

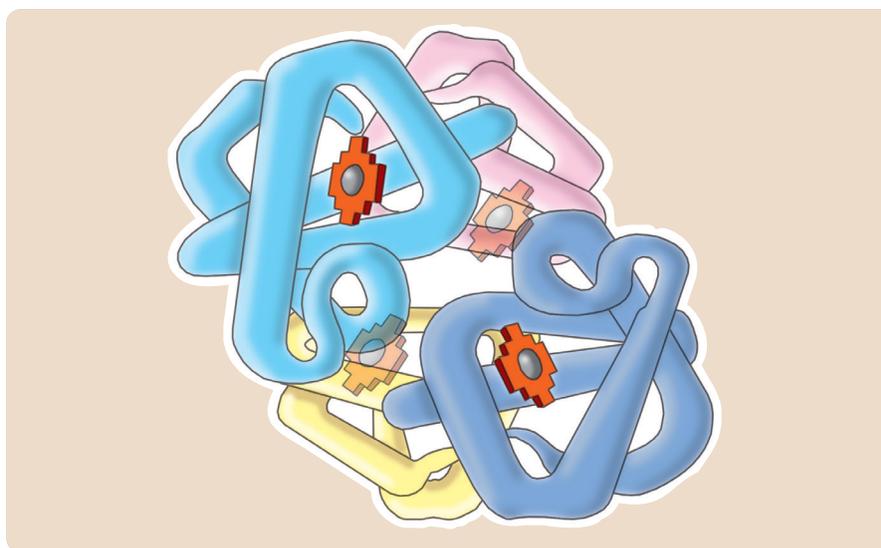
# La Biochimica

## 1

## Introduzione alla Biochimica

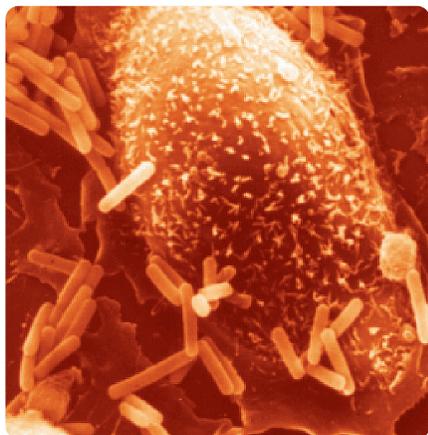
Gli esseri viventi sono composti da molecole organiche ed inorganiche che, prese da sole, hanno un comportamento chimico-fisico analogo alle molecole che compongono rocce e minerali. Questi ultimi (i minerali) interagiscono poco con l'ambiente esterno in cui si trovano; possono scambiare energia, ma il più delle volte si tratta di energia di natura termica o meccanica.

Comunque, rocce e minerali raggiungono velocemente con l'ambiente esterno un **equilibrio stabile**.



**Figura 1**

Rappresentazione grafica dell'emoglobina, un'importante molecola biochimica



**Figura 2**

Un batterio

Le molecole organiche, quando si uniscono per «comporre» gli esseri viventi, formano degli organismi molto organizzati e complessi.

Questi organismi, anche quelli più semplici, sono capaci di interagire massicciamente con l'ambiente esterno: possono scambiare con esso materia ed energia, possono autoripararsi e – cosa ancora più straordinaria – riescono a riprodursi.

Ad esempio un batterio, posto da solo in un terreno di coltura, dopo un solo giorno si replica producendo **miliardi di batteri ad esso identici**. Questo fenomeno è dovuto al fatto che il meccanismo di replicazione si svolge secondo le **istruzioni del codice genetico**.

La **Biochimica** ha come compito principale quello di spiegare, dal punto di vista prettamente chimico, la **vita**, il **comportamento delle molecole** degli organismi viventi e i meccanismi che ne sono responsabili.

Tutte le attività biochimiche delle cellule degli esseri viventi vengono raggruppate nel cosiddetto **metabolismo**, cioè l'insieme delle reazioni biochimiche, catalizzate da enzimi, che si realizzano nelle cellule.

Il metabolismo, a sua volta, si divide in **metabolismo intermedio** e **metabolismo secondario**. Il primo si ha quando il processo metabolico trasforma i nutrienti in energia, e successivamente si impiega l'energia prodotta che viene accumulata in molecole specializzate all'immagazzinamento e al trasporto della stessa.

Il metabolismo secondario invece rappresenta la serie di processi biochimici dai quali derivano prodotti di reazione essenziali alla vita delle cellule.

I **metaboliti** sono quelle sostanze (intermedi di reazione) che si producono durante le reazioni metaboliche catalizzate da enzimi.

Il metabolismo si svolge in due fasi: il **catabolismo** e l'**anabolismo**.

Il **catabolismo** è l'insieme delle reazioni biochimiche tendenti alla produzione di energia attraverso reazioni esoergoniche ( $\Delta G < 0$ ), che causa una degradazione delle molecole complesse delle sostanze nutrienti.

L'**anabolismo** invece è quella fase del metabolismo intermedio nella quale si producono molecole, che compongono la struttura delle cellule, partendo da composti semplici.

La fase dell'anabolismo si realizza attraverso reazioni endoergoniche ( $\Delta G > 0$ ), che impiegano l'energia accumulata dagli intermedi energetici prodotti attraverso le vie del catabolismo.

I paragrafi che seguono introdurranno alle tematiche complesse della Biochimica, e perciò si darà una descrizione dei composti biochimici di base.

Queste sostanze verranno descritte in maniera generale e dal punto di vista chimico, senza entrare nello specifico dei complessi meccanismi cellulari che vanno oltre le finalità disciplinari di qualsiasi corso di Chimica generale.

## 2 La cellula

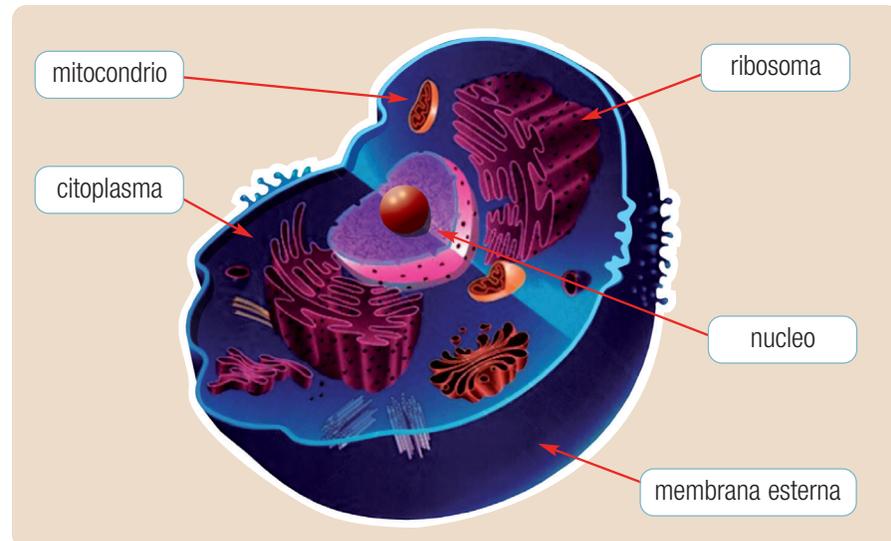
Le cellule rappresentano le «unità fondamentali» di qualsiasi essere vivente. Possono avere diverse dimensioni: ad esempio un batterio ha una grandezza di circa 2 micron ( $1\mu = 1$  milionesimo di metro), mentre le cellule animali possono avere dimensioni che variano da 10 a 30 micron.

Gli organismi più evoluti contengono moltissime cellule (l'uomo ne possiede più di  $1 \cdot 10^{14}$ ), le quali sono «specializzate», cioè svolgono funzioni specifiche.

Le cellule vengono classificate in procariote e eucariote.

Il termine **procariota** deriva dal greco *prokaryon* che significa «prima del nucleo». Questo tipo di cellula ha un nucleo privo di membrana nucleare, non possiede organelli interni ed ha un unico cromosoma. Esempi di cellule procariote sono rappresentati dai batteri.

Il termine **eucariota** deriva dal greco *eukaryon* che significa «vero nucleo»; la cellula eucariota possiede una membrana, organelli interni ed ha più di un cromosoma. I **cromosomi** sono strutture molecolari contenenti il **DNA**; l'insieme dei cromosomi è detto **genoma**.



**Figura 3**  
Spaccato di una cellula eucariota

La **figura 3** schematizza l'interno di una generica cellula eucariota. La **membrana plasmatica** avvolge la cellula esternamente e regola l'entrata e l'uscita rispettivamente di sostanze nutritive e degli scarti metabolici (le cellule vegetali hanno all'esterno della membrana plasmatica un avvolgimento rigido detto **parete cellulare** che impedisce alla cellula di assorbire un eccesso d'acqua e di conseguenza di gonfiarsi).

All'interno della membrana plasmatica si trova un liquido chiamato **citosol**, nel quale avvengono i processi di glicolisi, gluconeogenesi e la sintesi biochimica dei lipidi.

Gli **organelli** sono contenuti dal **citoplasma** che si trova tra il nucleo della cellula e la membrana plasmatica.

I **mitocondri** sono organelli nei quali si produce energia per mezzo delle reazioni biochimiche come il ciclo di Krebs, l'ossidazione, la catena respiratoria e la fosforilazione ossidativa.

I **ribosomi** sono complessi di RNA e proteine, e sono atti alla sintesi proteica (produzione di proteine).

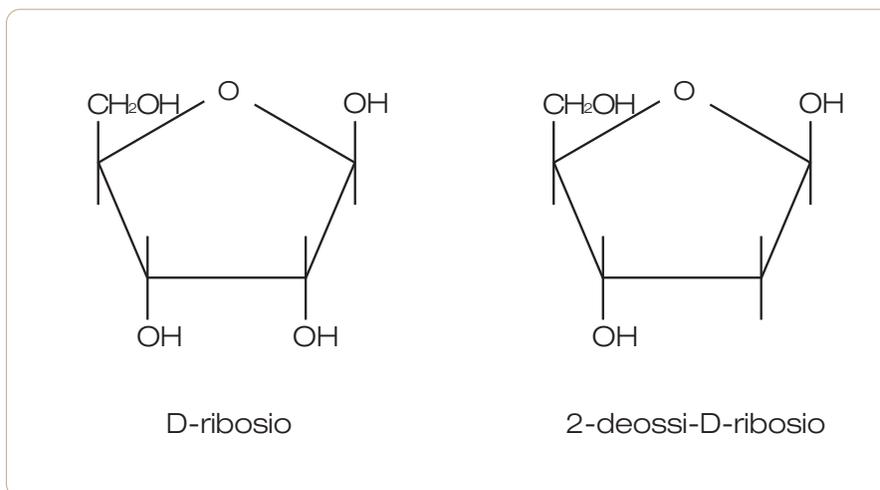
Il **nucleo** è la parte interna della cellula, è un organo importantissimo in quanto contiene il codice genetico della stessa e ne determina così la replicazione.

### 3 Gli aldopentosi e le basi azotate

I processi biochimici sono estremamente complessi, pur coinvolgendo molecole semplici come i grassi, i carboidrati e gli amminoacidi.

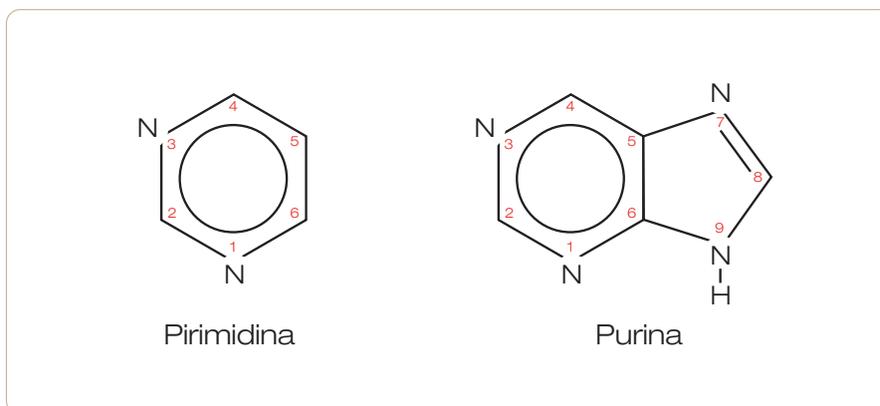
Vi sono tuttavia altre molecole organiche semplici che, unendosi ad altre, formano importantissime molecole più complesse che partecipano ai processi biochimici. I più importanti composti di questo tipo sono i **carboidrati aldopentosi** e le **basi azotate**.

Gli **aldopentosi** presenti negli acidi nucleici DNA e RNA sono il D-ribosio e il 2-deossi-D-ribosio:

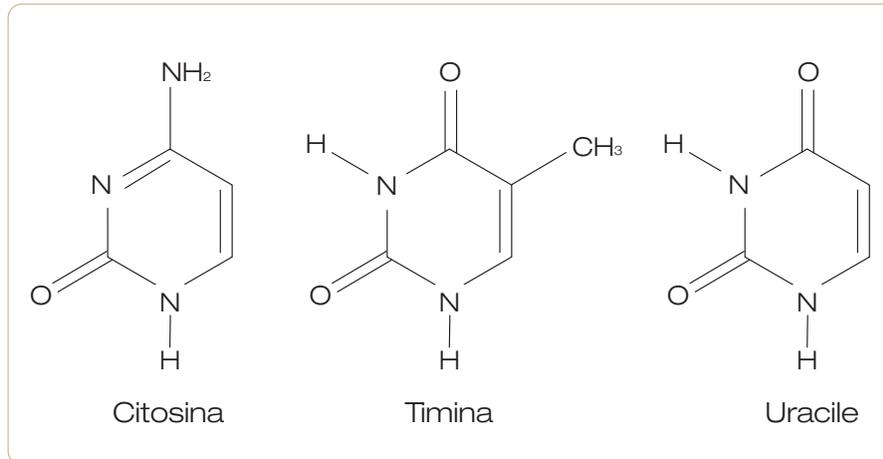


Le **basi azotate** sono molecole eterocicliche che possono essere di due tipi: pirimidiniche e puriniche.

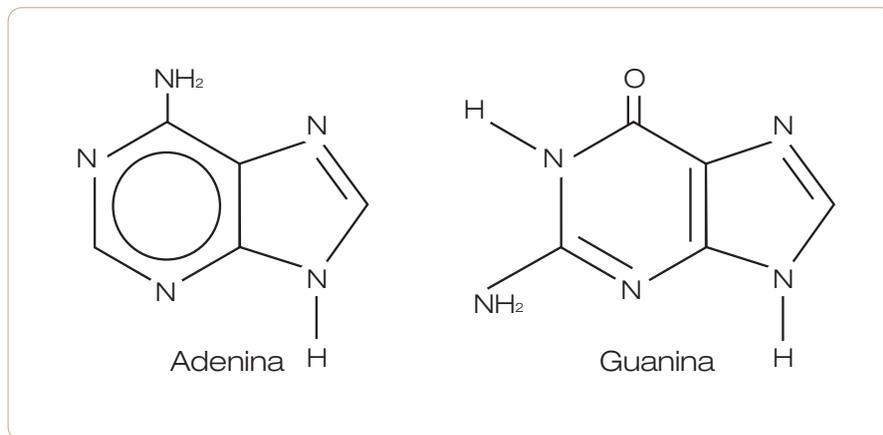
Le basi **pirimidiniche** derivano dal composto eterociclo esatomico pirimidina, mentre le basi **puriniche** derivano dal composto eterociclo biciclico purina:



Le basi pirimidiniche sono le seguenti:



Le basi **puriniche**, invece, sono:



## 4 Gli enzimi



**Figura 4**  
Un enzima: il triosofosfato-isomerasi

Il termine **enzima** deriva dal greco *en zime* e significa «dentro il lievito». Il nome deriva dal fatto che gli enzimi sono stati scoperti studiando particolari cellule contenute nei lieviti.

Si tratta di potenti **catalizzatori** che consentono alle reazioni biochimiche, molto complesse, di aver luogo alle temperature degli esseri viventi ( $\approx 37^\circ\text{C}$ ). È stata accertata l'esistenza di **più di diecimila enzimi**. Nelle reazioni biochimiche che avvengono nelle cellule degli esseri viventi gli enzimi svolgono, a bassissime concentrazioni, la loro azione catalitica senza subire trasformazioni.

Gli enzimi sono specifici e agiscono selettivamente su particolari sostanze dette **substrati**.

Essi vengono classificati in sei classi (**tabella 1**) e la loro nomenclatura viene eseguita indicando il substrato su cui agiscono ponendo la desinenza finale **-asi**, come per esempio la **lipasi** che è un enzima che idrolizza i lipidi trigliceridi.

Enzima	Reazione catalizzata
Ossido reductasi	Redox nelle quali c'è uno scambio di elettroni e/o atomi di idrogeno e ossigeno
Transferasi	Spostamento di gruppi funzionali come i gruppi amminici, carbonilici ecc.
Idrolasi	Idrolisi (rottura) di legami per mezzo di molecole d'acqua
Liasi	Rottura non ossidativa e non idrolitica di legami carbonio-ossigeno, carbonio-azoto, carbonio-carbonio
Isomerasi	Isomerizzazione di molecole più semplici
Ligasi	Reazioni endoergoniche di unione di due molecole (condensazione) per mezzo dell'energia prodotta dall'ATP

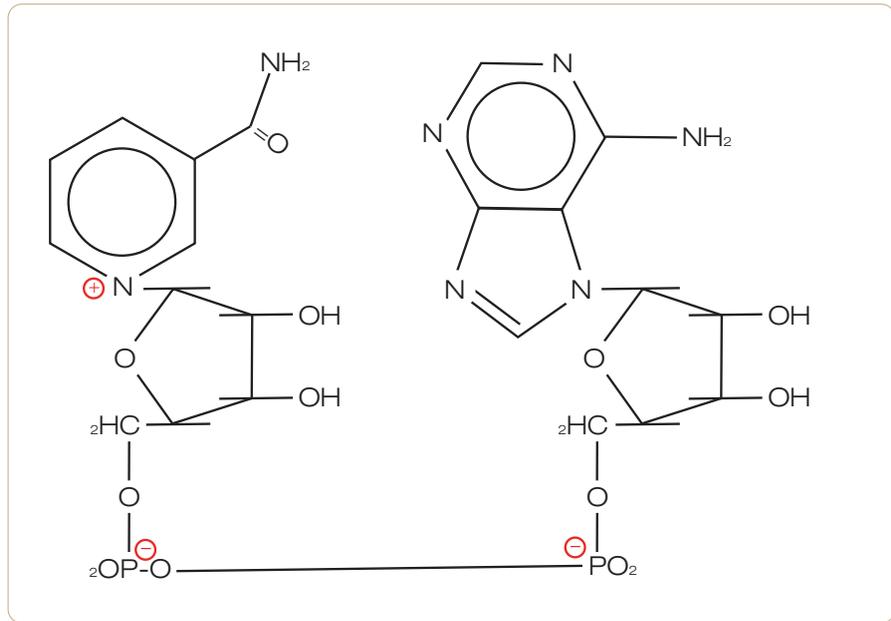
**Tabella 1**  
Classificazione degli enzimi

Gli enzimi sono formati da proteine globulari ed hanno un'elevata massa molecolare.

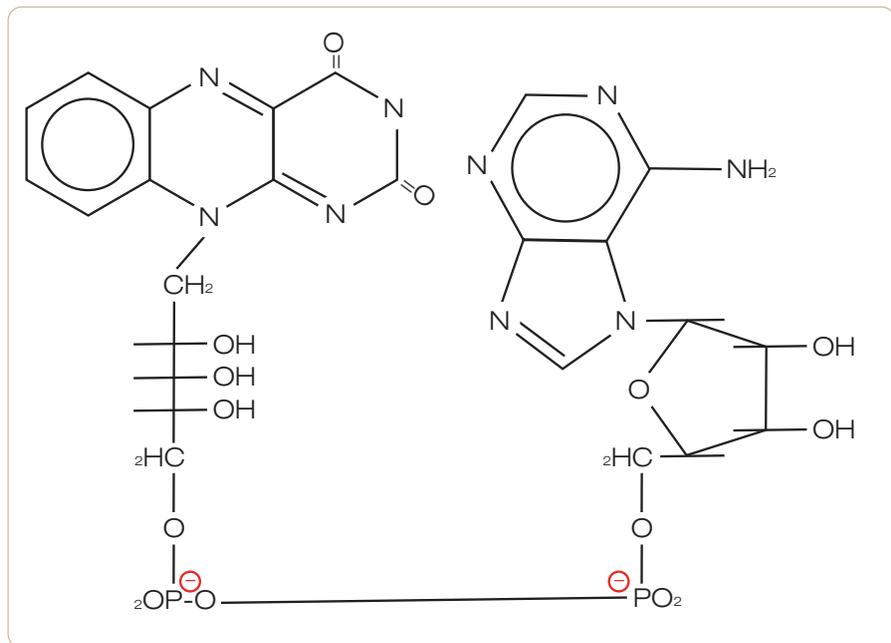
Molti enzimi sono inattivi e per poter svolgere la loro funzione hanno bisogno di interagire con sostanze che hanno una bassa massa molecolare come alcune molecole organiche o ioni metallici come il magnesio ( $\text{Mg}^{++}$ ), lo zinco ( $\text{Zn}^{++}$ ) ecc., che vengono detti **cofattori**.

I cofattori organici vengono anche detti **coenzimi** e possono contenere al loro interno degli ioni metallici, che hanno la funzione di trasportare per un breve tempo gruppi funzionali organici o atomi specifici utili nelle reazioni enzimatiche.

Un coenzima legato attraverso un legame covalente alla parte proteica dell'enzima si chiama **gruppo prostetico**; quando il coenzima attiva l'enzima il loro insieme si chiama **oloenzima**.



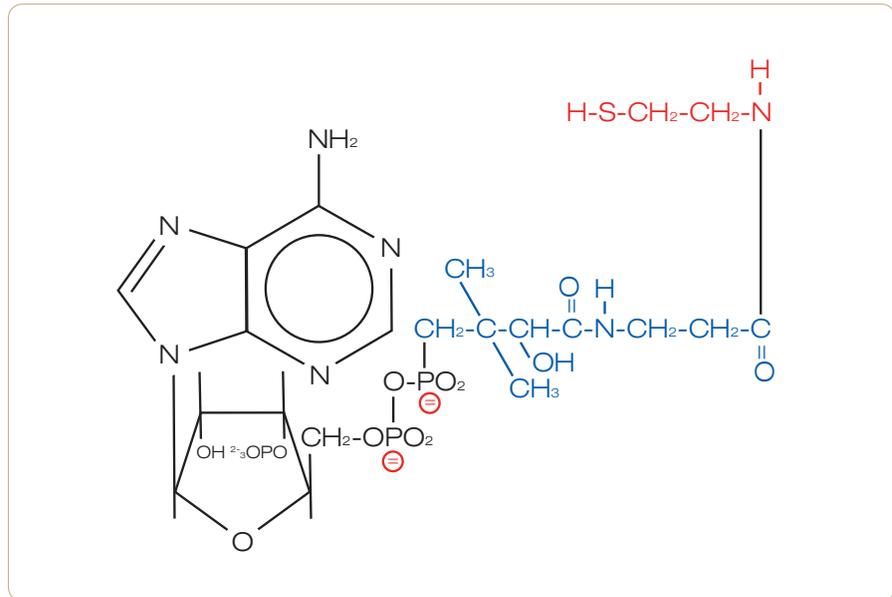
**Figura 5**  
Il coenzima Nicotinammide Adenin Dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)



**Figura 6**  
Il coenzima Flavin Adenin Dinucleotide (FAD)

**Figura 7**

Il coenzima A (in nero la 3'-fosfoadenosina di fosfato, in blu l'acido pantotenico e in rosso la β-mercaptoetilammina)



L'azione catalitica dell'enzima può essere descritta con il seguente schema reattivo:



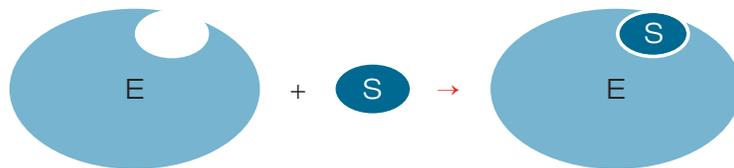
Nello schema si può osservare che l'enzima (**E**) reagisce reversibilmente con il substrato (**S**) formando un intermedio di reazione molto reattivo (**E-S**), il quale subito evolve nel prodotto di reazione (**P**) più stabile.

Alla fine della reazione l'enzima (**E**) è pronto per una nuova azione catalitica.

La capacità di svolgere l'azione catalitica è peculiare di ciascun enzima e viene quantificata dal **numero di turnover**, cioè dal numero di molecole trasformate dal singolo enzima in prodotto di reazione nell'unità di tempo (secondo) al massimo del rendimento dell'enzima stesso.

In generale l'enzima – dimensionalmente – è dieci volte più grande del substrato da trasformare, e il meccanismo di reazione enzima-substrato si può svolgere in due modi.

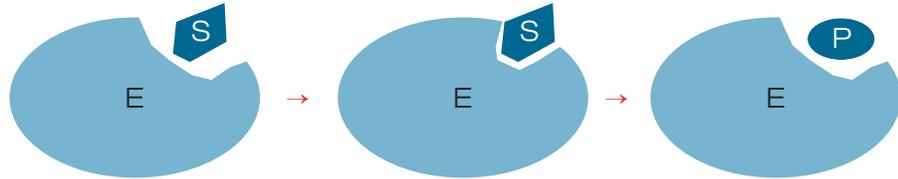
Il primo si svolge secondo il **modello chiave-serratura** (Fisher):



In questo modello il substrato si unisce all'enzima in una «sede enzimatica» con una forma geometrica particolare. In questa sede può entrare solo un substrato che abbia una forma analoga e per questo la reazione tra questi enzimi e substrati è rigi-

damente specifica (**reazione specifica** significa che l'enzima può reagire solo con un substrato e non reagisce con altri substrati).

Il secondo meccanismo si svolge con un adattamento della sede dell'enzima quando si unisce al substrato; alla fine dell'azione catalitica l'enzima riprende la forma originaria:



## 5

## Altre proprietà degli enzimi

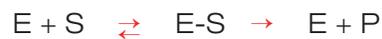


**Figura 8**  
Maud Leonora Menten (1879 - 1960)

Quelle prodotte dagli enzimi sono reazioni particolari a causa della loro **specificità** (cioè, come già accennato, essi reagiscono con un solo substrato o al massimo con un numero bassissimo di substrati tra loro simili).

La reattività degli enzimi dipende da diversi fattori quali la concentrazione dello stesso enzima, la concentrazione del substrato, la temperatura, il pH di reazione, la presenza di sostanze attivatici o inibitrici.

Per una generica reazione enzimatica:



si ha che la velocità della reazione dipende dalla concentrazione dell'enzima poiché all'aumentare di quest'ultima aumenta la velocità di reazione.

La velocità di reazione dipende anche dalla concentrazione del substrato (**S**).

Il rapporto quantitativo tra la concentrazione del substrato (**S**) e la velocità di reazione viene calcolato con l'equazione di Michaelis e Menten.

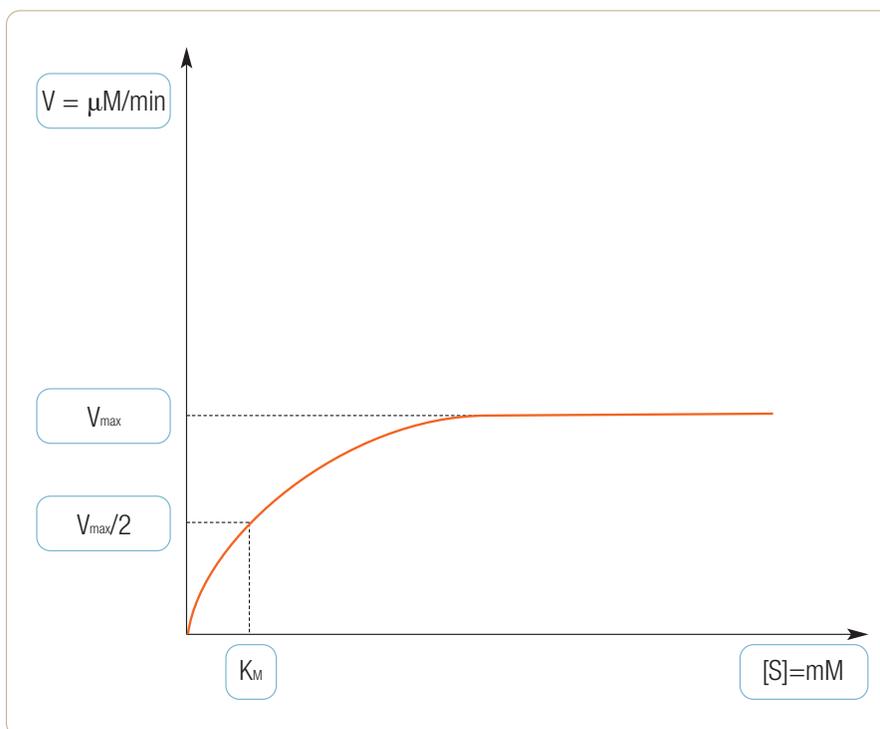


**Figura 9**  
Leonor Michaelis (1875 - 1949)

Questa equazione è il frutto del lavoro di ricerca di due scienziati: la canadese Maud Leonora Menten e il tedesco Leonor Michaelis, i quali nel 1913 la formularono in questi termini:

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$$

dove  $[S]$  è la concentrazione del substrato,  $V$  è la velocità di reazione espressa in quantità di substrato che viene trasformato in prodotto di reazione nell'unità di tempo,  $V_{\max}$  è la velocità massima della reazione, espressa in quantità di substrato che viene tra-sformato in prodotto di reazione nell'unità di tempo, quando il substrato impegna tutti i siti attivi dell'enzima e  $K_M$  è la costante di Michaelis che corrisponde alla con-centrazione del substrato ( $S$ ) estrapolata dal grafico della velocità di reazione (**figu-ra 10**) quando questa ultima assume il valore di un mezzo della velocità massima ( $\frac{1}{2} \cdot V_{\max}$ ).



**Figura 10**  
Grafico della variazione della velocità di reazione rispetto alla concentrazione del substrato di una generica reazione enzimatica

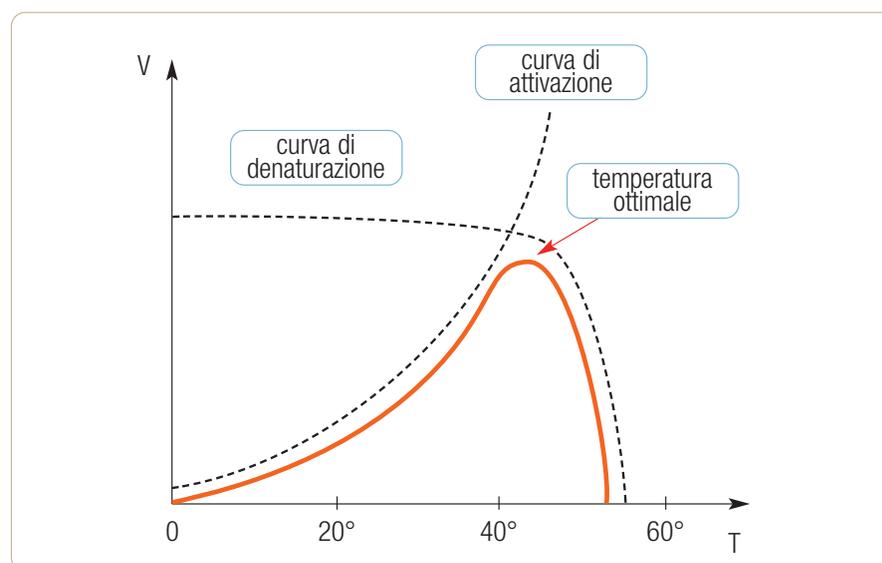
Dal grafico in **figura 10** si evince che la velocità cresce inizialmente al crescere della concentrazione del substrato finché l'enzima non è saturo. Successivamente, raggiunta la  $V_{\max}$ , si stabilizza.

Enzima	Costante di Michaelis $K_m$ (mM)
$\beta$ -glucosidasi	80
$\alpha$ -glucosidasi	40
Anidraasi carbonica	7,5
$\beta$ -galattosidasi	4
Lipasi	0,6
Piruvato carbossilasi	0,4
Succinico deidrogenasi	0,37
Aldeide deidrogenasi	0,035
Esocinasi	0,008
Lisizima	0,006

**Tabella 2**  
Valore di  $K_m$  di alcuni enzimi

La temperatura influisce notevolmente sull'attività enzimatica (figura 11): si ha infatti che all'aumentare della temperatura la velocità di reazione aumenta notevolmente. Ciò è spiegato dal fatto che all'aumentare della temperatura aumenta l'energia cinetica delle particelle.

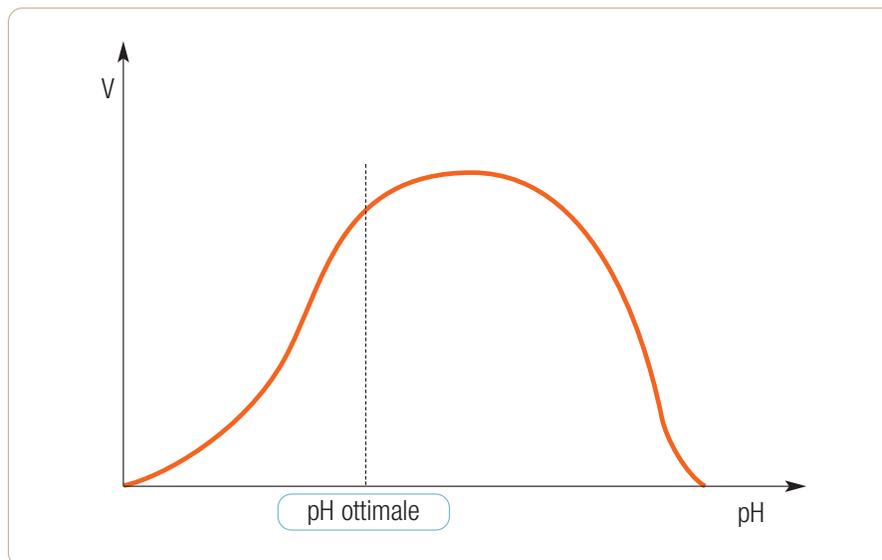
Questo fenomeno si verifica in un certo intervallo di temperatura, fino a un valore massimo al quale la parte proteica dell'enzima subisce un processo degenerativo (denaturazione) che fa diminuire l'attività catalitica dell'enzima fino ad annullarla completamente (figura 11).



**Figura 11**  
Grafico della variazione della velocità di reazione rispetto alla temperatura di una generica reazione enzimatica

È importante conoscere la concentrazione idrogenionica ( $[H^+]$ ) dell'ambiente in cui si svolge una reazione enzimatica poiché ogni enzima esplica la propria attività in maniera efficiente solamente in un intervallo preciso di pH.

Il pH influisce sull'azione enzimatica (figura 12) perché le parti terminali delle proteine che compongono la parte attiva dell'enzima variano la loro polarità in funzione del pH, e quindi l'enzima a un pH anomalo non interagisce col substrato.



**Figura 12**  
Grafico della variazione della velocità di reazione rispetto al pH di una generica reazione enzimatica

## Attivatori e inibitori

L'azione di un enzima può essere potenziata dalla presenza di sostanze attivatrici le quali, attraverso diversi meccanismi, aumentano la velocità di reazione perché l'enzima «riconosce» più velocemente il substrato.

Le sostanze attivatrici possono essere ioni metallici come il magnesio ( $Mg^{++}$ ) e la loro azione è specifica per ogni insieme enzima substrato.

Esistono anche sostanze che, al contrario di quelle attivatrici, fanno rallentare la reazione: queste sostanze sono dette **inibitori**. L'azione dell'inibitore può essere reversibile o irreversibile.

L'**inibizione reversibile** si realizza in tre modi: competitiva, non competitiva e incompetitiva.

Quando l'inibitore realizza una **reazione competitiva** con l'enzima, ostacolando l'unione di quest'ultimo con il substrato, si ottiene il risultato di rallentare la reazione.

Si può neutralizzare l'effetto dell'inibitore competitivo aumentando la concentrazione del substrato.

L'inibitore **non competitivo** riduce l'attività dell'enzima perché si può legare sia all'enzima che al complesso enzima substrato (**E-S**).

L'inibitore **incompetitivo** si unisce solo al complesso enzima substrato (**E-S**).

Gli **inibitori irreversibili** si legano all'enzima formando un complesso molto stabile enzima-inibitore avente un forte legame. Il complesso stabile rende l'enzima completamente inattivo.

## 6

## Energia

Le reazioni biochimiche, come del resto tutte le reazioni, possono essere classificate dal punto di vista termodinamico come esoergoniche ( $\Delta G < 0$ ) o endoergoniche ( $\Delta G > 0$ ).

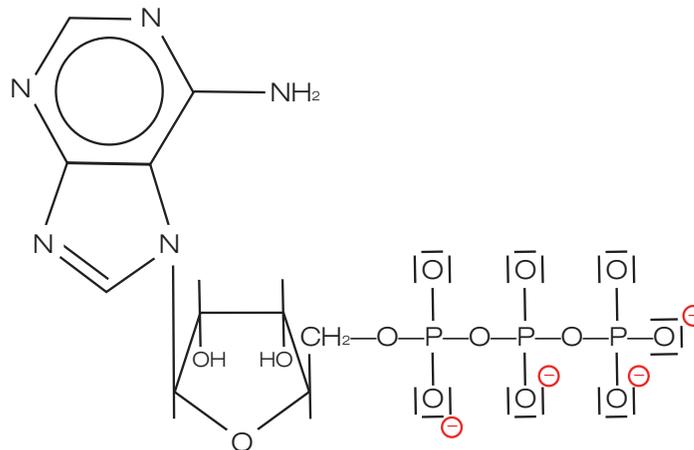
Le reazioni esoergoniche ( $\Delta G < 0$ ) avvengono spontaneamente, mentre quelle endoergoniche ( $\Delta G > 0$ ) avvengono solo se viene fornita energia dall'esterno.

La cellula riceve energia chimica dall'ambiente esterno attraverso i nutrimenti: carboidrati, lipidi e proteine.

Dalle reazioni cataboliche esoergoniche ( $\Delta G < 0$ ) di ossidazione dei nutrimenti, per esempio i carboidrati:



si ricava dell'energia che viene immagazzinata sotto forma di molecole trasportatrici di energia. La più importante di queste ultime è l'**ATP<sup>+</sup>** (adenosin trifosfato):

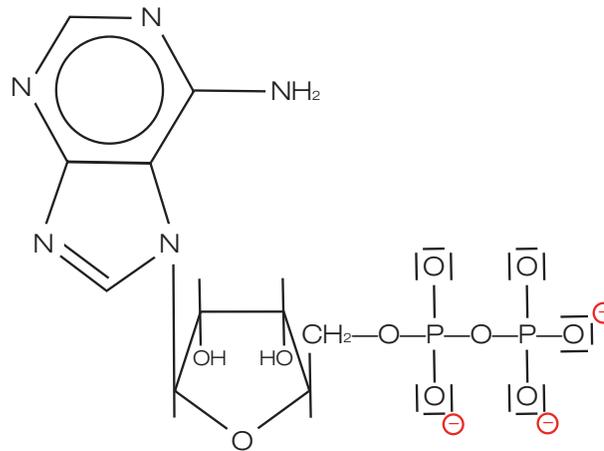


Quando la cellula ha bisogno di energia per produrre reazioni endoergoniche ( $\Delta G > 0$ ) che servono al proprio metabolismo utilizza l'energia immagazzinata sotto forma di ATP<sup>+</sup>.

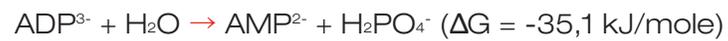
A questo punto le molecole di ATP<sup>+</sup> reagiscono con l'acqua e si verifica la rottura (idrolisi) del legame anidridico del gruppo fosforico terminale con la formazione di adenosin difosfato (ADP<sup>3-</sup>) e di fosfato biacido:



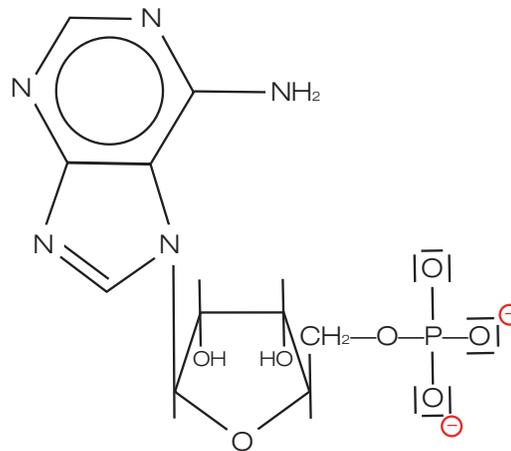
La reazione è esoergonica ( $\Delta G < 0$ ); la struttura della molecola dell'ADP<sup>3-</sup> è la seguente:



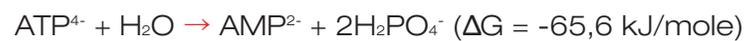
Le molecole di ADP<sup>3-</sup> possono reagire, a loro volta, con acqua, formando l'adenosin monofosfato (AMP<sup>2-</sup>) e il fosfato biacido:



La reazione è esoergonica ( $\Delta G < 0$ ); la struttura della molecola dell'AMP<sup>2-</sup> è la seguente:



In certe reazioni l'ATP<sup>4-</sup> può passare direttamente a AMP<sup>2-</sup> secondo la seguente reazione:



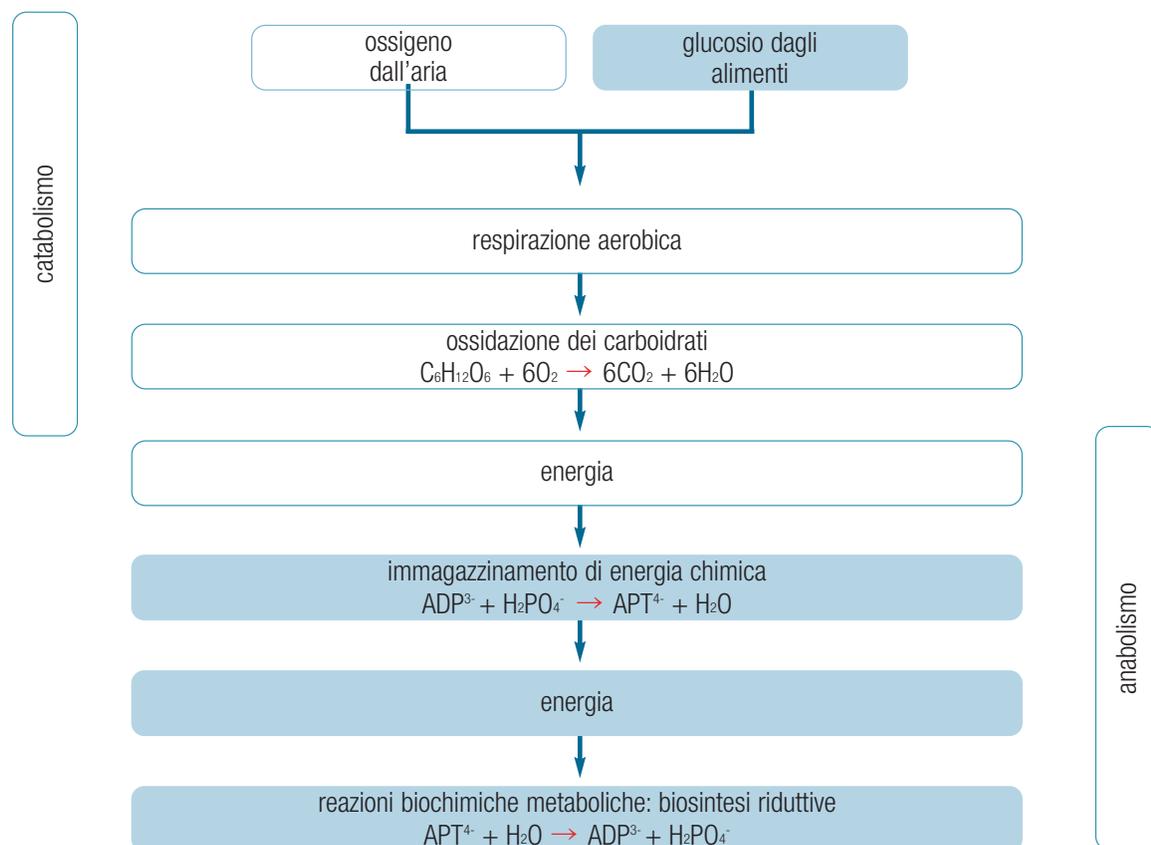
Vi sono altre molecole fosforilate, oltre all'ATP<sup>4-</sup>, che fungono da molecole trasportatrici di energia nelle cellule (tabella 3).

Molecola fosforilata	$\Delta G$ (kJ/mole)	$\Delta G$ (kcal/mole)
Glucosio 6-fosfato	-13,80	-3,3
Fruttosio 6-fosfato	-15,88	-3,8
ATP <sup>4-</sup>	-30,50	-7,3
Fosfocreatina	-43,05	-10,3
1,3-difosfoglicerato	-49,32	-11,8
Fosfoenolpiruvato	-61,86	-14,8

**Tabella 3**

Valori del  $\Delta G$  di idrolisi di molecole fosforilate

Il flusso energetico nelle cellule degli esseri viventi può essere riassunto con il seguente schema:



Nelle cellule preposte alla produzione di energia la sintesi di ATP<sup>4-</sup> (energia chimica) si verifica in due modi: **aerobico** e **anaerobico**.

Il **meccanismo aerobico** si esplica, nei mitocondri delle cellule animali, con la respirazione e porta alla riduzione ( $O_2 + 4e^- \rightarrow 2O^{=}$ ) dell'ossigeno presente nell'aria atmosferica per mezzo di elettroni ceduti da sostanze inorganiche o organiche.

Le cellule degli organismi vegetali accumulano energia chimica, sempre sotto forma di  $ATP^+$ , nei cloroplasti attraverso la fotosintesi clorofilliana.

In questo caso la reazione endoergonica ( $\Delta G > 0$ ) avviene per mezzo delle radiazioni luminose prodotte dal Sole.

Le cellule di **organismi anaerobici** estraggono l'ossigeno da cationi inorganici come i solfati ( $SO_4^{2-}$ ), i nitrati ( $NO_3^-$ ) ecc., ma nelle fermentazioni l'ossigeno viene fornito da sostanze organiche.

## 7

## Il metabolismo dei carboidrati

I carboidrati sono sostanze composte da carbonio, idrogeno e ossigeno. Queste molecole vengono classificate in monosaccaridi, disaccaridi e polisaccaridi.

Il monosaccaride glucosio è molto importante poiché è il combustibile principale delle cellule. Gli esseri viventi lo estraggono dai nutrimenti come il saccarosio (lo zucchero da cucina) che è un disaccaride (composto da una molecola di glucosio e una molecola di fruttosio) e dagli amidi, che sono carboidrati polisaccaridi. I disaccaridi e i polisaccaridi (tranne la cellulosa che è molto complessa) vengono idrolizzati a glucosio attraverso reazioni enzimatiche catalizzate da enzimi detti **amilasi**. La digestione dei carboidrati complessi comincia nella bocca attraverso l'azione della saliva che contiene amilasi e continua nell'intestino con l'assorbimento da parte di quest'ultimo del glucosio.

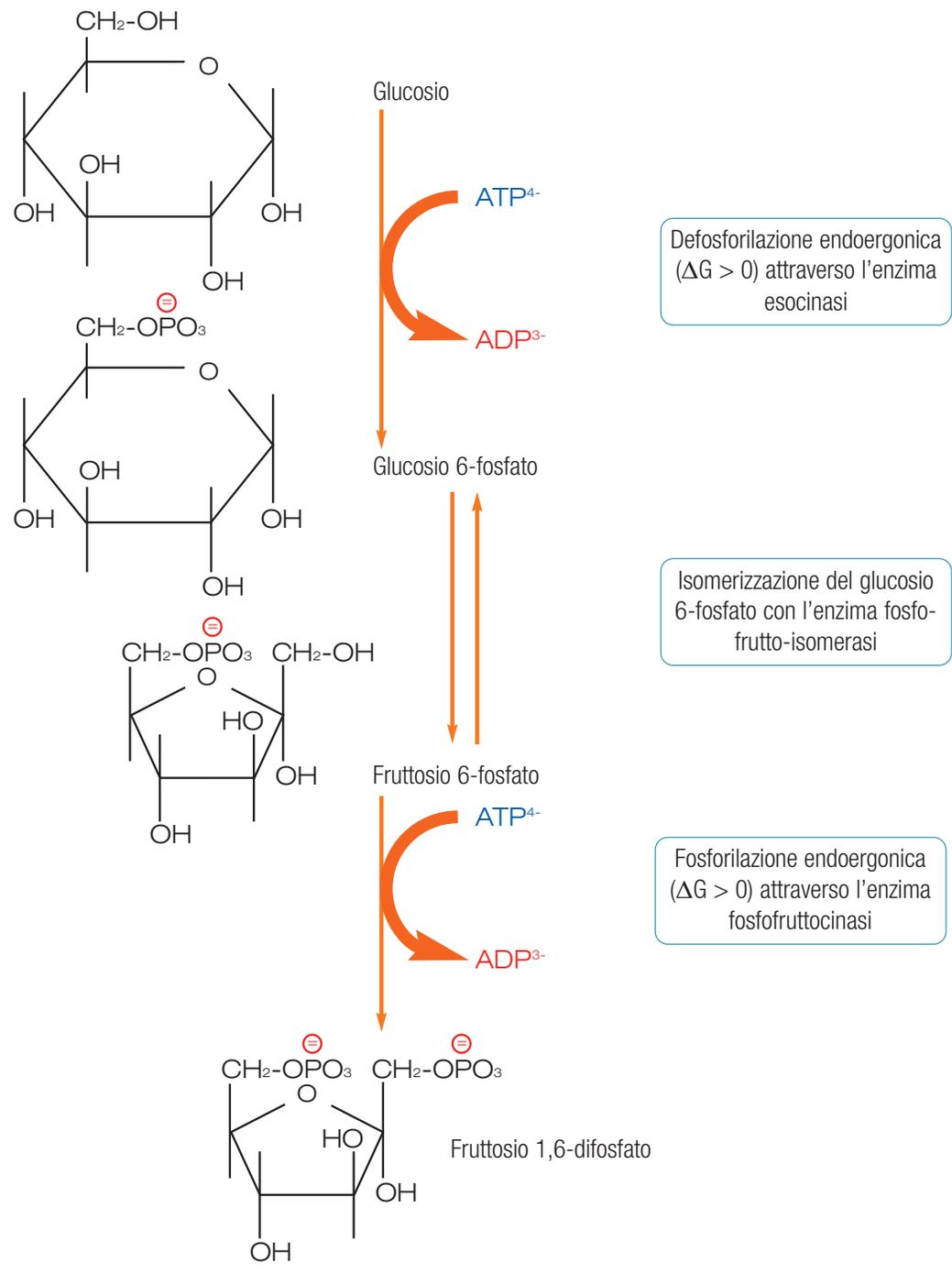
I carboidrati vengono metabolizzati dalle cellule attraverso reazioni aerobiche come la **glicolisi** e il **ciclo dell'acido citrico** (Krebs), e anaerobiche come la **gluconeogenesi** e le **fermentazioni**.

### 7.1 La glicolisi

La **glicolisi** è il processo mediante il quale il glucosio viene ossidato a **piruvato** (l'anione dell'acido 2-cheto propanoico o acido piruvico  $CH_3-CO-COOH$ ).

Il processo della glicolisi può essere diviso in due parti: la prima, endoergonica ( $\Delta G > 0$ ), avviene a spese della conversione di  $ATP^+$  in  $ADP^{3-}$ , mentre la seconda è un processo esoergonico ( $\Delta G < 0$ ) nel quale l' $ADP^{3-}$  si trasforma nuovamente in  $ATP^+$ .

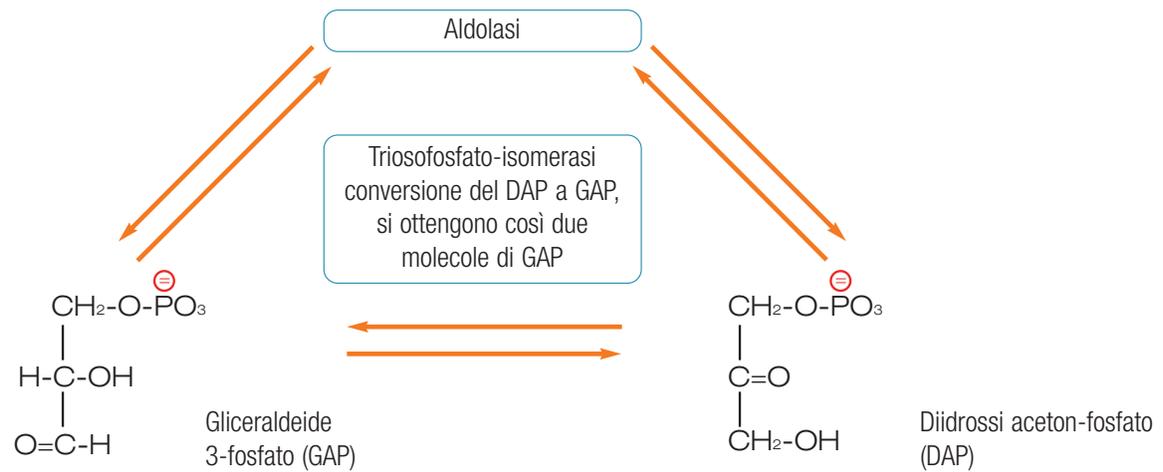
La prima parte del meccanismo di reazione del processo della glicolisi si realizza nel seguente modo:



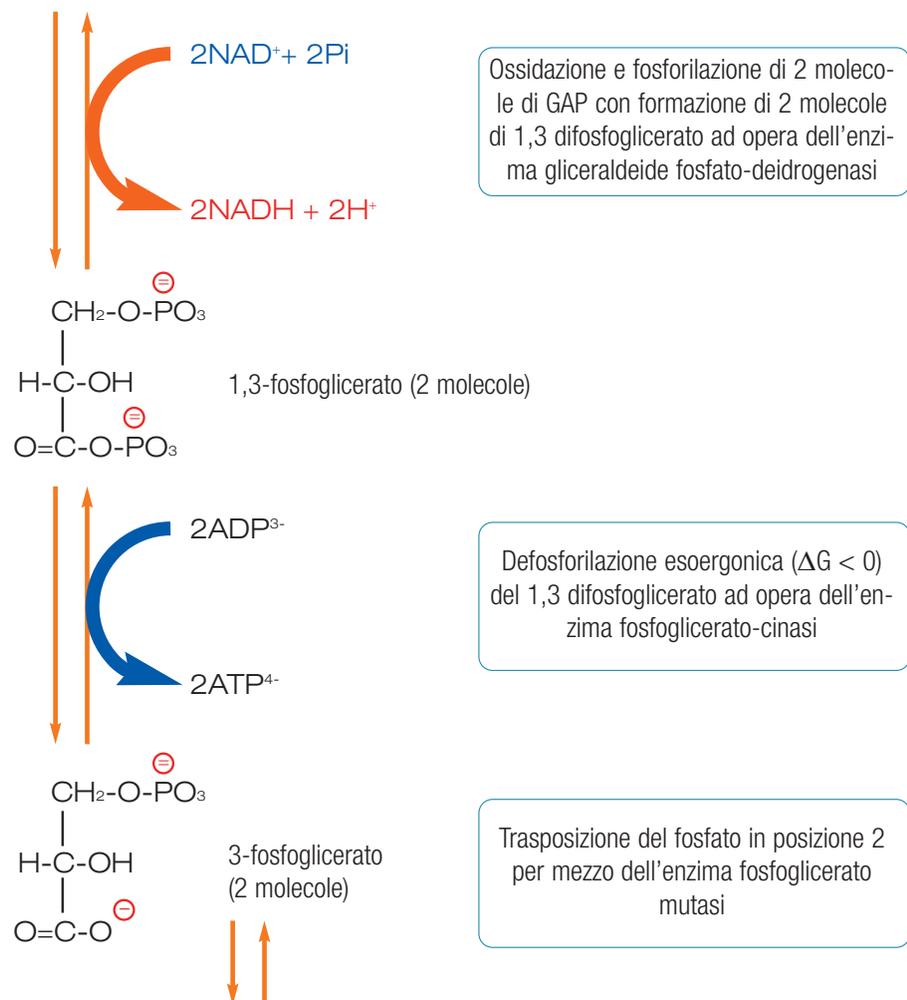
Defosforilazione endoergonica ( $\Delta G > 0$ ) attraverso l'enzima esocinasi

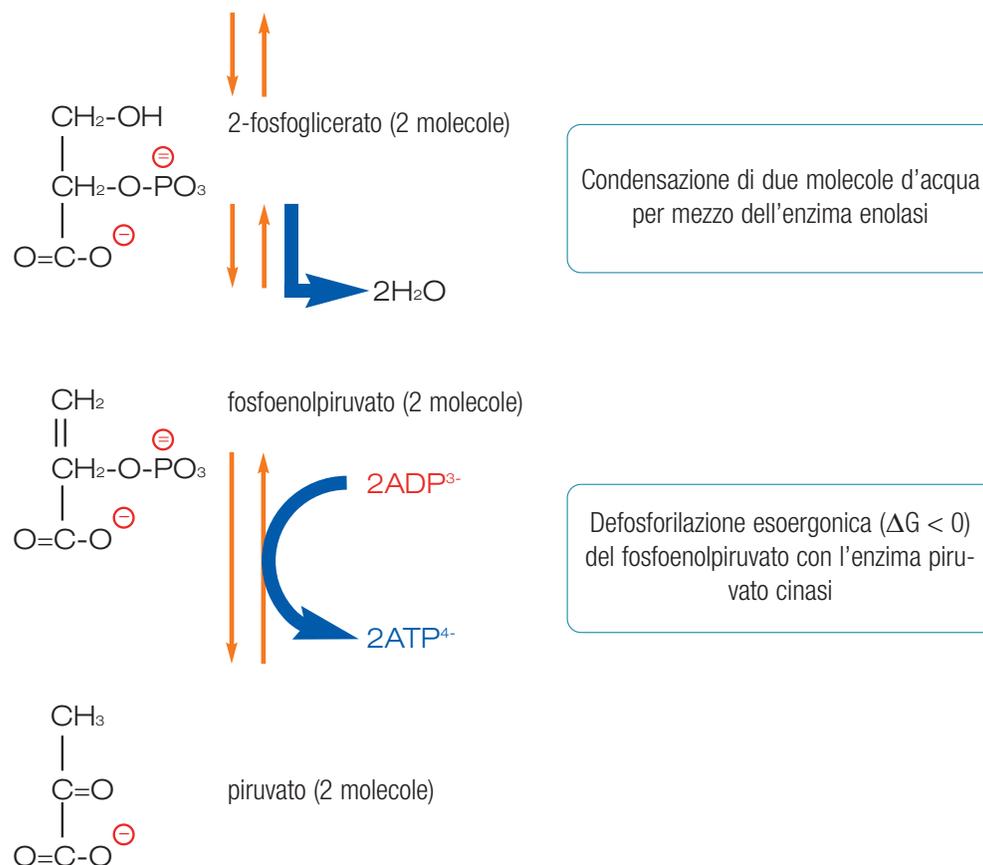
Isomerizzazione del glucosio 6-fosfato con l'enzima fosfofrutto-isomerasi

Fosforilazione endoergonica ( $\Delta G > 0$ ) attraverso l'enzima fosfofruttocinasi

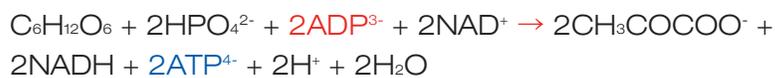


Nella seconda parte vi è un recupero di energia nel quale si formano molecole di  $\text{ATP}^{4-}$  a partire da molecole di  $\text{ADP}^{3-}$ :



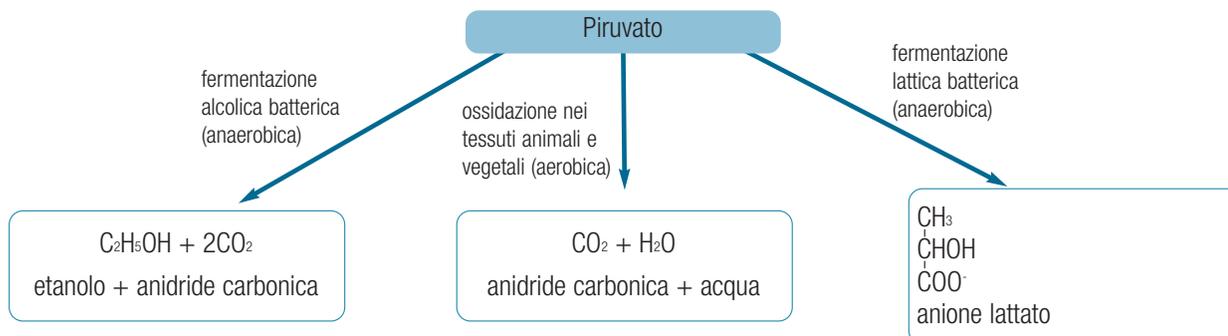


La reazione complessiva può essere schematizzata nel seguente modo:

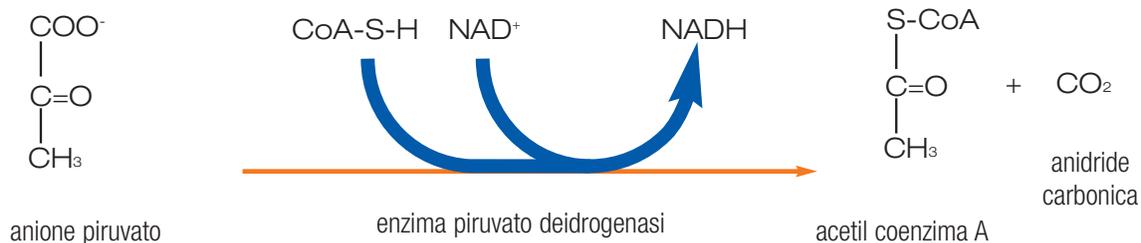


## 7.2 Le possibili trasformazioni dell'anione piruvato

Una volta formato, l'anione piruvato può subire, principalmente, tre tipi di processi catabolici: il **ciclo dell'acido citrico** o ciclo di Krebs, la **fermentazione alcolica** e la **fermentazione lattica**:



L'anione piruvato ( $\text{CH}_3\text{-CO-COO}^-$ ), prima di entrare nel ciclo di Krebs, subisce la deidrogenazione e la decarbossilazione per mezzo dell'enzima piruvato deidrogenasi, divenendo acetil coenzima A:



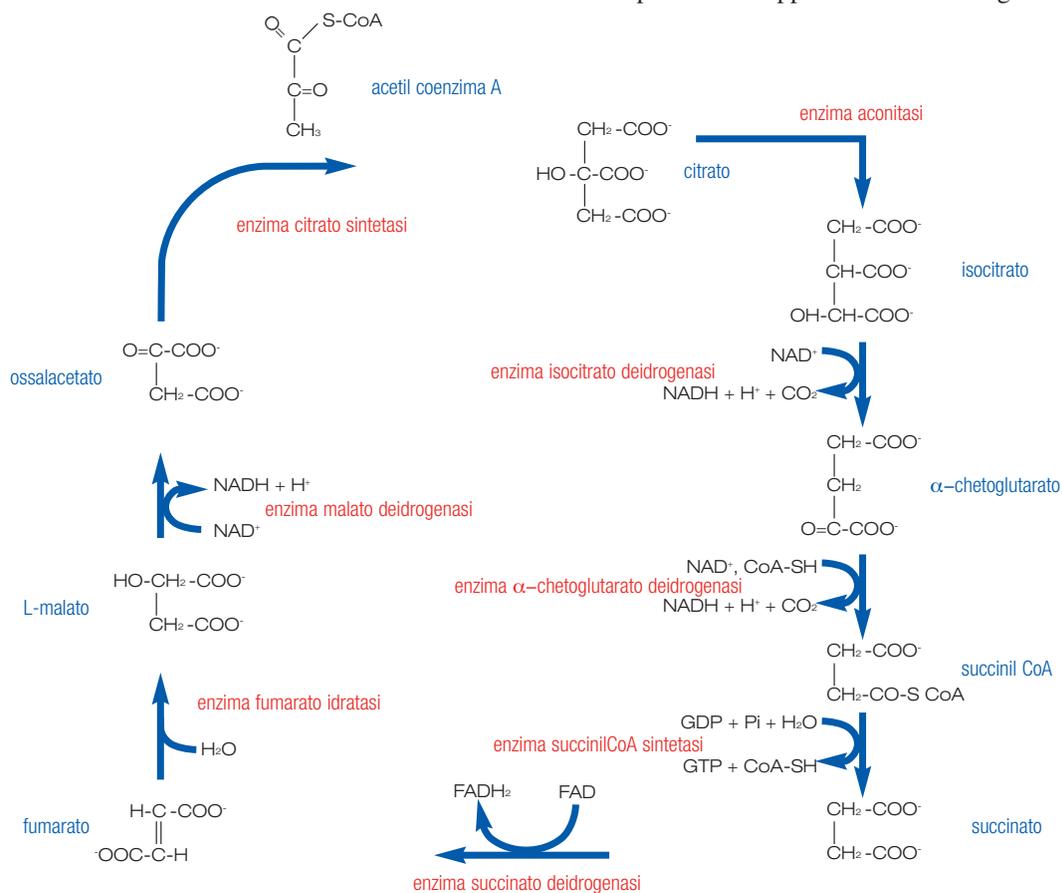
L'enzima piruvato deidrogenasi esplica la propria attività catalitica in presenza del coenzima Nicotinammide Adenin Dinucleotide ( $\text{NAD}^+$ ); la reazione è esoergonica ( $\Delta G = -33,4 \text{ kJ/mole}$ ).

### 7.3 Il ciclo di Krebs

Una volta formato, l'acetil coenzima A entra nel ciclo di Krebs.

Quest'ultimo è un insieme ciclico di reazioni enzimatiche, nel quale si verifica l'ossidazione dei residui acetici a biossido di carbonio (anidride carbonica,  $\text{CO}_2$ ). Il ciclo sviluppa energia chimica che viene accumulata dalla cellula sotto forma di ATP.

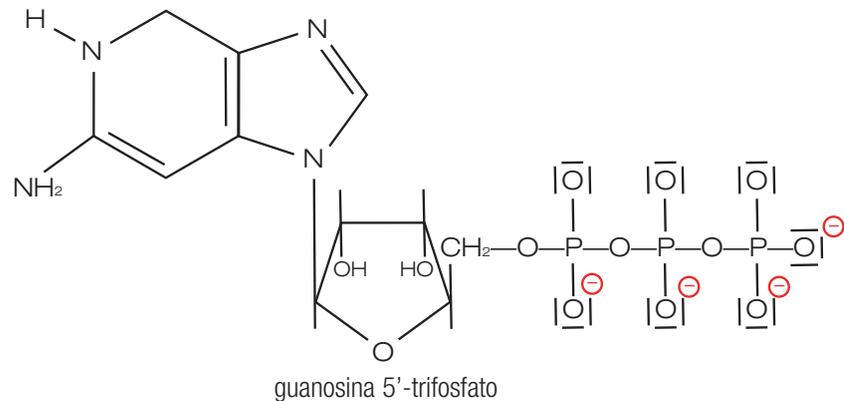
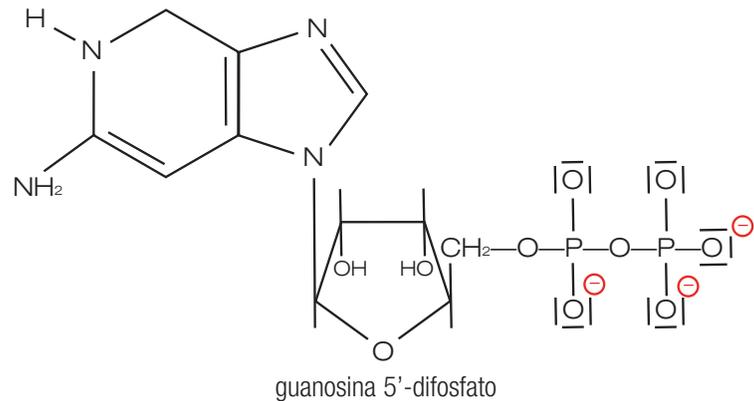
Il ciclo di Krebs può essere rappresentato con il seguente schema:



Dallo schema si evince che il complesso acetil coenzima A reagisce con l'ossalacetato, proveniente dallo stesso ciclo, trasformandosi successivamente in citrato, isocitrato,  $\alpha$ -chetoglutarato, succinil coenzima A, succinato, fumarato, L-malato, per mezzo dell'azione catalitica di diversi enzimi.

Alla fine del ciclo di Krebs l'anione L-malato viene trasformato in ossalacetato, che reagisce nuovamente con un'altra molecola di complesso acetil coenzima A, ricominciando il ciclo.

Si può notare che nella trasformazione del succinil CoA in anione succinato, per mezzo dell'enzima succinil CoA sintetasi, interviene dall'esterno il GDP (guanosi- na 5'-difosfato) che, reagendo con un gruppo fosforico, diviene GTP (guanosi- na 5'- trifosfato):



Successivamente il GTP cede il gruppo fosforico all'ADP (che diviene ATP), per mezzo dell'enzima nucleoside difosfato chinasi (in presenza di ioni magnesio), ritornando sottoforma di GDP:



Il ciclo di Krebs viene anche detto ciclo dell'acido citrico o ciclo degli acidi tricarbossilici.

## 7.4 Gluconeogenesi

Le cellule del nostro organismo hanno un bisogno costante di glucosio per le loro attività metaboliche. Esse riescono, attraverso un processo metabolico detto **gluconeogenesi**, a produrre glucosio partendo da composti che non sono carboidrati.

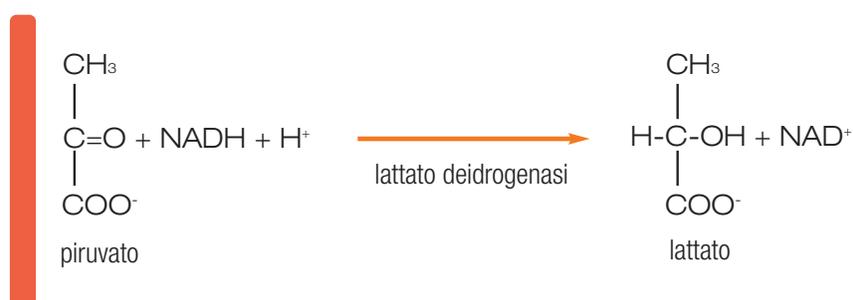
Negli animali le cellule del fegato possono ottenere glucosio attraverso questa via partendo da aminoacidi, da acido lattico, dal glicogeno e dal piruvato.

Un esempio interessante dell'impiego della gluconeogenesi è quello delle cellule muscolari quando gli stessi muscoli sono sottoposti a sforzi pesanti.

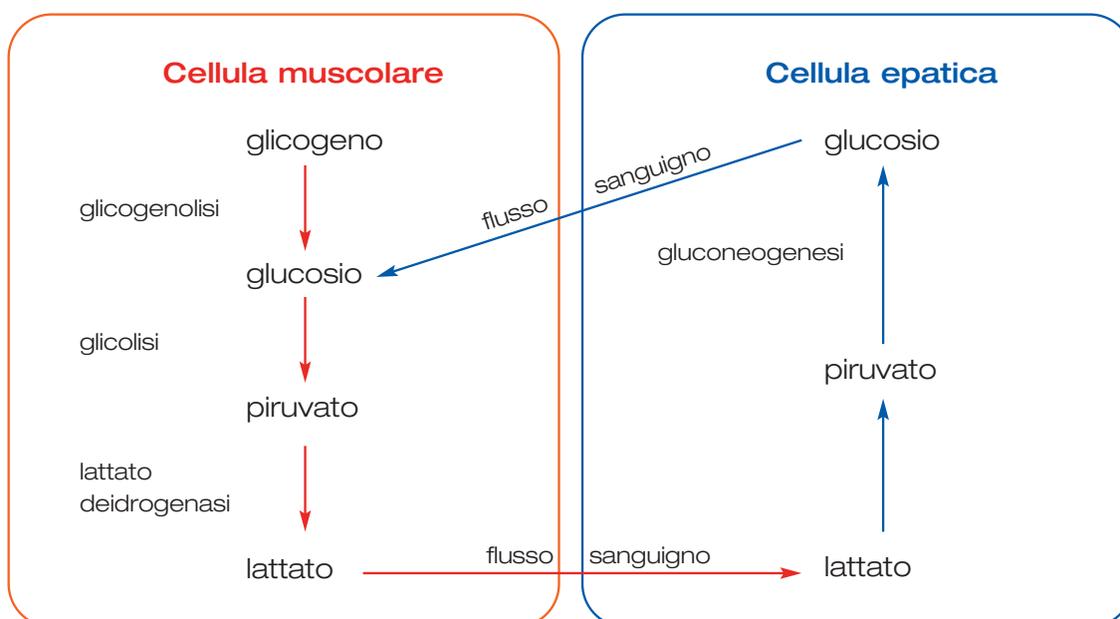
Le cellule muscolari producono ATP dalla fosforilazione ossidativa dell'ADP per mezzo dell'ossigeno proveniente dalla respirazione e del coenzima NAD<sup>+</sup>.

Durante il processo di fosforilazione ossidativa il NAD<sup>+</sup> si riduce a NADH, e la forma ridotta del coenzima nicotinammide dinucleotide non riesce a metabolizzare il piruvato (CH<sub>3</sub>-CO-COO<sup>-</sup>) che si forma.

A questo punto interviene l'enzima lattato deidrogenasi che trasforma il NADH in NAD<sup>+</sup> rigenerandolo e il piruvato in lattato:



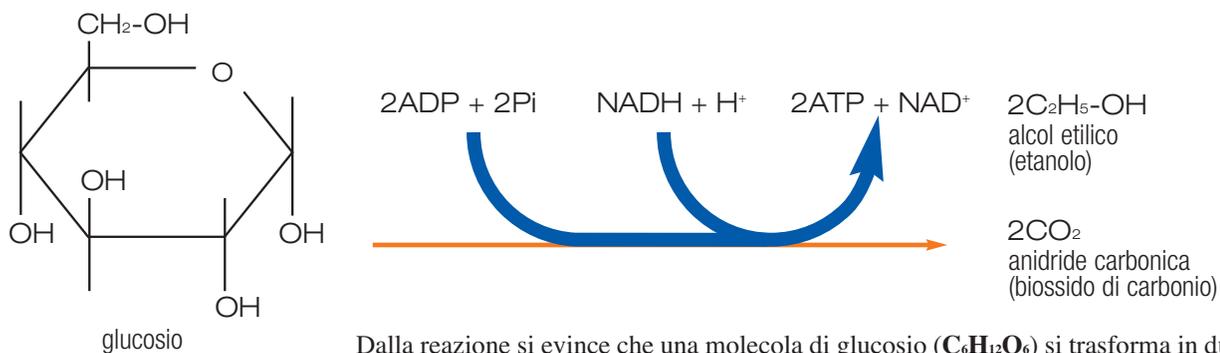
La cellula muscolare però non riesce a metabolizzare il lattato, che viene quindi espulso dalla cellula e, attraverso il flusso sanguigno, arriva alle cellule epatiche. Le cellule epatiche metabolizzano il lattato in piruvato, e successivamente attraverso la gluconeogenesi lo trasformano in glucosio:



## 7.5 Le fermentazioni

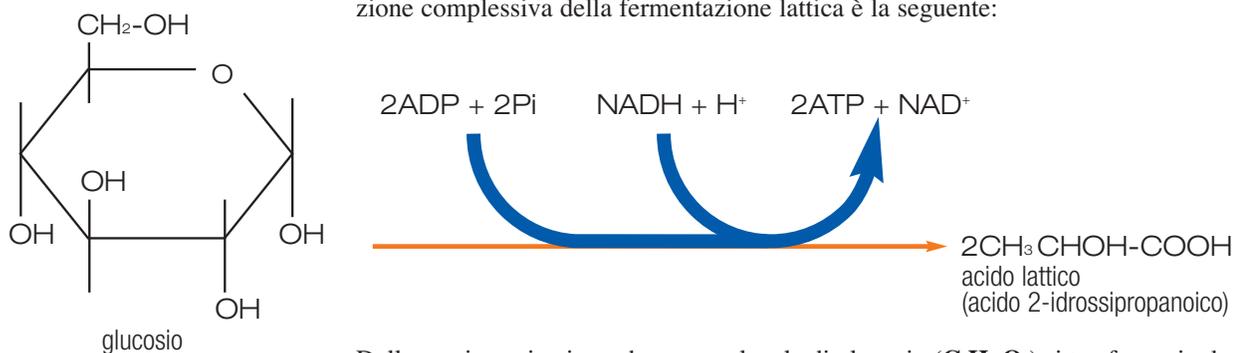
Le fermentazioni sono reazioni biochimiche anaerobiche prodotte da lieviti e batteri che trasformano i carboidrati in altre sostanze come alcol e acidi carbossilici. Esempi classici sono la fermentazione alcolica nella produzione di vino, birra e mosti per la produzione di superalcolici e la fermentazione lattica nella produzione dello yogurt.

La **fermentazione alcolica** avviene in presenza dei lieviti Saccaromiceti *Cervisiae*; la reazione complessiva della fermentazione alcolica è la seguente:



Dalla reazione si evince che una molecola di glucosio ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) si trasforma in due molecole di alcol etilico ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).

La **fermentazione lattica** avviene in presenza di streptococchi (lactobacilli); la reazione complessiva della fermentazione lattica è la seguente:



Dalla reazione si evince che una molecola di glucosio ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) si trasforma in due molecole di acido lattico ( $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$ ).

## 8 Il metabolismo dei grassi

I grassi, per il loro elevato contenuto calorico (tabella 4), sono sostanze molto importanti per l'approvvigionamento energetico degli esseri viventi; inoltre essi compongono le membrane e le pareti cellulari.

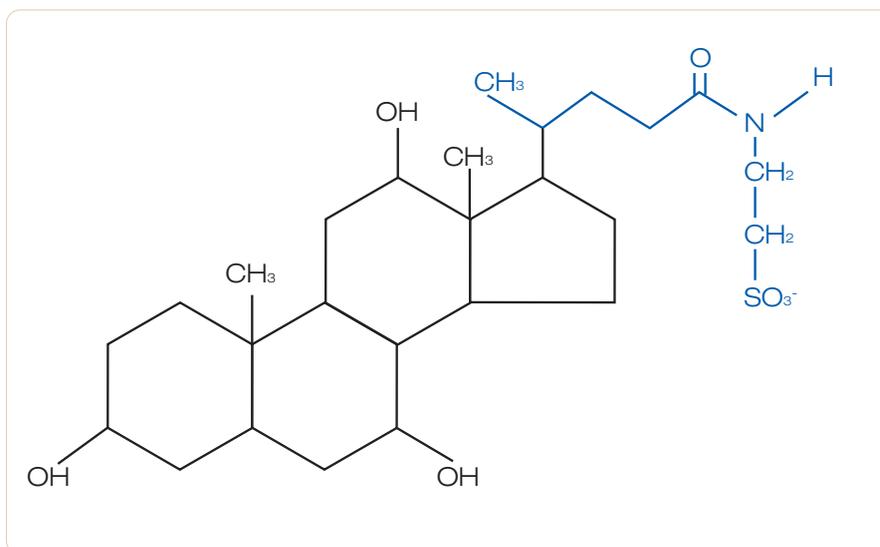
Alimento	Kcal/g	kJ/g
Grassi	9	37,6
Alcol etilico	7	24,3
Proteine	4	16,7
Carboidrati	4	16,7

**Tabella 4**  
Valori energetici degli alimenti

I nutrienti che lasciano lo stomaco contengono grassi sotto forma di trigliceridi. Questi grassi vengono emulsionati dai sali biliari prodotti dal fegato.

I sali biliari, come l'**acido taurocolico** (figura 13), sono composti da una struttura lipofila steroidea (struttura ciclopentanperidrofenantrenica) e da una parte idrofila. Come altri emulsionanti, l'acido taurocolico lega la propria parte lipofila ai grassi lasciando la parte idrofila all'esterno in modo tale che essa reagisca con la fase acquosa.

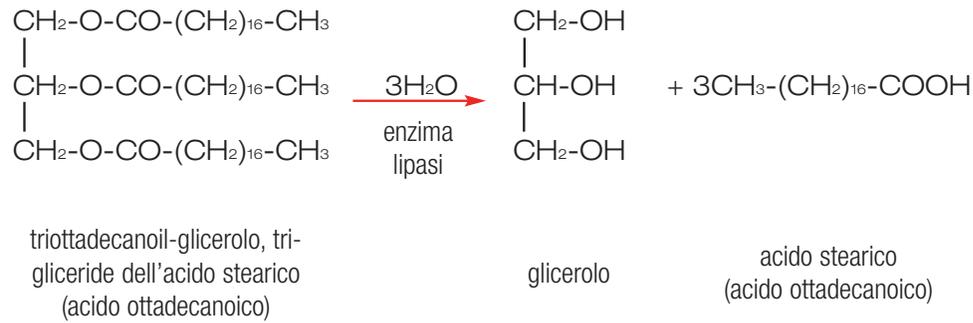
Il risultato è che i grassi vengono finemente dispersi nel mezzo acquoso in piccolissime particelle dette **micelle**.



**Figura 13**  
La struttura dell'acido taurocolico (in blu la parte idrofila)

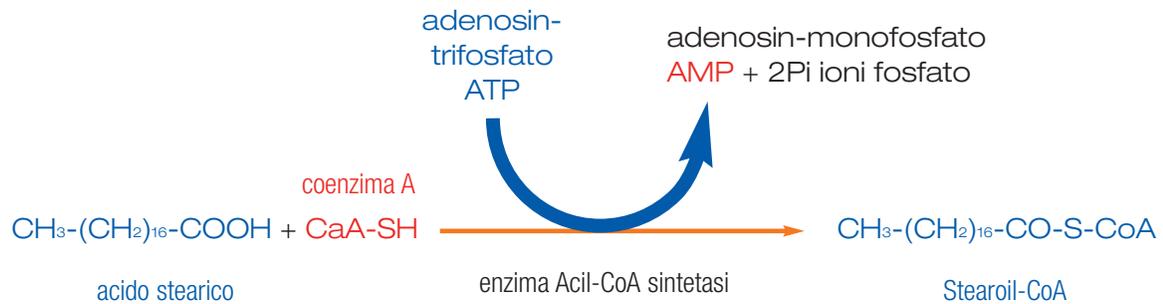
I trigliceridi presenti nelle micelle di grasso vengono idrolizzati a glicerolo (glicerina) e acidi grassi per mezzo dell'enzima lipasi.

Ad esempio il trigliceride a base di acido stearico subisce la seguente idrolisi:



La glicerina così prodotta viene impiegata dalle cellule nei processi di glicolisi e di gluconeogenesi (si veda il paragrafo 6).

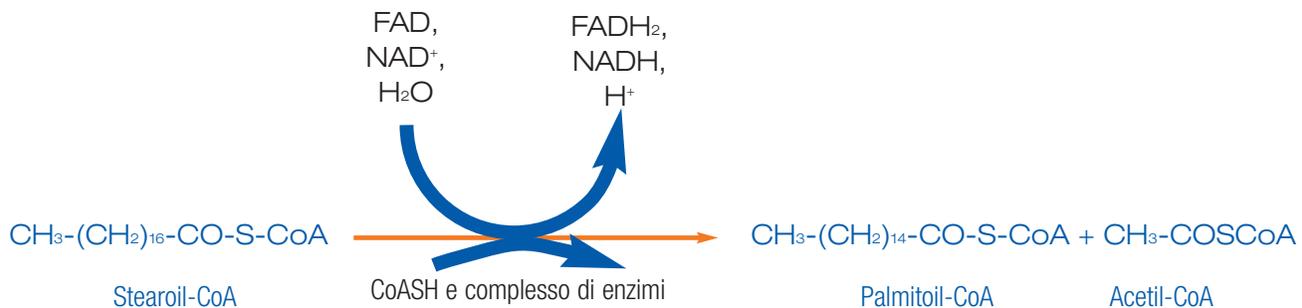
L'acido stearico subisce la trasformazione in Stearoil-CoA attraverso una reazione enzimatica che può essere così riassunta:



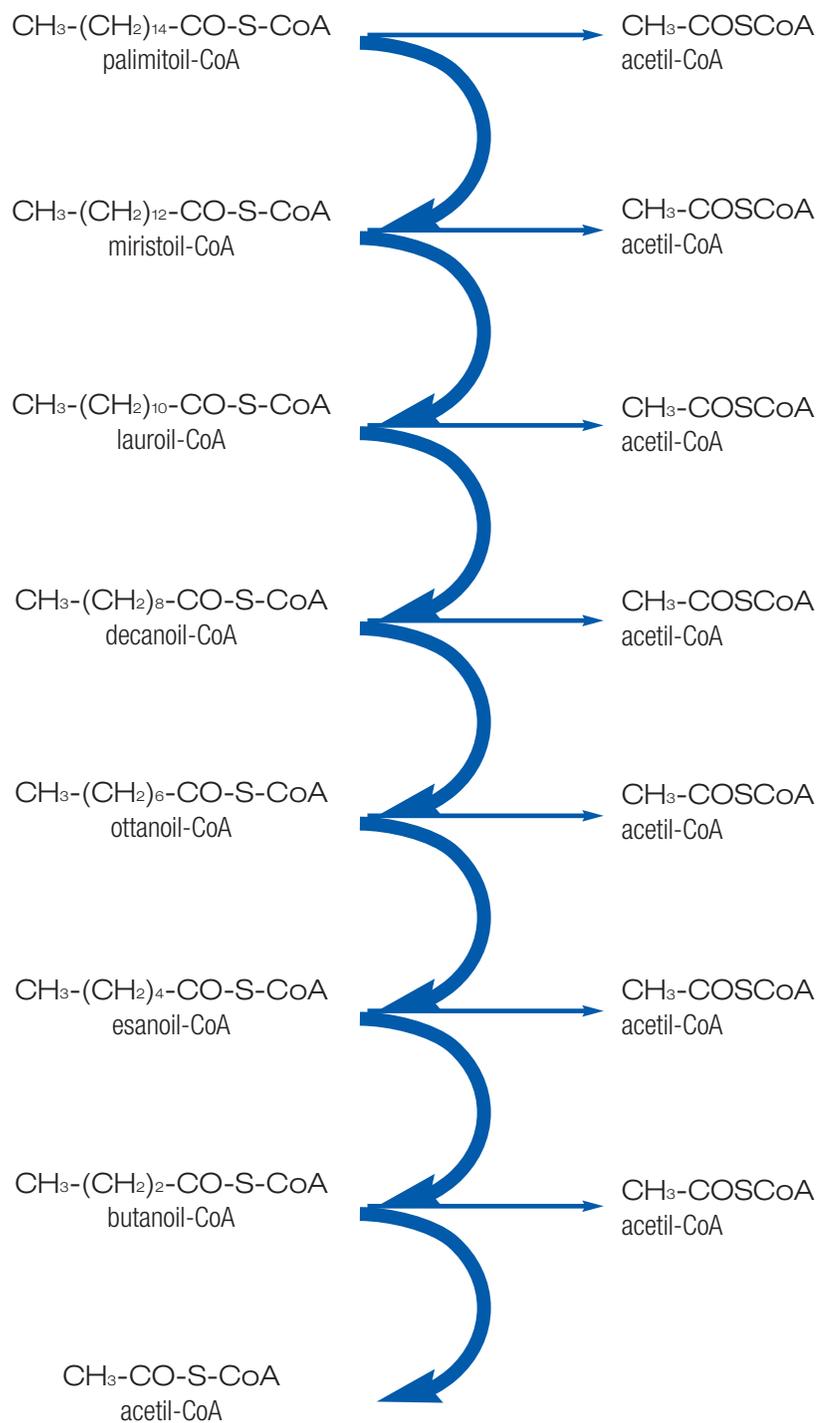
In questa reazione si può notare che la molecola di ATP subisce una doppia defosforilazione e si trasforma in AMP (adenosin-monofosfato).

Una volta formato, lo Stearoil-CoA subisce il processo di  $\beta$ -ossidazione per mezzo di quattro enzimi (Acil-CoA-deidrogenasi, Enoil-CoA-idratasi,  $\beta$ -idrossiacil-CoA-deidrogenasi, Tiolasi) e dei coenzimi FAD,  $\text{NAD}^+$  e CoASH in presenza di acqua.

In questo processo lo Stearoil-CoA perde due atomi di carbonio della catena idrocarburica dell'acido grasso con formazione di Palmitoil-CoA e una molecola di  $\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA}$  (acetil coenzima A):



Il processo di  $\beta$ -ossidazione continua, ripetendosi, fino alla completa demolizione dell'acido grasso e alla formazione complessiva di nove molecole di acetil coenzima A:



La reazione complessiva della  $\beta$ -ossidazione dell'acido stearico è la seguente:

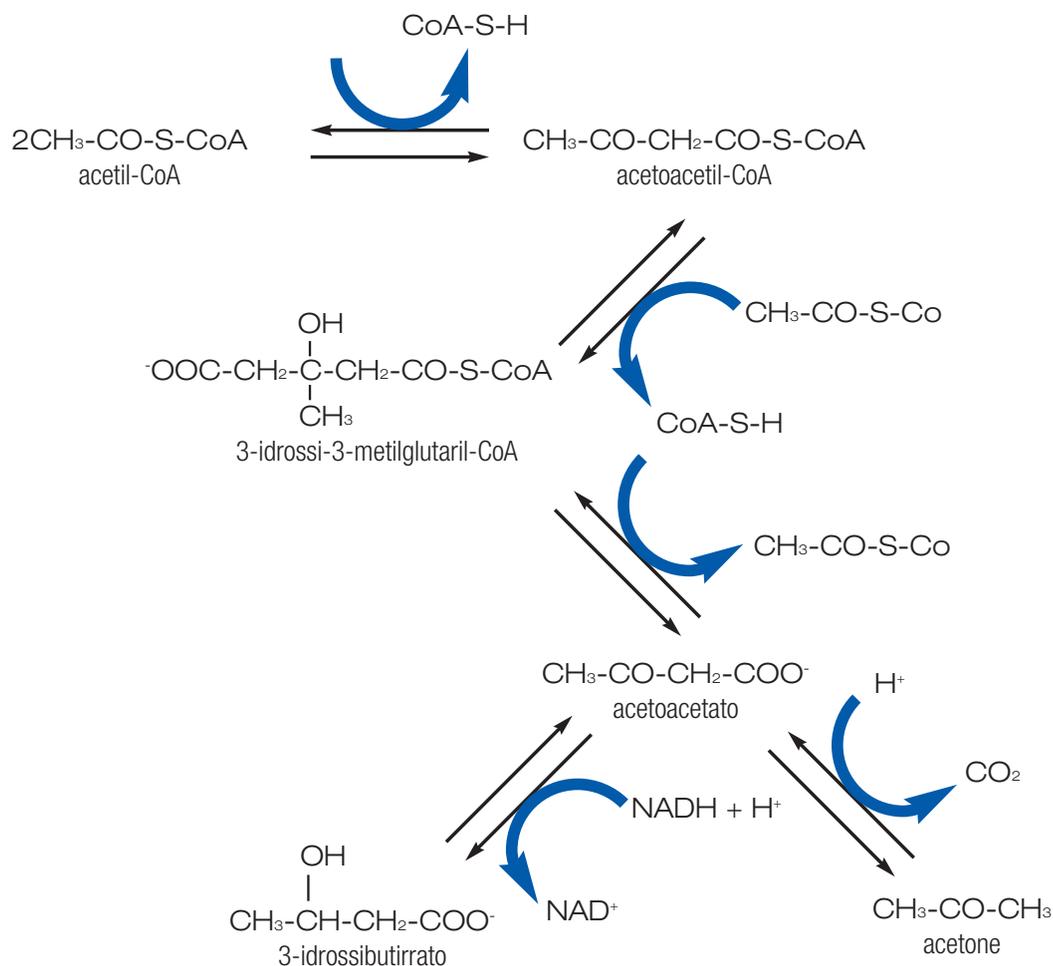


Complessivamente si ottengono nove molecole di acetil coenzima A che vengono ossidate completamente nel ciclo di Krebs (si veda il paragrafo 6) e producono 108 molecole di ATP.

Inoltre le forme ridotte dei coenzimi Nicotinammide Dinucleotide e Flavin Adenin Dinucleotide, rispettivamente NADH e FADH<sub>2</sub>, producono 30 molecole di ATP.

L'acido grasso, per essere attivato, ha bisogno di 2 molecole di ATP, per cui da una molecola di acido stearico si ottengono in totale 146 molecole di ATP.

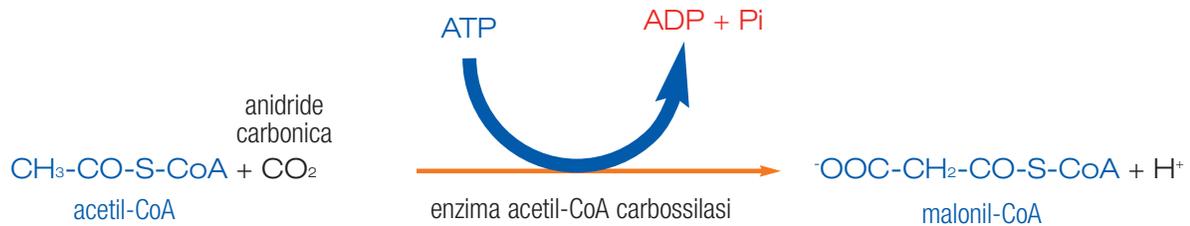
L'acetyl coenzima A può prendere un'altra via metabolica: può essere trasformato in acido acetacetico, acido  $\beta$ -idrossibutirrico ed acetone, attraverso un processo che può essere così schematizzato:



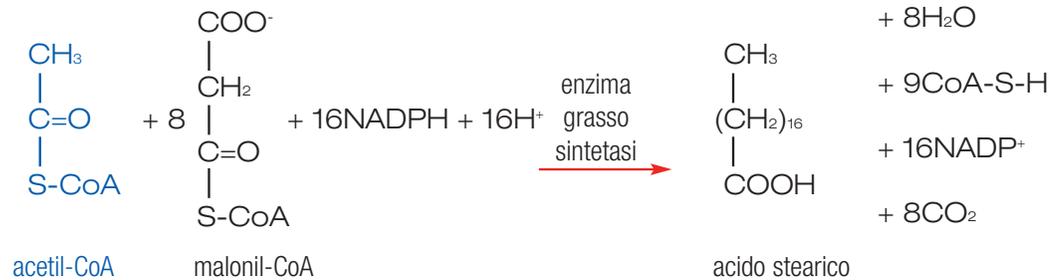
Questo processo si realizza quando l'apporto di nutrienti all'organismo è scarso. L'acido acetacetico, l'acido β-idrossibutirrico e l'acetone vengono detti **corpi chetonici**.

Gli esseri viventi sono capaci di sintetizzare gli acidi grassi partendo dall'acetil coenzima A, attraverso un processo catalizzato da un insieme di enzimi detto **acido grasso sintetasi**.

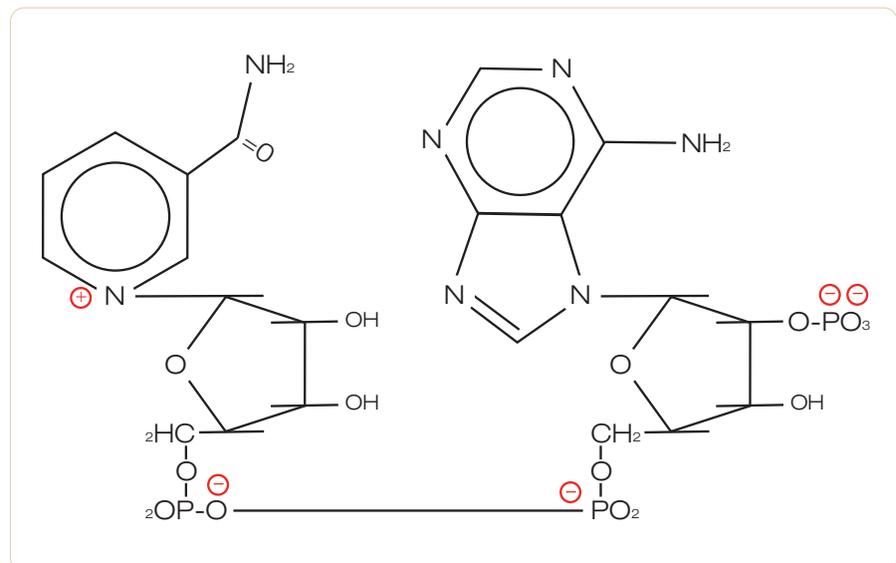
Il processo inizia dalla trasformazione dell'acetil coenzima A in malonil CoA catalizzata dall'enzima dell'acetil CoA carbossilasi:



Il malonil CoA reagisce con altro acetil CoA formando l'acido stearico:



Dalla reazione possiamo notare che partecipa il coenzima NADP<sup>+</sup> (nicotinammide adenin dinucleotidofosfato forma ridotta, **figura 14**), che è la variante fosforilata del NAD<sup>+</sup>.



**Figura 14**  
La struttura del NADP<sup>+</sup> (nicotinammide adenin dinucleotidofosfato)

## 9 Il metabolismo delle proteine

Le proteine sono sostanze «plastiche», cioè compongono le parti strutturali degli esseri viventi.

Esse vengono impiegate come fonte di energia solamente in casi di forte carenza dell'approvvigionamento calorico, come potrebbe essere un digiuno prolungato.

Negli organismi animali si ha una continua demolizione e ricostruzione di tessuti, per questo motivo le proteine acquisite dagli alimenti sono fonti di aminoacidi.

Alcuni di questi aminoacidi sono essenziali, ovvero non sono sintetizzabili dagli organismi animali da altri nutrienti e si devono assumere per forza dalla dieta.

Le proteine ingerite dalla dieta vengono «smontate» e trasformate nei loro monomeri, gli aminoacidi, i quali vengono utilizzati – come abbiamo già detto – per formare nuove proteine adatte ai tessuti animali.

Si calcola che, ogni giorno, il turn over di proteine in un organismo animale sia mediamente di 400 grammi e che il fegato si rinnovi completamente in tre settimane.

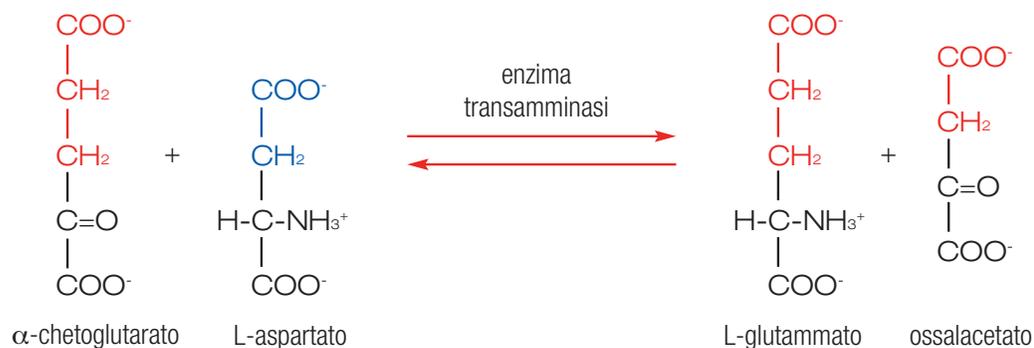
Quando gli aminoacidi vengono avviati ai processi metabolici, essi subiscono il trasferimento reversibile del gruppo funzionale amminico (**transamminazione**), oppure il processo ossidativo di **deamminazione**.

### 9.1 Transamminazione

La transamminazione di un aminoacido è la reazione di trasferimento reversibile del gruppo funzionale amminico ( $-NH_2$ ) da un aminoacido ad un  $\alpha$ -chetoacido.

Quest'ultimo è un acido carbossilico che nella posizione successiva al gruppo funzionale carbossilico ( $-COOH$ ) porta un carbonile ( $>C=O$ ).

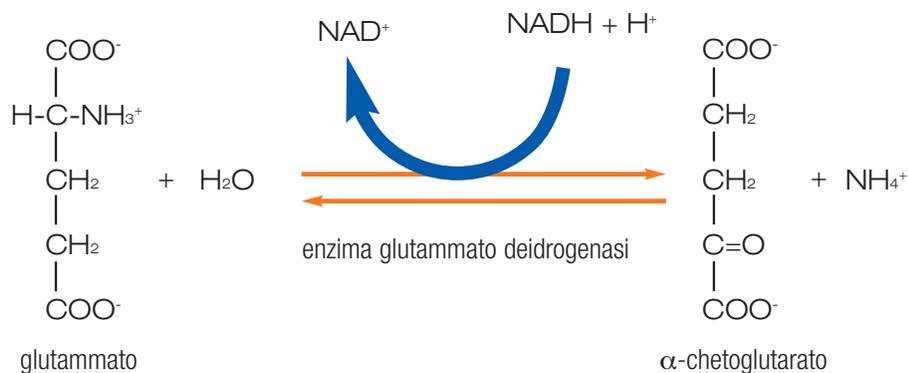
La reazione viene catalizzata da enzimi detti transamminasi o amminotransferasi. Proponiamo un esempio:



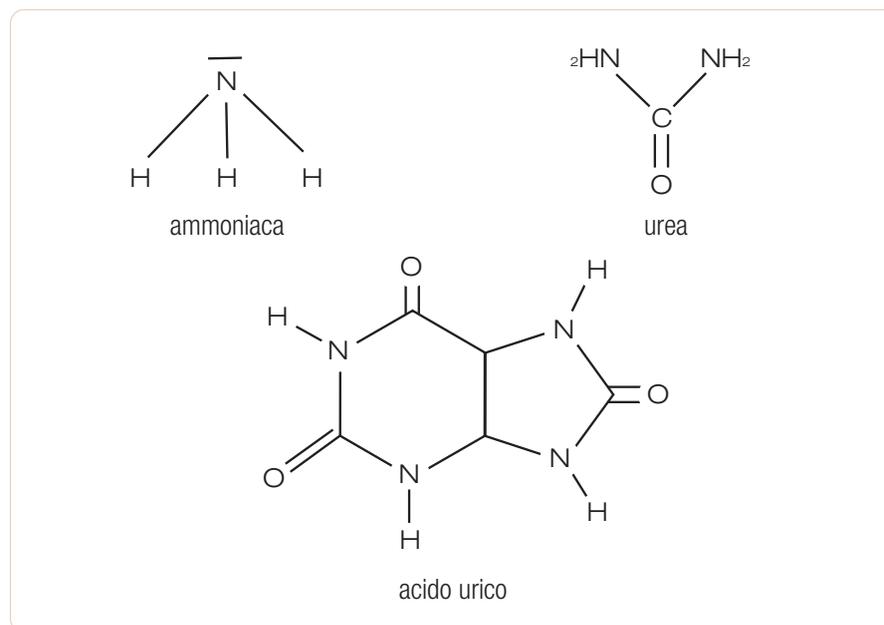
Una volta sintetizzato, l'ossalacetato prende la via del ciclo di Krebs.

## 9.2 Deaminazione ossidativa

Si tratta di una reazione di ossidazione che viene catalizzata da enzimi classificati come amminoacido ossidasi. Di seguito riportiamo un esempio:



L'α-chetoacido viene inviato al ciclo di Krebs; l'ammoniaca prodotta in questa reazione sotto forma di ione ammonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), essendo una sostanza tossica, viene espulsa dagli animali in vari modi, sotto forma di **acido urico** da rettili e uccelli, **urea** dai mammiferi e squali e **ammoniaca** dai pesci (figura 15).

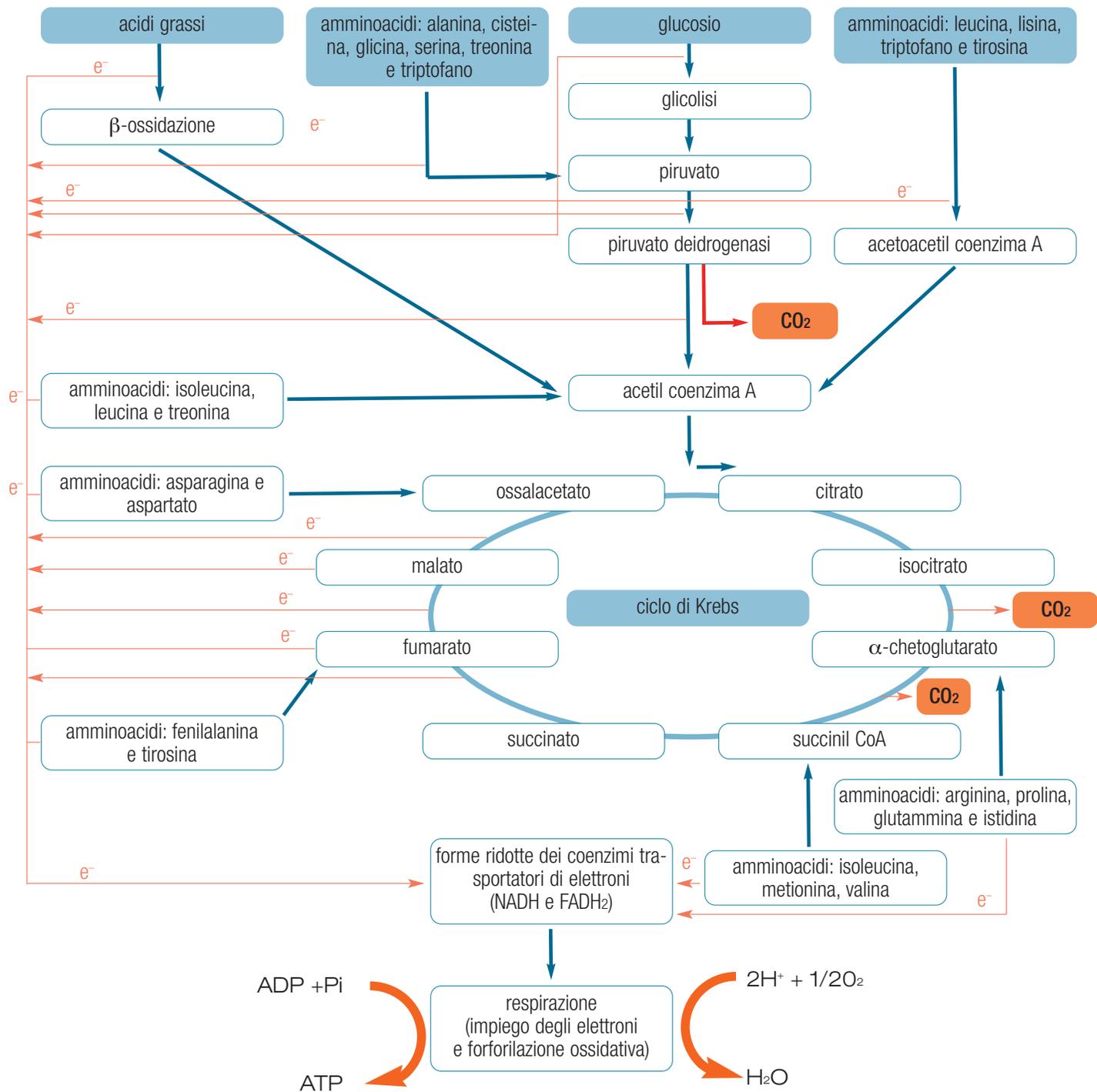


**Figura 15**  
Struttura di ammoniaca, urea e acido urico

In un organismo vivente animale il catabolismo di nutrienti, carboidrati, acidi grassi e amminoacidi si esplica in tre stadi: la sintesi dell'acetil coenzima A, la sua ossidazione e lo spostamento degli elettroni.

Il tutto è collegato alla fosforilazione ossidativa e alla catena respiratoria.

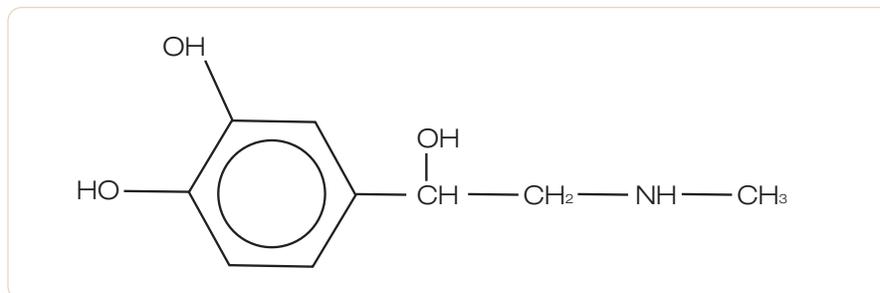
In figura 16 è riportato un quadro sinottico che riassume il catabolismo dei nutrienti.



**Figura 16**  
Quadro sinottico del catabolismo dei nutrienti

## 10 Ormoni

Gli ormoni sono molecole secrete dalle cellule endocrine. Coordinano l'attività di controllo e comunicazione tra le cellule e i vari tessuti che compongono l'essere vivente.



**Figura 17**  
Formula di struttura dell'ormone adrenalina

L'ormone adrenalina (figura 17), ad esempio, svolge la funzione di controllo del metabolismo energetico nel fegato e nel muscolo e interviene se l'animale si trova in un caso di emergenza.

Tutto parte dal cervello attraverso impulsi neuronali che inducono le cellule endocrine a liberare l'ormone adrenalina, il quale fa aumentare la frequenza del battito cardiaco e la pressione sanguigna.

Il sangue così è messo in condizione di ricevere una maggiore quantità di ossigeno. Vengono in tal modo favoriti tutti i processi ossidativi che producono energia a scapito dei processi riduttivi.

Un altro interessante esempio di controllo dei processi metabolici è la regolazione (omeostasi) della concentrazione del glucosio nel sangue dell'uomo.

Dopo aver mangiato aumenta la concentrazione di glucosio nel sangue, se ciò avvenisse in maniera incontrollata causerebbe gravissimi danni al sistema cardiocircolatorio, e in breve tempo si giungerebbe alla morte.

Per evitare ciò il pancreas libera nel sangue insulina, la quale stimola i muscoli a consumare glucosio.

Se invece la concentrazione del glucosio nel sangue si abbassa interviene il glucagone che induce il fegato a idrolizzare il glicogeno, che poi viene liberato nel flusso sanguigno.

## 11

## Acidi nucleici

Gli acidi nucleici hanno un ruolo determinante nei processi vitali di qualsiasi essere vivente. Essi infatti sono i trasportatori del **codice genetico**, quella vasta serie di informazioni biochimiche che consente a ciascun organismo vivente di essere «unico». Gli acidi nucleici controllano la sintesi di tutte le proteine, agendo sui meccanismi che assemblano gli aminoacidi nella costruzione delle proteine stesse. Gli acidi nucleici sono il **DNA** (acido deossiribonucleico) e l'**RNA** (acido ribonucleico). I componenti fondamentali degli acidi nucleici sono gli aldopentosi, le basi azotate (già incontrate nel paragrafo 3), che si uniscono formando i **nucleosidi** (figure 18 e 19).

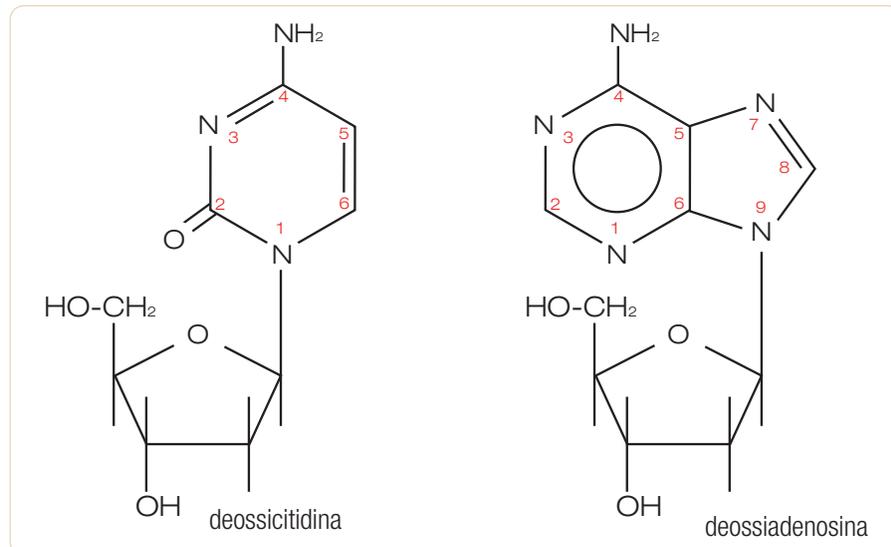


Figura 18

Formula di struttura di due desossiribonucleosidi (DNA)

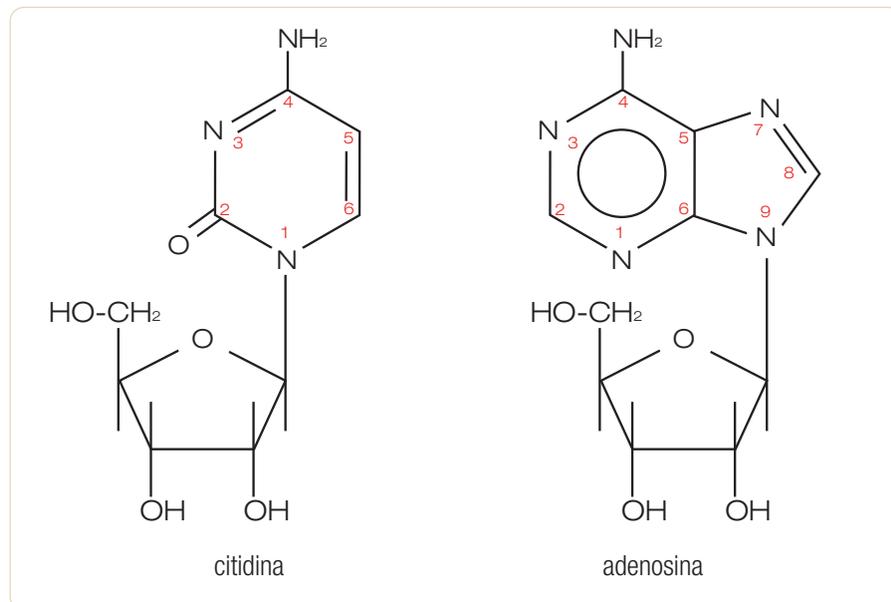


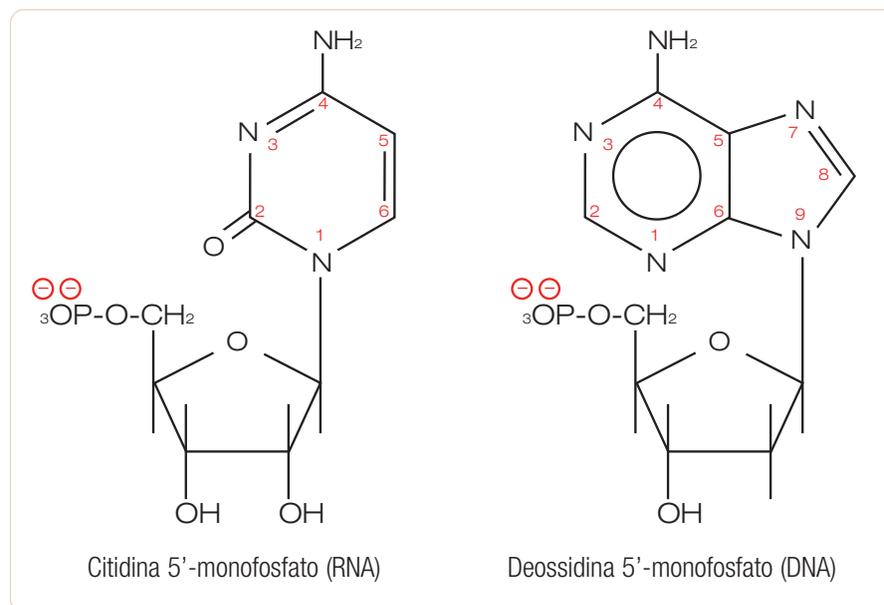
Figura 19

Formula di struttura di due ribonucleosidi (RNA)

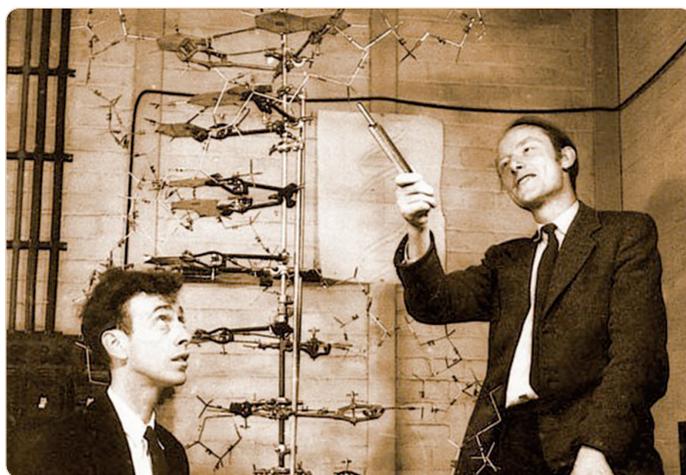
Deossiribonucleotide	Ribonucleotide	Base azotata di provenienza
Deossiadenosina	Adenosina	Adenina
Deossiguanosina	Guanosina	Guanina
	Uridina	Uracile
Deossicitidina	Citidina	Citosina
Deossitimidina		Timina

**Tabella 5**  
Elenco di nucleosidi

Reagendo con l'acido fosforico, i nucleosidi si trasformano in esteri fosforici detti **nucleotidi** (figura 20).



**Figura 20**  
Formula di struttura di due nucleotidi: a destra un desossiribonucleotide (DNA); a sinistra un ribonucleotide (RNA)

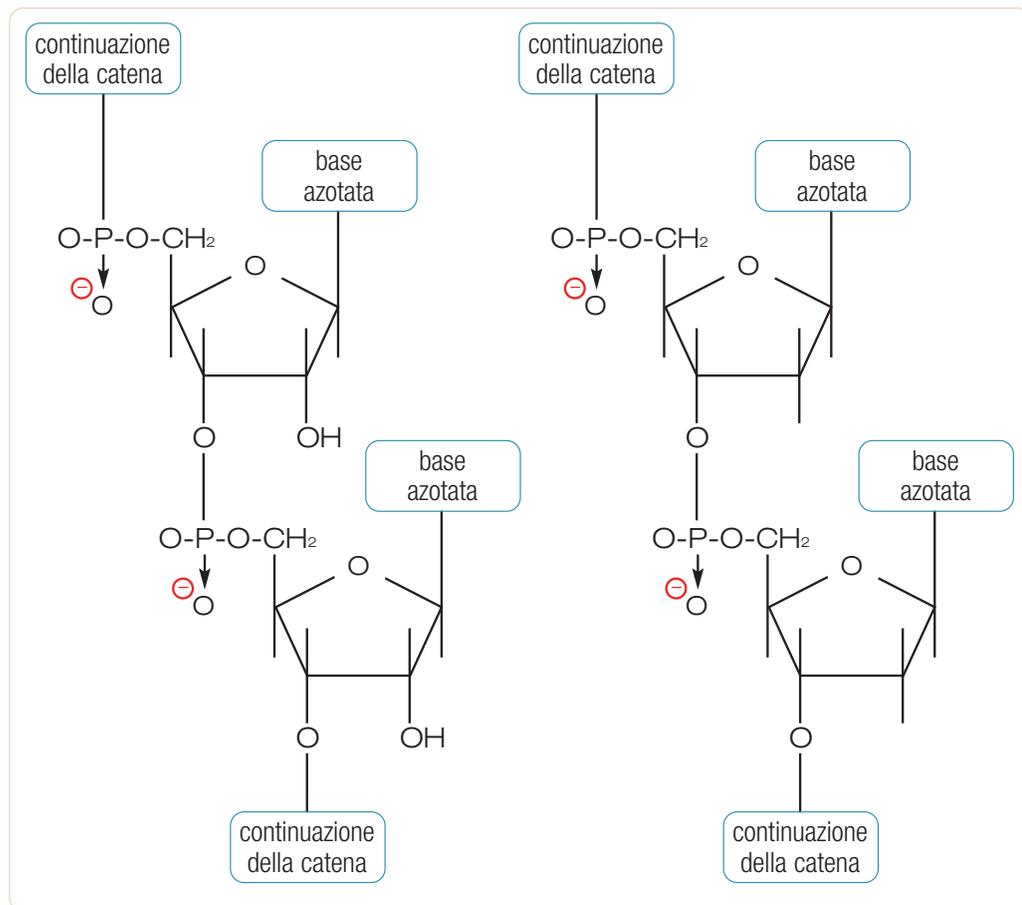


**Figura 21**  
Francis Crick (1916 - 2004) e James Watson (1928)

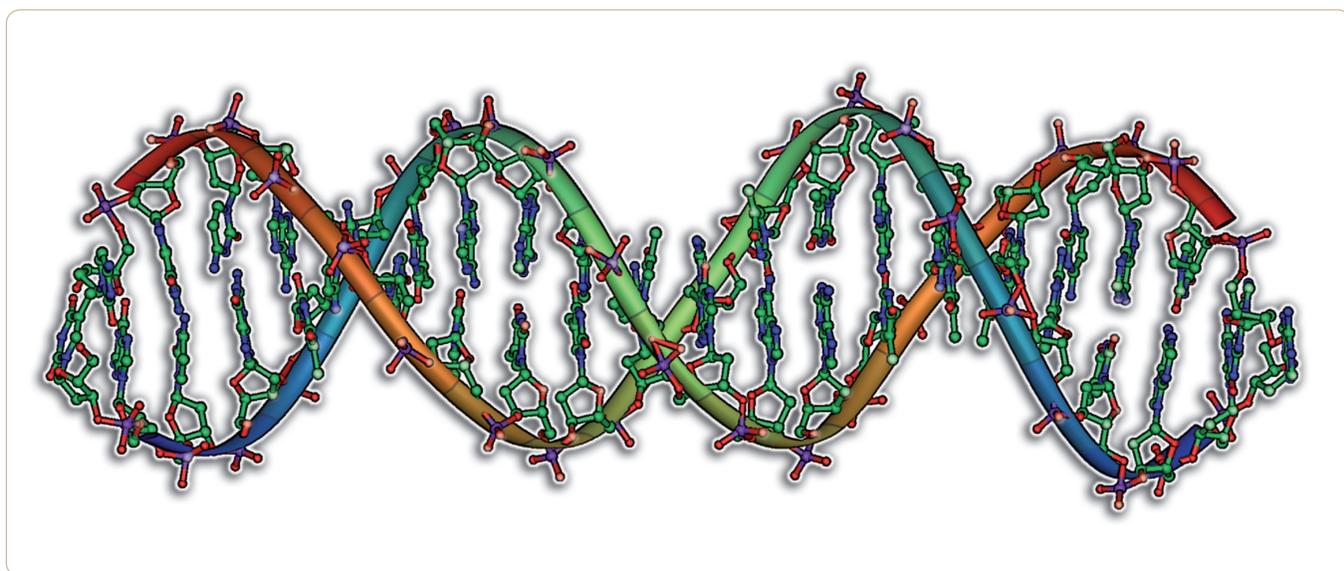
I nucleotidi, siano essi i desossiribonucleotidi (DNA) che ribonucleotidi, si legano attraverso un legame fosfodiesterico formando catene lunghissime (milioni di molecole) e formano la **struttura primaria** degli acidi nucleici DNA e RNA (figura 22).

Watson e Crick (premi Nobel per la Medicina nel 1962), partendo dagli studi sulla diffrazione ai raggi X dei cristalli di DNA effettuati agli inizi degli anni '50 dalla chimica inglese Rosalind Franklin (1920 - 1958), dimostrarono che le lunghe catene del DNA si avvolgono tra loro a spirale in maniera tale da avere un asse di simmetria. In questa struttura le lunghe catene (o filamenti) hanno versi opposti e antiparalleli (figura 23).

I due filamenti che compongono la spirale sono legati tra loro attraverso legami idrogeno e legami dipolari del tipo di Van Der Waals.

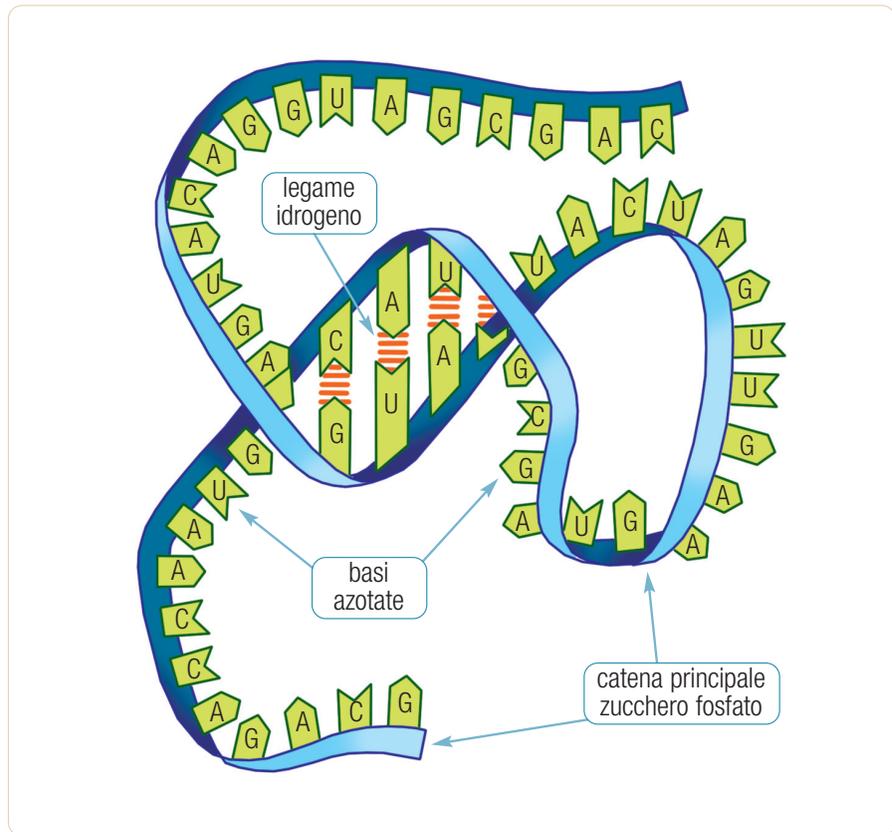


**Figura 22**  
Strutture di due frammenti di catene primarie di DNA (a destra) e di RNA (a sinistra)



**Figura 23**  
La struttura del DNA

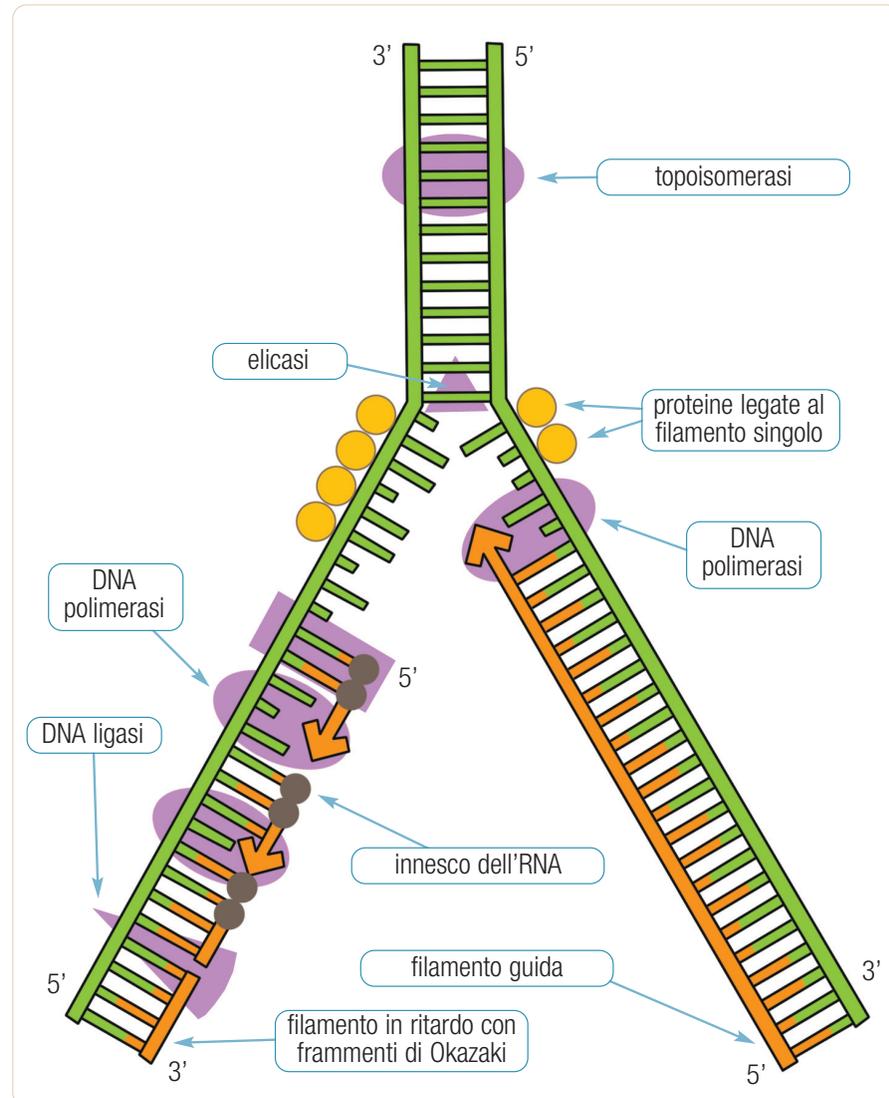
L'RNA è invece caratterizzato da un singolo filamento (figura 24).



**Figura 24**  
La struttura dell'RNA

## 12 Replicazione del DNA, RNA e sintesi proteica

La replicazione del DNA avviene col meccanismo riassunto nelle figure 25, 26 e 27.



**Figura 25**  
Replicazione del DNA

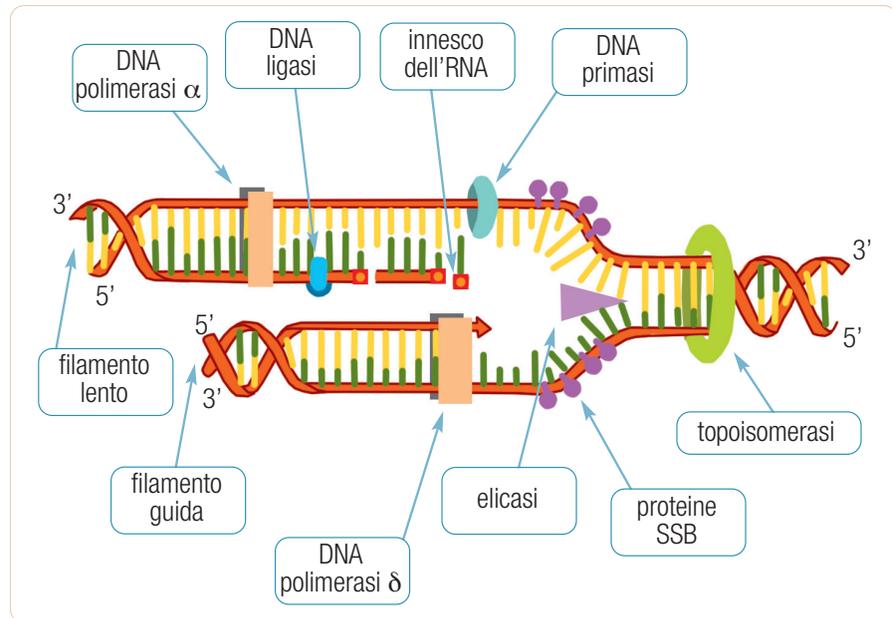
La replicazione del DNA parte quando la sua doppia elica viene aperta dagli enzimi elicasi e topoisomerasi.

Un filamento, detto **filamento guida**, viene replicato in maniera quasi continua all'atto dell'apertura del doppio filamento originario.

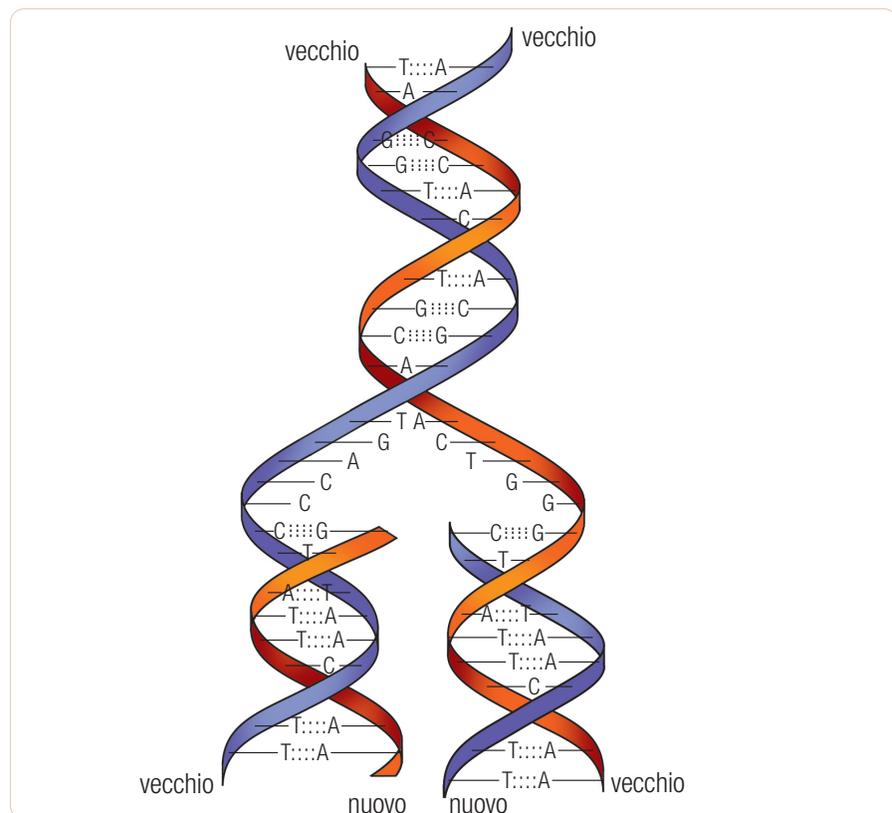
Il **filamento in ritardo** invece viene scomposto in corti filamenti di DNA, detti **frammenti di Okazaki**. Questi ultimi hanno, all'inizio della catena, un pezzo di RNA; questi frammenti di RNA vengono detti **inneschi**.

I filamenti così prodotti vengono completati quando si ha il riempimento degli spazi

vuoti ad opera di enzimi polimerasi di riparazione, e l'eliminazione degli inneschi di RNA per mezzo di enzimi endonucleasi. Infine si completa la replicazione del DNA con l'unione di tutti i frammenti di DNA di sintesi per mezzo degli enzimi DNA ligasi.



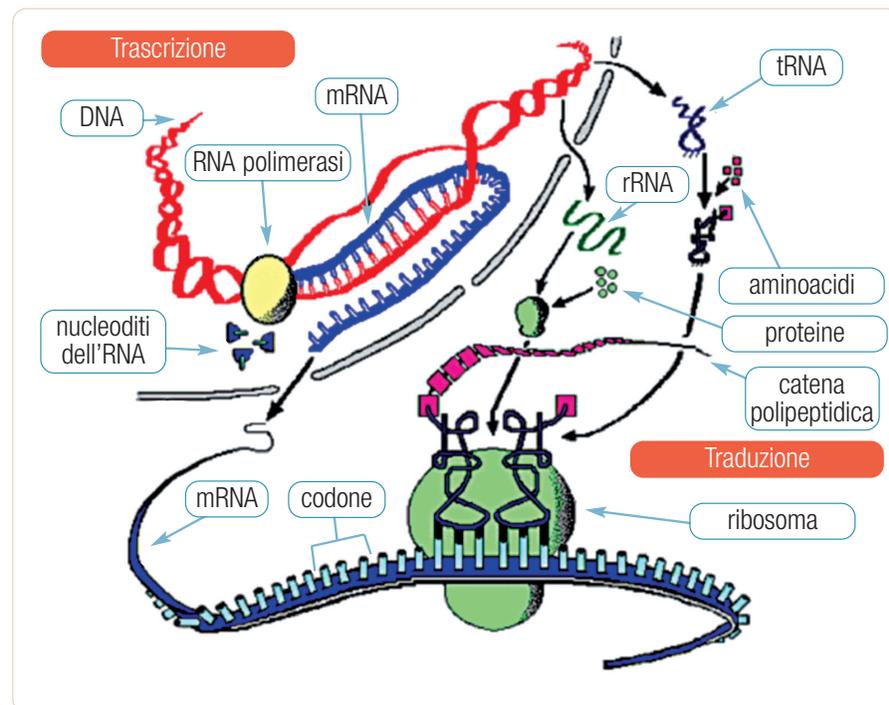
**Figura 26**  
Schema generale della replicazione del DNA



**Figura 27**  
Altro schema generale della replicazione del DNA

Le proteine variano da animale ad animale e quindi, per costruire nuovi tessuti, occorre che l'animale assuma dalla dieta proteine provenienti da altri esseri viventi. Una volta ingerite le proteine, l'apparato digerente le «smonta», aminoacido per aminoacido, e invia questi ultimi alle cellule atte alla sintesi delle proteine. Queste devono essere costruite assemblando gli aminoacidi in maniera corretta secondo un ordine preciso, e per ottenere ciò si devono seguire le istruzioni contenute nel codice genetico del DNA.

All'interno del nucleo le due eliche del DNA si aprono attraverso degli enzimi specifici, e si verifica il processo della **trascrizione** con il quale si produce un filamento di RNA messaggero.



**Figura 28**  
Schema di sintesi delle proteine

La sequenza delle basi azotate dell'mRNA (messaggero) è complementare a quella del DNA, quindi l'RNA messaggero ha la funzione di trasportare l'informazione genetica del DNA contenuta nei cromosomi.

I **cromosomi** sono strutture molecolari contenenti il DNA; l'insieme dei cromosomi è detto **genoma**.

A trascrizione ultimata il filamento di DNA coinvolto nella trascrizione si unisce nuovamente all'altro filamento di partenza.

L' mRNA (messaggero) trasporta l'informazione genetica detenuta dal DNA dei cromosomi del nucleo ai ribosomi, che nelle cellule eucariote si trovano all'esterno del nucleo.

I **ribosomi** si trovano all'interno del citoplasma e sono formati dall'rRNA (ribosomiale) e da proteine; essi sono particolari organuli atti alla sintesi delle proteine.

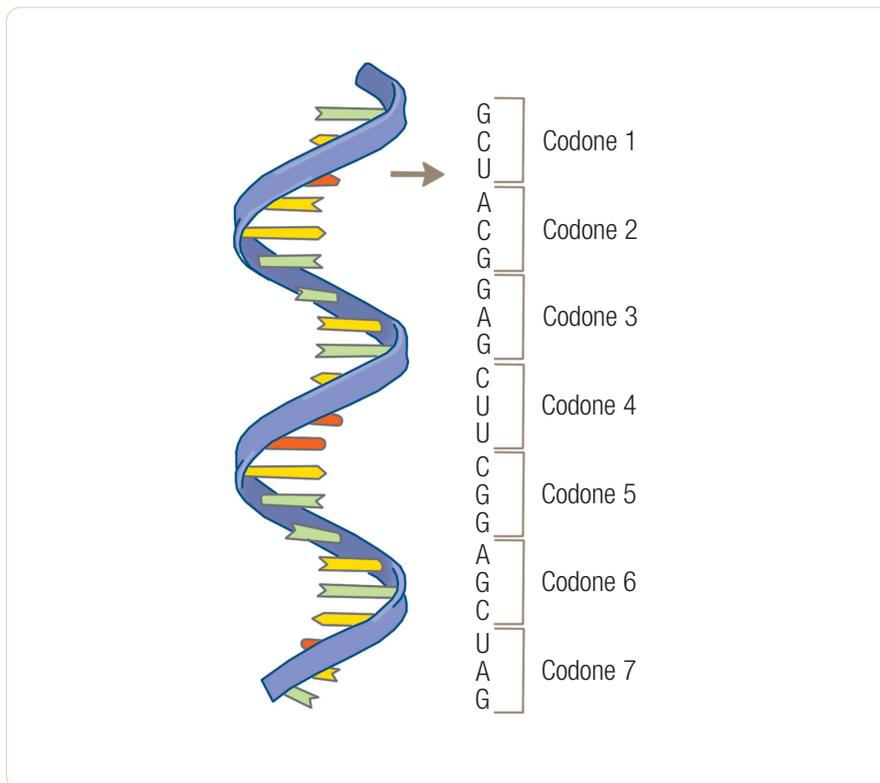
A questo punto comincia la seconda fase detta di **traduzione** nella quale viene appunto tradotta l'informazione genetica trasportata dal mRNA.

Una volta che l'RNA messaggero fuoriesce dal nucleo e arriva ai ribosomi interviene il tRNA (transfer), il quale è atto al riconoscimento ed al trasporto degli aminoacidi.

Il tRNA lega a sé l'aminoacido prescelto, per mezzo di enzimi che sono specifici per ogni aminoacido, e si allinea all'RNA messaggero cedendo l'aminoacido. L'RNA messaggero attira su di sé l'aminoacido attraverso le sequenze di tre nucleotidi, dette triplette o **codoni** (figura 29) e va a legarsi alla catena polipeptidica della proteina in costruzione.

Nella costruzione delle proteine gli aminoacidi si uniscono, per formare la catena polipeptidica, uno per volta.

Esistono dei codoni particolari detti **codoni di stop** che comunicano biochimicamente alla cellula quando la catena polipeptidica della proteina è completa.



**Figura 29**  
I codoni di un frammento di RNA

## La PCR

PCR è l'acronimo inglese **Polymerase Chain Reaction**, che significa **reazione a catena della polimerasi** o **reazione polimerasica a catena**. È una tecnica che produce artificialmente (*in vitro*) la moltiplicazione di pezzi prescelti di DNA detti «sequenze bersaglio».

La **PCR** fu ideata nel 1984 da **Kary B. Mullis** che per questo motivo ricevette il premio Nobel per la Chimica nel 1993.

La reazione a catena della polimerasi permette, partendo da brevi sequenze di DNA di pochissime cellule, di replicare (amplificare) le stesse sequenze facendo aumentare la loro concentrazione fino a cento milioni di volte.

La prima fase, la **denaturazione**, consiste nell'aprire la doppia elica del DNA in modo tale da separare i due filamenti. Per ottenere questo risultato si riscalda il DNA a 95°C per pochi secondi e si produce una «denaturazione termica».

La fase successiva (**annealing**) consiste nel raffreddamento (30-55°C) veloce del campione di DNA e nell'unione, per ciascuna spirale separata, di un breve frammento sintetico di DNA.

Le due brevi sequenze sintetiche hanno la funzione di far iniziare la replicazione del DNA innescando la reazione; per questo motivo questi due filamenti vengono detti **inneschi** o **primer**.

Gli inneschi sono due **oligonucleotidi**, ovvero polimeri composti da nucleotidi formati da una sequenza con pochi monomeri.

La fase d'innescio viene effettuata a 54°C e gli oligonucleotidi si saldano al tratto di DNA prescelto in maniera complementare.

Per spiegare in cosa consista la complementarità dobbiamo fare un passo indietro, quando le due eliche del DNA erano ancora unite. I due filamenti, come sappiamo, non sono uniti in maniera casuale, ma ad ogni nucleotide della prima elica corrisponde un nucleotide (che si dice complementare) della seconda elica.

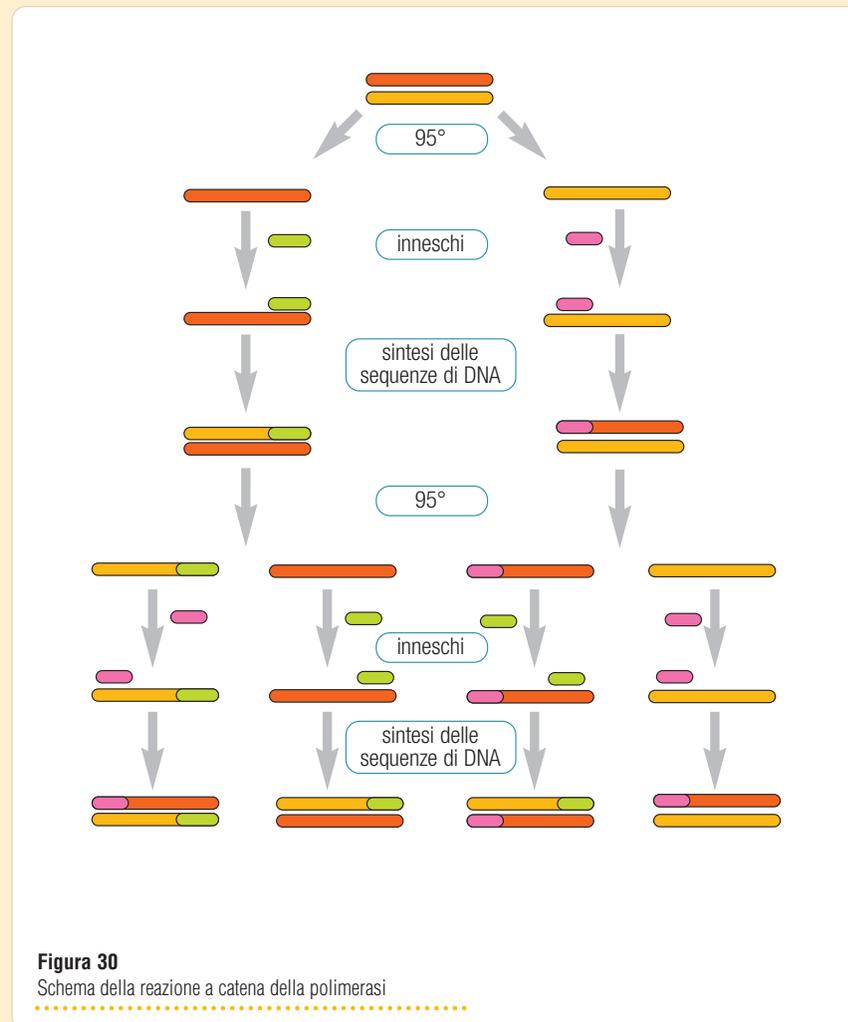
I due inneschi, ciascuno nel rispettivo filamento, ripetono la complementarità delle sequenze del tratto di DNA prescelto per la replicazione.

La scelta degli inneschi (*primer*) è importantissima perché deve essere complementare alla sequenza bersaglio che si vuole replicare attraverso la reazione a catena della polimerasi.

A questo punto si arriva alla fase dell'**allungamento** nella quale al campione vengono aggiunti l'enzima polimerasi (proveniente da batteri termofili come il **Thermos aquaticus** che resiste a temperature anche maggiori di 100°C), i quattro nucleotidi sotto forma di deossinucleotidi trifosfati (adenilato, guanilato, uridilato e citidilato) e gli elementi di supporto come lo ione magnesio ( $Mg^{++}$ ).

La reazione polimerasica a catena viene condotta a 72°C ottenendo copie perfette della sequenza del DNA originale.

Il ciclo di replicazione può essere ripetuto nuovamente semplicemente variando la temperatura; impiegando un dispositivo automatico lo stesso ciclo può essere ripetuto anche



**Figura 30**

Schema della reazione a catena della polimerasi

30 volte ottenendo sequenze del DNA bersaglio originali con concentrazioni di milioni di volte superiori.

La tecnica della PCR viene impiegata in medicina nelle diagnosi microbiologiche, nell'individuazione di cellule tumorali, nelle indagini di polizia scientifica per determinare l'origine di residui biologici lasciati sulle scene dei delitti. La PCR viene inoltre impiegata nelle analisi di paleontologia e di antropologia molecolare, in campioni provenienti da reperti archeologici. La PCR ha contribuito al vertiginoso sviluppo scientifico dell'ingegneria genetica.