

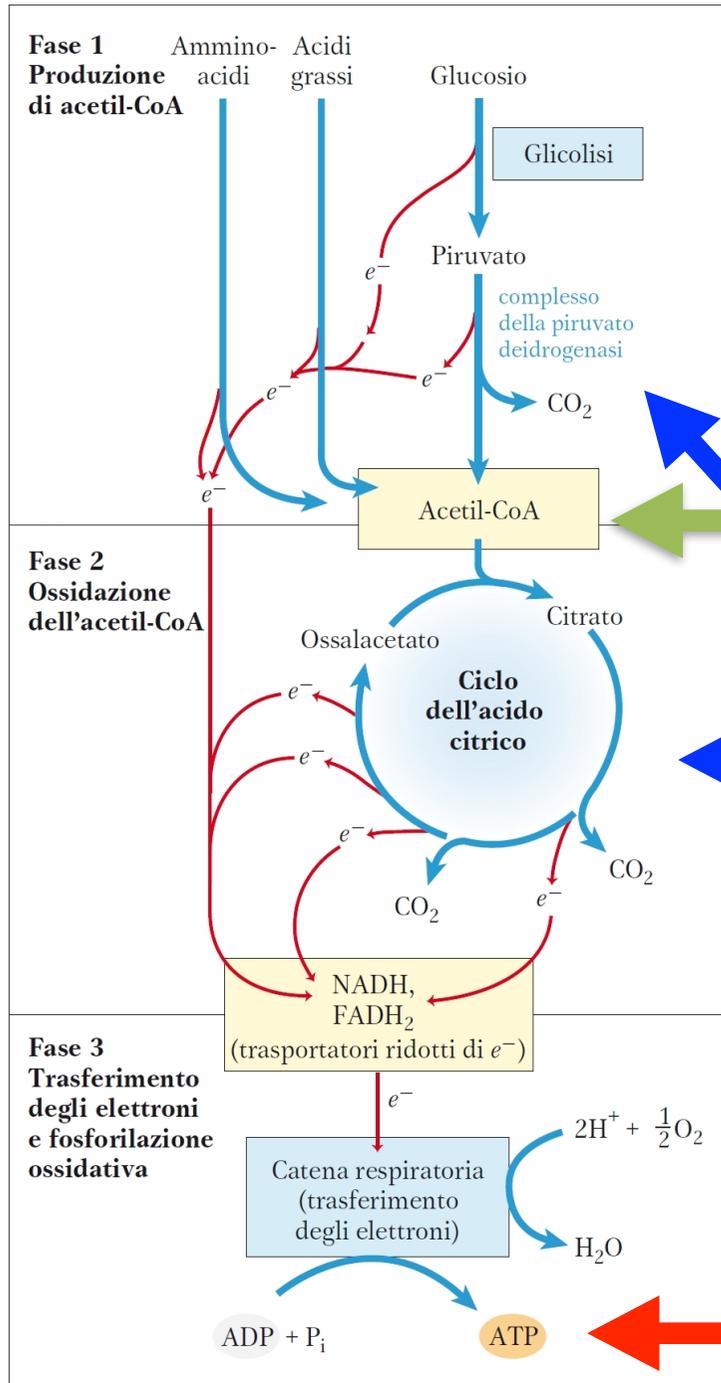
ciclo dell'acido citrico

-

Ciclo di Krebs

-

Ciclo degli acidi tricarbossilici



Respirazione cellulare:
Ossidazione molecole
Produrre CO_2 consumando O_2
Produrre ATP

Produzione Acetil-CoA

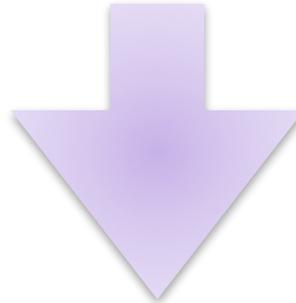
Produzione potere riducente



Produzione energia

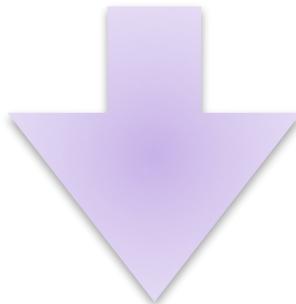
PIRUVATO citosolico

Trasportatore
mitocondriale
(MPC)



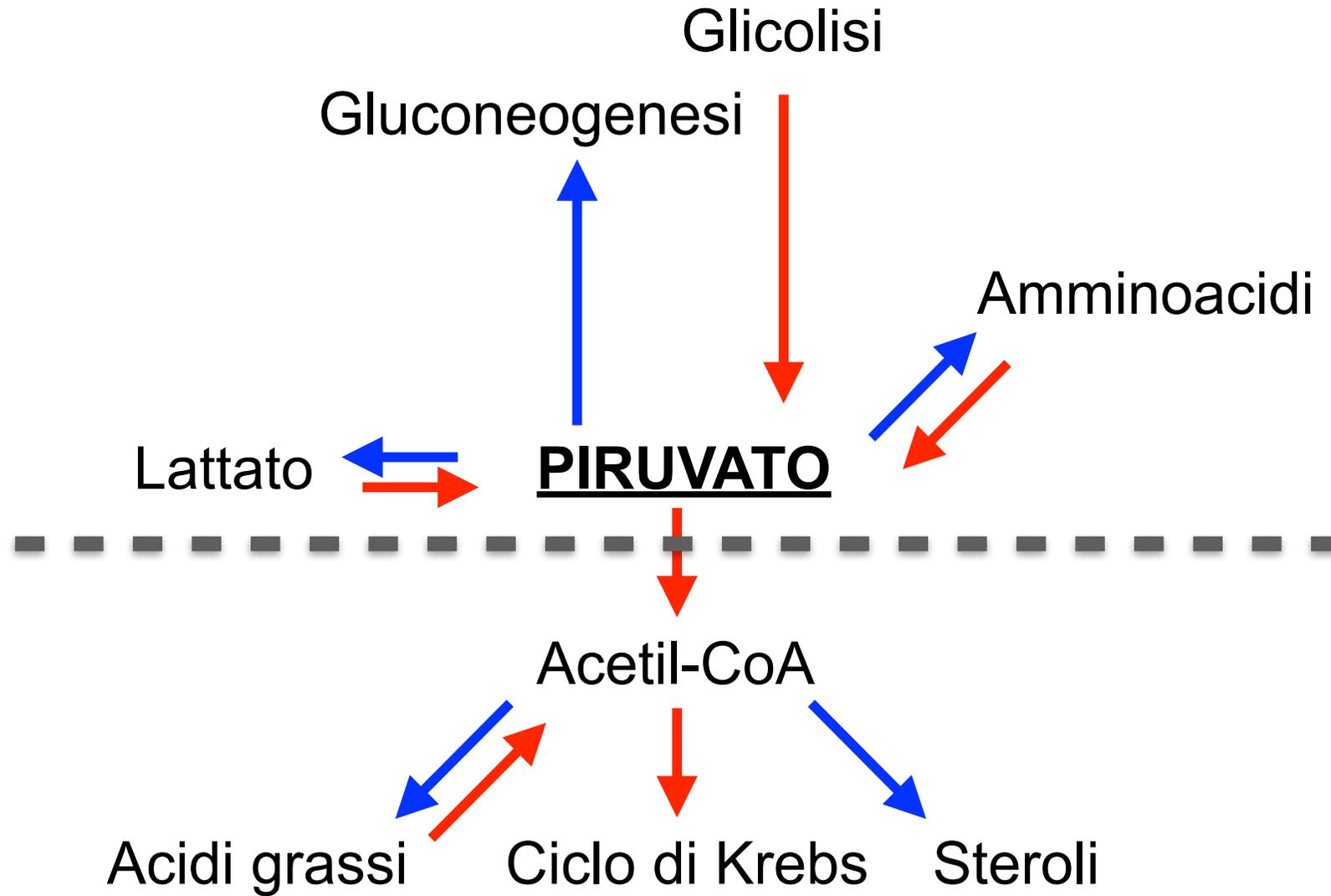
PIRUVATO mitocondriale

Piruvato
Deidrogenasi

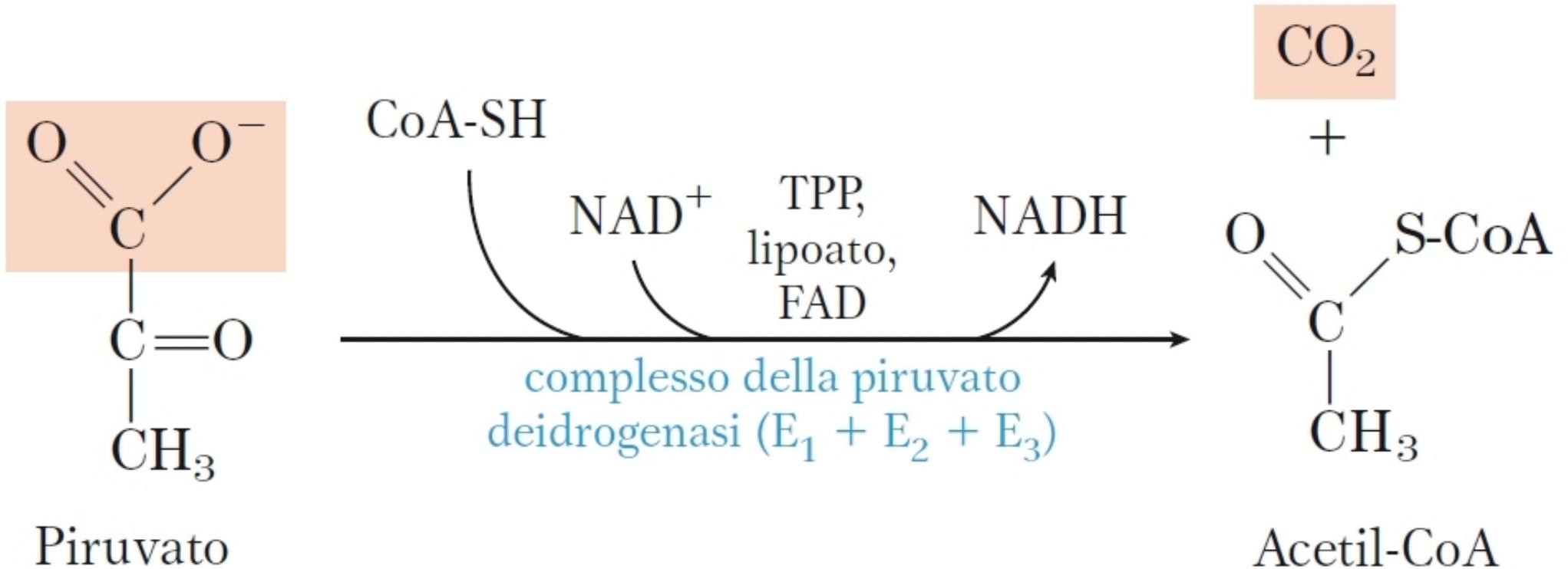


Molecola che costituisce l'entrata di atomi di C nel ciclo degli acidi tricarbossilici

Principali destini metabolici del PIRUVATO



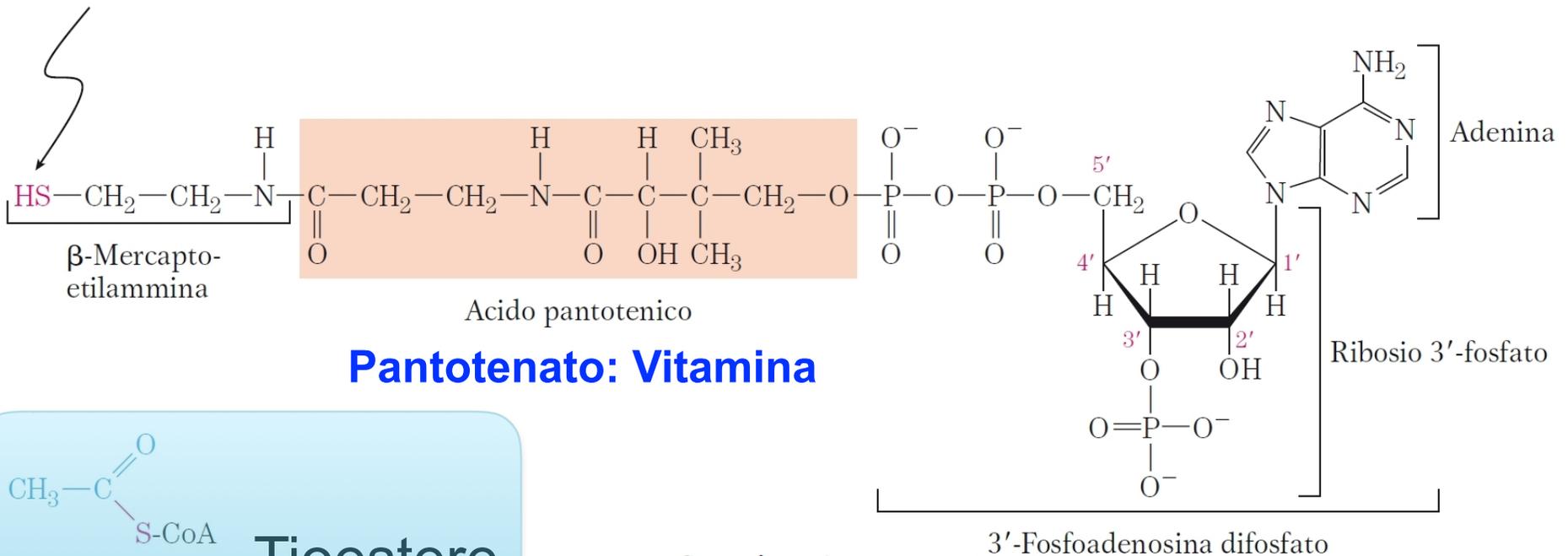
Reazione complessiva dell **piruvato deidrogenasi (PDH)** (Decarbossilazione ossidativa)



$$\Delta G'^{\circ} = -33,4 \text{ kJ/mole}$$

Coenzima A (CoA) e acetil-CoA

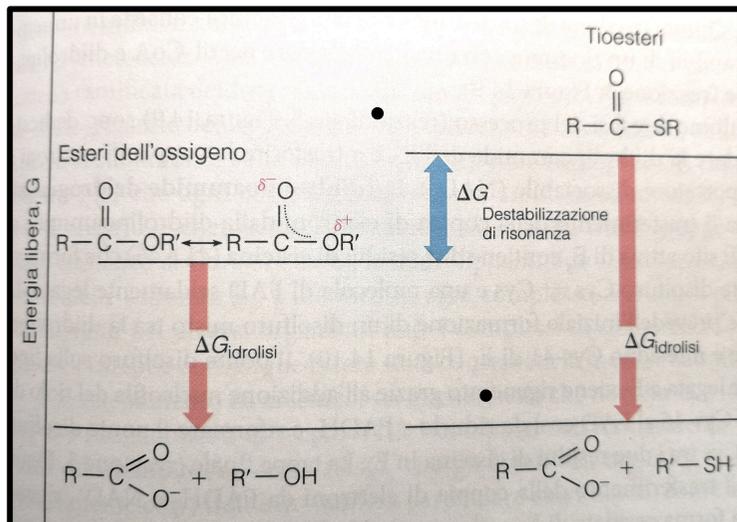
Gruppo tiolico reattivo



Pantotenato: Vitamina

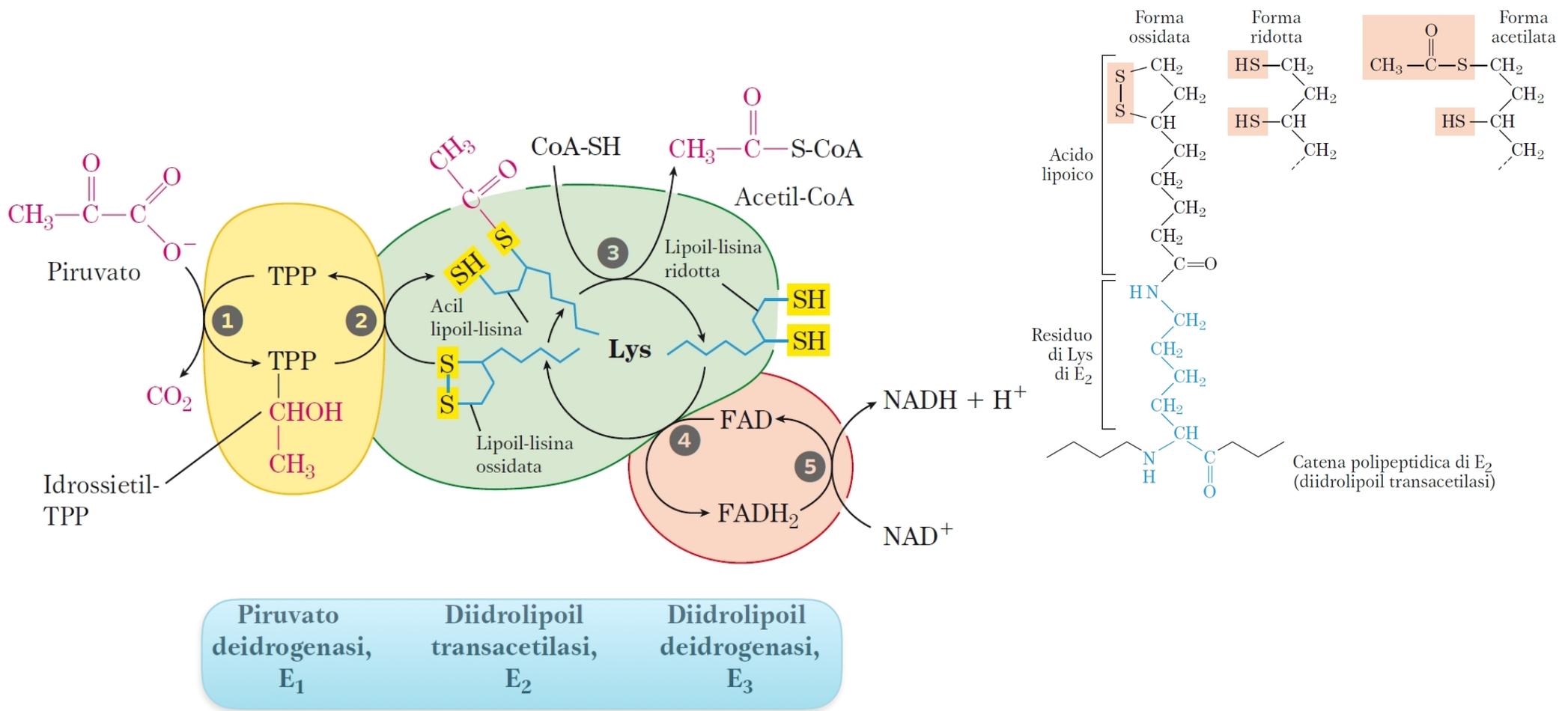


Coenzima A

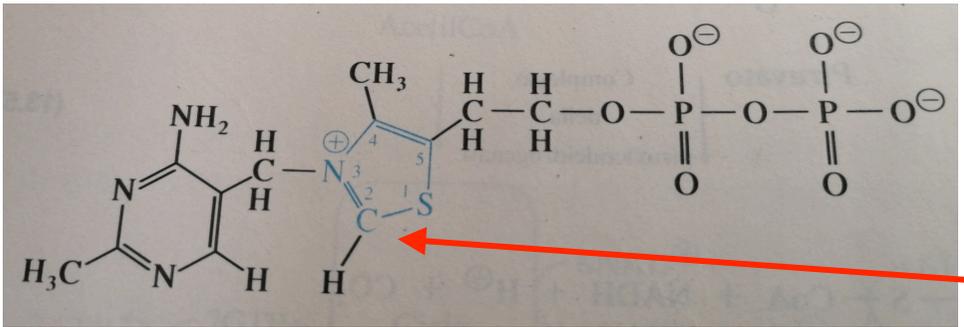


Tioesteri: composti ad alto contenuto energetico. Gruppo R-S- buon gruppo uscente in reazioni di sostituzione nucleofila

Piruvato deidrogenasi (PDH)



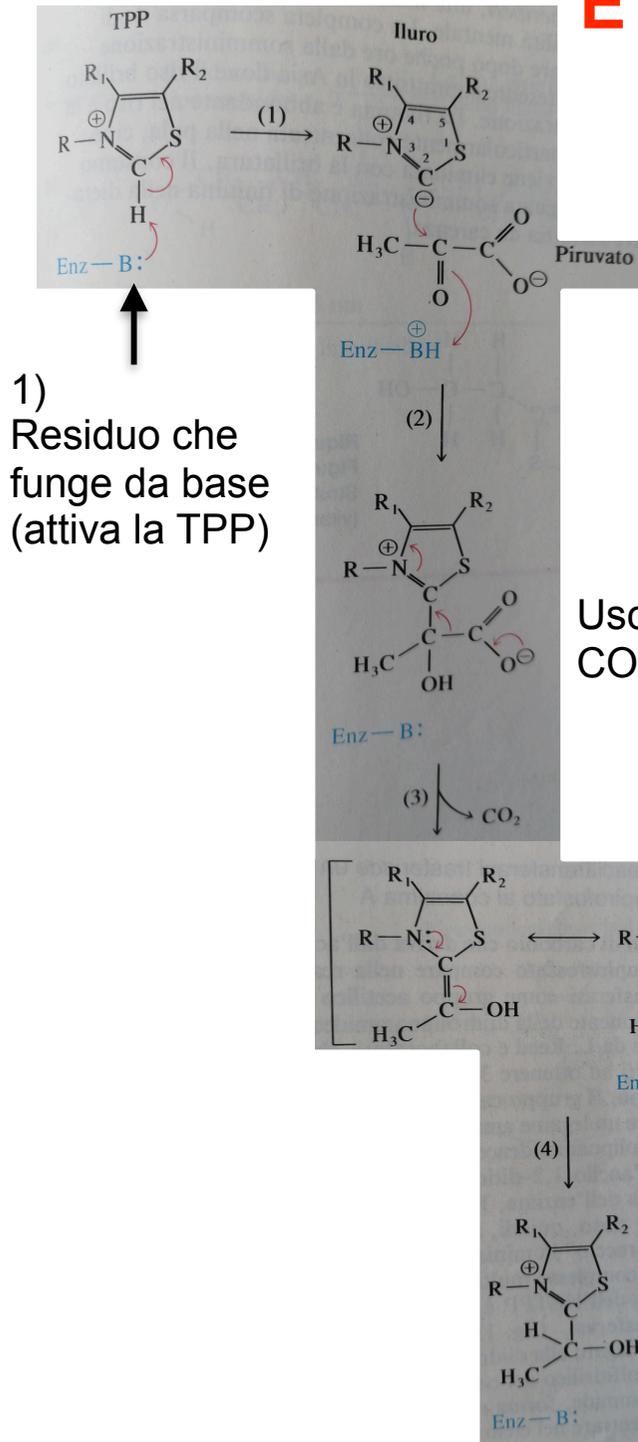
Piruvato deidrogenasi, E₁ Diidrolipoil transacetilasi, E₂ Diidrolipoil deidrogenasi, E₃



TPP: tiamina pirofosfato (già vista nella fermentazione)

Fortemente acido => carbanione => attacco nucleofilo sul piruvato

E1: piruvato deidrogenasi - meccanismo



1) Residuo che funge da base (attiva la TPP)

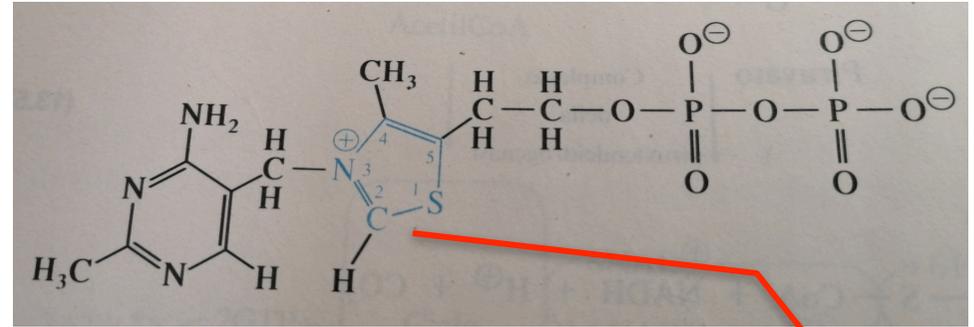
2) Attacco nucleofilo da parte della TPP

Uscita delle CO₂

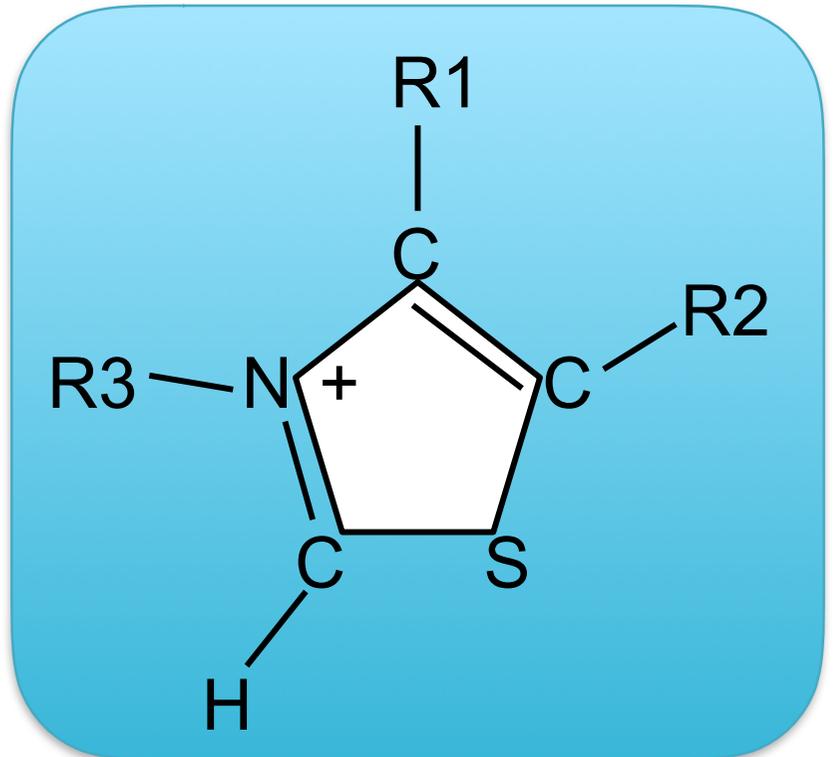
TPP: tiamina pirofosfato

Fortemente acido => carbanione

Stabilizzazione per delocalizzazione di carica da parte dell'anello tiazolico della TPP



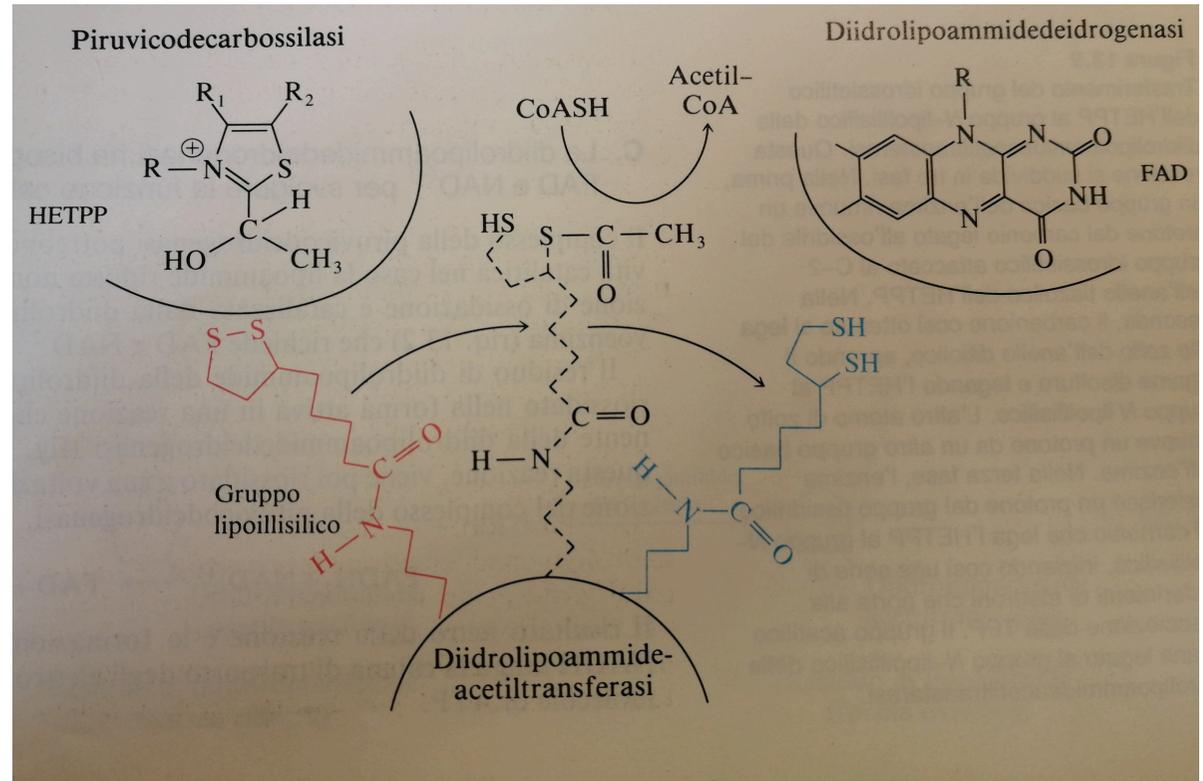
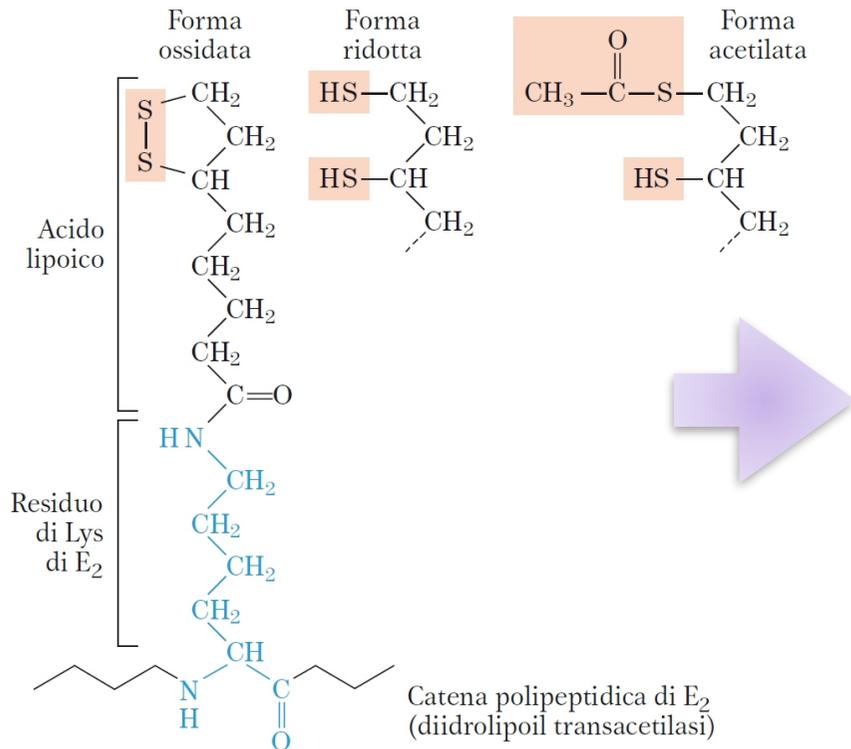
(Anello Tioazolico)



Trasferimento dell'acetile

Diidrolipoil transacetilasi (E2)

FAD: necessario per riossidare gruppo lipoillsilico dopo il trasferimento del gruppo acetile su coA
RIGENERAZIONE

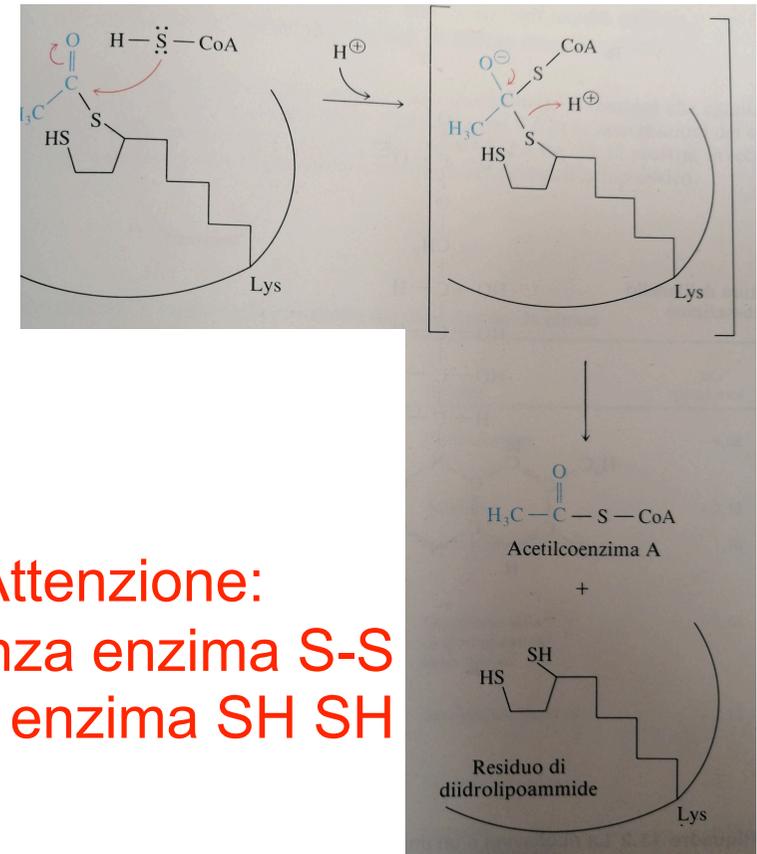
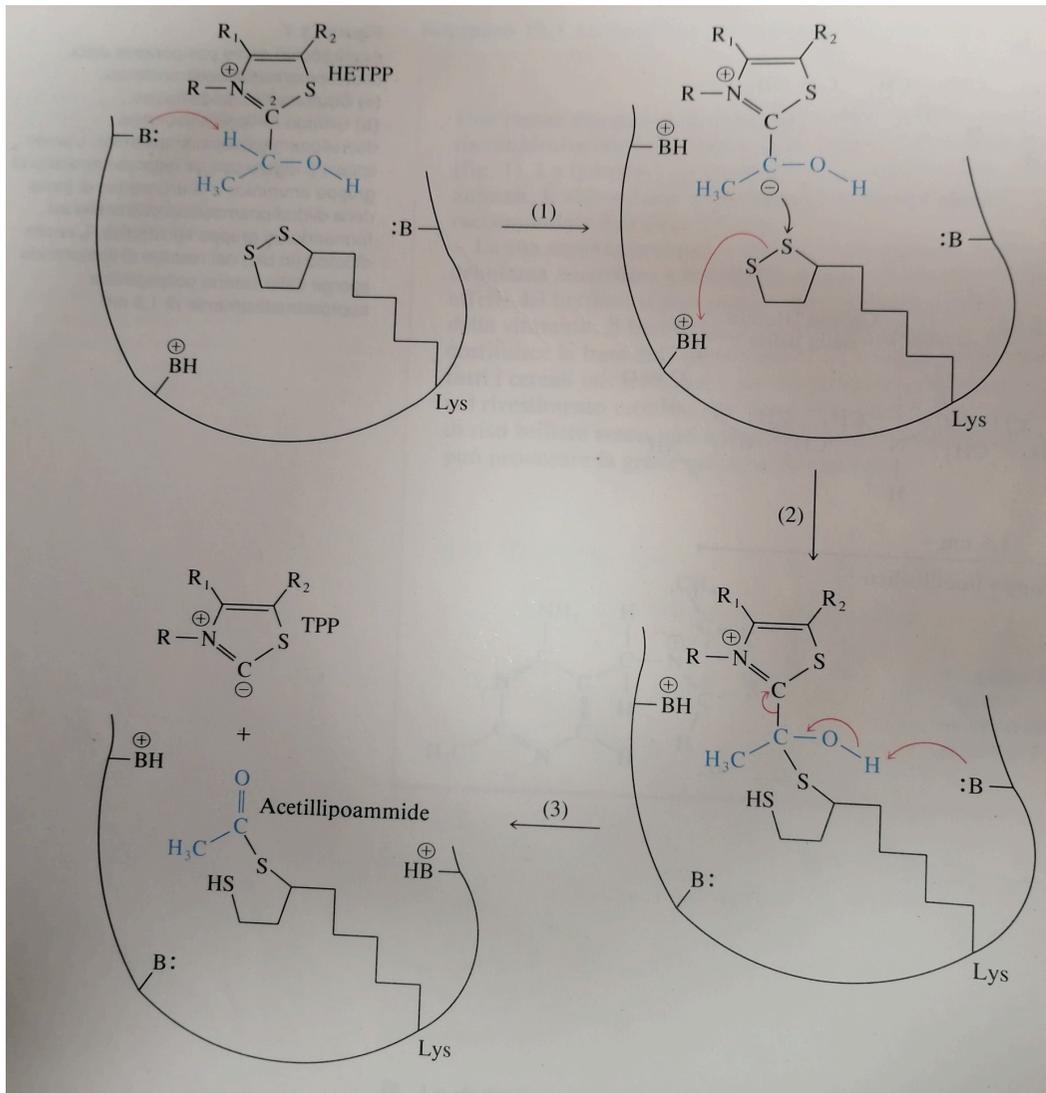


La lisina e acido lipoico costituiscono un braccio mobile molto lungo che permette la "movimentazione" del gruppo acetilico (il suo prelievo dalla decarbossilasi, il suo rilascio sul CoA e la rigenerazione della stessa molecola al termine dell'operazione (riossidazione))

Trasferimento dell'acetile

Diidrolipoil transacetilasi (E2)

L'enzima prima accetta sul suo gruppo N-lipoillsilico l'acetile per poi cederlo al coA



Attenzione:
Partenza enzima S-S
Arrivo enzima SH SH

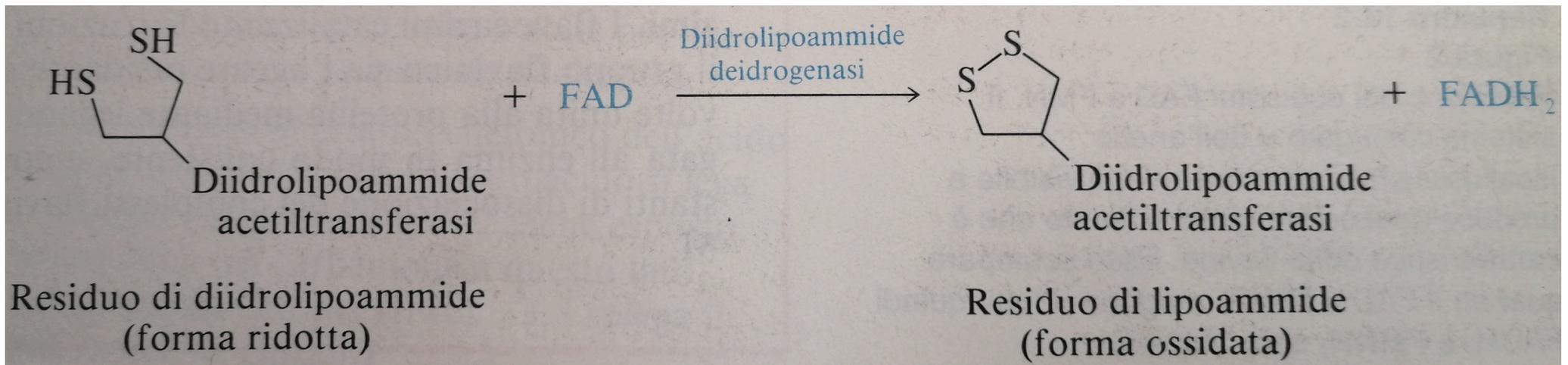
Attraverso FAD
viene riossidato a S-S

Rigenerazione dello stato ossidato della diidrolipoamide acetiltrasferasi

Diidrolipoammide deidrogenasi (E3)

Dopo il trasferimento
Del gruppo acetile

Forma in grado di
accettare il gruppo acetile

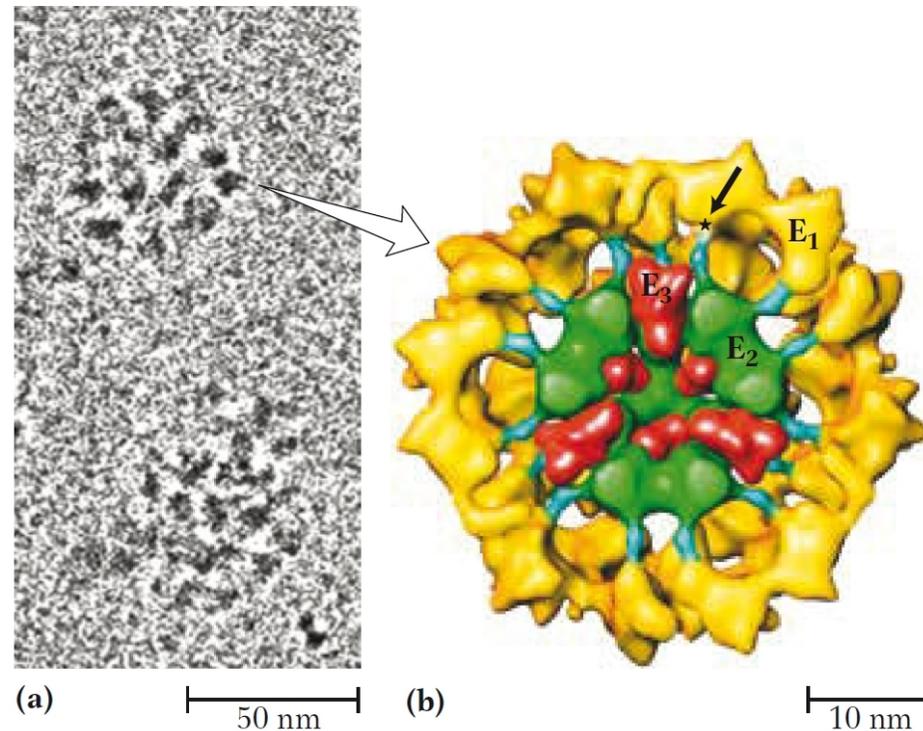


FAD, strettamente associato alla Diidrolipoammide deidrogenasi (E3).
Successivamente gli elettroni vengono trasferiti al NAD⁺ (libero di diffondere)

Incanalamento del substrato

Microscopio
Crioelettronico

Particelle visualizzate da più
angolazioni e successivamente
Le immagini vengono combinate
assieme per dare una
visualizzazione 3D



Il complesso della PDH è formato da numerose unità di E1, E2 ed E3. Intermedi di reazione passano da un enzima all'altro nel contesto del complesso (non diffondono)
=> concentrazione locale **MOLTO ELEVATA.**
Maggiore è la concentrazione maggiore è la probabilità di incontri produttivi substrato-enzima

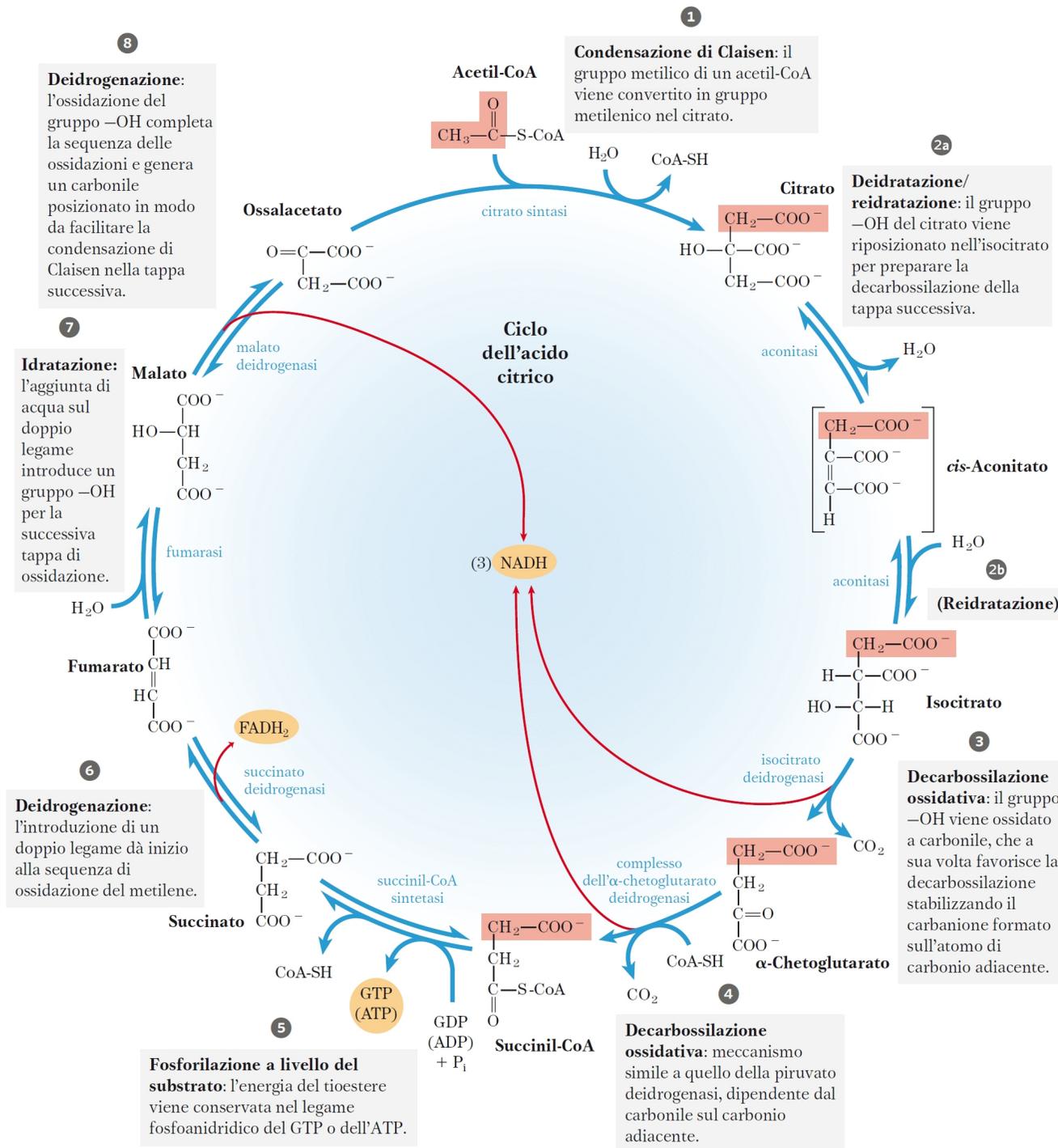
Complessi multienzima - strategia funzionale

- 1) **Accelerare** la reazione (nel caso intermedi siano molto grandi e con bassi coefficienti di diffusione);
- 2) **Incanalare** gli intermedi in una via. Utile quando intermedi sono comuni a più vie;
- 3) Utili se gli **intermedi** sono **tossici** o **instabili**;
- 4) Evitare **reazioni non desiderate**;
- 5) Riuscire a portare a termine **trasformazioni “difficili”**.

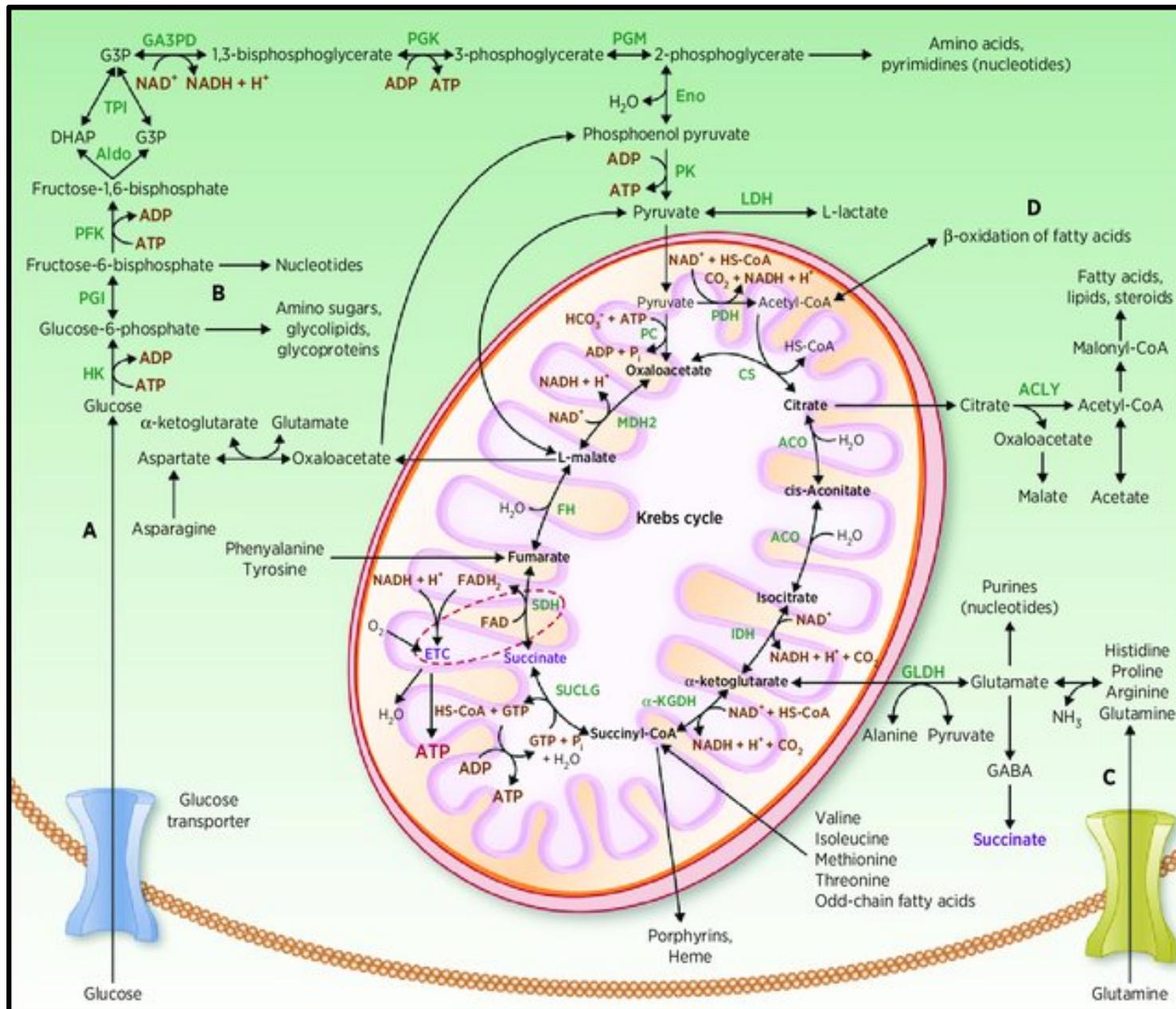
Due metodi per incanalare i substrati:

- a) posizionare gli intermedi in “canali molecolari”...diffusione in una dimensione piuttosto che in 3D (vincolati tramite interazioni di tipo non covalenti);
- b) Legare gli intermedi mediante braccia mobili (gruppi prostetici). Esempi di questi gruppi prostetici sono la biotina, l'acido pantotenico e l'acido lipoico (**appena visto**)!

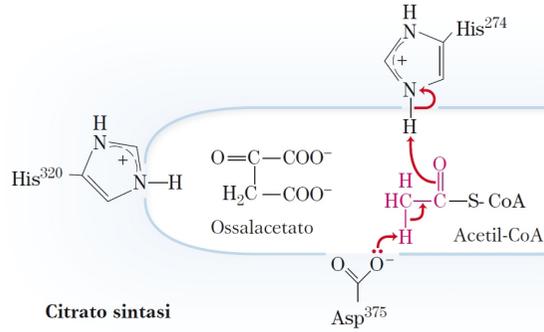
Panoramica sul ciclo dell'acido citrico (8 reazioni)



Ciclo dell'acido citrico: ciclo **compartimentalizzato** nel **mitocondrio**

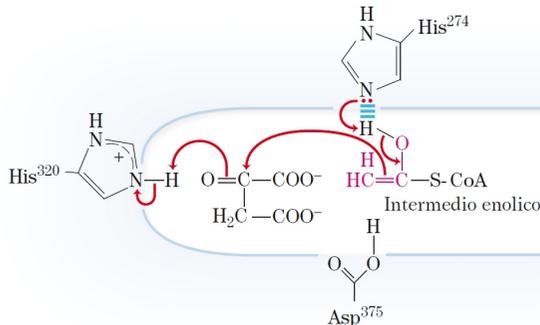


Ciclo dell'acido citrico: Citrato sintasi (1°)



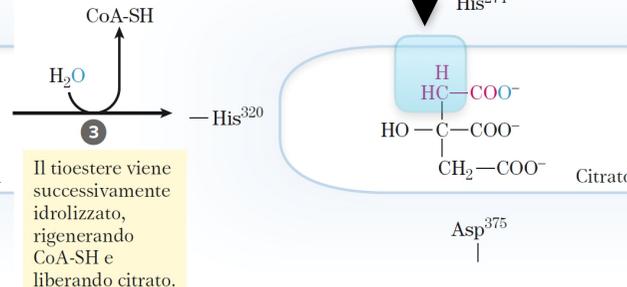
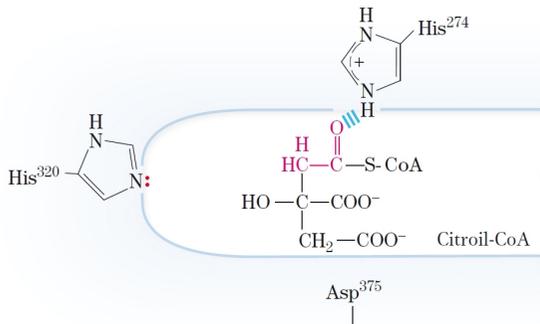
Il legame tioestere dell'acetil-CoA attiva gli idrogeni metilici e l'Asp³⁷⁵ estrae un protone dal gruppo metilico formando un intermedio enolato. L'intermedio è stabilizzato da un legame idrogeno e/o dalla protonazione dall'His²⁷⁴ (viene mostrata la protonazione completa).

1



L'enol(at)o si riarrangia per attaccare l'atomo di carbonio del gruppo carbonilico dell'ossalacetato, con l'His²⁷⁴ posizionata in modo tale da estrarre il protone che aveva precedentemente ceduto. L'His³²⁰ si comporta come un acido semplice. La condensazione genera citroil-CoA.

2



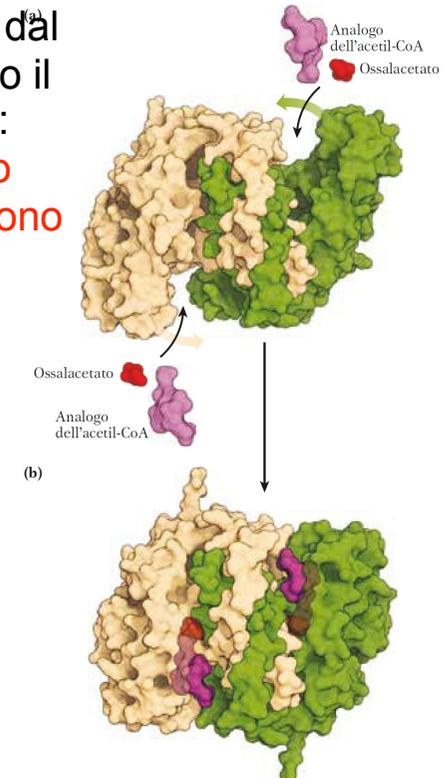
Il tioestere viene successivamente idrolizzato, rigenerando CoA-SH e liberando citrato.

Scopo:

Trasformare gruppo metilico in gruppo metilenico.
 CH₃ (non reattivo) in -CH₂-
 Posizionarlo in modo "strategico"

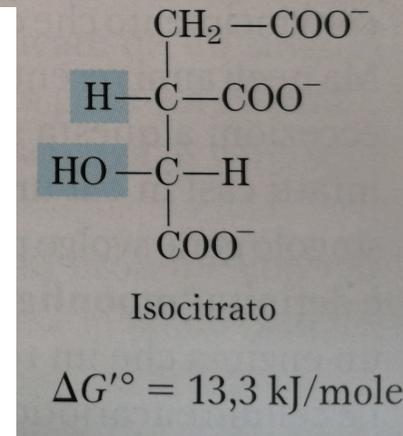
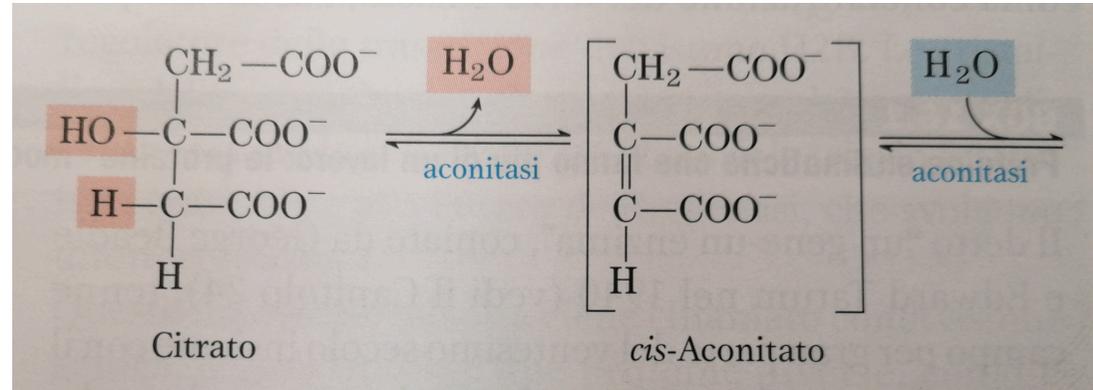
Notare l'intervento delle catene laterali della citrato sintasi nel favorire i riarrangiamenti dei legami (His320, His274 e Asp375)

Modificazioni conformazionali indotte dal legame con l'ossalacetato permettono il successivo legame con acetil-CoA:
 NB: His320, His274 e Asp375 sono distanti nella sequenza primaria ma sono giustapposti nel sito catalitico



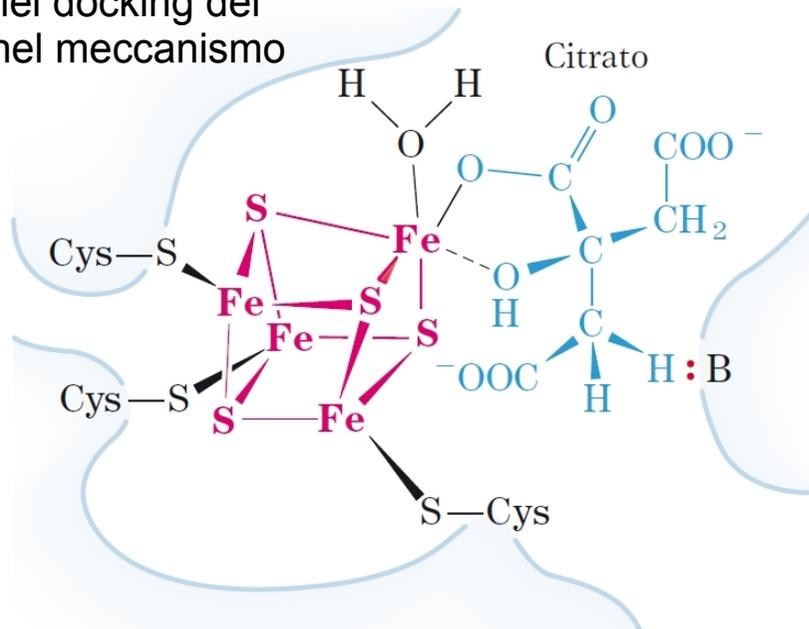
Gruppo metilenico

Ciclo dell'acido citrico: Aconitasi (2°)



Centro Ferro-Zolfo

Interviene sia nel docking del substrato che nel meccanismo enzimatico



Proteine “moonlighting”
(che hanno secondo lavoro)
Aconitasi L'isoenzima citosolico
svolge sia la sua attività di
enzima ma anche **seniore** della
concentrazione di ferro

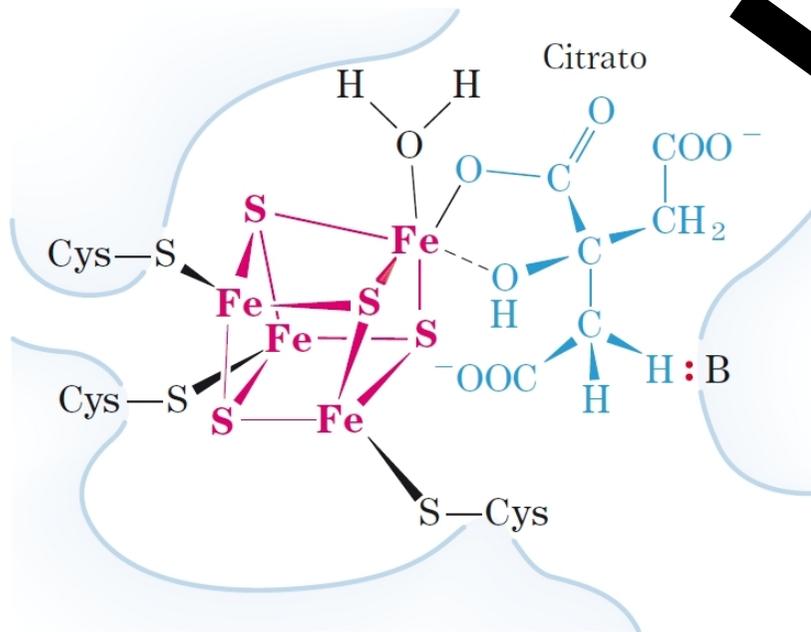
Sistema di trasporto e stoccaggio Ferro (Fe)

Transferrina (legame Fe nel sangue)

Transferrina: endocitosi mediata da recettore (**Recettore transferrina**)

Transferrina cede Fe a **Ferritina** (deposito intracellulare)

Aconitasi



IRP1 (apoaconitasi)

mRNA-binding protein:

Stabilizza mRNA **recettore transferrina**

Favorisce degradazione mRNA **Ferritina**

=>

Fe trasportato e reso disponibile

Calo [Fe] => perdita centro ferro/zolfo => cambio funzione