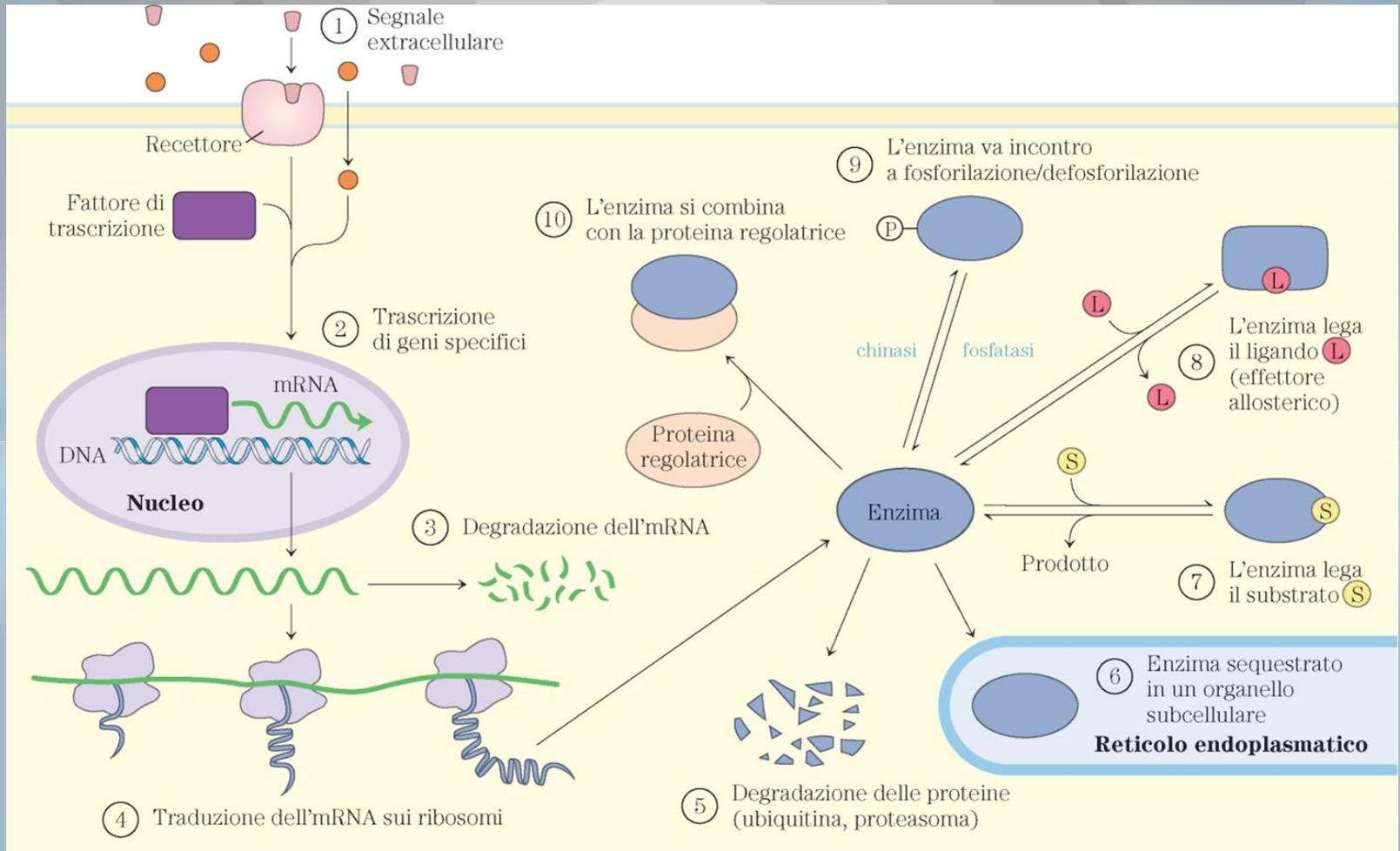


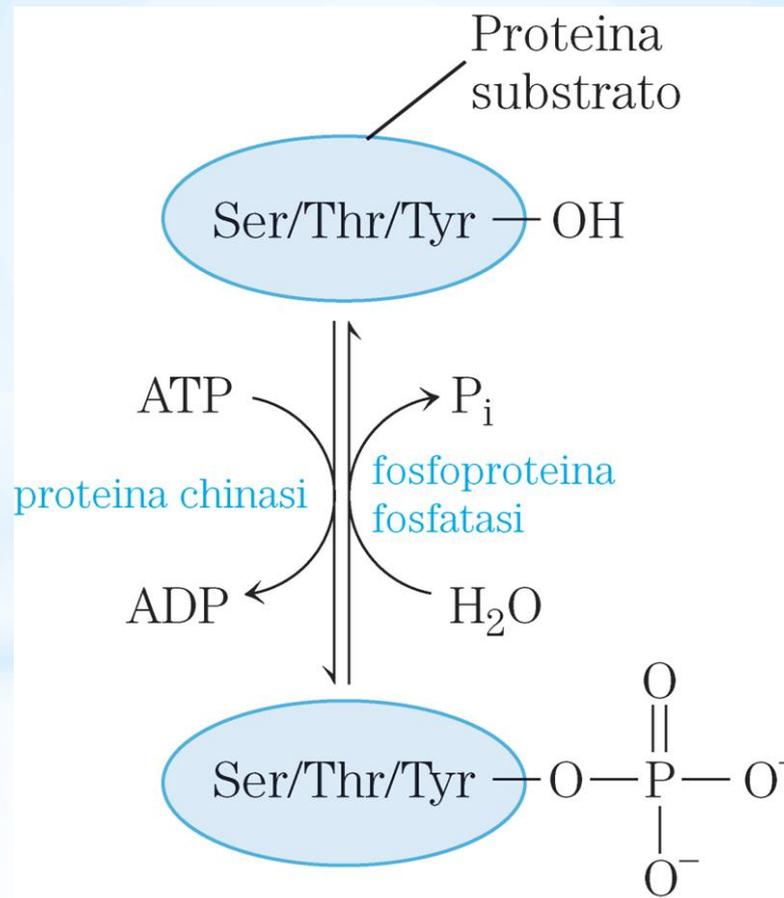
* Lezione 14

Regolazione Metabolica

Fattori che influiscono sull'attività degli enzimi



* Fosforilazione e defosforilazione delle proteine



L'OMEOSTASI

STATO STAZIONARIO

Composizione interna pressoché costante, mantenuta da un continuo ingresso di sostanze nutrienti e da un efflusso di energia e di prodotti di scarto



il flusso di materiali attraverso una via biochimica dipende dall'attività degli enzimi che catalizzano ogni reazione



**Enzimi con elevata velocità:
*controllo da substrato***

**Reazioni lontane dall'equilibrio:
*enzimi regolatori***

Per alcuni enzimi le reazioni sono all'equilibrio, convertono il prodotto alla stessa velocità con cui viene fornito. Flusso controllato dal substrato

table 15-2

Cytosolic Concentrations of Enzymes and Intermediates of the Glycolytic Pathway in Skeletal Muscle

Enzyme	Concentration (μM)	Intermediate	Concentration (μM)
Aldolase	810	Glucose 6-phosphate	3,900
Triose phosphate isomerase	220	Fructose 6-phosphate	1,500
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	1,400	Fructose 1,6-bisphosphate	80
Phosphoglycerate kinase	130	Dihydroxyacetone phosphate	160
Phosphoglycerate mutase	240	Glyceraldehyde 3-phosphate	80
Enolase	540	1,3-Bisphosphoglycerate	50
Pyruvate kinase	170	3-Phosphoglycerate	200
Lactate dehydrogenase	300	2-Phosphoglycerate	20
Phosphoglucomutase	32	Phosphoenolpyruvate	65
		Pyruvate	380
		Lactate	3,700
		ATP	8,000
		ADP	600
		P _i	8,000
		NAD ⁺	540
		NADH	50

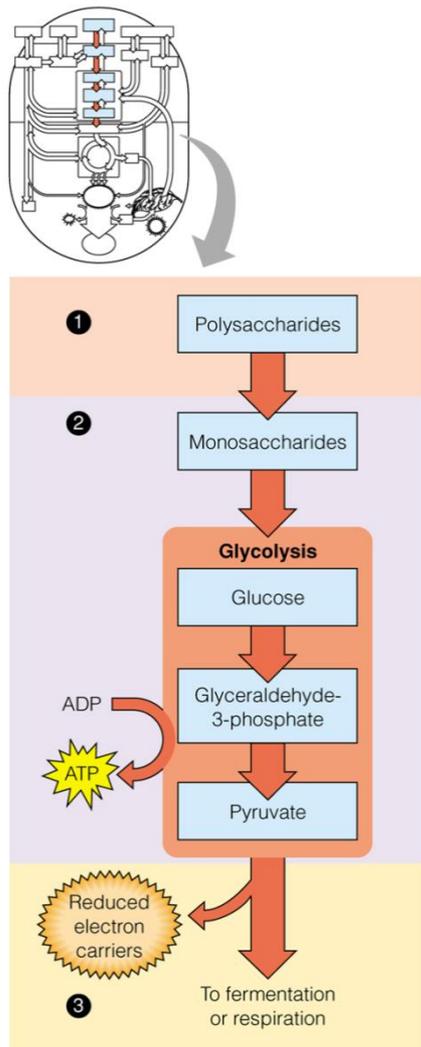
Source: From Srivastava, D.K. & Bernhard, S.A. (1987) Biophysical chemistry of metabolic reaction sequences in concentrated solution and in the cell. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **16**, 175-204.

Altre reazioni cellulari sono lontane dall'equilibrio.

Si comportano come valvole che controllano il flusso e che non possono essere controllate dalla concentrazione dei substrati.

Flusso controllato dall'enzima

UNA VISIONE D'INSIEME DELLA GLICOLISI

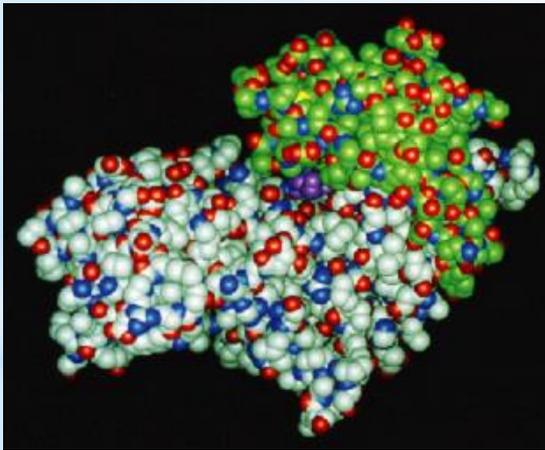
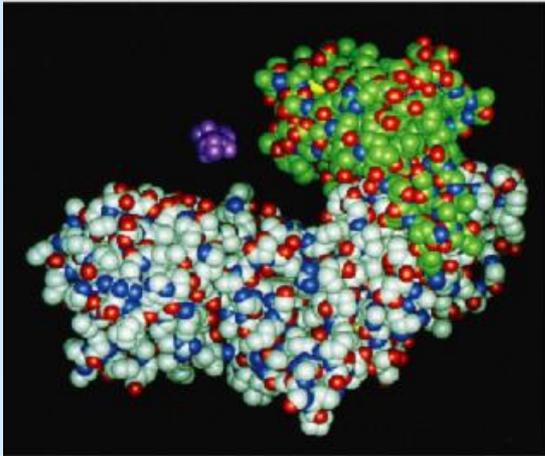


ATP e precursori biosintetici della glicolisi devono essere mantenuti a livelli costanti

NELLA GLICOLISI MUSCOLARE ED EPATICA SONO QUATTRO GLI ENZIMI CHE VENGONO REGOLATI:

- 1. glicogeno fosforilasi**
- 2. esochinasi,**
- 3. fosfofruttochinasi-1**
- 4. piruvato chinasi**

GLUCOCHINASI ED ESOCHINASI



FORME ISOENZIMATICHE

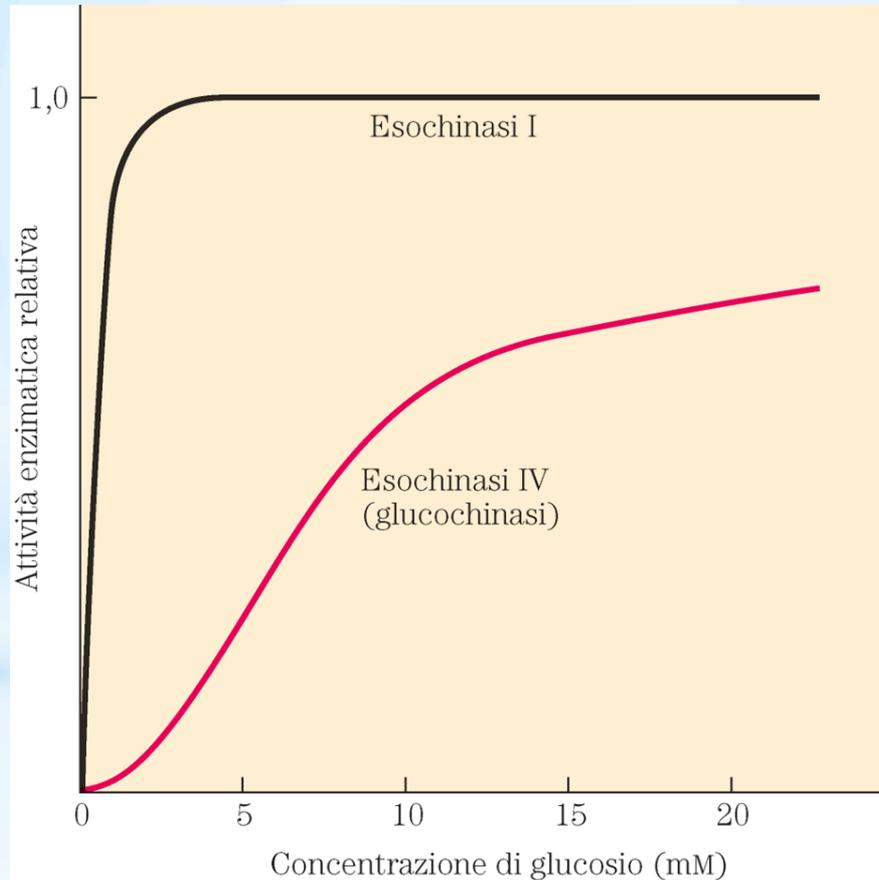
- *L'esochinasi nei miociti ha K_M 0,1 mM. La concentrazione nel sangue di glucosio è 4 mM.*
- *L'esochinasi nel muscolo è inibita dal suo prodotto, il glucosio 6-fosfato.*

Nel fegato la glucochinasi differisce da quella del muscolo:

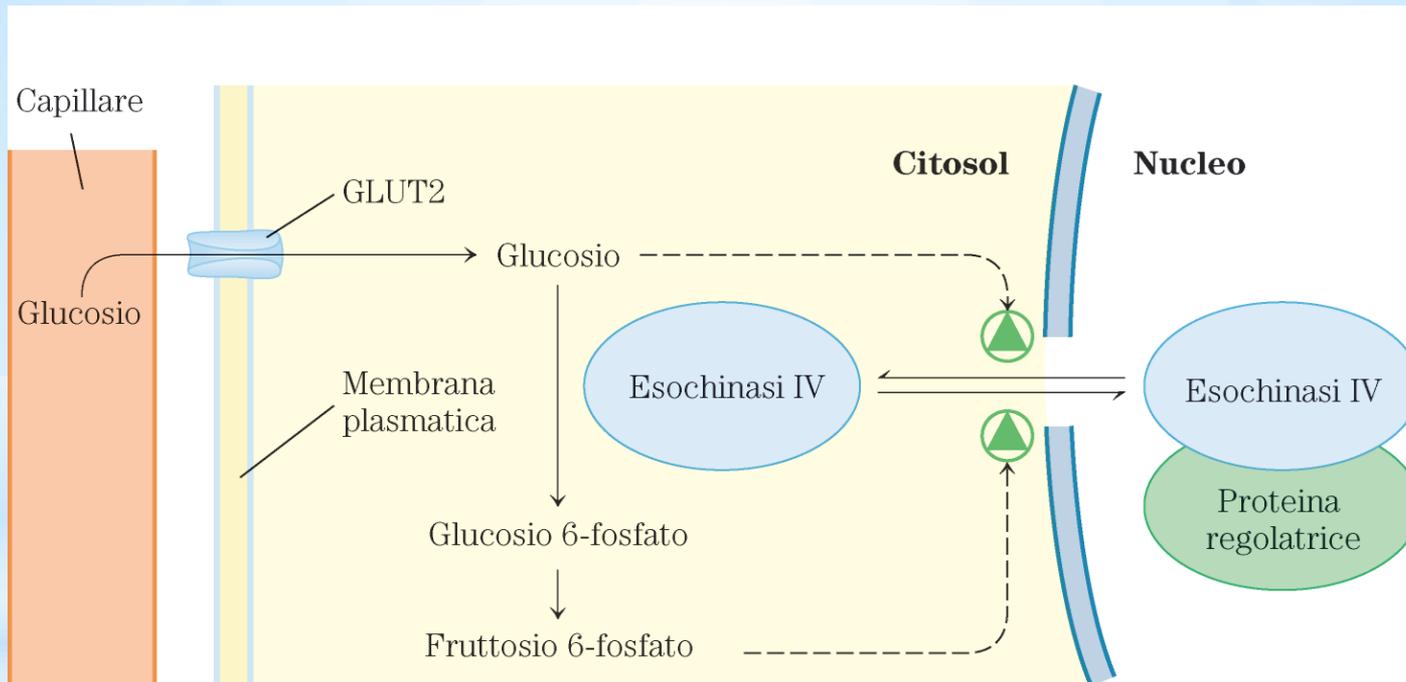
- Non è inibita dal suo prodotto ma da una proteina regolatrice della glucochinasi, la cui attività è modulata dal fruttosio 6 - fosfato (inibitore) e dal fruttosio 1-fosfato (attivatore) presente solo quando c'è il fruttosio nel sangue.
- la K_m è 10 mM, più elevata della glicemia.

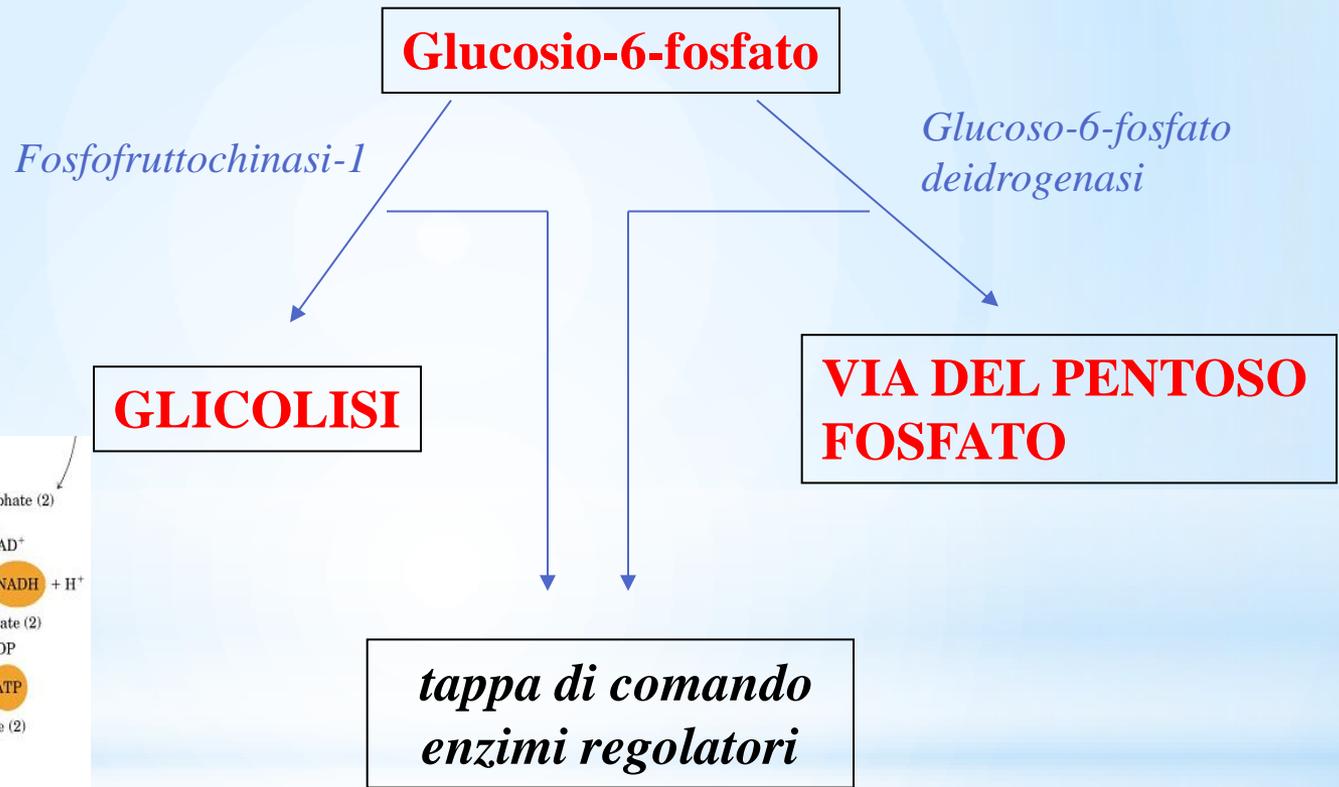
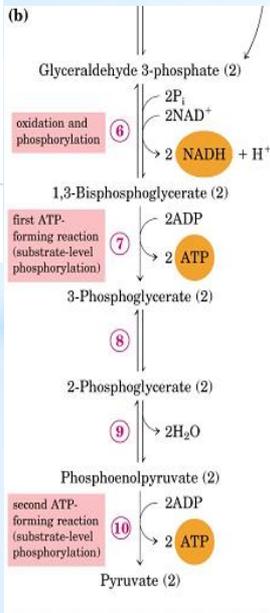
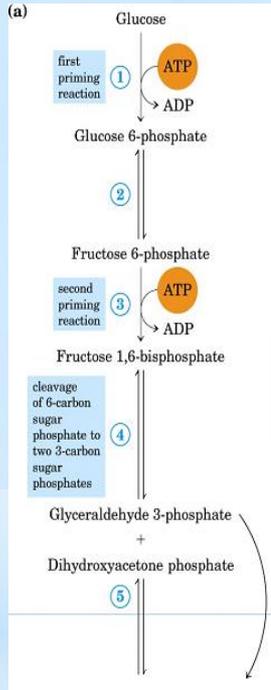
Consente inoltre al cervello e al muscolo di usare per primi il glucosio quando la concentrazione nel sangue è bassa.

Confronto tra le proprietà cinetiche dell'esoquinasasi IV (glucoquinasasi) e dell'esoquinasasi I



Regolazione dell'esochinasi IV per segregazione nel nucleo







$$K_{eq} = \frac{[\text{fruttosio 1,6-bisfosfato}] [\text{ADP}]}{[\text{Fruttosio 6-fosfato}] [\text{ATP}]} = 250$$

In una tipica cellula allo stato stazionario = 0,04

In ogni via metabolica vi è almeno una reazione che è lontana dall'equilibrio, a causa della bassa attività dell'enzima che la catalizza. La velocità di questa reazione non è limitata dalla disponibilità del substrato, ma soltanto dall'attività dell'enzima.

ENZIMI REGOLATORI

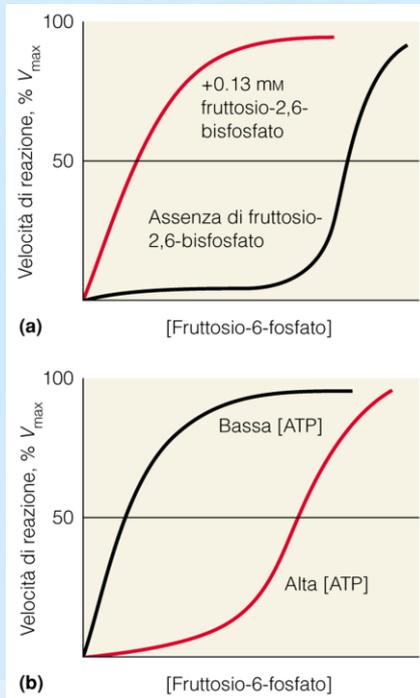
a volte situati in punti di ramificazione

Reazioni di solito esoergoniche ed irreversibili nelle condizioni intracellulari

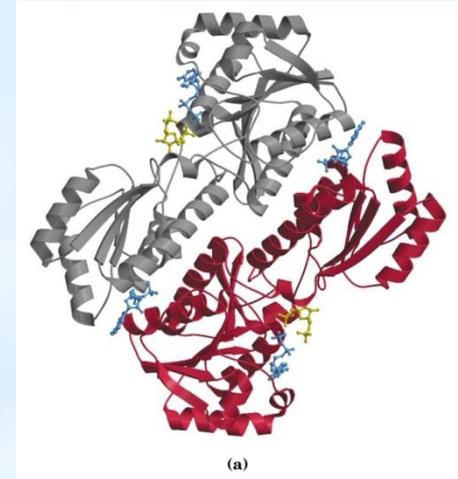


REGOLAZIONE ALLOSTERICA DELLA FOSFOFRUTTOCHINASI-1 (PKF-1)

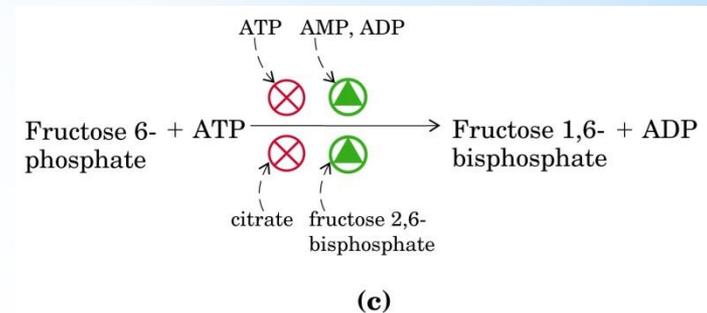
La reazione irreversibile catalizzata dalla fosfofruttochinasi-1 è la tappa che comanda ad una cellula di far entrare il glucosio nella glicolisi (omotetramero).



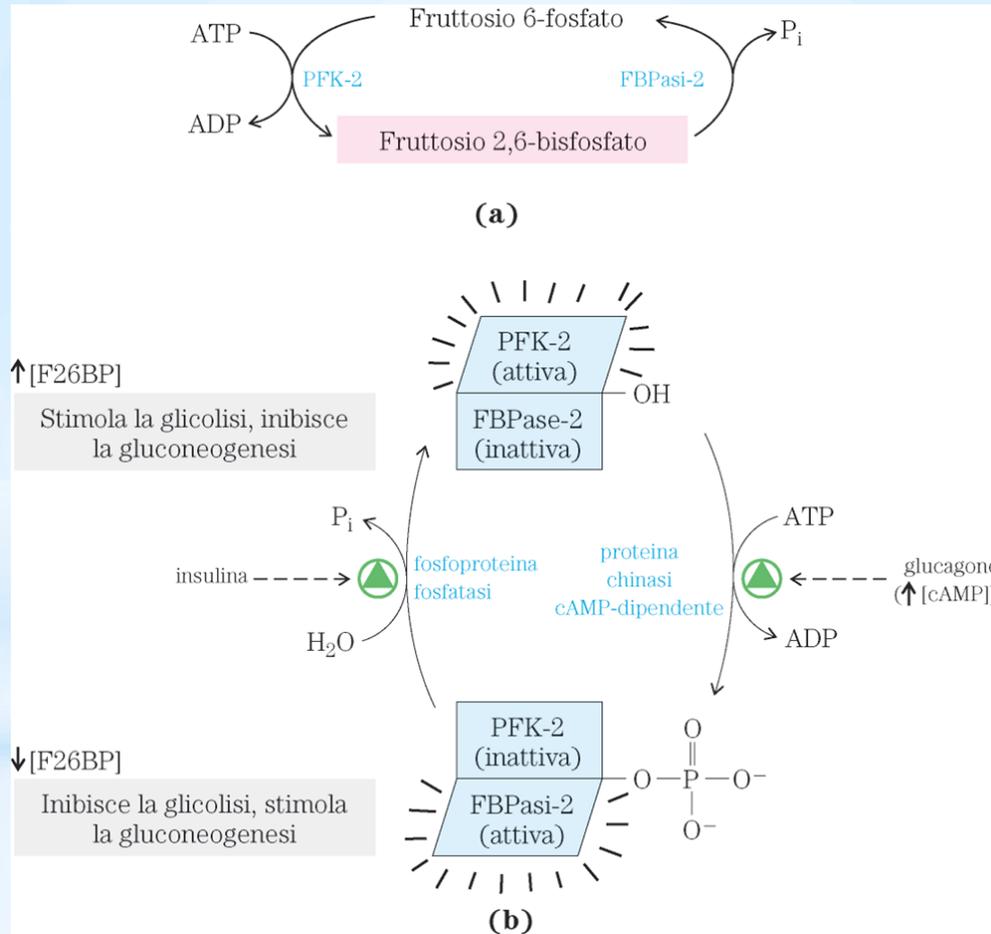
L'**ATP** è substrato e come prodotto finale della glicolisi anche **INIBITORE**: 2 siti di legame sull'enzima



- l'ADP e l'AMP, che aumentano quando l'ATP diminuisce, agiscono allostericamente rimuovendo l'inibizione esercitata dall'ATP
- Il **citrate**, intermedio chiave per l'ossidazione aerobica del piruvato, è **INIBITORE**
- Il principale regolatore è il **fruttosio 2,6-bisfosfato** (sint. da PKF-2) **ATTIVATORE**



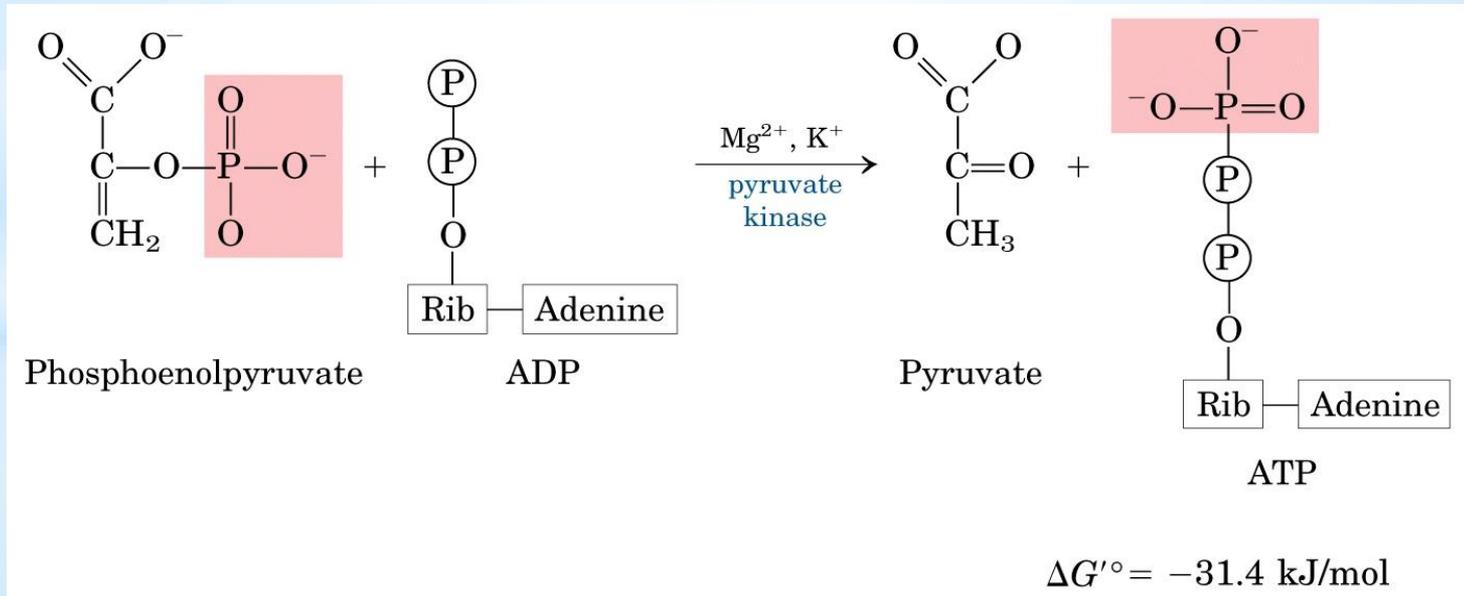
Regolazione del livello di fruttosio 2,6-bisfosfato



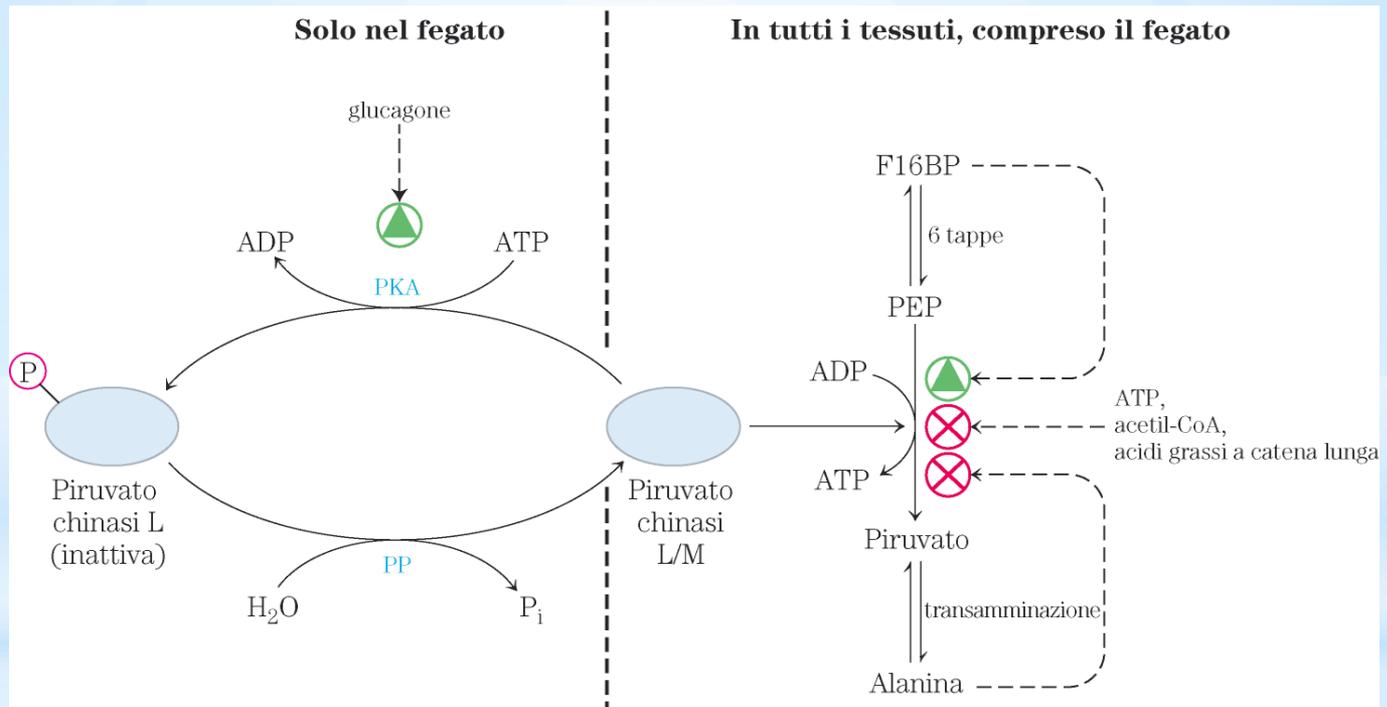
LA PIRUVATO CHINASI VIENE INIBITA DALL'ATP

Controlla il flusso di uscita di questa via metabolica

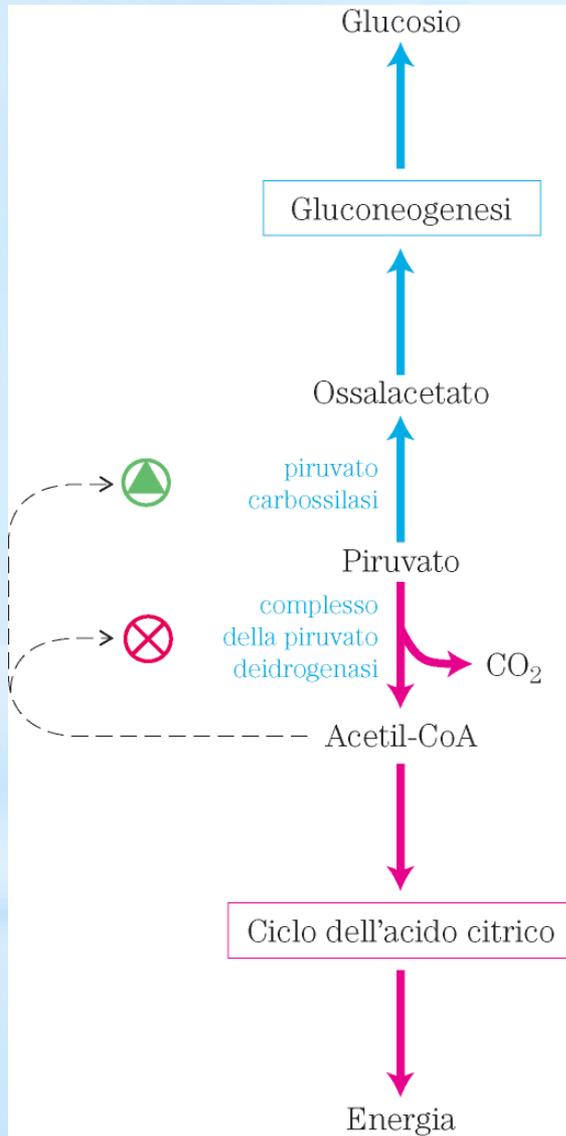
L'ATP inibisce la piruvato chinasi quando la carica energetica è alta. Il fruttosio 1-6-bisfosfato attiva la piruvato chinasi per metterla in grado di fronteggiare l'imminente flusso di intermedi (attivazione a "feedforward"). Inibizione da prodotto della piruvato chinasi da parte dell'Acetil-CoA, principale prodotto di ossidazione degli acidi grassi.



Regolazione della piruvato chinasi



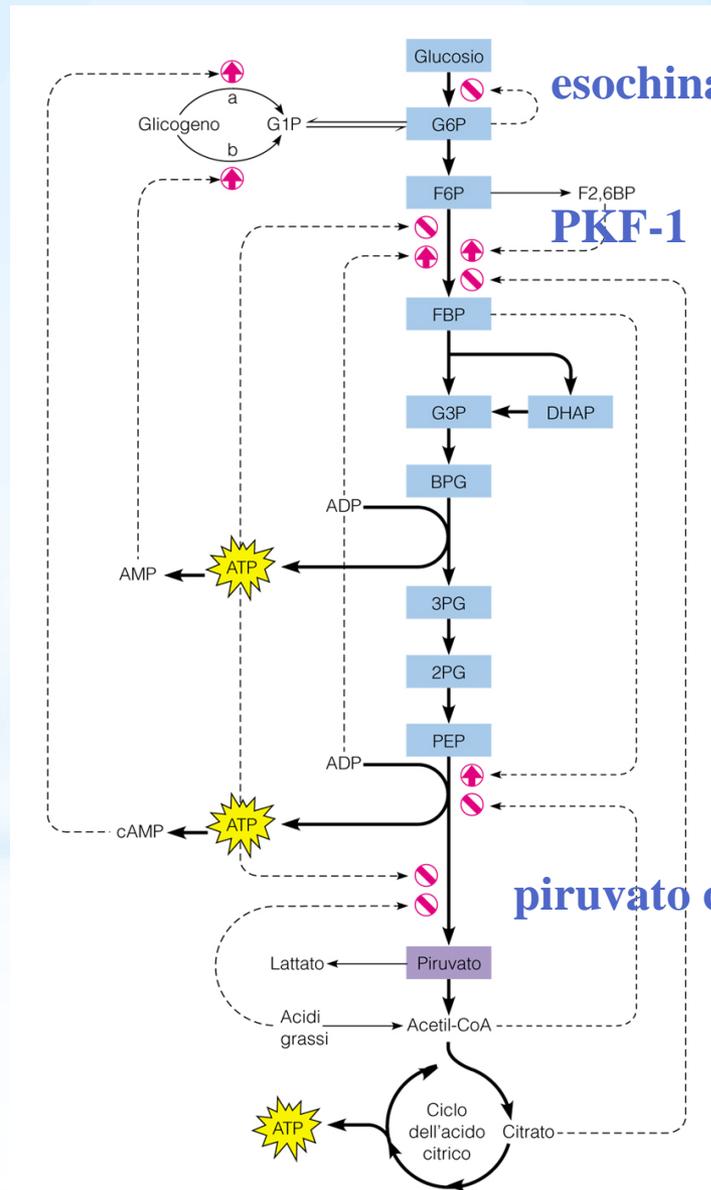
Due destini alternativi del piruvato



QUADRO DI INSIEME DELLA REGOLAZIONE DELLA GLICOLISI

glicogeno fosforilasi

esochinasi

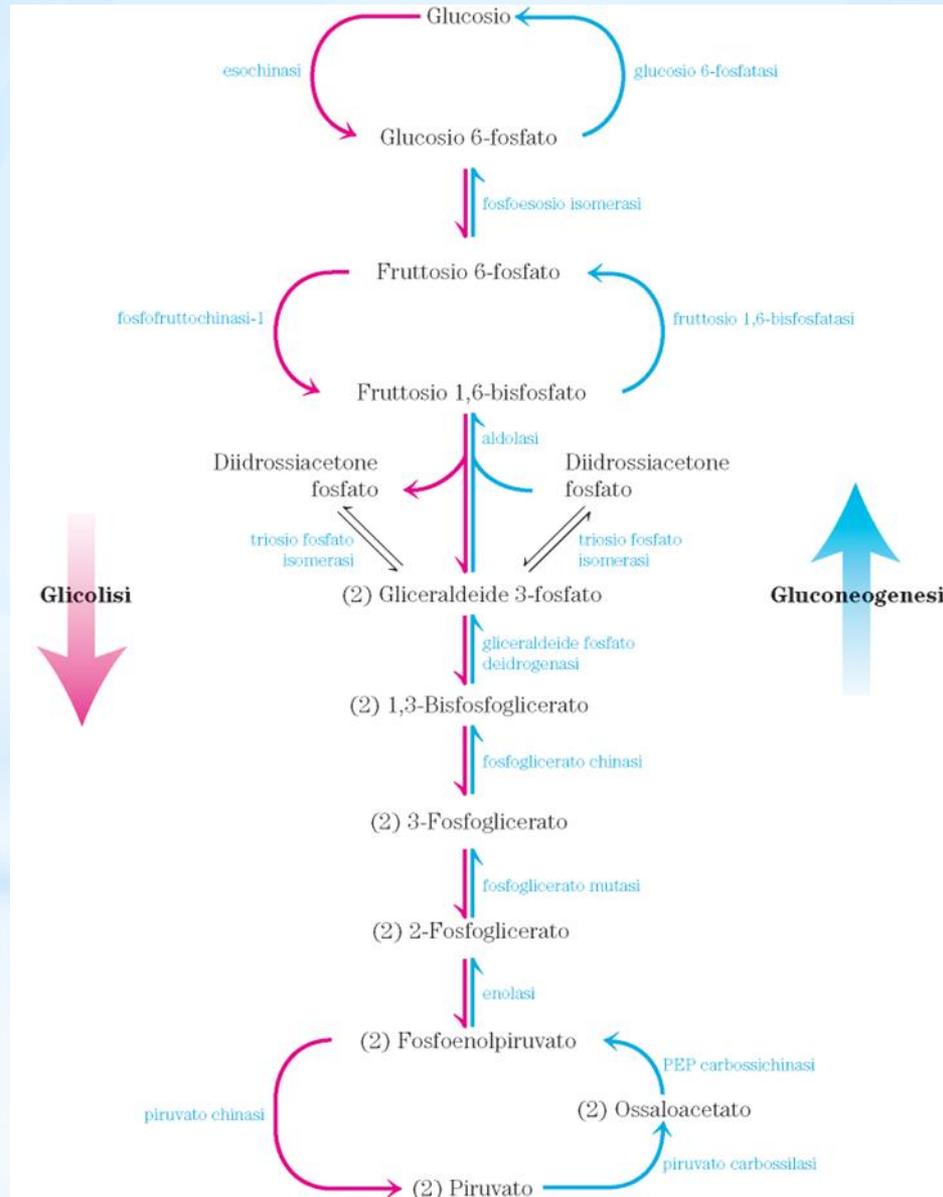


PKF-1

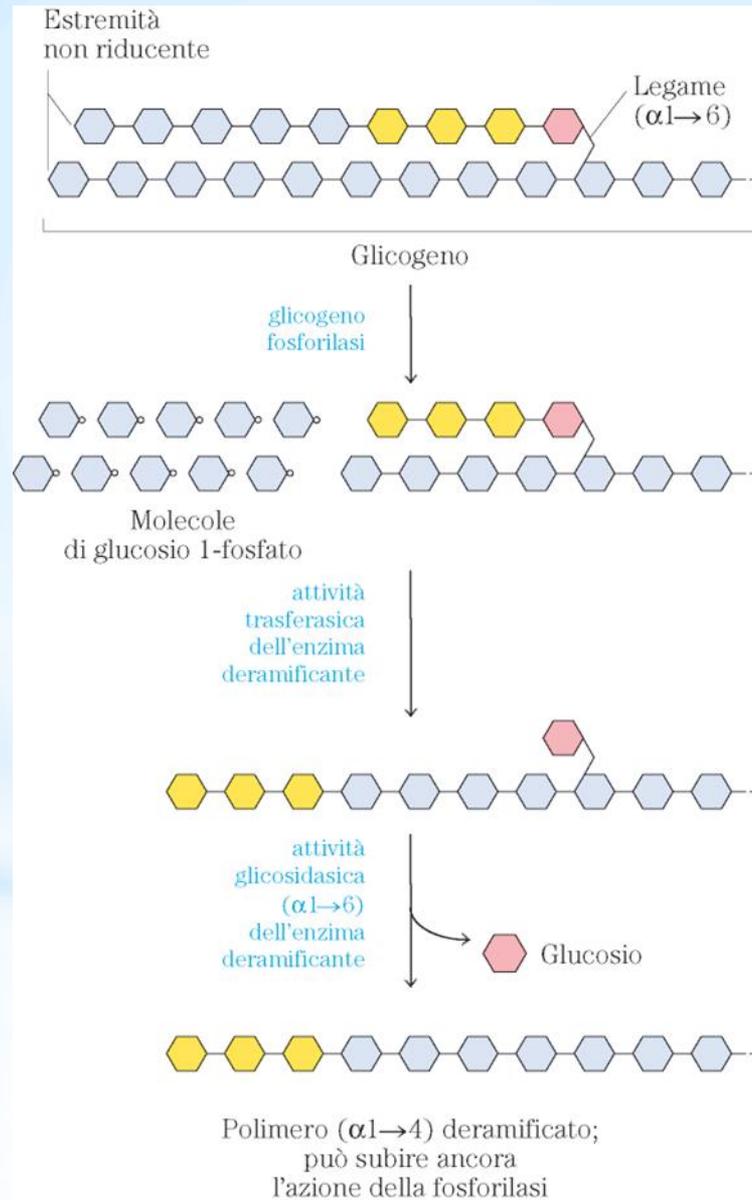
piruvato chinasi

ATP

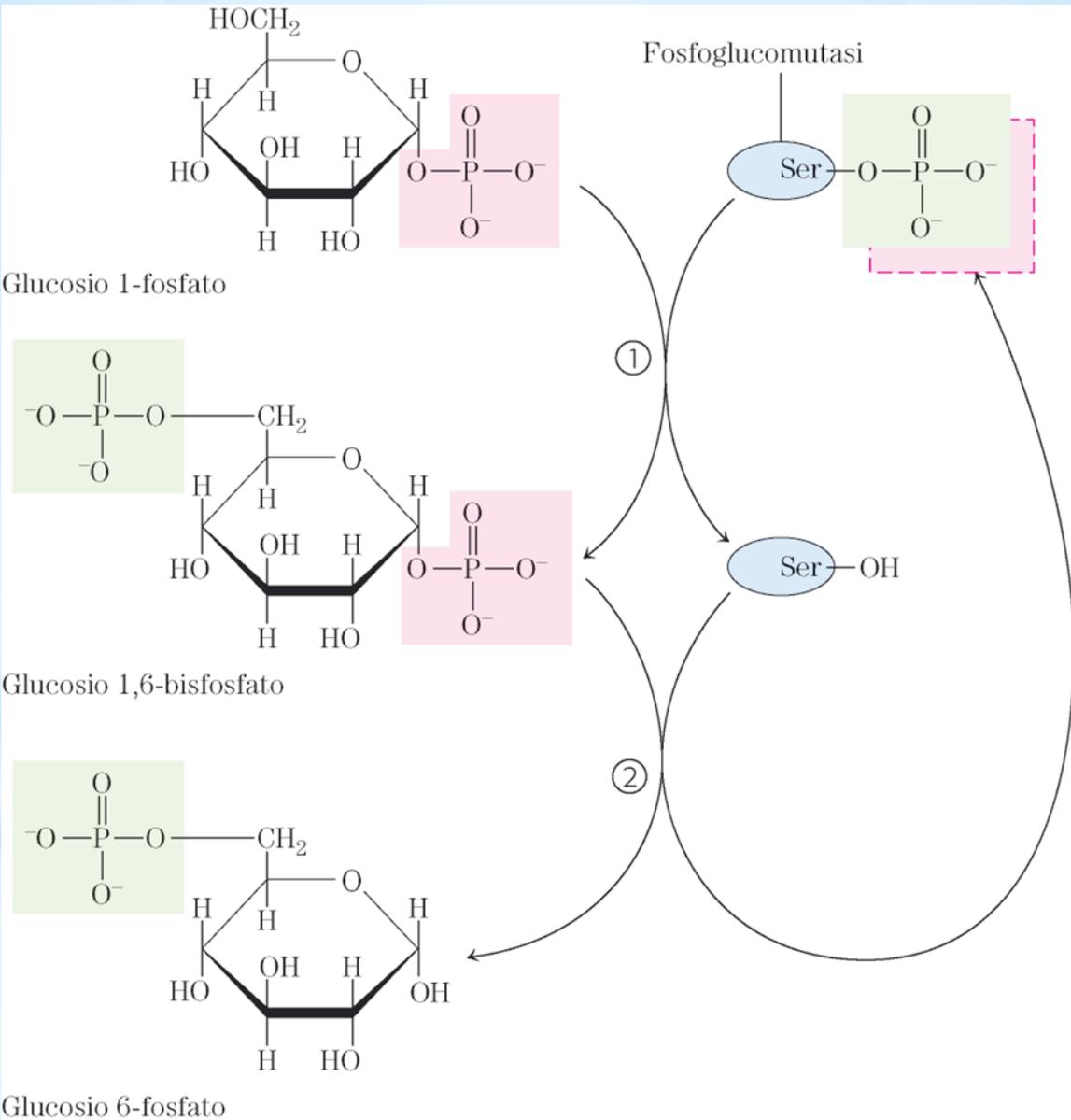
Glicolisi e gluconeogenesi



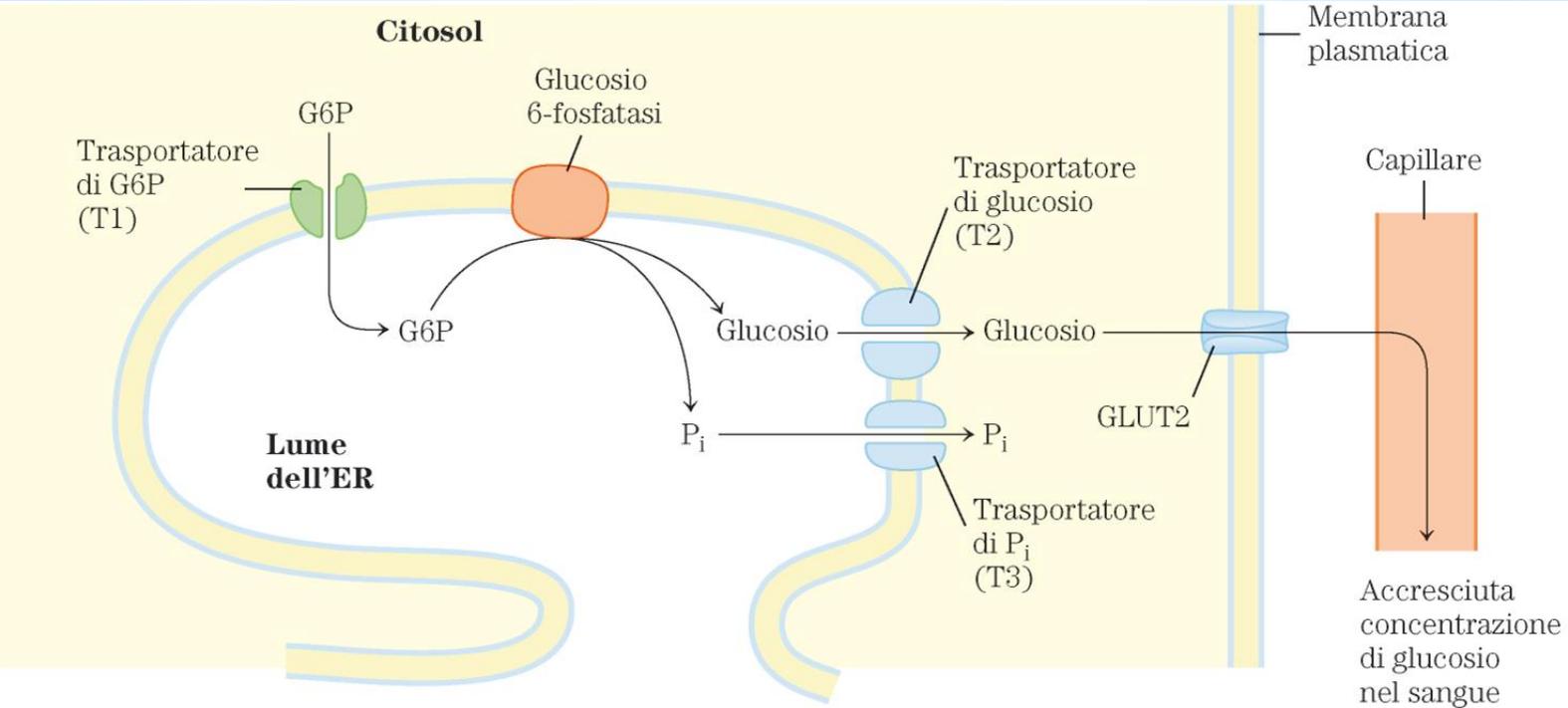
Degradazione del glicogeno vicino a un punto di ramificazione ($\alpha 1 \rightarrow 6$) 6)



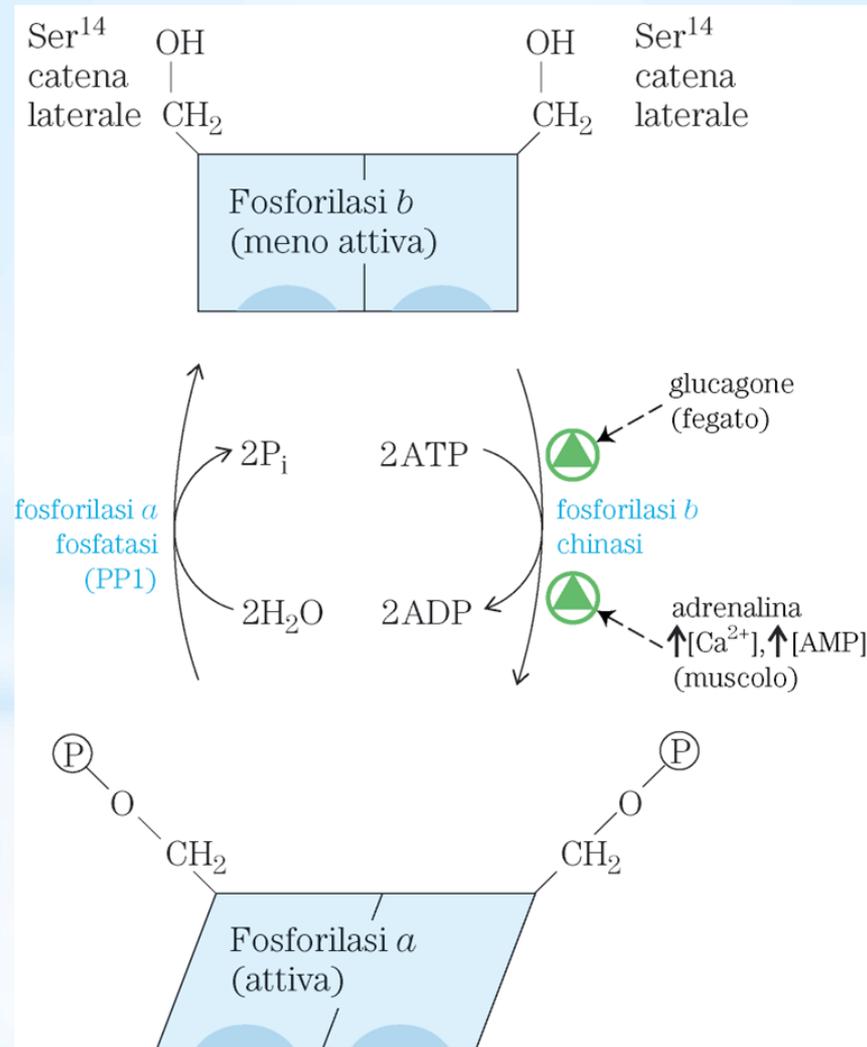
La reazione catalizzata dalla fosfoglucomutasi



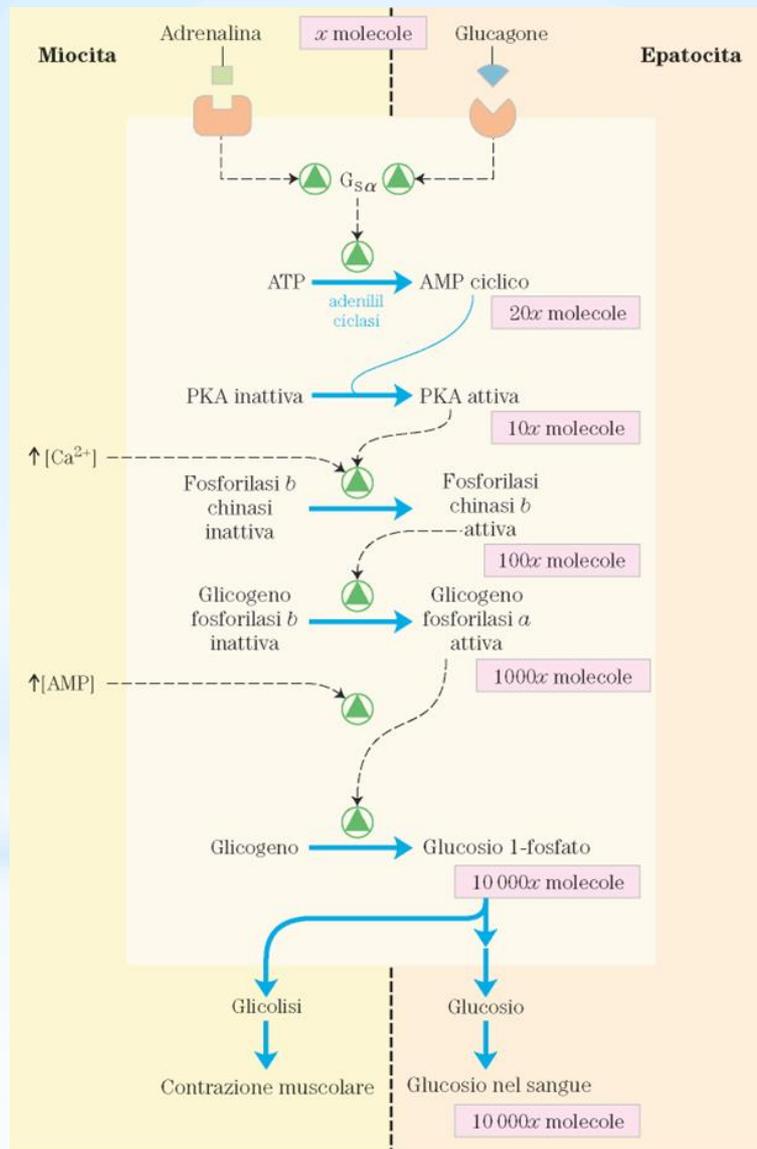
Idrolisi del glucosio 6-fosfato ad opera della glucosio 6-fosfatasi dell'ER



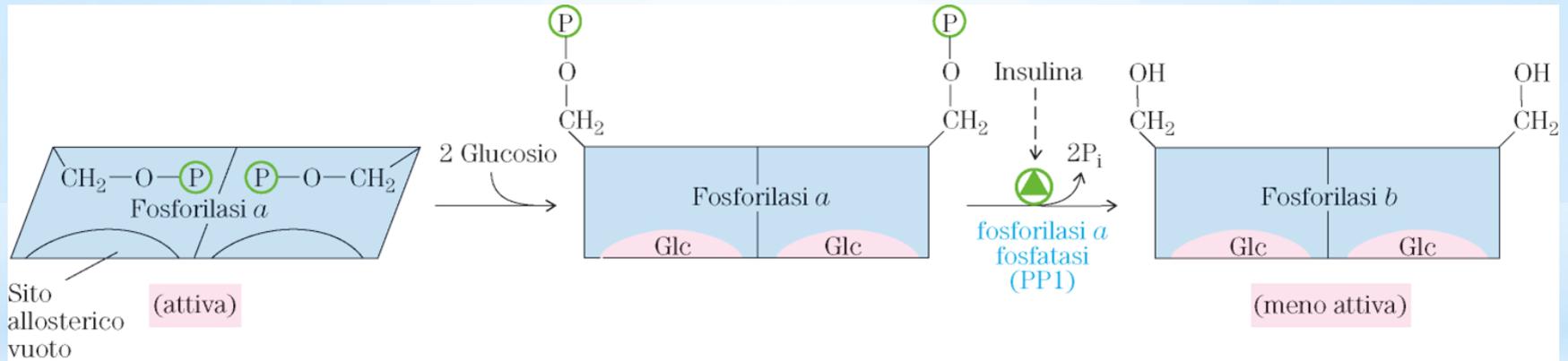
Regolazione per modificazione covalente della glicogeno fosforilasi muscolare



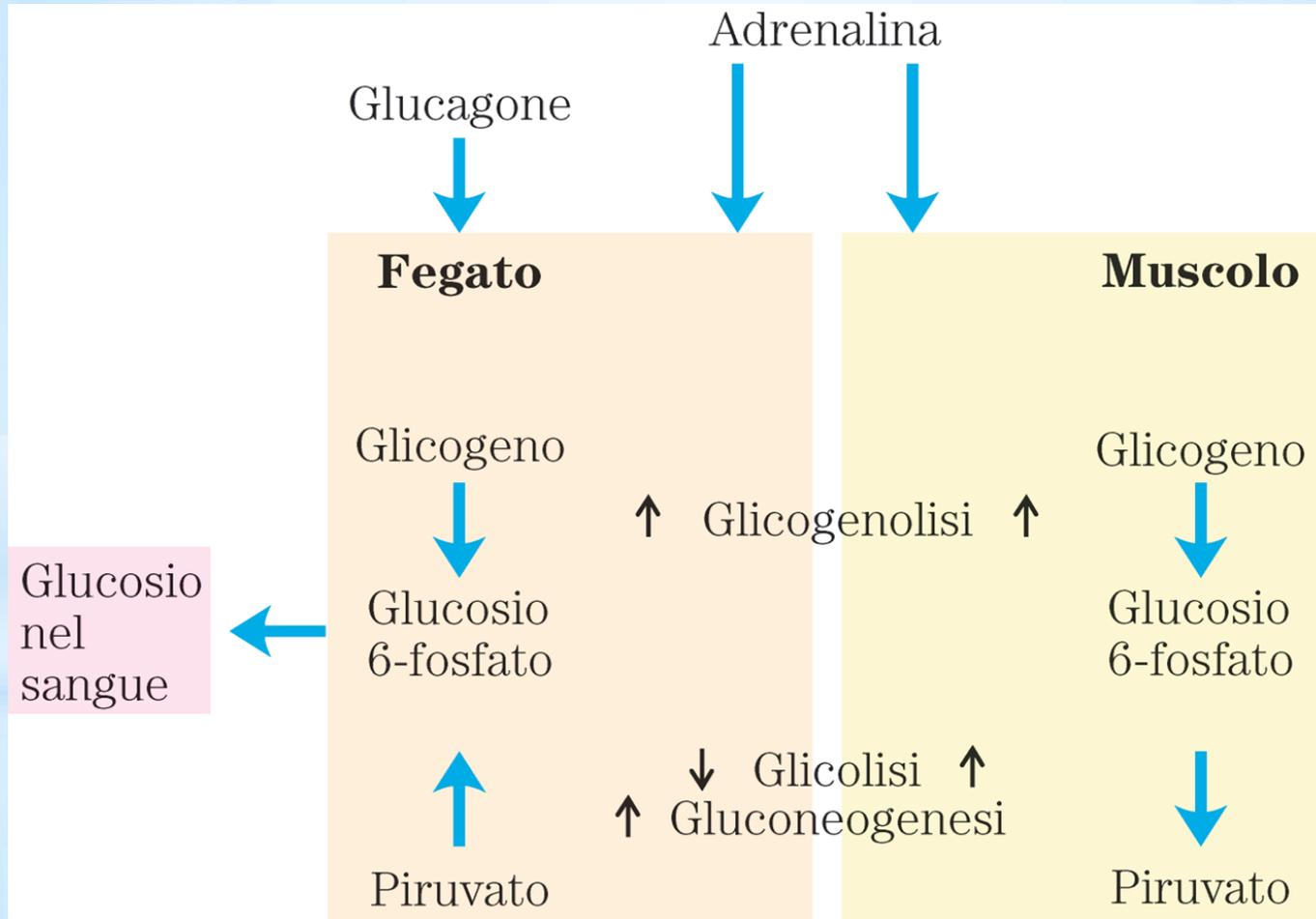
Cascata enzimatica attivata dall'adrenalina e dal glucagone



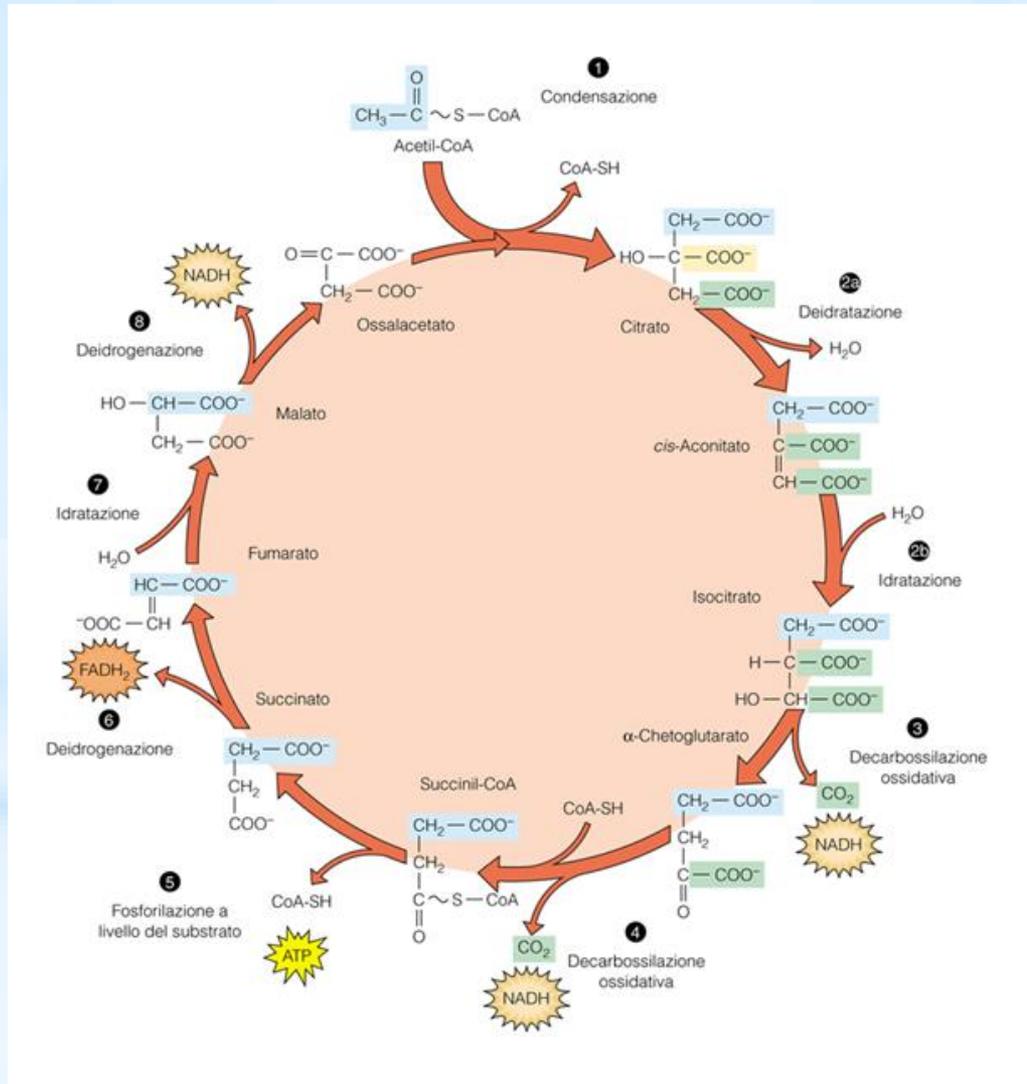
La glicogeno fosforilasi del fegato come sensore di glucosio



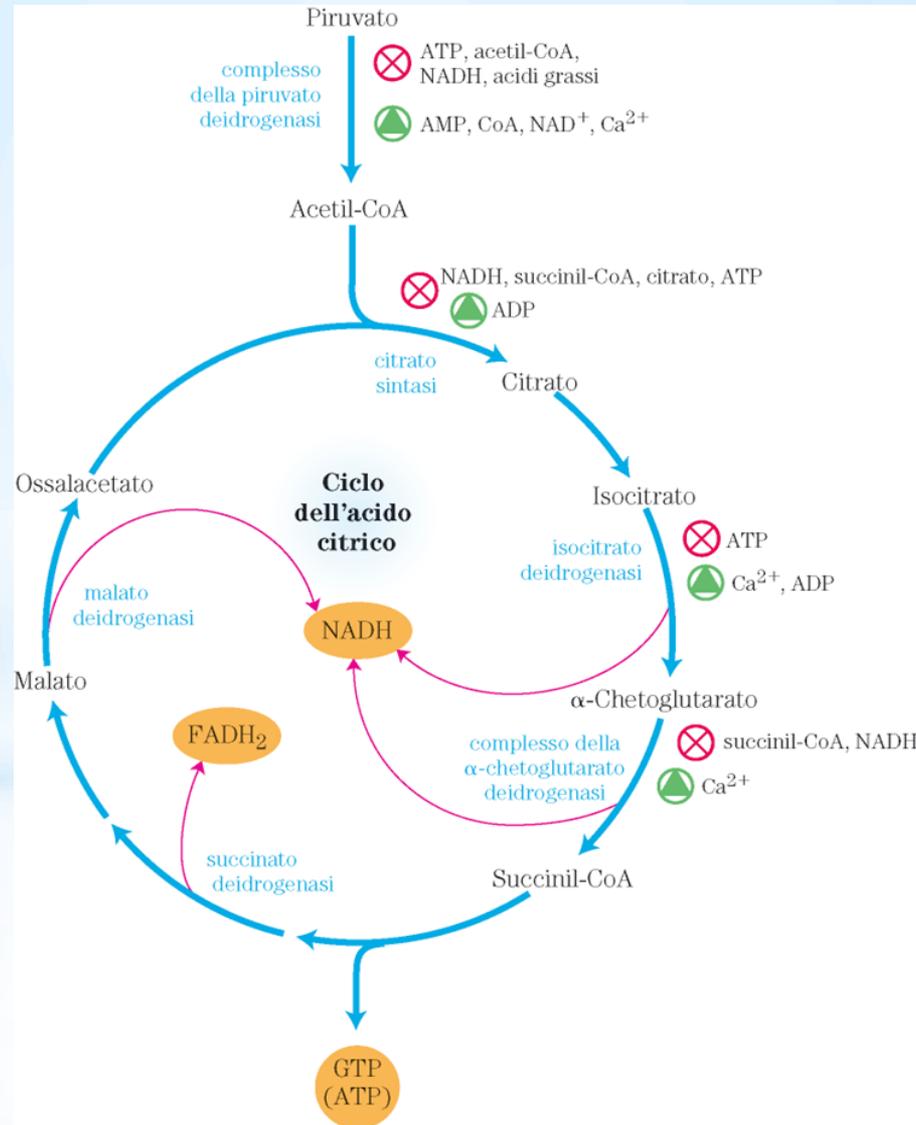
Differenze tra la regolazione del metabolismo dei carboidrati nel fegato e nel muscolo



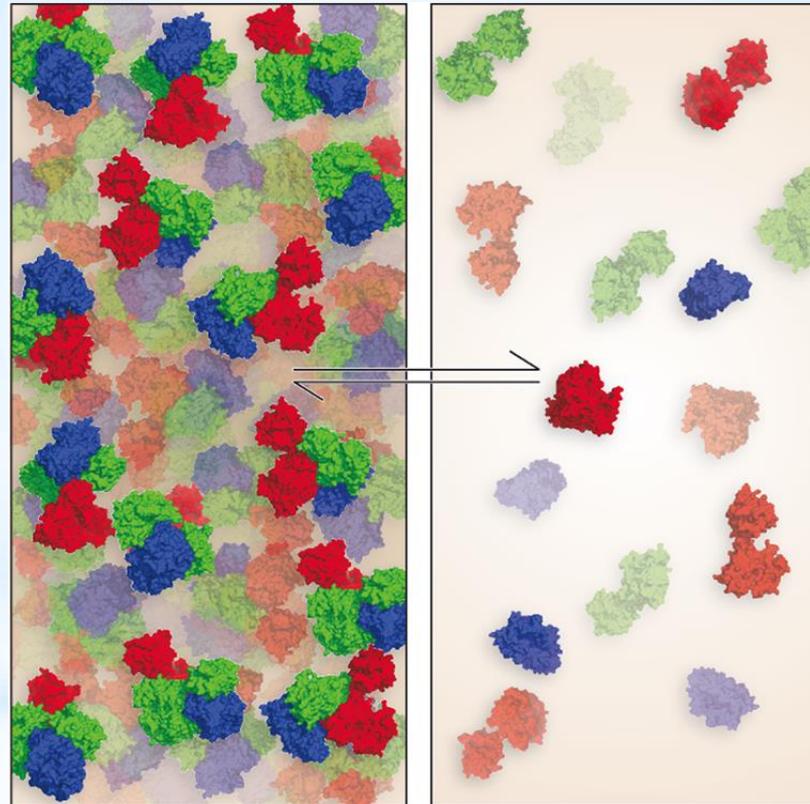
QUADRO DI INSIEME DEL CICLO DELL'ACIDO CITRICO



Regolazione del flusso di metaboliti che parte dal complesso della piruvato deidrogenasi nel ciclo dell'acido citrico nei mammiferi



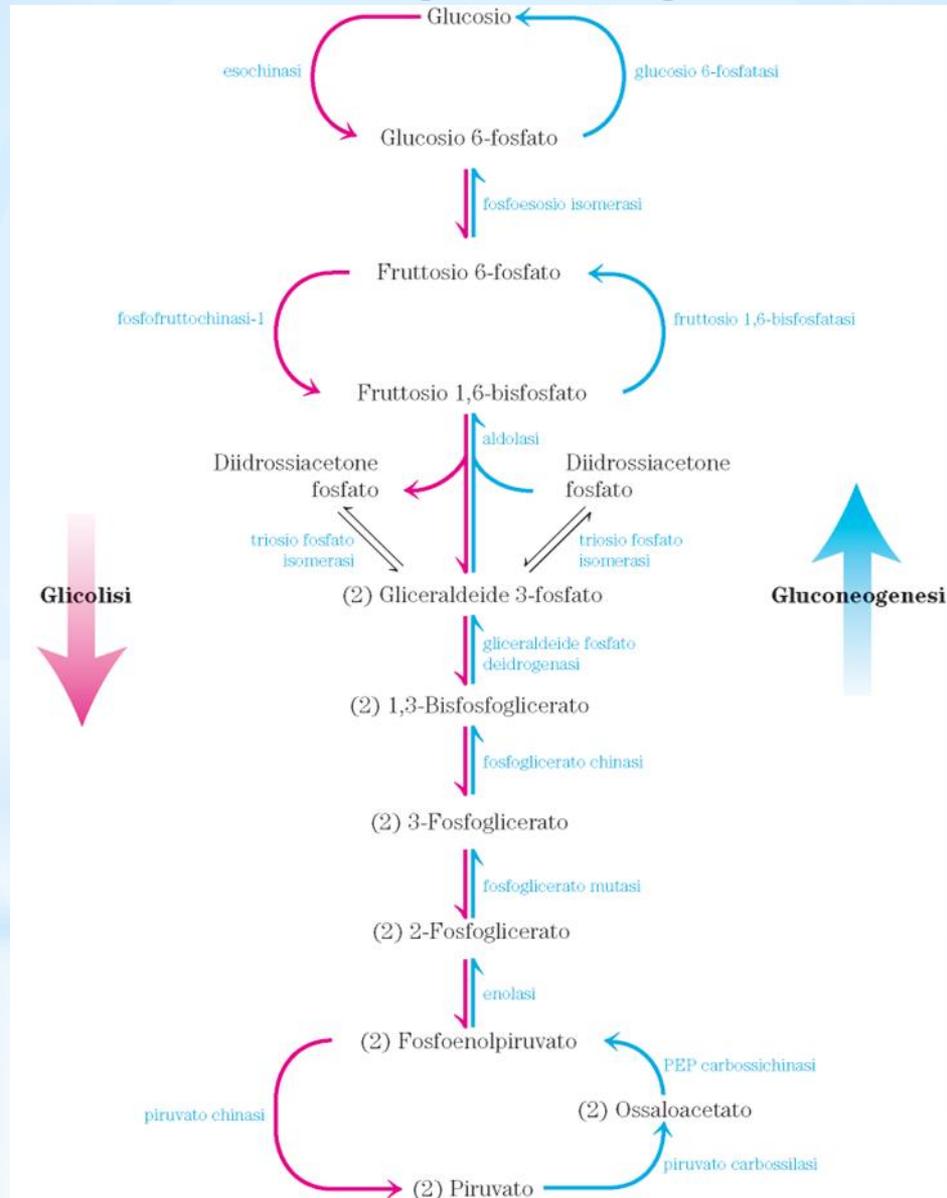
La diluizione di una soluzione contenente un complesso proteico non covalente favorisce la dissociazione dei suoi costituenti



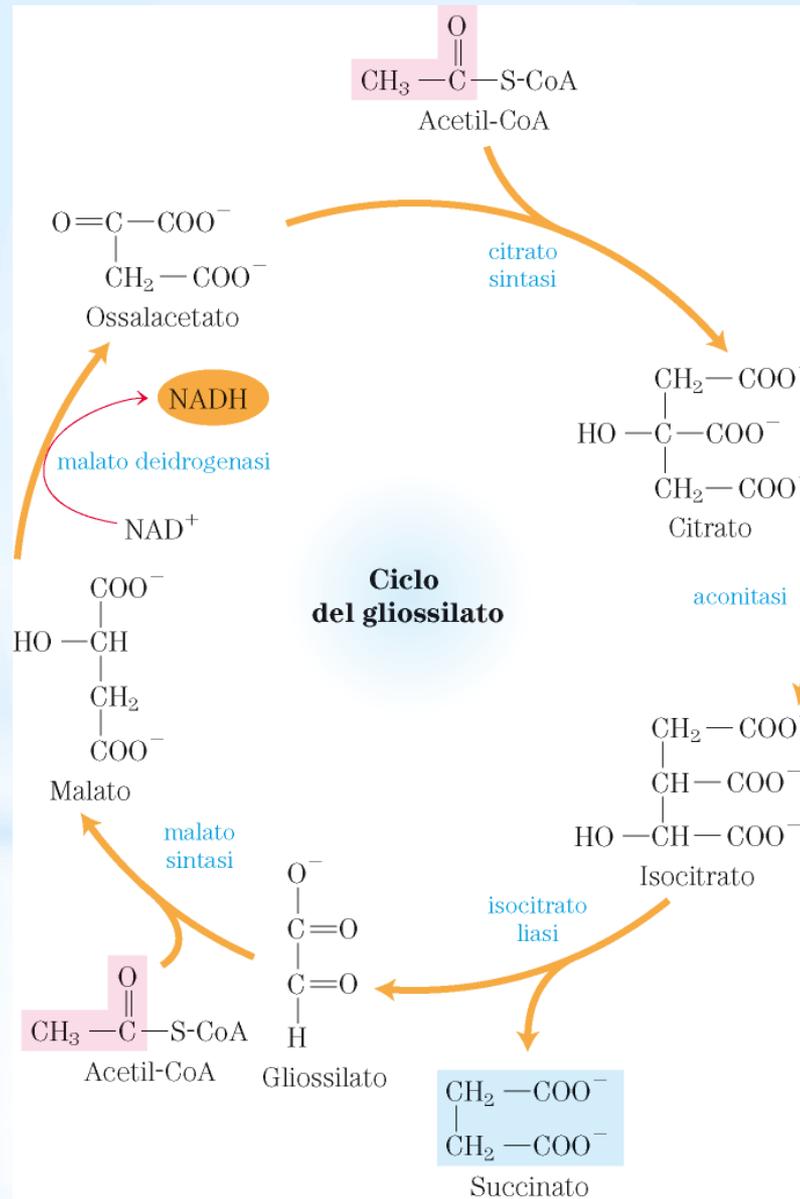
Nel citosol, l'alta concentrazione degli enzimi 1, 2 e 3 favorisce la loro associazione

Nell'estratto di cellule lisate, la diluizione nel tampone riduce la concentrazione degli enzimi 1, 2 e 3 favorendo la loro dissociazione

Glicolisi e gluconeogenesi

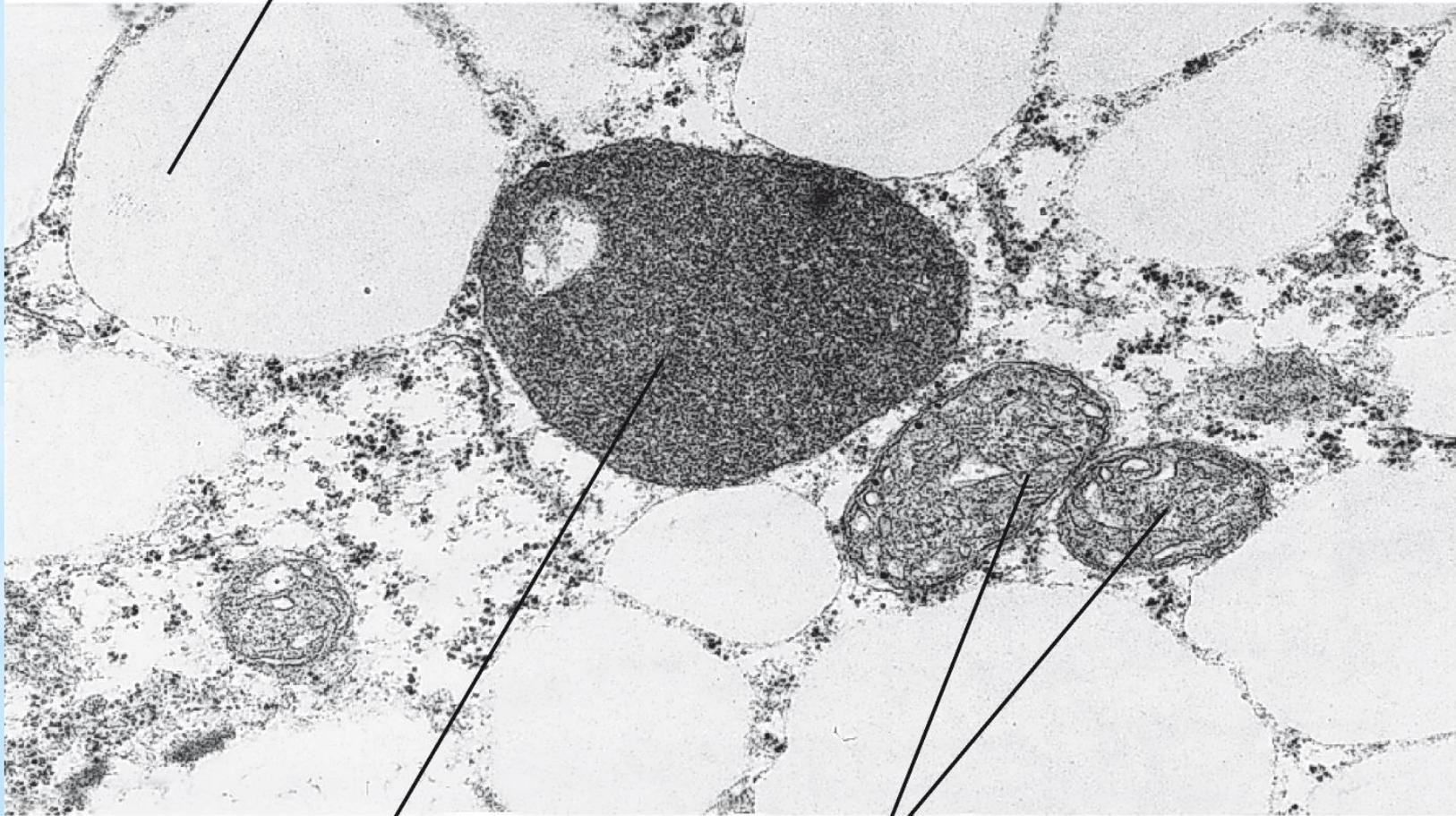


Ciclo del glicossilato



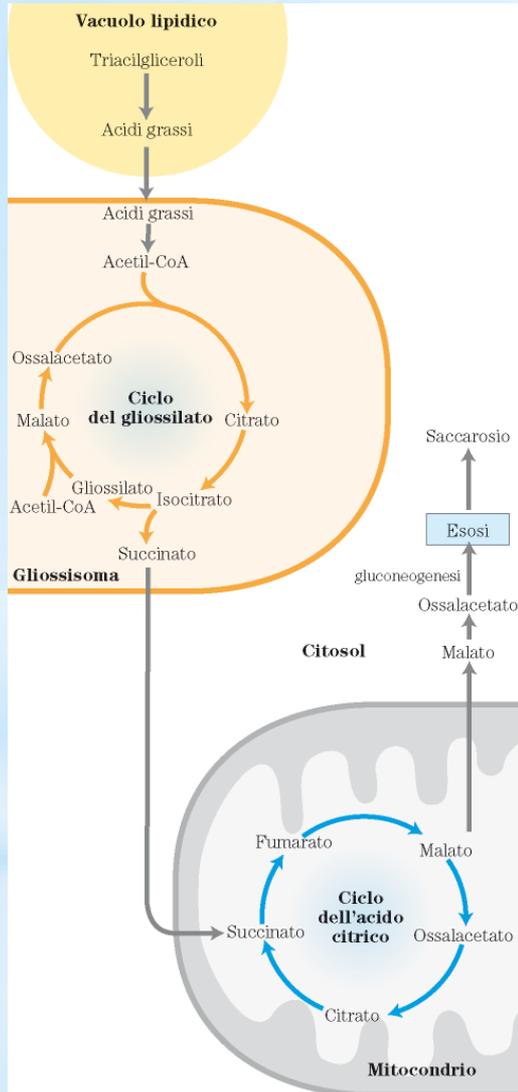
Fotografia al microscopio elettronico di un seme di cetriolo in germinazione

Vacuolo lipidico



Gliossisoma

Mitocondri



Relazione tra il ciclo del glicosilato e quello dell'acido citrico

Regolazione coordinata dei cicli del glicossilato e dell'acido ciclico

