

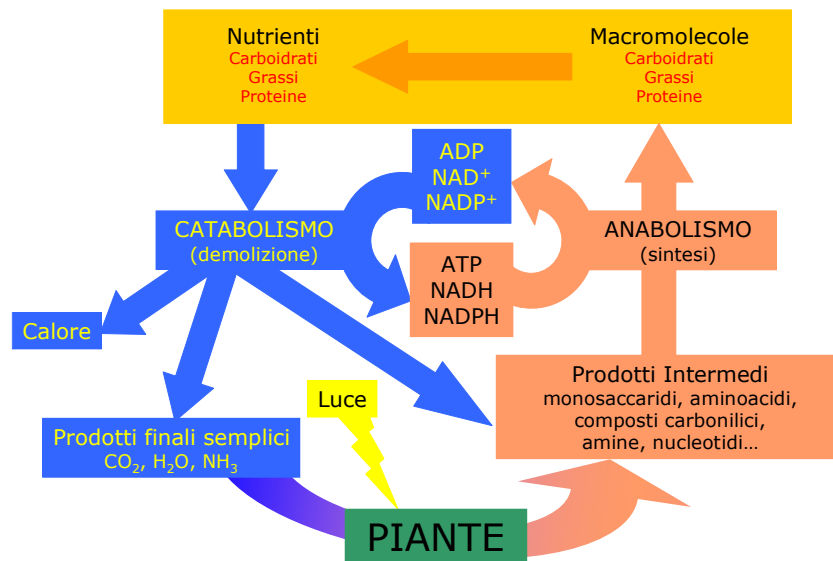
Prof. Giorgio Sartor

Richiamo di biochimica

Copyright © 2001-2012 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 0.3 – apr 2012

Metabolismo



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

2

Fonti di carbonio ed energia

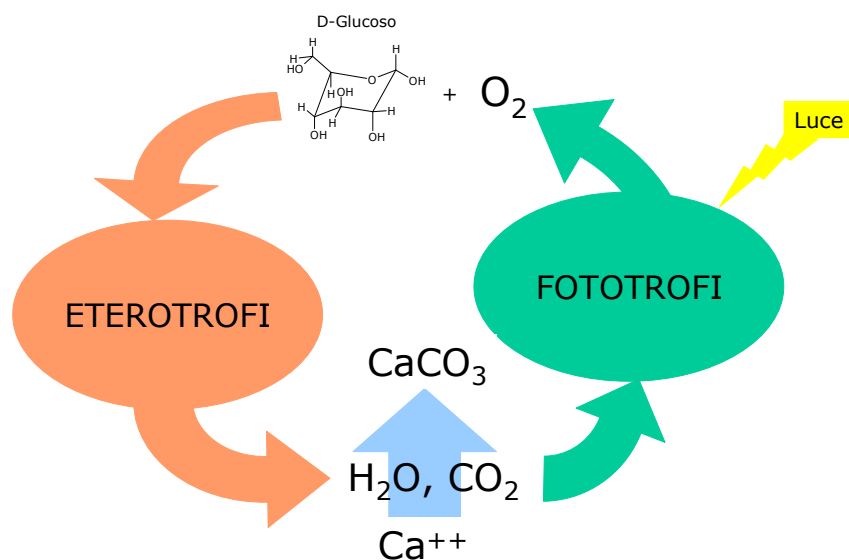
Organismo	Fonte di carbonio	Fonte di energia	Donatore di elettroni
Fotoautotrofi (piante, alghe verdi, cianobatteri fotosintetici)	CO ₂	Luce	H ₂ O, H ₂ S, S, altri inorganici
Fotoeterotrofi (rodobatteri non sulfurei)	Composti organici	Luce	Composti organici
Chemoautotrofi (H ₂ , Fe, S, batteri nitrificanti)	CO ₂	Reazioni redox	H ₂ , H ₂ S, NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , Fe ⁺⁺ , Mn ⁺⁺
Chemoeterotrofi (Animali, microrganismi, tessuti di piante non fotosintetici)	Composti organici	Reazioni redox	H ₂ O, composti organici

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

3

Fonti di carbonio ed energia

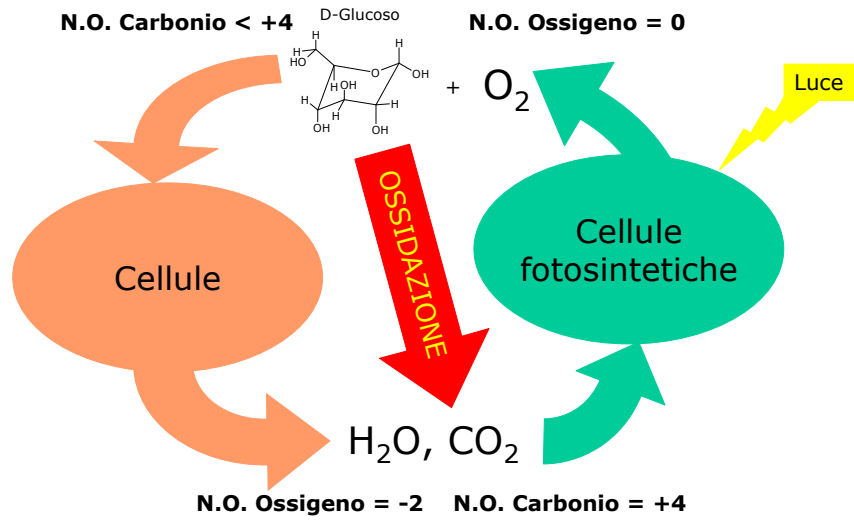


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

4

Metabolismo del carbonio

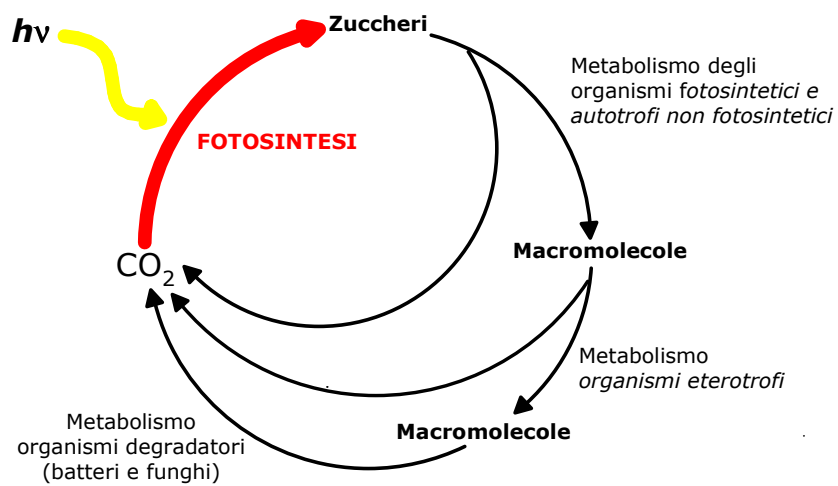


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

5

Ciclo biogeochimico del carbonio



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

6

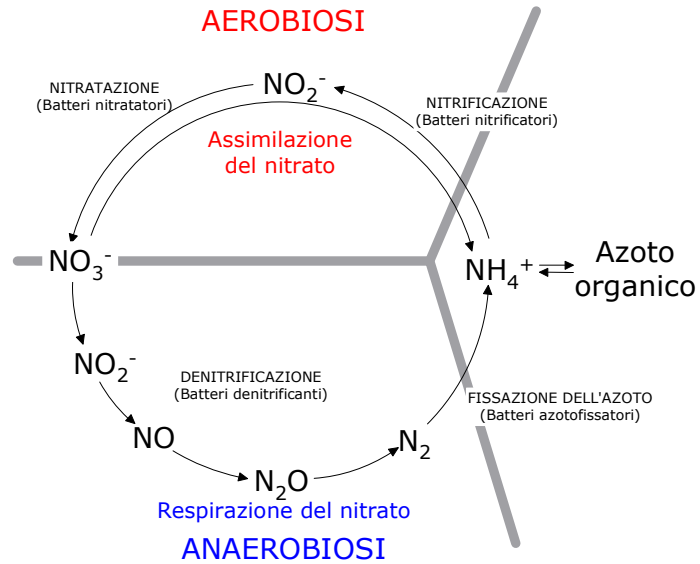
Ossigeno

Aerobi	Usano l'ossigeno come accettore finale degli elettroni
Aerobi obbligati	Usano SOLO l'ossigeno come accettore finale degli elettroni
Anaerobi facoltativi	Possono usare altri accettori di elettroni
Anaerobi obbligati	NON possono usare l'ossigeno come accettore di elettroni

Ciclo dell'azoto

- L'azoto in natura si trova in forma ossidata come nitrato (NO_3^-) e come gas (N_2),
- Per essere utilizzato deve essere convertito in forma ridotta (NH_4^+)
- Ciò può avvenire in **aerobiosi** o **anaerobiosi**.

Ciclo dell'azoto



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

9

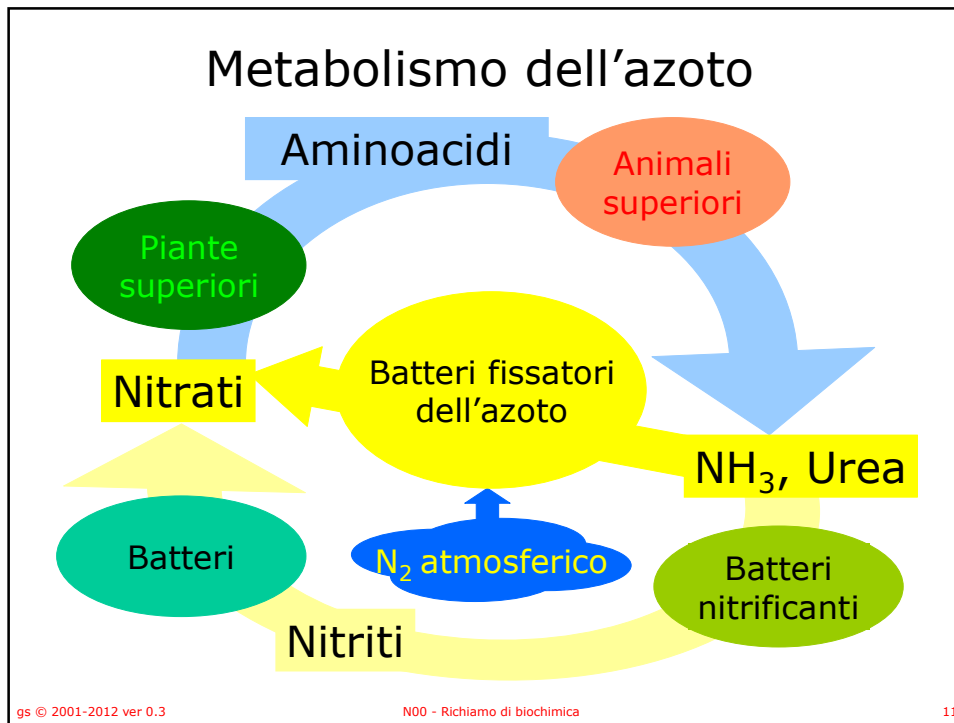
Ossigeno

Aerobi	Usano l'ossigeno come accettore finale degli elettroni
Aerobi obbligati	Usano SOLO l'ossigeno come accettore finale degli elettroni
Anaerobi facoltativi	Possono usare altri accettori di elettroni
Anaerobi obbligati	NON possono usare l'ossigeno come accettore di elettroni

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

10



- ### Classificazione degli enzimi
- Singolo enzima
 - Ureasi
 - Complesso enzimatico
 - Complesso piruvato deidrogenasi
- gs © 2001-2012 ver 0.3 N00 - Richiamo di biochimica 12

Classificazione gerarchica degli enzimi

- Ogni enzima viene classificato a secondo della **reazione** che catalizza.
- Viene classificato con un numero:
 - EC X.Y.Z.T
 - X = classe
 - Y = sottoclasse
 - Z = sotto-sottoclasse
 - T = numero dell'enzima nella sotto-sottoclasse
 - http://www.genome.jp/dbget-bin/get_htext?ECtable+-f+T+w+A
 - <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/enzymes/>

Classificazione gerarchica degli enzimi

- Classi:
 - 1. Ossidoreduttasi
 - Catalizzano una reazione redox.
 - 2. Transferasi
 - Catalizzano il trasferimento di un gruppo da una molecola ad un'altra:
 $X-Y + Z \rightarrow X-Z + Y$
le chinasi trasferiscono un gruppo fosfato.
 - 3. Idrolasi
 - Catalizzano la scissione idrolitica di legami C=O, C-N, C-C, P-O-P,...

Classificazione gerarchica degli enzimi

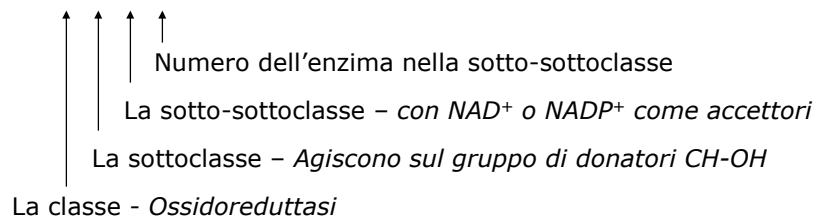
- Classi:
 - 4. Liasi
 - Catalizzano scissioni di legami con meccanismi diversi dalle Ossidoreduttasi e dalle Idrolasi.
 - 5. Isomerasi
 - Catalizzano modificazioni geometriche.
 - 6. Ligasi (Sintetasi)
 - Catalizzano l'unione di due molecole accoppiata al consumo di ATP o di un altro nucleotide trifosfato.

Classificazione gerarchica degli enzimi

- Per esempio:



- Nome comune: **alcool deidrogenasi**
- Nome sistematico: **alcool:NAD⁺ ossidoreduttasi**
- EC **1.1.1.1**



Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by IUPAC-IUBMB

[[1st Level](#) | [2nd Level](#) | [3rd Level](#) | [4th Level](#) | [Text Search](#)]

- ▶ 1. Oxidoreductases;
 - ▶ 2. Transferases;
 - ▶ 3. Hydrolases;
 - ▶ 4. Lyases;
 - ▶ 5. Isomerases;
 - ▶ 6. Ligases;
-

[[KEGG Home Page](#) | [GenomeNet Home Page](#) | [DBGET Links Diagram](#)]

Last updated: March 3, 2009

Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by IUPAC-IUBMB

[[1st Level](#) | [2nd Level](#) | [3rd Level](#) | [4th Level](#) | [Text Search](#)]

- ▼ 1. Oxidoreductases;
 - ▶ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
 - ▶ 1.2 Acting on the aldehyde or oxo group of donors;
 - ▶ 1.3 Acting on the CH-CH group of donors;
 - ▶ 1.4 Acting on the CH-NH₂ group of donors;
 - ▶ 1.5 Acting on the CH-NH group of donors;
 - ▶ 1.6 Acting on NADH or NADPH;
 - ▶ 1.7 Acting on other nitrogenous compounds as donors;
 - ▶ 1.8 Acting on a sulfur group of donors;
 - ▶ 1.9 Acting on a heme group of donors;
 - ▶ 1.10 Acting on diphenols and related substances as donors;
 - ▶ 1.11 Acting on a peroxide as acceptor;
 - ▶ 1.12 Acting on hydrogen as donor;
 - ▶ 1.13 Acting on single donors with O₂ as oxidant and incorporation of oxygen into
 - ▶ 1.14 Acting on paired donors, with O₂ as oxidant and incorporation or reduction
 - ▶ 1.15 Acting on superoxide as acceptor;
 - ▶ 1.16 Oxidizing metal ions;
 - ▶ 1.17 Acting on CH or CH₂ groups;
 - ▶ 1.18 Acting on iron-sulfur proteins as donors;
 - ▶ 1.19 Acting on reduced flavodoxin as donor;
 - ▶ 1.20 Acting on phosphorus or arsenic in donors;
 - ▶ 1.21 Acting on X-H and Y-H to form an X-Y bond;
 - ▶ 1.97 Other oxidoreductases;
 - ▶ 1.98 Other oxidoreductases
 - ▶ 1.99 Other oxidoreductases
 - ▶ 1.- Other oxidoreductases

Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by [IUPAC-IUBMB](#)

[[1st Level](#) | [2nd Level](#) | [3rd Level](#) | [4th Level](#) | [Text Search](#)]

▼ 1. Oxidoreductases;

- ▼ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
 - ▶ 1.1.1 With NAD⁺ or NADP⁺ as acceptor
 - ▶ 1.1.2 With a cytochrome as acceptor
 - ▶ 1.1.3 With oxygen as acceptor
 - ▶ 1.1.4 With a disulfide as acceptor
 - ▶ 1.1.5 With a quinone or similar compound as acceptor
 - ▶ 1.1.99 With other acceptors
 - ▶ 1.1.- Acting on the CH-OH group of donors
- ▶ 1.2 Acting on the aldehyde or oxo group of donors;
- ▶ 1.3 Acting on the CH-CH group of donors;
- ▶ 1.4 Acting on the CH-NH₂ group of donors;
- ▶ 1.5 Acting on the CH-NH group of donors;
- ▶ 1.6 Acting on NADH or NADPH;
- ▶ 1.7 Acting on other nitrogenous compounds as donors;
- ▶ 1.8 Acting on a sulfur group of donors;

Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by [IUPAC-IUBMB](#)

[[1st Level](#) | [2nd Level](#) | [3rd Level](#) | [4th Level](#) | [Text Search](#)]

▼ 1. Oxidoreductases;

- ▼ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
 - ▼ 1.1.1 With NAD⁺ or NADP⁺ as acceptor
 - 1.1.1.1 alcohol dehydrogenase; aldehyde reductase; ADH; alcohol dehydrogenase (NAD); aliphatic alcohol dehydrogenase; ethanol dehydrogenase; NAD-dependent alcohol dehydrogenase; NAD-specific aromatic alcohol dehydrogenase; NADH-alcohol dehydrogenase; NADH-aldehyde dehydrogenase; primary alcohol dehydrogenase; yeast alcohol dehydrogenase
 - 1.1.1.2 alcohol dehydrogenase (NADP⁺); aldehyde reductase (NADPH₂); NADP-alcohol dehydrogenase; NADP⁺-aldehyde reductase; NADP⁺-dependent aldehyde reductase; NADPH-aldehyde reductase; NADPH-dependent aldehyde reductase; nonspecific succinic semialdehyde reductase; ALR 1; low-K_m aldehyde reductase; high-K_m aldehyde reductase; alcohol dehydrogenase (NADP⁺)
 - 1.1.1.3 homoserine dehydrogenase; HSDH; HSD
 - 1.1.1.4 (R,R)-butanediol dehydrogenase; butyleneglycol dehydrogenase; D-butanediol dehydrogenase; D-(-)-butanediol dehydrogenase; butylene glycol dehydrogenase; diacetyl (acetoin) reductase; D-aminopropanol dehydrogenase; D-aminopropanol dehydrogenase; 1-amino-2-propanol dehydrogenase; 2,3-butanediol dehydrogenase; D-1-amino-2-propanol dehydrogenase; (R)-diacetyl reductase; (R)-2,3-butanediol dehydrogenase; D-1-amino-2-propanol:NAD⁺ oxidoreductase; 1-amino-2-propanol oxidoreductase; aminopropanol oxidoreductase
 - 1.1.1.5 acetoin dehydrogenase; diacetyl reductase
 - 1.1.1.6 glycerol dehydrogenase; glycerin dehydrogenase; NAD⁺-linked glycerol dehydrogenase
 - 1.1.1.7 propanediol-phosphate dehydrogenase; PDP dehydrogenase; 1,2-propanediol-1-phosphate:NAD⁺ oxidoreductase; propanediol phosphate dehydrogenase

Isoenzimi

- Questa classificazione NON riguarda gli enzimi in quanto proteine ma in quanto CATALIZZATORI
- La classificazione riguarda quindi gli enzimi che catalizzano una reazione.
- Proteine diverse (con diversa struttura primaria) che catalizzano la stessa reazione, sono

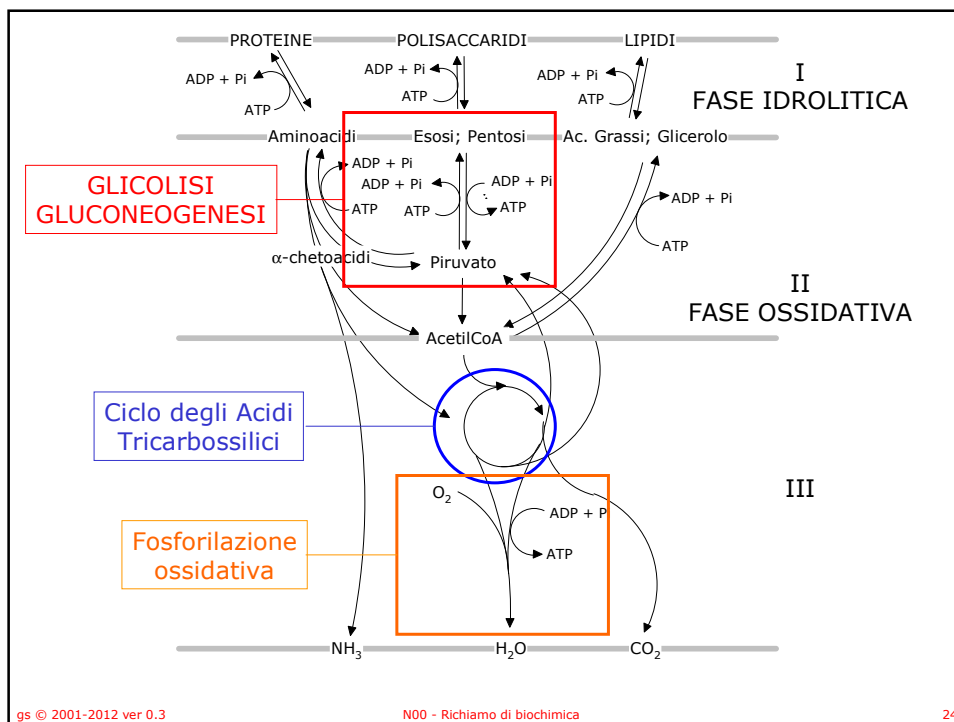
ISOENZIMI

Isoenzimi

- Sono le forme multiple dovute a differenze, determinate geneticamente, di struttura primaria
- Sono anche isoenzimi quelle proteine che svolgono la stessa funzione ma sono geneticamente indipendenti, per esempio:
- EC 1.1.1.37 malato deidrogenasi
 - Citosolica (codificata dal DNA nucleare)
 - Mitocondriale (codificata dal DNA mitocondriale)

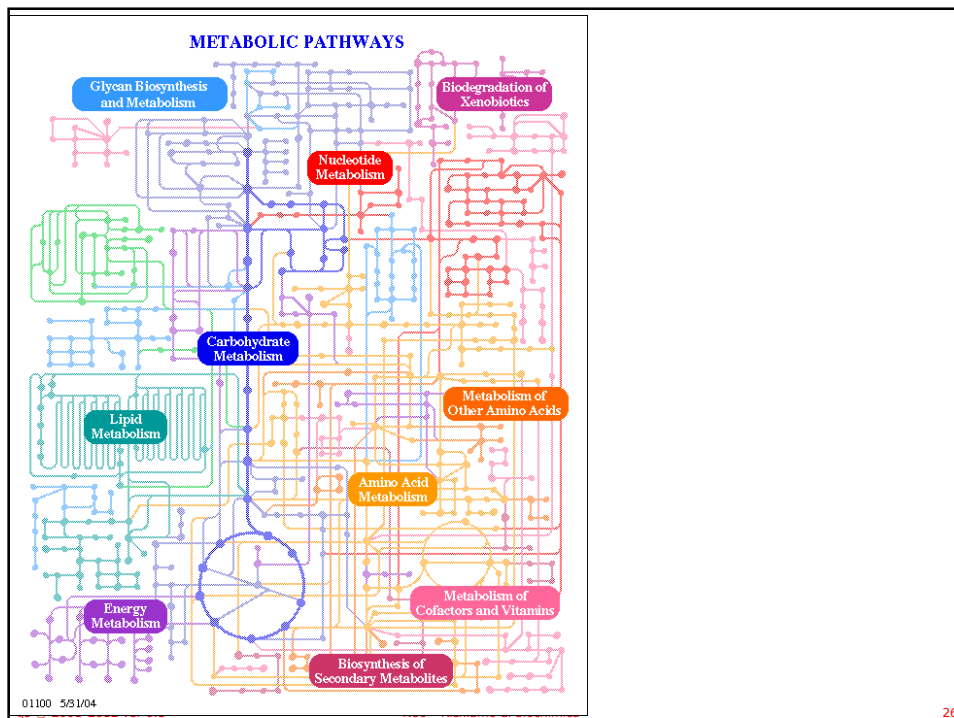
Vie metaboliche

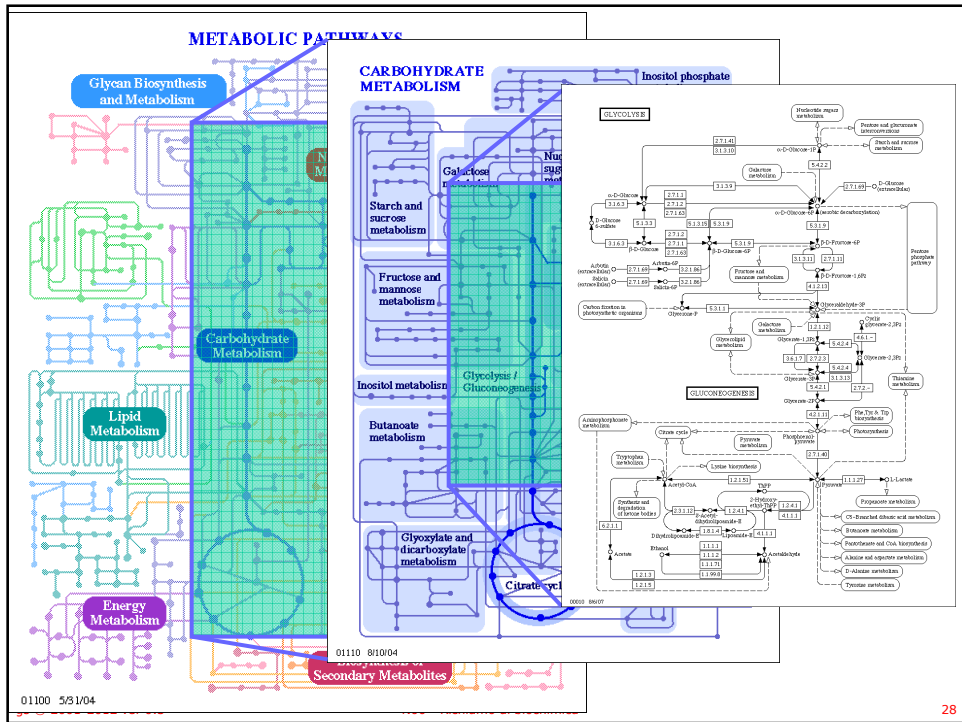
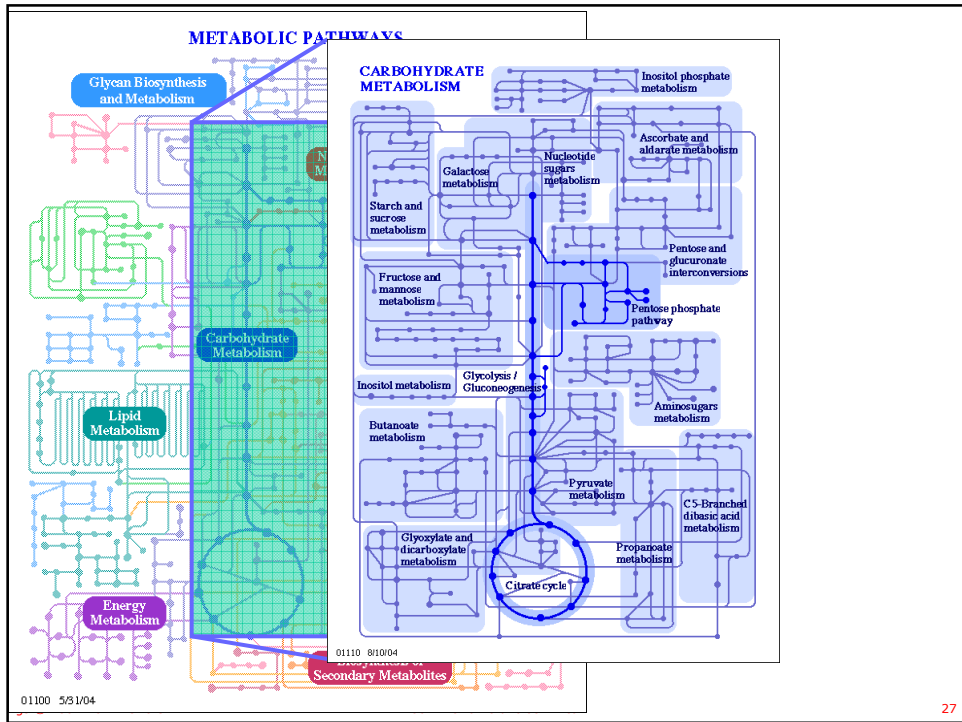
- Sono l'insieme di reazioni chimiche che portano alla trasformazione di un substrato in un prodotto passando attraverso composti intermedi.
- Vie cataboliche: producono energia chimica
- Vie anaboliche utilizzano energia chimica.

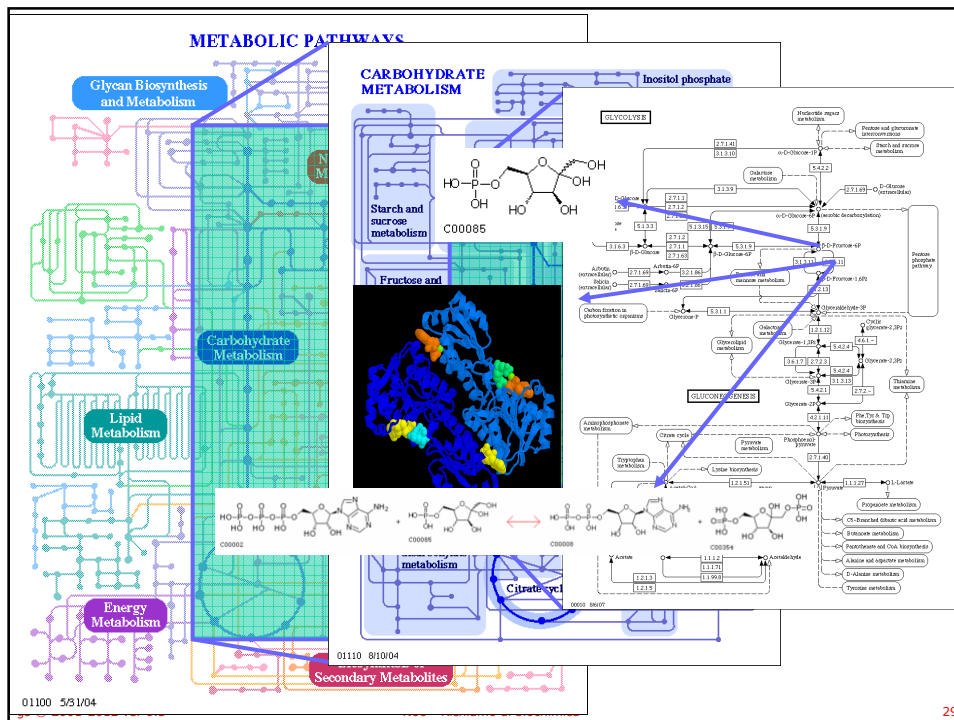


Vie metaboliche ed intermedi

- Le vie metaboliche producono intermedi,
- Il destino dei composti intermedi può essere vario,
- Ogni punto di biforcazione di una via metabolica permette una regolazione,
- Le vie metaboliche più importanti sono comuni a tutti gli organismi,
- Organismi diversi in ambienti diversi sono caratterizzati da vie metaboliche alternative,
- Gli organismi vengono caratterizzati in funzione del modo con cui utilizzano carbonio, ossigeno ed energia.



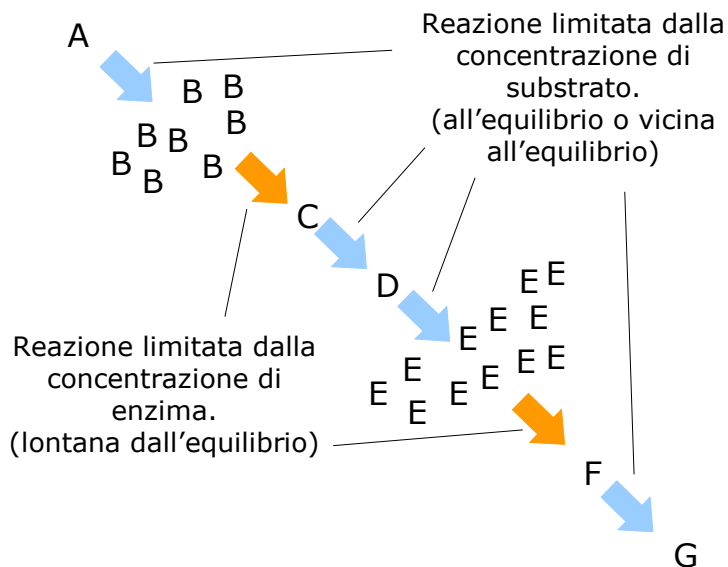




Regolazione delle vie metaboliche

- La velocità di una via metabolica
 - può essere regolata sia dalla disponibilità del substrato (K_m) che dalla disponibilità dell'enzima (V_{max}).
 - È controllata dal passaggio più lento nella via metabolica
 - Termodinamicamente molto favorito
 - Catalizzato da un enzima estremamente regolato
 - Spesso in una biforcazione della via metabolica
- Le vie cataboliche (demolizione) ed anaboliche (sintesi) usano spesso gli stessi enzimi, ma hanno almeno un passaggio diverso.

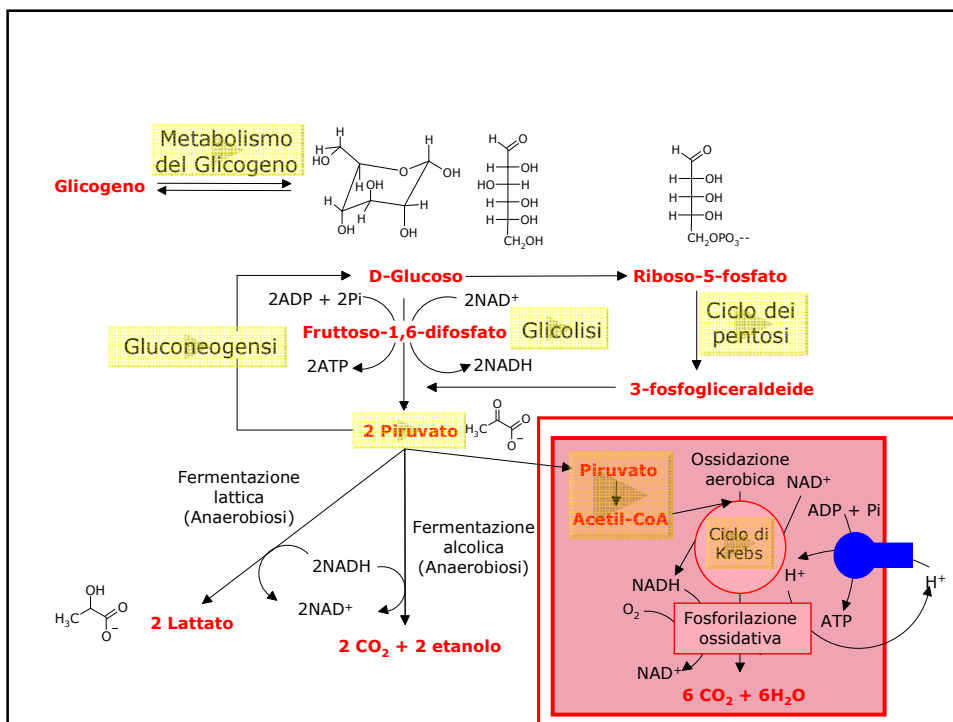
Regolazione delle vie metaboliche



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

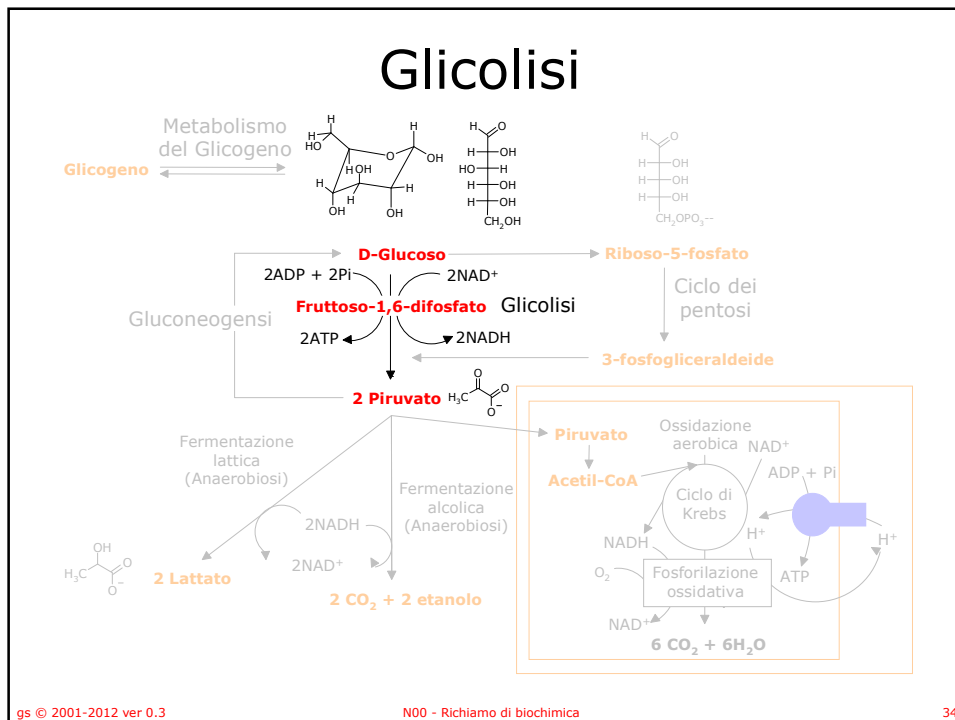
31



Glicolisi

La via di Embden-Meyerhof (Warburg)

 [Indice](#)

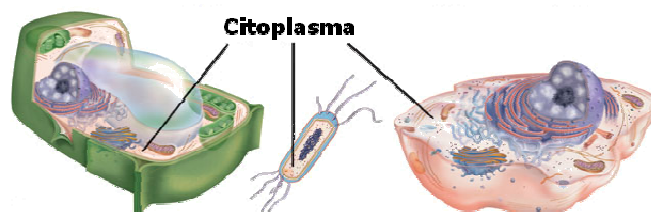


Glicolisi

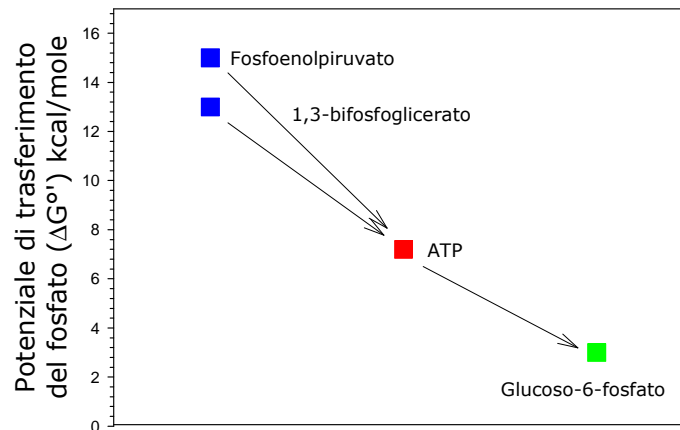
- In tutte le cellule avviene la glicolisi
- Dieci reazioni, le stesse in tutte le cellule, ma con diversa cinetica
- Tre fasi:
 - La prima fase converte il glucosio in fruttosio-1,6-difosfato,
 - La seconda fase scinde il fruttosio-1,6-difosfato in due triosi,
 - La terza fase produce due molecole di piruvato.
- I prodotti sono: piruvato, ATP e NADH.
- Esistono tre diversi destini possibili del piruvato.

Glicolisi

- Gli enzimi sono confinati nel citoplasma della cellula.
- Gli intermedi sono tutti fosforilati.
 - Non passano attraverso le membrane.
 - Vengono riconosciuti dagli enzimi.
 - Sono convertiti in intermedi ad alto potenziale di trasferimento del fosfato che sono in grado di fosforilare l'ADP ad ATP.



Intermedi fosforilati



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

37

Fasi della glicolisi

1. Fosforilazione del substrato ed attivazione,
2. Scissione dello zucchero a sei atomi di carbonio,
3. Recupero dell'energia nella fosforilazione dell'ADP.

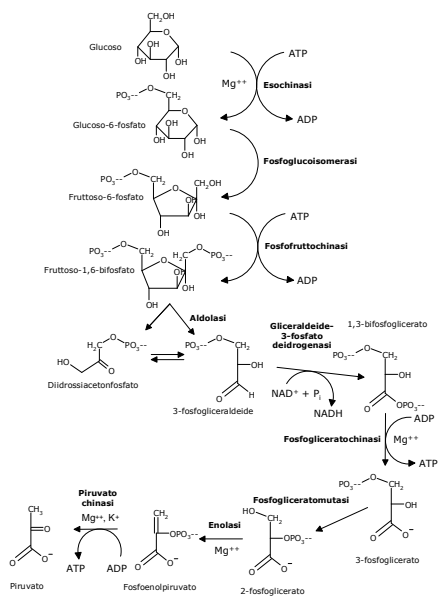
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

38

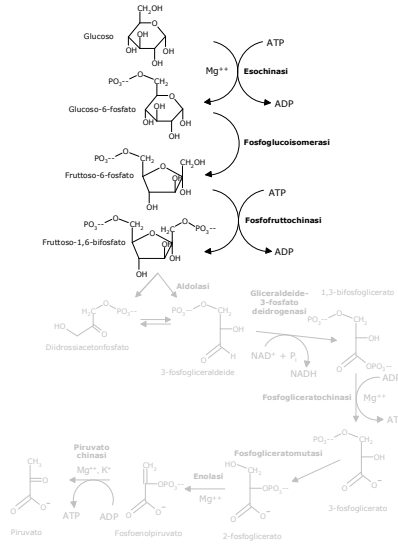
Fosforilazione

- La prima fase della glicolisi consiste nella **fosforilazione** del glucosio per arrivare a fruttosio-1,6-difosfato attraverso il glucosio-6-fosfato che viene isomerizzato a fruttosio-6-fosfato.
- Vengono consumate due molecole di ATP per ottenere lo zucchero difosfato.



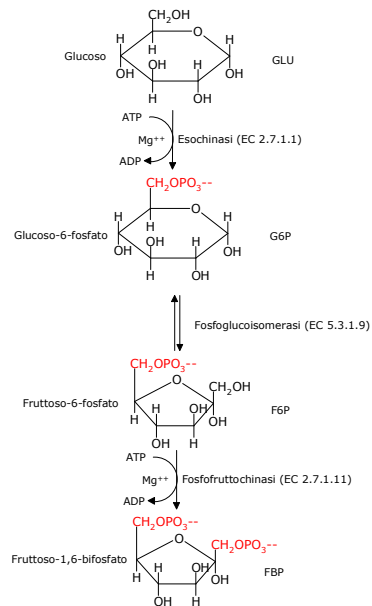
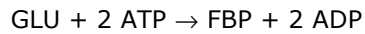
Fase 1

Formazione di fruttosio-1,6-bifosfato



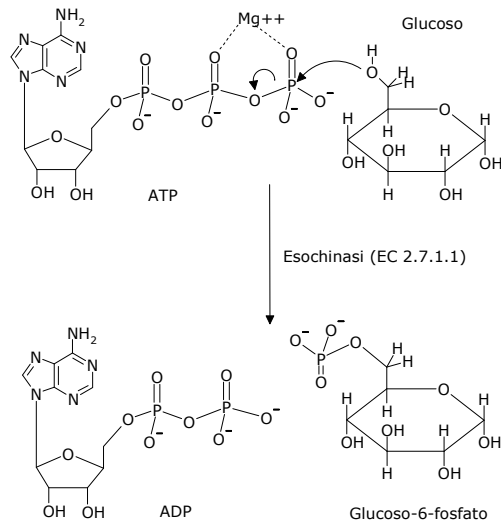
Formazione del fruttosio-1,6-difosfato

- Gli enzimi coinvolti sono due chinasi (la esochinasi e la fosfofruttochinasi) ed una isomerasi
- Risultato netto:



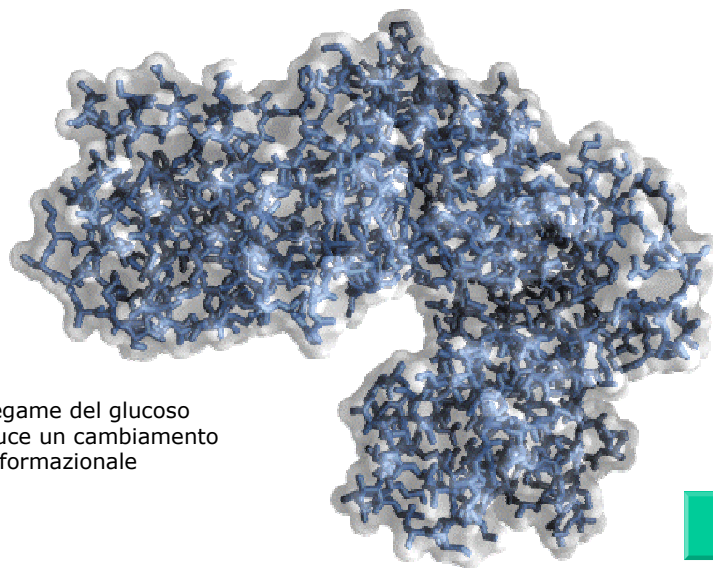
Esochinasi

- Fosforilazione del glucosio
- Consumo di ATP
- Fosforilazione spontanea a causa dell'idrolisi dell'ATP

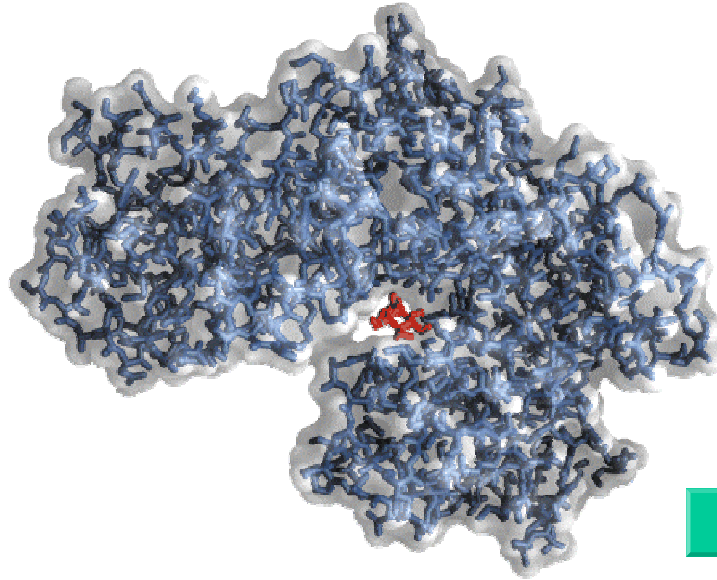


Esochinasi inattiva

- Il legame del glucosio induce un cambiamento conformazionale



Esochinasi attiva



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

45

Esochinasi EC 2.7.1.1

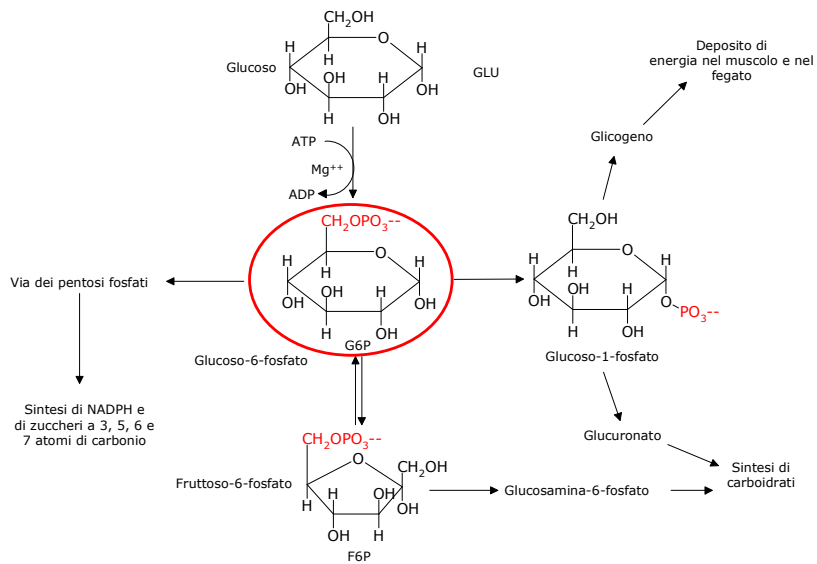
- La fosforilazione confina il glucosio nella cellula
- La K_m per il glucosio è 0.1 mM; nella cellula il glucosio è 4 mM
- La glucochinasi ha una $K_m^{\text{glucosio}} = 10$ mM, si attiva solo quando la cellula si arricchisce in glucosio
- La esochinasi è regolata allostericamente, viene inibita dal glucosio-6-fosfato ma non è il principale sito di regolazione della glicolisi

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

46

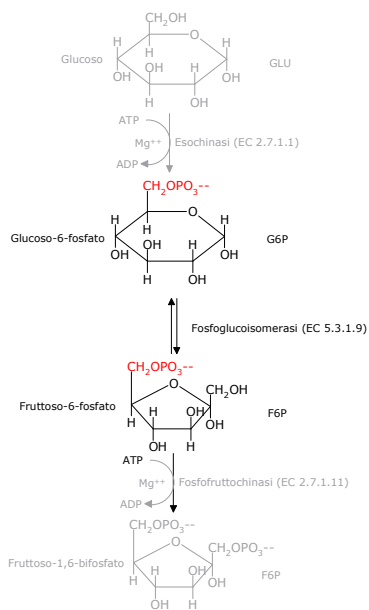
Formazione del fruttosio-6-difosfato



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

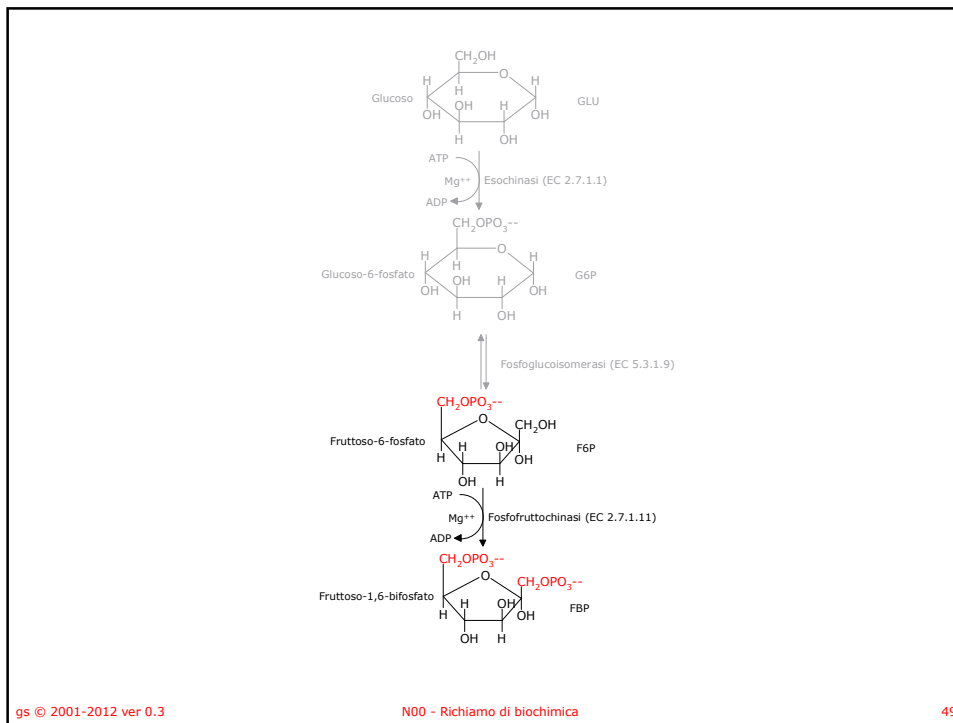
47



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

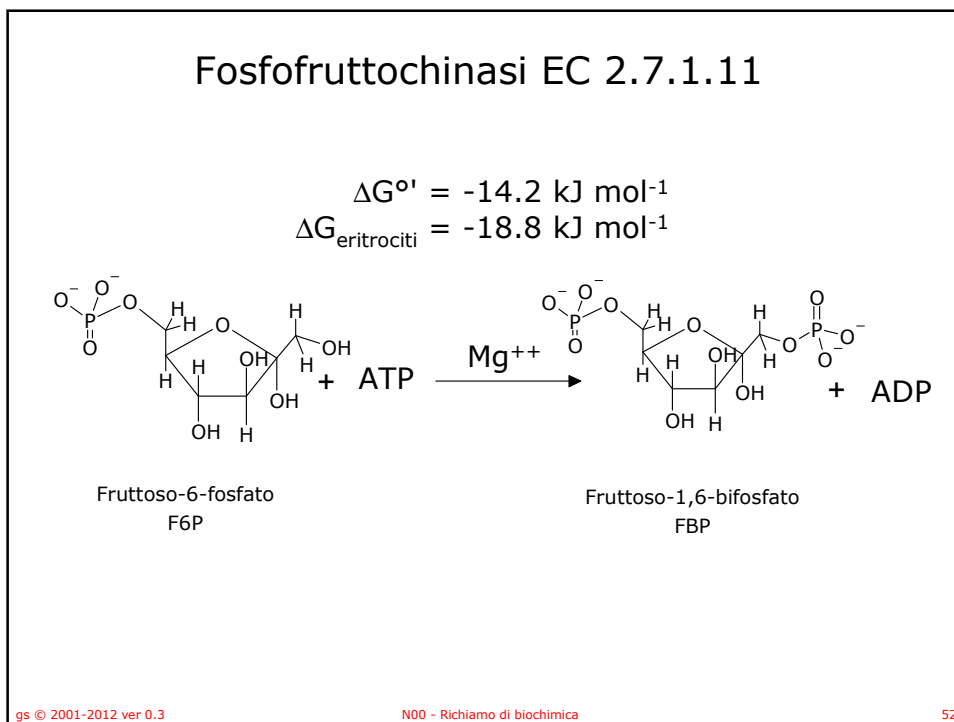
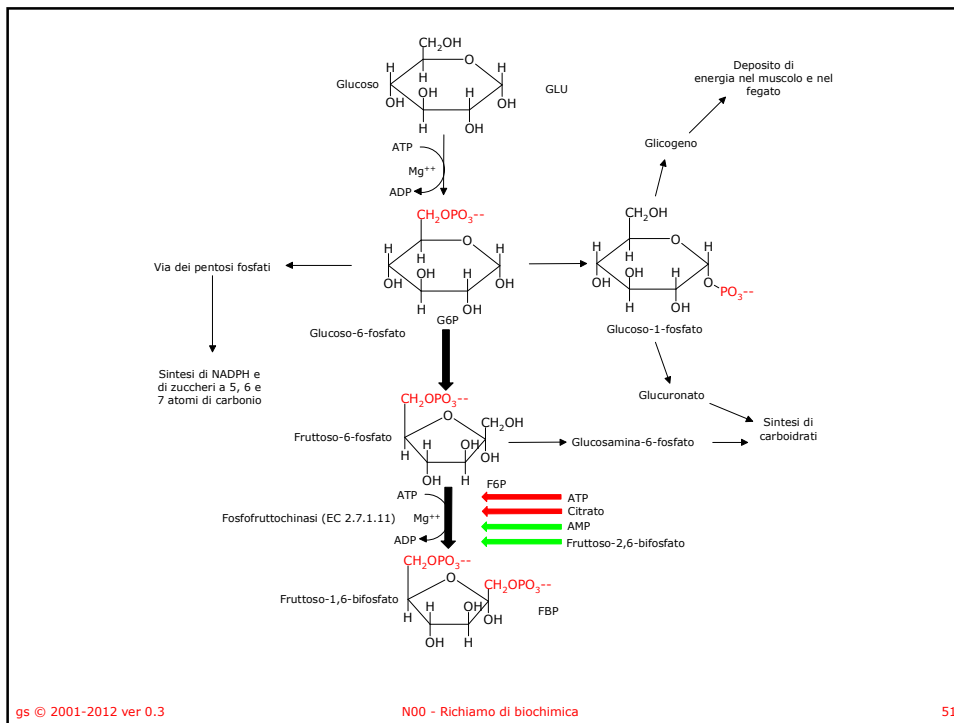
48



Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

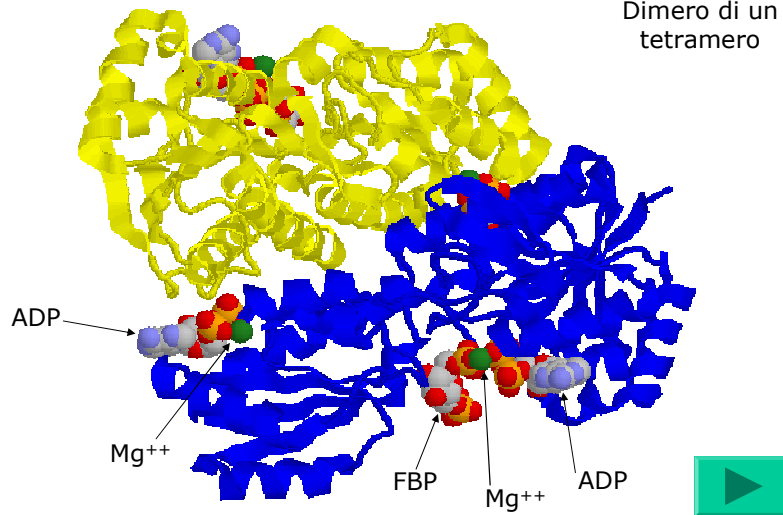
È la reazione che controlla la glicolisi

- È la seconda reazione di fosforilazione
- Valore di ΔG grande e negativo,
 - La PFK è altamente regolata
 - ATP inibisce, AMP elimina l'inibizione
 - Il citrato è un inibitore allosterico
 - Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico
 - L'attività della PFK aumenta quando lo stato energetico della cellula è basso.
 - L'attività della PFK diminuisce quando lo stato energetico della cellula è alto.
- Spinge la reazione verso la glicolisi e non verso il ciclo dei pentosi



Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

Dimero di un tetramero



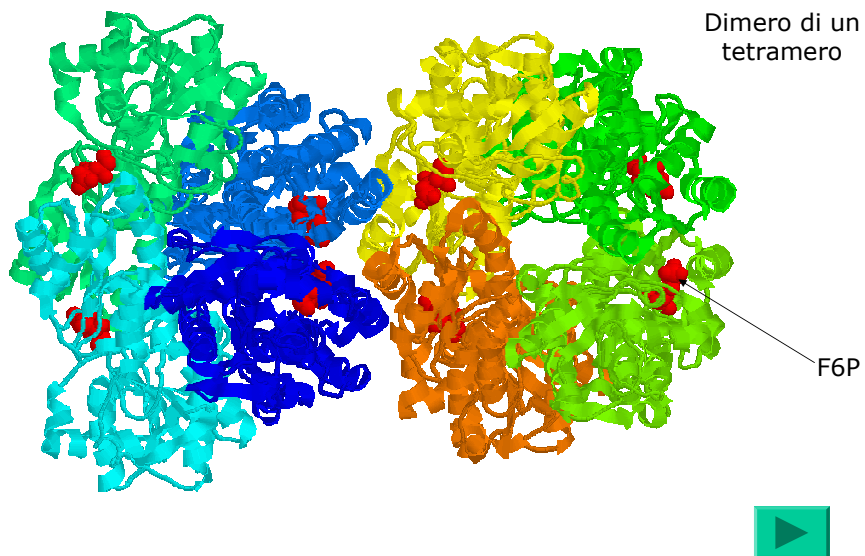
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

53

Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

Dimero di un tetramero

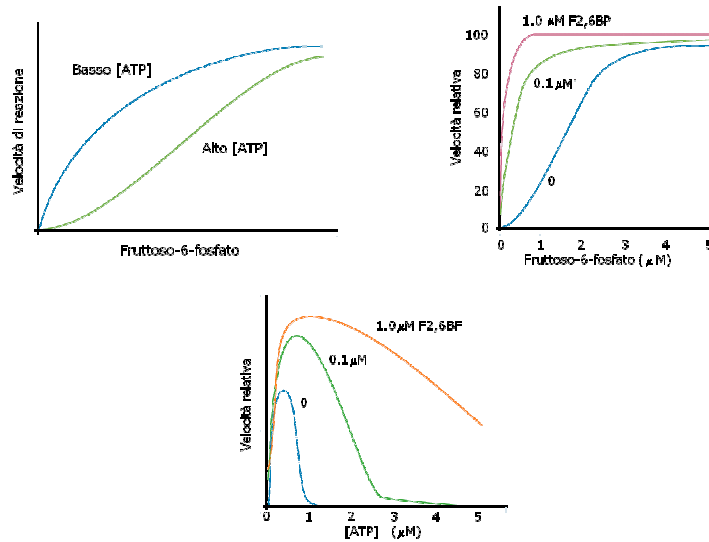


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

54

Regolazione PFK



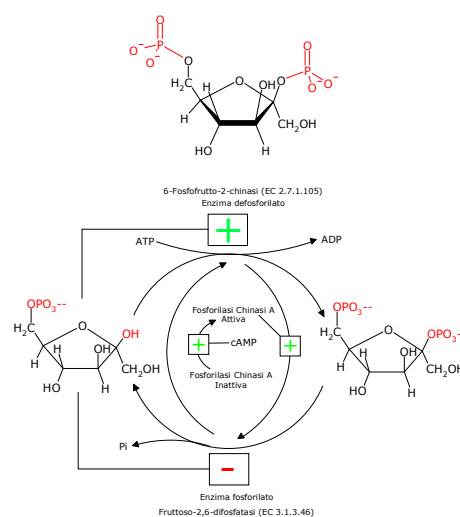
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

55

Enzima tandem

- La regolazione della PFK coinvolge un'altra molecola fosforilata: il fruttosio-2,6-bisfosfato, che funziona da attivatore allosterico della PFK.
- La sintesi di questa molecola è regolata da una proteina che, su singolo polipeptide, svolge due attività enzimatiche diverse a seconda se è o non è fosforilata: l'enzima tandem.
- L'enzima tandem è finemente regolato.

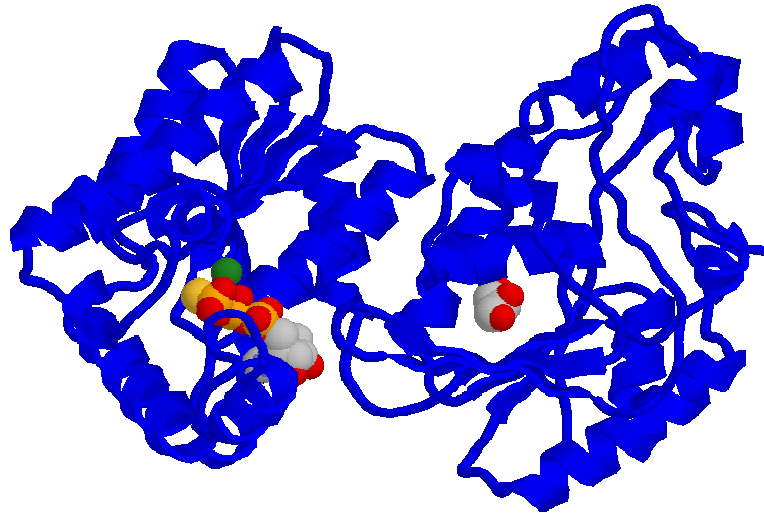


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

56

Enzima tandem

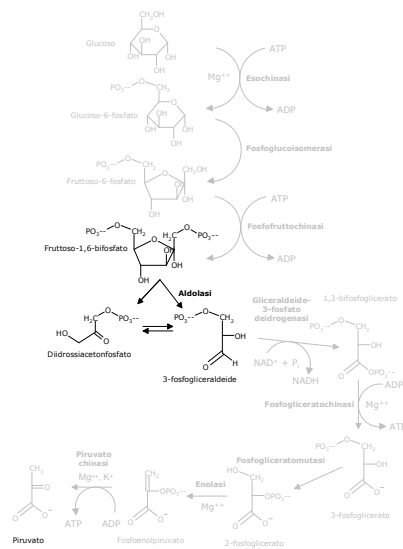


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

57

Fase 2 Scissione del fruttosio-1,6-bifosfato



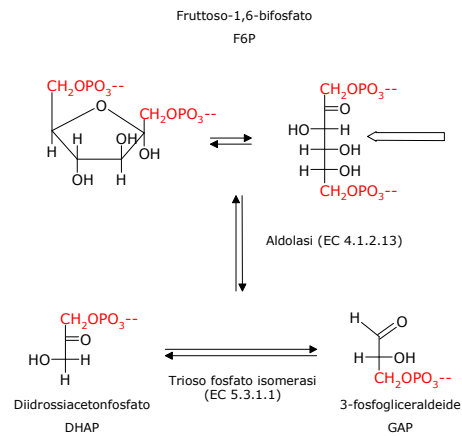
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

58

Scissione del fruttosio-1,6-difosfato

- La scissione del fruttosio-1,6-difosfato attraverso l'aldolasi porta alla formazione di due triosi, diidrossiacetonfosfato e 3-fosfogliceraldeide.
- I due triosi sono tra loro in equilibrio attraverso la trioso fosfato isomerasi

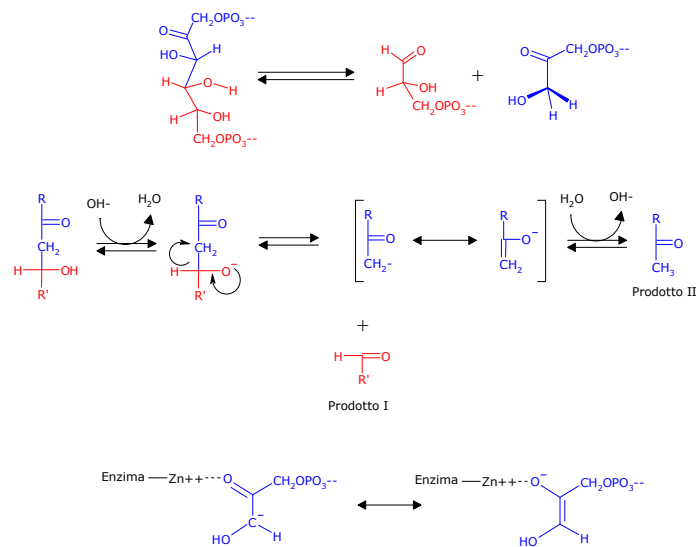


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

59

Aldolasi: meccanismo generale



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

60

Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

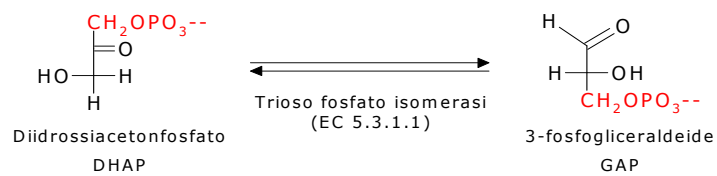
Converte DHAP in GAP

- Il meccanismo coinvolge la formazione di enendiolo
- Il sito attivo contiene un Glu che agisce come base

Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

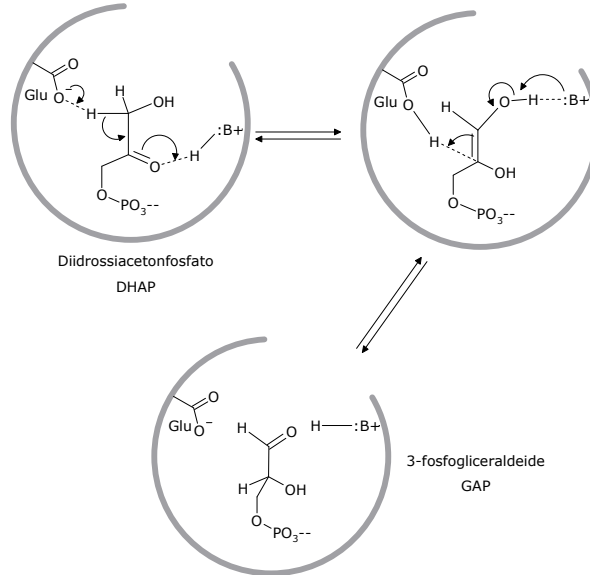
- Catalizza l'equilibrio:

$$\Delta G^{\circ'} = +7.56 \text{ kJ mol}^{-1}$$



- L'equilibrio è spostato verso sinistra ($\cong 96\%$ DHAP, $\cong 4\%$ GAP), nel procedere della glicolisi viene consumata solo GAP e l'equilibrio si sposta verso destra.

Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

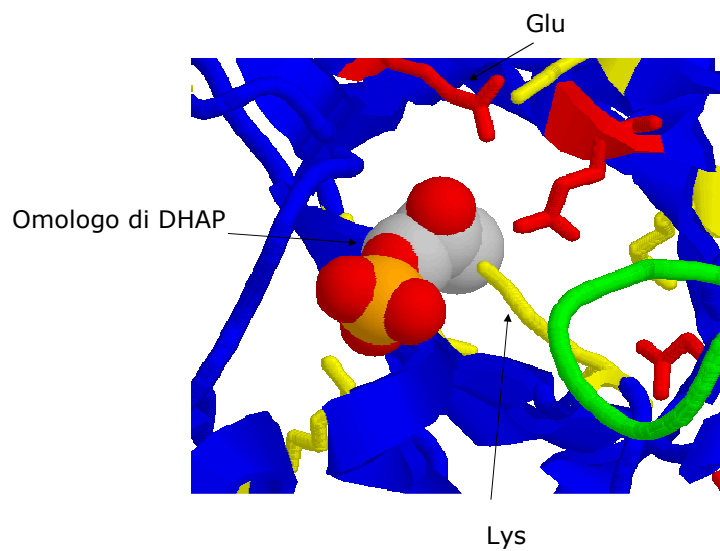


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

63

Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

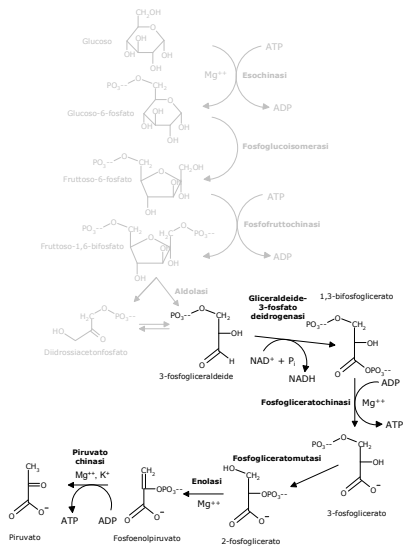


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

64

Fase 3 Recupero dell'energia



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

65

Recupero dell'energia

- La formazione di GAP permette il recupero dell'energia attraverso il suo metabolismo con formazione di una serie di intermedi fosforilati:
 - 1,3-bisfosfoglicerato,
 - 3-fosfoglicerato,
 - 2-fosfoglicerato,
 - fosfoenolpiruvato ed infine
 - piruvato.
- Il destino del piruvato dipende dalla presenza di ossigeno e può essere diverso in cellule diverse (lievito, muscolo...)

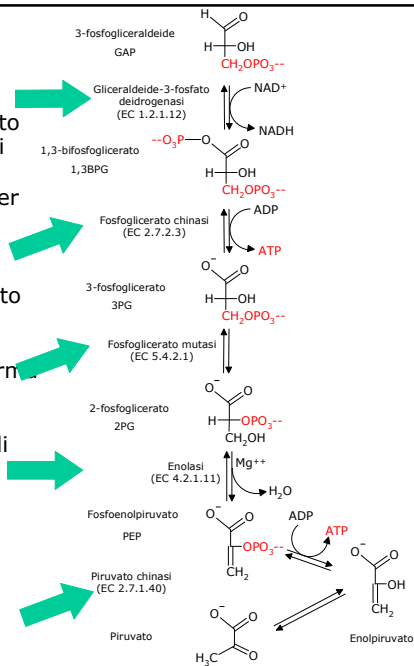
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

66

Recupero dell'energia

- La 3-fosfogliceraldeide prodotta viene ossidata e fosforilata 1,3-bifosfoglicerato da una deidrogenasi, con produzione di NADH
- il 1,3-bifosfoglicerato viene utilizzato per fosforilare l'ADP ad opera di una fosfogliceratochinasi e si forma 3-fosfoglicerato,
- che viene isomerizzato a 2-fosfoglicerato ad opera di una mutasi,
- il 2-fosfoglicerato perde una molecola d'acqua ad opera di una enolasi e si forma il fosfoenolpiruvato che
- viene trasformato in piruvato ad opera della piruvato chinasi con formazione di ATP.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

67

Glicerinaldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

GAP è ossidata a 1,3BPG

- L'energia ottenuta dalla conversione di un'aldeide ad acido carbossilico è usata per la fosforilazione a 1,3BPG e per la riduzione del NAD⁺ a NADH

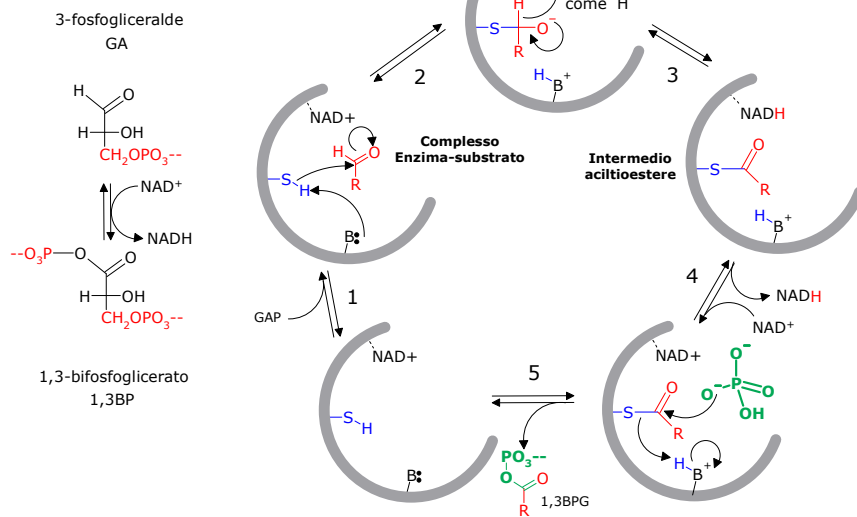
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

68

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

$$\Delta G^{\circ} = +6.3 \text{ kJ mol}^{-1}$$

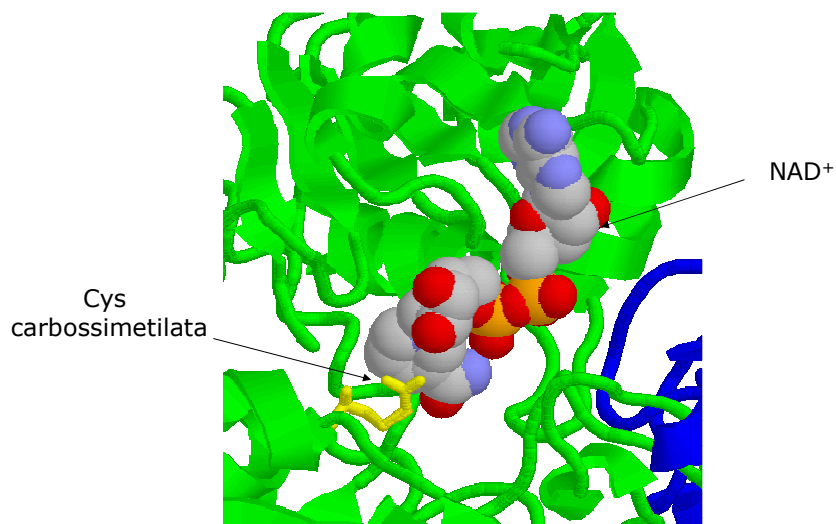


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

69

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

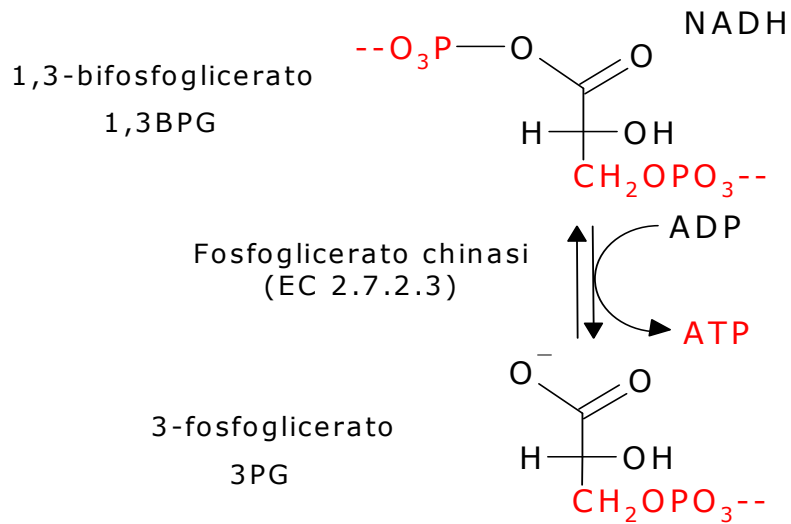


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

70

Fosfoglicerato chinasi EC 2.7.2.3



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

71

Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1

Il gruppo fosfato passa da C-3 a C-2

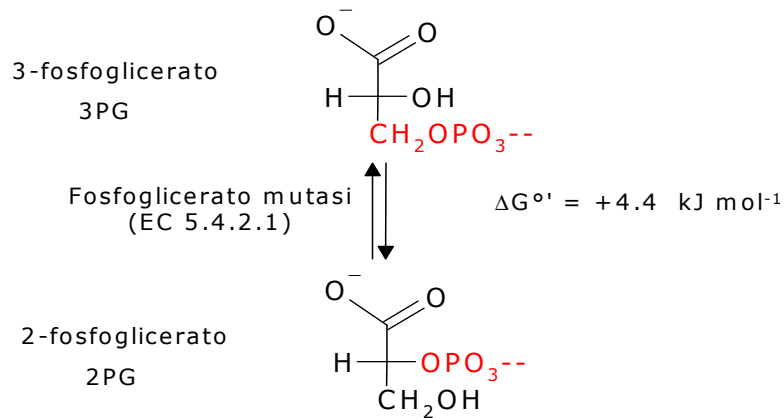
- Spostamento di fosfato per la formazione di PEP
- Si forma un intermedio fosfo-istidina
- È stato dimostrato che del 2,3BPG è richiesto per la fosforilazione di His.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

72

Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1

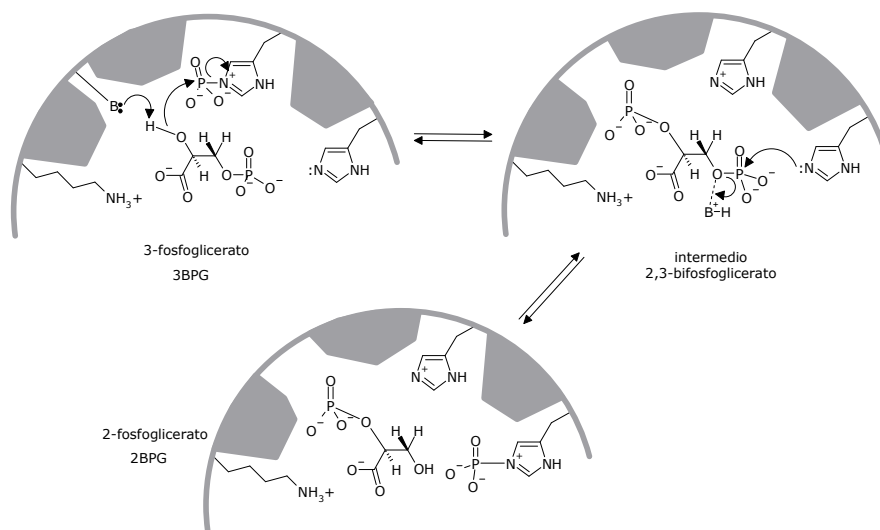


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

73

Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1

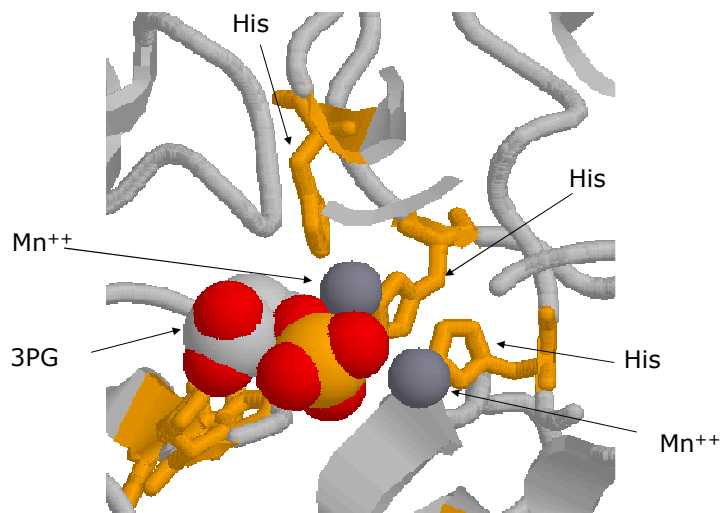


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

74

Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

75

Enolasi EC 4.2.1.11

Da 2PG a PEP

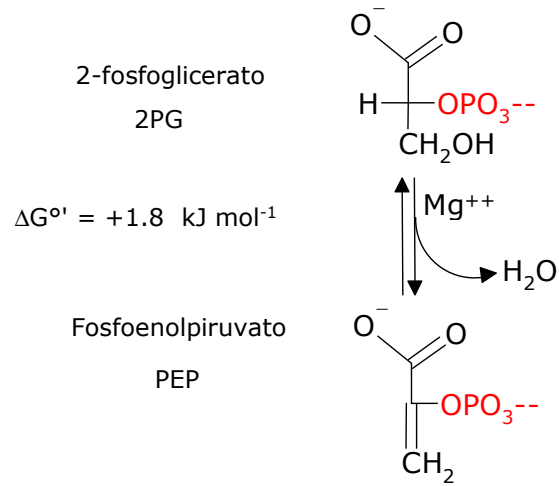
- Il ΔG globale è 1.8 kJ/mol
- Il contenuto in energia di 2PG e PEP è simile.
- L'enolasi riarrangia la molecola in modo tale che possa fornire più energia nell'idrolisi.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

76

Enolasi EC 4.2.1.11

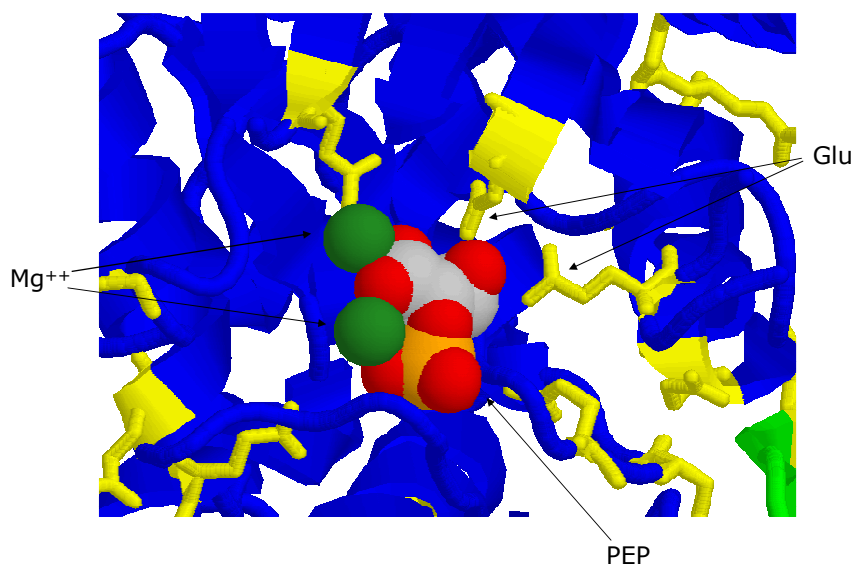


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

77

Enolasi EC 4.2.1.11



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

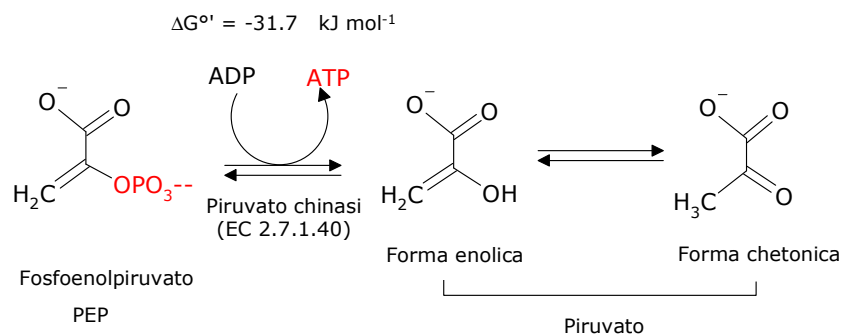
78

Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

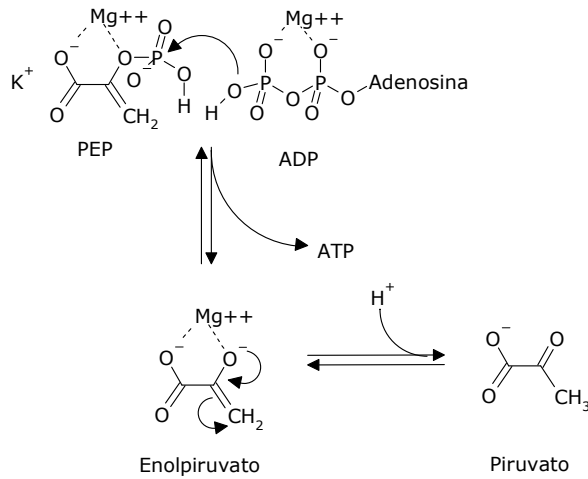
Da PEP a piruvato viene prodotto ATP

- Valore di ΔG grande e negativo.
- Punto di regolazione
- Attivata allostericamente da AMP, F1,6BP
- Inibita allostericamente da ATP e acetil-CoA
- Tautomeria chetoenolica del piruvato.

Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40



Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

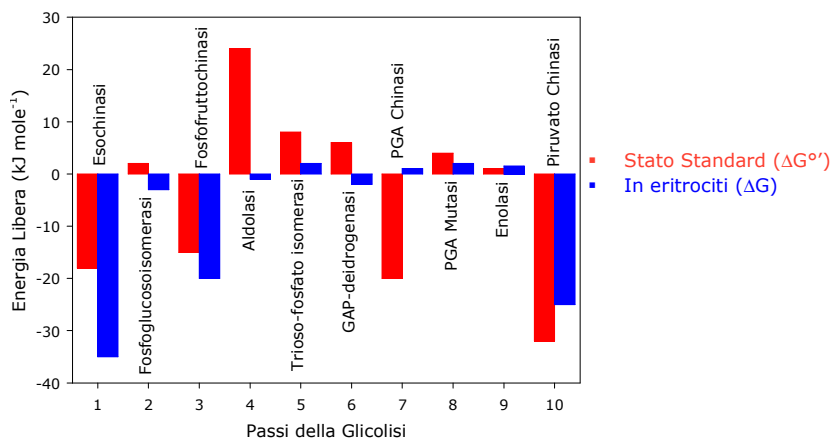


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

81

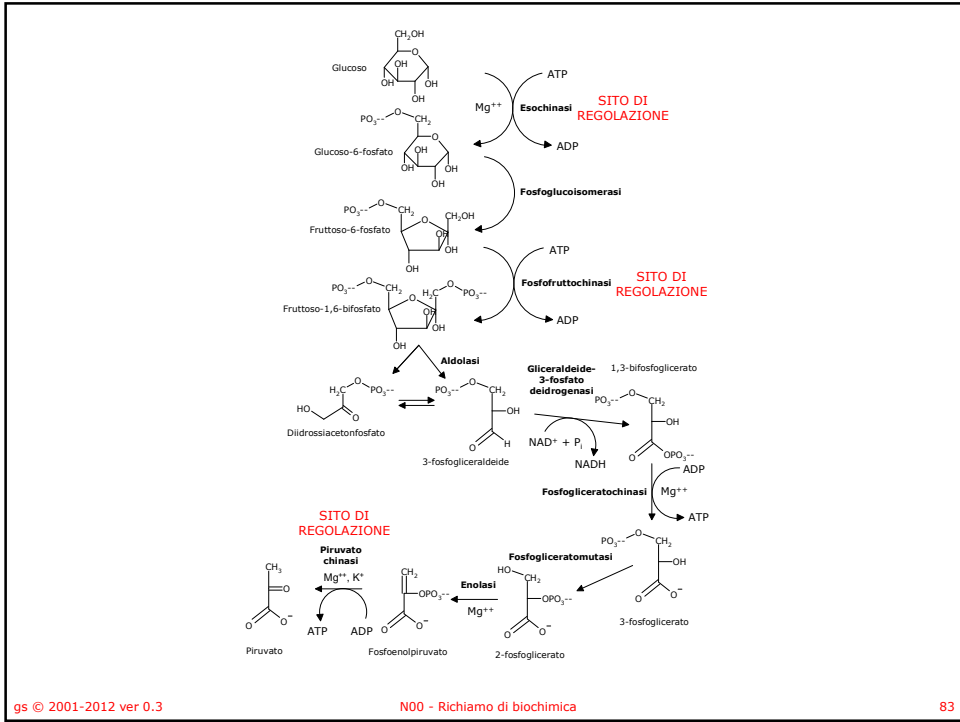
Energia



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

82



Ossigeno

Aerobiosi e **anaerobiosi**

[Indice](#)

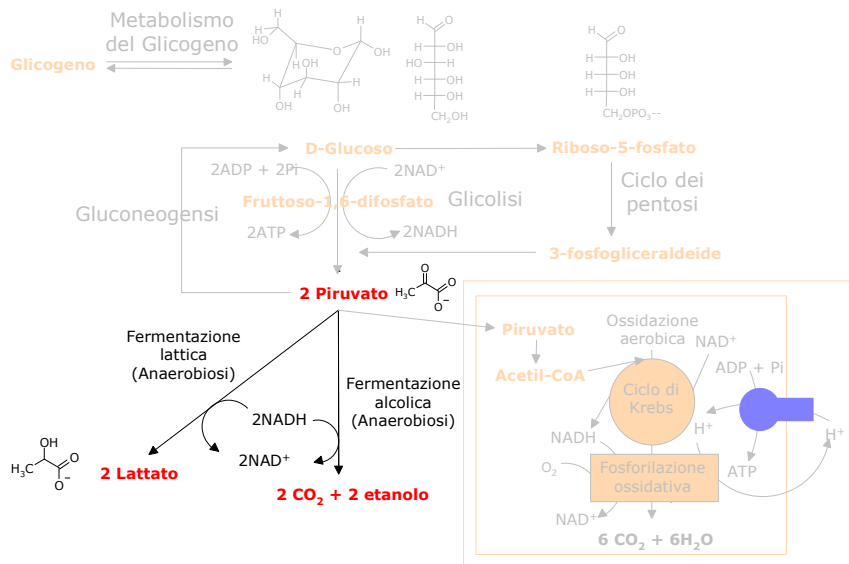
Destino del piruvato

- In assenza di ossigeno
 - Riduzione a lattato
 - Prima riduzione a lattato poi decarbossilazione ad acetato
 - Prima decarbossilazione ad aldeide poi riduzione ad etanolo
 - In presenza di ossigeno
 - Decarbossilazione,
 - Ciclo di Krebs,
 - Respirazione cellulare
- } Ripristino di NAD⁺ per continuare la glicolisi

Destino del piruvato

- In assenza di ossigeno
 - Nel muscolo
 - Ridotto a Lattato
 - Nel lievito
 - Decarbossilato ad aldeide ridotta quindi ad etanolo
- } Ripristino di NAD⁺ per continuare la glicolisi

Schema generale del metabolismo dei glucidi



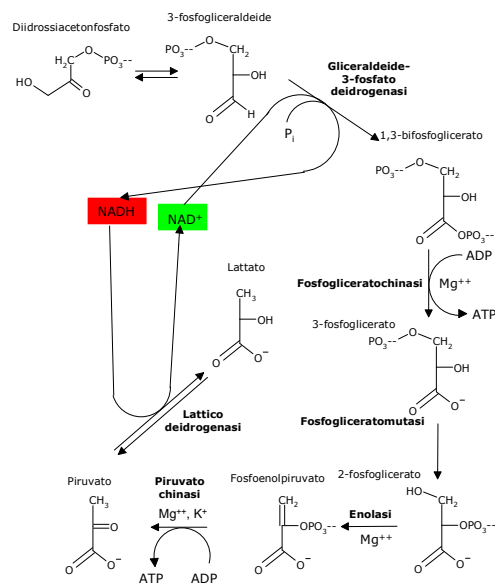
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

87

Anaerobiosi

Nel muscolo



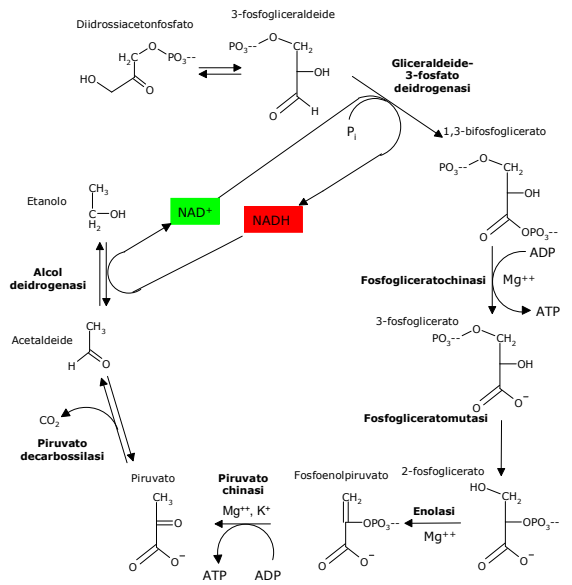
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

88

Anaerobiosi

Nel lievito



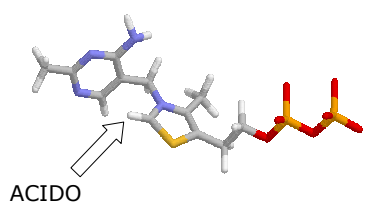
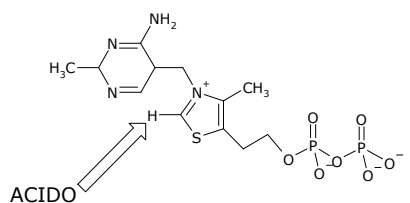
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

89

Piruvato decarbossilasi EC 4.1.1.1

- Catalizza la decarbossilazione del piruvato.
- Usa la tiamina pirofosfato come coenzima

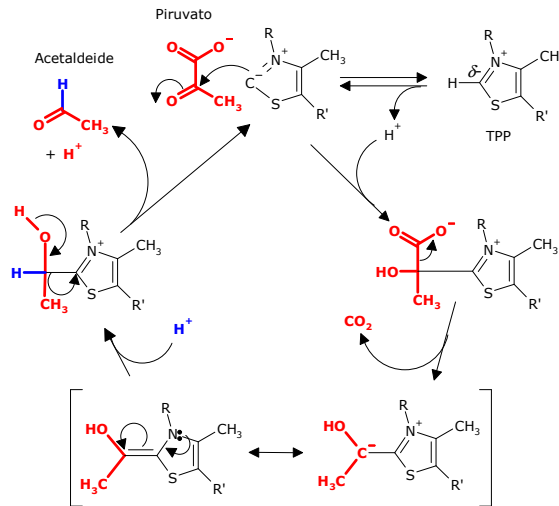


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

90

Piruvato decarbossilasi EC 4.1.1.1

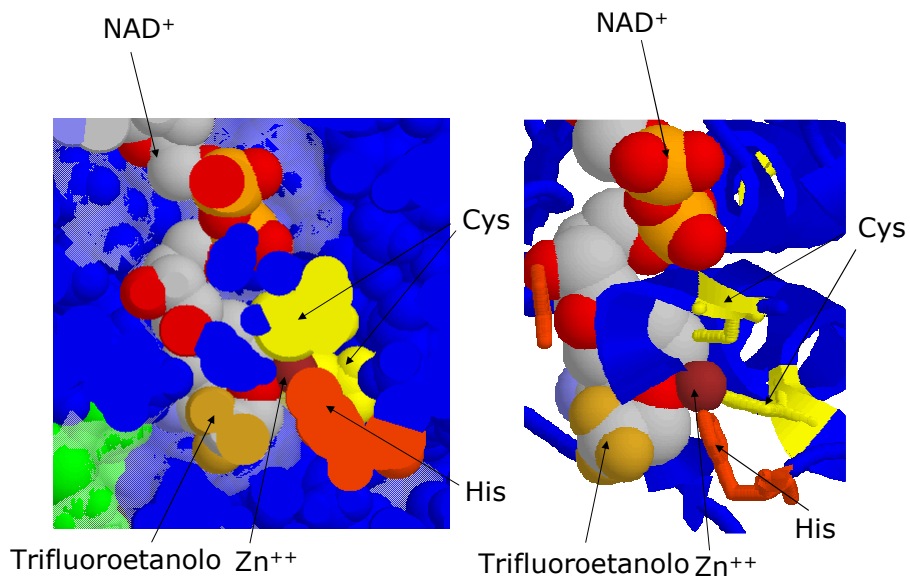


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

91

Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1

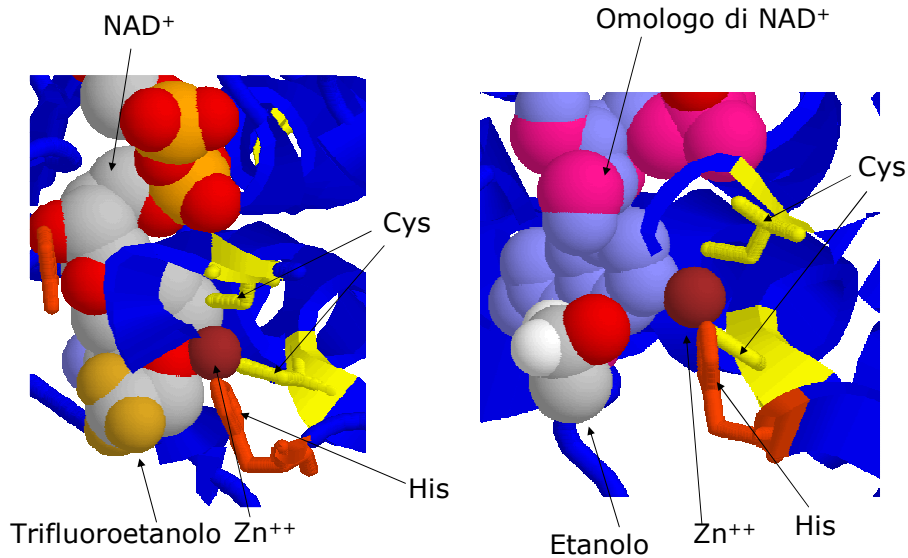


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

92

Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

93

Energetica della Glicolisi

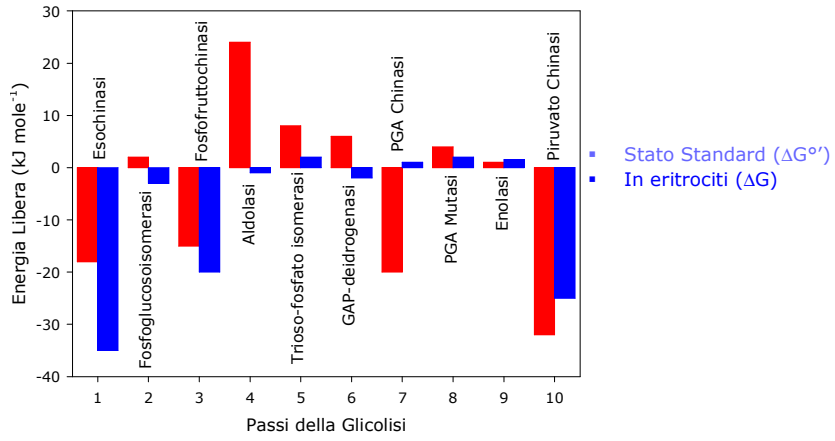
- I valori di $\Delta G^{\circ'}$ sono variabili (positivi e negativi)
 - ΔG nelle cellule ha valori vicini a zero
 - Solo tre reazioni su dieci hanno valori di ΔG negativo e grande.
- Le reazioni i cui valori di ΔG sono grandi e negativi sono punti di regolazione.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

94

Energia

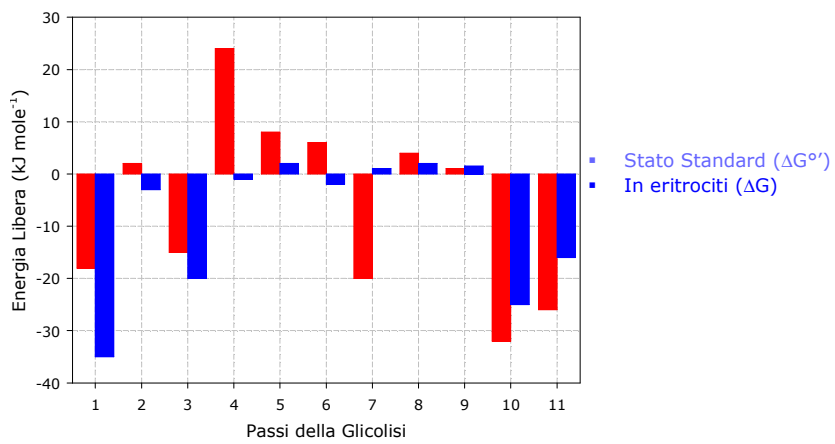


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

95

Energia



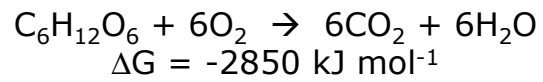
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

96

Energia dalla glicolisi

$$\Delta G = -43.4 \text{ kJ mol}^{-1}$$



- La scissione di glucosio a piruvato utilizza solo il 1.7% del contenuto energetico del glucosio.

Gluconeogenesi

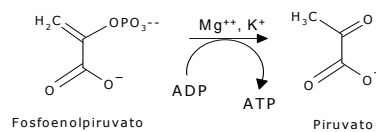
Sintesi di glucosio da piruvato

Gluconeogenesi

- La gluconeogenesi avviene principalmente nel fegato.
- La sintesi di glucosio da piruvato sfrutta alcuni enzimi della glicolisi.
- Tre reazioni glicolitiche hanno un valore di ΔG talmente negativo e grande che le reazioni sono irreversibili:
 - Esochinasi
 - Fosfofruttochinasi
 - Piruvato chinasi
- Questi passaggi sono by-passati nella gluconeogenesi.

Bypass della piruvato chinasi

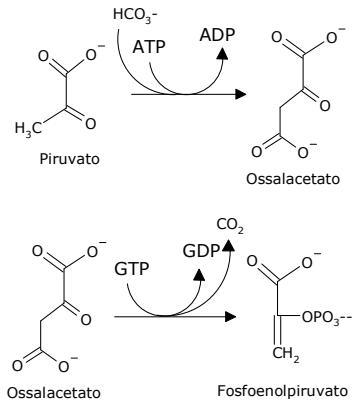
- La piruvato chinasi della glicolisi catalizza la reazione:



- L'idrolisi del PEP ha un valore di ΔG (negativo) maggiore dell'ATP.
- Il ΔG ottenibile dall'idrolisi di un legame fosfato è insufficiente per sintetizzare il PEP.
- È richiesta l'idrolisi di due legami fosfoanidridici (da due NTP diversi, ATP e GTP o ATP o PPI).

Bypass della piruvato chinasi

- Per bypassare la piruvato chinasi occorrono due reazioni:
 - Carbossilazione del piruvato, catalizzata da piruvato carbossilasi (EC 6.4.1.1):
 - Fosforilazione e decarbossilazione (spontanea) dell'ossalacetato a PEP catalizzata dalla PEP carbossichinasi (EC 4.1.1.32):



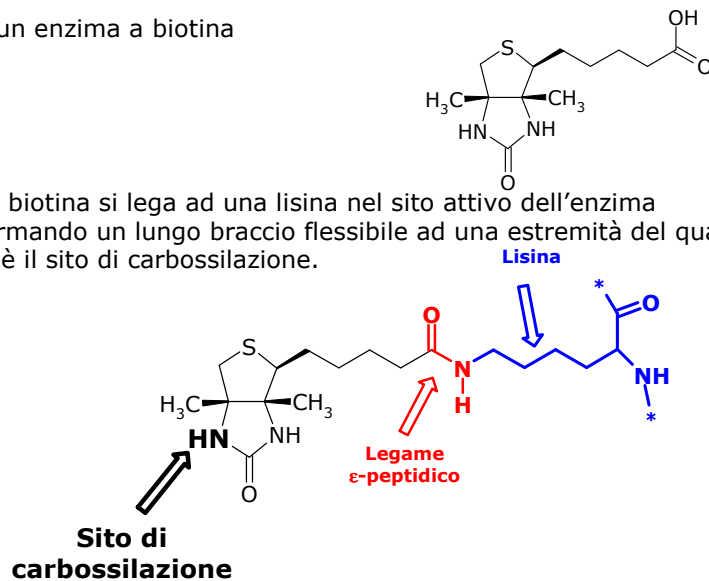
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

101

Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- È un enzima a biotina
- La biotina si lega ad una lisina nel sito attivo dell'enzima formando un lungo braccio flessibile ad una estremità del quale vi è il sito di carbossilazione.



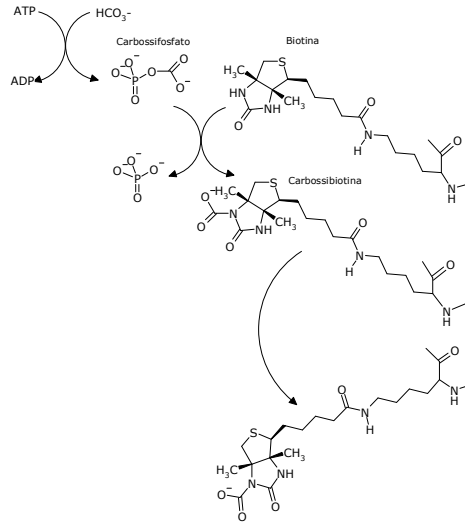
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

102

Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- Il lungo braccio flessibile permette il movimento della biotina tra il sito di carbossilazione e il sito di decarbossilazione e formazione dell'ossalacetato.
- La carbossilazione avviene ad opera di carbossifosfato che si forma nel sito di carbossilazione per reazione di ATP e bicarbonato.



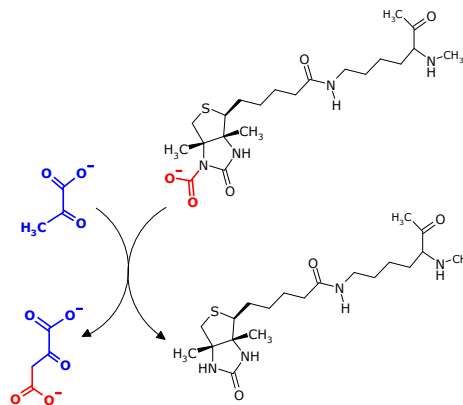
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

103

Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- La decarbossilazione della biotina e la formazione di ossalacetato avviene nel secondo sito della piruvato carbossilasi dove si lega il piruvato per formare ossalacetato.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

104

Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- Quando la gluconeogenesi è attiva nel fegato l'ossalacetato va a formare glucoso.
- La diminuzione di ossalacetato causa la riduzione di AcetilCoA che entra nel ciclo di Krebs.
- L'aumento di AcetilCoA attiva, allostericamente, la piruvato carbossilasi per formare ossalacetato.
- La concentrazione di ossalacetato limita il ciclo di Krebs.

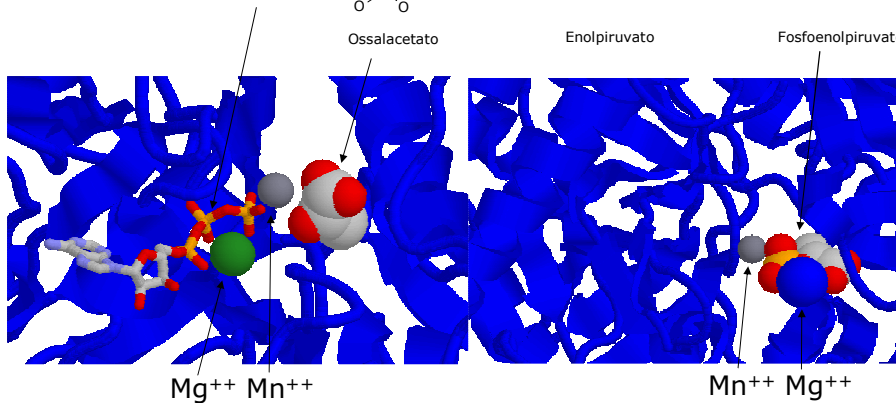
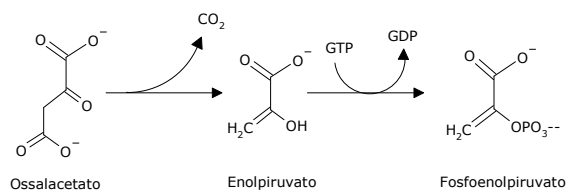
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

105

Piruvato carbossichinasi

- EC 4.1.1.39 (GTP)
- EC 4.1.1.38 (PPi)
- EC 4.1.1.49 (ATP) nei batteri



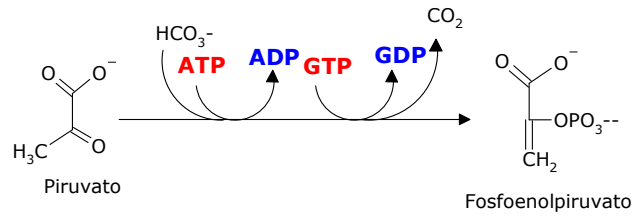
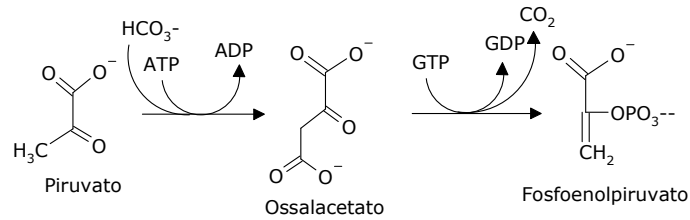
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

106

Bypass della piruvato chinasi

- Globalmente

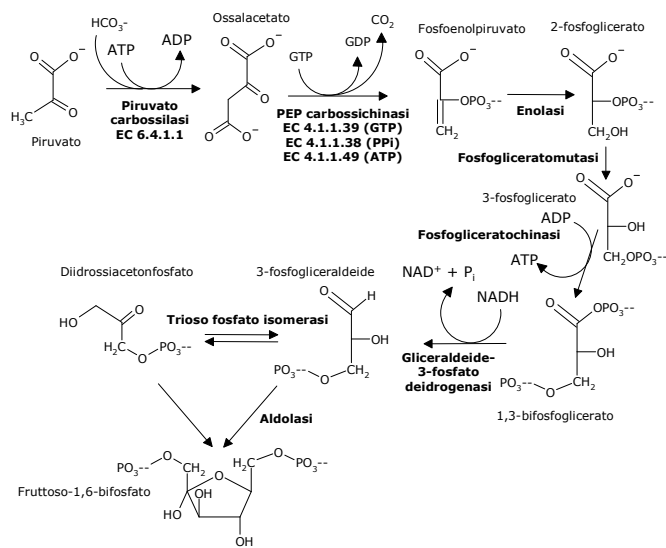


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

107

Gluconeogenesi



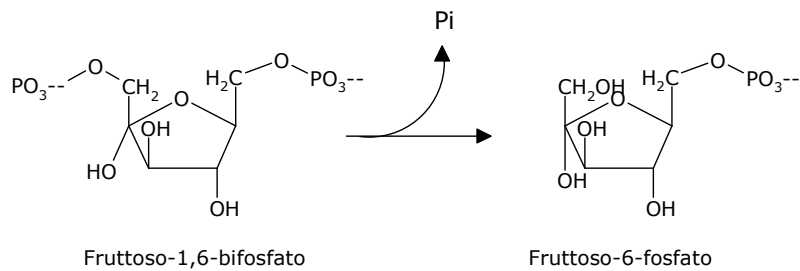
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

108

Fruttosio-1,6-bifosfatasi EC 3.1.3.11

- Catalizza la reazione inversa della fosfofruttochinasi:



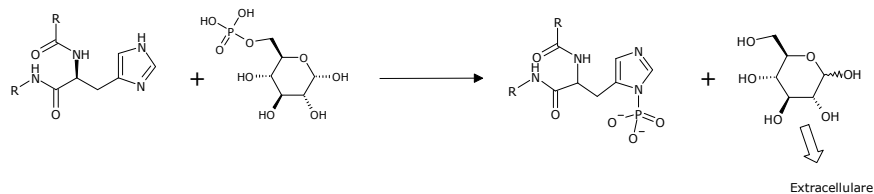
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

109

Glucosio-6-fosfatasi EC 3.1.3.9

- Catalizza la reazione inversa della esochinasi attraverso una fosfoistidina.



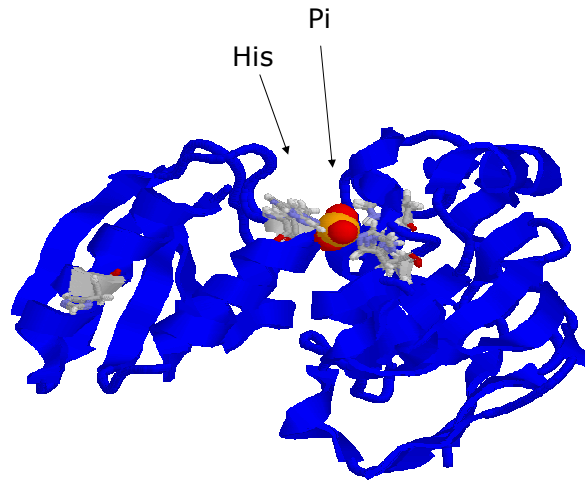
- È un enzima della membrana del reticolo endoplasmatico con funzione di traslocasi per la secrezione extracellulare del glucosio.
- È ancorato alla membrana da nove eliche transmembrana e secerne nel lume del reticolo.

gs © 2001-2012 ver 0.3

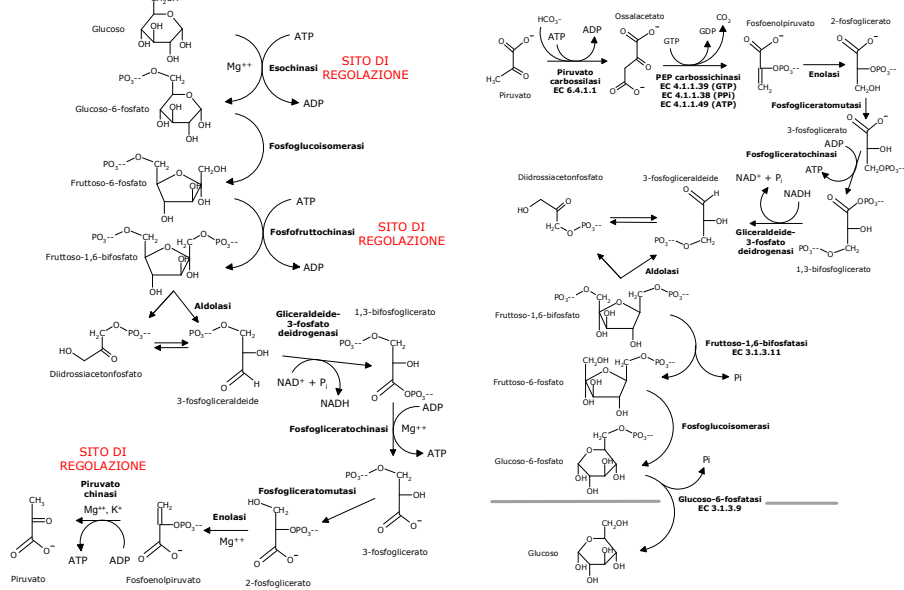
N00 - Richiamo di biochimica

110

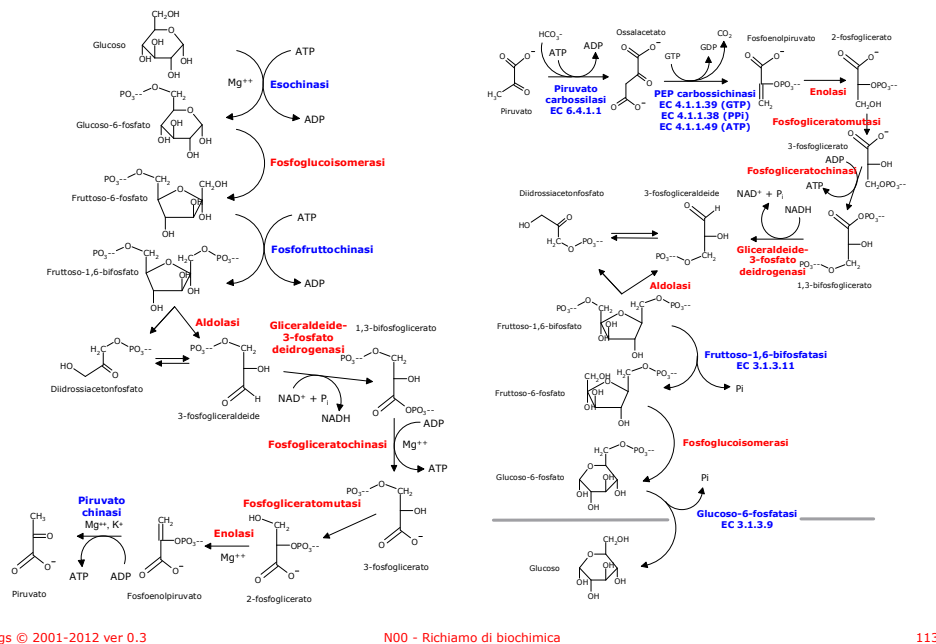
Glucoso-6-fosfatasi EC 3.1.3.9



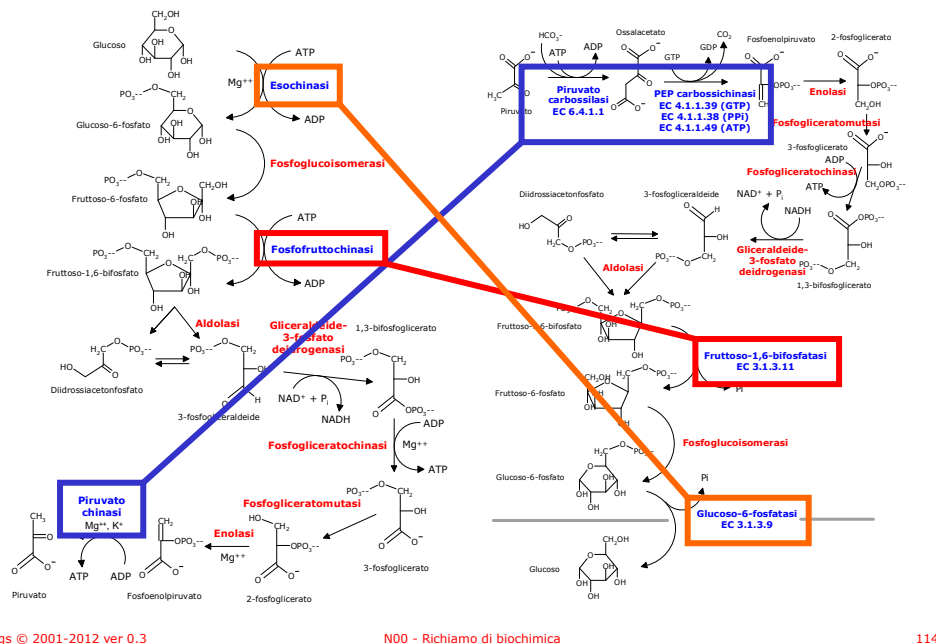
Glicolisi e Gluconeogenesi



Glicolisi e Gluconeogenesi



Glicolisi e Gluconeogenesi



Glicolisi e gluconeogenesi

- La glicolisi e la gluconeogenesi sono vie metaboliche spontanee.
- Se fossero attive simultaneamente nella cellula si sarebbe in presenza di un "ciclo futile" con consumo di energia.
- Glicolisi:
 $\text{glucoso} + 2 \text{NAD}^+ + 2 \text{ADP} + 2 \text{P}_i \rightarrow 2 \text{piruvato} + 2 \text{NADH} + 2 \text{ATP}$
- Gluconeogenesi:
 $2 \text{piruvato} + 2 \text{NADH} + 4 \text{ATP} + 2 \text{GTP} \rightarrow \text{glucoso} + 2 \text{NAD}^+ + 4 \text{ADP} + 2 \text{GDP} + 6 \text{P}_i$
- Glicolisi + Gluconeogenesi:
 $2 \text{ATP} + 2 \text{GTP} \rightarrow 2 \text{ADP} + 2 \text{GDP} + 4 \text{P}_i$

Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Locale

- Per prevenire la perdita di energia nel ciclo futile la Glicolisi e la Gluconeogenesi sono reciprocamente regolate.
- Controllo locale:
 - Reciproco controllo allosterico ad opera dei nucleotidi adenilici:
 - La fosfofruttochinasi (Glicolisi) è inibita da ATP e stimolata da AMP.
 - La fruttosio-1,6-bisfosfatasi (Gluconeogenesi) è inibita da AMP.
- Quando la concentrazione di ATP è alta (concentrazione di AMP bassa) il glucosio NON è degradato per produrre ATP.
- In queste condizioni la cellula accumula glicogeno.
- Quando la concentrazione di ATP è bassa (concentrazione di AMP alta) la cellula NON spende energia per sintetizzare glucosio.

Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

- Controllo globale:
 - Negli epatociti vi è l'effetto reciproco sulle due vie dell'AMP ciclico, la cui cascata è attivata dall'ormone GLUCAGONE quando il glucosio ematico è basso.
 - La Protein Chinasi A (Protein Chinasi cAMP Dipendente) provoca la fosforilazione di enzimi e proteine regolatrici il cui risultato è:
 - inibizione della glicolisi
 - stimolazione della gluconeogenesi,
 - Ciò porta alla disponibilità di glucosio nel sangue.

Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

- Controllo globale:
 - Gli enzimi che sono FOSFORILATI dalla Proteina Chinasi A sono:
 - Piruvato Chinasi: enzima glicolitico che è inibito quando fosforilato.
 - CREB (cAMP response element binding protein): che attiva attraverso sistemi di trascrizione il gene della PEP Carbossichinasi, con conseguente aumento della gluconeogenesi.
 - L'enzima tandem: che regola la formazione e la degradazione del regolatore allosterico fruttosio-2,6-bifosfato.

Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

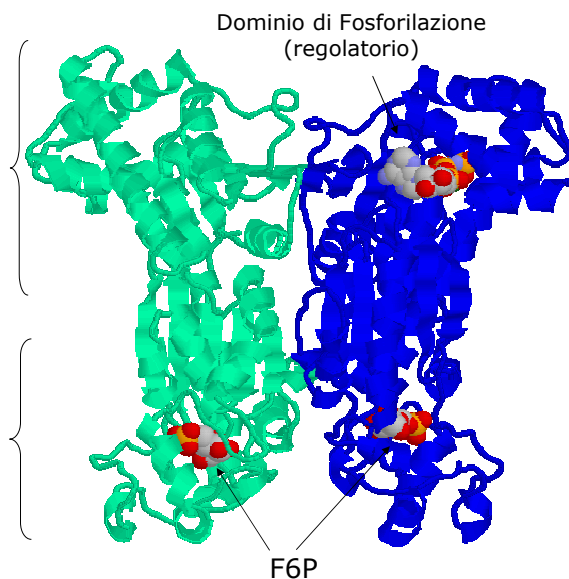
- Controllo globale:
 - L'enzima tandem: che regola la formazione e la degradazione del regolatore allosterico fruttosio-2,6-bifosfato.
 - Il fruttosio-2,6-bifosfato attiva la Fosfofruttochinasi anche in presenza di alto ATP (che la inibisce).
 - L'attività in presenza di fruttosio-2,6-bifosfato è simile all'attività con ATP basso.
 - Il controllo attraverso fruttosio-2,6-bifosfato (la cui concentrazione viene controllata da segnali esterni: ormoni) è gerarchicamente più importante del controllo locale da ATP.
 - Il fruttosio-2,6-bifosfato inibisce l'enzima della gluconeogenesi fruttosio-1,6-bifosfatasi .

Enzima tandem

- Omodimero
- Due domini catalitici:

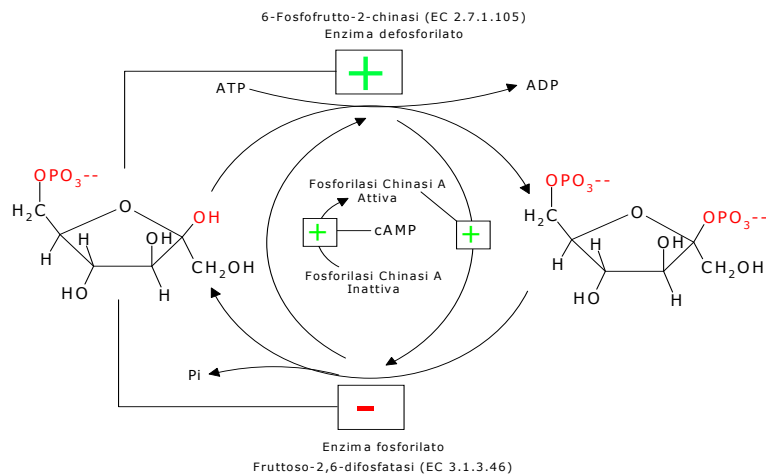
Fosfofruttochinasi (PFK2)
(EC 2.7.1.105) che catalizza:
 $\text{Fruttosio-6-fosfato} + \text{ATP} \rightarrow$
 $\text{fruttosio-2,6-bifosfato} + \text{ADP}$

Fruttosio-bifosfatasi (FBPasi2)
(EC 3.1.3.46) che catalizza:
 $\text{Fruttosio-2,6-bifosfato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$
 $\text{fruttosio-6-fosfato} + \text{Pi}$



Enzima tandem

- L'enzima tandem è regolato dalla cascata del cAMP che a sua volta è controllato da ormoni



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

121

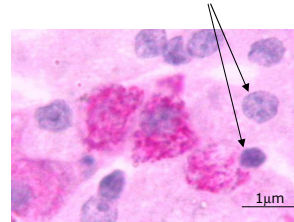
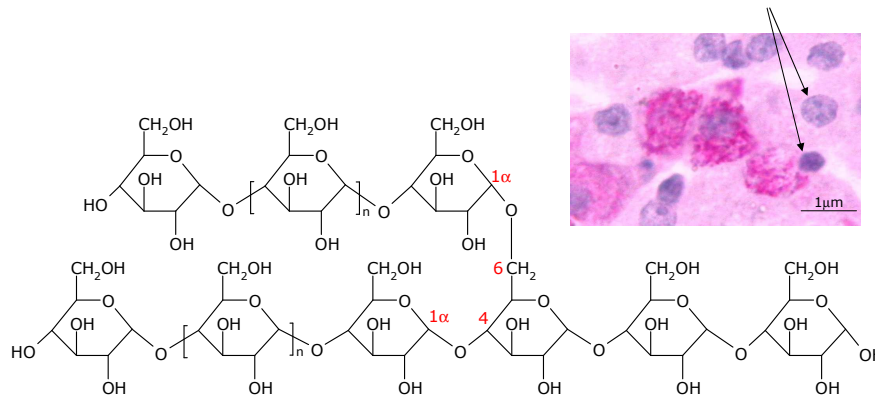
Metabolismo del Glicogeno

Glicogenolisi e glicogenosintesi

 [Indice](#)

Glicogeno (Amido)

- Il glicogeno è un polimero del glucosio,
- I monomeri sono legati con legami glicosidici $1\alpha \rightarrow 4$ nelle catene principali e $1\alpha \rightarrow 6$ nelle ramificazioni.
- È un sistema di accumulazione del glucosio sottoforma di granuli in genere nel fegato.



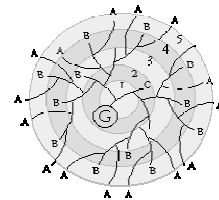
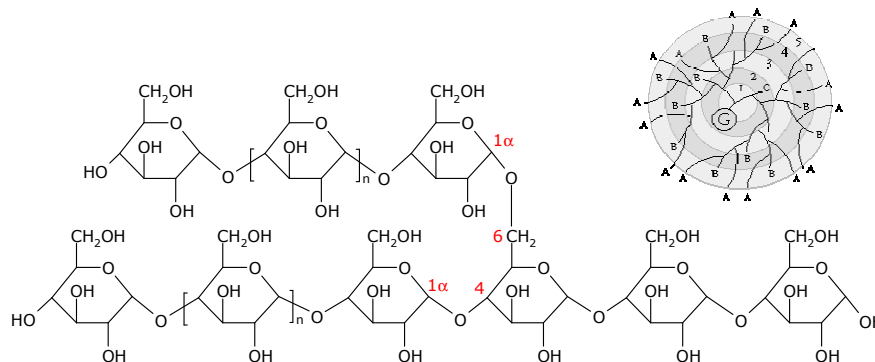
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

123

Glicogeno (Amido)

- Il glicogeno è un polimero del glucosio,
- I monomeri sono legati con legami glicosidici $1\alpha \rightarrow 4$ nelle catene principali e $1\alpha \rightarrow 6$ nelle ramificazioni.
- È un sistema di accumulazione del glucosio sottoforma di granuli in genere nel fegato.



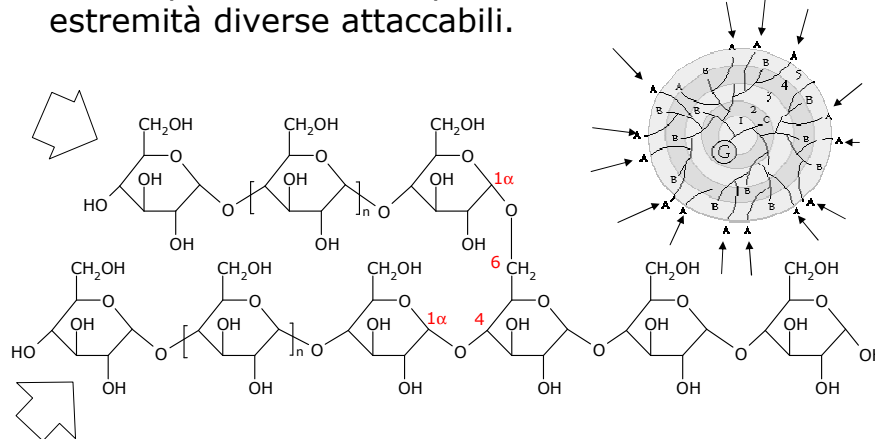
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

124

Glicogeno (Amido)

- La struttura dei granuli di glicogeno permette una rapida mobilizzazione (scissione) delle catene polisaccaridiche poiché vi sono molte estremità diverse attaccabili.



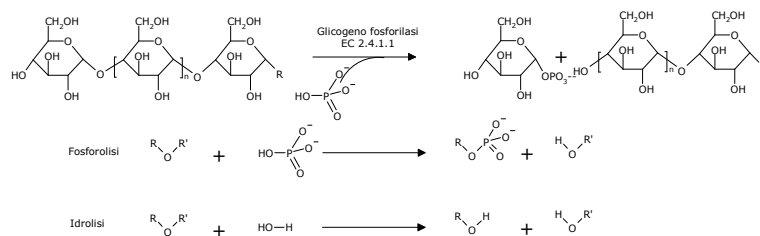
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

125

Catabolismo del glicogeno

- La catena lineare polisaccaridica viene scissa nei monomeri (come glucoso-1-fosfato) ad opera della glicogenofosforilasi (EC 2.4.1.1):



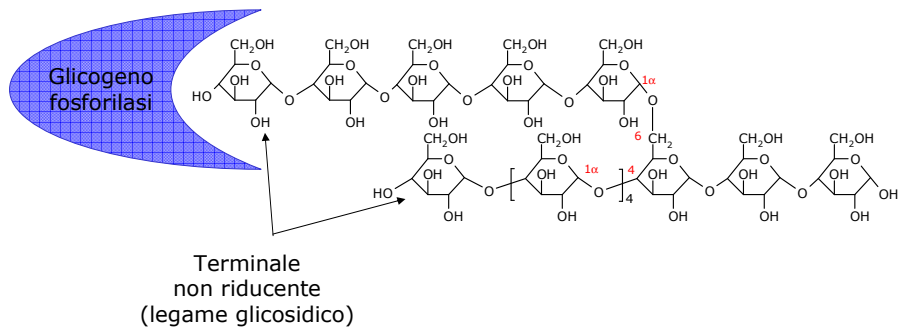
- Date le dimensioni del sito l'enzima riesce a tagliare il legame $1\alpha \rightarrow 4$ fino a quattro residui dal legame $1\alpha \rightarrow 6$.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

126

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

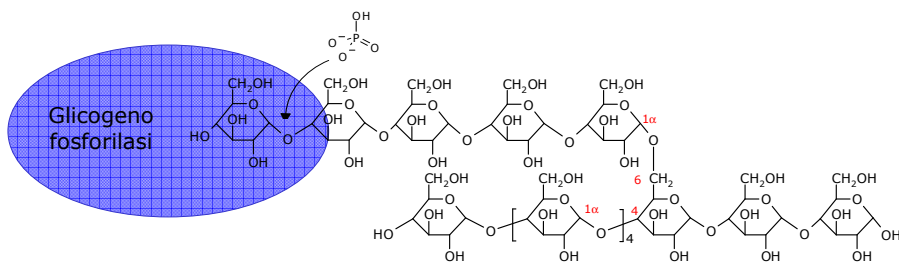


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

127

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

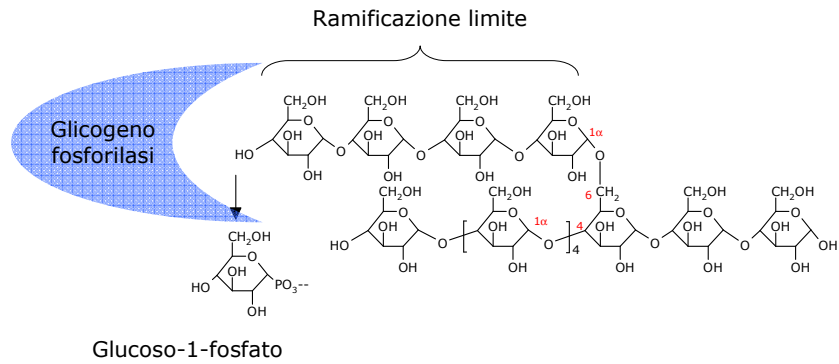


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

128

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

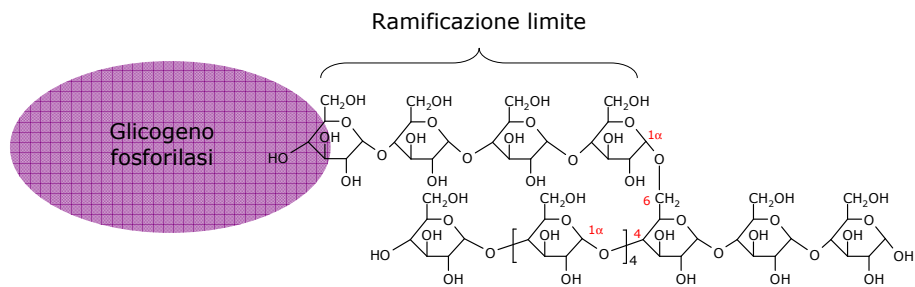


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

129

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



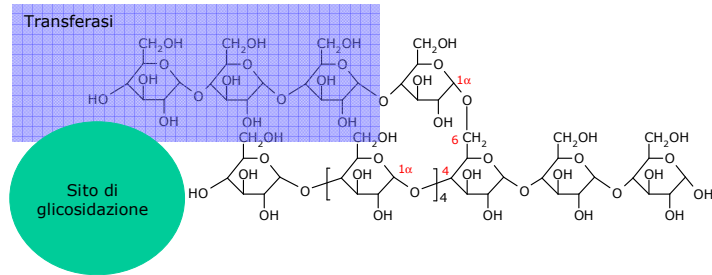
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

130

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante



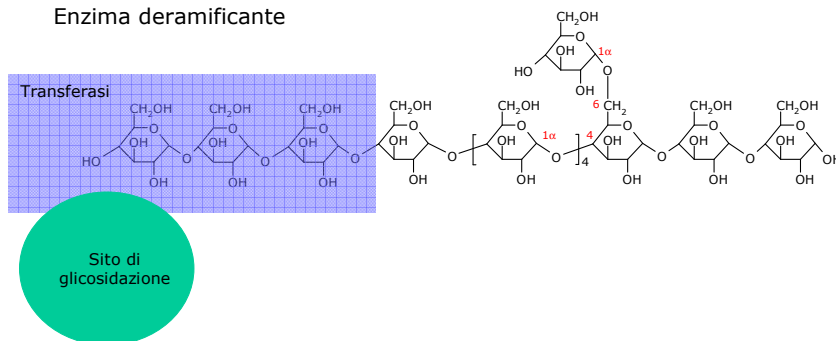
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

131

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante

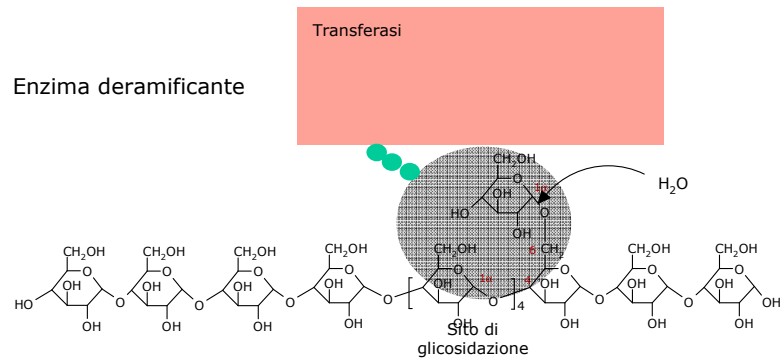


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

132

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

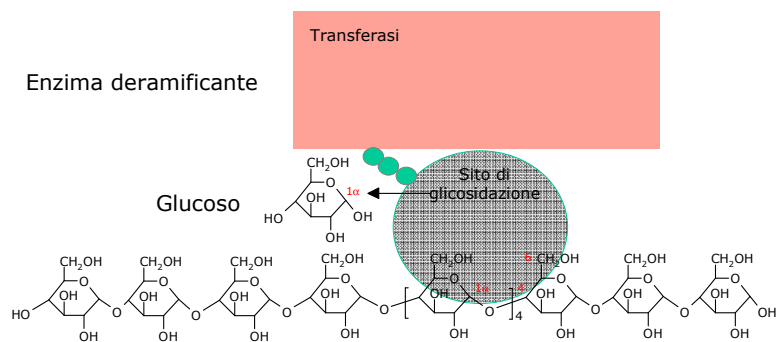


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

133

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

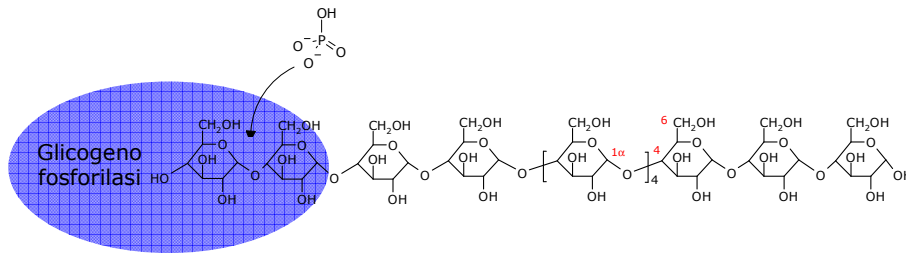


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

134

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

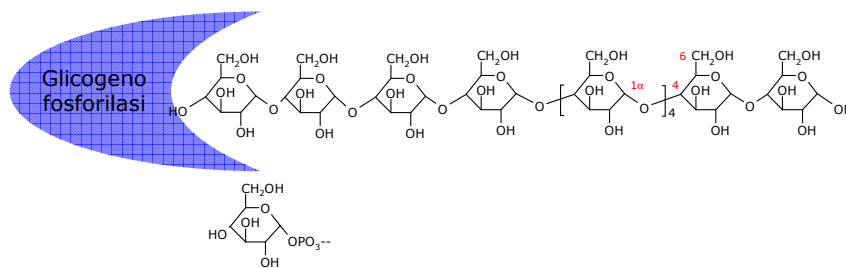


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

135

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



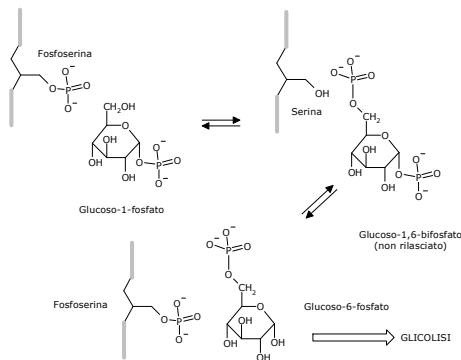
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

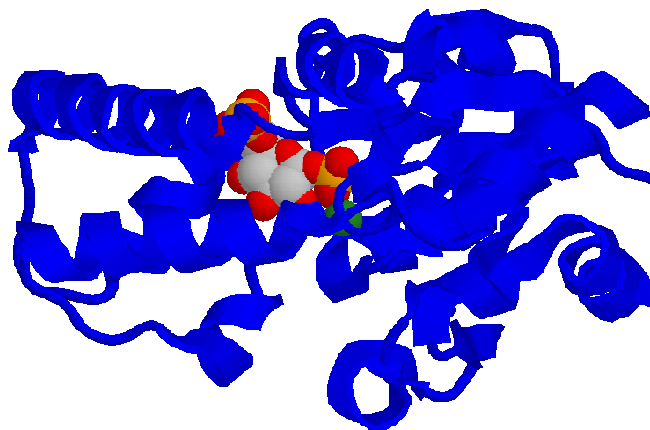
136

Glucoso-1-fosfato

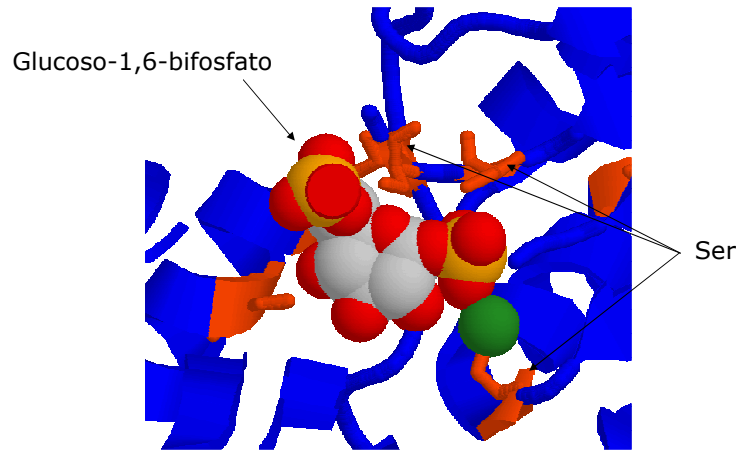
- Il prodotto della glicogenolisi è principalmente glucoso-1-fosfato il quale entra nella glicolisi dopo essere stato convertito in glucoso-6-fosfato da una fosfoglucomutasi (EC 5.4.2.2) che catalizza la conversione attraverso la formazione di un intermedio glucoso-1,6-bifosfato.
- Il meccanismo è simile a quello della fosfoglicerato mutasi il quale usa, invece, un residuo di istidina.



Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2



Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2



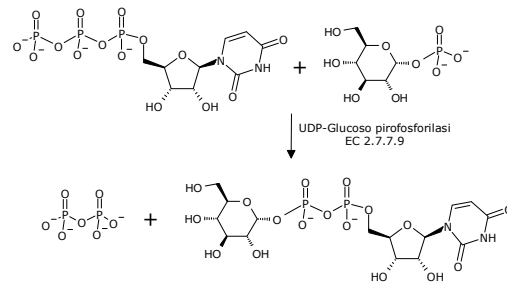
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

139

Glicogenosintesi

- Il glucosio uridin-difosfato (UDPG) è il precursore per la sintesi di glicogeno.
- Un residuo di glucosio è addizionato al glicogeno e viene rilasciato un UDP.
- Gli zuccheri nucleotidi difosfati sono i precursori della sintesi di carboidrati complessi, glicoproteine ecc.
- Viene sintetizzato da glucosio-1-fosfato e UTP ad opera della UDP-Glucosio pirofosforilasi (EC 2.7.7.9).



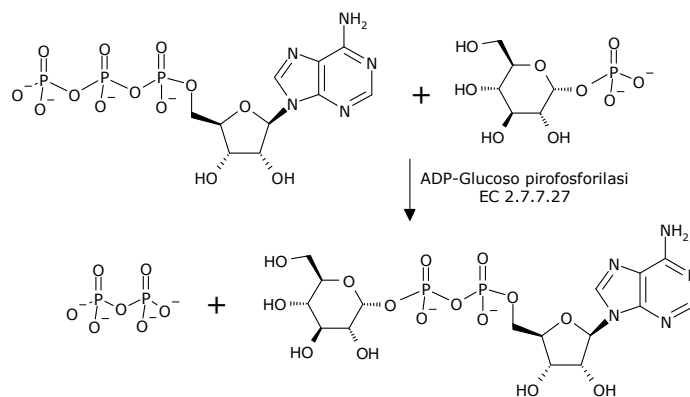
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

140

Amido

- Per produrre l'amido viene sintetizzato amilosio attraverso la formazione di ADP-glucosio
- Viene sintetizzato da glucosio-1-fosfato e ATP ad opera della ADP-Glucosio pirofosforilasi (EC 2.7.7.27) con meccanismo analogo al glicogeno.



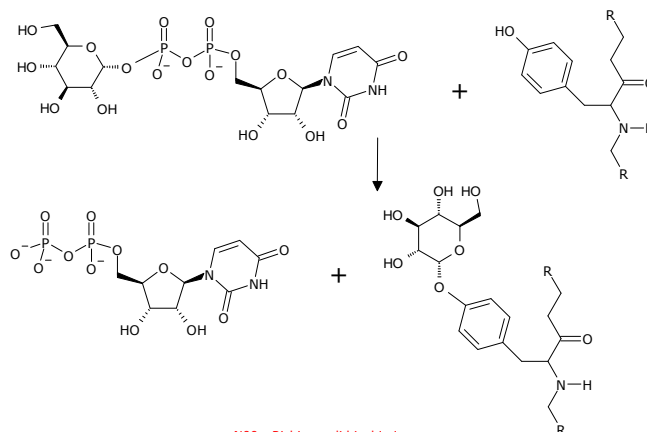
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

141

Glicogenosintesi

- Il glicogeno si forma a partire da una proteina primer, la glicogenina, alla quale si lega il primo residuo di glucosio attraverso un residuo di tirosina.
- L'enzima che si occupa della catalisi è la stessa glicogenina (EC 2.4.1.186) (autoglicosilazione).



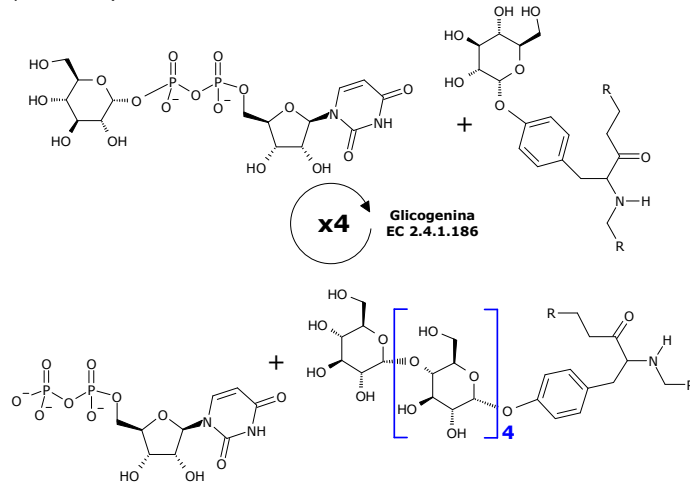
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

142

Glicogenosintesi

- Il processo viene ripetuto fino a che si forma una corta catena di glucoso (fino a cinque residui).

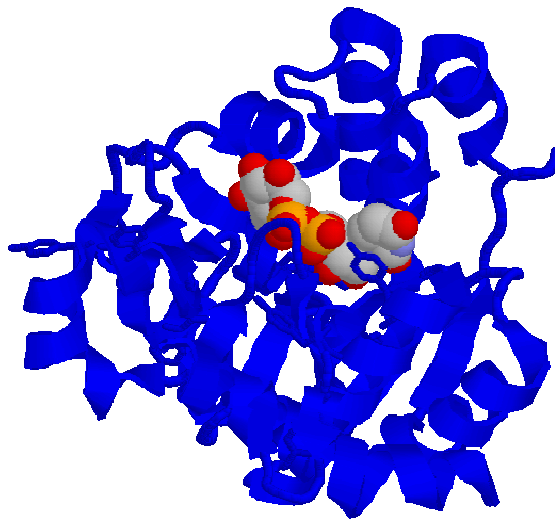


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

143

Glicogenina EC 2.4.1.186

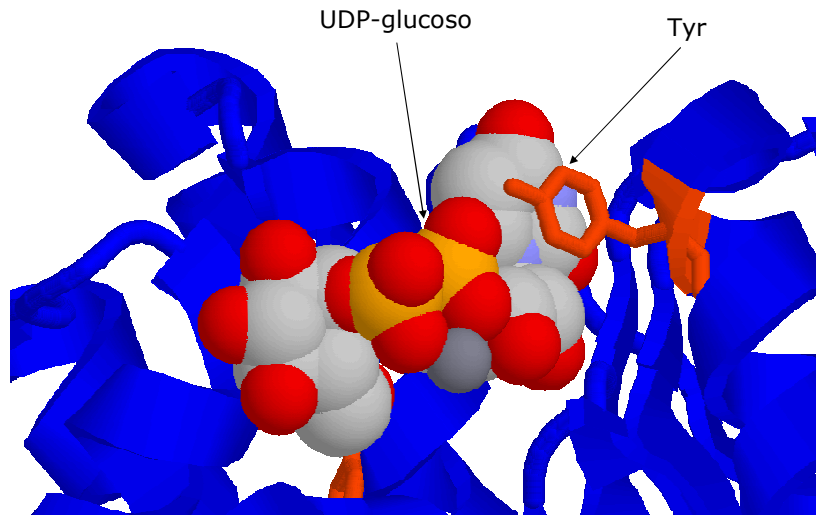


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

144

Glicogenina EC 2.4.1.186



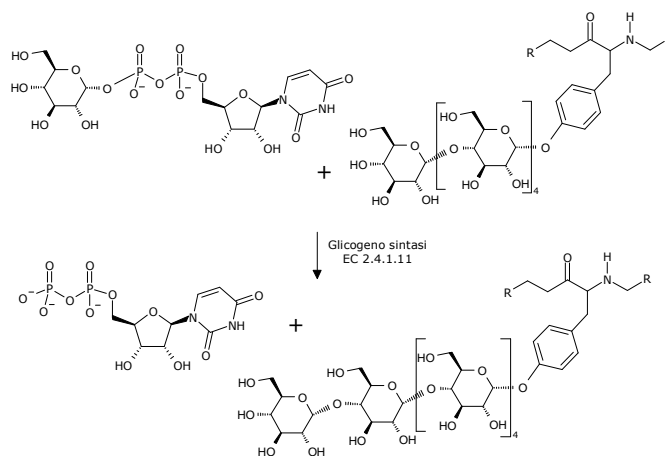
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

145

Glicogenosintesi

- Successivamente interviene la Glicogeno sintasi (EC 2.4.1.11) per l'allungamento della catena.
- È un complesso di una subunità catalitica e della proteina glicogenina.



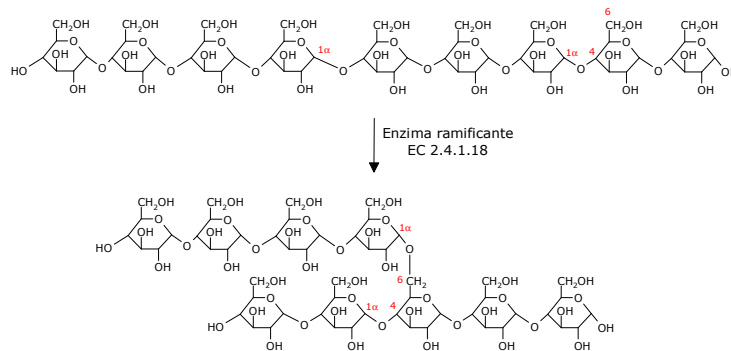
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

146

Glicogenosintesi

- La ramificazione $1\alpha\rightarrow6$ viene catalizzata da un enzima ramificante (EC 2.4.1.18).
- Lo stesso enzima è responsabile della conversione di amilosio in amilopectina e dell'ulteriore ramificazione dell'amilopectina



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

147

Controllo

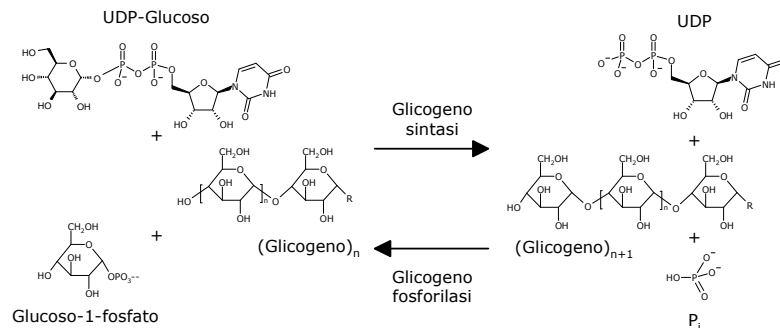
- Il metabolismo dei carboidrati ha ruoli diversi nel muscolo e nel fegato.
 - Nel muscolo: per generare ATP
 - Nel fegato: mantenere il livello ematico di glucosio (produce ed esporta glucosio o importa ed immagazzina glucosio in risposta alla glicemia).
- La sintesi e degradazione del glucosio e del glicogeno sono quindi sottoposte al controllo ormonale attraverso il sistema del cAMP.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

148

Controllo del metabolismo del glicogeno



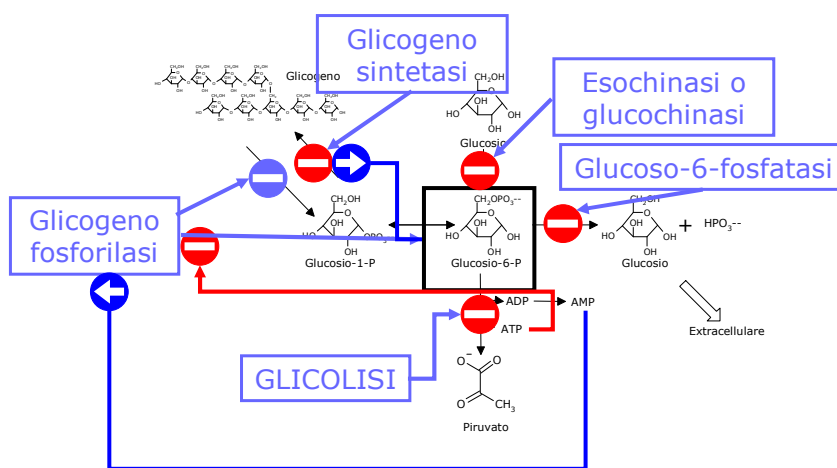
- Sia la sintesi che la scissione del glicogeno sono processi termodinamicamente spontanei, se le due reazioni fossero attive simultaneamente si avrebbe la perdita netta di un legame ad alta energia per ciclo (si forma UDP-Glucoso).
- Per prevenire questa eventualità la glicogeno sintasi e la glicogeno fosforilasi sono regolate reciprocamente da effettori allosterici e dalla fosforilazione.

Regolazione allosterica

- La **glicogeno fosforilasi** nel muscolo è regolata da AMP, ATP e glucoso-6-fosfato. (un isoenzima diverso nel fegato è meno sensibile a questi controlli allosterici).
 - AMP (presente quando l'ATP manca) attiva la fosforilasi promuovendone la conformazione R.
 - ATP e glucoso-6-fosfato, che spiazzano l'AMP dalla fosforilasi, la inibiscono promuovendo la conformazione T.
 - Quindi la rottura del glicogeno è inibita quando sono presenti elevate concentrazioni di ATP e glucoso-6-fosfato.
- La **glicogeno sintasi** è attivata dal glucoso-6-fosfato (effetto opposto nella glicogeno fosforilasi).
- Quindi la glicogeno fosforilasi è attiva quando un alto livello ematico di glucoso porta ad un elevato livello cellulare di glucoso-6-fosfato.

Regolazione allosterica

- Il glucoso-6-fosfato può entrare nella glicolisi o (nel fegato) essere defosforilato ad opera della glucoso-6-fosfatasi e rilasciato nel sangue.
- In quasi tutti gli altri tessuti manca questo enzima.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

151

Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

- Gli ormoni Glucagone e adrenalina attivano i recettori di membrana accoppiati alla proteina G (GPCR) i quali innescano la cascata del cAMP che porta alla fosforilazione di proteine bersaglio.
- Entrambi gli ormoni sono prodotti in risposta a bassi livelli ematici di glucosio.
 - Il glucagone è sintetizzato dalle cellule α del pancreas e attiva la formazione di cAMP nel fegato.
 - L'adrenalina attiva la formazione di cAMP nel muscolo.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

152

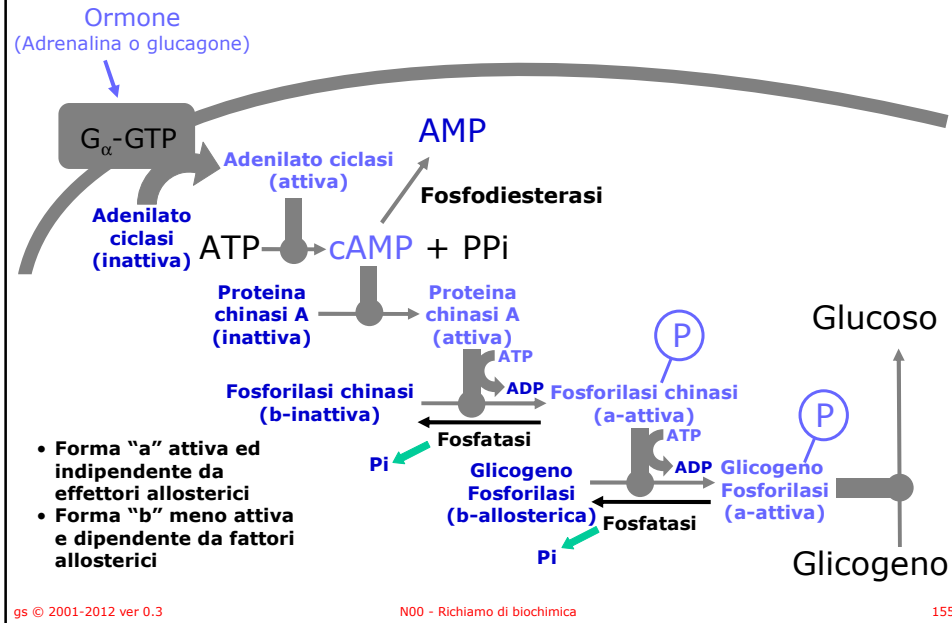
Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

- La cascata del cAMP porta alla fosforilazione di una Ser nella glicogeno fosforilasi promuovendone la forma R attiva.
- L'enzima fosforilato è meno sensibile agli inibitori allosterici.
- Quindi, anche se ATP e glucoso-6-fosfato sono a valori elevati la fosforilasi è ancora attiva.
- Il glucoso-1-fosfato prodotto dal glicogeno nel fegato può essere convertito a glucoso ematico.
- La regolazione ormonale permette alle necessità dell'organismo di prevalere sulle necessità della cellula.

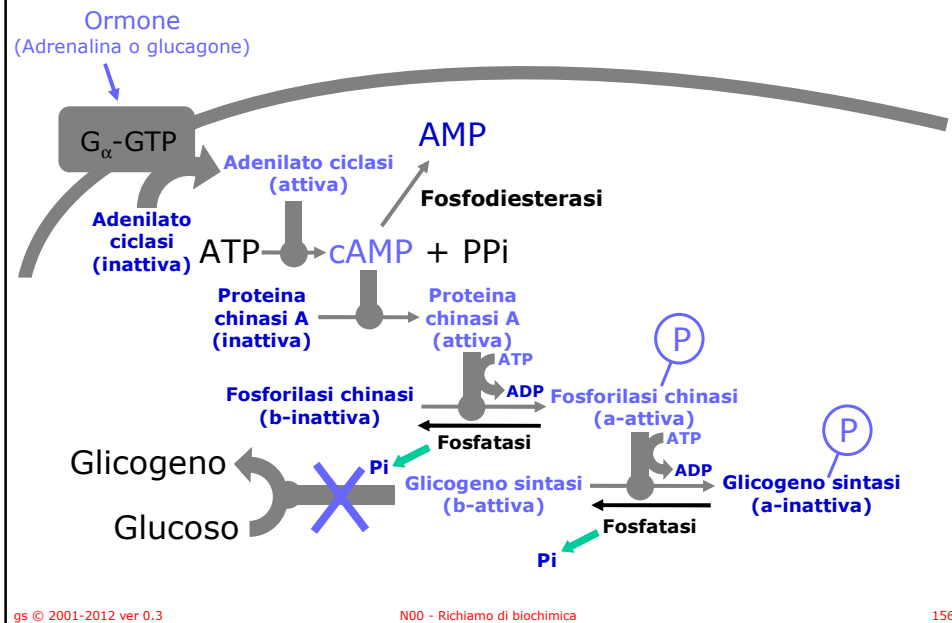
Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

- La cascata del cAMP ha effetti opposti nella glicogeno sintesi.
- La glicogeno sintasi è anch'essa fosforilata dalla cascata, ma viene promossa la conformazione b, meno attiva.
- Quindi la cascata del cAMP inibisce la sintesi di glicogeno.
- Invece di essere convertito in glicogeno il glucoso-1-fosfato può esser defosforilato e rilasciato nel sangue.

Cascata di segnali



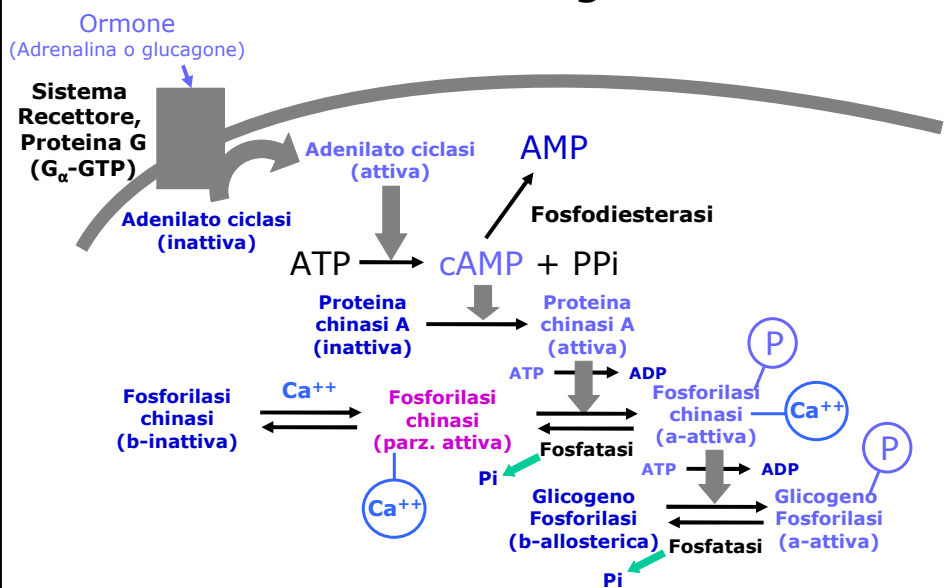
Cascata di segnali



Ca⁺⁺

- Anche lo ione Ca⁺⁺ gioca un ruolo nel metabolismo del glicogeno nel muscolo.
- Al momento della contrazione muscolare lo ione Ca⁺⁺ viene rilasciato dal reticolo sarcoplasmatico della cellula muscolare attraverso l'attivazione di un canale specifico.
- Il Ca⁺⁺ rilasciato nel citoplasma attiva l'interazione actina/miosina
- Nel muscolo la fosforilasi chinasi ha un dominio calmodulinico nella subunità δ che lega il Ca⁺⁺ e attiva parzialmente (modula) la fosforilasi chinasi.
- La fosforilazione indotta dalla cascata del cAMP innescata dall'adrenalina porta ad una ulteriore attivazione.
- Questo processo porta al rilascio di glucosio dal glicogeno che, attraverso la glicolisi, porta alla produzione di ATP.

Cascata di segnali



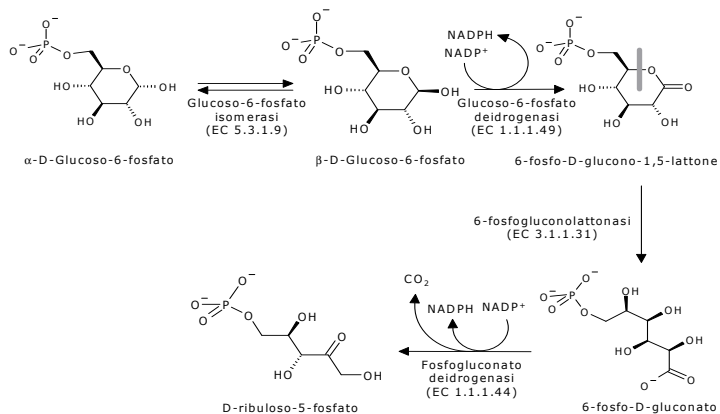
Via dei pentosi fosfati

 [Indice](#)

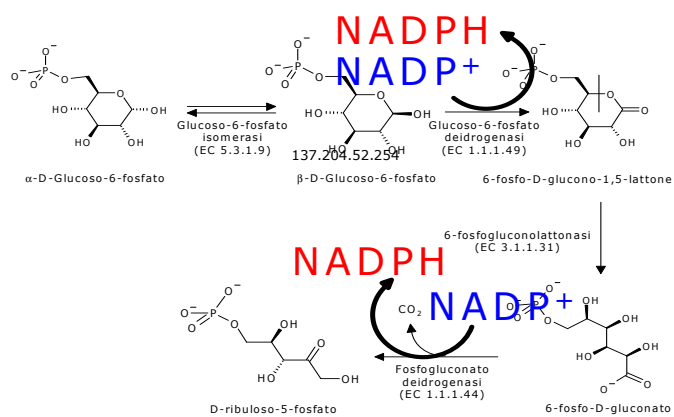
Via dei pentosi fosfati

- Altri nomi:
 - Via del fosfogluconato
 - Shunt dell'esoso monofosfato
- La parte lineare della via porta alla ossidazione e decarbossilazione di
 - glucoso-6-fosfato (6C) a ribuloso-5-fosfato (5C).
- Il resto della via converte
 - ribuloso-5-fosfato a riboso-5-fosfato (5C)
- oppure a
 - gliceraldeide-3-fosfato (3C) e fruttosio-6-fosfato (6C)
- Con produzione di NADPH

Da glucoso-6-fosfato (6C) a ribuloso-5-fosfato (5C)



Da glucoso-6-fosfato (6C) a ribuloso-5-fosfato (5C)



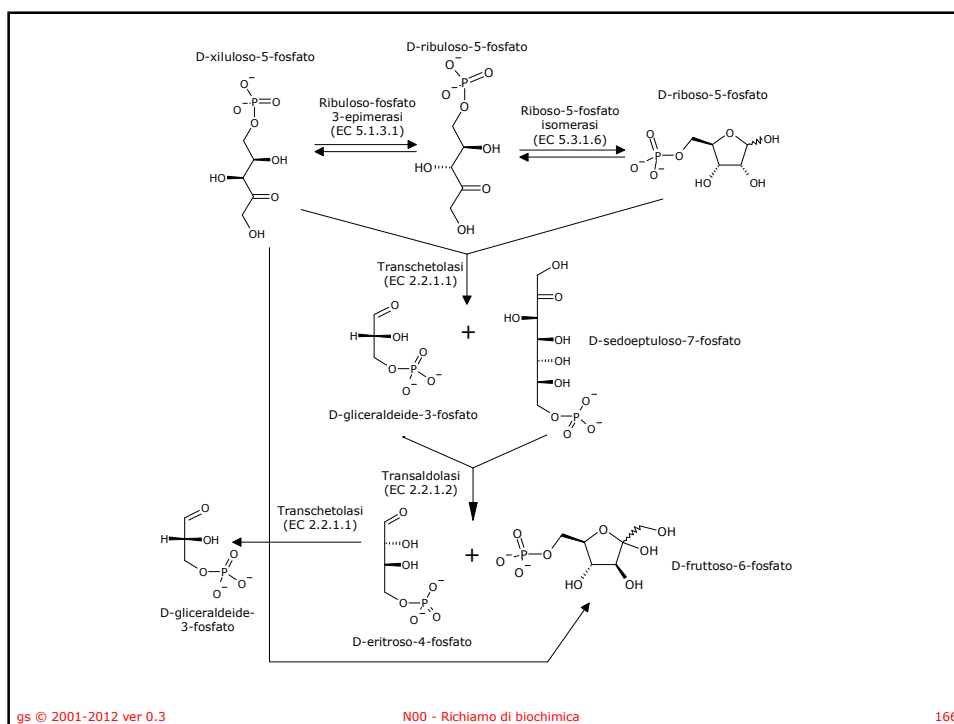
Il resto della via

- converte
 - ribuloso-5-fosfato a riboso-5-fosfato (5C) e xiluloso-5-fosfato attraverso la catalisi effettuata da epimerasi e isomerasi
- e quindi a
 - gliceraldeide-3-fosfato (3C), sedoeptuloso-7-fosfato (7C), eritroso-4-fosfato (4C) e fruttosio-6-fosfato (6C) attraverso transaldolasi e transchetolasi

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

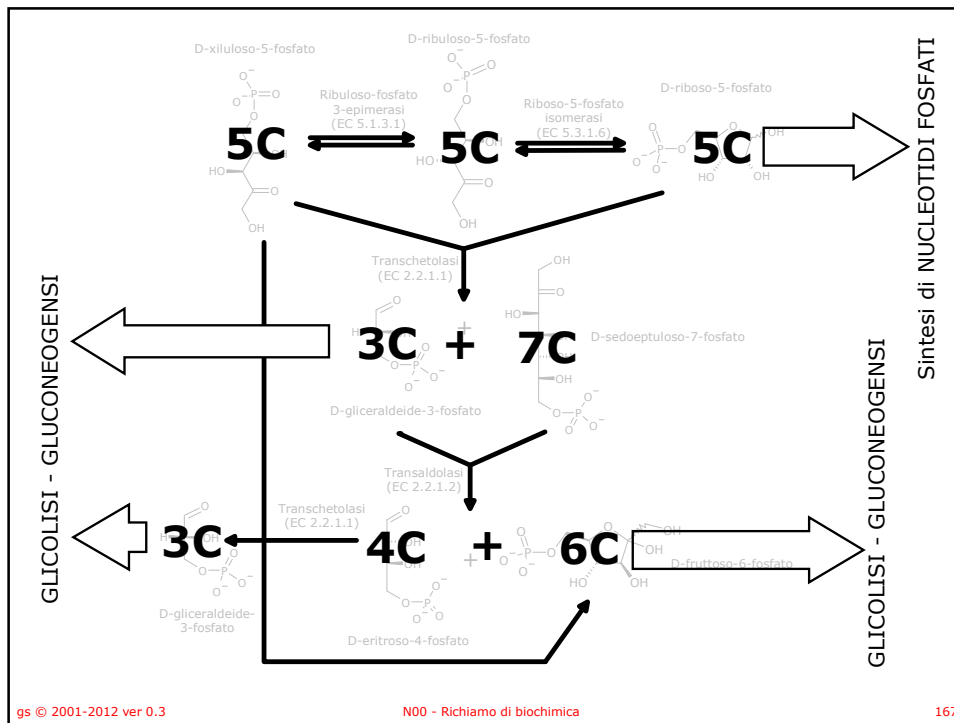
165



gs © 2001-2012 ver 0.3

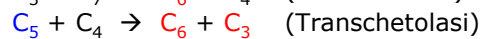
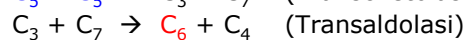
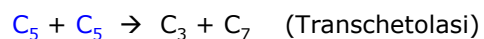
N00 - Richiamo di biochimica

166

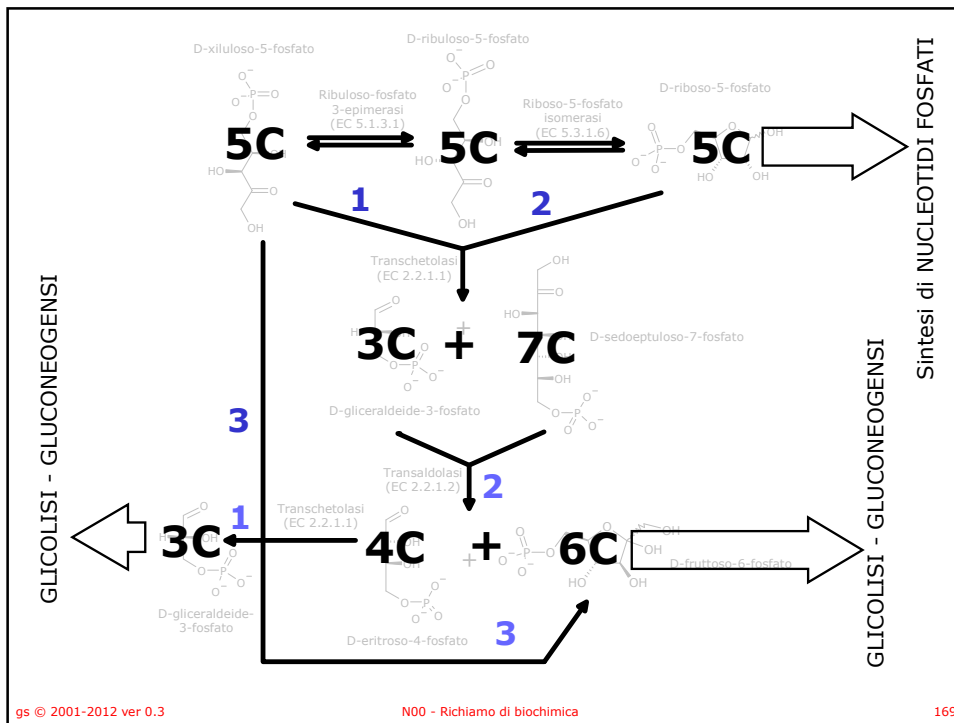


Bilancio

Nella via dei pentosi fosfati entrano tre pentosi (15 atomi di carbonio) che vengono convertiti in due esosi ed un trioso.



Il glucoso-6-fosfato può esser rigenerato sia da gliceraldeide-3-fosfato che dal fruttosio-6-fosfato attraverso la Gluconeogenesi.

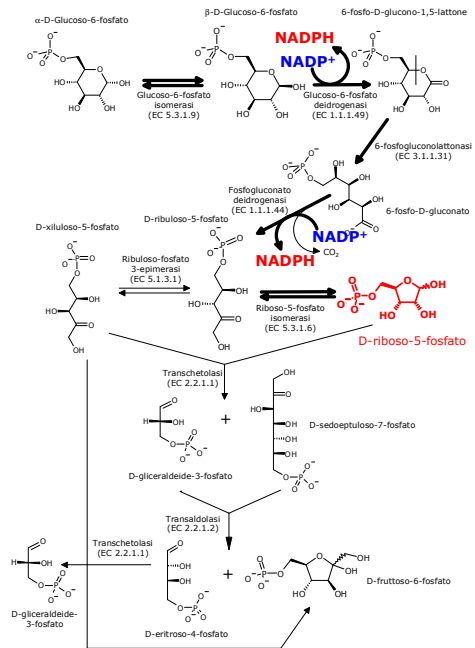


Strategia

- A secondo dei bisogni della cellula per riboso-5-fosfato, NADPH, e ATP, la via dei Pentosi fosfati opera in vari modi per massimizzare la concentrazione dei diversi prodotti.

Sintesi di riboso-5-P e NADPH

- Duplicazione cellulare.
 - Il ribuloso-5-fosfato viene convertito in riboso-5-fosfato, necessario per la sintesi di nucleotidi e acidi nucleici.
 - Viene anche prodotto del NADPH.



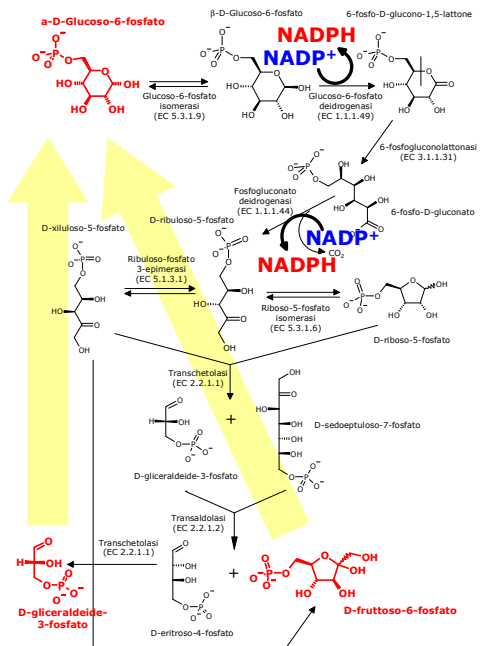
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

171

Sintesi di NADPH massimizzata

- Attività sintetica della cellula.
 - Sia la gliceraldeide-3-fosfato che il fruttosio-6-fosfato possono essere convertiti in glucosio-6-fosfato per massimizzare la sintesi di NADPH.



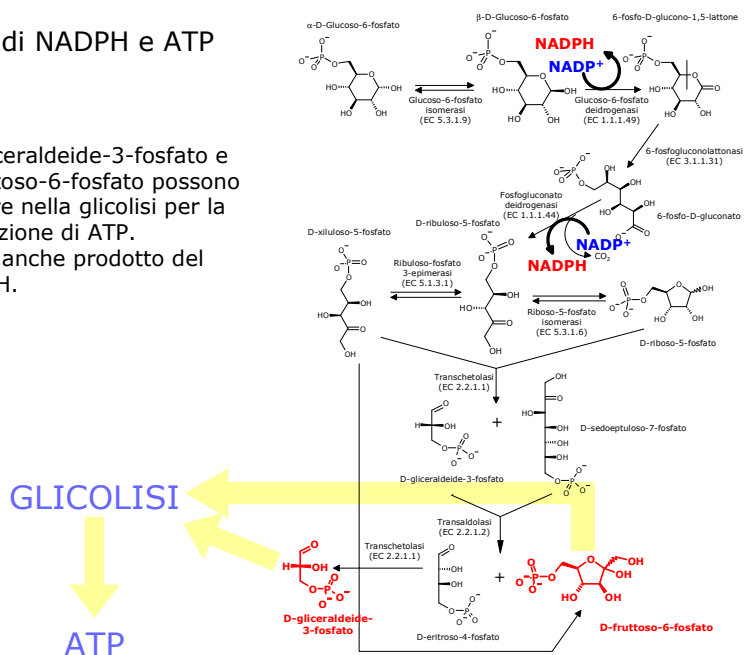
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

172

Sintesi di NADPH e ATP

- Energia
 - La gliceraldeide-3-fosfato e il fruttosio-6-fosfato possono entrare nella glicolisi per la produzione di ATP.
 - Viene anche prodotto del NADPH.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

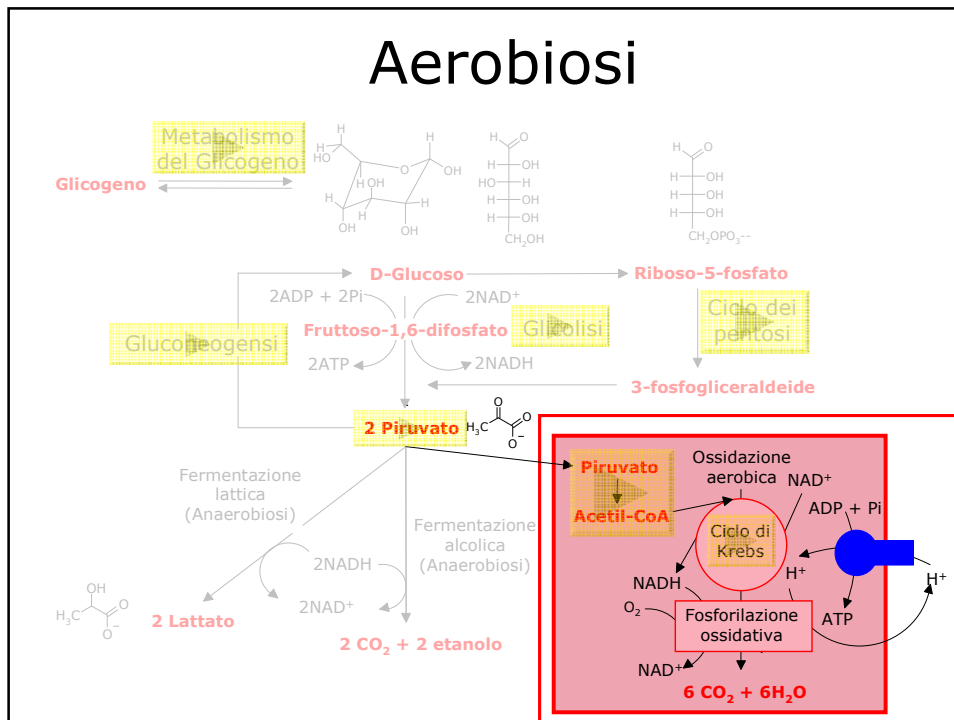
173

Ossigeno

Aerobiosi e anaerobiosi

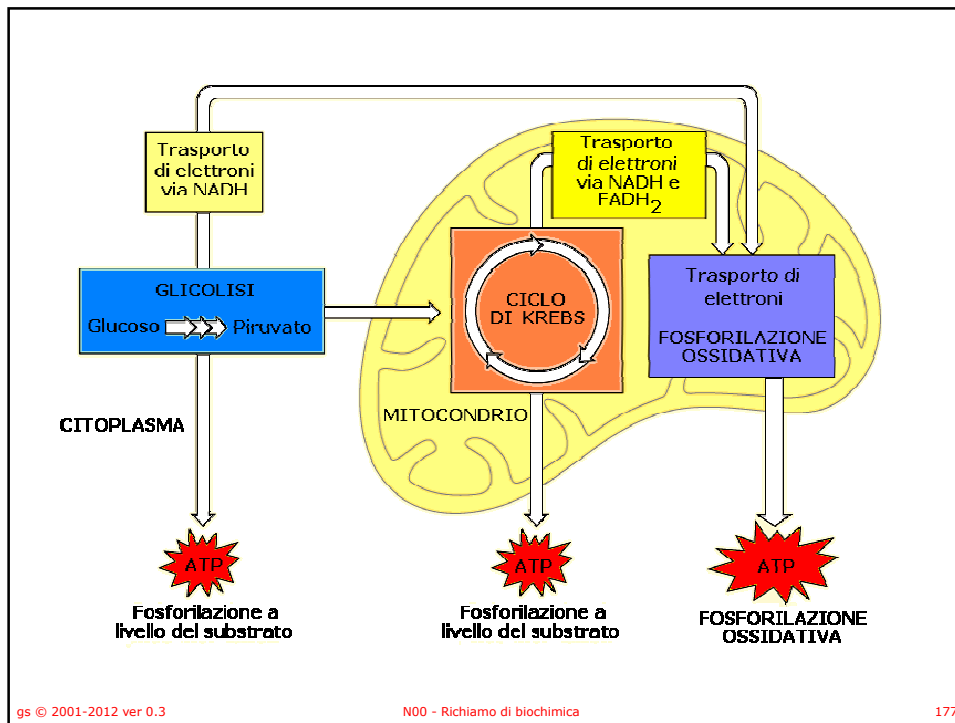
 [Indice](#)

Aerobiosi



Aerobiosi

- In condizioni aerobiche il piruvato prodotto dalla glicolisi e dalla degradazione degli aminoacidi è ossidato a H₂O e CO₂ nella respirazione cellulare.
- Ciò avviene in tre stadi
 - Produzione di acetil-CoA (decarbossilazione del piruvato)
 - Ossidazione dell'acetil-CoA a CO₂ (Ciclo di Krebs)
 - Trasferimento di elettroni e fosforilazione ossidativa (produzione di H₂O e ATP con consumo di O₂).



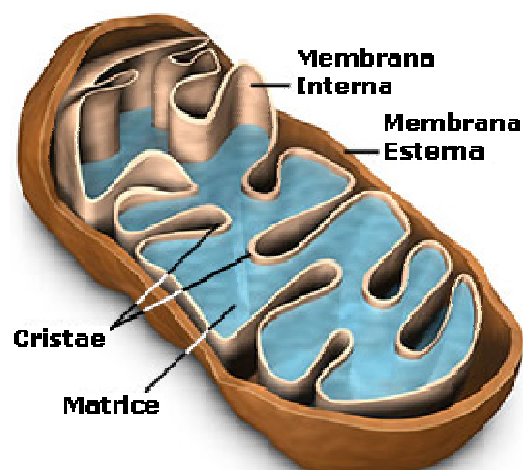
Piruvato deidrogenasi

Produzione di acetil-CoA (decarbossilazione del piruvato)

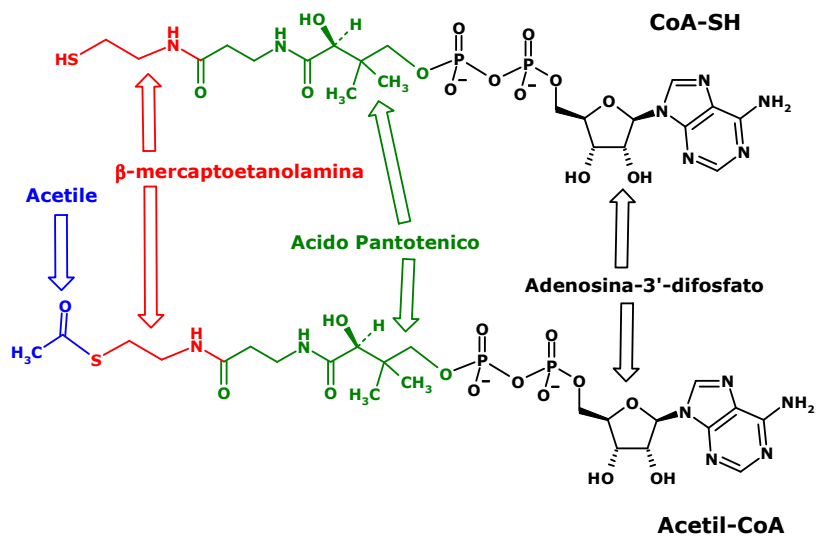
Trasporto del piruvato

- Il piruvato è trasportato all'interno della matrice mitocondriale dove viene ossidato ad acetilCoA dal complesso enzimatico piruvato deidrogenasi.
- Il piruvato viene trasportato attraverso la membrana mitocondriale attraverso un trasportatore specifico che lo scambia con ioni OH^- .
- La membrana esterna mitocondriale permette il passaggio a ioni e piccole molecole e contiene canali anionici voltaggio dipendenti (VDAC: voltage dependent anion channels).

Mitocondrio



Acetil-CoA

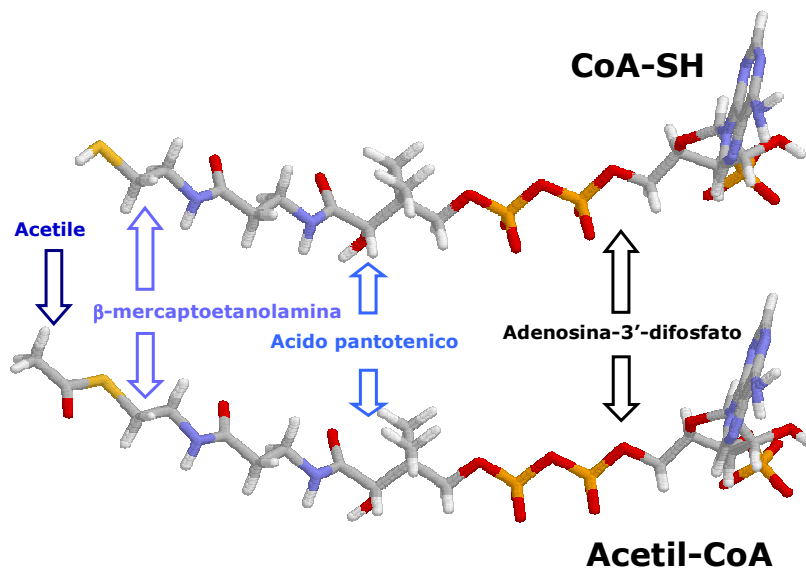


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

181

Acetil-CoA



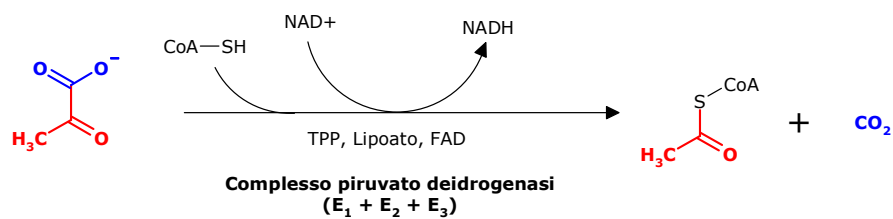
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

182

Complesso piruvato deidrogenasi

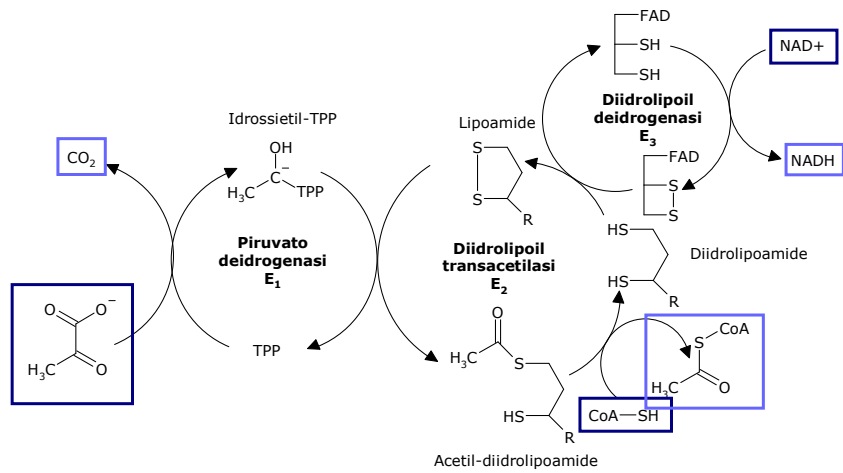
- Il complesso piruvato deidrogenasi è un gruppo di enzimi associati non covalentemente che catalizzano la decarbossilazione del piruvato e formazione di Acetil-CoA.
- La reazione forma contemporaneamente NADH trasferendo uno ione H^+ al NAD^+ .
- Il NADH passa gli elettroni alla catena respiratoria
- La reazione ha un $\Delta G^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$ (essenzialmente irreversibile).



Complesso piruvato deidrogenasi

- Il complesso piruvato deidrogenasi catalizza **cinque reazioni** sequenziali, richiede **tre enzimi** e **cinque coenzimi**.
- I cinque coenzimi sono:
 - Il **FAD** e il **NAD^+** sono trasportatori di elettroni.
 - La **TPP** trasferisce il gruppo acetile al lipoato.
 - Il **lipoato** è trasportatore di elettroni e di acili.
 - Il **CoA** è il trasportatore di acili, lega in modo covalente il gruppo acilico attraverso un legame tioestere ad alta energia.

I reagenti e i prodotti

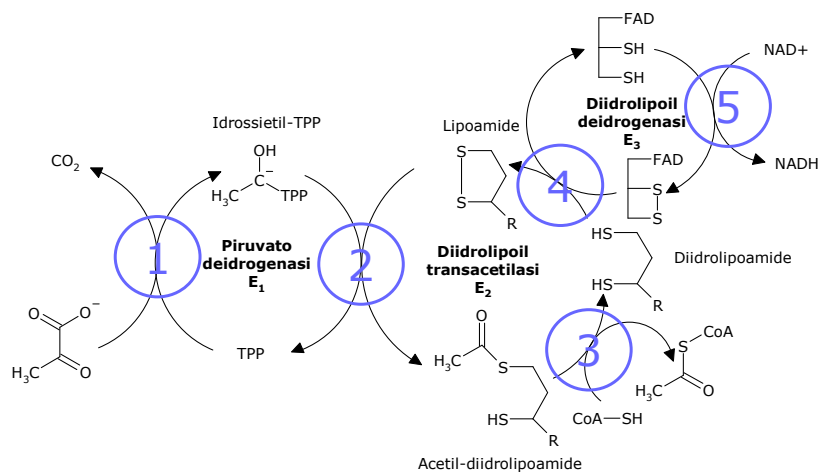


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

185

Le cinque reazioni nel complesso

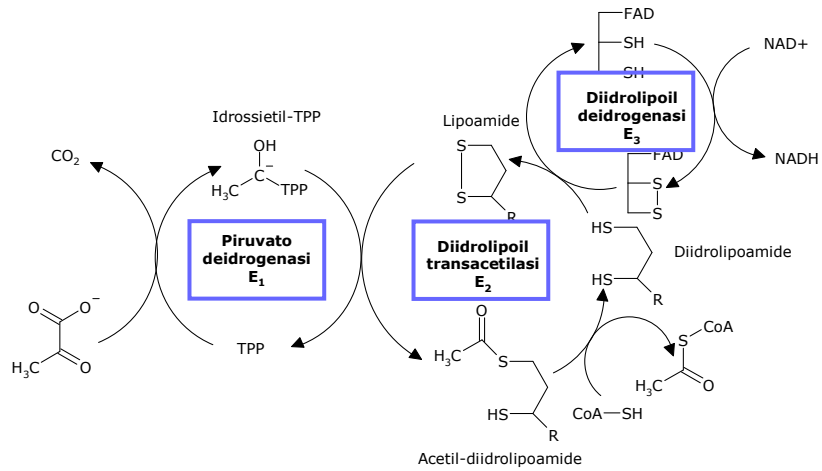


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

186

I tre enzimi del complesso

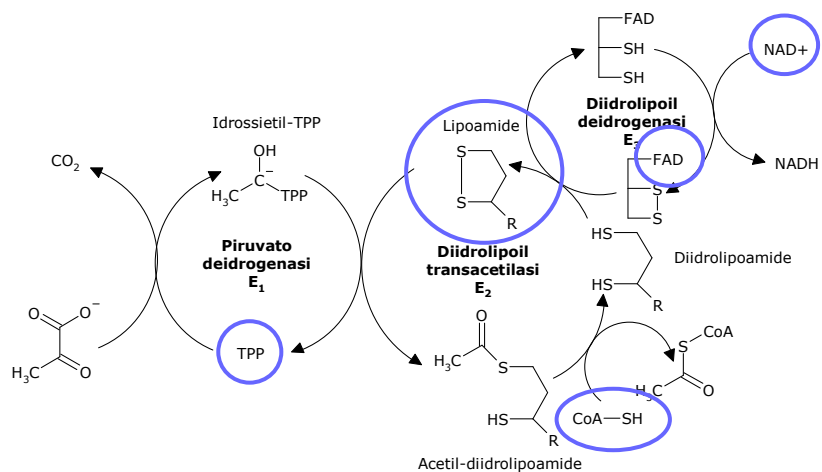


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

187

I cinque coenzimi

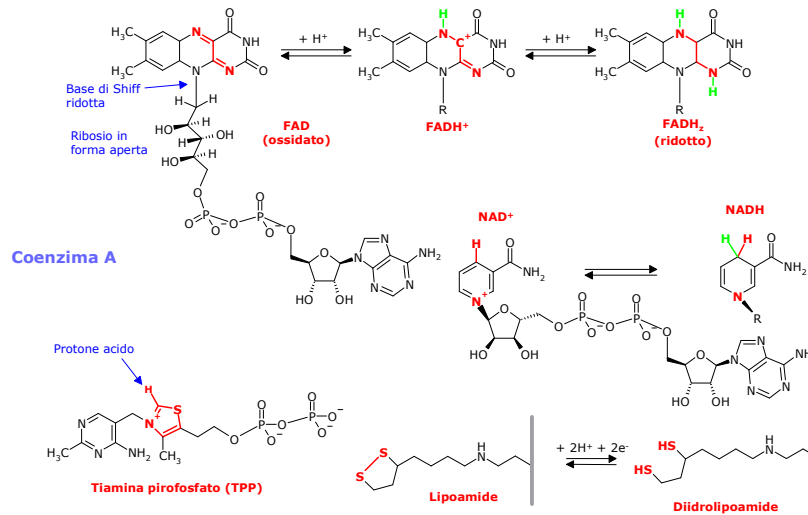


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

188

I cinque coenzimi



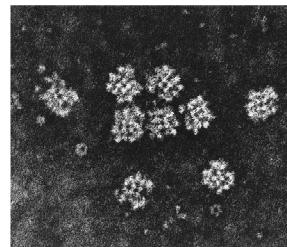
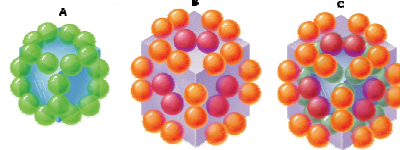
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

189

I tre enzimi

- Il complesso piruvato deidrogenasi PDC consiste in tre enzimi:
 - piruvato deidrogenasi EC 1.2.4.1
 - (E₁, arancio) (B),
 - diidrolipoil transacetilasi EC 2.3.1.12
 - (E₂, verde) (A),
 - diidrolipoil deidrogenasi EC 1.8.1.4
 - (E₃, violetto) (B).
- In *E. coli* il complesso consiste in 24 coppie di E₁, 24 coppie di E₂ e di 12 coppie di E₃.
- E₂ funziona come "core" del complesso (C).



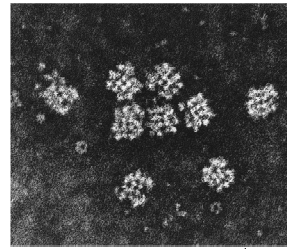
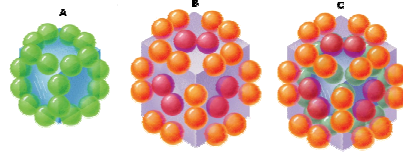
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

190

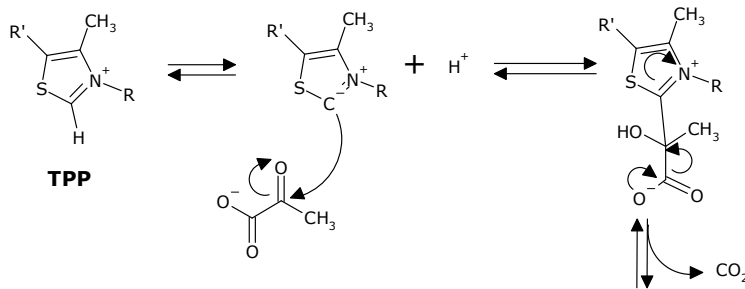
I tre enzimi

- Ogni coppia di E_2 contiene tre molecole di lipoato legate covalentemente.
- Il lipoato ha un braccio flessibile che trasporta le molecole di acetile da un sito attivo ad un altro.
- E_1 ha come coenzima il molecola di TPP ed E_3 ha come coenzima il FAD.

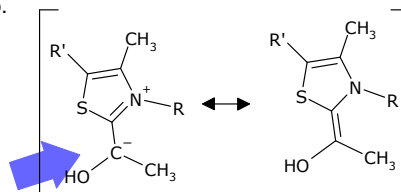


0.05 μm

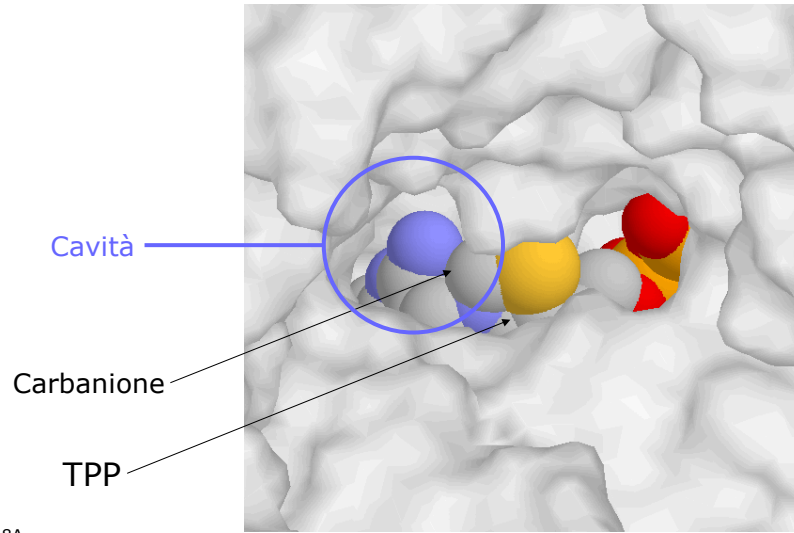
Piruvato deidrogenasi (E_1)



- Gli intermedi rimangono legati al complesso.
- Il piruvato reagisce con il TPP legato a E_1 e viene decarbossilato al derivato idrossietil-TPP (carbanione reattivo stabilizzato per risonanza).



Piruvato deidrogenasi (E₁) EC 1.2.4.1



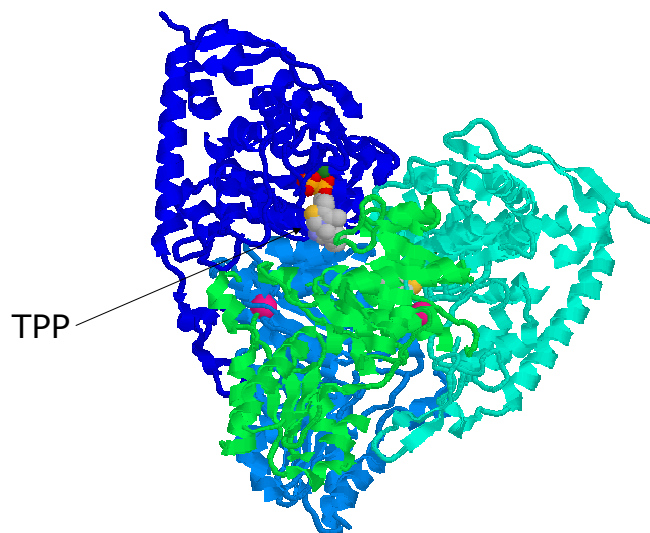
1L8A

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

193

Piruvato deidrogenasi (E₁) EC 1.2.4.1



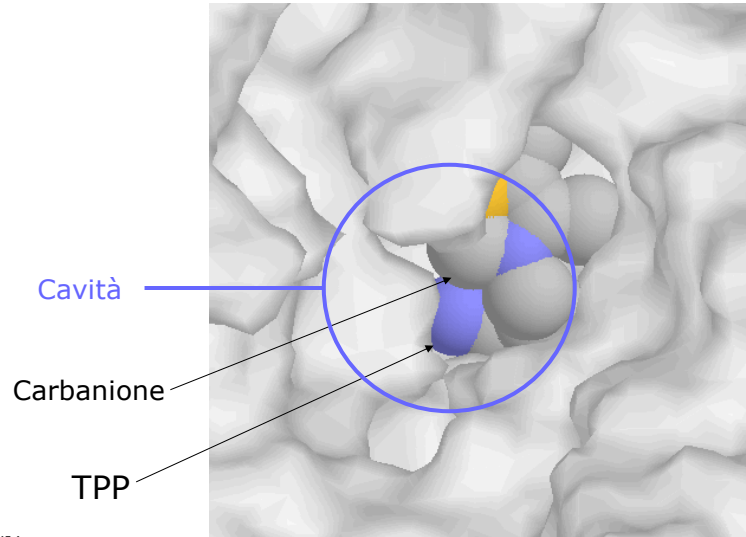
1NI4

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

194

Piruvato deidrogenasi (E₁) EC 1.2.4.1



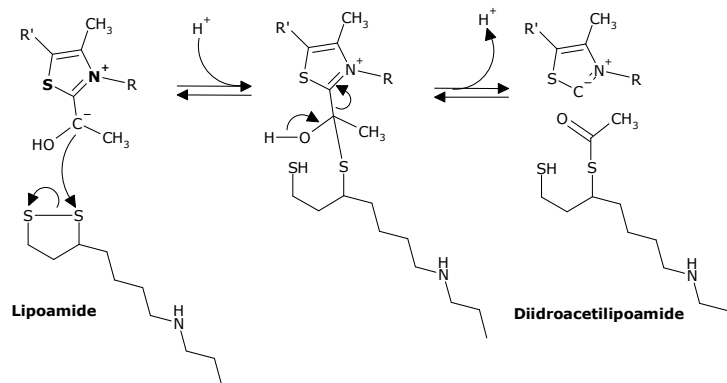
1NI4

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

195

Diidrolipoil transacetilasi (E₂)



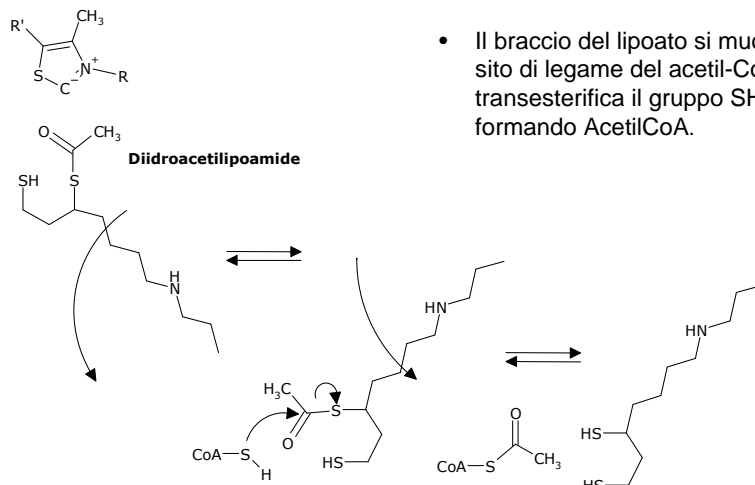
- Il gruppo idrossietile derivato da idrossietil-TPP è trasferito al lipoato (legato ad una His di E₂) come acetile, attraverso l'attacco nucleofilo del carbanione sull'atomo di zolfo della lipoamide.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

196

Diidrolipoil transacetilasi (E₂)



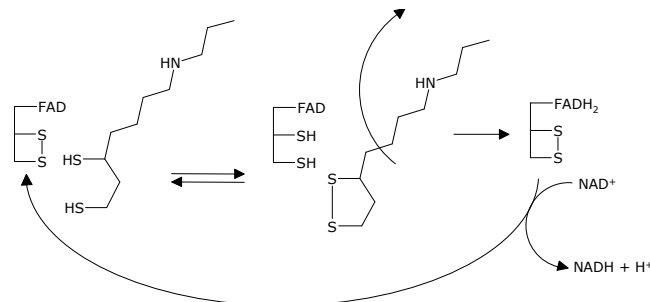
- Il braccio del lipoato si muove sul sito di legame del acetil-CoA e ne transesterifica il gruppo SH formando AcetilCoA.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

197

Diidrolipoil deidrogenasi (E₃)



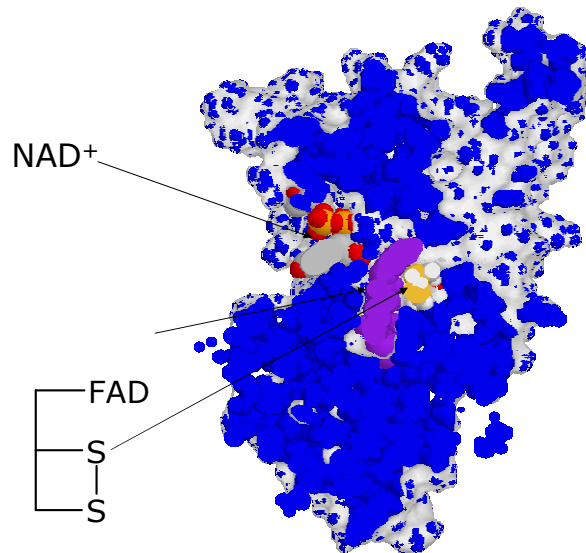
- Il lipoato ridotto viene riossidato dall'E₃ utilizzando il FAD che si riduce a FADH₂.
- Il FADH₂ viene riossidato dal NAD⁺ che si riduce a NADH e H⁺
- Si rigenera la piruvato deidrogenasi

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

198

Diidrolipoil deidrogenasi (E_3) EC 1.8.1.4



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

199

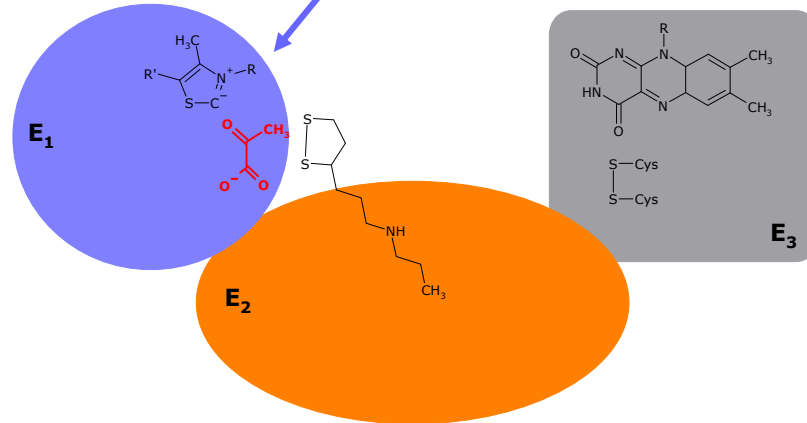
- La diidrolipoil transacetilasi (E_2) è centrale in questo meccanismo.
- Il braccio flessibile del lipoato:
 - lega il gruppo acetile e lo trasferisce al CoA e
 - accetta due elettroni dalla piruvato deidrogenasi (E_1) e li trasferisce al diidrolipoil deidrogenasi (E_3).

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

200

Legame del piruvato

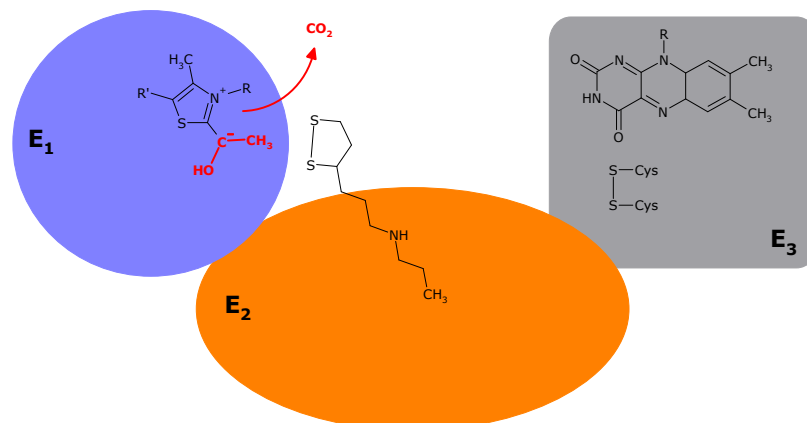


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

201

Decarbossilazione del piruvato

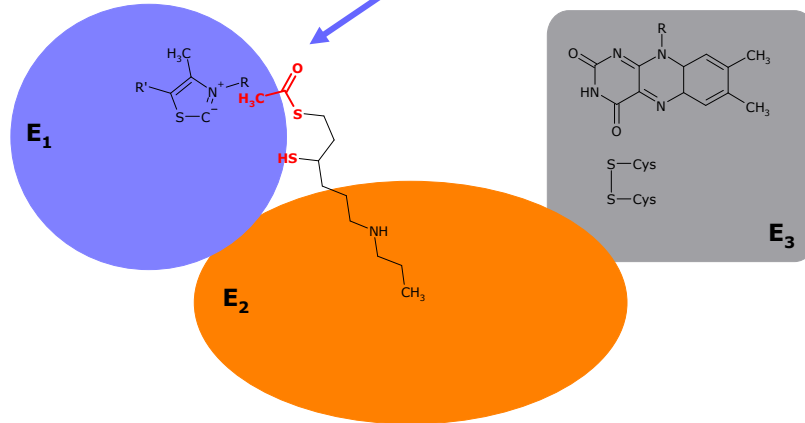


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

202

Formazione di diidroacetillipoamide

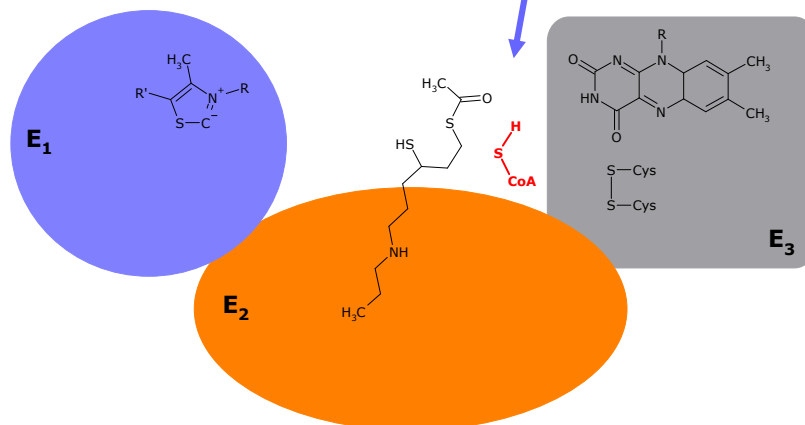


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

203

Legame del Coenzima A

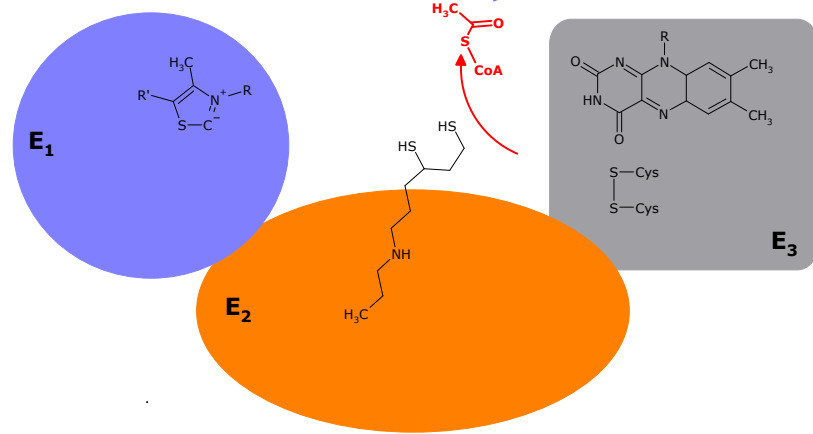


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

204

Formazione di Acetil-CoA

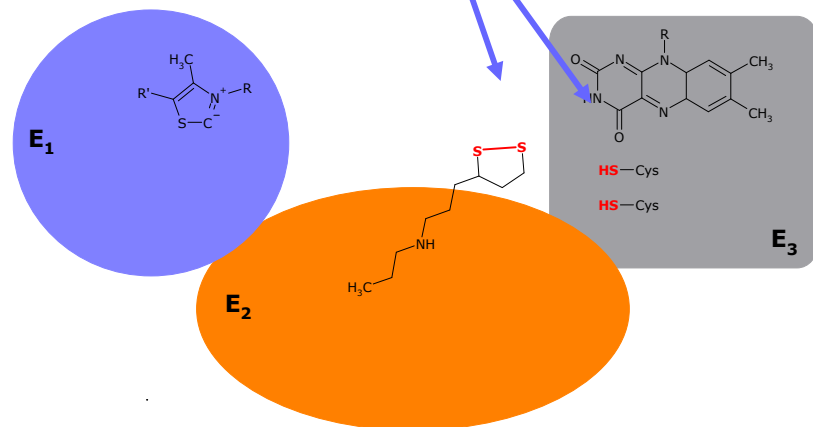


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

205

Ossidazione della diidrolipoamide

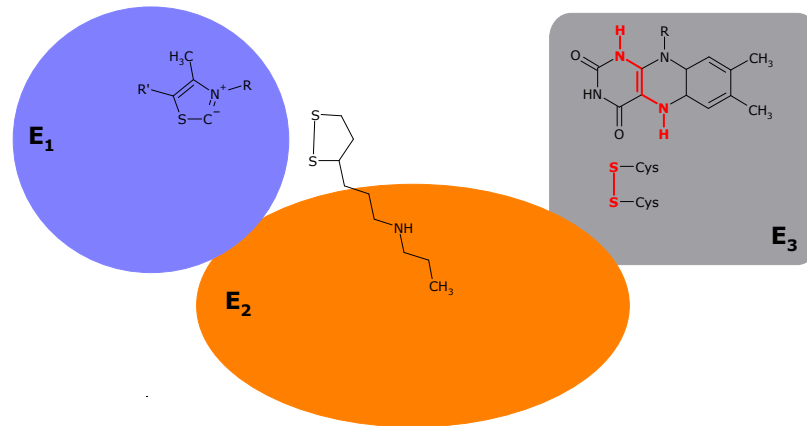


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

206

Riduzione del FAD

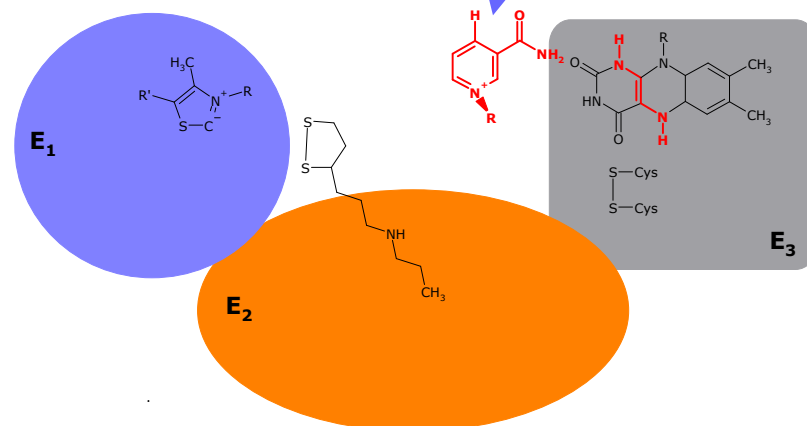


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

207

Legame del NAD⁺

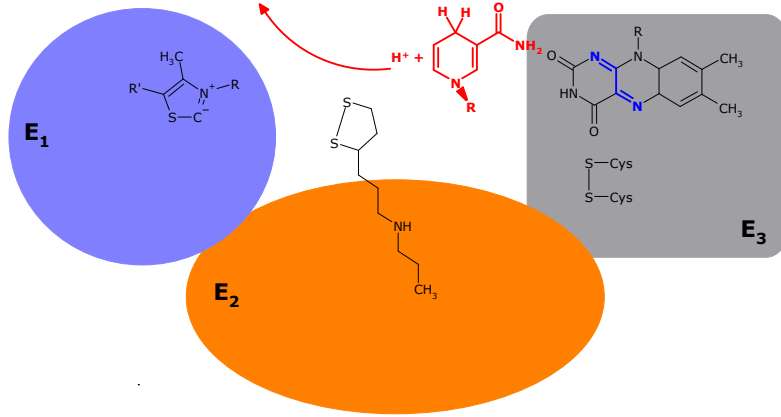


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

208

Riduzione del NAD⁺

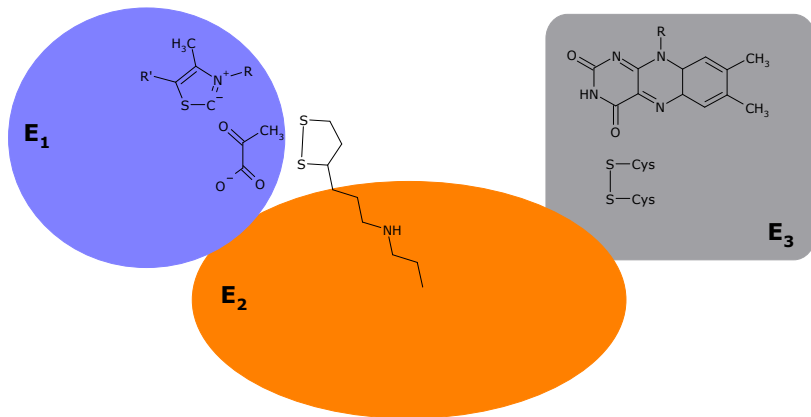


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

209

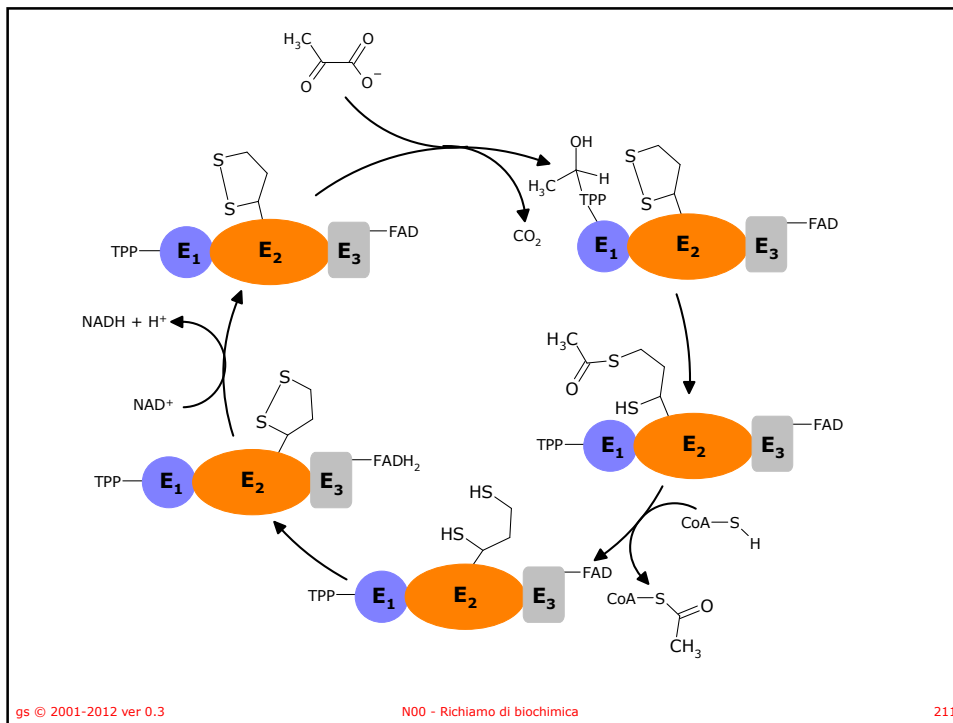
Ritorno al punto di partenza



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

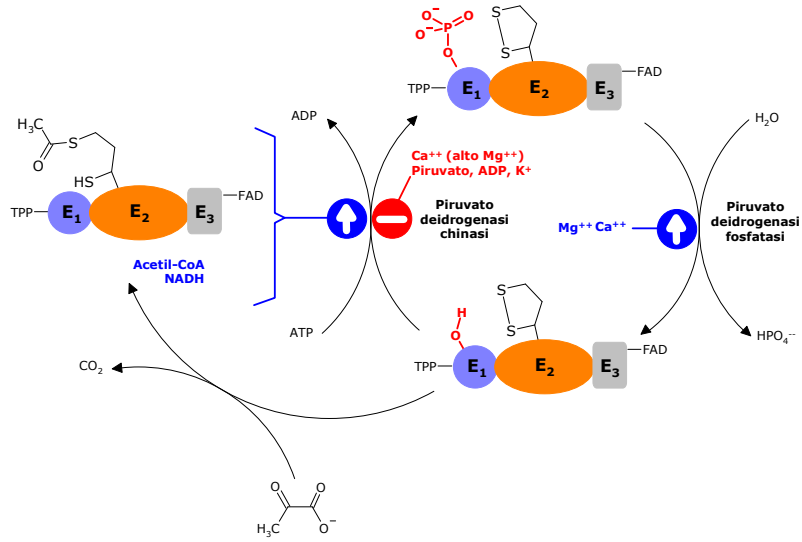
210



Controllo della piruvato deidrogenasi

- Inibizione competitiva da prodotti
 - NADH compete con NAD^+ in E₃
 - **Acetil-CoA** compete con CoA-SH in E₂
- La concentrazione dei due coenzimi regola anche la direzione della catalisi di E₂ e E₃.
- Negli eucarioti E₁ può essere fosforilato da una chinasi attivata dalla forma acetilata di E₂
- La forma fosforilata di E₁ è inattiva mentre la forma defosforilata è attiva.

Controllo della piruvato deidrogenasi

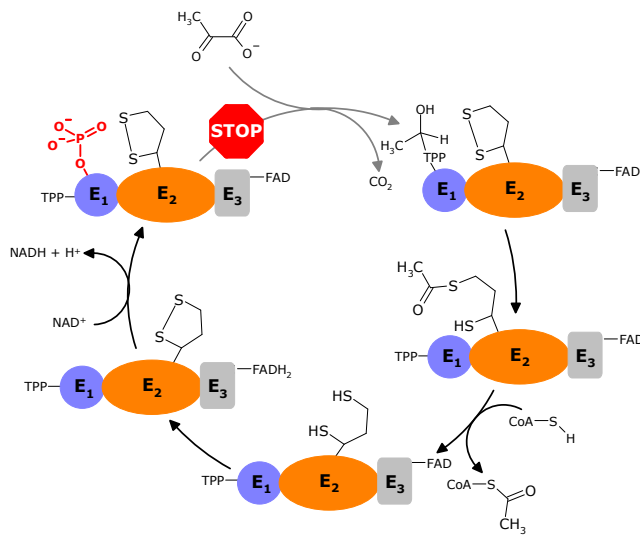


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

213

Controllo della piruvato deidrogenasi



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

214

Ciclo di Krebs

Ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA)
Ciclo dell'acido citrico

Ossidazione dell'acetil-CoA a CO₂



Indice

Ciclo di Krebs

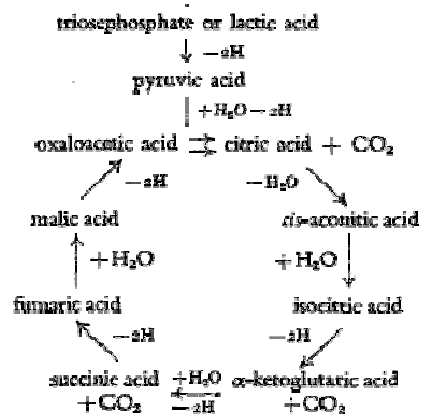
- Il ciclo di Krebs è al centro del metabolismo.
- Le vie degradative (catabolismo) lo alimentano, le vie sintetiche (anabolismo) ne usano i componenti.
- È una via “**ANFIBOLICA**”, opera infatti sia nel catabolismo che nell'anabolismo cellulare.

Ciclo di Krebs

- Tutte le reazioni avvengono nella matrice mitocondriale.
- Nei mitocondri vi sono anche gli enzimi della fosforilazione ossidativa e quelli della ossidazione degli acidi grassi e degli aminoacidi.

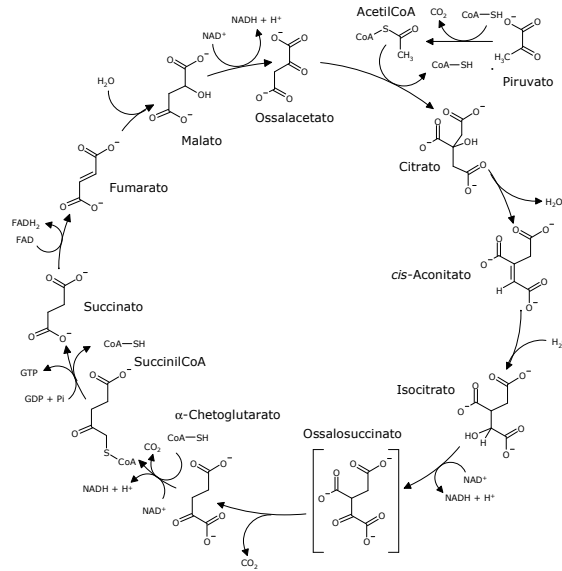


Carbohydrate



Krebs and Johnson (1937) "The role of citric acid in the intermediate metabolism in animal tissues".
Enzymologica 4:148-156.

Ciclo di Krebs

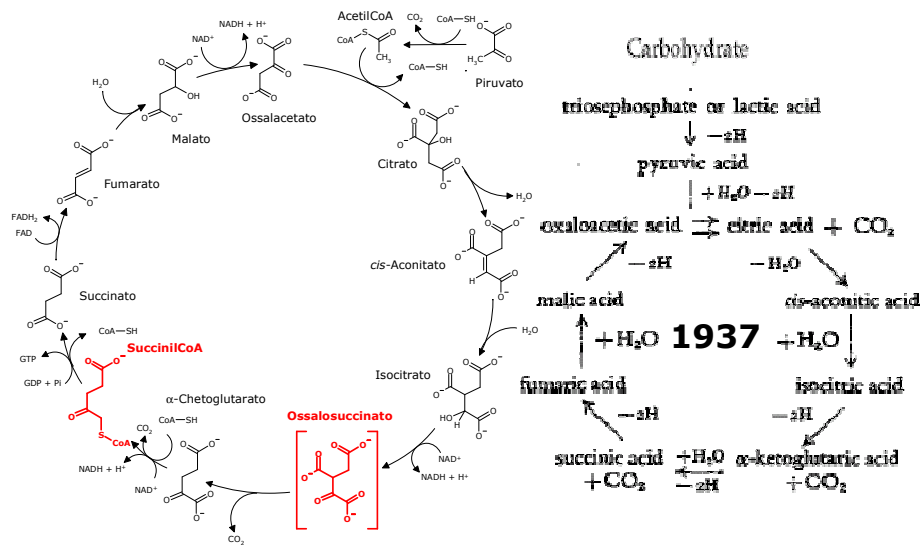


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

219

Ciclo di Krebs

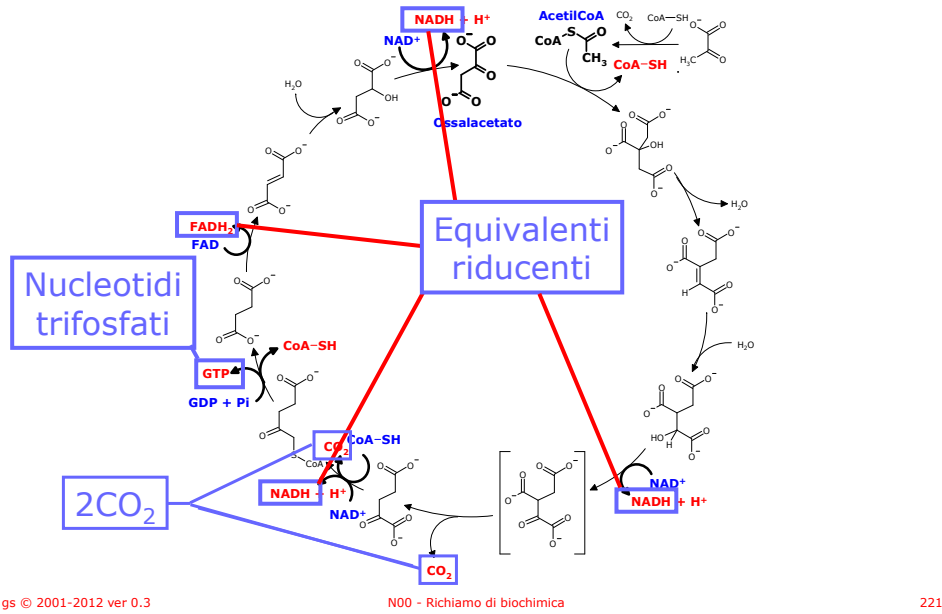


gs © 2001-2012 ver 0.3

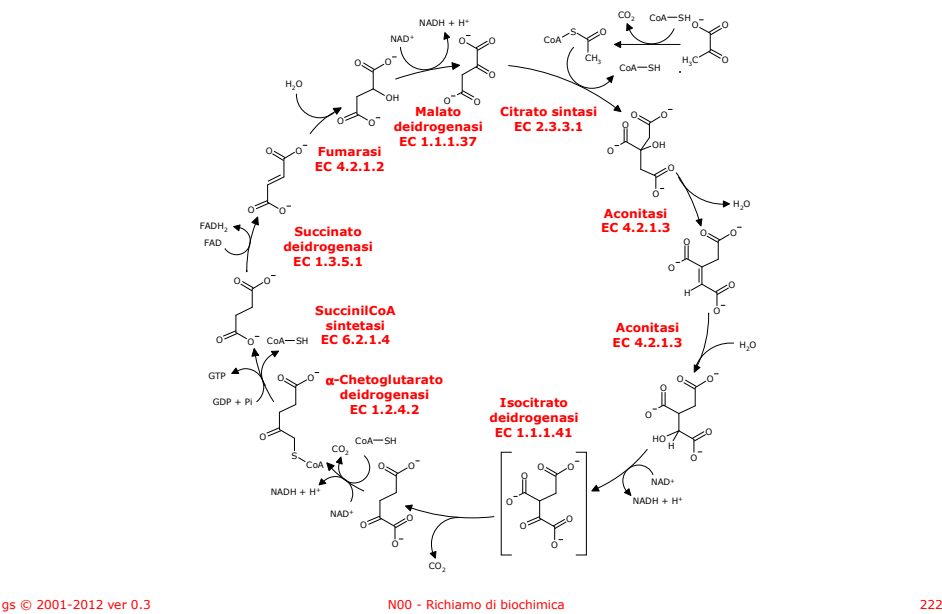
N00 - Richiamo di biochimica

220

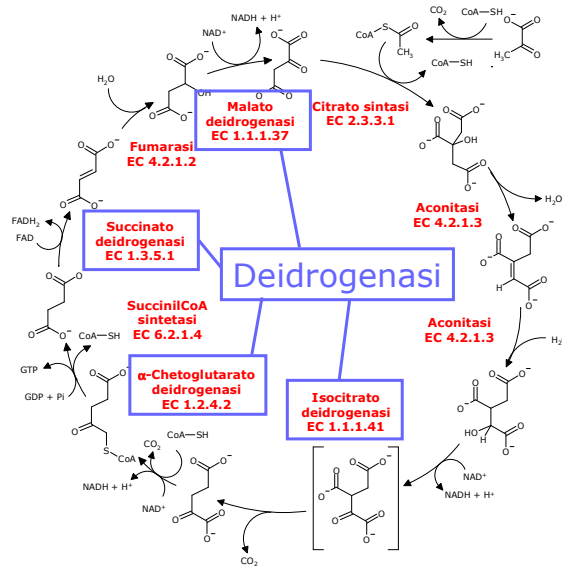
Ciclo di Krebs



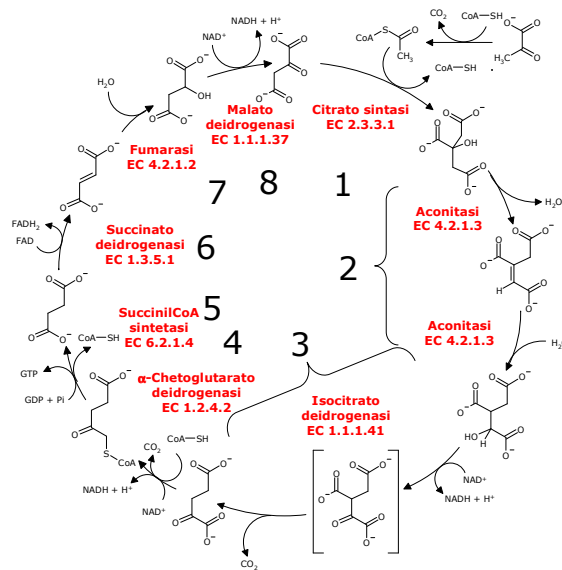
Ciclo di Krebs



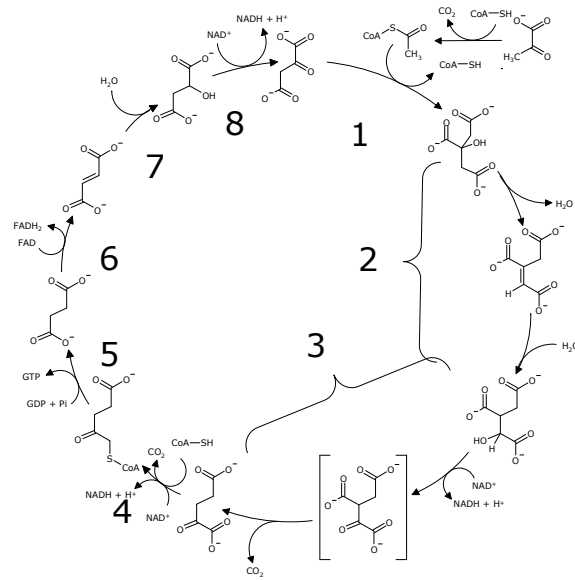
Ciclo di Krebs



Ciclo di Krebs



Ciclo di Krebs

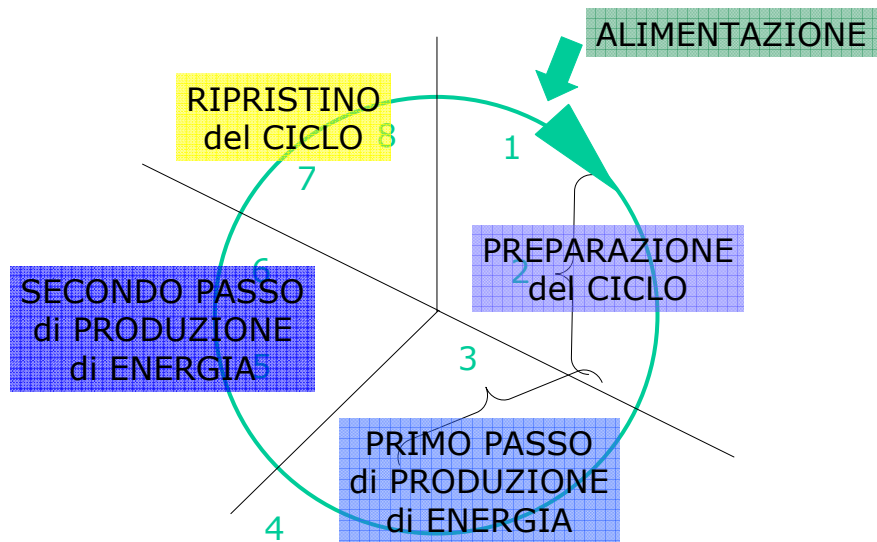


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

225

Ciclo di Krebs

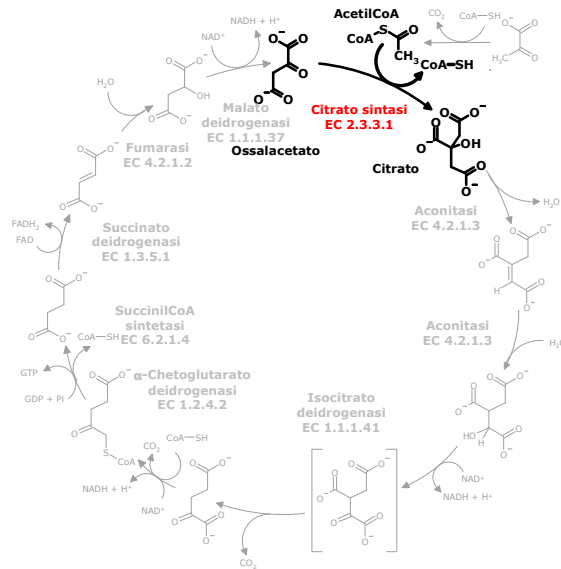


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

226

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

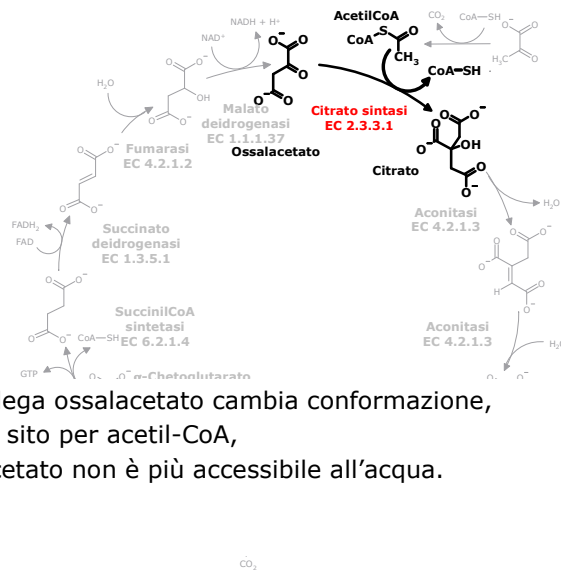


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

227

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



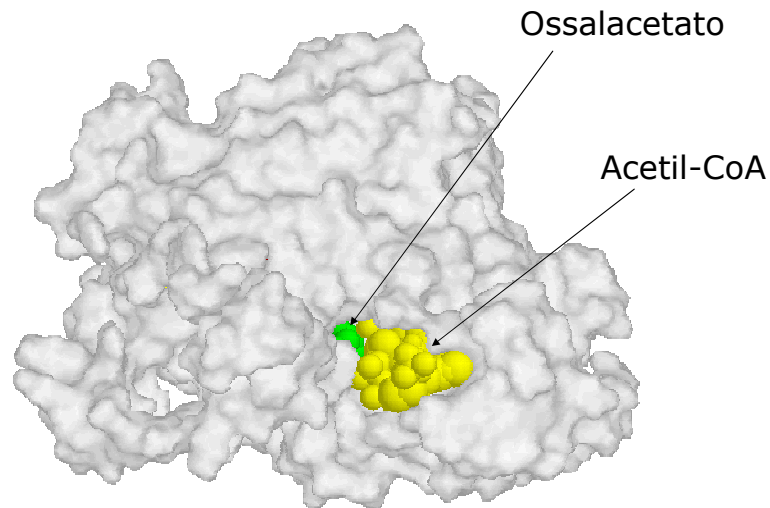
- Quando lega ossalacetato cambia conformazione,
- Si crea il sito per acetil-CoA,
- L'ossalacetato non è più accessibile all'acqua.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

228

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



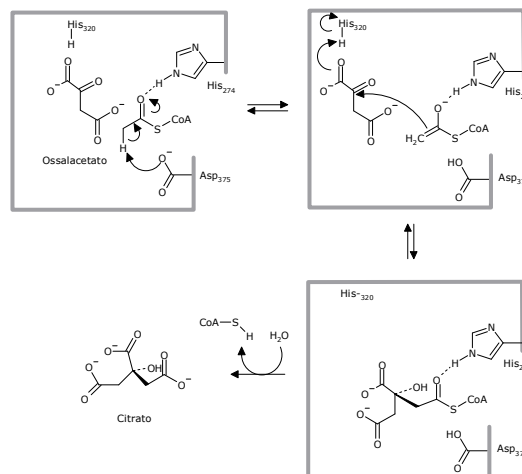
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

229

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

- La condensazione dell'ossalacetato con acetil-CoA porta alla formazione di citril-CoA
- È una catalisi acido base che coinvolge His274 e Asp375.
- L'idrolisi del legame tioestere nel citril-CoA porta alla formazione di citrato e CoA-SH.
- La reazione è spontanea a causa dell'idrolisi del legame tioestere (-31,5 kJ/mol) che coinvolge His-320.



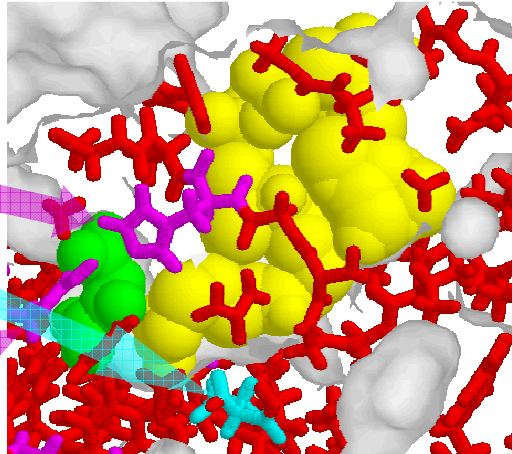
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

230

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

- La condensazione del ossalacetato con acetil-CoA porta alla formazione di citril-CoA
- È una catalisi acido base che coinvolge His274 e Asp375.
- L'idrolisi del legame tioestere nel citril-CoA porta alla formazione di citrato e CoA-SH.
- La reazione è spontanea a causa dell'idrolisi del legame tioestere (-31.5 kJ/mol) che coinvolge His-320.

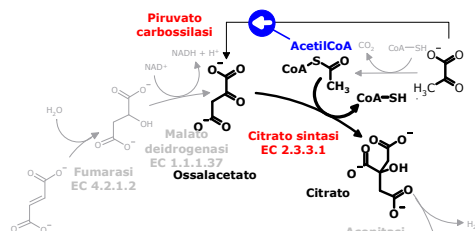


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

231

Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



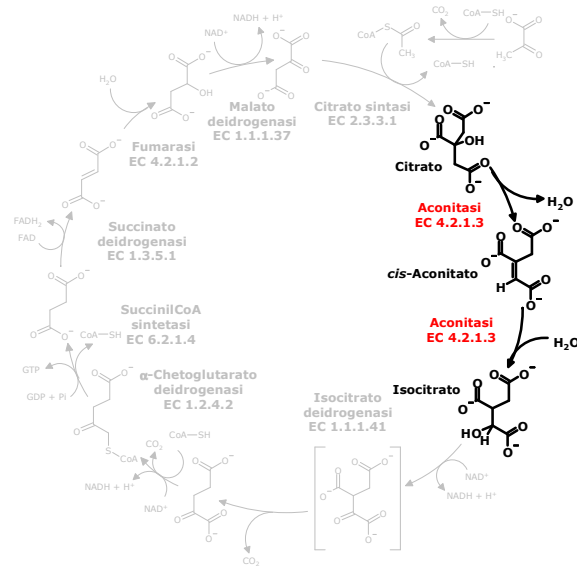
- La regolazione della citrato sintasi è data dalla disponibilità di substrati,
- La concentrazione di ossalacetato è limitante,
- L'ossalacetato è anche substrato della gluconeogenesi,
- In mancanza di ossalacetato si accumula Acetil-CoA,
- La presenza di Acetil-CoA stimola la piruvato carbossilasi a produrre ossalacetato.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

232

Aconitasi (EC 4.2.1.3)



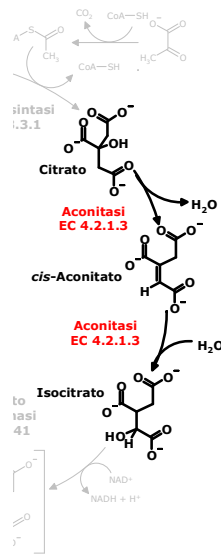
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

233

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

- Catalizza la conversione stereospecifica del citrato in isocitrato attraverso una disidratazione e una reidratazione,
 - L'intermedio *cis*-aconitato non è rilasciato dal sito attivo,
 - Nel sito attivo vi è un cluster FeS (Fe_4S_4)
 - Tre degli ioni Fe sono complessati da un S di tre Cys, il quarto è il sito che lega il substrato.
- Il ΔG della reazione è positivo, il prodotto viene rimosso, il ΔG si avvicina a zero a concentrazioni reali.

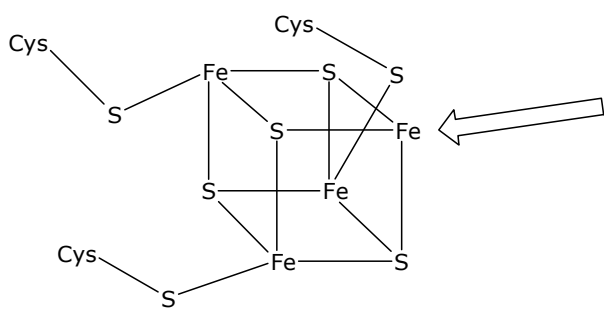


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

234

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

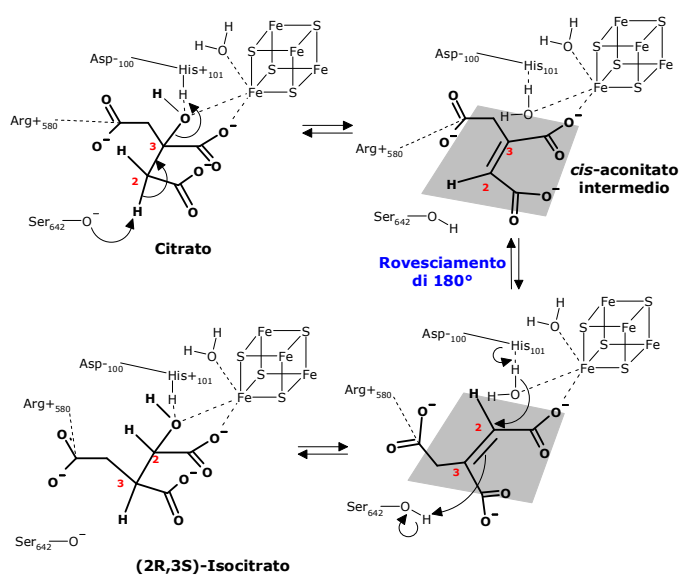


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

235

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

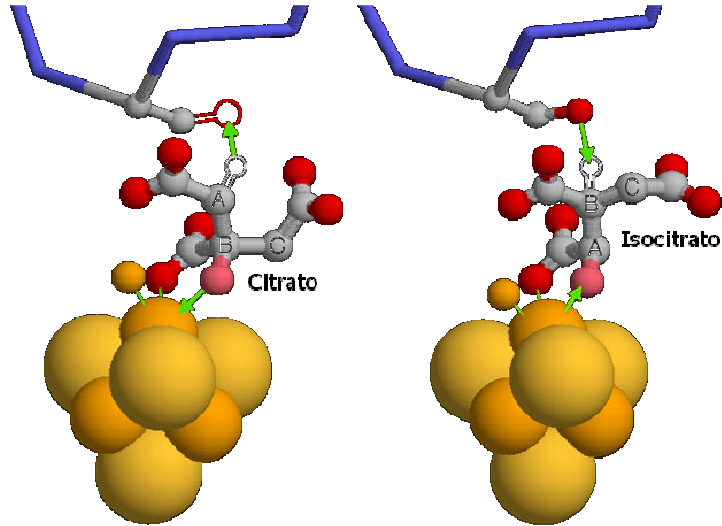


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

236

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

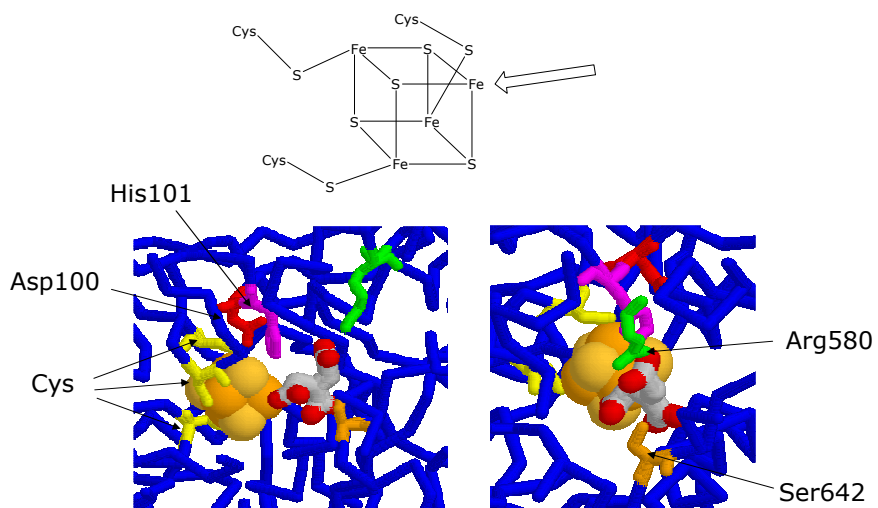


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

237

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

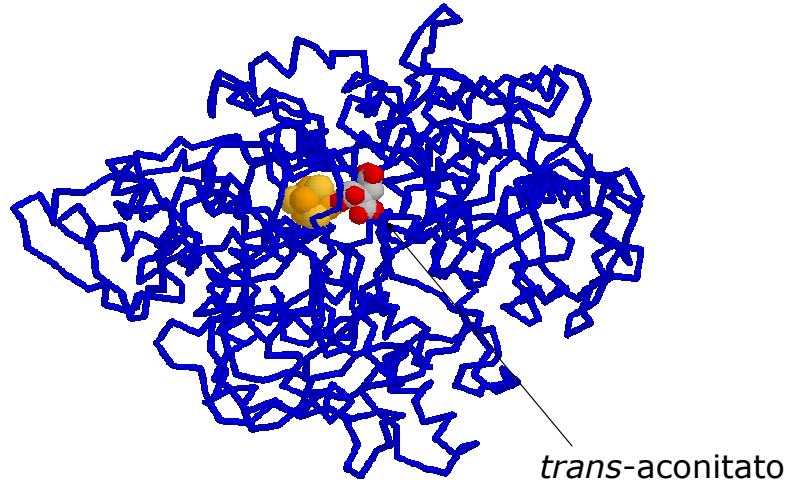


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

238

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

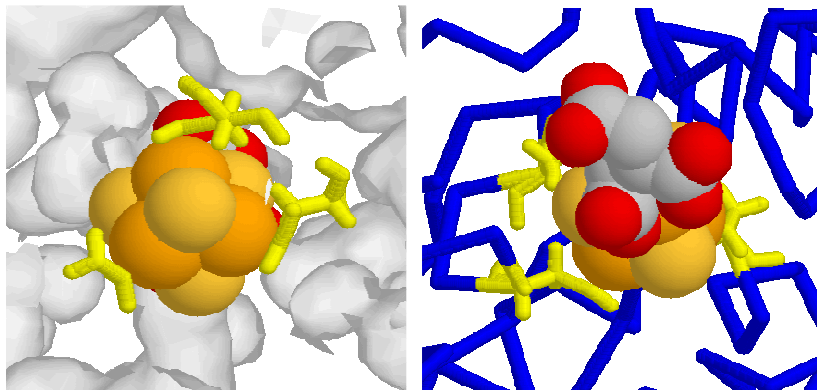


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

239

Aconitasi (EC 4.2.1.3)

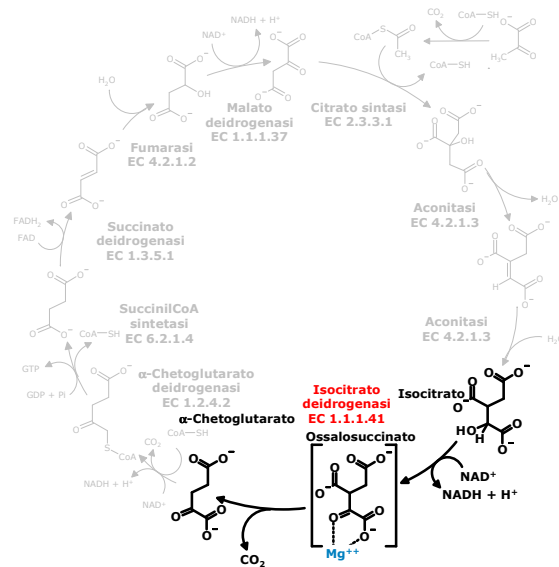


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

240

Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)



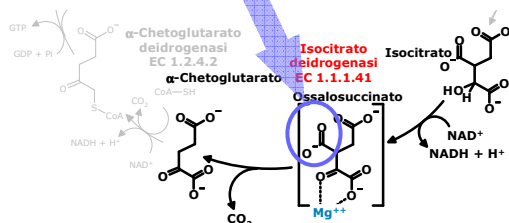
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

241

Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)

- Catalizza la decarbossilazione ossidativa del isocitrato,
- La porzione nicotinamidica del NAD^+ (o del NADP^+ in un isoenzima) ossida il gruppo OH a carbonile,
- Si forma l'intermedio ossalosuccinato nel quale vi è l'interazione con lo ione Mg^{++} (Mn^{++}),
- Il gruppo COO^- non interessato nella formazione del complesso esce come CO_2 ,
- Si forma α -chetoglutarato.

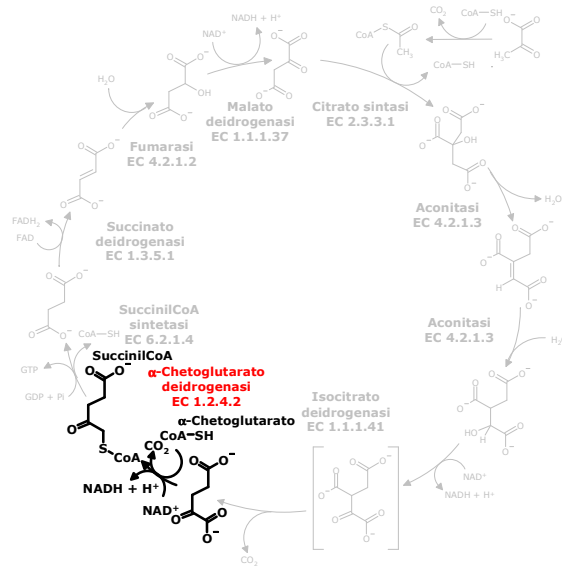


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

242

α -chetogluturato deidrogenasi (EC 1.2.4.2)



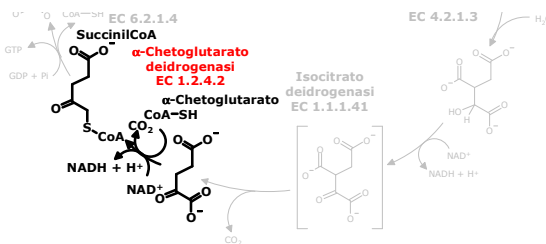
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

245

α -chetogluturato deidrogenasi (EC 1.2.4.2)

- È un complesso enzimatico che converte l' α -chetogluturato a succinil-CoA e CO_2 .
- La reazione produce NADH e conserva l'energia nel legame tioestere
- La reazione è spontanea ($\Delta G^{\circ} = -33.5 \text{ kJ/mol}$).
- Meccanismo quasi identico a quello del complesso piruvato deidrogenasi (E_1 , E_2 , E_3)
 - E_2 ed E_3 sono conservati nei due complessi enzimatici,
 - E_1 ha diversa specificità di substrato.

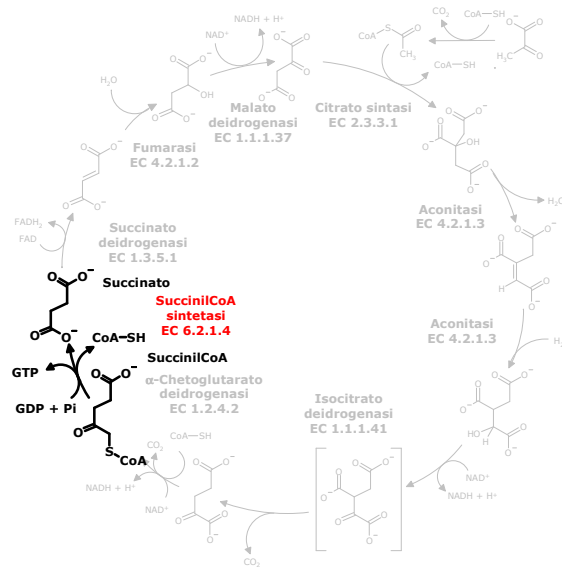


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

246

SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)

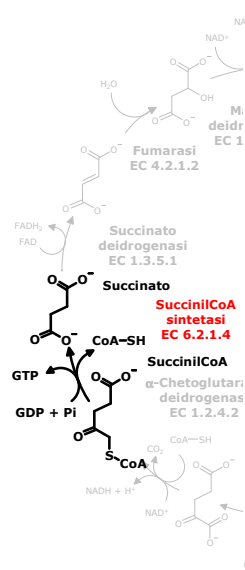


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

247

SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)



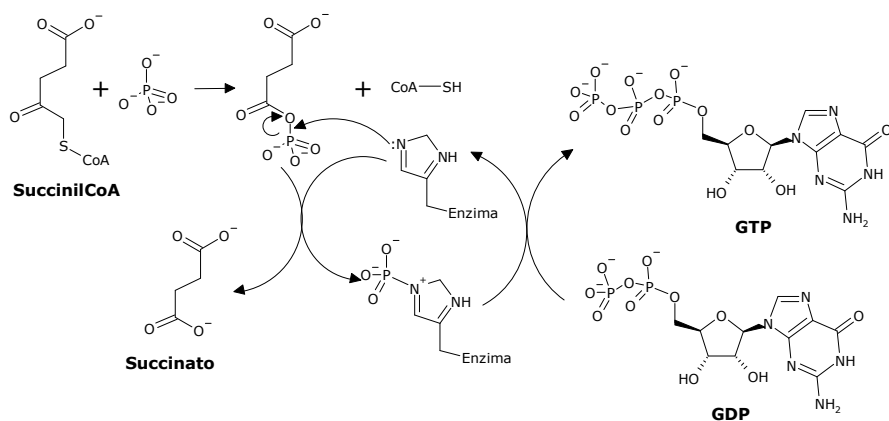
- Converte il succinil-CoA in succinato e produce GTP (ATP) da GDP (ADP) e Pi.
- L'enzima è fosforilato in una His.
- È un eterodimero:
 - La subunità α contiene il sito di fosforilazione (His) e lega CoA.
 - La subunità β dà la specificità per ATP o GTP.
- La reazione è vicina all'equilibrio ($\Delta G^{\circ} = -2.9$ kJ/mol).

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

248

Meccanismo

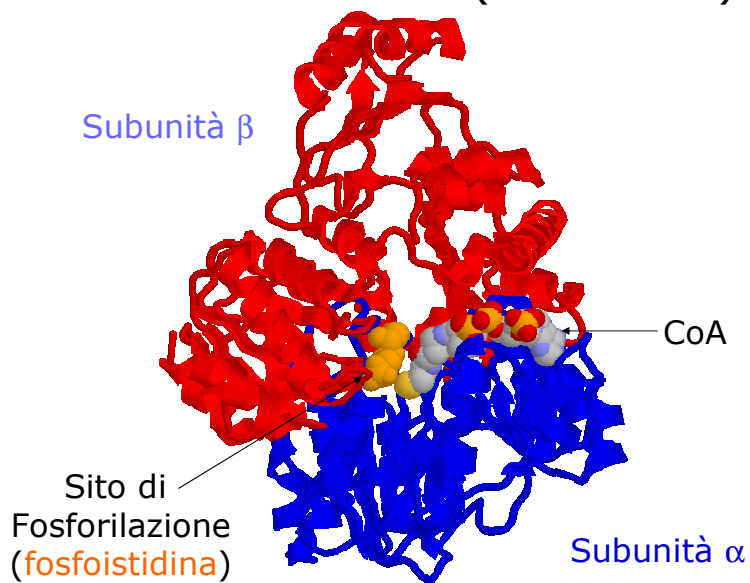


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

249

SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)

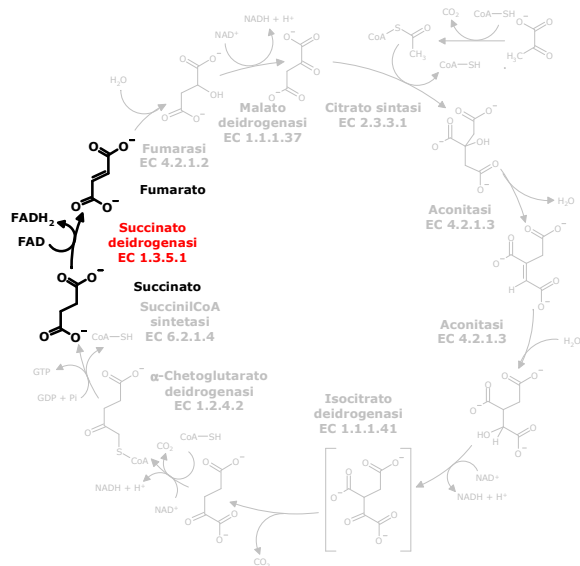


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

250

Succinato deidrogenasi (EC 1.3.5.1)



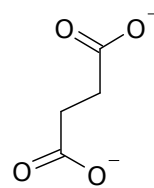
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

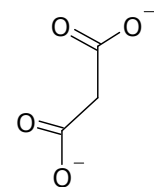
251

Succinato deidrogenasi (EC 1.3.5.1)

- Per completare il ciclo il succinato deve venire convertito in ossalacetato.
- Il succinato è deidrogenato a fumarato stereospecificamente dalla flavoproteina succinato deidrogenasi con produzione di FADH_2 .
- La succinato deidrogenasi è il solo enzima di membrana del ciclo di Krebs.
- Gli elettroni passano dal succinato al FAD , che è legato covalentemente alla proteina attraverso un residuo di His.
- Il FADH_2 è riossidato a FAD dal Coenzima Q nella catena di trasporto degli elettroni.
- Il malonato, strutturalmente analogo al succinato, è un forte inibitore competitivo e blocca il ciclo.



Succinato



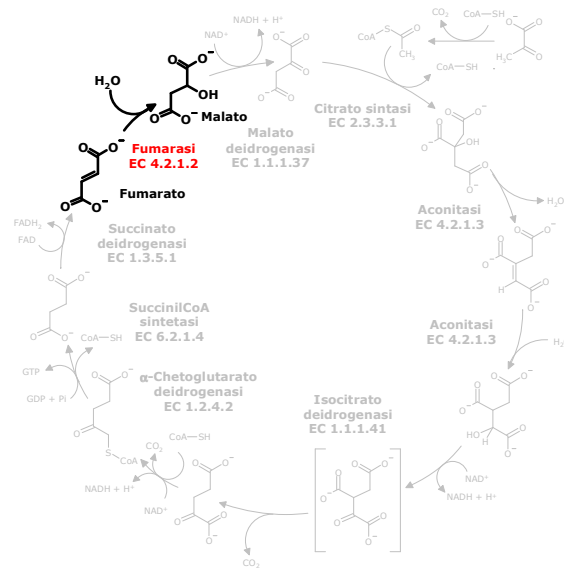
Malonato

gs © 2001-2012 ver 0.3

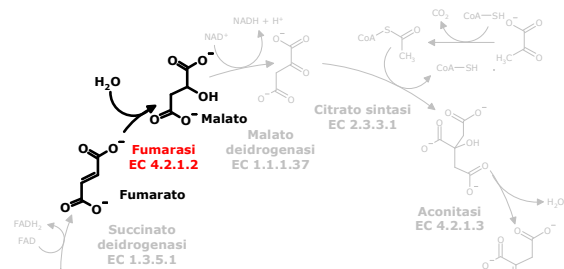
N00 - Richiamo di biochimica

252

Fumarasi (EC 4.2.1.2)



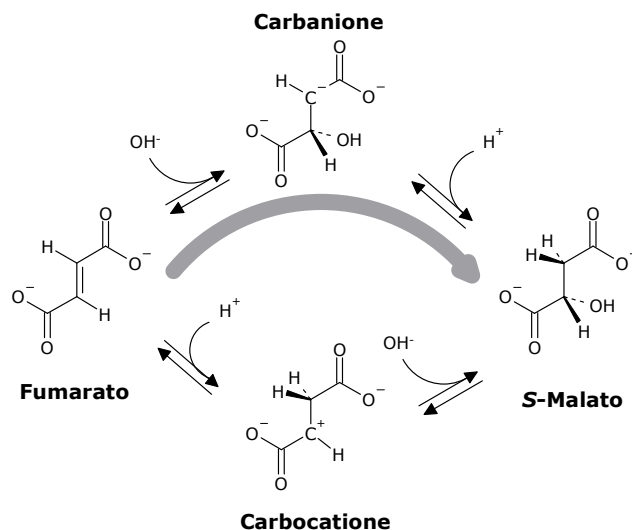
Fumarasi (EC 4.2.1.2)



- La fumarasi catalizza l'idratazione reversibile del fumarato, si forma (S)-malato (L-malato).
- È una reazione stereospecifica, viene idratato il doppio legame *trans* ma non il *cis* (maleato).
- Nella reazione inversa solo il L-malato è substrato dell'enzima non l'isomero D.



Meccanismo

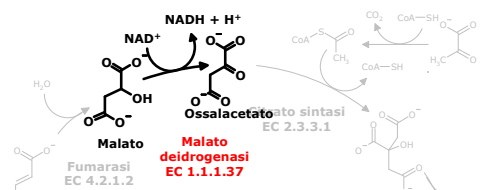


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

255

Malato deidrogenasi (EC 1.1.1.37)



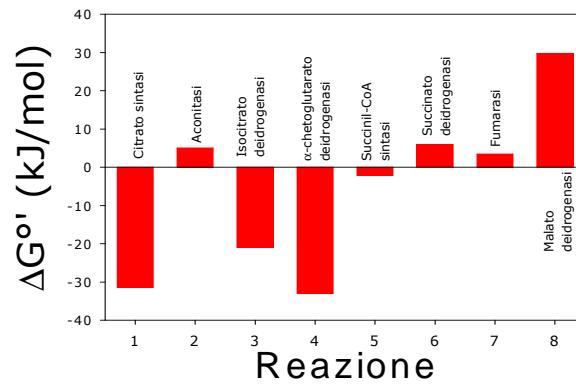
- La L-malato deidrogenasi ossida il malato a ossalacetato rigenerando il composto di partenza del ciclo e producendo NADH.
- La reazione è sfavorita ($\Delta G^{\circ'} = 29.7 \text{ kJ/mol}$), ma la concentrazione di ossalacetato è bassa ($<10^{-6} \text{ M}$), il che spinge la reazione in avanti.
- Inoltre la reazione successiva catalizzata dalla citrato sintasi è altamente favorita ($\Delta G^{\circ'} = -31.5 \text{ kJ/mole}$) e sottrae ulteriormente l'ossalacetato dal mezzo.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

256

Energia

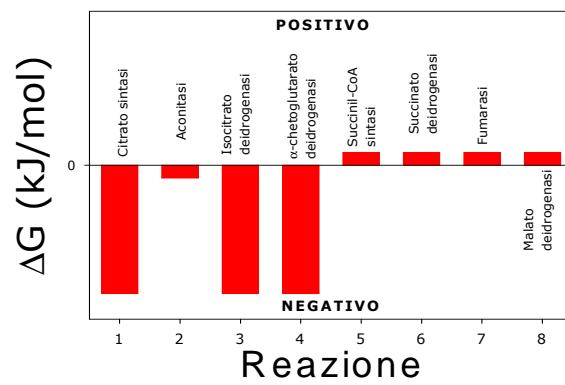


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

257

Energia

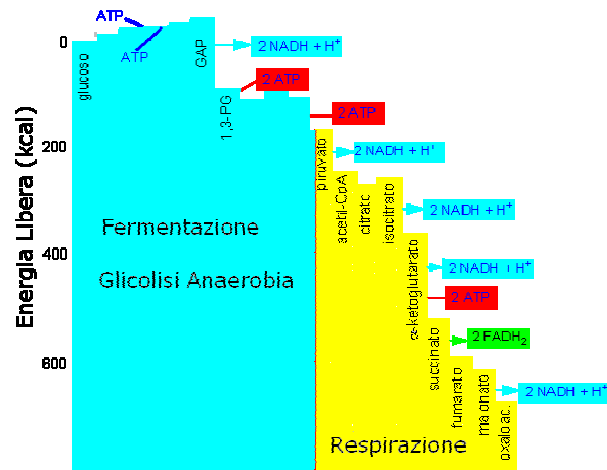


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

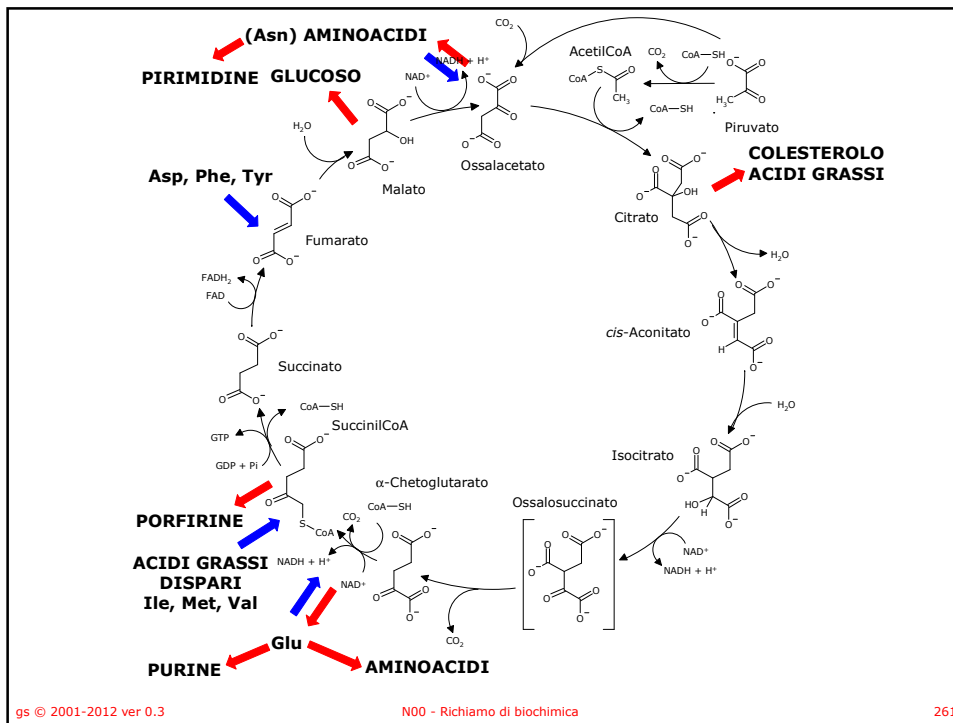
258

Energia



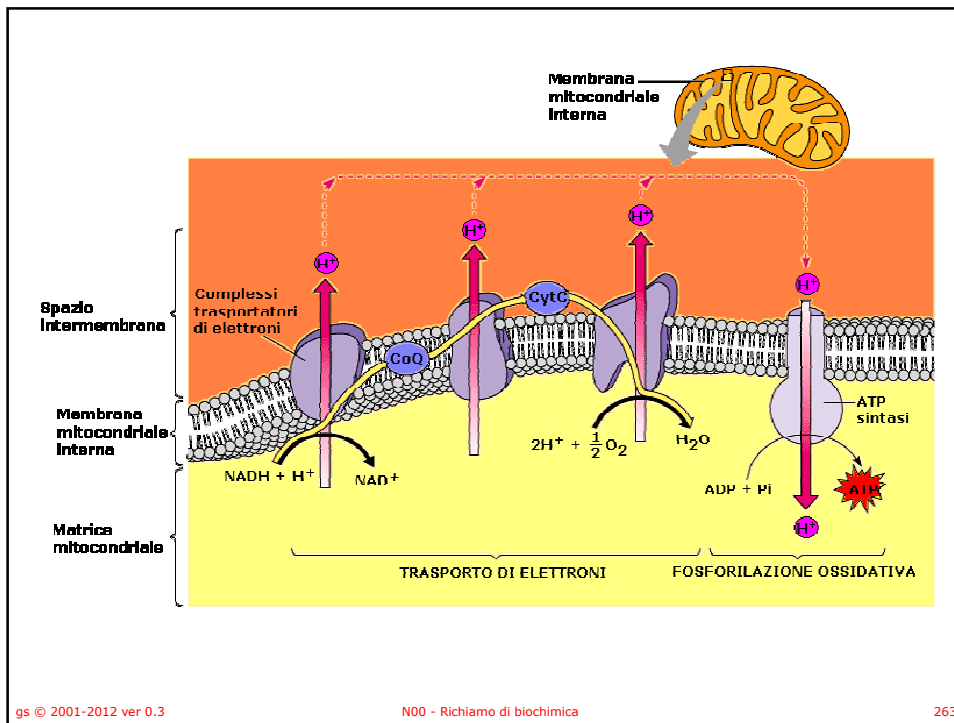
Ciclo di Krebs

- Il ciclo di Krebs è al centro del metabolismo.
- Le vie degradative (catabolismo) lo alimentano, le vie sintetiche (anabolismo) ne usano i componenti.
- È una via “**ANFIBOLICA**”, opera infatti sia nel catabolismo che nell’anabolismo cellulare.
- Tutte le reazioni avvengono nella matrice mitocondriale.
- Nei mitocondri vi sono anche gli enzimi della fosforilazione ossidativa e quelli della ossidazione degli acidi grassi e degli aminoacidi.

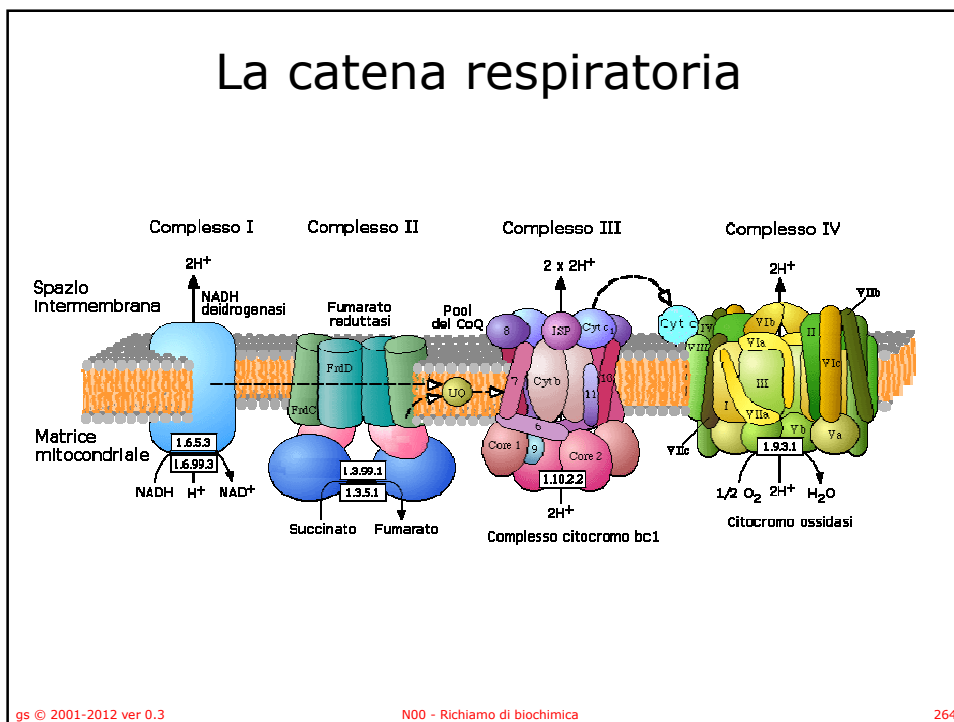


Reazioni anaplerotiche

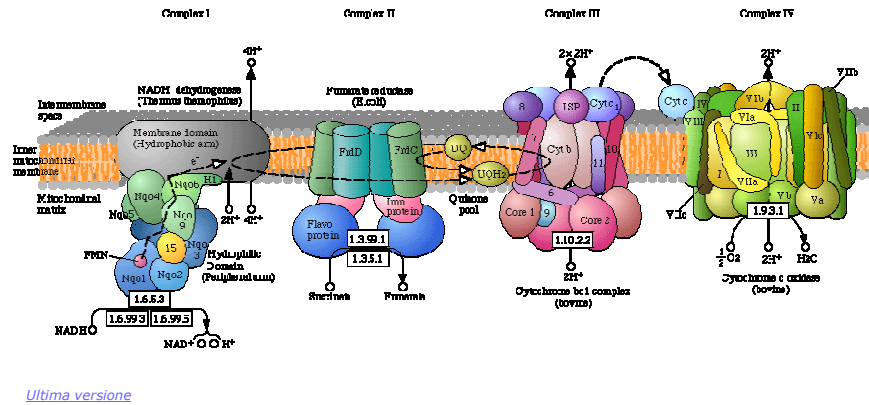
- Gli intermedi del ciclo di Krebs sono risintetizzati dalle reazioni anaplerotiche.
- La concentrazione degli intermedi nel ciclo rimane pressoché costante.
- La principale reazione anaplerotica è quella che porta alla produzione di ossalacetato da CO_2 e piruvato. La reazione è catalizzata dalla piruvato carbossilasi.
- La produzione di ossalacetato avviene principalmente nel rene e nel fegato.
- La piruvato carbossilasi è fortemente stimolata da acetil-CoA.



La catena respiratoria



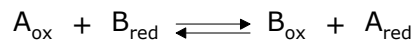
La catena respiratoria



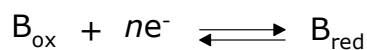
[Ultima versione](#)

Trasporto di elettroni

- In una reazione di ossidoriduzione

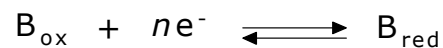
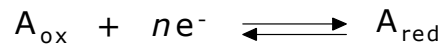


- A_{ox} è la forma ossidata di A (ossidante)
- B_{red} è la forma ridotta di B (riducente).
- Per questo trasferimento di elettroni si possono considerare le reazioni di semicella:



Trasporto di elettroni

- Per ogni semireazione vale



- quando $[A_{\text{red}}] = [A_{\text{ox}}]$, $E = E^{\circ'}$
- $E^{\circ'}$ è il potenziale redox di semireazione, è il potenziale quando la concentrazione delle specie ossidate e ridotte sono uguali.

$$E = E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Specie ridotta}]}{[\text{Specie ossidata}]}$$

Trasporto di elettroni

- Per un trasferimento di elettroni:

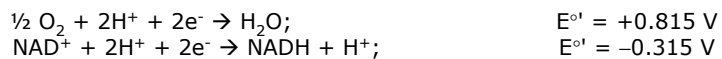
$$\Delta E^{\circ'} = E^{\circ'}_{\text{(ossidante)}} - E^{\circ'}_{\text{(riducente)}} = E^{\circ'}_{\text{(accettore)}} - E^{\circ'}_{\text{(donatore)}}$$

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

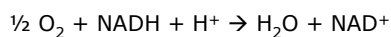
- Un trasferimento di elettroni è spontaneo (ΔG negativo) se il potenziale ($E^{\circ'}$) del donatore è più negativo del potenziale ($E^{\circ'}$) dell'accettore.
- Se $\Delta E^{\circ'}$ è positivo la reazione è spontanea.

Trasporto di elettroni

- Consideriamo il trasferimento di due elettroni dal NADH all'ossigeno:



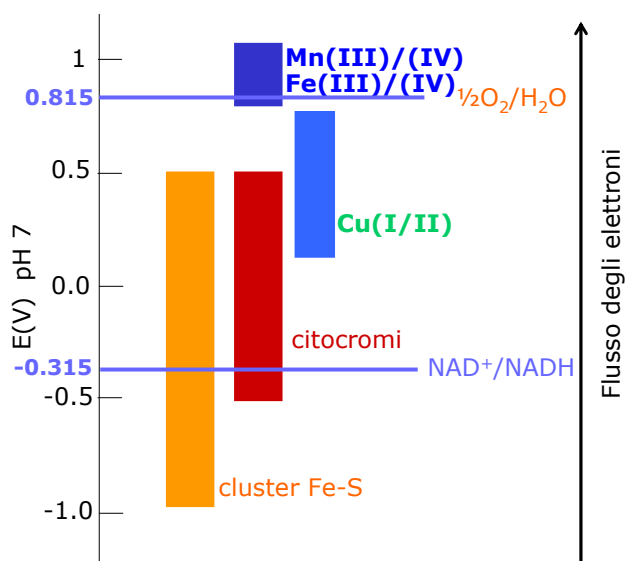
- Sottraendo la seconda dalla prima:



$$\Delta E^{\circ'} = +1.13 \text{ V}$$

$$\Delta G = -nF\Delta E^{\circ'} = -2(96494)(1.13) = -218 \text{ kJ/mol}$$

Potenziale



Personaggi:

- I trasportatori di elettroni:
 - Nucleotidi:
 - NAD^+/NADH ,
 - $\text{FAD}/\text{FADH}^+/\text{FADH}_2$,
 - $\text{FMN}/\text{FMNH}^+/\text{FMNH}_2$
 - Trasportatori mobili:
 - Coenzima Q,
 - Citocromo c
 - Composti ionici:
 - $\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$ nei:
 - citocromi a, b, c e
 - nei centri ferro-zolfo

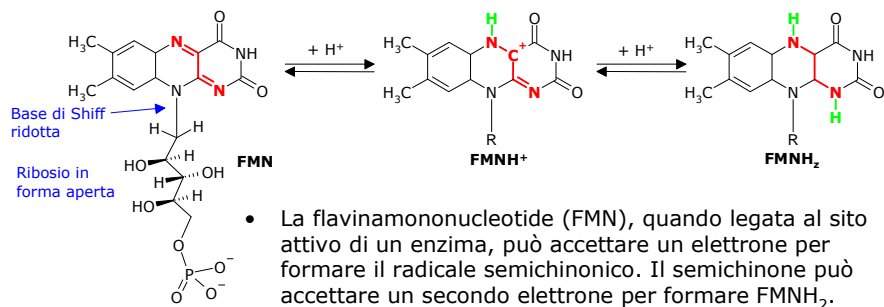
Personaggi:

- Complessi enzimatici:
 - Complesso I:
 - NADH-CoenzimaQ ossidoreduttasi (EC 1.6.5.3)
 - Complesso II:
 - Succinato-CoQ reduttasi ossidoreduttasi (EC 1.3.5.1)
 - Complesso III:
 - CoQ-cyt c reduttasi ossidoreduttasi (EC EC 1.10.2.2)
 - Complesso IV:
 - Citocromo ossidasi (EC 1.9.3.1)
 - Complesso V: ATP sintasi

Trasportatori di elettroni

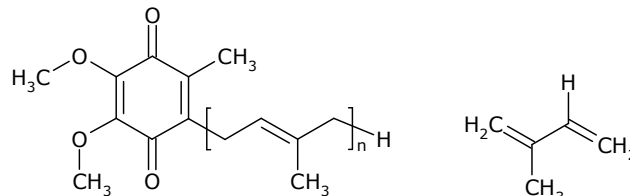
- Delle coppie NAD^+/NADH e FAD/FADH_2 abbiamo già visto.
- FMN (Flavin MonoNucleotide) è il gruppo prostetico di alcune flavo proteine.
- La struttura è simile al FAD, ma manca la parte adeninucleotidica.
- In soluzione il FMN (come il FAD) può accettare due elettroni e due H^+ per formare FMNH_2 .

Trasportatori di elettroni: FMN



- La flavinamonnucleotide (FMN), quando legata al sito attivo di un enzima, può accettare un elettrone per formare il radicale semichinonico. Il semichinone può accettare un secondo elettrone per formare FMNH_2 .
- Poiché può accettare o donare uno o due elettroni, FMN ha un ruolo importante per trasferire elettroni tra trasportatori che portano due elettroni (NADH) e quelli che ne possono accettare uno solo (Fe^{+++}).

Trasportatori di elettroni: Coenzima Q



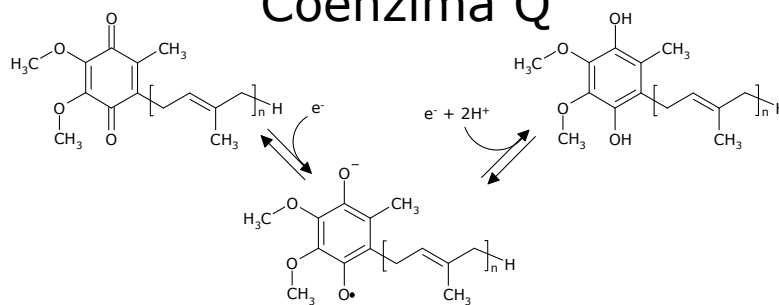
- Il Coenzima Q (CoQ, Q, ubiquinone) è un trasportatore di elettroni idrofobico.
- È immerso nella membrana
- La struttura del CoQ comprende una lunga coda isoprenoide ($n = 10$) che è responsabile dell'idrofobicità.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

275

Trasportatori di elettroni: Coenzima Q



- Quando è legato al proprio sito il CoQ può accettare un e^- per formare un radicale semichinone ($Q^{\cdot-}$).
- Quindi il CoQ, come FMN, può trasferire uno o due e^- fra donatori e accettori.
- Il CoQ funziona come un trasportatore mobile di e^- all'interno della membrana interna mitocondriale.

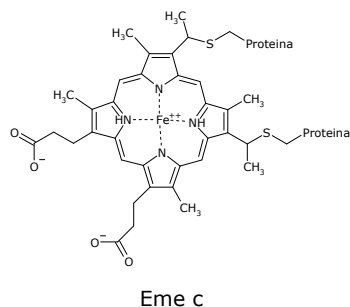
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

276

Trasportatori di elettroni: gruppo Eme

- Il gruppo eme è il gruppo prostetico dei citocromi.
- Contiene uno ione Ferro coordinato con quattro atomi di azoto di un anello porfirinico.
- Nelle tre classi di citocromi (a, b, c) il gruppo eme si differenzia leggermente per i sostituenti dell'anello porfirinico
- Sono comuni le due catene di propionato
- Solo il gruppo eme c è legato covalentemente alla proteina attraverso legami tioestere con residui Cys.

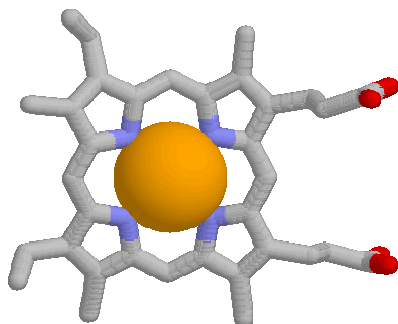


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

277

Trasportatori di elettroni: gruppo Eme



- Lo ione Ferro nel gruppo eme può subire reazioni di ossidoriduzioni con un elettrone tra lo stato ferroso (Fe^{++}) e ferrico (Fe^{+++}):



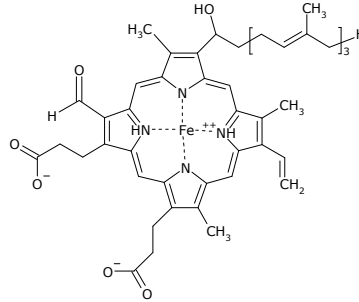
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

278

Trasportatori di elettroni: Gruppo Eme a

- Il gruppo eme a possiede una catena farnesilica (tre unità isoprenoidi) che ne conferiscono una certa idrofobicità.

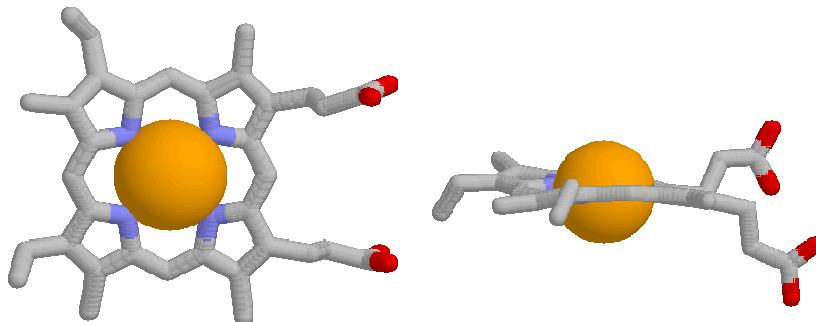


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

279

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c



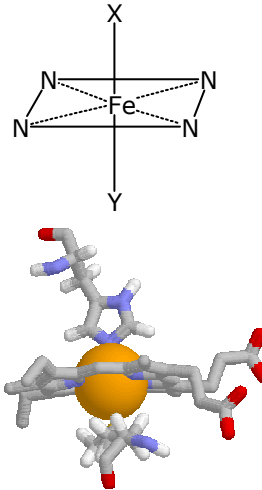
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

280

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



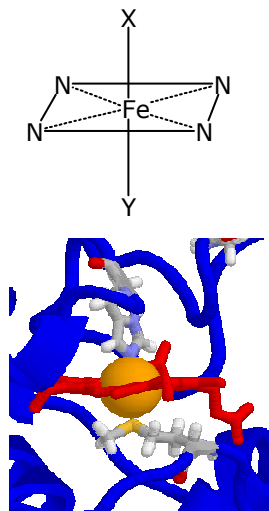
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

281

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



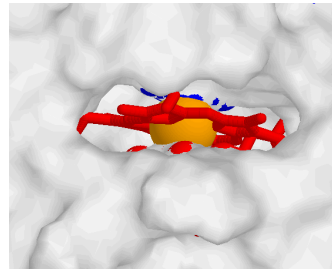
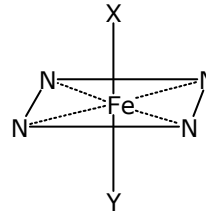
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

282

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



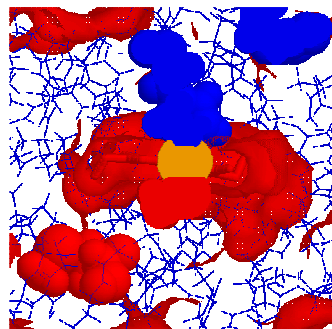
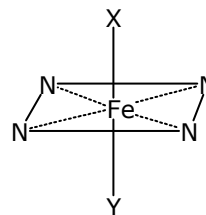
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

283

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



gs © 2001-2012 ver 0.3

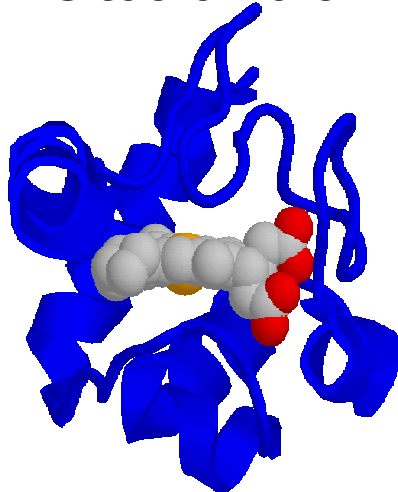
N00 - Richiamo di biochimica

284

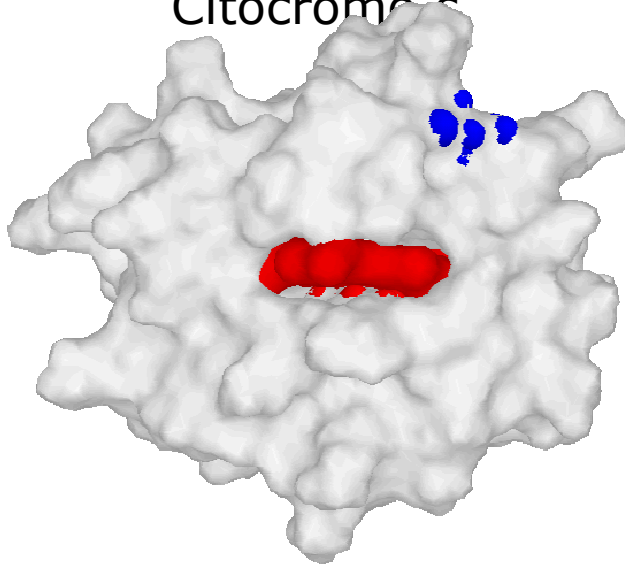
Trasportatori di elettroni: i citocromi

- I **citocromi** sono proteine che hanno un gruppo eme come gruppo prostetico e assorbono luce a lunghezze d'onda caratteristiche.
- Il loro assorbimento varia se il ferro è ossidato e ridotto, ciò permette di seguirne lo stato redox.
- Alcuni citocromi sono parte di proteine integrali di membrana che possiedono anche altri sistemi di trasporto degli elettroni.
- Il **citocromo c** è, invece, una piccola proteina solubile in acqua con singolo gruppo eme.

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



Trasportatori di elettroni: Citocromo c

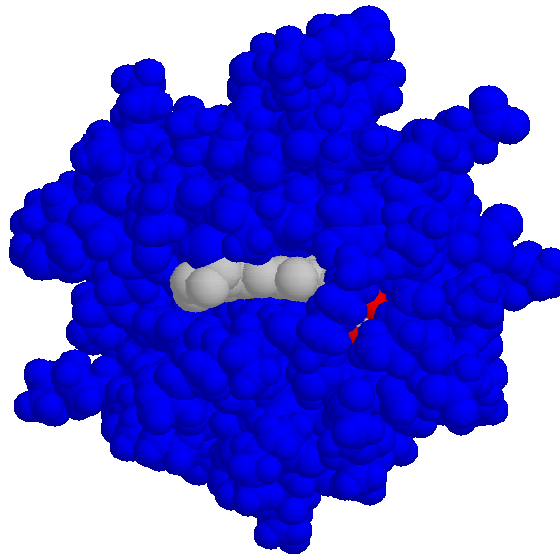


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

287

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



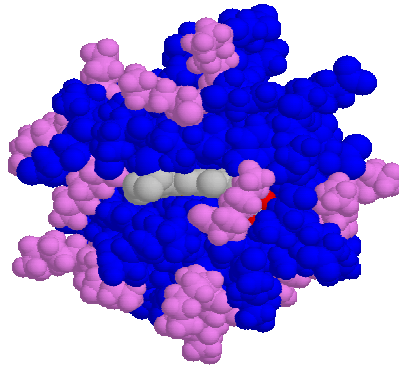
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

288

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

- I residui di Lys (in magenta), sono superficiali e carichi positivamente
- Circondano la tasca dove alloggia il gruppo eme.
- Interagiscono con le catene di propionato del gruppo eme (cariche negativamente).



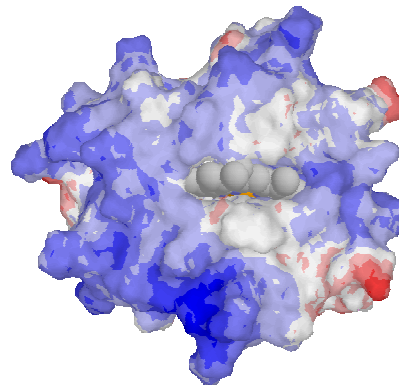
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

289

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

- I residui di Lys (in magenta), sono superficiali e carichi positivamente
- Circondano la tasca dove alloggia il gruppo eme.
- Interagiscono con le catene di propionato del gruppo eme (cariche negativamente).

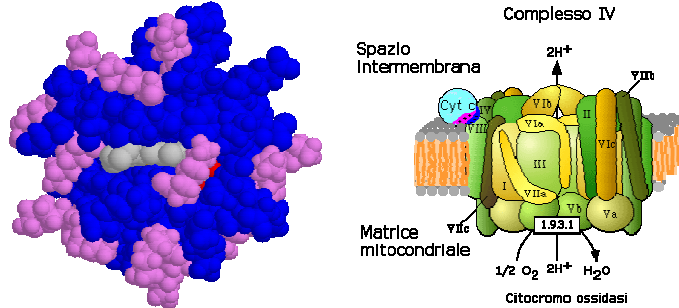


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

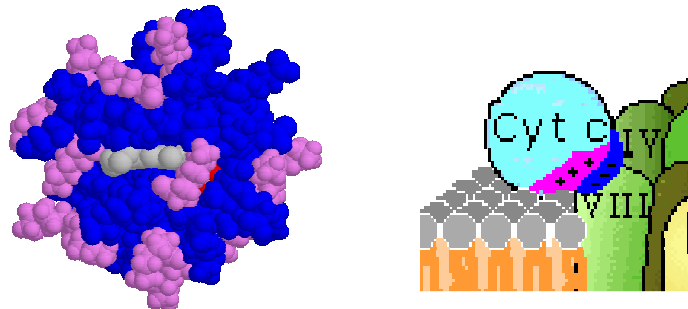
290

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

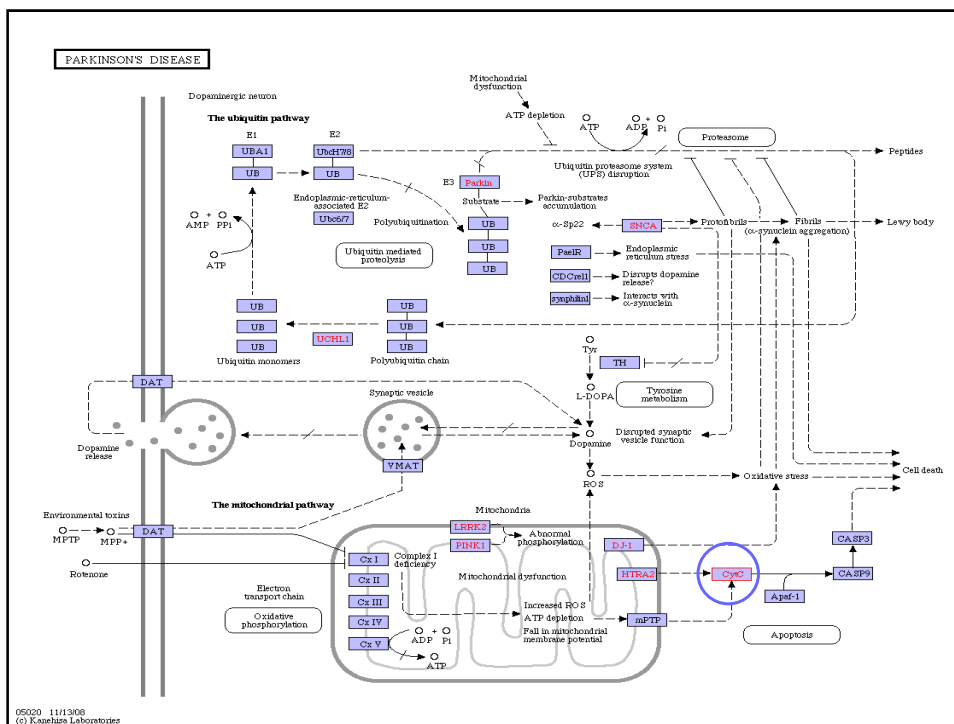
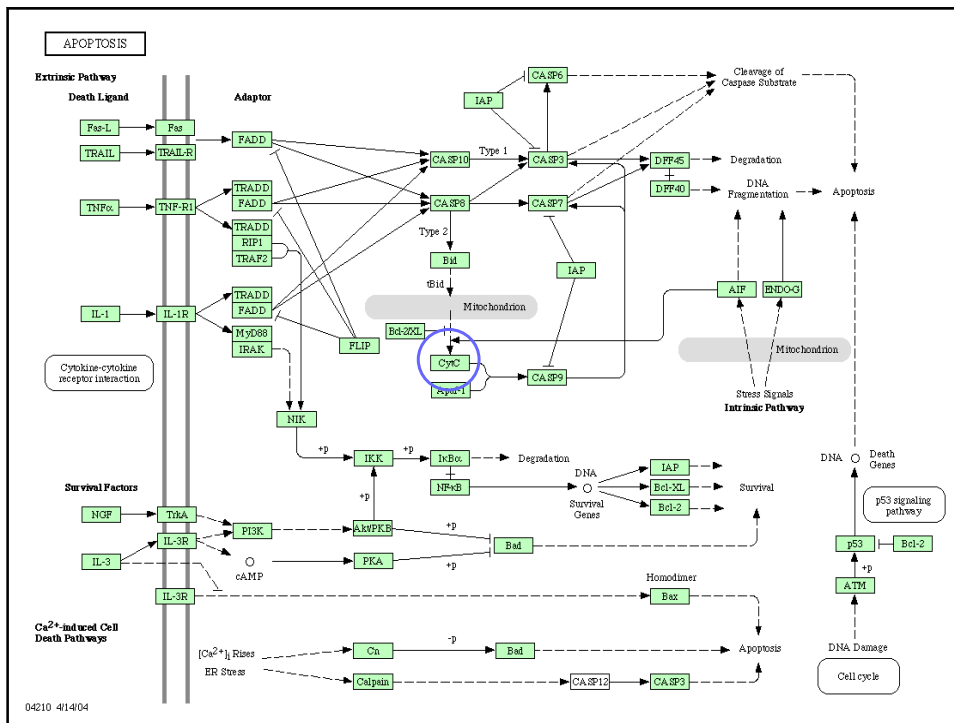


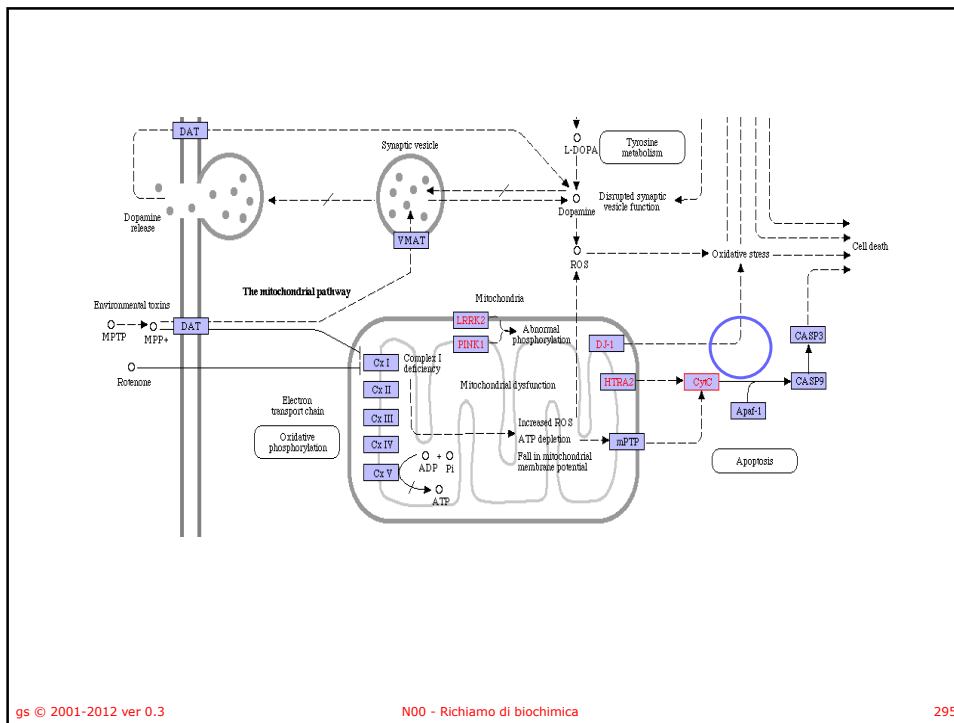
- I residui di Lys interagiscono con la superficie carica negativamente del complesso III che lega il Cyt c e dal quale riceve un elettrone.

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

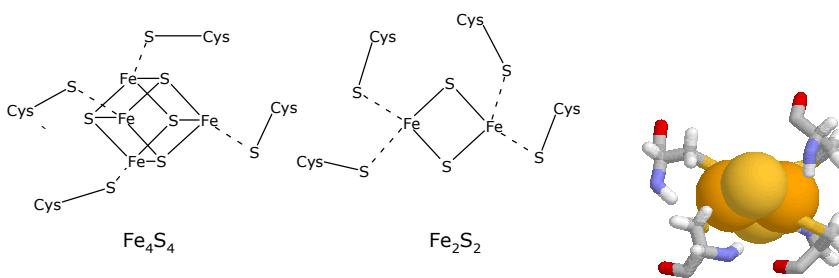


- I residui di Lys interagiscono con la superficie carica negativamente del complesso III che lega il Cyt c e dal quale riceve un elettrone.



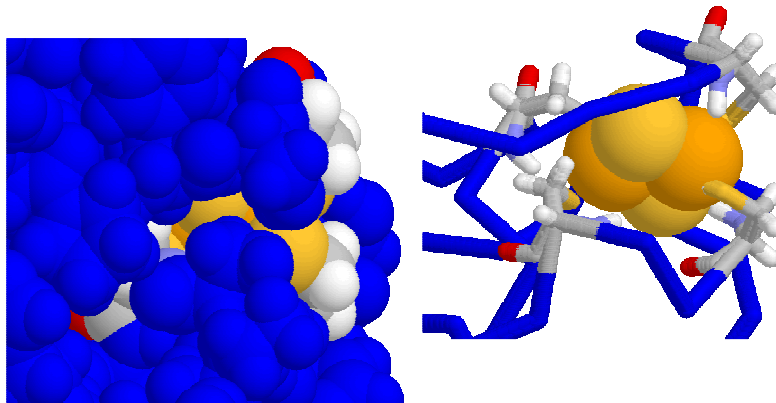


Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



- I centri ferro-zolfo (Fe-S) sono gruppi prostetici che contengono ione Fe (da uno a quattro) complessati con atomi di zolfo elementare o di Cys.
- Le proteine trasportatrici di elettroni possono contenere più centri Fe-S.

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



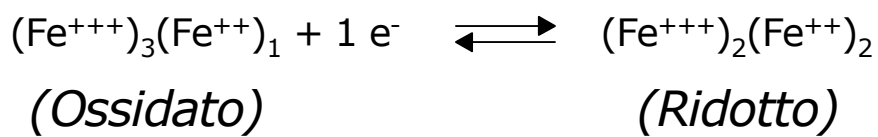
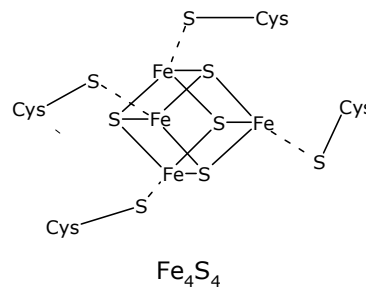
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

297

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S

- I centri Fe-S trasferiscono un solo elettrone per volta tra gli ioni Fe a causa della vicinanza degli ioni.
- Il numero di ossidazione del ferro varia da +3 a +2.

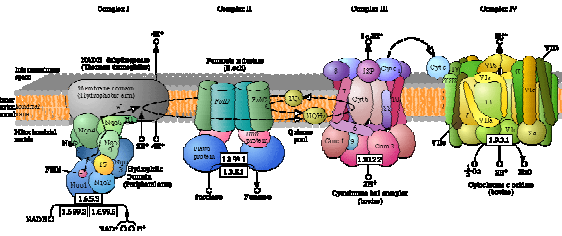
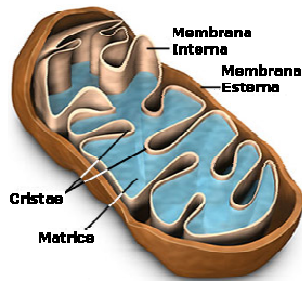


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

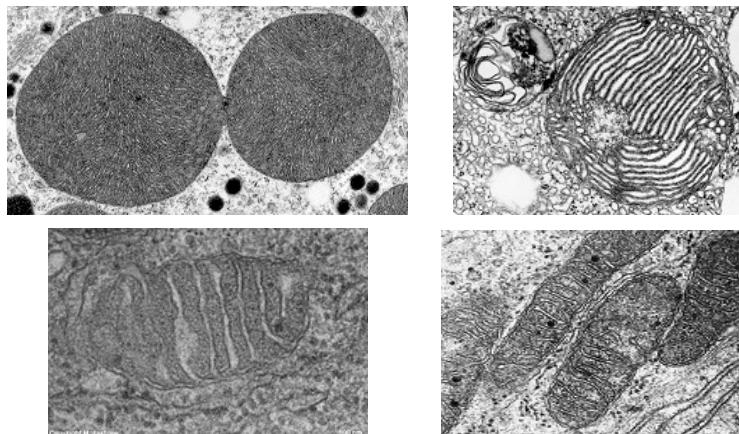
298

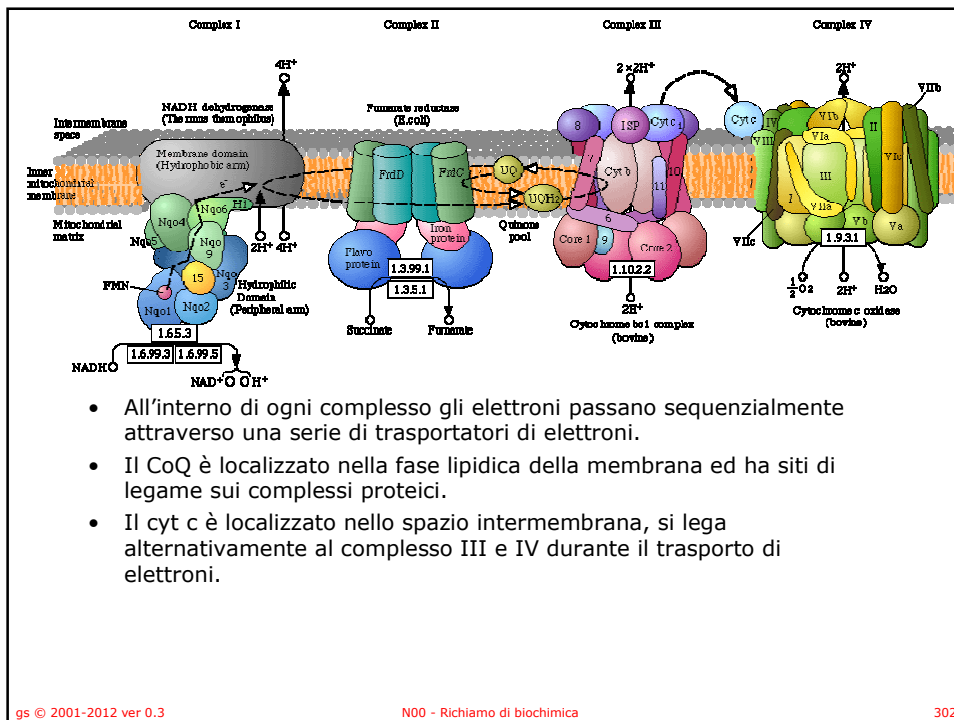
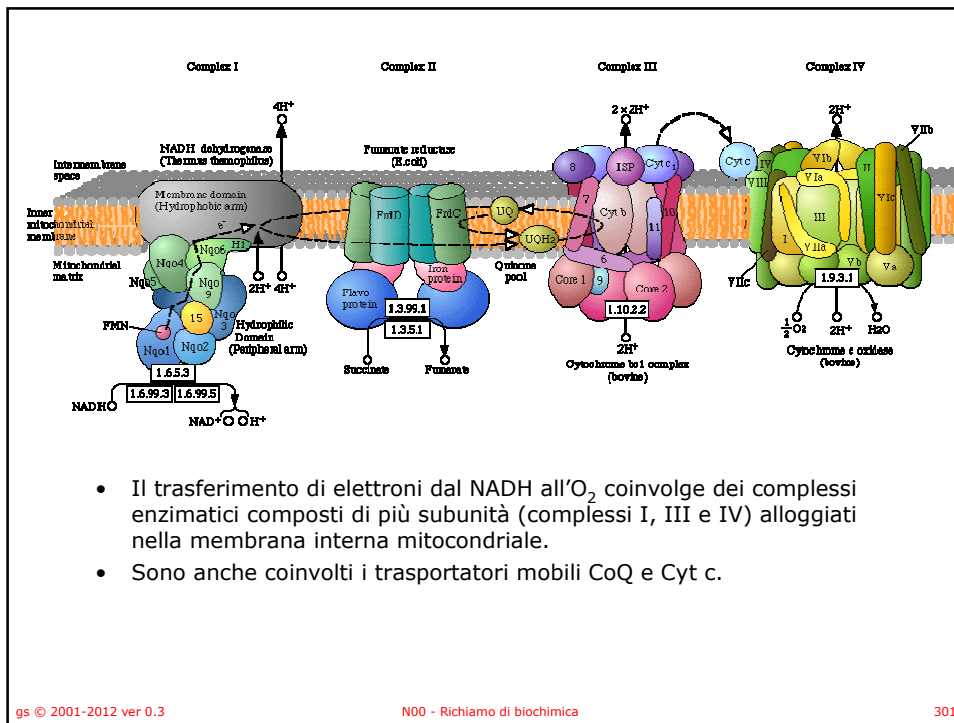
La catena respiratoria



- Molti componenti della catena respiratoria sono localizzati nella membrana interna mitocondriale (o nella membrana citoplasmatica dei batteri aerobi).
- La membrana interna mitocondriale è ripiegata a formare delle creste che aumentano la superficie.

I mitocondri





The diagram illustrates the mitochondrial electron transport chain embedded in a membrane. It shows four complexes: Complex I (NADH dehydrogenase), Complex II (Fumarate reductase), Complex III (Cytochrome bc1 complex), and Complex IV (Cytochrome c oxidase). Electrons from NADH enter at Complex I and pass through FMN, heme b, and heme c to ubiquinone (CoQ). From CoQ, electrons move to Complex III, then through cytochromes c and b to Complex IV, where they are used to reduce oxygen to water. Protons are pumped from the matrix to the intermembrane space at each complex. The diagram also shows the localization of ubiquinol (UQ) and ubiquinol (UQ) in the lipid phase of the membrane.

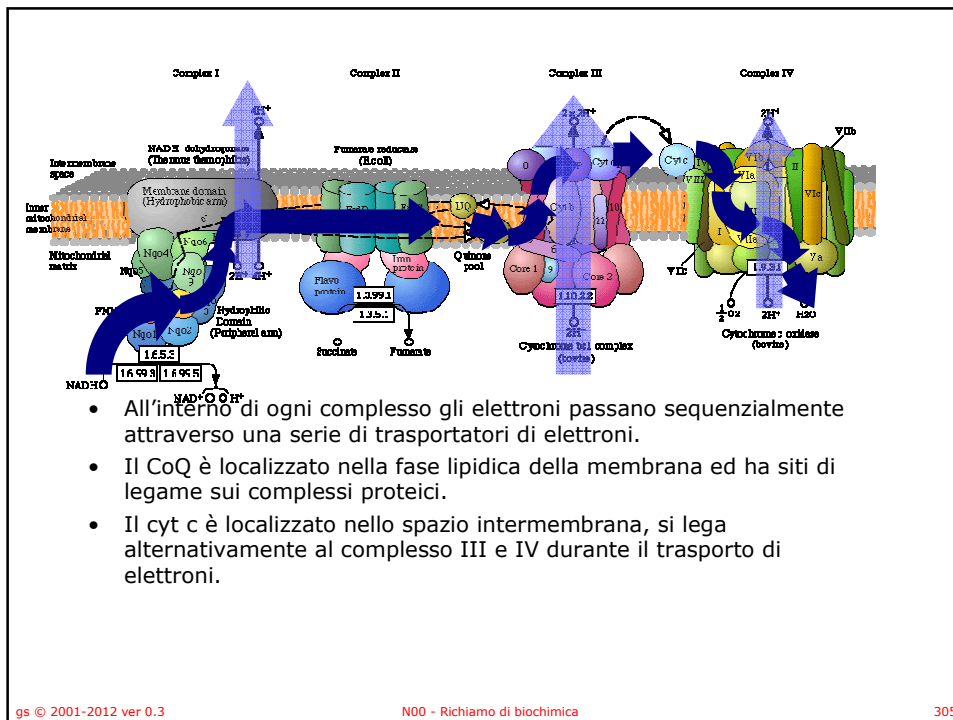
- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

gs © 2001-2012 ver 0.3 N00 - Richiamo di biochimica 303

This diagram is identical to the one above, but it includes blue arrows that trace the path of electrons from NADH through the various complexes and transporters (FMN, heme b, heme c, ubiquinone, cytochromes) to the final reduction of oxygen at Complex IV. The arrows show the sequential transfer of electrons through the chain.

- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

gs © 2001-2012 ver 0.3 N00 - Richiamo di biochimica 304



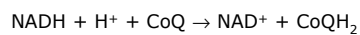
- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

I complessi

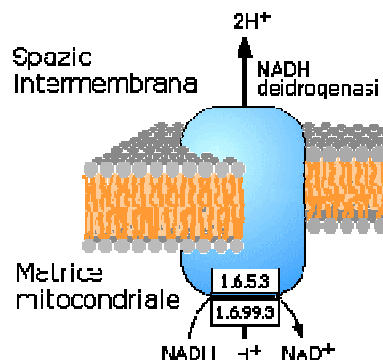
Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I	NADH deidrogenasi (EC 1.6.5.3)	46	FMN, 7 Fe-S
II	Succinato-CoQ reduttasi (EC 1.3.5.1)	5	FAD, cyt b ₅₆₀ , 3 Fe-S
III	CoQ-cyt c reduttasi (EC 1.10.2.2)	11	cyt b _H , cyt b _L , cyt c ₁ , Fe-S _{Rieske}
IV	Citocromo ossidasi (EC 1.9.3.1)	13	cyt a, cyt a ₃ , Cu _A , Cu _B

Complesso I

- Il Complesso I catalizza l'ossidazione del NADH con riduzione del CoQ:



- La struttura ad alta risoluzione non è ancora disponibile, si ha una struttura al microscopio elettronico.
- Il complesso ha forma di L.



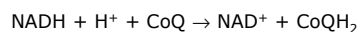
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

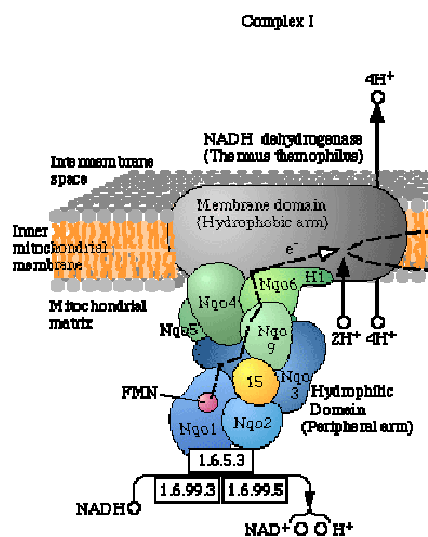
307

Complesso I

- Il Complesso I catalizza l'ossidazione del NADH con riduzione del CoQ:



- La struttura ad alta risoluzione non è ancora disponibile, si ha una struttura al microscopio elettronico.
- Il complesso ha forma di L.

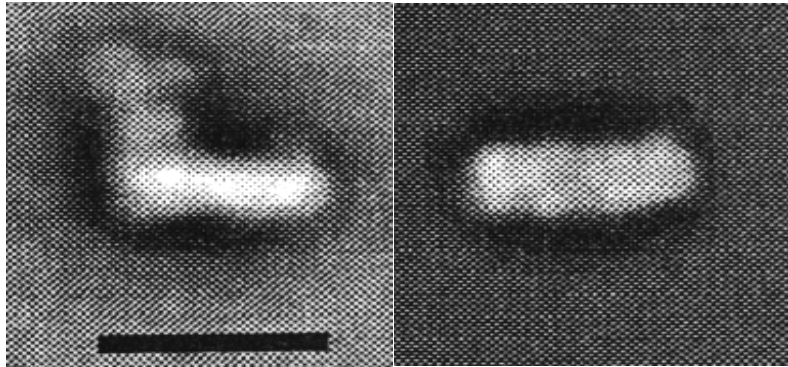


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

308

Complesso I



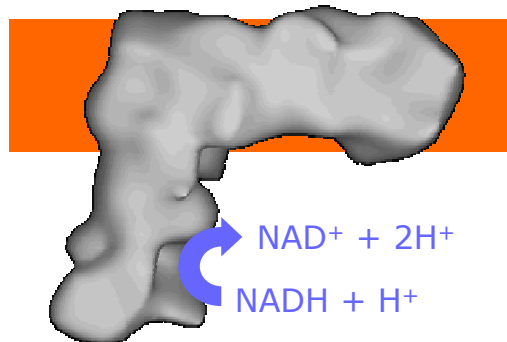
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

309

Complesso I

- Il dominio dove si lega il NADH protrude nella matrice mitocondriale.
- Il CoQ si lega nel dominio di membrana.
- I centri Fe-S sono localizzati nel dominio che lega il NADH e nel dominio che lo connette alla membrana.

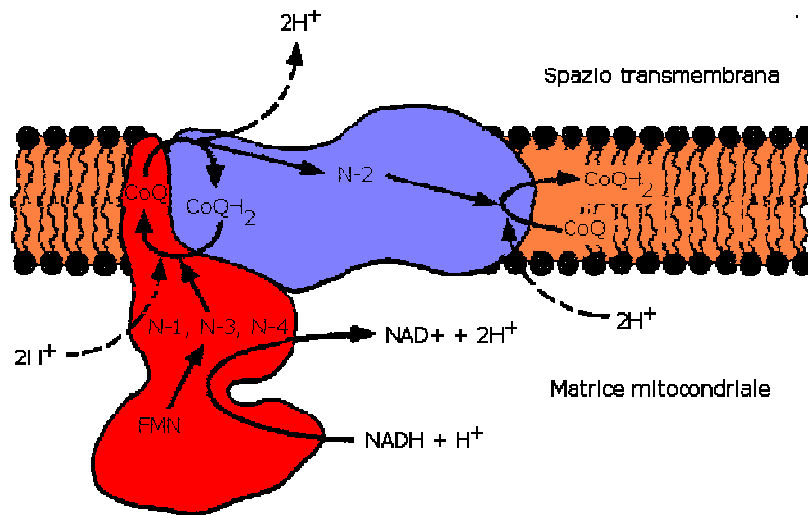


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

310

Complesso I



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

311

Complesso I

- I trasferimenti di elettroni dal NADH sono:

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{FMN} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{FMNH}_2$$

$$\text{FMNH}_2 + (\text{Fe-S})_{\text{ox}} \rightarrow \text{FMNH}\cdot + (\text{Fe-S})_{\text{red}} + \text{H}^+$$
- Dopo che il centro Fe-S è riossidato per trasferimento di un elettrone al successivo, può accettare il secondo elettrone dal FMNH[•] :

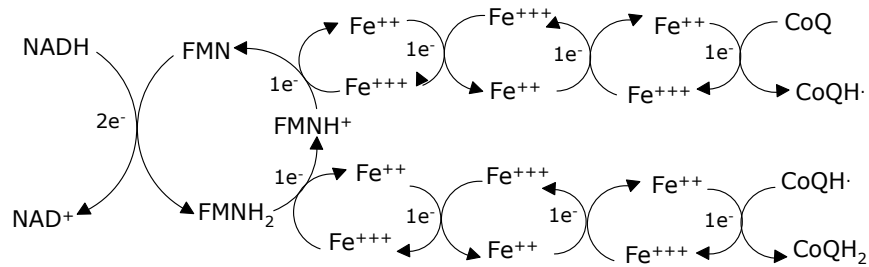
$$\text{FMNH}\cdot + (\text{Fe-S})_{\text{ox}} \rightarrow \text{FMN} + (\text{Fe-S})_{\text{red}} + \text{H}^+$$
- Gli elettroni passano da una serie di centri Fe-S fino al CoQ.
- Il CoQ accetta 2 e⁻ e preleva 2 H⁺ per formare il CoQH₂ completamente ridotto.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

312

Complesso I

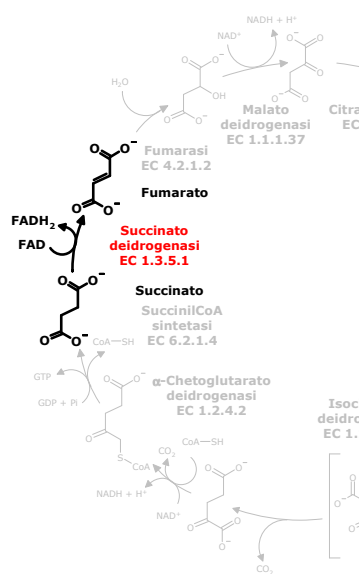


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

313

Complesso II



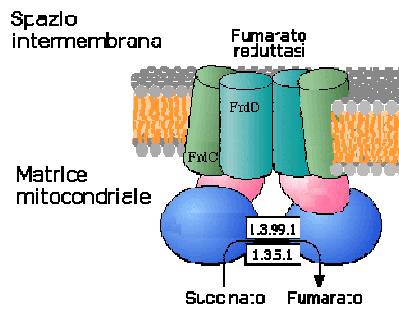
- La succinato deidrogenasi del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ riduttasi.
- Il FAD è il recettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH₂ durante l'ossidazione del succinato a fumarato.
- Il FADH₂ è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre CoQH₂.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

314

Complesso II



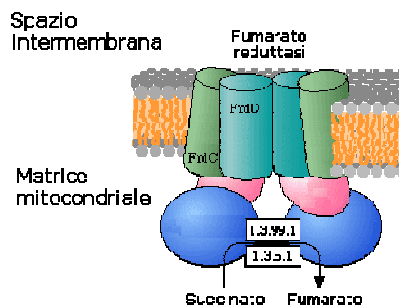
- La succinato deidrogenasi (fumarato riduttasi) del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ riduttasi.
- Il FAD è l'accettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH_2 durante l'ossidazione del succinato a fumarato.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

315

Complesso II

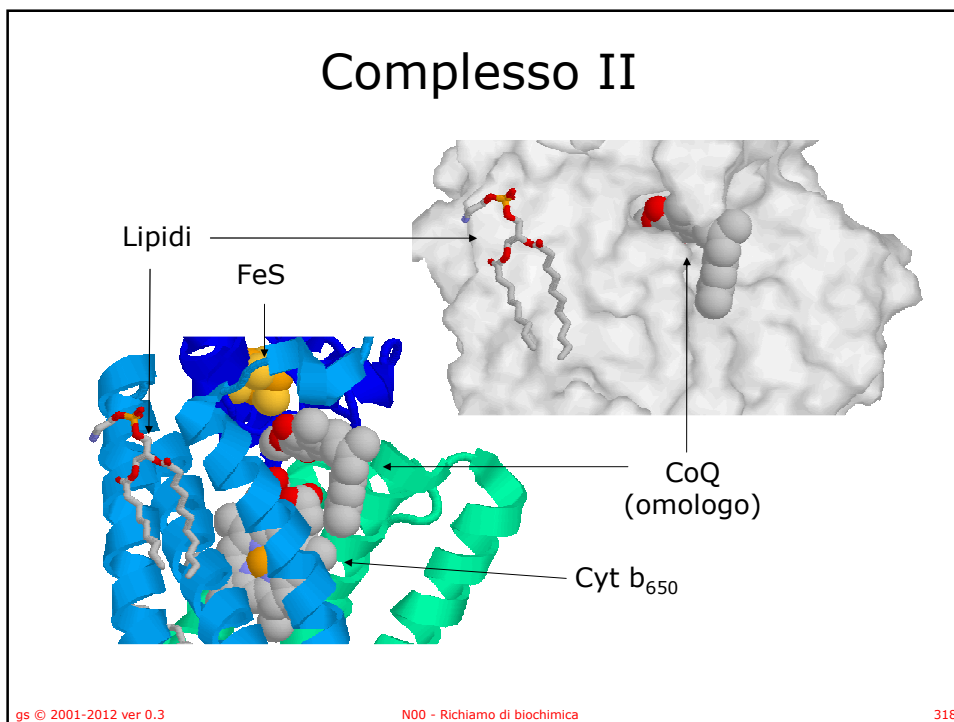
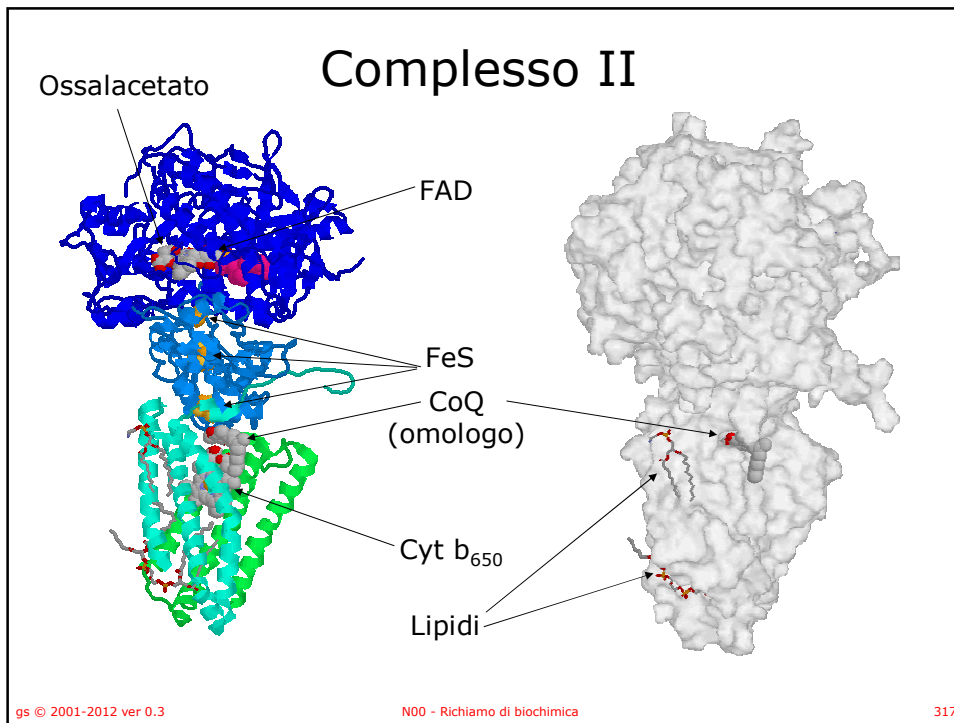


- Il FADH_2 è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre CoQH_2 .
- Contrariamente agli altri tre complessi della catena respiratoria il complesso II NON trasporta H^+ tra la matrice e lo spazio intermembrana.

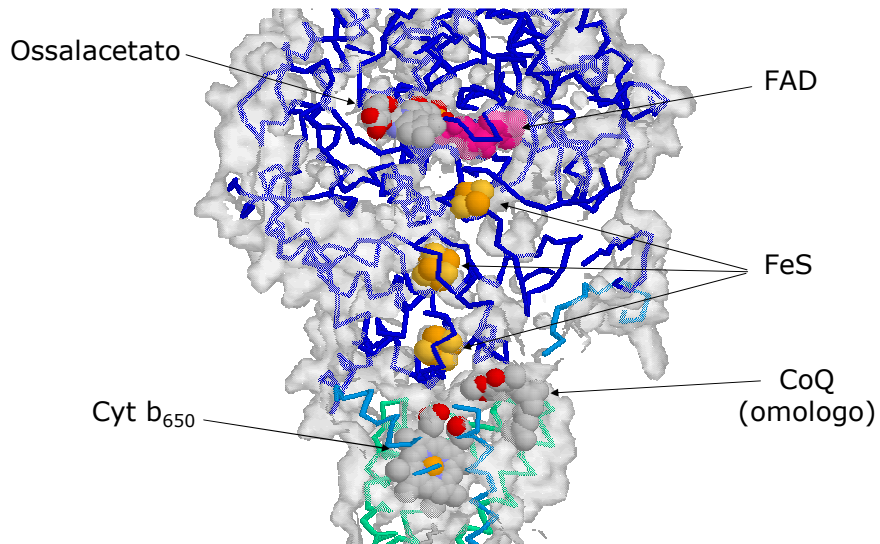
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

316



Complesso II

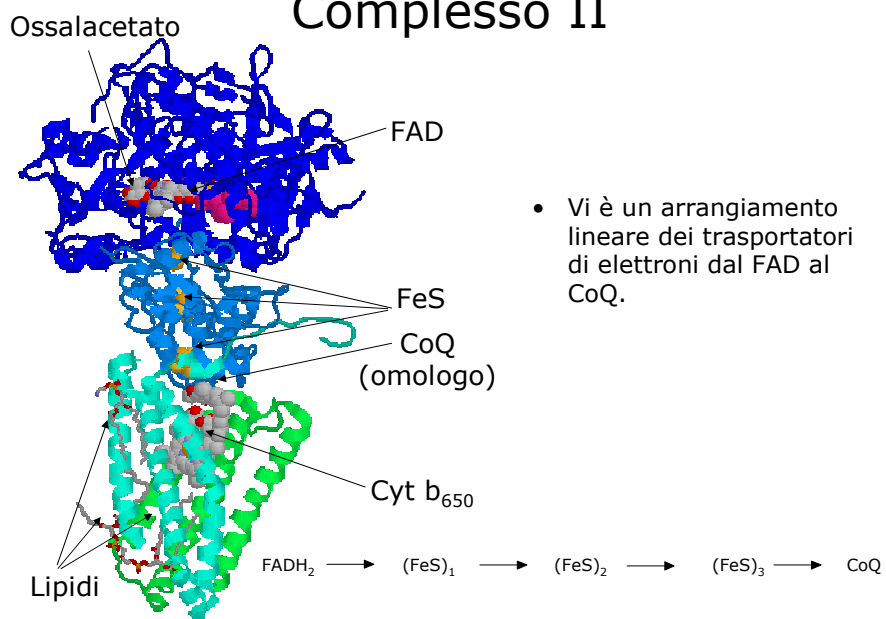


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

319

Complesso II

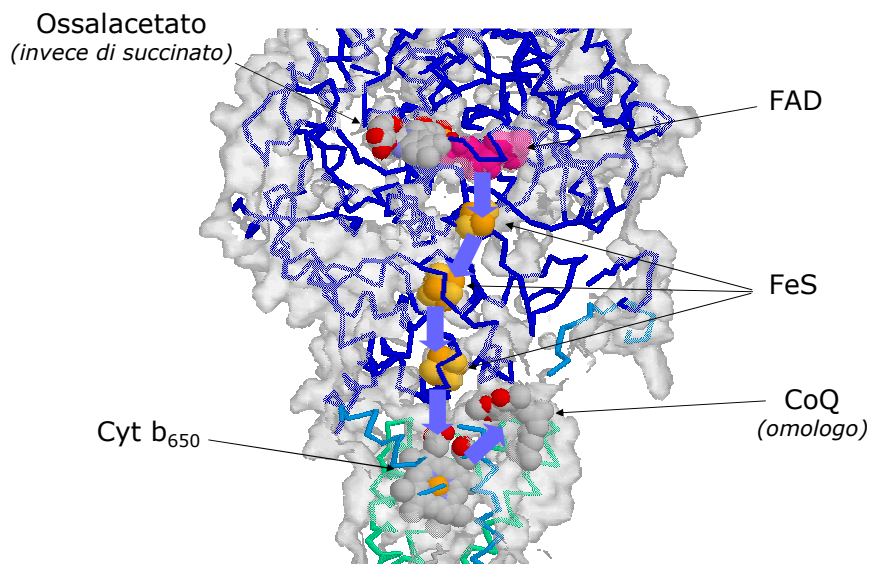


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

320

Complesso II

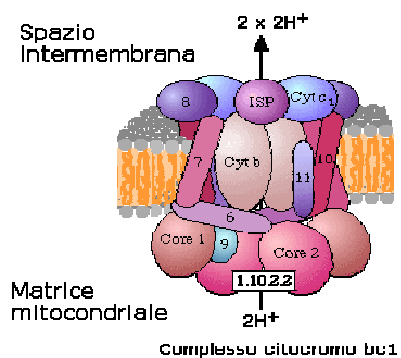


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

321

Complesso III



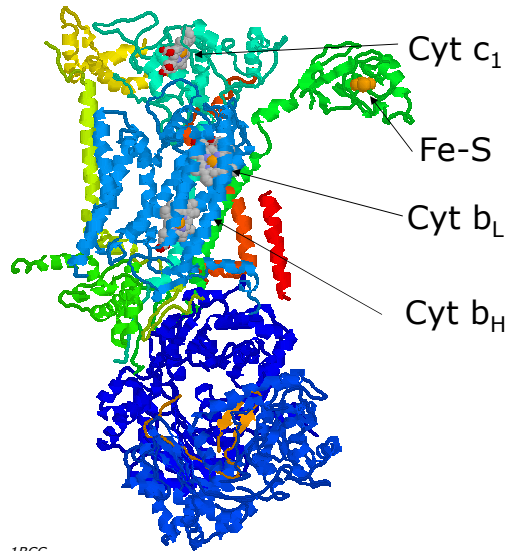
- Complesso citocromo bc₁
- Il complesso III accetta elettroni dal CoQH₂ generato a livello dei complessi I e II.
- Il trasporto dei H⁺ nel complesso III coinvolge il CoQ.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

322

Complesso III



- Ha:
 - un sito di legame del CoQH_2
 - un sito di legame del CoQ
- Gruppi prostetici:
 - Una coppia di citocromi b (cit b_H e cit b_L)
 - Un citocromo c (cit c_1)
 - Un centro Ferro Zolfo (Fe_2S_2)

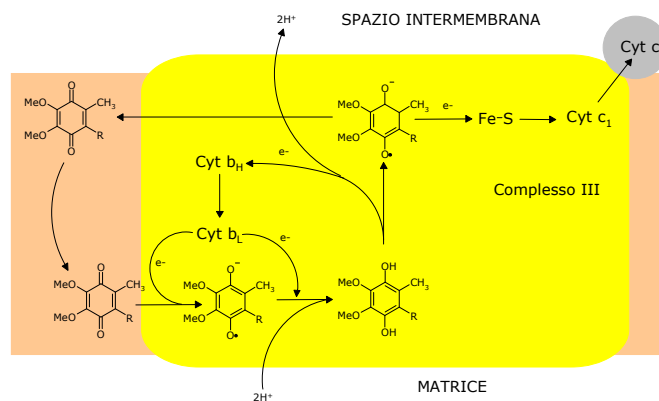
1BCC

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

323

Q cycle



- Il "Q cycle" è il meccanismo con il quale avviene la ossidoriduzione del CoQ e dipende da:
 - La mobilità del CoQ nella membrana
 - L'esistenza di un sito di legame che stabilizza il radicale semichinonico $\text{CoQ}^{\cdot-}$.

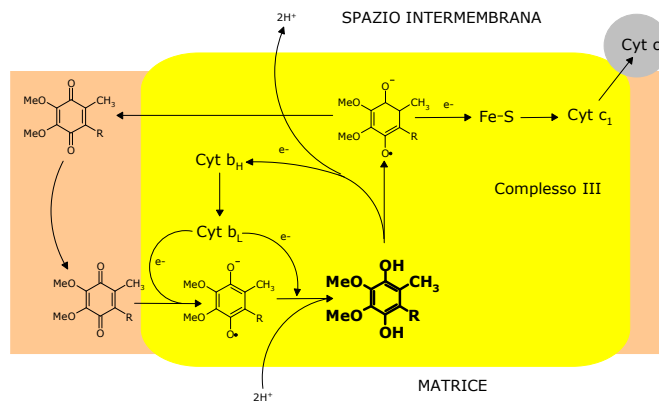
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

324

Q cycle

1



- Il CoQH₂ è legato al proprio sito nella proteina.

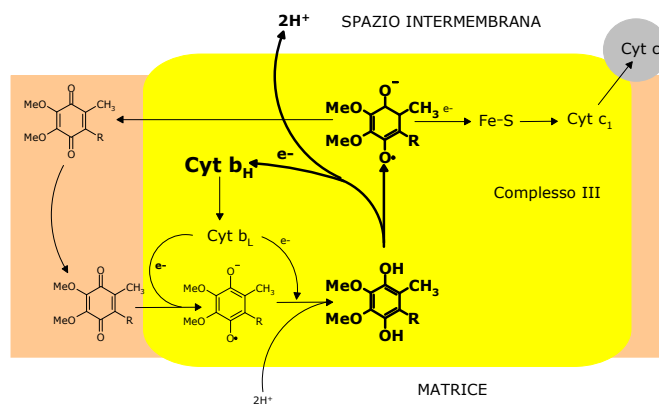
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

325

Q cycle

2



- Il CoQH₂ cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ dell'eme b_L
- Si forma il semichinone carico negativamente
- 2 H⁺ sono rilasciati nello spazio intermembrana.

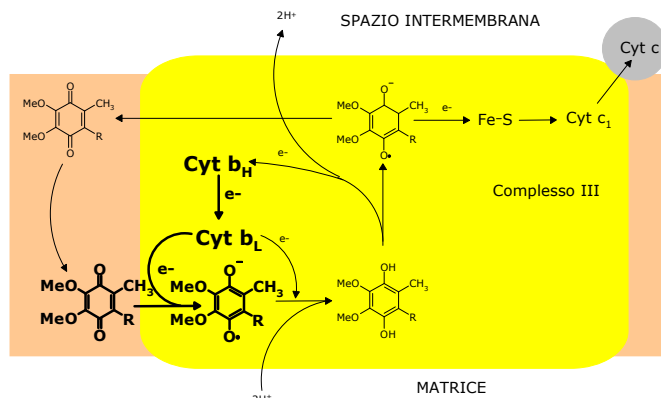
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

326

Q cycle

3a



- Un e^- passa dal Fe^{++} del gruppo eme b_H al Fe^{+++} del gruppo eme b_L .
- L' e^- va quindi a ridurre un CoQ ossidato (proveniente dal pool dei chinoni) a semichinone

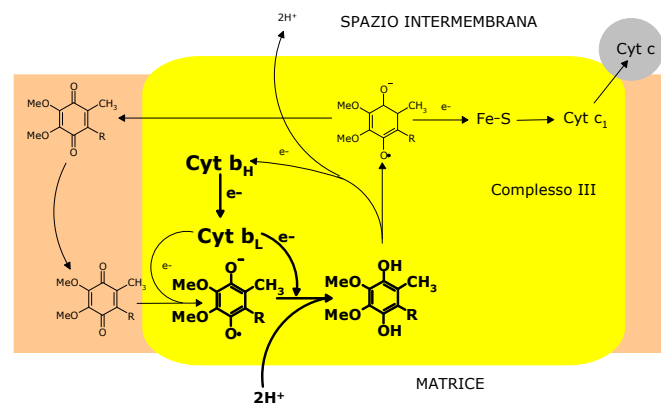
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

327

Q cycle

3b



- Un e^- passa dal Fe^{++} del gruppo eme b_H al Fe^{+++} del gruppo eme b_L .
- In alternativa (secondo le necessità) l' e^- va quindi a ridurre un CoQ^- per riformare il $CoQH_2$ con due H^+ provenienti dalla matrice.

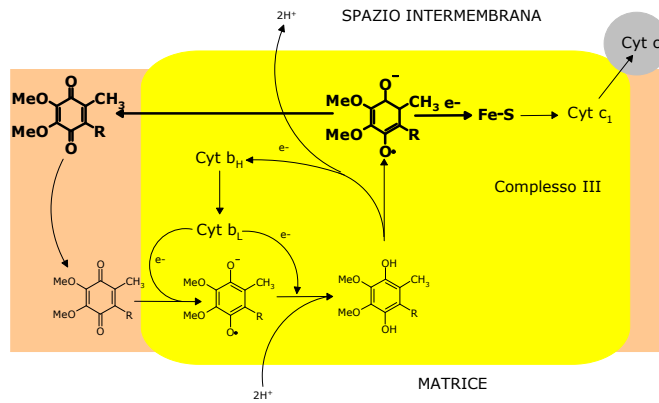
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

328

Q cycle

4



- Il CoQ^{•-}, formato per semiossidazione al passo 2, cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del complesso Fe-S.
- Si forma il CoQ ossidato che va a confluire nel pool.

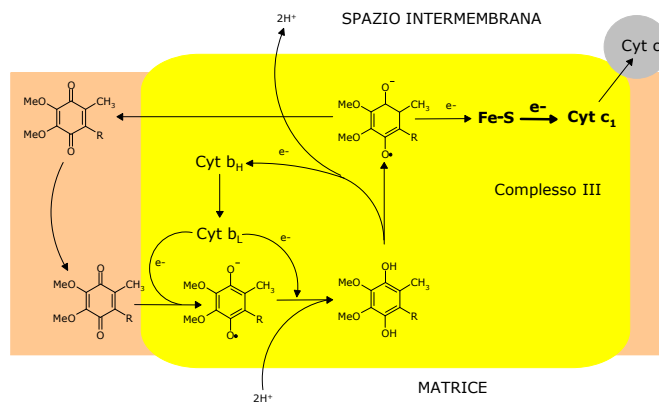
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

329

Q cycle

5



- Il Fe⁺⁺ del complesso Fe-S cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del cit c₁ legato alla proteina.

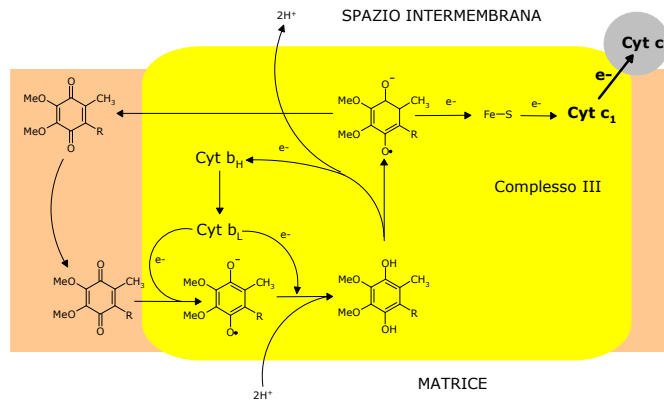
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

330

Q cycle

6



- Il Fe²⁺ del cit c₁ legato alla proteina cede un e⁻ al Fe³⁺ del cit c mobile.

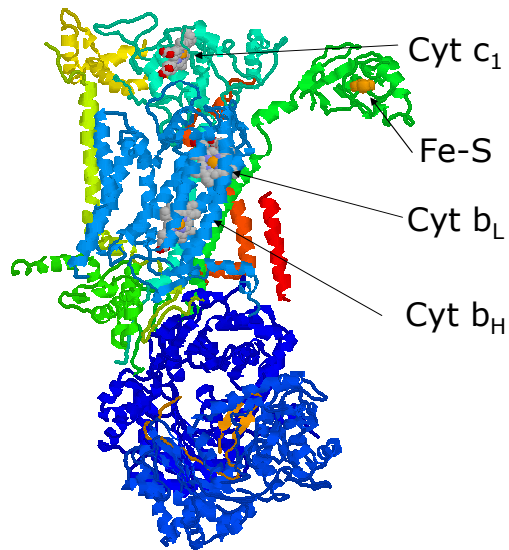
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

331

Compleso III

- Il centro Fe-S (Rieske) è legato al resto del complesso attraverso un braccio flessibile che cambia di posizione durante il trasferimento di elettroni.
- Il centro Fe-S estrae un e⁻ dal CoQ^{•-}, si muove vicino al gruppo eme c₁ al quale trasferisce l'elettrone.



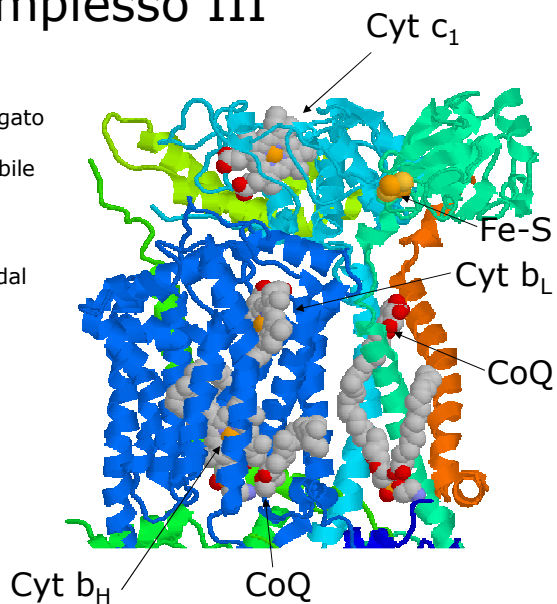
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

332

Complesso III

- Il centro Fe-S (Rieske) è legato al resto del complesso attraverso un braccio flessibile che cambia di posizione durante il trasferimento di elettroni.
- Il centro Fe-S estrae un e^- dal CoQ^- , si muove vicino al gruppo eme c_1 al quale trasferisce l'elettrone.



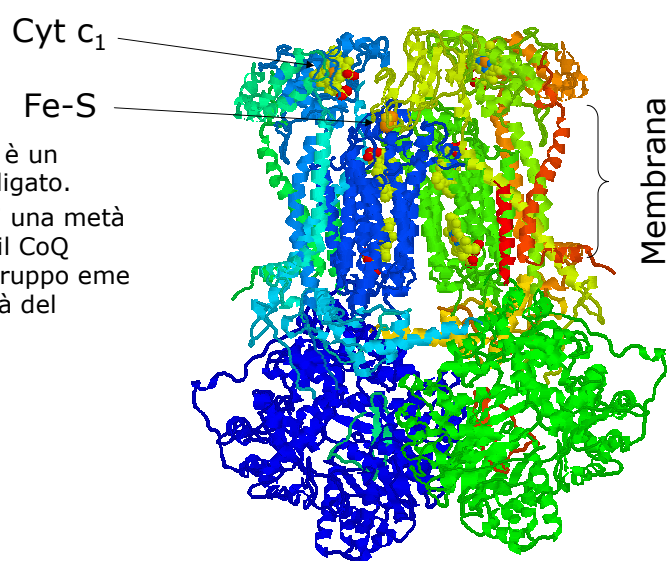
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

333

Complesso III

- Il complesso III è un omodimero obbligato.
- Il centro Fe-S di una metà interagisce con il CoQ legato e con il gruppo eme c_1 nell'altra metà del dimero.

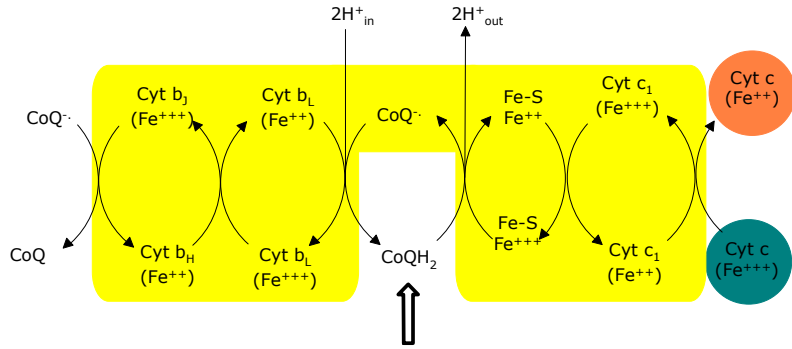


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

334

Complesso III

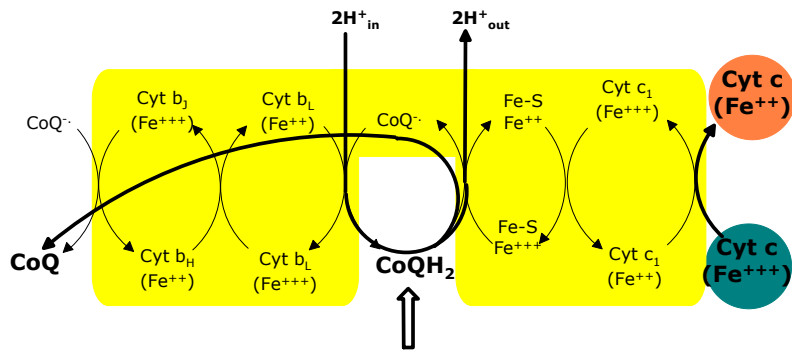


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

335

Complesso III

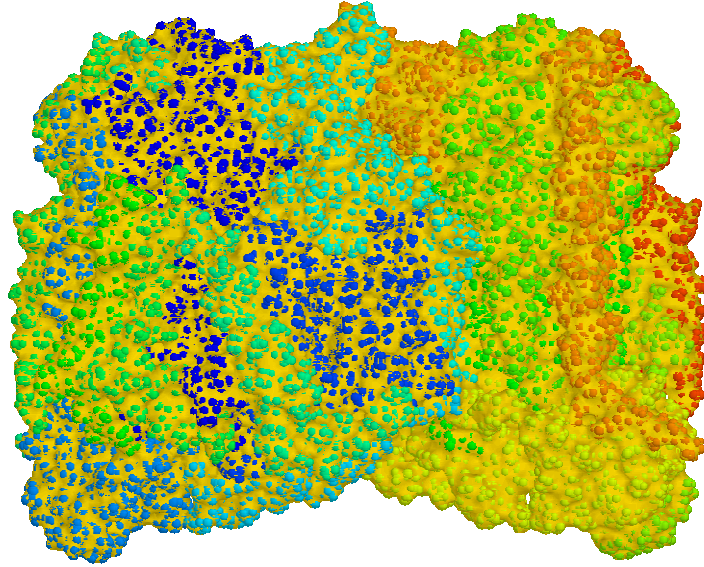


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

336

Complesso IV



gs © 2001-2012 ver 0.3

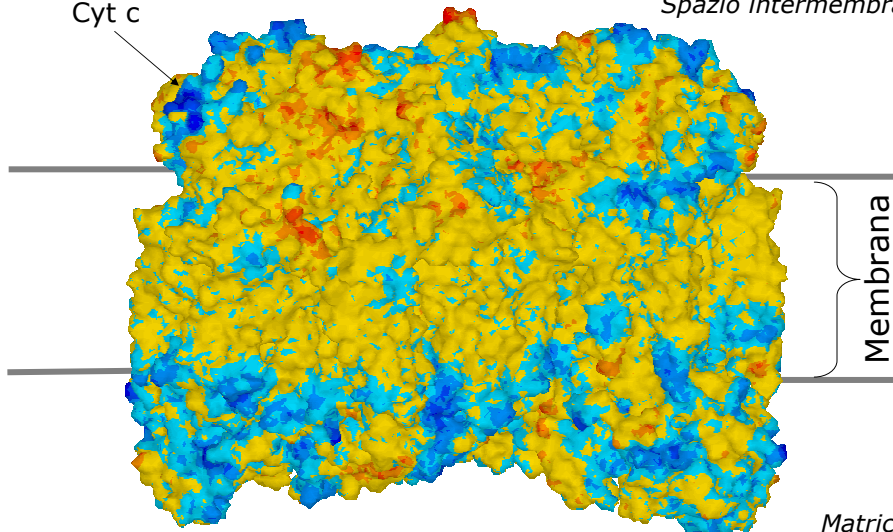
N00 - Richiamo di biochimica

339

Complesso IV

Ancoraggio
Cyt c

Spazio intermembrana

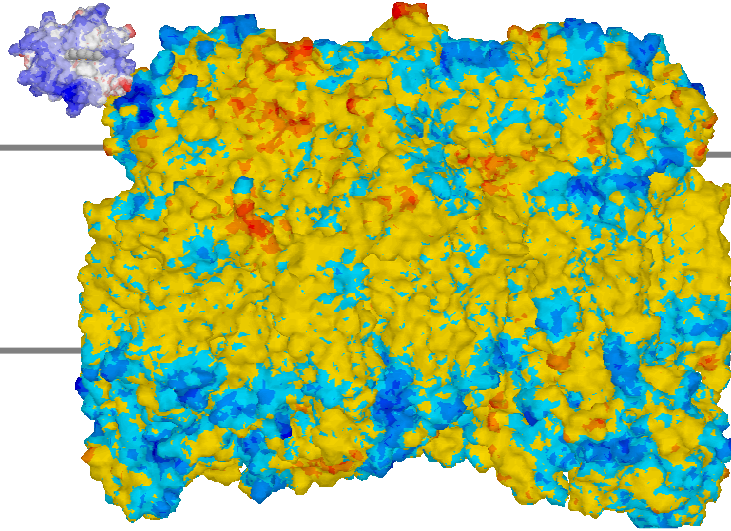


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

340

Complesso IV

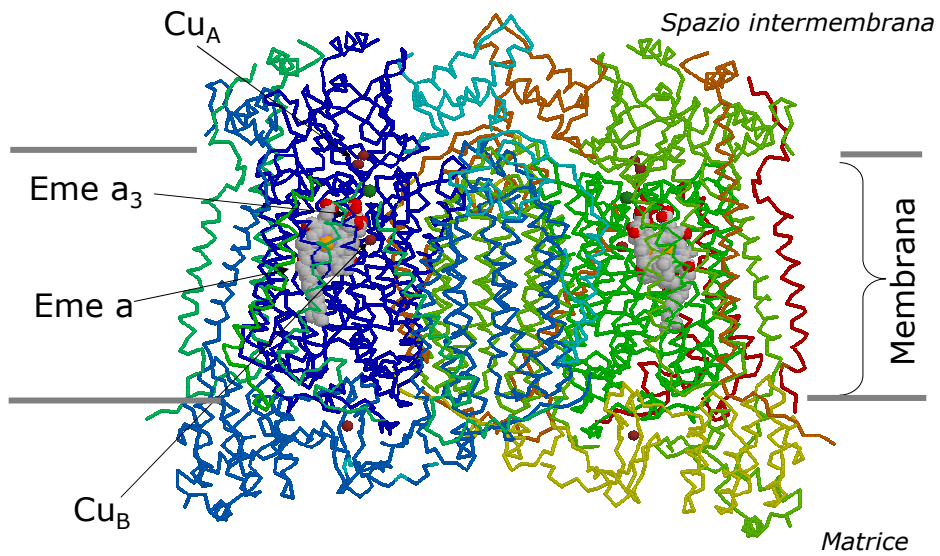


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

341

Complesso IV

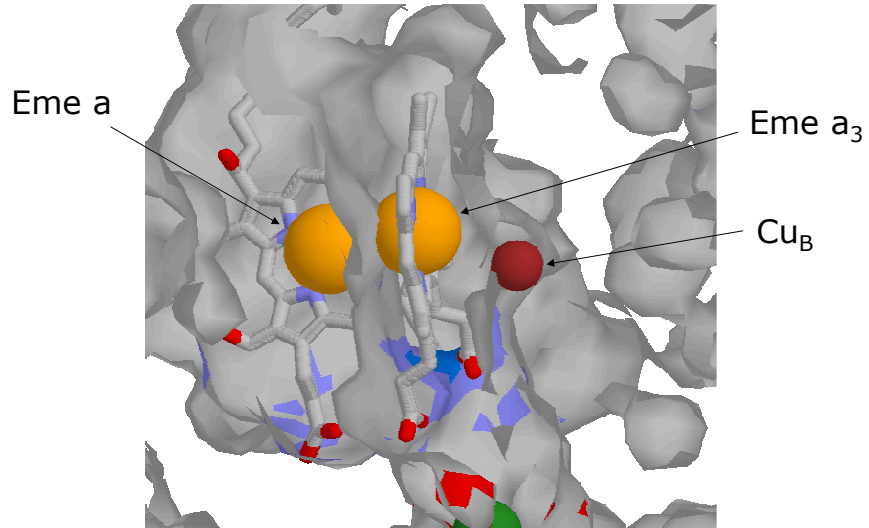


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

342

Complesso IV

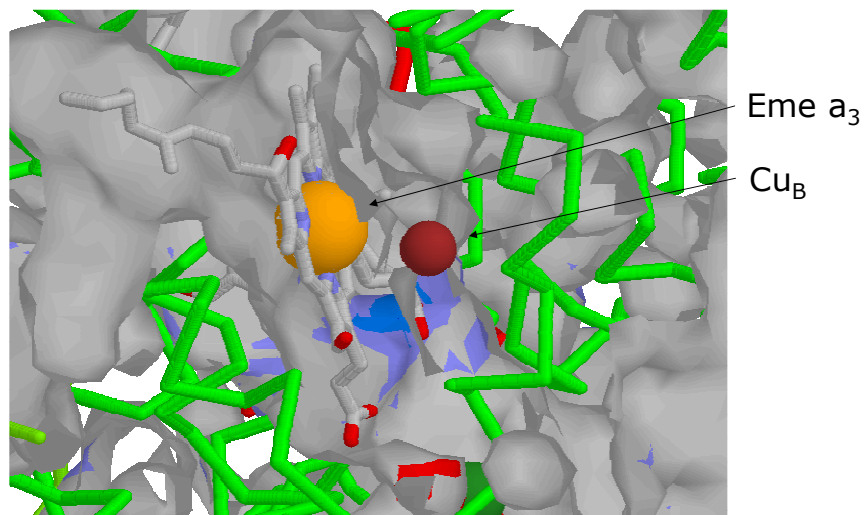


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

343

Complesso IV

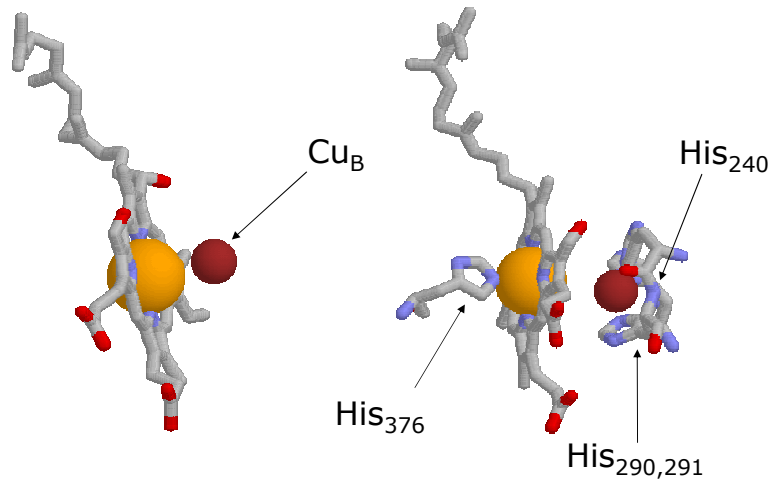


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

344

Complesso IV



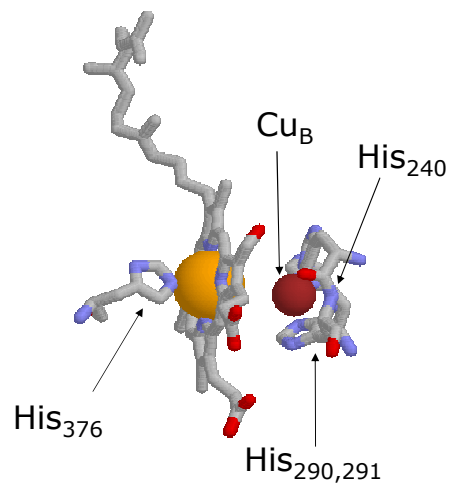
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

345

Complesso IV

- Il gruppo eme a_3 , adiacente al Cu_B , ha un solo ligando assiale.
- Lo ione Cu è coordinato con atomi di azoto di residui di His, il Cu_A è anche coordinato con atomi di zolfo di Cys e Met S e con un atomo di ossigeno del backbone di un Glu.
- Gli elettroni vengono trasferiti dal cyt c al complesso IV attraverso Cu_A e eme a.
- Passano quindi al centro binucleare eme $a_3 - Cu_B$ dove si lega O_2 .

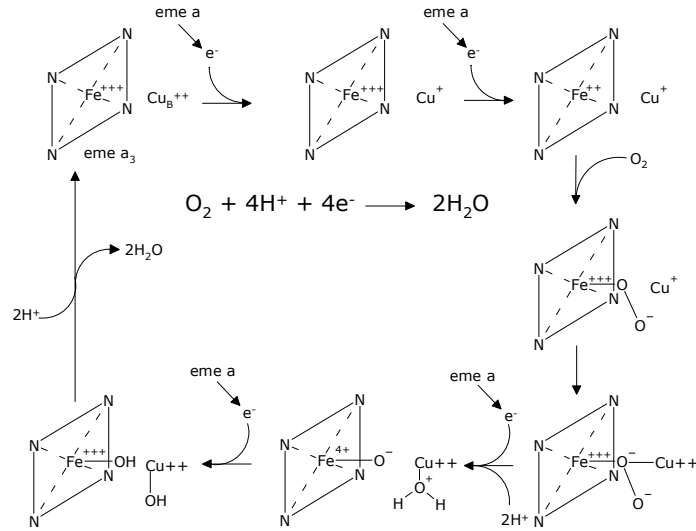


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

346

Formazione di H₂O

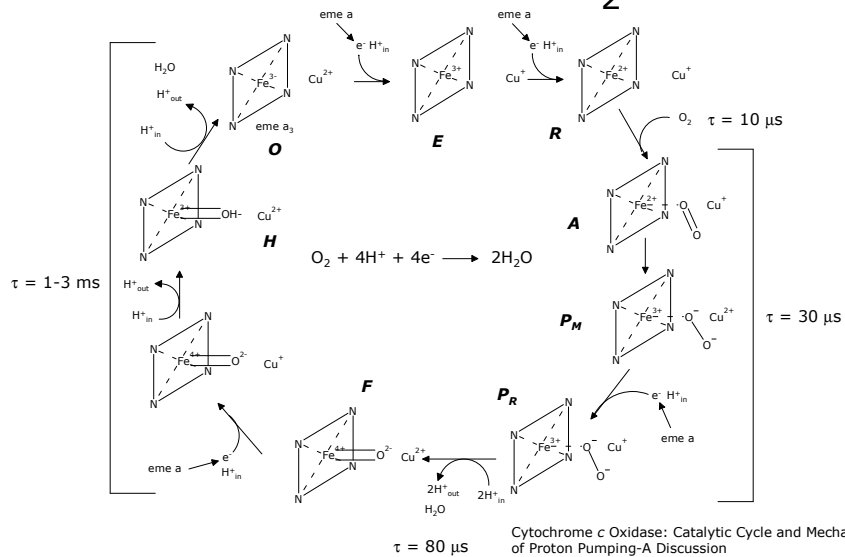


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

347

Formazione di H₂O



Cytochrome c Oxidase: Catalytic Cycle and Mechanisms of Proton Pumping-A Discussion
Hartmut Michel *Biochemistry* 1999, 38, 15129-15140

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

348

Complesso IV

- Il legame della molecola di ossigeno sfrutta anche la presenza di una coppia His Tyr, il che permette la scissione del legame O-O.
- Il sito per O₂ è anche disponibile per il legame di CN⁻, CO, H₂S, o del radicale ·NO.
- CN⁻, CO, H₂S inibiscono l'attività della citocromo ossidasi (avvelenamento).
- Si ritiene che il radicale ·NO abbia funzioni di regolazione.

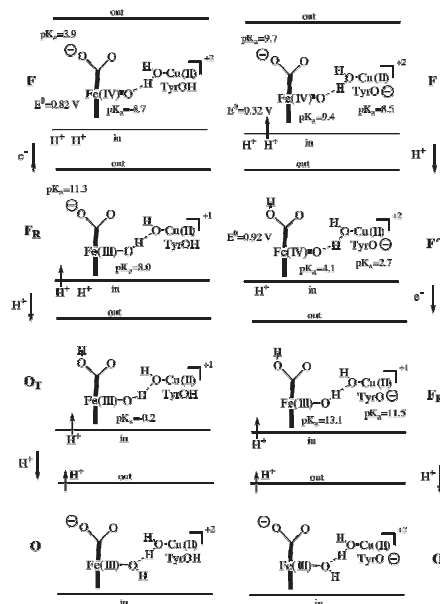
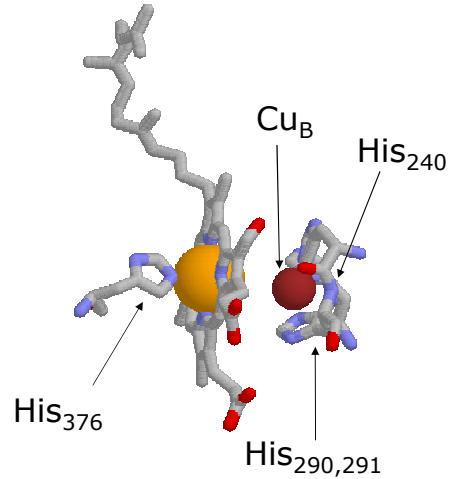


Fig. 4. Proton-coupled electron-flow in the F to O transition for two different models. Note that the reduction potentials are calculated in given a value of 0.4 V for heme a.

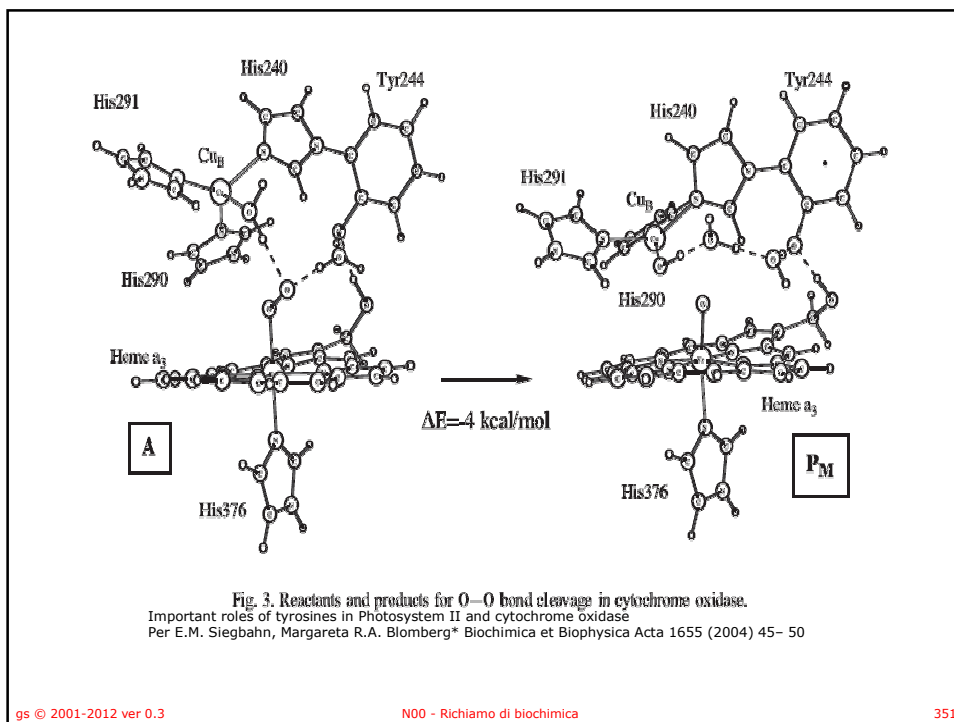
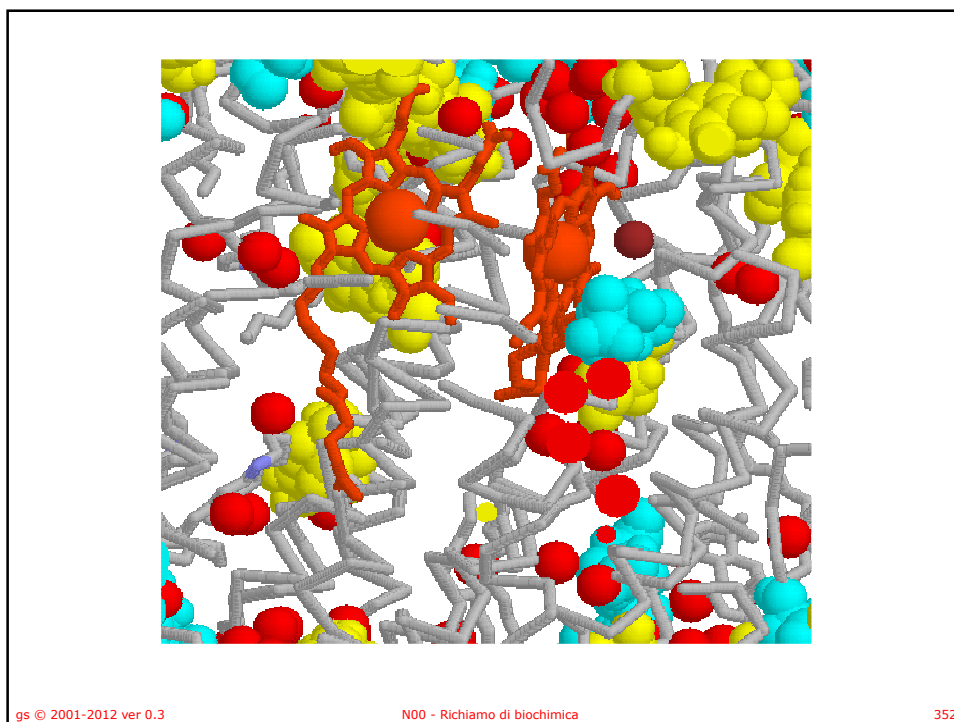
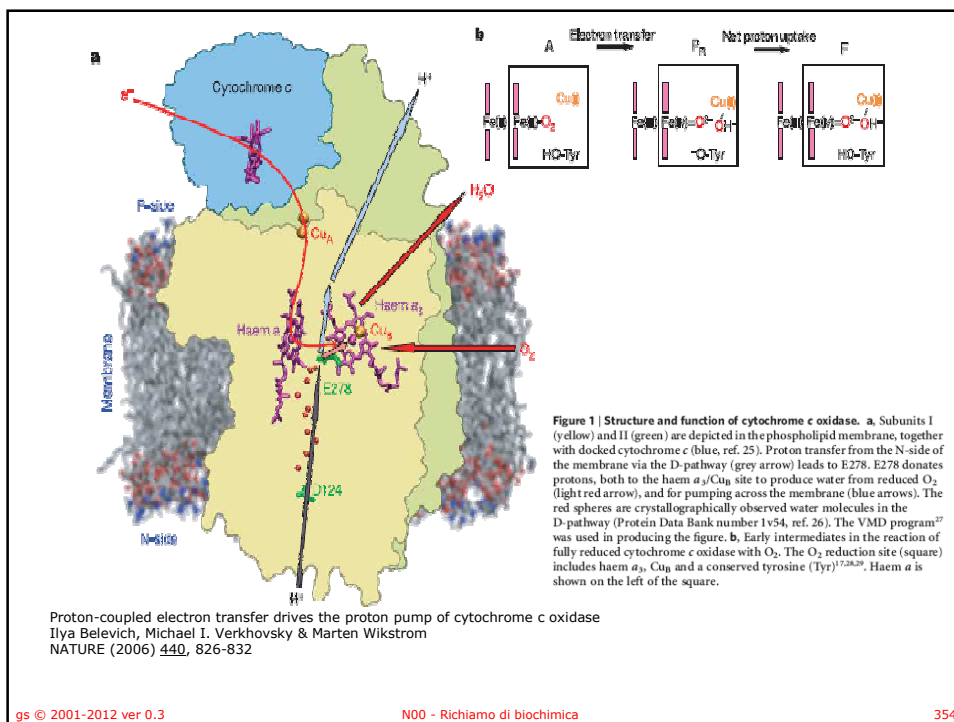
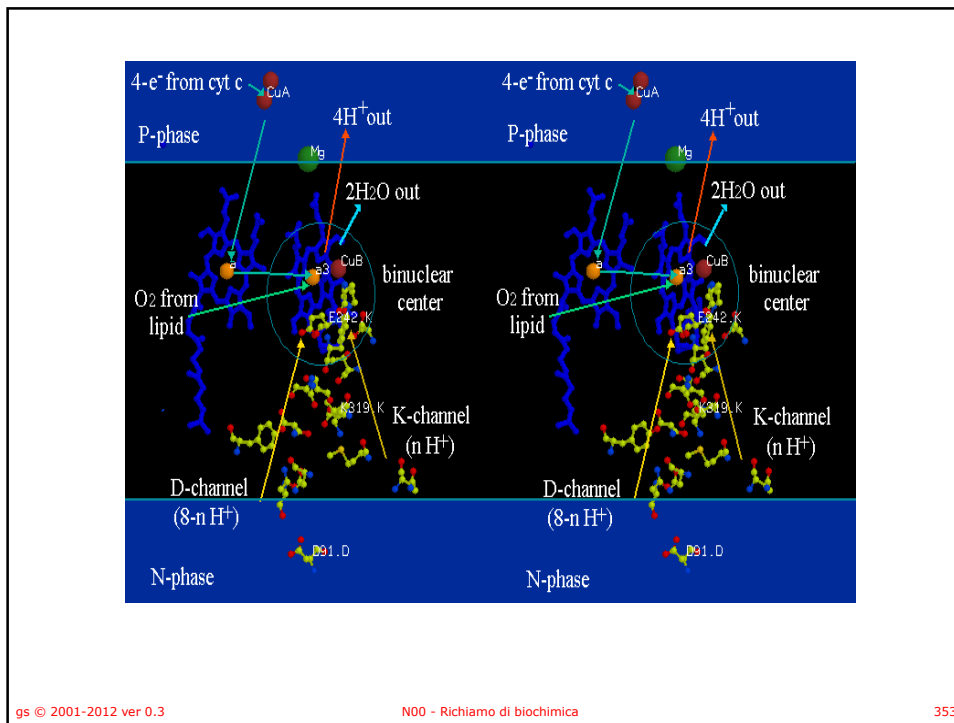


Fig. 3. Reactants and products for O–O bond cleavage in cytochrome oxidase. Important roles of tyrosines in Photosystem II and cytochrome oxidase
 Per E.M. Siegbahn, Margareta R.A. Blomberg* *Biochimica et Biophysica Acta* 1655 (2004) 45– 50





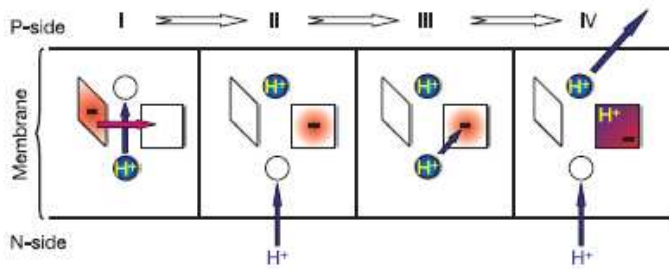
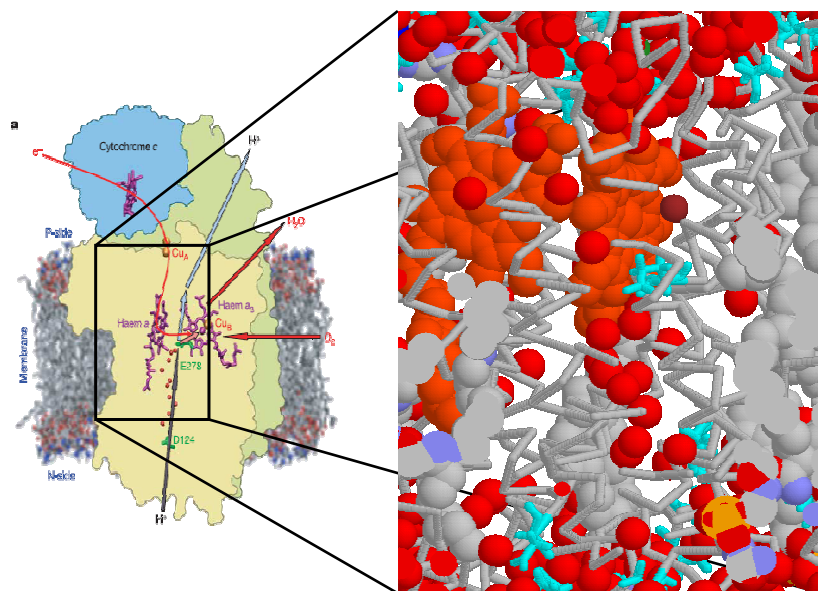
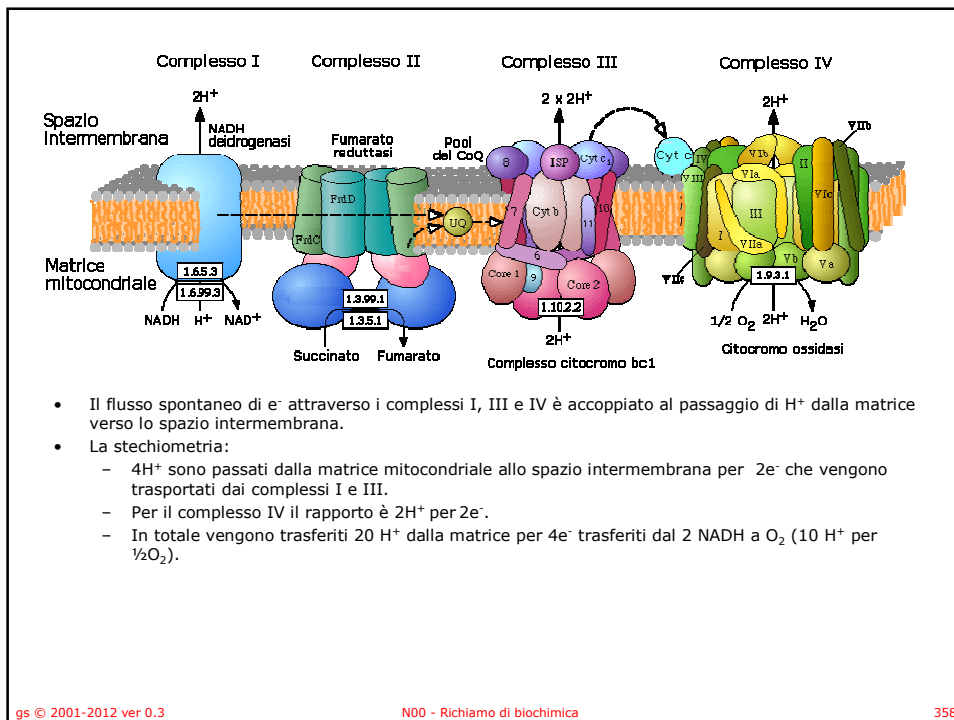
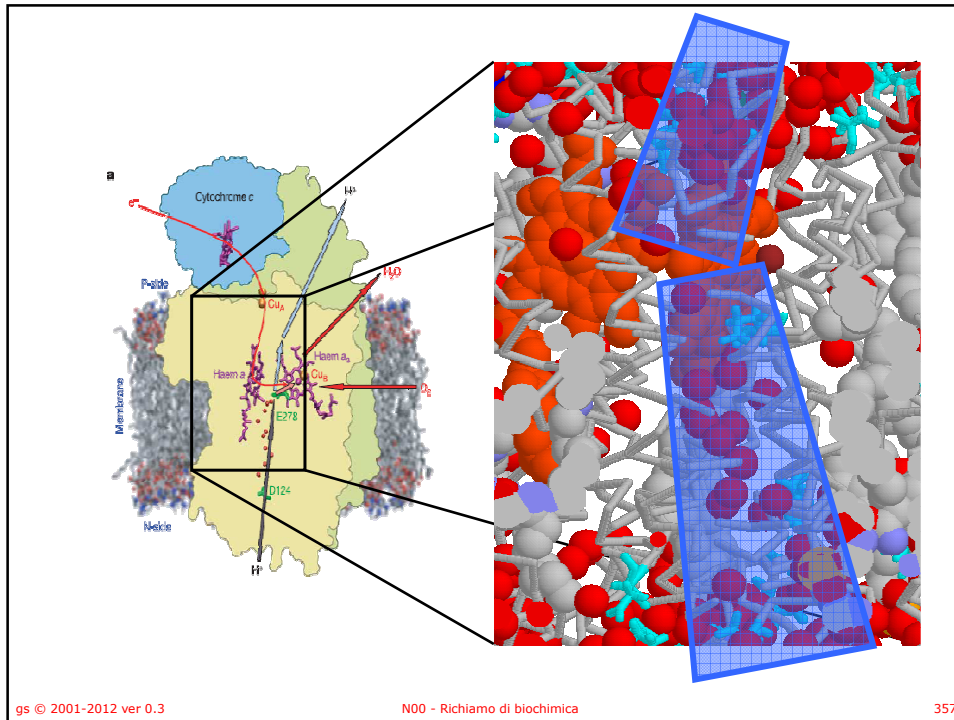


Figure 3 | Scheme of the proposed proton pump mechanism. Four states are shown (I–IV), each comprising haem *a* (rhombus) and the haem *a*₃/Cu_B site (square). The lower and upper circles denote the carboxylic residue E278 at the end of the D-pathway (Fig. 1a) and an unidentified protonatable site above the haems, respectively. In I → II electron transfer from haem *a* to the binuclear site is coupled to transfer of a proton from E278 to the protonatable site. In II → III, E278 is re-protonated from the N-side via the D-pathway. In III → IV, a substrate proton is transferred from E278 to the binuclear site. After IV, E278 is again re-protonated and the proton above the haems is ejected towards the P-side.

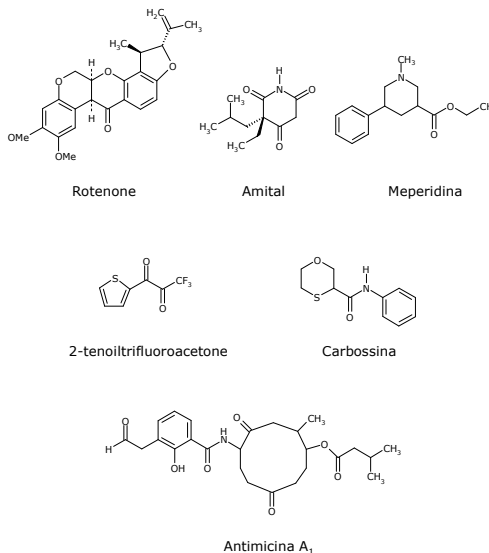
Proton-coupled electron transfer drives the proton pump of cytochrome c oxidase
 Ilya Belevich, Michael I. Verkhovsky & Marten Wikstrom
 NATURE (2006) 440, 826–832





Inibitori dei complessi

- Inibitori del complesso I: Rotenone, Amital, Meperidina
- Inibitori del complesso II: 2-tenoiltrifluoroacetone, carbossina.
- Inibitori del complesso III: Antimicina A.
- Inibitori del complesso IV: Ligandi al gruppo eme a_3 : CN^- , CO , H_2S , NaN_3 .



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

359

Ipotesi chemiosmotica

"for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory"



Peter D. Mitchell

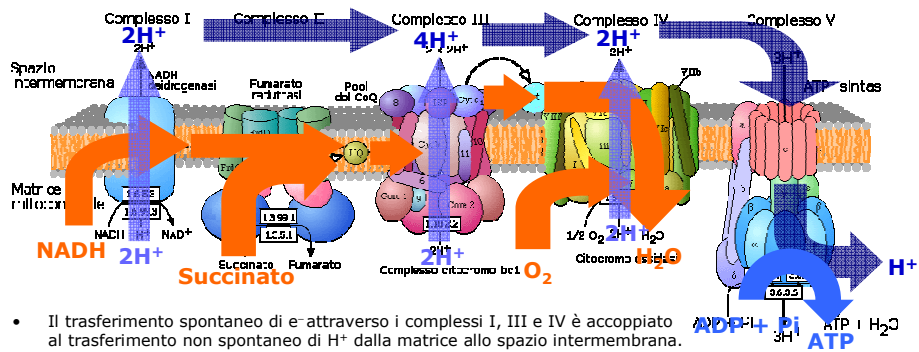
- **The Nobel Prize in Chemistry 1978**
- La teoria chemiosmotica della fosforilazione ossidativa (premio Nobel a Peter Mitchell), definisce che l'accoppiamento della sintesi di ATP alla respirazione è dipendente dal gradiente elettrochimico di H^+ .

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

360

Respirazione cellulare e ipotesi chemiosmotica



- Il trasferimento spontaneo di e⁻ attraverso i complessi I, III e IV è accoppiato al trasferimento non spontaneo di H⁺ dalla matrice allo spazio intermembrana.
- Il trasporto di H⁺ genera un potenziale di membrana ($\Delta\Psi$, negativo nella matrice) e un gradiente di pH (ΔpH , la matrice diventa alcalina).
- Gli H⁺ ritornano nella matrice attraverso la ATP-sintasi (F_0) che sfrutta questo potenziale per generare ATP nella subunità F_1 .

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

361

Ipotesi chemiosmotica

- Viene generato un gradiente protonico:

$$H^+_{\text{int}} \rightarrow H^+_{\text{est}}$$
- Che crea una polarizzazione della membrana:

$$\Delta G = RT \ln \left(\frac{[H^+]_{\text{citosol}}}{[H^+]_{\text{matrice}}} \right) + F\Delta\Psi$$

$$\Delta\Psi = 0.18 \text{ V}$$

$$\Delta\text{pH} = 1$$

$$\Delta G = 2.3 RT + F 0.18 = 23.3 \text{ kJ}$$
- Quindi per trasportare un H⁺ verso l'interno:

$$\Delta G = -23.3 \text{ kJ}$$

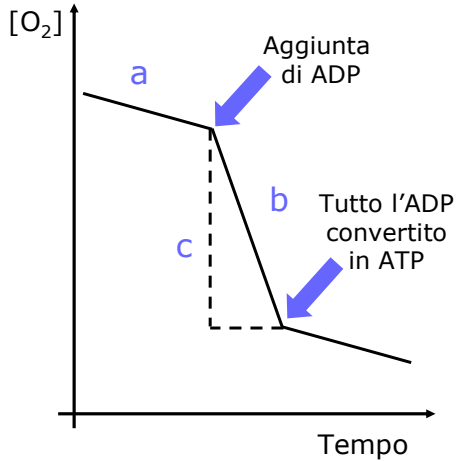
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

362

Controllo respiratorio

- La velocità di respirazione, dipendente dalla disponibilità di ADP per la ATP sintasi, è chiamata **controllo respiratorio**.
- Il grafico rappresenta il consumo di O_2 registrato usando un elettrodo ad ossigeno in una sospensione di mitocondri in presenza di P_i e di un donatore di e^- (succinato o un altro generatore di NADH).
- Il controllo respiratorio è il rapporto tra le pendenze della curva dopo e prima dell'aggiunta di ADP (b/a).
- Il rapporto P/O è dato dalle moli di ADP diviso per le moli di O_2 consumate (c) nella fosforilazione di ADP.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

363

Controllo respiratorio

- Il trasporto di elettroni è accoppiato alla estrusione di H^+ dalla matrice.
- Il fatto che questa reazione accoppiata sia spontanea dipende dai gradienti elettrico ($\Delta\Psi$) di pH.

Reazione	ΔG
Trasferimento e^-	Negativo $\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ} = -218 \text{ kJ/mol per } 2 e^- \text{ NADH} \rightarrow O_2$
Estrusione H^+ dalla matrice	Positivo (dipende dal gradiente protonico) Per estrarre un H^+ dalla matrice $\Delta G = RT \ln \left(\frac{[H^+]_{\text{citoso}}}{[H^+]_{\text{matrice}}} \right) + F\Delta\Psi$ $\Delta G = 2.3 RT (\text{pH}_{\text{matrice}} - \text{pH}_{\text{citoso}}) + F\Delta\Psi$
Reazione accoppiata	Somma algebrica

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

364

Controllo respiratorio

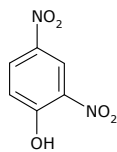
- In assenza di ADP, i H^+ non possono fluire attraverso F_o . ΔpH e $\Delta\Psi$ sono massimi. Il valore assoluto del ΔG per l'estrusione H^+ aumenta avvicinandosi a quello del trasporto di e^- .
- Quando la reazione accoppiata non è più spontanea ($\Delta G > 0$) la respirazione si ferma.
- Quindi in assenza di ADP la velocità di respirazione è fermata (o bassa a causa del leak di H^+).
- Quando si aggiunge ADP riprende la sintesi di ATP, gli H^+ entrano nella matrice via F_o . Si riducono ΔpH e $\Delta\Psi$.
- Il ΔG dell'estrusione di H^+ diminuisce.
- La reazione accoppiata ridiventa spontanea ($\Delta G < 0$).
- La respirazione riprende (è stimolata).

gs © 2001-2012 ver 0.3

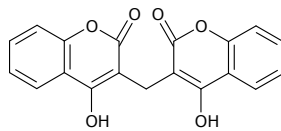
N00 - Richiamo di biochimica

365

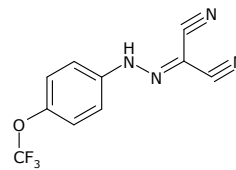
Disaccoppianti



Dinitrofenolo



Dicumarolo



Carbonil cianuro-*p*-trifluoro
metossifenilidrazone
(FCCP)

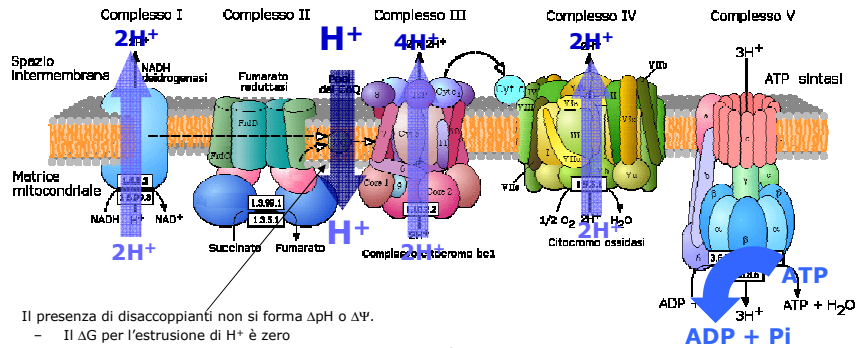
- I disaccoppianti bloccano la fosforilazione ossidativa dissipando il gradiente protonico convertendolo in calore
- Sono in genere degli acidi deboli solubili nella fase lipidica.
- I protoni pompati fuori rientrano nella matrice, non si genera il gradiente ΔpH o $\Delta\Psi$.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

366

Disaccoppianti



- Il presenza di disaccoppianti non si forma ΔpH o $\Delta \Psi$.
 - Il ΔG per l'estrusione di H^+ è zero
 - Il ΔG per il trasporto di e^- accoppiato all'estrusione di H^+ è massima.
- La respirazione procede in presenza di disaccoppianti sia che l'ADP sia presente o no.
 - Il ΔG per il flusso H^+ è zero in assenza di gradiente protonico.
 - L'idrolisi di ATP è spontanea.
- In presenza di disaccoppianti l'ATP sintasi funziona al contrario.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

367

Proteine disaccoppianti

- Il disaccoppiamento può essere usato per produrre calore.
- Nel tessuto adiposo bruno (bruno perché ricco di mitocondri) di neonati dei mammiferi e nei mammiferi che vanno in letargo, è presente una proteina disaccoppiante, la termogenina.
- La termogenina funziona come un trasportatore di H^+ nella membrana interna mitocondriale.
- La proteina blocca lo sviluppo del gradiente protonico contemporaneamente stimola la respirazione dissipando il ΔG come calore.
- Questo tipo di riscaldamento costa in termini di energia respiratoria (non convertita in ATP) ma aiuta l'organismo a rispondere al raffreddamento.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

368

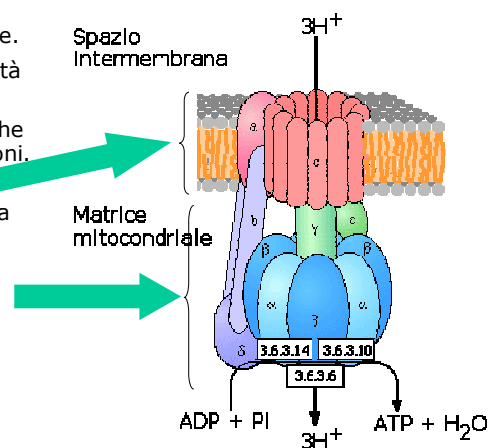
F₁F₀ ATP Sintasi

Meccanismo della sintesi di ATP

 Indice

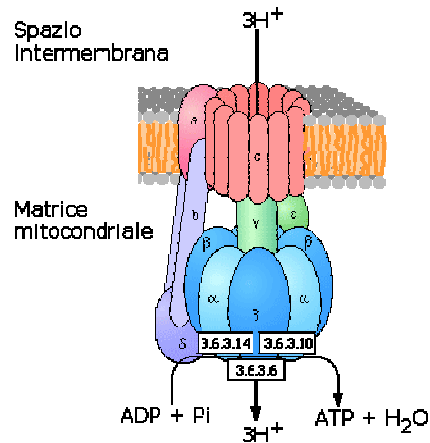
Complesso V – ATP sintasi

- La ATP sintasi, presente nella membrana interna mitocondriale.
- È composta di due principali unità catalitiche:
 - F₀: proteina di membrana che gestisce il trasporto di protoni.
 - F₁: costituita da cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$.



Complesso V – ATP sintasi

- Le due unità F_1F_0 accoppiano la sintesi di ATP con il trasporto di H^+ dallo spazio intermembrana alla matrice.
- Per convertire una mole di ADP in ATP è richiesto il trasporto di tre moli di H^+ .
- Il numero di tre moli di H^+ viene dedotto da:
 - Il ΔG per la sintesi di ATP in condizioni cellulari.
 - Il ΔG per trasferire ogni H^+ nella matrice dato il gradiente elettrochimico (energia disponibile per H^+).



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

371

Controllo respiratorio

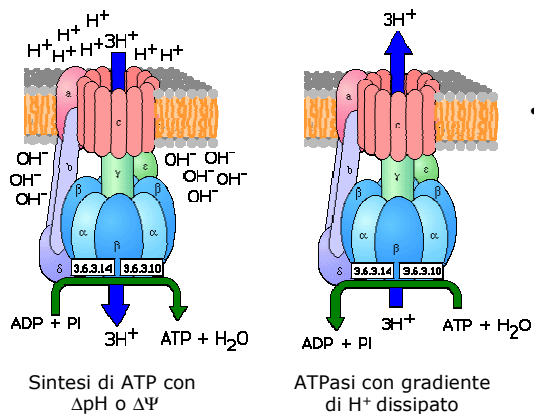
- In assenza di ADP, i H^+ non possono fluire attraverso F_0 . ΔpH e $\Delta\Psi$ sono massimi. Il valore assoluto del ΔG per l'estruzione H^+ aumenta avvicinandosi a quello del trasporto di e^- .
- Quando la reazione accoppiata non è più spontanea ($\Delta G > 0$) la respirazione si ferma.
- Quindi in assenza di ADP la velocità di respirazione è fermata (o bassa a causa del leak di H^+).
- Quando si aggiunge ADP riprende la sintesi di ATP, gli H^+ entrano nella matrice via F_0 . Si riducono ΔpH e $\Delta\Psi$.
- Il ΔG dell'estruzione di H^+ diminuisce.
- La reazione accoppiata ridiventa spontanea ($\Delta G < 0$).
- La respirazione riprende (è stimolata).

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

372

F₁F₀ ATP Sintasi di mitocondri, cloroplasti, batteri



- Quando il ΔpH o il $\Delta \Psi$ sono favorevoli, F₁F₀ accoppia la sintesi di ATP al flusso spontaneo di H⁺ verso la parte della membrana dove si protrude F₁ (matrice mitocondriale).
- Se non c'è ΔpH o $\Delta \Psi$ per pilotare la reazione accoppiata viene favorita l'idrolisi dell'ATP (ATPasi).

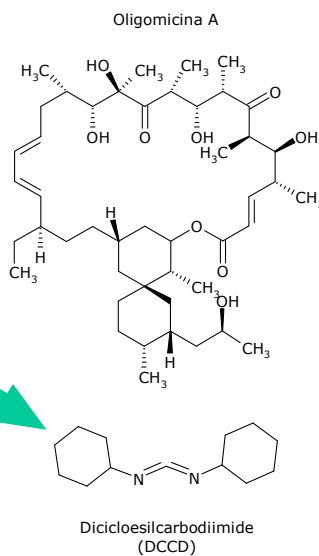
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

373

Inibitori ATP sintasi

- Bloccano il trasporto di H⁺ accoppiato alla sintesi o all'idrolisi di ATP.
 - Oligomicina A, un antibiotico.
 - Dicicloesilcarbodiimide (DCCD) è un reagente dei gruppi carbonilici in ambiente idrofobico per formare un addotto covalente.
- Entrambi bloccano il flusso di H⁺ nella membrana inibendo la sintesi di ATP attraverso l'interazione con F₀.

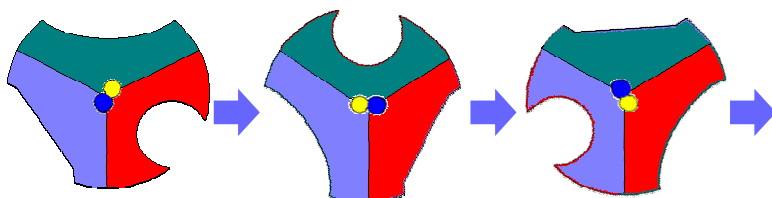


gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

374

Meccanismo di sintesi



- Il meccanismo di legame e di sintesi accoppiata è stata proposta da Boyer e Walker (Nobel).
- Per semplicità sono riportate solo le subunità catalitiche β .
 - È stato proposto che una struttura proteica di forma irregolare (γ) sia legata a F_o e ruoti relativamente alle tre subunità catalitiche β .
 - La rotazione di γ è pilotata dal flusso protonico attraverso F_o .

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

375

Meccanismo di sintesi

The Nobel Prize in Chemistry 1997

"for their elucidation of the enzymatic mechanism underlying the synthesis of adenosine triphosphate (ATP)"

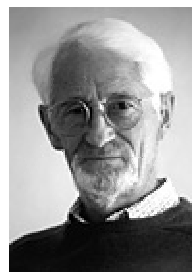
"for the first discovery of an ion-transporting enzyme, Na⁺, K⁺-ATPase"



Paul D. Boyer



John E. Walker



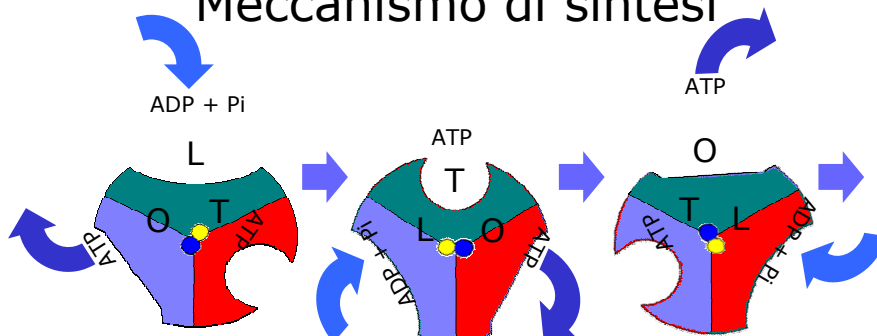
Jens C. Skou

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

376

Meccanismo di sintesi



- La conformazione di ogni subunità catalitica β cambia sequenzialmente a seguito dell'interazione con la subunità γ che ruota (al centro).
- Ogni subunità catalitica β ha una conformazione diversa per ogni passo del ciclo catalitico
- Per esempio la subunità verde è sequenzialmente:
 - In conformazione L (loose) nella quale il sito attivo lega debolmente ADP + Pi
 - In conformazione T (tight) nella quale il substrato è legato fortemente e si forma ATP.
 - In conformazione O (open) nella quale viene rilasciato l'ATP.

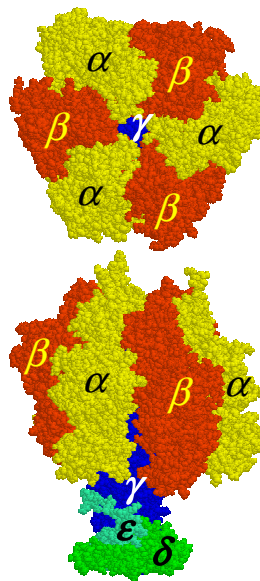
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

377

Struttura di F_1

- Nei mammiferi F_1 consiste di cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \epsilon$ (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità α e β sono omologhe.



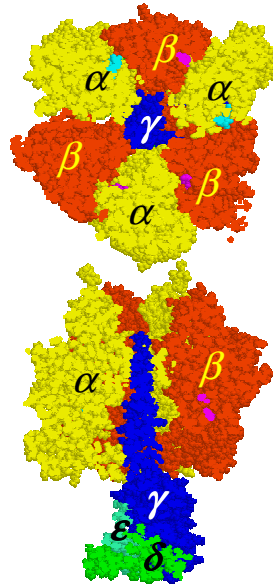
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

378

Struttura di F₁

- Nei mammiferi F₁ consiste di cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \epsilon$ (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità α e β sono omologhe.



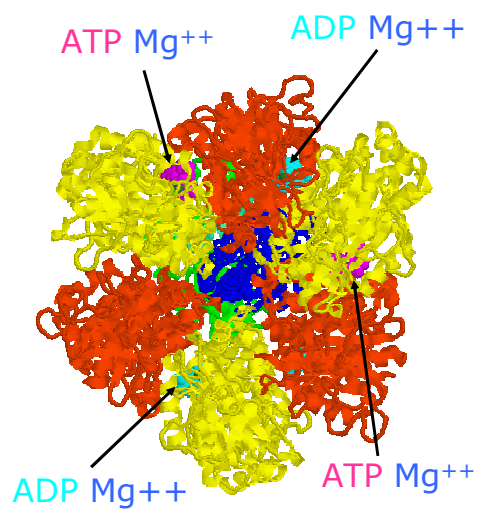
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

379

Struttura di F₁

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce $\alpha\beta$ con predominanza nella subunità β .
- Ognuna delle tre subunità α contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità α e β complessati con Mg^{++} .



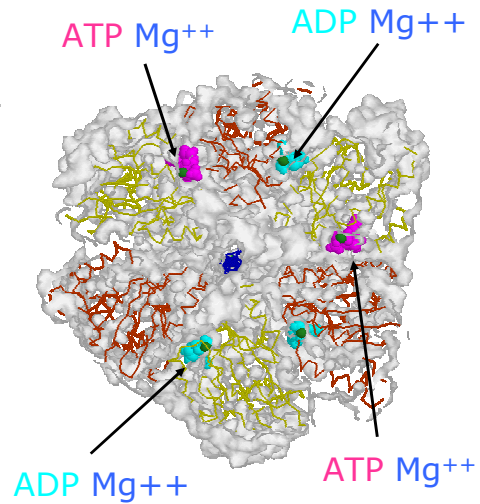
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

380

Struttura di F₁

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce $\alpha\beta$ con predominanza nella subunità β .
- Ognuna delle tre subunità α contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità α e β complessati con Mg^{++} .



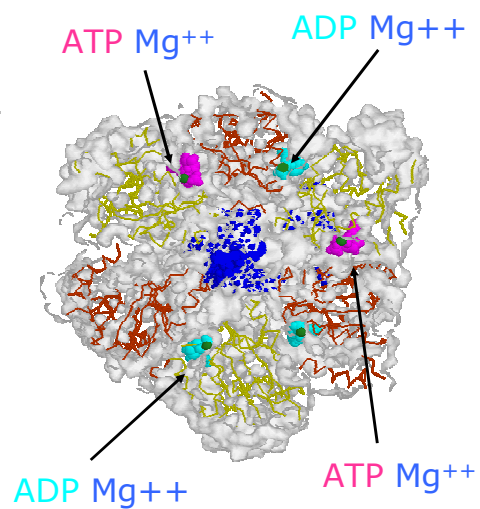
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

381

Struttura di F₁

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce $\alpha\beta$ con predominanza nella subunità β .
- Ognuna delle tre subunità α contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità α e β complessati con Mg^{++} .



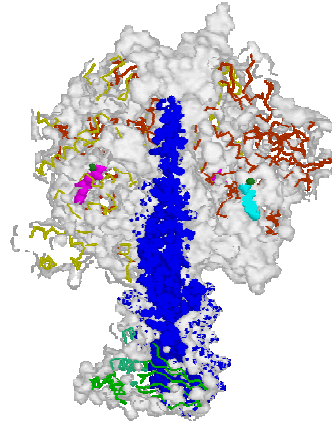
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

382

Struttura di F₁

- La subunità γ include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità α e β .



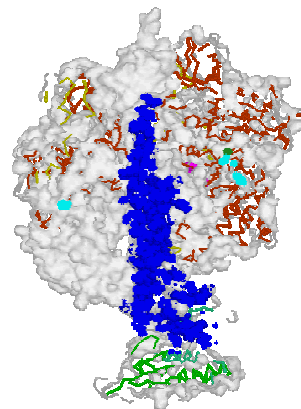
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

383

Struttura di F₁

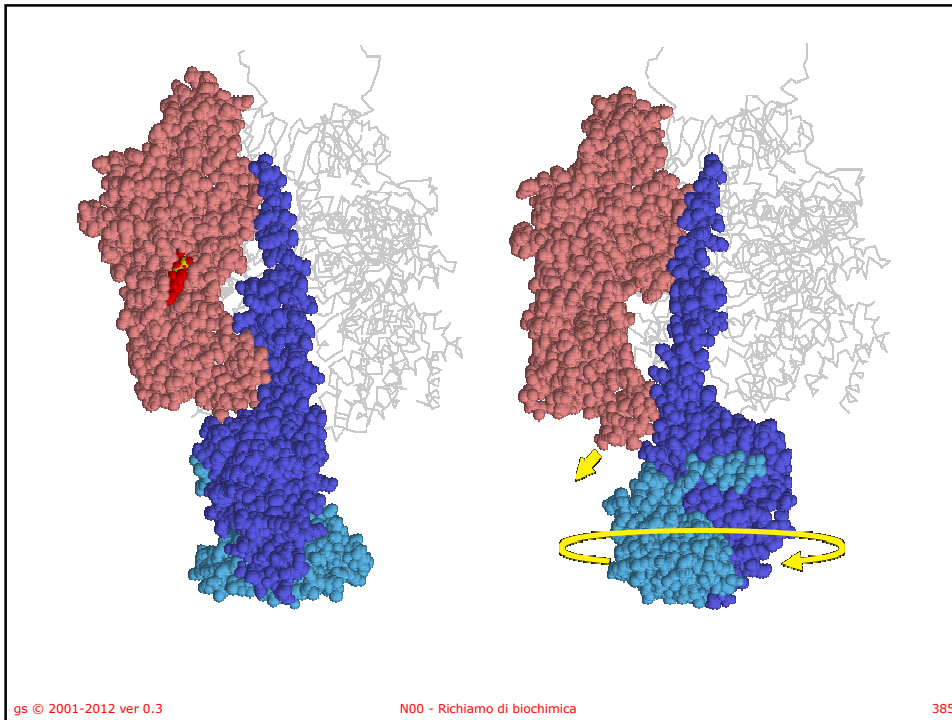
- La subunità γ include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità α e β .



gs © 2001-2012 ver 0.3

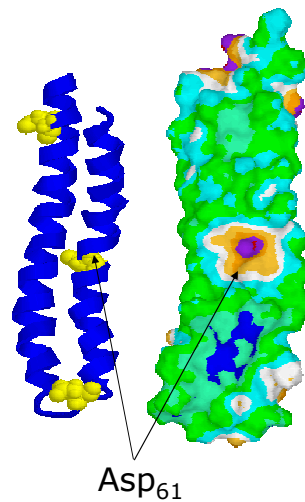
N00 - Richiamo di biochimica

384



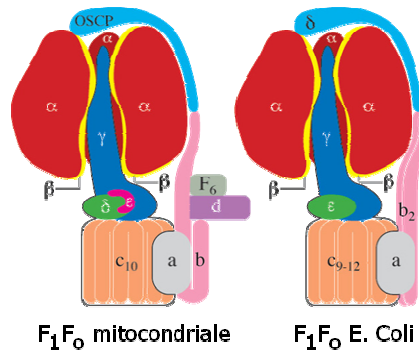
Subunità F_o

- La subunità c di F_o ha una struttura ripiegata (hairpin) con due α -eliche transmembrana connesse da un corto loop.
- È un peptide molto idrofobico.
- Una delle due α -eliche ha un residuo acido (Asp o Glu) che è il sito di reazione del DCCD.
- Tale residuo è essenziale per il trasporto dei H⁺ attraverso F_o.



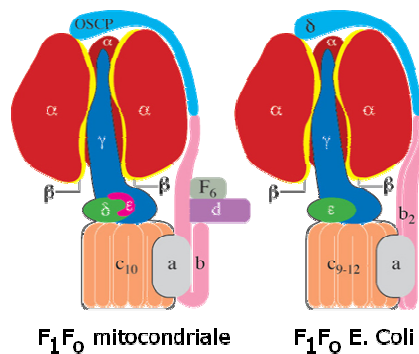
Struttura F_0F_1

- F_0 è un complesso di proteine integrali di membrana.
 - La stechiometria in *E. Coli* è a, b_2, c_{10} .
- Nei mammiferi F_1F_0 è un poco più complessa che nei batteri.
- Nei diversi organismi le subunità hanno nomi diversi.
 - La subunità δ nei mammiferi è omologa alla subunità ϵ in *E. Coli*.
 - La subunità "OSCP" nei mammiferi è omologa alla subunità δ in *E. Coli*.
 - La subunità ϵ nei mammiferi è unica.



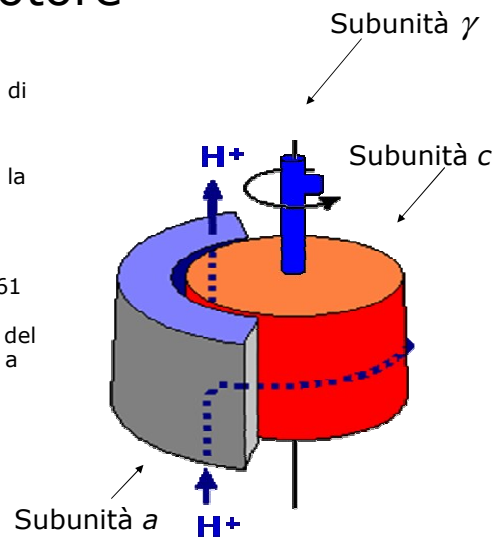
Struttura F_0F_1

- Si ritiene che le subunità b di F_0 includano una α -elica transmembrana e un dominio α -elica molto polare che si estenda al di fuori della membrana.
- Lo "statore" del motore molecolare consiste quindi in un anello di tre subunità $\alpha\beta$ di F_1 , la subunità a di F_0 e le varie subunità che le legano insieme (b, d, F_6 e $OSCP$ nel F_1F_0 mitocondriale o due b e δ in *E. coli*).
- Il "rotore" consisterebbe in un anello di dieci subunità c , la "camma" nella parte interna di F_1 (γ, δ, ϵ nei mitocondri; γ e ϵ in *E. coli*).



Il rotore

- È stato proposto che la subunità a di F_0 formi due mezzi canali per il trasporto dei protoni.
- Il trasporto avverrebbe attraverso la ionizzazione di gruppi ionizzabili o attraverso molecole d'acqua contenute nei canali.
- La variazione di ionizzazione (Asp61 in c) al passaggio dei protoni indurrebbe il movimento rotatorio del rotore trasmesso poi, attraverso γ a F_1 .



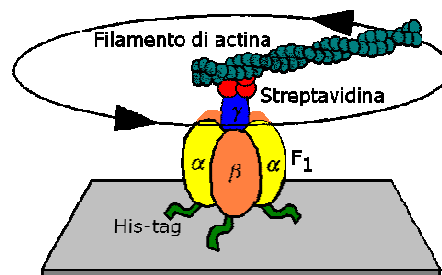
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

389

Motori molecolari

- Che la rotazione di una parte della proteina avvenga in seguito all'idrolisi di ATP è stato dimostrato sperimentalmente:
 - Le subunità β di F_1 sono state "saldate" ad una superficie.
 - Un filamento di actina opportunamente marcato con colorante fluorescente è stato legato alla porzione di γ che protrude dalla F_1 .
 - Fornendo ATP nella soluzione si ha la rotazione (visibile) del braccio di actina in senso antiorario.



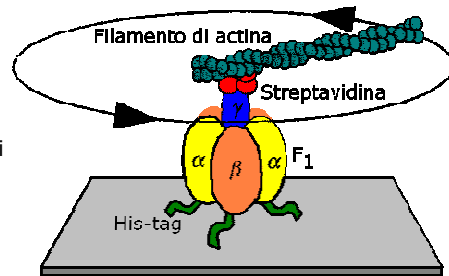
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

390

Motori molecolari

- Alcune osservazioni indicano che la rotazione indotta da ATP avviene in passi discreti di 120° con pause tra un passo e l'altro.
- Sembra inoltre che ogni passo di 120° avvenga con sosta in sottopassi di 90° e 30° intervallati da pause più brevi.
- È stato proposto che questi sottopassi siano connessi a passaggi del ciclo catalitico come il legame di ATP e il rilascio di ADP e P_i.



- http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main_.html

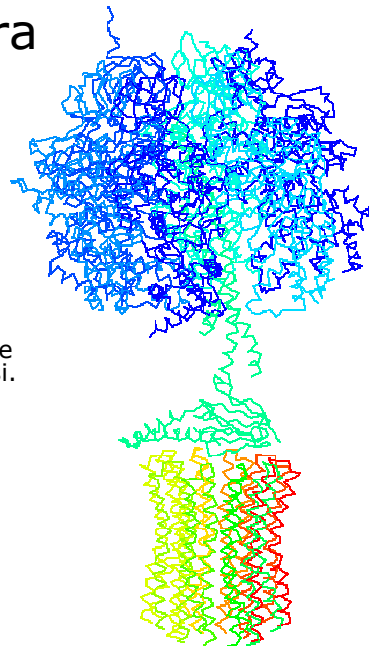
gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

391

Struttura

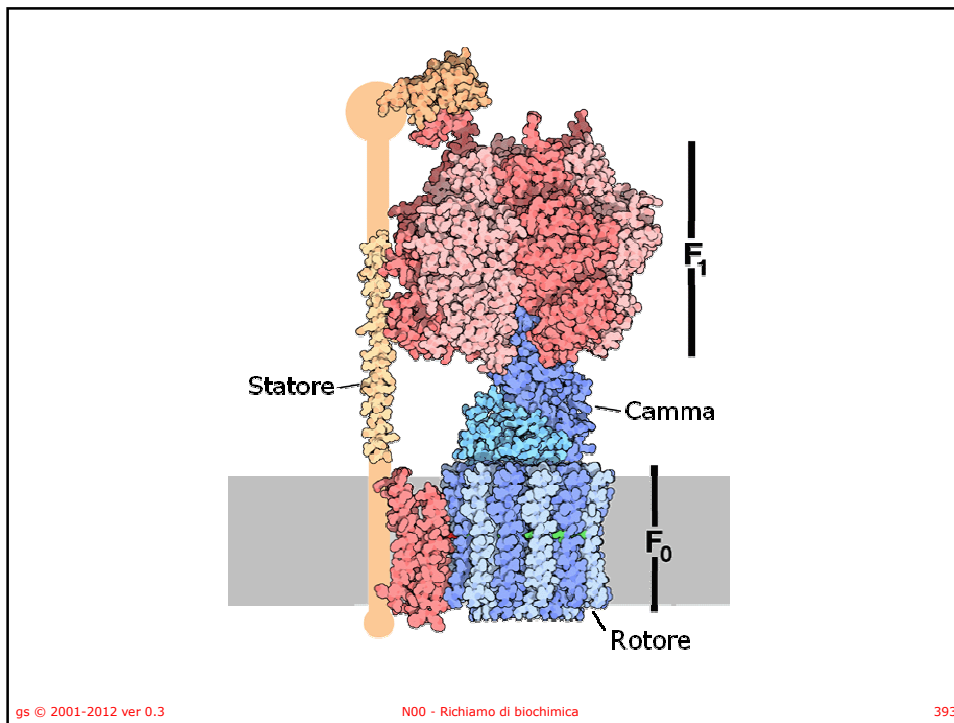
- Questo è il massimo di risoluzione ottenuta fino ad ora della definizione della intera struttura dell'ATP sintasi.



gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

392



Trasporto ATP, ADP e Pi

Come rendere disponibile l'energia (ATP).



Indice

Trasporto ATP, ADP e P_i

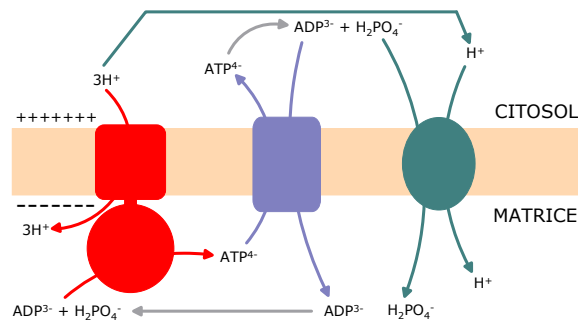
- L'ATP prodotto nelle matrice mitocondriale deve uscire per essere usato nel citosol come fonte di energia.
- L'ADP e il P_i provenienti dall'idrolisi dell'ATP nel citosol devono entrare nella matrice mitocondriale per essere convertito in ATP.
- La membrana esterna mitocondriale non è una barriera impermeabile, canali anionici voltaggio dipendenti (VDAC) permettono il passaggio di ADP e P_i.
- La membrana interna è invece impermeabile e sono richiesti due trasportatori per l'ADP e ATP.

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

395

Trasporto ATP, ADP e P_i



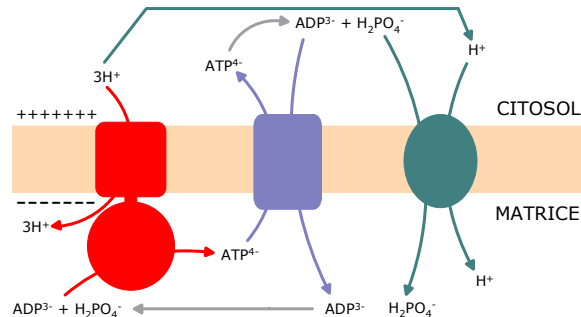
- Una traslocasi (trasportatore ADP/ATP) è un antiporter che catalizza lo scambio di ADP per ATP attraverso la membrana mitocondriale interna.
 - Al pH cellulare (7.2) l'ATP ha quattro cariche negative (ATP⁴⁻), l'ADP ne ha tre (ADP³⁻).
 - Lo scambio ADP³⁻/ATP⁴⁻ è pilotato, e usa, il potenziale di membrana (una carica per molecola di ATP).

gs © 2001-2012 ver 0.3

N00 - Richiamo di biochimica

396

Trasporto ATP, ADP e P_i



- Il fosfato rientra nella matrice attraverso un simporto elettroneutro con H⁺,
- L'entrata di P_i è pilotata, e usa, il gradiente di pH (una mole H⁺ per mole di ATP).
- Quindi l'equivalente di una mole di H⁺ entra nella matrice per lo scambio ADP/ATP e l'entrata di P_i.
- Assumendo 3H⁺ trasportati da F₁F_o, 4H⁺ entrano nella matrice per ATP sintetizzato.

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- 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