

# **BIOCHIMICA II (Metabolismo)**

Sgarra Riccardo  
(Dipartimento di Scienze della Vita  
Edificio Q, secondo Piano, st. 210/211  
[rsgarra@units.it](mailto:rsgarra@units.it))

Orario di Ricevimento:  
Su prenotazione tramite mail con oggetto:  
“BIOCHIMICA II - Cognome Nome - Ricevimento ”  
(su piattaforma Teams)

Orario corso:  
Come da calendario  
Lunedì 17-18 aula 3B ed. H3  
Mercoledì 15-17 aula M ed. A  
Giovedì 14-16 aula F ed. C1

# Programma del corso: 6CFU - 48 ore

## Concetti base di bioenergetica

### Catabolismo:

- 1) Metabolismo del Glucosio: glicolisi, gluconeogenesi e via del pentosio fosfato: reazioni e cofattori
- 2) Regolazione metabolica: principi generali; glicolisi e gluconeogenesi; sintesi e degradazione del glicogeno.
- 3) Ciclo di Krebs: reazioni, cofattori, bilancio energetico e regolazione.
- 4) Catabolismo degli acidi grassi: reazioni, cofattori, bilancio energetico e regolazione.
- 5) Catabolismo degli amminoacidi e ciclo dell'urea;
- 6) Fosforilazione ossidativa: trasporto degli elettroni, gradiente protonico, sintesi ATP. Regolazione della fosforilazione ossidativa. Mitocondri disaccoppiati.

### Anabolismo:

- 1) Biosintesi degli acidi grassi e dei triacilgliceroli.
- 2) Biosintesi degli amminoacidi: aa essenziali e non-essenziali; famiglie biosintetiche degli aa; sintesi degli aa non essenziali; metabolismo delle unità monocarboniose: folati e SAM.

## Ormoni e Integrazione del metabolismo nei mammiferi e principali inter-relazioni metaboliche tra organi.

# Materiale didattico

Presentazioni PDF di tutte le lezioni disponibili sulla piattaforma Moodle del corso.

Testo consigliato:

Nelson e Cox: I principi di biochimica di Lehninger, VII edizione, Zanichelli editore

[Capitoli da 13 a 19; capitolo 21, paragrafi 21.1 e 21.2 (biosintesi acidi grassi ed eicosanoidi e biosintesi triacilgliceroli) , capitolo 22, paragrafi 22.1 e 22.2 (metabolismo azoto e biosintesi degli amminoacidi non essenziali, capitolo 23]

**NB: testo indicato anche nel corso di BIOCHIMICA I - STB - UniTS**

Altri testi di riferimento utilizzabili:

Berg, Tymoczko, Stryer: Biochimica, VII edizione, Zanichelli editore

Siliprandi e Tettamanti: Biochimica Medica, IV edizione, Piccin editore.

Devlin: Biochimica con aspetti clinici, VII edizione, Edises editore.

# DOMANDE e QUESTION DAY

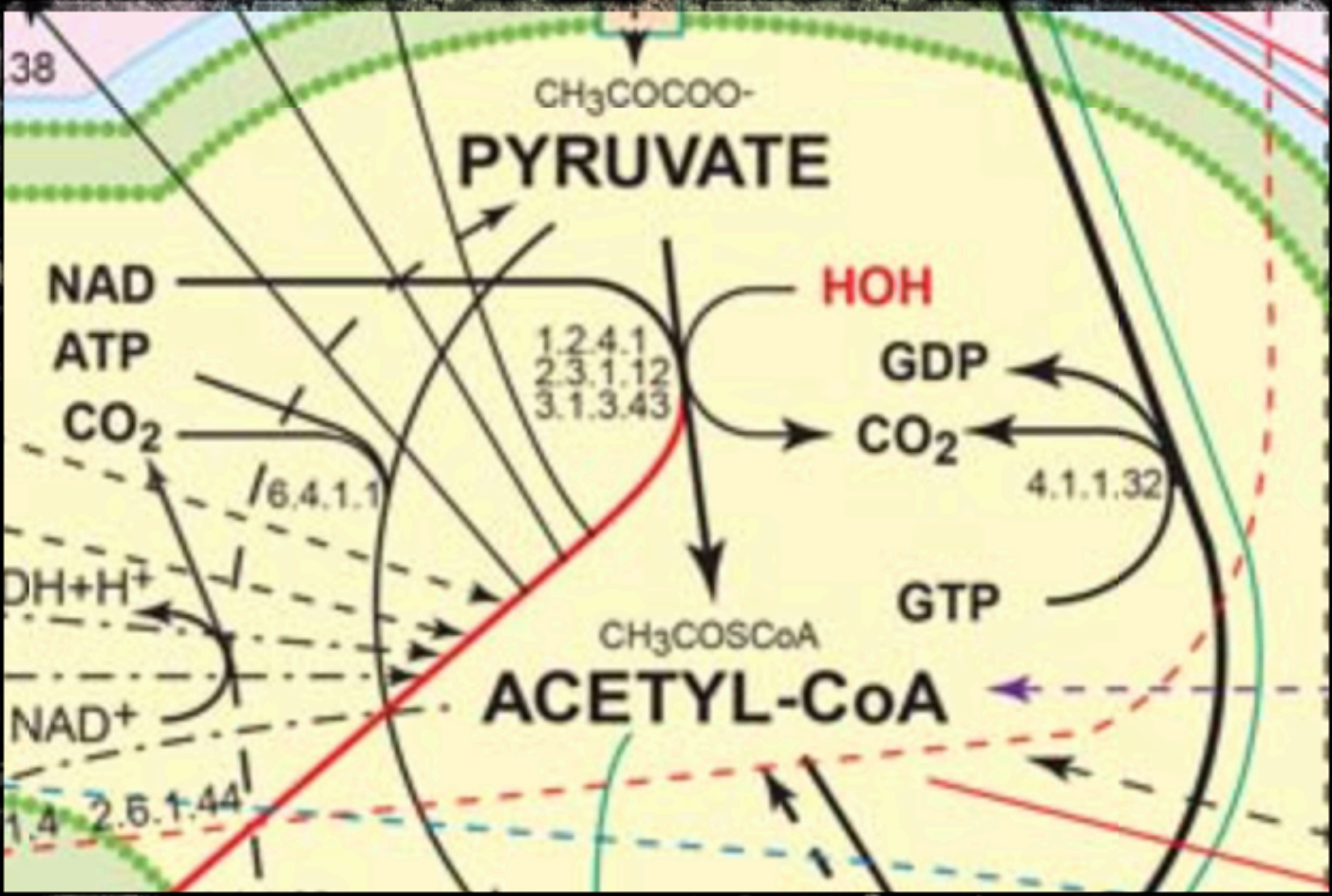
- 1) Le lezioni sono un momento di scambio e pertanto siete invitati a porre domande o richiedere spiegazioni.
- 2) Qualora durante lo studio doveste avere domande da pormi, inviatele sulla mia casella di posta con oggetto: “**BIOCHIMICA 2 - Cognome Nome - Domanda**” ed io provvederò a ripresentarla sulla piattaforma Moodle e a fornire la risposta in modo che domanda/risposta siano condivise con tutti
- 3) Al termine del corso, potete raccogliere una serie di domande e io provvederò ad organizzare una riunione in Teams o dal vivo in modo da rispondere alle vostre domande. In alternativa le condividerò sempre sulla piattaforma Moodle.

# SUGGERIMENTO

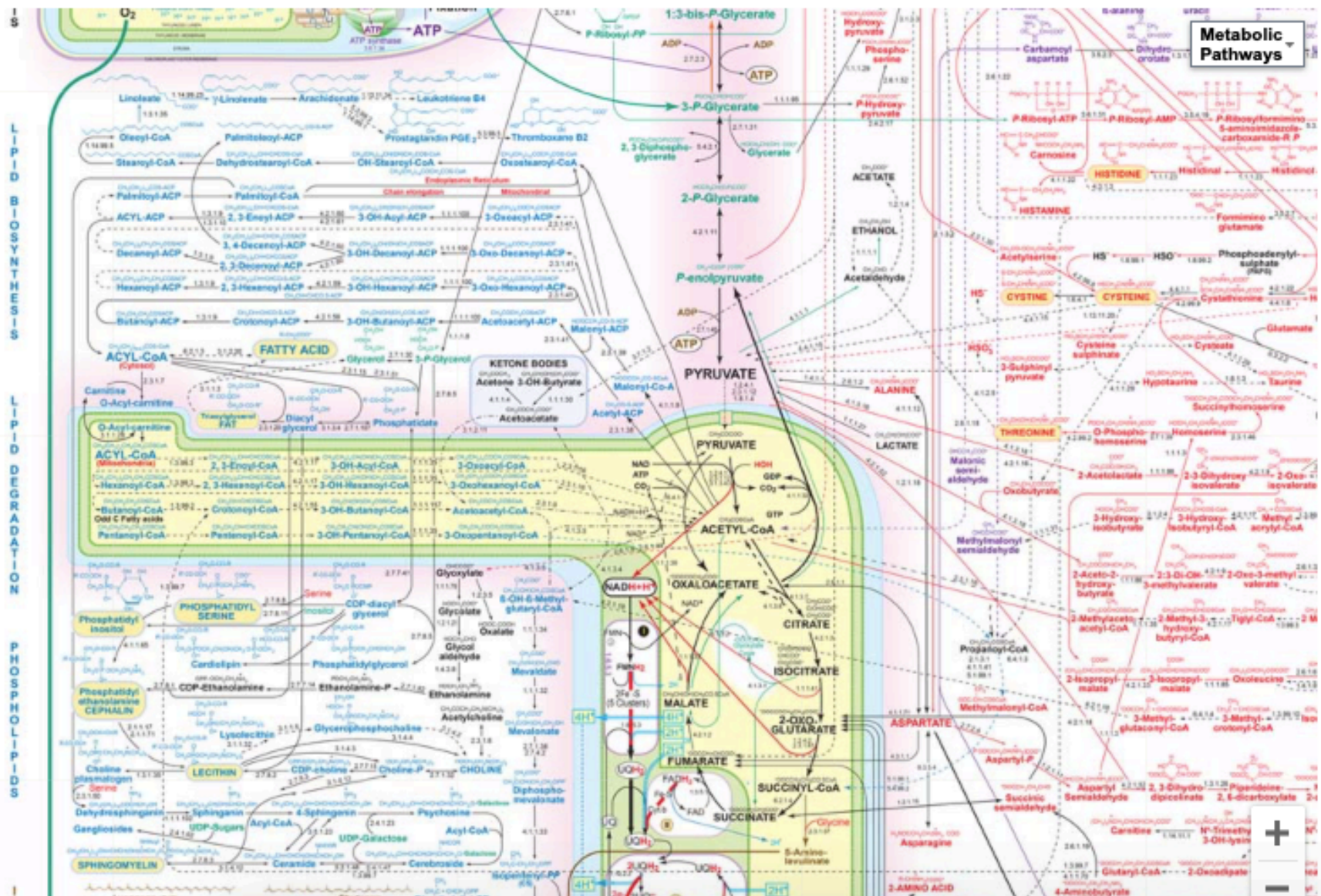
Slide e registrazioni sono sicuramente una prima fonte da cui ottenere le informazioni e su cui basare lo studio, ma questo non implica che la consultazione di un testo non sia **fondamentale** per il consolidamento delle tematiche trattate a lezione. L'arricchimento in termini di **proprietà di linguaggio, termini tecnici, approfondimenti, aspetti non trattati a lezione** è ciò che distingue una **preparazione superficiale** dall'aver acquisito una **consapevolezza profonda della materia trattata**.

A questo poi si aggiunge la lettura di testi/articoli scientifici su specifici argomenti, che rappresenta una sorta di banco di prova per confrontarsi, con il bagaglio culturale acquisito, su tematiche trattate in modo estremamente approfondito.

**DETTAGLIO => VISIONE COMPLESSIVA**



Search the Metabolic Pathways Map...



# Modalità d'esame

L'esame di Biochimica II consiste in una prova scritta con quindici (15) domande a risposta semi-aperta (risposta concisa/puntuale) da svolgersi in tre (3) ore. In ciascuna domanda possono essere richieste più informazioni. Le domande hanno un uguale peso e riguardano il programma svolto a lezione (a ciascuna domanda è attribuito un punteggio compreso tra 0 a 2). Il voto finale è la somma dei punteggi assegnati alle singole domande con arrotondamento all'unità per eccesso).

Le 15 domande sono suddivise in due categorie:

Domanda da 1-5: accesso alla valutazione + Voto - Domande da 6 a 15: Voto

Lo studente deve rispondere alle prime 5 domande e ricevere una votazione almeno pari a 7,5 per poter essere valutato anche nella seconda parte. Le domande da 1-5 costituiscono una conoscenza di base imprescindibile per il superamento dell'esame. Se il voto conseguito in queste prime 5 domande dovesse essere minore di 7.5, allora lo studente non può superare l'esame anche se la rimanente parte dell'esame dovesse essere corretta.

Se lo studente ottiene un voto compreso tra 7.5 e 10 allora verrà corretto anche la seconda parte dell'esame e i voti si sommeranno portando all'esito finale.

Su richiesta dello studente si può prendere visione dell'esame.



# BIOCHIMICA 2 con Laboratorio (**12 CFU**)

BIOCHIMICA 2  
**6CFU**

Laboratorio  
**6CFU**

Prof. Cescutti  
Prof. Tramer  
Prof. Mardirossian  
Prof. Tavagnacco

Superamento esame  
Voto  $> 0 = 18/30$   
(voto mantenuto all'infinito)

Superamento esame  
Voto  $> 0 = 18/30$   
(voto mantenuto all'infinito)

**Media**

Registrazione voto unico (**12 CFU**)

## 2) BIOENERGETICA

2a) Cosa distingue gli organismi autotrofi da quelli eterotrofi?.....

.....  
.....

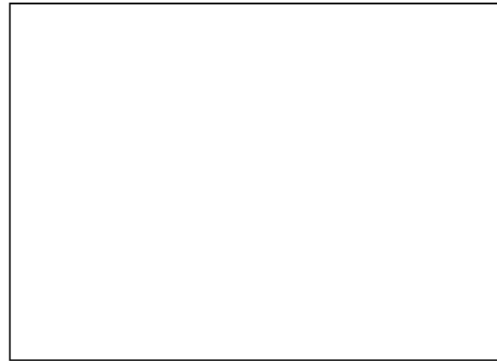
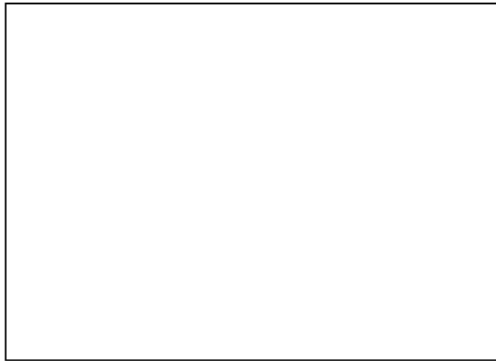
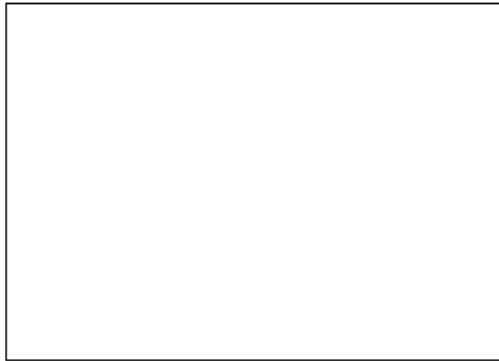
2b) Disegnate i tre grafici **Energia libera di Gibbs (G)** versus **Coordinata di reazione** per le tre reazioni:

a) Glucosio + Pi => Glucosio 6P; b) ATP => ADP + Pi; c) Glucosio + ATP => Glucosio 6P + ADP

2b1)

2b2)

2b3)



2c) L'energia libera di Gibbs è data da  $H-TS$  ( $G = H-TS$ ). **2c1)** H rappresenta .....ed è legata al **2c2)** ..... mentre S è **2c3)** ..... ed è legata al .....

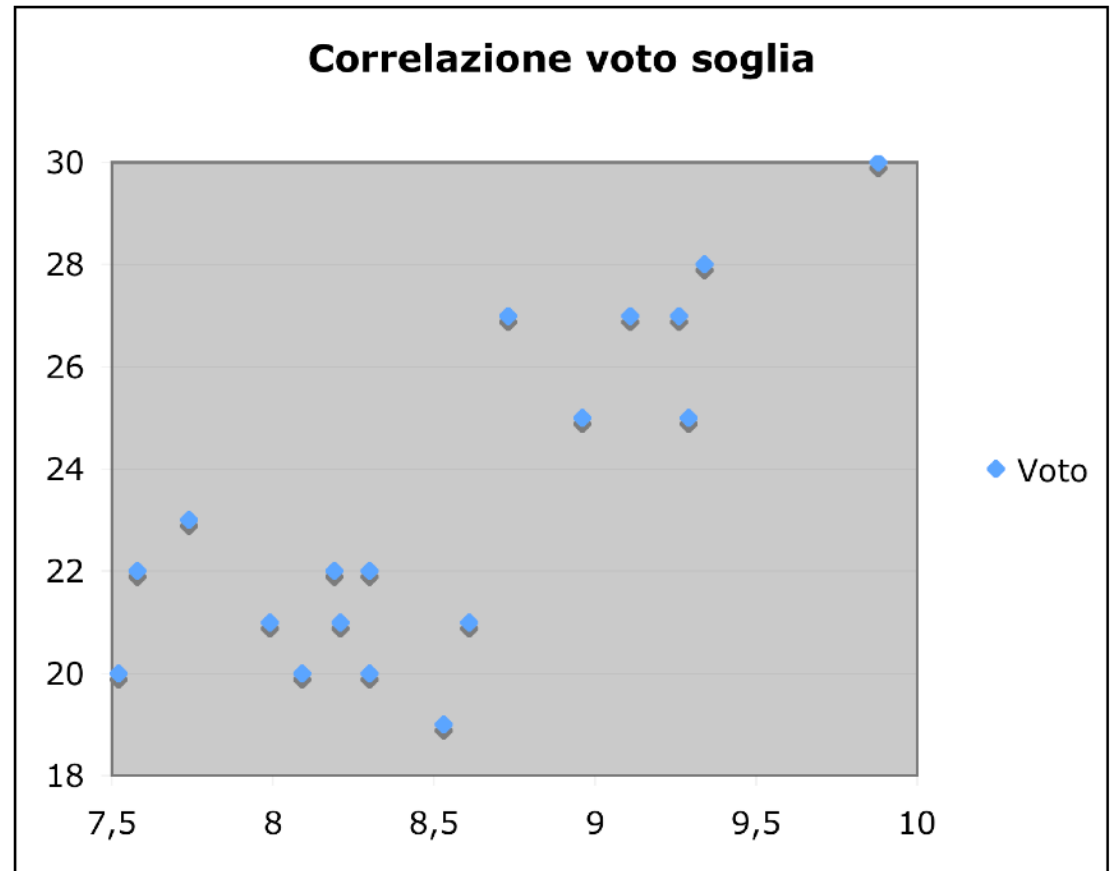
2d) Il  $\Delta G^\circ$  della reazione  $ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi$  è pari a **2d1)** .....Kj/mole. L'idrolisi dell'ATP è molto favorevole dal punto di vista energetico per tre ragioni distinte:

**2d2)**.....

**2d3)**.....

# Primo appello Luglio 2021

D	P	S	D	P	S	D	P	S
1a	0,33	0,33	6a	0,9	0,9	11a	0,6	0,6
1b	0,33	0,33	6b1	0,05	0,05	11b1	0,2	0,2
1c	0,33	0,33	6b2	0,05	0,05	11b2	0,3	0,3
1d	0,33	0,33	6c	0,1	0,1	11b3	0,3	0,3
1e	0,33	0,33	6d	0,5	0,5	11c1	0,1	0,1
1f	0,33	0,33	6e1	0,1	0,1	11c2	0,2	0,2
1	2,0	2,0	6e2	0,1	0,1	11d1	0,1	0,1
2a	0,40	0,4	6e3	0,1	0,1	11d2	0,1	0,1
2b1	0,20	0,20	6e4	0,1	0,1	11d3	0,1	0,1
2b2	0,20	0,20	6	2	2	11	2	2
2b3	0,20	0,20	7a	0,8	0,8	12a1	0,1	0,1
2c1	0,17	0,17	7b1	0,1	0,1	12a2	0,1	0,1
2c2	0,17	0,17	7b2	0,1	0,1	12a3	0,1	0,1
2c3	0,17	0,17	7b3	0,1	0,1	12a4	0,1	0,1
2d1	0,13	0,13	7b4	0,1	0,1	12a5	0,1	0,1
2d2	0,13	0,13	7b5	0,1	0,1	12b1	0,5	0,5
2d3	0,13	0,13	7c	0,7	0,7	12b2	0,5	0,5
2d4	0,13	0,13	7	2	2	12c1	0,2	0,2
2	2,00	2,00	8a	0,2	0,2	12c2	0,3	0,3
3a1	0,05	0,05	8b	0,2	0,2	12	2	2
3a2	0,05	0,05	8c1	0,1	0,1	13a1	0,25	0,25
3a3	0,05	0,05	8c2	0,1	0,1	13a2	0,25	0,25
3a4	0,05	0,05	8c3	0,1	0,1	13b1	0,25	0,25
3b	1,40	1,40	8c4	0,1	0,1	13b2	0,25	0,25
3c1	0,10	0,10	8d	1,2	1,2	13c1	0,25	0,25
3c2	0,10	0,10	8	2	2	13c2	0,25	0,25
3d1	0,10	0,10	9a	0,1	0,1	13d1	0,25	0,25
3d2	0,10	0,10	9b1	0,2	0,2	13d2	0,25	0,25
3	2,00	2,00	9b2	0,2	0,2	13	2	2
4a1	0,20	0,20	9b3	0,2	0,2	14a	0,2	0,2
4a2	0,20	0,20	9c1	0,1	0,1	14b1	0,1	0,1
4b1	0,20	0,20	9c2	0,5	0,5	14b2	0,1	0,1
4b2	0,20	0,20	9d1	0,2	0,2	14b3	0,1	0,1
4c1	0,40	0,40	9d2	0,1	0,1	14c	1,5	1,5
4c2	0,40	0,40	9d3	0,1	0,1	14	2	2
4c3	0,40	0,40	9e1	0,2	0,2	15a1	0,1	0,1
4	2,00	2,00	9e2	0,1	0,1	15a2	0,1	0,1
5a	1,50	1,50	9	2	2	15a3	0,1	0,1
5b1	0,05	0,05	10a1	0,1	0,1	15a4	0,1	0,1
5b2	0,05	0,05	10a2	0,1	0,1	15a5	0,1	0,1
5b3	0,05	0,05	10b	0,9	0,9	15a6	0,1	0,1
5b4	0,05	0,05	10c1	0,1	0,1	15b	1	1
5b5	0,05	0,05	10c2	0,1	0,1	15c1	0,1	0,1
5b6	0,05	0,05	10c3	0,1	0,1	15c2	0,1	0,1
5b7	0,05	0,05	10d	0,4	0,4	15d	0,2	0,2
5b8	0,05	0,05	10e1	0,1	0,1	15	2	2
5b9	0,05	0,05	10e2	0,1	0,1			
5b10	0,05	0,05	10	2	2			
5	2,00	2,00						
Sogli	10,00	10,00				Voto	30,00	



Esito Soglia

Domande soglia: FONDAMENTALI

Primo appello: 25 studenti - 1 ritirato, 18 superato soglia - 18 voti > 18

Ultimo appello: 25 studenti - 5 ritirato, 10 superato soglia - 10 voti > 18

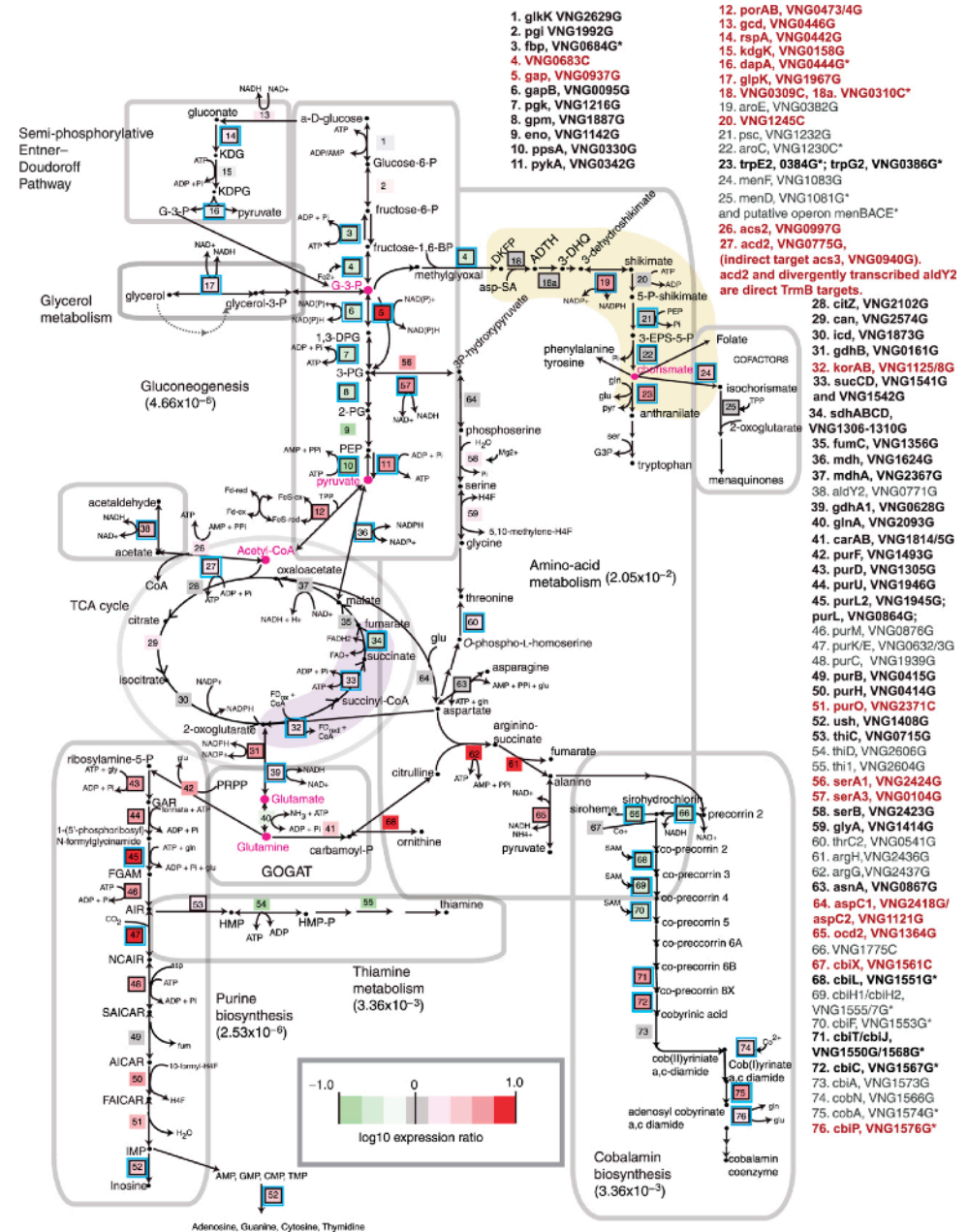
# Possibilità sospensione registrazione lezioni in caso di calo della frequenza

*“Il CdS in STB prevede la possibilità di sospendere le registrazioni delle lezioni. Tale sospensione potrà attuarsi se **l’abbassamento della frequenza in aula sarà del 30%** (passaggio dal 100% al 70% degli studenti in aula) e se si verificherà **per almeno 4 lezioni consecutive**. La decisione in merito alla possibilità di adottare questa opzione spetta al singolo docente che, per attuare la sospensione, dovrà utilizzare gli strumenti messi a disposizione dall’ateneo per il monitoraggio delle presenze in aula e stabilire il numero di studenti corrispondenti al 100% nella **seconda e terza settimana del semestre** (per un numero complessivo di 4/6 lezioni). La sospensione della registrazione delle lezioni potrà essere attuata per un periodo massimo di 2 settimane previa comunicazione tramite e-mail al Coordinatore del CdS e ai rappresentanti degli studenti in CdCdS. Questa opzione deve essere esposta agli studenti durante la prima lezione del semestre contestualmente alla presentazione dell’insegnamento.”*

Approvato nel CdCdS del 22 settembre 2023

# METABOLISMO

Il **metabolismo** (dal greco μεταβολή = **cambiamento**) è il complesso delle reazioni chimiche che avvengono in un organismo o in una sua parte. Molte di queste trasformazioni della materia sono reversibili e sono legate a variazioni della condizione energetica.



**METABOLISMO**



**ENZIMI**



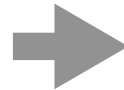
**Catalizzare**

**REAZIONI**



**Convertire**

**Substrati**

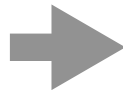


**Prodotti**

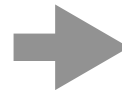


**Regolazione**

**CATABOLISMO**



**Energia**



**ANABOLISMO**

**Accoppiamento Energetico**

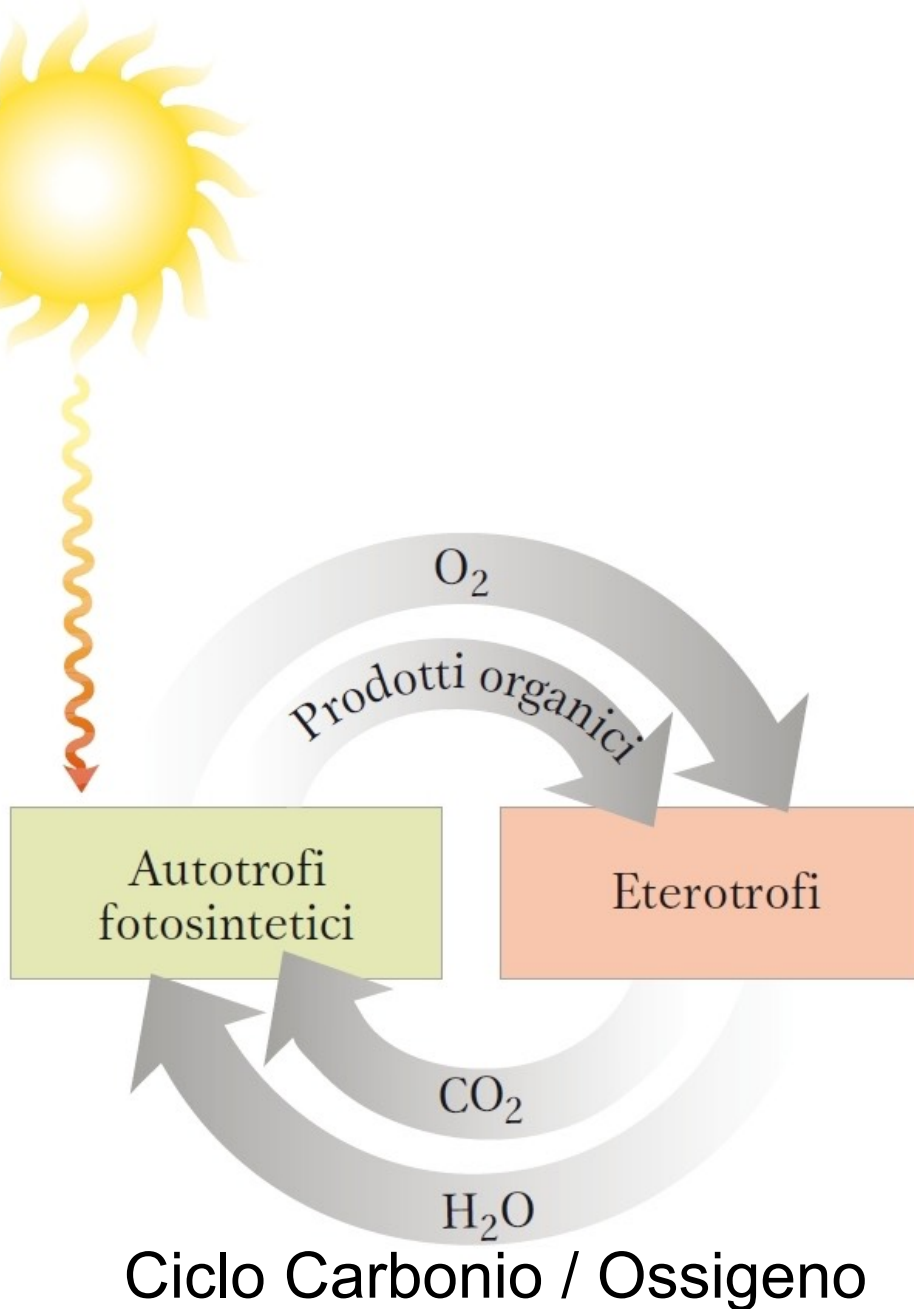
# METABOLISMO

Ottenere **energia** per:  
Convertire molecole  
Polimerizzare  
Sintetizzare e Degradare  
Movimento

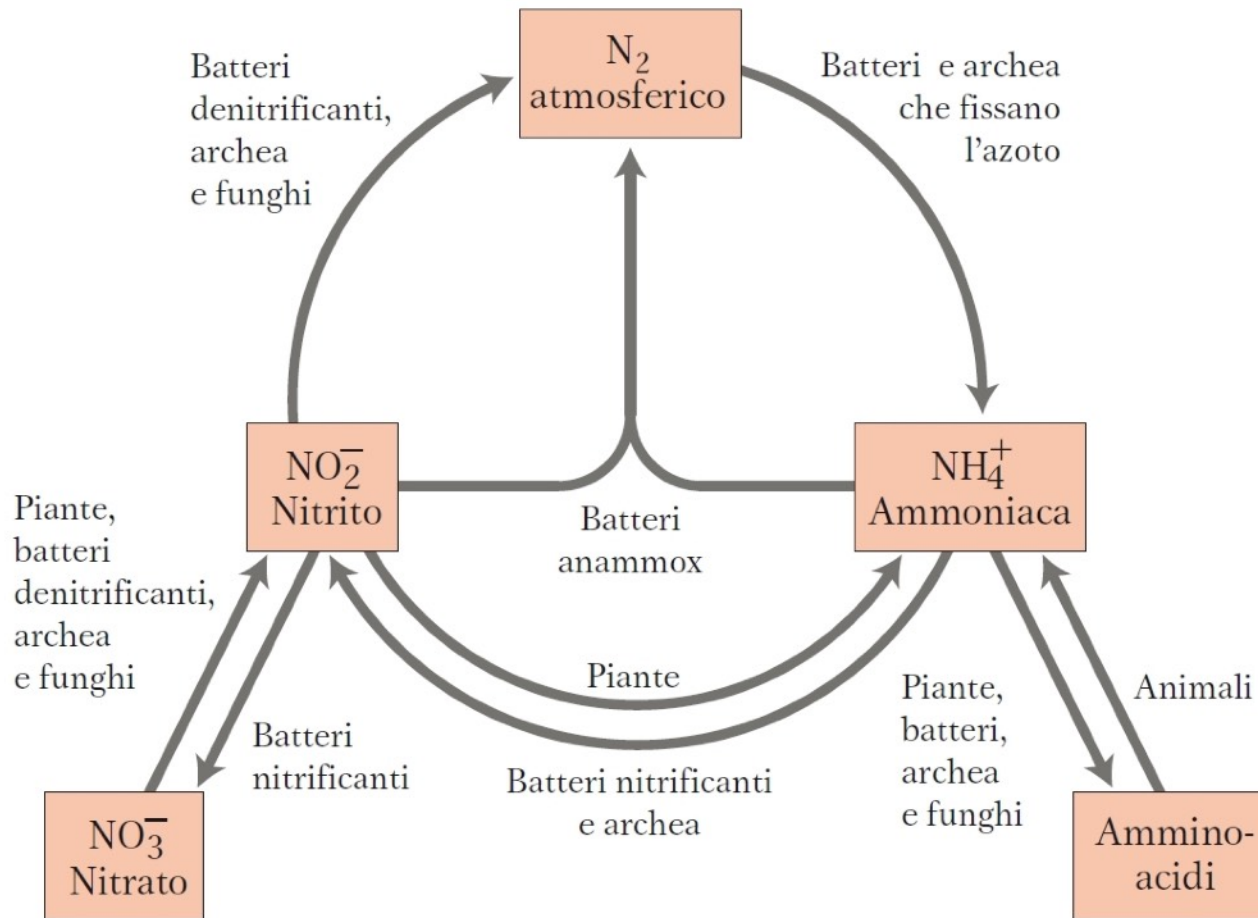
...

Organismi **autotrofi**  
(fotosintetici): in grado di  
sintetizzare molecole  
organiche complesse da  $\text{CO}_2$   
e  $\text{H}_2\text{O}$  (**PRODUTTORI**)

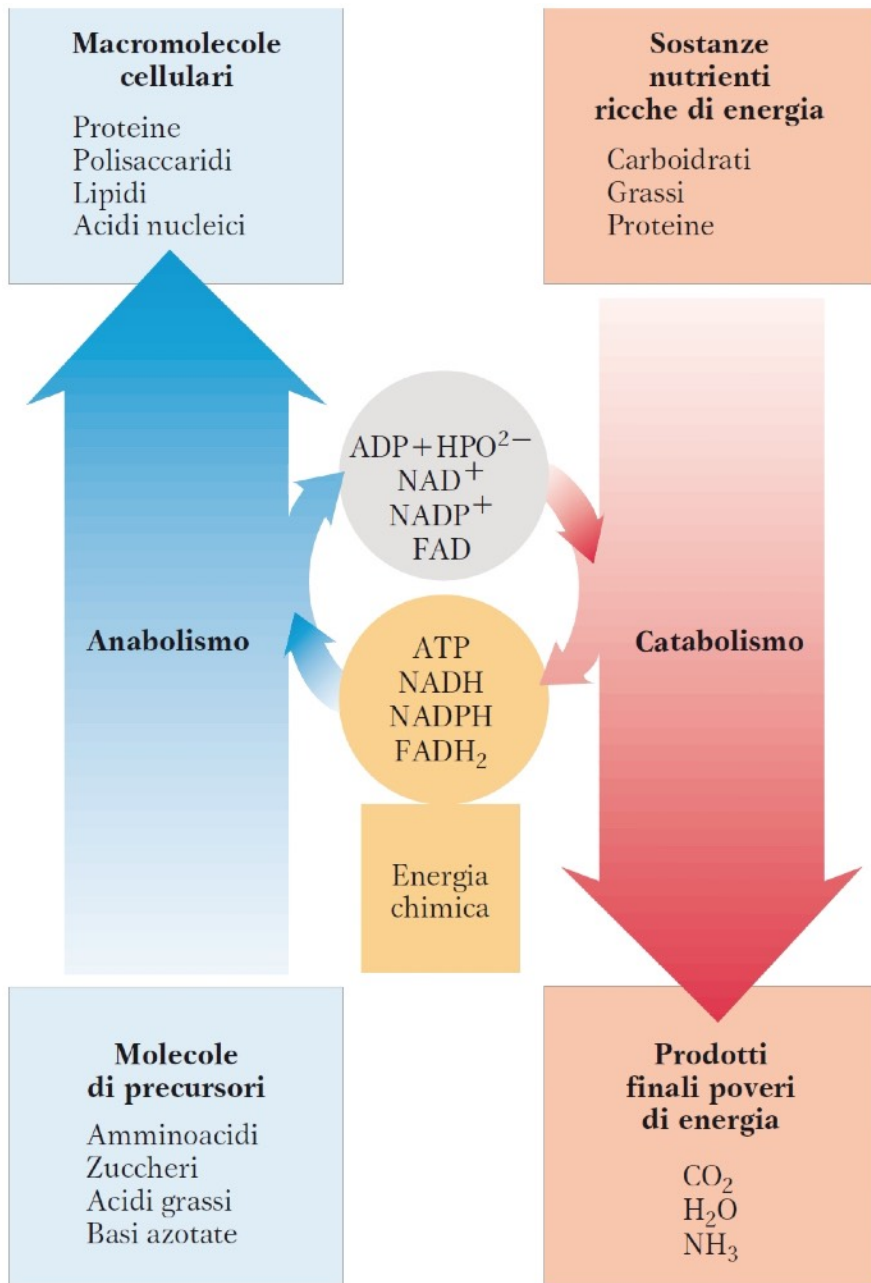
Organismi **eterotrofi**:  
sfruttano molecole prodotte  
da autotrofi (**CONSUMATORI**)



# Ciclo dell'azoto

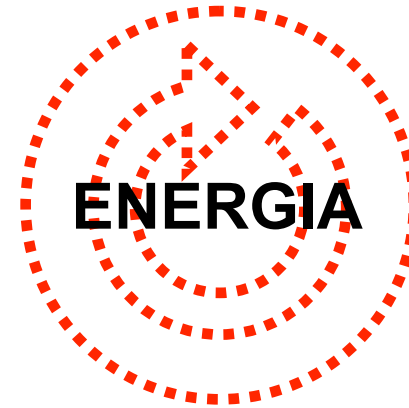






# Anabolismo e Catabolismo

Costruzione      Degradazione

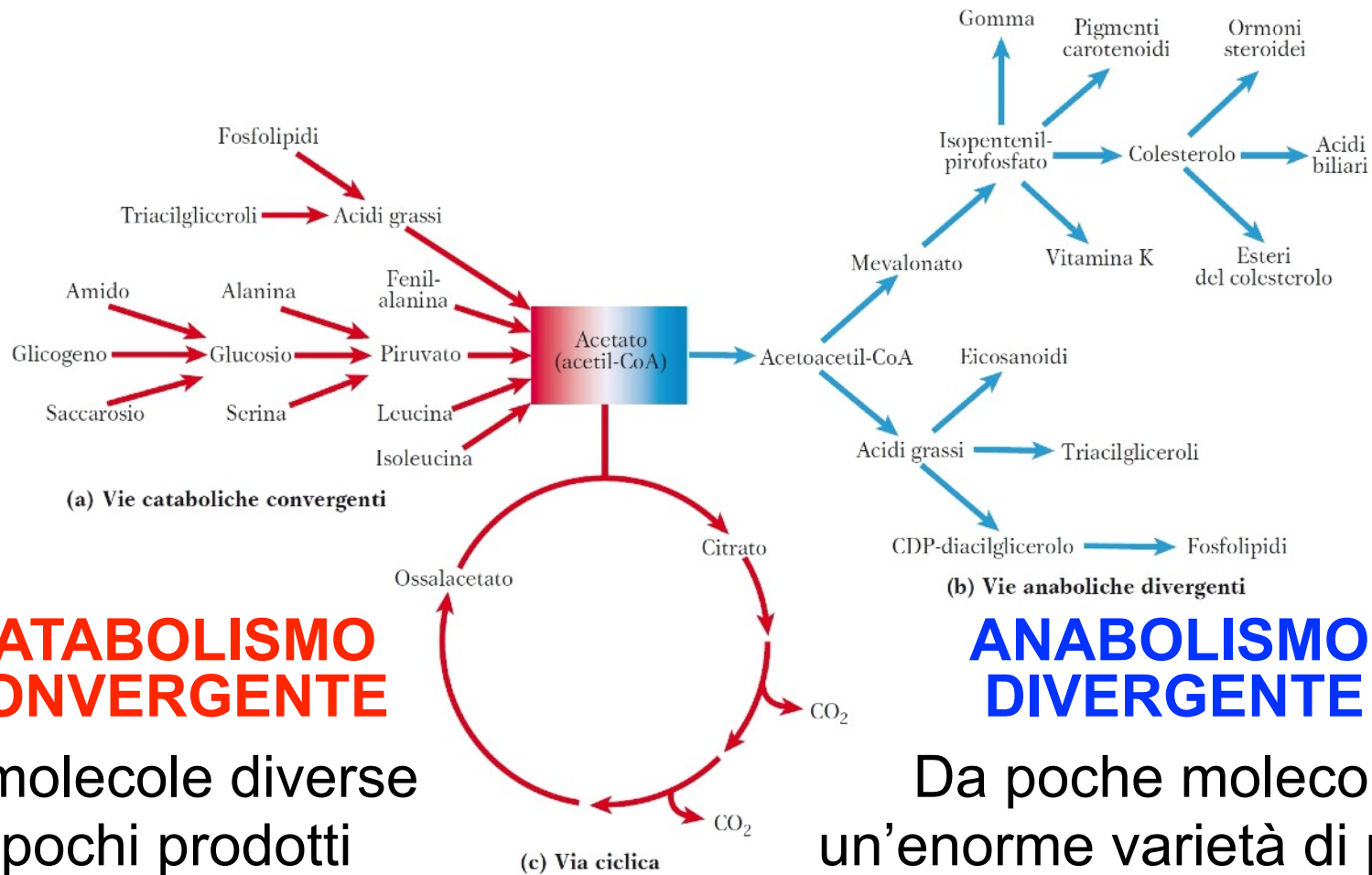


- ATP**
- NADH**
- NADPH**
- FADH<sub>2</sub>**
- FMN**

# Metabolismo: interconnessione di vie metaboliche

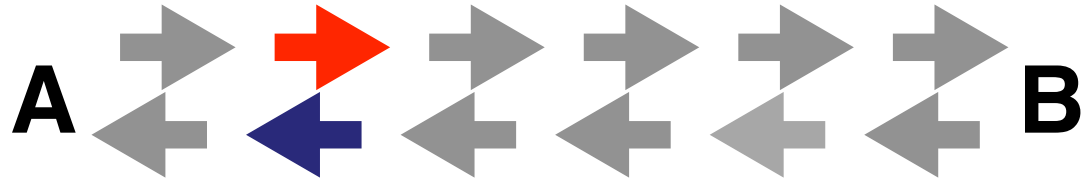
Prodotti o intermedi di una via metabolica possono rientrare in un'altra via metabolica  
=> le singole vie metaboliche non sono indipendenti bensì **interconnesse**

**=> REGOLAZIONE**



# REGOLAZIONE Metabolica

Almeno un enzima diverso per vie che da A portano a B e da B portano ad A in modo che essi possano essere regolati in modo differenziale.



## CONDIZIONE ESSENZIALE

Termodinamicamente favorevoli in una direzione  
**- FAVORITE -**

Segregazione in compartimenti diversi (i.e. mitocondri/citoplasma) per controllare disponibilità substrati, enzimi e regolatori

Regolazione allosterica e modifiche post-traduzionali

Regolazione tramite fattori secreti (ormoni, citochine, etc.)

**STRATEGIE**  
per la regolazione

## ? Quali processi sono reversibili, favoriti o sfavoriti ?

Le reazioni biochimiche rispondono alle leggi della termodinamica

**Prima legge della Termodinamica: principio di conservazione dell'energia**

Per un sistema **isolato** l'**energia interna U** non varia ma è costante nel tempo.

Per un sistema **chiuso** sussiste l'equivalenza  $\Delta U = Q + W$  dove Q è il calore e W è il lavoro che sono scambiati con l'ambiente.

ENTALPIA (H) = U + PV (P=pressione, V=Volume)

Per trasformazioni che avvengono a P=costante si può dimostrare che

La variazione di entalpia, ovvero  $\Delta H = Q$  (calore scambiato)

Calore ceduto =>  $\Delta H$  negativo (esotermica)

Calore acquisito =>  $\Delta H$  positivo (endotermica)

**Sistema isolato: non scambia nulla con l'ambiente**

**Sistema chiuso: scambia energia (calore - lavoro) con l'ambiente**

**Sistema aperto: scambia energia (calore - lavoro) e materia con l'ambiente**

## ? Quali processi sono reversibili, favoriti o sfavoriti ?

Le reazioni biochimiche rispondono alle leggi della termodinamica

**Seconda legge della termodinamica: L'entropia (i.e. disordine) di un sistema isolato tende ad aumentare (sistema isolato = Universo = Ambiente + Sistema)**

$$\Delta S_{\text{uni}} = \Delta S_{\text{amb}} + \Delta S_{\text{sist}} \text{ ma per i processi favoriti } \Delta S_{\text{uni}} > 0$$

$\Delta S_{\text{amb}}$  è difficile da stabilire

La termodinamica stabilisce che (per condizioni di P costante)

$$\Delta S_{\text{amb}} = -\Delta H_{\text{sist}} / T$$

$\Delta S_{\text{uni}} = -\Delta H_{\text{sist}} / T + \Delta S_{\text{sist}}$  ... ma se moltiplichiamo tutto per -T

$-T \Delta S_{\text{uni}} = \Delta H_{\text{sist}} - T \Delta S_{\text{sist}}$  ... definendo  $-T \Delta S_{\text{uni}} = G$  (energia libera di Gibbs)

$\Delta G = \Delta H_{\text{sist}} - T \Delta S_{\text{sist}}$  ... (tutto riferito al sistema e non all'ambiente)

$$\mathbf{G = H - TS \text{ (joule/mole o calorie/mole)}}$$

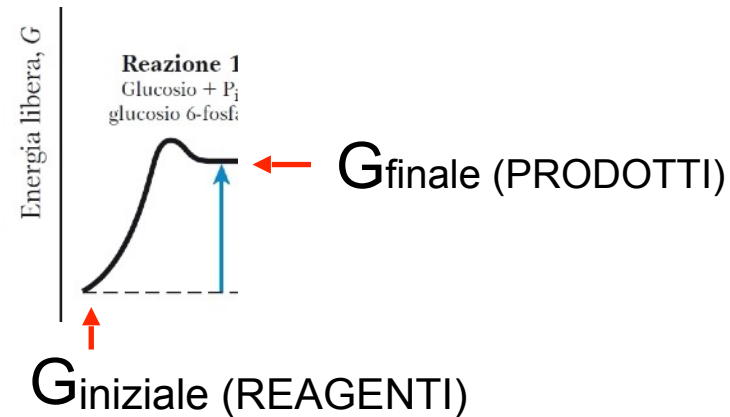
# Energia di libera di Gibbs: $G = H - TS$ (FUNZIONE di STATO)

(Quantità di energia che può essere estratta dal sistema)

**H: entalpia**, contenuto termico delle molecole del sistema, in pratica collegato ai tipi di legami chimici

**S: entropia**, disordine del sistema

$$\Delta G = G_{\text{finale}} - G_{\text{iniziale}}$$



$\Delta G = 0 \Rightarrow$  equilibrio

$\Delta G < 0 \Rightarrow$  spontanea

$\Delta G > 0 \Rightarrow$  non spontanea

Dalla termodinamica sappiamo anche che

**$G_A = G_A^\circ + RT \ln[A]$**  (A= attività che possiamo però sostituire con la concentrazione molare [M]).

Questa ci dice che l'energia libera di una molecola A è data dalla sua energia libera standard (condizioni standard: [M] = 1M e T= 25°C ovvero 298°K) sommata al contributo dato dalla sua concentrazione effettiva (RTln[M]).

Da notare che se [M]=1 => RTln[M] = 0 e  $G_A = G_A^\circ$ , se [M] > 1, allora RTln[M] > 0 e  $G_A > G_A^\circ$ , viceversa, se [M] < 1 => RTln[M] < 0 e  $G_A < G_A^\circ$ .

Per una reazione  $A+B \Rightarrow C+D$ ,  $\Delta G = G_{\text{prodotti}} - G_{\text{reagenti}}$

Che equivale a dire:  $(G_C + G_D) - (G_A + G_B)$  ma anche

$(G_C^\circ + RT \ln[C] + G_D^\circ + RT \ln[D]) - (G_A^\circ + RT \ln[A] + G_B^\circ + RT \ln[B])$

**$\Rightarrow \Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln ([C][D] / [A][B])$**

Condizione biologica  
Standard: pH=7,  
Concentrazione H<sub>2</sub>O = 55,5M

Condizione Standard: molecole alla  
concentrazione 1M e 25 °C

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln ([C]^c [D]^d / [A]^a [B]^b)$$



Contributo dato dalla costante di  
equilibrio

$$([C]^c [D]^d / [A]^a [B]^b) = Q$$

Rapporto di azione di massa



Contributo dato dalle concentrazioni  
effettive dei prodotti e substrati

$\Delta G = 0 \Rightarrow$  equilibrio

$\Delta G < 0 \Rightarrow$  spontanea

$\Delta G > 0 \Rightarrow$  non spontanea

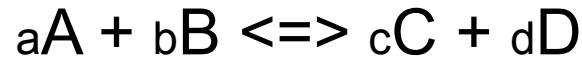


## Condizioni standard di un sistema biologico:

pH = 7, [H<sub>2</sub>O] = 55,5 M, T = 298 K (25 °C), [M]=1

Sono indicate con: ‘

Se abbiamo una reazione



Se consideriamo in queste condizioni la variazione di energia libera per raggiungere l'equilibrio in **condizioni standard trasformate (biochimiche)** di un reazione i cui reagenti siano tutti presenti alla concentrazione 1M, questa è definita come variazione di energia libera standard ( $\Delta G'^{\circ}$ )

$$0 = \Delta G'^{\circ} + RT \ln Q, \text{ ma all'equilibrio } Q = K'_{eq}$$

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq}$$

$$K'_{eq} = [C]^c [D]^d / [A]^a [B]^b \text{ (costante)}$$

## Relazione tra $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$

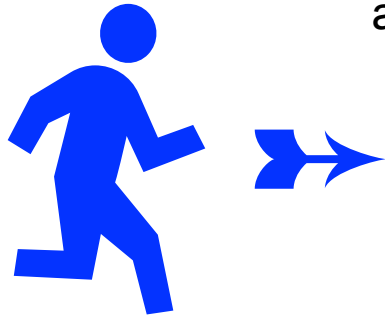
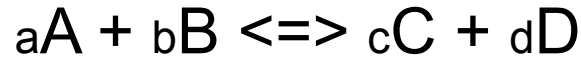
$K'_{eq}$	$\Delta G'^{\circ}$	
	(kJ/mole)	(kcal/mole) <sup>a</sup>
$10^3$	-17,1	-4,1
$10^2$	-11,4	-2,7
$10^1$	-5,7	-1,4
1	0,0	0,0
$10^{-1}$	5,7	1,4
$10^{-2}$	11,4	2,7
$10^{-3}$	17,1	4,1
$10^{-4}$	22,8	5,5
$10^{-5}$	28,5	6,8
$10^{-6}$	34,2	8,2

Maggiore è  $K'_{eq}$  più negativo è il  $\Delta G'^{\circ}$ , fornendo così un contributo alla spontaneità della reazione

Ma nella realtà le concentrazioni dei substrati e prodotti non sono pari ad 1M!

# Contributo del rapporto di azione di massa

Le concentrazioni effettive di substrati e prodotti influenzano l'andamento di una reazione



Eccesso di A e B

$$[C]^c[D]^d / [A]^a[B]^b$$

Eccesso di C e D

$$K'_{eq}$$

**Facciamo un esempio:  $K'_{eq} = 100$ .**

Questo significa che il rapporto sopra indicato  $[C]^c[D]^d / [A]^a[B]^b$  dovrà essere 100.

Se il rapporto fosse 1000, significa che ci sono tante molecole C e D rispetto ad A e B e pertanto la reazione deve spostarsi a sinistra per produrre A e B e raggiungere l'equilibrio, ovvero il valore 100.

Se il rapporto fosse 10, significa che ci sono tante molecole di A e B rispetto a C e D e pertanto la reazione deve spostarsi verso sinistra per produrre C e D e raggiungere l'equilibrio, ovvero il valore 100.

Keq = 100	Q	LNKeq	deltaG°'	LN Q	RTlnQ	delta G
	0,0001	4,60517	-11,4110	-9,2103	-22,8222	-34,2331
	0,01	4,60517	-11,4110	-4,60517	-11,4110	-22,8222
	0,1	4,60517	-11,4110	-2,30259	-5,70555	-17,1165
	1	4,60517	-11,4110	0	0	-11,4110
	10	4,60517	-11,4110	2,30259	5,70555	-5,70555
<b>EQUILIBRIO</b>	<b>100</b>	<b>4,60517</b>	<b>-11,4110</b>	<b>4,60517</b>	<b>11,4110</b>	<b>0</b>
	1000	4,60517	-11,4110	6,90776	17,1165	5,70555
	10000	4,60517	-11,4110	9,21034	22,8222	11,4110
	100000	4,60517	-11,4110	11,5129	28,5278	17,1165

**Se il  $\Delta G$  di una reazione è maggiore di 0 significa che non potrà mai avvenire in un sistema biologico?**

**NO!**

**Accoppiamento delle REAZIONI**



$$\Delta_{A-B}G > 0$$

$$\Delta_{B-C}G < 0$$

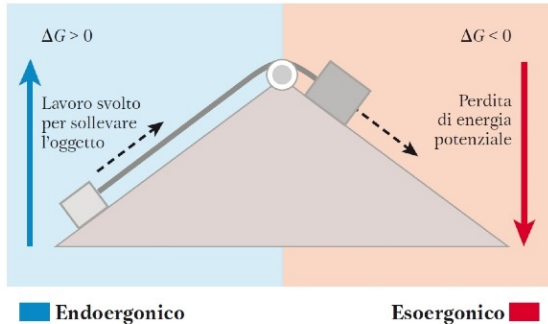
**se:  $\Delta_{A-B}G > 0 + \Delta_{B-C}G < 0 < 0 \Rightarrow$  spontanea**

Attenzione: l'accoppiamento deve essere effettivo, ovvero non è sufficiente che due reazioni vengano fatte avvenire nello "stesso contenitore" e nello "stesso momento" per dire che sono accoppiate

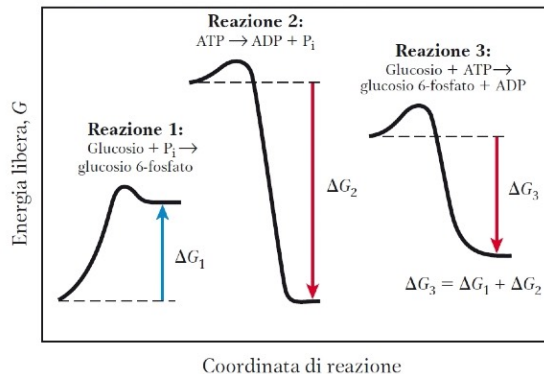
# Metabolismo e interconversioni energetiche

## Accoppiamento energetico

(a) Esempio meccanico



(b) Esempio chimico

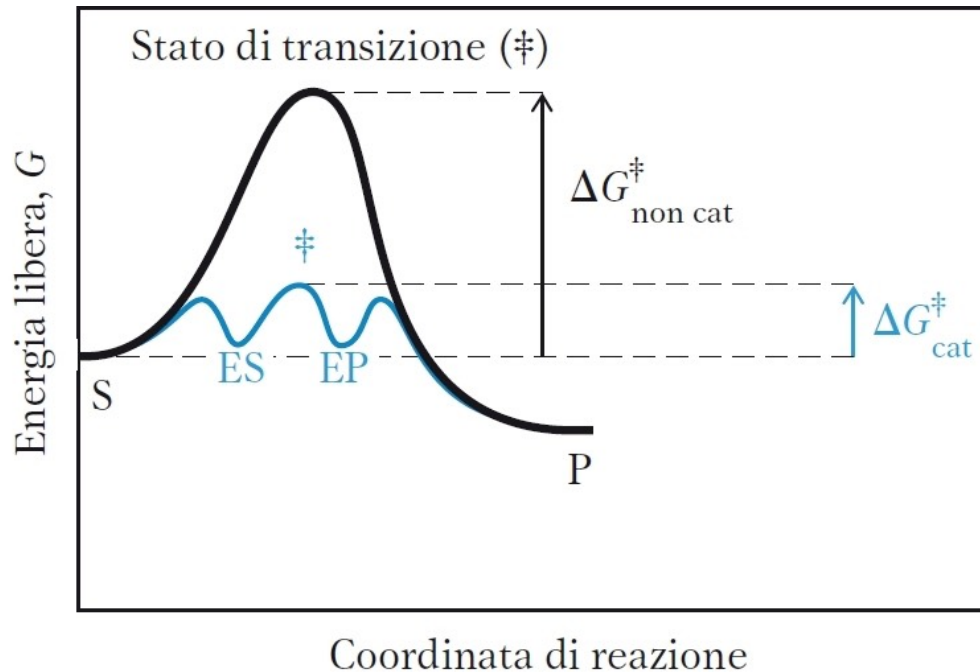


Nel metabolismo avvengono una serie di reazioni degradative che portano ad ottenere energia, accumulata in intermedi che poi vengono “spesi” in accoppiamento a reazioni biosintetiche o di altro tipo che però non sono energeticamente favorevoli.

i.e. contrazione muscolare avviene grazie all'energia ricavata dalla degradazione del glucosio e stoccata sotto forma di ATP.

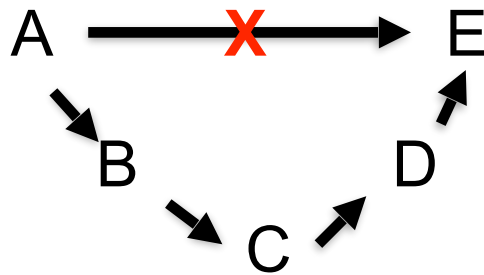
i.e. polimerizzazione del DNA

# Attenzione a non confondere TERMODINAMICA con CINETICA



Se l'energia di attivazione è troppo elevata la reazione, pur avendo un  $\Delta G < 0$ , non procede. Gli enzimi servono proprio per abbassare l'energia di attivazione e consentire alla reazione di procedere.

## Metabolismo => insieme di reazioni



**Reazioni possibili  
per  
superare  
reazioni impossibili**

- 1) Formazione/scissione legami C-C;
- 2) Riarrangiamenti, isomerizzazioni ed eliminazioni;
- 3) Formazione radicali liberi;
- 4) Trasferimenti di gruppi chimici;
- 5) Ossidoriduzioni

Se le reazioni che avvengono sono solo di 5 tipi, cosa rende così complesso il metabolismo?

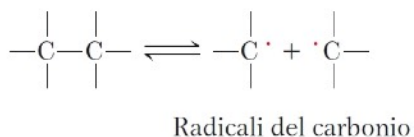
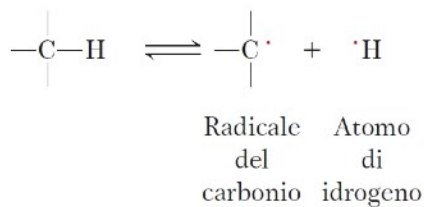
La diversità delle molecole che sono “processate” che richiede  
**ENZIMI**  
ad elevata specificità

Ovvero il riuscire a far avvenire in modo estremamente specifico una serie poco complessa di reazioni

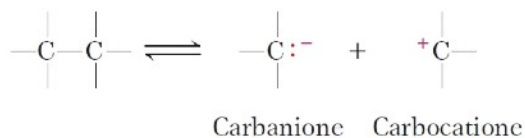
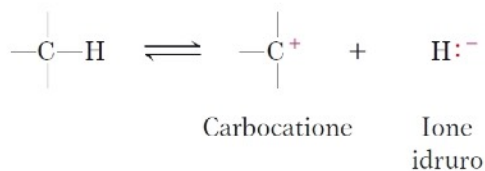
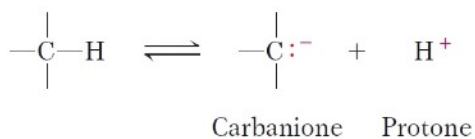
# Qualche richiamo di chimica organica...

## SCISSIONE

Scissione omolitica

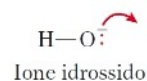
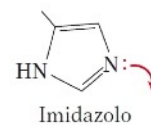
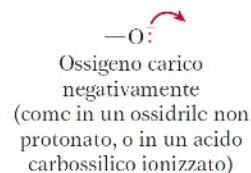


Scissione eterolitica

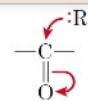


## NUCLEOFILI / ELETTROFILI

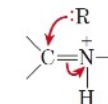
Nucleofili



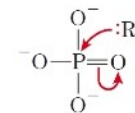
Elettrofili



Atomo di carbonio di un gruppo carbonilico (l'ossigeno più elettronegativo del gruppo carbonilico tiene gli elettroni lontani dal carbonio)



Gruppo imminico protonato (attivato per l'attacco nucleofilo sul carbonio dell'immina protonata)



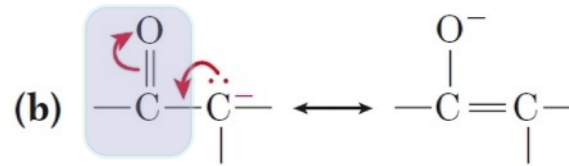
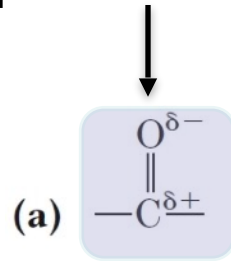
Fosforo di un gruppo fosfato



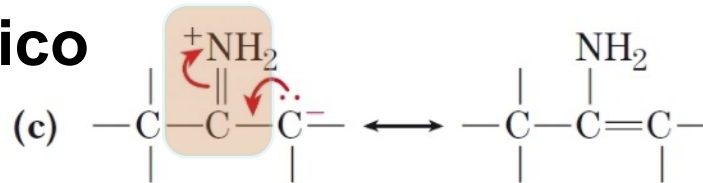


# Stabilizzazione dei carbocationi e carbanioni (troppo instabili, possono esistere solo se vengono stabilizzati)

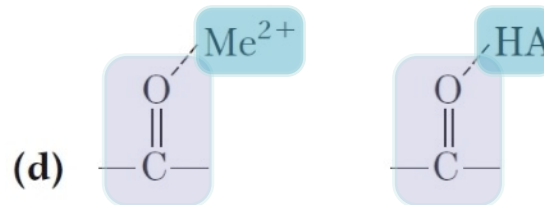
## Gruppo carbonilico



## Gruppo Imminico



Delocalizzazione di carica

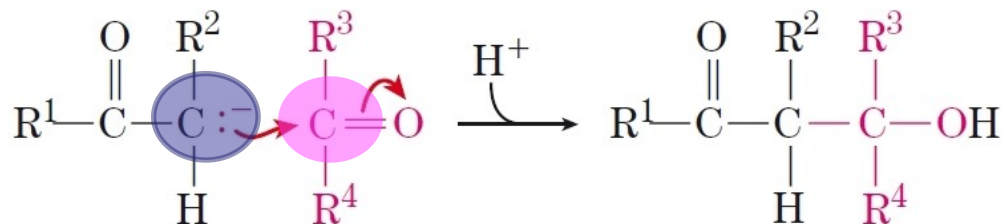


← Facilitatori

La presenza di un facilitatore rende il gruppo carbonilico ancora più pronto alla delocalizzazione di carica (gli elettroni dell'ossigeno sono impegnati e quindi l'ossigeno stesso è ancora più avido di elettroni). Gli ioni metallici legati alle proteine molto spesso hanno una funzione di questo tipo.

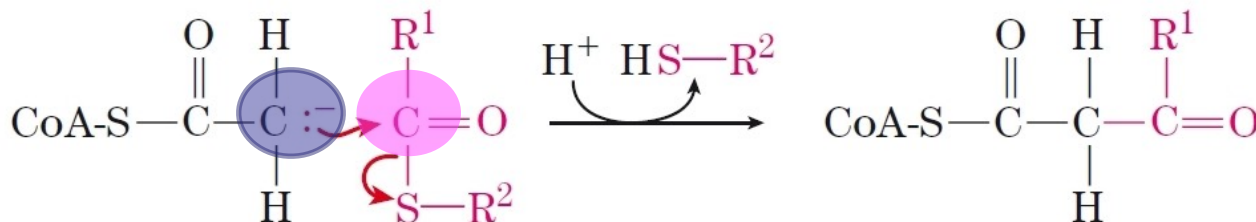
# Formazione / Scissione legami C-C

## NB: ruolo dei carbanioni /carbocationi



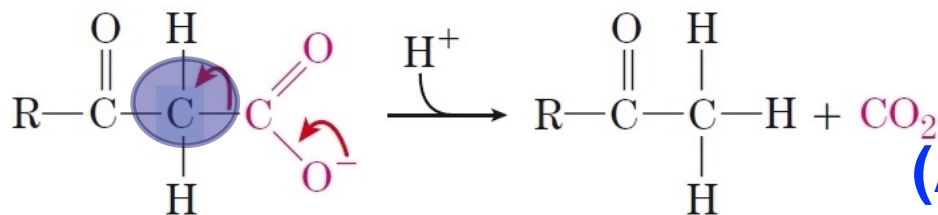
**Glicolisi  
(aldolasi)**

Condensazione aldolica    Addizione di un nucleofilo (carbanione) ad un gruppo CO



**Ciclo di Krebs  
(Citrato sintasi)**

Condensazione di Claisen

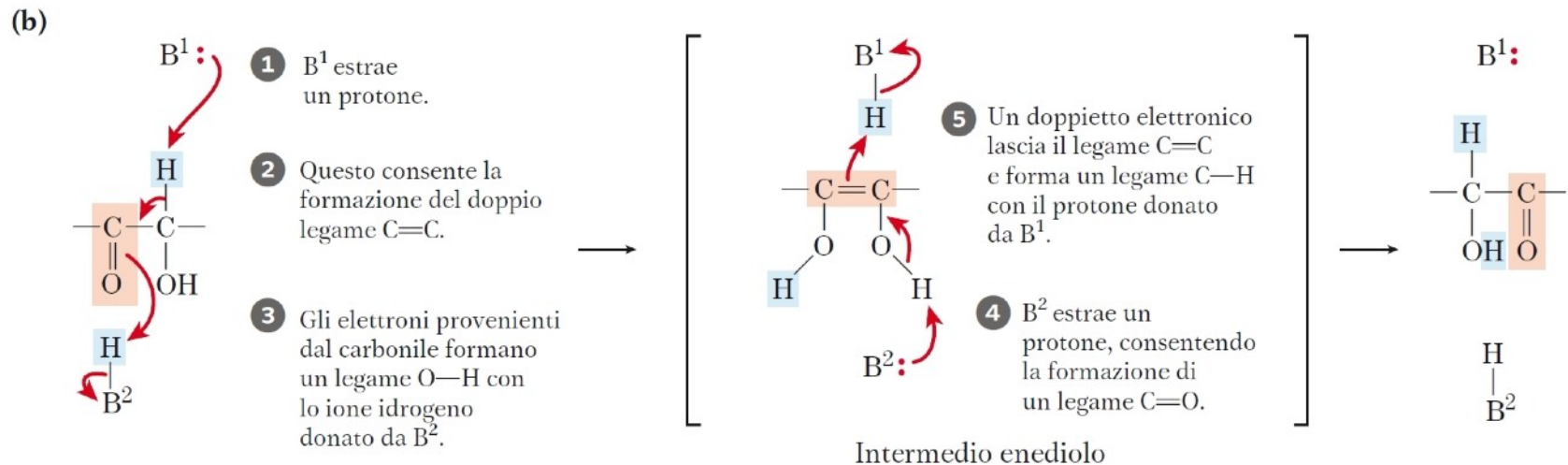
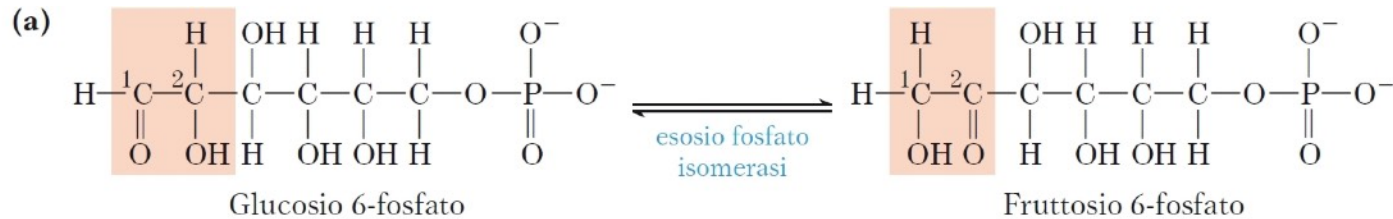


**Produzione corpi chetonici  
(Aceto acetato decarbossilasi)**

Decarbossilazione di un  $\beta$ -chetoacido

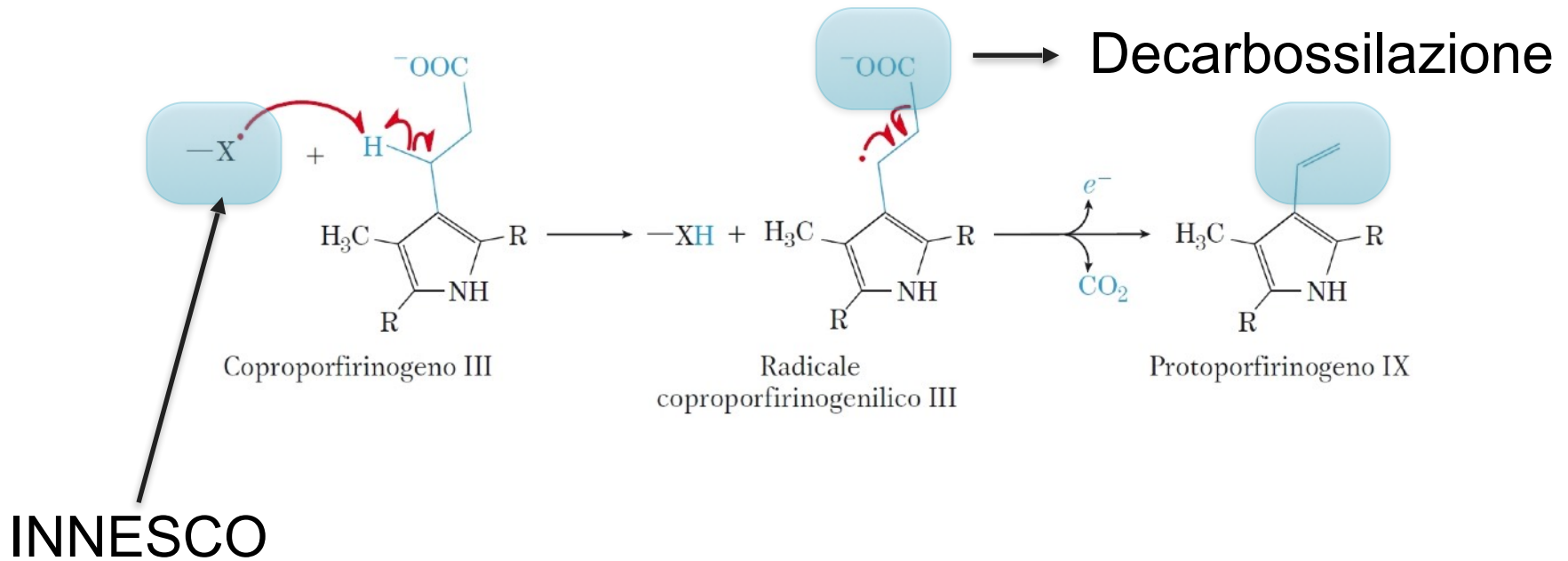
# Riarrangiamenti interni, isomerizzazioni ed eliminazioni

NB: avvengono senza che si modifichi lo stato di ossidazione della molecola



NB: sono sempre i gruppi chimici appartenenti agli enzimi (catene laterali dei vari aa) o ai loro cofattori che sono coinvolti nel meccanismo molecolare.

# REAZIONI CON RADICALI LIBERI



Noi vedremo la reazione che porta alla formazione del **succinil-CoA** a partire dal **metil-malonil-CoA**, nel contesto della degradazione degli acidi grassi con C dispari, che è catalizzata dalla **metil-malonil-CoA MUTASI**, grazie all'intervento della **vitamina B12** e ad un meccanismo di tipo radicalico.

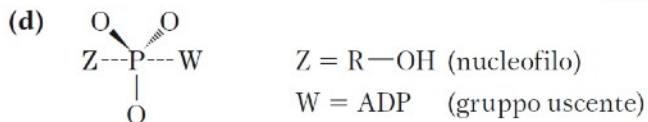
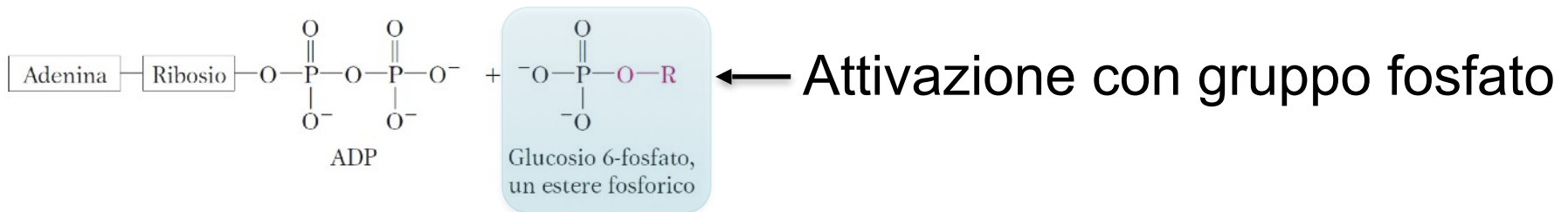
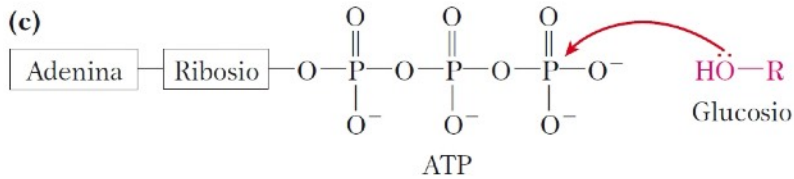
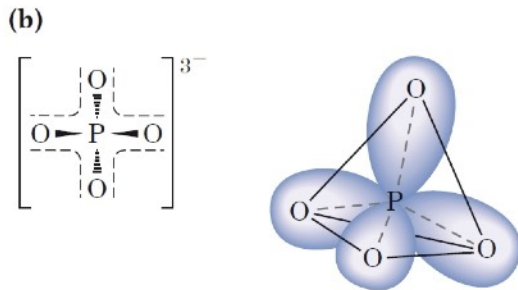
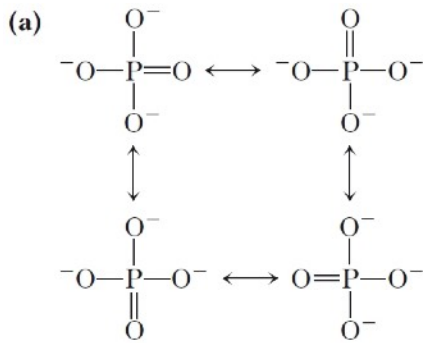
# Trasferimento di gruppi

Gruppi:

Acilici

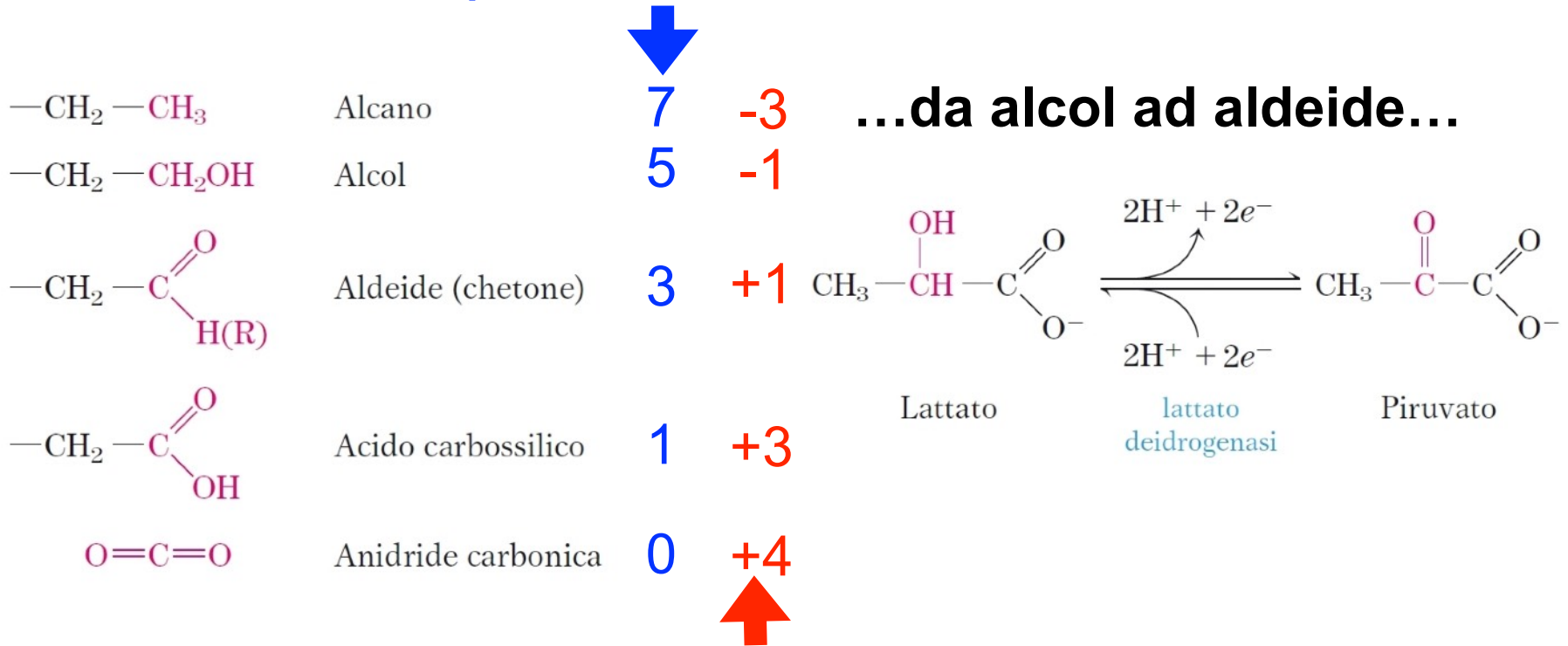
Glicosilico

Fosforici



# REAZIONI di ossido-riduzione

Elettroni in "possesso" dell'atomo di C in rosso



**Numero di ossidazione**

**Ossidazione => esoergonica => ottenimento ENERGIA**

# ATP: valuta energetica

Idrolisi dell'ATP: molto favorevole dal punto di vista energetico a causa di:

- 1) stabilizzazione per risonanza dei prodotti;
- 2) minore repulsione elettrostatica nei prodotti;
- 3) Maggior grado di solvatazione (idratazione nei prodotti).

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

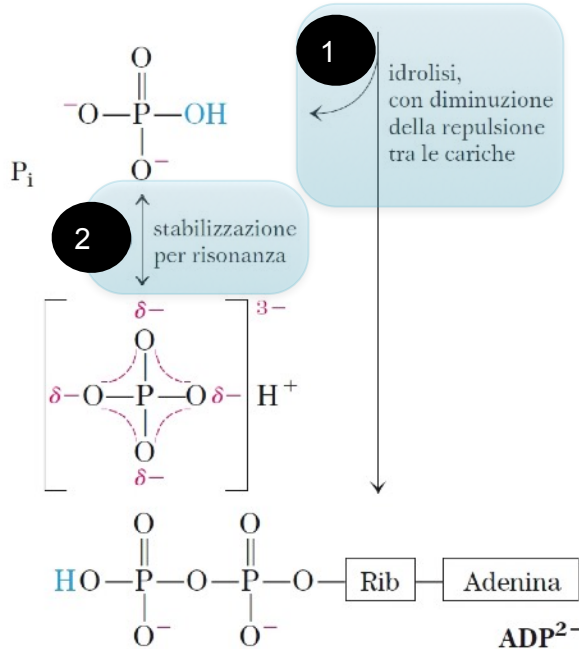
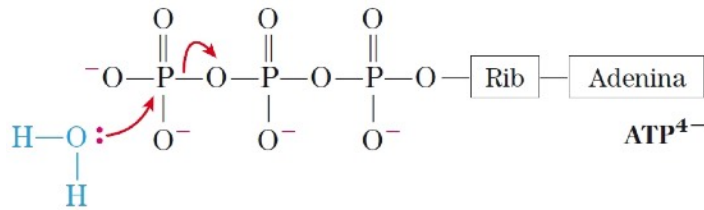
Ma c'è il contributo del

**rapporto di azione di massa**

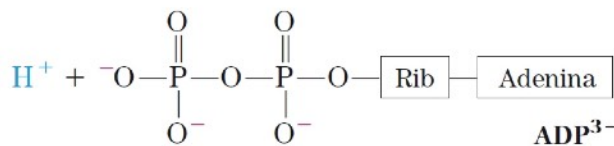
$$\frac{[\text{ADP}] [\text{Pi}]}{[\text{ATP}]}$$

$[\text{ADP}] [\text{Pi}] [\text{ATP}] \rightarrow$  Cellula dipendenti

**Potenziale di fosforilazione (effettivo)  $\rightarrow \Delta G_p$**



↑ ionizzazione



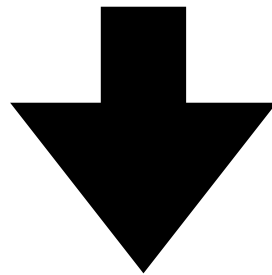
## Potenziale di fosforilazione (effettivo)

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \left( \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \right)$$

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \left( \frac{[ADP][Pi]}{[ATP]} \right)$$

Attenzione: cala con l'esaurirsi dell'ATP e aumento ADP e Pi

$$\frac{[ADP] [Pi]}{[ATP]}$$



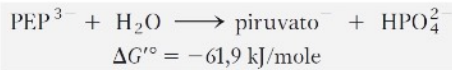
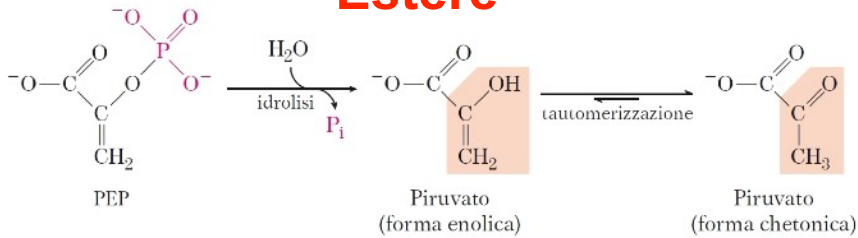
**STRATEGIE** per mantenere **ELEVATI** i livelli di ATP



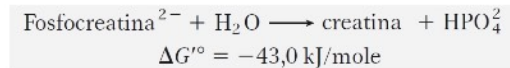
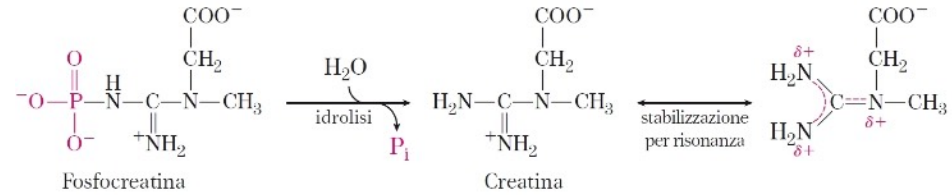
# Composti fosforilati ad elevata energia di idrolisi

## Fosfoenolpiruvato

**Estere**

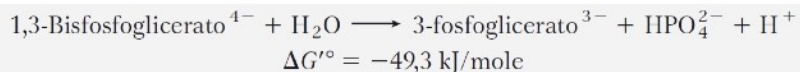
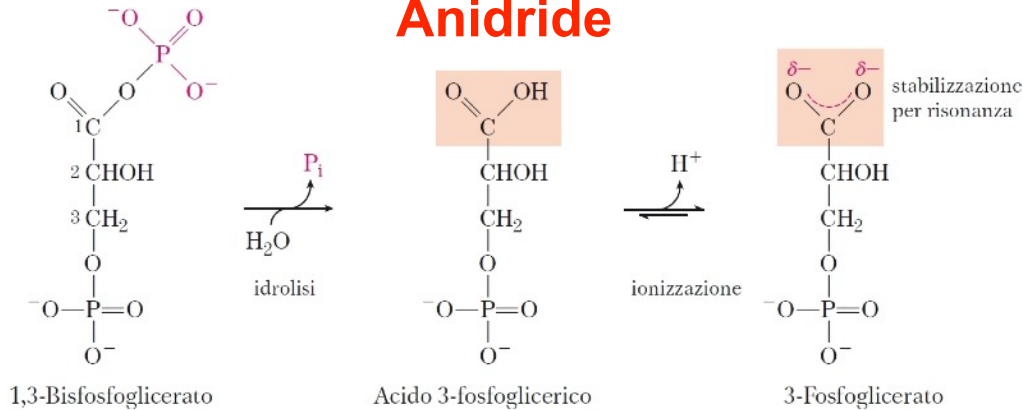


## Fosfocreatina



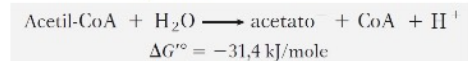
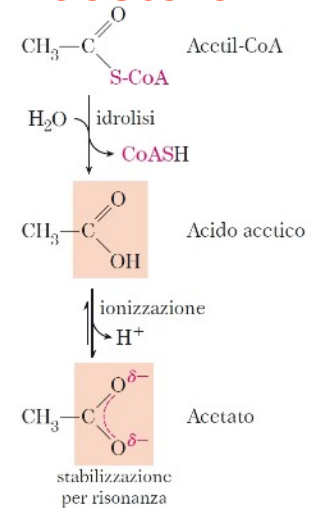
## 1,3 Bifosfoglicerato

**Anidride**



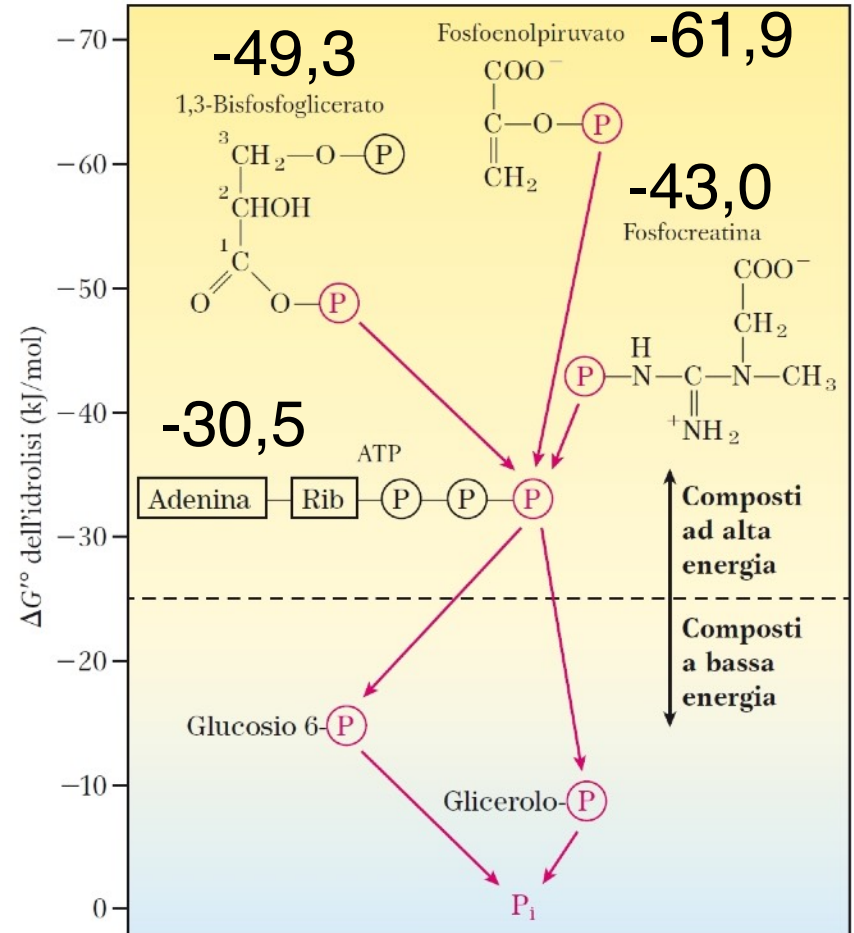
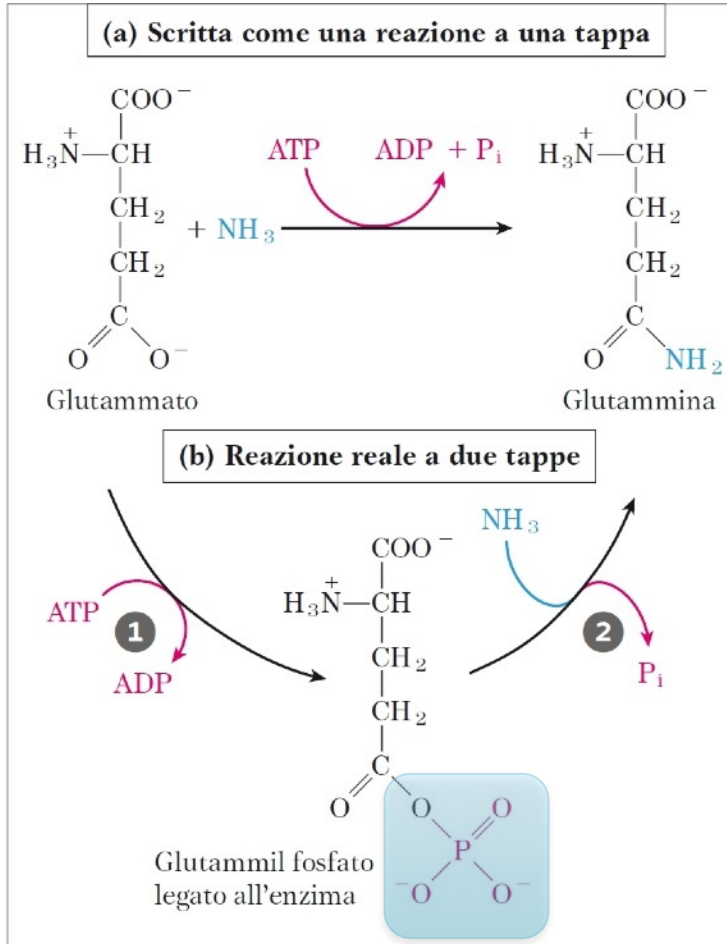
## ( Acetyl-CoA )

**Tioestere**



# Energia fornito attraverso TRASFERIMENTO di Gruppi (i.e. Pi, PPI, AMP)

(indicati i  $\Delta G^\circ$ )



Gruppo trasferito

# Strategie per mantenere elevato i livelli di ATP



$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{ADP}][\text{P}_i]}{[\text{ATP}]}$$

1: Composti come la fosfocreatina possono portare alla produzione di ATP;

2: Adenilato Ciclasi:  $2 \text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$ ;

3: nei batteri...sintesi di polifosfato (poliP).

# Reazione di **ossidazione**

Metano	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} \end{array}$	8
Etano (alcano)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	7
Eteno (alchene)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{H} \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \quad \vdots \end{array}$	6
Etanolo (alcol)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	5
Acetilene (alchino)	$\text{H} : \text{C} : : : \text{C} : \text{H}$	5
Formaldeide	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : : \text{O} : \\ \vdots \end{array}$	4
Acetaldeide (aldeide)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{H} \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} : \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} \quad \quad \text{O} : \end{array}$	3
Acetone (chetone)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array}$	2
Acido formico (acido carbossilico)	$\begin{array}{c} \text{O} : \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{O} : \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{O} : \end{array}$	2
Monossido di carbonio	$:\text{C} : : : \text{O} :$	2
Acido acetico (acido carbossilico)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{O} : \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} : \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} \quad \quad \text{O} : \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} \end{array}$	1
Biossido di carbonio	$:\text{O} : : \text{C} : : \text{O} :$	0

Molecola che perde elettroni: si ossida  
(riducente)

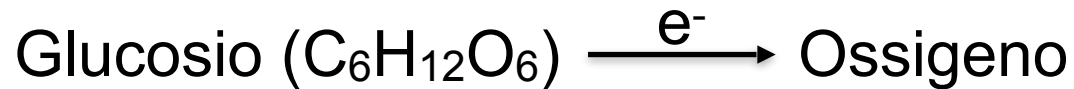
Molecola che acquisisce elettroni: si riduce  
(ossidante)

Flusso di elettroni => lavoro

|

Trasportatori

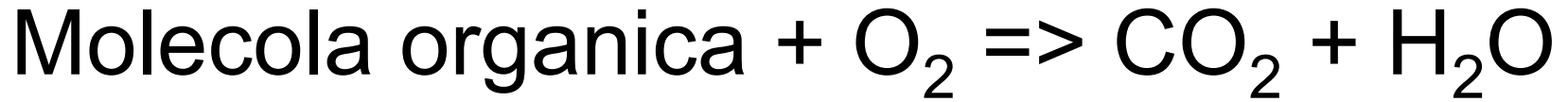
Convertitori/Trasduttori energetici



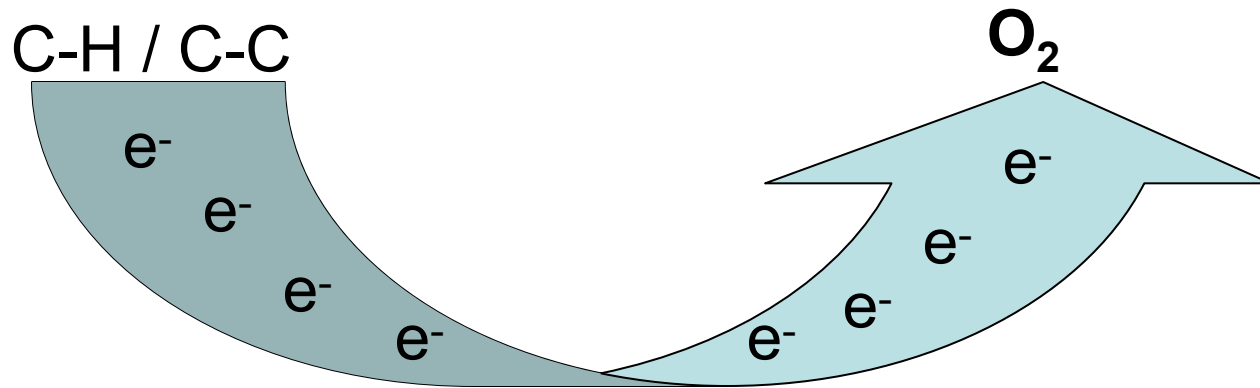
(maggiore avidità  
elettronica)



Elettroni in “possesso” dell’atomo di C in rosso



Reazione di ossido-riduzione



**INDIRETTO**

NAD<sup>+</sup>, FAD, FMN

Citocromi, chinoni, proteine Fe/S

**TRASPORTO**

**Flusso  $e^-$  => LAVORO**

**GRADIENTE PROTONICO MITOCONDRIALE**

# Elettronegatività e stato di ossidazione

Avidità per gli elettroni



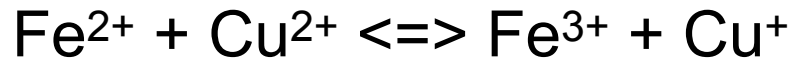
Gli elettroni di legami tra questi atomi non sono mai equamente condivisi (a meno che non si tratti di legami tra atomi dello stesso tipo). Gli elettroni “appartengono” all’atomo più elettronegativo del legame.

Trasferimenti di elettroni:

- 1) Diretto -  $\text{Fe}^{2+} + \text{Cu}^{2+} \Rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{Cu}^{+}$
- 2) Tramite H ( $1e^{-}$ ) - FAD o FMN
- 3) Tramite  $\text{H}^{-}$  (NAD<sup>+</sup> deidrogenasi NAD-dipendenti -  $2e^{-}$ )
- 4) Combinazione diretta con ossigeno - ossigenasi

# Potenziale di riduzione

Ogni reazione di ossidoriduzione può essere divisa in due semireazioni



Ogni accettare di elettroni è caratterizzato da una “**affinità**” per gli elettroni: **potenziale di riduzione** (redox) standard (espresso in volt - V).

Potenziale di riduzione standard misurato contro una cella di riferimento ( $\text{H}_2$  1atm,  $\text{H}^+$  1M:  $\text{H}^+ + \text{e}^{-} \Rightarrow 1/2 \text{H}_2$ )  
(ricavabili da tabelle)

$$\Delta G'^{\circ} = -nF \Delta E'^{\circ} \Rightarrow \text{è possibile ricavare } \Delta G!$$

$$\Delta G = -nF \Delta E'^{\circ} + RT \ln Q$$

**TABELLA 13.7** Potenziali di riduzione standard di alcune semireazioni biologicamente importanti

Semi-reazione	$E'^{\circ}$ (V)
$\frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$	0,816
$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$	0,771
$NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$	0,421
Citocromo <i>f</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>f</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,365
$Fe(CN)_6^{3-}$ (ferricianuro) + $e^- \rightarrow Fe(CN)_6^{4-}$	0,36
Citocromo <i>a</i> <sub>3</sub> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>a</i> <sub>3</sub> ( $Fe^{2+}$ )	0,35
$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$	0,295
Citocromo <i>a</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>a</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,29
Citocromo <i>c</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>c</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,254
Citocromo <i>c</i> <sub>1</sub> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>c</i> <sub>1</sub> ( $Fe^{2+}$ )	0,22
Citocromo <i>b</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>b</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,077
Ubichinone + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ ubichinolo + $H_2$	0,045
Fumarato <sup>2-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ succinato <sup>2-</sup>	0,031
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ (in condizioni standard, pH 0)	0,000
Crotonil-CoA + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ butirril-CoA	-0,015
Ossalacetato <sup>2-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ malato <sup>2-</sup>	-0,166
Piruvato <sup>-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ lattato <sup>-</sup>	-0,185
Acetaldeide + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ etanolo	-0,197
FAD + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ FADH <sub>2</sub>	-0,219 <sup>a</sup>
Glutazione + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ 2 glutazione ridotto	-0,23
$S + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2S$	-0,243
Acido lipoico + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ acido diidrolipoico	-0,29
$NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow$ NADH	-0,320
$NADP^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow$ NADPH	-0,324
Acetoacetato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ $\beta$ -idrossibutirrato	-0,346
$\alpha$ -Chetoglutarato + $CO_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ isocitrato	-0,38
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ (a pH 7)	-0,414
Ferredossina ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ ferredossina ( $Fe^{2+}$ )	-0,432 <sup>b</sup>

## Potenziale di riduzione standard

### Alcuni esempi:

Se nella cella di misura viene messa una soluzione 1 M di fumarato e 1M di succinato a pH7, gli elettroni dalla cella di riferimento fluiranno verso la cella di misura a formare succinato ( $E'^{\circ} = + 0,031$ )

Se nella cella di misura viene messo una soluzione 1M di NADH e 1M di NAD<sup>+</sup> a pH7, gli elettroni fluiranno verso la cella di riferimento a formare idrogeno molecolare ( $H_2$ )



### Calcolo del $\Delta E'^{\circ}$

$$\Delta E'^{\circ} = E'^{\circ} (\text{accettore}) - E'^{\circ} (\text{donatore})$$



**TABELLA 13.7** Potenziali di riduzione standard di alcune semireazioni biologicamente importanti

Semi-reazione	$E'^{\circ}$ (V)
$\frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$	0,816
$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$	0,771
$NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$	0,421
Citocromo <i>f</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>f</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,365
$Fe(CN)_6^{3-}$ (ferricianuro) + $e^- \rightarrow Fe(CN)_6^{4-}$	0,36
Citocromo $a_3$ ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo $a_3$ ( $Fe^{2+}$ )	0,35
$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$	0,295
Citocromo <i>a</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>a</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,29
Citocromo <i>c</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>c</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,254
Citocromo $c_1$ ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo $c_1$ ( $Fe^{2+}$ )	0,22
Citocromo <i>b</i> ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ citocromo <i>b</i> ( $Fe^{2+}$ )	0,077
Ubichinone + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ ubichinolo + $H_2$	0,045
Fumarato <sup>2-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ succinato <sup>2-</sup>	0,031
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ (in condizioni standard, pH 0)	0,000
Crotonil-CoA + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ butirril-CoA	-0,015
Ossalacetato <sup>2-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ malato <sup>2-</sup>	-0,166
Piruvato <sup>-</sup> + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ lattato <sup>-</sup>	-0,185
Acetaldeide + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ etanolo	-0,197
$FAD + 2H^+ + 2e^- \rightarrow FADH_2$	-0,219 <sup>a</sup>
Glutazione + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ 2 glutazione ridotto	-0,23
$S + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2S$	-0,243
Acido lipoico + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ acido diidrolipoico	-0,29
$NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADH$	-0,320
$NADP^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADPH$	-0,324
Acetoacetato + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ $\beta$ -idrossibutirrato	-0,346
$\alpha$ -Chetoglutarato + $CO_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ isocitrato	-0,38
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ (a pH 7)	-0,414
Ferredossina ( $Fe^{3+}$ ) + $e^- \rightarrow$ ferredossina ( $Fe^{2+}$ )	-0,432

## Potenziale di riduzione

Maggiore è il potenziale maggiore è l'affinità per gli elettroni.

Per stabilire il potenziale di riduzione di una reazione si sommano i potenziali di riduzione delle due semireazioni. Questo mi permetterà di stabilire se una ha un  $\Delta G'^{\circ}$  uguale o maggiore/minore a 0

$$\Delta G'^{\circ} = -nF \Delta E'^{\circ}$$

Proviamo a vedere la trasformazione del isocitrato in alfa-chetoglutarato con la concomitante riduzione del NAD<sup>+</sup>

isocitrato => alfa-chetoglutarato (+0,38) **donatore**  
 NAD<sup>+</sup> => NADH (-0,32) **accettore**

Accettore Donatore

**-0,32** - **(-0,38)** => 0,06 (questo è  $\Delta E'^{\circ}$ !)

La risultante è un  $\Delta G'^{\circ}$  negativo (-0,06 x 2 x 96,5)  
 = -11,58 kJ/mole

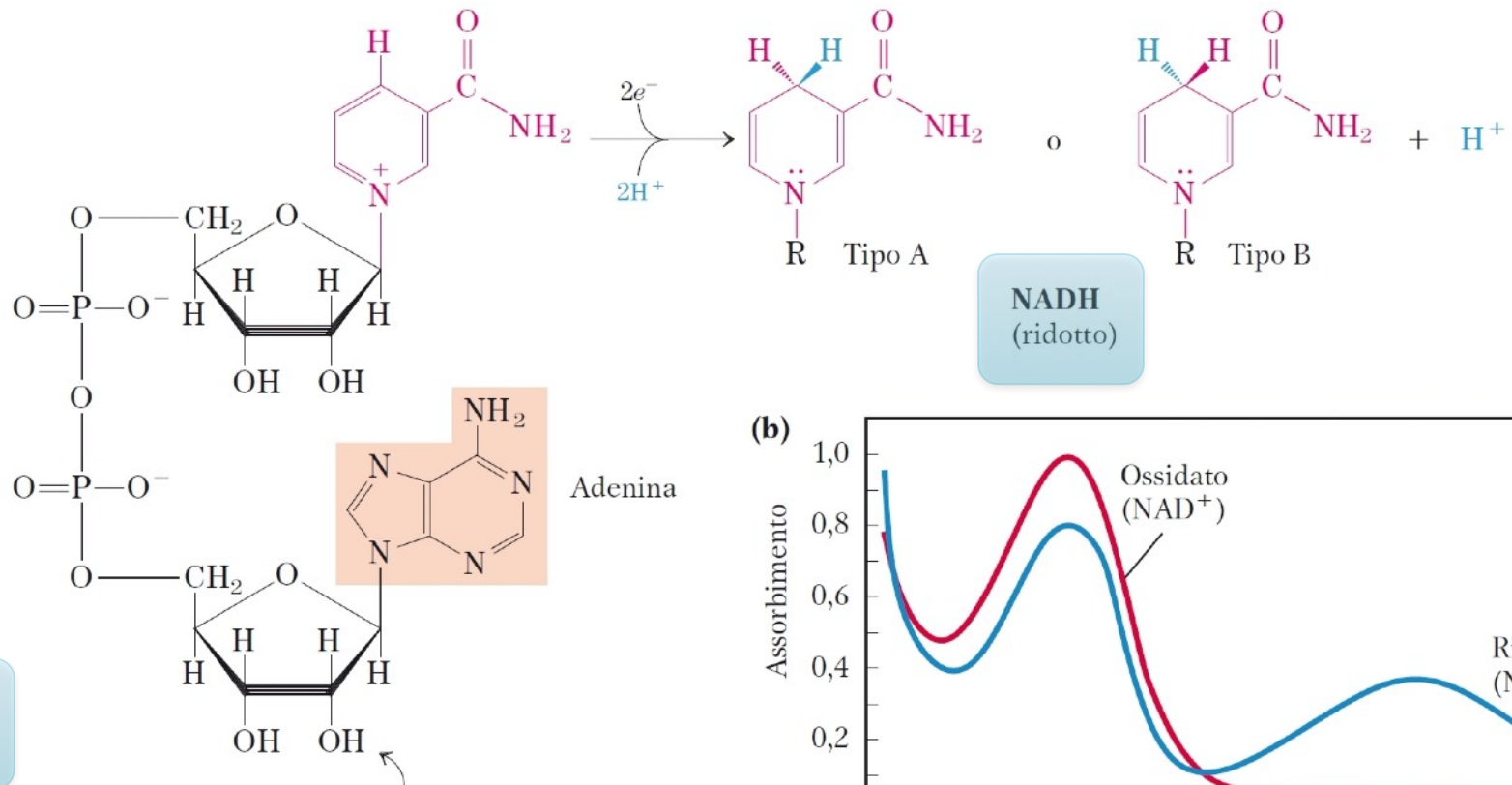
**Dopo aver visto il ciclo di Krebs, provare a calcolare il  $\Delta G'^{\circ}$  delle sue tappe con questa tabella**

# (1) TRASPORTATORI di e<sup>-</sup> - NAD e NADP (Nicotinamide adenin di nucleotide (fosfato))

Veicolati da un enzima all'altro - liberi

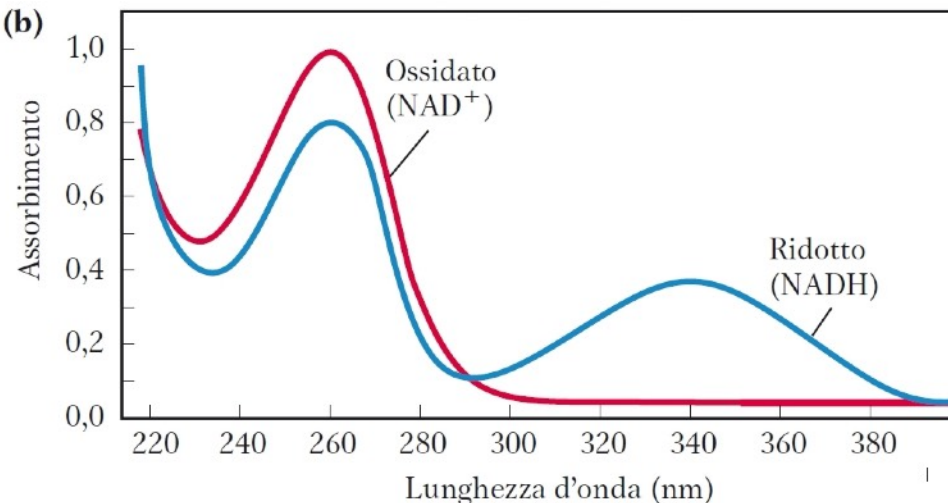
**NAD: catabolismo** / **NADP: anabolismo**

(a)



Nel NADP<sup>+</sup> questo gruppo ossidrilico è esterificato con un gruppo fosforico

(b)

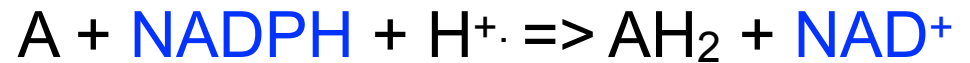


**NB: carica indicata(NAD(P)<sup>+</sup>) indica solo lo stato ossidato!**

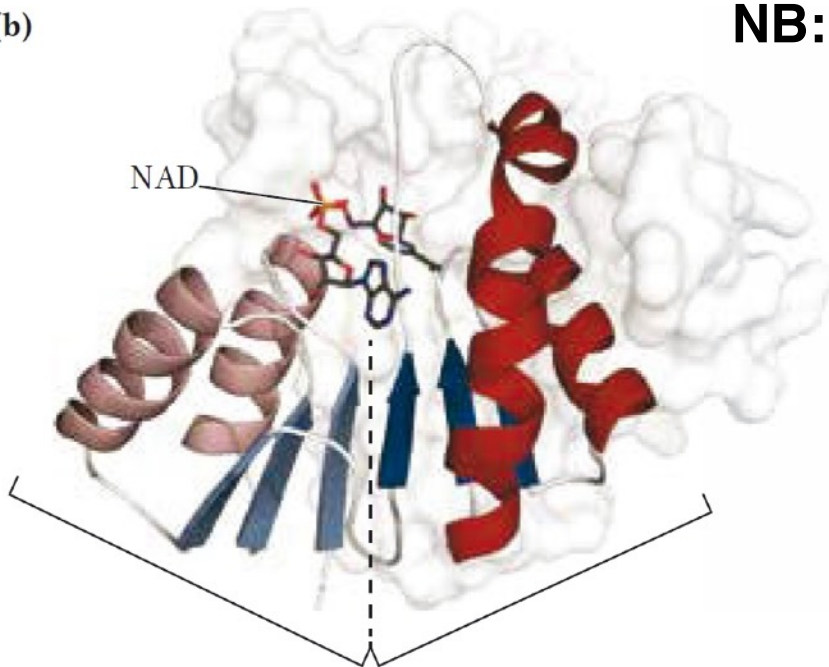
(a)



## Deidrogenasi o ossidoriduttasi



(b)



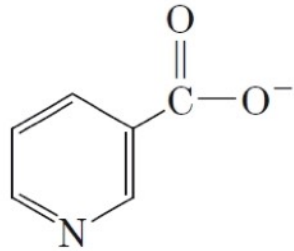
**NB: valore rapporti a seconda delle esigenze**

Tasca di Rossmann sulla  
superficie delle  
deidrogenasi: sito di  
legame per NAD

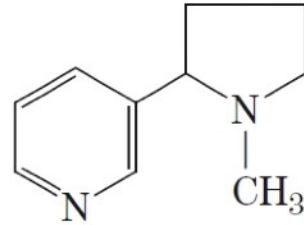
NB: altri ruoli per il NAD: fonte di AMP,  
Coinvolti in processi di deacetilazione  
da parte delle sirtuine, etc.

**Niacina** (o acido nicotinico): precursore della nicotinammide deriva dal **Triptofano**. Pellagra, malattia che si verifica in situazioni in cui c'è carenza di niacina (ad esempio in diete povere di Trp).

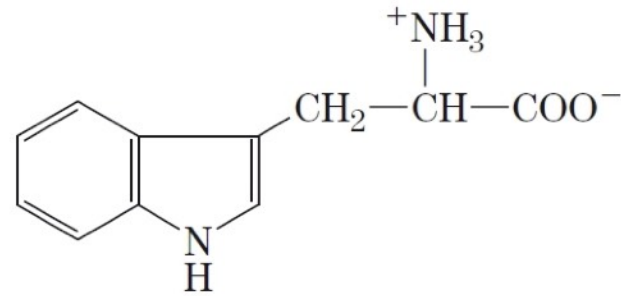
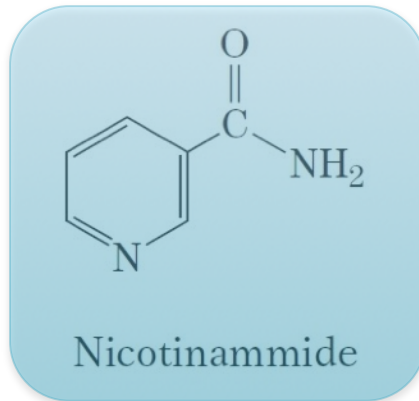
# NIACINA



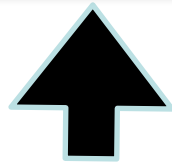
Niacina  
(acido nicotinico)



Nicotina



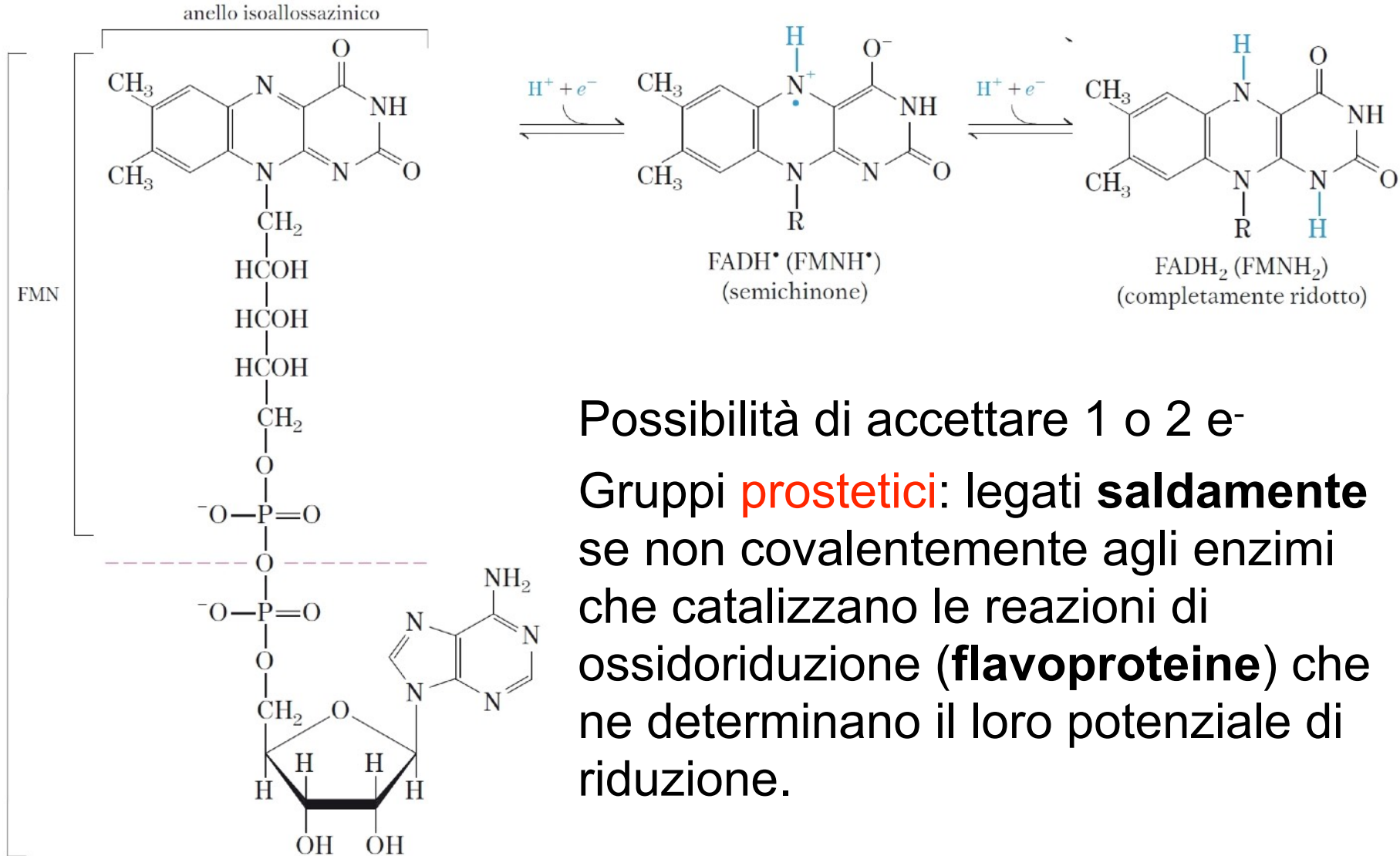
Triptofano



Incorporato nel NAD(P)

## (2) TRASPORTATORI di e<sup>-</sup> - FMN e FAD

Flavin mononucleotide (FMN) e Flavin adenin dinucleotide (FAD)



Possibilità di accettare 1 o 2 e<sup>-</sup>

Gruppi **prostetici**: legati **saldamente** se non covalentemente agli enzimi che catalizzano le reazioni di ossidoriduzione (**flavoproteine**) che ne determinano il loro potenziale di riduzione.

Flavin adenin dinucleotide (FAD) e flavin mononucleotide (FMN)