

Prof. Giorgio Sartor

I Nutrienti

I grassi

Copyright © 2001-2008 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

L04 - Versione 1.3 - oct 2011

CHEMICAL STUDY OF SEVERAL MARINE MOLLUSKS OF THE PACIFIC COAST.*

BY P. GERHARD ALBRECHT.

(From the Department of Chemistry and Hopkins Marine Station of Stanford
University, Palo Alto.)

(Received for publication, December 20, 1920.)

TABLE I.

Enzymes of the Digestive Tract.

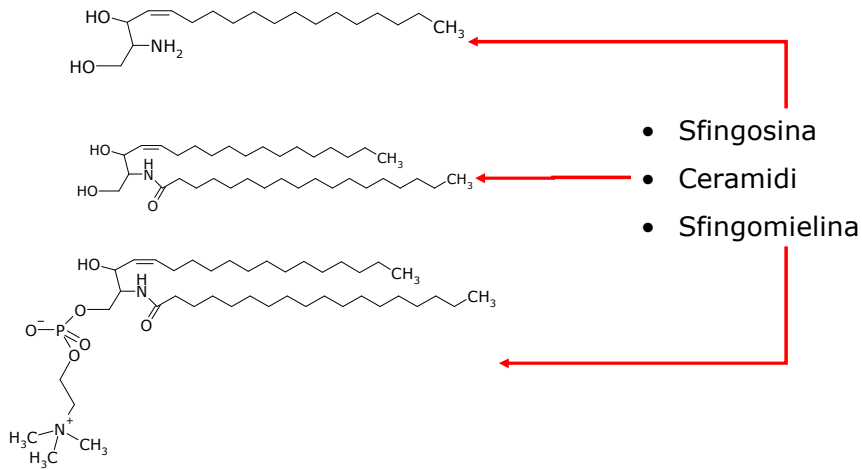
	<i>Abalone.</i>	<i>Pisno- clam.</i>	<i>Crypto- chiton.</i>	<i>Ischno- chiton.</i>	<i>Owl limpet.</i>
Amylase	+	+	+	+	+
Cytase	-	-	-	-	-
Emulsin	+	+	+	+	+
Glycogenase	+	+	+	+	+
Lactase	+	+	+	+	+
Lipase	+	+	+	+	+
Maltase	+	+	+	+	+
Pepsin	+	+	+	+	+
Sucrase	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+
Uricase	-	-	-	-	-

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 2 -

I grassi (esteri della sfingosina)

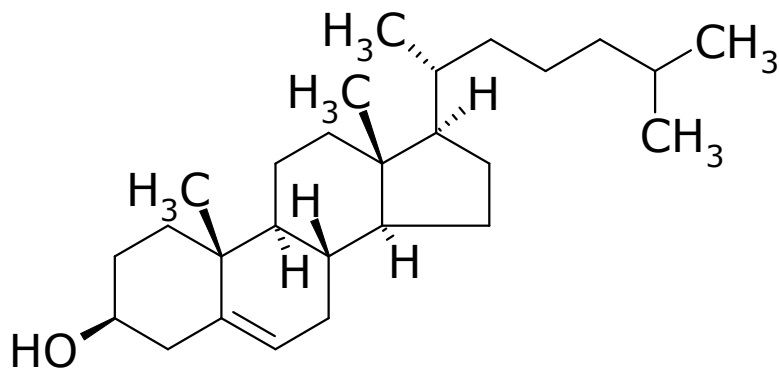


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 5 -

Colesterolo

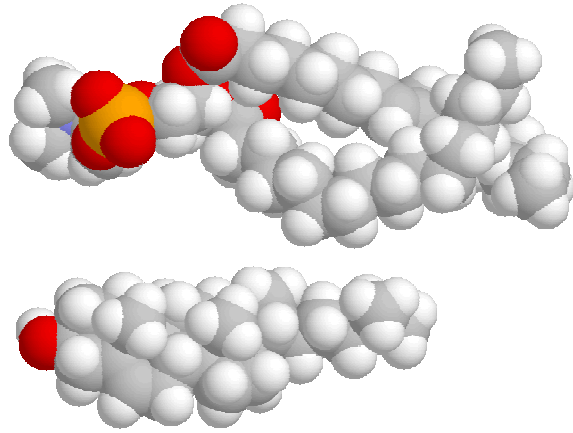


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 6 -

Nello spazio!



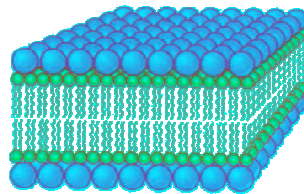
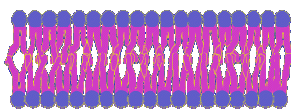
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

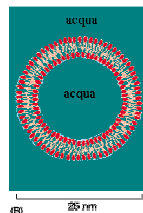
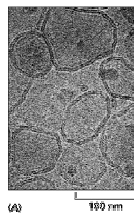
- 7 -

Bilayer

- I fosfolipidi formano bilayers.



- Liposomi:

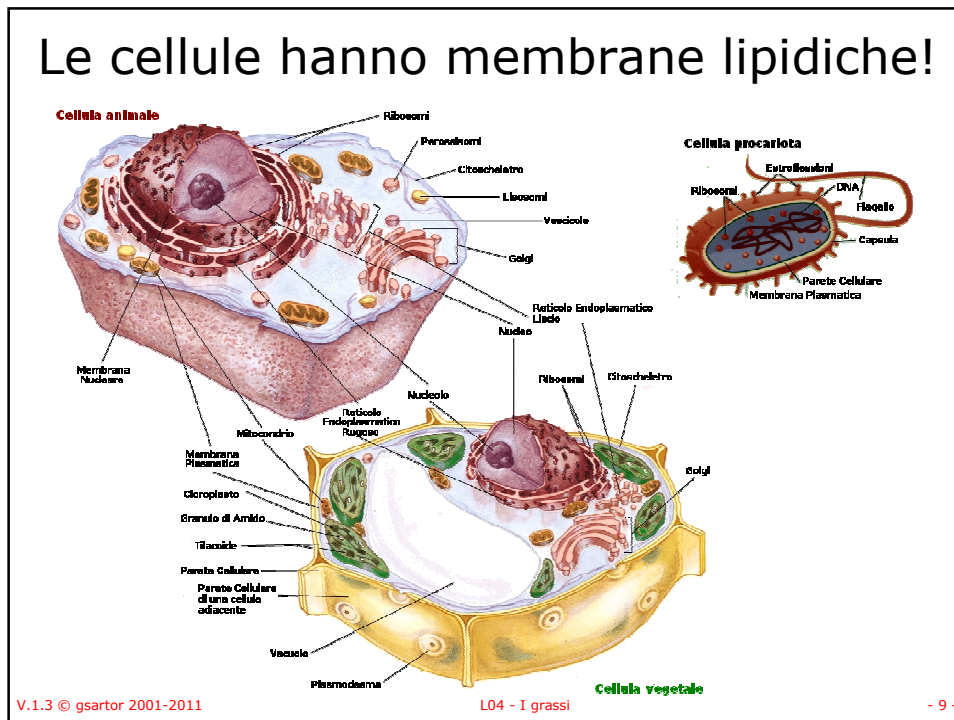


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 8 -

Le cellule hanno membrane lipidiche!

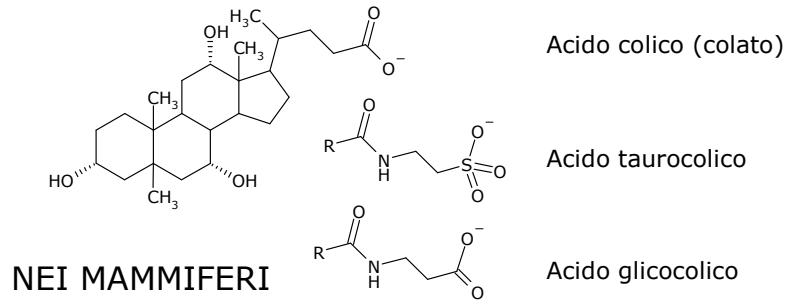


Digestione dei lipidi e trasporto

- A causa dell'insolubilità in acqua dei lipidi la loro digestione ed il trasporto sono un problema chimico.
- Gli enzimi che agiscono sui lipidi sono enzimi solubili o di membrana che agiscono all'interfaccia acqua-particella lipidica.
- I lipidi ed i prodotti di digestione (insolubili o poco solubili in acqua) devono essere trasportati attraverso compartimenti acquosi all'interno di cellule e tessuti per essere metabolizzati.

Detergenti

- L'accessibilità dei legami esterei dei TAG è favorita dalla presenza di sali di acili biliari che funzionano come emulsionanti:

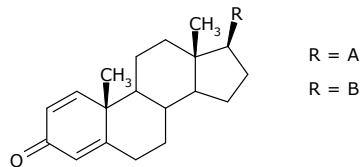
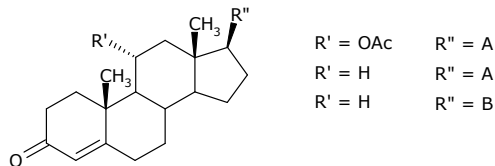


V.1.3 © gsartor 2001-2011

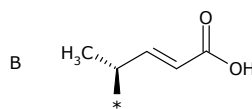
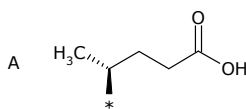
L04 - I grassi

- 11 -

Acidi "biliari" in ambiente marino



- Derivati dell'acido 3-oxo-col-4-en-24-oico e 3-oxo-col-1,4-dien-24-oico



New 3-Oxo-chole-4-en-24-oic Acids from the Marine Soft Coral *Eleutherobia* sp.
 Sarah C. Lievens, Ha'kon Hope, and Tadeusz F. Molinski*
J. Nat. Prod. **2004**, *67*, 2130-2132

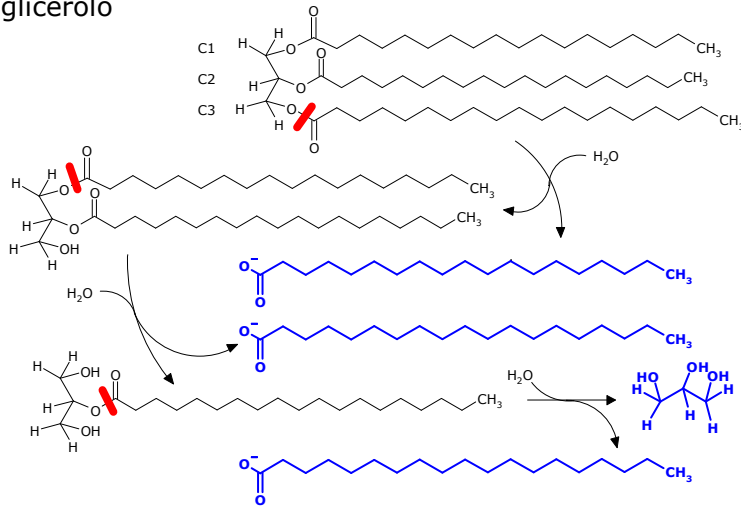
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 12 -

Lipasi

- Catalizza l'idrolisi dei triacilgliceroli in posizione 1 e 3 formando 1,2-diacilgliceroli, 2-acilglicerolo e quindi glicerolo

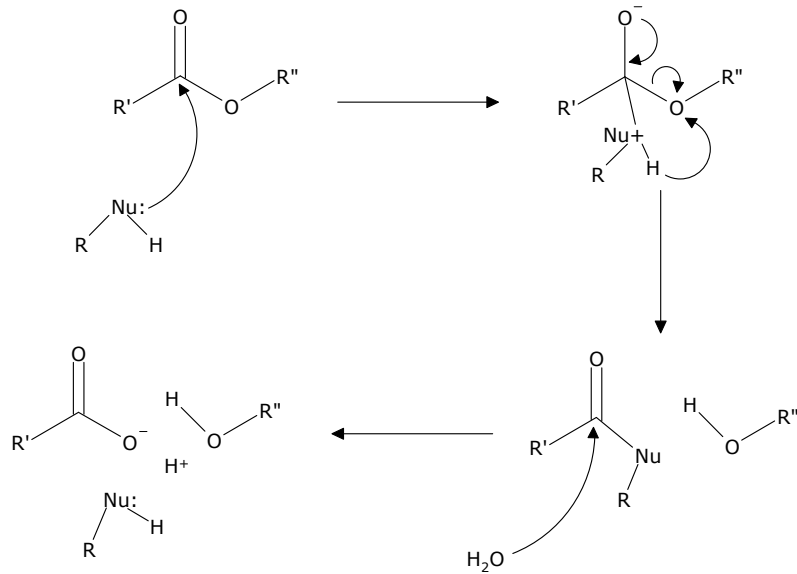


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 13 -

Lipolisi: meccanismo generale

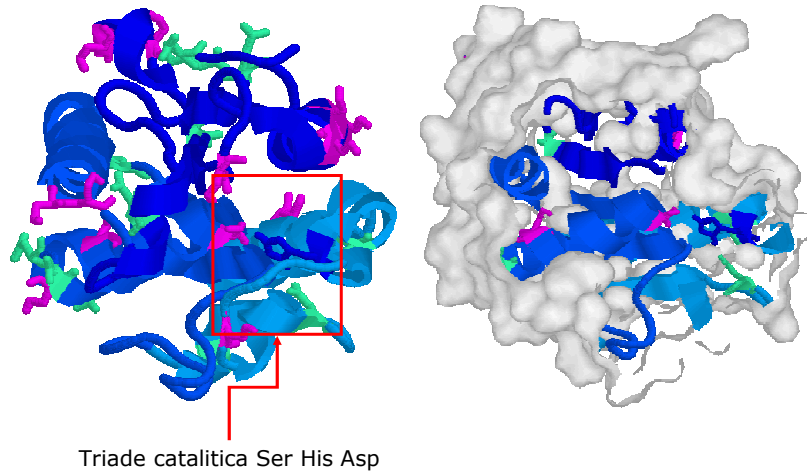


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 14 -

Lipasi (EC 3.1.1.3)



1CUA

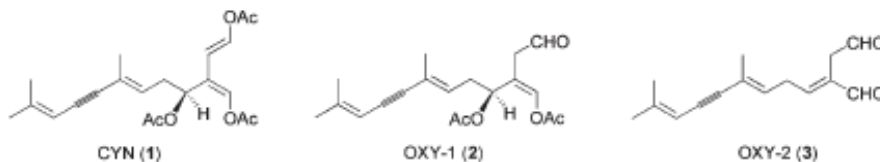
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 17 -

Lipasi come antidoto!

- Alcune alghe della famiglia *Caulerpaceae* (*Caulerpa prolifera*, *C. taxifolia* e *C. racemosa*) producono caulerpenina, un metabolita tossico (*sesquiterpene*) in grado di funzionare come deterrente chimico nei confronti di molluschi marini che vivono nella comunità algale.
- Una mollusco (*Oxynoe olivacea*) riesce a rendere inoffensivo il terpene attraverso una lipasi.



Lipase-mediated production of defensive toxins in the marine mollusc *Oxynoe olivacea*
 Adele Cutignano, Valentina Notti, Giuliana d'Ippolito, Anna Domènech Coll, Guido Cimino and
 Angelo Fontana*
 Org.Biomol.Chem., 2004, 2, 3167-3171

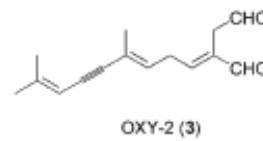
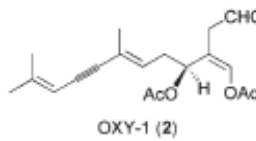
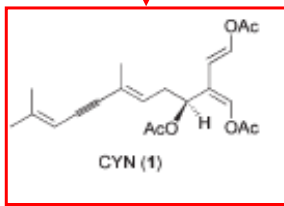
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 18 -

Lipasi come antidoto!

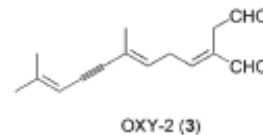
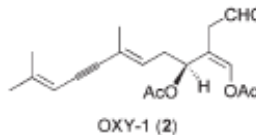
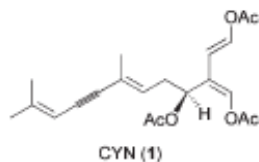
- Alcune alghe della famiglia *Caulerpaceae* (*Caulerpa prolifera*, *C. taxifolia* e *C. racemosa*) producono caulerpenina, un metabolita tossico (*sequiterpene*) in grado di funzionare come deterrente chimico nei confronti di molluschi marini che vivono nella comunità algale.
- Una mollusco (*Oxynoe olivacea*) riesce a rendere inoffensivo, per sé, il terpene attraverso una lipasi.



Lipase-mediated production of defensive toxins in the marine mollusc *Oxynoe olivacea*
 Adele Cutignano, Valentina Notti, Giuliana d'Ippolito, Anna Domènech Coll, Guido Cimino and
 Angelo Fontana*
 Org.Biomol.Chem.,2004,2,3167-3171

Lipasi come antidoto!

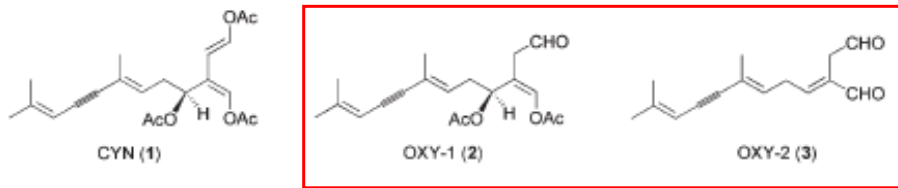
- Alcune alghe della famiglia *Caulerpaceae* (*Caulerpa prolifera*, *C. taxifolia* e *C. racemosa*) producono caulerpenina, un metabolita tossico (*sequiterpene*) in grado di funzionare come deterrente chimico nei confronti di molluschi marini che vivono nella comunità algale.
- Una mollusco (*Oxynoe olivacea*) riesce a rendere inoffensivo, per sé, il terpene attraverso una lipasi.



Lipase-mediated production of defensive toxins in the marine mollusc *Oxynoe olivacea*
 Adele Cutignano, Valentina Notti, Giuliana d'Ippolito, Anna Domènech Coll, Guido Cimino and
 Angelo Fontana*
 Org.Biomol.Chem.,2004,2,3167-3171

Lipase e foto!

- Alcune alghe della famiglia *C. taxifolia* e *C. nana* producono metaboliti tossici che funzionano come deterrente chimico per i predatori che vivono nella loro comunità.
- Una mollusco (*Oxyropsis*) produce per sé, il terpene...



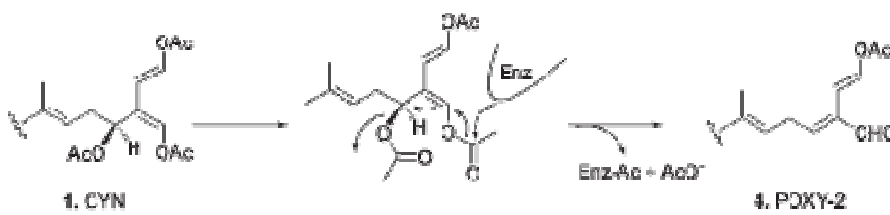
**TOSSINE PER LA DIFESA
DAI PREDATORI**

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 21 -

Meccanismo



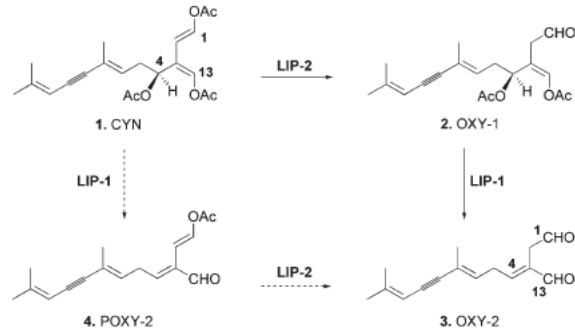
Lipase-mediated production of defensive toxins in the marine mollusc *Oxyropsis olivacea*
Adele Cutignano, Valentina Notti, Giuliana d'Ippolito, Anna Domènech Coll, Guido Cimino and Angelo Fontana*
Org. Biomol. Chem., 2004, 2, 3167-3171

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 22 -

Meccanismo



Scheme 2 Proposed synthesis of oxytoxins by *O. olivacea*. Plain and dotted arrows indicate the conversion of caulerperylene (**1**) to oxytoxin-2 (**3**) *in vivo* and *in vitro*, respectively. LIP-1 denotes the lipase activity capable of performing the concerted elimination of the acetyl group at C-4 and C-13. LIP-2 denotes the lipase activity capable of removing the acetyl group at C-1.

Lipase-mediated production of defensive toxins in the marine mollusc *Oxyno olivacea*
 Adele Cutignano, Valentina Notti, Giuliana d'Ippolito, Anna Domèneci Coli, Guido Cimino and
 Angelo Fontana*

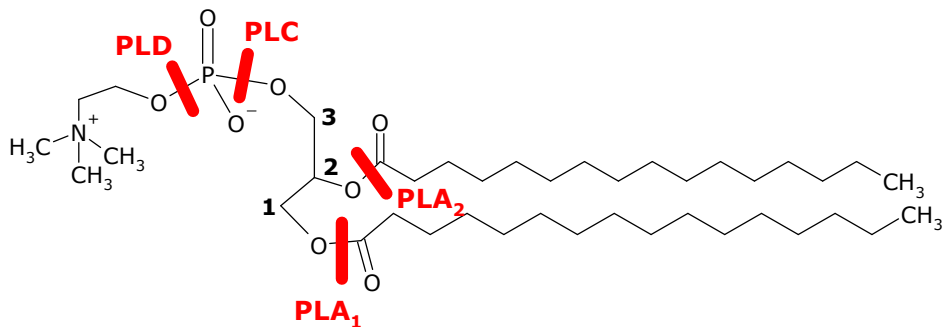
Org.Biomol.Chem.,2004,2,3167-3171

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 23 -

Fosfolipasi



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 24 -

Fosfolipasi

- Fosfolipasi A₁ EC 3.1.1.32
- Fosfolipasi A₂ EC 3.1.1.4
- Fosfolipasi C EC 3.1.4.3
- Fosfolipasi D EC 3.1.4.4

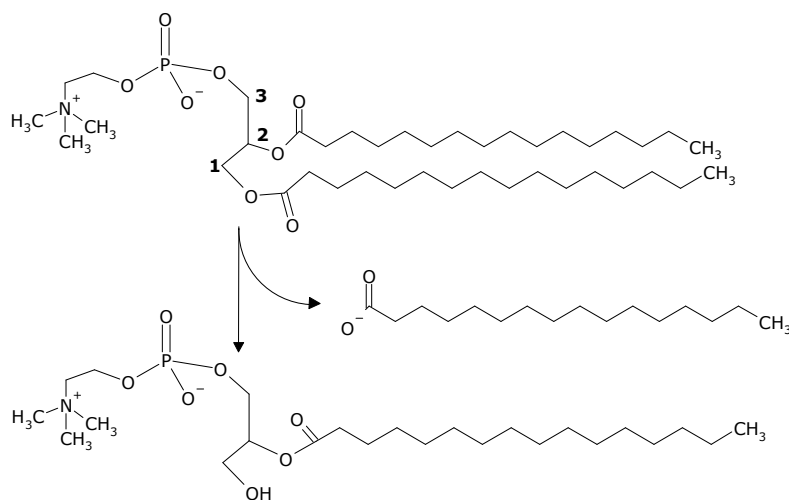
- Lipasi EC 3.1.1.3

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 25 -

Fosfolipasi A₁ (EC 3.1.1.32)

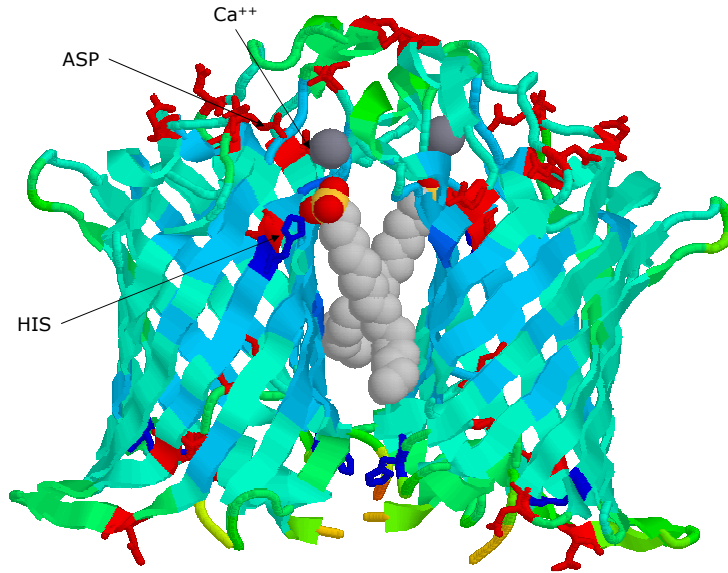


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 26 -

Fosfolipasi A₁



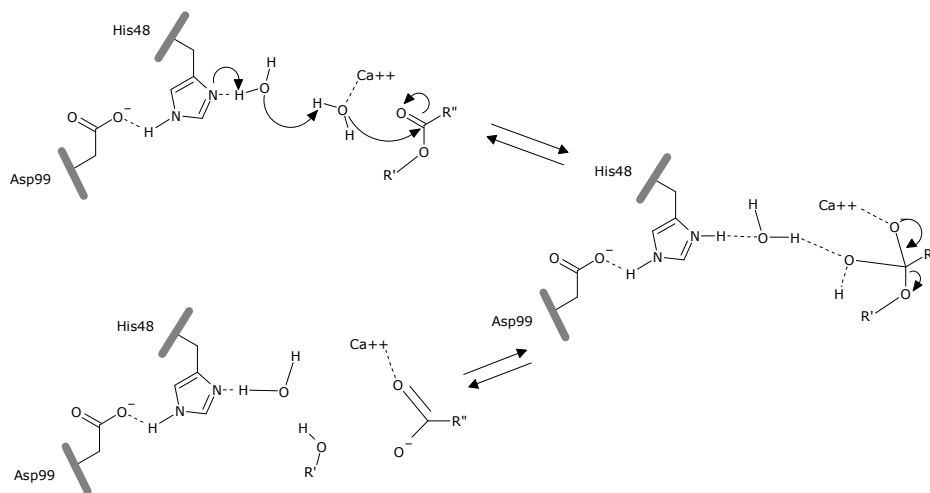
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

1QD6

- 27 -

Meccanismo (diade catalitica)

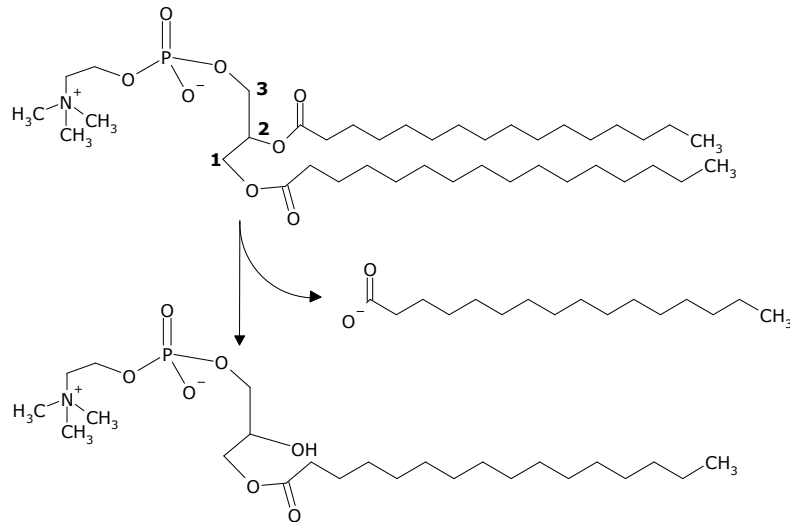


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 28 -

Fosfolipasi A₂ (EC EC 3.1.1.4)



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 29 -

Fosfolipasi A₂

- Il lisofosfolipide è un detergente potentissimo,
- La fosfolipasi A₂ è contenuta nel veleno di serpenti (cobra), insetti (api), probabilmente anche in invertebrati marini (spugne), l'effetto è quello di lisare i globuli rossi attraverso l'effetto della lisofosfatidilcolina
- Nei mammiferi è secreta dal pancreas e una piccola quantità di lecitina viene secreta dal fegato, e quindi idrolizzata, per aiutare la solubilizzazione dei grassi.

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 30 -

Fosfolipasi A₂

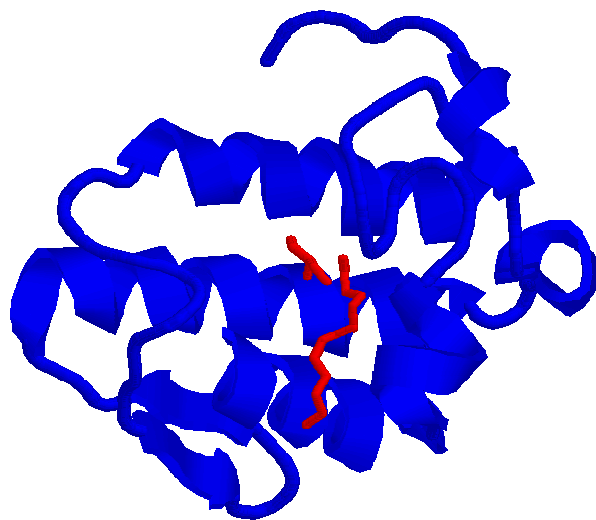
- Esistono almeno due famiglie di PLA₂:
 - sPLA₂: secreta, che permette l'idrolisi dei fosfolipidi all'interfaccia, e possiede un dominio che si lega alla membrana (veleno delle api)
 - cPLA₂: citosolica, che viene utilizzata per la produzione di acidi grassi (arachidonato), inositolo fosfato come messaggeri intracellulari.

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 31 -

Fosfolipasi A₂ (EC 3.1.1.4)

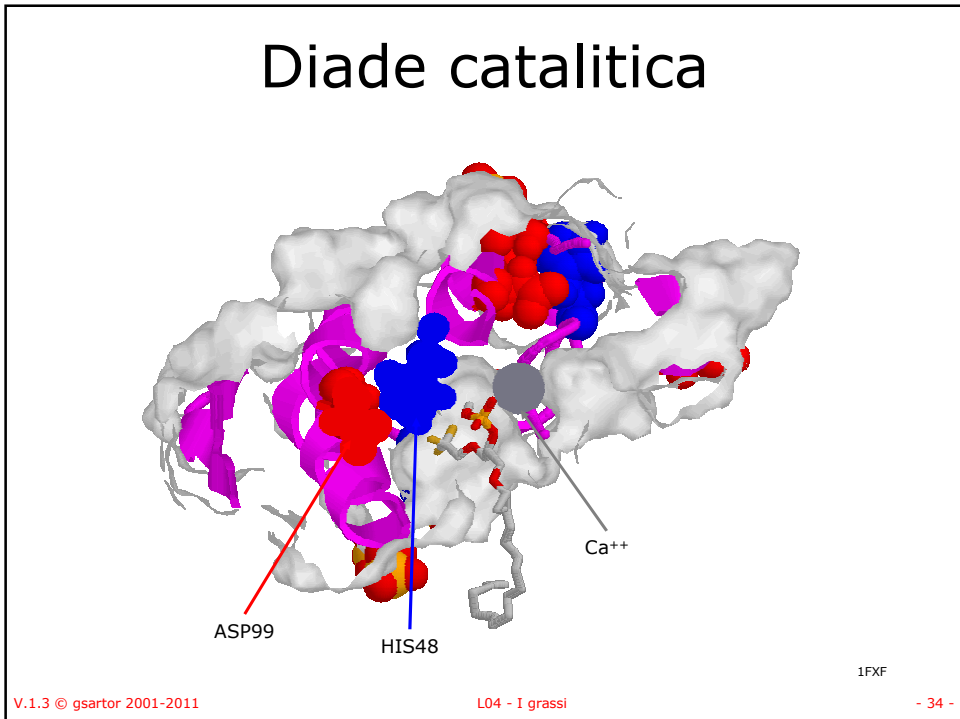
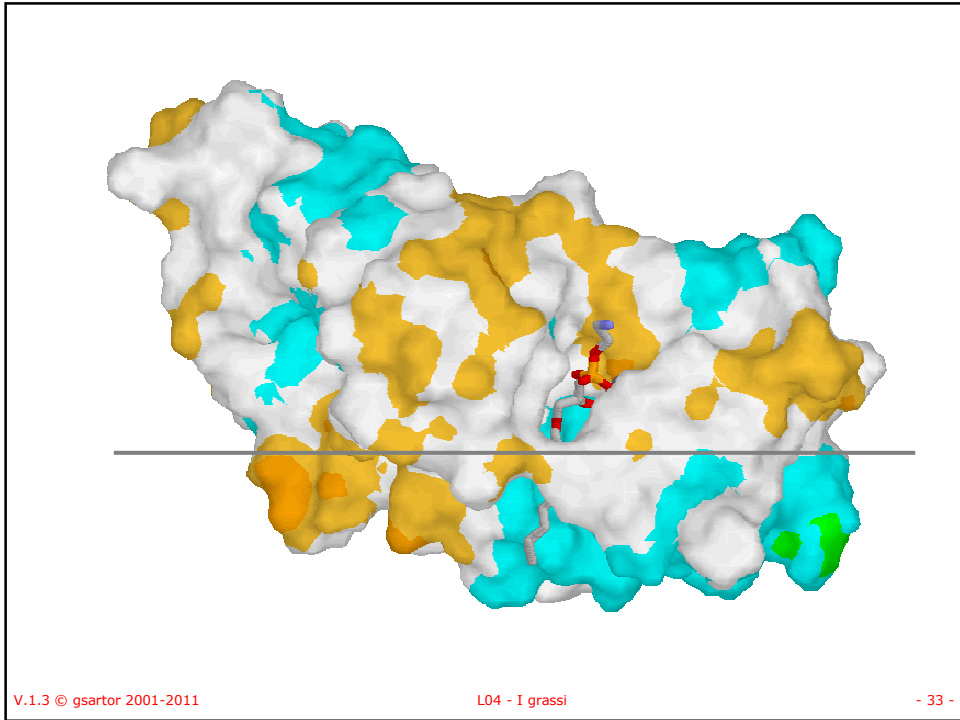


1S8G

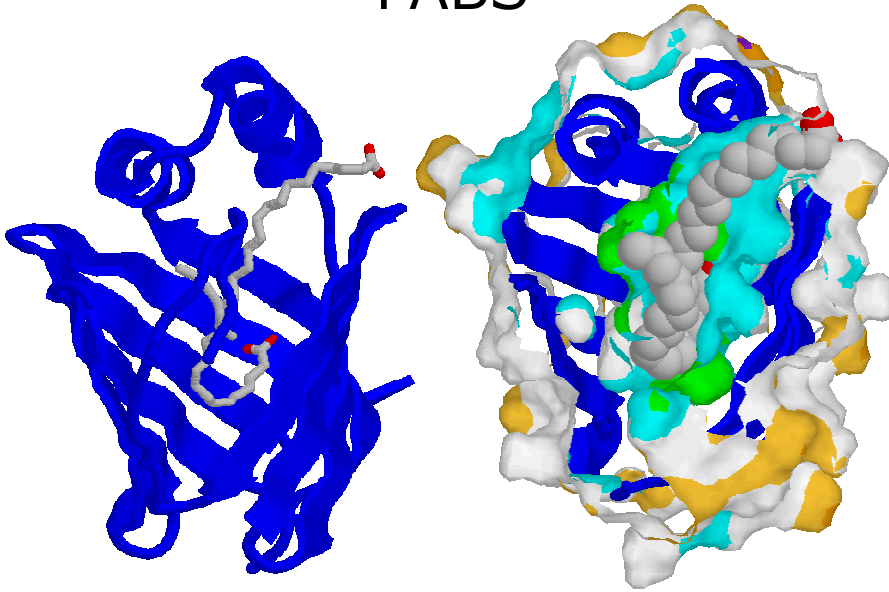
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 32 -



FABS

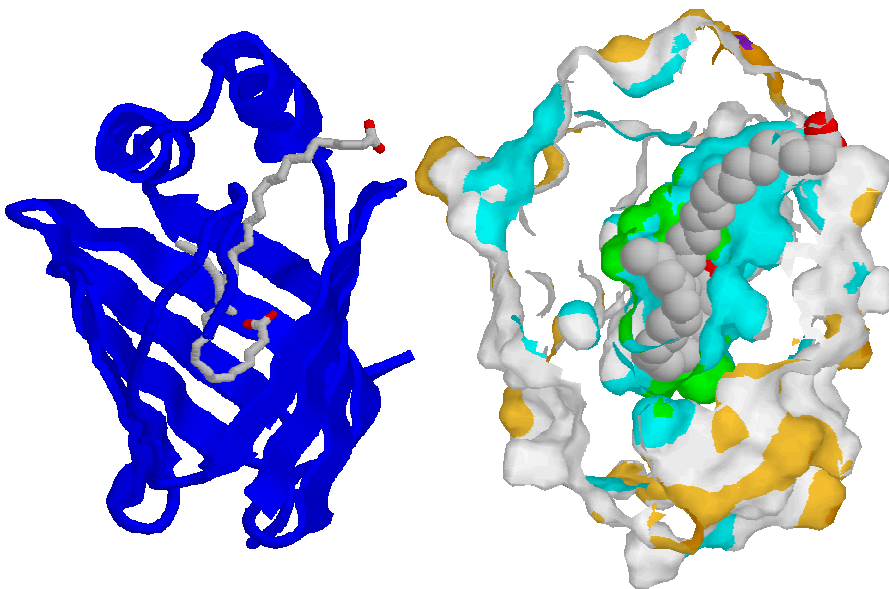


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 37 -

FABS



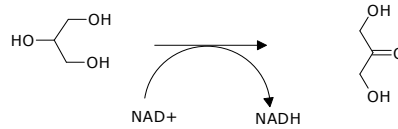
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

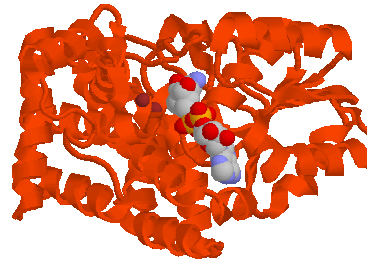
- 38 -

Glicerolo

- L'ossidazione del glicerolo a diidrossiacetone è catalizzata dalla glicerolo fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.6)



1JQ5

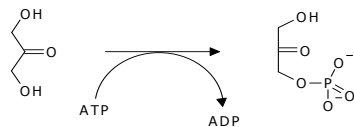


V.1.3 © gsartor 2001-2011

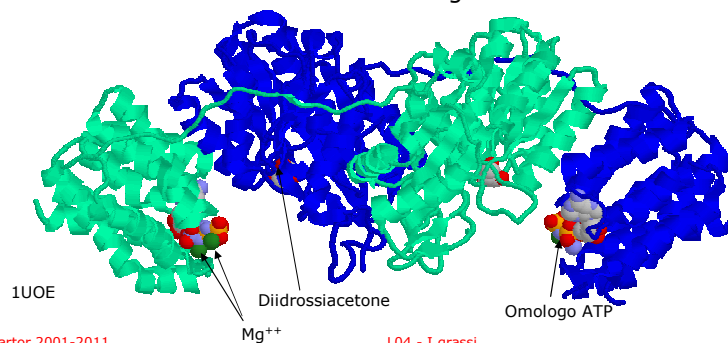
L04 - I grassi

- 39 -

Glicerolo



- La fosforilazione del diidrossiacetone è catalizzata dalla diidrossiacetone chinasi (EC 2.7.1.29).
- Il diidrossiacetonfosfato così formatosi è convogliato nella glicolisi



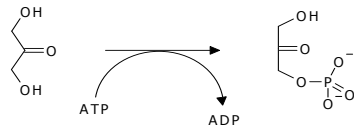
1UOE

Mg⁺⁺

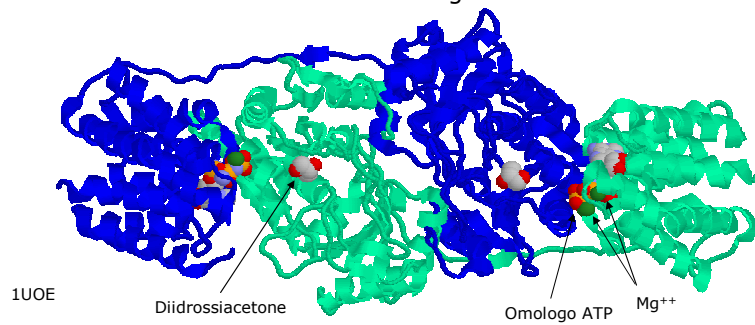
L04 - I grassi

- 40 -

Glicerolo



- La fosforilazione del diidrossiacetone è catalizzata dalla diidrossiacetone chinasi (EC 2.7.1.29).
- Il diidrossiacetonfosfato così formatosi è convogliato nella glicolisi



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 41 -

β -ossidazione degli acidi grassi

β -ossidazione degli acidi grassi

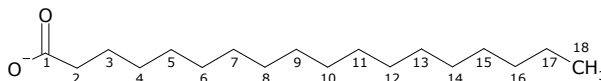
ARGOMENTO CONOSCIUTO?

SÌ?

NO?

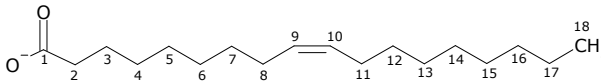
Acidi grassi

- Acidi grassi saturi



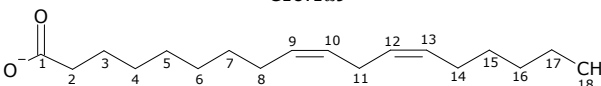
Acido stearico (C₁₈)

- Acidi grassi insaturi



Acido oleico (C₁₈ Δ^9)
C18:1 ω 9

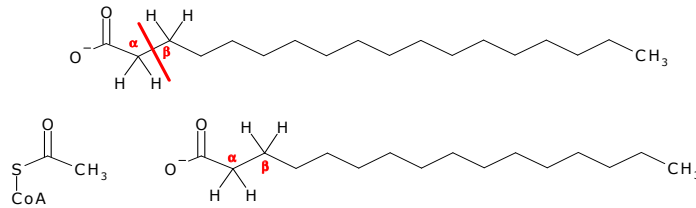
- Acidi grassi polinsaturi



Acido linoleico (C₁₈ $\Delta^{9,12}$)
C18:2 ω 6

β -ossidazione acidi grassi

- Una volta che i TGA sono idrolizzati ad acidi grassi questi ultimi vengono demoliti fondamentalmente attraverso l'ossidazione,
- Il principale meccanismo è quello della β -ossidazione che distacca unità bicarboniose, sottoforma di Acetil-CoA, rompendo il legame tra il C α e il C β ,



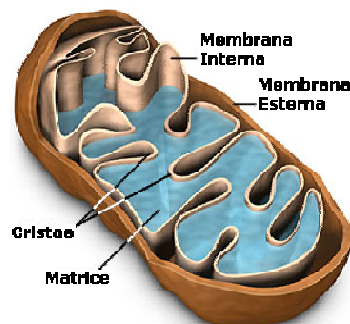
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 45 -

β -ossidazione acidi grassi

- A seconda del numero (n) di atomi di carbonio dell'acido grasso di producono $n/2$ molecole di Acetil-CoA.
- La reazione avviene nella matrice mitocondriale.
- Gli acidi grassi vengono attivati attraverso la formazione di un Acil-CoA.
- L'Acil-CoA viene trasportato all'interno della membrana interna mitocondriale attraverso il sistema carnitina/acil-carnitina.



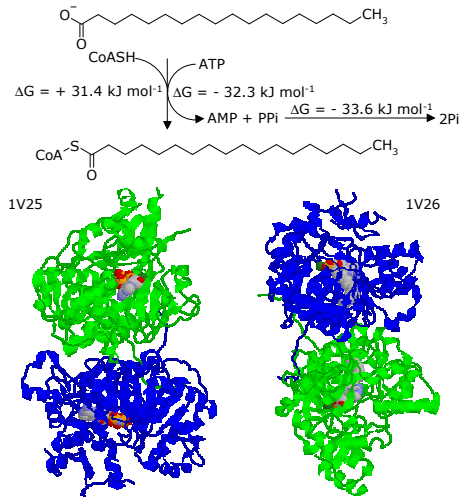
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 46 -

Attivazione degli acidi grassi

- L'attivazione degli acidi grassi porta alla formazione di Acil-Coa
- Avviene nel citoplasma ad opera di una l'acil-CoA sintetasi (EC 6.2.1.3).
- Il processo è endoergonico ($\Delta G = 31.4 \text{ kJ}\cdot\text{mole}^{-1}$)
- Viene reso spontaneo dalla reazione di idrolisi di una molecola di ATP a AMP e PPi, il quale fornisce un surplus di energia convertendosi a 2Pi attraverso una pirofosfatasi, per un totale di $-65.9 \text{ kJ}\cdot\text{mole}^{-1}$ di ATP impiegato.



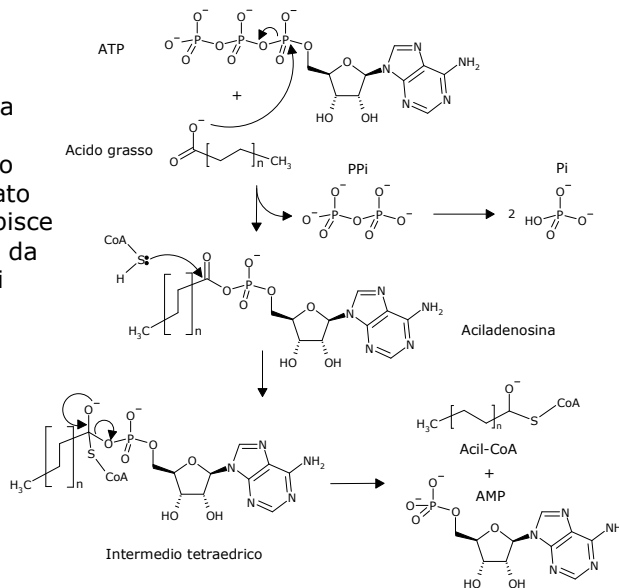
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 47 -

Formazione di Acil-CoA

- Il meccanismo di reazione prevede la formazione di un derivato intermedio aciladenosina, legato all'enzima, che subisce l'attacco nucleofilo da parte dell'atomo di zolfo del CoA-SH.



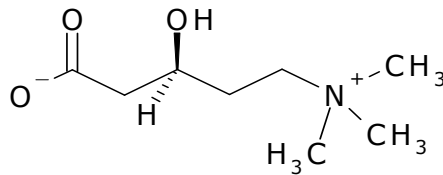
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 48 -

Trasporto

- Il trasporto degli acilCoA nell'interno degli organelli subcellulari, dove avviene l'ossidazione degli acidi grassi, sfrutta il sistema carnitina/acilcarnitina.



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 49 -

Carnitina

- Il sistema carnitina/acilcarnitina è stato scoperto la prima volta nei mitocondri.
- Esso contiene carnitina acetiltransferasi (CAT), legata strettamente alla faccia interna della membrana interna mitocondriale e quattro isoenzimi carnitina palmitoil transferasi (CPT, CPT-IA nel fegato, CPT-IB nel muscolo e altre cellule, CPT-IC nel cervello e CPT-II).
- Gli enzimi CPT-I sono localizzati nella membrana esterna mitocondriale con le loro porzioni catalitica e regolatoria (inibita da malonilCoA) che si affacciano verso il lato citoplasmatico mentre CPT II è localizzata come la CAT.
- Tale varietà isoenzimatica è legata alla diversa affinità per i diversi gruppi acilici:
 - CAT: C2-C10, CPTI: C6-C20
 - CPTII: C6-C18

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 50 -

Carnitina

- Anche i perossisomi contengono una CAT,
 - la carnitina octiltransferasi (CROT) che ha un'affinità maggiore per C4-C16, è inibita da malonilCoA
 - ed un'altra acilcarnitina transferasi solubile non inibita da malonilCoA.
- Anche altre membrane (reticolo endoplasmatico, sarcoplasmatico, membrana nucleare e membrana plasmatica) contengono carnitina aciltransferasi.

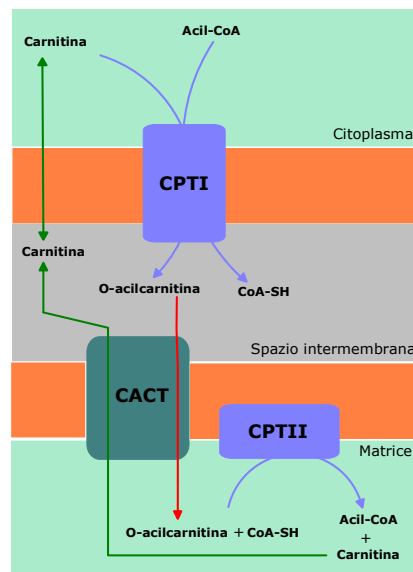
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 51 -

Trasporto nei mitocondri

- Il trasporto di Acil-Coa attraverso la membrana interna mitocondriale viene quindi mediato dalla carnitina attraverso tre sistemi enzimatici:
 - A. Carnitina aciltransferasi I, nel lato citoplasmatico,
 - CAT, CPT-IA nel fegato, CPT-IB nel muscolo e altre cellule, CPT-IC nel cervello.
 - B. Carnitina acilcarnitina traslocasi (CACT), nella membrana e
 - C. Carnitina aciltransferasi II, nel lato della matrice mitocondriale.
 - CPT-II

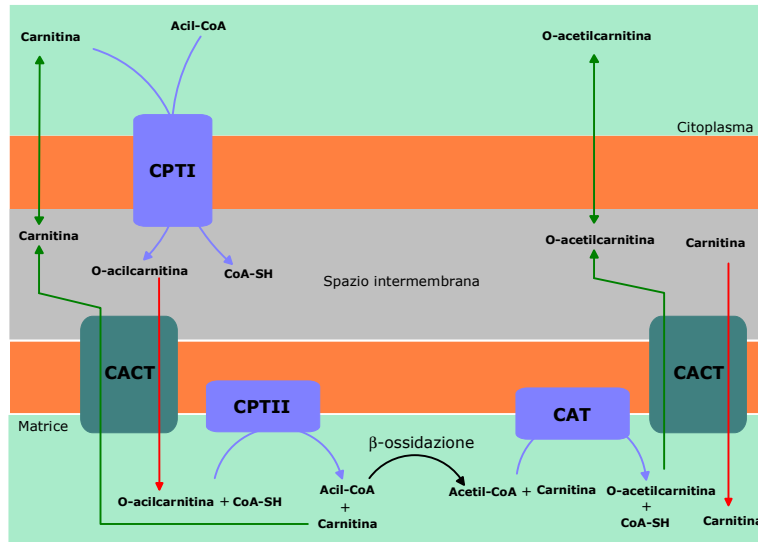


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 52 -

Trasporto nei mitocondri



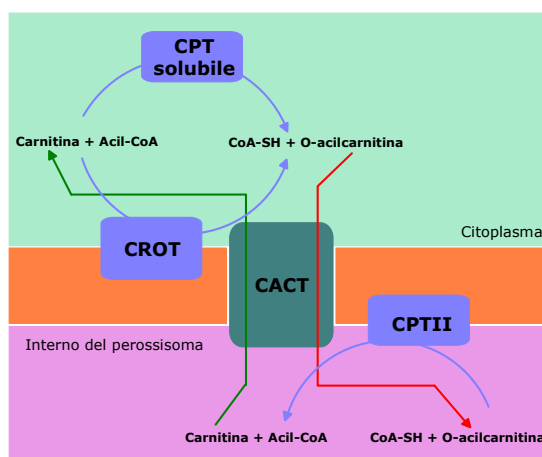
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 53 -

Trasporto nei perossisomi

- Nei perossisomi il trasporto di Acil-Coa attraverso la membrana viene mediato dalla carnitina attraverso:
 - A. Carnitina aciltransferasi I, nel lato citoplasmatico,
 - CROT e solubile.
 - B. Carnitina acilcarnitina traslocasi, nella membrana e
 - C. Carnitina aciltransferasi II, all'interno.
 - CPT-II

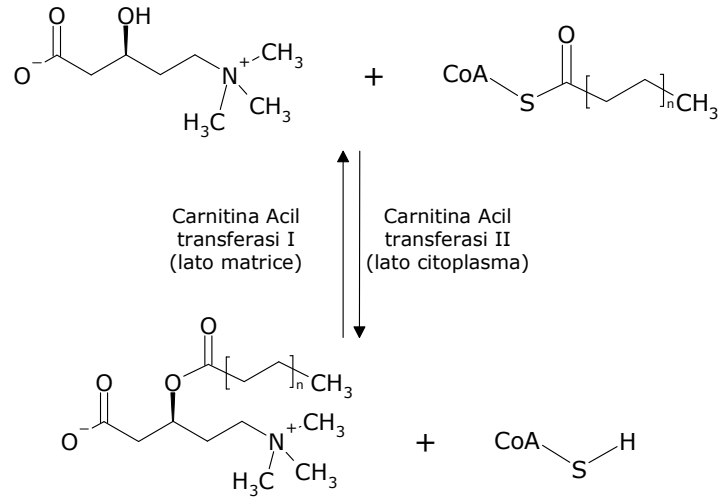


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 54 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7

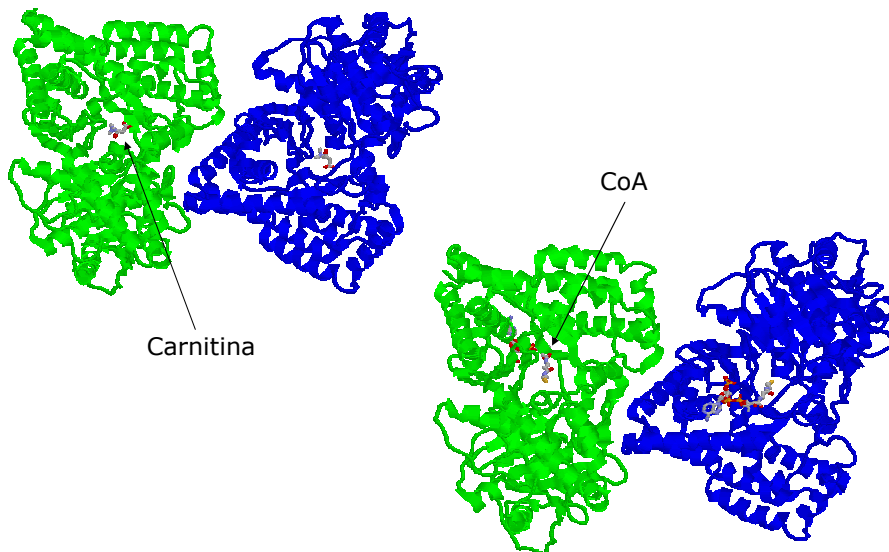


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 55 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7

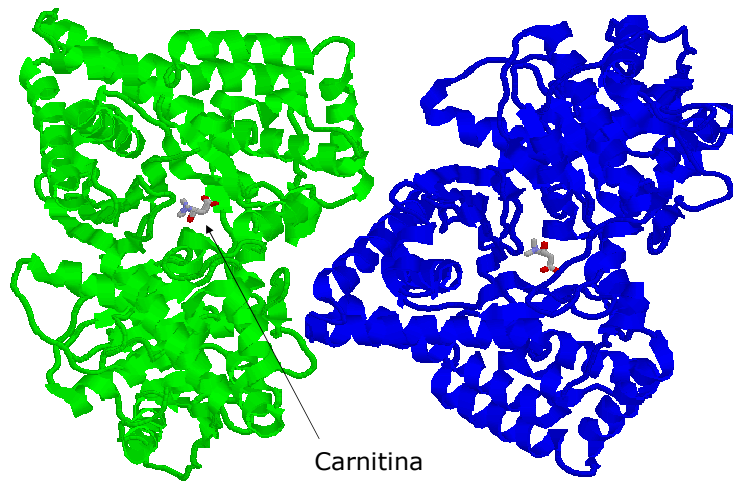


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 56 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7

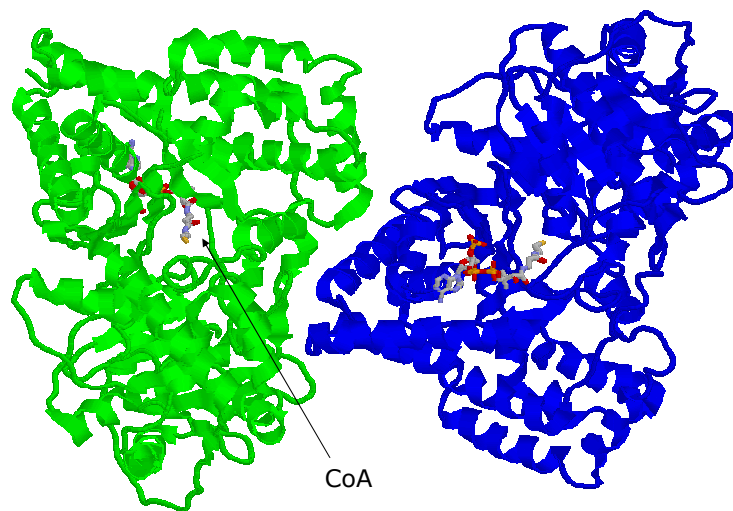


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 57 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7

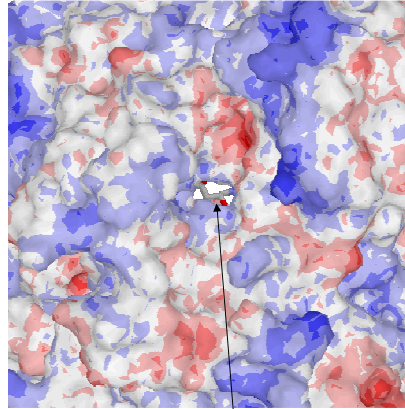


V.1.3 © gsartor 2001-2011

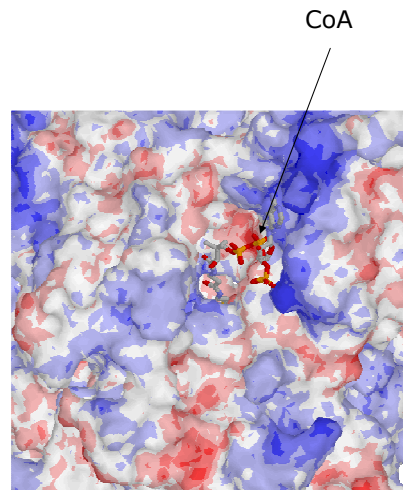
L04 - I grassi

- 58 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7



Carnitina



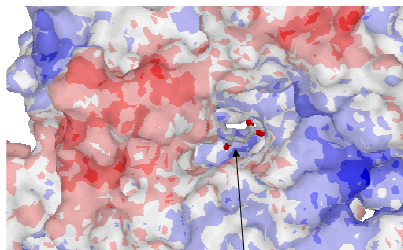
CoA

V.1.3 © gsartor 2001-2011

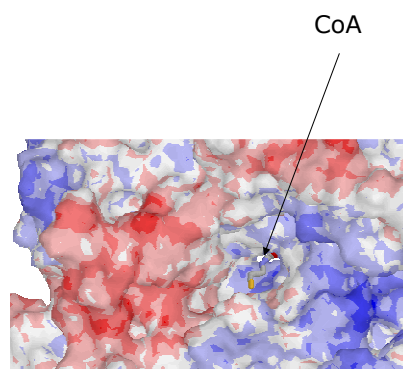
L04 - I grassi

- 59 -

Carnitina aciltransferasi EC 2.3.1.7



Carnitina



CoA

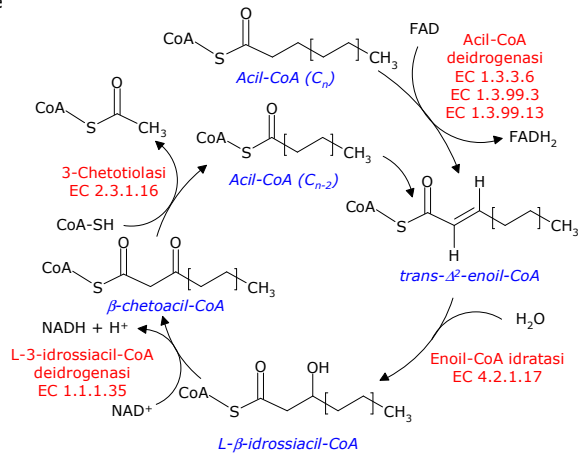
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 60 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - Un Acetil-CoA
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.
 - Un FADH₂
 - Un NADH
- La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.



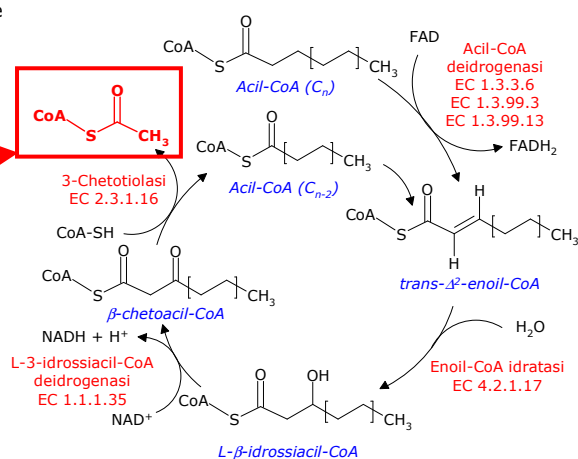
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 61 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - **Un Acetil-CoA**
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.
 - Un FADH₂
 - Un NADH
- La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.



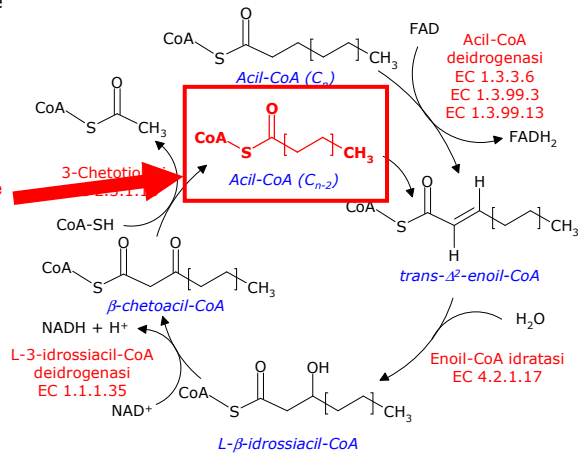
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 62 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - Un Acetil-CoA
 - **Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.**
 - Un FADH₂
 - Un NADH
- La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.



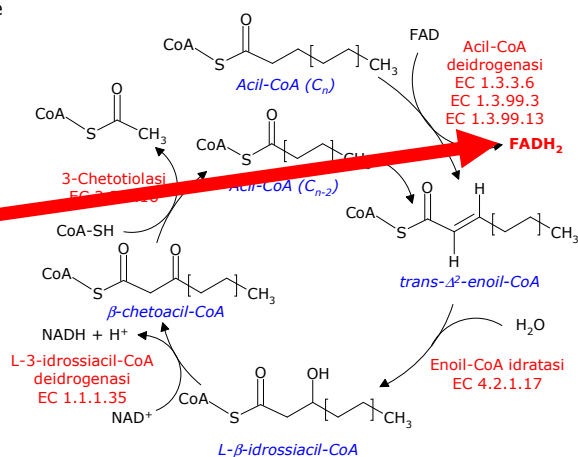
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 63 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - Un Acetil-CoA
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.
 - **Un FADH₂**
 - Un NADH
- La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.



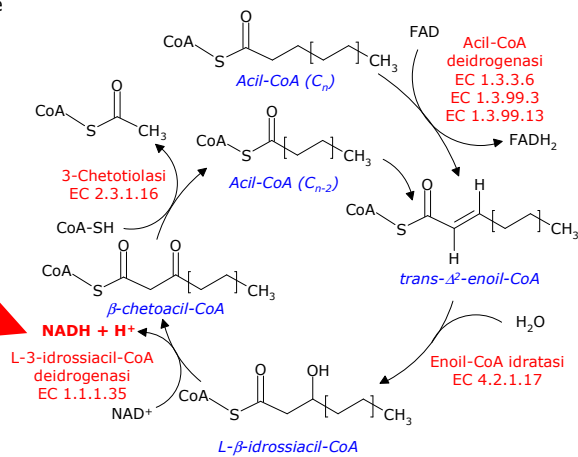
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 64 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - Un Acetil-CoA
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.
 - Un FADH₂
 - **Un NADH**
- La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.



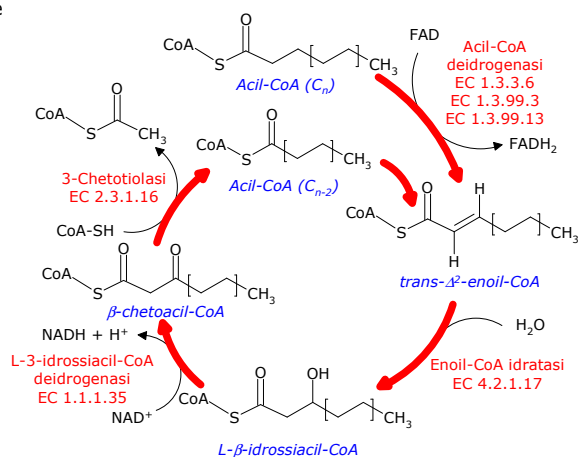
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 65 -

β-ossidazione acidi grassi

- La strategia della β-ossidazione consiste nel generare un nuovo carbonile in β a seguito della rottura del legame tra C α e C β .
- Tale sequenza di reazioni produce:
 - Un Acetil-CoA
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose.
 - Un FADH₂
 - Un NADH
- **La reazione procede ciclicamente fino a quando l'acil-CoA è ridotto a due unità (Acetil-CoA) o tre unità (Propionil-CoA) carboniose.**



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 66 -

Destino dei prodotti

- I prodotti della β -ossidazione:
 - Acetil-CoA e corpi chetonici: entrano nel ciclo di Krebs per produrre equivalenti riducenti (NADH e $FADH_2$) che alimentano la fosforilazione ossidativa per la produzione di ATP.
 - Un Acil-CoA più corto di due unità carboniose: rientra nel ciclo successivo di β -ossidazione.
 - $FADH_2$ e NADH che alimentano la fosforilazione ossidativa per la produzione di ATP.

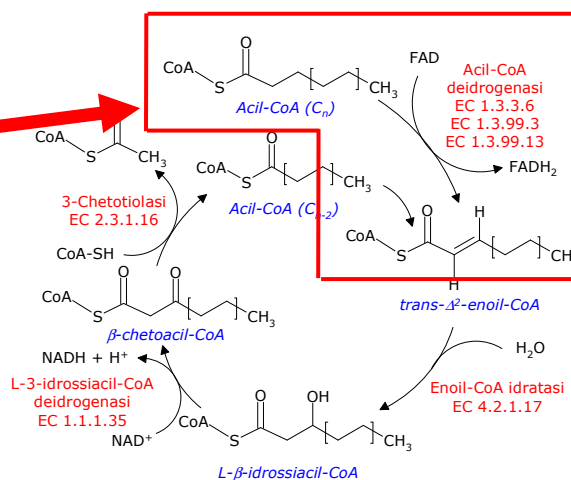
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 67 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:
 - Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
 - Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
 - Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
 - Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



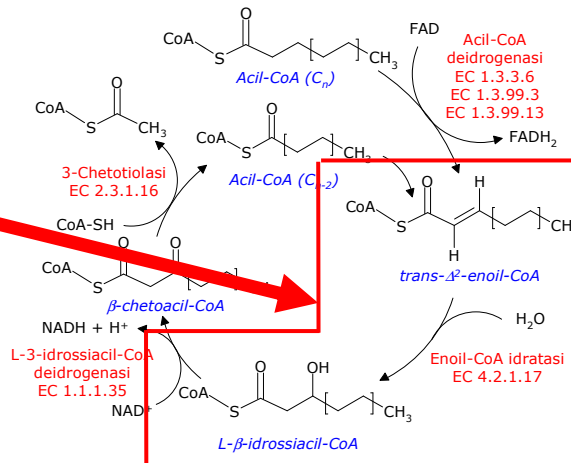
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 68 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:
 - Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
 - Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
 - Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
 - Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



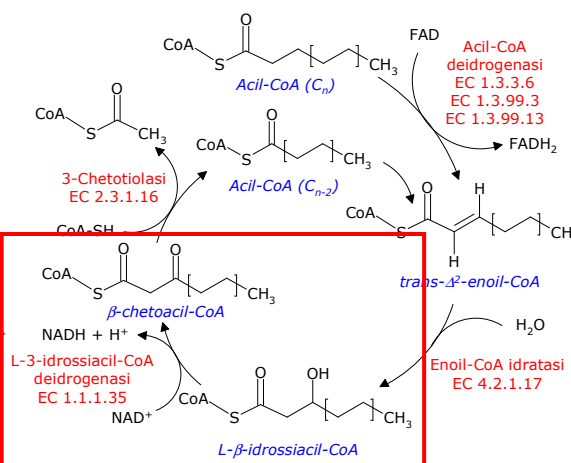
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 69 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:
 - Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
 - Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
 - Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
 - Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



V.1.3 © gsartor 2001-2011

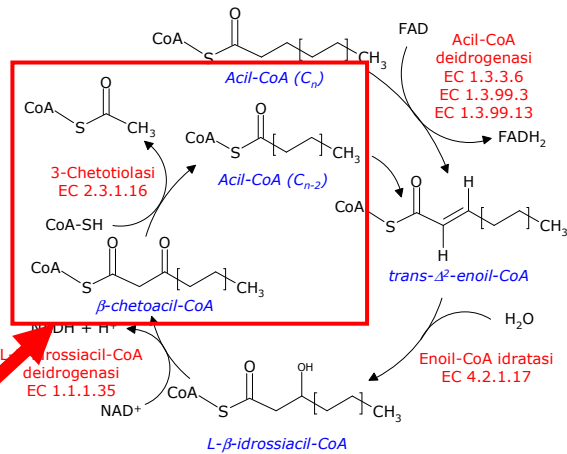
L04 - I grassi

- 70 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:

- Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
- Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
- Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
- Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



V.1.3 © gsartor 2001-2011

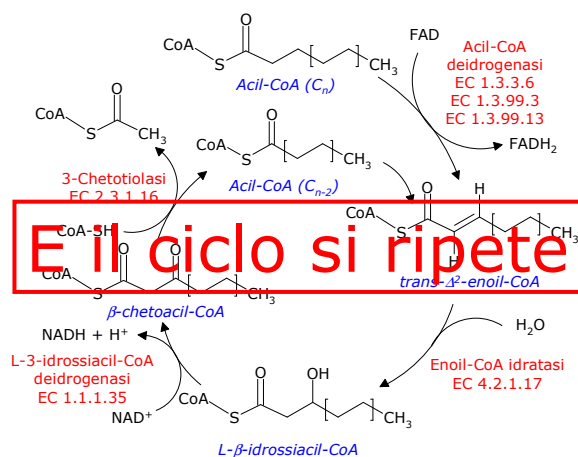
L04 - I grassi

- 71 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:

- Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
- Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
- Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
- Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



V.1.3 © gsartor 2001-2011

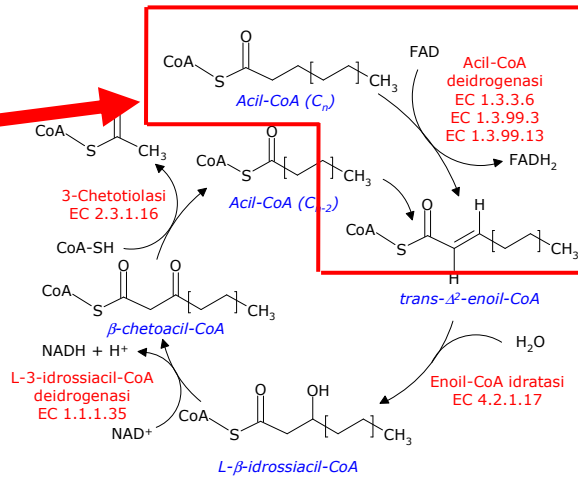
L04 - I grassi

- 72 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:

- Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
- Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
- Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
- Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



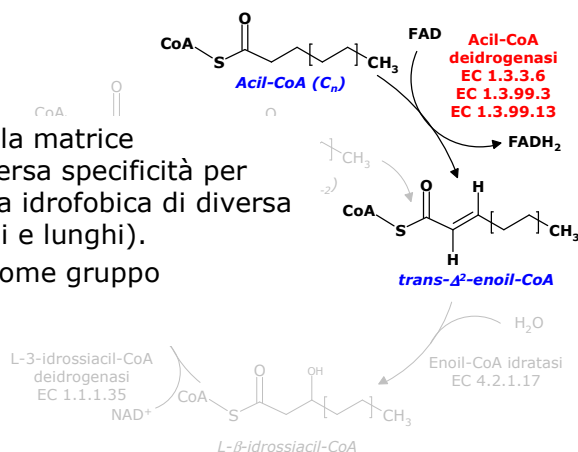
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 73 -

Acil-CoA deidrogenasi EC 1.3.3.6 - EC 1.3.99.3 - EC 1.3.99.13

- Tre enzimi solubili nella matrice mitocondriale con diversa specificità per acidi grassi con catena idrofobica di diversa lunghezza (corti, medi e lunghi).
- Contengono un FAD come gruppo prostetico.



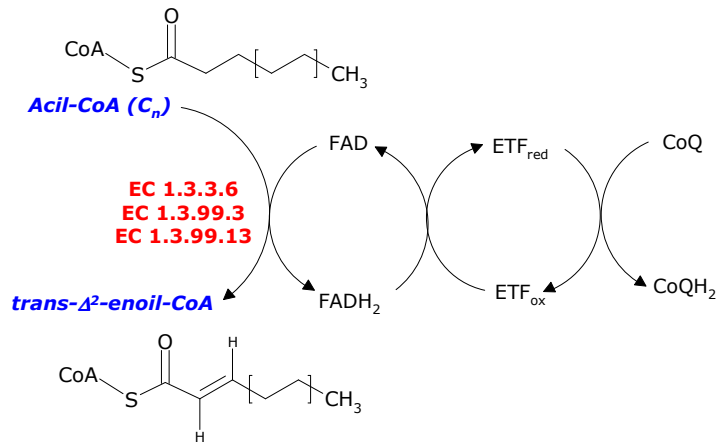
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 74 -

Acil-CoA deidrogenasi EC 1.3.3.6 - EC 1.3.99.3 - EC 1.3.99.13

- Il FAD viene ridotto a FADH₂, gli elettroni vengono poi convogliati alla catena respiratoria attraverso una flavoproteina trasportatrice di elettroni (ETF) e al CoQ per formare CoQH₂.



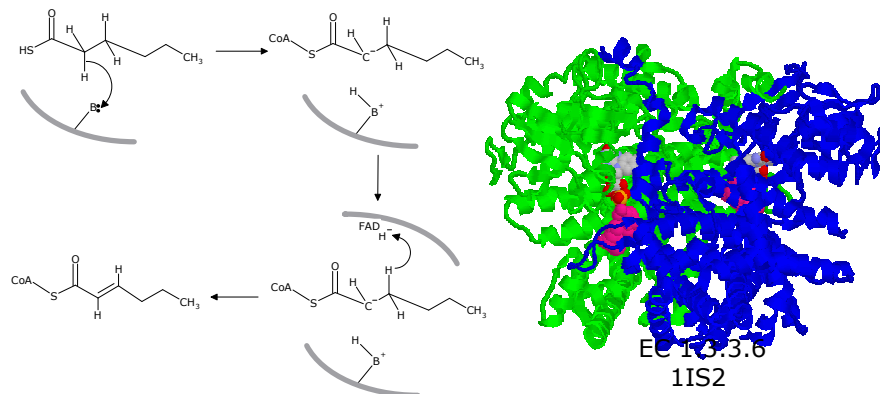
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 75 -

Acil-CoA deidrogenasi EC 1.3.3.6 - EC 1.3.99.3 - EC 1.3.99.13

- Meccanismo



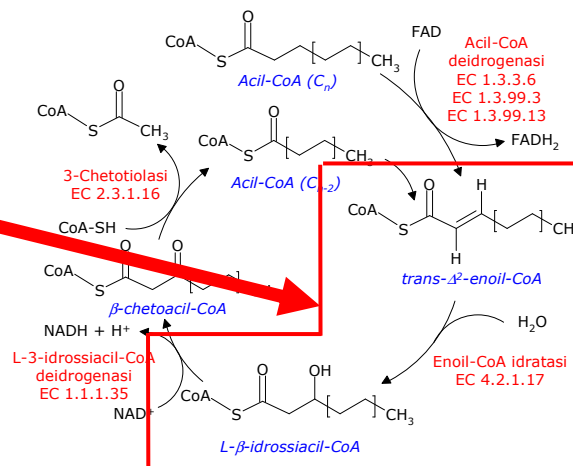
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 76 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:
 - Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
 - Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
 - Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
 - Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



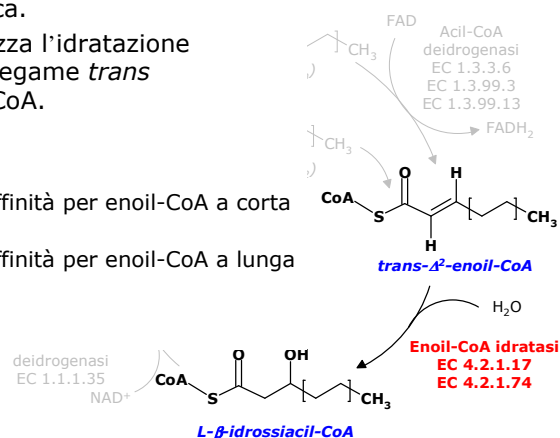
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 77 -

β -ossidazione acidi grassi

- Idratazione stereo specifica.
- L'enoil-CoA idratasi catalizza l'idratazione stereospecifica al doppio legame *trans* producendo *L*-idrossiacil-CoA.
- Esamero.
- Due enzimi:
 - EC 4.2.1.17: maggiore affinità per enoil-CoA a corta catena.
 - EC 4.2.1.74: maggiore affinità per enoil-CoA a lunga catena.

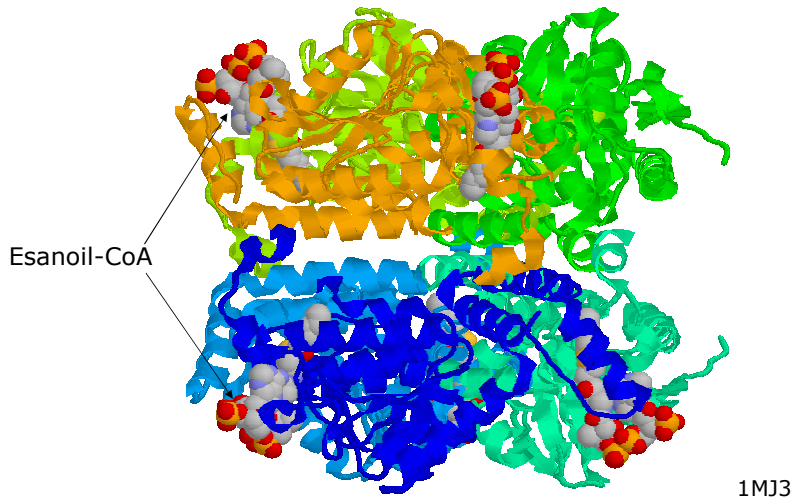


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 78 -

Enoil-CoA idratasi EC 4.2.1.17

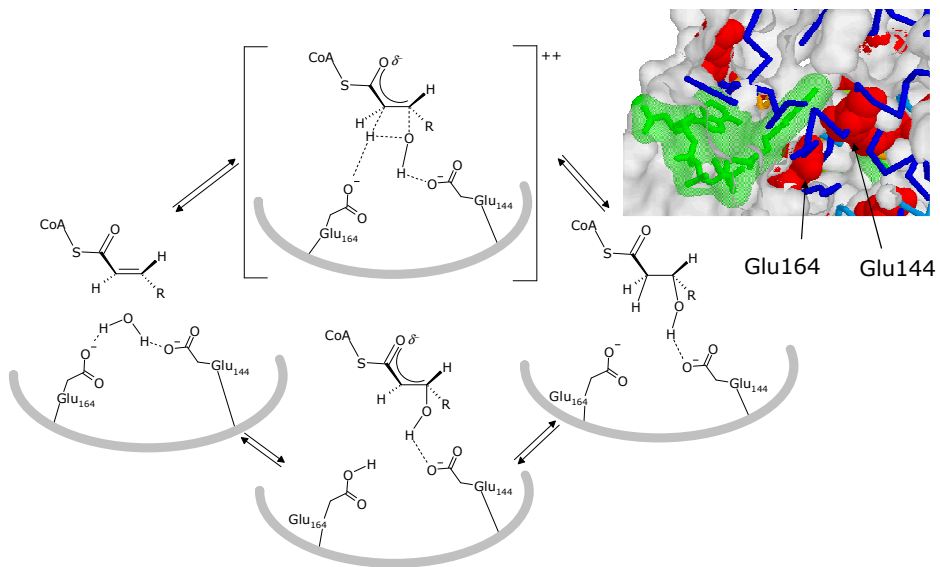


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 79 -

Enoil-CoA idratasi EC 4.2.1.17

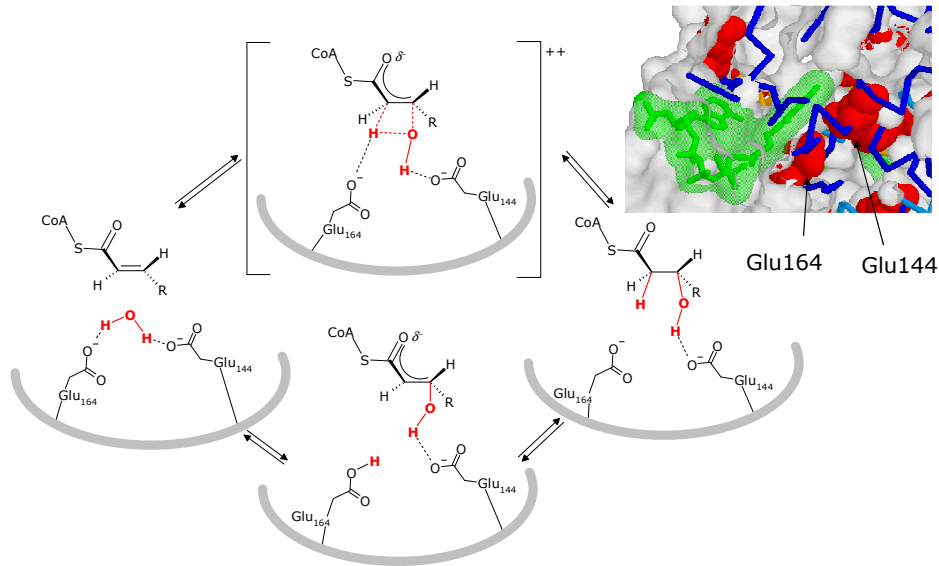


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 80 -

Enoil-CoA idratasi EC 4.2.1.17



V.1.3 © gsartor 2001-2011

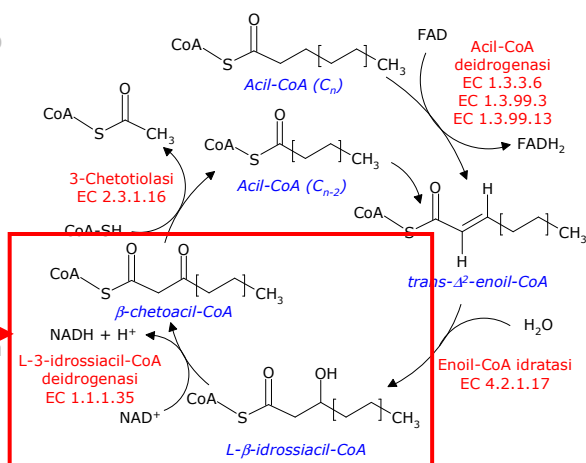
L04 - I grassi

- 81 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:

- Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
- Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
- Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
- Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.



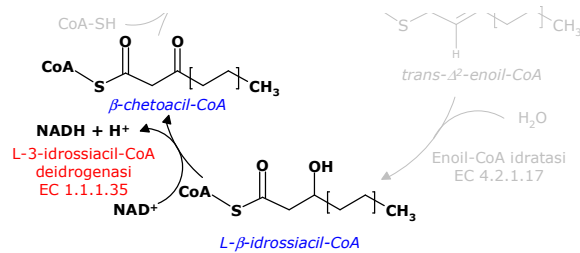
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 82 -

β -ossidazione acidi grassi

- L'enzima L-3-idrossiacil-CoA deidrogenasi catalizza l'ossidazione di L- β -idrossiacil-CoA.
- È un enzima specifico per l'isomero L.
- Il NADH prodotto entra nella catena respiratoria a livello del complesso I.

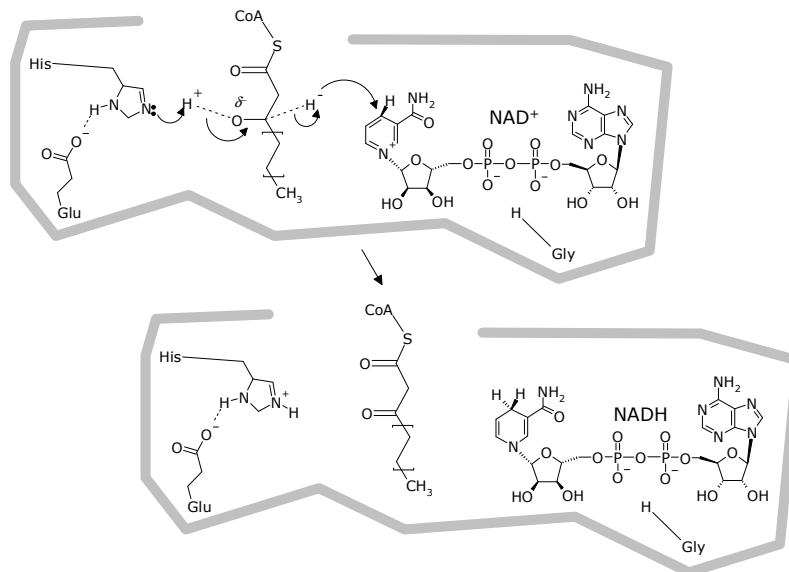


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 83 -

L-3-idrossiacil-CoA deidrogenasi EC 1.1.1.35



V.1.3 © gsartor 2001-2011

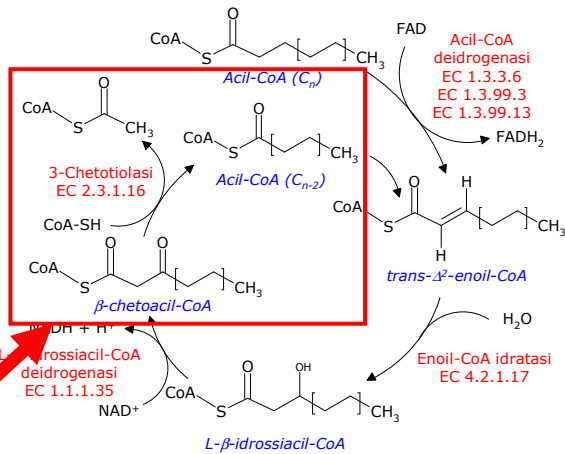
L04 - I grassi

- 84 -

β -ossidazione acidi grassi

- In tutto quattro attività enzimatiche catalizzano il processo ciclico:

- Una deidrogenasi riduce il legame $C\alpha C\beta$ a doppio legame,
- Una idratasi aggiunge acqua in *trans* per formare un enolo
- Un'altra deidrogenasi riduce il gruppo OH a carbonile ed infine
- Una tiolasi permette la rottura del legame $C\alpha C\beta$ per formare Acetil-CoA e Acil-CoA più corto di due unità.

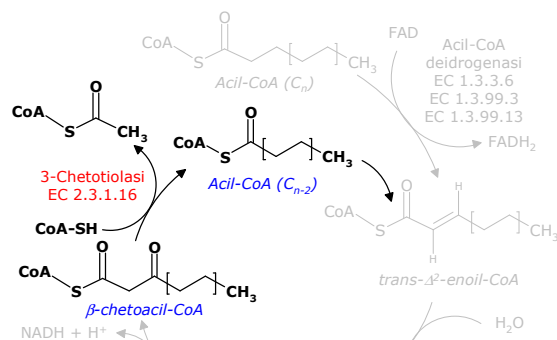


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 85 -

β -ossidazione acidi grassi



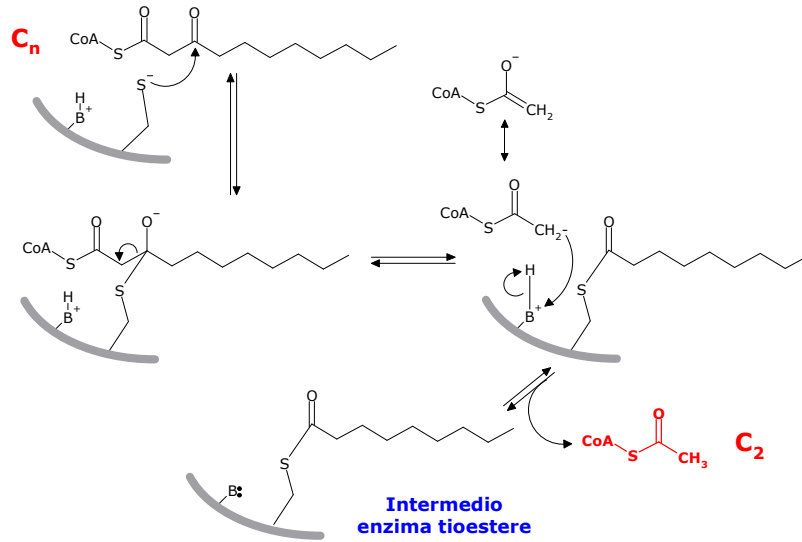
- La chetotiolasi catalizza la scissione del β -chetoacil-CoA.
- Si produce un Acil-CoA di due atomi di carbonio più corto.
- Il ciclo ricomincia.

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 86 -

3-Chetotiolasi EC 2.3.1.16

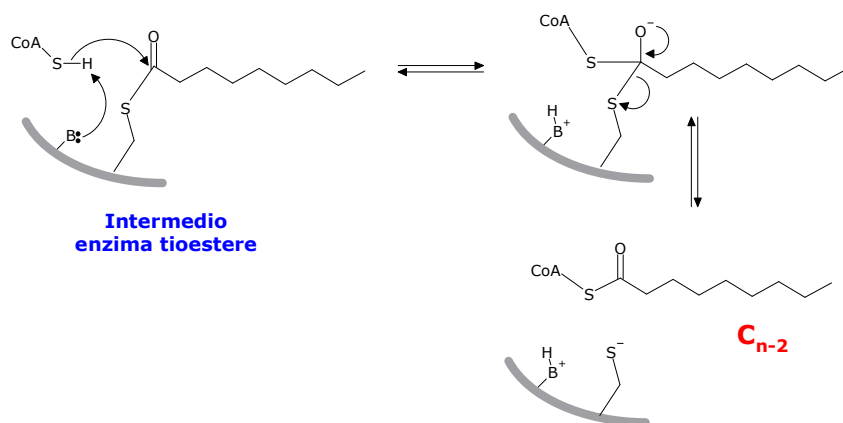


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 87 -

3-Chetotiolasi EC 2.3.1.16

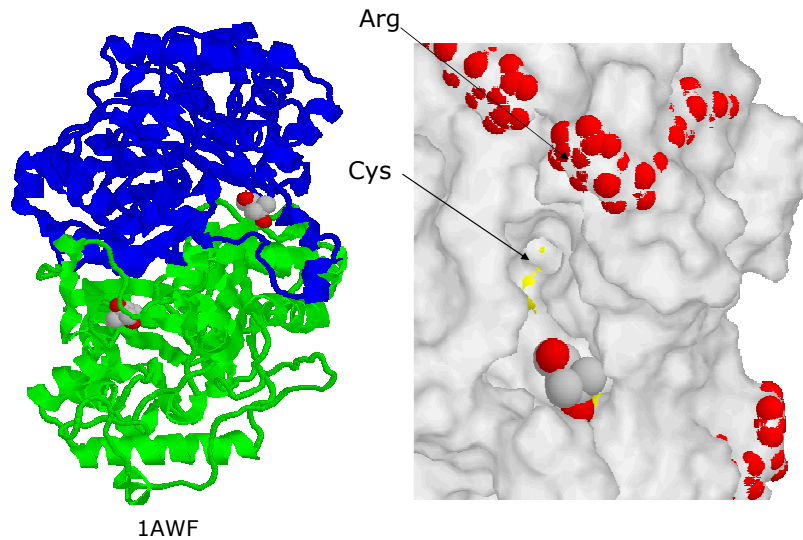


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 88 -

3-Chetotiolasi EC 2.3.1.16



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 89 -

Stechiometria

- Per ogni ciclo si producono:
 - NADH che equivale a 2.5 moli di ATP prodotte nella catena respiratoria.
 - FADH₂ che equivale a 1.5 moli di ATP prodotte nella catena respiratoria.
- Per la degradazione dell'acido palmitico (C₁₆):

$$\begin{aligned} &\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CO-S-CoA} + 7\text{FAD} + 7\text{NAD}^+ + 7\text{H}_2\text{O} + 7\text{CoASH} \rightarrow \\ &\quad \rightarrow \mathbf{8\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA}} + \mathbf{7\text{FADH}_2} + \mathbf{7\text{NADH}} + \mathbf{7\text{H}^+} \\ &\mathbf{7\text{FADH}_2} + 10.5\text{Pi} + 10.5\text{ADP} + 3.5\text{O}_2 \rightarrow \\ &\quad 7\text{FAD} + 17.5\text{H}_2\text{O} + \mathbf{10.5\text{ATP}} \quad 320 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \\ &\mathbf{7\text{NADH}} + \mathbf{7\text{H}^+} + 17.5\text{Pi} + 17.5\text{ADP} + 3.5\text{O}_2 \rightarrow \\ &\quad 7\text{NAD}^+ + 24.5\text{H}_2\text{O} + \mathbf{17.5\text{ATP}} \quad 534 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \\ &\mathbf{8\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA}} + 16\text{O}_2 + 80\text{Pi} + 80\text{ADP} \rightarrow \\ &\quad \rightarrow 8 \text{ CoA} + 88\text{H}_2\text{O} + 16\text{CO}_2 + \mathbf{80\text{ATP}} \quad 2440 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CO-S-CoA} + 108\text{Pi} + 108\text{ADP} + 23\text{O}_2 \rightarrow \\ &\quad \rightarrow \mathbf{108\text{ATP}} + 16 \text{ CO}_2 + 130\text{H}_2\text{O} + \text{CoASH} \quad 3294 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 90 -

Stechiometria

- Per ogni ciclo si producono:
 - NADH che equivale a 2.5 moli di ATP prodotte nella catena respiratoria.
 - FADH₂ che equivale a 1.5 moli di ATP prodotte nella catena respiratoria.
- Per la degradazione dell'acido palmitico (C₁₆):

$$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CO-S-CoA} + 7\text{FAD} + 7\text{NAD}^+ + 7\text{H}_2\text{O} + 7\text{CoASH} \rightarrow$$

$$\rightarrow 8\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA} + 7\text{FADH}_2 + 7\text{NADH} + 7\text{H}^+$$

$$7\text{FADH}_2 + 10.5\text{Pi} + 10.5\text{ADP} + 3.5\text{O}_2 \rightarrow$$

$$7\text{FAD} + 17.5\text{H}_2\text{O} + 10.5\text{ATP} \quad 320 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$7\text{NADH} + 7\text{H}^+ + 17.5\text{Pi} + 17.5\text{ADP} + 3.5\text{O}_2 \rightarrow$$

$$7\text{NAD}^+ + 24.5\text{H}_2\text{O} + 17.5\text{ATP} \quad 534 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$8\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA} + 16\text{O}_2 + 80\text{Pi} + 80\text{ADP} \rightarrow$$

$$\rightarrow 8 \text{ CoA} + 88\text{H}_2\text{O} + 16\text{CO}_2 + 80\text{ATP} \quad 2440 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CO-S-CoA} + 108\text{Pi} + 108\text{ADP} + 23\text{O}_2 \rightarrow$$

$$\rightarrow 108\text{ATP} + 16 \text{ CO}_2 + 130\text{H}_2\text{O} + \text{CoASH} \quad 3294 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 91 -

Rendimento

- Combustione dell'acido palmitico:

$$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -9790 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$
 - Ossidazione dell'acido palmitico e respirazione cellulare:

$$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

$$(108 - 2)\cdot\text{ATP} = \Delta G^{\circ'} = -3233 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$
- Efficienza = $3233/9790 = 33\%$
- Produzione di 130 H₂O metabolica per mole di acido palmitico che viene β-ossidato.

V.1.3 © gsartor 2001-2011

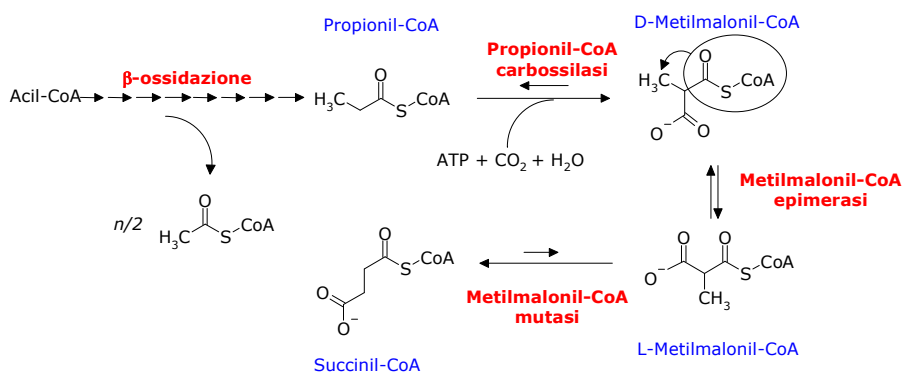
L04 - I grassi

- 92 -

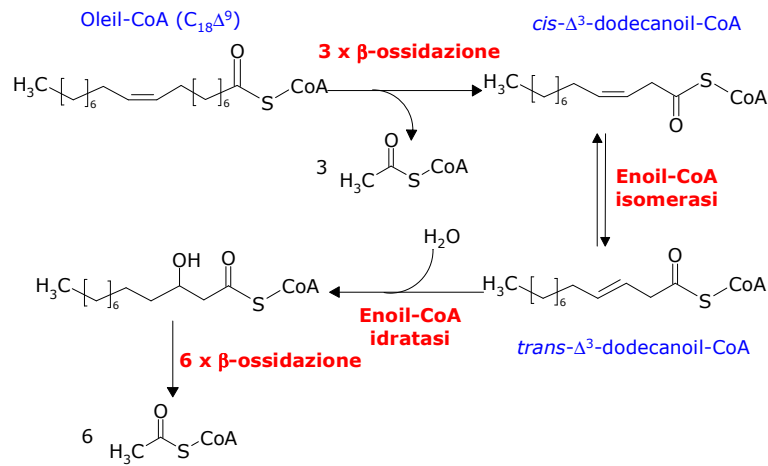
Pari e dispari

- Dalla β -ossidazione di acidi grassi con atomi di carbonio pari (n) si formano $n/2$ acetil-CoA attraverso $(n/2 - 1)$ cicli di reazioni.
- Dalla β -ossidazione di acidi grassi con atomi di carbonio dispari (n) si formano $n/2 - 1$ acetil-CoA + 1 propionil-CoA da $(n/2 - 1)$ cicli di reazioni.

Acidi grassi dispari



Acidi grassi monoinsaturi

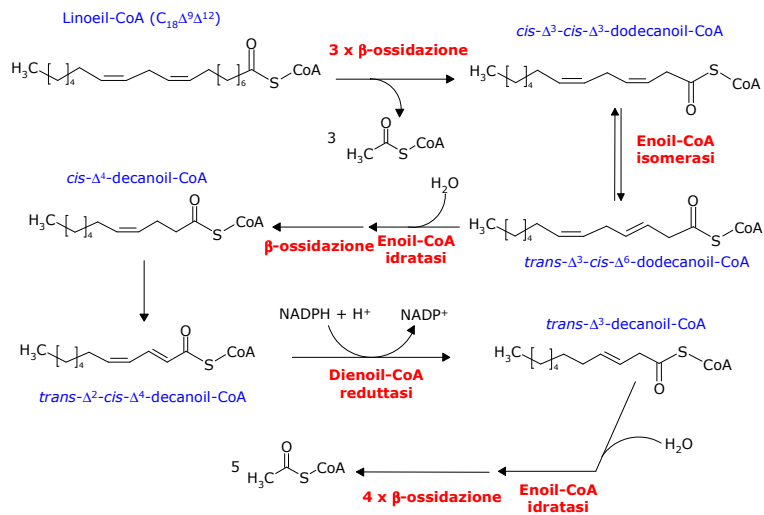


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 95 -

Acidi grassi polinsaturi



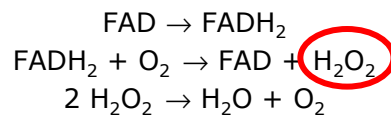
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 96 -

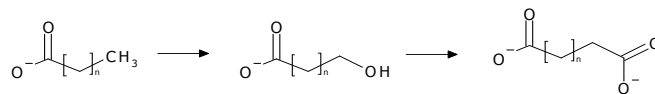
Perossisomi

- La β -ossidazione avviene in molte strutture subcellulari, in particolare nei perossisomi.
- Sono deputati alla formazione di H_2O_2 che viene utilizzata come sistema di difesa da batteri, virus, ecc.
- L'accettore di elettroni della acil-CoA ossidasi è il FAD:



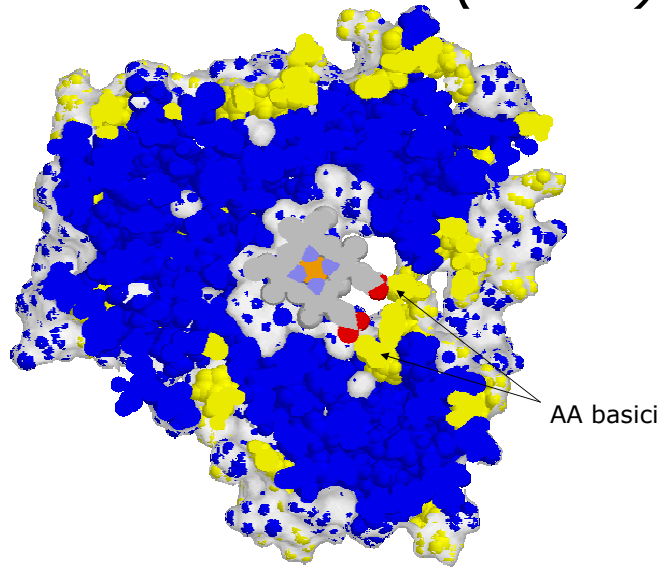
ω -ossidazione

- Nel reticolo endoplasmatico può avvenire la ω -ossidazione.



- Catalizzata da enzimi che appartengono alla classe delle ossidasi miste (CytP450, CYP)
- Provocano una idrossilazione e quindi una ossidazione.
- È un processo aspecifico che converte molecole lipofile in prodotti più idrosolubili più facili da eliminare.
- È un processo che detossifica le cellule da molecole lipofile.

Struttura del CYP (1PO5)

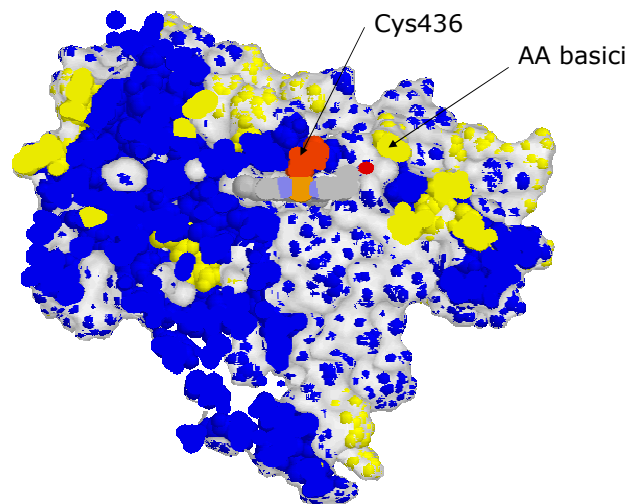


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 99 -

Struttura del CYP (1PO5)

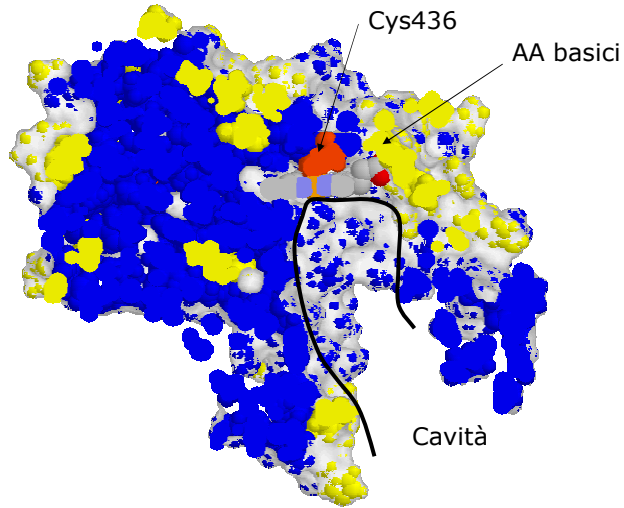


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 100 -

Struttura del CYP (1PO5)

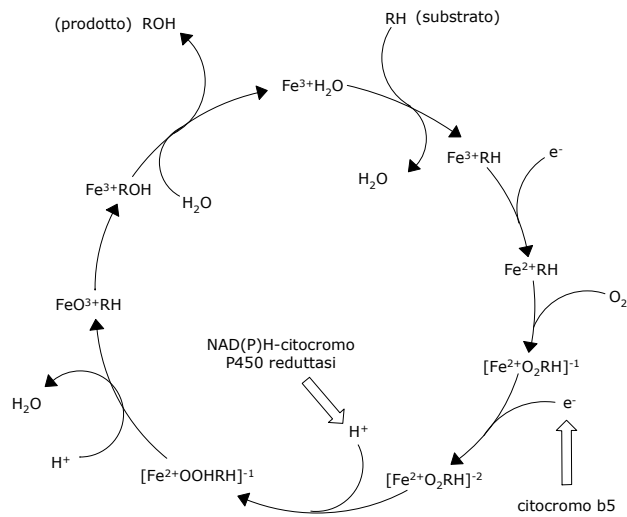


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 101 -

Ciclo del CYP

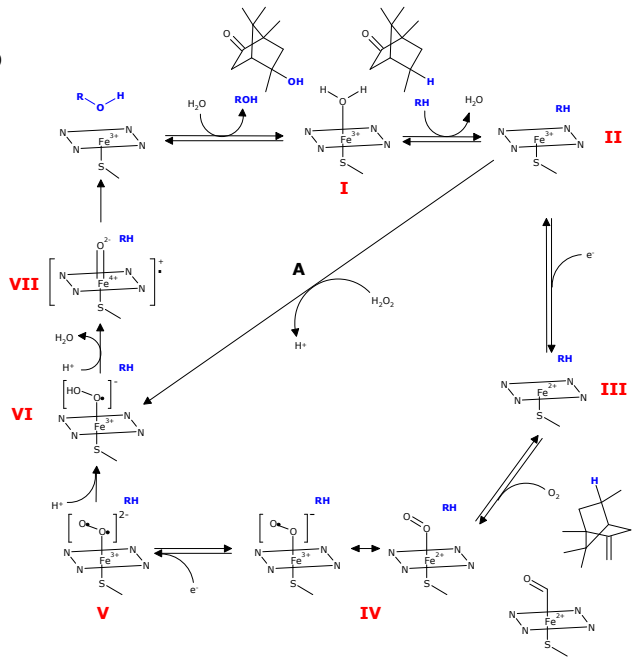


V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 102 -

Meccanismo ciclico del CYP



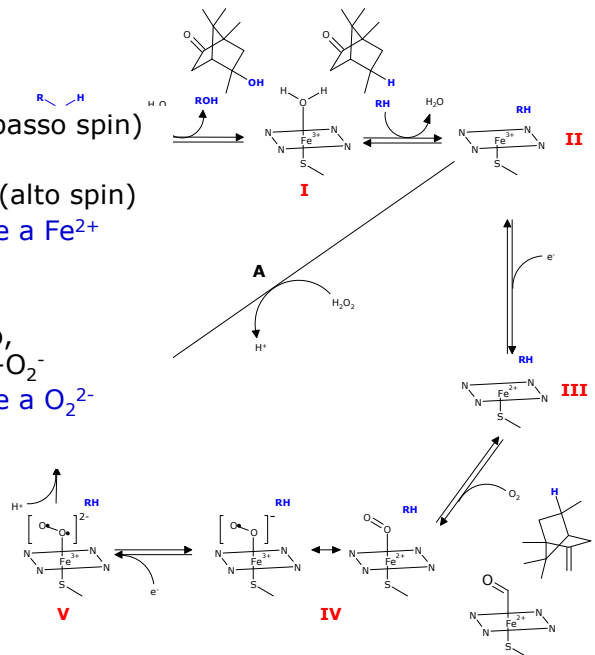
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 103 -

Meccanismo ciclico del CYP

- I. P450 acquo Fe^{3+} (basso spin)
Lega RH
- II. P450 canfora Fe^{3+} (alto spin)
entra $1e^-$, riduzione a Fe^{2+}
- III. P450 canfora Fe^{2+}
Lega O_2
- IV. P450 con O_2 legato,
equivalente a $\text{Fe}^{3+}-\text{O}_2^-$
entra $1e^-$, riduzione a O_2^{2-}
- V. P450 perossido



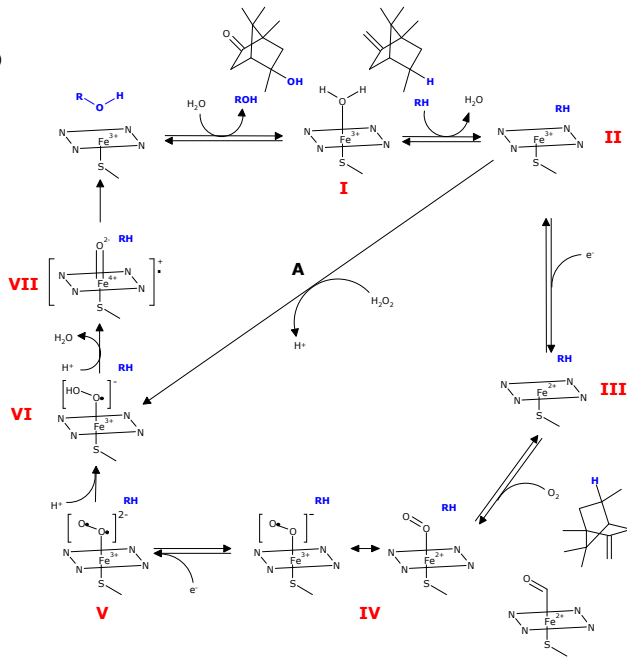
V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 104 -

Meccanismo ciclico del CYP

- VI. P450 idroperossido
 Entra 1H⁺
 Entra 1H⁺ esce H₂O
- VII. P450 Fe⁴⁺ O²⁻-catione radicale sulla proteina
 si forma ROH
- A. L'idroperossido VI si può formare per reazione di II con H₂O₂



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 105 -

Meccanismo

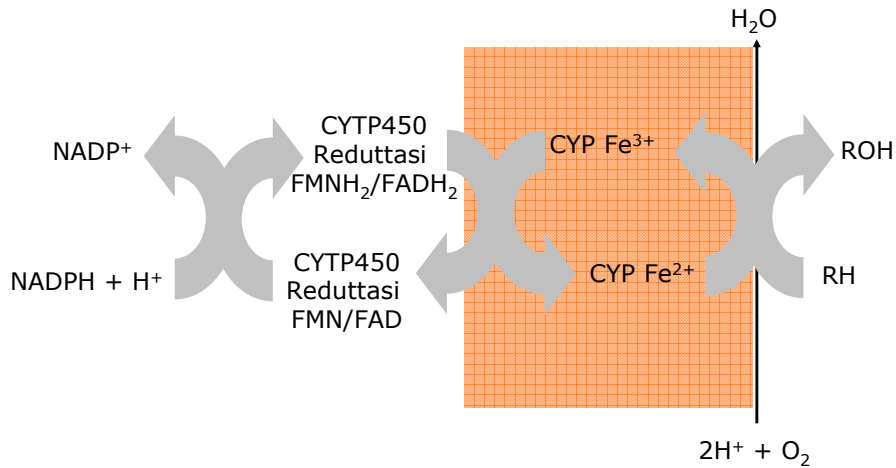
- L'ossigeno è legato non ad angolo retto.
- Il legame dell'ossigeno allontana il ligando (RH) solo dopo che i due atomi di ossigeno si sono ridotti il ligando si riavvicina. Ciò previene la formazione di ROS.
- Gli elettroni per la riduzione dell'ossigeno sono forniti da una proteina Fe-S (P450 batterica o mitocondriale) o da una NADPH-citocromo P450 ossidoreduttasi FAD/FMN dipendente (microsomi).

V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 106 -

Meccanismo generale del CYP



V.1.3 © gsartor 2001-2011

L04 - I grassi

- 107 -

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:

<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>, oppure da <http://www.gsartor.org/>

Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor

Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it