

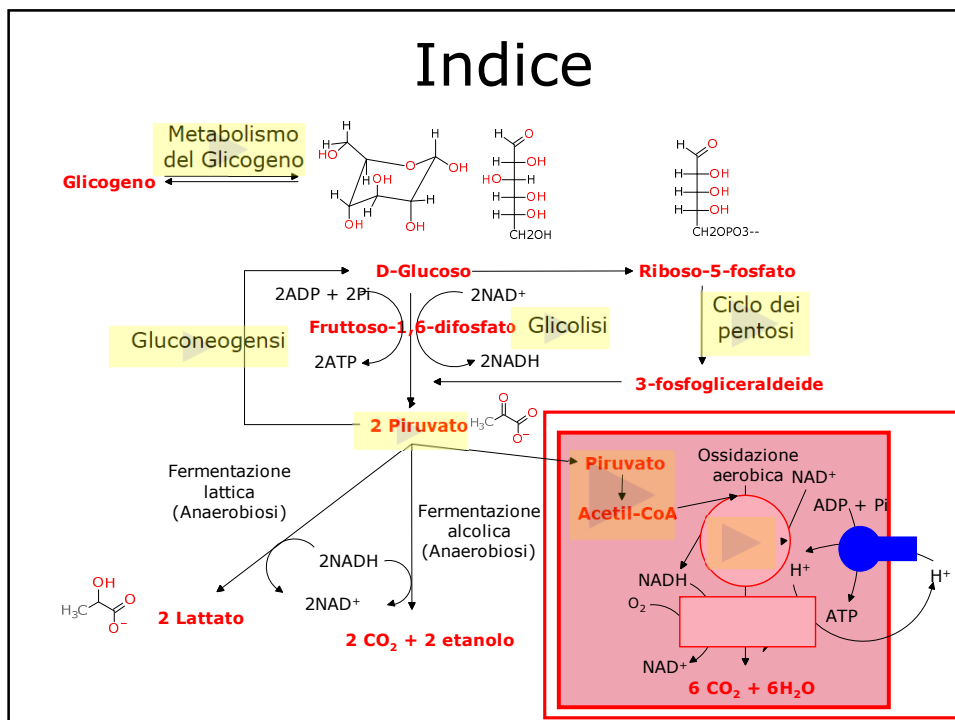
Prof. Giorgio Sartor

# Metabolismo dei carboidrati III

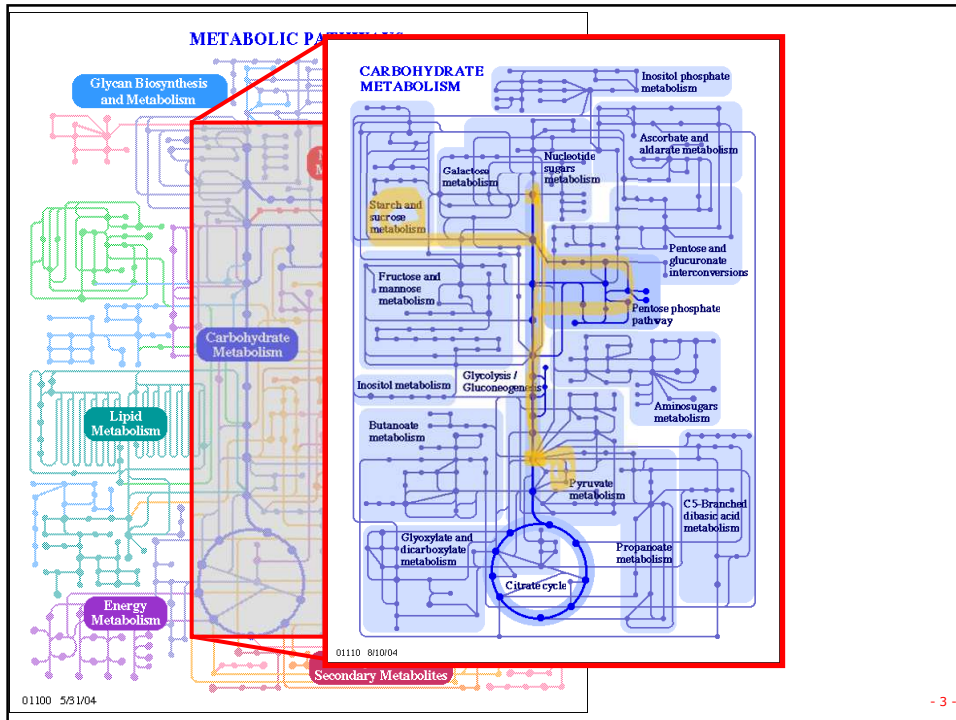
## Ciclo di Krebs

Copyright © 2001-2020 by Giorgio Sartor. All rights reserved. B09-III - Versione 3.5.1 - Mar-20

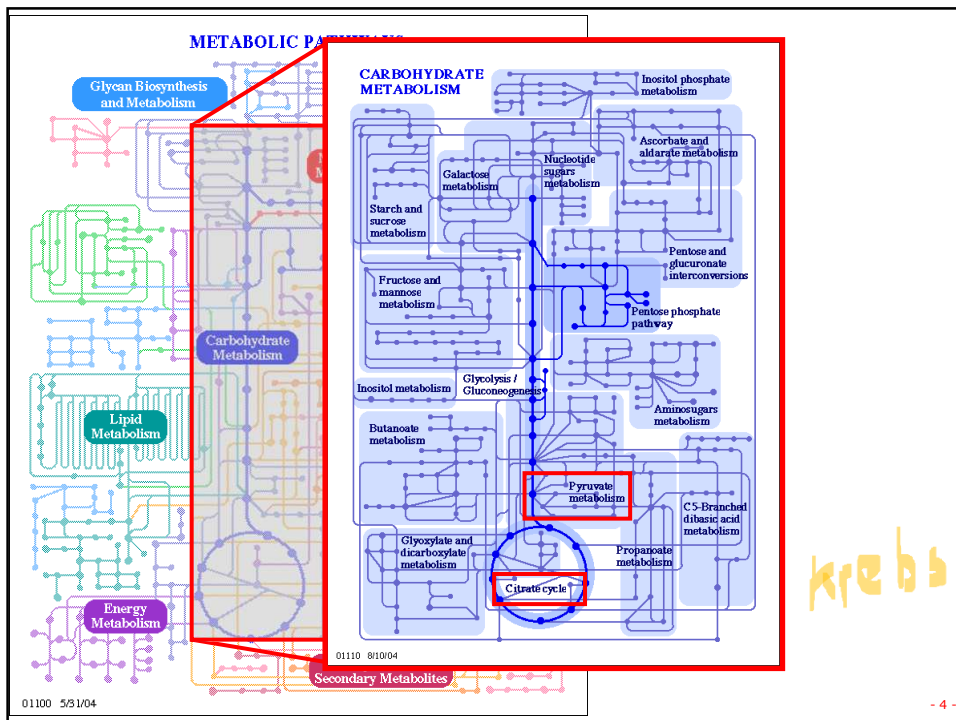
1



2



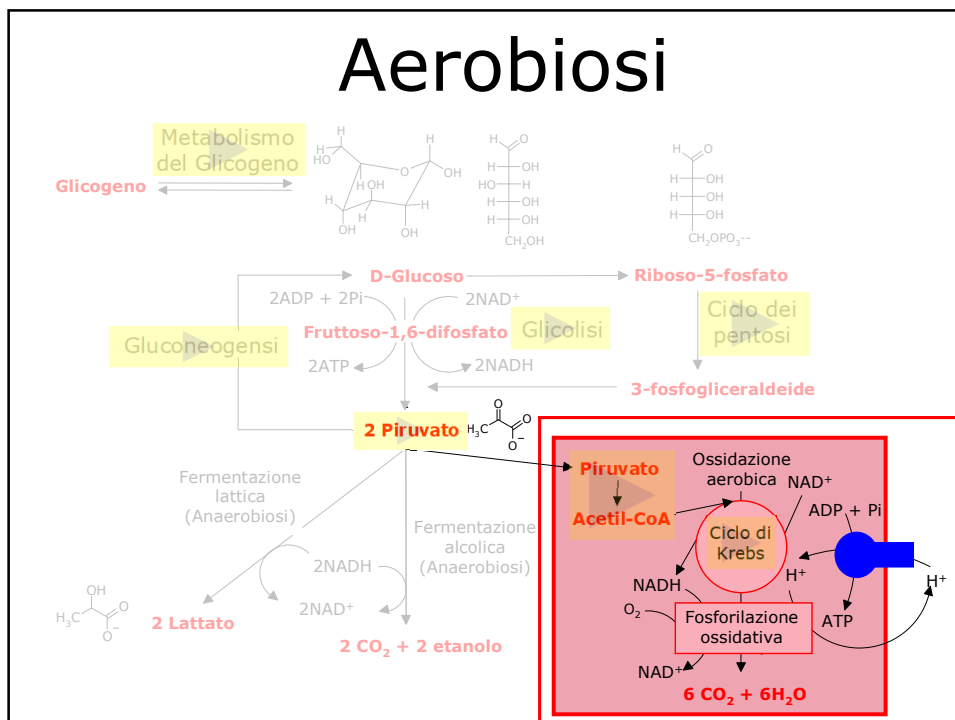
3



4



5



6

## Aerobiosi

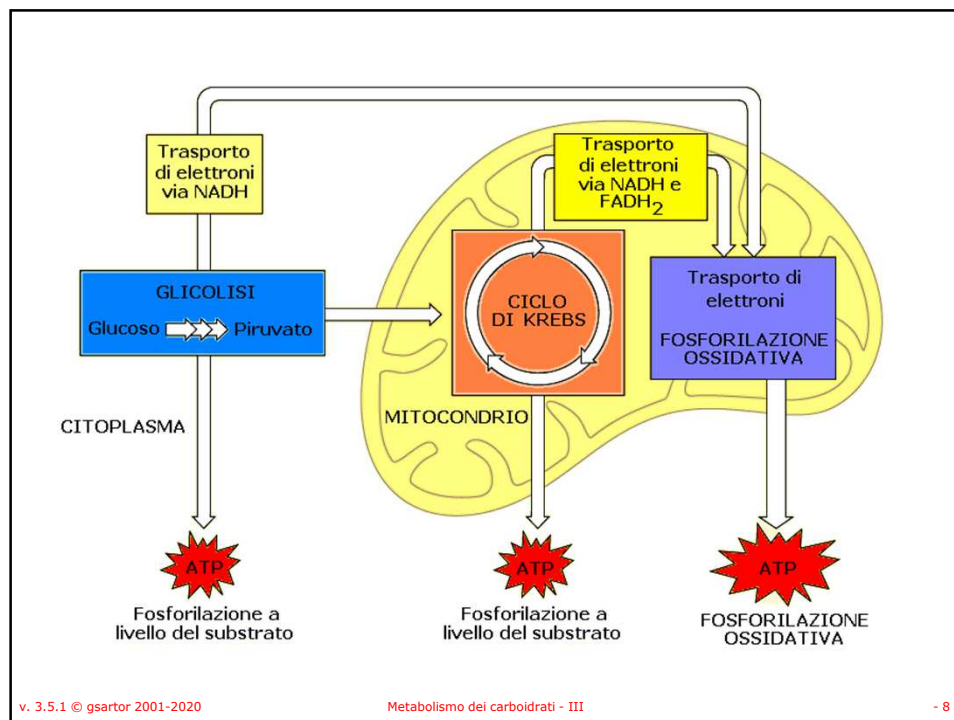
- In condizioni aerobiche il piruvato prodotto dalla glicolisi e dalla degradazione degli aminoacidi è ossidato a  $H_2O$  e  $CO_2$  nella respirazione cellulare.
- Ciò avviene in tre stadi
  - Produzione di acetil-CoA (decarbossilazione del piruvato)
  - Ossidazione dell'acetil-CoA a  $CO_2$  (Ciclo di Krebs)
  - Trasferimento di elettroni e fosforilazione ossidativa (produzione di  $H_2O$  e ATP con consumo di  $O_2$ ).

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 7 -

7



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 8 -

8



9

## Trasporto del piruvato

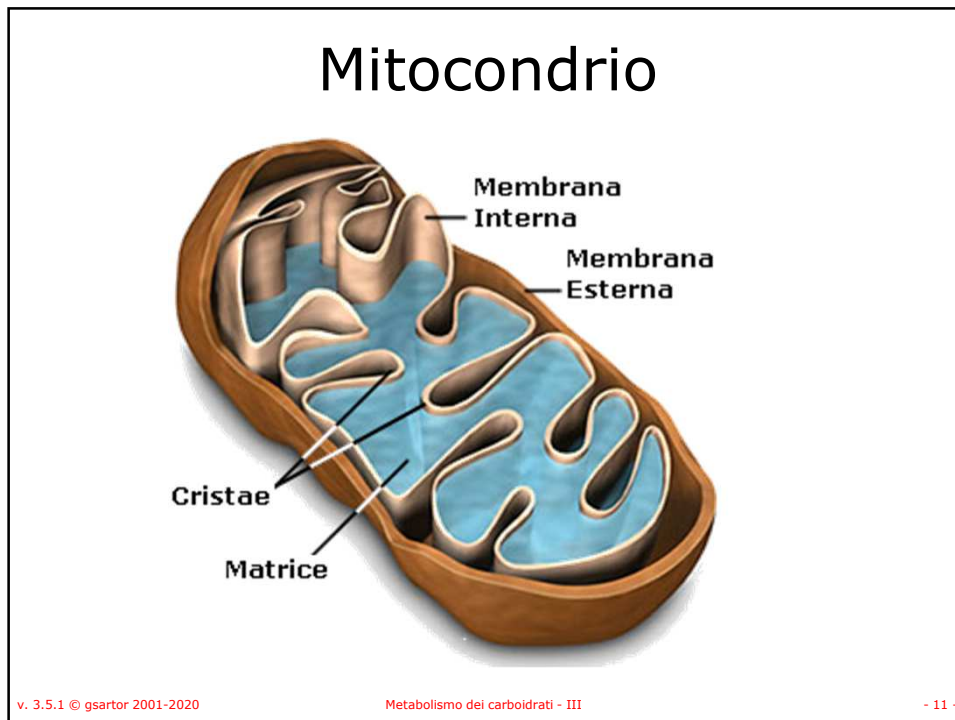
- Il piruvato è trasportato all'interno della matrice mitocondriale dove viene ossidato ad acetilCoA dal complesso enzimatico piruvato deidrogenasi.
- Il piruvato viene trasportato attraverso la membrana mitocondriale attraverso un trasportatore specifico che lo scambia con ioni  $\text{OH}^-$ .
- La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

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

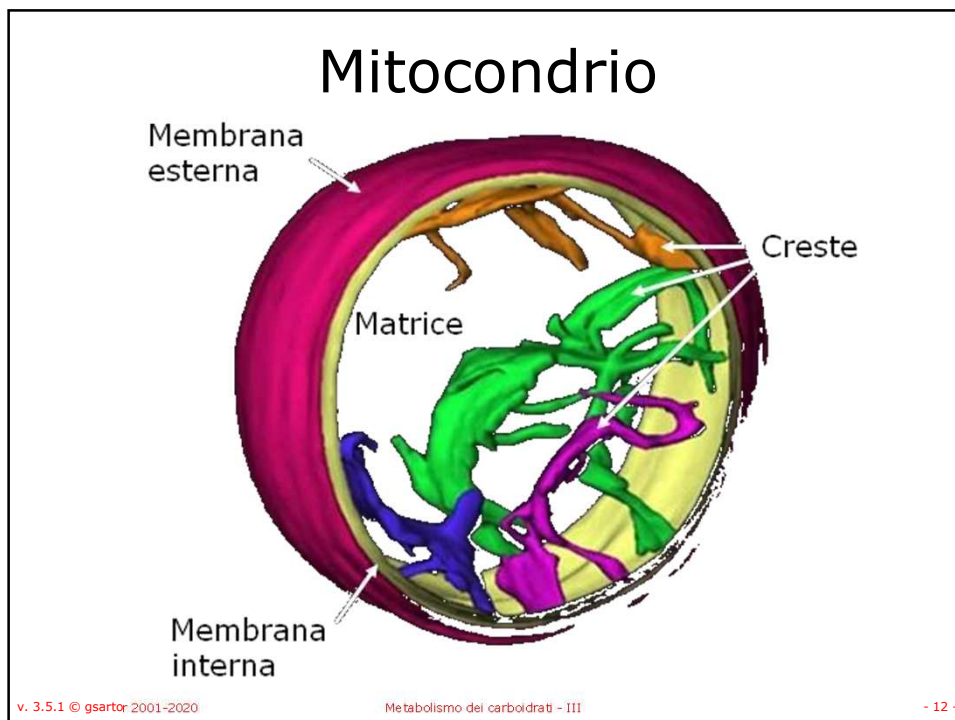
Metabolismo dei carboidrati - III

- 10 -

10

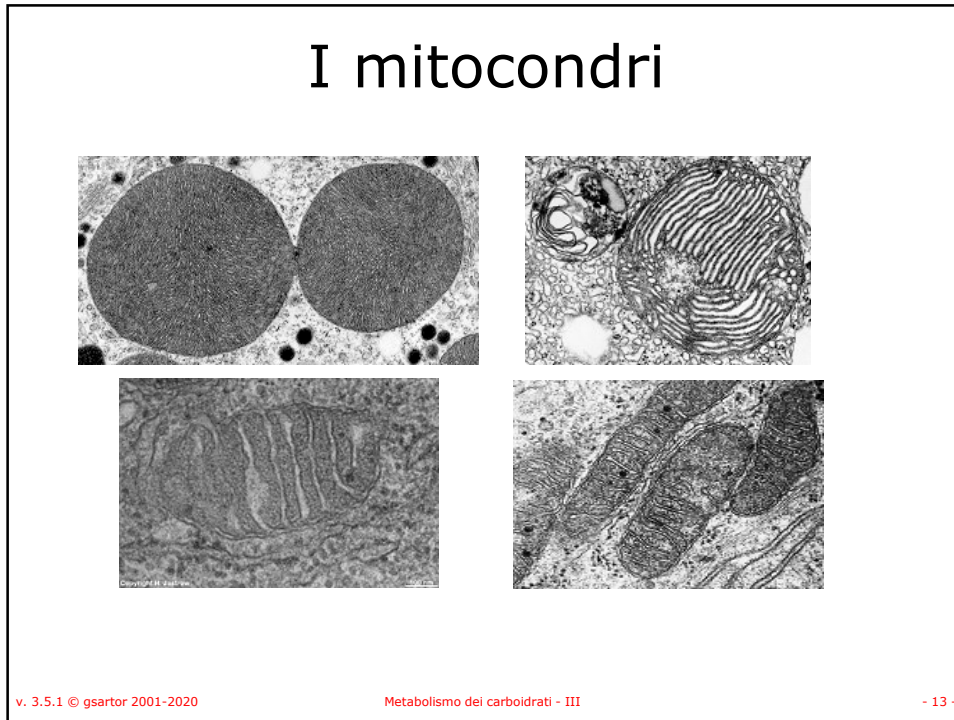


11

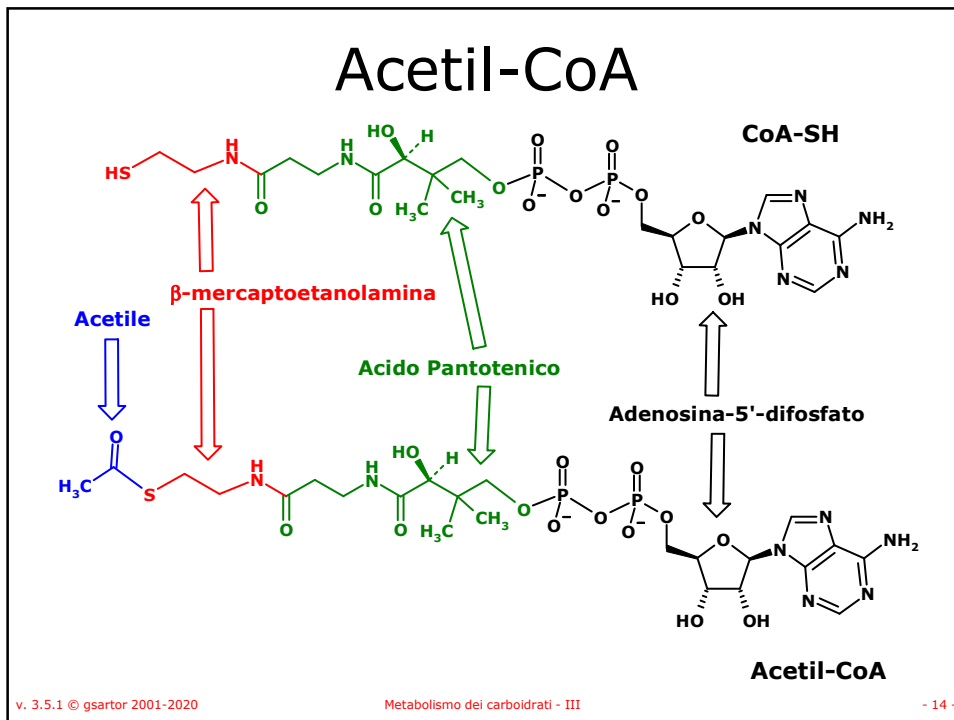


12

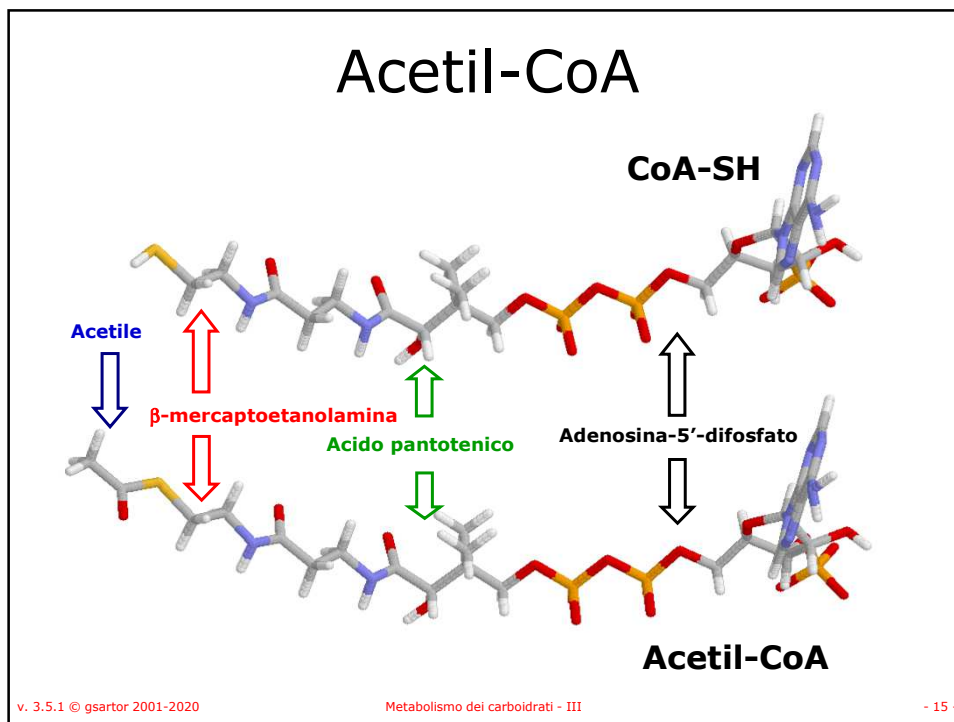




13



14



15

## Complezzo piruvato deidrogenasi

- Il complesso piruvato deidrogenasi è un gruppo di enzimi associati non covalentemente che catalizzano la decarbossilazione del piruvato e formazione di Acetil-CoA.
- La reazione forma contemporaneamente NADH trasferendo uno ione  $H^-$  al  $NAD^+$ .
- Il NADH passa gli elettroni alla catena respiratoria
- La reazione ha un  $\Delta G^{o'} = -33.4 \text{ kJ/mol}$  (essenzialmente irreversibile).

**Complezzo piruvato deidrogenasi**  
( $E_1 + E_2 + E_3$ )

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 16 -

16



## Complesso piruvato deidrogenasi

- Il complesso piruvato deidrogenasi catalizza **cinque reazioni** sequenziali, richiede **tre enzimi** e **cinque coenzimi**.
- I cinque coenzimi sono:
  - Il **FAD** e il **NAD<sup>+</sup>** sono trasportatori di elettroni.
  - La **TPP** trasferisce il gruppo acetile al lipoato.
  - Il **lipoato** è trasportatore di elettroni e di acili.
  - Il **CoA** è il trasportatore di acili, lega in modo covalente il gruppo acilico attraverso un legame tioestere ad alta energia.

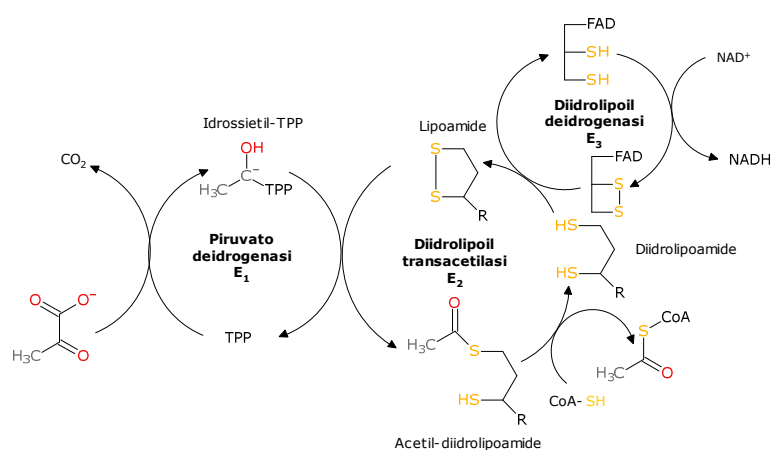
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 17 -

17

## I reagenti e i prodotti

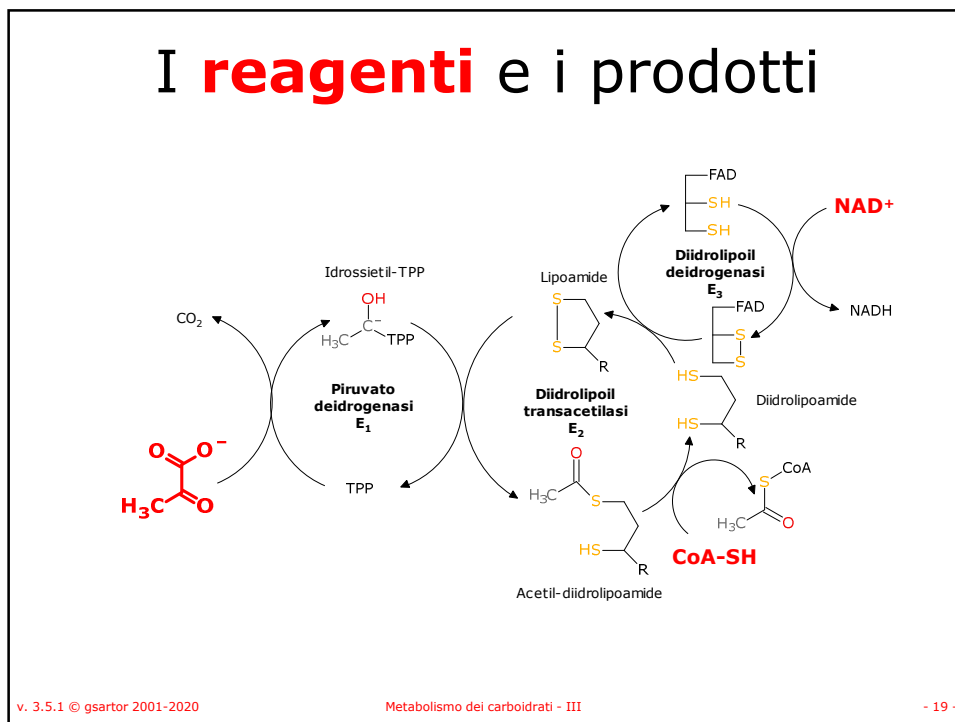


v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

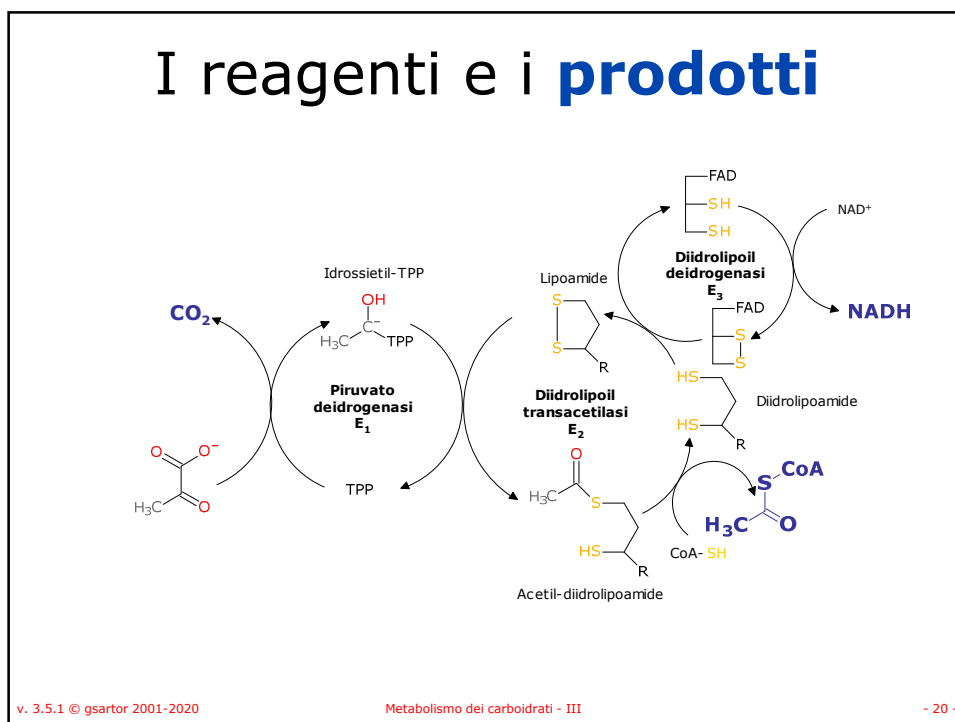
Metabolismo dei carboidrati - III

- 18 -

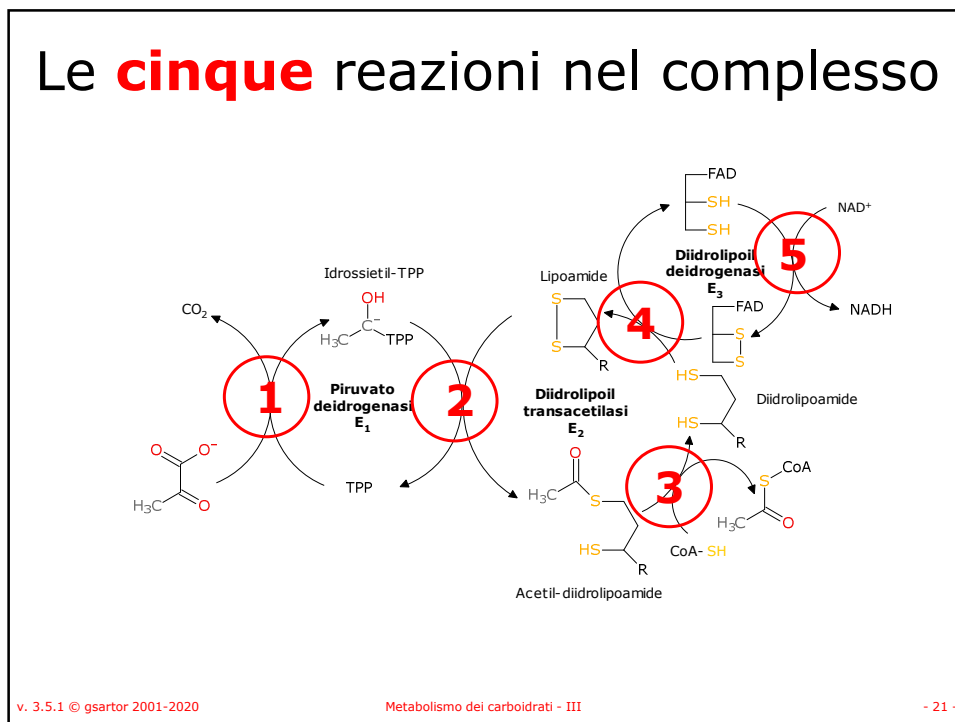
18



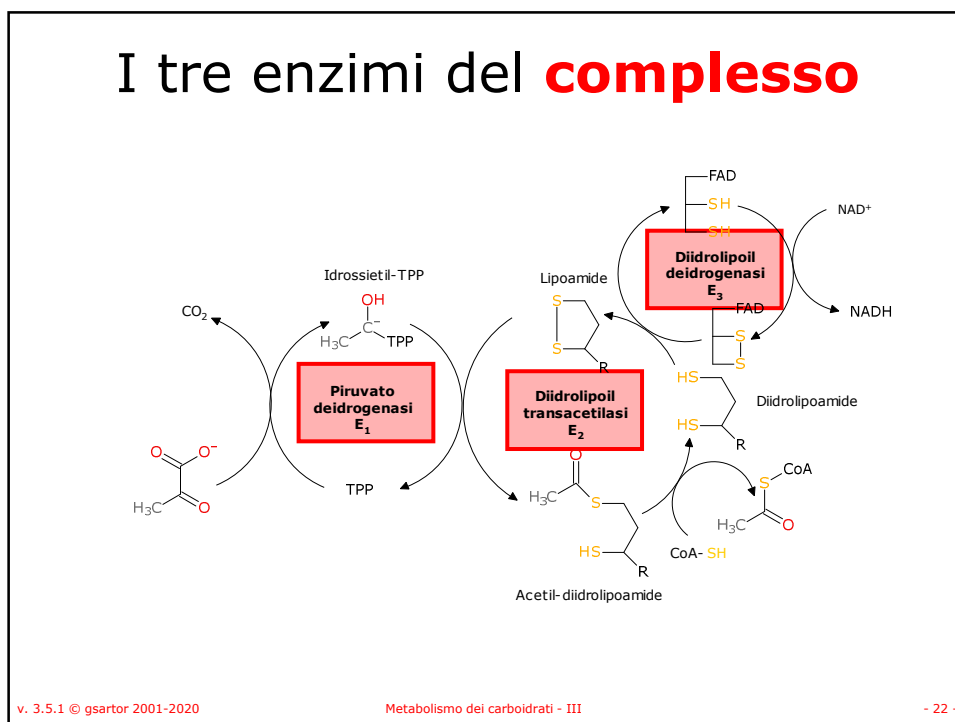
19



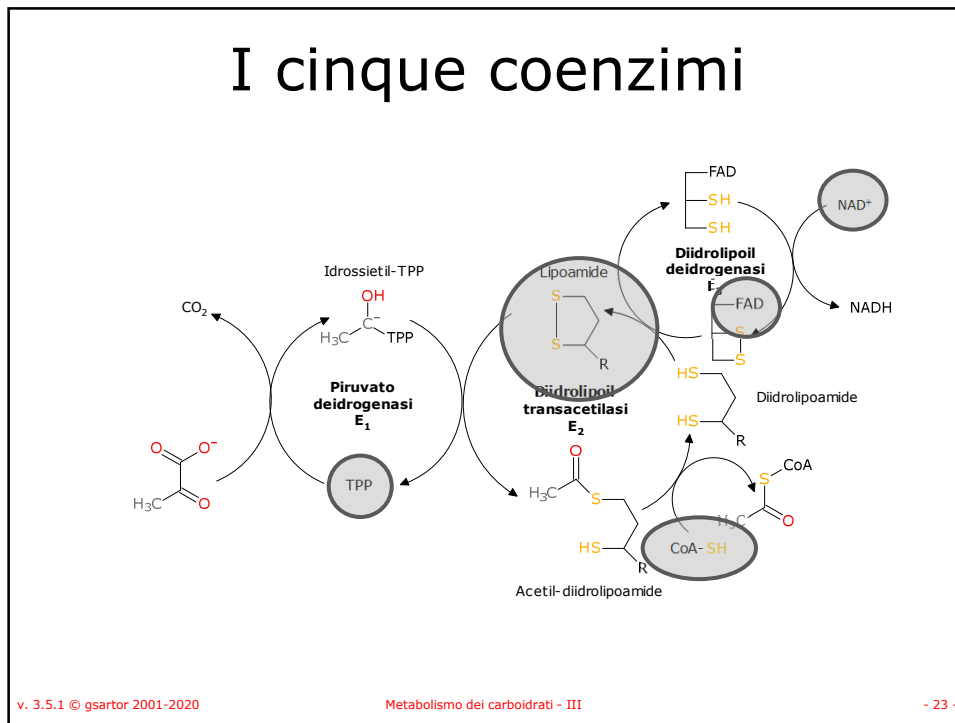
20



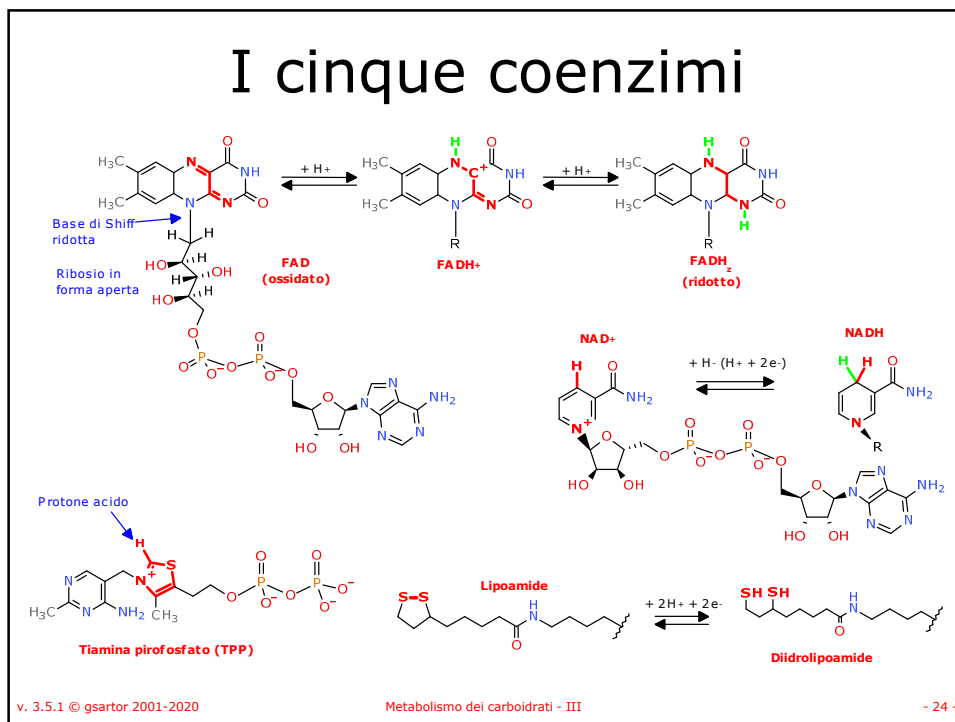
21



22




23



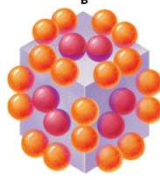
24

## I tre enzimi

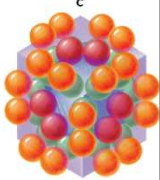
- Il complesso piruvato deidrogenasi PDC consiste in tre enzimi:
  - piruvato deidrogenasi
    - EC1.2.4.1
    - **(E<sub>1</sub>, arancio) (B)**,
  - diidrolipoil transacetilasi
    - EC2.3.1.12
    - **(E<sub>2</sub>, verde) (A)**,
  - diidrolipoil deidrogenasi
    - EC1.8.1.4
    - **(E<sub>3</sub>, violetto) (C)**.
- In *E. coli* il complesso consiste in 24 coppie di E<sub>1</sub>, 24 coppie di E<sub>2</sub> e di 12 coppie di E<sub>3</sub>.
- E<sub>2</sub> funziona come "core" del complesso (C).




A



B



C




0.05 μm

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 25 -

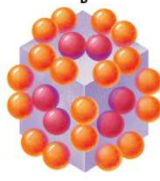
25

## I tre enzimi

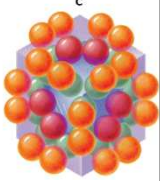
- Ogni coppia di E<sub>2</sub> contiene tre molecole di lipoato legate covalentemente.
- Il lipoato ha un braccio flessibile che trasporta le molecole di acetile da un sito attivo ad un altro.
- E<sub>1</sub> ha come coenzima il molecola di TPP ed E<sub>3</sub> ha come coenzima il FAD.




A



B



C



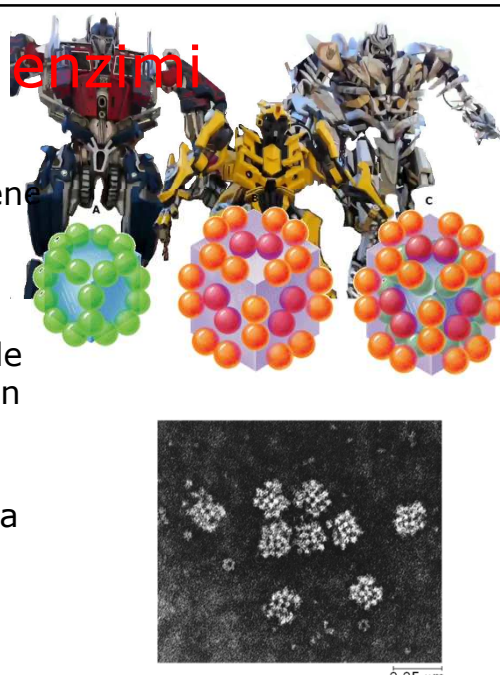
0.05 μm

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 26 -

26

## I tre enzimi

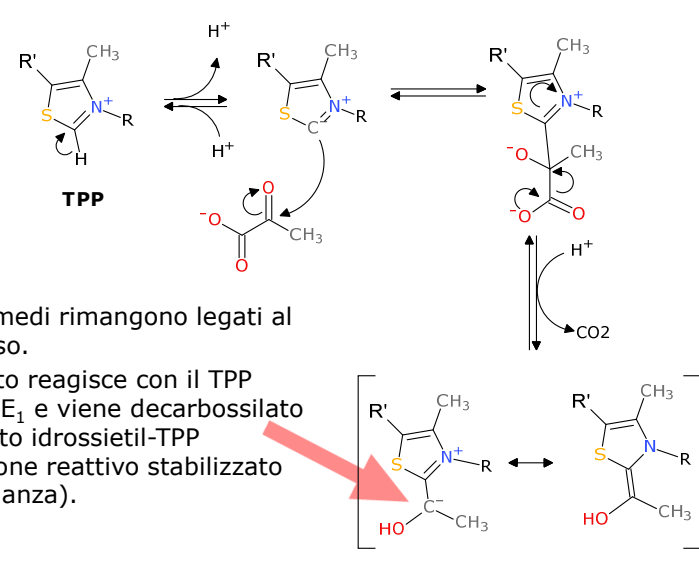
- Ogni coppia di E<sub>2</sub> contiene tre molecole di lipoato legate covalentemente.
- Il lipoato ha un braccio flessibile che trasporta le molecole di acetile da un sito attivo ad un altro.
- E<sub>1</sub> ha come coenzima il molecola di TPP ed E<sub>3</sub> ha come coenzima il FAD.



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 27 -

27

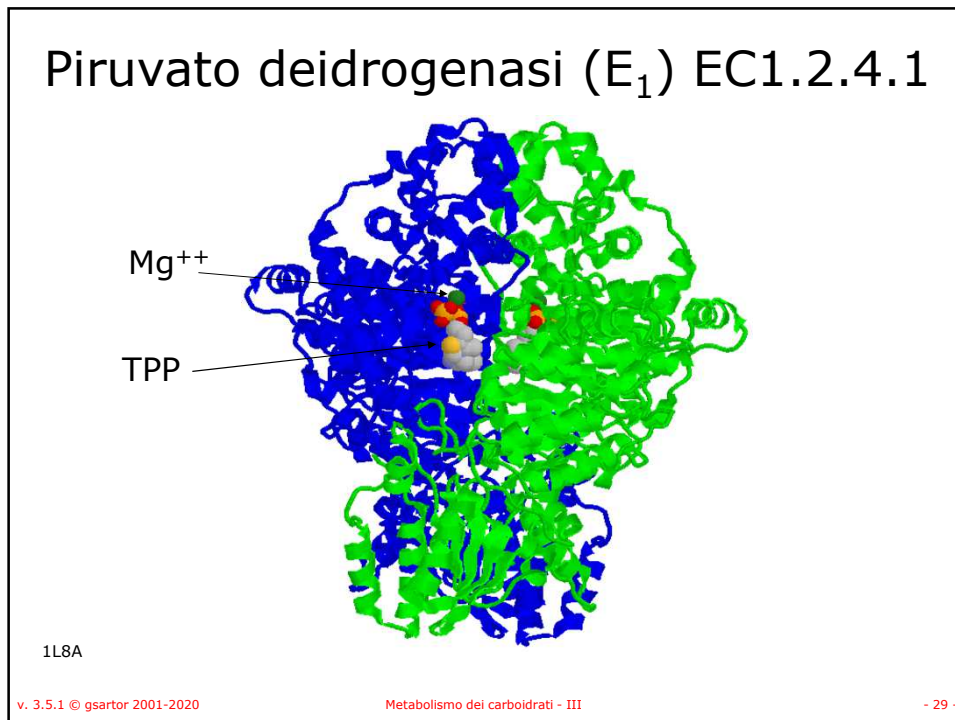
## Piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>) EC1.2.4.1



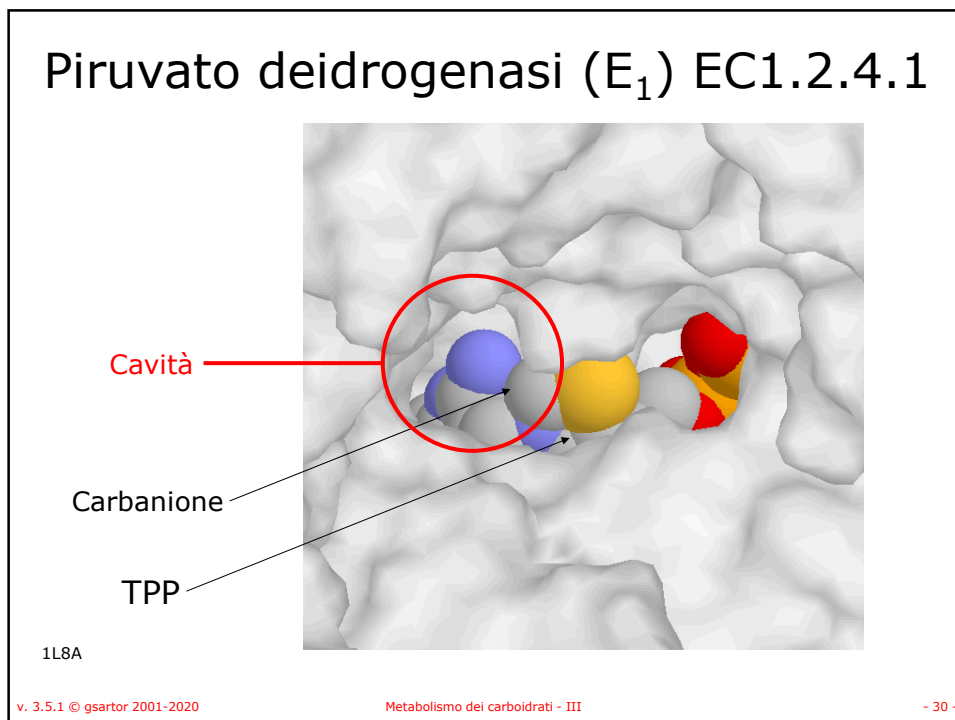
- Gli intermedi rimangono legati al complesso.
- Il piruvato reagisce con il TPP legato a E<sub>1</sub> e viene decarbossilato al derivato idrossietil-TPP (carbanione reattivo stabilizzato per risonanza).

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 28 -

28

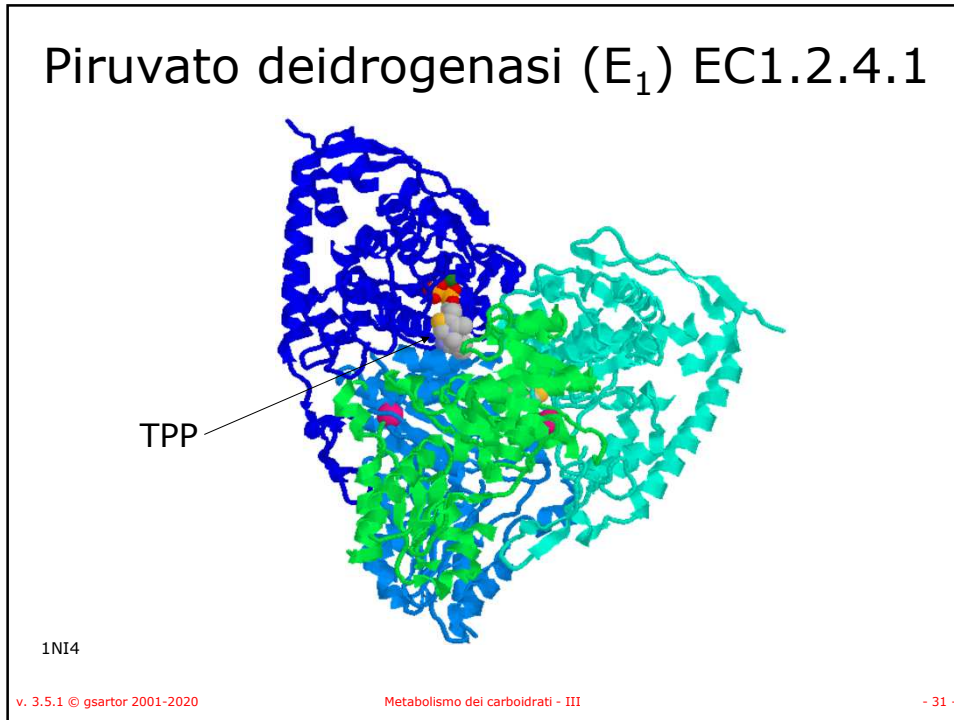


29

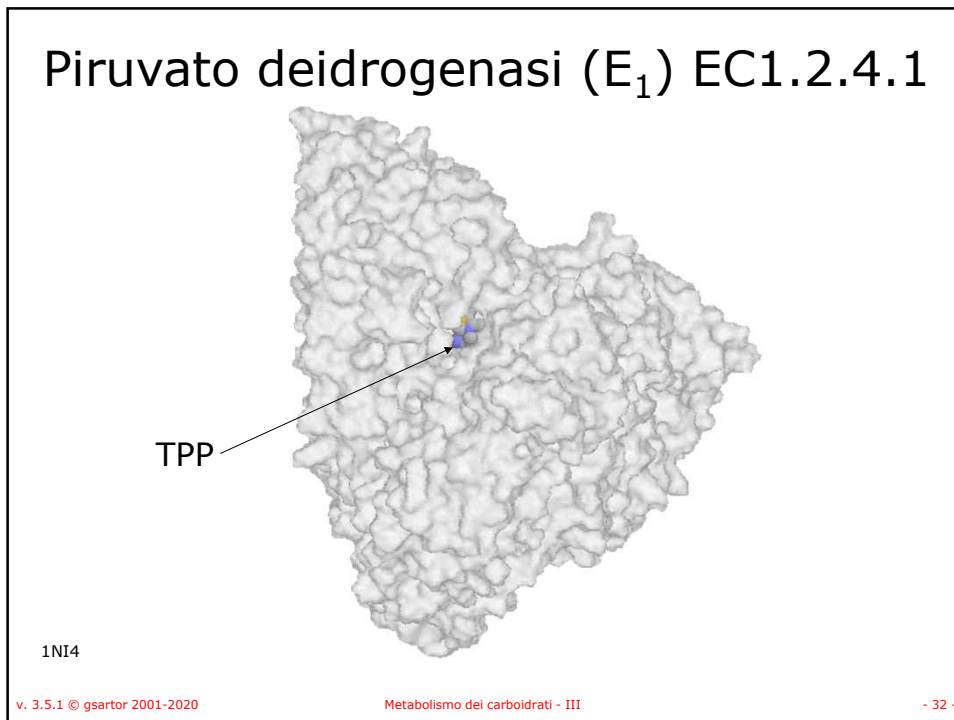


30

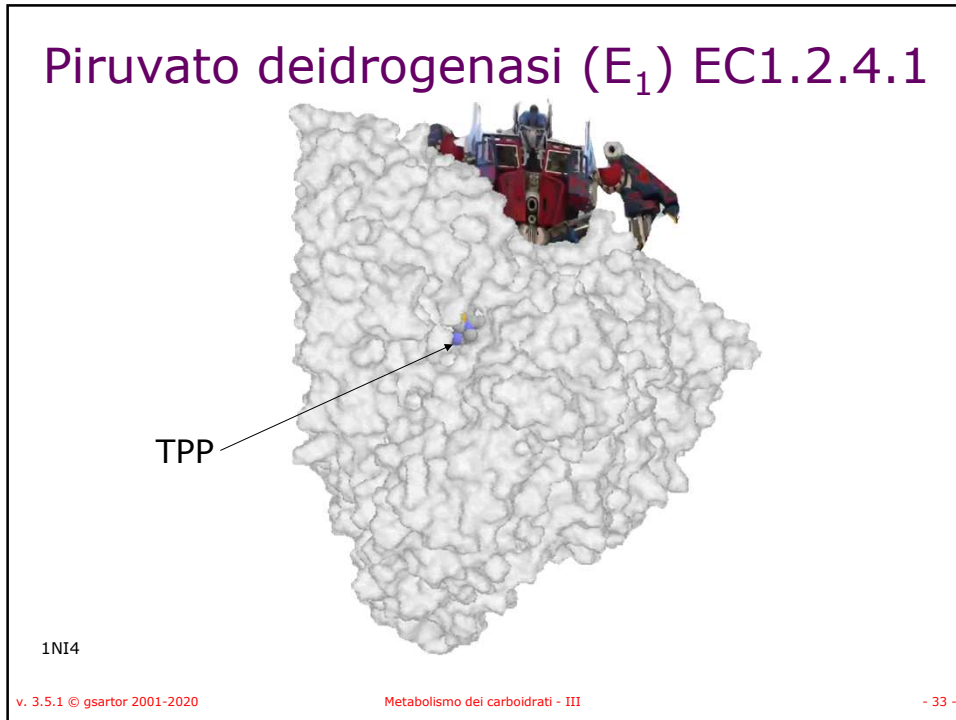




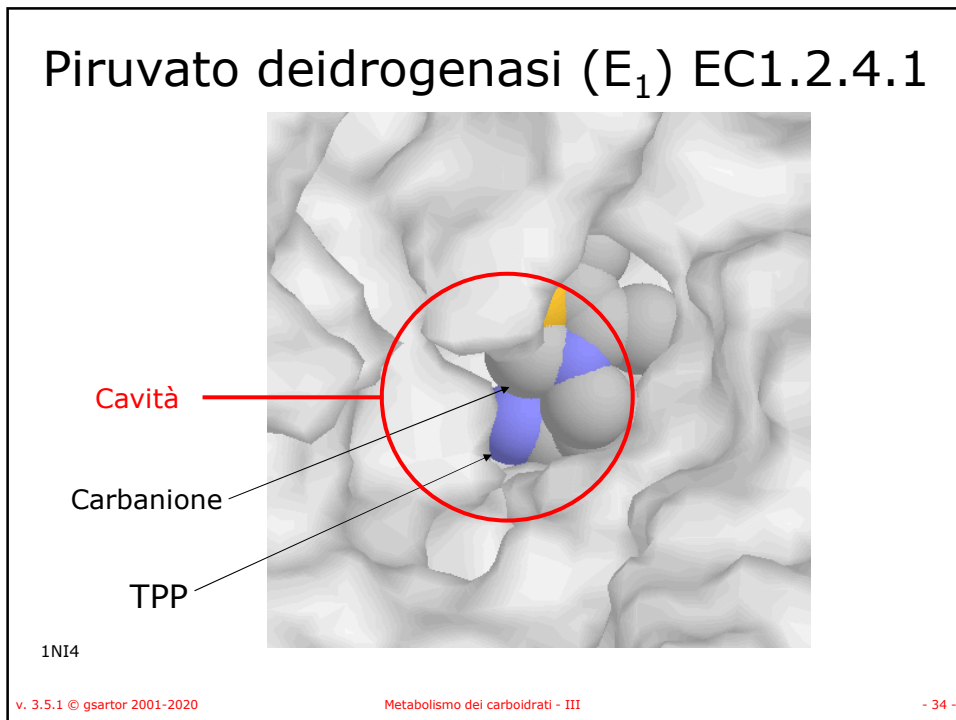
31



32

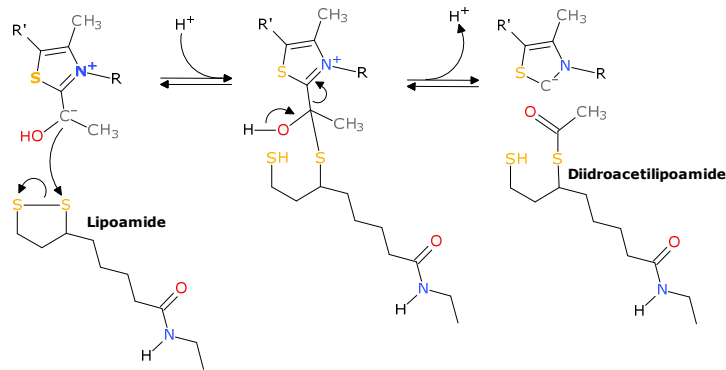


33



34

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



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

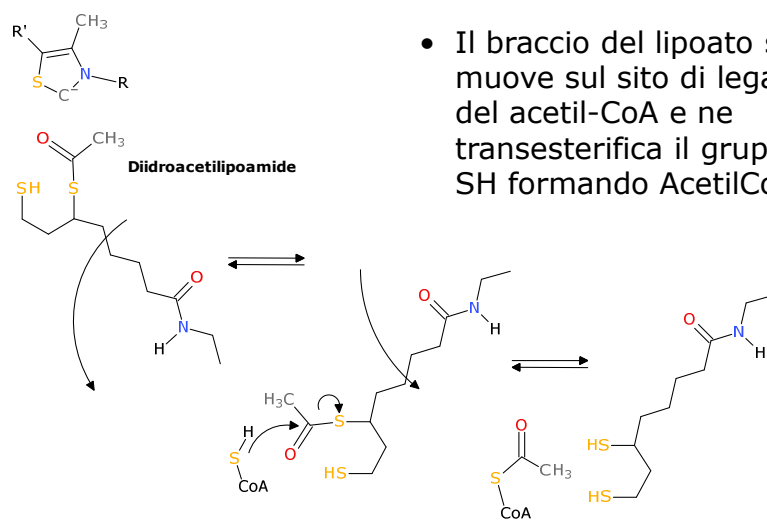
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 35 -

35

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



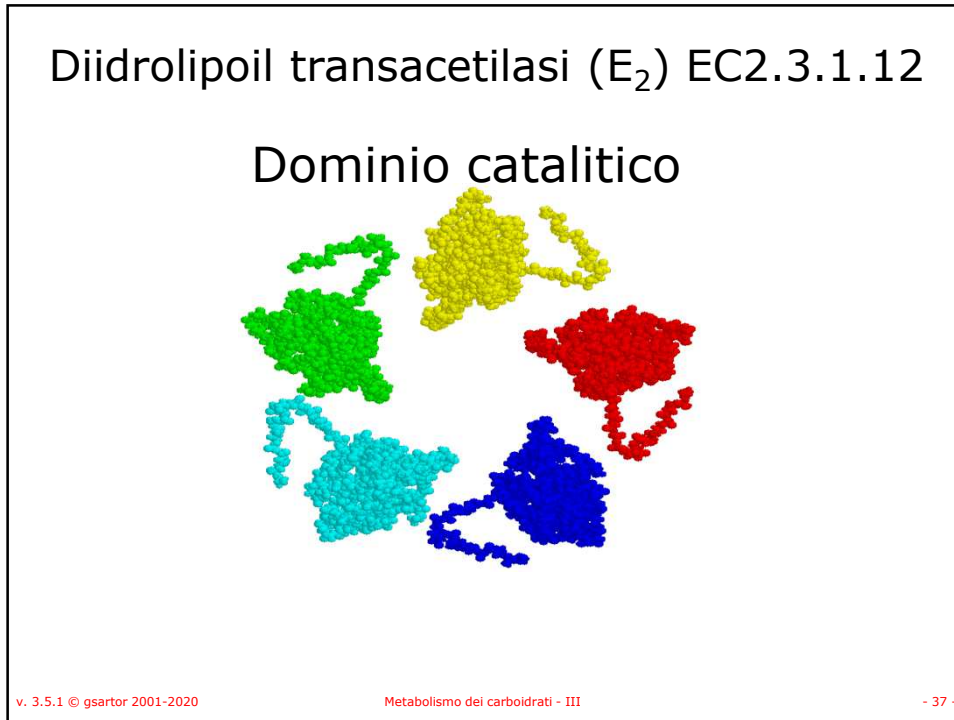
- Il braccio del lipoato si muove sul sito di legame del acetil-CoA e ne transesterifica il gruppo SH formando AcetilCoA.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

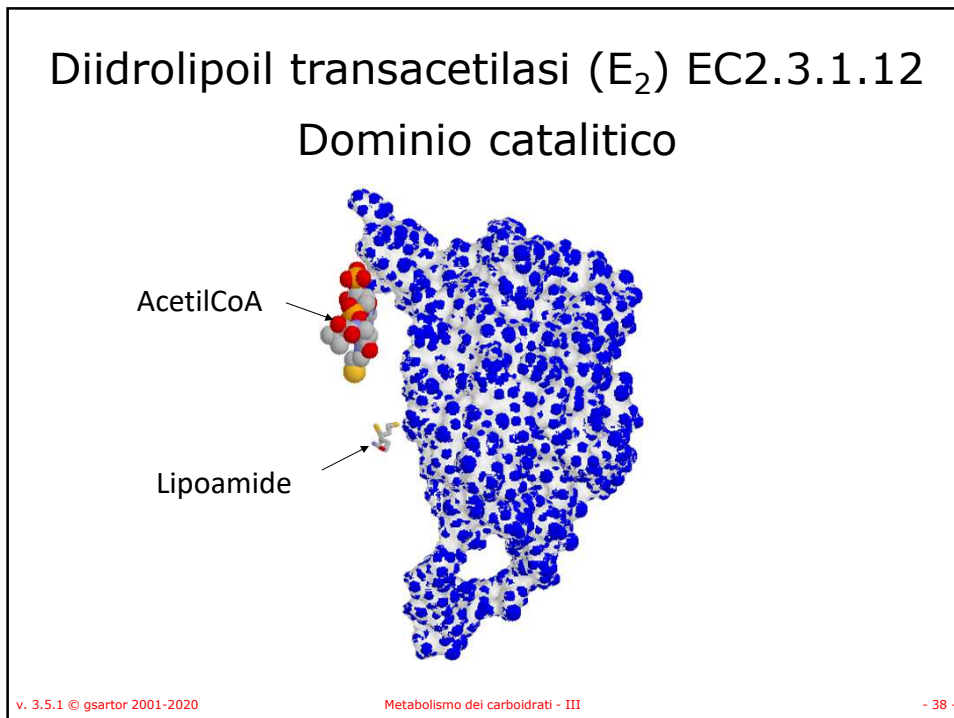
Metabolismo dei carboidrati - III

- 36 -

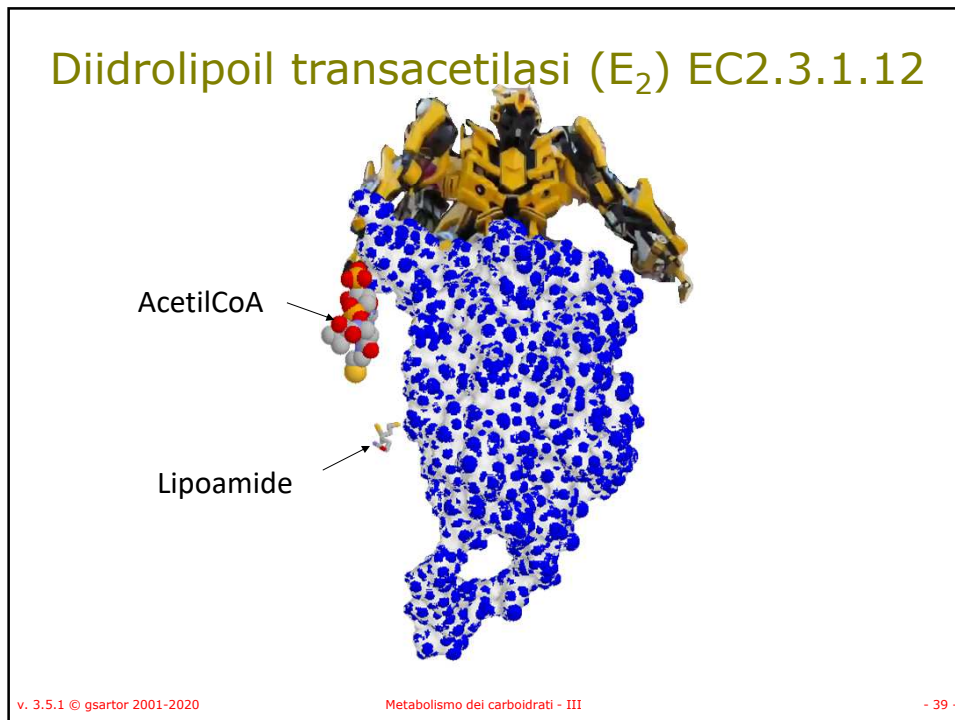
36



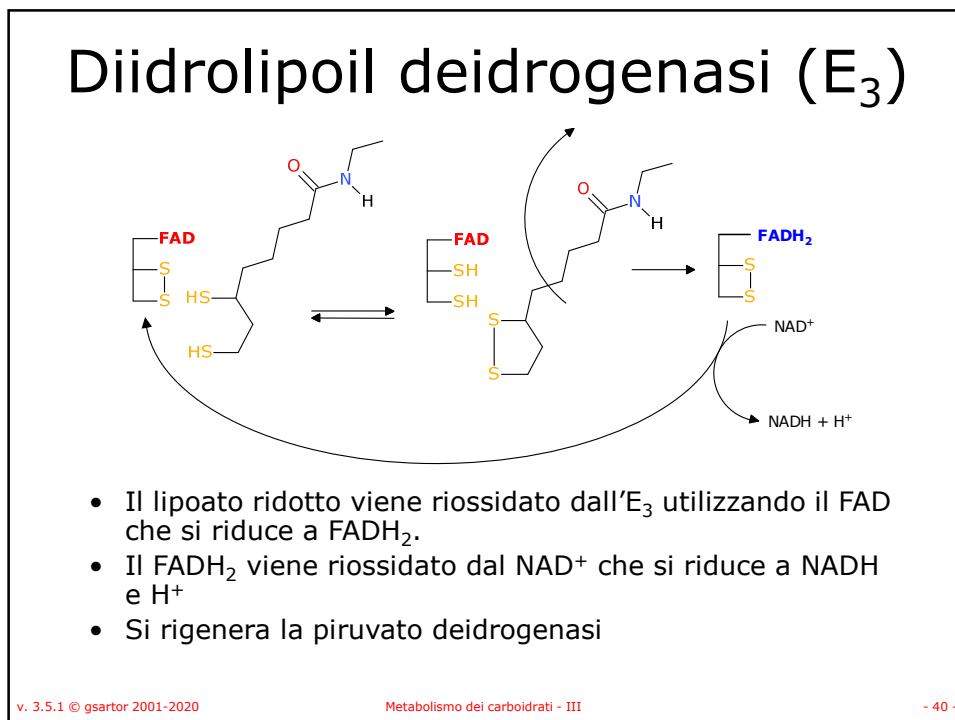
37



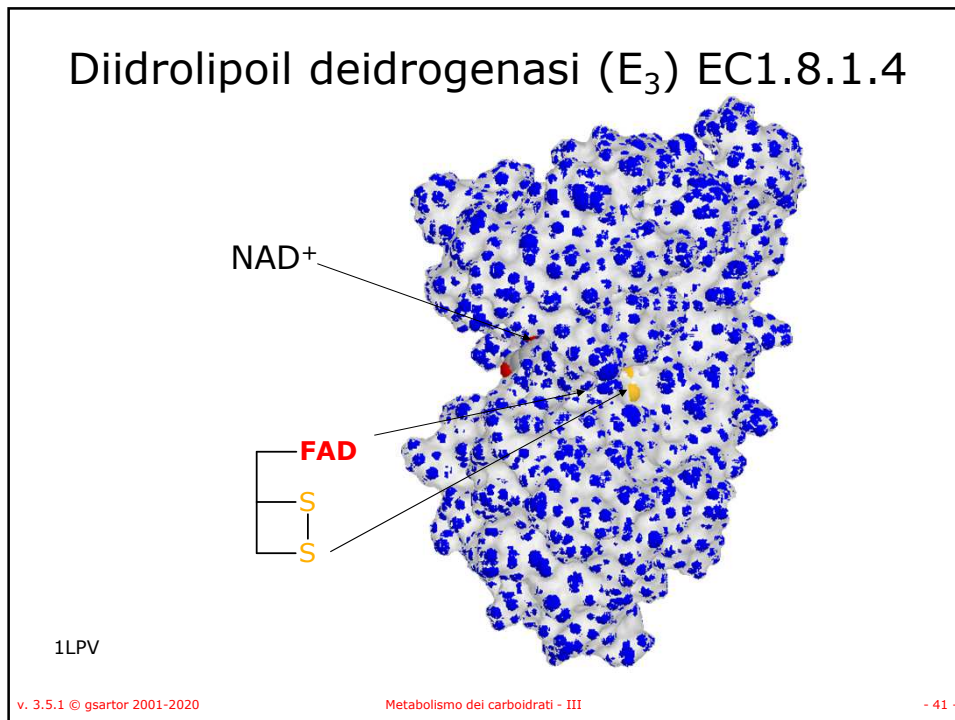
38



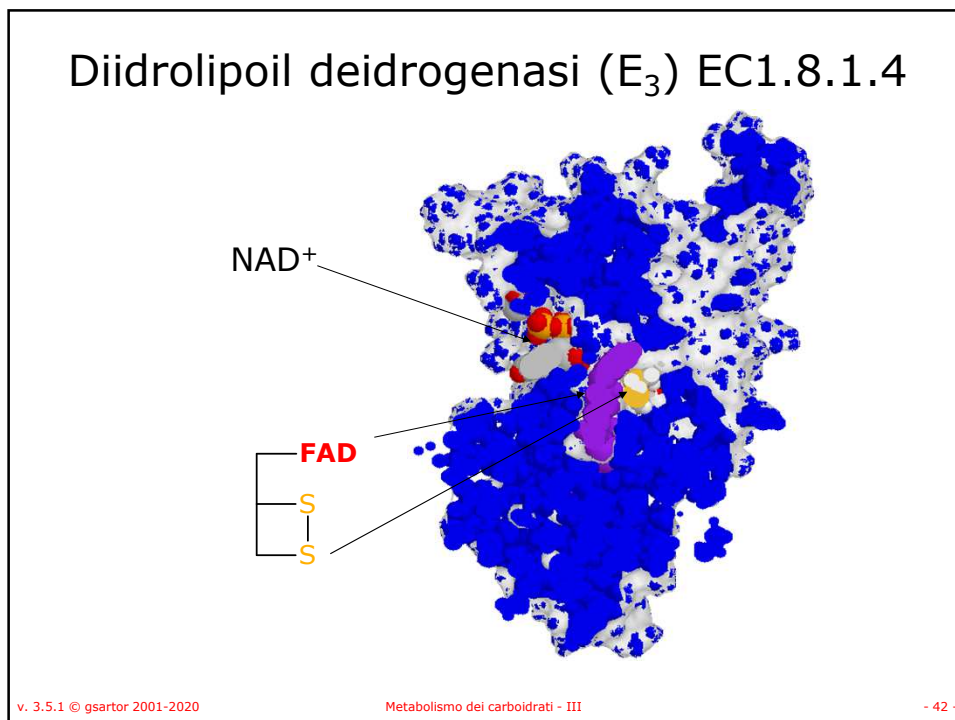
39



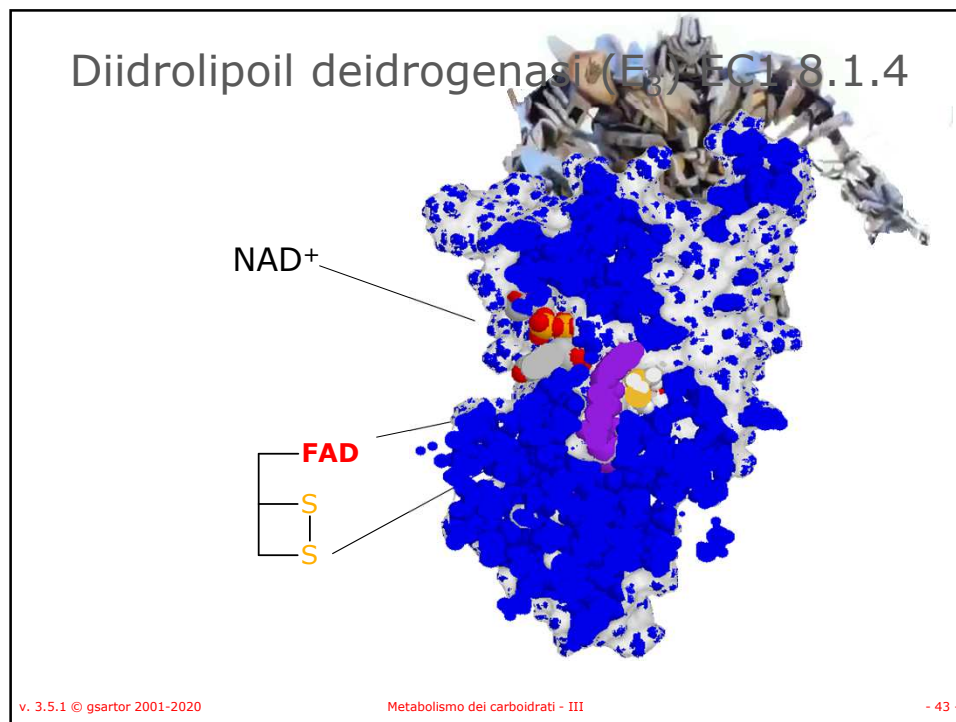
40



41



42



43

- La diidrolipoil transacetilasi ( $E_2$ ) è centrale in questo meccanismo.
- Il braccio flessibile del lipoato:
  - lega il gruppo acetile e lo trasferisce al CoA e
  - accetta due elettroni dalla piruvato deidrogenasi ( $E_1$ ) e li trasferisce al diidrolipoil deidrogenasi ( $E_3$ ).

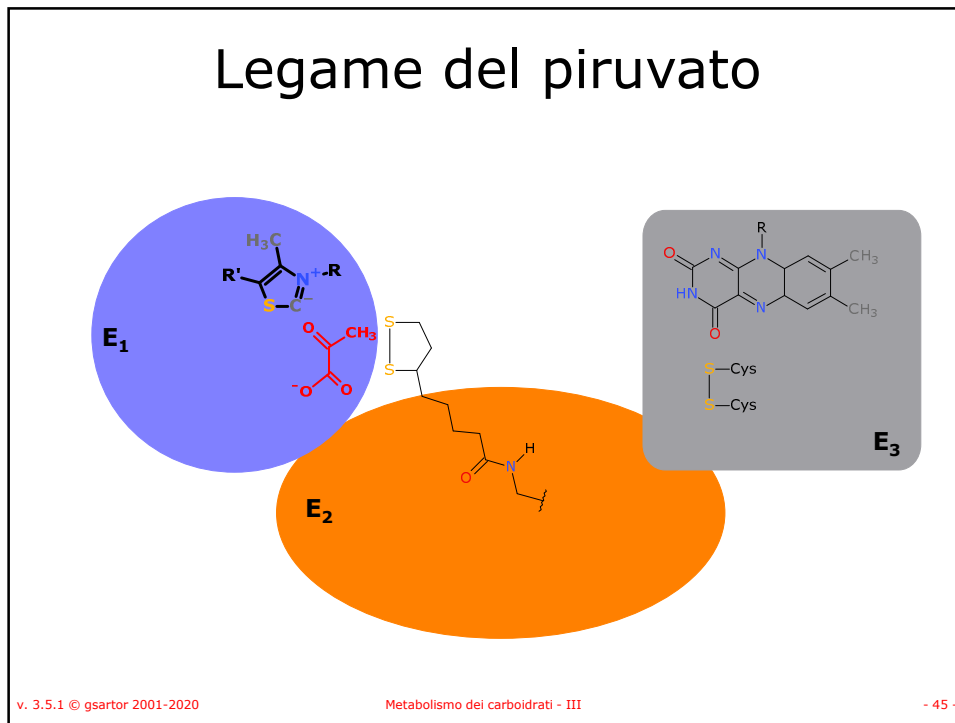
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

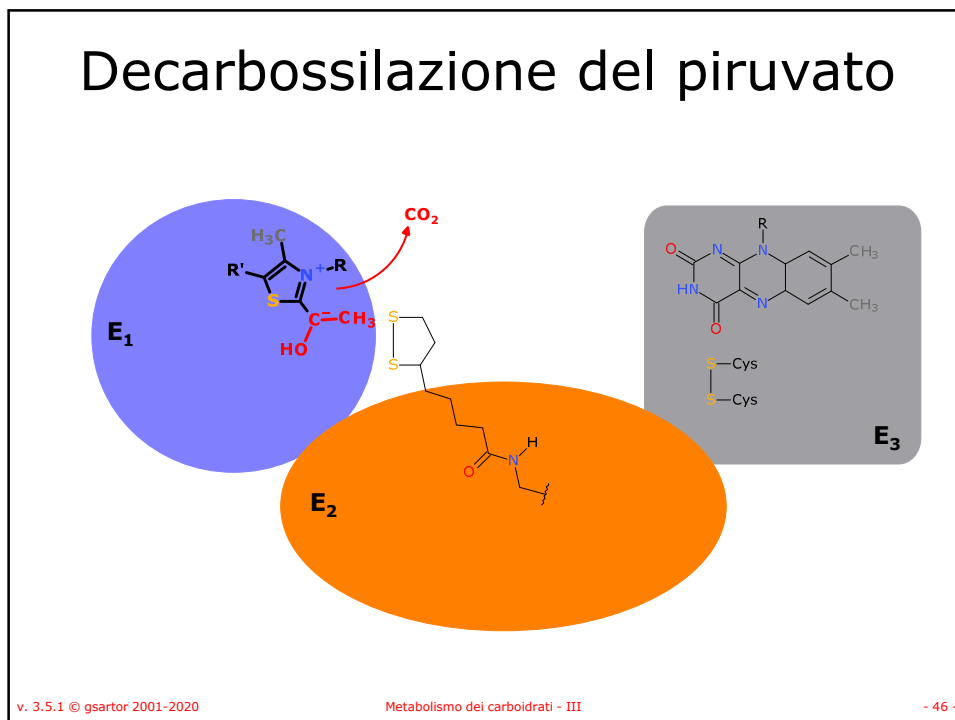
- 44 -

44





45



46

## Formazione di diidroacetillipoamide

The diagram illustrates the formation of dihydroacetyl-CoA. On the left, a blue circle labeled **E<sub>1</sub>** contains a thiazolium ring with a methyl group (H<sub>3</sub>C) and an R' group. This ring is covalently bonded to the sulfur atom of an acetyl group (H<sub>3</sub>C-C(=O)-S-). The sulfur atom is also bonded to a carbon atom that is part of a chain leading to a cysteine residue on a protein subunit labeled **E<sub>2</sub>** (orange oval). The cysteine residue is shown as a -CH<sub>2</sub>-NH- group. To the right, a grey rounded rectangle labeled **E<sub>3</sub>** contains an isoalloxazine ring system with two methyl groups (CH<sub>3</sub>) and an R group. Below the ring, two cysteine residues are shown as -Cys- groups.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 47 -

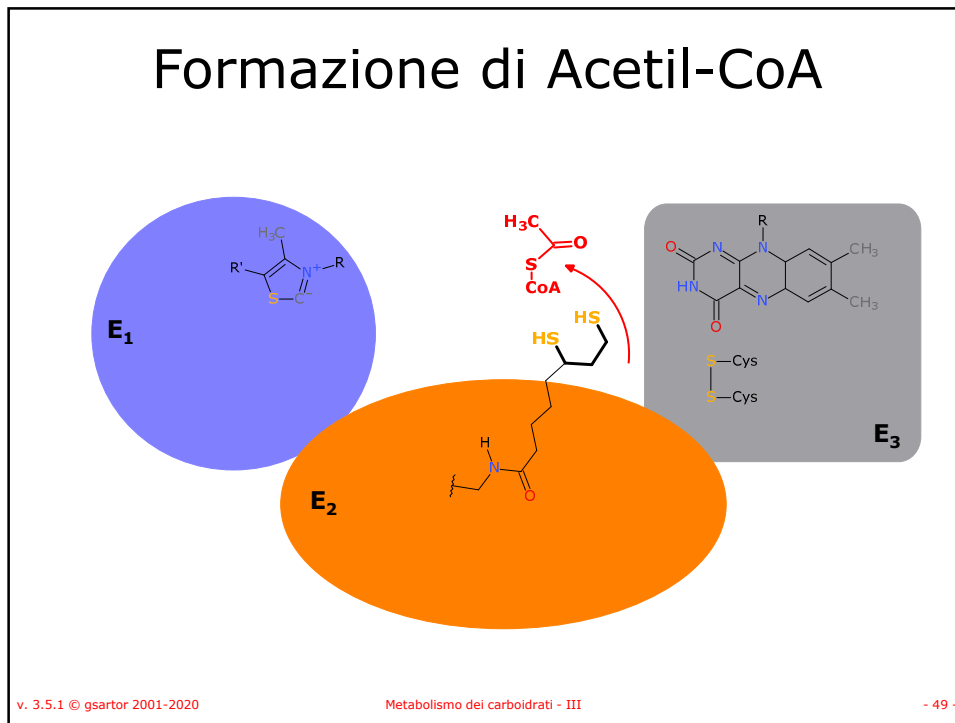
47

## Legame del Coenzima A

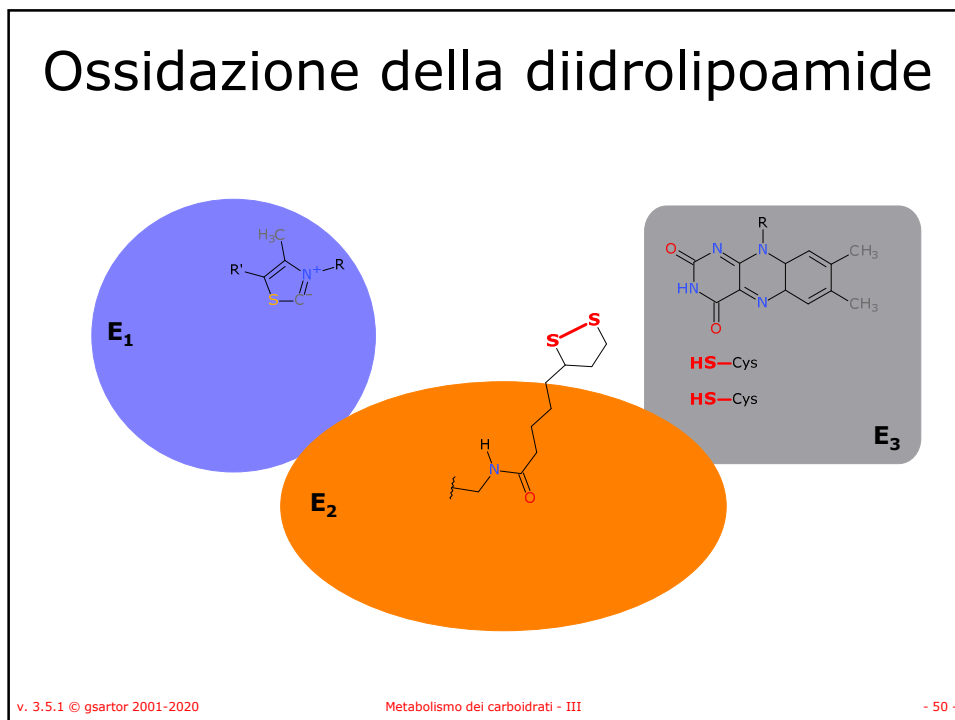
The diagram illustrates the attachment of Coenzyme A (CoA) to the dihydroacetyl group. The structure is similar to the previous slide, but now the sulfur atom of the dihydroacetyl group (H<sub>3</sub>C-C(=O)-S-) is covalently bonded to the sulfur atom of a cysteine residue on the protein subunit **E<sub>2</sub>** (orange oval). The cysteine residue is shown as a -CH<sub>2</sub>-NH- group. The sulfur atom of the cysteine is also bonded to a hydrogen atom (H) and a CoA group. To the left, the blue circle **E<sub>1</sub>** and the grey rounded rectangle **E<sub>3</sub>** (containing the isoalloxazine ring and two -Cys- groups) are also present.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 48 -

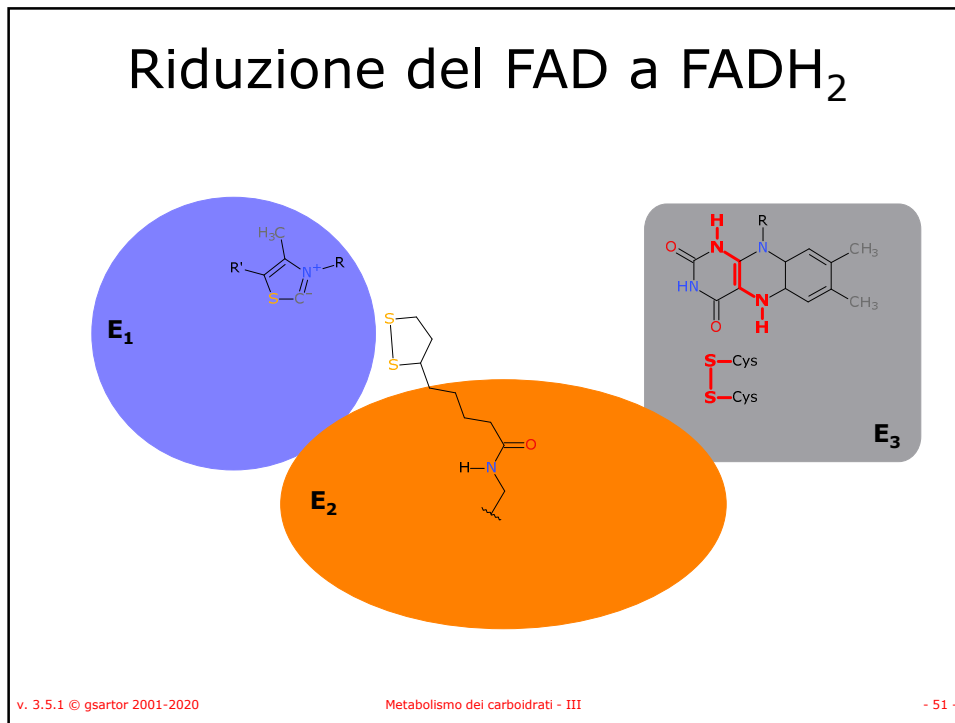
48



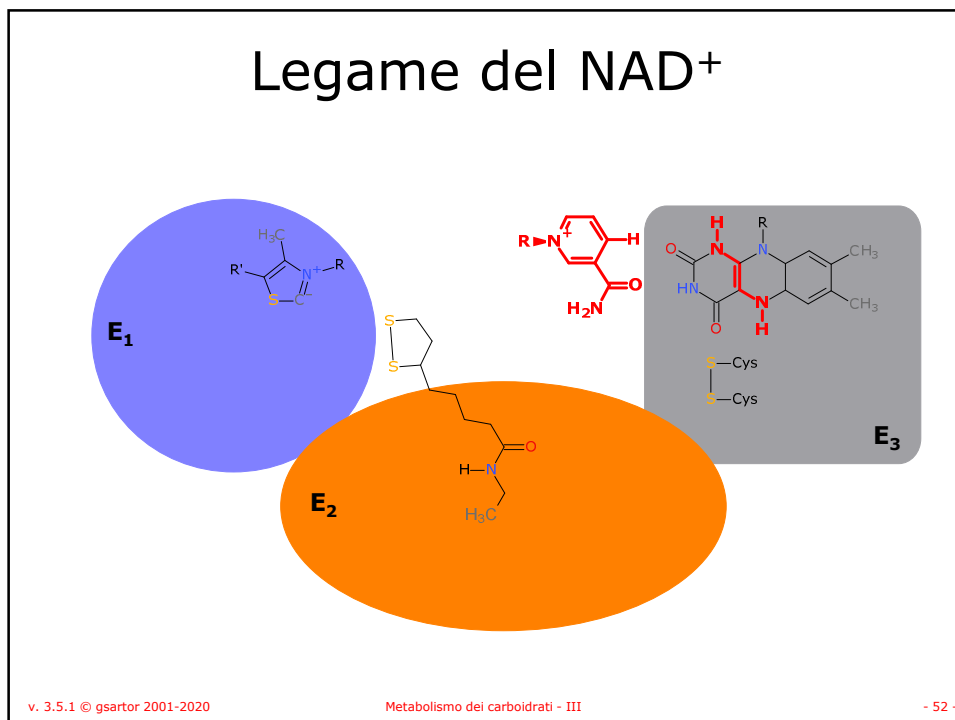
49



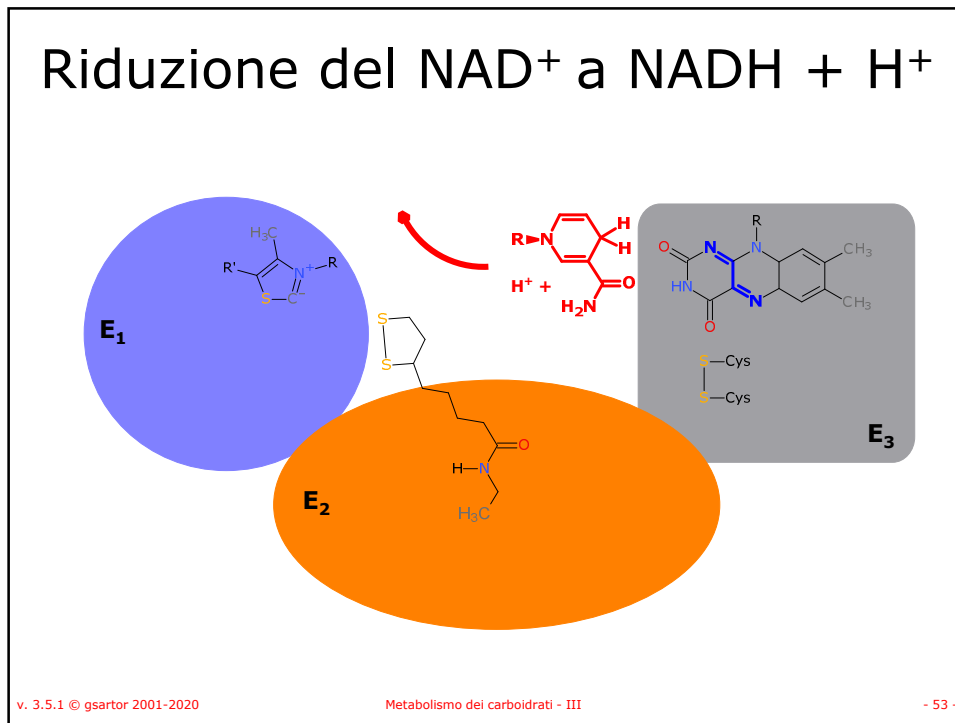
50



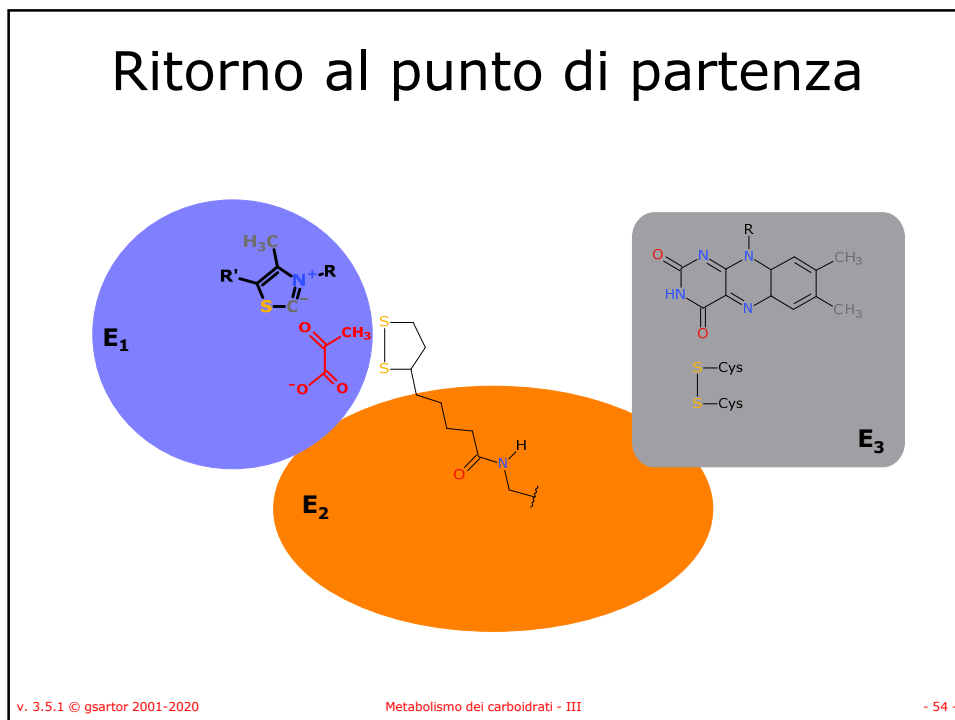
51



52



53



54

## Ritorno al punto di partenza

The diagram illustrates the pyruvate dehydrogenase complex (E1, E2, E3) and its components. E1 is shown as a blue circle containing a thiazolium ring with a methyl group (H<sub>3</sub>C) and a substituent (R'). E2 is shown as an orange oval containing a lipoamide chain with a disulfide bridge (S-S) and a lipoamide ring. E3 is shown as a grey box containing a flavin mononucleotide (FMN) ring system with a substituent (R) and two methyl groups (CH<sub>3</sub>). The diagram also shows a chemical structure of a lipoamide chain with a disulfide bridge (S-S) and a lipoamide ring. The background features a Transformer robot.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 55 -

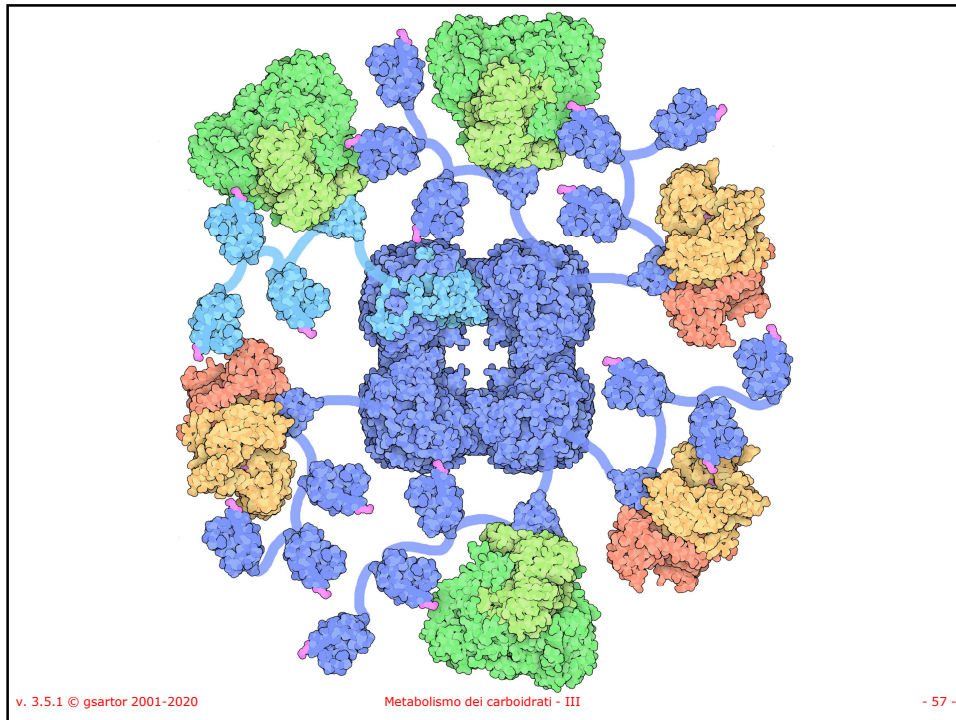
55

## Ritorno al punto di partenza

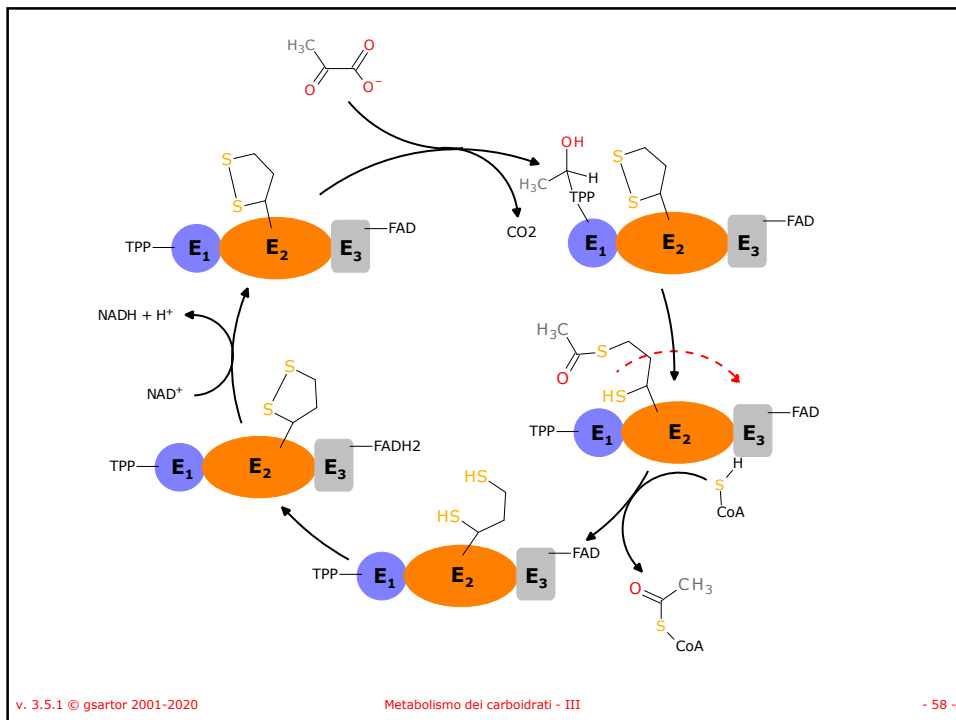
The diagram illustrates the pyruvate dehydrogenase complex (E1, E2, E3) and its components. E1 is shown as a blue circle containing a thiazolium ring with a methyl group (H<sub>3</sub>C) and a substituent (R'). E2 is shown as an orange oval containing a lipoamide chain with a disulfide bridge (S-S) and a lipoamide ring. E3 is shown as a grey box containing a flavin mononucleotide (FMN) ring system with a substituent (R) and two methyl groups (CH<sub>3</sub>). The diagram also shows a chemical structure of a lipoamide chain with a disulfide bridge (S-S) and a lipoamide ring. The background features a Transformer robot.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 56 -

56



57



58



## Controllo della piruvato deidrogenasi

- Inibizione competitiva da prodotti
  - **NADH compete con NAD<sup>+</sup> in E<sub>3</sub>**
  - **Acetil-CoA compete con CoA-SH in E<sub>2</sub>**
- La concentrazione dei due coenzimi regola anche la direzione della catalisi di E<sub>2</sub> e E<sub>3</sub>.
- Negli eucarioti E<sub>1</sub> può essere fosforilato da una chinasi attivata dalla forma acetilata di E<sub>2</sub>
- La forma fosforilata di E<sub>1</sub> è inattiva mentre la forma defosforilata è attiva.

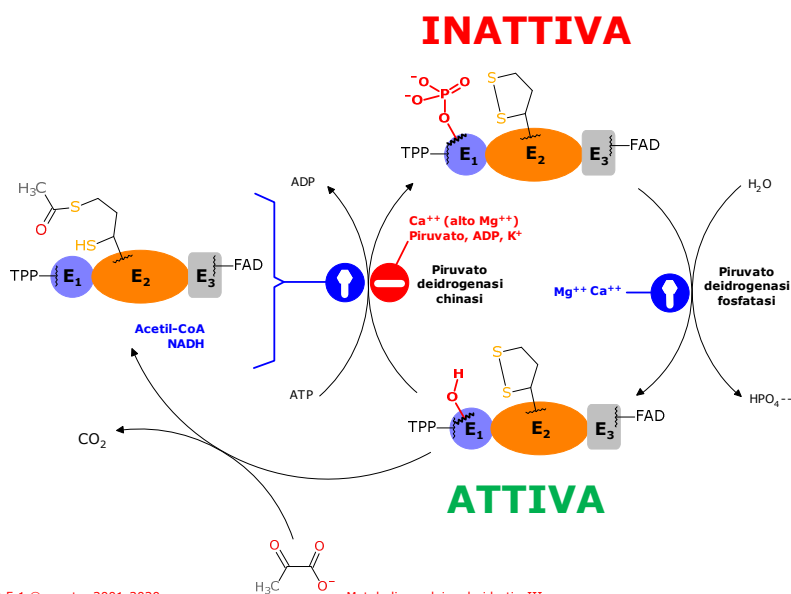
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

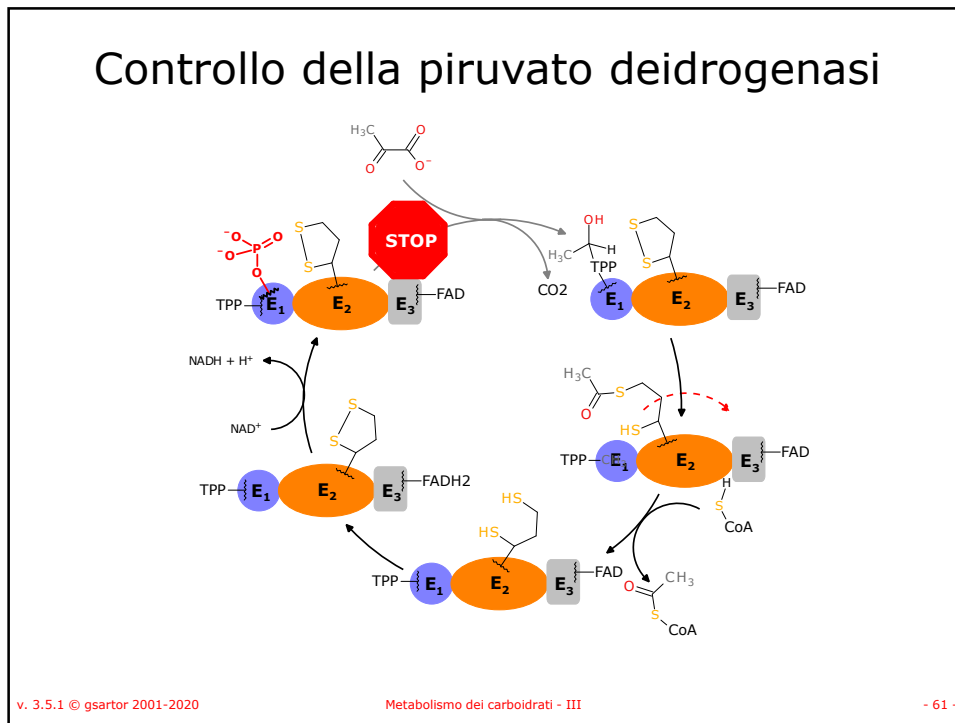
- 59 -

59

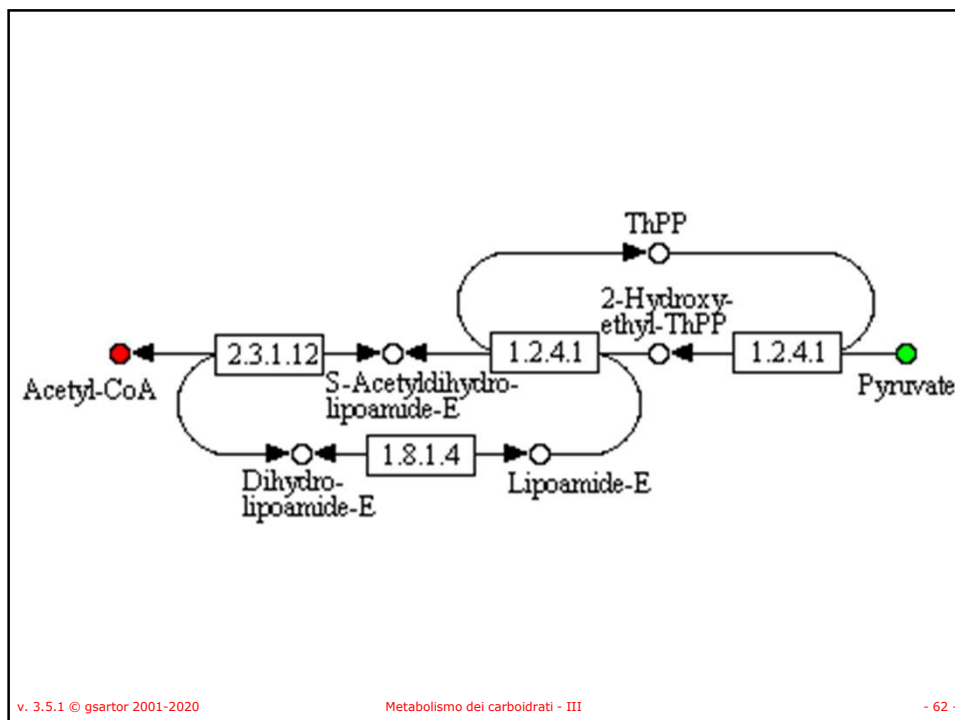
## Controllo della piruvato deidrogenasi



60



61



62



**Ciclo di Krebs**  
**Ciclo degli acidi tricarbossilici**  
**(TCA)**  
**Ciclo dell'acido citrico**  
**Ossidazione dell'acetil-CoA a CO<sub>2</sub>**


63

## Krebs e Lipmann


Premio Nobel per la Medicina 1953

"for his discovery of the citric acid cycle"

"for his discovery of co-enzyme A and its importance for intermediary metabolism"



**Hans Adolf Krebs**



**Fritz Albert Lipmann**

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 64 -

64

## Ciclo di Krebs

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

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

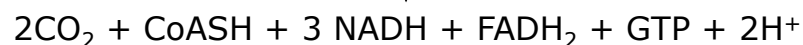
Metabolismo dei carboidrati - III

- 65 -

65

## Ciclo di Krebs

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

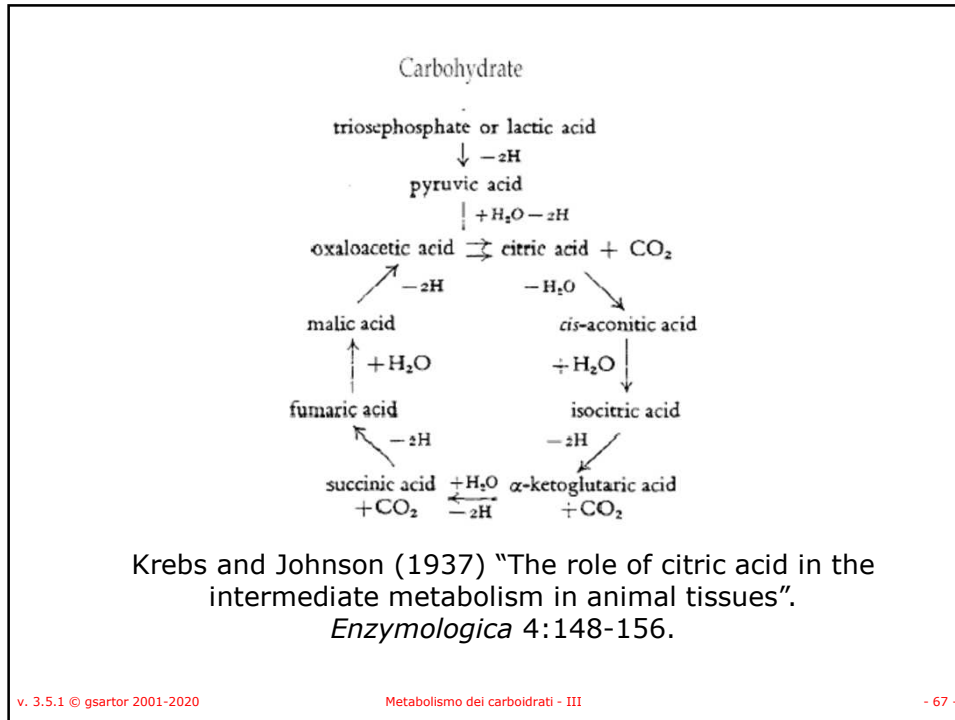


v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

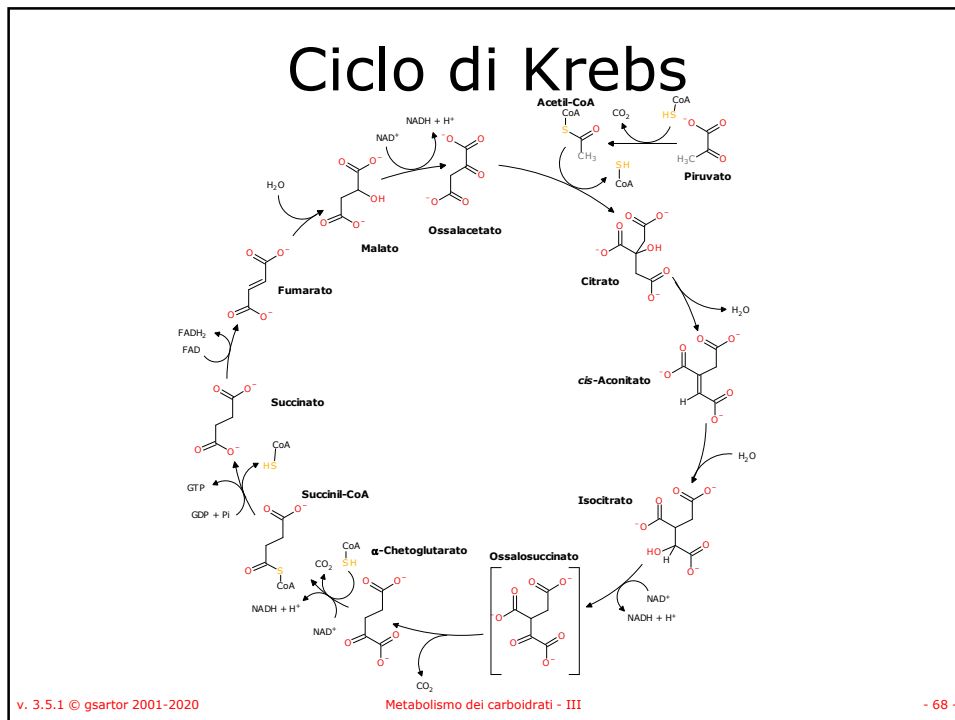
Metabolismo dei carboidrati - III

- 66 -

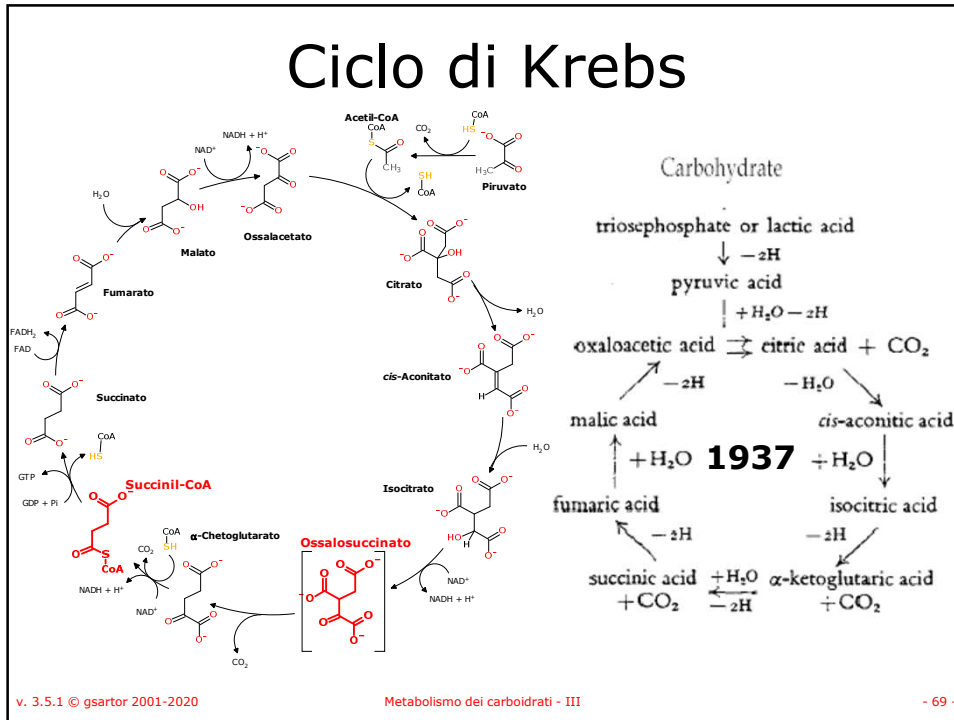
66



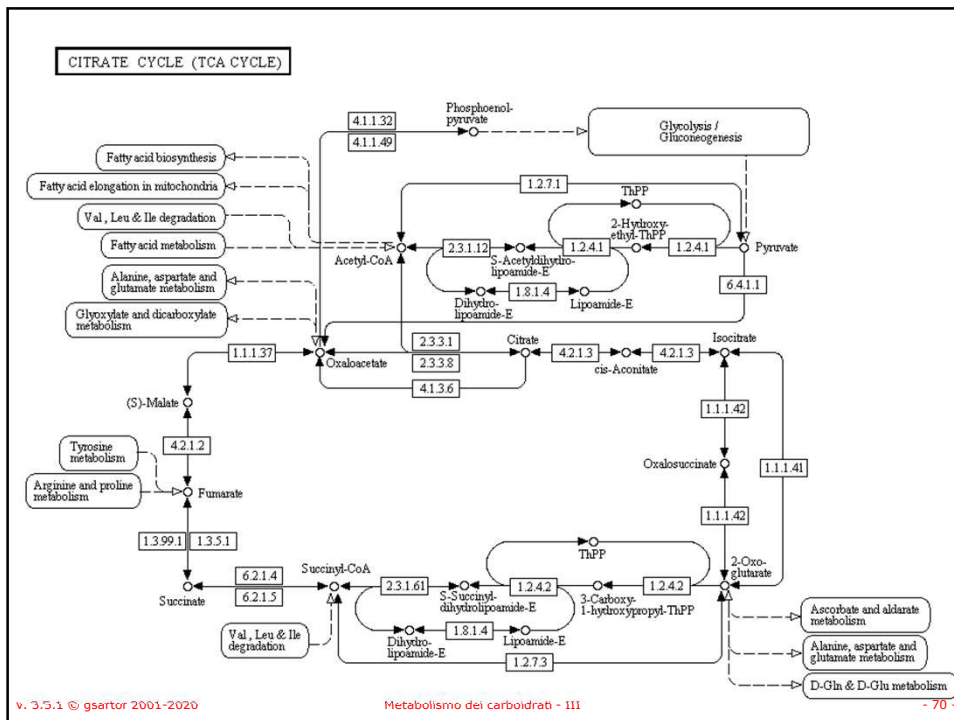
67



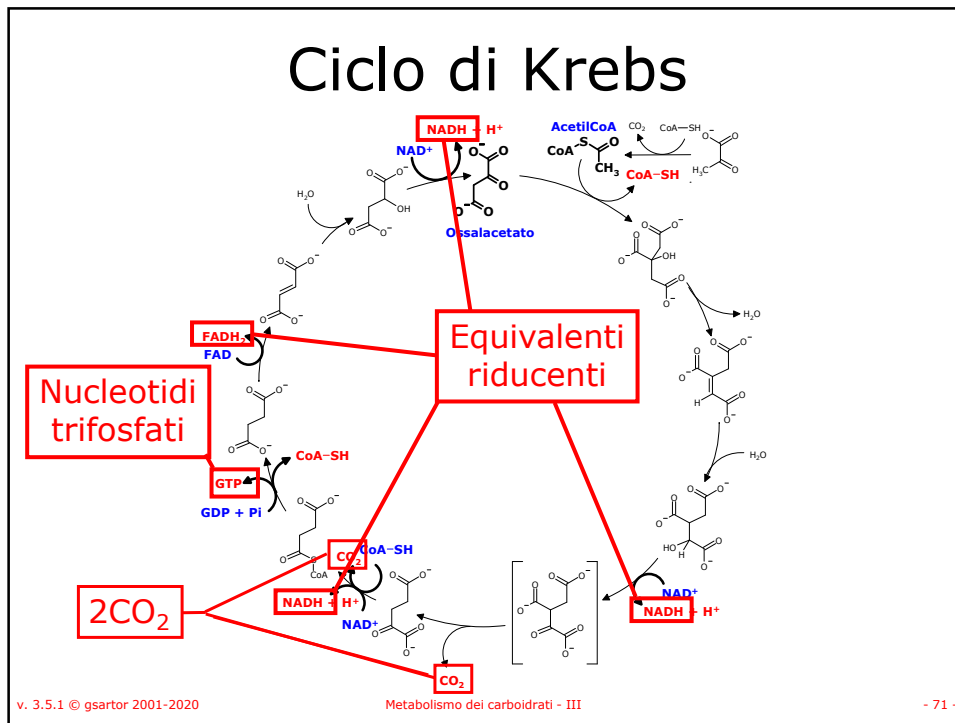
68



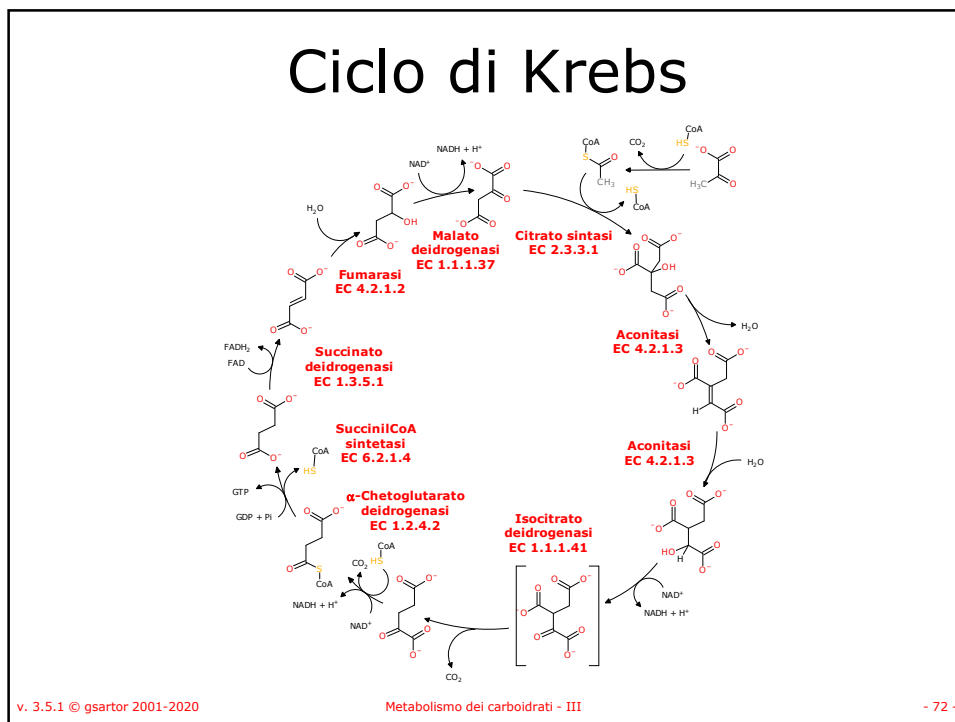
69



70

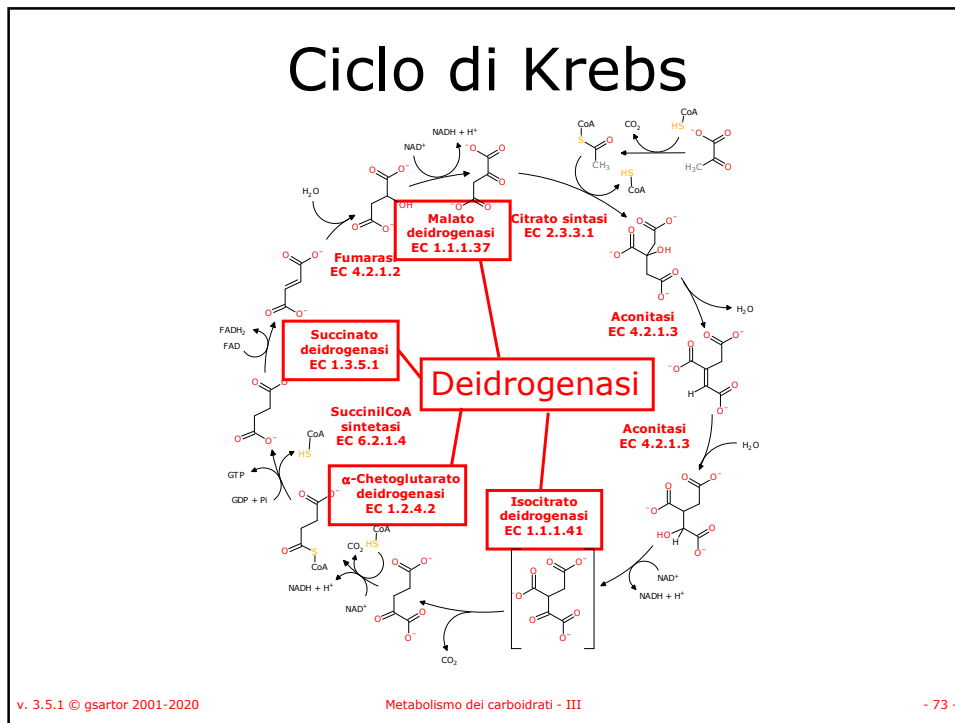


71

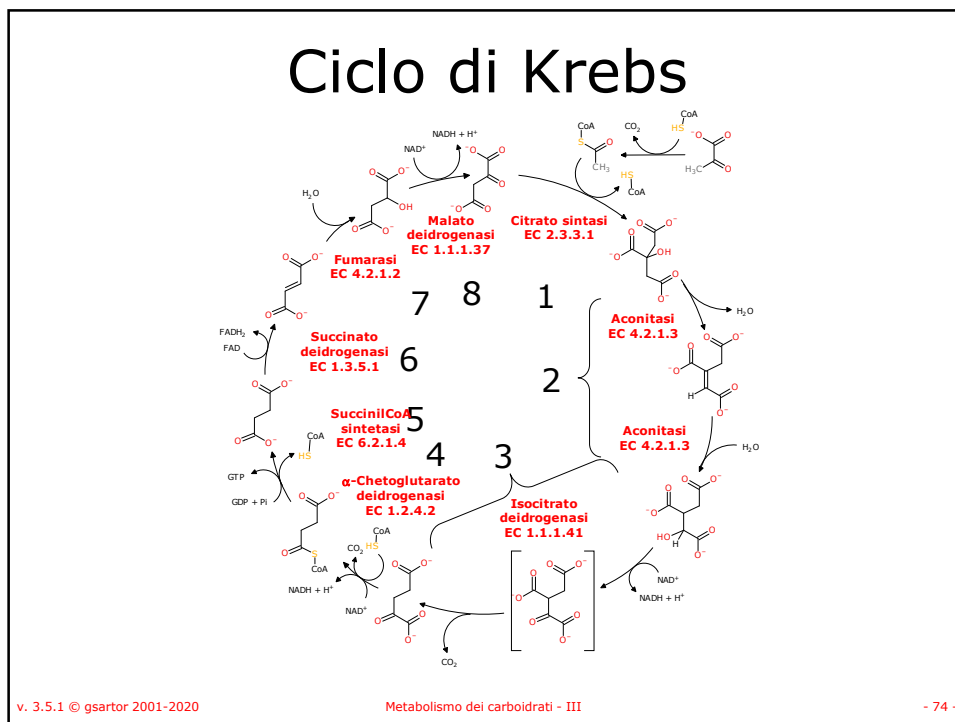


72

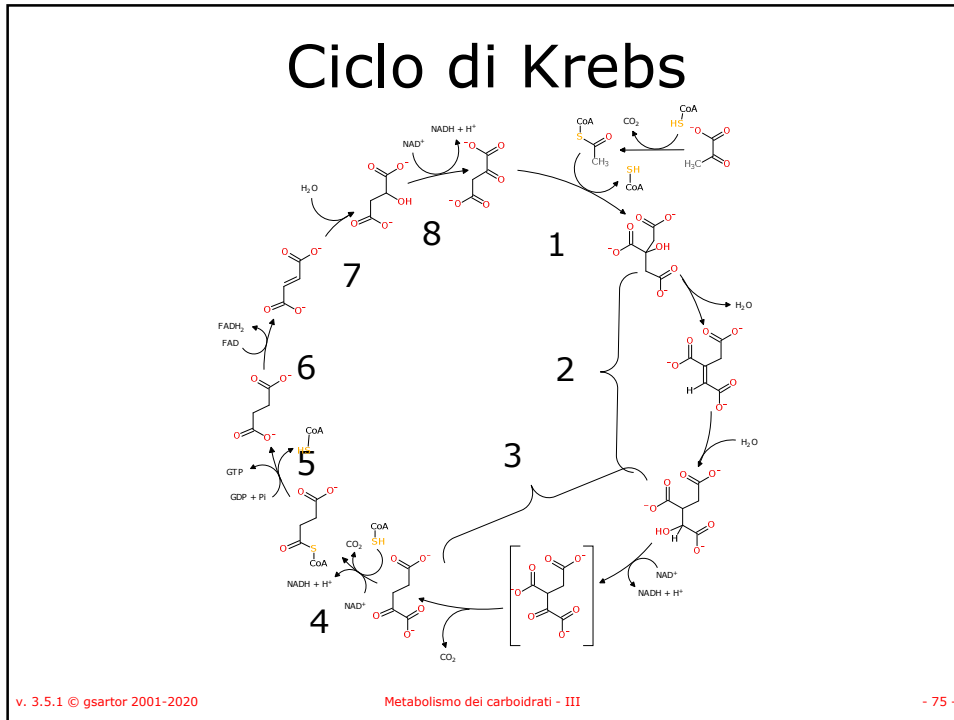




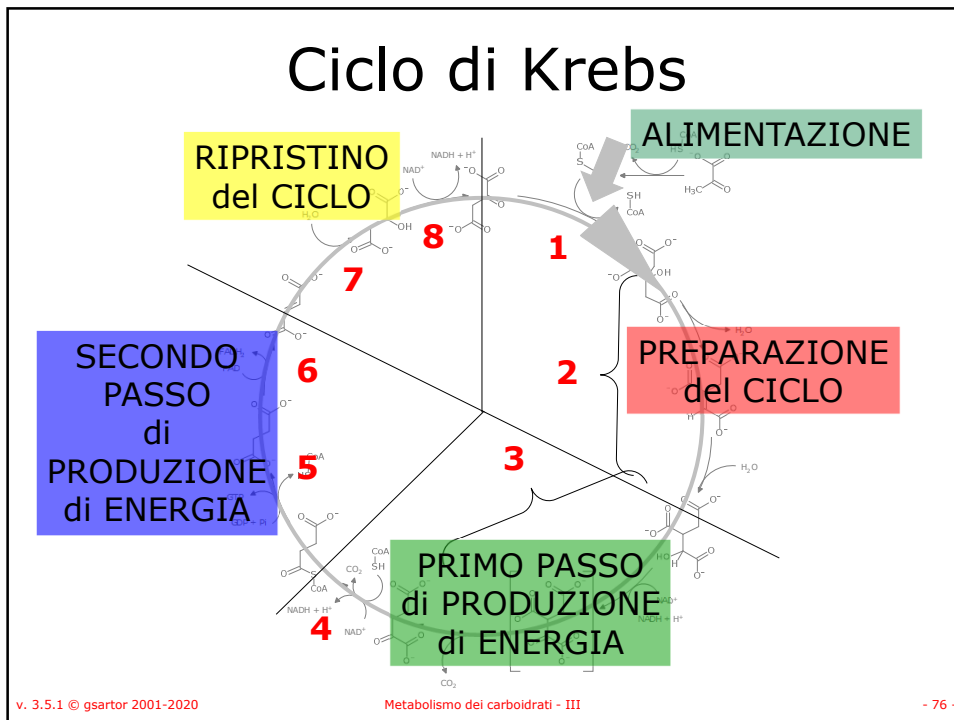
73



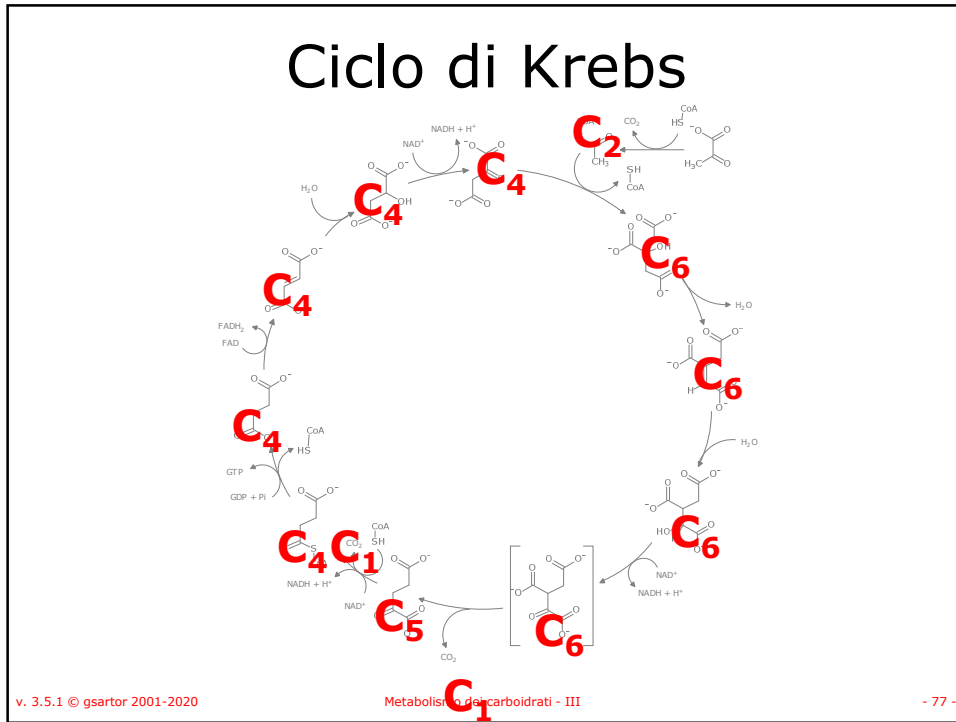
74



75



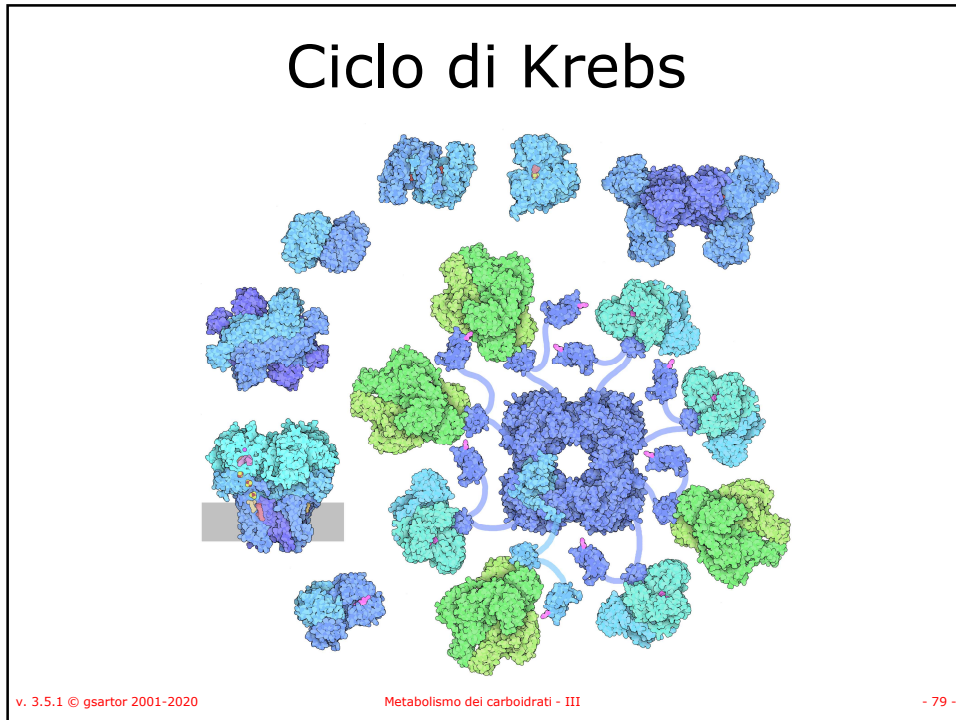
76



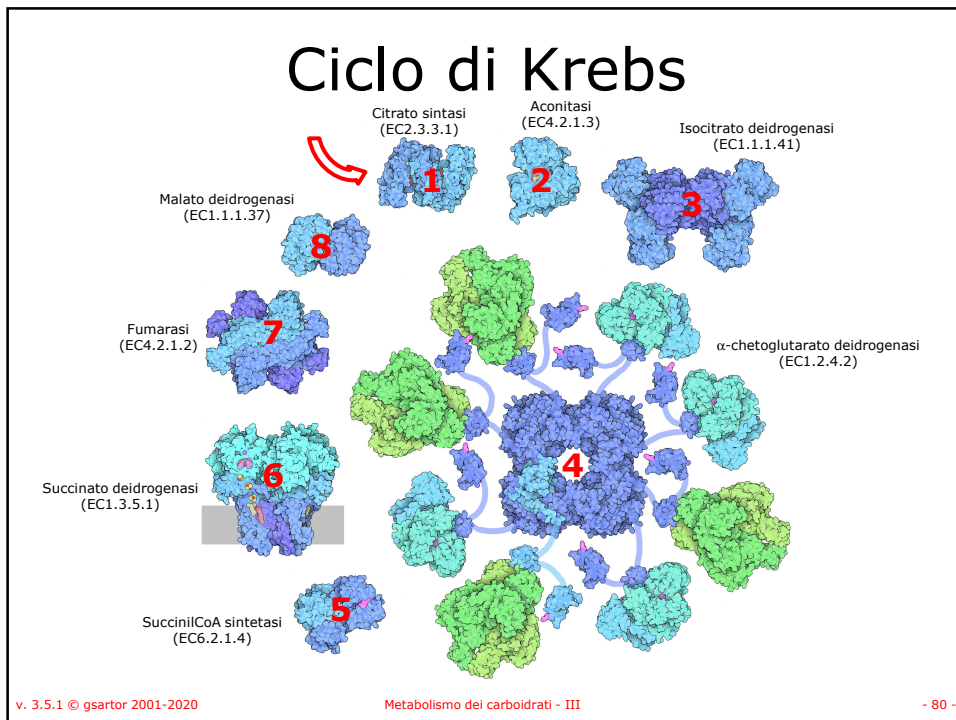
77



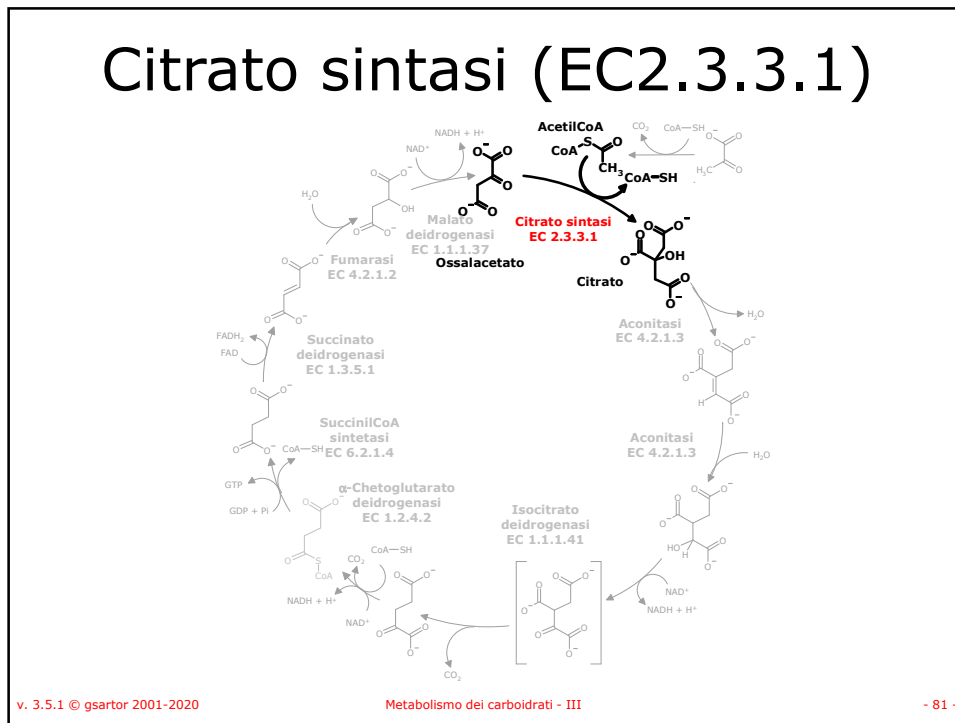
78



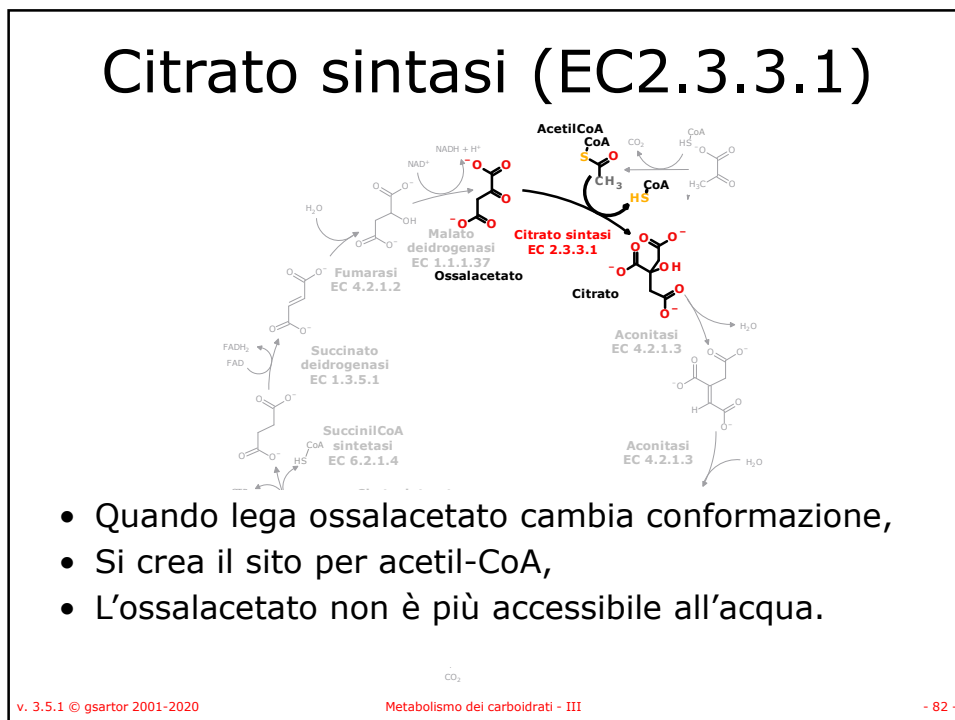
79



80

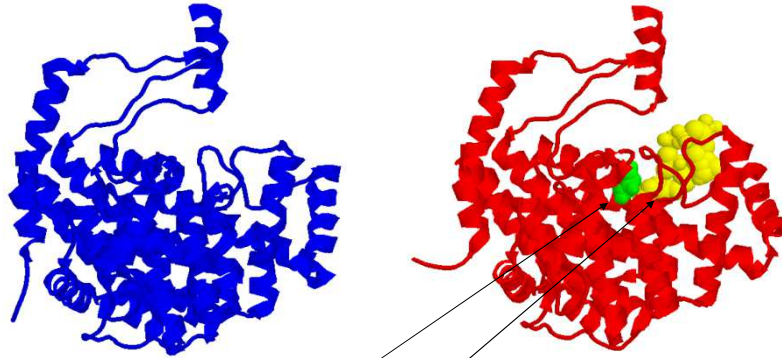


81



82

## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)



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

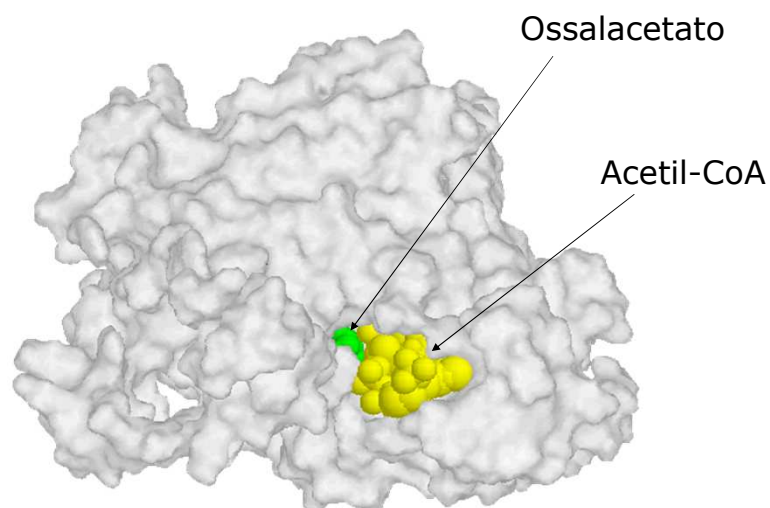
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 83 -

83

## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

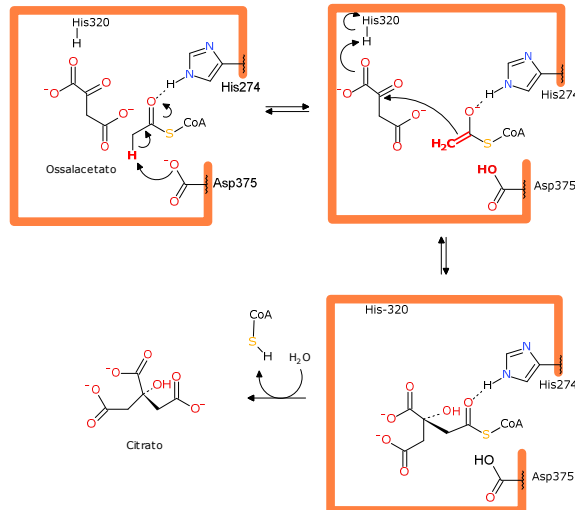
Metabolismo dei carboidrati - III

- 84 -

84

## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)

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



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

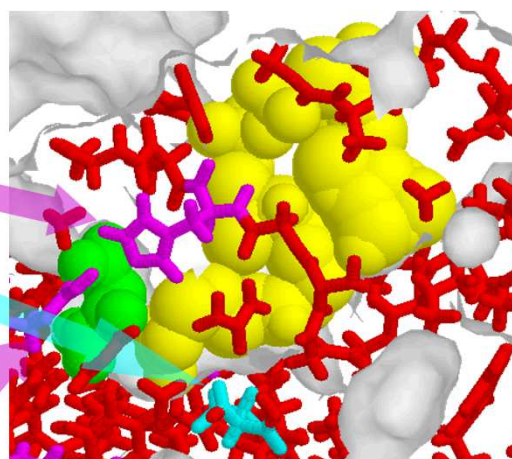
Metabolismo dei carboidrati - III

- 85 -

85

## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)

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



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

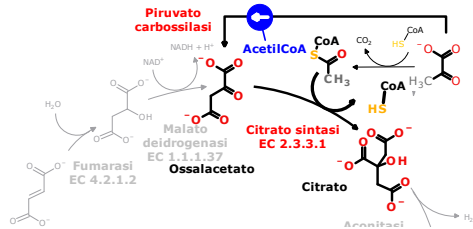
Metabolismo dei carboidrati - III

- 86 -

86



## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)



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

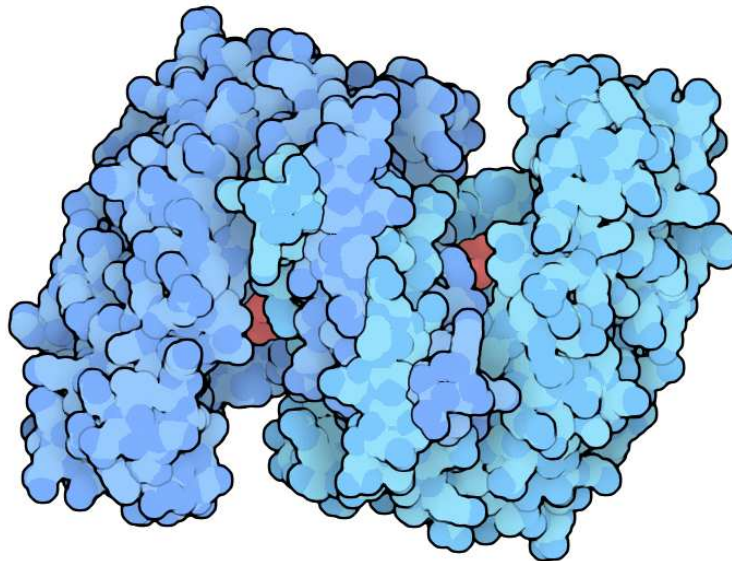
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 87 -

87

## Citrato sintasi (EC2.3.3.1)



1cts

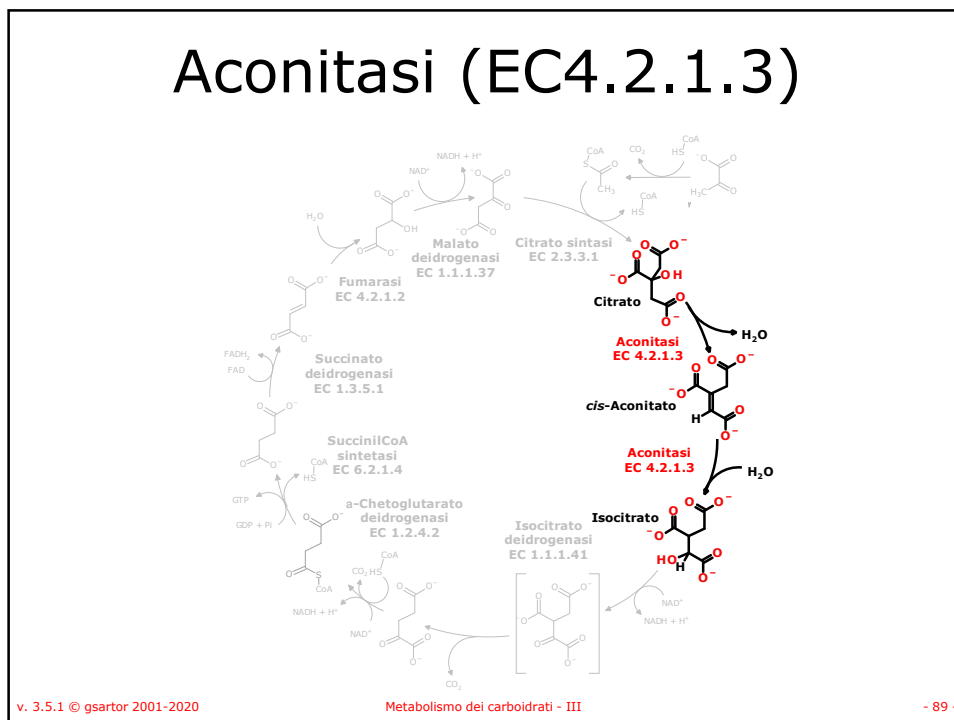
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 88 -

88





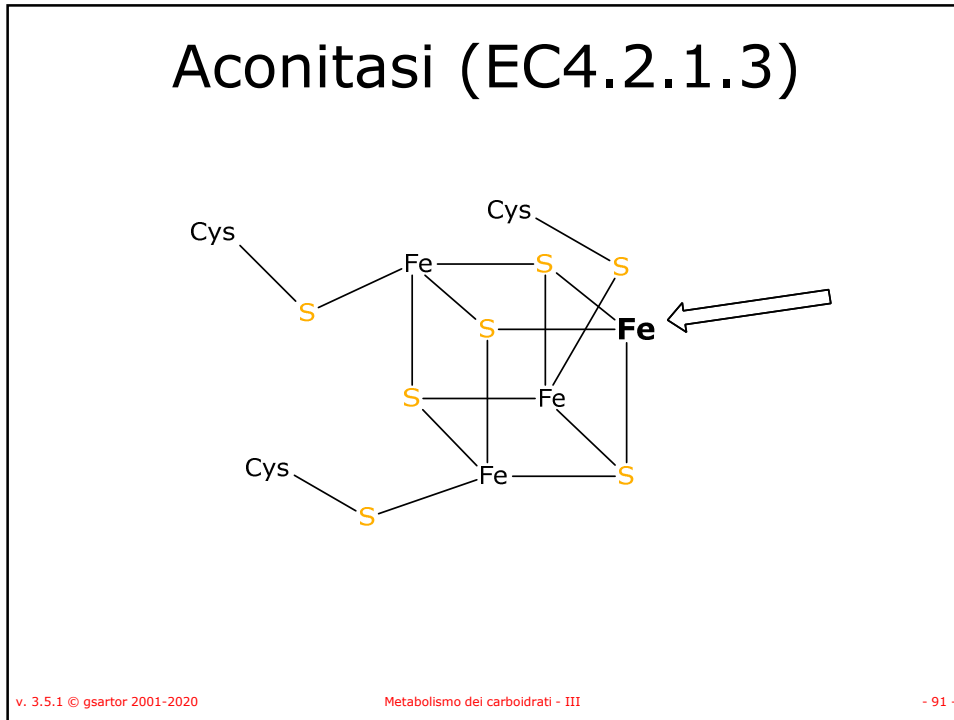
89

## Aconitasi (EC4.2.1.3)

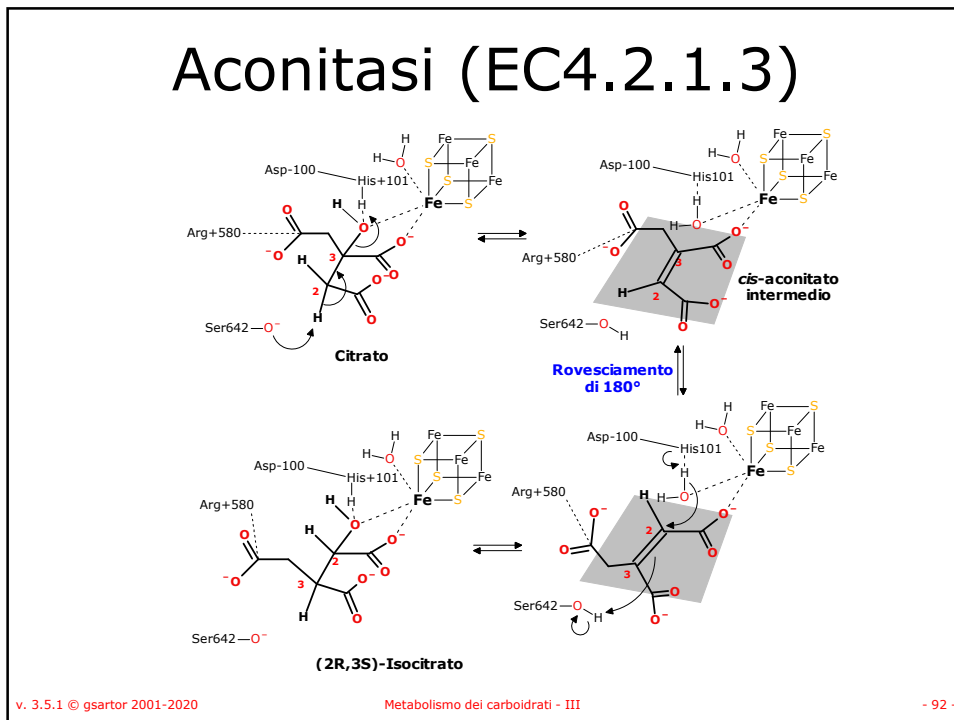
- Catalizza la conversione stereospecifica del citrato in isocitrato attraverso una deidratazione e una reidratazione,
  - L'intermedio cis-aconitato non è rilasciato dal sito attivo,
  - Nel sito attivo vi è un cluster FeS ( $Fe_4S_4$ )
  - Tre degli ioni Fe sono complessati da un S di tre Cys, il quarto è il sito che lega il substrato.
- Il  $\Delta G$  della reazione è positivo, il prodotto viene rimosso, il  $\Delta G$  si avvicina a zero a concentrazioni reali.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 90 -

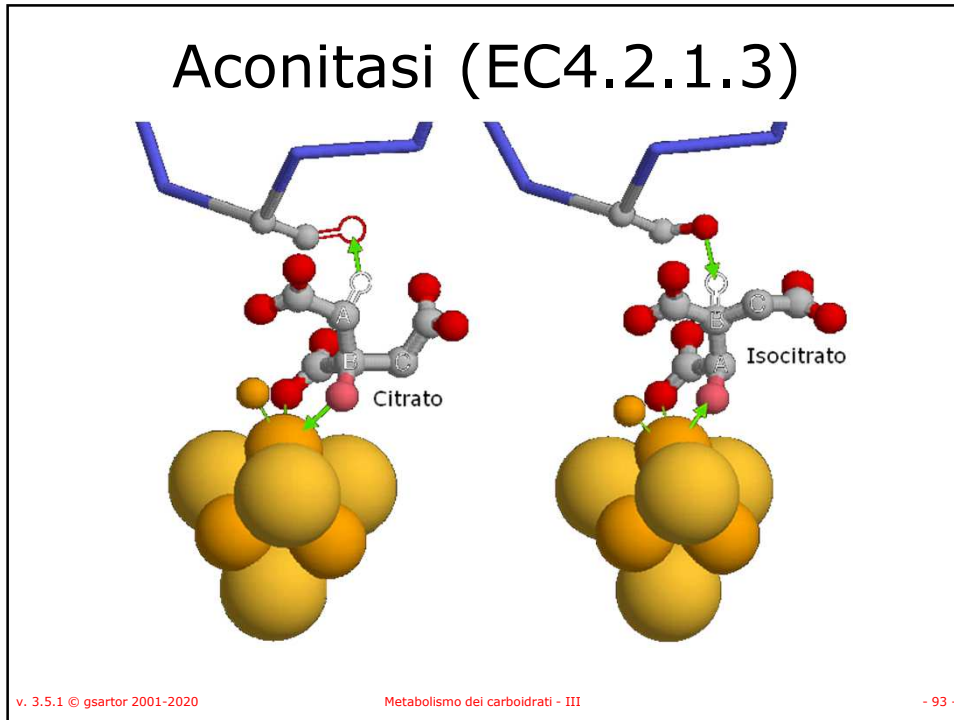
90



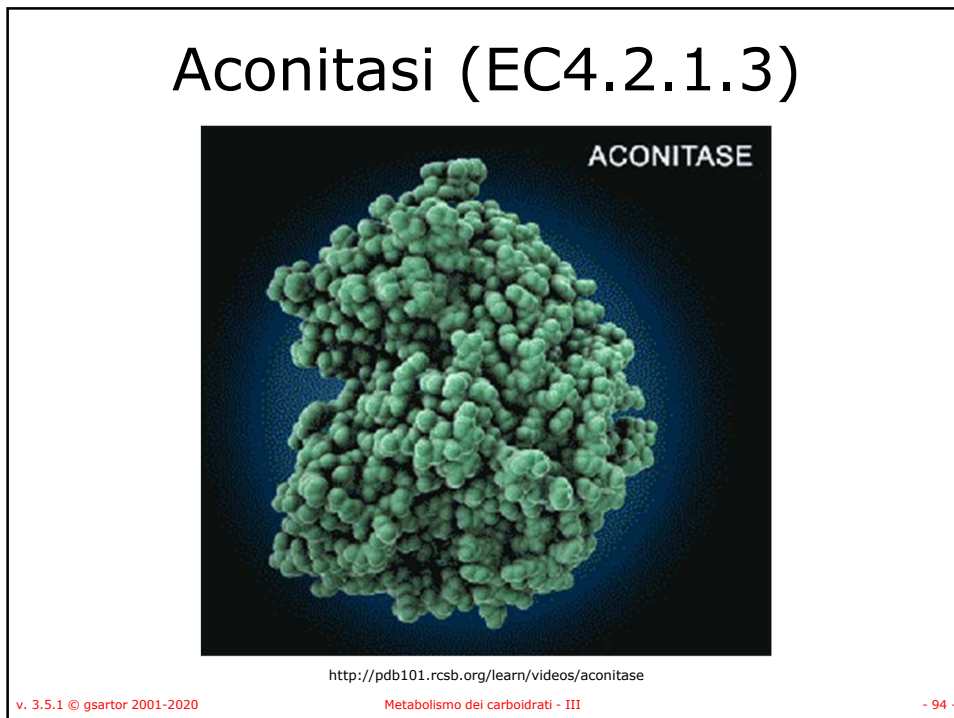
91



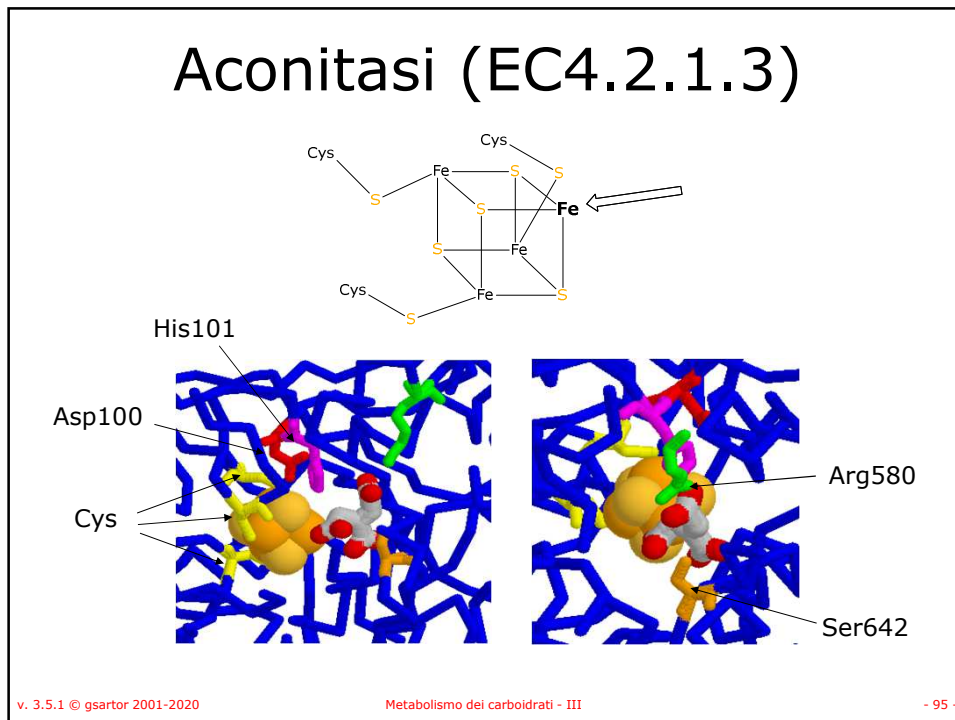
92



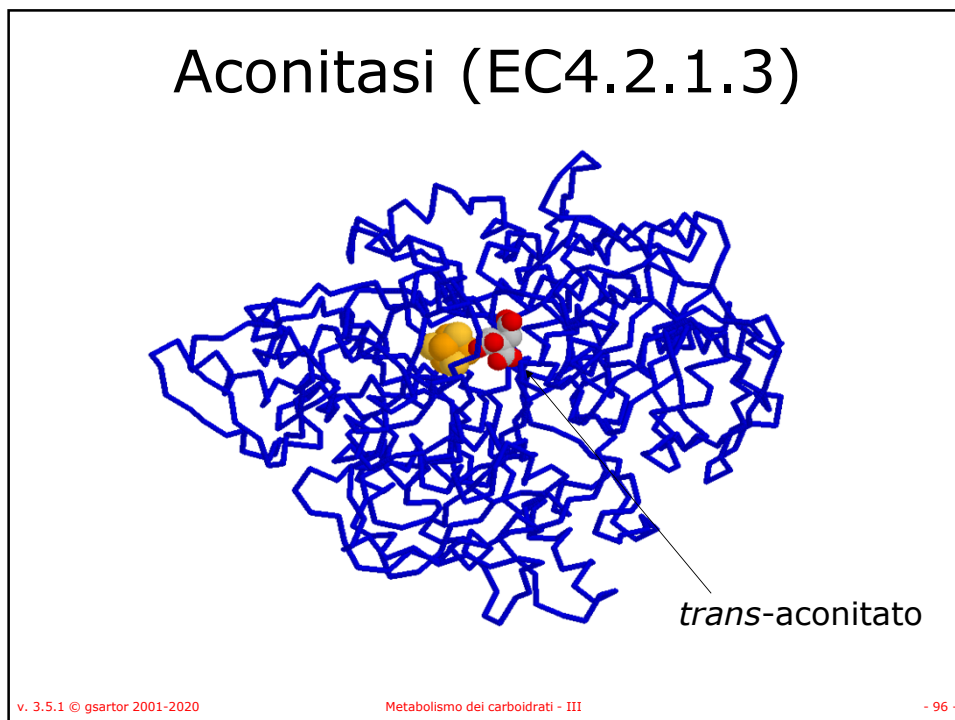
93



94

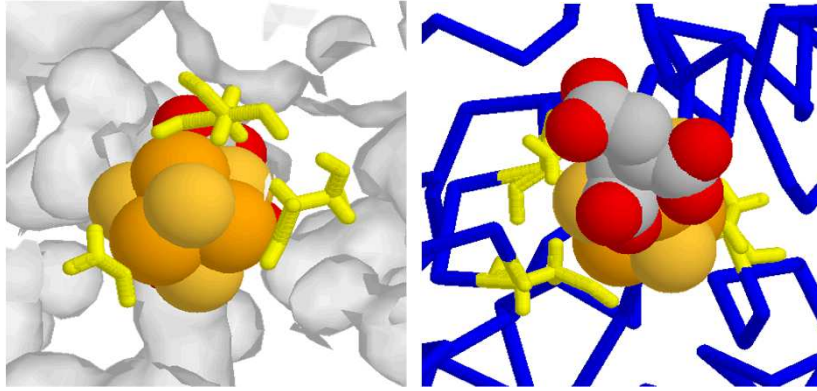


95



96

## Aconitasi (EC4.2.1.3)



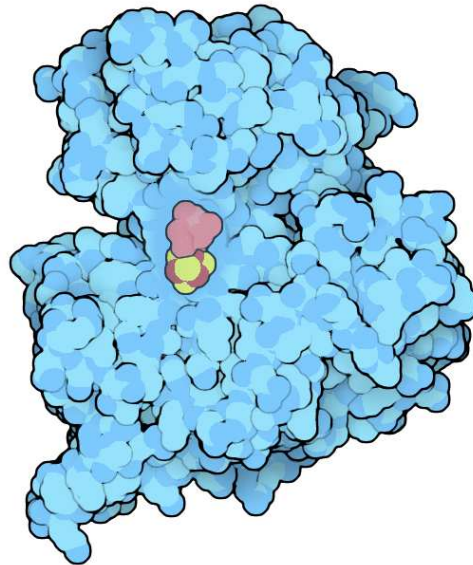
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 97 -

97

## Aconitasi (EC4.2.1.3)



7acn

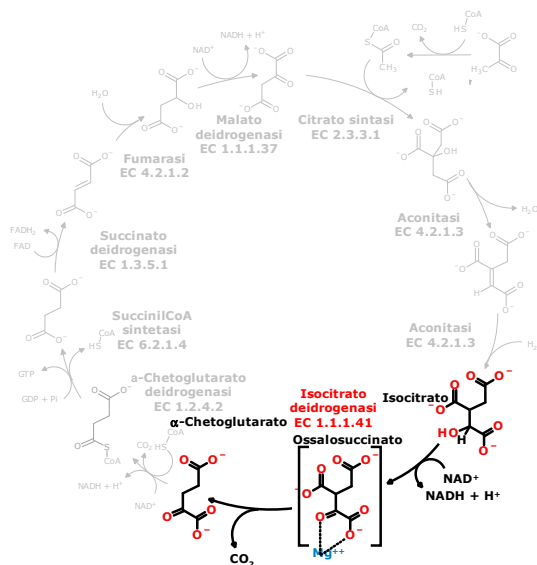
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 98 -

98

## Isocitrato deidrogenasi (EC1.1.1.41)



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

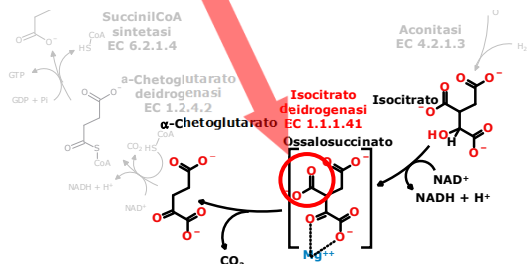
Metabolismo dei carboidrati - III

- 99 -

99

## Isocitrato deidrogenasi (EC1.1.1.41)

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



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

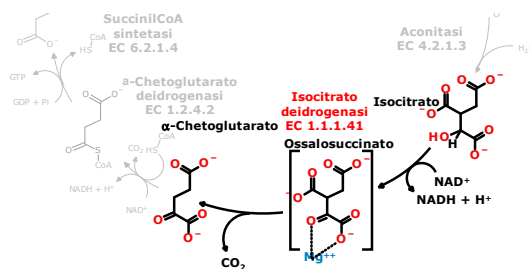
Metabolismo dei carboidrati - III

- 100 -

100

## Isocitrato deidrogenasi (EC1.1.1.41)

- La reazione è altamente spontanea, sia il processo di decarbossilazione che quello di ossidazione sono spontanei ( $\Delta G^{\circ'} = -20.9$  kJ/mol).
- L'isocitrato deidrogenasi è regolata:
  - Attivata allostericamente da ADP (ATP antagonista)
  - Attivata da  $Ca^{++}$  e  $NAD^+$  ( $NADH$  antagonista)
  - Quando il rapporto ATP/ADP è basso il ciclo di Krebs è attivo.



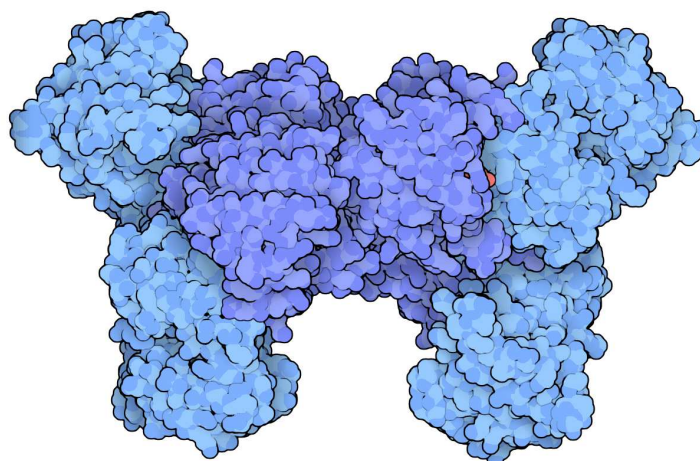
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 101 -

101

## Isocitrato deidrogenasi (EC1.1.1.41)



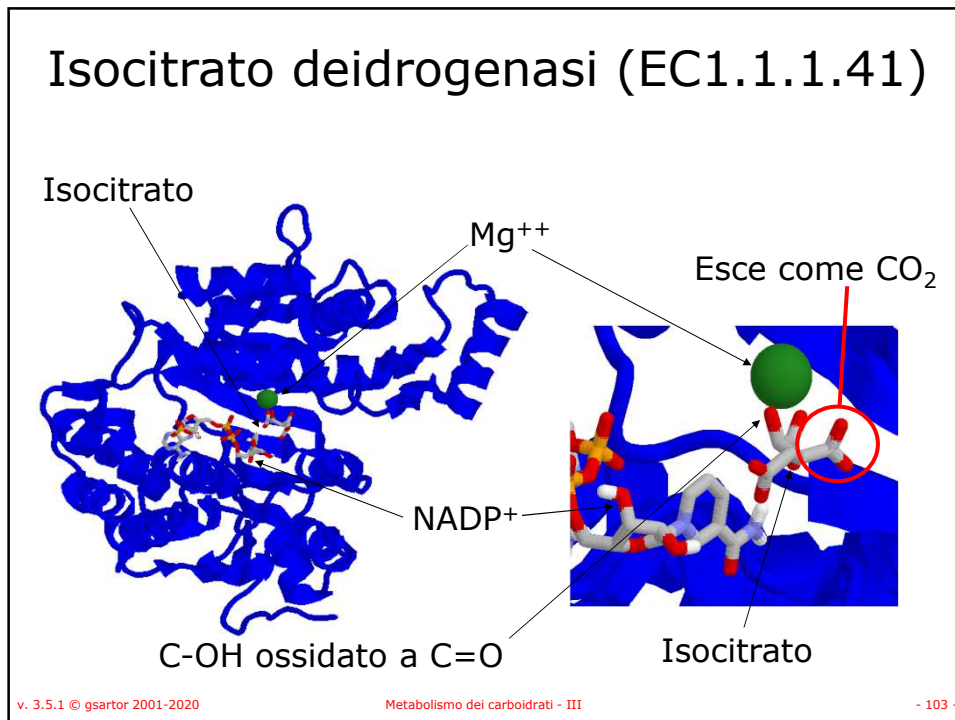
3blw

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

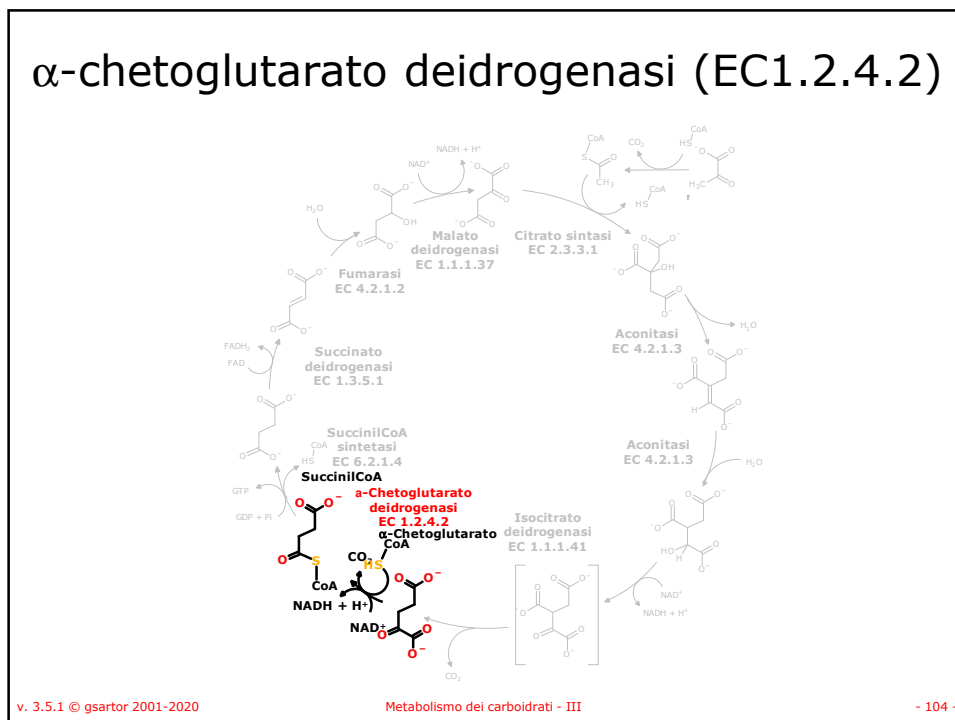
Metabolismo dei carboidrati - III

- 102 -

102



103

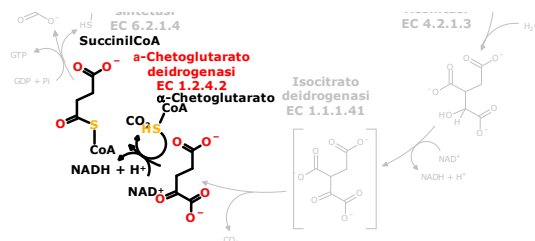


104



## $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi (EC1.2.4.2)

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



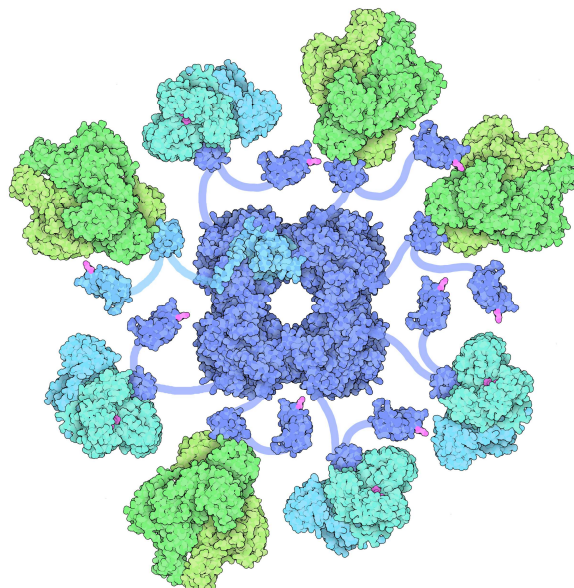
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 105 -

105

## $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi (EC1.2.4.2)



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 106 -

106

## α-chetoglutarato deidrogenasi

## piruvato deidrogenasi

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 107 -

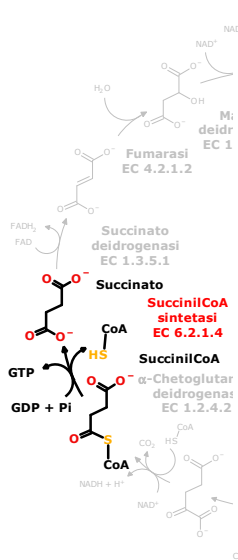
107

## SuccinilCoA sintetasi (EC6.2.1.4)

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 108 -

108

## SuccinilCoA sintetasi (EC6.2.1.4)



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

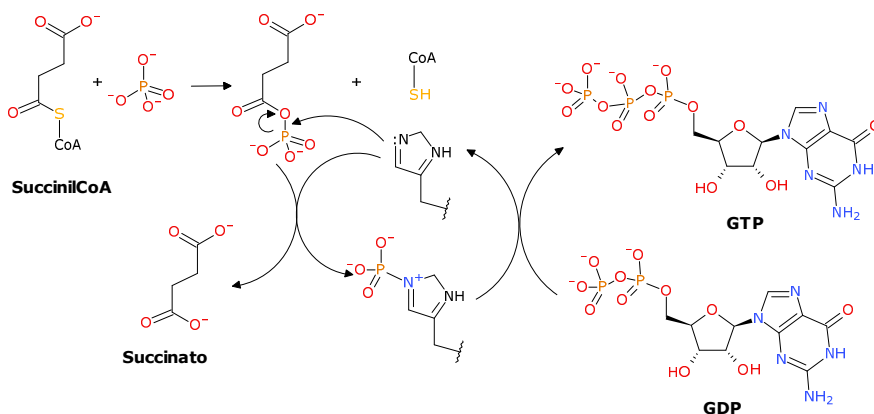
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 109 -

109

## Meccanismo

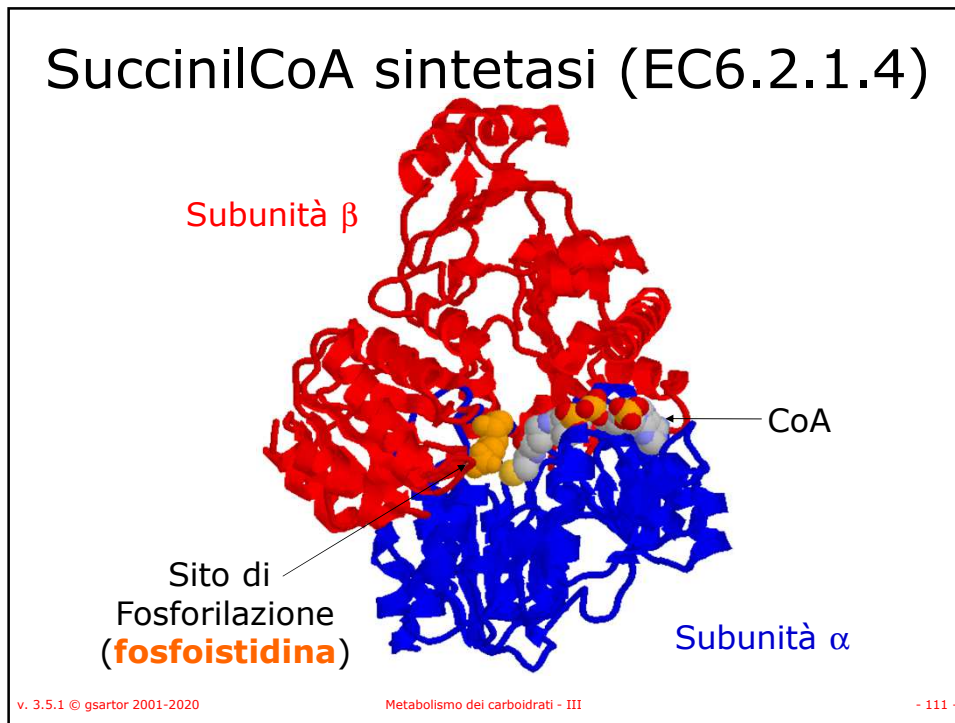


v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

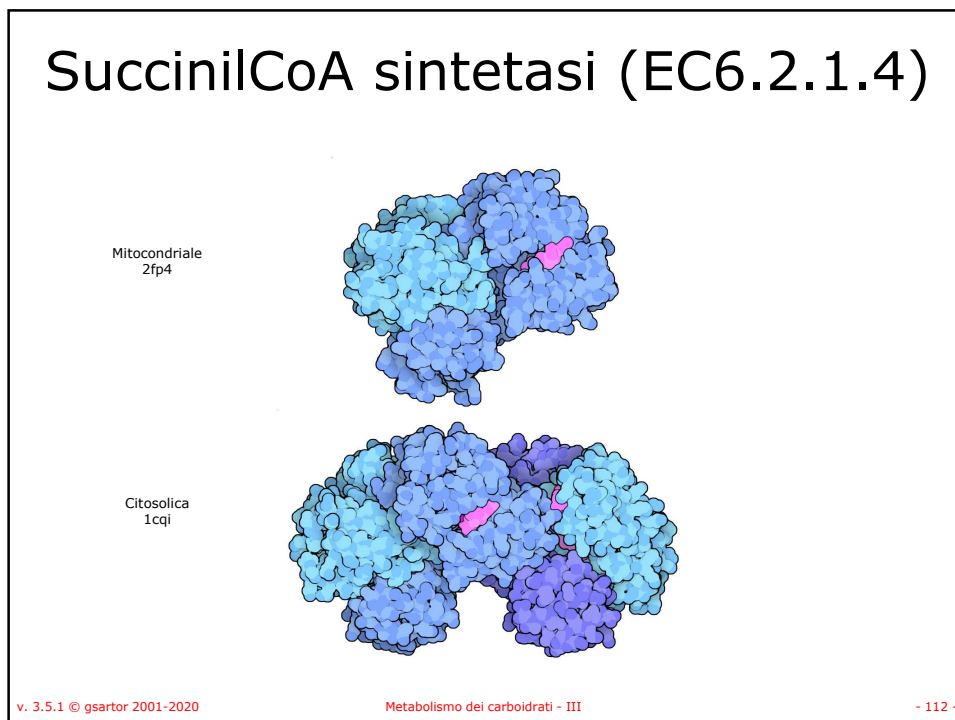
Metabolismo dei carboidrati - III

- 110 -

110

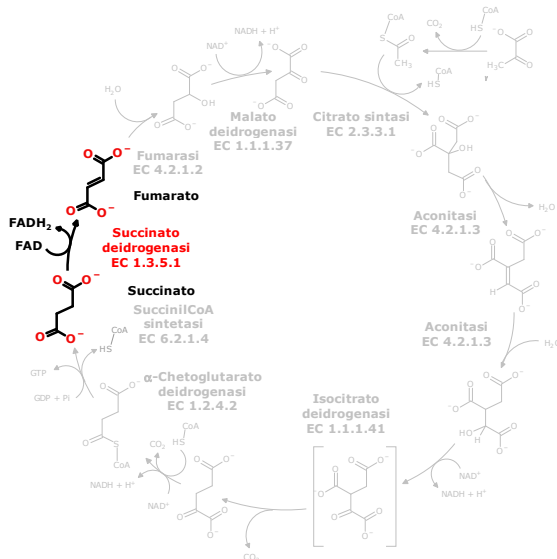


111



112

## Succinato deidrogenasi (EC1.3.5.1)



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

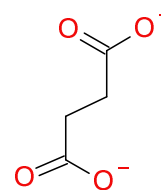
Metabolismo dei carboidrati - III

- 113 -

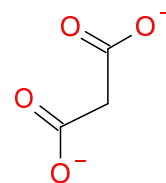
113

## Succinato deidrogenasi (EC1.3.5.1)

- Per completare il ciclo il succinato deve venire convertito in ossalacetato.
- Il succinato è deidrogenato a fumarato stereospecificatamente dalla flavoproteina succinato deidrogenasi con produzione di  $\text{FADH}_2$ .
- La succinato deidrogenasi è il solo enzima di membrana del ciclo di Krebs.
- Gli elettroni passano dal succinato al FAD, che è legato covalentemente alla proteina attraverso un residuo di His.
- Il  $\text{FADH}_2$  è riossidato a FAD dal Coenzima Q nella catena di trasporto degli elettroni.
- Il malonato, strutturalmente analogo al succinato, è un forte inibitore competitivo e blocca il ciclo.



Succinato



Malonato

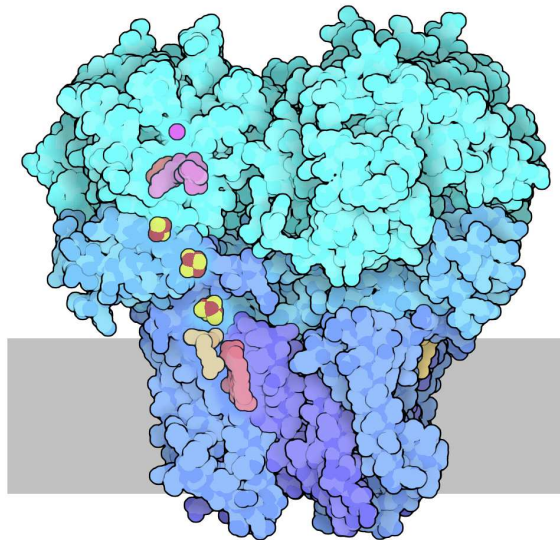
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 114 -

114

## Succinato deidrogenasi (EC1.3.5.1)



1nek

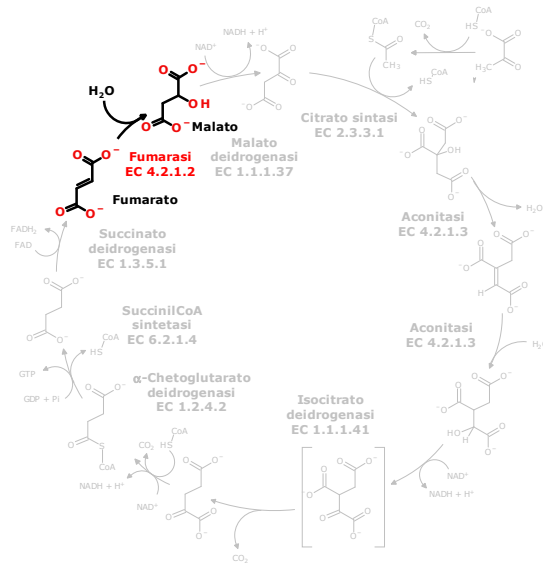
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 115 -

115

## Fumarasi (EC4.2.1.2)



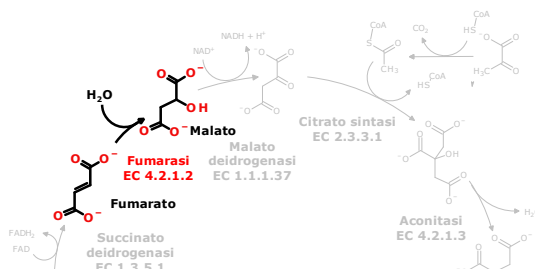
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 116 -

116

## Fumarasi (EC4.2.1.2)



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

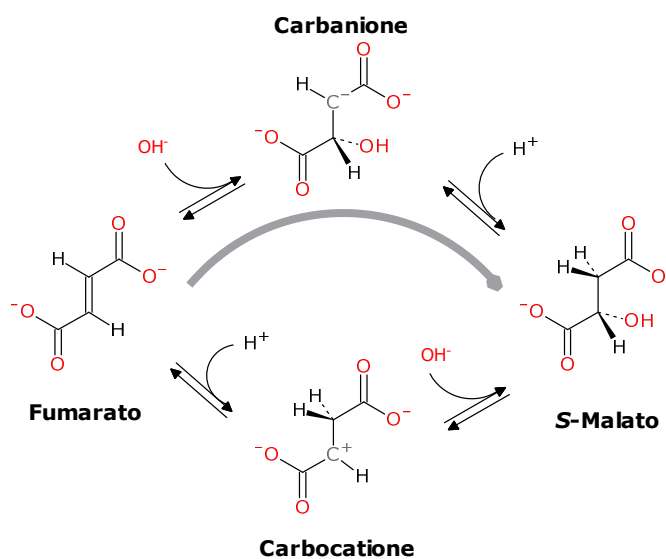
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 117 -

117

## Meccanismo



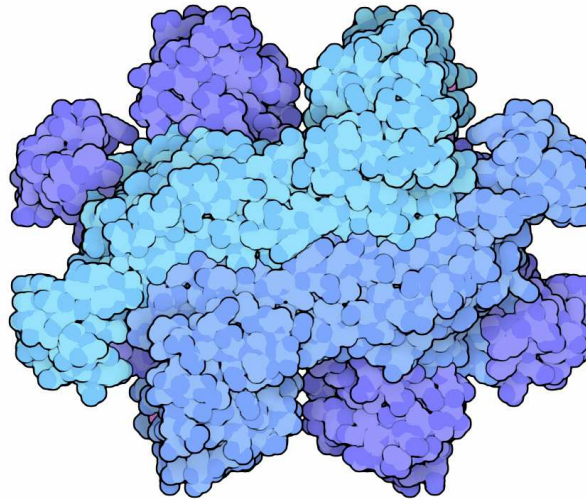
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 118 -

118

## Fumarasi (EC4.2.1.2)



1fuo

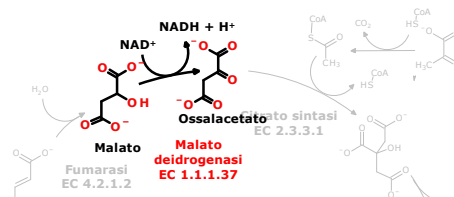
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 119 -

119

## Malato deidrogenasi (EC1.1.1.37)



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

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

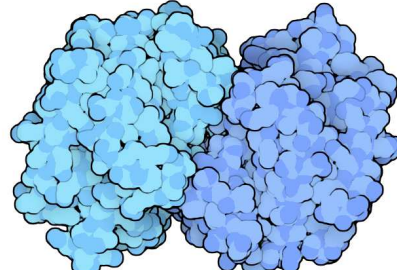
- 120 -

120

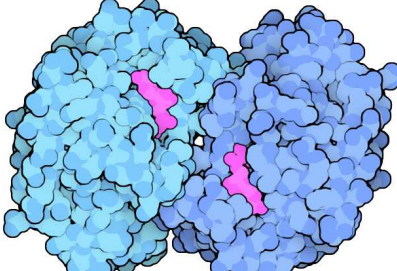


## Malato deidrogenasi (EC1.1.1.37)

Mitocondriale  
1md



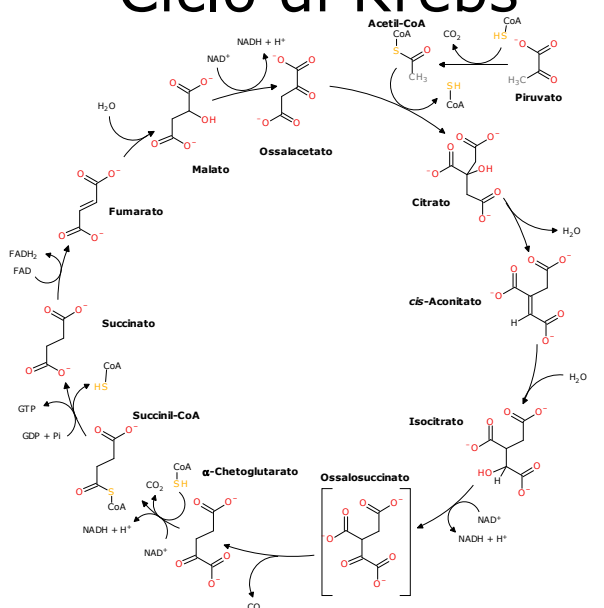
Citosolica  
5mdh



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 121 -

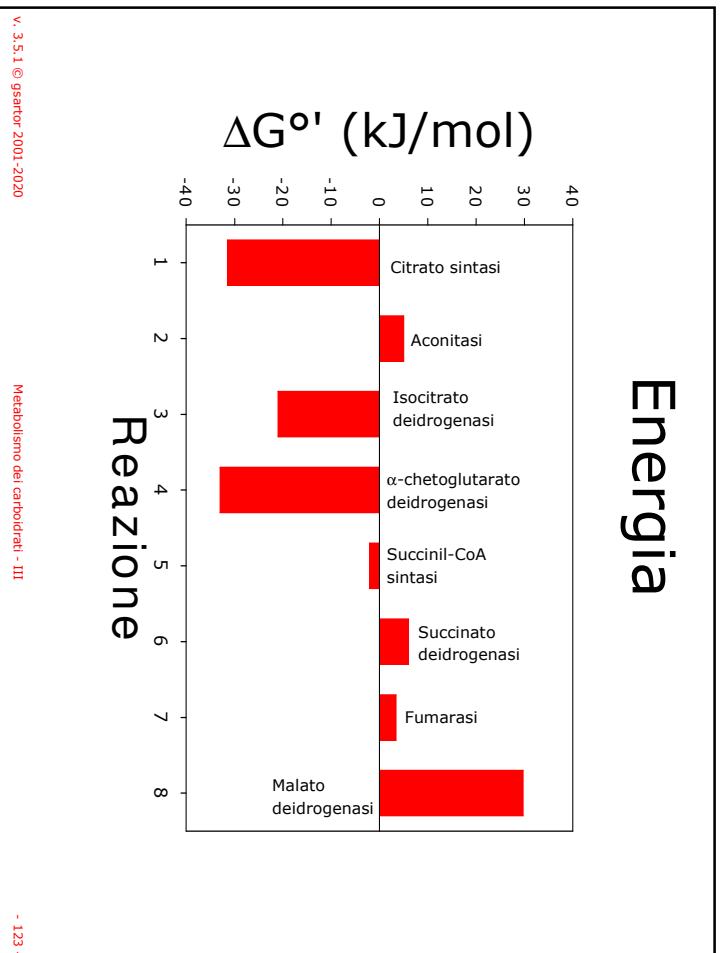
121

## Ciclo di Krebs

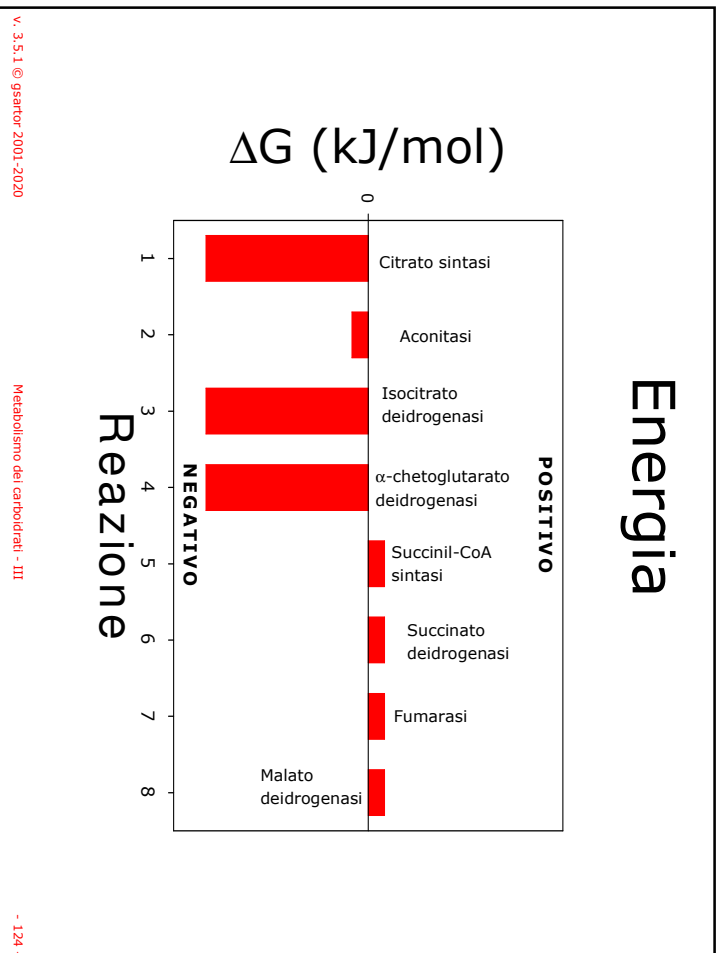


v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 122 -

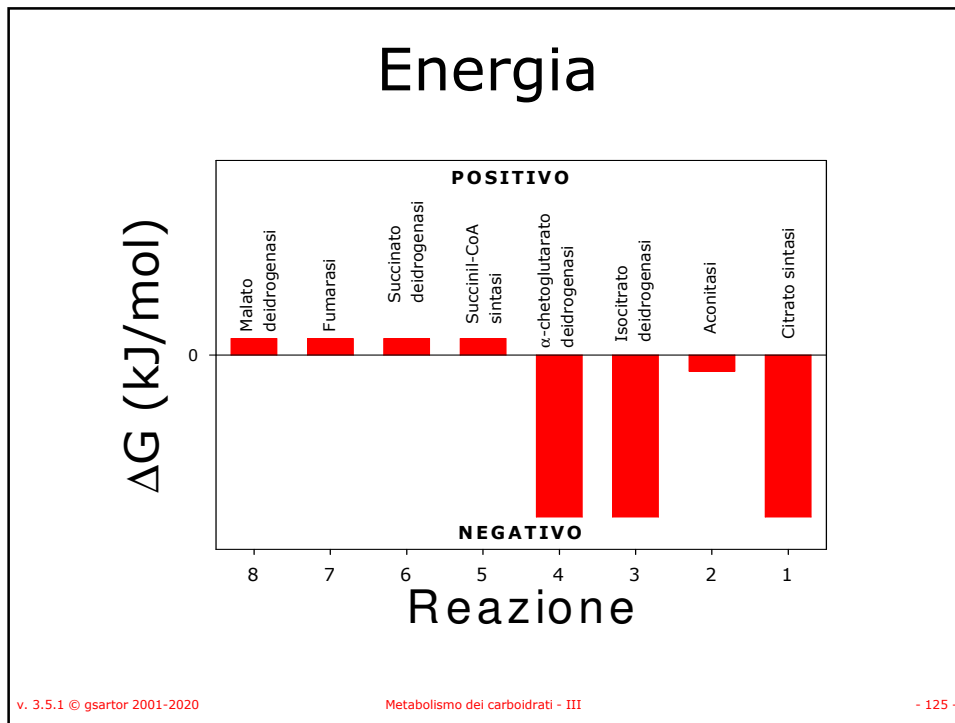
122



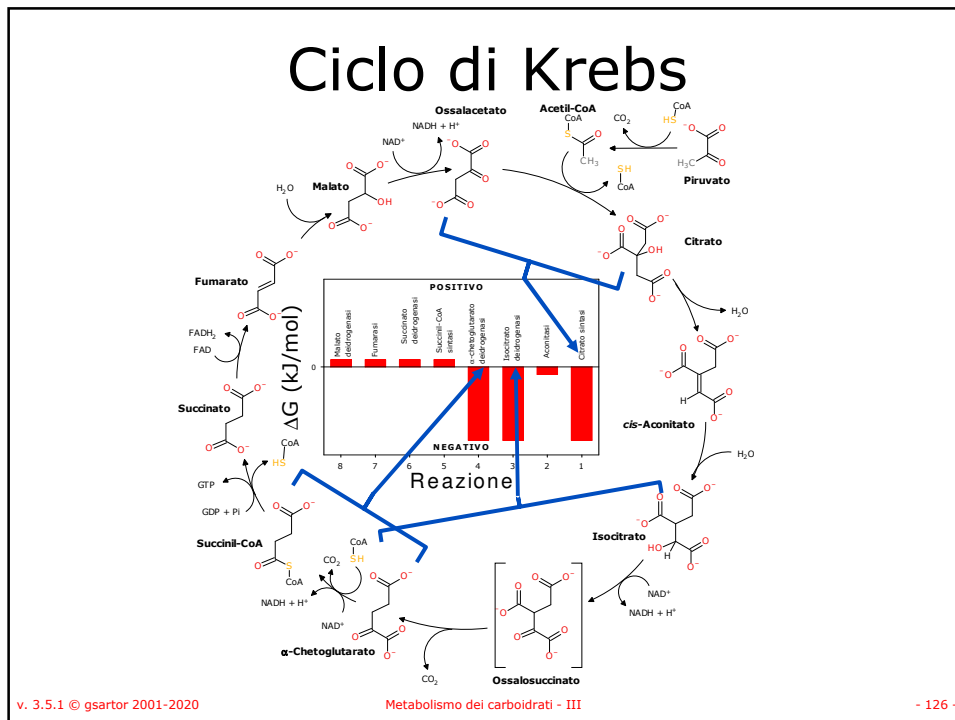
123



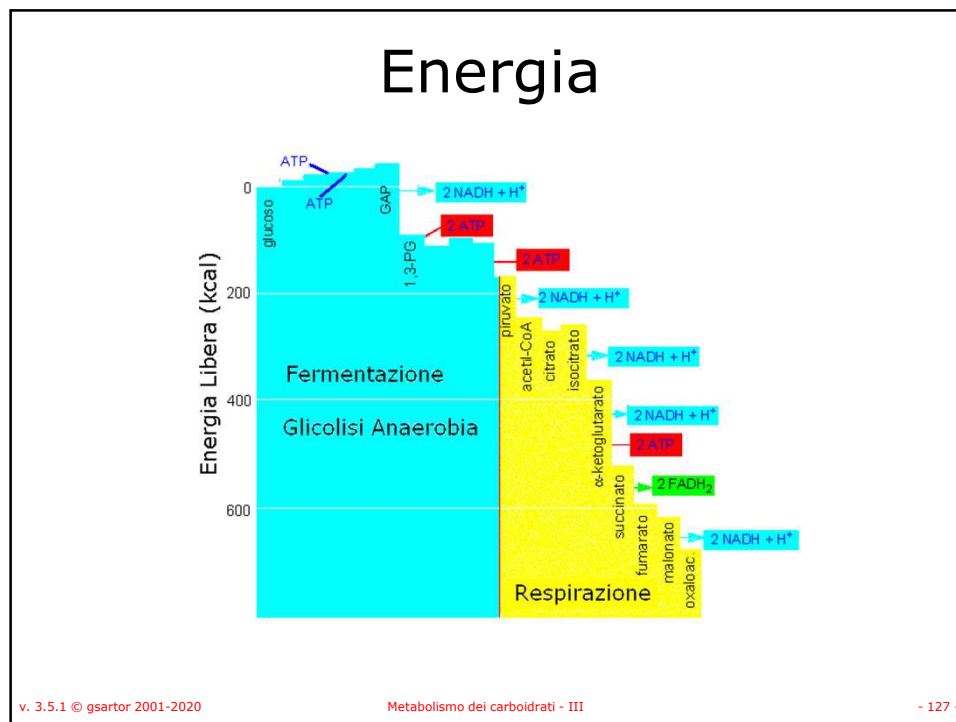
124



125



126



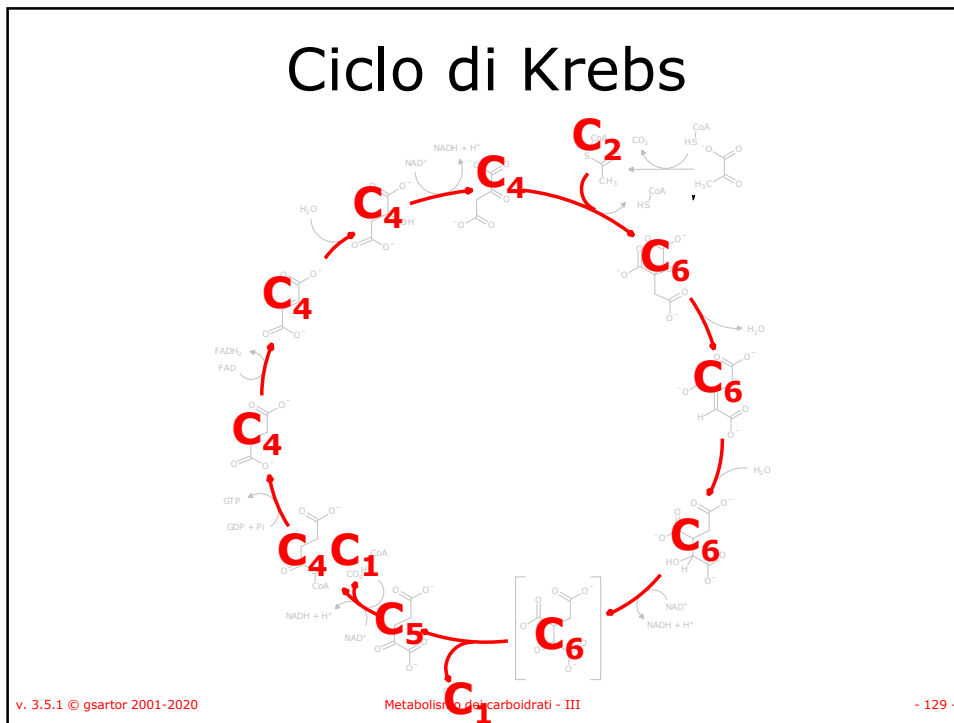
127

## Ciclo di Krebs

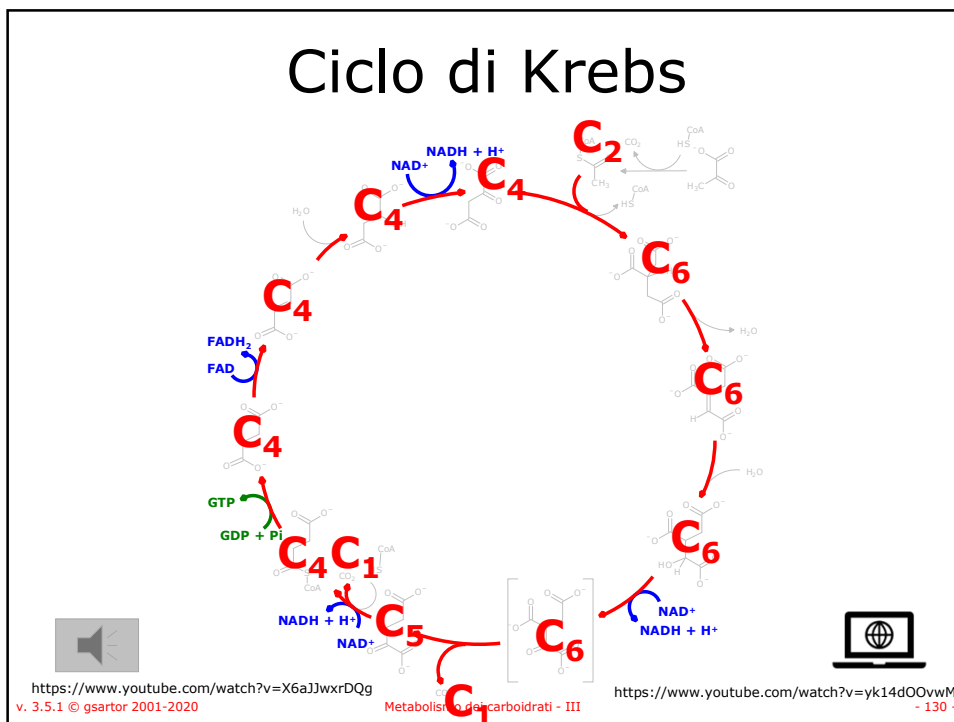
- Il ciclo di Krebs è al centro del metabolismo.
- Le vie degradative (catabolismo) lo alimentano, le vie sintetiche (anabolismo) ne usano i componenti.
- È una via "**ANFIBOLICA**", opera infatti sia nel catabolismo che nell'anabolismo cellulare.
- Tutte le reazioni avvengono nella matrice mitocondriale.
- Nei mitocondri vi sono anche gli enzimi della fosforilazione ossidativa e quelli della ossidazione degli acidi grassi e degli aminoacidi.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 128 -

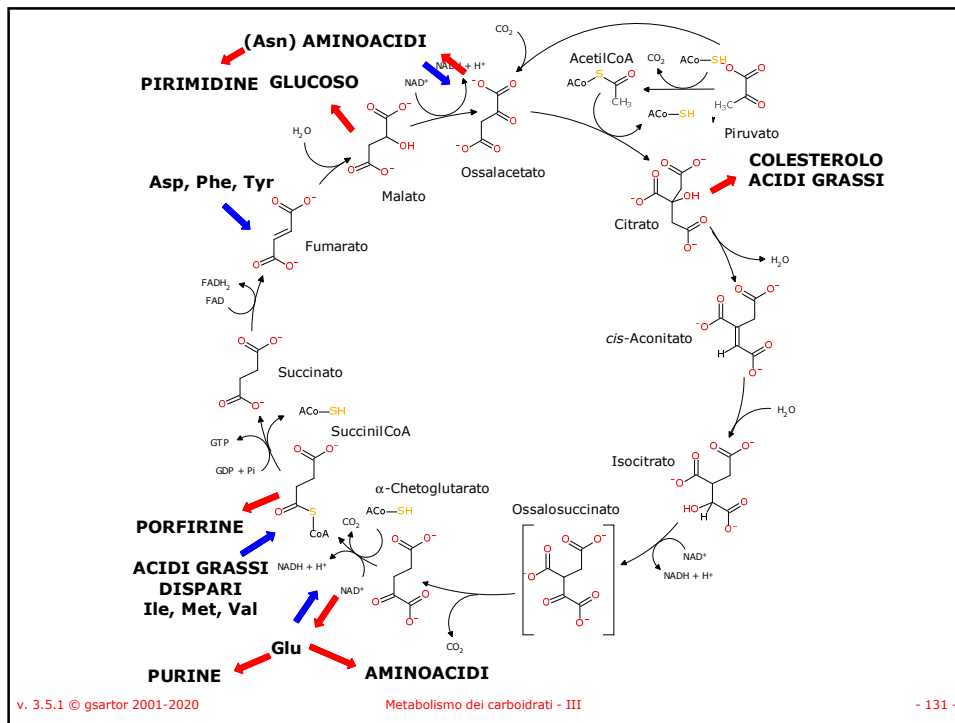
128



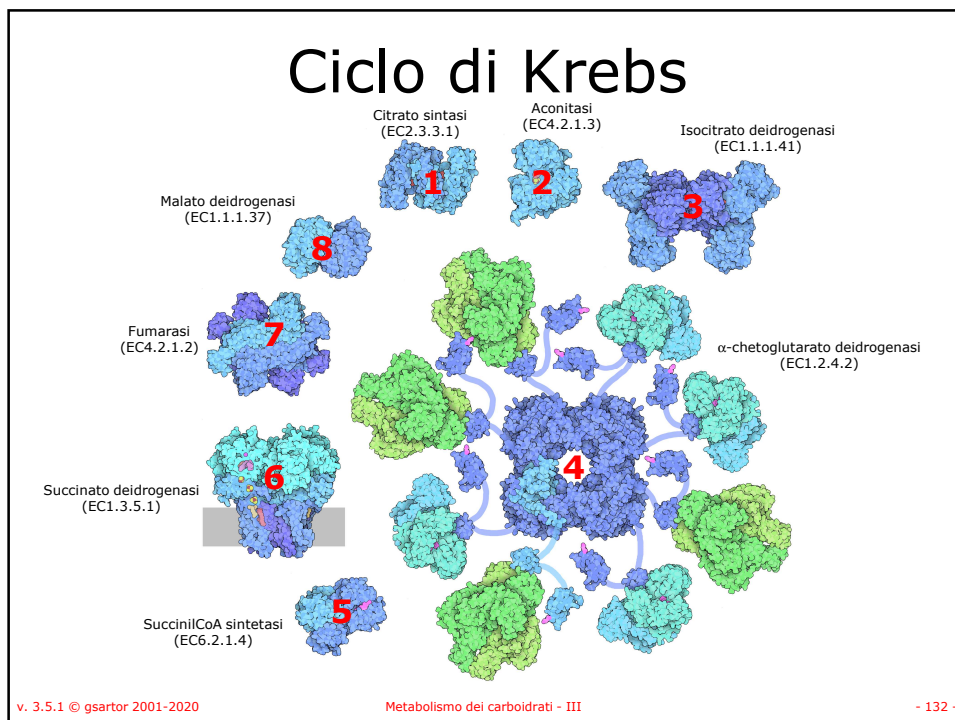
129



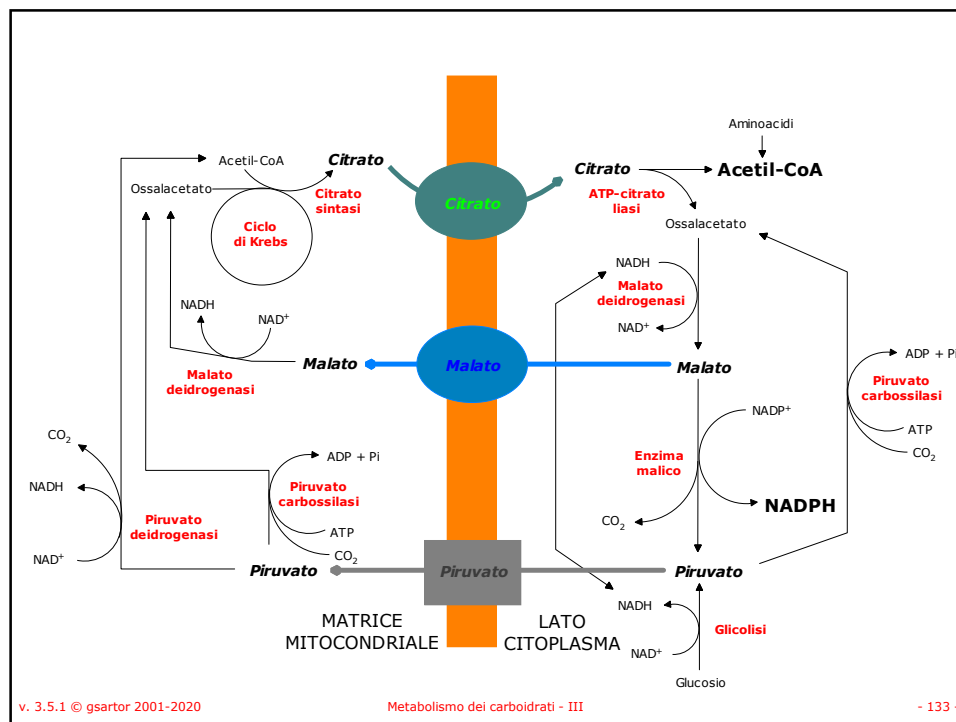
130



131



132



133

## Reazioni anaplerotiche

- Gli intermedi del ciclo di Krebs sono risintetizzati dalle reazioni anaplerotiche.
- La concentrazione degli intermedi nel ciclo rimane pressoché costante.
- La principale reazione anaplerotica è quella che porta alla produzione di ossalacetato da  $\text{CO}_2$  e piruvato. La reazione è catalizzata dalla piruvato carbossilasi.
- La produzione di ossalacetato avviene principalmente nel rene e nel fegato.
- La piruvato carbossilasi è fortemente stimolata da acetil-CoA.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 134 -

134

- Ci sono prove che suggeriscono la formazione di complessi multienzimatici per il ciclo di Krebs.
- Ciò potrebbe facilitare la canalizzazione dei substrati tra i siti attivi.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 135 -

135

## Controllo

- I fattori che controllano il flusso del ciclo sono:
  - Disponibilità dei substrati
  - Inibizione da prodotti
  - Inibizione allosterica nei primi passaggi
- La citrato sintasi, la isocitrato deidrogenasi e la  $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi possono essere tutti punti di regolazione:
  - La disponibilità di acetil-CoA e ossalacetato regolano l'attività della citrato sintasi.
  - L'accumulo di NADH inibisce le due deidrogenasi.
- L'accumulo di prodotto inibisce gli altri passaggi.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 136 -

136



## Controllo

- L'inibizione della citrato sintasi da ATP è eliminata da ADP.
- Nei muscoli di vertebrato lo ione  $\text{Ca}^{++}$  attiva la isocitrato deidrogenasi e la  $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi.
- Le velocità della glicolisi e del ciclo di Krebs sono integrate.

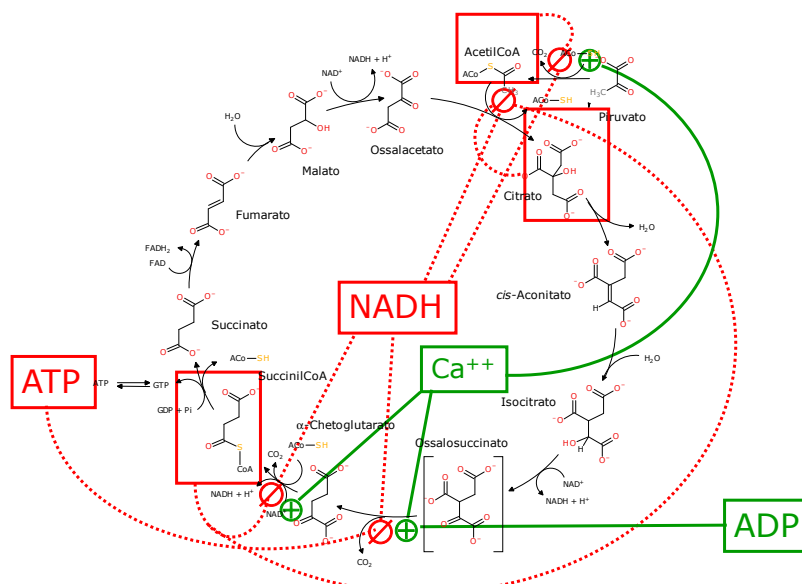
v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 137 -

137

## Controllo



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 138 -

138

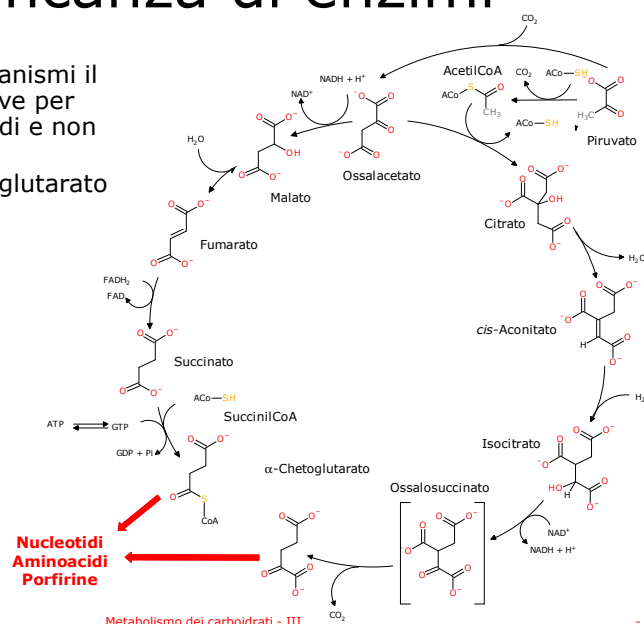


## Varianti al ciclo di Krebs

139

## Mancanza di enzimi

- In alcuni microrganismi il ciclo di Krebs serve per produrre intermedi e non energia.
- Manca la  $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi.



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 140 -

140

## Ciclo del gliossilato

• In alcuni organismi (piante, microrganismi ...) vi è la conversione di acetato (acetil-CoA) a carboidrati attraverso il ciclo del gliossilato.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 141 -

141

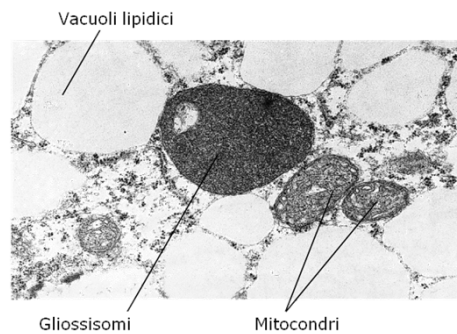
## Ciclo del gliossilato e ciclo di Krebs

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020 Metabolismo dei carboidrati - III - 142 -

142

## Da grassi a zuccheri

- Nei semi in germinazione avviene la conversione di acidi grassi in glucosio.
- Ciò avviene in tre compartimenti diversi:
- I **vacuoli lipidici**, dove i grassi vengono idrolizzati in acidi grassi e glicerolo
- I **gliossisomi**, dove gli acidi grassi vengono  $\beta$ -ossidati a AcetilCoA e si forma succinato dal ciclo del gliossilato
- Nei **mitocondri** dove il succinato entra per formare malato che va formare carboidrati.



v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

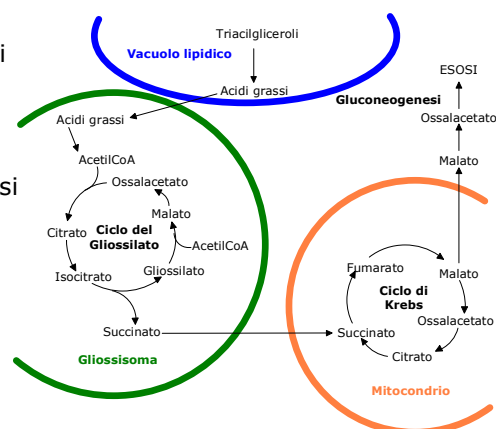
Metabolismo dei carboidrati - III

- 143 -

143

## Da grassi a zuccheri

- Nei semi in germinazione avviene la conversione di acidi grassi in glucosio.
- Ciò avviene in tre compartimenti diversi:
- I **vacuoli lipidici**, dove i grassi vengono idrolizzati in acidi grassi e glicerolo
- I **gliossisomi**, dove gli acidi grassi vengono  $\beta$ -ossidati a AcetilCoA e si forma succinato dal ciclo del gliossilato
- Nei **mitocondri** dove il succinato entra per formare malato che va formare carboidrati.

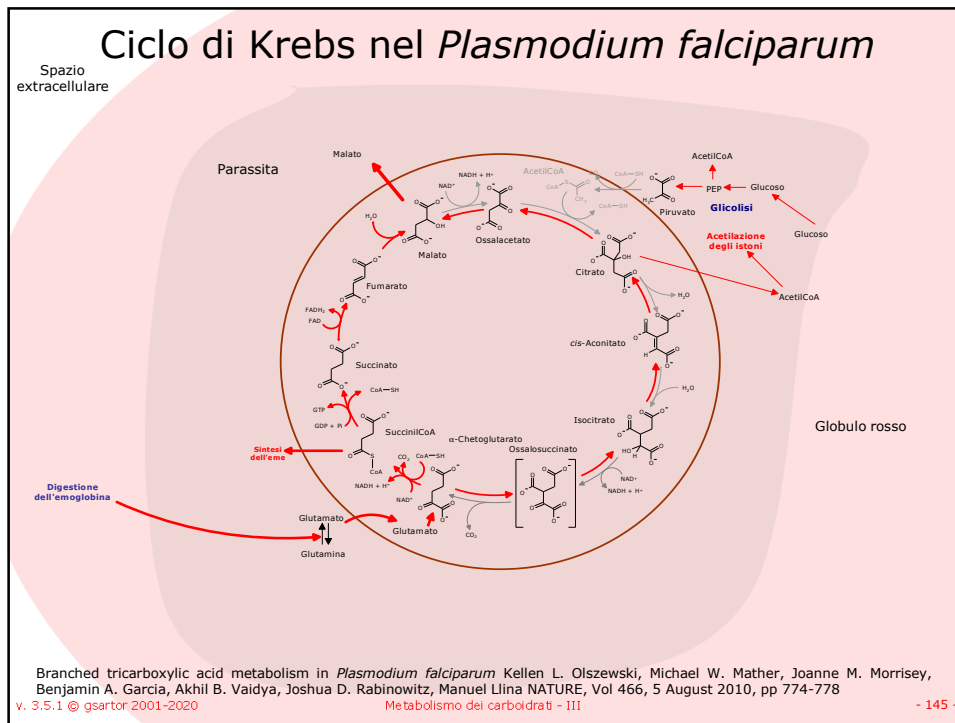


v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

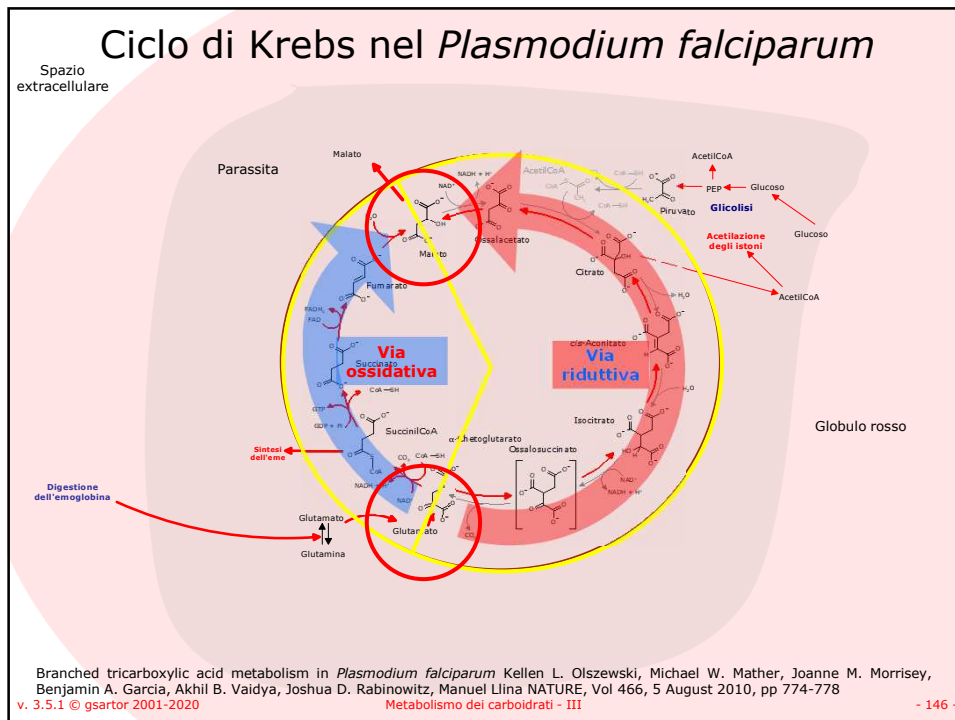
Metabolismo dei carboidrati - III

- 144 -

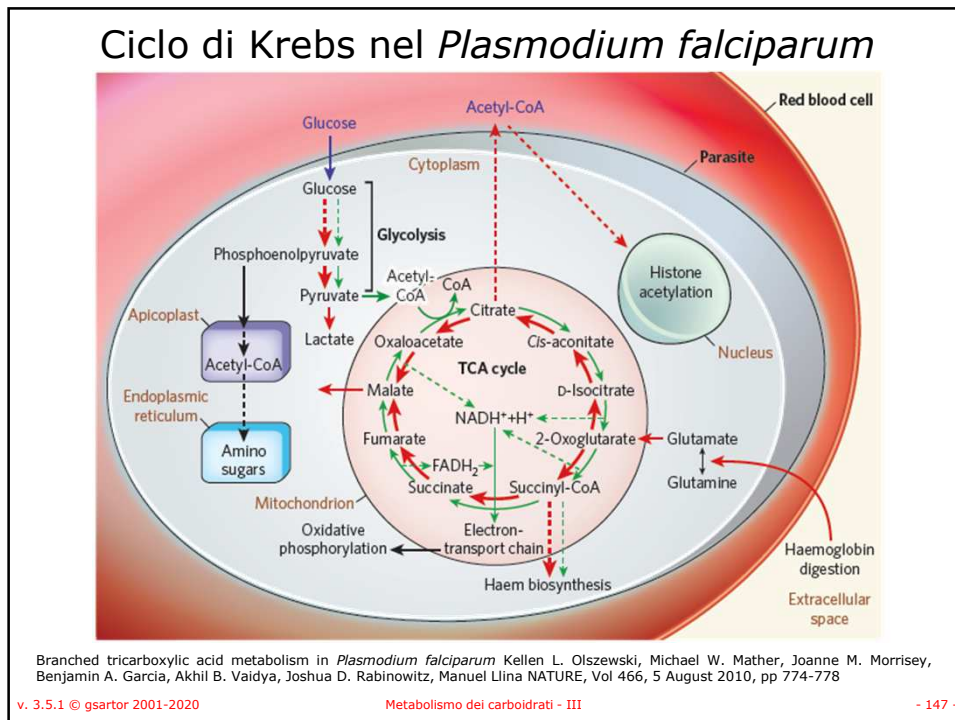
144



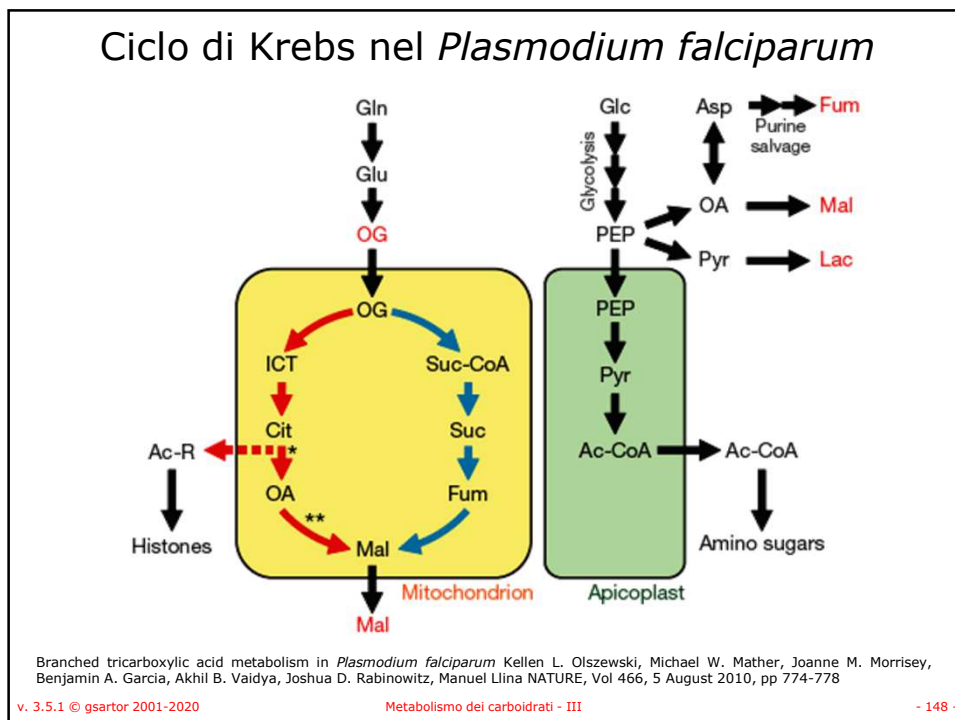
145



146



147



148

## Sommario

- Il **piruvato** è convertito in **acetilCoA** e **CO<sub>2</sub>** dalla piruvato deidrogenasi (E<sub>1</sub>+E<sub>2</sub>+E<sub>3</sub>).
- L'**acetilCoA** è convertito in **CO<sub>2</sub>** attraverso il ciclo di Krebs, si generano: **tre NADH**, **un FADH<sub>2</sub>**, e **un GTP** (per fosforilazione a livello del substrato).
- Gli intermedi del ciclo di Krebs sono anche precursori per la sintesi di altre biomolecole (acidi grassi, steroidi, aminoacidi, porfirine purine, pirimidine e glucoso).
- L'ossalacetato è riformato dal piruvato attraverso la carbossilazione catalizzata dalla piruvato carbossilasi.

v. 3.5.1 © gsartor 2001-2020

Metabolismo dei carboidrati - III

- 149 -

149

## 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/> (<http://pdb101.rcsb.org/motm/154>)
- Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>

- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

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

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

**Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor**  
Università di Bologna

Giorgio Sartor  
Ufficiale: [giorgio.sartor@unibo.it](mailto:giorgio.sartor@unibo.it)  
Personale: [giorgio.sartor@gmail.com](mailto:giorgio.sartor@gmail.com)

Aggiornato il 31/03/2020 09:53:25

150