

Figura 15.26 Granuli di glicogeno in un epatocita. Il glicogeno, un tipo di deposito dei carboidrati, appare sotto forma di particelle dense agli elettroni, spesso sotto forma di aggregati o rosette. Negli epatociti il glicogeno è strettamente associato ai tubuli del reticolo endoplasmatico liscio. In questa fotografia al microscopio elettronico sono riconoscibili anche molti mitocondri. [Fonte: BCC Microimaging. Riprodotta con autorizzazione.]

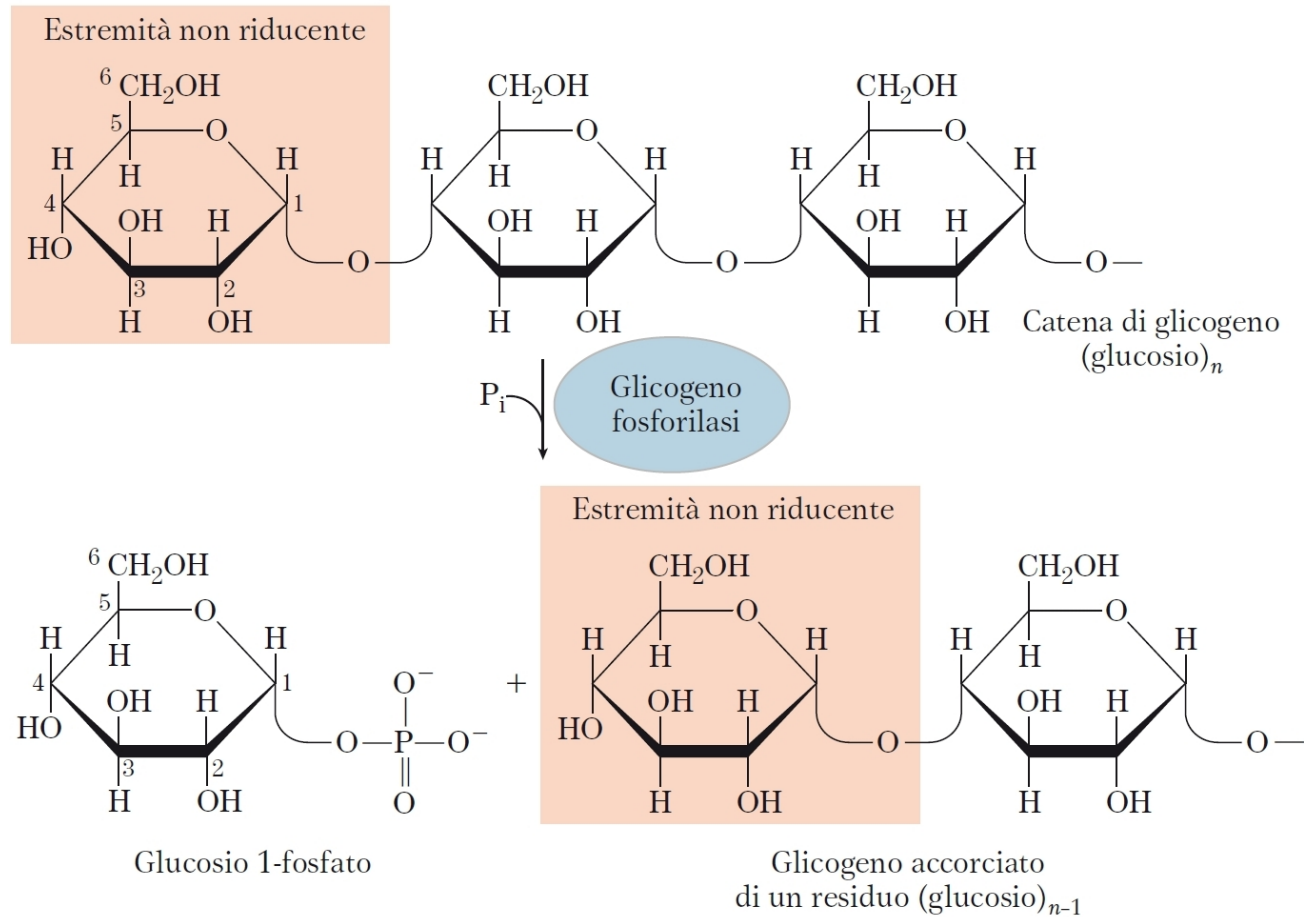


Figura 15.27 Rimozione di un residuo di glucosio dall'estremità non riducente di una catena di glicogeno a opera della glicogeno fosforilasi. Questo processo è ripetitivo; l'enzima rimuove residui di glucosio successivi fino a che raggiunge la quarta unità di glucosio a partire da una ramificazione (vedi la Figura 15.28).

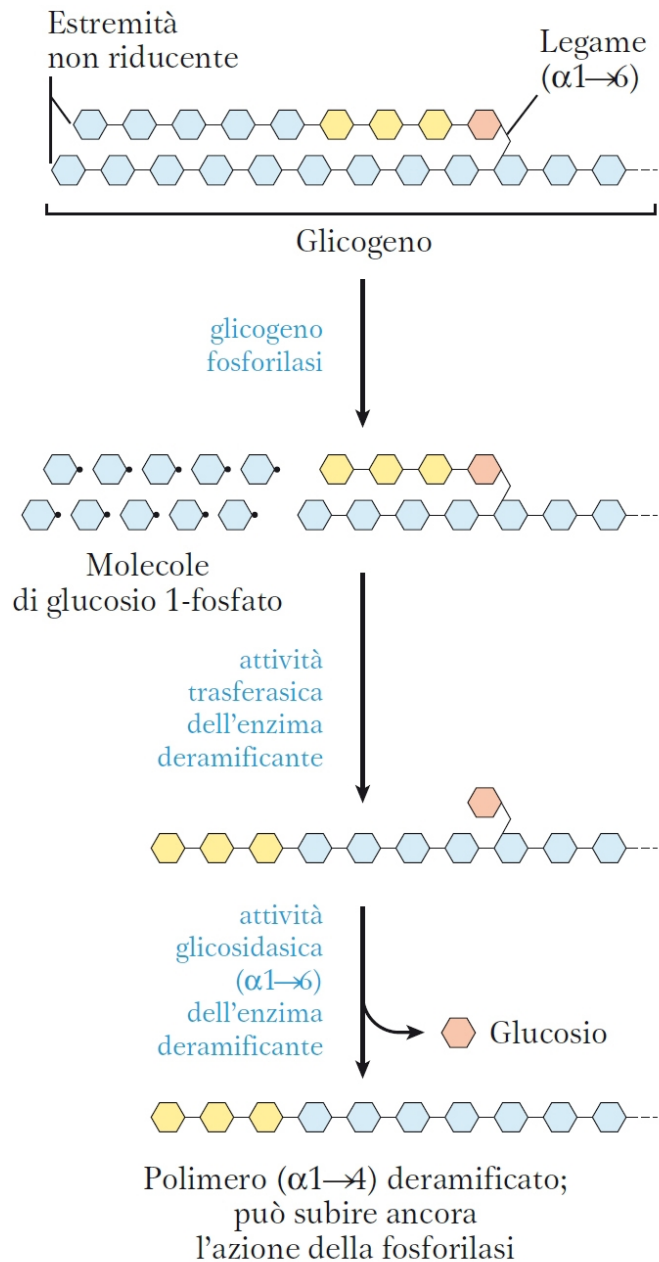


Figura 15.28 Degradazione del glicogeno vicino a un punto di ramificazione ($\alpha 1 \rightarrow 6$). Dopo la rimozione sequenziale dei residui terminali di glucosio da parte della glicogeno fosforilasi (vedi la Figura 15.27), i residui di glucosio vicini a una ramificazione sono rimossi mediante un processo a due tappe che richiede l'azione di un "enzima deramificante" bifunzionale. L'attività trasferasica di questo enzima sposta dapprima un blocco di tre residui dalla ramificazione a un'estremità non riducente vicina, legandolo con un legame glicosidico ($\alpha 1 \rightarrow 4$). Il singolo residuo di glucosio rimasto sul punto della ramificazione, attaccato alla catena mediante un legame ($\alpha 1 \rightarrow 6$), viene rilasciato sotto forma di glucosio libero dall'attività glicosidasica ($\alpha 1 \rightarrow 6$) dell'enzima. I residui di glucosio sono mostrati in forma abbreviata come esagoni, omettendo i gruppi $-H$, $-OH$ e $-CH_2OH$ dall'anello di piranosio.

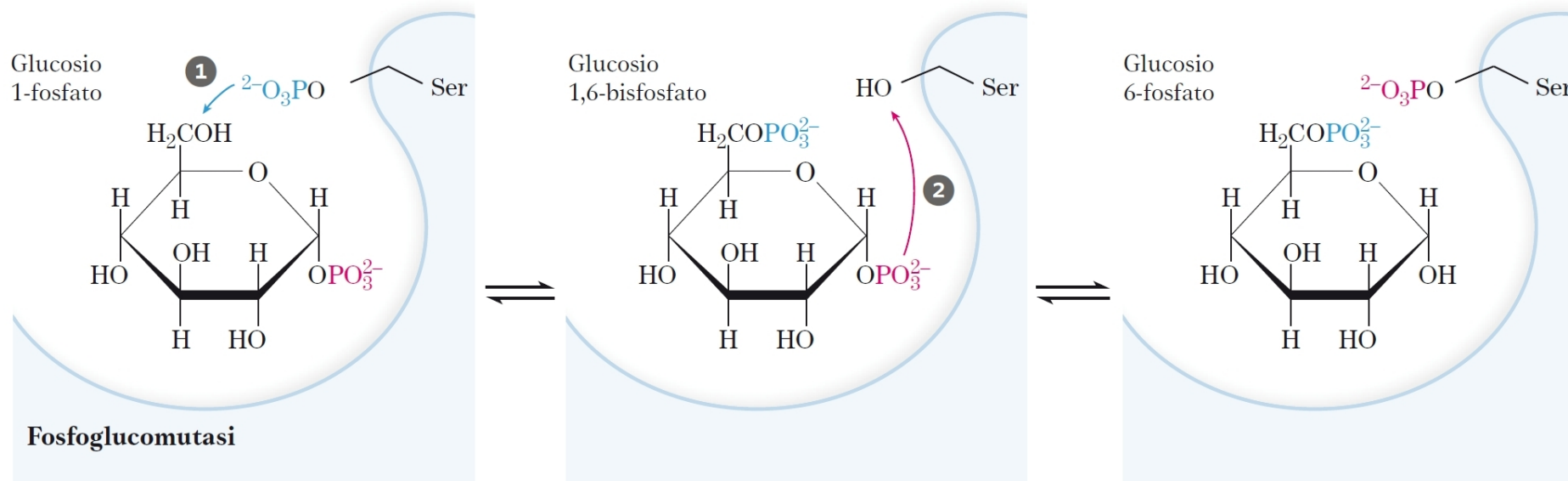


Figura 15.29 La reazione catalizzata dalla fosfoglucomutasi. La reazione ha inizio con la fosforilazione dell'enzima su un residuo di Ser. Nella tappa ①, l'enzima cede il suo gruppo fosforico (in blu) al glucosio 1-fosfato, producendo glucosio

1,6-bisfosfato. Nella tappa ②, il gruppo fosforico sull'atomo C-1 del glucosio 1,6-bisfosfato (in rosso) viene riportato sull'enzima, riformando il fosfoenzima e producendo glucosio 6-fosfato.

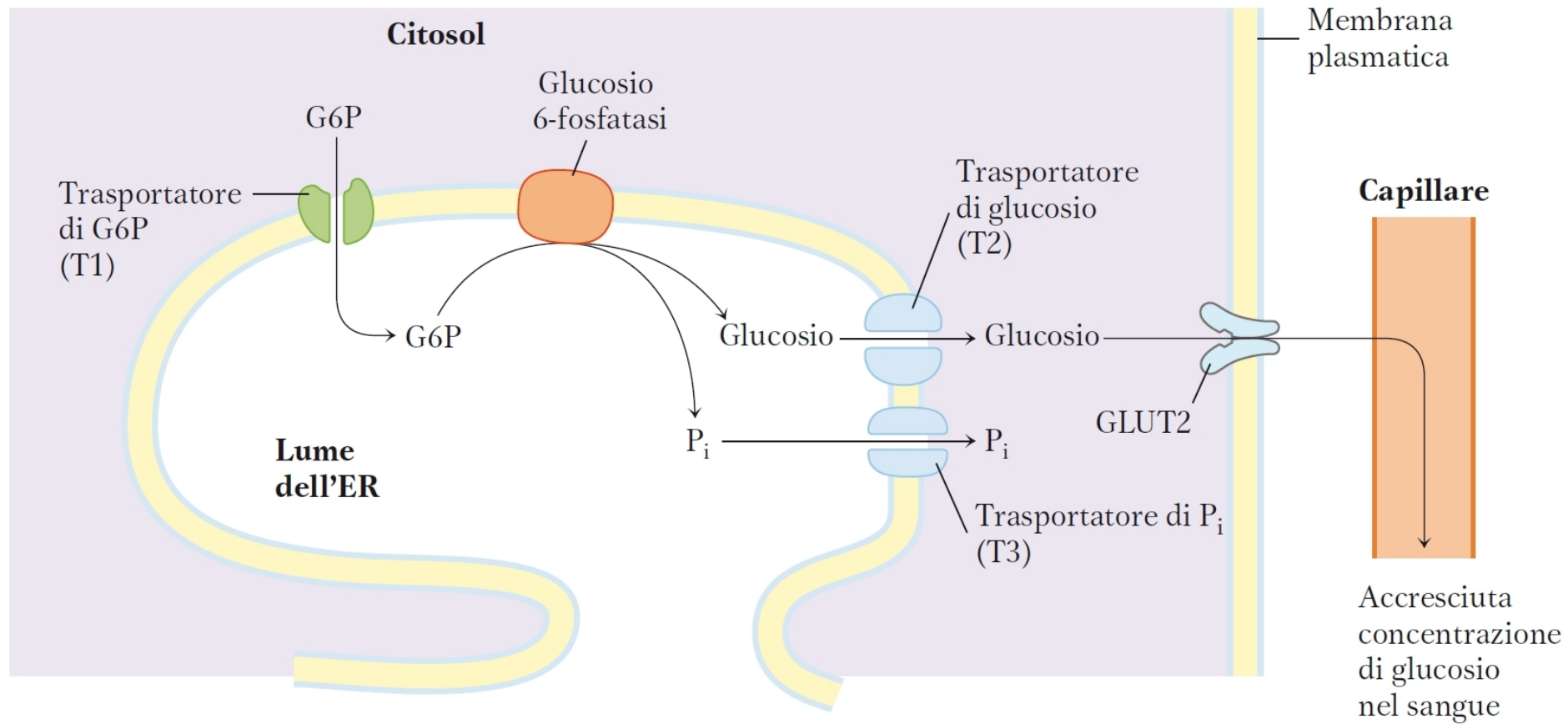
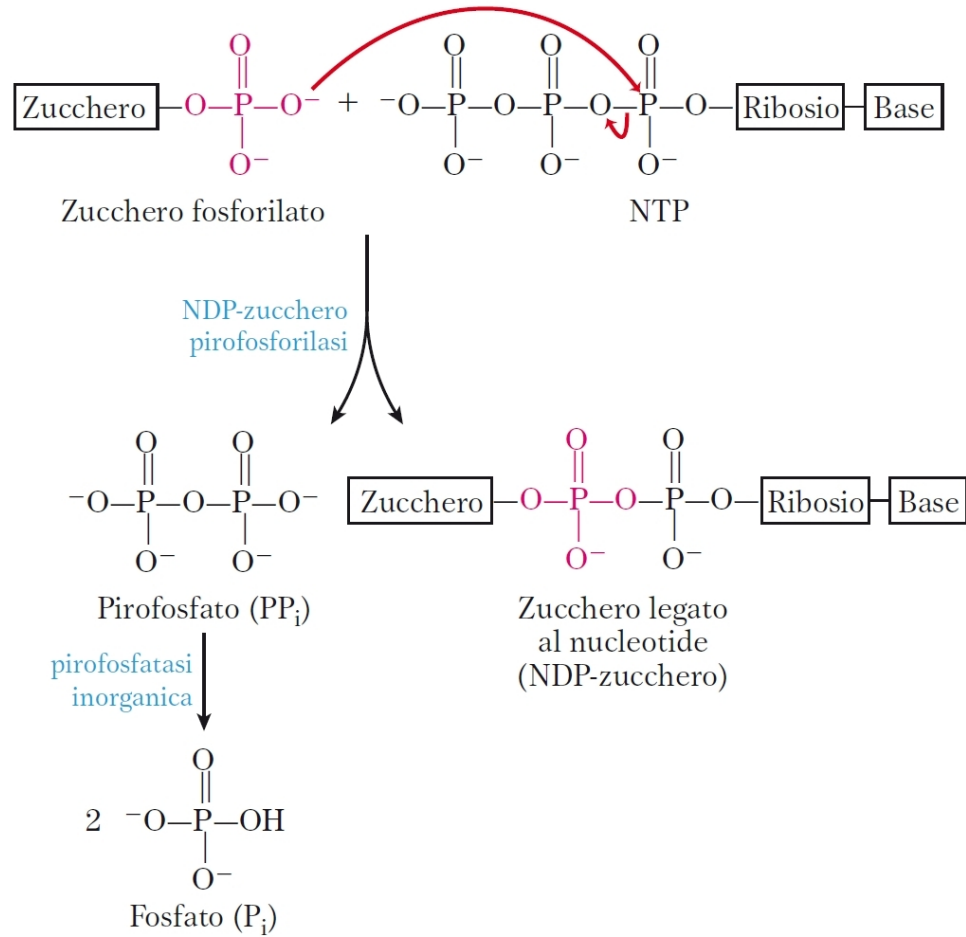
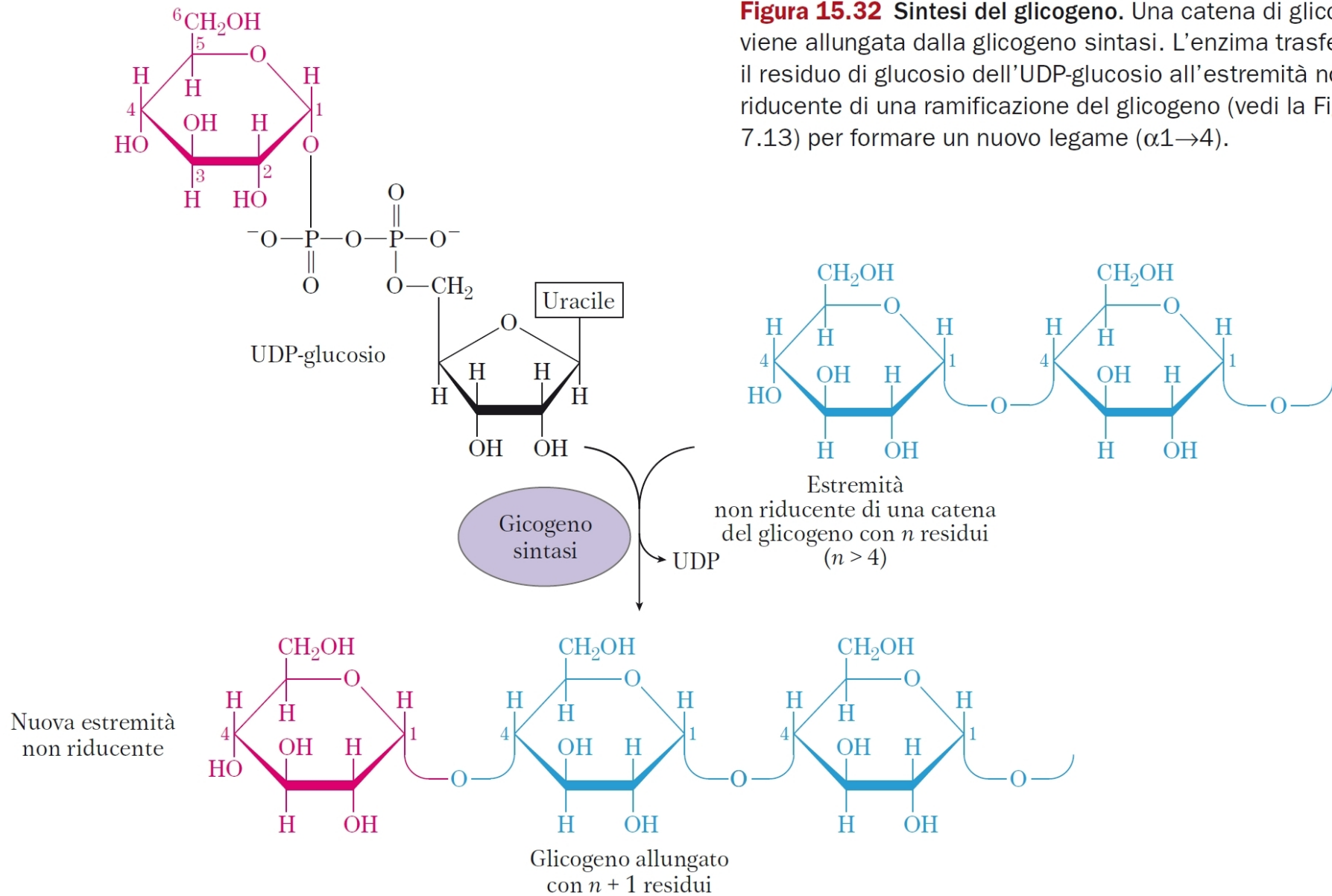


Figura 15.30 Idrolisi del glucosio 6-fosfato a opera della glucosio 6-fosfatasi dell'ER. Il sito catalitico della glucosio 6-fosfatasi si affaccia nel lume dell'ER. Un trasportatore (T1) del glucosio 6-fosfato (G6P) trasferisce il substrato dal citosol al lume, da qui il glucosio e il P_i prodotti passano al citosol attraverso trasportatori specifici (T2 e T3). Il glucosio lascia la cellula attraverso il trasportatore GLUT2 presente sulla membrana plasmatica.



Reazione complessiva: Zucchero fosforilato + NTP → NDP-zucchero + 2P_i

Figura 15.31 Formazione di uno zucchero legato a un nucleotide. Ha luogo una condensazione tra un nucleoside trifosfato (NTP) e uno zucchero fosforilato. L'ossigeno carico negativamente dello zucchero fosforilato si comporta da nucleofilo e attacca il fosfato α del nucleoside trifosfato, liberando pirofosfato. La reazione viene spinta in direzione della sintesi dall'idrolisi del PP_i, catalizzata dalla pirofosfatasi inorganica.



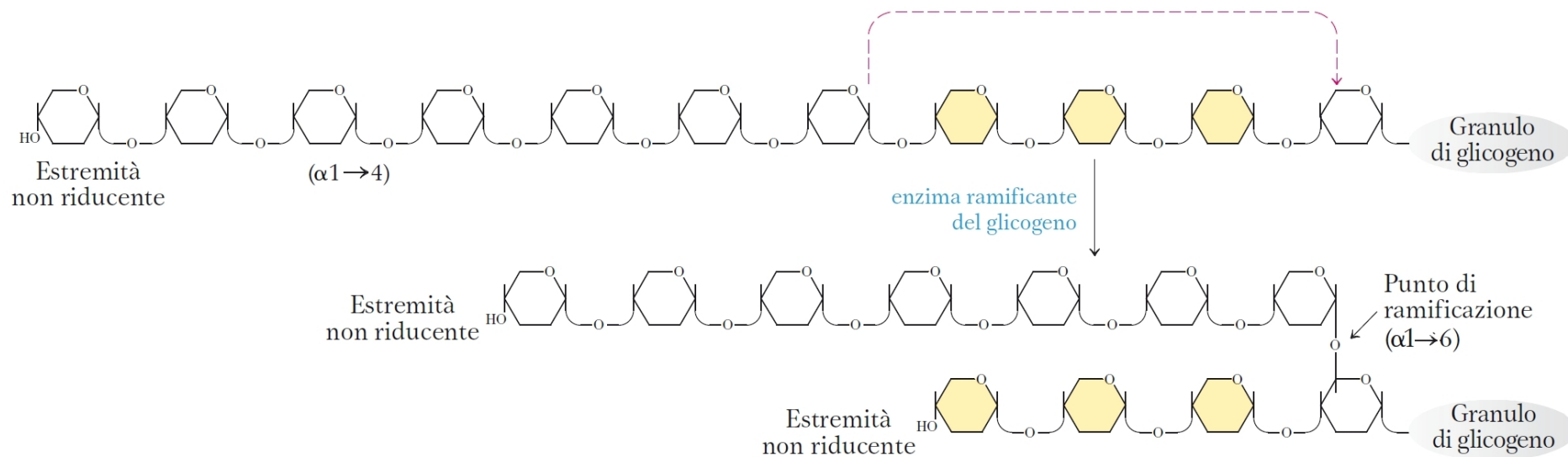


Figura 15.33 Formazione delle ramificazioni nella molecola di glicogeno. L'enzima ramificante, chiamato amilo (1→4) (1→6)

transglicosilasi, o anche glicosil-(4→6)-trasferasi, forma una nuova ramificazione durante la sintesi del glicogeno.

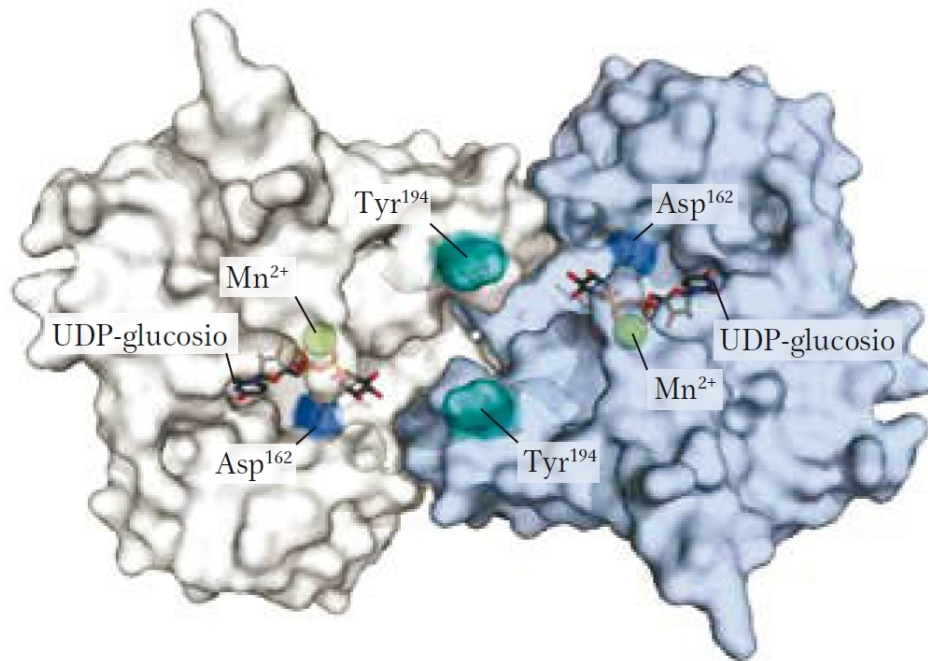


Figura 15.34 Struttura della glicogenina. La glicogenina del muscolo (M_r 37 000) forma dimeri in soluzione. Nel fegato umano si ha una seconda isoforma, la glicogenina-2. Il substrato, UDP-glucosio, è legato a un ripiegamento di Rossmann vicino all'estremità amminoterminale ed è a una certa distanza dai residui Tyr¹⁹⁴, a 15 Å da quello presente nello stesso monomero, 12 Å da quello nel corrispondente dimero. Ciascuna molecola di UDP-glucosio è legata attraverso il suo gruppo fosforico a uno ione Mn²⁺, essenziale per la catalisi. Si ritiene che lo ione Mn²⁺ funga da accettore di una coppia di elettroni (acido di Lewis) al fine di stabilizzare il gruppo UDP uscente. Il legame glicosidico nel prodotto ha la stessa configurazione intorno al C-1 del glucosio come il substrato UDP-glucosio; ciò suggerisce che il trasferimento del glucosio dall'UDP alla Tyr¹⁹⁴ avvenga in due tappe. La prima tappa probabilmente consiste in un attacco nucleofilo da parte dell'Asp¹⁶², che forma un intermedio temporaneo con configurazione invertita. Un secondo attacco nucleofilo da parte della Tyr¹⁹⁴ ripristina la configurazione iniziale. [Fonte: PDB ID 1LL2, B. J. Gibbons et al., *J. Mol. Biol.* 319:463, 2002.]

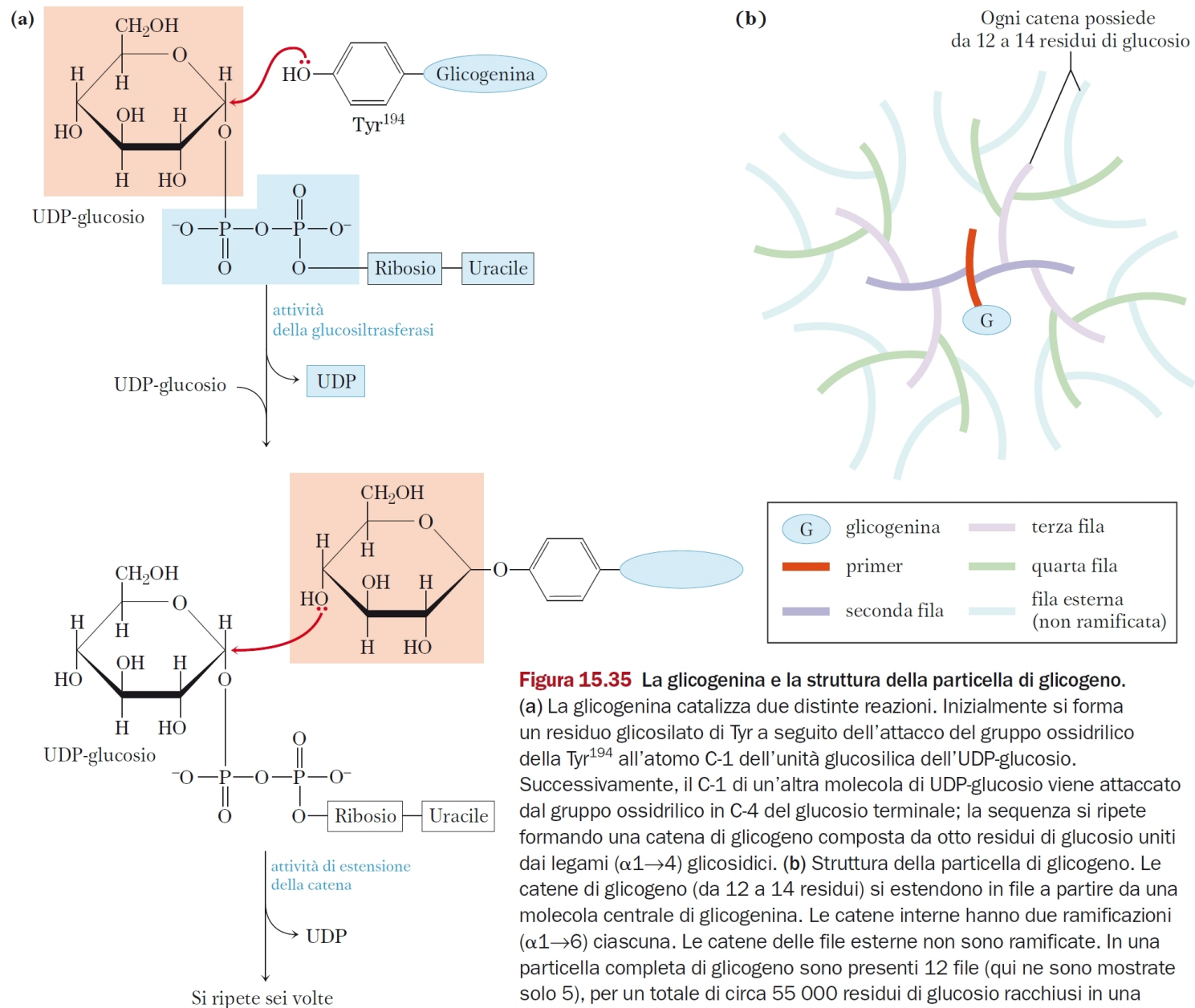


Figura 15.35 La glicogenina e la struttura della particella di glicogeno.

(a) La glicogenina catalizza due distinte reazioni. Inizialmente si forma un residuo glicosilato di Tyr a seguito dell'attacco del gruppo ossidrilico della Tyr¹⁹⁴ all'atomo C-1 dell'unità glucosilica dell'UDP-glucosio. Successivamente, il C-1 di un'altra molecola di UDP-glucosio viene attaccato dal gruppo ossidrilico in C-4 del glucosio terminale; la sequenza si ripete formando una catena di glicogeno composta da otto residui di glucosio uniti dai legami ($\alpha 1 \rightarrow 4$) glicosidici. (b) Struttura della particella di glicogeno. Le catene di glicogeno (da 12 a 14 residui) si estendono in file a partire da una molecola centrale di glicogenina. Le catene interne hanno due ramificazioni ($\alpha 1 \rightarrow 6$) ciascuna. Le catene delle file esterne non sono ramificate. In una particella completa di glicogeno sono presenti 12 file (qui ne sono mostrate solo 5), per un totale di circa 55 000 residui di glucosio racchiusi in una molecola di circa 21 nm di diametro e una massa (M_r) \sim di 10^7 .

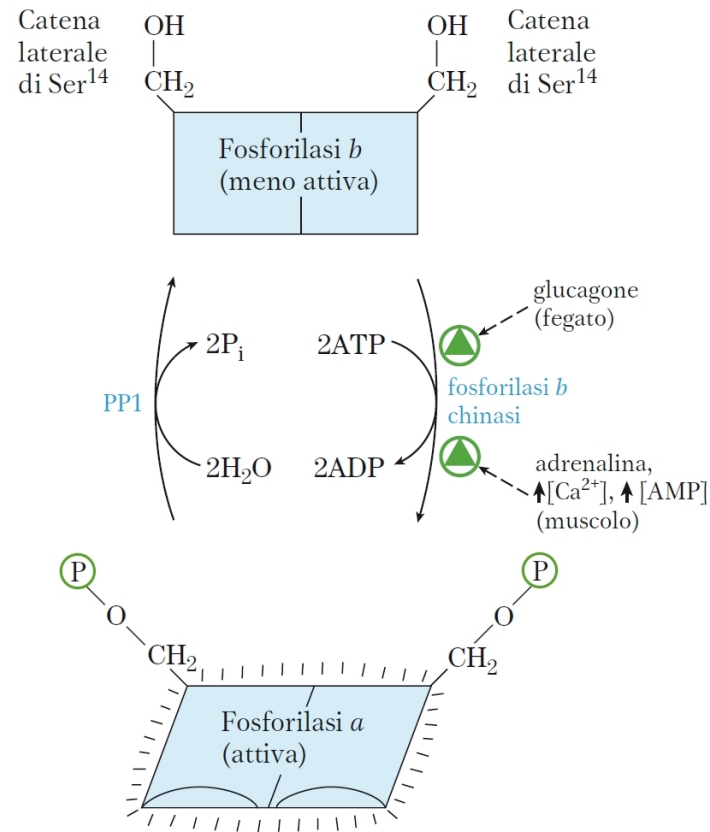


Figura 15.36 Regolazione per modificazione covalente della glicogeno fosforilasi muscolare. Nella forma più attiva dell'enzima, la fosforilasi a, i residui della Ser¹⁴, uno per ogni subunità, sono fosforilati. La fosforilasi a viene convertita in una forma meno attiva, la fosforilasi b, per rimozione enzimatica dei gruppi fosforici legati alla Ser¹⁴, una reazione catalizzata dalla fosforilasi a fosfatasi (nota anche col nome di fosfoproteina fosfatasi 1, PP1). La fosforilasi b può essere riconvertita (riattivata) in fosforilasi a, per azione della fosforilasi b chinasi. (Vedi anche la Figura 6.43 per la regolazione della glicogeno fosforilasi.)

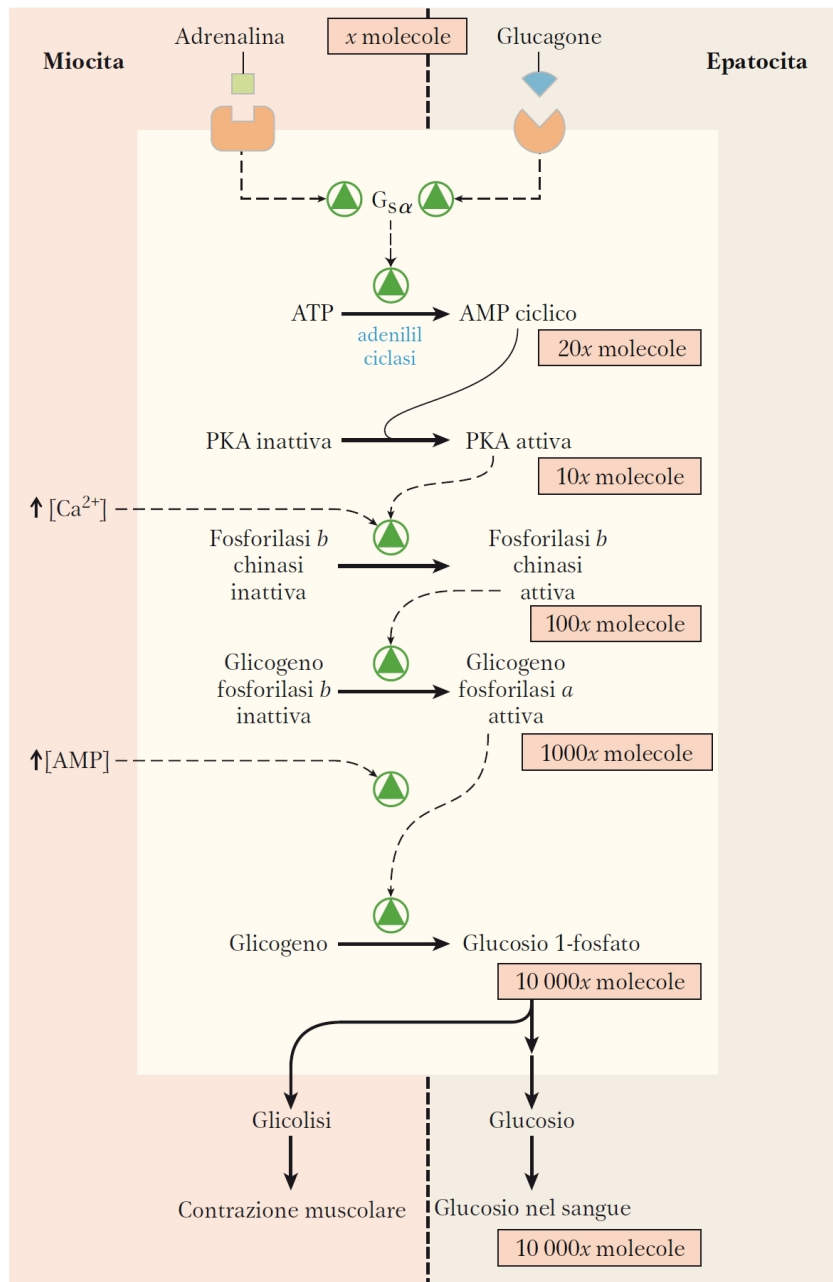


Figura 15.37 Cascata enzimatica attivata dall'adrenalina e dal glucagone. L'adrenalina, che si lega a specifici recettori sui miociti (a sinistra), e il glucagone, che agisce invece sugli epatociti (a destra), attivano la proteina che lega il GTP $G_{s\alpha}$ (vedi la Figura 12.7). La proteina $G_{s\alpha}$ attivata innesca un aumento della concentrazione di cAMP, che a sua volta attiva PKA. Ciò dà il via a una cascata di fosforilazioni; la PKA attiva la fosforilasi b chinasi, che poi attiva la glicogeno fosforilasi. Tale effetto a cascata amplifica il segnale iniziale; i numeri nei rettangoli in rosa sono stime, probabilmente per difetto, dell'aumento del numero di molecole a ogni stadio della cascata. Il risultato è la demolizione del glicogeno in glucosio, che nei miociti può essere utilizzato per produrre ATP (attraverso la glicolisi), necessario al muscolo per la contrazione, mentre negli epatociti può essere trasferito al sangue per controbilanciare la diminuita concentrazione del glucosio.

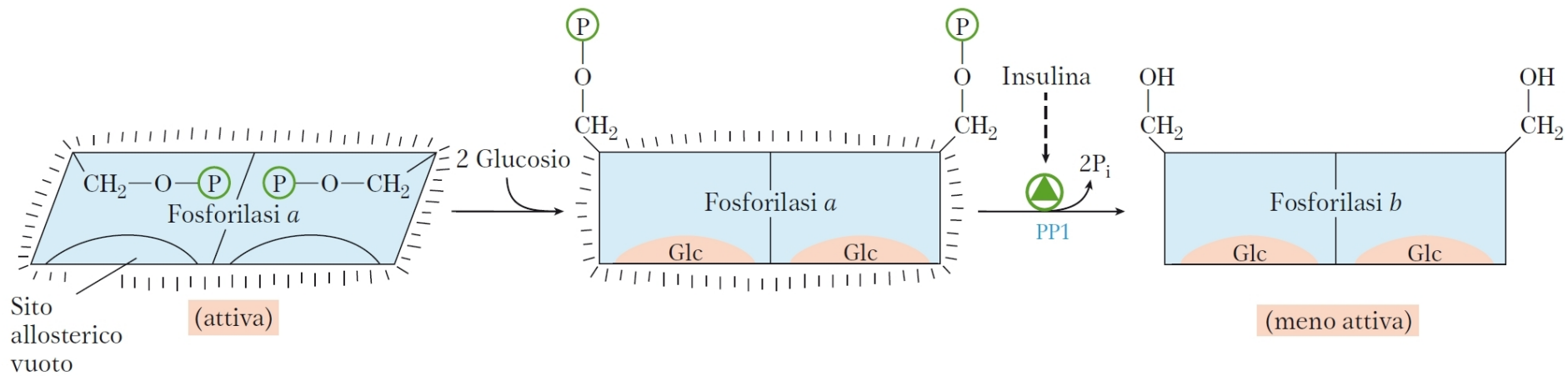


Figura 15.38 La glicogeno fosforilasi del fegato come sensore di glucosio. Il legame del glucosio a un sito allosterico dell'isozima fosforilasi a del fegato induce una modificazione conformazionale che espone il suo residuo di Ser fosforilato all'azione della fosfoproteina fosfatasi (PP1). Questa fosfatasi

converte la fosforilasi a in fosforilasi b, riducendo drasticamente l'attività dell'enzima e rallentando la degradazione del glicogeno in risposta a un'elevata concentrazione di glucosio nel sangue. L'insulina agisce anche indirettamente stimolando la PP1 e rallentando la demolizione del glicogeno.

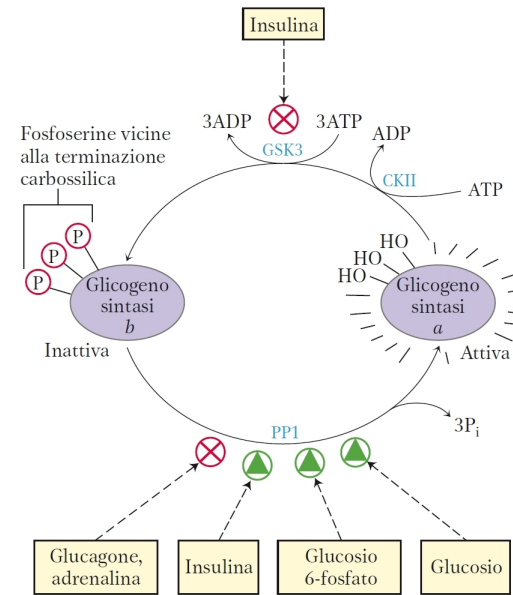


Figura 15.39 Effetti della GSK3 sull'attività glicogeno sintasica. La glicogeno sintasi *a*, la forma attiva, ha tre residui di Ser vicini alla sua estremità carbossilica, che vengono fosforilati dalla glicogeno sintasi chinasi 3 (GSK3). La fosforilazione converte la glicogeno sintasi nella sua forma inattiva (*b*). L'azione della GSK3 richiede una fosforilazione preliminare (priming) da parte della caseina chinasi II (CKII). L'insulina dà il via al processo di attivazione della glicogeno sintasi *b*, bloccando l'attività della GSK3 (vedi la Figura 12.20 che illustra questo processo) e attivando una fosfoproteina fosfatasi (la PP1 nel muscolo, un'altra fosfatasi nel fegato). Nel muscolo l'adrenalina attiva la PKA, che fosforila la proteina che identifica il glicogeno G_m (vedi la Figura 15.42), in un sito che provoca la dissociazione della PP1 dal glicogeno. Il glucosio 6-fosfato favorisce la defosforilazione della glicogeno sintasi, legandosi a essa e promuovendo una conformazione della sintasi che è un buon substrato per la PP1. Il glucosio promuove invece un processo di defosforilazione. Il legame del glucosio alla glicogeno fosforilasi *a* determina una modificazione conformazionale che favorisce la sua defosforilazione a glicogeno fosforilasi *b*, rimuovendo così l'effetto inibitorio della PP1 (vedi la Figura 15.41).

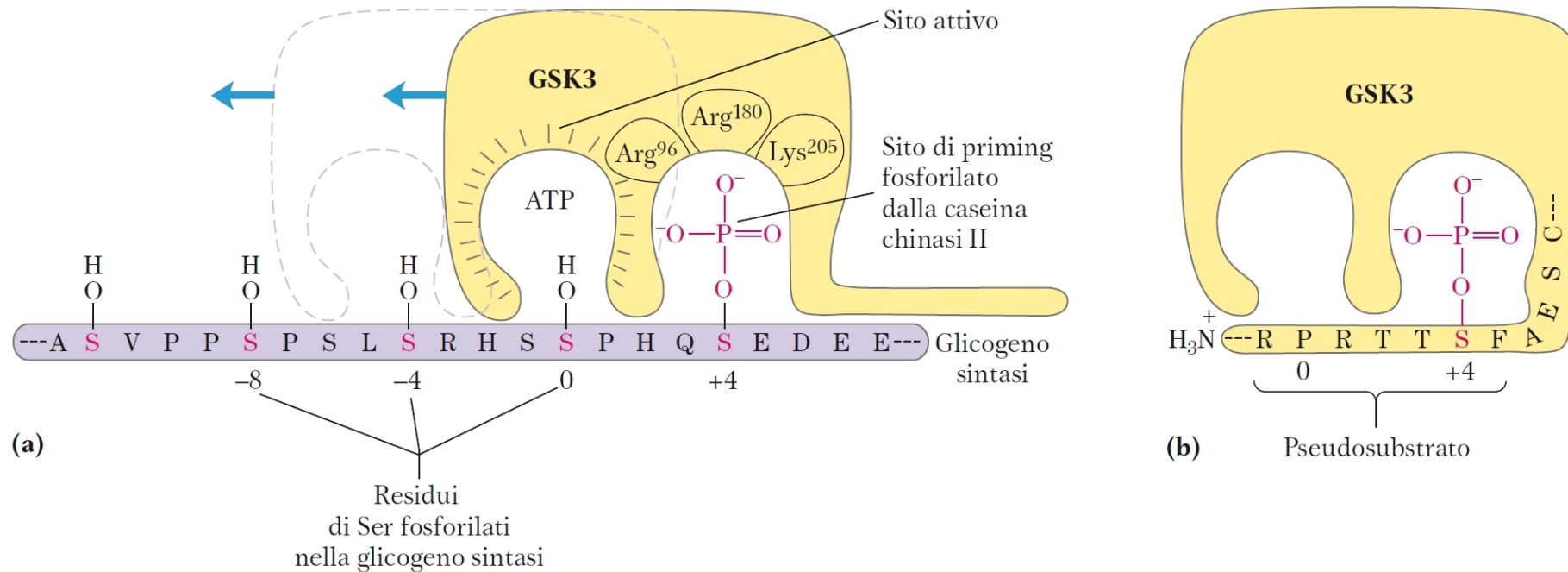


Figura 15.40 Priming della fosforilazione della glicogeno sintasi da parte di GSK3. (a) La glicogeno sintasi chinasi 3 si lega alla sua proteina substrato (la glicogeno sintasi) tramite l'interazione di tre suoi residui carichi positivamente (Arg⁹⁶, Arg¹⁸⁰, Lys²⁰⁵) con un residuo di fosfoserina nella posizione +4 nel substrato. (Per orientarsi meglio, al residuo di Ser o di Thr che verrà fosforilato nel substrato si assegna di norma la posizione 0. I residui sul lato amminotermine di questo residuo sono numerati -1, -2, e così via; i residui sul lato carbossiterminale sono numerati +1, +2, e così via.) Questa associazione comporta l'allineamento del sito attivo dell'enzima con un residuo di Ser in posizione 0, che viene così fosforilato. Si crea in questo modo un nuovo sito di priming e l'enzima

si muove lungo la proteina per fosforilare il residuo di Ser in posizione -4 e poi il residuo di Ser in posizione -8. (b) GSK3 ha un residuo di Ser vicino all'estremità amminotermine che può essere fosforilato da PKA o da PKB (vedi la Figura 15.41). Si produce così una regione "pseudosubstrato" nella GSK3 che si ripiega sul sito di priming e rende il sito attivo inaccessibile a un substrato proteico, inibendo GSK3 fintanto che il gruppo fosforico di priming creato sul suo pseudosubstrato non viene rimosso dalla PP1. Anche altre proteine substrato della GSK3 hanno un sito di priming in posizione +4; questo deve essere fosforilato da un'altra proteina chinasi prima che GSK3 possa agire. (Vedi anche le Figure 6.38 e 12.25b sulla regolazione della glicogeno sintasi.)

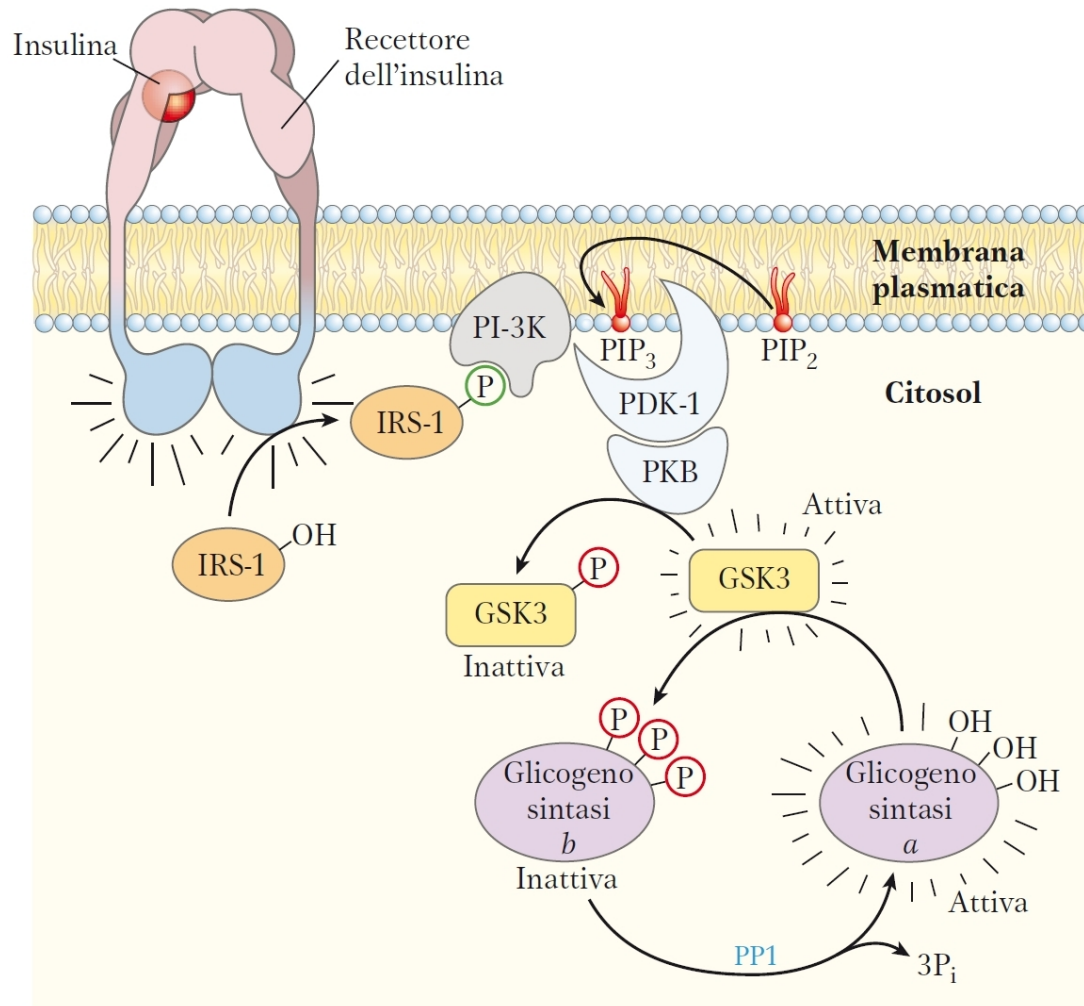


Figura 15.41 La via da insulina a GSK3 e a glicogeno sintasi. Il legame dell'insulina con il suo recettore attiva una tirosina proteina chinasi presente nello stesso recettore, che poi fosforila il substrato-1 del recettore dell'insulina (IRS-1). Il residuo di fosfotirosina prodotto da questa proteina viene riconosciuto dalla fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI-3K), che converte il fosfatidilinositolo 4,5-bisfosfato (PIP₂) della membrana in fosfatidilinositolo 3,4,5-trisfosfato (PIP₃). Una proteina chinasi (PDK-1) che è attiva se è legata a PIP₃, determina l'attivazione di una seconda proteina chinasi (PKB), che fosforila la glicogeno sintasi chinasi 3 (GSK3) nella sua regione pseudosubstrato, inattivandola con il meccanismo illustrato nella Figura 15.40b. L'inattivazione di GSK3 permette alla fosfoproteina fosfatasi 1 (PP1) di defosforilare la glicogeno sintasi, convertendola nella sua forma attiva. In questo modo l'insulina stimola la sintesi del glicogeno. (Vedi la Figura 12.20 per maggiori dettagli sull'azione dell'insulina.)

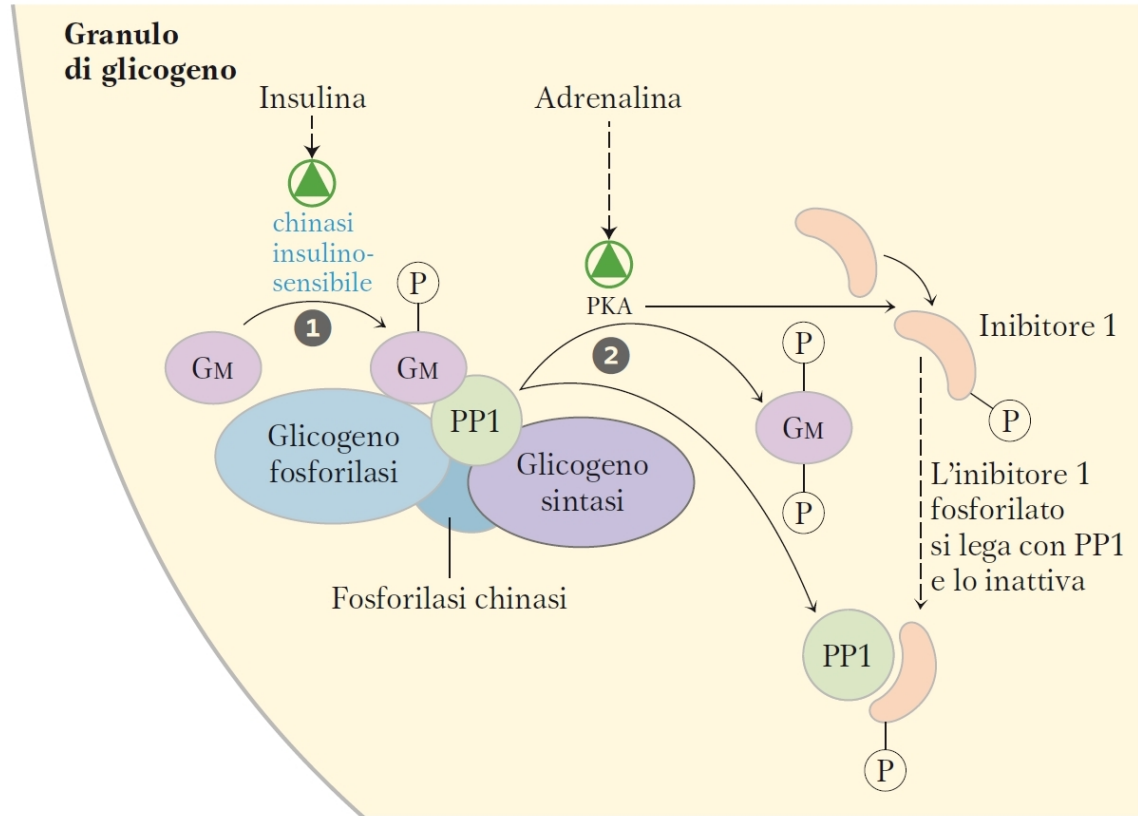


Figura 15.42 La proteina G_M ha come bersaglio il glicogeno. La proteina G_M fa parte di una famiglia di proteine che legano altre proteine (fra cui PP1) alle particelle di glicogeno. G_M può essere fosforilata in due diverse posizioni in risposta all'insulina o all'adrenalina.

❶ La fosforilazione stimolata dall'insulina del sito 1 di G_M attiva PP1, che defosforila la fosforilasi chinasi, la glicogeno fosforilasi e la glicogeno sintasi. ❷ La fosforilazione del sito 2 di G_M stimolata dall'adrenalina provoca la dissociazione di PP1 dalle particelle di glicogeno, impedendo il suo accesso alla glicogeno fosforilasi e alla glicogeno sintasi. La PKA fosforila anche una proteina (l'inibitore 1) che, quando è fosforilata, inibisce PP1. Attraverso questi meccanismi l'insulina inibisce la degradazione e stimola la sintesi del glicogeno, mentre l'adrenalina (o il glucagone nel fegato) ha l'effetto contrario.

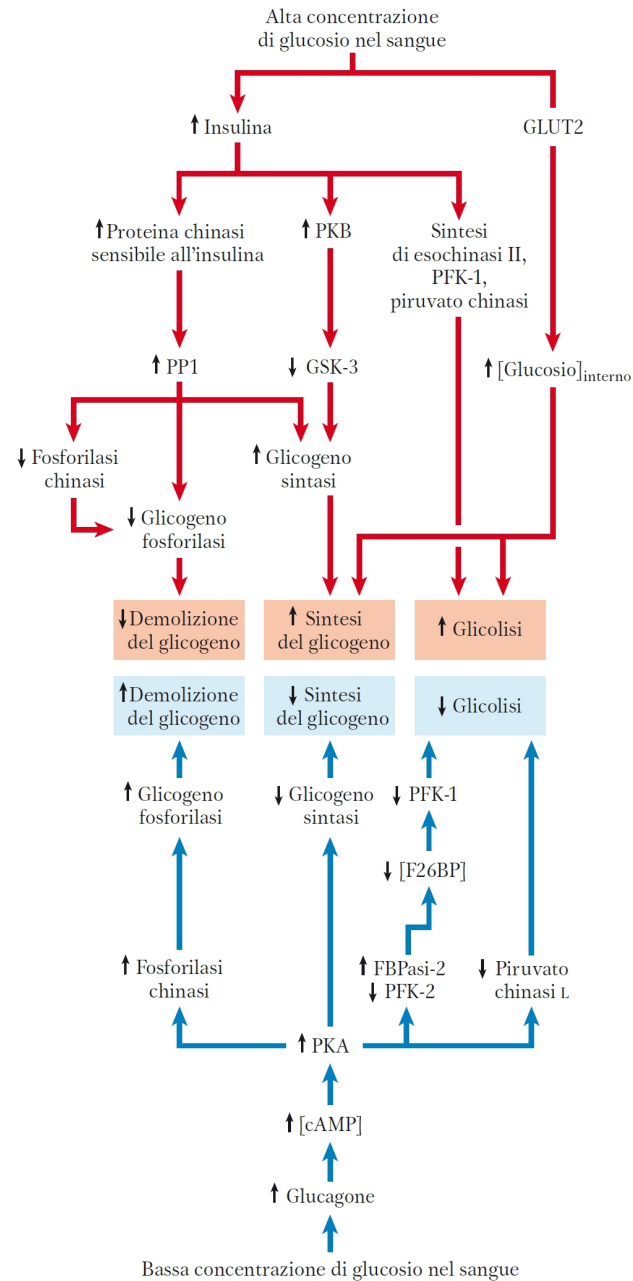


Figura 15.43 Regolazione del metabolismo dei carboidrati nel fegato. Le frecce indicano le relazioni tra le variazioni che esse connettono. Per esempio, una freccia (blu o rossa) da ↓ A verso ↑ B significa che una diminuzione di A causa un aumento di B. Le frecce rosse collegano eventi determinati da alti livelli di glucosio nel sangue. Le frecce blu collegano eventi indotti da bassi livelli di glucosio nel sangue.

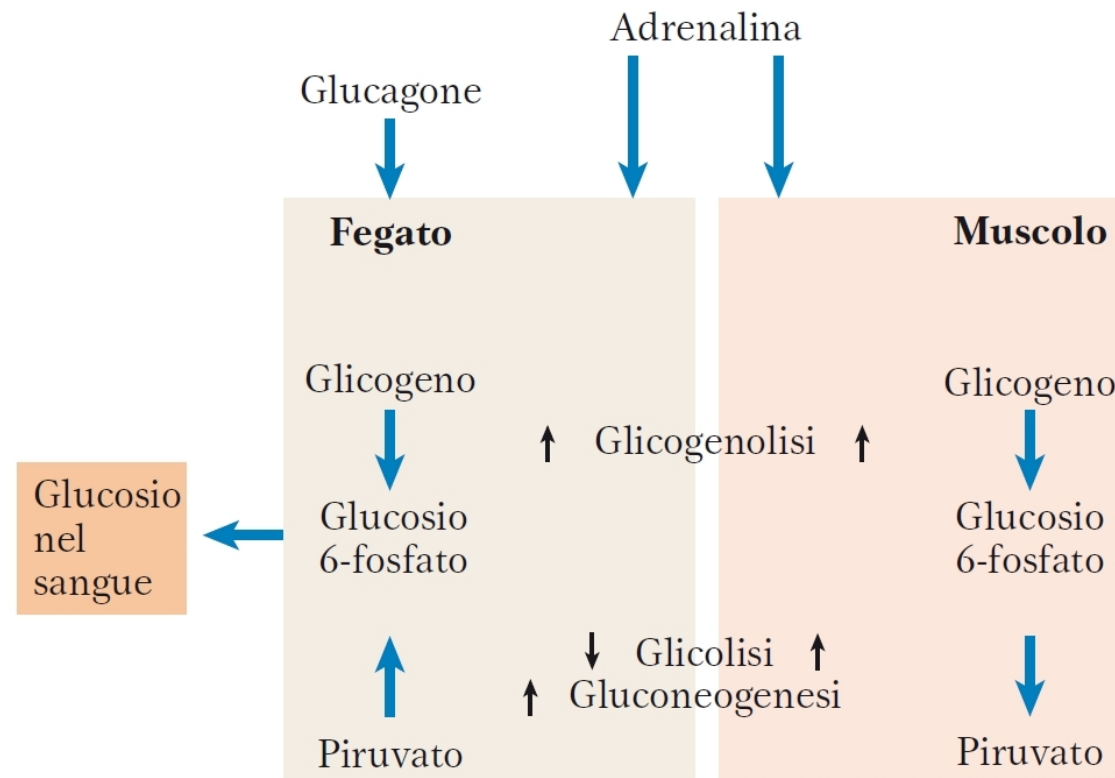


Figura 15.44 Differenze tra la regolazione del metabolismo dei carboidrati nel fegato e nel muscolo. Nel fegato il glucagone (che segnala una ridotta concentrazione di glucosio nel sangue) o l'adrenalina (che segnala una condizione di "combatti o fuggi") hanno l'effetto di favorire il trasferimento di glucosio al flusso ematico. Nel muscolo, l'adrenalina aumenta la demolizione del glicogeno e la velocità della glicolisi, che insieme forniscono il combustibile per la produzione dell'ATP necessaria alla contrazione muscolare.