CDL CHIMICA

Corso di Biochimica (6 CFU) 48 ore

Prof.ssa Alessandra Olianas

Prof.ssa Alessandra Olianas

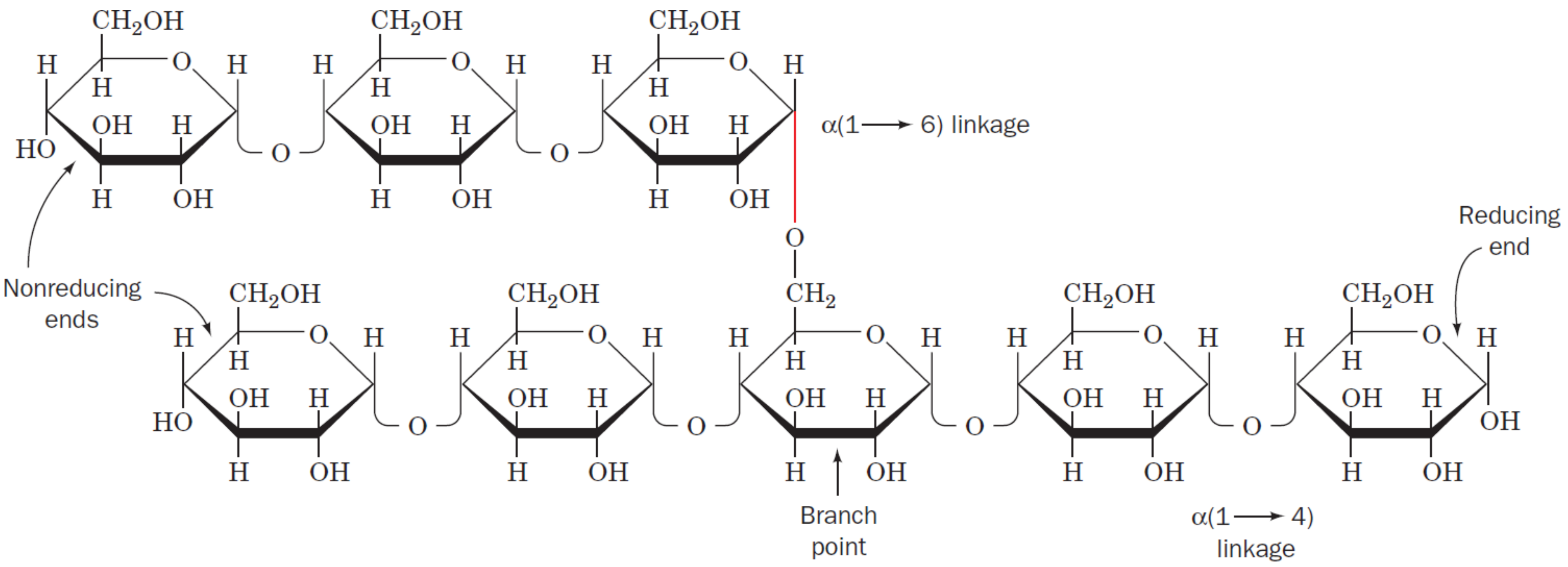
Dip. Scienze della Vita e dell’Ambiente
Sezione Biomedica (laboratorio di Biochimica)
Tel. 0706754507 (studio)

Ricevimento studenti: si riceve per appuntamento

olianas@unica.it

Structure of Glycogen

- Polimero di α-D-glucosio
- Legami α (1->4) glicosidici
- Legami α (1->6) glicosidici nei punti di ramificazione (ogni 10 residui)



Piccole quantità in tutte le cellule ma per la maggior parte sono conservati nel MUSCOLO (rappresenta l'1-2%) e nel FEGATO (rappresenta il 5- 10%) e contengono al loro interno gli enzimi che catalizzano la loro sintesi e degradazione.

Glicogeno assente dopo 24 ore di digiuno (dopo interviene la GLUCONEOGENESI)

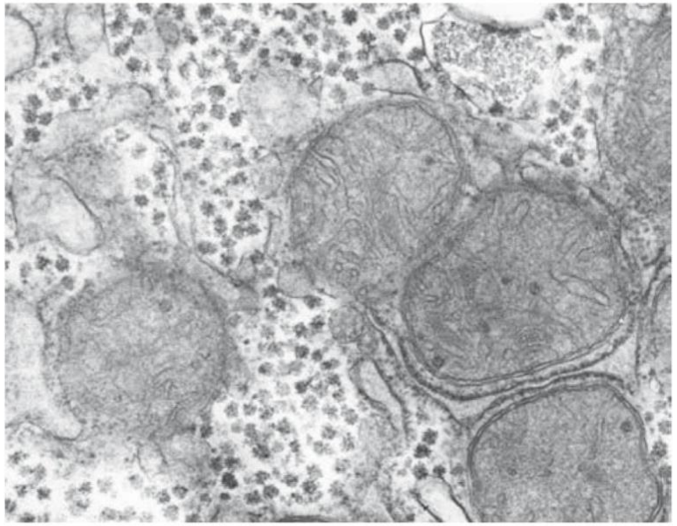
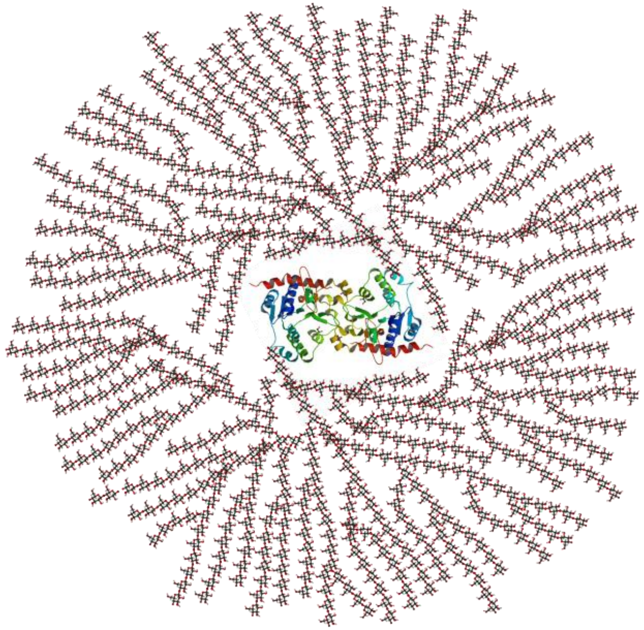


Figura 15.26 Granuli di glicogeno in un epatocita. Il glicogeno, un tipo di deposito dei carboidrati, appare sotto forma di particelle dense agli elettroni, spesso sotto forma di aggregati o rosette. Negli epatociti il glicogeno è strettamente associato ai tubuli del reticolo endoplasmatico liscio. In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



I granuli di glicogeno contengono al loro interno una proteina, la glicogenina (dimero) che serve da primer per la sintesi del glicogeno.

Il rilascio del glicogeno nel fegato è indotto dai bassi livelli di glucosio nel sangue

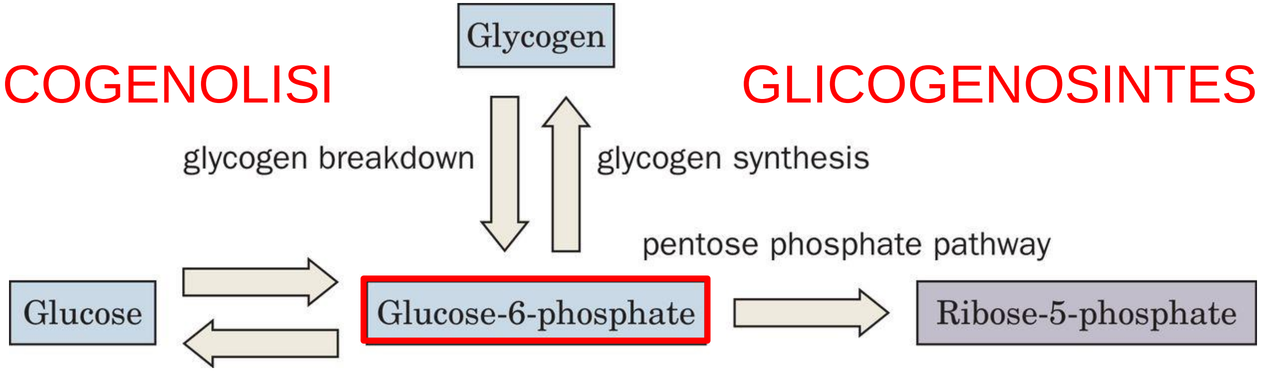
Dopo un pasto ricco di carboidrati il rifornimento di glucosio è superiore al fabbisogno dell'organismo.
Il glucosio viene immagazzinato sotto forma di glicogeno

Don W Fawcett/Getty Images

Nel CITOSOL

GLICOGENOLISI

GLICOGENOSINTESI



D. Nelson, M. Cox, *I principi di biochimica di Lehninger-Settima edizione*, Zanichelli editore 2018

ZANICHELLI

Fegato

Glicogeno

↓ Bassa [glucosio] nel sangue

Glucosio 6-P

↓

Glucosio

Vengono ripristinati i livelli di glucosio nel sangue

Muscolo

Glicogeno

↓

Glucosio 6-P

↓

Via glicolitica

Glycogen Breakdown

- Glycogen, the storage form of glucose, is a branched polymer.
- Glucose mobilization in the liver involves a series of conversions from glycogen to glucose-1-phosphate to glucose-6-phosphate and finally to glucose.

Glicogenolisi

- Glicogeno viene convertito :

glucosio 1-P > glucosio 6-P -> glucosio (fegato).

Sono coinvolti 3 enzimi:

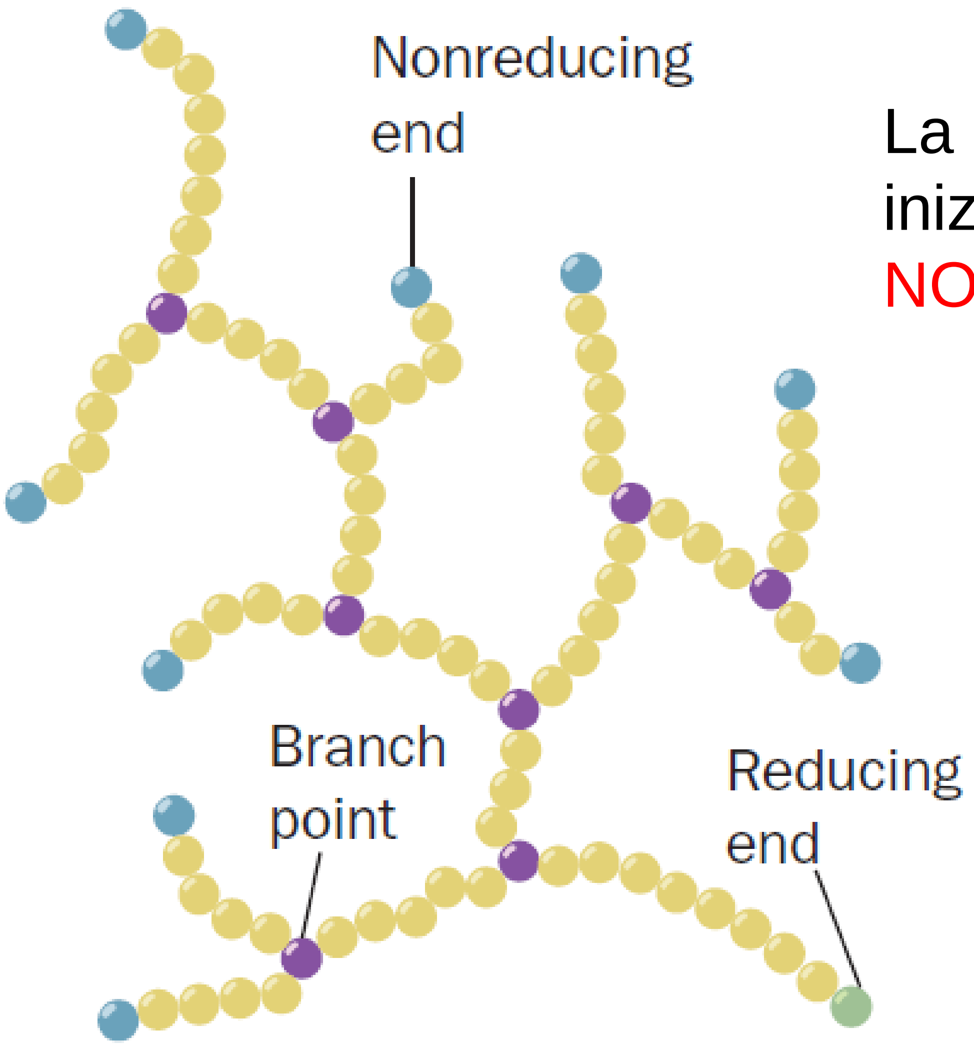
1)Glicogeno fosforilasi

2) Enzima deramificante

3) Fosfoglucomutasi

1) GLICOGENO FOSFORILASI:

catalizza la reazione in cui viene scisso il legame α (1->4) tra due residui di glucosio



La demolizione del glicogeno inizia a partire dalle estremità NON RIDUCENTI I

GLICOGENO FOSFORILASI:
Utilizza il fosfato inorganico (Pi)

La GLICOGENO FOSFORILASI catalizza la **FOSFOROLISI** del glicogeno staccando G1P solo se questo si trova ad almeno 5 unità di distanza dalla ramificazione

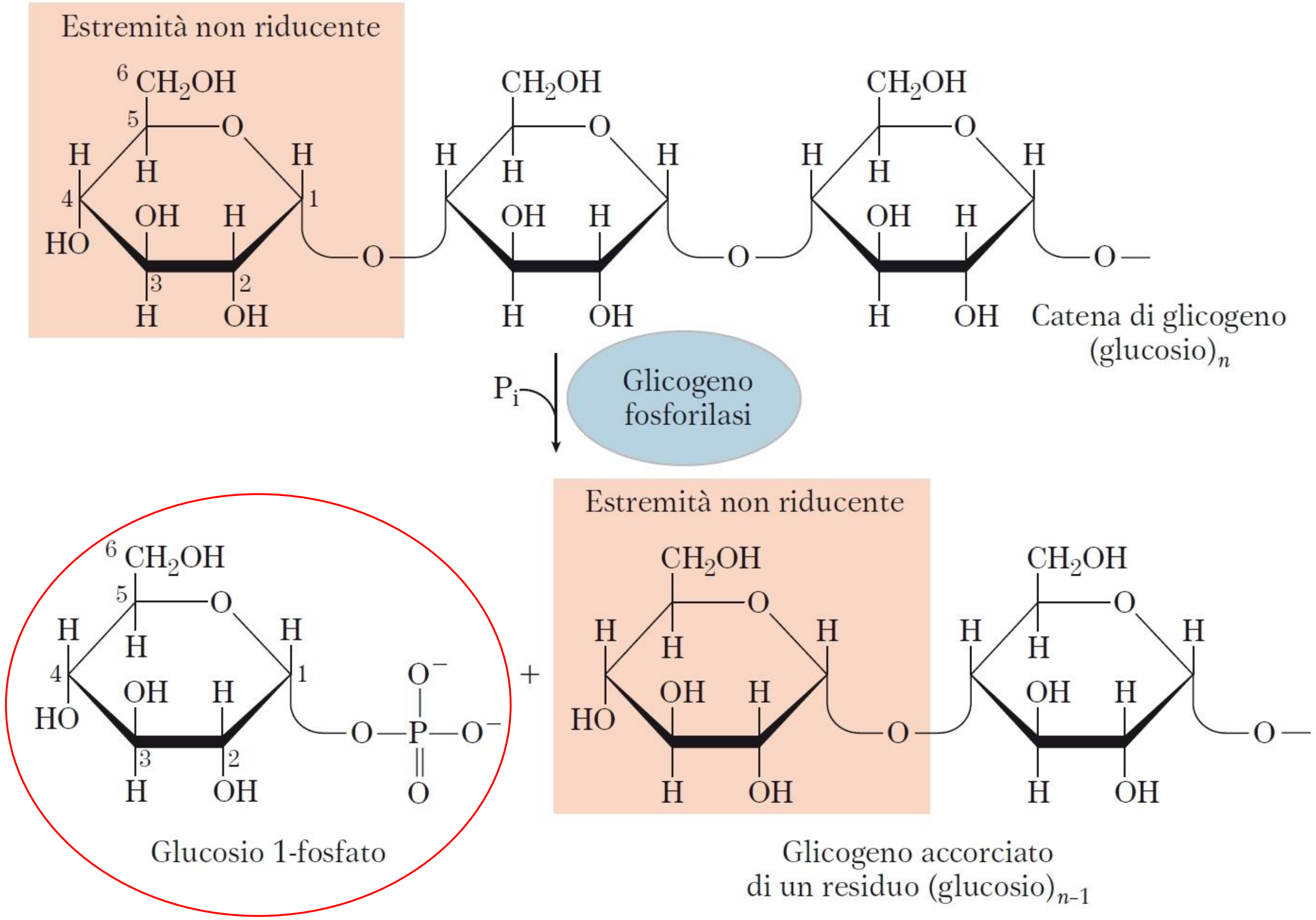
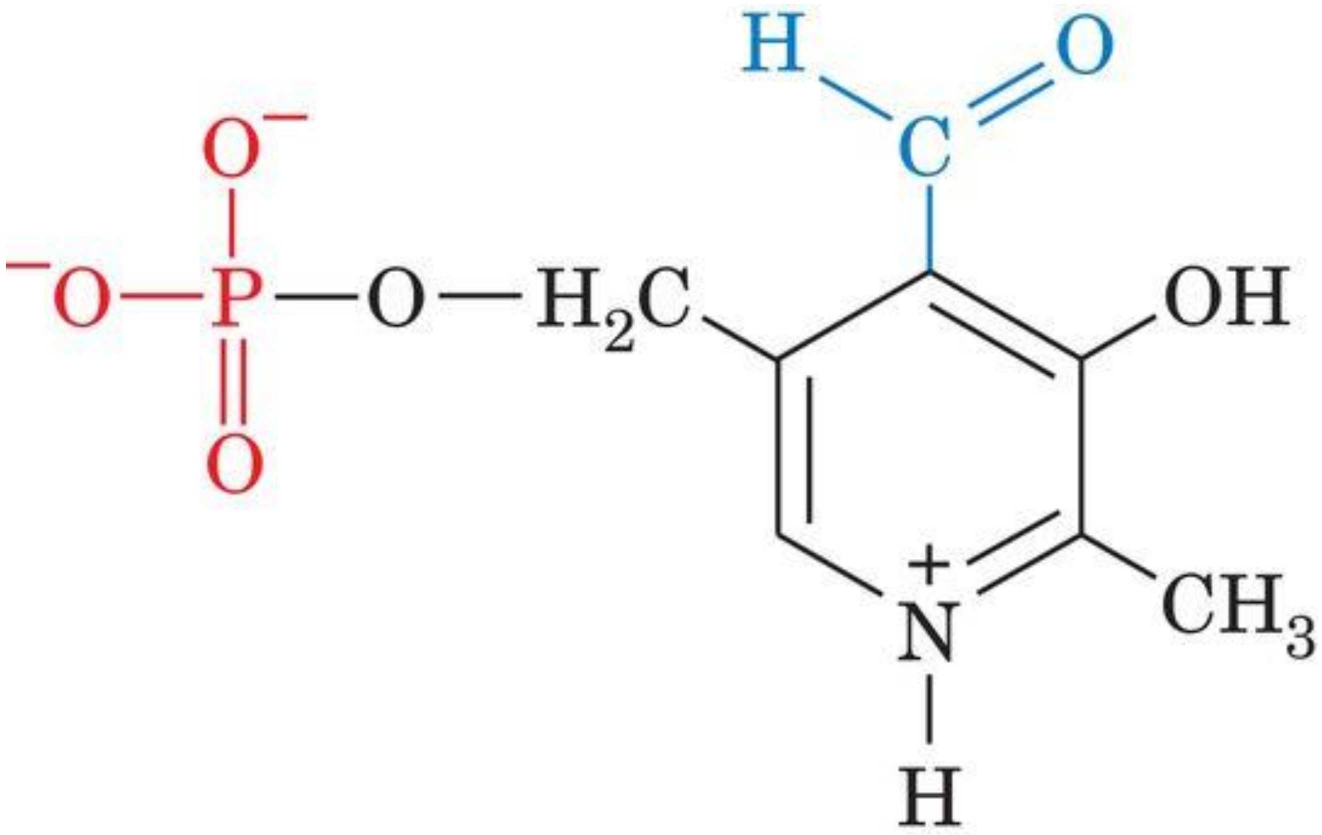


Figura 15.27 Rimozione di un residuo di glucosio dall'estremità non riducente di una catena di glicogeno a opera della glicogeno fosforilasi. Questo processo è ripetitivo; l'enzima rimuove residui di glucosio successivi fino a che raggiunge la quarta unità di glucosio a partire da una ramificazione (vedi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

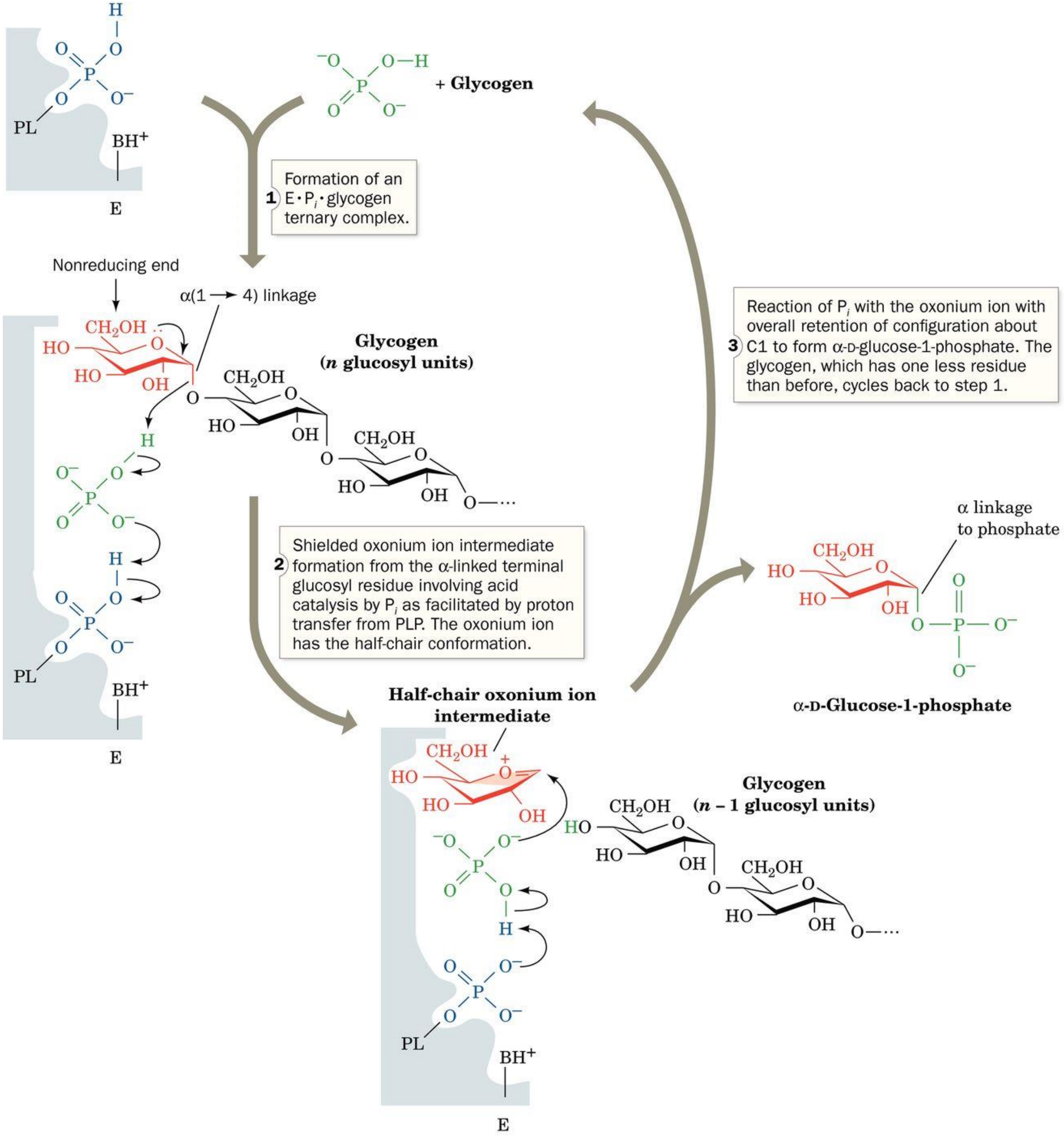
Phosphorylase Cofactor PLP



Pyridoxal-5′-phosphate (PLP)

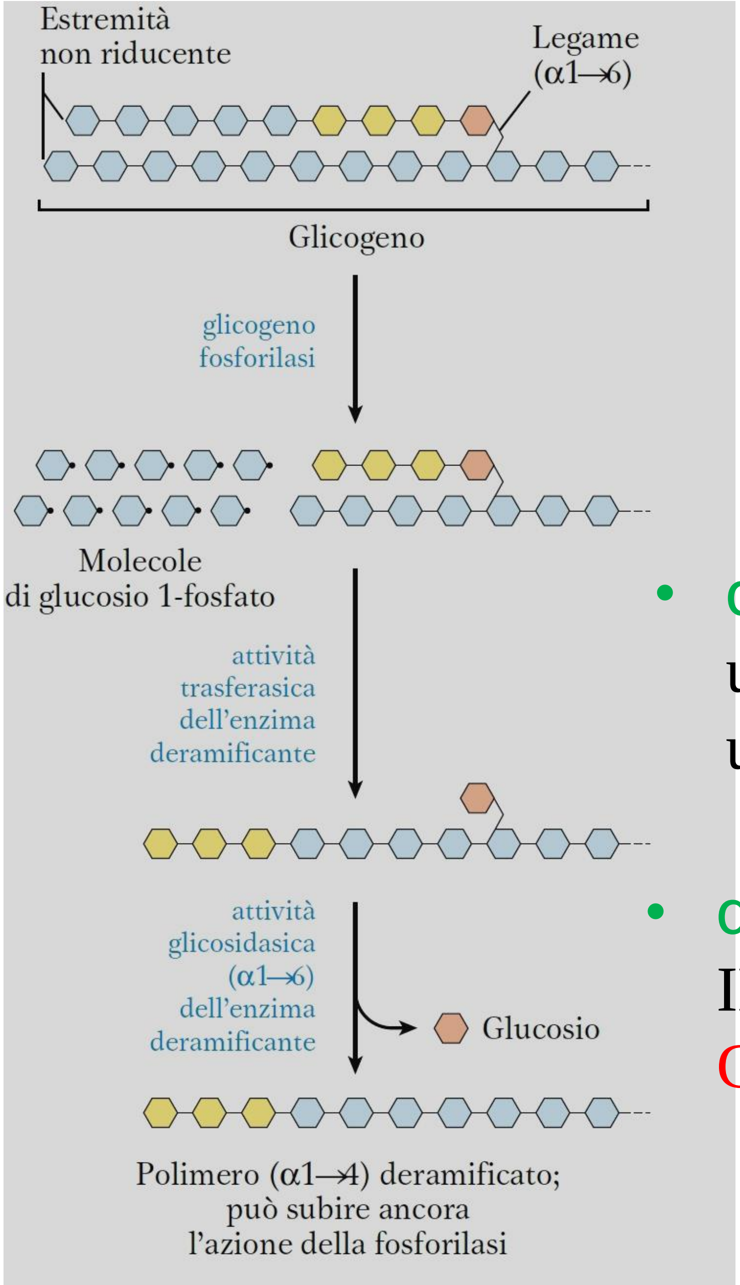
Il gruppo fosfato del cofattore agisce come catalizzatore acido promuovendo l’attacco del Pi sul legame glicosidico

Glycogen Phosphorylase Mechanism



La glicogeno fosforilasi utilizza il PLP come gruppo prostetico il quale catalizza con il suo gruppo fosforico la fosforolisi:

Si forma un complesso ternario ENZIMA+Pi+GLIC



2) L'enzima DERAMIFICANTE del glicogeno rimuove le ramificazioni rendendo accessibili nuove unità saccaridiche all'azione della glicogeno fosforilasi
- DOPPIA AZIONE!

- α(1→4) transglicosilasi >> trasferisce una unità trisaccaridica da una ramificazione ad una estremità riducente

- α(1→6) glicosidasi >> rimuove mediante IDROLISI (non fosforolisi) il glucosio (non G1P) della ramificazione

Fosfoglucomutasi

Glucosio-1-P [Glucosio-1,6-P] Glucosio-6-P

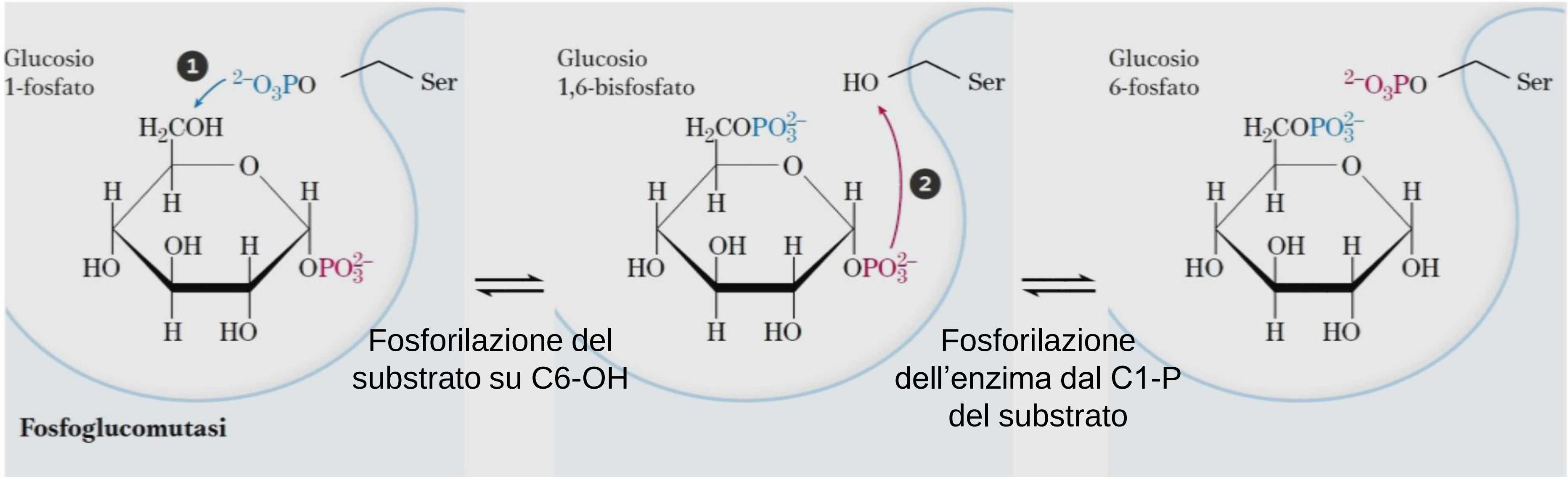
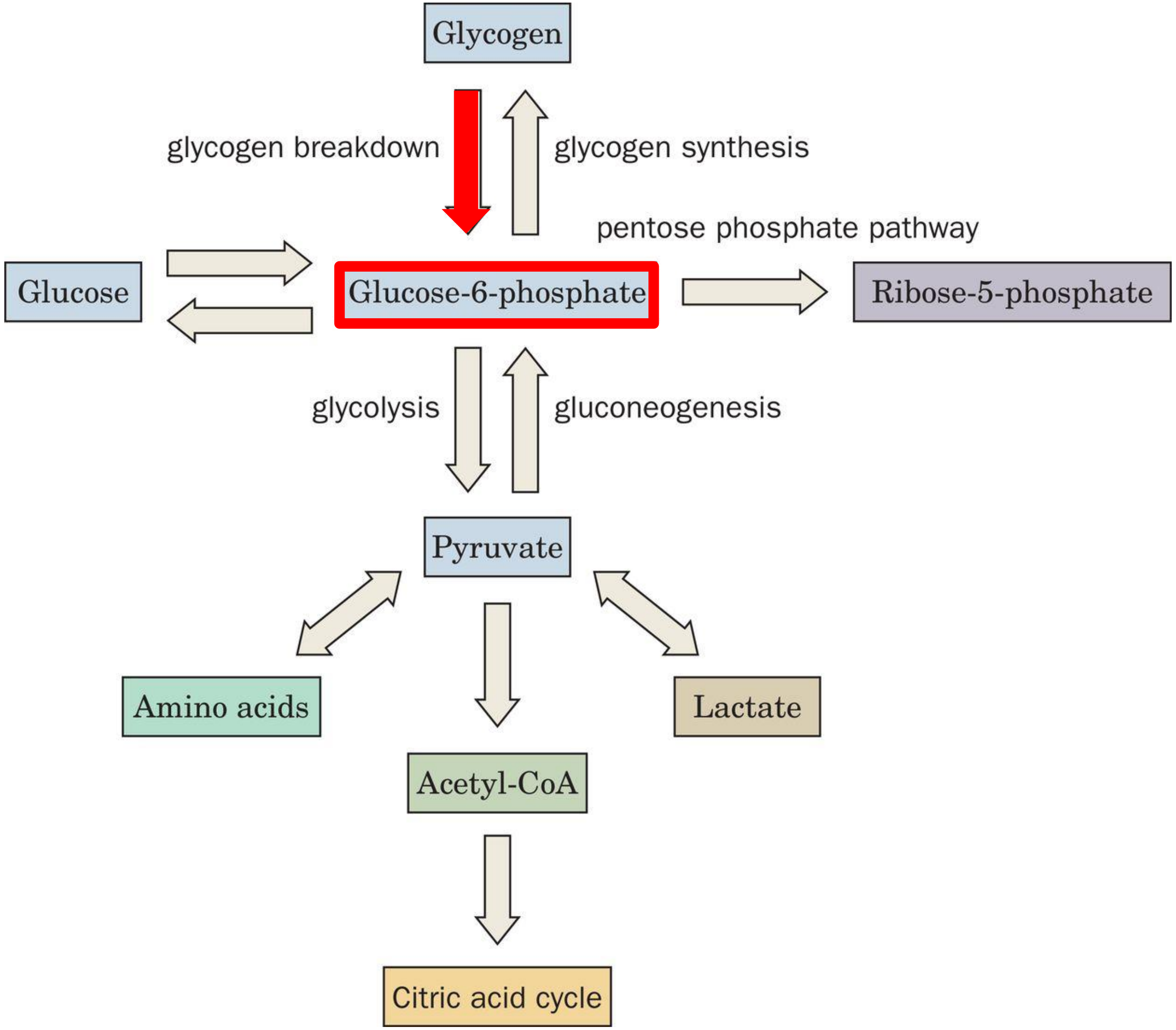
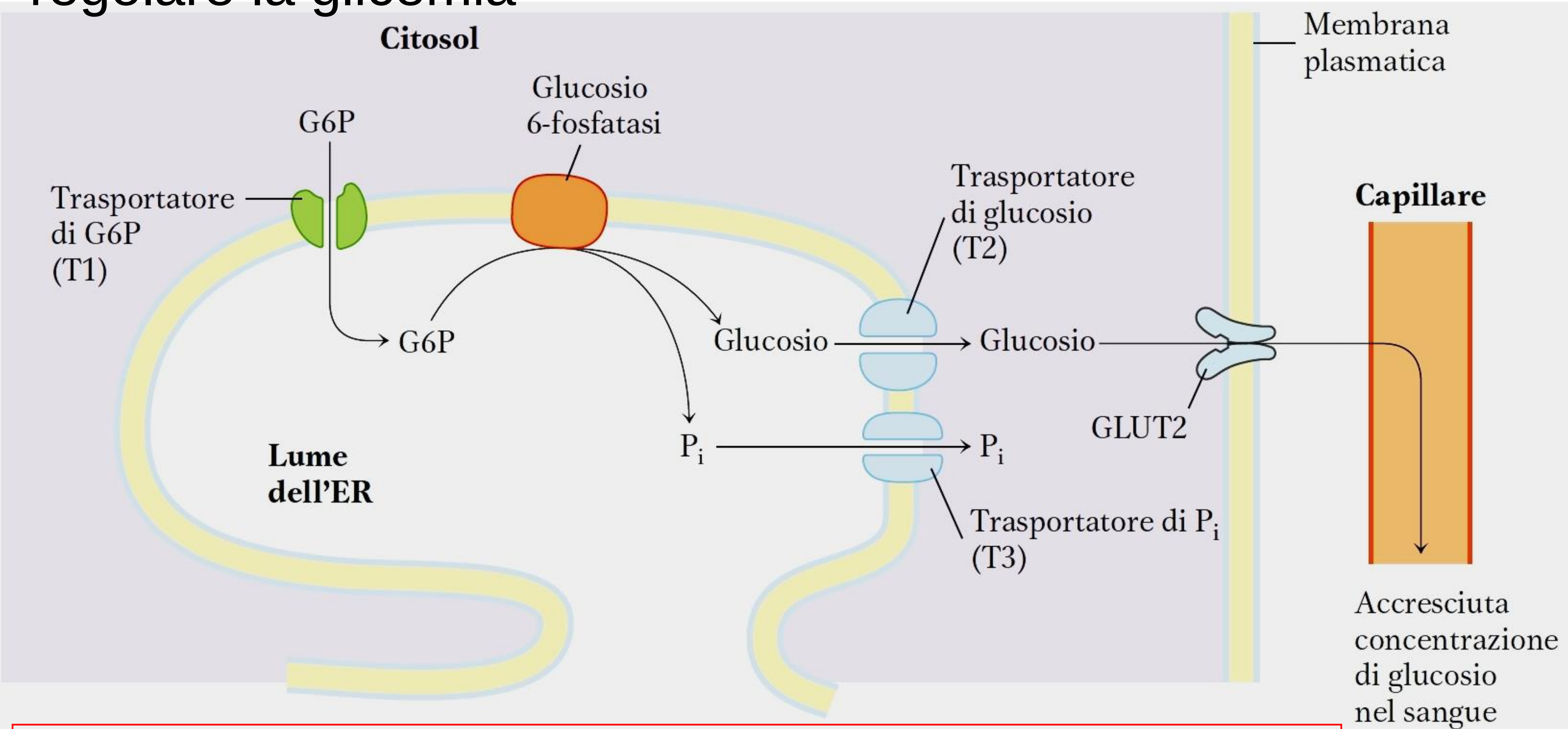


Figura 15.29 La reazione catalizzata dalla fosfoglucomutasi. La reazione ha inizio con la fosforilazione dell'enzima su un residuo di Ser. Nella tappa ❶, l'enzima cede il suo gruppo fosforico (in blu) al glucosio 1-fosfato, producendo glucosio 1,6-bisfosfato. Nella tappa ❷, il gruppo fosforico sull'atomo C-1 del glucosio 1,6-bisfosfato (in rosso) viene riportato sull'enzima, riformando il fosfoenzima e producendo glucosio 6-fosfato.

Il G6P così ottenuto può seguire diversi destini metabolici…..



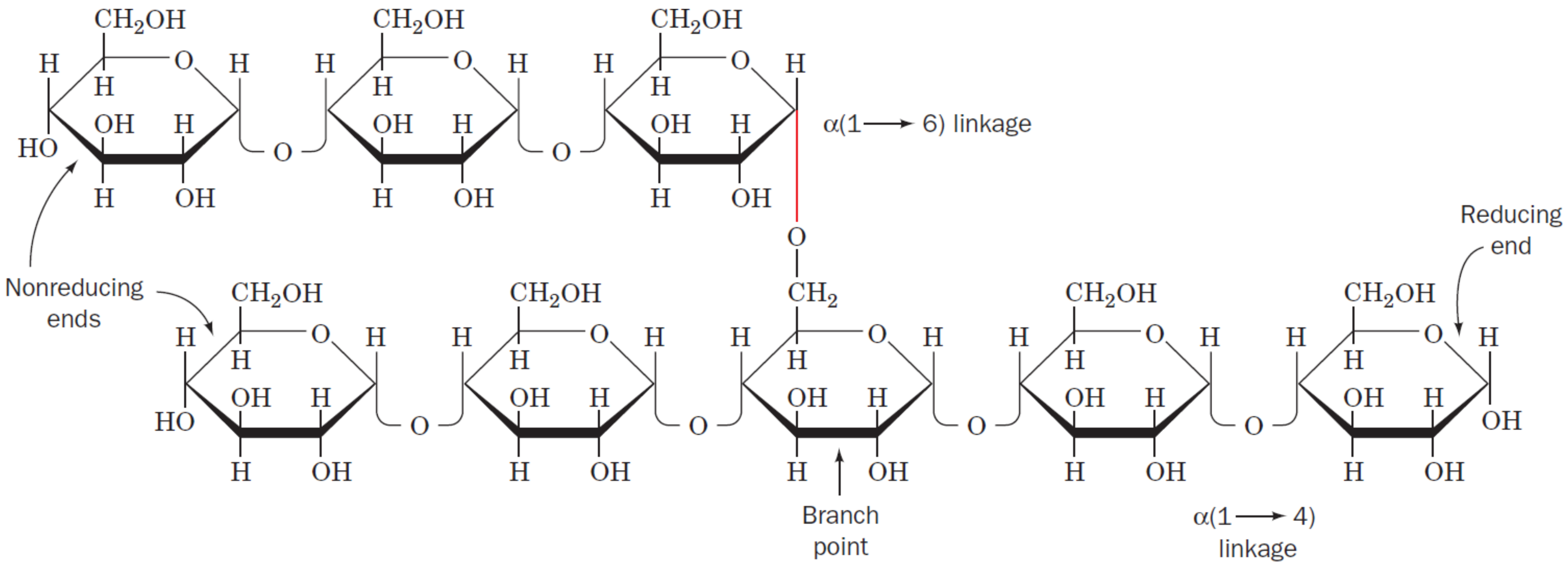
….ma SOLO nel fegato la glucosio-6-fosfatasi (G6Pasi) del ER produce glucosio libero che può abbandonare la cellula e regolare la glicemia



Il MUSCOLO non ha glucosio-6-fosfatasi (G6Pasi)

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.

Glicogenosintesi



Glicogeno: riserva energetica

Accumulato soprattutto in due organi : fegato e muscoli con finalità diverse

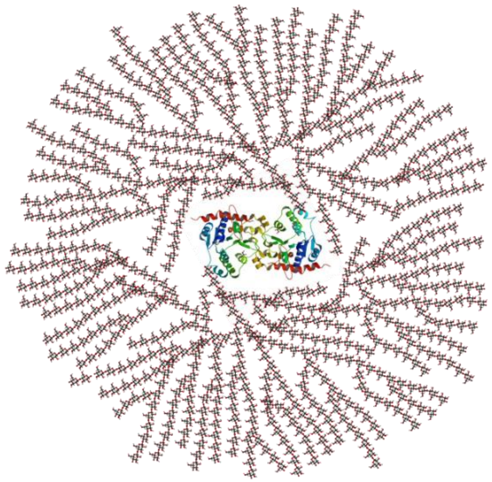
Glicogenosintesi

Due molecole importanti nella glicogenosintesi:

- UDP-glucosio: una molecola di glucosio attivata.

•- Glicogenina.

I granuli di glicogeno contengono al loro interno una proteina, la glicogenina (dimero) che serve da primer per la sintesi del glicogeno.



Glicogenosintesi

Glicogenosintesi: intervengono 3 enzimi:

1) UDP-glucosio pirofosforilasi

2) Glicogeno sintetasi (o sintasi)

3) Enzima ramificante

La biosintesi del glicogeno passa attraverso la formazione di uno zucchero legato ad un nucleotide

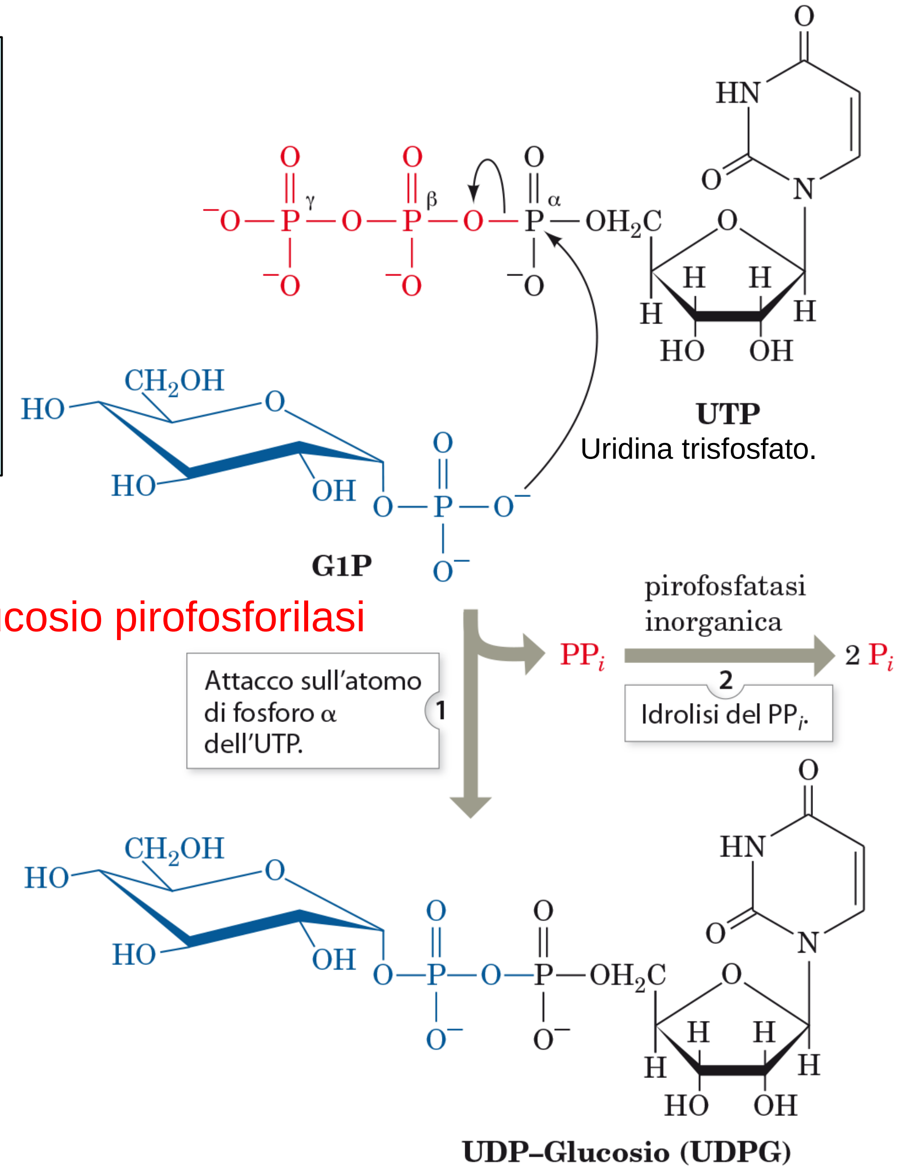
(2 reazione della glicolisi)

Glucosio 6P

↑↓ mutasi

Glucosio 1P

UDP-glucosio pirofosforilasi

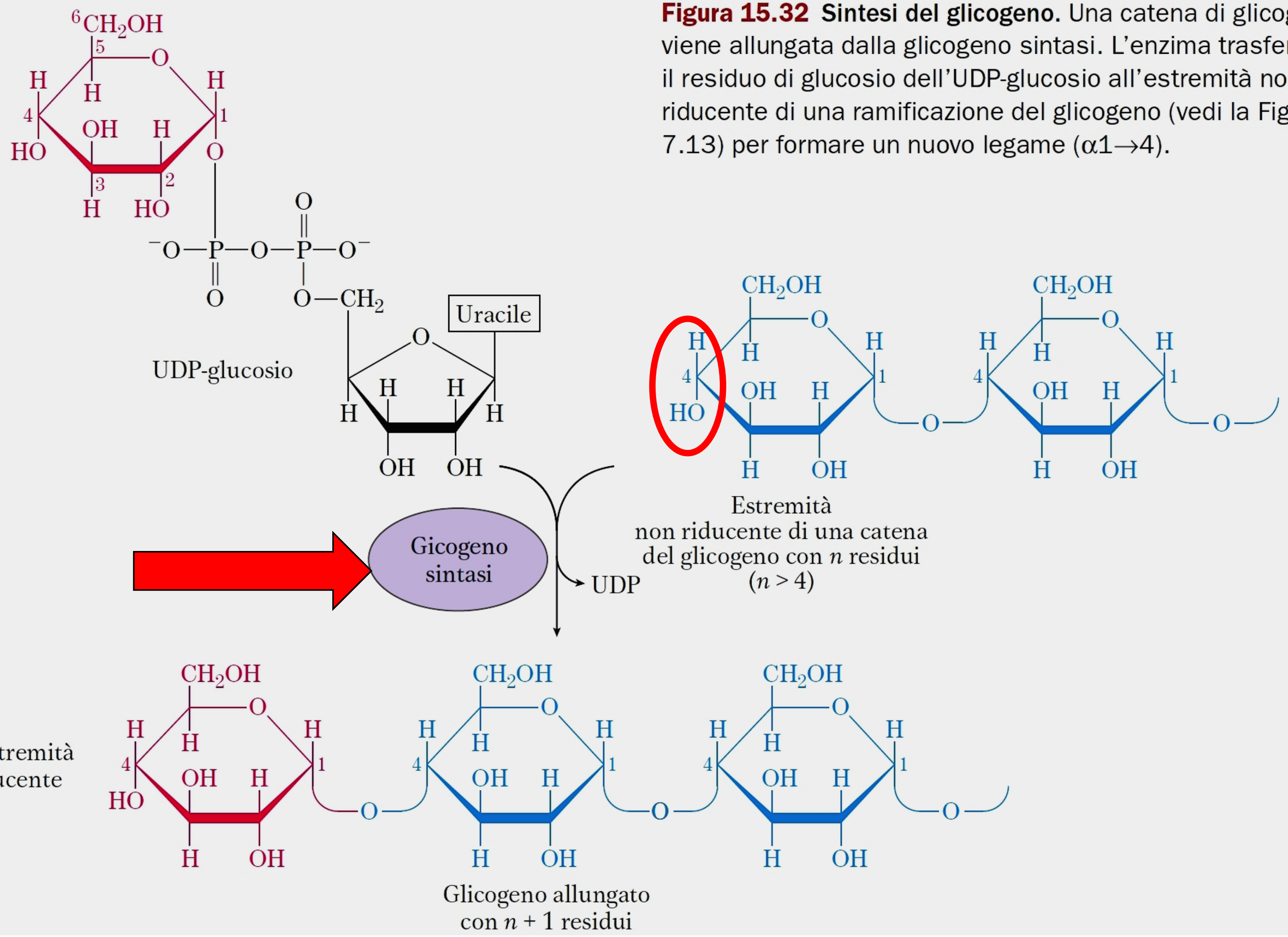


Viene scisso il legame fosfoestere tra il fosfato in posizione α e quello β nell'UTP.

Si libera pirofosfato (PPi)
Rapidamente convertito in 2 Pi da una pirofosfatasi

L'idrolisi del pirofosfato in Pi rende la reazione ESOERGONICA (-19kJ/mol) quindi spontanea

Figura 15.32 Sintesi del glicogeno. Una catena di glicogeno viene allungata dalla glicogeno sintasi. L'enzima trasferisce il residuo di glucosio dell'UDP-glucosio all'estremità non riducente di una ramificazione del glicogeno (vedi la Figura 7.13) per formare un nuovo legame (α1→4).

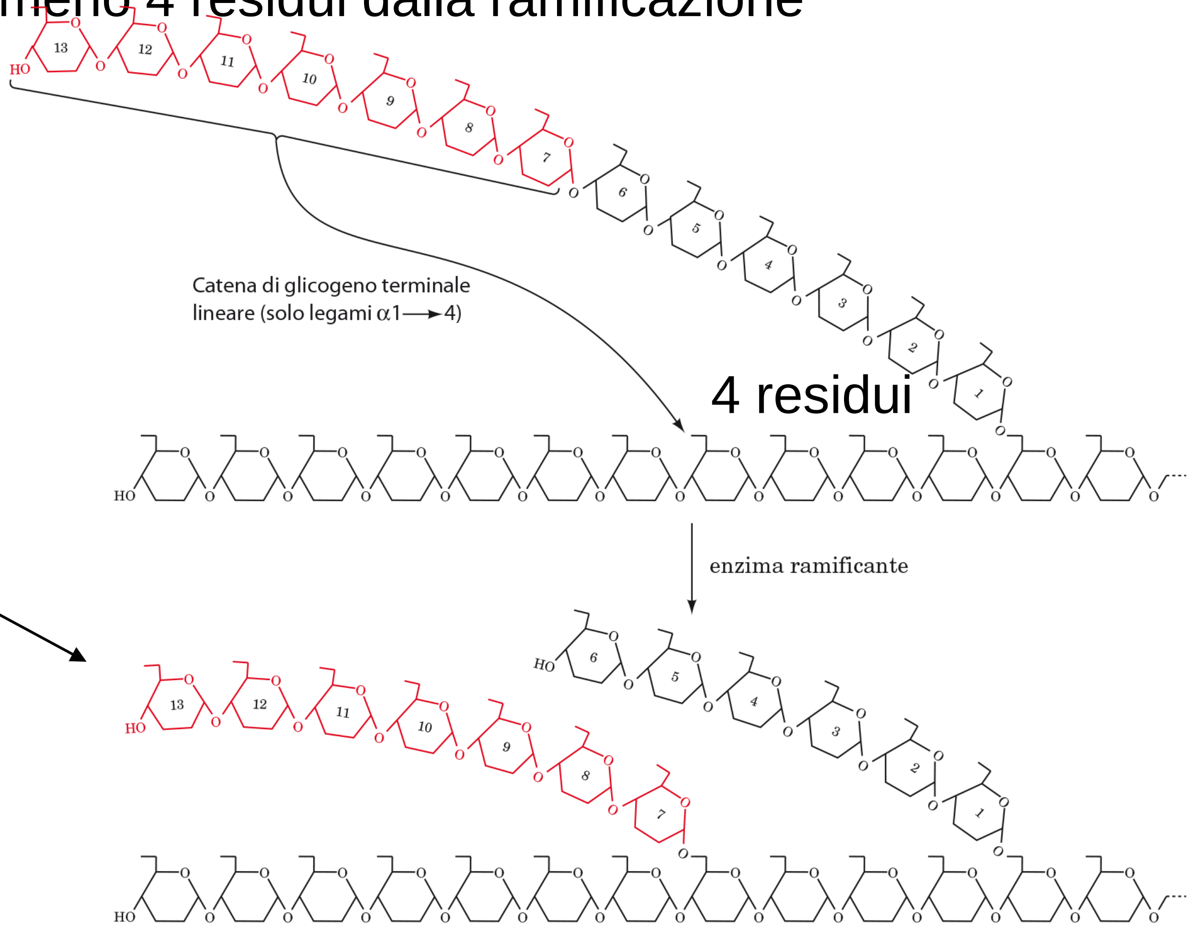


La catena si allunga fino a 10-12 residui di glicogeno

L'enzima ramificante: trasferisce 7 unità di glucosio dall'estremità di una catena al gruppo OH del C6 della molecola di glicogeno. (legame α 1→6)

La catena da cui vengono trasferite le 7 unità saccaridiche deve essere lunga almeno 10-12 residui

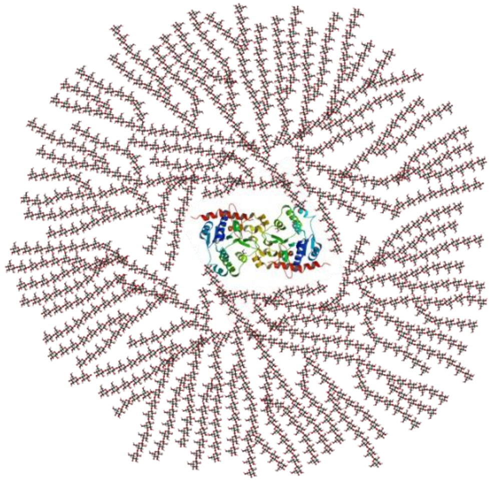
La catena viene trasferita ad almeno 4 residui dalla ramificazione



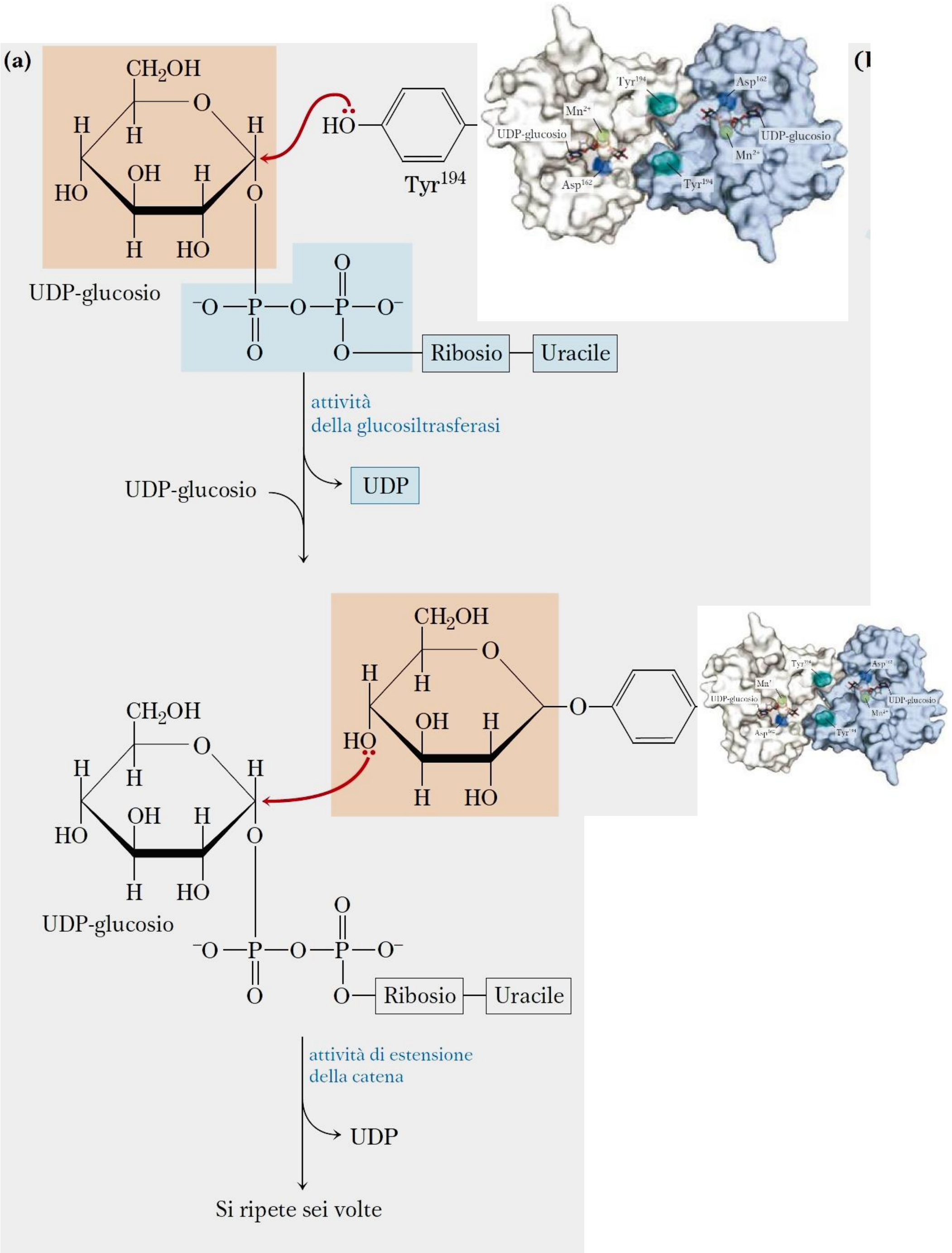
Su queste ramificazioni può continuare ad aggiungere residui di glucosio

La GLICOGENO SINTASI non può creare de novo una molecola di glicogeno, ma solo allungare una molecola preesistente

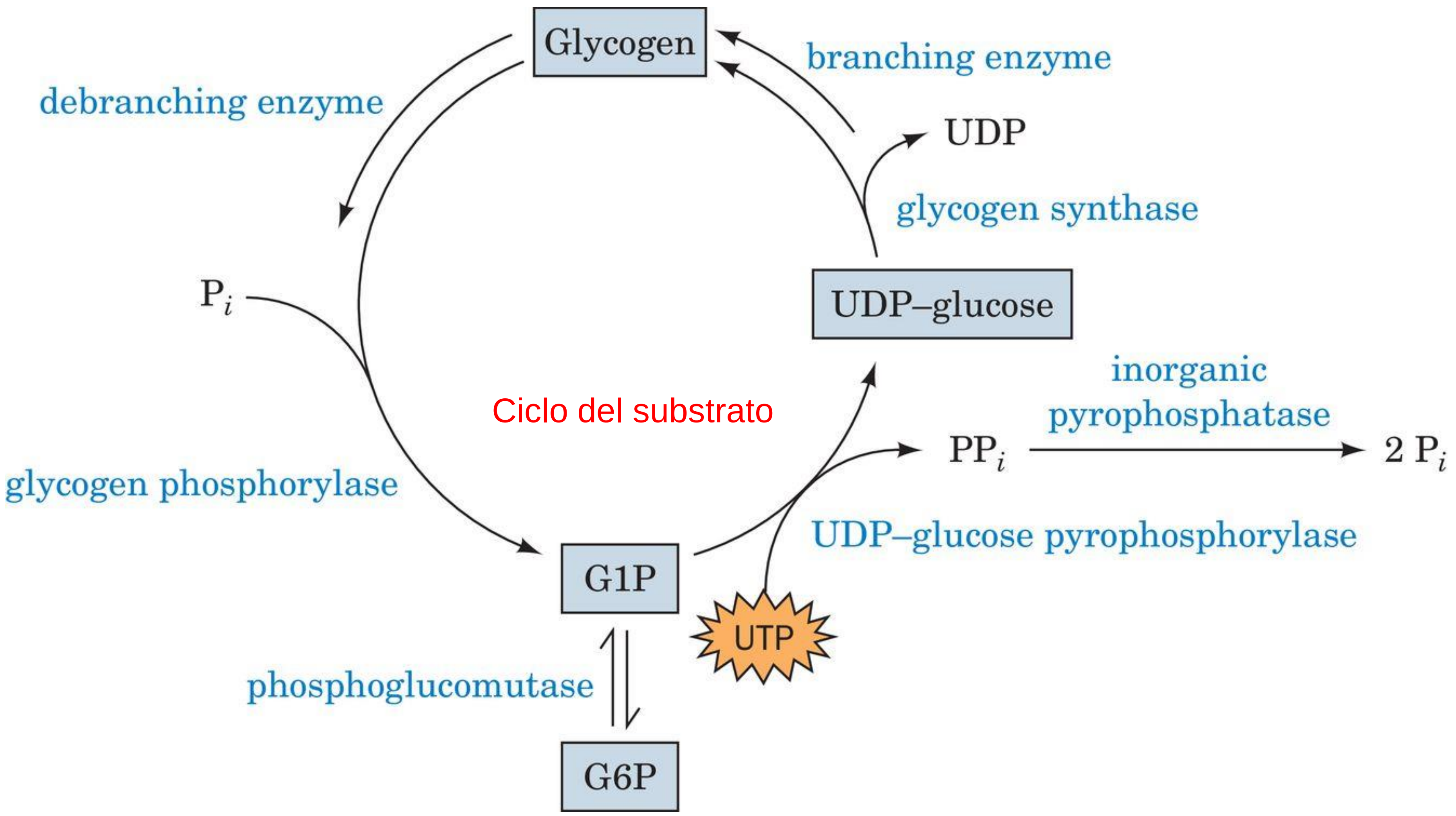
E’ necessario un innesco: glicogenina (dimero) (332 aminoacidi) 37 kDa

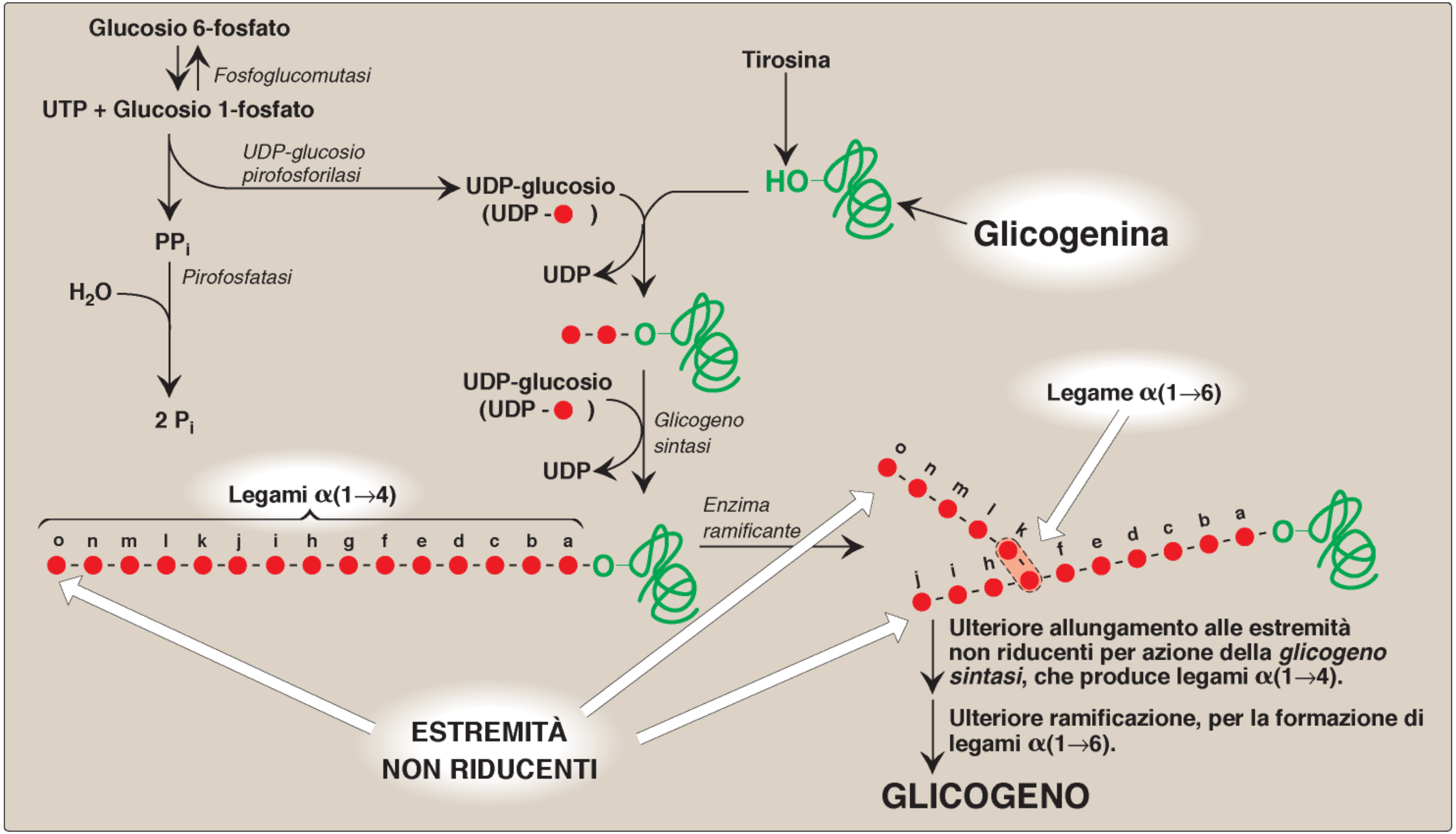


- Funge da innesco
- Ha attività enzimatica (aggiunge 1 residuo di UDP-glucosio ad un residuo di Tyr della molecola)
- Estende la molecola con altri 7 residui di glucosio-
- Forma un PRIMER su cui può agire la glicogeno sintasi
- Esiste una molecola di glicogenina per molecola di glicogeno!


(a)
CH2OH
UDP-glucosio
Tyr194
Ribosio
Uracile
attività
della glucosiltrasferasi
UDP-glucosio
UDP
UDP-glucosio
Ribosio
Uracile
attività di estensione
della catena
UDP
Si ripete sei volte

Opposing Glycogen Pathways: Synthesis & Degradation





Glucosio 6-fosfato
Fosfoglucomutasi
UTP + Glucosio 1-fosfato
UDP-glucosio pirofosforilasi
UDP-glucosio
(UDP -)
PP$_i$
Pirofosfatasi
H_2O
2 P$_i$
Tirosina
HO
Glicogenina
UDP
UDP-glucosio
(UDP -)
Glicogeno sintasi
UDP
Legame α(1→6)
Legami α(1→4)
o n m l k j i h g f e d c b a
Enzima ramificante
o n m l k j i h f e d c b a
Ulteriore allungamento alle estremità non riducenti per azione della *glicogeno sintasi*, che produce legami α(1→4).
Ulteriore ramificazione, per la formazione di legami α(1→6).
GLICOGENO
ESTREMITÀ NON RIDUCENTI

Il controllo della sintesi e demolizione del glicogeno sono reciprocamente regolati da:

-INTERAZIONI ALLOSTERICHE

-SEGNALI ORMONALI

-MODIFICAZIONI COVALENTI REVERSIBILI (fosforilazioni)

Il controllo della sintesi e demolizione del glicogeno sono reciprocamente regolati da:

-Interazione allosterica

Glucosio 6 –fosfato → (positive modulator) ----glycogen synthase

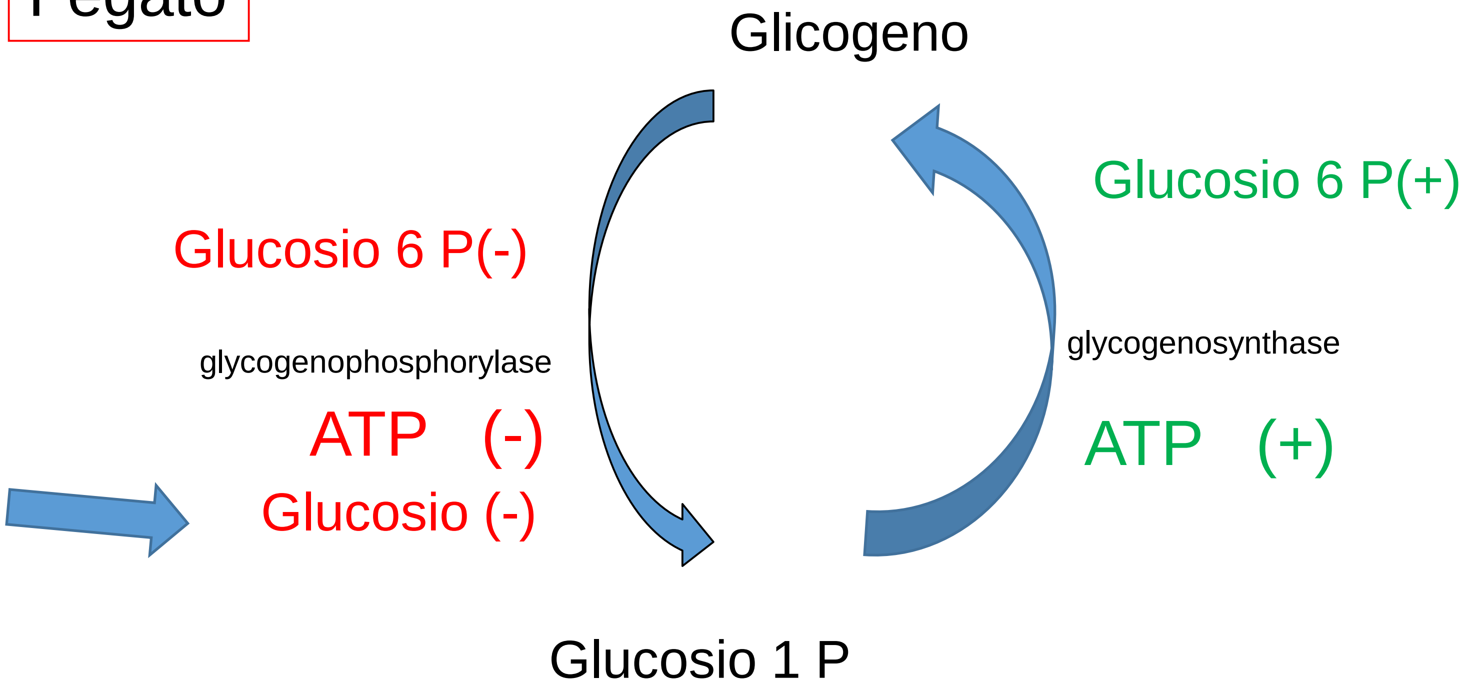
→ (negative modulator)----glycogen phosphorylase

ATP → (positive modulator) ----glycogen synthase

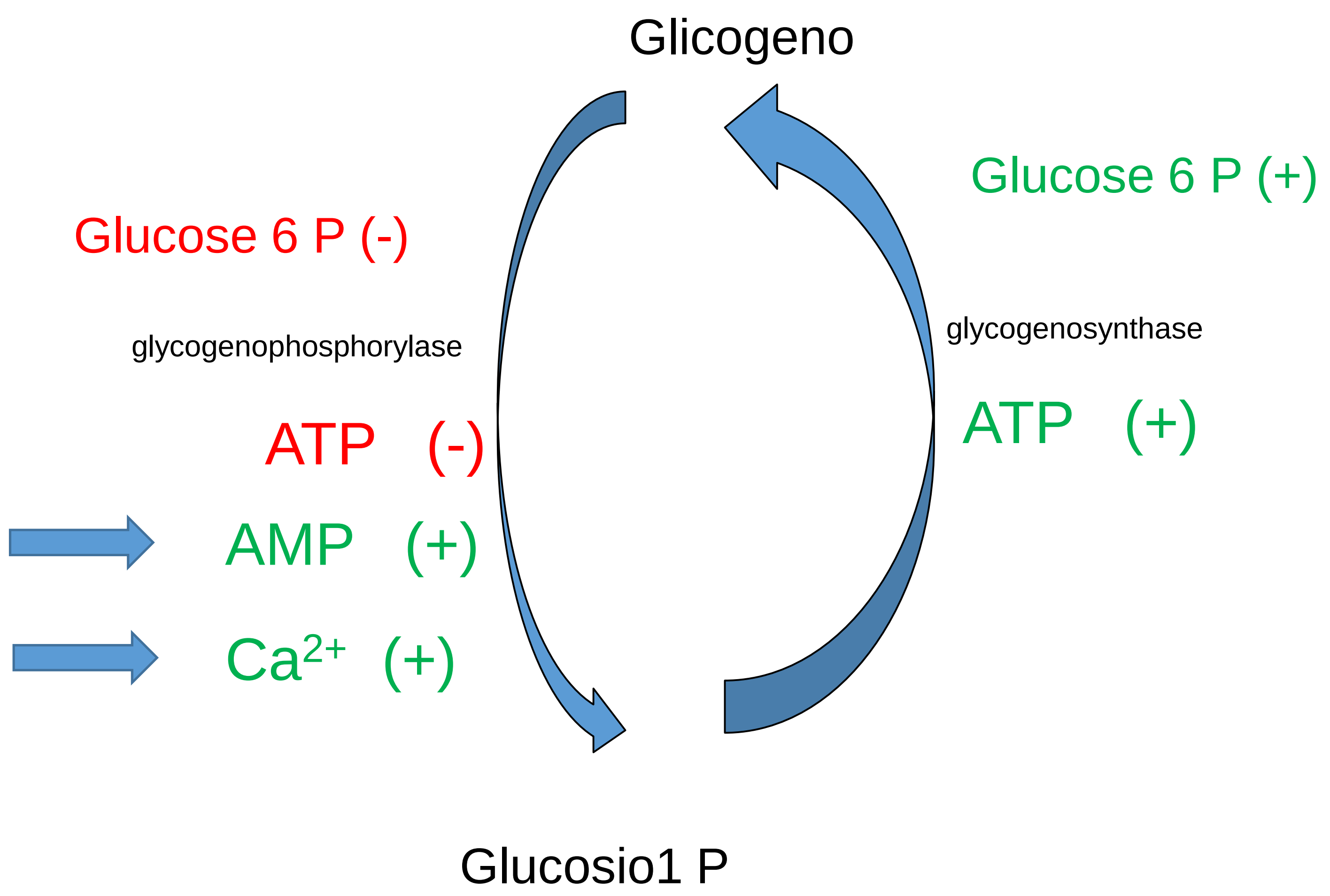
→ (negative modulator)----glycogen phosphorylase

-Interazione allosterica

Fegato



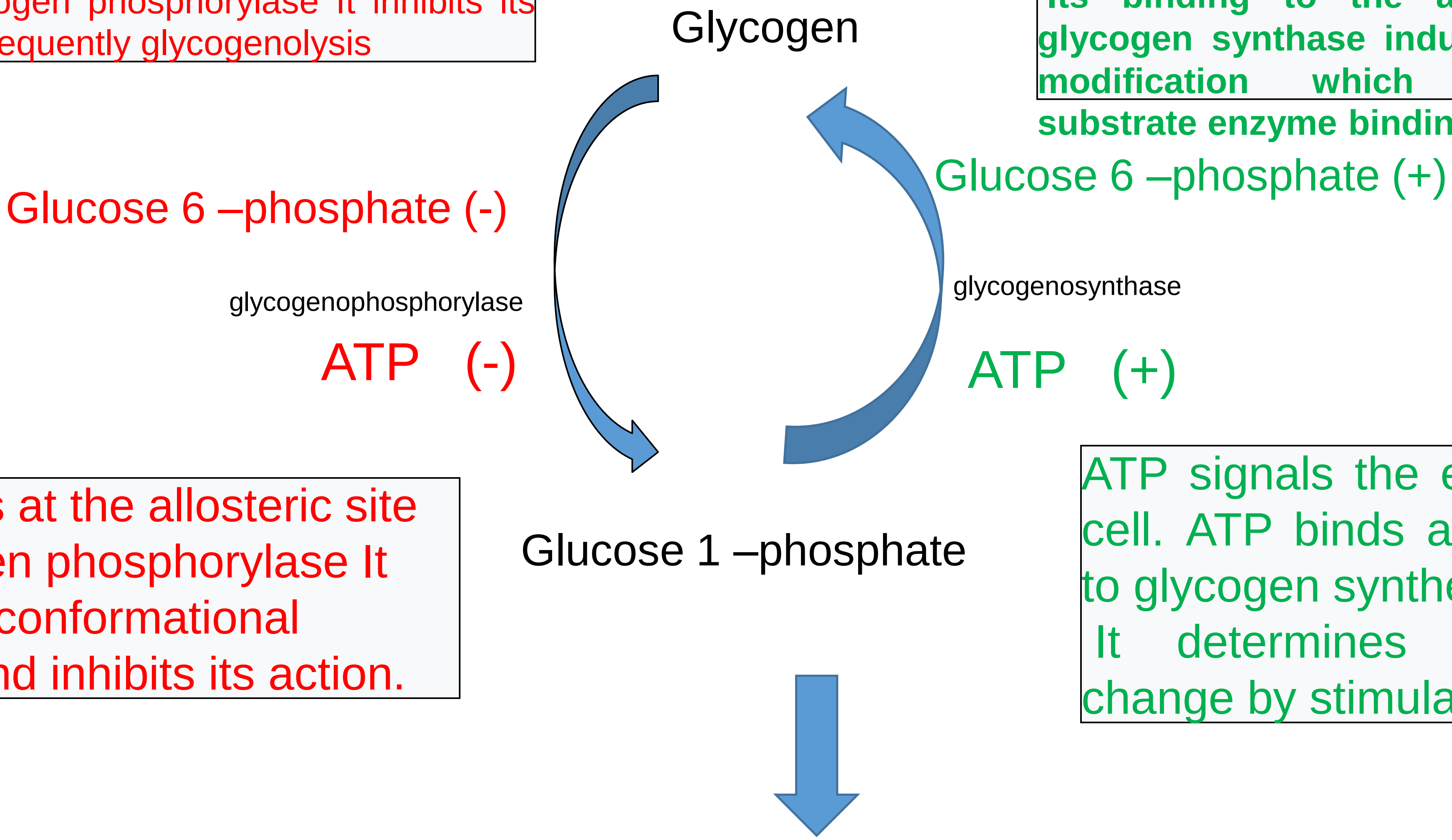
-Interazione allosterica → MUSCLE



Segnali che indicano una intensa attività muscolare (Ca and AMP) attivano la fosforilasi che scinde il glicogeno in glucosio 1P che entra nella glicolisi per ottenere ATP
Conditione FIGHT or flight

Glucose 6 phosphate is a negative allosteric effector of glycogen phosphorylase It inhibits its action and consequently glycogenolysis

Glucose 6 phosphate is an allosteric effector of the positive glycogen synthase.
Its binding to the allosteric site of glycogen synthase induces an allosteric modification which stabilizes the substrate enzyme binding.



ATP binds at the allosteric site to glycogen phosphorylase It causes a conformational change and inhibits its action.

ATP signals the energy state of the cell. ATP binds at the allosteric site to glycogen synthetase
It determines a conformational change by stimulating its action.

The control of glycogenosynthesis and glycogenolysis are mutually regulated by:

-ALLOSTERIC INTERACTION

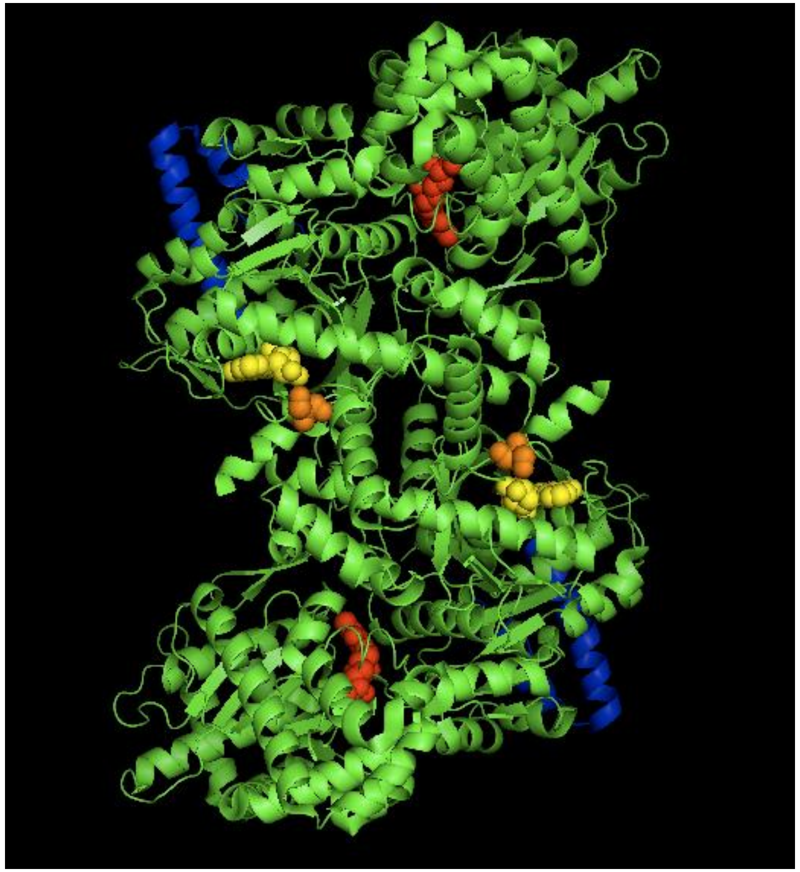
Glucose 6 –phosphate → (positive modulator) ----glycogen synthase

→ (negative modulator)----glycogen phosphorylase

ATP → (positive modulator) ----glycogen synthase

→ (negative modulator)----glycogen phosphorylase

Glicogeno sintasi



Glicogeno sintasi

Effetto del GSK3

Glicogeno Sintasi chinasi 3

Glycogenosynthesis is ensured by the intervention of three enzymatic activities:

1) UDP-glucose pyrophosphorylase

2) Glycogen synthetase (or synthase)

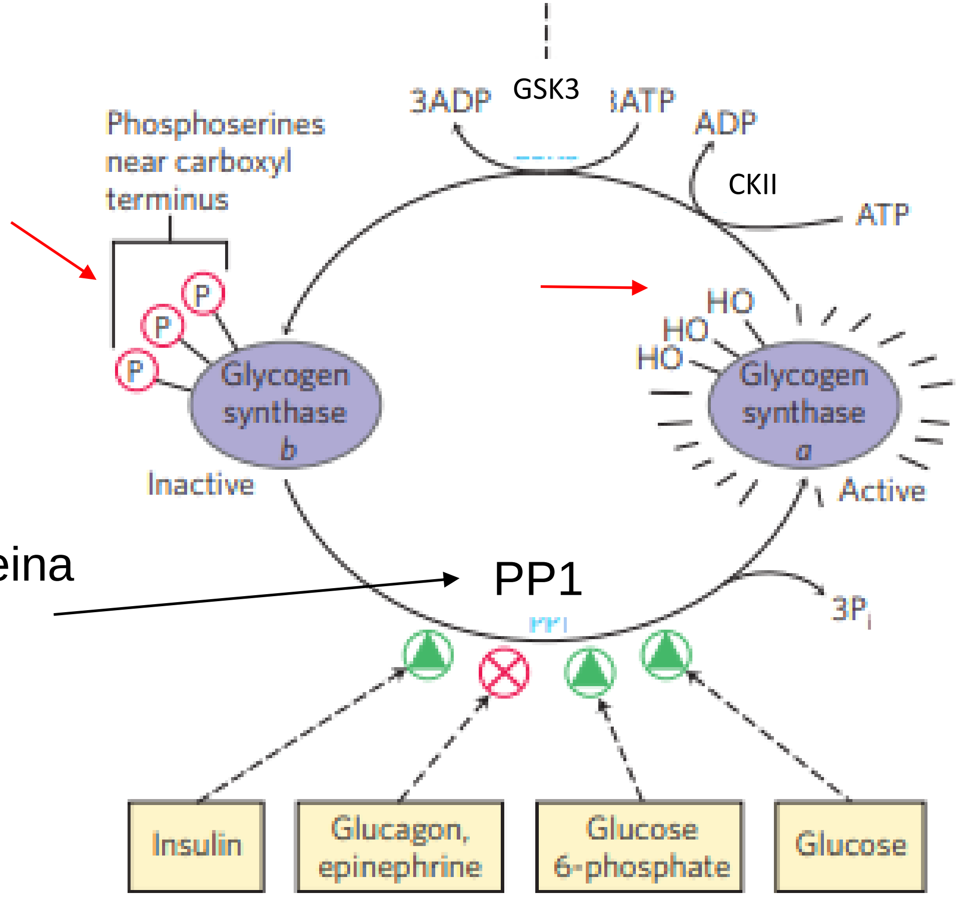
3) Glycogen branching enzyme

Glicogeno sintasi a (attiva) ha tre residui di Serina vicino al C-terminale.

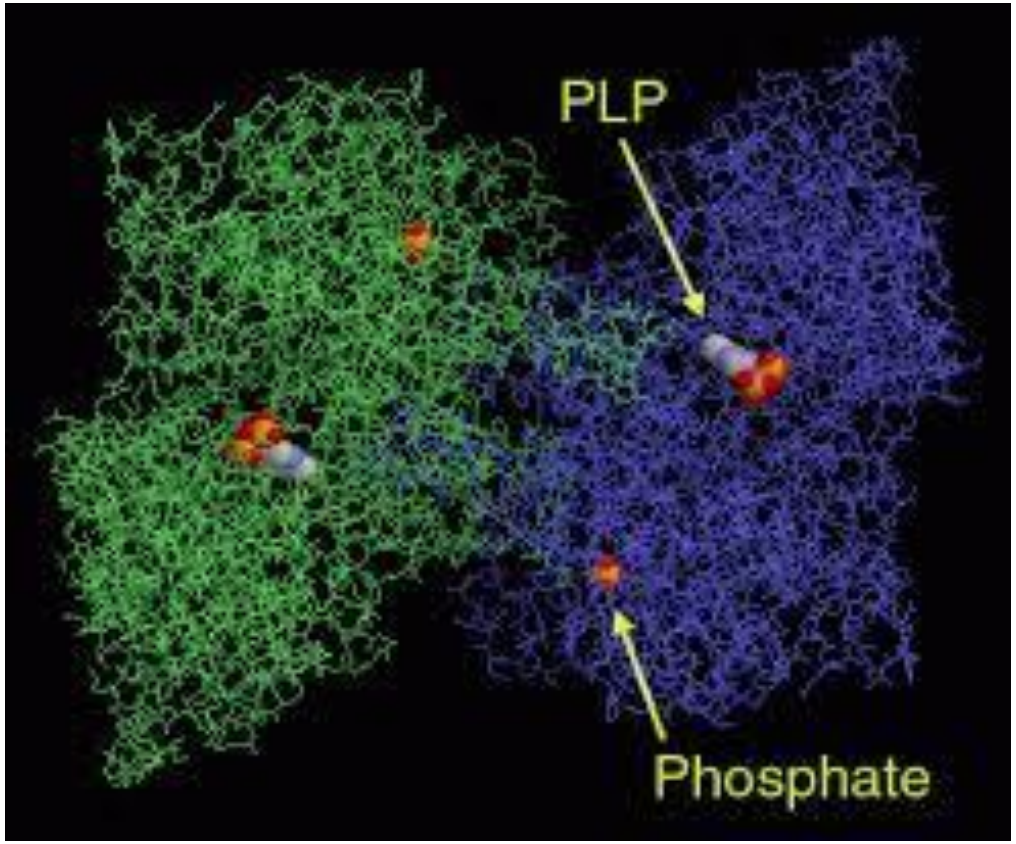
Viene fosforilata dal GSK3 (glicogeno sintasi chinasi 3)

Glicogeno sintasi dalla forma (a) defosforilata (attiva) convertita
Nella forma (b) fosforilata (inattiva)

FOSFO proteina FOSFATASI (PP1)



Glicogeno fosforilasi



Glycogen phosphorylase (DIMER) exists in two interconvertible forms:

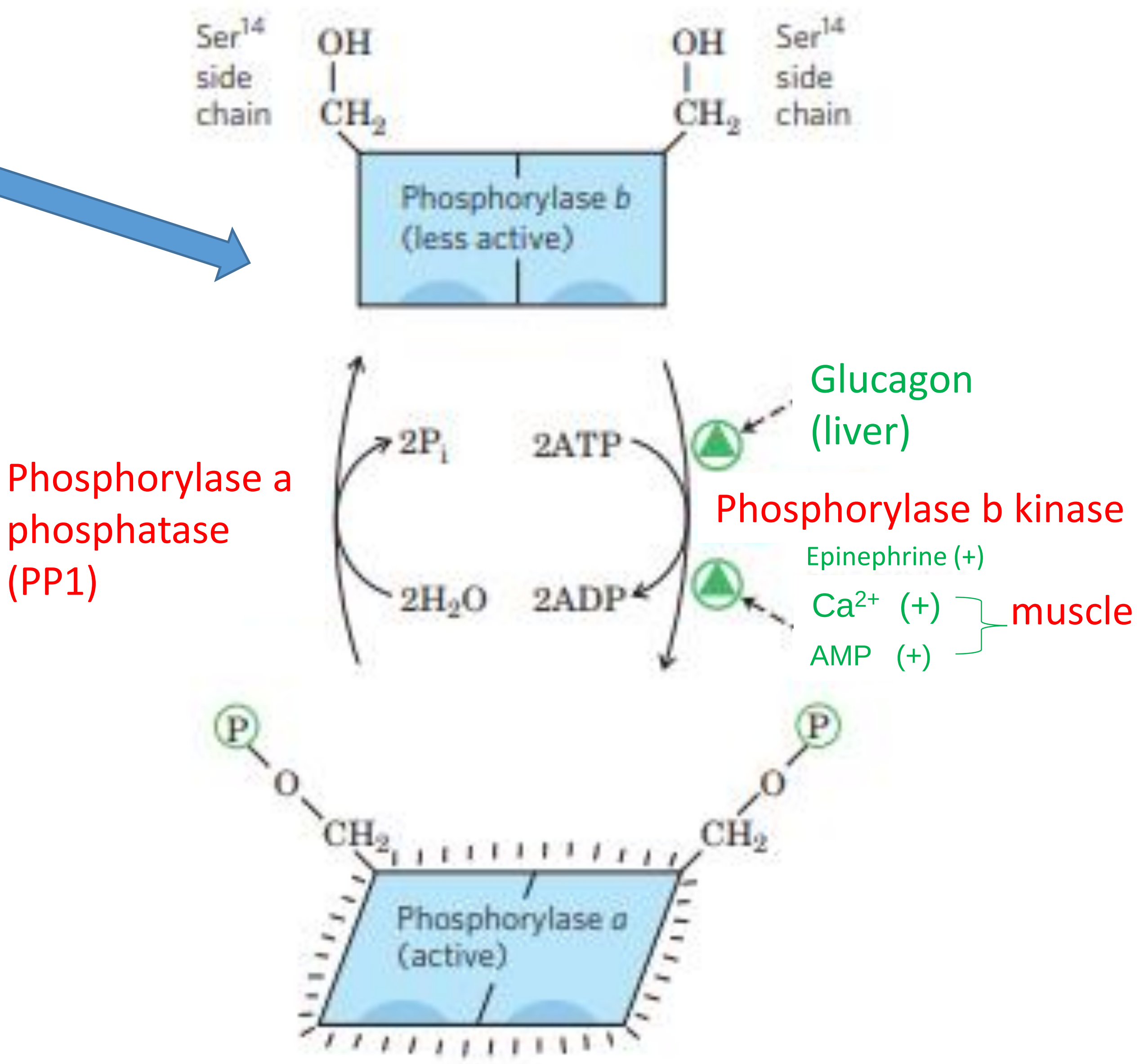
Glycogen → Glucose 1 –phosphate

Glycogen phosphorylase a, (active)
Glycogen phosphorylase b, (less active)

Phosphorylase b predominates in resting muscle, but during vigorous muscular activity epinephrine triggers phosphorylation of a specific Ser residue in phosphorylase b, converting it to its more active form, phosphorylase a.

Phosphorylase *a* IS PHOSPHORYLATED ON Ser_{14} residues, (one on each subunit)

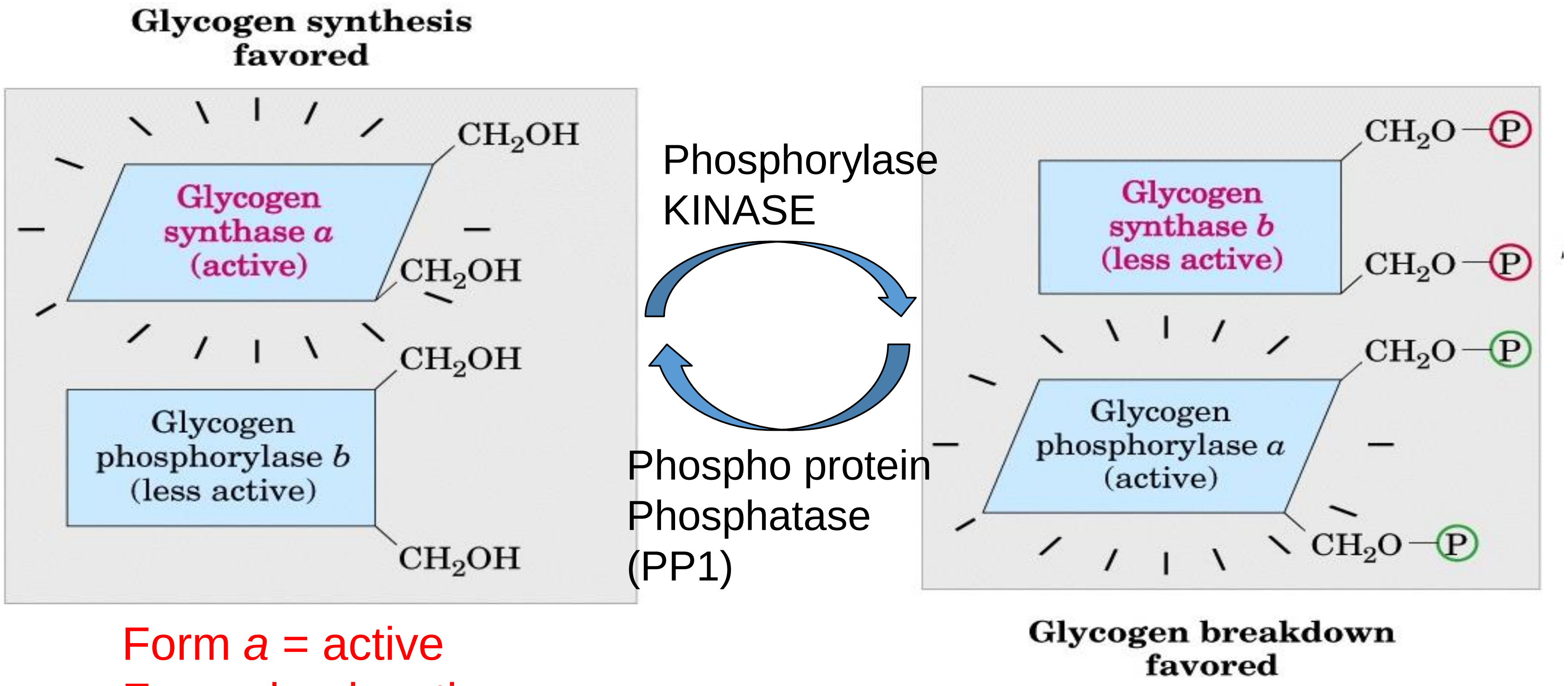
Also in liver Phosphorylase b kinase is responsible for activating phosphorylase by transferring a phosphoryl group to its Ser residue is itself activated by epinephrine or glucagon .



-Reversible covalently modification (phosphorilation)

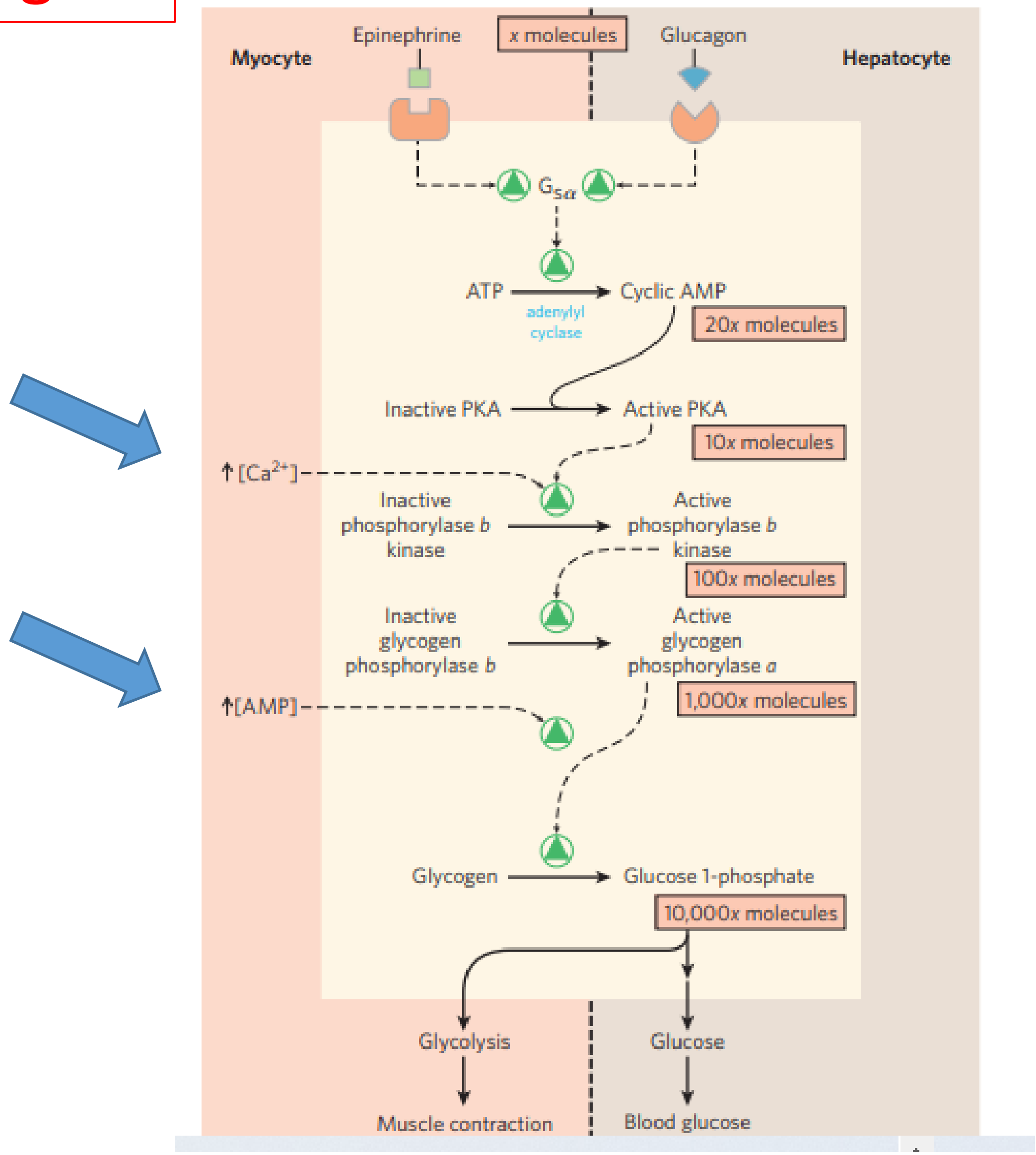
Glycogen synthase and glycogen phosphorylase are two enzymes that can exist in two forms (a) active and (b) inactive

Glycogen synthase is in the active (a) form when it is dephosphorylated, while glycogen phosphorylase is active (a) when it is phosphorylated



Form *a* = active
Forma b = inactive

Muscolo e Fegato



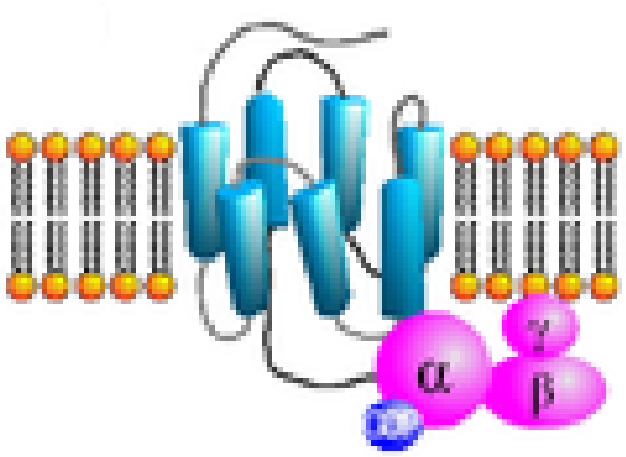
Receptors associated with G proteins

They are receptors of:

- Visual, olfactory and gustatory systems

-Neurotransmitter receptors

Hormone receptors that control the metabolism of carbohydrates, amino acids and fatty acids

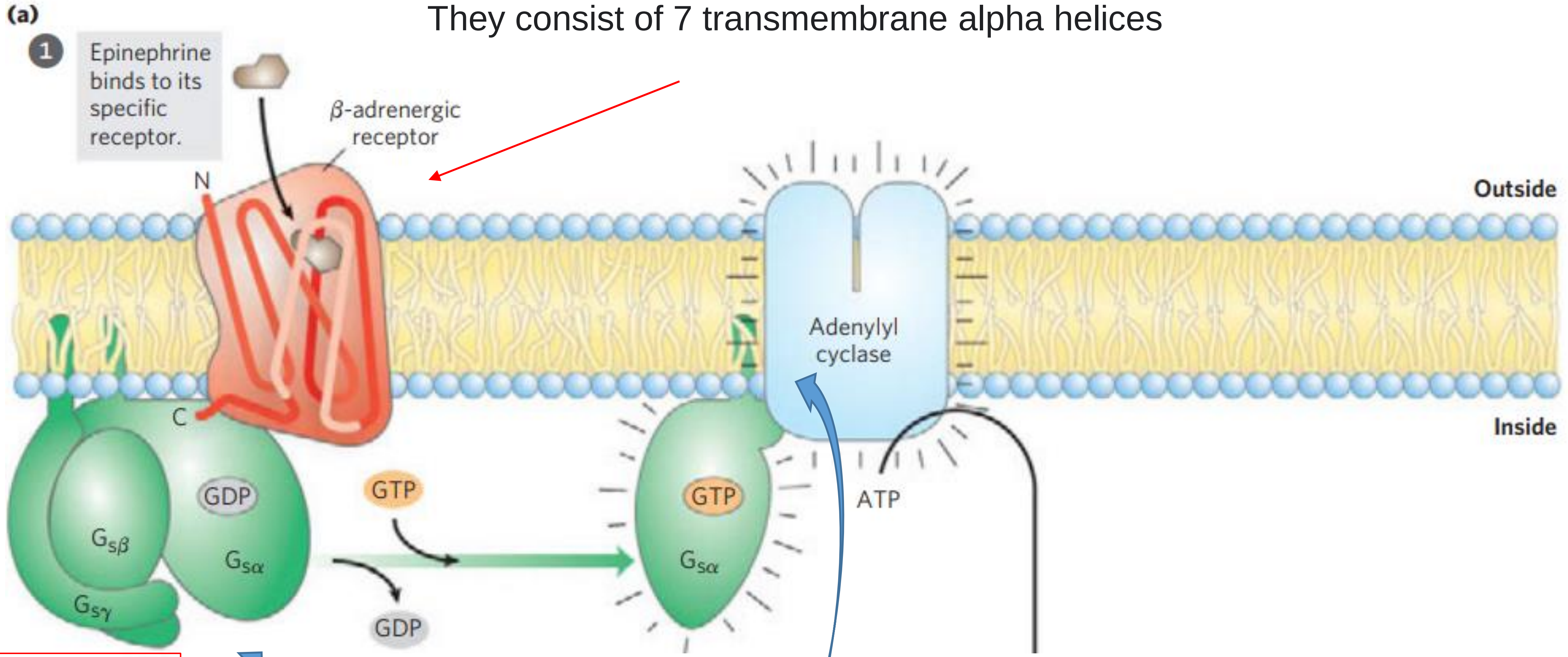


A ligand can have multiple receptors:

- 9 GPCR activated by adrenaline
- 5 GPCR activated by acetylcholine
- 15 activated by serotonin

They consist of 7 transmembrane alpha helices
1 heterotrimeric G protein
1 membrane-bound effector protein (e-g- adenylate cyclase
1 second messenger that transfers the signal inside the cell (cAMP)

They consist of 7 transmembrane alpha helices



G protein

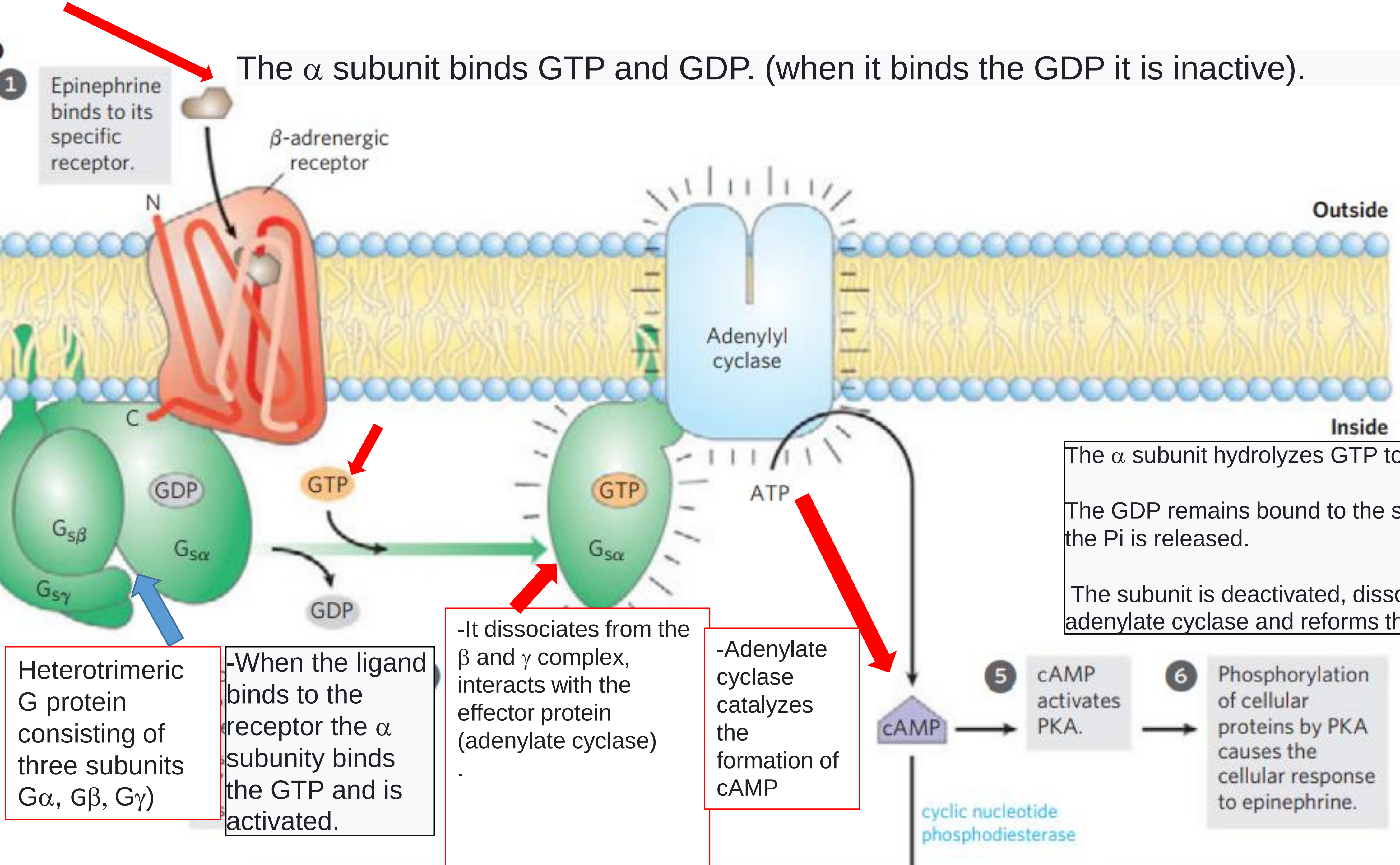
(cAMP)

1 heterotrimeric G protein

1 membrane-bound effector protein (e-g- adenylate cyclase)

1 second messenger that transfers the signal inside the cell (cAMP)

The α subunit binds GTP and GDP. (when it binds the GDP it is inactive).



The α subunit hydrolyzes GTP to GDP and Pi.

The GDP remains bound to the subunit and the Pi is released.

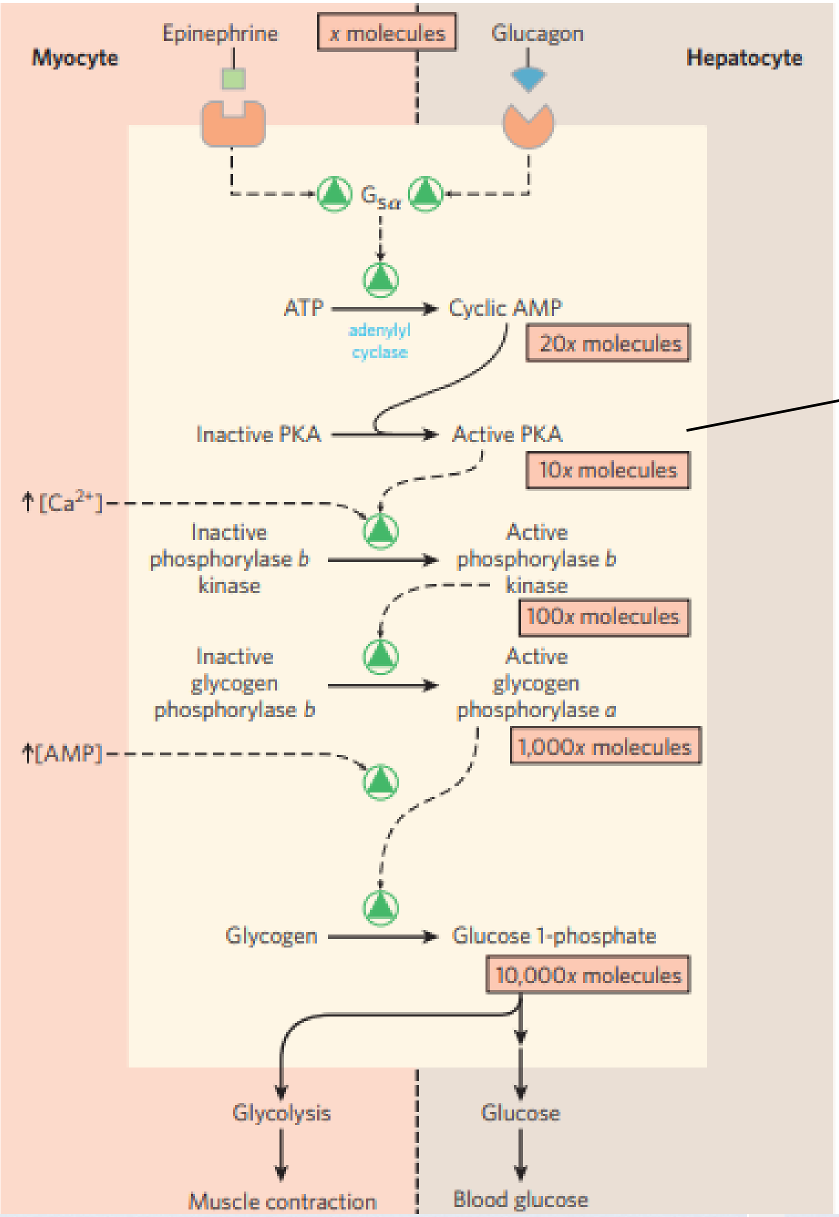
The subunit is deactivated, dissociates from adenylate cyclase and reforms the trimer

Heterotrimeric G protein consisting of three subunits Gα, Gβ, Gγ)

-When the ligand binds to the receptor the α subunity binds the GTP and is activated.

-It dissociates from the β and γ complex, interacts with the effector protein (adenylate cyclase)
.

-Adenylate cyclase catalyzes the formation of cAMP



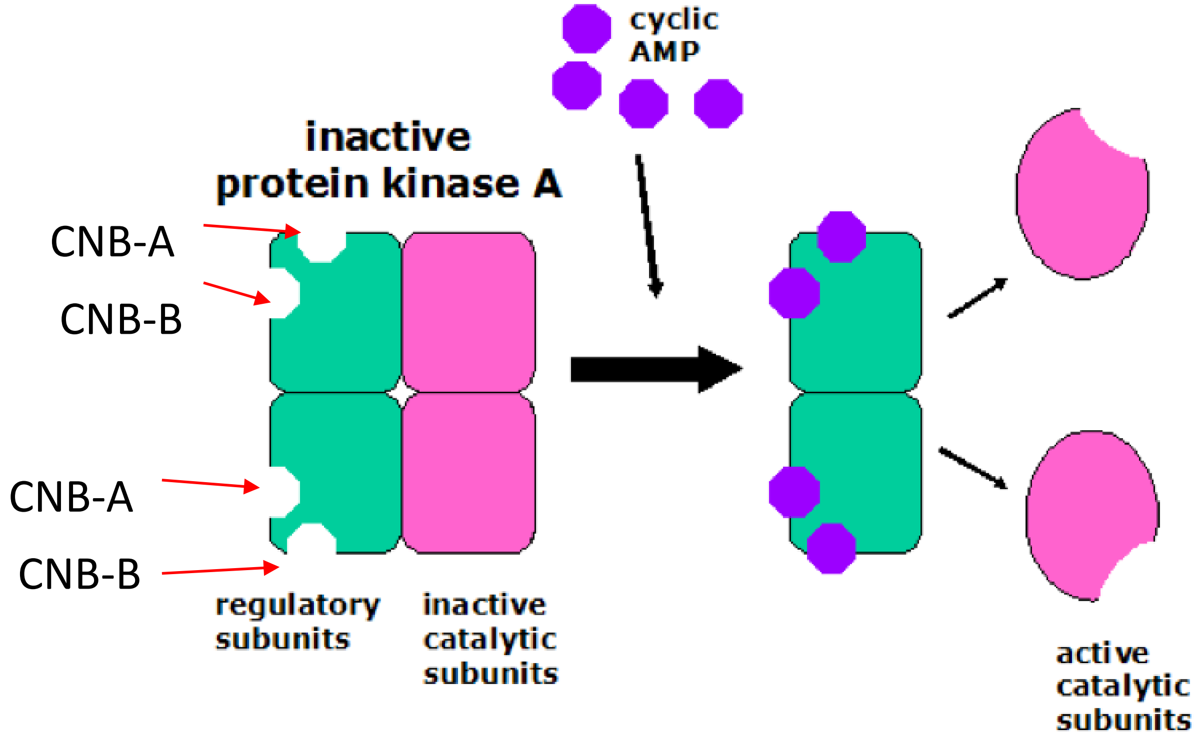
Protein kinase A (PKA)

Protein kinase A (PKA)

phosphorylates different target proteins in different tissues

allosterically activated by Cyclic AMP (cAMP)

synthesized from adenylate cyclase



The binding of cAMP to both sites causes a conformational change.

The R subunits dissociate from the C subunits and the protein kinase is activated

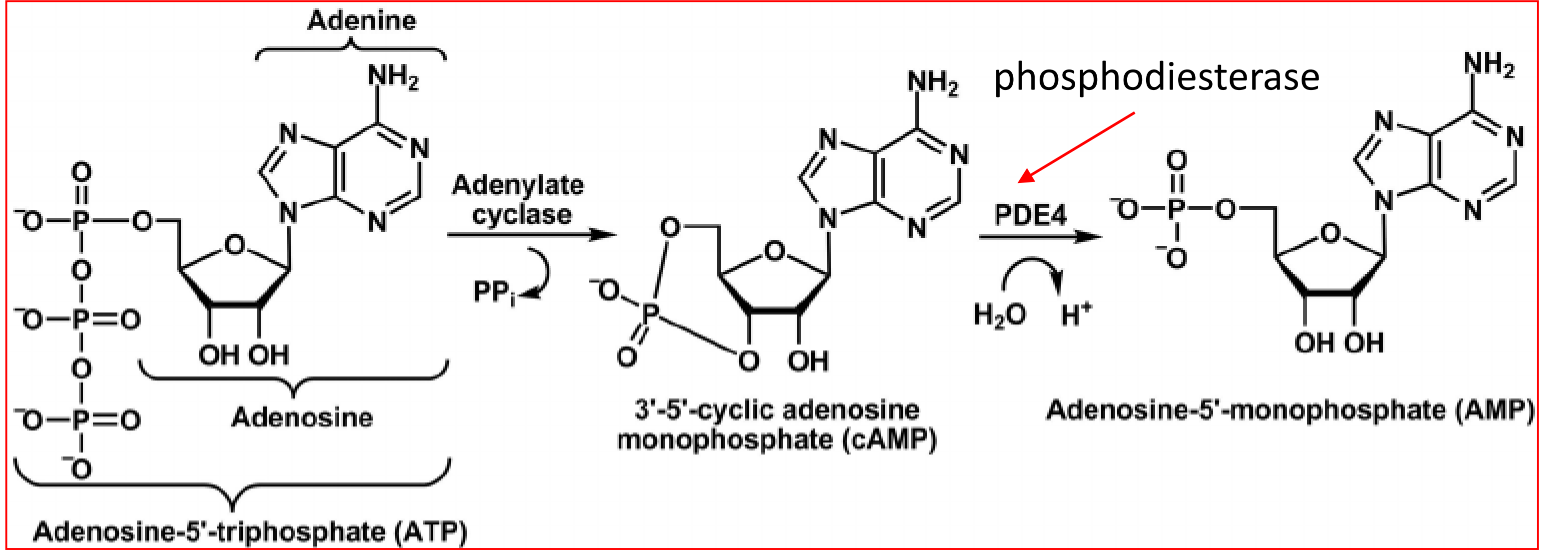
(inactive) is a tetramer

2 regulatory subunits (R) and two catalytic units (C)

Each subunit has two sites for cAMP

cAMP

It is synthesized from ATP by the action of adenylate cyclase (enzyme linked to the plasma membrane)



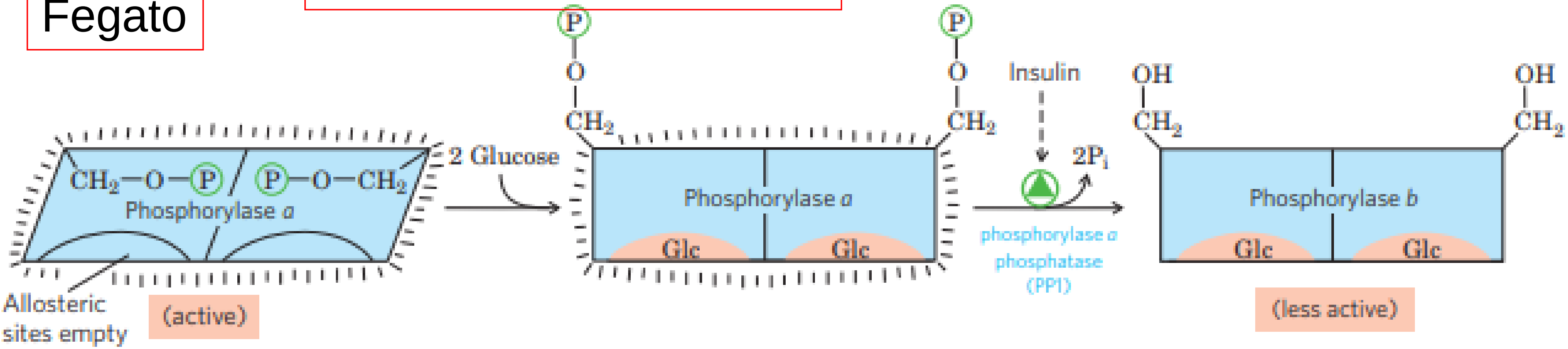
Caffeine and theophylline (drug) inhibit phosphodiesterase

The messages of the first messengers (hormones) on the cell surface are transmitted inside the cell by the cAMP (2 messenger)

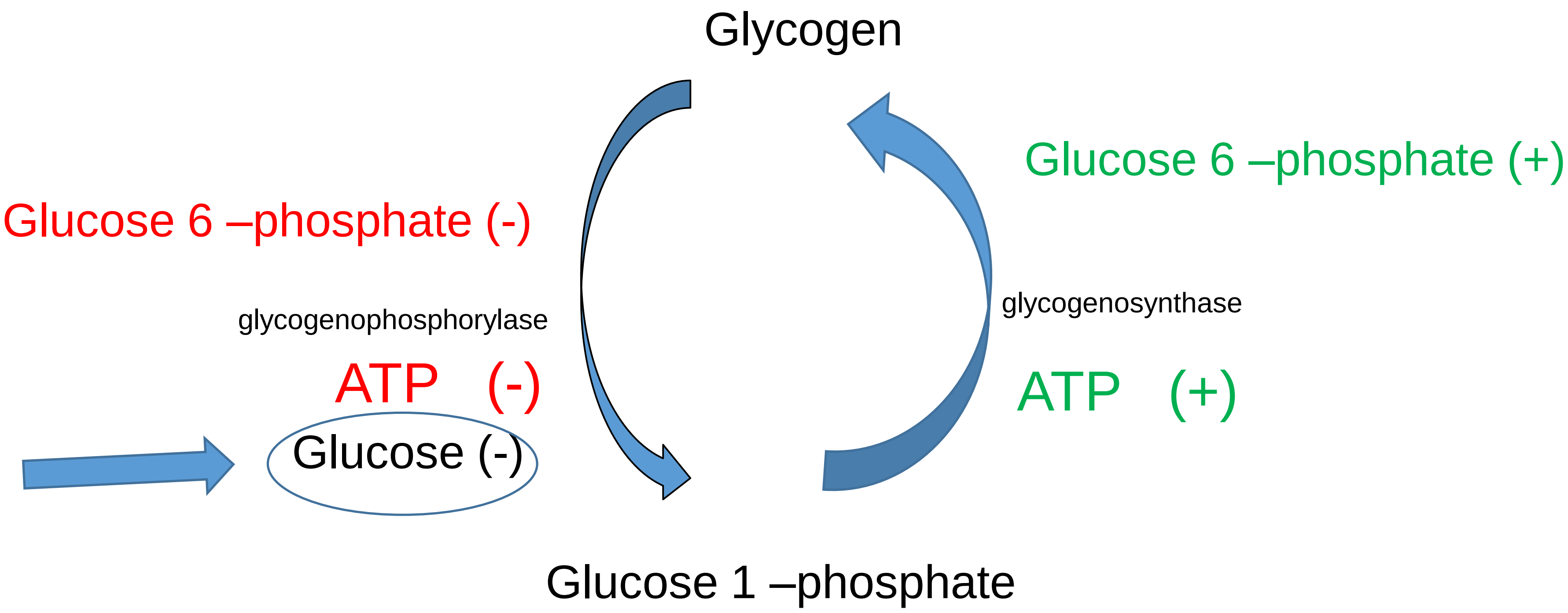
cAMP is involved in many signal transduction pathways mediated by different hormones (not just hormones involved in glucose metabolism)

Fegato

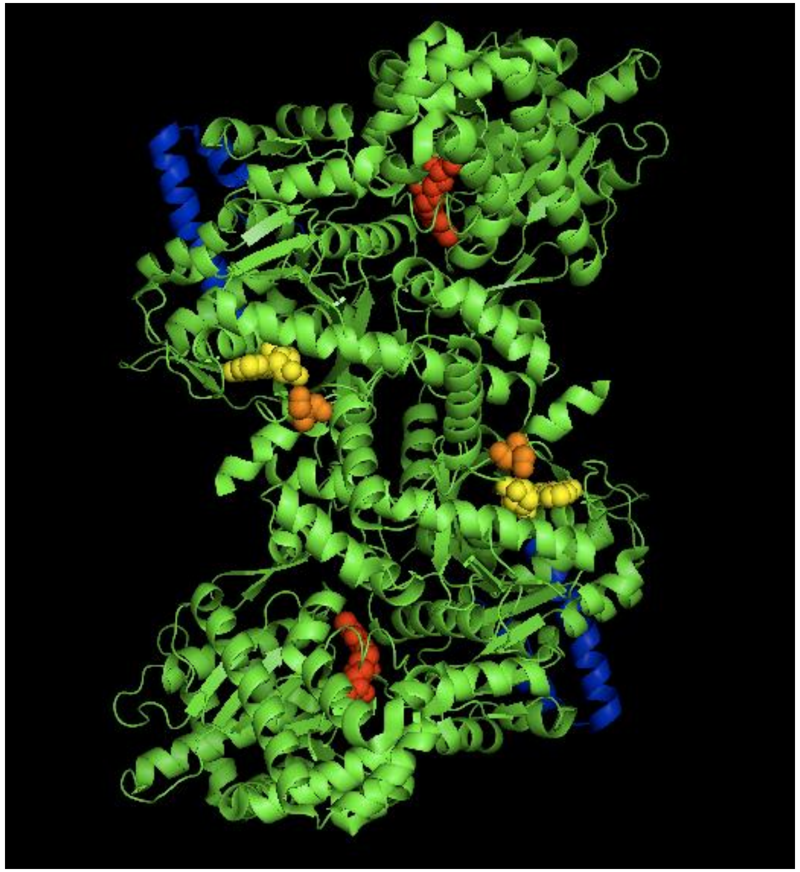
Regolazione allosterica del glucosio



The allosteric site for glucose allows liver glycogen phosphorylase to act as its own glucose sensor and to respond appropriately to changes to blood glucose.



Glycogen synthase



Liver

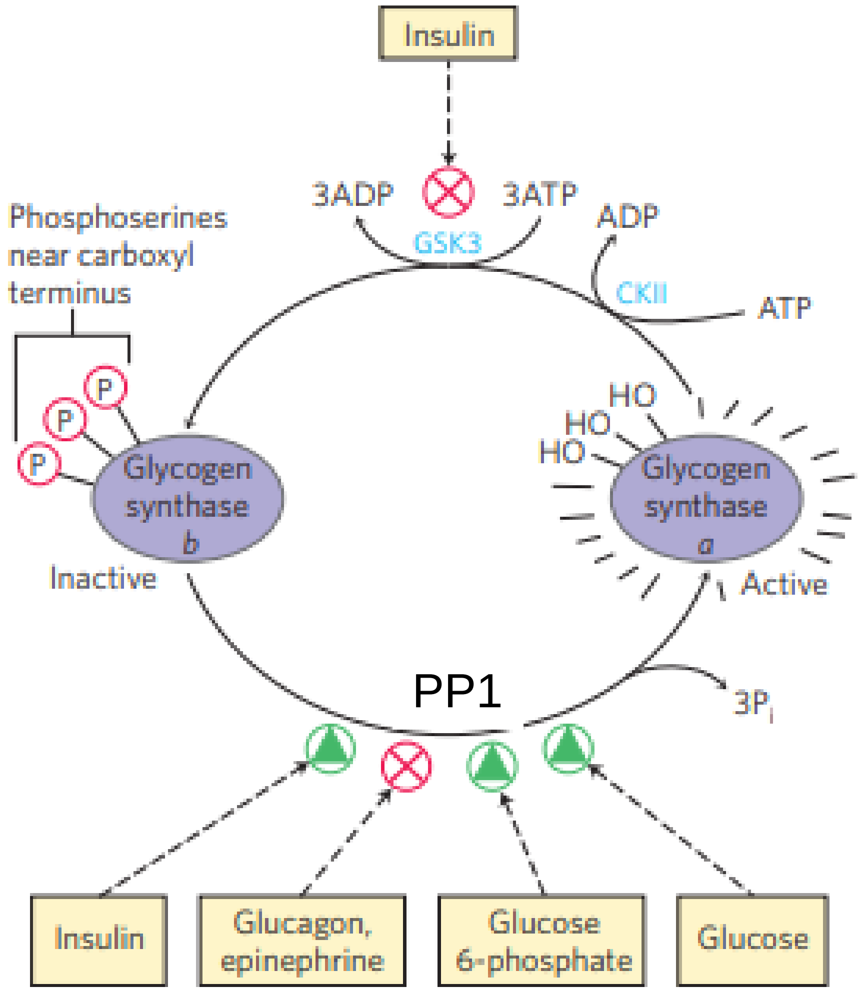
Regulated hormonally and allosterically.

Conversion of glycogen synthase b to the active form is promoted by PP1, which is bound to the glycogen particle.

PP1 removes the phosphoryl groups from the three Ser residues

Glucose 6-phosphate binds to an allosteric site of glycogen synthase b, making the enzyme a better substrate for dephosphorylation by PP1 and causing its activation.

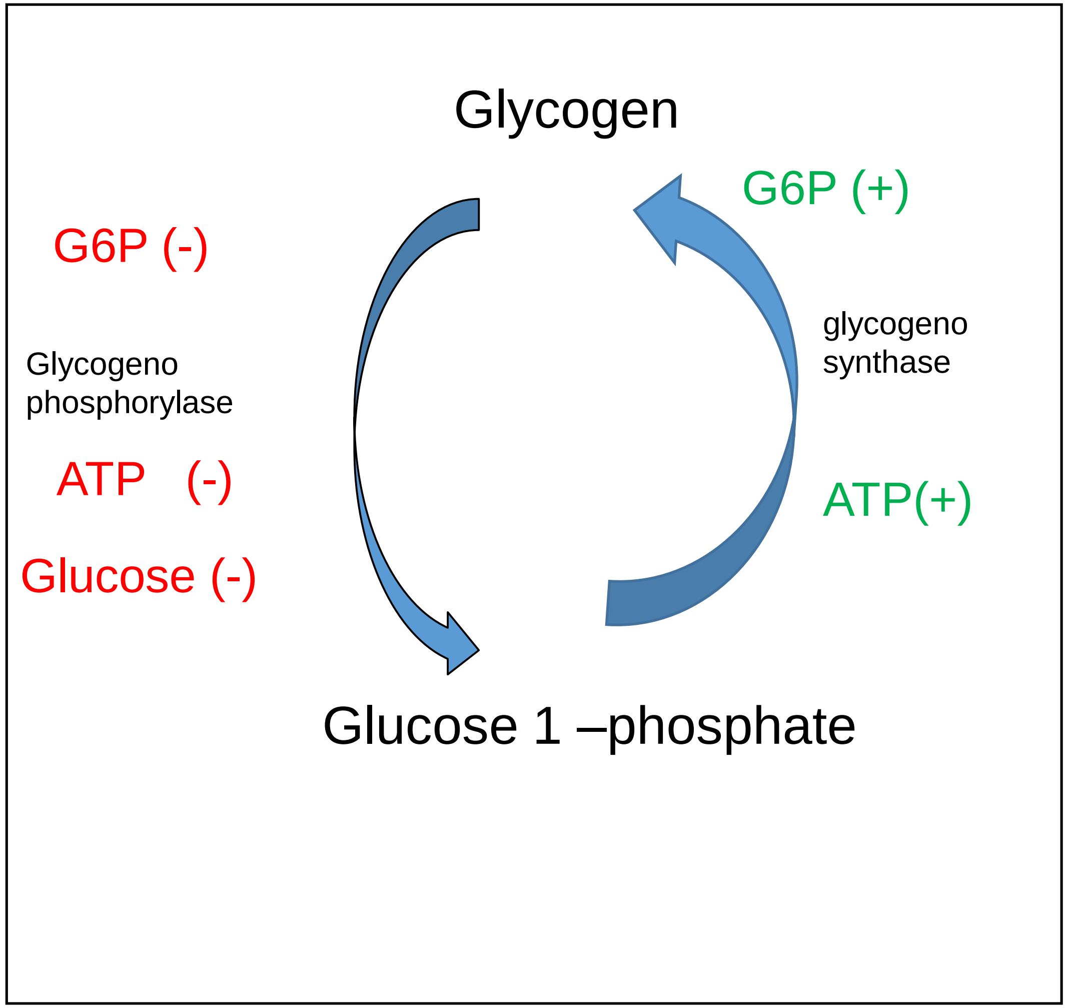
Glucose 6-phosphate acts as sensor. (similarly to glucose for glycogen phosphorylase)



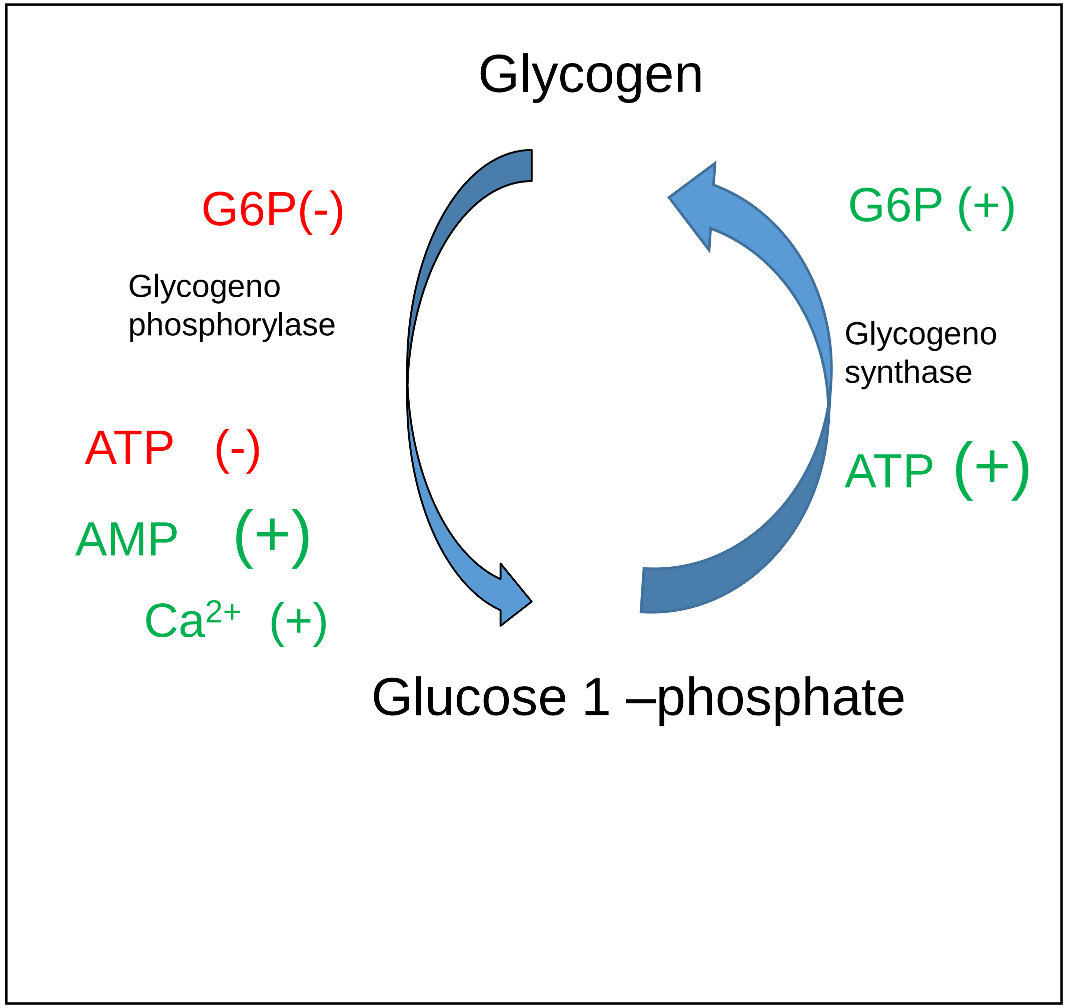
Muscle

A different phosphatase may have the role played by PP1 in liver, activating glycogen synthase by dephosphorylating it

LIVER



MUSCLE

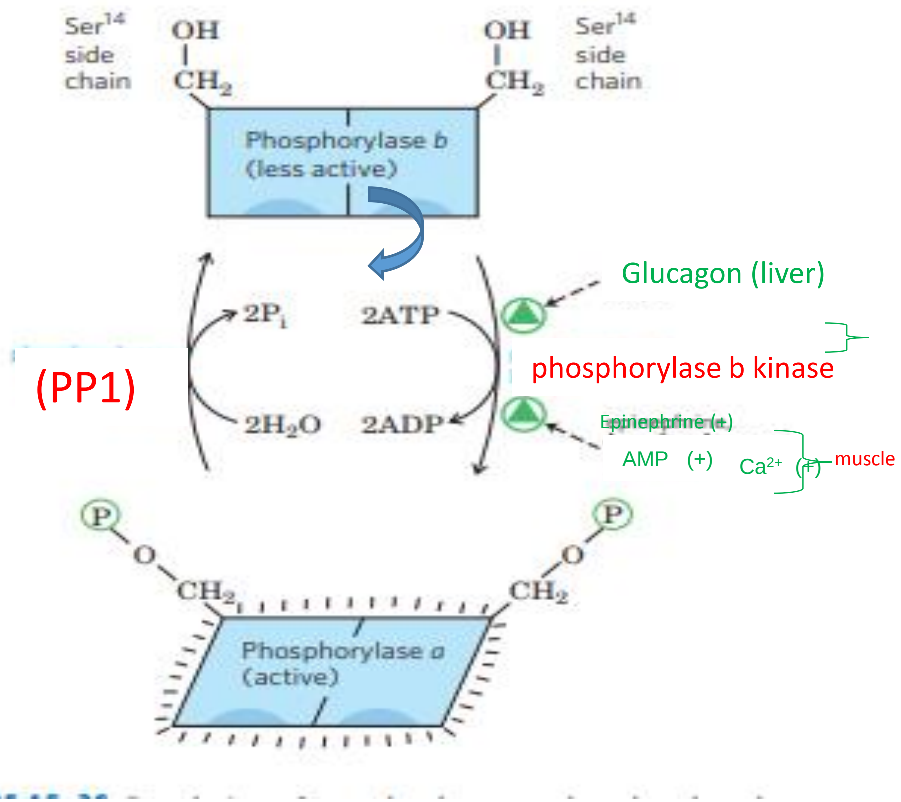


Phosphoprotein Phosphatase 1 (PP1) Is Central to Glycogen Metabolis

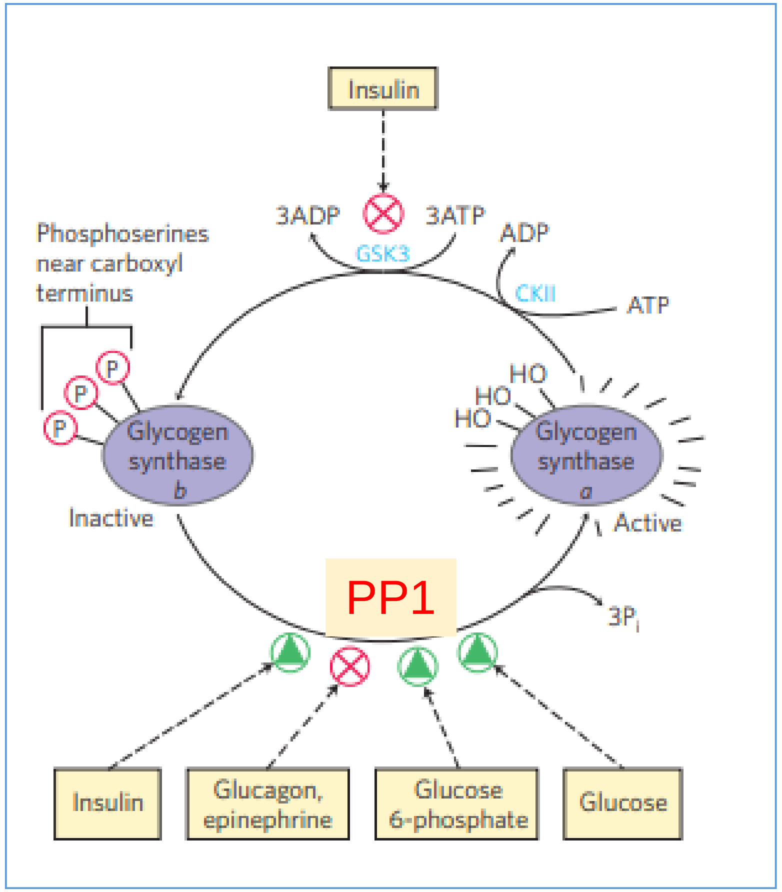
Phosphoprotein Phosphatase 1 (PP1) Is Central to Glycogen Metabolis

PP1, can remove phosphoryl groups from all three of the enzymes phosphorylated in response to glucagon (liver) and epinephrine (liver and muscle):

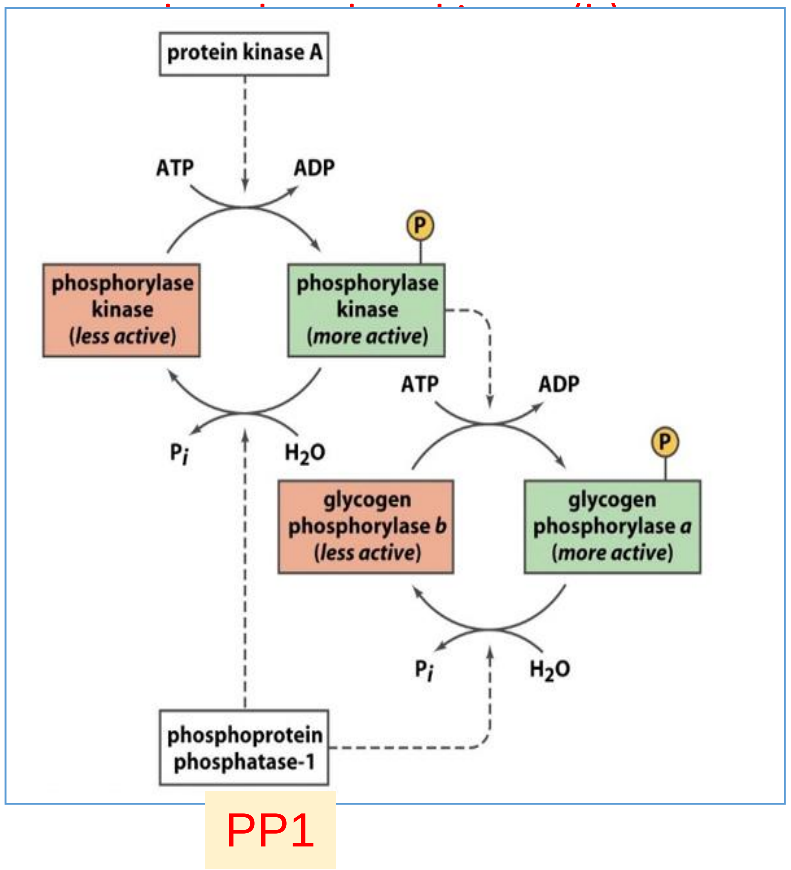
glycogen phosphorylase



glycogen synthase



phosphorylase kinase



After ingestion of a carbohydrate-rich meal,

the elevation of blood glucose triggers insulin release

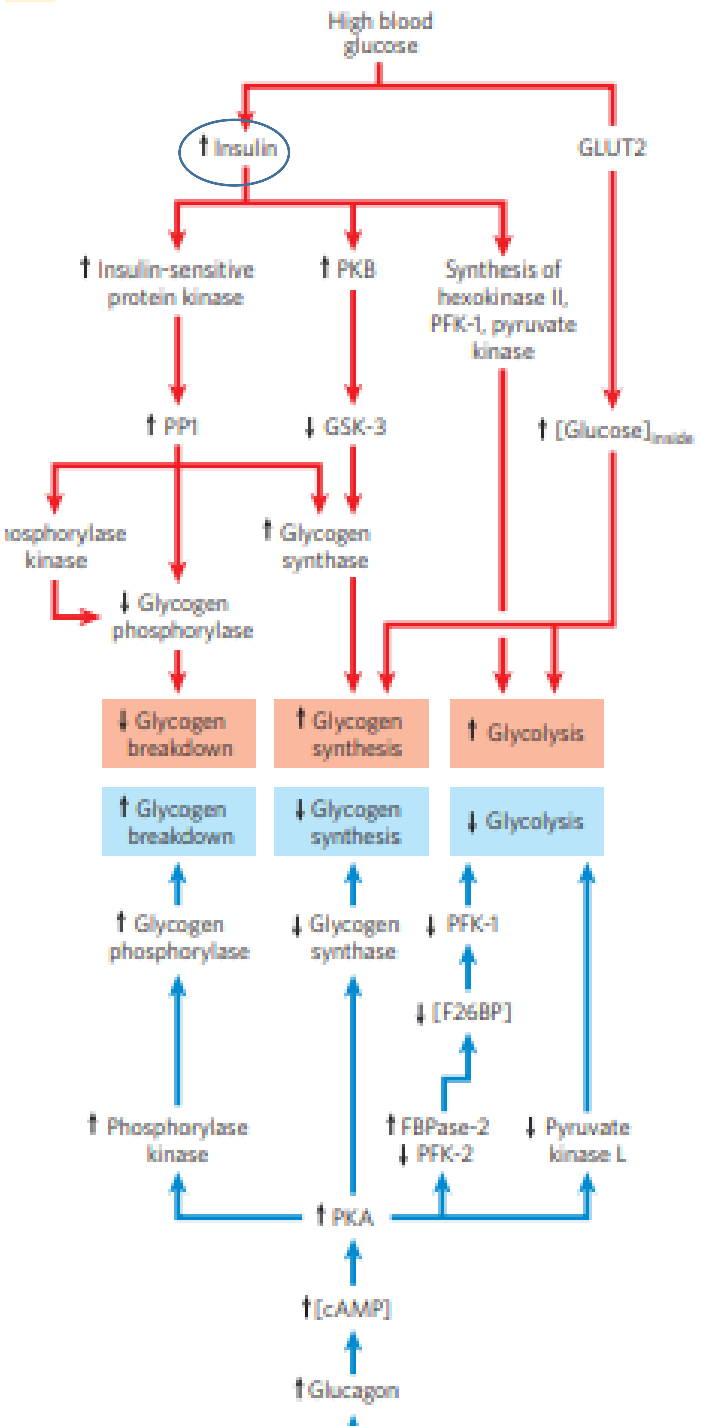
Hepatocyte

insulin has two immediate effects:

- inactivates GSK3,
- activates a protein phosphatase PP1.

These two actions fully activate glycogen synthase.

- PP1 also inactivates glycogen phosphorylase a and phosphorylase kinase by dephosphorylating both, effectively stopping glycogen breakdown.



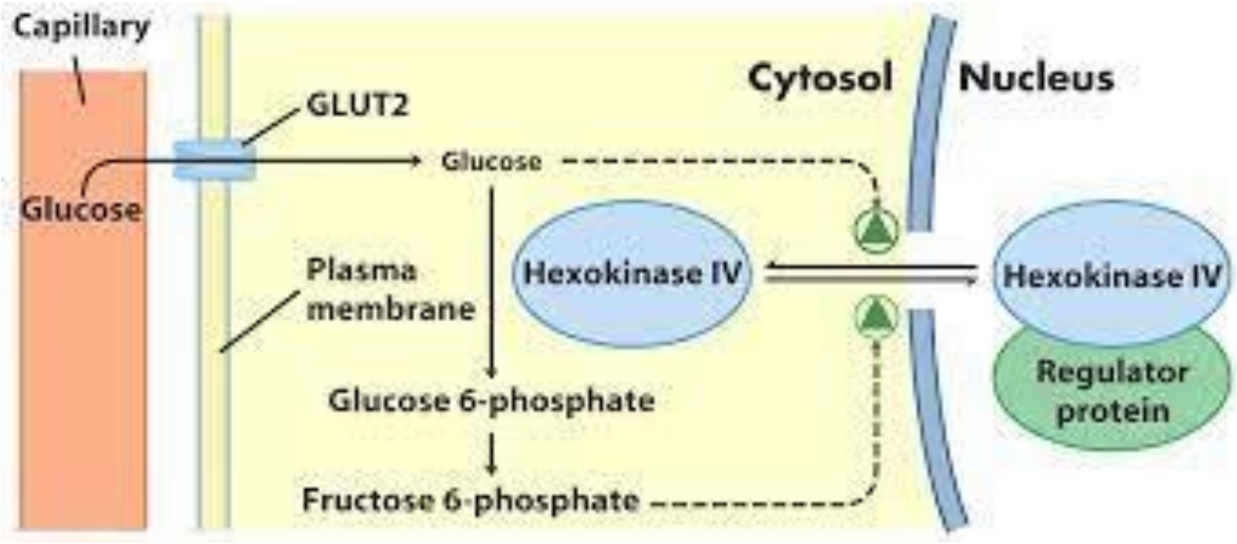
Glucose enters the hepatocyte through the high-capacity transporter GLUT2, always present in the plasma membrane, and the elevated intracellular glucose leads to dissociation of hexokinase IV (glucokinase) from its nuclear regulatory protein.

Hexokinase IV enters the cytosol and phosphorylates glucose, stimulating glycolysis and supplying the precursor for glycogen synthesis.

↓

Hepatocytes use the excess glucose in the blood to synthesize glycogen,

LIVER



During an extended fast

blood glucose DECREASE

Glucagon RELEASE

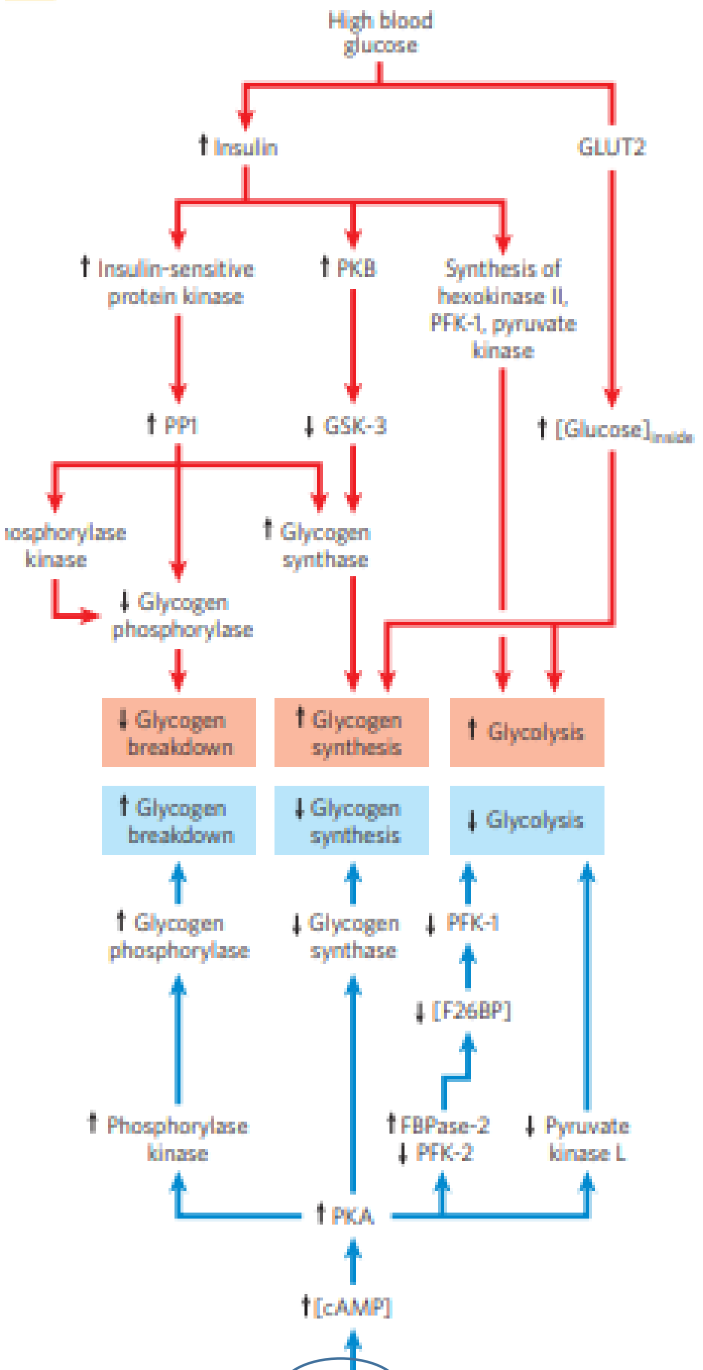
ACTIVES cascade that activates PKA

PKA

It phosphorylates phosphorylase kinase, activating it and leading to the activation of glycogen phosphorylase.

It phosphorylates glycogen synthase, inactivating it and blocking glycogen synthesis.

Decrease fructose 2,6-bisphosphate, (inactives the glycolytic enzyme PFK-1 and activates the gluconeogenic enzyme FBPase-1.



PKA

It phosphorylates phosphorylase kinase, activating it and leading to the activation of glycogen phosphorylase.

It phosphorylates glycogen synthase, inactivating it and blocking glycogen synthesis.

Phosphorylates PFK-2/FBPase-2

DECREASE Fructose 2,6-bisphosphate

Inactives PFK-1

Glycolysis is Inhibited

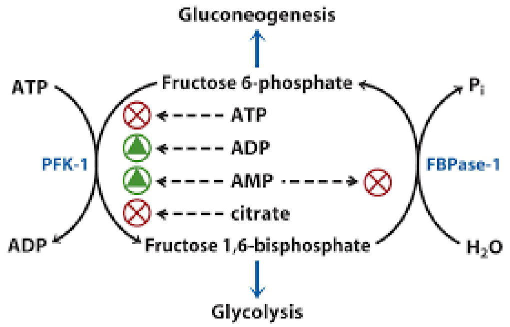
Actives FBPase-1.

Gluconeogenesis is favored

PFK2 inattiva FBP-ase 2 attiva

F2,6P

Activates PFK-1



F2,6P

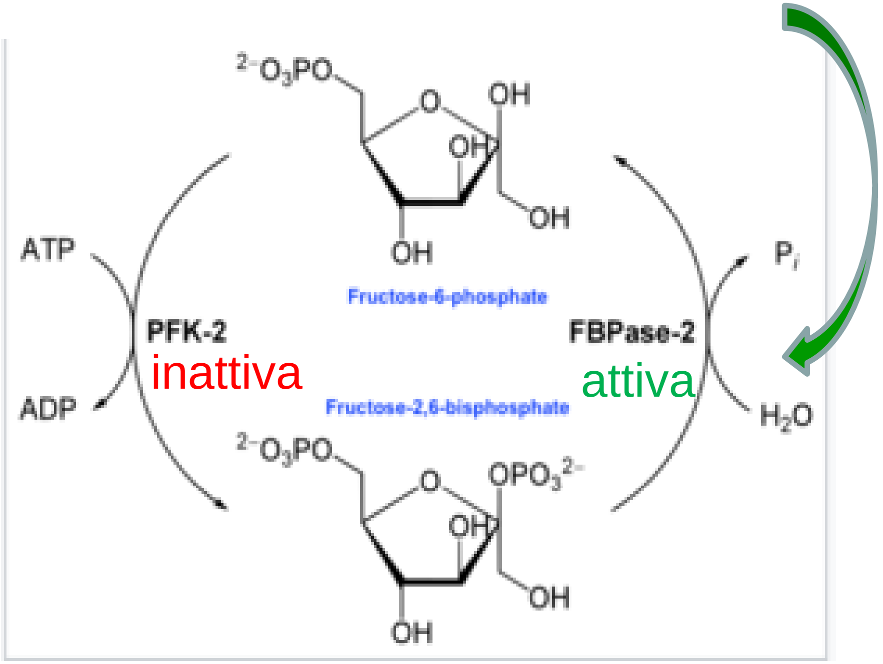
Inhibits FBPase-1

SE [glucosio] diminuisce

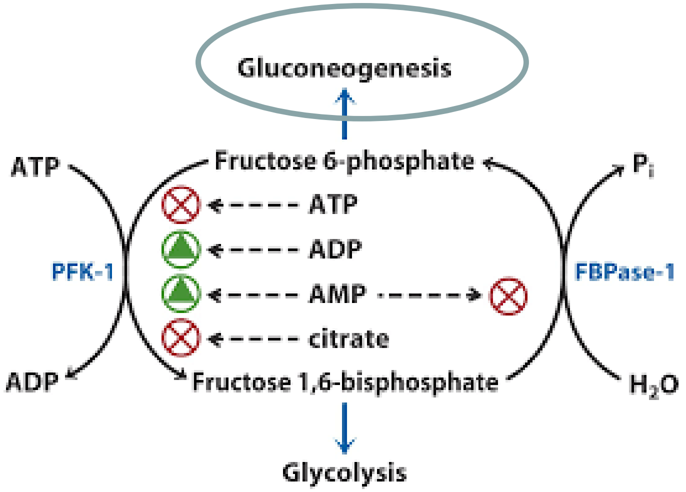
glucagone stimola la produzione di cAMP nella cellula epatica

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

PFK2 inattiva FBP-ase 2 attiva



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



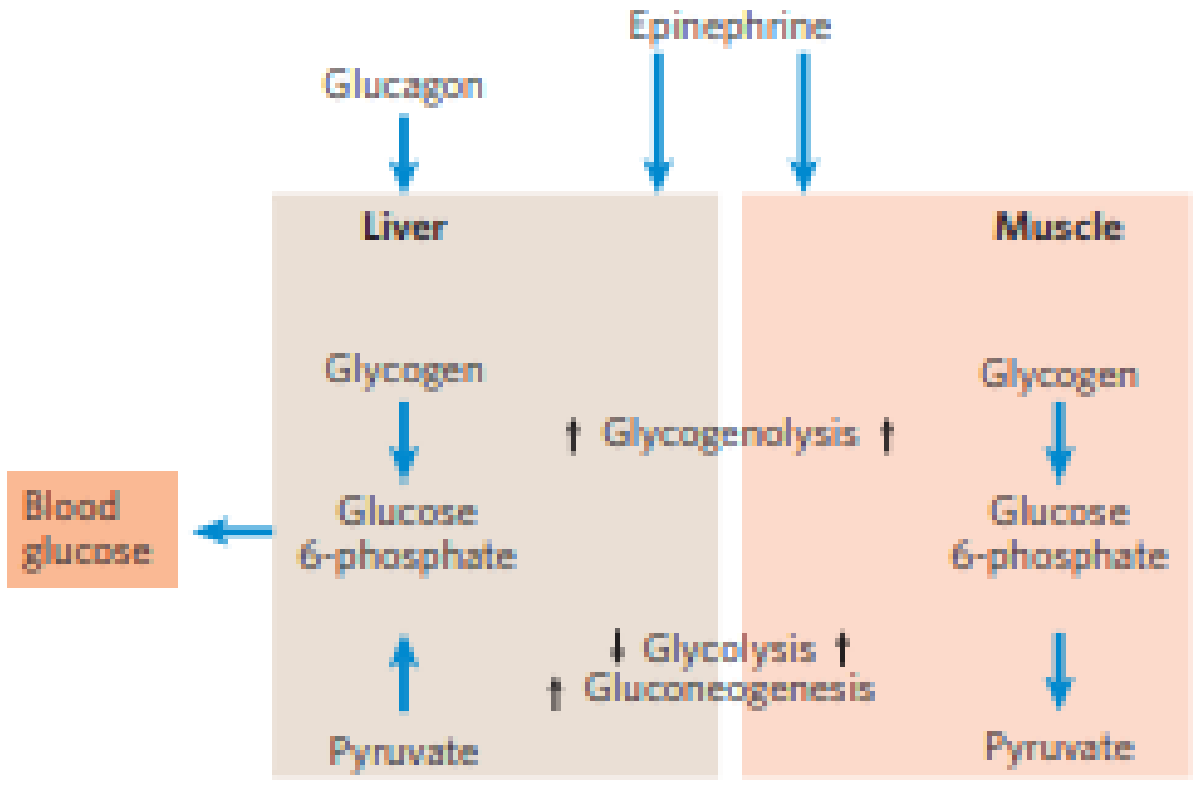
Il flusso viene indirizzato verso la gluconeogenesi

Liver

1) produces glucose 6-phosphate by glycogen breakdown and by gluconeogenesis,

2) stops using glucose to fuel glycolysis or make glycogen

3) INCREASES the amount of glucose it can release to the blood.



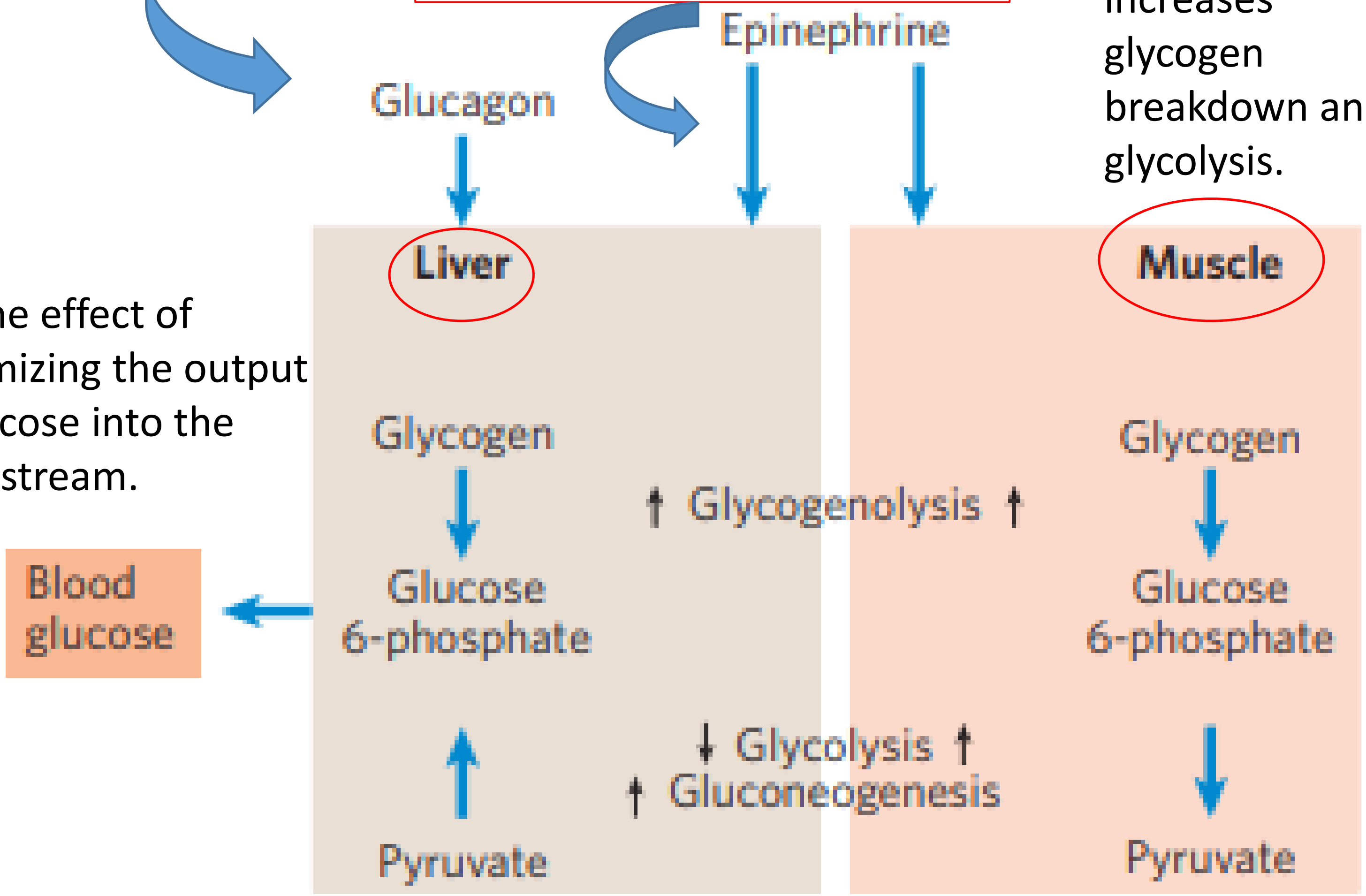
This release of glucose is possible only in liver and kidney, because other tissues lack glucose 6-phosphatase

Regulation of carbohydrate metabolism in liver and muscle.

Glucagon (indicating low blood glucose)

Epinephrine (signaling the need to fight or flilghte)

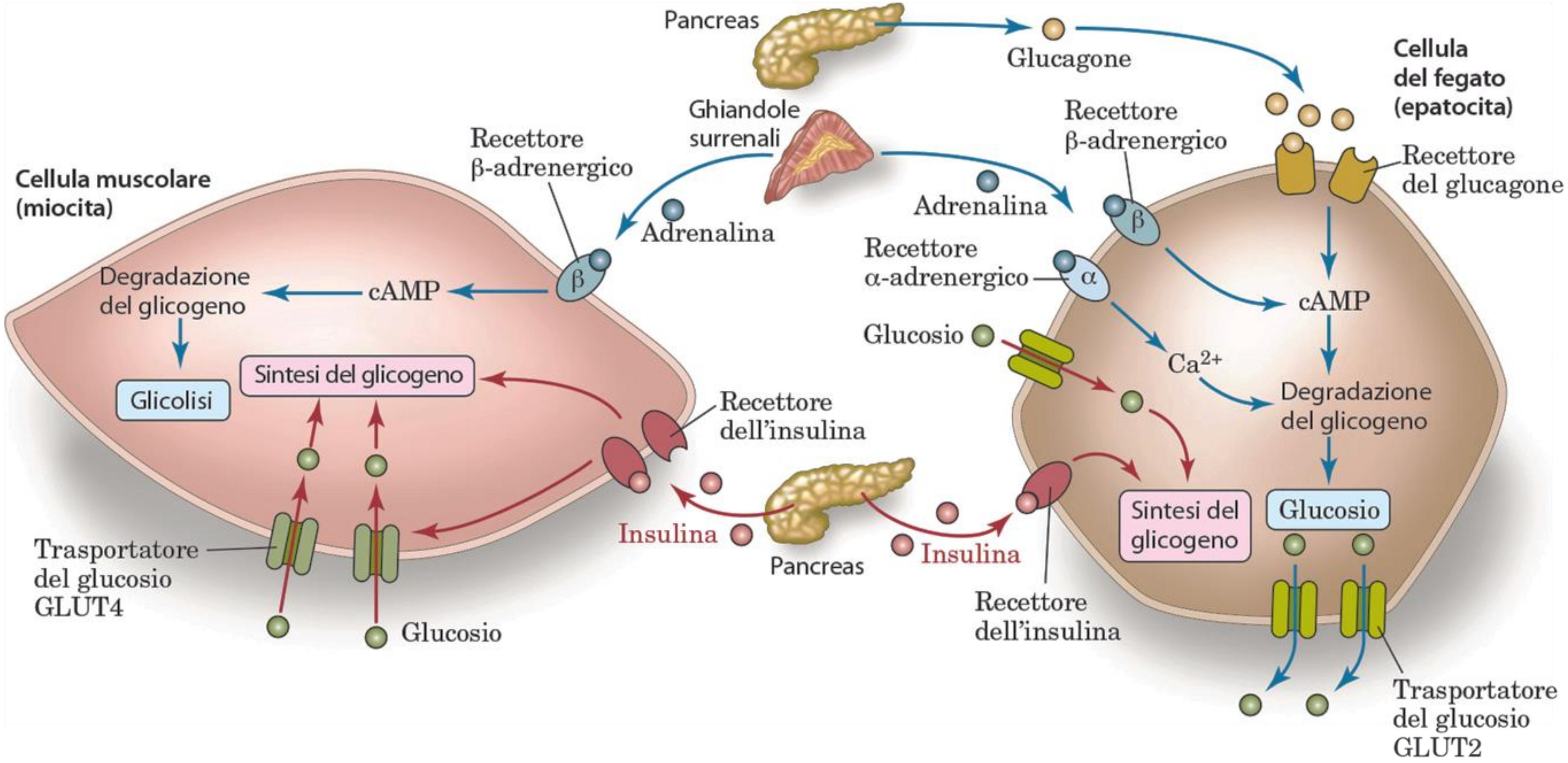
Epinephrine increases glycogen breakdown and glycolysis.



has the effect of maximizing the output of glucose into the bloodstream.

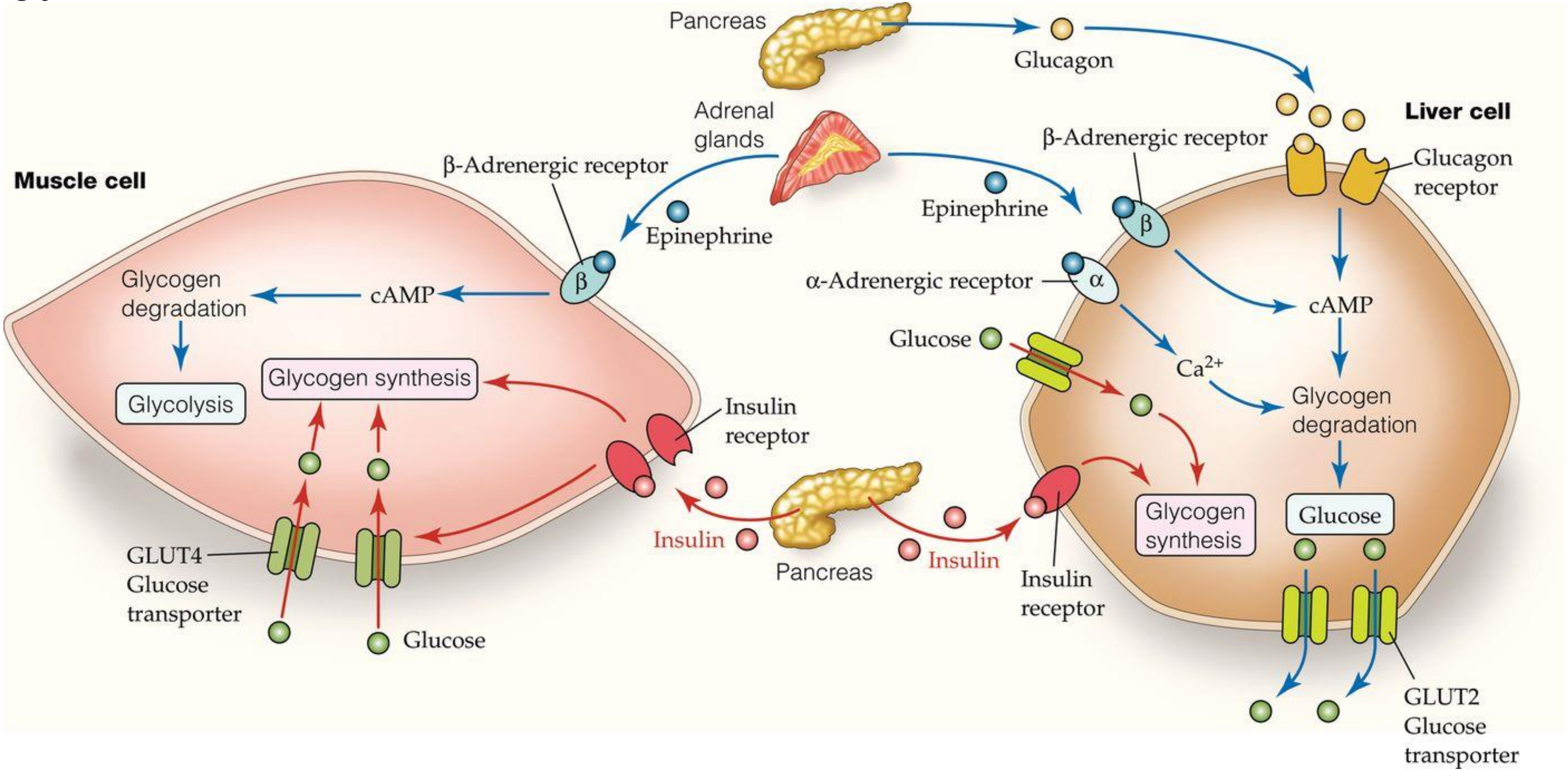
which together provide fuel to produce the ATP needed for muscle contraction

Iperglicemizzanti: GLUCAGONE e ADRENALINA
Ipoglicemizzanti: INSULINA



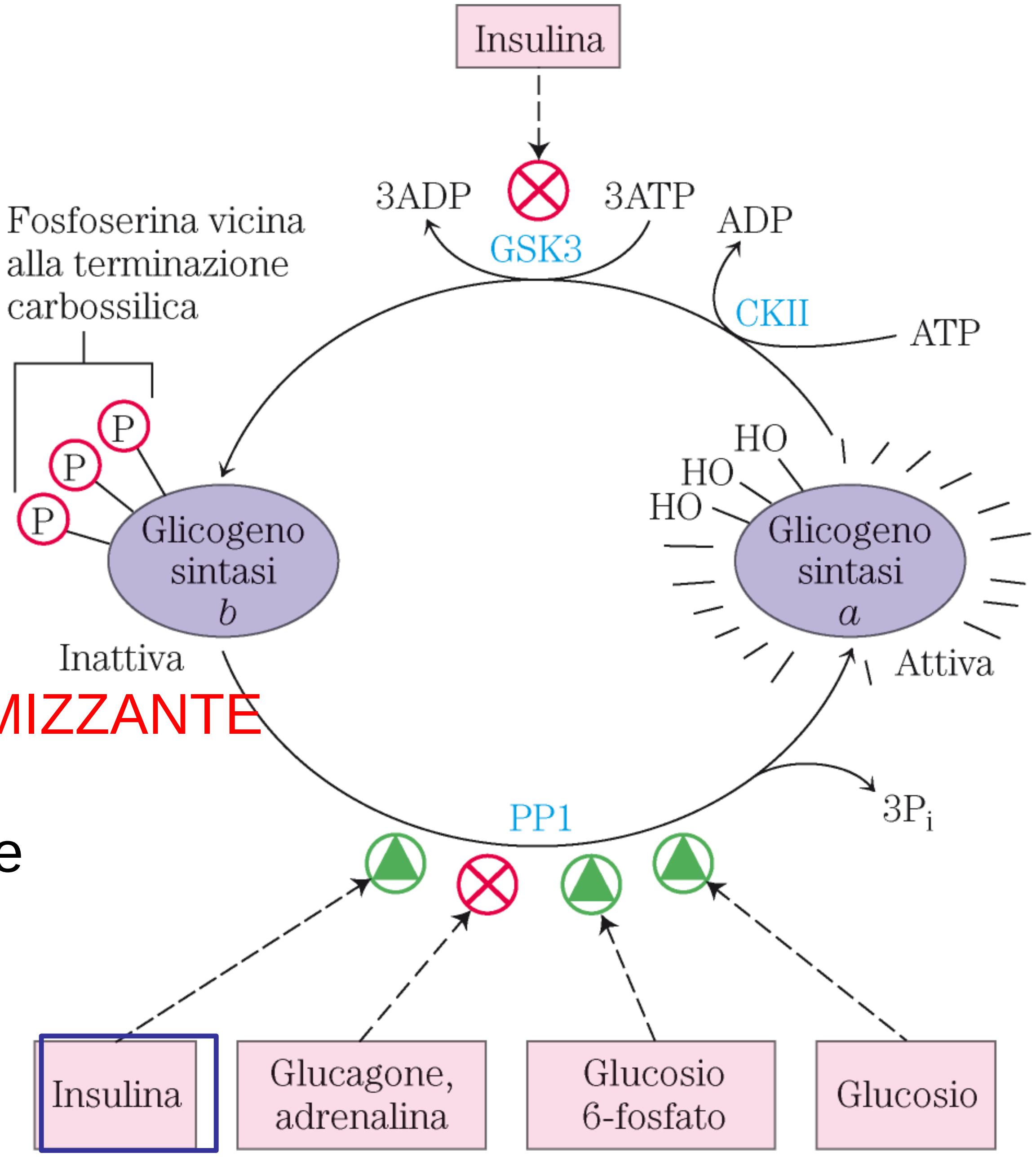
Hormonal Control of Glycogen Metabolism

Hyperglycemic hormon: GLUCAGON and Ephinephrine
Hypoglycaemics: INSULIN

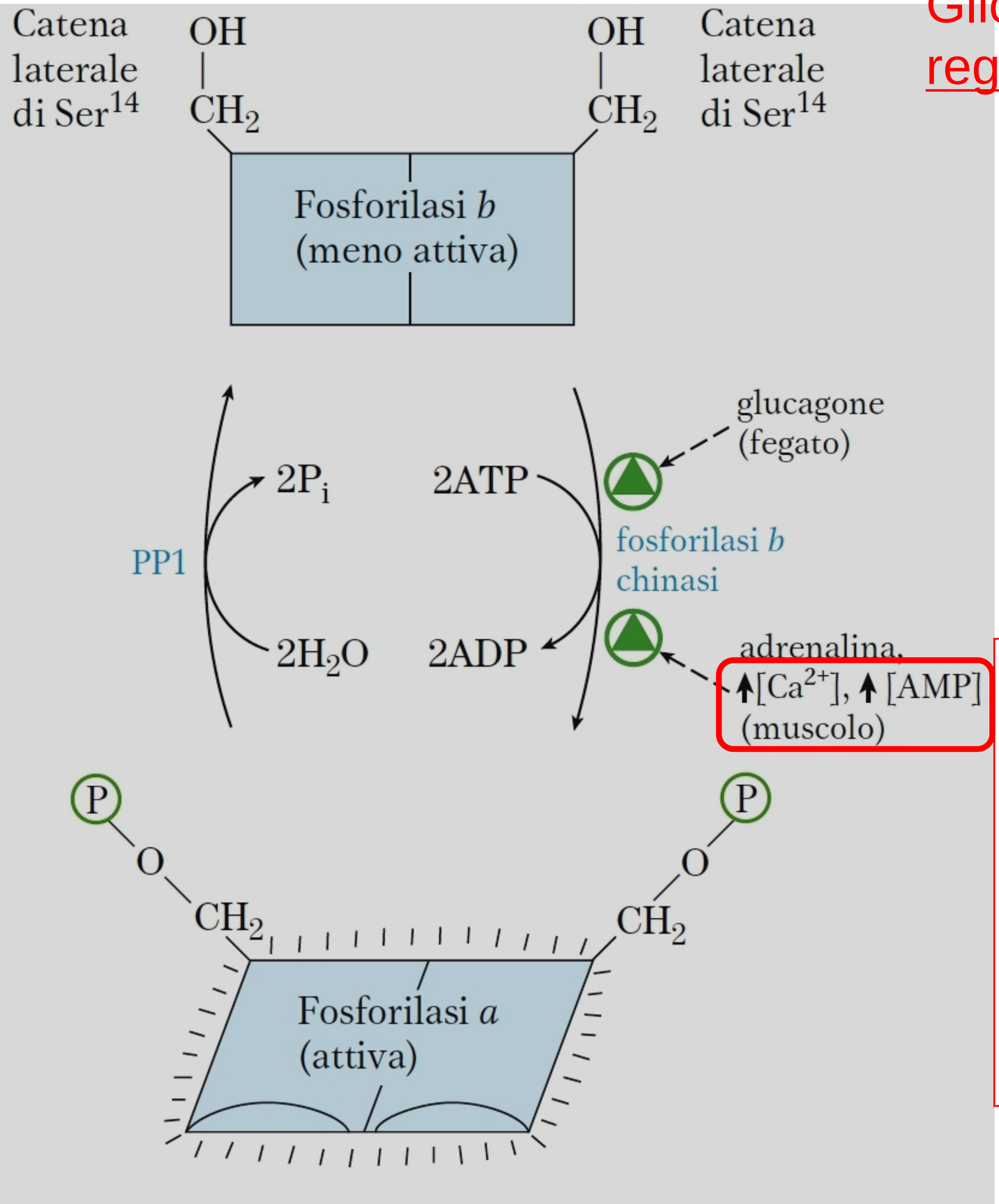


La glicogeno sintasi attiva la glicogenosintesi: Forma glicogeno quando c'è un eccesso di glucosio

INSULINA: IPOGLICEMIZZANTE
blocca la fosforilazione
attiva la defosforilazione



Inoltre SOLO nel muscolo la Glicogeno fosforilasi viene <u>regolata ALLOSTERICAMENTE</u>



regolazione allosterica nel MUSCOLO

I segnali che indicano una intensa attività muscolare (Ca e AMP) attivano la fosforilasi per demolire glicogeno>>>glucosio>>>>glicolisi >>>ATP

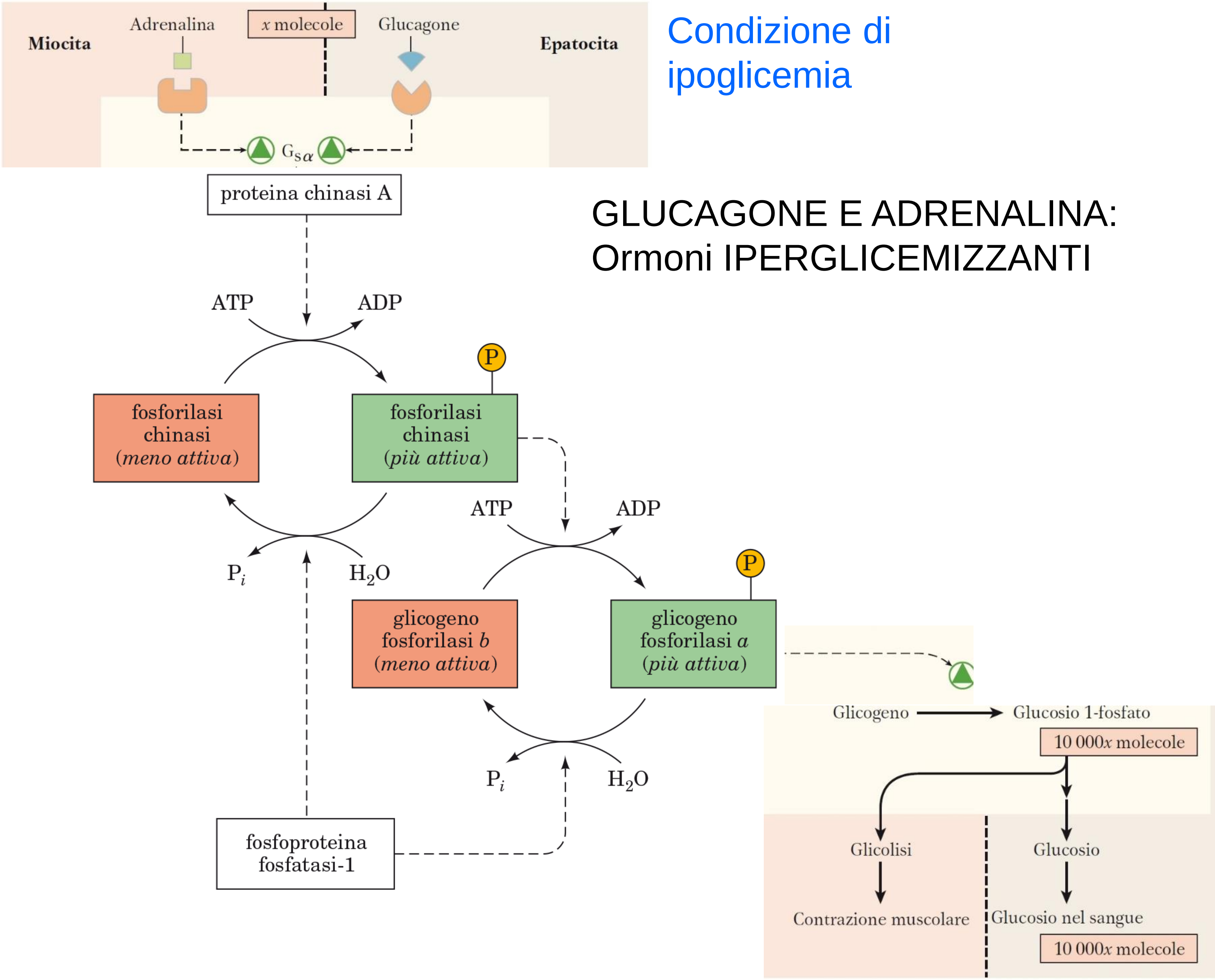
Condizione COMBATTI O FUGGI

Attivazione della GLICOGENOLISI attraverso fosforilazione della **glicogeno fosforilasi**

Condizione «Combatti o fuggi»

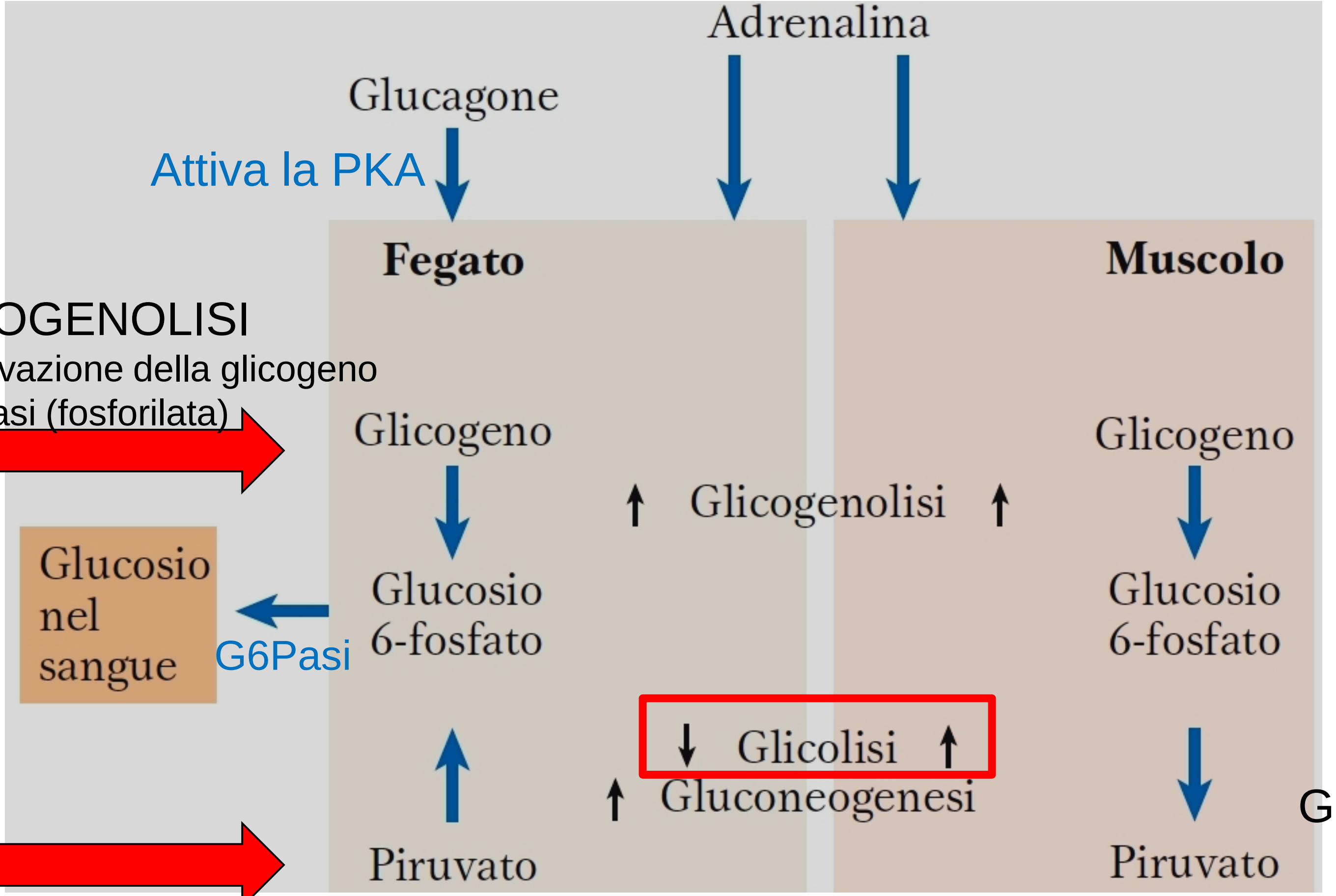
Condizione di ipoglicemia

GLUCAGONE E ADRENALINA: Ormoni IPERGLICEMIZZANTI



GLICOGENOLISI

Per attivazione della glicogeno fosforilasi (fosforilata)



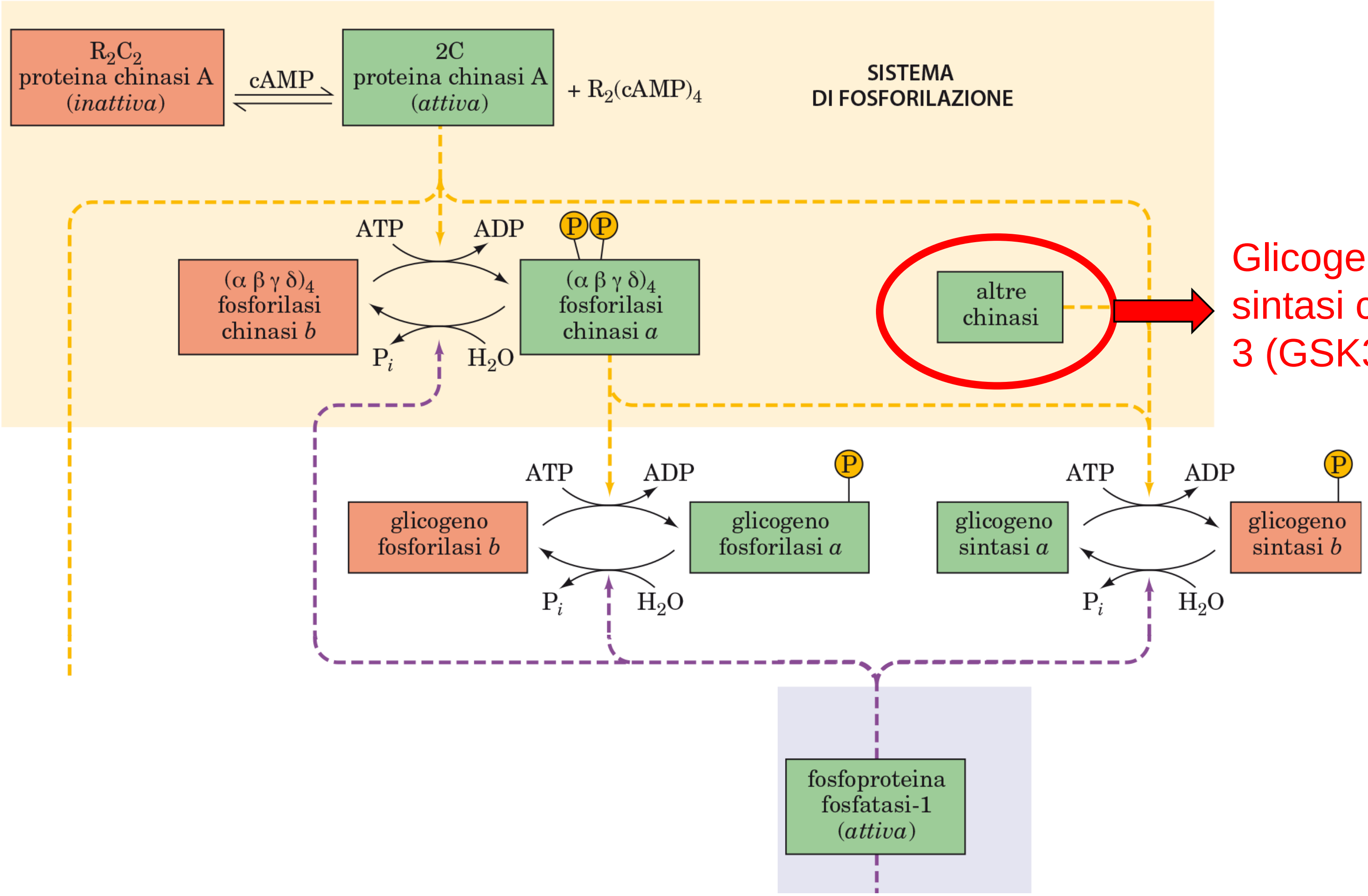
GLICOLISI > ATP

GLUCONEOGENESI

Per attivazione della FBPasi-1 (fosforilata)

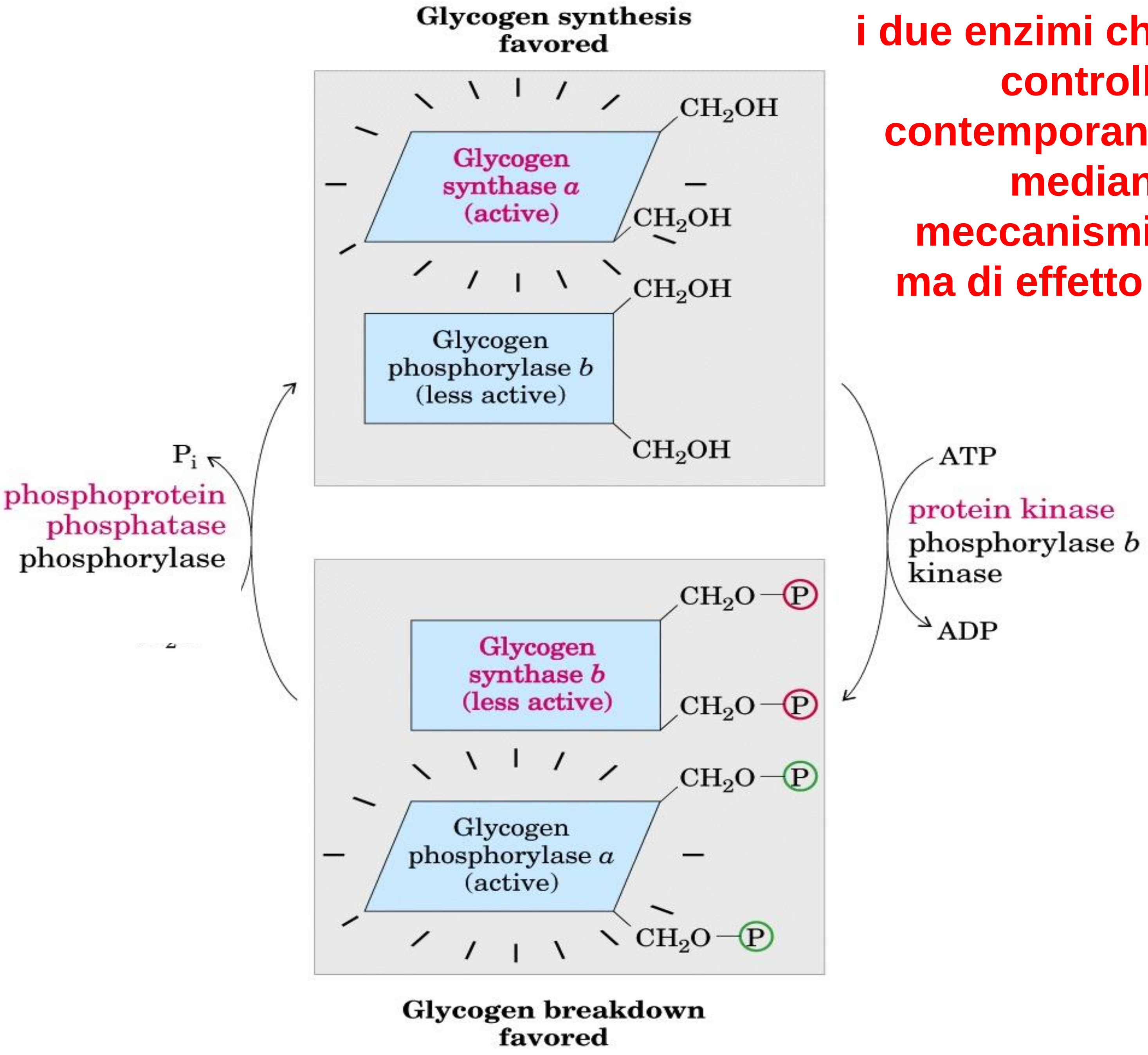
Ruolo di glucagone e adrenalina come ormoni IPERGLICEMIZZANTI

I due enzimi chiave sono controllati contemporaneamente mediante meccanismi uguali (fosforilazioni) ma di effetto opposto



Glicogeno sintasi chinasi 3 (GSK3)

i due enzimi chiave sono controllati contemporaneamente mediante meccanismi uguali ma di effetto opposto



Polypeptide Hormone Glucagon

$H_3\overset{+}{N}$—His—Ser—Gln—Gly—Thr—Phe—Thr—Ser—Asp—Tyr— 10

Ser—Lys—Tyr—Leu—Asp—Ser—Arg—Arg—Ala—Gln— 20

Asp—Phe—Val—Gln—Trp—Leu—Met—Asn—Thr—COO^- 29

Glucagon

Overview of Glucose Metabolism