

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**

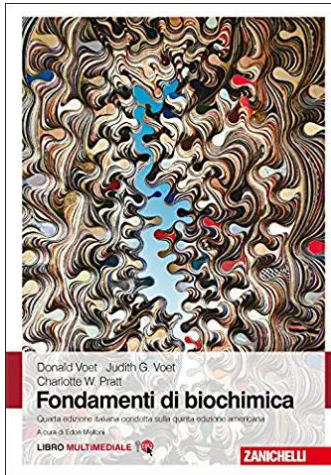
[olianas@unica.it](mailto:olianas@unica.it)



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



Berg, Tymoczko,  
Stryer.

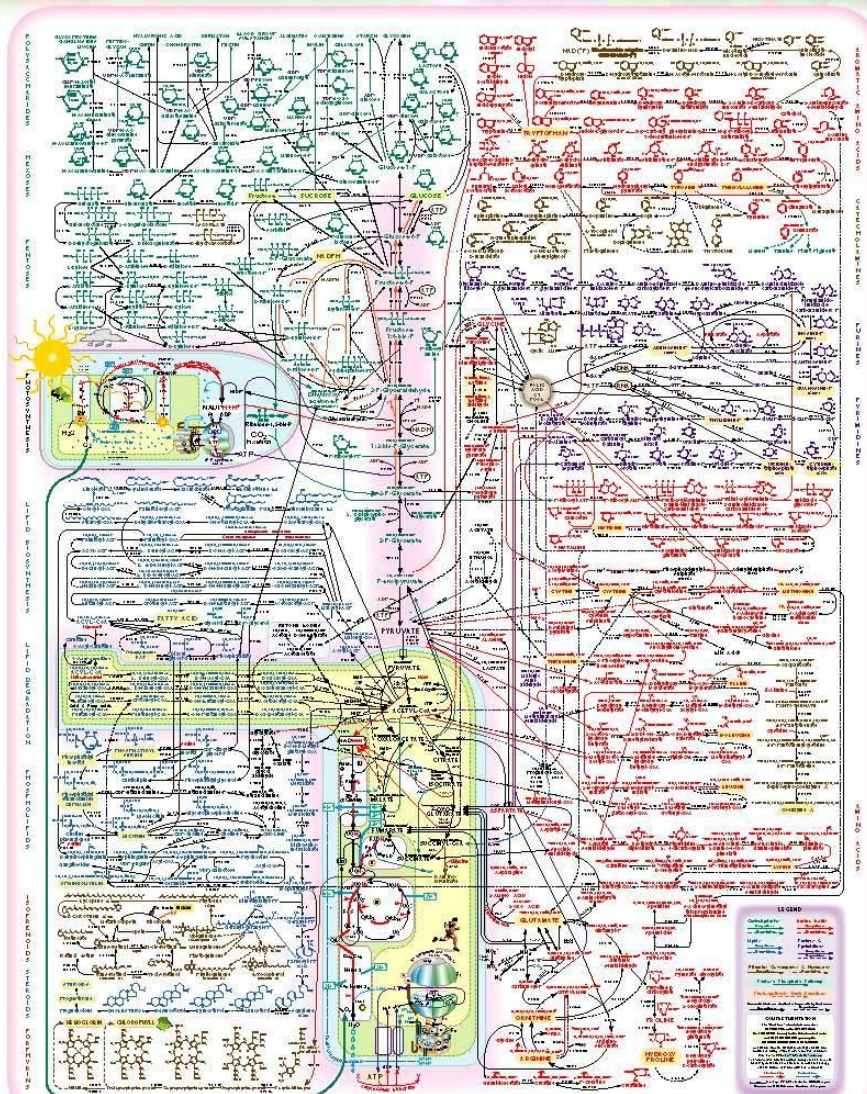


Voet, Voet, Pratt.  
**Fondamenti di Biochimica**.  
Zanichelli

Campbell, Farrell  
**Biochimica**.  
EdiSES



# Metabolic Pathways



# Digestion and Absorption of carbohydrates

Major carbohydrates consumed daily with the diet are **mono-di- and polysaccharides**

Fructose	Fruit, honey
Glucose	Fruit, honey, grape
Amylopectin	Potatoes, rice, maize, bread
Amylose	Potatoes, rice, maize, bread
<b>Sucrose</b>	Table sugar, sweets
Trehalose	Young mushroom
<b>Lactose</b>	milk and dairy products
Raffinose	Legume seeds

# Digestion and Absorption of carbohydrates

Monoccharides such as glucose and fructose are absorbed directly.

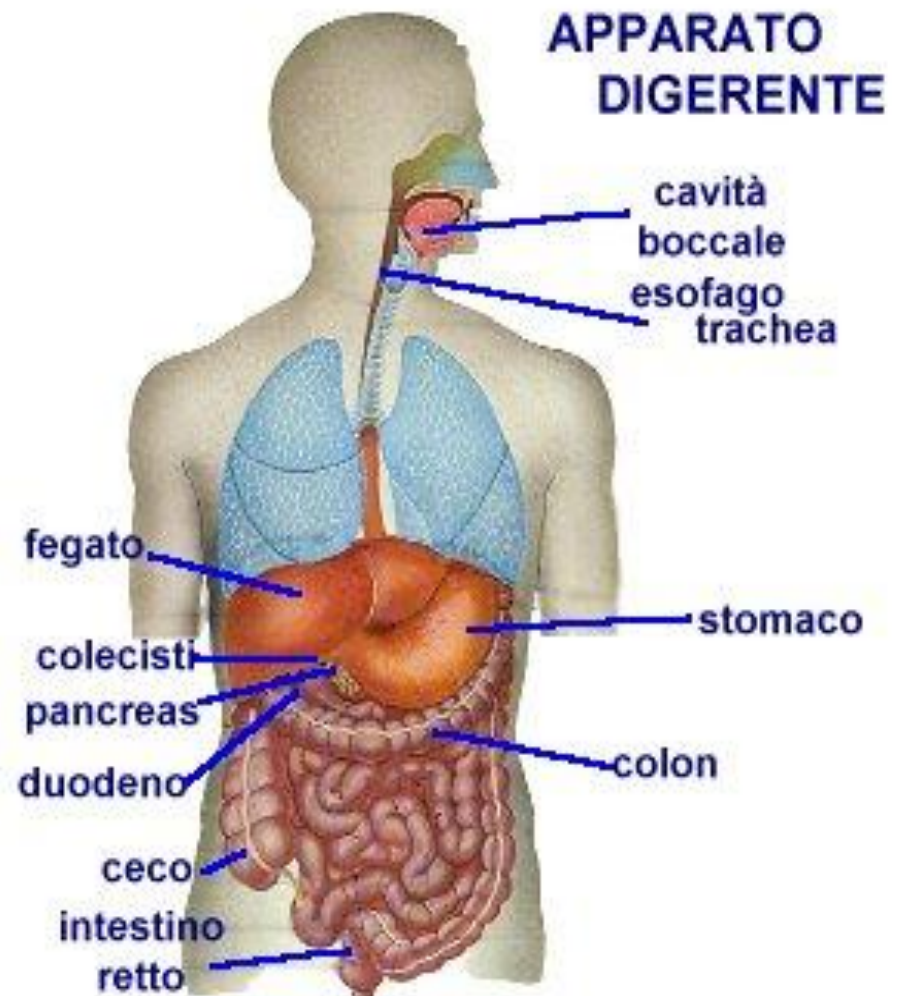
Di-saccharides require enzyme of the small intestinal cells

Poly-saccharides require enzyme (pancreatic amylase) or other enzyme on intestinal surface.

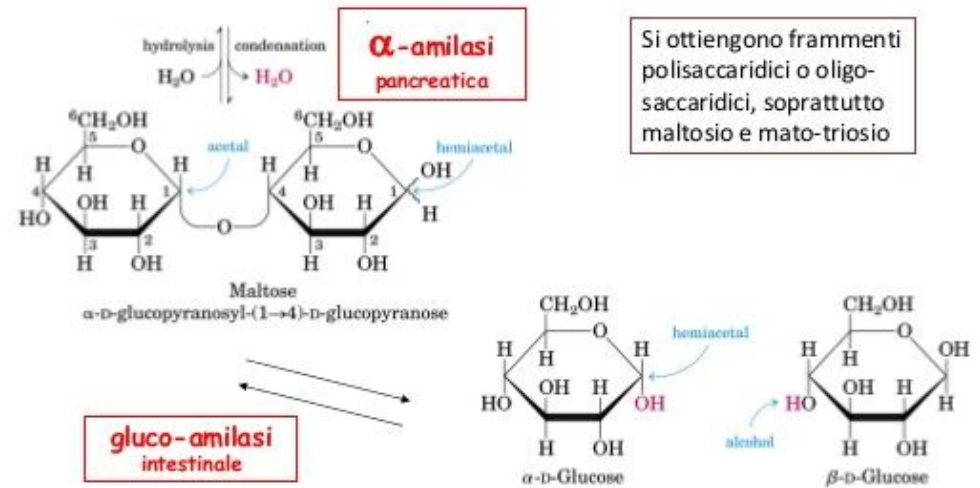
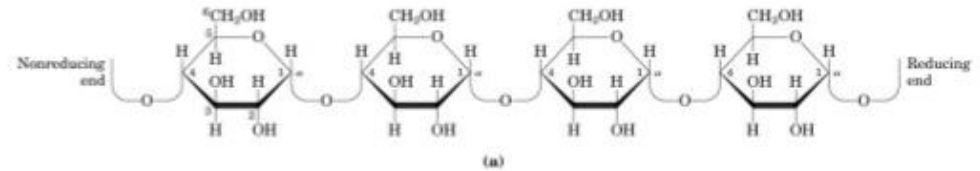
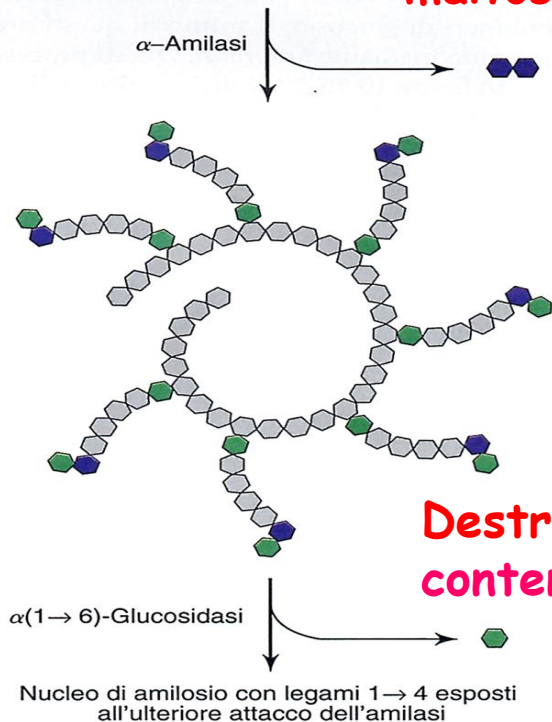
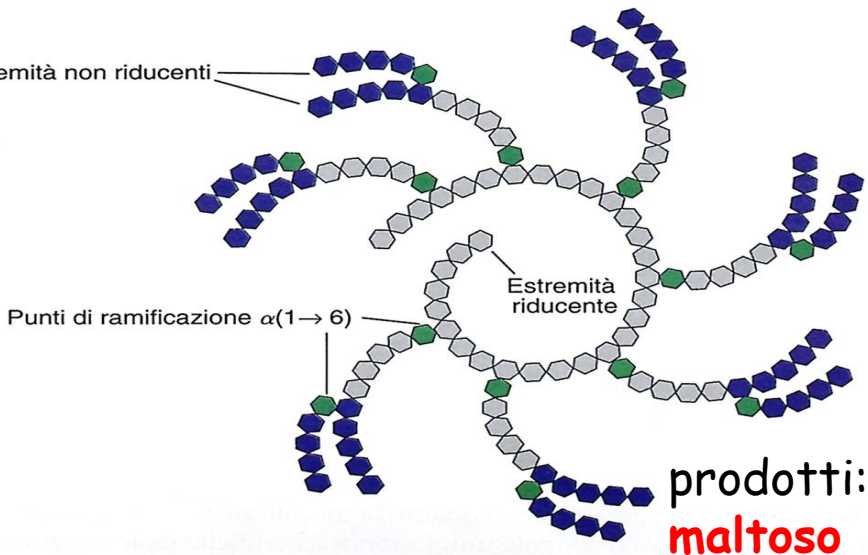
# Digestione ed assorbimento dei glucidi

La digestione inizia nella cavità orale, dove l' $\alpha$ -**amilasi salivare** idrolizza i legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici dell'**amido**, producendo maltoso e oligosaccaridi.

Nello stomaco l' $\alpha$ -amilasi viene inattivata a causa del valore del pH molto basso. Nell'intestino tenue l' $\alpha$ -**amilasi pancreatica** continua il processo di demolizione, idrolizzando altri legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici



Nell'intestino tenue  
l' **$\alpha$ -amilasi pancreatica**  
continua il processo di demolizione,  
idrolizzando legami  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosidici



**Destrine: frammenti di amilopectina  
contenenti legami  $\alpha(1\rightarrow6)$**

La digestione viene completata dagli enzimi prodotti dall'orletto a spazzola intestinale

maltoso

maltasi → 2 glucosio

saccaroso

saccarasi → glucosio + fruttosio

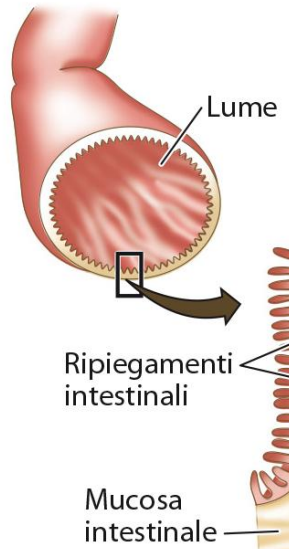
lattoso

lattasi → galattosio + glucosio

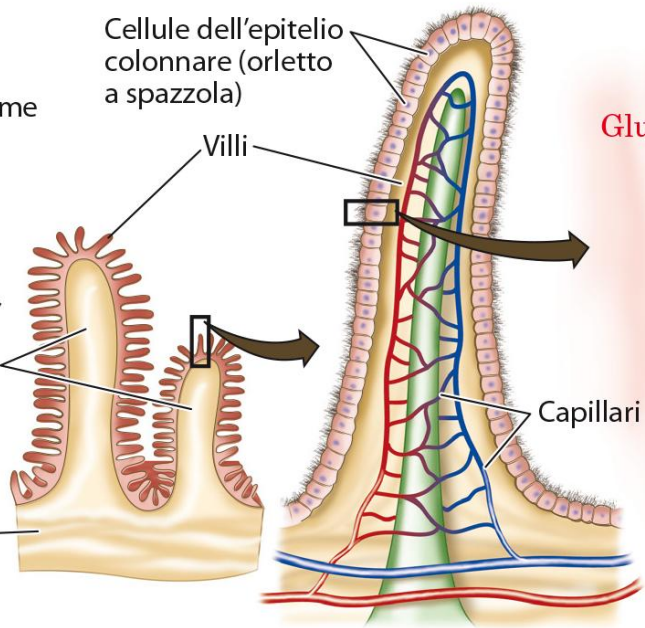
destrine

$\alpha$  (1→6) glucosidasi o destrinasi  
→ glucosio + oligosaccaride ramificato

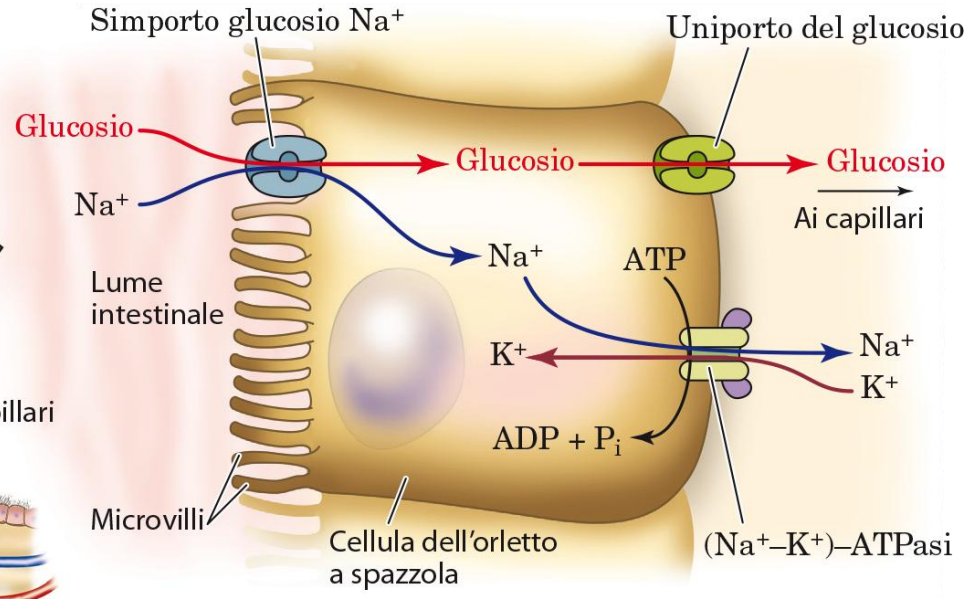
(a) Intestino tenue



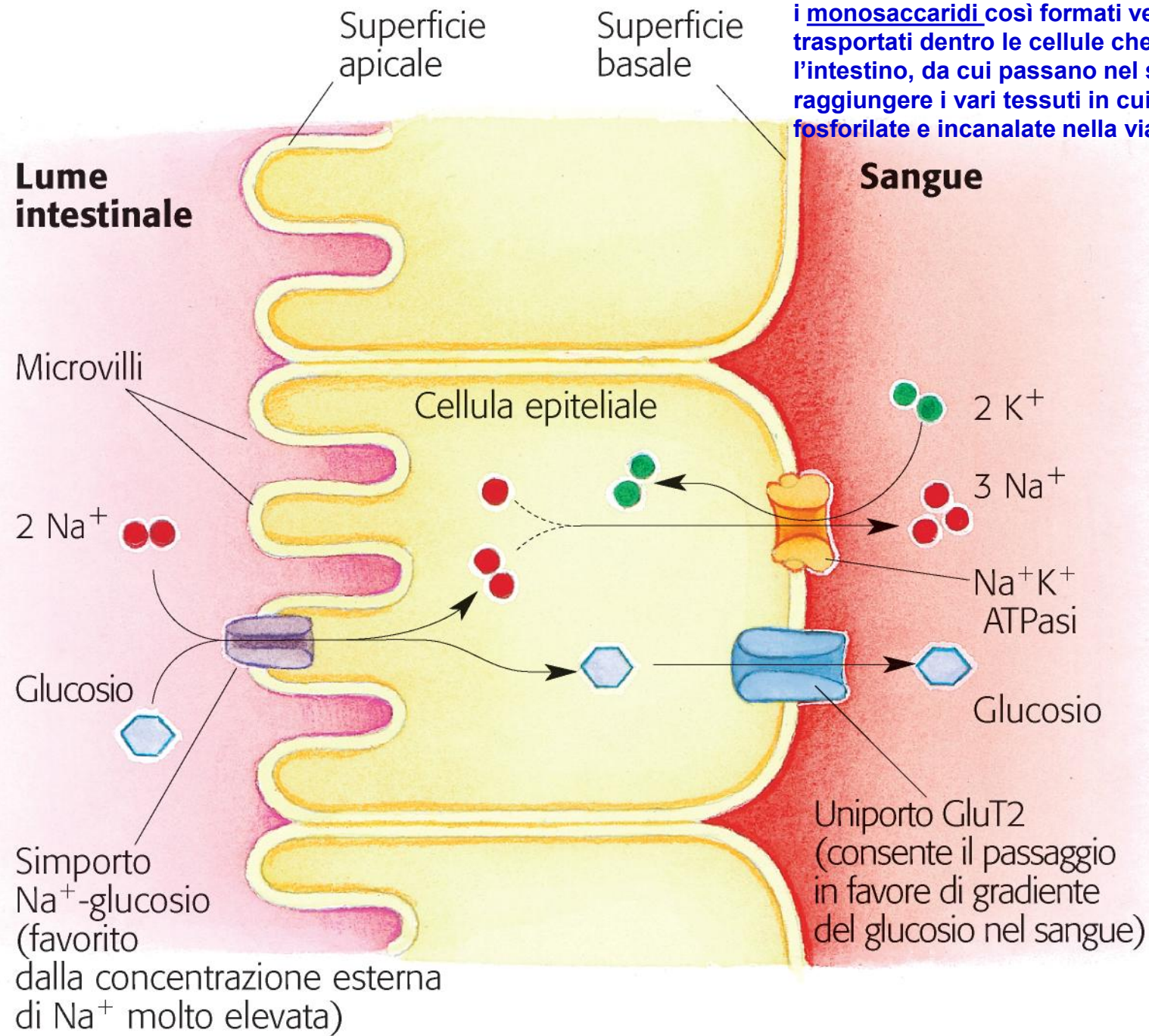
(b) Villo



(c) Trasporto del glucosio



**i monosaccaridi così formati vengono trasportati dentro le cellule che rivestono l'intestino, da cui passano nel sangue per raggiungere i vari tessuti in cui vengono fosforilate e incanalate nella via glicolitica.**



**Lume intestinale**

**Sangue**

Superficie apicale

Superficie basale

Microvilli

Cellula epiteliale

2 Na<sup>+</sup>

2 K<sup>+</sup>

3 Na<sup>+</sup>

Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>  
ATPasi

Glucosio

Glucosio

Simporto Na<sup>+</sup>-glucosio (favorito dalla concentrazione esterna di Na<sup>+</sup> molto elevata)

Uniporto GluT2 (consente il passaggio in favore di gradiente del glucosio nel sangue)

## Specificità tissutale dell'espressione dei geni GLUT

<b>GLUT- 1</b>	Brain, Kidney, placenta, RBC	Uptake of glucose
<b>GLUT- 2</b>	Liver, pancreatic $\beta$ - cell, small intestine, Kidney	Rapid uptake & release of glucose
<b>GLUT- 3</b>	Brain, Kidney, placenta	Uptake of glucose
<b>GLUT- 4</b>	Heart, skeletal muscle, adipose tissue	Insulin stimulated uptake of glucose
<b>GLUT- 5</b>	Small intestine	Absorption of glucose
<b>SGLT-1</b>	Small intestine and kidney	Active uptake & reabsorption of glucose

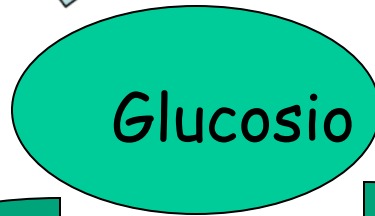
I trasportatori del glucosio (GLUT) sono un insieme di [proteine di membrana](#) che consentono il passaggio del [glucosio](#) attraverso la [membrana plasmatica](#).

Matrice extracellulare e polisaccaridi della parete cell

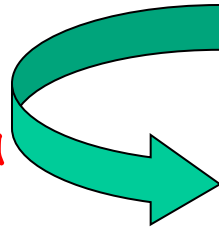
Sintesi di pol. strutturali

Glicogeno, amido, saccarosio

riserva



Ossidazione mediante la via del pentoso fosfato

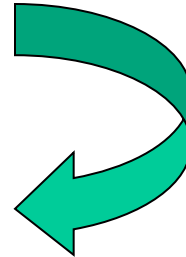


Ribosio 5-fosfato



Sintesi acidi nucleici

Ossidazione mediante la glicolisi



piruvato

La glicolisi è una via metabolica, che avviene nel CITOSOL presente in tutti gli organismi viventi, che converte il glucosio in due molecole di piruvato generando energia metabolica sotto forma di ATP.

Negli organismi aerobi la glicolisi precede il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni, con cui si completa l'ossidazione del glucosio a  $H_2O$  e  $CO_2$ .



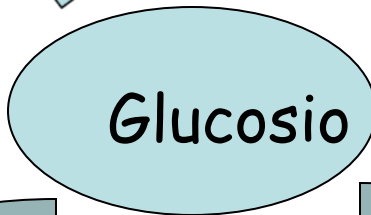
$$\Delta G'^{\circ} = -2840 \text{ kJ/mole (32 molecole di ATP)}$$

Matrice  
extracellulare e  
polisaccaridi della  
parete cell

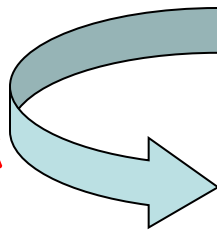
Sintesi di pol.  
strutturali

Glicogeno, amido,  
saccarosio

riserva



Ossidazione  
mediante la via  
del pentoso  
fosfato

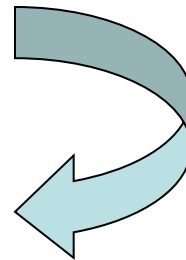


Ribosio 5-  
fosfato



Sintesi acidi nucleici  
NADPH

Ossidazione  
mediante la glicolisi



piruvato

## GLICOLISI:

Glykys = dolce

Lysis = scissione

Glicolisi

```
graph TD; A([Glicolisi]) --> B([10 reazioni enzimatiche]); B --> C([5 reazioni enzimatiche]); B --> D([5 reazioni enzimatiche]);
```

10 reazioni enzimatiche

5 reazioni enzimatiche

Fase I: fase preparatoria  
(investimento energetico)

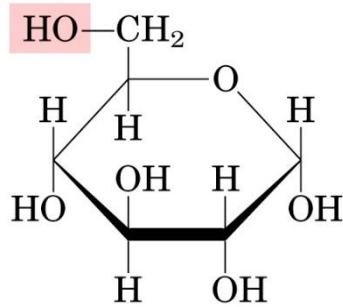
5 reazioni enzimatiche

Fase II: fase di recupero energetico)

L'energia rilasciata dal glucosio viene recuperata sotto forma di ATP e NADH.

# GLICOLISI

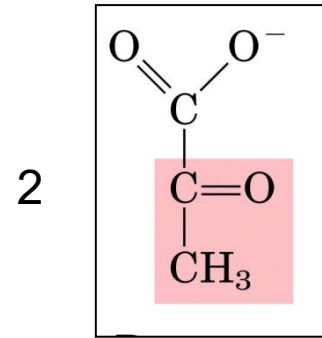
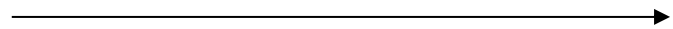
**Avviene nel CITOSOL presente in tutti gli organismi viventi, che converte il glucosio in due molecole di piruvato generando energia metabolica sotto forma di **ATP**.**



glucosio

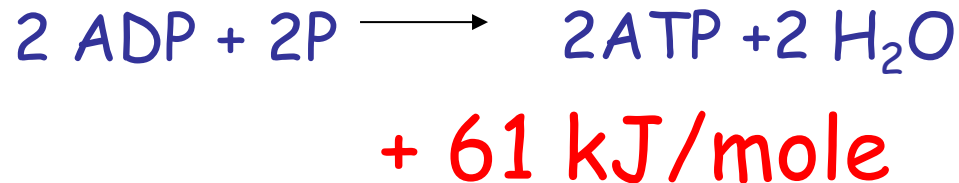
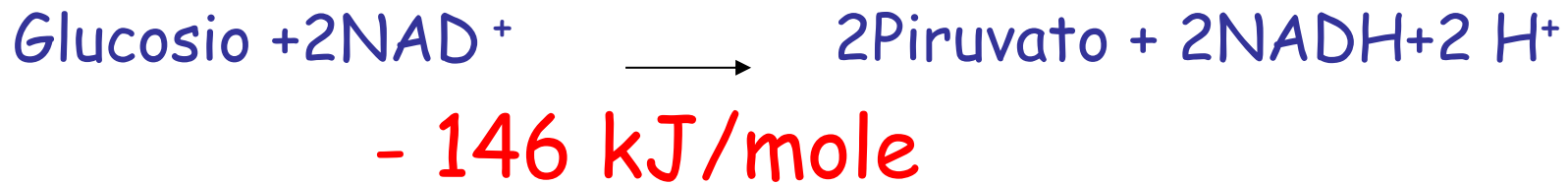
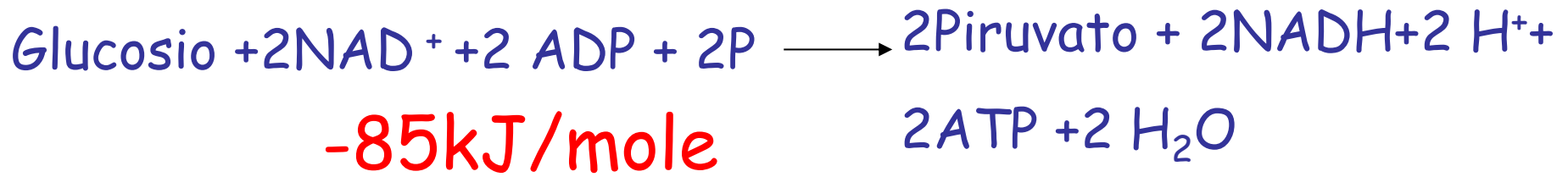
6 atomi di carbonio

10 reazioni



piruvato

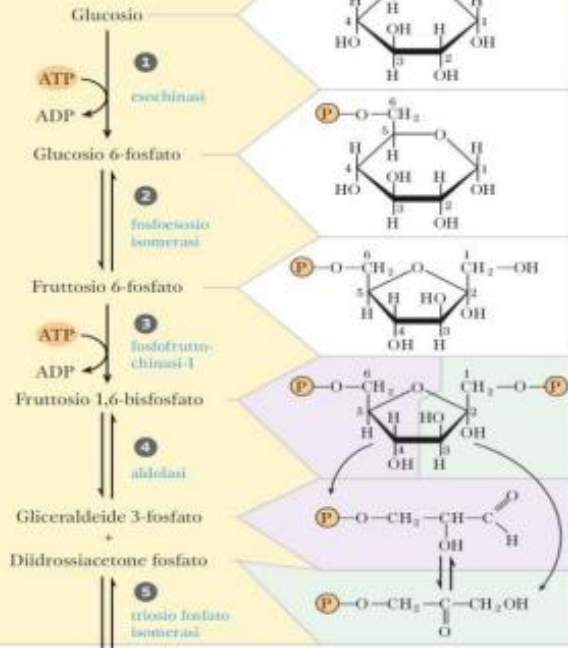
3 atomi di carbonio  
(composto più ossidato)



$$G = - 146 \text{ kJ/mole} + 61 \text{ kJ/mole} = -85 \text{ kJ/mole}$$

# Fase preparatoria

5 reazioni

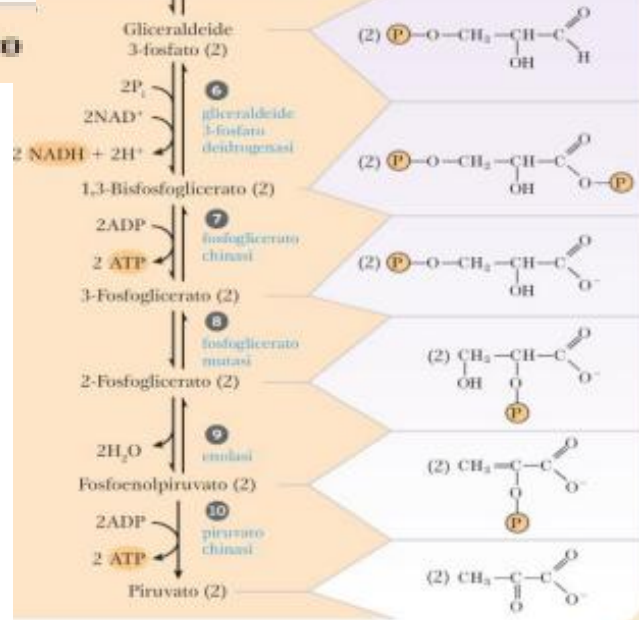


Non ha bisogno di ossigeno

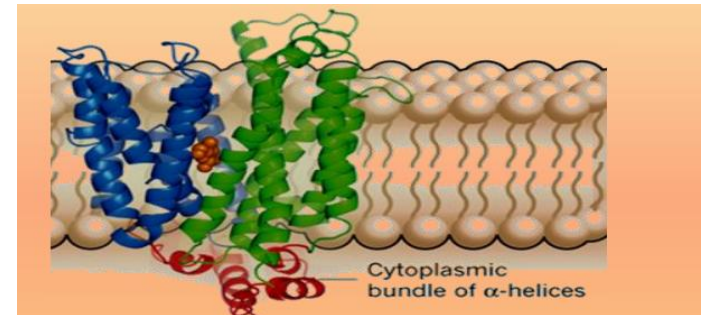
Produce ATP e NADH

# Fase di recupero energetico

5 reazioni



Il glucosio (molecola polare) entra nelle cellule grazie ai trasportatori del glucosio (GLUT)



proteine di membrana che consentono il passaggio del glucosio attraverso la membrana plasmatica.

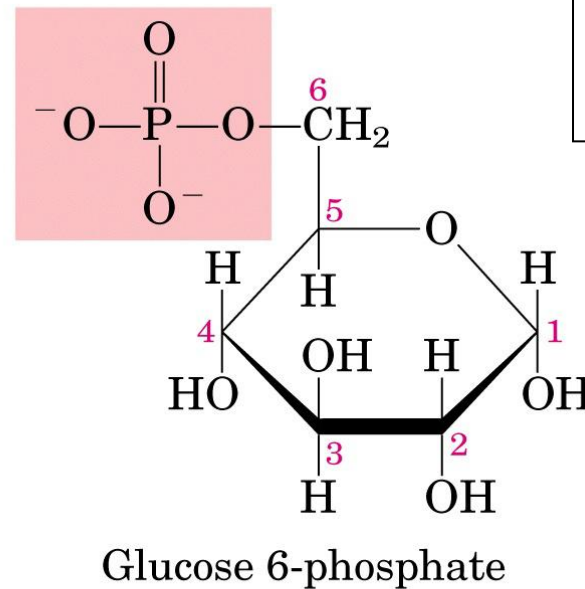
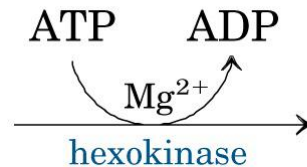
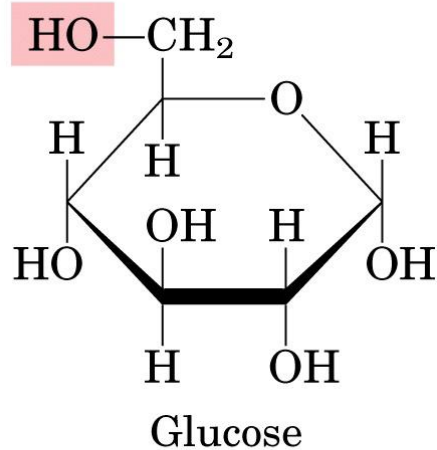
<b>GLUT- 1</b>	Brain, Kidney, placenta, RBC	Uptake of glucose
<b>GLUT- 2</b>	Liver, pancreatic $\beta$ - cell, small intestine, Kidney	Rapid uptake & release of glucose
<b>GLUT- 3</b>	Brain, Kidney, placenta	Uptake of glucose
<b>GLUT- 4</b>	Heart, skeletal muscle, adipose tissue	Insulin stimulated uptake of glucose
<b>GLUT- 5</b>	Small intestine	Absorption of glucose
<b>SGLT-1</b>	Small intestine and kidney	Active uptake & reabsorption of glucose

Specificità tissutale dell'espressione dei geni GLUT

# Reazione 1: primo utilizzo dell'ATP

Trasferimento di un gruppo fosforico dall'ATP al glucosio

Enzima: **esochinasi**



**Chinasi:  
sottoclasse  
delle  
transferasi**

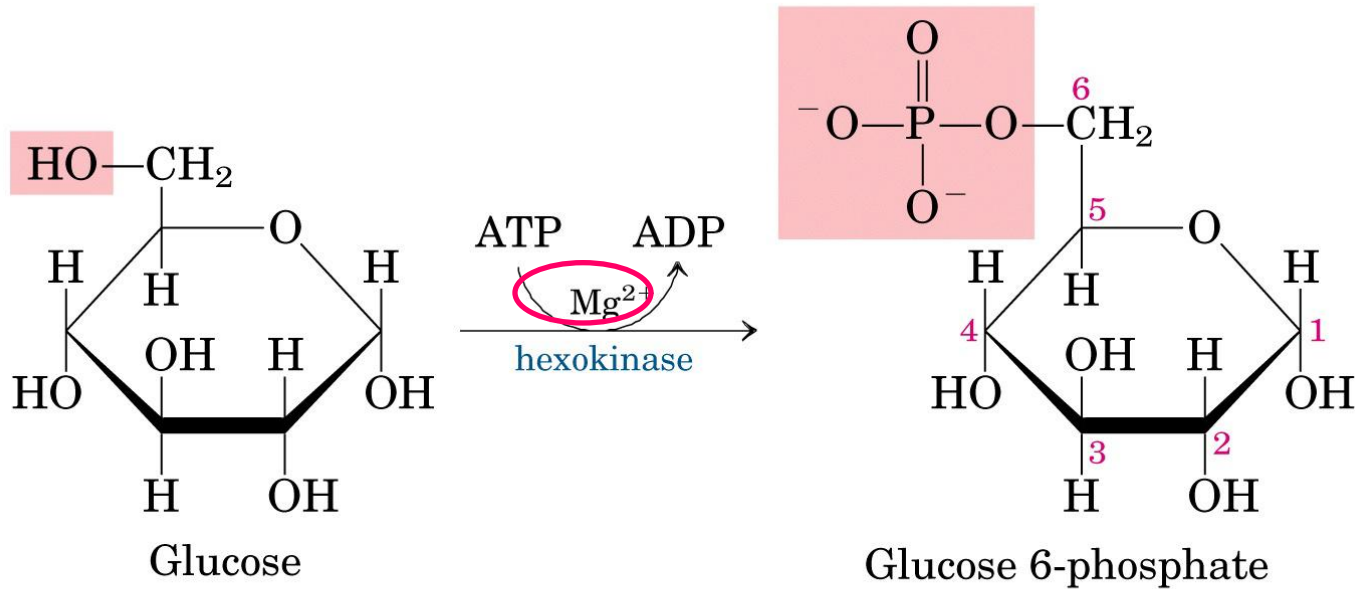
**Richiedono  
Mg<sup>++</sup> per la  
loro attività**

**Reazione irreversibile**

$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

Glucosio: entra nella cellula in seguito ad una stimolazione ormonale e viene fosforilato in posizione 6

La reazione è catalizzata dalla *Glucocinasi* nel fegato e dalla *esochinasi* nel muscolo e nel cervello.

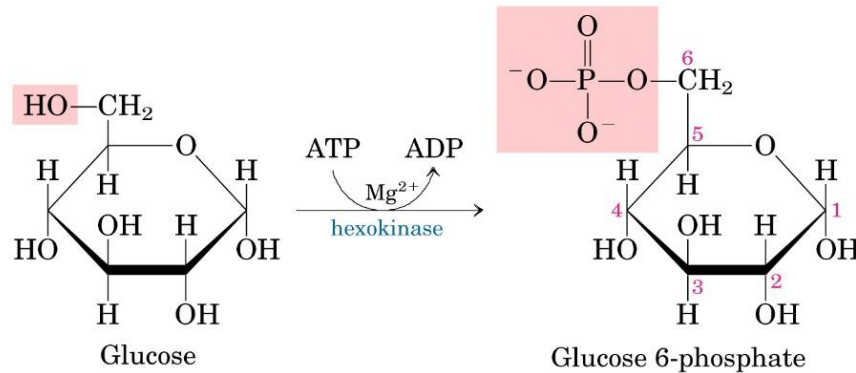


$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

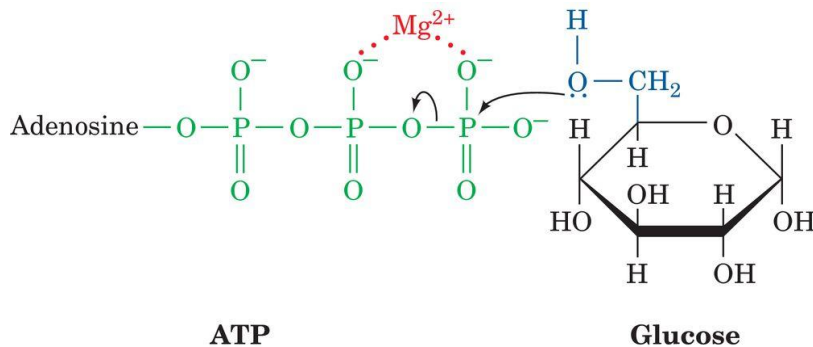
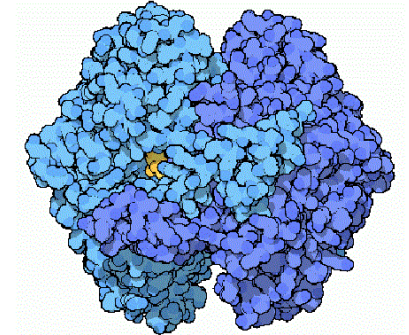
# Esochinasi appartengono alla classe delle Transferasi

Il suffisso eso è relativo al substrato (uno zucchero a 6 atomi di carbonio)

Trasferiscono il fosfato  $\gamma$  alla molecola accettore.

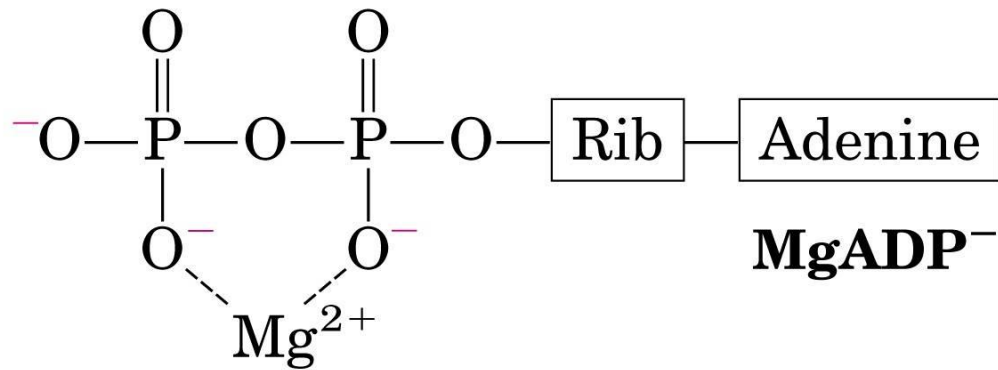
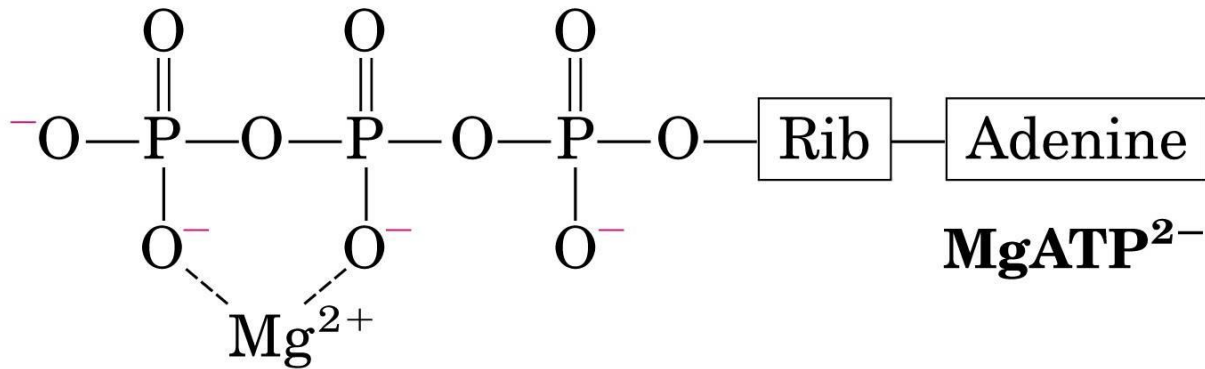


$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$



Richiede  $Mg^{2+}$ .

Il vero substrato è il **complesso  $MgATP^{2-}$**  in cui il catione bivalente forma un ponte salino con le cariche negative dei gruppi fosfato.



Le differenti forme di esochinasi nel fegato e nel muscolo riflettono il differente ruolo dell'enzima nei differenti organi .

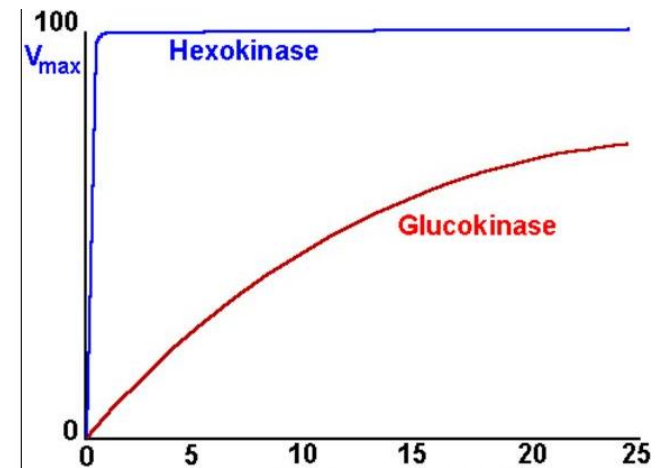
- **Muscolo: utilizza il glucosio per produrre energia.**

Necessita di una fonte di glucosio che possa essere rapidamente utilizzata durante l'ossidazione anaerobica successiva alla contrazione muscolare.

Produzione rapida di ATP

Il fegato mantiene una concentrazione costante di glucosio nel sangue:

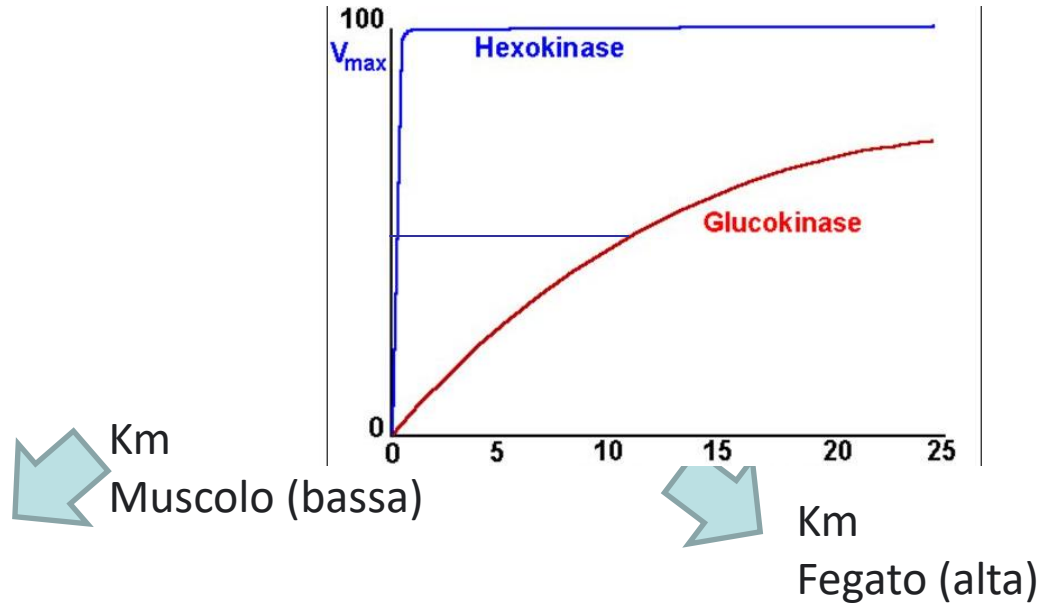
- produrre ed esportare glucosio verso diversi tessuti in base alle esigenze individuali
- - rimuovere e immagazzinare il glucosio sotto forma di glicogeno quando vi è un eccessivo apporto con la dieta



Il ruolo del glucosio nel fegato è quello di regolare lo zucchero nel sangue.

Il ruolo del muscolo è quello di produrre energia

**Elevata affinità per il glucosio:** poiché il glucosio che entra nei miociti dal sangue è sufficiente a saturare l'enzima, funziona sempre alla massima velocità



Basse concentrazioni di glucosio vengono convertite in glucosio 6-fosfato e vengono inviate verso la glicolisi.

**Minore affinità per il glucosio.** la concentrazione di glucosio alla quale l'enzima è saturo è superiore alla normale concentrazione di glucosio nel sangue.

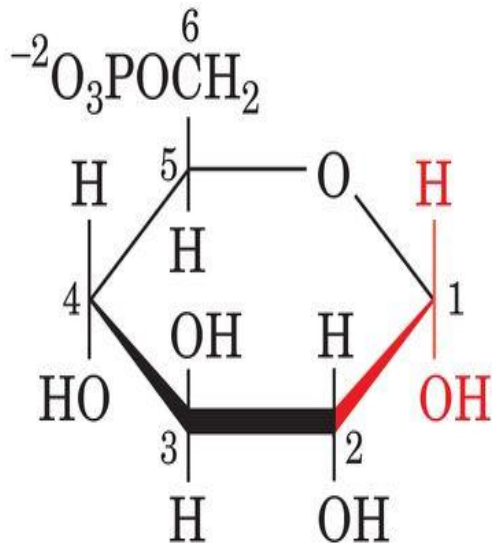
Quando la concentrazione di glucosio supera la concentrazione del sangue (5mM) il glucosio viene inviato verso la glicolisi

## Reazione 2: Isomerizzazione reversibile di un aldoso ad un chetoso

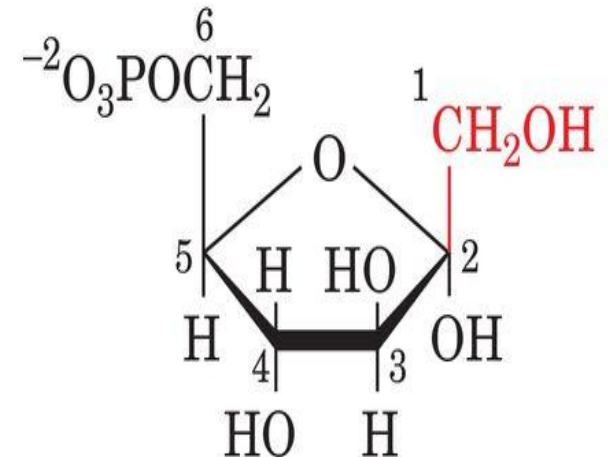
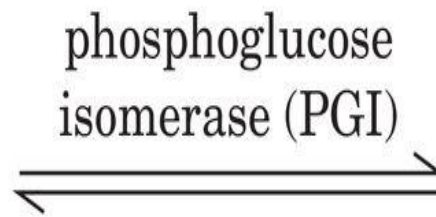
Conversione del **Glucosio-6-fosfato (G6P)**, a **fruttosio 6 fosfato (F6P)**,

Enzima: **fosfoesoso isomerasi (PGI= PhosphoGlucose Isomerase)**

**PGI converte reversibilmente il glucosio in fruttosio**



**Glucose-6-phosphate (G6P)**



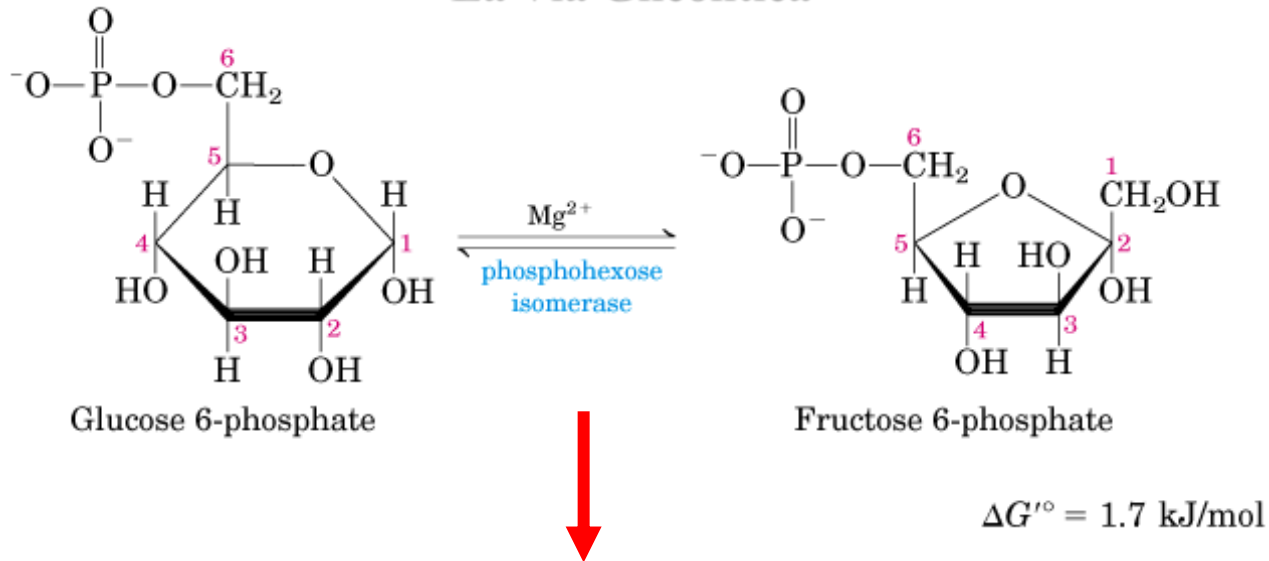
**Fructose-6-phosphate (F6P)**

$$\Delta G'^{\circ} = -1,7 \text{ kJ/mole}$$

Isomerizzazione di un aldoso in un chetoso

## La Via Glicolitica

2°  
reazione

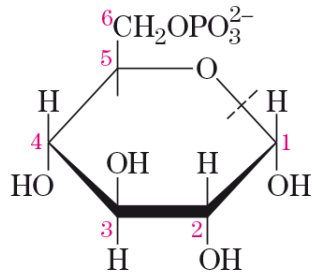


*Isomerizzazione aldoseso → chetoseso*

*Strategia catalitica*  
catalisi acido-base

# Meccanismo di catalisi acido-base

Glucosio 6-fosfato

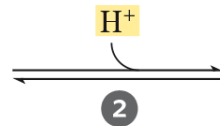
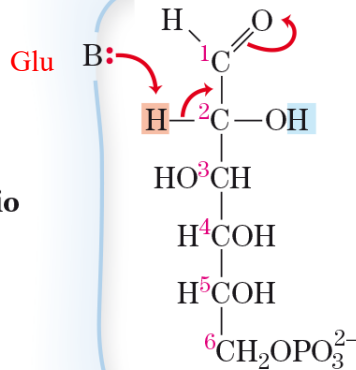


1

Legame e apertura dell'anello

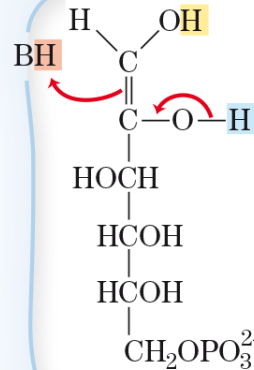
Apertura dell'anello piranosico da parte di un residuo di His (sito attivo)

Fosfoesiosio isomerasi



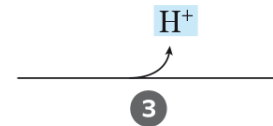
La sottrazione del protone da parte del Glu (B:) del sito attivo porta alla formazione del *cis*-enediolo

Protonazione dell'O in C1



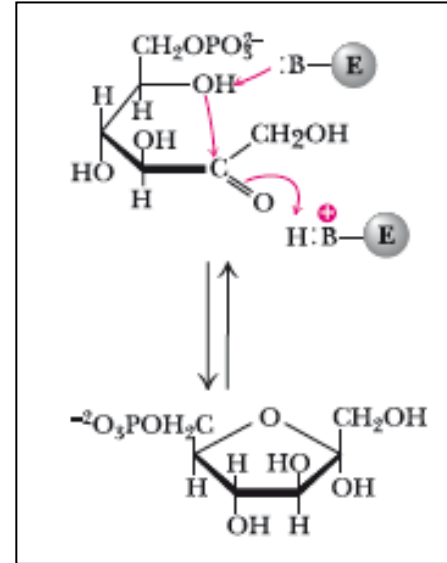
Intermedio *cis*-enediolo

Acquisto da un residuo di His

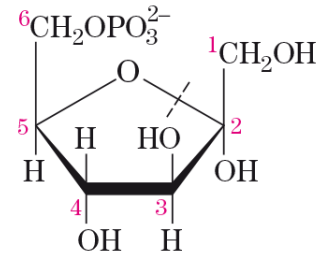


La catalisi acida generale da parte dello stesso Glu facilita la formazione del fruttosio 6-fosfato

Chiusura dell'anello

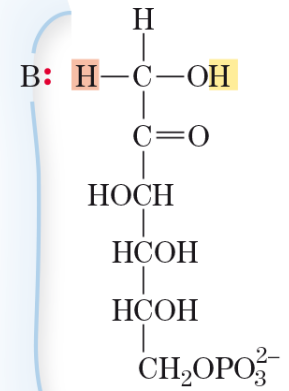


Fruttosio 6-fosfato



Dissociazione e chiusura dell'anello

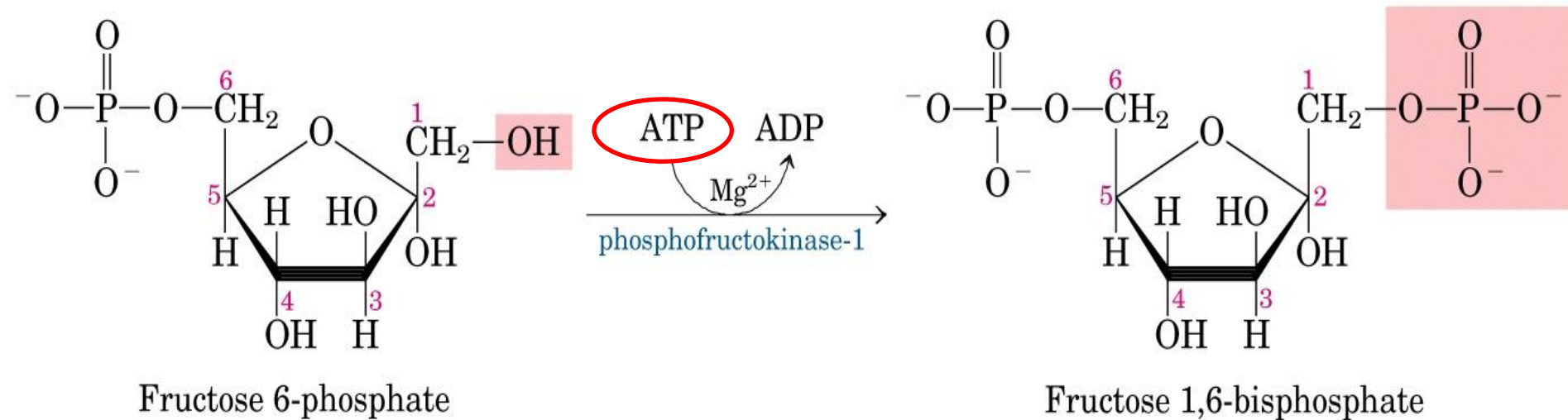
4



## Reazione 3: Seconda utilizzazione dell'ATP (Fosforilazione)

Fruttosio-6-fosfato viene fosforilato (dall'ATP) in C-1 e forma il Fruttosio-1,6-bifosfato

Enzima: fosfofruttochinasi 1 (PFK-1).



Reazione irreversibile

$$\Delta G'^{\circ} = -14.2 \text{ kJ/mol}$$

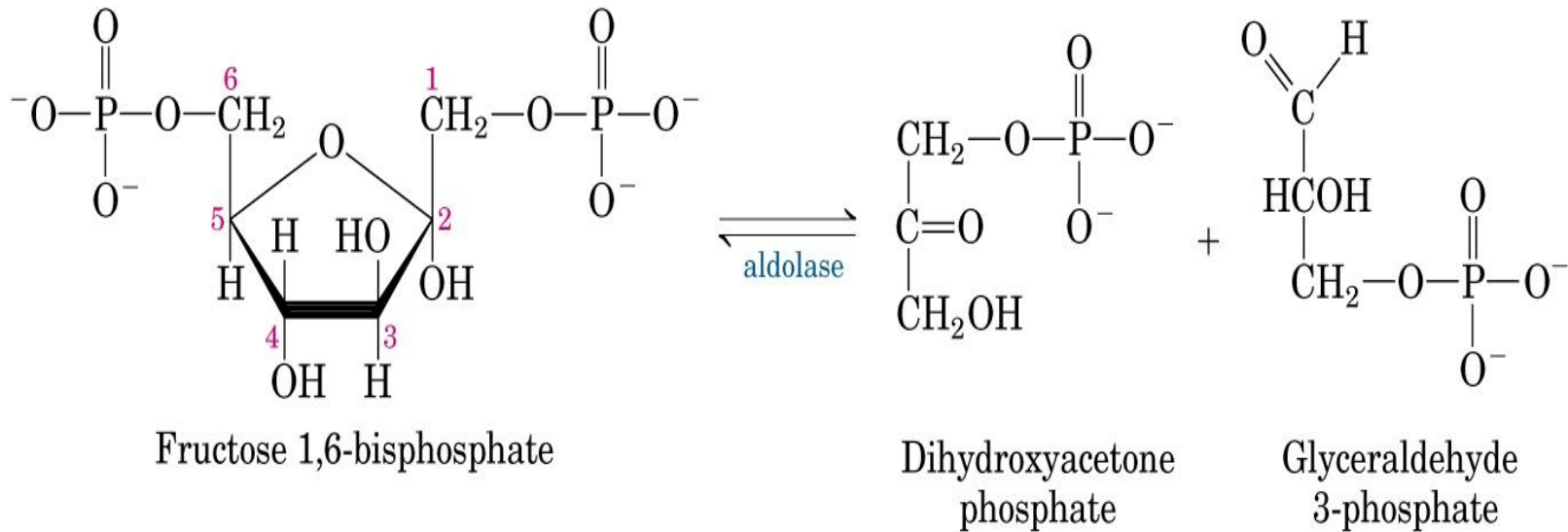
Stesso meccanismo della esochinasi (reazione 1)

## Reazione 4:

BREAKDOWN

Fruttosio 1,6-bisfosfato viene tagliato e si ottengono 2 molecole a 3 atomi di carbonio:

- Diidrossiacetone fosfato (DHAP)
- Gliceraldeide 3-fosfato (GAP)

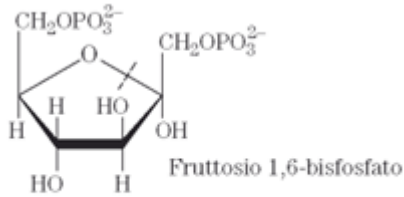


- Enzima: **Aldolasi.**

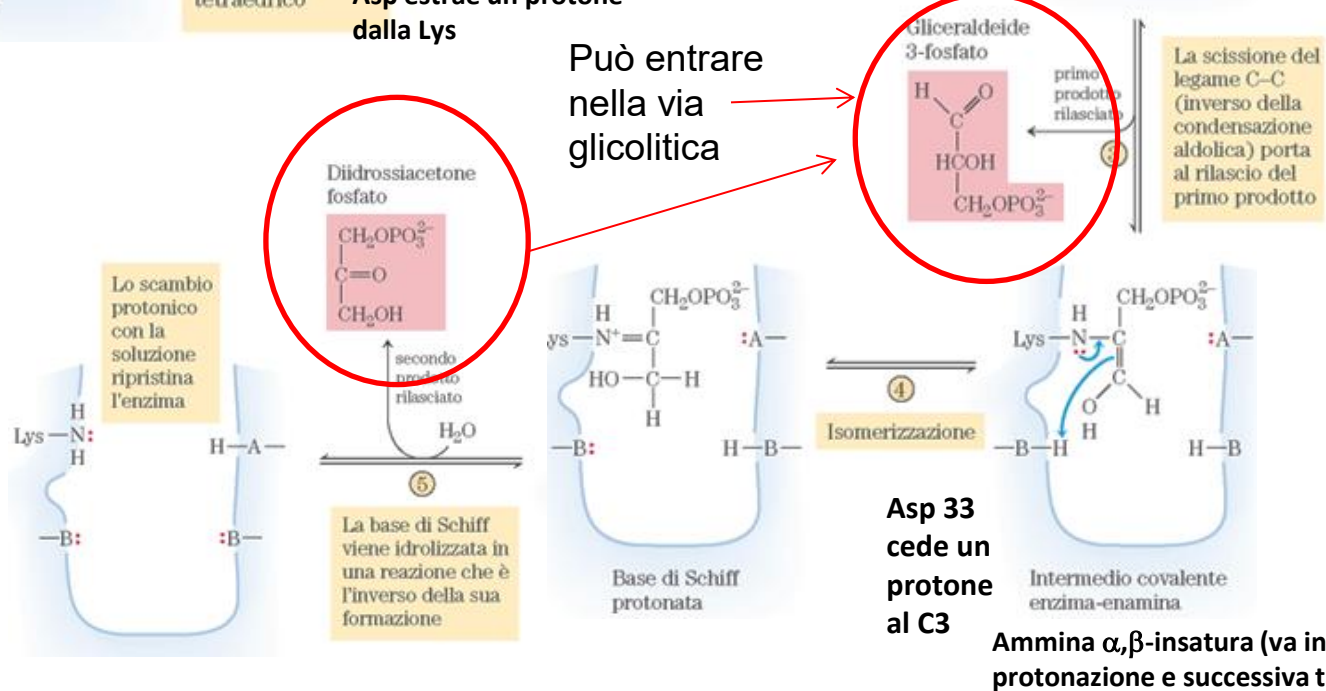
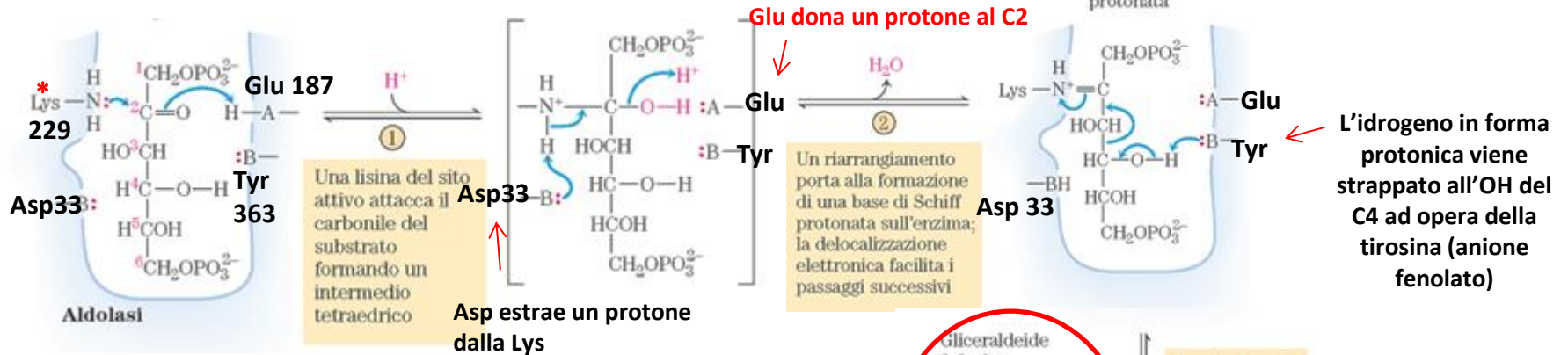
$$\Delta G'^{\circ} = 23.8 \text{ kJ/mol}$$

Reazione reversibile

# L'enzima **Aldolasi** degli **eucarioti** è composto da **quattro subunità identiche** tra loro: **su ogni subunità è presente un sito catalitico**

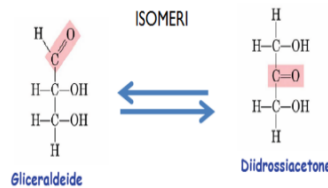


Legame ed apertura dell'anello



- Enzima: **Aldolasi.**

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")

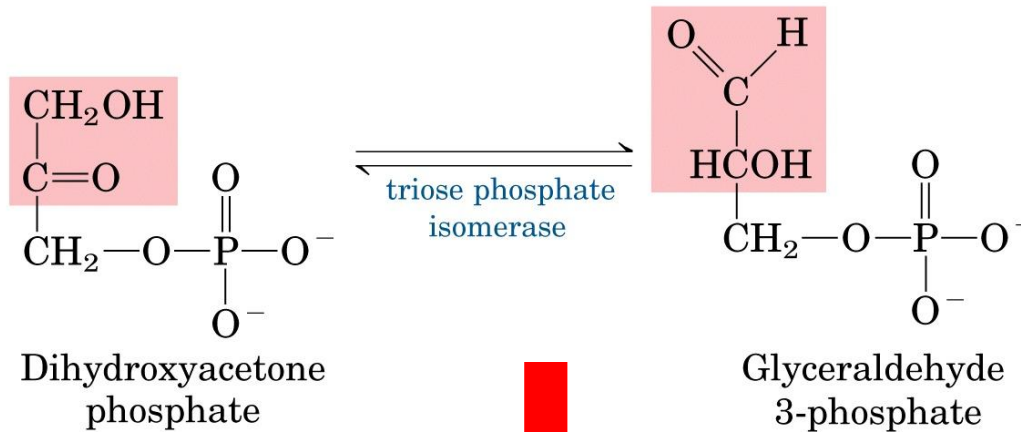


# Reaction 5

## ISOMERIZZAZIONE

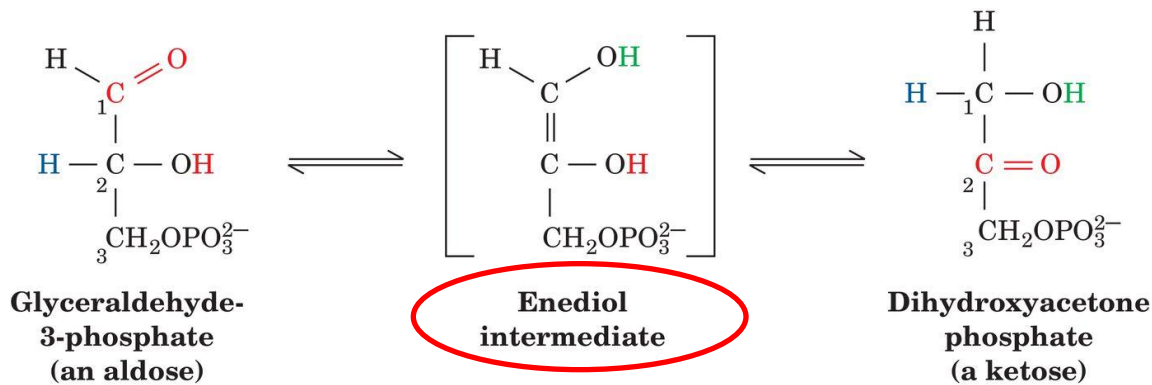
Il diidrossiacetonefosfato viene ossidato a Gliceraldeide 3 fosfato

Enzima: **Trioso fosfato isomerasi**



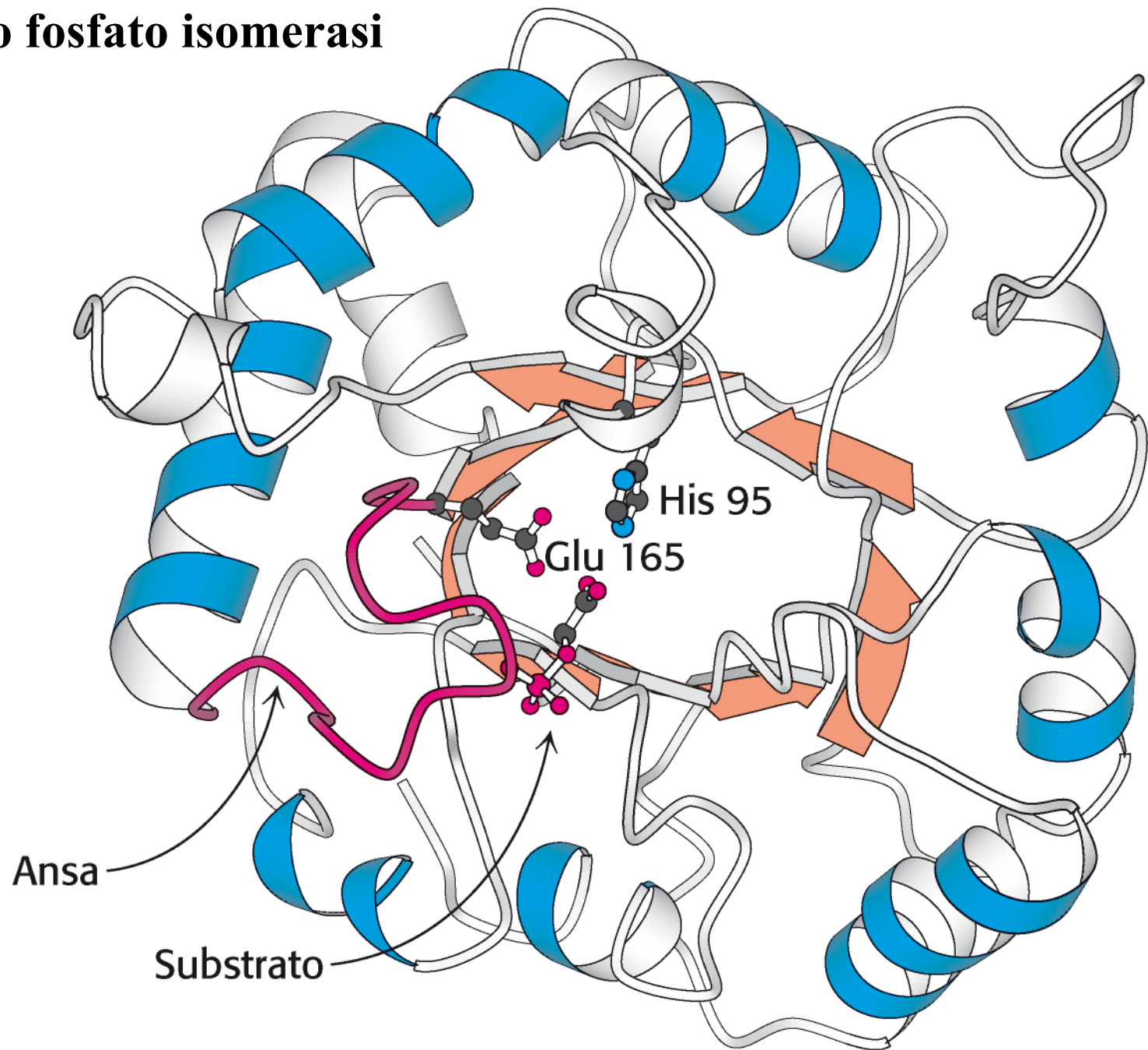
**Meccanismo simile alla reazione 2**

$$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$



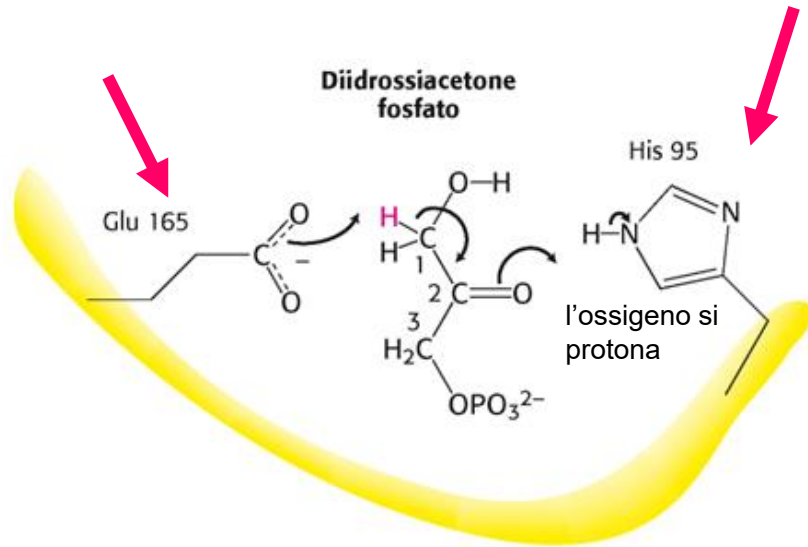
**Glicolisi continua con una stechiometria doppia.**

# Trioso fosfato isomerasi

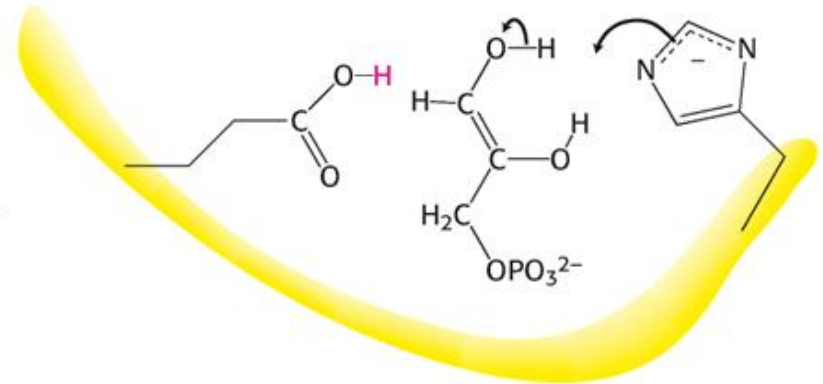


# Trioso fosfato isomerasi: conversione di un chetoso in aldoso

**Diidrossiacetone fosfato**



**Intermedio enediolo**



**Gliceraldeide 3-fosfato**

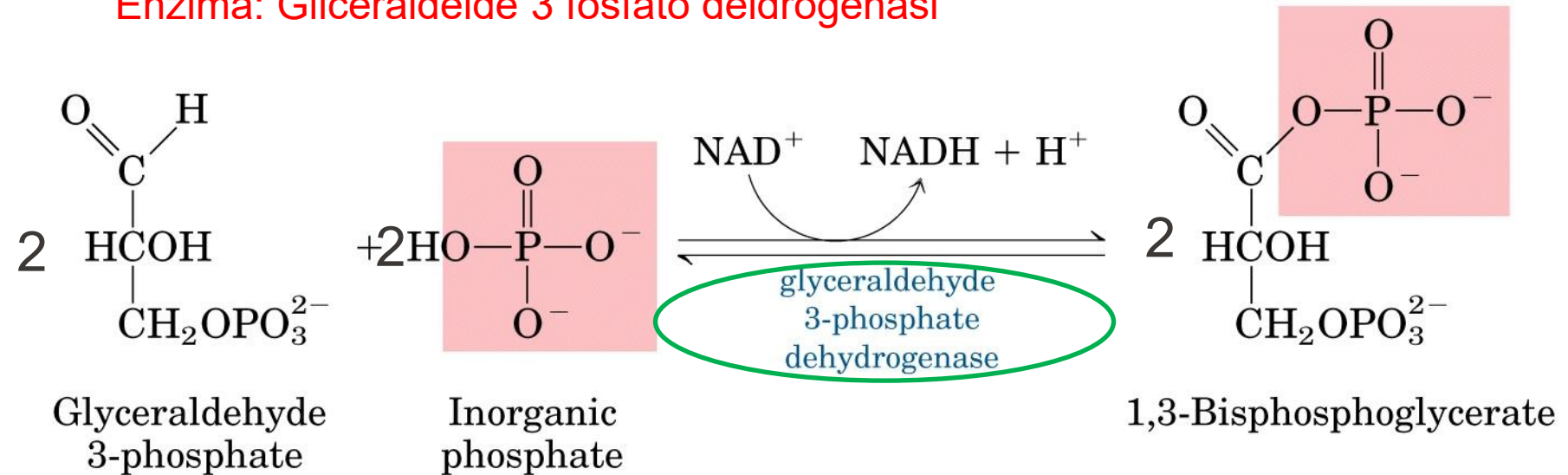


Rottura del doppio legame e acquisizione di un protone da C3

## Reazione 6: Ossidazione e fosforilazione della Glicer aldeide 3 fosfato a 1,3-bifosfoglicerato.

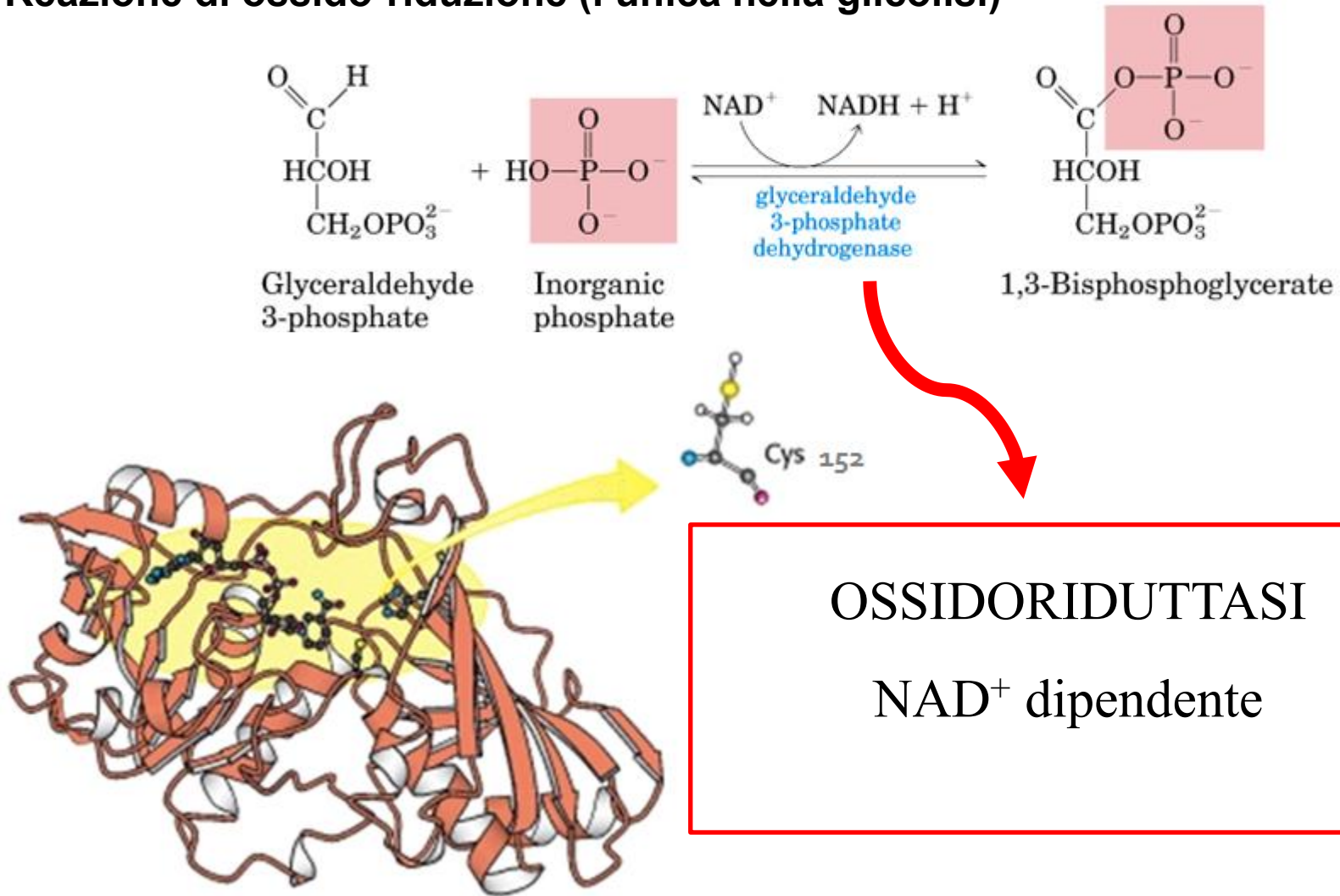
Il gruppo aldeidico viene ossidato ad acile e reagisce con il fosfato inorganico per formare **acilfosfato**.

Enzima: Glicer aldeide 3 fosfato deidrogenasi



$$\Delta G'^{\circ} = 6.3 \text{ kJ/mol}$$

## Reazione di ossido-riduzione (l'unica nella glicolisi)

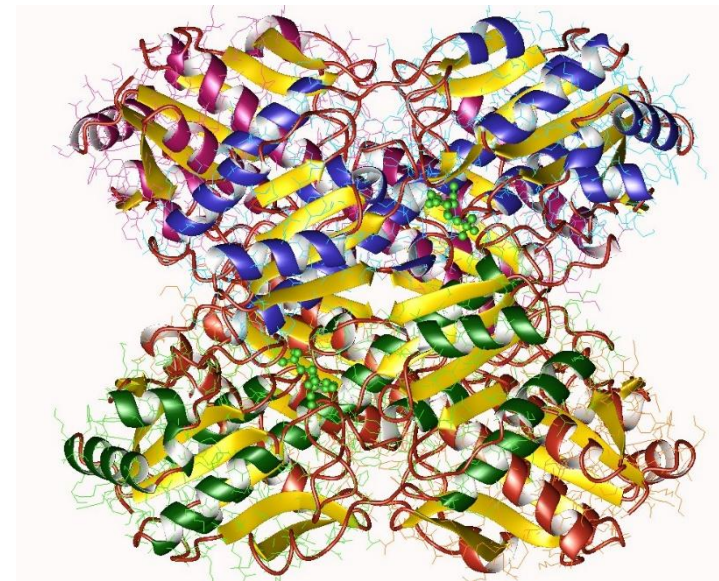


# Gliceraldeide 3 fosfato deidrogenasi

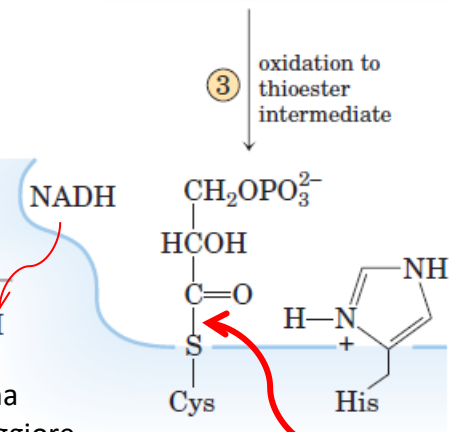
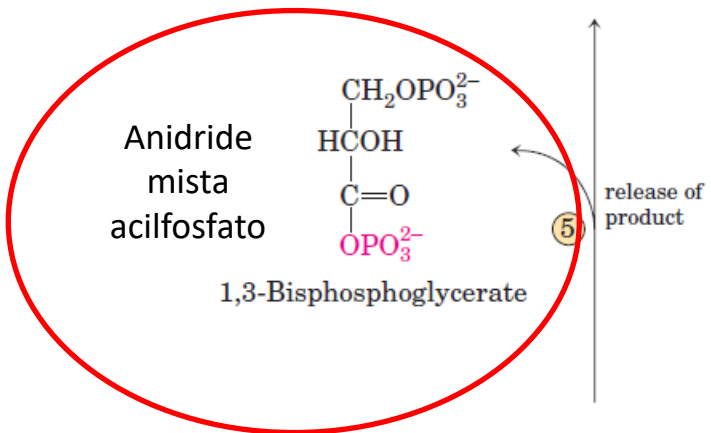
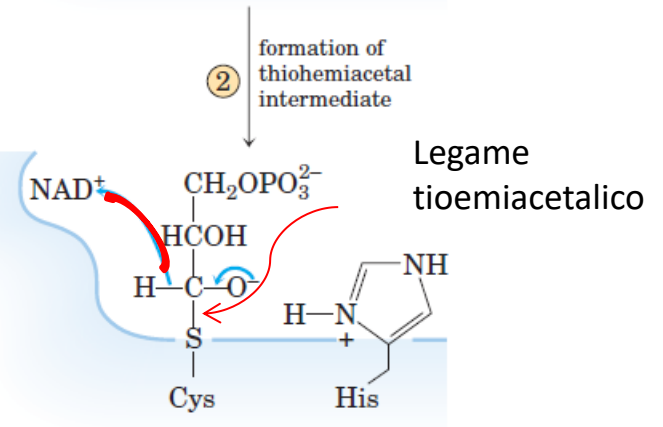
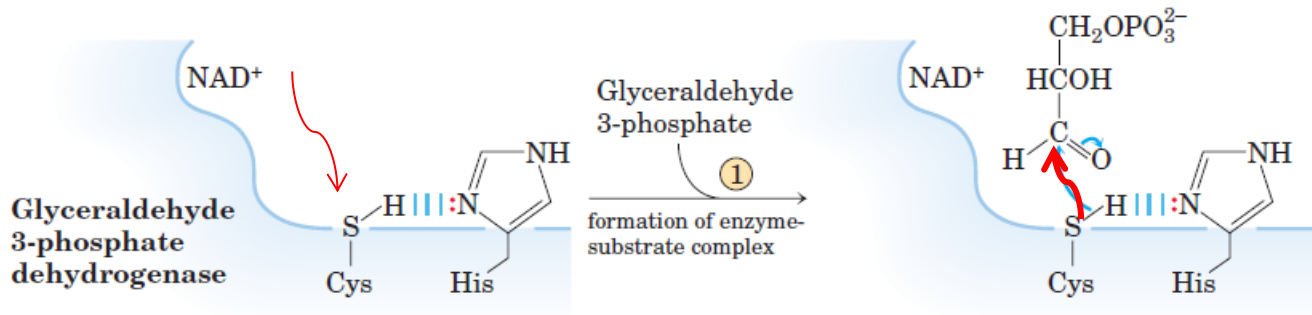
## Tetramero con 4 subunità identiche.

Ogni subunità ha un sito catalitico che lega una molecola di NAD +

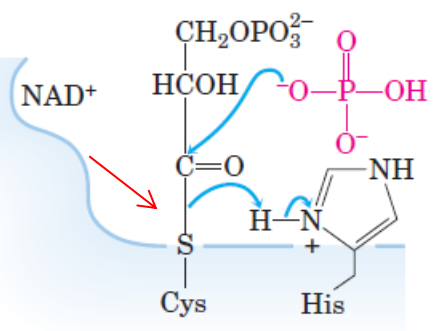
NAD + è l'ossidante e richiede fosfato organico







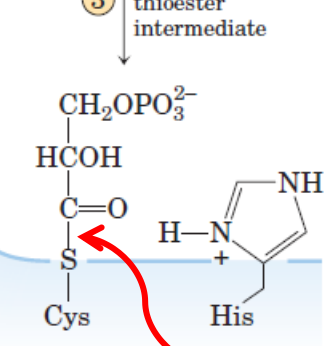
scissione del legame estere operata dall'acido fosforico



④  $\text{P}_i$   $\text{NAD}^+$   $\text{NADH}$

$\text{NADH}$  exchanged for  $\text{NAD}^+$ ; attack on thioester by  $\text{P}_i$

l'enzima ha un'affinità maggiore per il  $\text{NAD}^+$  rispetto al  $\text{NADH}$

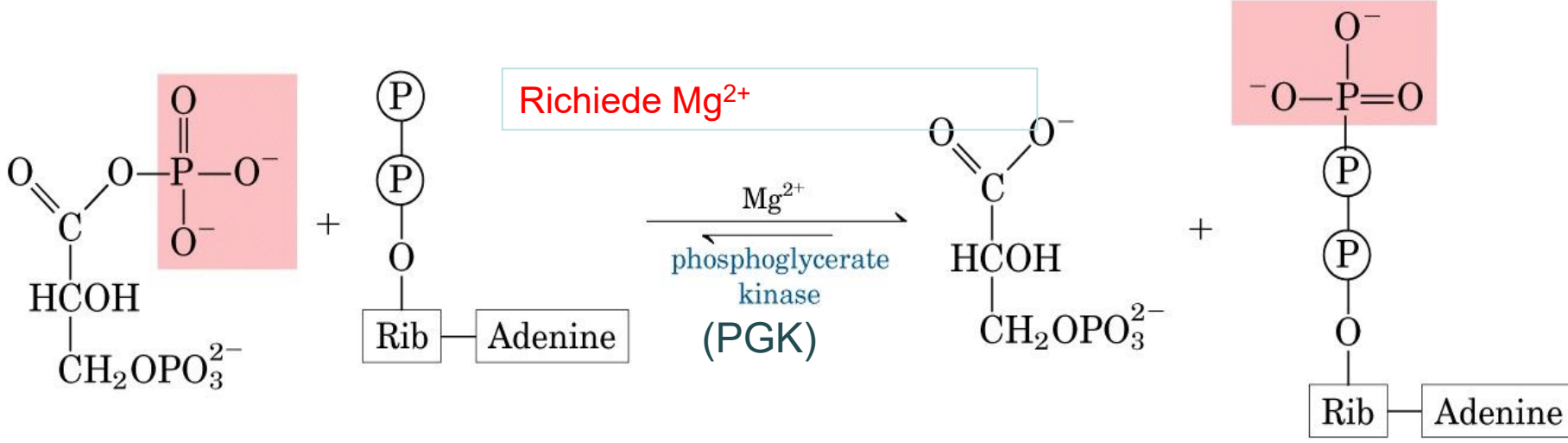


tioestere

# Reazione 7: Fosforilazione a livello del substrato:

Enzima: Fosfoglicerato chinasi.

Trasferisce il gruppo fosfato ad alta energia all'ATP



1,3-Bisphosphoglycerate  
(1,3-BPG)

ADP

3-Phosphoglycerate  
(3-PG)

ATP

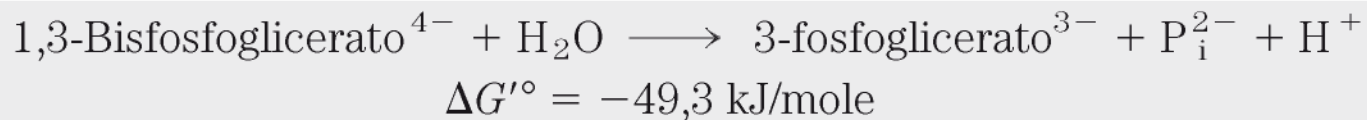
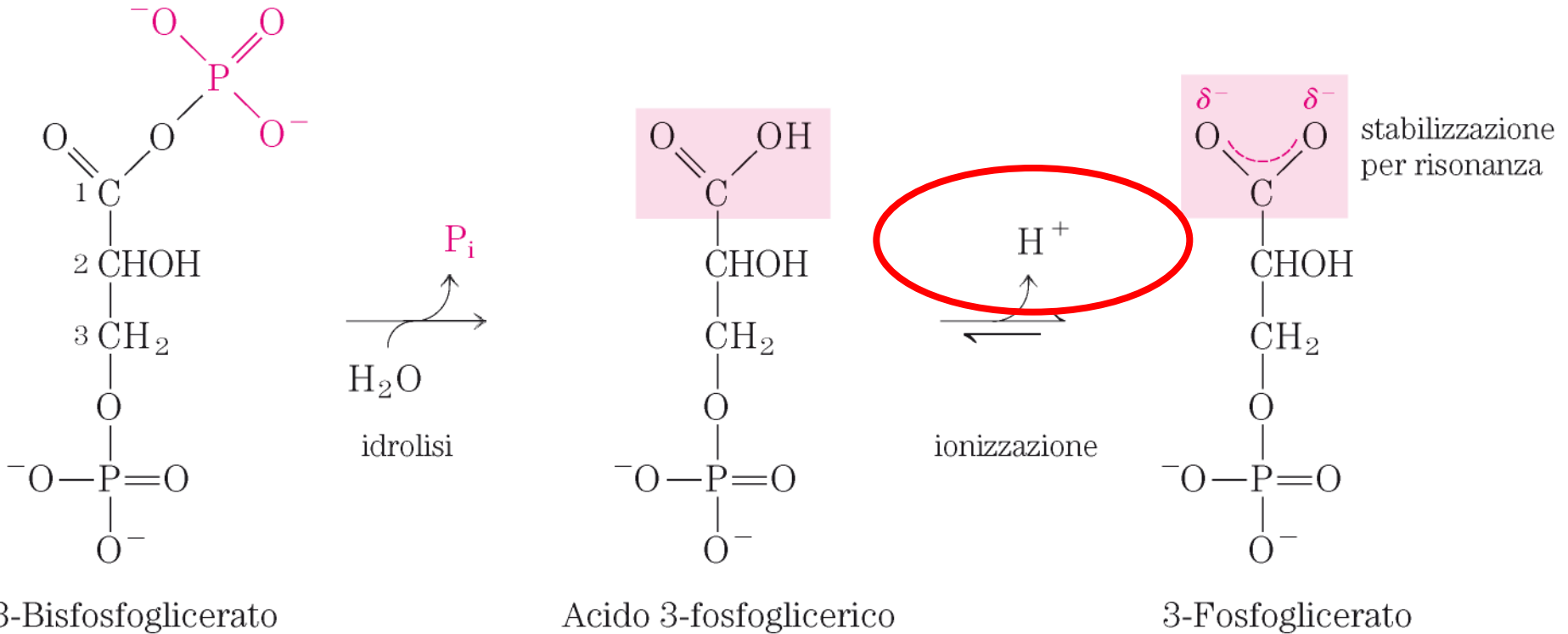
$$\Delta G'^{\circ} = -18.5 \text{ kJ/mol}$$



3-Fosfoglicerato

# 1,3 BIFOSFOGLICERATO (1-3 BPG)

## Legame anidridico



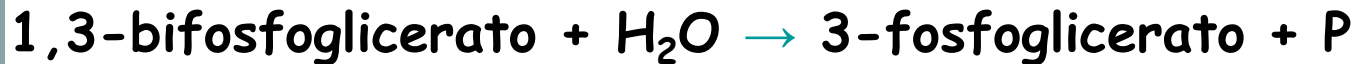
Le reazioni catalizzate dalla gliceraldeidei 3P deidrogenasi e dalla fosfogliceratochinasi sono accoppiate (step 6 e 7):



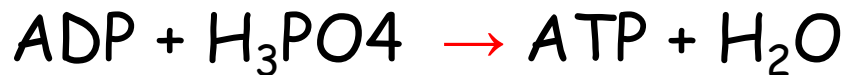
$$\Delta G^\circ = +6.3 \text{ kJ / mol}$$



$$\Delta G^\circ = -18 \text{ kJ / mol}$$



$$\Delta G^\circ = -49,3 \text{ kJ / mole}$$



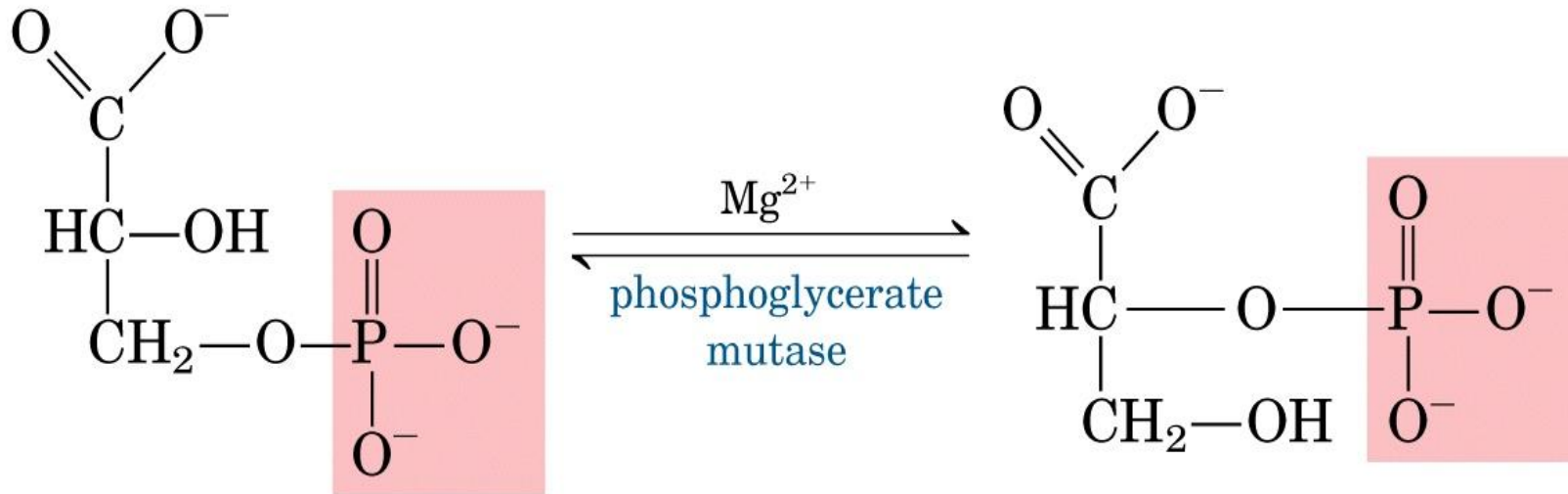
$$\Delta G^\circ = +30,5 \text{ kJ / mole}$$

$$\Delta G^\circ = -18,8 \text{ kJ / mole}$$



$$\Delta G^\circ = -12.2 \text{ kJ / mol}$$

**Reazione 8:** il legame estere con il fosfato viene spostato dal **C3** al **C-2**



3-Phosphoglycerate

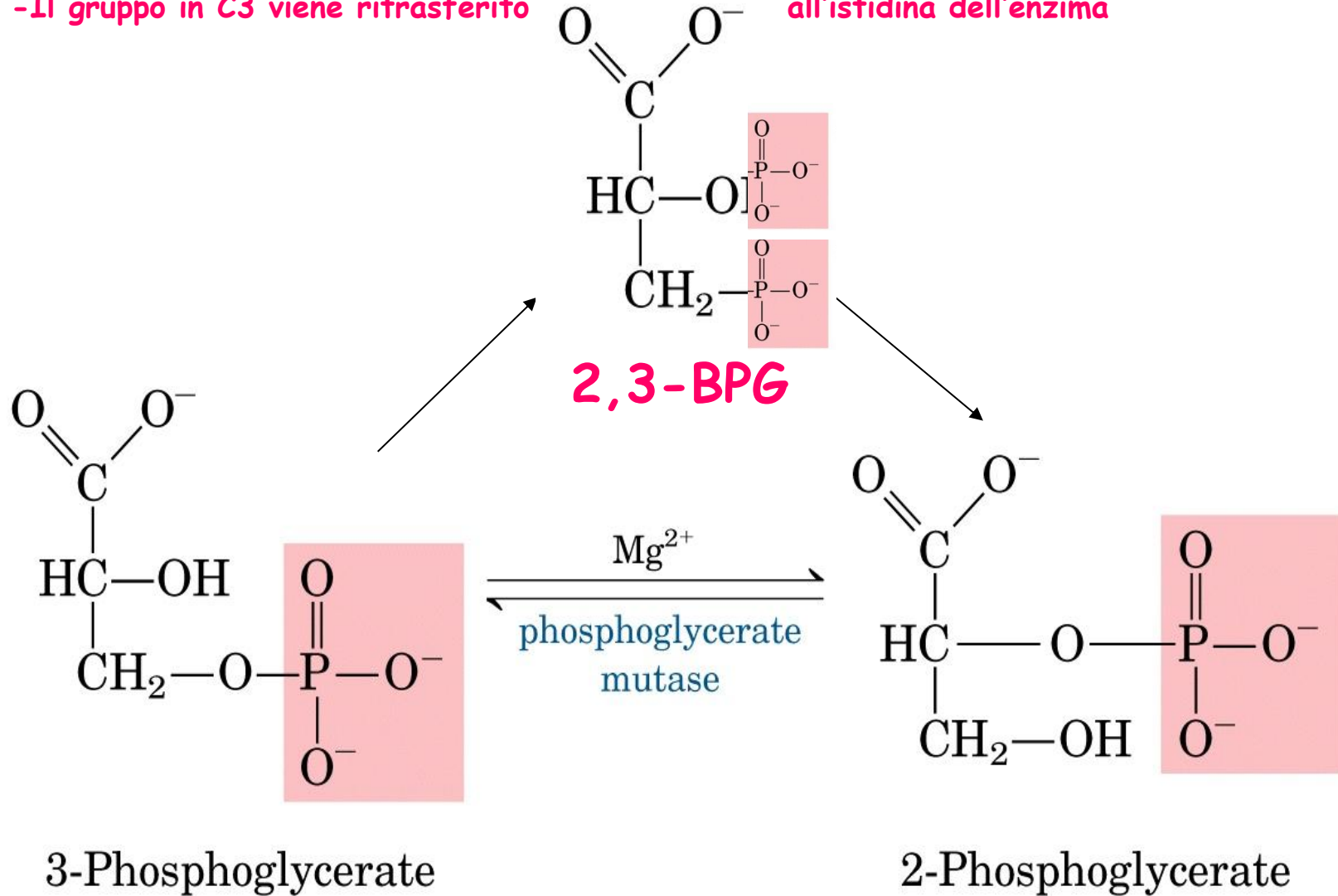
2-Phosphoglycerate

$$\Delta G'^{\circ} = 4.4 \text{ kJ/mol}$$

Enzima: **Fosfoglicerato mutasi**

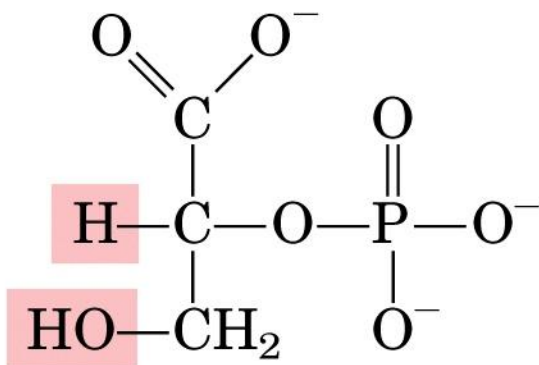
# La reazione avviene in due tappe:

- Un gruppo fosforico legato ad una istidina della mutasi viene trasferito al C2 all'istidina dell'enzima
- Il gruppo in C3 viene ritrasferito

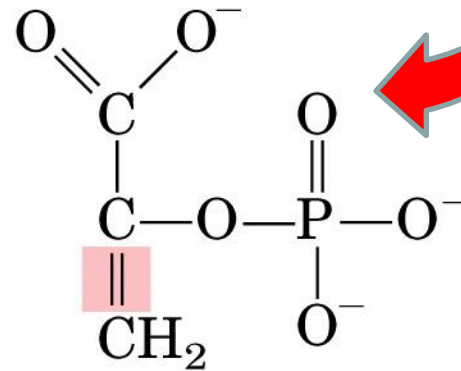
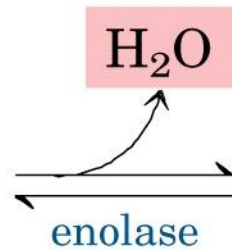


$$\Delta G'^{\circ} = 4.4 \text{ kJ/mol}$$

## Reazione 9: Deidratazione del 2-Fosfoglicerato



2-Phosphoglycerate



Phosphoenolpyruvate

(PEP)

$$\Delta G'^{\circ} = 7.5 \text{ kJ/mol}$$

1. Rilascio di un H dal C2 e un OH dal C3
2. Eliminazione di H<sub>2</sub>O
3. Doppio legame tra C2 e C3

Il 2 fosfoglicerato viene deidratato a PEP dall'azione dell'enolasi

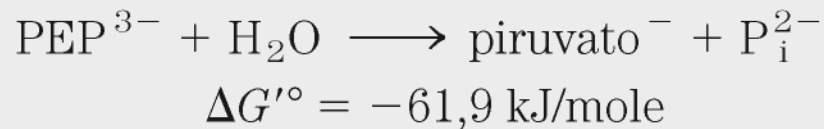
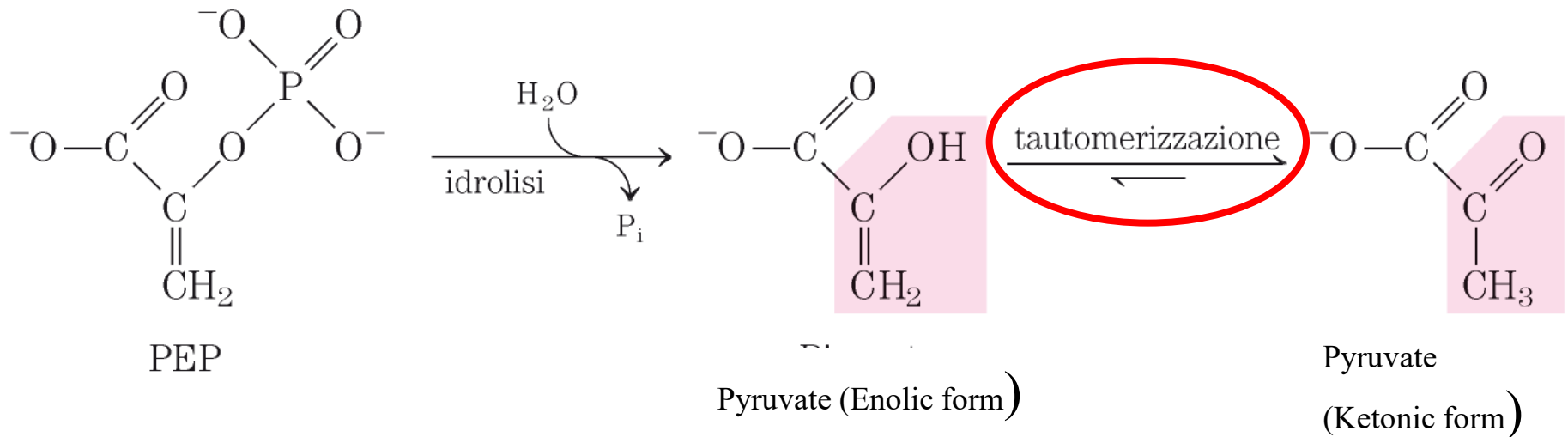
# $\Delta G^{\circ}$ (High)

## Phosphorylated Compounds have Large Free Energies of Hydrolysis

Phosphoenolpyruvate (PEP) contains a **phosphate ester bond** that undergoes hydrolysis to yield the enol form of pyruvate, and this direct product can tautomerize to the **more stable keto form**.

Because the reactant (PEP) has only one form (enol) and the product (pyruvate) has two possible forms, the product is stabilized respect to the reactant.

This is the greatest contributing factor to the high standard free energy of hydrolysis of phosphoenolpyruvate:  $\Delta G = -61.9 \text{ kJ/mol}$

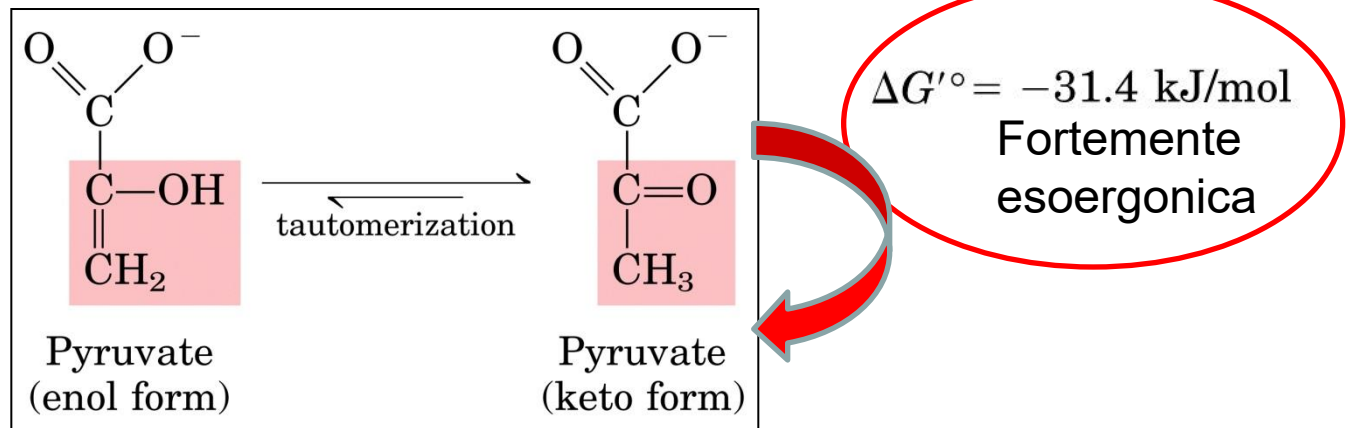
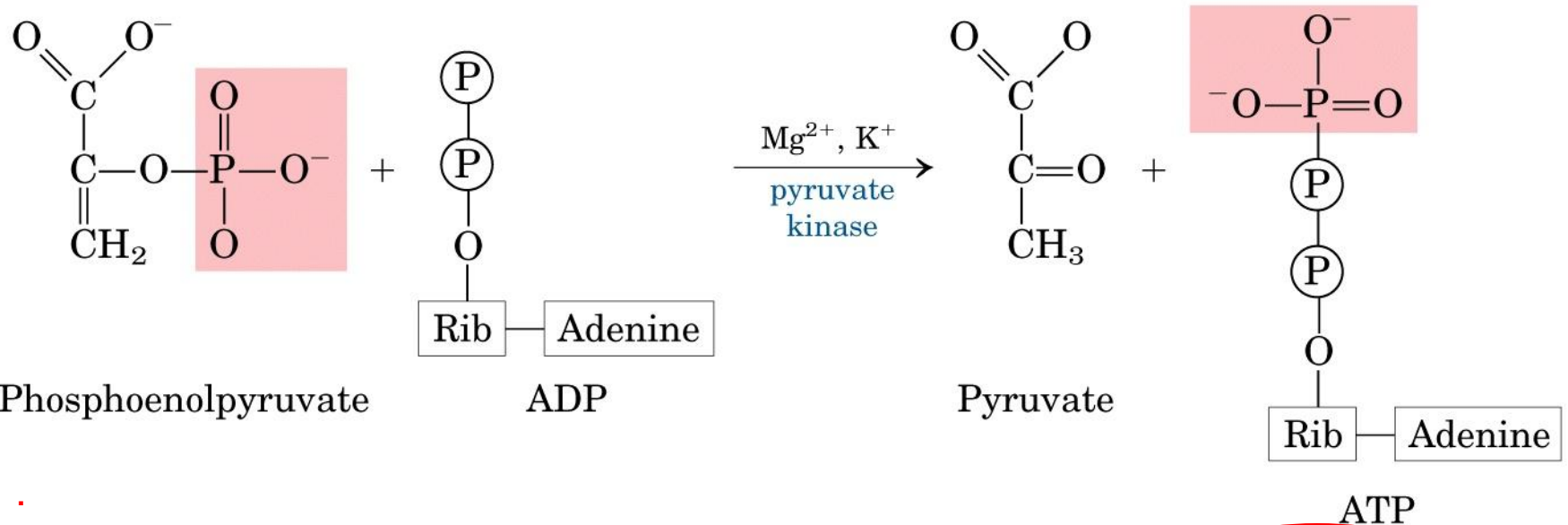


# Reazione 10:

## Seconda fosforilazione a livello del substrato

Trasferimento del gruppo fosfato dal PEP all' ADP per formare ATP

**Enzima: Piruvato chinasi**



$\Delta G'^{\circ} = -31.4 \text{ kJ/mol}$   
Fortemente  
esoergonica

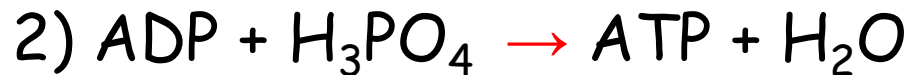
## Piruvato chinasi



$$\Delta G^{\circ} = -31,4 \text{ kJ / mole}$$

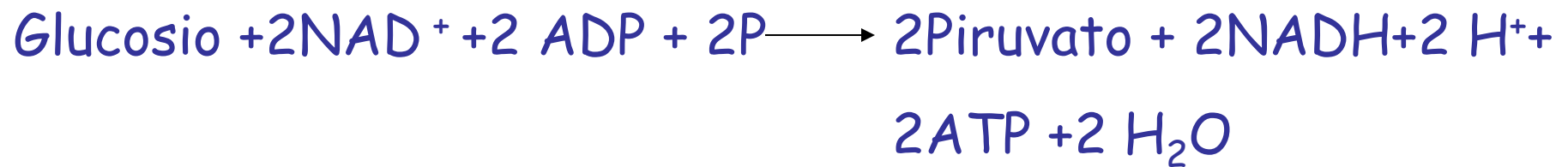
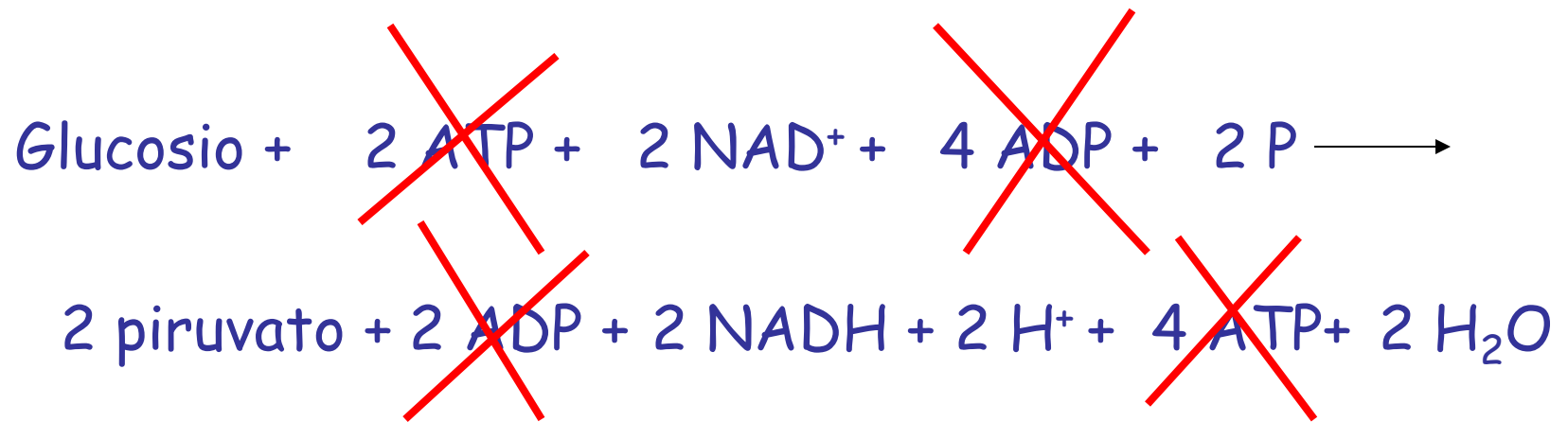


$$\Delta G^{\circ} = -61,9 \text{ kJ / mole}$$



$$\Delta G^{\circ} = +30,5 \text{ kJ / mole}$$

# Bilancio della glicolisi

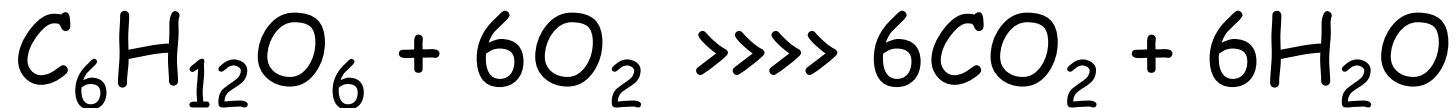


**-85kJ/mole**

# GLICOLISI

Avviene nel CITOSOL presente in tutti gli organismi viventi, che converte il glucosio in due molecole di piruvato generando energia metabolica sotto forma di ATP.

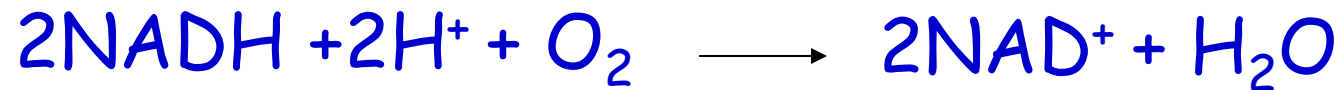
Negli organismi aerobi la glicolisi precede il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni, con cui si completa l'ossidazione del glucosio a  $H_2O$  e  $CO_2$ .

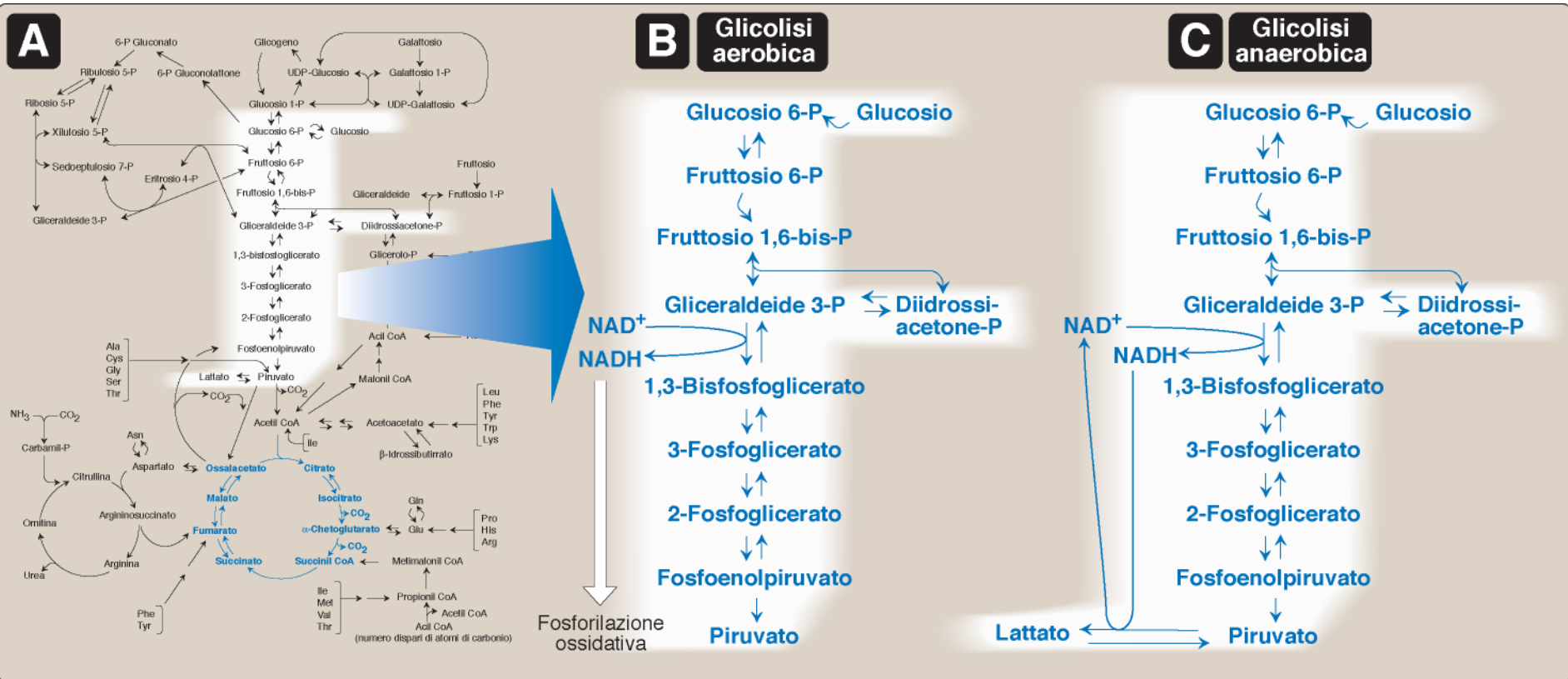


$$\Delta G'^{\circ} = -2840 \text{ kJ/mole (32 molecole di ATP)}$$

Le 2 molecole di **NADH** che si formano nel citosol durante la glicolisi sono **riossidate** in condizioni aerobiche mediante il trasferimento dei loro elettroni alla **catena respiratoria** che è localizzata nei mitocondri.

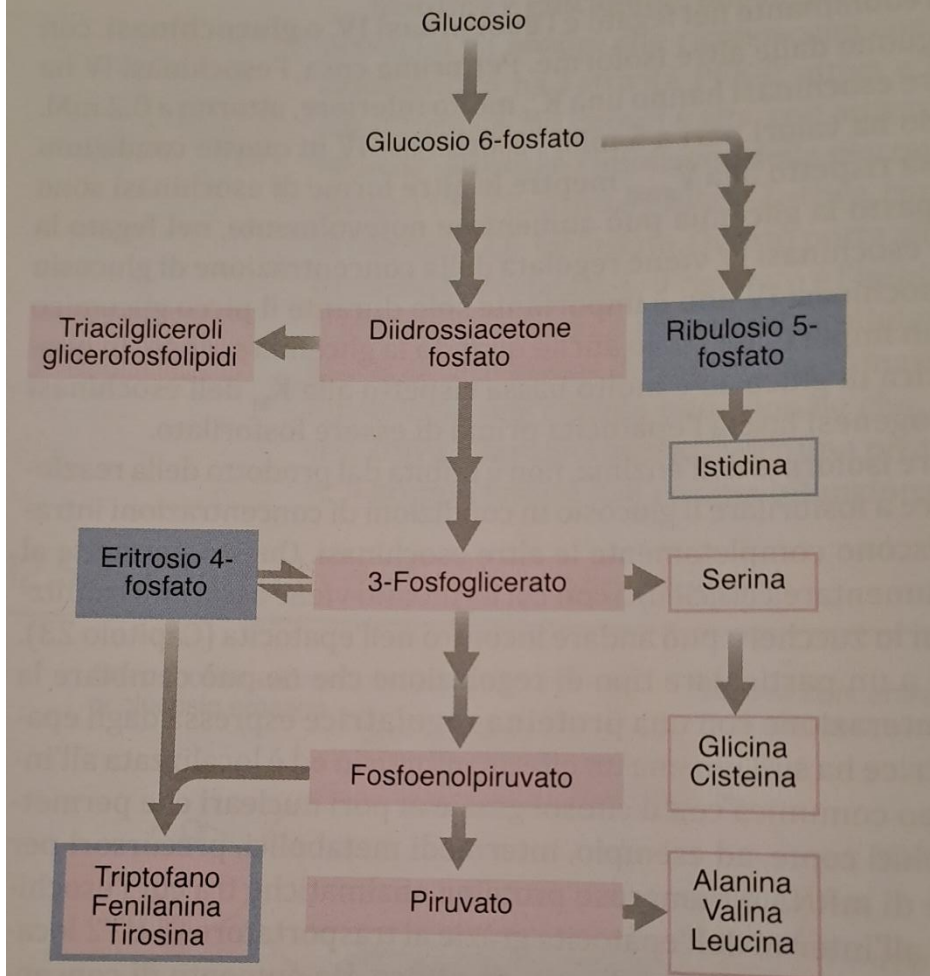
L'accettore ultimo degli elettroni è l'ossigeno:

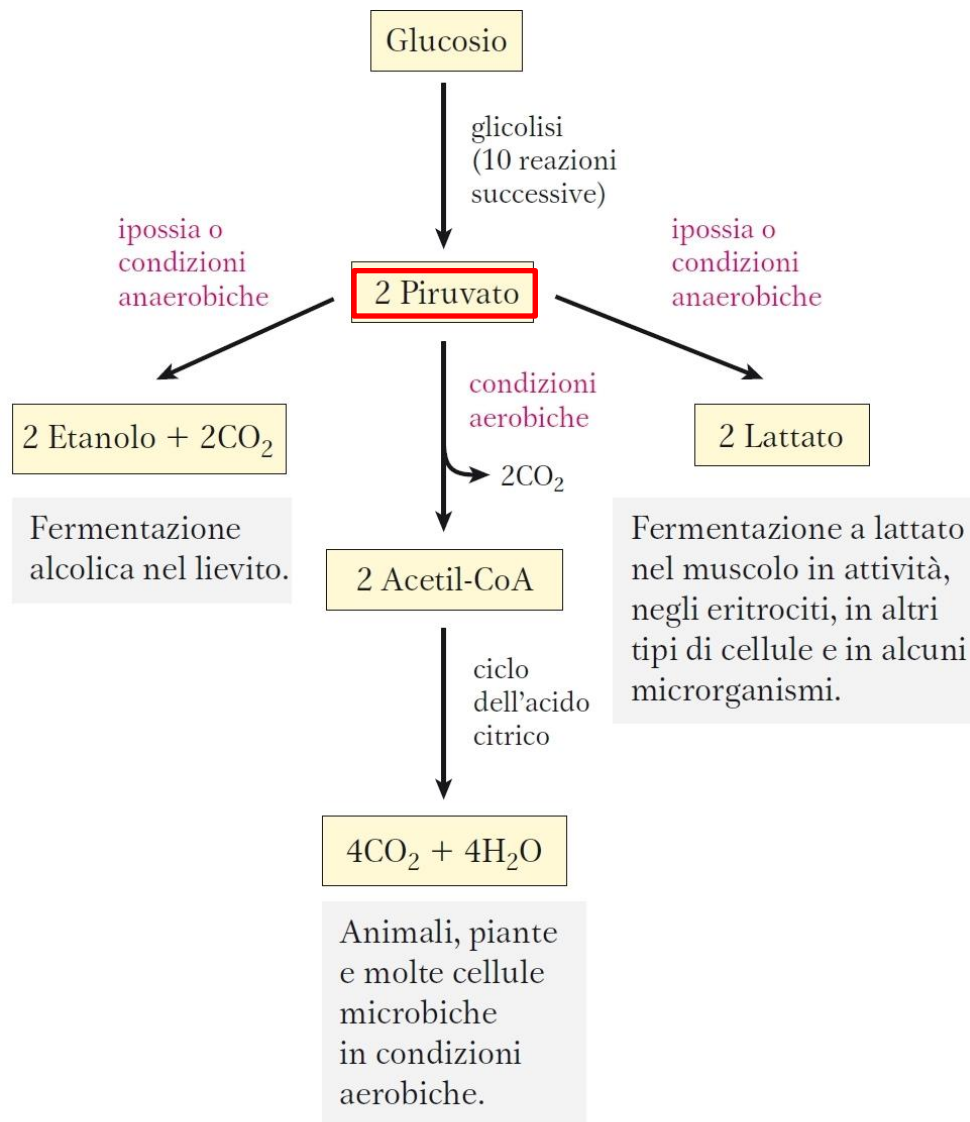




P. Champe, R. Harvey, D. R. Ferrier, LE BASI DELLA BIOCHIMICA, Zanichelli Editore S.p.A. Copyright © 2006

## 402 Catabolismo dei carboidrati





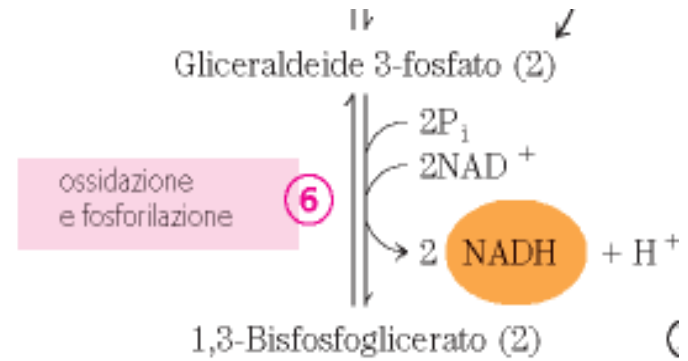
**Figura 14.4** I tre possibili destini catabolici del piruvato formato nella glicolisi. Il piruvato serve anche come precursore in molte reazioni anaboliche, non riportate nella figura.

# Fermentazione: destino anaerobico del piruvato

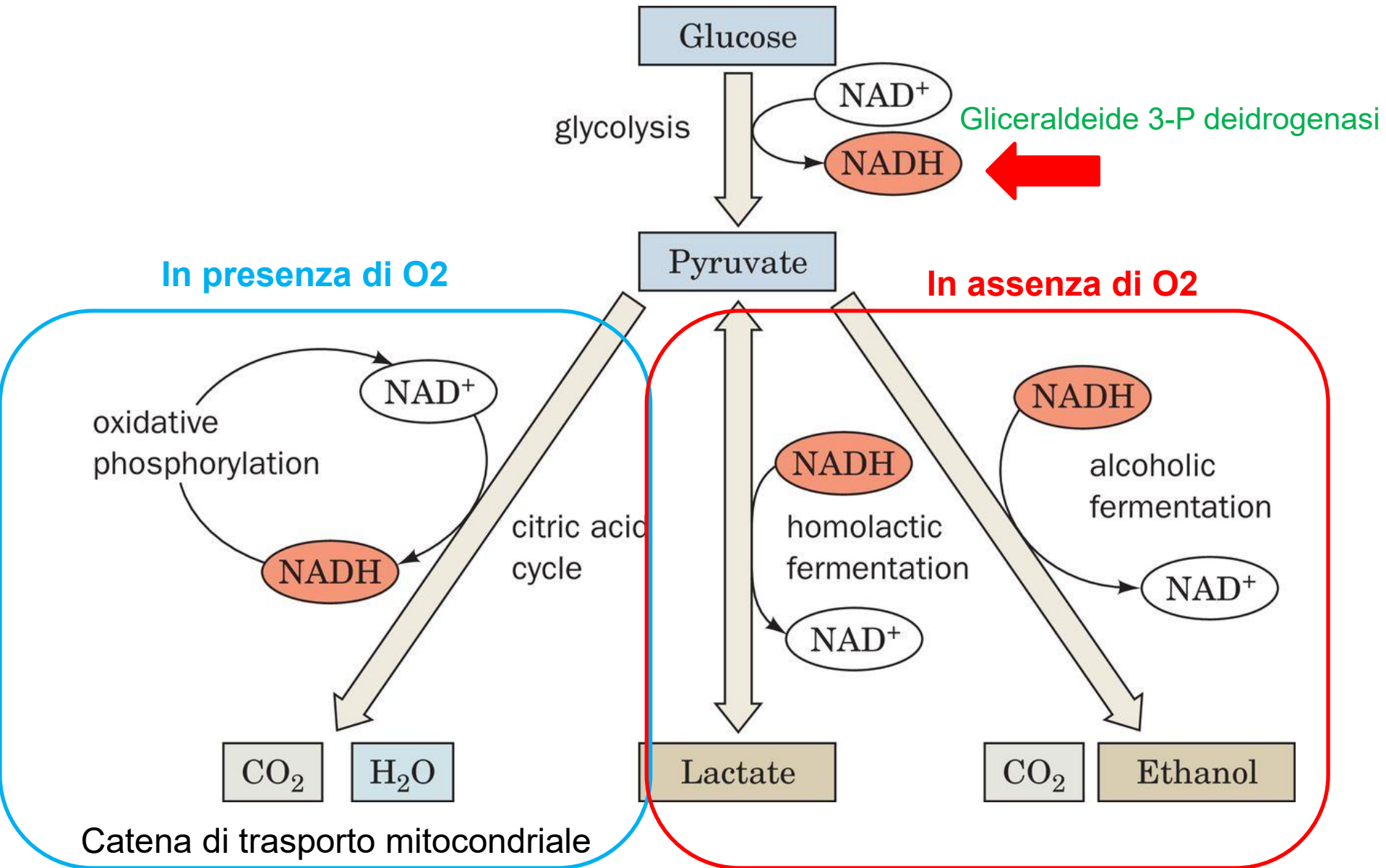
- NADH, un substrato della Gliceraldeide 3 P deidrogenasi, deve essere riossidato affinché la glicolisi continui.

1) Nel muscolo, il piruvato viene ridotto a lattato per rigenerare il NAD<sup>+</sup>. (**Fermentazione lattica**)

2) Il lievito decarbossila il piruvato per produrre CO<sub>2</sub> ed etanolo, in un processo che richiede il cofattore TPP. (**Fermentazione alcolica**)



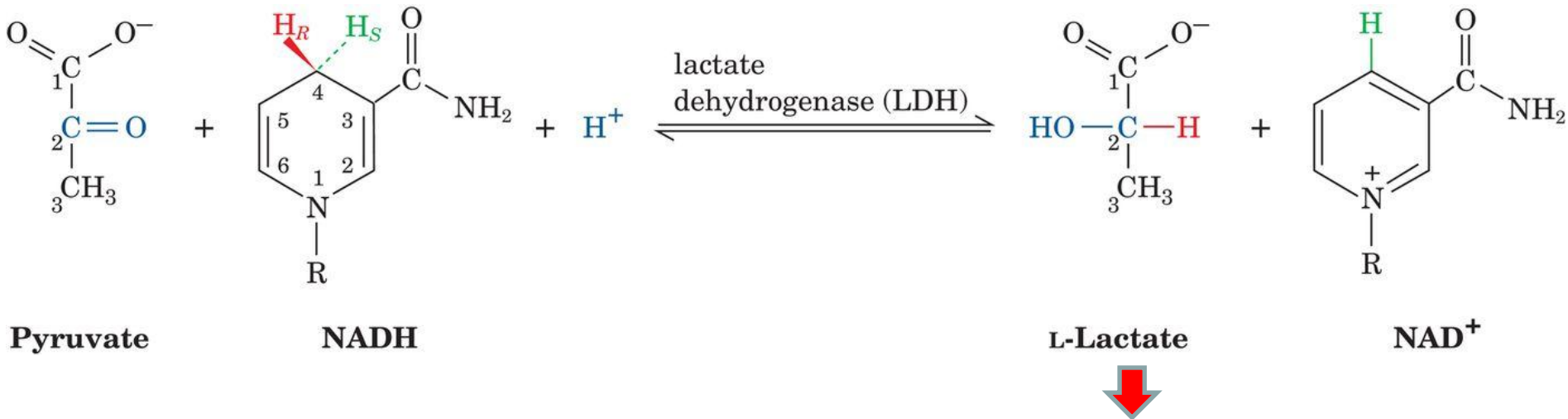
# Destino metabolico del piruvato



# 1) Fermentazione lattica

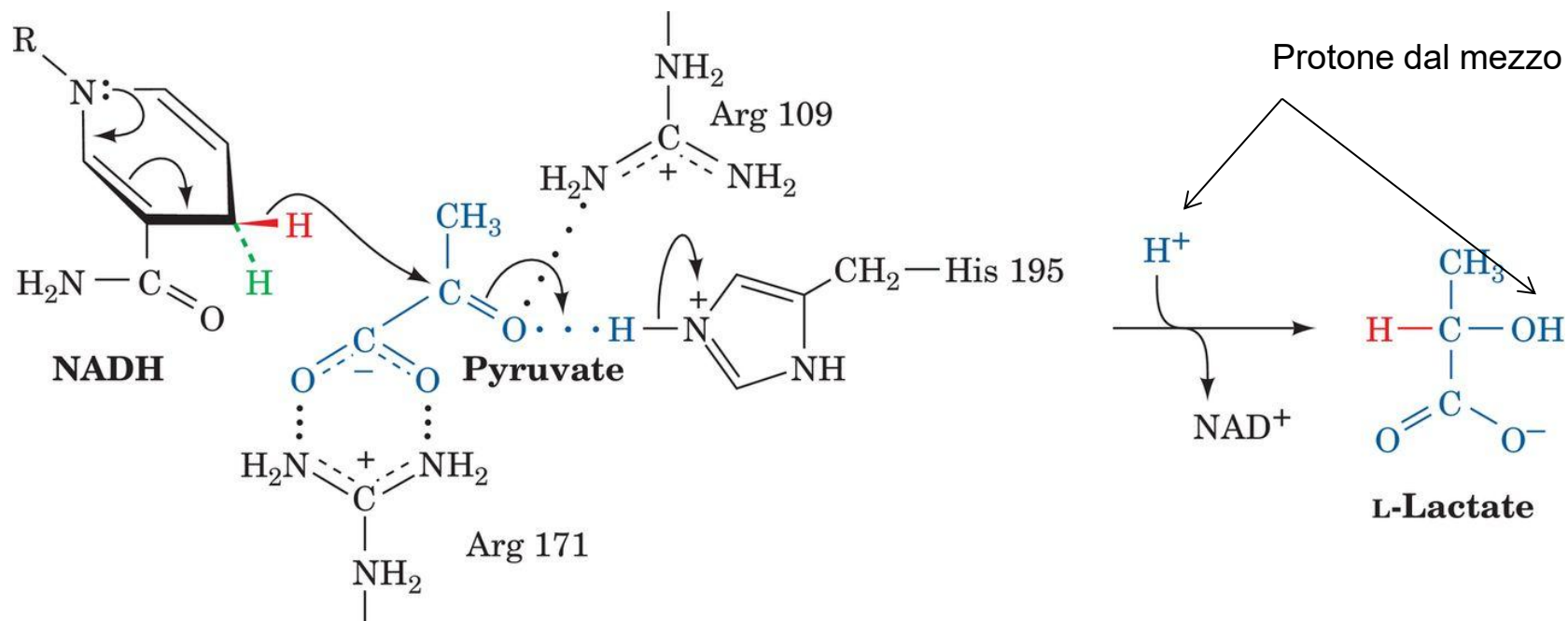
Nei **MUSCOLI** in attività, o nelle cellule con pochi mitocondri come **ERITROCITI**, quando la richiesta di ATP è elevata e l'ossigeno scarseggia, l'ATP viene ottenuto tramite la glicolisi anaerobia

La **LATTATO DEIDROGENASI** catalizza l'ossidazione del NADH producendo NAD<sup>+</sup> e lattato



Il lattato può essere trasferito fuori alla cellula  
Portato al **fegato** e convertito in **glucosio**

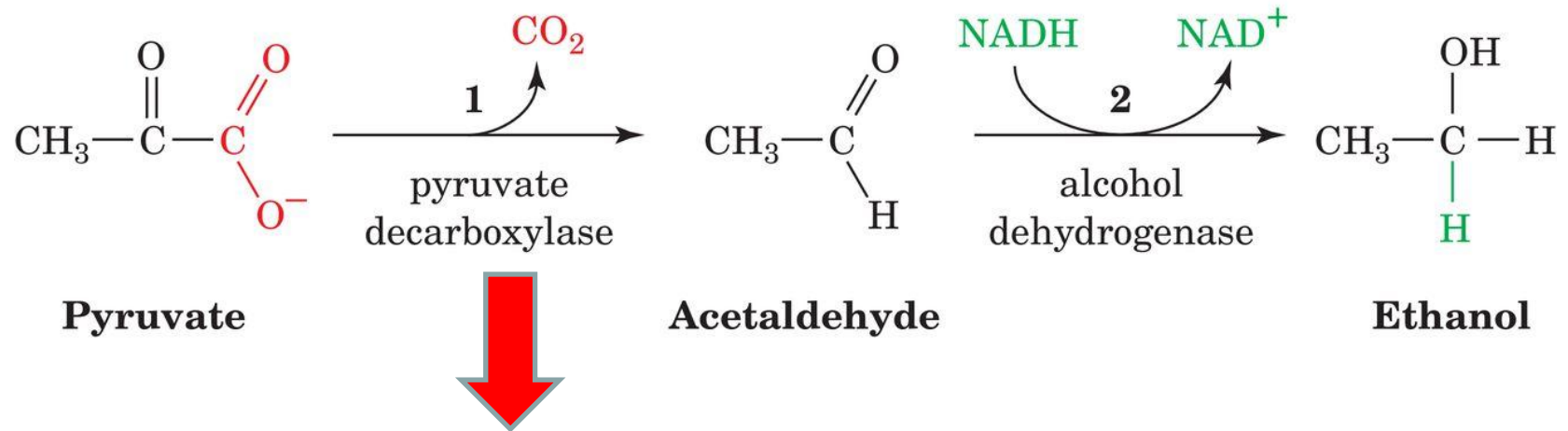
# Lattato deidrogenasi



His 195, Arg 171 e Arg 109 interagiscono elettrostaticamente per orientare il piruvato nel sito attivo

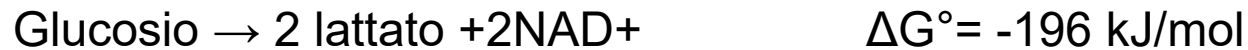
# 2 Fermentazione alcolica

Nei LIEVITI >> VINI e PANE



Usa come coenzima la TPP

Per ogni glucosio con la fermentazione si formano  $\rightarrow$  2 molecole di ATP



Con la fosforilazione ossidativa si formano 32 molecole di ATP