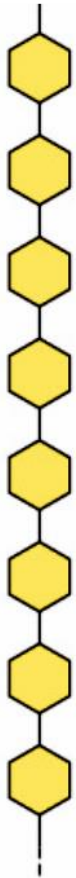


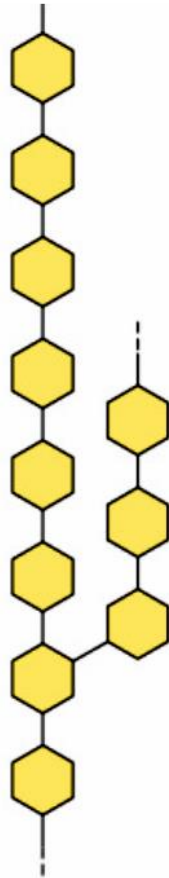
I polisaccaridi

Omopolisaccaridi

lineari



ramificati

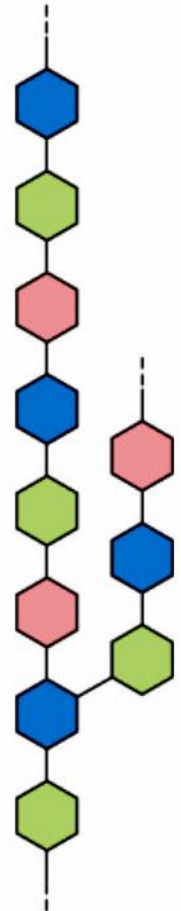


Etero-polisaccaridi

lineari



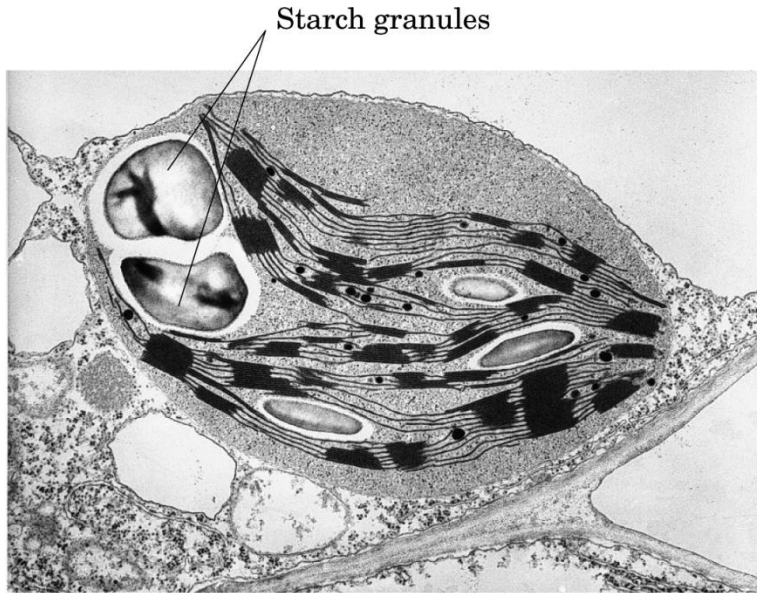
ramificati



I principali polisaccaridi

	Cellulose	Starch		Glycogen
		Amylose	Amylopectin	
Source	Plant	Plant	Plant	Animal
Subunit	β -glucose	α -glucose	α -glucose	α -glucose
Bonds	1-4	1-4	1-4 and 1-6	1-4 and 1-6
Branches	No	No	Yes (~per 20 subunits)	Yes (~per 10 subunits)
Diagram				
Shape				

I polisaccaridi di riserva: l'amido

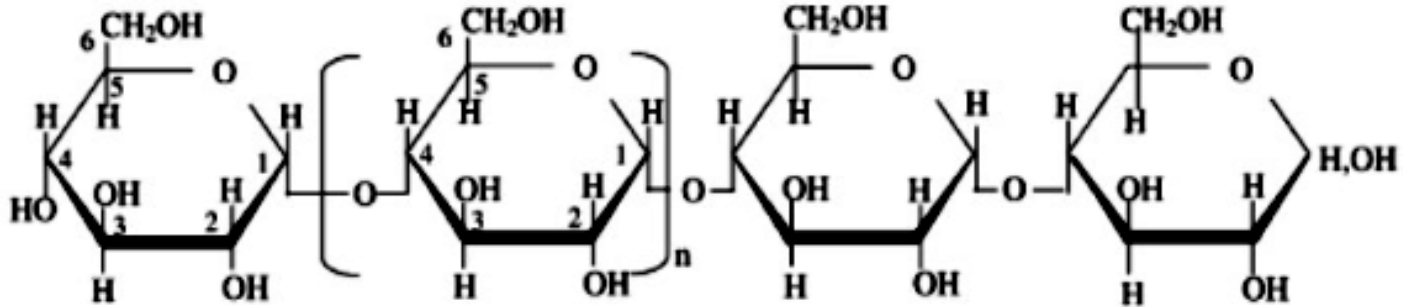


(a)

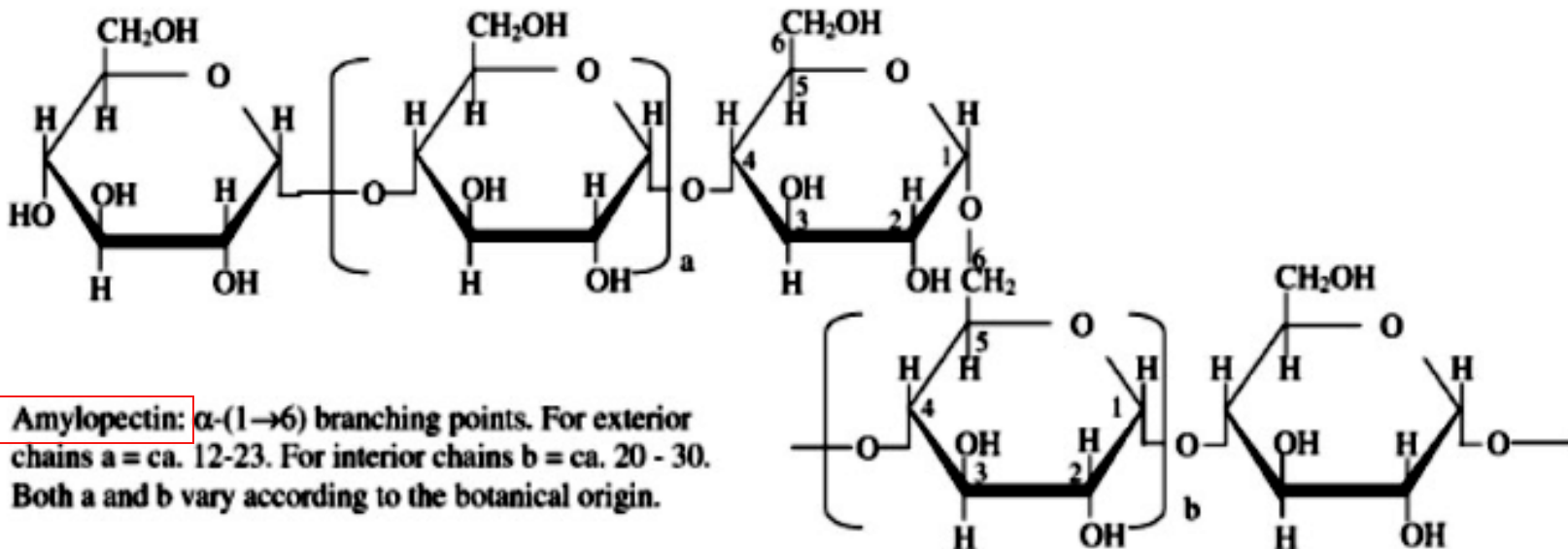
I granuli di amido sono insolubili in acqua ma ad elevata temperatura si rigonfiano perdendo la fase cristallina (fase di gelatinizzazione)

- L'amido rappresenta la riserva di glucosio nelle piante ed il più comune alimento per l'uomo
- Il glucosio è immagazzinato in forma di polimero perché l'immagazzinamento di singole molecole creerebbe una enorme pressione osmotica
- Le catene polimeriche vengono poi impaccate per evitare l'aumento della viscosità del mezzo intracellulare
- L'amido è costituito da una miscela di due polisaccaridi
 - L'amilosio
 - L'amilopectina

L'amido



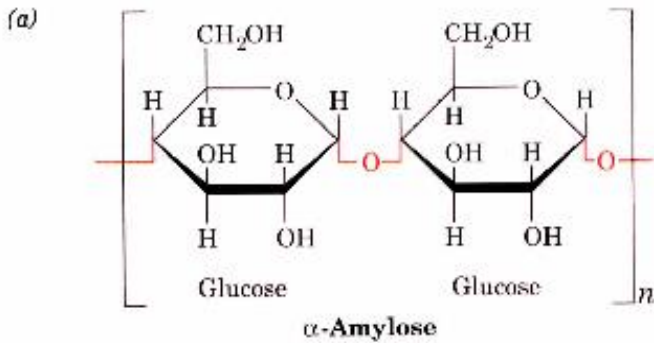
Amylose: α -(1 \rightarrow 4)-glucan; average $n = \text{ca. } 1000$. The linear molecule may carry a few occasional moderately long chains linked α -(1 \rightarrow 6).



Amylopectin: α -(1 \rightarrow 6) branching points. For exterior chains $a = \text{ca. } 12\text{-}23$. For interior chains $b = \text{ca. } 20\text{-}30$. Both a and b vary according to the botanical origin.

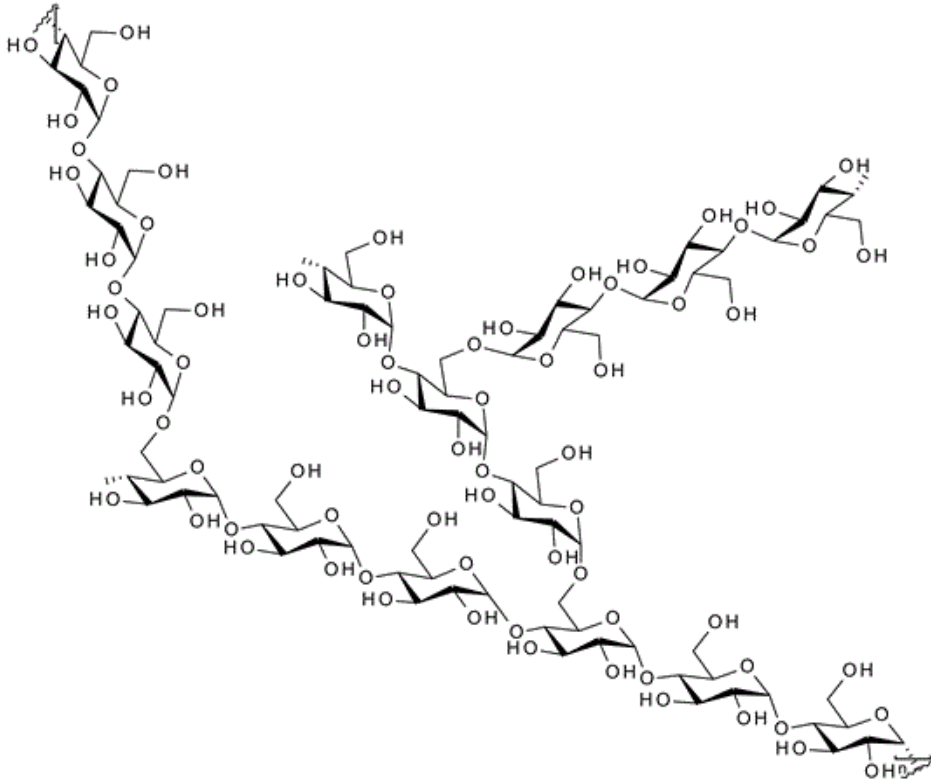
Fig. 1. Structure of amylose and amylopectin. Adapted from Tester and Karkalas (2002).

L'amilosio



- L'amilosio è costituito da una catena lineare di parecchie centinaia di unità di glucosio legate mediante legame glicosidico α -(1→4)
- Il peso molecolare medio è $\sim 10^6$
- L'amilosio assume una conformazione elicoidale

L'amilopectina



- È costituita anch'essa di molecole di glucosio connesse mediante legame α -(1 \rightarrow 4) glicosidico, ma presenta anche ramificazioni α -(1 \rightarrow 6) ogni 24 – 30 unità di glucosio
- Il polimero è costituito da circa 10^6 unità di glucosio con un peso molecolare totale di circa 10^8

Gli enzimi che idrolizzano l'amilosio e l'amilopectina

- **α -amilasi**
 - Sono delle endoglicosidasi specifiche per il legame α -(1→4) producono le destrine limite costituite da due molecole di glucosio legate mediante legame α -(1→6). Inoltre producono oligomeri di 6-7 unità di glucosio e maltosio (2 unità). $\text{pH}_{\text{opt}} = 5.0$, $T_{\text{opt}} = 50^\circ\text{C}$.
- **β -amilasi**
 - Presenti nelle piante e nei microorganismi, sono delle esoglicosidasi specifiche per il legame α -(1→4) che liberano maltosio dall'estremità non riducente.
- **Debranching enzymes**
 - Commercialmente in genere di origine batterica o vegetale sono specifiche per il legame α -(1→6)
- **Amiloglucosidasi**
 - Isolate da *Rhizopus* ed *Aspergillus* sono aspecifiche (sia α -(1→4) che α -(1→6)) impiegate industrialmente nella panificazione e nella produzione di bevande fermentate.

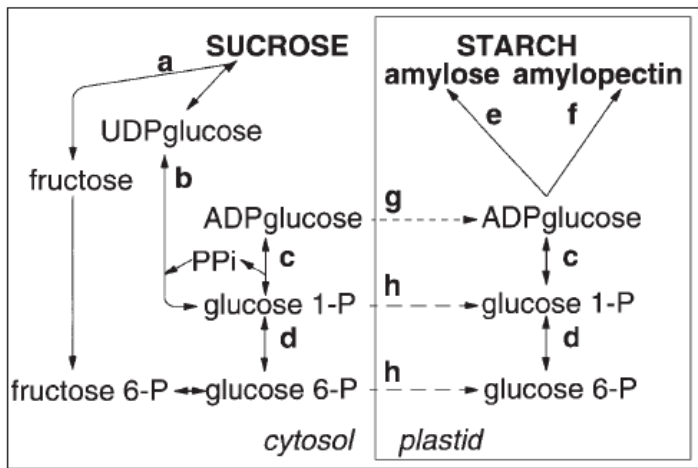
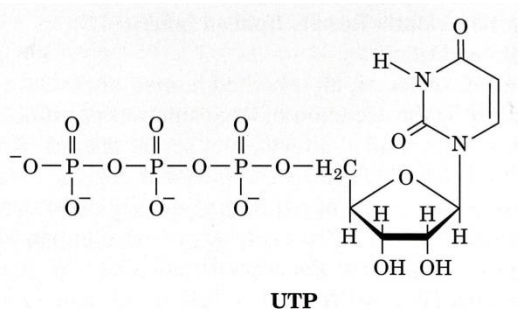
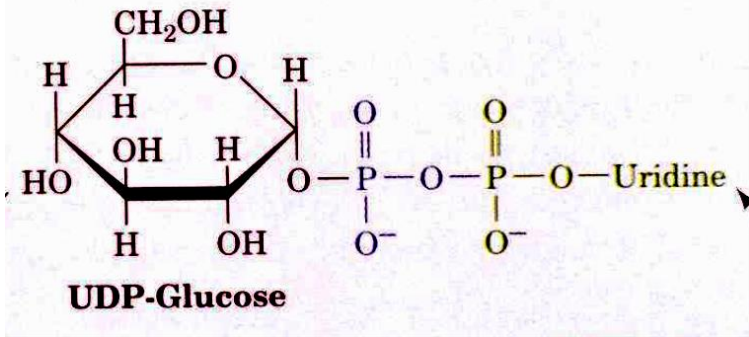


Figure 1 The major metabolites and enzymes involved in the conversion of sucrose to starch in storage organs. Carbon is shown entering the plastid either as a hexose phosphate (73) or as ADPglucose. Enzymes are: a, sucrose synthase; b, UDPglucose pyrophosphorylase; c, ADPglucose pyrophosphorylase; d, phosphoglucomutase; e, starch synthase (GBSSI); f, starch synthase and starch-branching enzyme; g, ADPglucose transporter; h, hexose phosphate transporter. PPi: inorganic pyrophosphate.

Sintesi dell'amido

- Il saccarosio viene prodotto nel corso della fotosintesi
- All'interno della cellula vegetale viene idrolizzato a glucosio e fruttosio (quest'ultimo viene convertito in glucosio da una isomerasi)
- Il glucosio viene trasformato in Glucosio-UridinDiFosfato
- Quindi viene trasformato in glucosio-1-fosfato (G-1-P)
- La fosfoglucomutasi lo trasforma in glucosio-6-fosfato che può essere traslocato all'interno dell'amiloplasto
- Qui viene ritrasformato dapprima in G-1-P ed infine in glucosio-Adenosin-DiFosfato da cui è possibile sintetizzare l'amilosio e l'amilopectina



Le forme cristalline nell'amido

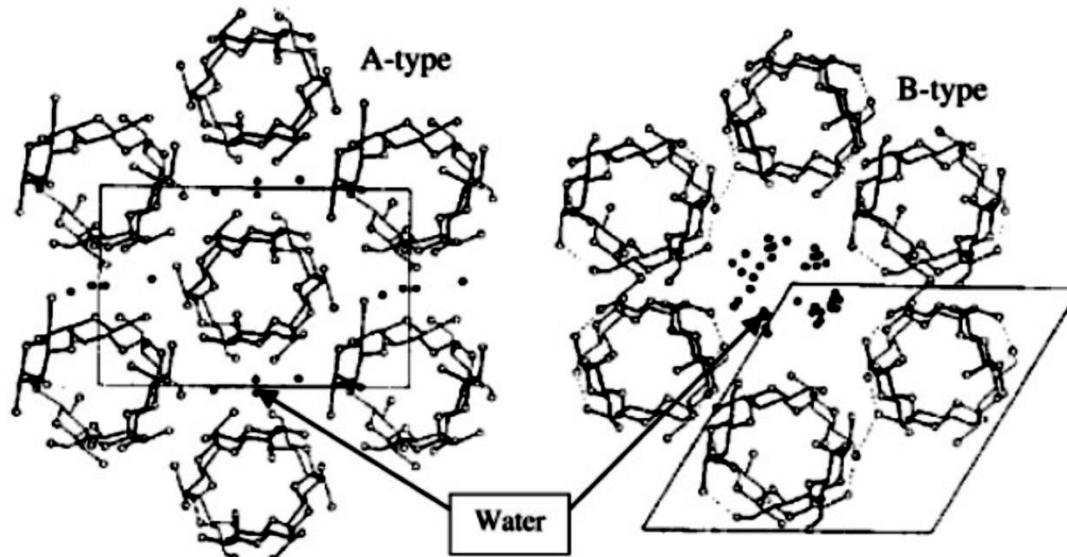


Fig. 3. A- and B-type polymorphs of amylose. Adapted from Wu and Sarko (1978b).

- L'amilosio e le catene polisaccaridiche più esterne dei polimeri di amilopectina formano strutture elicoidali che aggregano in forma cristallina
- Tali strutture non sono attaccabili dagli enzimi idrolitici

I granuli di amido

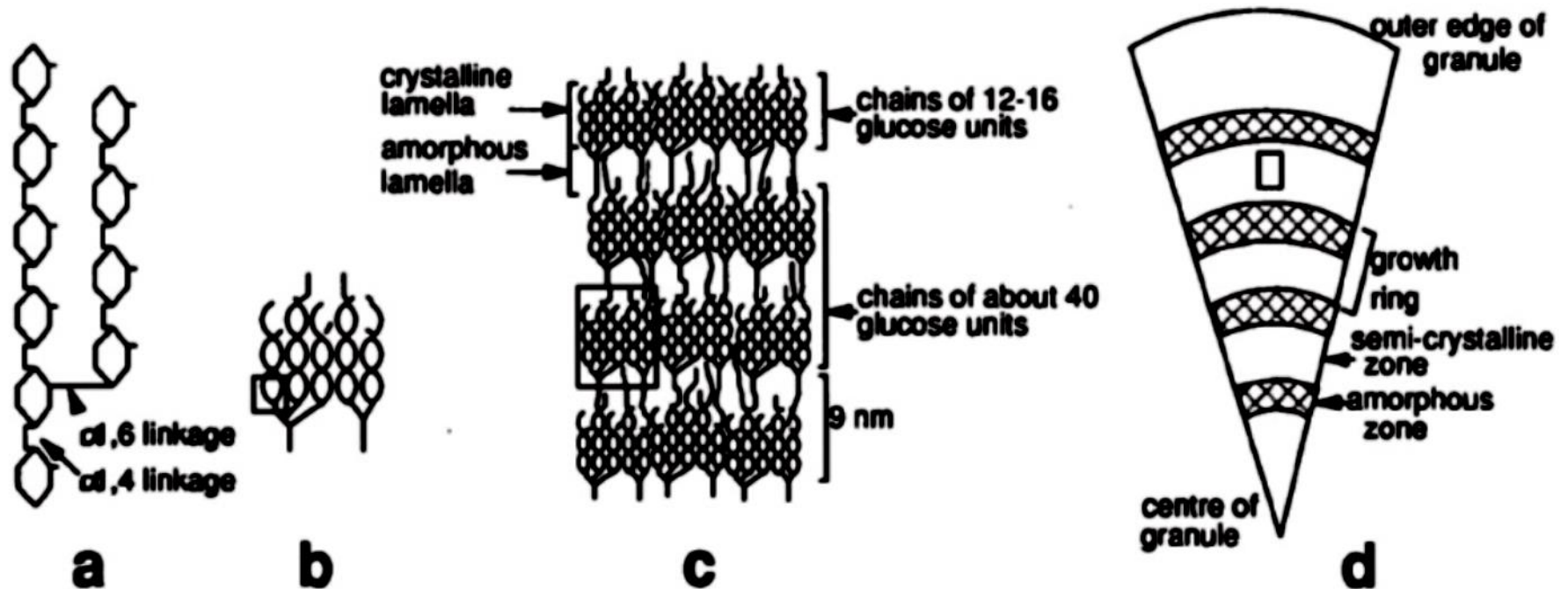


Figure 2 Schematic representation of levels of organization within the starch granule. The boxes within the diagrams in panels *b*, *c*, and *d* represent the area occupied by the structure in the preceding panel. (*a*) Structure of two branches of an amylopectin molecule, showing individual glucose units. (*b*) A single cluster within an amylopectin molecule, showing association of adjacent branches to form double helices. (*c*) Arrangement of clusters to form alternating crystalline and amorphous lamellae. The crystalline lamellae are produced by the packing of double helices in ordered arrays. Chains of 12–16 glucose units span one cluster; chains of about 40 glucose units span two clusters. (*d*) Slice through a granule, showing alternating zones of semicrystalline material, consisting of crystalline and amorphous lamellae, and amorphous material.

Granuli di amido

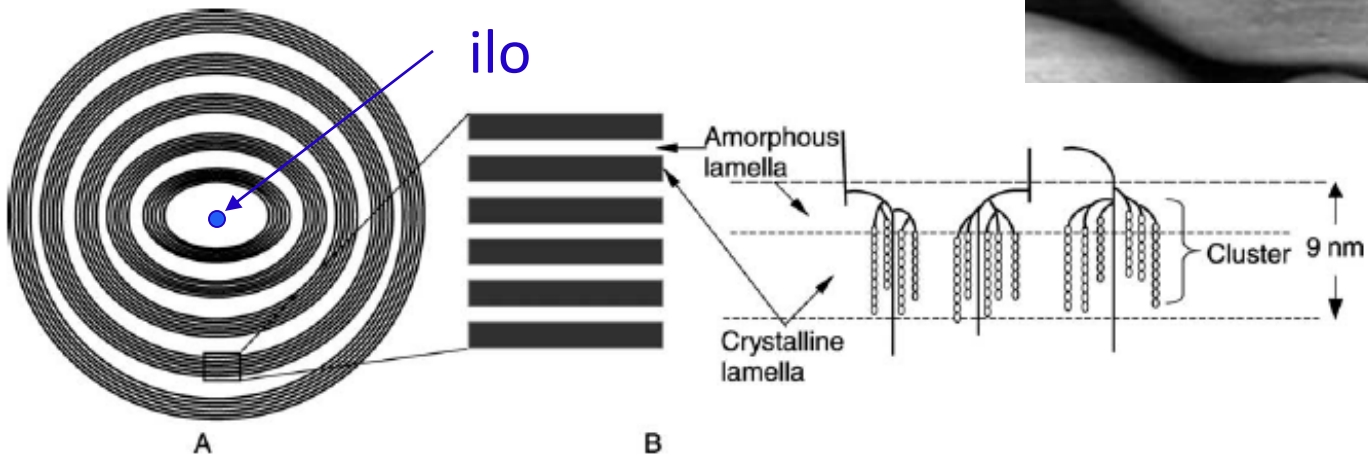
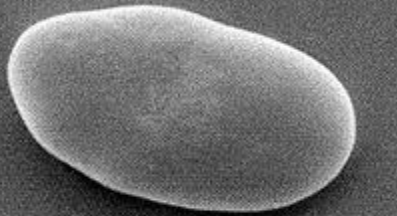


Fig. 4. Diagrammatic representation of the lamellar structure of a starch granule according to Donald et al. (1997). (A) Stacks of microcrystalline lamellae separated by amorphous growth rings. (B) Magnified view of the amorphous and crystalline regions. (C) Double helical structures formed by adjacent chains of amylopectin give rise to crystalline lamellae. Branching points constitute the amorphous regions.

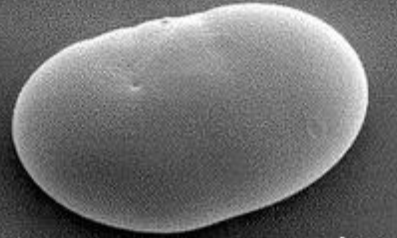
- Mostrano una struttura lamellare concentrica comprendente un alternarsi di fasi cristalline ed amorfe
- Le fasi cristalline sono dovute all'impaccamento regolare delle catene terminali dell'amilopectina

Modificazioni genetiche

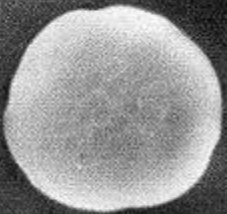
Micromotografie SEM di granuli di amido da semi di pisello mutanti.



wild type



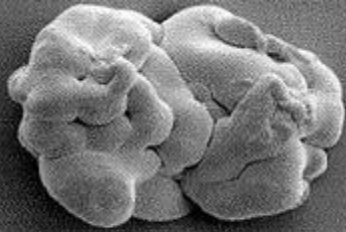
lam



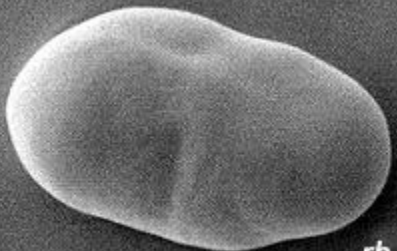
rug3



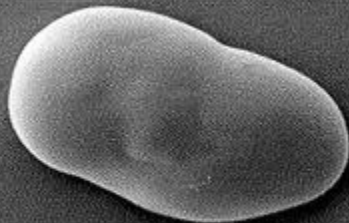
r



rug5



rb



rug4

- I granuli di amido possiedono dimensioni variabili da specie a specie (2 – 100 μ m)
- All'interno dei granuli sono presenti anche piccole quantità di lipidi, proteine e sali minerali
- Sono tutti costituiti da una serie di gusci cristallini intervallati da strati amorfi

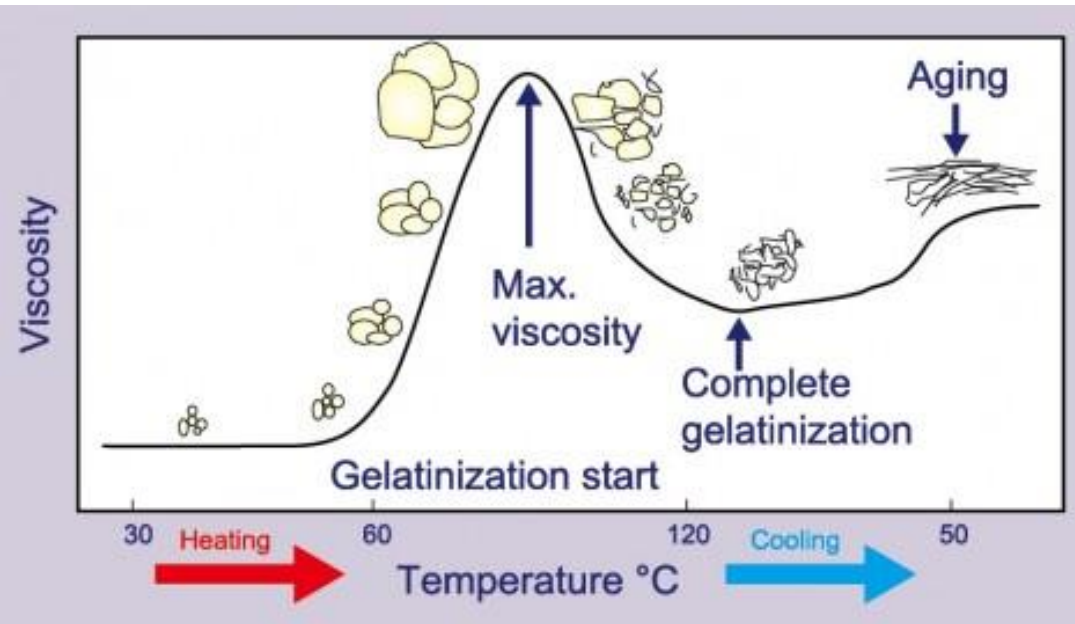
Deposizione dell'amido

pianta	tipo	Forma del granulo	Dimensioni (μm)
orzo	cereale	Lenticolare	15-25
		Sferico	2-5
mais	cereale	Sferico	2-30
miglio	cereale	Poliedrico	4-12
avena	cereale	Poliedrico	3-10
pisello	legume	Reniforme	5-10
patata	tubero	Lenticolare	5-100
segale	cereale	Lenticolare	10-40
		Sferico	5-10
sorgo	cereale	Sferico	5-20
frumento	cereale	Lenticolare	15-35
		Sferico	2-10

Contenuto in amido di alcuni alimenti

Alimento	Contenuto d'amido (%)
Pane bianco	46.7
Riso bianco	73.8
Spaghetti cotti	70.8
Piselli in scatola	14.7
Fiocchi di mais	77.7
Patate	16.7
Castagne	29.6
Mele	tracce
Banane	2.3

La gelatinizzazione dell'amido



- L'amido è molto poco idratato e risulta inattaccabile dagli enzimi idrolitici
- Il riscaldamento in acqua provoca la disaggregazione della fase cristallina dei granuli e la conseguente idratazione
- Una volta idratati l'amilosio e l'amilopectina possono essere idrolizzati

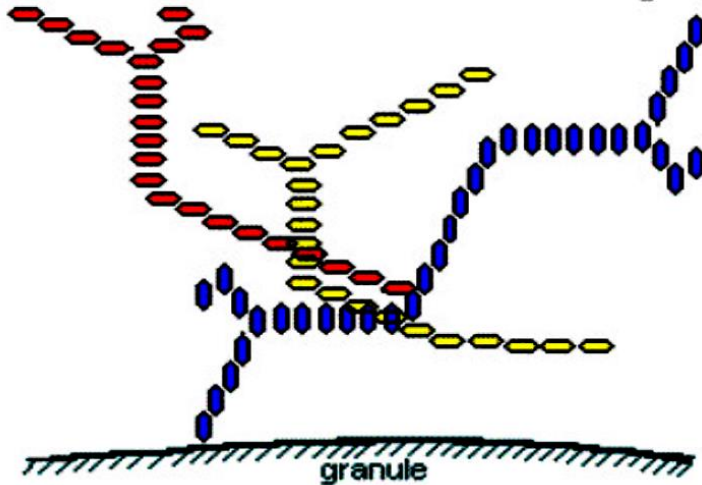


Classificazione nutrizionale dell'amido

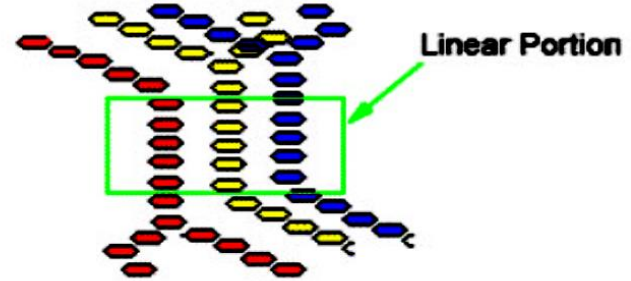
Tipo di amido	Dove si trova	Digestione nell'intestino tenue
Rapidamente digeribile	Cibi amidacei appena cotti	Rapida
Lentamente digeribile	La maggior parte dei cereali crudi macinati	Lenta ma completa
Resistente - Fisicamente inaccessibile (RS1) - con granuli resistenti (RS2) - retrogradato (RS3)	- Semi e granaglie parzialmente macinati - patate crude e banane acerbe - patate, pasta, pane cotti e raffreddati	Resistente

La retrogradazione dell'amido

Retrogradation of Starch Molecules



Recall that after gelatinization the amylose is removed from the granule. Above is a diagram of amylose molecules.



Upon cooling the linear portion of these molecules line up. They remain together due to H-bonding. This process removes the water from in between them so they can crystallize together. This is called retrogradation.

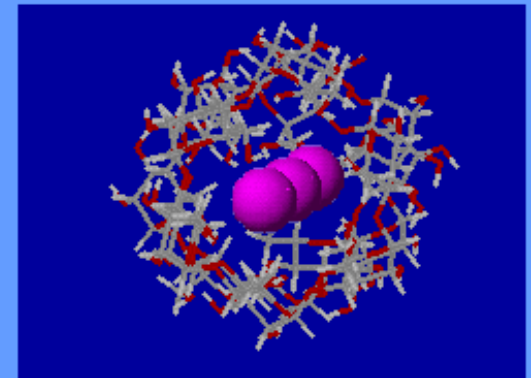
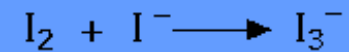
- In seguito a riscaldamento i granuli di amido assorbono acqua
- Se la soluzione viene nuovamente raffreddata, gelifica in seguito alla formazione di legami H intercatena tra le molecole di amilosio ed amilopectina
- Infine si può osservare il processo di retrogradazione

Colorazione dell'amido

- La reazione più nota dell'amido è la colorazione con iodio
- Avviene in seguito alla formazione di complessi dello iodio lungo l'asse delle catene elicoidali di amilosio in forma disciolta
La colorazione dipende dalla lunghezza della catena poliglucidica



Starch - Iodine Complex

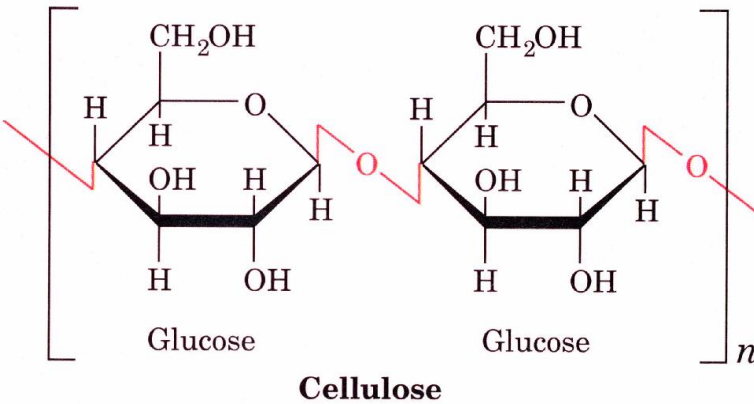


Iodine slides into starch coil
to give a blue-black color

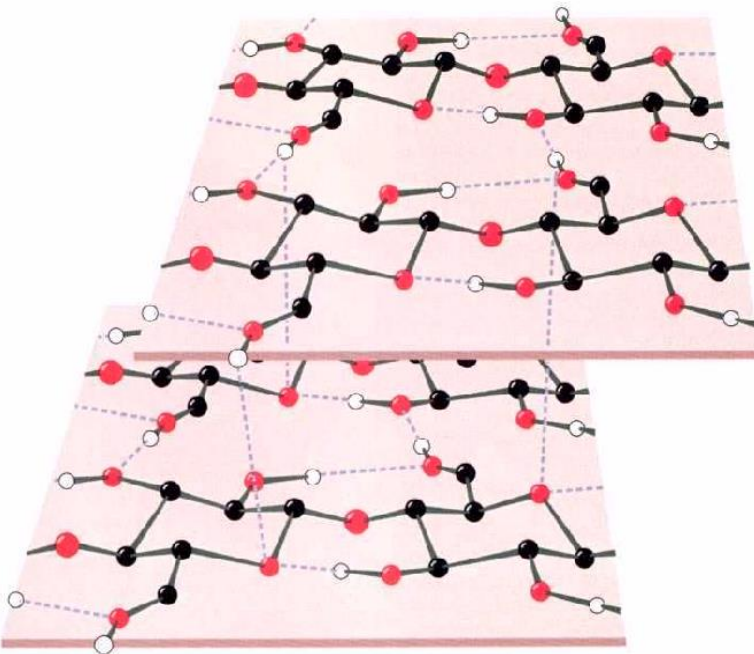
Amidi modificati

Tipo di modificazione	Obiettivi
Modificazione fisica	Dispersione in acqua fredda
Degradazione controllata	Diminuzione della viscosità
Ossidazione	Diminuzione della viscosità ed aumento della stabilità
Sostituzione di gruppi idrossilici	Diminuzione della retrogradazione ed aumento dell'idrofolicità e della stabilità
Cross-linking	Formazione di reticoli

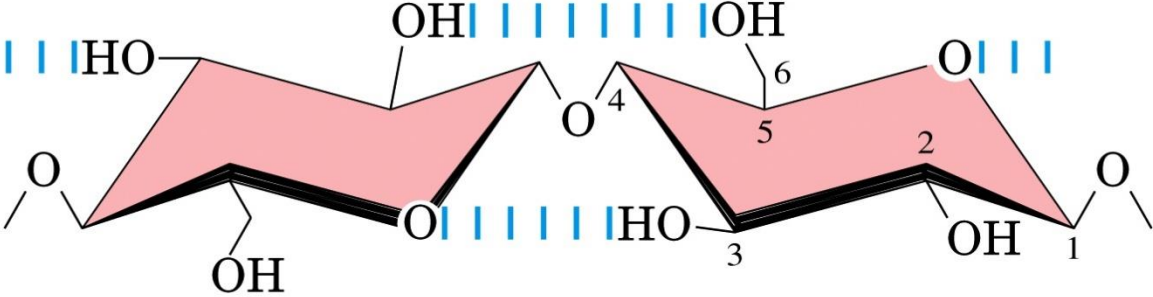
Polisaccaridi strutturali: la cellulosa



- Rappresenta circa la metà di tutto il carbonio organico presente sulla superficie della terra (10^{15} Kg/anno)
- Polimero lineare di circa 15000 unità di D-glucosio connesse mediante legame β -(1 \rightarrow 4) glicosidico
- Non possiede una dimensione definita in quanto non esiste un riferimento genetico che ne controlli la sintesi
- I numerosi legami idrogeno intra-ed intercatena le conferiscono elevata stabilità e robustezza. Nonostante l'idrofilicità è insolubile in acqua
- La lunghezza delle catene rende impossibile un perfetto parallelismo e quindi si susseguono regioni cristalline (catene parallele legate da ponti H) e regioni amorphe (catene disposte irregolarmente)
- È idrolizzata enzimaticamente dalle cellulasi (di origine batterica)

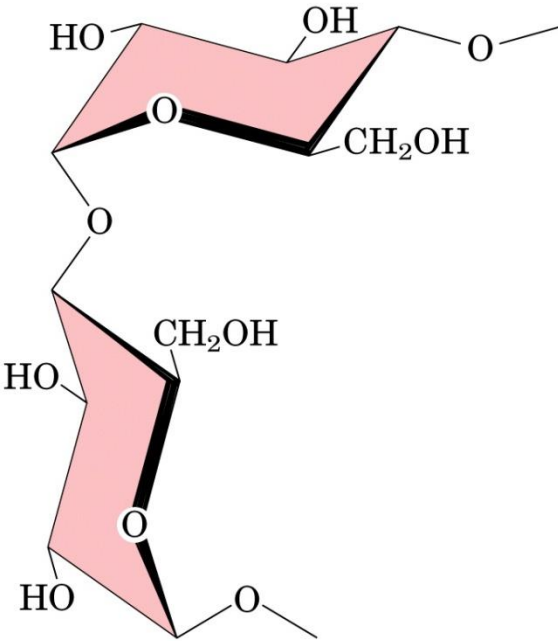


Differenze tra amilosio e cellulosa



$(\beta 1 \rightarrow 4)$ -linked D-glucose units

(a)



$(\alpha 1 \rightarrow 4)$ -linked D-glucose units

(a)

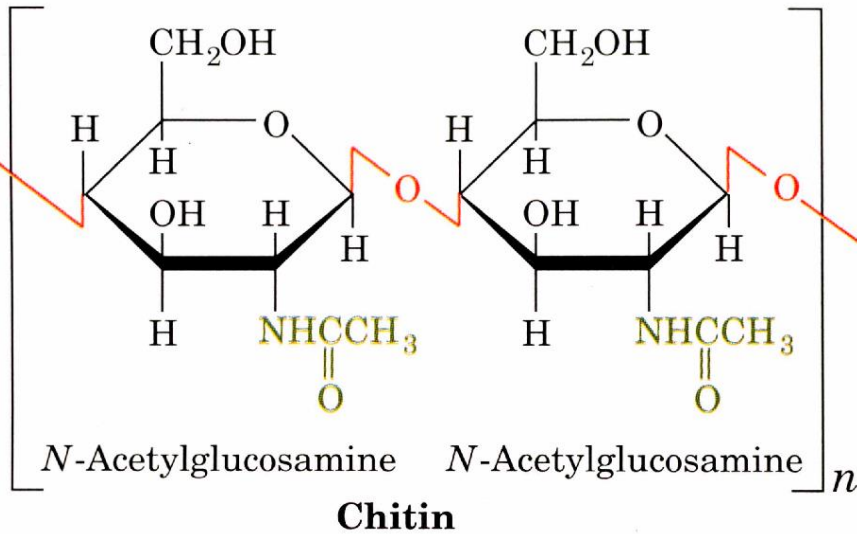
- Il legame glicosidico β -(1 \rightarrow 4) della cellulosa consente la disposizione lineare delle unità monosaccaridiche e la formazione di legami idrogeno intracatena
- Il legame glicosidico α -(1 \rightarrow 4) dell'amilosio costringe il polimero ad assumere una conformazione elicoidale

Fibre alimentari

- Consistono nella frazione di alimenti non chimicamente omogenea priva di interesse nutrizionale
- Il fabbisogno stimato è di circa 30 g/die
 - 1/3 fibre insolubili (cellulosa, lignina)
 - 2/3 fibre solubili (oligosaccaridi del galattosio e del fruttosio)
- Le fibre sono altamente igroscopiche



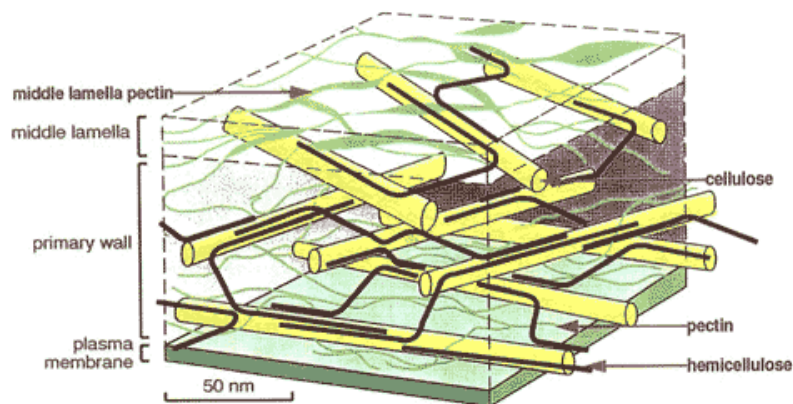
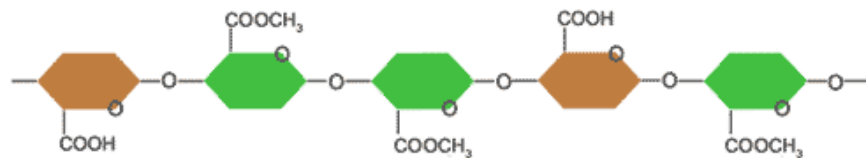
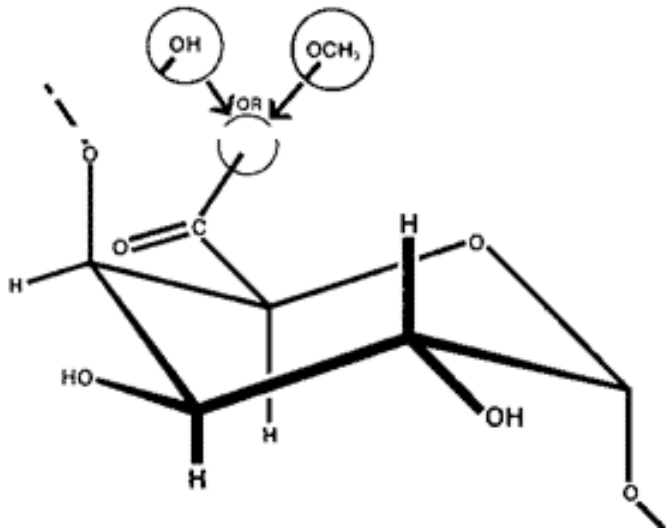
La chitina



- È il principale componente dell'esoscheletro degli insetti, dei crostacei e dei ragni, ma è presente nella parete cellulare di molti funghi ed alghe
- Polimero lineare della N-acetil-D-glucosamina connesse mediante legame β -(1 \rightarrow 4) glicosidico
- Analogamente alla cellulosa i numerosi legami idrogeno intra-ed intercatena le conferiscono elevata stabilità e robustezza. Nonostante l'idrofilicità è insolubile in acqua

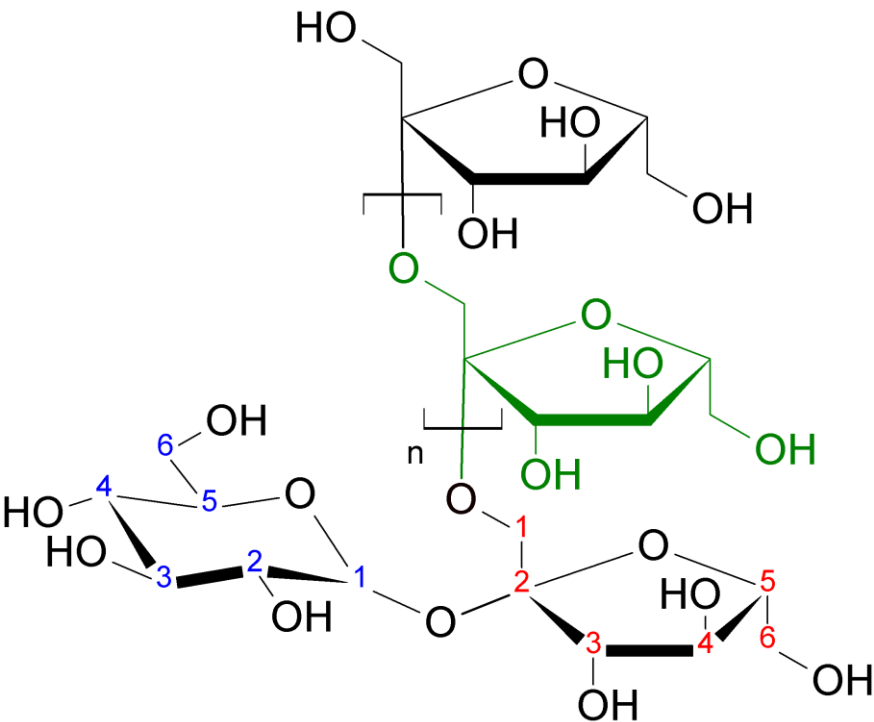


Le pectine



- Polimeri dell'acido galatturonico con legami glicosidici α -(1→4) con vario grado di esterificazione metilica
 - High methoxy pectin: metossilazione > 70 % (utilizzato come gelificante)
 - Low methoxy pectin: metossilazione < 50 % (gelifica in presenza di Ca²⁺)
- Inoltre sono presenti residui di ramnosio, su cui si innestano catene laterali più o meno lunghe, che contengono ancora ramnosio, D-galattosio, L-arabinosio, e D-xilosio.
- In natura è presente negli spazi intercellulari dei vegetali e generalmente viene estratto dalle bucce d'arancia (3 % in peso) e dalla polpa di mela

L'inulina

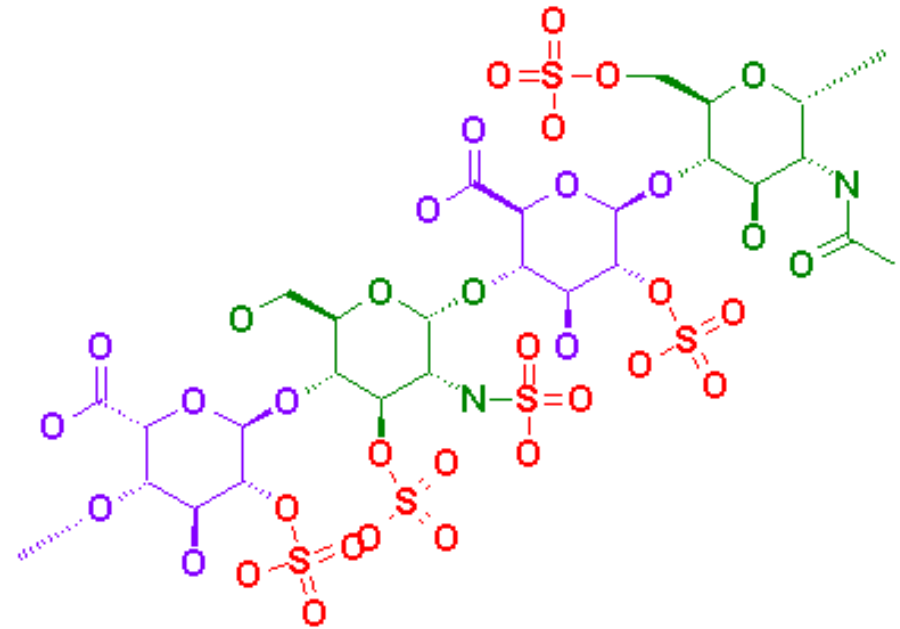


- Le piante che non accumulano amido (carciofi, dalie, topinambour) producono, come polisaccaride di riserva un polimero lineare (400 – 1000 residui) del fruttosio collegato mediante legame glicosidico β -(1 \rightarrow 2)
- L'inulina è solubile in acqua e viene idrolizzata dalle inulinasi che sono molto diffuse



I glucosaminoglicani

Glicosaminoglicano	Repeating disaccharide	Number of disaccharides per chain
Hyaluronate	<p>GlcA GlcNAc</p>	~50,000
Chondroitin 4-sulfate	<p>GlcA GalNAc4SO₃⁻</p>	20-60
Keratan sulfate	<p>Gal GlcNAc6SO₃⁻</p>	~25



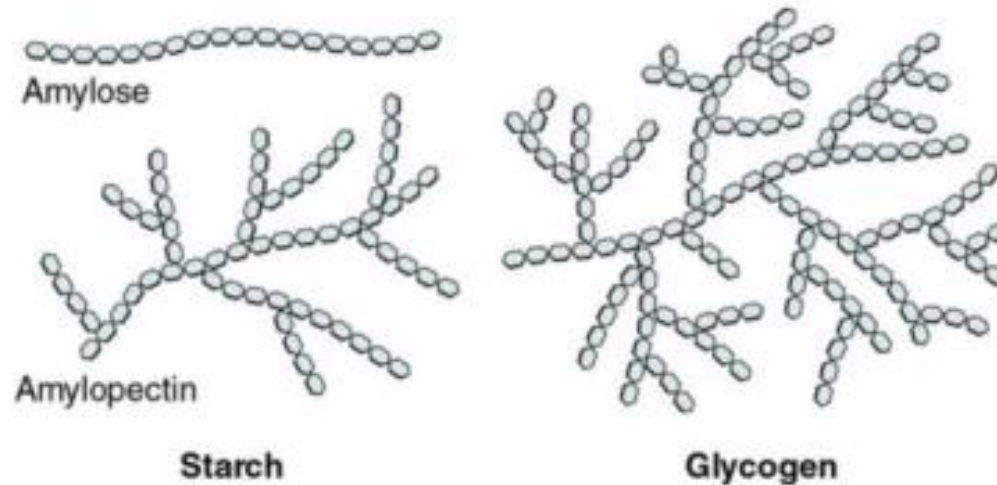
eparina

Le gomme



- Sono polisaccaridi molto ramificati generalmente indigeribili
- Sono altamente igroscopiche e danno soluzioni molto viscose senza formazione di gel
- Utilizzati per la stabilizzazione delle emulsioni e rendere più morbidi e cremosi gli alimenti (carne, gelato)
- Gomma adragante (polimero di acido galatturonico intercalato da inserzioni irregolari di L-ramnosio)
- Gomma di guar (polimero di D-mannosio ramificato con D-galattosio)
- Lo xantano è un polimero del glucosio similcellulosico ma con ramificazioni ogni 2 residui di un trisaccaride acido

Il glicogeno



- Rappresenta il polisaccaride di accumulo negli animali
- È più abbondante nelle fibre muscolari e nel fegato
- Di struttura simile all'amilopectina ma più estensivamente ramificato (un legame α -(1 \rightarrow 6) ogni 8 –12 residui)
- Degradato intracellularmente dalla glicogeno fosforilasi per dare il glucosio-1-fosfato

Controllo della glicemia

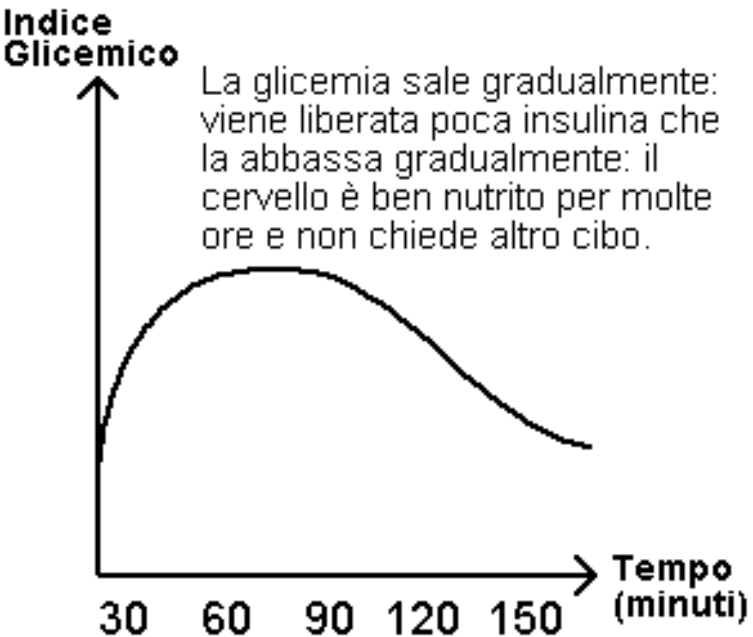


Figura 1a

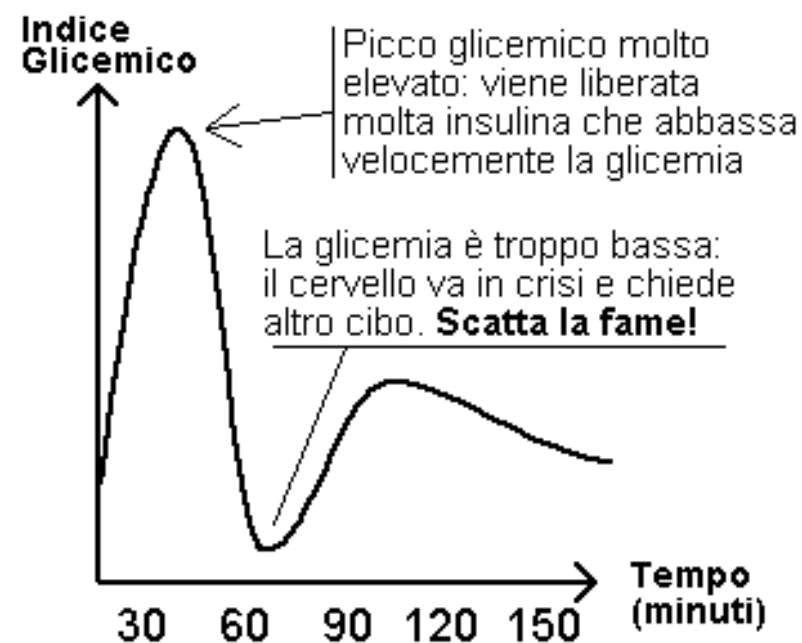
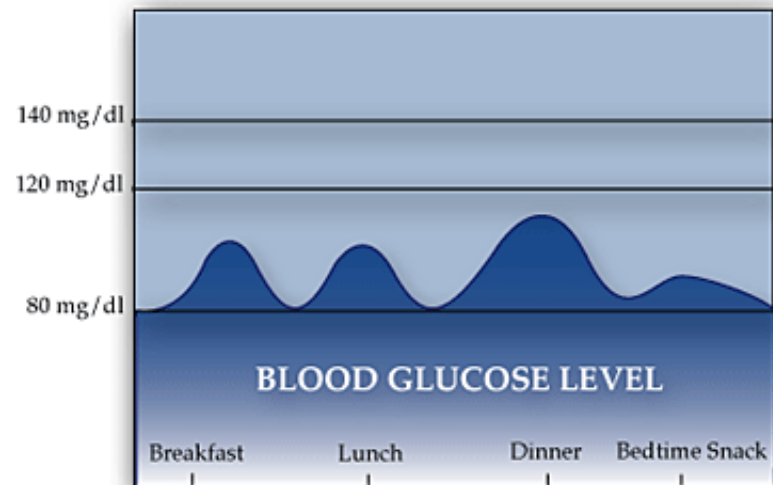
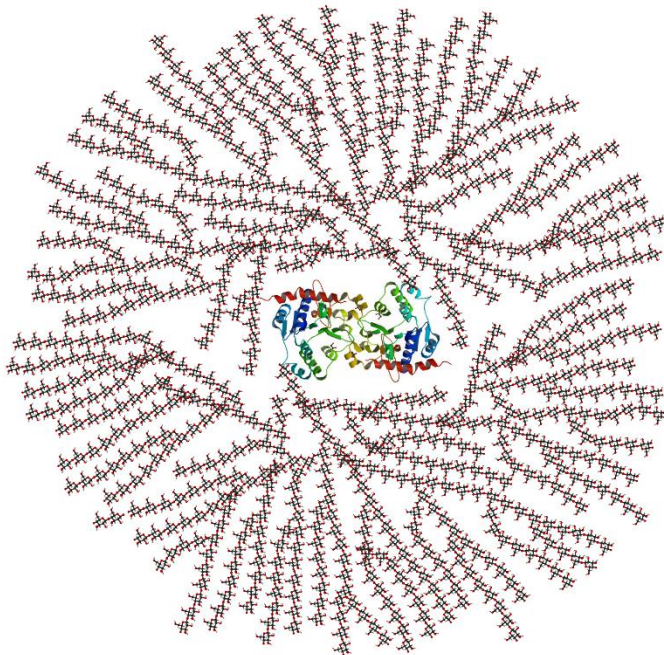
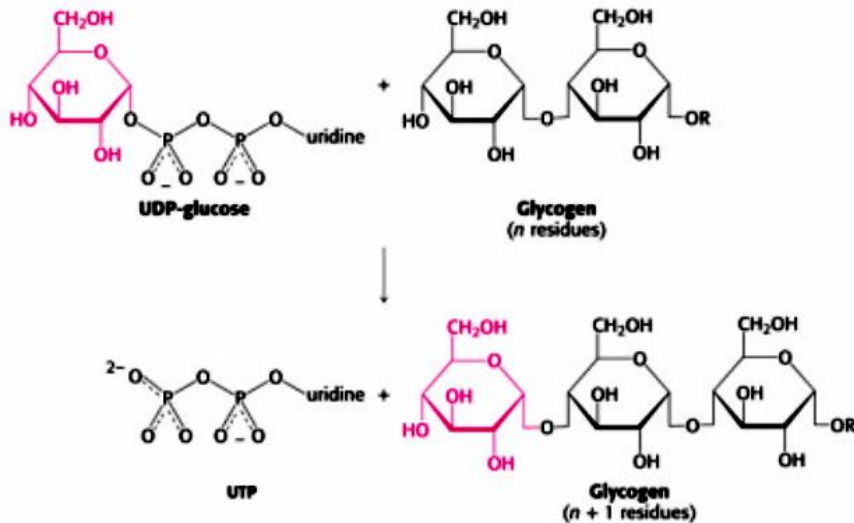


Figura 1b

- Due ormoni controllano la concentrazione di glucosio nel sangue
 - **Insulina:** stimola la sintesi del glicogeno, la lipogenesi e la glicolisi
 - **Glucagone:** stimola la degradazione del glicogeno e la lipolisi.



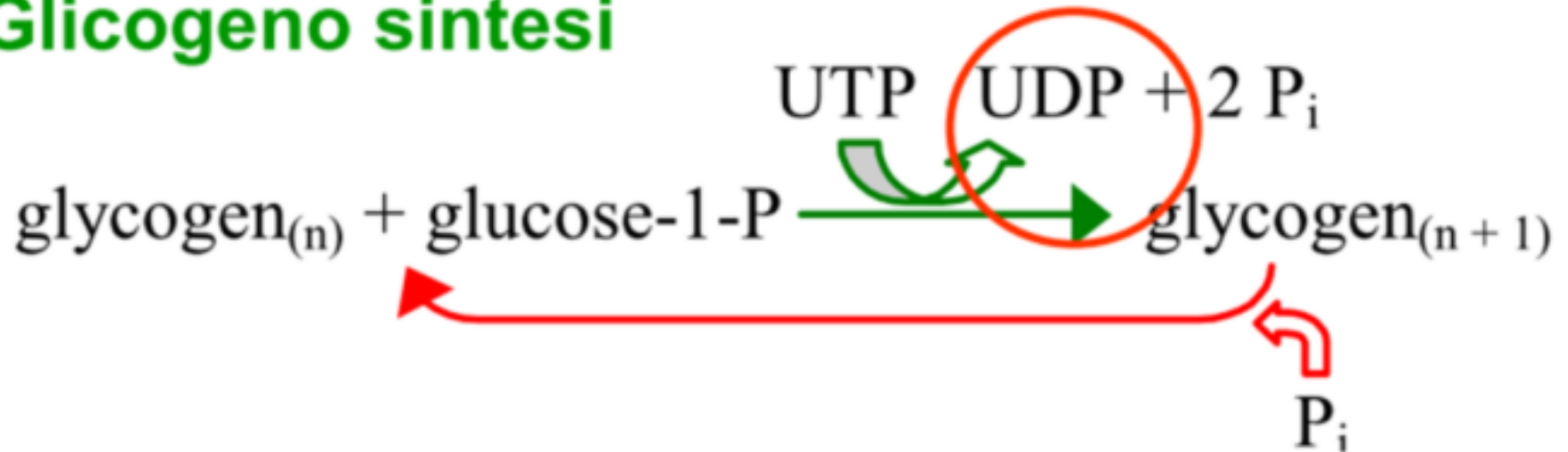
La sintesi del glicogeno



- La sintesi del glicogeno è effettuata dalla **glicogeno sintetasi** che utilizza l'**UDP-glucosio** come primo substrato e l'estremità non riducente del glicogeno come secondo.
- Il primo residuo di glucosio è fornito da una proteina, detta **glicogenina**, che si auto-glicosila su un residuo tirosinico e che rimane localizzata al centro della molecola di glicogeno.

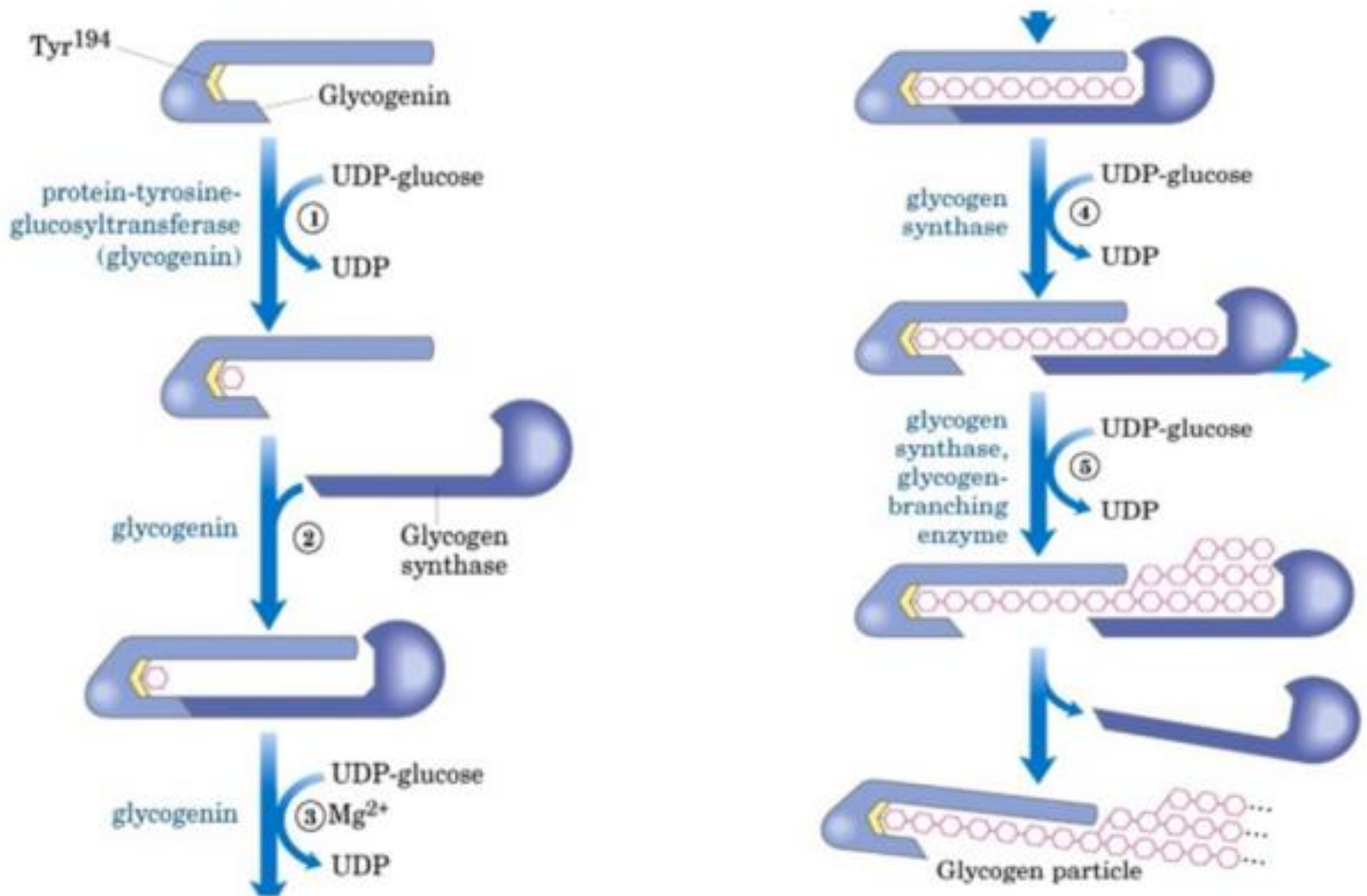
La sintesi del glicogeno

Glicogeno sintesi

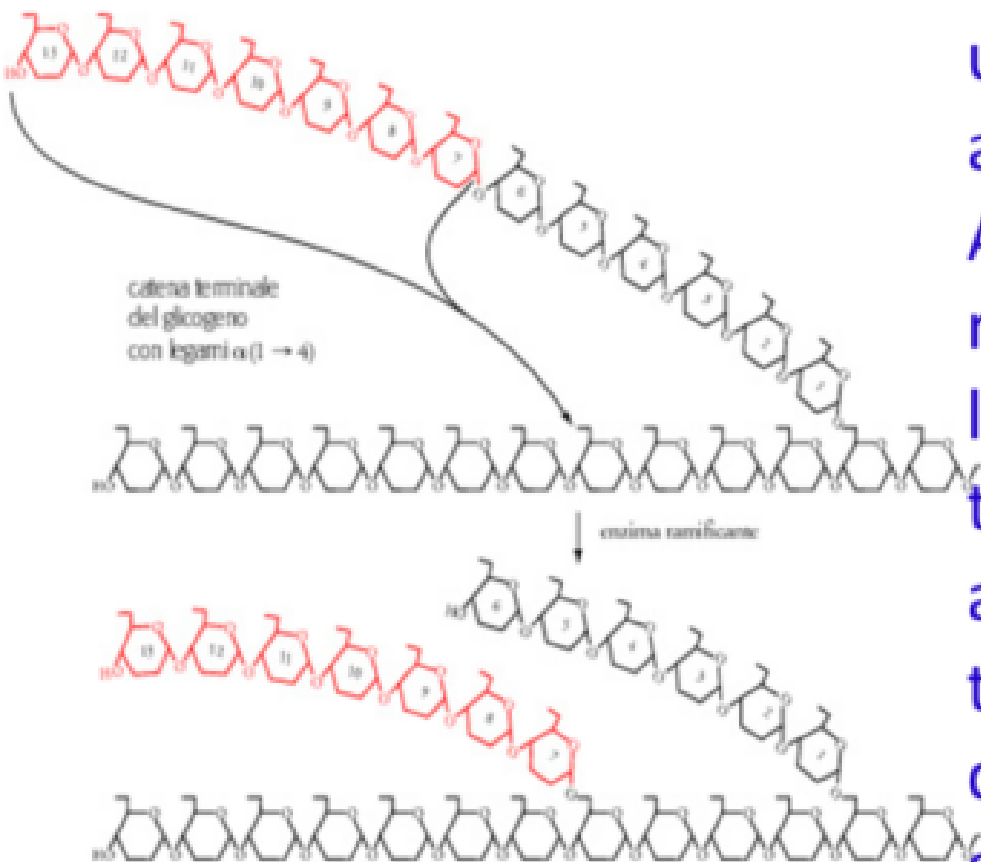


La reazione è catalizzata dalla **glicogeno sintetasi**, che deve essere attivata affinché possa svolgere la propria funzione catalitica.

Sintesi "de novo" di Glicogeno

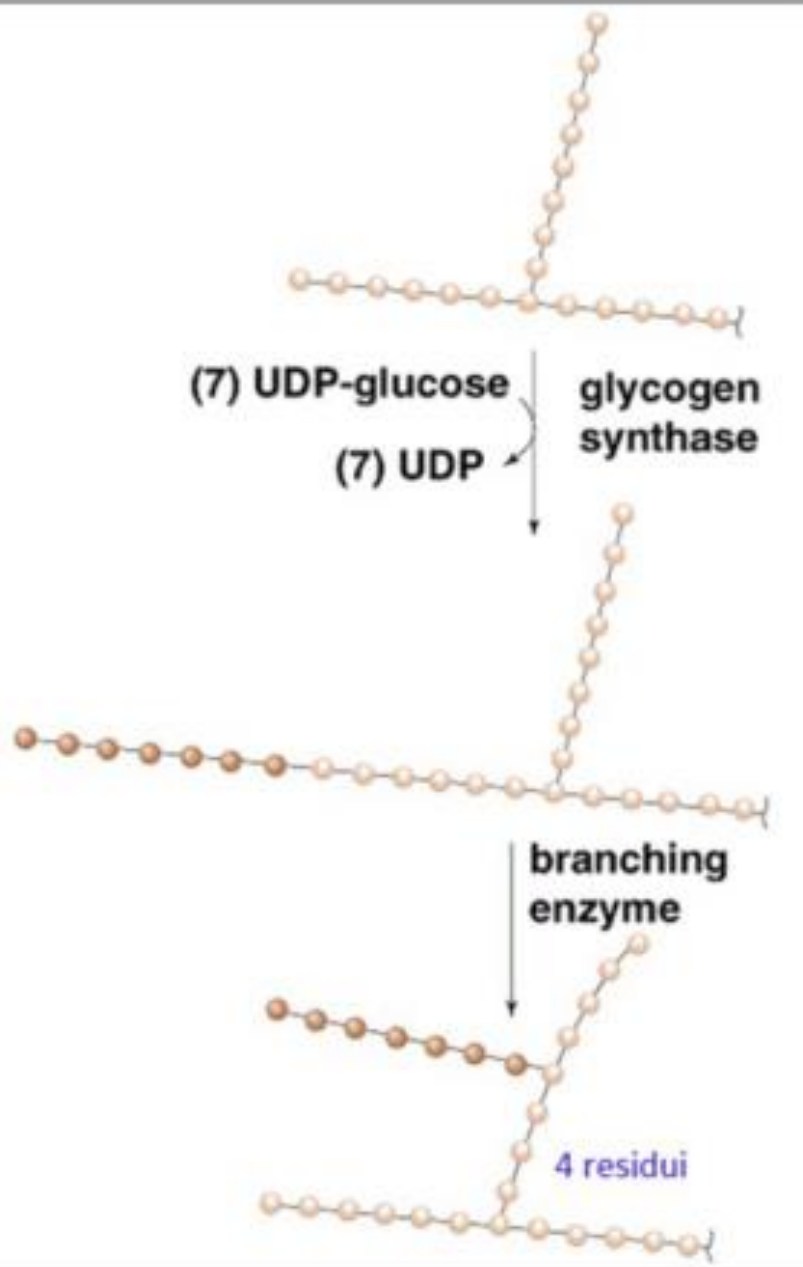


Enzima Ramificante o glicosil-(4 → 6)-transferasi



L'enzima ha la capacità di staccare circa sette residui di glucosio dalla estremità non riducente della catena lineare di glicogeno, ed attaccarli ad un'altra catena che abbia almeno 11 residui di glucosio. Affinché possa formarsi una ramificazione deve formarsi un legame O-glicosidico $\alpha(1 \rightarrow 6)$, tra il gruppo -OH del carbonio anomero di un residuo terminale di glucosio ed il C-6 della catena lineare di glicogeno.

Enzima Ramificante

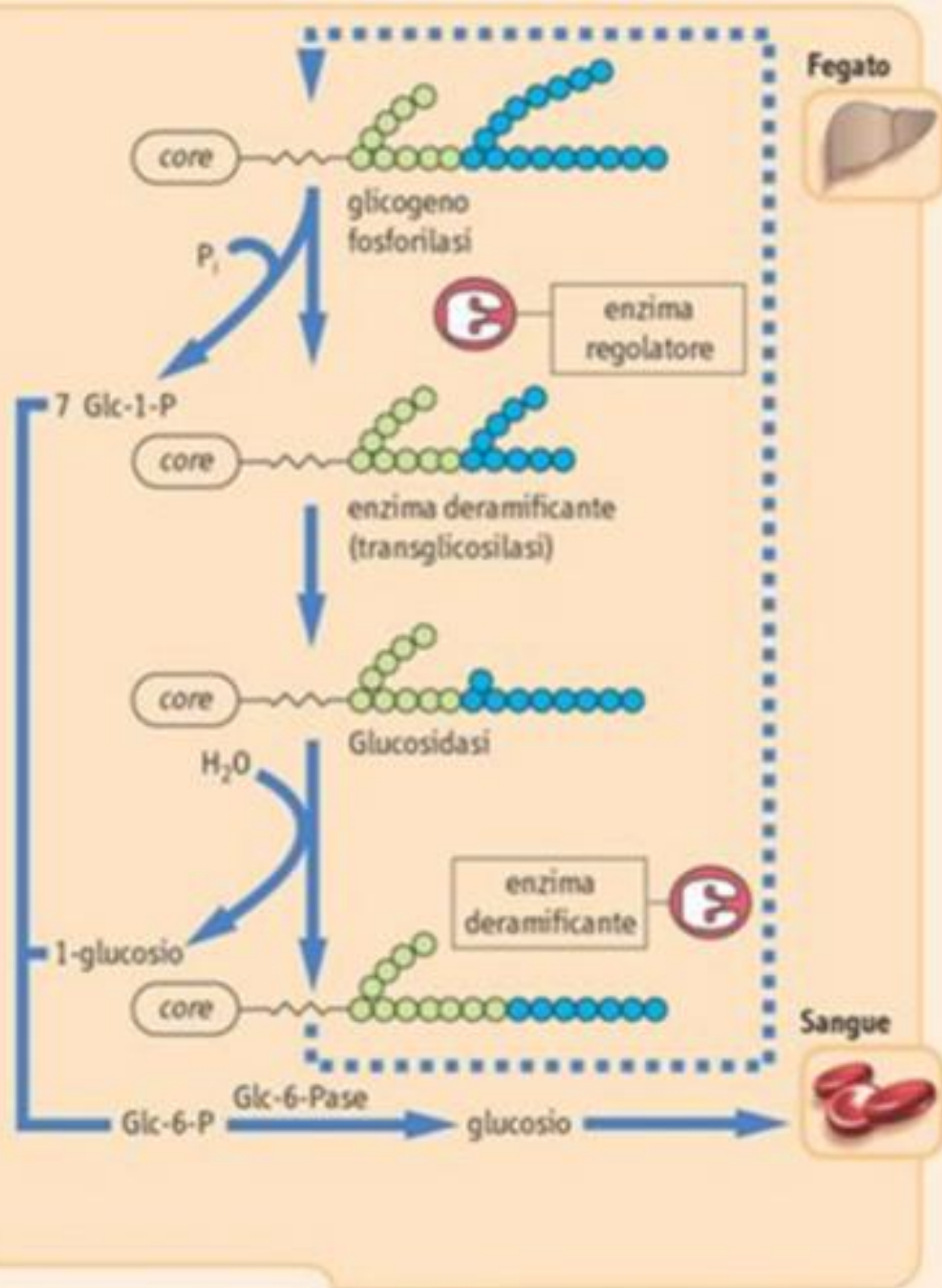


Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Carboidrato legato a residuo di Asp conservato



Il nuovo punto di ramificazione deve distare almeno quattro residui dal punto di ramificazione precedente.

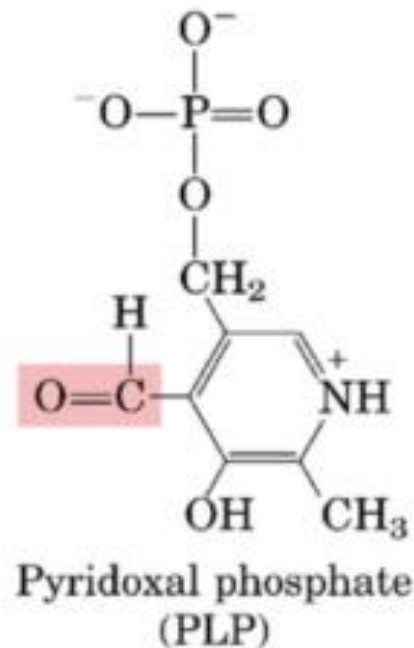
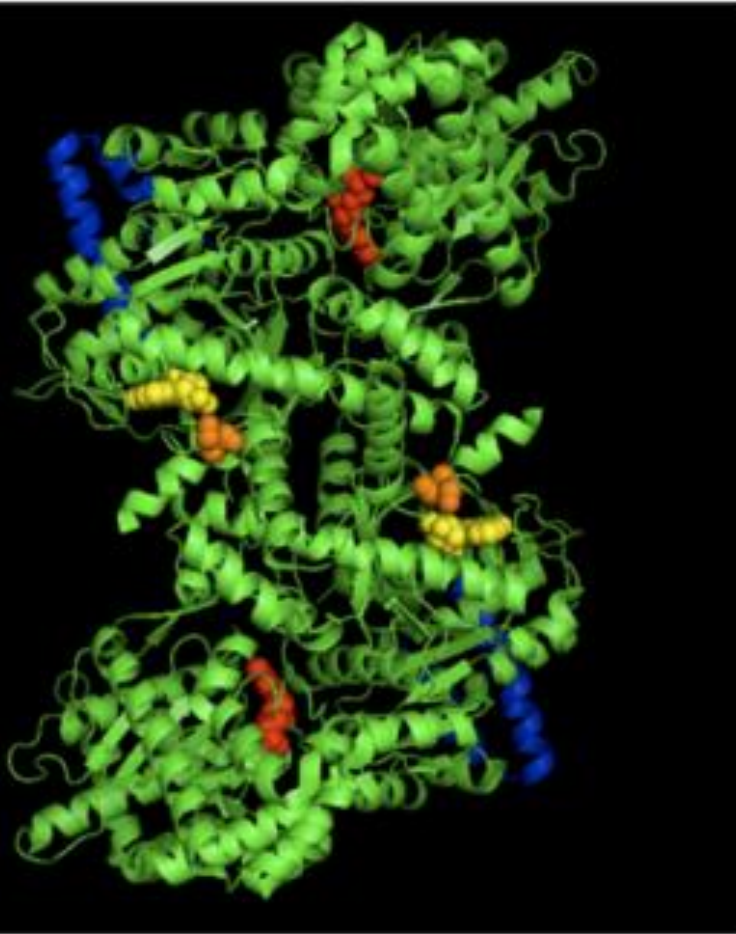


Glicogenolisi

- L'enzima principale della glicogenolisi è la glicogeno fosforilasi
- Anche questo enzima è soggetto ad attivazione

Glicogeno Fosforilasi

Vitamina B₆



Struttura del complesso glicogeno fosforilasi-AMP da uscolo di coniglio. L'AMP è un effettore allosterico che si lega ad un sito di legame specifico (giallo), dove è presente la serina 14 fosforilata (arancione). Il sito di legame del glicogeno (blue) ed il sito catalitico (rosso)

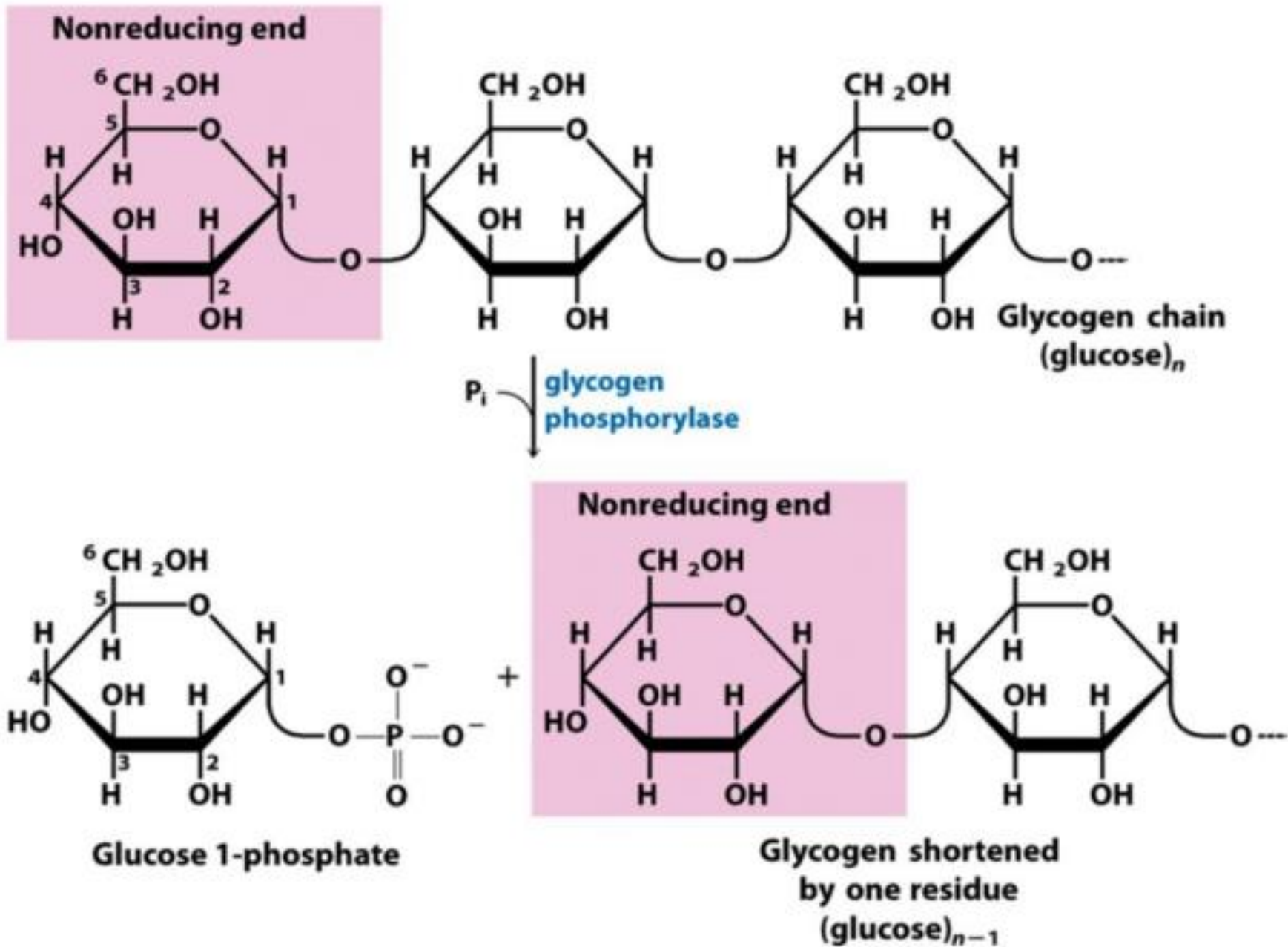


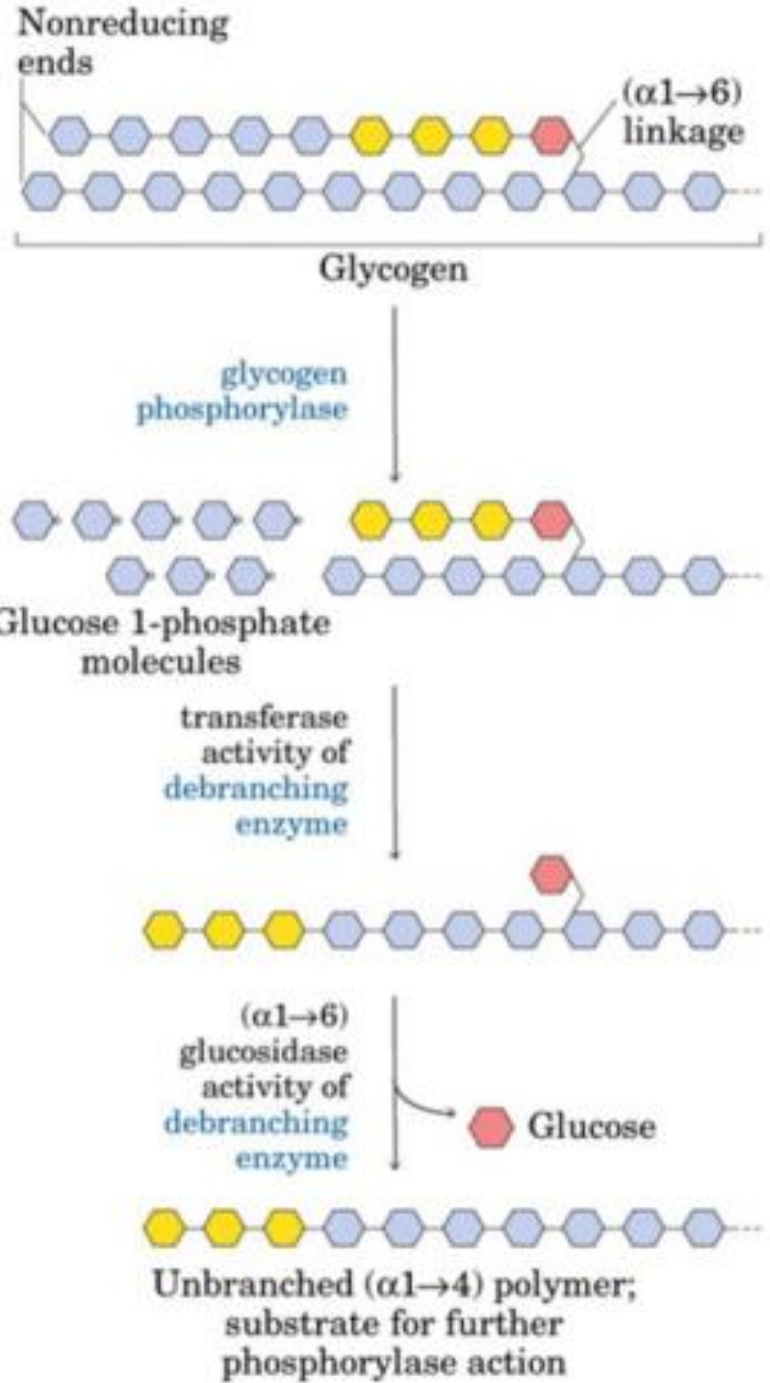
Figure 15-25

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Enzima deramificante

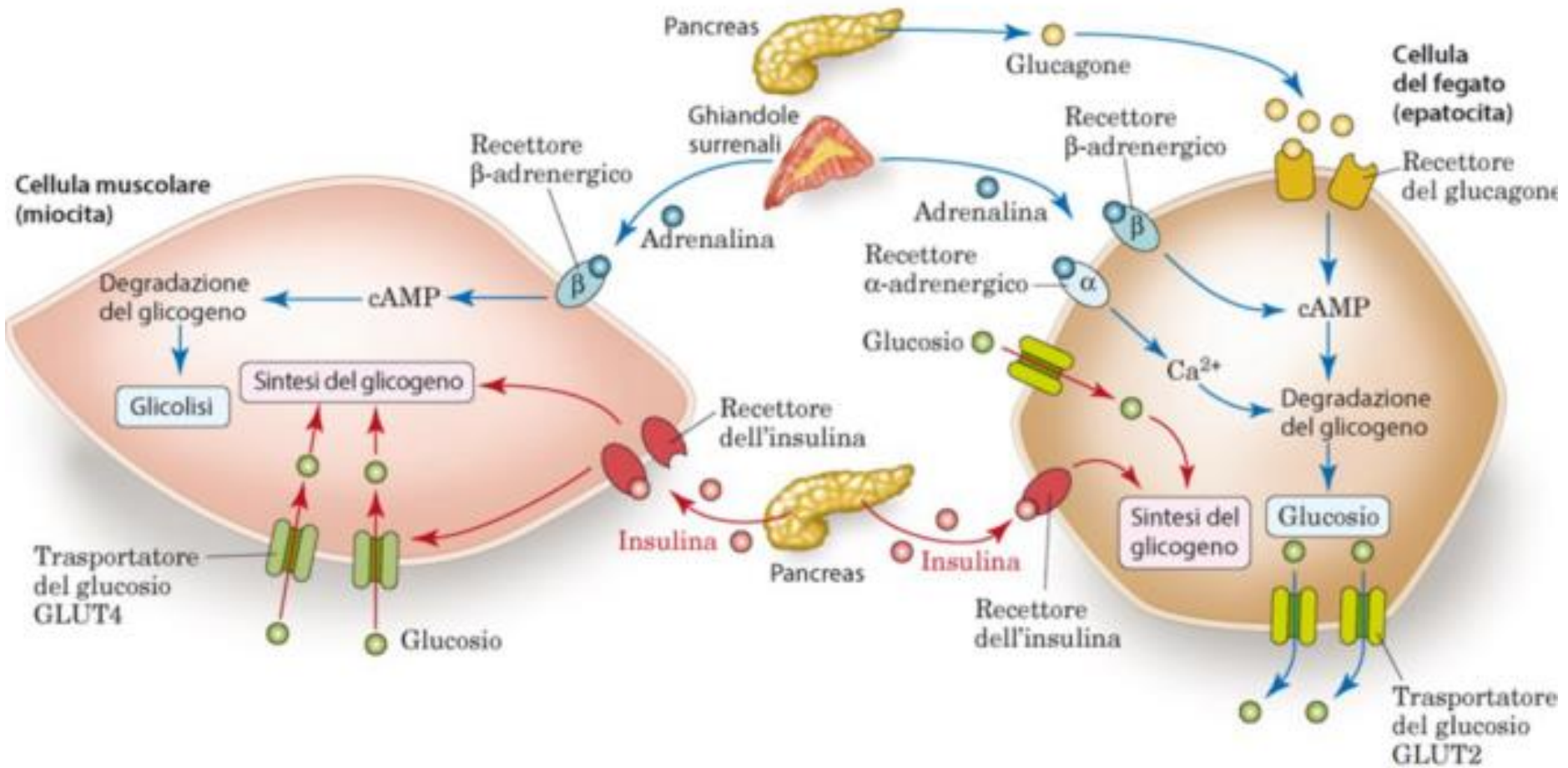
L'enzima deramificante (oligo-($\alpha 1 \rightarrow 6$)($\alpha 1 \rightarrow 4$) glucosio transferasi) trasferisce la catena di 3 residui sull'estremità più vicina legandola con un legame glicosidico $\alpha 1 \rightarrow 4$, successivamente scinde il legame glicosidico $\alpha 1 \rightarrow 6$ rilasciando una molecola di glucosio



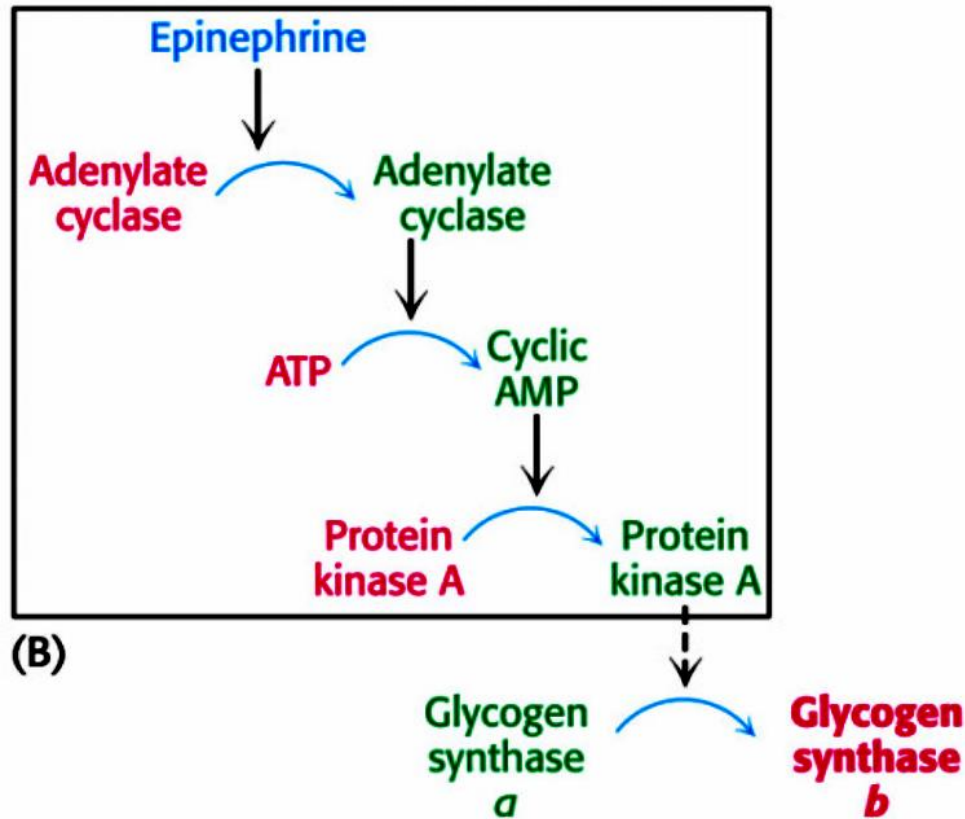
Controllo della sintesi e della demolizione del glicogeno

- Se le vie di sintesi e demolizione fossero attive simultaneamente, nella cellula si creerebbe un ciclo futile con il consumo di una molecola di ATP per ciclo (quella spesa per convertire l'UDP in UTP).
- La strategia per evitare questo ciclo futile è far sì che la **glicogeno sintetasi** e la **glicogeno fosforilasi** rispondano in maniera opposta agli stessi segnali.

Controllo ormononale della sintesi e degradazione del glicogeno

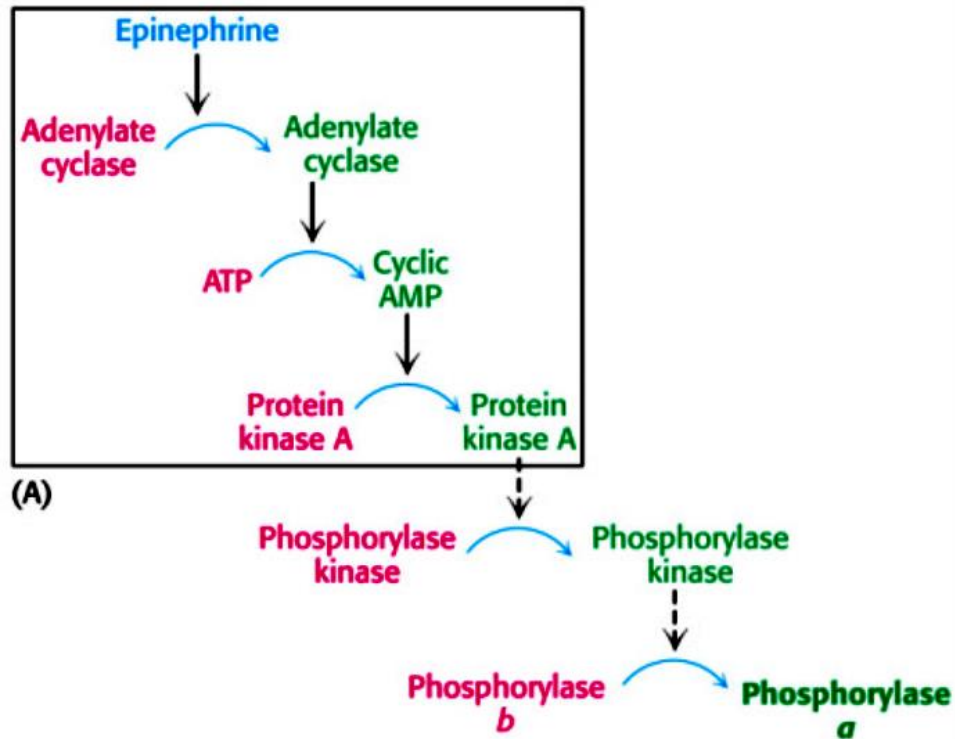


Regolazione della sintesi del glicogeno



- La **glicogeno sintetasi** è un enzima omotetramerico. L'attività enzimatica è controllata mediante fosforilazione di un residuo serinico. Tale fosforilazione ne riduce l'attività (**glicogeno sintetasi a**). Quando è nello stato non-fosforilato la glicogeno sintetasi non richiede l'attivatore allosterico glucosio-6-fosfato, mentre tale attivatore è richiesto se l'enzima si trova nello stato fosforilato (**glicogeno sintetasi b**).

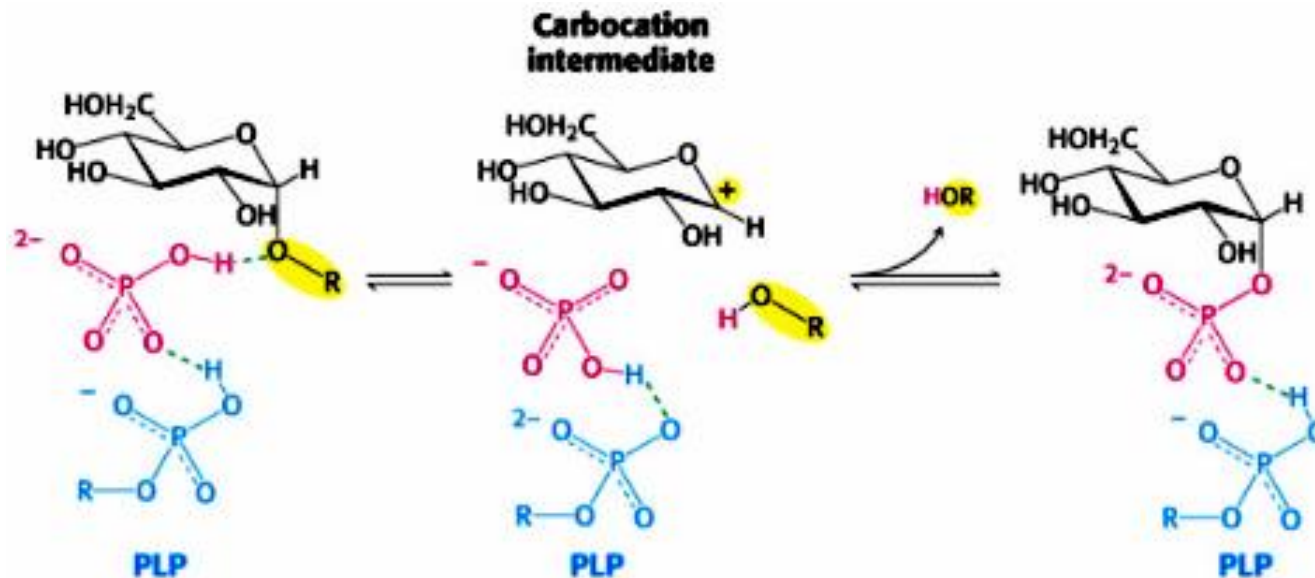
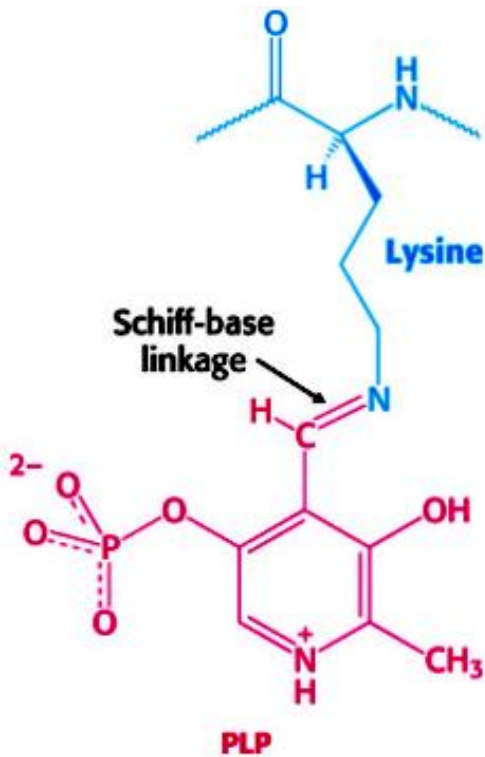
Regolazione dell'idrolisi del glicogeno



- La degradazione del glicogeno è catalizzata dalla **glicogeno fosforilasi** (un omodimero da 97 kDa che possiede come cofattore il piridossale fosfato)
- L'enzima utilizza fosfato inorganico per dare glucosio-1-fosfato
- Anche l'attività della **glicogeno fosforilasi** è modulata dalla fosforilazione

La glicogeno fosforilasi

- Il meccanismo prevede la formazione di un complesso ternario (E-fosfato-glicogeno) con conseguente formazione di un intermedio carbocationico
- La liberazione del glucosio-1-fosfato segue la reazione tra l'intermedio ed il fosfato presente nel sito attivo



- La **gligogeno fosforilasi** e la **glicogeno sintetasi** sono anche sotto il controllo da parte di effettori allosterici:
 - ATP
 - G6P
 - AMP

Controllo allosterico

- La glicogeno fosforilasi è attivata da AMP ed inibita da ATP e glucosio-6-fosfato (G6P)

Elevata richiesta di ATP

↓ ATP ↓ Gluc6P ↑ AMP

glicogeno fosforilasi **attivata**

glicogeno sintetasi **inibita**

favorita la demolizione del glicogeno

Controllo allosterico

- La glicogeno sintetasi è attivata dal G6P

Al contrario

 ATP

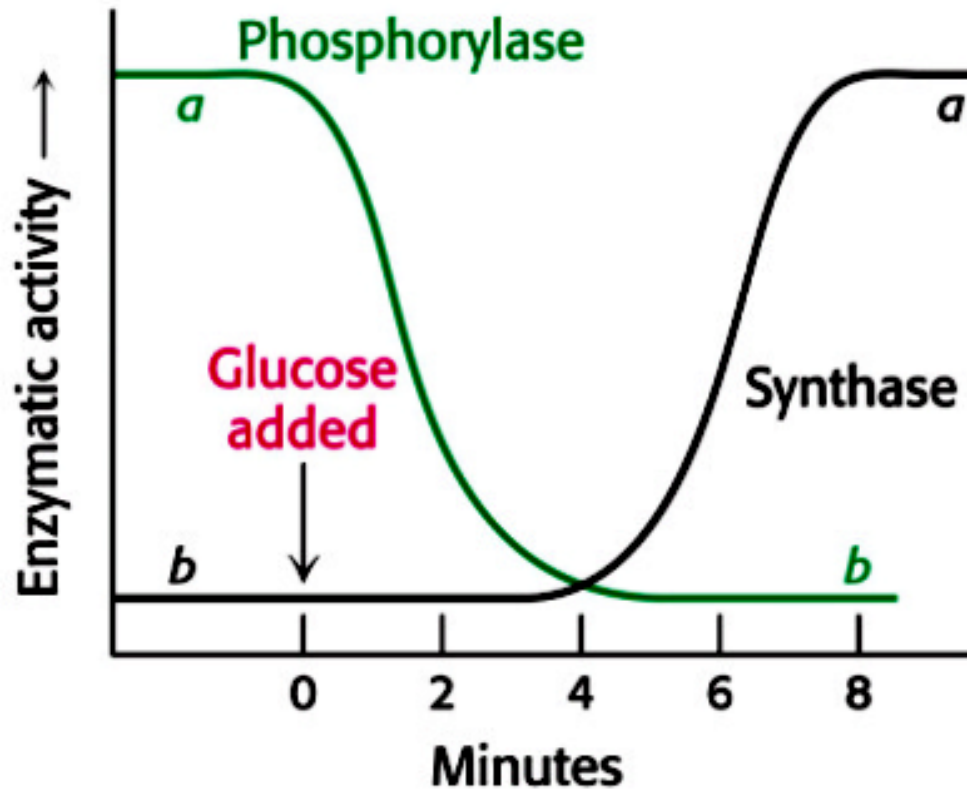
 Gluc6P

glicogeno sintasi **attivata**

glicogeno fosforilasi **inibita**

favorita la sintesi di glicogeno

Controllo della sintesi e della degradazione del glicogeno



- La concentrazione di glucosio nel sangue ed i livelli ematici di **insulina** e **glucagone** determinano il rapporto tra le forme attive ed inattive della **glicogeno sintetasi** e della **glicogeno fosforilasi**