

Prof. Giorgio Sartor

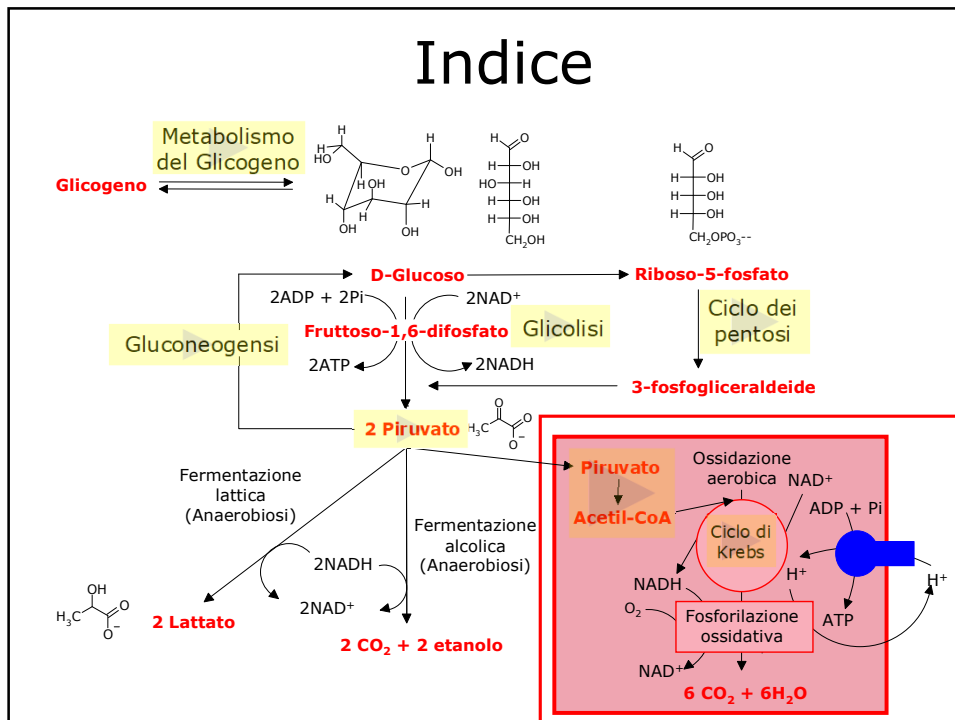
Metabolismo dei carboidrati II

Gluconeogenesi Glicogeno Via dei pentosi fosfati

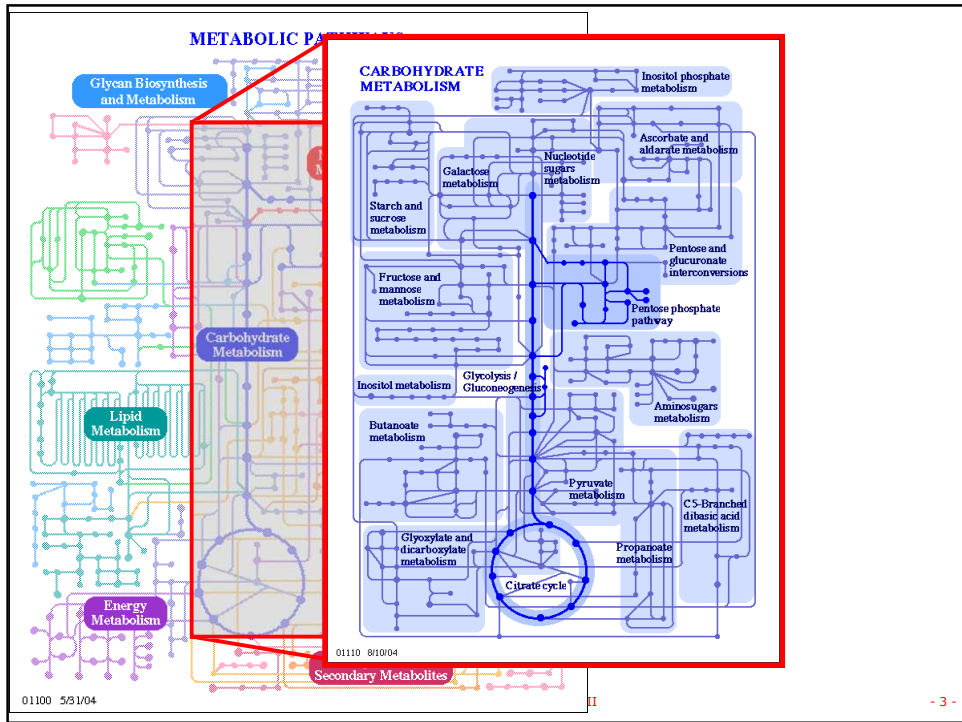
Copyright © 2001-2019 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 3.3.1 - Mar-19

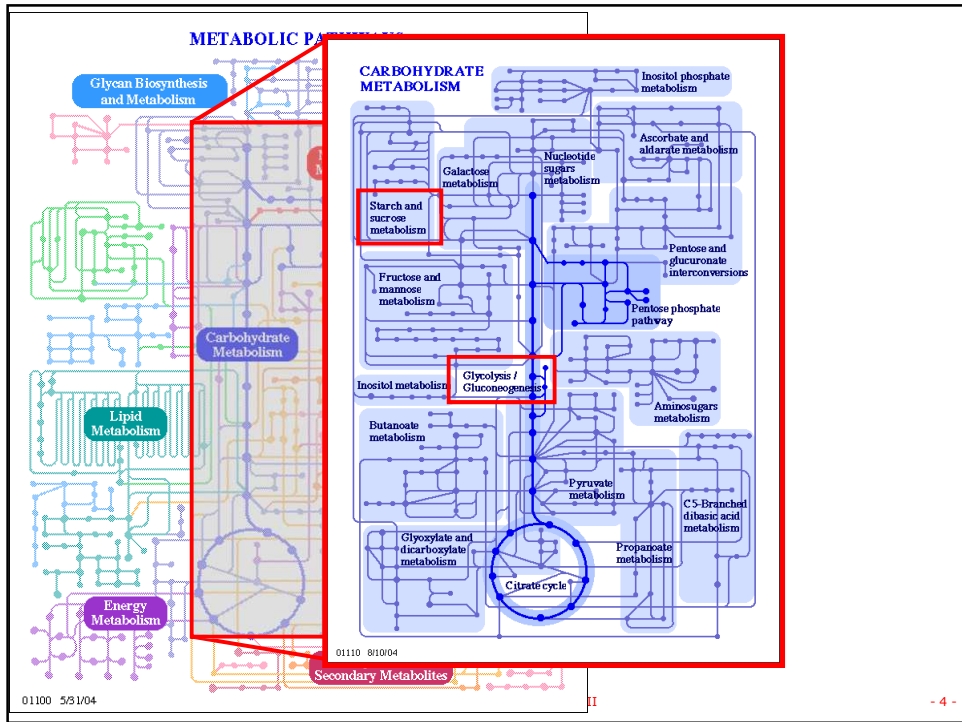
1



2

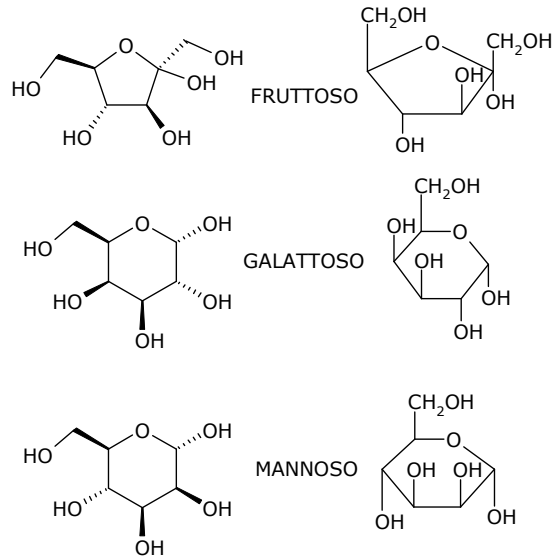


3



4

Altri zuccheri entrano nella glicolisi:



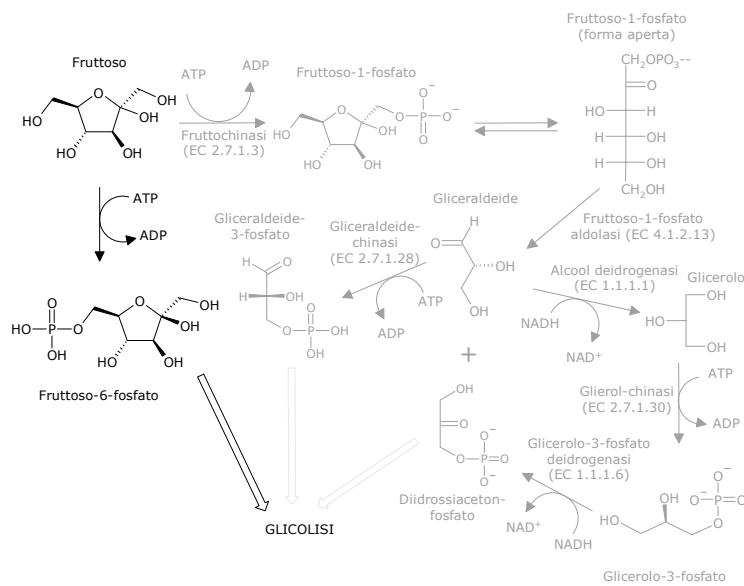
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 5 -

5

Metabolismo del fruttosio



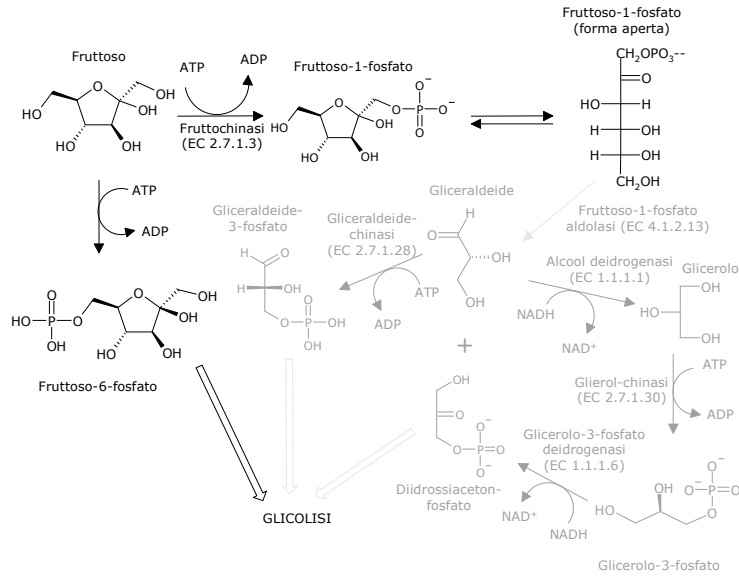
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 6 -

6

Metabolismo del fruttosio



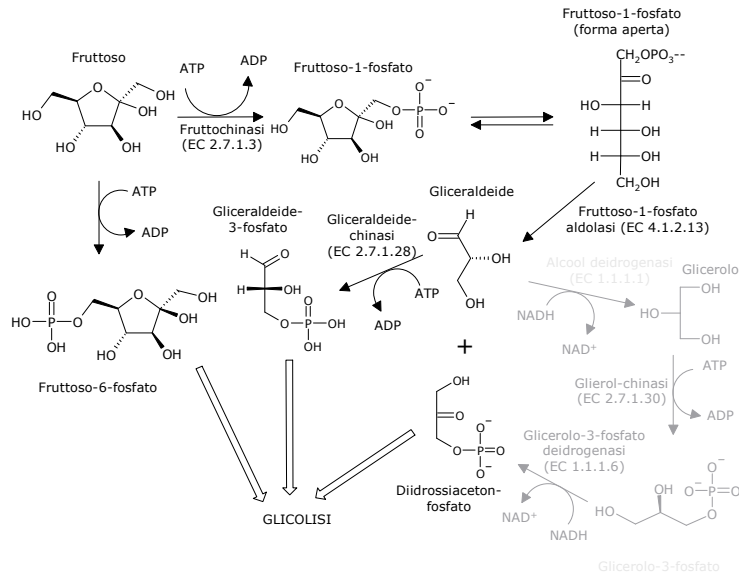
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 7 -

7

Metabolismo del fruttosio



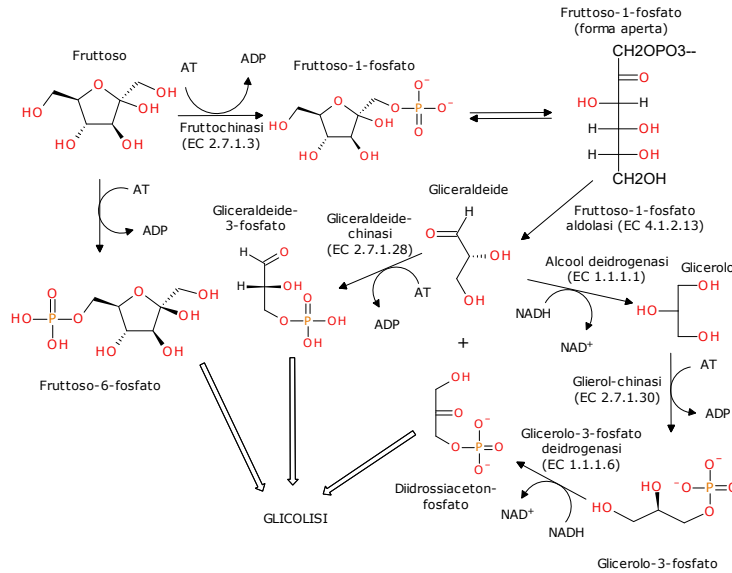
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 8 -

8

Metabolismo del fruttosio



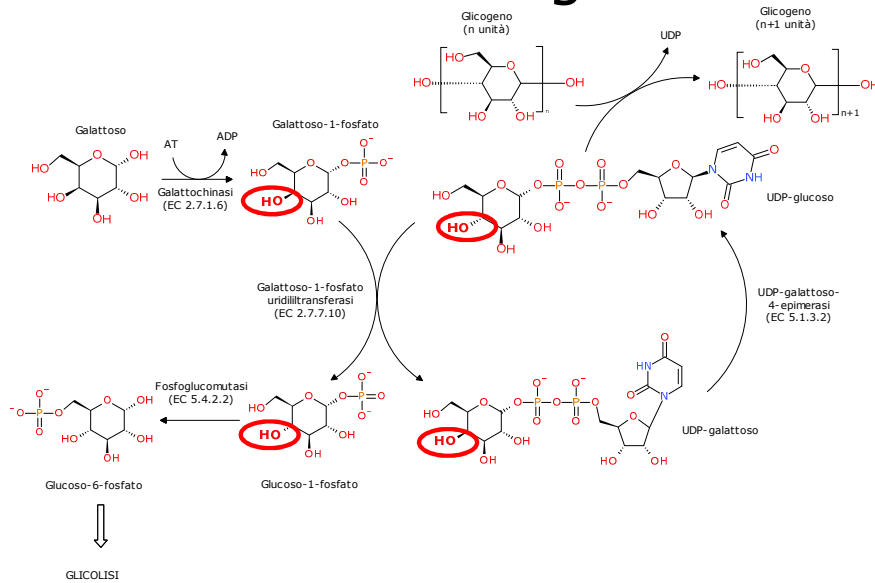
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 9 -

9

Metabolismo del galattoso



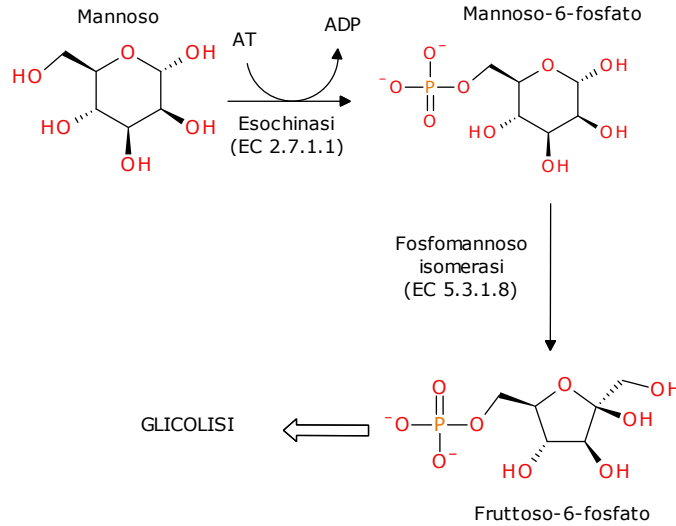
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 10 -

10

Metabolismo del mannosio

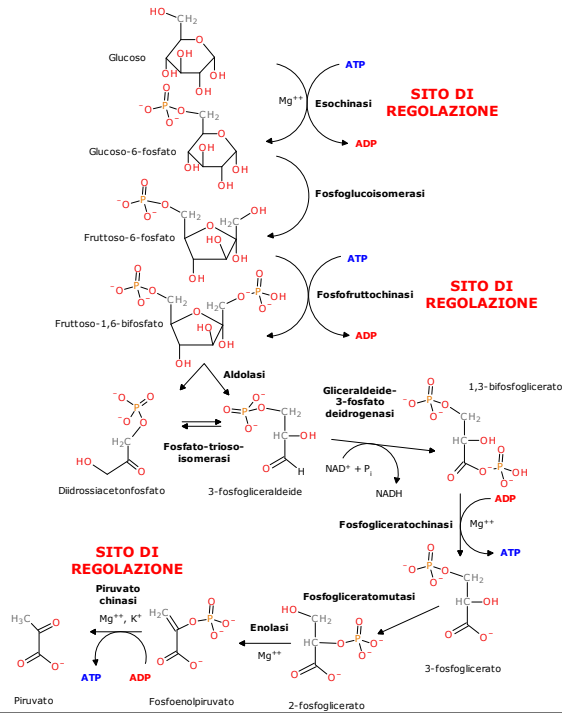


v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 11 -

11



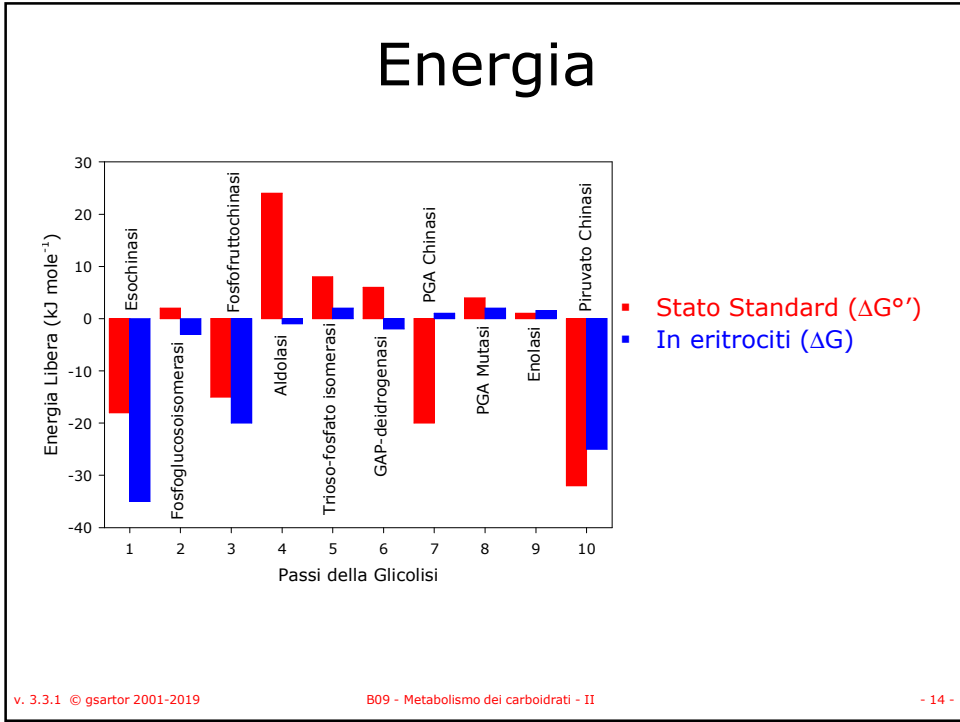
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

- 12 -

12

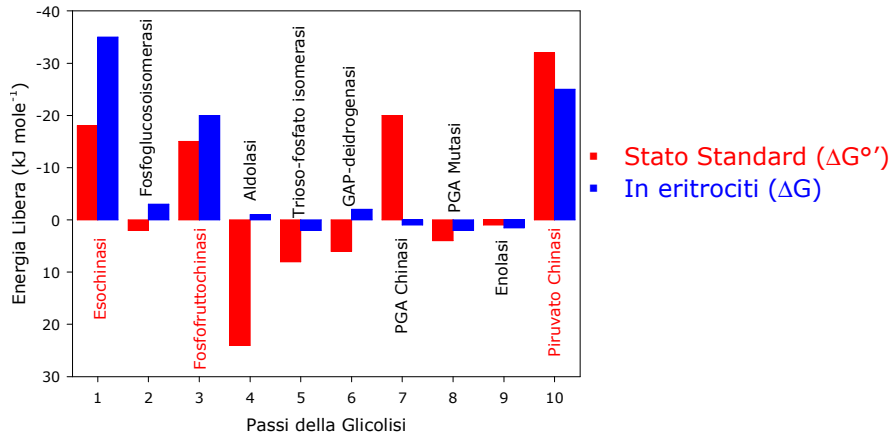


13



14

Energia



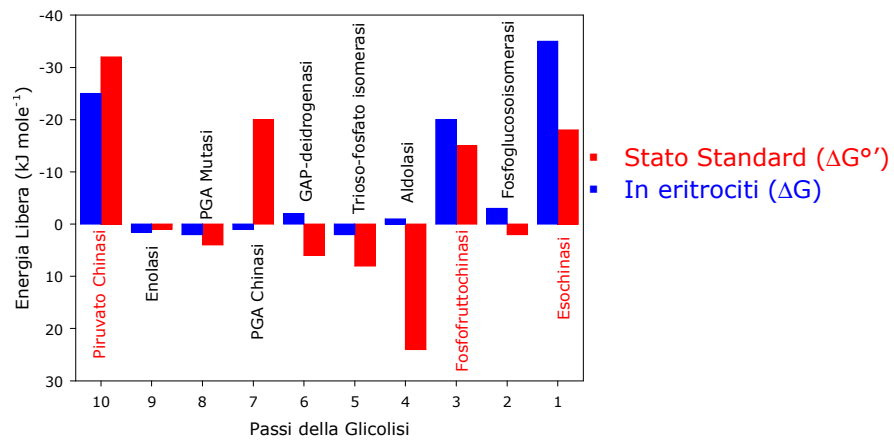
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 15 -

15

Energia



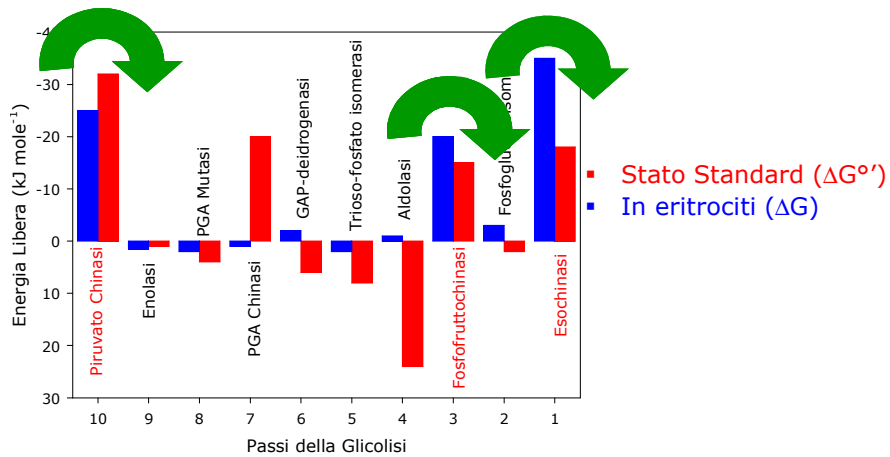
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 16 -

16

Energia



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 17 -

17

Gluconeogenesi

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

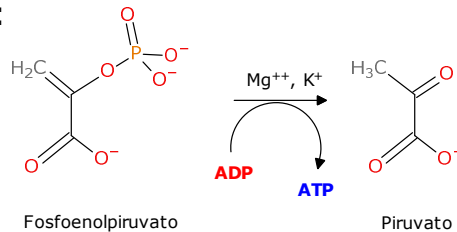
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 18 -

18

Bypass della piruvato chinasi

- La piruvato chinasi della glicolisi catalizza la reazione:



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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

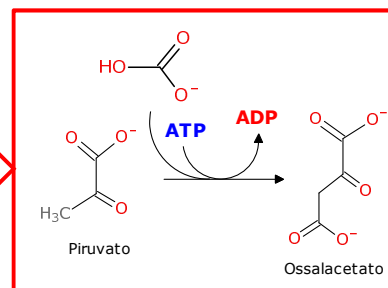
- 19 -

19

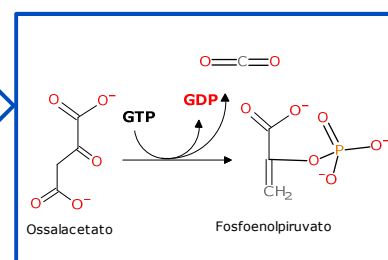
Bypass della piruvato chinasi

- 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):



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

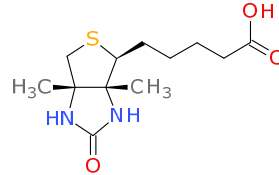
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 20 -

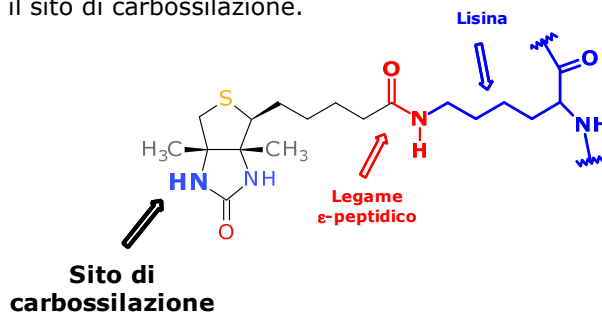
20

Piruvato carbossilasi EC 6.4.1.1

- È un enzima a biotina



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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

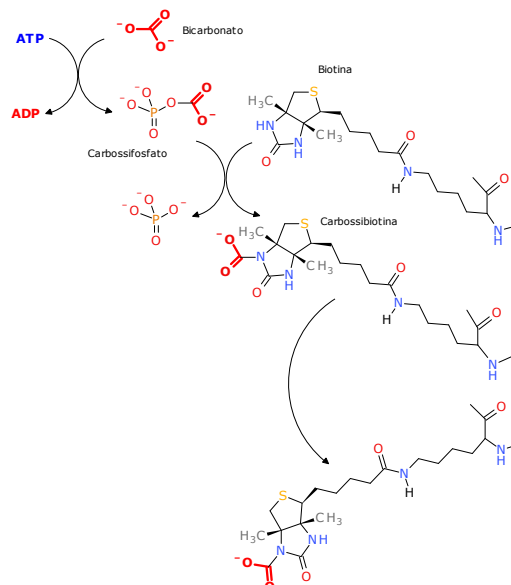
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 21 -

21

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.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 22 -

22

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.

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

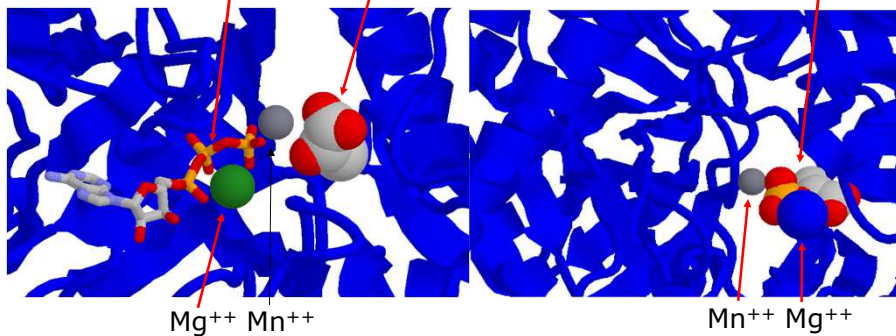
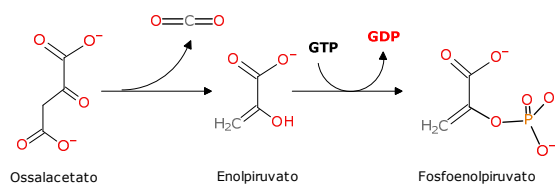
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 25 -

25

Piruvato carbossichinasi

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

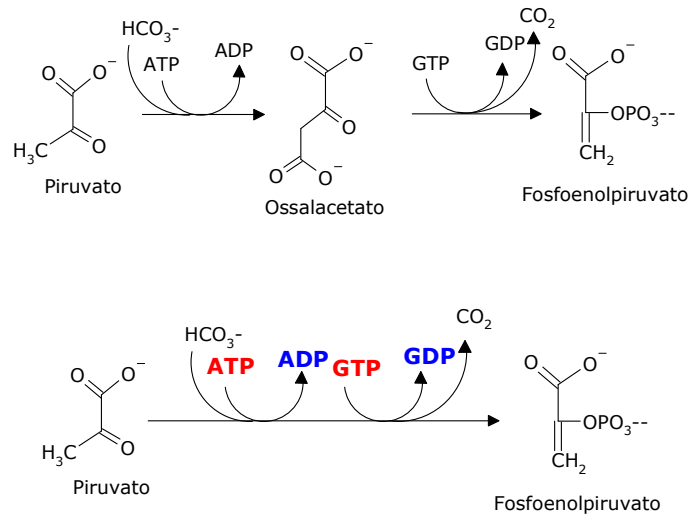
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 26 -

26

Bypass della piruvato chinasi

- Globalmente



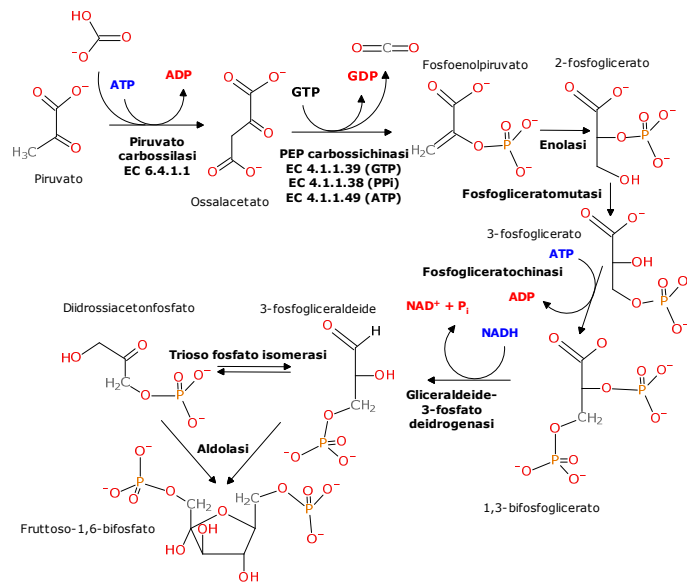
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 27 -

27

Gluconeogenesi



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

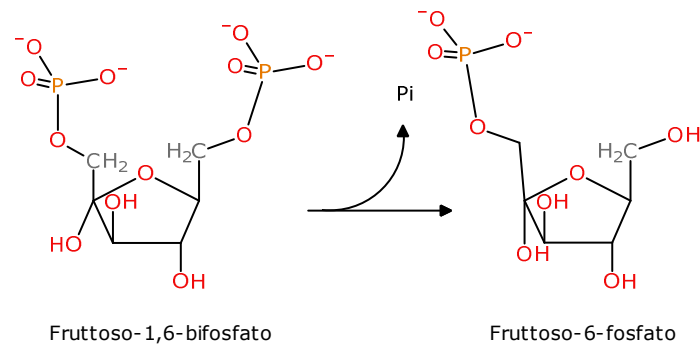
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 28 -

28

Fruttosio-1,6-bifosfatasi EC 3.1.3.11

- Catalizza la reazione inversa della fosfofruttochinasi:



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

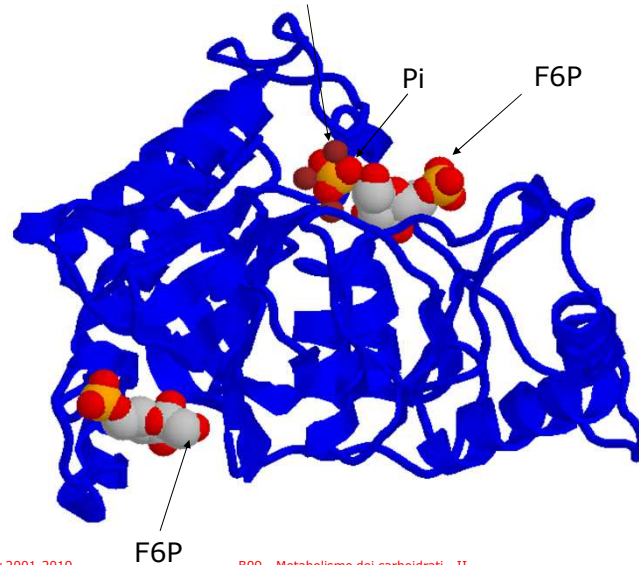
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 29 -

29

Fruttosio-1,6-bifosfatasi EC 3.1.3.11

Zn⁺⁺ (Mg⁺⁺)



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

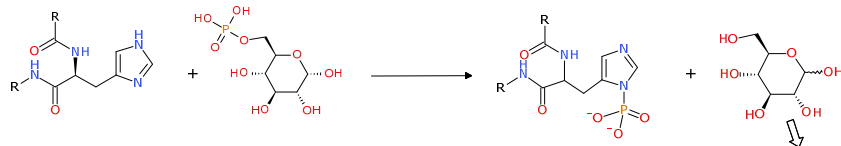
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 30 -

30

Glucoso-6-fosfatasi EC 3.1.3.9

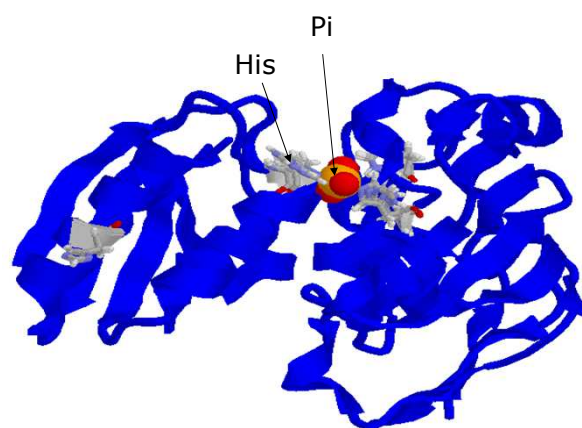
- Catalizza la reazione inversa della esochinasi attraverso una fosfoistidina.



- È un enzima della membrane 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.

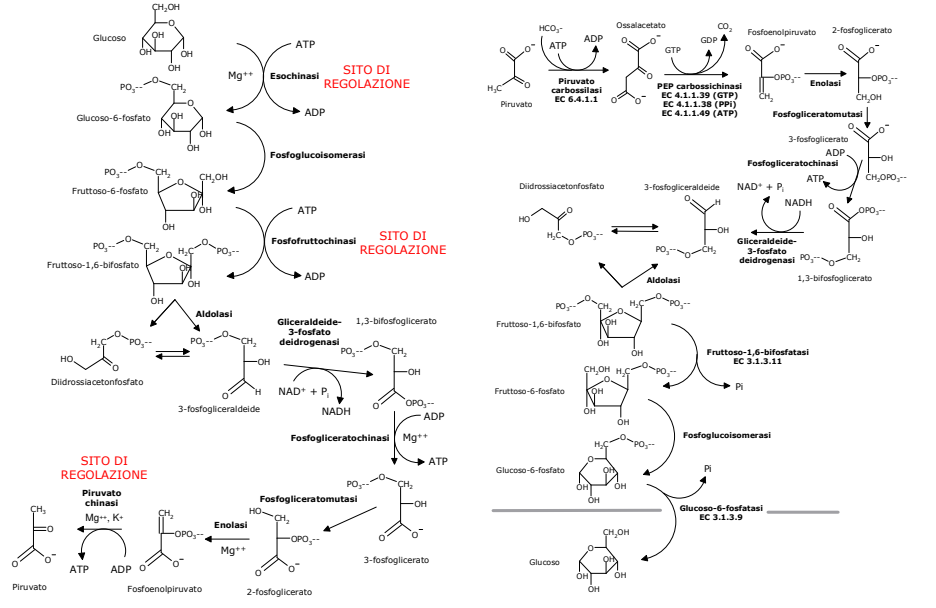
31

Glucoso-6-fosfatasi EC 3.1.3.9

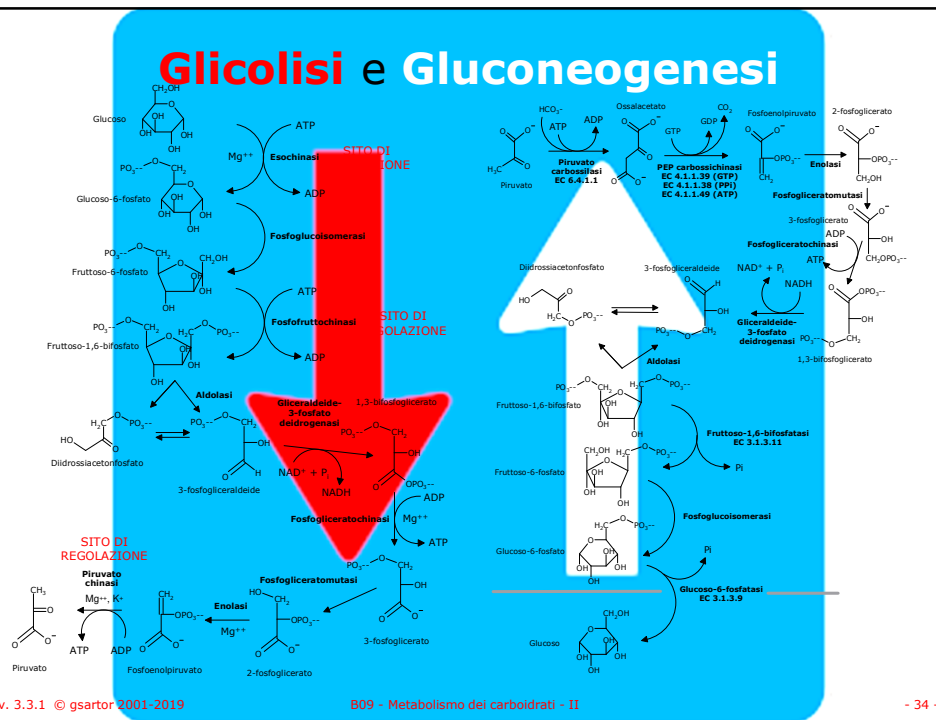


32

Glicolisi e Gluconeogenesi

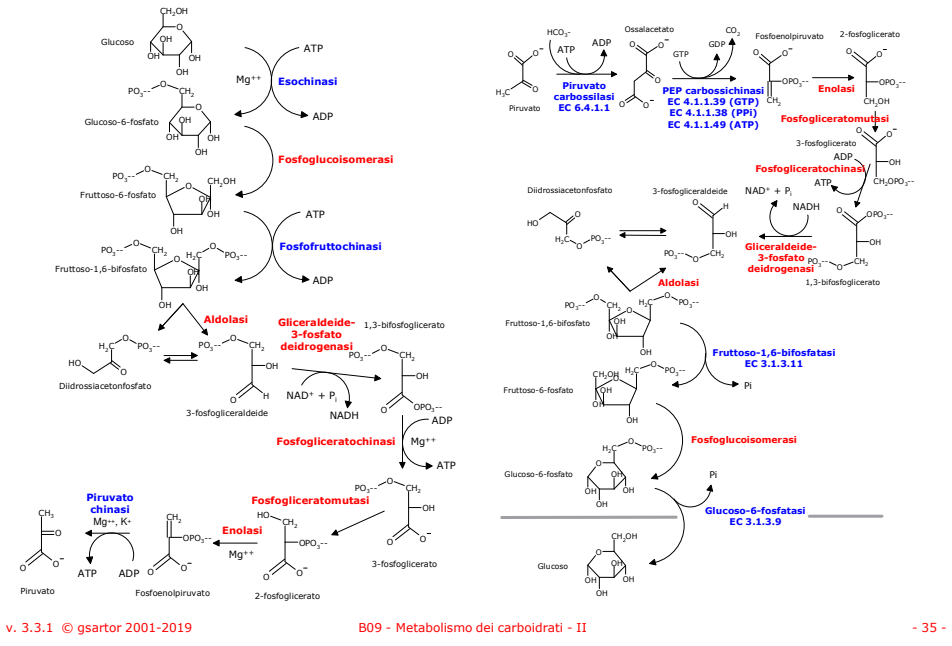


33



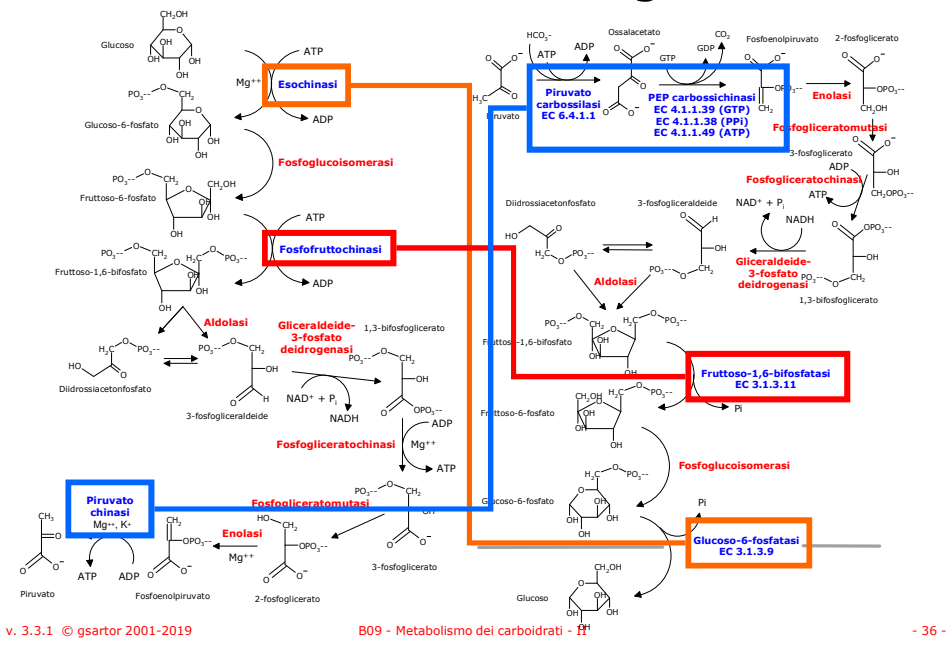
34

Glicolisi e Gluconeogenesi



35

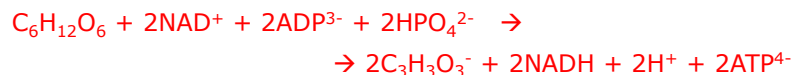
Glicolisi e Gluconeogenesi



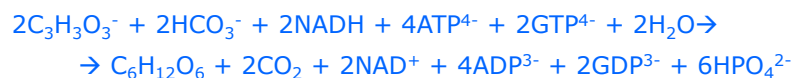
36

Glicolisi e gluconeogenesi

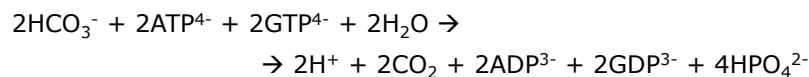
- La glicolisi e la gluconeogenesi sono vie metaboliche spontanee.
- Se fossero attive simultaneamente nella cellula si sarebbe in presenza di un "ciclo futile" con consumo di energia.
- Glicolisi (da glucosio a piruvato):



- Gluconeogenesi (da piruvato a glucosio):



- Glicolisi + Gluconeogenesi:



- Come dire: http://www.youtube.com/watch?v=Z86V_ICUCD4
- Oppure: http://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=vj5kLizZHUo
- <https://www.youtube.com/watch?v=UkgoSOSGrx4>

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 37 -

37

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.

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 38 -

38

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-bisfosfato.

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 .

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

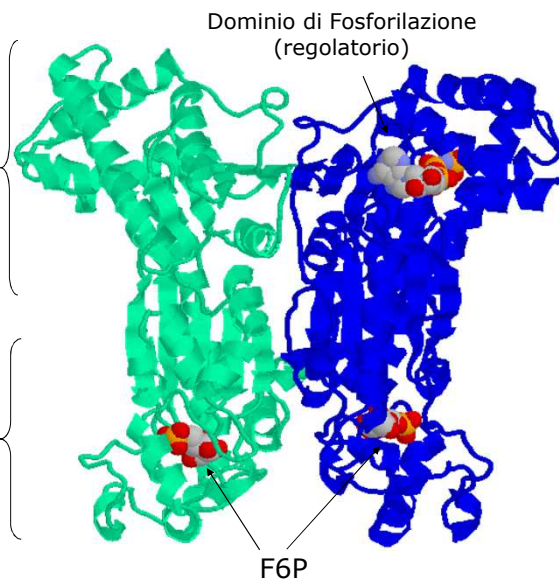
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 41 -

41

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:
 $\text{Fruttosio-2,6-bifosfato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{fruttosio-6-fosfato} + \text{Pi}$



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

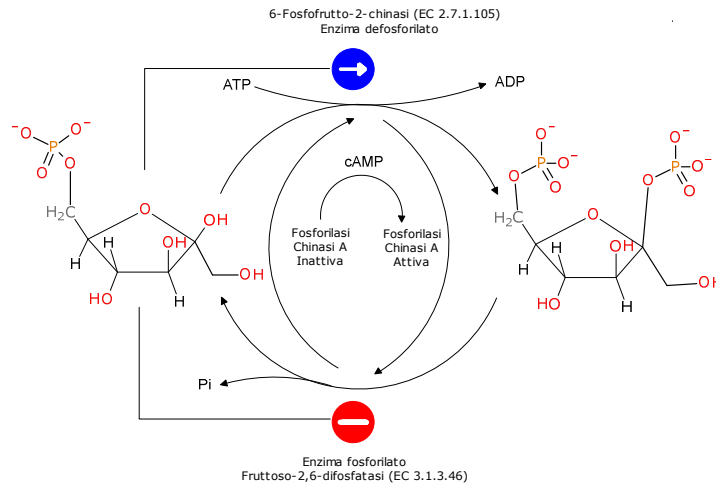
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 42 -

42

Enzima tandem

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

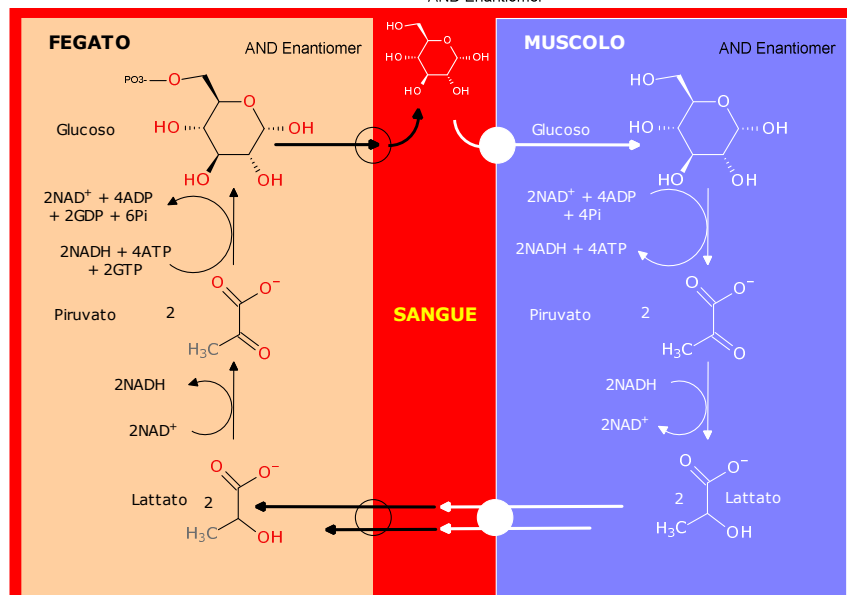
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 43 -

43

Ciclo di Cori

AND Enantiomer

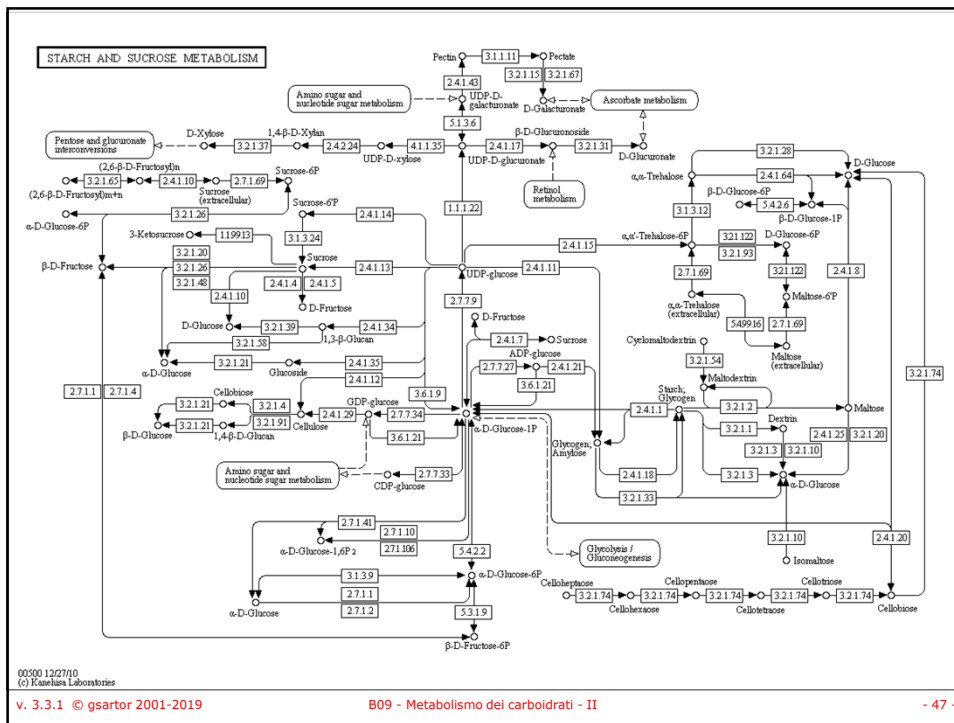


v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

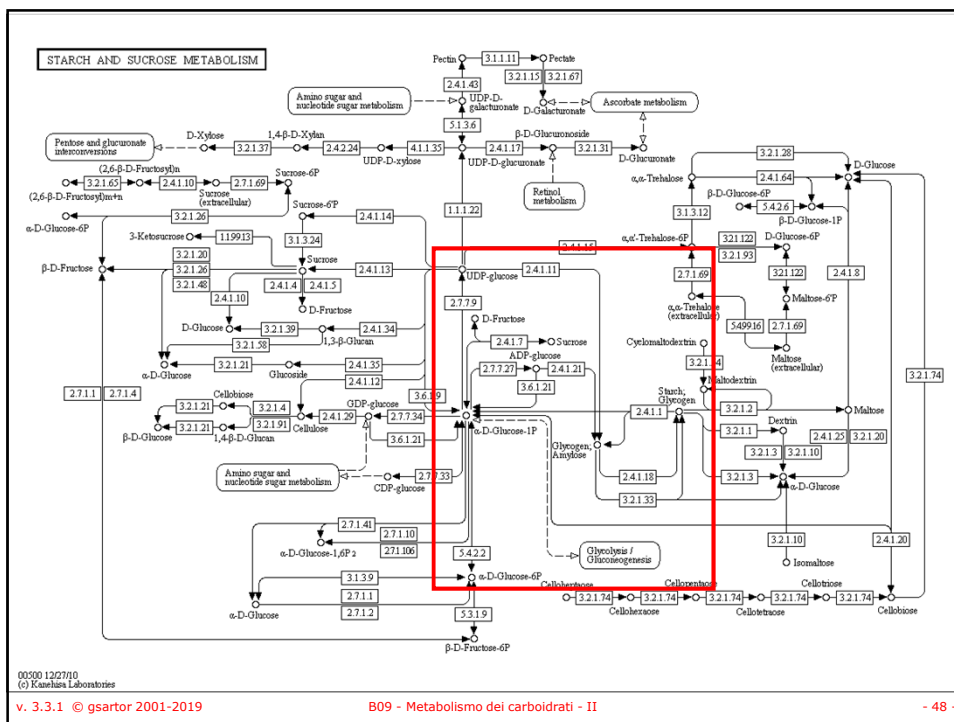
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 44 -

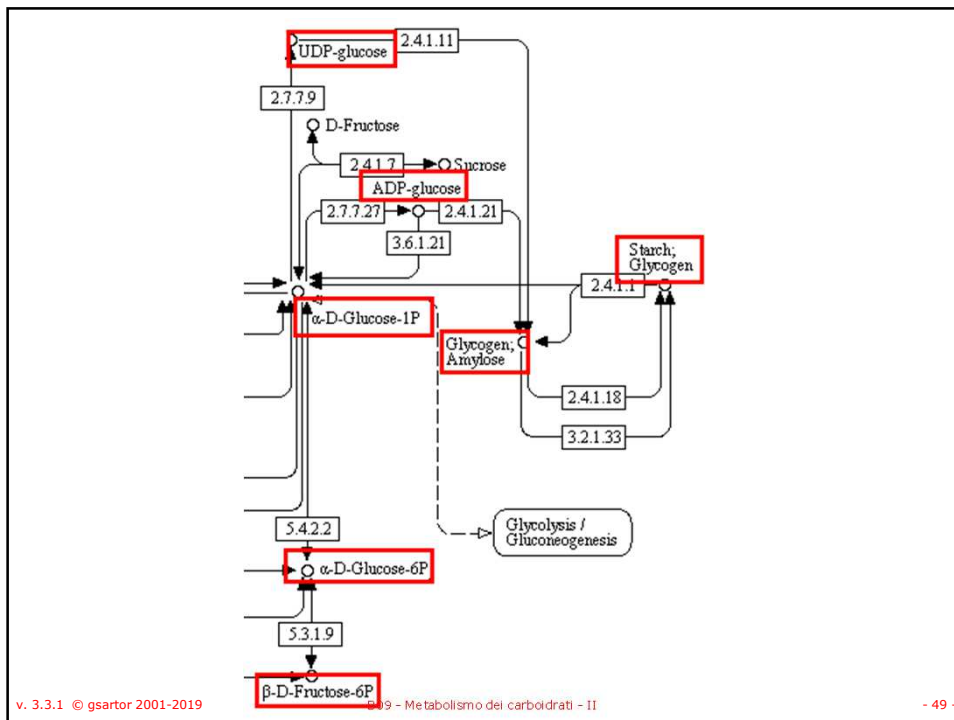
44



47



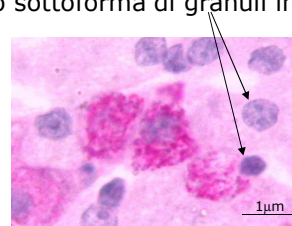
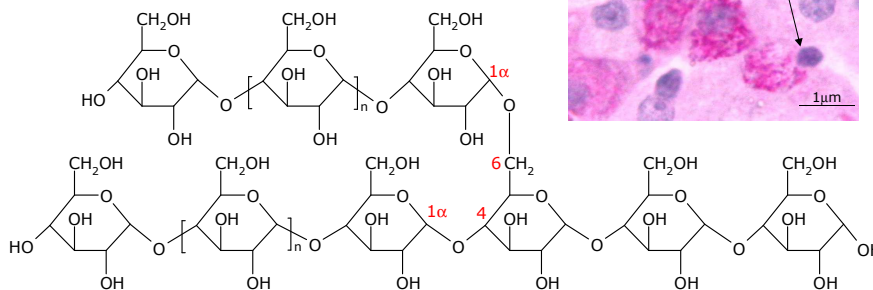
48



49

Glicogeno (Amido)

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

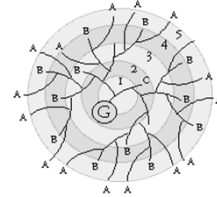
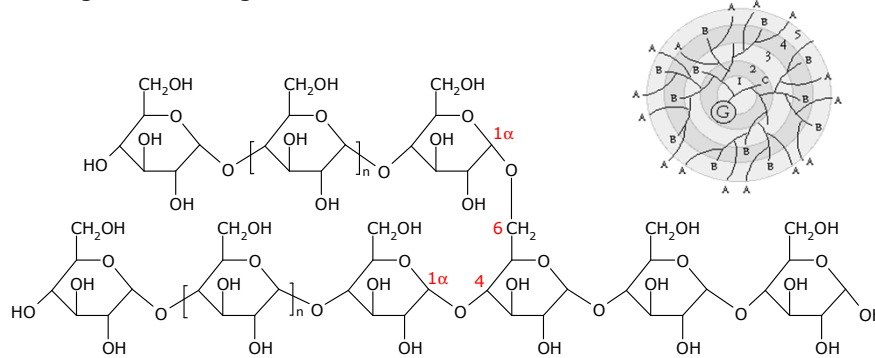
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 50 -

50

Glicogeno (Amido)

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

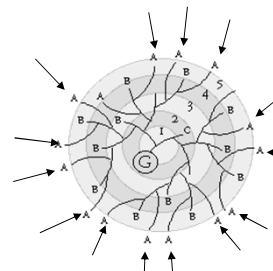
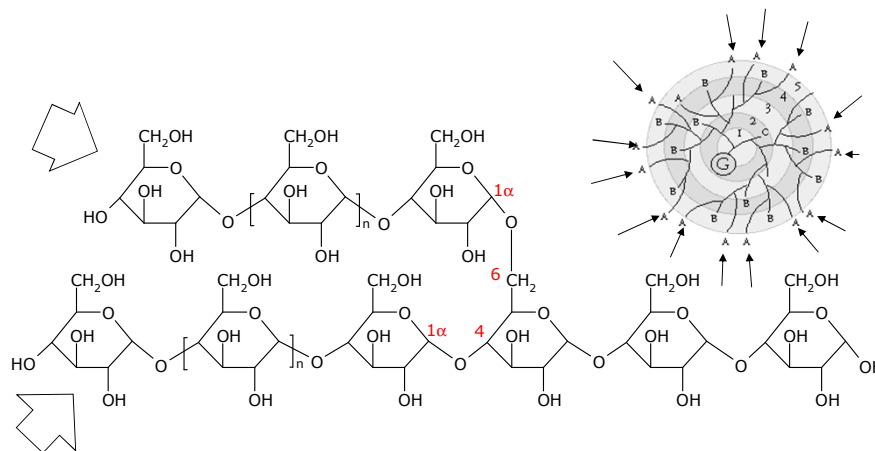
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 51 -

51

Glicogeno (Amido)

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

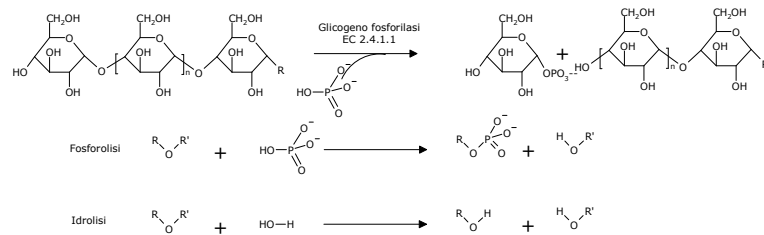
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 52 -

52

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 $1\alpha \rightarrow 6$.

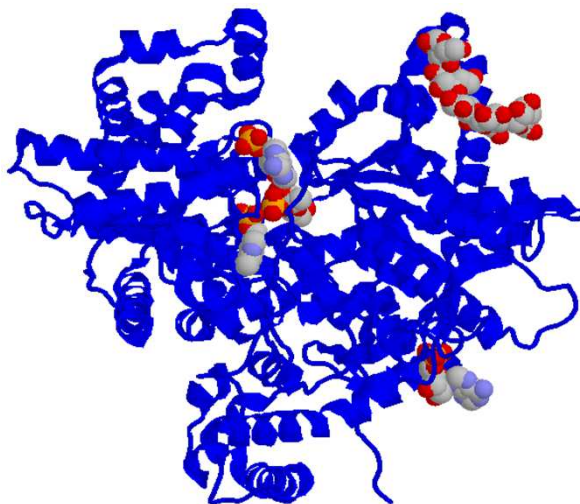
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 53 -

53

Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



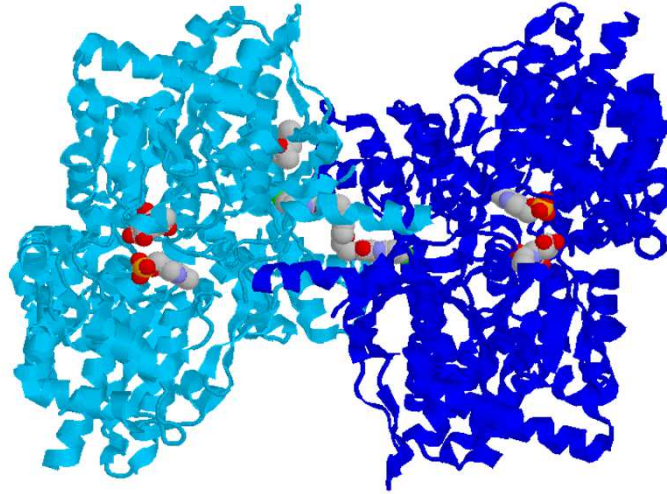
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 54 -

54

Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



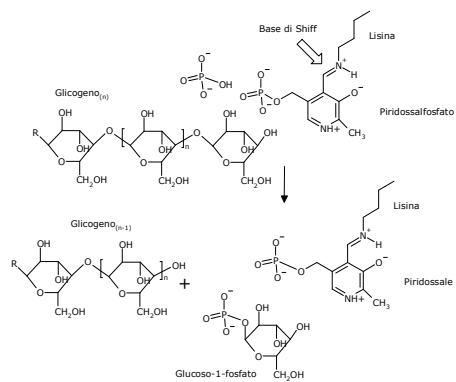
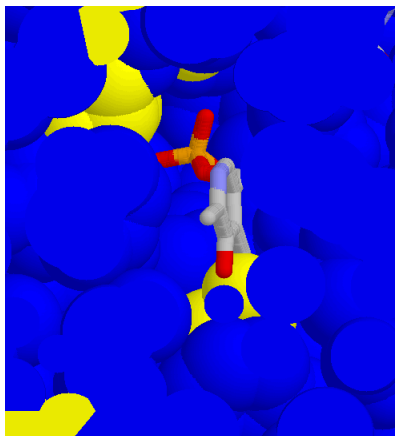
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 55 -

55

Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



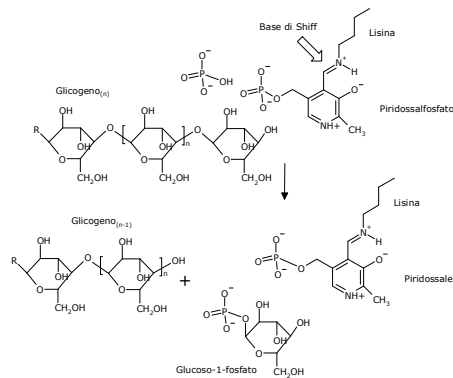
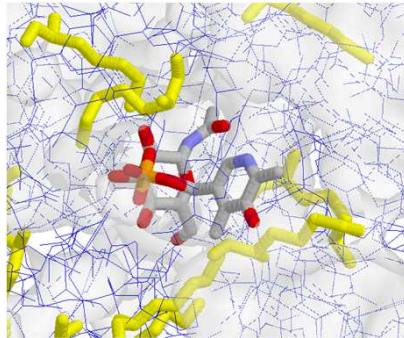
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 56 -

56

Glicogeno fosforilasi EC 2.4.1.1



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

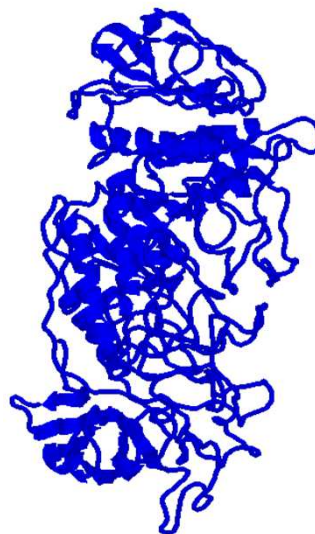
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 57 -

57

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

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



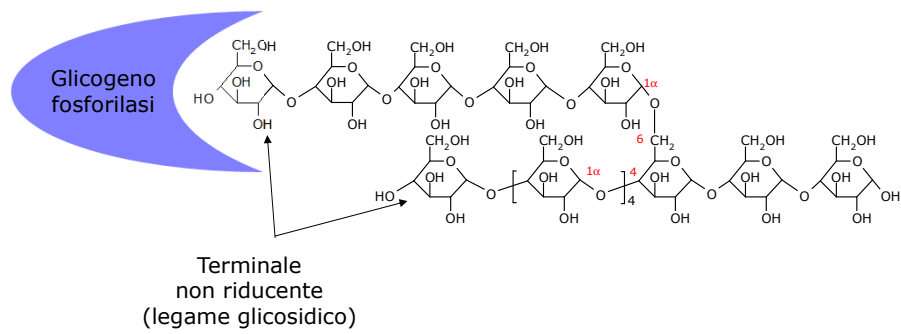
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 58 -

58

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



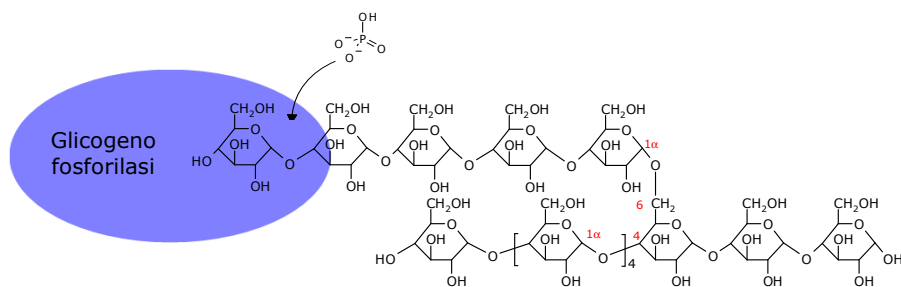
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 59 -

59

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



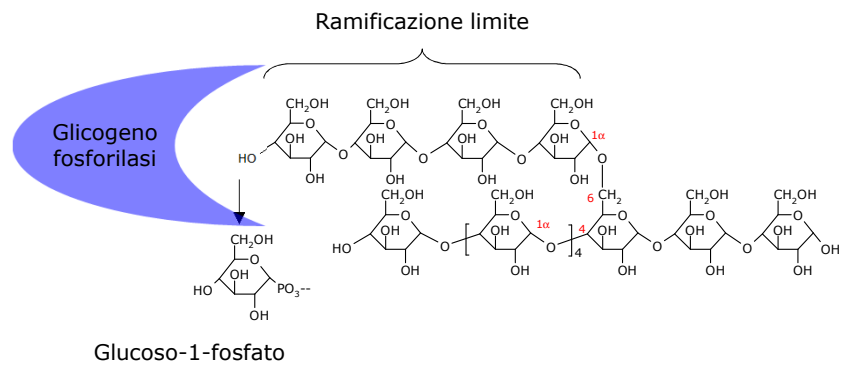
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 60 -

60

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



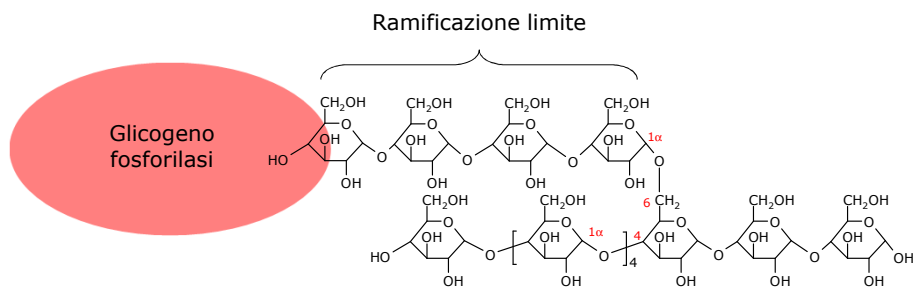
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 61 -

61

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

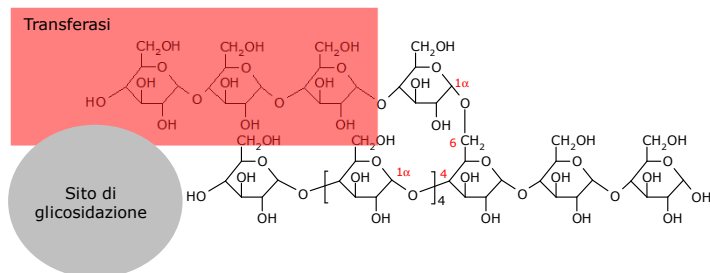
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 62 -

62

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

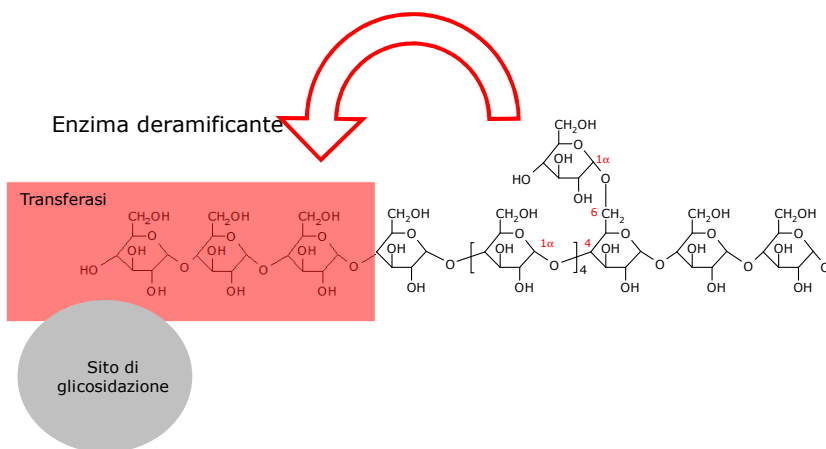
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 63 -

63

Enzima deramificante EC 3.2.1.68

Enzima deramificante



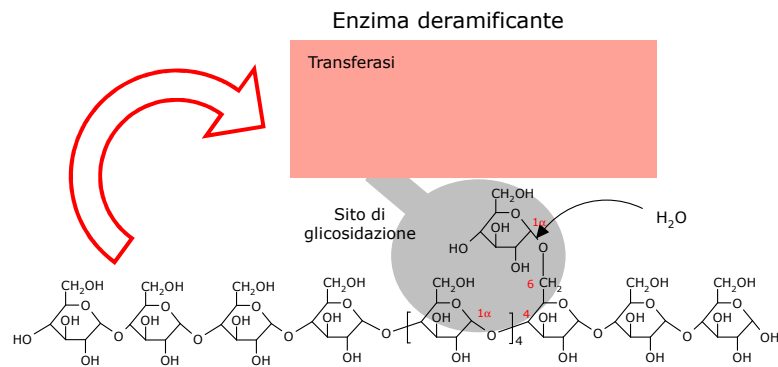
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 64 -

64

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



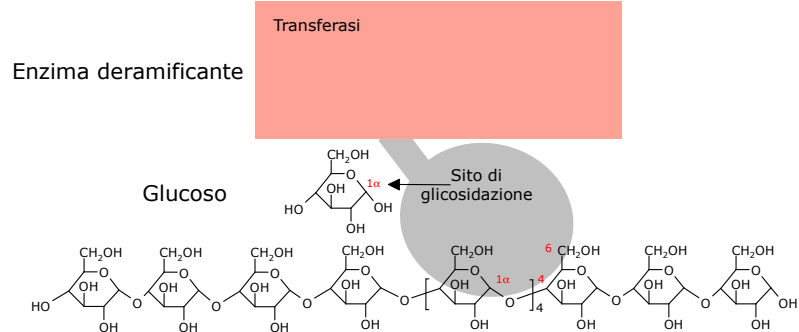
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 65 -

65

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



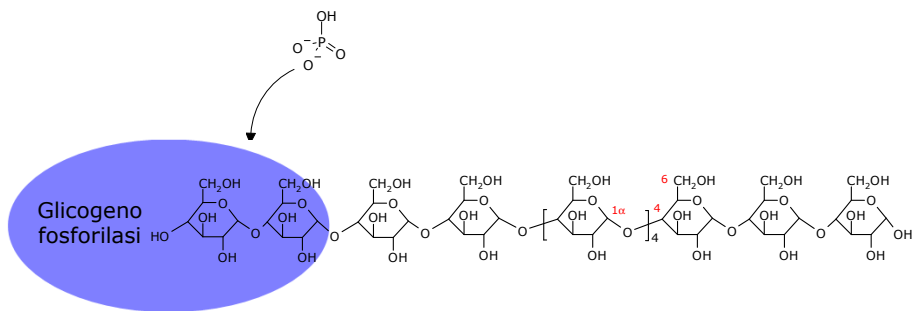
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 66 -

66

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



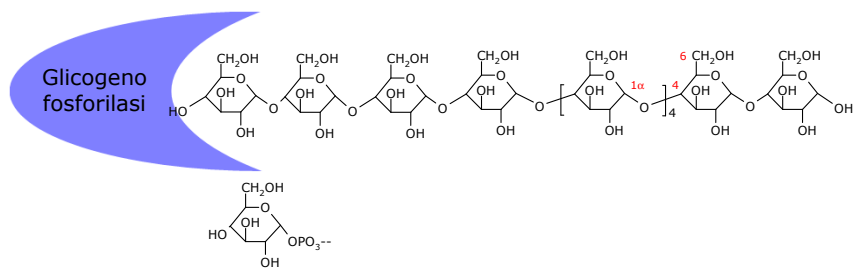
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 67 -

67

Enzima deramificante EC 3.2.1.68



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

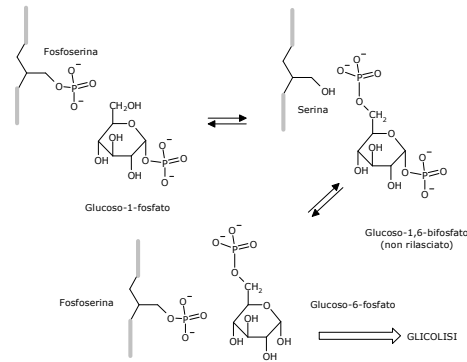
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 68 -

68

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.



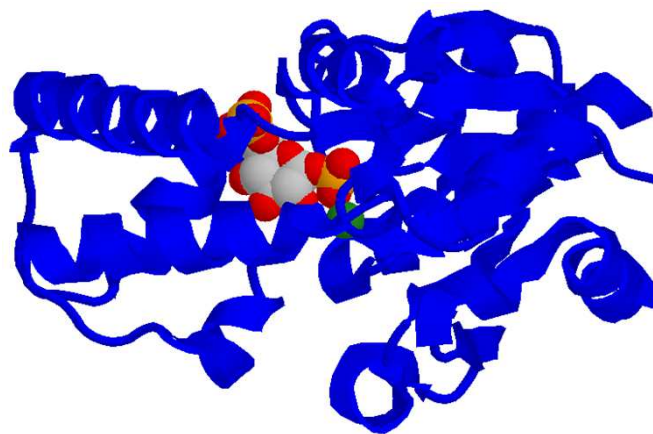
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 69 -

69

Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2



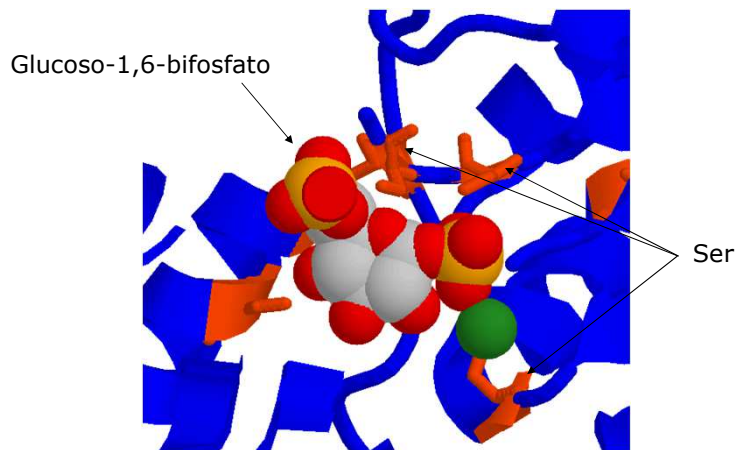
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 70 -

70

Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

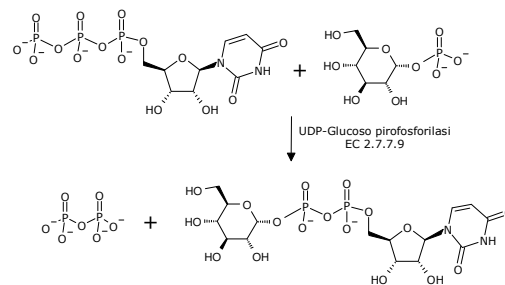
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 71 -

71

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).



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

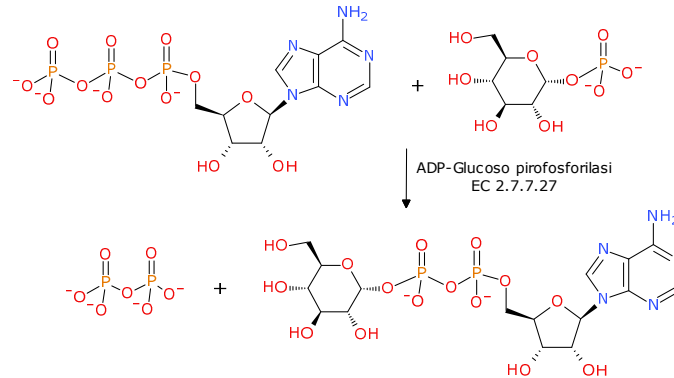
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 72 -

72

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.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

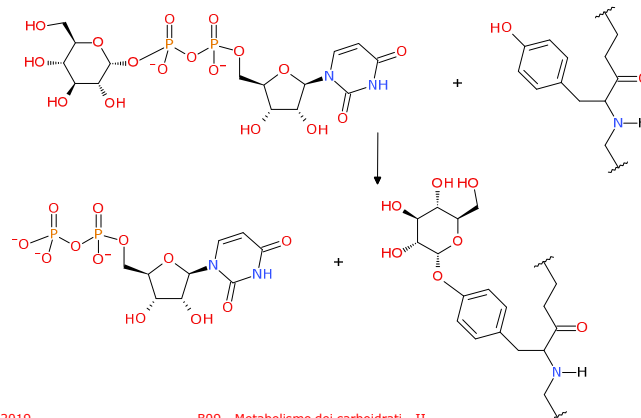
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 73 -

73

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).



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 74 -

74

Glicogenosintesi

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

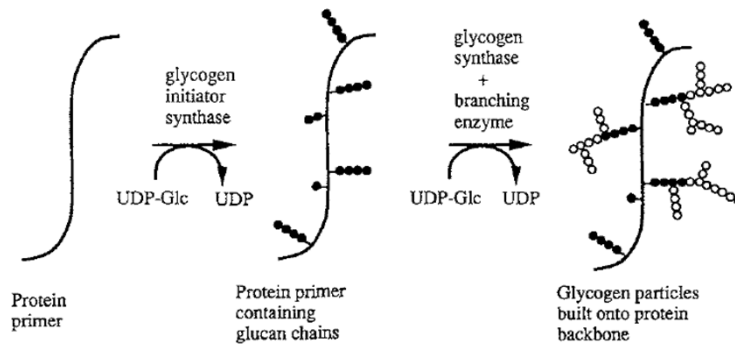


Fig. 1. *Krisman's model for the structure and biogenesis of glycogen.*

Eur. J. Biochem. 200, 625–631 (1991)

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

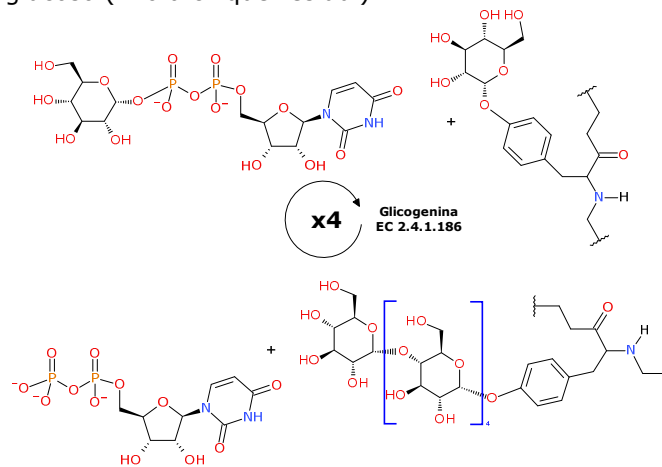
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 75 -

75

Glicogenosintesi

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 76 -

76

Glicogenosintesi

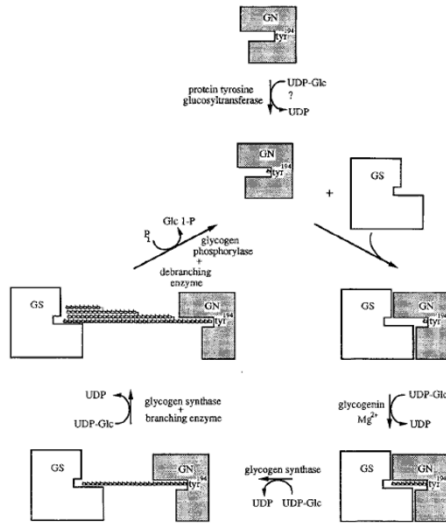


Fig. 5. The role of glycogenin in the biosynthesis of muscle glycogen.

Eur. J. Biochem. 200, 625–631 (1991)

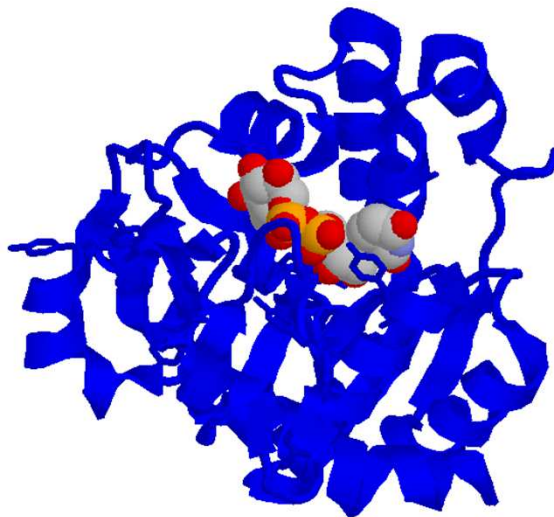
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 77 -

77

Glicogenina EC 2.4.1.186



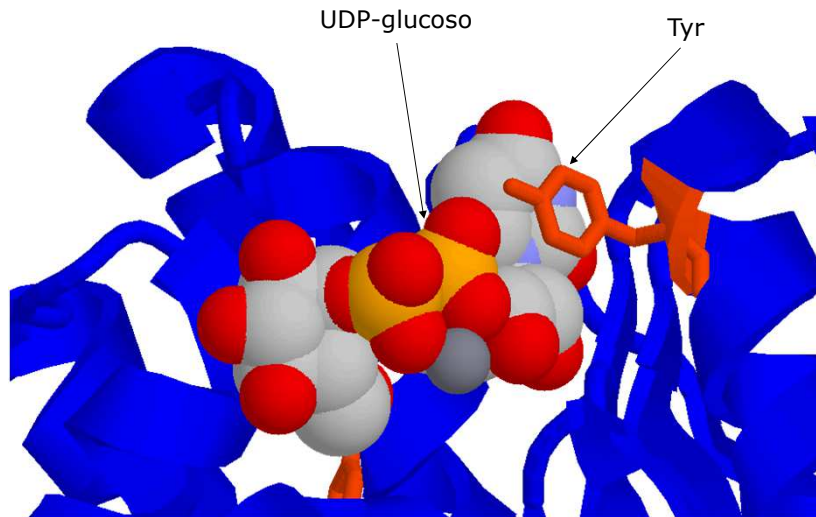
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 78 -

78

Glicogenina EC 2.4.1.186



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

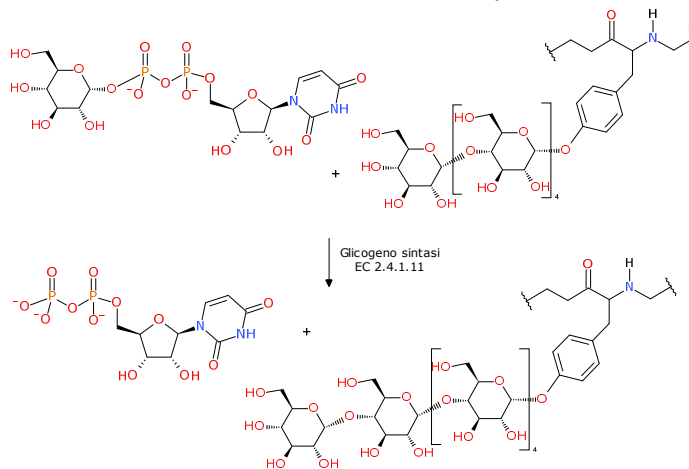
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 79 -

79

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.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

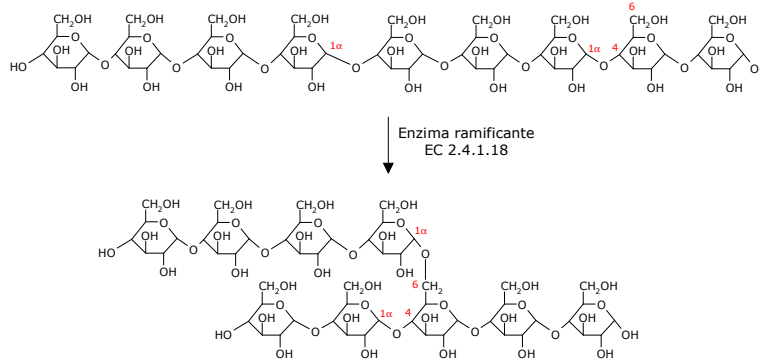
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 80 -

80

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



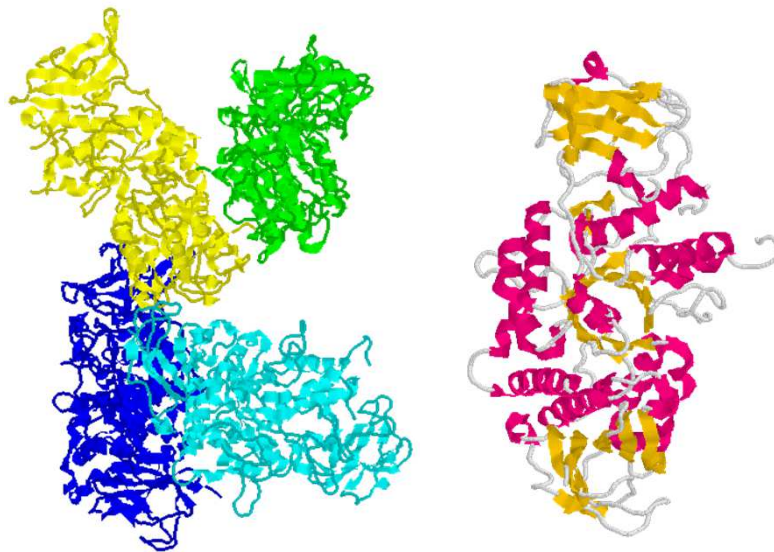
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 81 -

81

Enzima ramificante EC 2.4.1.18



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 82 -

82

Controllo

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

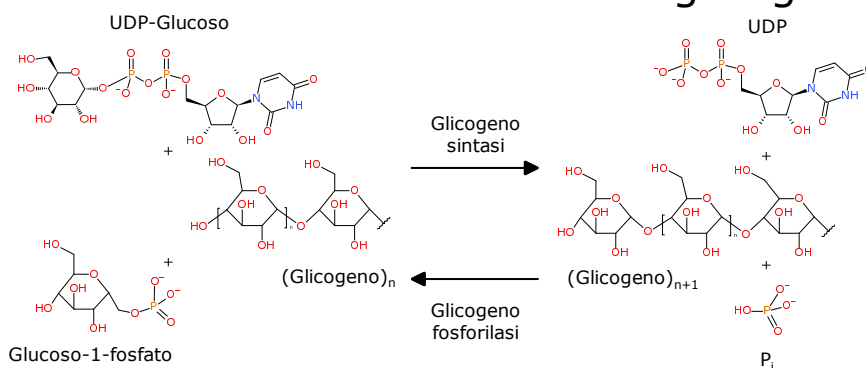
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 83 -

83

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-Glucosio).
- Per prevenire questa eventualità la glicogeno sintasi e la glicogeno fosforilasi sono regolate reciprocamente da effettori allosterici e dalla fosforilazione.

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 84 -

84

Regolazione allosterica

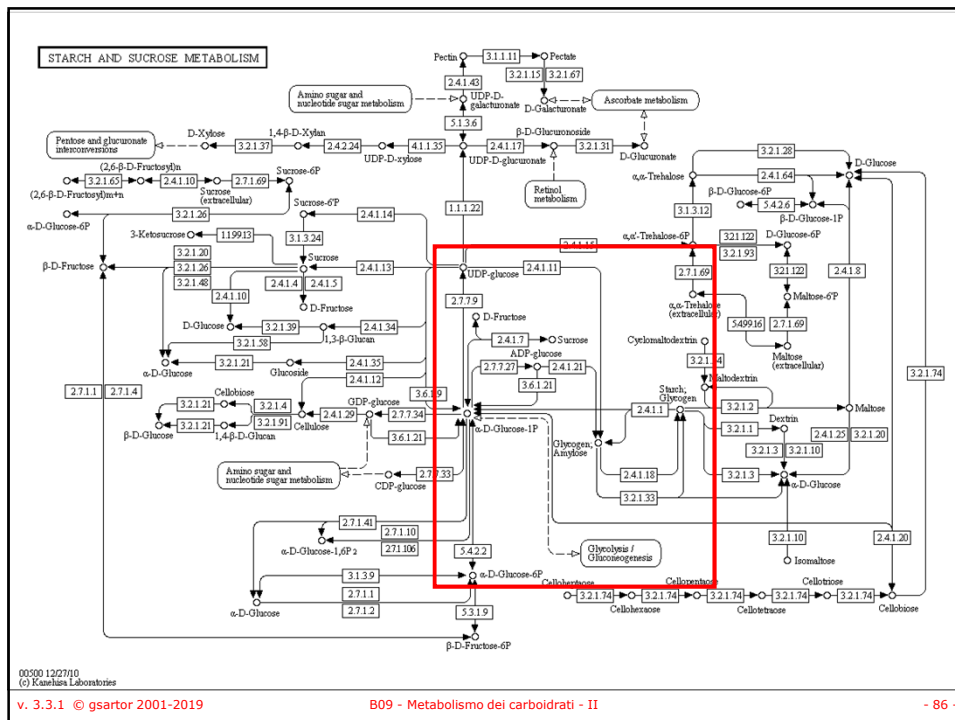
- La **glicogeno fosforilasi** nel muscolo è regolata da AMP, ATP e glucoso-6-fosfato. (un isoenzima diverso nel fegato è meno sensibile a questi controlli allosterici).
 - AMP (presente quando l'ATP manca) attiva la fosforilasi promuovendone la conformazione R.
 - ATP e glucoso-6-fosfato, che spiazzano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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 85 -

85



00300 122710
(c) Kamelia Laboratories

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

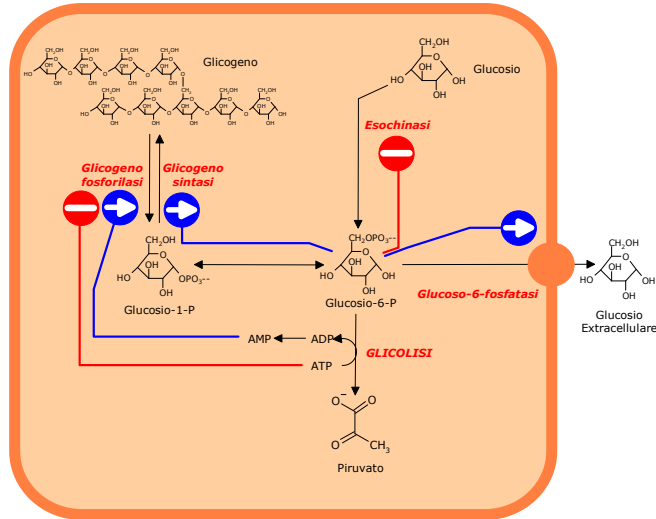
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 86 -

86

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 87 -

87

Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 88 -

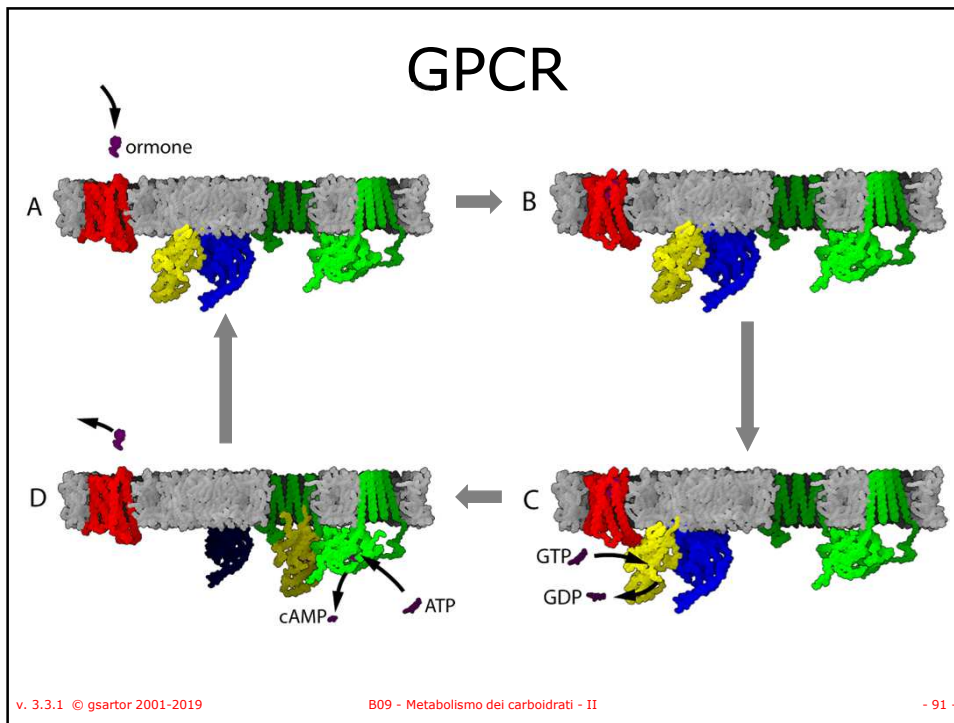
88

Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

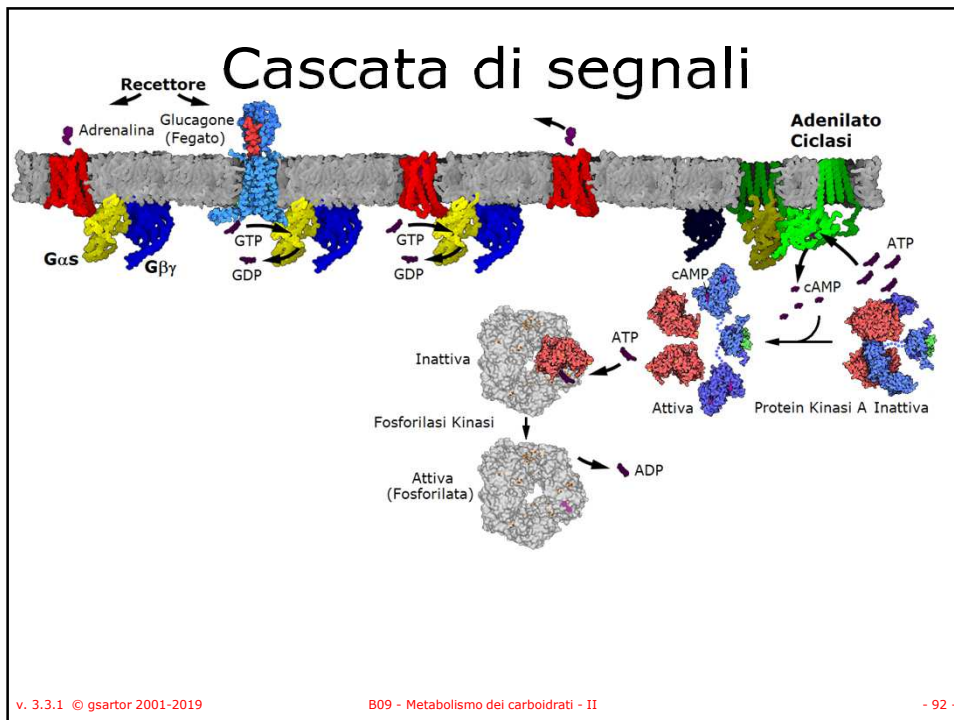
- La cascata del cAMP porta alla fosforilazione di una Ser nella glicogeno fosforilasi promuovendone la forma R attiva.
- L'enzima fosforilato è meno sensibile agli inibitori allosterici.
- Quindi, anche se ATP e glucoso-6-fosfato sono a valori elevati la fosforilasi è ancora attiva.
- Il glucoso-1-fosfato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

Regolazione ormonale (covalente) FOSFORILAZIONE

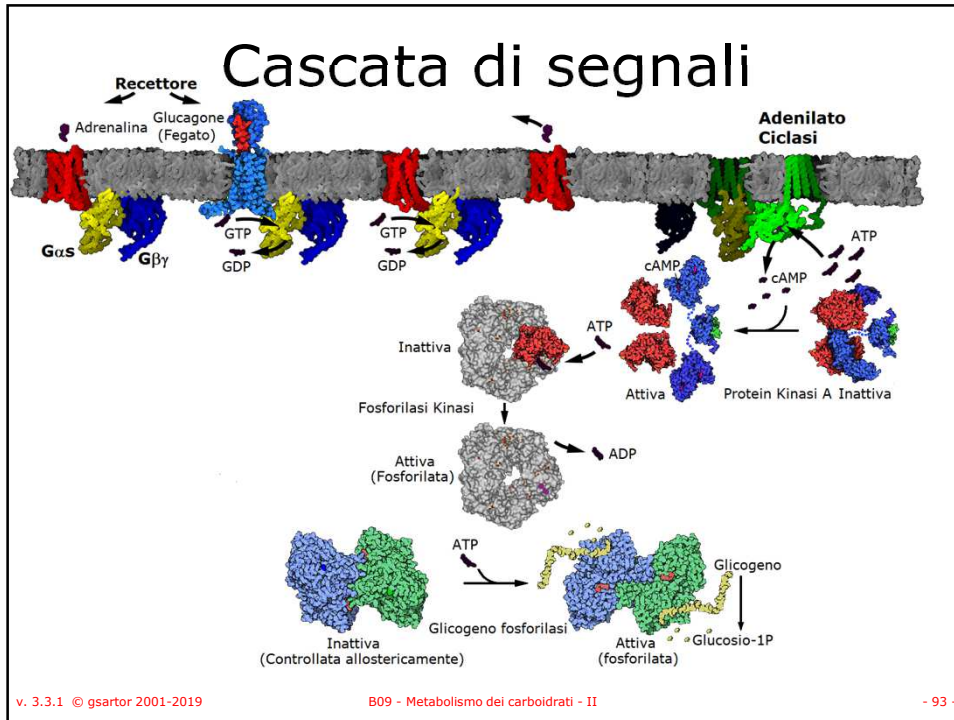
- La cascata del cAMP ha effetti opposti nella glicogeno sintesi.
- La glicogeno sintasi è anch'essa fosforilata dalla cascata, ma viene promossa la conformazione b, meno attiva.
- Quindi la cascata del cAMP inibisce la sintesi di glicogeno.
- Invece di essere convertito in glicogeno il glucoso-1-fosfato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



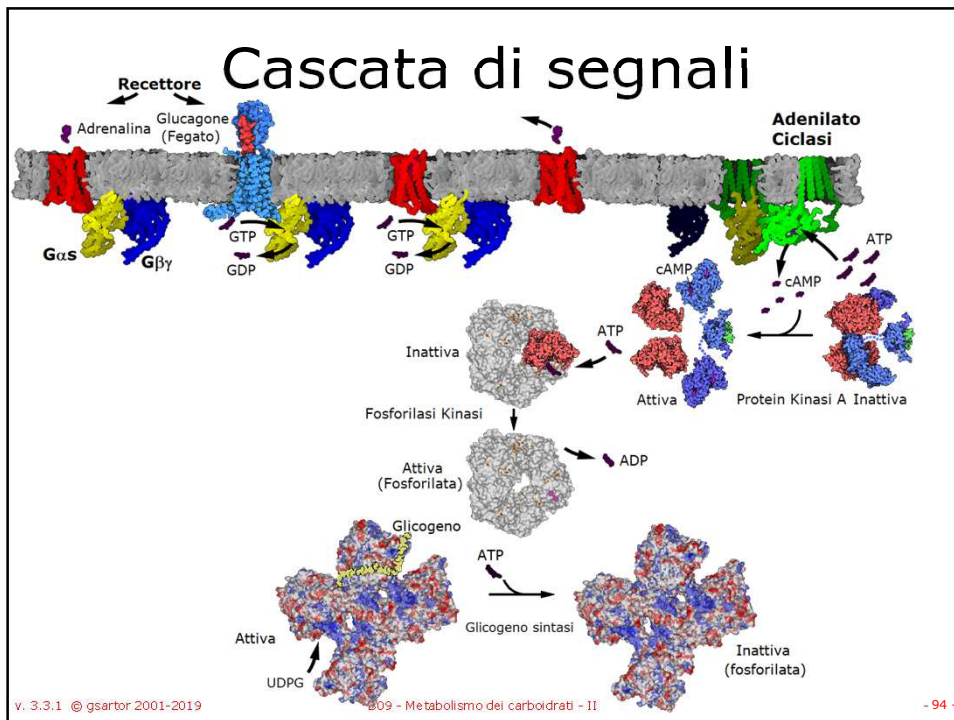
91



92



93



94

Insulina

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 95 -

95

Ca⁺⁺

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

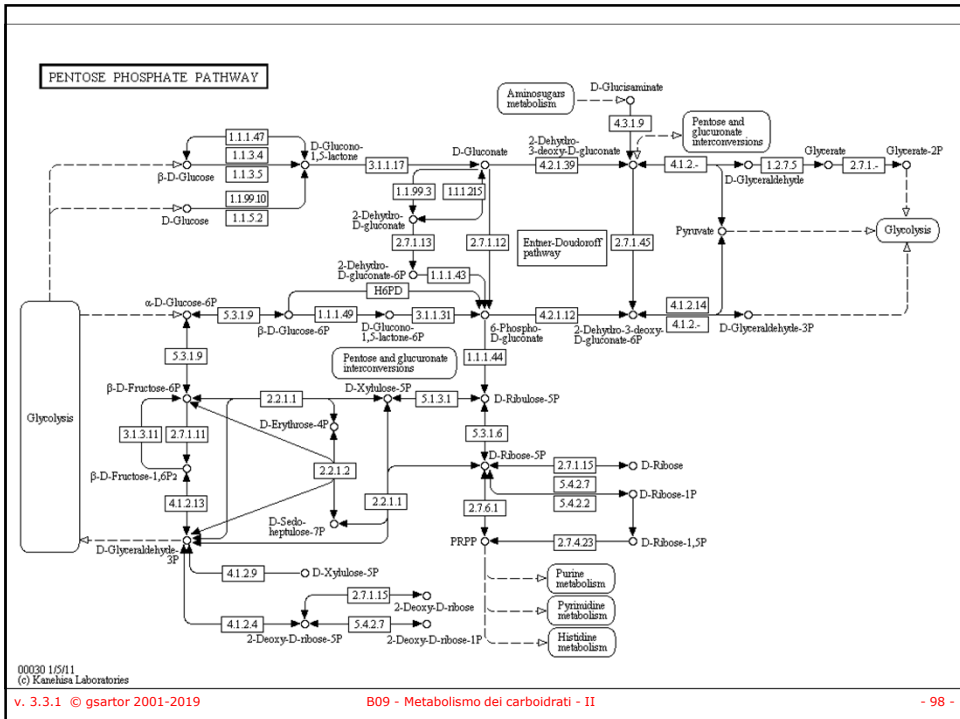
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 96 -

96



97



98

Via dei pentosi fosfati

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

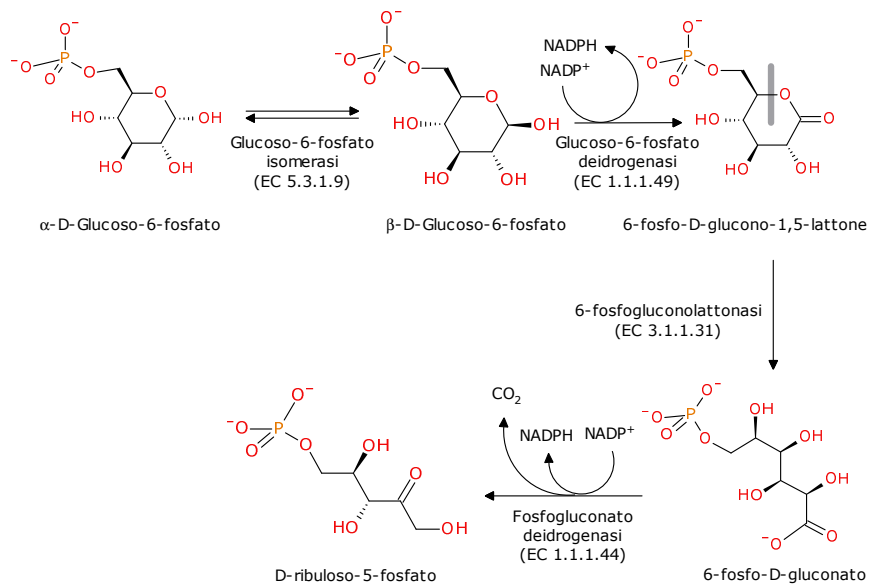
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 99 -

99

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



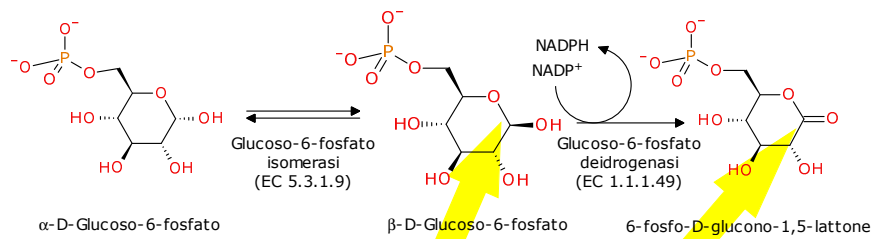
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 100 -

100

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



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

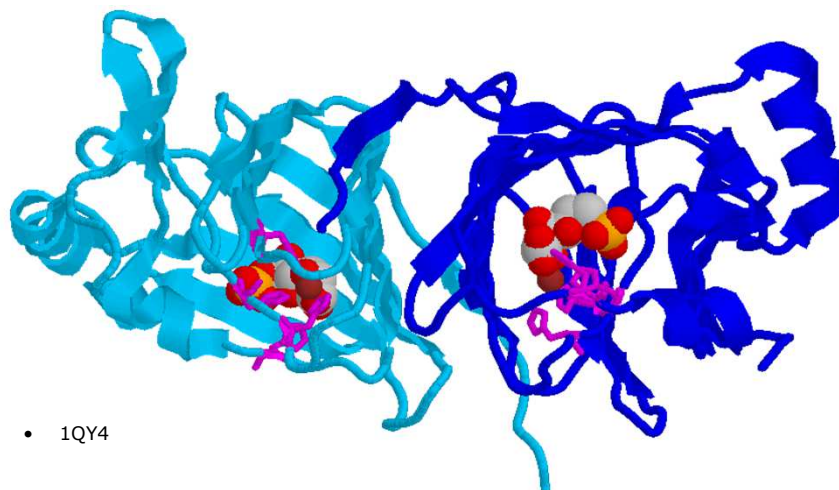
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 101 -

101

Glucoso-6-fosfato isomerasi (EC 5.3.1.9)



- 1QY4

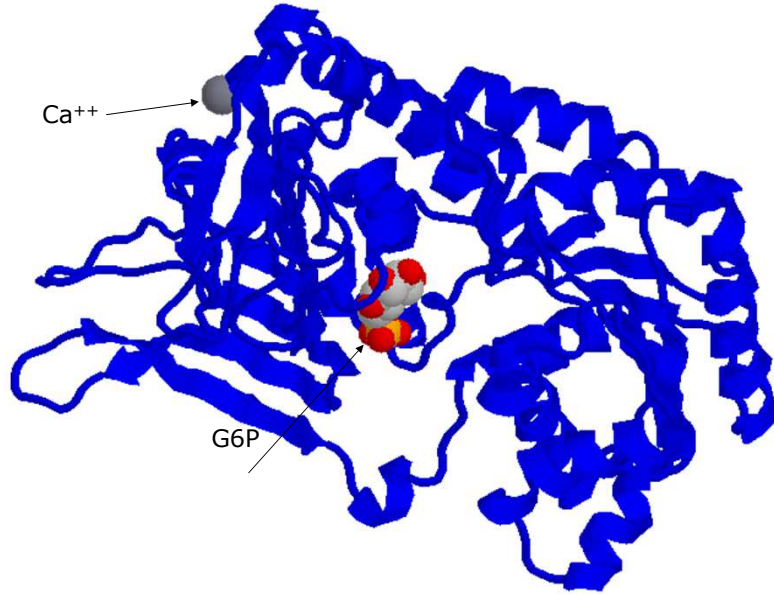
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 102 -

102

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)



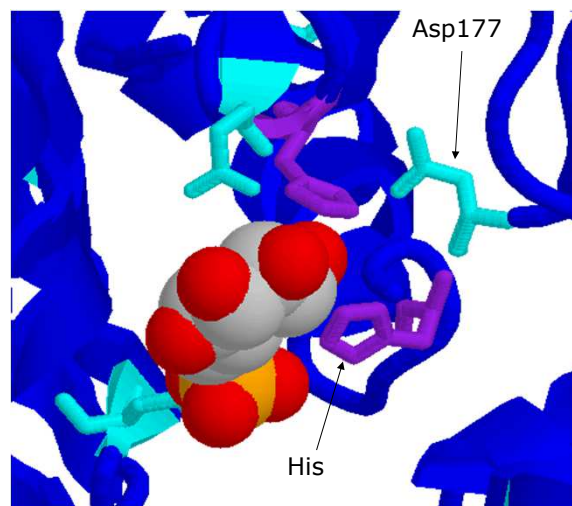
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 103 -

103

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)



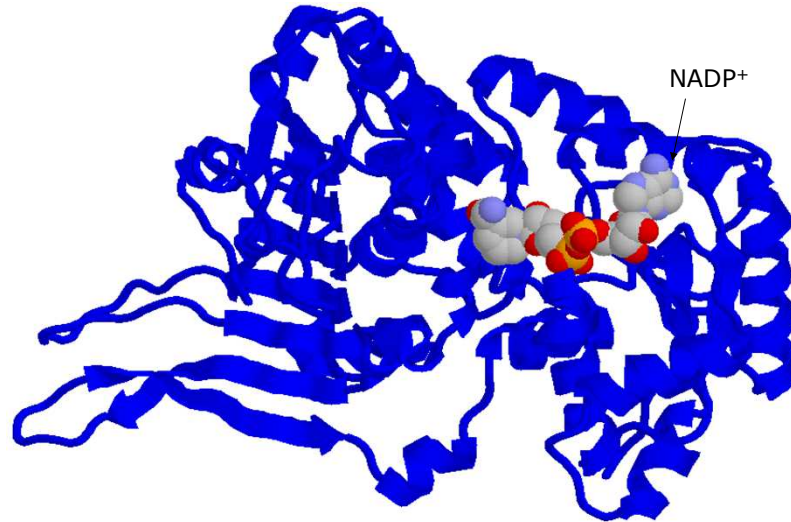
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 104 -

104

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)



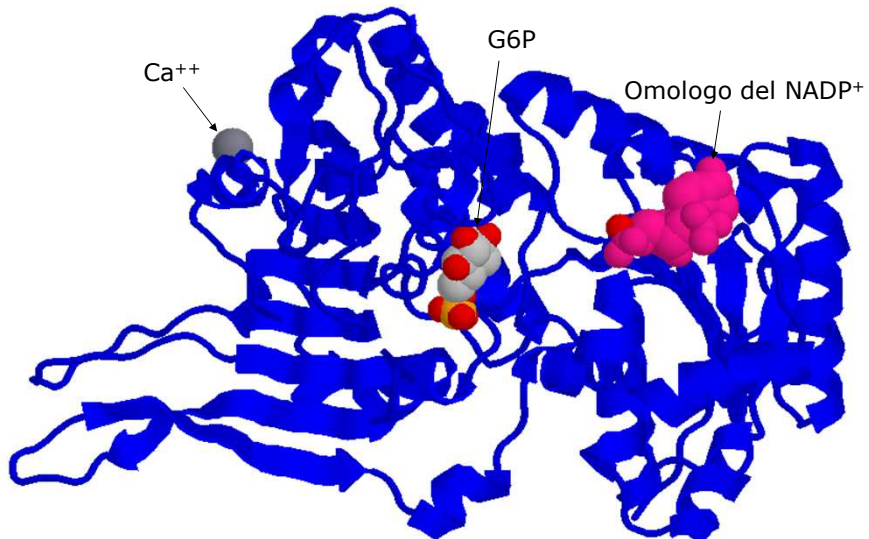
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 105 -

105

Glucoso-6-fosfato deidrogenasi (EC 1.1.1.49)



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 106 -

106

Regolazione della glucoso-6-fosfato deidrogenasi

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

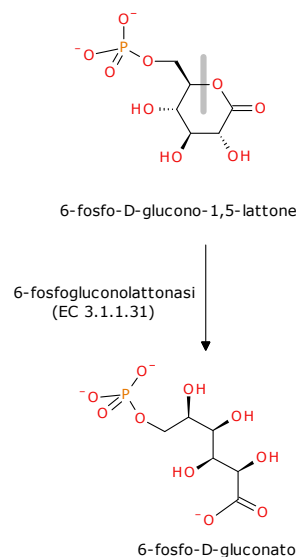
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 107 -

107

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

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



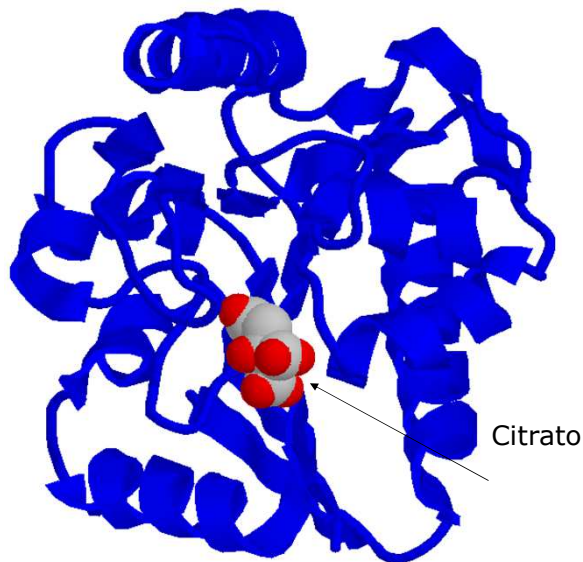
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 108 -

108

6-fosfogluconolatttonasi (EC 3.1.1.31)



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

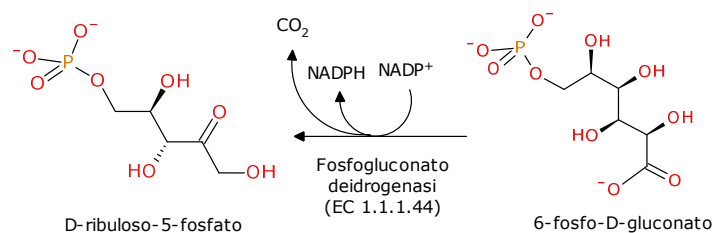
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 109 -

109

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_2 .
- Il NADP^+ serve da ossidante.



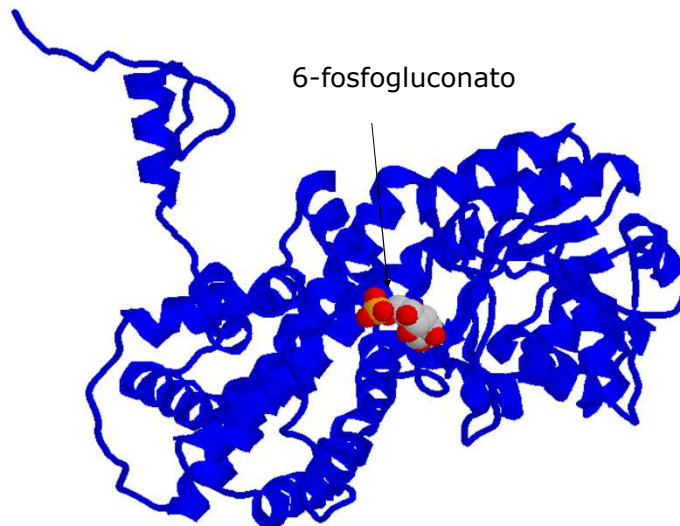
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 110 -

110

Fosfogluconato deidrogenasi (EC 1.1.1.44)



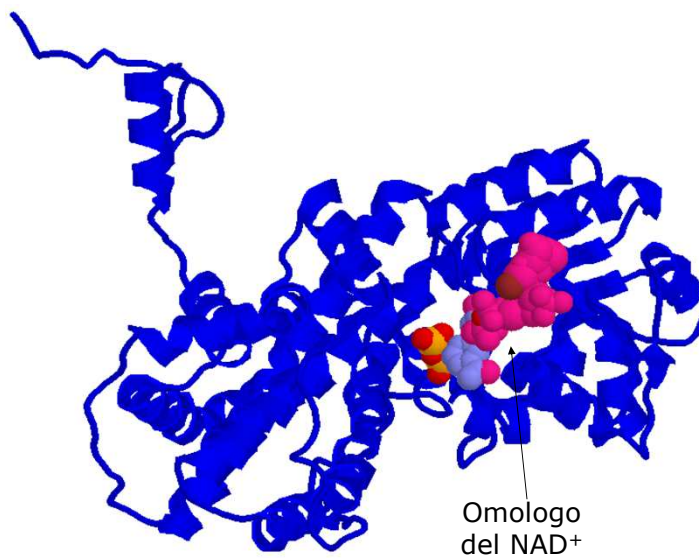
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 111 -

111

Fosfogluconato deidrogenasi (EC 1.1.1.44)



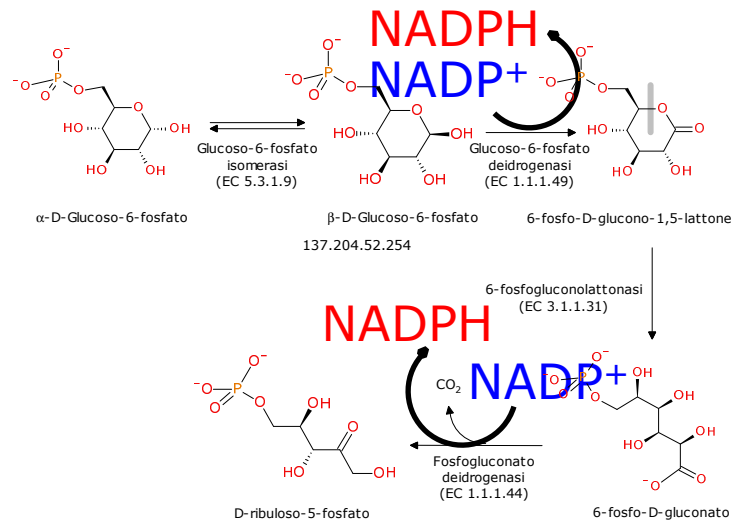
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 112 -

112

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

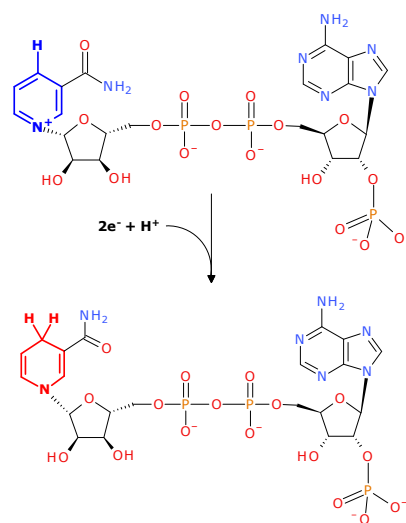
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 113 -

113

NADP⁺ e NADPH

- La riduzione del NADP⁺ (così come del NAD⁺) coinvolge il trasferimento di 2 e⁻ e 1 H⁺ alla porzione nicotinamica della molecola (come H⁻).
- Il NADPH, prodotto dalla via dei pentosi fosfati è la molecola riducente nelle vie sintetiche (anaboliche) della cellula.
- Il NAD⁺ 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.



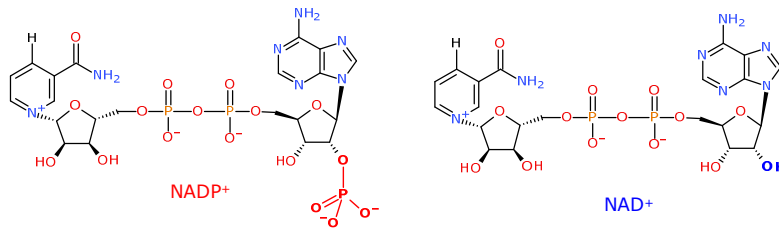
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 114 -

114

NADP⁺ e NAD⁺



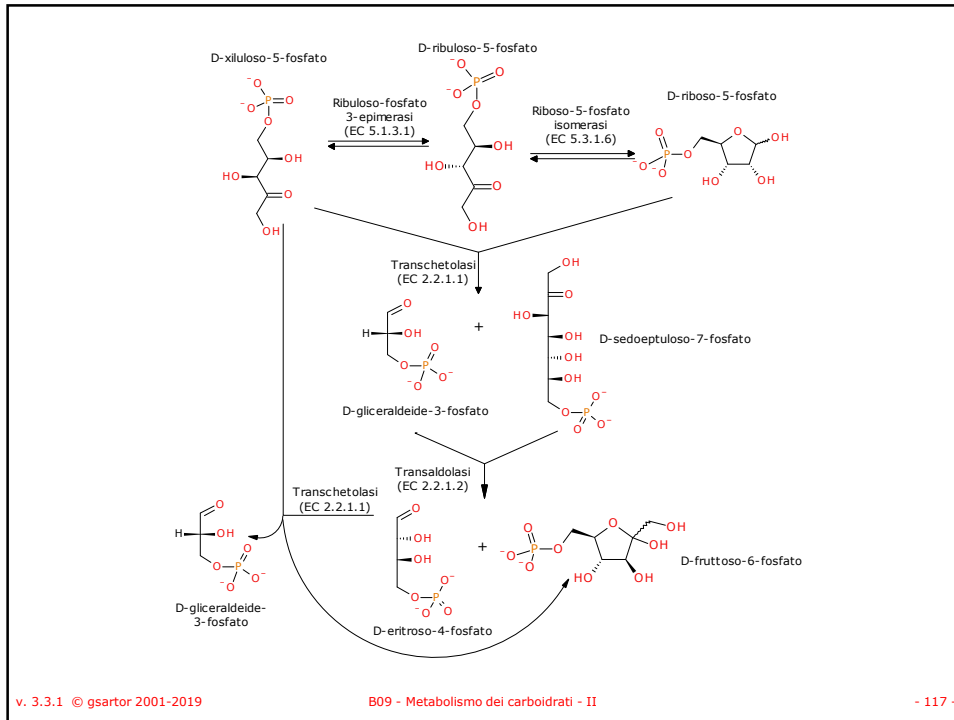
- NAD⁺ e NADP⁺ differiscono solo per la presenza del fosfato legato al riboso nel NADP⁺.
- Per quanto riguarda l'attività redox non vi è sostanziale differenza.
- La presenza del fosfato serve per il riconoscimento di uno o dell'altro dagli enzimi. Ciò permette la separazione delle vie cataboliche e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

115

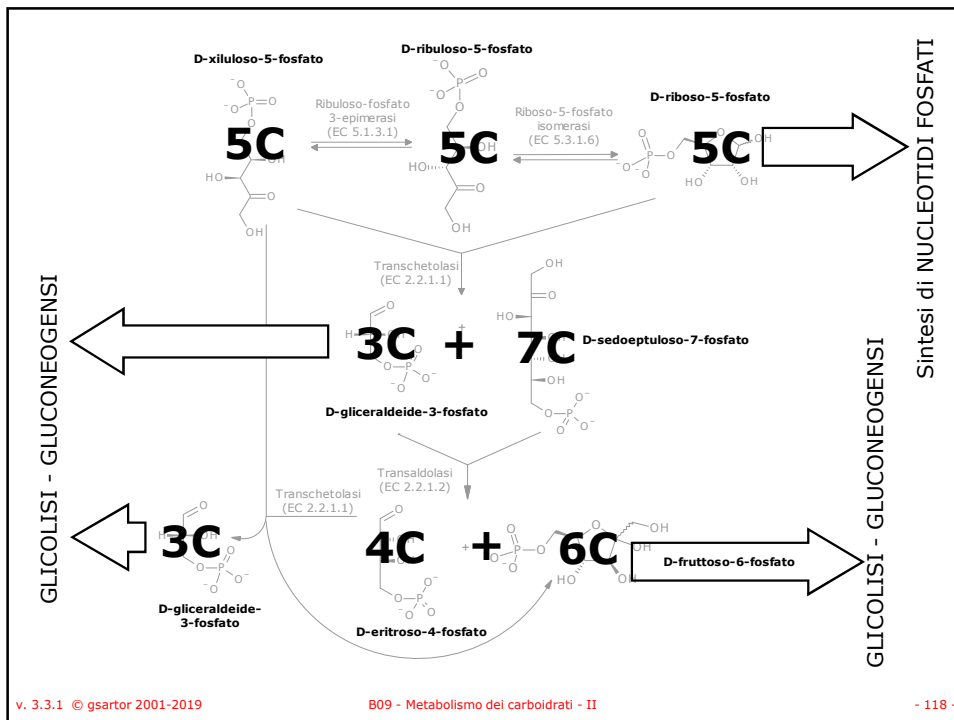
Il resto della via

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

116

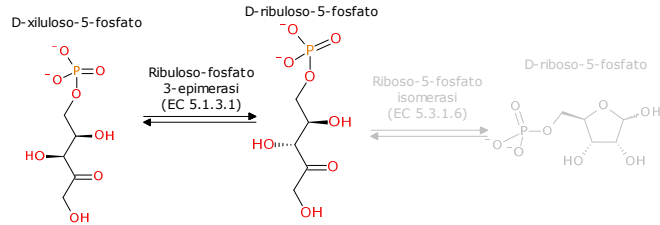


117

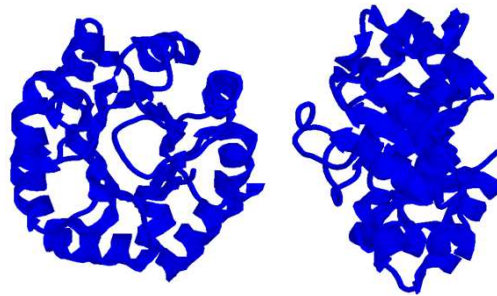


118

Epimerasi (EC 5.1.3.1)



Struttura ad "α-β barrel"



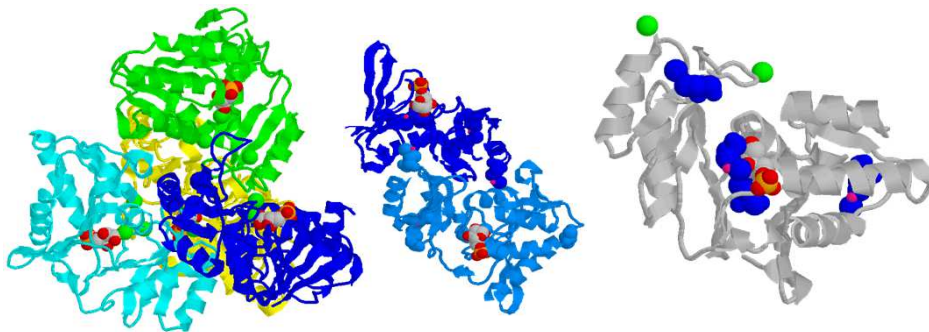
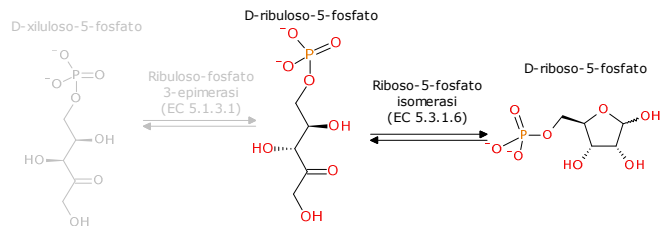
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 119 -

119

Isomerasi (EC 5.3.1.6)



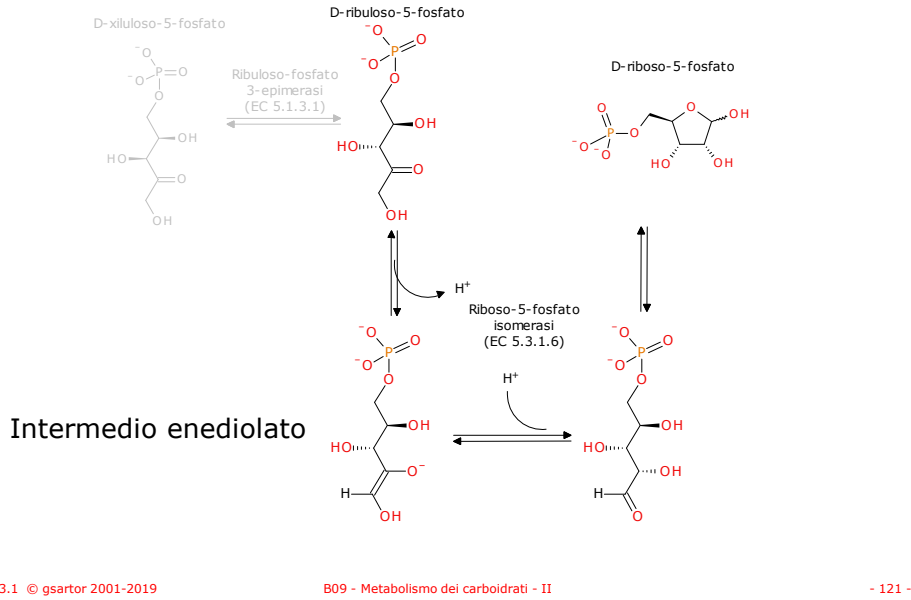
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 120 -

120

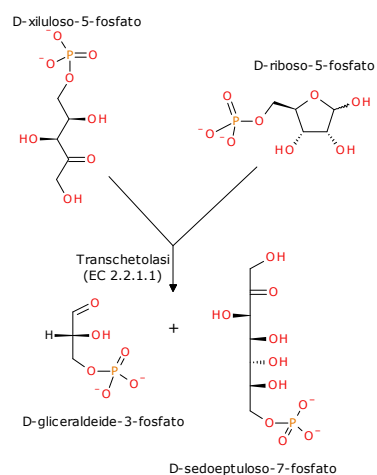
Isomerasi (EC 5.3.1.6)



121

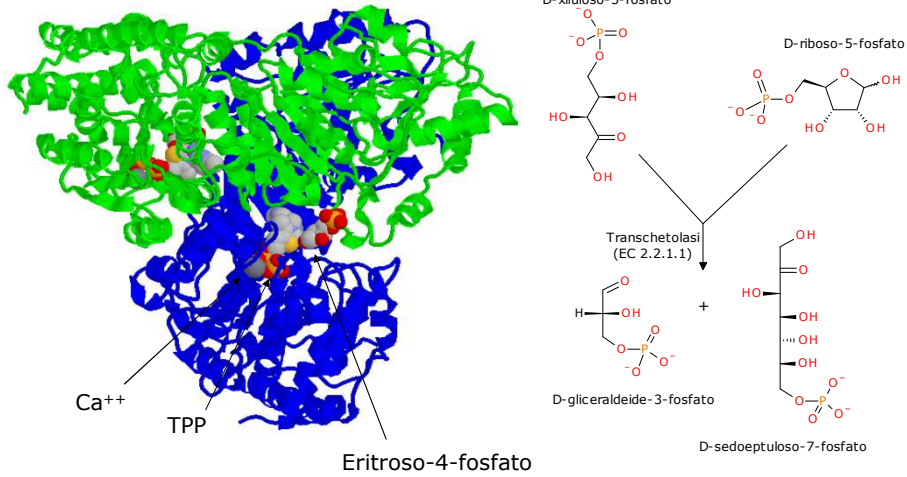
Transchetolasi (EC 2.2.1.1)

- 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).



122

Transchetolasi (EC 2.2.1.1)



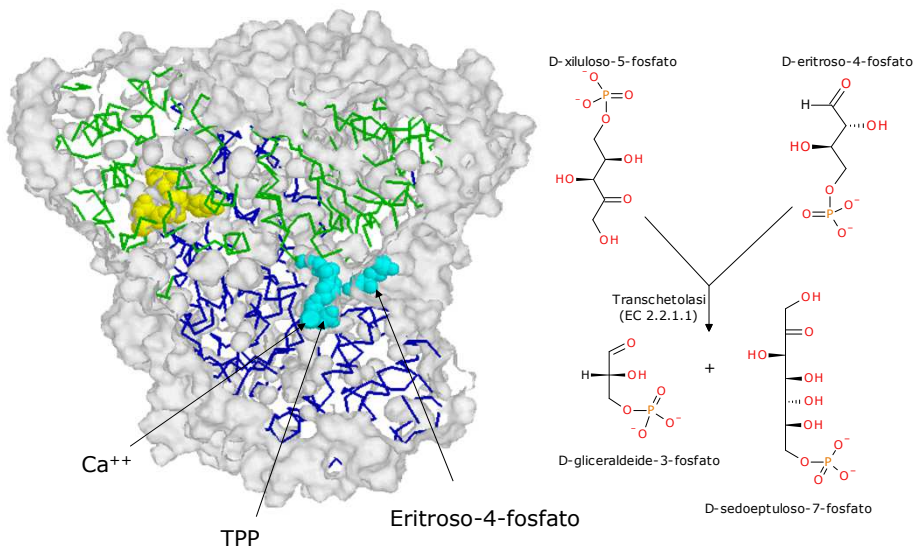
v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 123 -

123

Transchetolasi (EC 2.2.1.1)



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

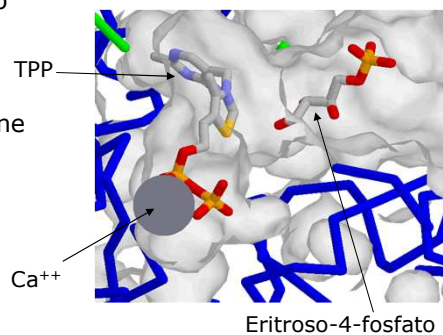
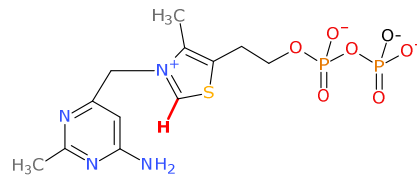
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 124 -

124

Tiaminapirofosfato

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

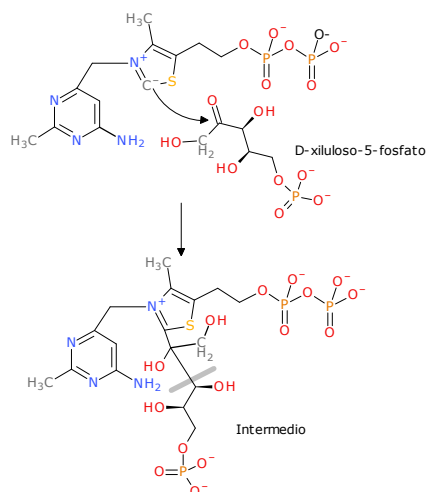
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 125 -

125

Tiaminapirofosfato

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

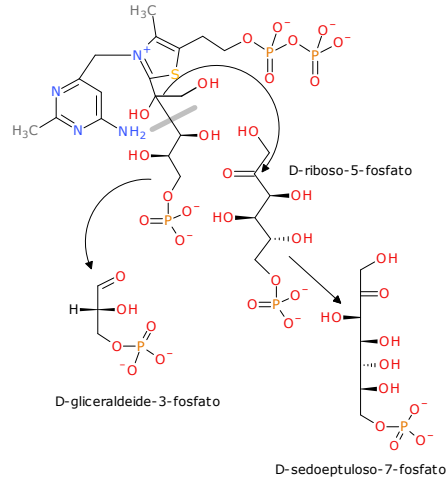
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 126 -

126

Tiaminapirofosfato

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

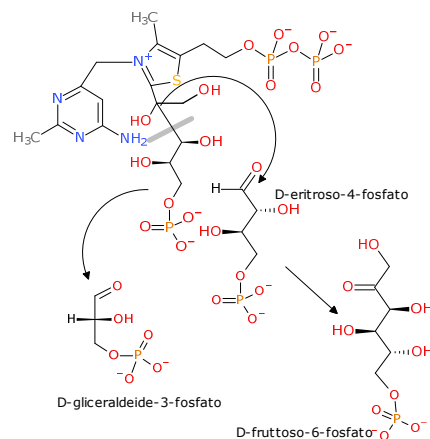
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 127 -

127

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 sull'eritroso-4-P forma il fruttosio-6-7-fosfato.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

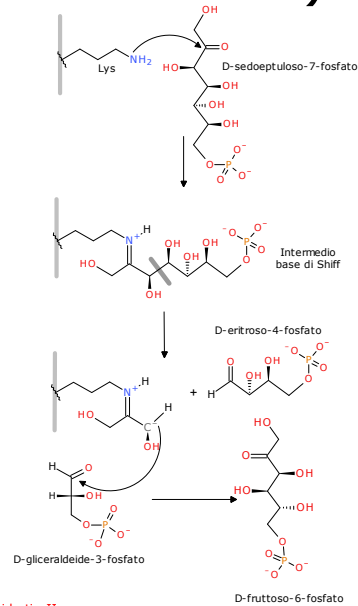
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 128 -

128

Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

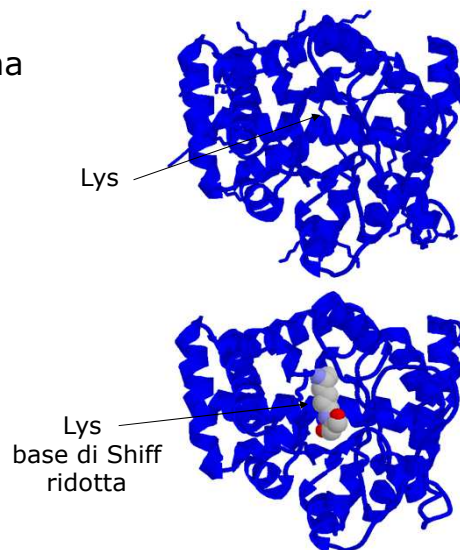
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 129 -

129

Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura α, β barrel.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

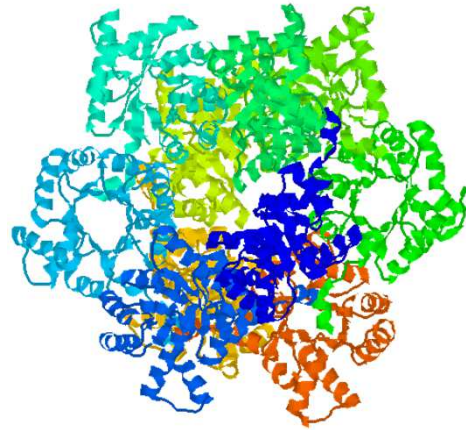
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 130 -

130

Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura α, β barrel.



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

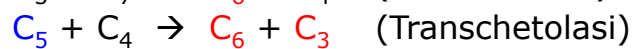
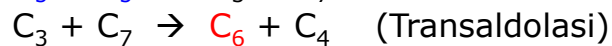
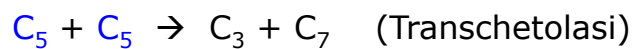
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 131 -

131

Bilancio

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



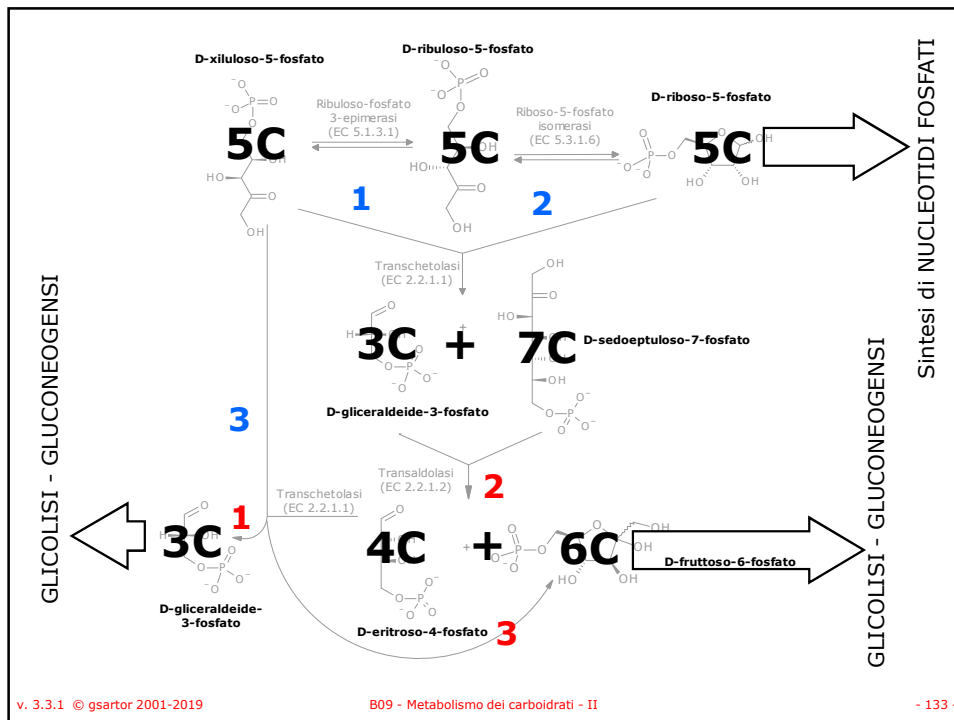
Il glucoso-6-fosfato può esser rigenerato sia da gliceraldeide-3-fosfato che dal fruttosio-6-fosfato attraverso la Gluconeogenesi.

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 132 -

132



133

Strategia

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

v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

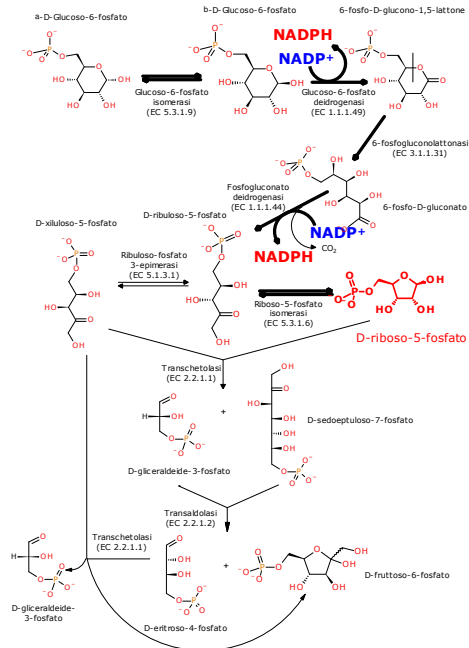
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 134 -

134

Sintesi di ribosio-5-P e NADPH

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

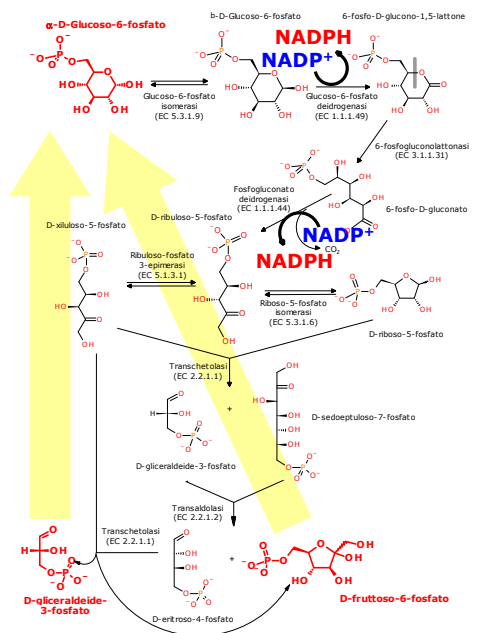
B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 135 -

135

Sintesi di NADPH massimizzata

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



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 136 -

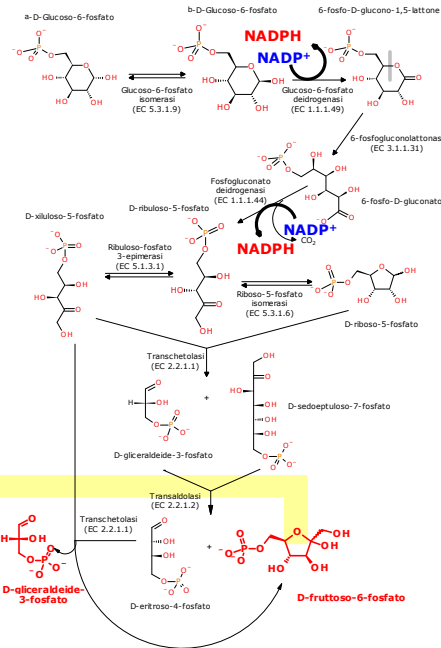
136

Sintesi di NADPH e ATP

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

GLICOLISI

ATP



v. 3.3.1 © gsartor 2001-2019

B09 - Metabolismo dei carboidrati - II

- 137 -

137

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

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

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

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

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna

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

Aggiornato il 22/03/2019 15:03:37

138