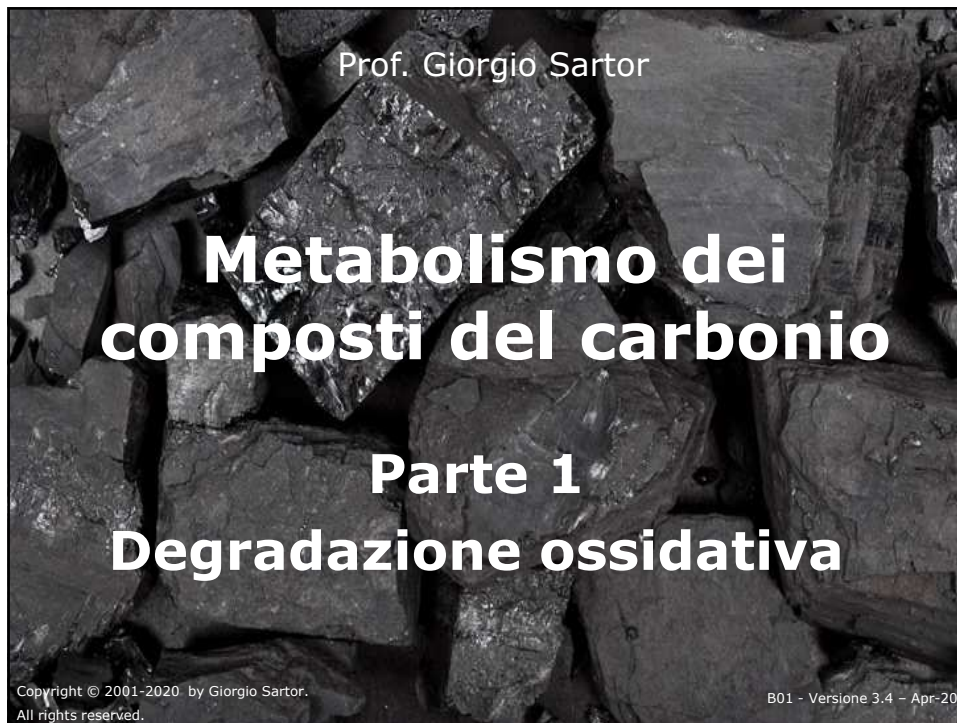




1

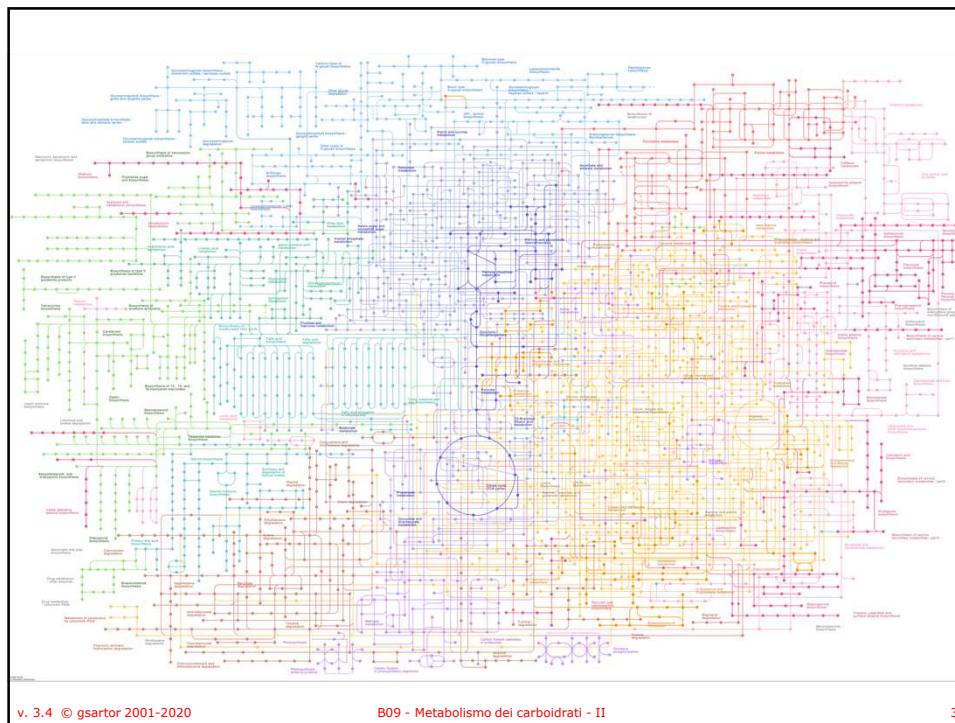
Metabolismo

È il processo che permette di ricavare energia da legami chimici (sottoforma di nucleotidi trifosfati, equivalenti riducenti, ecc.) **e di utilizzarla** (per produrre legami chimici, energia, calore, ecc.)

Tutta la chimica dei viventi!

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 2

2



3

Metabolismo

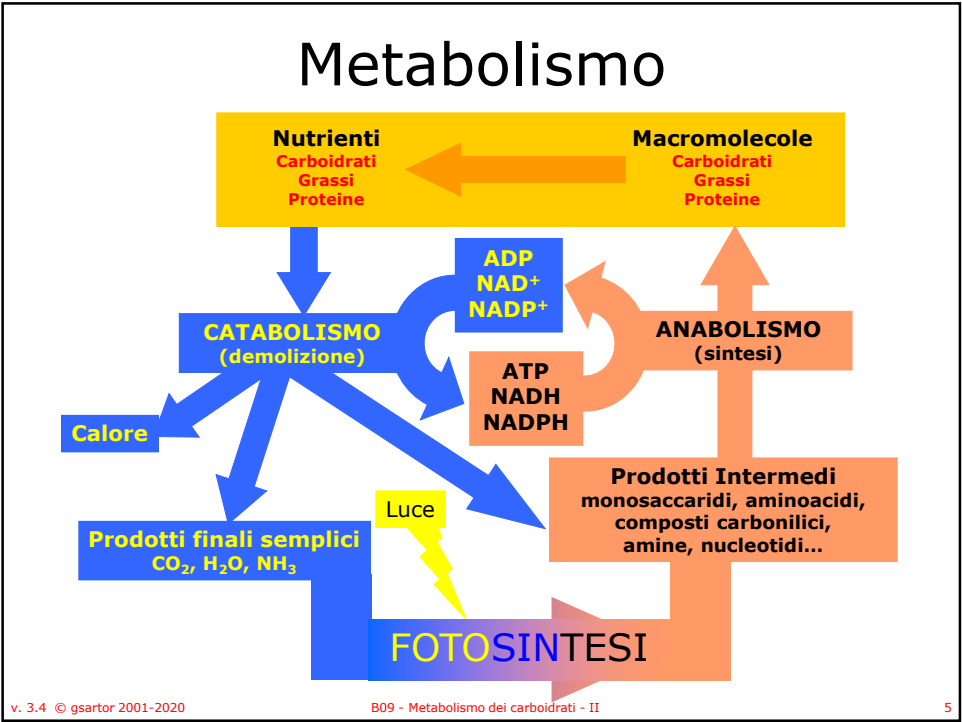
- È la somma delle reazioni ENZIMATICHE che avvengono in una cellula, permette di:
 - Estrarre energia dai composti organici o dalla luce solare,
 - Convertire i nutrienti in unità costitutive di macromolecole,
 - Legare insieme le unità costitutive per formare macromolecole
- } CATABOLISMO
- } ANABOLISMO

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

4

4



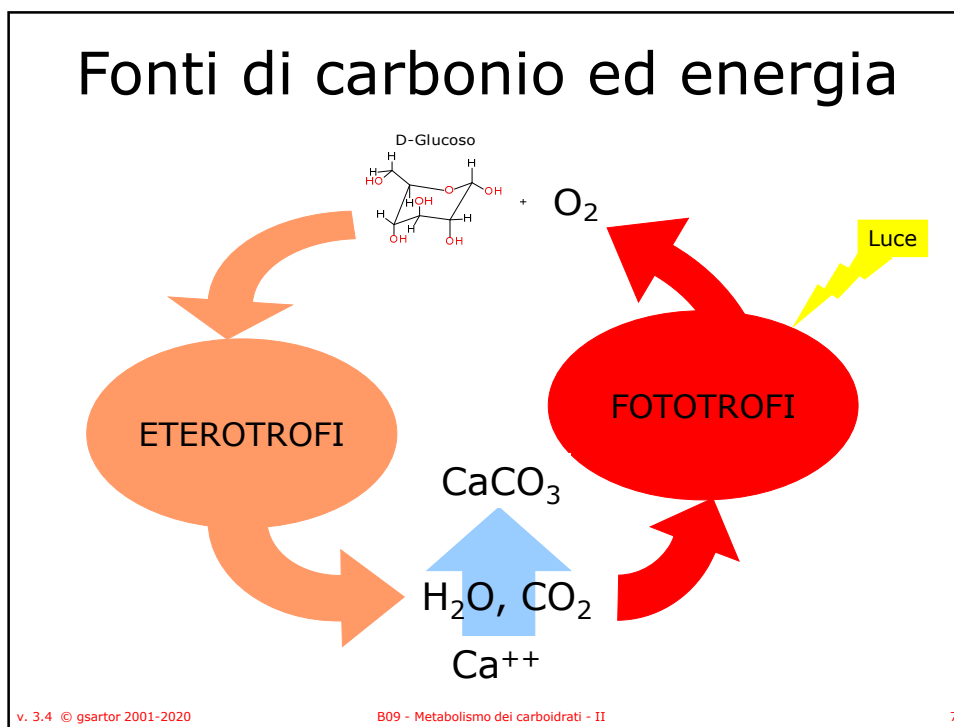
5

Fonti di carbonio ed energia

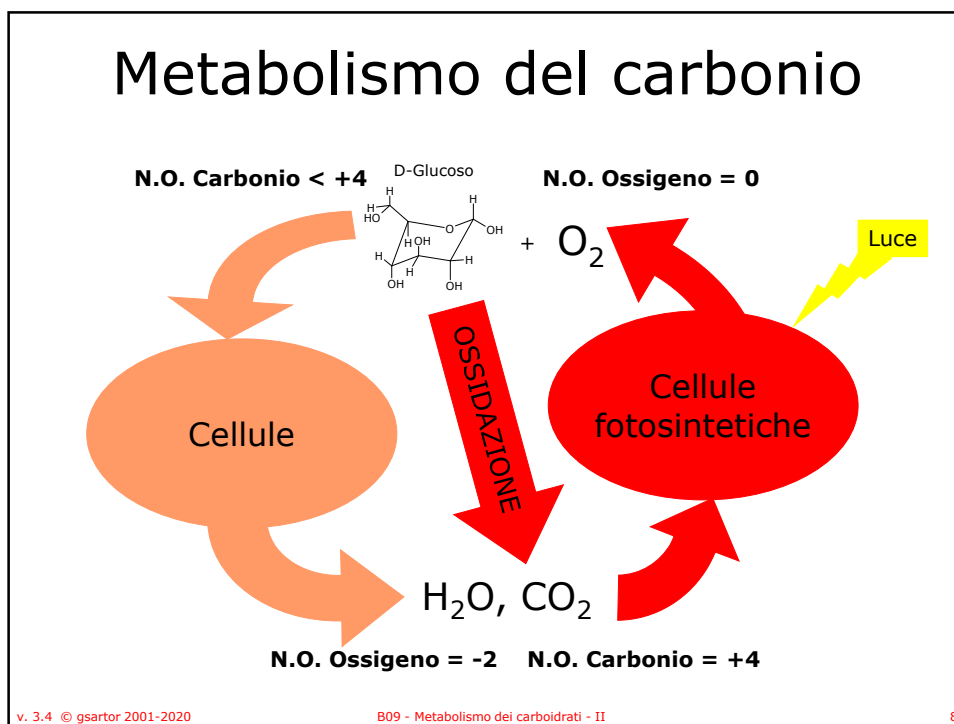
Organismo	Fonte di carbonio	Fonte di energia	Donatore di elettroni
Fotoautotrofi (piante, alghe verdi, cianobatteri fotosintetici)	CO_2	Luce	H_2O , H_2S , S, altri inorganici
Fotoeterotrofi (rodobatteri non sulfurei)	Composti organici	Luce	Composti organici
Chemioautotrofi (H_2 , Fe, S, batteri nitrificanti)	CO_2	Reazioni redox	H_2 , H_2S , NH_4^+ , NO_2^- , Fe^{++} , Mn^{++}
Chemioeterotrofi (Animali, microrganismi, tessuti di piante non fotosintetici)	Composti organici	Reazioni redox	H_2O , composti organici

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 6

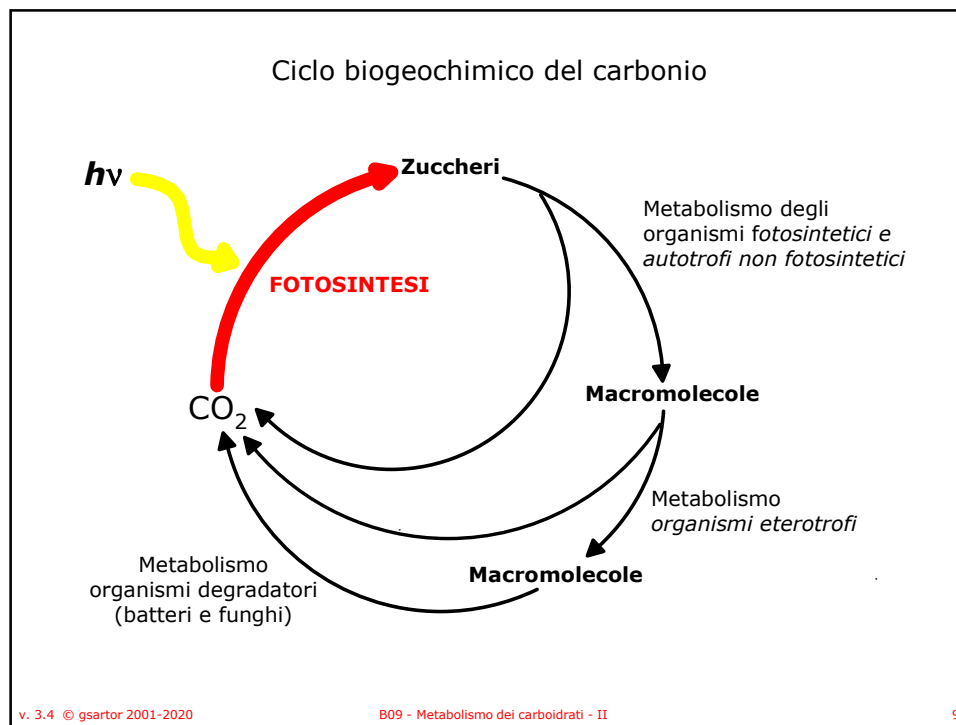
6



7



8



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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 10

10

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**.

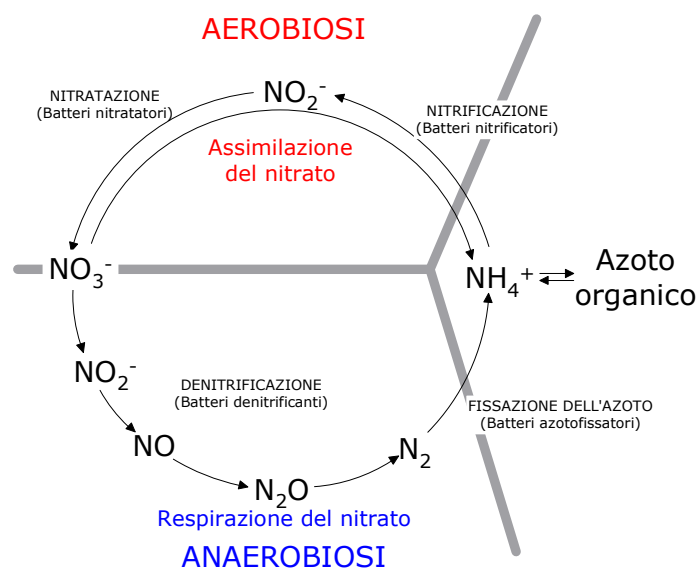
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

11

11

Ciclo dell'azoto



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

12

12

ENZIMI

- Singolo enzima
 - Ure^{asi}
- Complesso enzimatico
 - Complesso piruvato deidrogen^{asi}
- **Classificazione gerarchica degli enzimi**
- Ogni enzima viene classificato a secondo della **reazione** che catalizza.
- EC X.Y.Z.T
 - X = classe
 - Y = sottoclasse
 - Z = sotto-sottoclasse
 - T = numero dell'enzima nella sotto-sottoclasse
 - http://www.kegg.jp/kegg-bin/get_htext?ko01000.keg 

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

13

13

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,...

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 14 -

14

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.
 - 7. Translocasi
 - Catalizzano la translocazione (passaggio attraverso membrane) di ioni o molecole.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 15 -

15

Classificazione gerarchica degli enzimi

- Per esempio:



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

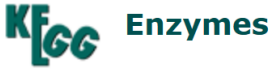
↑ ↑ ↑ ↑
 Numero dell'enzima nella sotto-sottoclasse
 La sotto-sottoclasse – con NAD⁺ o NADP⁺ come accettori
 La sottoclasse – Agiscono sul gruppo di donatori CH-OH
 La classe - Ossidoreduttasi

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 16 -

16



[\[Brite menu | Organism menu | Download htext | Download json \]](#)

Reference hierarchy (KO)

▼ ▼ ▼ ▼ ▼ ☐ One-click mode

▶ **1. Oxidoreductases**
▶ **2. Transferases**
▶ **3. Hydrolases**
▶ **4. Lyases**
▶ **5. Isomerases**
▶ **6. Ligases**
▶ **7. Translocases**

[\[BRITE | KEGG2 | KEGG \]](#)
Last updated: March 2, 2019
EC number data are obtained from [ExplorEnz](#)

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II - 17 -

17

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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 18

18

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;

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

19

19

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-Km aldehyde reductase; high-Km 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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

20

20

(c) gsartor 2020

10

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

- 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:
- EC1.1.1.37 malato deidrogenasi
 - Citosolica (codificata dal DNA nucleare)
 - Mitochondriale (codificata dal DNA mitochondriale)

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

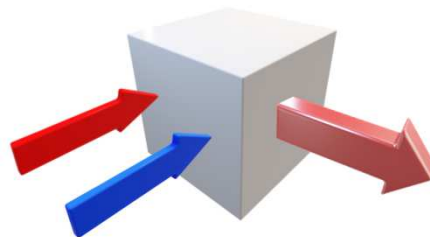
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

21

21

Enzimi

- Permettono l'accoppiamento di reazioni chimiche:
 - Nello stesso posto
 - Nello stesso momento



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 22 -

22

Reazioni accoppiate



- Consideriamo l'equilibrio

$$K_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = 10^{-\frac{\Delta G^{\circ}}{RT}} = 1.15 \cdot 10^{-3} \text{ (a } 25^{\circ}\text{C)}$$

- Se la reazione è accoppiata all'idrolisi di ATP attraverso un enzima:



$$K_{eq} = \frac{[B]_{eq} [\text{ADP}]_{eq} [\text{Pi}]_{eq}}{[A]_{eq} [\text{ATP}]_{eq}} = 2.67 \cdot 10^2$$

$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = \frac{[\text{ATP}]_{eq}}{[\text{ADP}]_{eq} [\text{Pi}]_{eq}} K_{eq}$$

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 23 -

23

Reazioni accoppiate

- Nella cellula il rapporto:

$$\frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}] [\text{Pi}]} \sim 500$$

$$\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = 2.67 \cdot 10^2 \times 500 = 1.34 \cdot 10^5$$

$$\frac{1.34 \cdot 10^5}{1.15 \cdot 10^{-3}} \sim 10^8$$

- In presenza di idrolisi di ATP la K_{eq} di una reazione può aumentare di 10^8 volte;
- Se l'idrolisi di una mole di ATP (-7.3 kcal) non bastano più moli di ATP possono essere impiegate.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 24 -

24

Reazioni accoppiate

A e B

- Non sono necessariamente due composti chimici ma possono essere:
 - differenti conformazioni di una molecola;
 - differenti concentrazioni di uno ione ai lati di una membrana,
 - ecc...
 - ... stati iniziali e finali di una TRASFORMAZIONE!

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 25 -

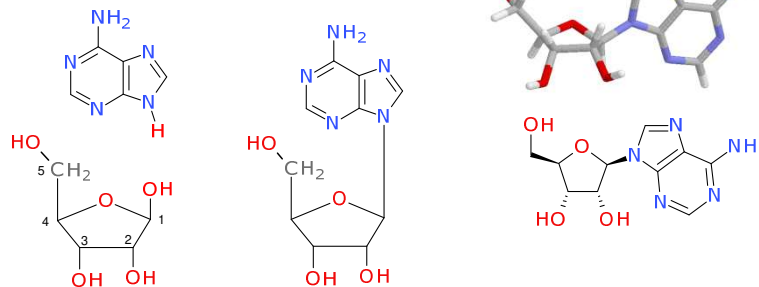
25

Coenzimi

26

Nucleosidi

- Il legame si forma tra il C1 dello zucchero e con l'atomo di azoto non coinvolto nella tautomeria.
- Si formano i nucleosidi, in questo caso l'adenosina.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

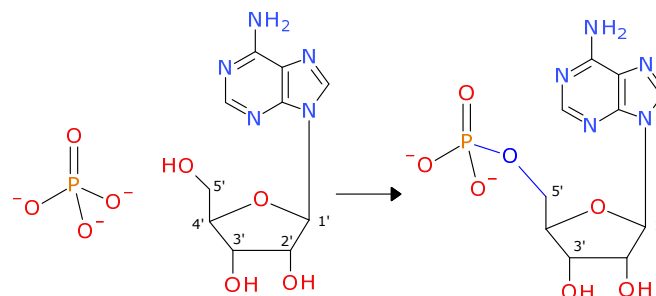
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 27 -

27

Nucleotidi

- La funzione alcolica primaria rimasta libera può essere **esterificata** con l'acido fosforico (fosfoestere), per esempio con l'adenosina, si ottiene una molecola **idrosolubile** e **carica**. Adenosinmonofosfato (AMP)



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

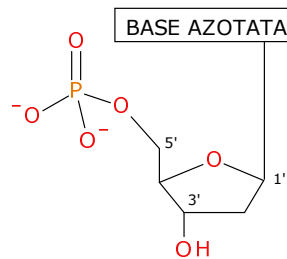
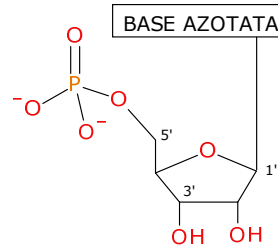
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 28 -

28

Nucleotidi e deossinucleotidi

- Nucleotidi
- Deossinucleotidi



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

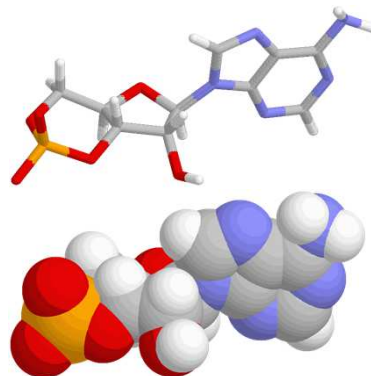
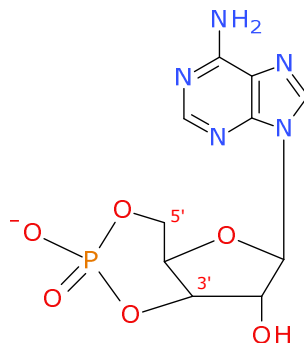
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 29 -

29

Nucleotidi ciclici

- Anche la funzione alcolica in 3' può essere esterificata con una funzione acida libera dello stesso acido fosforico, si ottengono i nucleotidi ciclici: cAMP



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

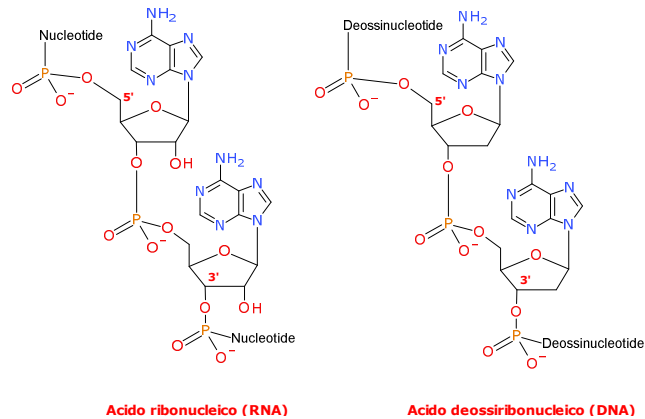
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 30 -

30

Nucleotidi e acidi nucleici

- Il legame può anche avvenire tra nucleotidi diversi attraverso esterificazioni in 3' e 5' per formare catene polinucleotidiche (acidi nucleici).



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

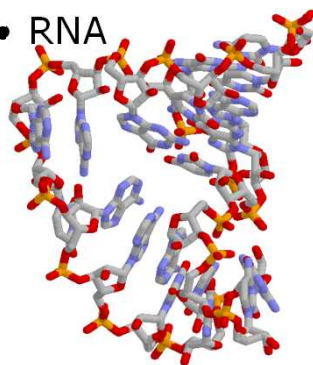
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 31 -

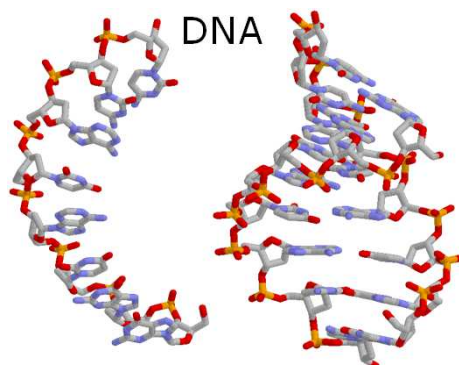
31

Nucleotidi e acidi nucleici

- RNA



- DNA



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

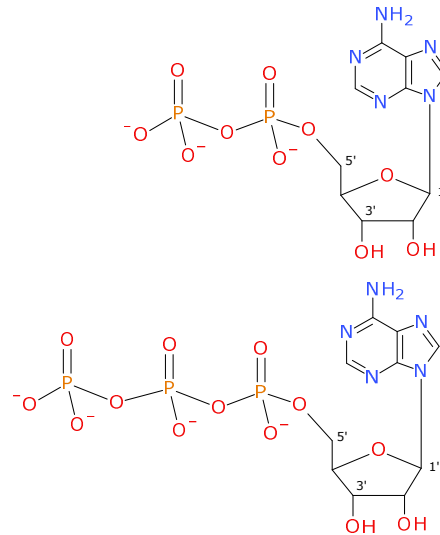
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 32 -

32

Nucleotidi liberi

- I monofosfonucleotidi hanno la possibilità di essere ulteriormente fosforilati per formare i difosfonucleotidi (ADP) e i trifosfonucleotidi (ATP)



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

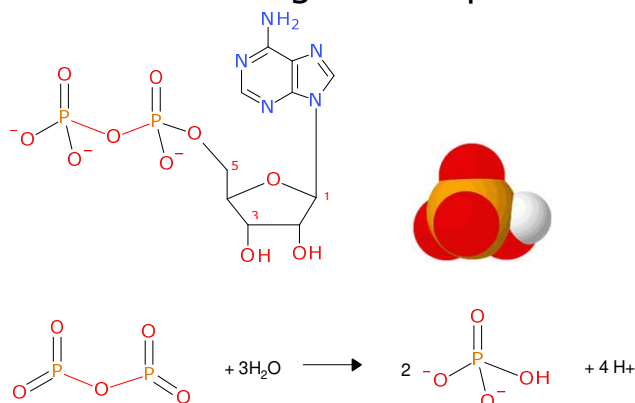
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 33 -

33

Nucleotidi liberi

- I legami che tengono insieme i residui di fosfato sono legami di tipo **anidridico**.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

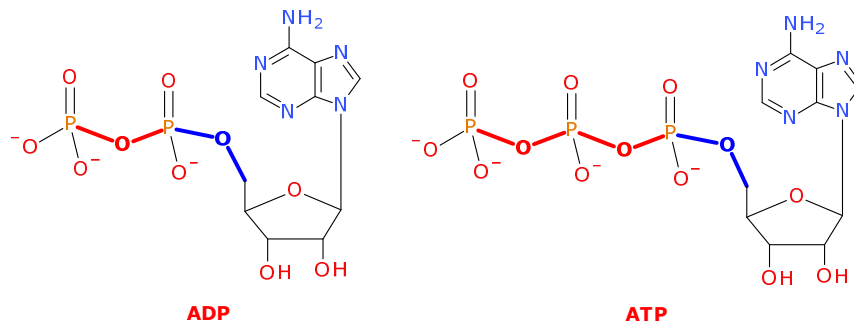
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 34 -

34

ADP e ATP

- Legami di tipo **anidridico**
- Legami di tipo **fosfoestereo**



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 35 -

35

A cosa servono i nucleotidi

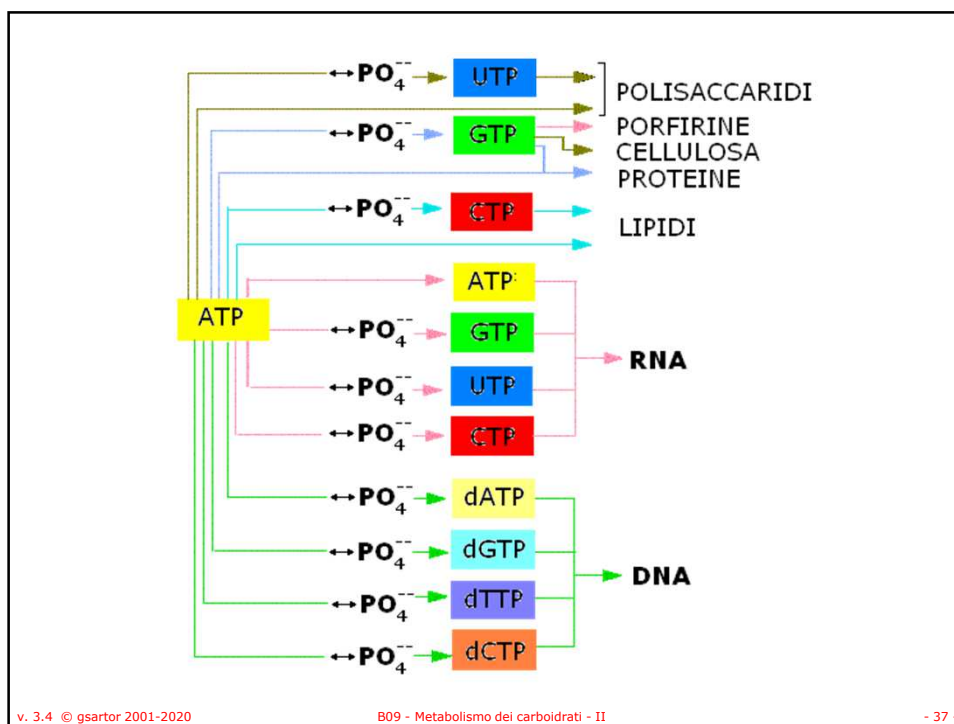
- Trasporto di energia
 - ATP (GTP), ADP, AMP,
- Segnali intracellulari
 - cAMP
- Trasporto di equivalenti ridotti
 - NAD^+/NADH , $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$
 - FAD/FADH_2
- Trasporto di acili
 - CoA
- ...

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

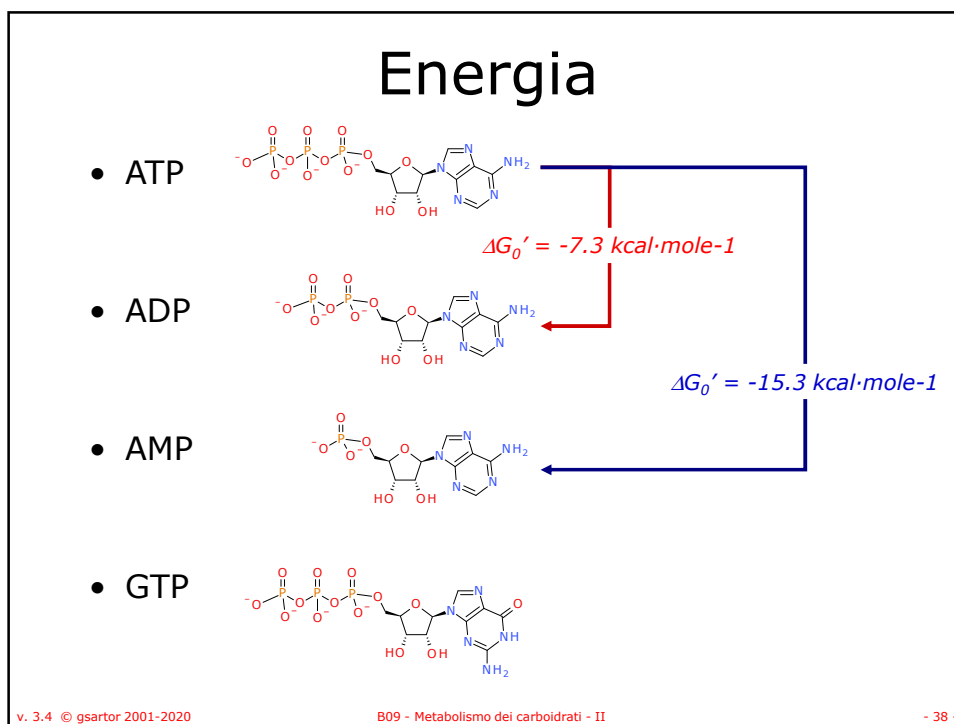
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 36 -

36

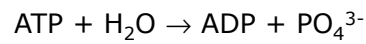


37



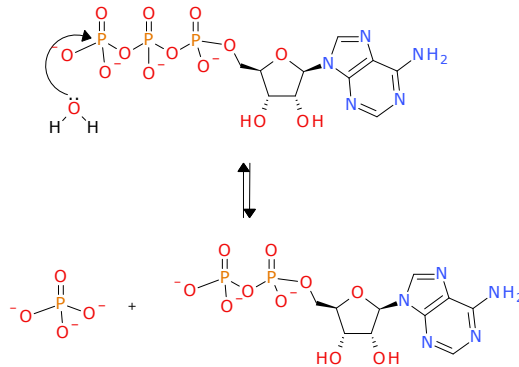
38

Trasporto di energia



$\Delta G^{\circ'} = -7.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$ ($-30.6 \text{ kJ} \cdot \text{mole}^{-1}$) a pH 7

$\Delta G^{\circ} = -10 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$ ($-42 \text{ kJ} \cdot \text{mole}^{-1}$) a pH 9



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 39 -

39

$\Delta G^{\circ'}$

- Il valore di $\Delta G^{\circ'}$ dipende da:
 - Forza ionica
 - Concentrazione di Mg^{++}
 - Concentrazione di Ca^{++}
- Nelle normali condizioni cellulari vale circa:

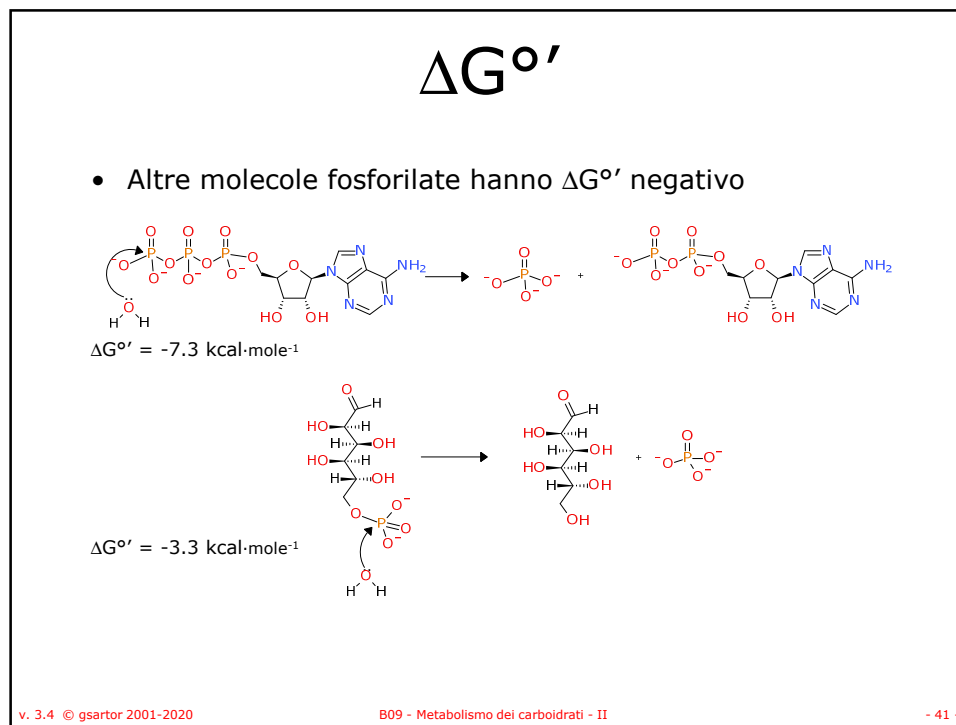
$-12 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$
- I nucleotidi sono contemporaneamente:
 - Stabili
 - Solubili
 - Carichi
 - Reattivi

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

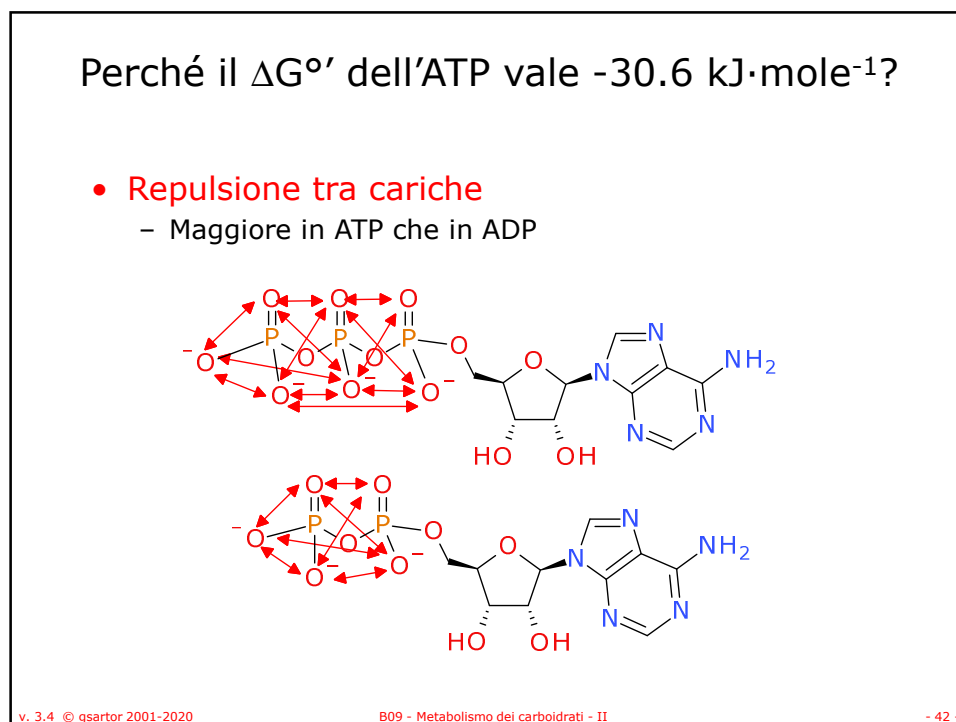
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 40 -

40



41

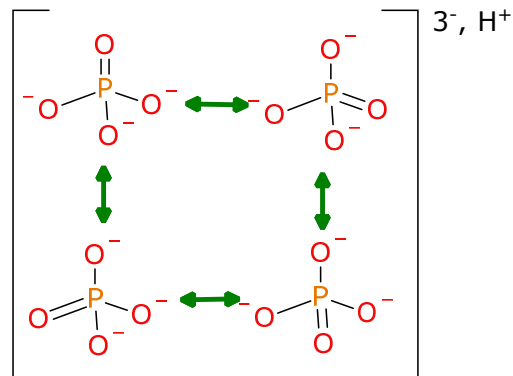


42

Perché il $\Delta G^{\circ'}$ dell'ATP vale $-7.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$?

- **Stabilizzazione per risonanza**

- Del fosfato



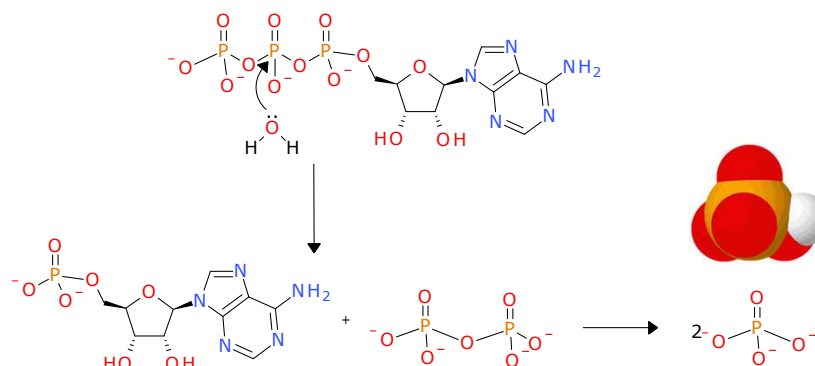
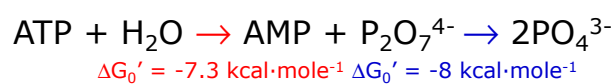
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 43 -

43

Trasporto di energia



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

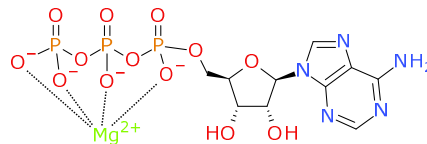
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 44 -

44

ATP e Mg^{++}

- Nella cellula l'ATP è spesso complessato con lo ione Mg^{++}



- Per formare un complesso ibridizzato ...

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

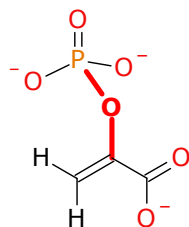
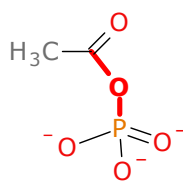
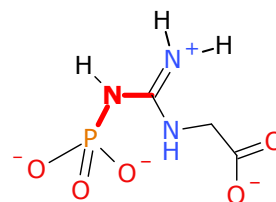
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 45 -

45

Altre molecole "energetiche"

- Hanno $\Delta G_0'$ negativo nella reazione di idrolisi del gruppo fosfato.

 $\Delta G^{\circ'} = -14.8 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$ $\Delta G^{\circ'} = -10.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$ $\Delta G^{\circ'} = -10.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$ **Fosfoenolpiruvato****Acetilfosfato****Fosfocreatina**

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

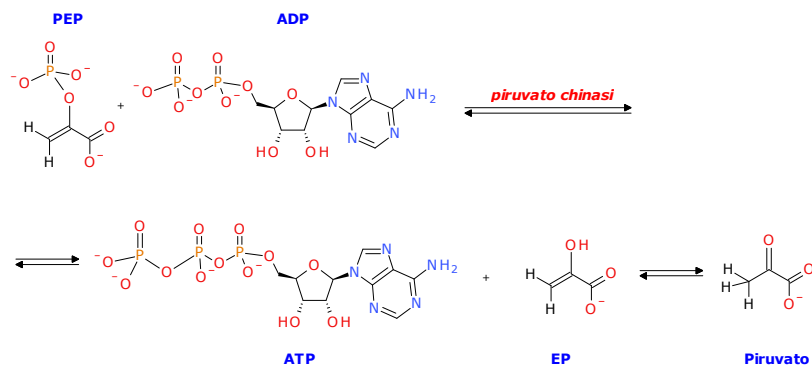
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 46 -

46

Come si fa a "ricaricare" l'ADP per formare ATP

- Attraverso la catalisi di un enzima (*piruvato chinasi*)



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

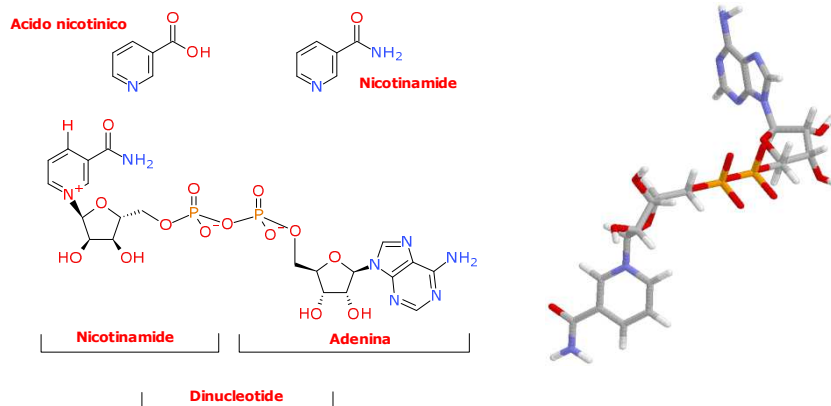
- 47 -

47

Trasporto di elettroni

NAD⁺

nicotinamide adenine dinucleotide

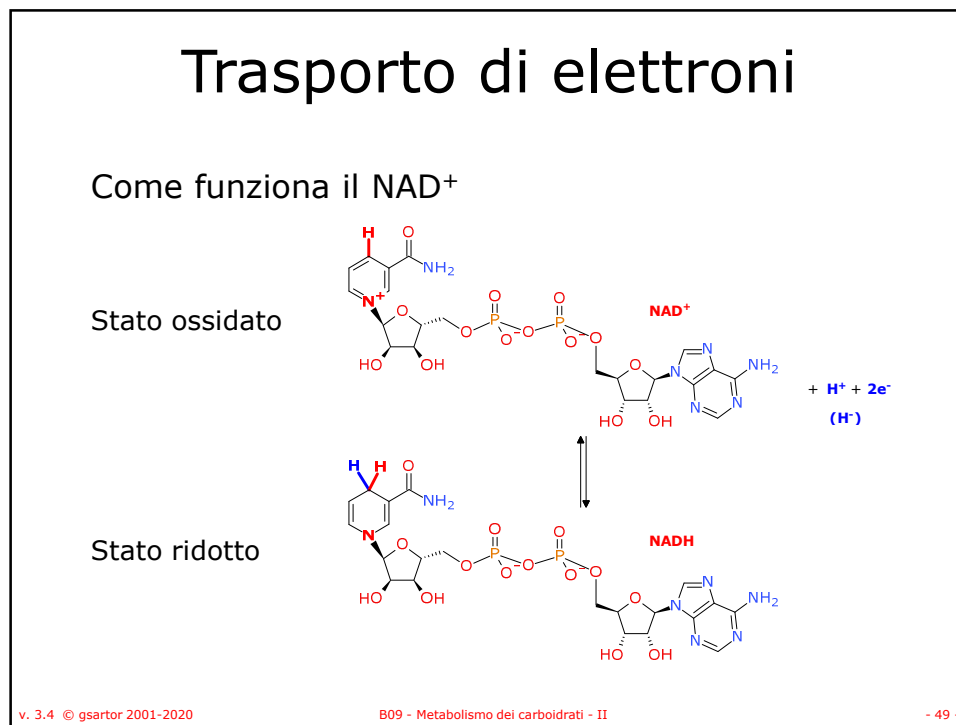


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

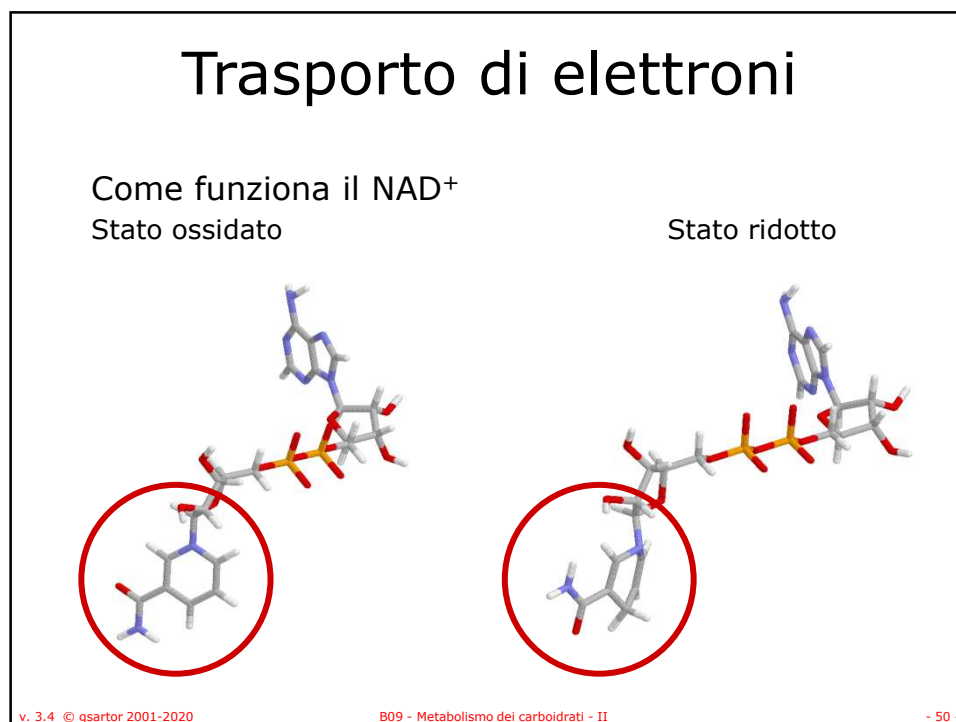
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 48 -

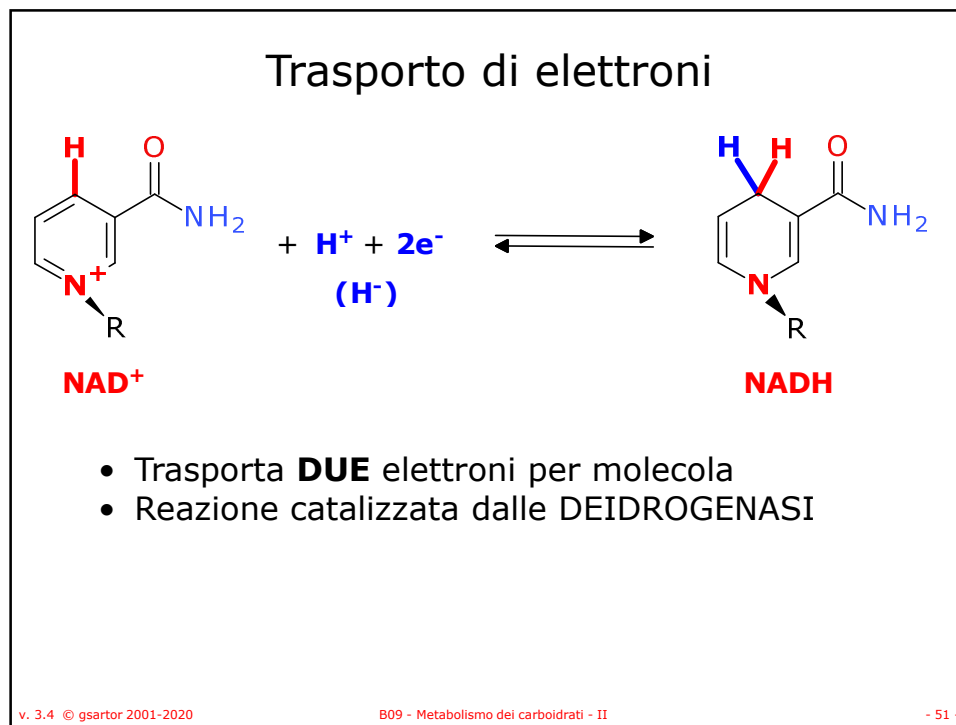
48



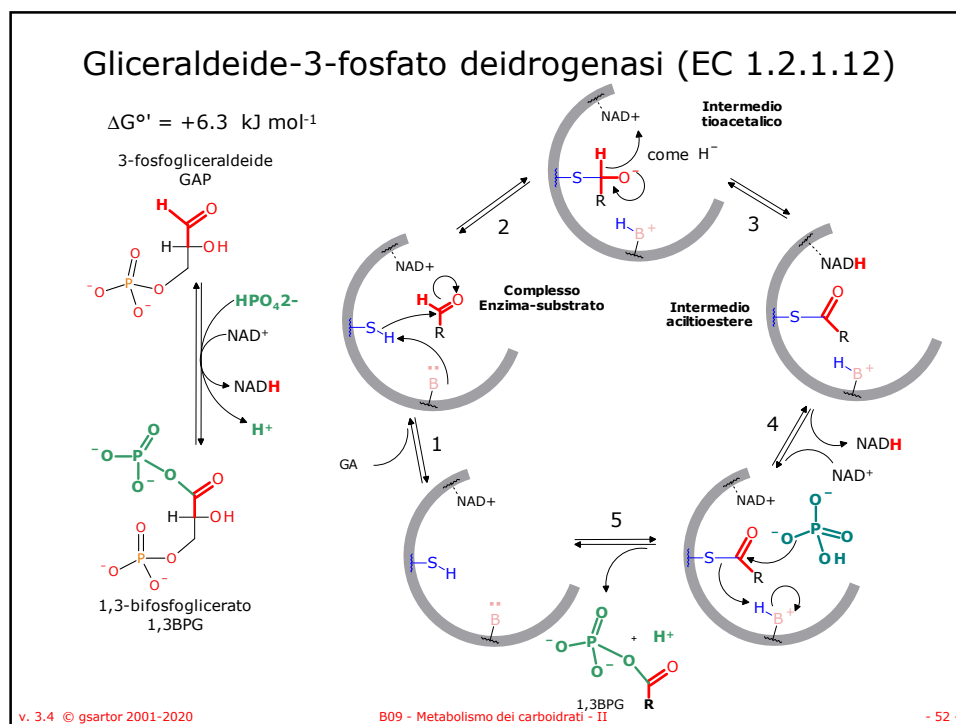
49



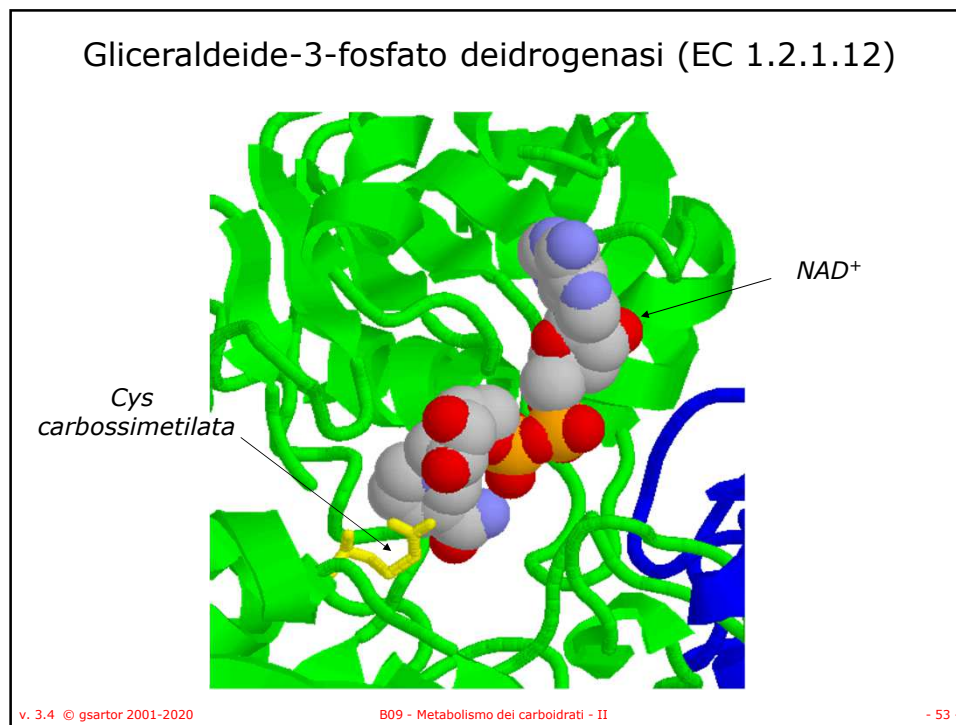
50



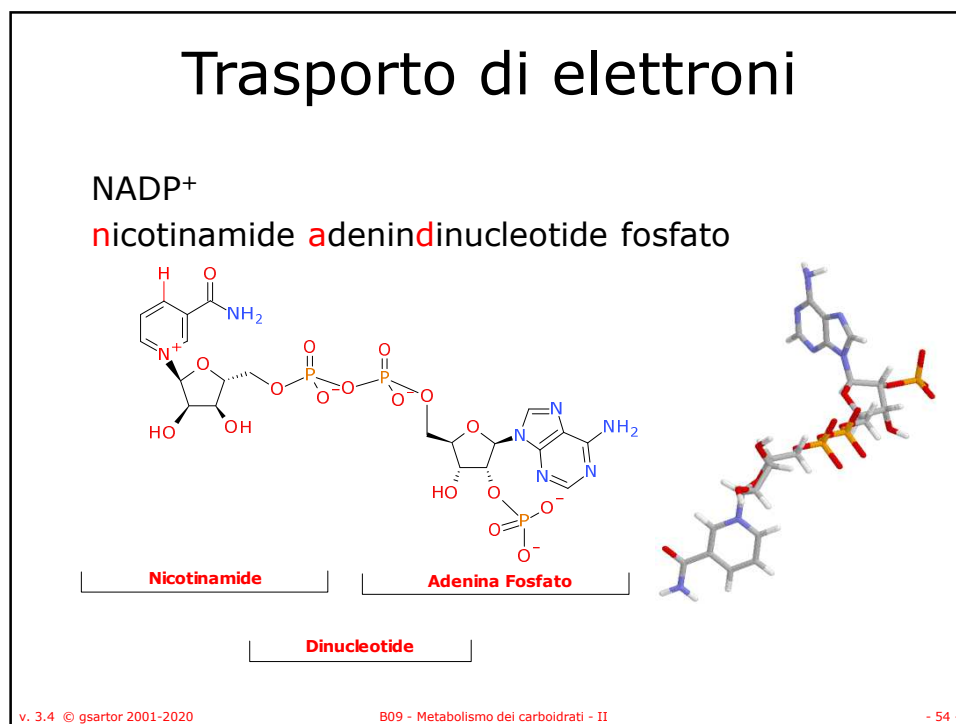
51



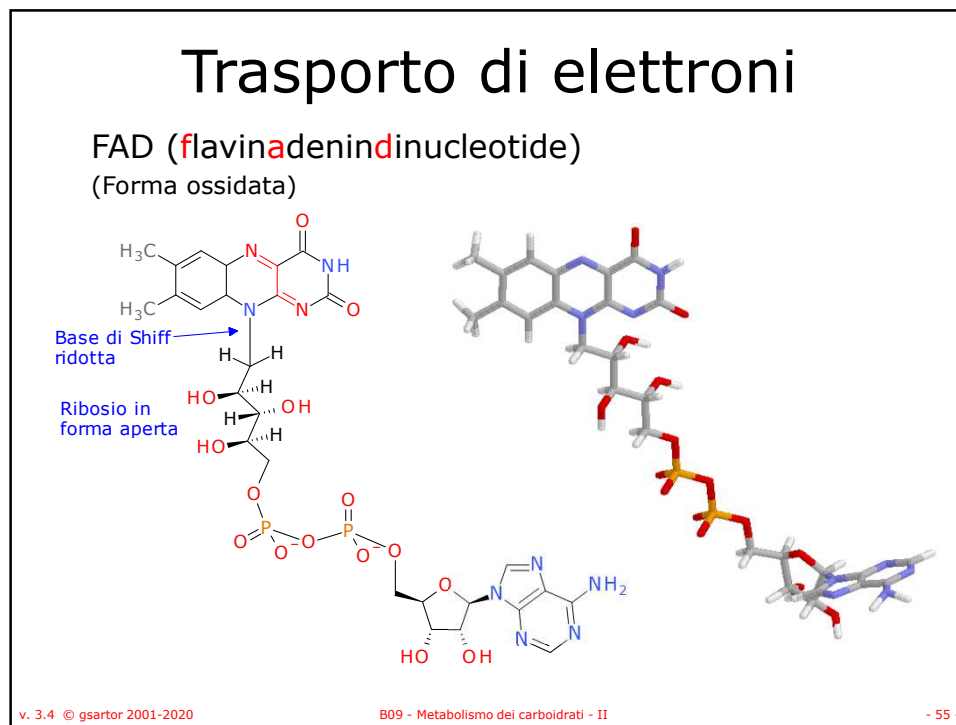
52



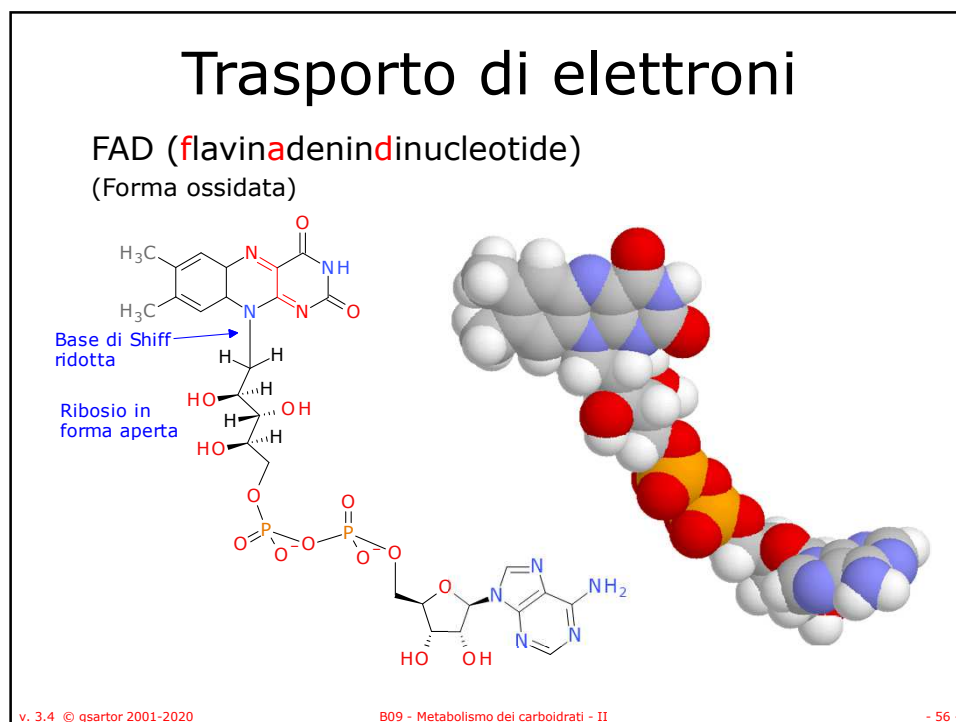
53



54



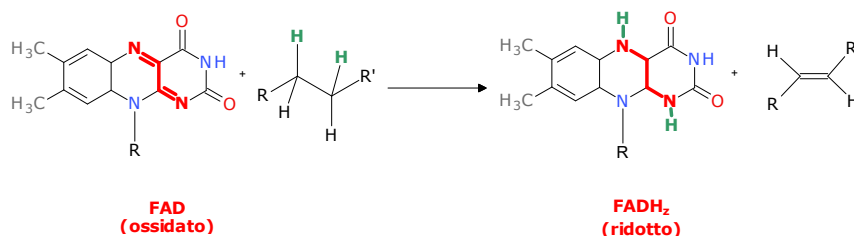
55



56

Trasporto di elettroni

Come funziona il FAD



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

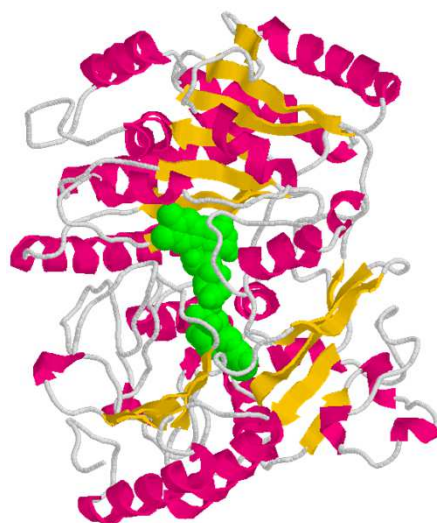
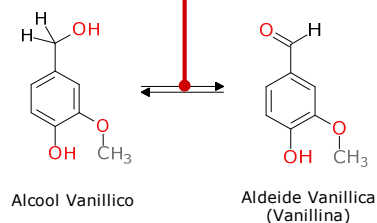
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 57 -

57

Trasporto di elettroni

Il FAD è legato alle
proteine,
(in questo caso la
alcolvanillilico ossidasi)



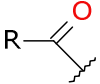
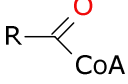
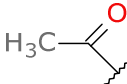
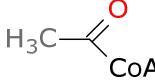
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

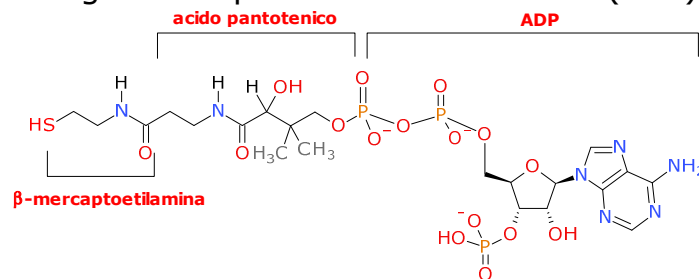
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 58 -

58

Coenzima A

- Gli acili e  
- gli acetili  
- Vengono trasportati dal coenzima A (CoA)



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

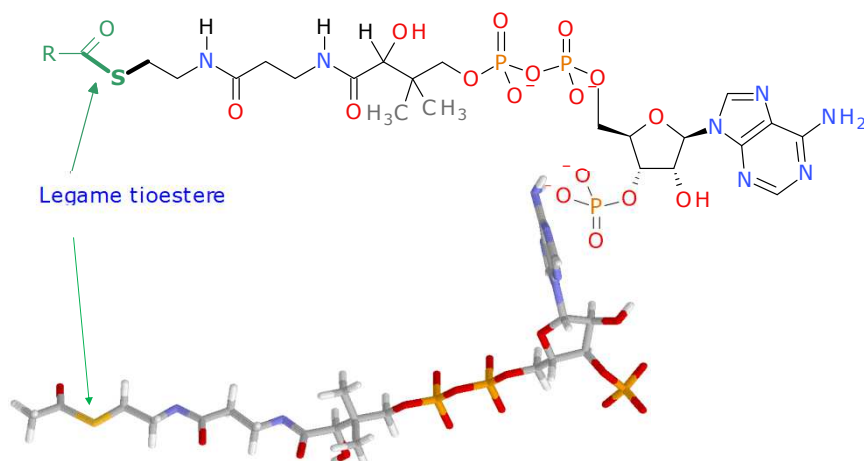
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 59 -

59

Trasporto di acili

- Attraverso la formazione di un legame tioestere



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

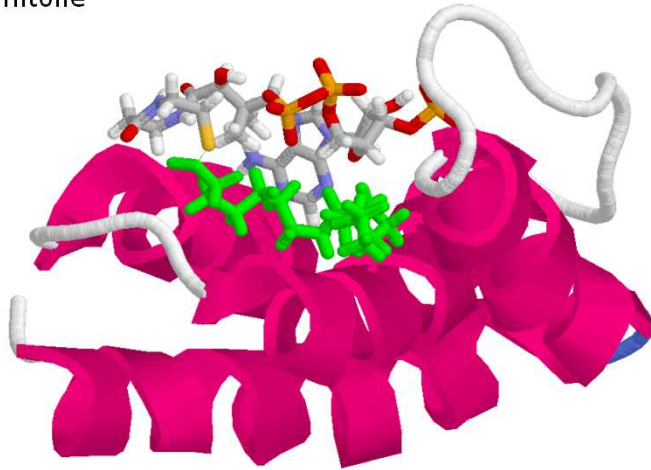
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 60 -

60

Proteina acil-CoA

- Complesso tra la proteina legante acil-CoA, CoA e palmitoile



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 61 -

61

Vie metaboliche

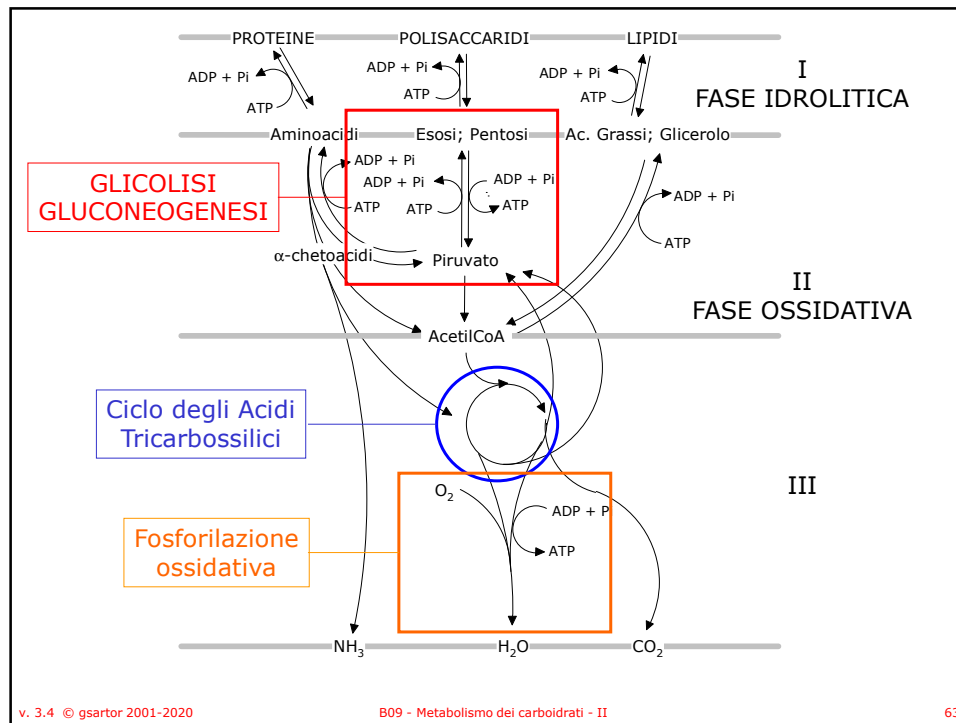
- Sono l'insieme di reazioni chimiche che portano alla trasformazione di un substrato in un prodotto passando attraverso composti intermedi.
 - Vie cataboliche:
 - Vie di degradazione di un composto
 - Producono energia chimica (ATP e NADH) e intermedi
 - Vie anaboliche:
 - Vie di sintesi di composti
 - Utilizzano energia chimica (ATP e NADPH) e intermedi.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

62

62



63

Vie metaboliche ed intermedi

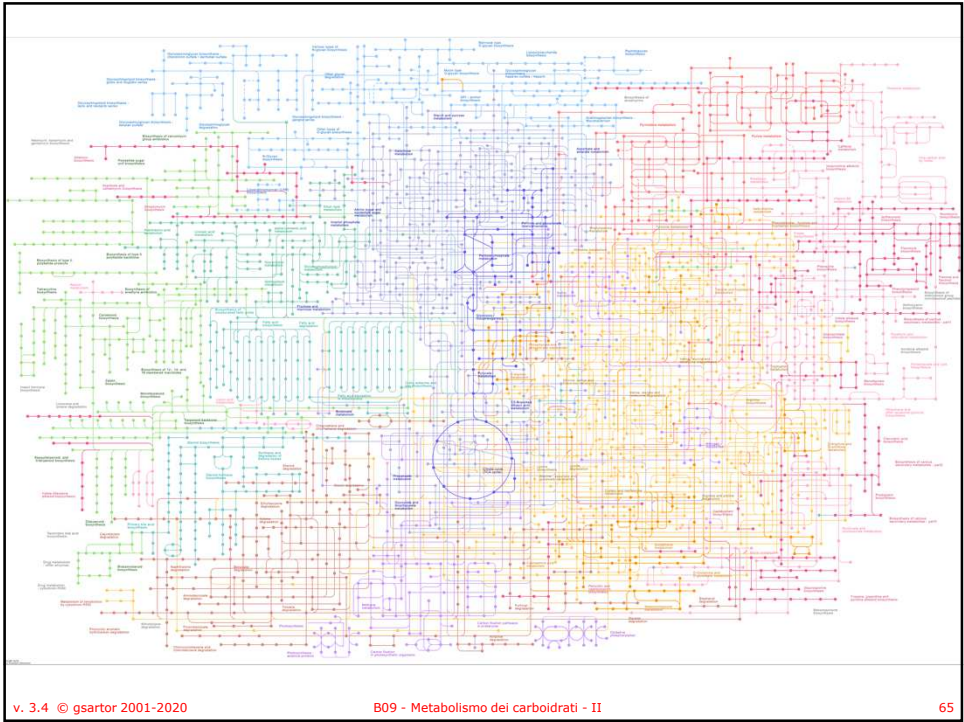
- Le vie metaboliche producono intermedi;
- Il destino dei composti intermedi può essere vario ;
- Ogni punto di biforcazione di una via metabolica permette una regolazione ;
- Le vie metaboliche più importanti sono comuni a tutti gli organismi ;
- Organismi diversi in ambienti diversi sono caratterizzati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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

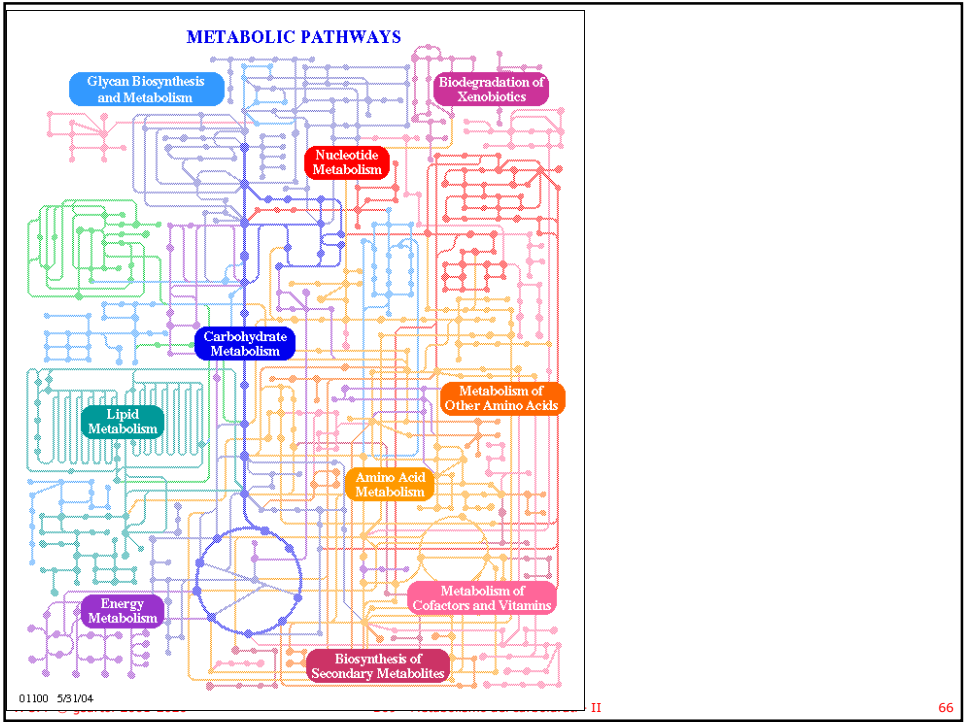
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

64

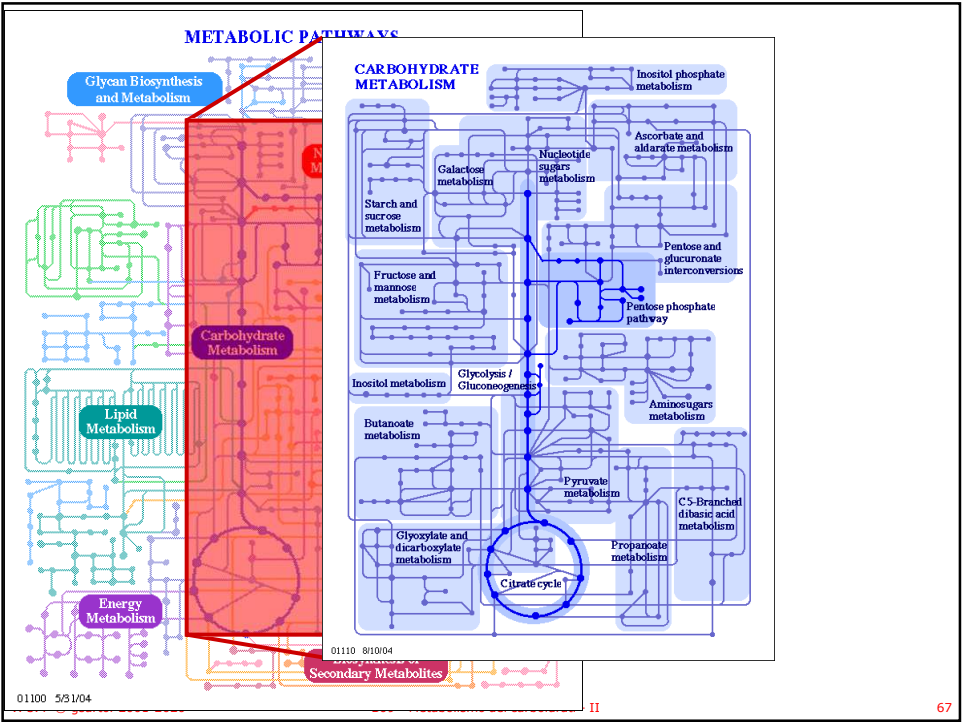
64



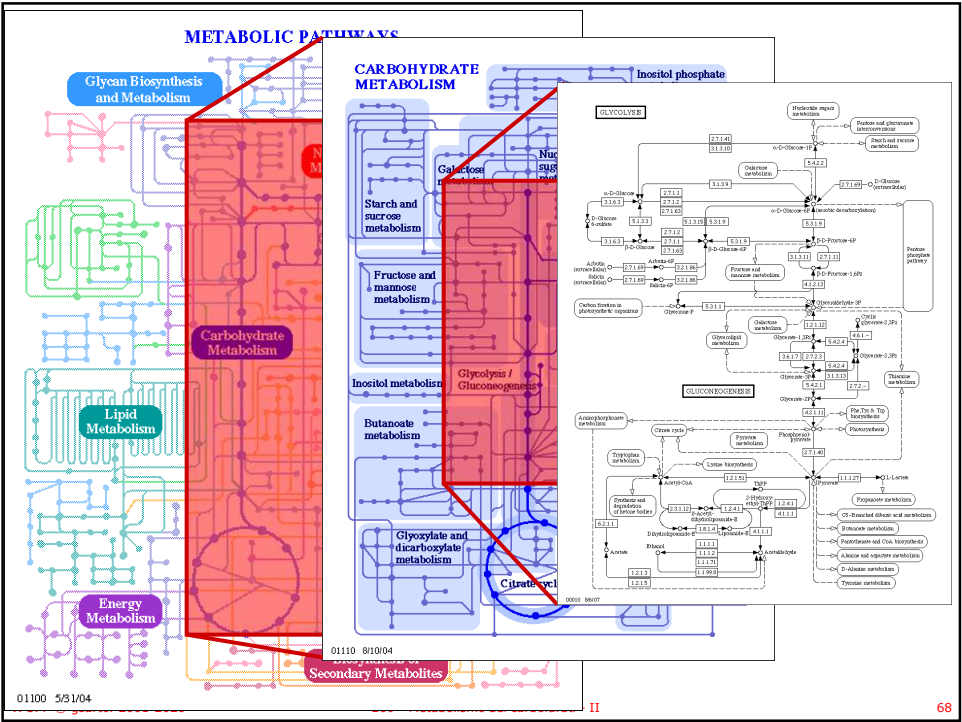
65



66



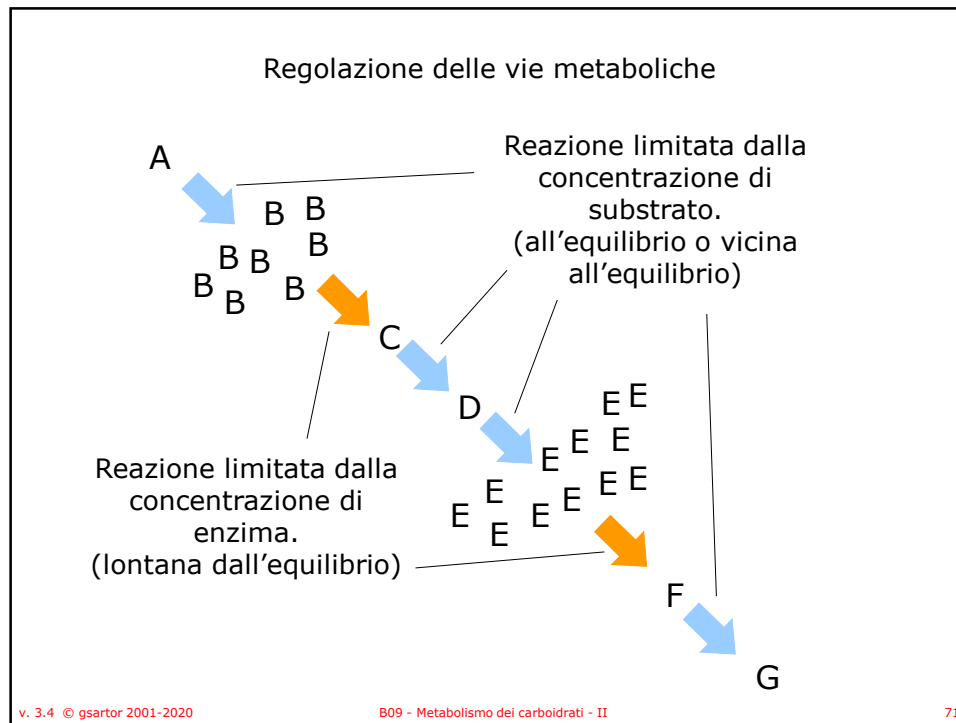
67



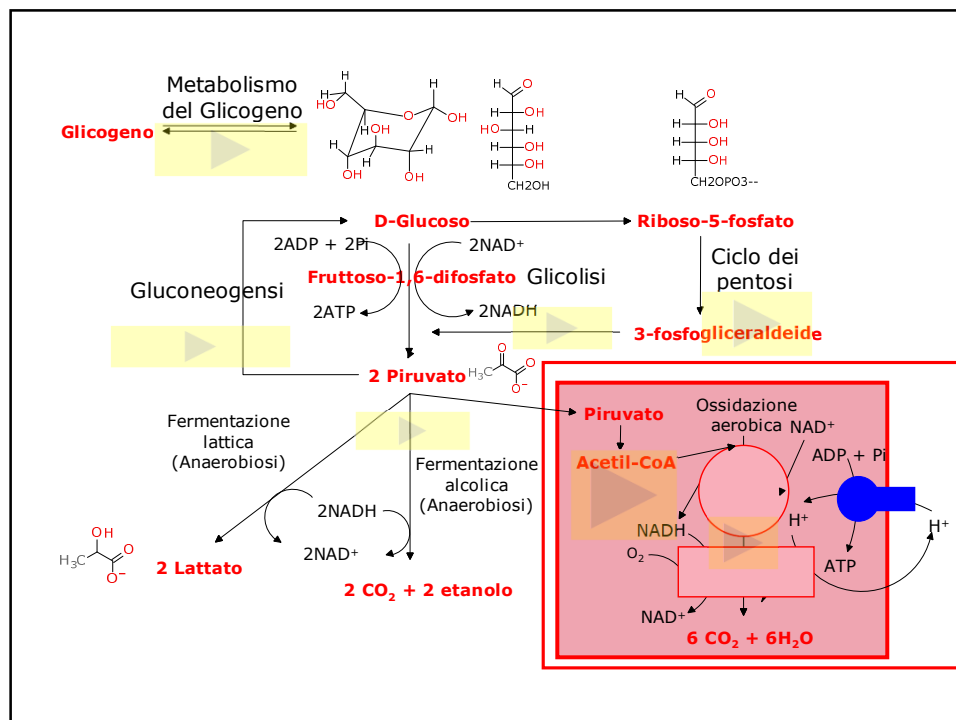
68



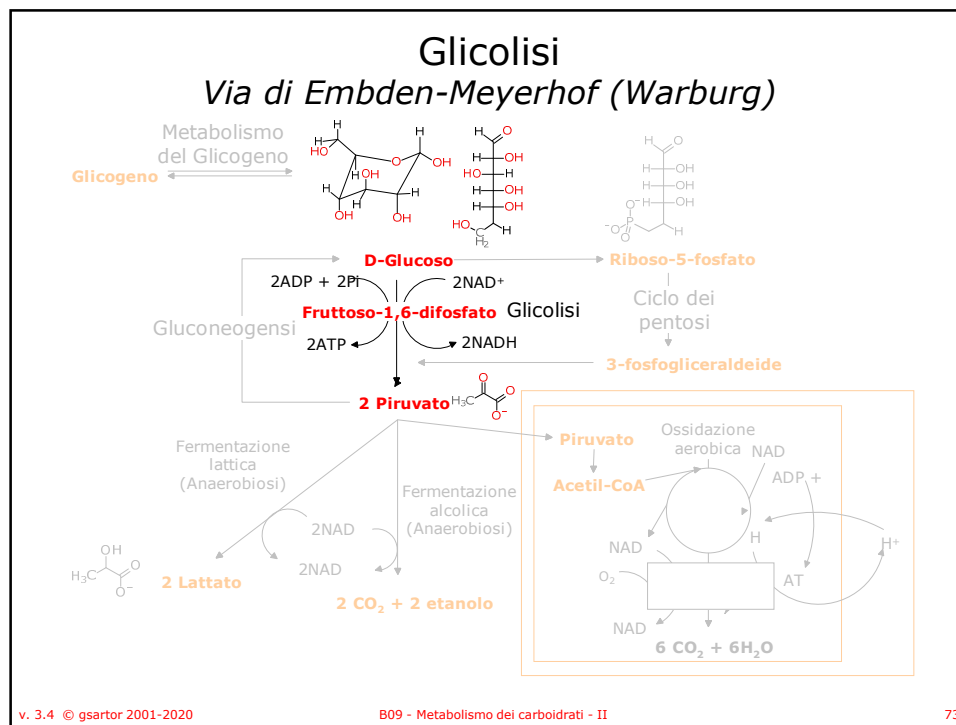
- La velocità di una via metabolica
 - può essere regolata sia dalla disponibilità del substrato (K_m) che dalla disponibilità dell'enzima (V_{max}).
 - È controllata dal passaggio più lento nella via metabolica
 - Termodinamicamente molto favorito
 - Catalizzato da un enzima estremamente regolato
 - 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.



71



72



73

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

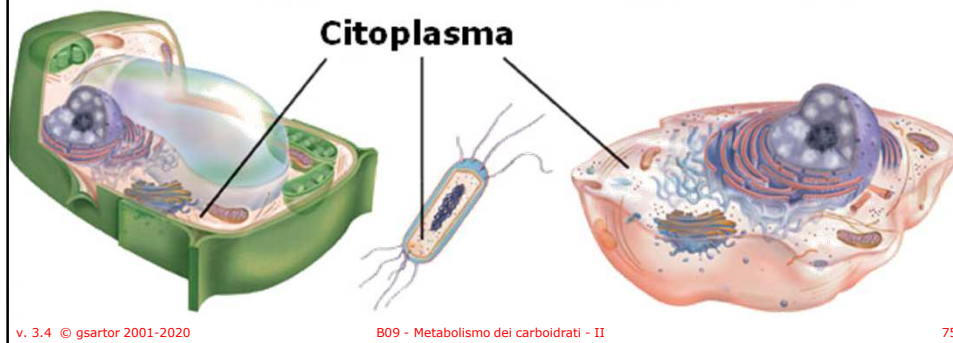
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

74

74

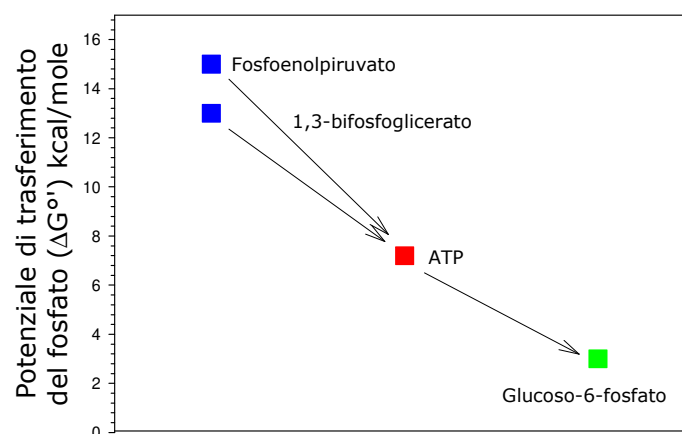
Glicolisi

- 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.



75

Intermedi fosforilati



76

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

77

77

Fosforilazione

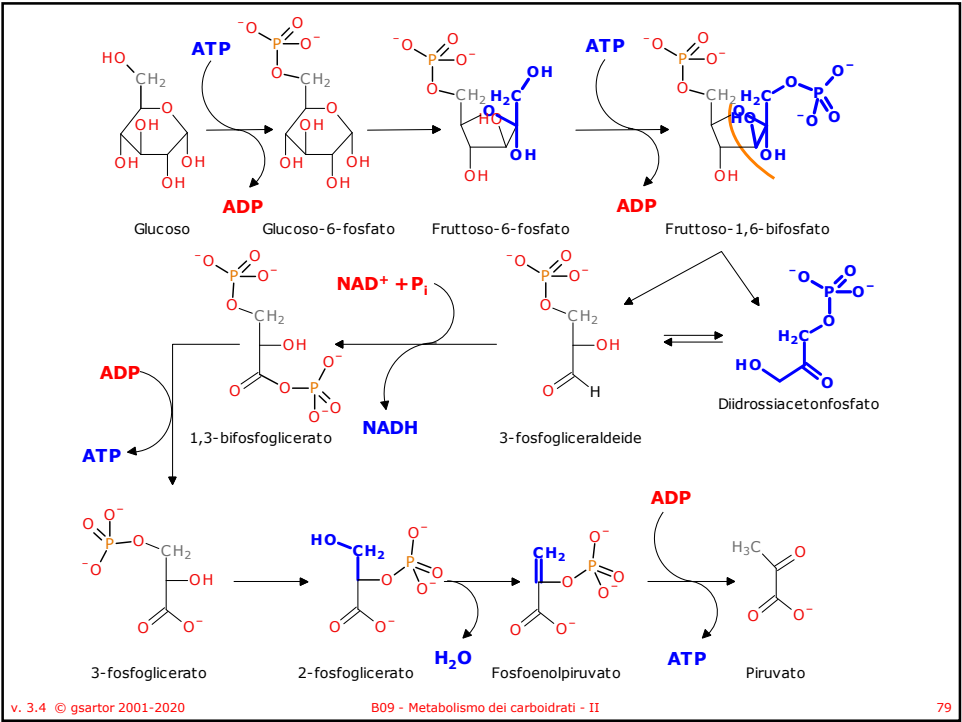
- La prima fase della glicolisi consiste nella **fosforilazione** del glucosio per arrivare a fruttosio-1,6-difosfato attraverso il glucosio-6-fosfato che viene isomerizzato a fruttosio-6-fosfato.
- Vengono consumate due molecole di ATP per ottenere lo zucchero difosfato.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

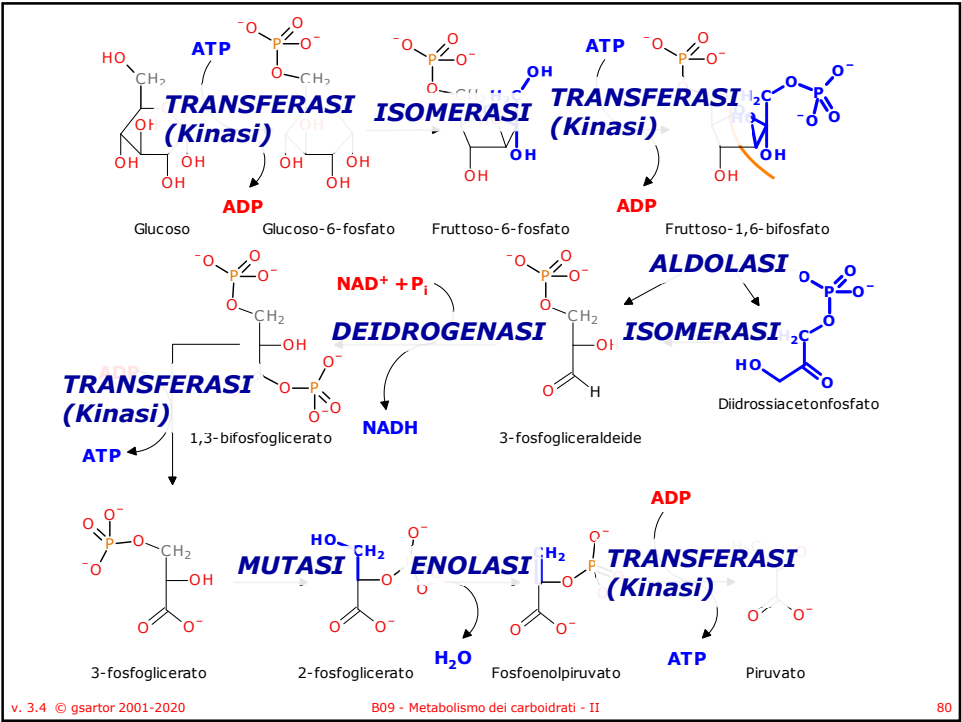
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

78

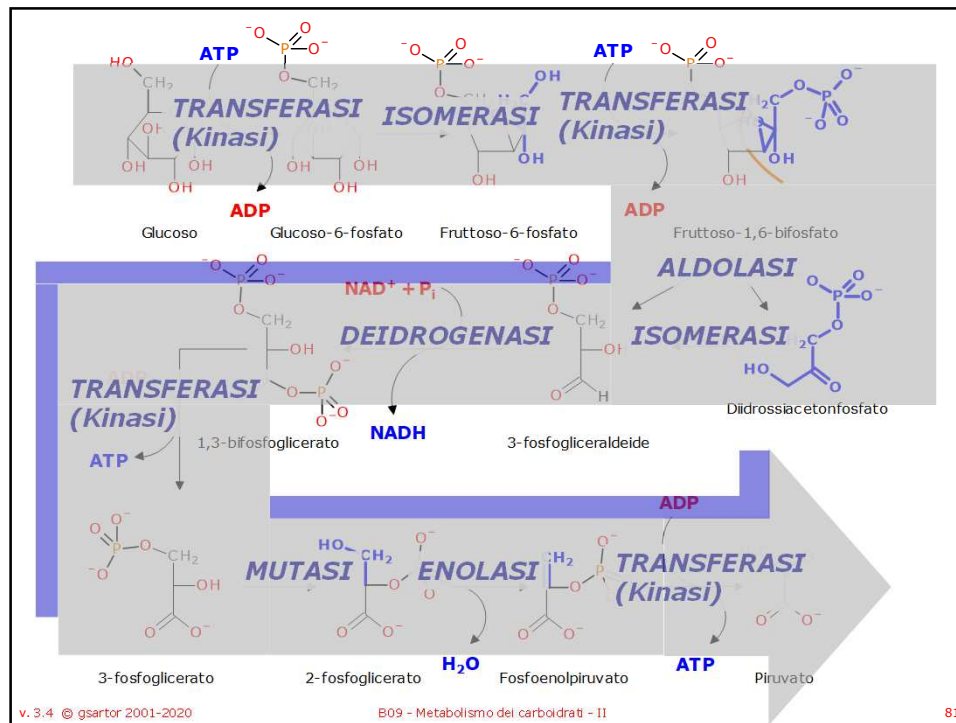
78



79



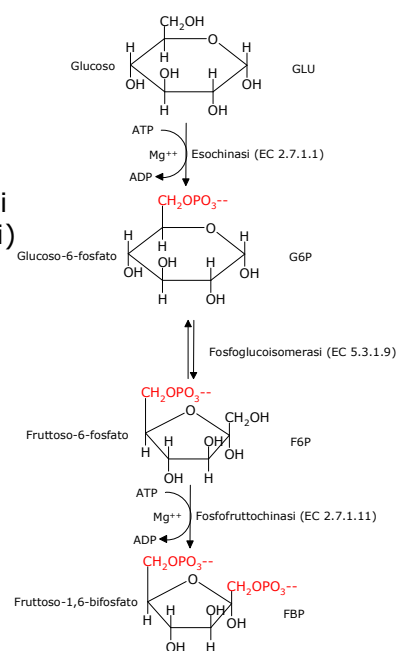
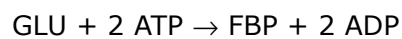
80



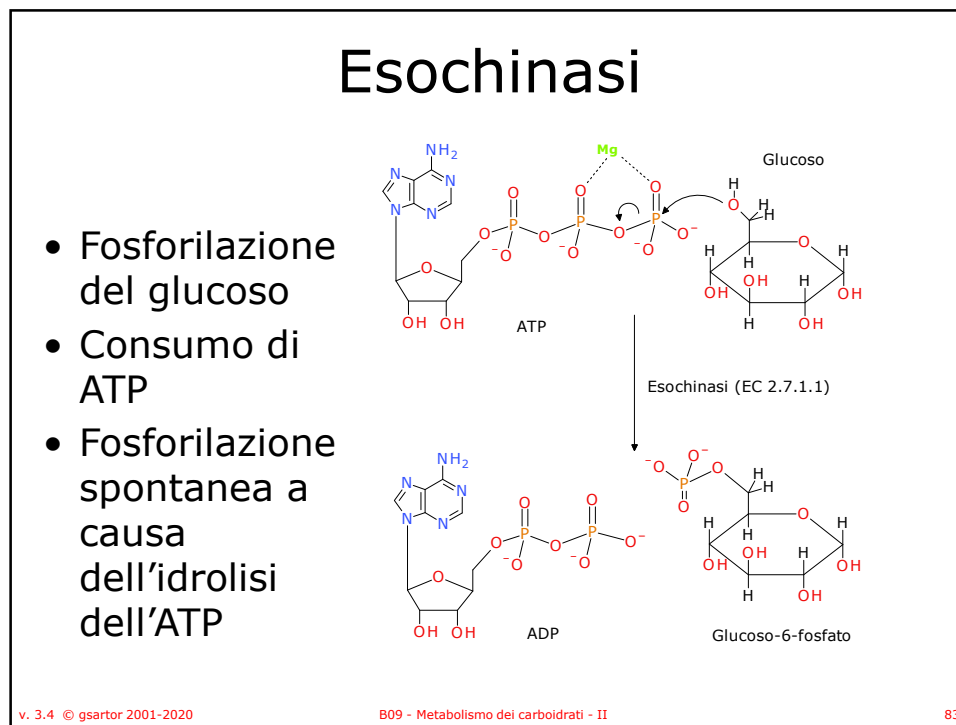
81

Fase 1 Formazione del fruttosio-1,6-difosfato

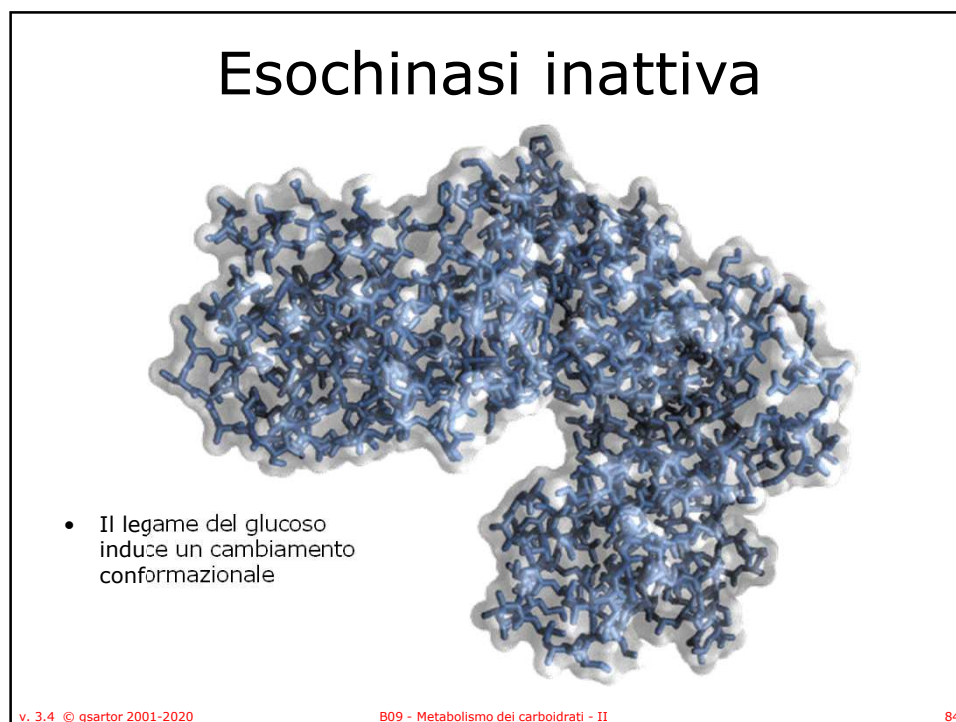
- Gli enzimi coinvolti sono due chinasi (la esochinasi e la fosfofruttochinasi) ed una isomerasi
- Risultato netto:



82

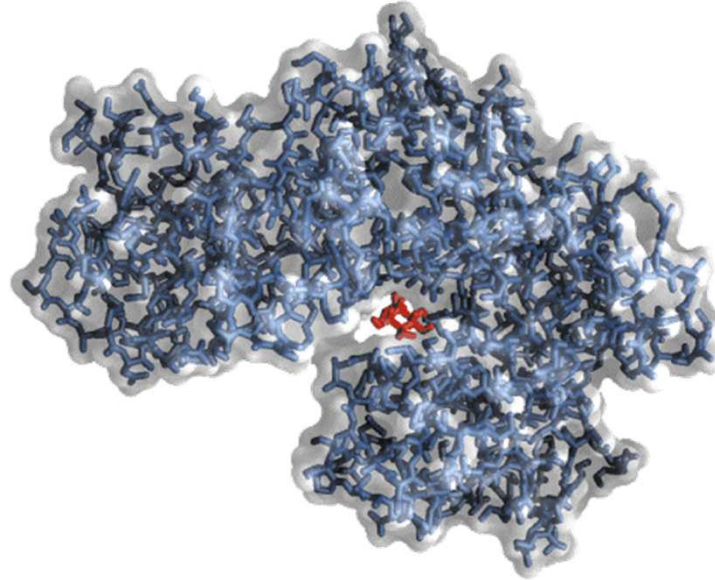


83



84

Esochinasi attiva



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

85

85

Esochinasi EC2.7.1.1

- La fosforilazione confina il glucosio nella cellula
- La $K_m^{\text{glucosio}} = 0.1 \text{ mM}$;
- Nella cellula il glucosio è 4 mM
- La glucocinasi ha una $K_m^{\text{glucosio}} = 10 \text{ mM}$, 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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

86

86

Ruolo del Glucoso-6-fosfato

Glucoso

GLU

ATP → ADP

Mg²⁺

G6P

Via dei pentosi fosfati

Sintesi di NADPH e di zuccheri a 3, 5, 6 e 7 atomi di carbonio

Glucoso-6-fosfato

Glucosio-1-fosfato

Glucuronato

Sintesi di carboidrati

Glucosammina-6-fosfato

F6P

Deposito di energia nel muscolo e nel fegato

Glicogeno

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

87

87

Glucoso

GLU

ATP → ADP

Mg²⁺

Esocinasi (EC 2.7.1.1)

Glucoso-6-fosfato

G6P

Fosfoglucoisomerasi (EC 5.3.1.9)

Fruttosio-6-fosfato

F6P

ATP → ADP

Mg²⁺

Fosfofruttochinasi (EC 2.7.1.11)

Fruttosio-1,6-bisfosfato

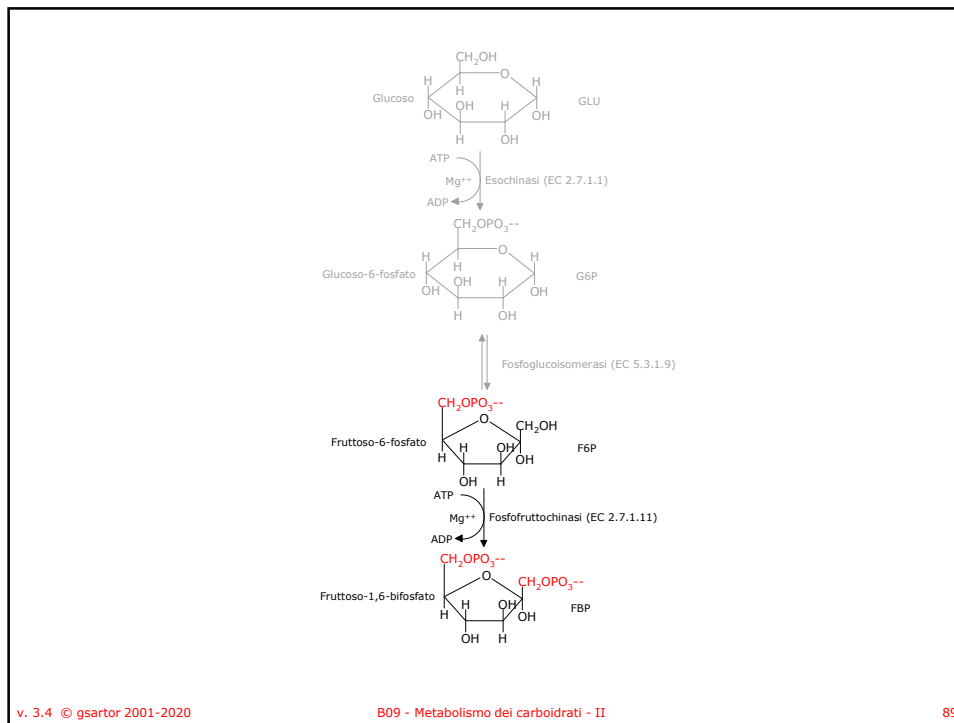
F6P

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

88

88



89

Fosfofruttochinasi EC2.7.1.11

È la reazione che controlla la glicolisi

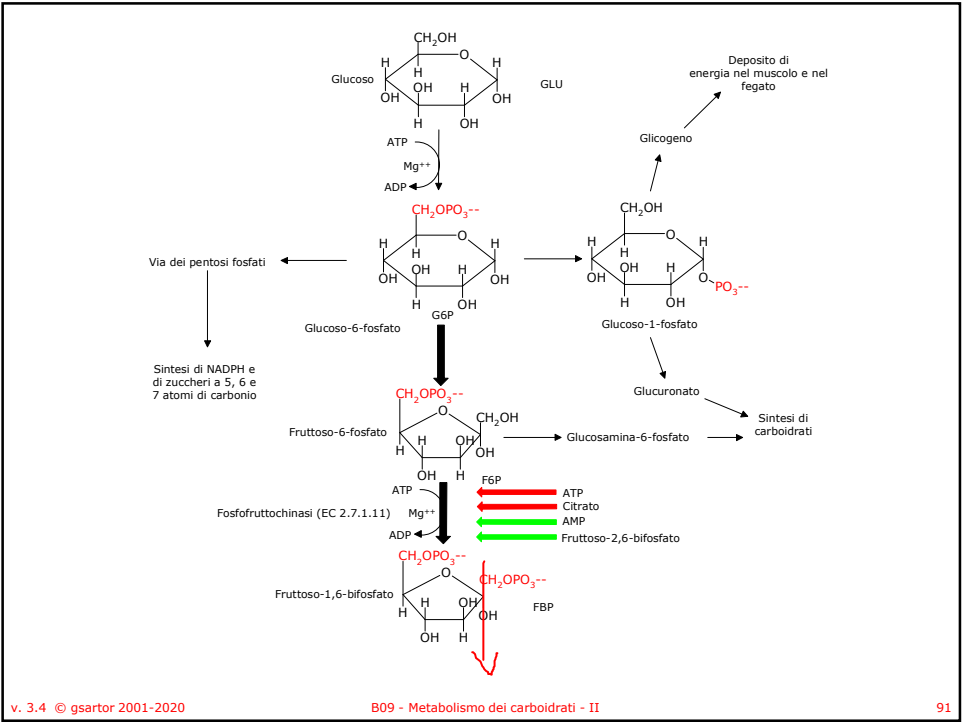
- È la seconda reazione di fosforilazione
- Valore di ΔG grande e negativo,
 - La PFK è altamente regolata
 - ATP inibisce, AMP elimina l'inibizione
 - Il citrato è un inibitore allosterico
 - Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico
 - L'attività della PFK aumenta quando lo stato energetico 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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

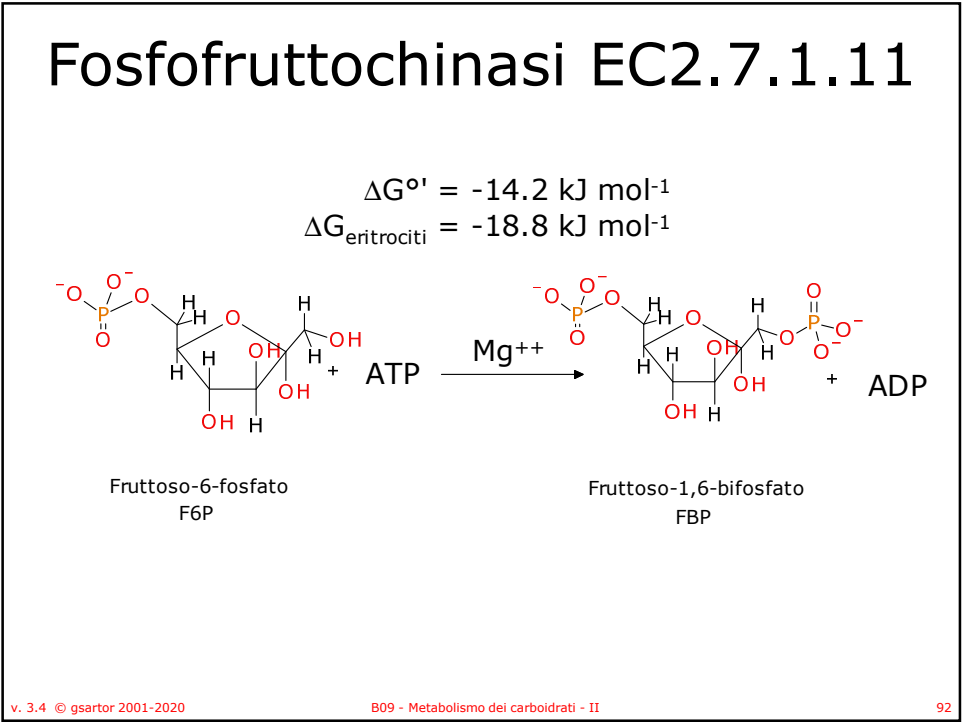
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

90

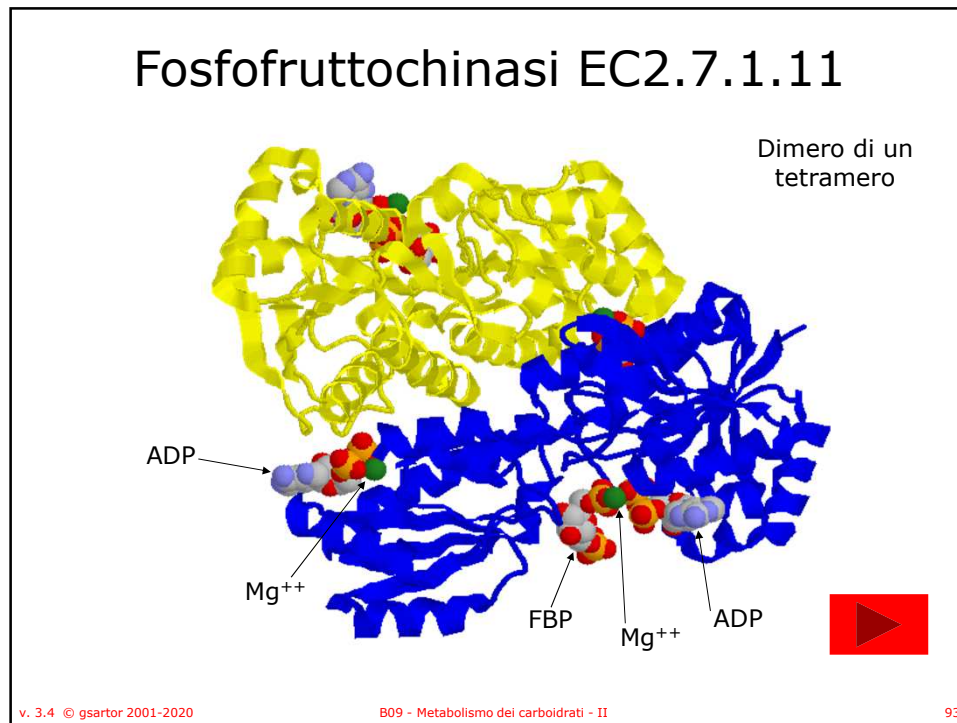
90



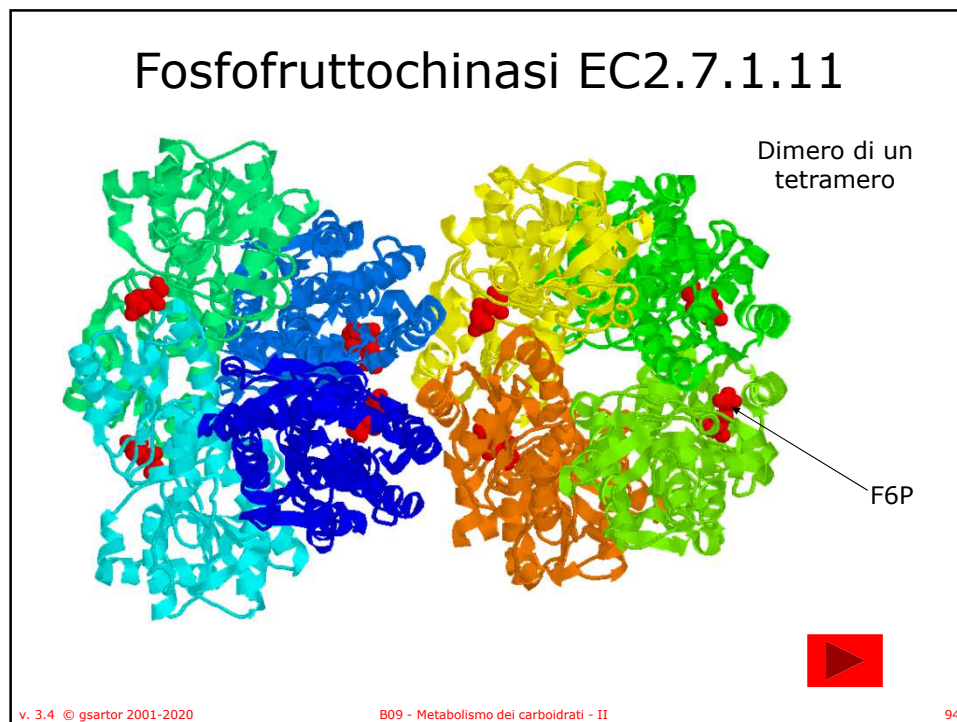
91



92

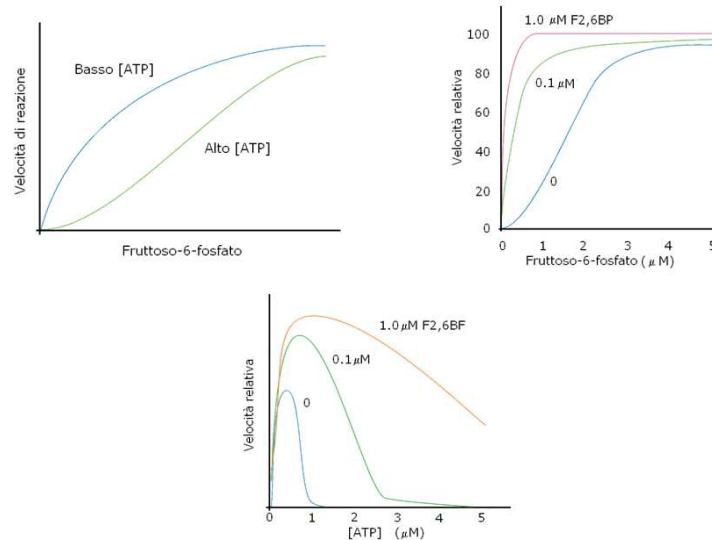


93



94

Regolazione PFK



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

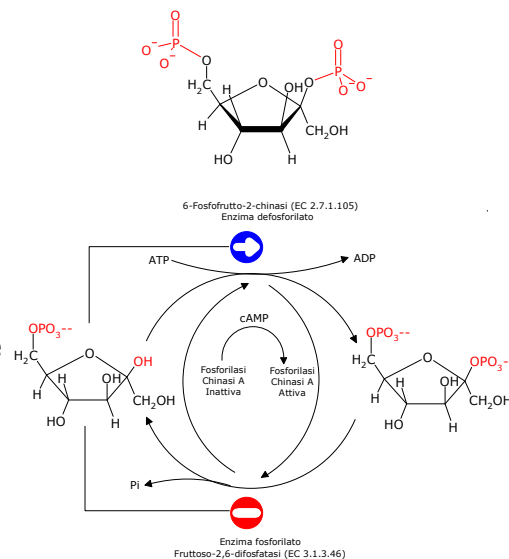
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

95

95

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.



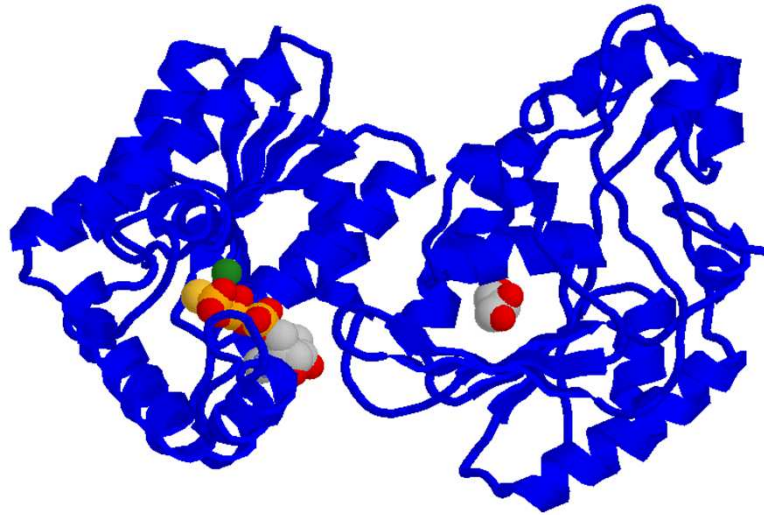
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 96 -

96

Enzima tandem



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

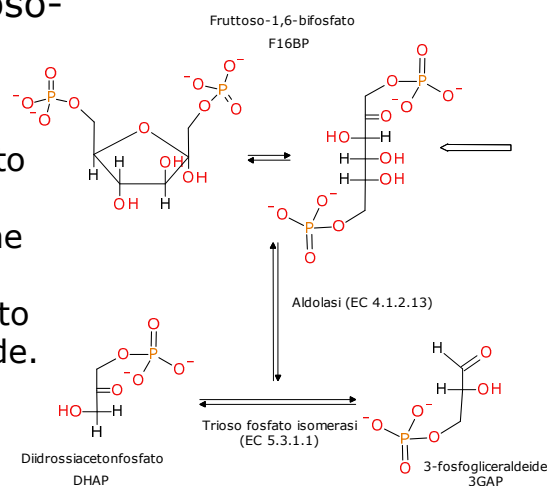
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

97

97

Fase 2 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-fosfogliceraleide.
- I due triosi sono tra loro in equilibrio attraverso la trioso fosfato isomerasi



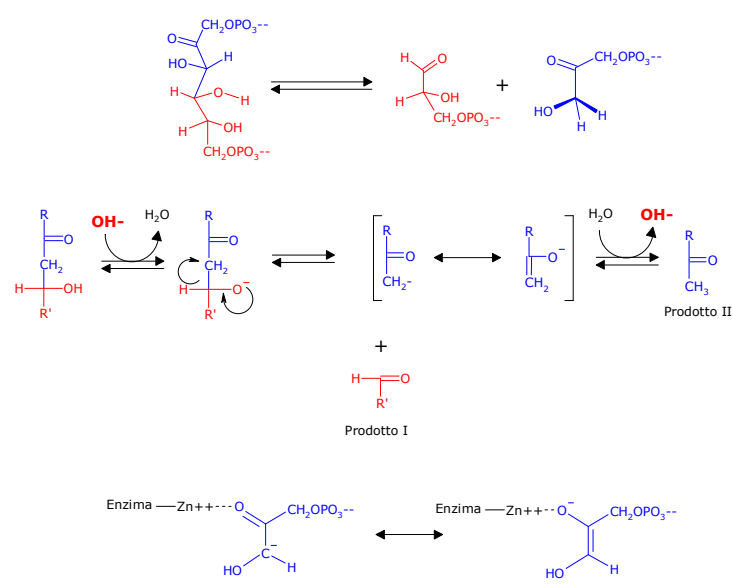
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

98

98

Aldolasi: meccanismo generale



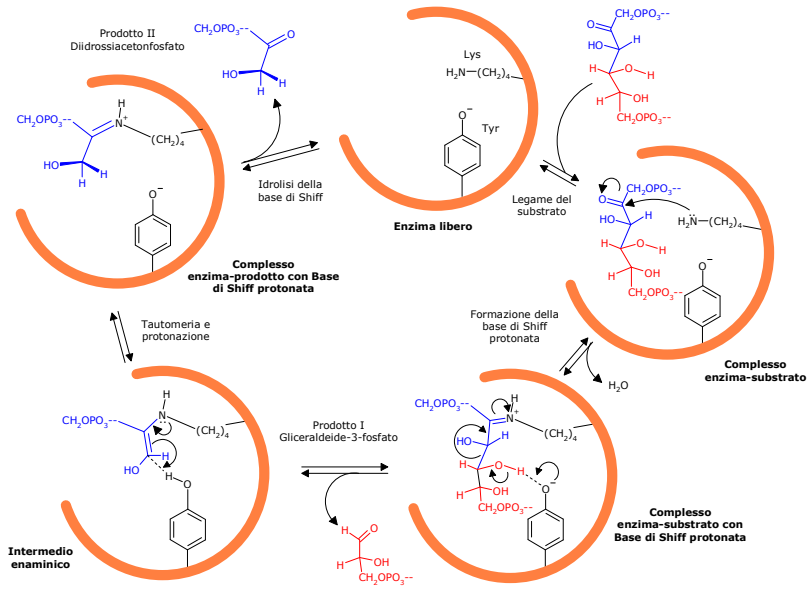
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

99

99

Aldolasi EC 4.2.1.13

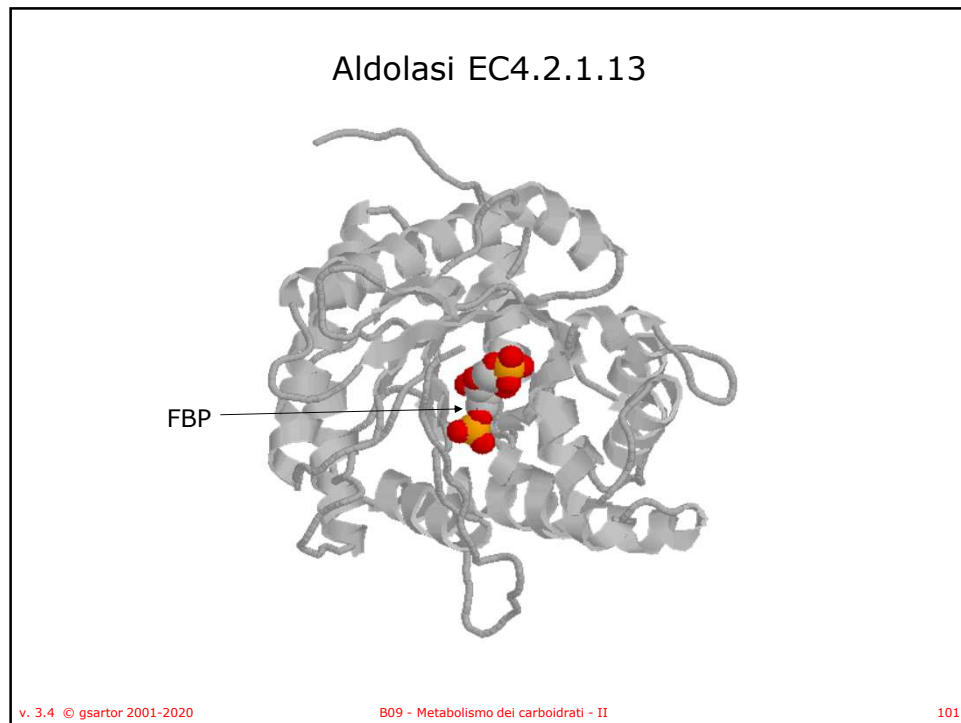


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

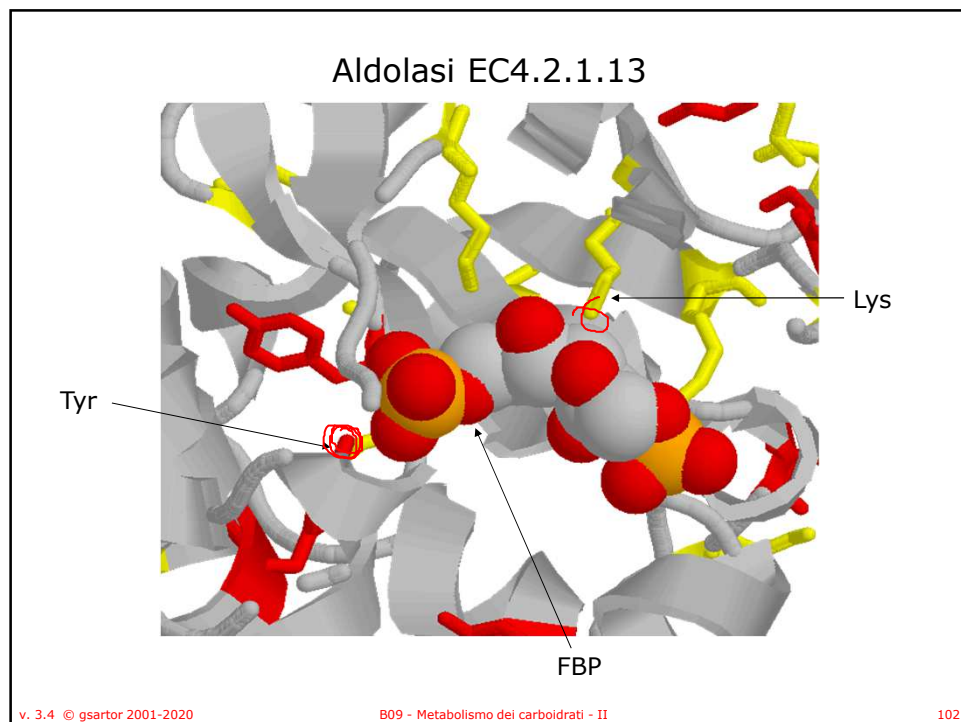
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 100 -

100



101



102

Trioso-fosfato isomerasi EC5.3.1.1

Converte DHAP in GAP

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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

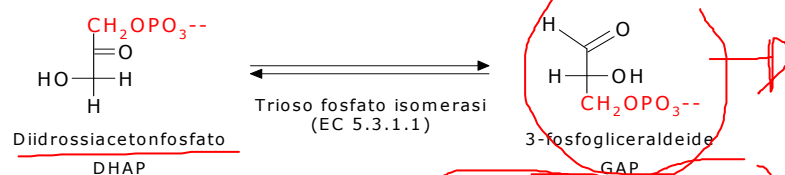
103

103

Trioso-fosfato isomerasi EC5.3.1.1

- Catalizza l'equilibrio:

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



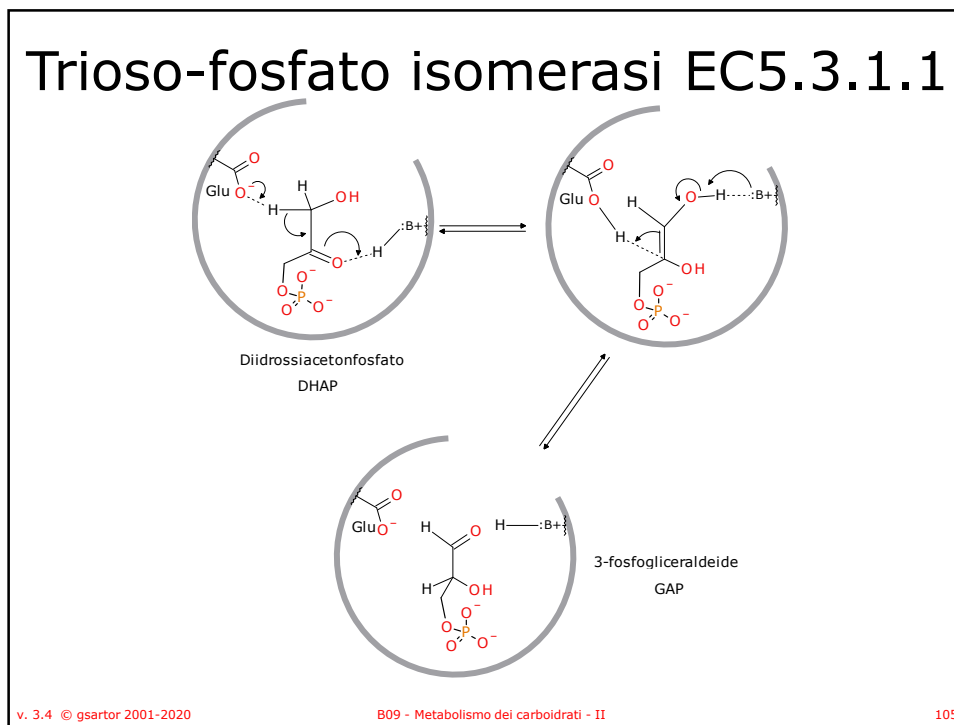
- L'equilibrio è spostato verso sinistra ($\approx 96\%$ DHAP, $\approx 4\%$ GAP), nel procedere della glicolisi viene consumata solo GAP e l'equilibrio si sposta verso destra.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

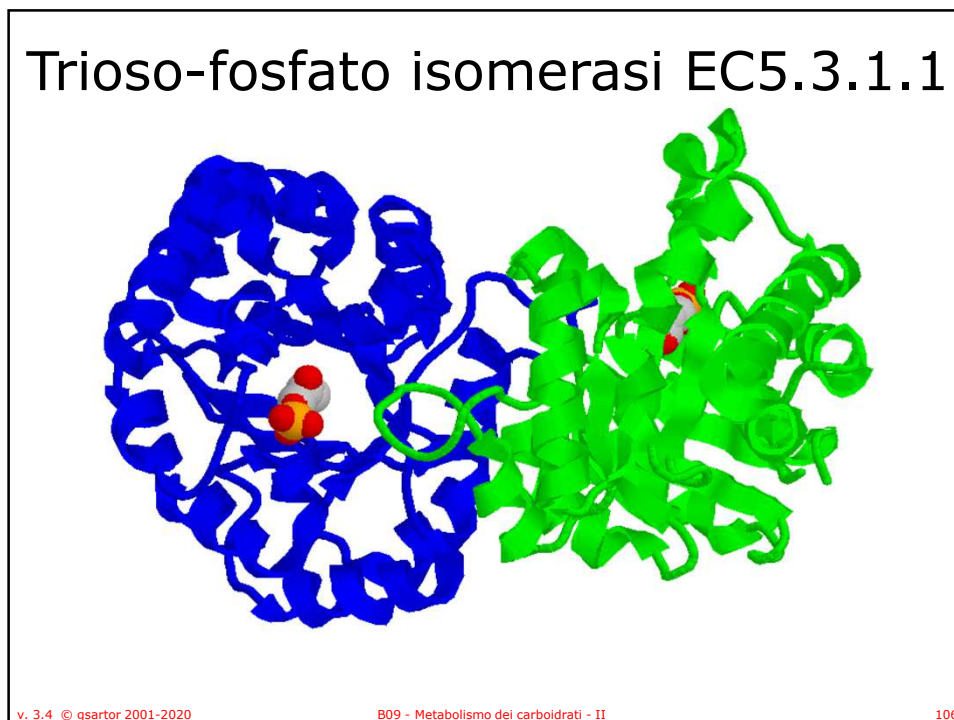
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

104

104

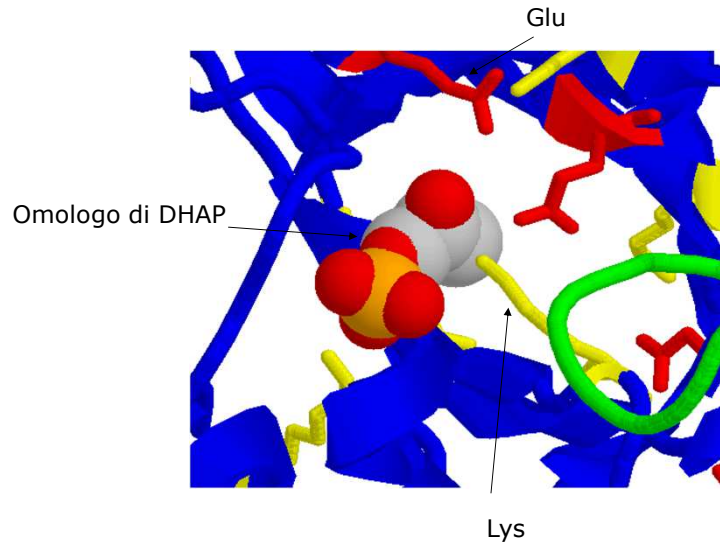


105



106

Trioso-fosfato isomerasi EC5.3.1.1



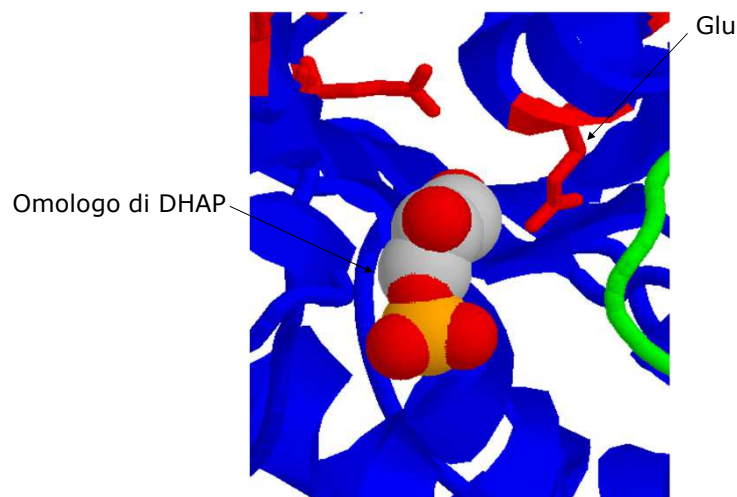
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

107

107

Trioso-fosfato isomerasi EC5.3.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

108

108

Fase 3 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-bifosfoglicerato,
 - 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...)

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

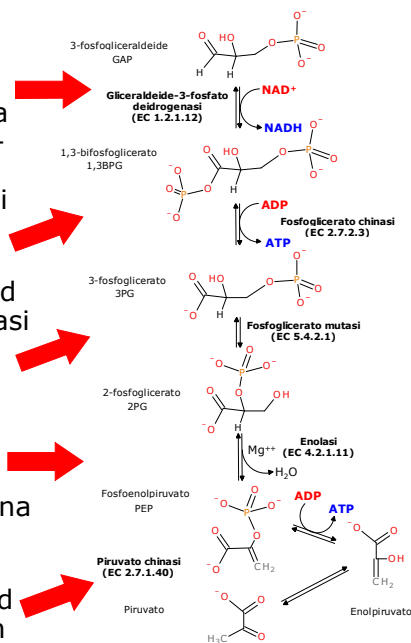
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

109

109

Fase 3 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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

110

110

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC1.2.1.12

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

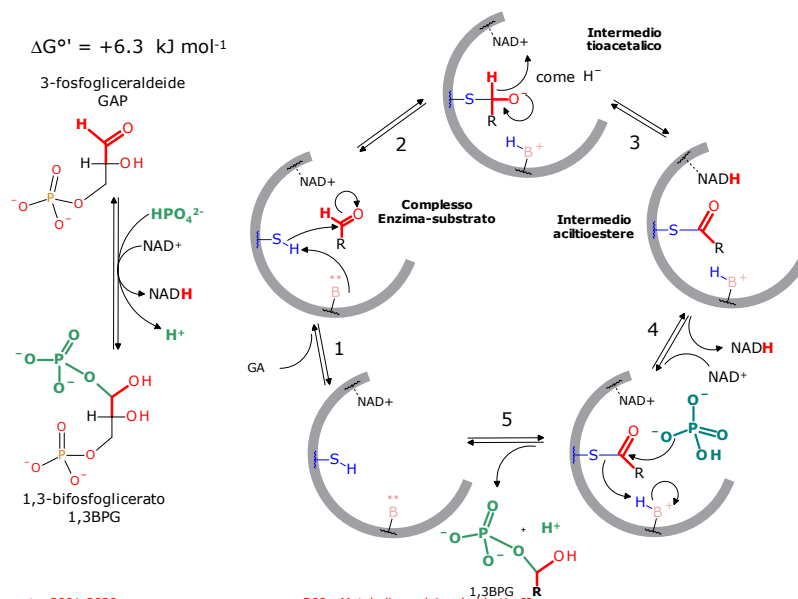
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

111

111

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC1.2.1.12



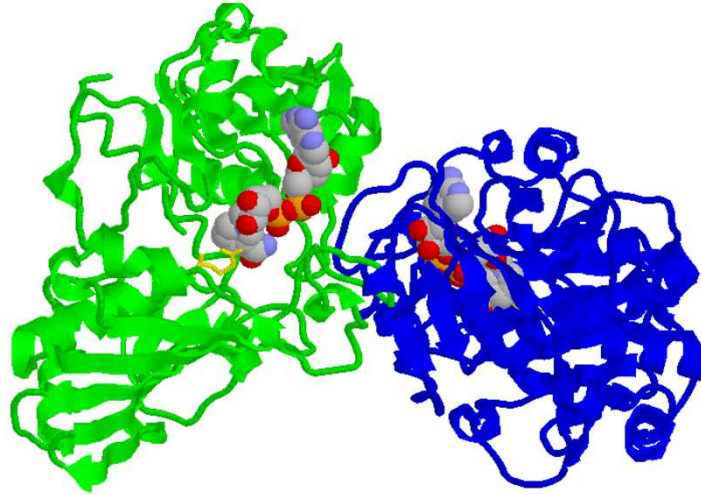
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

112

112

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC1.2.1.12



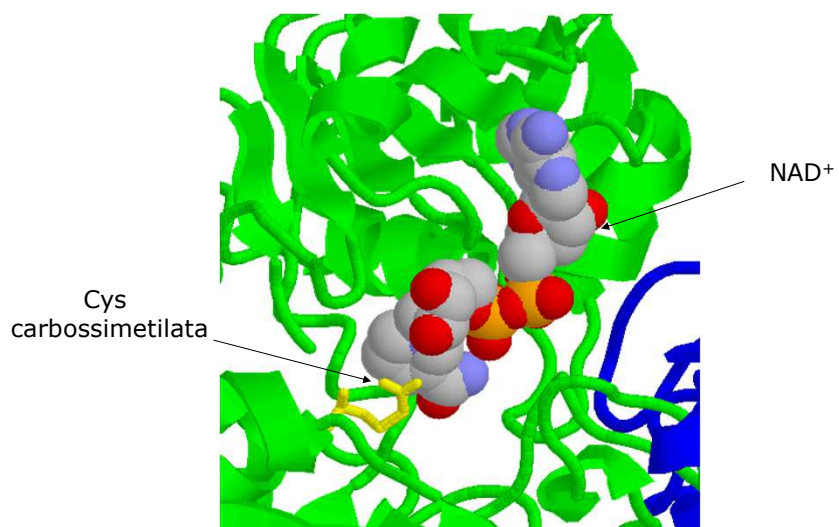
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

113

113

Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC1.2.1.12



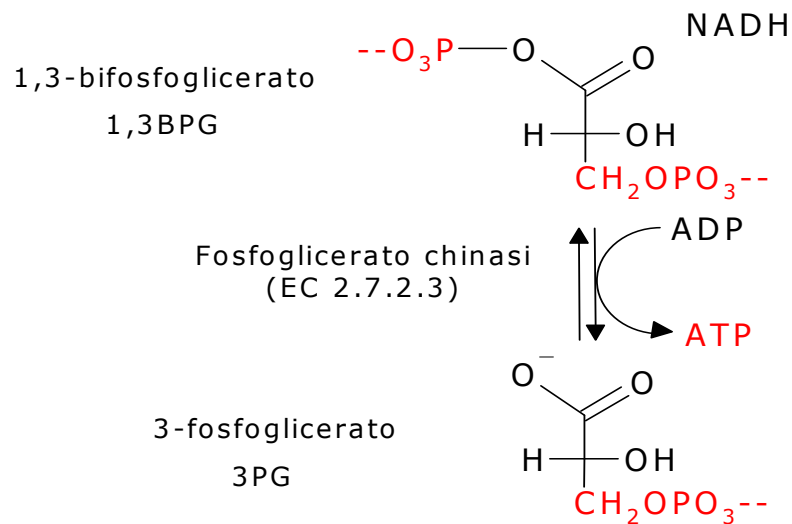
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

114

114

Fosfoglicerato chinasi EC2.7.2.3



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

115

115

Fosfoglicerato chinasi EC2.7.2.3

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.

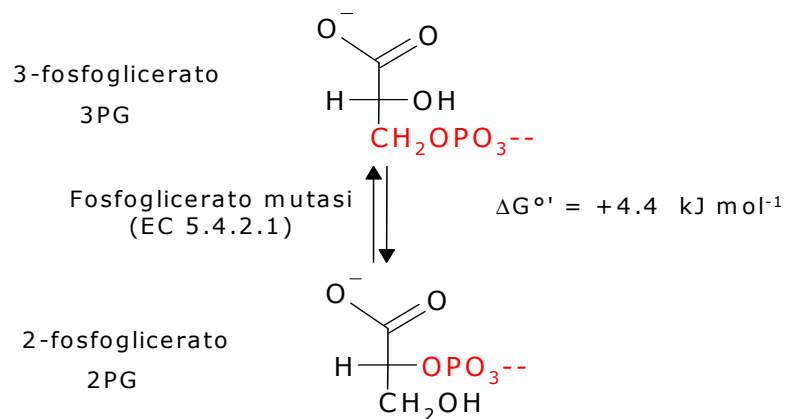
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

116

116

Fosfoglicerato chinasi EC2.7.2.3



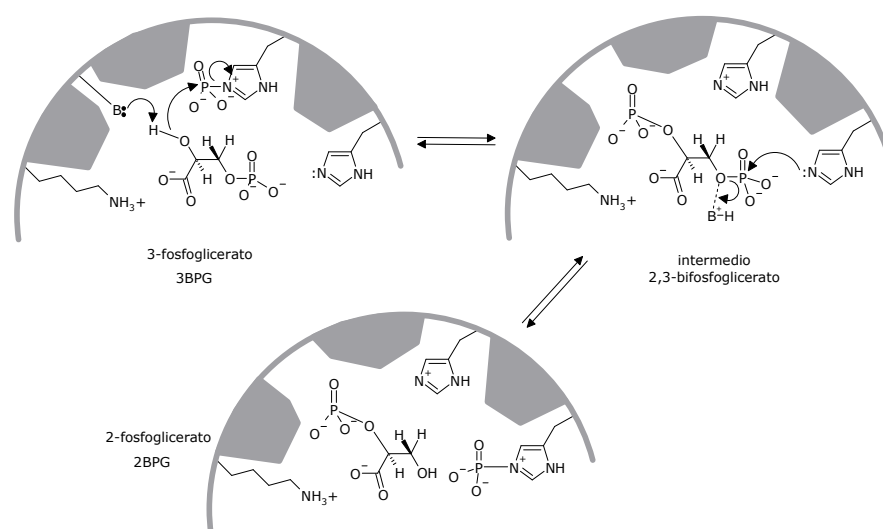
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

117

117

Fosfoglicerato mutasi EC5.4.2.1

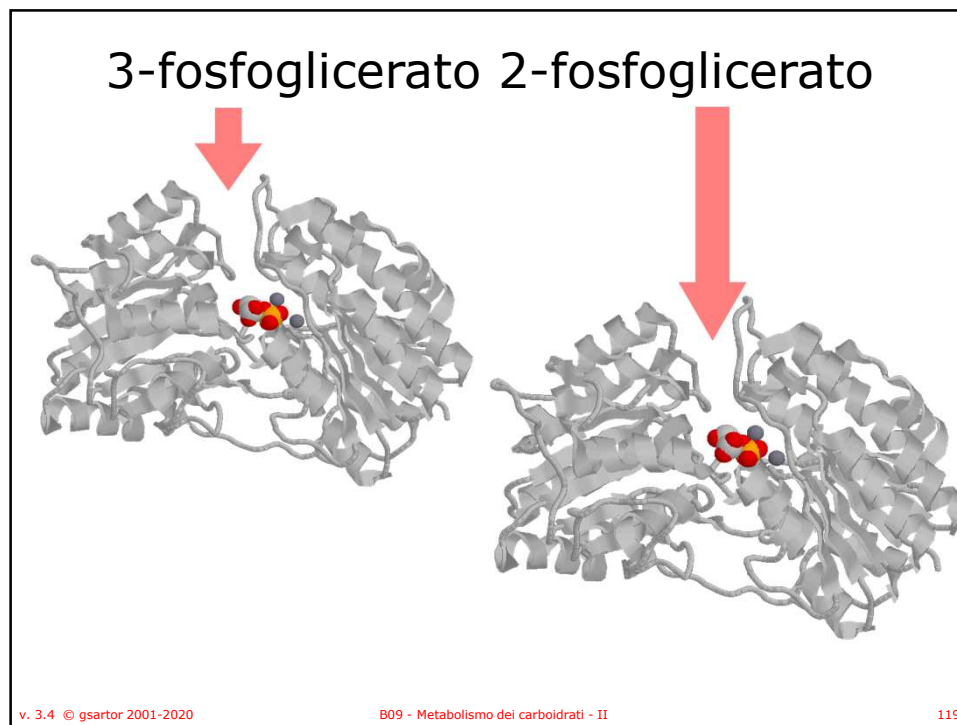


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

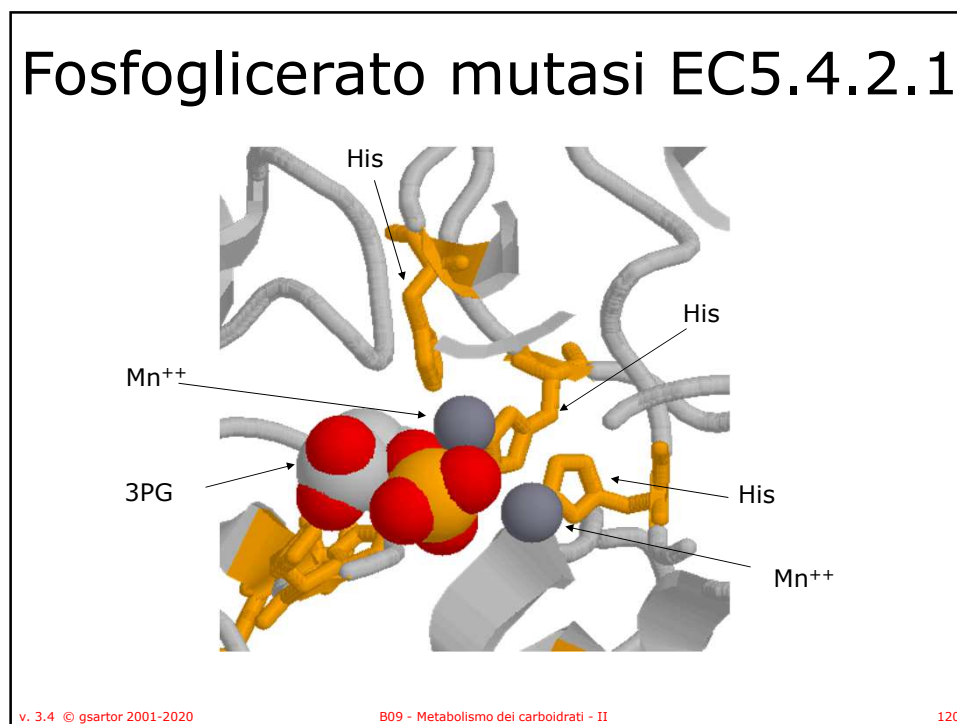
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

118

118

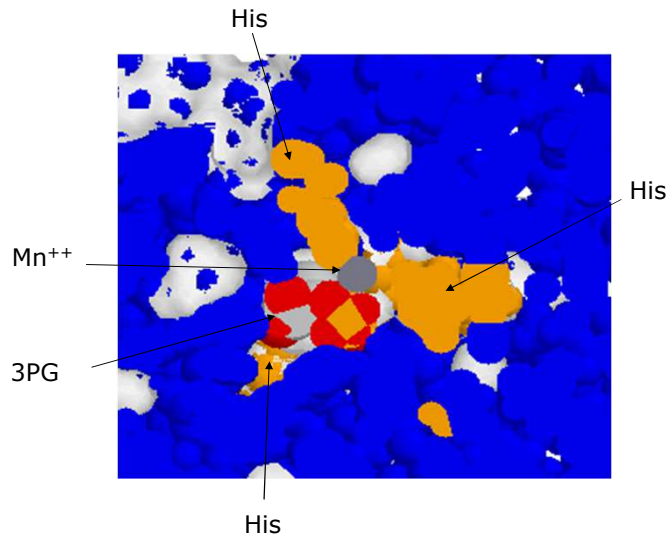


119



120

Fosfoglicerato mutasi EC5.4.2.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

121

121

Enolasi EC4.2.1.11

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.

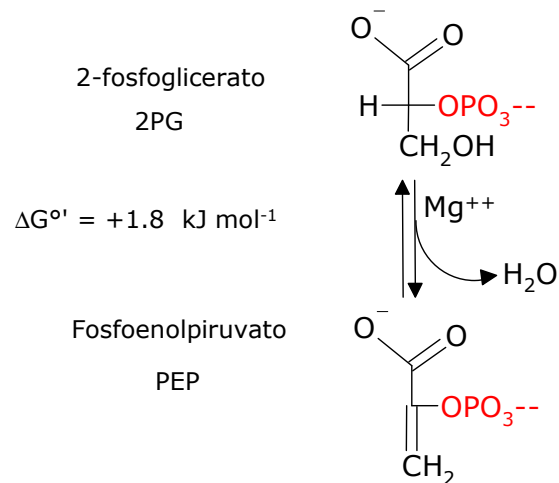
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

122

122

Enolasi EC4.2.1.11



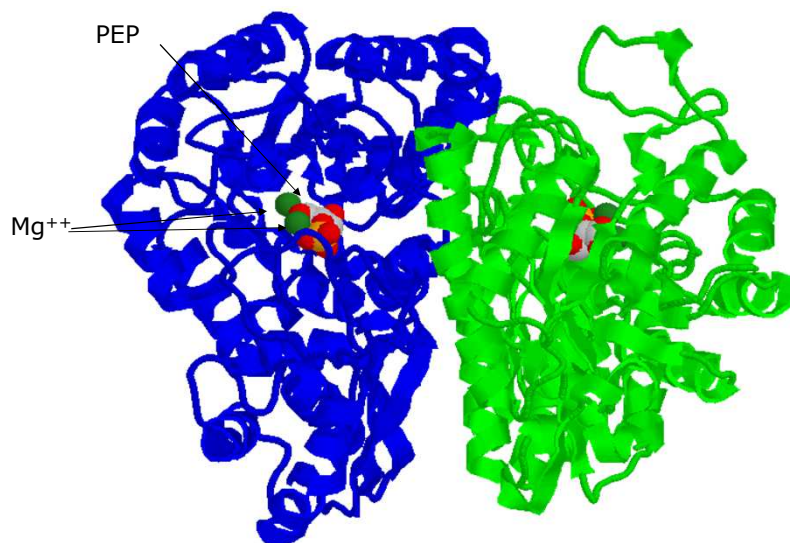
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

123

123

Enolasi EC4.2.1.11



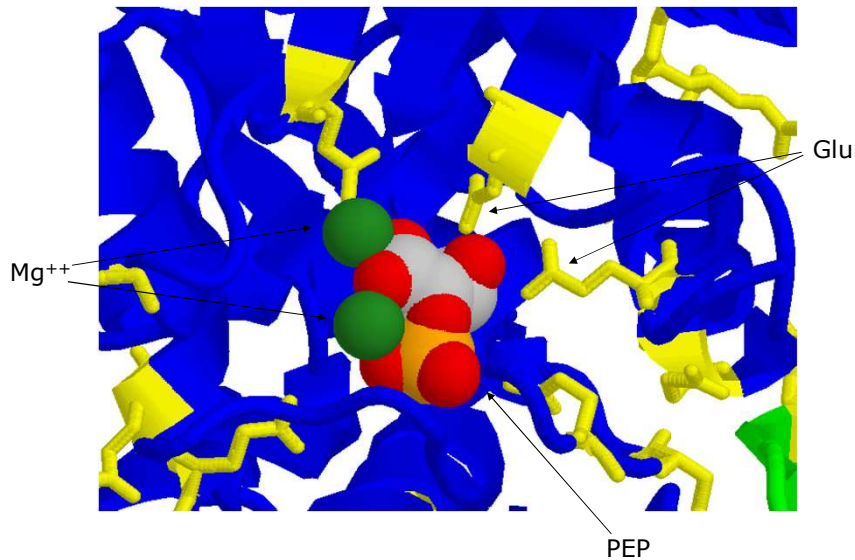
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

124

124

Enolasi EC4.2.1.11



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

125

125

Piruvato Chinasi EC2.7.1.40

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.

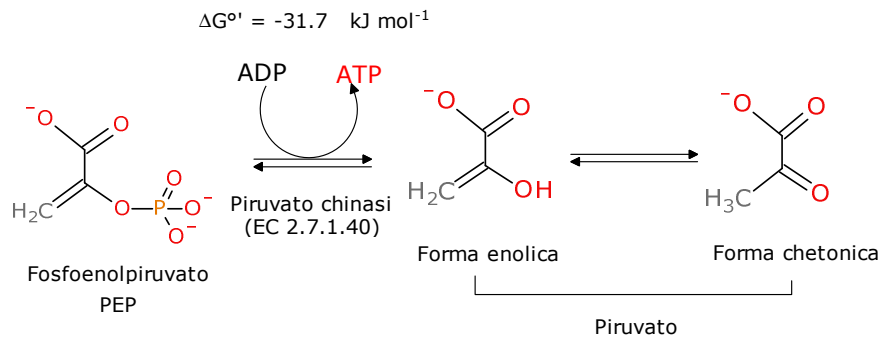
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

126

126

Piruvato Chinasi EC2.7.1.40



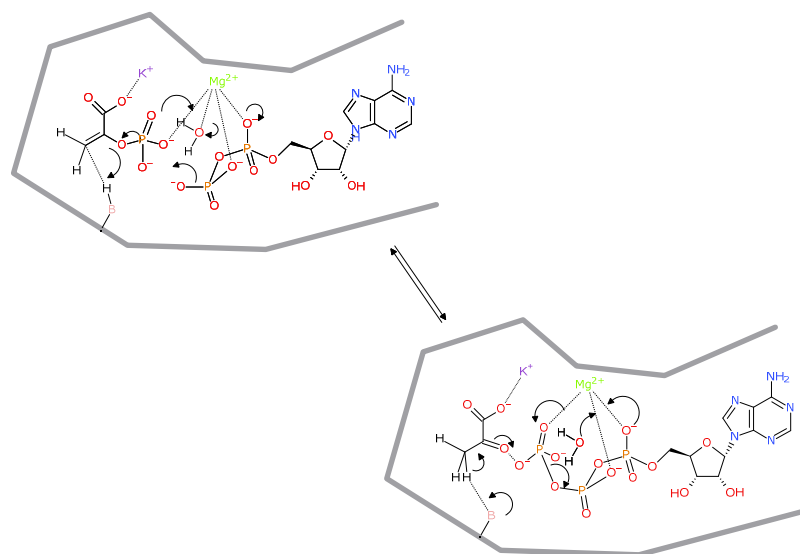
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

127

127

Piruvato Chinasi EC2.7.1.40

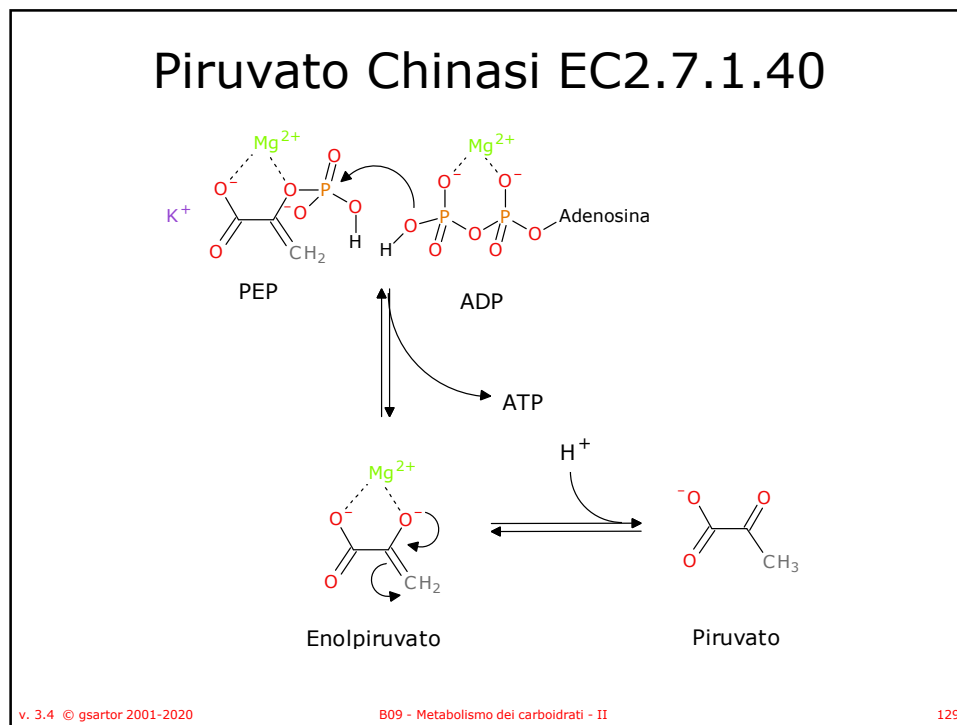


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

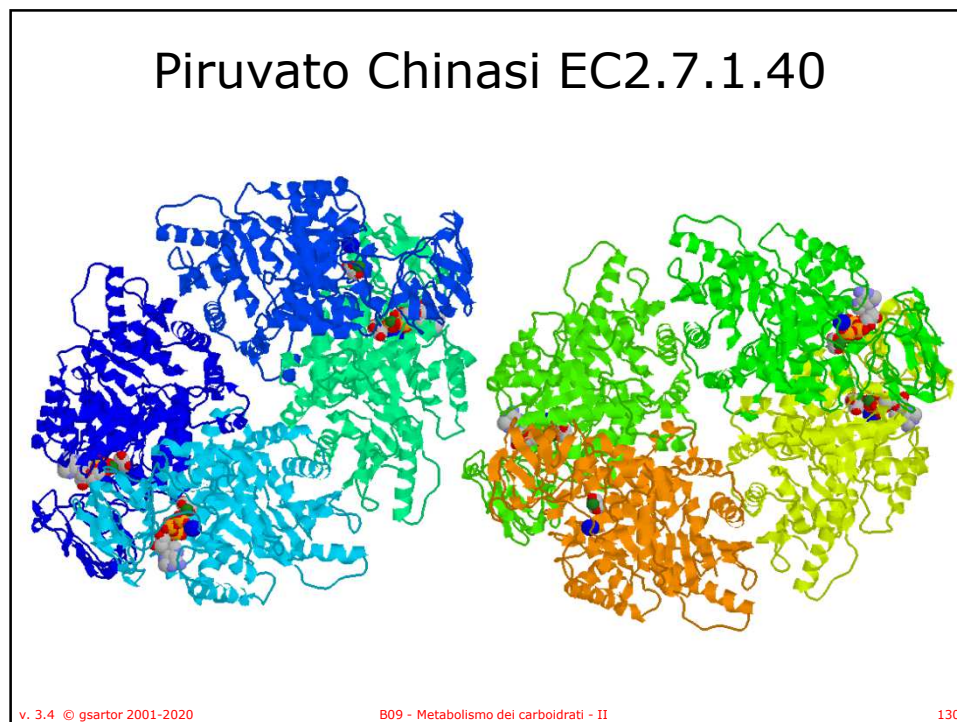
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

128

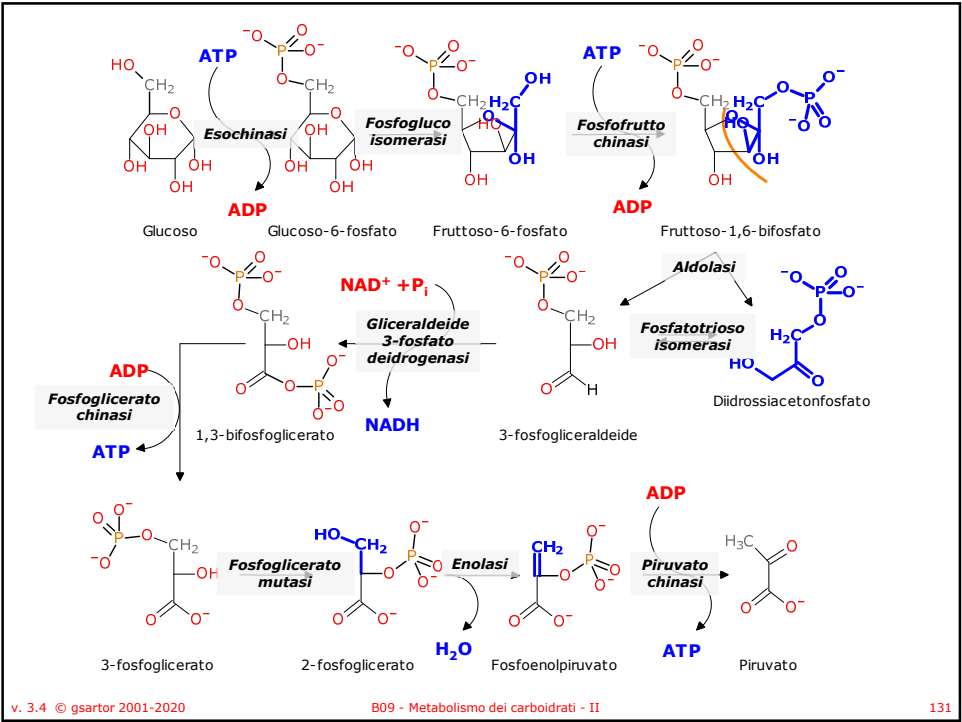
128



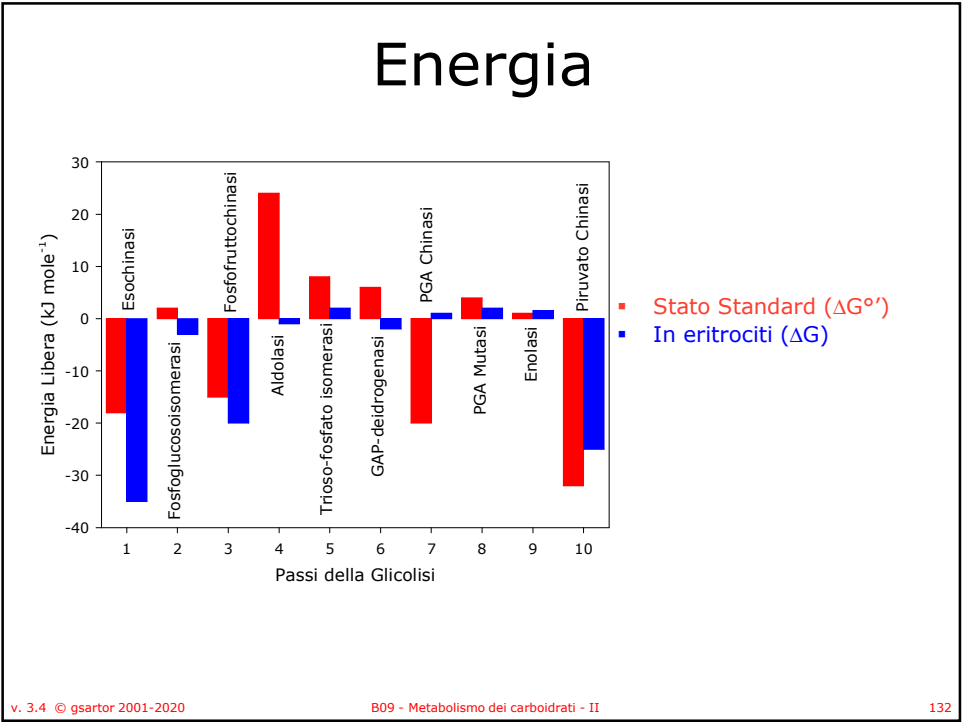
129



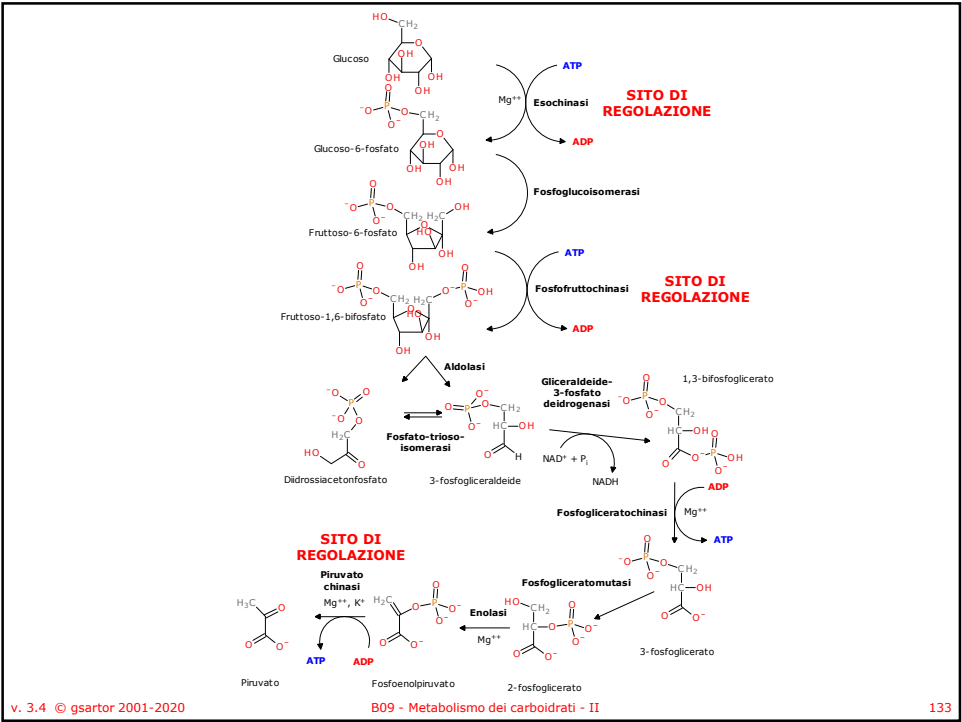
130



131



132



133

Ossigeno

Aerobiosi e **anaerobiosi**

134

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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

135

135

Destino del piruvato

- In assenza di ossigeno
 - Nel muscolo
 - Ridotto a Lattato
 - Nel lievito
 - Decarbossilato ad aldeide ridotta quindi ad etanolo

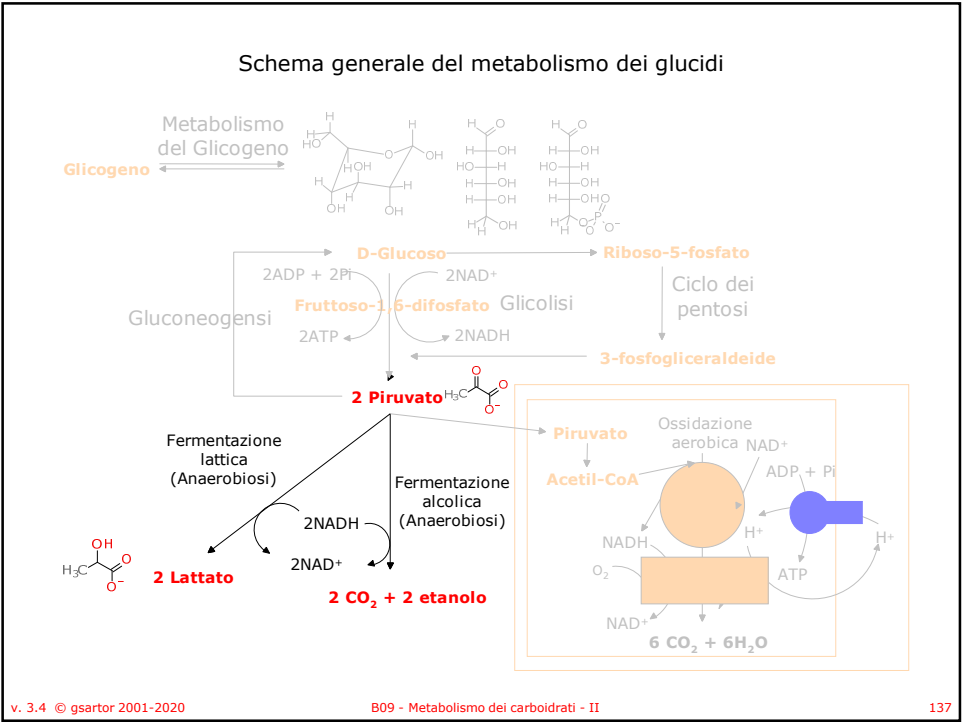
Ripristino di NAD^+ per continuare la glicolisi

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

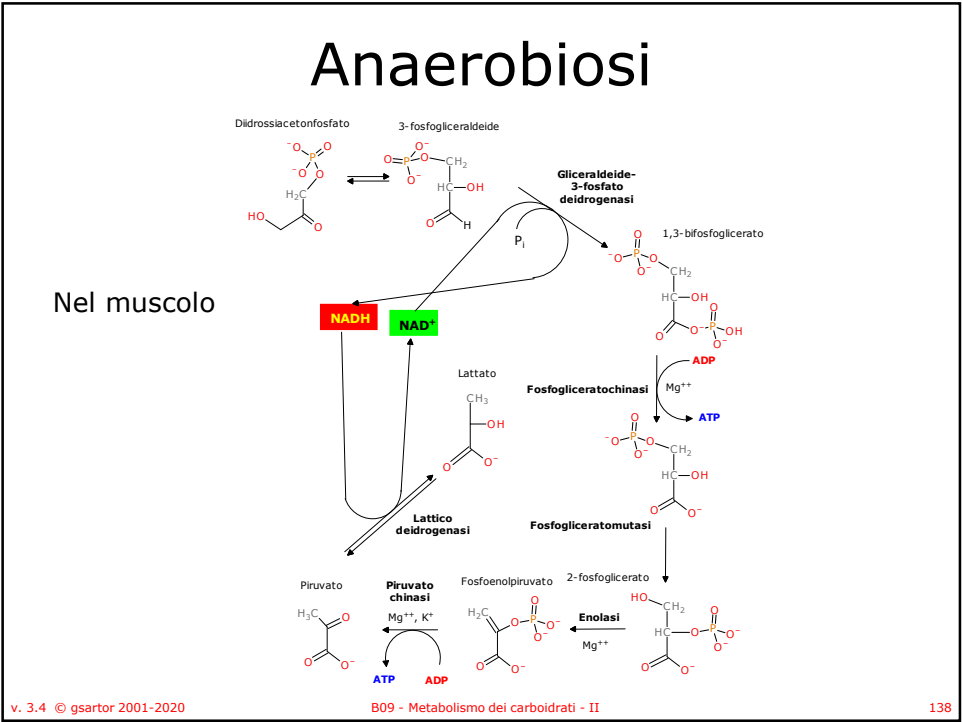
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

136

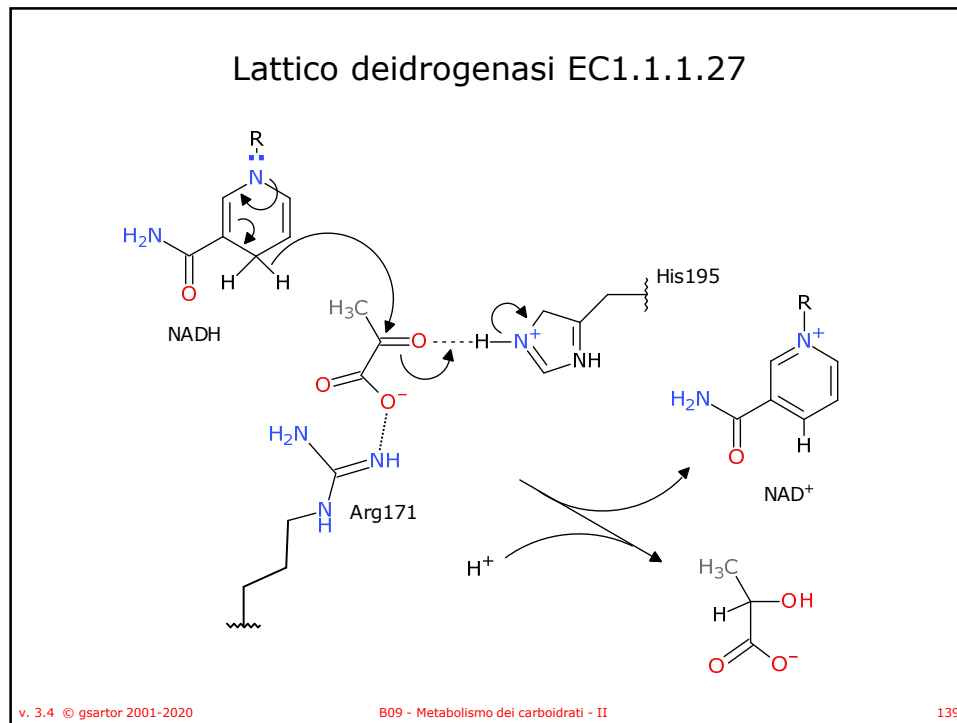
136



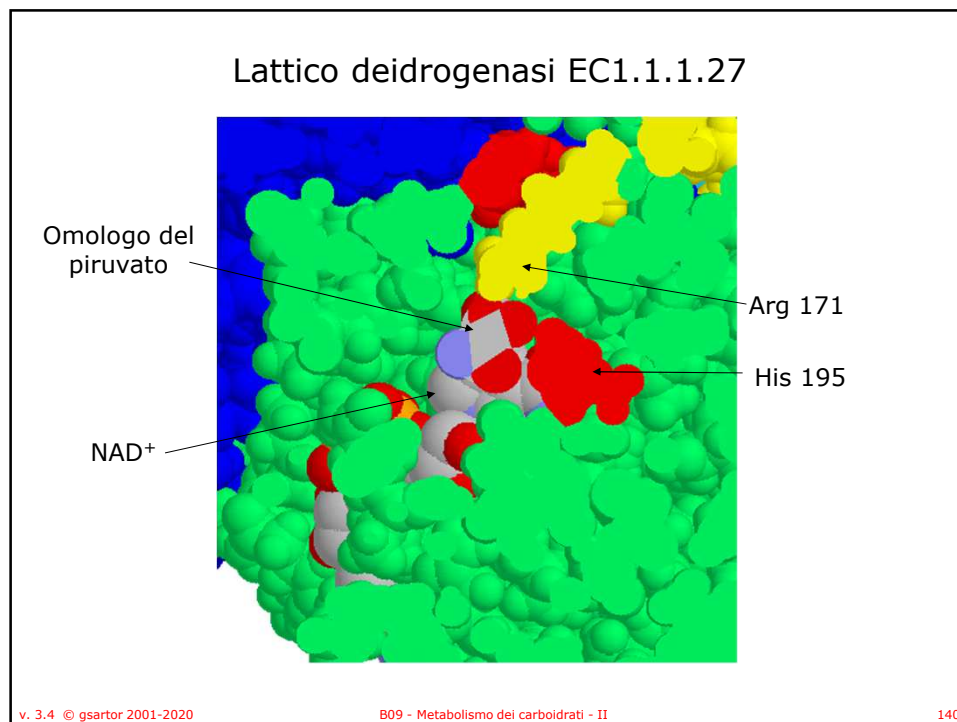
137



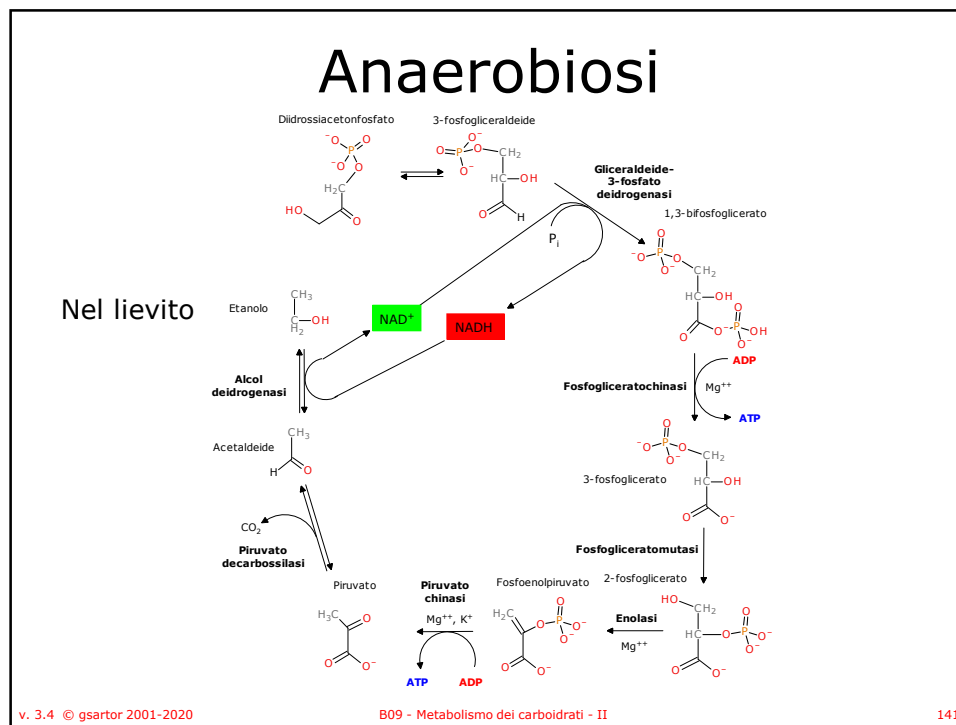
138



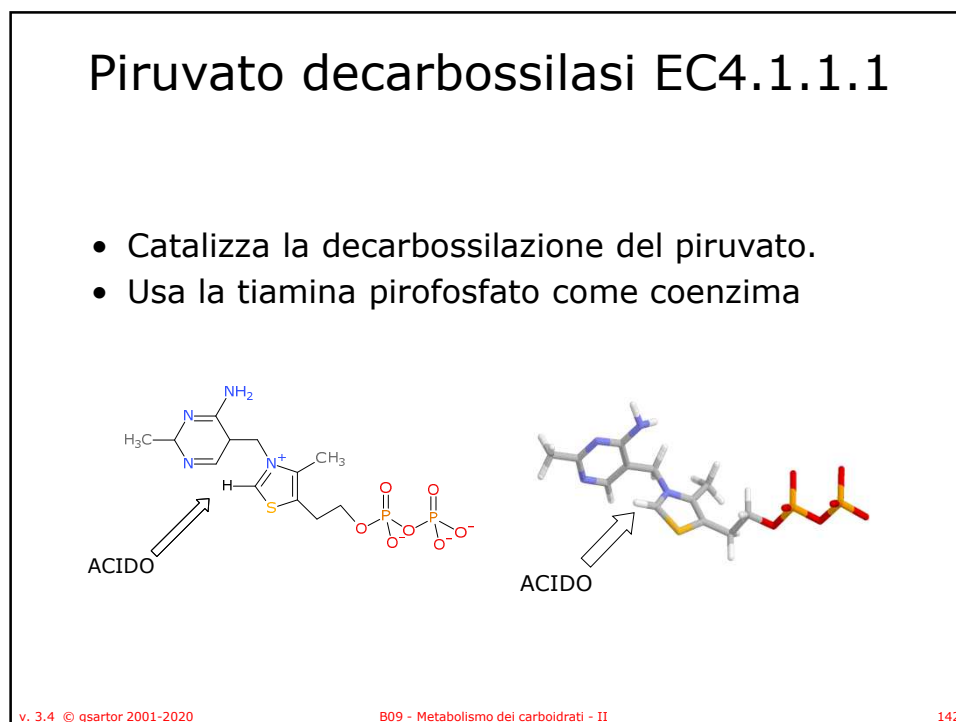
139



140

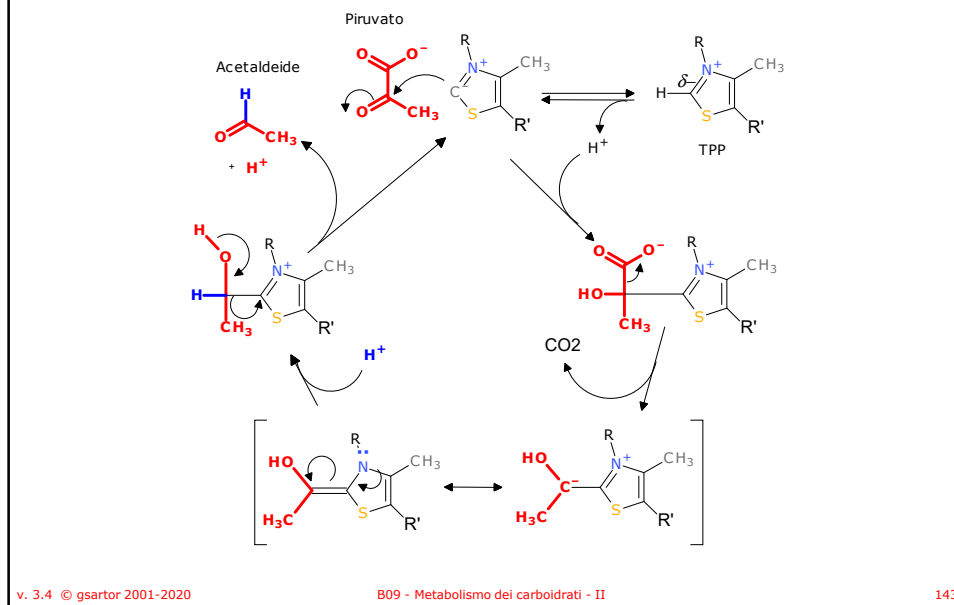


141



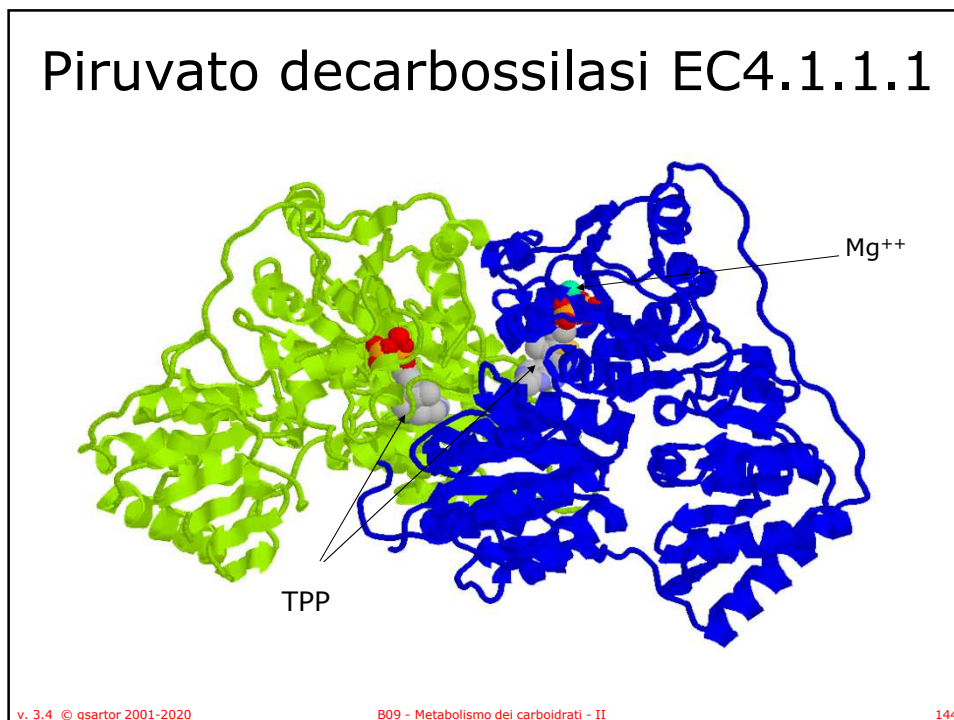
142

Piruvato decarbossilasi EC4.1.1.1



143

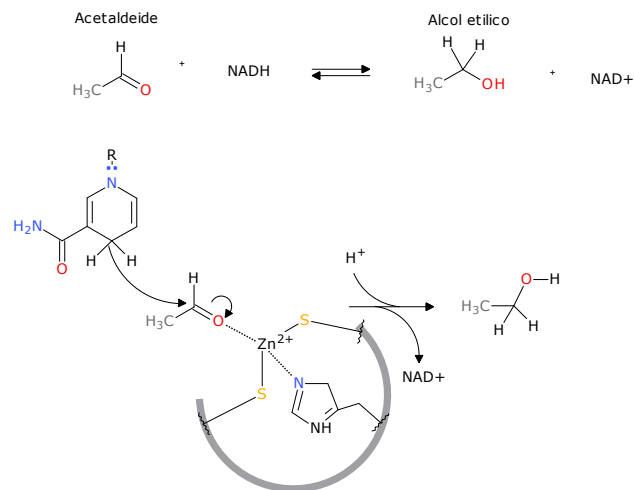
Piruvato decarbossilasi EC4.1.1.1



144

Piruvato decarbossilasi EC4.1.1.1

- Catalizza la reazione di ossidoriduzione:



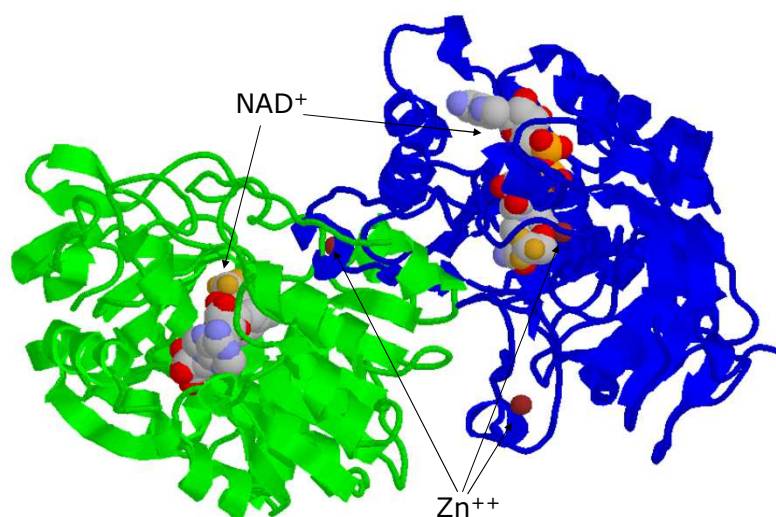
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

145

145

Piruvato decarbossilasi EC4.1.1.1



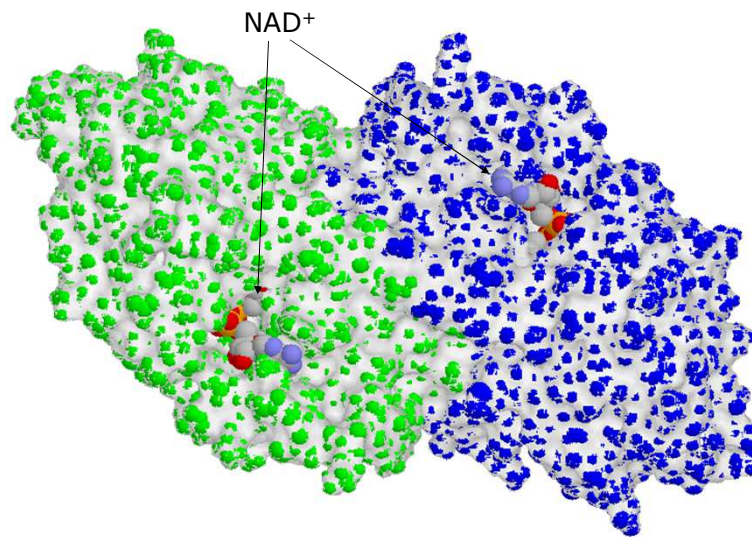
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

146

146

Alcool deidrogenasi EC1.1.1.1



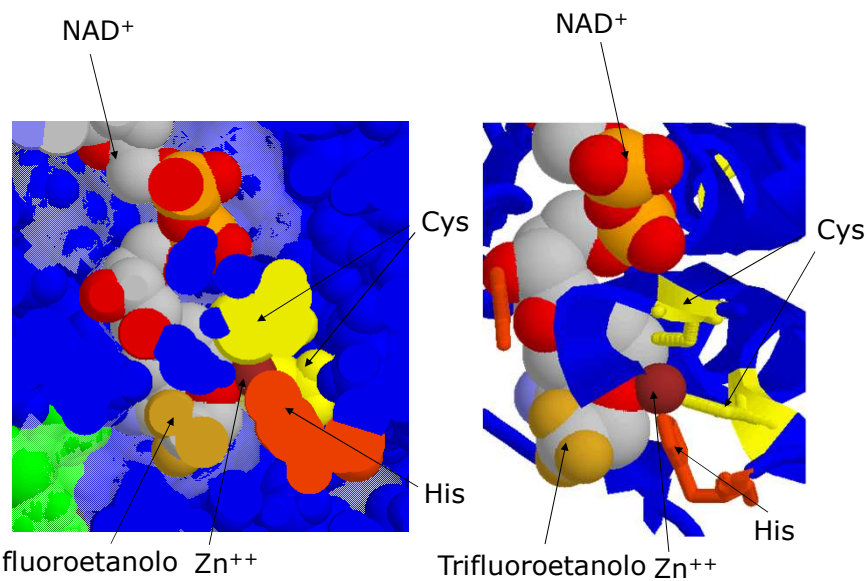
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

147

147

Alcool deidrogenasi EC1.1.1.1



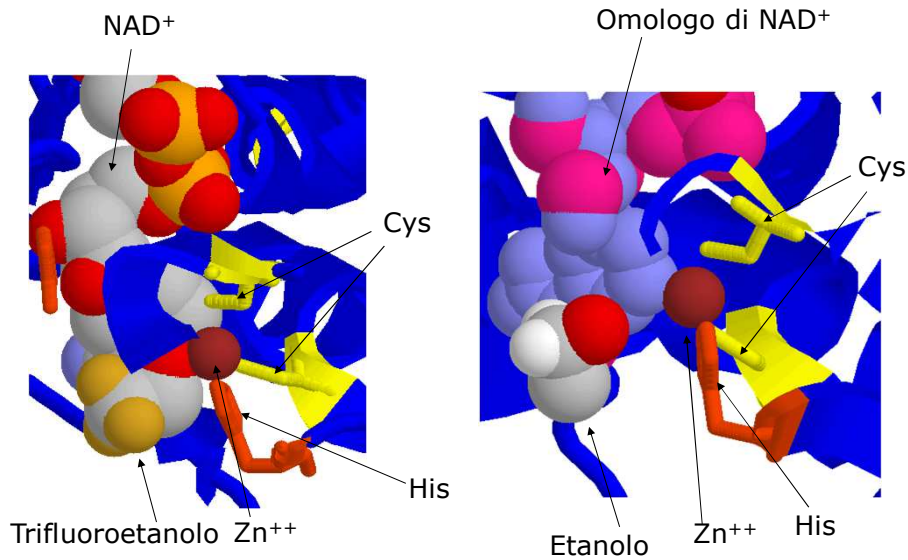
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

148

148

Alcool deidrogenasi EC1.1.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

149

149

Energetica della Glicolisi

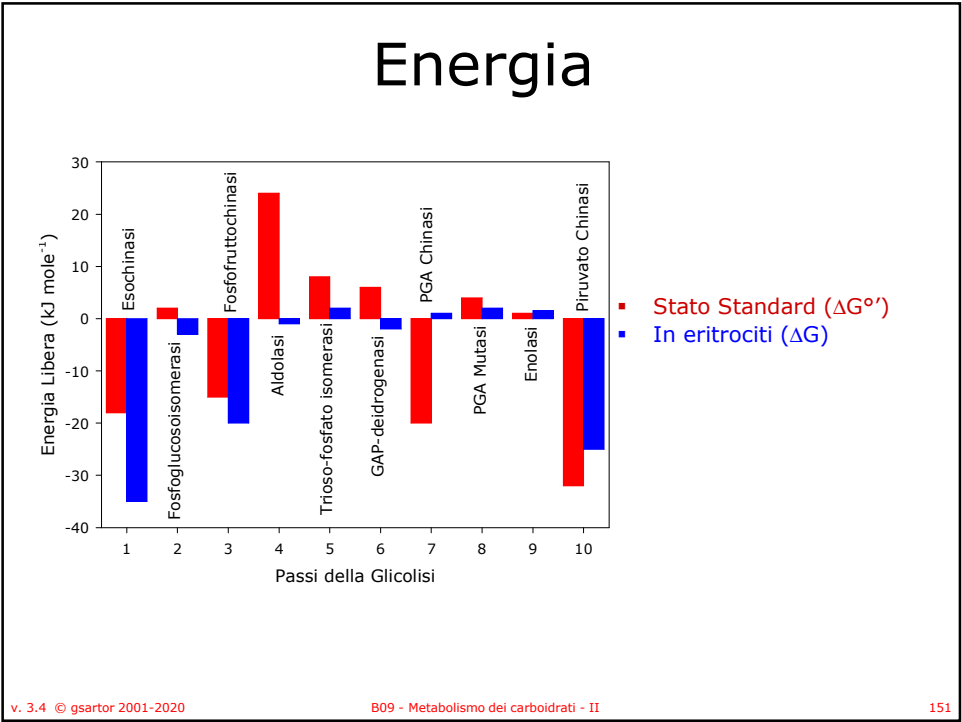
- I valori di $\Delta G^{\circ'}$ sono variabili (positivi e negativi)
 - ΔG nelle cellule ha valori vicini a zero
 - Solo tre reazioni su dieci hanno valori di ΔG negativo e grande.
- Le reazioni i cui valori di ΔG sono grandi e negativi sono punti di regolazione.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

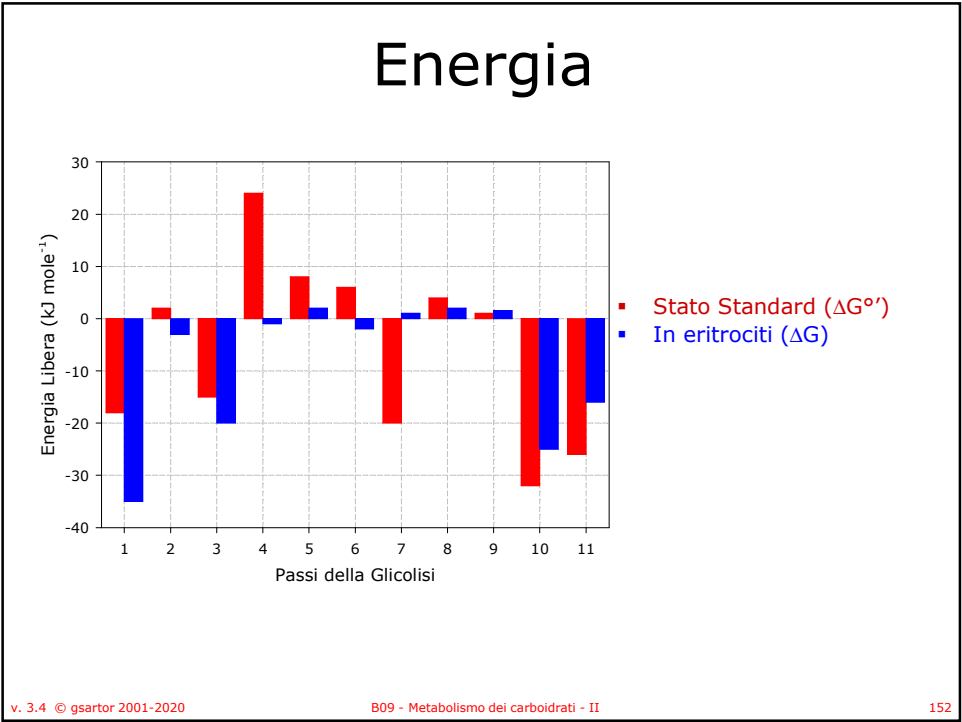
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

150

150



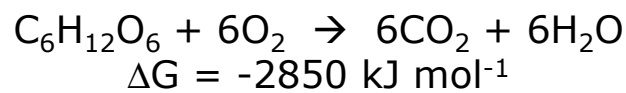
151



152

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

153

153

Organizzazione

- Gli enzimi glicolitici possono formare complessi multienzimatici;
- Nella purificazione di proteine da cellule le interazioni non covalenti tra proteine viene persa;
- È stato suggerito che gli enzimi glicolitici si assemblino in un complesso multienzimatico dove i substrati sono canalizzati da un enzima all'altro senza passare in soluzione.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

154

154

Gluconeogenesi

- Sintesi di glucosio da piruvato
- La gluconeogenesi avviene principalmente nel fegato.
- La sintesi di glucosio da piruvato utilizza 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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

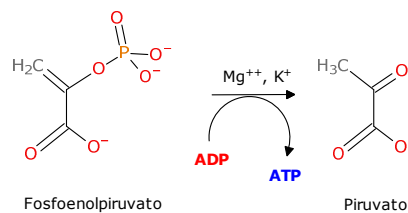
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

155

155

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).

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

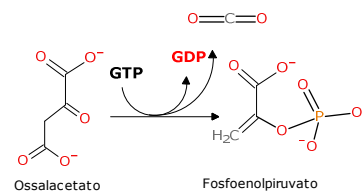
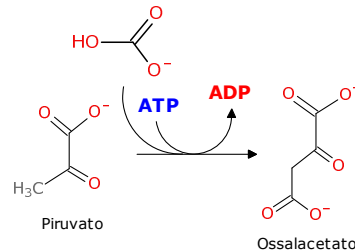
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

156

156

Bypass della piruvato chinasi

- Per bypassare la piruvato chinasi occorrono due reazioni:
 - Carbossilazione del piruvato, catalizzata da piruvato carbossilasi (EC6.4.1.1):
 - Fosforilazione e decarbossilazione (spontanea) dell'ossalacetato a PEP catalizzata dalla PEP carbossichinasi (EC4.1.1.32):



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

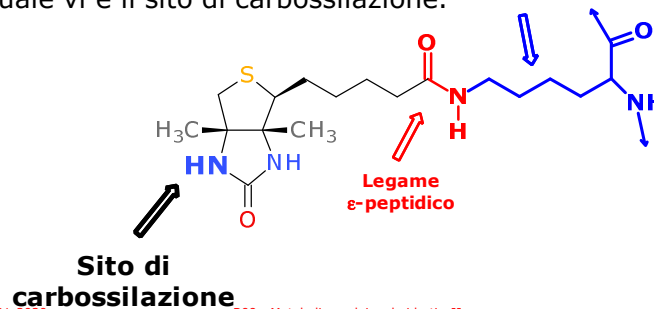
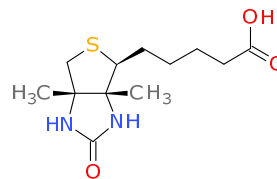
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

157

157

Piruvato carbossilasi EC6.4.1.1

- 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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

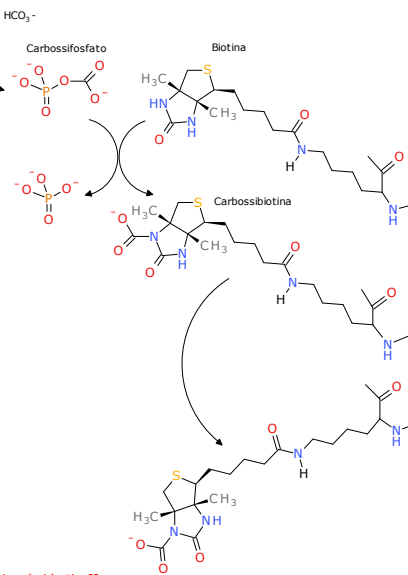
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

158

158

Piruvato carbossilasi EC6.4.1.1

- 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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

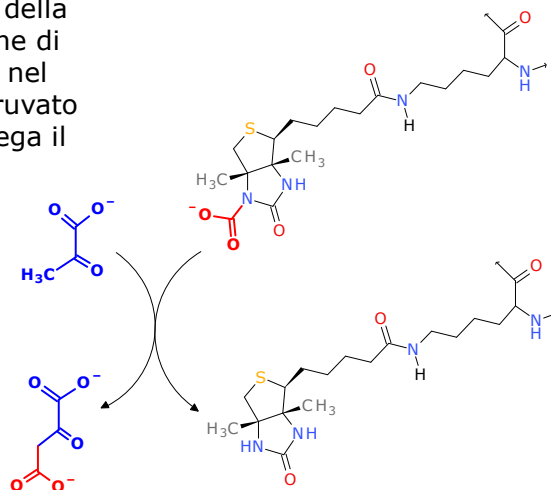
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

159

159

Piruvato carbossilasi EC6.4.1.1

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



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

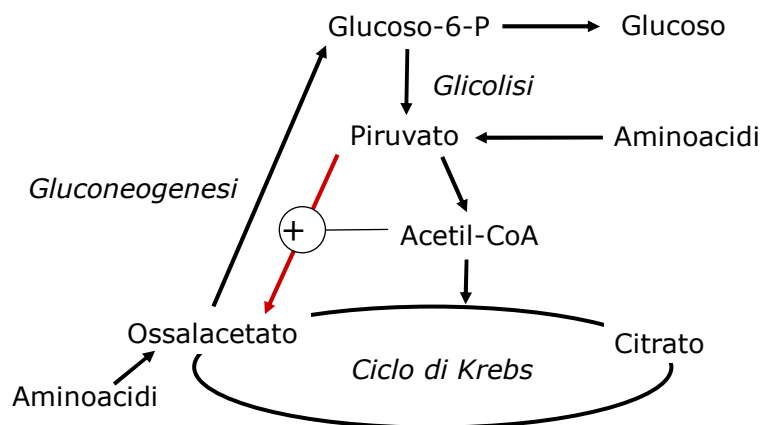
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

160

160

Piruvato carbossilasi EC6.4.1.1

- Regola il destino del piruvato



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

161

161

Piruvato carbossilasi EC6.4.1.1

- Quando la gluconeogenesi è attiva nel fegato l'ossalacetato va a formare glucosio.
- 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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

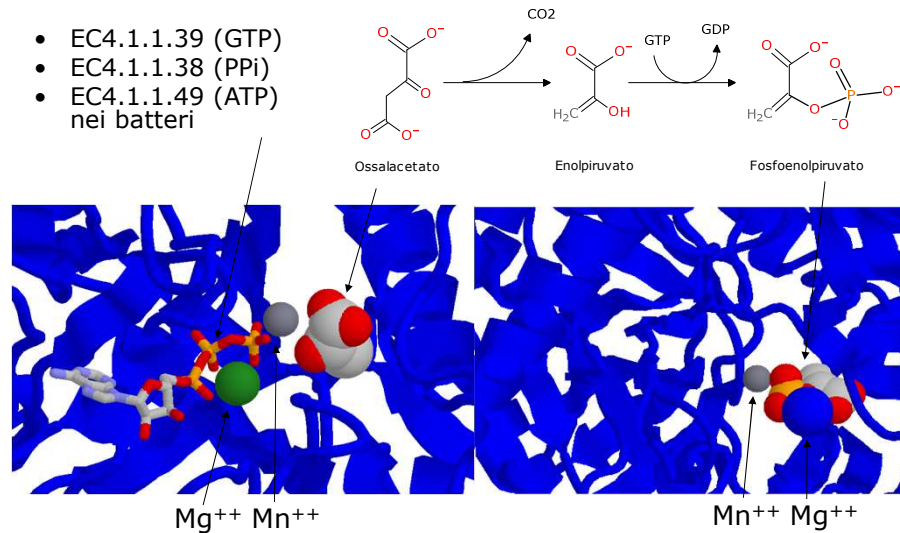
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

162

162

Piruvato carbossichinasi

- EC4.1.1.39 (GTP)
- EC4.1.1.38 (PPi)
- EC4.1.1.49 (ATP)
nei batteri



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

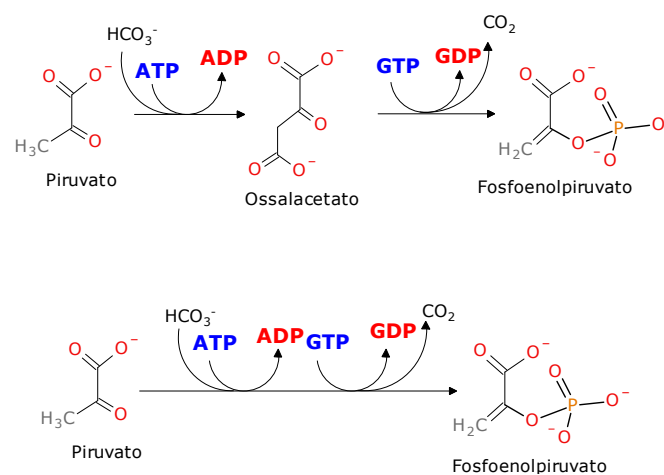
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

163

163

Bypass della piruvato chinasi

- Globalmente



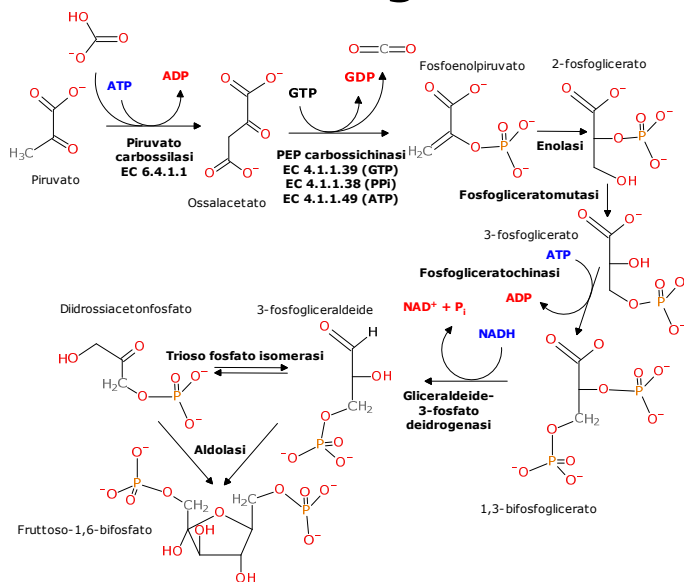
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

164

164

Gluconeogenesi



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

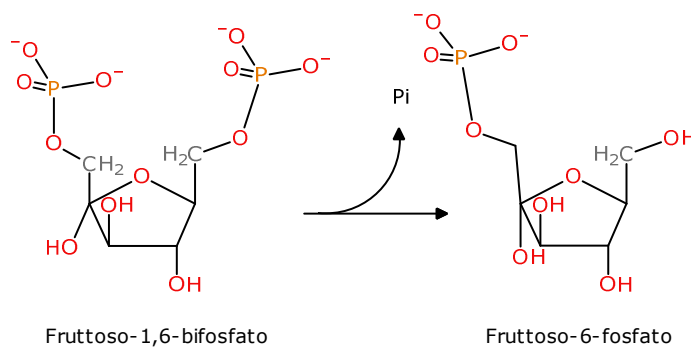
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

165

165

Fruttosio-1,6-bisfosfasi EC3.1.3.11

- Catalizza la reazione inversa della fosfofruttochinasi:



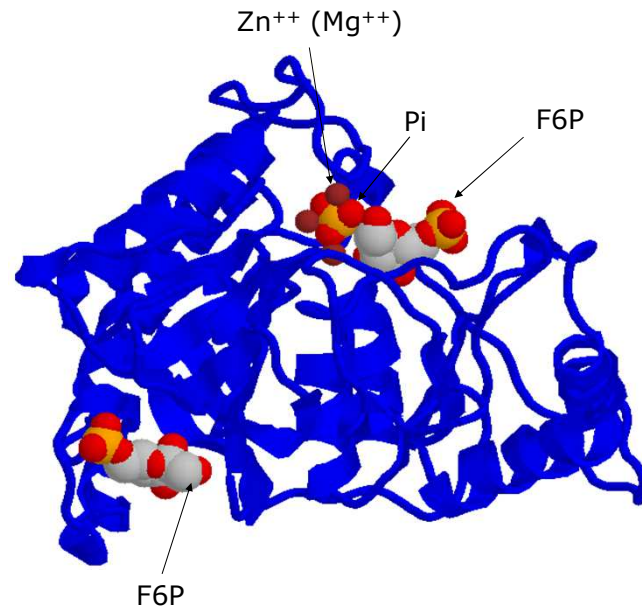
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

166

166

Fruttosio-1,6-bifosfatasi EC3.1.3.11



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

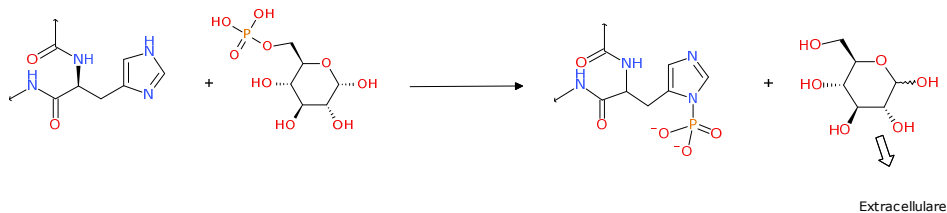
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

167

167

Glucoso-6-fosfatasi EC3.1.3.9

- 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.

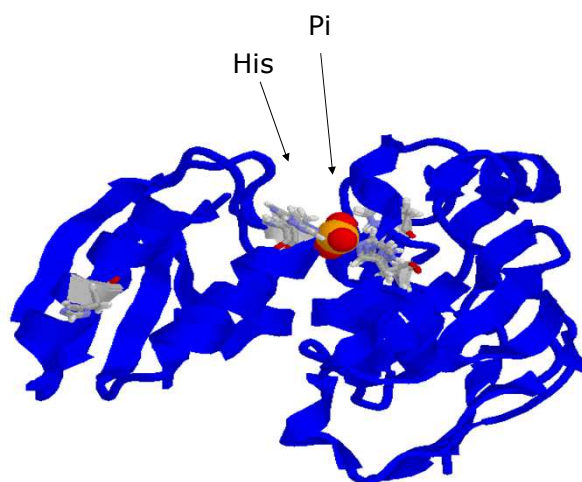
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

168

168

Glucoso-6-fosfatasi EC3.1.3.9



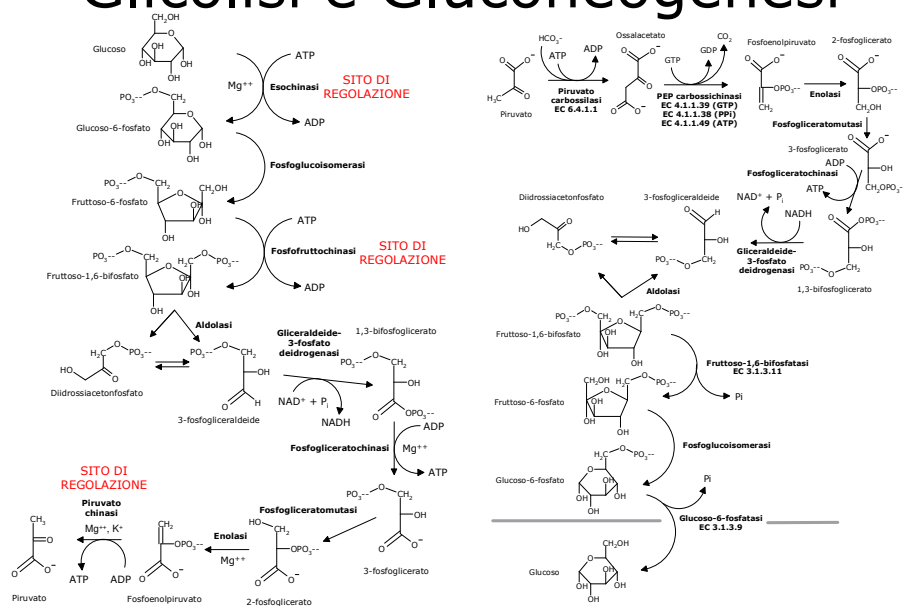
v. 3.4 © qsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

169

169

Glicolisi e Gluconeogenesi



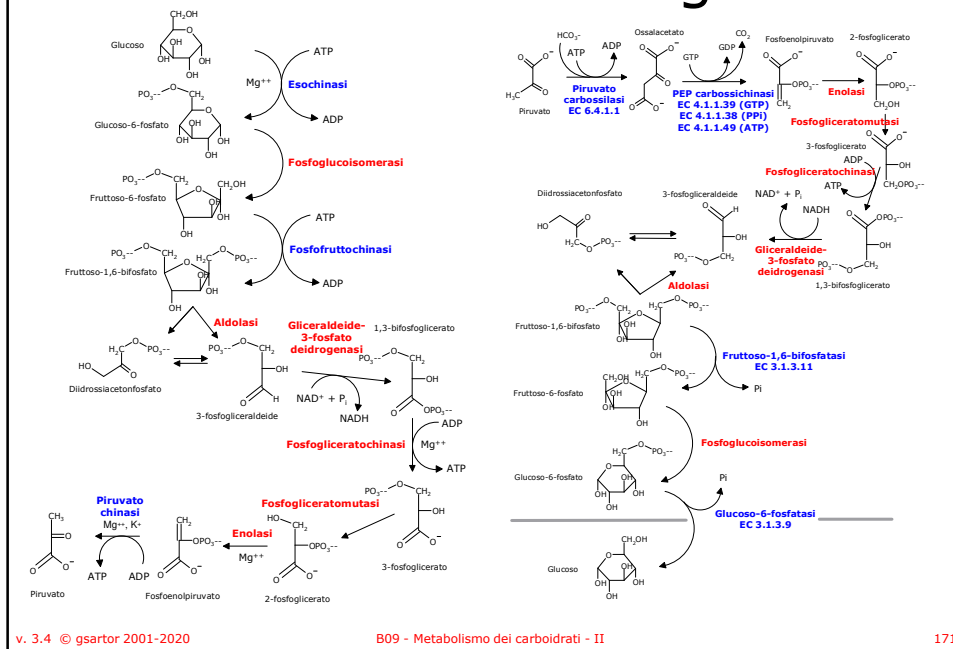
v. 3.4 © qsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

170

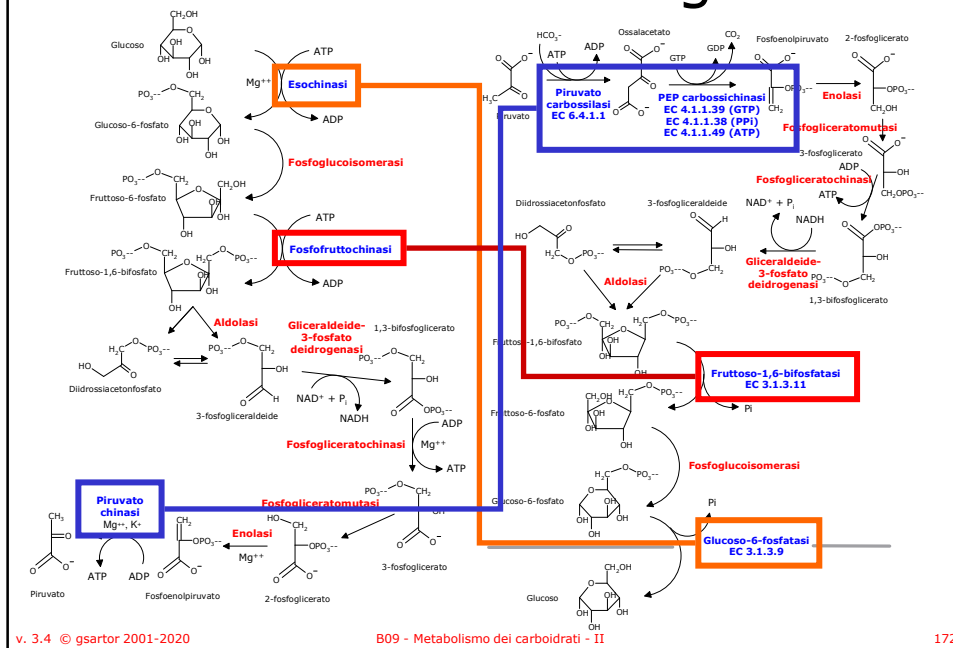
170

Glicolisi e Gluconeogenesi



171

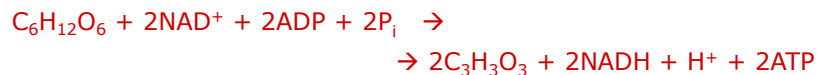
Glicolisi e Gluconeogenesi



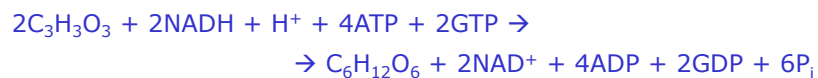
172

Glicolisi e gluconeogenesi

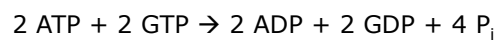
- La glicolisi e la gluconeogenesi sono vie metaboliche spontanee.
- Se fossero attive simultaneamente nella cellula si sarebbe in presenza di un "ciclo futile" con consumo di energia.
- Glicolisi (da glucoso a piruvato):



- Gluconeogenesi (da piruvato a glucoso):



- Glicolisi + Gluconeogenesi:



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

173

173

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 glucoso 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 glucoso.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

174

174

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

175

175

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-bisfosfato.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

176

176

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 .

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

177

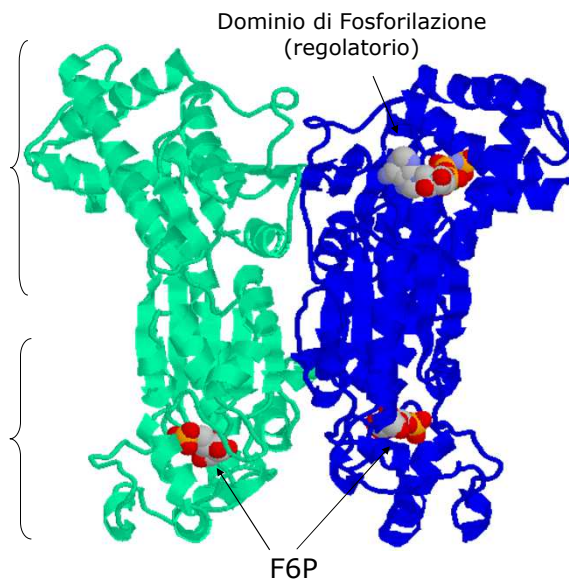
177

Enzima tandem

- Omodimero
- Due domini catalitici:

Fosfofruttochinasi (PFK2)
(EC2.7.1.105) che
catalizza:
 $\text{Fruttosio-6-fosfato} + \text{ATP} \rightarrow \text{fruttosio-2,6-bifosfato} + \text{ADP}$

Fruttosio-bifosfatasi
(FBPasi2) (EC3.1.3.46) che
catalizza:
 $\text{Fruttosio-2,6-bifosfato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{fruttosio-6-fosfato} + \text{P}_i$



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

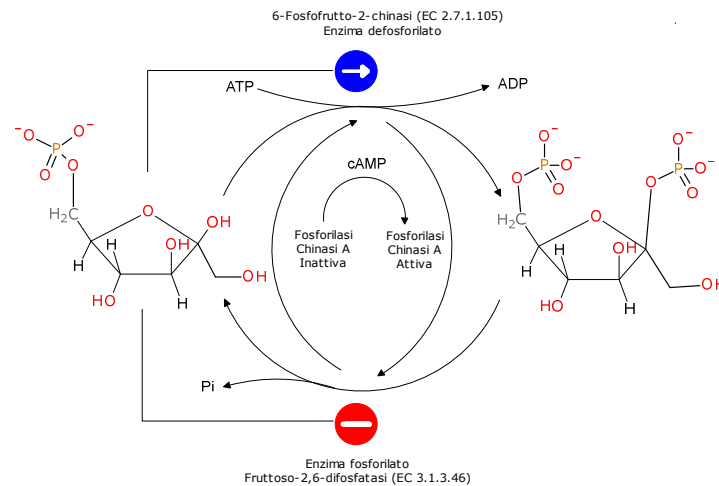
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

178

178

Enzima tandem

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



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

179

179

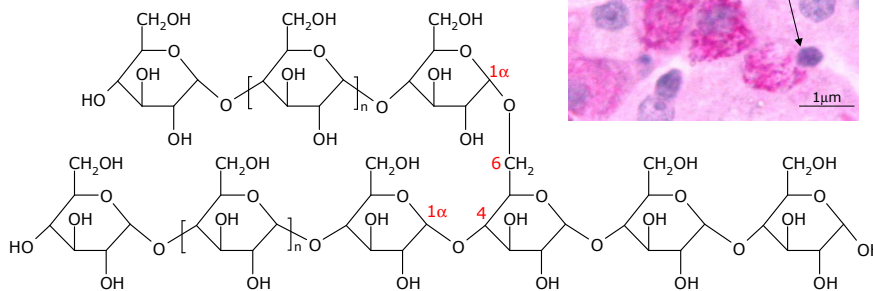
Metabolismo del Glicogeno

Glicogenolisi e
glicogenosintesi

180

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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

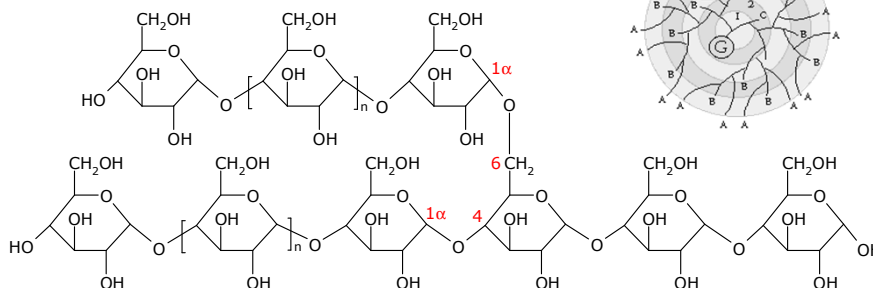
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

181

181

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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

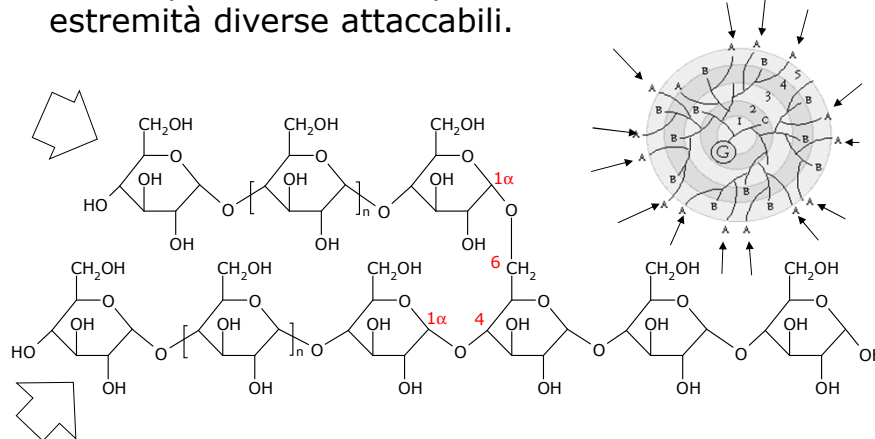
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

182

182

Glicogeno (Amido)

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



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

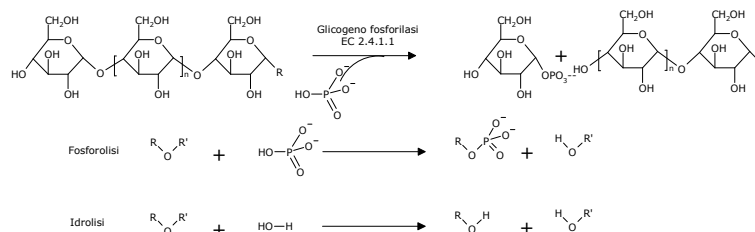
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

183

183

Catabolismo del glicogeno

- La catena lineare polisaccaridica viene scissa nei monomeri (come glucoso-1-fosfato) ad opera della glicogenofosforilasi (EC2.4.1.1):



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

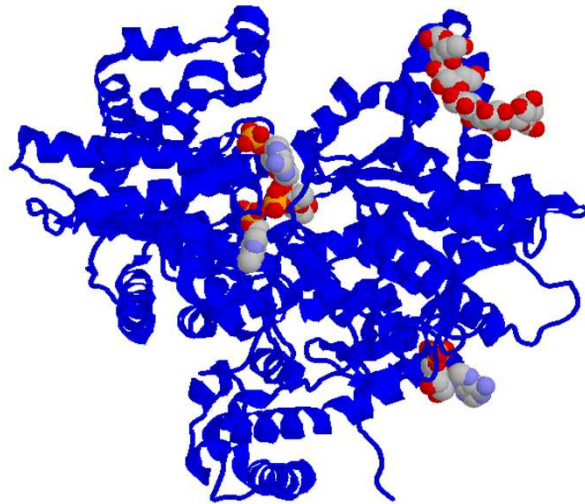
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

184

184

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



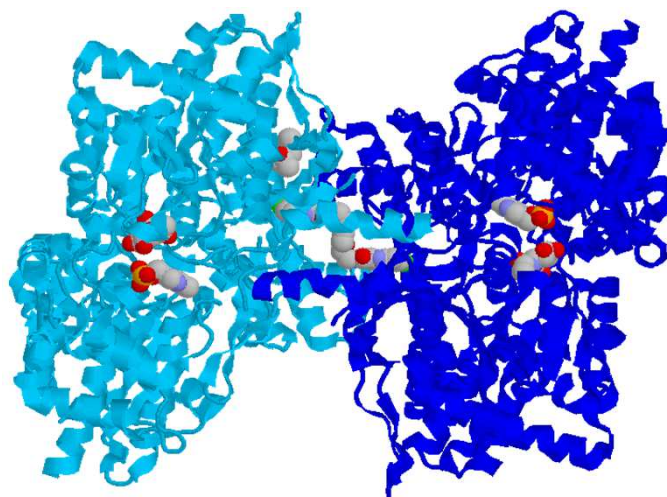
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

185

185

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



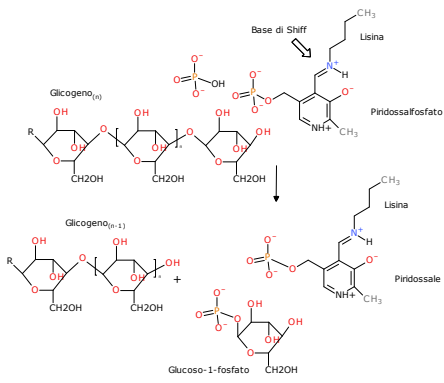
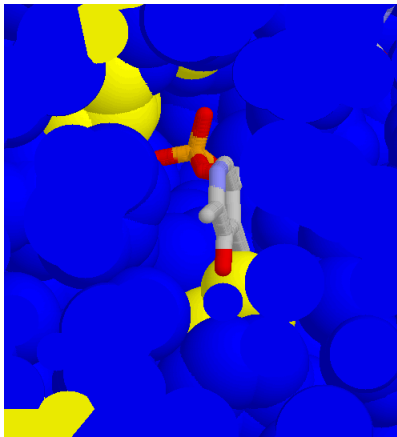
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

186

186

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



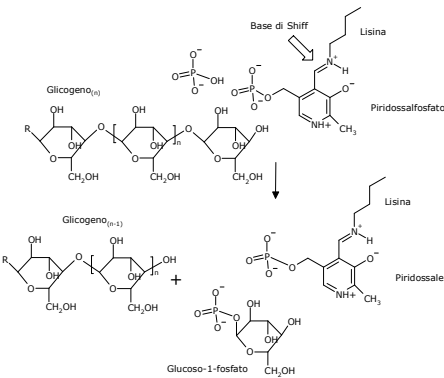
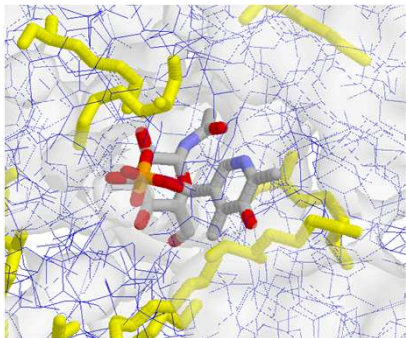
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

187

187

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

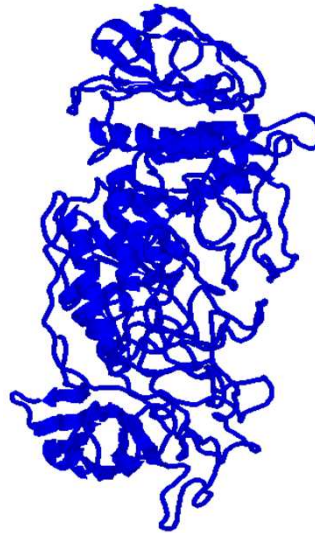
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

188

188

Enzima deramificante EC3.2.1.68

- Poiché la glicogeno fosforilasi non riesce a scindere tutti i legami $1\alpha \rightarrow 4$ e $1\alpha \rightarrow 6$ interviene l'enzima deramificante
 - con il suo dominio transferasico, scinde una catena di tre monomeri dal monomero dove vi è la ramificazione e lega i tre monomeri alla catena lineare adiacente,
 - Il residuo legato in $1\alpha \rightarrow 6$ viene idrolizzato dalla funzione deramificante con produzione di glucosio.



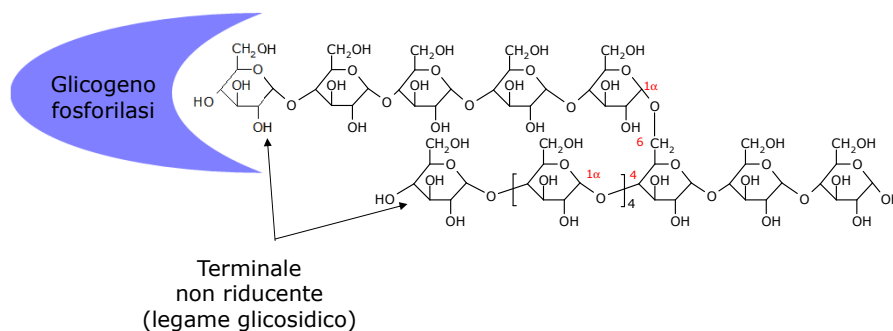
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

189

189

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



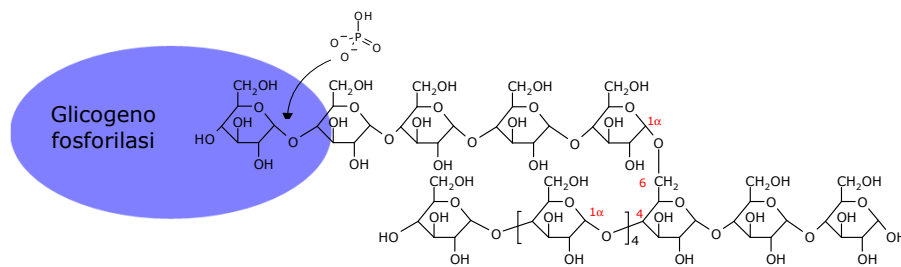
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

190

190

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



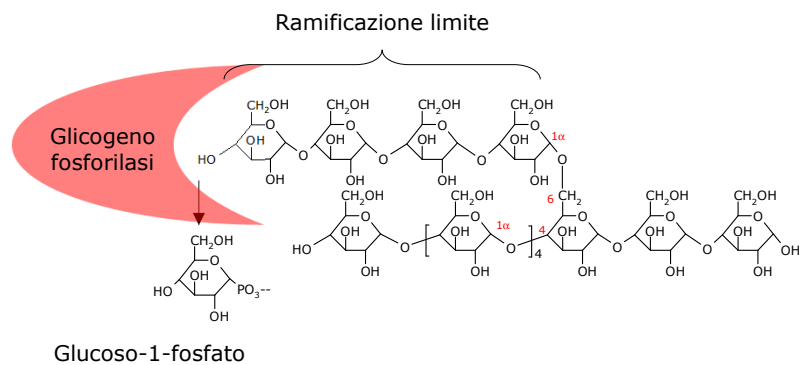
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

191

191

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



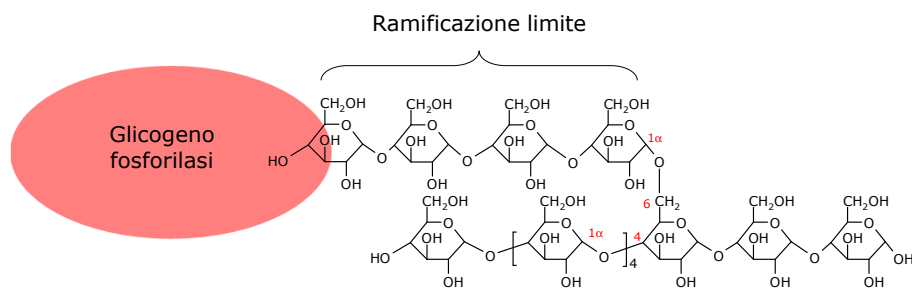
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

192

192

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

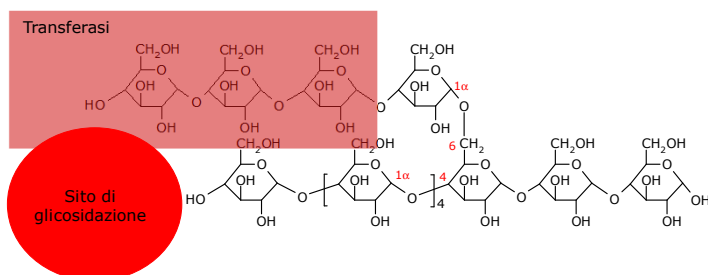
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

193

193

Enzima deramificante EC3.2.1.68

Enzima deramificante



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

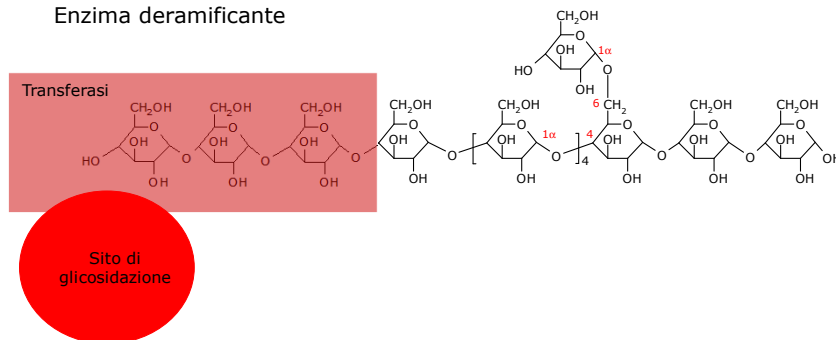
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

194

194

Enzima deramificante EC3.2.1.68

Enzima deramificante



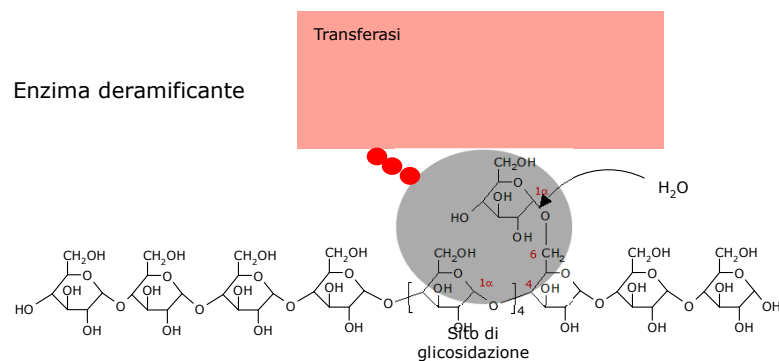
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

195

195

Enzima deramificante EC3.2.1.68



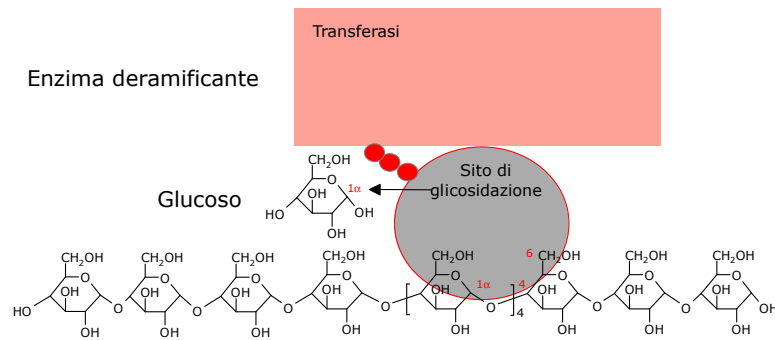
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

196

196

Enzima deramificante EC3.2.1.68



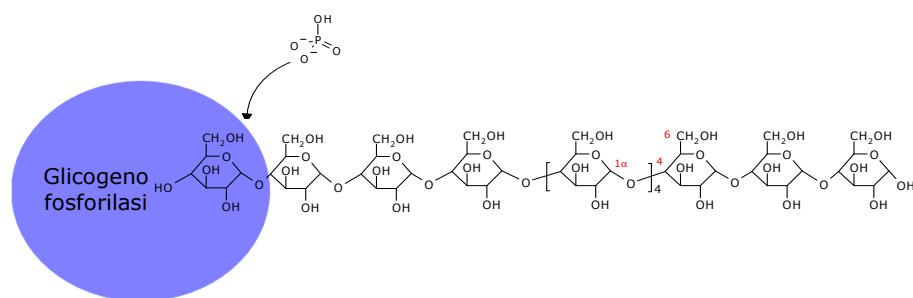
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

197

197

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



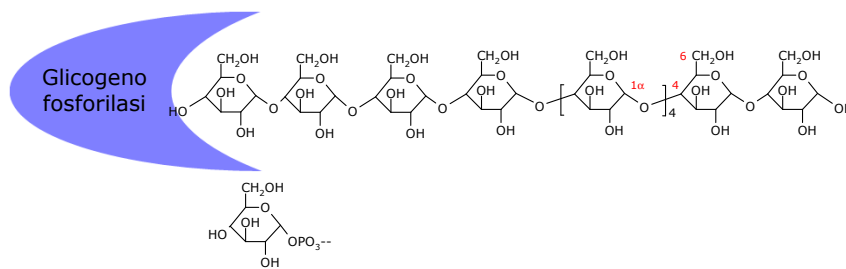
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

198

198

Glicogeno fosforilasi EC2.4.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

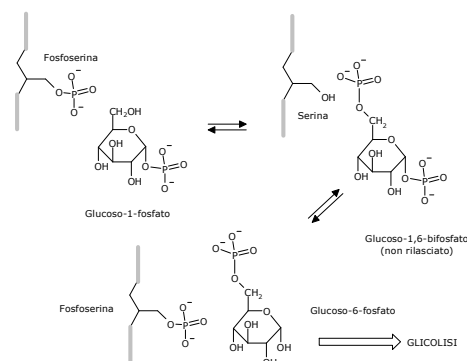
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

199

199

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 (EC5.4.2.2) 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.



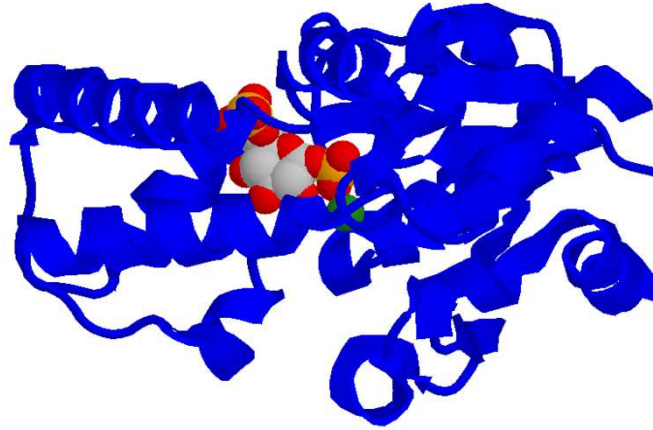
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

200

200

Fosfoglucomutasi EC5.4.2.2



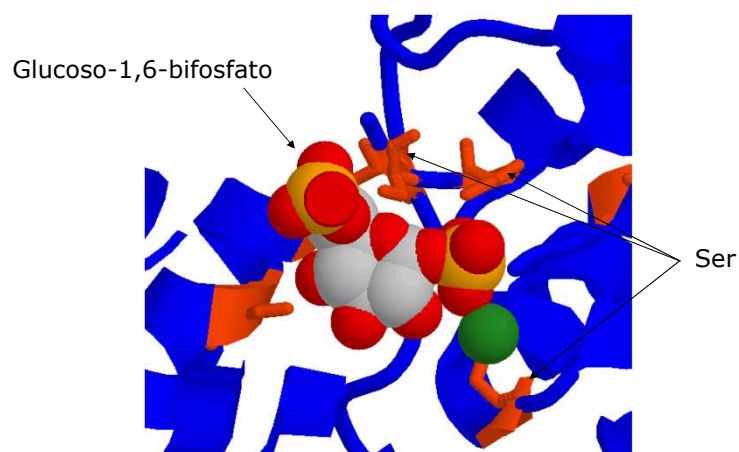
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

201

201

Fosfoglucomutasi EC5.4.2.2



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

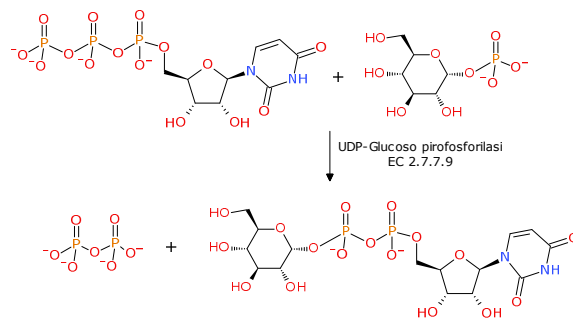
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

202

202

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 (EC2.7.7.9).



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

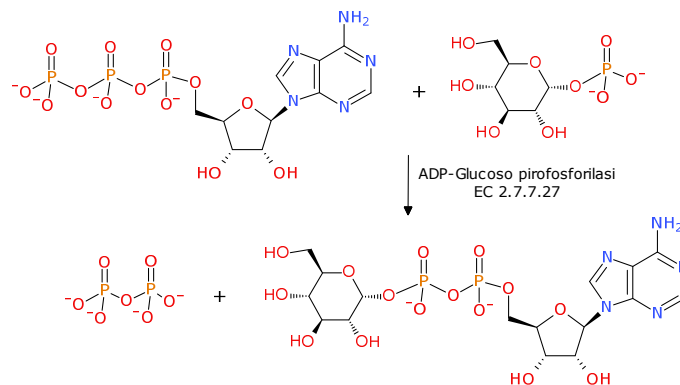
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

203

203

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 (EC2.7.7.27) con meccanismo analogo al glicogeno.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

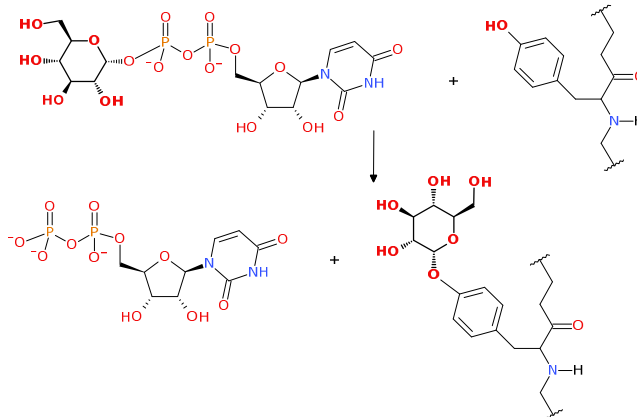
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

204

204

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 (EC2.4.1.186) (autoglicosilazione).



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

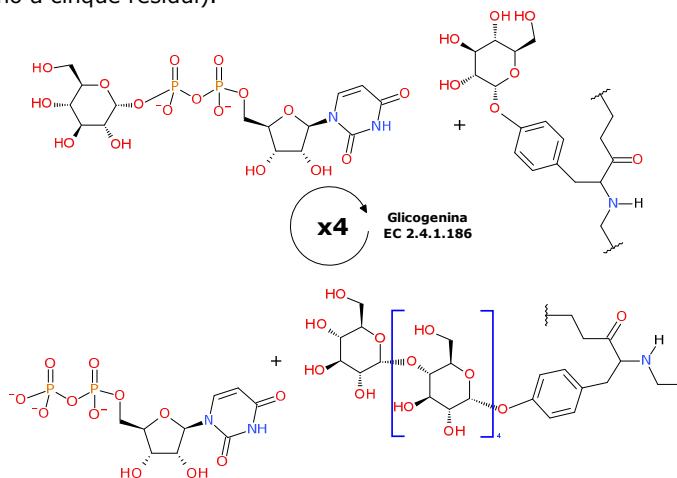
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

205

205

Glicogenosintesi

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



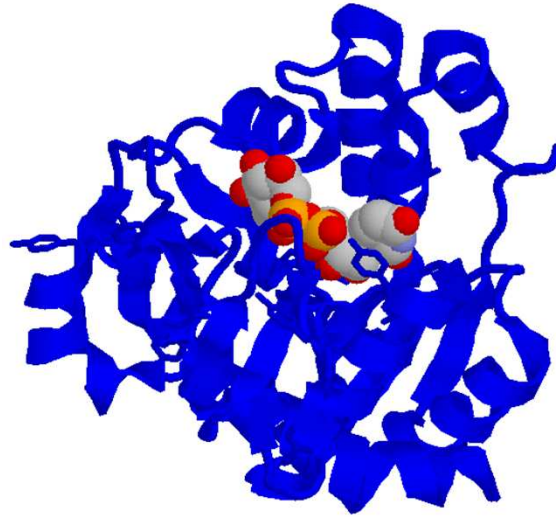
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

206

206

Glicogenina EC2.4.1.186



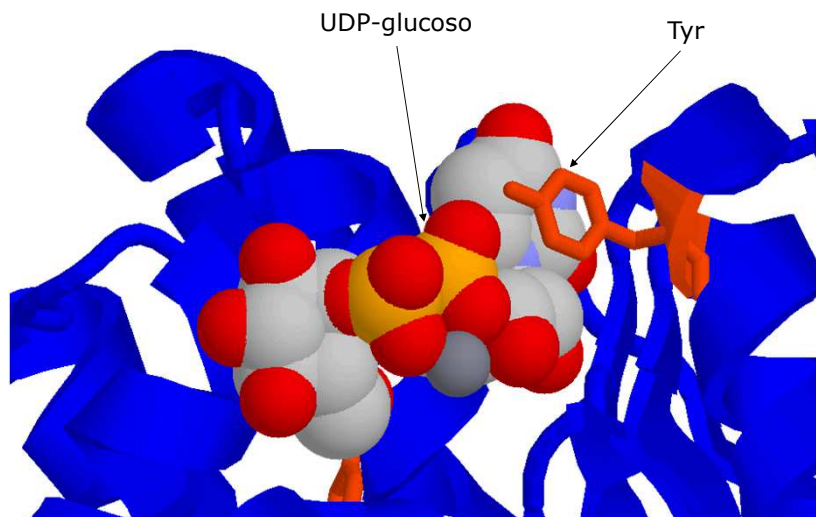
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

207

207

Glicogenina EC2.4.1.186



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

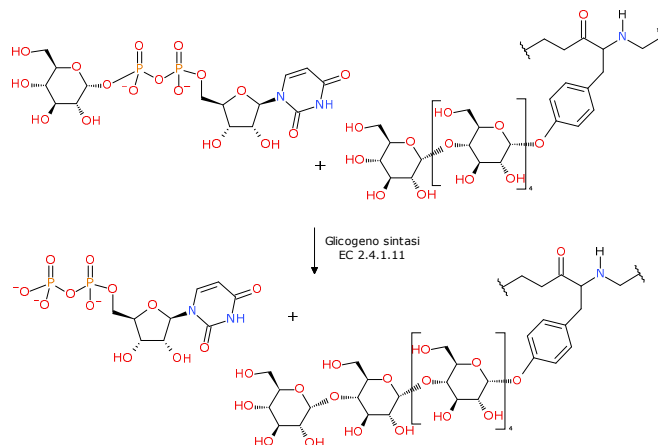
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

208

208

Glicogenosintesi

- Successivamente interviene la Glicogeno sintasi (EC2.4.1.11) per l'allungamento della catena.
- È un complesso di una subunità catalitica e della proteina glicogenina.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

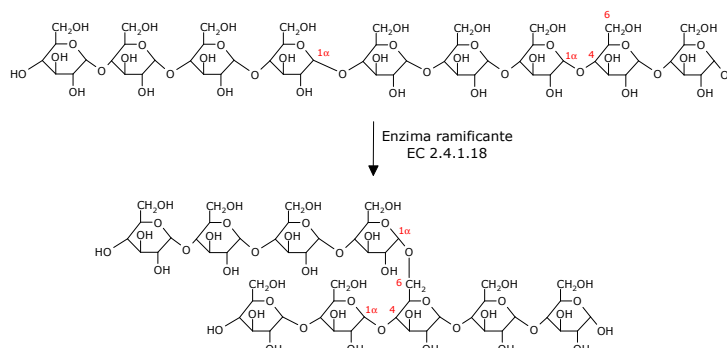
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

209

209

Glicogenosintesi

- La ramificazione $1\alpha \rightarrow 6$ viene catalizzata da un enzima ramificante (EC2.4.1.18).
- Lo stesso enzima è responsabile della conversione di amilosio in amilopectina e dell'ulteriore ramificazione dell'amilopectina



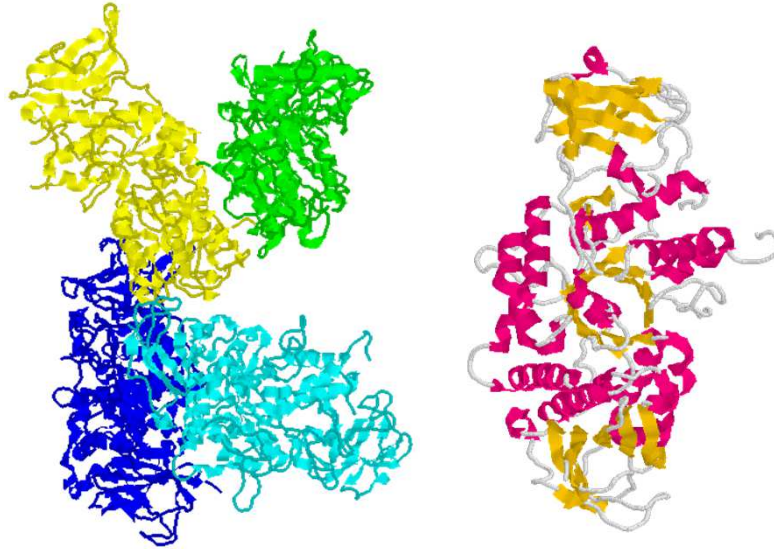
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

210

210

Enzima ramificante EC2.4.1.18



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

211

211

Controllo

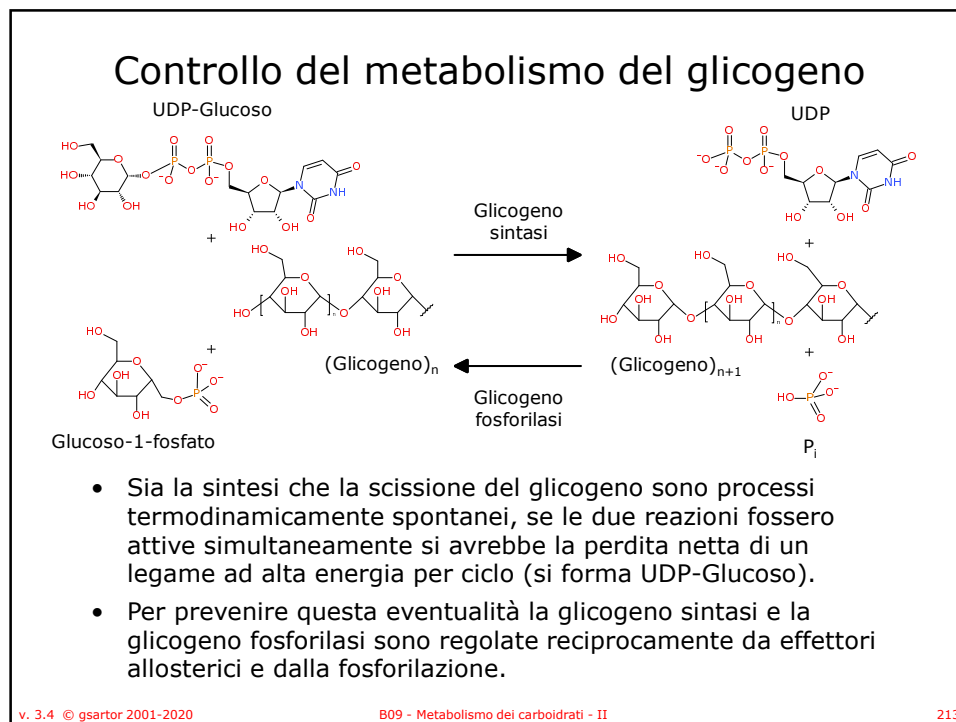
- Il metabolismo dei carboidrati ha ruoli diversi nel muscolo e nel fegato.
 - Nel muscolo: per generare ATP
 - Nel fegato: mantenere il livello ematico di glucosio (produce ed esporta glucosio o importa ed immagazzina glucosio in risposta alla glicemia).
- La sintesi e degradazione del glucosio e del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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

212

212



213

Regolazione allosterica

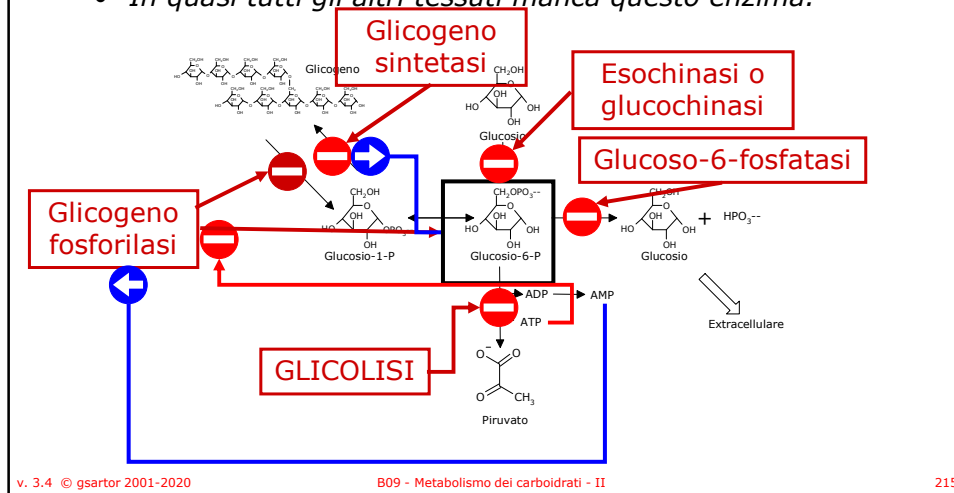
- La **glicogeno fosforilasi** nel muscolo è regolata da AMP, ATP e glucoso-6-fosfato. (un isoenzima diverso nel fegato è meno sensibile a questi controlli allosterici).
 - AMP (presente quando l'ATP manca) attiva la fosforilasi promuovendone la conformazione R.
 - ATP e glucoso-6-fosfato, che spiazzano 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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 214

214

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.*



215

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

216

216

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

217

217

Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

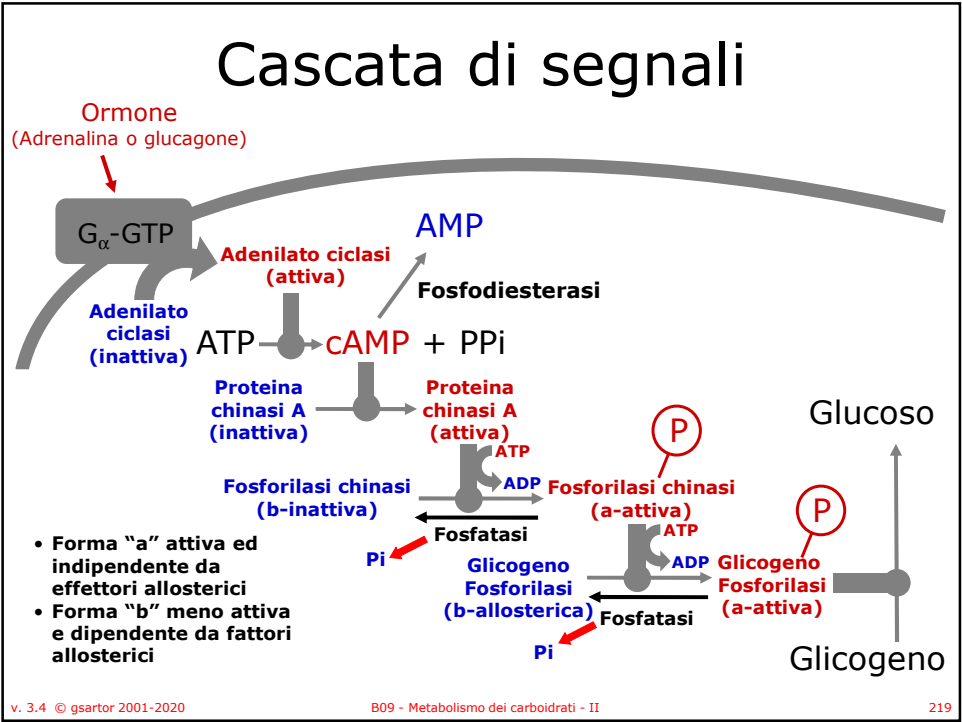
- La cascata del cAMP ha effetti opposti nella glicogeno sintesi.
- La glicogeno sintasi è anch'essa fosforilata dalla cascata, ma viene promossa la conformazione b, meno attiva.
- Quindi la cascata del cAMP inibisce la sintesi di glicogeno.
- Invece di essere convertito in glicogeno il glucoso-1-fosfato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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

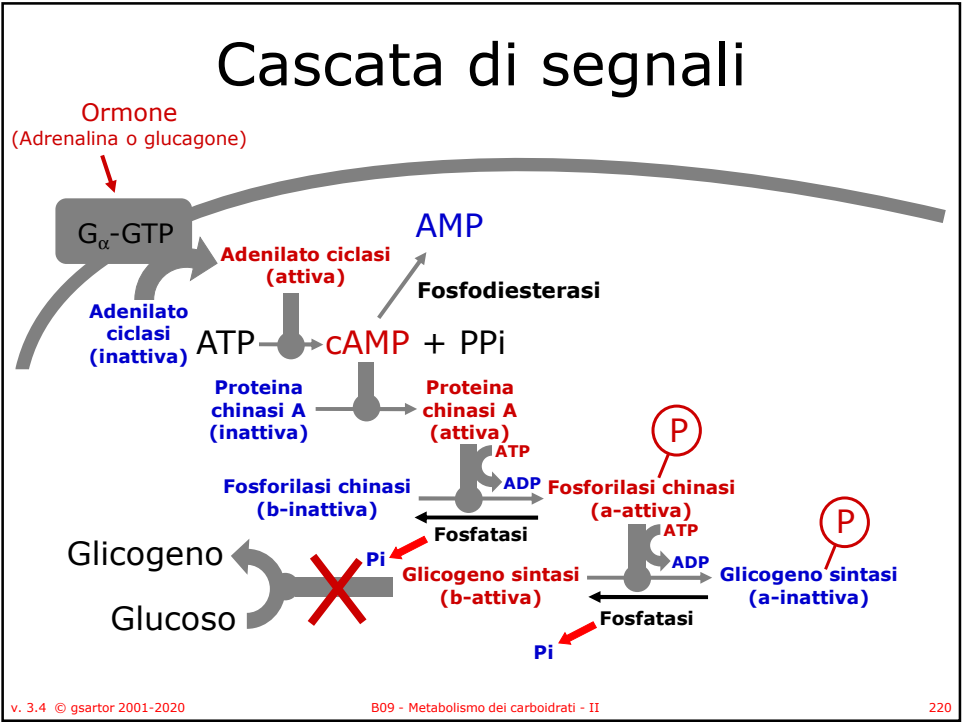
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

218

218



219



220

Insulina

- L'insulina è un ormone prodotto dalle cellule β del pancreas in risposta ad alti livelli ematici di glucosio.
- Attiva una cascata di segnali separata che porta alla attivazione delle fosfoproteina fosfatasi.
- Queste fosfatasi catalizzano la rimozione del fosfato sia dalla fosforilasi chinasi che dalla glicogeno fosforilasi che dalla glicogeno sintasi.
- Quindi l'insulina antagonizza gli effetti della cascata del cAMP indotta da glucagone e adrenalina.

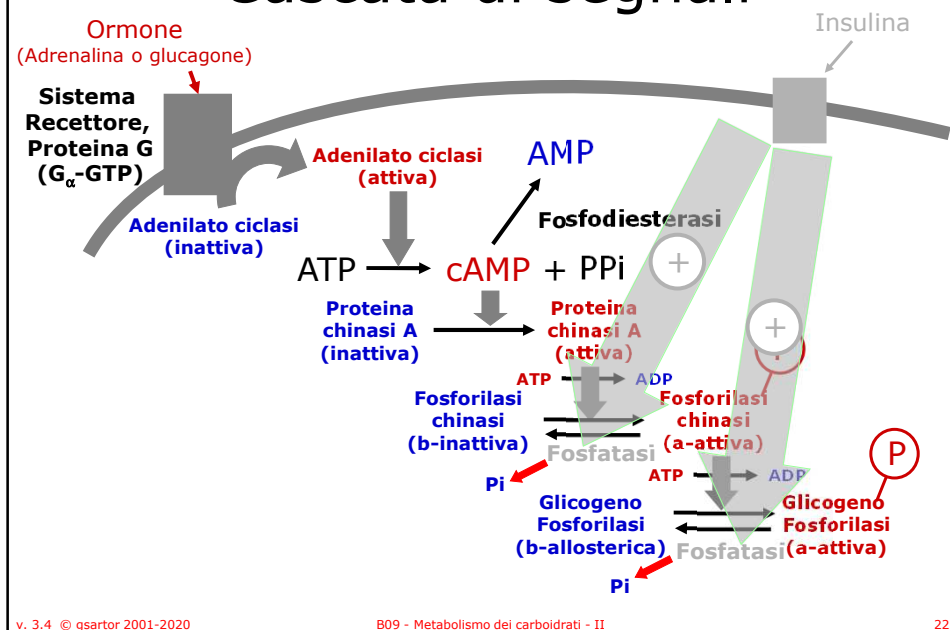
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

221

221

Cascata di segnali



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

222

222

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.

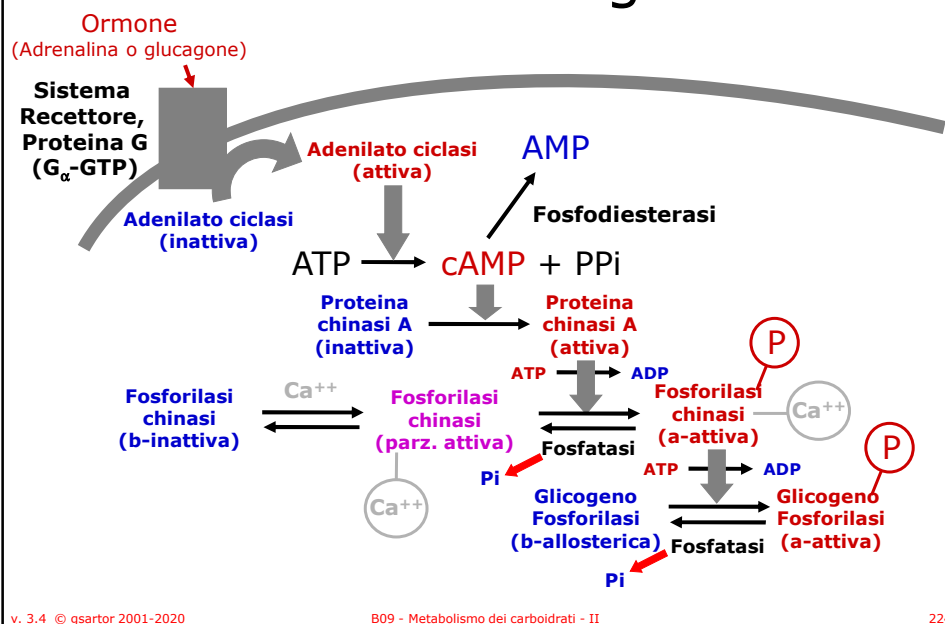
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

223

223

Cascata di segnali



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

224

224

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

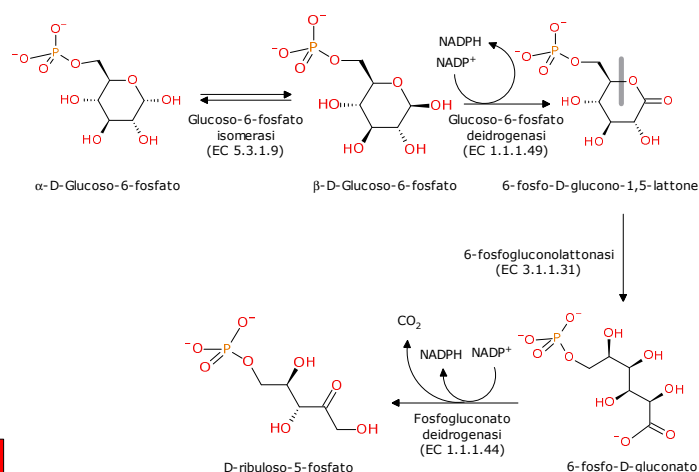
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

225

225

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



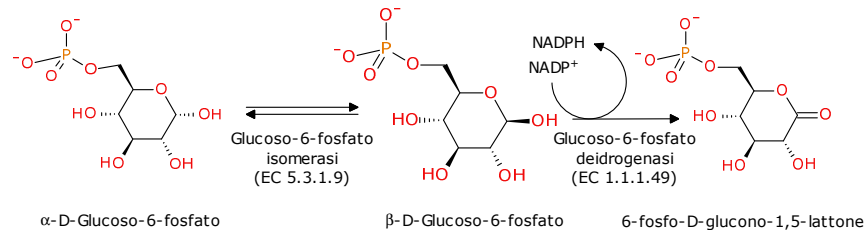
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

226

226

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



- Il glucoso-6-fosfato viene convertito dalla forma α alla forma β attraverso la glucoso-6-fosfato isomerasi
- La glucoso-6-fosfato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del gruppo aldeidico (semiacetale) del glucoso-6-fosfato (in C1) ad acido carbossilico.
- Si forma un legame estereo (lattone).
- Il NADP^+ serve come accettore di elettroni, viene prodotto NADPH.

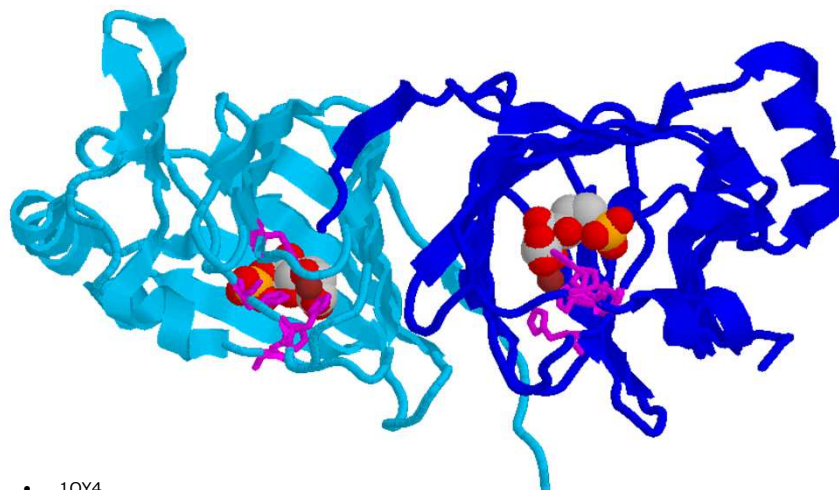
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

227

227

Glucoso-6-fosfato isomerasi EC5.3.1.9



- 1QY4

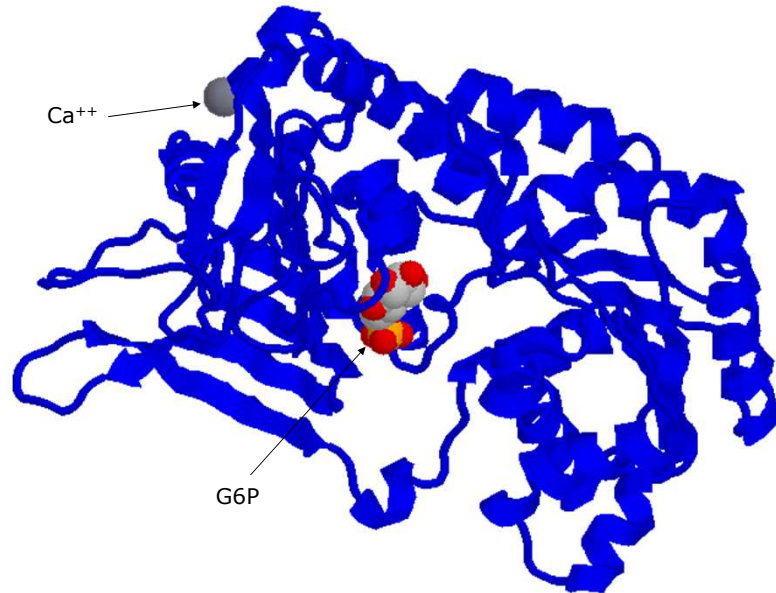
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

228

228

Glucoso-6-fosfato isomerasi EC5.3.1.9



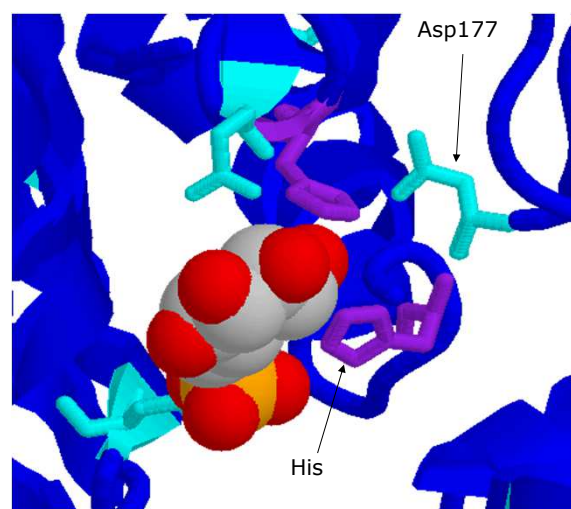
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

229

229

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi EC1.1.1.49

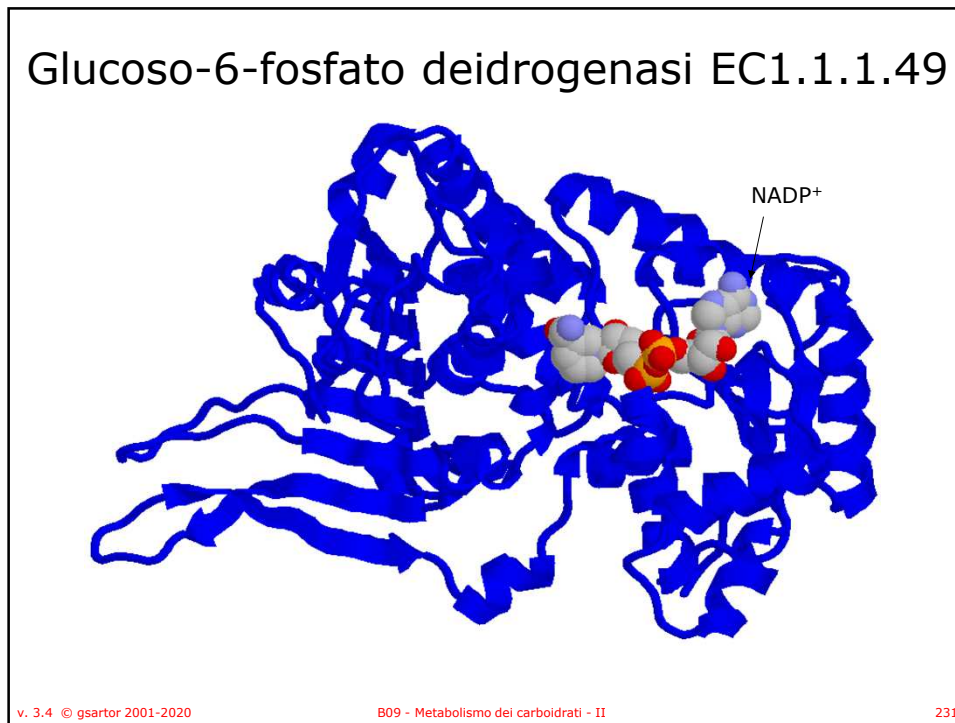


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

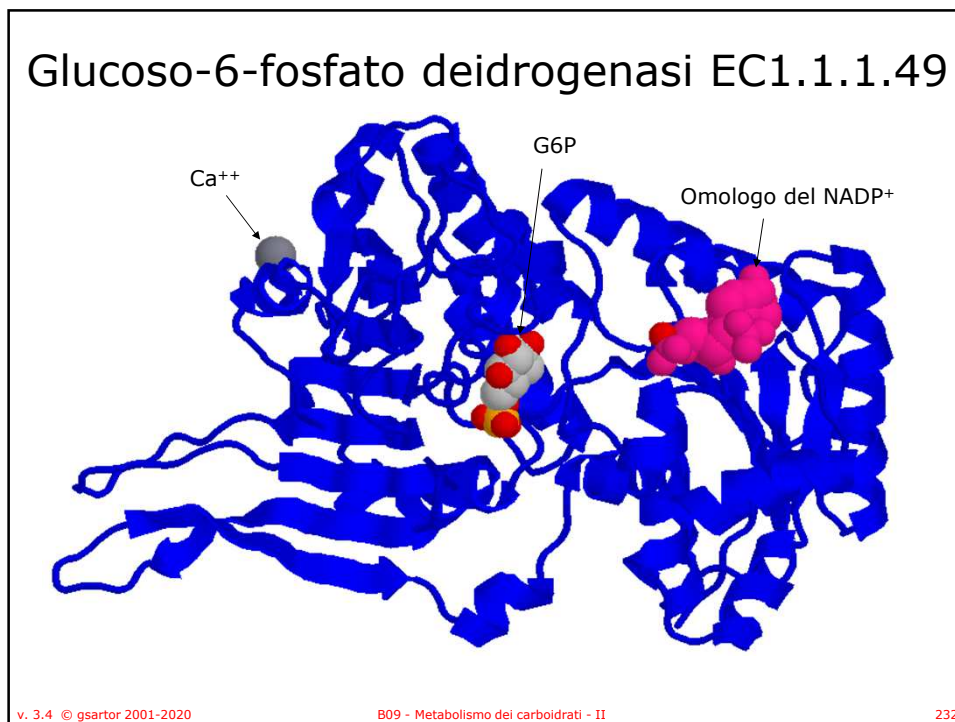
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

230

230



231



232

Regolazione della glucoso-6-fosfato deidrogenasi

- La reazione catalizzata dalla glucoso-6-fosfato deidrogenasi è un passo obbligatorio della via dei pentosi fosfati e la sua attività è regolata dalla presenza di NADP^+ .
- Il NADPH è utilizzato nelle vie biosintetiche e viene convertito in NADP^+
- Il NADP^+ stimola la via dei pentosi fosfati che porta alla formazione di NADPH .

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

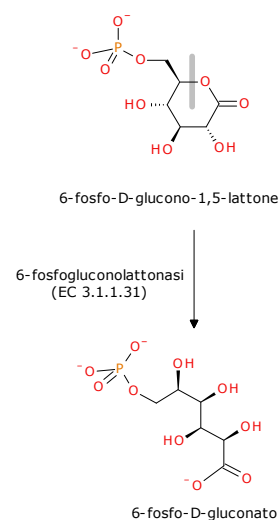
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

233

233

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

- La 6-fosfogluconolattoneasi catalizza l'idrolisi del legame estereo con apertura dell'anello. Il prodotto è 6-fosfogluconato.
- L'apertura dell'anello avverrebbe anche in assenza di enzima.
- La lattoneasi aumenta la velocità della reazione favorendo la scomparsa del 6-fosfogluconolattone che è altamente reattivo e potenzialmente tossico.



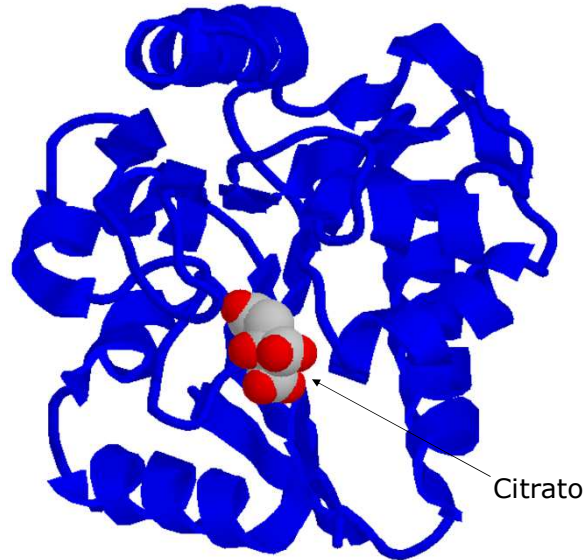
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

234

234

6-fosfogluconolatttonasi EC3.1.1.31



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

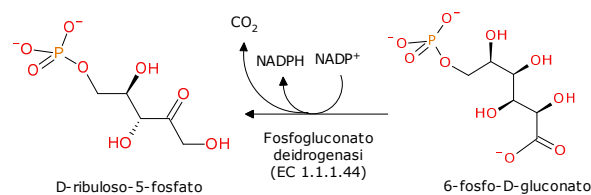
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

235

235

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

- La fosfogluconato deidrogenasi (EC1.1.1.44) catalizza la decarbossilazione ossidativa del 6-fosfogluconato.
- Si forma il chetone a 5-C ribuloso-5-fosfato.
- Il gruppo OH al C3 (C2 del prodotto) è ossidato a chetone.
- Ciò promuove la perdita del carbossile dal C1 come CO_2 .
- Il NADP^+ serve da ossidante.



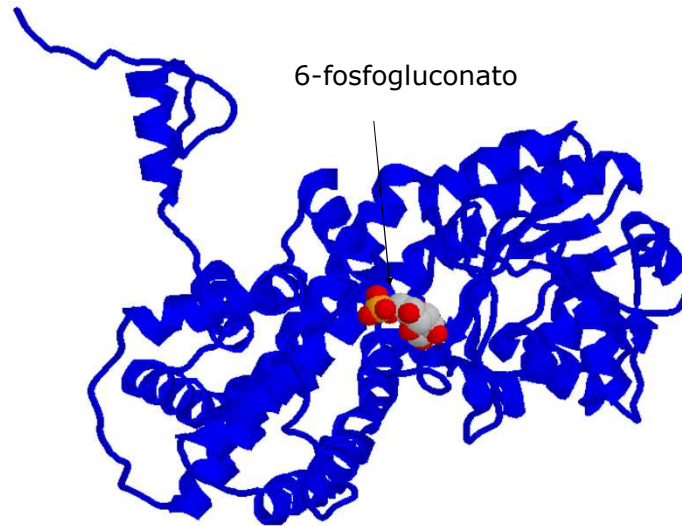
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

236

236

Fosfogluconato deidrogenasi EC1.1.1.44



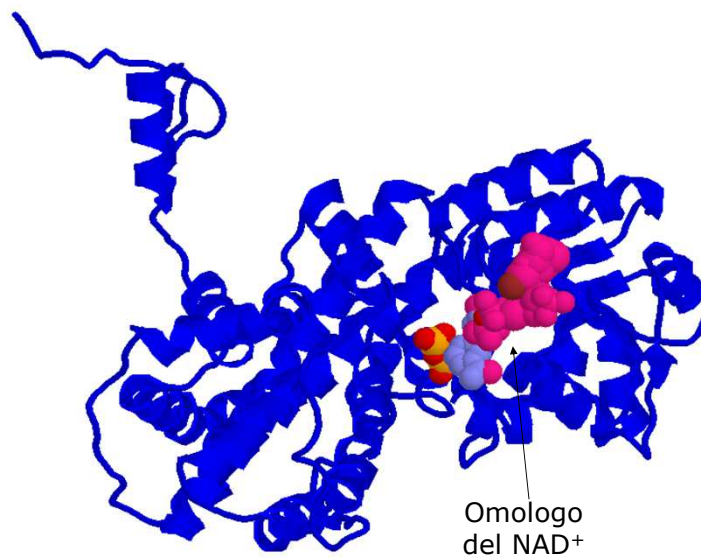
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

237

237

Fosfogluconato deidrogenasi EC1.1.1.44

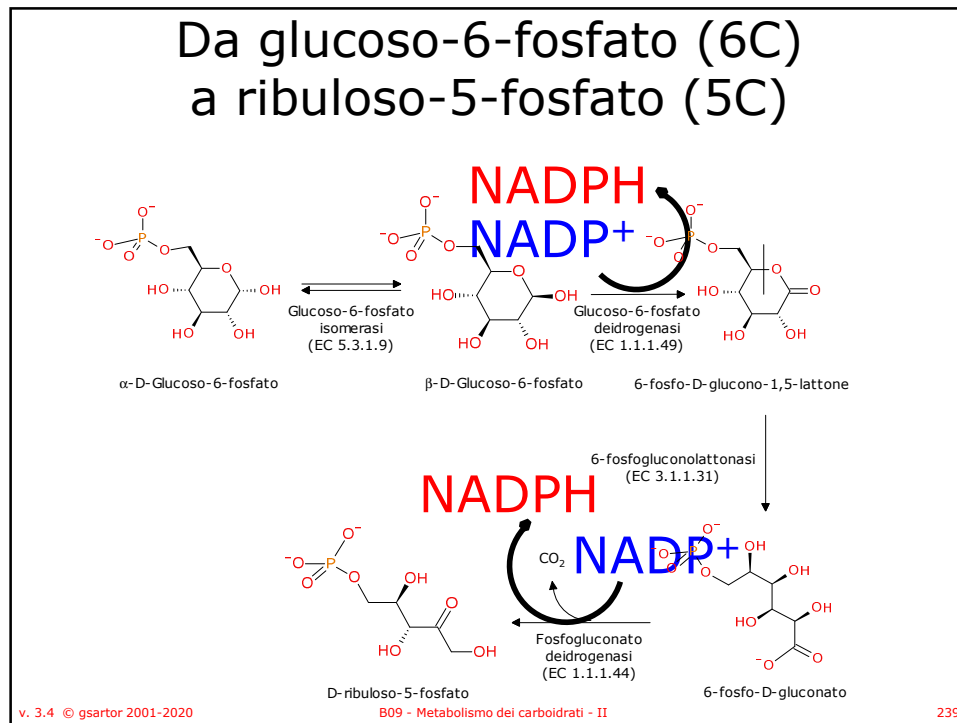


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

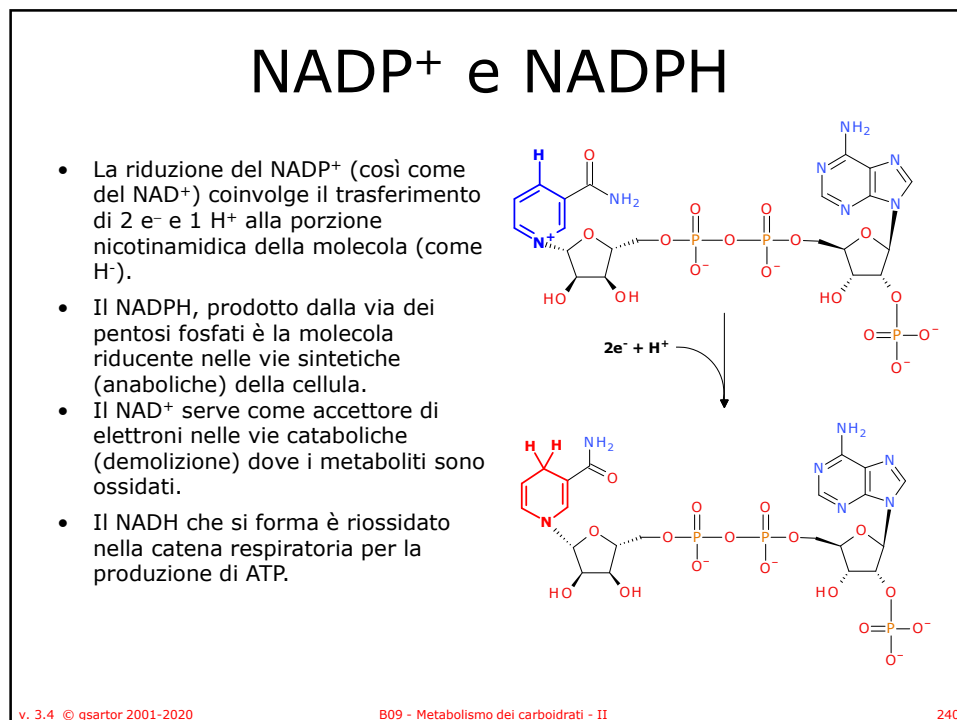
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

238

238

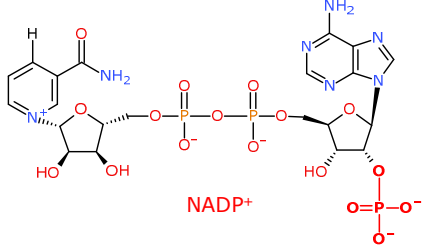
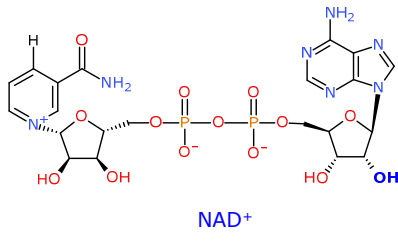


239



240

NADP⁺ e NAD⁺

- NAD⁺ e NADP⁺ differiscono solo per la presenza del fosfato legato al riboso nel NADP⁺.
- Per quanto riguarda l'attività redox non vi è sostanziale differenza.
- La presenza del fosfato serve per il riconoscimento di uno o dell'altro dagli enzimi. Ciò permette la separazione delle vie cataboliche e anaboliche nella cellula.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 241

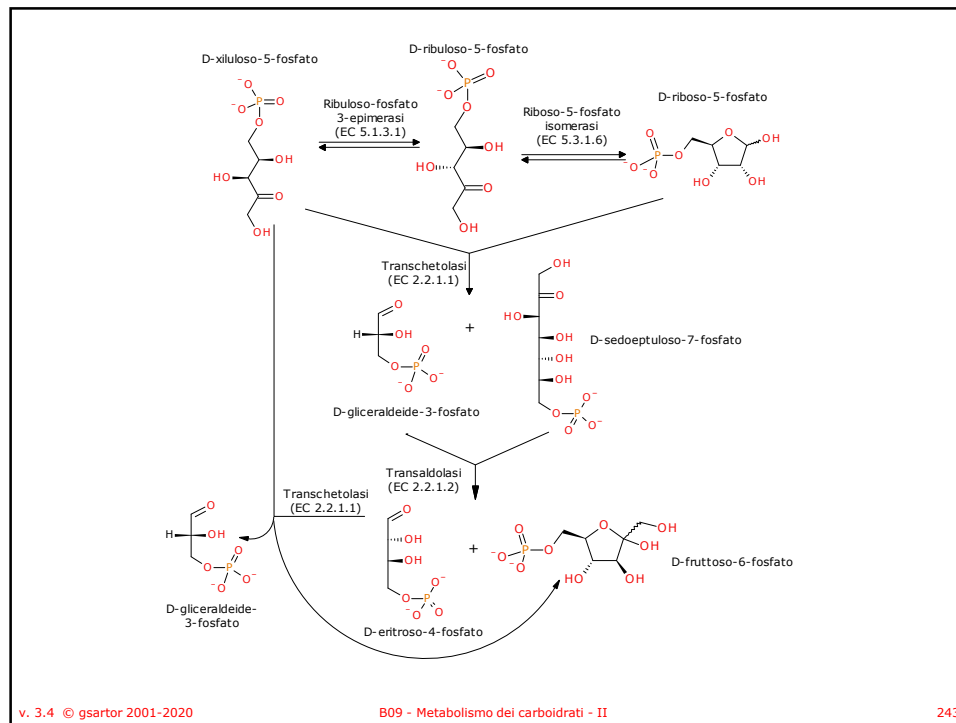
241

Il resto della via ...

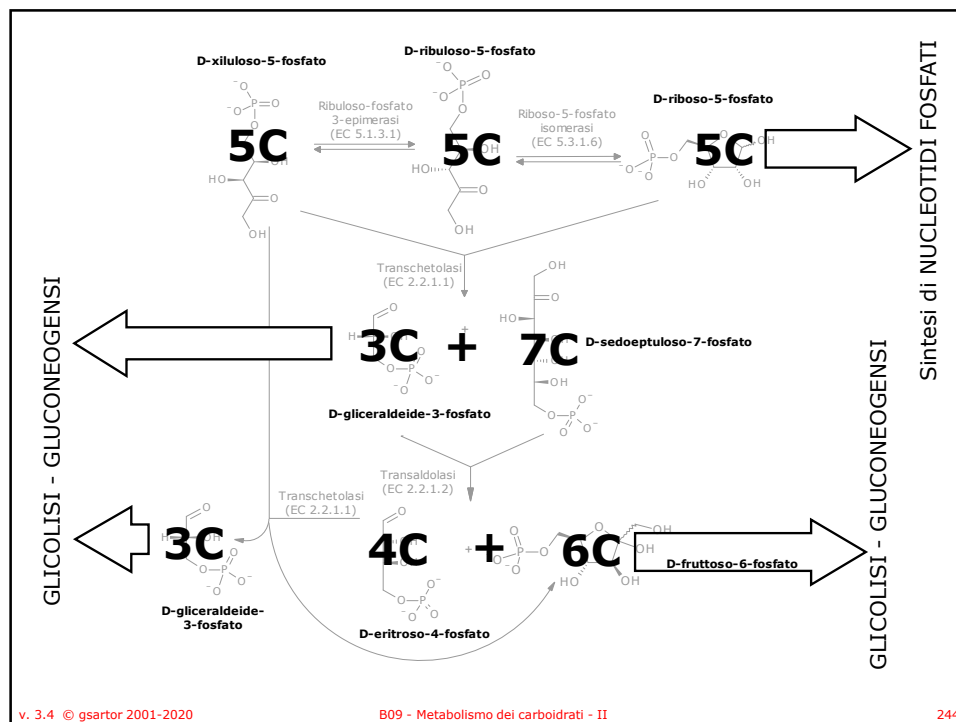
- ... converte
 - il ribuloso-5-fosfato a riboso-5-fosfato (5C) e xiluloso-5-fosfato attraverso la catalisi effettuata da epimerasi e isomerasi ...
- ... e quindi a
 - gliceraldeide-3-fosfato (3C), sedoeptuloso-7-fosfato (7C), eritroso-4-fosfato (4C) e fruttosio-6-fosfato (6C) attraverso transaldolasi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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 242

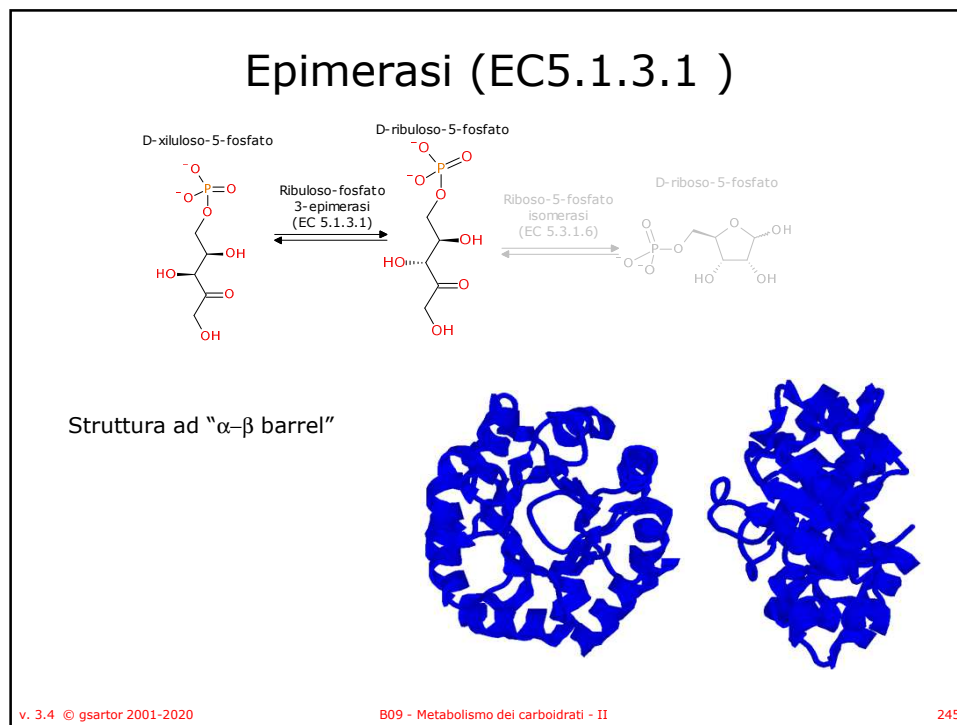
242



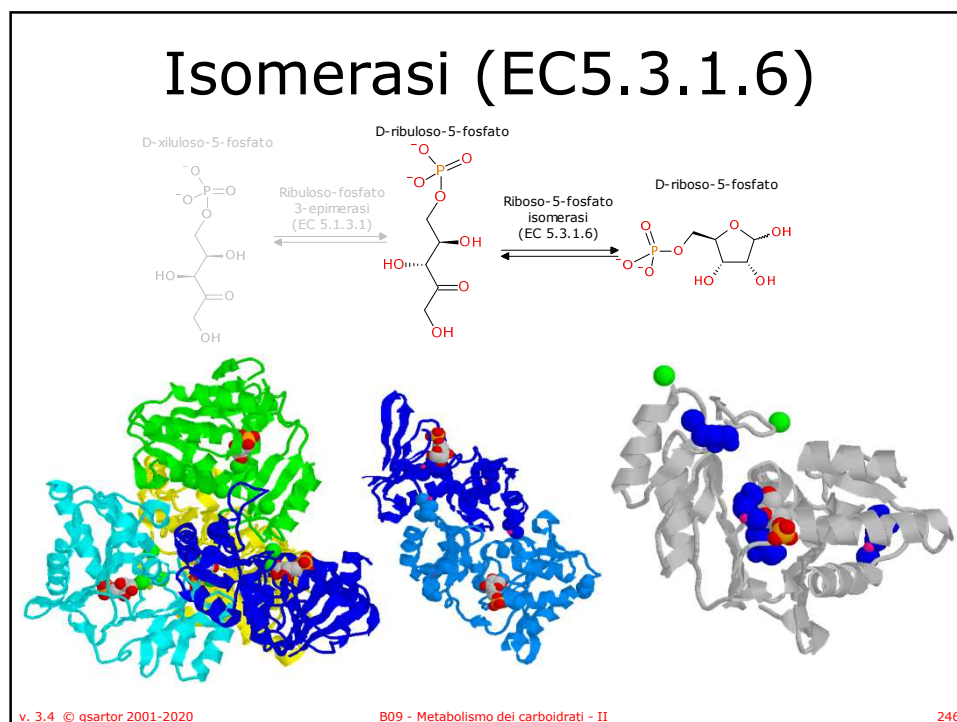
243



244

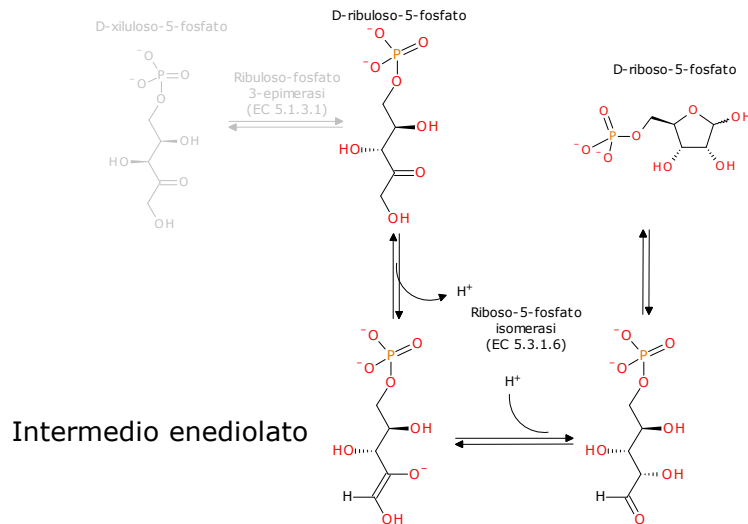


245



246

Isomerasi (EC5.3.1.6)



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

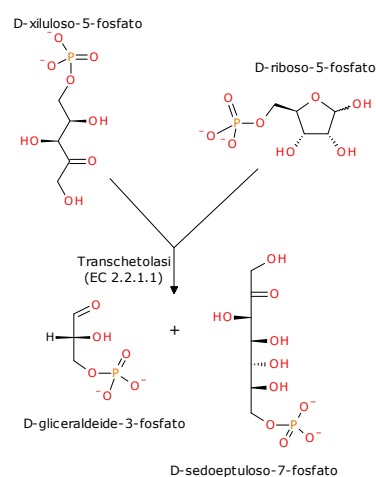
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

247

247

Transchetolasi EC2.2.1.1

- Le transchetolasi e le transaldolasi catalizzano, rispettivamente, il trasferimento di frammenti di due o tre atomi di carbonio da un chetoso donatore ad un aldoso accettore.
- La transchetolasi trasferisce un frammento 2-C dal xiluloso-5-fosfato (chetoso) sia al riboso-5-fosfato che all'eritroso-4-fosfato (aldosi).



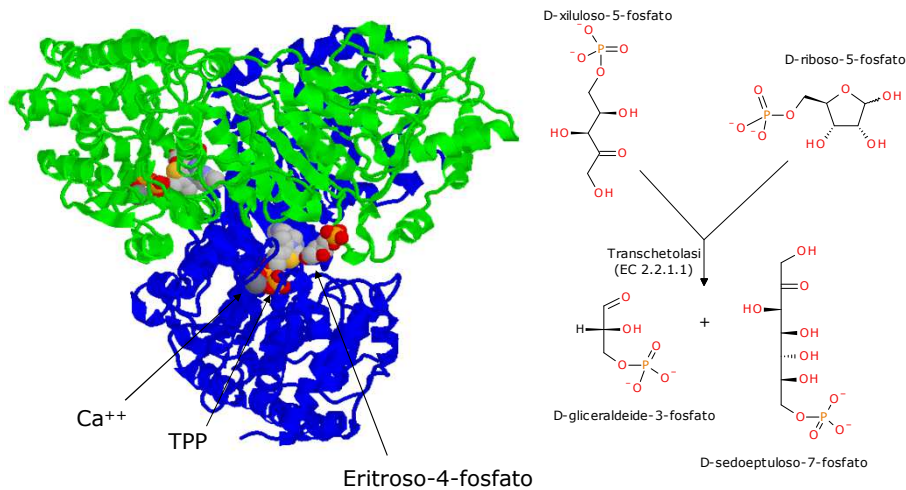
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

248

248

Transchetolasi EC2.2.1.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

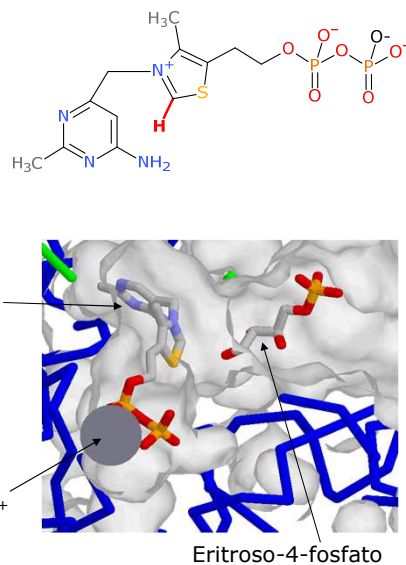
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

249

249

Tiaminapirofosfato

- La transchetolasi utilizza come gruppo prostetico il TPP (tiaminapirofosfato) derivato dalla vitamina B₁.
- Il TPP si lega nel sito attivo piegato a "V".
- Il protone tra gli atomi di azoto e zolfo nell'anello tiazolico è acido e dissocia.
- Il gruppo aminico dell'anello aminopiridino è vicino al protone dissociabile e serve come accettore (base).
- Il trasferimento del protone è favorito dalla presenza di un residuo di Glu adiacente all'anello pirimidinico.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

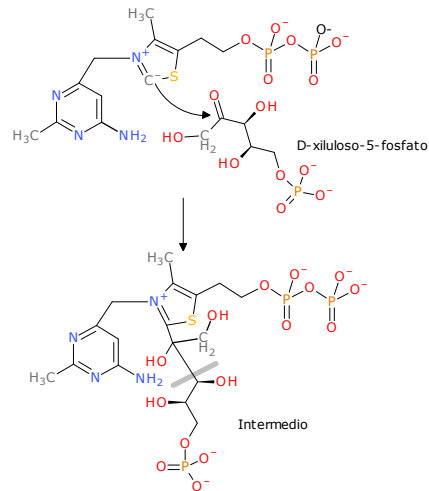
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

250

250

Tiaminapirofosfato

- Il carbanione attacca il carbonile del xiluloso-5-P per formare un intermedio di addizione.
- Il N⁺ nell'anello tiazolico agisce come un accettore di elettroni favorendo la rottura del legame C-C.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

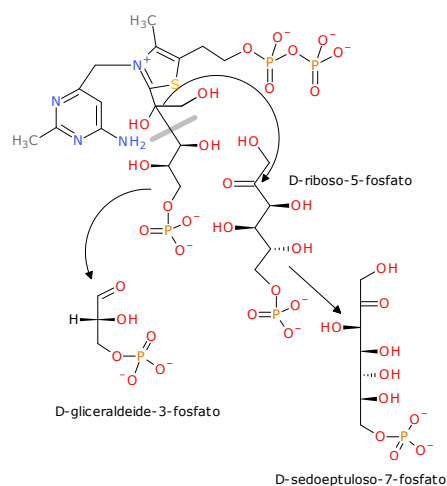
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

251

251

Tiaminapirofosfato

- Si forma l'aldoso a tre atomi di carbonio gliceraldeide-3-P che viene rilasciato, il frammento a 2-C rimane legato al TPP.
- Il frammento 2-C condensa con un aldoso (eritroso-4-P o riboso-5-P) per formare un chetoso-P.
 - Il trasferimento del frammento 2-C sul riboso-5-P forma il sedoepuloso-7-fosfato.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

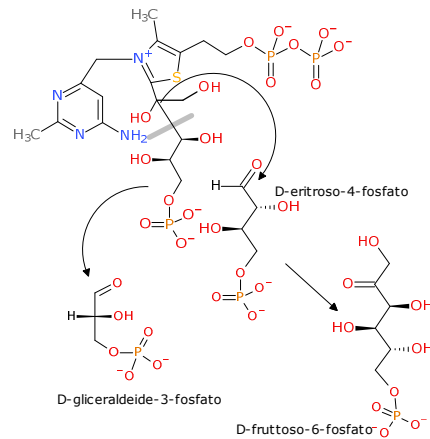
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

252

252

Tiaminapirofosfato

- Si forma l'aldoso a tre atomi di carbonio gliceraldeide-3-P che viene rilasciato, il frammento a 2-C rimane legato al TPP.
- Il frammento 2-C condensa con un aldoso (eritroso-4-P o riboso-5-P) per formare un chetoso-P.
 - Il trasferimento del frammento 2-C sul eritroso-4-P forma il fruttosio-6-7-fosfato.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

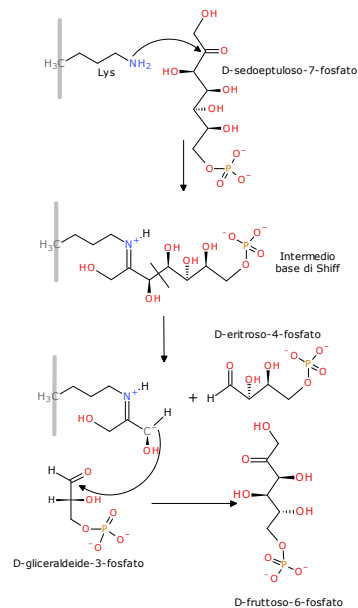
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

253

253

Transaldolasi EC2.2.1.2

- La transaldolasi trasferisce la porzione 3-C (diidrossiacetone) dal sedoeptuloso-7-fosfato alla gliceraldeide-3-fosfato.
- Il gruppo ε-aminico della transaldolasi reagisce con il carbonile del sedoeptuloso-7-fosfato.
- Si forma la base di Schiff protonata.
- Si libera l'eritroso-4-fosfato. La base di Schiff stabilizza il carbanione in C3.
- La reazione prosegue con l'attacco del carbanione al carbonile della gliceraldeide-3-fosfato per formare fruttosio-6-fosfato.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

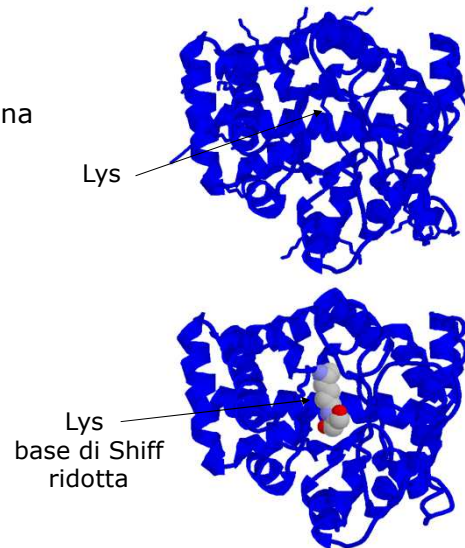
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

254

254

Transaldolasi EC2.2.1.2

- La transaldolasi ha una struttura α, β barrel.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

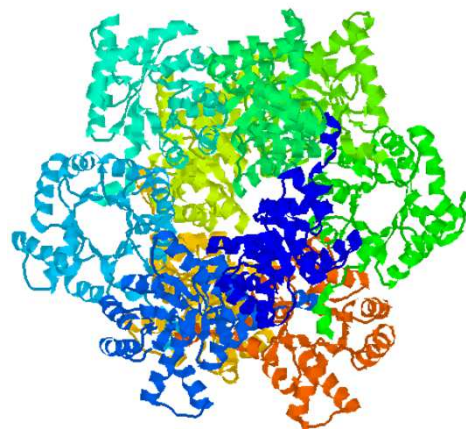
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

255

255

Transaldolasi EC2.2.1.2

- La transaldolasi ha una struttura α, β barrel.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

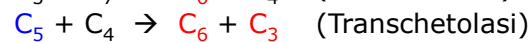
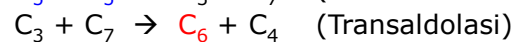
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

256

256

Bilancio

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



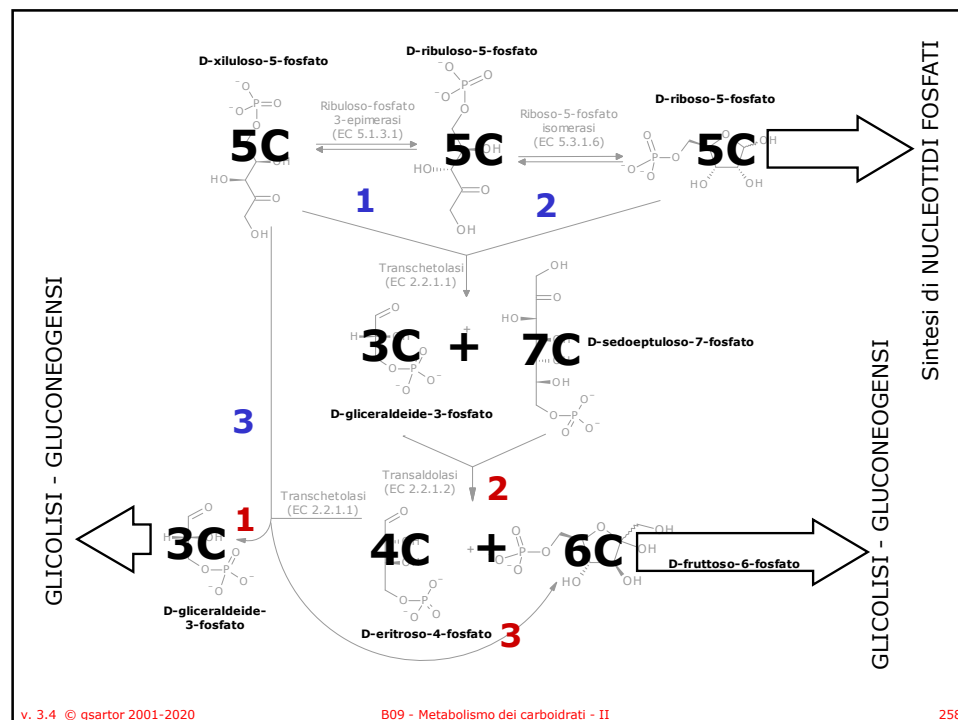
Il glucoso-6-fosfato può esser rigenerato sia da gliceraldeide-3-fosfato che dal fruttosio-6-fosfato attraverso la Gluconeogenesi.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

257

257



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

258

258

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

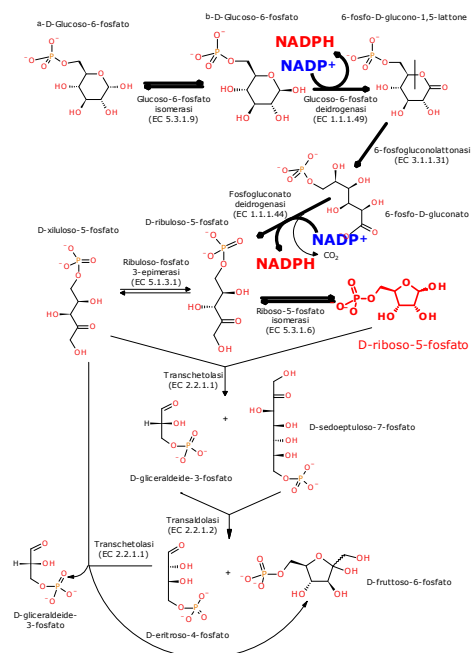
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

259

259

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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

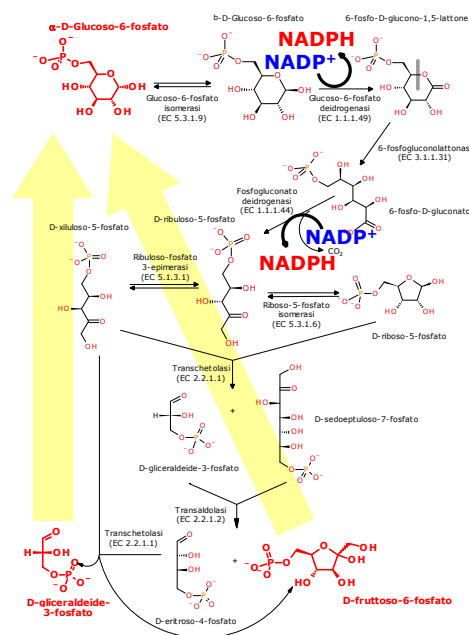
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

260

260

Sintesi di NADPH massimizzata

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



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

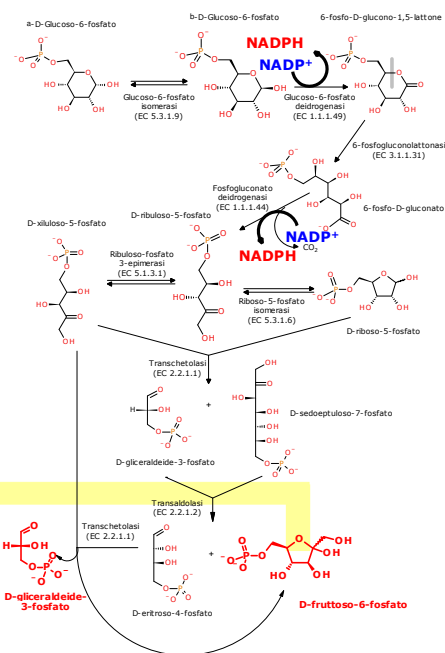
261

261

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.

GLICOLISI
↓
ATP



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

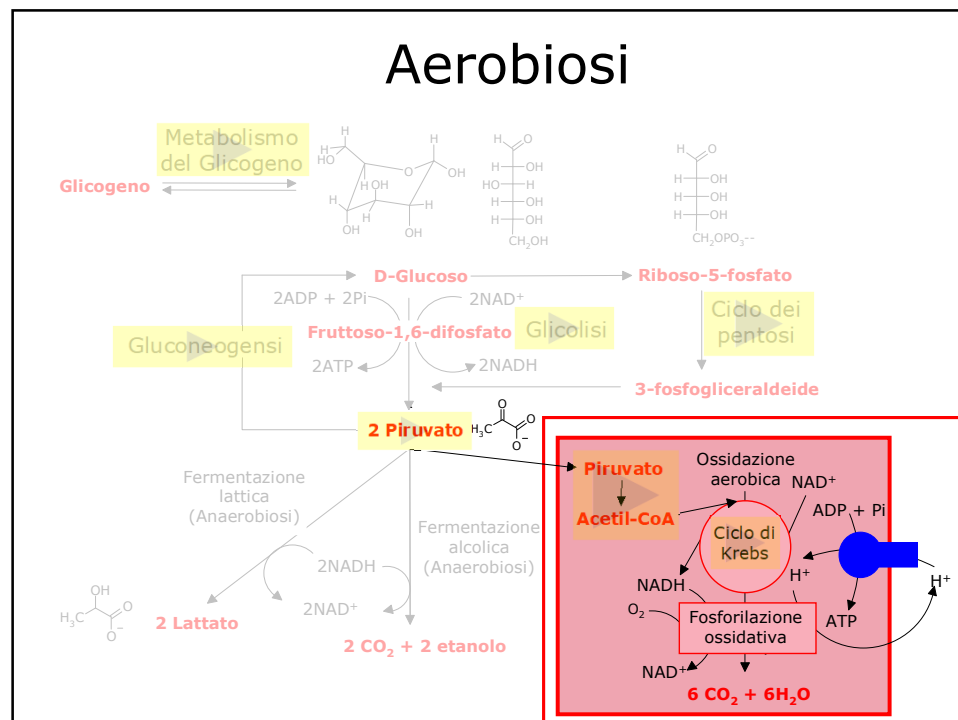
262

262

Ossigeno

Aerobiosi e anaerobiosi

263



264

Aerobiosi

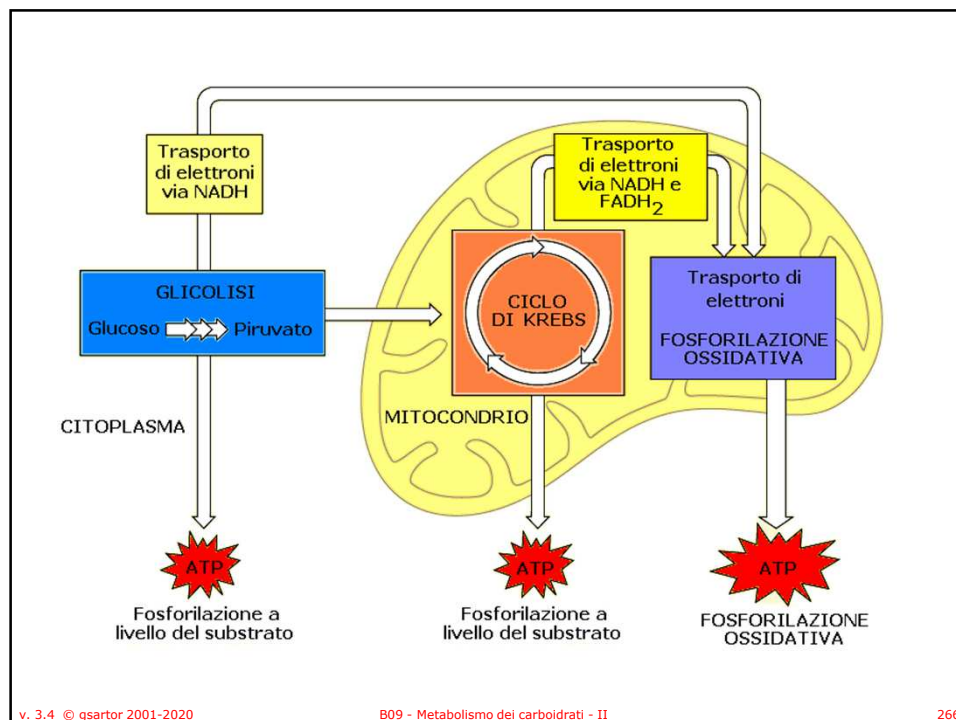
- In condizioni aerobiche il piruvato prodotto dalla glicolisi e dalla degradazione degli aminoacidi è ossidato a H_2O e CO_2 nella respirazione cellulare.
- Ciò avviene in tre stadi
 - Produzione di acetil-CoA (decarbossilazione del piruvato)
 - Ossidazione dell'acetil-CoA a CO_2 (Ciclo di Krebs)
 - Trasferimento di elettroni e fosforilazione ossidativa (produzione di H_2O e ATP con consumo di O_2).

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

265

265



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

266

266

Piruvato deidrogenasi

Produzione di acetil-CoA
(decarbossilazione del piruvato)

267

Trasporto del piruvato

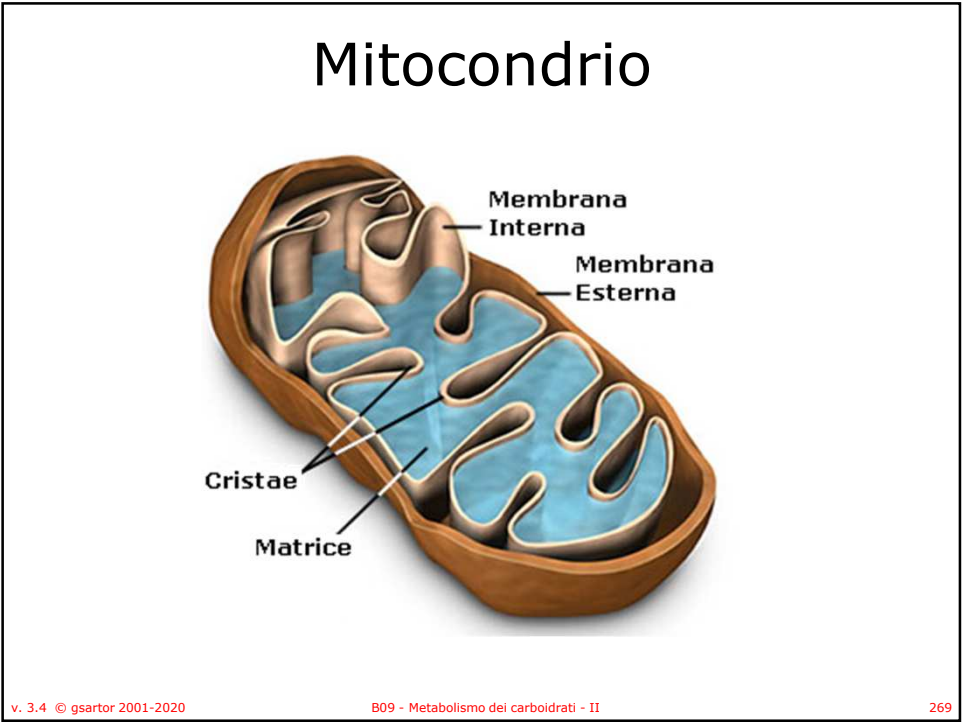
- Il piruvato è trasportato all'interno della matrice mitocondriale dove viene ossidato ad acetilCoA dal complesso enzimatico piruvato deidrogenasi.
- Il piruvato viene trasportato attraverso la membrana mitocondriale attraverso un trasportatore specifico che lo scambia con ioni OH^- .
- La membrana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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

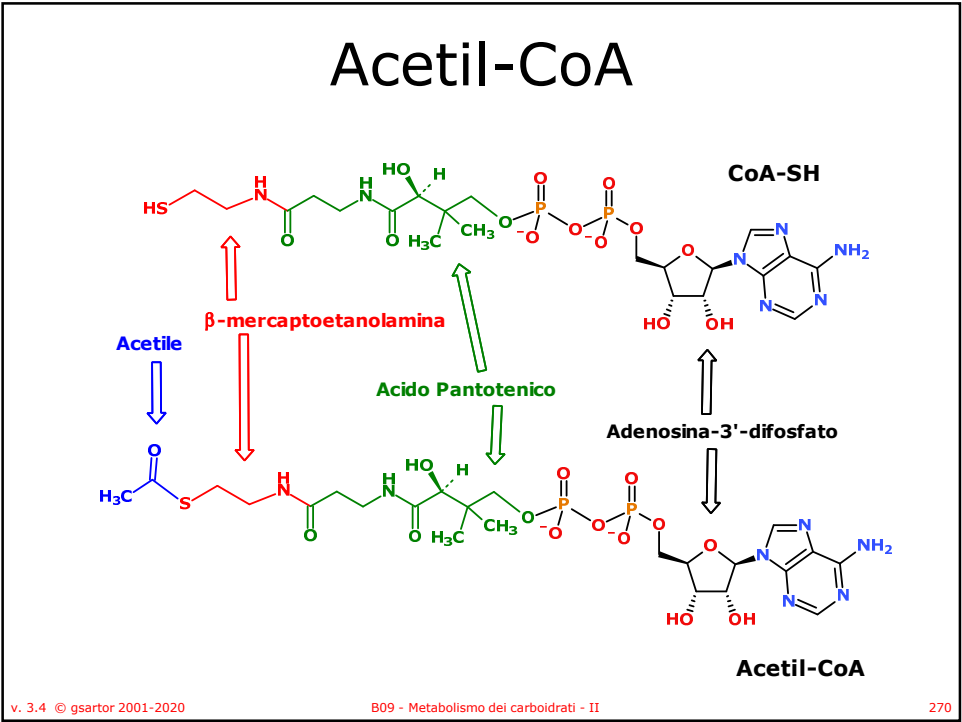
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

268

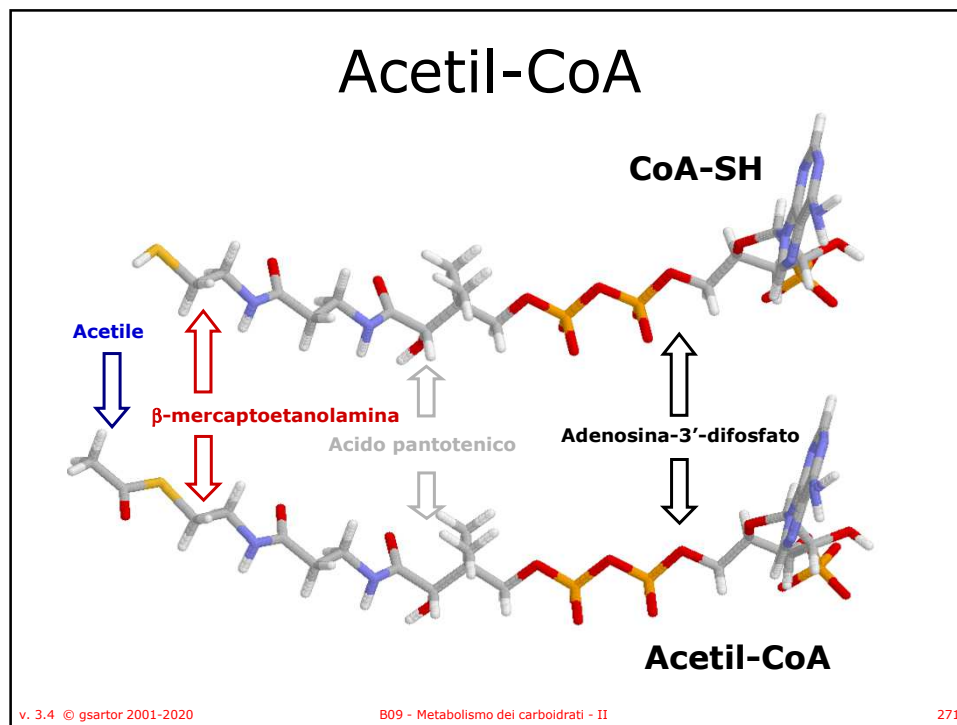
268



269



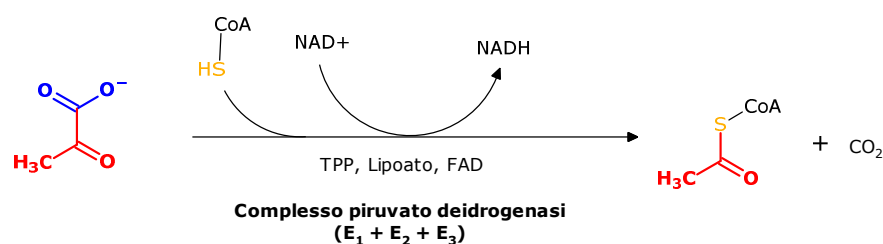
270



271

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).



272

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.

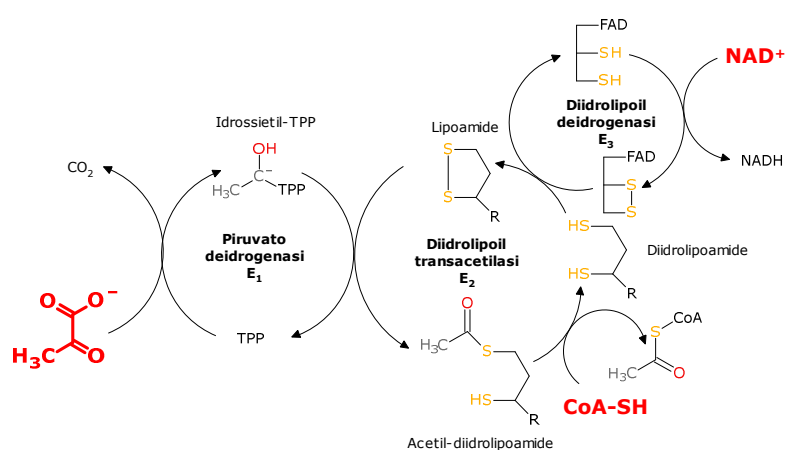
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

273

273

I reagenti e i prodotti



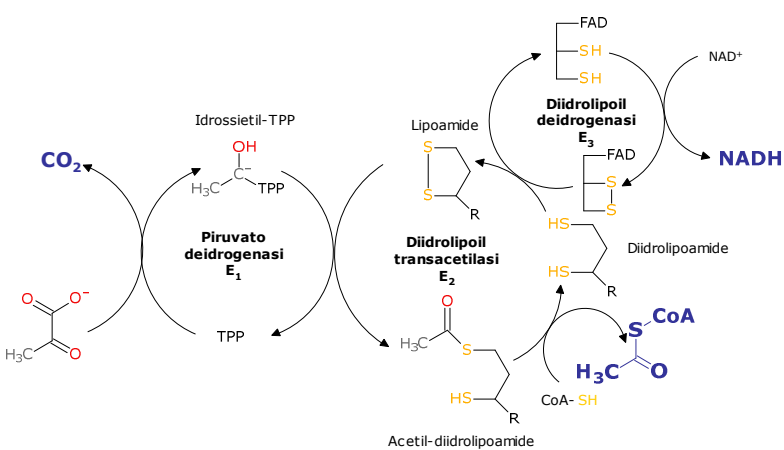
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

274

274

I reagenti e i prodotti



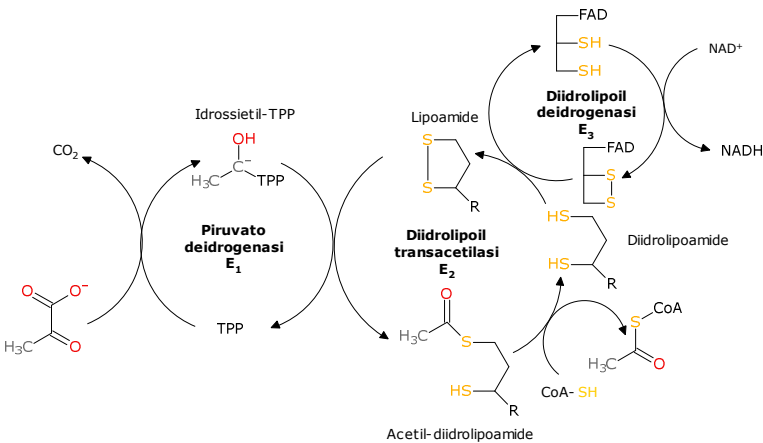
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

275

275

Le cinque reazioni nel complesso



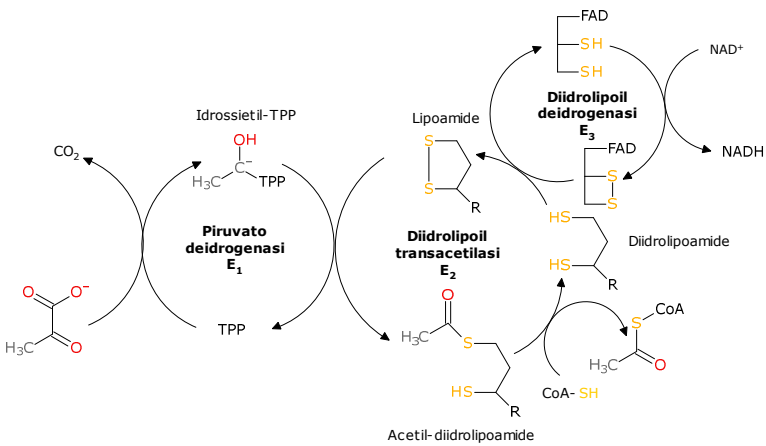
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

276

276

I tre enzimi del complesso



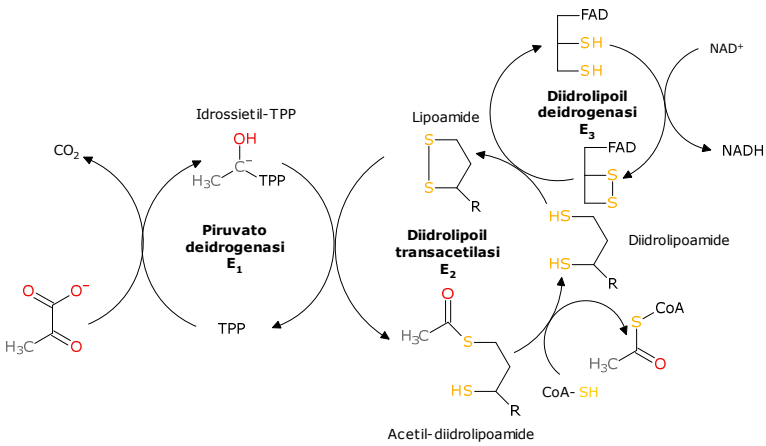
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

277

277

I cinque coenzimi

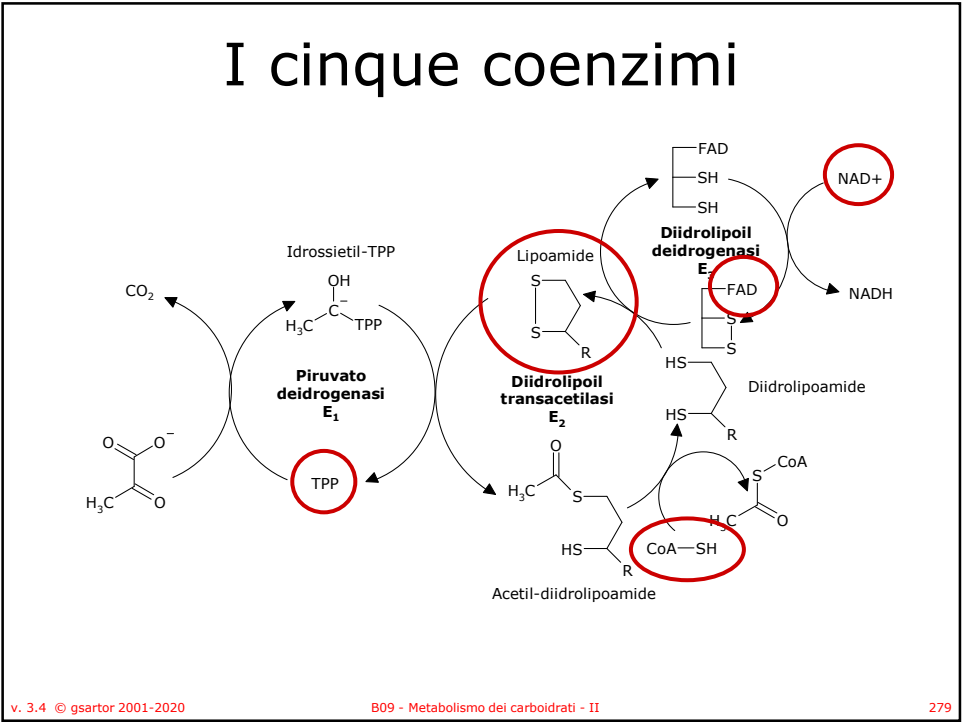


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

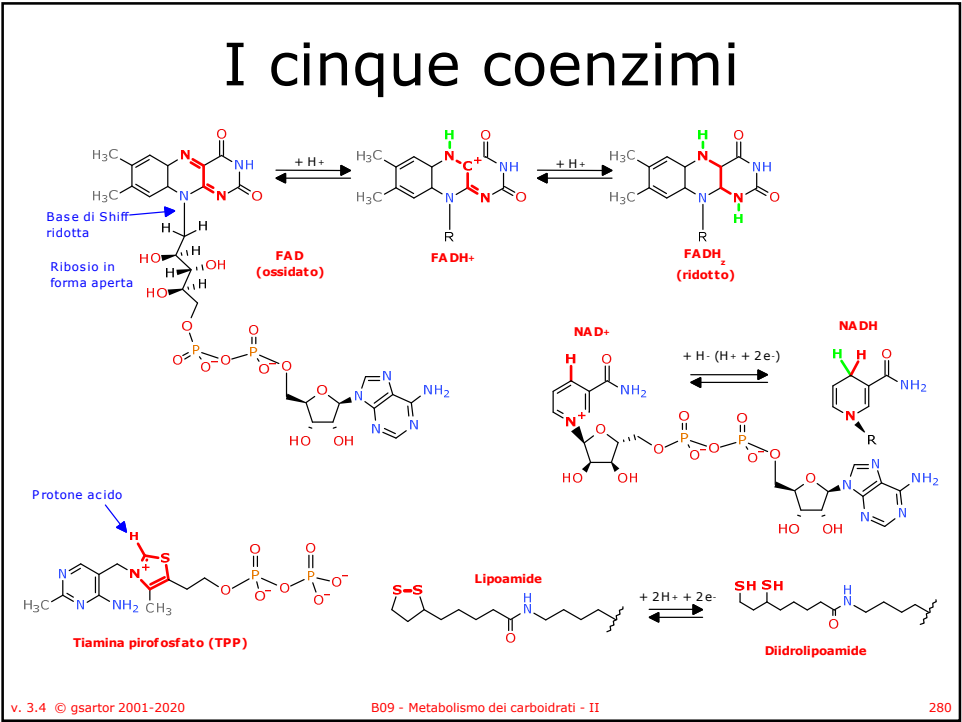
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

278

278



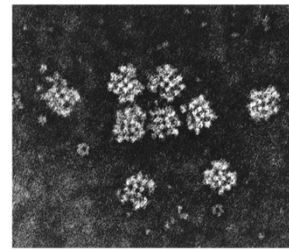
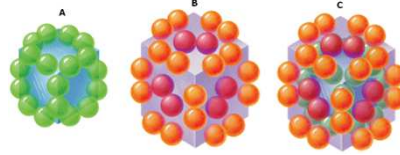
279



280

I tre enzimi

- Il complesso piruvato deidrogenasi consiste in tre enzimi:
 - piruvato deidrogenasi EC1.2.4.1
 - (E_1 , arancio) (B),
 - diidrolipoil transacetilasi EC2.3.1.12
 - (E_2 , verde) (A),
 - diidrolipoil deidrogenasi EC1.8.1.4
 - (E_3 , violetto) (B).
- In *E. coli* il complesso consiste in 24 coppie di E_1 , 24 coppie di E_2 e di 12 coppie di E_3 .
- E_2 funziona come "core" del complesso (C).



0.05 μm

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

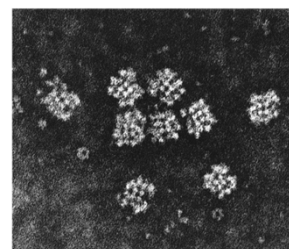
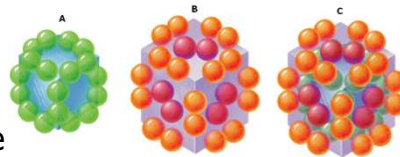
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

281

281

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

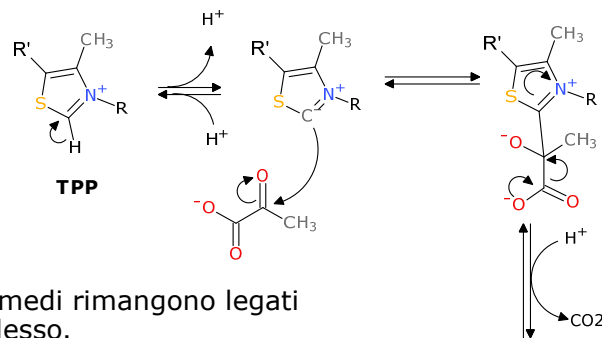
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

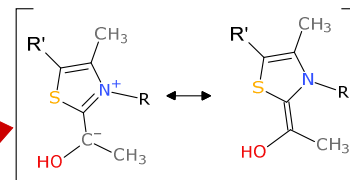
282

282

Piruvato deidrogenasi (E_1) EC1.2.4.1



- 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).



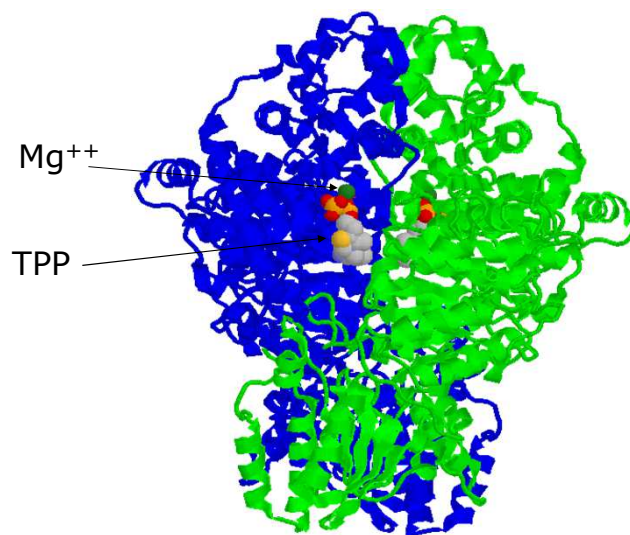
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

283

283

Piruvato deidrogenasi (E_1) EC1.2.4.1



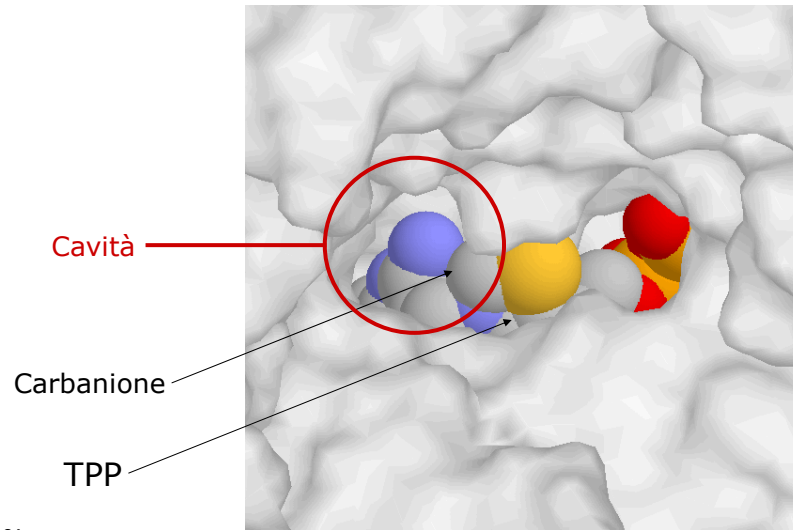
1L8A

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

284

284

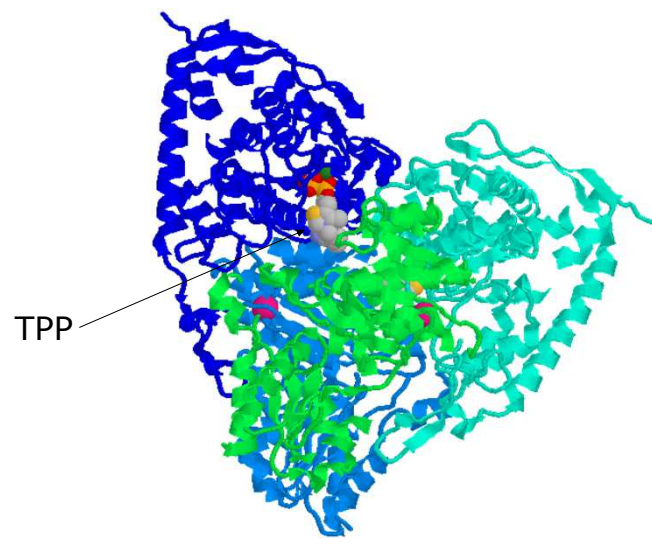
Piruvato deidrogenasi (E_1) EC1.2.4.1

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

285

285

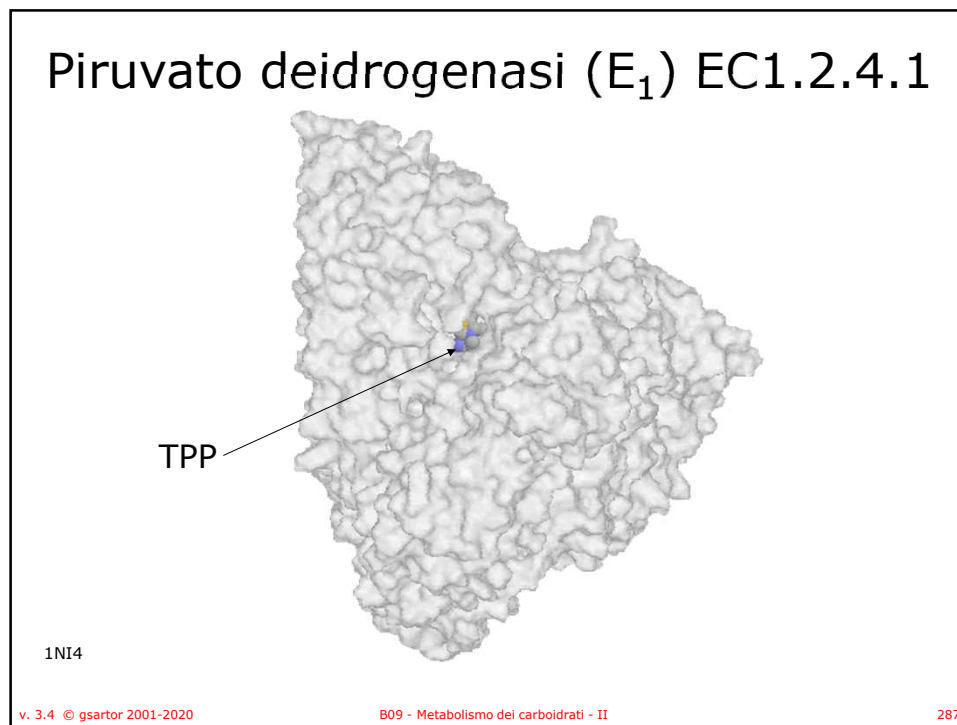
Piruvato deidrogenasi (E_1) EC1.2.4.1

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

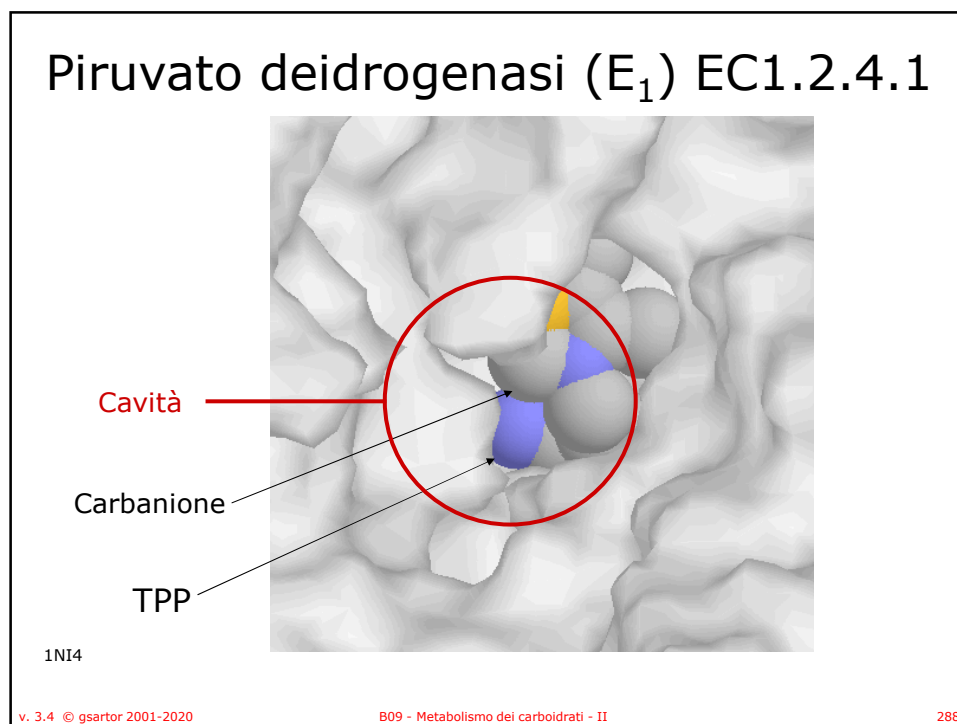
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

286

286

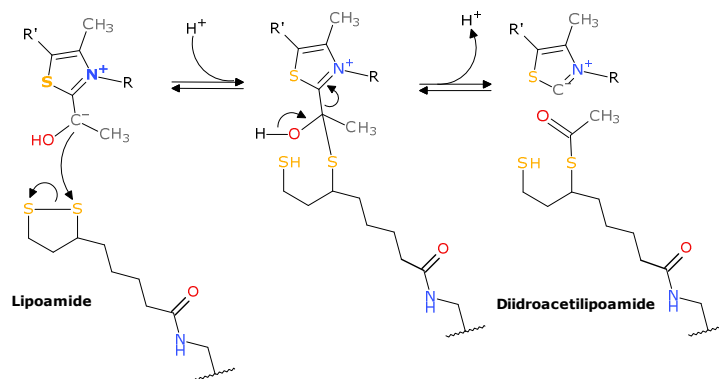


287



288

Diidrolipoil transacetilasi (E_2) EC2.3.1.12



- Il gruppo idrossietile derivato da idrossietil-TPP è trasferito al lipoato (legato ad una His di E_2) come acetile, attraverso l'attacco nucleofilo del carbanione sull'atomo di zolfo della lipoamide.

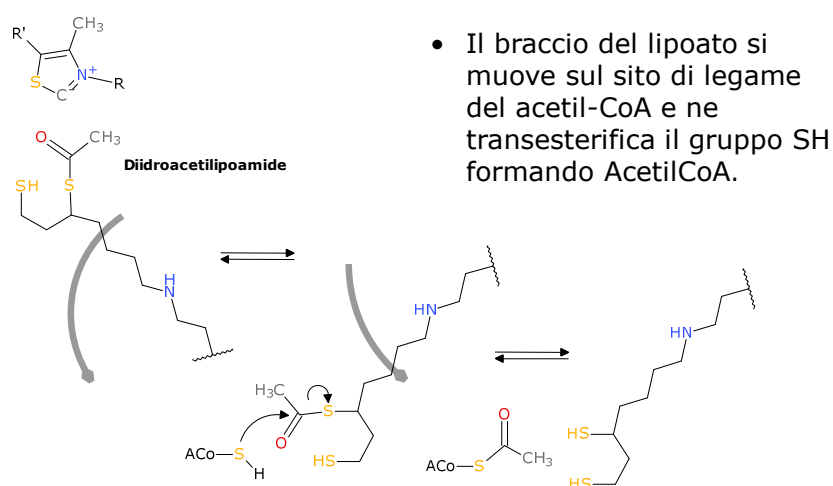
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

289

289

Diidrolipoil transacetilasi (E_2) EC2.3.1.12



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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

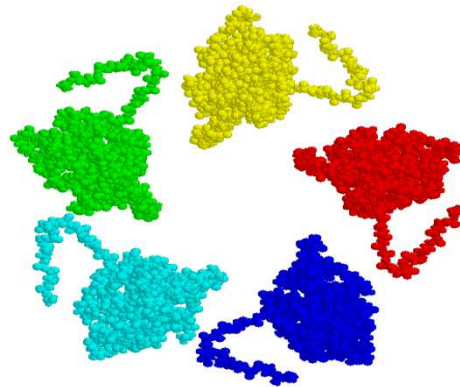
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

290

290

Diidrolipoil transacetilasi (E_2) EC2.3.1.12

Dominio catalitico



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

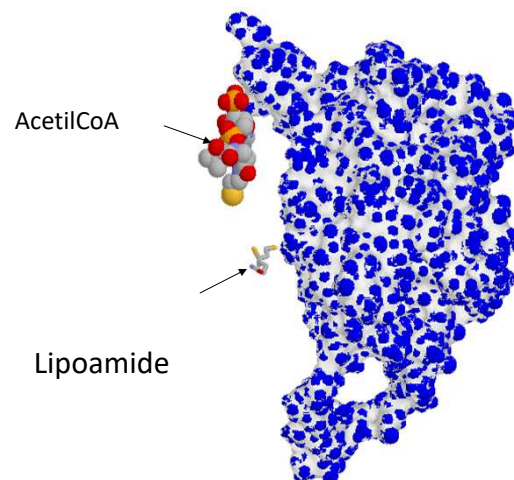
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

291

291

Diidrolipoil transacetilasi (E_2) EC2.3.1.12

Dominio catalitico



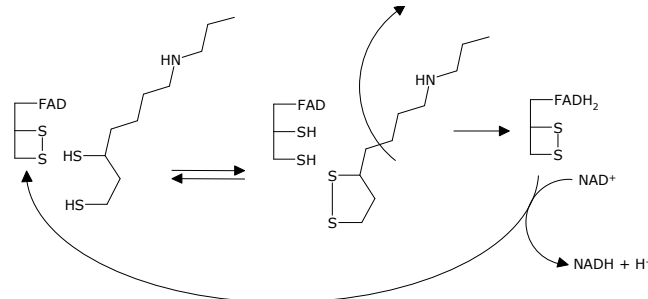
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

292

292

Diidrolipoil deidrogenasi (E_3) EC1.8.1.4



- Il lipoato ridotto viene riossidato dall' E_3 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

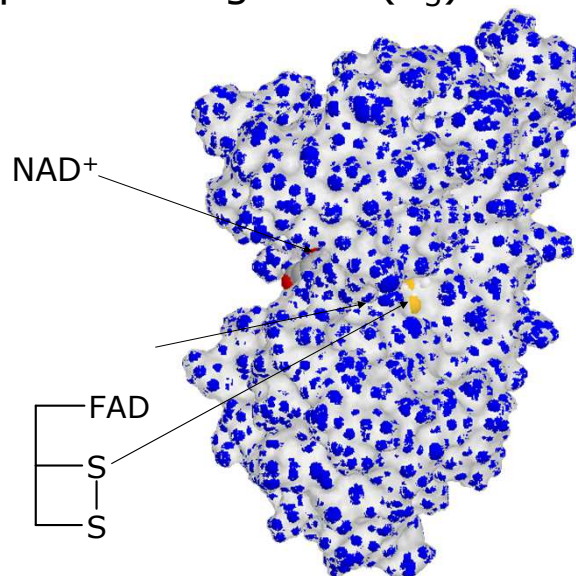
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

293

293

Diidrolipoil deidrogenasi (E_3) EC1.8.1.4



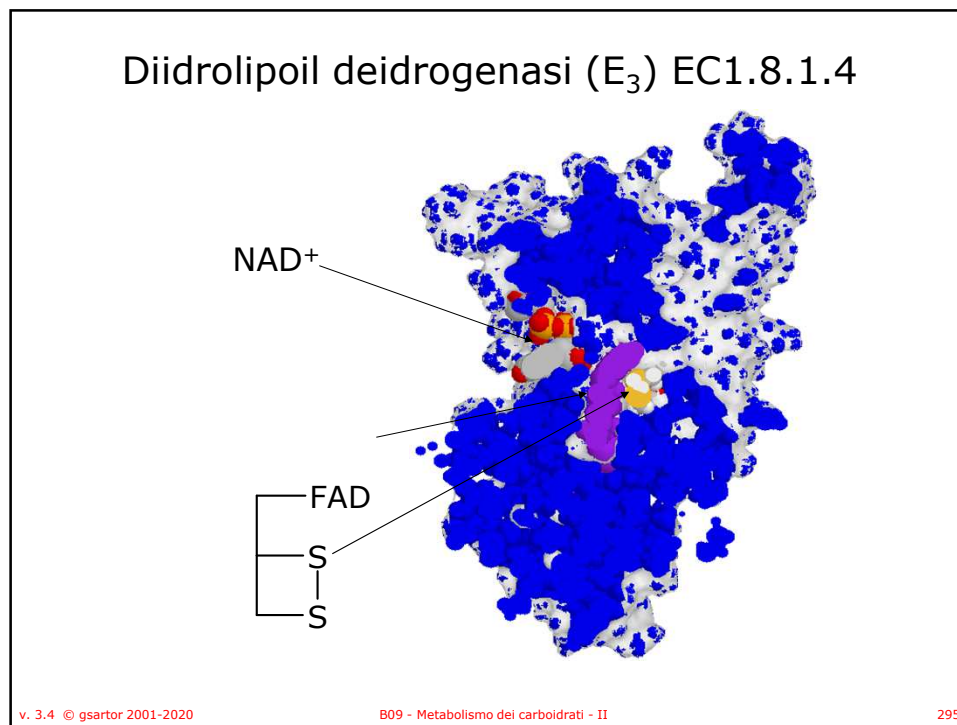
1LPV

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

294

294

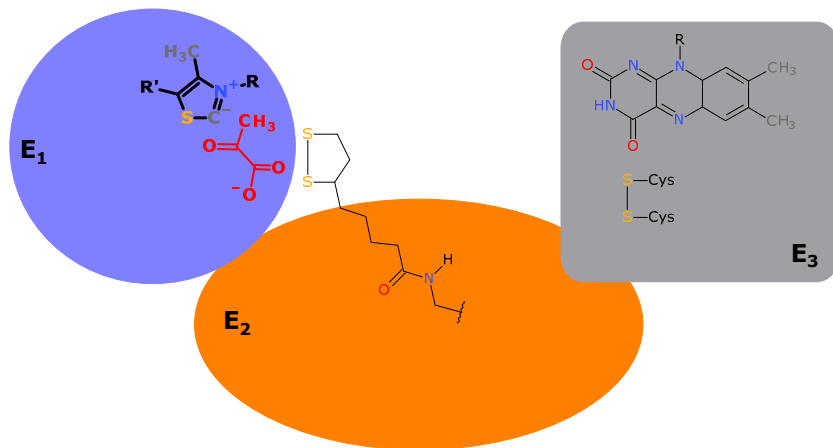


295

- 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).
- v. 3.4 © gsartor 2001-2020 B09 - Metabolismo dei carboidrati - II 296

296

Legame del piruvato



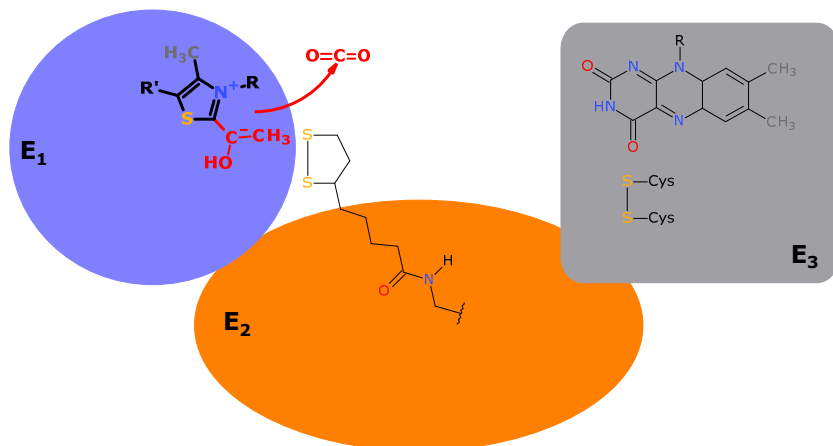
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

297

297

Decarbossilazione del piruvato



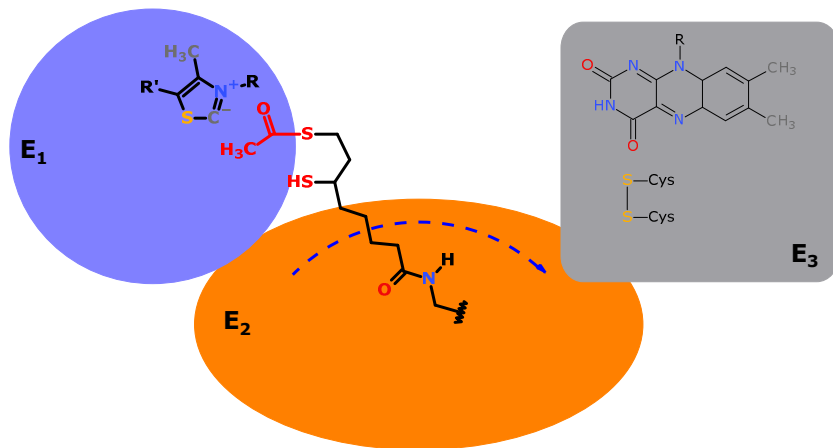
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

298

298

Formazione di diidroacetillipoamide



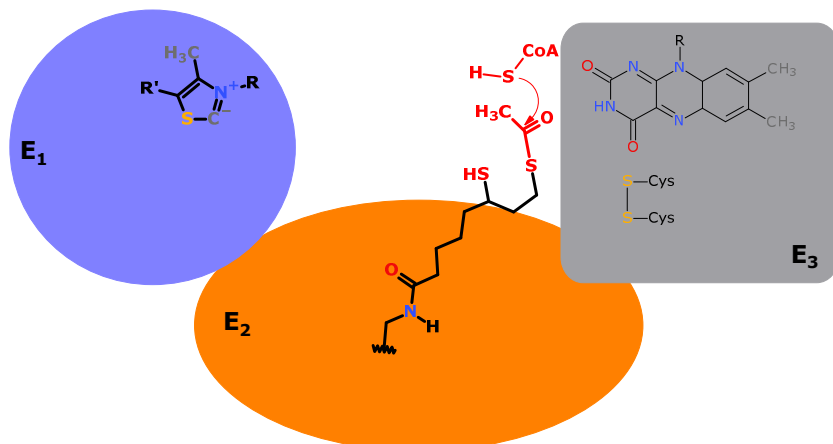
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

299

299

Legame del Coenzima A

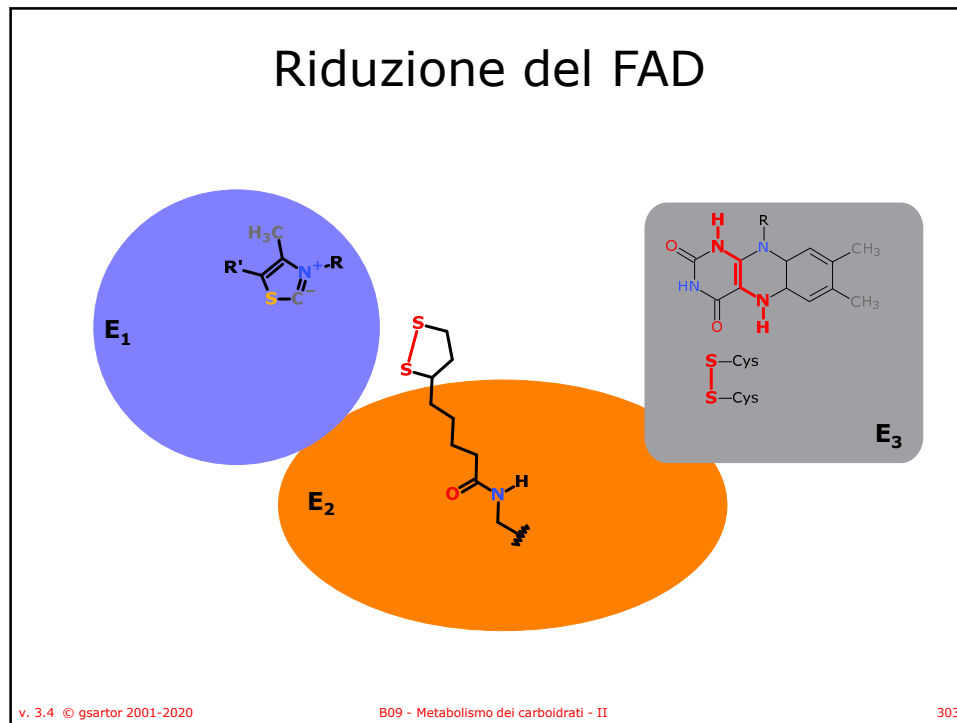


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

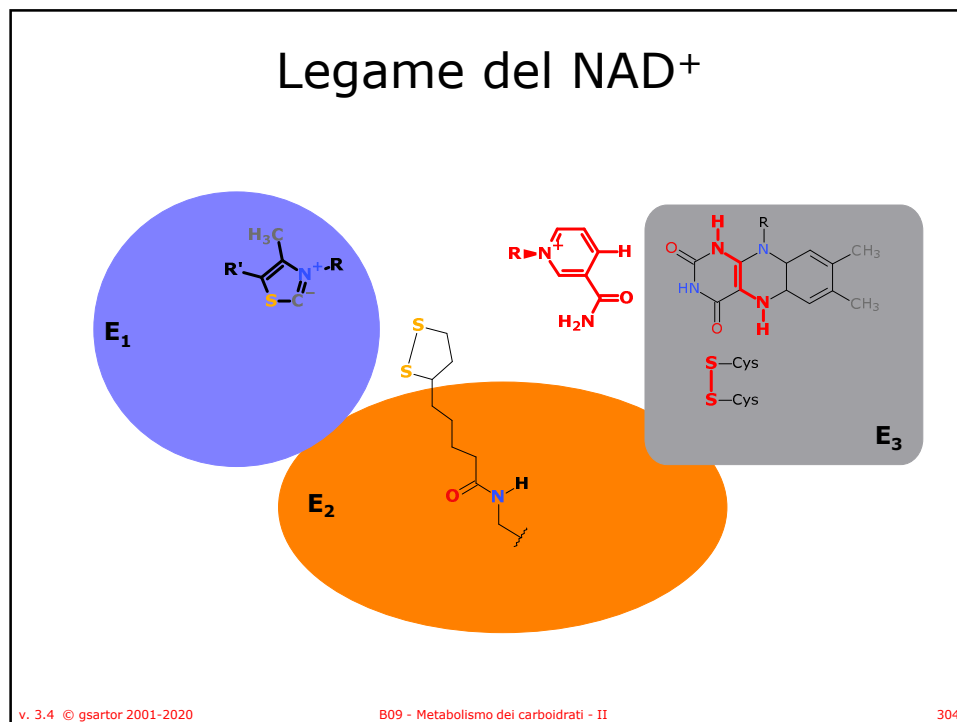
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

300

300

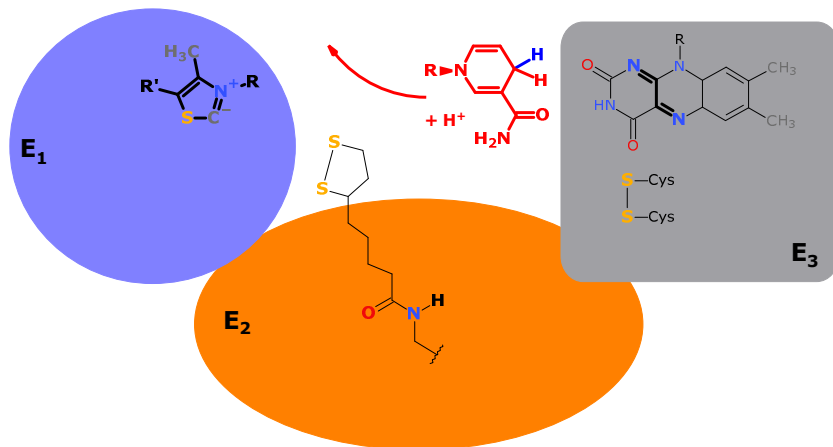


303



304

Riduzione del NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$



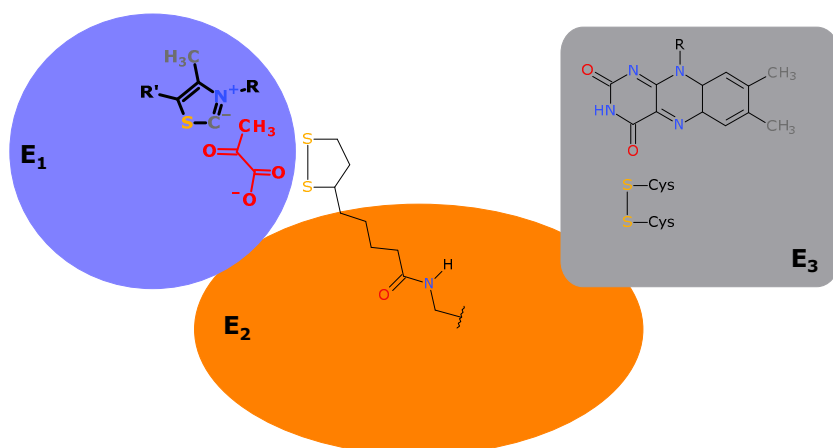
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

305

305

Ritorno al punto di partenza

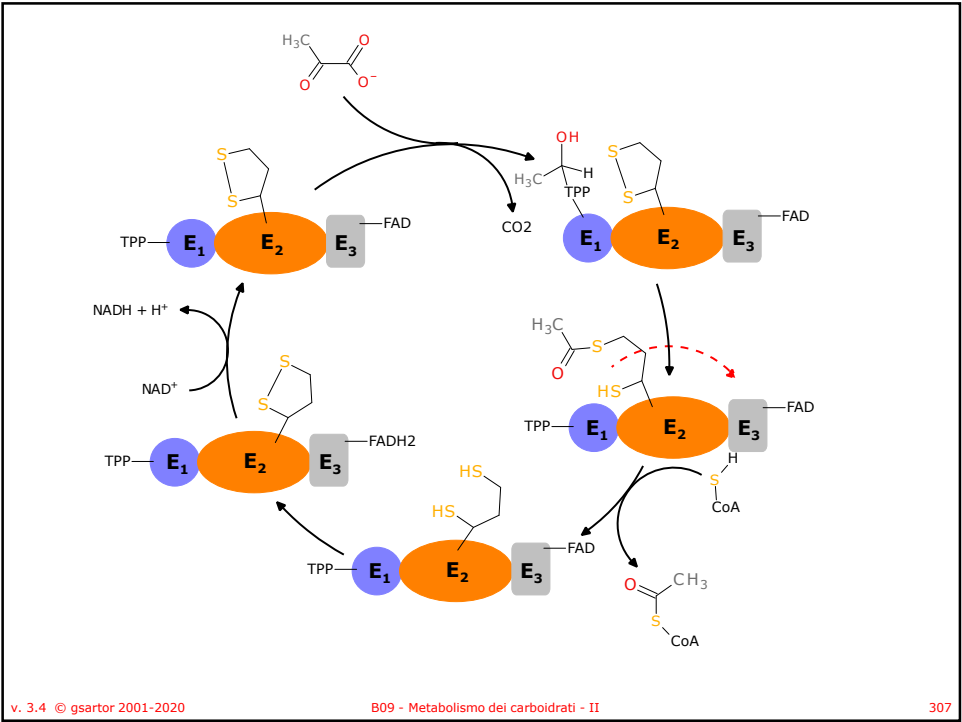


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

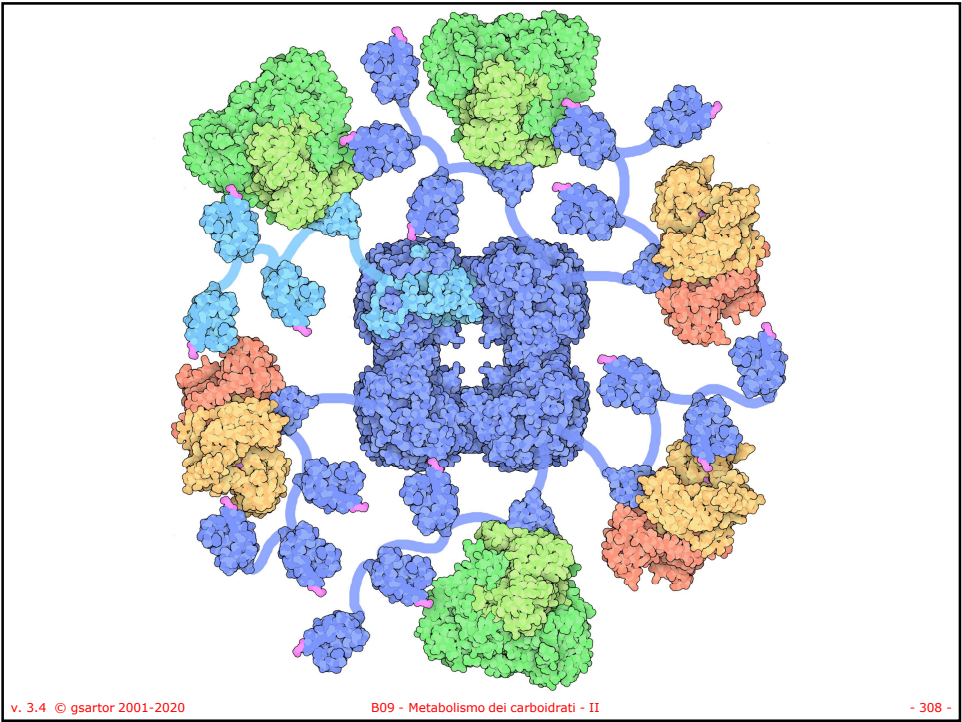
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

306

306



307



308

Controllo della piruvato deidrogenasi

- Inibizione competitiva da prodotti
 - **NADH compete con NAD^+ in E_3**
 - **Acetil-CoA compete con CoA-SH in E_2**
- La concentrazione dei due coenzimi regola anche la direzione della catalisi di E_2 e E_3 .
- Negli eucarioti E_1 può essere fosforilato da una chinasi attivata dalla forma acetilata di E_2
- La forma fosforilata di E_1 è inattiva mentre la forma defosforilata è attiva.

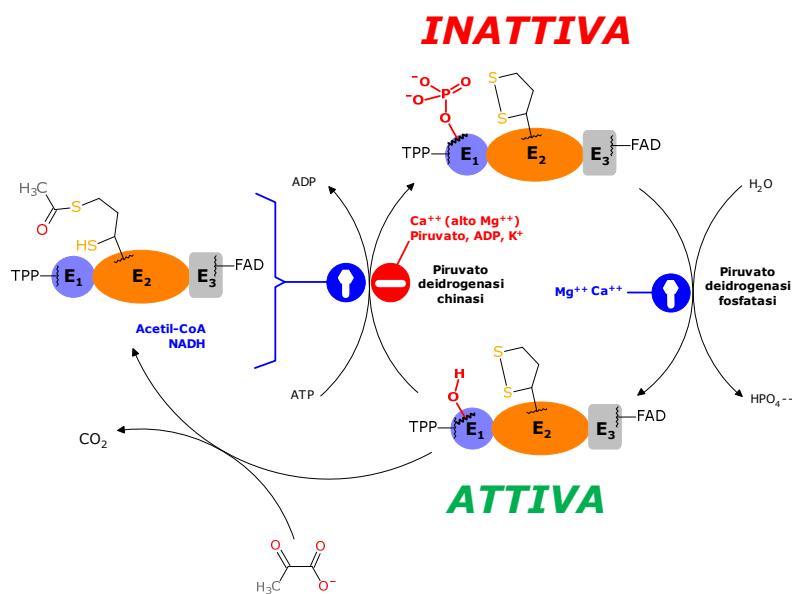
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

309

309

Controllo della piruvato deidrogenasi



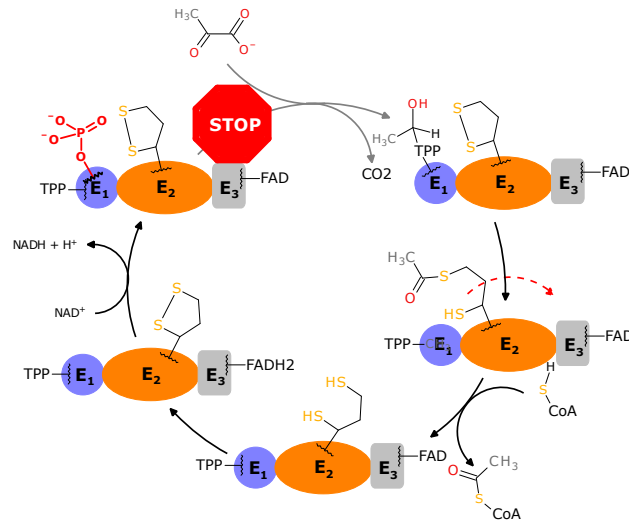
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

310

310

Controllo della piruvato deidrogenasi



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

311

311

Ciclo di Krebs
Ciclo degli acidi tricarbossilici
(TCA)
Ciclo dell'acido citrico
Ossidazione dell'acetyl-CoA a CO_2

312

Krebs e Lipmann

Premio Nobel per la Medicina 1953

"for his discovery of the citric acid cycle"



Hans Adolf Krebs

"for his discovery of co-enzyme A and its importance for intermediary metabolism"



Fritz Albert Lipmann

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

313

313

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

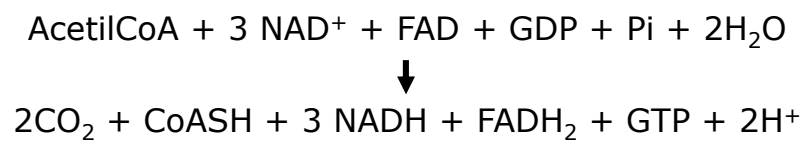
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

314

314

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.

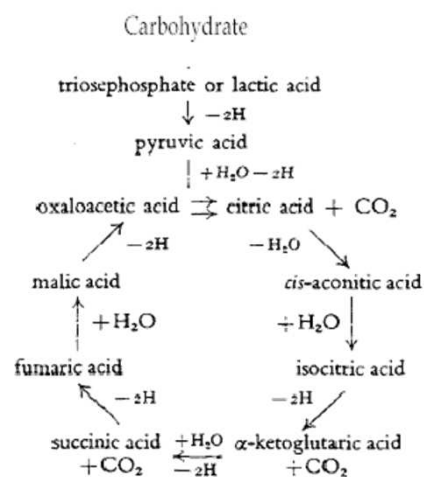


v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

315

315



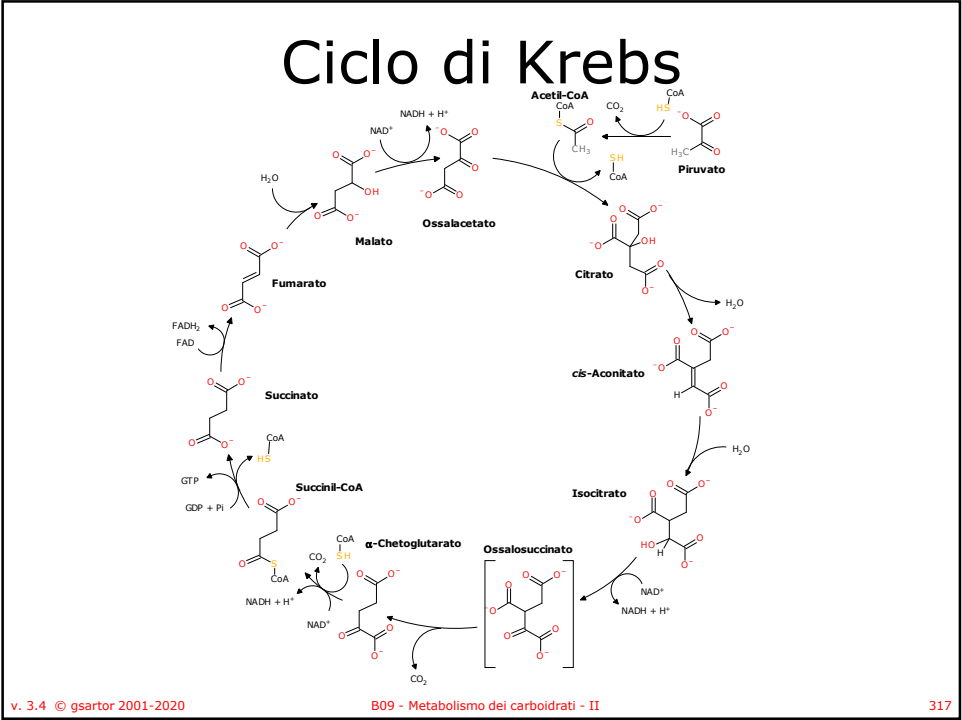
Krebs and Johnson (1937) "The role of citric acid in the intermediate metabolism in animal tissues".
Enzymologica 4:148-156.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

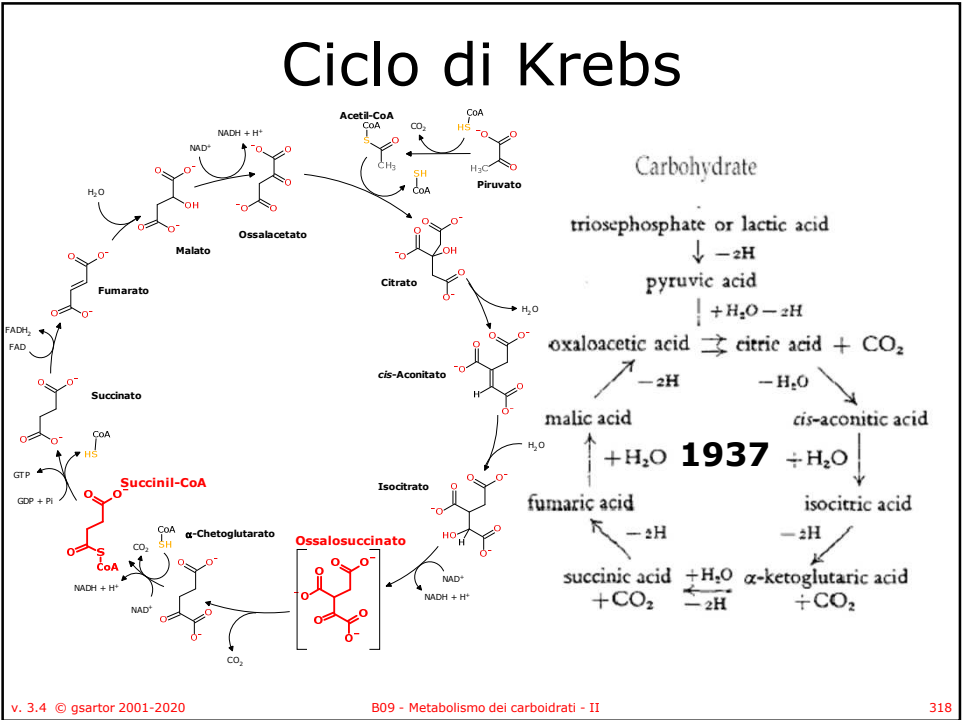
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

316

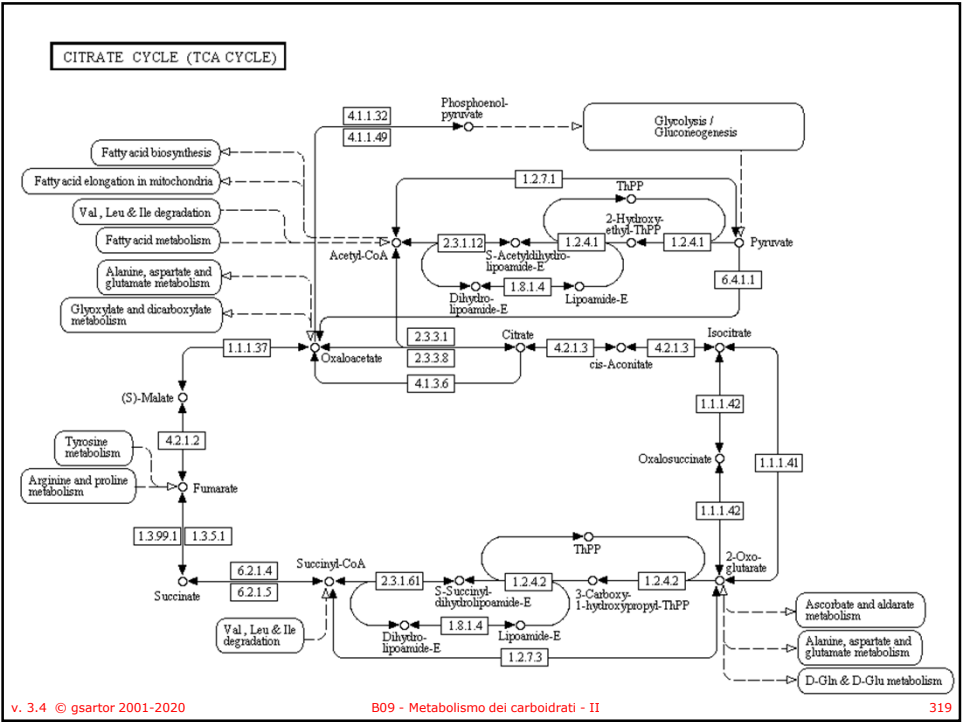
316



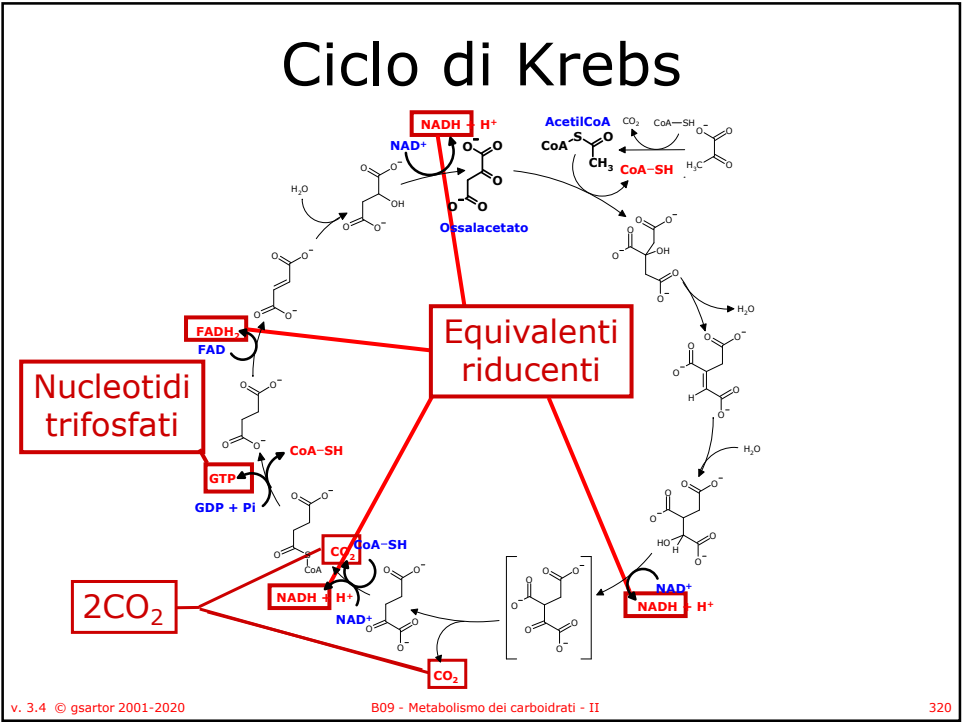
317



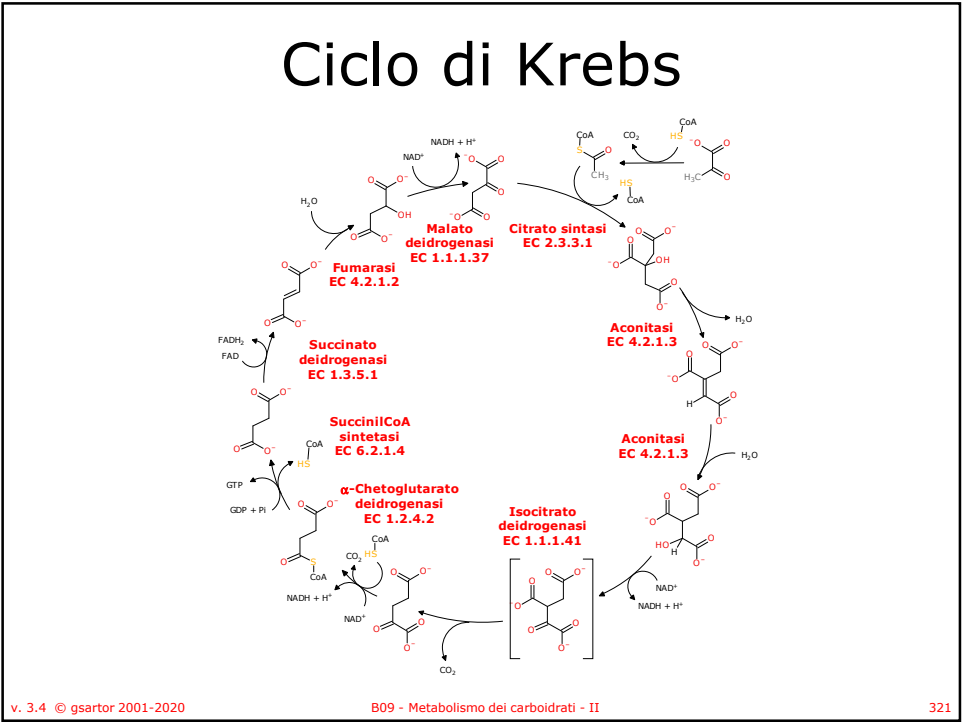
318



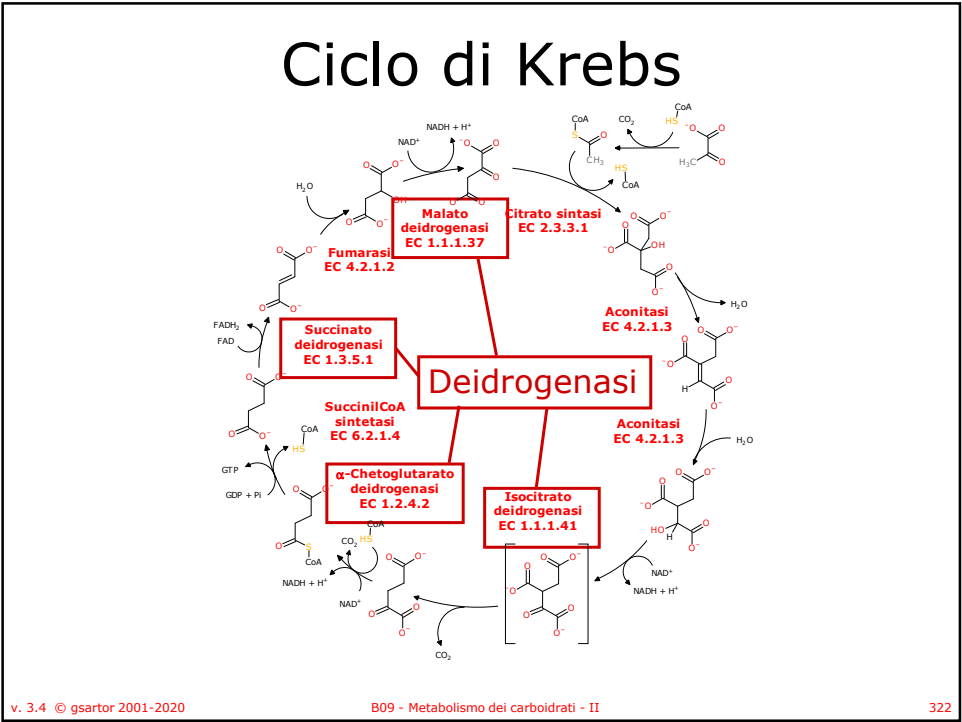
319



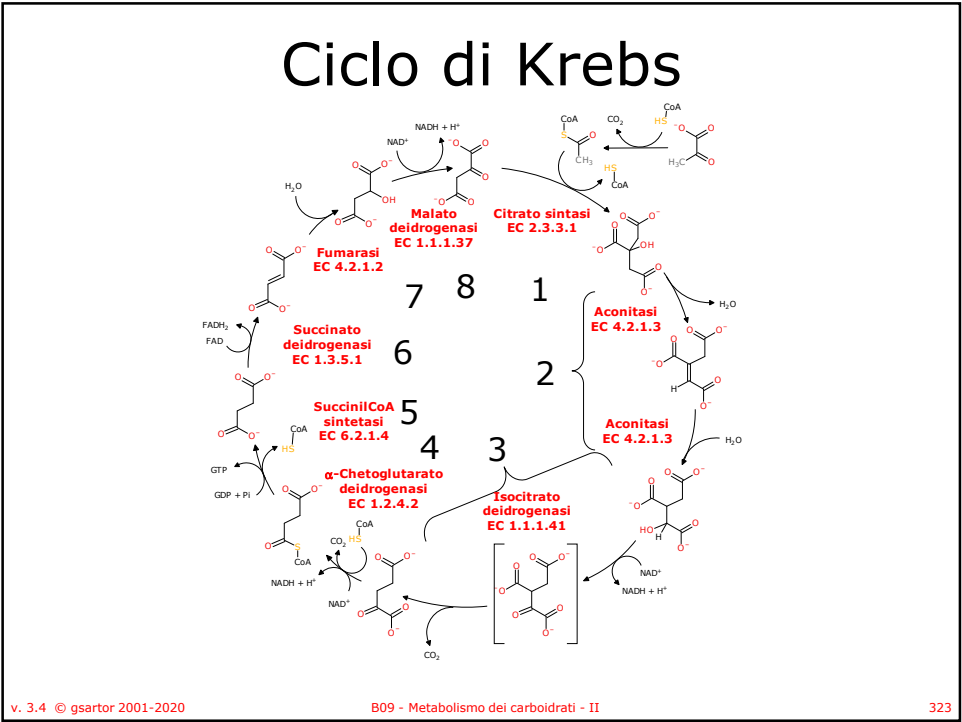
320



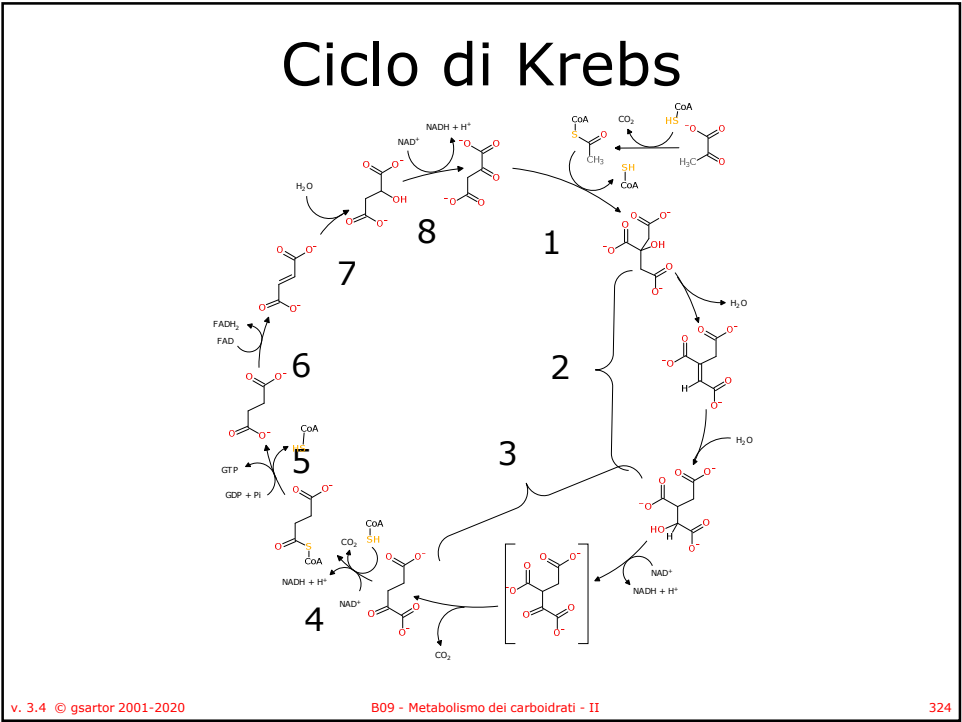
321



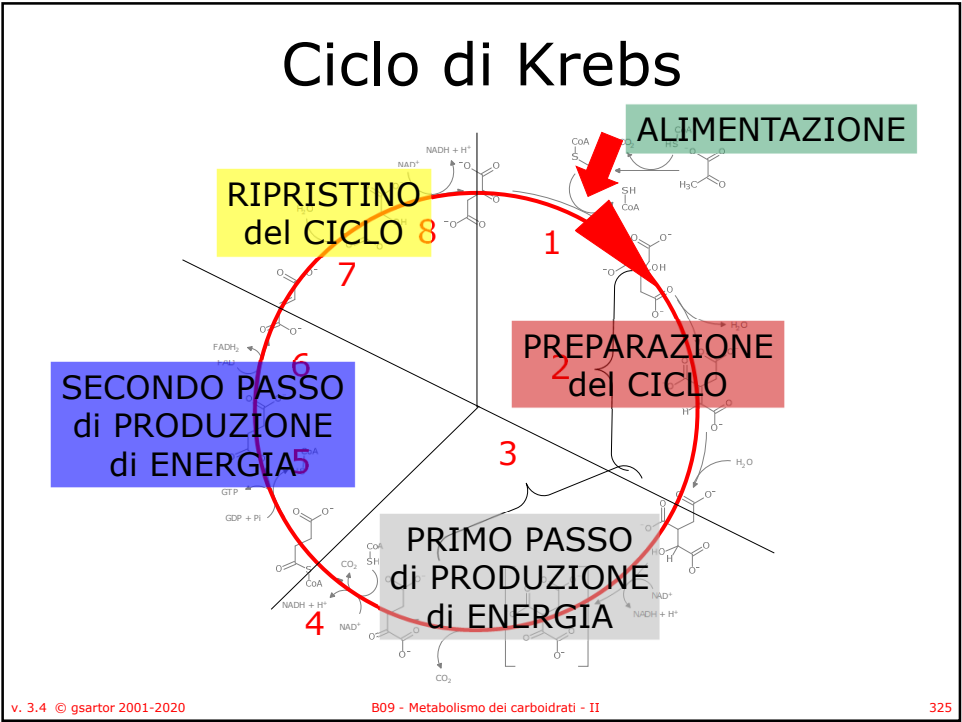
322



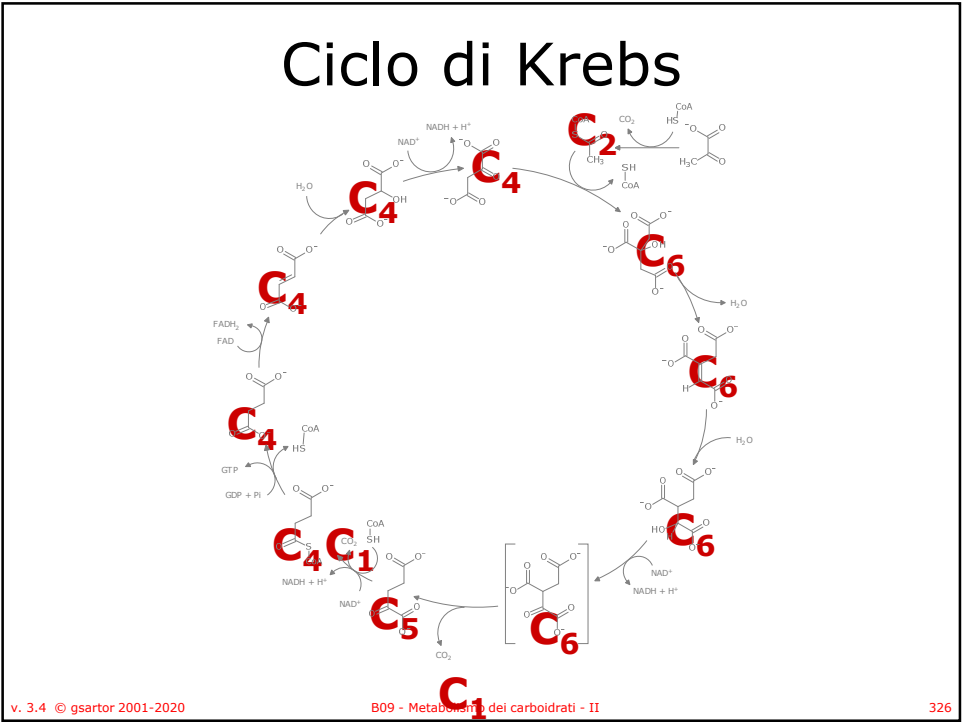
323



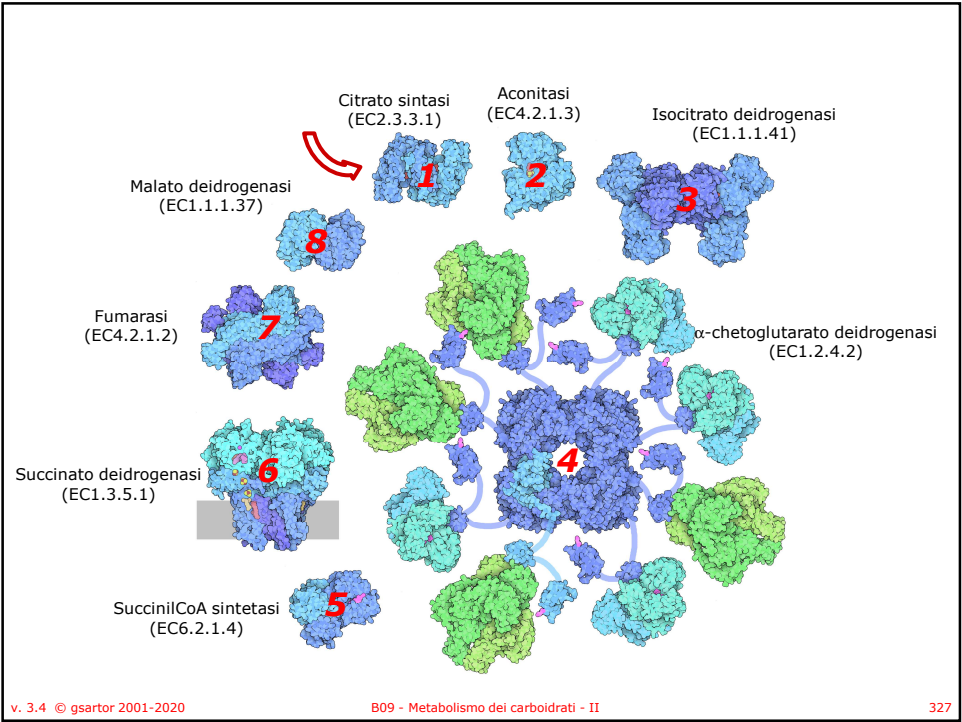
324



325

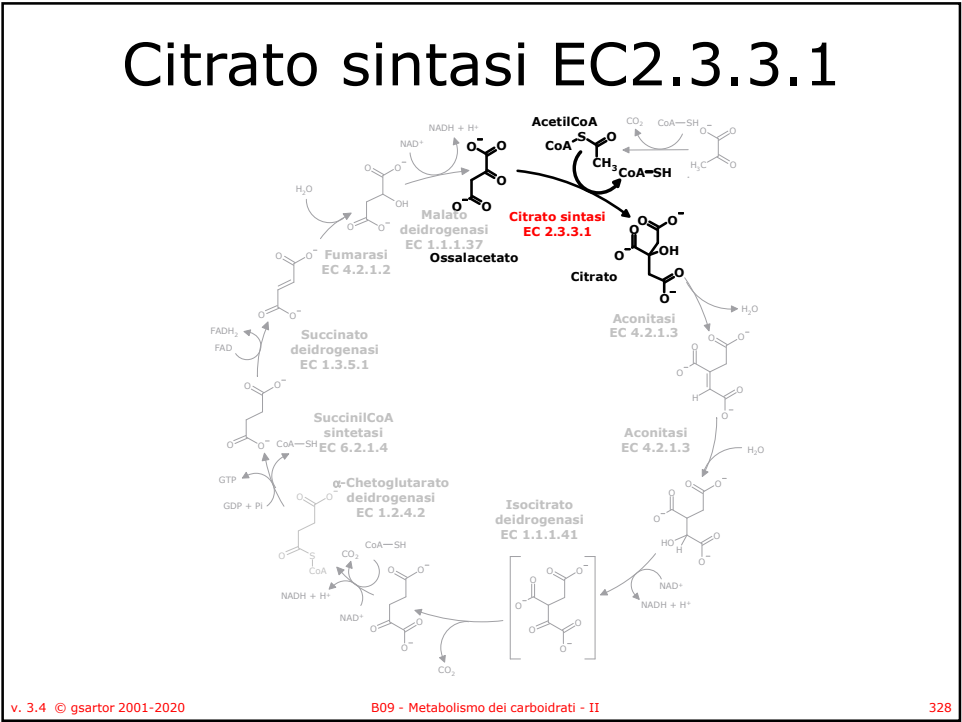


326



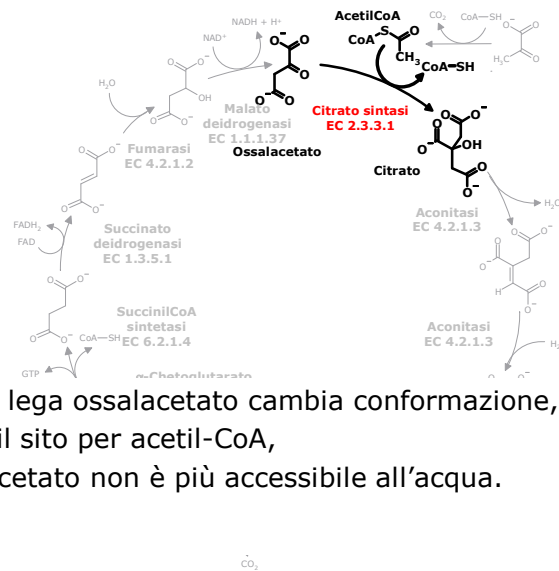
327

Citrato sintasi EC2.3.3.1



328

Citrato sintasi EC2.3.3.1



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

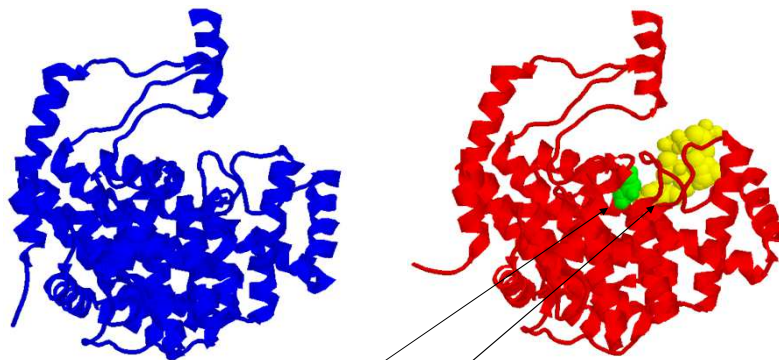
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

329

329

Citrato sintasi EC2.3.3.1



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

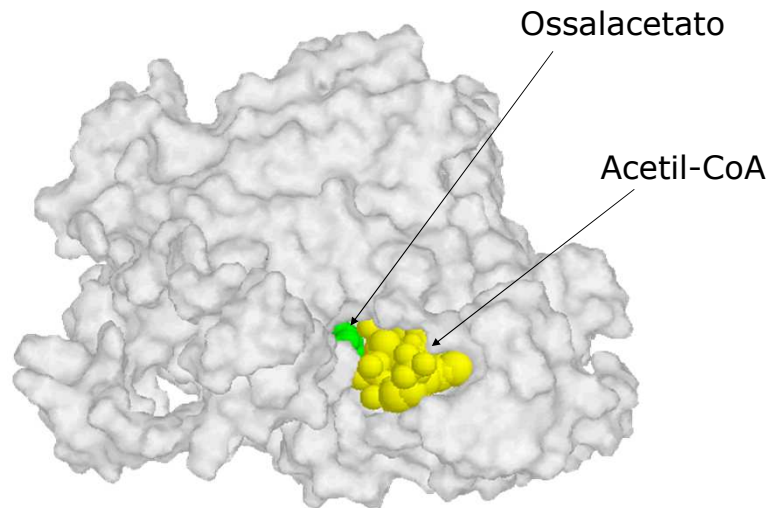
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

330

330

Citrato sintasi EC2.3.3.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

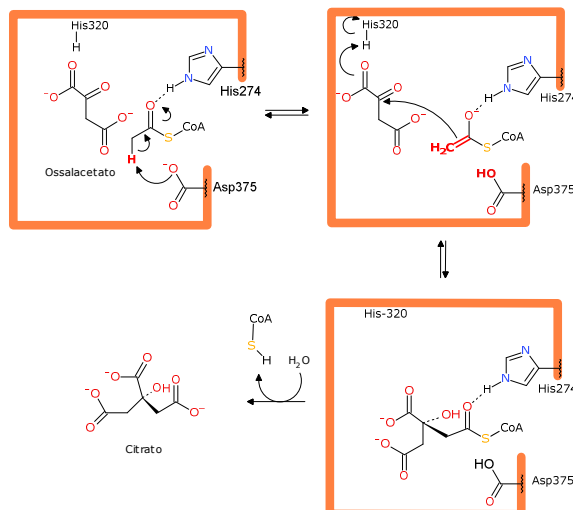
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

331

331

Citrato sintasi EC2.3.3.1

- 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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

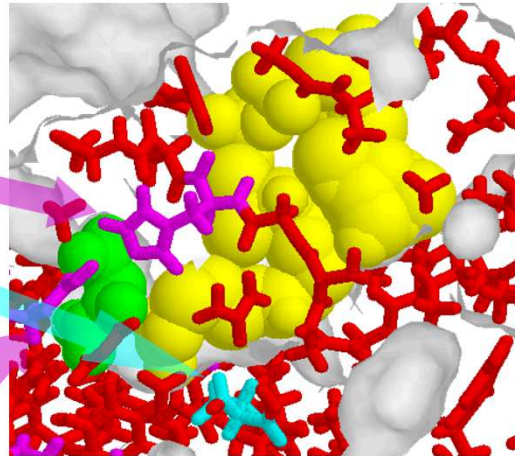
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

332

332

Citrato sintasi EC2.3.3.1

- 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.



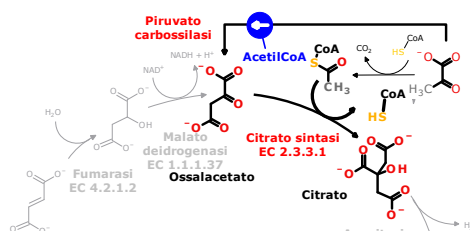
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

333

333

Citrato sintasi EC2.3.3.1



- 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.

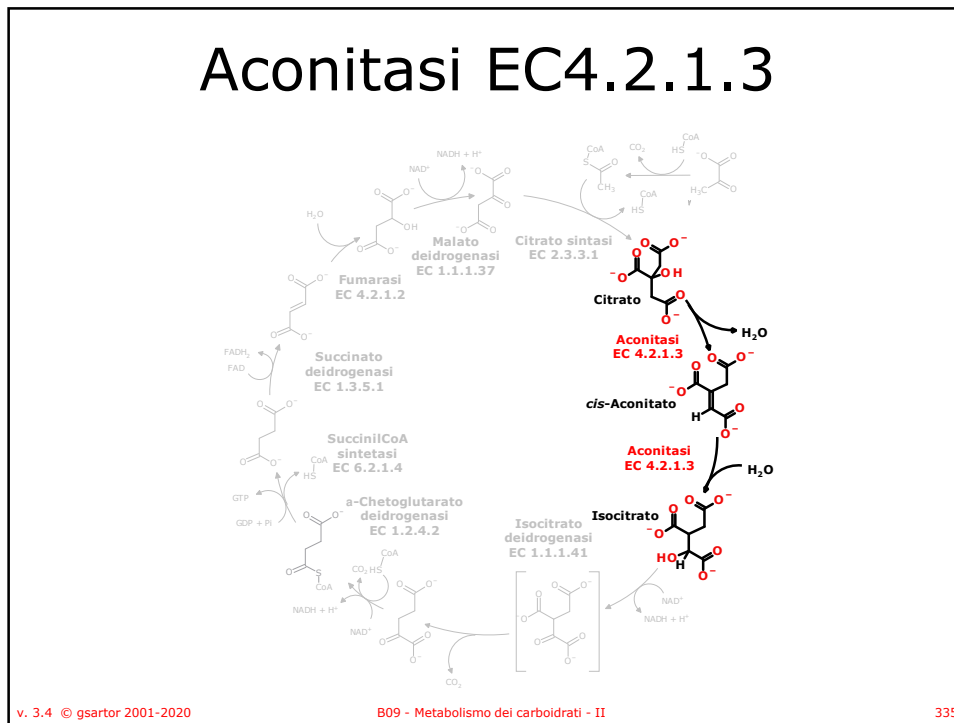
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

334

334

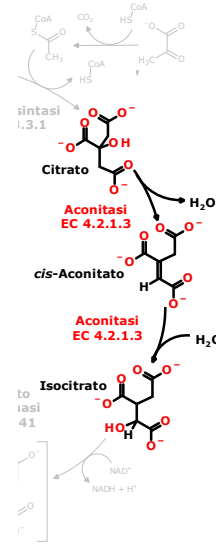
Aconitasi EC4.2.1.3



335

Aconitasi EC4.2.1.3

- Catalizza la conversione stereospecifica del citrato in isocitrato attraverso una deidratazione 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.



336

Aconitasi EC4.2.1.3

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

337

337

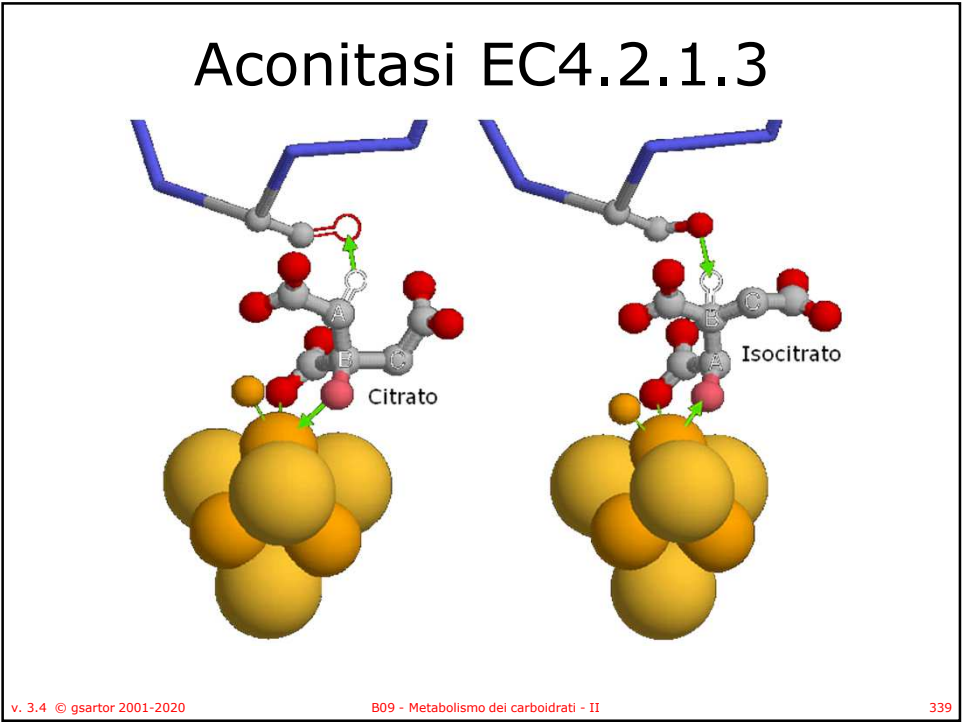
Aconitasi EC4.2.1.3

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

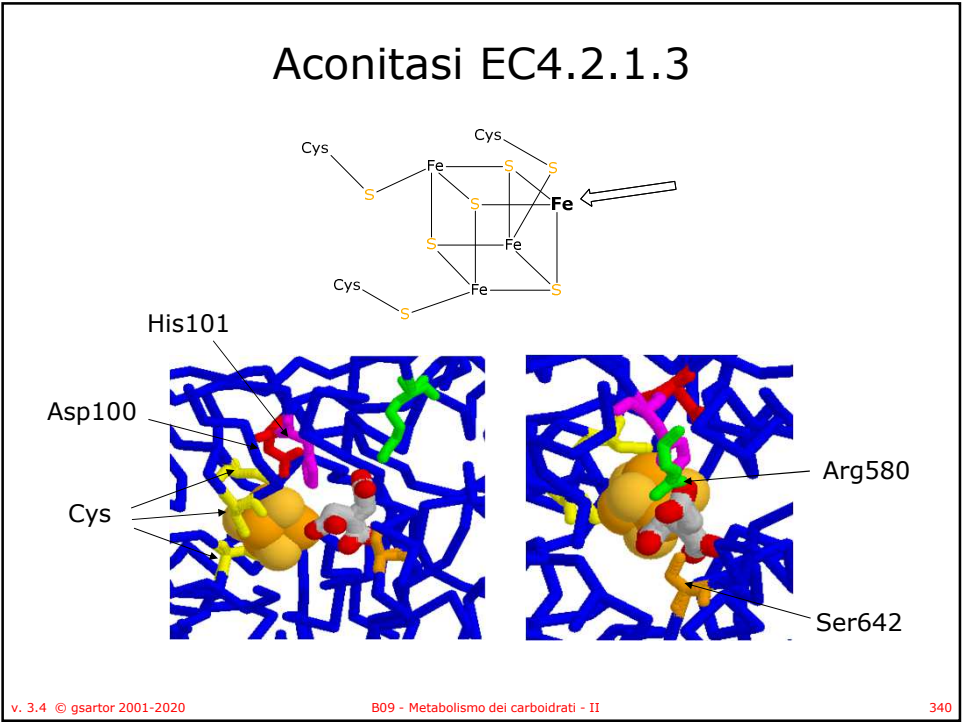
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

338

338

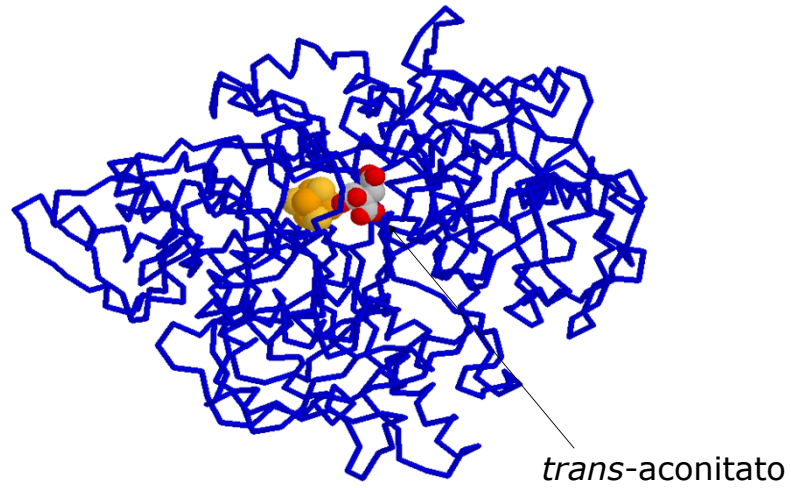


339



340

Aconitasi EC4.2.1.3



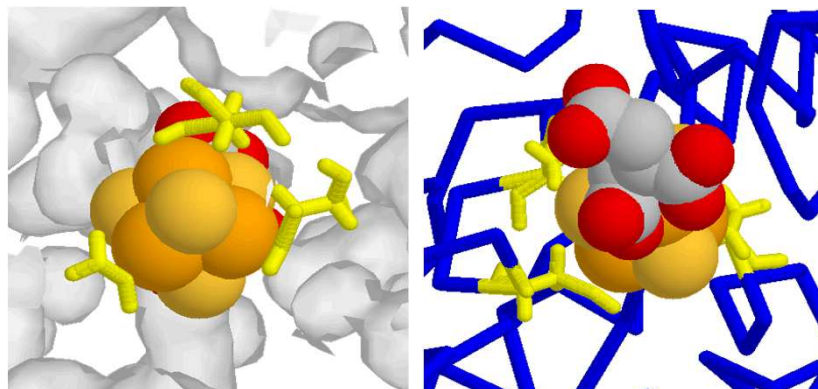
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

341

341

Aconitasi EC4.2.1.3



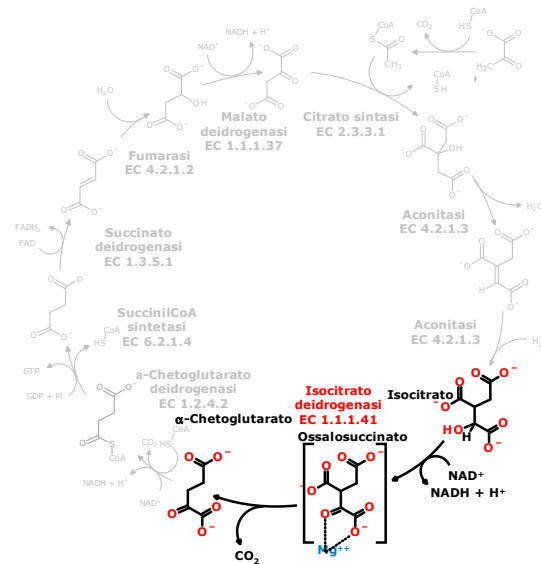
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

342

342

Isocitrato deidrogenasi EC1.1.1.41



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

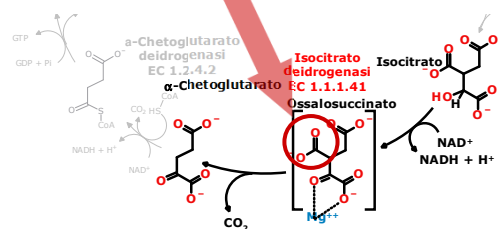
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

343

343

Isocitrato deidrogenasi EC1.1.1.41

- Catalizza la decarbossilazione ossidativa del isocitrato,
- La porzione nicotinamica 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.



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

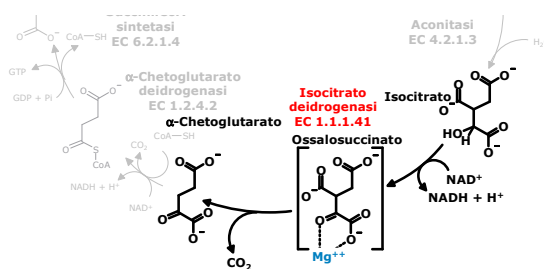
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

344

344

Isocitrato deidrogenasi EC1.1.1.41

- La reazione è altamente spontanea, sia il processo di decarbossilazione che quello di ossidazione sono spontanei ($\Delta G^{\circ'} = -20.9 \text{ kJ/mol}$).
- L'isocitrato deidrogenasi è regolata:
 - Attivata allostericamente da ADP (ATP antagonista)
 - Attivata da Ca^{++} e NAD^+ (NADH antagonista)
 - Quando il rapporto ATP/ADP è basso il ciclo di Krebs è attivo.



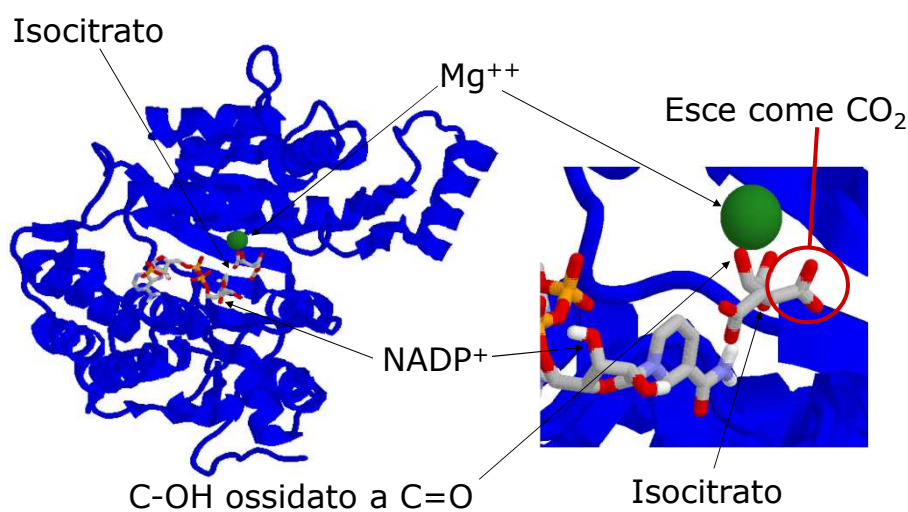
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

345

345

Isocitrato deidrogenasi EC1.1.1.41



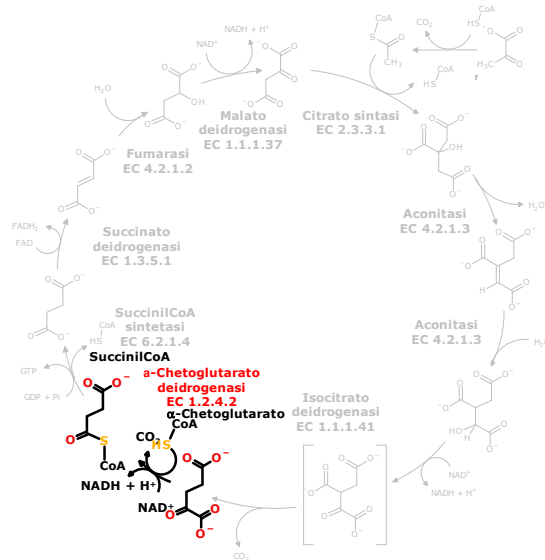
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

346

346

α -chetoglutarato deidrogenasi EC1.2.4.2



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

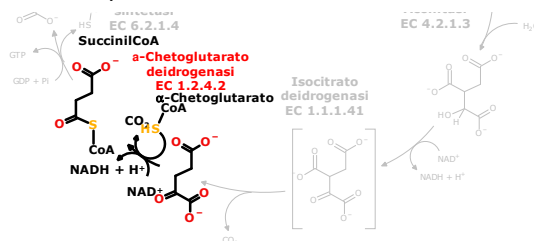
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

347

347

α -chetoglutarato deidrogenasi EC1.2.4.2

- È un complesso enzimatico che converte l' α -chetoglutarato 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.



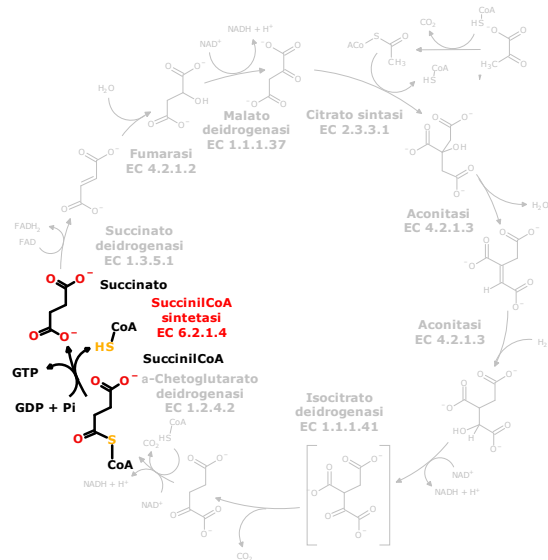
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

348

348

SuccinilCoA sintetasi EC6.2.1.4



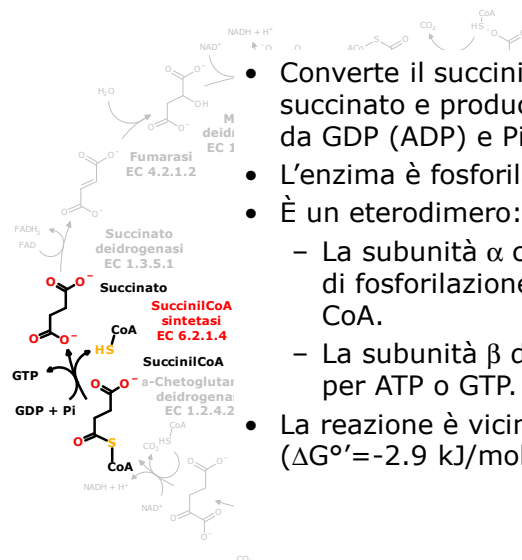
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

349

349

SuccinilCoA sintetasi EC6.2.1.4



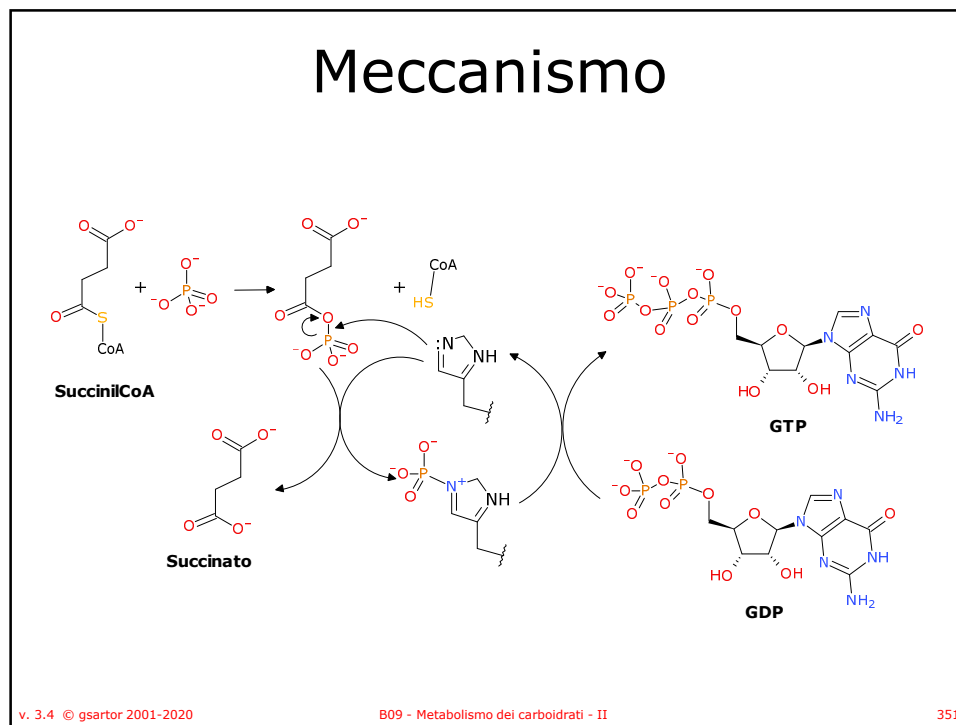
- Converte il succinil-CoA in succinato e produce GTP (ATP) da GDP (ADP) e Pi.
- L'enzima è fosforilato in una His.
- È un eterodimero:
 - La subunità α contiene il sito di fosforilazione (His) e lega CoA.
 - La subunità β dà la specificità per ATP o GTP.
- La reazione è vicina all'equilibrio ($\Delta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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

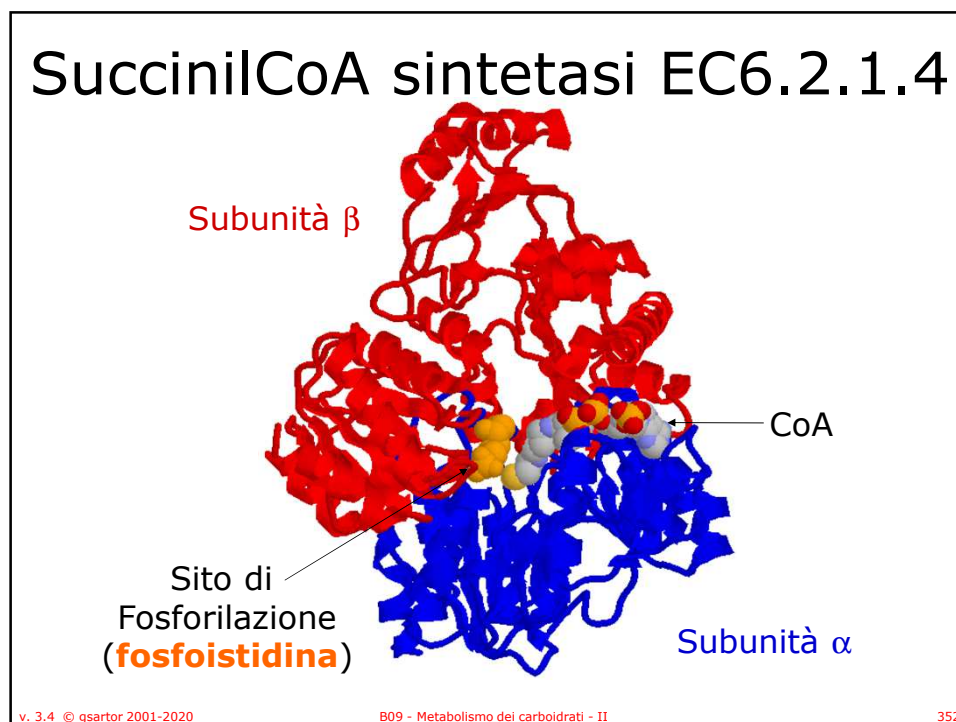
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

350

350

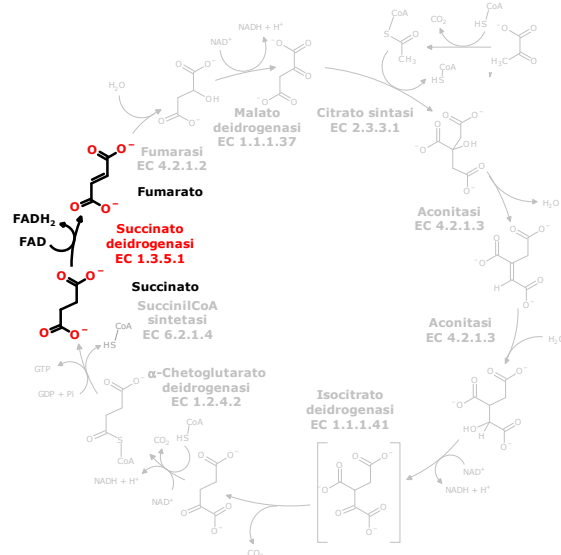


351



352

Succinato deidrogenasi EC1.3.5.1



v. 3.4 © gsartor 2001-2020

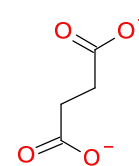
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

353

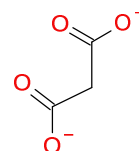
353

Succinato deidrogenasi EC1.3.5.1

- 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

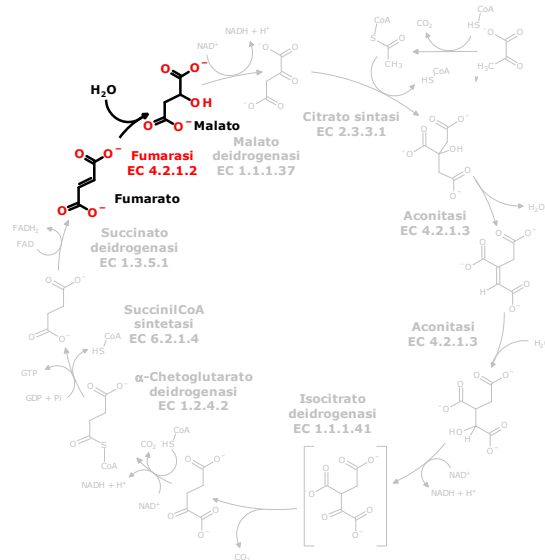
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

354

354

Fumarasi EC4.2.1.2



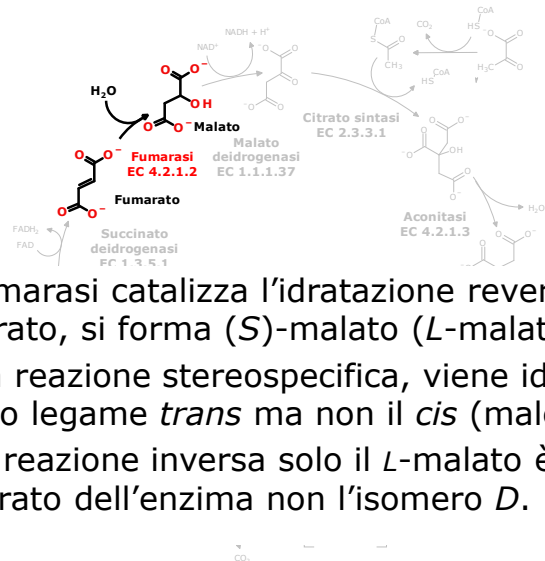
v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

355

355

Fumarasi EC4.2.1.2



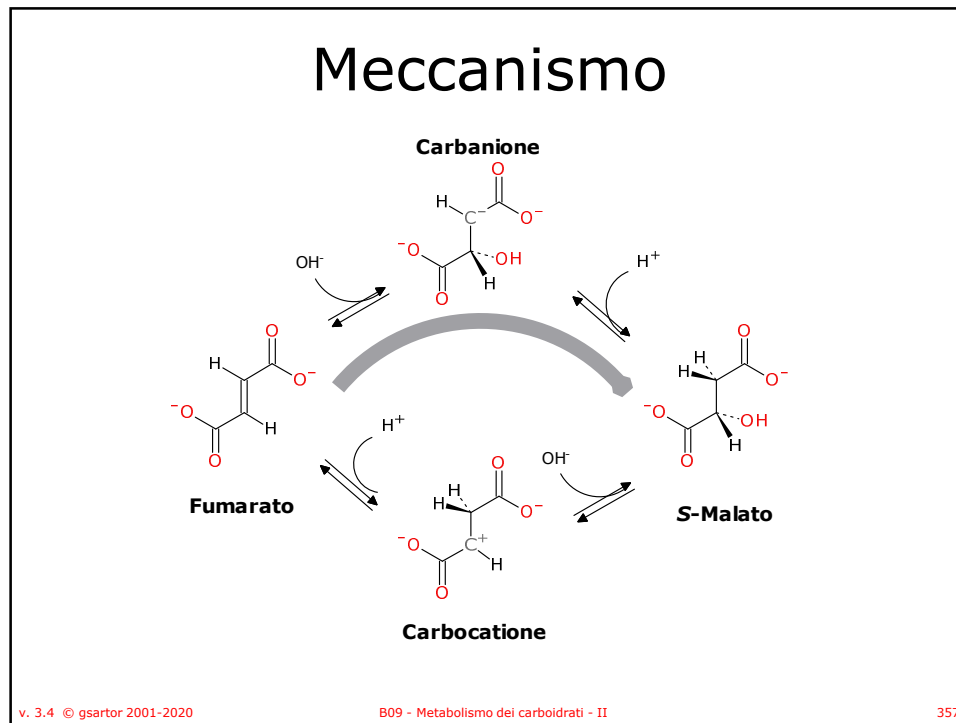
- La fumarasi catalizza l'idratazione reversibile del fumarato, si forma (S)-malato (L-malato).
- È una reazione stereospecifica, viene idratato il doppio legame *trans* ma non il *cis* (maleato).
- Nella reazione inversa solo il L-malato è substrato dell'enzima non l'isomero D.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

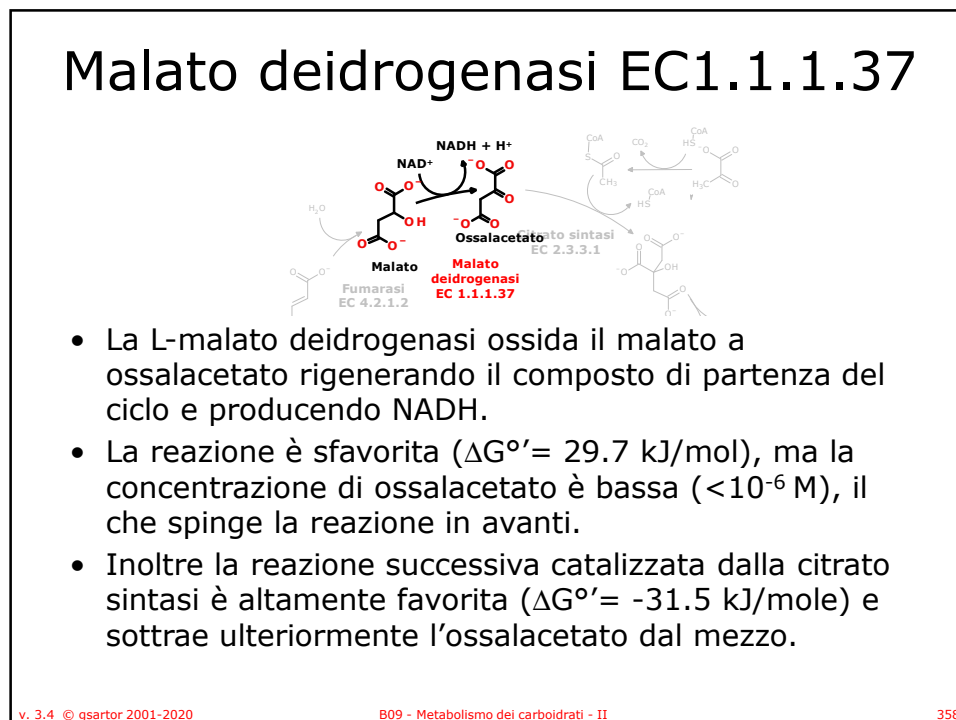
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

356

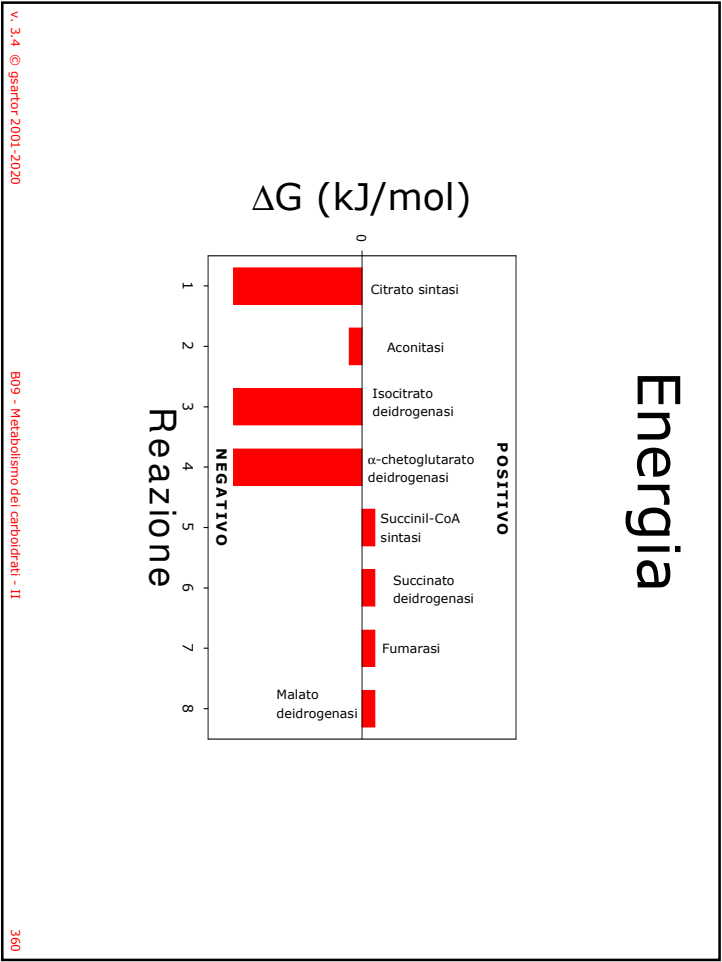
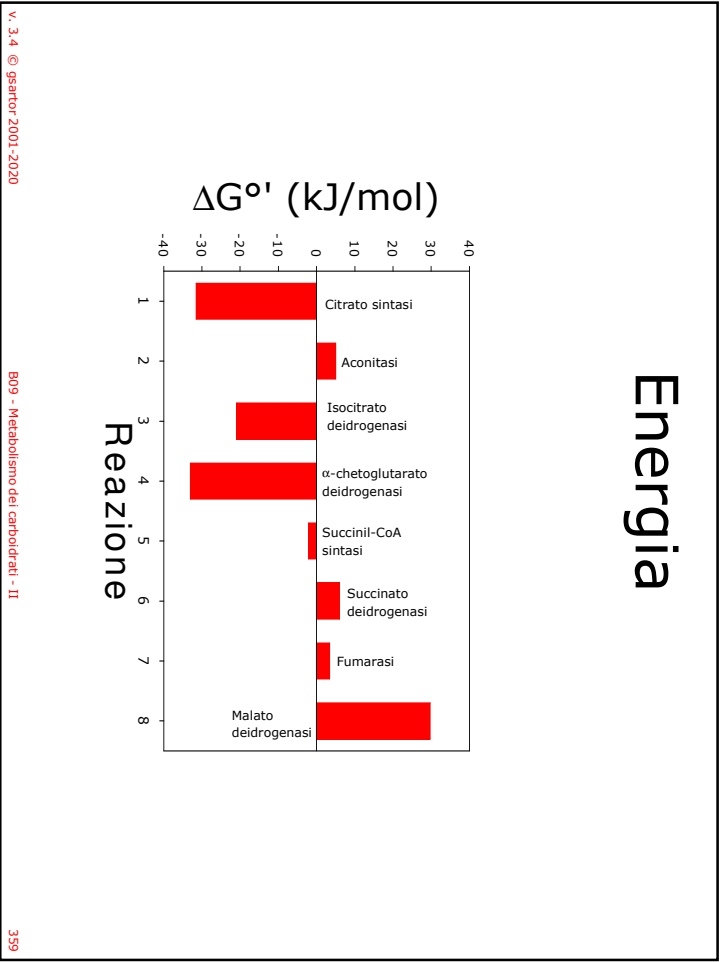
356

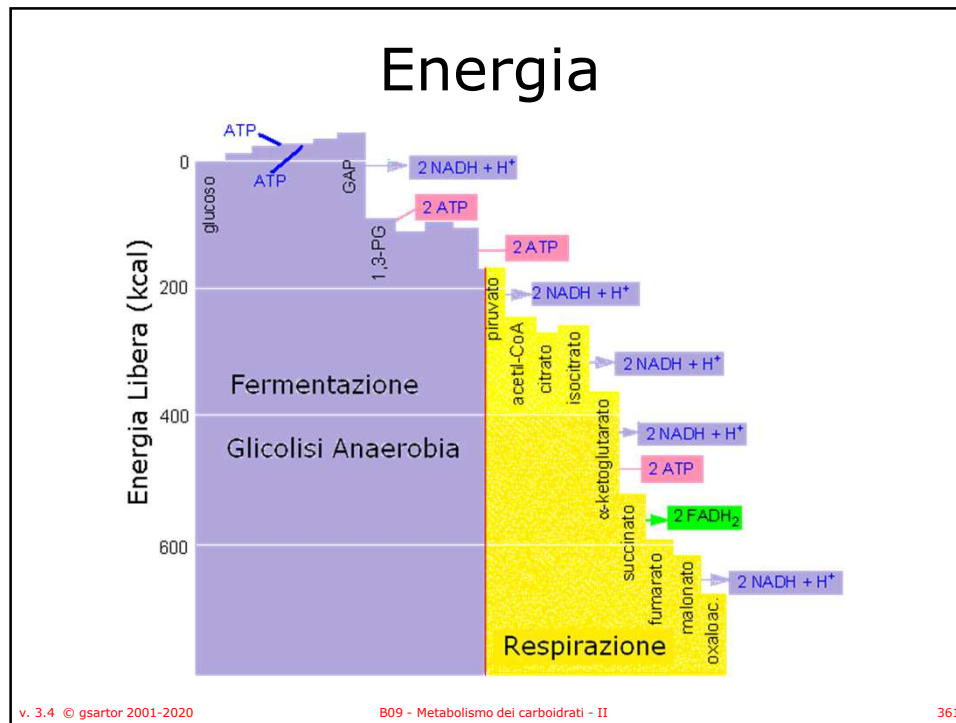


357



358





361

Ciclo di Krebs

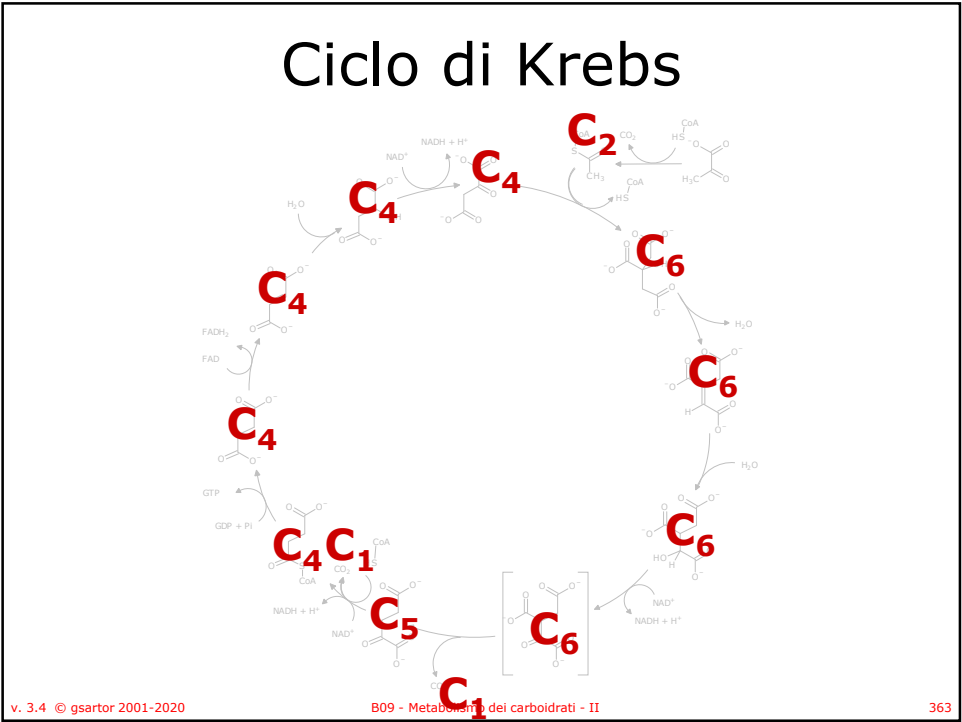
- Il ciclo di Krebs è al centro del metabolismo.
- Le vie degradative (catabolismo) lo alimentano, le vie sintetiche (anabolismo) ne usano i componenti.
- È una via "**ANFIBOLICA**", opera infatti sia nel catabolismo che nell'anabolismo cellulare.
- Tutte le reazioni avvengono nella matrice mitocondriale.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

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

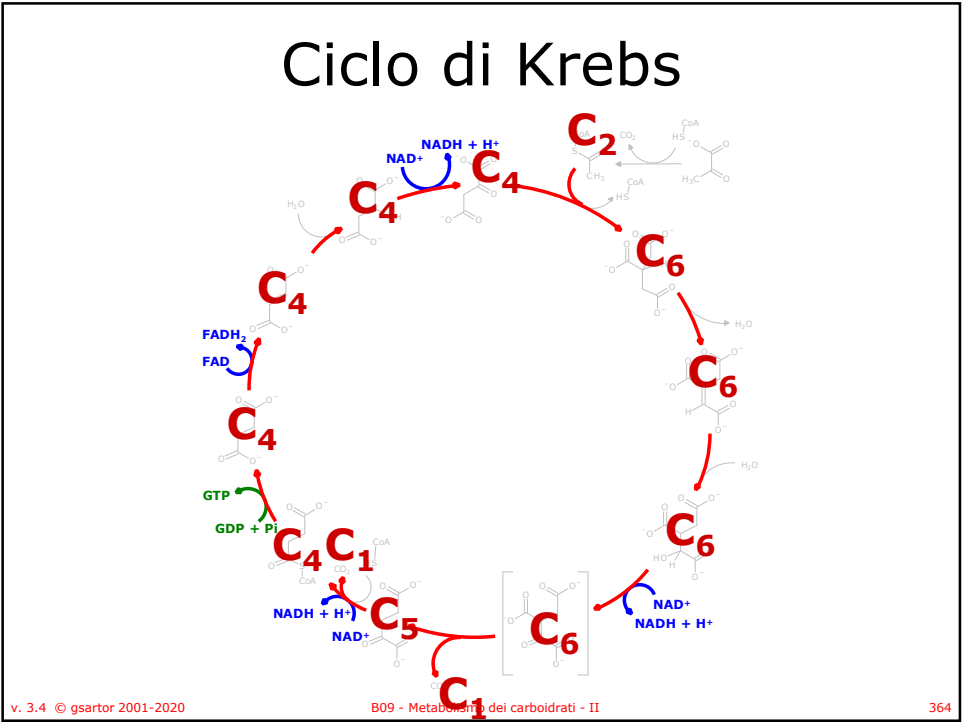
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

362

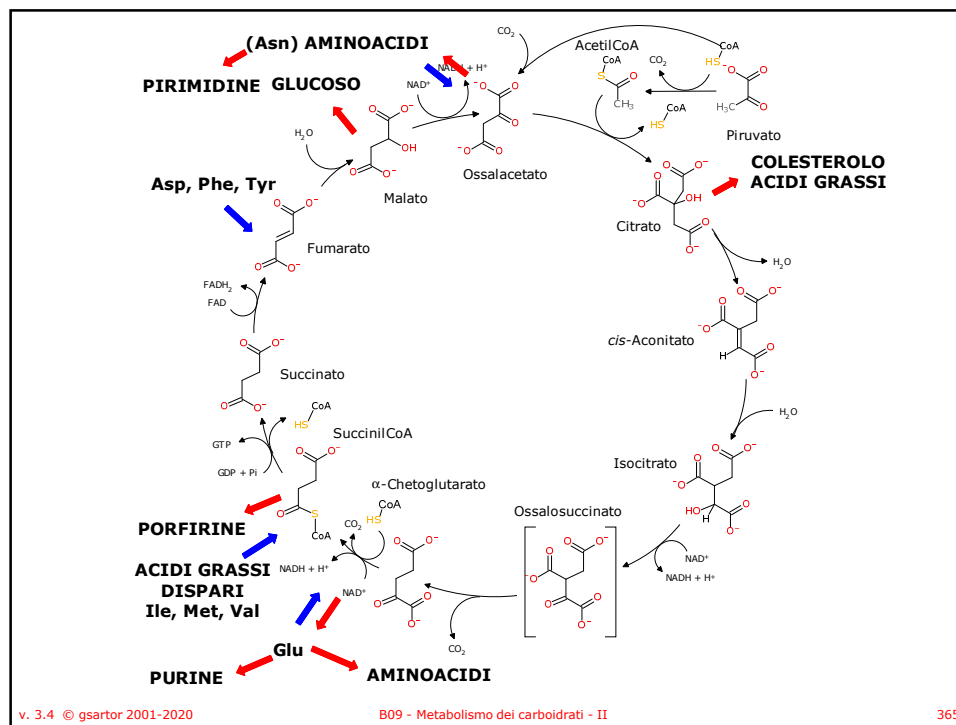
362



363



364



365

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.

v. 3.4 © gsartor 2001-2020

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

366

366

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

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

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.gsartor.org/pro>

- 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

Giorgio Sartor
Ufficiale: giorgio.sartor@unibo.it
Personale: giorgio.sartor@gmail.com

Aggiornato il 01/04/2020 13:46:26