



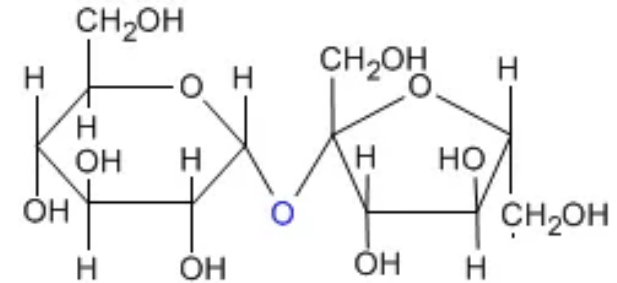
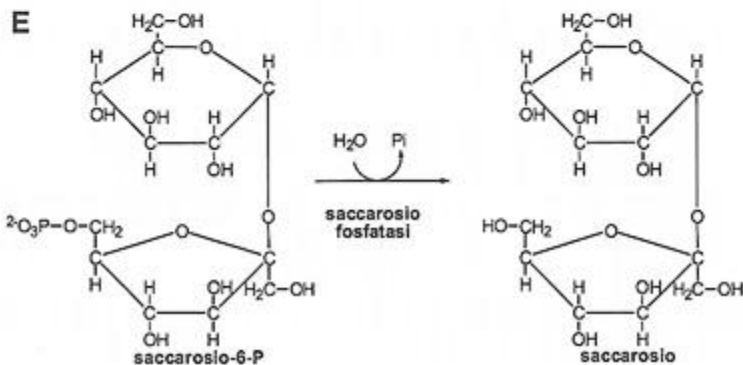
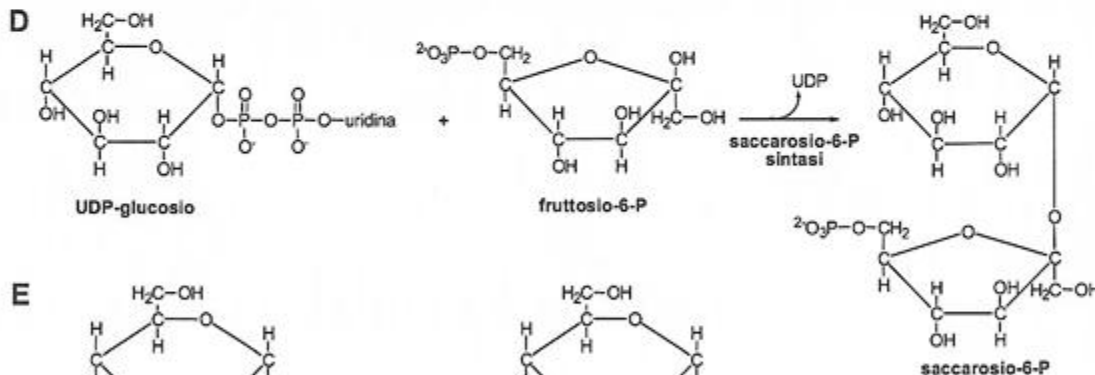
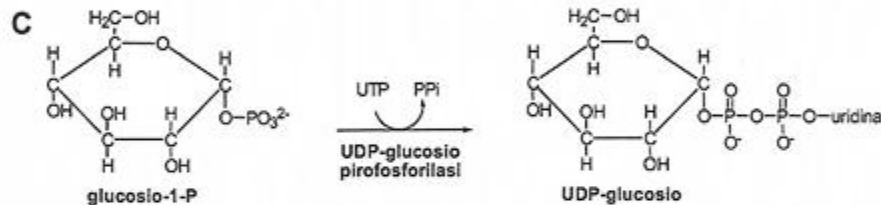
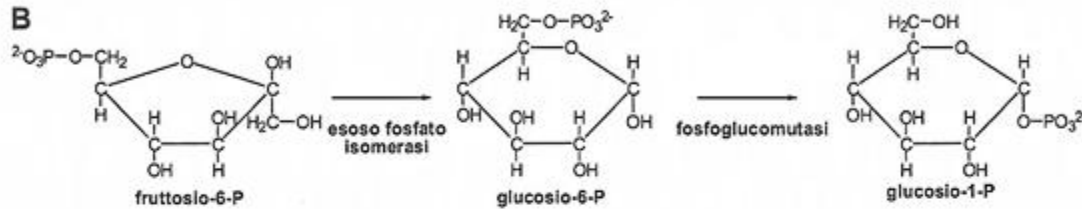
Sintesi del
saccarosio,
dell'amido e del
trealosio

A

Diagram illustrating the chemical structures and reaction of the first step of glycolysis:

Reaction 1: Glyceraldehyde-3-P + Dihydroxyacetone fosfato $\xrightleftharpoons{\text{transaldolasi}}$ Fruttosio-1,6-bisfosfato

Reaction 2: Fruttosio-1,6-bisfosfato $\xrightarrow{\text{fruttosio-1,6-bisfosfatasi}}$ Fruttosio-6-P + Pi



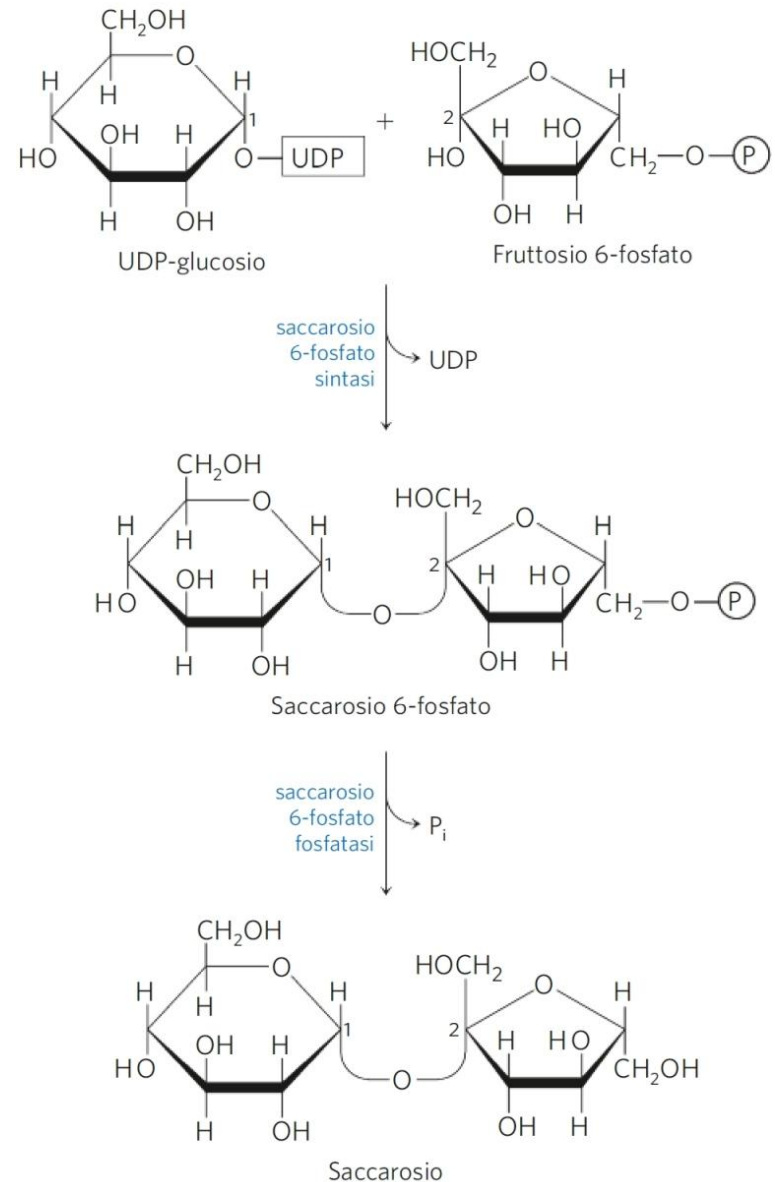
Sintetizzato nel citosol e trasportato attraverso il floema ai diversi tessuti che necessitano di energia e scheletri carboniosi.

La maggior parte dei triosi fosfato che si formano nelle piante mediante il processo di fissazione della CO_2 viene convertita in saccarosio o amido.

Sintesi del saccarosio

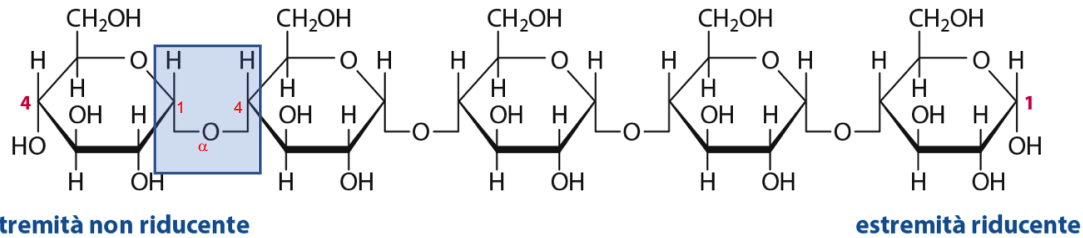
Il saccarosio viene sintetizzato dal glucosio attivato (UDP-glucosio) e dal fruttosio 6-fosfato, che si formano dai triosi fosfato nel citosol delle cellule delle piante.

Nella maggior parte delle piante la saccarosio 6-fosfato sintasi viene regolata allostericamente dal glucosio 6-fosfato e dal P_i

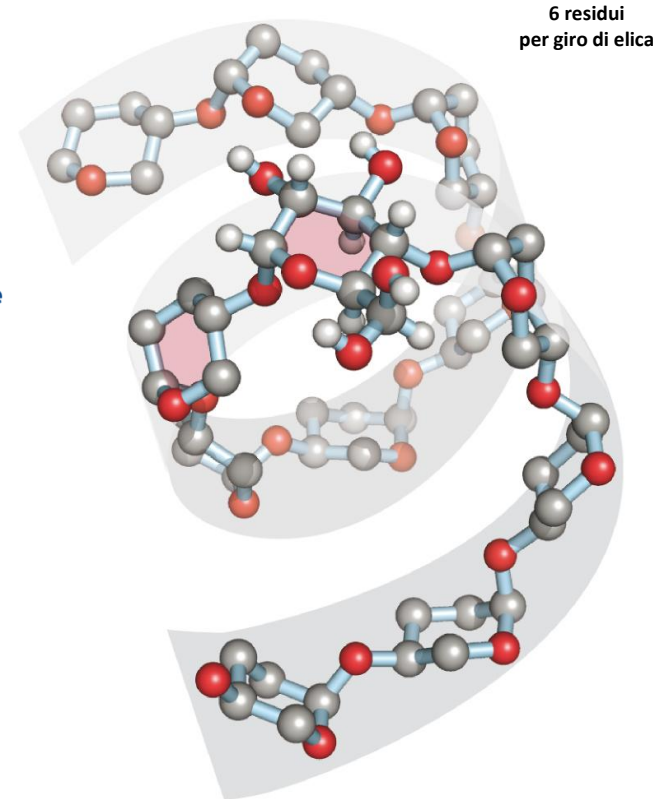
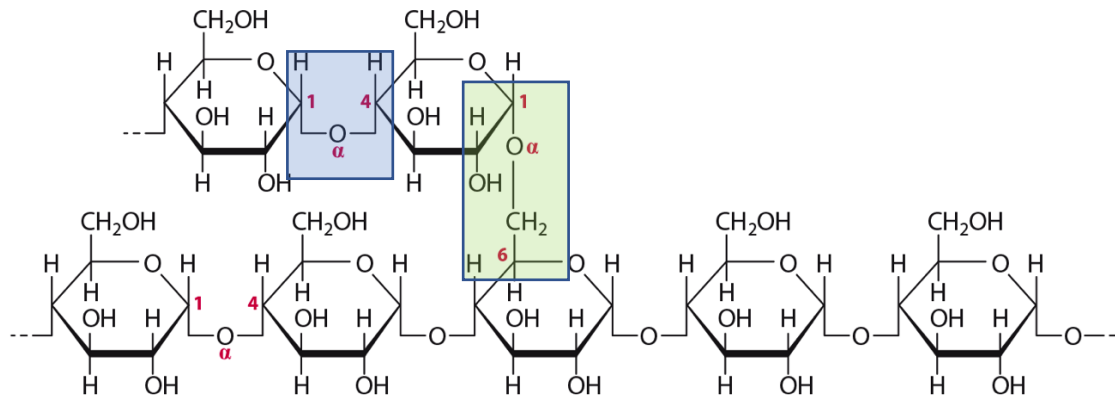


L'amido

amilosio

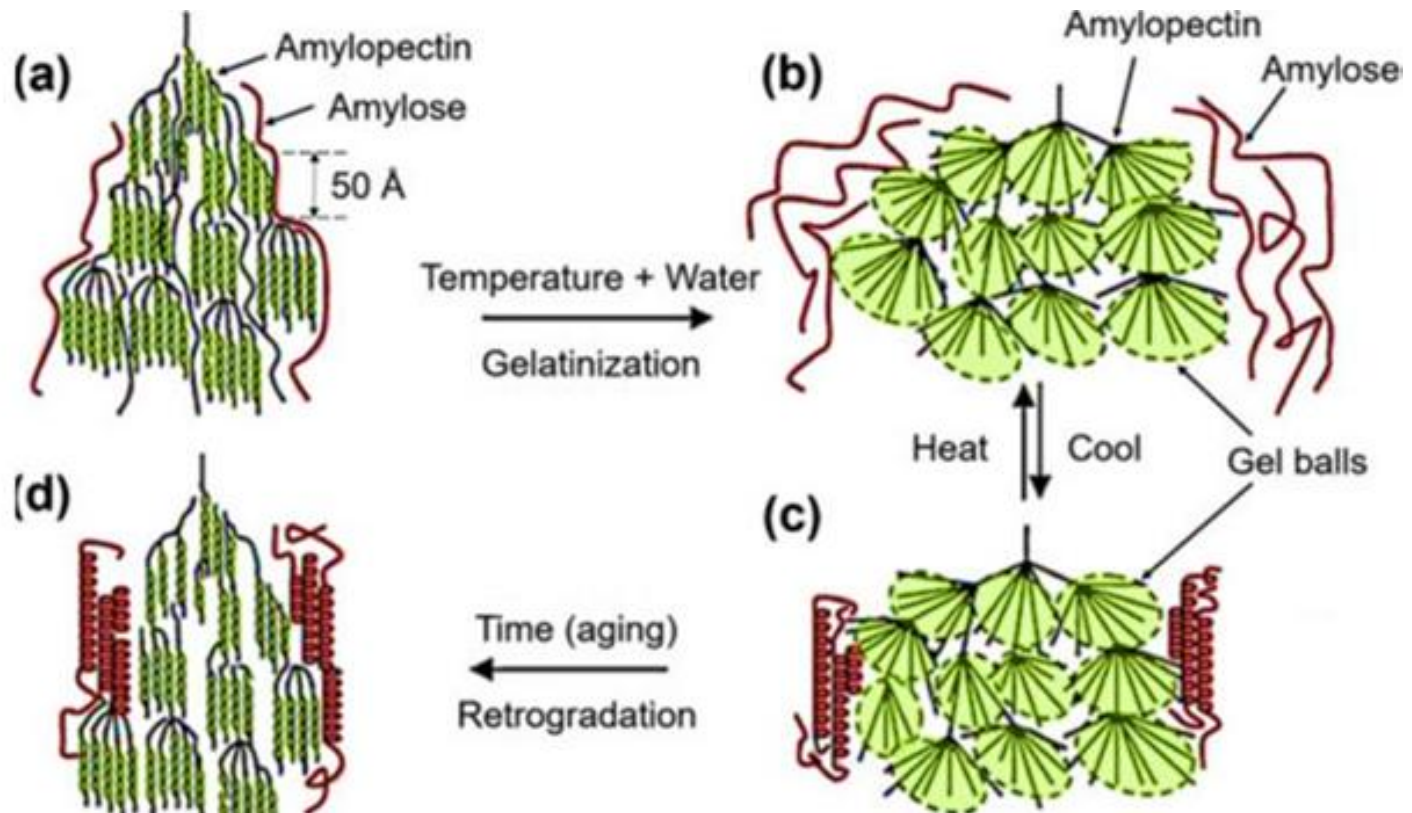


amilopectina



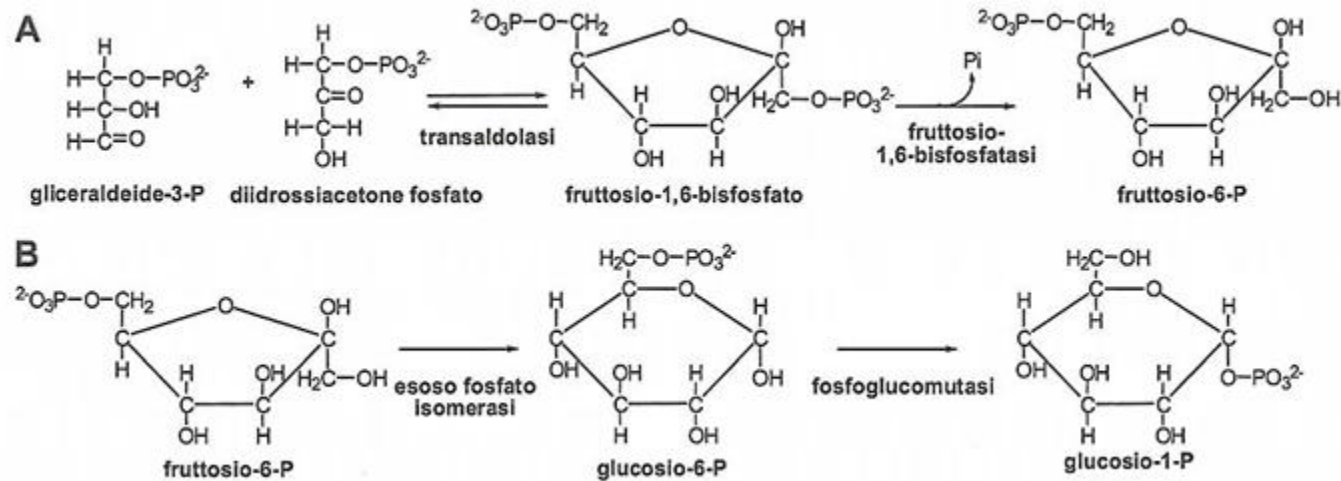
I due tipi di legami presenti nella molecola di amido: il legame α 1-4, presente nelle catene di amilosio, e il legame α 1-6, che permette le ramificazioni che caratterizzano le molecole di amilopectina.

L'amido



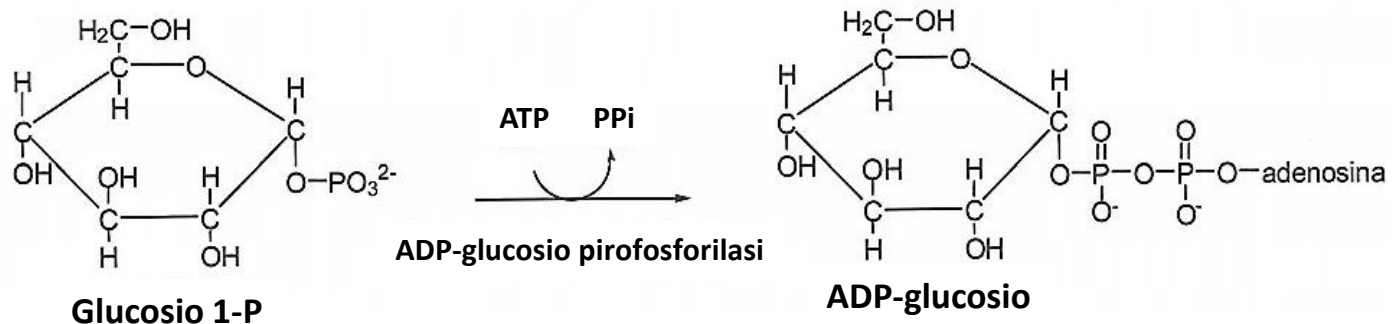
Neha J. Hirpara and M. N. Dabh. A Review on Effect of Amylose/Amylopectin, Lipid and Relative Humidity on Starch Based Biodegradable Films. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* (2021) 10(04): 500-531. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1004.051>

Sintesi dell'amido

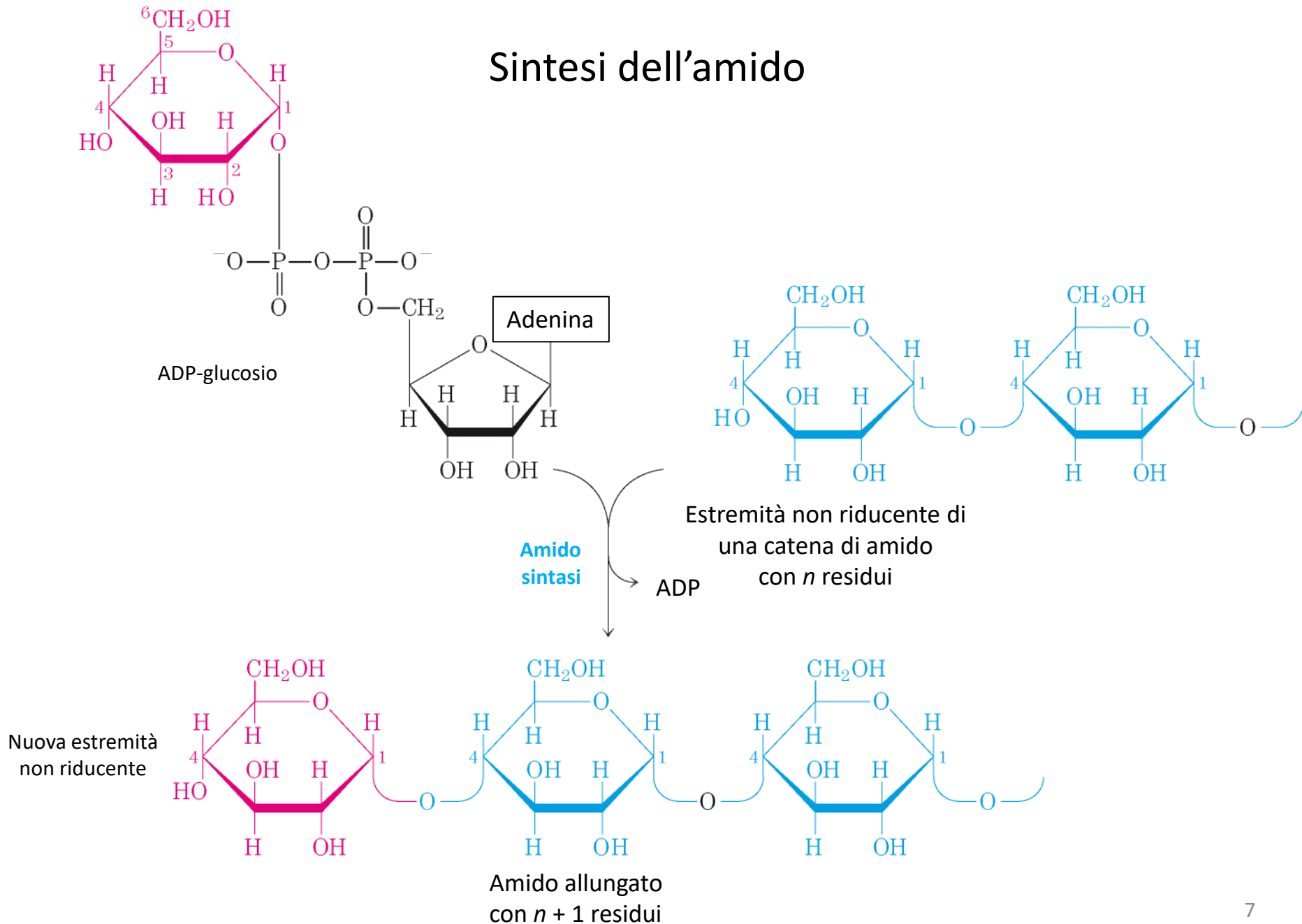


La sintesi dell'amido avviene nei plastidi a partire dal fruttosio 1,6 bisfosfato

Sintesi dell'ADP-glucosio



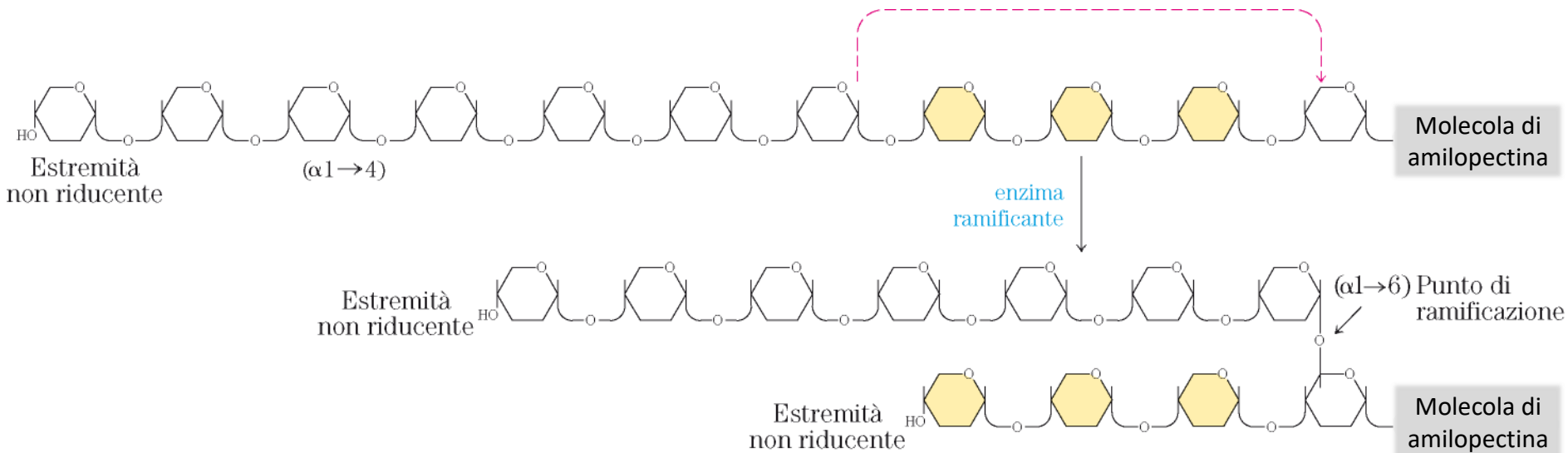
Sintesi dell'amido



Formazione delle ramificazioni nella molecola di amido

L'enzima ramificante introduce le ramificazioni α 1,6 nella molecola di amilopectina.

Catalizza il trasferimento di un segmento terminale di 6 o 7 residui glucosidici dall'estremità non riducente di una catena lineare di amilopectina.

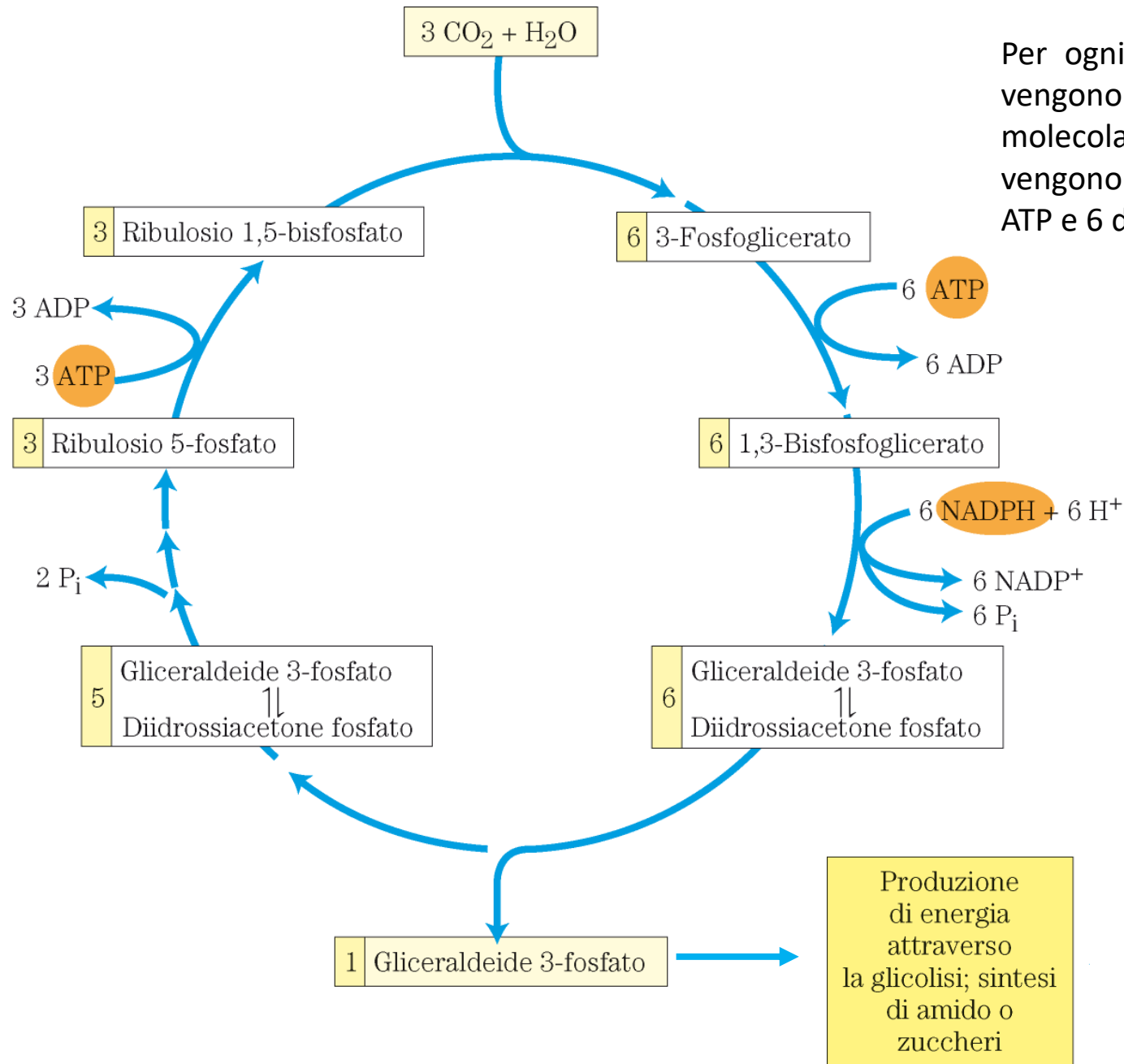


La reazione complessiva della sintesi dell'amido a partire da glucosio 1-fosfato è:



$$\Delta G'^{\circ} = -50 \text{ kJ/mole}$$

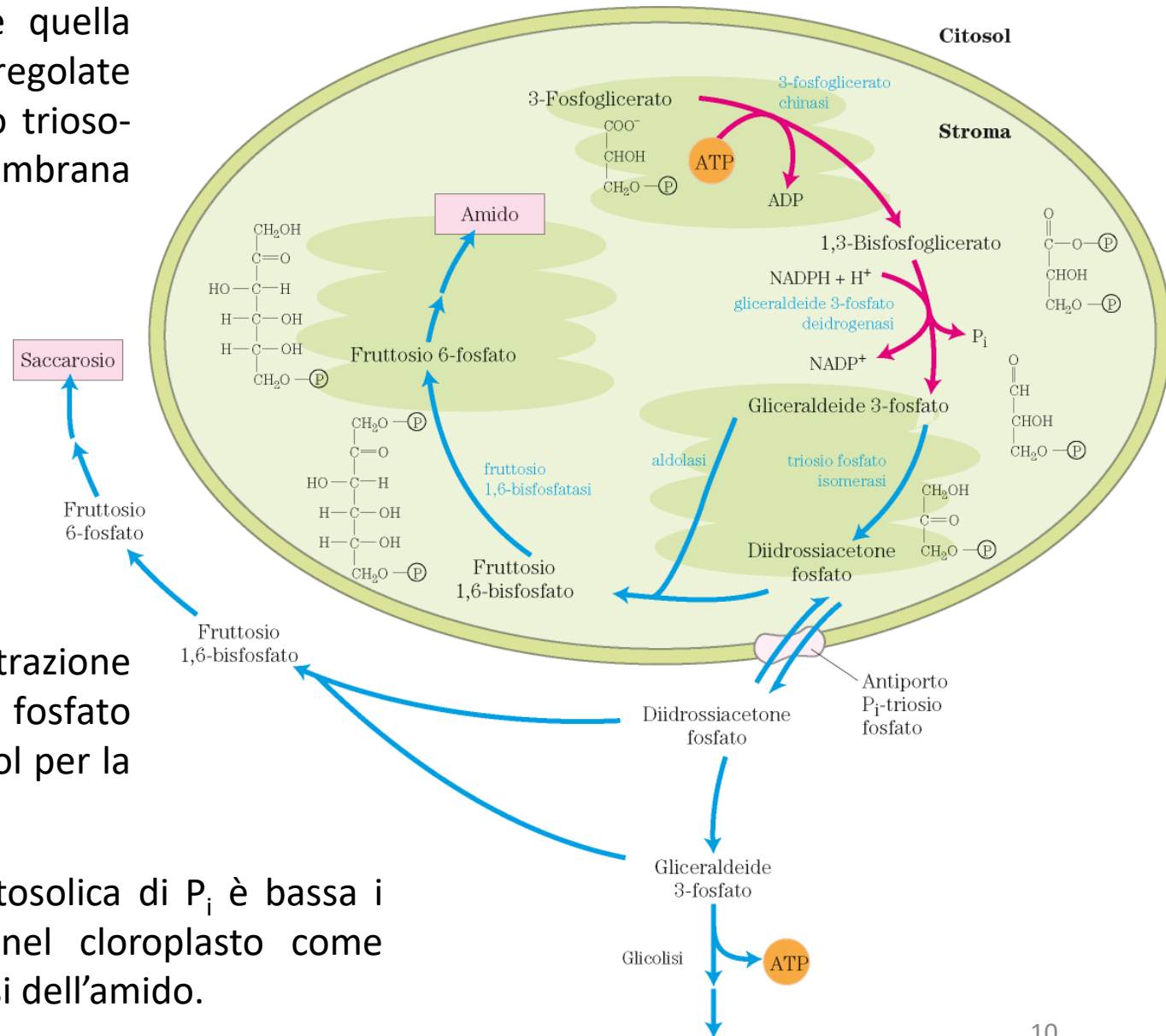
Stechiometria della fissazione della CO₂ attraverso il ciclo di Calvin



Per ogni 3 molecole di CO₂ che vengono fissate si forma 1 molecola di gliceraldeide fosfato e vengono consumate 9 molecole di ATP e 6 di NADPH.

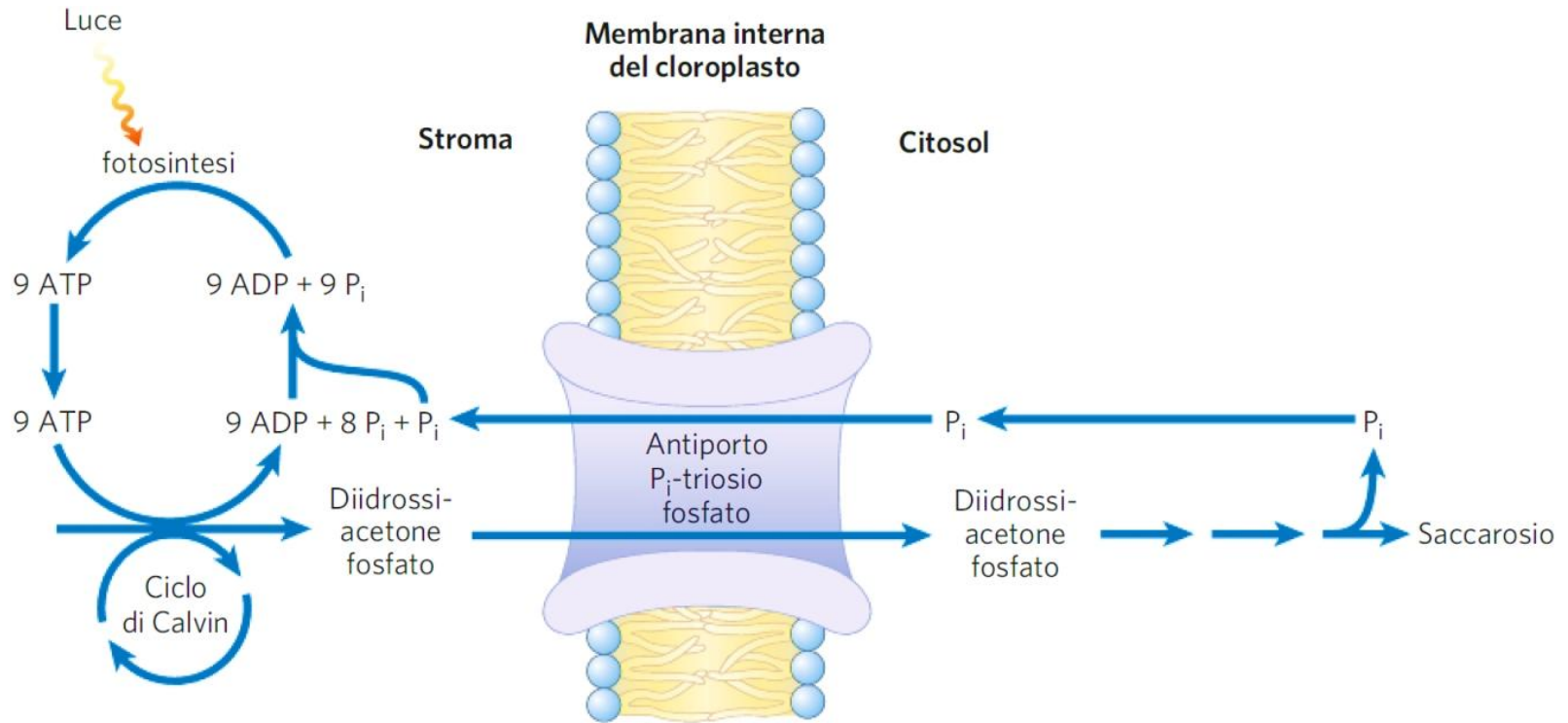
Regolazione della sintesi di amido e saccarosio

La sintesi dell'amido e quella del saccarosio, sono regolate dal sistema di antiporto trioso-P/Pi presente sulla membrana del cloroplasto.

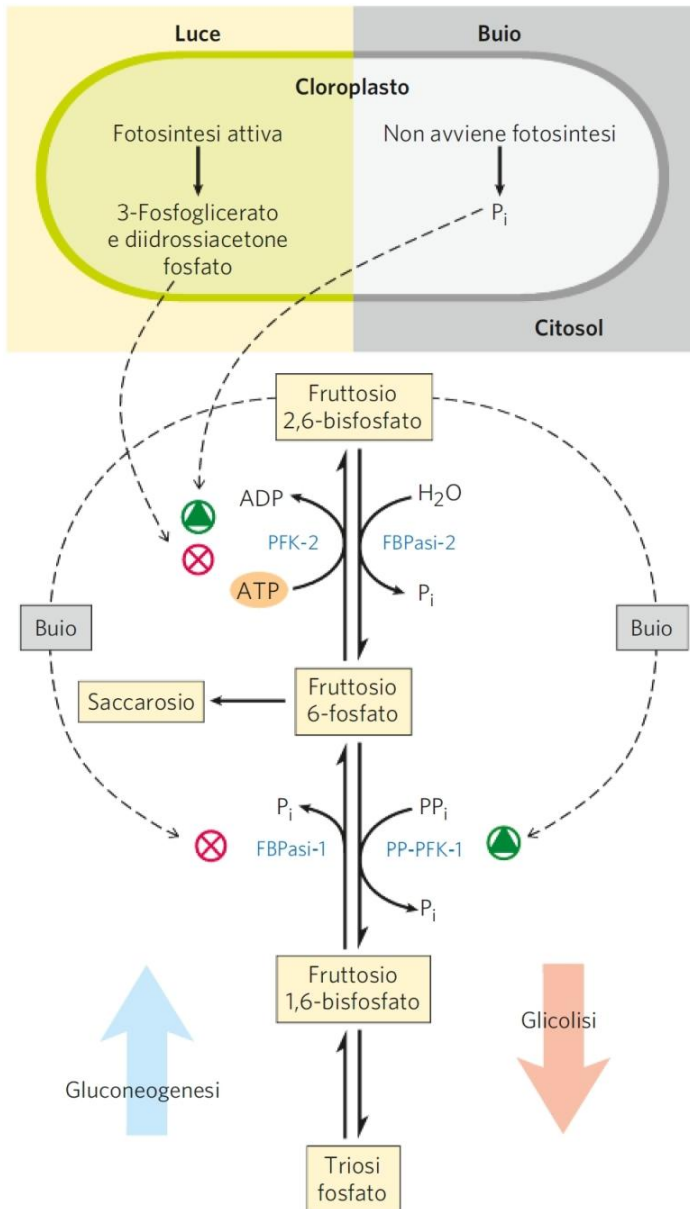


Se nel citosol la concentrazione di P_i è elevata i triosi fosfato sono esportati nel citosol per la sintesi del saccarosio.

Se la concentrazione citosolica di P_i è bassa i triosi fosfato restano nel cloroplasto come substrati per la biosintesi dell'amido.



L'antiporto P_i -triosio fosfato della membrana interna del cloroplasto: questo trasportatore facilita lo scambio del P_i citosolico con il diidrossiacetone fosfato dello stroma. I prodotti dell'assimilazione fotosintetica del carbonio vengono trasferiti nel citosol, dove vengono utilizzati per la sintesi di saccarosio; contemporaneamente il P_i necessario per la fotofosforilazione entra nello stroma. Lo stesso antiporto può trasportare il 3-fosfoglicerato e agire indirettamente da sistema navetta per l'esportazione di ATP e di equivalenti riducenti.



Il fruttosio 2,6-bisfosfato regola la sintesi del saccarosio

Il flusso dei triosi fosfati verso la sintesi del saccarosio è regolato dalla fruttosio 1,6-bisfosfatasi (FBPasi-1) e dalla fosfofruttochinasi 1 (PP-PFK-1), entrambe modulate dal fruttosio 2,6-bisfosfato (F2,6BP): il F2,6BP inibisce la FBPasi-1 (gluconeogenesi) e stimola la PP-PFK-1 (glicolisi).

La PFK-2, che produce F2,6BP, è stimolata dal fruttosio 6-fosfato e dal P_i, ed è inibita dal diidrossiacetone fosfato e dal 3-fosfoglicerato.

Durante la fotosintesi, il consumo di P_i e la produzione di diidrossiacetone fosfato riducono l'attività della PFK-2, abbassando la concentrazione di F2,6BP e favorendo il flusso dei triosi fosfati verso il fruttosio 6-fosfato e la sintesi del saccarosio.

La sintesi del saccarosio è regolata anche a livello della saccarosio 6-fosfato sintasi (SPS), che viene attivata allostericamente dal glucosio 6-fosfato e inibita dal P_i .

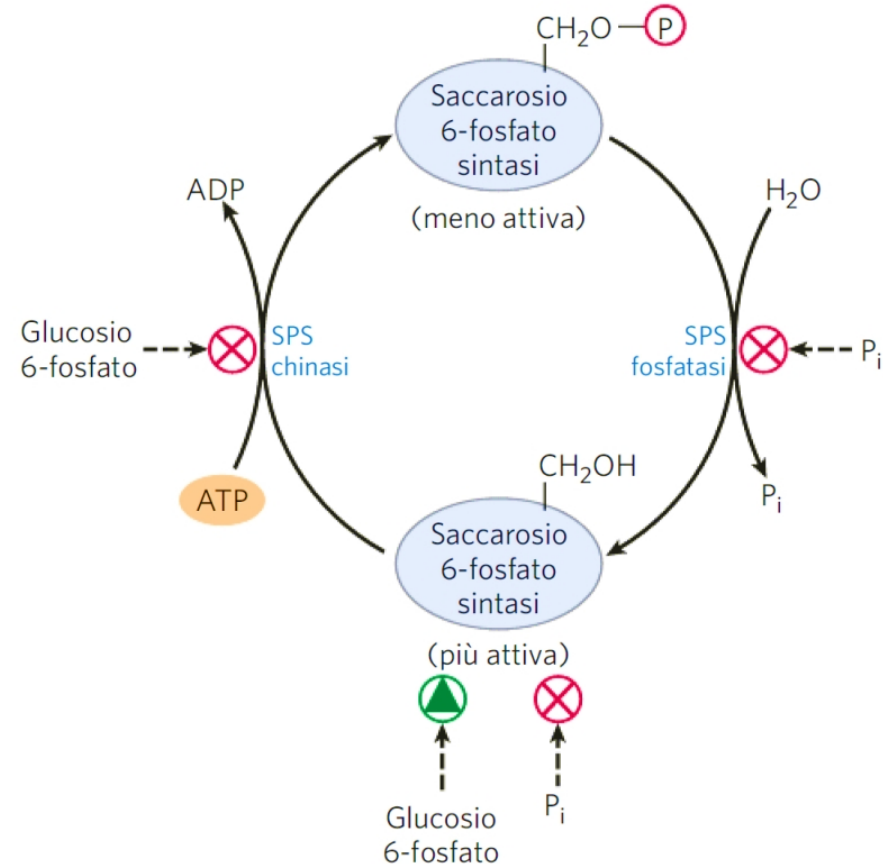
L'enzima è ulteriormente regolato da fosforilazione e defosforilazione: la proteina chinasi (SPS chinasi) fosforila un residuo specifico di Ser della SPS rendendola meno attiva, mentre la fosfatasi (SPS fosfatasi) rimuove il gruppo fosfato e ne ripristina l'attività.

La SPS chinasi è inibita allostericamente dal glucosio 6-fosfato, che contemporaneamente stimola la SPS.

La SPS fosfatasi è invece inibita dal P_i , che agisce anche direttamente sull'enzima.

Durante la fotosintesi, l'elevata concentrazione di glucosio 6-fosfato mantiene attiva la SPS, favorendo la produzione di saccarosio fosfato, mentre un aumento del P_i , associato al rallentamento della conversione di ADP in ATP, inibisce la sintesi di saccarosio fosfato.

Regolazione mediante fosforilazione della saccarosio fosfato sintasi (SPS)



Regolazione della saccarosio fosfato sintasi (SPS)

In condizioni di poca luce si attiva la proteina chinasi e la SPS viene fosforilata, è meno attiva e diminuisce la velocità di sintesi del saccarosio. Questo impedisce che la pianta consumi risorse energetiche quando la fotosintesi è bassa.

Il fosfato fosfato (P_i) è un' inibitore allosterico; è il segnale di bassa energia cellulare. Quando i livelli di P_i sono alti nel citoplasma la fotosintesi è lenta e la velocità della sintesi del saccarosio diminuisce. Si producono pochissimi triosi-fosfati nel cloroplasto e il trasporto triosi-P al citosol si riduce, di conseguenza, arriva meno substrato nel citosol per sintetizzare saccarosio. L'inibizione della fosfatasi da parte del fosfato inorganico rafforzano l'inibizione della sintesi. La pianta sintetizza saccarosio solo quando ha energia e carbonio in eccesso.

In presenza di luce si attiva la fosfatasi e la SPS viene attivata tramite defosforilazione, l'enzima diventa molto attivo e molte molecole di triosi fosfato vengono convertite in saccarosio.

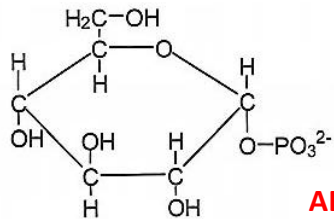
Quando vi è abbondanza di esosi fosfato, la saccarosio 6-fosfato sintasi viene attivata dal glucosio 6-P. Il Glucosio-6-fosfato è un potente attivatore allosterico; inibisce la SPS chinasi e aumenta l'affinità dell'enzima per i substrati.

Regolazione della sintesi dell'amido

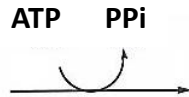
La sintesi dell'amido è favorita quando la bassa concentrazione di P_i nel citosol limita l'esportazione di triosi fosfato al di fuori del cloroplasto.

 **3-Fosfoglicerato**

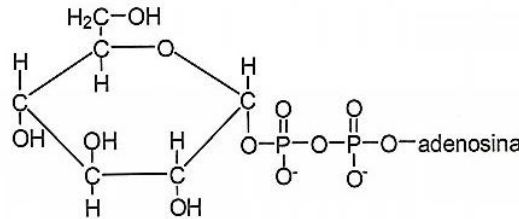
 **P_i**



Glucosio 1-P



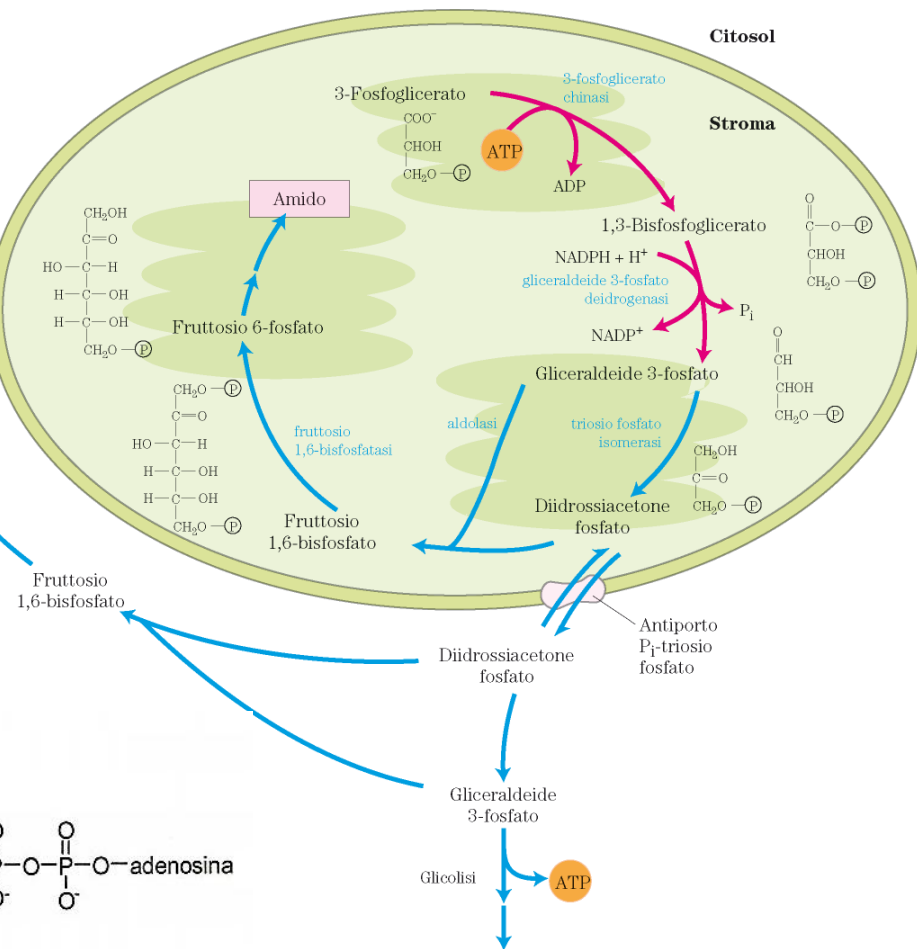
ADP-glucosio fosforilasi



ADP-glucosio

Saccarosio

Fruttosio 6-fosfato

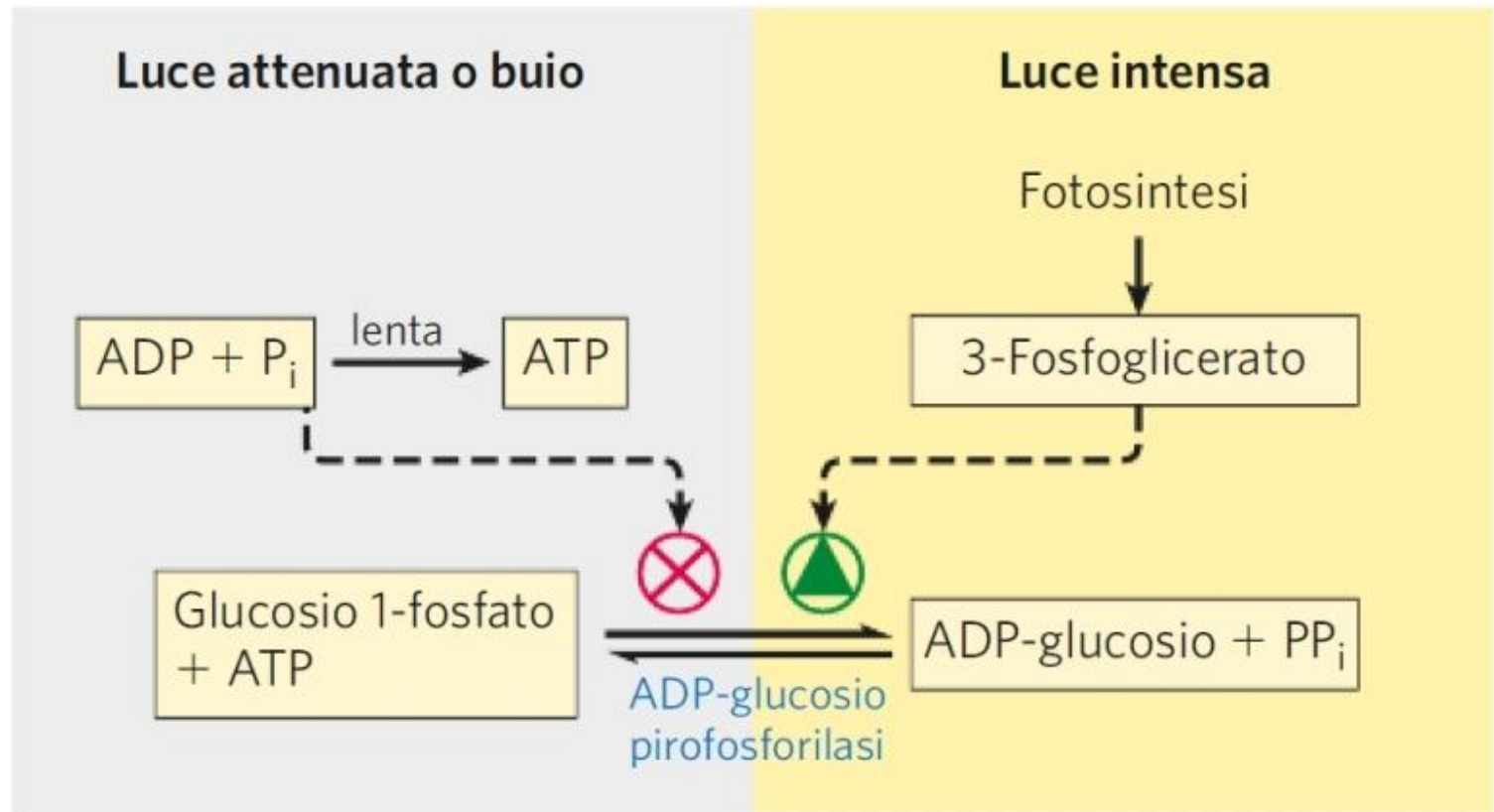


L'attivatore è il 3-fosfoglicerato (3-PGA) quale prodotto diretto della fotosintesi ed è il segnale di disponibilità di carbonio.

L'inibitori è il P_i (fosfato inorganico) quale segnale di basso livello energetico o di scarsa fissazione fotosintetica.

L'amido è accumulato temporaneamente nei cloroplasti, mentre negli amiloplasti è immagazzinato a lungo termine per fornire energia alla pianta quando necessario.

Regolazione dell'ADP-glucosio fosforilasi da parte del 3-fosfoglicerato e del P_i



L'enzima regolatore della sintesi dell'amido è l'ADP-glucosio pirofosforilasi che viene attivata dal 3-fosfoglicerato (che si accumula durante la fotosintesi) e inibita dal fosfato inorganico (che si accumula quando rallenta la condensazione di $ADP + P_i$ guidata dalla luce).

Quando la sintesi del saccarosio diminuisce, il 3-fosfoglicerato formato dalla fissazione della CO_2 si accumula, attivando questo enzima e stimolando la sintesi dell'amido.

CONCLUSIONI:

L'antiporto Pi-triosso fosfato della membrana interna del cloroplasto facilita lo scambio del P_i citosolico con il diidrossiacetone fosfato dello stroma; DHAP esce e il P_i (fosfato inorganico) entra.

Durante il giorno, soprattutto al mattino quando la richiesta energetica è alta:

Il P_i nel citoplasma è disponibile, quindi il trasportatore dei trioso-fosfati è attivo. Una parte dei trioso-fosfati esce dal cloroplasto e viene utilizzata per la sintesi del saccarosio.

la sintesi del saccarosio è attiva per tutto il giorno perché serve per:

- alimentare il floema
- nutrire foglie giovani, radici, frutti
- mantenere l'osmolarità cellulare

Quando il P_i rimane nel cloroplasto, la sintesi dell'amido aumenta **dalla metà della mattina e raggiunge il massimo nel pomeriggio**. Durante il giorno, l'enzima chiave ADP-glucosio pirofosforilasi (AGPasi) è nella sua forma ridotta, quindi attiva. In queste condizioni l'enzima produce ADP-glucosio, il precursore necessario alla sintesi dell'amido.

CONCLUSIONI:

Durante la notte:

La fotosintesi è ferma, quindi il Pi non entra più nei cloroplasti e la sua concentrazione interna diminuisce. L'antiporto Pi-triosio-fosfato non può funzionare in assenza di Pi, quindi il DHAP non può essere esportato.

L'enzima ADP-glucosio pirofosforilasi torna nella forma ossidata, che è inattiva. Di conseguenza non viene prodotto ADP-glucosio e la sintesi dell'amido si blocca. Anche se nel cloroplasto fosse presente DHAP, l'amido non potrebbe essere sintetizzato perché l'enzima chiave è inattivo.

La sintesi del saccarosio notturno non usa i triosi-fosfati, la pianta deve degradare l'amido per ottenere glucosio e maltosio, che serviranno a produrre saccarosio e sostenere il metabolismo notturno.

CONCLUSIONI:

La pianta NON consente che la sintesi del saccarosio e la sintesi dell'amido siano attive allo stesso tempo, perché il Pi verrebbe rapidamente consumato, con possibile:

- esaurimento del Pi
- blocco della fotosintesi, perché senza Pi non si rigenera ATP
- forte inefficienza energetica

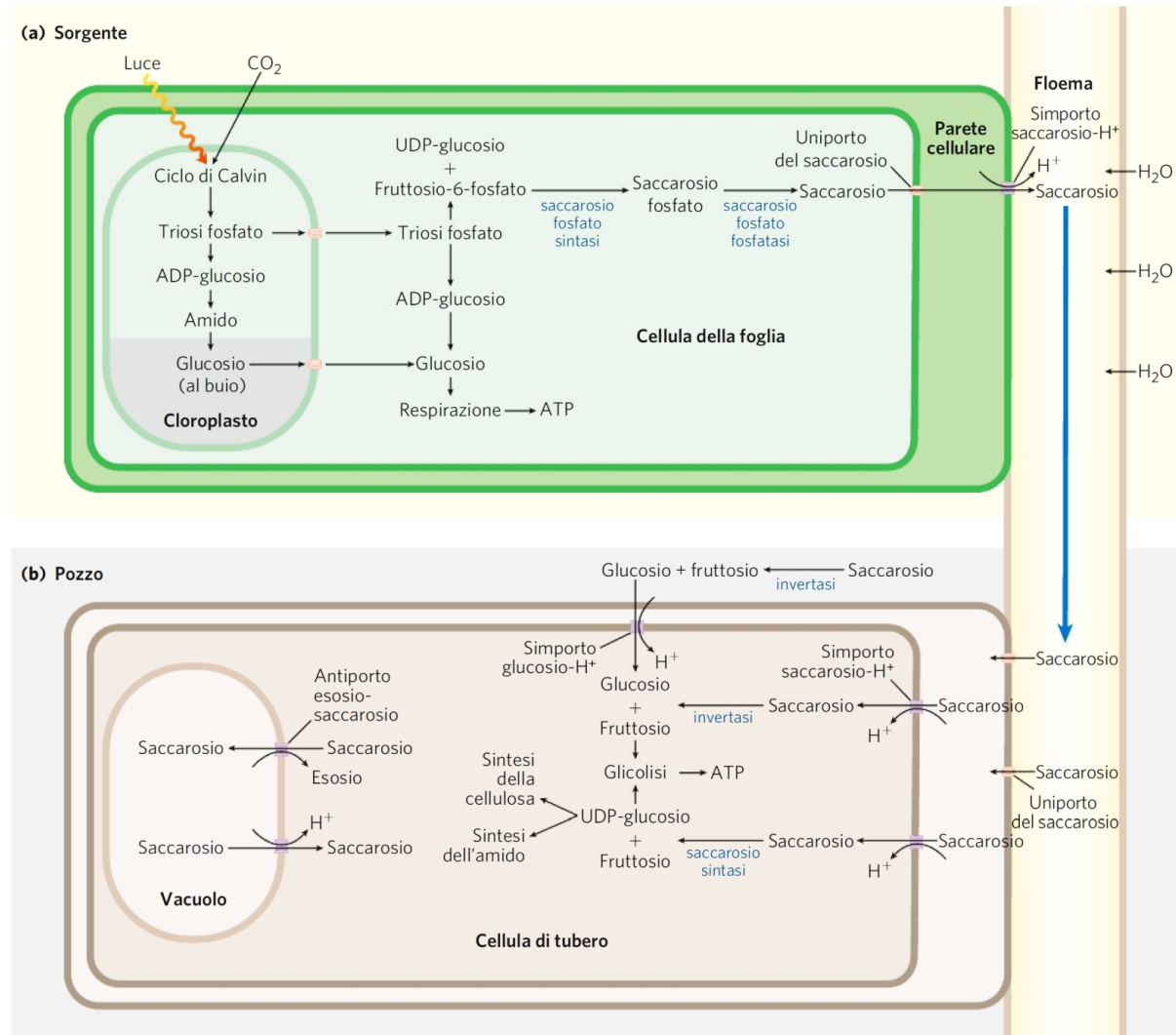
In sintesi:

- L'antiporto Pi–triosio fosfato funziona solo quando nel cloroplasto entra Pi, cioè durante il giorno.
- Senza l'antiporto, il DHAP non può uscire, quindi non si può sintetizzare saccarosio dai triosi fosfati.
- Gli enzimi chiave della sintesi dell'amido (AGPasi) sono attivi solo di giorno, quando sono nella forma ridotta.
- Il metabolismo giorno/notte è separato per bilanciare il Pi e ottimizzare l'efficienza fotosintetica.

Movimento del saccarosio tra i tessuti fotosintetici e non

Durante le ore diurne i triosi fosfato prodotti nel tessuto delle foglie dal ciclo di Calvin si spostano all'esterno dei cloroplasti e passano nel pool citosolico degli esosi fosfato, dove vengono convertiti in saccarosio per essere trasportati attraverso il floema ai tessuti non fotosintetici.

In questi tessuti, il saccarosio viene trasformato in amido per essere conservato, oppure viene utilizzato come fonte di energia attraverso la glicolisi. Di notte l'amido è metabolizzato mediante glicolisi e fosforilazione ossidativa per produrre energia sia per i tessuti fonte (foglie) che per i tessuti contenitore (tessuti non fotosintetici).



Il **saccarosio** è sintetizzato nelle foglie a partire dai prodotti della fotosintesi. Successivamente viene traslocato nei frutti attraverso il floema, il sistema di trasporto zuccherino della pianta.

Una volta arrivato nell'acino, il saccarosio viene idrolizzato in glucosio e fruttosio, che si accumulano nella polpa.

Quindi l'acino non accumula saccarosio come tale, ma glucosio e fruttosio derivati da esso.

Durante la maturazione (invasatura), l'uva diventa dolce perché le cellule della polpa accumulano grandi quantità di zuccheri (glucosio e fruttosio), derivati dal saccarosio traslocato dal floema.

Il saccarosio funge da molecola di trasporto (dalle foglie ai frutti), ma una volta entrato nell'acino viene idrolizzato. Gli enzimi coinvolti sono:

- **Invertasi acida** idrolizza il saccarosio nello spazio tra cellule.
- **Invertasi vacuolare** agisce all'interno del vacuolo.
- **Saccarosio sintasi** agisce nel citosol, produce UDP-glucosio + fruttosio per vie biosintetiche.

l'accumulo di zuccheri (glucosio e fruttosio) nelle cellule della polpa dell'uva durante la maturazione

Il glucosio e il fruttosio vengono trasportati nel vacuolo che rappresenta il principale deposito zuccherino della cellula della polpa.

Il trasporto attraverso il tonoplasto (membrana del vacuolo) è mediato da trasportatori specifici:

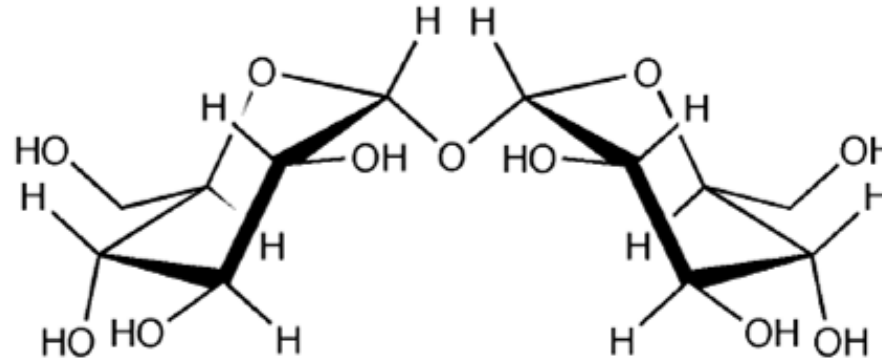
- TMT (Tonoplast Monosaccharide Transporters) è un sistema antiporto H^+ /zucchero che utilizza l'energia del gradiente protonico. Sono espressi in modo massiccio durante la maturazione.

Il gradiente di protoni (H^+) generato dalla V-ATPasi fornisce l'energia per il trasporto attivo dei monosaccaridi nel vacuolo.

- HT (Hexose Transporters) è un trasporto passivo facilitato di glucosio/fruttosio, secondo gradiente, tale trasporto consente il movimento di glucosio o fruttosio se la concentrazione nel vacuolo è minore rispetto al citosol.

All'interno del vacuolo, gli zuccheri si accumulano a concentrazioni elevate (fino a 250 g/L), questo contribuisce alla dolcezza del frutto e all'aumento della pressione osmotica con l'ingresso di acqua e crescita dell'acino.

Il trealosio:



Structure of the naturally occurring isomer of trehalose, $\alpha,\alpha1,1$ -trehalose.

Alan D. Elbein, Y.T. Pan, Irena Pastuszak and David Carroll. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology* vol. 13 no. 4 pp. 17R-27R, 2003.

Il trealosio è uno zucchero (disaccaride) non riducente dove due molecole glucosio sono legate insieme da un legame 1,1-glicosidico. Sebbene ci siano tre possibili anomeri di trealosio, cioè α,β -1,1-, β,β -1,1- e α,α -1,1-, solo l' α,α -trealosio è stato isolato e sintetizzato negli organismi viventi. Il trealosio è abbastanza comune nei lieviti e nei funghi dove è presente nelle spore, nei corpi fruttiferi e nelle cellule vegetative. Il trealosio è presente anche ad alte concentrazioni nel lievito di birra, dove la quantità dipende dall'età delle cellule e dallo stato nutrizionale.

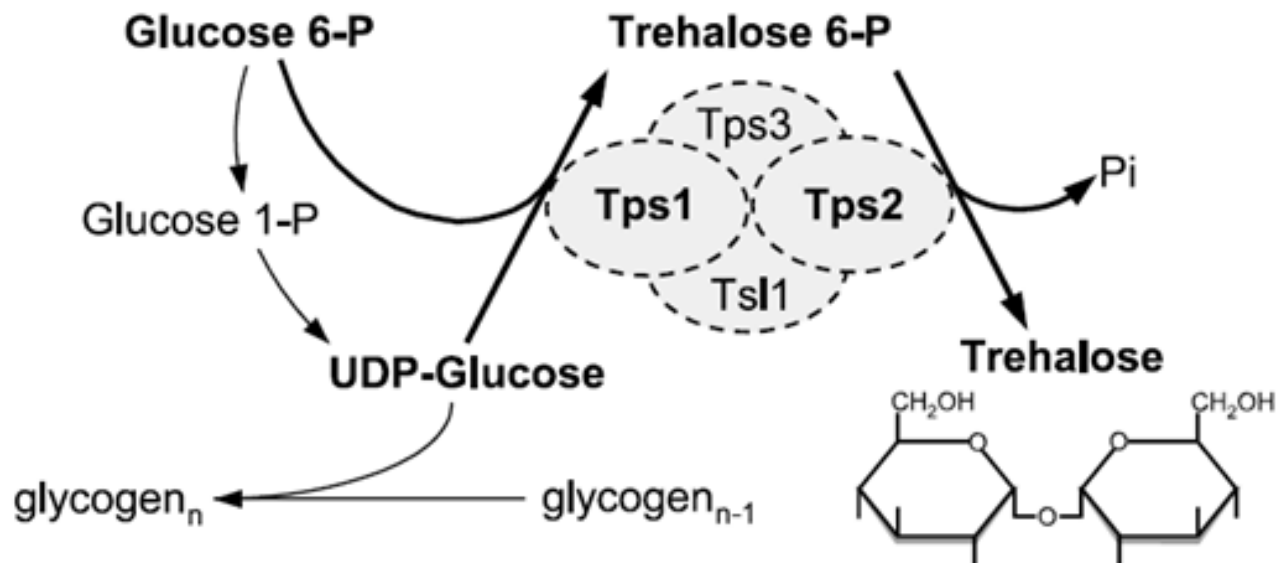
Biosintesi del trealosio

L'enzima trealosio-6-fosfato sintasi (Tps1) catalizza il primo passo della biosintesi del trealosio, ovvero la formazione del trealosio-6-fosfato (T6P).

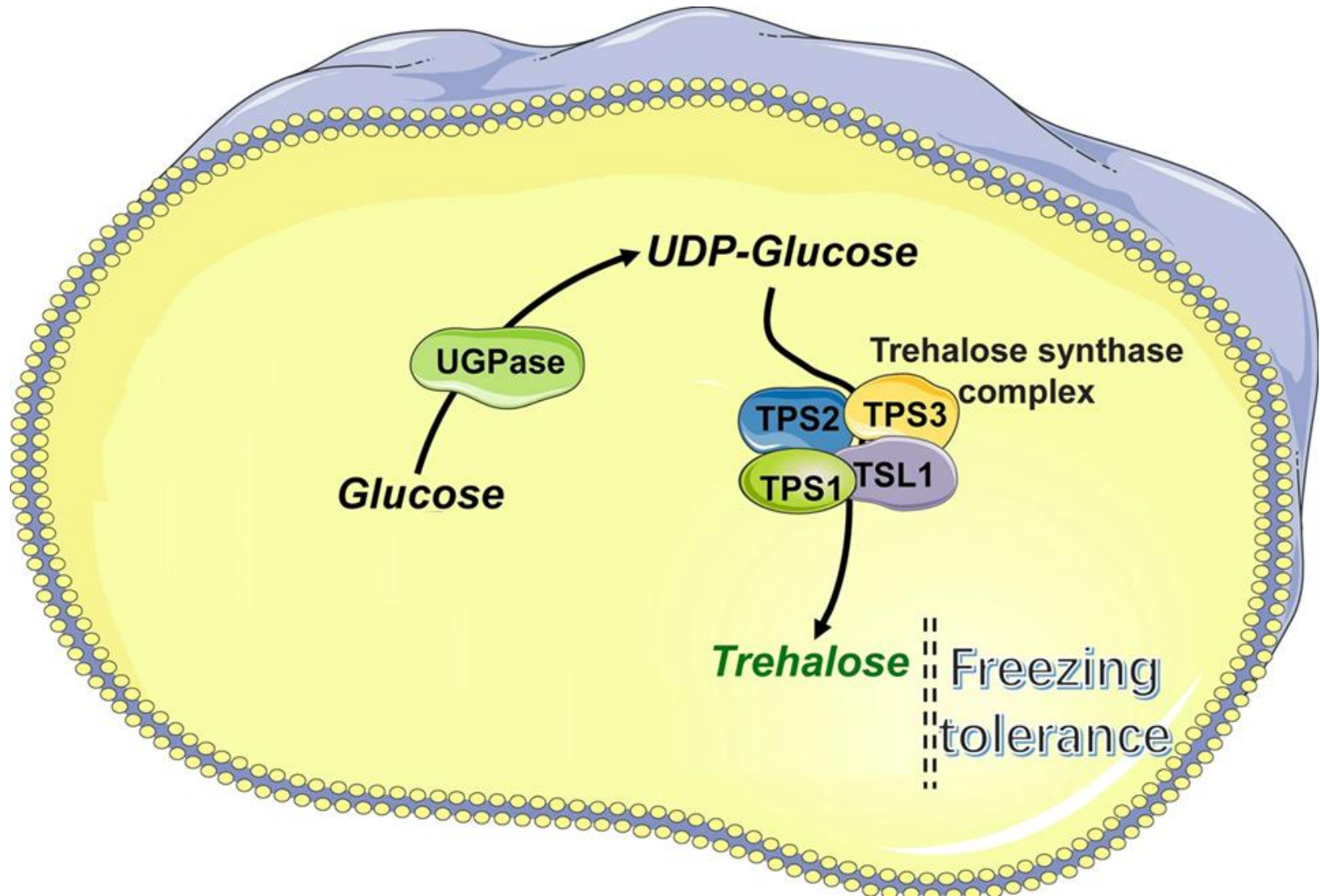
Nei lieviti e nelle piante, Tps1 fa parte di un complesso multienzimatico, costituito da:

- Tps2, la fosfatasi che defosforila T6P per produrre trealosio;
- Tps3 e Tsl1, due subunità regolatrici e stabilizzatrici.

Il complesso enzimatico è strettamente regolato dal metabolismo energetico, dalla disponibilità di zuccheri e dallo stato fisiologico della cellula.



Biosintesi del trealosio



Perché il lievito usa questo complesso enzimatico per sintetizzare il trealosio?

Ci sono alcune ipotesi possibili che spiegherebbero la relazione tra il metabolismo del trealosio e la glicolisi:

Il trealosio-6-fosfato, inibisce fortemente la glicolisi bloccando l'esochinasi 2. Se si accumulasse troppo T6P, la cellula non riuscirebbe più a utilizzare il glucosio con conseguente collasso energetico. Per questo il lievito usa un complesso enzimatico unito, in cui la produzione e la rimozione di T6P sono strettamente collegate.

Il complesso TPS è regolato dai nutrienti e dallo stress:

- È attivo in condizioni di stress (calore, disidratazione, carenza di azoto, shock osmotico).
- È represso in fase di crescita rapida (ovvero elevata concentrazione di glucosio e alta glicolisi).

Le subunità regolatrici Tps3 e Tsl1 modulano l'attività e la stabilità del complesso in risposta al segnale energetico (ATP, AMP, pH, ecc.).

Il complesso TPS non serve solo per accumulare trealosio, ma anche per coordinare l'equilibrio energetico e il flusso glicolitico.

Idrolisi e trasporto del trealosio

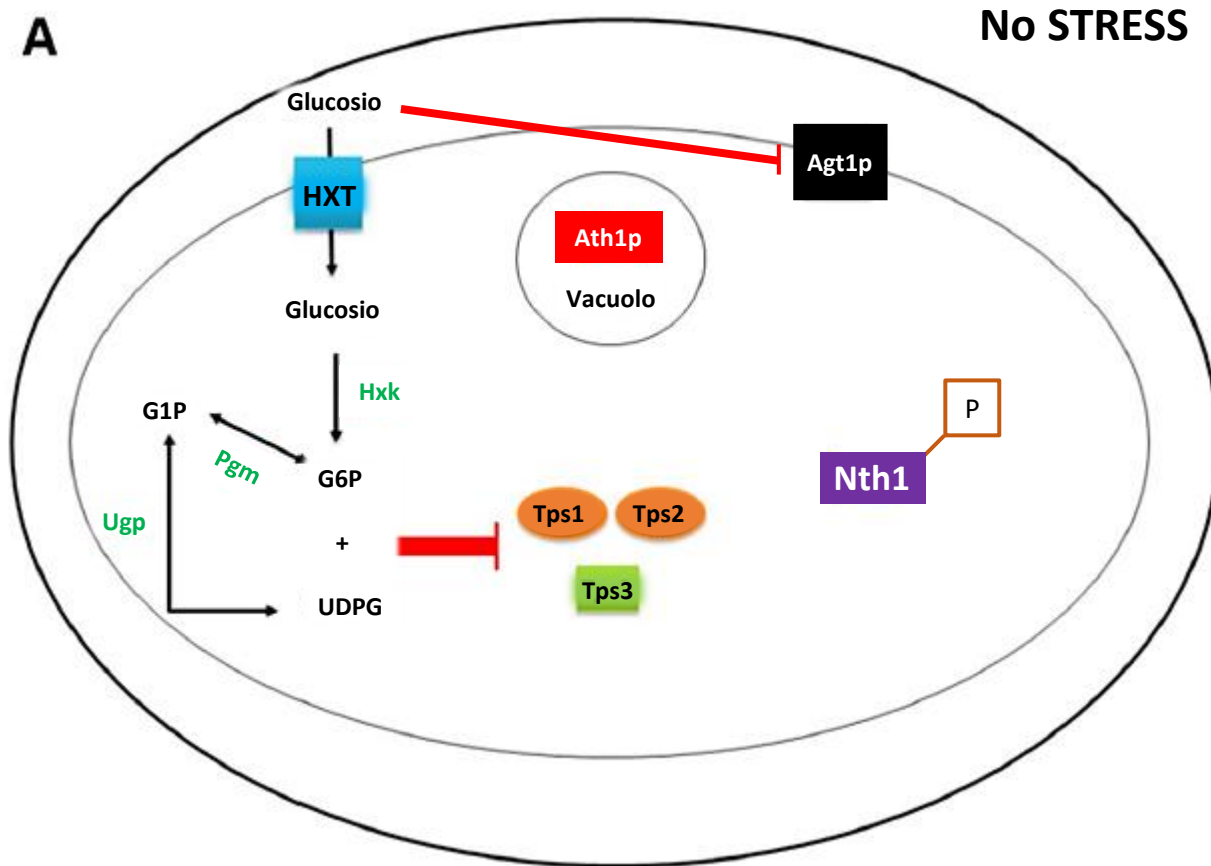
Nel *S. cerevisiae*, lo stress o la «fame» possono portare a variazioni del contenuto di trealosio che va dall'1% al 20 % del peso secco della cellula. Si accumula nelle cellule sottoposte a limitazione di zucchero ed energia, sia durante la crescita sia durante la fase stazionaria.

Viene idrolizzato a glucosio quando serve energia o quando il trealosio è disponibile all'esterno come fonte di carbonio. L'idrolisi del trealosio produce due molecole di glucosio, le trealasi coinvolte nel meccanismo sono la trealasi neutra citosolica (NTH1 / NTH2) e la trealasi acida periplasmatica (ATH1)

- La NTH1/NTH2 si trova nel citoplasma con un pH ottimale di 7. Hanno massima attività durante la riattivazione del metabolismo (uscita da fase stazionaria o da stress).
- La ATH1 è presente nel periplasma/vacuolo, ha un pH ottimale intorno a 5. Indotta in condizioni di crescita quando il lievito usa trealosio come unica fonte di carbonio

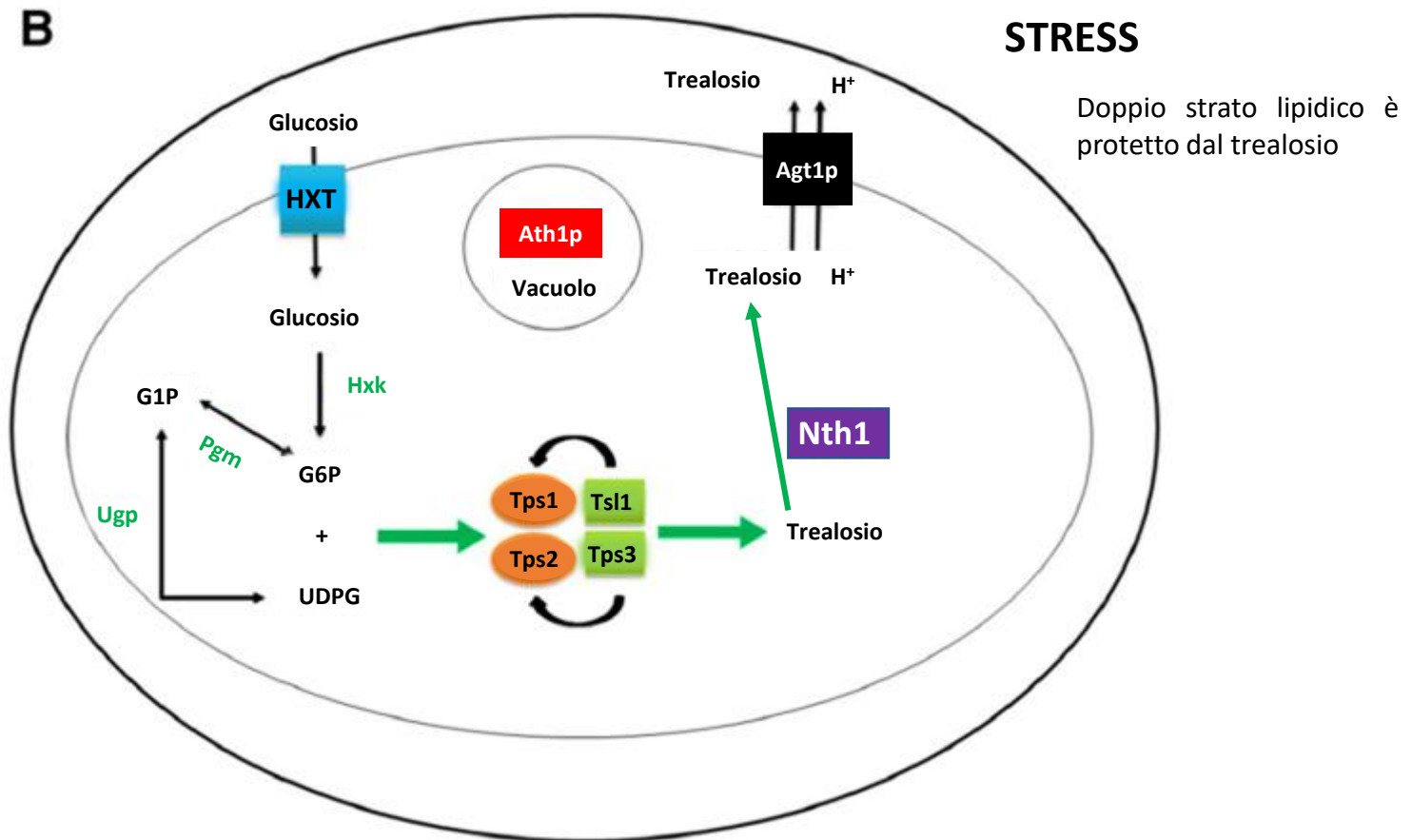
Modello di regolazione del metabolismo del trealosio in *S. cerevisiae*

In condizioni di non stress (A), le cellule non sintetizzano trealosio. Il complesso TPS non è completo e il livello di attività della subunità Tps1 è basso. Il glucosio reprime l'espressione della proteina di membrana Agt1p. La trealasi neutra Nth1, quando è fosforilata, risulta attiva e catalizza la scissione del trealosio in due molecole di glucosio.



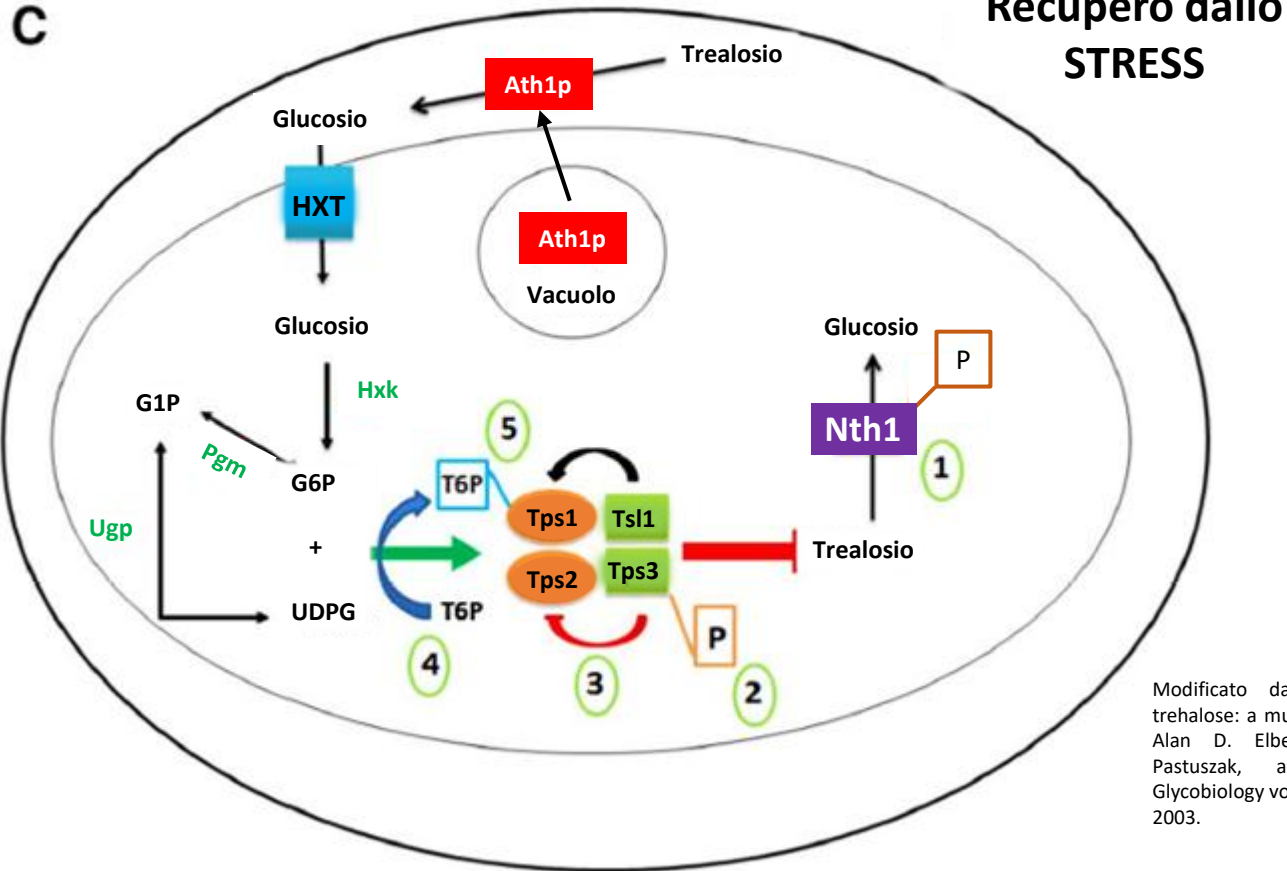
Modello di regolazione del metabolismo del trealosio in *S. cerevisiae*

In condizione di stress (B), TSL1 è fortemente indotto, attivando il complesso TPS. La trealasi neutra Nth1, quando non è fosforilata, risulta inattiva, permettendo così un forte accumulo di trealosio nella cellula. L'Agt1p consente il trasporto del trealosio dal citoplasma verso l'ambiente extracellulare, contribuendo alla regolazione dei livelli intracellulari di questo disaccaride.



Modello di regolazione del metabolismo del trealosio in *S. cerevisiae*

Recupero dallo stress: quando il trealosio non è più necessario, deve essere degradato. L'idrolisi del trealosio fornisce energia necessaria per il recupero cellulare dallo stress. Inoltre, un eccesso di trealosio può essere dannoso, poiché interferisce con la riattivazione delle proteine denaturate dallo shock termico.



Quando la condizione di stress termina, la subunità Tps3p del complesso viene fosforilata (2); ciò provoca l'inibizione dell'attività della subunità Tps2 (3), con conseguente aumento dei livelli di T6P (4). L'accumulo di T6P inibisce la subunità Tps1p (5), interrompendo così la sintesi del trealosio.

Importanza del trealosio nei lieviti

Il trealosio è uno zucchero non riducente che svolge un ruolo chiave nella protezione delle cellule e nella stabilizzazione delle biomolecole durante condizioni di stress idrico o termico. Nelle membrane, il trealosio può interagire direttamente con le proteine formando legami a idrogeno tra i propri gruppi ossidrilici e i residui polari delle catene proteiche. Sebbene il meccanismo preciso con cui queste interazioni contribuiscano alla stabilizzazione non sia completamente chiarito, il fatto che il trealosio sia non riducente gli impedisce di partecipare alle reazioni di imbrunimento che normalmente portano alla denaturazione delle proteine. Inoltre, il trealosio contribuisce a preservare le proteine labili durante l'essiccazione, proteggendone l'integrità e la funzionalità.

Oltre alle proteine, il trealosio è fondamentale per la tolleranza all'anidrobiosi (resistenza all'essiccamento). Gli organismi che accumulano questo zucchero possono sopravvivere a una quasi completa perdita d'acqua e mostrano grande tolleranza a condizioni estreme, come l'esposizione prolungata a radiazioni ad alta energia o a temperature elevate. Tra gli zuccheri conosciuti, il trealosio è particolarmente efficace nello stabilizzare le cellule durante la liofilizzazione, mantenendo l'integrità cellulare.

Il trealosio gioca anche un ruolo cruciale nella stabilizzazione dei lipidi. Abbassa la temperatura di transizione (T_m) dei lipidi e, in assenza di acqua, li mantiene nella fase liquido-cristallina, evitando danni strutturali. Si inserisce tra le teste polari dei lipidi formando legami a idrogeno, un effetto stabilizzante strettamente legato alla sua stereochimica. Durante l'essiccazione, il trealosio sostituisce le molecole d'acqua normalmente legate sia alla superficie interna sia a quella esterna del doppio strato lipidico, prevenendo la perdita di integrità della membrana.

In sintesi, il trealosio agisce come protezione multifunzionale: preserva le proteine sensibili, stabilizza le membrane lipidiche e permette agli organismi di sopravvivere a condizioni estreme, conferendo resistenza all'anidrobiosi e agli stress ambientali.