

Prof. Giorgio Sartor

# Metabolismo dei composti del carbonio

Copyright © 2001-2016 by Giorgio Sartor.  
All rights reserved.

Versione 1.0 - May 16

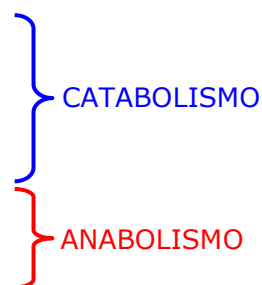
## Metabolismo

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.)

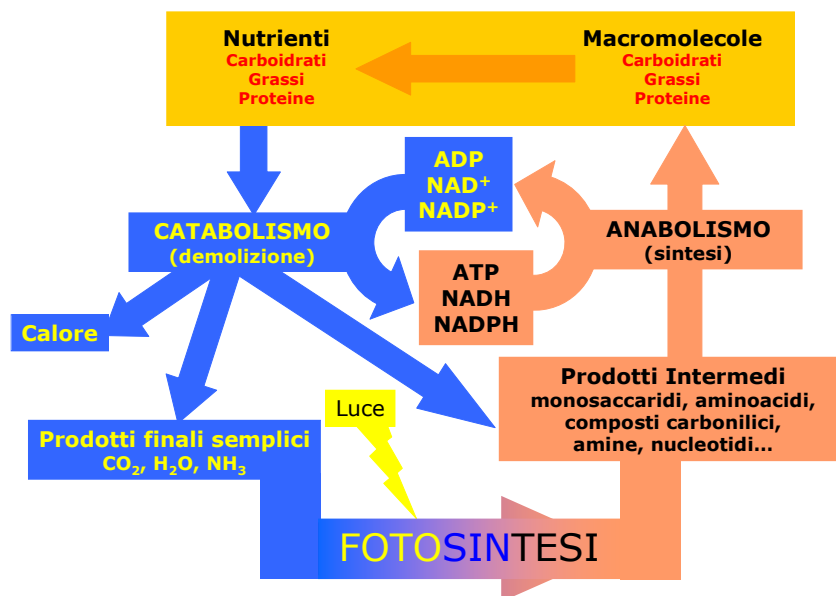
**Tutta la chimica dei viventi!**

# 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



# Metabolismo



## Fonti di carbonio ed energia

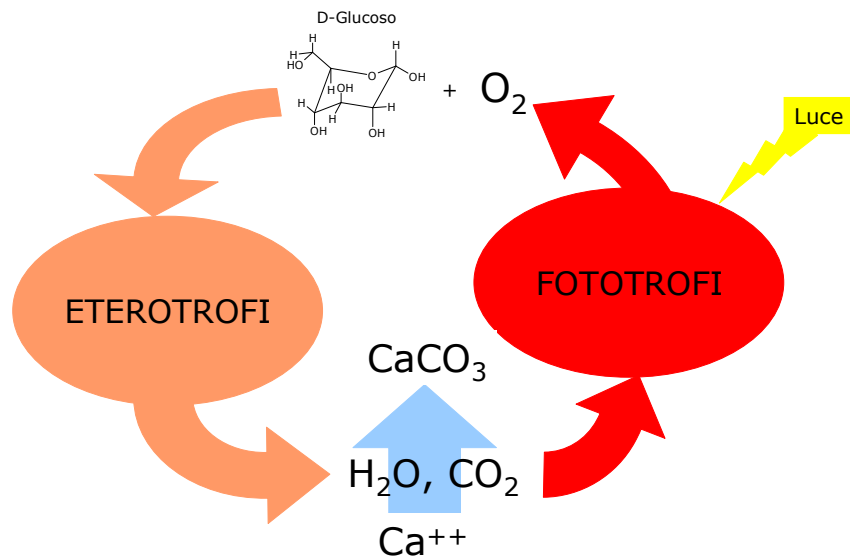
Organismo	Fonte di carbonio	Fonte di energia	Donatore di elettroni
Fotoautotrofi (piante, alghe verdi, cianobatteri fotosintetici)	CO <sub>2</sub>	Luce	H <sub>2</sub> O, H <sub>2</sub> S, S, altri inorganici
Fotoeterotrofi (rodobatteri non sulfurei)	Composti organici	Luce	Composti organici
Chemoautotrofi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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

5

## Fonti di carbonio ed energia

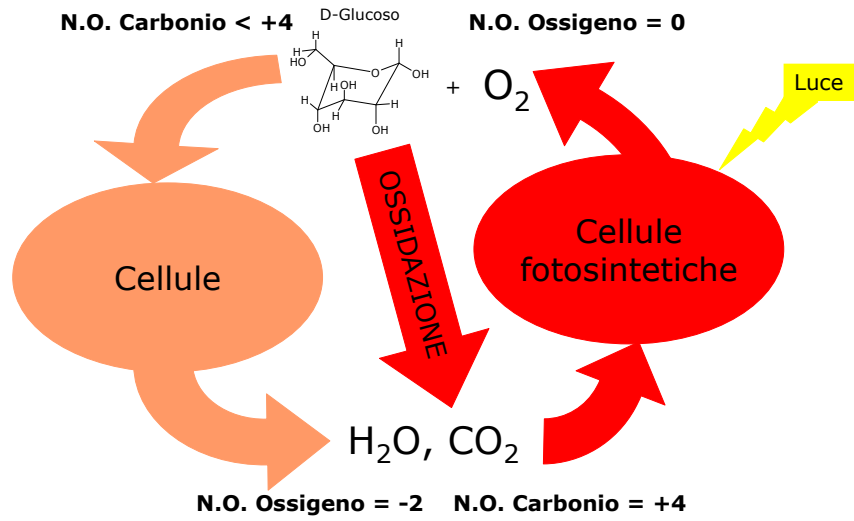


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

6

# Metabolismo del carbonio

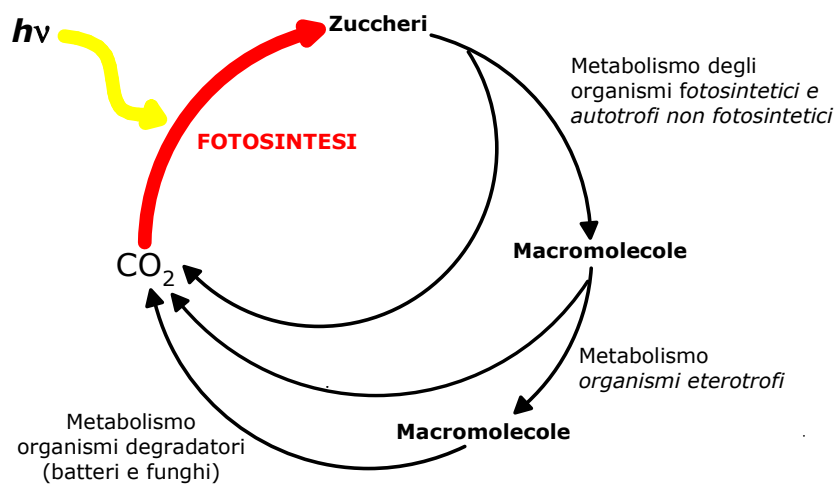


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

7

# Ciclo biogeochimico del carbonio



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

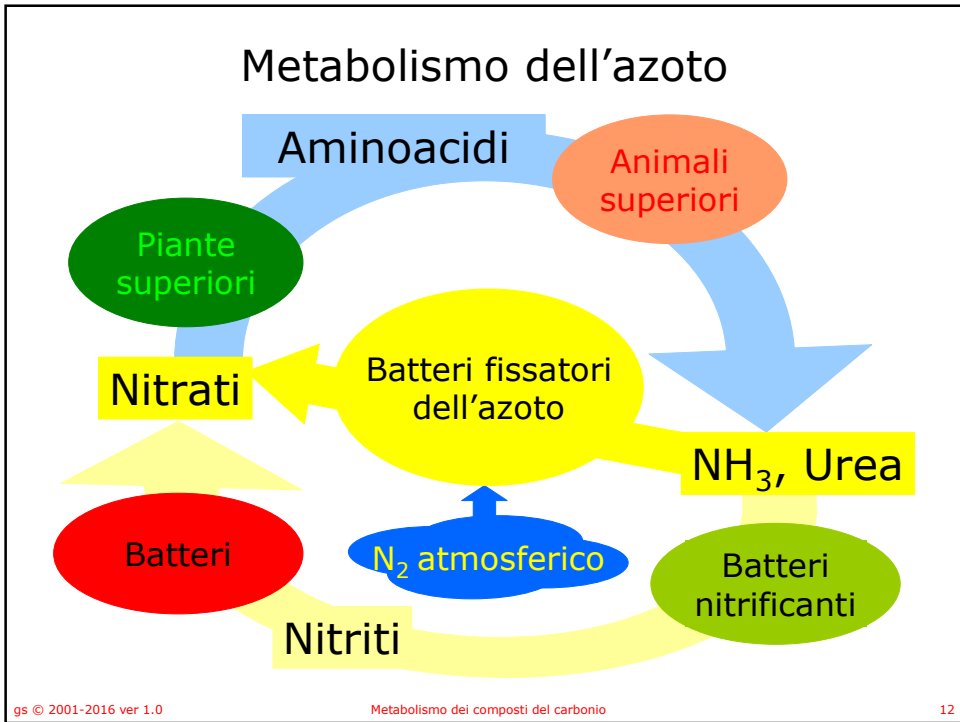
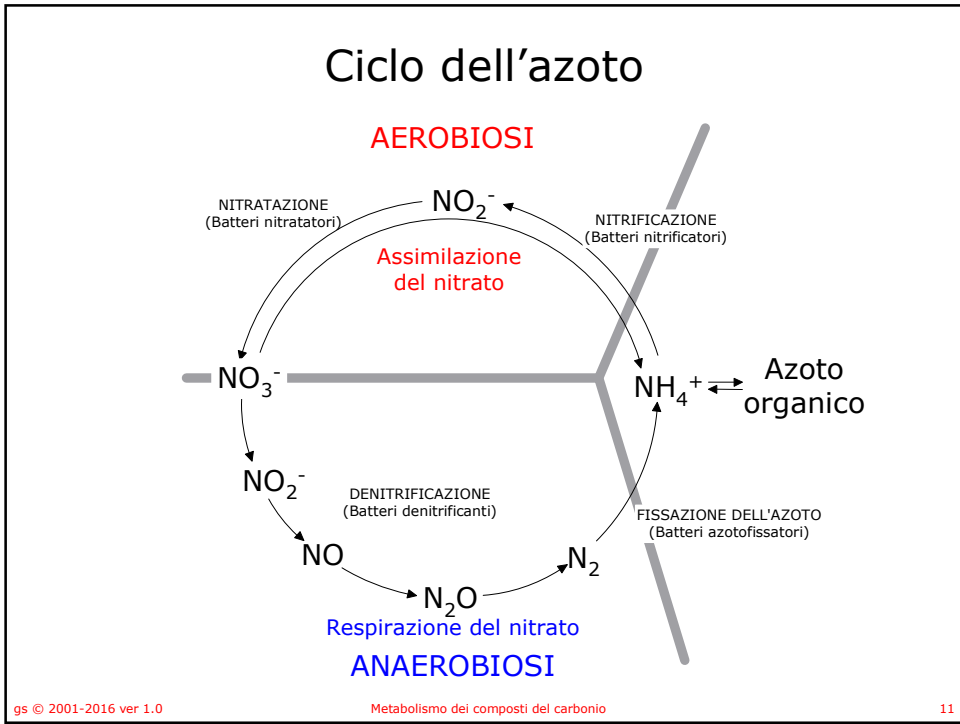
8

## Ossigeno

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

## Ciclo dell'azoto

- L'azoto in natura si trova in forma ossidata come nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e come gas ( $\text{N}_2$ ),
- Per essere utilizzato deve essere convertito in forma ridotta ( $\text{NH}_4^+$ )
- Ciò può avvenire in **aerobiosi** o **anaerobiosi**.



# ENZIMI

- Classificazione degli enzimi
  - Singolo enzima
    - Ureasi
  - Complesso enzimatico
    - Complesso piruvato deidrogenasi

## Classificazione gerarchica degli enzimi

- Ogni enzima viene classificato a secondo della **reazione** che catalizza.
- Viene classificato con un numero:
  - EC X.Y.Z.T
  - X = classe
  - Y = sottoclasse
  - Z = sotto-sottoclasse
  - T = numero dell'enzima nella sotto-sottoclasse
    - [http://www.genome.jp/dbget-bin/get\\_htext?ECtable+-f+T+w+A](http://www.genome.jp/dbget-bin/get_htext?ECtable+-f+T+w+A)
    - [http://www.kegg.jp/kegg-bin/get\\_htext#A4](http://www.kegg.jp/kegg-bin/get_htext#A4)
    - <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/enzymes/>

## Classificazione gerarchica degli enzimi

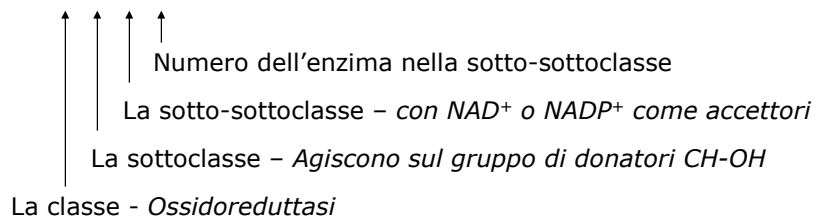
- Classi:
  - 1. Ossidoreduttasi
    - Catalizzano una reazione redox.
  - 2. Transferasi
    - Catalizzano il trasferimento di un gruppo da una molecola ad un'altra:  
 $X-Y + Z \rightarrow X-Z + Y$   
le chinasi trasferiscono un gruppo fosfato.
  - 3. Idrolasi
    - Catalizzano la scissione idrolitica di legami C=O, C-N, C-C, P-O-P,...
  - 4. Liasi
    - Catalizzano scissioni di legami con meccanismi diversi dalle Ossidoreduttasi e dalle Idrolasi.
  - 5. Isomerasi
    - Catalizzano modificazioni geometriche.
  - 6. Ligasi (Sintetasi)
    - Catalizzano l'unione di due molecole accoppiata al consumo di ATP o di un altro nucleotide trifosfato.

## Classificazione gerarchica degli enzimi

- Per esempio:



- Nome comune: alcool deidrogenasi
- Nome sistematico: alcool:NAD<sup>+</sup> ossidoreduttasi
- EC 1.1.1.1





## Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by IUPAC-IUBMB

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

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

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

Last updated: March 3, 2009

## Enzyme EC numbers

EC (Enzyme Commission) numbers assigned by IUPAC-IUBMB

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

- ▼ **1. Oxidoreductases;**
  - ▶ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
  - ▶ 1.2 Acting on the aldehyde or oxo group of donors;
  - ▶ 1.3 Acting on the CH-CH group of donors;
  - ▶ 1.4 Acting on the CH-NH<sub>2</sub> 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 O<sub>2</sub> as oxidant and incorporation of oxygen into
  - ▶ 1.14 Acting on paired donors, with O<sub>2</sub> as oxidant and incorporation or reduction
  - ▶ 1.15 Acting on superoxide as acceptor;
  - ▶ 1.16 Oxidizing metal ions;
  - ▶ 1.17 Acting on CH or CH<sub>2</sub> groups;
  - ▶ 1.18 Acting on iron-sulfur proteins as donors;
  - ▶ 1.19 Acting on reduced flavodoxin as donor;
  - ▶ 1.20 Acting on phosphorus or arsenic in donors;
  - ▶ 1.21 Acting on X-H and Y-H to form an X-Y bond;
  - ▶ 1.97 Other oxidoreductases;
  - ▶ 1.98 Other oxidoreductases
  - ▶ 1.99 Other oxidoreductases
  - ▶ 1.- Other oxidoreductases

## Enzyme EC numbers

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

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

### ▼ 1. Oxidoreductases;

- ▼ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
  - ▶ 1.1.1 With NAD<sup>+</sup> or NADP<sup>+</sup> 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-NH<sub>2</sub> group of donors;
- ▶ 1.5 Acting on the CH-NH group of donors;
- ▶ 1.6 Acting on NADH or NADPH;
- ▶ 1.7 Acting on other nitrogenous compounds as donors;
- ▶ 1.8 Acting on a sulfur group of donors;

## Enzyme EC numbers

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

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

### ▼ 1. Oxidoreductases;

- ▼ 1.1 Acting on the CH-OH group of donors;
  - ▼ 1.1.1 With NAD<sup>+</sup> or NADP<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>); aldehyde reductase (NADPH<sub>2</sub>); NADP-alcohol dehydrogenase; NADP<sup>+</sup>-aldehyde reductase; NADP<sup>+</sup>-dependent aldehyde reductase; NADPH-aldehyde reductase; NADPH-dependent aldehyde reductase; nonspecific succinic semialdehyde reductase; ALR 1; low-K<sub>m</sub> aldehyde reductase; high-K<sub>m</sub> aldehyde reductase; alcohol dehydrogenase (NADP<sup>+</sup>)
    - 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<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>-linked glycerol dehydrogenase
    - 1.1.1.7 propanediol-phosphate dehydrogenase; PDF dehydrogenase; 1,2-propanediol-1-phosphate:NAD<sup>+</sup> oxidoreductase; propanediol phosphate dehydrogenase

## Isoenzimi

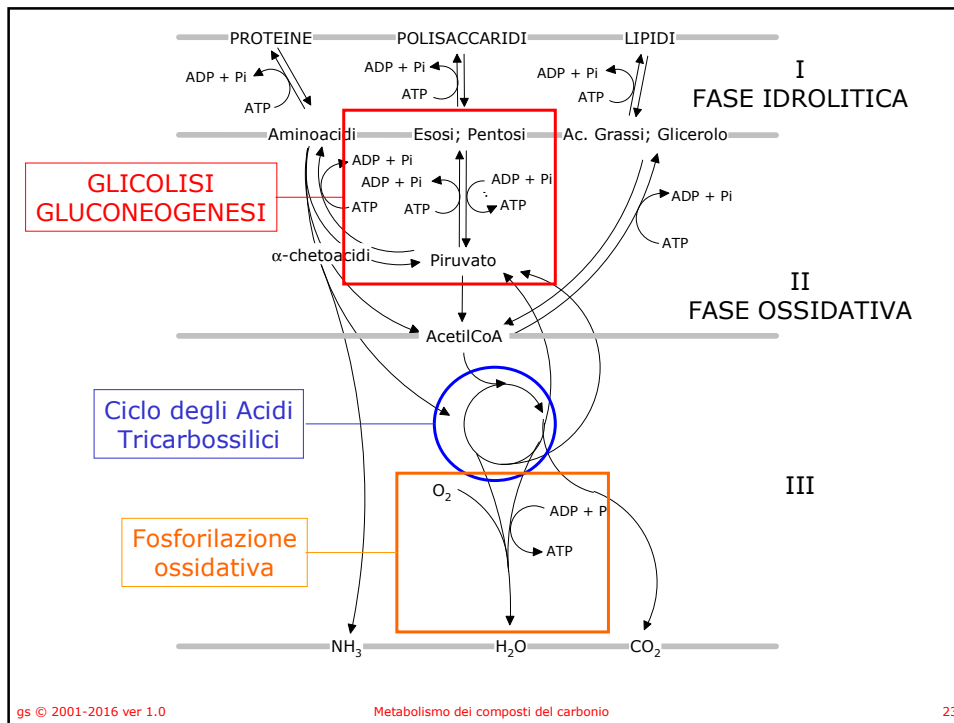
- Questa classificazione NON riguarda gli enzimi in quanto proteine ma in quanto CATALIZZATORI
- La classificazione riguarda quindi gli enzimi che catalizzano una reazione.
- Proteine diverse (con diversa struttura primaria) che catalizzano la stessa reazione, sono

## ISOENZIMI

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

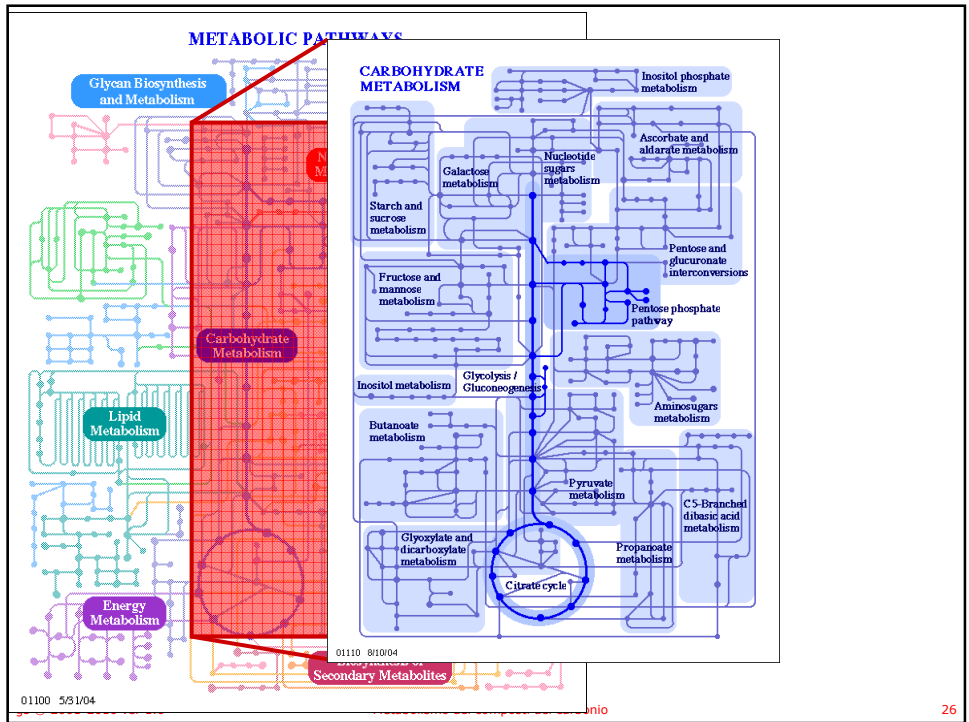
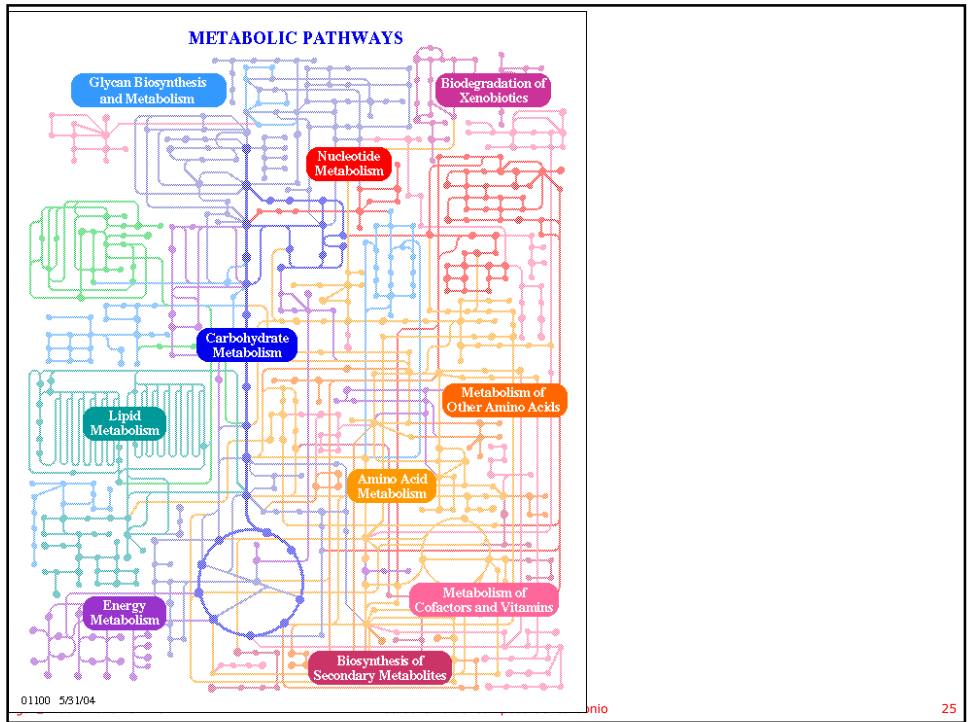
## Vie metaboliche

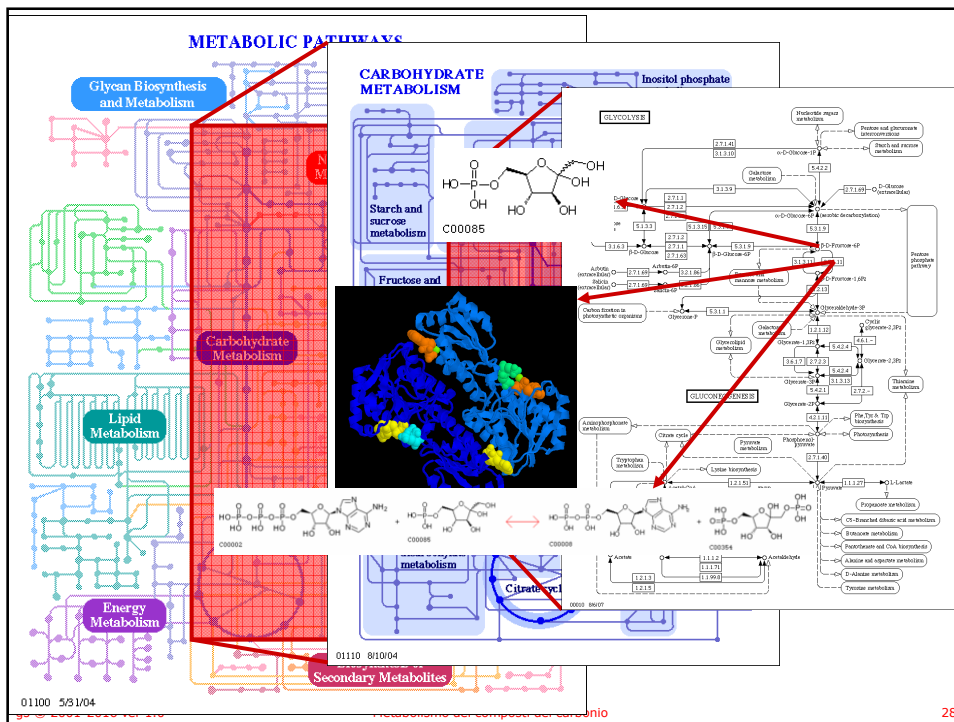
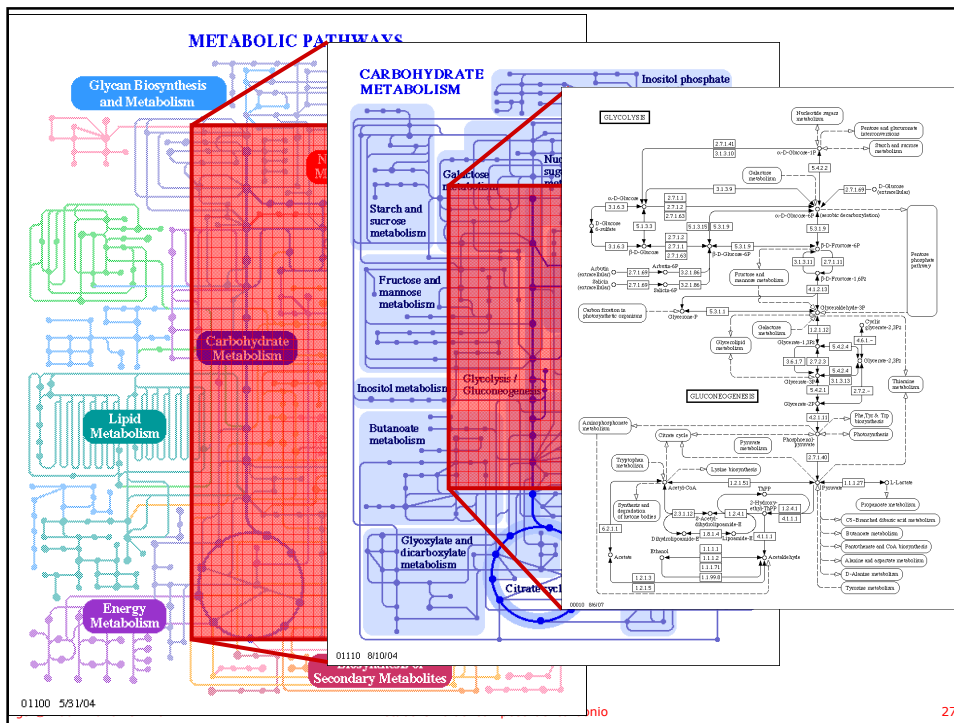
- Sono l'insieme di reazioni chimiche che portano alla trasformazione di un substrato in un prodotto passando attraverso composti intermedi.
- Vie cataboliche: producono energia chimica
- Vie anaboliche utilizzano energia chimica.



## Vie metaboliche ed intermedi

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

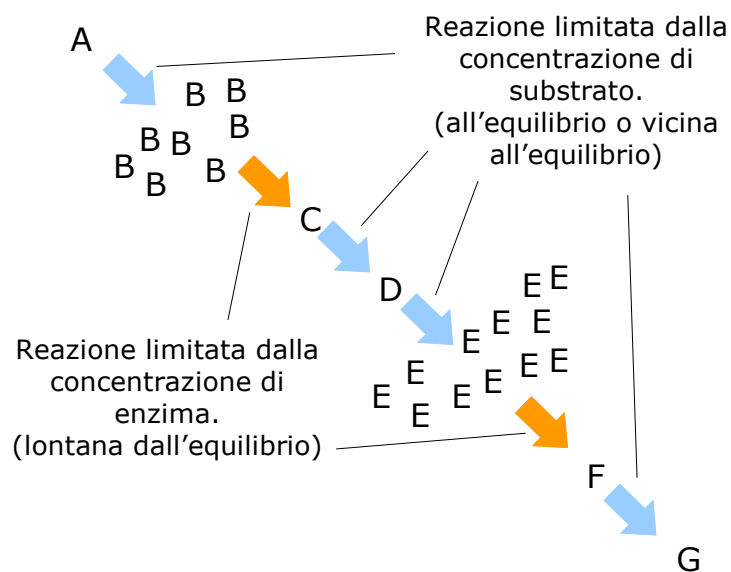


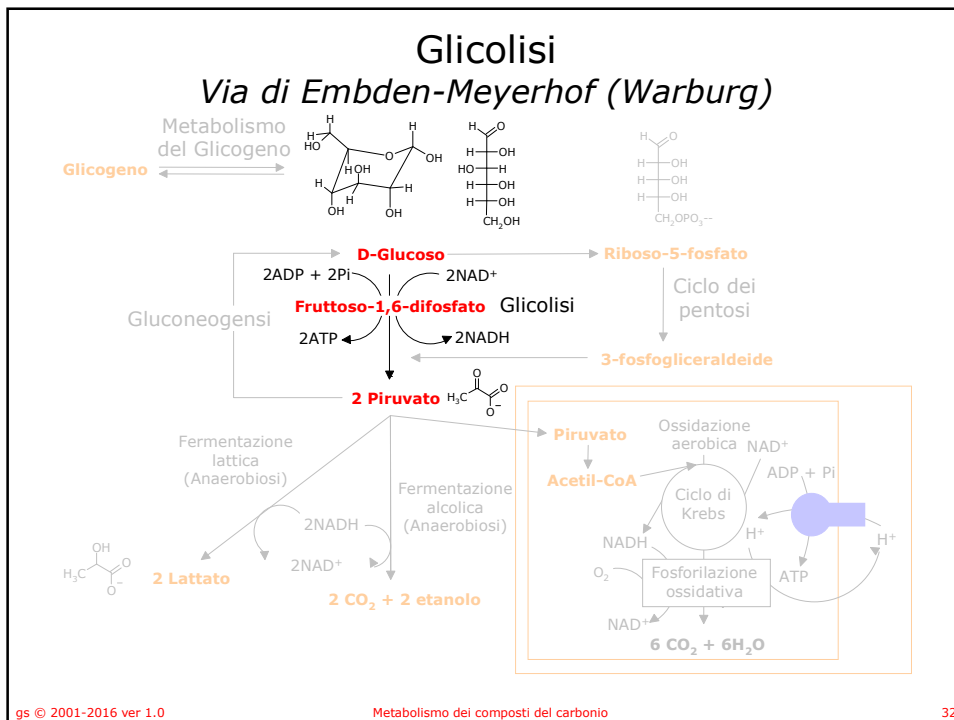
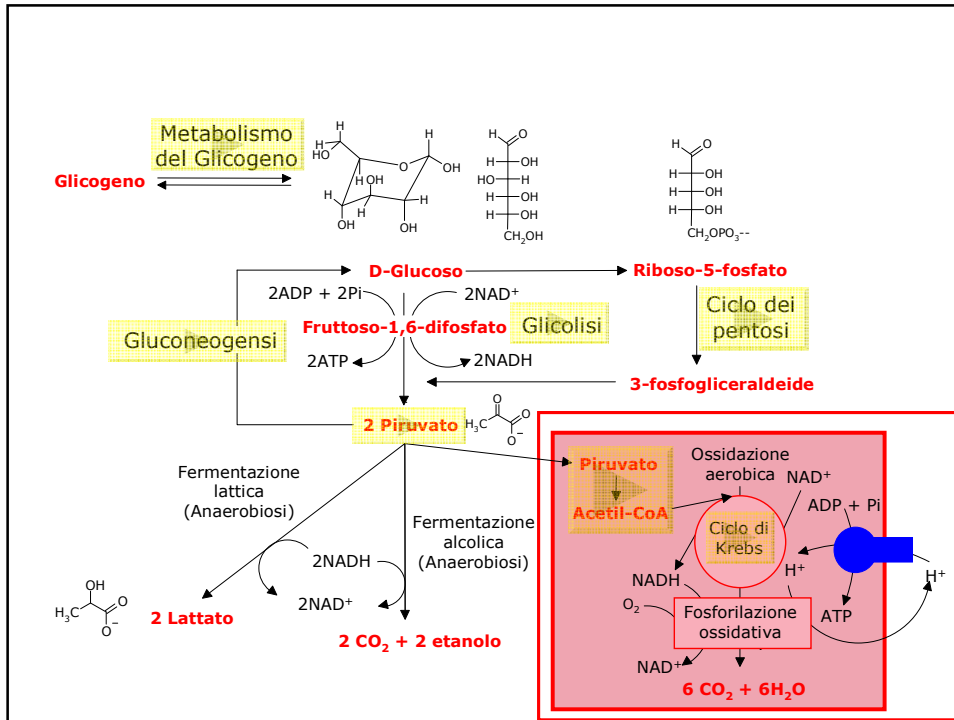


## Regolazione delle vie metaboliche

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

## Regolazione delle vie metaboliche







## 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.

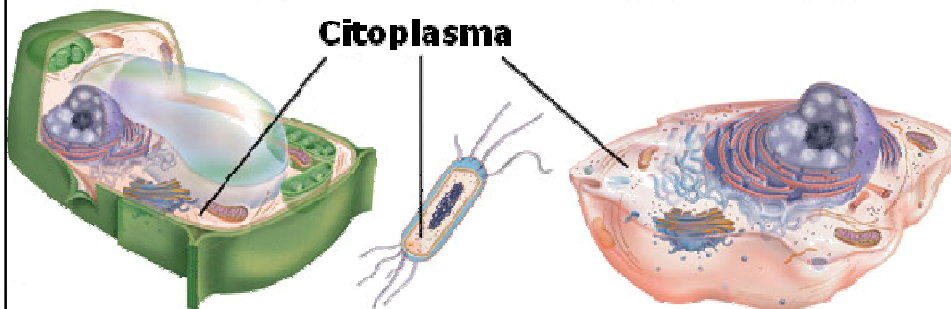
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

33

## 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.

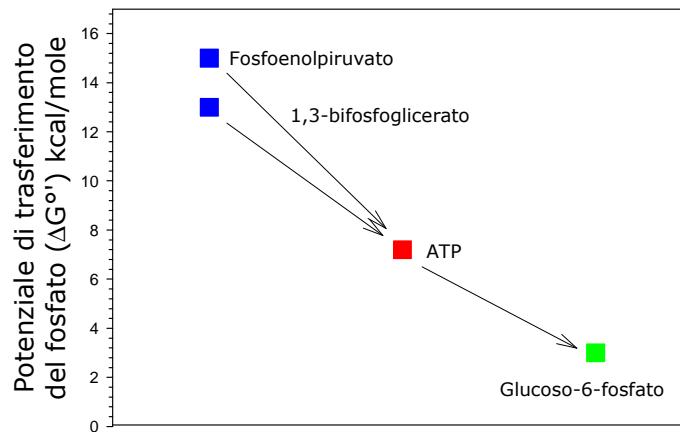


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

34

## Intermedi fosforilati

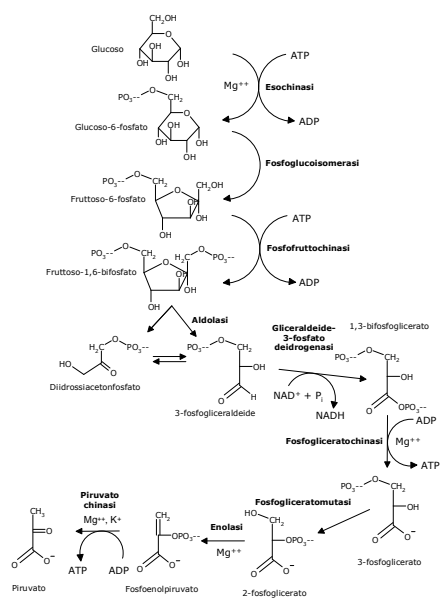


## Fasi della glicolisi

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

# Fosforilazione

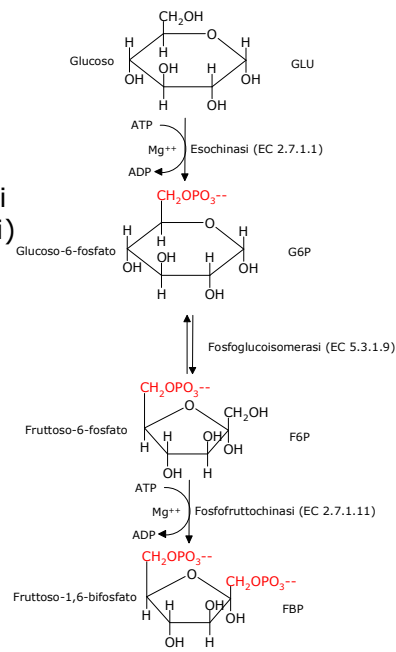
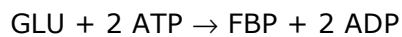
- La prima fase della glicolisi consiste nella **fosforilazione** del glucosio per arrivare a fruttosio-1,6-difosfato attraverso il glucosio-6-fosfato che viene isomerizzato a fruttosio-6-fosfato.
- Vengono consumate due molecole di ATP per ottenere lo zucchero difosfato.



# Fase 1

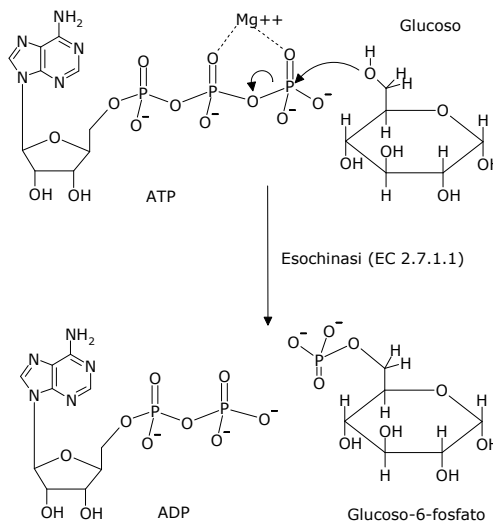
## Formazione del fruttosio-1,6-difosfato

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

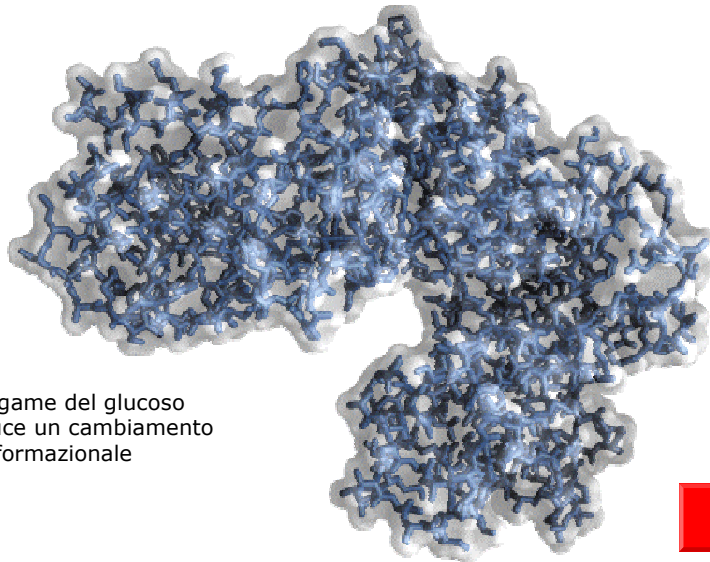


## Esochinasi

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



## Esochinasasi inattiva



- Il legame del glucosio induce un cambiamento conformazionale

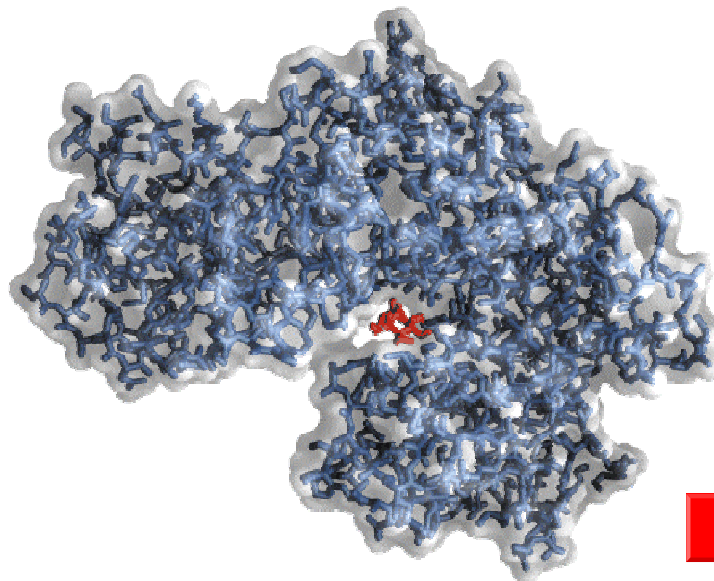


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

41

## Esochinasasi attiva



gs © 2001-2016 ver 1.0

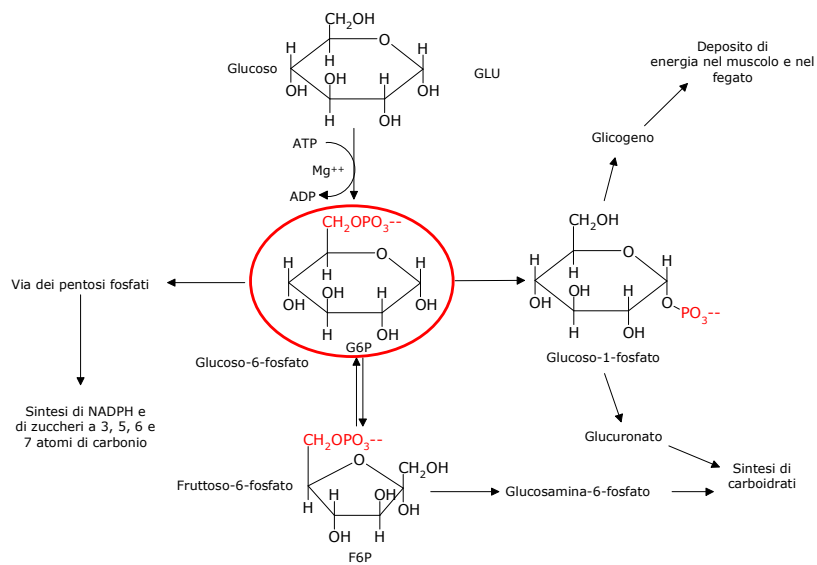
Metabolismo dei composti del carbonio

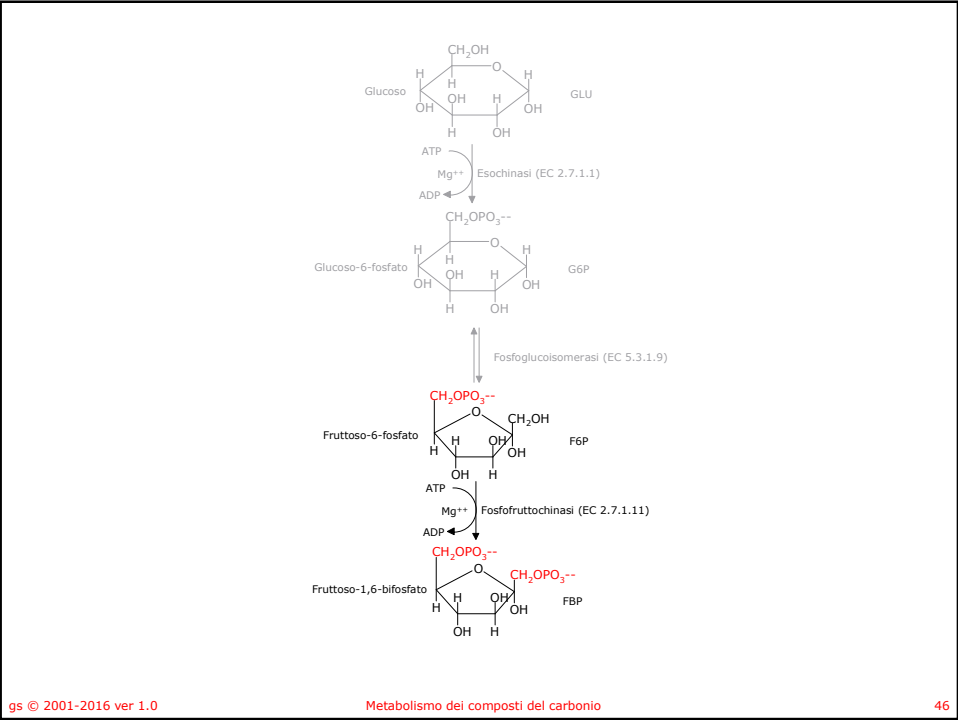
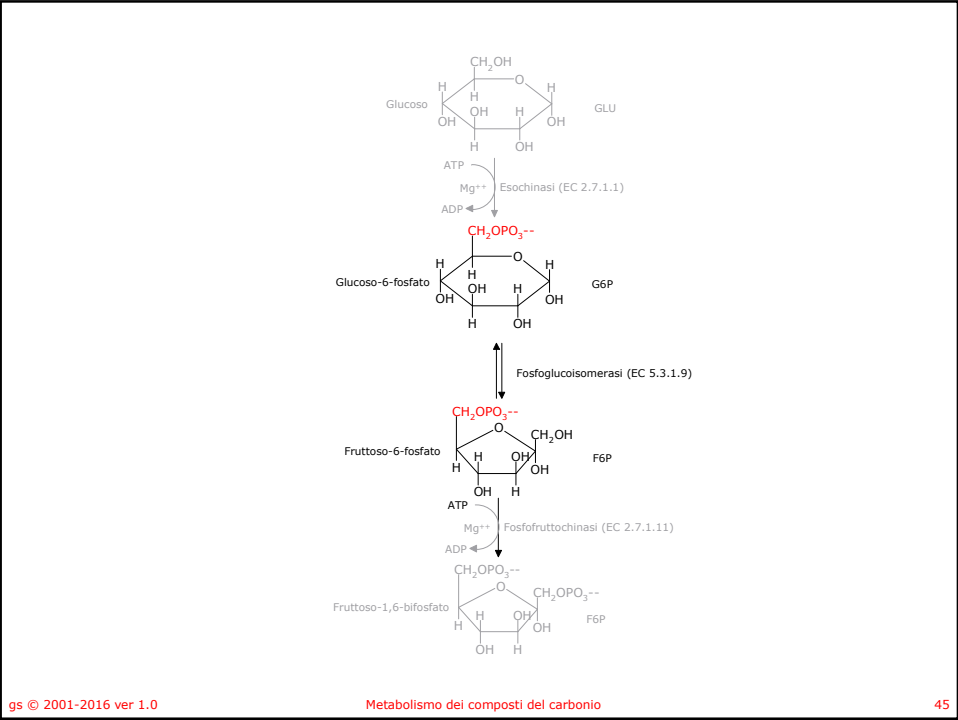
42

## Esochinasi EC 2.7.1.1

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

## Ruolo del Glucosio-6-fosfato

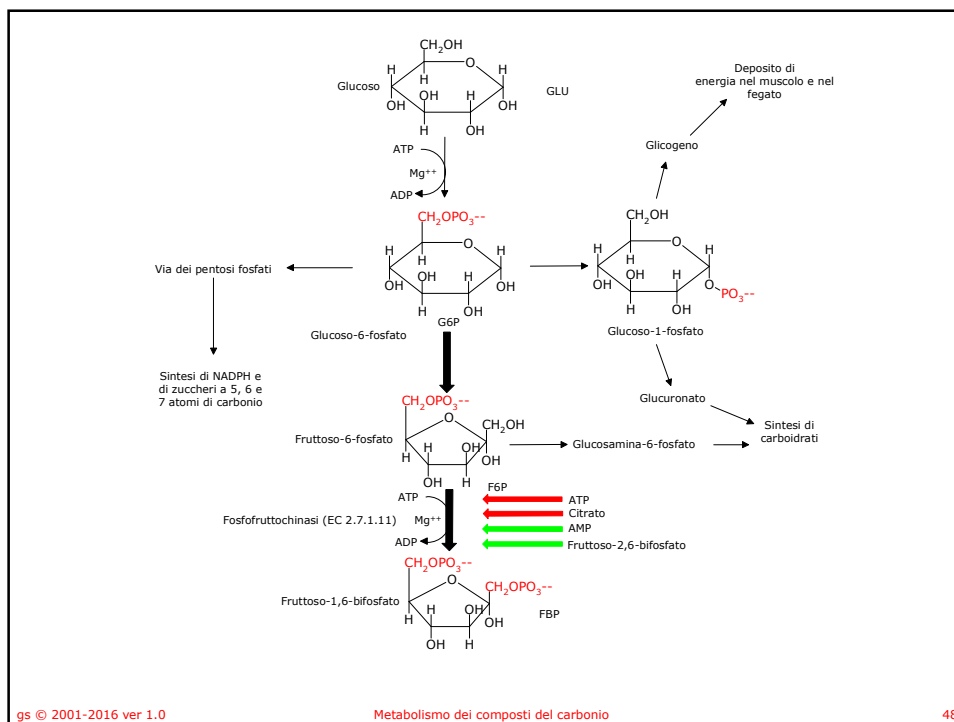




# Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

*È la reazione che controlla la glicolisi*

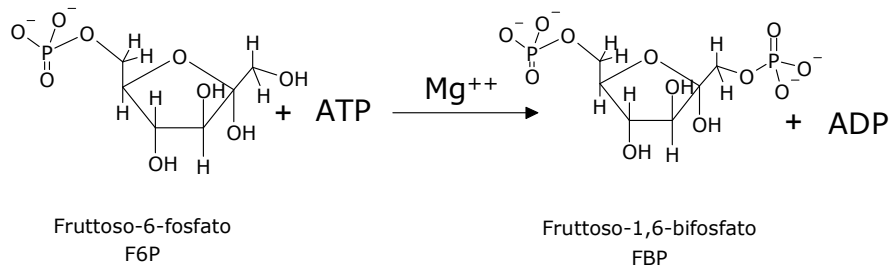
- È la seconda reazione di fosforilazione
- Valore di  $\Delta G$  grande e negativo,
  - La PFK è altamente regolata
    - ATP inibisce, AMP elimina l'inibizione
    - Il citrato è un inibitore allosterico
    - Il fruttosio-2,6-bisfosfato è un attivatore allosterico
  - L'attività della PFK aumenta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





## Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

$$\Delta G^{\circ'} = -14.2 \text{ kJ mol}^{-1}$$
$$\Delta G_{\text{eritrociti}} = -18.8 \text{ kJ mol}^{-1}$$



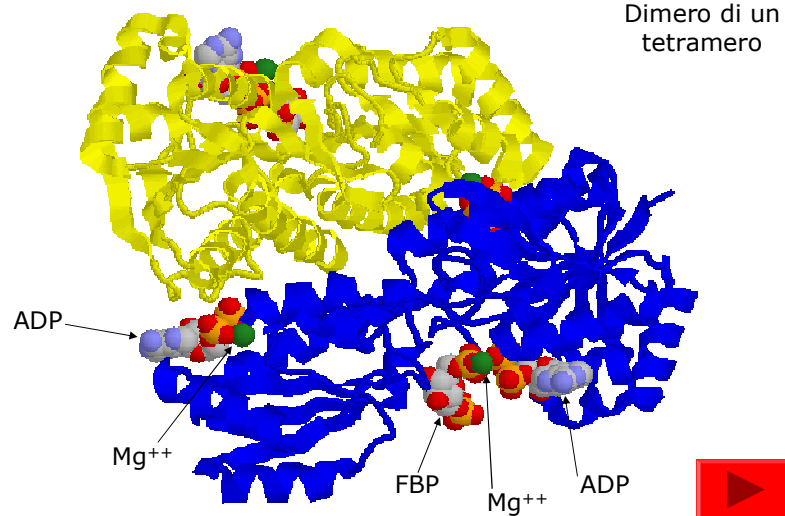
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

49

## Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

Dimero di un  
tetramero

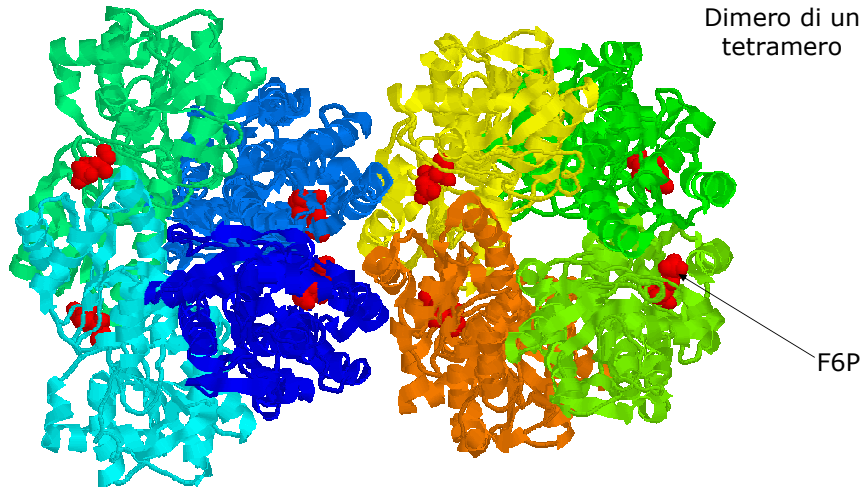


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

50

# Fosfofruttochinasi EC 2.7.1.11

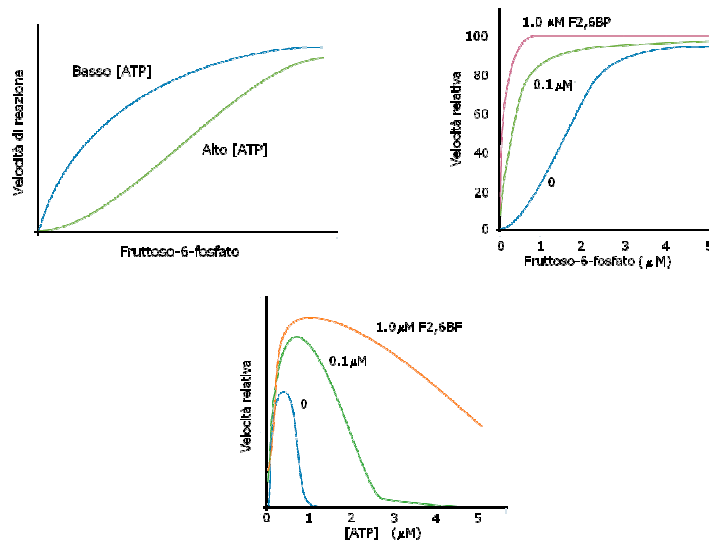


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

51

## Regolazione PFK



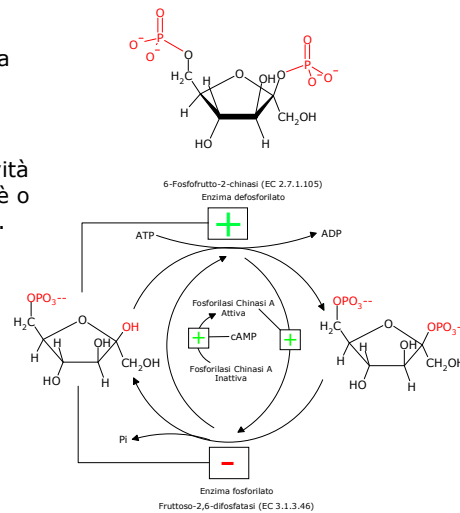
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

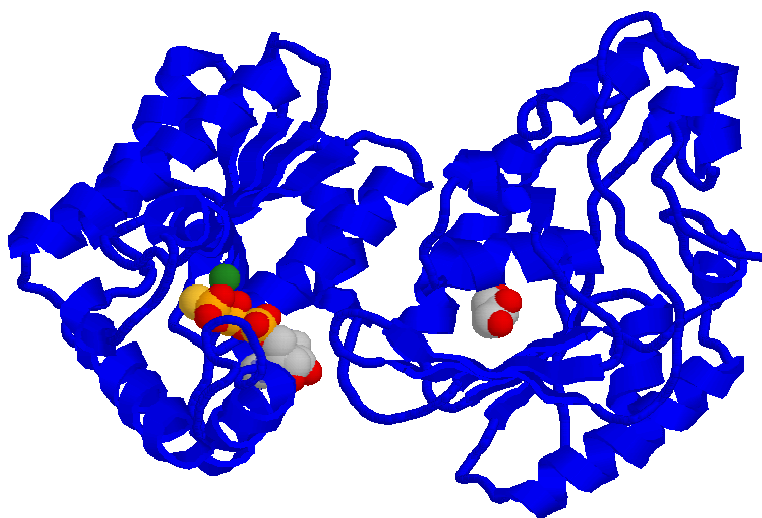
52

## 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 polipetide, svolge due attività enzimatiche diverse a secondo se è o non è fosforilata: l'enzima tandem.
- L'enzima tandem è finemente regolato.

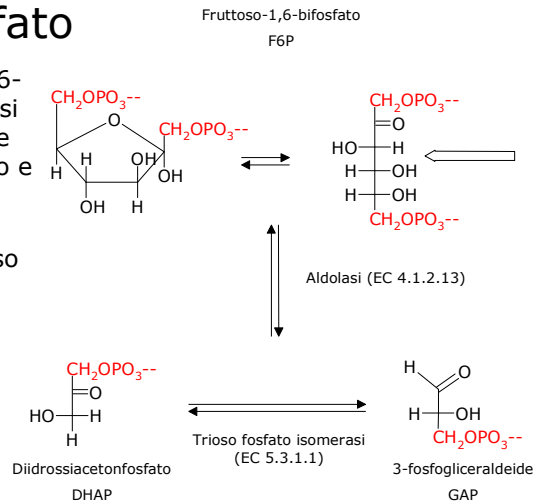


## Enzima tandem



## 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

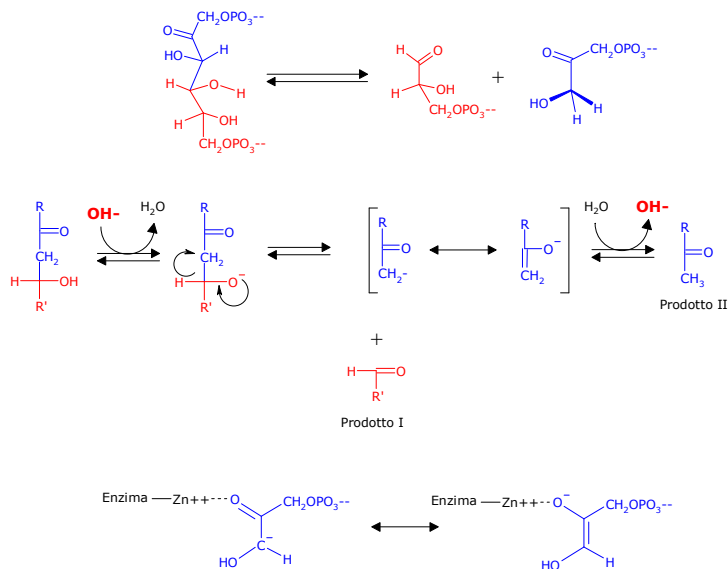


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

55

## Aldolasi: meccanismo generale

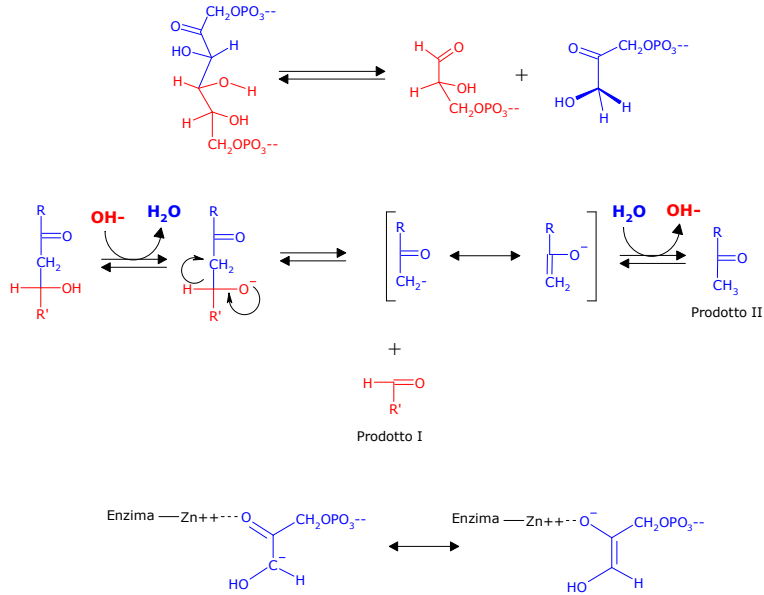


gs © 2001-2016 ver 1.0

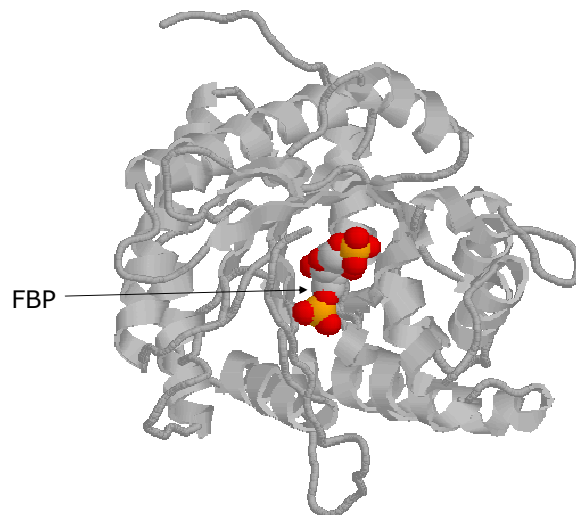
Metabolismo dei composti del carbonio

56

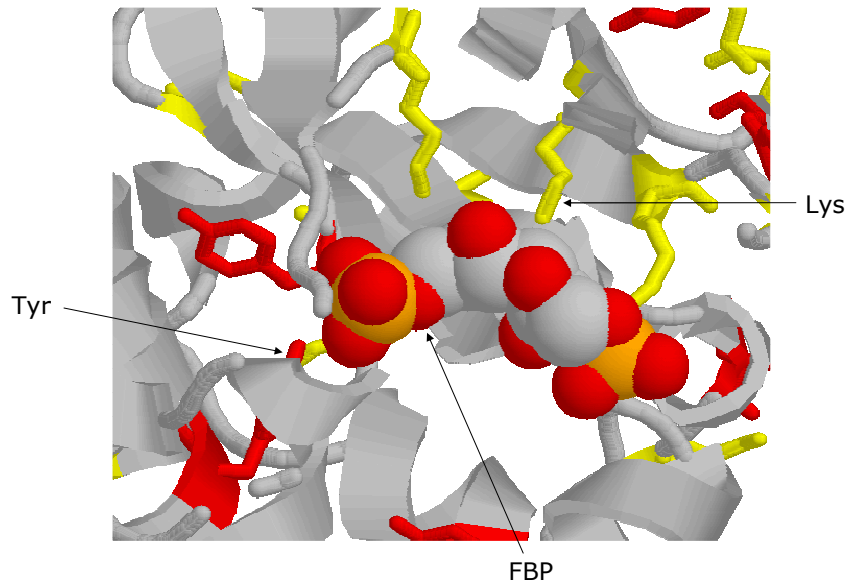
## Aldolasi EC 4.2.1.13



## Aldolasi EC 4.2.1.13



### Aldolasi EC 4.2.1.13



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

59

### Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

*Converte DHAP in GAP*

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

gs © 2001-2016 ver 1.0

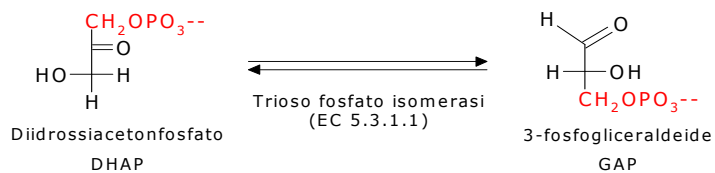
Metabolismo dei composti del carbonio

60

## Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

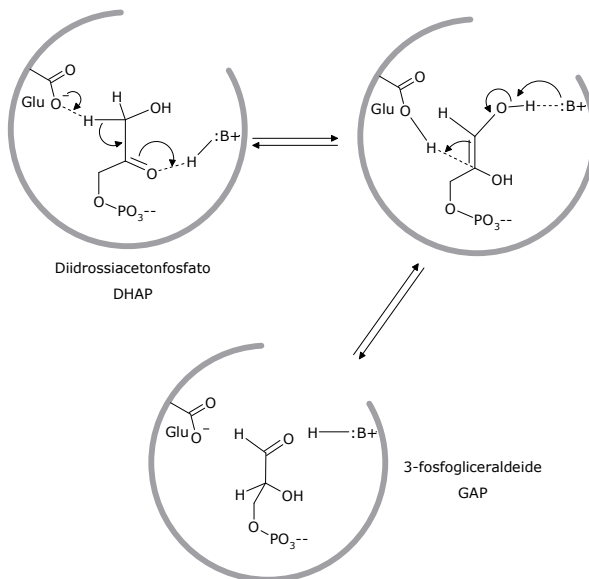
- Catalizza l'equilibrio:

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

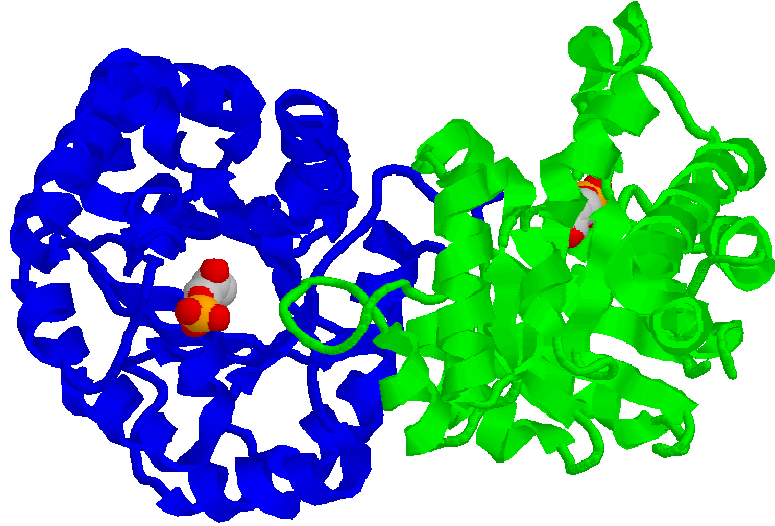


- L'equilibrio è spostato verso sinistra ( $\cong 96\%$  DHAP,  $\cong 4\%$  GAP), nel procedere della glicolisi viene consumata solo GAP e l'equilibrio si sposta verso destra.

## Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1



## Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1

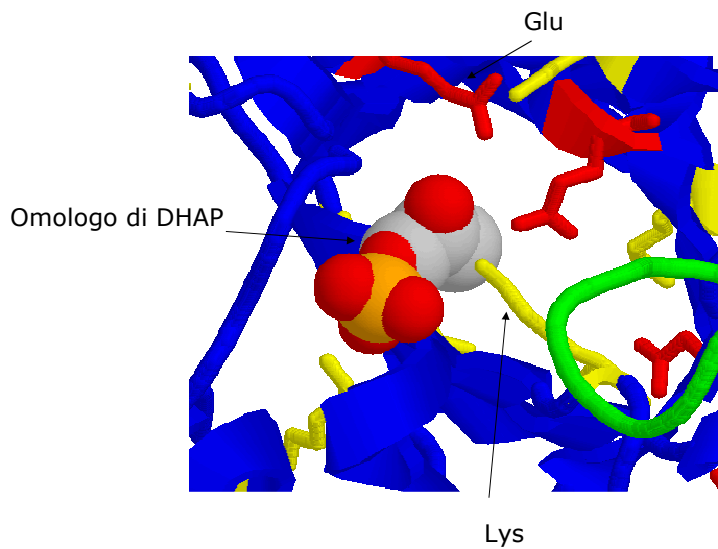


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

63

## Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1



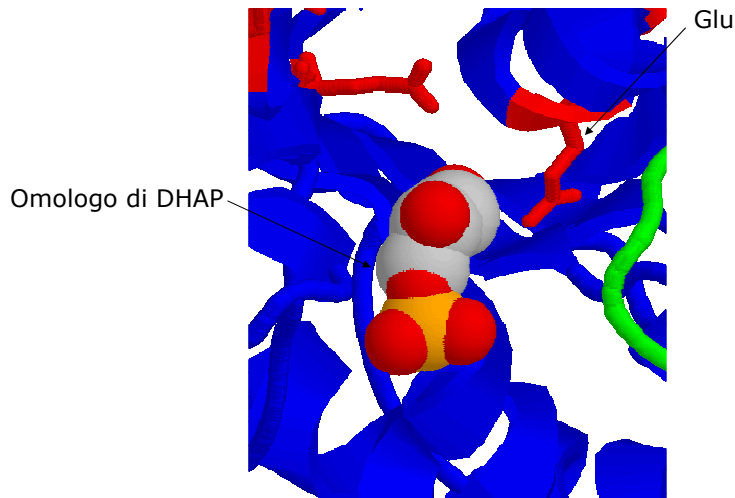
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

64



## Trioso-fosfato isomerasi EC 5.3.1.1



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

65

## 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...)

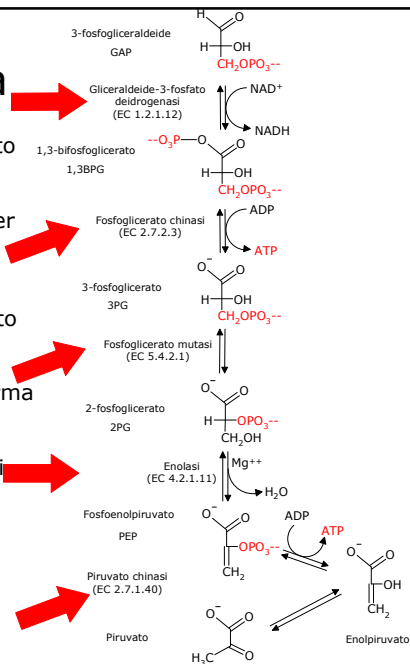
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

66

## Fase 3 Recupero dell'energia

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



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

67

## Gliceraleide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

*GAP è ossidata a 1,3BPG*

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

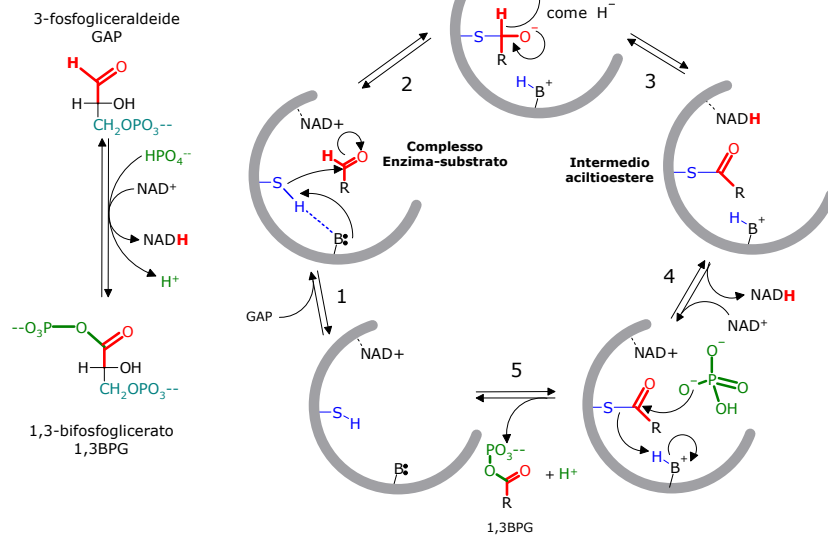
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

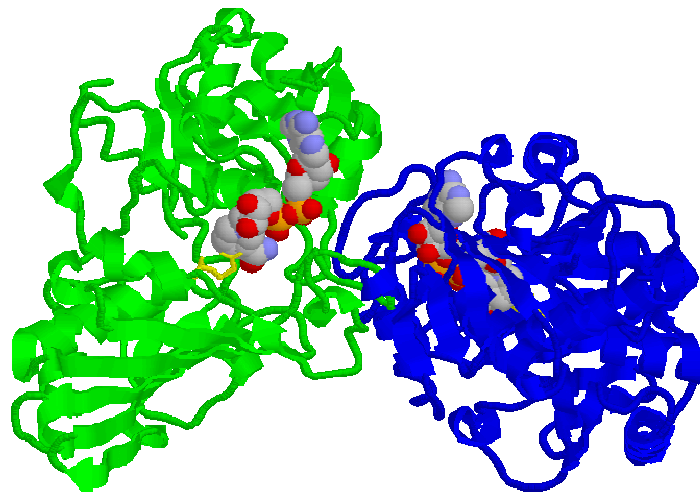
68

# Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

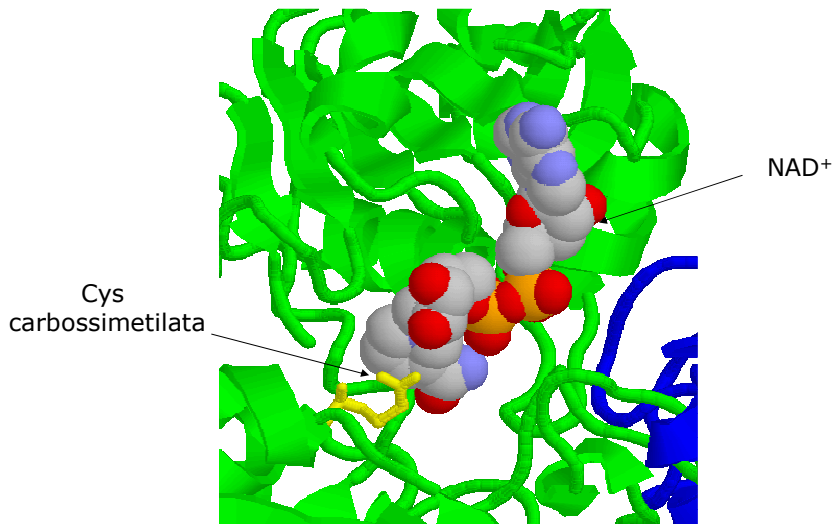
$$\Delta G^{\circ'} = +6.3 \text{ kJ mol}^{-1}$$



# Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12



## Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi EC 1.2.1.12

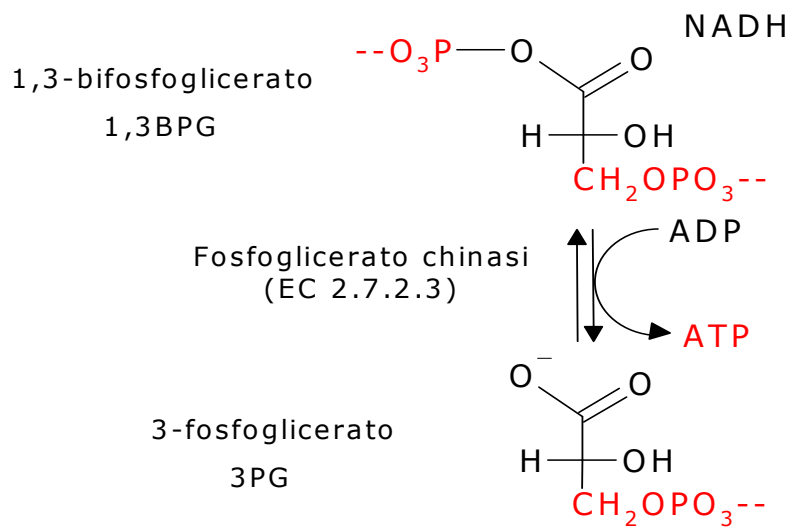


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

71

## Fosfoglicerato chinasi EC 2.7.2.3



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

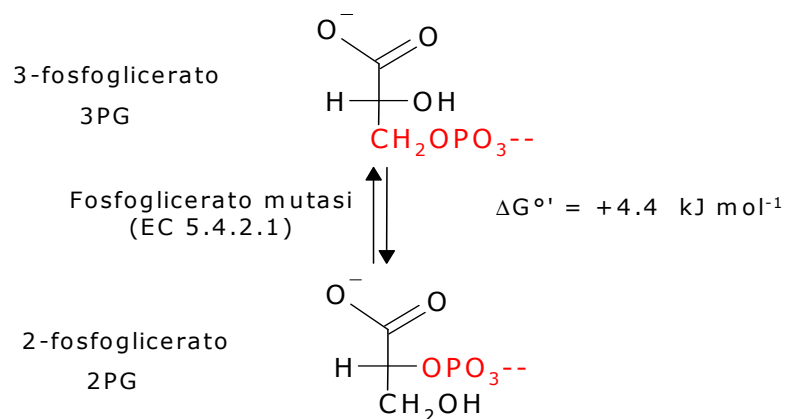
72

## Fosfoglicerato chinasi EC 2.7.2.3

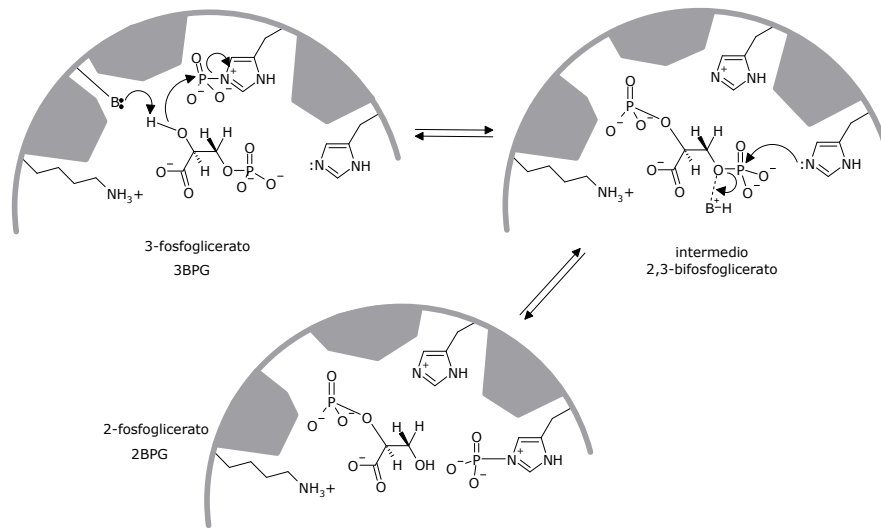
*Il gruppo fosfato passa da C-3 a C-2*

- 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.

## Fosfoglicerato chinasi EC 2.7.2.3



## Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1

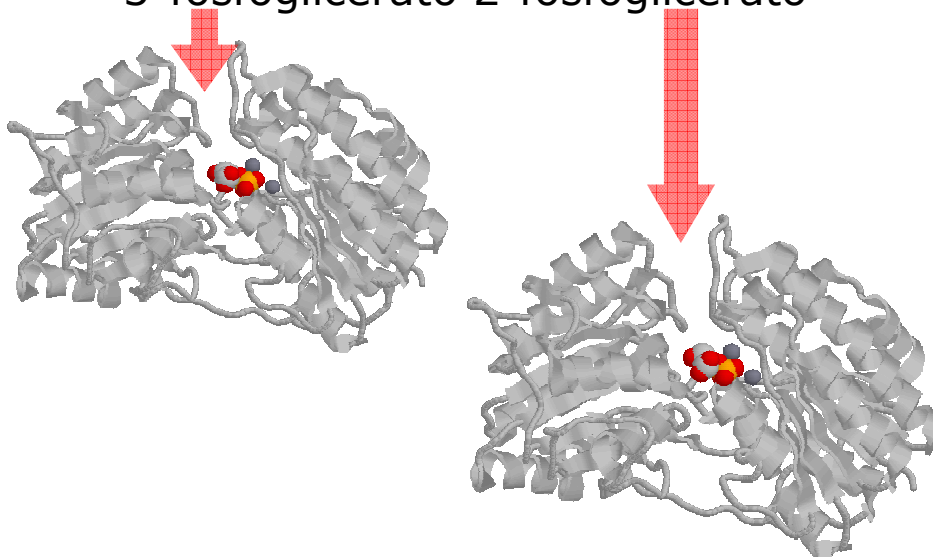


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

75

## 3-fosfoglicerato 2-fosfoglicerato

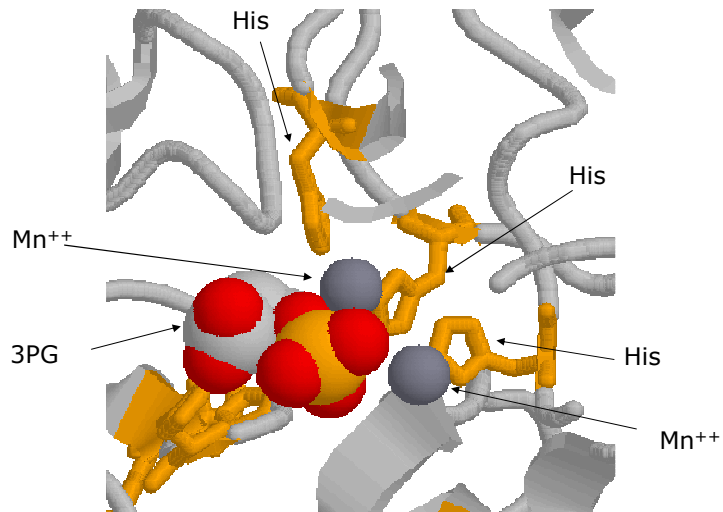


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

76

## Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1

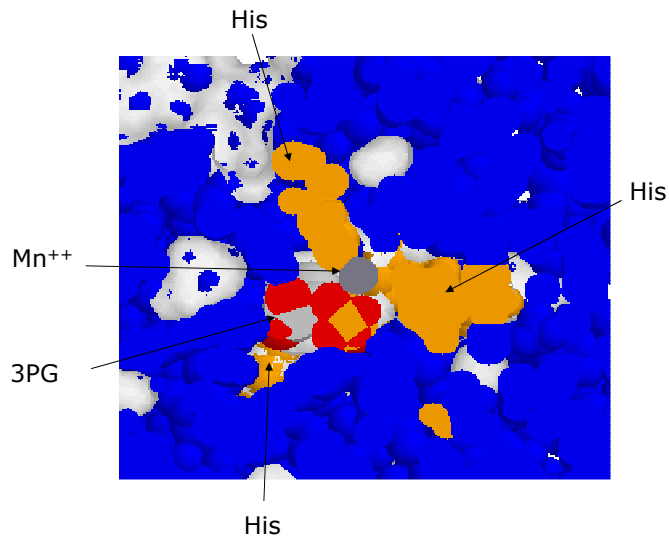


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

77

## Fosfoglicerato mutasi EC 5.4.2.1



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

78

## Enolasi EC 4.2.1.11

*Da 2PG a PEP*

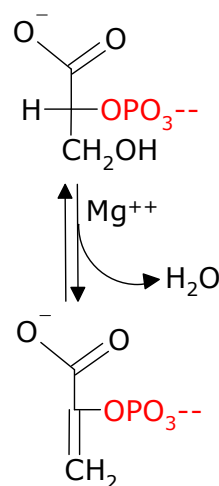
- Il  $\Delta G$  globale è 1.8 kJ/mol
- Il contenuto in energia di 2PG e PEP è simile.
- L'enolasi riarrangia la molecola in modo tale che possa fornire più energia nell'idrolisi.

## Enolasi EC 4.2.1.11

2-fosfoglicerato  
2PG

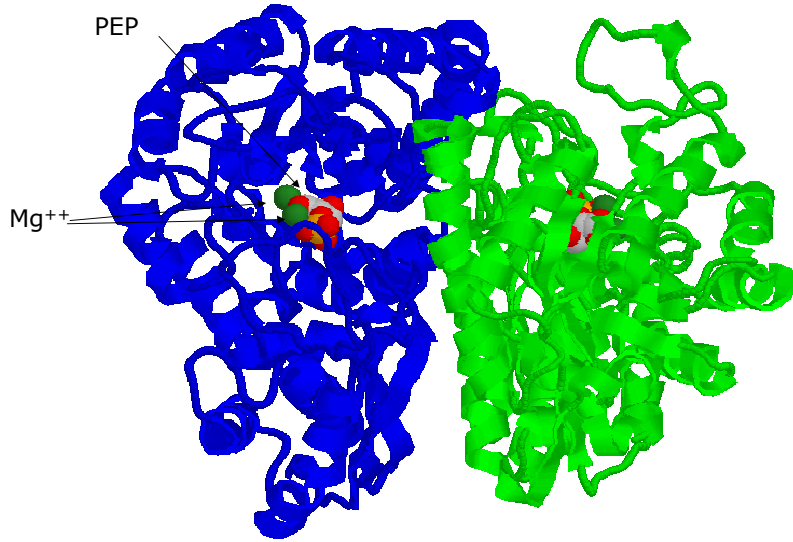
$\Delta G^{\circ} = +1.8 \text{ kJ mol}^{-1}$

Fosfoenolpiruvato  
PEP





# Enolasi EC 4.2.1.11

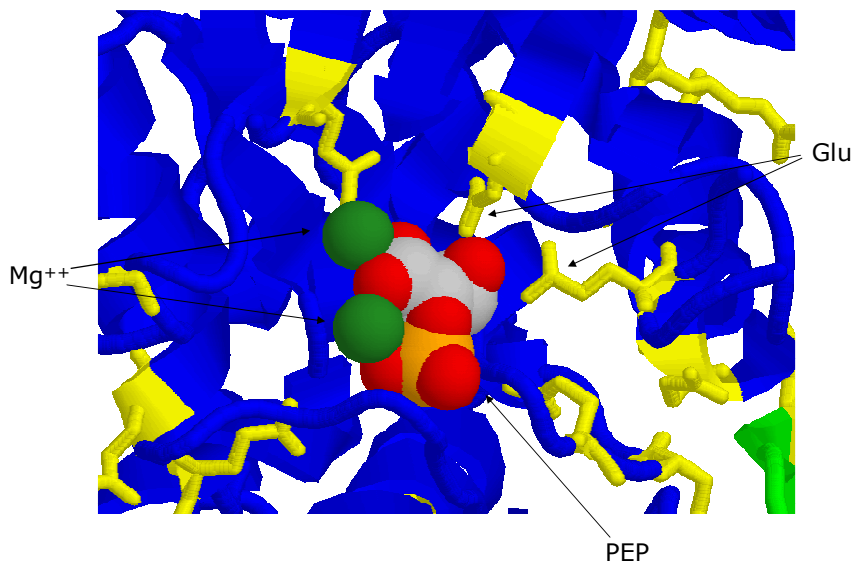


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

81

# Enolasi EC 4.2.1.11



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

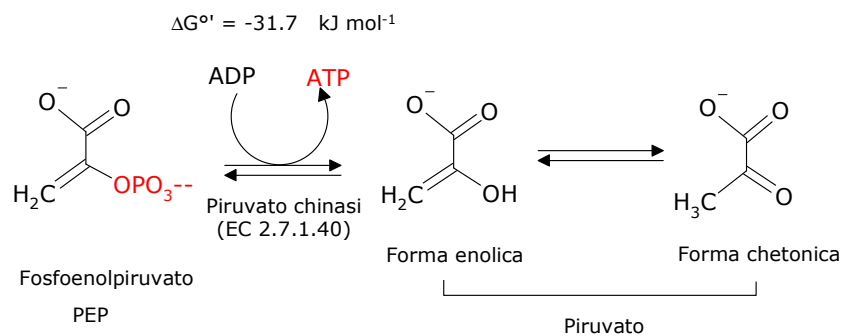
82

## Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

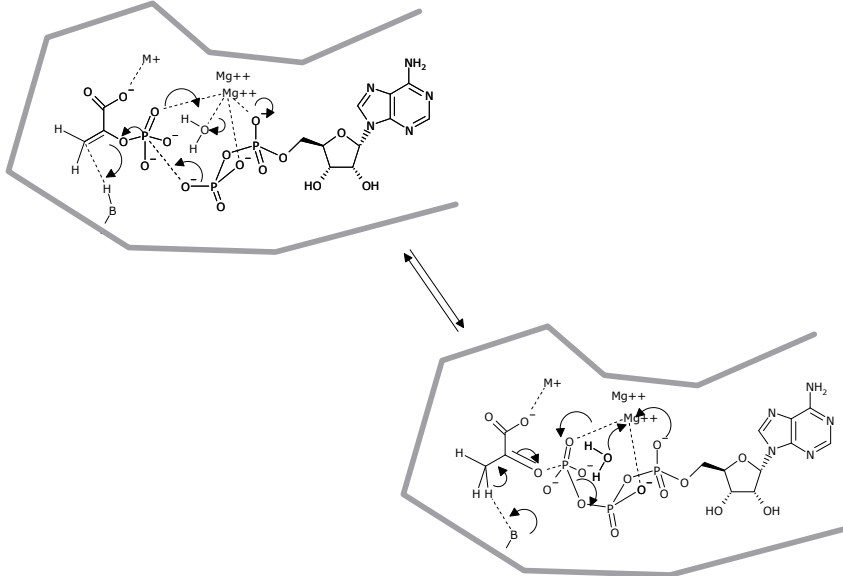
*Da PEP a piruvato viene prodotto ATP*

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

## Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40



## Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

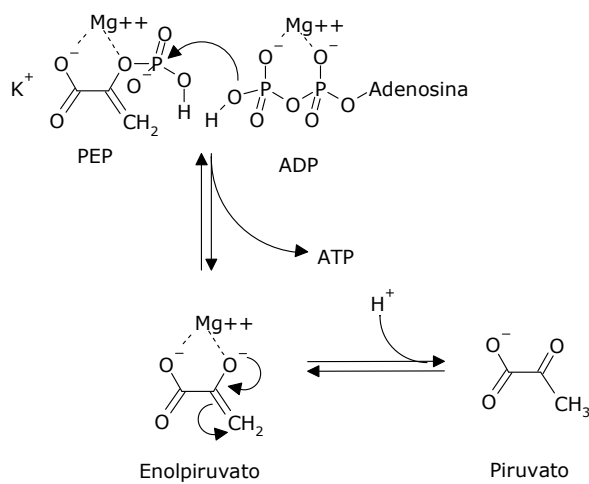


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

85

## Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

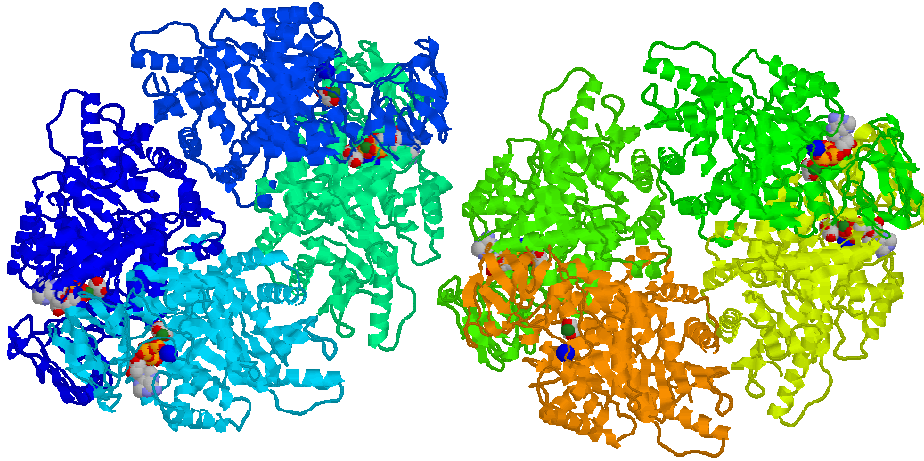


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

86

## Piruvato Chinasi EC 2.7.1.40

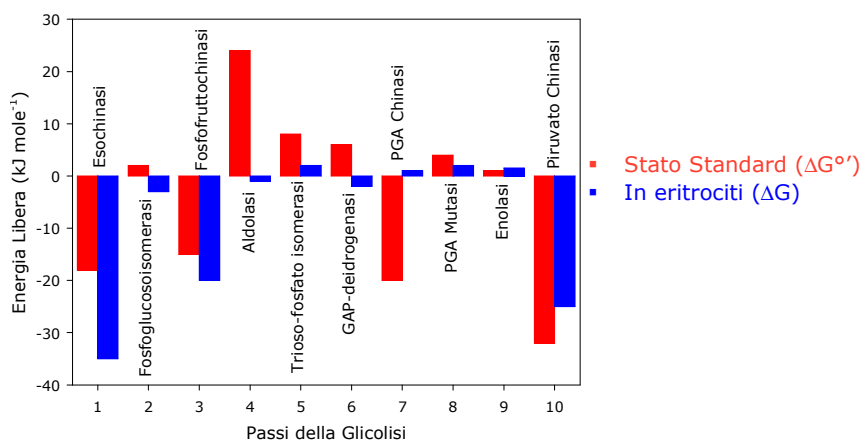


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

87

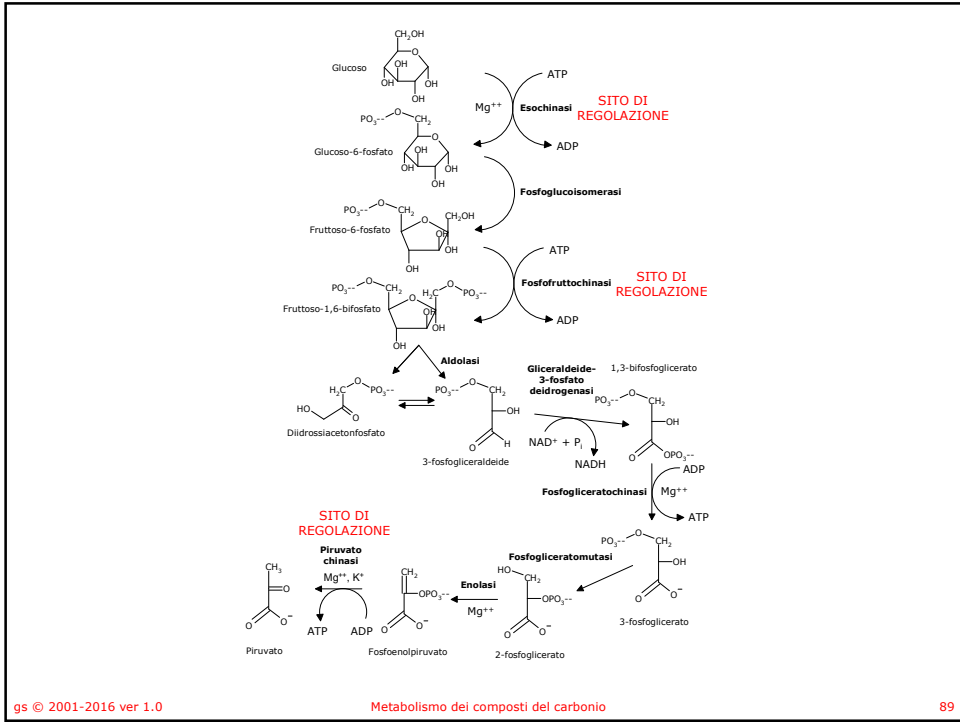
## Energia



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

88




  
**Ossigeno**
  
 Aerobiosi e **anaerobiosi**

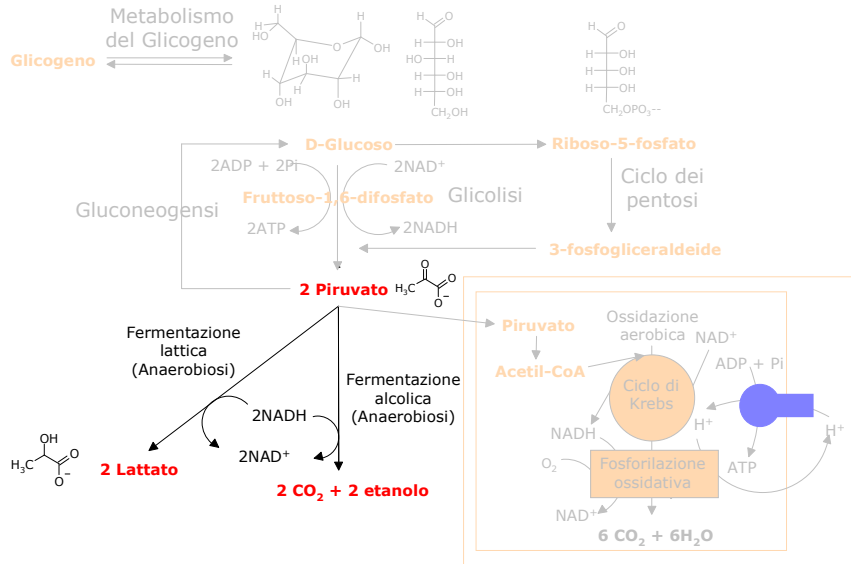
## Destino del piruvato

- 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<sup>+</sup> per continuare la glicolisi

## Destino del piruvato

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

## Schema generale del metabolismo dei glucidi



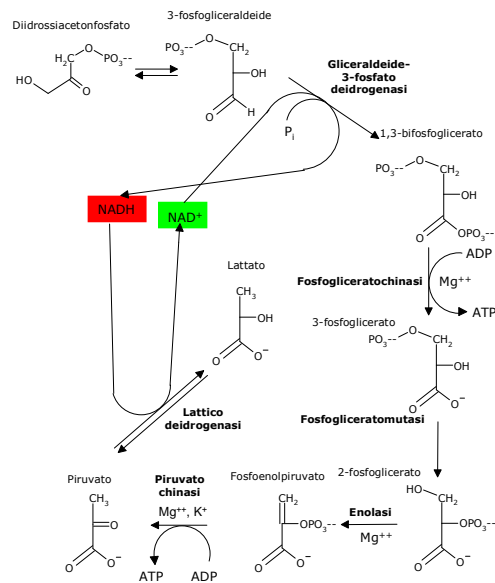
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

93

## Anaerobiosi

Nel muscolo

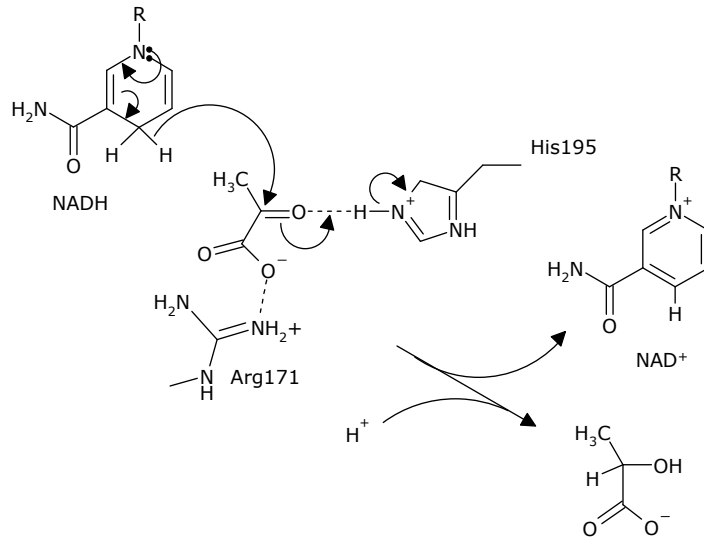


gs © 2001-2016 ver 1.0

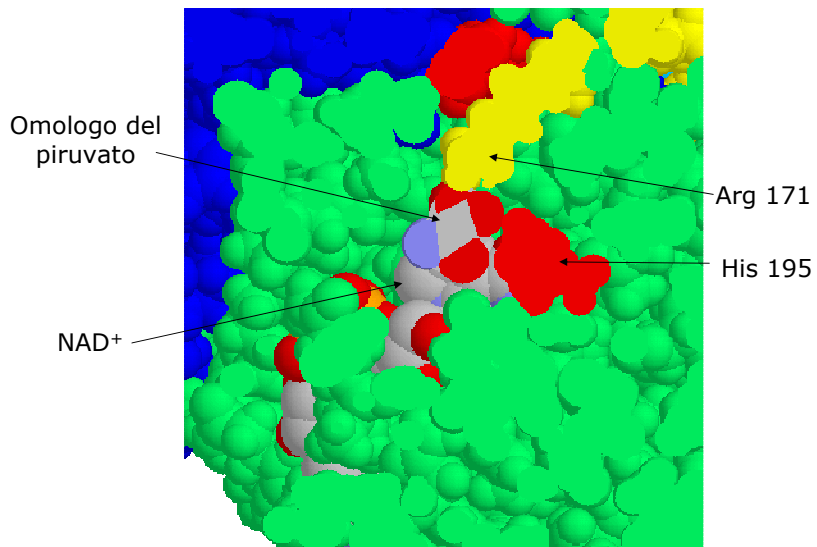
Metabolismo dei composti del carbonio

94

### Lattico deidrogenasi EC 1.1.1.27



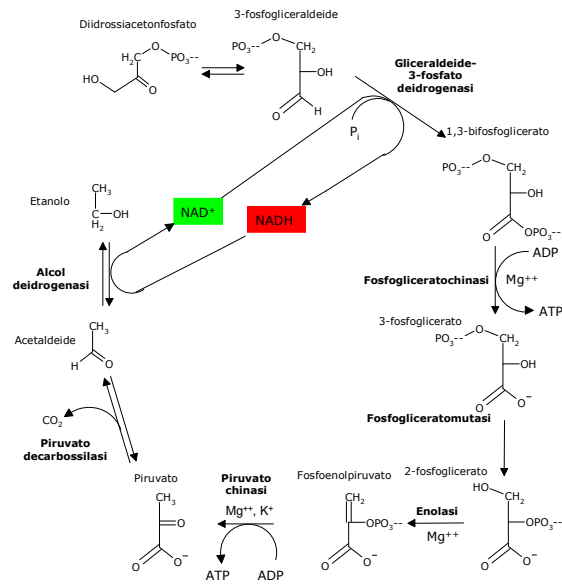
### Lattico deidrogenasi EC 1.1.1.27





## Anaerobiosi

Nel lievito



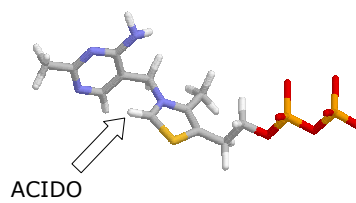
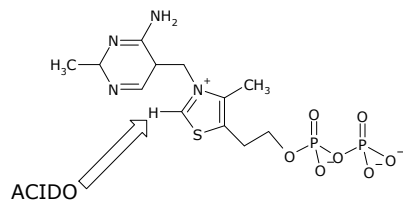
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

97

## Piruvato decarbossilasi EC 4.1.1.1

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

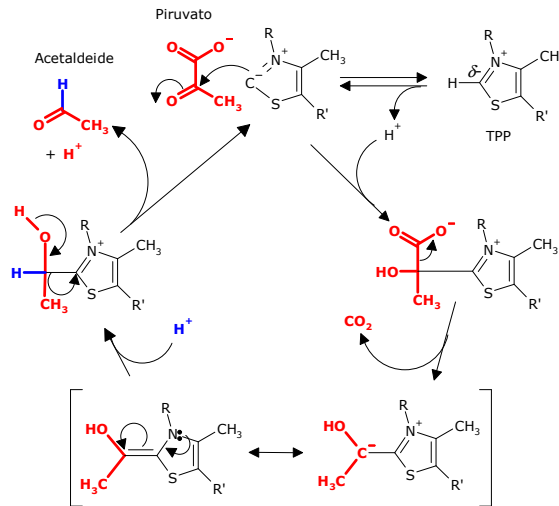


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

98

### Piruvato decarbossilasi EC 4.1.1.1

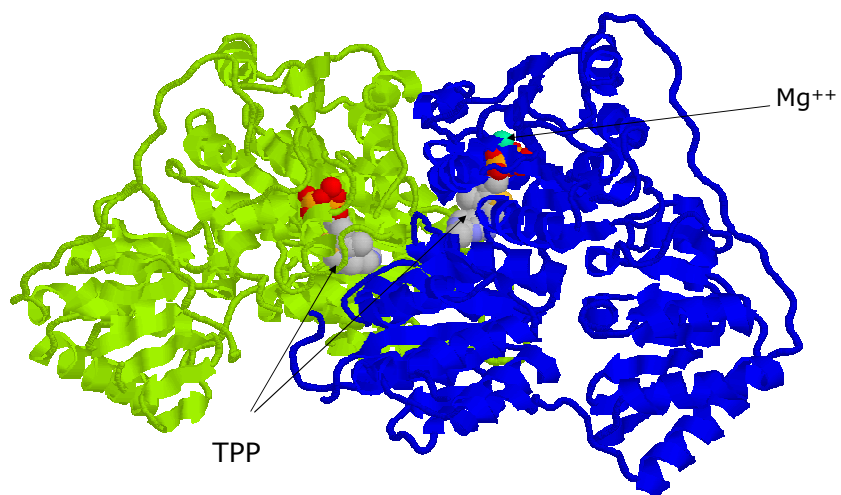


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

99

### Piruvato decarbossilasi EC 4.1.1.1



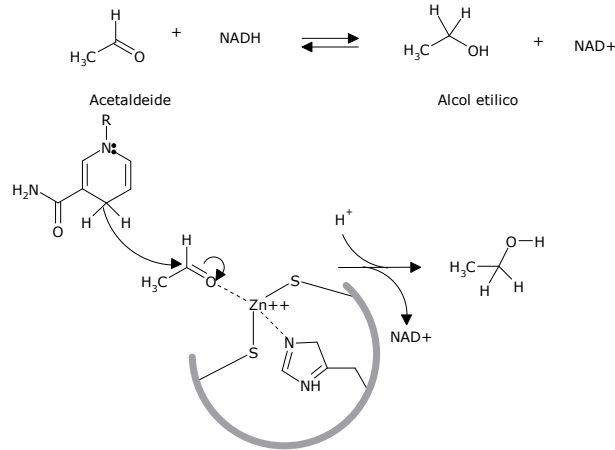
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

100

## Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1

- Catalizza la reazione di ossidoriduzione:

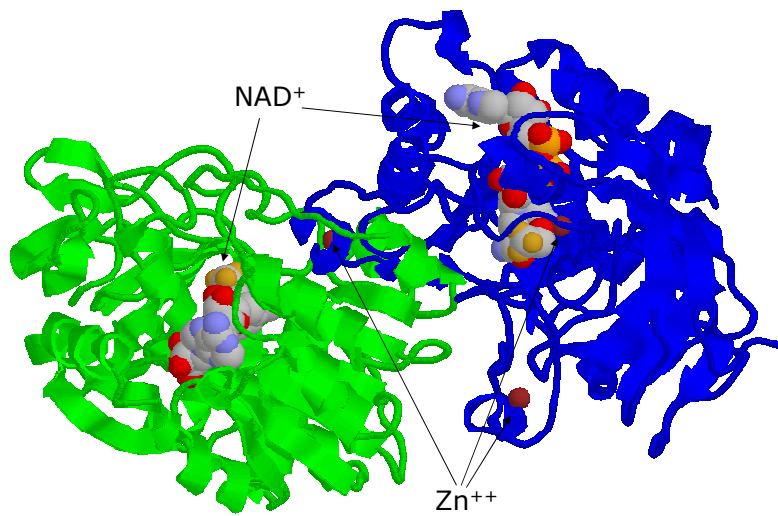


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

101

## Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1

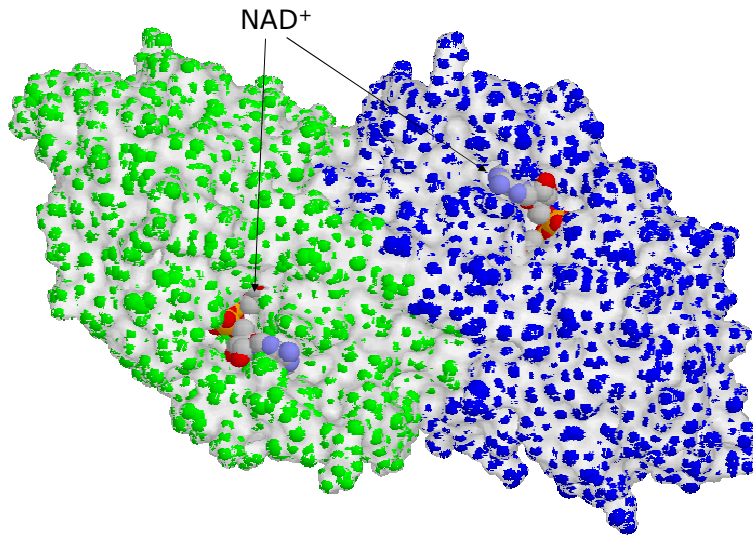


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

102

# Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1

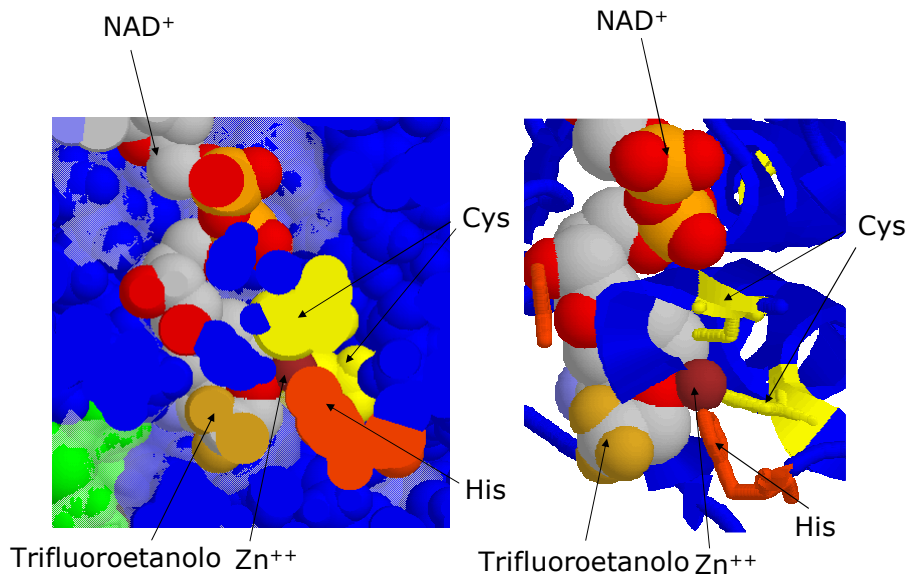


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

103

# Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1

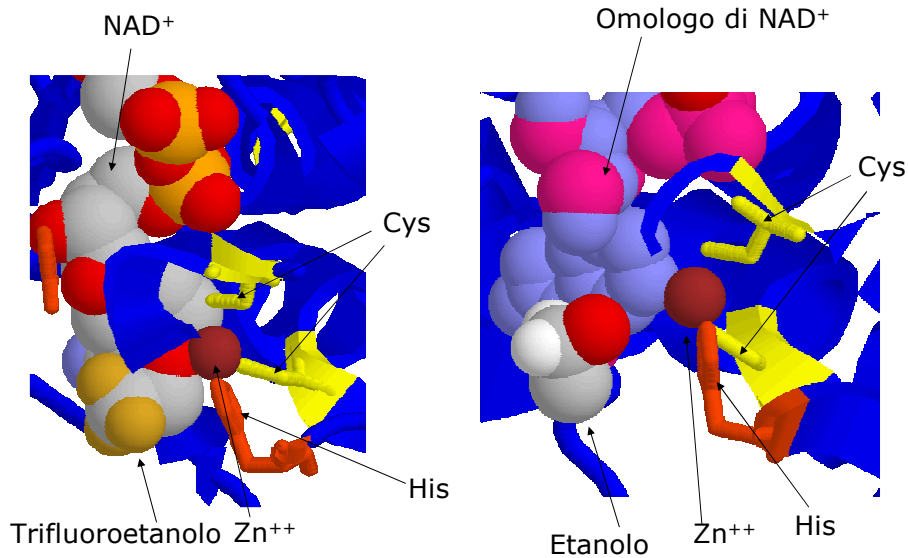


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

104

## Alcool deidrogenasi EC 1.1.1.1



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

105

## Energetica della Glicolisi

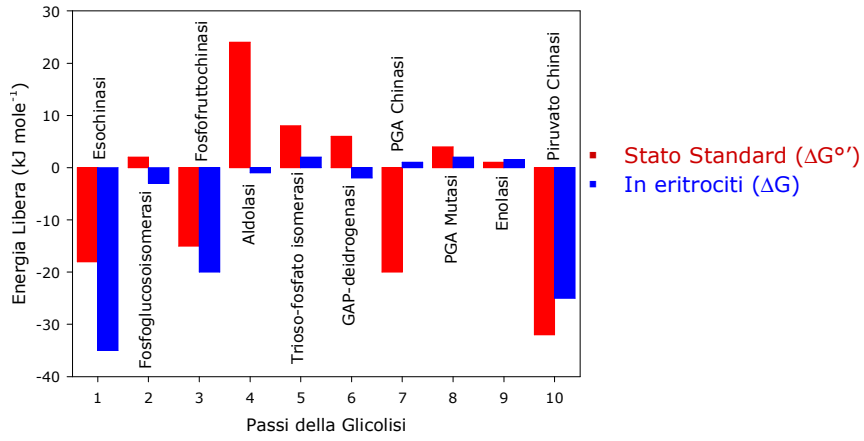
- I valori di  $\Delta G^{\circ'}$  sono variabili (positivi e negativi)
  - $\Delta G$  nelle cellule ha valori vicini a zero
  - Solo tre reazioni su dieci hanno valori di  $\Delta G$  negativo e grande.
- Le reazioni i cui valori di  $\Delta G$  sono grandi e negativi sono punti di regolazione.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

106

## Energia

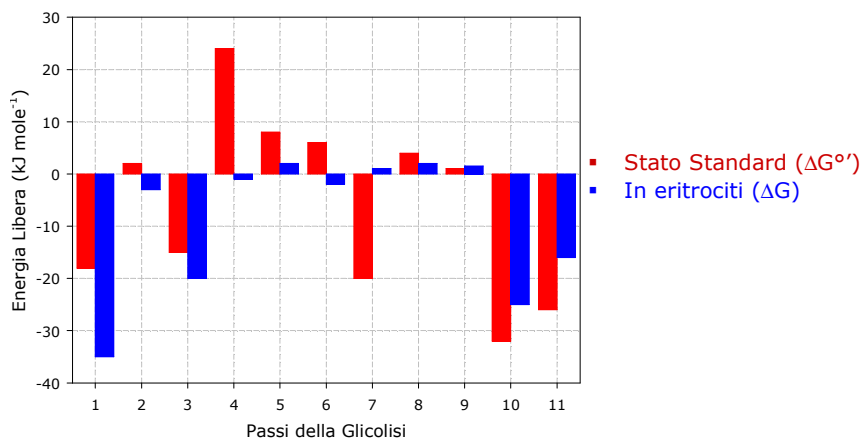


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

107

## Energia



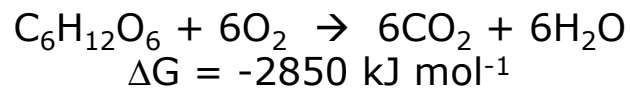
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

108

## 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.

## 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.

## Gluconeogenesi

- Sintesi di glucoso da piruvato
- La gluconeogenesi avviene principalmente nel fegato.
- La sintesi di glucoso da piruvato utilizza alcuni enzimi della glicolisi.
- Tre reazioni glicolitiche hanno un valore di  $\Delta G$  talmente negativo e grande che le reazioni sono irreversibili:
  - Esochinasi
  - Fosfofruttochinasi
  - Piruvato chinasi

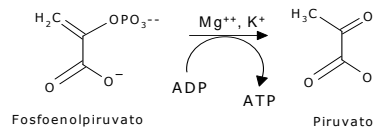
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

111

## Bypass della piruvato chinasi

- La piruvato chinasi della glicolisi catalizza la reazione:



- L'idrolisi del PEP ha un valore di  $\Delta G$  (negativo) maggiore dell'ATP.
- Il  $\Delta G$  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).

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

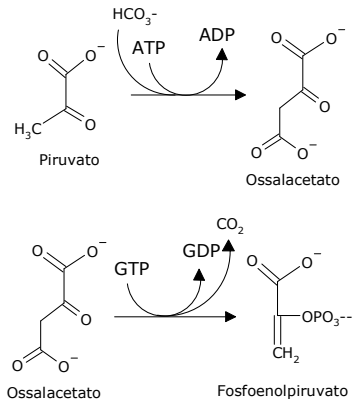
112



## Bypass della piruvato chinasi

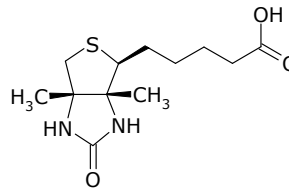
- Per bypassare la piruvato chinasi occorrono due reazioni:

- Carbossilazione del piruvato, catalizzata da piruvato carbossilasi (EC 6.4.1.1):
- Fosforilazione e decarbossilazione (spontanea) dell'ossalacetato a PEP catalizzata dalla PEP carbossichinasi (EC 4.1.1.32):

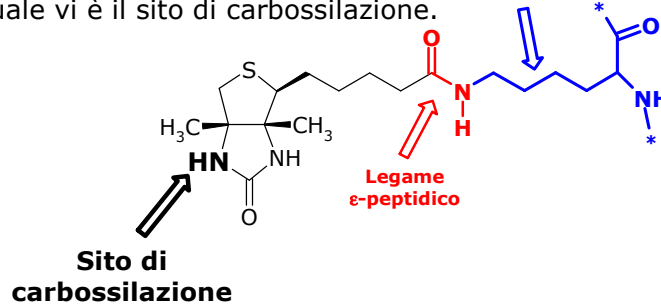


## Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- È un enzima a biotina

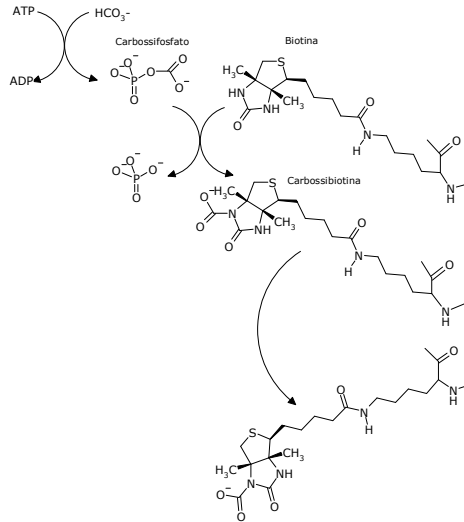


- La biotina si lega ad una lisina nel sito attivo dell'enzima formando un lungo braccio flessibile ad **Lisina** estremità del quale vi è il sito di carbossilazione.



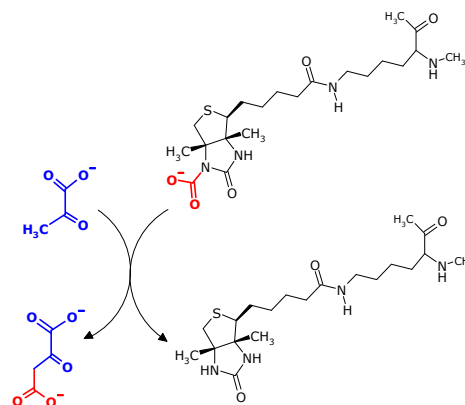
## Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

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



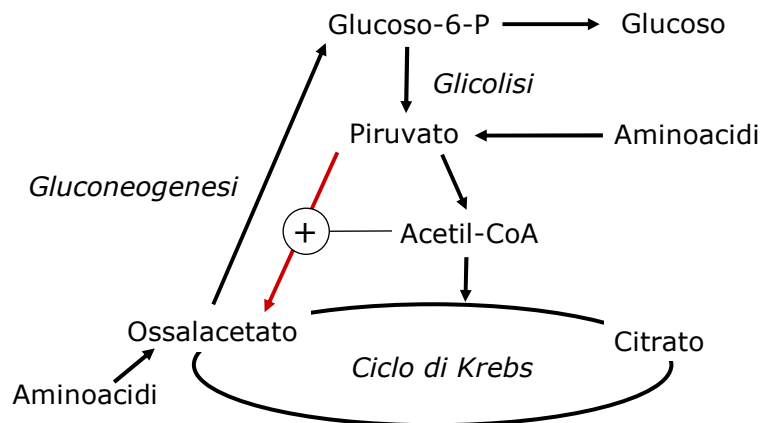
## Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

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



## Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- Regola il destino del piruvato



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

117

## Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- 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.

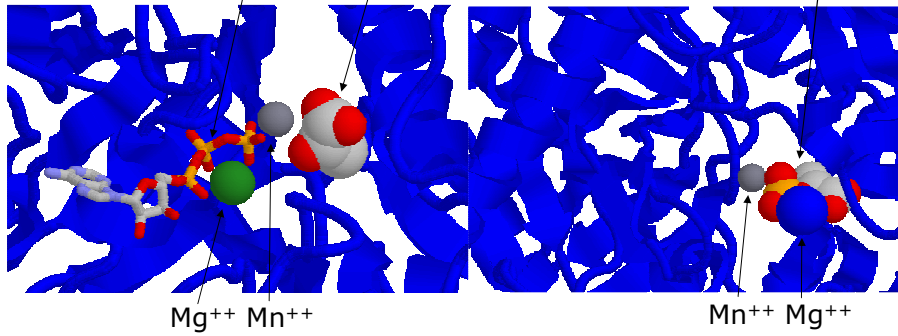
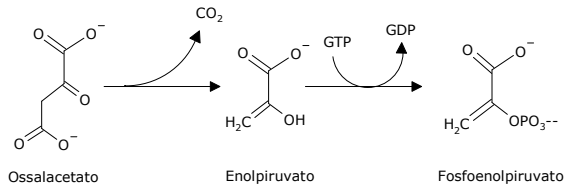
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

118

## Piruvato carbossichinasi

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



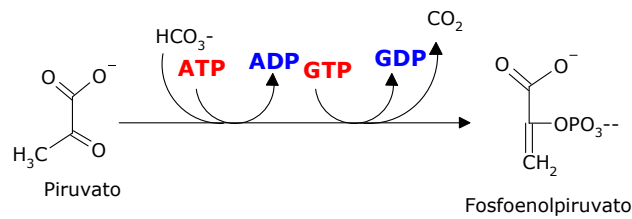
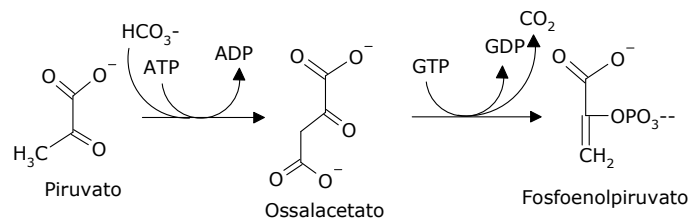
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

119

## Bypass della piruvato chinasi

- Globalmente

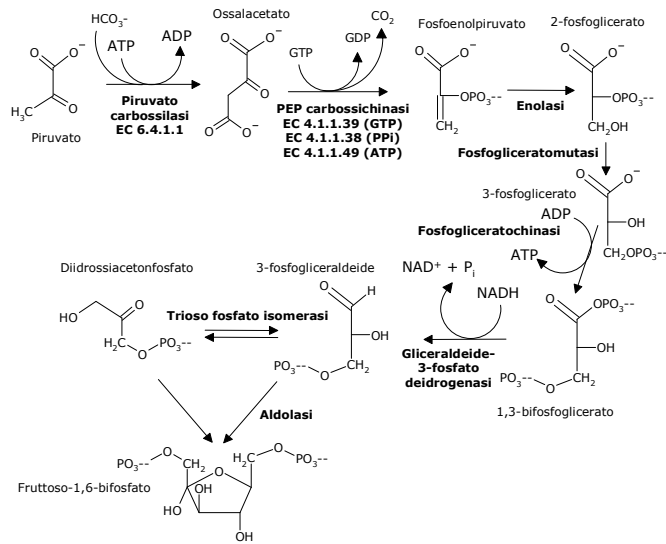


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

120

# Gluconeogenesi



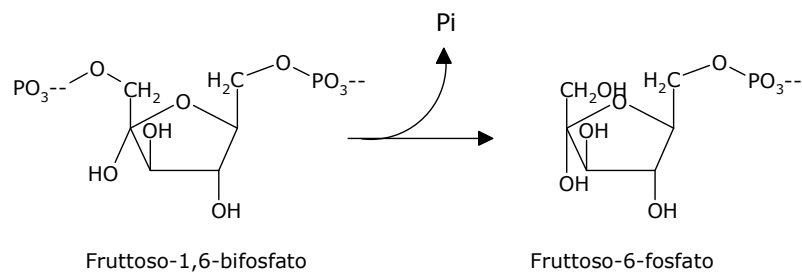
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

121

## Fruttosio-1,6-bisfosfatasi EC 3.1.3.11

- Catalizza la reazione inversa della fosfofruttochinasi:



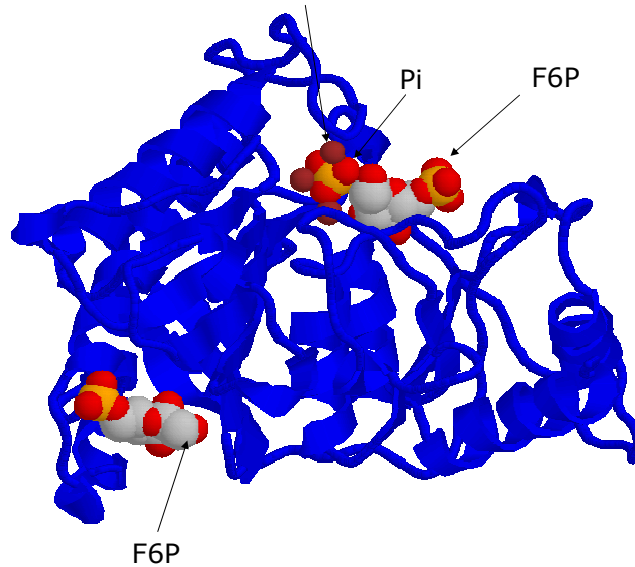
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

122

### Fruttosio-1,6-bisfosfatasi EC 3.1.3.11

Zn<sup>++</sup> (Mg<sup>++</sup>)



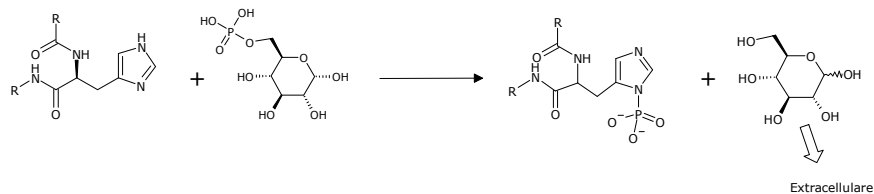
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

123

### Glucosio-6-fosfatasi EC 3.1.3.9

- Catalizza la reazione inversa della esochinasi attraverso una fosfoistidina.



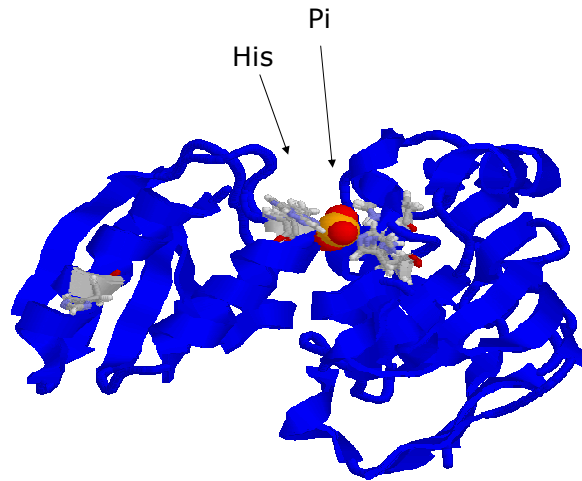
- È un enzima della membrana del reticolo endoplasmatico con funzione di traslocasi per la secrezione extracellulare del glucosio.
- È ancorato alla membrana da nove eliche transmembrana e secerne nel lume del reticolo.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

124

## Glucoso-6-fosfatasi EC 3.1.3.9

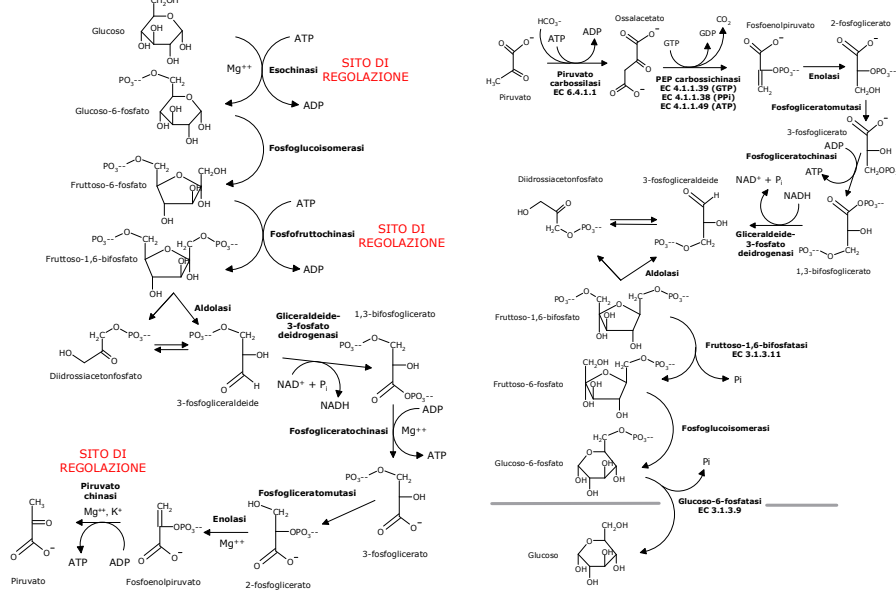


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

125

## Glicolisi e Gluconeogenesi

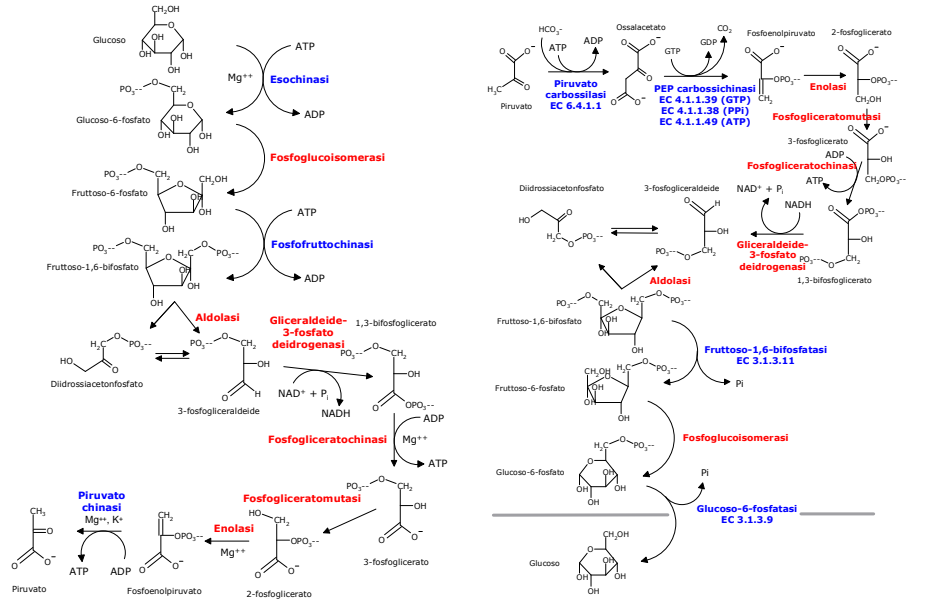


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

126

# Glicolisi e Gluconeogenesi

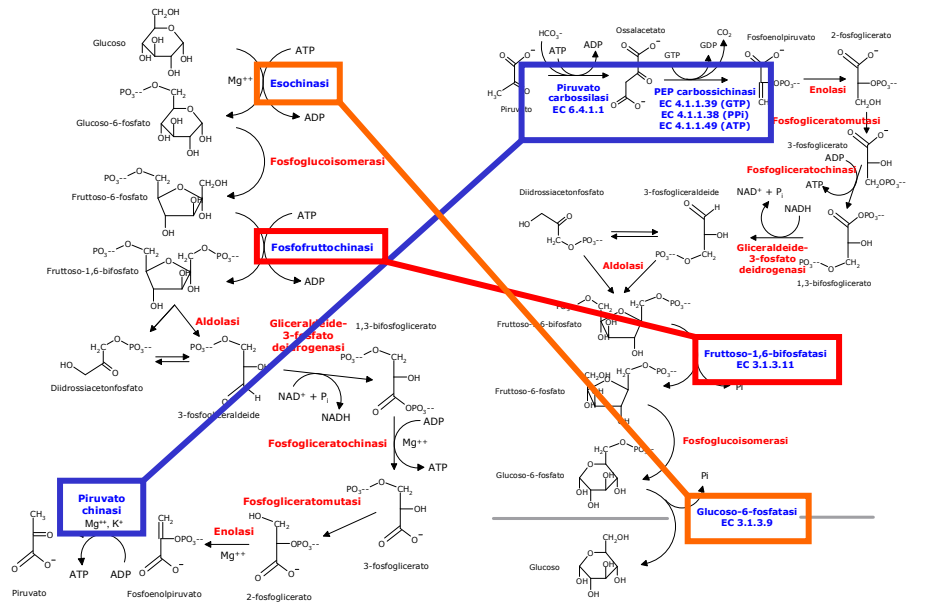


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

127

# Glicolisi e Gluconeogenesi



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

128



## Glicolisi e gluconeogenesi

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

## Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Locale

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

## Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

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

## Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

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

## Glicolisi e gluconeogenesi: Controllo Globale

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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

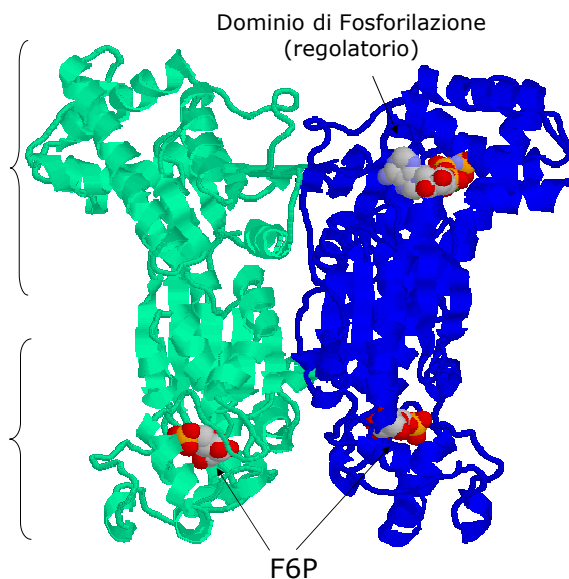
133

## Enzima tandem

- Omodimero
- Due domini catalitici:

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

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



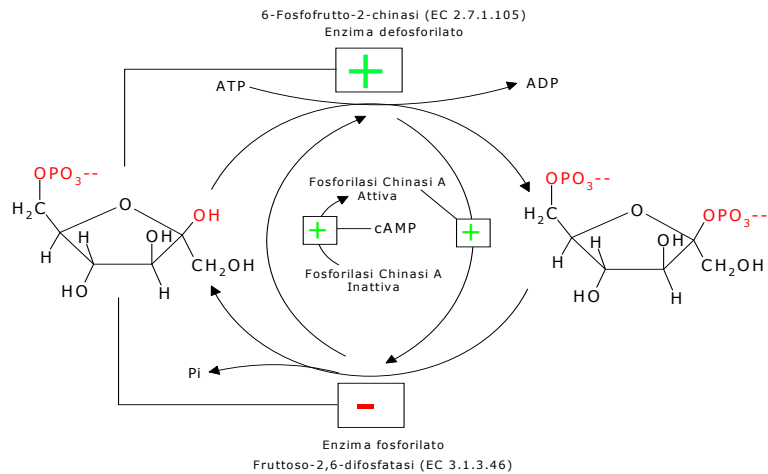
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

134

## Enzima tandem

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



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

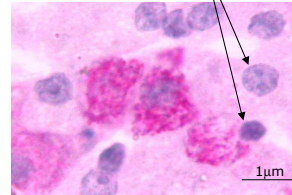
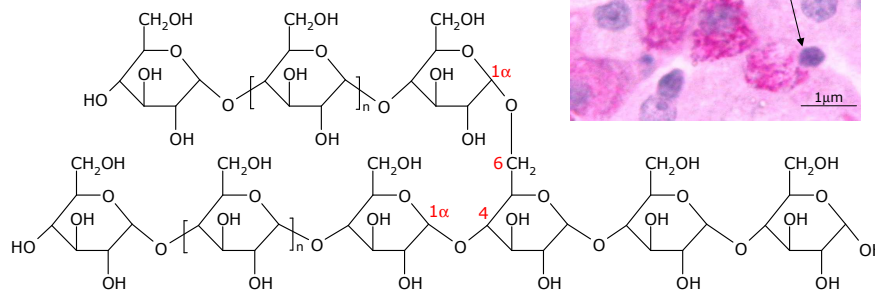
135

## Metabolismo del Glicogeno

Glicogenolisi e glicogenosintesi

## Glicogeno (Amido)

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



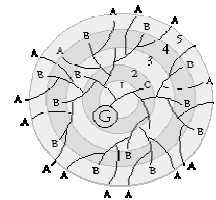
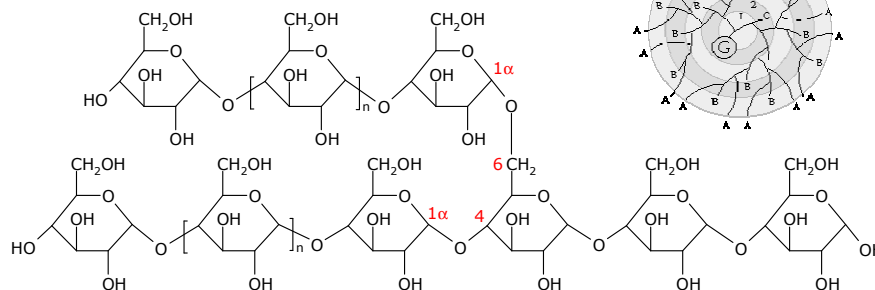
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

137

## Glicogeno (Amido)

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



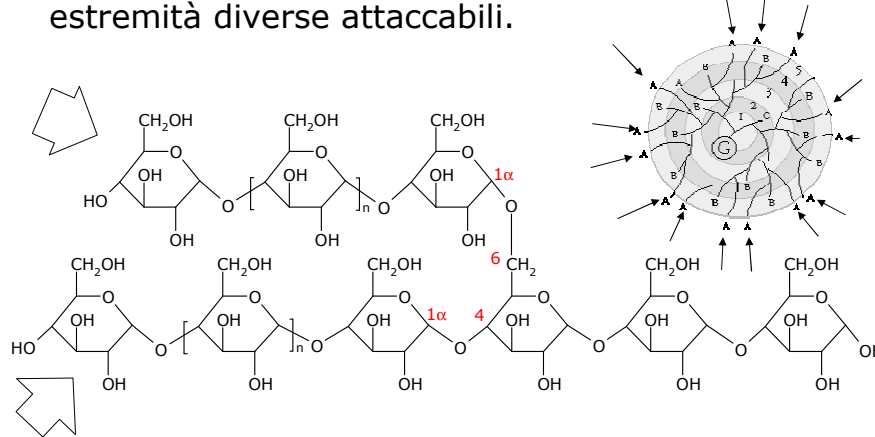
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

138

## Glicogeno (Amido)

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



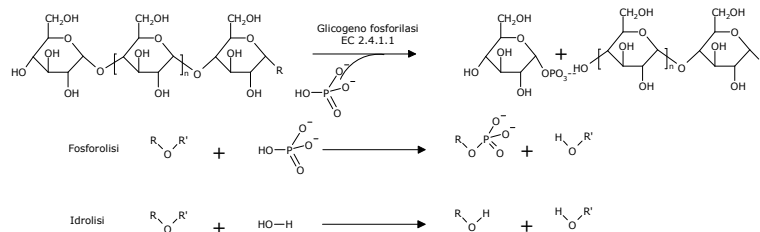
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

139

## Catabolismo del glicogeno

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



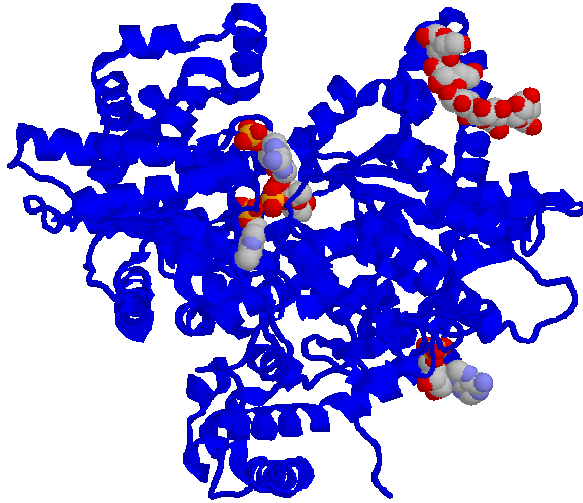
- Date le dimensioni del sito l'enzima riesce a tagliare il legame  $1\alpha \rightarrow 4$  fino a quattro residui dal legame  $1\alpha \rightarrow 6$ .

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

140

## Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

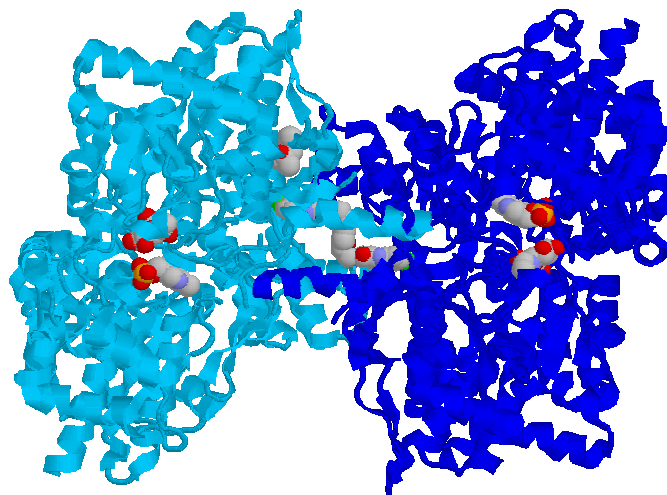


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

141

## Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

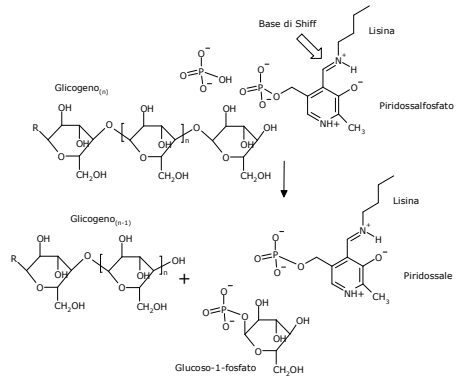
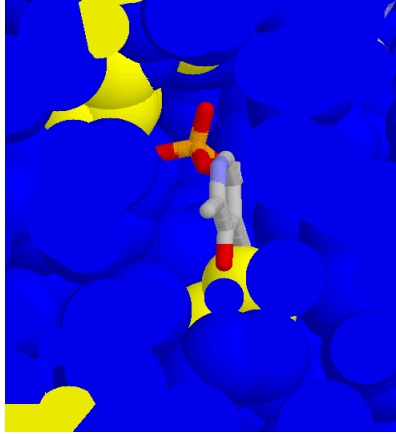


gs © 2001-2016 ver 1.0

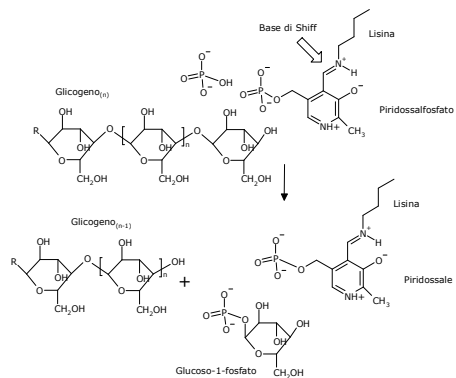
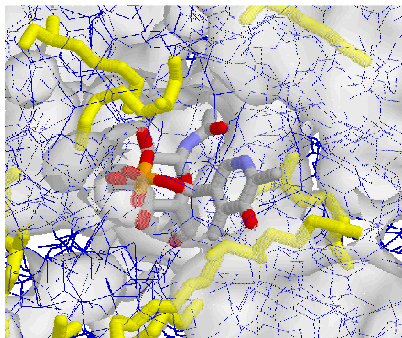
Metabolismo dei composti del carbonio

142

# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



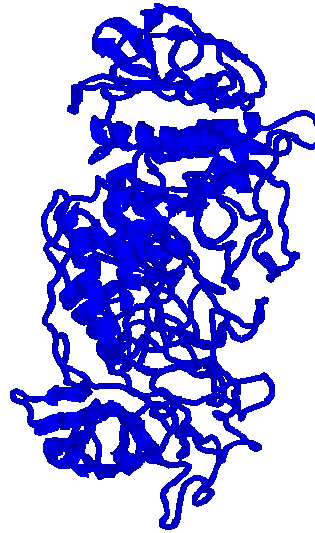
# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1





## Enzima deramificante EC 3.2.1.68

- Poiché la glicogeno fosforilasi non riesce a scindere tutti i legami  $1\alpha\rightarrow4$  e  $1\alpha\rightarrow6$  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  $1\alpha\rightarrow6$  viene idrolizzato dalla funzione deramificante con produzione di glucosio.

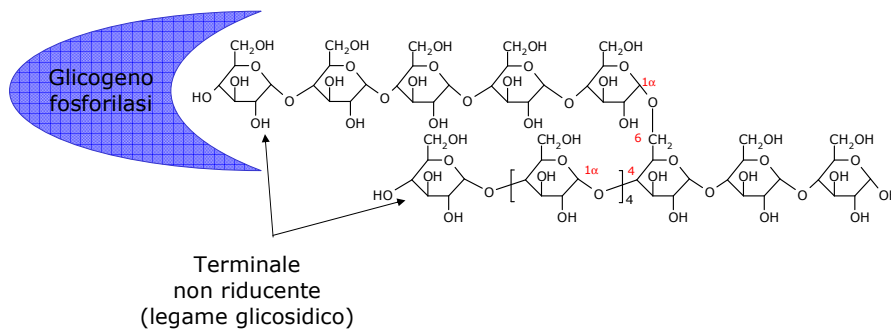


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

145

## Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

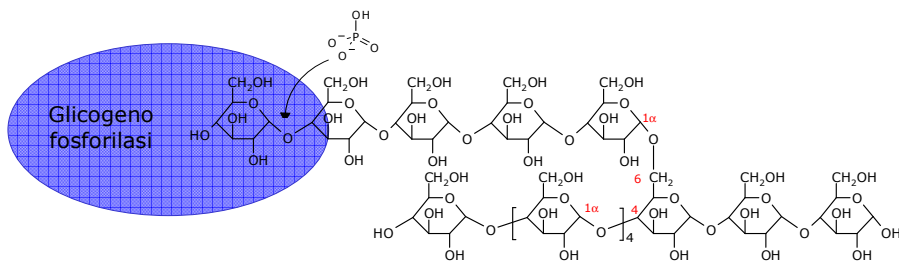


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

146

# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

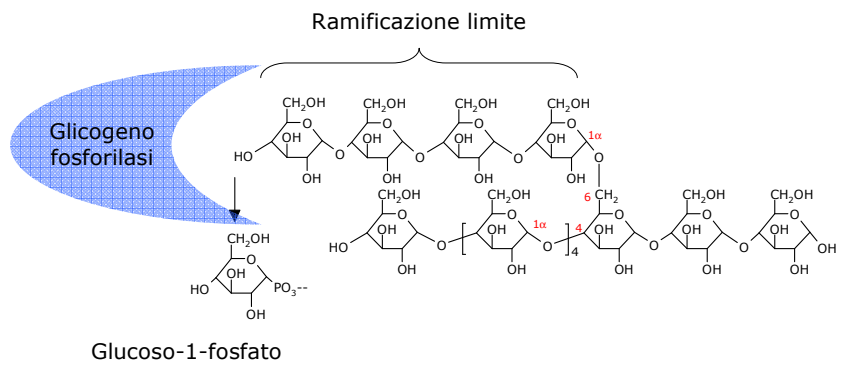


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

147

# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

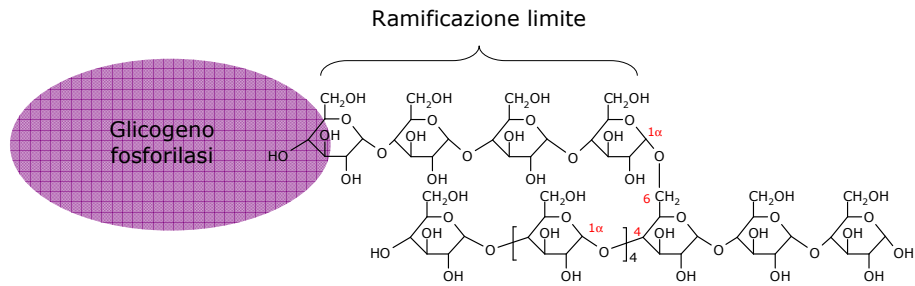


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

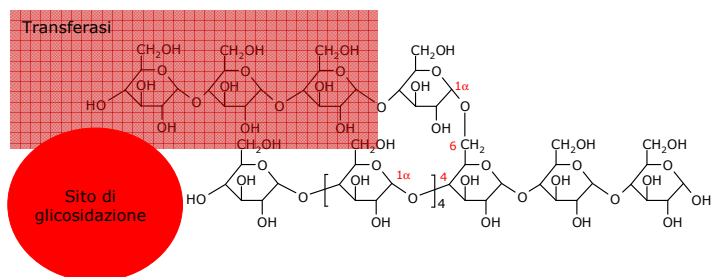
148

# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



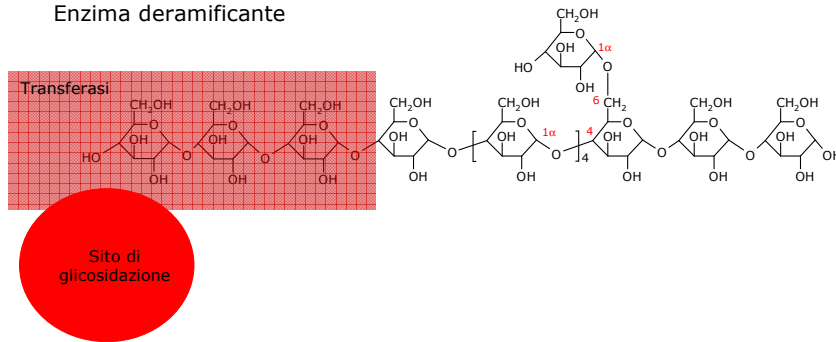
# Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante



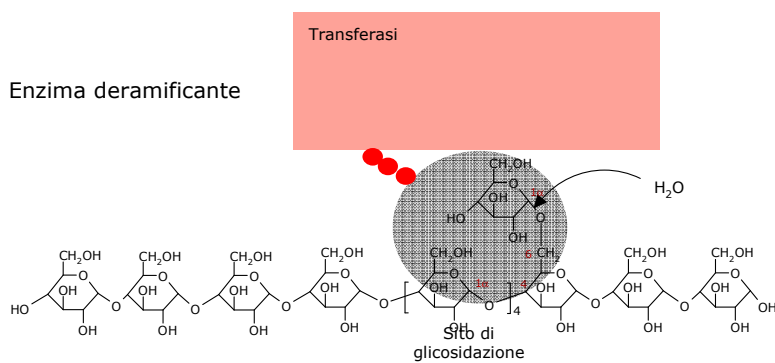
# Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante

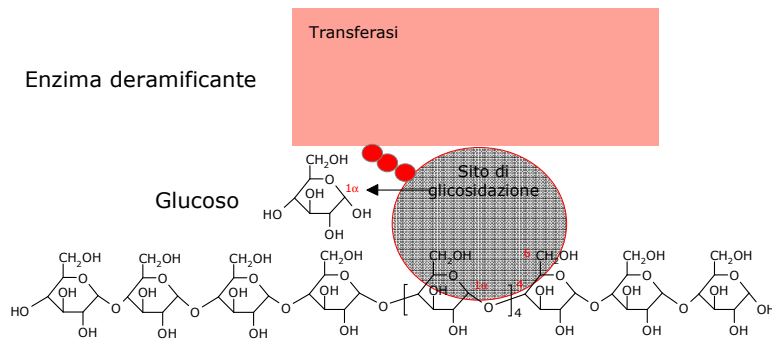


# Enzima deramificante EC 3.2.1.68

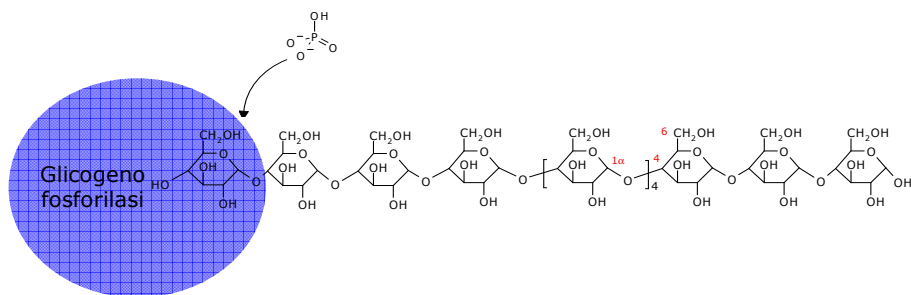
Enzima deramificante



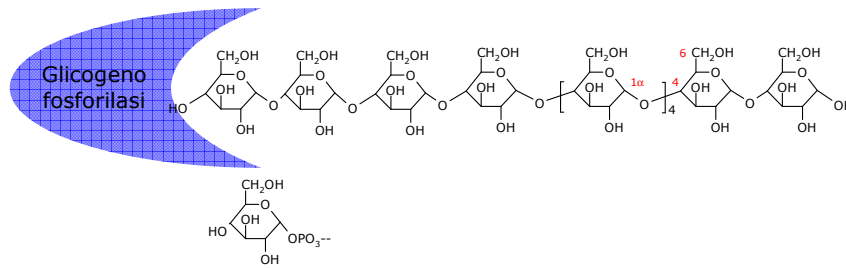
## Enzima deramificante EC 3.2.1.68



## Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

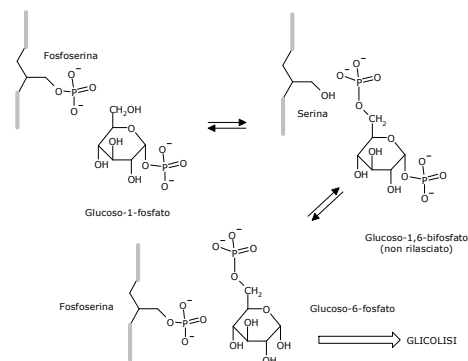


# Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1

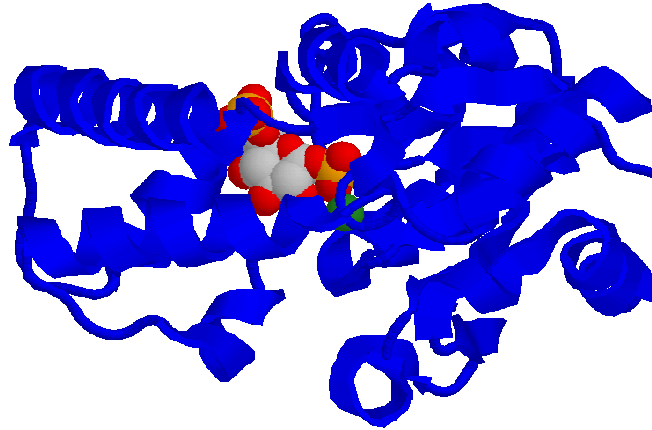


# Glucoso-1-fosfato

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



### Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2



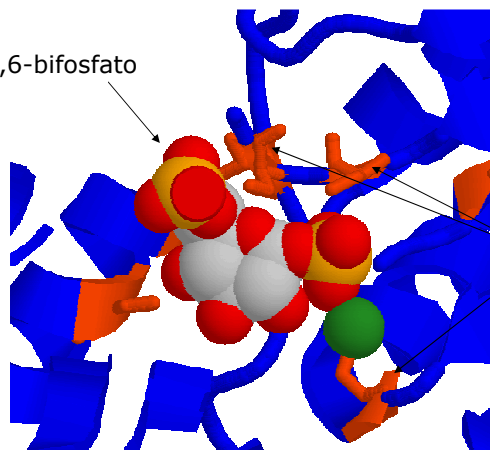
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

157

### Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2

Glucoso-1,6-bifosfato



Ser

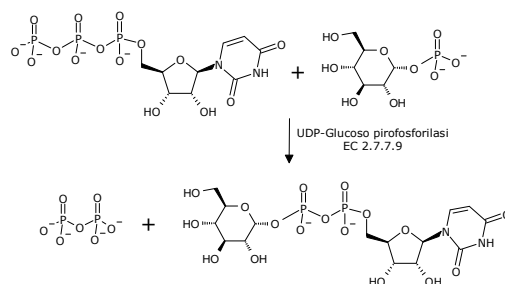
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

158

## Glicogenosintesi

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



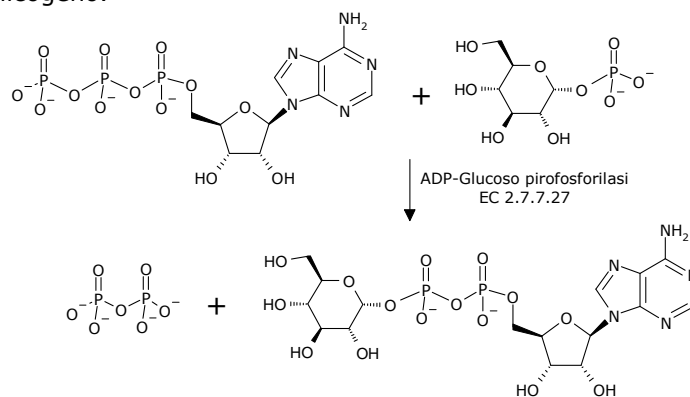
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

159

## Amido

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



gs © 2001-2016 ver 1.0

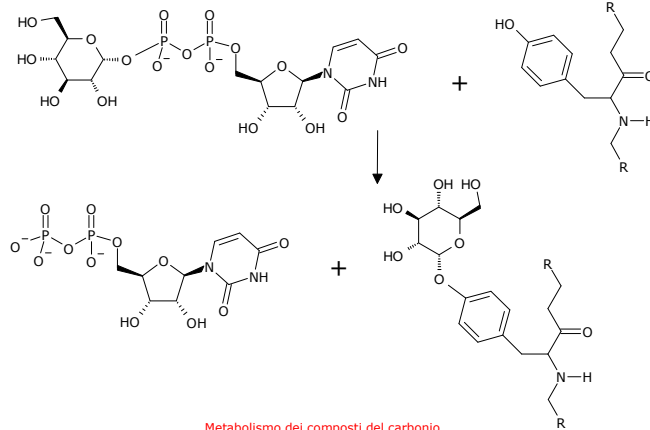
Metabolismo dei composti del carbonio

160



## Glicogenosintesi

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



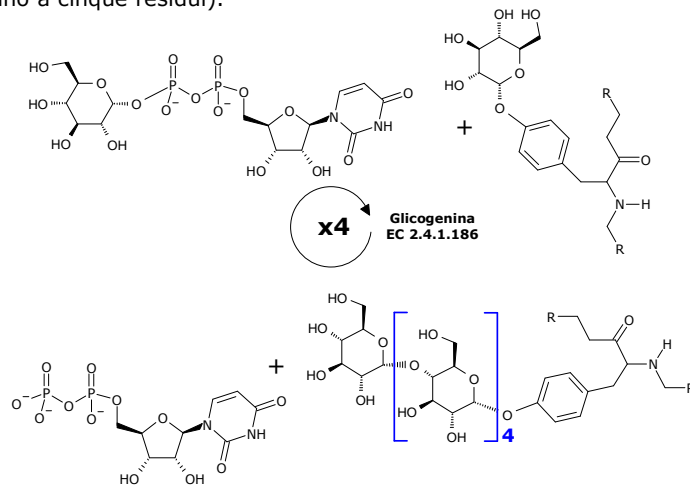
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

161

## Glicogenosintesi

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

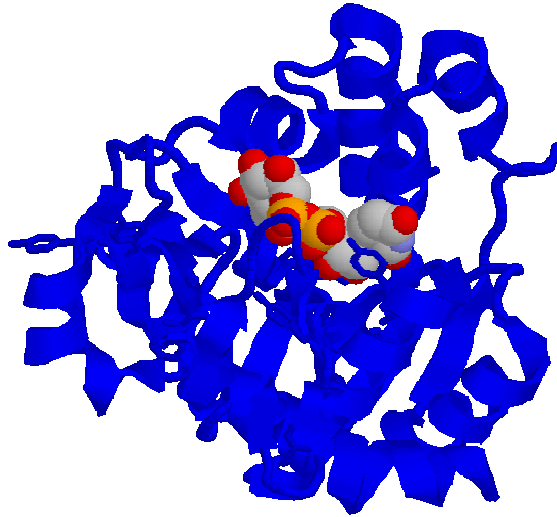


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

162

# Glicogenina EC 2.4.1.186

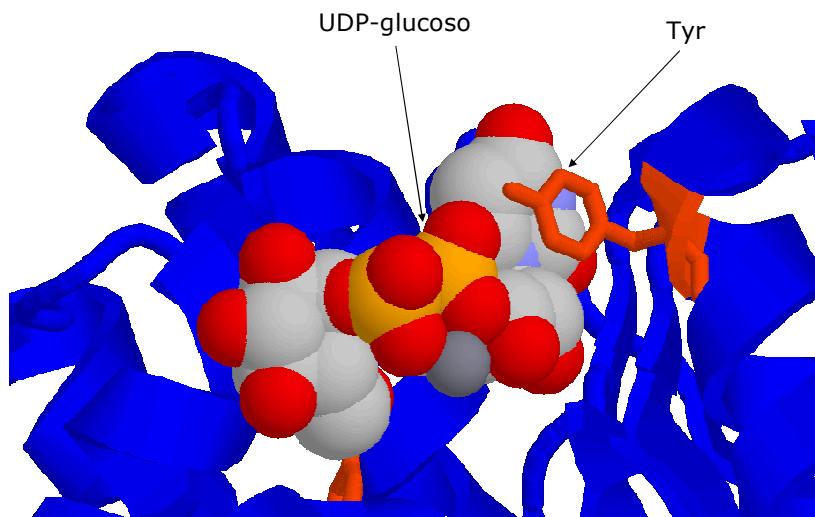


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

163

# Glicogenina EC 2.4.1.186



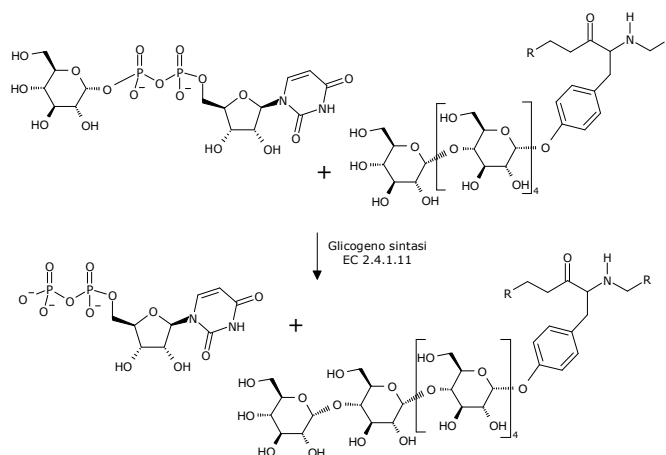
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

164

## Glicogenosintesi

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



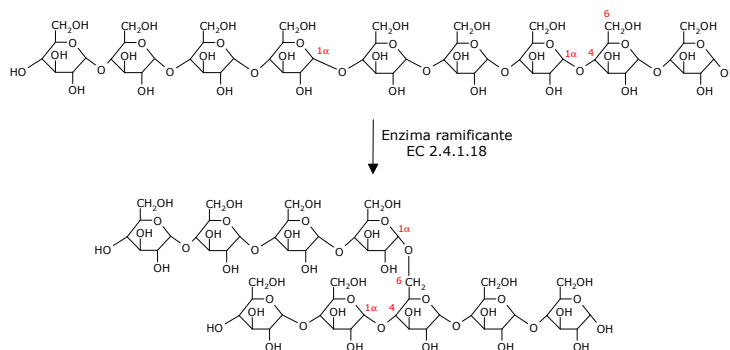
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

165

## Glicogenosintesi

- La ramificazione  $1\alpha \rightarrow 6$  viene catalizzata da un enzima ramificante (EC 2.4.1.18).
- Lo stesso enzima è responsabile della conversione di amilosio in amilopectina e dell'ulteriore ramificazione dell'amilopectina

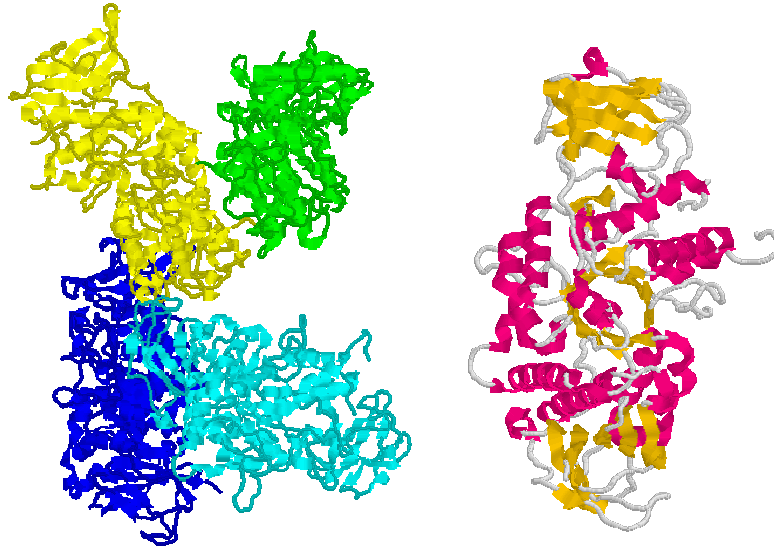


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

166

## Enzima ramificante EC 2.4.1.18



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

167

## Controllo

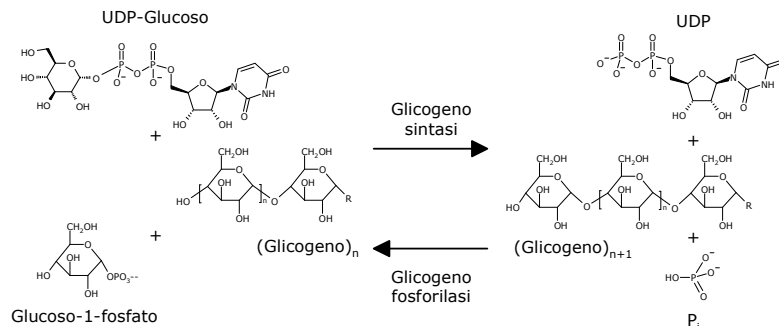
- Il metabolismo dei carboidrati ha ruoli diversi nel muscolo e nel fegato.
  - Nel muscolo: per generare ATP
  - Nel fegato: mantenere il livello ematico di glucosio (produce ed esporta glucosio o importa ed immagazzina glucosio in risposta alla glicemia).
- La sintesi e degradazione del glucosio e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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

168

## Controllo del metabolismo del glicogeno



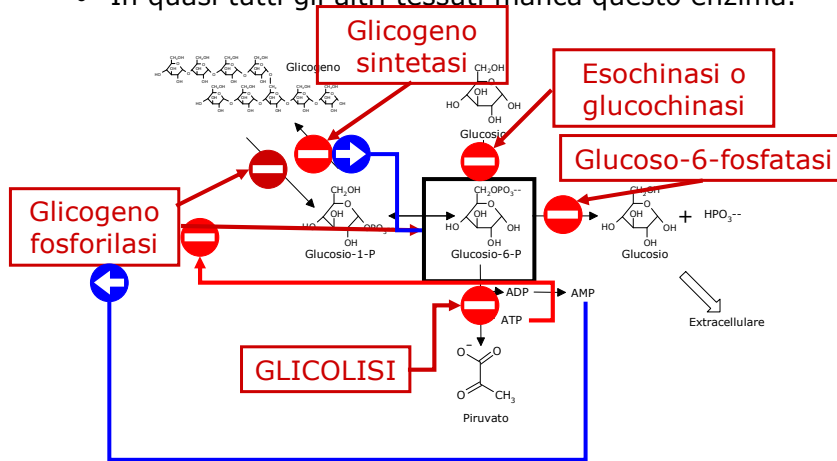
- Sia la sintesi che la scissione del glicogeno sono processi termodinamicamente spontanei, se le due reazioni fossero attive simultaneamente si avrebbe la perdita netta di un legame ad alta energia per ciclo (si forma UDP-Glucoso).
- Per prevenire questa eventualità la glicogeno sintasi e la glicogeno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

## Regolazione allosterica

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

## Regolazione allosterica

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



## 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  $\alpha$  del pancreas e attiva la formazione di cAMP nel fegato.
  - L'adrenalina attiva la formazione di cAMP nel muscolo.

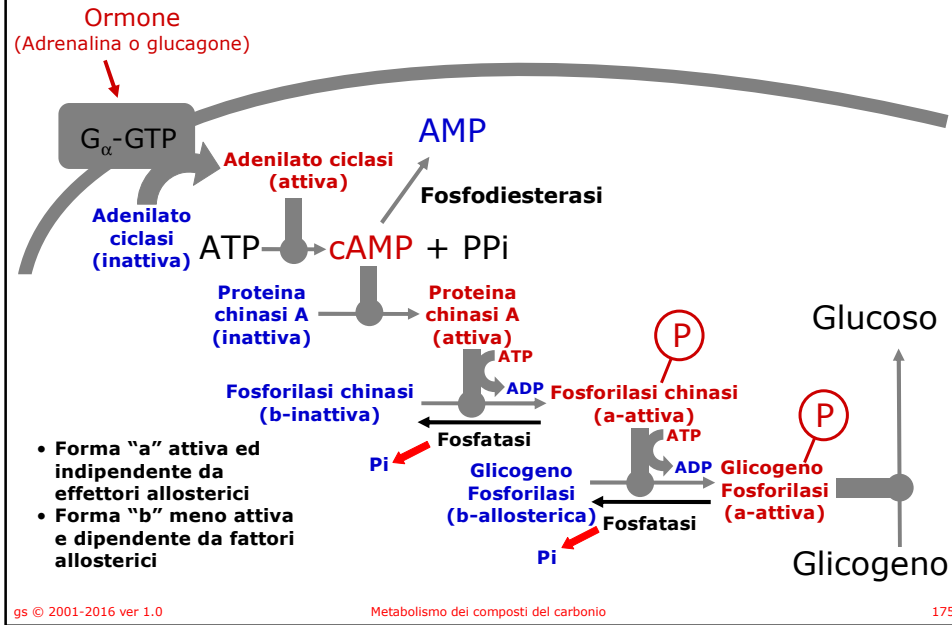
## Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

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

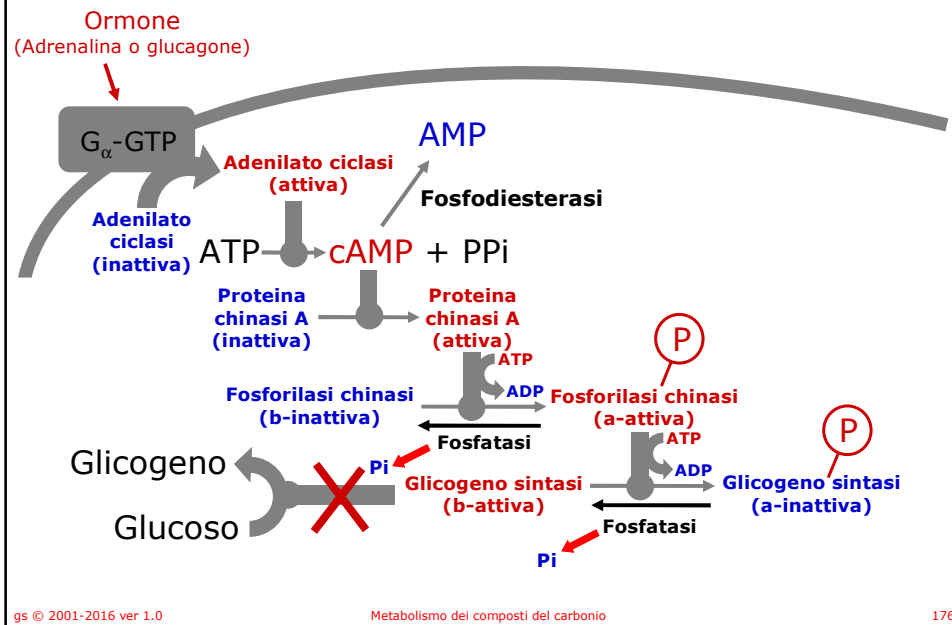
## Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

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

## Cascata di segnali



## Cascata di segnali

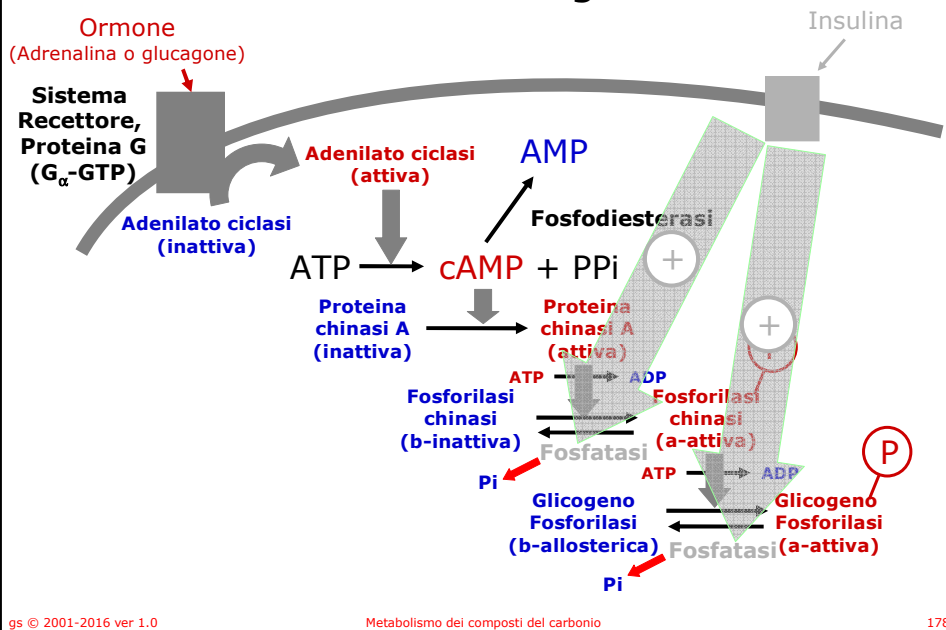




# Insulina

- L'insulina è un ormone prodotto dalle cellule  $\beta$  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.

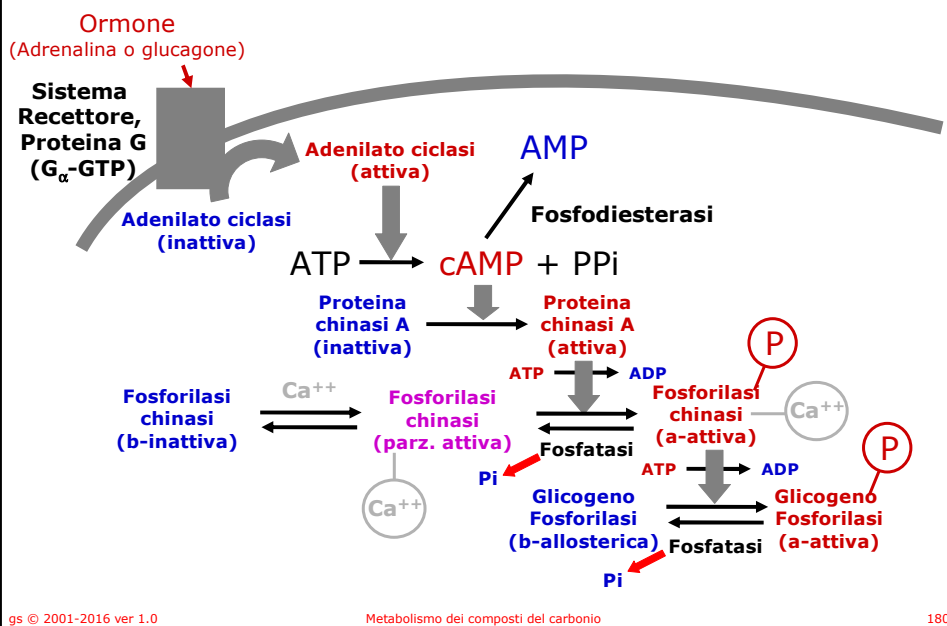
## Cascata di segnali



# Ca<sup>++</sup>

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

## Cascata di segnali



## Via dei pentosi fosfati

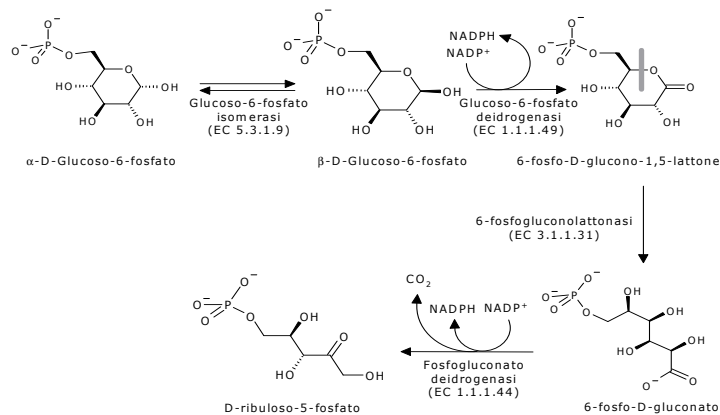
- Altri nomi:
  - Via del fosfogluconato
  - Shunt dell'esoso monofosfato
- La parte lineare della via porta alla ossidazione e decarbossilazione di
  - glucoso-6-fosfato (6C) a ribuloso-5-fosfato (5C).
- Il resto della via converte
  - ribuloso-5-fosfato a riboso-5-fosfato (5C)
- oppure a
  - gliceraldeide-3-fosfato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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

181

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

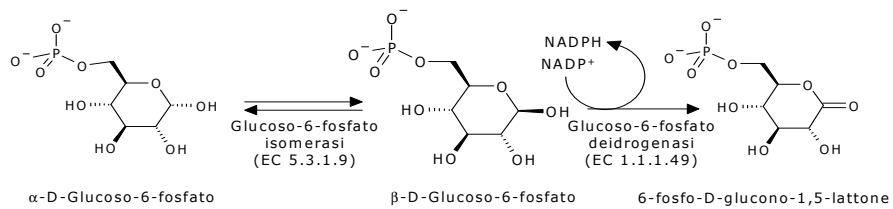


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

182

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



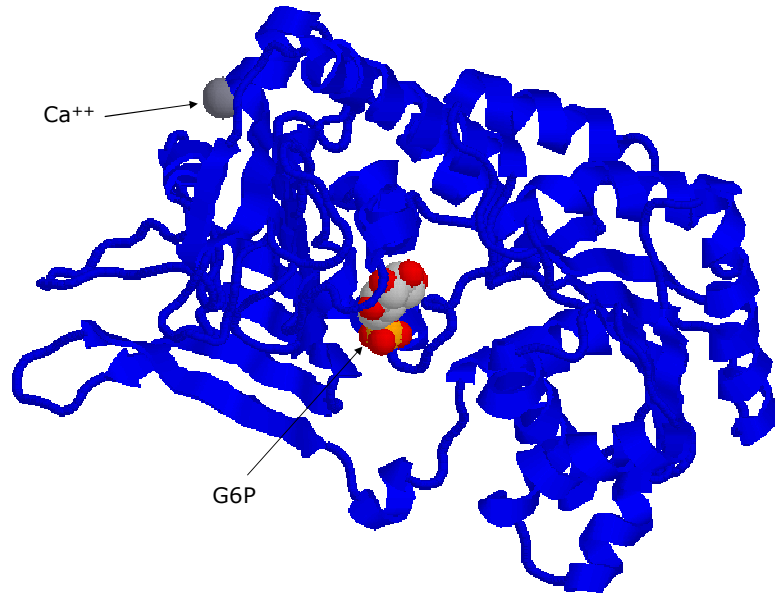
- Il glucoso-6-fosfato viene convertito dalla forma  $\alpha$  alla forma  $\beta$  attraverso la glucoso-6-fosfato isomerasi
- La glucoso-6-fosfato deidrogenasi catalizza l'ossidazione del gruppo aldeidico (semiacetale) del glucoso-6-fosfato (in C1) ad acido carbossilico.
- Si forma un legame estereo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

### Glucoso-6-fosfato isomerasi (EC 5.3.1.9)



- 1QY4

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)

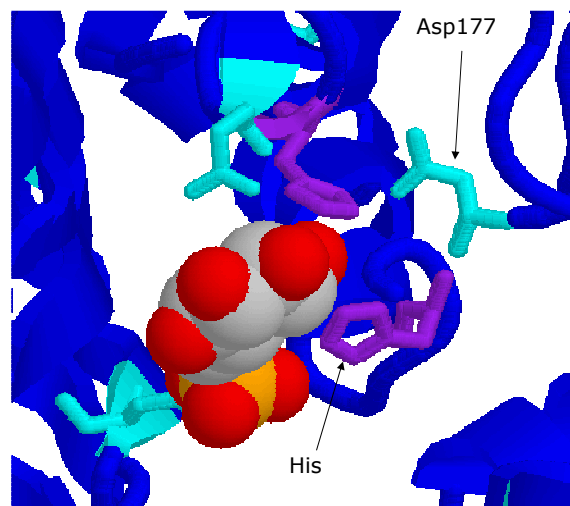


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

185

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)

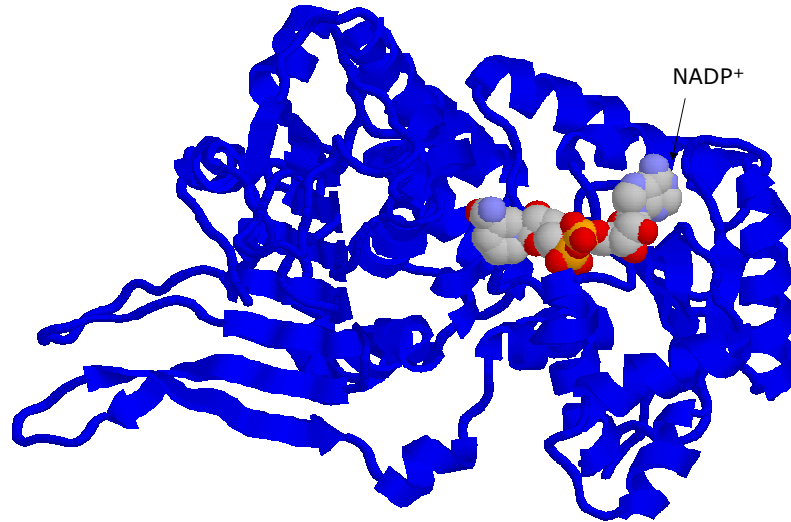


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

186

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)

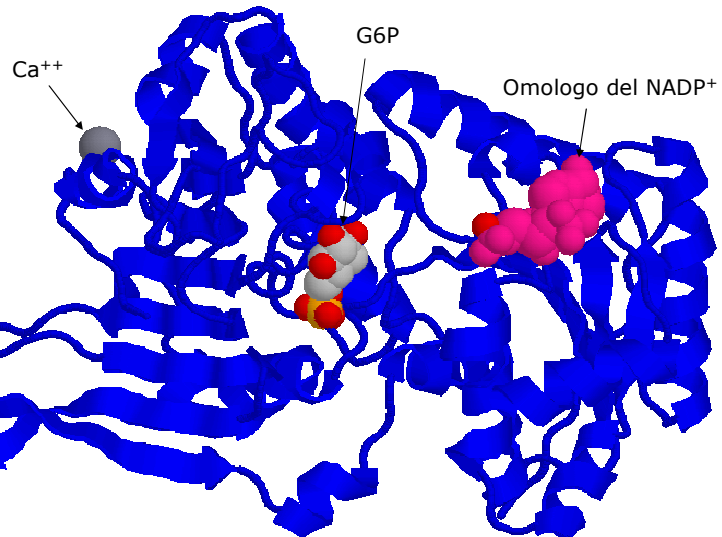


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

187

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

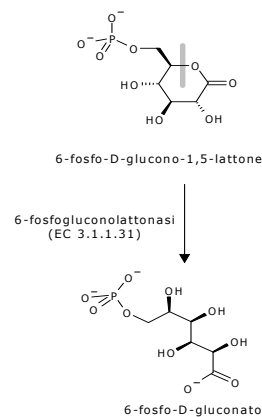
188

## Regolazione della glucoso-6-fosfato deidrogenasi

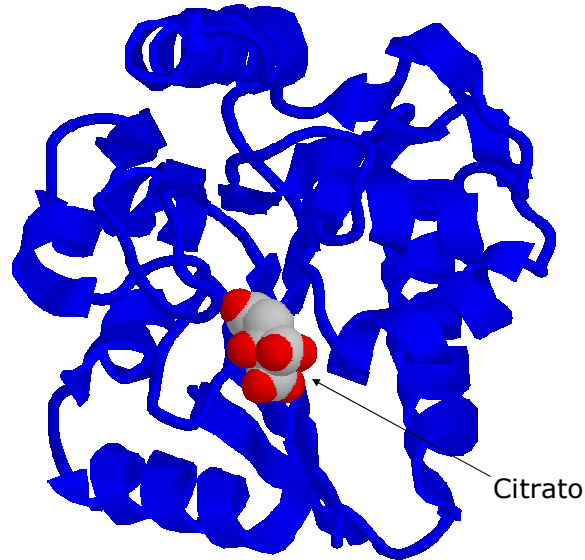
- La reazione catalizzata dalla glucoso-6-fosfato deidrogenasi è un passo obbligatorio della via dei pentosi fosfati e la sua attività è regolata dalla presenza di NADP<sup>+</sup>.
- Il NADPH è utilizzato nelle vie biosintetiche e viene convertito in NADP<sup>+</sup>
- Il NADP<sup>+</sup> stimola la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

### 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.



### 6-fosfogluconolatttonasi (EC 3.1.1.31)



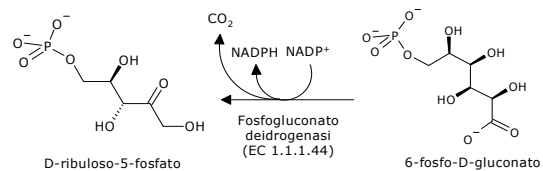
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

191

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

- La fosfogluconato deidrogenasi (EC 1.1.1.44) 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<sub>2</sub>.
- Il NADP<sup>+</sup> serve da ossidante.



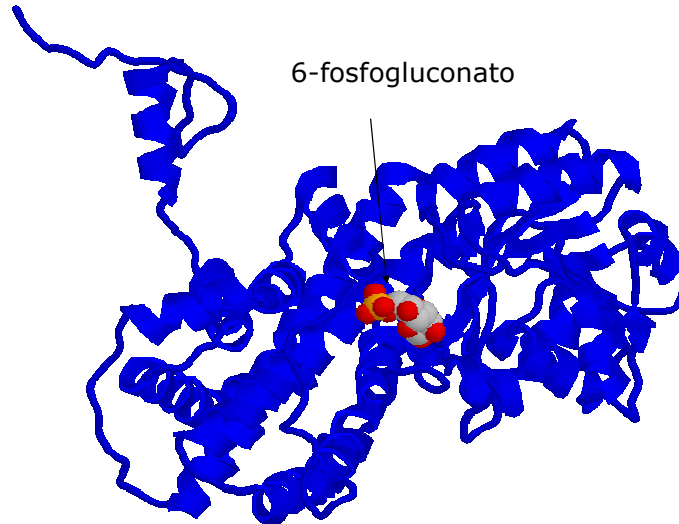
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

192



## Fosfogluconato deidrogenasi (EC 1.1.1.44)

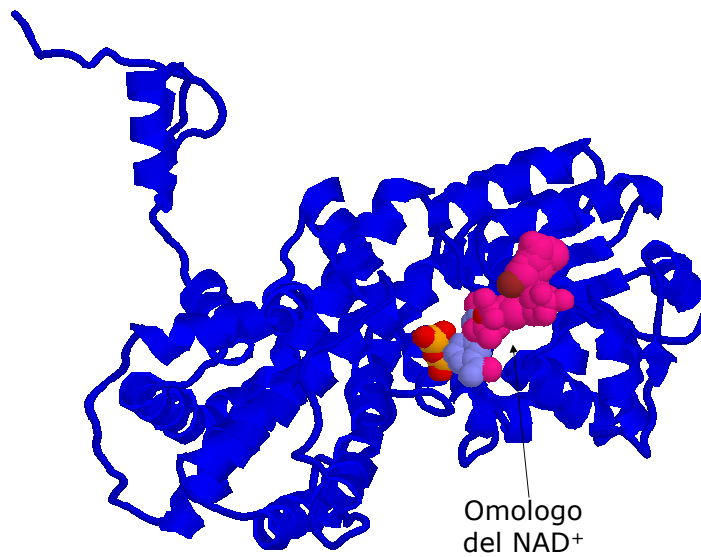


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

193

## Fosfogluconato deidrogenasi (EC 1.1.1.44)

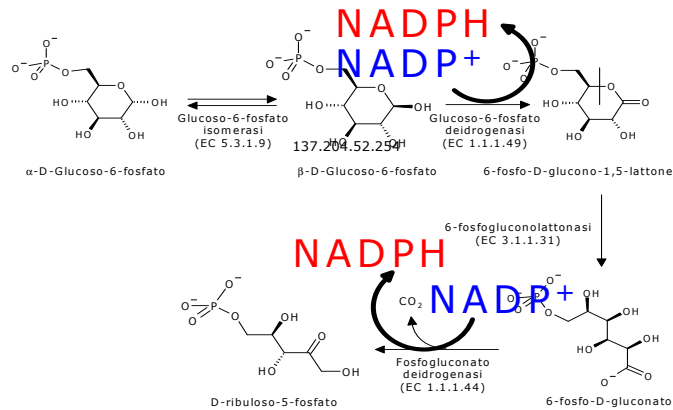


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

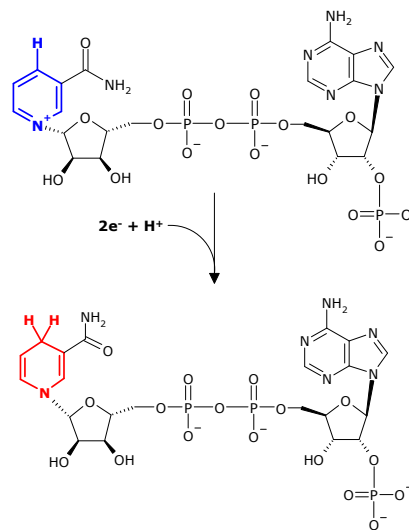
194

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

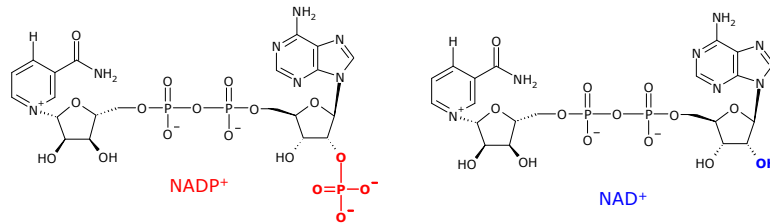


## NADP<sup>+</sup> e NADPH

- La riduzione del NADP<sup>+</sup> (così come del NAD<sup>+</sup>) coinvolge il trasferimento di 2 e<sup>-</sup> e 1 H<sup>+</sup> alla porzione nicotinamidica della molecola (come H<sup>-</sup>).
- Il NADPH, prodotto dalla via dei pentosi fosfati è la molecola riducente nelle vie sintetiche (anaboliche) della cellula.
- Il NAD<sup>+</sup> serve come accettore di elettroni nelle vie cataboliche (demolizione) dove i metaboliti sono ossidati.
- Il NADH che si forma è riossidato nella catena respiratoria per la produzione di ATP.



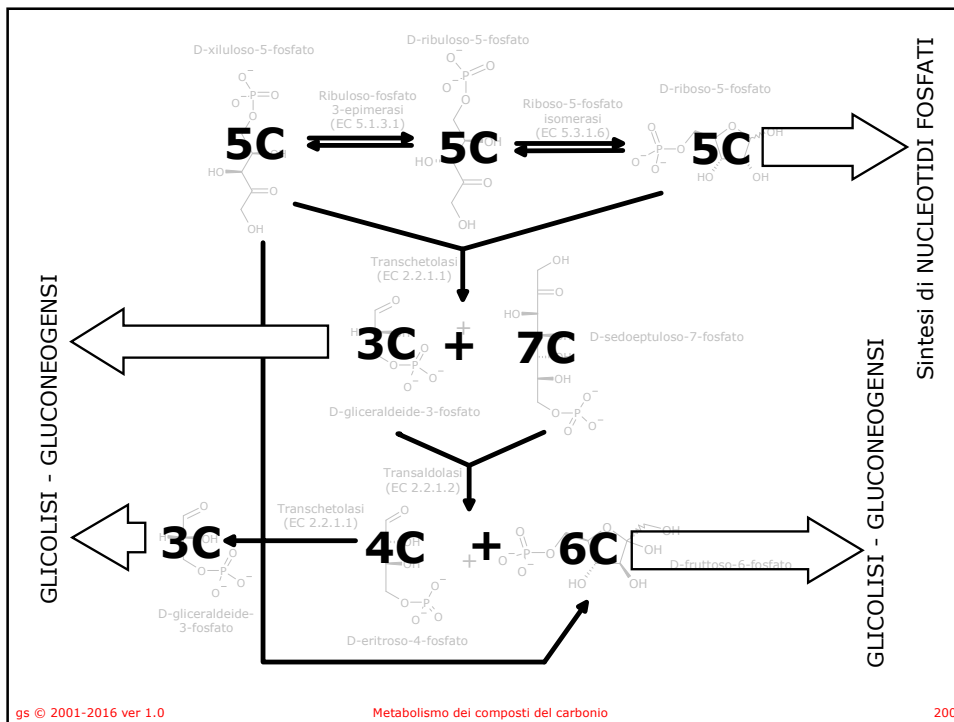
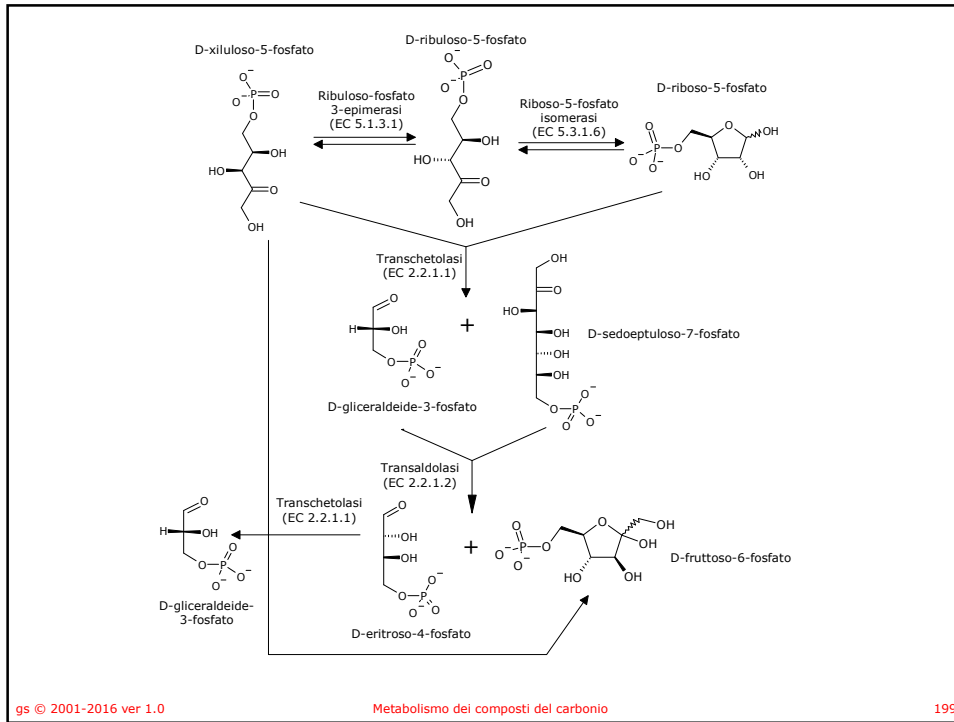
## NADP<sup>+</sup> e NAD<sup>+</sup>



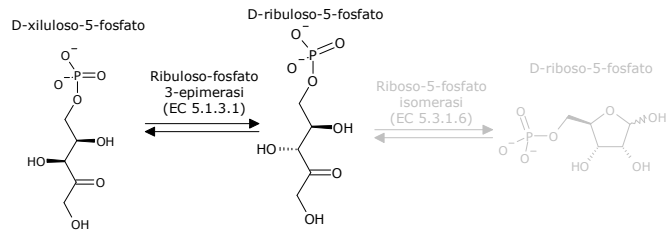
- NAD<sup>+</sup> e NADP<sup>+</sup> differiscono solo per la presenza del fosfato legato al ribosio nel NADP<sup>+</sup>.
- Per quanto riguarda l'attività redox non vi è sostanziale differenza.
- La presenza del fosfato serve per il riconoscimento di uno o dell'altro dagli enzimi. Ciò permette la separazione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

## Il resto della via

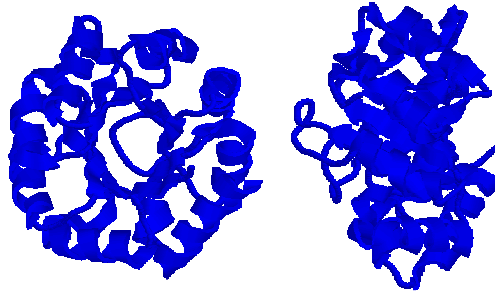
- converte
  - ribuloso-5-fosfato a ribosio-5-fosfato (5C) e xiluloso-5-fosfato attraverso la catalisi effettuata da epimerasi e isomerasi
- e quindi a
  - gliceraldeide-3-fosfato (3C), sedoepuloso-7-fosfato (7C), eritroso-4-fosfato (4C) e fruttosio-6-fosfato (6C) attraverso transaldolasi e transchetolasi



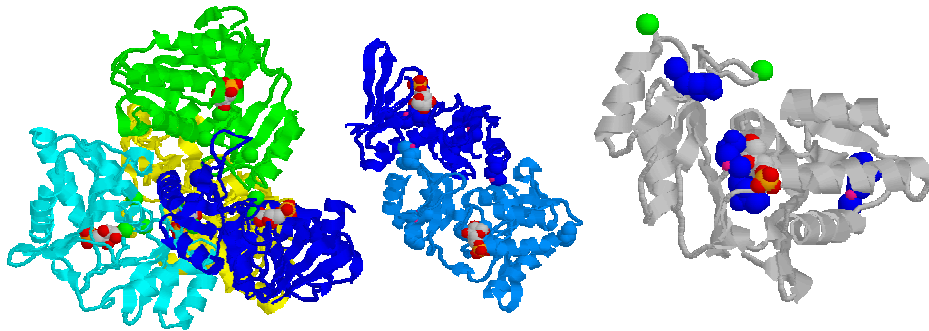
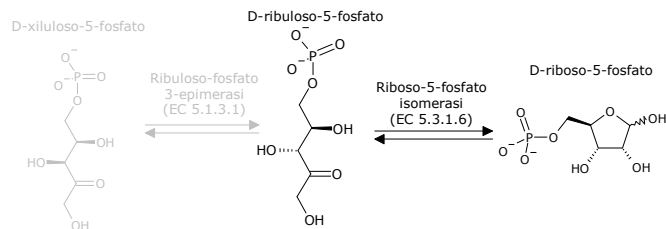
## Epimerasi (EC 5.1.3.1 )



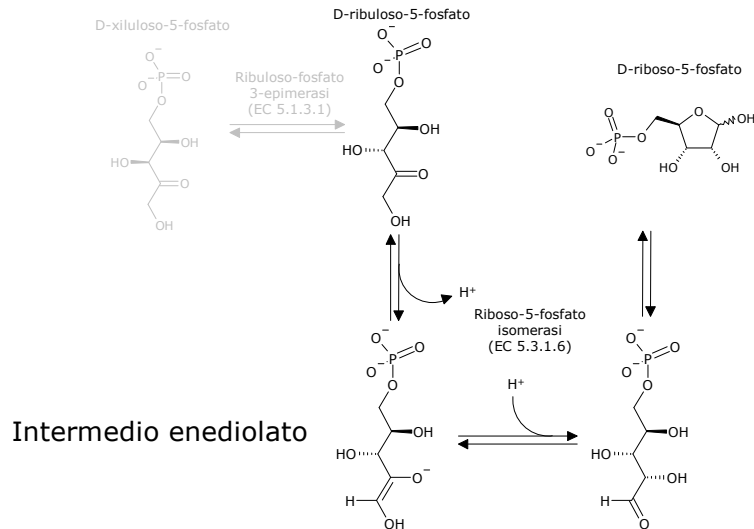
Struttura ad "α-β barrel"



## Isomerasi (EC 5.3.1.6)



## Isomerasi (EC 5.3.1.6)



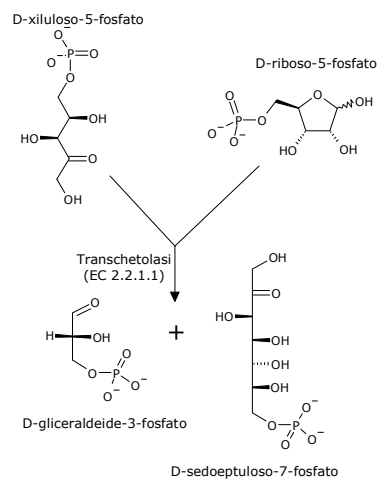
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

203

## Transchetolasi (EC 2.2.1.1)

- 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).

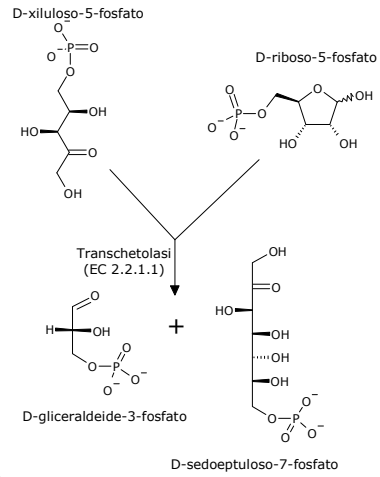
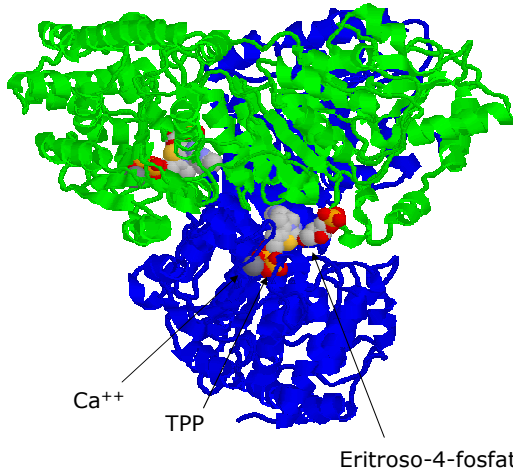


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

204

## Transchetolasi (EC 2.2.1.1 )

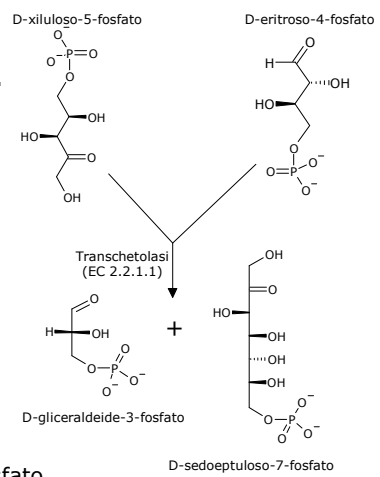
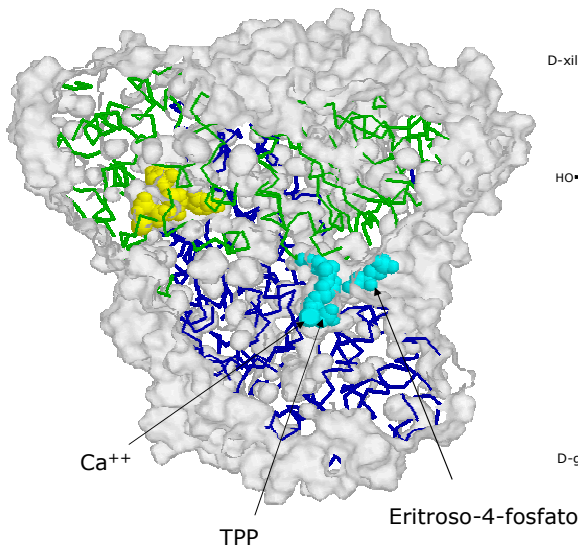


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

205

## Transchetolasi (EC 2.2.1.1 )



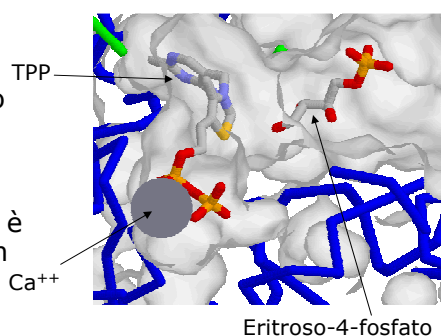
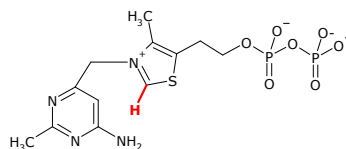
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

206

## Tiaminapirofosfato

- La transchetolasi utilizza come gruppo prostetico il TPP (tiaminapirofosfato) derivato dalla vitamina B<sub>1</sub>.
- 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.



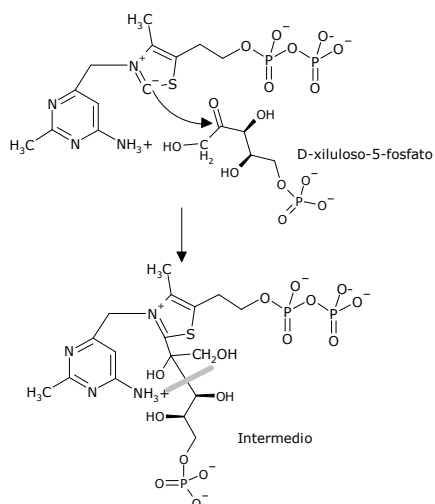
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

207

## Tiaminapirofosfato

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



gs © 2001-2016 ver 1.0

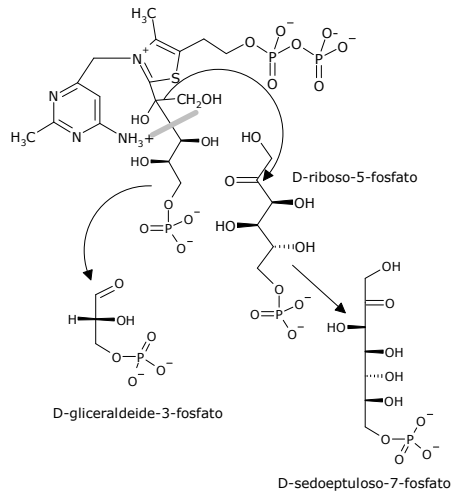
Metabolismo dei composti del carbonio

208



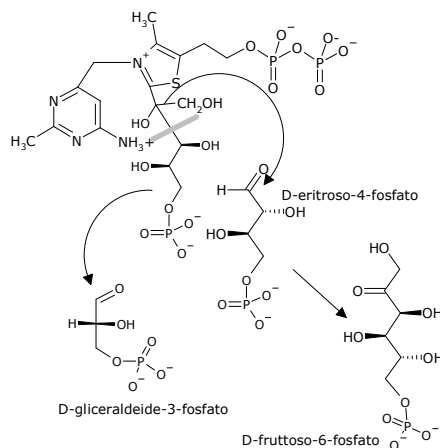
## Tiaminapirofosfato

- 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 sedoeptuloso-7-fosfato.



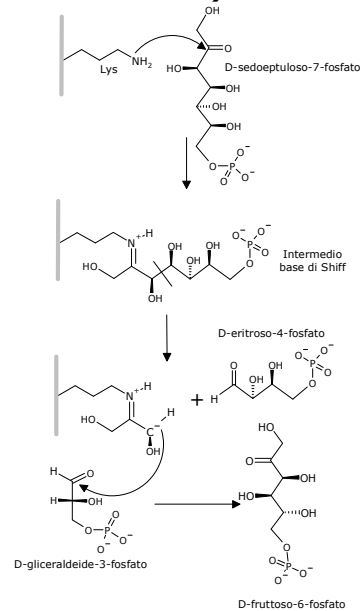
## Tiaminapirofosfato

- 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.



## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi trasferisce la porzione 3-C (diidrossiacetone) dal sedoeptuloso-7-fosfato alla gliceraldeide-3-fosfato.
- Il gruppo  $\epsilon$ -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.



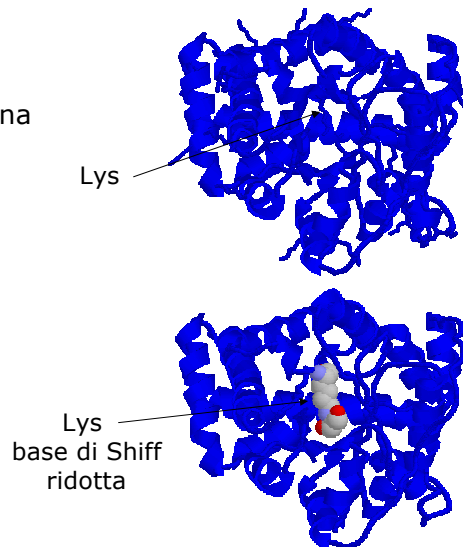
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

211

## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura  $\alpha, \beta$  barrel.



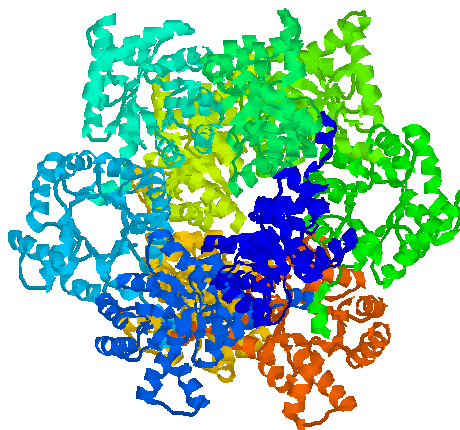
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

212

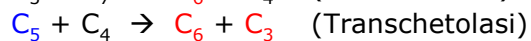
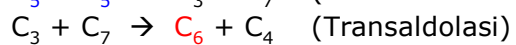
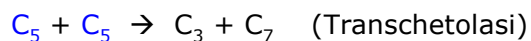
## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura  $\alpha,\beta$  barrel.

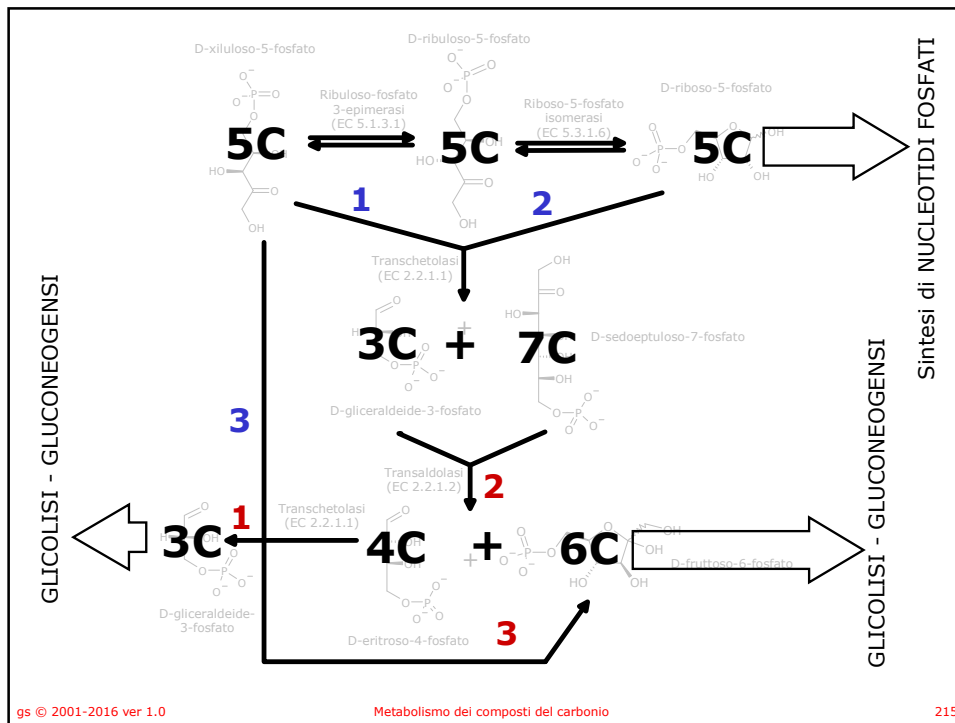


## Bilancio

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 essere rigenerato sia da gliceraldeide-3-fosfato che dal fruttosio-6-fosfato attraverso la Gluconeogenesi.

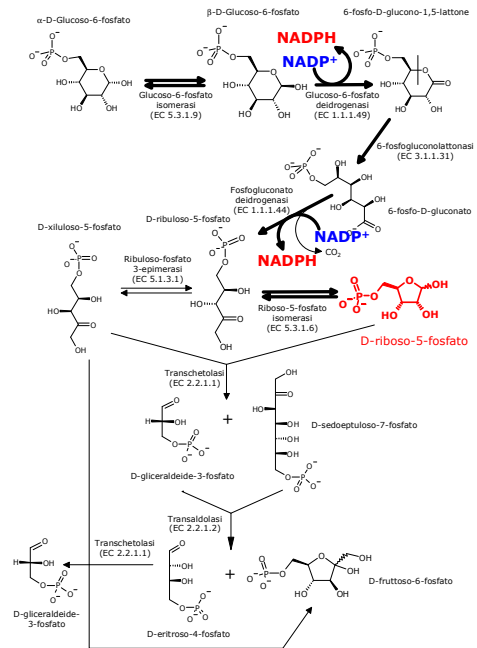


## Strategia

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

## Sintesi di riboso-5-P e NADPH

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



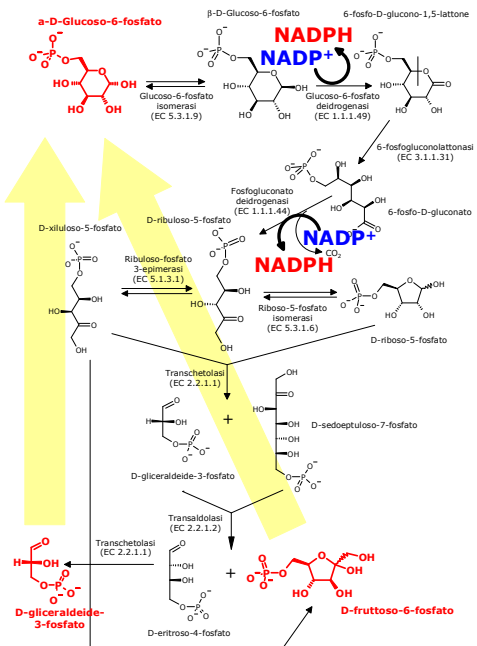
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

217

## 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.



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

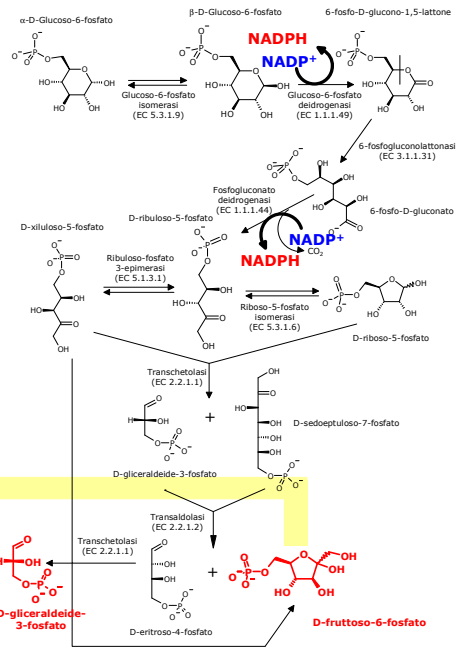
218

## 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

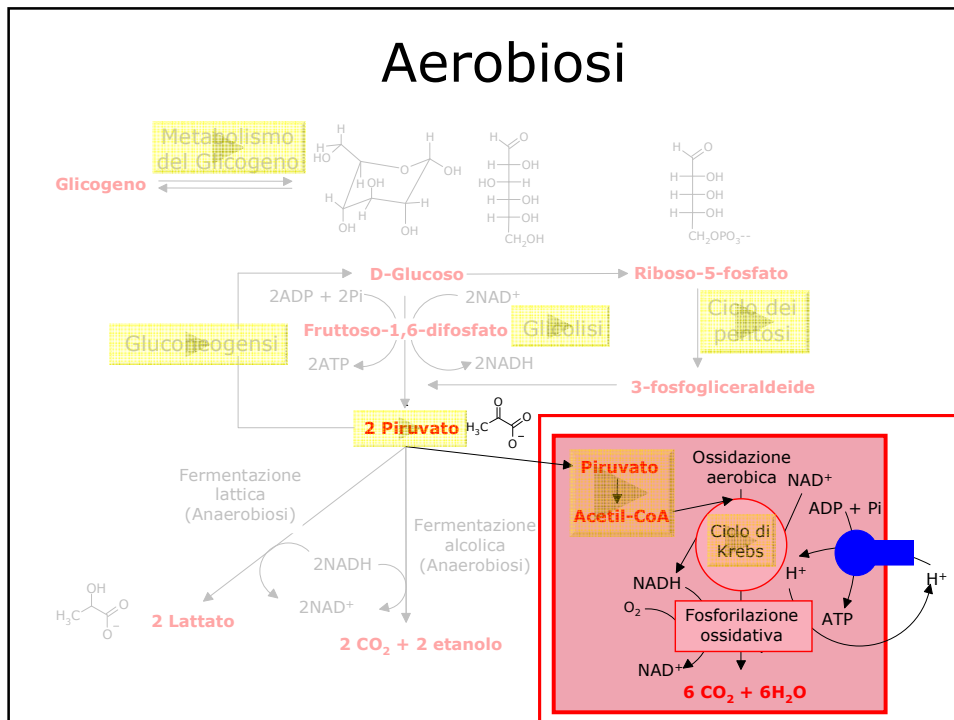
ATP



# Ossigeno

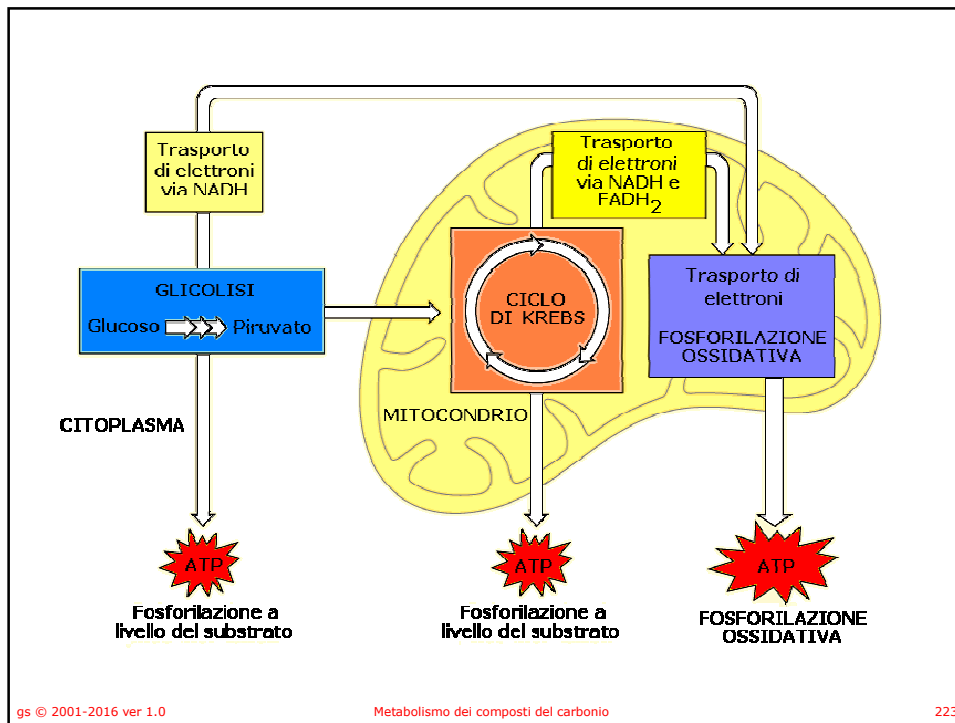
## Aerobiosi e anaerobiosi

# Aerobiosi



# Aerobiosi

- In condizioni aerobiche il piruvato prodotto dalla glicolisi e dalla degradazione degli aminoacidi è ossidato a H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub> nella respirazione cellulare.
- Ciò avviene in tre stadi
  - Produzione di acetil-CoA (decarbossilazione del piruvato)
  - Ossidazione dell'acetil-CoA a CO<sub>2</sub> (Ciclo di Krebs)
  - Trasferimento di elettroni e fosforilazione ossidativa (produzione di H<sub>2</sub>O e ATP con consumo di O<sub>2</sub>).



## Piruvato deidrogenasi

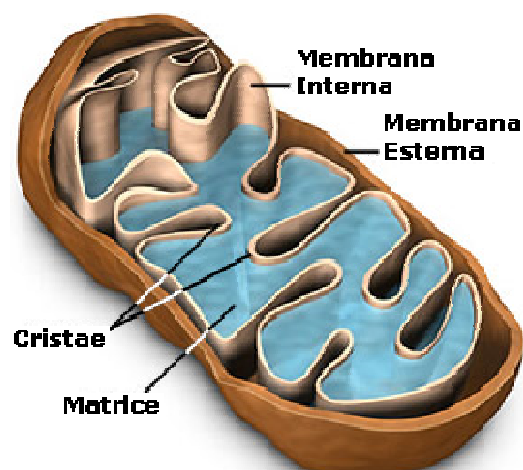
Produzione di acetil-CoA  
(decarbossilazione del piruvato)

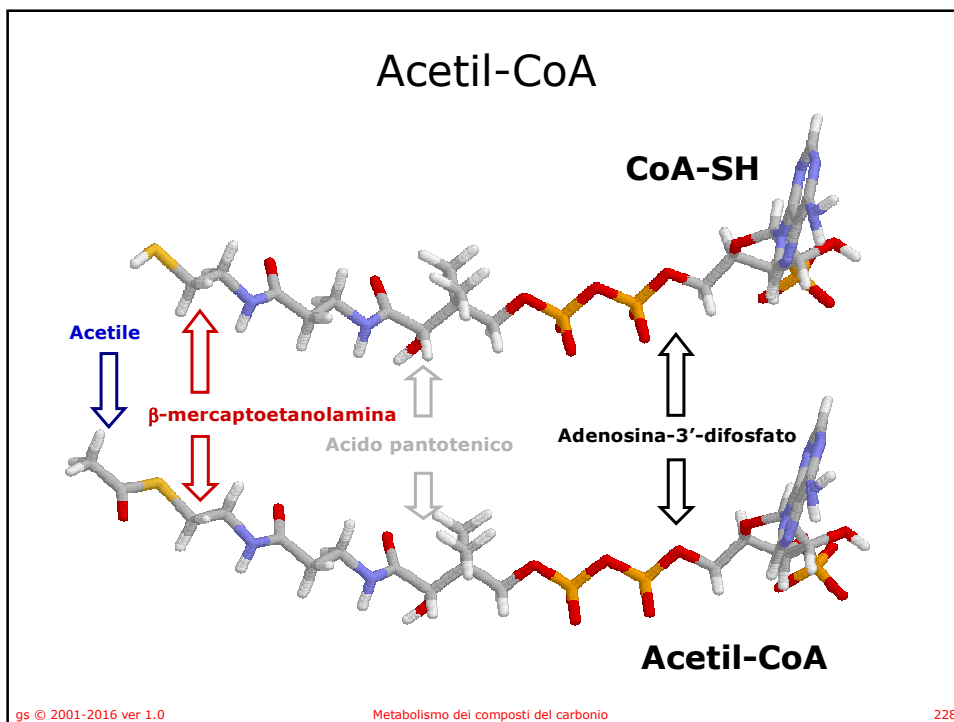
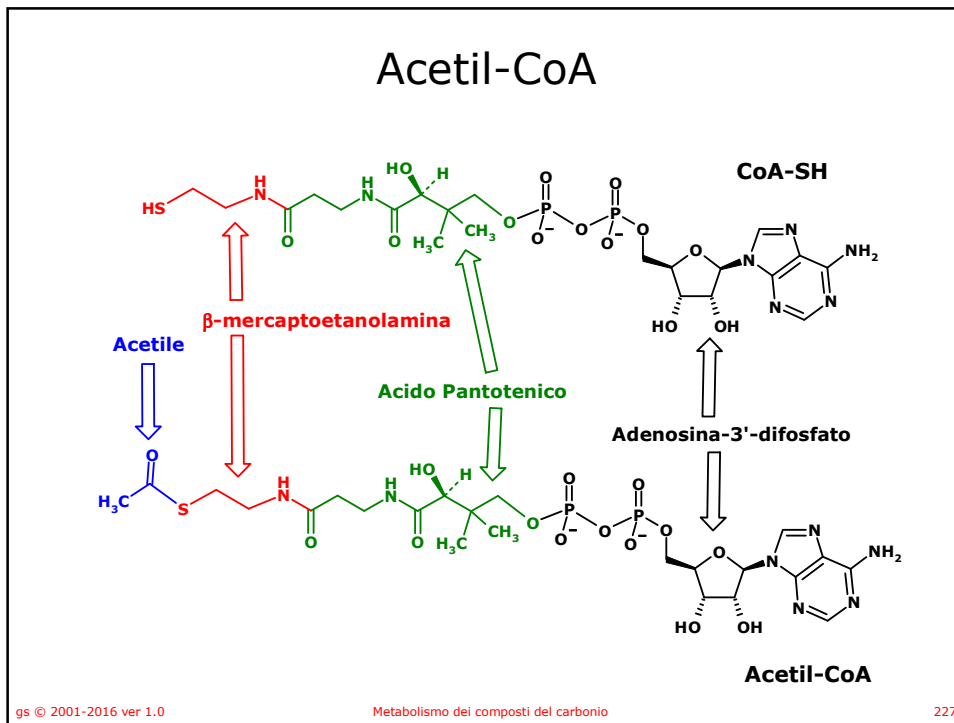


## Trasporto del piruvato

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

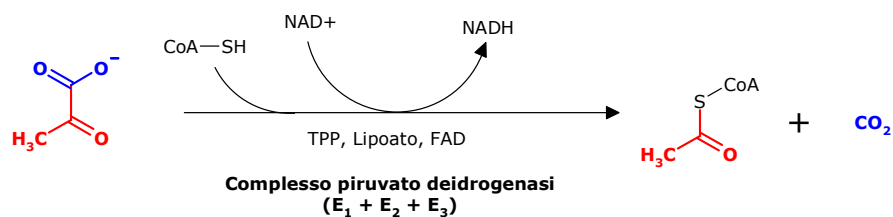
## Mitocondrio





## 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).



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

229

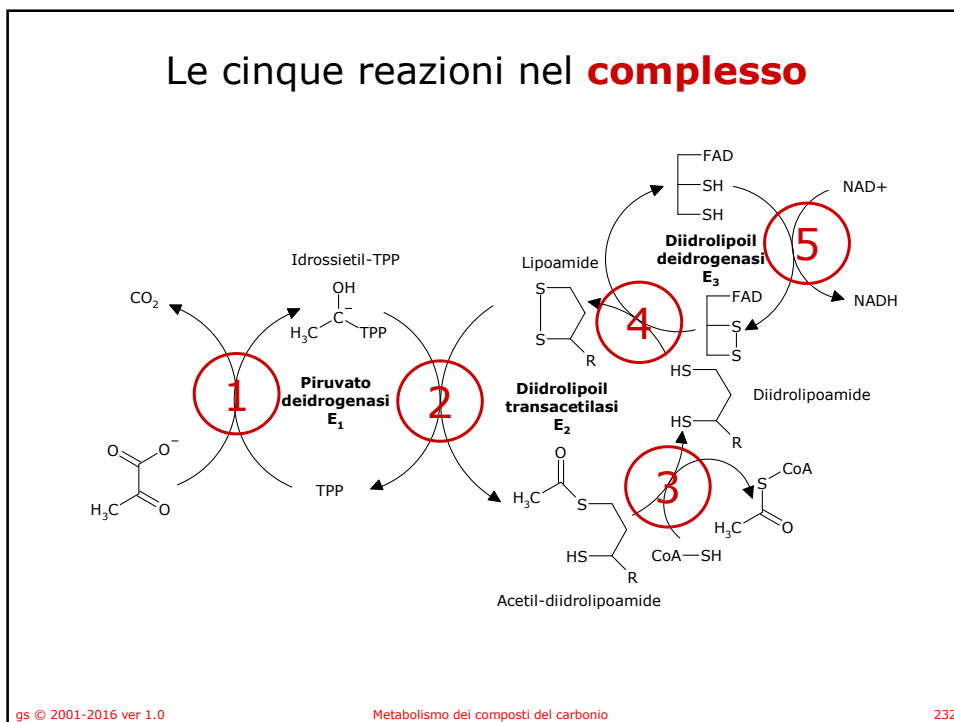
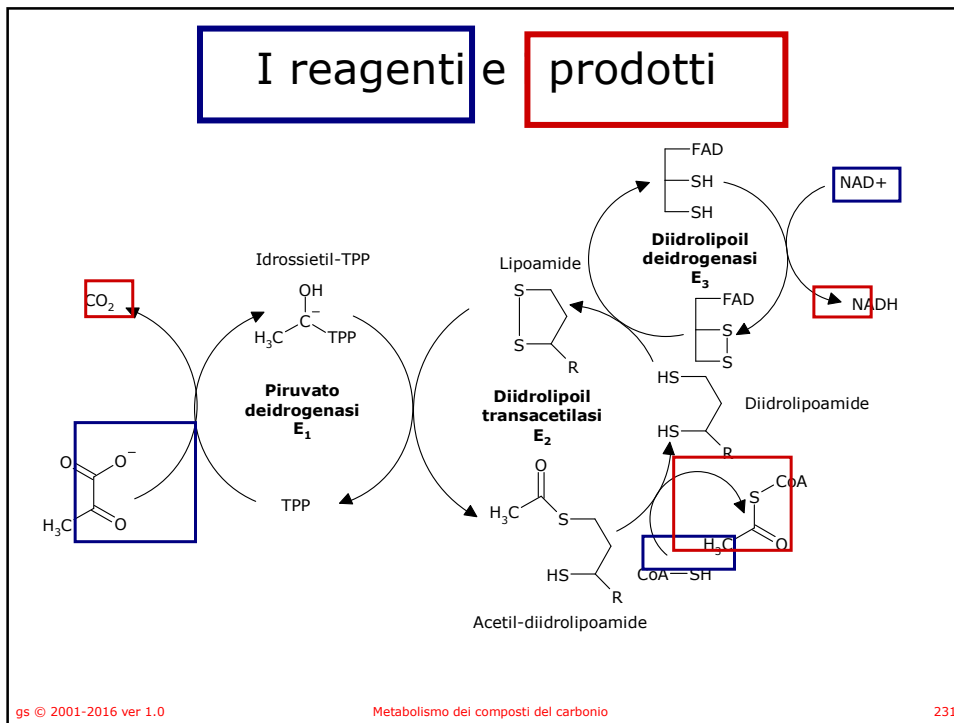
## Complesso piruvato deidrogenasi

- 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.

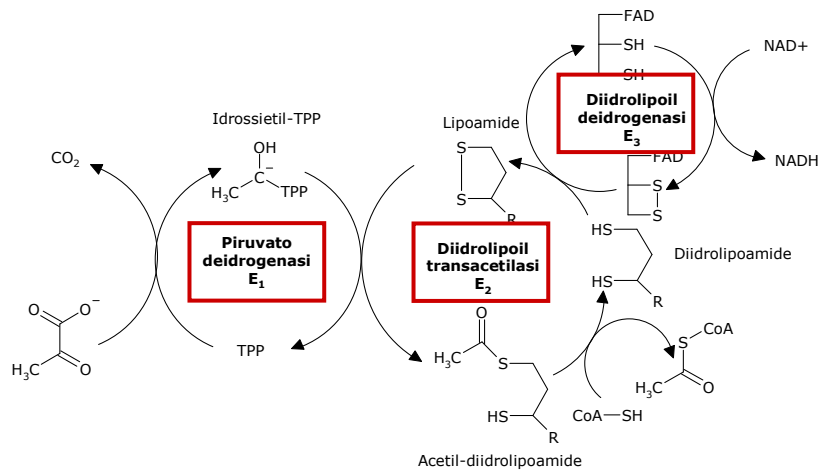
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

230



## I tre enzimi del **complesso**

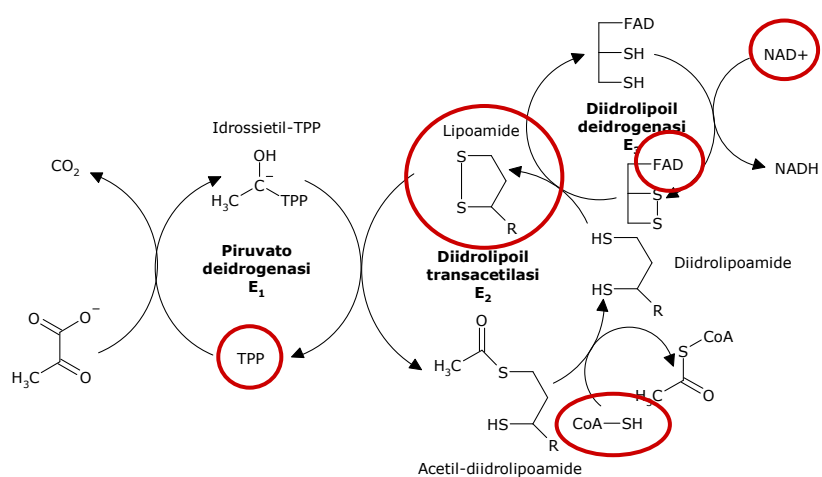


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

233

## I cinque coenzimi

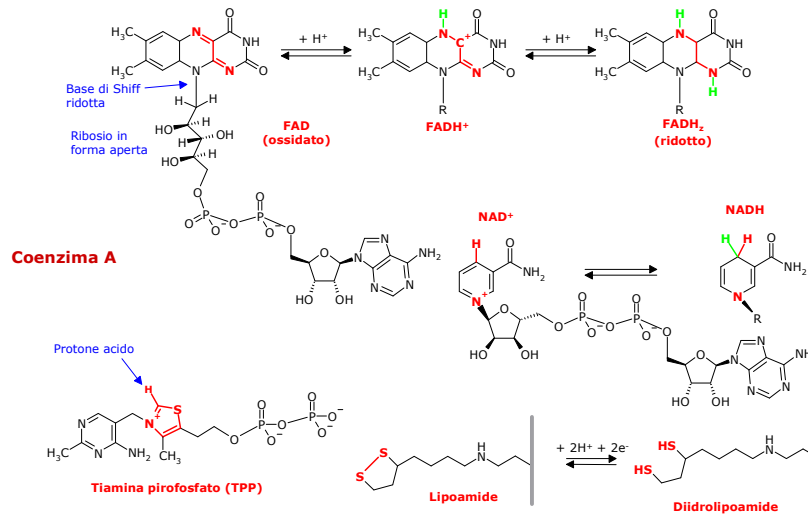


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

234

## I cinque coenzimi



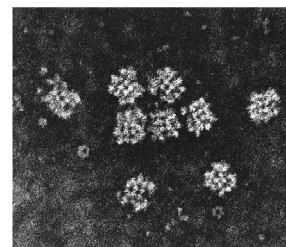
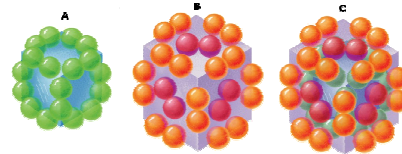
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

235

## I tre enzimi

- Il complesso piruvato deidrogenasi PDC consiste in tre enzimi:
  - piruvato deidrogenasi EC 1.2.4.1
    - (E<sub>1</sub>, arancio) (B),
  - diidrolipoil transacetilasi EC 2.3.1.12
    - (E<sub>2</sub>, verde) (A),
  - diidrolipoil deidrogenasi EC 1.8.1.4
    - (E<sub>3</sub>, violetto) (B).
- In *E. coli* il complesso consiste in 24 coppie di E<sub>1</sub>, 24 coppie di E<sub>2</sub> e di 12 coppie di E<sub>3</sub>.
- E<sub>2</sub> funziona come "core" del complesso (C).



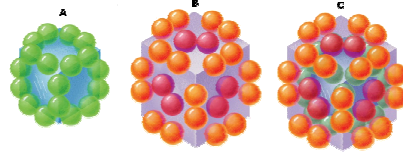
0,05 μm

gs © 2001-2016 ver 1.0

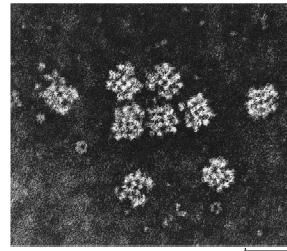
Metabolismo dei composti del carbonio

236

## I tre enzimi

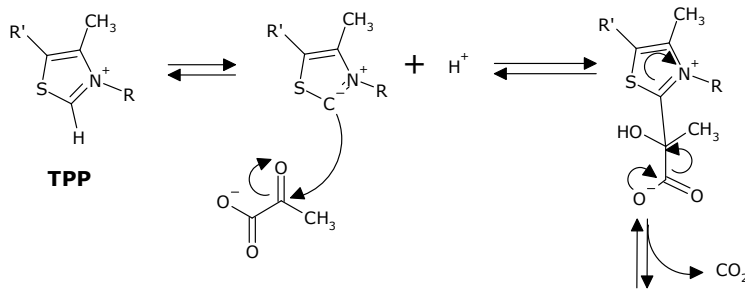


- Ogni coppia di  $E_2$  contiene tre molecole di lipoato legate covalentemente.
- Il lipoato ha un braccio flessibile che trasporta le molecole di acetile da un sito attivo ad un altro.
- $E_1$  ha come coenzima il molecola di TPP ed  $E_3$  ha come coenzima il FAD.

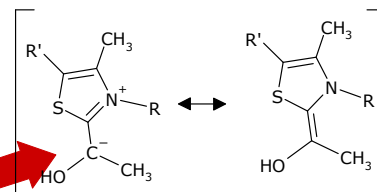


0.05  $\mu\text{m}$

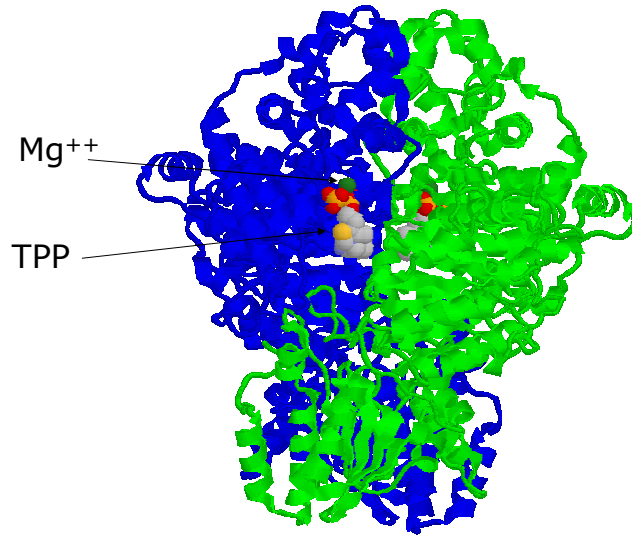
## Piruvato deidrogenasi ( $E_1$ )



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



### Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC 1.2.4.1



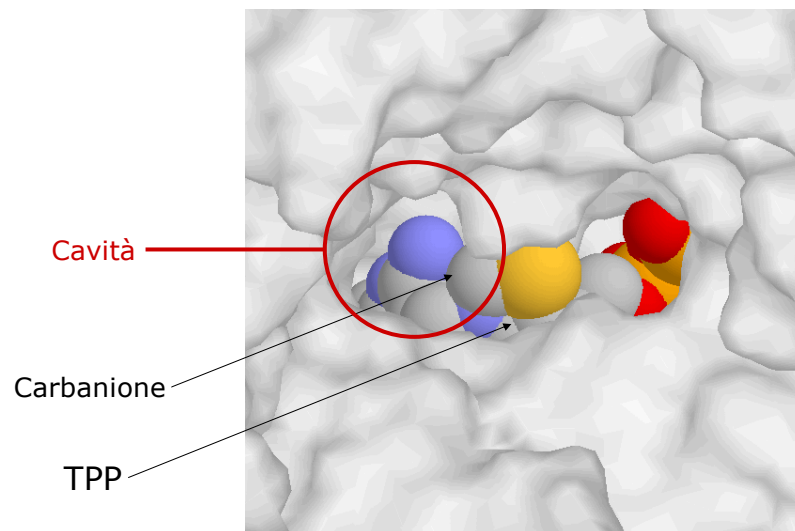
1L8A

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

239

### Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC 1.2.4.1



1L8A

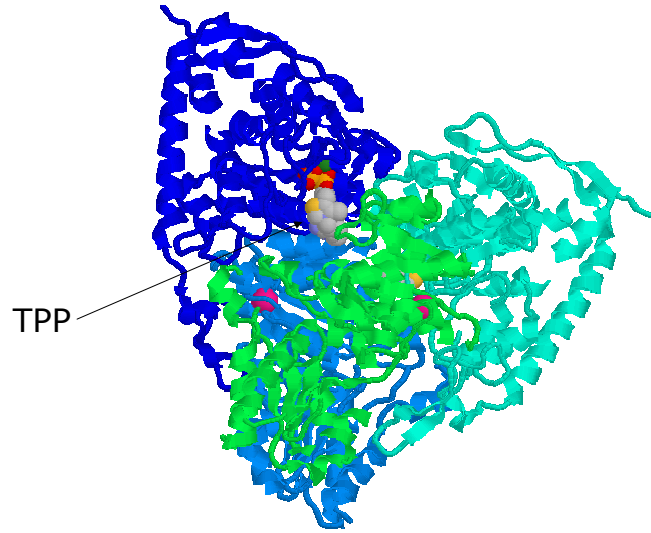
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

240



Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC 1.2.4.1



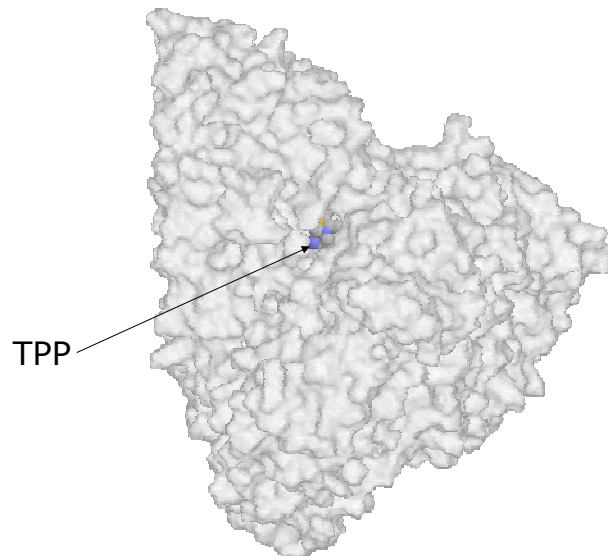
1NI4

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

241

Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC 1.2.4.1



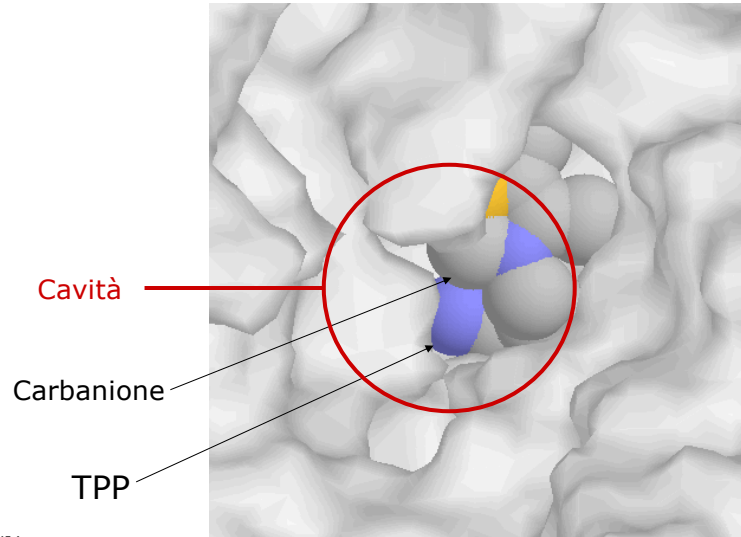
1NI4

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

242

## Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC 1.2.4.1



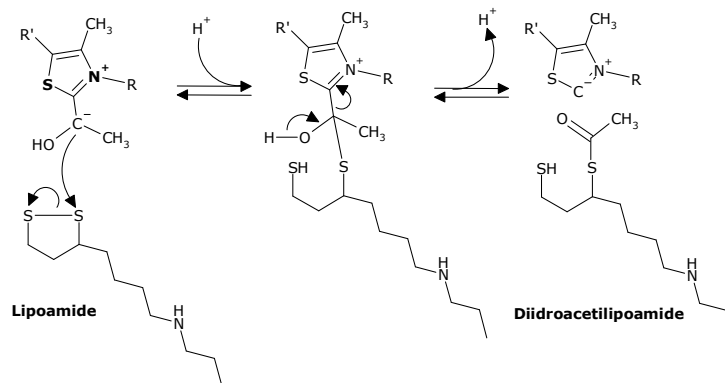
1NI4

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

243

## Diidrolipoil transacetilasi (E<sub>2</sub>)



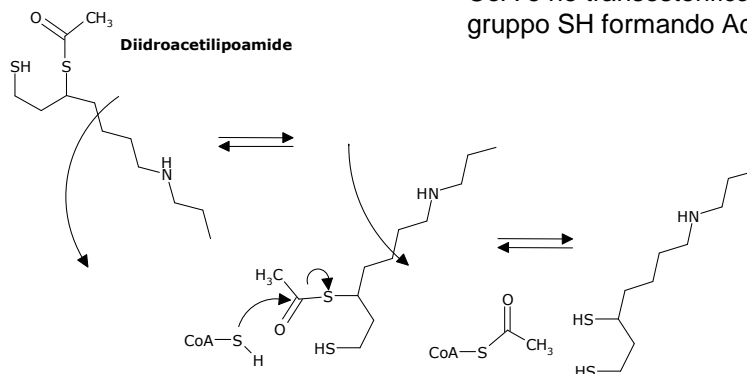
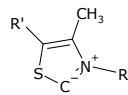
- Il gruppo idrossietile derivato da idrossietil-TPP è trasferito al lipoato (legato ad una His di E<sub>2</sub>) come acetile, attraverso l'attacco nucleofilo del carbanione sull'atomo di zolfo della lipoamide.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

244

## Diidrolipoil transacetilasi (E<sub>2</sub>)



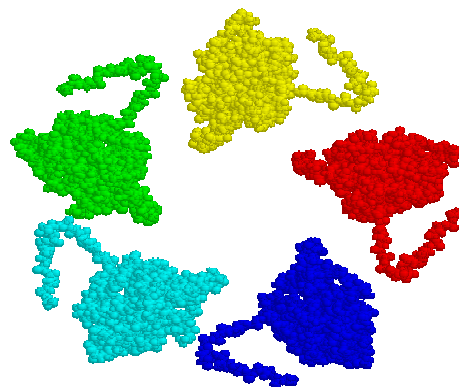
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

245

## Diidrolipoil transacetilasi (E<sub>2</sub>) EC 2.3.1.12

### Dominio catalitico



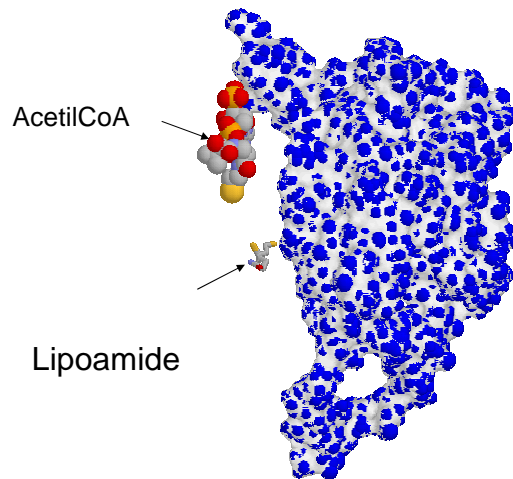
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

246

## Diidrolipoil transacetilasi ( $E_2$ ) EC 2.3.1.12

### Dominio catalitico

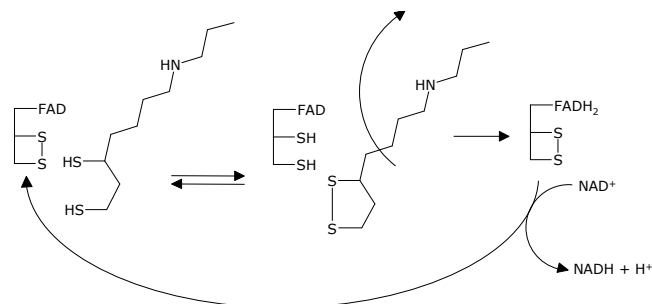


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

247

## Diidrolipoil deidrogenasi ( $E_3$ )



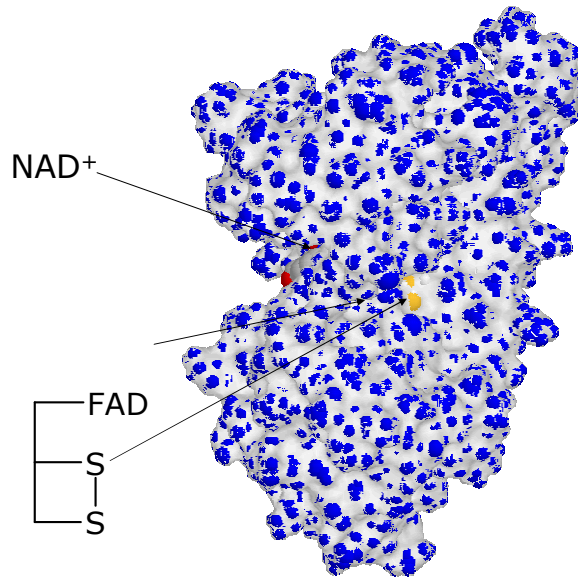
- Il lipoato ridotto viene riossidato dall' $E_3$  utilizzando il FAD che si riduce a  $FADH_2$ .
- Il  $FADH_2$  viene riossidato dal  $NAD^+$  che si riduce a  $NADH$  e  $H^+$
- Si rigenera la piruvato deidrogenasi

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

248

Diidrolipoil deidrogenasi (E<sub>3</sub>) EC 1.8.1.4



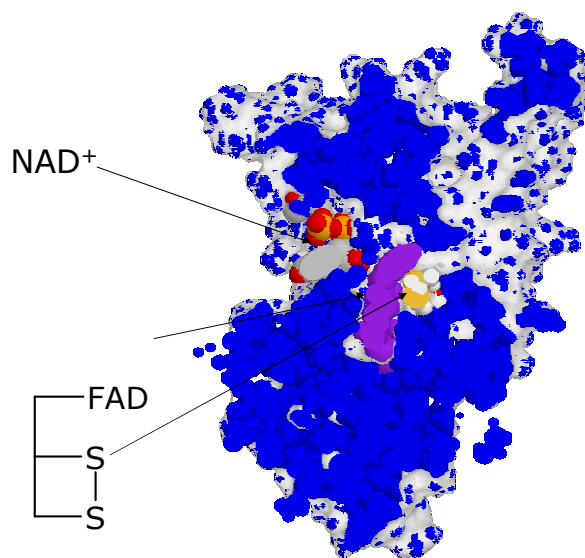
1LPV

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

249

Diidrolipoil deidrogenasi (E<sub>3</sub>) EC 1.8.1.4



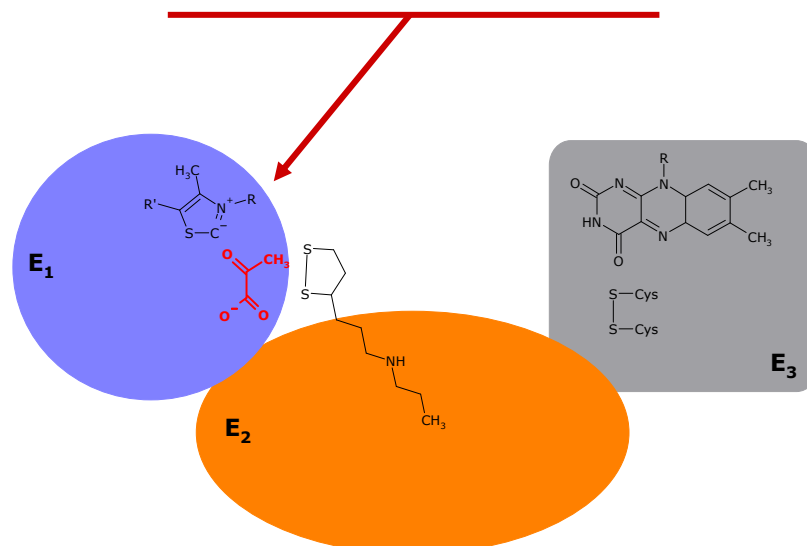
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

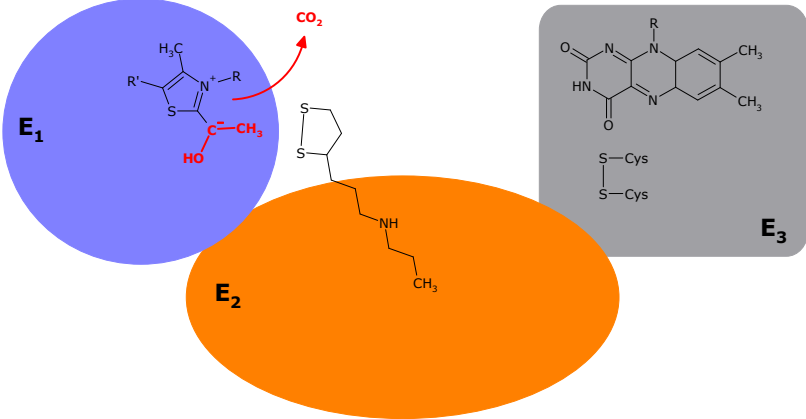
250

- 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 ( $E_3$ ).

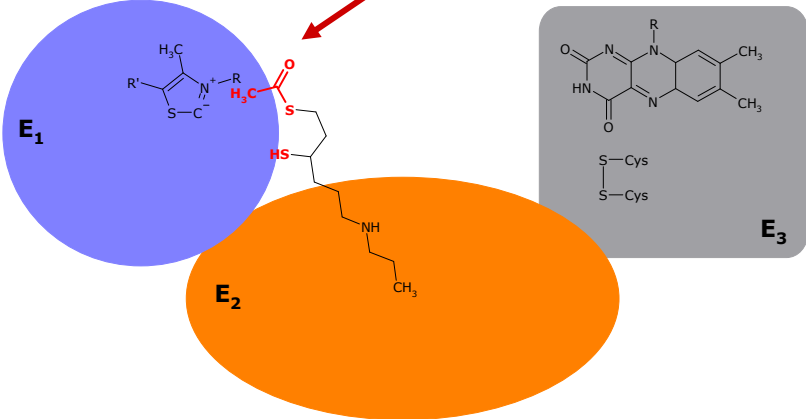
### Legame del piruvato



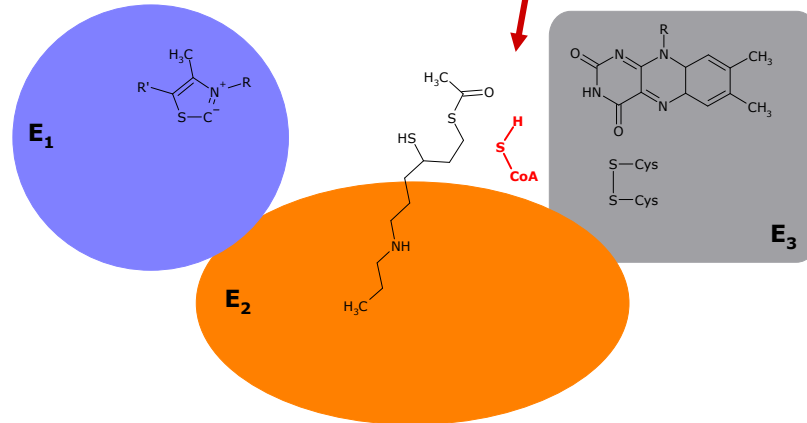
# Decarbossilazione del piruvato



# Formazione di diidroacetillipoamide



## Legame del Coenzima A

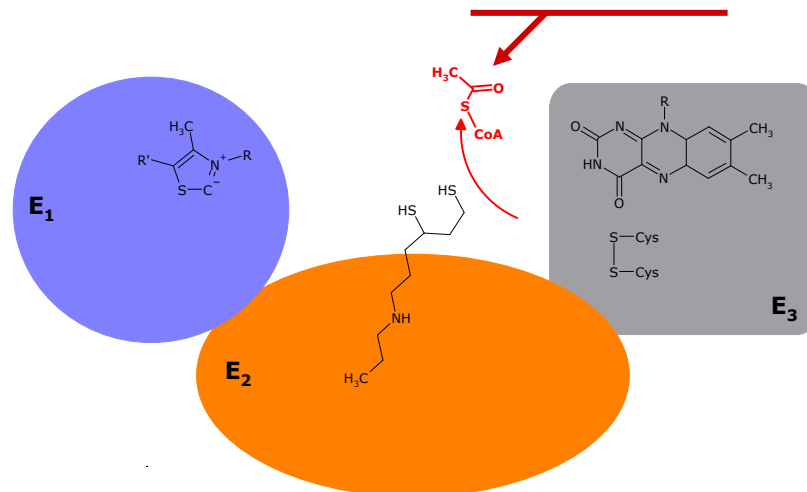


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

255

## Formazione di Acetil-CoA



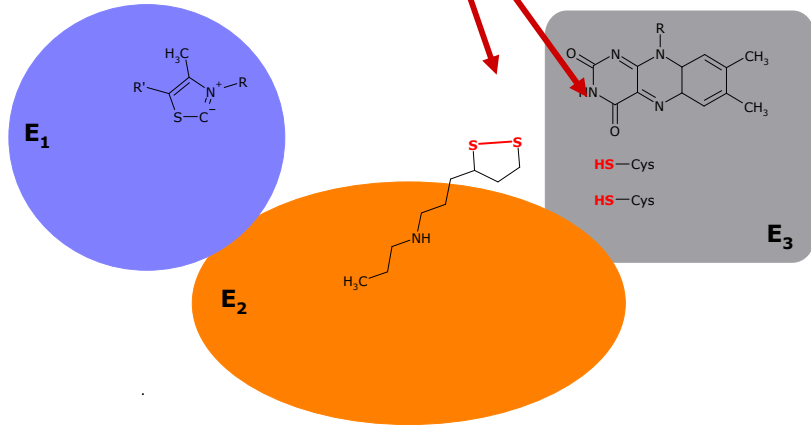
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

256



## Ossidazione della diidrolipoamide

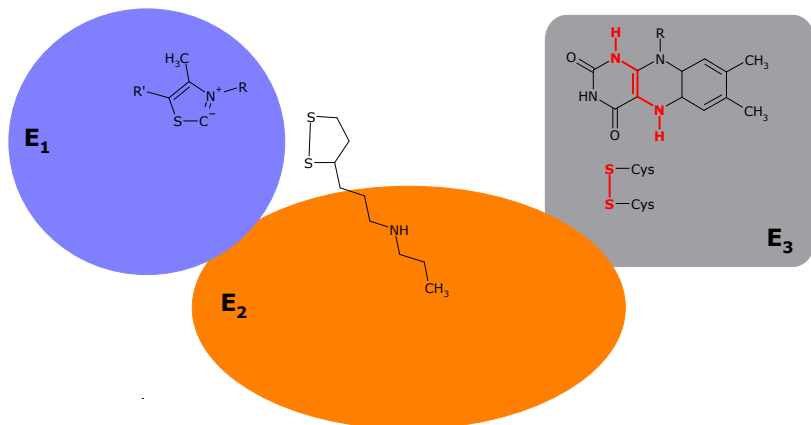


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

257

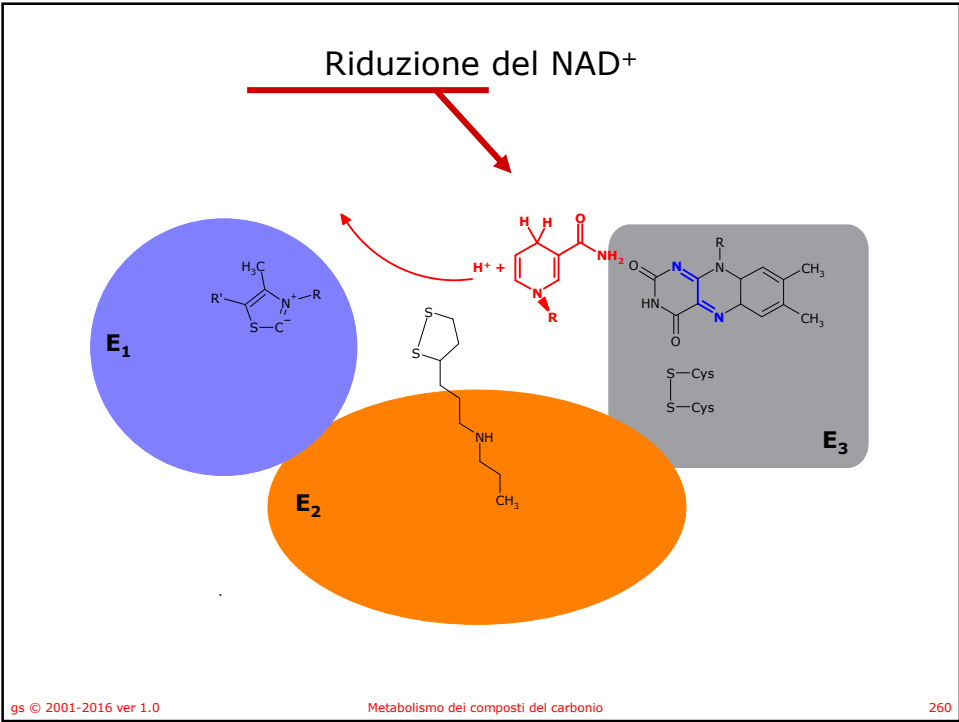
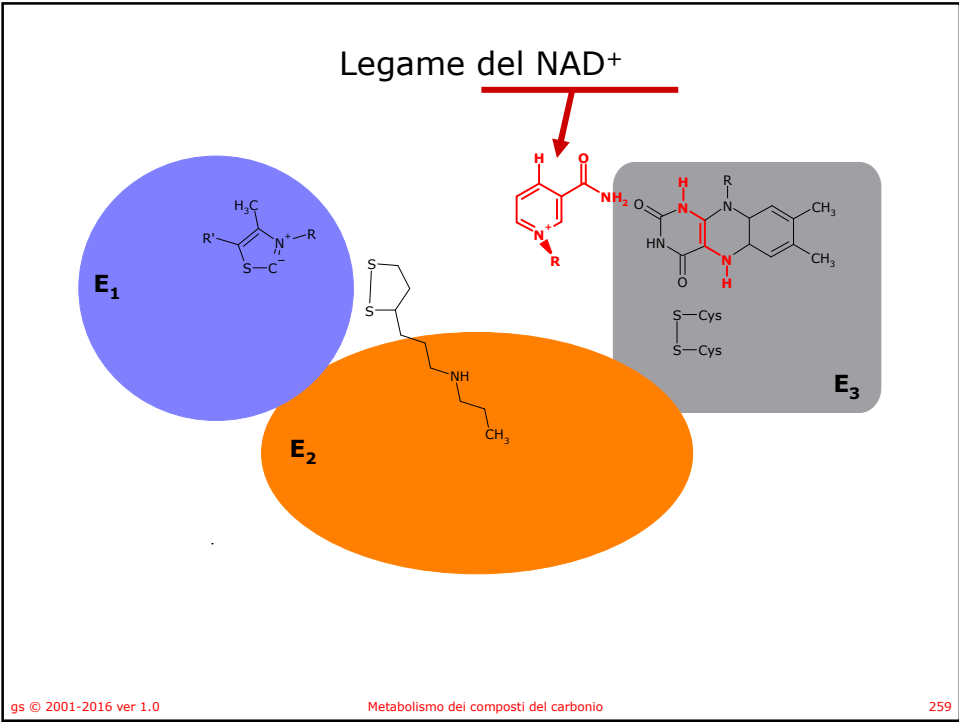
## Riduzione del FAD



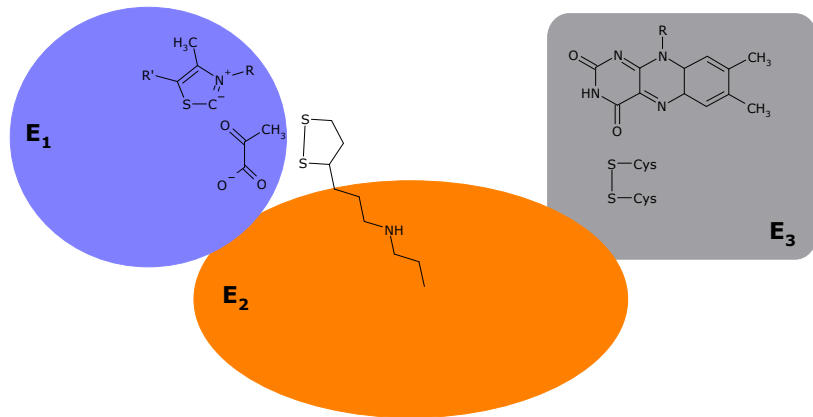
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

258



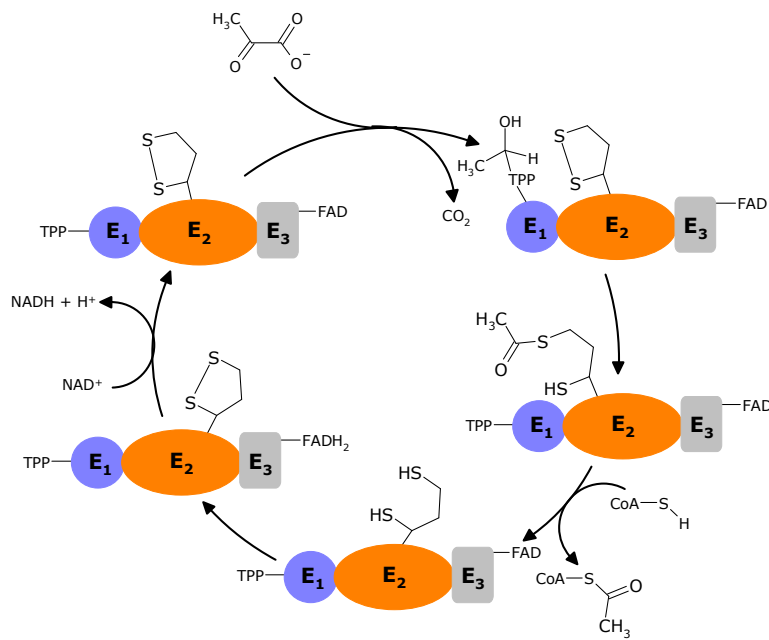
## Ritorno al punto di partenza



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

261



gs © 2001-2016 ver 1.0

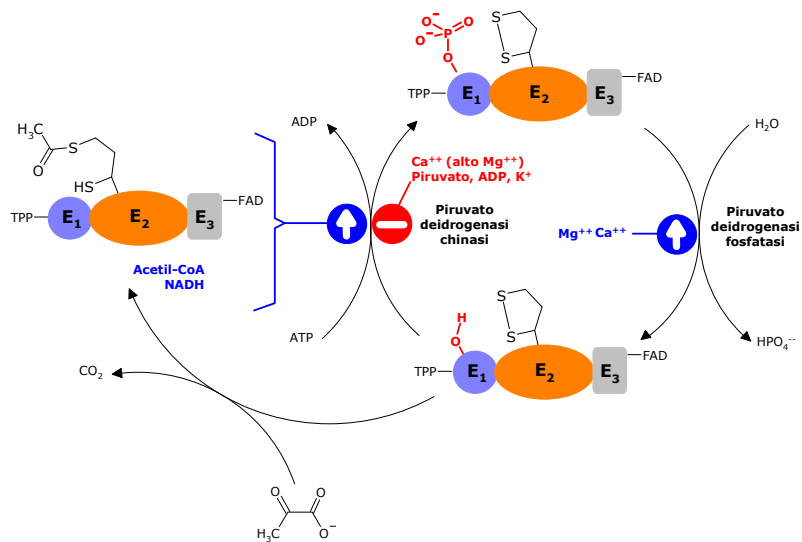
Metabolismo dei composti del carbonio

262

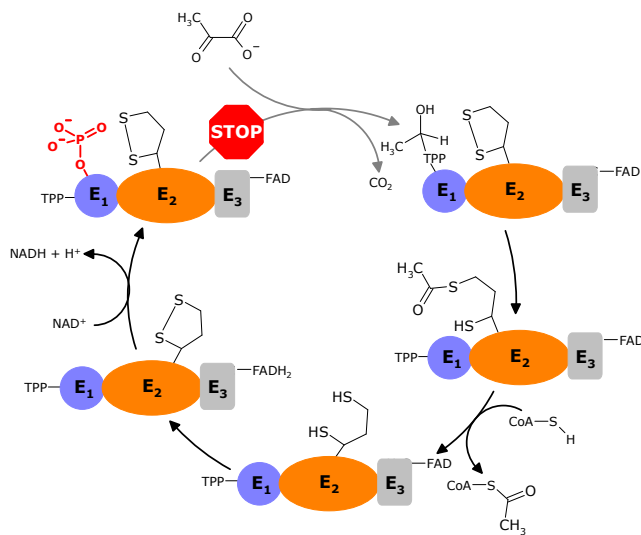
## Controllo della piruvato deidrogenasi

- Inibizione competitiva da prodotti
  - NADH compete con  $\text{NAD}^+$  in  $\text{E}_3$
  - Acetil-CoA compete con CoA-SH in  $\text{E}_2$
- La concentrazione dei due coenzimi regola anche la direzione della catalisi di  $\text{E}_2$  e  $\text{E}_3$ .
- Negli eucarioti  $\text{E}_1$  può essere fosforilato da una chinasi attivata dalla forma acetilata di  $\text{E}_2$
- La forma fosforilata di  $\text{E}_1$  è inattiva mentre la forma defosforilata è attiva.

## Controllo della piruvato deidrogenasi



## Controllo della piruvato deidrogenasi



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

265

## Ciclo di Krebs

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

Ossidazione dell'acetil-CoA a  $\text{CO}_2$

## 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"



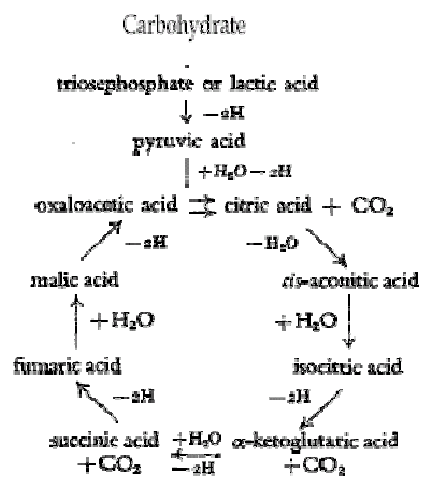
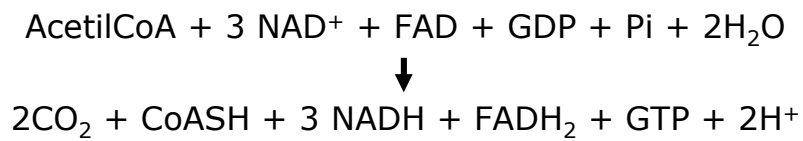
**Fritz Albert Lipmann**

## Ciclo di Krebs

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

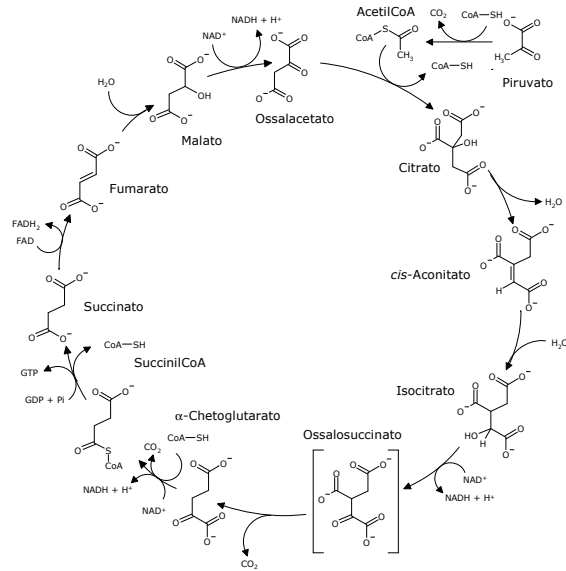
## Ciclo di Krebs

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

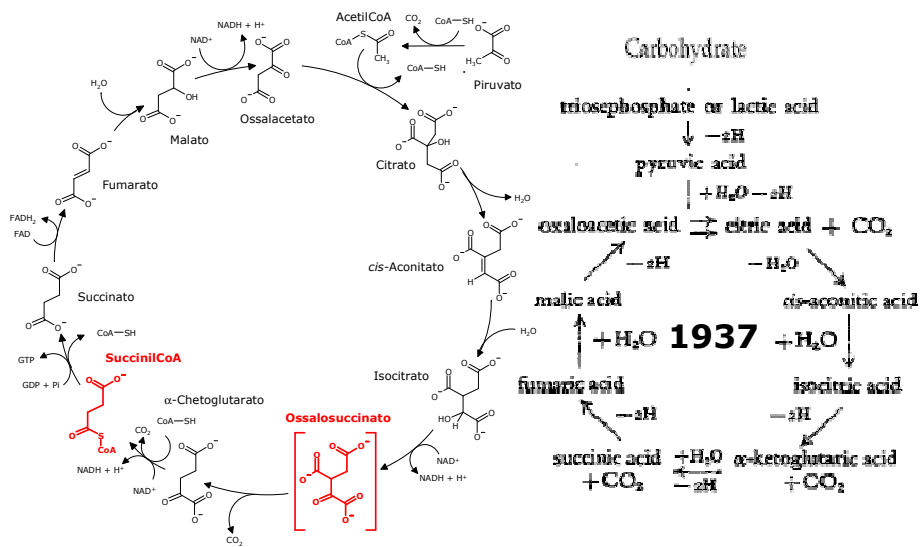


Krebs and Johnson (1937) "The role of citric acid in the intermediate metabolism in animal tissues".  
*Enzymologica* 4:148-156.

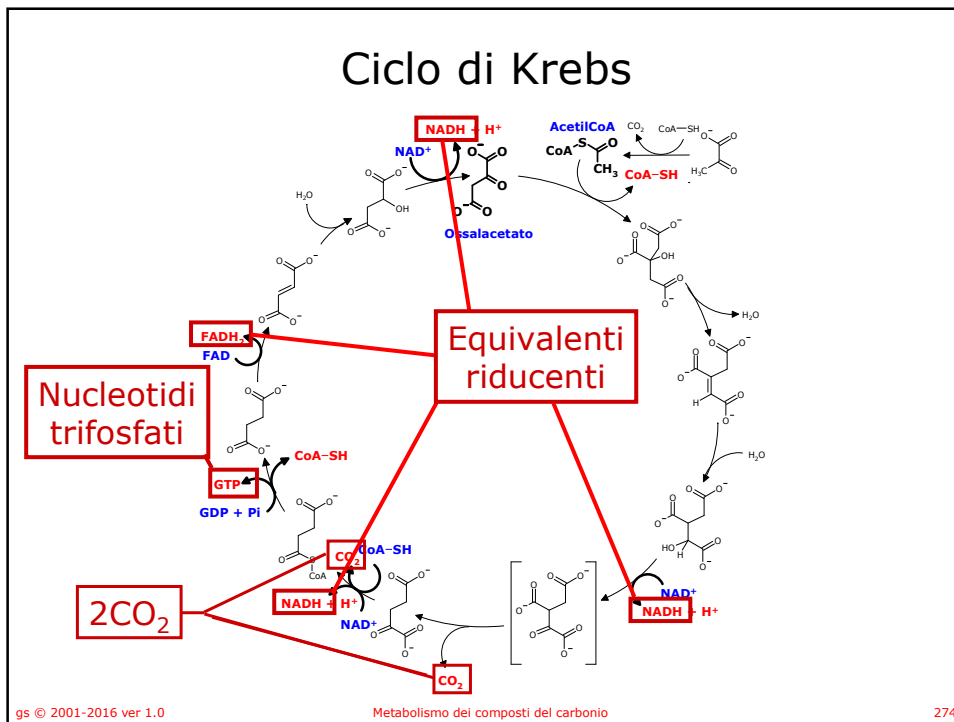
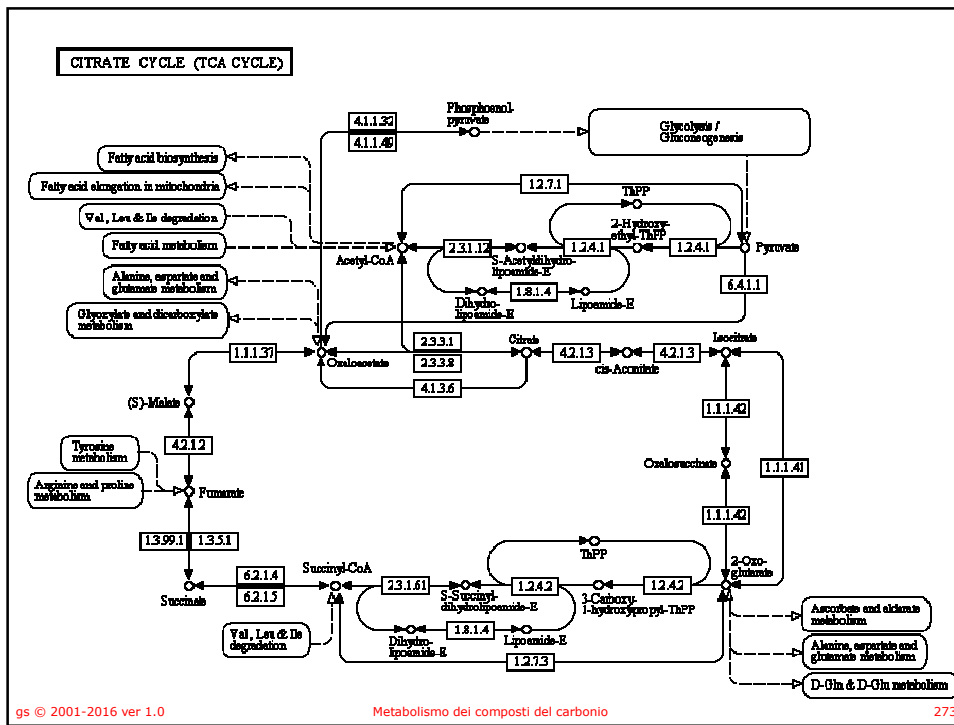
# Ciclo di Krebs



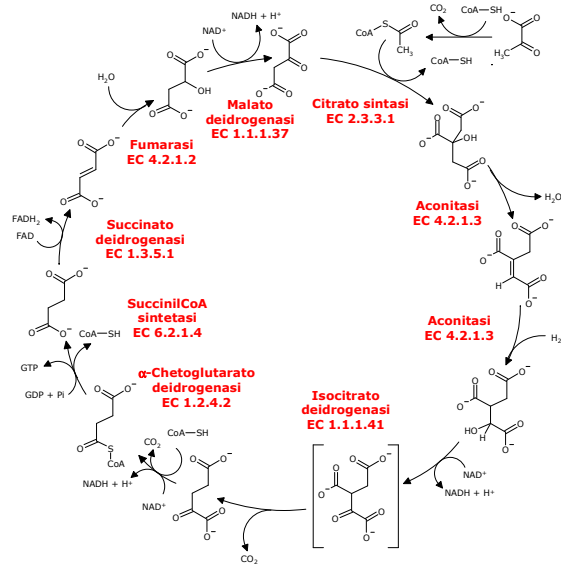
# Ciclo di Krebs



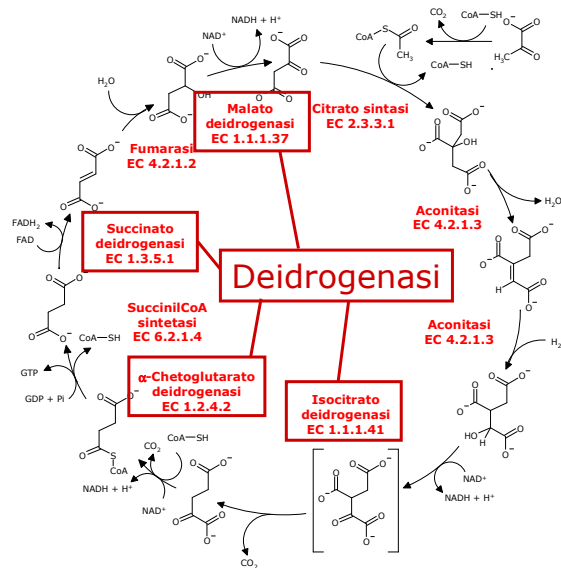




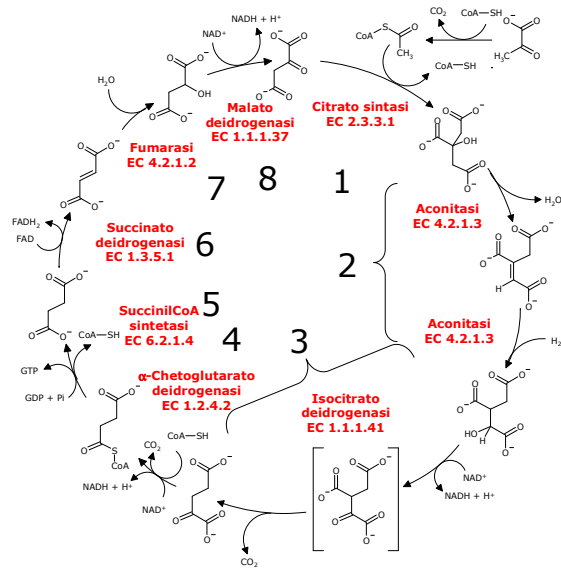
# Ciclo di Krebs



# Ciclo di Krebs



# Ciclo di Krebs

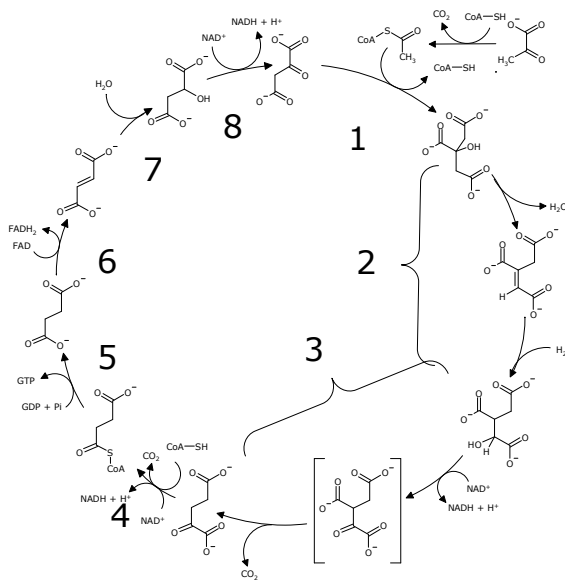


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

277

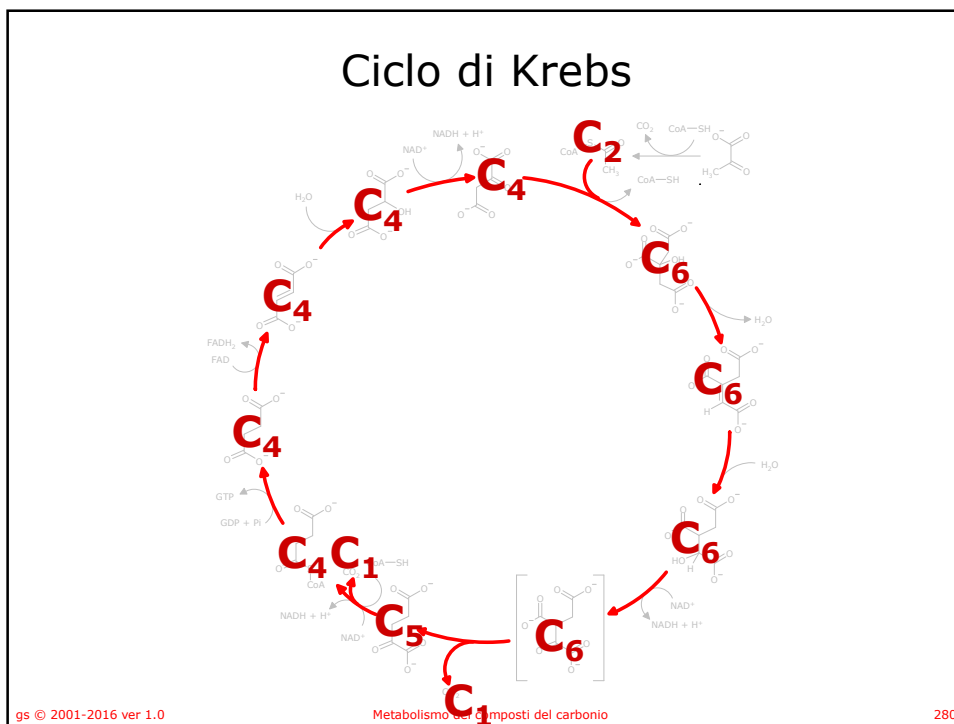
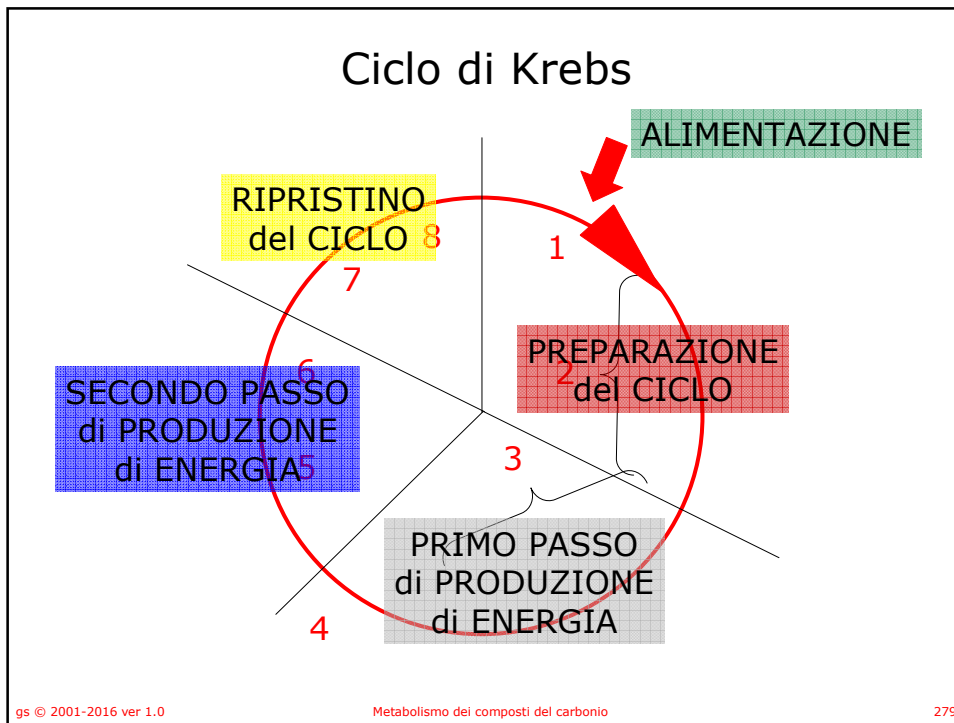
# Ciclo di Krebs



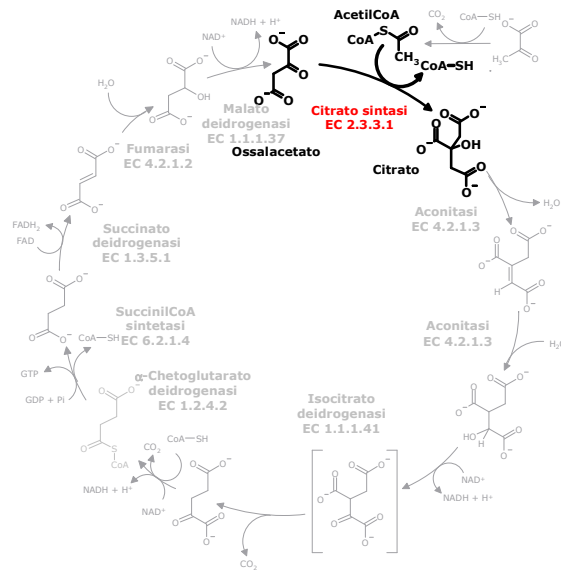
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

278



## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

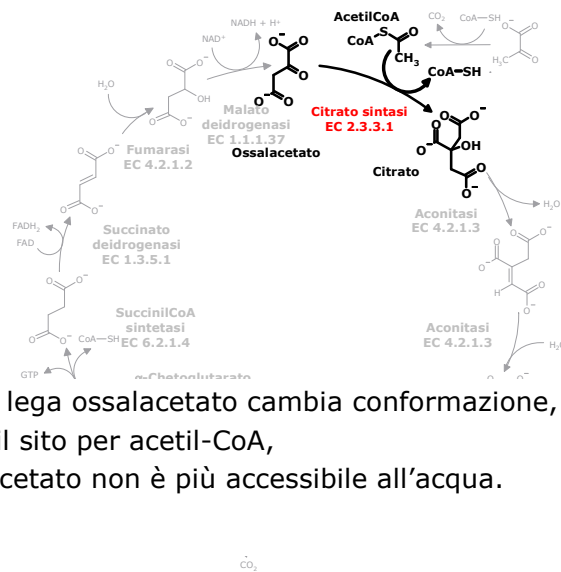


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

281

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



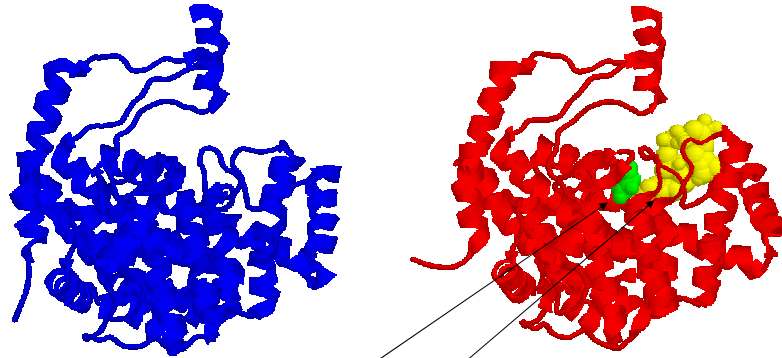
- Quando lega ossalacetato cambia conformazione,
- Si crea il sito per acetil-CoA,
- L'ossalacetato non è più accessibile all'acqua.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

282

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



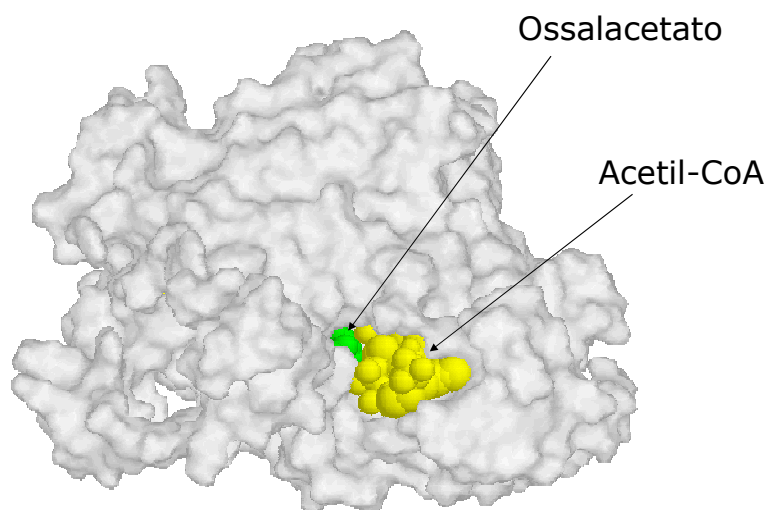
- Quando lega ossalacetato cambia conformazione,
- Ci crea il sito per acetil-CoA,
- L'ossalacetato non è più accessibile all'acqua.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

283

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



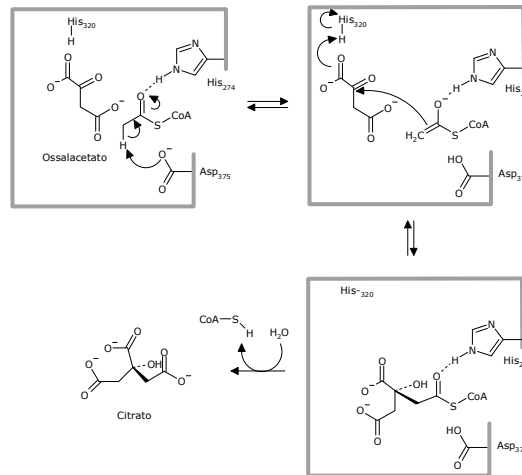
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

284

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

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



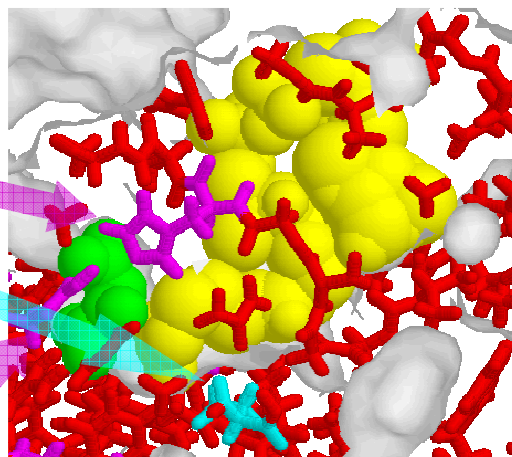
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

285

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)

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

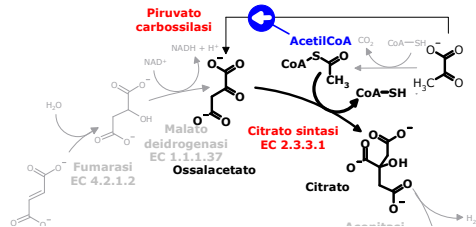


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

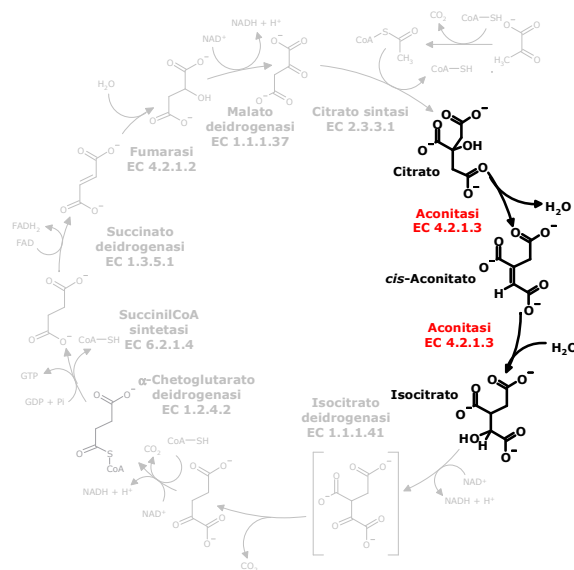
286

## Citrato sintasi (EC 2.3.3.1)



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

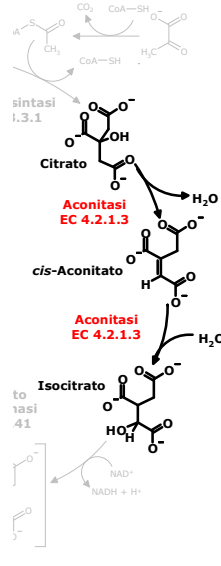
## Aconitasi (EC 4.2.1.3)



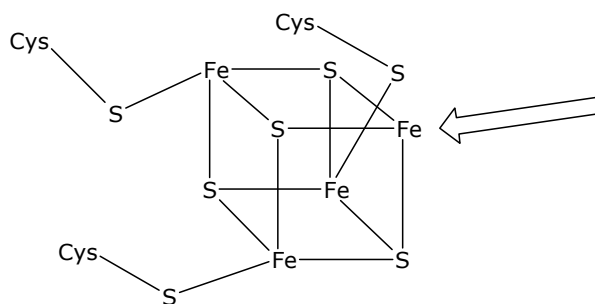


## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

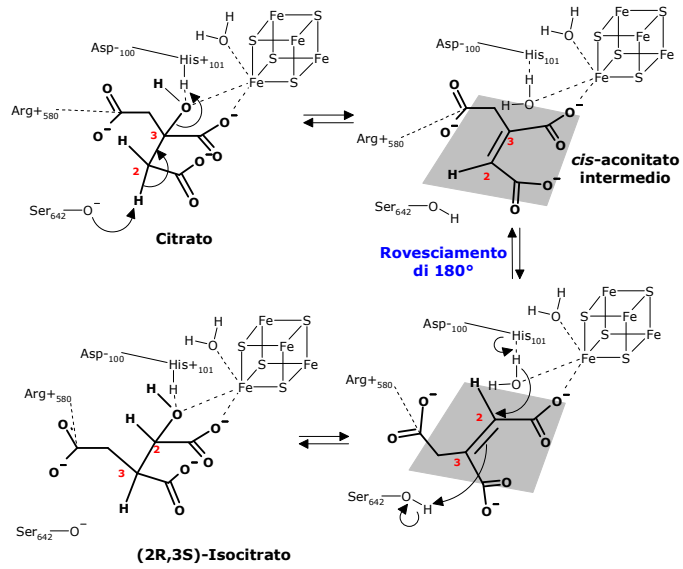
- Catalizza la conversione stereospecifica del citrato in isocitrato attraverso una deidratazione e una reidratazione,
  - L'intermedio cis-aconitato non è rilasciato dal sito attivo,
  - Nel sito attivo vi è un cluster FeS ( $\text{Fe}_4\text{S}_4$ )
  - Tre degli ioni Fe sono complessati da un S di tre Cys, il quarto è il sito che lega il substrato.
- Il  $\Delta G$  della reazione è positivo, il prodotto viene rimosso, il  $\Delta G$  si avvicina a zero a concentrazioni reali.



## Aconitasi (EC 4.2.1.3)



## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

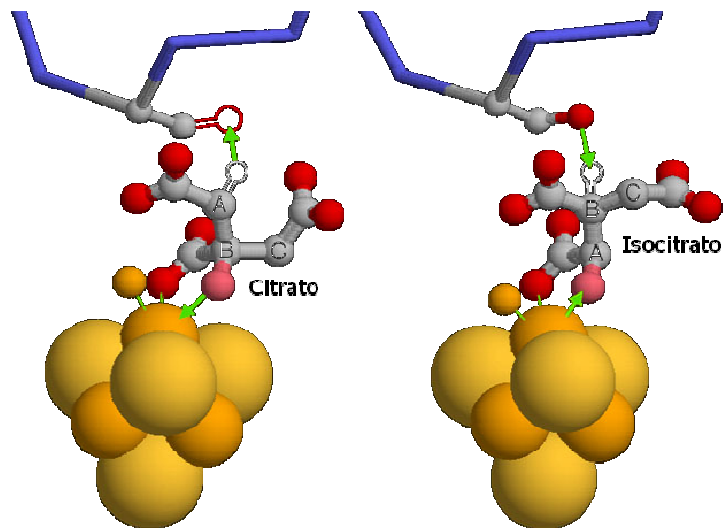


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

291

## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

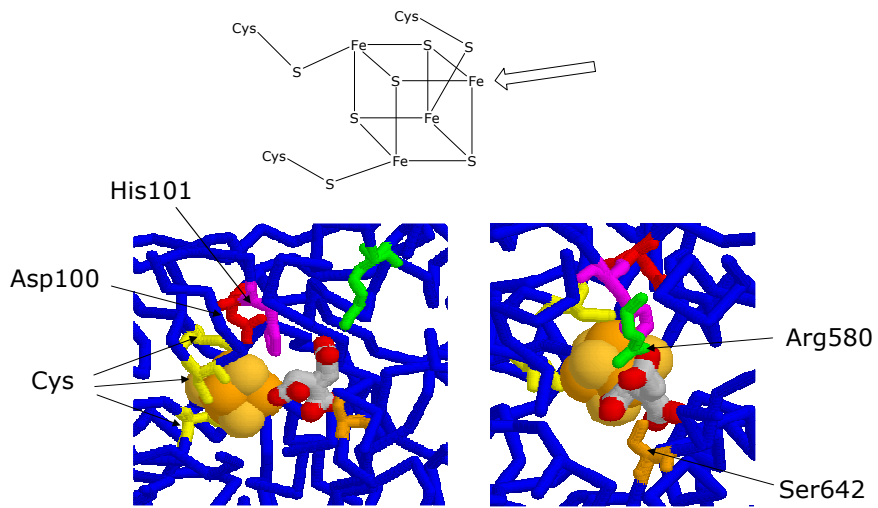


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

292

## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

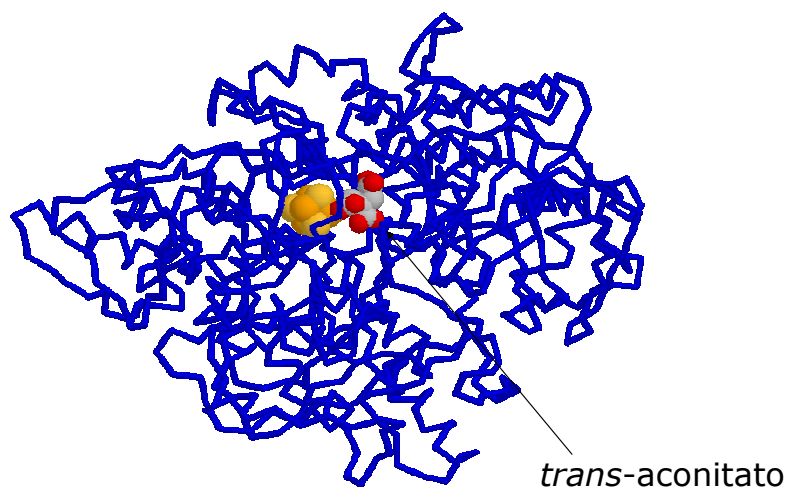


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

293

## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

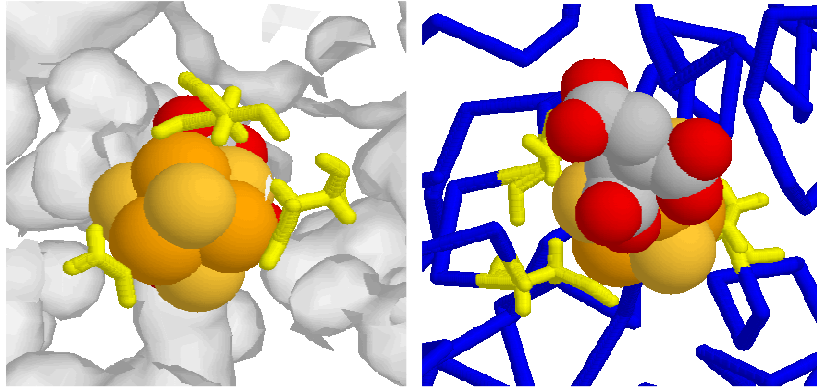


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

294

## Aconitasi (EC 4.2.1.3)

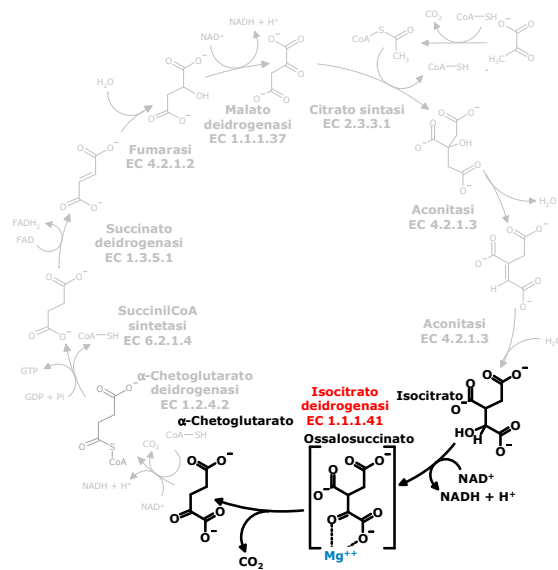


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

295

## Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)



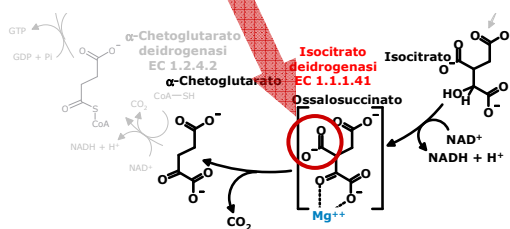
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

296

## Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)

- Catalizza la decarbossilazione ossidativa del isocitrato,
- La porzione nicotinamidica del NAD<sup>+</sup> (o del NADP<sup>+</sup> in un isoenzima) ossida il gruppo OH a carbonile,
- Si forma l'intermedio ossalosuccinato nel quale vi è l'interazione con lo ione Mg<sup>++</sup> (Mn<sup>++</sup>),
- Il gruppo COO<sup>-</sup> non interessato nella formazione del complesso esce come CO<sub>2</sub>,
- Si forma α-chetoglutarato.



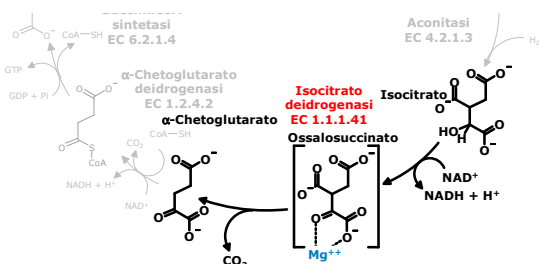
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

297

## Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)

- 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<sup>++</sup> e NAD<sup>+</sup> (NADH antagonista)
  - Quando il rapporto ATP/ADP è basso il ciclo di Krebs è attivo.

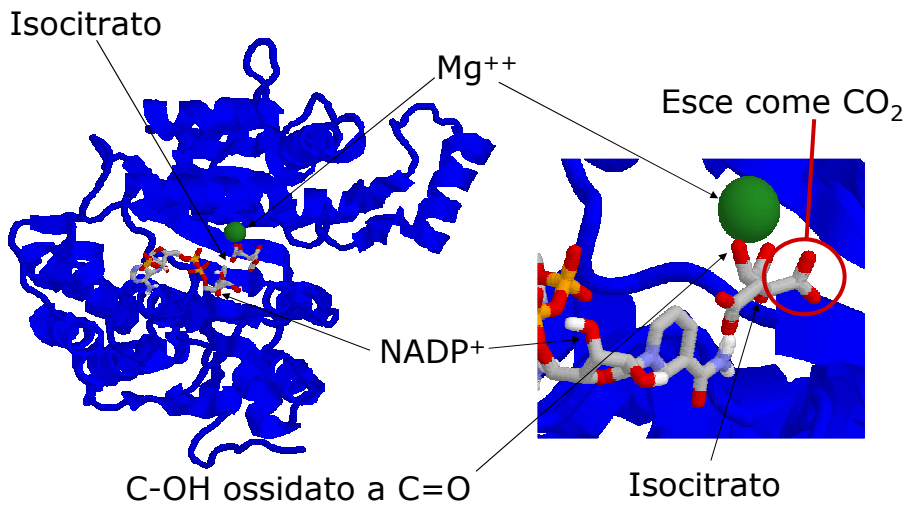


gs © 2001-2016 ver 1.0

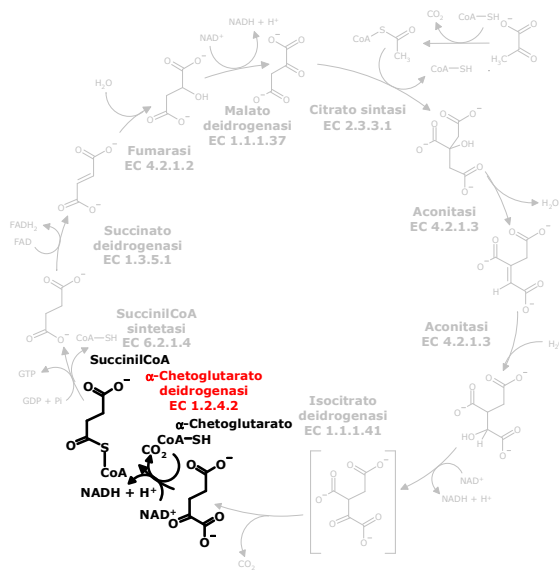
Metabolismo dei composti del carbonio

298

### Isocitrato deidrogenasi (EC 1.1.1.41)

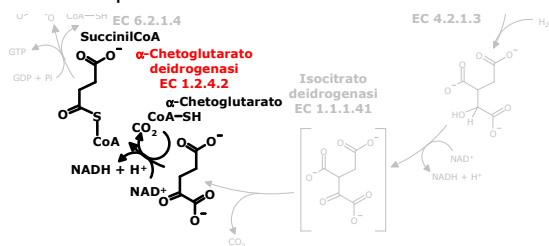


### α-chetoglutarato deidrogenasi (EC 1.2.4.2)



### $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi (EC 1.2.4.2)

- È un complesso enzimatico che converte l' $\alpha$ -chetoglutarato a succinil-CoA e  $\text{CO}_2$ .
- La reazione produce NADH e conserva l'energia nel legame tioestere
- La reazione è spontanea ( $\Delta G^{\circ'} = -33.5 \text{ kJ/mol}$ ).
- Meccanismo quasi identico a quello del complesso piruvato deidrogenasi ( $E_1, E_2, E_3$ )
  - $E_2$  ed  $E_3$  sono conservati nei due complessi enzimatici,
  - $E_1$  ha diversa specificità di substrato.

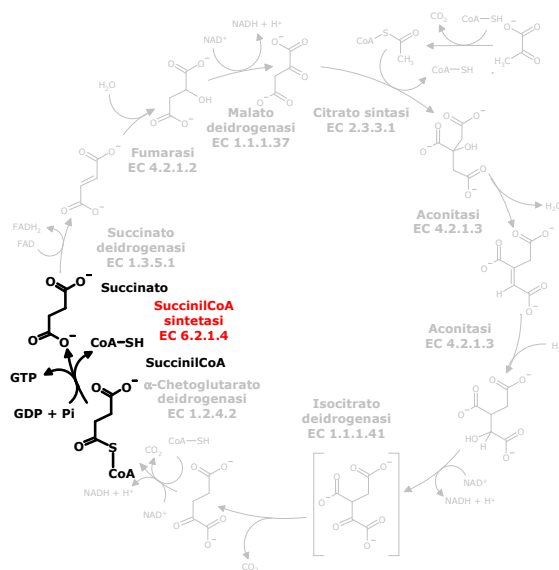


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

301

### SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)

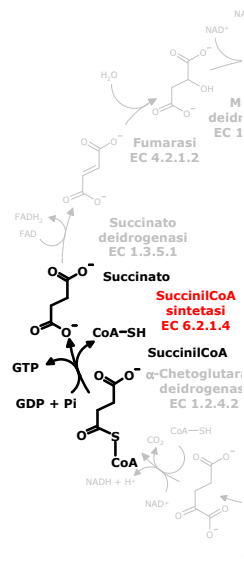


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

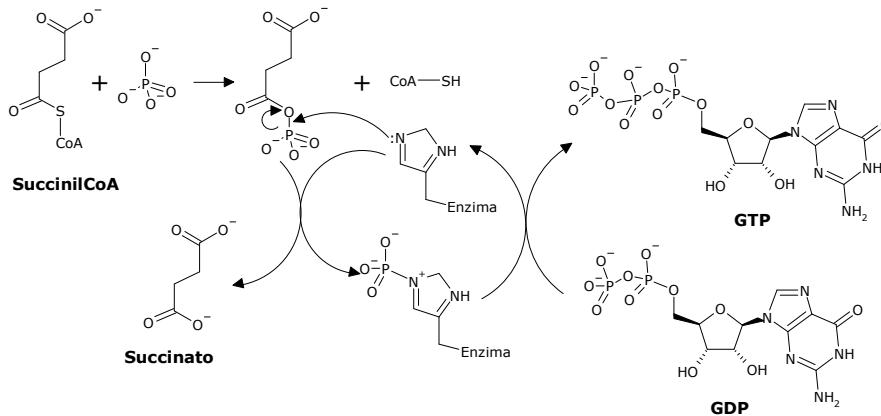
302

## SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)



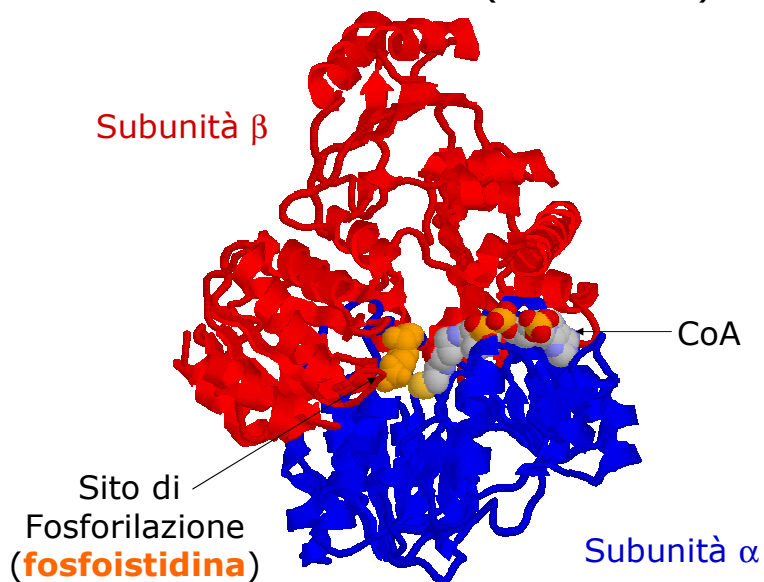
- Converte il succinil-CoA in succinato e produce GTP (ATP) da GDP (ADP) e Pi.
- L'enzima è fosforilato in una His.
- È un eterodimero:
  - La subunità  $\alpha$  contiene il sito di fosforilazione (His) e lega CoA.
  - La subunità  $\beta$  dà la specificità per ATP o GTP.
- La reazione è vicina all'equilibrio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

## Meccanismo





## SuccinilCoA sintetasi (EC 6.2.1.4)

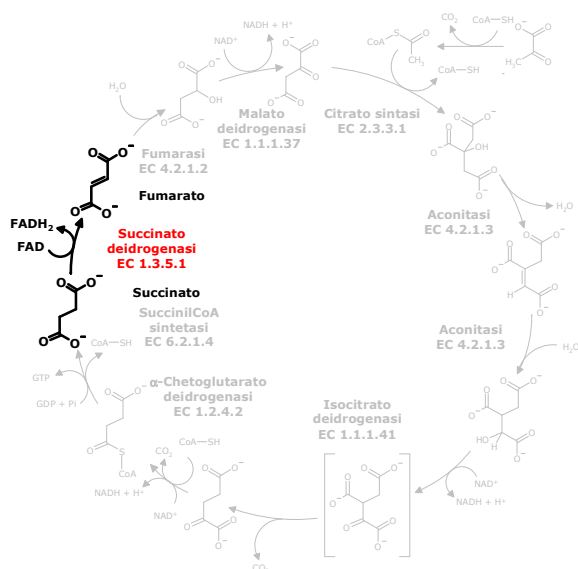


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

305

## Succinato deidrogenasi (EC 1.3.5.1)



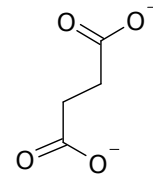
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

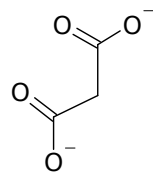
306

## Succinato deidrogenasi (EC 1.3.5.1)

- Per completare il ciclo il succinato deve venire convertito in ossalacetato.
- Il succinato è deidrogenato a fumarato stereospecificatamente dalla flavoproteina succinato deidrogenasi con produzione di  $\text{FADH}_2$ .
- 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  $\text{FADH}_2$  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.

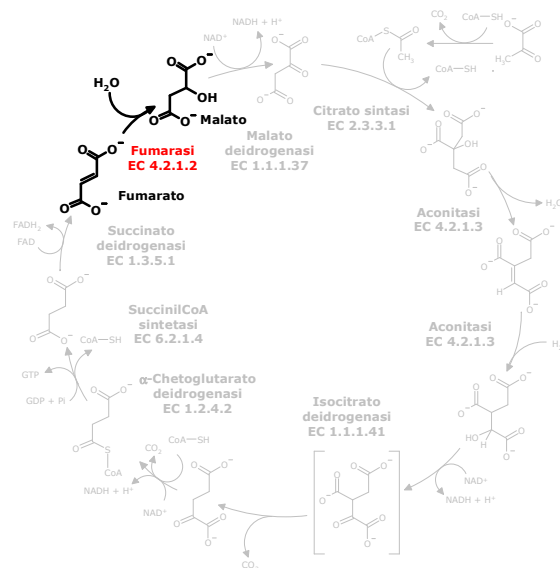


Succinato

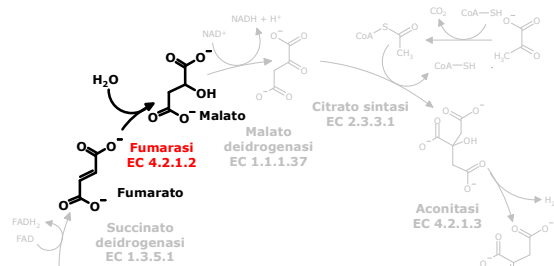


Malonato

## Fumarasi (EC 4.2.1.2)

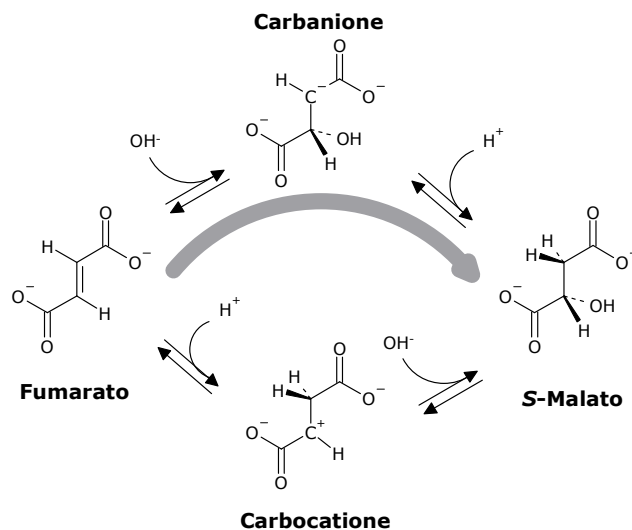


## Fumarasi (EC 4.2.1.2)

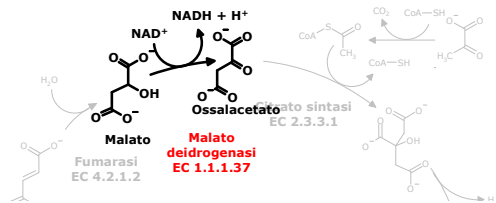


- La fumarasi catalizza l'idratazione reversibile del fumarato, si forma (*S*)-malato (*L*-malato).
- È una reazione stereospecifica, viene idratato il doppio legame *trans* ma non il *cis* (maleato).
- Nella reazione inversa solo il *L*-malato è substrato dell'enzima non l'isomero *D*.

## Meccanismo

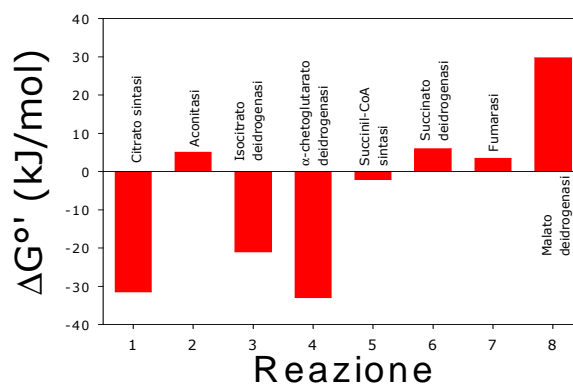


## Malato deidrogenasi (EC 1.1.1.37)

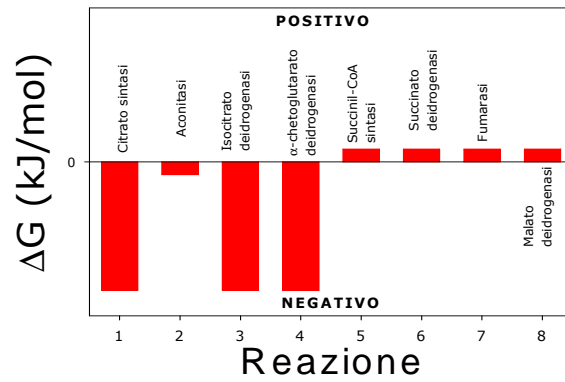


- La L-malato deidrogenasi ossida il malato a ossalacetato rigenerando il composto di partenza del ciclo e producendo NADH.
- La reazione è sfavorita ( $\Delta G^{\circ} = 29.7 \text{ kJ/mol}$ ), ma la concentrazione di ossalacetato è bassa ( $<10^{-6} \text{ M}$ ), il che spinge la reazione in avanti.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

## Energia



## Energia

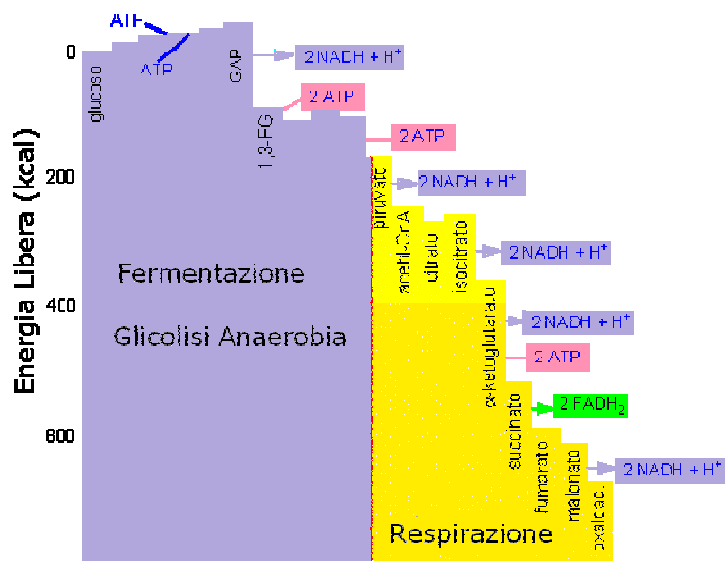


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

313

## Energia



gs © 2001-2016 ver 1.0

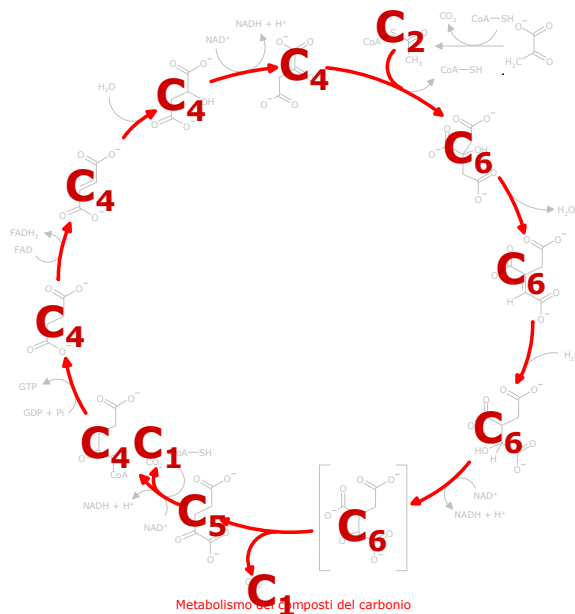
Metabolismo dei composti del carbonio

314

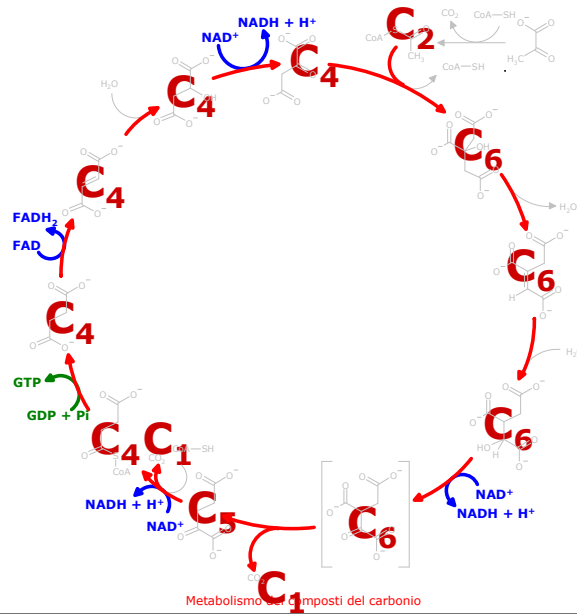
## Ciclo di Krebs

- 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.

## Ciclo di Krebs



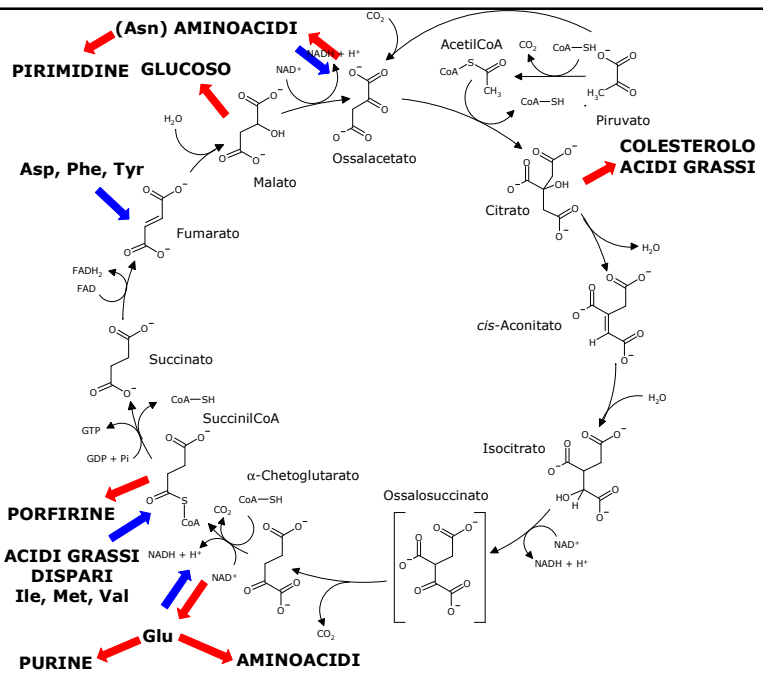
# Ciclo di Krebs



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

317



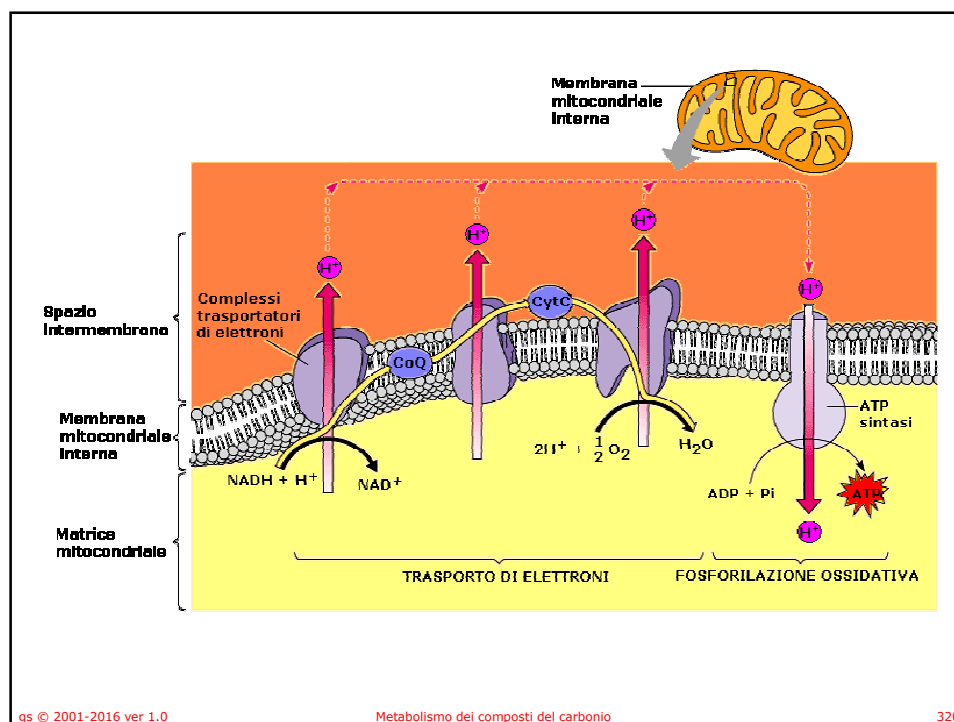
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

318

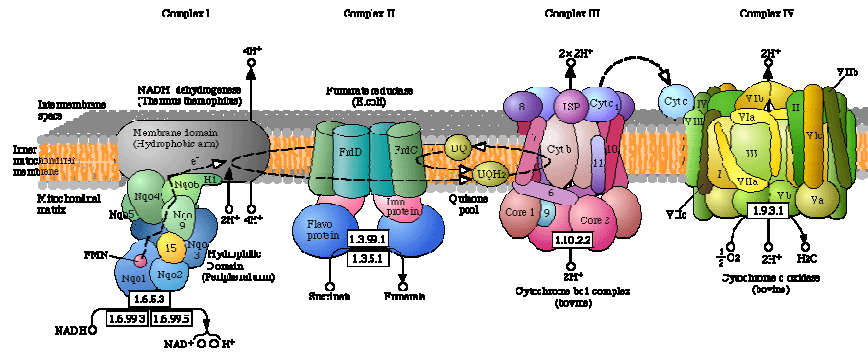
## Reazioni anaplerotiche

- 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  $\text{CO}_2$  e piruvato. La reazione è catalizzata dalla piruvato carbossilasi.
- La produzione di ossalacetato avviene principalmente nel rene e nel fegato.
- La piruvato carbossilasi è fortemente stimolata da acetil-CoA.





## La catena respiratoria



*Ultima versione*

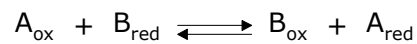
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

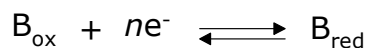
321

## Trasporto di elettroni

- In una reazione di ossidoriduzione



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



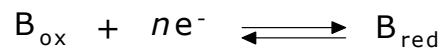
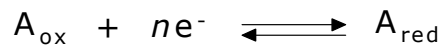
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

322

## Trasporto di elettroni

- Per ogni semireazione vale



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

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

## Trasporto di elettroni

- Per un trasferimento di elettroni:

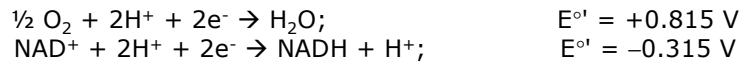
$$\Delta E^{\circ} = E^{\circ}_{(\text{ossidante})} - E^{\circ}_{(\text{riducente})} = E^{\circ}_{(\text{accettore})} - E^{\circ}_{(\text{donatore})}$$

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

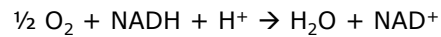
- Un trasferimento di elettroni è spontaneo ( $\Delta G$  negativo) se il potenziale ( $E^{\circ}$ ) del donatore è più negativo del potenziale ( $E^{\circ}$ ) dell'accettore.
- Se  $\Delta E^{\circ}$  è positivo la reazione è spontanea.

## Trasporto di elettroni

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



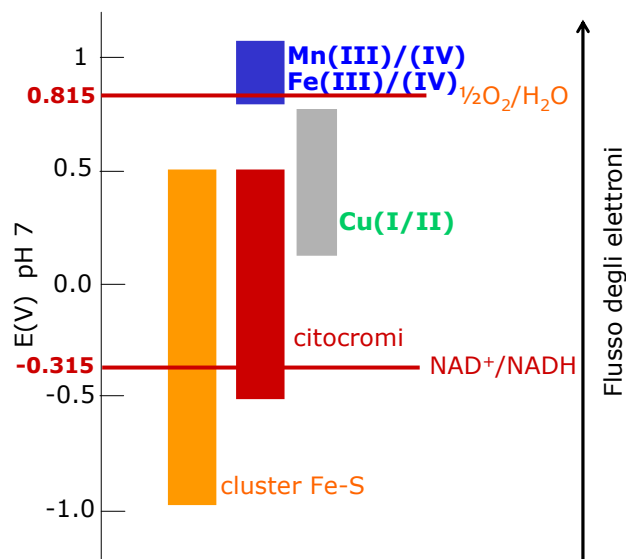
- Sottraendo la seconda dalla prima:



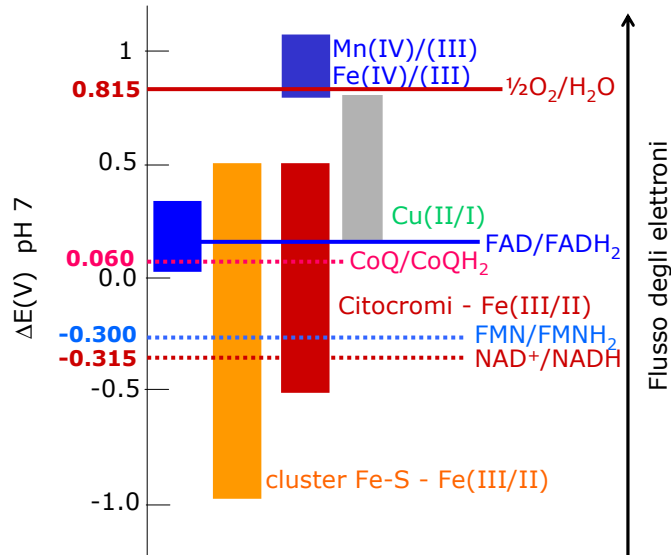
$$\Delta E^{\circ'} = +1.13 \text{ V}$$

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

## Potenziale



## Potenziale di riduzione



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

327

## Personaggi:

- I trasportatori di elettroni:
  - Nucleotidi:
    - NAD<sup>+</sup>/NADH,
    - FAD/FADH<sup>+</sup>/FADH<sub>2</sub>,
    - FMN/FMNH<sup>+</sup>/FMNH<sub>2</sub>
  - Trasportatori mobili:
    - Coenzima Q,
    - Citocromo c
  - Composti ionici:
    - Fe<sup>+++</sup>/Fe<sup>++</sup> nei:
      - citocromi a, b, c e
      - nei centri ferro-zolfo

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

328

## Personaggi:

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

## Trasportatori di elettroni

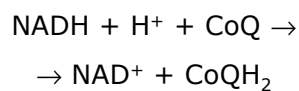
- Delle coppie  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  e  $\text{FAD}/\text{FADH}_2$  abbiamo già visto.
- FMN (Flavin MonoNucleotide) è il gruppo prostetico di alcune flavo proteine.
- La struttura è simile al FAD, ma manca la parte adeninucleotidica.
- In soluzione il FMN (come il FAD) può accettare due elettroni e due  $\text{H}^+$  per formare  $\text{FMNH}_2$ .

## I complessi

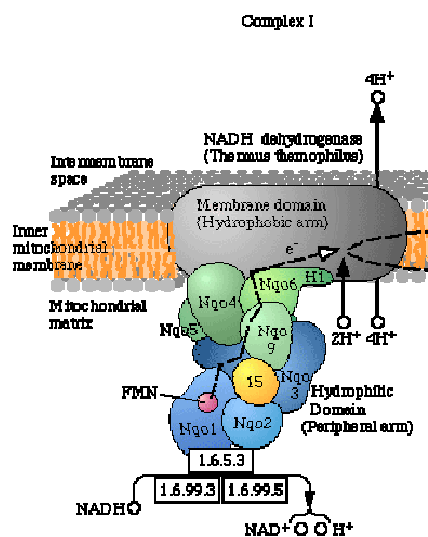
Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b <sub>560</sub> , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b <sub>H</sub> , cyt b <sub>L</sub> , cyt c1, Fe-S <sub>Rieske</sub>
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a <sub>3</sub> , Cu <sub>A</sub> , Cu <sub>B</sub>

## Complesso I

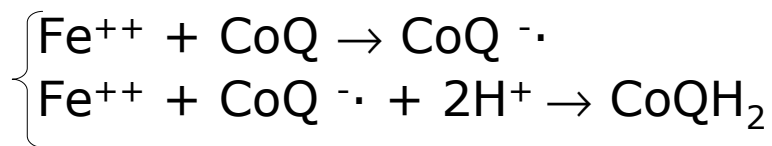
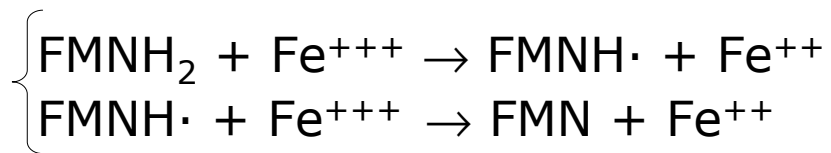
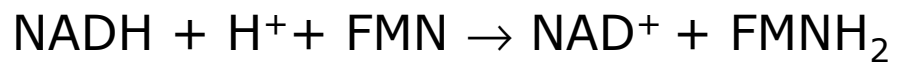
- Il Complesso I catalizza l'ossidazione del NADH con riduzione del CoQ:



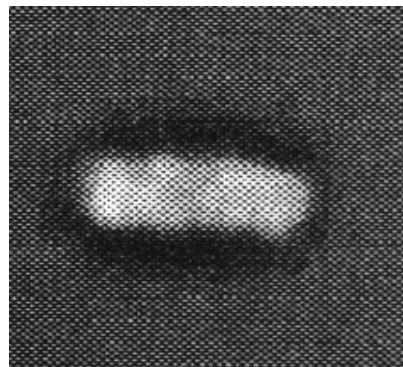
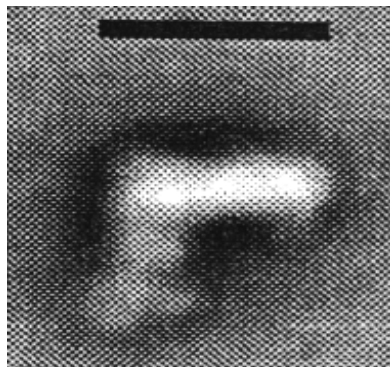
- La struttura ad alta risoluzione non è ancora disponibile, si ha una struttura al microscopio elettronico.
- Il complesso ha forma di L.



## Complesso I

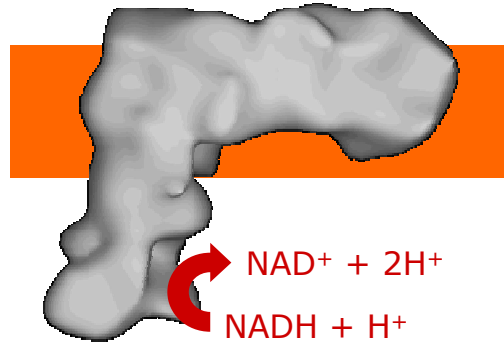


## Complesso I



## Complesso I

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

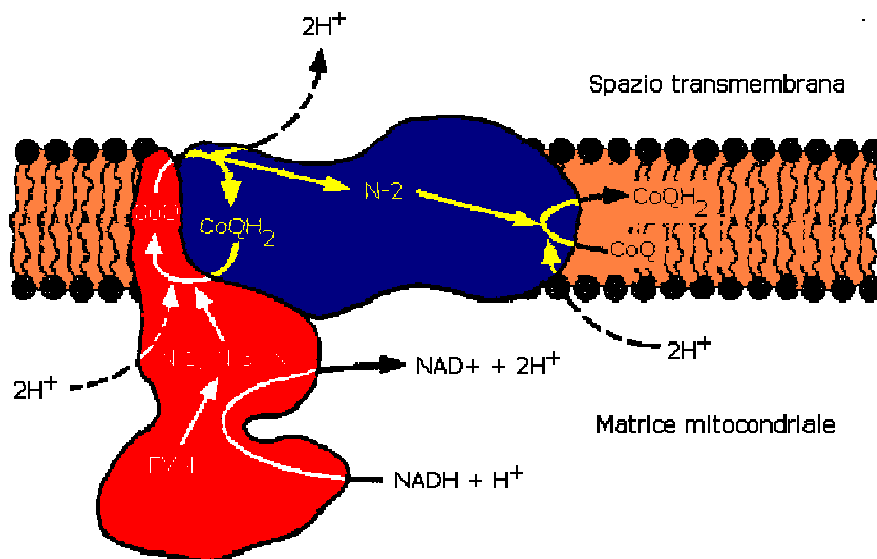


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

335

## Complesso I

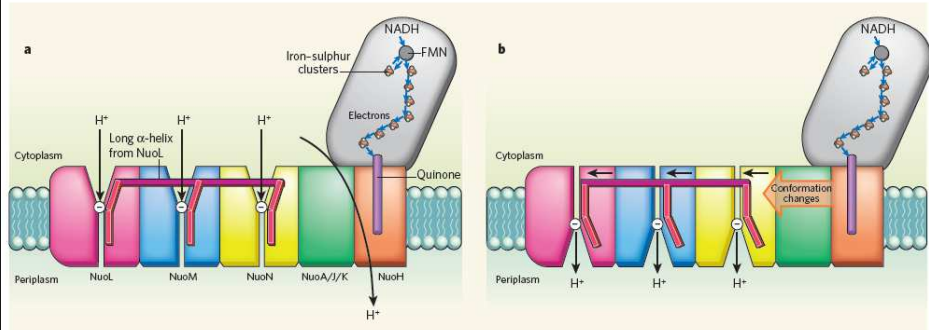


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

336





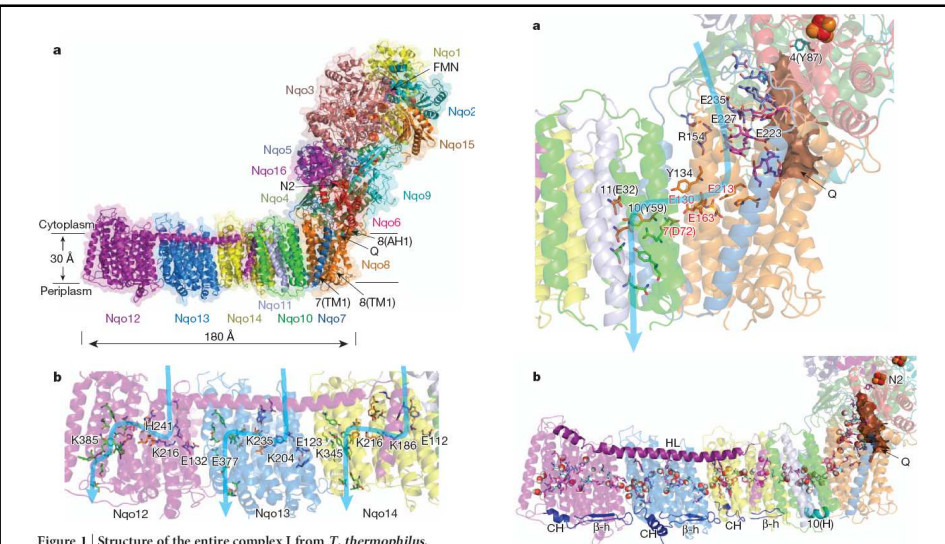
**Figure 1 | Indirect coupling of electron transfer to proton pumping in complex I.** Complex I, an enzyme found in mitochondrial and bacterial membranes, converts energy by coupling electron transfer to proton pumping. Sazanov and colleagues' crystal structures<sup>1</sup> of bacterial complex I reveal that the transmembrane NuoL subunit of the enzyme projects a long  $\alpha$ -helix through the adjacent NuoM and NuoN subunits. They suggest the following mechanism to explain how electron transfer drives proton pumping. **a**, Pairs of electrons from the metabolic intermediate NADH are transferred to a cofactor (lavin mononucleotide, FMN) and then passed along a chain of iron-sulphur clusters in the extramembrane region of complex I, eventually reaching a quinone cofactor; blue arrows indicate

the electron-transfer pathway. This allows a proton ( $H^+$ ) to pass through complex I at the interface of the extra- and intramembrane regions. Protons can also enter channels in NuoL, NuoM and NuoN from the cytoplasm, but cannot pass through. White circles with minus signs represent negatively charged amino acids, which are key to proton transport. **b**, Conformational changes in the NuoA/J/K/H subunits push the long  $\alpha$ -helix towards the other transmembrane subunits. This tilts three other helices in NuoL, NuoM and NuoN, causing the reorientation of certain residues in the subunits' channels. These local conformational changes allow protons in the channels to pass through the channels and enter the periplasm (the space between the inner and outer bacterial membranes).

## The architecture of respiratory complex I

Rouslan G. Efremov<sup>\*</sup>, Rozbeh Baradaran<sup>\*</sup> & Leonid A. Sazanov

337



**Figure 1 | Structure of the entire complex I from *T. thermophilus*.**

**Figure 3 | E-channel and central hydrophilic axis.**

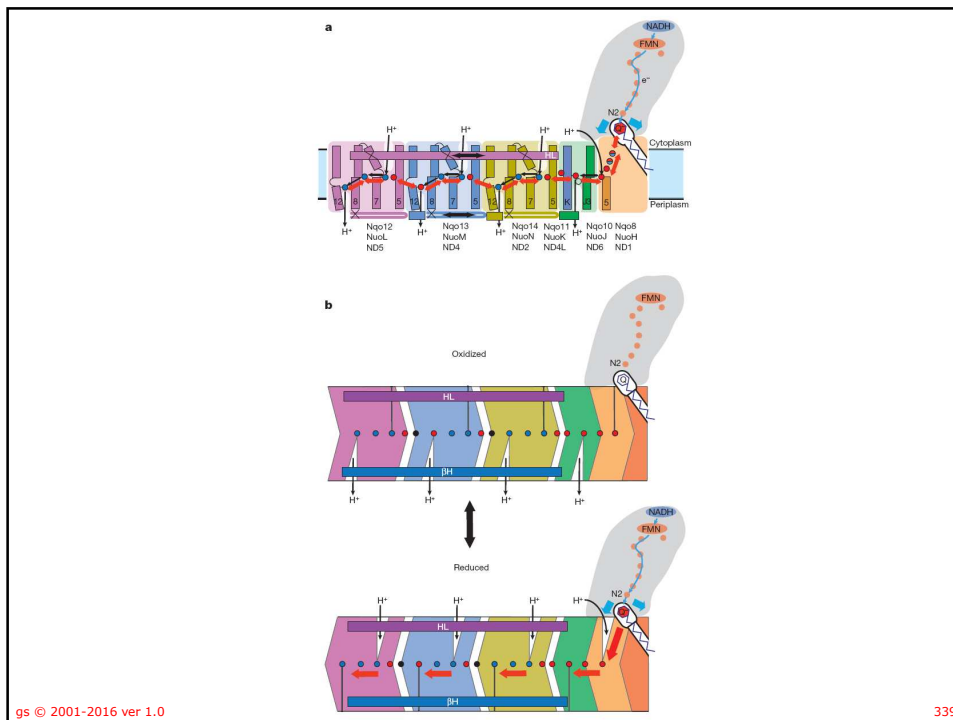
## Crystal structure of the entire respiratory complex I

Rozbeh Baradaran<sup>1</sup>, John M. Berrisford<sup>1,†</sup>, Gurdeep S. Minhas<sup>1</sup> & Leonid A. Sazanov<sup>1</sup>  
444 | NATURE | VOL 494 | 28 FEBRUARY 2013

gs © 2001-2016 ver 1.0

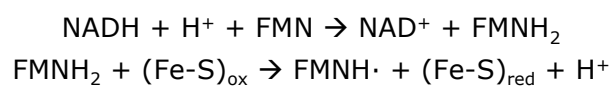
Metabolismo dei composti del carbonio

338



## Complesso I

- Ossidazione del NADH

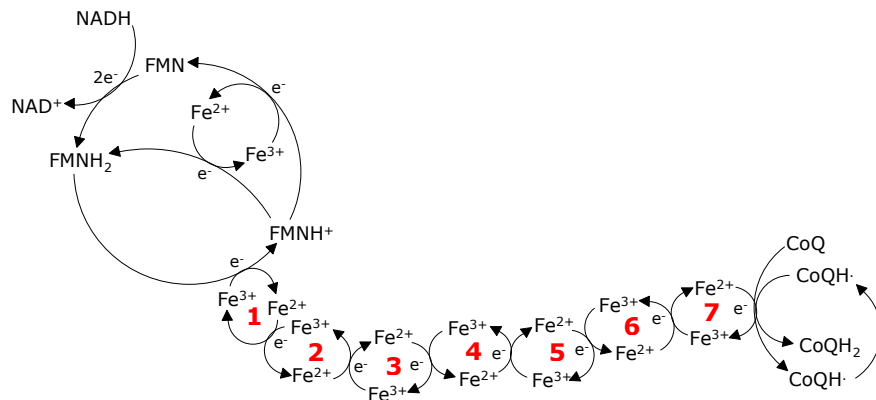


- Dopo che il centro Fe-S è riossidato per trasferimento di un elettrone al successivo, può accettare il secondo elettrone dal FMNH $\cdot$



- Gli elettroni passano da una serie di sette centri Fe-S fino al CoQ
- Il CoQ accetta 2 e $^-$ , uno alla volta, e preleva 2 H $^+$  per formare il CoQH $_2$  completamente ridotto.

## Complesso I – ossidazione del NADH

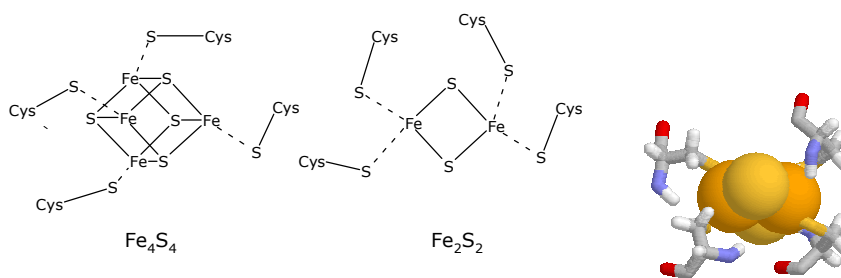


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

341

## Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



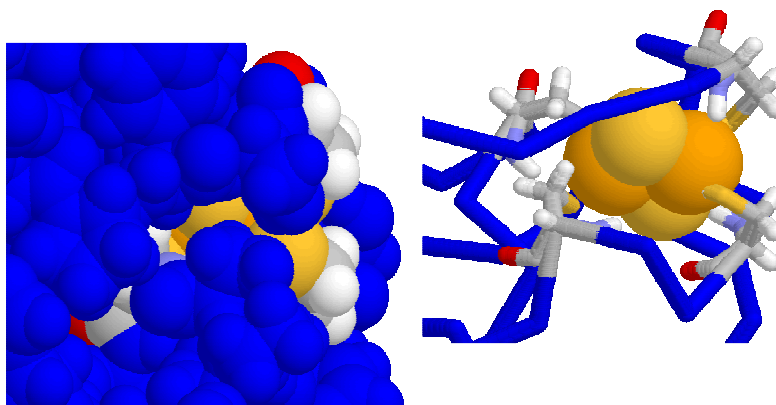
- I centri ferro-zolfo (Fe-S) sono gruppi prostetici che contengono ione Fe (da uno a quattro) complessati con atomi di zolfo elementare o di Cys.
- Le proteine trasportatrici di elettroni possono contenere più centri Fe-S.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

342

## Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



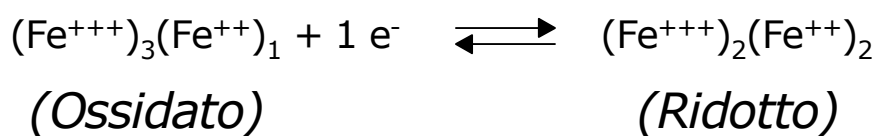
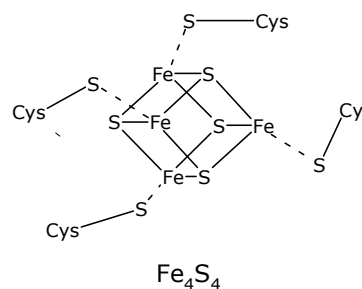
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

343

## Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S

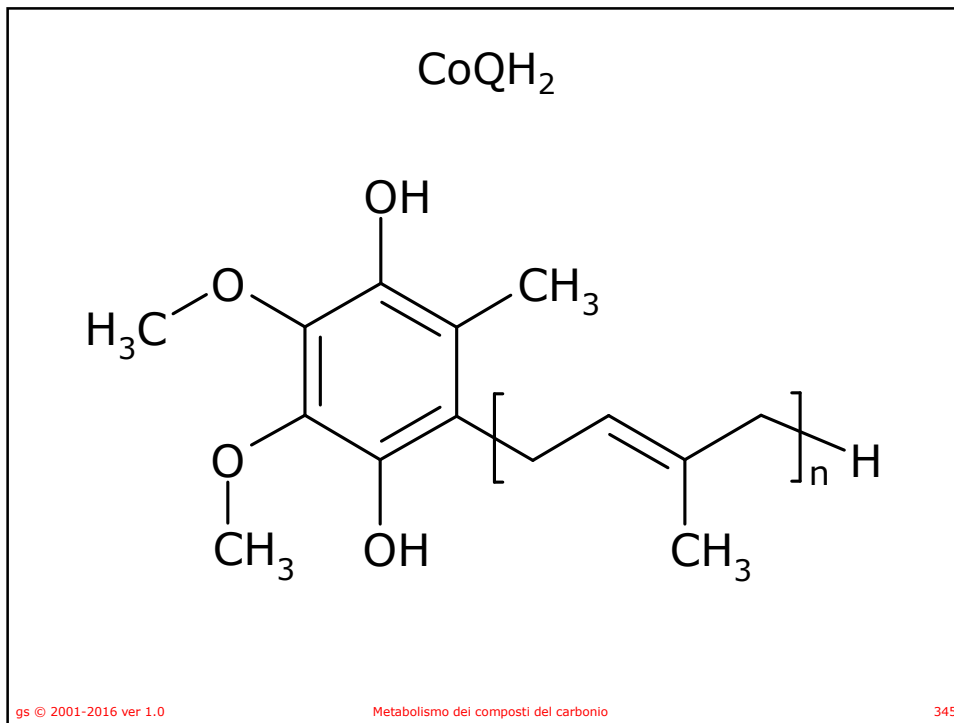
- I centri Fe-S trasferiscono un solo elettrone per volta tra gli ioni Fe a causa della vicinanza degli ioni.
- Il numero di ossidazione del ferro varia da +3 a +2.



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

344



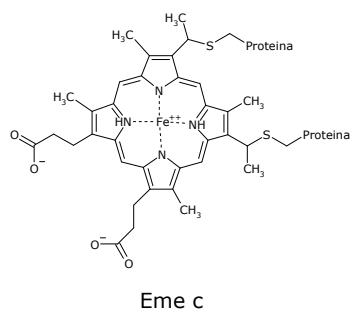
### I complessi

Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
<b>II (EC 1.3.5.1)</b>	<b>Succinato-CoQ reduttasi</b>	<b>5</b>	<b>FAD, cyt b<sub>560</sub>, 3 Fe-S</b>
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b <sub>H</sub> , cyt b <sub>L</sub> , cyt c1, Fe-S <sub>Rieske</sub>
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a <sub>3</sub> , Cu <sub>A</sub> , Cu <sub>B</sub>

gs © 2001-2016 ver 1.0 Metabolismo dei composti del carbonio 346

## Trasportatori di elettroni: gruppo Eme

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

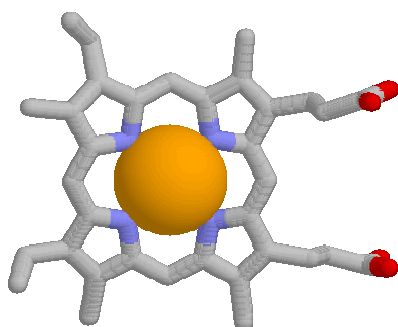


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

347

## Trasportatori di elettroni: gruppo Eme



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



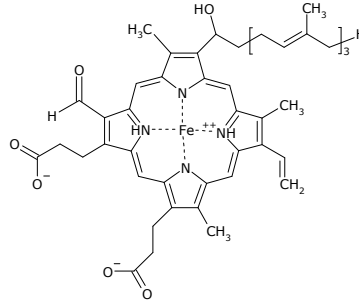
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

348

## Trasportatori di elettroni: Gruppo Eme a

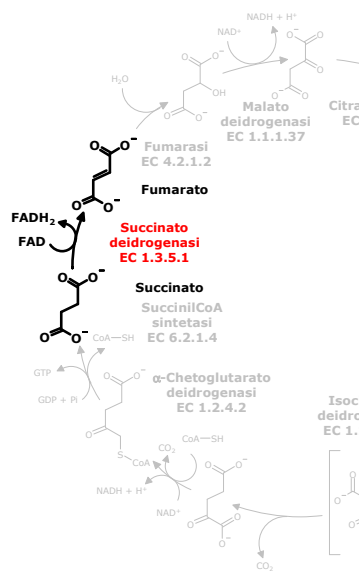
- Il gruppo eme a possiede una catena farnesilica (tre unità isoprenoidi) che ne conferiscono una certa idrofobicità.



## Trova l'intruso



## Complesso II



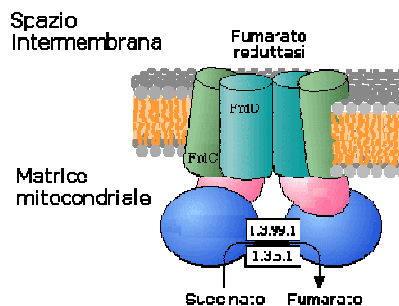
- La succinato deidrogenasi del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ reductasi.
- Il FAD è il recettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH<sub>2</sub> durante l'ossidazione del succinato a fumarato.
- Il FADH<sub>2</sub> è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre CoQH<sub>2</sub>.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

351

## Complesso II



- La succinato deidrogenasi (fumarato reductasi) del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ reductasi.
- Il FAD è l'accettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH<sub>2</sub> durante l'ossidazione del succinato a fumarato.

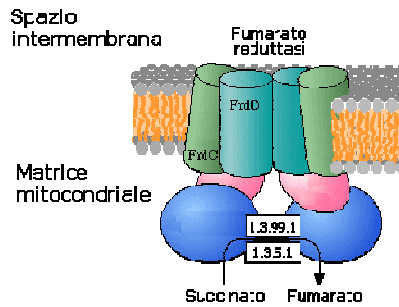
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

352



## Complesso II



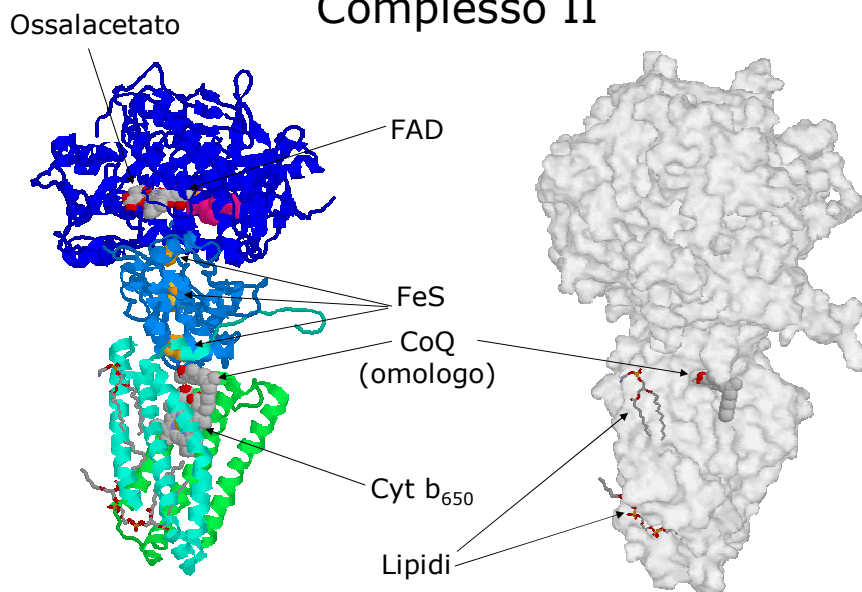
- Il  $\text{FADH}_2$  è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre  $\text{CoQH}_2$ .
- Contrariamente agli altri tre complessi della catena respiratoria il complesso II NON trasporta  $\text{H}^+$  tra la matrice e lo spazio intermembrana.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

353

## Complesso II

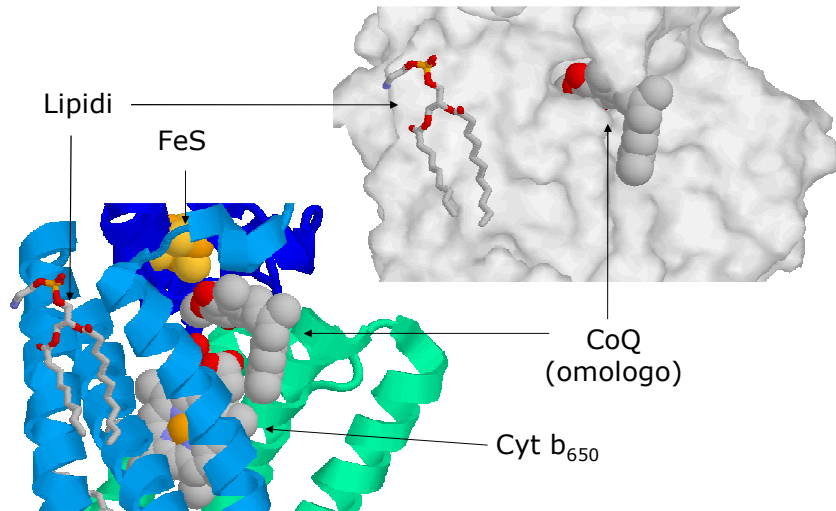


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

354

## Complesso II

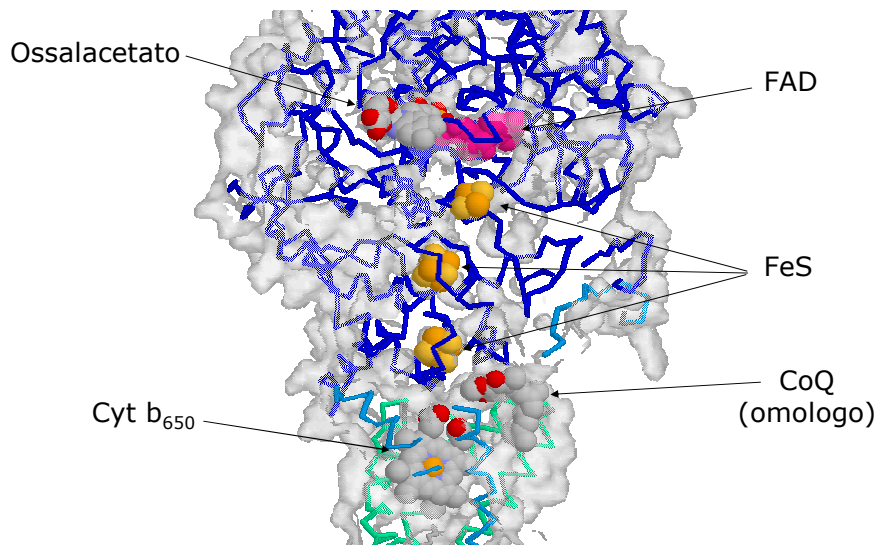


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

355

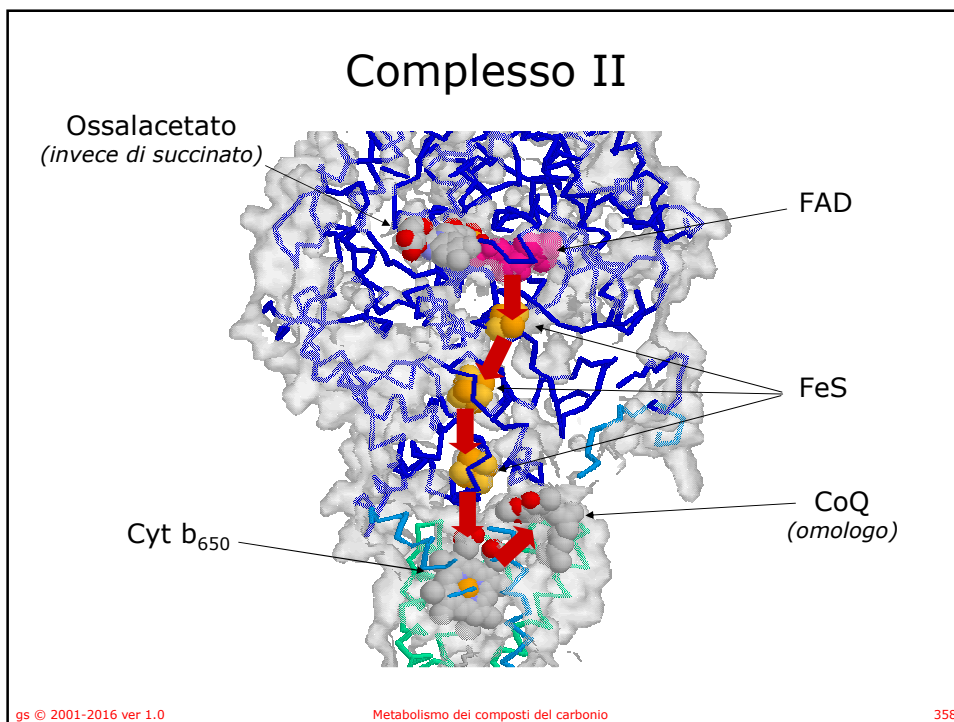
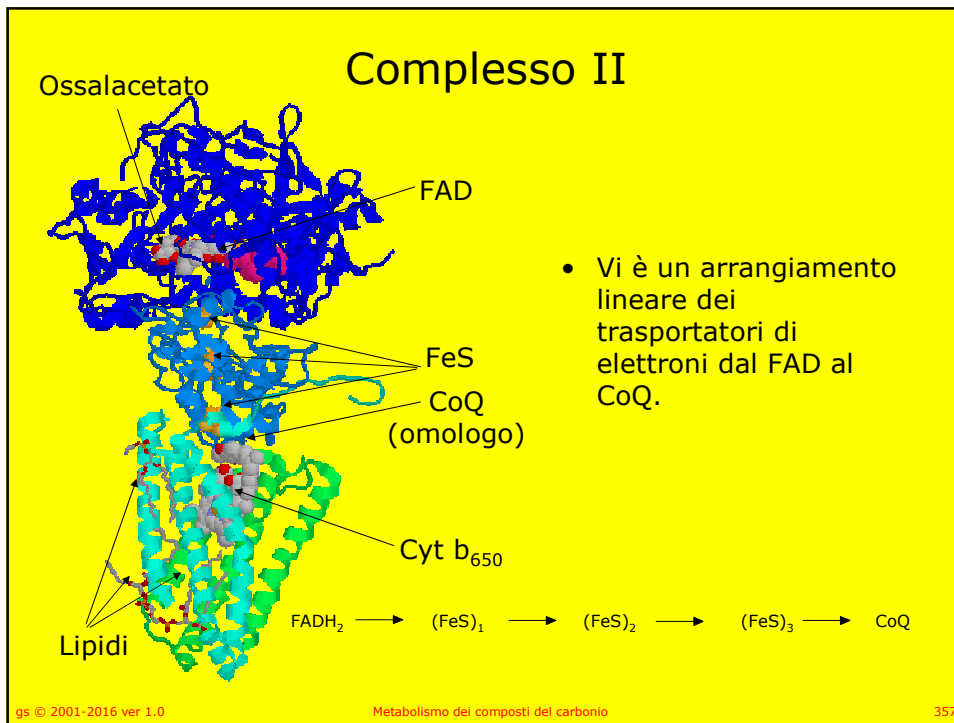
## Complesso II



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

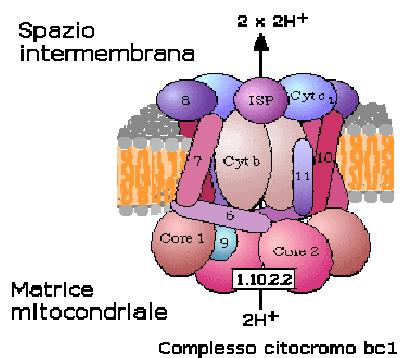
356



## I complessi

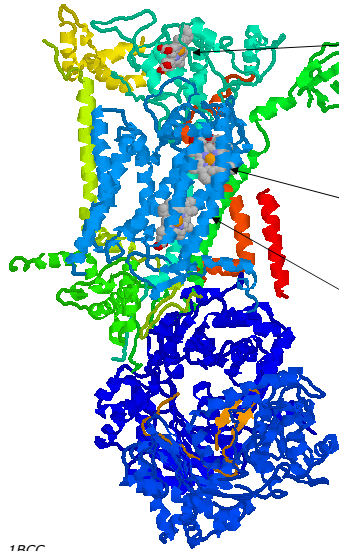
Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt $b_{560}$ , 3 Fe-S
<b>III (EC 1.10.2.2)</b>	<b>CoQ-cyt c ossidoreduttasi</b>	<b>11</b>	<b>cyt <math>b_H</math>, cyt <math>b_L</math>, cyt c1, Fe-S<sub>Rieske</sub></b>
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt $a_3$ , $CU_A$ , $CU_B$

## Complesso III



- Complesso citocromo  $bc_1$
- Il complesso III accetta elettroni dal  $CoQH_2$  generato a livello dei complessi I e II.
- Il trasporto dei  $H^+$  nel complesso III coinvolge il CoQ.

## Complesso III



Cyt  $c_1$

Fe-S

Cyt  $b_L$

Cyt  $b_H$

- Ha:

- un sito di legame del  $\text{CoQH}_2$
- un sito di legame del  $\text{CoQ}$

- Gruppi prostetici:

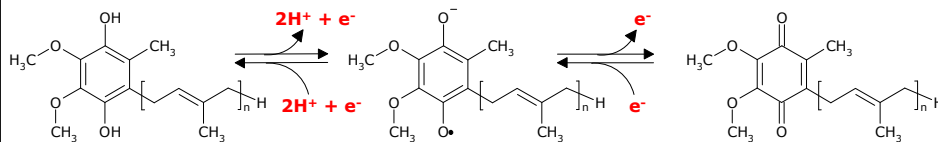
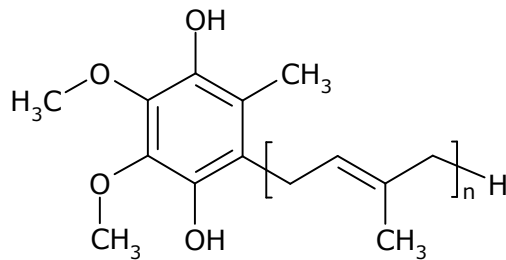
- Una coppia di citocromi b (cit  $b_H$  e cit  $b_L$ )
- Un citocromo c (cit  $c_1$ )
- Un centro Ferro Zolfo ( $\text{Fe}_2\text{S}_2$ )

1BCC

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

361

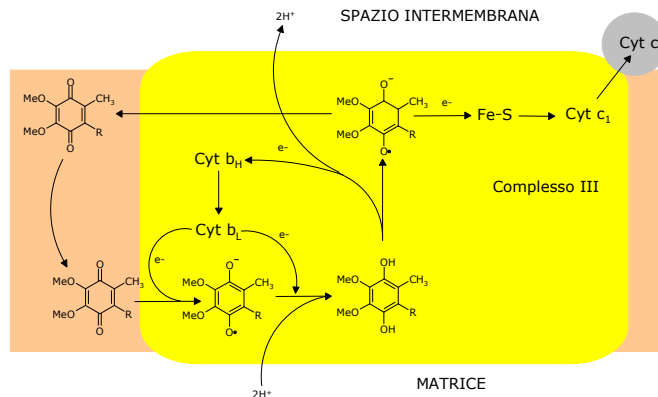


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

362

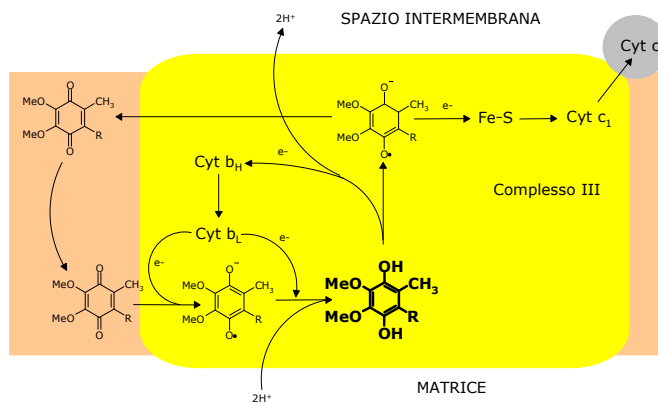
## Q cycle



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

## Q cycle

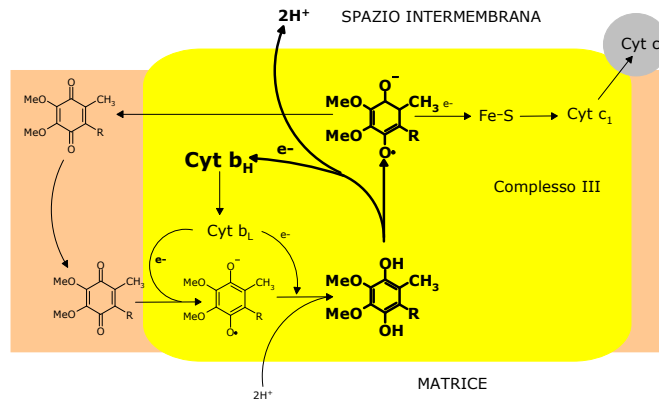
1



- Il  $\text{CoQH}_2$  è legato al proprio sito nella proteina.

## Q cycle

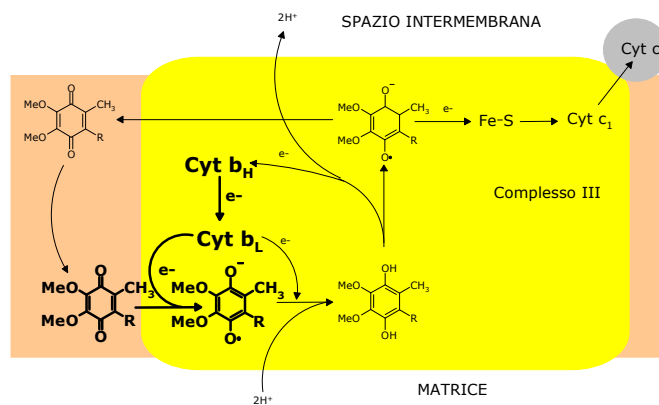
2



- Il  $\text{CoQH}_2$  cede un  $e^-$  al  $\text{Fe}^{+++}$  dell'eme  $b_L$
- Si forma il semichinone carico negativamente.
- 2  $\text{H}^+$  sono rilasciati nello spazio intermembrana.

## Q cycle

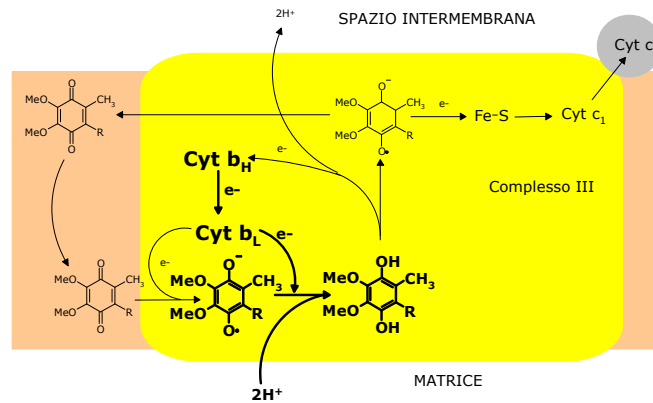
3a



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

## Q cycle

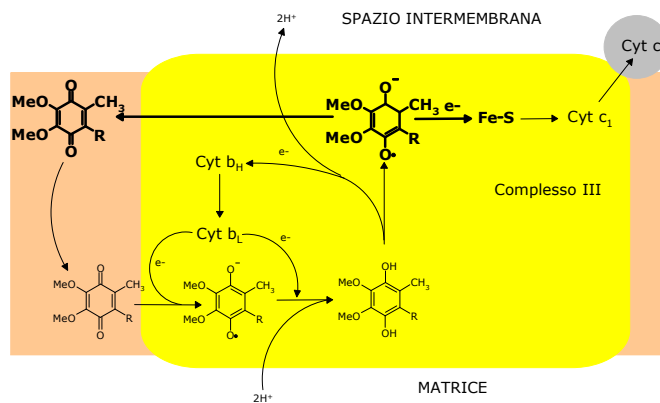
3b



- Un  $e^-$  passa dal  $\text{Fe}^{++}$  del gruppo eme  $b_H$  al  $\text{Fe}^{+++}$  del gruppo eme  $b_L$ .
- In alternativa (secondo le necessità) l'  $e^-$  va quindi a ridurre un  $\text{CoQ}^-$  per riformare il  $\text{CoQH}_2$  con due  $H^+$  provenienti dalla matrice.

## Q cycle

4

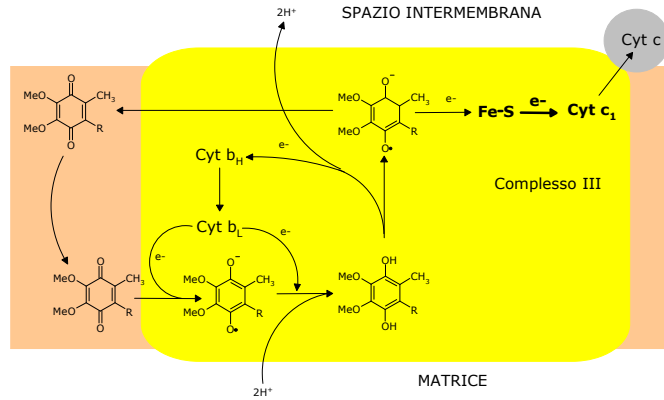


- Il  $\text{CoQ}^-$ , formato per semiossidazione al passo 2, cede un  $e^-$  al  $\text{Fe}^{+++}$  del complesso Fe-S.
- Si forma il  $\text{CoQ}$  ossidato che va a confluire nel pool.



## Q cycle

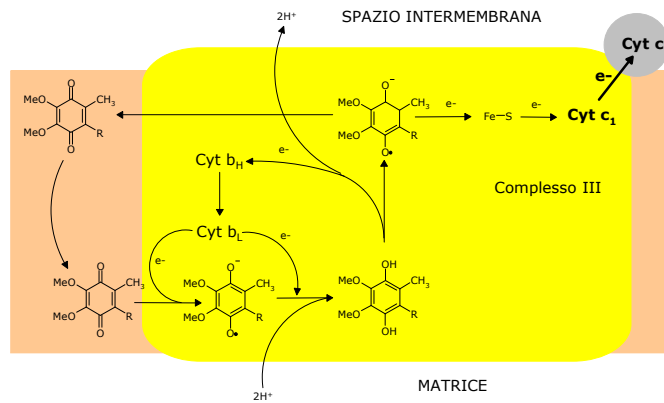
5



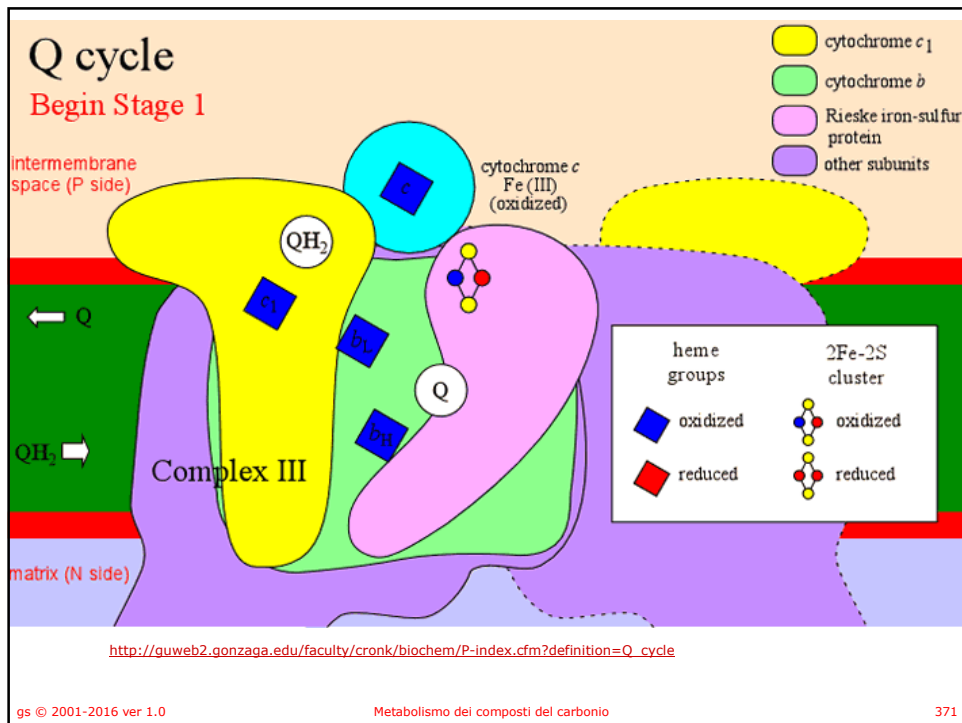
- Il  $Fe^{2+}$  del complesso Fe-S cede un  $e^-$  al  $Fe^{3+}$  del cit  $c_1$  legato alla proteina.

## Q cycle

6



- Il  $Fe^{2+}$  del cit  $c_1$  legato alla proteina cede un  $e^-$  al  $Fe^{3+}$  del cit c mobile.



### Complesso III

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

Cyt  $c_1$

Fe-S

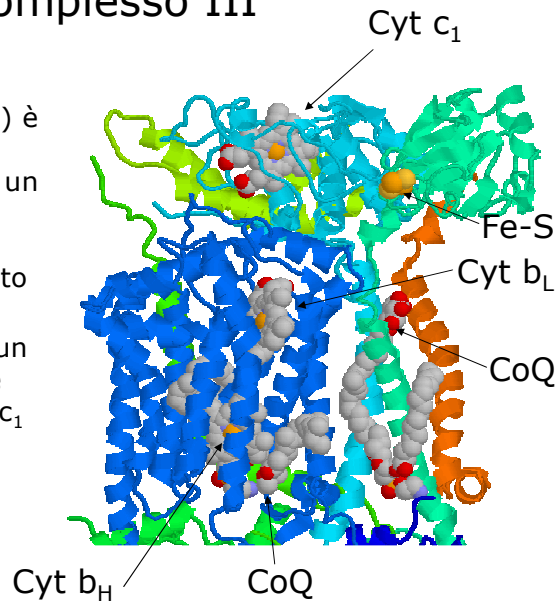
Cyt  $b_L$

Cyt  $b_H$

gs © 2001-2016 ver 1.0 Metabolismo dei composti del carbonio 372

## Complesso III

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



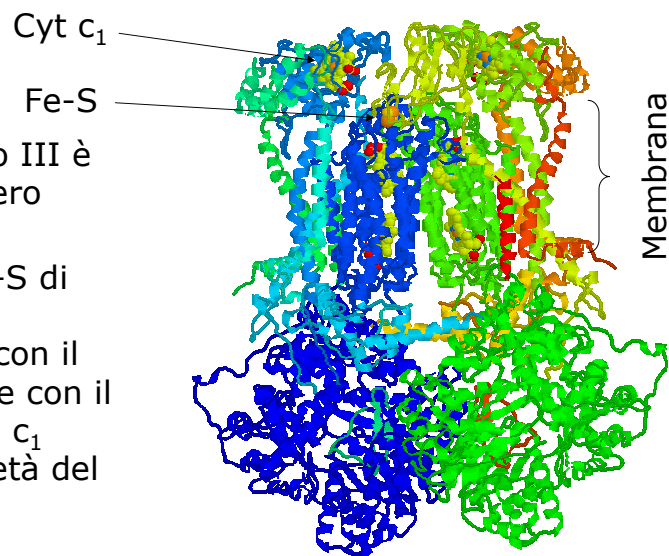
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

373

## Complesso III

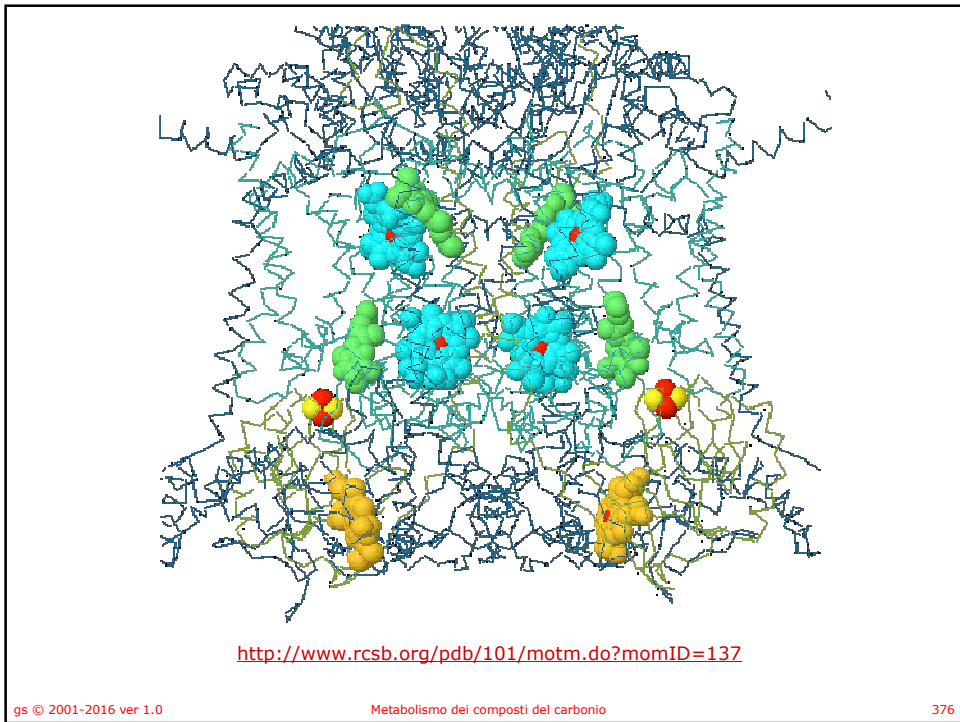
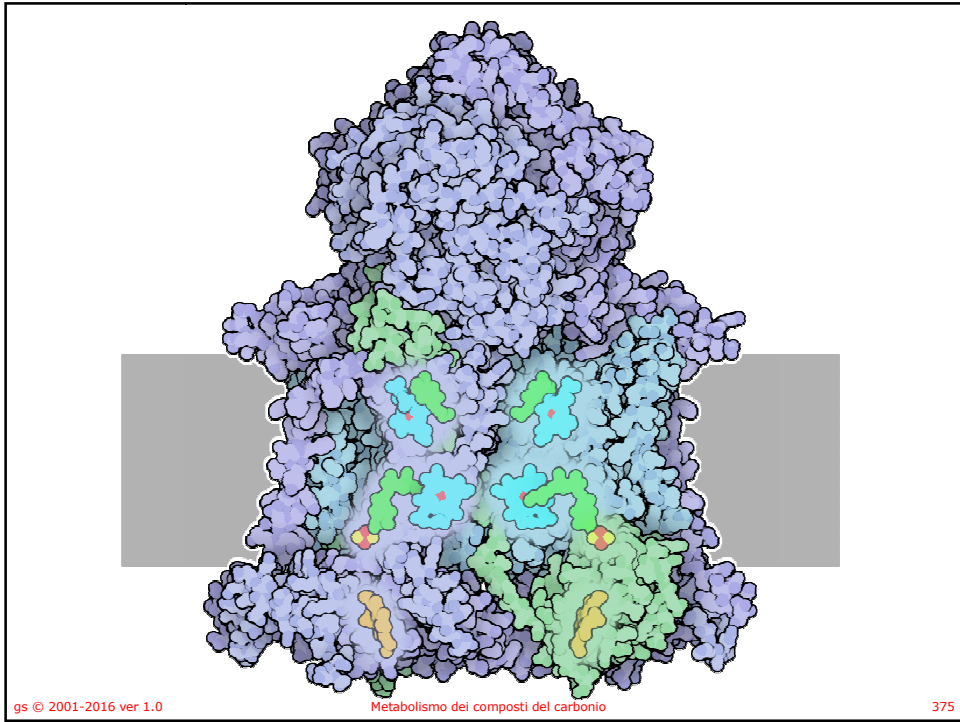
- Il complesso III è un omodimero obbligato.
- Il centro Fe-S di una metà interagisce con il CoQ legato e con il gruppo eme  $c_1$  nell'altra metà del dimero.

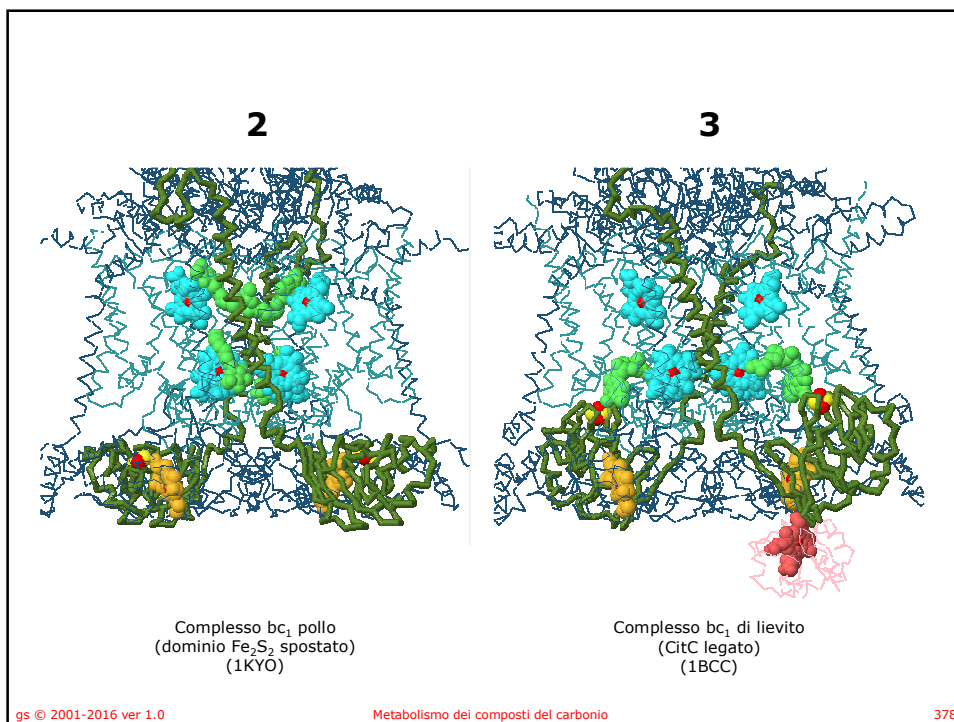
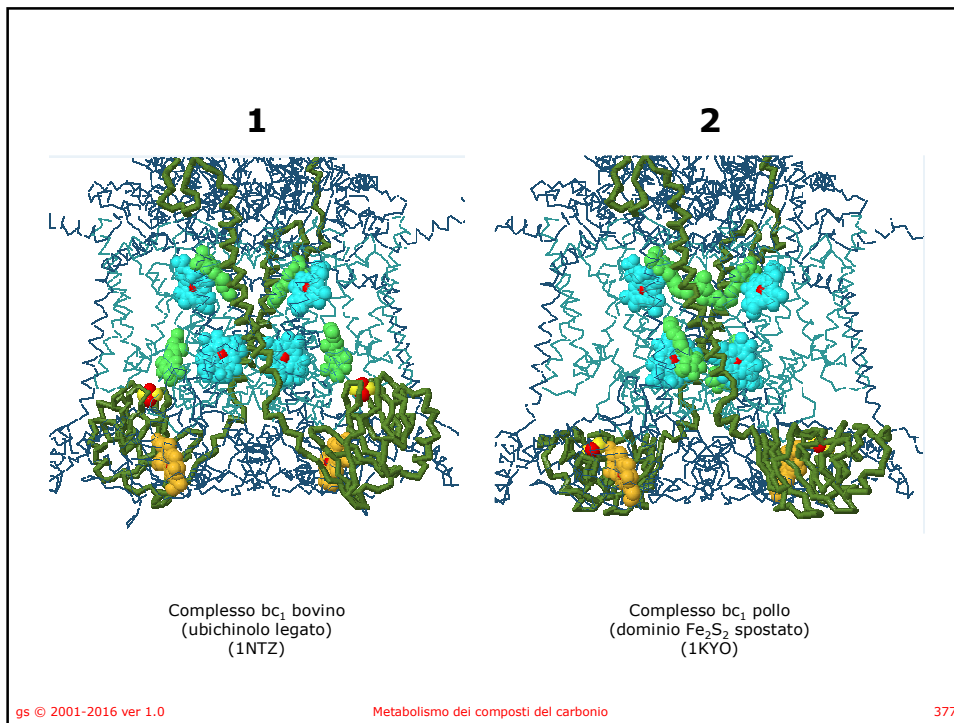


gs © 2001-2016 ver 1.0

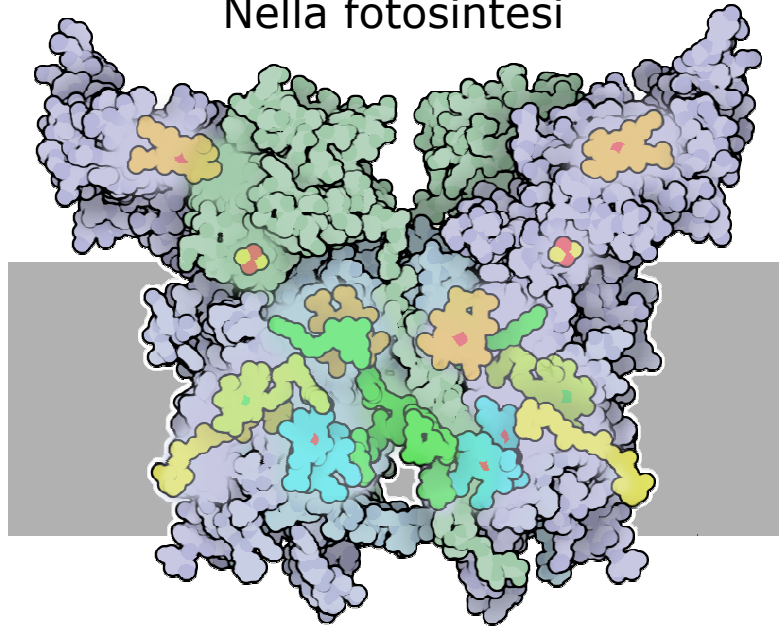
Metabolismo dei composti del carbonio

374





## Nella fotosintesi

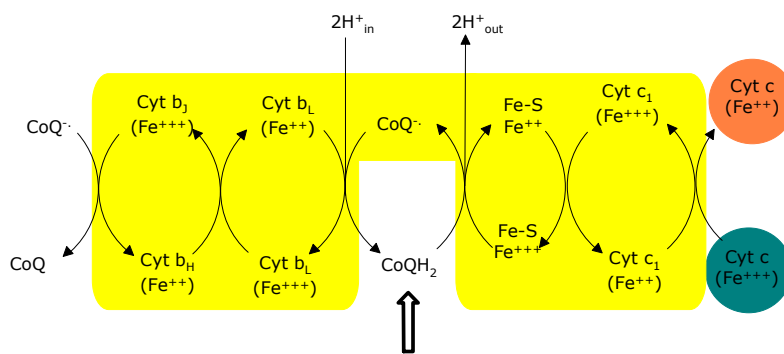


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

379

## Complesso III

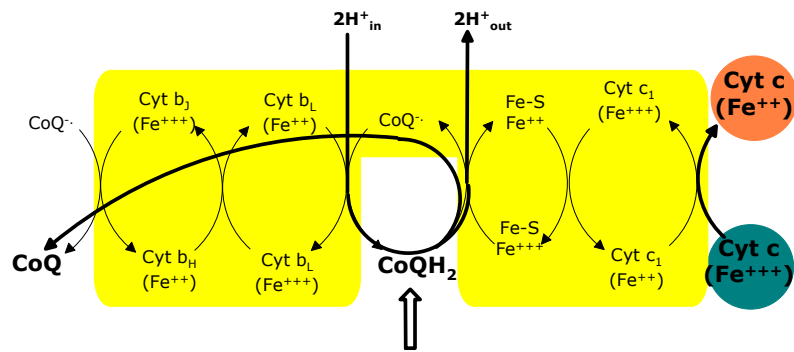


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

380

## Complesso III

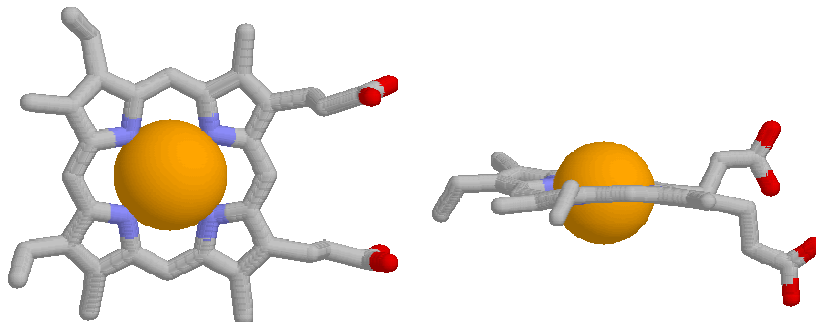


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

381

## Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c



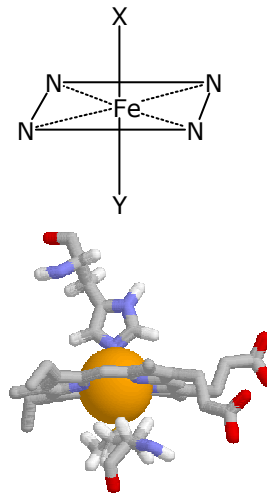
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

382

## Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O<sub>2</sub>.



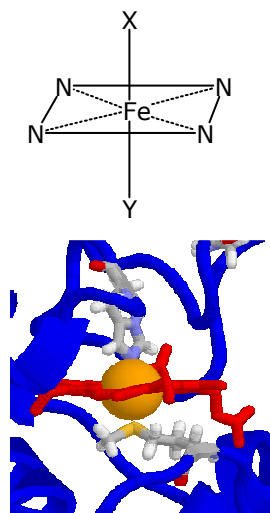
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

383

## Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O<sub>2</sub>.



gs © 2001-2016 ver 1.0

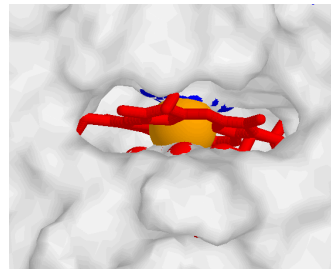
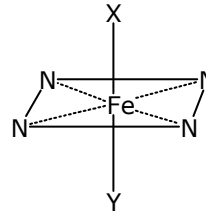
Metabolismo dei composti del carbonio

384



## Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O<sub>2</sub>.



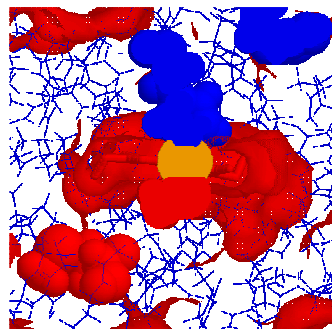
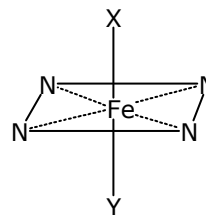
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

385

## Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O<sub>2</sub>.



gs © 2001-2016 ver 1.0

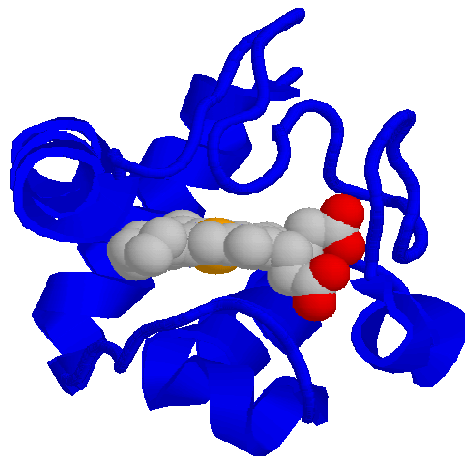
Metabolismo dei composti del carbonio

386

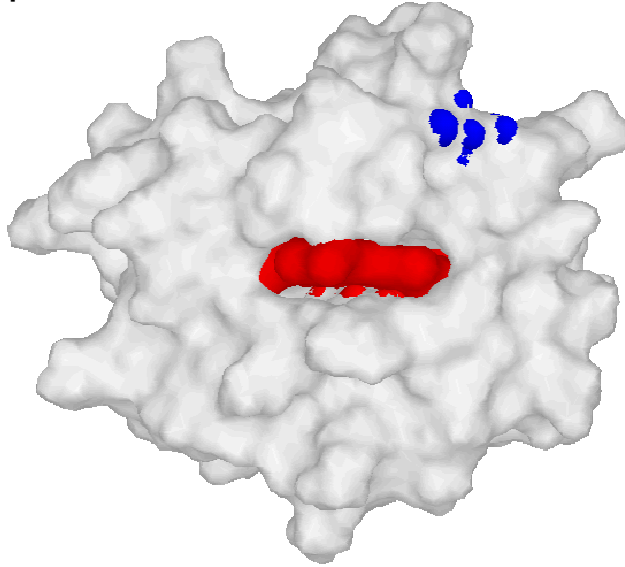
## Trasportatori di elettroni: i citocromi

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

## Trasportatori di elettroni: Citocromo c



## Trasportatori di elettroni: Citocromo c

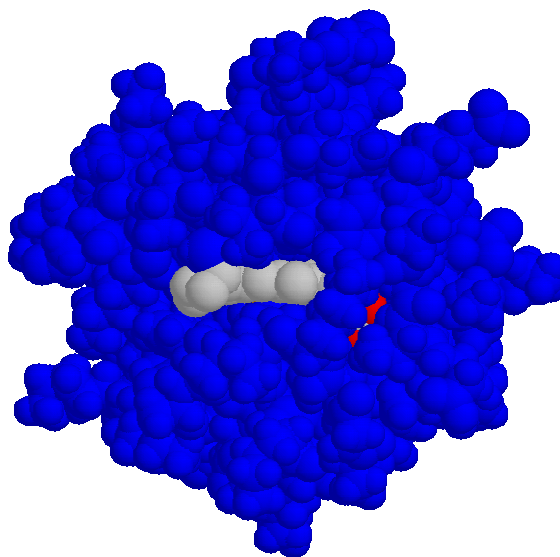


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

389

## Trasportatori di elettroni: Citocromo c



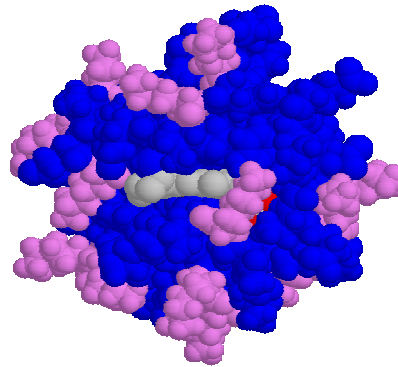
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

390

## Trasportatori di elettroni: Citocromo c

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



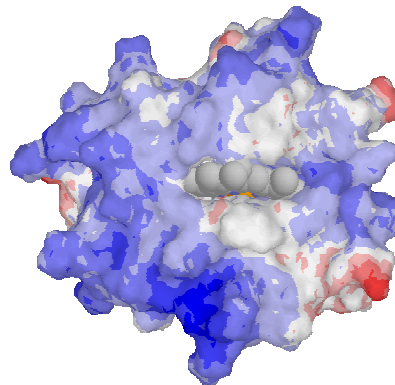
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

391

## Trasportatori di elettroni: Citocromo c

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

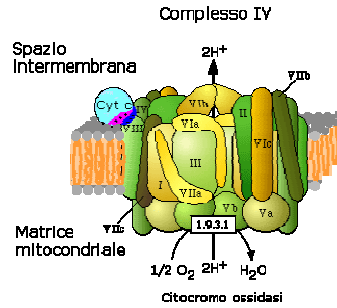
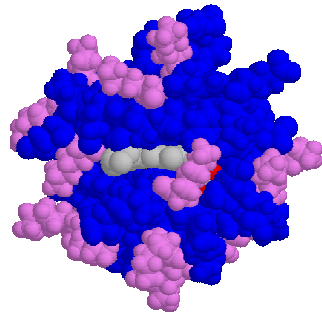


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

392

## Trasportatori di elettroni: Citocromo c

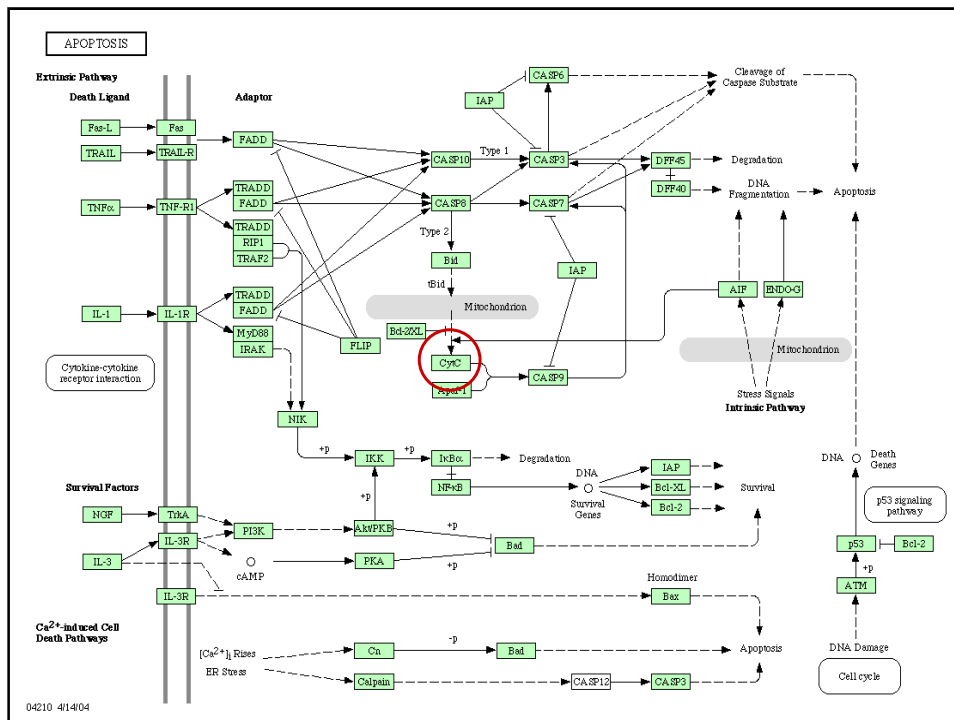


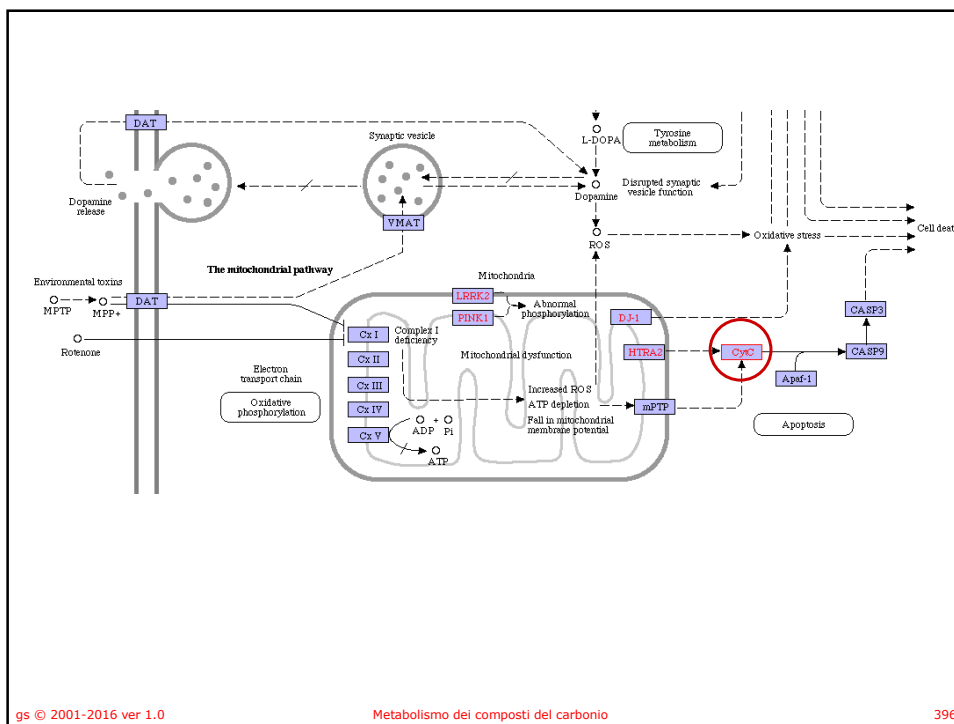
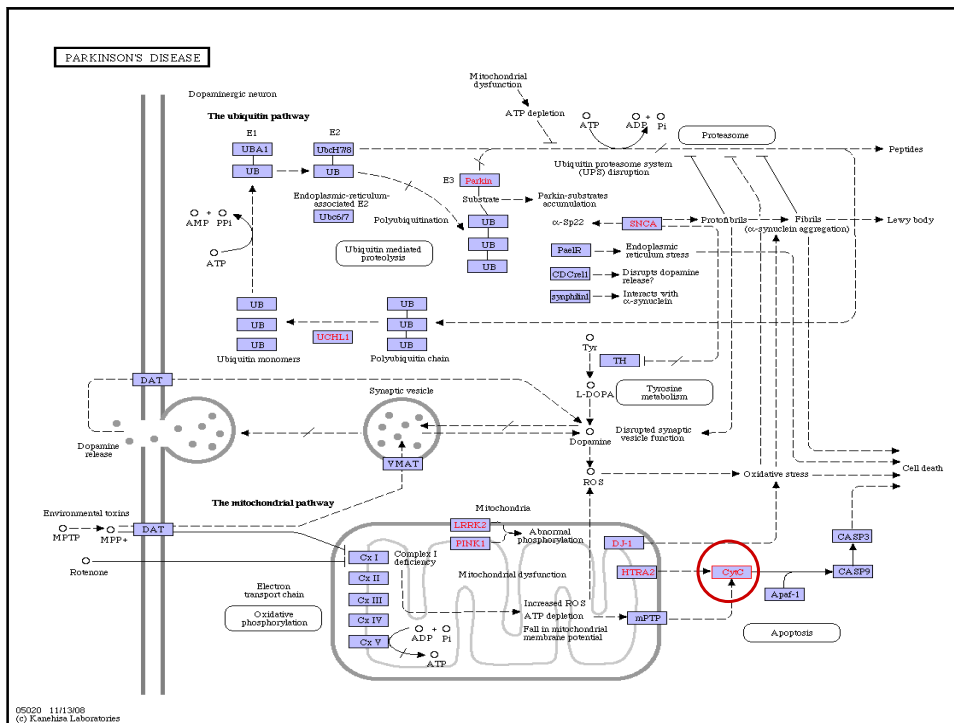
- I residui di Lys interagiscono con la superficie carica negativamente del complesso III che lega il Cyt c e dal quale riceve un elettrone.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

393



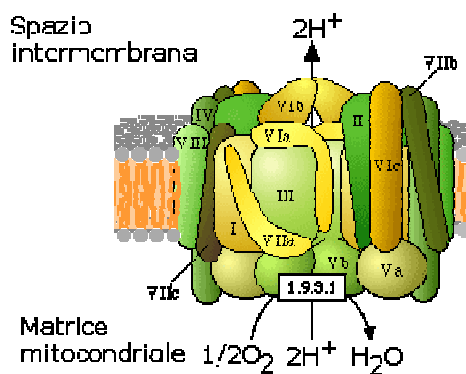


# I complessi

Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b <sub>560r</sub> , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b <sub>H</sub> , cyt b <sub>L</sub> , cyt c1, Fe-S <sub>Rieske</sub>
IV (EC 1.9.3.1)	<b>Citocromo ossidasi</b>	<b>13</b>	<b>cyt a, cyt a<sub>3</sub>, Cu<sub>A</sub>, Cu<sub>B</sub></b>

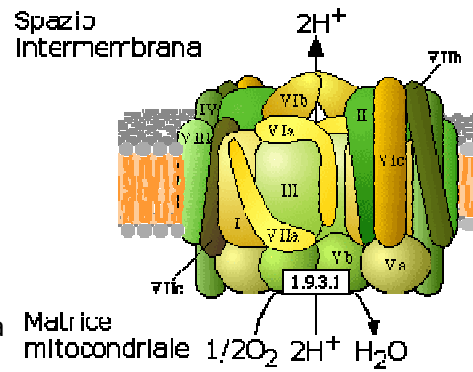
# Complesso IV

- La Citocromo ossidasi (Complesso IV) catalizza la reazione irreversibile:  
$$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$$
- Quattro elettroni sono trasferiti, uno alla volta, al complesso IV dal Cyt c.



## Complesso IV

- È costituita da otto subunità, le più grandi I, II e III sono codificate dal DNA mitocondriale, le altre cinque dal DNA nucleare.
- Ogni complesso contiene due gruppi eme e due centri con ioni rame
- I due gruppi eme sono uguali ma differiscono leggermente in potenziale a causa della loro posizione,
- Il gruppo rame a è fatto da due ioni rame vicini.

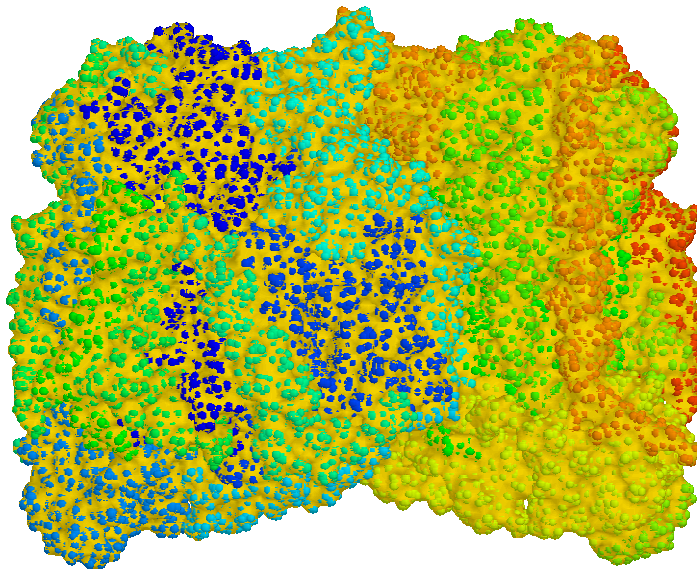


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

399

## Complesso IV

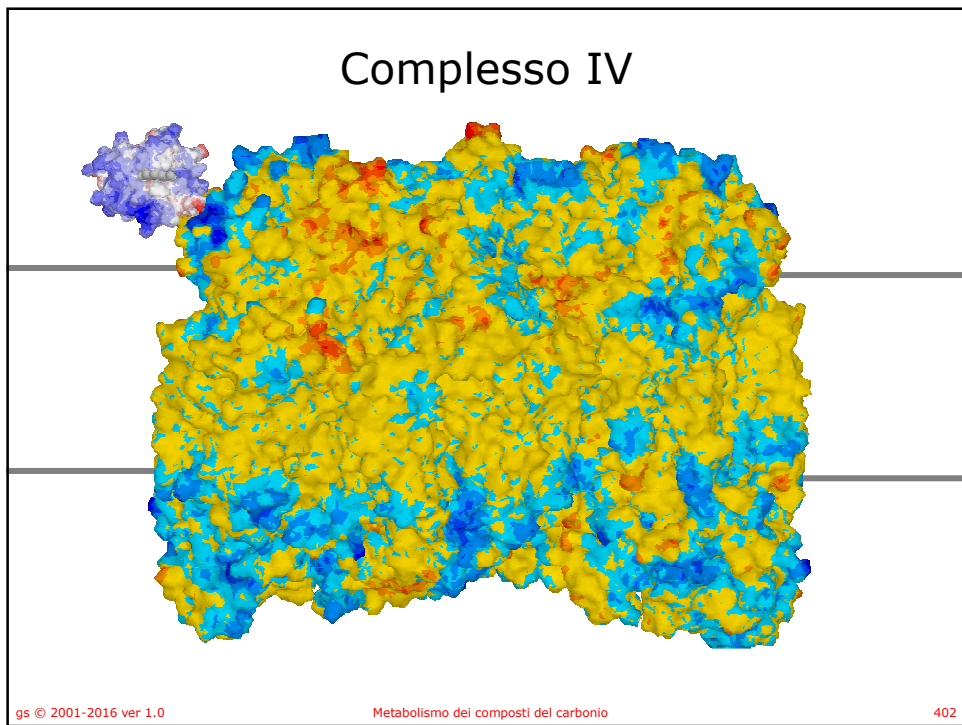
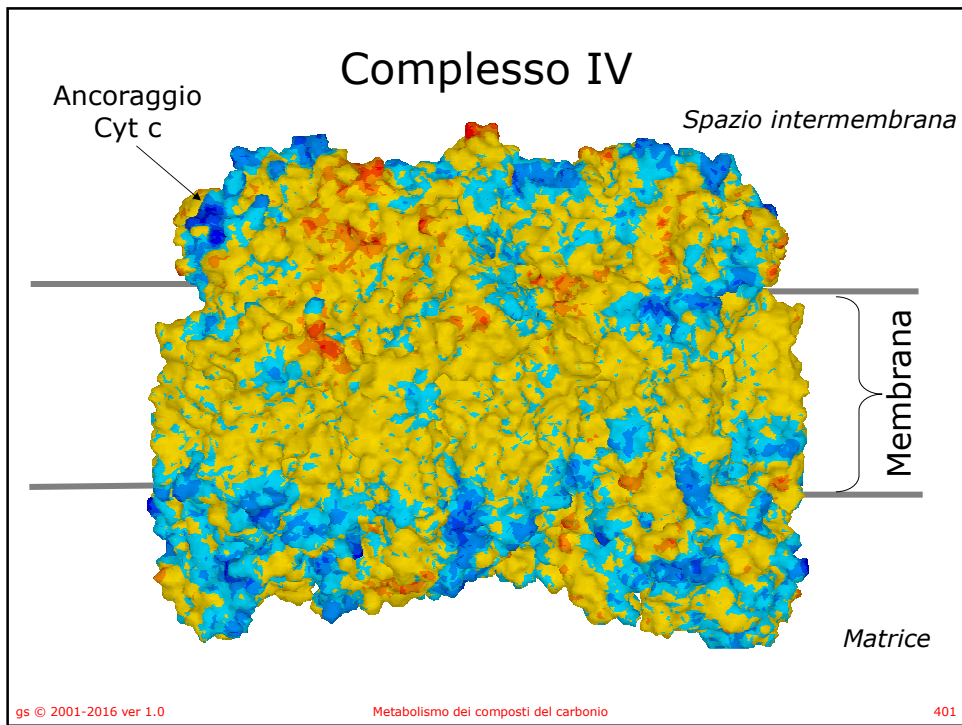


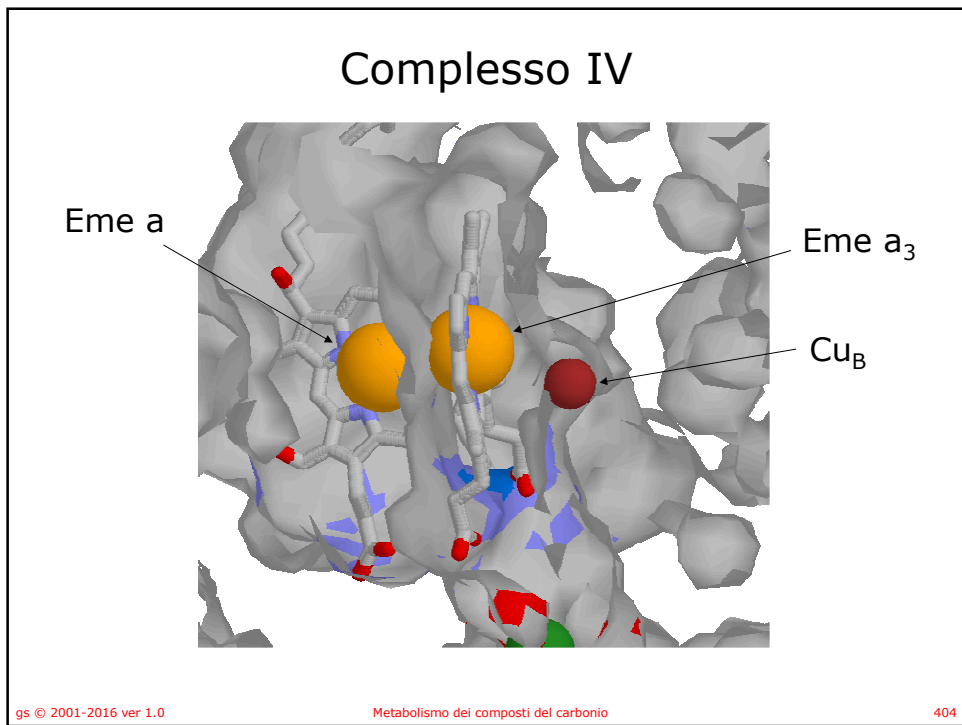
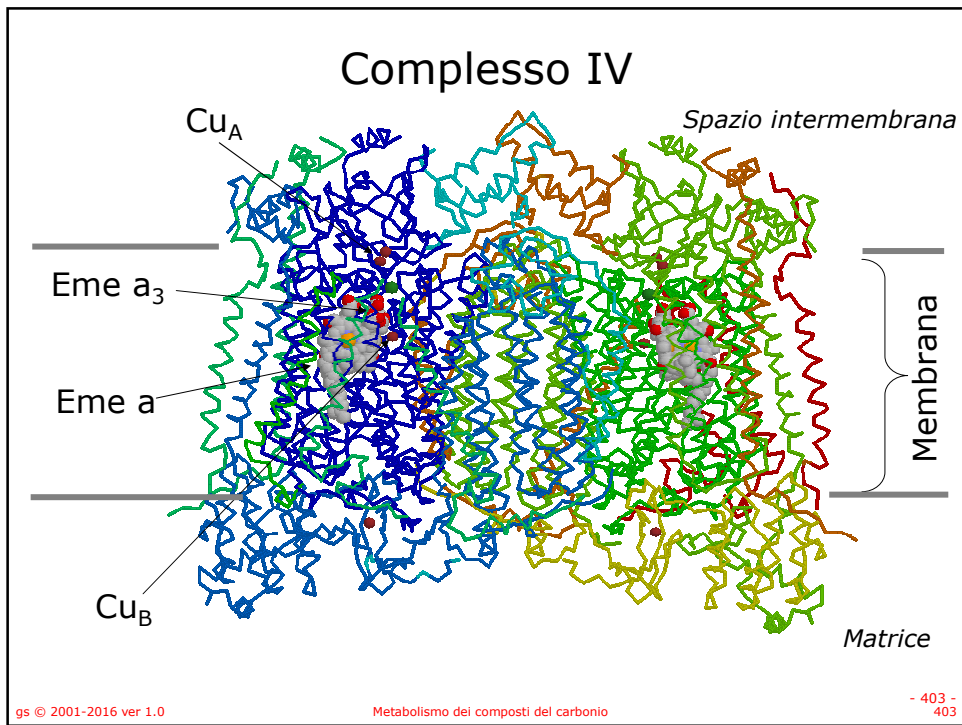
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

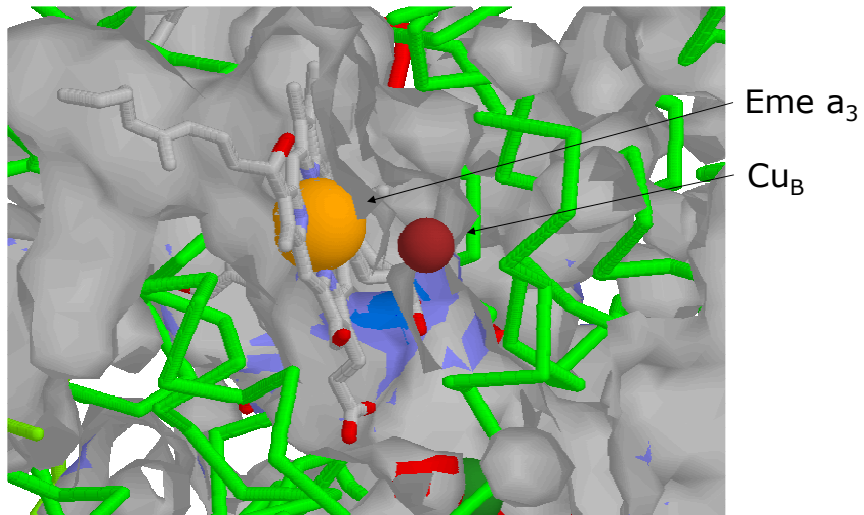
400







## Complesso IV

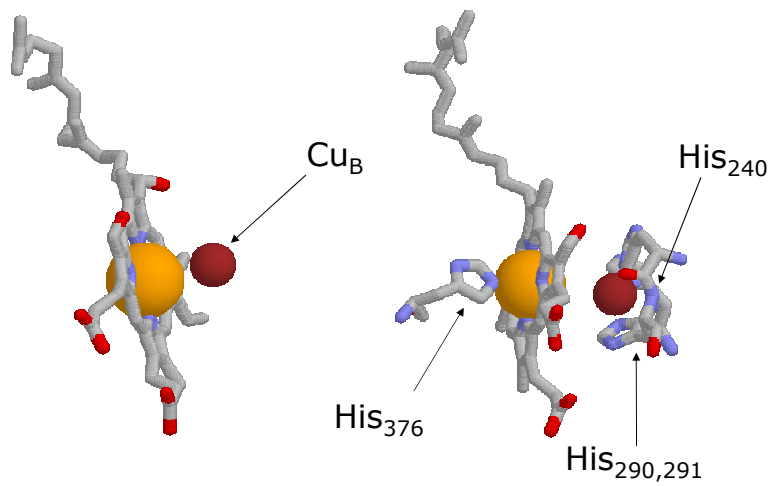


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

405

## Complesso IV



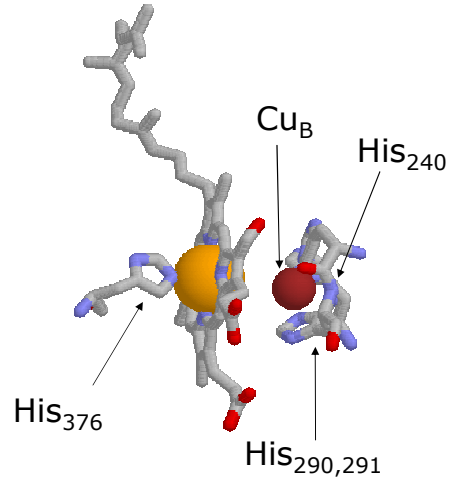
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

406

## Complesso IV

- Il gruppo eme  $a_3$ , adiacente al  $\text{Cu}_B$ , ha un solo ligando assiale.
- Lo ione  $\text{Cu}$  è coordinato con atomi di azoto di residui di His, il  $\text{Cu}_A$  è anche coordinato con atomi di zolfo di Cys e Met S e con un atomo di ossigeno del backbone di un Glu.
- Gli elettroni vengono trasferiti dal cyt c al complesso IV attraverso  $\text{Cu}_A$  e eme a.
- Passano quindi al centro binucleare eme  $a_3 - \text{Cu}_B$  dove si lega  $\text{O}_2$ .

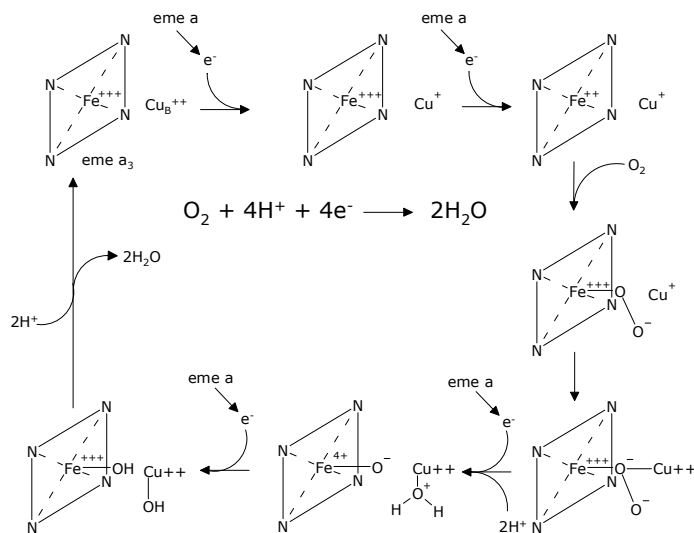


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

407

## Formazione di $\text{H}_2\text{O}$

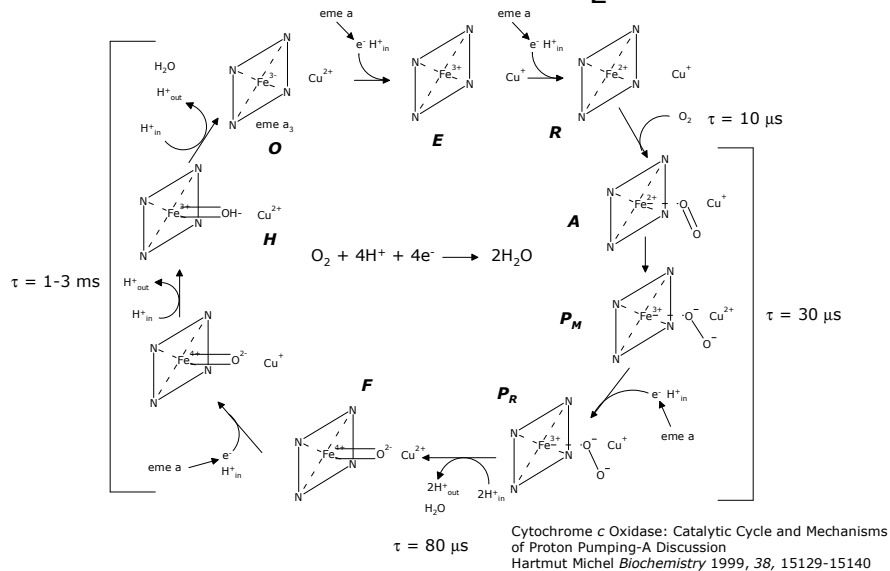


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

408

## Formazione di H<sub>2</sub>O



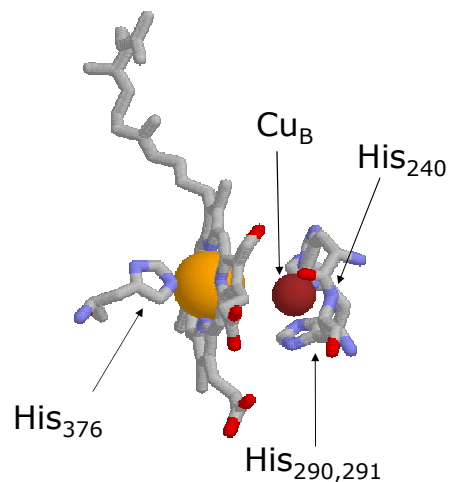
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

409

## Complesso IV

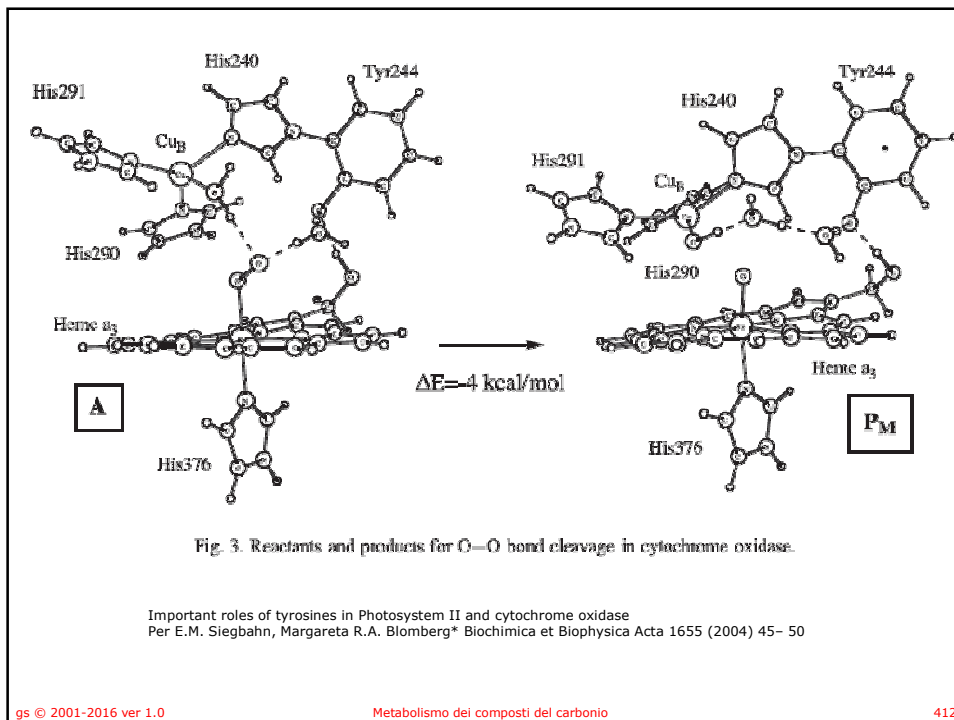
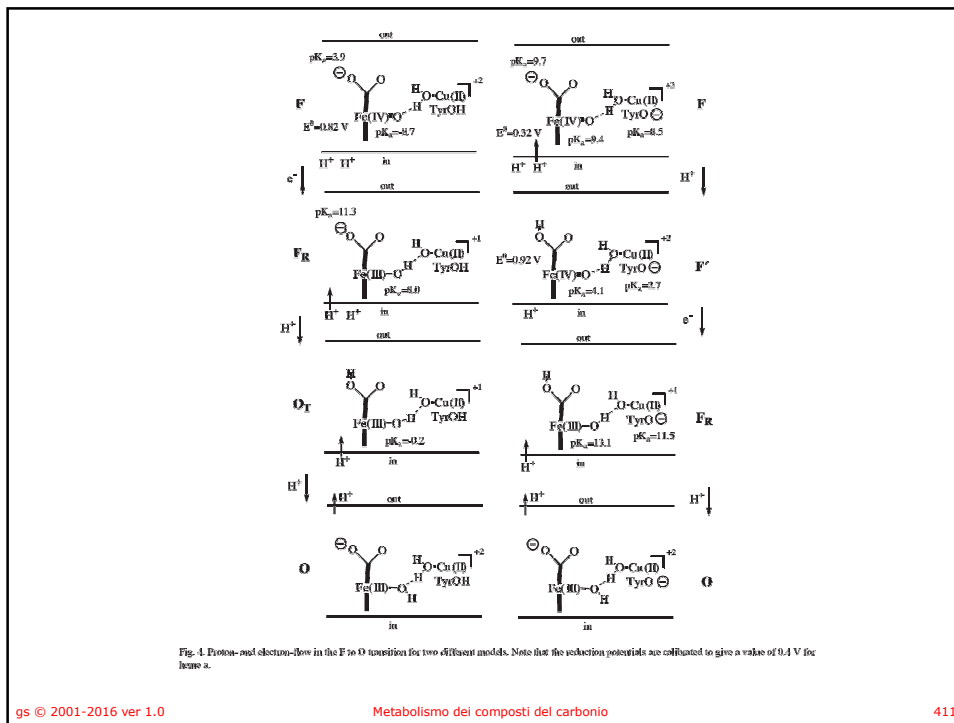
- Il legame della molecola di ossigeno sfrutta anche la presenza di una coppia His Tyr, il che permette la scissione del legame O-O.
- Il sito per O<sub>2</sub> è anche disponibile per il legame di CN<sup>-</sup>, CO, H<sub>2</sub>S, o del radicale ·NO.
- CN<sup>-</sup>, CO, H<sub>2</sub>S inibiscono l'attività della citocromo ossidasi (avvelenamento).
- Si ritiene che il radicale ·NO abbia funzioni di regolazione.

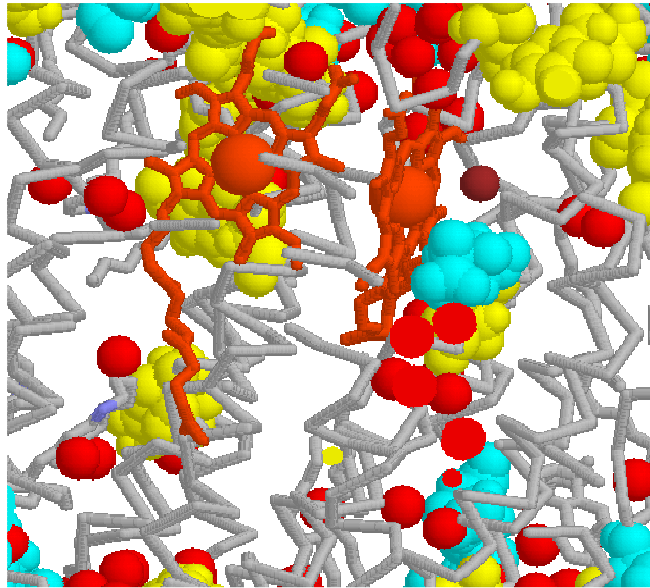


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

410

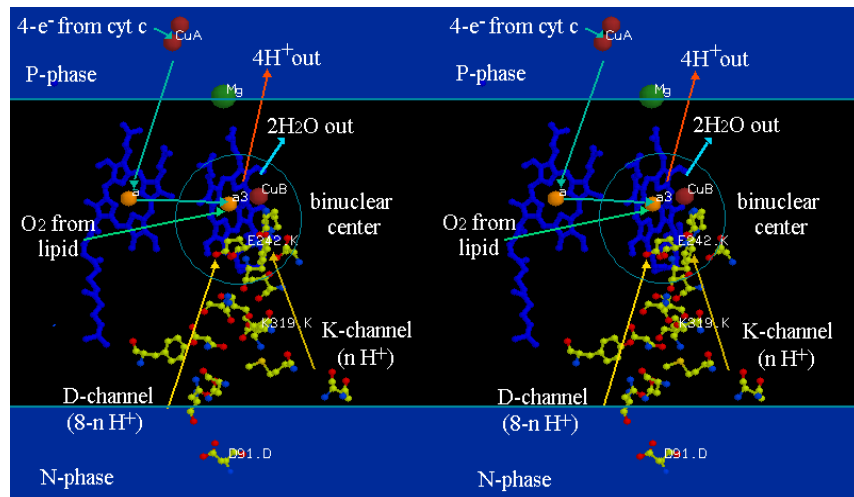




gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

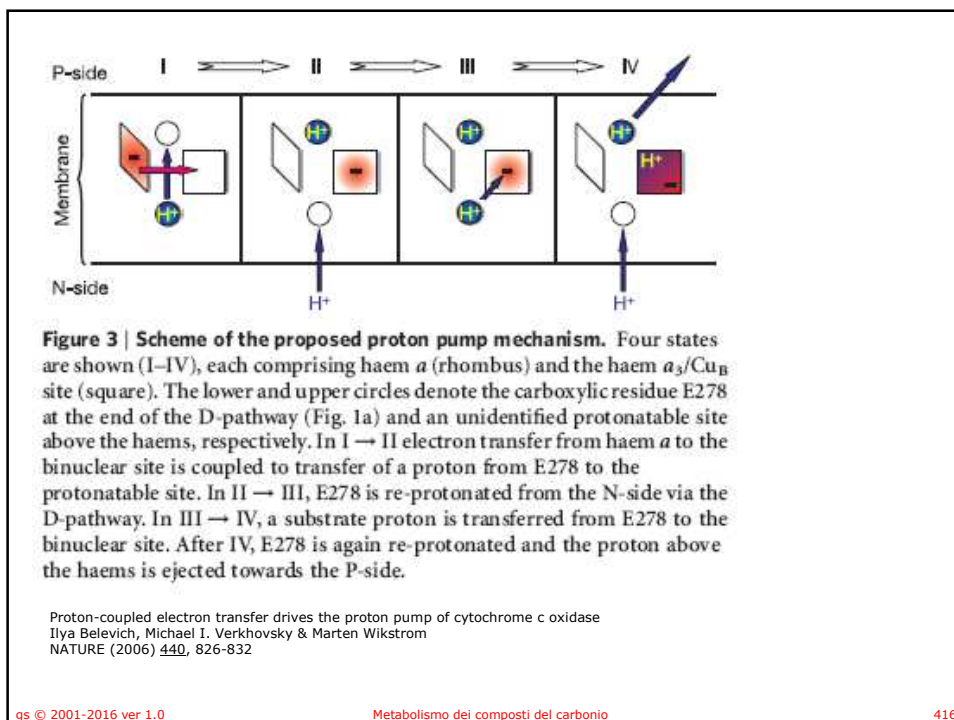
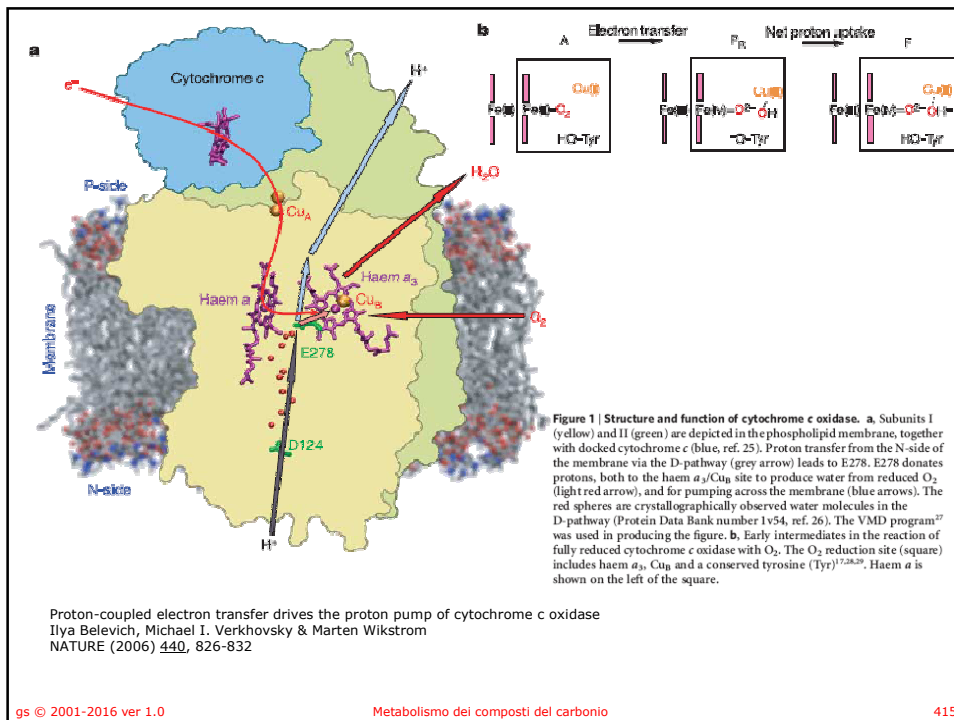
413



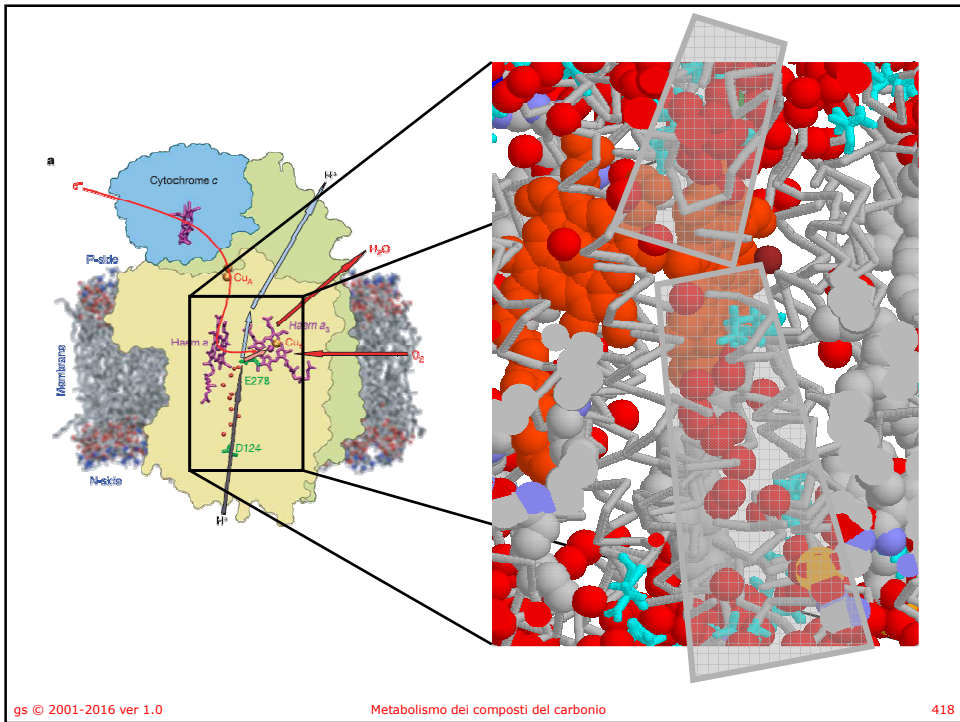
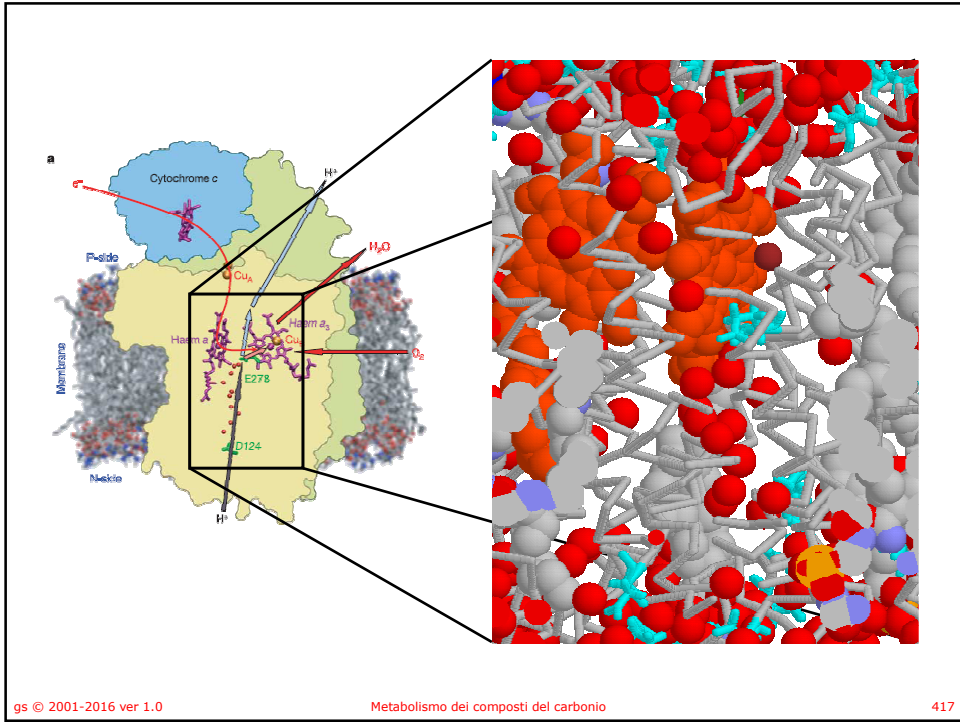
gs © 2001-2016 ver 1.0

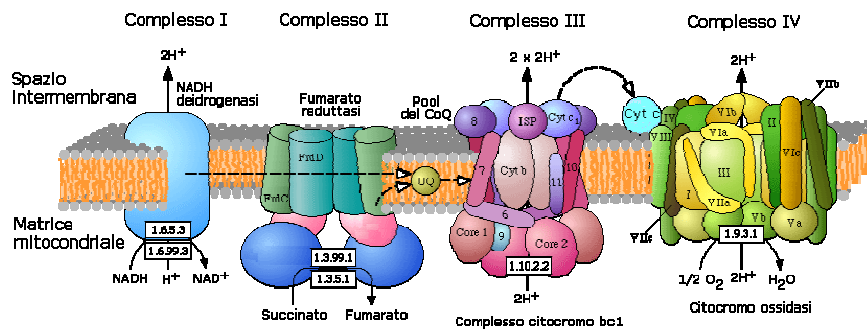
Metabolismo dei composti del carbonio

414





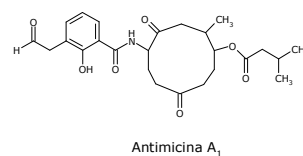
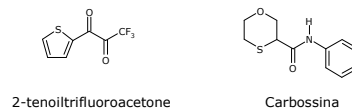
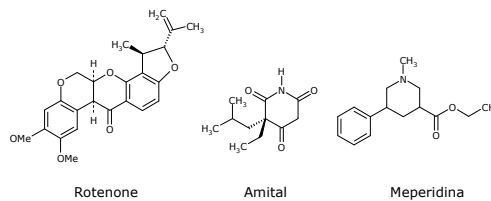




- Il flusso spontaneo di  $e^-$  attraverso i complessi I, III e IV è accoppiato al passaggio di  $H^+$  dalla matrice verso lo spazio intermembrana.
- La stechiometria:
  - $4H^+$  sono passati dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana per  $2e^-$  che vengono trasportati dai complessi I e III.
  - Per il complesso IV il rapporto è  $2H^+$  per  $2e^-$ .
  - In totale vengono trasferiti  $20 H^+$  dalla matrice per  $4e^-$  trasferiti dal 2 NADH a  $O_2$  ( $10 H^+$  per  $\frac{1}{2}O_2$ ).

## Inibitori dei complessi

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



# Ipotesi chemiosmotica

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

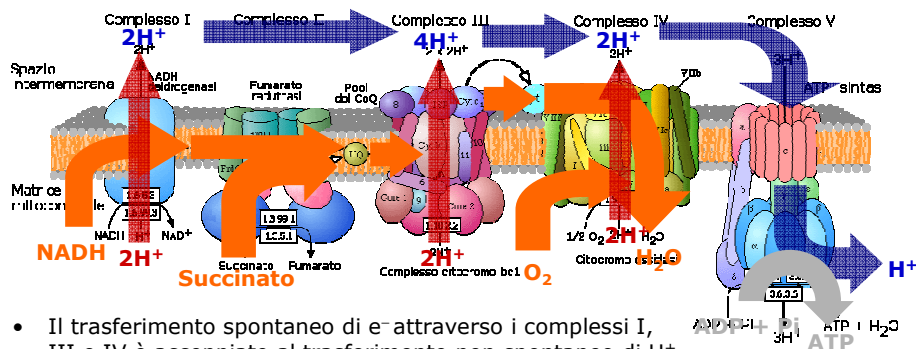


Peter D. Mitchell

- **The Nobel Prize in Chemistry 1978**

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

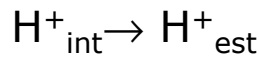
## Respirazione cellulare e ipotesi chemiosmotica



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

## Ipotesi chemiosmotica

- Viene generato un gradiente protonico:



- Che crea una polarizzazione della membrana:

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

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

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

$$\Delta G = 2.3 RT + F 0.18 = 23.3 \text{ kJ}$$

- Quindi per trasportare un  $H^+$  verso l'interno:

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

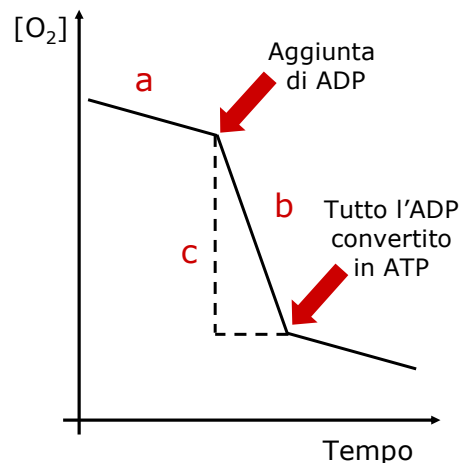
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

423

## Controllo respiratorio

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



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

424

## Controllo respiratorio

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

Reazione	$\Delta G$
Trasferimento e <sup>-</sup>	Negativo $\Delta G^{\circ'} = -nF\Delta E^{\circ'} = -218 \text{ kJ/mol per } 2 \text{ e}^- \text{ NADH} \rightarrow \text{O}_2$
Estrusione H <sup>+</sup> dalla matrice	Positivo (dipende dal gradiente protonico) Per estrarre un H <sup>+</sup> dalla matrice $\Delta G = RT \ln ([\text{H}^+]_{\text{citoso}}/[\text{H}^+]_{\text{matrice}}) + F\Delta\Psi$ $\Delta G = 2.3 RT (\text{pH}_{\text{matrice}} - \text{pH}_{\text{citoso}}) + F\Delta\Psi$
Reazione accoppiata	Somma algebrica

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

425

## Controllo respiratorio

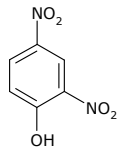
- In assenza di ADP, i H<sup>+</sup> non possono fluire attraverso F<sub>0</sub>.  $\Delta\text{pH}$  e  $\Delta\Psi$  sono massimi. Il valore assoluto del  $\Delta G$  per l'estrusione H<sup>+</sup> aumenta avvicinandosi a quello del trasporto di e<sup>-</sup>.
- Quando la reazione accoppiata non è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

gs © 2001-2016 ver 1.0

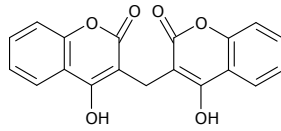
Metabolismo dei composti del carbonio

426

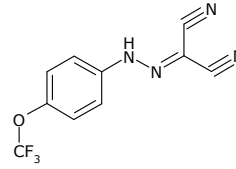
## Disaccoppianti



Dinitrofenolo



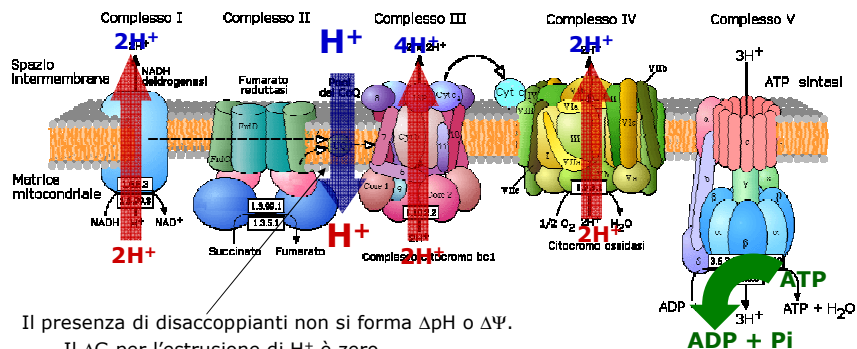
Dicumarolo



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

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

## Disaccoppianti



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

## Proteine disaccoppianti

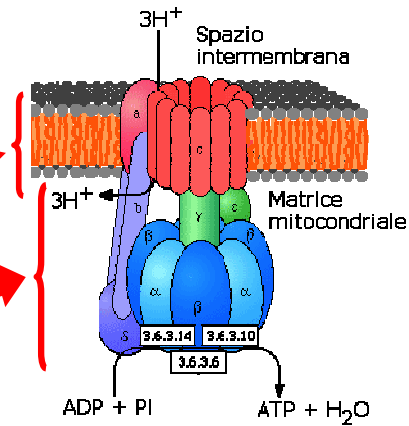
- Il disaccoppiamento può essere usato per produrre calore.
- Nel tessuto adiposo bruno (bruno perché ricco di mitocondri) di neonati dei mammiferi e nei mammiferi che vanno in letargo, è presente una proteina disaccoppiante, la termogenina.
- La termogenina funziona come un trasportatore di H<sup>+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

## F<sub>1</sub>F<sub>0</sub> ATP Sintasi

Meccanismo della sintesi di ATP

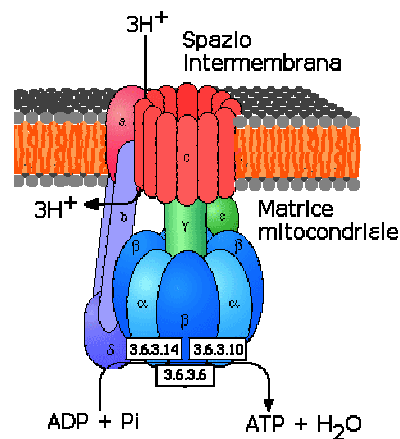
## Complesso V – ATP sintasi

- La ATP sintasi, presente nella membrana interna mitocondriale.
- È composta di sue principali unità catalitiche:
  - $F_0$ : proteina di membrana che gestisce il trasporto di protoni.
  - $F_1$ : costituita da cinque polipeptidi con stechiometria  $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ .



## Complesso V – ATP sintasi

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

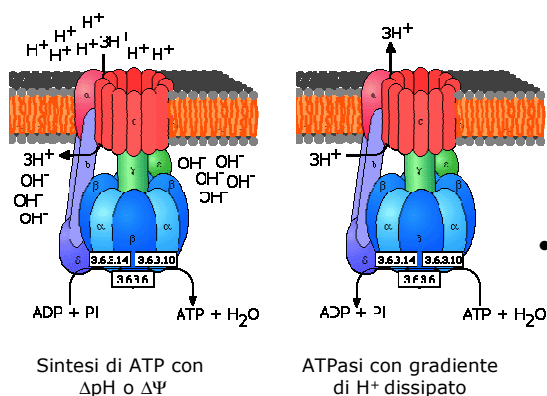




## Controllo respiratorio

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

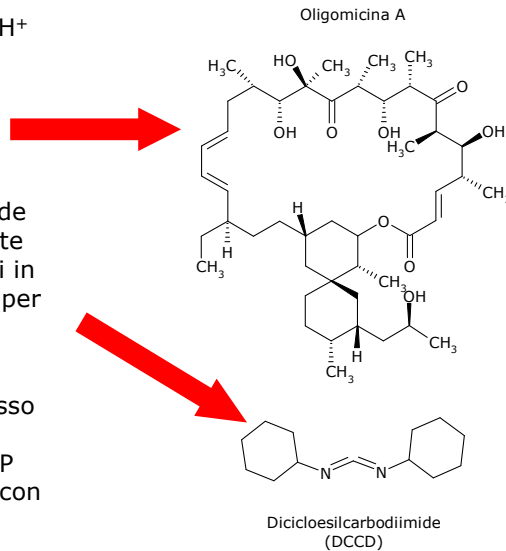
## $F_1F_o$ ATP Sintasi di mitocondri, cloroplasti, batteri



- Quando il  $\Delta pH$  o il  $\Delta\Psi$  sono favorevoli,  $F_1F_o$  accoppia la sintesi di ATP al flusso spontaneo di  $H^+$  verso la parte della membrana dove si protrude  $F_1$  (matrice mitocondriale).
- Se non c'è  $\Delta pH$  o  $\Delta\Psi$  per pilotare la reazione accoppiata viene favorita l'idrolisi dell'ATP (ATPasi).

## Inibitori ATP sintasi

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

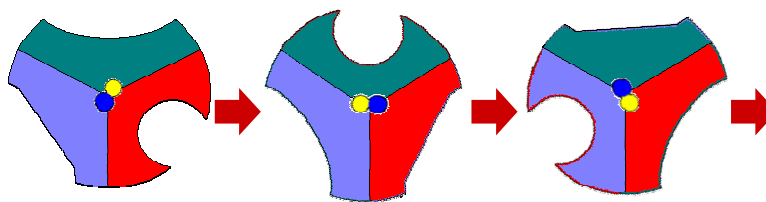


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

435

## Meccanismo di sintesi



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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

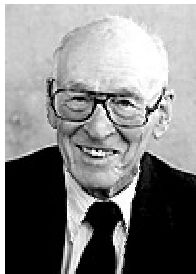
436

## Meccanismo di sintesi

The Nobel Prize in Chemistry 1997

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

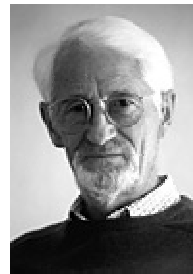
"for the first discovery of an ion-transporting enzyme, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase"



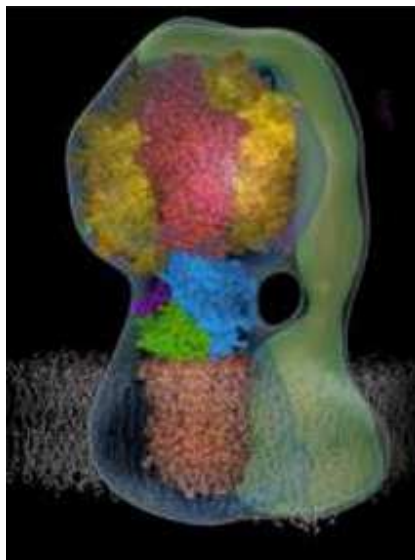
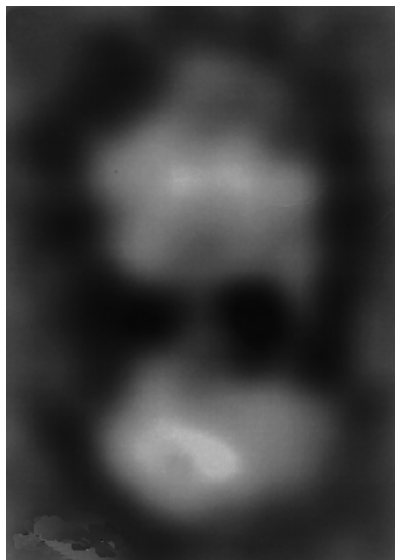
**Paul D. Boyer**



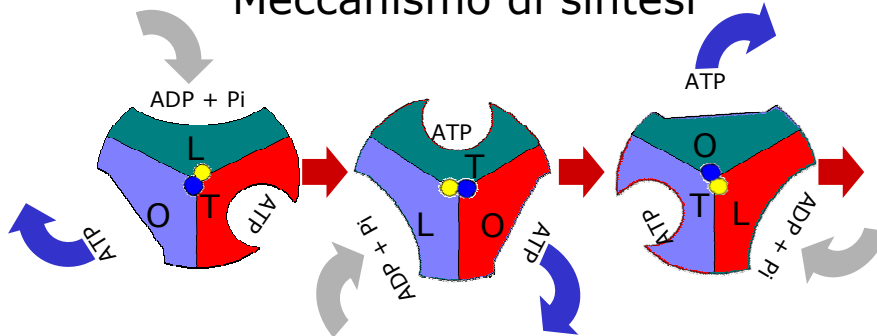
**John E. Walker**



**Jens C. Skou**



## Meccanismo di sintesi



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

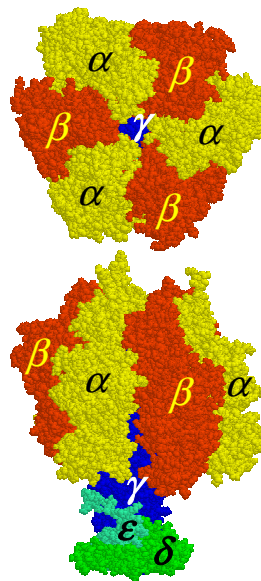
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

439

## Struttura di $F_1$

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



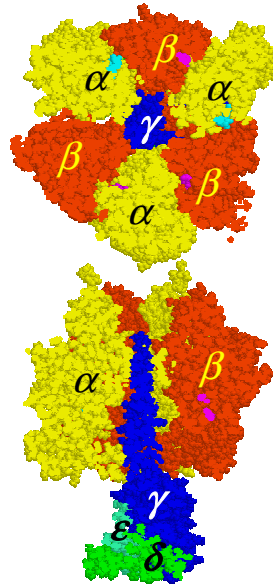
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

440

## Struttura di F<sub>1</sub>

- Nei mammiferi F<sub>1</sub> consiste di cinque polipeptidi con stechiometria  $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \epsilon$  (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità  $\alpha$  e  $\beta$  sono omologhe.



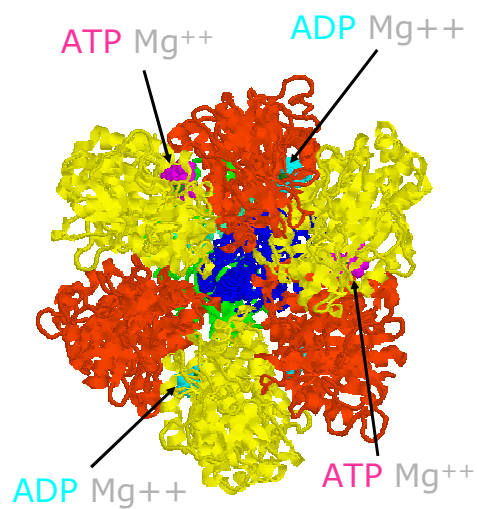
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

441

## Struttura di F<sub>1</sub>

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



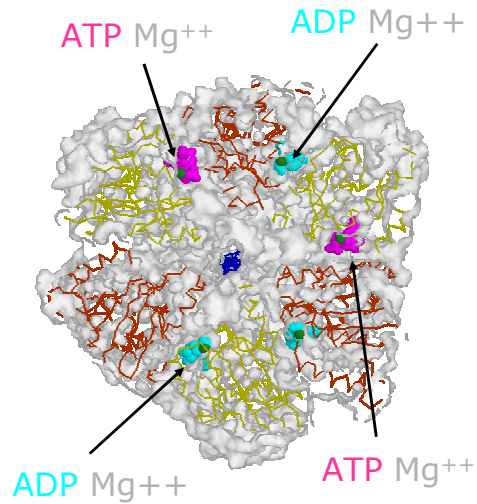
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

442

## Struttura di F<sub>1</sub>

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



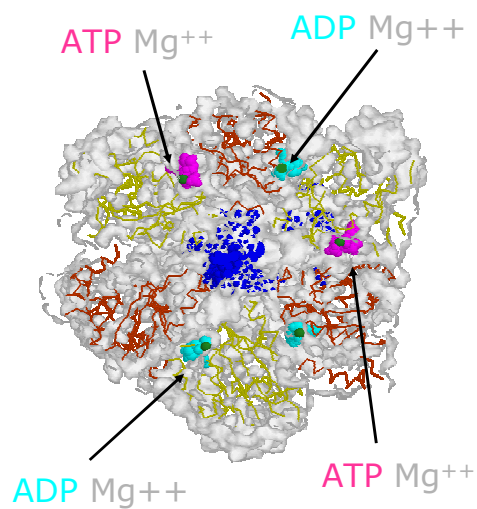
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

443

## Struttura di F<sub>1</sub>

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



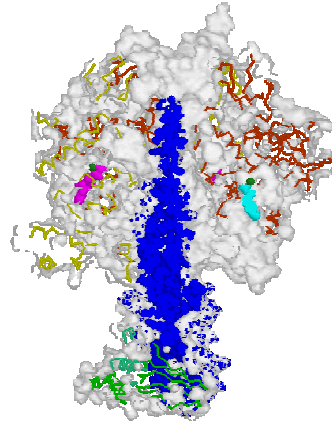
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

444

## Struttura di F<sub>1</sub>

- La subunità  $\gamma$  include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .



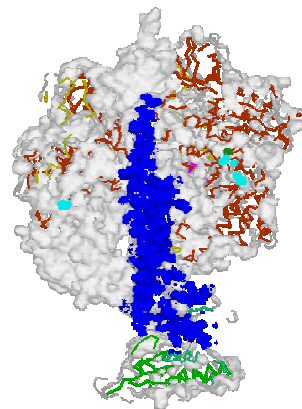
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

445

## Struttura di F<sub>1</sub>

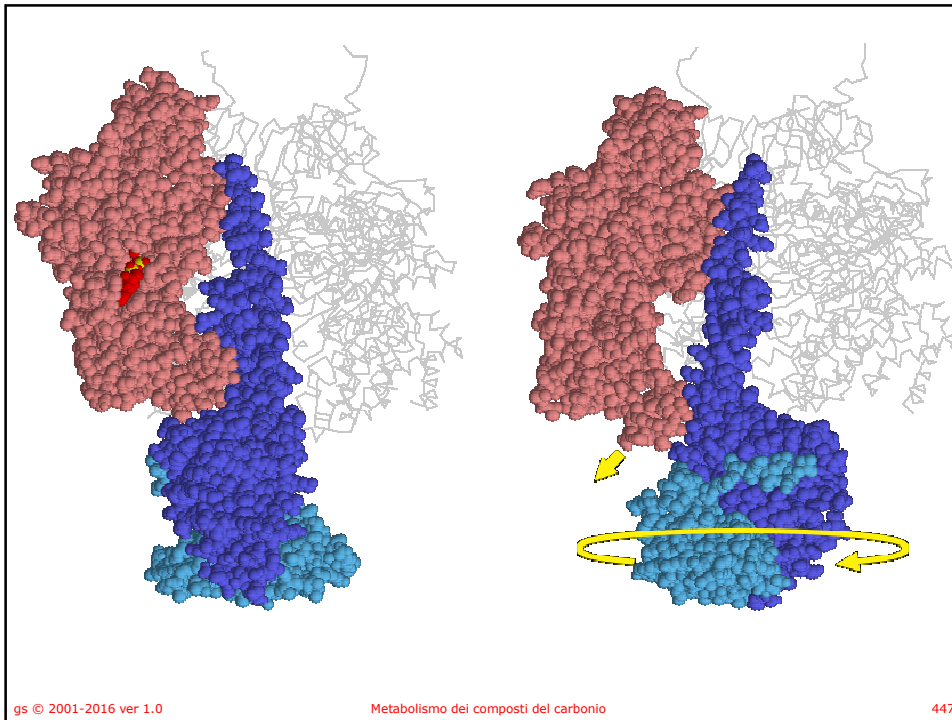
- La subunità  $\gamma$  include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .



gs © 2001-2016 ver 1.0

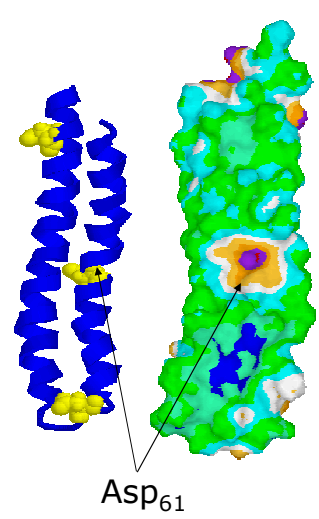
Metabolismo dei composti del carbonio

446



## Subunità F<sub>o</sub>

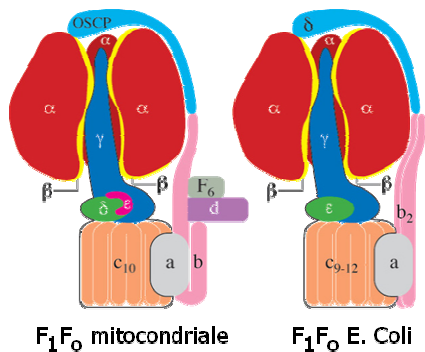
- La subunità c di F<sub>o</sub> ha una struttura ripiegata (hairpin) con due  $\alpha$ -eliche transmembrana connesse da un corto loop.
- È un peptide molto idrofobico.
- Una delle due  $\alpha$ -eliche ha un residuo acido (Asp o Glu) che è il sito di reazione del DCCD.
- Tale residuo è essenziale per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





## Struttura $F_0F_1$

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

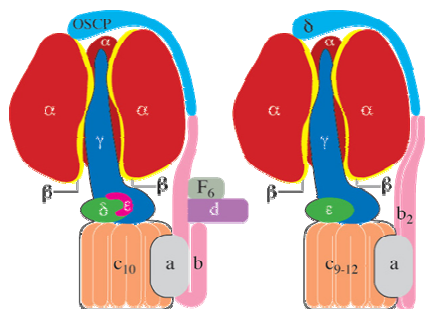


$F_1F_0$  mitocondriale

$F_1F_0$  *E. Coli*

## Struttura $F_0F_1$

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

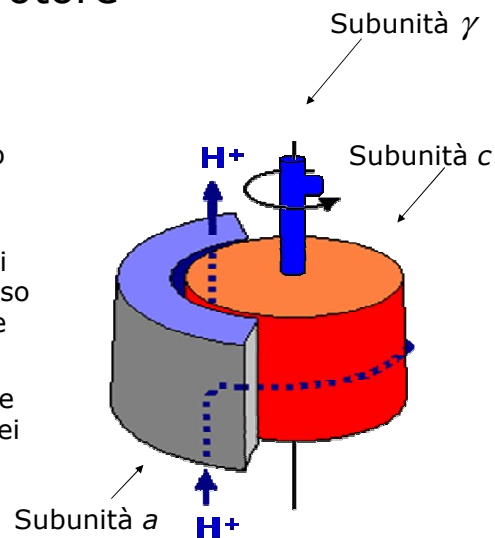


$F_1F_0$  mitocondriale

$F_1F_0$  *E. Coli*

## Il rotore

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



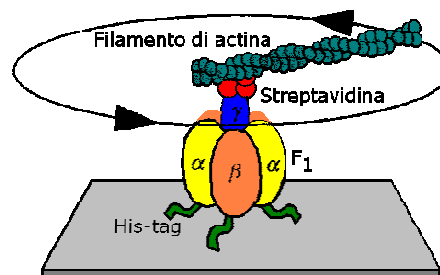
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

451

## Motori molecolari

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



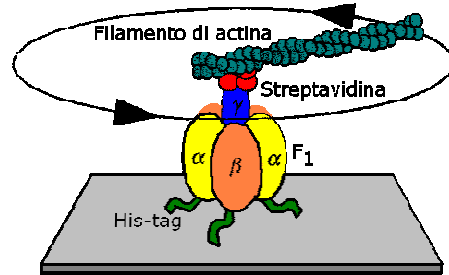
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

452

## Motori molecolari

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



- [http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main\\_.html](http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main_.html)

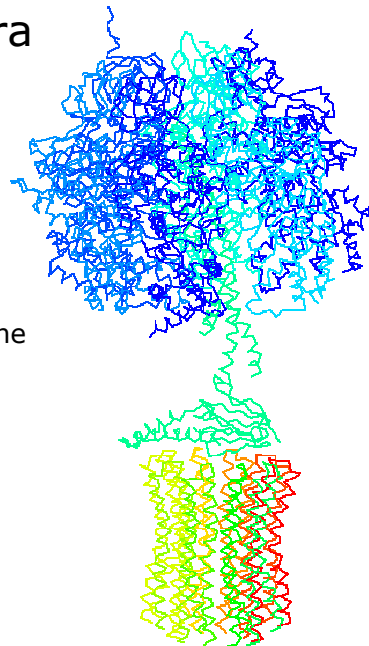
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

453

## Struttura

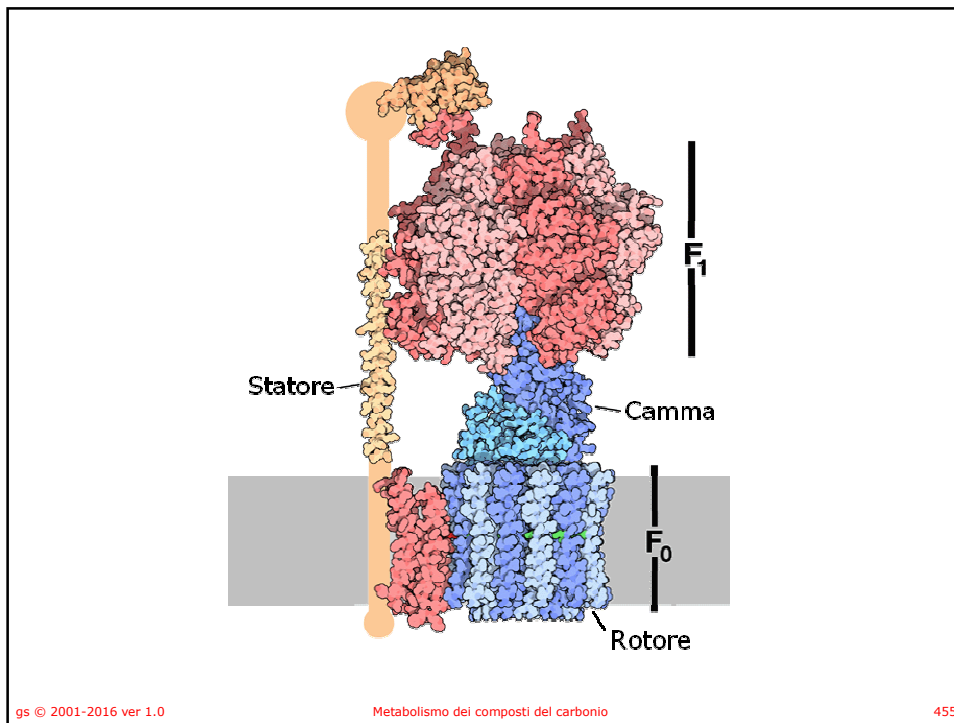
- Questo è il massimo di risoluzione ottenuta fino ad ora della definizione della intera struttura dell'ATP sintasi.



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

454



## Trasporto ATP, ADP e Pi

Come rendere disponibile l'energia (ATP).

## Trasporto ATP, ADP e P<sub>i</sub>

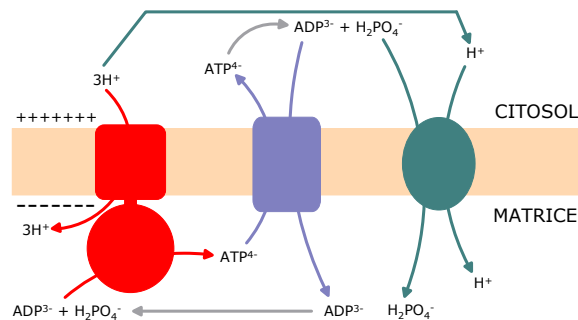
- L'ATP prodotto nelle matrice mitocondriale deve uscire per essere usato nel citosol come fonte di energia.
- L'ADP e il P<sub>i</sub> provenienti dall'idrolisi dell'ATP nel citosol devono entrare nella matrice mitocondriale per essere convertito in ATP.
- La membrana esterna mitocondriale non è una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

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

457

## Trasporto ATP, ADP e P<sub>i</sub>



- Una traslocasi (trasportatore ADP/ATP) è un antiporter che catalizza lo scambio di ADP per ATP attraverso la membrana mitocondriale interna.
  - Al pH cellulare (7.2) l'ATP ha quattro cariche negative (ATP<sup>4-</sup>), l'ADP ne ha tre (ADP<sup>3-</sup>).
  - Lo scambio ADP<sup>3-</sup>/ATP<sup>4-</sup> è pilotato, e usa, il potenziale di membrana (una carica per molecola di ATP).

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

458

# Antiporter ADP/ATP

Lato citoplasmatico

Lato citoplasmatico



Lato matrice

1OKC

gs © 2001-2016 ver 1.0

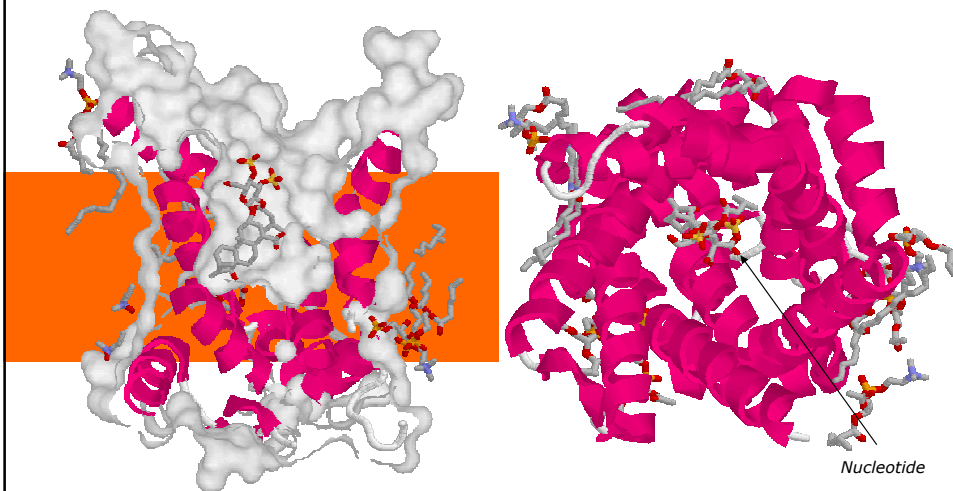
Metabolismo dei composti del carbonio

459

# Antiporter ADP/ATP

Lato citoplasmatico

Lato citoplasmatico



Lato matrice

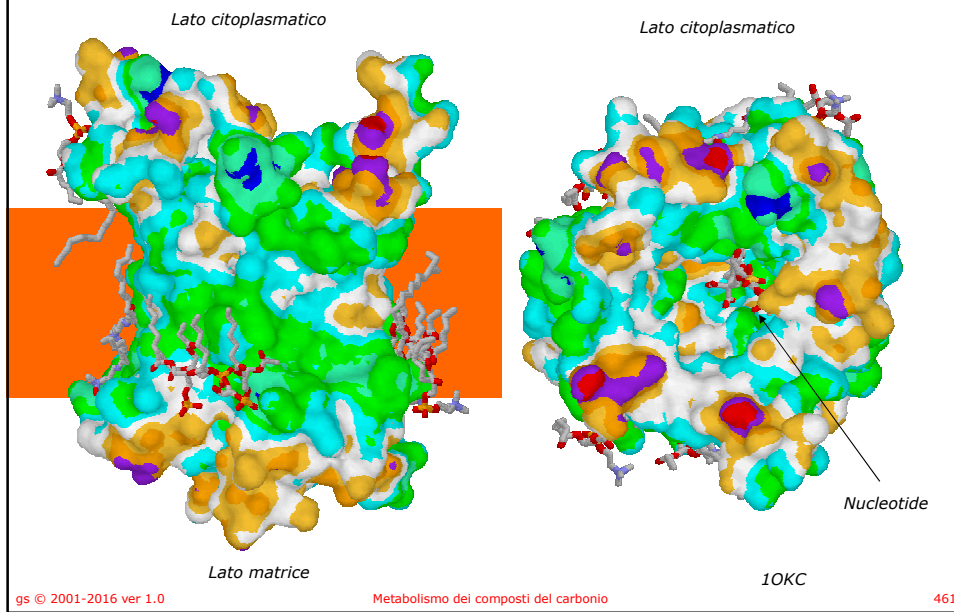
1OKC

gs © 2001-2016 ver 1.0

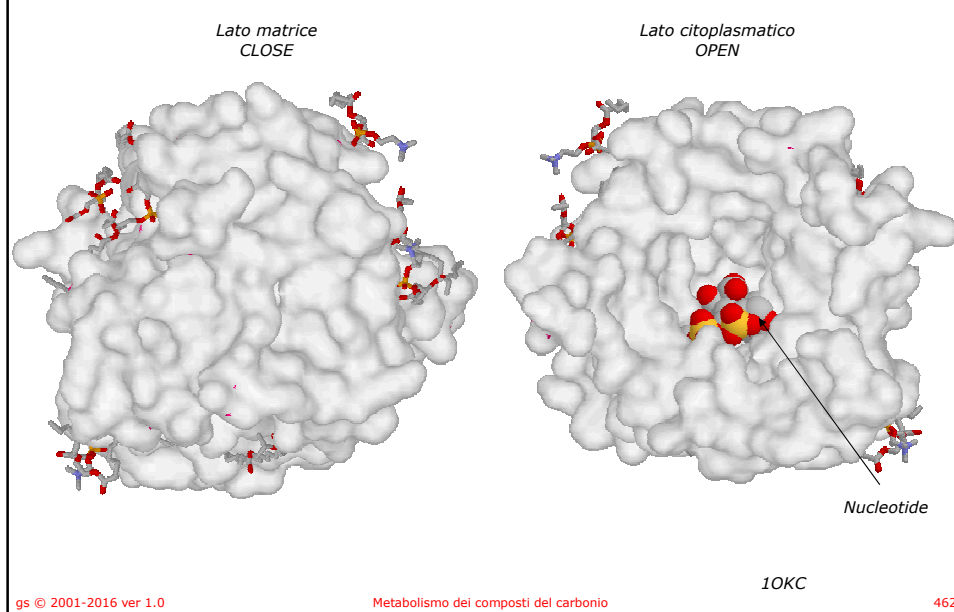
Metabolismo dei composti del carbonio

460

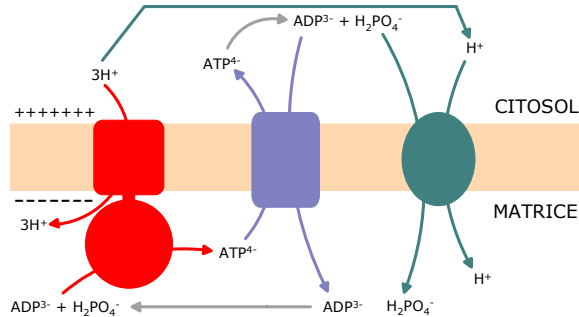
# Antiporter ADP/ATP



# Antiporter ADP/ATP

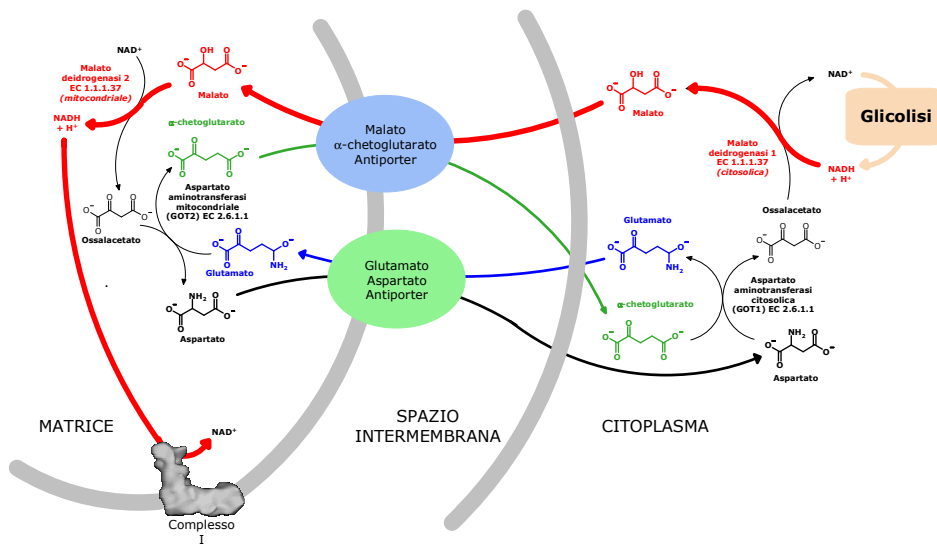


## Trasporto ATP, ADP e P<sub>i</sub>



- Il fosfato rientra nella matrice attraverso un simporto elettroneutro con H<sup>+</sup>,
- L'entrata di P<sub>i</sub> è pilotata, e usa, il gradiente di pH (una mole H<sup>+</sup> per mole di ATP).
- Quindi l'equivalente di una mole di H<sup>+</sup> entra nella matrice per lo scambio ADP/ATP e l'entrata di P<sub>i</sub>.
- Assumendo 3H<sup>+</sup> trasportati da F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>, 4H<sup>+</sup> entrano nella matrice per ATP sintetizzato.

## Shuttle del Malato-Aspartato (NADH)



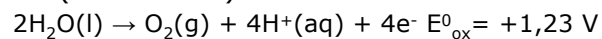




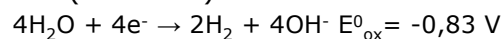
## Decomposizione dell'acqua

- La decomposizione dell'acqua in idrogeno ed ossigeno in condizioni standard è una reazione sfavorita in termini termodinamici, poiché entrambe le semireazioni che intervengono hanno potenziali negativi

Anodo (ossidazione):

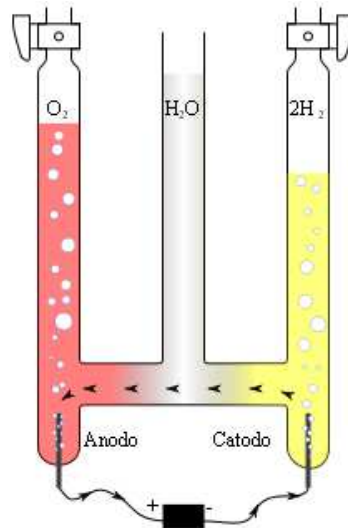


Catodo (riduzione):



- Utilizzando l'equazione  $\Delta G = -nF\Delta E$ , l'energia libera per il processo, in condizioni standard, vale 474.4 kJ: **non spontanea**.

## Decomposizione dell'acqua

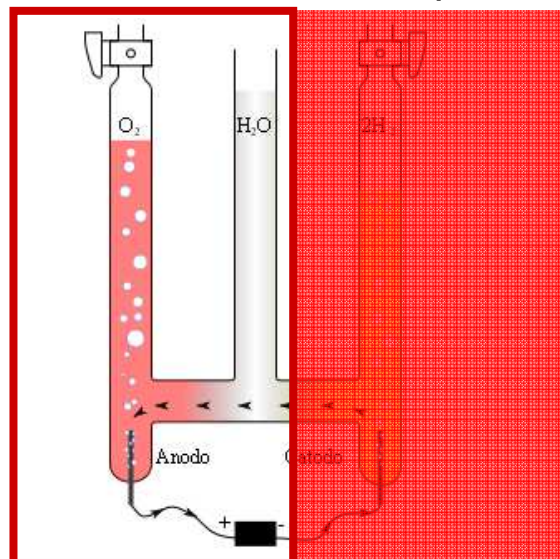


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

467

## Ossidazione dell'acqua

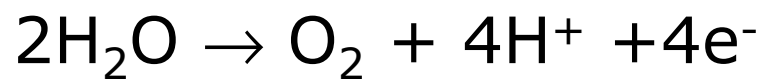


gs © 2001-2016 ver 1.0

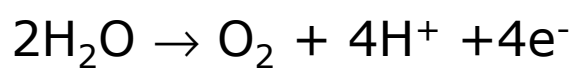
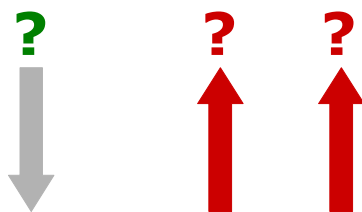
Metabolismo dei composti del carbonio

468

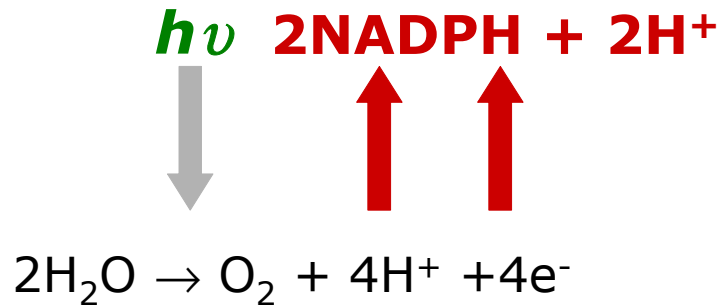
## Ossidazione dell'acqua



## Ossidazione dell'acqua

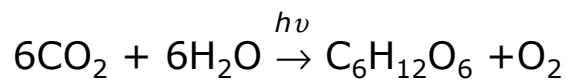


## Ossidazione dell'acqua



## Fotosintesi e fissazione del carbonio

È il processo che permette di formare carboidrati da CO<sub>2</sub> a spese dell'energia luminosa.

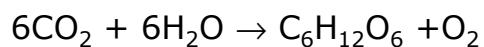


### FISSAZIONE DELL'ANIDRIDE CARBONICA

## Fotosintesi e fissazione del carbonio

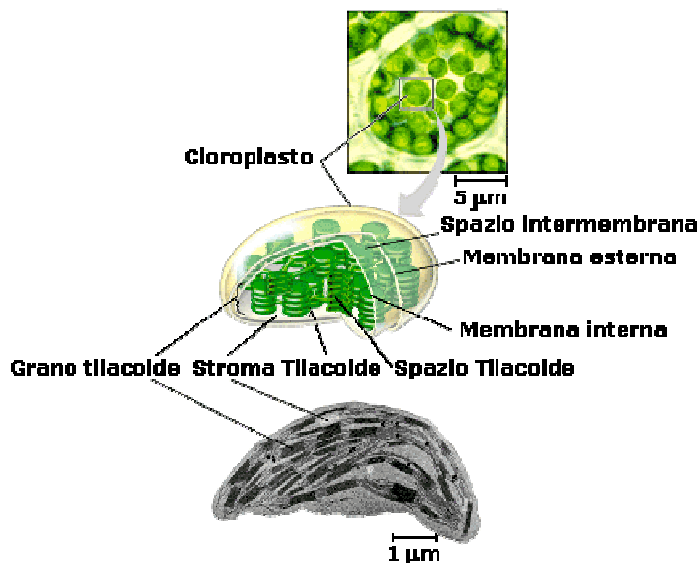
- La fotosintesi viene assimilata alla fissazione della  $\text{CO}_2$ ,
- L'energia chimica derivata dall'energia luminosa può essere utilizzata per altri processi cellulari (assimilazione di azoto e zolfo).

- Il processo

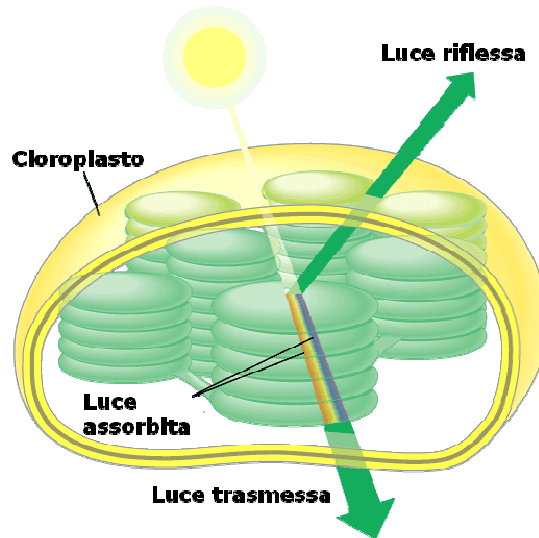


- È il contrario del metabolismo dei carboidrati,
- È un processo endoergonico che avviene nei cloroplasti.

## Cloroplasti



## Cloroplasti



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

475

## Cloroplasti

- La fotosintesi avviene all'interno del tilacoide,
- La membrana del tilacoide è come la membrana mitocondriale
  - Impermeabile a ioni e molecole
- Come i mitocondri i cloroplasti hanno un proprio DNA, RNA e ribosomi

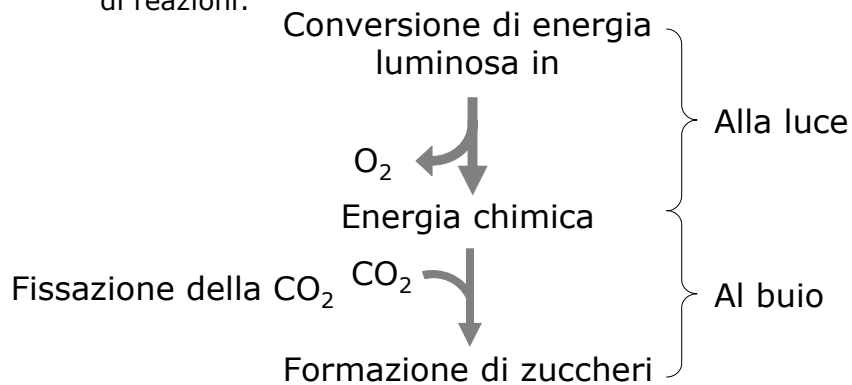
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

476

## Processo fotosintetico

- La fotosintesi è un processo che è formato da due serie di reazioni:



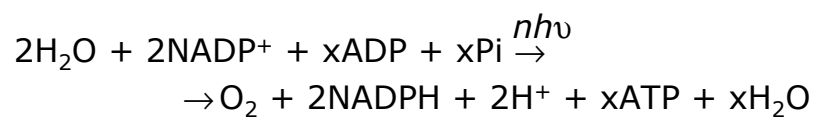
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

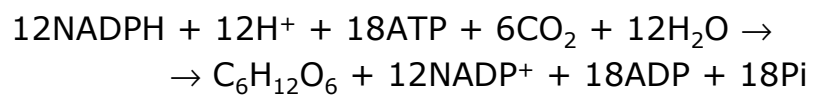
477

## Processo fotosintetico

### Fase luminosa



### Fase buia



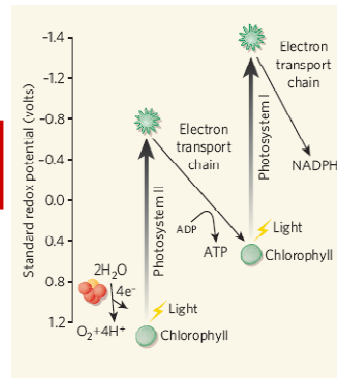
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

478

The oxygen that gives us the breath of life is renewed by sunlight falling on plants, algae and a particular class of bacterium called cyanobacteria — all of which produce molecular oxygen (O<sub>2</sub>) as a waste product of photosynthesis (Part 1). Biologists agree that cyanobacteria invented the art of making oxygen<sup>2</sup>, but when and how this came about remain uncertain.

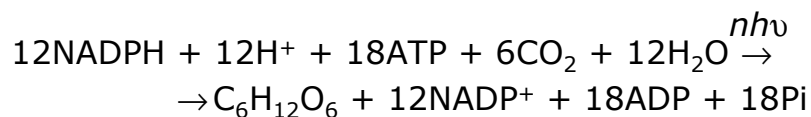
Oxygenic photosynthesis involves about 100 proteins that are highly ordered within the photosynthetic membranes of the cell. The main players are two molecular machines, photosystem I and photosystem II, that act as electrochemical solar cells. With the help of chlorophyll (the pigment that makes plants green), they transform sunlight into electrical current (Fig. 1). Photosystem II generates an electrochemical potential of +1.1 volts, enough to remove two electrons from each of two water molecules, making a molecule of O<sub>2</sub> at a cost of four photons — one for each electron moved. Photosystem II performs this remarkable feat only when photosystem I is present to dispose of the electrons. Photosystem I grabs the four electrons and uses four more photons to deposit them, in two pairs, on an electron carrier called NADP<sup>+</sup>. NADP<sup>+</sup> ultimately transfers the electrons to carbon dioxide, thereby providing the



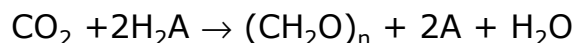
energy to make carbon-based sugars and the other molecules of life; light makes life and oxygen out of water and thin air.

## Processo fotosintetico

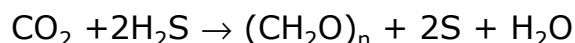
### Fase buia



- In questo caso è l'acqua il donatore finale di elettroni, più in generale:

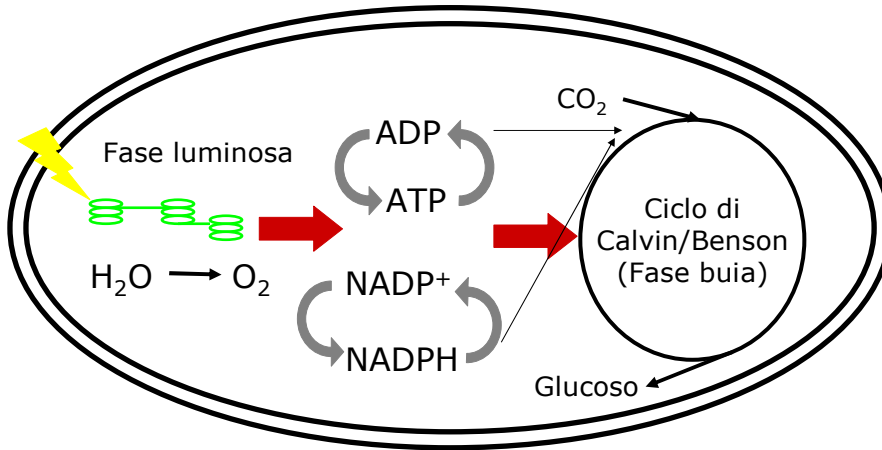


- Nei solfobatteri fotosintetici, per esempio:





# Fotosintesi



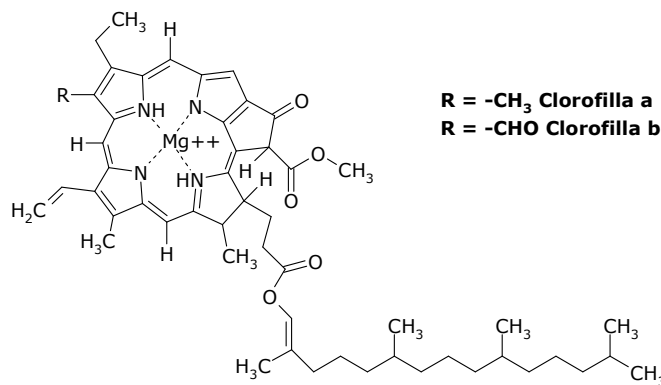
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

481

# Clorofilla

- I pigmenti fotosintetici in grado di assorbire luce sono, principalmente, le clorofille:



**R = -CH<sub>3</sub> Clorofilla a**  
**R = -CHO Clorofilla b**

**Catena laterale idrofobica di fitolo**

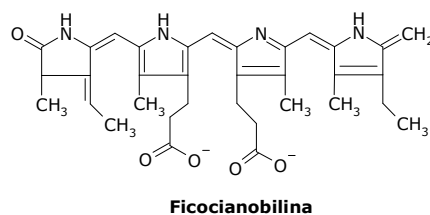
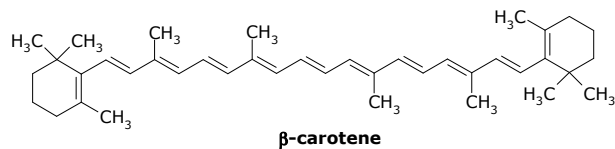
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

482

## Pigmenti accessori

- Ci sono poi altri pigmenti fotosintetici "accessori" che permettono una maggiore efficienza dell'assorbimento:

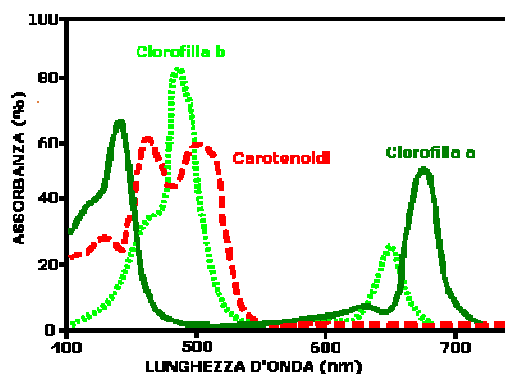


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

483

## Spettri di assorbimento



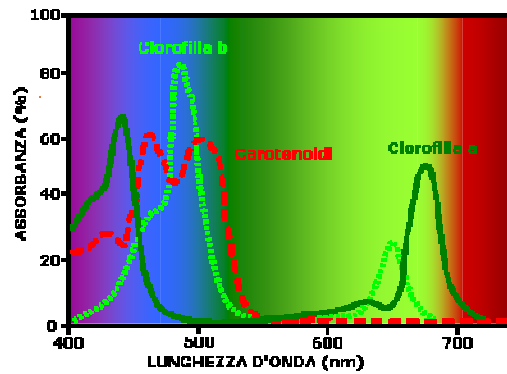
- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

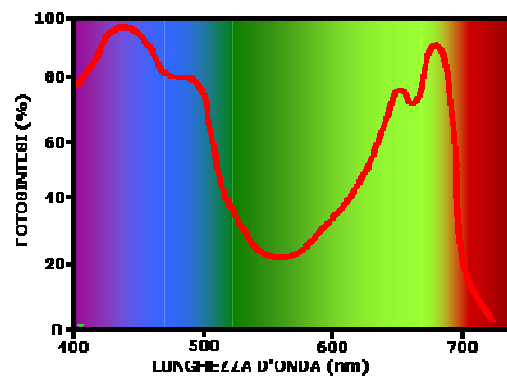
484

## Spettri di assorbimento



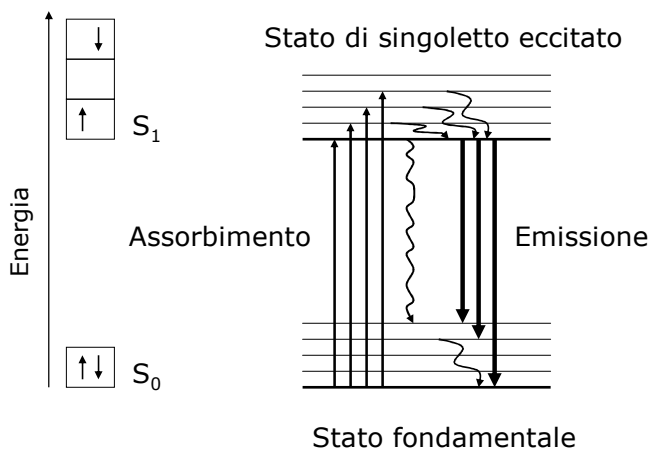
- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

## Spettri di assorbimento



- L'efficienza della fotosintesi è massima alle estremità dello spettro della luce visibile

# Le transizioni elettroniche

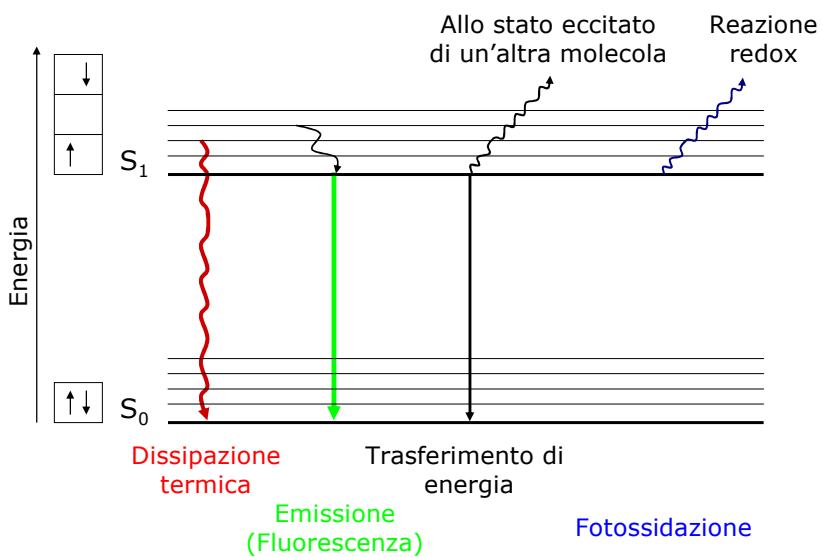


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

487

# Disattivazione dello stato eccitato



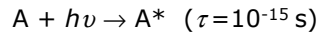
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

488

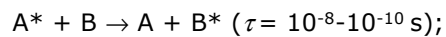
## Reazioni allo stato eccitato

- Assorbimento, formazione dello stato eccitato:

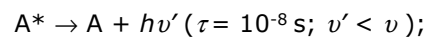


- Disattivazione dello stato eccitato:

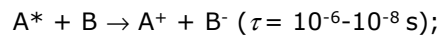
- Energy transfer:



- Emissione di luce (fluorescenza):

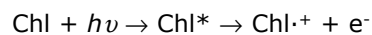


- Reazione redox:

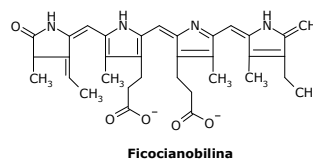
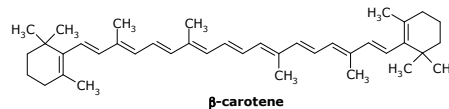
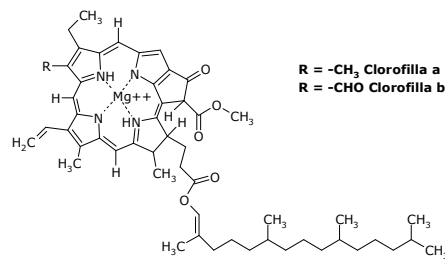


## Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di sistemi elettronici  $\pi$  coniugati.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:

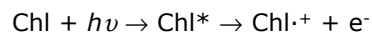


- Il  $\text{Mg}^{++}$  non cambia numero di ossidazione.

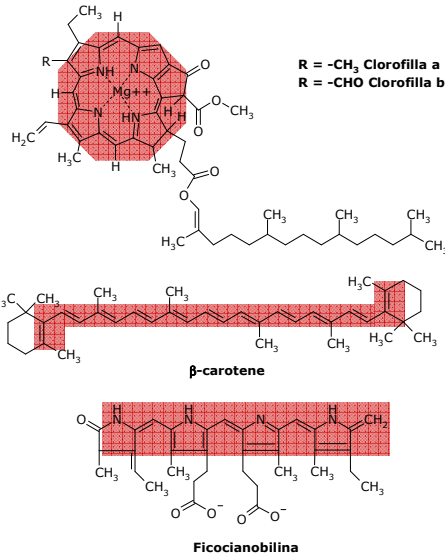


## Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di **sistemi elettronici  $\pi$  coniugati**.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:



- Il  $\text{Mg}^{++}$  non cambia numero di ossidazione.



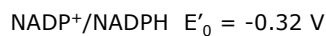
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

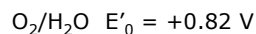
491

## Riduzione e ossidazione

- La fotosintesi consiste nella riduzione del  $\text{NADP}^+$  a spese degli  $e^-$  ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il  $\text{NAD}^+$  è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .



- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .

gs © 2001-2016 ver 1.0

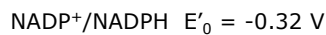
Metabolismo dei composti del carbonio

492

## Riduzione e ossidazione

# Fotosistema I (PSI)

- La fotosintesi consiste nella riduzione del NADP<sup>+</sup> a spese degli e<sup>-</sup> ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il NAD<sup>+</sup> è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .



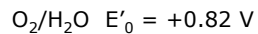
- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .

## Riduzione e ossidazione

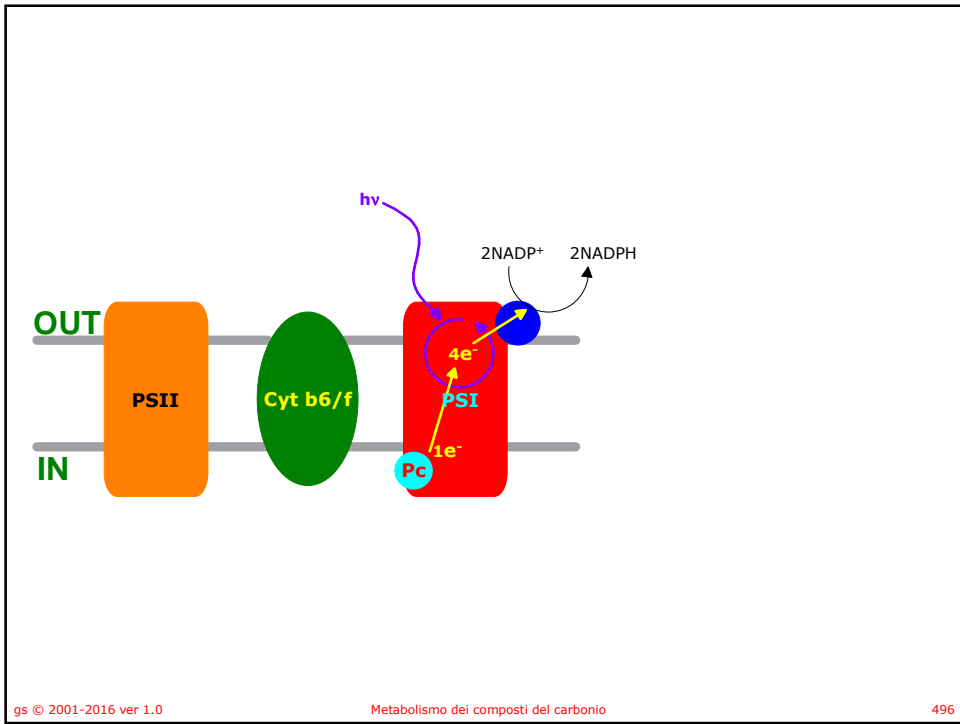
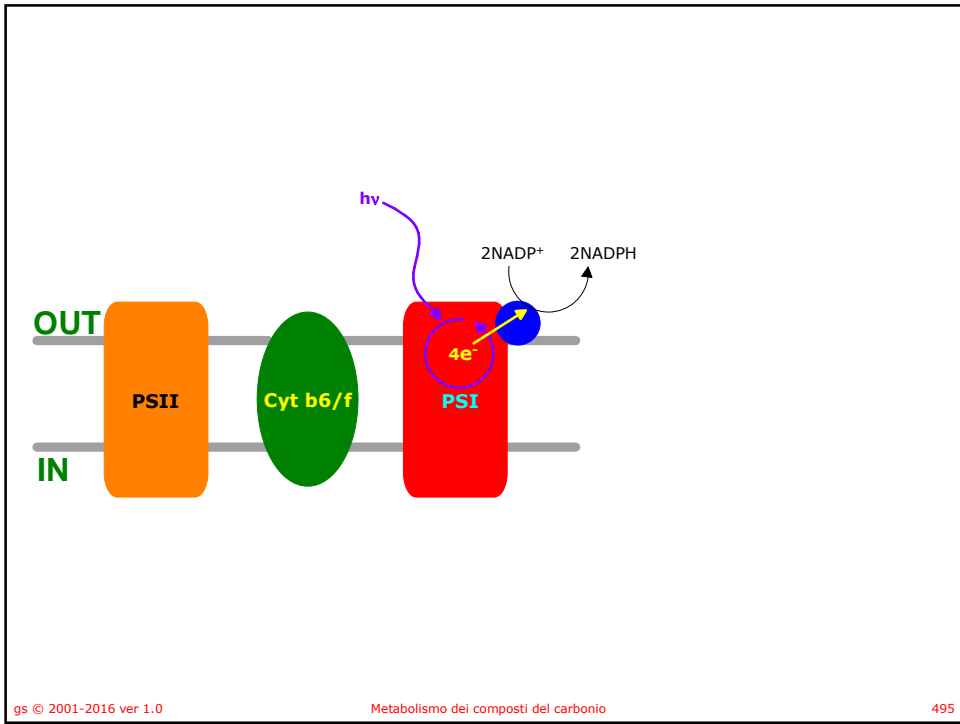
- La fotosintesi consiste nella riduzione del NADP<sup>+</sup> a spese degli e<sup>-</sup> ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.

# Fotosistema II (PSII)

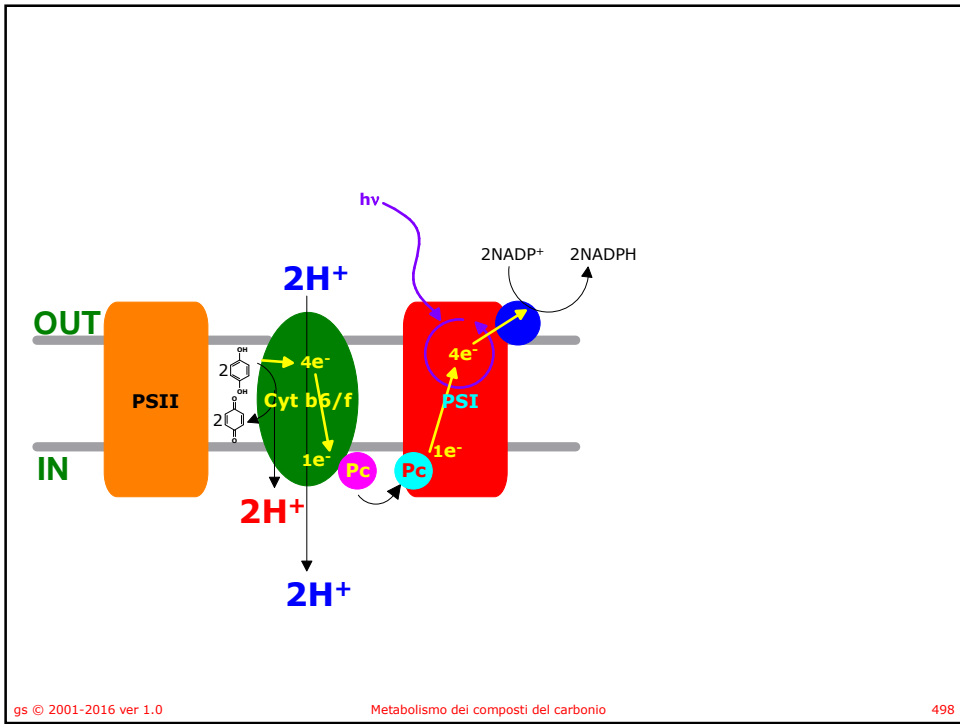
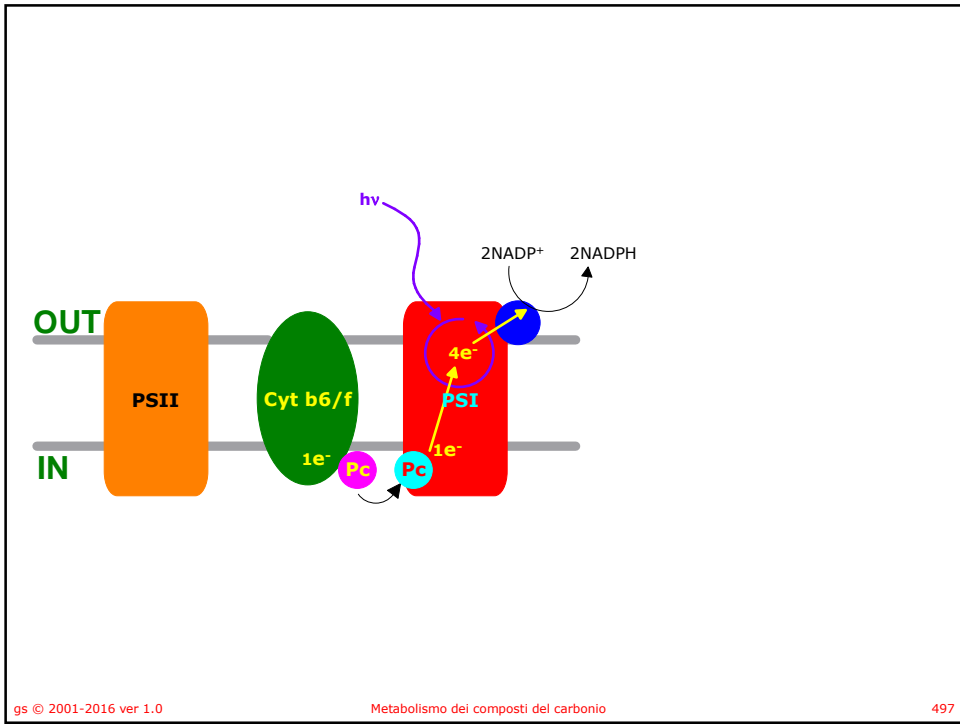
- Per ridurre il NAD<sup>+</sup> è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .

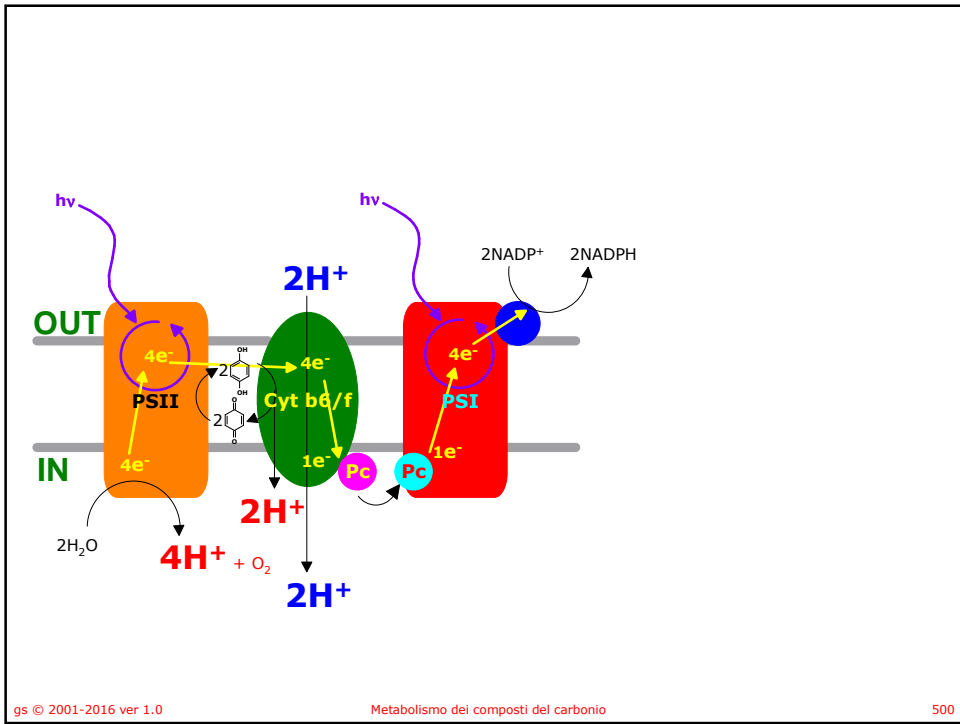
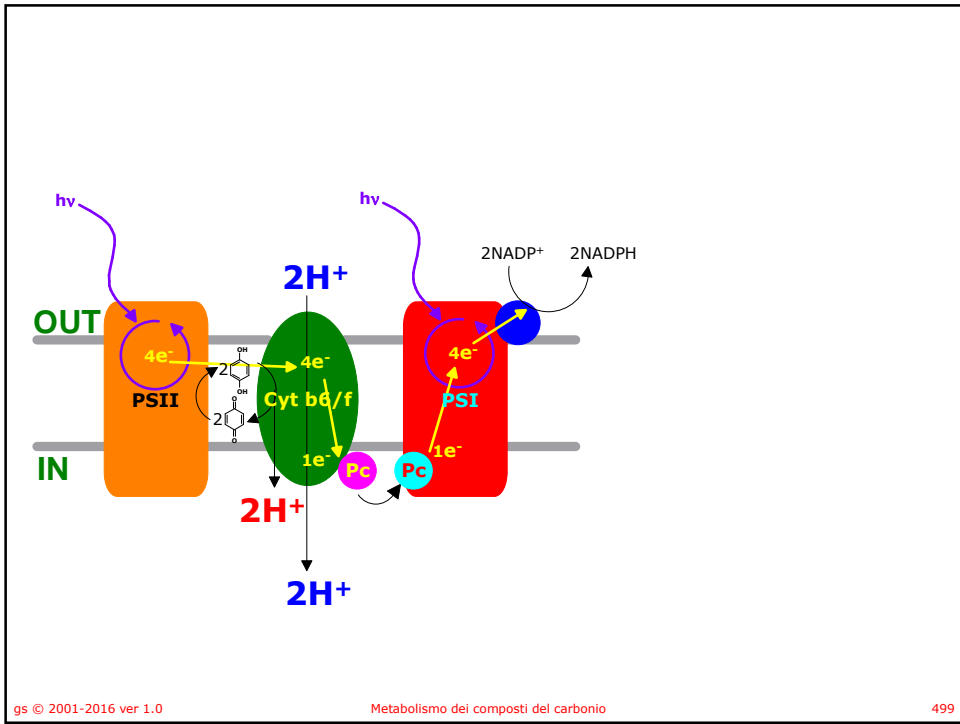


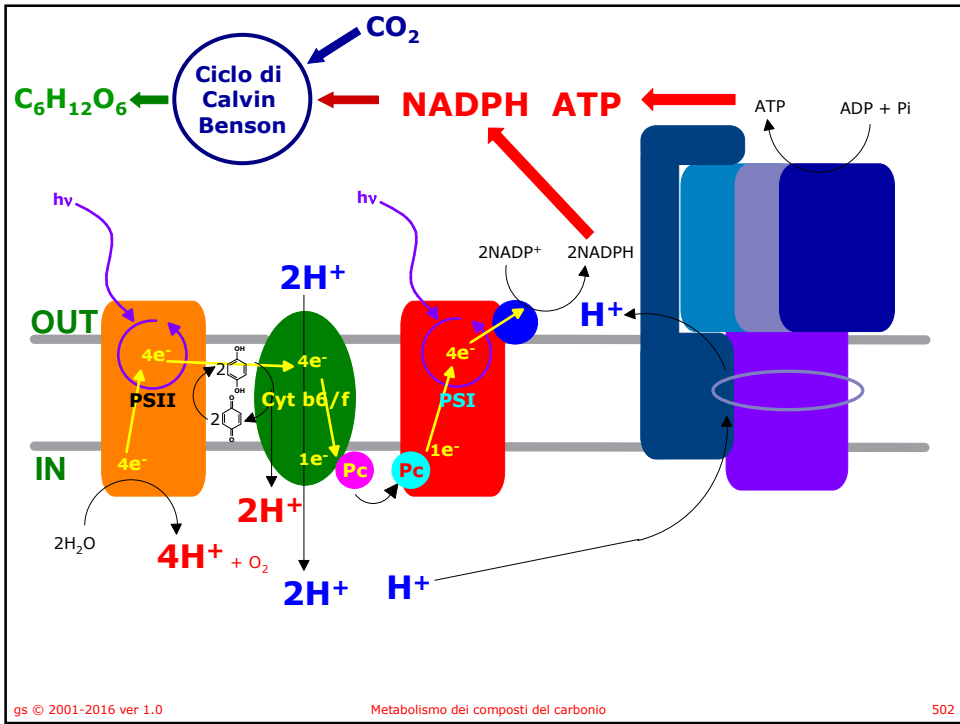
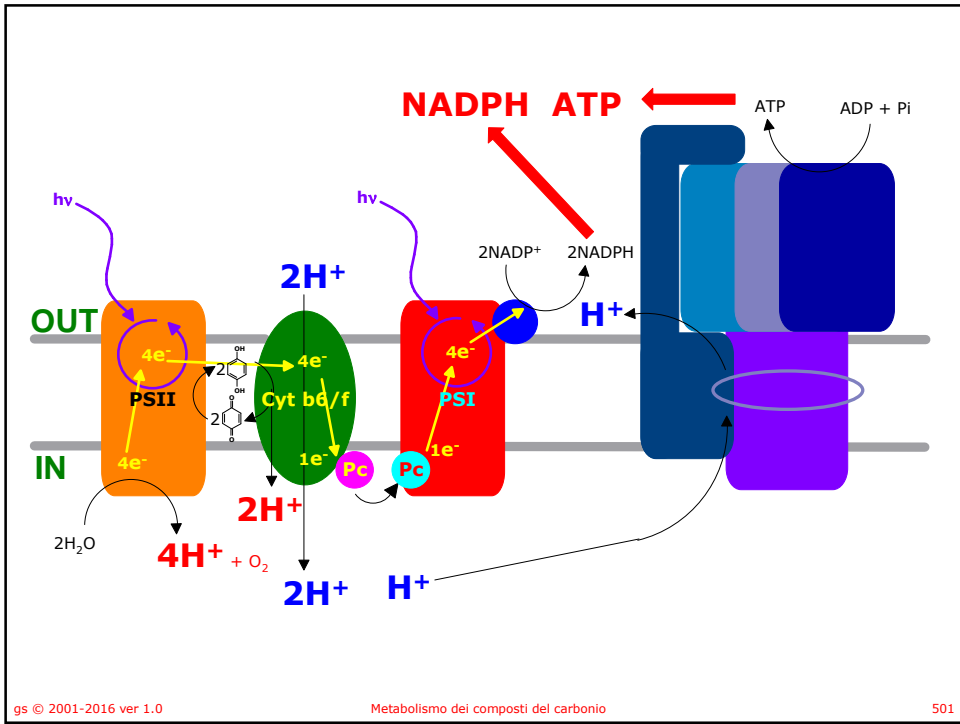
- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .



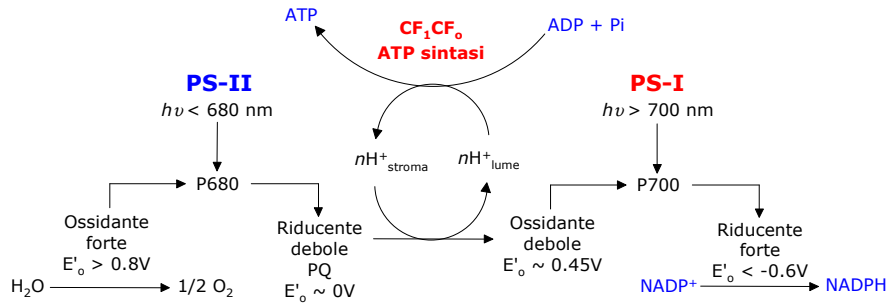








## Riduzione e ossidazione



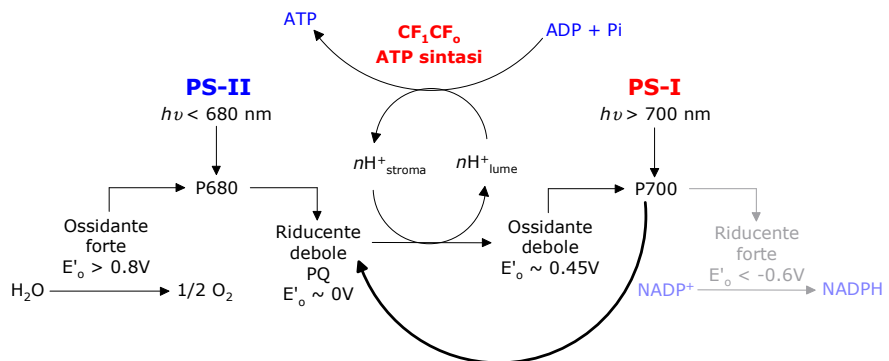
- La produzione di equivalenti riducenti (NADPH) è associata alla traslocazione di protoni dallo stroma al lume del tilacoide con formazione di un gradiente di pH e di carica,
- Attraverso una ATP-sintasi i protoni vengono riportati all'interno dello stroma a favore di gradiente con accoppiata la sintesi di ATP.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

503

## Riduzione e ossidazione



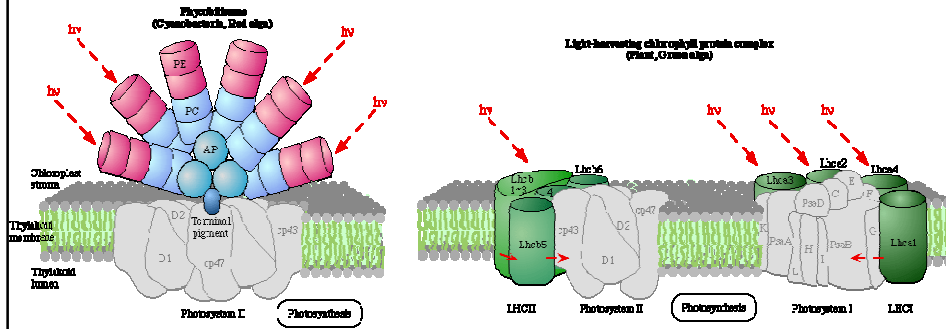
- In alcuni casi invece di procedere alla riduzione del  $\text{NADP}^+$ , P700 viene "cortocircuitata" per la produzione di gradiente protonico.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

504



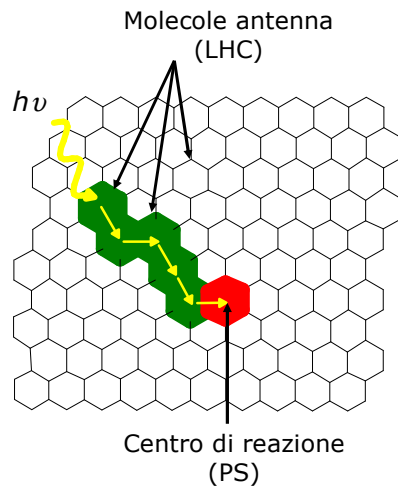


# La fotosintesi e fotofosforilazione

Dalla luce all'ATP e NADPH

## Unità fotosintetica

- Non tutte le molecole di clorofilla svolgono la funzione di donatori di elettroni allo stato eccitato.
- Il trasferimento di energia tra le molecole antenna al centro di reazione avviene per risonanza (energy transfer).

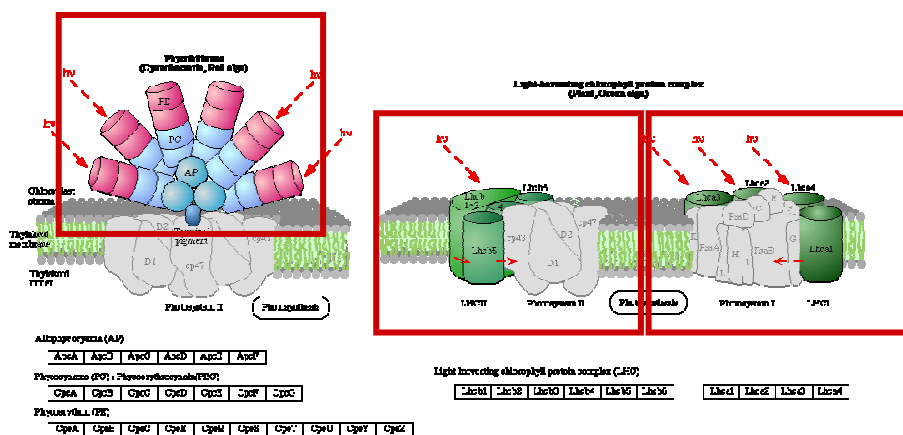


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

509

## Light harvesting complex



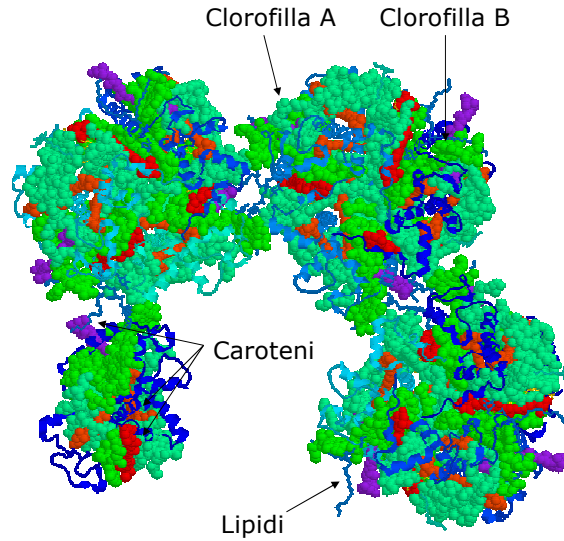
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

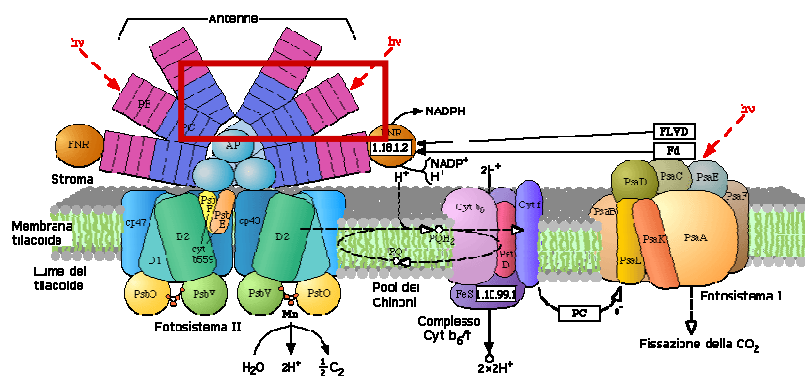
510

## Light harvesting complex

- La luce viene raccolta dal sistema antenna (Light harvesting complex) attraverso i pigmenti:
  - Clorofille (A e B)
  - Caroteni
- L'energia luminosa viene trasferita via energy transfer al centro di reazione.

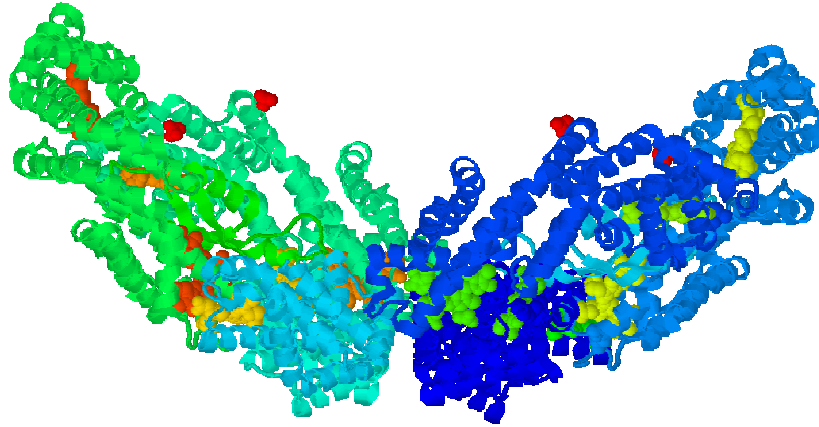


## Ficocianobilina





## Ficocianobilina



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

513

## Centri di reazione

- Negli eucarioti esistono due diversi centri di reazione: PS-I e PS-II
- Nei due fotosistemi avvengono reazioni diverse.
- I due fotosistemi hanno diversa sensibilità alla luce .
- In uno dei due (PS-II) avviene l'ossidazione dell'acqua ad ossigeno.
- La clorofilla nelle cellule vegetali è associata a proteine integrali della membrana del tilacoide.

gs © 2001-2016 ver 1.0

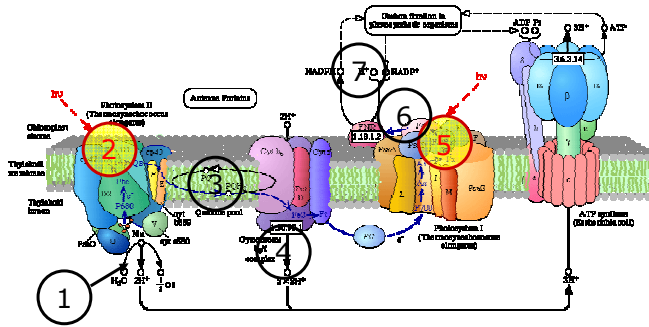
Metabolismo dei composti del carbonio

514

# Potenziali redox

- I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall'H<sub>2</sub>O al NADP<sup>+</sup>:

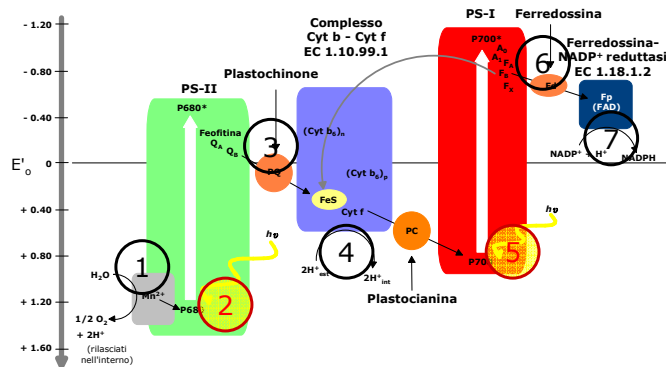
- $E'_o = + 0.85 \text{ V}$
- $E'_o = + 1.20 \text{ V}$
- $E'_o \approx 0 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.40 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.75 \text{ V}$
- $E'_o = - 1.20 \text{ V}$
- $E'_o = - 0.70 \text{ V}$



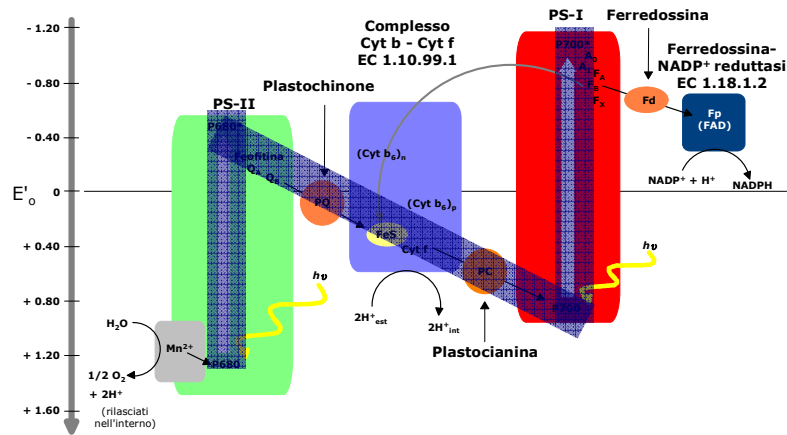
# Potenziali redox

- I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall'H<sub>2</sub>O al NADP<sup>+</sup>:

- $E'_o = + 0.85 \text{ V}$
- $E'_o = + 1.20 \text{ V}$
- $E'_o \approx 0 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.40 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.75 \text{ V}$
- $E'_o = - 1.20 \text{ V}$
- $E'_o = - 0.70 \text{ V}$



## Schema a Z



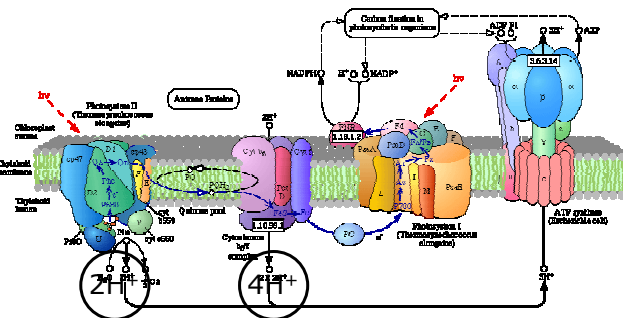
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

517

## Trasporto di H<sup>+</sup>

- Nel trasporto di elettroni dall'acqua al NADP<sup>+</sup> vengono anche trasportati 4H<sup>+</sup> nel lume del tilacoide (all'interno) dalla cavità stromale (dall'esterno).
- 2H<sup>+</sup> vengono prodotti nel lume a seguito della ossidazione dell'acqua.

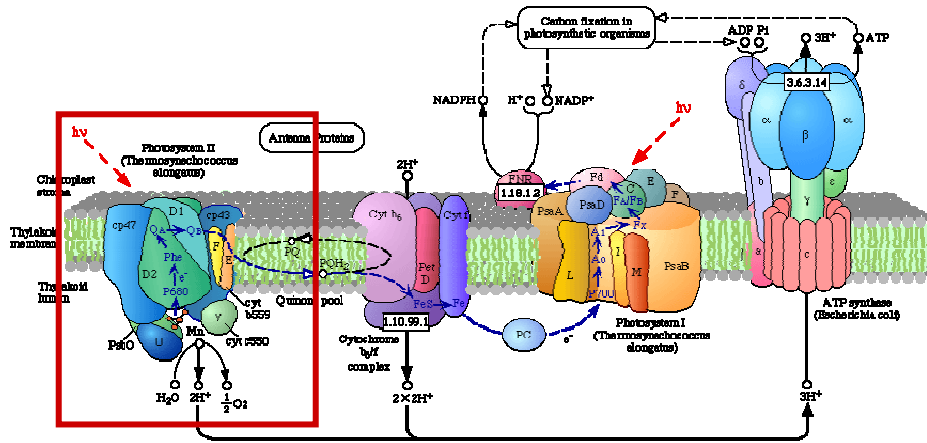


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

518

## Fotosistema II (PS-II)



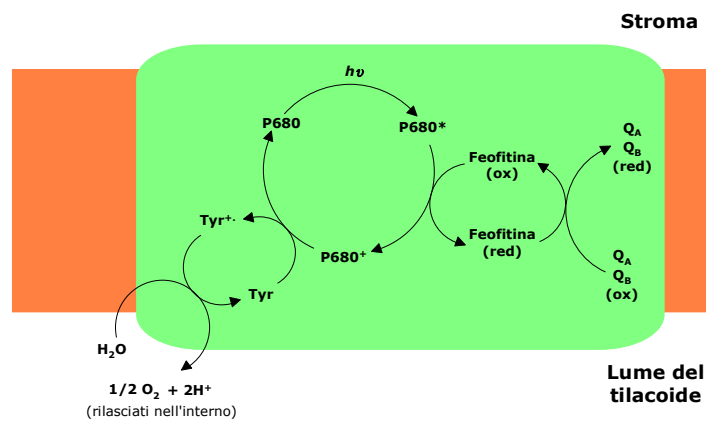
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

519

## PS-II

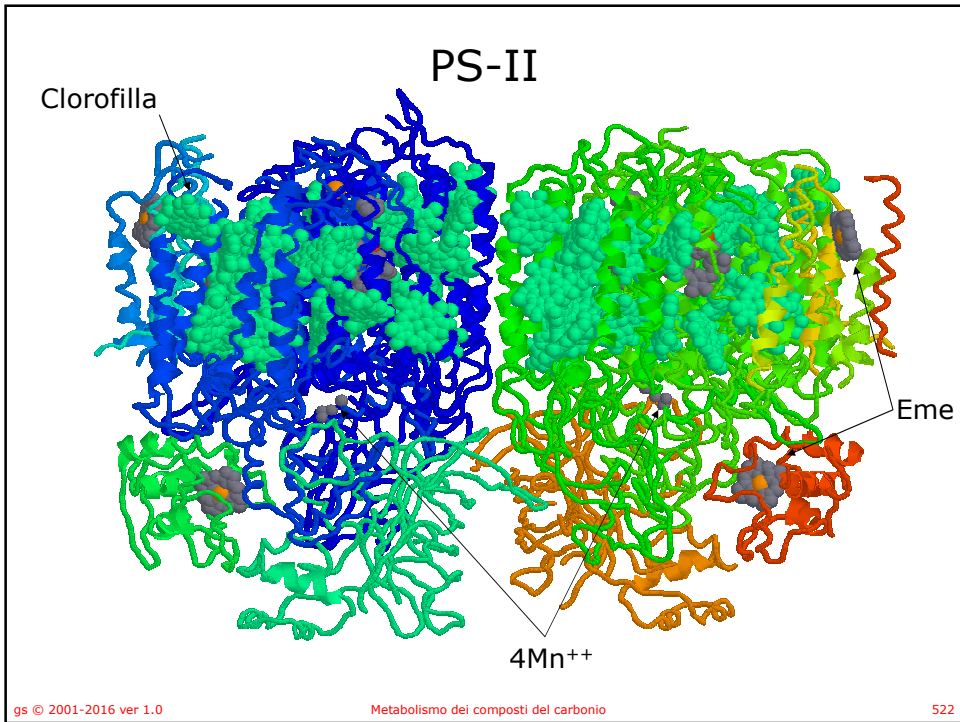
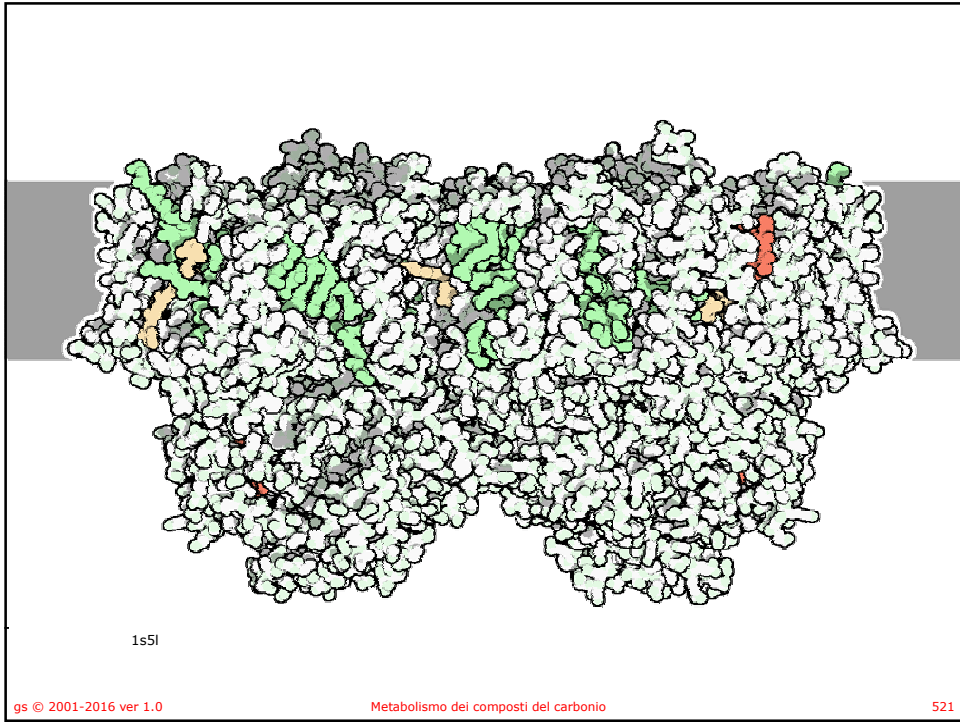
- I due elettroni vengono trasferiti al plastochinone legato al PS-II attraverso una serie di reazioni redox di gruppi prostetici.

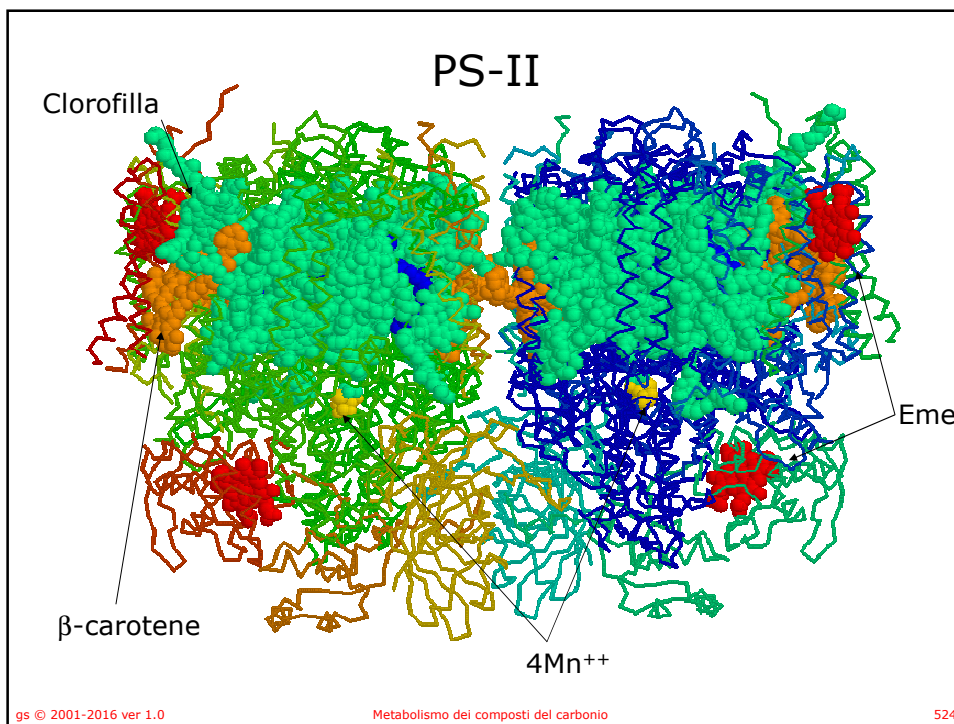
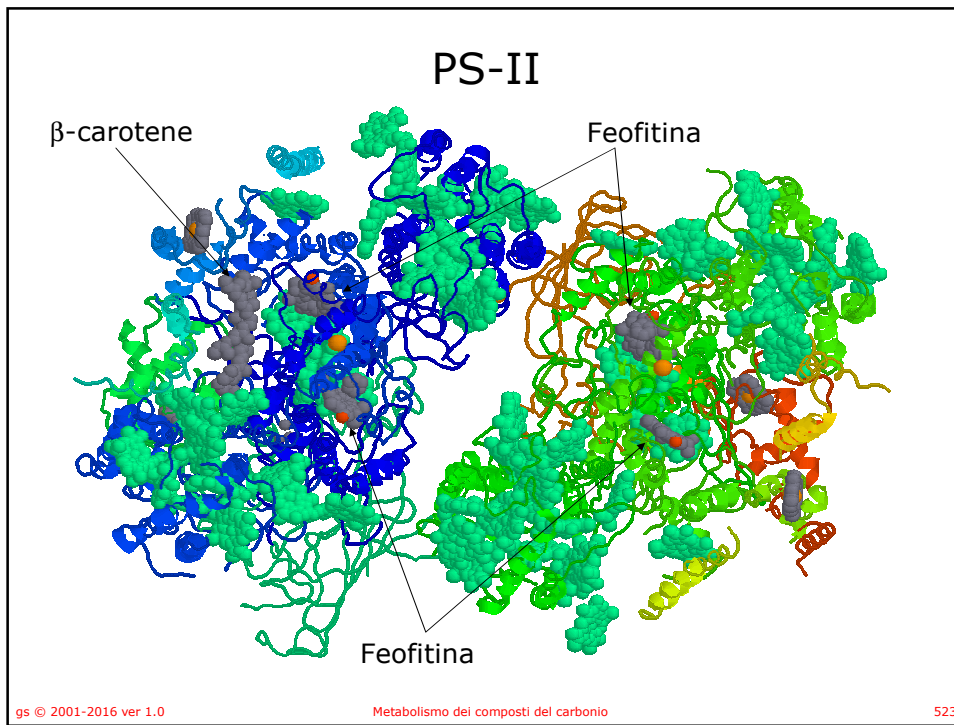


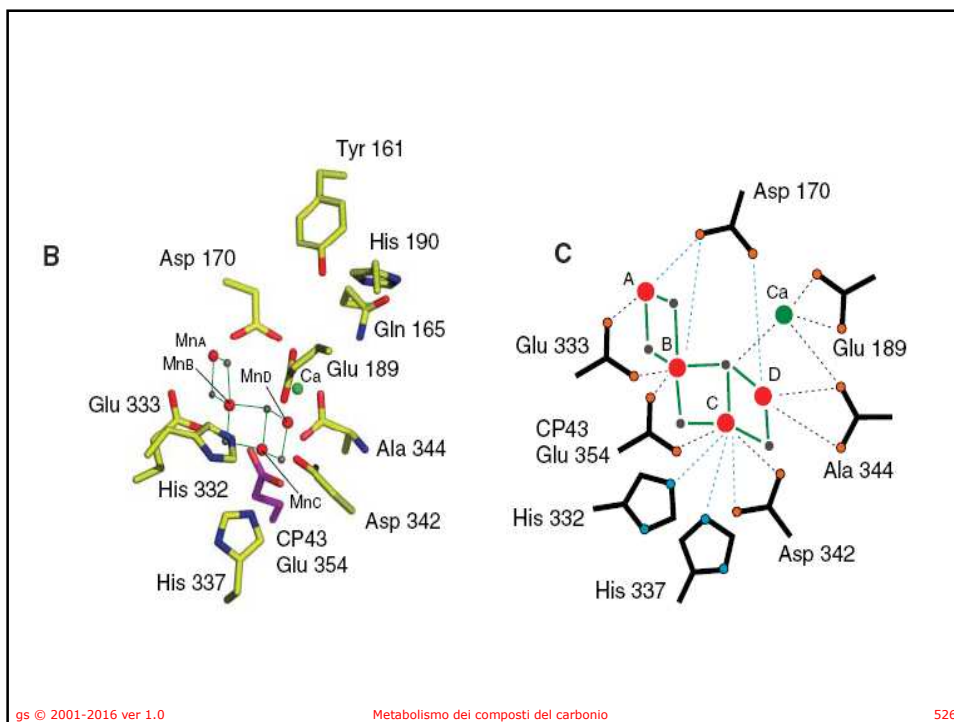
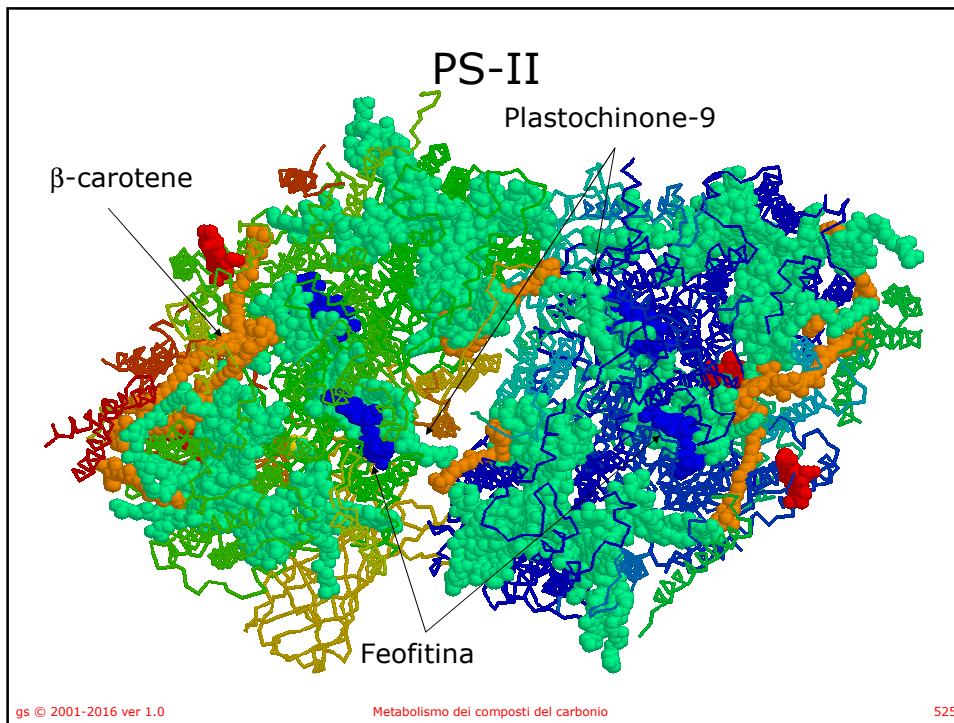
gs © 2001-2016 ver 1.0

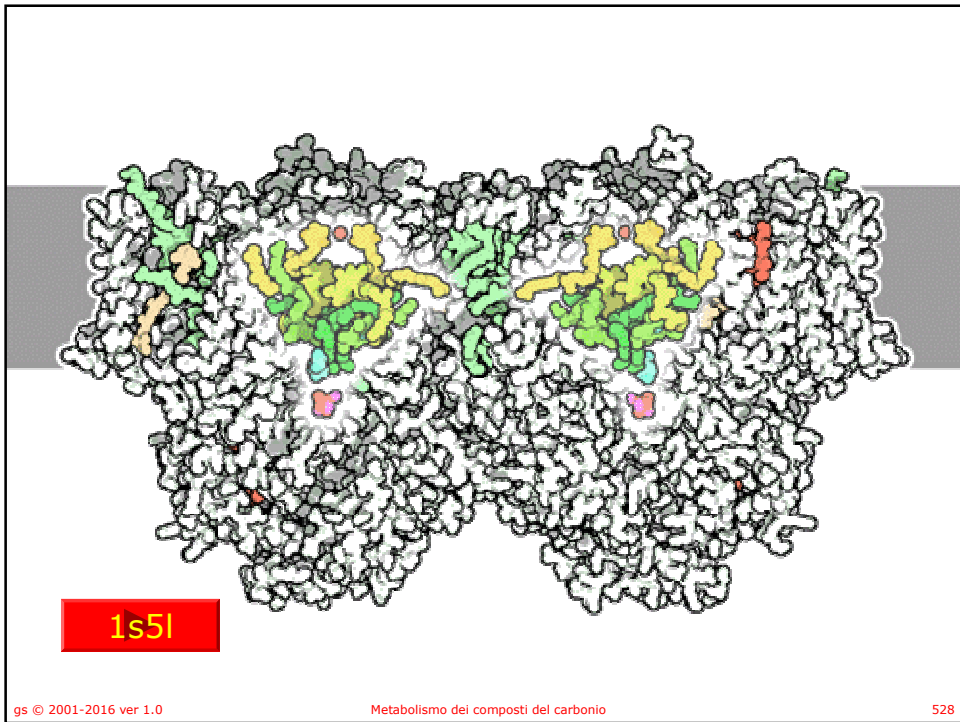
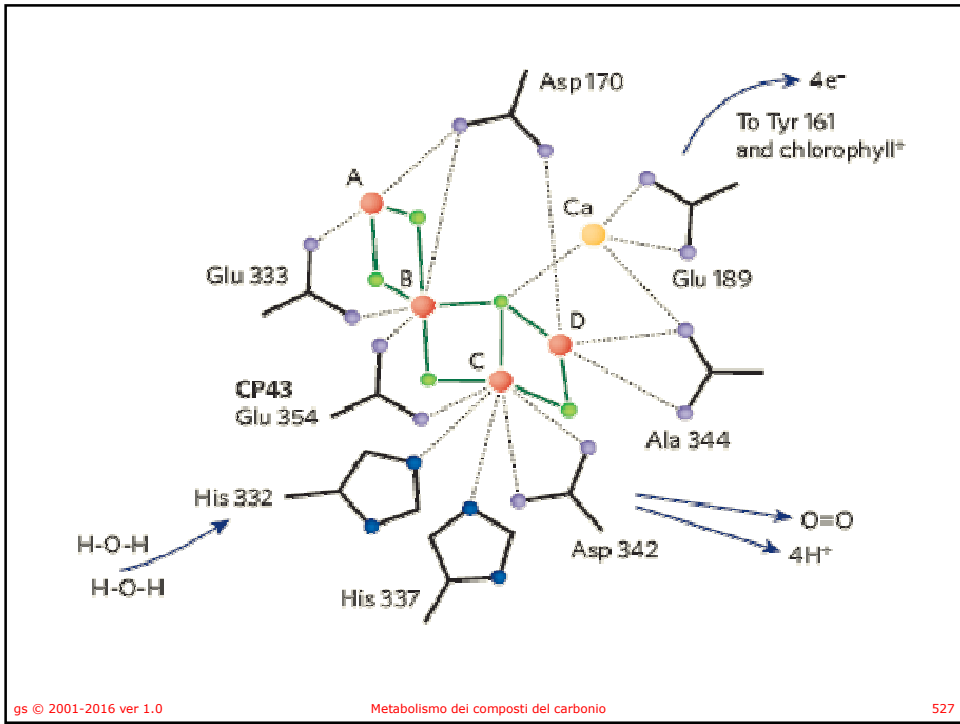
Metabolismo dei composti del carbonio

520

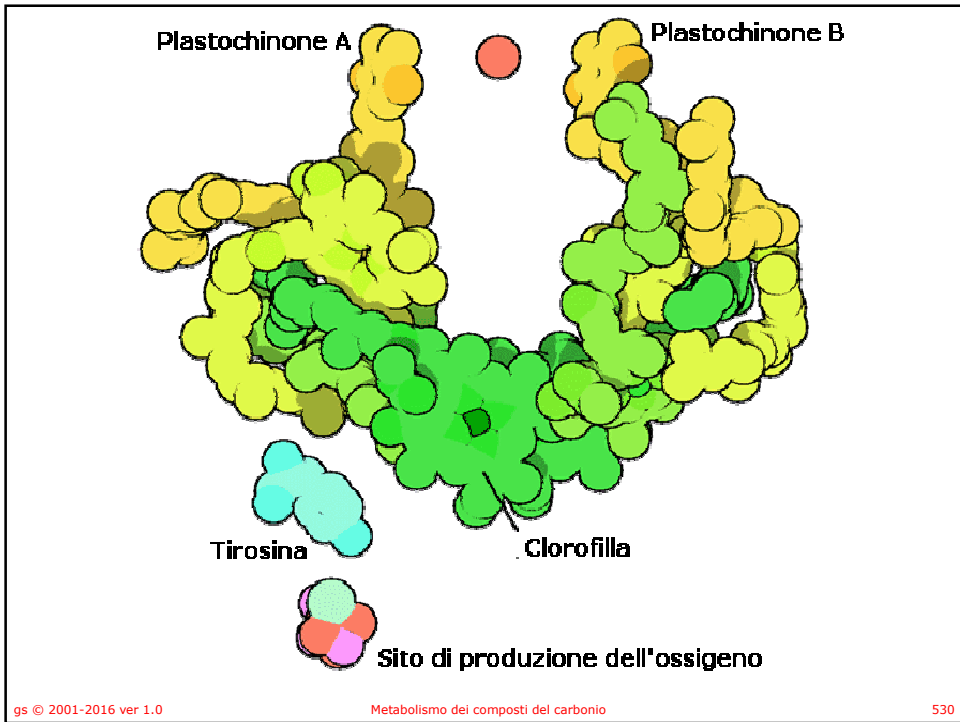
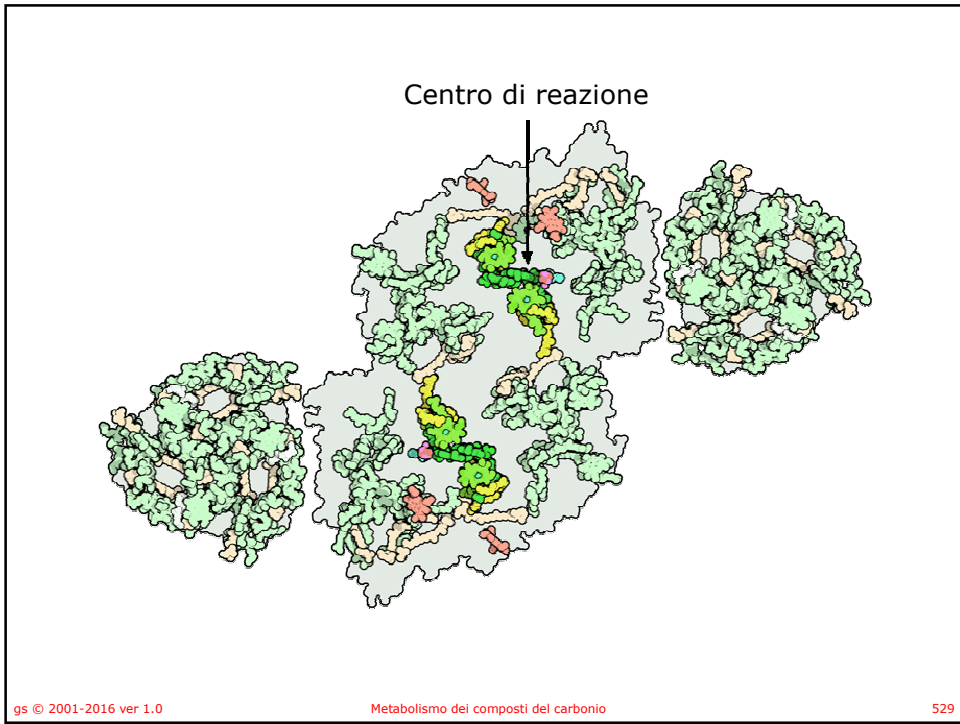


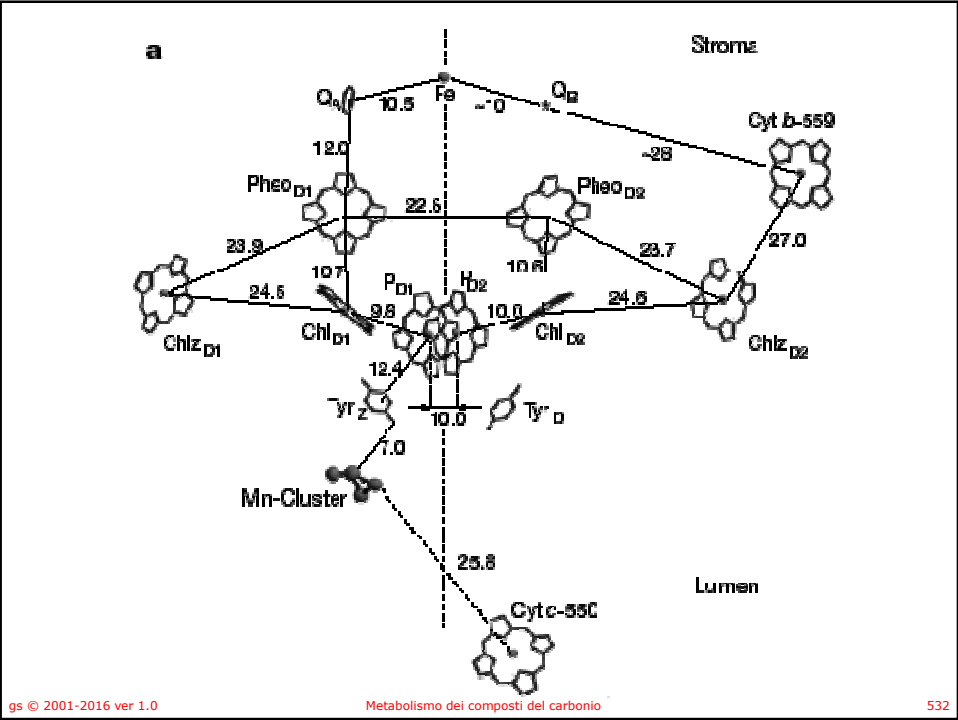
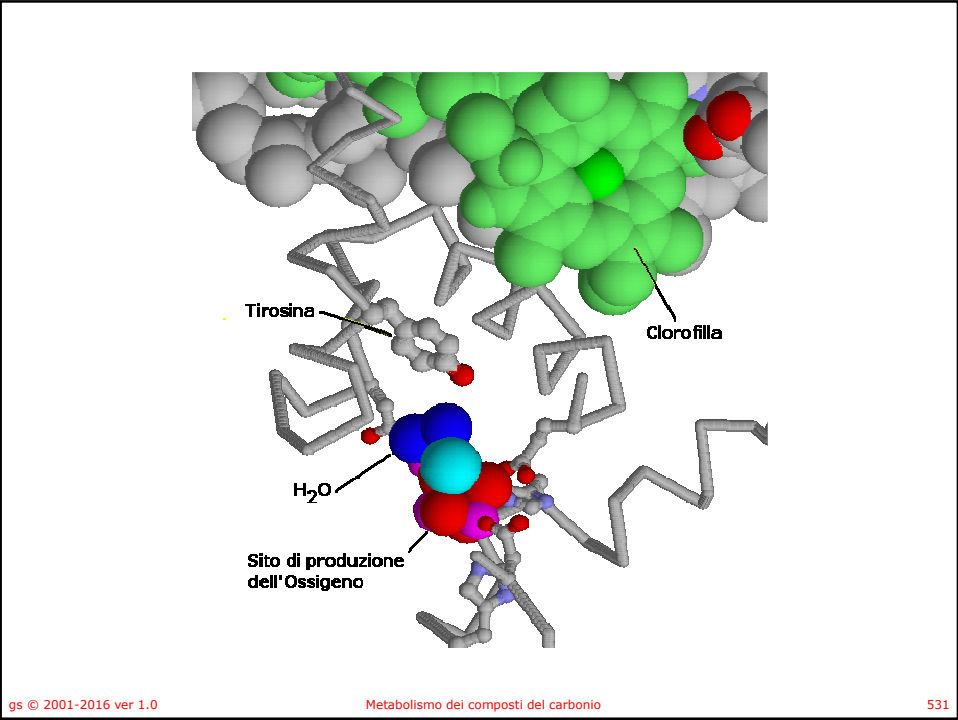




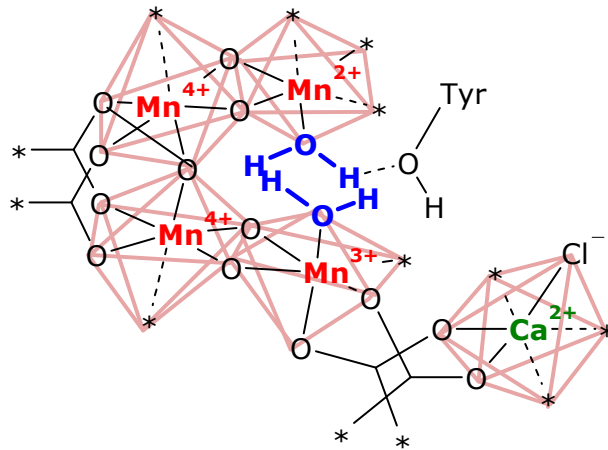








## PS-II Complesso Manganese



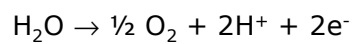
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

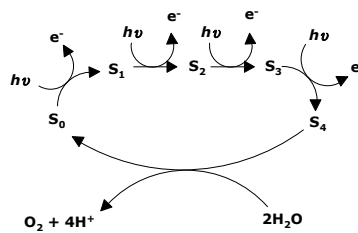
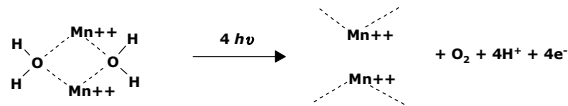
533

## PS-II Complesso Manganese

- È il sito dove avviene la reazione:



- I due elettroni vengono trasportati al P680<sup>+</sup> (attivato dal P680 per assorbimento di un fotone)

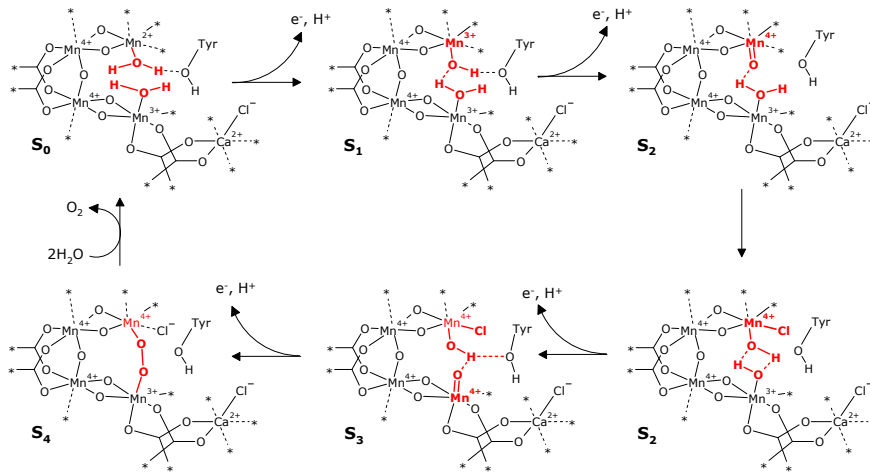


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

534

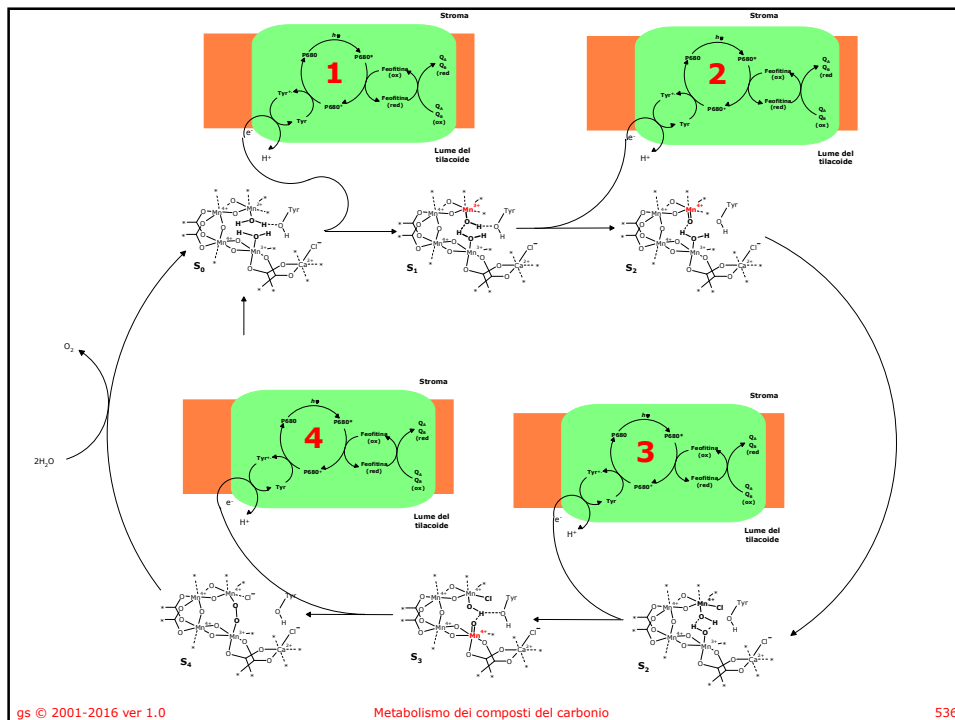
# PS-II Complesso Manganese



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

535



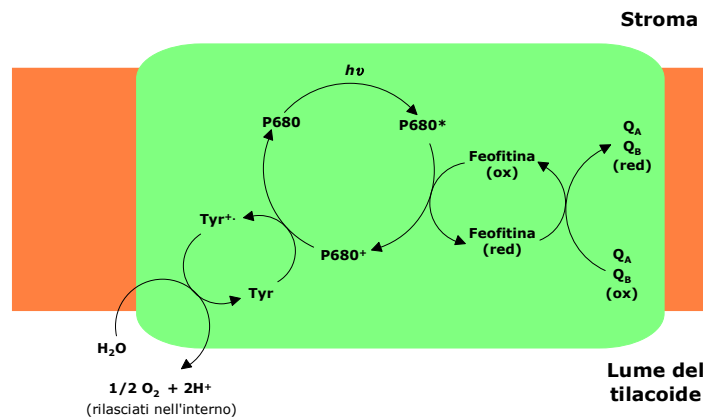
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

536

## PS-II

- I due elettroni vengono trasferiti al plastoquinone legato al PS-II attraverso una serie di reazioni redox di gruppi prostetici.

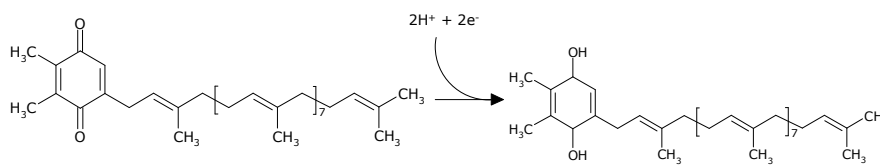


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

537

## Plastoquinone



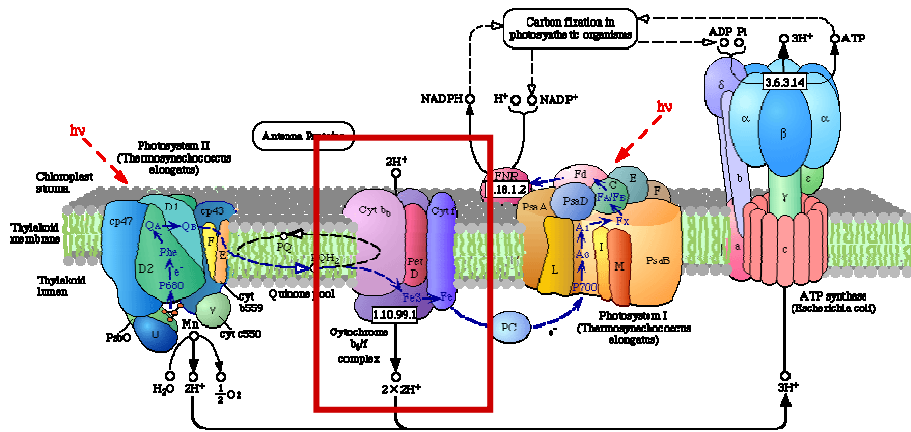
- Il plastoquinone 9 (nove unità isoprenoidi) è un trasportatore mobile di elettroni,
- Due molecole di plastoquinone 9 (Q<sub>A</sub> e Q<sub>B</sub>) sono legati al PS-II e sono l'ultimo anello della catena redox interna al PS-II.
- Gli elettroni vengono quindi trasferiti al pool di plastoquinone che funziona come il CoQ nei mitocondri:

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

538

## Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

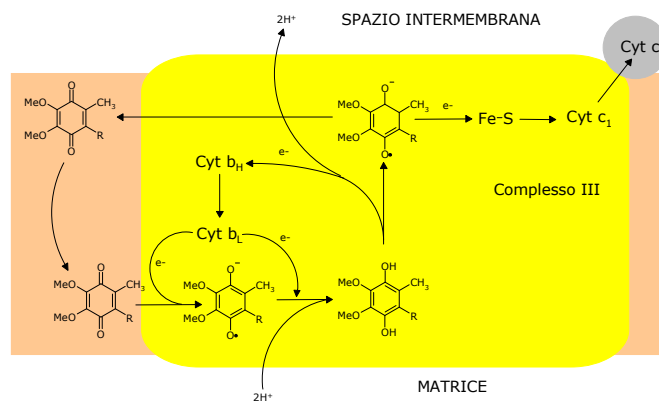


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

539

## Q cycle



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

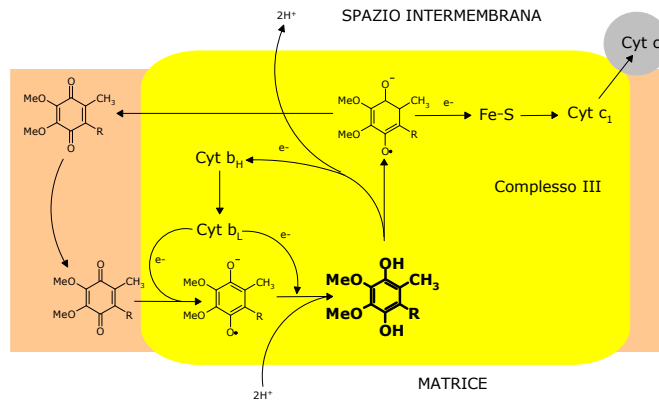
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

540

## Q cycle

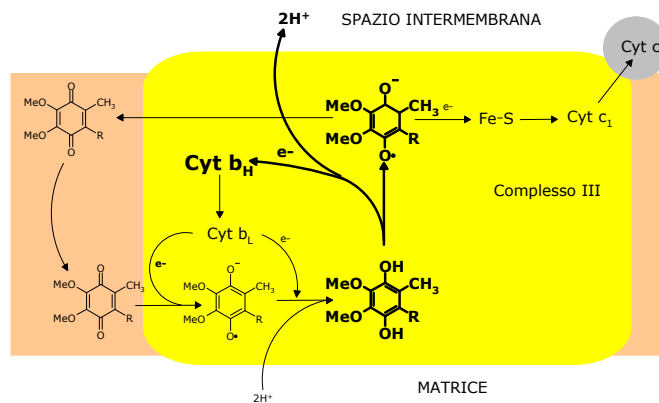
1



- Il CoQH<sub>2</sub> è legato al proprio sito nella proteina.

## Q cycle

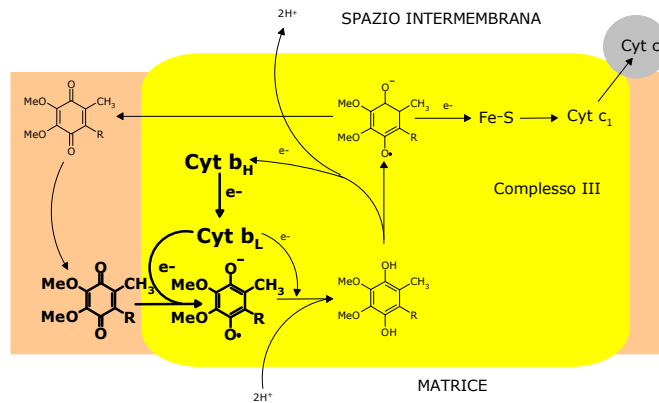
2



- Il CoQH<sub>2</sub> cede un e<sup>-</sup> al Fe<sup>+++</sup> dell'eme b<sub>L</sub>
- Si forma il semichinone carico negativamente
- 2 H<sup>+</sup> sono rilasciati nello spazio intermembrana.

## Q cycle

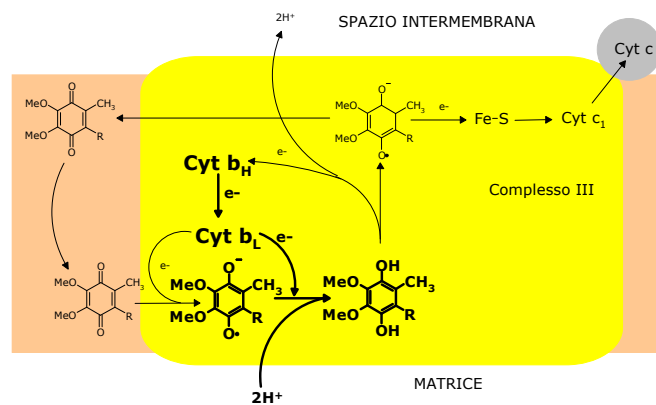
3a



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

## Q cycle

3b

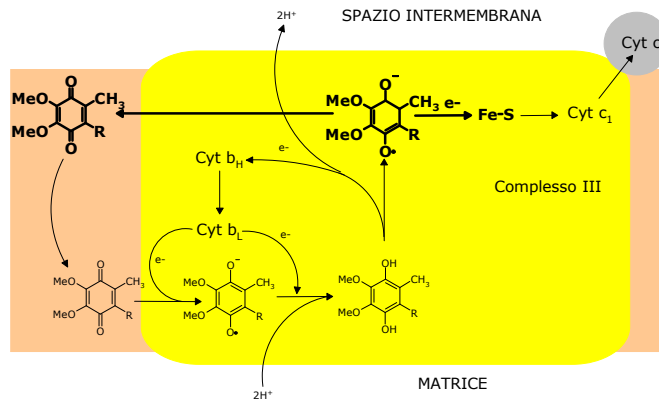


- Un  $e^-$  passa dal  $Fe^{++}$  del gruppo eme  $b_H$  al  $Fe^{+++}$  del gruppo eme  $b_L$ .
- In alternativa (secondo le necessità) l'  $e^-$  va quindi a ridurre un  $CoQ$  per riformare il  $CoQH_2$  con due  $H^+$  provenienti dalla matrice.



## Q cycle

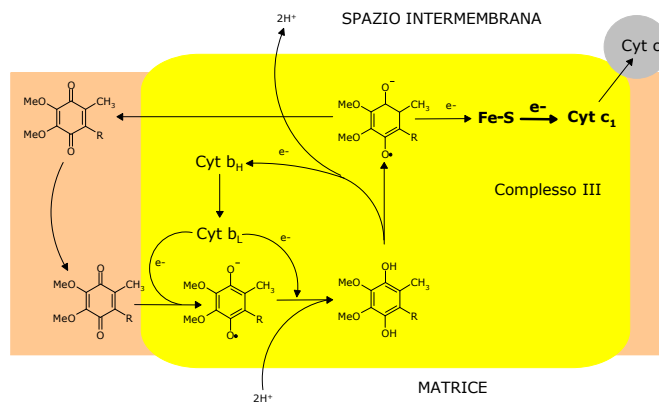
4



- Il CoQ<sup>-</sup>, formato per semiossidazione al passo 2, cede un e<sup>-</sup> al Fe<sup>+++</sup> del complesso Fe-S.
- Si forma il CoQ ossidato che va a confluire nel pool.

## Q cycle

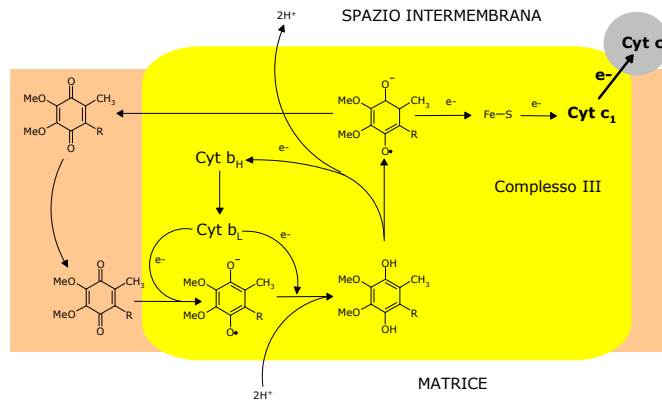
5



- Il Fe<sup>++</sup> del complesso Fe-S cede un e<sup>-</sup> al Fe<sup>+++</sup> del cit c<sub>1</sub> legato alla proteina.

## Q cycle

6



- Il  $Fe^{2+}$  del  $c_1$  legato alla proteina cede un  $e^-$  al  $Fe^{3+}$  del  $c$  mobile.

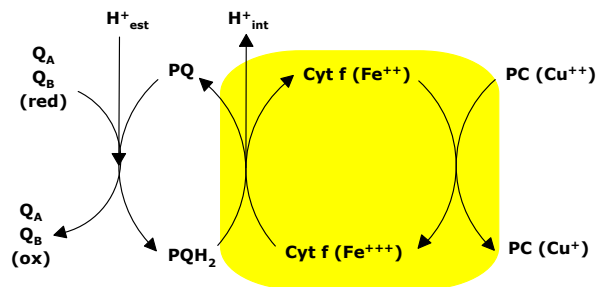
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

547

## Complexo Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

- Gli elettroni provenienti dal pool dei chinoni vengono trasferiti al complesso Cyt b<sub>6</sub>/f che contiene due gruppi eme: Cyt b<sub>6</sub> ( $E'_0 = -0.06$  V) e Cyt f ( $E'_0 = +0.365$  V).
- Gli elettroni vengono quindi convogliati alla plastocianina.
- In alcune situazioni il Cyt b<sub>6</sub> serve per "cortocircuitare" il P700\* per produrre gradiente protonico aggiuntivo piuttosto che NADPH.

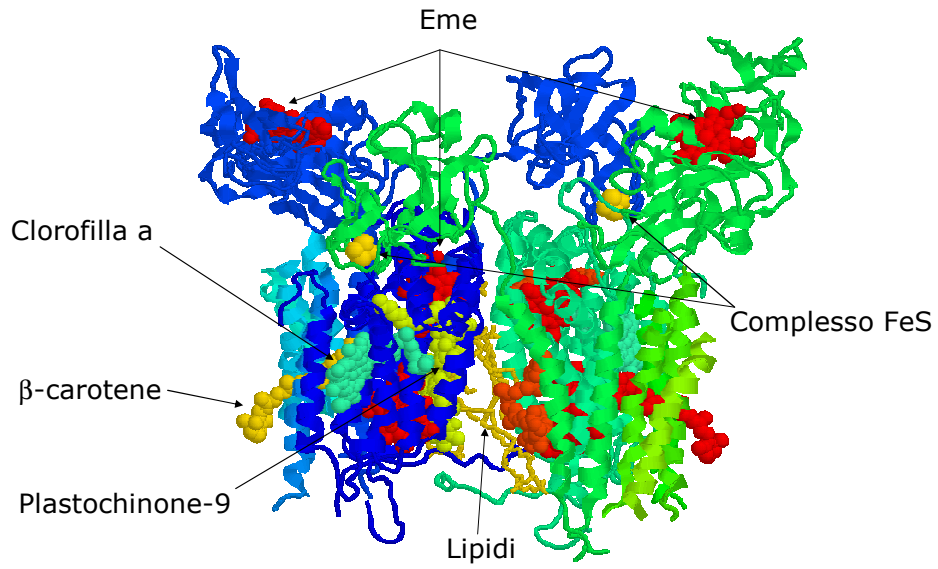


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

548

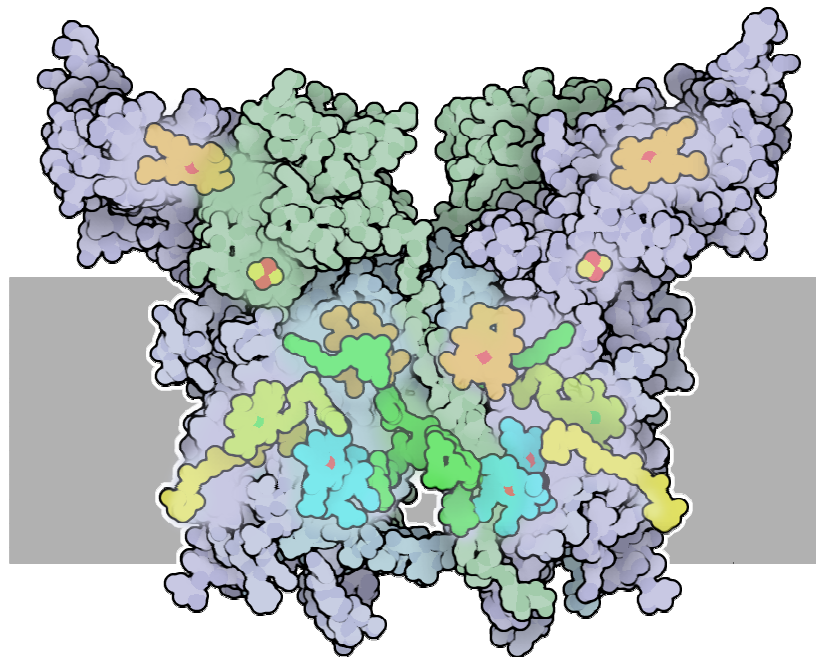
### Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

549

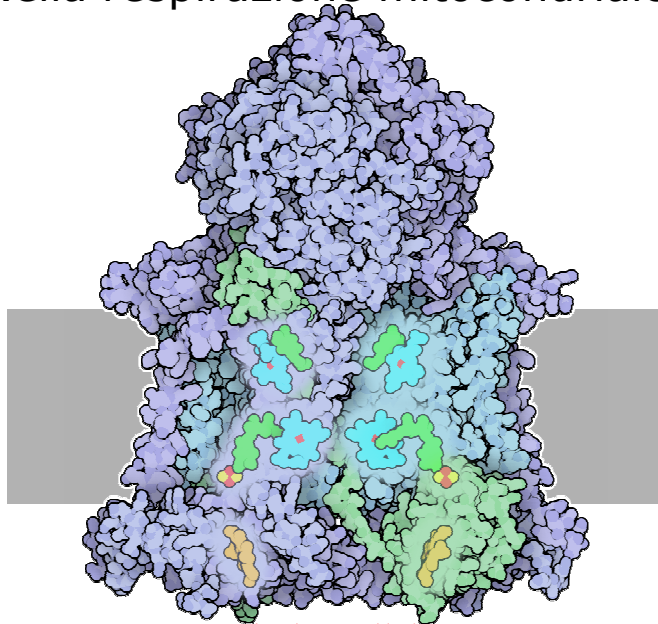


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

550

## Nella respirazione mitocondriale

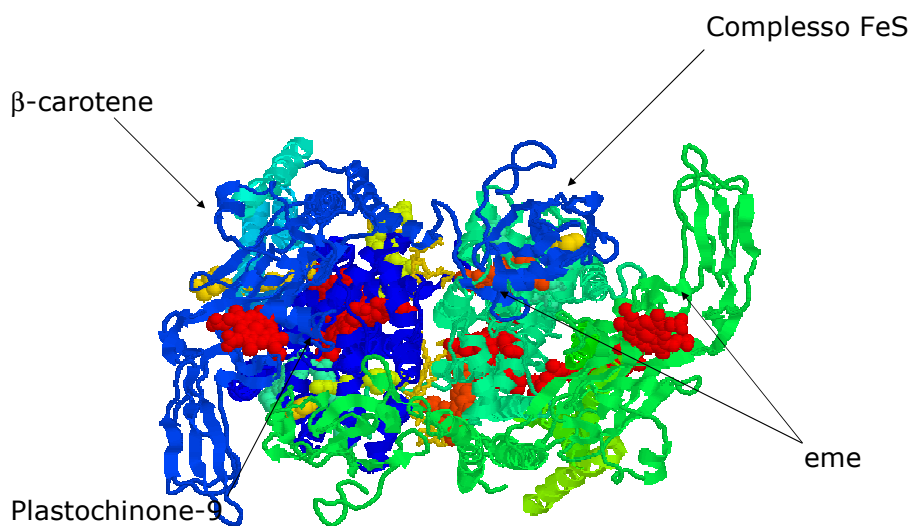


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

551

## Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

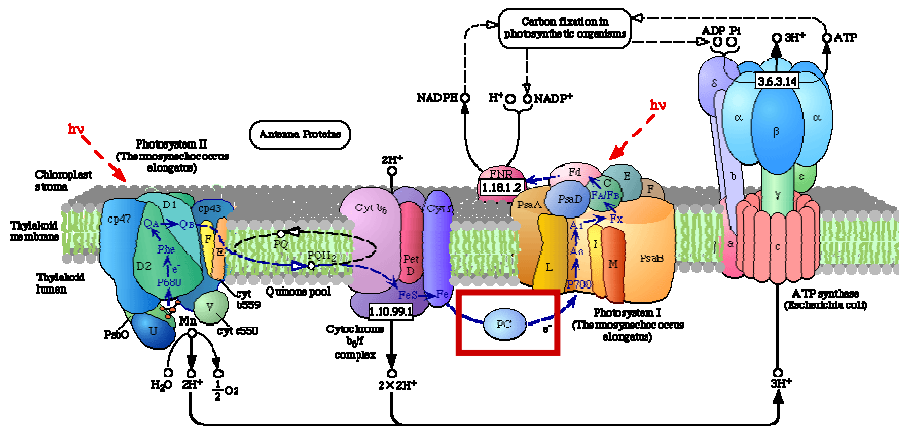


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

552

## Plastocianina



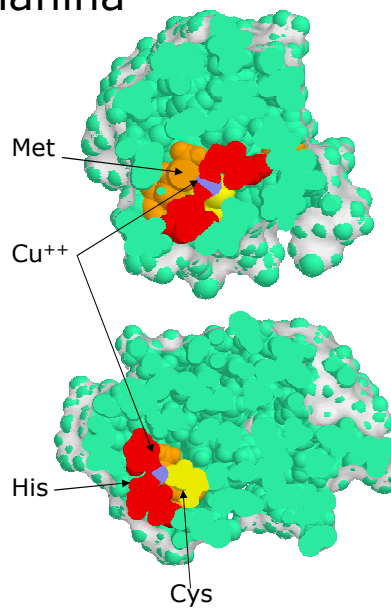
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

553

## Plastocianina

- La plastocianina è un trasportatore mobile di elettroni (un elettrone per volta) simile al Cyt c nella catena respiratoria.
- L'elettrone viene trasportato dallo ione rame che si presenta nella forma ossidata ( $\text{Cu}^{++}$ ) e ridotta ( $\text{Cu}^+$ ).



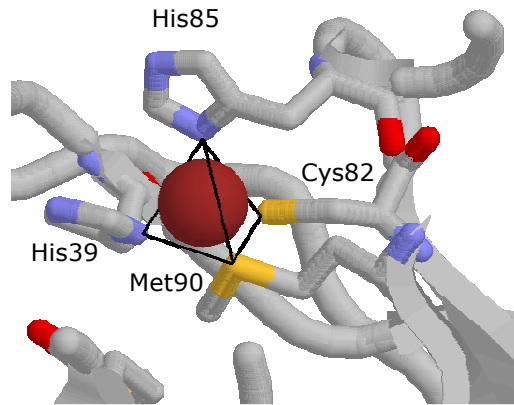
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

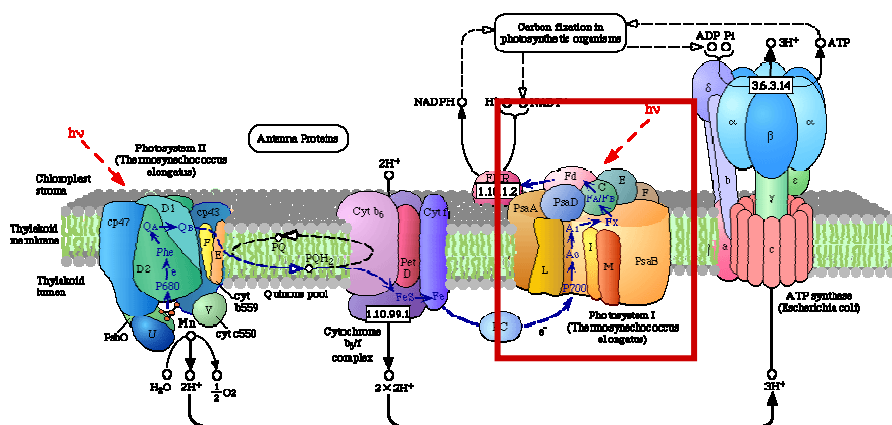
554

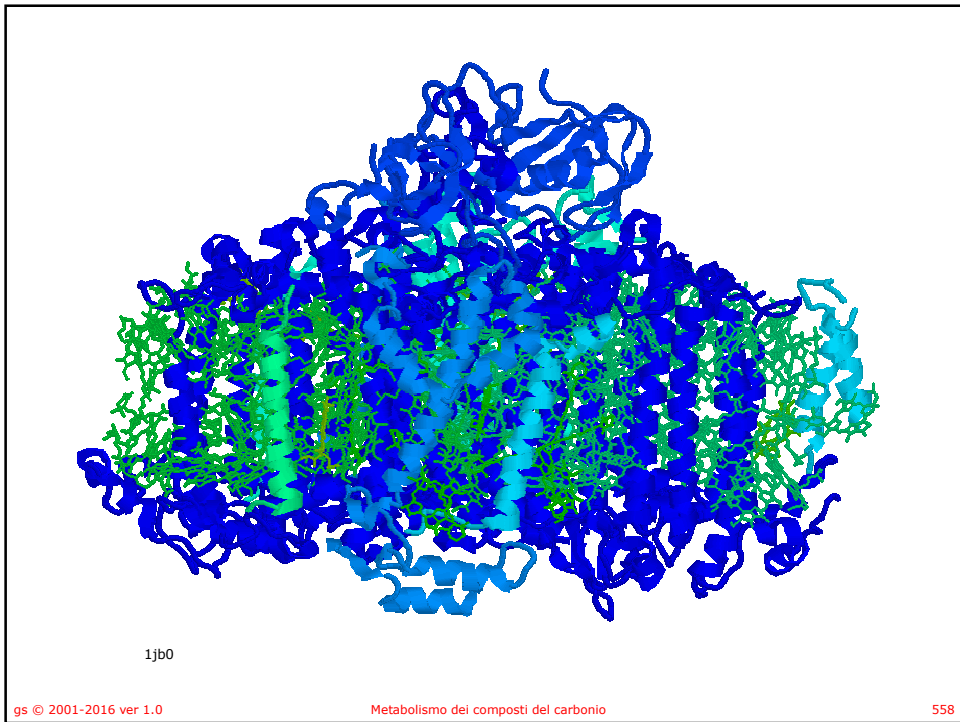
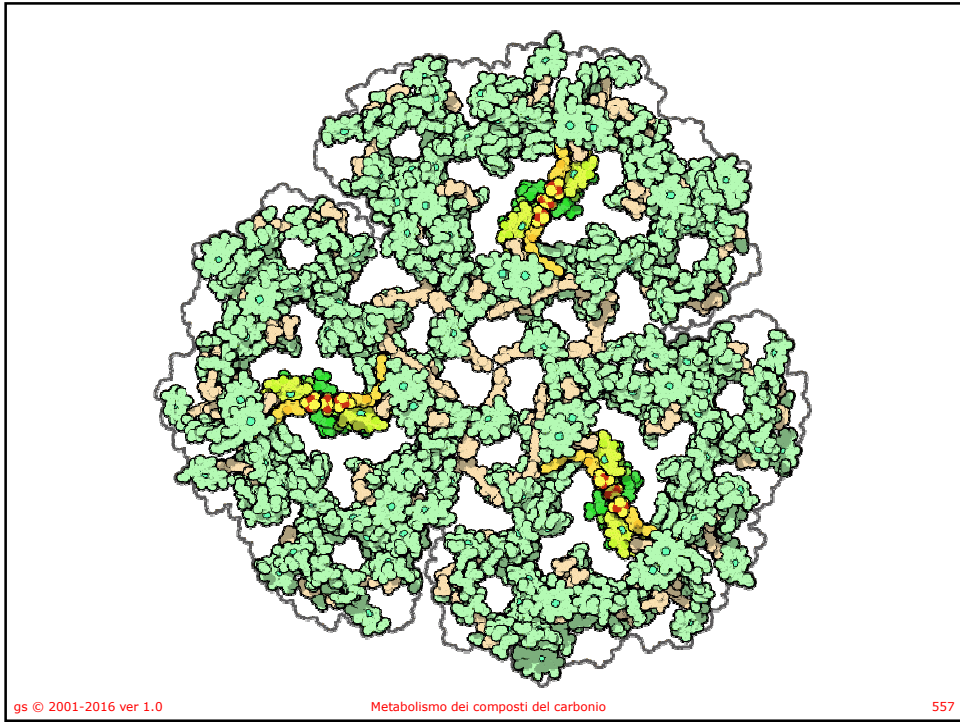
## Plastocianina

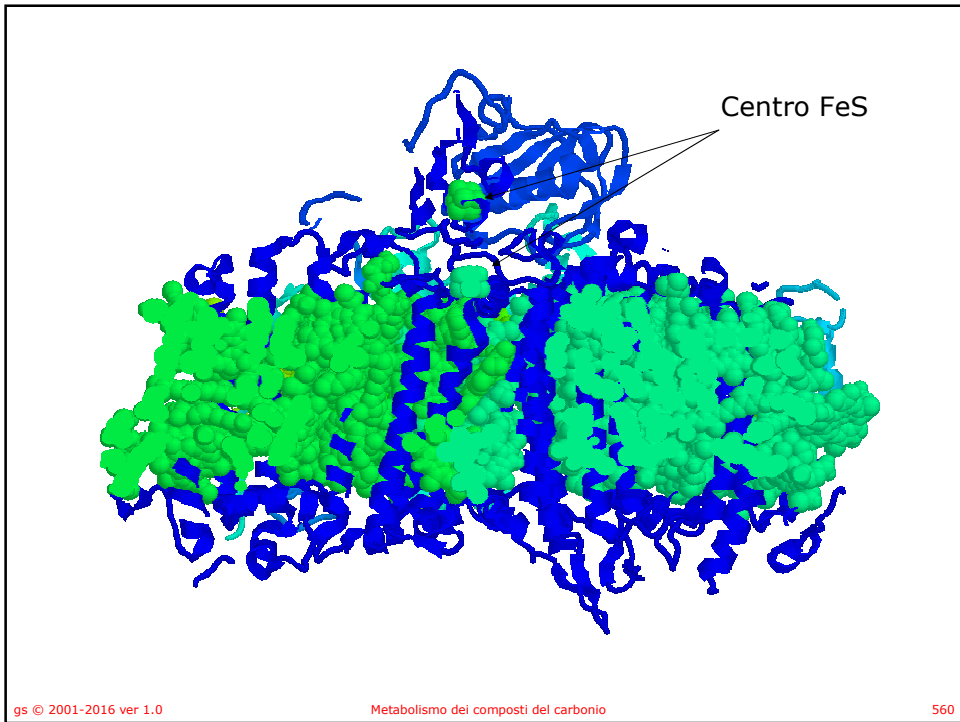
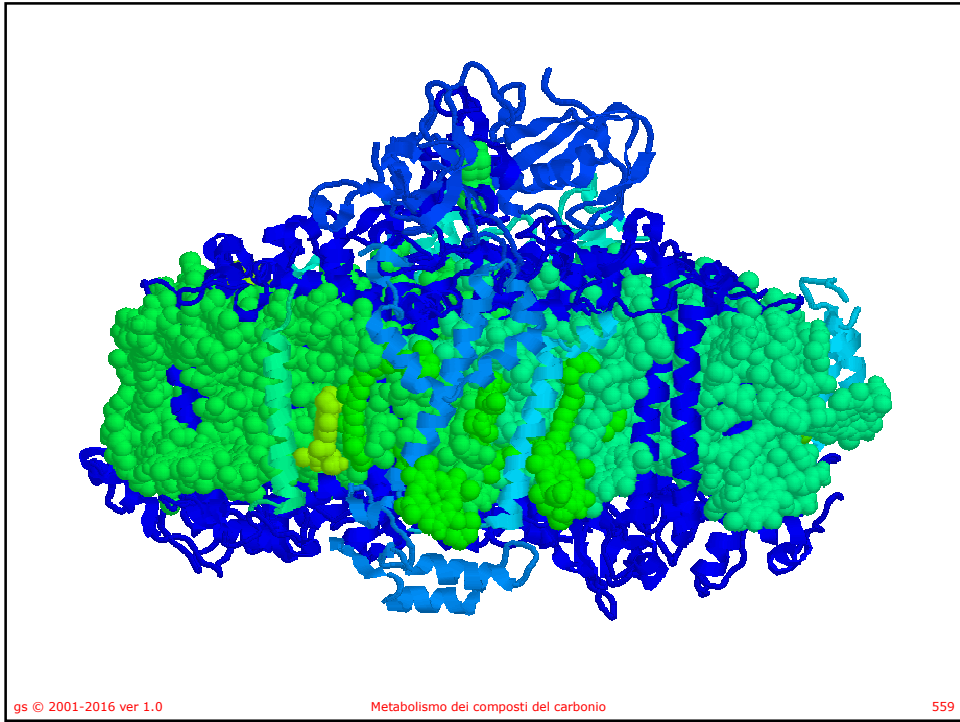
- Lo ione rame è legato alla proteina da quattro legami di coordinazione ( $sp^3$ ) che coinvolgono gli atomi di azoto di due residui di His adiacenti e gli atomi di zolfo di un residuo di Cys e di un residuo di Met.



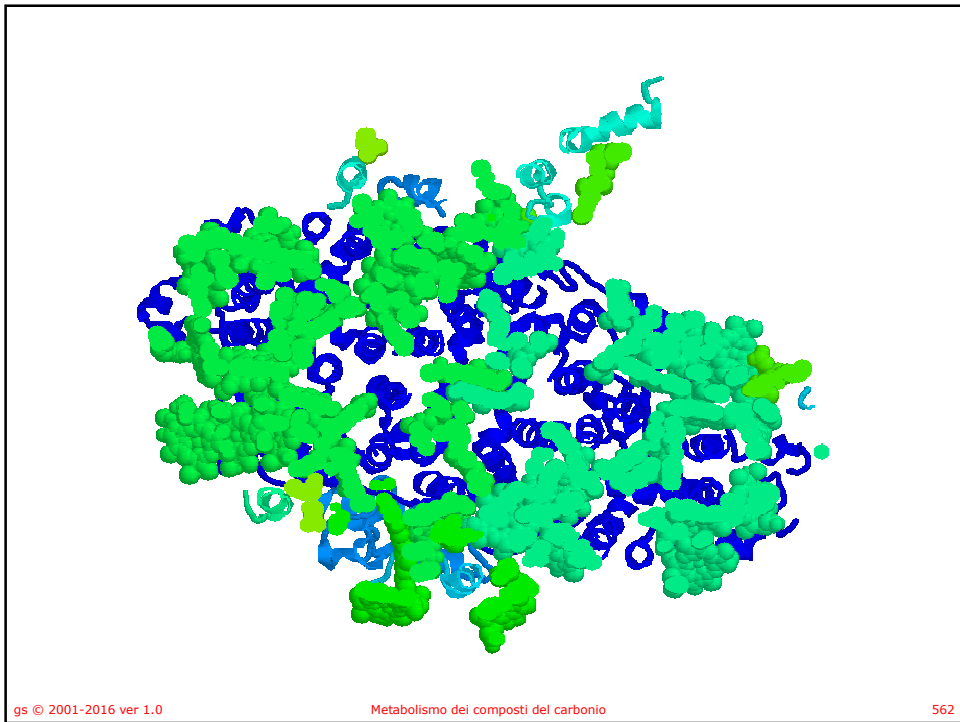
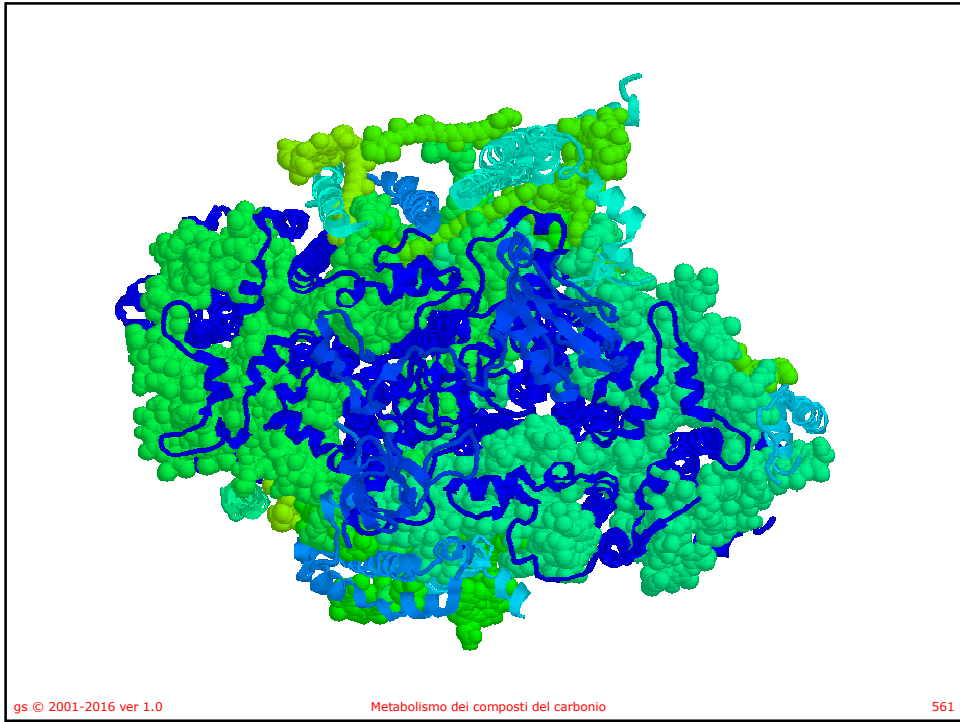
## Fotosistema I (PS-I)

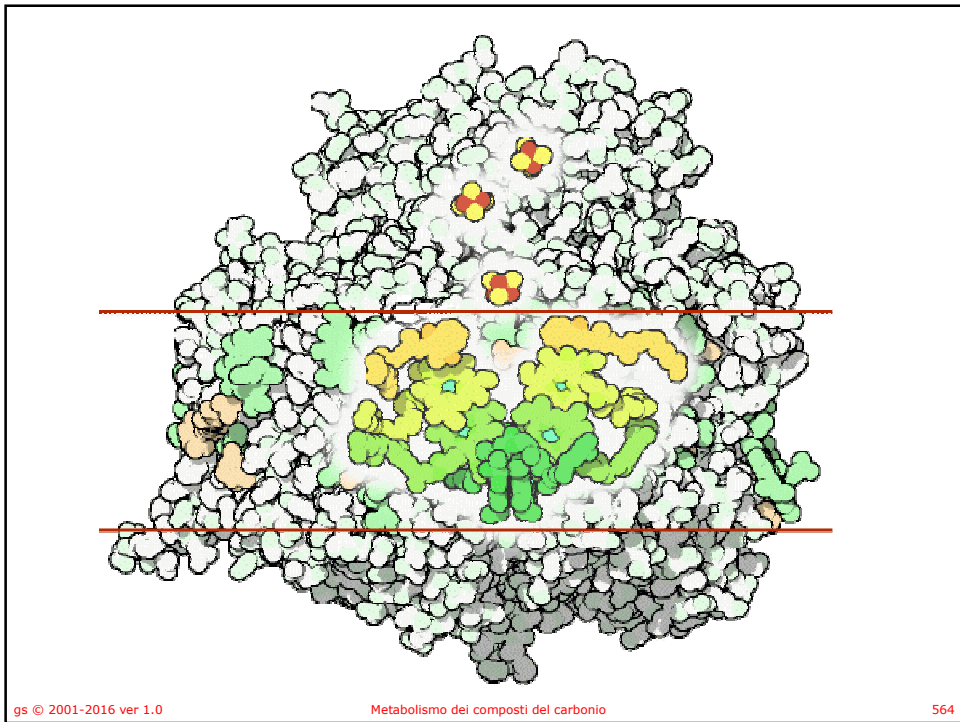
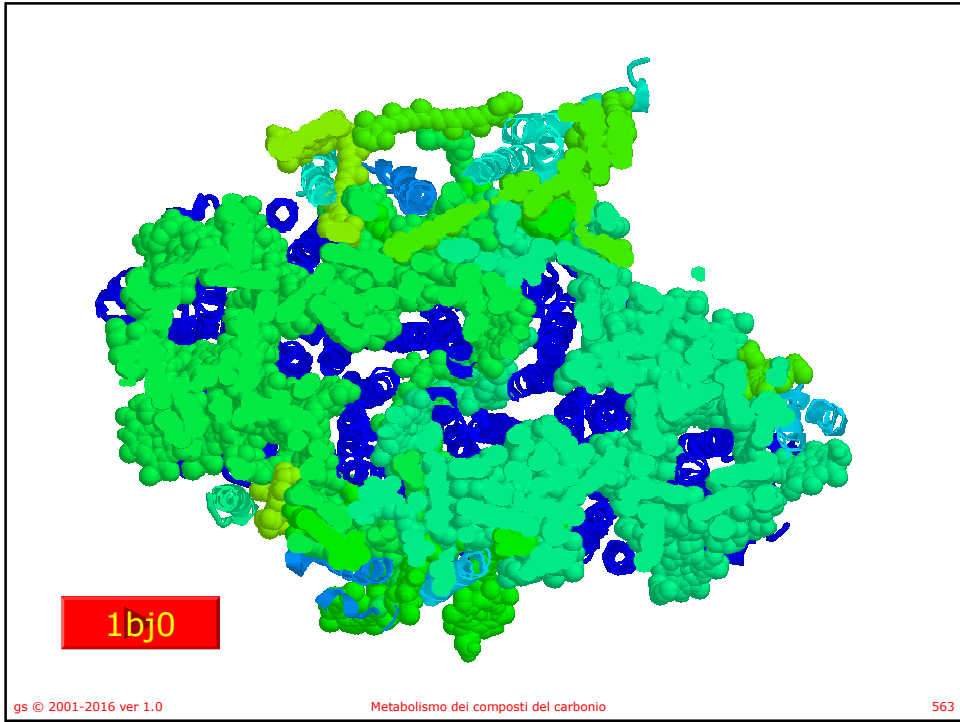


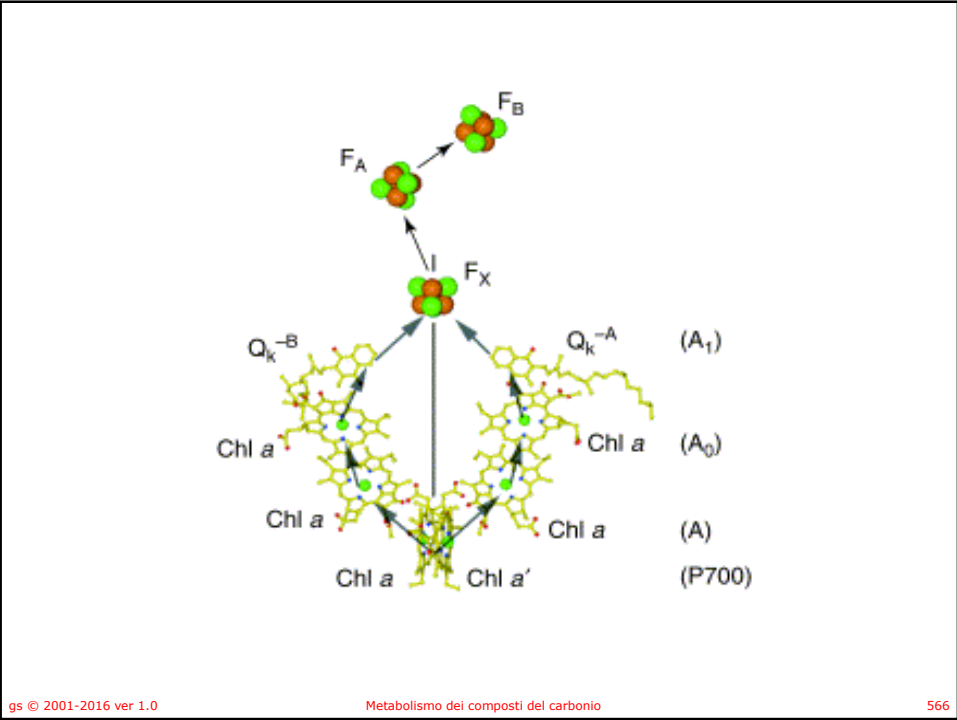
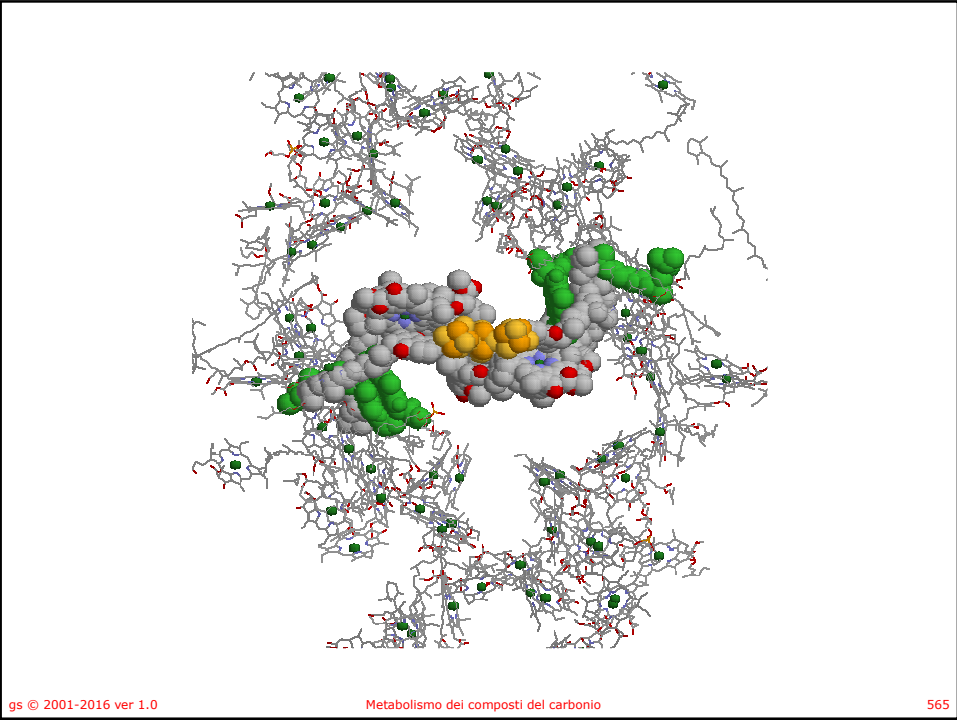


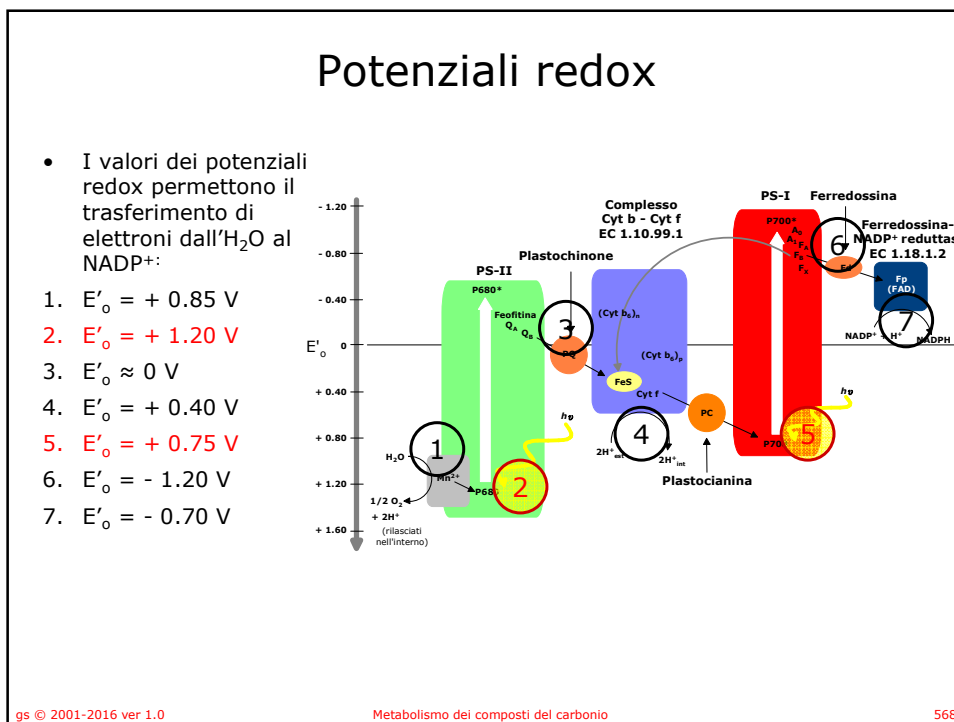
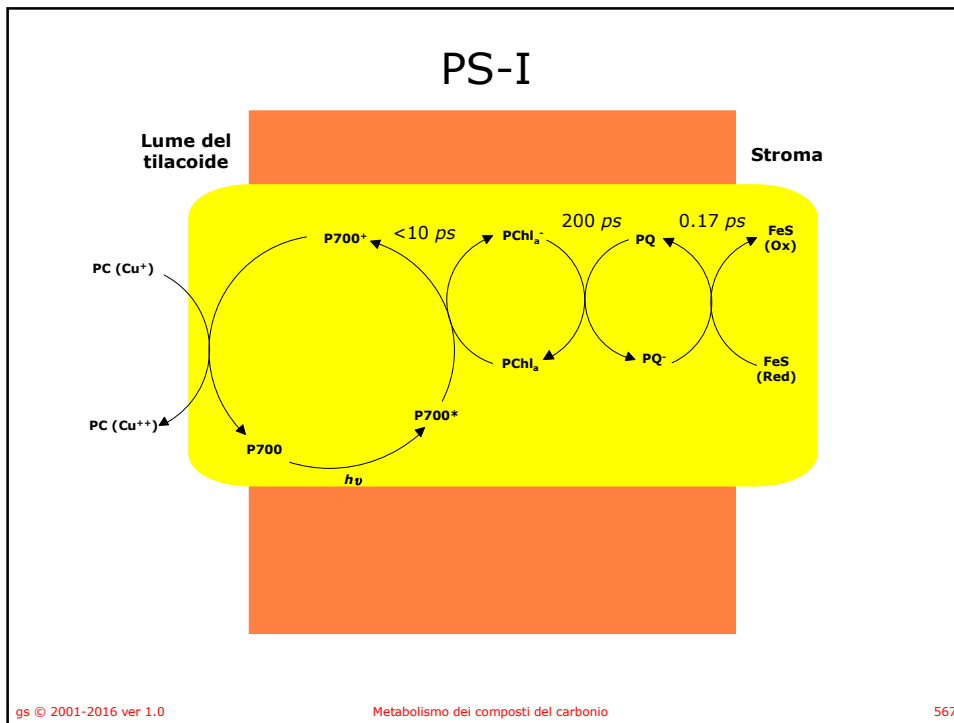




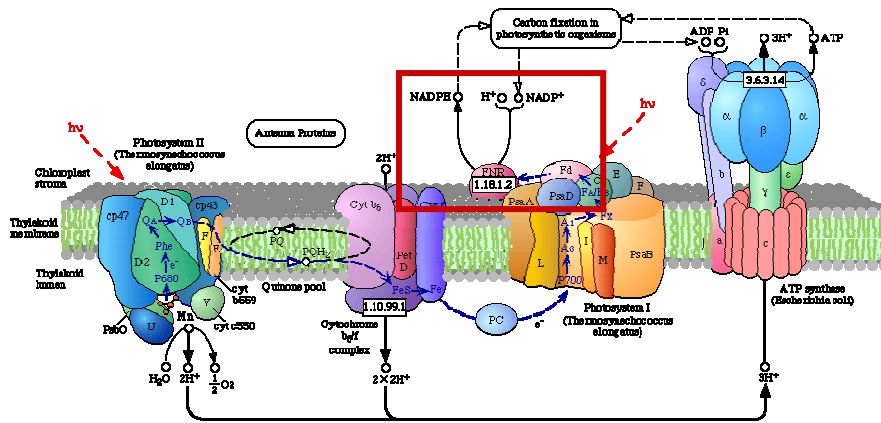








## Ferredossina – Ferredossina riduttasi (EC 1.18.1.2)



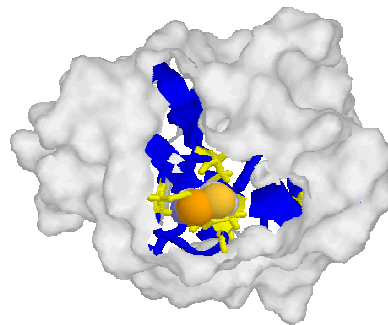
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

569

## Ferredossina

- La ferredossina è un trasportatore mobile di elettroni che sfrutta la presenza di un cluster  $\text{Fe}_2\text{S}_2$ .
- La ferredossina accetta un elettrone dal PS-I e lo trasferisce al  $\text{NADP}^+$ .



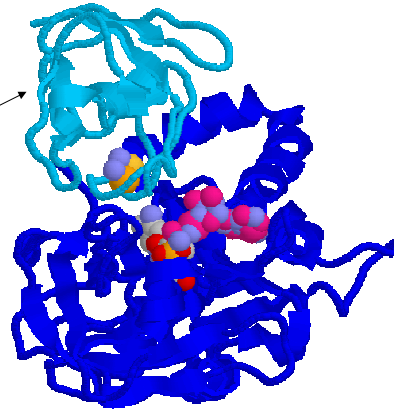
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

570

## Ferredossina reduttasi (EC 1.18.1.2)

- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al  $\text{NADP}^+$  è catalizzato da una ferredossina-reduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata.
- Il FAD è convertito in  $\text{FADH}_2$ .
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al  $\text{NADP}^+$  nello stroma.



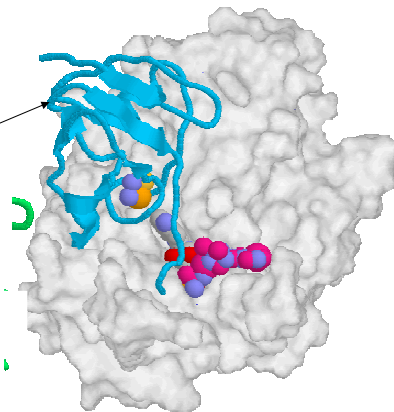
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

571

## Ferredossina reduttasi (EC 1.18.1.2)

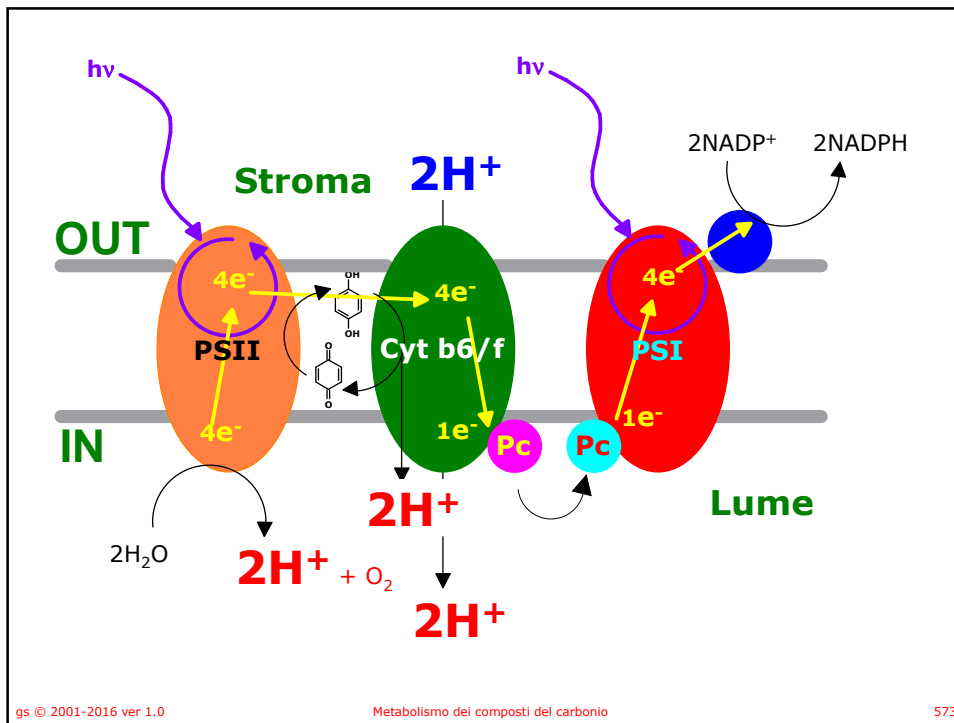
- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al  $\text{NADP}^+$  è catalizzato da una ferredossina-reduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata.
- Il FAD è convertito in  $\text{FADH}_2$ .
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al  $\text{NADP}^+$  nello stroma.

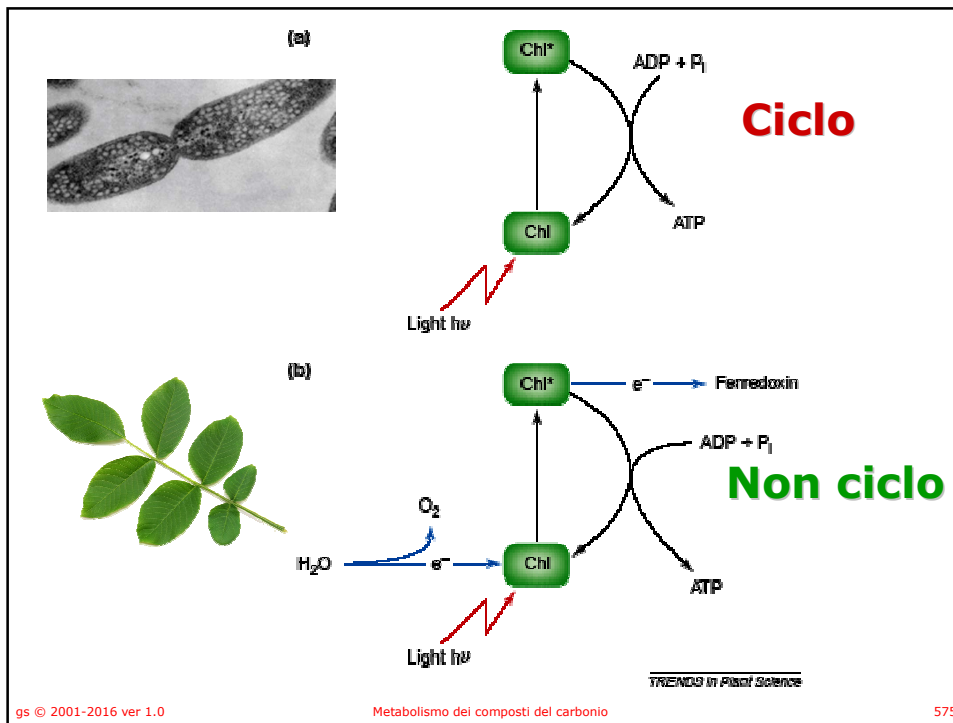


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

572





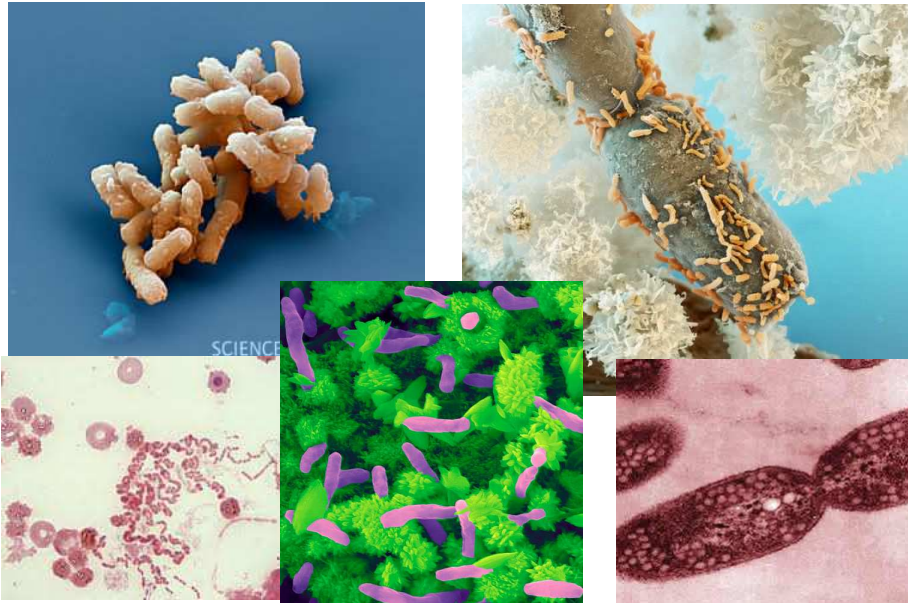
## Fotosintesi in *Rhodobacter sphaeroides*

- *Rhodobacter sphaeroides* appartiene ad un gruppo di batteri rossi che ottengono energia dalla fotosintesi.
- Crescono alla luce in anaerobiosi (fototrofia) e come chemoeterotrofi in assenza di luce.
- Sono in grado di fissare l'azoto.





## Rhodobacter sphaeroides

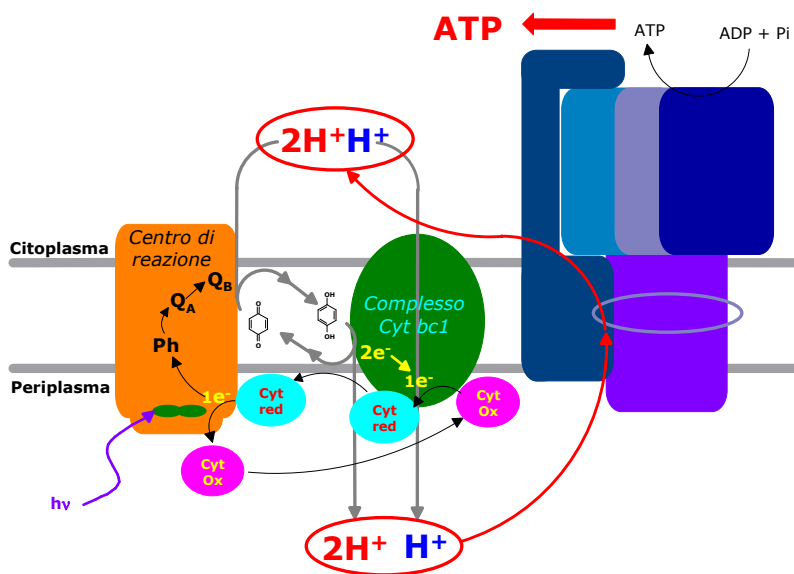


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

577

## Via ciclica nei *Rhodobacter sphaeroides*

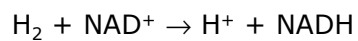
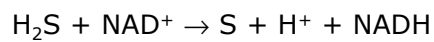
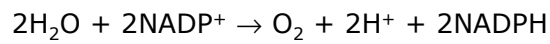


gs © 2001-2016 ver 1.0

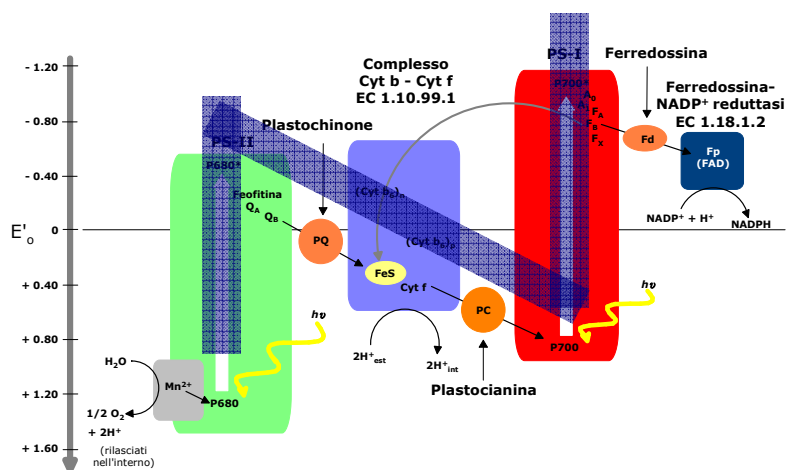
Metabolismo dei composti del carbonio

578

## Via fotosintetica non ciclica

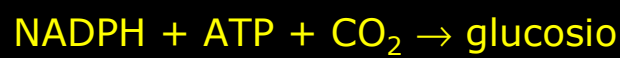


## Schema a Z



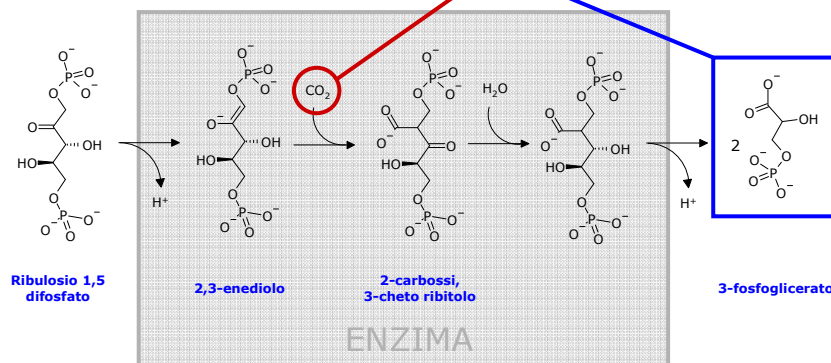


# FASE BUIA



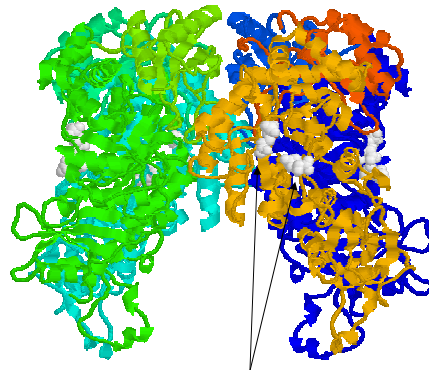
## Fissazione della $\text{CO}_2$

- Solo gli organismi fototrofi possono fissare la  $\text{CO}_2$ , gli animali, pur potendo legare la  $\text{CO}_2$  in molecole più complesse, non sono in grado di accumulare composti organici da  $\text{CO}_2$ .
- Nelle piante e nei batteri fotosintetici la  $\text{CO}_2$  viene convertita, in prima istanza, in 3-fosfoglicerato.



## Fissazione della CO<sub>2</sub>

- Queste reazioni sono catalizzate dall'enzima: D-ribuloso 1,5-difosfato carbossilasi (EC 4.1.1.39), RUBISCO.
- Un enzima stromale dal peso molecolare di 550kD ( $\alpha_8\beta_8$ ).
- Si ritiene che sia l'enzima maggiormente presente sulla terra.
- Responsabile della selezione isotopica.



3-fosfoglicerato

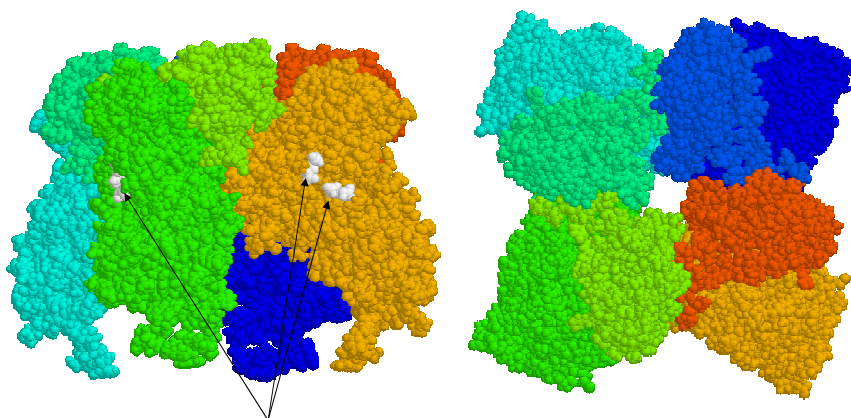
$\alpha_4\beta_4$

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

585

## Rubisco (EC 4.1.1.39)



3-fosfoglicerato

$\alpha_4\beta_4$

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

586

# Ciclo di Calvin-Benson

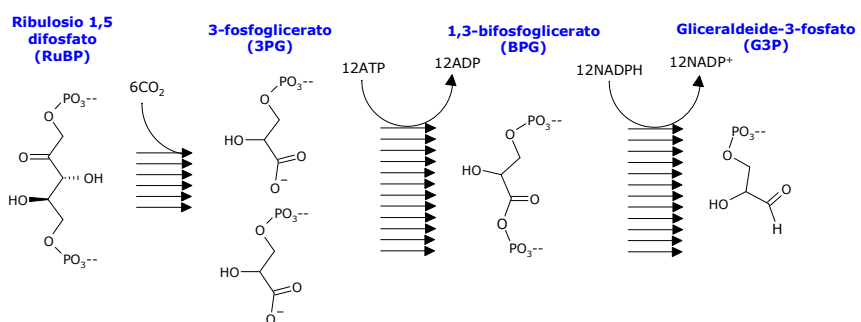
"for his research on the carbon dioxide assimilation in plants"



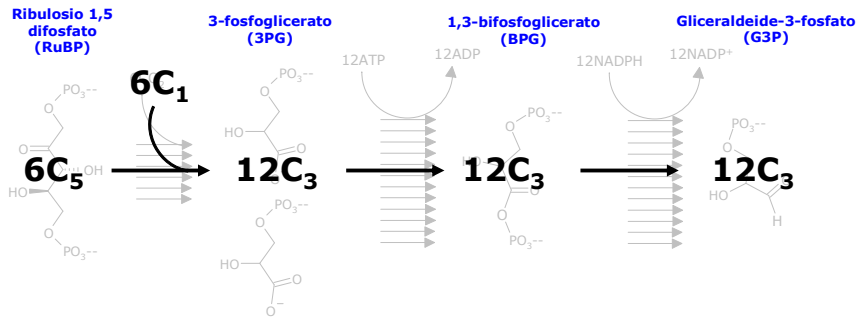
The Nobel Prize in Chemistry 1961

**Melvin Calvin**

# Ciclo di Calvin-Benson



## Ciclo di Calvin-Benson

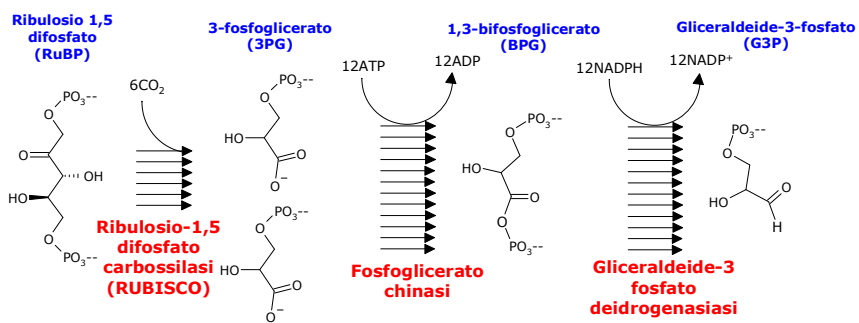


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

589

## Ciclo di Calvin-Benson

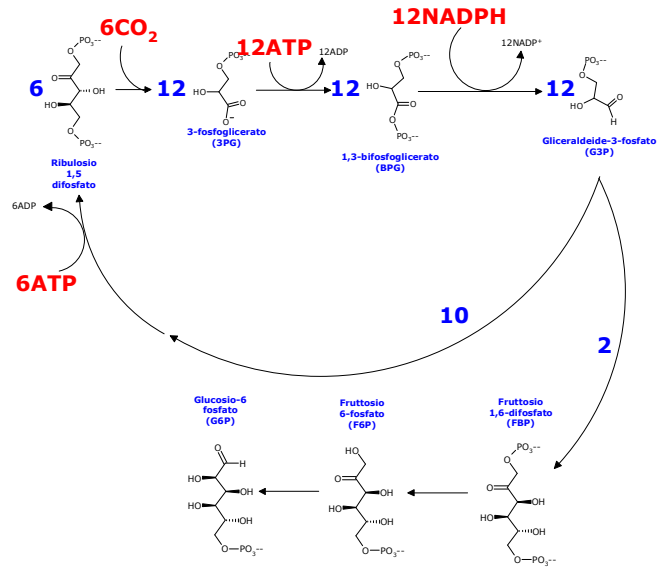


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

590

## Ciclo di Calvin-Benson

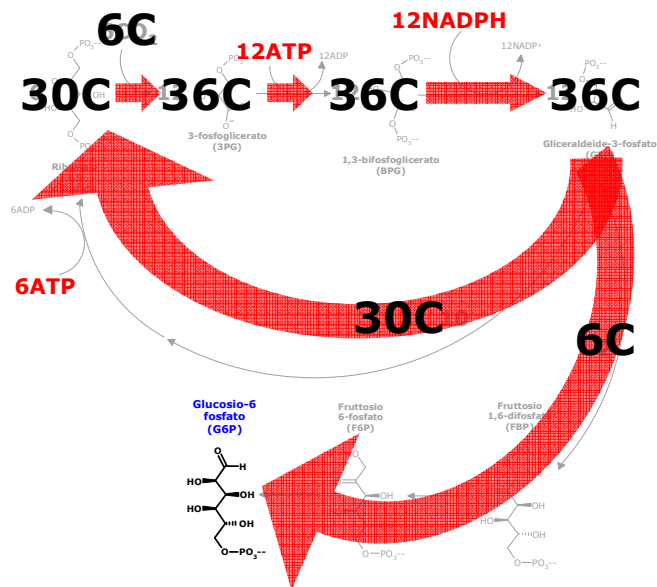


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

591

## Ciclo di Calvin-Benson



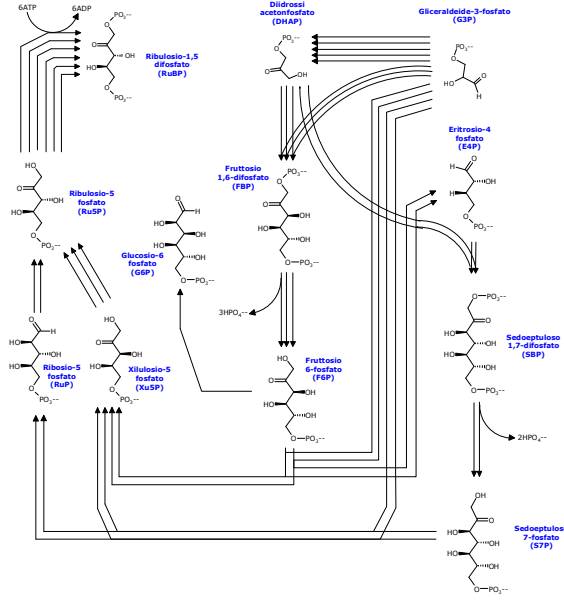
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

592



# Ciclo di Calvin-Benson

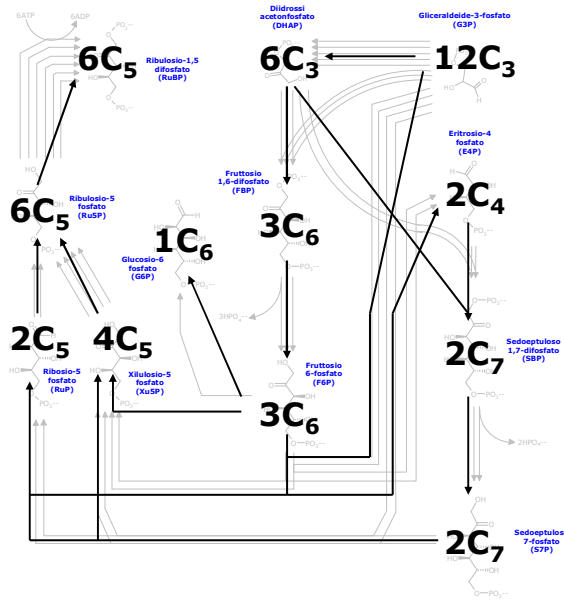


gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

593

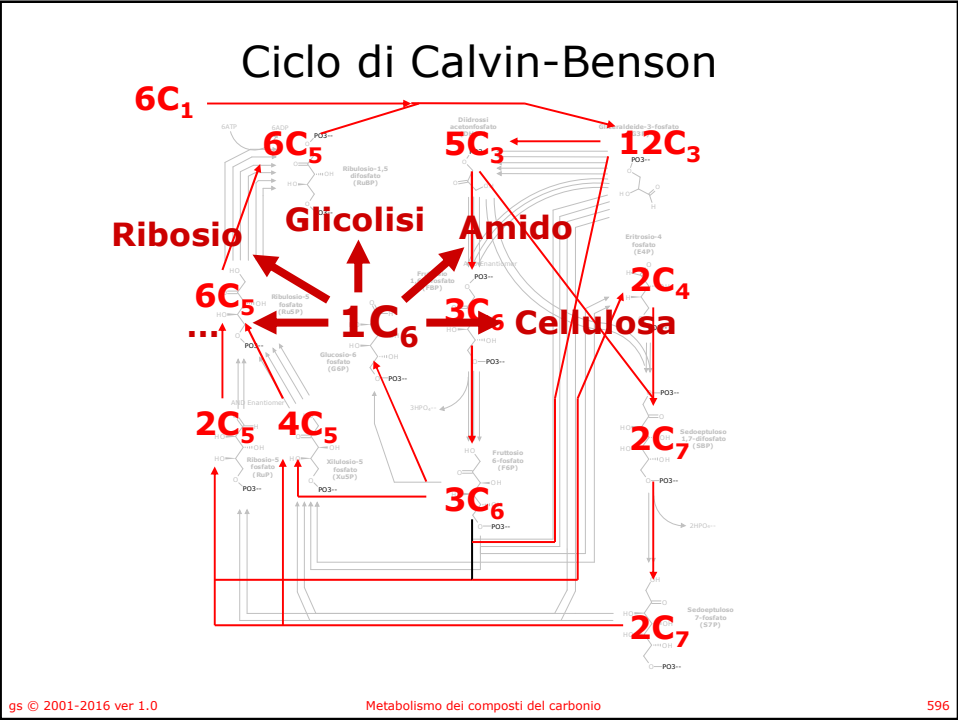
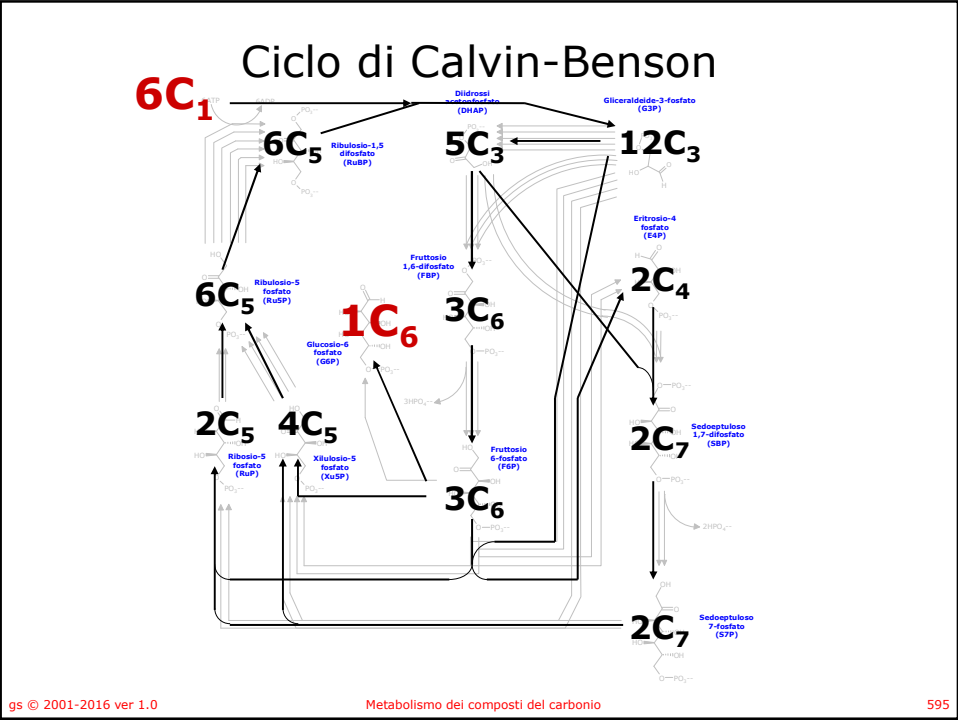
# Ciclo di Calvin-Benson



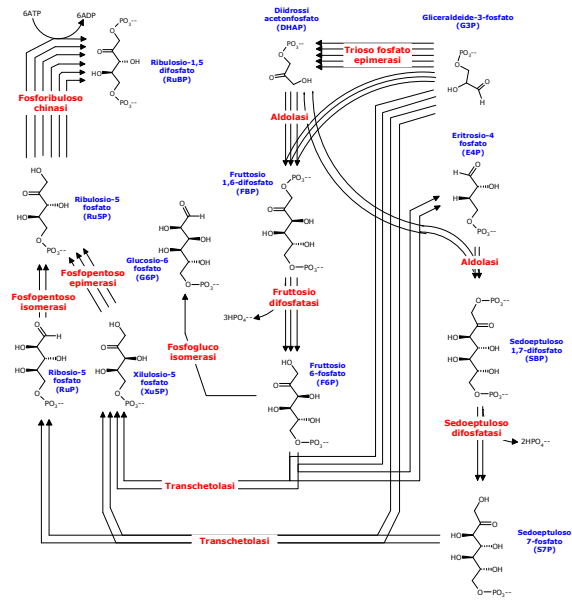
gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

594



## Ciclo di Calvin-Benson



gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

597

## Bilancio

- Delle 18 molecole di ATP 12 sono usate per la fosforilazione 12 (6x2) molecole di 3PG e 6 per ricostituire 6 molecole di RuBP.
- Le 12 molecole di NADPH servono per ridurre il BPG a G3P.
- Quasi tutti gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson sono comuni con la glicolisi e con il ciclo dei pentosi, una differenza è che la gliceraldeide -3-fosfato deidrogenasi è NADPH specifica mentre nella glicolisi è NAD<sup>+</sup> dipendente.

gs © 2001-2016 ver 1.0

Metabolismo dei composti del carbonio

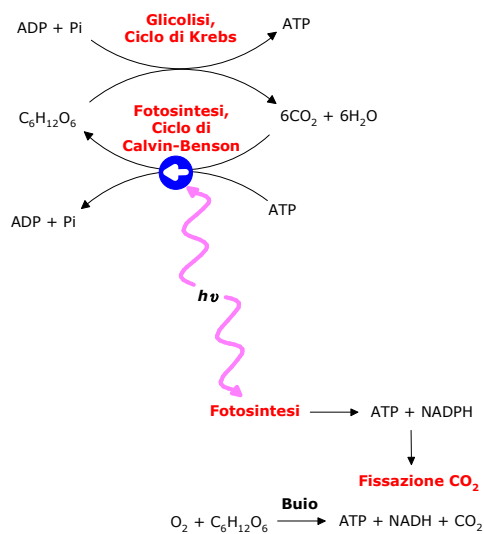
598

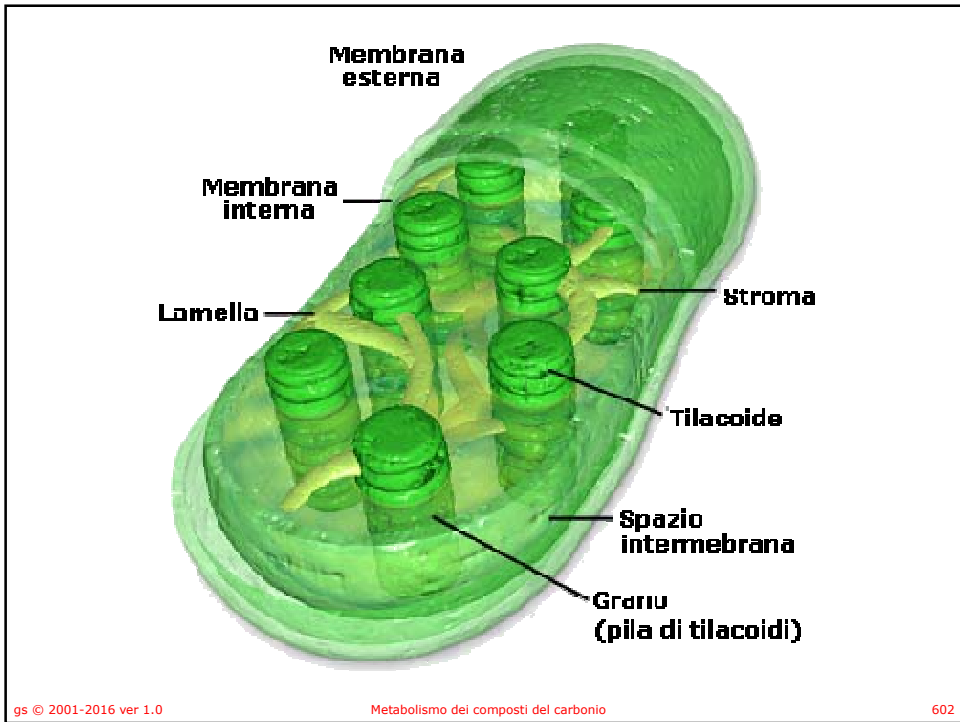
## Bilancio

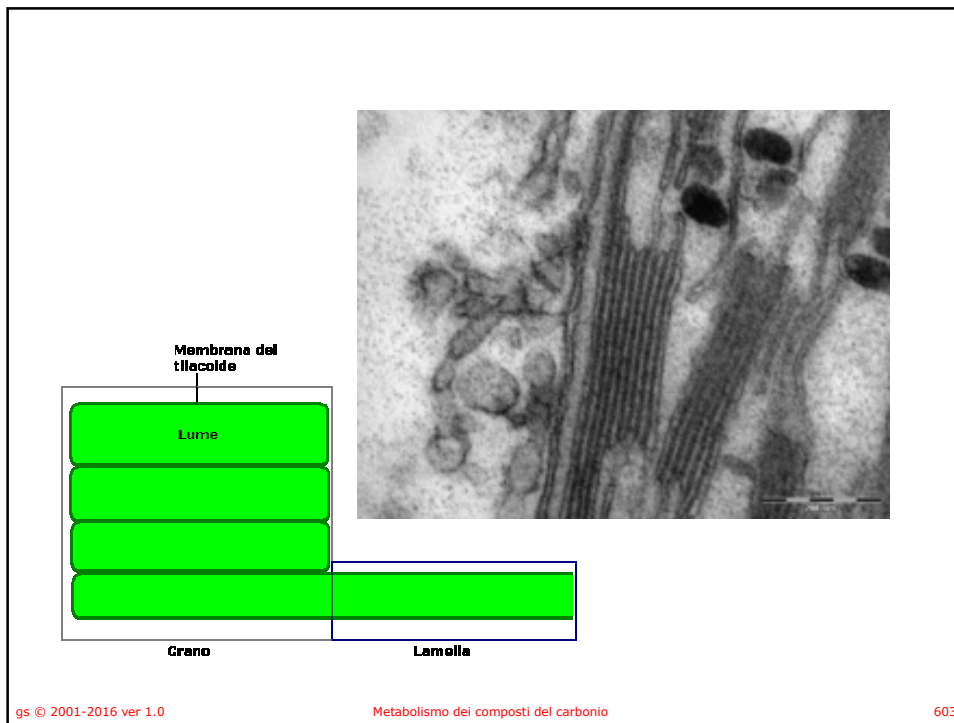
- Da un punto di vista termodinamico il ciclo di Calvin-Benson è una reazione favorita.
- La reazione aldolasi nella glicolisi ha un  $\Delta G'_0$  di +24  $\text{kJ}\cdot\text{mole}^{-1}$ , nel ciclo di Calvin-Benson avviene in senso opposto.
- Nella fase buia avvengono anche la glicolisi, il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa per produrre energia.

## Bilancio

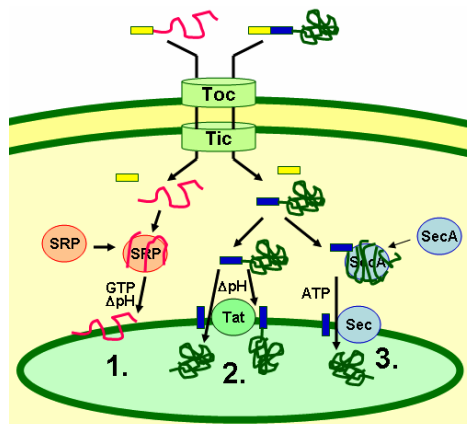
- Non è un ciclo futile.
- Futile è produrre  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  scendendo ATP per rigenerarlo consumando ATP.
- Gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson rispondono indirettamente alla luce: sono attivati quando le cellule sono illuminate.







- Le proteine del tilacoide sono etichettate al loro bersaglio da un peptide segnale e da una via secretoria nel cloroplasto.
- Molte delle proteine del tilacoide sono codificate dal genoma nucleare e necessitano di due segnali per raggiungere il bersaglio: un **segnale N-terminale** e un **segnale per il bersaglio** all'interno del tilacoide.



## Referenze sul WEB

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

## Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo 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](mailto:giorgio.sartor@unibo.it)  
Personale: [giorgio.sartor@gmail.com](mailto:giorgio.sartor@gmail.com)

Aggiornato il 09/05/2016 15:22:32