

CDL CHIMICA



Corso di Biochimica (6 CFU) 48 ore

Prof.ssa **Alessandra Olianias**



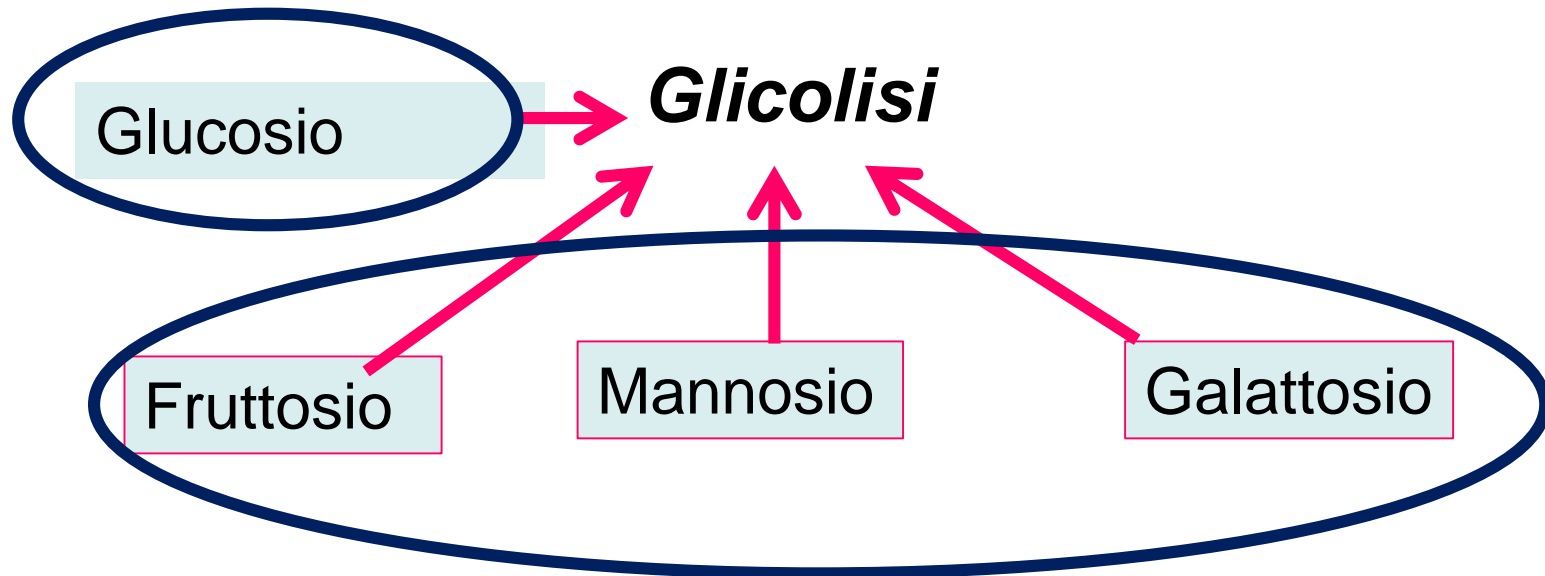
Prof.ssa Alessandra Olianas

Dip. Scienze della Vita e dell'Ambiente
Sezione Biomedica (laboratorio di Biochimica)
Tel. 0706754507 (studio)

Ricevimento studenti: **si riceve per appuntamento**

olianas@unica.it

Altri monosaccaridi entrano come substrati nella glicolisi

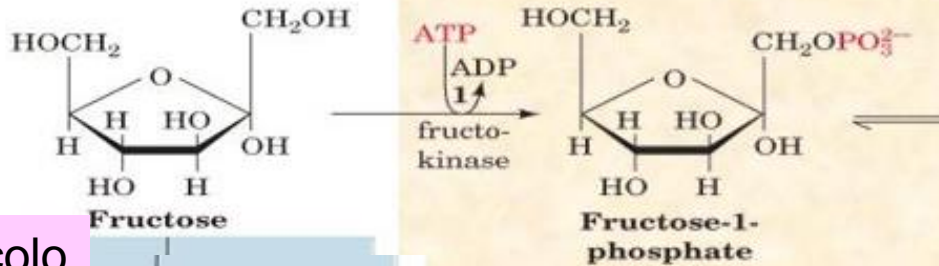


Fruttosio

D-Fruttosio viene fosforilato da una esochinasi

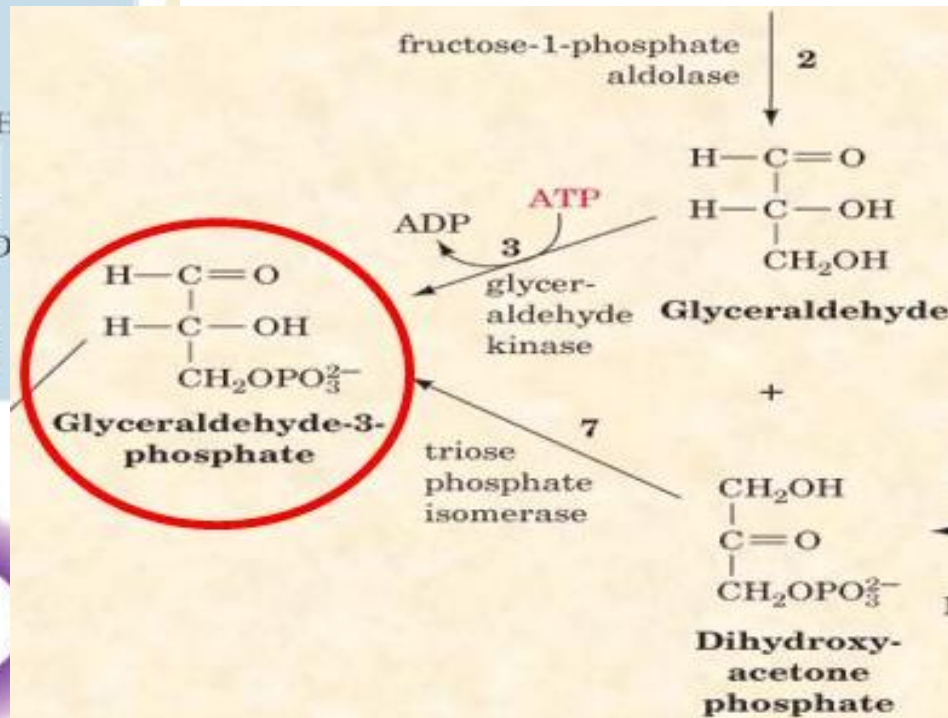
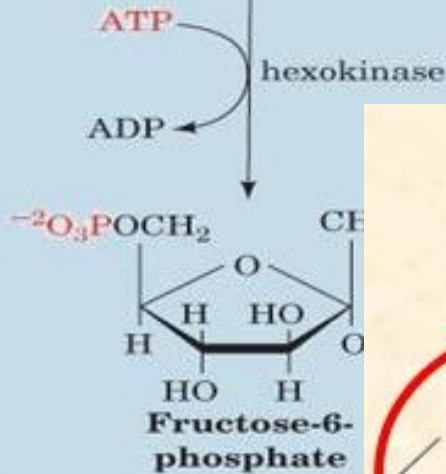
Fegato

Una fruttochinasi fosforila in C1



Muscolo

Una aldolasi taglia F-1-P in Gliceraldeide e diidrossiacetoneP



Glycolysis

(a)

First reaction

Glucosio

Glucosio 6-fosfato

Fruttosio 6-fosfato

Glyceralehyde-3-P

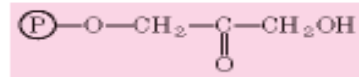
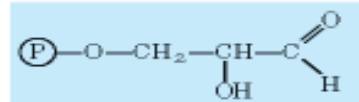
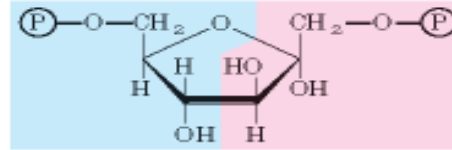
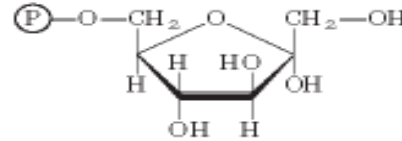
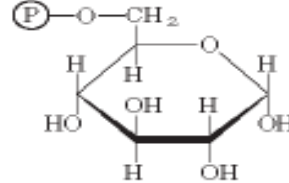
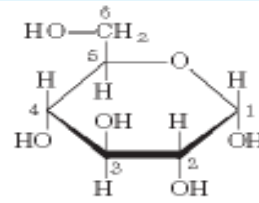
Diidrossiacetone fosfato

1

2

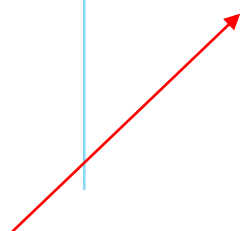
4

5



- 1 Hexokinase
- 2 Phosphoexose isomerase
- 3 Phosphofruktokinase 1 (PFK-1)
- 4 Aldolase
- 5 Triose phosphate isomerase

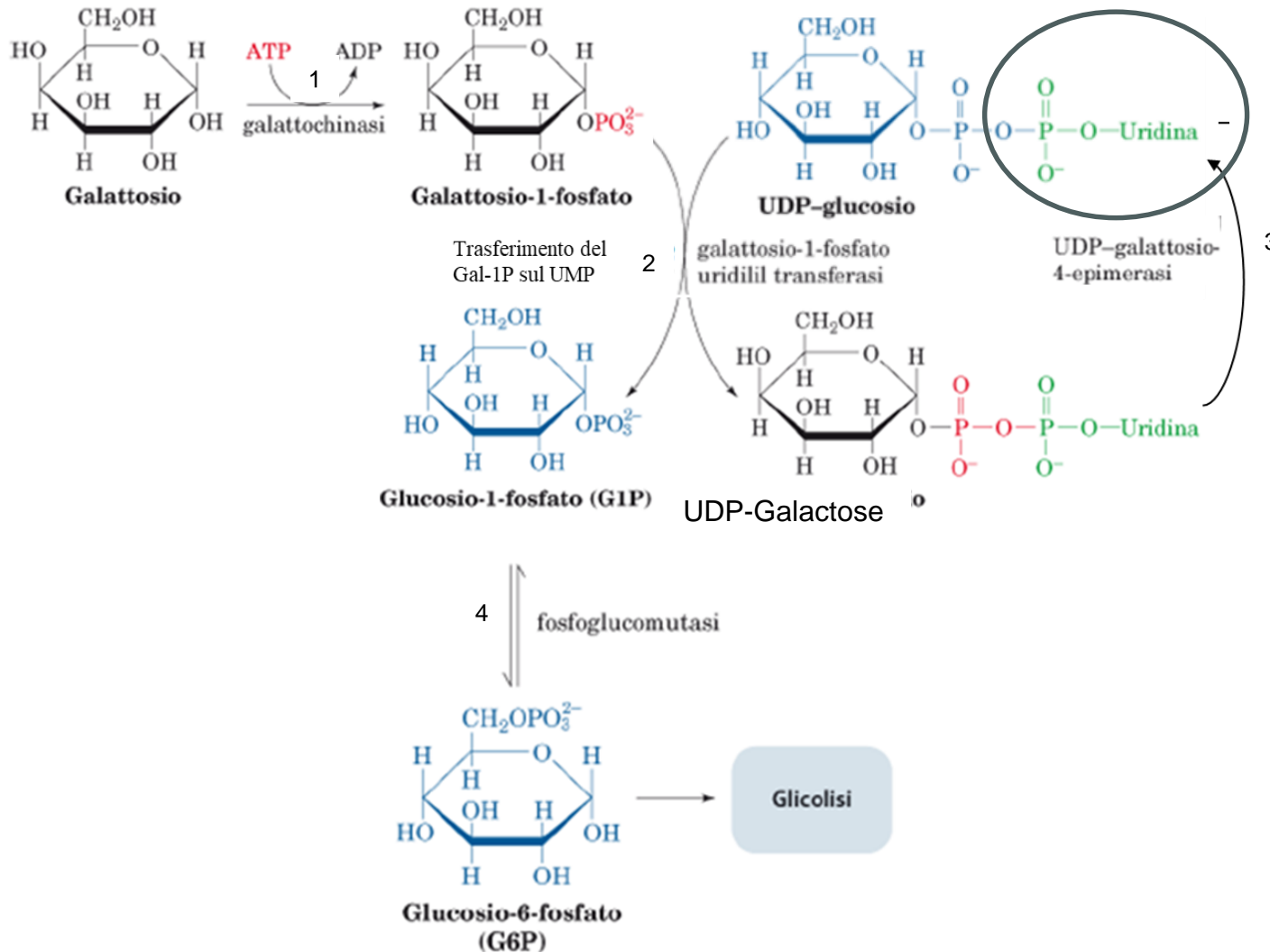
Fruttosio



Galattosio

D-Galattosio che deriva dall'idrolisi del lattosio dall'intestino → tramite il sangue giunge al fegato.

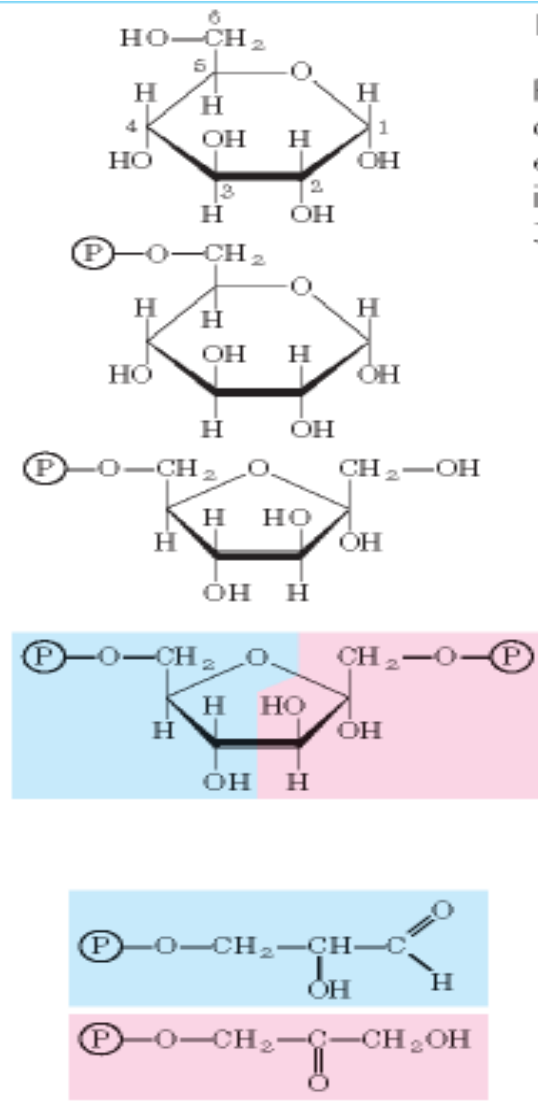
Fegato



(a)



Galattosio

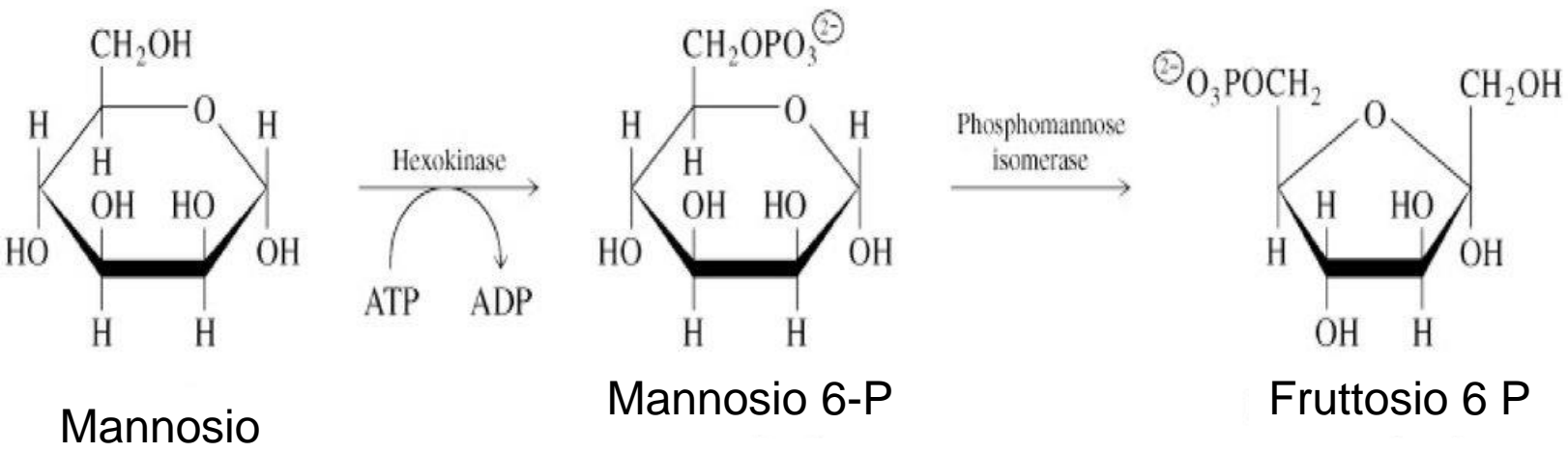


Fase preparatoria

Fosforilazione del glucosio e sua conversione in gliceraleide 3-fosfato

- ① Esochinasi
- ② Fosfoesio isomerasi
- ③ Fosfofrutto-chinasi 1
- ④ Aldolasi
- ⑤ Triosio fosfato isomerasi

Mannosio



(a)

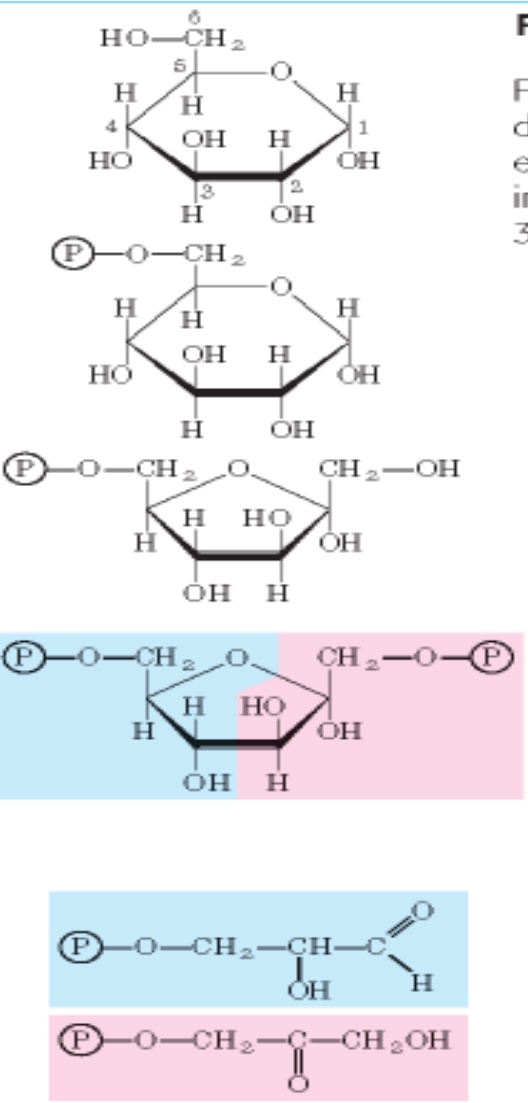


Mannosio

Fase preparatoria

Fosforilazione del glucosio e sua conversione in gliceraleide 3-fosfato

- ① Esocinasi
- ② Fosfoesosio isomerasi
- ③ Fosfofrutto-chinasi 1
- ④ Aldolasi
- ⑤ Triosio fosfato isomerasi



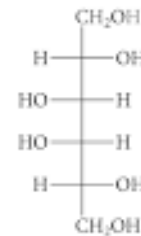
Galattosemia

Raro disordine metabolico

- Deficit della galattoso 1-P uridiltransferasi

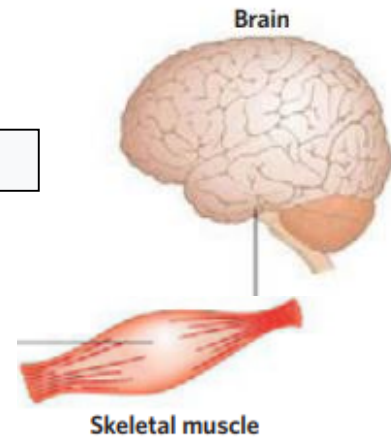


- Galattosio 1-P si accumula nel fegato
- Il primo sintomo è l'ittero
- Sintomi a livello del sistema nervoso centrale: ritardo nella crescita e ritardo mentale
- Galattosio viene ridotto a galittolo
- Galittolo causa la cataratta
- E' possibile rilevare il deficit di enzima nel cordone ombelicale alla nascita
- E' necessaria una dieta povera in galattosio può ridurre i sintomi.



Gluconeogenesi

Il glucosio è molto importante in organi come il cervello (80%)



Il muscolo, durante la contrazione, converte il glucosio in piruvato e lattato che poi nel fegato verrà riconvertito in glucosio.

Muscolo e cervello utilizzano in gran parte il glucosio sintetizzato nella gluconeogenesi

Nei periodi di digiuno viene attivata la gluconeogenesi utilizzando precursori non saccaridici (lattato, piruvato, aminoacidi, glicerolo) e trasformandoli in intermedi della via di sintesi del glucosio

Avviene nel fegato e in misura minore nei reni e nell'intestino tenue

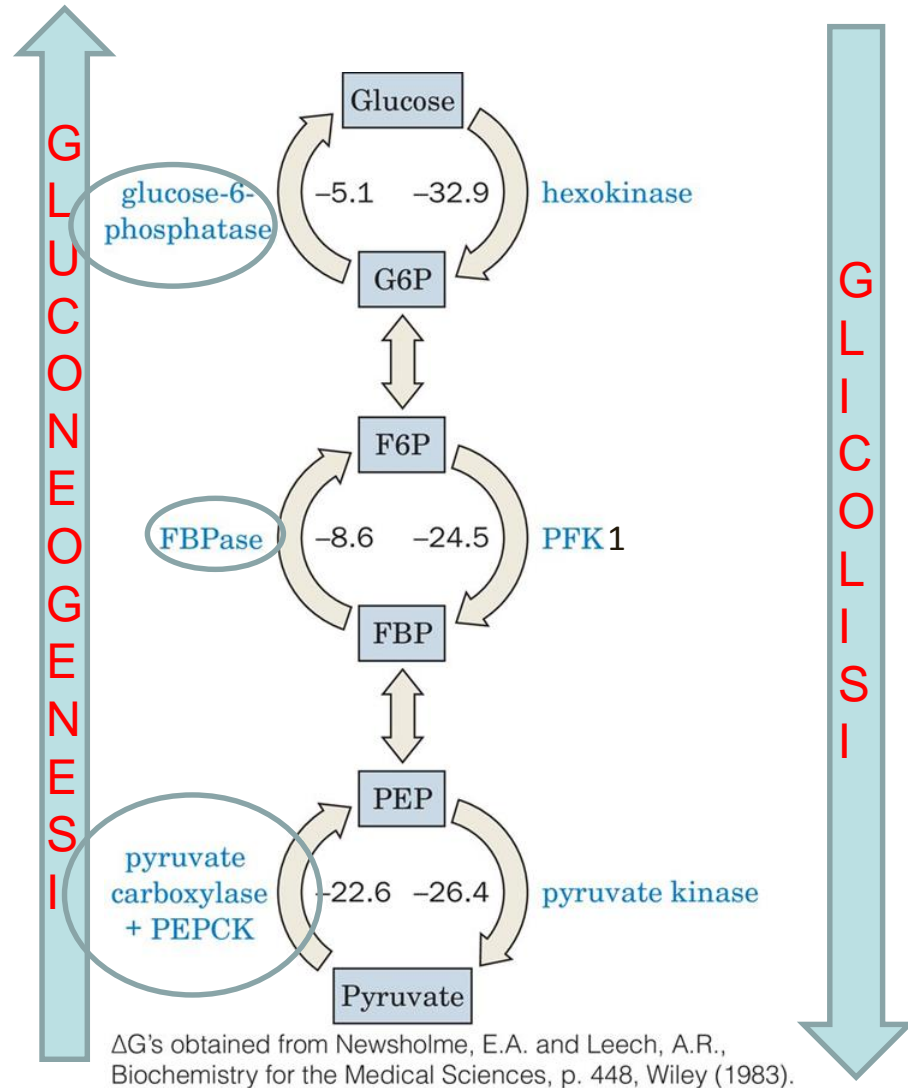
- Gluconeogenesi rappresenta la reazione opposta alla glicolisi

Glicolisi e gluconeogenesi differiscono in tre step.

Reazioni irreversibili nella glicolisi e che hanno un ΔG negativo (esoergoniche)

- Piruvato chinasi
- Fosfofruttochinasi 1
- esochinasi

Queste reazioni sono catalizzate da enzimi diversi nella sintesi del glucosio



Gluconeogenesi

- Biosintesi di 1 molecola di glucosio richiede:
- :
- 4 ATP
- 2 NADH
- 2 GTP

- Reazione complessiva

- $2 \text{ piruvato} + 2 \text{ NADH} + 4 \text{ ATP} + 2\text{GTP} + 6 \text{ H}_2\text{O} + 2 \text{ H}^+ \text{ -----} \rightarrow$
 $\text{Glucosio} + 2 \text{ NAD}^+ + 4 \text{ ADP} + 2 \text{ GDP} + 6 \text{ Pi}$

- Glicolisi e gluconeogenesi sono regolate reciprocamente da:
Effettori allosterici
Fosforilazioni

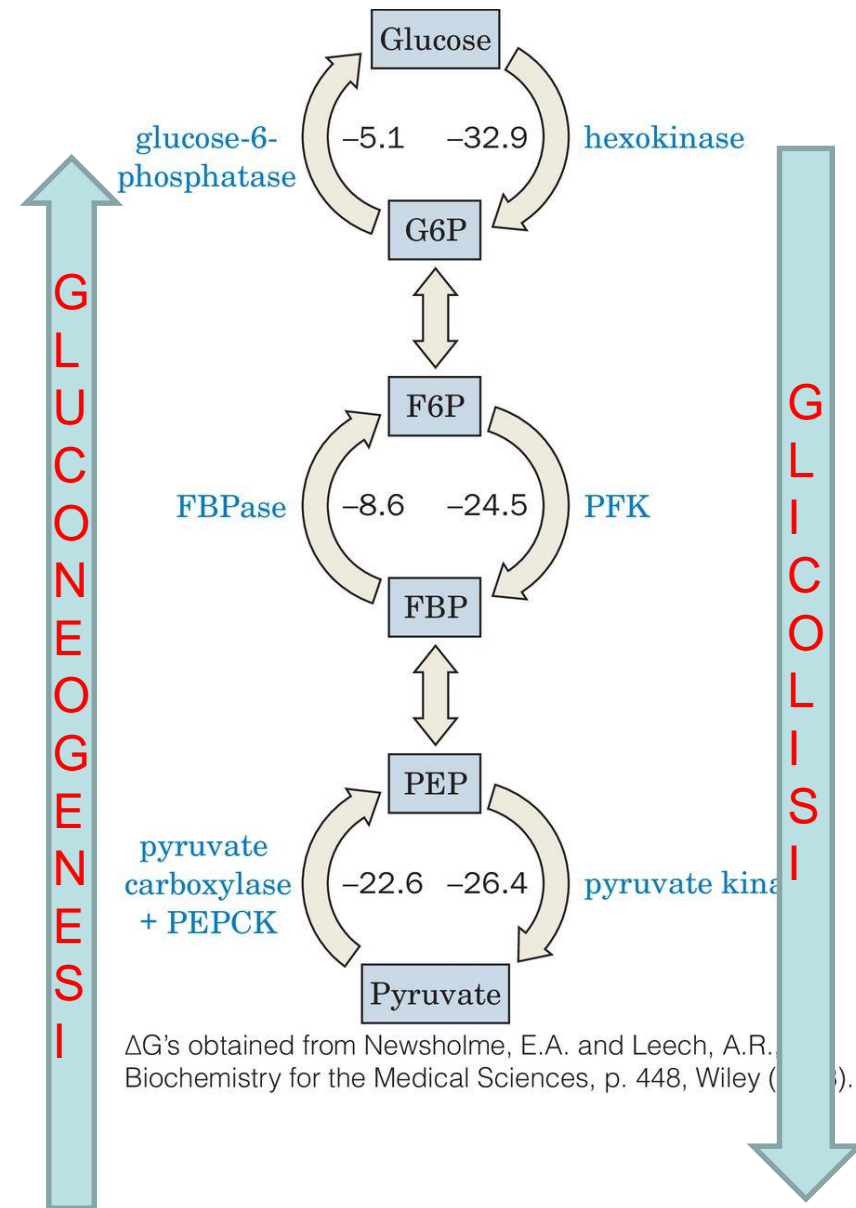
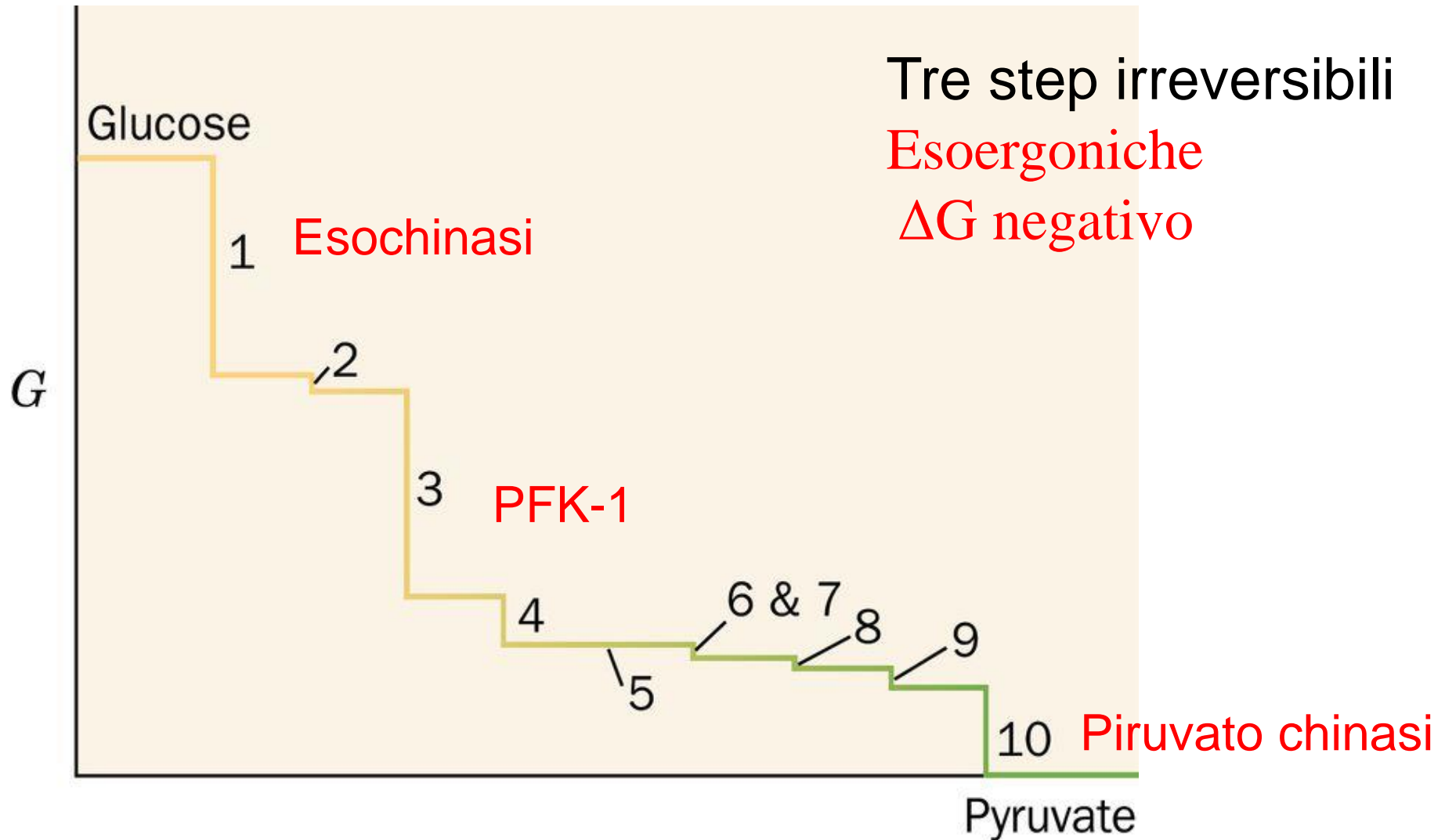


Diagramma dell'energia libera



Glicolisi e gluconeogenesi sono regolate reciprocamente

La regolazione avviene a livello dei tre step irreversibili

GLICOLISI

- **Esochinasi**
- **Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)**
- **Piruvato chinasi**

GLUCONEOGENESI

- **Glucosio 6-fosfatasi**
- **Fruttosio 1,6 bifosfatasi**
- **Piruvato carbossilasi**

Substrate Cycles in Glucose Metabolism

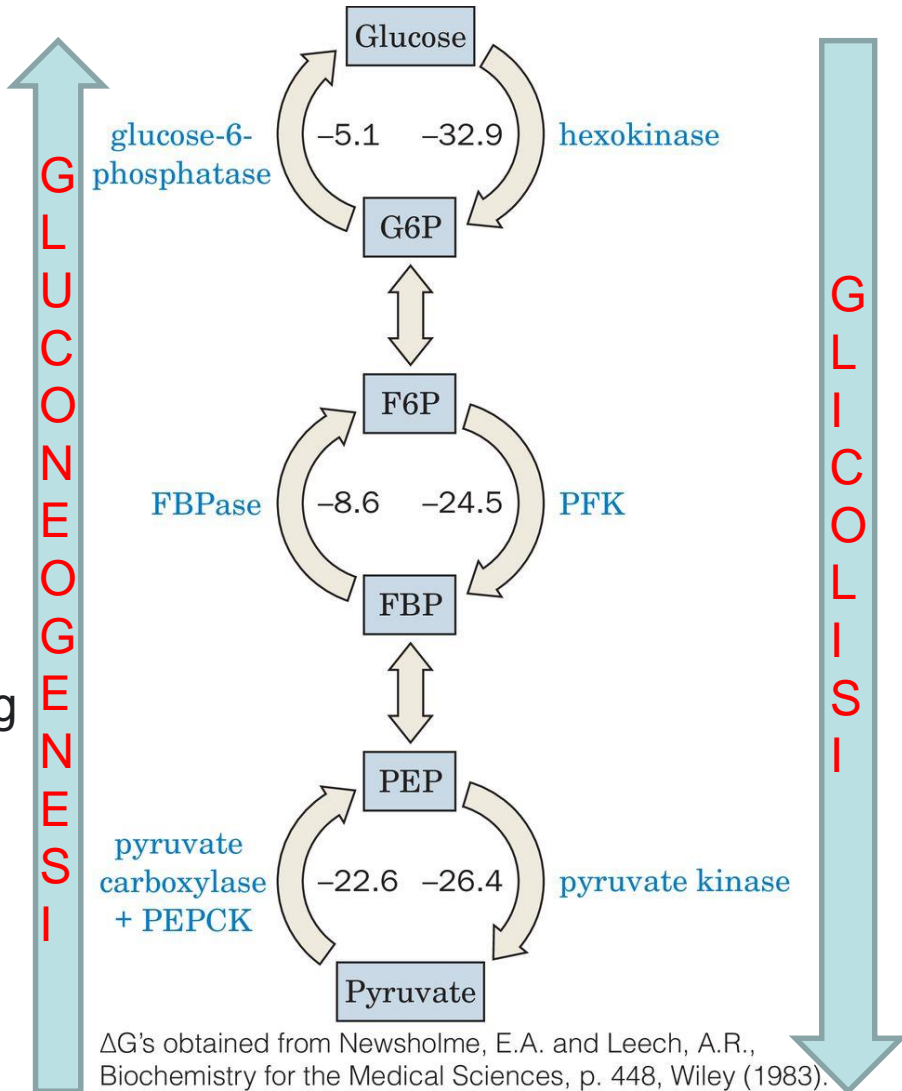
In the absence of regulatory mechanisms, in the three points of deviation of the gluconeogenesis



the simultaneous functioning of both pathways could give rise to a so-called "FUTILE CYCLE"



(reaction that disperses energy resulting from the hydrolysis of ATP without carrying out any net metabolic work)



Gluconeogenesis vs Glicolisi

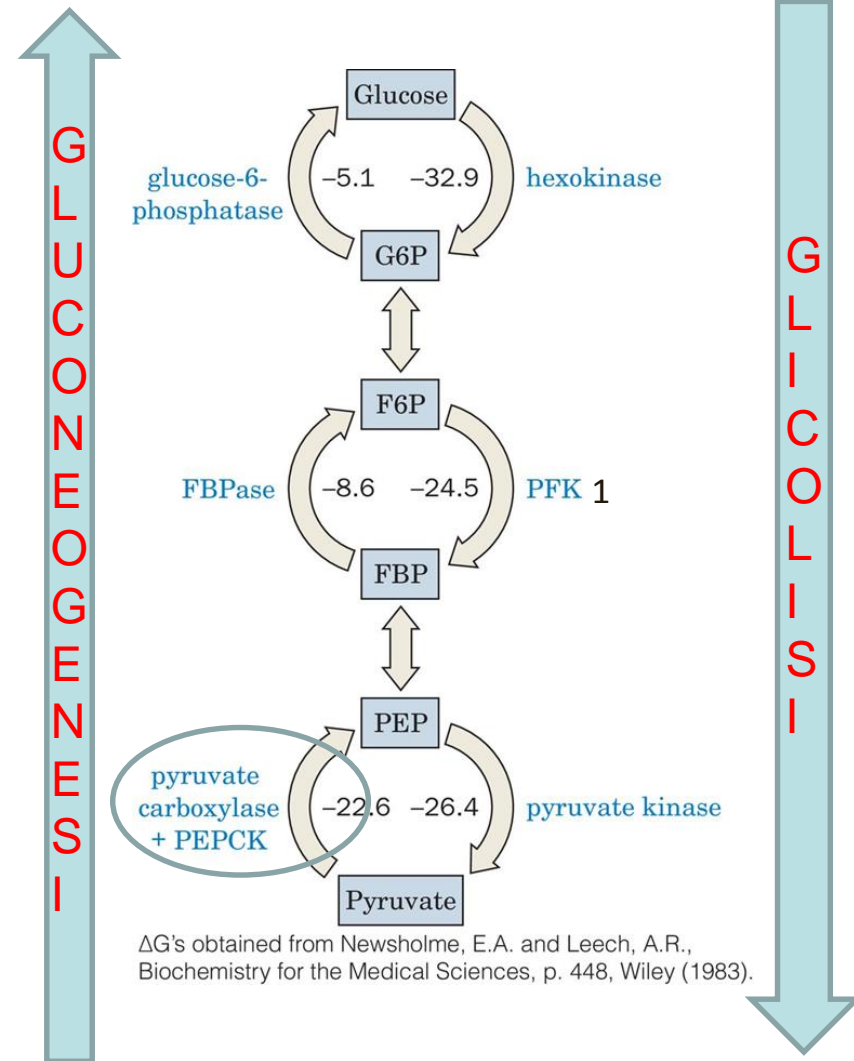
Piruvato \dashrightarrow PEP
Richiede due reazioni

mitocondri
1

citosol
2

PIRUVATO \rightarrow OSSALOACETATO \rightarrow PEP

1 STEP DI REGOLAZIONE

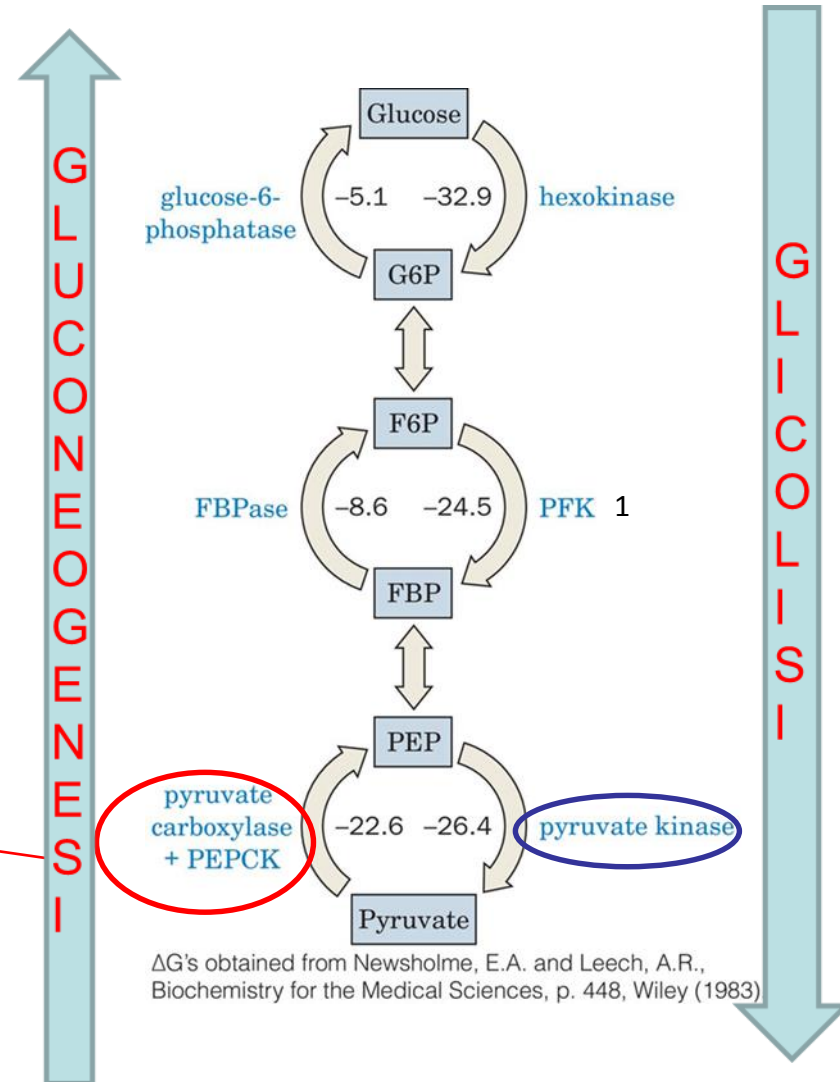


Glicolisi

- **piruvato chinasi**
- **Fosfofruttochinasi 1 (PFK-1)**
- **Esochinasi**

Gluconeogenesi

- **piruvato carbossilasi**
- **Fruttosio 1,6 bifosfatasi**
- **Glucosio 6-fosfatasi**

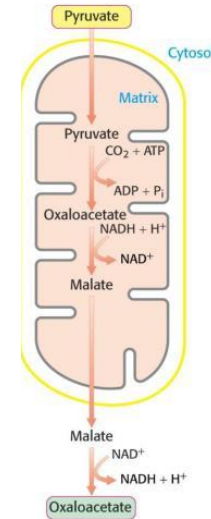
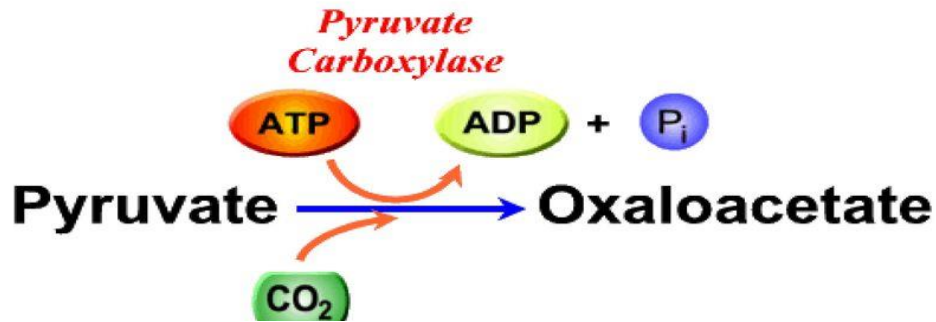


Piruvato carbossilasi

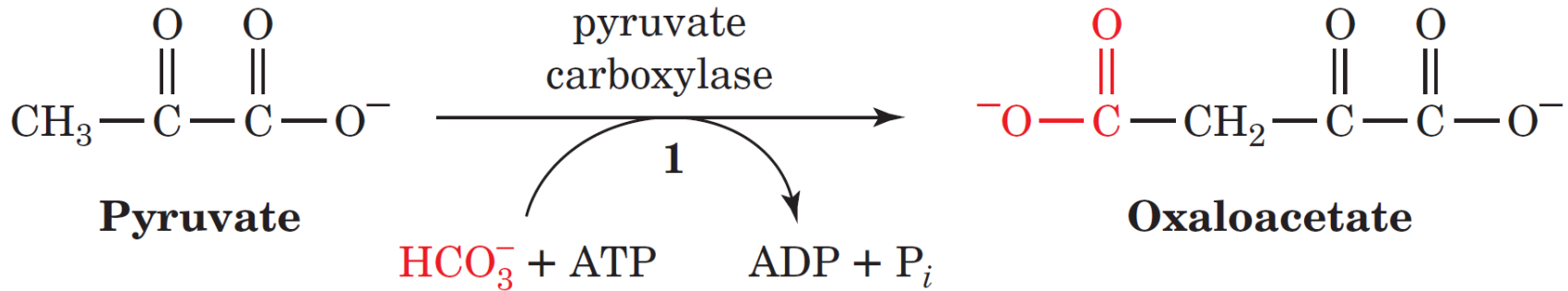


liver and kidney but absent in muscle

- ATP, biotin, Mn^{++} and CO_2 are required.

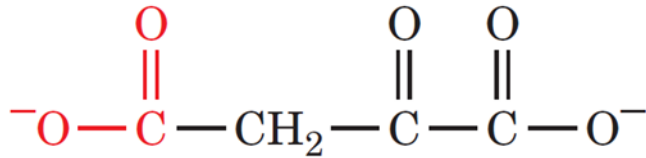


mitocondrio



Fosfoenolpiruvato carbossichinasi (PEPCK)

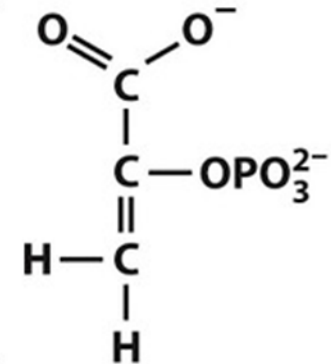
CITOSOL



Ossaloacetato



PEPCK



PEP

Fosfoenolpiruvato

Phosphoenolpyruvate carboxykinase

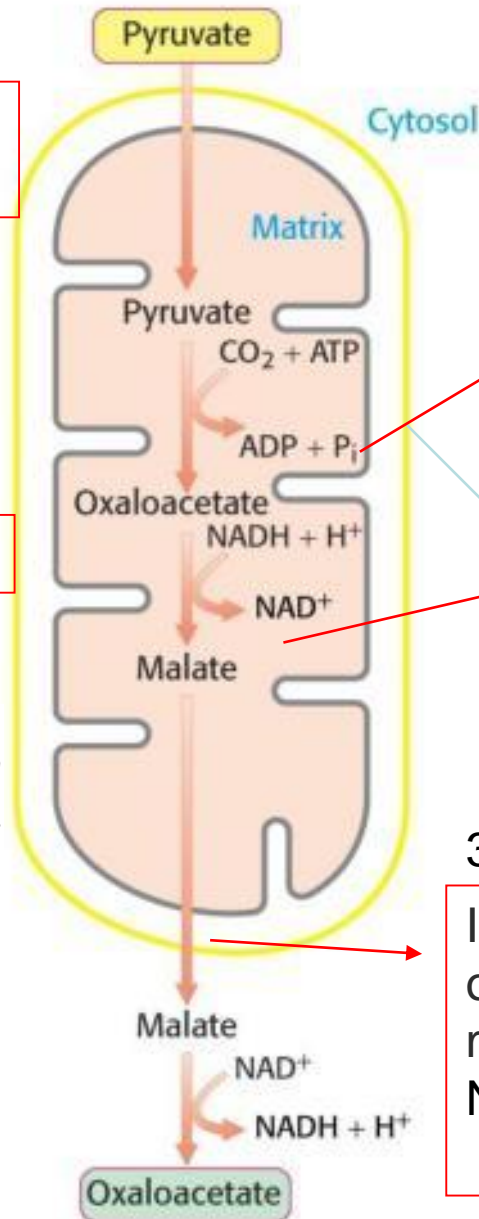
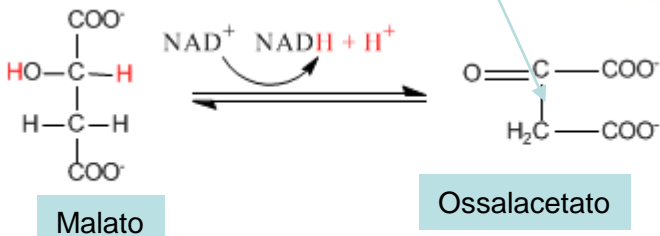
Requires GTP as donor to phosphoric group



Gluconeogenesi: richiede uno shift di metaboliti tra il citosol e il mitocondrio

Piruvato carbossilasi è localizzata solo nel mitocondrio

Malate dehydrogenase



1

Ossaloacetato non ha un trasportatore nella membrana mitocondriale

2

Ossaloacetato viene ridotto a malato dalla malato deidrogenasi che richiede. **$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+$**

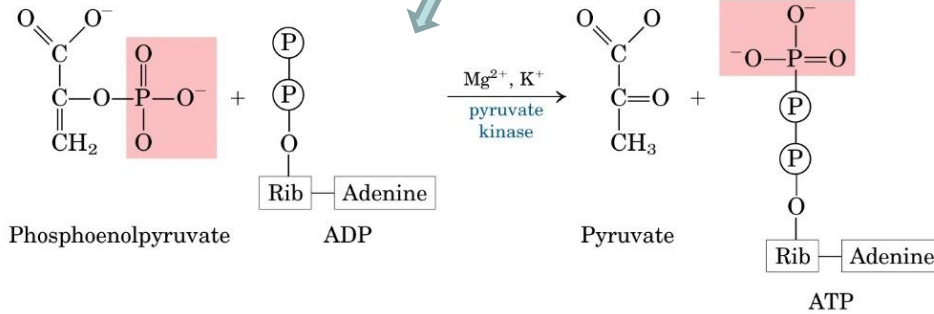
3

Il malato entra nel citosol e viene ossidato a ossalacetato dalla malato deidrogenasi **$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADH}$**

Regolazione della Piruvato chinasi (glicolisi)

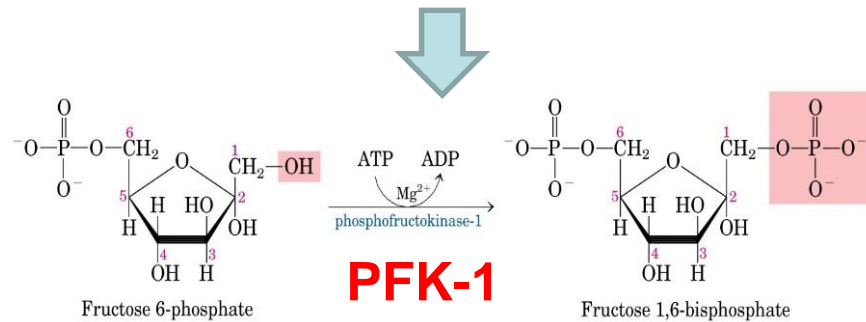
Richiede Mg^{2+} e K^+

- Regolazione allosterica
- Modificazione covalente
- Regolazione ormonale (glucagone)



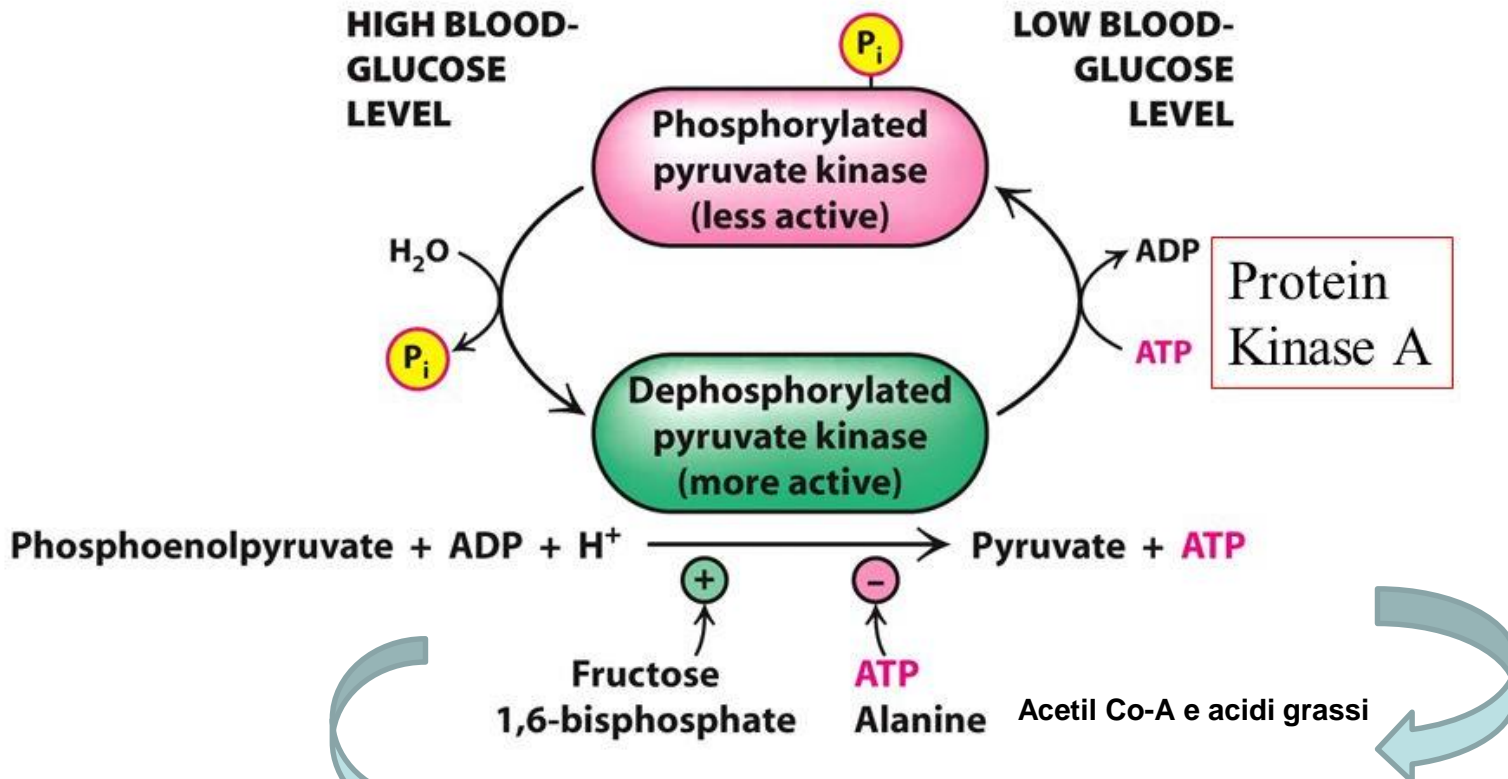
$$\Delta G'^{\circ} = -31.4 \text{ kJ/mol}$$

Un attivatore allosterico molto importante è il **fruttosio 1,6-bifosfato** (un intermedio della glicolisi) (3 reazioni)



$$\Delta G'^{\circ} = -14.2 \text{ kJ/mol}$$

La piruvato chinasi è più attiva se è defosforilata, meno attiva quando è fosforilata

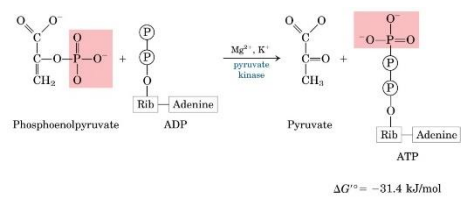


Attivatore allosterico:
-Fruttosio 1,6-bifosfato

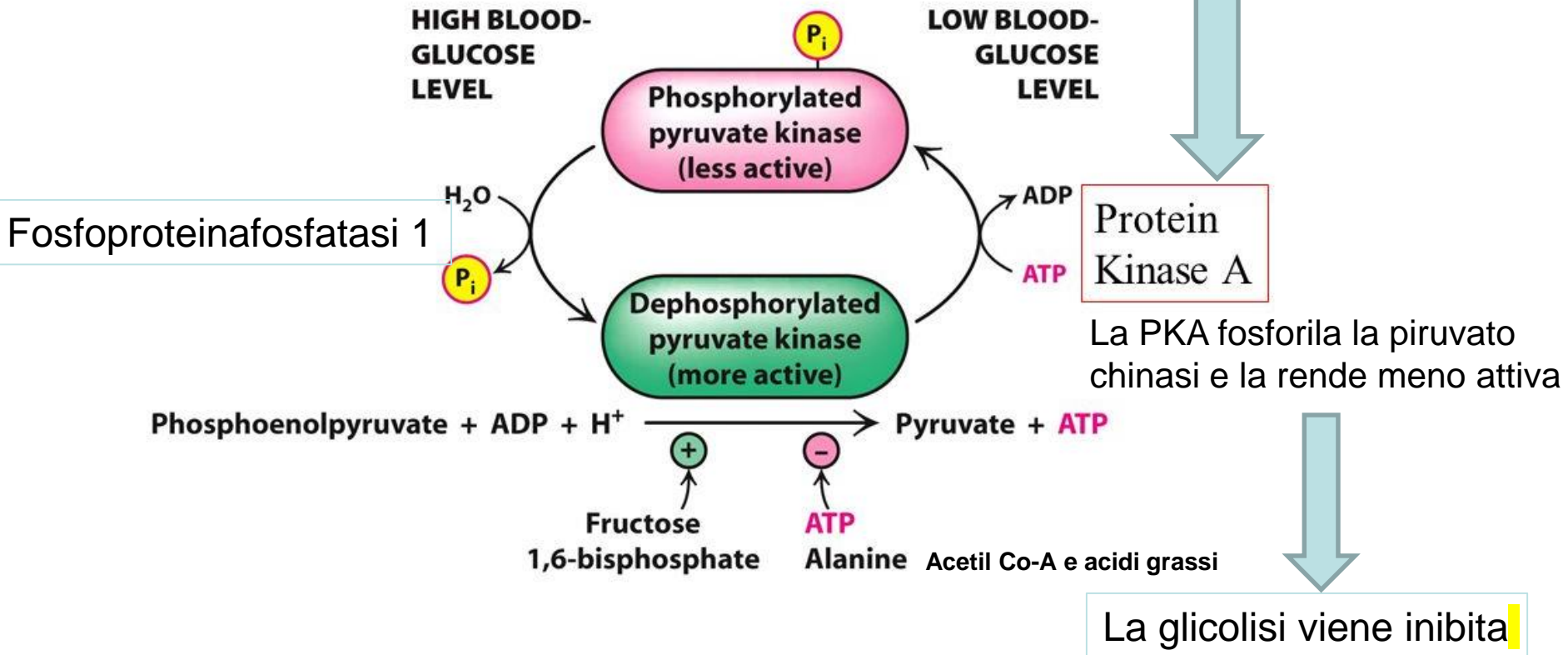
Inibitori allosterici:

- ATP
- Acetil Co-A,
- Acidi grassi a catena lunga (segnale di una grande disponibilità di energia)
- Alanine (sintetizzata dal piruvato)

- Regolazione ormonale della piruvato chinasi:



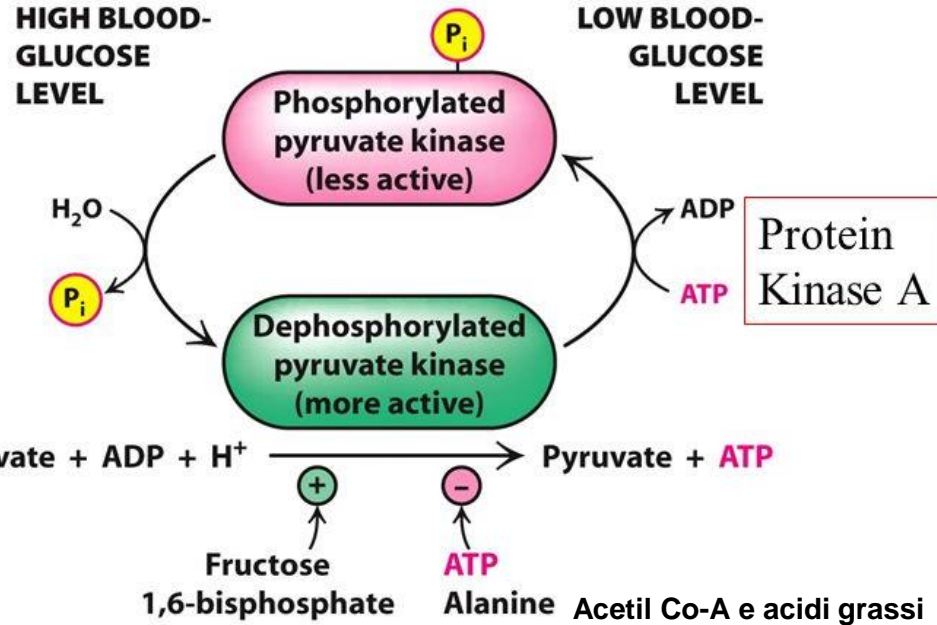
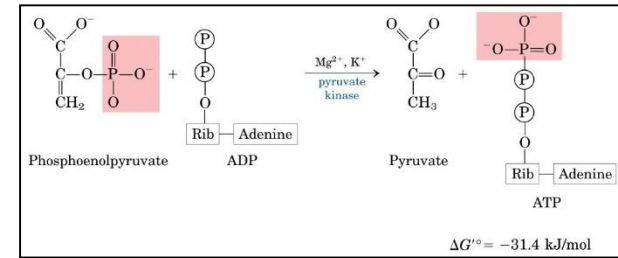
Quando la concentrazione di glucosio diminuisce viene rilasciato dal pancreas il **glucagone**.
Il glucagone attiva una proteina chinasi (PKA)



- Regolazione ormonale della piruvato chinasi:

Quando la concentrazione di glucosio aumenta viene rilasciata dal pancreas l'insulina.

L'insulina attiva una fosfatasi (Fosfoproteinafosfatasi 1)



Glicolisi viene attivata

GLICOLISI

Esochinasi

Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

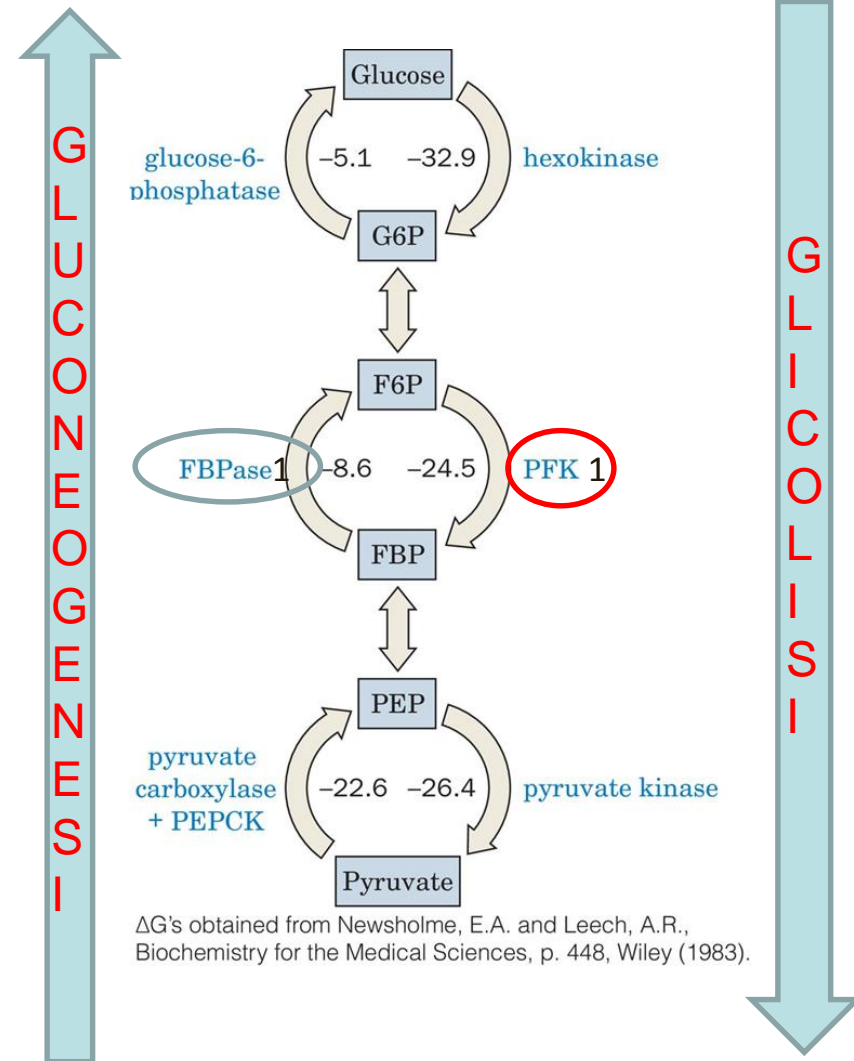
Piruvato chinasi

GLUCONEOGENESI

-Glucosio 6-fosfatasi

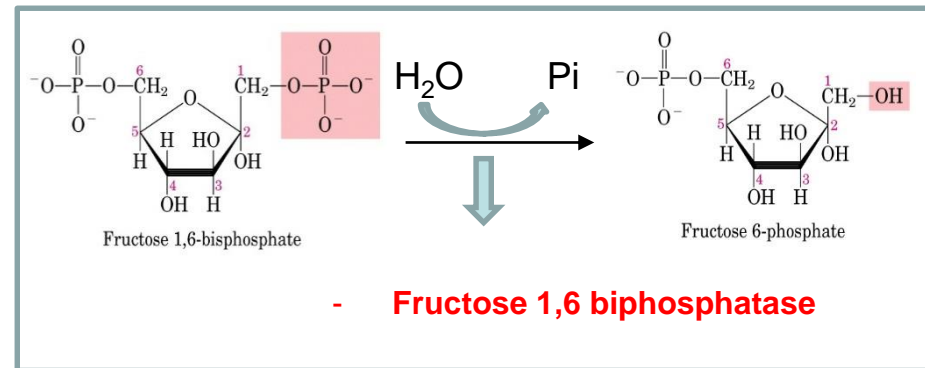
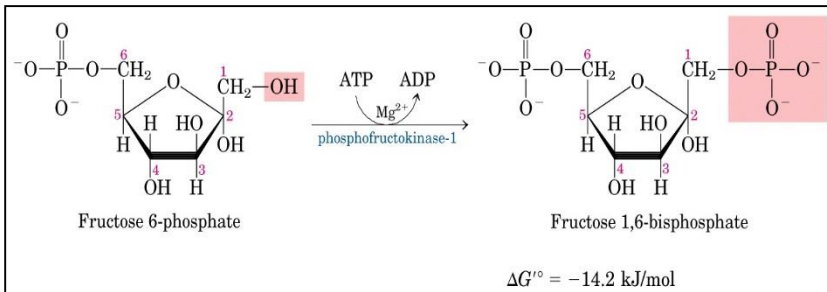
- **Fruttosio 1,6 bifosfatasi (FBPasi)**

- Piruvato carbossilasi

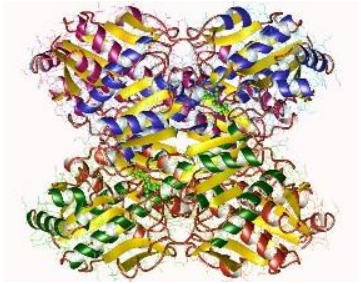


Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1).
(glicolisi) (3 reazione)

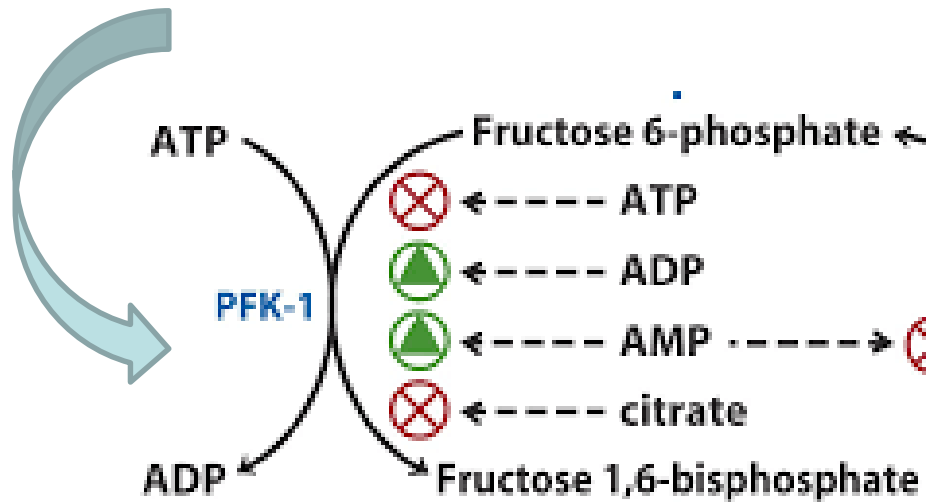
- Fructose 1,6 biphosphatase
- (gluconeogenesis)



Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1).



L'enzima è costituito da un tetramero di due subunità α e due β .



Attivatori allosterici:

ADP e AMP

Inibitori allosterici:

- ATP
- Citrate

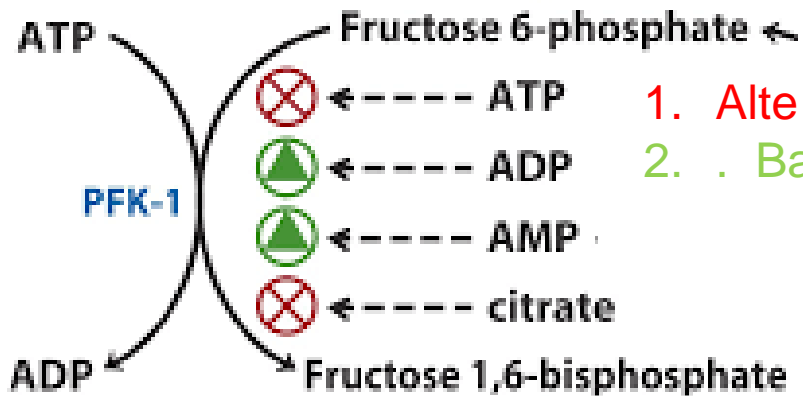
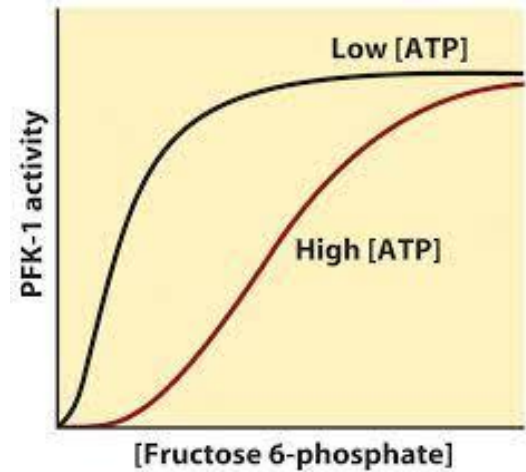
Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1).

Attivatori allosterici:

ADP e AMP

Inibitori allosterico:

- ATP



1. Alte [ATP]

2. Basse [ATP] e alte [AMP] o [ADP]

Km aumenta ($K_m = 0,5$)

Km diminuisce
(K_m è minore di 0,5)

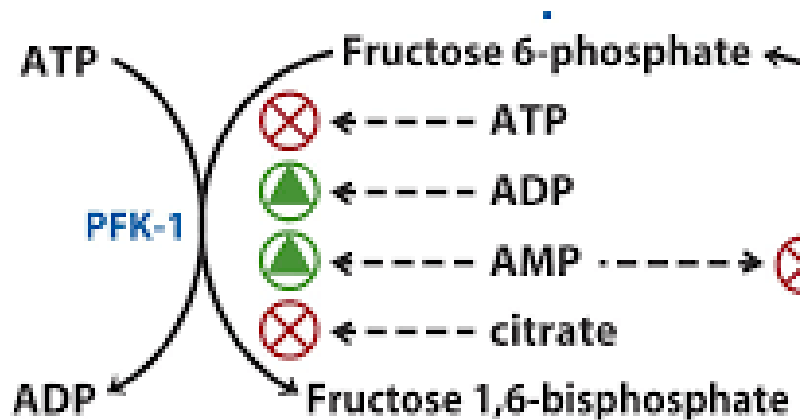
L'enzima lavora ad alte velocità anche in presenza di basse concentrazioni di substrato

Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

Citrato (regolatore allosterico negativo)

Il citrato è un intermedio chiave dell'ossidazione del piruvato, degli acidi grassi e degli aminoacidi

Elevate [citrato] indicano che l'energia conservata è sufficiente per la cellula.
Riduce il flusso di glucosio verso la glicolisi



La glicolisi viene inibita

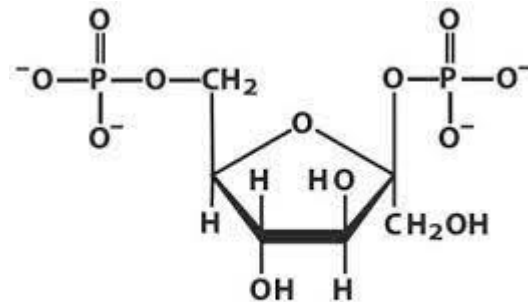
Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

Fruttosio 2,6-bifosfato (attivatore allosterico)

Principale attivatore allosterico nei reni

Ha un ruolo chiave nella regolazione coordinata tra glicolisi e gluconeogenesi

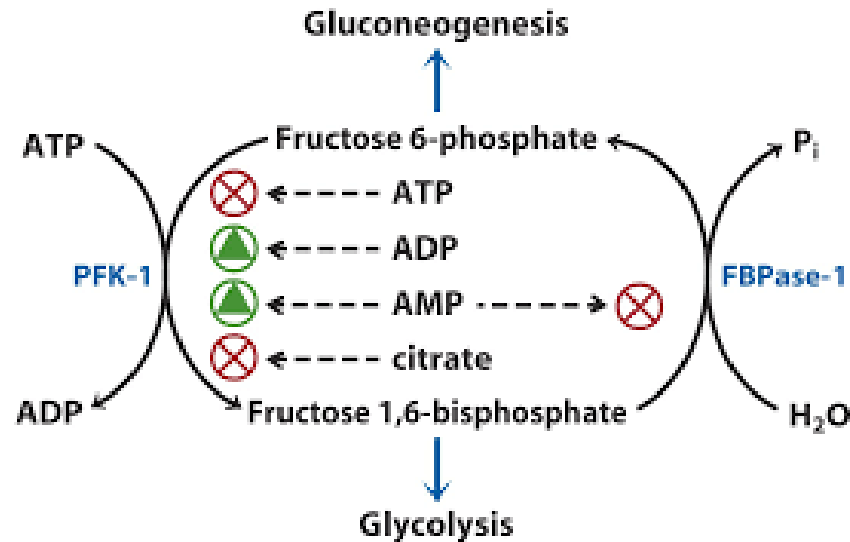
PFK-1 catalizza la reazione solo in presenza di fruttosio 2,6- bifosfato



Fructose 2,6-bisphosphate

Fructose 2,6-biphosphate (attivatore allosterico della PFK-1)

F2,6P
Attiva la PFK-1

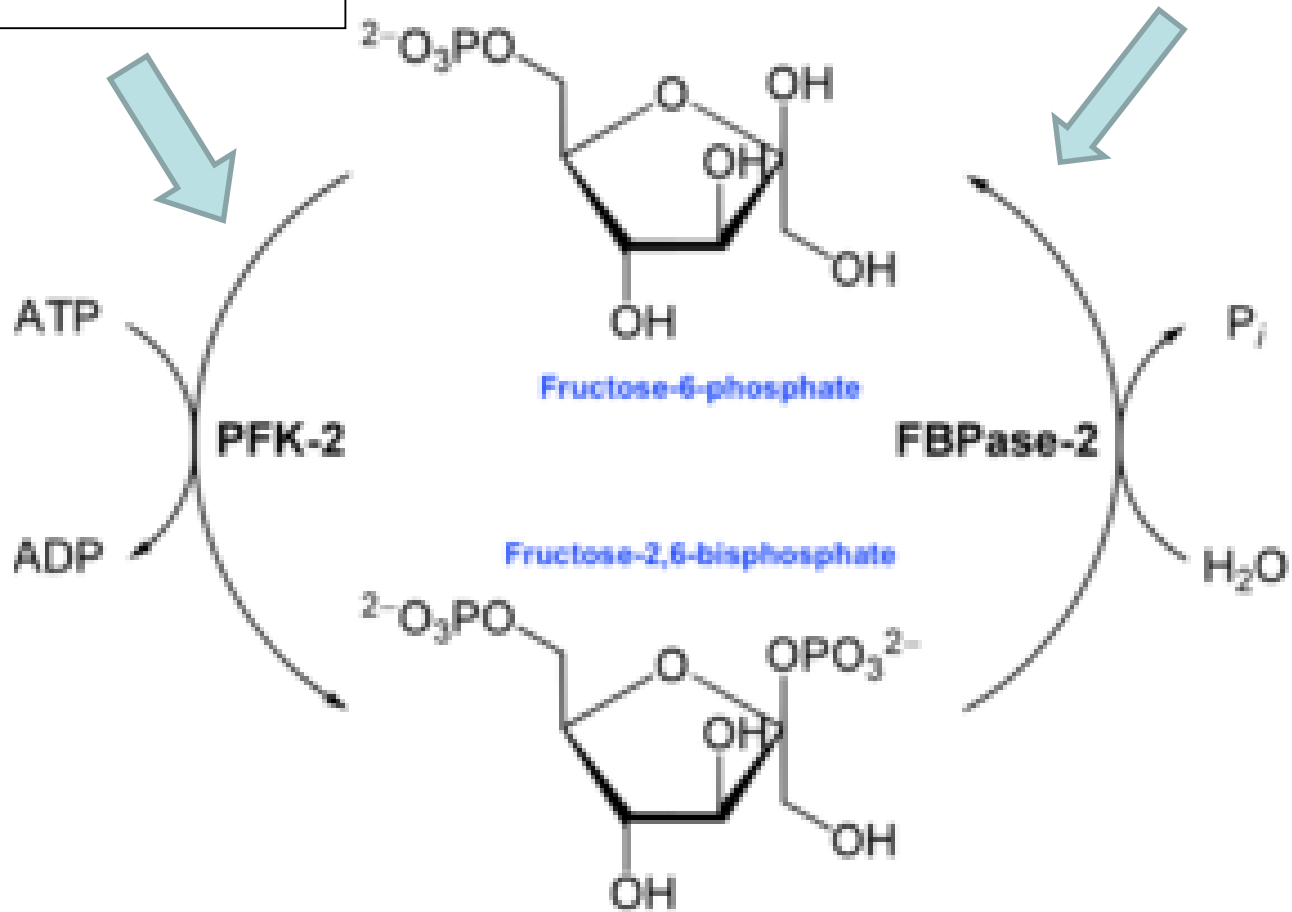


F2,6P
Inibisce la FBPase-1

Fruttosio 2,6-bifosfato

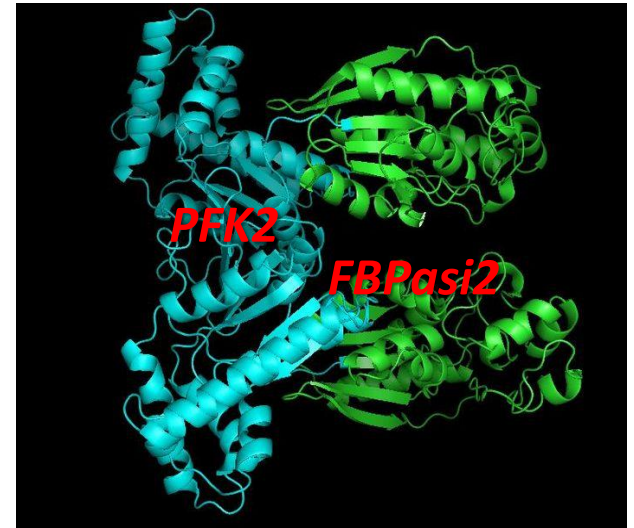
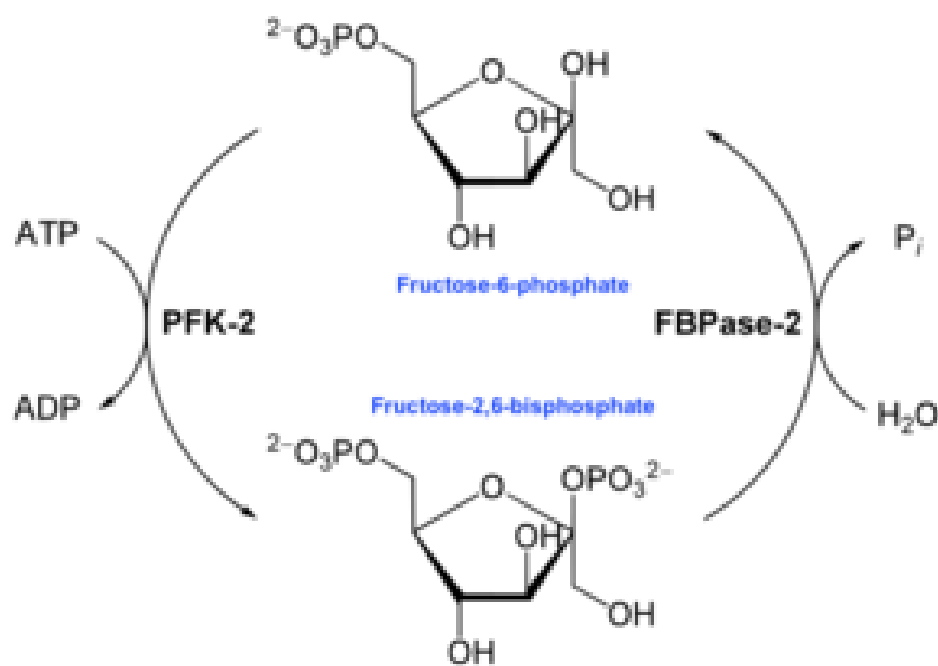
Sintetizzato dal fruttosio 6-P e ATP dalla fosfofruttochinasi 2 (PFK-2)

Riconvertito in Fruttosio-6-P dalla bifosfatasi 2 (FBPase 2)



PFK-2 e FBPasi-2 sono due enzimi nella stessa catena polipeptidica e formano un enzima bifunzionale

L'enzima è un dimero.



L'attività è regolata dalla fosforilazione reversibile

Le attività della PFK2 e FBPasi 2 sono regolate dalla fosforilazione e defosforilazione sull' N-terminale del residuo di Ser₃₂ in ogni monomero

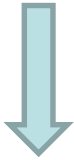
PFK2 /FBPasi2



PFK2 /FBPasi2



PFK2 inattiva/ FBP-asi 2 attiva



[Fruttosio 2,6 bifosfato]
diminuisce



La glicolisi viene inibita

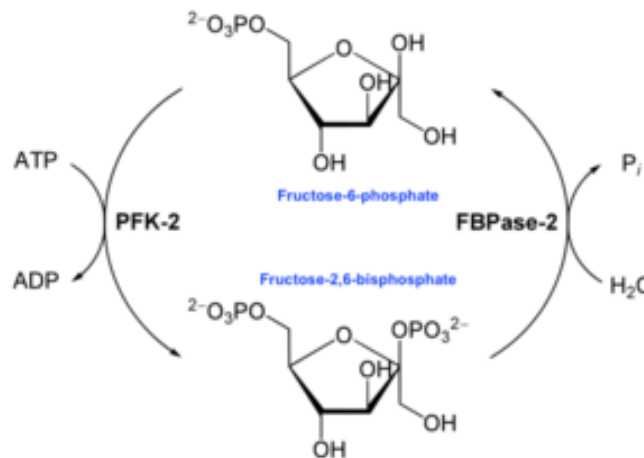
PFK2 attiva/ FBP-asi 2 inattiva



[Fruttosio 2,6 bifosfato]
aumenta



Glicolisi viene attivata



Ricordiamo che il Fruttosio 2,6
bifosfato è un attivatore della PFK1

(Enzima della glicolisi)

GLICOLISI

Esochinasi

Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

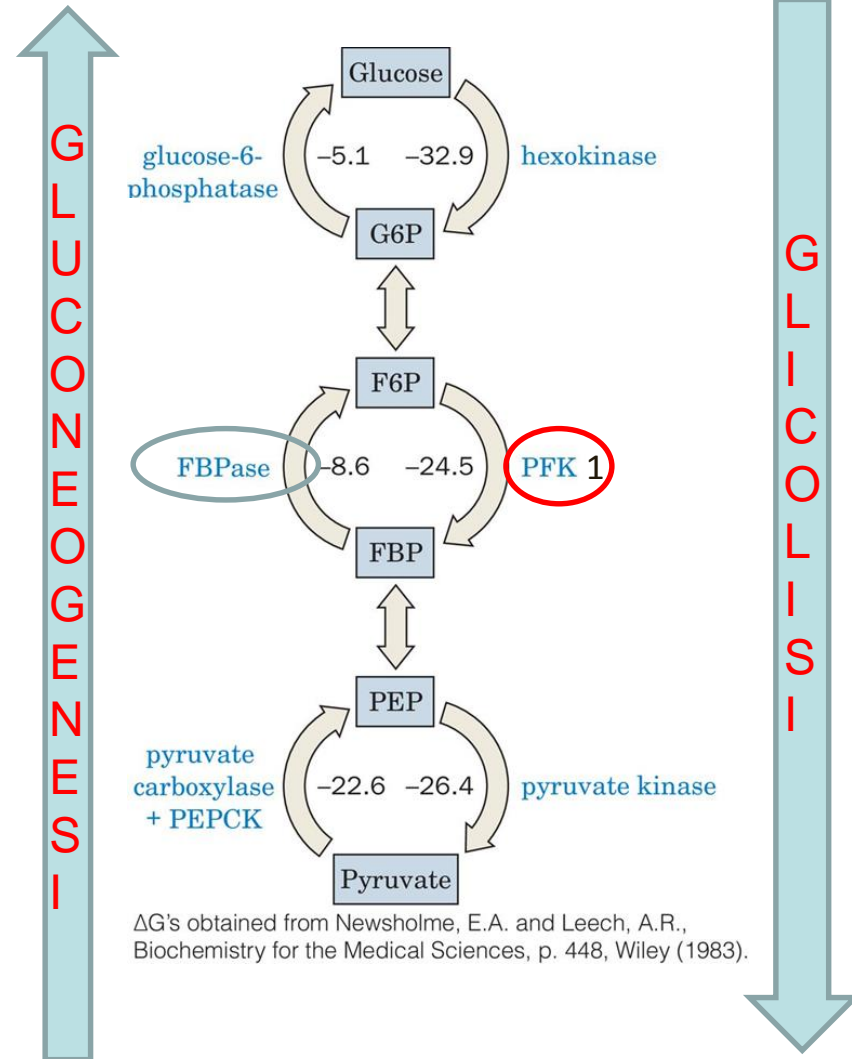
Piruvato chinasi

GLUCONEOGENESI

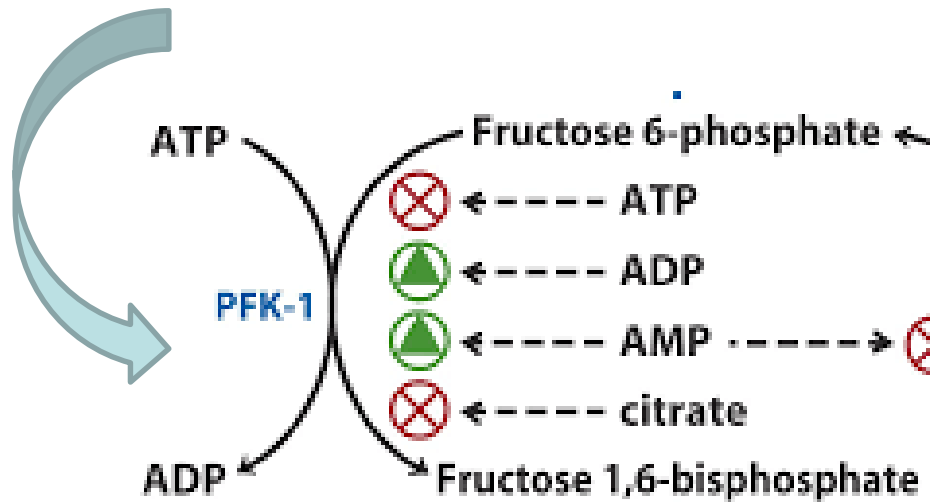
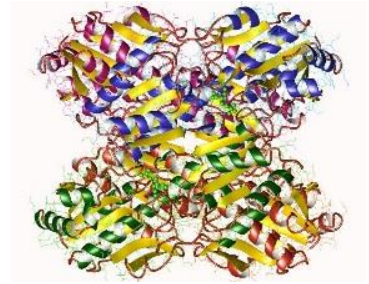
-Glucosio 6-fosfatasi

- **Fruttosio 1,6 bifosfatasi (FBPasi)**

- Piruvato carbossilasi



Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1).



Attivatori allosterici:

ADP e AMP

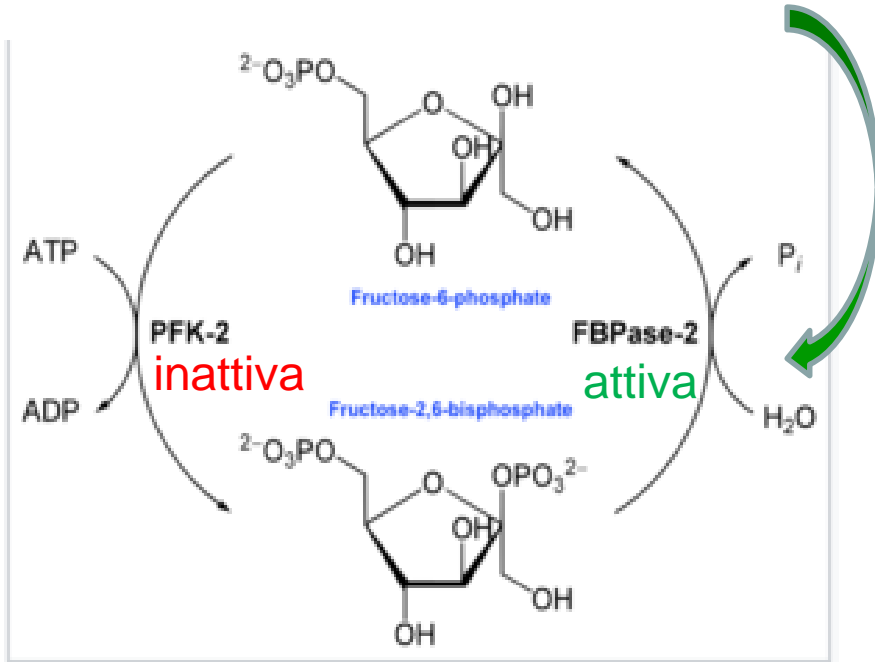
Inibitori allosterici:

- ATP
- Citrate

SE [glucosio] diminuisce

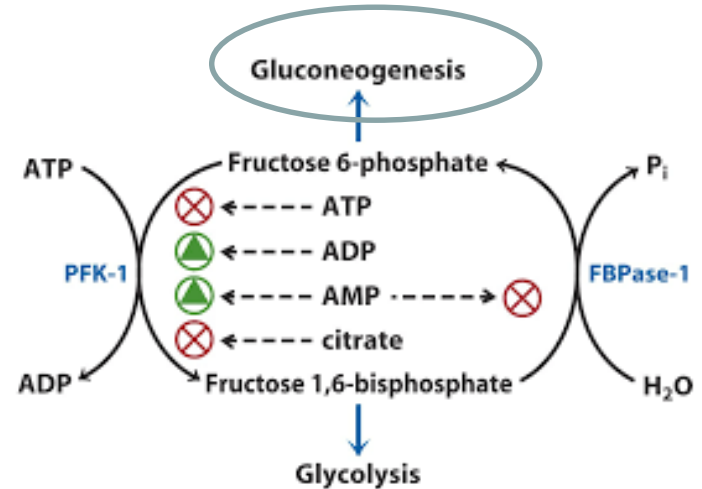
glucagone stimola la produzione di cAMP nella cellula epatica

cAMP stimola la chinasi (PKA) che fosforila l'enzima bifunzionale.



Fruttosio 2,6 bifosfato diminuisce
(modulatore positivo della PFK-1)

PFK2 inattiva FBP-ase 2 attiva

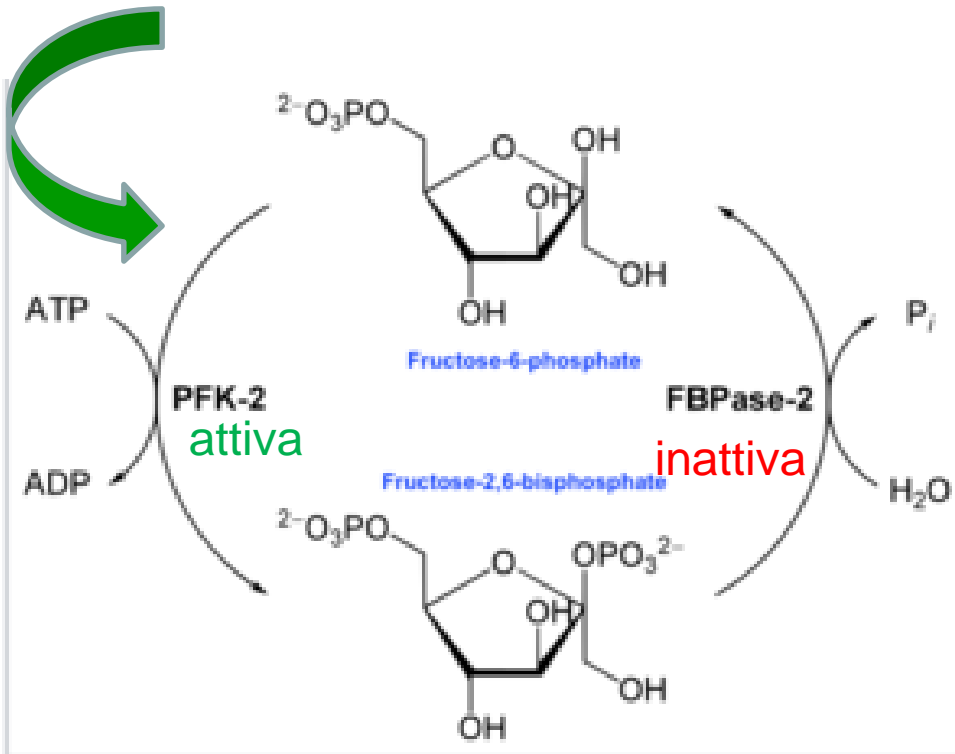


Il flusso viene indirizzato verso la gluconeogenesi

SE [glucosio] è elevata

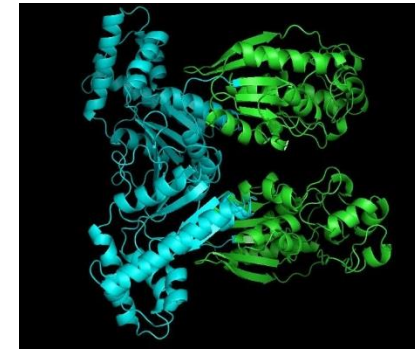
Diminuisce cAMP nella cellula epatica

L'enzima bifunzionale viene defosforilato

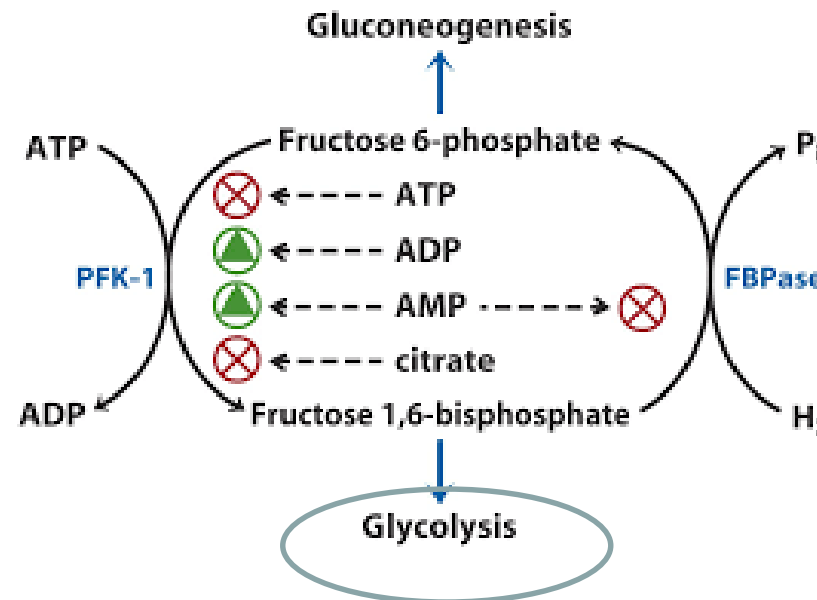


Fruttosio 2,6 bifosfato aumenta
(modulatore positivo della PFK-1)

PFK2 FBPasi2



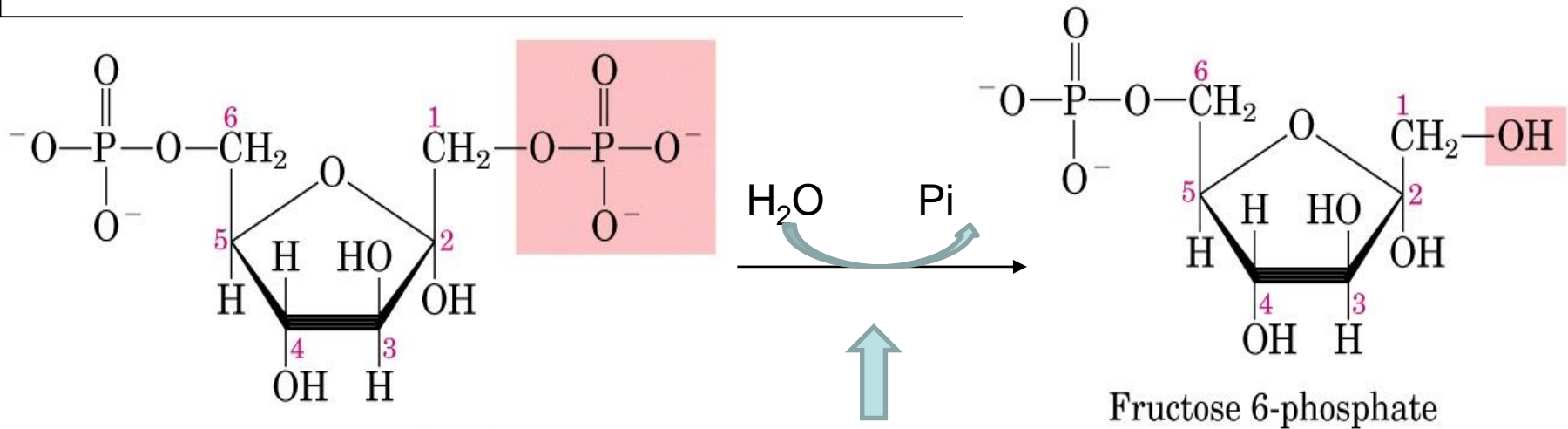
PFK2 FBP-ase 2
Attiva Inattiva



Il flusso viene indirizzato verso la glicolisi

- Fruttosio 1,6 bifosfatasi

(gluconeogenesi)



Fructose 1,6-bisphosphate

Fructose 6-phosphate

- **Fructose 1,6 biphosphatase**

Inibitori allosterici:

ADP e AMP

Fruttosio 2,6 bifosfato

GLICOLISI

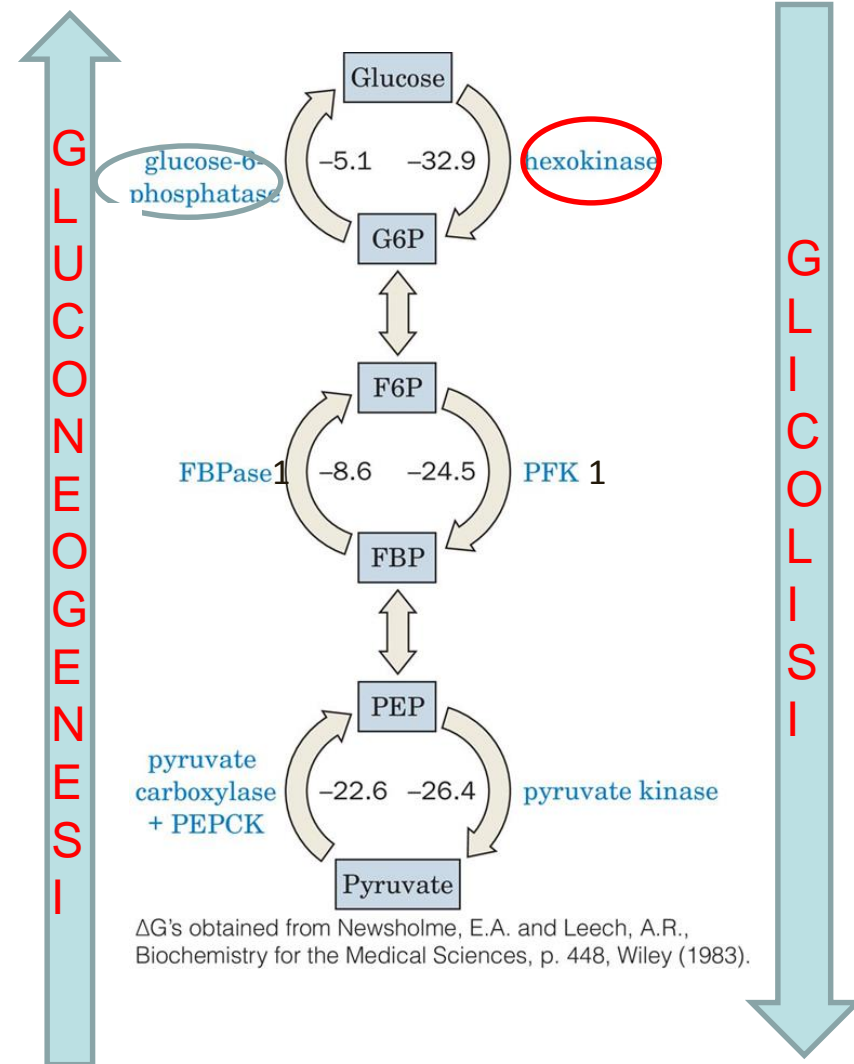
Esochinasi

Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

Piruvato chinasi

GLUCONEOGENESI

- **Glucosio 6-fosfatasi**
- **Fruttosio 1,6 bifosfatasi (FBPasi)**
- **Piruvato carbossilasi**

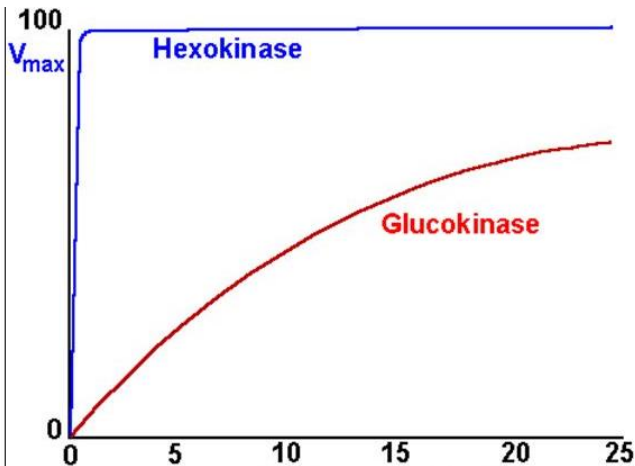


Glucosio-----→ Glucosio 6-P:

Esochinasi (glicolisi)

- Muscolo e altri tessuti utilizzano il glucosio per produrre energia

Fegato mantiene costante la concentrazione di glucosio nel sangue (Glucocinasi)



Esochinasi I, II, III

$K_m = 0,2 \text{ mM}$

Sono inibite da una elevata [Glucose 6-P]

Esochinasi IV, glucocinasi, $K_m = 10 \text{ mM}$

Non è inibita dalla [Glucose 6-P]

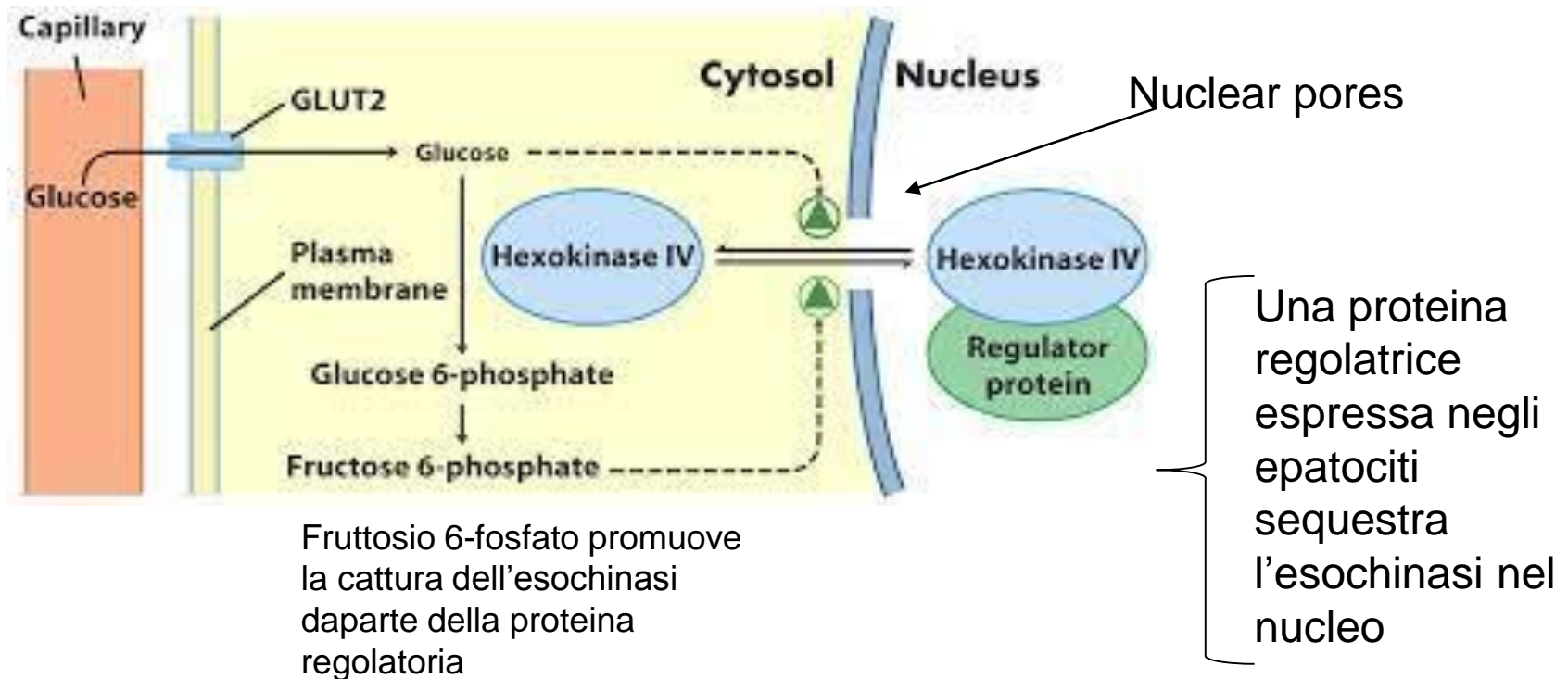
Glucocinasi (fegato)

The protein sequesters hexokinase IV in the nucleus, separating it from glycolytic enzymes.

Glucosio entra negli epatociti mediante il GLUT 2 e indirizzato verso la glicolisi.

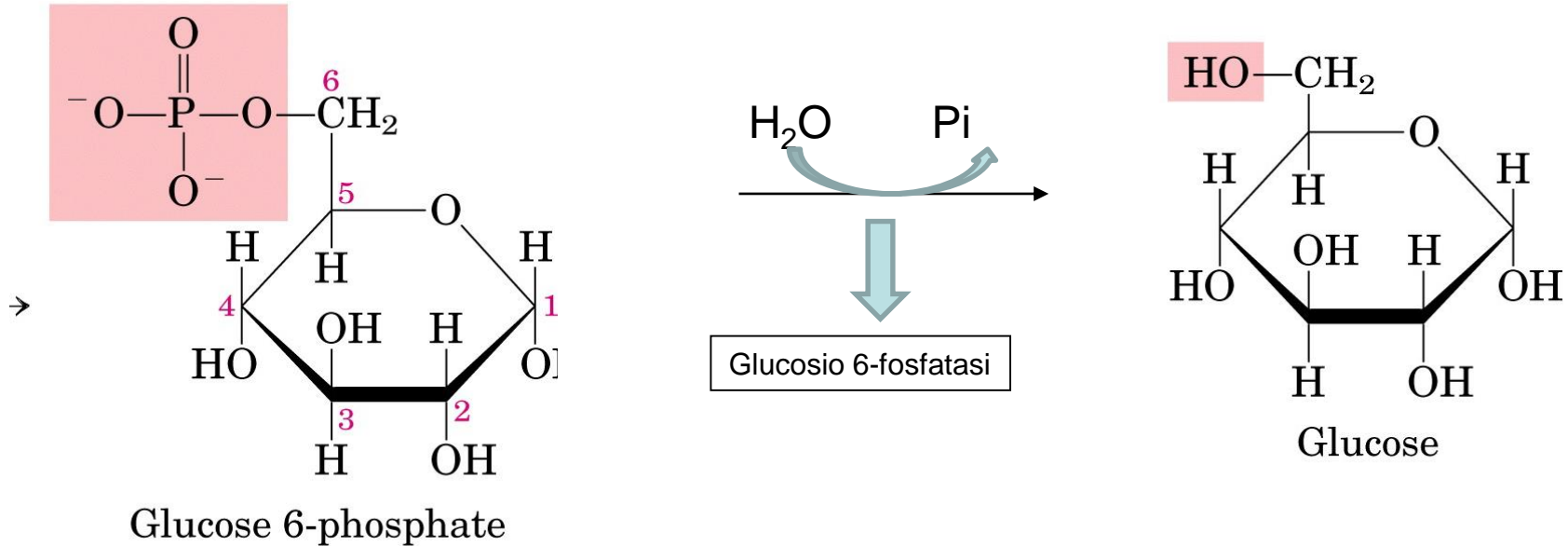
Elevate [glucosio]

Glucosio compete con il Fruttosio 6-fosfato



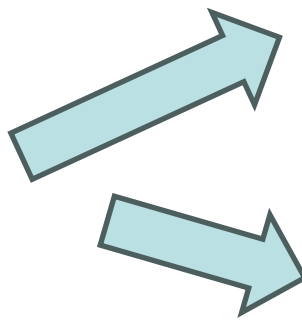
- **Glucosio 6-fosfatasi
(gluconeogenesis)**

Presente solo nel fegato, reni e
intestino tenue



- **Glucose 6-fosfatasi non ha regolazione allosterica**
- **E' regolata solo dalla concentrazione del substrato.**

Gluconeogenesi: correlata a due cicli



Ciclo di Cori

Ciclo dell'alanina-glucosio

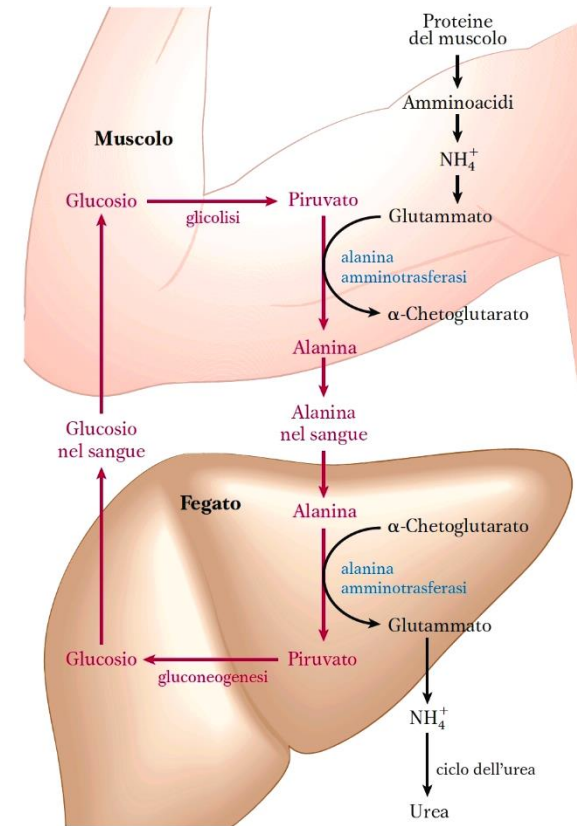
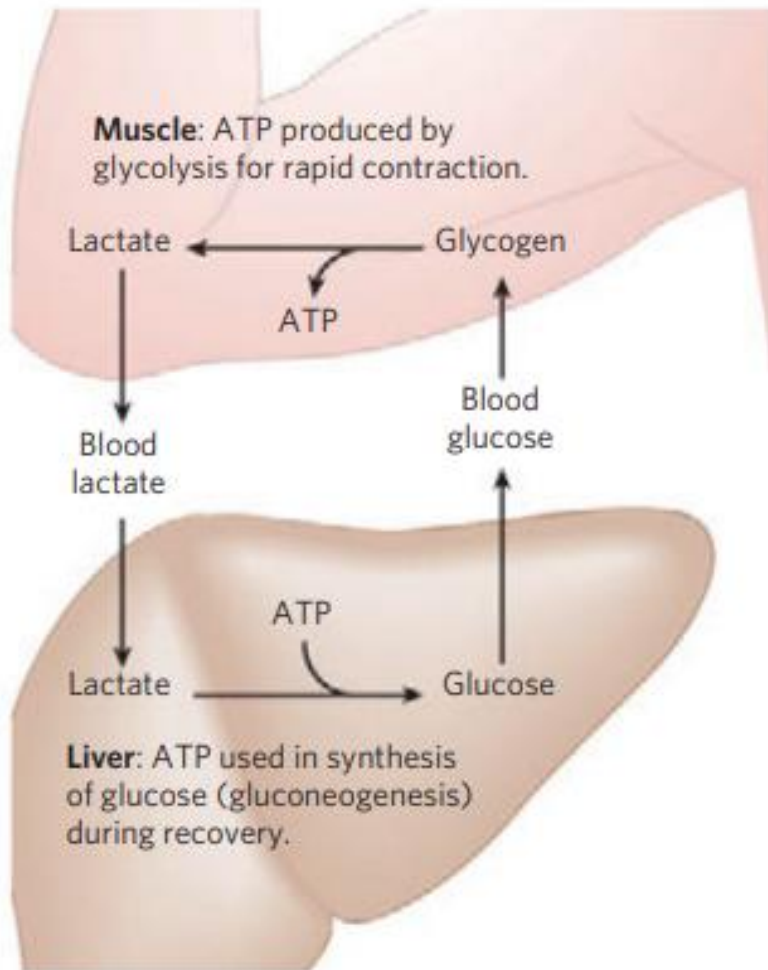
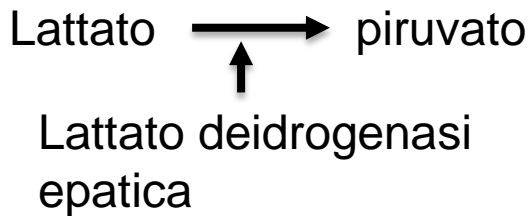
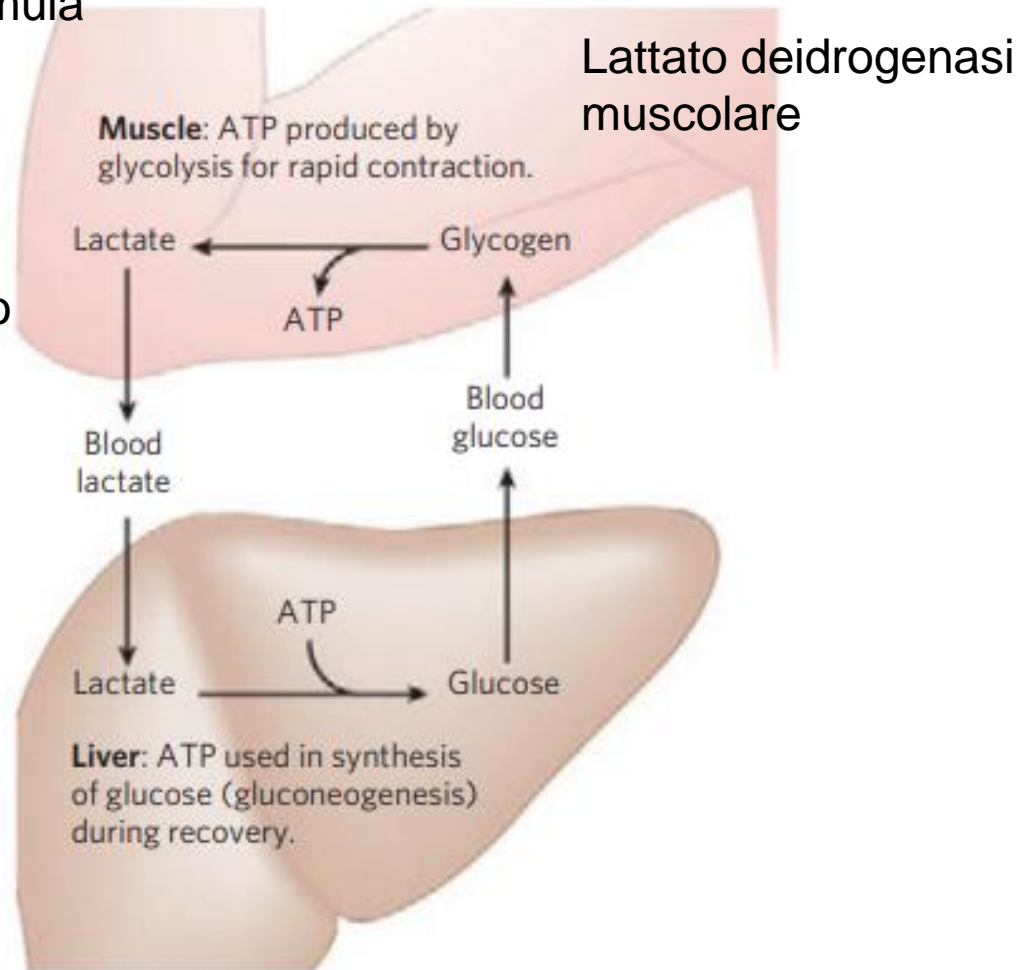
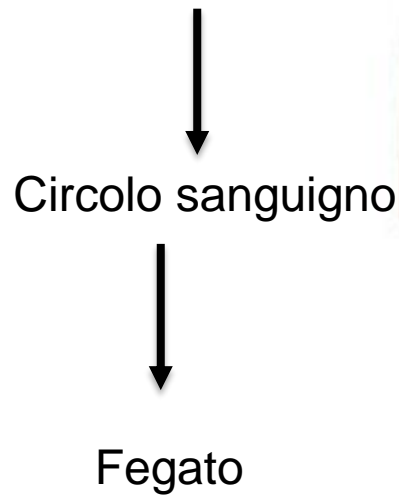


Figura 18.9 Ciclo glucosio-alanina. L'alanina serve come trasportatore dell'ammoniaca e dello scheletro carbonioso del piruvato dal muscolo al fegato. L'ammoniaca viene escretata, mentre il piruvato viene utilizzato per produrre glucosio, che ritorna al muscolo.

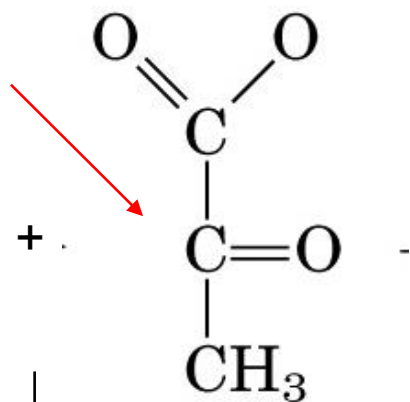
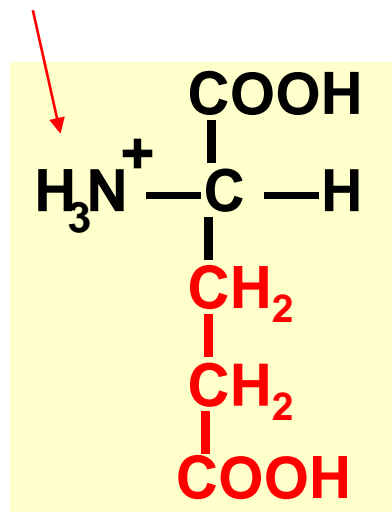
Ciclo di Cori

Muscolo produce lattato (anaerobiosi)

Il lattato si accumula nel muscolo.



Ciclo dell'alanina-glucosio



+

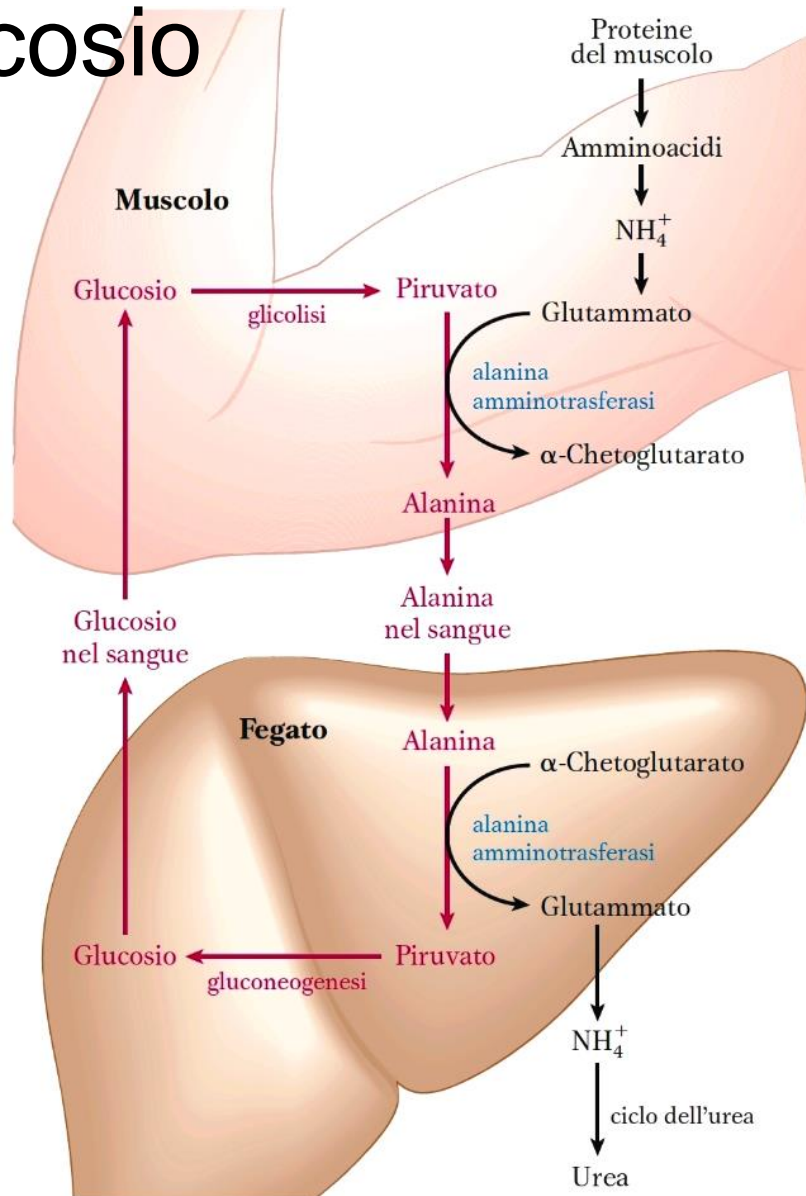
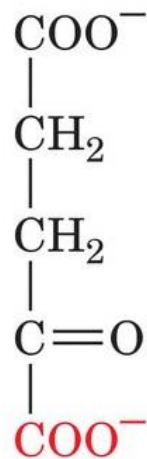
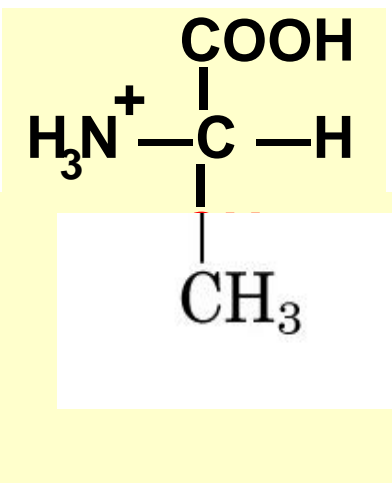


Figura 18.9 Ciclo glucosio-alanina. L'alanina serve come trasportatore dell'ammoniaca e dello scheletro carbonioso del piruvato dal muscolo al fegato. L'ammoniaca viene escretata, mentre il piruvato viene utilizzato per produrre glucosio, che ritorna al muscolo.