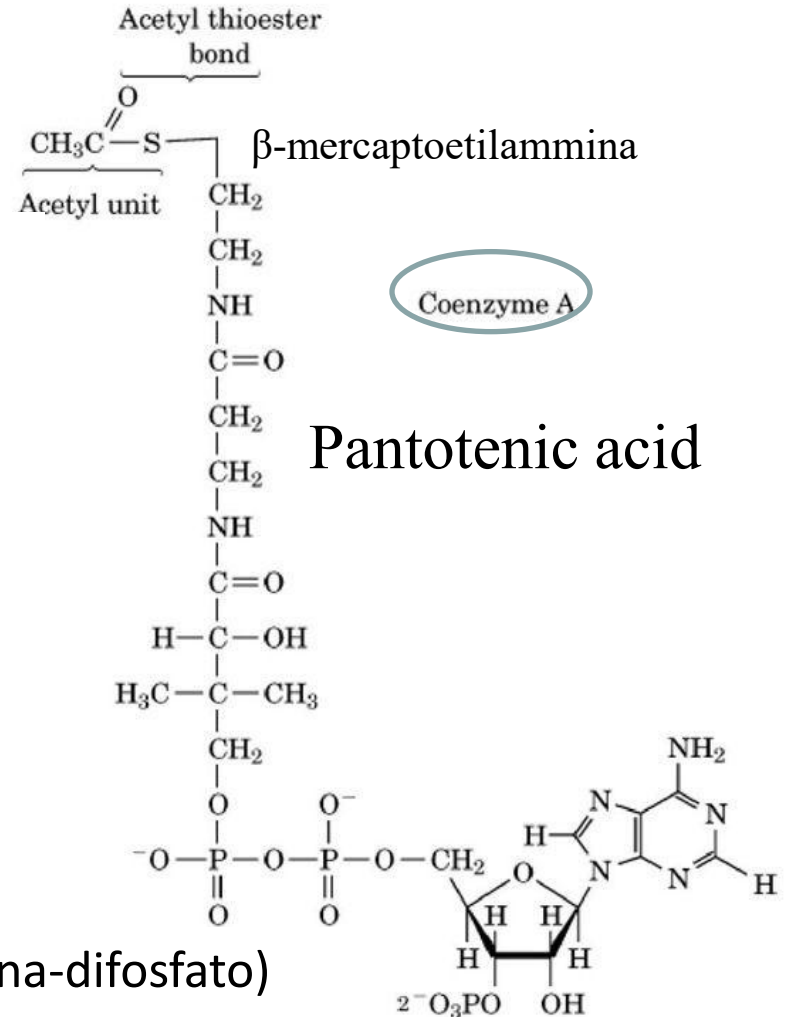
Estere



Tioestere

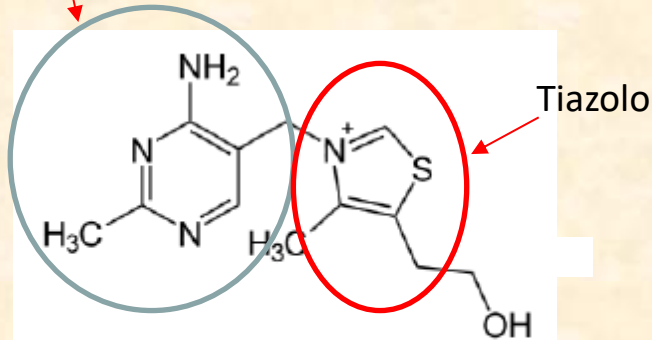


Acetil-coenzima A, o acetil-CoA è uno dei tioesteri più importanti del metabolismo



Tiamina (Vitamina B1)

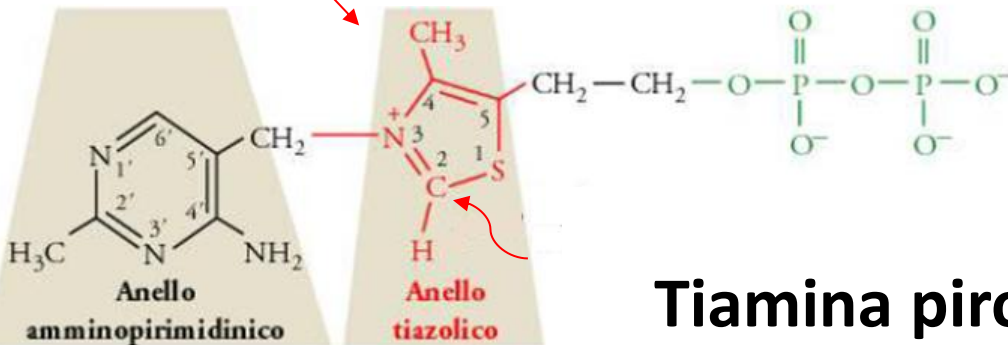
pirimidina



Tiamina- vitamina B1

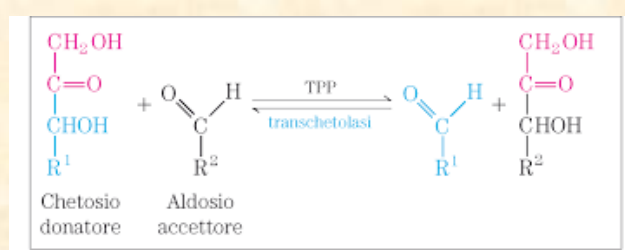
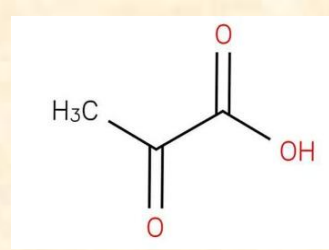
Una volta arrivata nei tessuti viene fosforilata a tiamina difosfato (o pirofosfato), la forma attiva, dalla tiaminapirofosfato sintetasi.

La tiamina pirofosfato (TPP) è il coenzima di numerosi enzimi (piruvato decarbossilasi, complesso della piruvato deidrogenasi)



Tiamina pirofosfato (TPP)

TIAMINA PIROFOSFATO (TPP)



Deriva dalla tiamina (vitamina B₁)

Ruolo importante nella rottura di legami adiacenti ai gruppi carbonilici

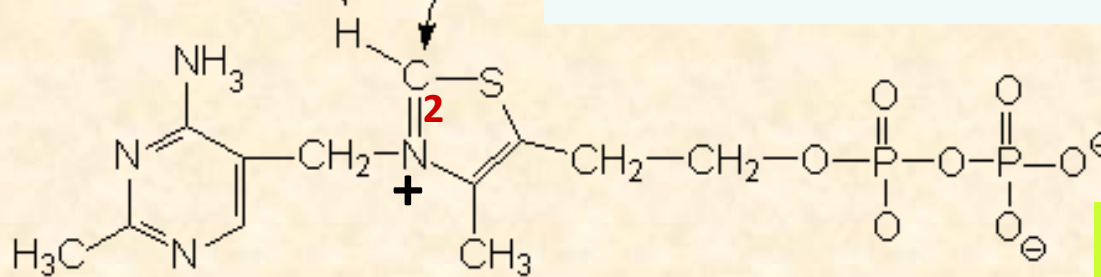
È il gruppo prostetico delle **decarbossilasi** (decarbossilazione degli α-chetoacidi).

È anche il gruppo prostetico delle **transchetolasi**

(trasferimento di un gruppo a 2 atomi di carbonio contenente una funzione C=O)

Protone dissociabile

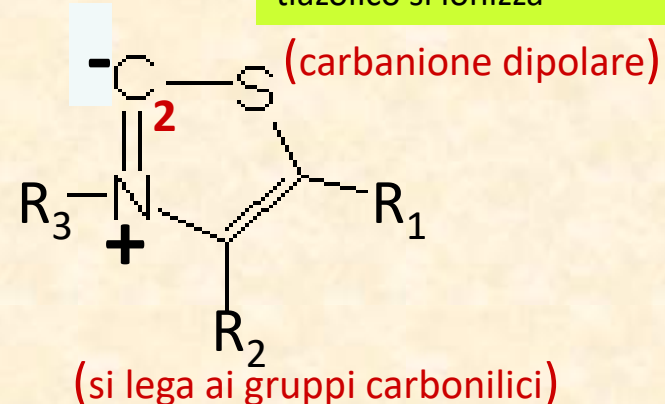
Centro reattivo: C-2 dell'anello tiazolico



L'atomo di C2 dell'anello tiazolico si ionizza

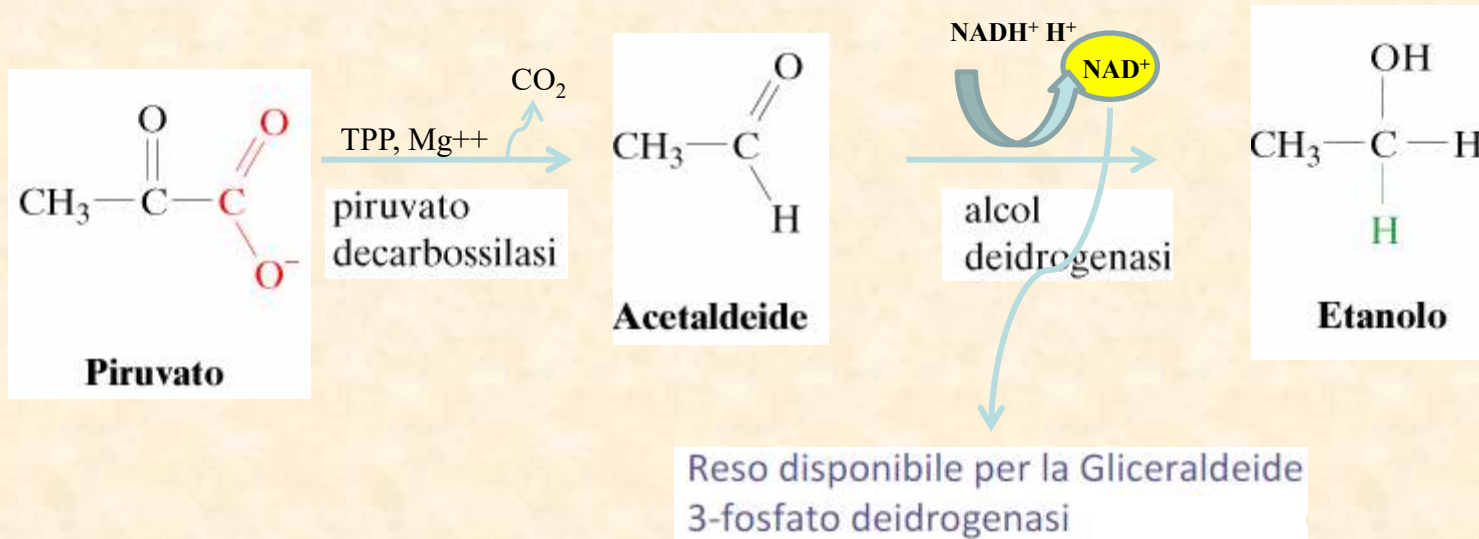
Thiamine pyrophosphate (TPP)

Il carbonio 2 dell'anello tiazolico è molto acido a causa dell'effetto elettronattirativo esercitato dall'N con carica positiva e dallo zolfo in 1



LA FERMENTAZIONE ALCOLICA

Molti batteri intestinali e molti lieviti possono sopravvivere in assenza di ossigeno, metabolizzando il piruvato attraverso la fermentazione alcolica



Vitamina B1 o Tiamina

- Importante ruolo nel metabolismo energetico
- Sintesi di ATP
- Co-fattore nella via del pentoso fosfato (**transchetolasi**) –
Essenziale nella neurotrasmissione e nella conduzione nervosa

Fonte alimentare: Semi, Frutta secca, legumi, carne magra

Carenza di vitamina B1: Beri-beri

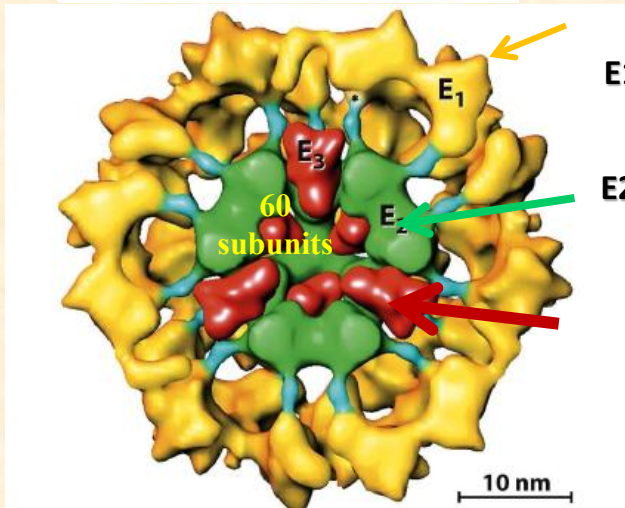
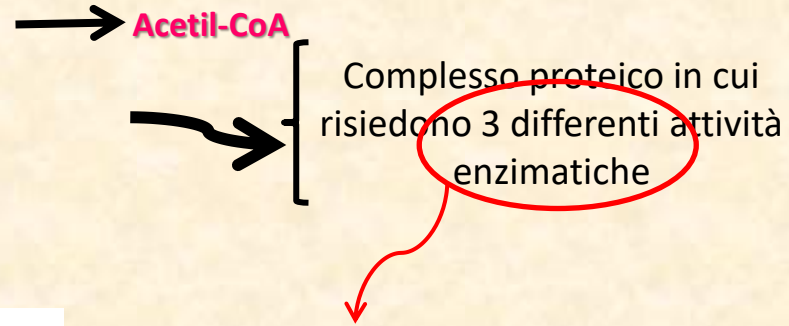
Perdita di appetito, costipazione, nausea

Depressione, neuropatia periferica

Perdita della memoria a breve termine

Perdita della coordinazione dei movimenti oculari

Complesso della Piruvato Deidrogenasi



E1= Piruvato deidrogenasi (24 subunità)

TPP (vit B1)

E2=Diidrolipoammide acetiltransferasi (24 subunità)

Ac. Lipoico

E3= Diidrolipoammide deidrogenasi (12 subunità)

FAD (riboflavina -vit B2)

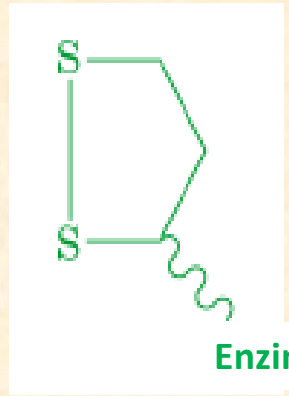
Intervengono inoltre:

☞ NAD (niacina- vit. B3)

☞ Coenzima A (CoA-SH) (vit B5)

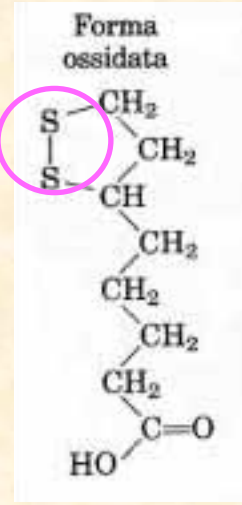
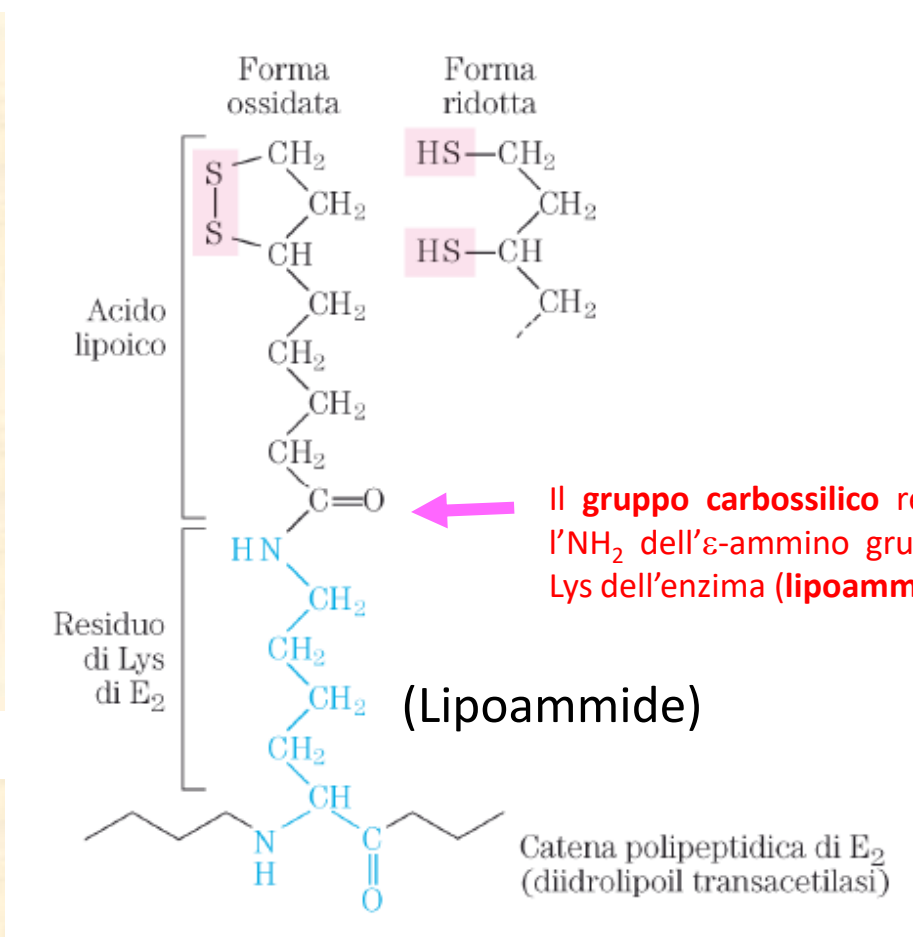
-8 atomi di carbonio uno di questi è un carbonio carbossilico

-2 atomi di zolfo impegnati in un ponte disolfuro (forma ossidata) o come tioli liberi (forma ridotta)

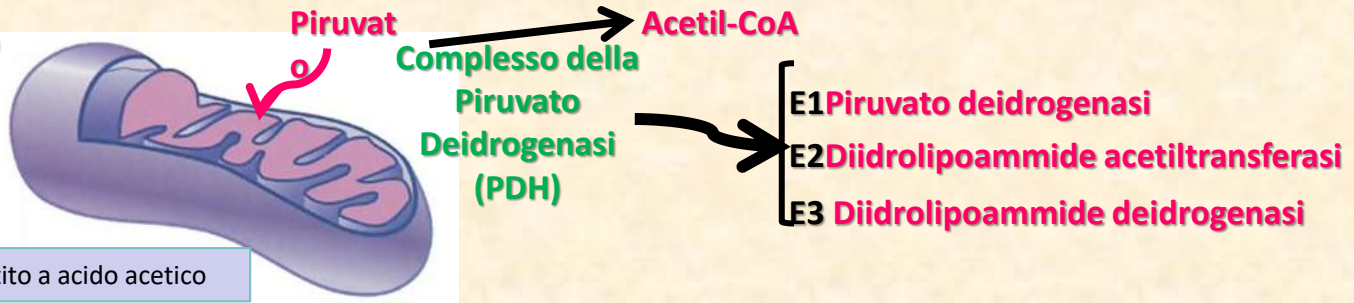


Rappresentazione semplificata della lipoammide (acido lipoico legato all'enzima)

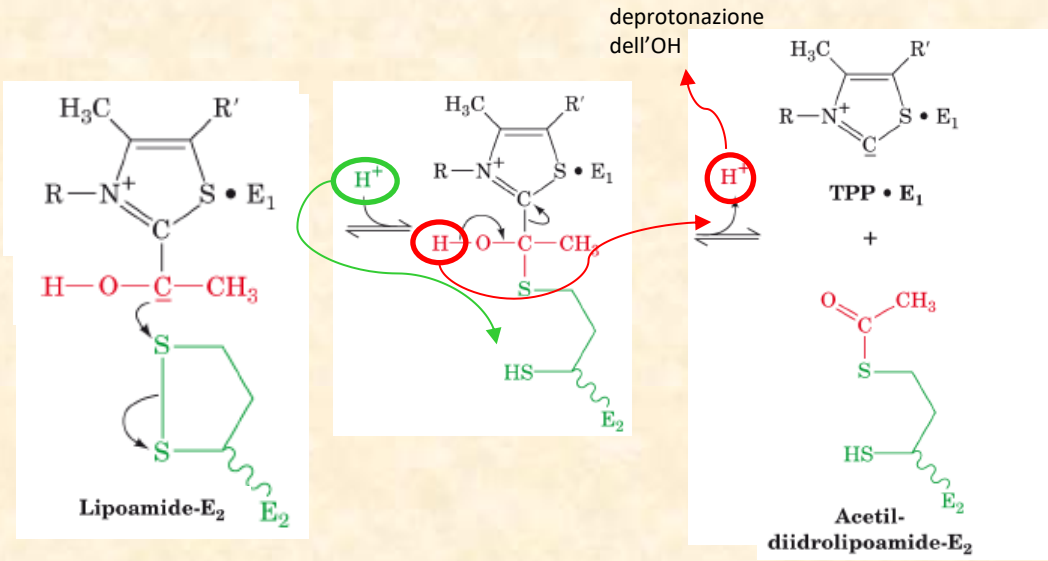
Acido lipoico



Meccanismo di reazione:



L'idrossietile deve convertito a acido acetico



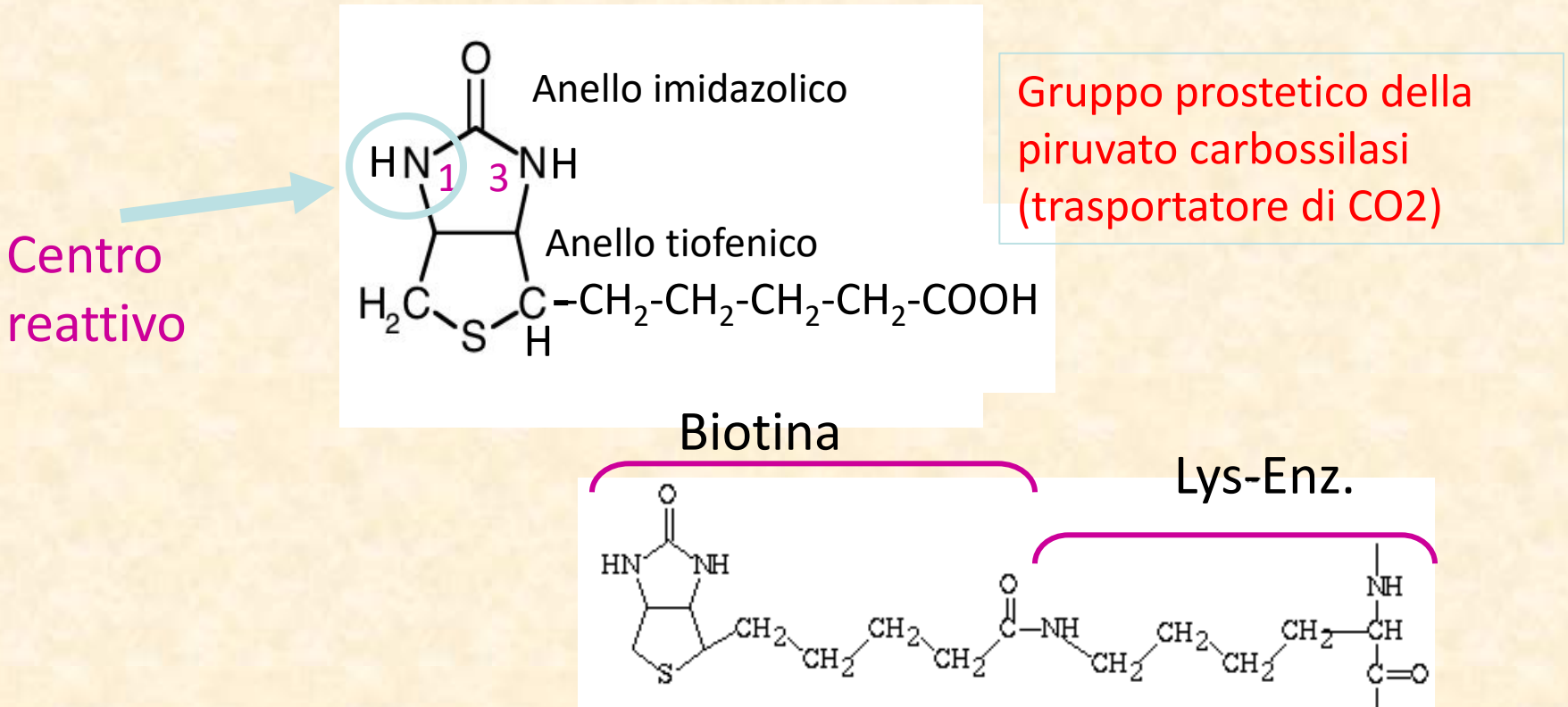
Questa reazione, catalizzata ancora dalla componente piruvato deidrogenasi E1, produce acetil-diidrolipoammide.

E1 trasferisce sull'acido lipoico di E2 il gruppo acetilico (formazione di un tioestere)

Il trasferimento è accoppiato: ❶ all'ossidazione dell'idrossietile ad acetato ❷ e quindi alla riduzione dell'acido lipoico

BIOTINA (vitamina B7)

Vitamina sintetizzata dai batteri intestinali e poi assorbita

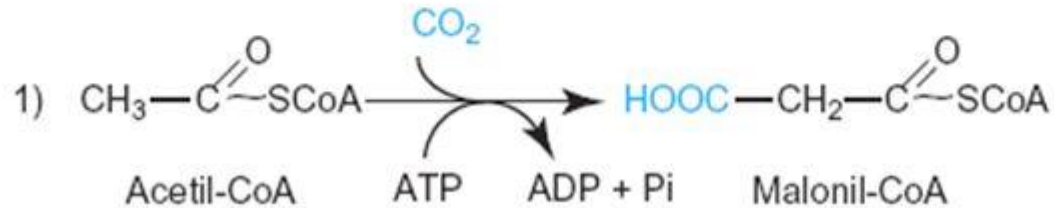


Si lega al sito attivo attraverso un legame carboamidico con un residuo di Lys dell'enzima.

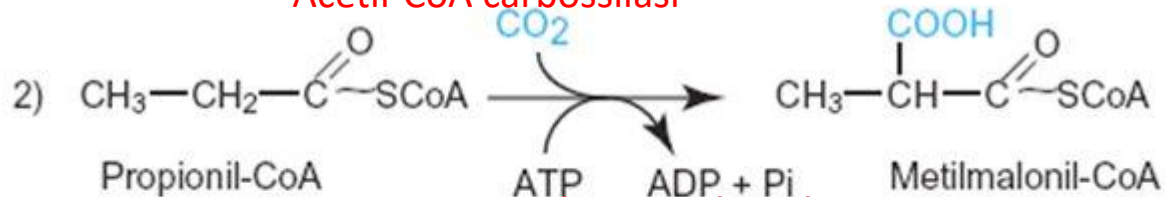
È il **gruppo prostetico** di enzimi che catalizzano reazioni di carbossilazione ATP-dipendenti.

Vitamina B7 (Biotina) (3)

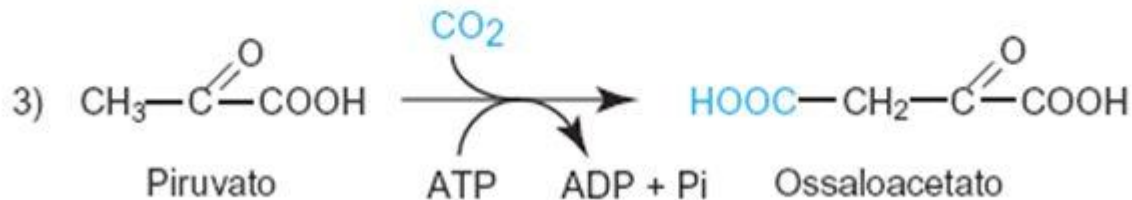
Carbossilasi che utilizzano biotina come cofattore



Acetil-CoA carbossilasi



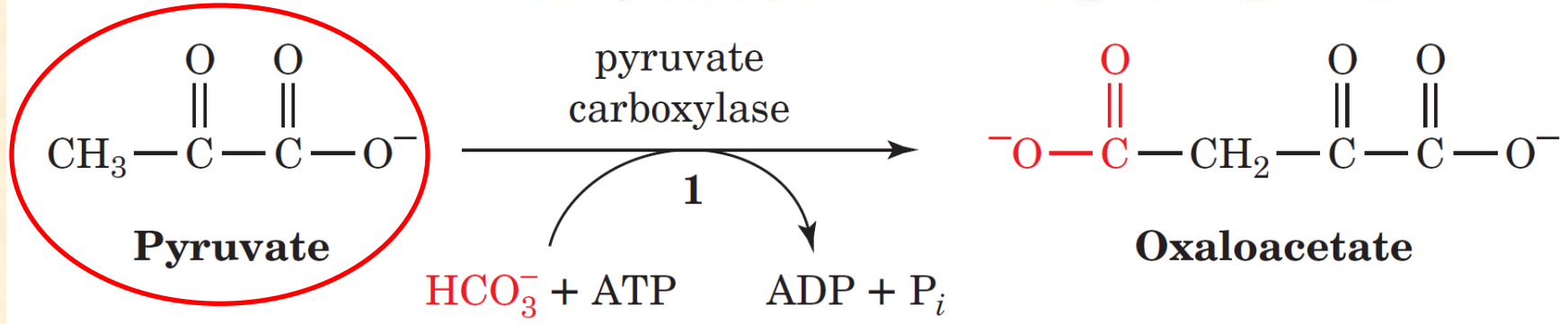
Propionil-CoA carbossilasi



Piruvato carbossilasi

Reazione della piruvato carbossilasi

- ATP, biotin, Mn^{++} and CO_2 are required.



Carboxylation involving pyruvate, bicarbonate ion, **biotin** and ATP

Gluconeogenesi



Vitamina B7 o Biotina

Fonte alimentare: Lievito, tuorlo d'uovo, Frutta secca, legumi.

Carenza di vitamina B7: disordini diffusi

Depressione

Allucinazioni

Dolori muscolari

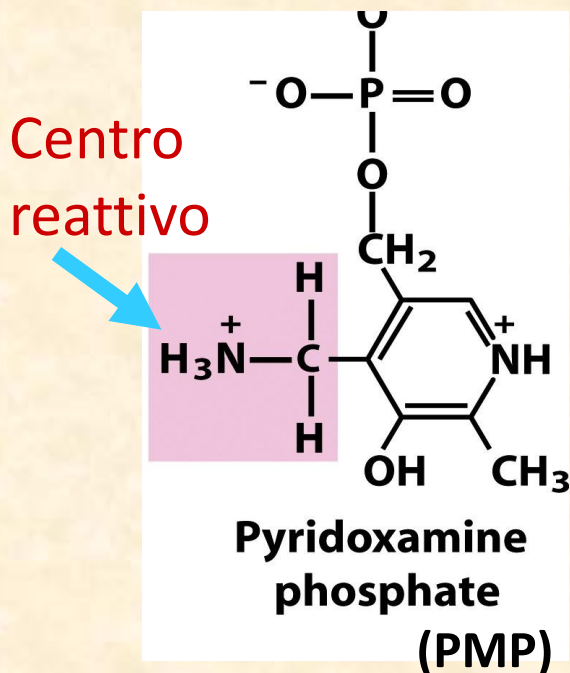
Dermatite

L'ingestione di uova crude può indurre una carenza di Vit. B7, perché una proteina, l'avidina, si lega alla biotina e impedisce il suo assorbimento.

Vitamina B6 (Piridossina) (2)

La forma attiva della vitamina B6 è il coenzima piridossalfosfato (PLP)

Il PLP è il gruppo prostetico di enzimi che catalizzano **transamminazione**, **decarbossilazione**, **racemizzazione** (L→D) che coinvolgono amminoacidi.



Centro reattivo

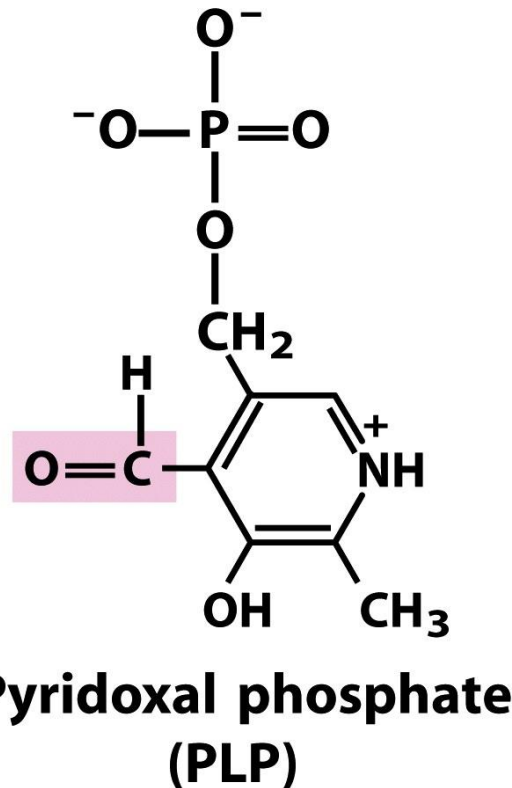
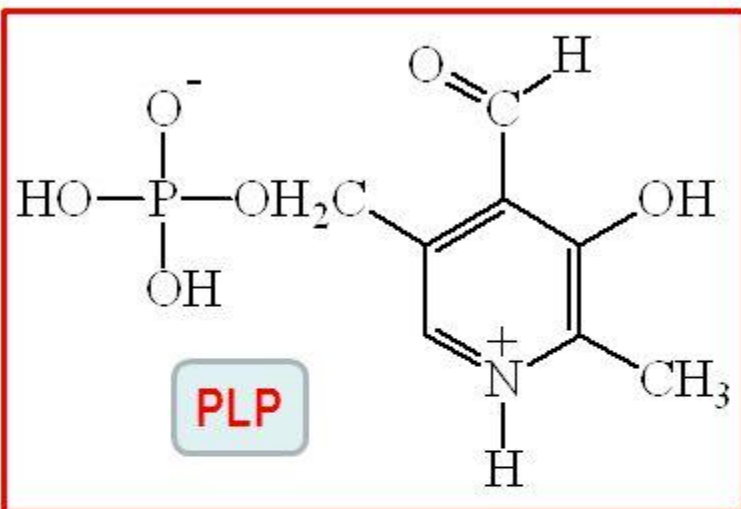


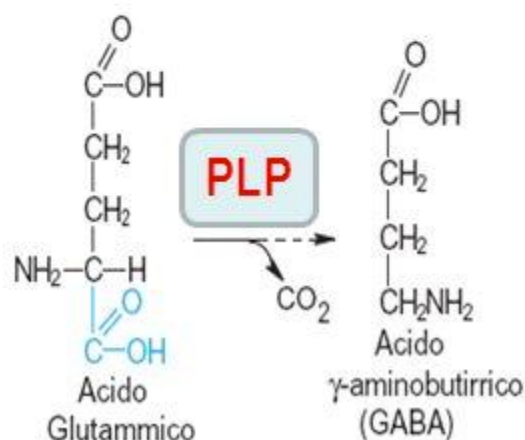
Figure 18-5a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Vitamina B6 (Piridossina) (2)

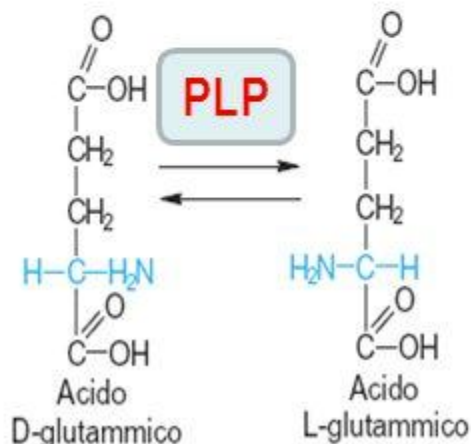
La forma attiva della vitamina B6 è il coenzima **piridossalfosfato (PLP)**



DECARBOSSILAZIONE:



RACEMIZZAZIONE:



La richiesta di vitamina B6 è proporzionale alla attività del metabolismo proteico. E' importante durante la gravidanza e l'allattamento

Le reazioni di

TRANSAMMINAZIONE PLP
dipendenti catalizzate dalle
transamminasi o ammino-
transferasi

Il **gruppo amminico di un
amminoacido** è trasferito su un **α -
chetoacido**, l'amminoacido
diventa α -chetoacido e l' α -
chetoacido diventa amminoacido.

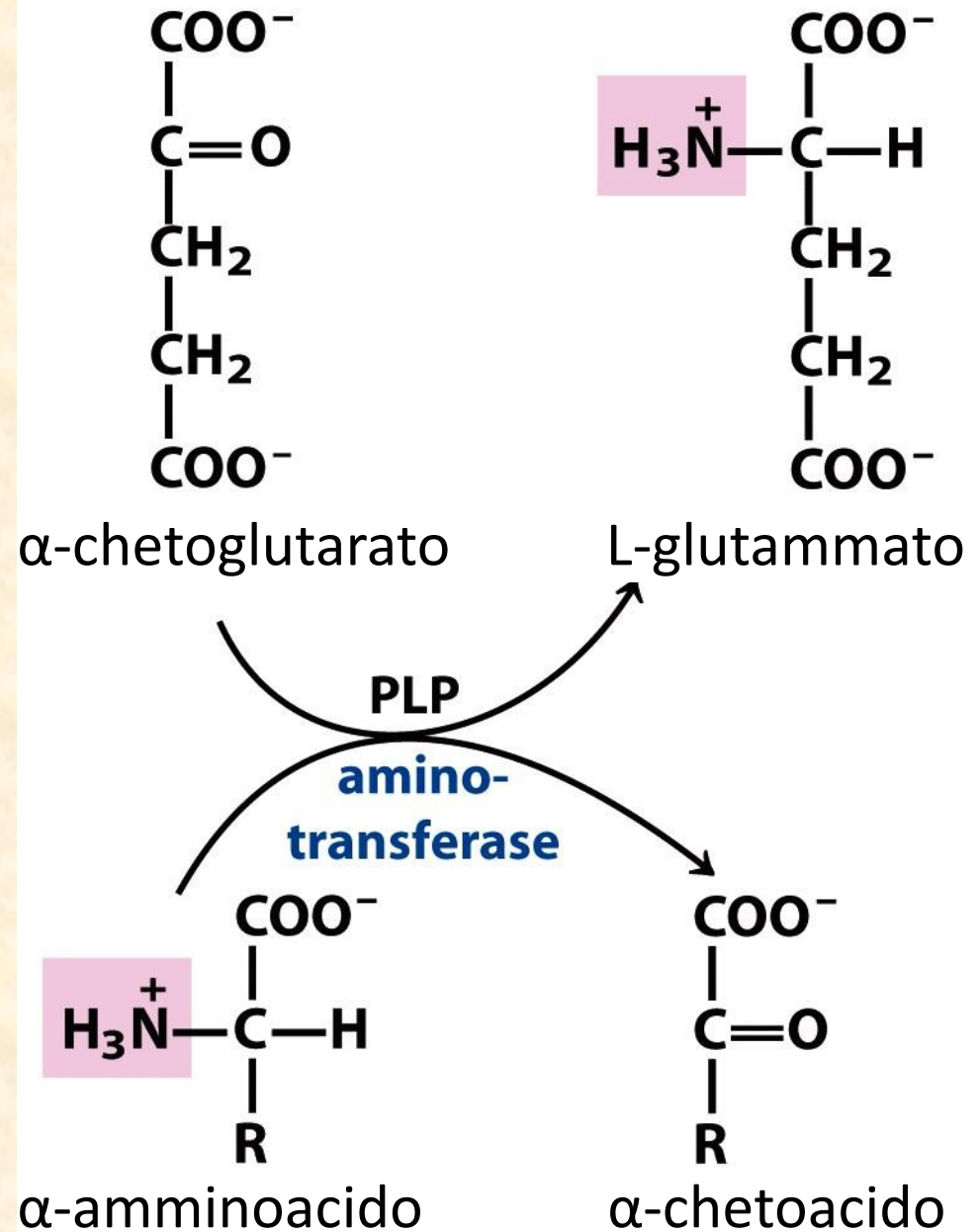


Figure 18-4

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Vitamina B6

Fonte alimentare:

Lievito, fegato, Frutta secca, fagioli, banane

Carenza di vitamina B6: malattia neurologica

Irritabilità

Depressione

Neuropatia periferica

Convulsioni

Coma

La richiesta di vitamina B6 è proporzionale alla attività del metabolismo proteico. E' importante durante la gravidanza e l'allattamento

E' importante nella sintesi dei neurotrasmettitori (serotonina, noradrenalina) e della sfingosina e altri sfingolipidi

Necessaria per la biosintesi dell'eme.-> Anemia

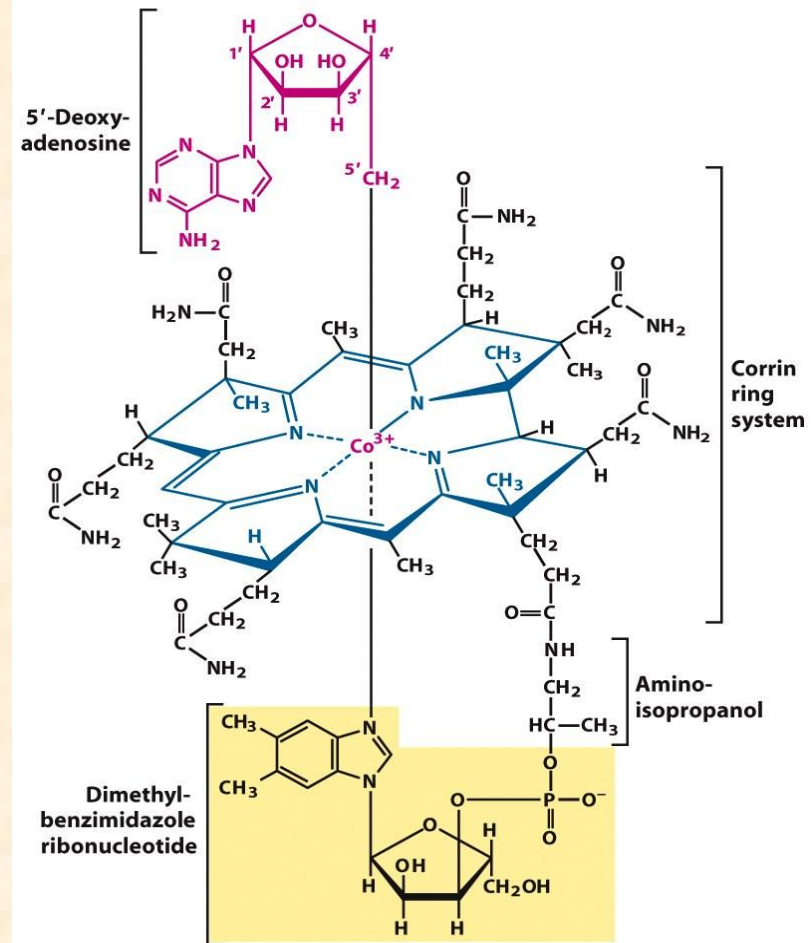
COBALAMMINA

Vitamina B₁₂

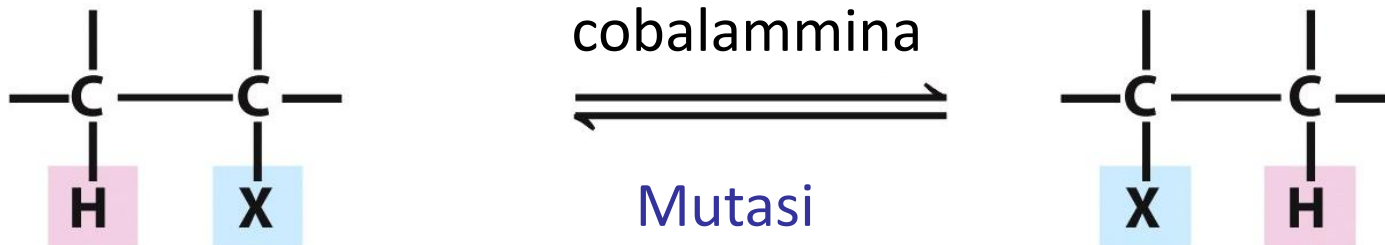
Sintetizzata da alcune specie di batteri e assunta dall'uomo con alimenti di origine animale.

È assorbita dalla mucosa intestinale.

Prende parte a reazioni di **ri-arrangiamento intramolecolare** di tipo radicalico, catalizzate da **mutasi o transferasi**



Box 17-2 figure 2



Box 17-2 figure 1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Gli enzimi sono i Catalizzatori biologici

- Aumentano la velocità di una reazione
- Non modificano l'equilibrio della reazione e la variazione di E tra reagenti e prodotti (ΔG)
- Si ritrovano inalterati al termine del processo

Specificità degli enzimi

Enzimi che catalizzano una sola reazione (assoluta)

Enzimi che agiscono su molecole con uno specifico gruppo chimico (di gruppo)

Enzimi che agiscono su un tipo di legame chimico (di legame)

Reazione enzimatica



E: enzima

S: substrato

P: prodotto

ES: complesso transitorio enzima-substrato

EP: complesso transitorio enzima-prodotto

LA VARIAZIONE DI ENERGIA LIBERA STANDARD E' CORRELATA ALLA K_{eq}

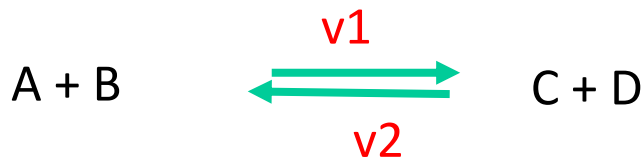
Consideriamo la generica equazione:



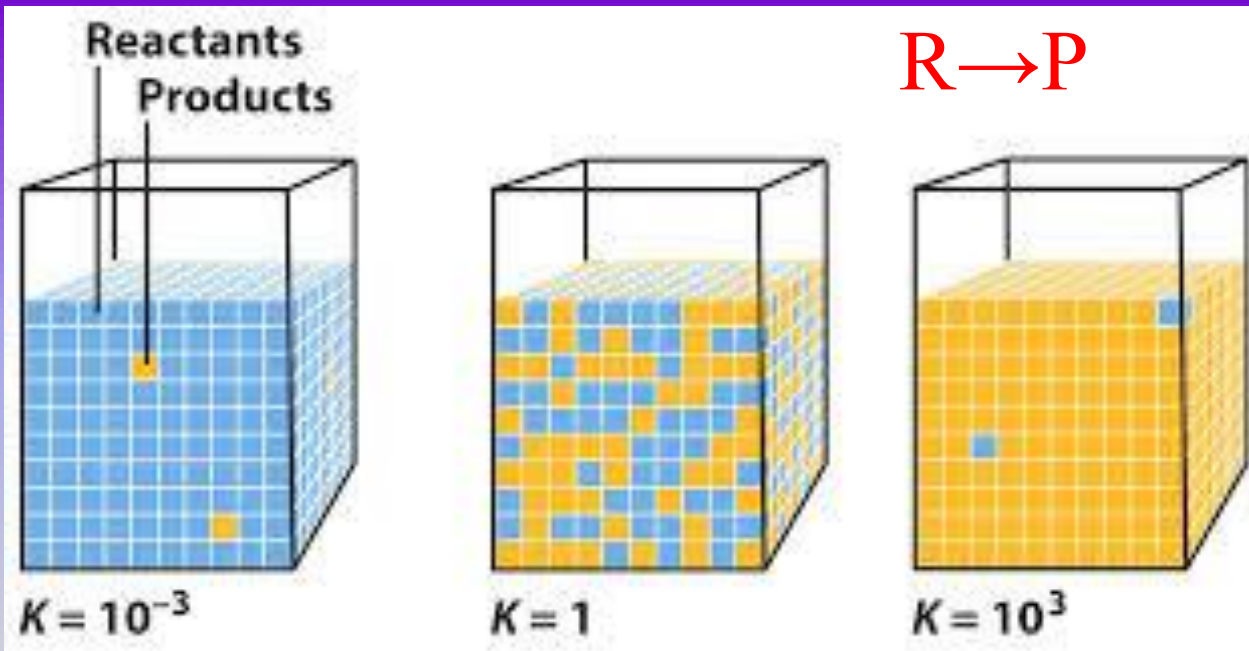
Definiamo costante di equilibrio K_{eq}

$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b} \quad \text{a temperatura costante!}$$

Una reazione è all'equilibrio quando la velocità della reazione diretta è uguale alla velocità della reazione inversa



$$v_1 = v_2$$



$$K_{eq} = \frac{[C]_{eq}^c [D]_{eq}^d}{[A]_{eq}^a [B]_{eq}^b}$$

$K_{eq} < 0.1$ = la $[R] \gg [P]$ l'equilibrio favorisce nettamente i reagenti: Reazione spostata a sinistra

$0.1 < K_{eq} < 10$ = l'equilibrio non favorisce fortemente né i prodotti, né i reagenti

$K_{eq} > 10$ = la $[P] \gg [R]$ equilibrio favorisce nettamente i prodotti. Reazione spostata a destra

La K equilibrio è correlata alla variazione di energia libera standard

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

$\Delta G^\circ =$ in condizioni standard: 25°C (298 K), 1M, 1 atm

$R = 8,315 \text{ J/mol}$ costante universale dei gas

$\Delta G^{\circ'}$ = in condizioni standard biochimiche :
25°C, pH 7 ($[\text{H}^+] = 10^{-7} \text{ M}$), 1 atm

AD UNA REAZIONE CHIMICA E' SEMPRE ASSOCIATA UNA VARIAZIONE DI ENERGIA

$$\Delta G = G(\text{prodotti}) - G(\text{reagenti})$$

$\Delta G < 0$ La trasformazione dei reagenti nei prodotti avviene spontaneamente La reazione è ESOERGONICA

$\Delta G = 0$ La reazione è all'equilibrio

$\Delta G > 0$ La trasformazione dei reagenti nei prodotti NON avviene spontaneamente La reazione è ENDOERGONICA

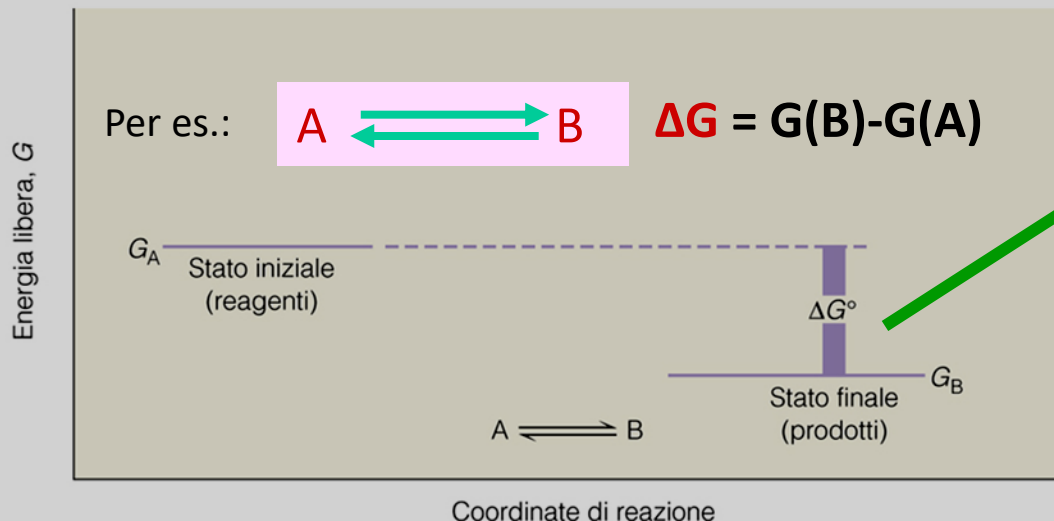
LA ENERGIA LIBERA MISURA LA SPONTANEITA' DI UNA REAZIONE

ma non fornisce informazioni sulla velocità della reazione

L'enzima partecipa alla reazione che catalizza:

- senza modificare lo stato di equilibrio della reazione.
- senza modificare la variazione di energia libera tra reagenti e prodotti che si verifica durante la reazione.
- **accelera i tempi con cui reagenti e prodotti raggiungono l'equilibrio.**

La **coordinata di reazione** analizza le variazioni di energia libera che avvengono nel corso della reazione chimica.



G_A = Energia libera reagenti

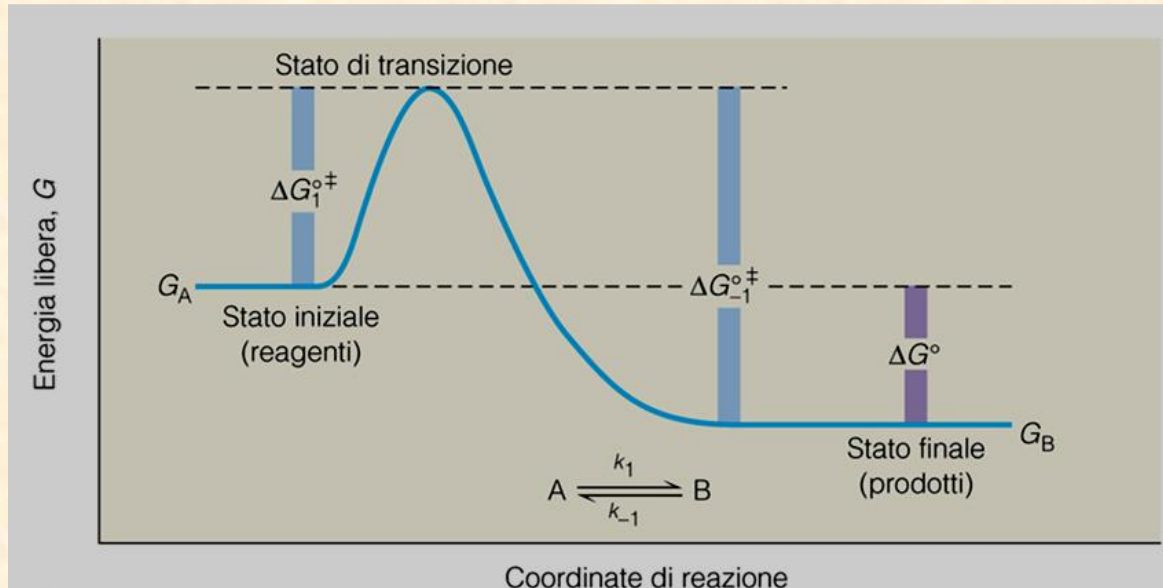
G_B = Energia libera prodotti

ΔG° = variazione di energia libera della reazione (**indica la spontaneità della reazione, non della sua velocità**)

$\Delta G^\circ < 0$ = reazione esoergonica (spontanea) ($A \rightarrow B$)

$\Delta G^\circ > 0$ = reazione endoergonica (non spontanea) (è spontanea la reazione inversa $B \rightarrow A$)

I catalizzatori non modificano gli equilibri di una reazione



G_A = Energia libera reagenti

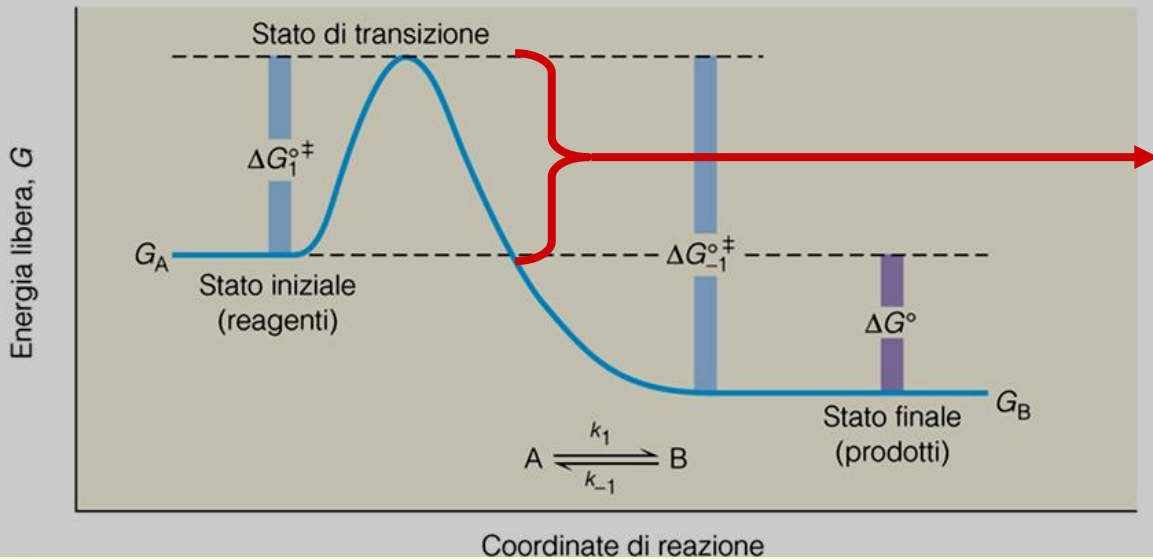
G_B = Energia libera prodotti

ΔG° = variazione di energia libera della reazione (indica la spontaneità della reazione, non della sua velocità)

$\Delta G^{\circ} < 0$ = reazione esoergonica (spontanea) ($A \rightarrow B$)

$\Delta G^{\circ} > 0$ = reazione endoergonica (non spontanea) (è spontanea la reazione inversa $B \rightarrow A$)

Diagramma dello stato di transizione o diagramma della coordinata di reazione

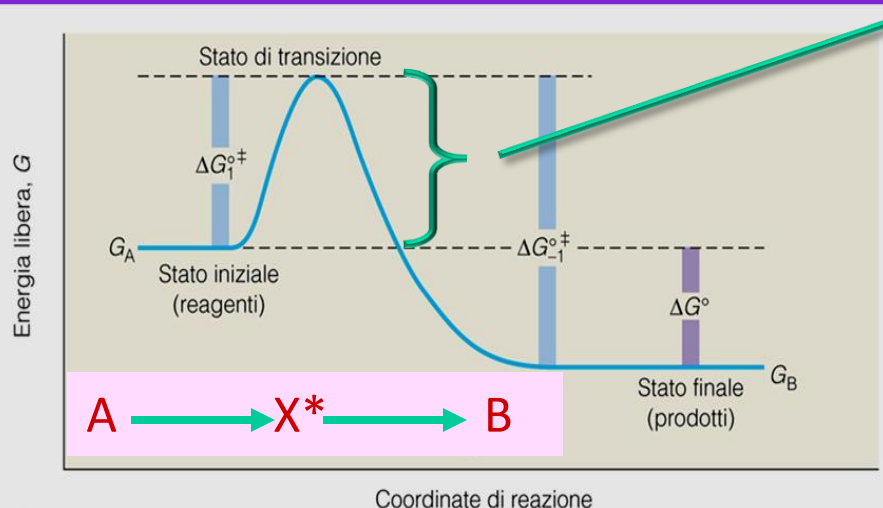


Affinché avvenga la trasformazione dei reagenti in prodotti è necessario superare un dislivello energetico: **ENERGIA DI ATTIVAZIONE ($\Delta G^{0‡}$)** (correlata alla velocità della reazione)

$$\Delta G_1^{0‡} = E_{\text{att}} \text{ della reazione diretta}$$
$$\Delta G_{-1}^{0‡} = E_{\text{att}} \text{ della reazione inversa}$$

ENERGIA DI ATTIVAZIONE ($\Delta G^{0\ddagger}$) =

È l'energia necessaria a raggiungere e superare lo stato di transizione della reazione.



X^* = STATO DI TRANSIZIONE: corrisponde con il punto di energia più elevato della reazione, in cui le molecole sono orientate correttamente per trasformarsi, sono avvicinate e subiscono distorsioni perché contemporaneamente si rompono alcuni legami e se ne formano degli altri.

Nella reazione solo le molecole che hanno l'energia sufficiente per superare gli «ostacoli» alla loro trasformazione vengono convertite

Cioè quelle molecole che possiedono, quindi,

un'energia \geq all'E. ATTIVAZIONE ($\Delta G^{0\ddagger}$).

Ostacoli da superare



- 1) URTI MOLECOLARI
- 2) ORIENTAMENTO
- 3) FORZE REPULSIVE
- 4) DESOLVATAZIONE

L'energia che le molecole di reagente devono possedere per essere trasformate in prodotto è fornita dalla **E. cinetica che le molecole stesse possiedono.**



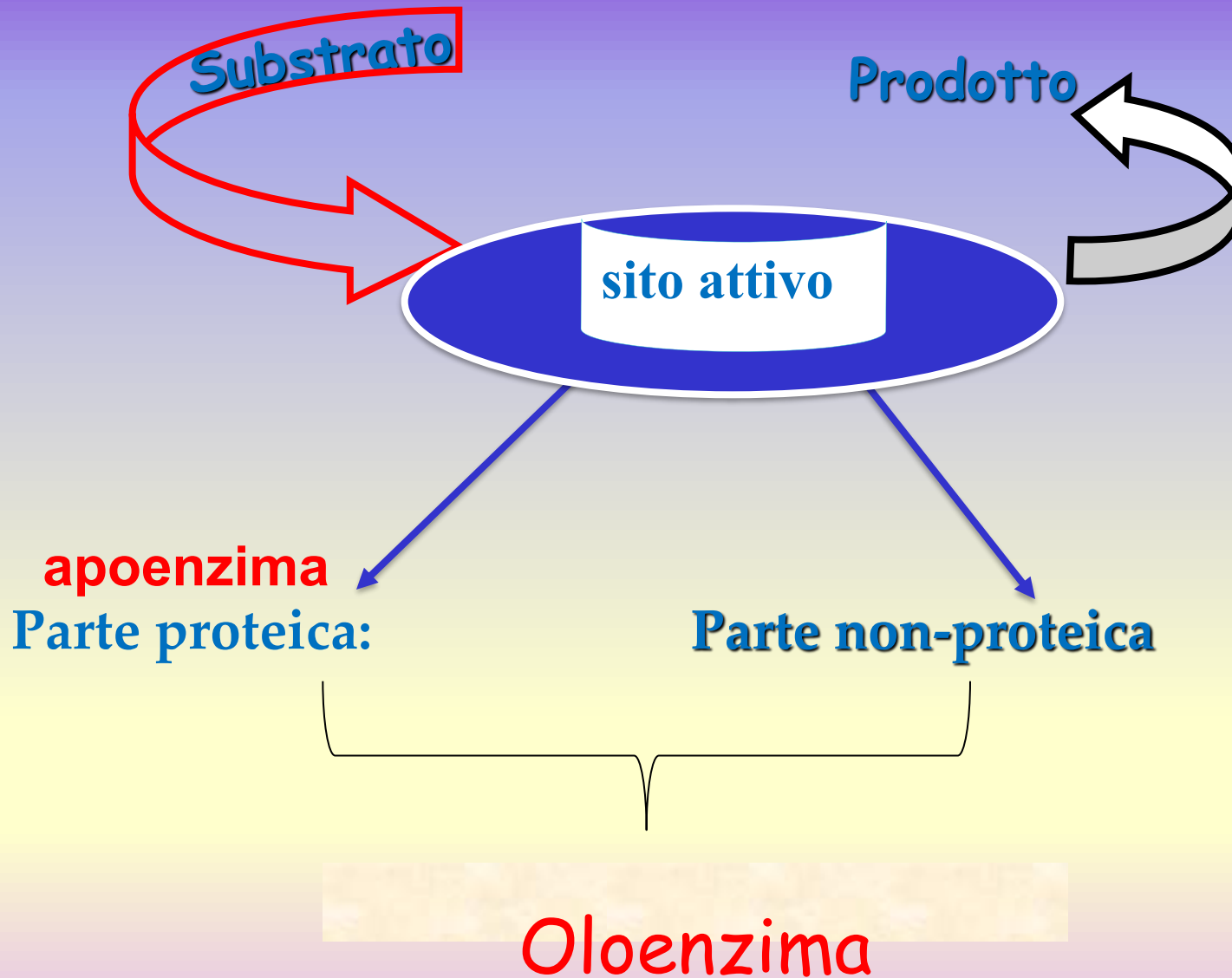
L'E. cinetica è convertita in energia libera G:

le molecole di reagente che hanno una E. cinetica $>$ all' E_{att} superano lo STATO DI TRANSIZIONE e si trasformano in prodotto.

- ❖ Se E_{att} è BASSA: un gran numero di molecole avrà E. cinetica media \geq all' E_{att}  **La reazione sarà VELOCE**
- ❖ Se E_{att} è ALTA: un piccolo numero di molecole avrà E.cinetica media \geq all' E_{att}  **La reazione sarà LENTA**

LA VELOCITÀ DELLA REAZIONE DIPENDE DALL'ENERGIA DI ATTIVAZIONE

Struttura generale degli enzimi



LE REAZIONI CHIMICHE

NEI SISTEMI BIOLOGICI

Le reazioni si realizzerebbero in tempi molto lunghi!


Gli enzimi aumentano la velocità le reazioni cellulari



**Gli enzimi
abbassano
l'energia di
attivazione
della reazione**

Velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi:

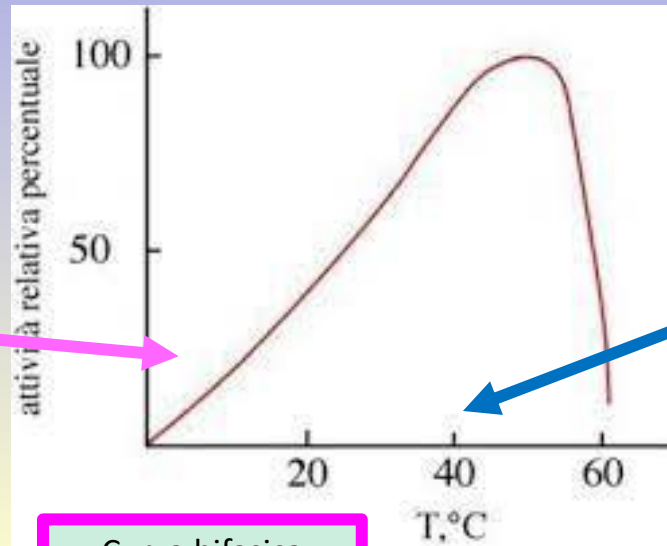
La velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi è influenzata da diversi fattori:

1. temperatura 
2. pH.
3. concentrazione del substrato
4. concentrazione dell'enzima
5. concentrazione dei cofattori

Effetto della temperatura sulla velocità di una reazione enzimatica mantenendo costanti pH , $[E]$ e $[S]$

Parte ascendente della curva

la velocità di reazione aumenta all'aumentare della T sino a raggiungere un valore massimo



Curva bifasica

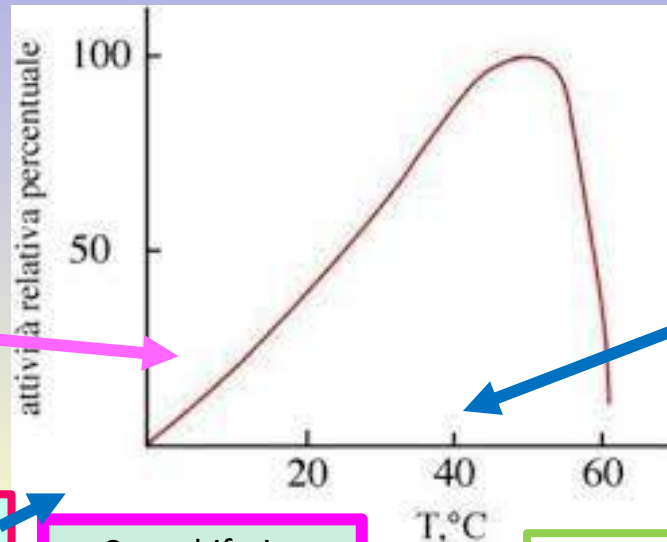
Parte discendente della curva

A T superiori a quella ottimale (parte più alta della curva) viene alterato lo stato energetico del sistema e l'enzima va incontro a modificazioni strutturali (rottura dei legami idrogeno)

Effetto della temperatura sulla velocità di una reazione enzimatica mantenendo costanti pH , $[E]$ e $[S]$

Parte ascendente della curva

la velocità di reazione aumenta all'aumentare della T sino a raggiungere un valore massimo



Parte discendente della curva

A T superiori a quella ottimale (parte più alta della curva) viene alterato lo stato energetico del sistema e l'enzima va incontro a modificazioni strutturali (rottura dei legami idrogeno)

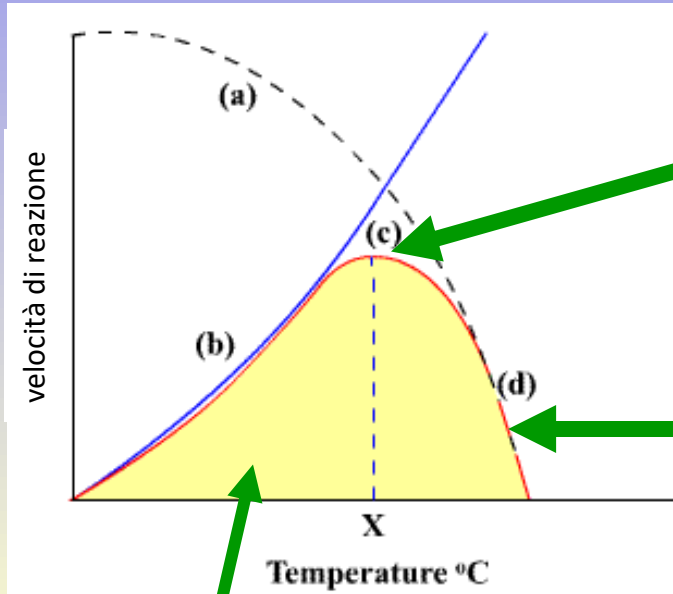
Inattivazione Reversibile a basse temperatura

Curva bifasica

L'*optimum* di temperatura degli enzimi intracellulari è intorno ai 37°C

in generale, a temperature **superiori ai 50 °C** l'attività di un enzima si arresta in modo irreversibile

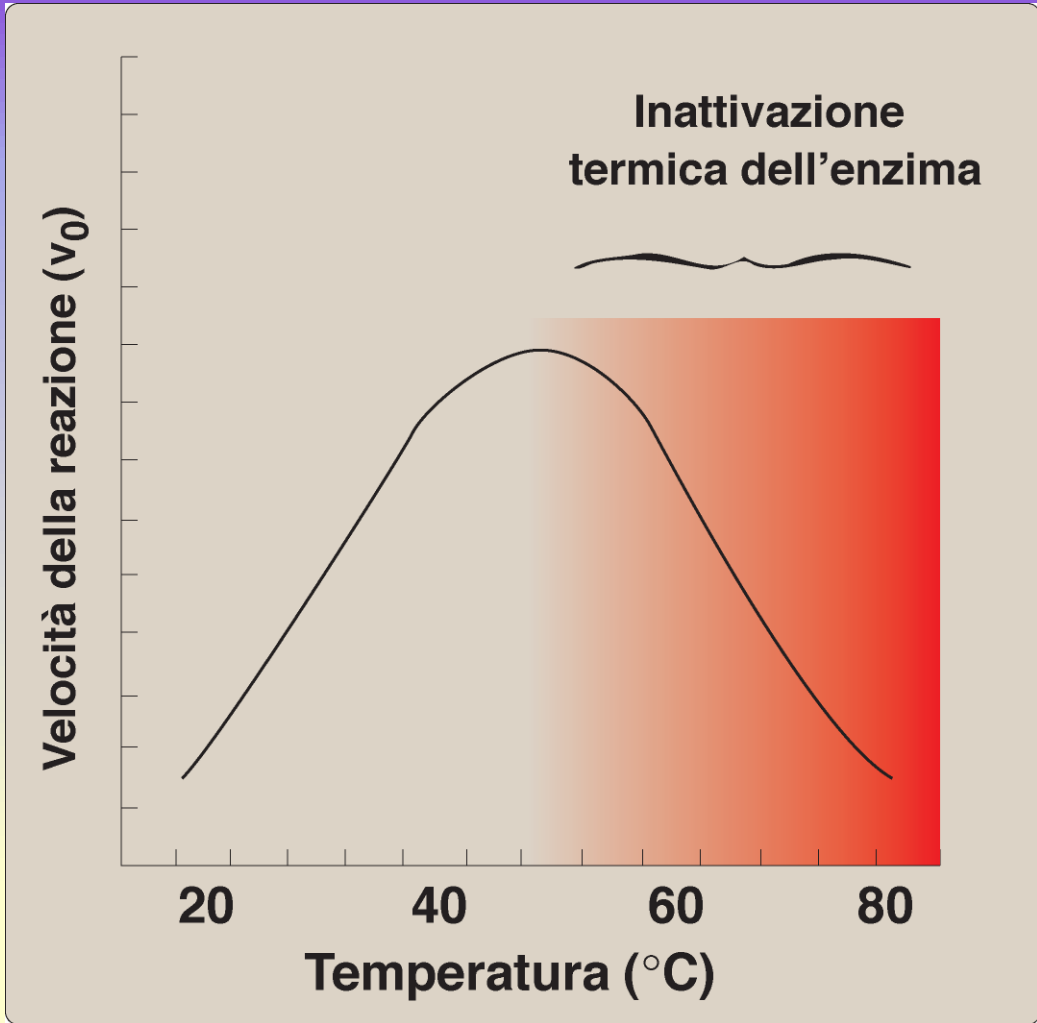
Effetto della temperatura sulla velocità di una
reazione enzimatica >> CURVA BIFASICA



La velocità di reazione aumenta all'aumentare della temperatura sino a raggiungere un valore massimo (Mantenendo costanti pH, [E] e [S])

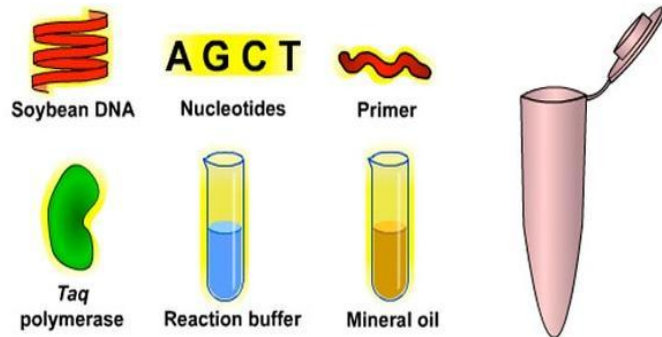
Optimum di temperatura:
è diverso per i diversi
enzimi

- A T° superiori a quella ottimale:
- sono alterate le interazioni che consentono la formazione di ES;
 - l'enzima va incontro a modificazioni strutturali del sito attivo (**rottura dei legami deboli, denaturazione**)



Una proteina che ha rivoluzionato le tecniche biotecnologiche: La Taq Polimerasi.

Polymerase Chain Reaction




La DNA polimerasi del batterio termofilo *Thermus aquaticus*.

Il batterio *Thermus aquaticus* fu identificato nel 1969 da Thomas D. Brock e Hudson Freeze ed è diventato famoso perché produce numerosi enzimi che non si denaturano ad alte temperature. La DNA polimerasi di questo batterio (chiamata "Taq polymerase" o semplicemente Taq) fu isolata nel 1976. Si scoprì che l'enzima aveva un optimum di temperatura ad 80 °C.

Velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi:

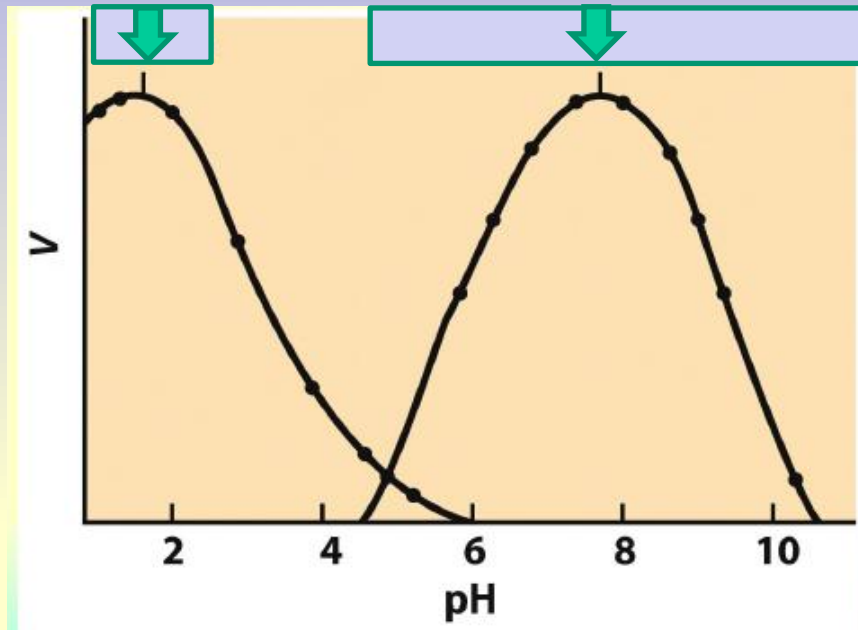
La velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi è influenzata da diversi fattori:

1. temperatura
2. pH 
3. concentrazione del substrato
4. concentrazione dell'enzima
5. concentrazione dei cofattori

L'attività enzimatica e pH

Gli enzimi hanno **pH ottimale**
in cui la loro attività è massima

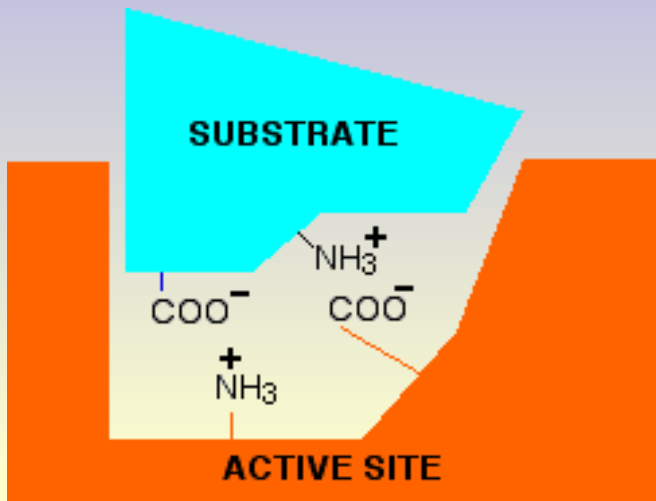
A valori più alti o più bassi di pH l'attività dell'enzima
diminuisce



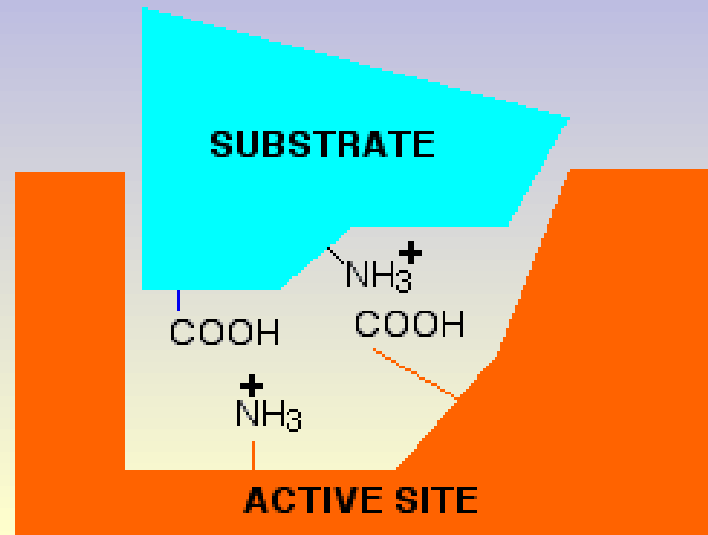
L'attività enzimatica e pH

Le catene laterali degli aminoacidi possono agire da acidi o basi deboli

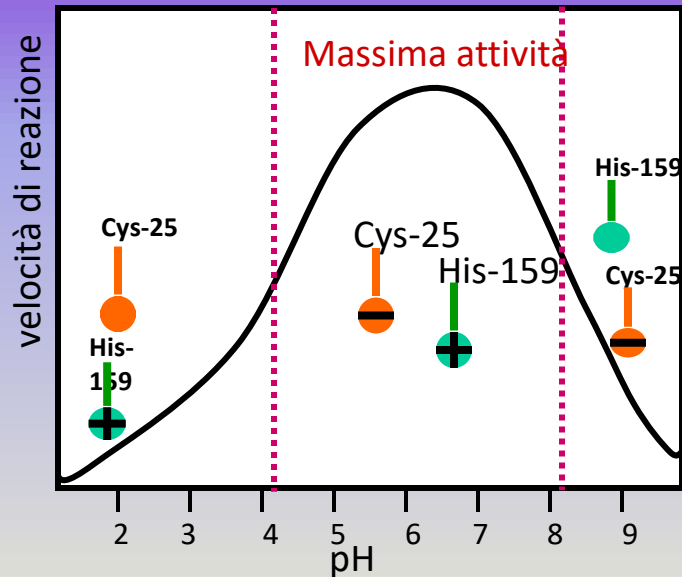
Può riguardare sia l'enzima che il substrato



Un pH molto acido non influenzerà il gruppo NH_3^+ ma il gruppo COO^- sarà protonato.



Potrà quindi destabilizzare una interazione elettrostatica necessaria per il legame enzima-substrato

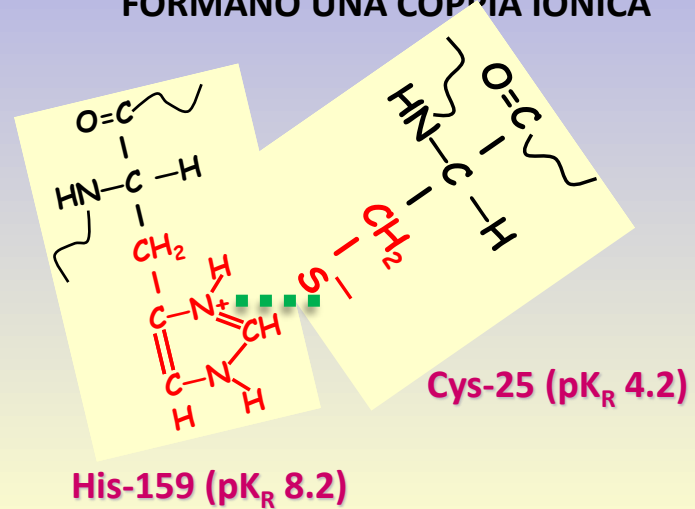


Massima attività: intervallo di pH compreso fra i pKa di due residui aminoacidici del sito attivo (fra pH 4.2 e 8.2). In questo intervallo le catene laterali di entrambi i residui aminoacidici sono ionizzati.

PAPAINA = enzima proteolitico, scinde i legami peptidici delle proteine.

Nel sito attivo sono presenti una cisteina molto acida e un'istidina molto basica.

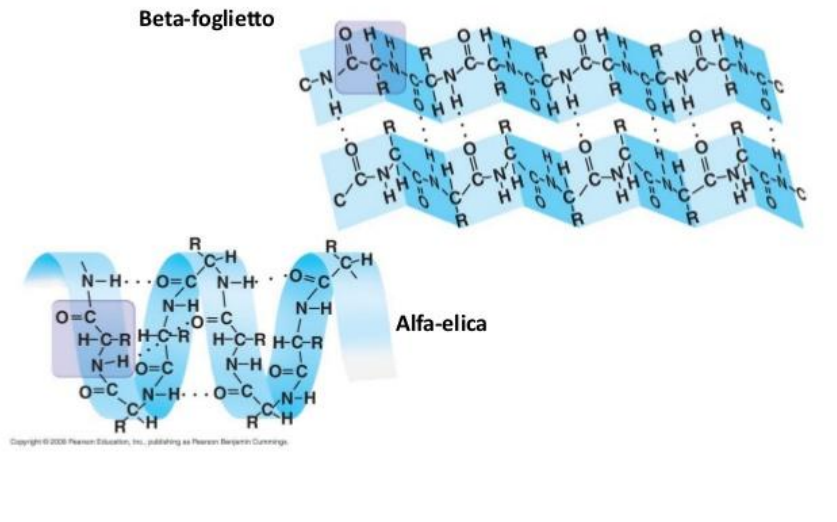
FORMANO UNA COPPIA IONICA



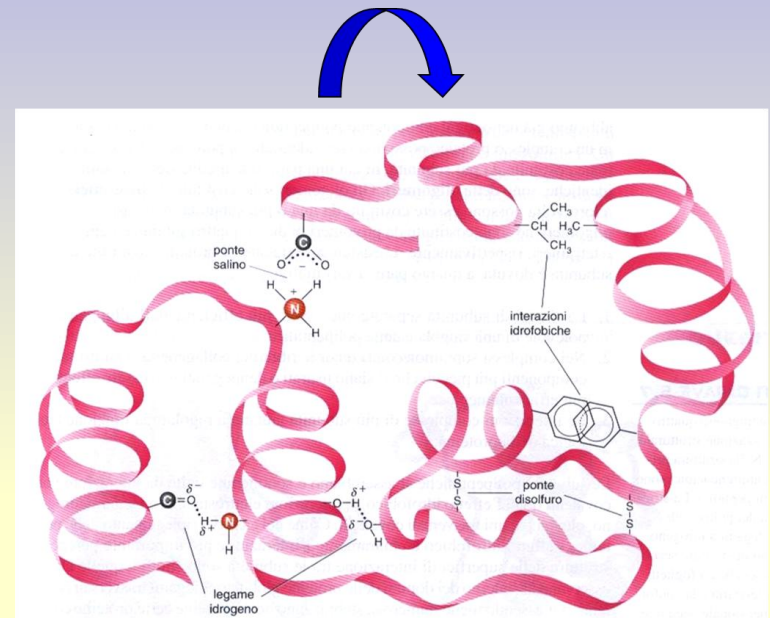
Effetto del pH sulla velocità di una reazione enzimatica

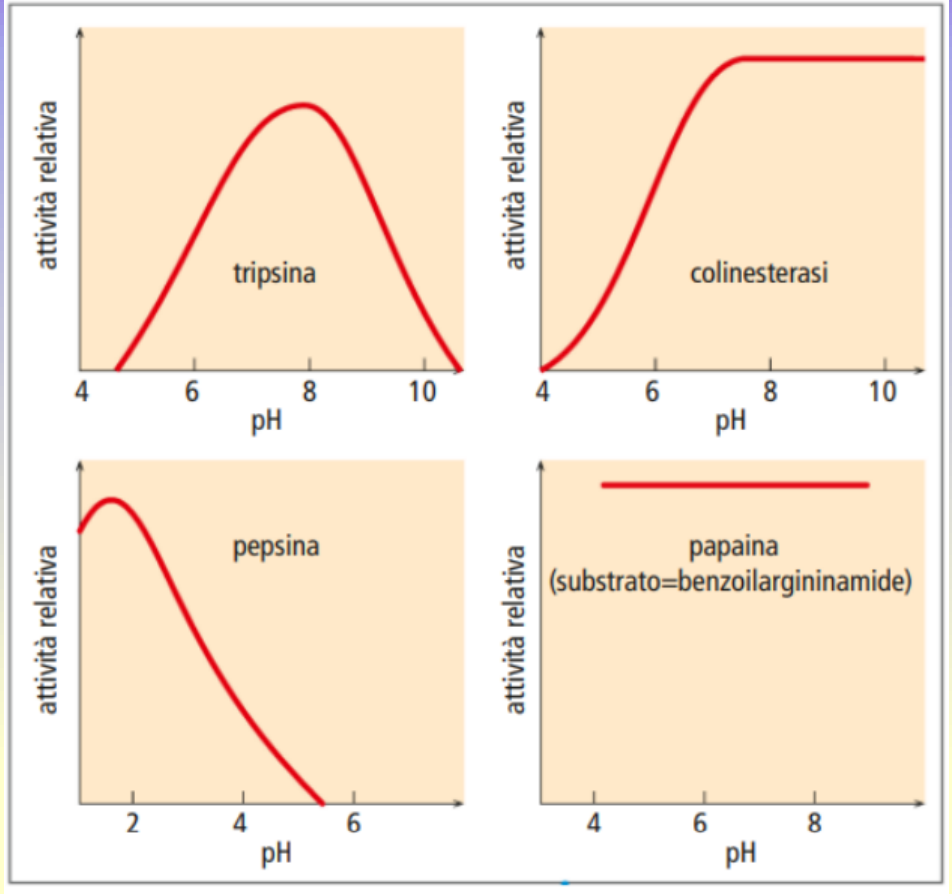
Può compromettere la struttura nativa delle proteine

Struttura secondaria

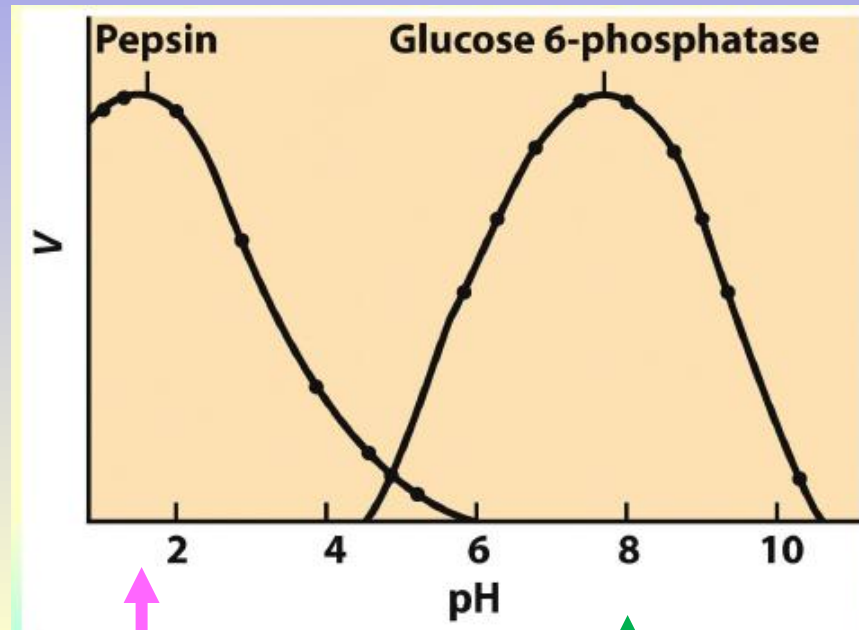


La struttura terziaria è stabilizzata dalle seguenti interazioni tra le catene laterali R dei residui amminoacidici





Effetto del pH sulla velocità di una reazione enzimatica



Enzima succo gastrico

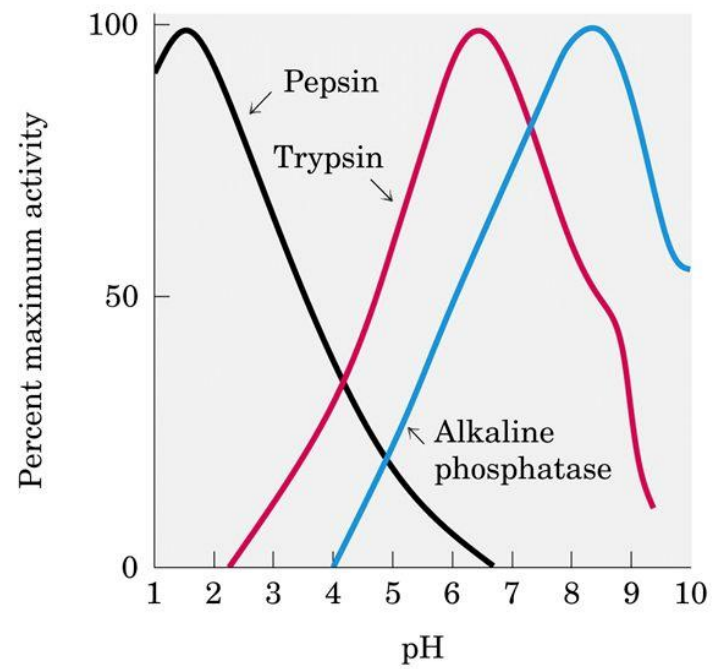
Enzima intracellulare

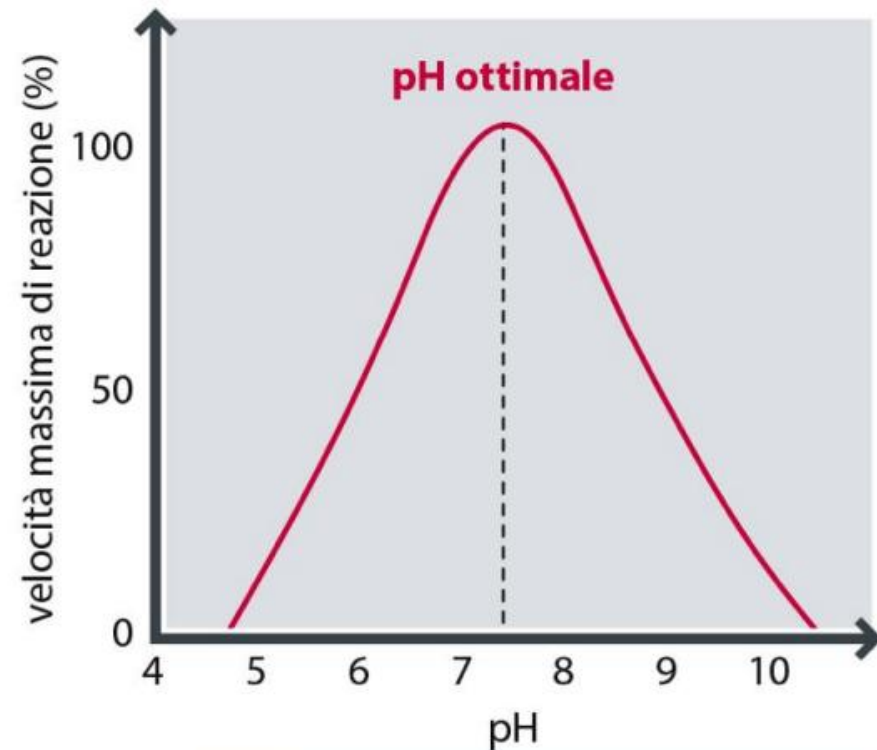
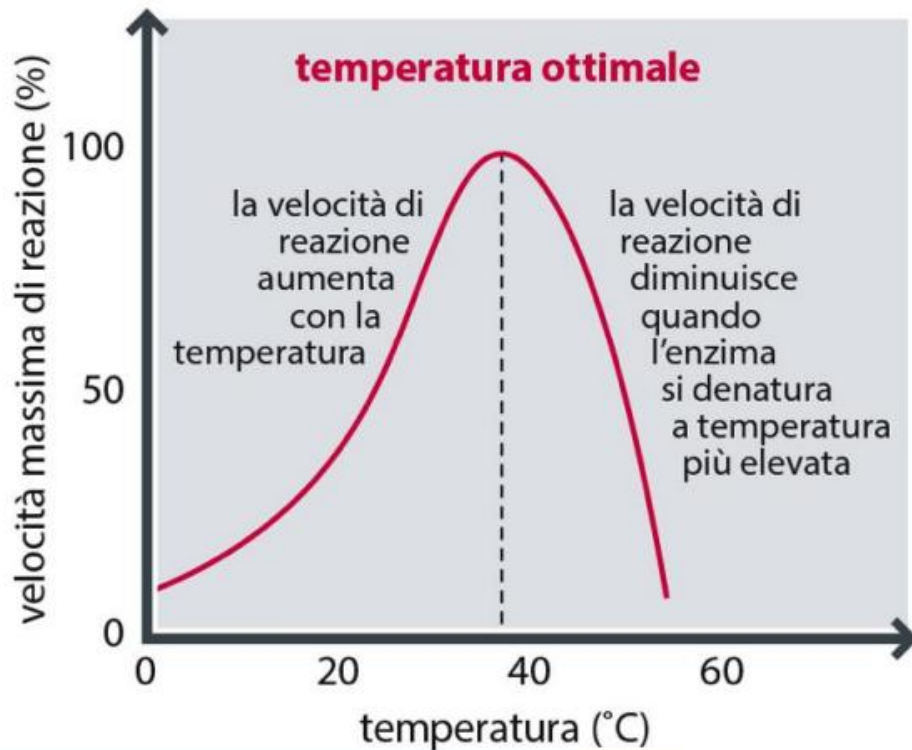
Curva a campana

Optimum di pH degli enzimi intracellulari è intorno ai valori di pH 7

L'attività catalitica è correlata al diverso stato di **protonazione delle catene laterali** dei residui amminoacidici che costituiscono il sito di legame tra il substrato ed il sito catalitico

L'attività enzimatica dipende dal pH






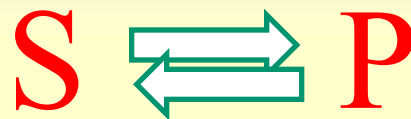
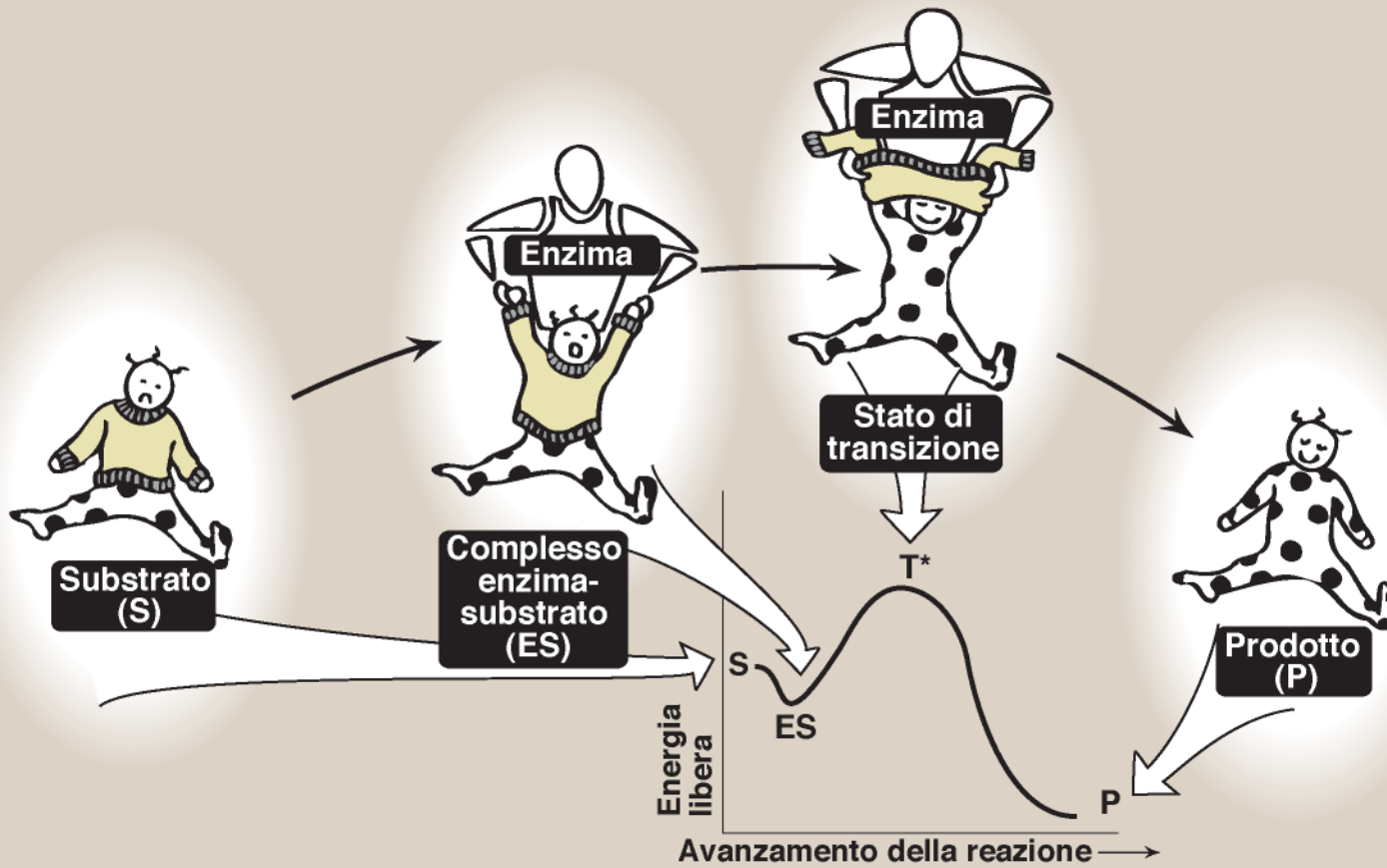
La velocità enzimatica aumenta all'aumentare della t fino a raggiungere un valore max; a t più elevate la velocità diminuisce a causa della perdita di struttura dell'enzima.

La maggior parte degli enzimi mostra un pH ottimale di 6,8-7,4; a valori estremi di pH le proteine si denaturano

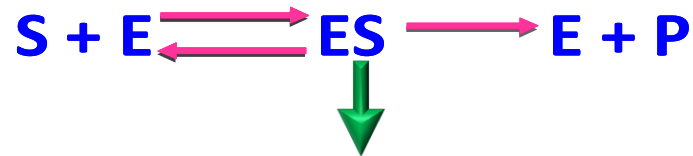
velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi: aspetti generali

La velocità delle reazioni catalizzate dagli enzimi è influenzata da diversi fattori:

1. temperatura
2. pH.
3. concentrazione del substrato 
4. concentrazione dell'enzima
5. concentrazione dei cofattori



L'enzima lega il reagente (o i reagenti) >> SUBSTRATO/I.
Abbassa l' E_{att} nella formazione di un complesso enzima/substrato (ES)
Promuove direttamente l'evento catalitico rilasciando il prodotto e ritornando inalterato nel suo stato originario



- L'interazione fra enzima e substrato (o più substrati) è **reversibile**.
- La formazione del complesso ES comporta il legame fra il **SITO ATTIVO** dell'enzima e il substrato/i.

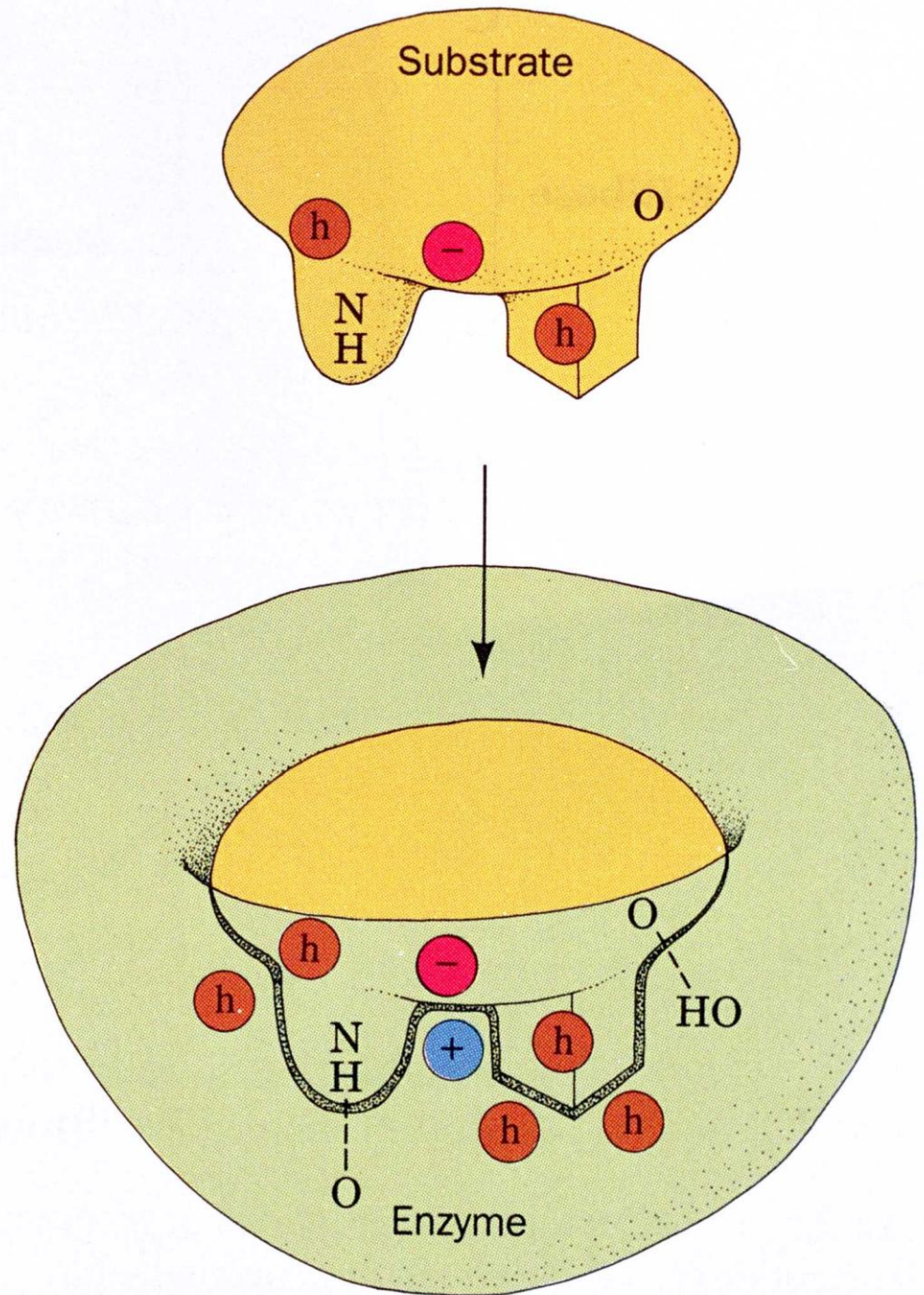
Tasca della proteina in cui sporgono le catene laterali di alcuni residui amminoacidici che costituiscono il **sito di legame** per il substrato (responsabile della specificità) e di altri residui amminoacidici, o cofattori che costituiscono il **sito catalitico** (responsabile dell'evento catalitico)

La **formazione di legami fra il sito attivo dell'enzima e il substrato** è un processo **esoergonico**: libera ENERGIA DI LEGAME che va ad abbassare la barriera costituita dall' E_{att} .

Complesso Enzima-Substrato

L'energia usata per aumentare la velocità enzimatica deriva dalle interazioni deboli (legami idrogeno, interazioni ioniche e idrofobiche) che si formano tra enzima e substrato

ENERGIA di LEGAME



In quale modo l'enzima utilizza l'energia di legame per ridurre l'energia di attivazione??

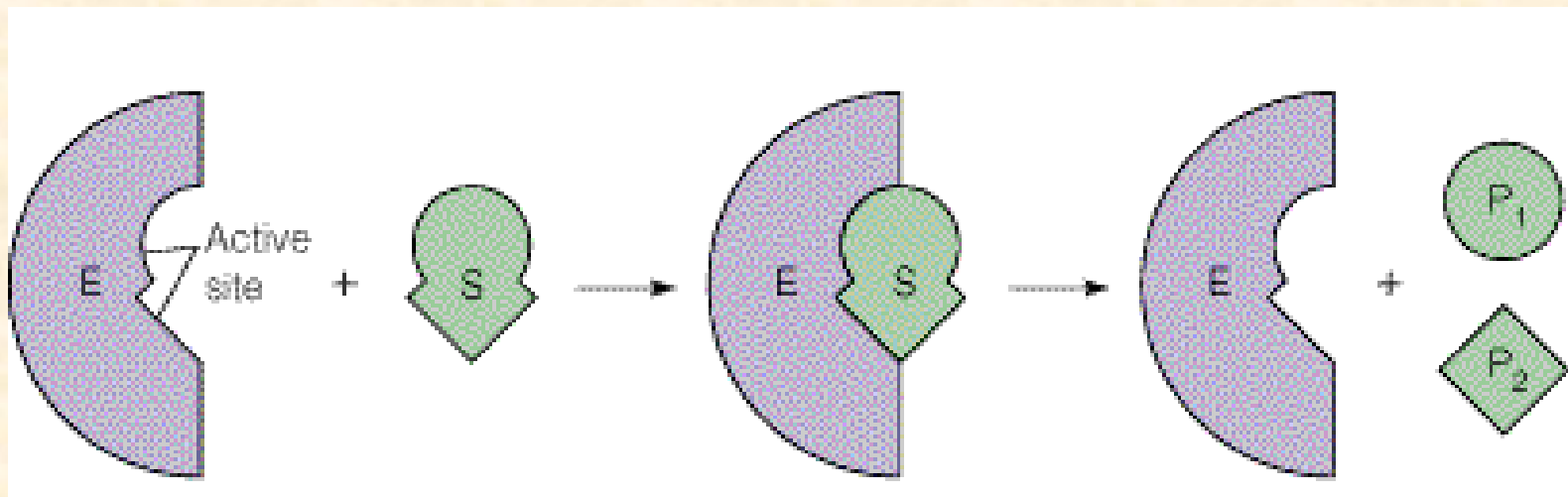
Il primo modello per spiegare l'interazione Enzima-substrato

Modello chiave-serratura, (Fisher 1894):

- L'enzima ospita nel sito attivo il substrato.

(come una serratura ospita la propria chiave)

Con questo modello si spiega la specificità ma non la catalisi



Attuale modello per le interazioni substrato-enzima

Teoria dell'adattamento indotto (Koshland 1958)

Il sito attivo dell'Enzima assume una forma complementare a quella del substrato solo dopo che il substrato si è legato:



Il substrato induce modificazioni conformazionali sull'enzima per stabilizzare lo stato di transizione

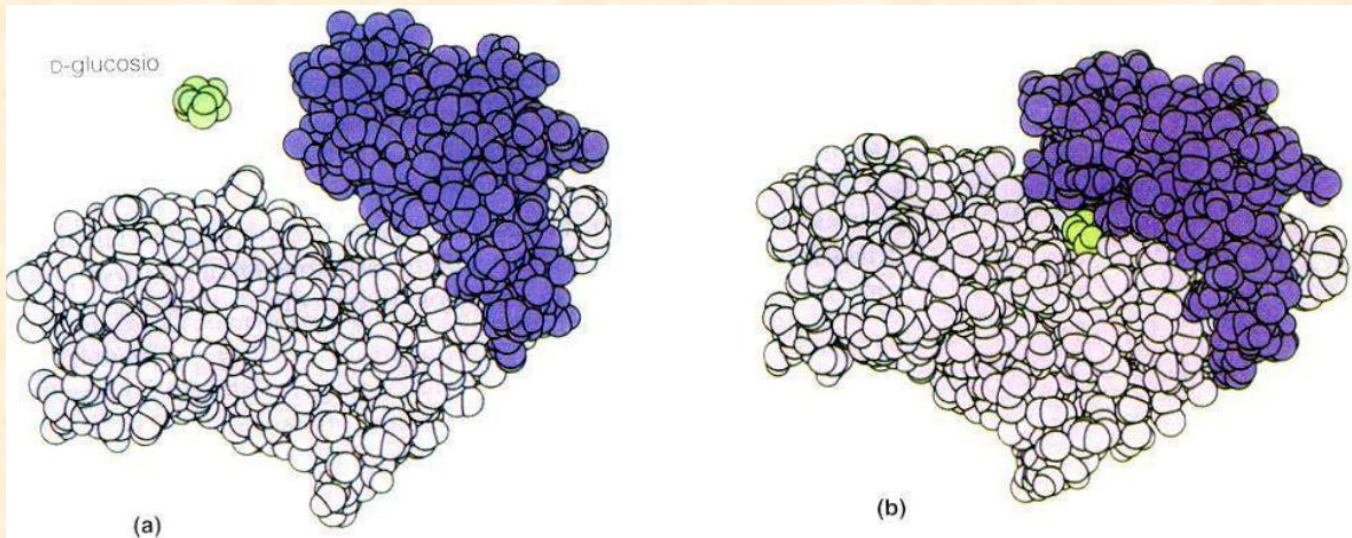
Adattamento indotto determina delle distorsioni a carico sia dell'enzima sia del substrato.

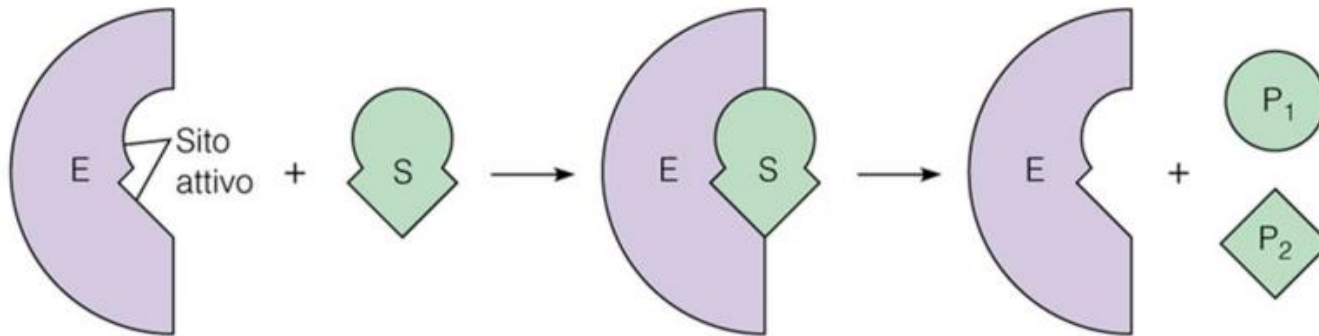


Distorsioni localizzate

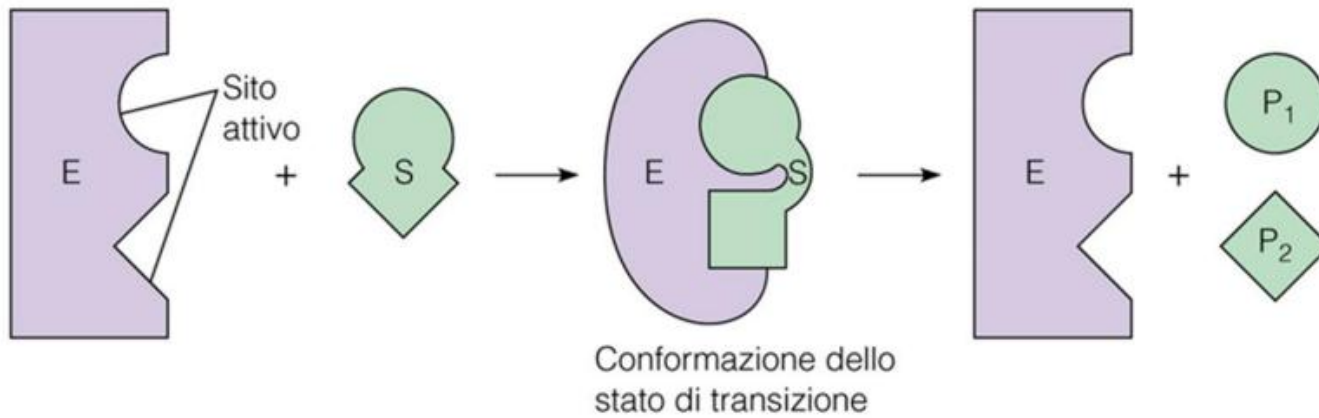


Distorsioni che determinano una grande variazione conformazionale dell'enzima (esochinasi).





(a) Modello chiave-serratura



(b) Modello dell'adattamento indotto

ENZIMI:

- Le reazioni nei sistemi biologici avverrebbero troppo lentamente senza la **catalisi**.
- Assicurare un efficiente metabolismo
- Enzimi funzionano da **catalizzatori biologici** nelle reazioni cellulari
- Sono **PROTEINE GLOBULARI** (fanno eccezione i ribozimi a RNA)
 - **Aumentano la velocità di una reazione** =favoriscono una reazione
 - .Aumentano la Velocità di una reazione di 10^6 - 10^{20} volte rispetto alla velocità delle reazioni non catalizzata)
 - I catalizzatori non enzimatici aumentano le velocità di una reazione di 10^2 - 10^4 volte.