

Lezione 1 (sbobinatore: Denise Pizzo)

ARGOMENTI: Bioenergetica

La **BIOCHIMICA** studia le reazioni chimiche complesse che sono alla base dei meccanismi di mantenimento della vita. Analizza e interpreta i processi molecolari e cellulari che hanno luogo in tutti gli organismi viventi (batteri, piante, animali ed esseri umani) al fine di migliorare la sicurezza e la qualità dei cibi, dei farmaci o dei prodotti usati in agricoltura e dei rispettivi processi produttivi. Può anche intervenire per modificare e migliorare i catalizzatori enzimatici coinvolti nei processi biochimici (ingegneria proteica, ingegneria metabolica) al fine di ottenere prodotti biotecnologici innovativi. Opera in un ambito di interfaccia tra la biologia e la chimica con una particolare rilevanza per le cosiddette bio-based industries (agro alimentare, farmaceutica, chimica verde e bioenergia). Inoltre, in ambito più strettamente clinico, studia i meccanismi molecolari delle patologie, con particolare attenzione alle principali macromolecole coinvolte (proteine, acidi nucleici fondamentali per la diagnosi, la prognosi e la cura delle principali patologie).

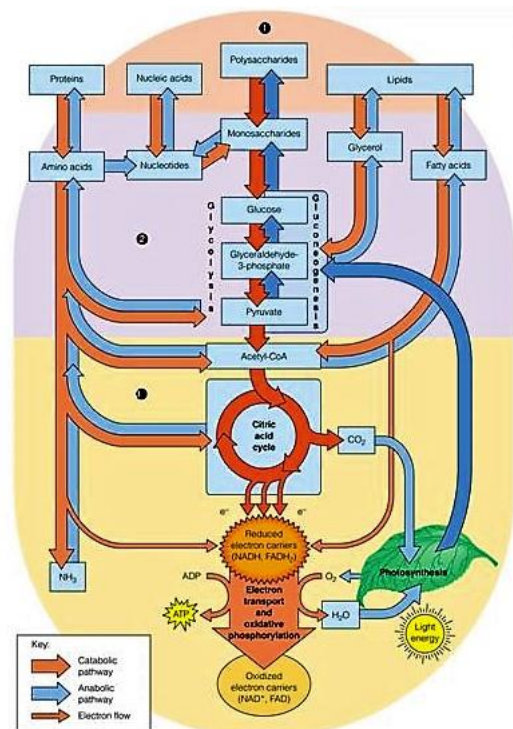
Il **metabolismo umano**, varia a seconda dello stato nutrizionale dell'organismo e questo avviene in maniera fisiologica tutti i giorni, dalla mattina alla sera. Il metabolismo in generale si divide in **catabolismo** e **anabolismo**, dove per catabolismo si intendono i processi catabolici nella quale vengono scomposte delle sostanze per il rilascio o l'accumulo di energia, mentre i processi anabolici consistono nella sintesi dei composti (questi due meccanismi devono essere bilanciati durante la giornata). Tutti i processi catabolici (lipidici, glucidici o amminoacidici) finiranno, o almeno in grossa parte, all'interno della catena di trasporto degli elettroni, per la produzione di ATP, mentre quelli anabolici utilizzano dei substrati che possono essere esogeni o endogeni per sintetizzare proteine ,DNA, ecc..

In questa immagine, in rosso sono segnate le vie cataboliche che partono da vari substrati che convogliano in un metabolismo principale che è il **Ciclo di Krebs** che avverrà nella matrice mitocondriale, e sarà lui a degradare tutti i vari substrati per la produzione di **ATP**. Quelle azzurre sono invece le vie anaboliche che daranno origine ai diversi substrati.

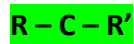
I GRUPPI FUNZIONALI

R - O - H GRUPPO OSSIDRILICO è un gruppo OH legato ad una catena di atomi di carbonio indicati con R

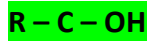
R - C - H
II



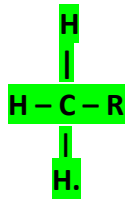
O. **GRUPPO CARBONILE (ALDEIDE)** è un gruppo in cui un carbonio lega un ossigeno con un doppio legame e un gruppo H.



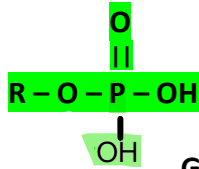
O. **GRUPPO CARBONILE (CHETONE)** è un gruppo in cui un carbonio lega due gruppi R e un O con doppio legame



O. **GRUPPO CARBOSSILICO** è un gruppo in cui il carbonio lega un gruppo OH, un gruppo R e un O con doppio legame



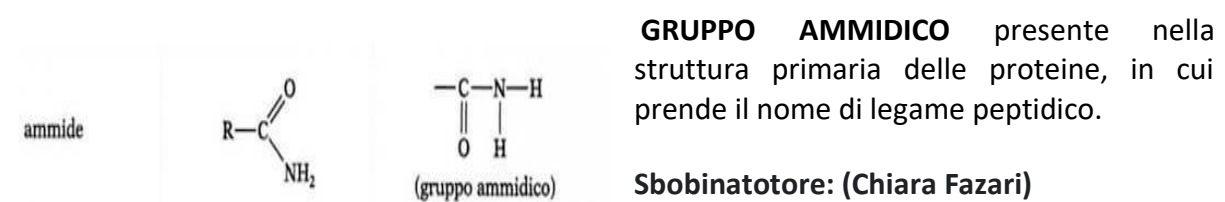
GRUPPO METILICO



GRUPPO FOSFORICO presente in molte molecole come l'ATP



GRUPPO AMMINICO



Argomenti trattati: introduzione alla bioenergetica e ai sistemi, energia libera standard e reale, struttura e funzione dell'ATP;

La Bioenergetica interessa la biochimica poiché tutte le reazioni che avverranno in una cellula saranno sotto il controllo dell'energia disponibile in quel momento.

•Definizione di sistema:

Parte dell'universo che si vuole studiare

Universo= Ambiente + sistema

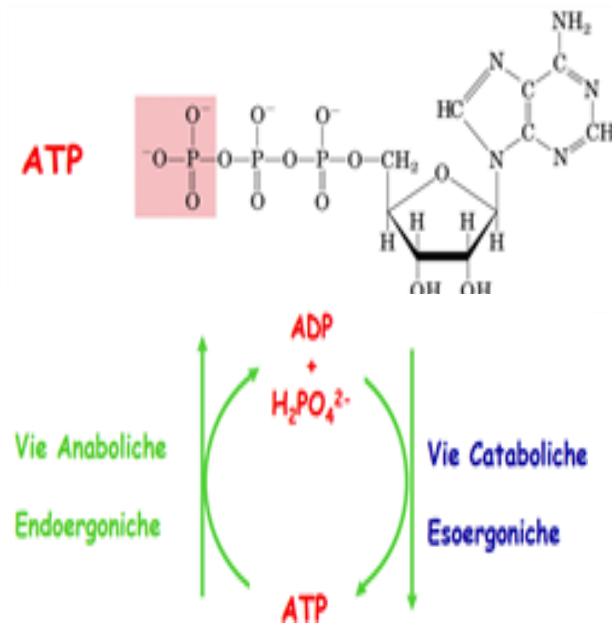
-Un sistema può essere:

1. Aperto: scambia materia ed energia con l'ambiente esterno.
2. Chiuso: scambia energia con l'ambiente esterno.
3. Isolato: Non scambia né materia né energia con l'ambiente esterno.

•Vie metaboliche

La biochimica si occupa della produzione e del consumo di energia. Il metabolismo è composto da processi catabolici e processi metabolici.

Anabolismo+catabolismo=Metabolismo cellulare



-Questi due processi sono legati da una molecola, l'**ATP**. (è necessario conoscere la struttura dell'ATP)

I processi catabolici sono quelli che sintetizzano ATP, mentre i processi anabolici consumano ATP. E' necessario considerare anche due molecole molto importanti, il NAD (Nicotinammide adenina dinucleotide) e NADP (Nicotinammide adenina dinucleotide fosfato), i cosiddetti coenzimi delle reazioni. Le vie cataboliche producono NADH, che

viene successivamente riossidato nella catena di trasporto degli elettroni. Le vie anaboliche utilizzano invece NADPH per la loro sintesi.

-**TERMODINAMICA**: Il metabolismo non esula dalle leggi della termodinamica, ma deve rispettarle. **1° Legge**: L'energia non può essere creata né distrutta. **2° Legge**: Definisce l'Entropia (S) che rappresenta una misura del grado di disordine o casualità di un sistema. Energia di un sistema che non è in grado di compiere un lavoro utile.

Energia libera: Frazione di energia disponibile per compiere un lavoro utile. Nella cellula il lavoro è un processo metabolico. La variazione di Energia libera, chiamata anche Energia libera di Gibbs, si indica con ΔG e si calcola come:

$$\Delta G = \Delta H - T * \Delta S$$

in condizioni di P e T costanti

- ΔH è la variazione di Entalpia, definibile anche come il contenuto calorico del sistema.
- T è la temperatura in gradi Kelvin (Temperatura assoluta)

- ΔS è l'entropia o il grado di disordine del nostro sistema

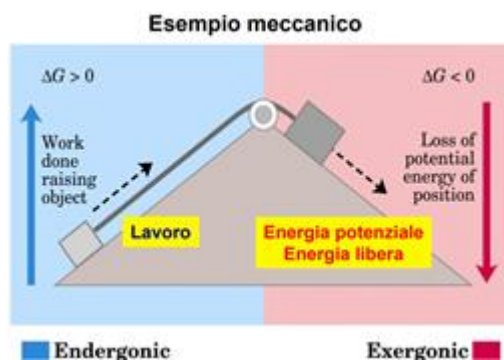
Nei processi catabolici: quando la variazione di energia libera aumenta, l'entropia del sistema aumenta.

All'equilibrio $\rightarrow \Delta G = 0$

Reazioni spontanee $\rightarrow \Delta G < 0$ reazioni **esoergoniche**

Reazioni non spontanee $\rightarrow \Delta G > 0$ reazioni **endoergoniche**

Gli organismi viventi sono un sistema aperto, quindi scambiano sia Energia che Materia con il loro ambiente circostante.



Le cellule per poter vivere devono compiere un lavoro. Esempio meccanico: Volendo portare l'oggetto dalla base della piramide verso la punta, la variazione di energia libera sarà SFAVOREVOLE (quindi positiva: $\Delta G > 0$). Una volta che il masso è arrivato in cima, facendolo cadere ci sarà una variazione FAVOREVOLE (quindi negativa $\Delta G < 0$). La variazione di energia libera che può essere usata

per compiere un lavoro viene chiamata **Energia potenziale**, è un processo **esoergonico**.

L'energia disponibile per compiere un lavoro sarà sempre inferiore rispetto a quella potenziale, perché una parte dell'energia libera sarà dissipata sotto forma di calore o entropia. Ricapitolando:

- L'energia potenziale disponibile per produrre un lavoro, è chiamata energia libera.
- L'energia libera disponibile per produrre lavoro sarà sempre di meno di quella potenziale perché in parte è dissipata come calore ed entropia.
- La variazione di energia libera (ΔG) di una reazione chimica è l'espressione quantitativa di quanto il sistema chimico è lontano dall'equilibrio. Quando un sistema non è vicino all'equilibrio, quella variazione di energia libera è la forza che traina il sistema, è l'ampiezza espressa nel sistema verso l'equilibrio. In termini assoluti si possono avere vari numeri dell'energia libera.

esempio:

Domanda: Se si ha una variazione di energia libera pari a -5 un'altra pari a -32, quale si sposterà più velocemente verso l'equilibrio?

Risposta: -32 è più grande di -5, la variazione di energia libera è la forza che spinge la reazione verso l'equilibrio quindi sarà -32. E' infatti noto che le molecole ad alto contenuto energetico, come l'ATP, quando si rompe il legame ad alto contenuto energetico hanno

variazioni di circa -32/-34. Infatti, in termini di energia negativa, più grande sarà la distanza dallo 0, più quella reazione sarà spinta verso la formazione del prodotto.

esempio:

Quando si parla di energia libera positiva, ad esempio tra +5 e +32, la reazione più svantaggiata è +32, perché bisogna fornire un'energia per portarla allo 0 maggiore rispetto a quella che si fornisce a +5 per portarlo allo 0. Questa si indica **energia libera reale**, cioè il reale contenuto di energia che è presente in un sistema.

- Quando un sistema non è all'equilibrio, la tendenza a spostarsi verso l'equilibrio diventa una forza trainante la cui ampiezza è espressa dalle variazioni di energia libera reale ΔG (reale).
- Gibbs dimostrò che la variazione di energia libera reale (ΔG) è funzione della variazione di energia standard (ΔG°) e di un termine che esprime le concentrazioni iniziali dei reagenti e dei prodotti, in un preciso momento dell'equilibrio.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c_j [D]^d_j}{[A]^a_j [B]^b_j} \quad \text{Dove } [A]_j \text{ indica la concentrazione iniziale di A e così via nel momento J.}$$

Una reazione reversibile si indica con la doppia freccia; una reazione irreversibile si indica con una singola freccia; -Descrizione formula: La variazione di energia libera di Gibbs è data da variazione di energia libera standard + RT logaritmo naturale della concentrazione dei prodotti diviso la concentrazione dei reagenti, presa al tempo J, ovvero il momento in cui viene fatta la misurazione. R è la costante dei gas, T è il valore di temperatura assoluta. La variazione di energia libera standard, ΔG° , viene misurata in termini standard: ovvero a temperatura costante, pressione costante, e a concentrazioni note di prodotti e reagenti. Per Gibbs nella variazione di energia libera standard (ΔG°) i prodotti e i reagenti vengono considerati tutti presenti a concentrazione 1 Molare. Quindi i termini standard sono:

-298° K

-25° C

-Reagenti e prodotti [1M]

- Il PH di una soluzione equivale alla concentrazione di ioni H⁺ e si calcola come

pH = - log [H⁺].; Quando la concentrazione degli ioni H⁺ è uguale a 1 Molare, il PH è uguale 0. Ma il PH=0 non è compatibile con la vita cellulare. Ne consegue che in biochimica la variazione di energia libera standard (ΔG°) non viene misurata alla concentrazione di H⁺ 1 molare, ma ad una concentrazione di protoni compatibile con il PH cellulare. Il PH cellulare è circa 7, quindi le condizioni standard in biochimica ($\Delta G''$) sono:

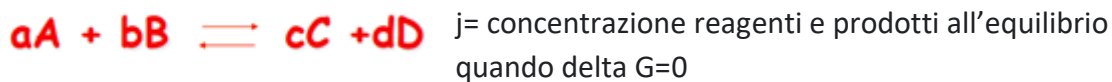
$$[H^+] = 10^{-7} \text{ M} \quad \text{pH} = 7$$

Quindi ΔG° → significa che è a pH cellulare

La variazione di energia reale è una misura di quanto il sistema si allontana dall'equilibrio, dove il valore dell'equilibrio vero è pari a 0.

Inoltre all'equilibrio: concentrazione dei reagenti è la concentrazione effettiva all'equilibrio

$[A]_j$ è uguale ad $[A]_{eq}$ quindi



$$K_{eq} = \frac{[C]^c_{eq} [D]^d_{eq}}{[A]^a_{eq} [B]^b_{eq}}$$

**a P e T
costanti**

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[C]^c_j [D]^d_j}{[A]^a_j [B]^b_j}$$

$$0 = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[C]^c_{eq} [D]^d_{eq}}{[A]^a_{eq} [B]^b_{eq}}$$

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

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

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

All'equilibrio
 $\Delta G = 0$

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta G'^{\circ} + RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \\ 0 &= \Delta G'^{\circ} + RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \\ \Delta G'^{\circ} &= -RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \\ \text{defining } K'_{eq} &= \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \\ \Delta G'^{\circ} &= -RT \ln K'_{eq} \end{aligned}$$

La variazione di energia libera standard (ΔG°) di una reazione è direttamente legata alla costante di equilibrio.

La variazione di energia libera reale (ΔG) di una reazione dipende dalla reale concentrazione dei reagenti e dei prodotti.

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

La variazione di energia libera reale NON E' la variazione di energia libera standard. Una

reazione avviene se la variazione di energia libera reale è minore di 0, NON se la variazione di energia libera standard è minore di 0.

Domanda: se variazione di energia libera standard (ΔG°) > 0, la reazione può avvenire?

$RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right)$ *Risposta:* Sì, dipende dalla concentrazione dei prodotti e dei reagenti che si hanno in gioco. Se il secondo termine dell'equazione è negativo, la variazione di energia libera reale è negativa. Una reazione il cui ΔG° sia positivo può avvenire ugualmente se il valore di ΔG reale diventa negativo. Ciò è possibile se il valore $RT \ln \left(\frac{[prodotti]}{[reagenti]} \right)$ dell'equazione è negativo ed ha un valore assoluto maggiore di ΔG° . Ricapitolando: Se il primo termine dell'equazione è positivo (ΔG°), ma il secondo termine è negativo e la somma dei due termini dell'equazione è negativa, la reazione può avvenire, perché ΔG reale sarà NEGATIVO.

es. $\Delta G = (+4) + (-10) = -6$ La reazione può avvenire!

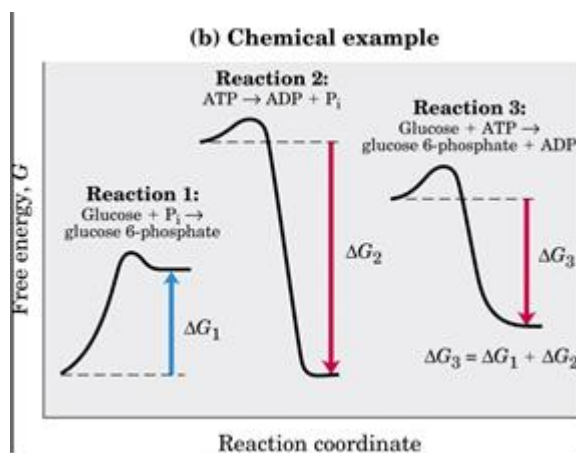
Se questo non avviene è possibile spostare la reazione in un altro modo: variando la concentrazione dei prodotti e dei reagenti, e, in particolar modo, sottraendo il prodotto. Quindi:

-Aumentando il substrato (reagenti)

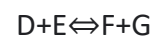
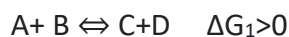
-Sottraendo il prodotto

In questo modo si può rendere la variazione di energia libera **negativa**.

Domanda: Se ciò non avviene, si può ricorrere agli enzimi? Sì, è possibile spostare una reazione sfavorita accoppiandola con una reazione energeticamente favorita.



•Reazioni accoppiate

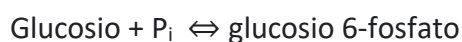


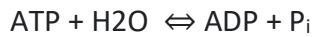
$$\Delta G_2 < 0$$

$$\text{Se } \Delta G_1 + \Delta G_2 < 0$$

la reazione avviene. Tra le due reazioni ci deve essere un substrato in comune! Questo tipo di problema la cellula lo affronta continuamente, ad es. nella degradazione del glucosio (glicolisi). La prima reazione che vedremo in assoluto è quella in cui il glucosio viene fosforilato, dunque con l'aggiunta di una

molecola di fosfato si otterrà il glucosio-6-fosfato. I legami che si formano sono covalenti, quindi molto energetici. Questa reazione è energeticamente sfavorita, con ΔG positivo; eppure questa reazione avviene frequentemente nella cellula, grazie all'accoppiamento con una reazione favorita, che in questo caso è l'idrolisi dell'ATP (che ha un ΔG negativo e molto grande).

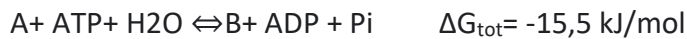




• Schema riassuntivo:

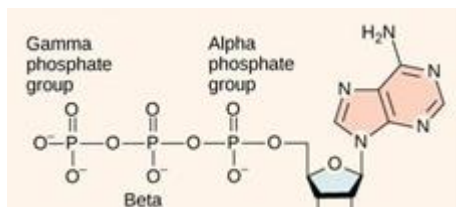


-esempio della glicolisi:

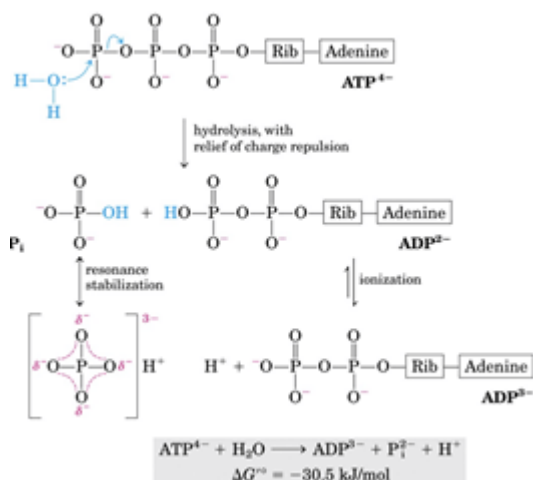


• ATP

La variazione di energia libera dell'idrolisi dell'ATP è uno dei processi che più facilmente la cellula utilizza per spostare la reazione. L'idrolisi dell'ultimo gruppo dell'ATP libera circa 30 kJ.

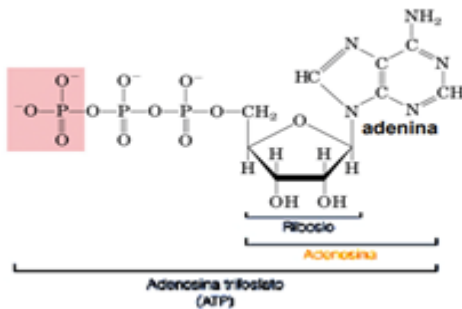


La molecola di ATP (che mette in relazione anabolismo e catabolismo) viene utilizzata dalla cellula in vario modo poiché possiede 2 legami ad alto contenuto energetico. I tre gruppi fosfato dell'ATP vengono definiti **alfa**, **beta**, **gamma**, a partire dal gruppo fosfato legato allo zucchero.



L'idrolisi di quel legame in gamma che avviene nell'attacco nucleofilo di una molecola d'acqua, libera circa 30 kJ. Si avrà dunque un gruppo fosfato inorganico (Pi) che viene allontanato e le sue cariche negative stabilizzate per risonanza, e liberazione di 30 kJ. ADP ottenuto è una molecola che ha ancora alto contenuto energetico, poiché anche il legame tra il fosfato in α e il fosfato in β è un legame ad alto contenuto energetico e l'idrolisi di quel legame dà sempre luogo a circa 30 kJ.

Il legame in γ è più comunemente utilizzato, ma anche quello in β è molto utilizzato in specifiche reazioni.



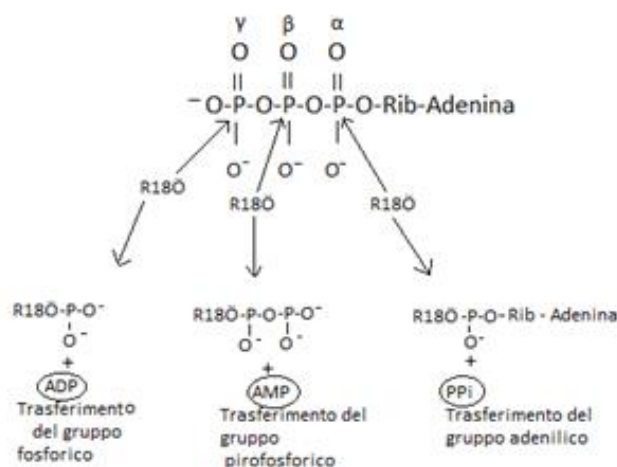
31 kJ/mol di energia vengono rilasciati quando l'ATP diventa ADP.

31 kJ/mol di energia vengono rilasciati quando l'ATP diventa AMP.

14 kJ/mol di energia vengono rilasciati quando il legame tra l'adenosina e il fosfato viene scisso.

-Tre possibili posizioni sull'ATP per l'attacco

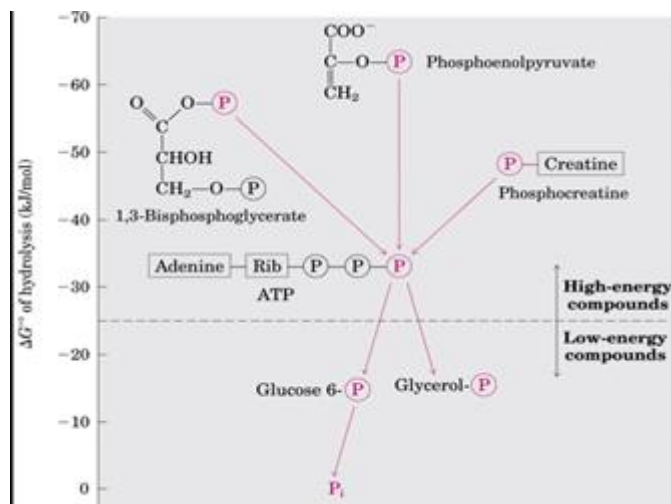
nucleofilo $R^{18}O$



La cellula lega l'AMP ad una molecola e poi idrolizza il gruppo fosfato per spingere ancora la reazione verso destra.

•L'ATP è la molecola a più alto contenuto energetico che esiste nella cellula? L'ATP non è e non può essere la molecola a più alto contenuto energetico della cellula poiché essendo una "moneta di scambio", dovrà essere sia prodotta che utilizzata. Se fosse la molecola a più alto contenuto energetico non la si potrebbe

sintetizzare. Invece esistono molecole a contenuto energetico più alto da cui è possibile partire per sintetizzare l'ATP.



-Il glucosio 6-fosfato viene prodotto dall'ATP, quindi ha un contenuto energetico inferiore.

-Invece l'1-3-bisfosfoglicerato, il fosfoenolpiruvato e la fosfocreatina hanno un contenuto energetico superiore all'ATP. Infatti l'1-3-bisfosfoglicerato e il fosfoenolpiruvato sono intermedi della glicolisi, ovvero substrati che nella glicolisi producono ATP.

-L'idrolisi di una molecola ad alto

contenuto energetico è l'unica fonte di energia che la cellula può usare? No, può utilizzare anche la forza del gradiente.

