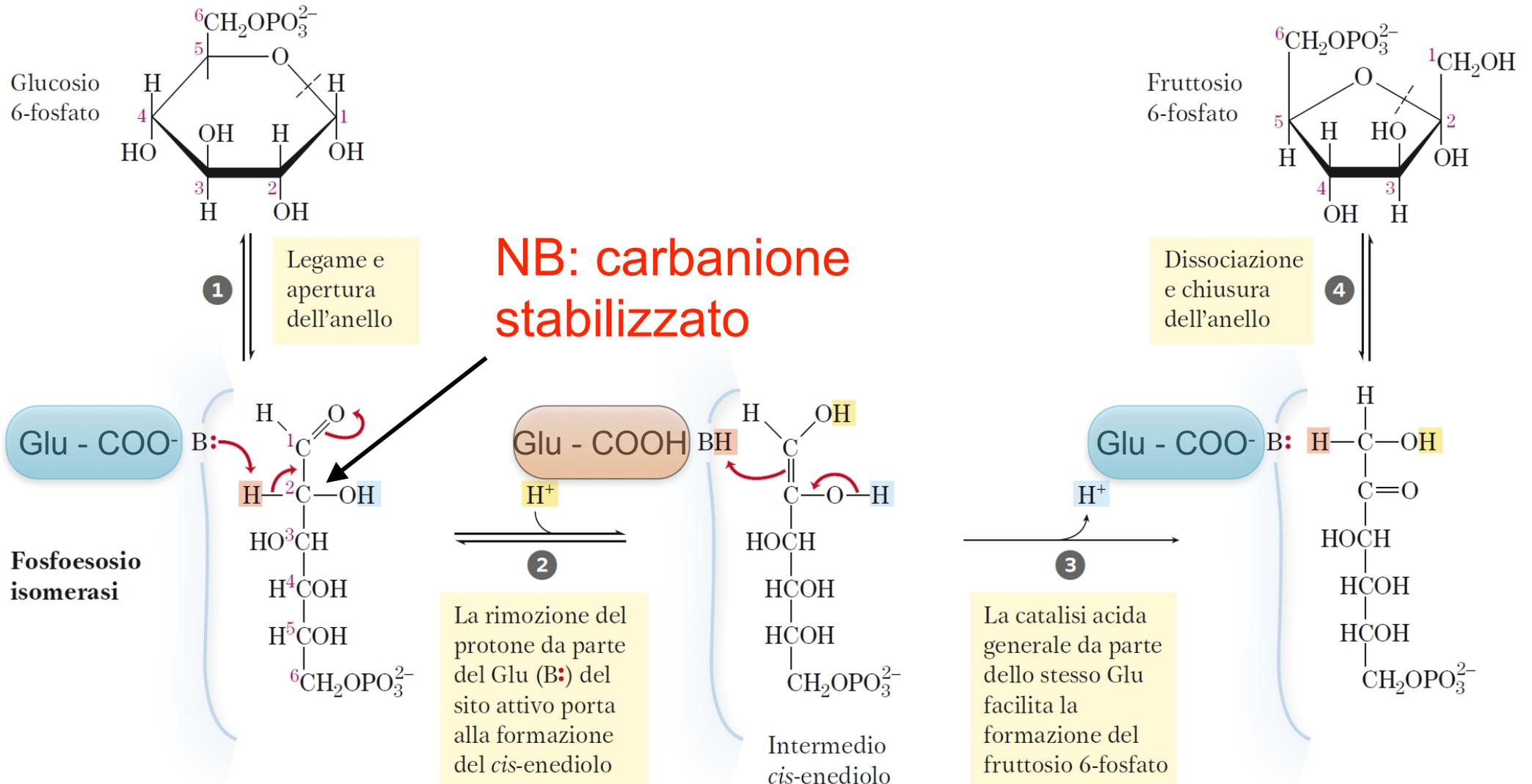


Glicolisi: seconda tappa - FOSFOGLUCOSIO ISOMERASI

$\Delta G'^{\circ} = 1,7 \text{ kJ/mole} \Rightarrow$ può procedere facilmente in entrambe le direzioni



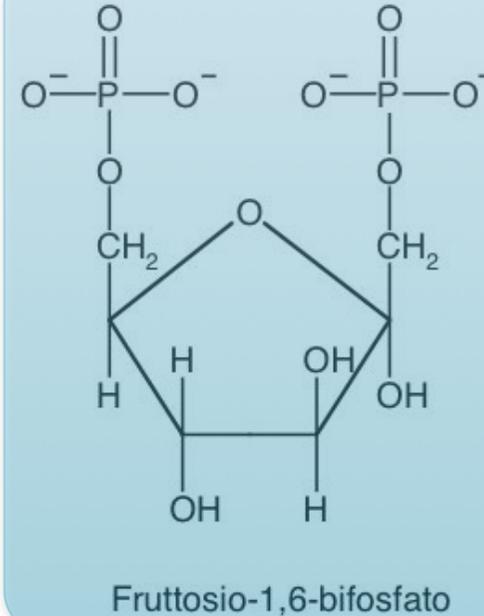
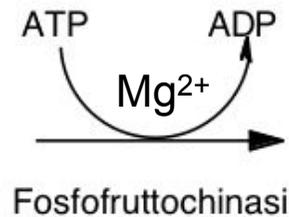
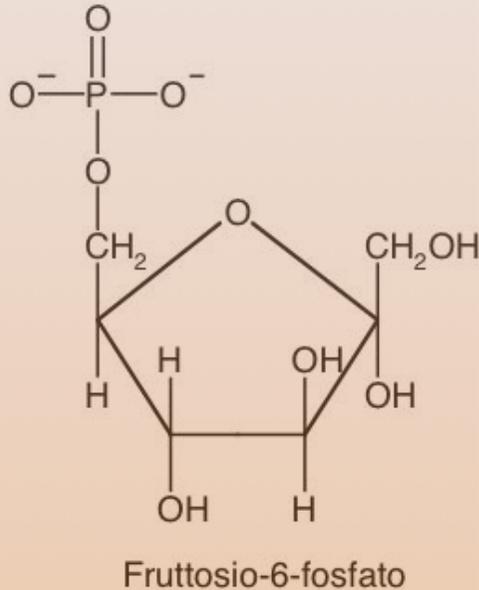
Glicolisi: terza tappa - FOSFOFRUTTOCHINASI-1

Glucosio,

Glucosio-6-
fosfato

Fruttosio-6-
fosfato

Altri possibili
destini oltre la
Glicolisi



NB:
Intermedio il
cui unico
destino è la
Glicolisi

$$\Delta G'^{\circ} = -14,2 \text{ kJ/mole}$$

Fosfofruttochinasi (PFK-1)

Importante enzima della Glicolisi soggetto a numerosi regolazioni (vedasi oltre nel programma)

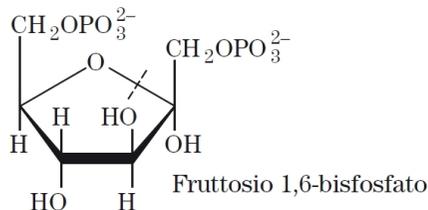
(in linea di principio una condizione energetica bassa favorisce la sua attività mentre una condizione favorevole la inibisce,

Per la regolazione vedasi oltre)

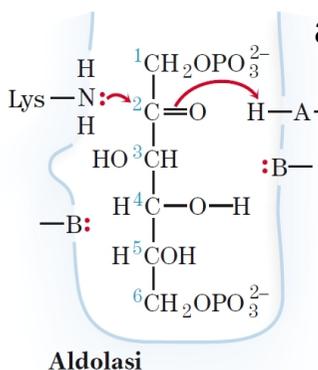
Glicolisi: Quarta tappa - Fruttosio 1,6 bifosfato ALDOLASI

$$\Delta G'^{\circ} = 23,8 \text{ kJ/mole}$$

Reazione resa possibile dal fatto che le concentrazioni dei prodotti è tenuta bassa

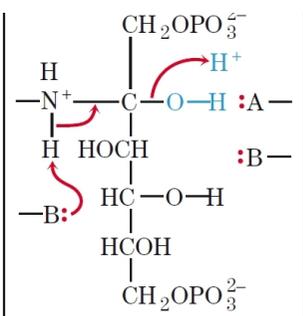


Legame ed apertura dell'anello.

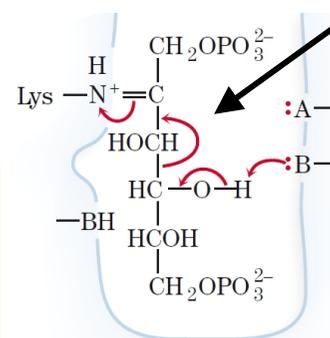


att. Nucleofilo

Una lisina del sito attivo attacca il carbonile del substrato formando un intermedio tetraedrico.



Un riarrangiamento porta alla formazione di una base di Schiff protonata sull'enzima; la delocalizzazione elettronica facilita i passaggi successivi.



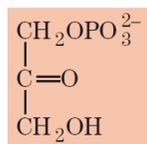
NB: prima si forma il carbanione!

NB:
C1-C2-C3
=> DHAP

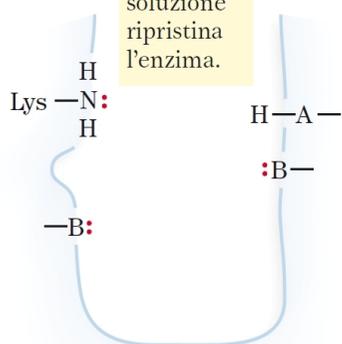
C4-C5-C6
=> GA3P

Gruppo basico dell'enzima innesca form. Base Schiff

Diidrossiacetone fosfato



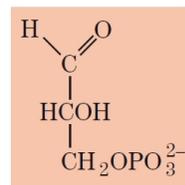
Lo scambio protonico con la soluzione ripristina l'enzima.



La base di Schiff viene idrolizzata in una reazione che è l'inverso della sua formazione.

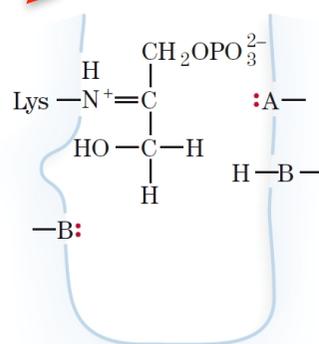


Gliceraldeide 3-fosfato



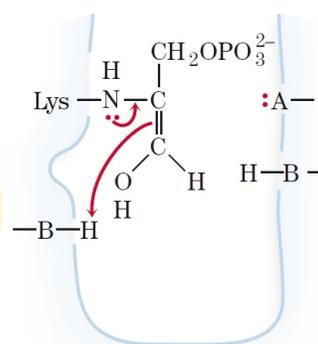
primo prodotto rilasciato

La scissione del legame C—C (inverso della condensazione aldolica) porta al rilascio del primo prodotto.



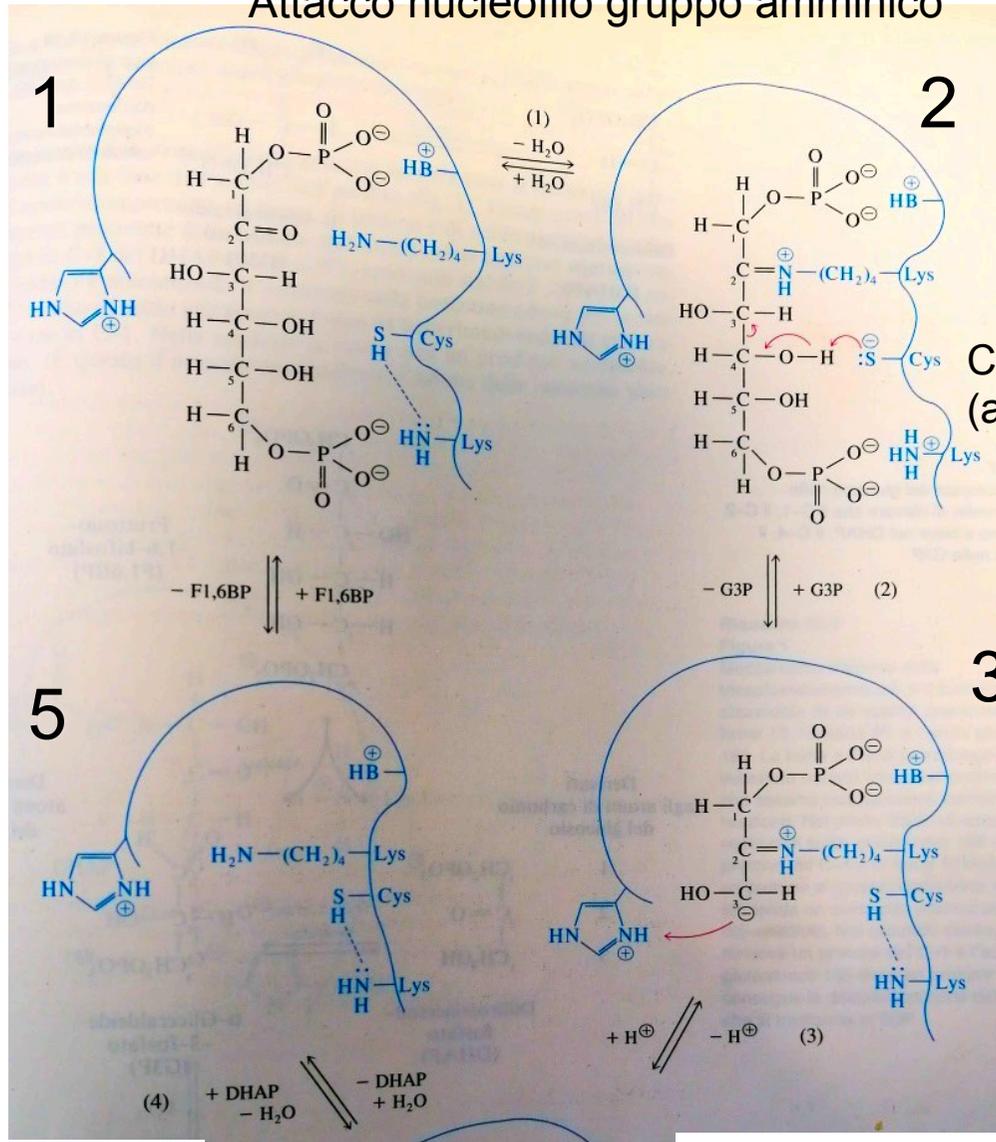
Base di Schiff protonata

Isomerizzazione



Intermedio covalente enzima-enamina

Attacco nucleofilo gruppo amminico



← Stabilizzazione cariche

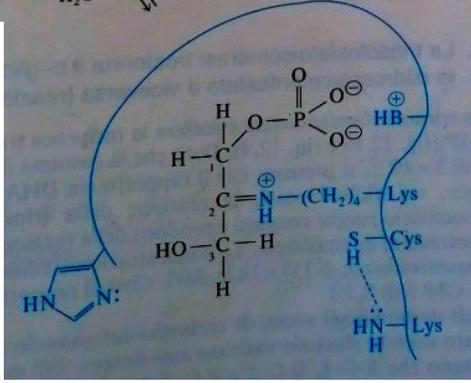
Cys "attivata" da lys adiacente (agisce da base)

← Stabilizzazione cariche

3 Ricordate la stabilizzazione data da gruppi imminici nei confronti di un carboanione?

L'uscita della G3P rende la base di Schiff accessibile alla reazione di idrolisi

4 His funge da acido donando un protone



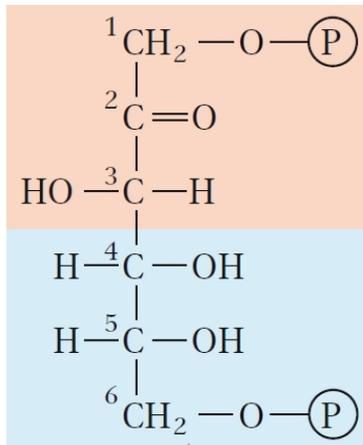
Glicolisi: Quinta tappa - Triosio fosfato isomerasi

Il diidrossiacetone fosfato prodotto nella tappa IV viene convertito a gliceraldeide 3-fosfato

Tracciatura atomi C nella Glicolisi

(a)

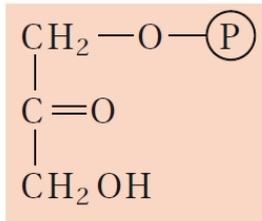
Fruttosio 1,6-bisfosfato



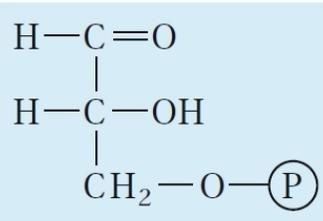
Derivato dagli atomi di carbonio del glucosio

Derivato dagli atomi di carbonio del glucosio

1
2
3



Diidrossiacetone fosfato



Gliceraldeide 3-fosfato

4
5
6

aldolasi

$\Delta G'^{\circ} = 7,5 \text{ kJ/mole}$

triosio fosfato isomerasi

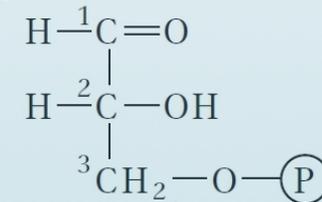


Poter seguire in quali prodotti compare un determinato radioisotopo con cui è stato marcato un composto metabolizzato è essenziale per capire quali vie metaboliche siano attive in un determinato soggetto e poter ottenere informazioni che hanno un'utilità ai fini di capire disregolazioni metaboliche (vedasi approfondimento) e quindi possibili utilizzi di inibitori per controllarle.

(b)

Derivato dagli atomi di carbonio del glucosio

4 o 3
5 o 2
6 o 1



D-Gliceraldeide 3-fosfato

Reazioni successive della glicolisi

Glicolisi: Sesta tappa - GLICERALDEIDE 3 fosfato deidrogenasi

Enzima: gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi (ossidazione del carbonio aldeidico)

Legame NAD⁺
altera pKa
Cys!!!!

Gliceraldeide
3-fosfato
deidrogenasi



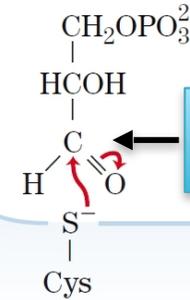
$$\Delta G'^{\circ} = 6,3 \text{ kJ/mole}$$

Gliceraldeide
3-fosfato

1

Formazione del complesso enzima-substrato. Quando il NAD⁺ si lega all'enzima la Cys del sito ha un valore pK_a inferiore alla norma (5,5 invece di 8) e si trova nella sua forma più reattiva, quella tiolata.

NAD⁺

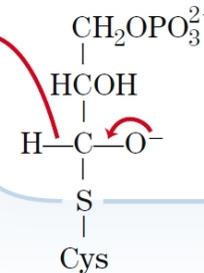


3 e⁻

2

Si forma un legame tioemiacetalico covalente tra il substrato e il gruppo —S⁻ del residuo di Cys.

NAD⁺

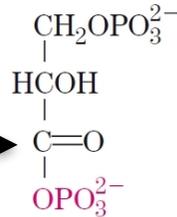


3

Il substrato legato all'enzima viene ossidato dal NAD⁺, anch'esso presente nel sito attivo.

Reattivo con Hg⁺⁺

1 e⁻



1,3-Bisfosfoglicerato

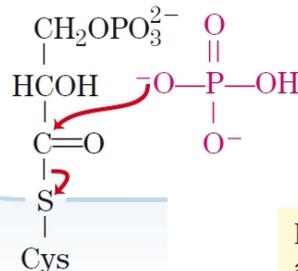
5

Il legame covalente tioestere tra il substrato e l'enzima va incontro a fosforolisi (attacco da parte del P_i), rilasciando il secondo prodotto, l'1,3-bisfosfoglicerato.

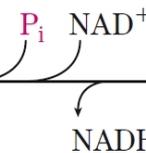
!FOSFOROLISI!

Energia conservata nel acil fosfato (anidride)

NAD⁺

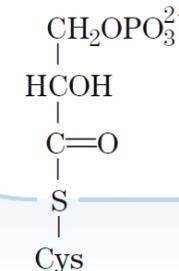


4



Il NADH prodotto lascia il sito attivo e viene sostituito da un'altra molecola di NAD⁺.

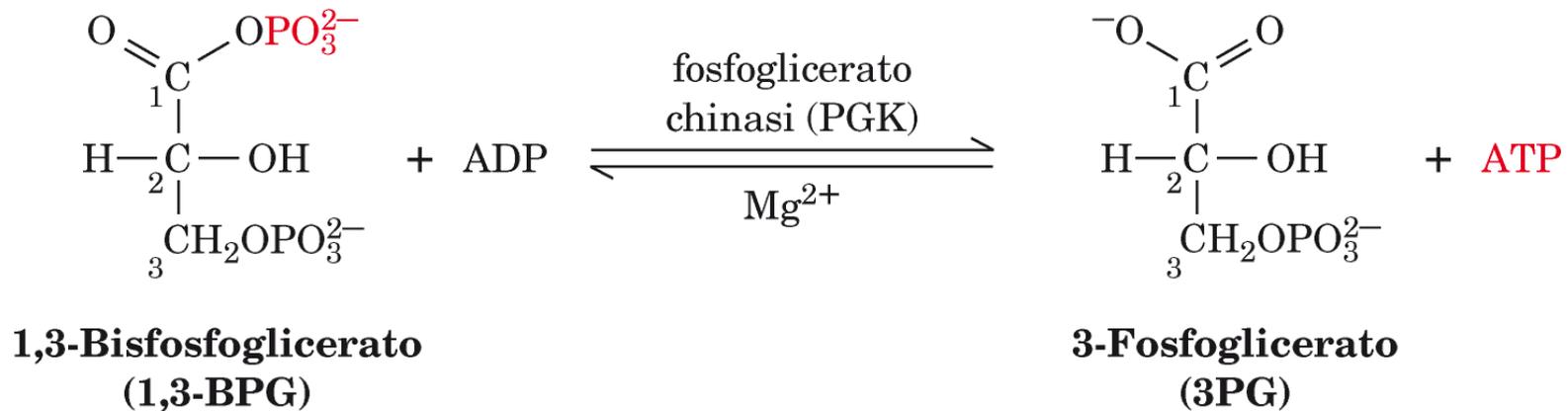
NADH



Glicolisi: Settima tappa - FOSFOGLICERATO CHINASI

$$\Delta G'^{\circ} = -18.5 \text{ kJ/mole}$$

Fosforilazione a livello del substrato



Sesta e settima tappa sono accoppiate

$$\Delta G'^{\circ} = 6,3 \text{ kJ/mole}$$

Sesta

$$\Delta G'^{\circ} = -18.5 \text{ kJ/mole}$$

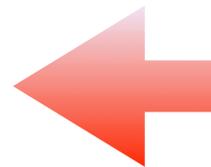
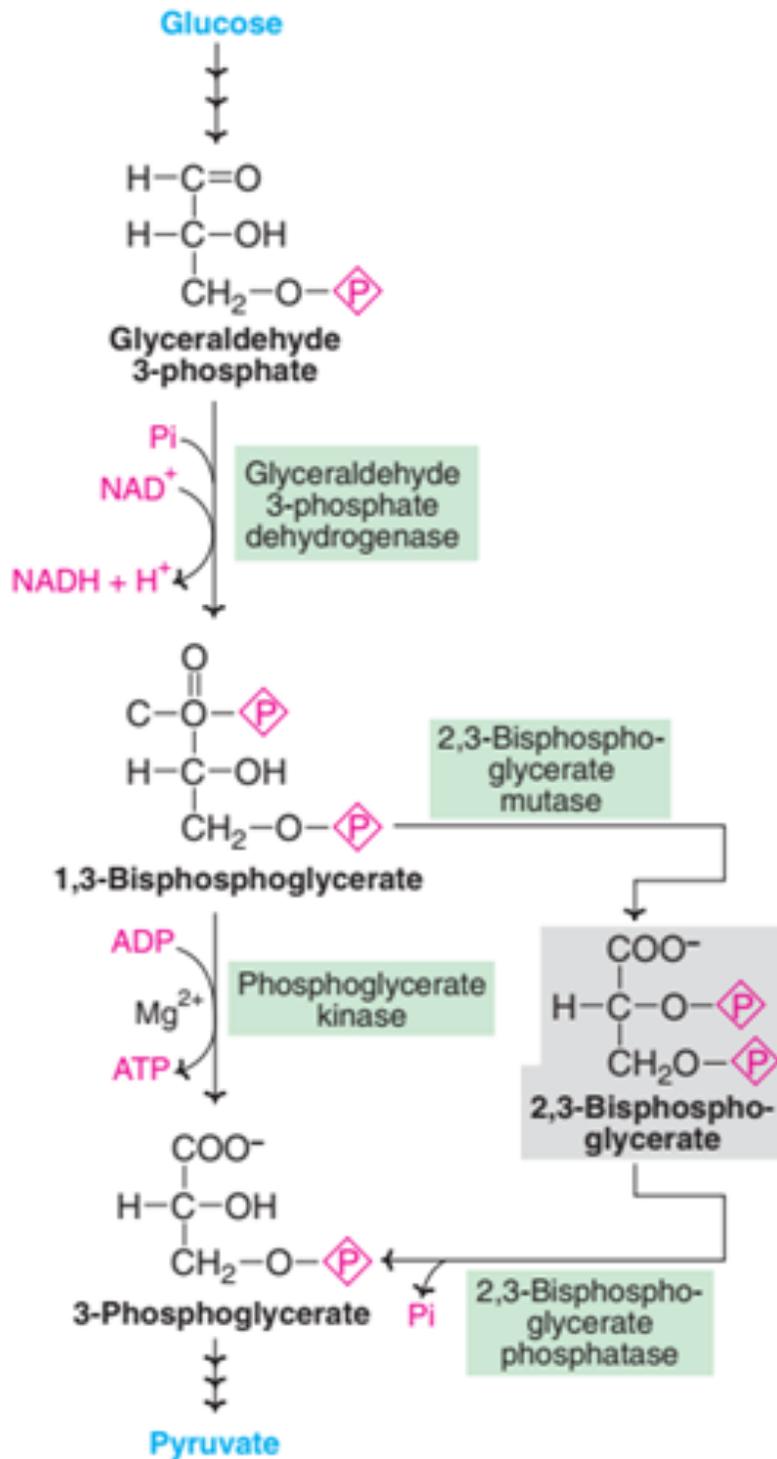
Settima

$$\Delta G'^{\circ} = -12.2 \text{ kJ/mole}$$

Accoppiamento

Non dimentichiamo il rapporto di azione di massa [prodotti]/[reagenti]

Shunt del 2,3 BPG



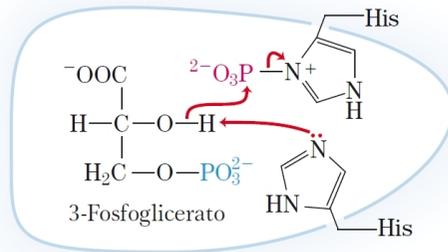
Regolatore dell'affinità dell'Hb per l'O₂

Via rilevante in ERITROCITI

Glicolisi: Ottava tappa - FOSFOGLICERATO MUTASI

$$\Delta G'^{\circ} = 4,4 \text{ kJ/mole}$$

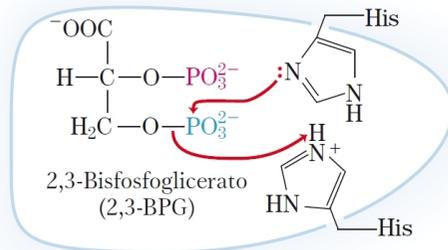
Fosfoglicerato mutasi



Istidina nel sito attivo

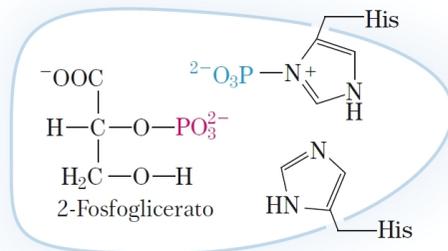
1

Il gruppo fosforico è trasferito da un residuo di His del sito attivo al C-2 (OH) del substrato. Un secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore basico generale.



2

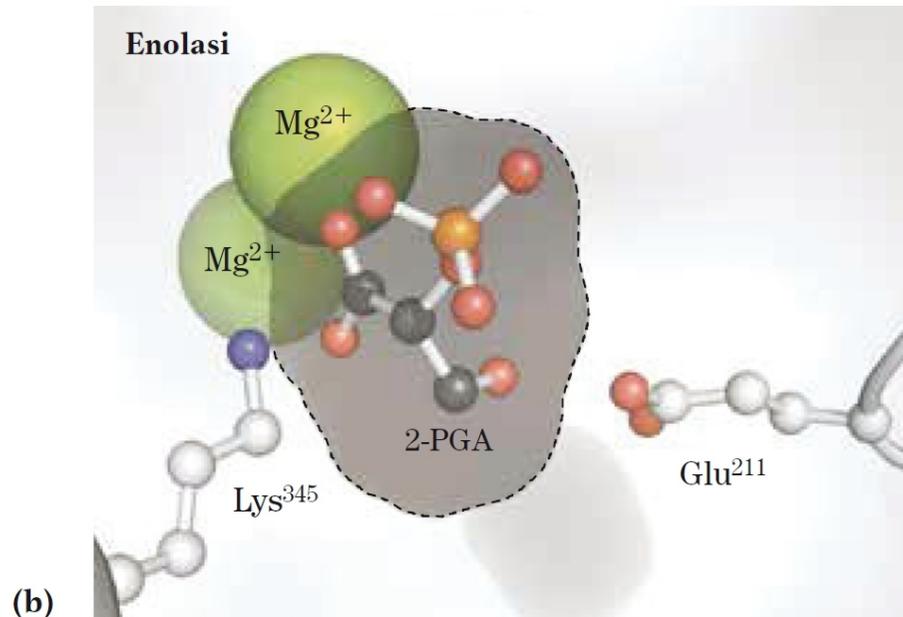
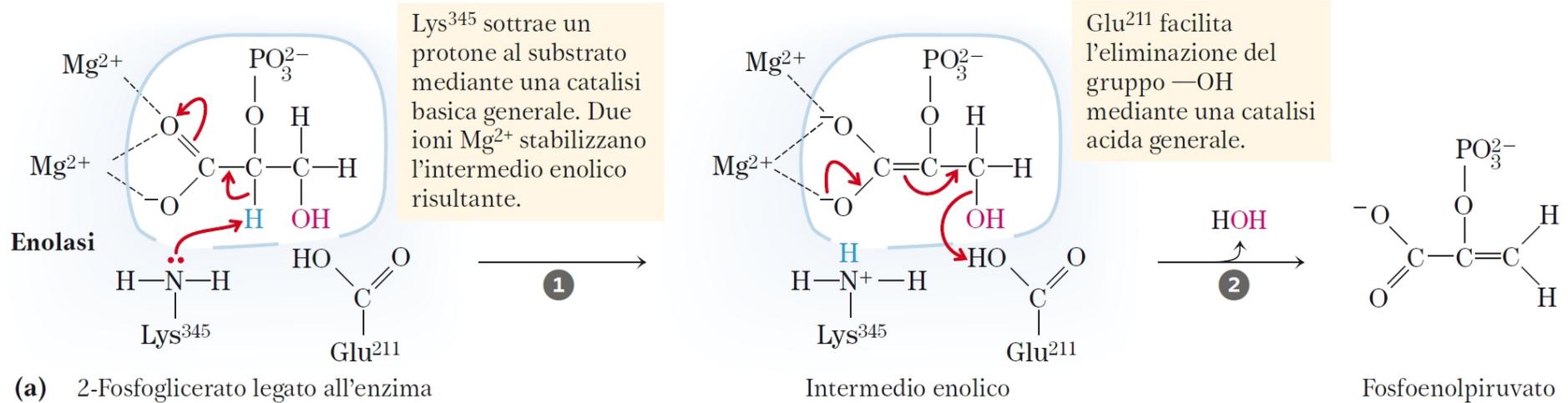
Il gruppo fosforico è trasferito dal C-3 del substrato al primo residuo di His del sito attivo. Il secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore acido generale.



Glicolisi: Nona tappa - ENOLASI

$$\Delta G'^{\circ} = 7,5 \text{ kJ/mole}$$

Enzima: enolasi

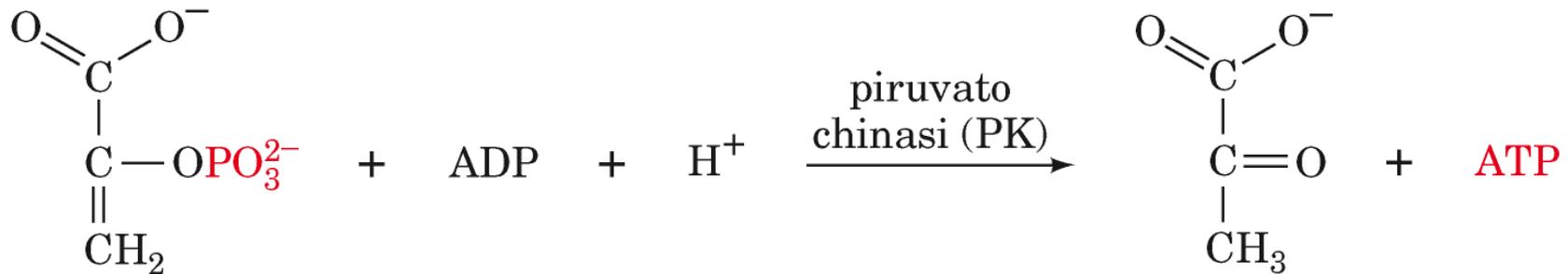


Fosfoenolpiruvato:
Alto potenziale di
trasferimento del
gruppo fosforico

NB: ruolo del Mg²⁺ nello
stabilizzare il legame del 2PG alla
enolasi

Glicolisi: Decima tappa

$$\Delta G'^{\circ} = -31,4 \text{ kJ/mole}$$



**Fosfoenolpiruvato
(PEP)**

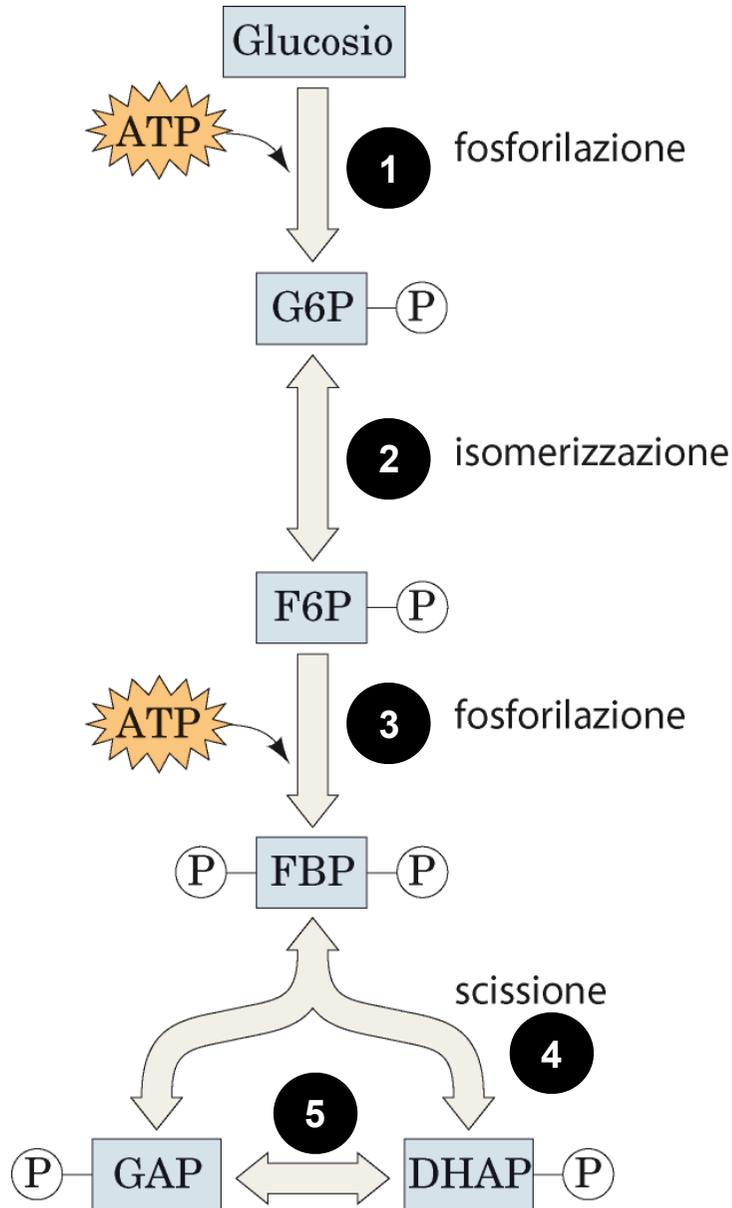
Piruvato

Tautomerizzazione:
forma enolica / chetonica

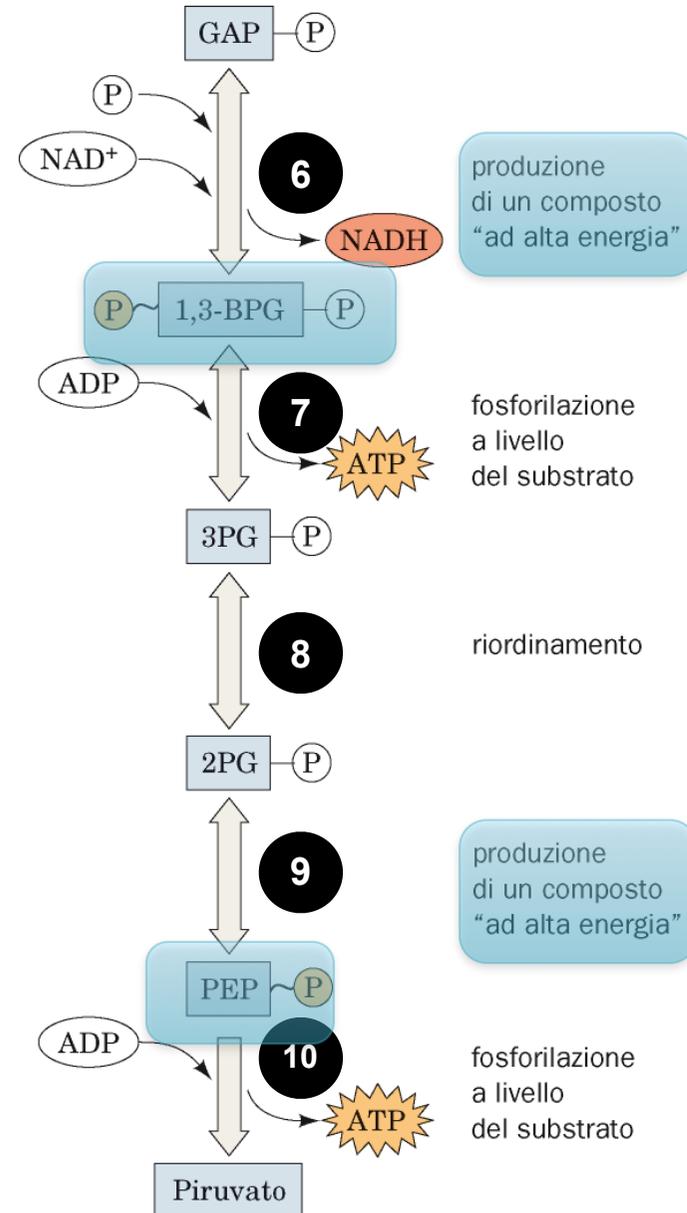
NB: la reazione di idrolisi del PEP ha $\Delta G'^{\circ} = -61,9 \text{ kJ/mole}$
30,5 kJ/mole vengono conservati nella molecola di ATP.
Gli altri 31,4 servono a far sì che la reazione sia
fortemente spinta verso la formazione di ATP.

Glicolisi

Preparazione (spesa energetica)



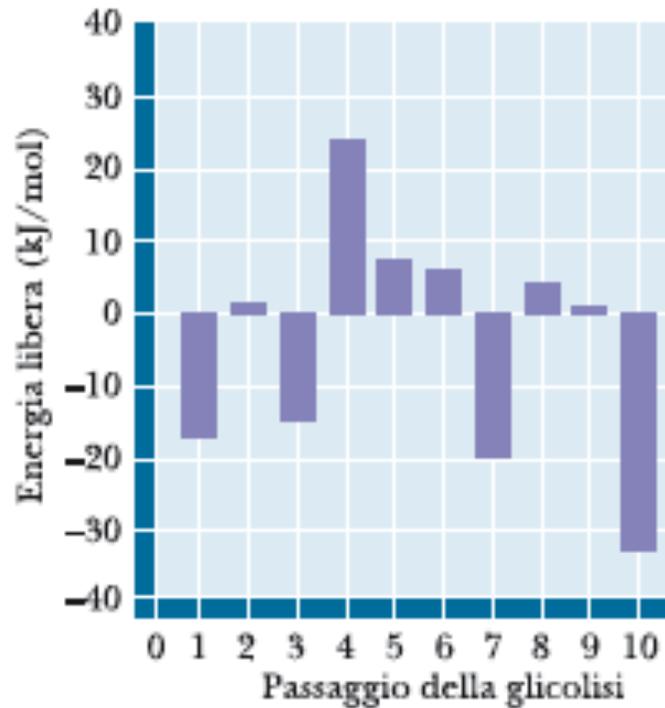
Produzione (recupero energetico)



Glicolisi

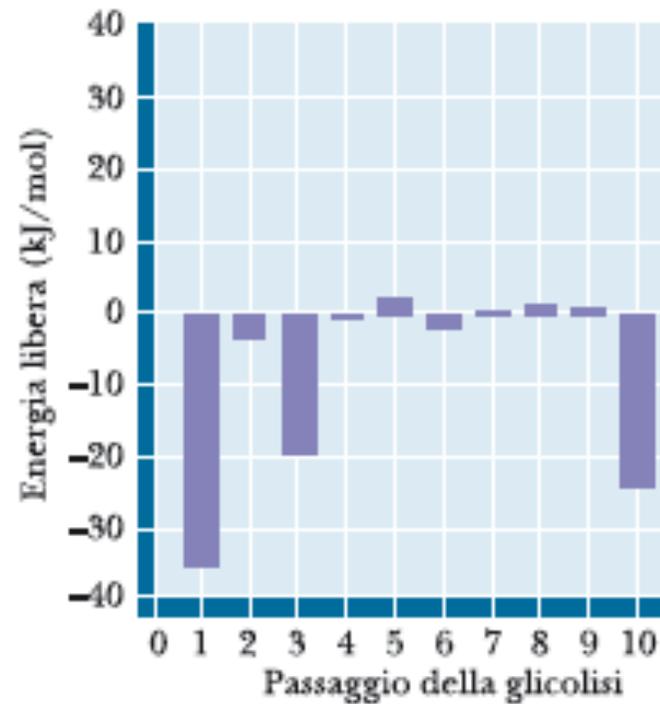
Condizioni standard

$$\Delta G'^{\circ}$$



Condizioni reali

$$\Delta G$$



Non dimentichiamo il rapporto di azione di massa [prodotti]/[reagenti]

Bilancio complessivo della Glicolisi

Glucosio + 2 ADP + 2 Pi + 2NAD⁺

=>

2 Piruvato + 2 ATP + 2NADH + 2H⁺ + 2H₂O

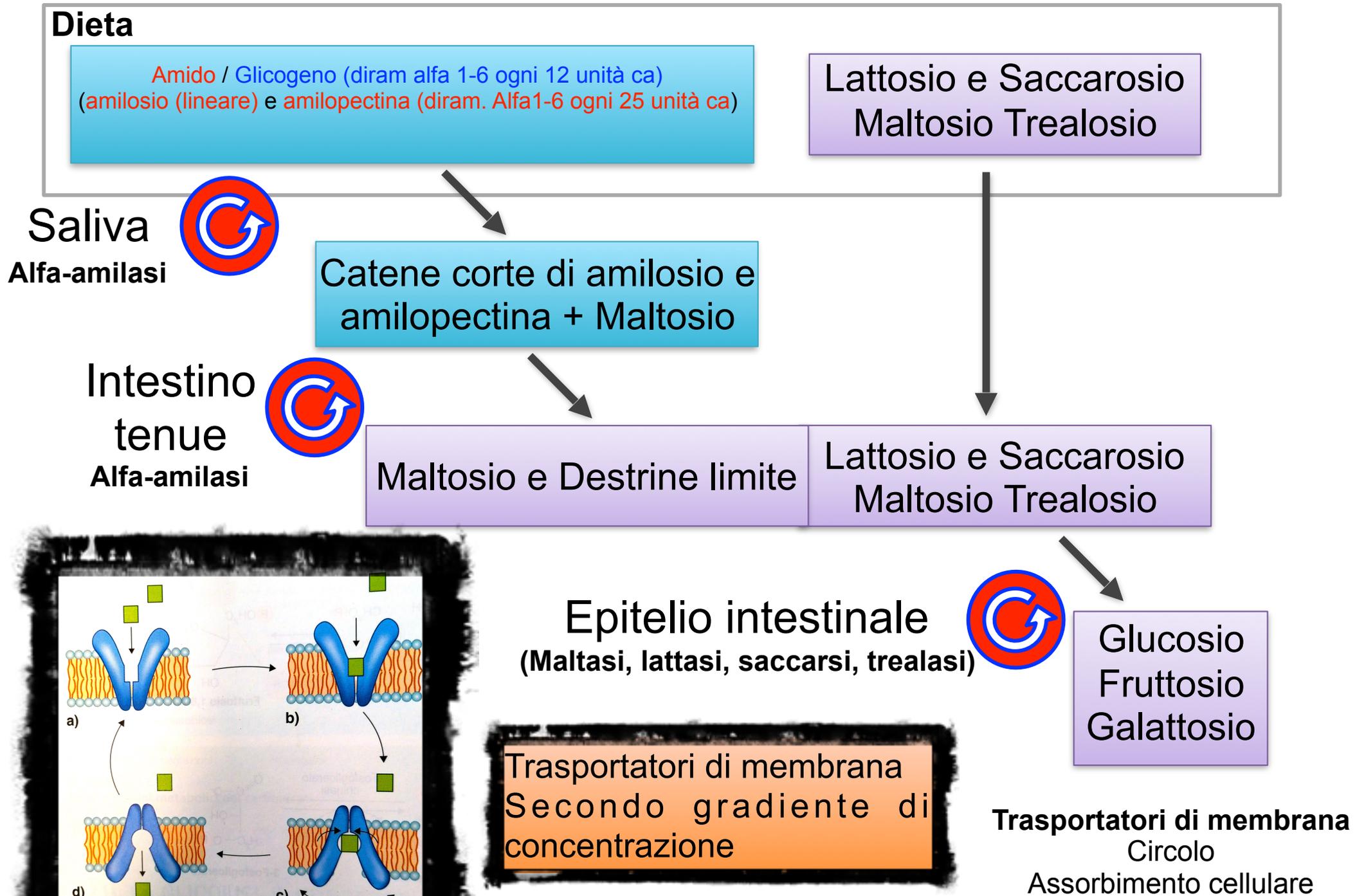
Attenzione: l'accumulo di piruvato e di NADH porterebbe al blocco della glicolisi.

STRATEGIE per far continuare la GLICOLISI:

In condizioni aerobiche (presenza di ossigeno) il piruvato viene ulteriormente degradato e il NADH cede i suoi elettroni alla catena respiratoria mitocondriale.

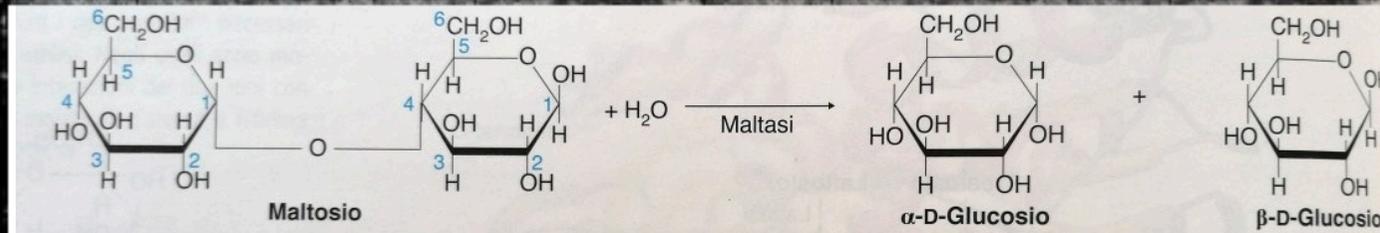
In condizioni anaerobiche (assenza di ossigeno) il piruvato viene ridotto grazie alla fermentazione che in questo caso garantisce sia il consumo di NADH che la rimozione del piruvato (si forma lattato).

Fonti di Glucosio: Assorbimento dei Carboidrati dalla dieta



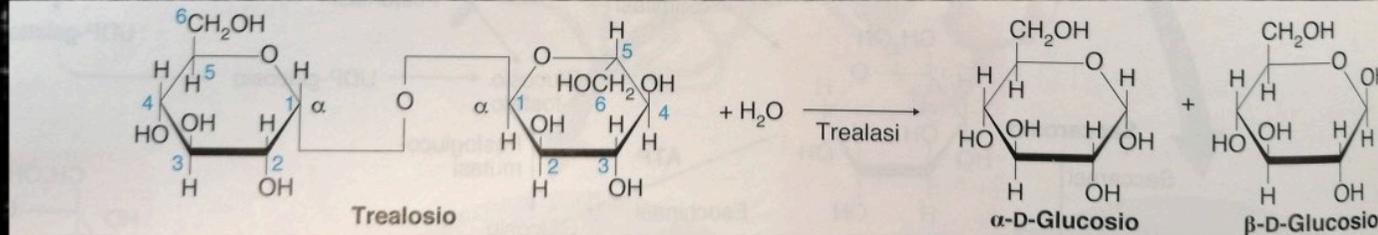
MALTOSIO

2Glucosio alfa 1->4



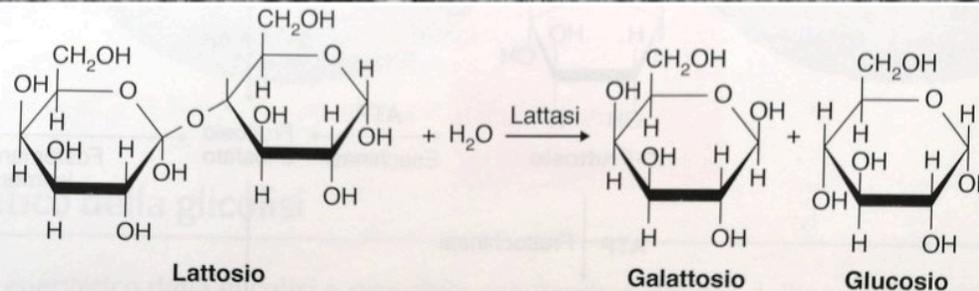
TREALOSIO

2Glucosio alfa 1->1



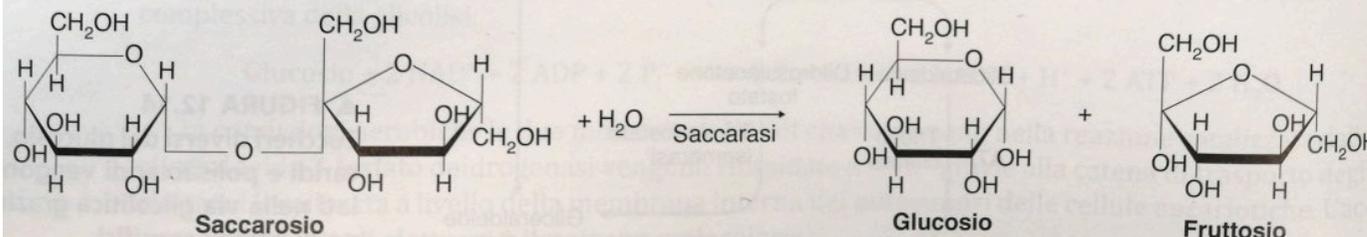
LATTOSIO

Galattosio-Glucosio
Alfa 1->4

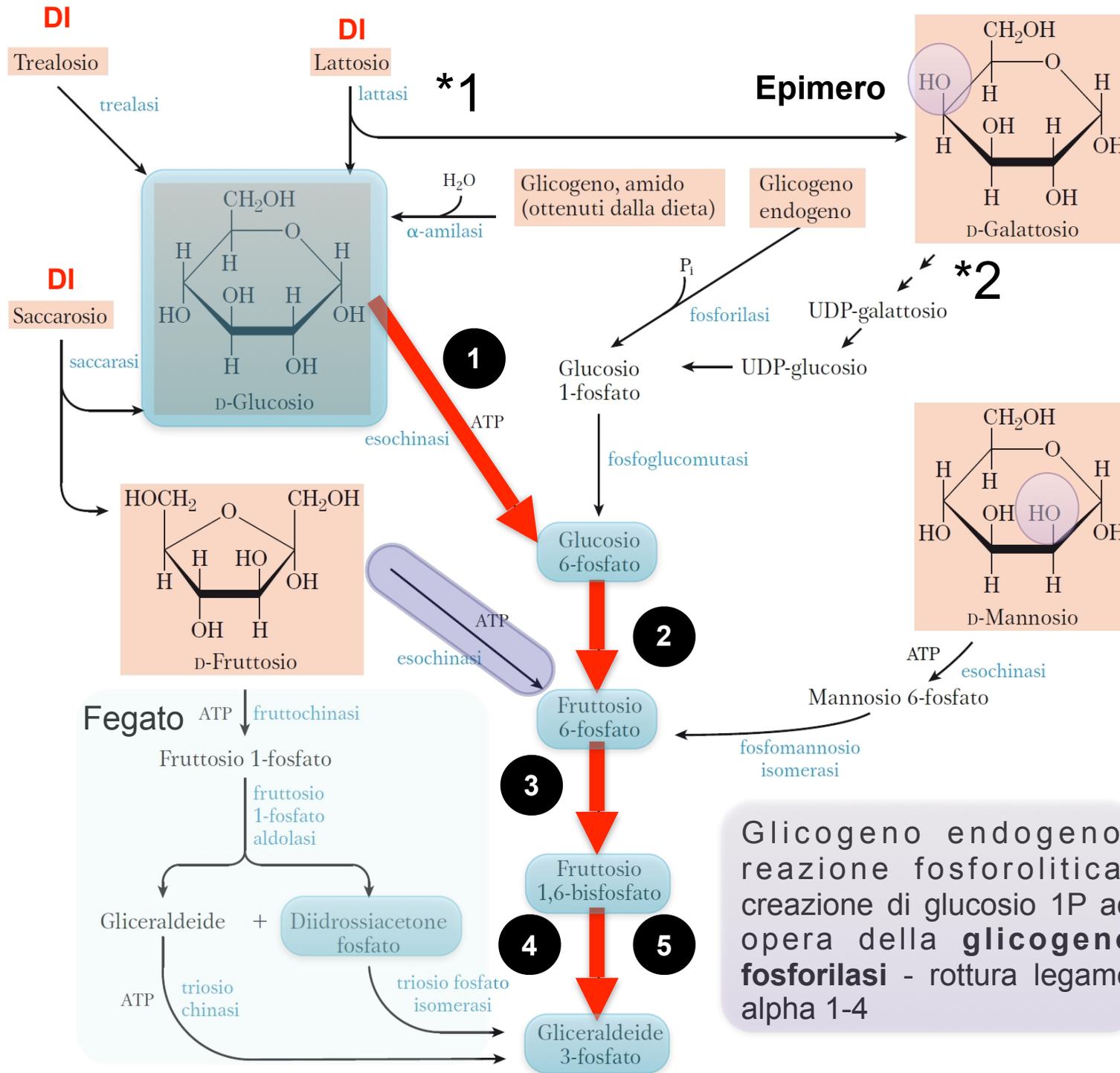


SACCAROSIO

Glucosio-Fruttosio
Alfa 1->2

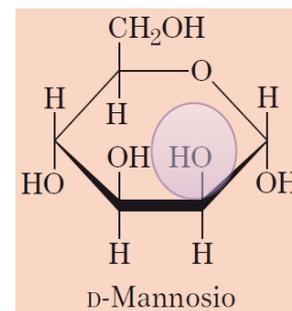
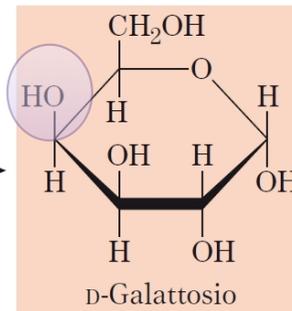


Glicolisi: altre fonti per alimentare la Glicolisi



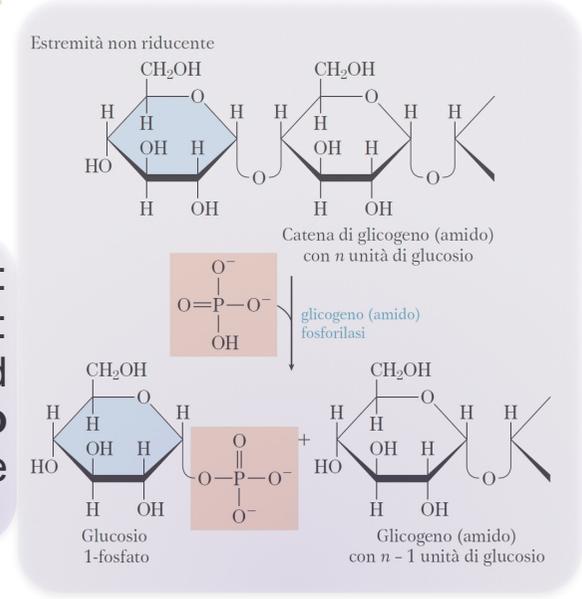
*1: intolleranza al lattosio data da difetto nella lattasi

*2: galattosemia, grave disordine metabolico dato dalla incapacità di processare il galattosio facendolo entrare nella via glicolitica.



Epimero

Glicogeno endogeno: reazione fosforolitica: creazione di glucosio 1P ad opera della **glicogeno fosforilasi** - rottura legame alpha 1-4



Fruttosio: destino metabolico nel fegato

Può essere deviato dalla glicolisi per andare a formare **glicerolo 3P** che è essenziale per la biosintesi di **trigliceridi** e **fosfolipidi**.

