

## AVVERTENZA

Il presente materiale didattico è messo a disposizione degli studenti per facilitare la comprensione degli argomenti trattati nel corso delle lezioni e lo studio individuale

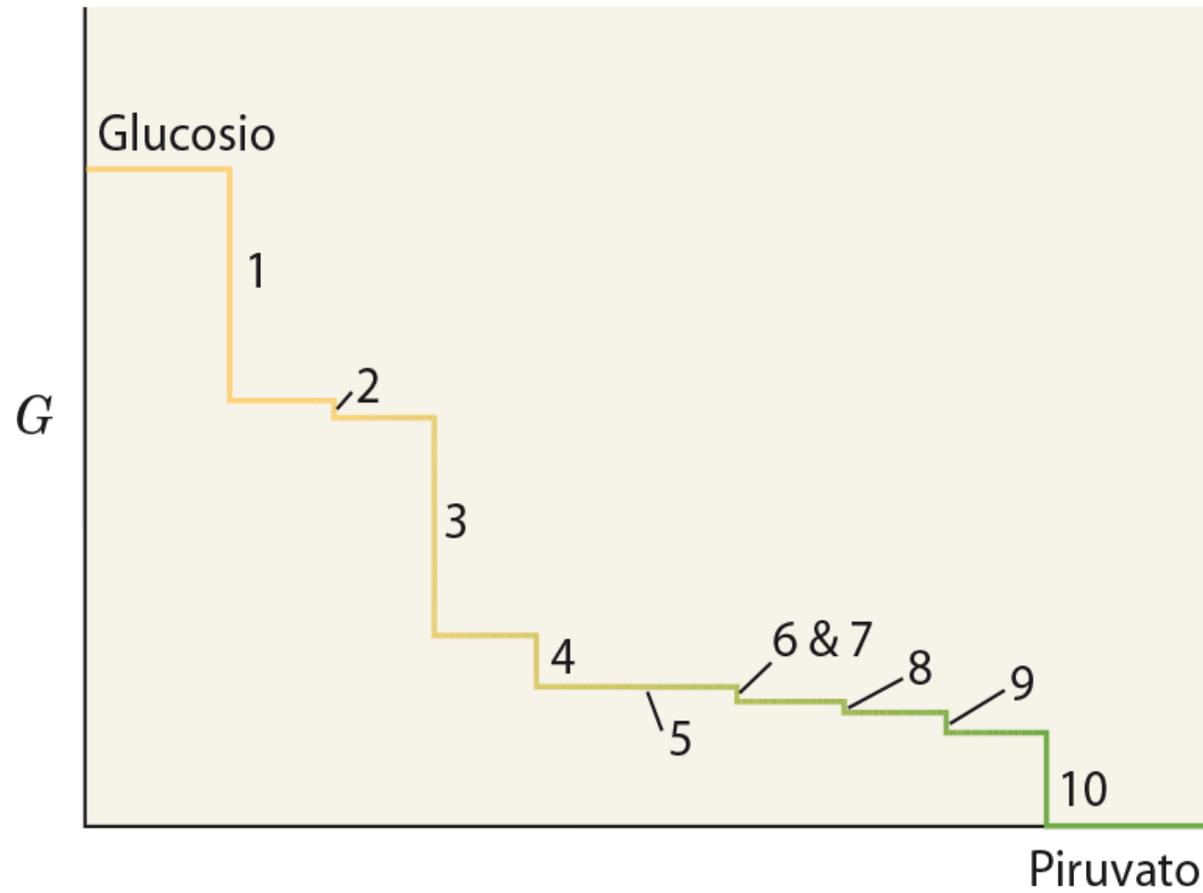
Non sostituisce il libro di testo che rappresenta lo strumento fondamentale per lo studio della **Biochimica generale e molecolare**

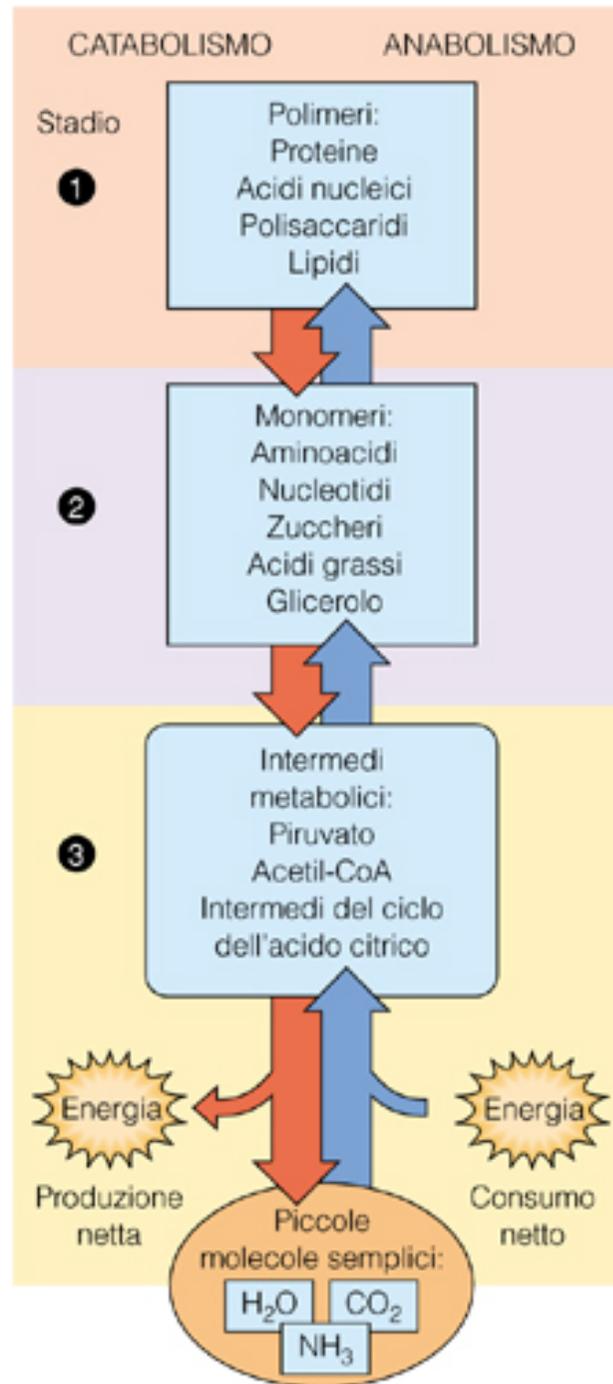
Le immagini utilizzate sono tratte dal libro di testo consigliato e da quelli da consultare indicati nelle diapositive 3-7 del file  
INTRODUZIONE

# GLUCONEOGENESI

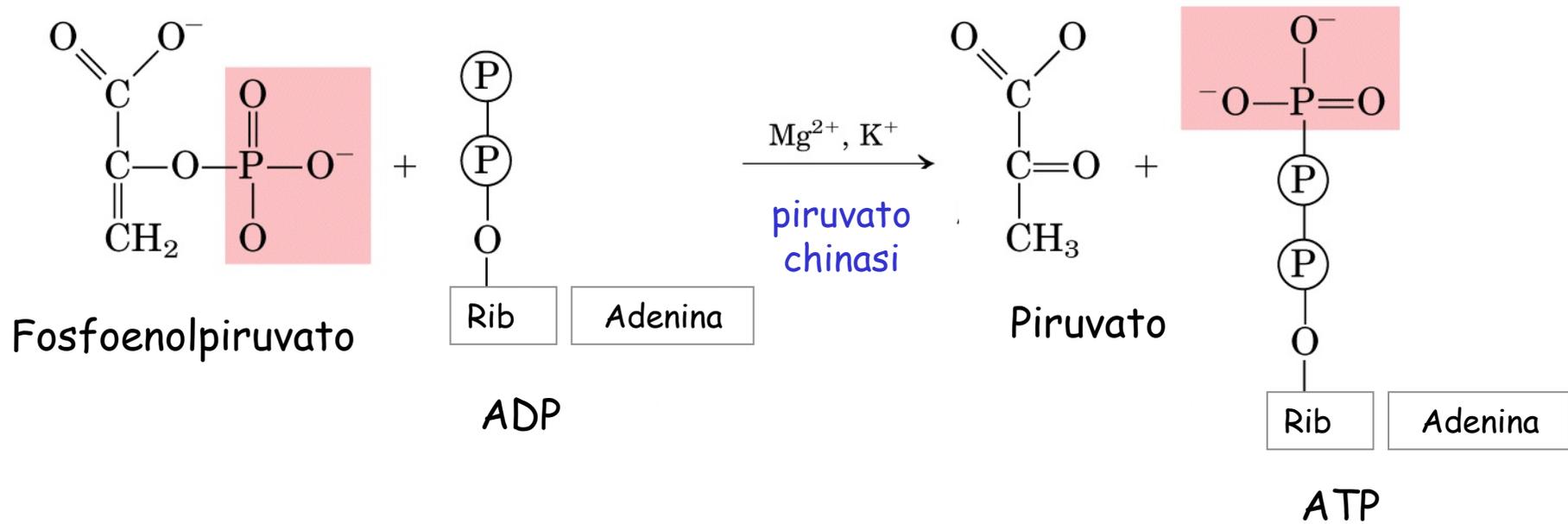
- Sintesi di glucosio da precursori non glucidici
- Avviene principalmente nel fegato durante il digiuno e anche in piccola parte nella corteccia renale
- Non è esattamente l'inverso della glicolisi perché è termodinamicamente sfavorita
- 7 reazioni sono in comune con la glicolisi (2, 4-9)
- 3 sono diverse (1, 3 e 10)

## Variazioni di energia libera nella glicolisi





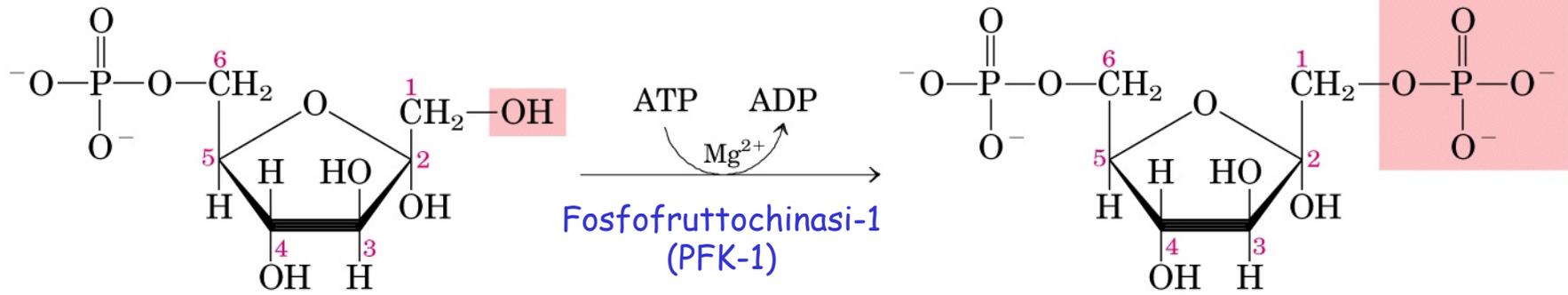
10



$$\Delta G'^{\circ} = -31.4 \text{ kJ/mol}$$

Fosforilazione a livello del substrato

3

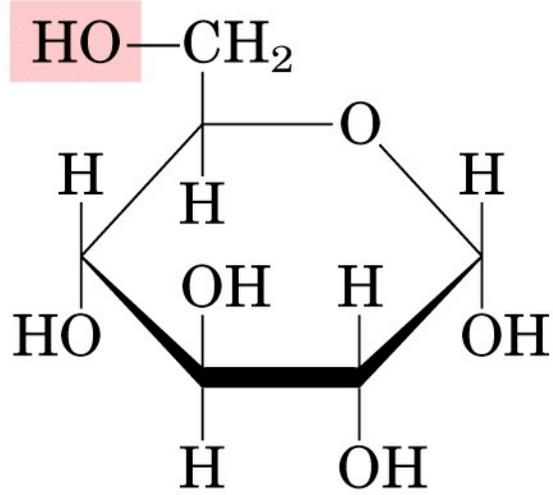


Fruttosio 6-fosfato

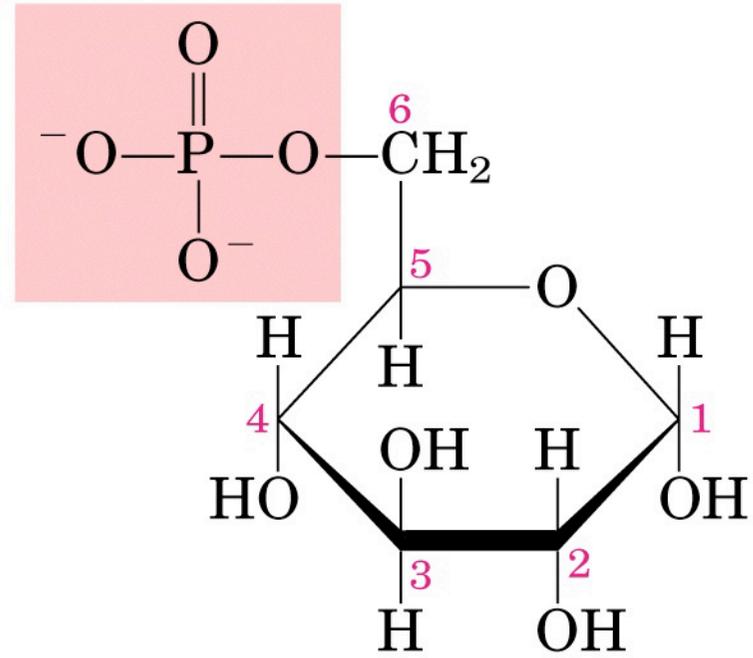
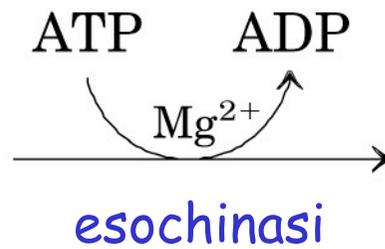
Fruttosio 1,6-bisfosfato

$$\Delta G'^{\circ} = -14.2 \text{ kJ/mol}$$

1



Glucosio



Glucosio 6-fosfato

$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

# ENZIMI SPECIFICI DELLA GLUCONEOGENESI

- PIRUVATO CARBOSSILASI
- FOSFOENOLPIRUVATO CARBOSSICHINASI
- FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATASI
- GLUCOSIO 6-FOSFATASI

Mitocondri PIRUVATO CARBOSSILASI

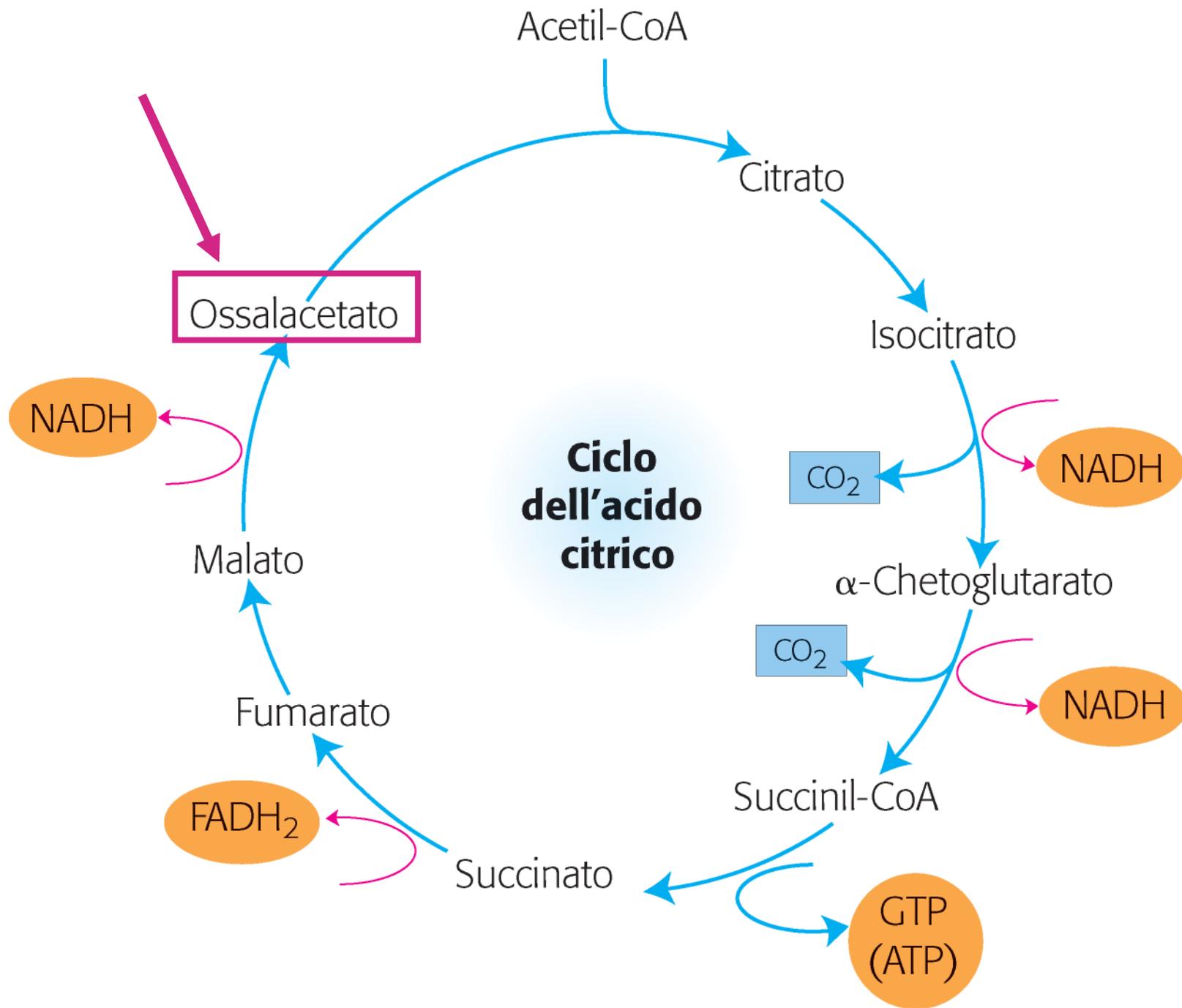


Citosol FOSFOENOLPIRUVATO CARBOSSICHINASI



# PIRUVATO CARBOSSILASI

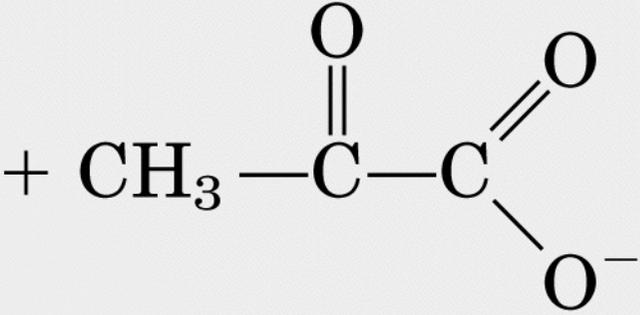
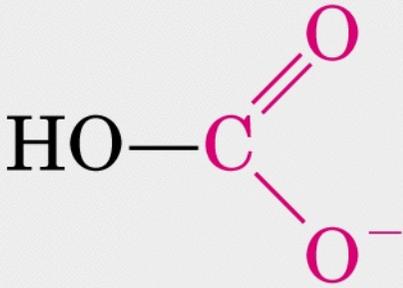
- Richiede ATP e bicarbonato
- Gruppo prostetico: Biotina
- E' presente nei mitocondri
- AcetilCoA è un attivatore allosterico
- La reazione che catalizza è detta anaplerotica



mitocondri

Bicarbonato

Piruvato



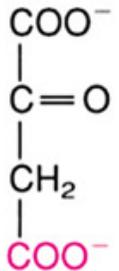
piruvato  
carbossilasi

ATP

Biotina

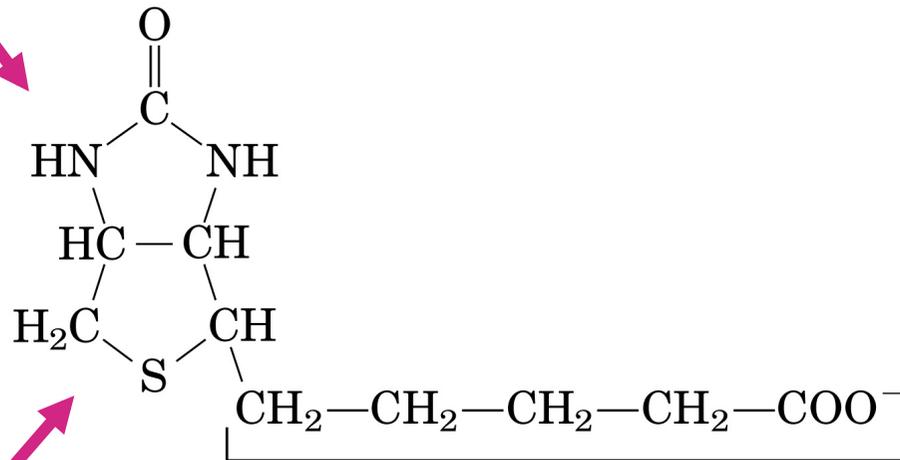
ADP + P<sub>i</sub>

Ossalacetato



# La biotina è il coenzima delle carbossilasi

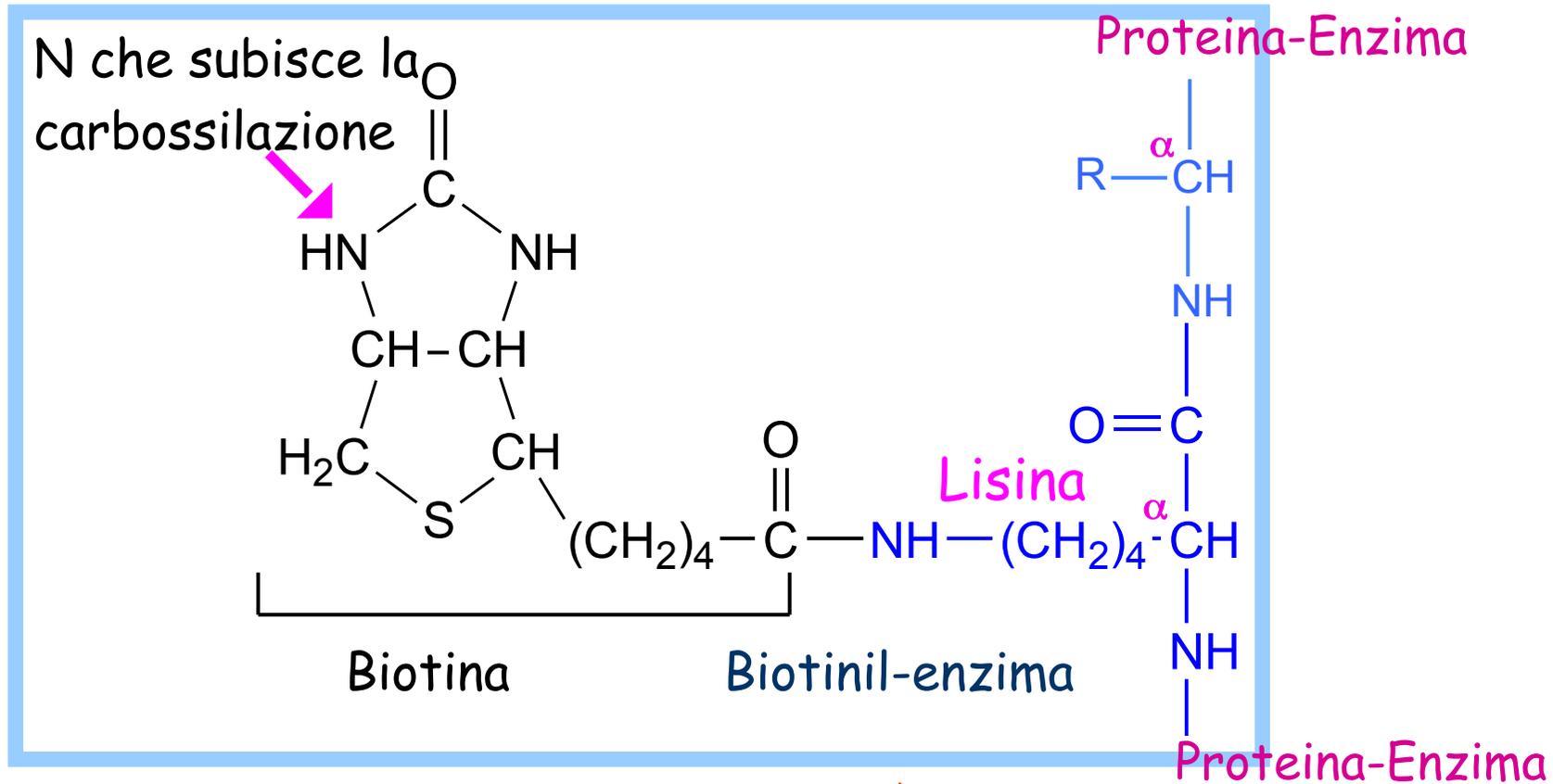
imidazolidinone

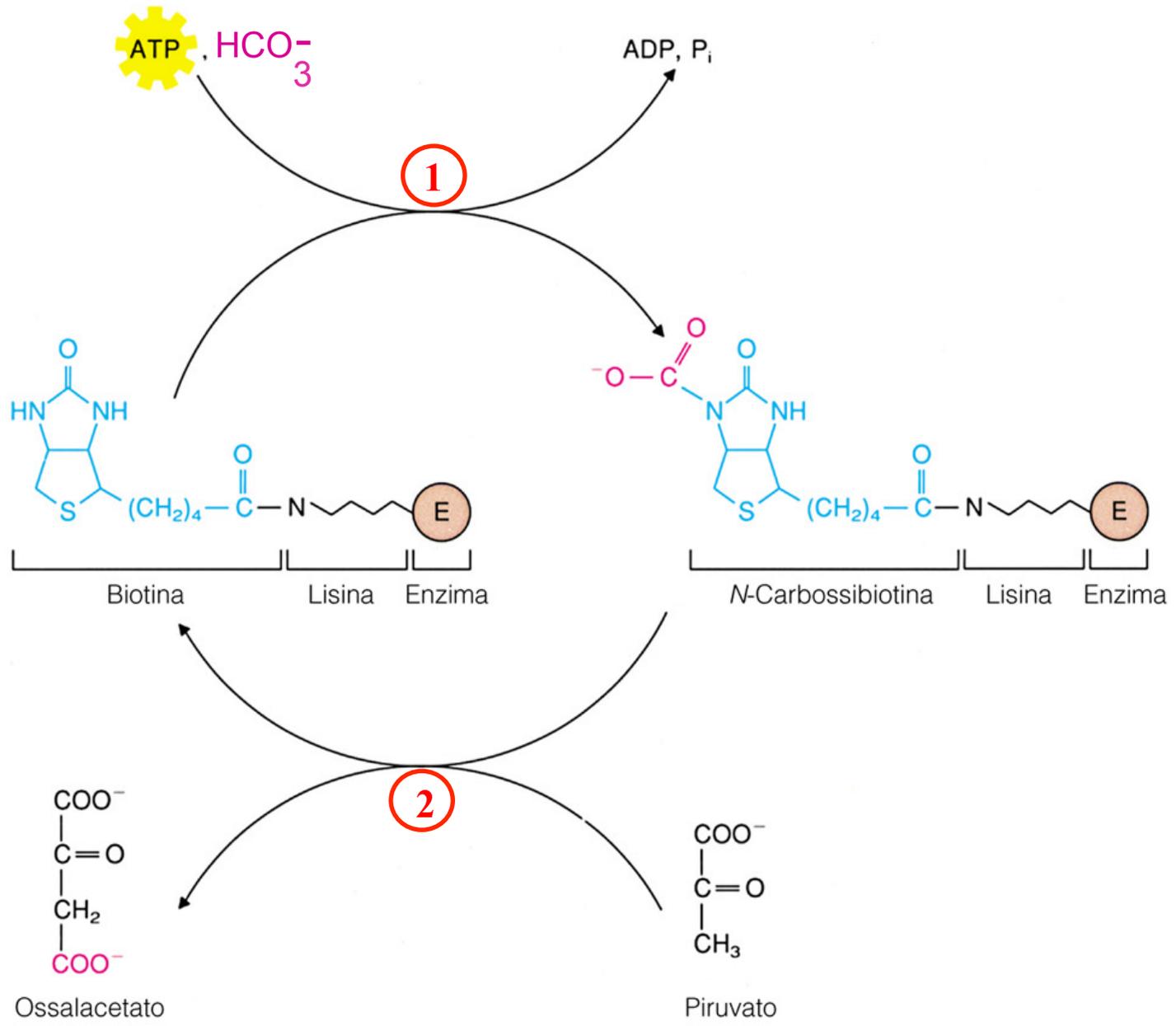


tiofene

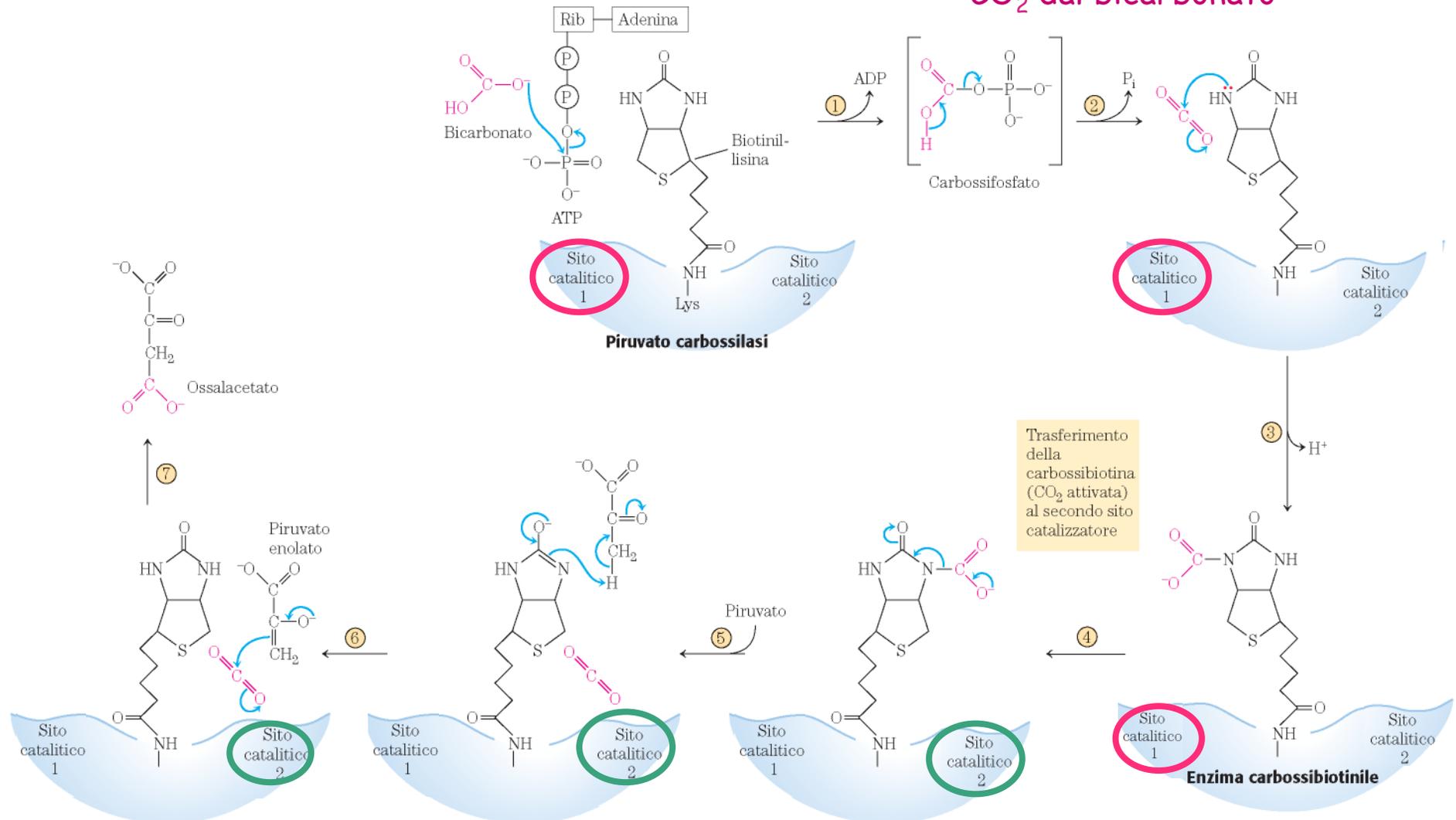
Valerianato

## Biotina

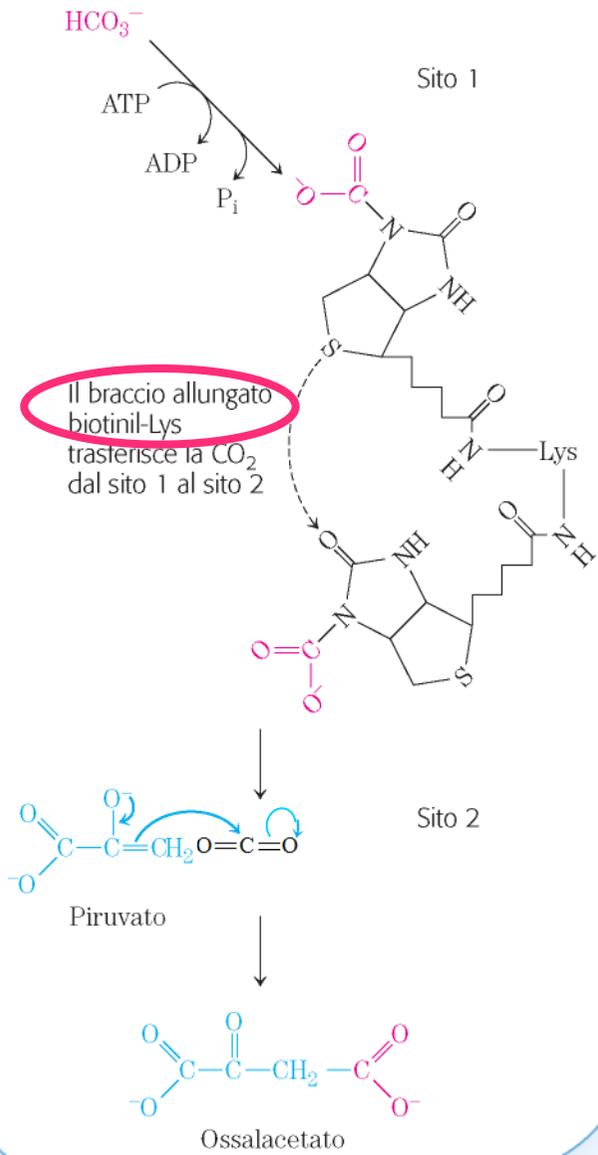


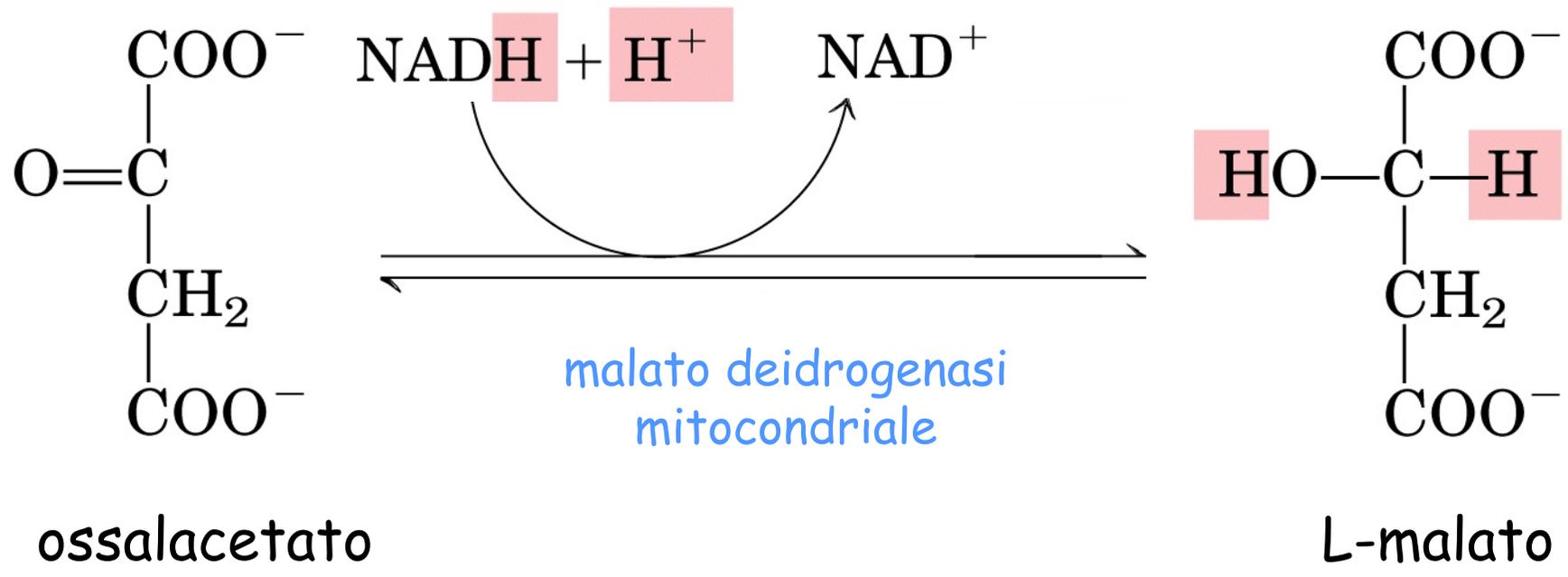


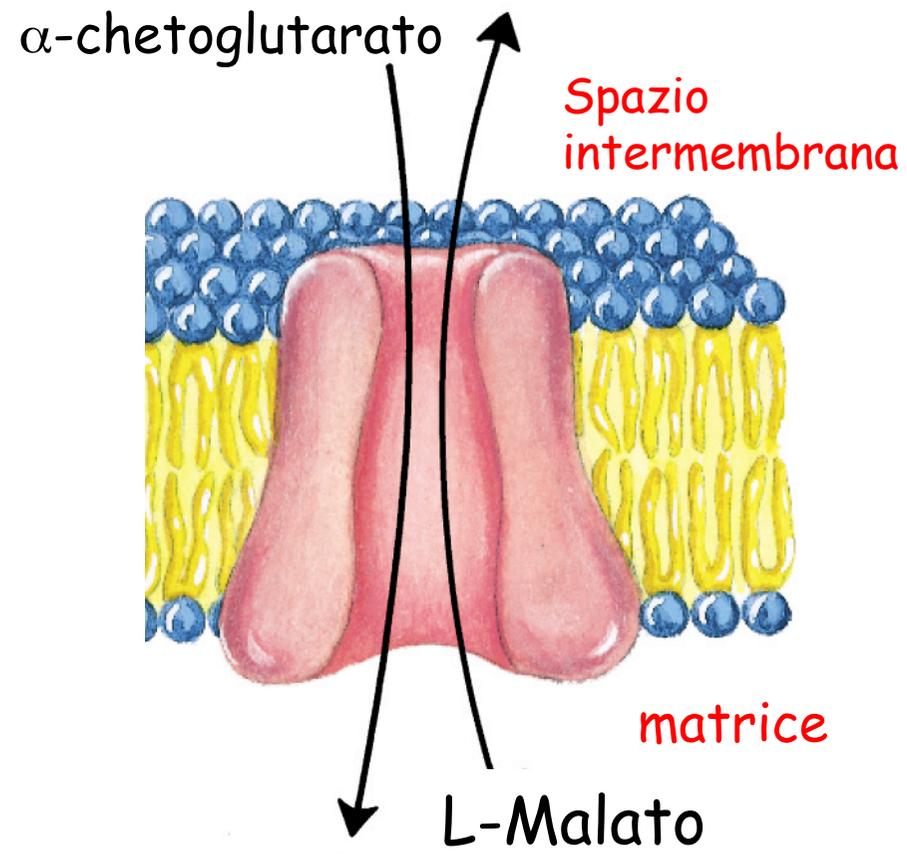
ATP serve negli stadi 1 e 2 a liberare la  $CO_2$  dal bicarbonato

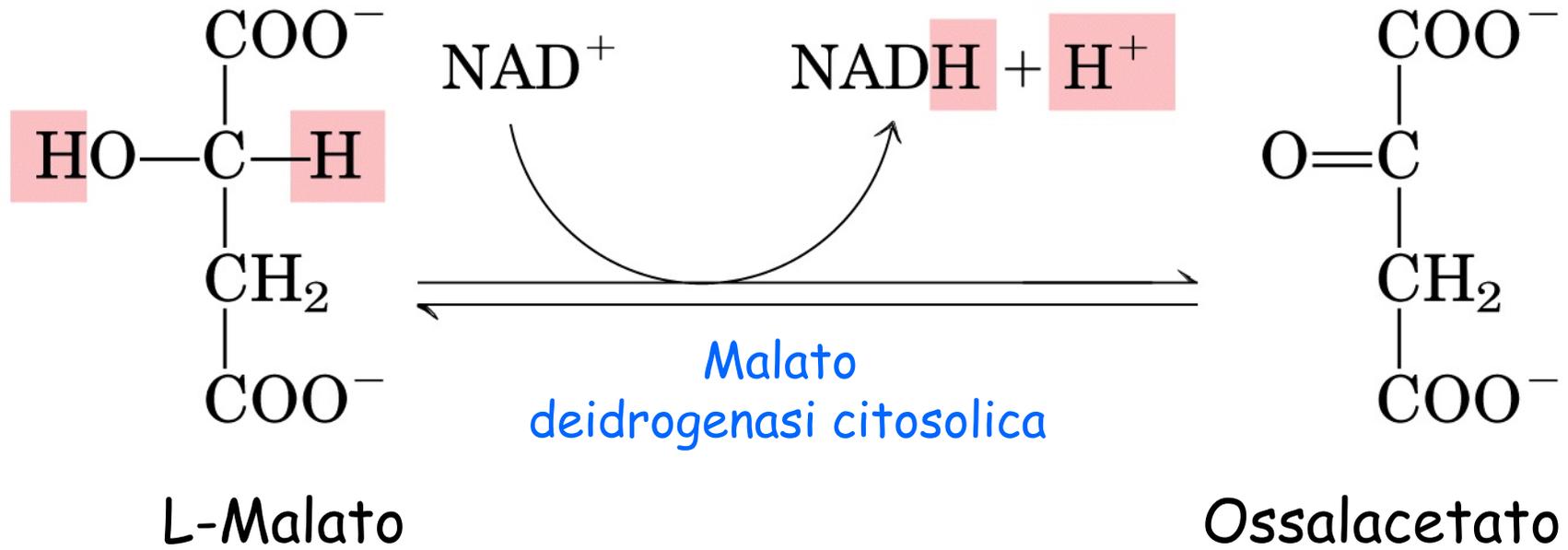


### Piruvato carbossilasi









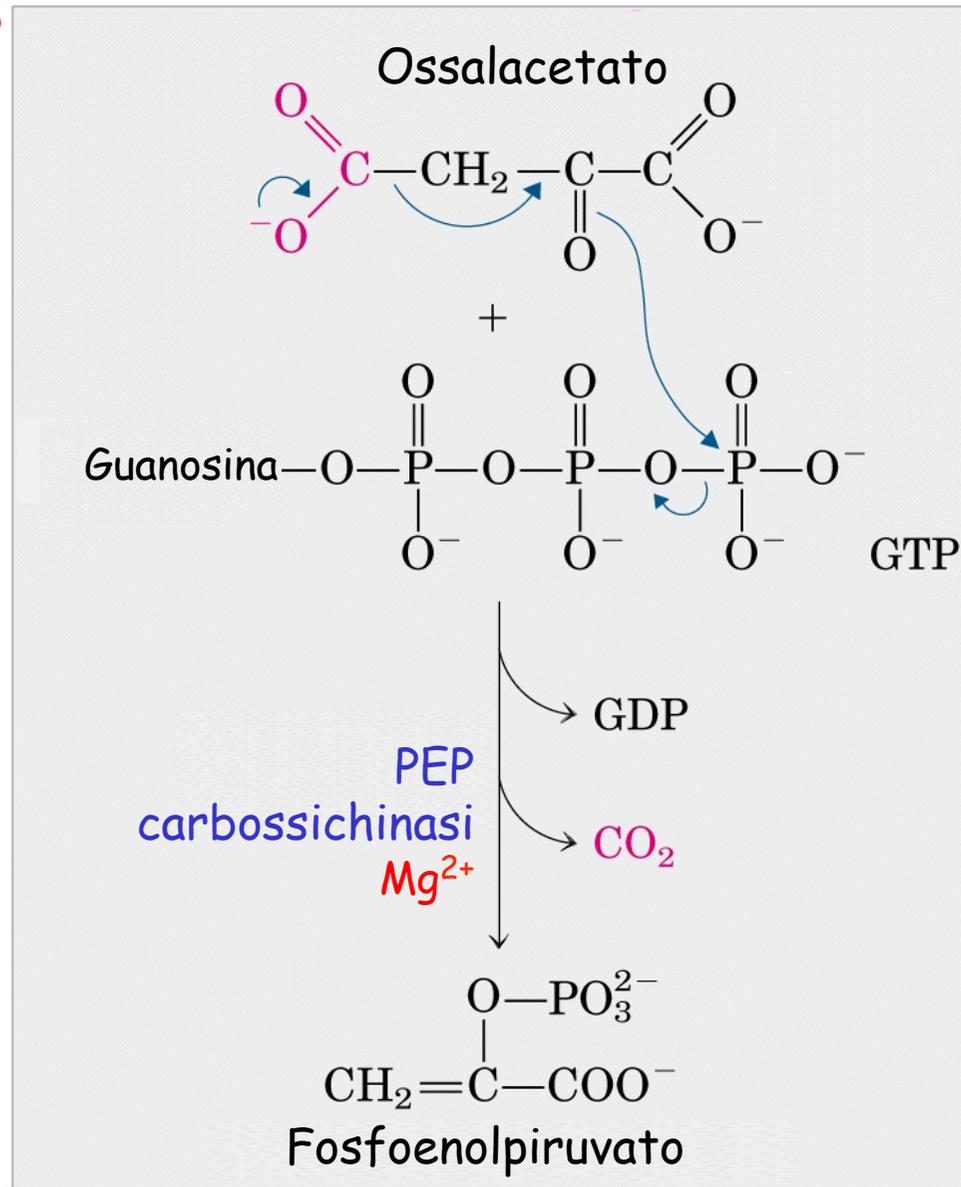
**Mitocondri** PIRUVATO CARBOSSILASI



**Citosol** FOSFOENOLPIRUVATO CARBOSSICHINASI



La decarbossilazione dell'ossalacetato facilita la formazione del PEP



Reazione reversibile nelle condizioni cellulari

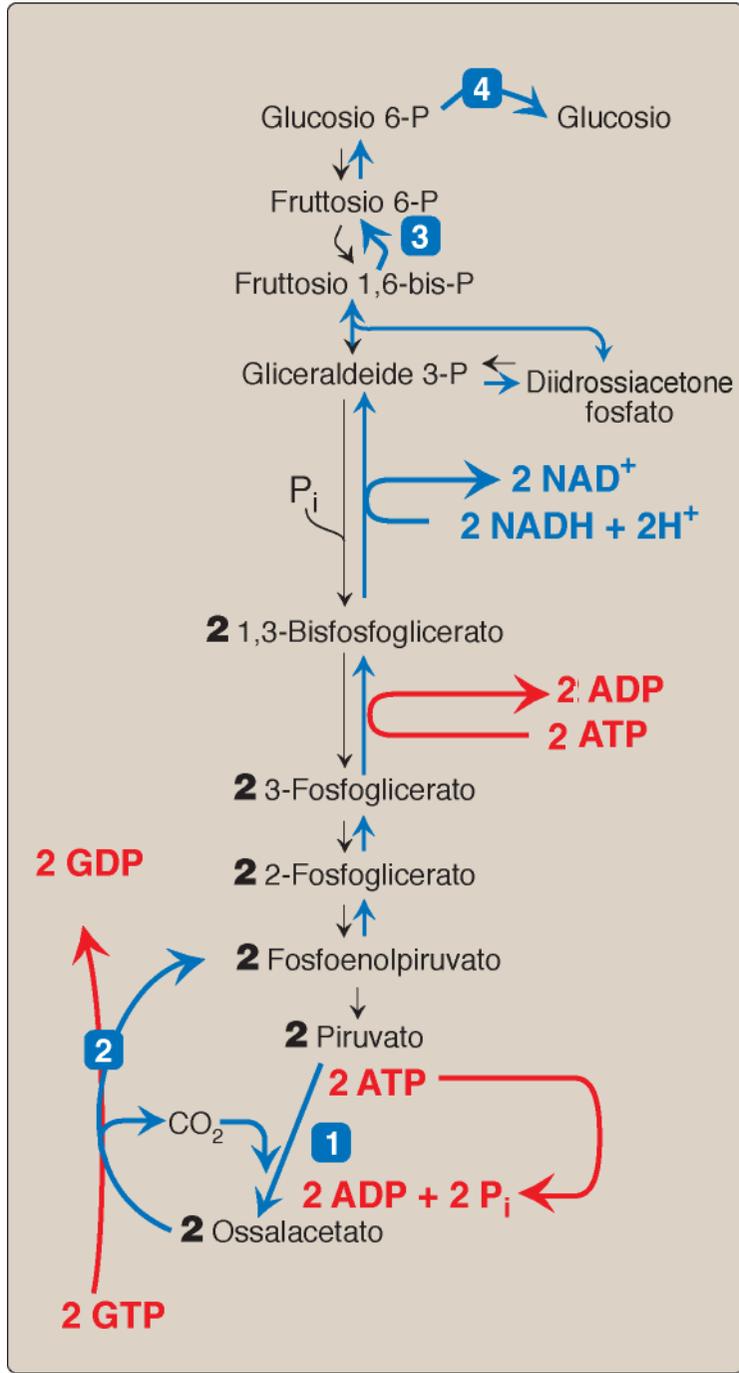
carbossilazione



$\Delta G^{\circ}$  = 0.9 kJ/mole    mentre

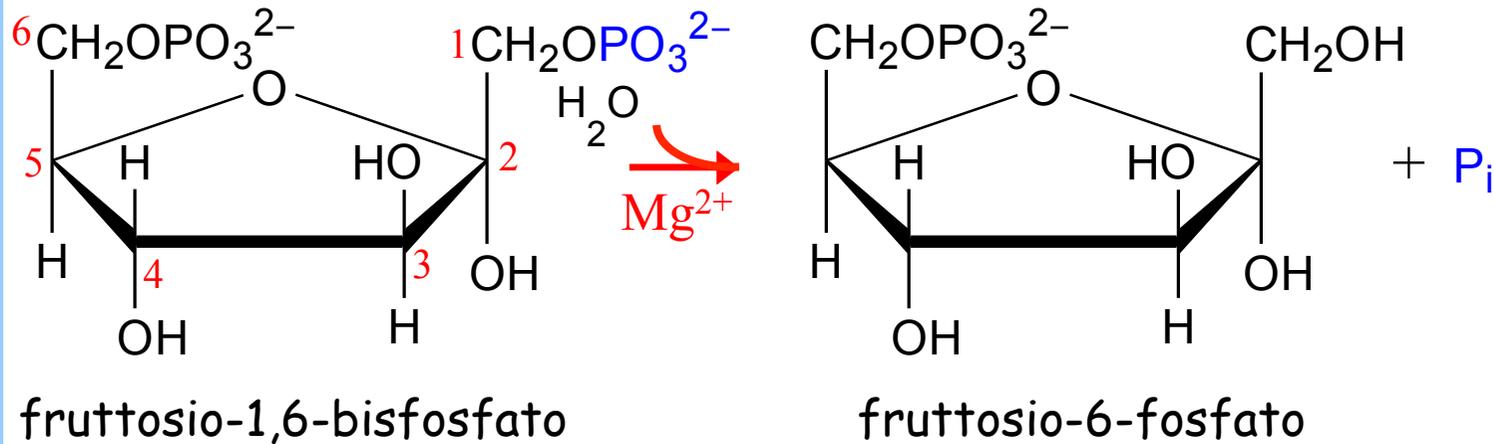
$\Delta G$  è molto **negativo perché PEP** è rapidamente  
utilizzato in altre reazioni

Glicolisi



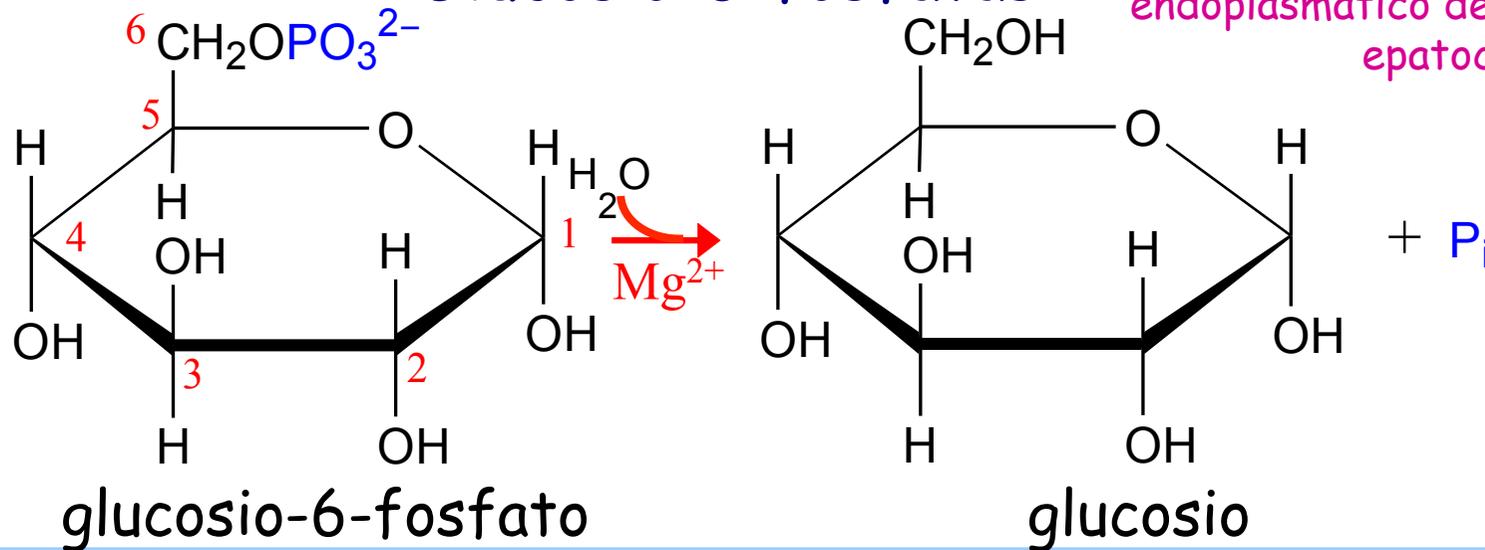
Gluconeogenesi

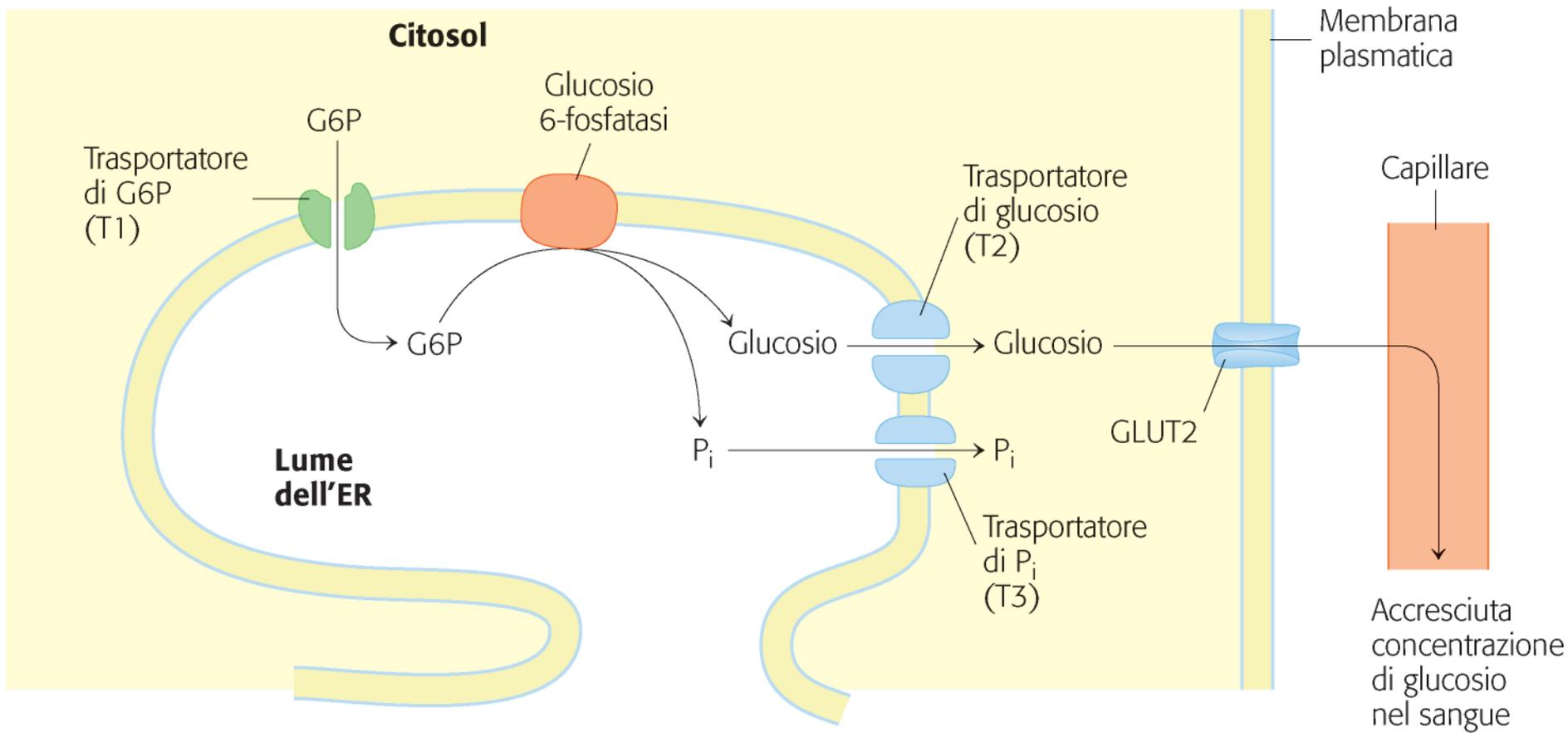
## Fruttosio-1,6-bisfosfatasi (FBPasi-1)

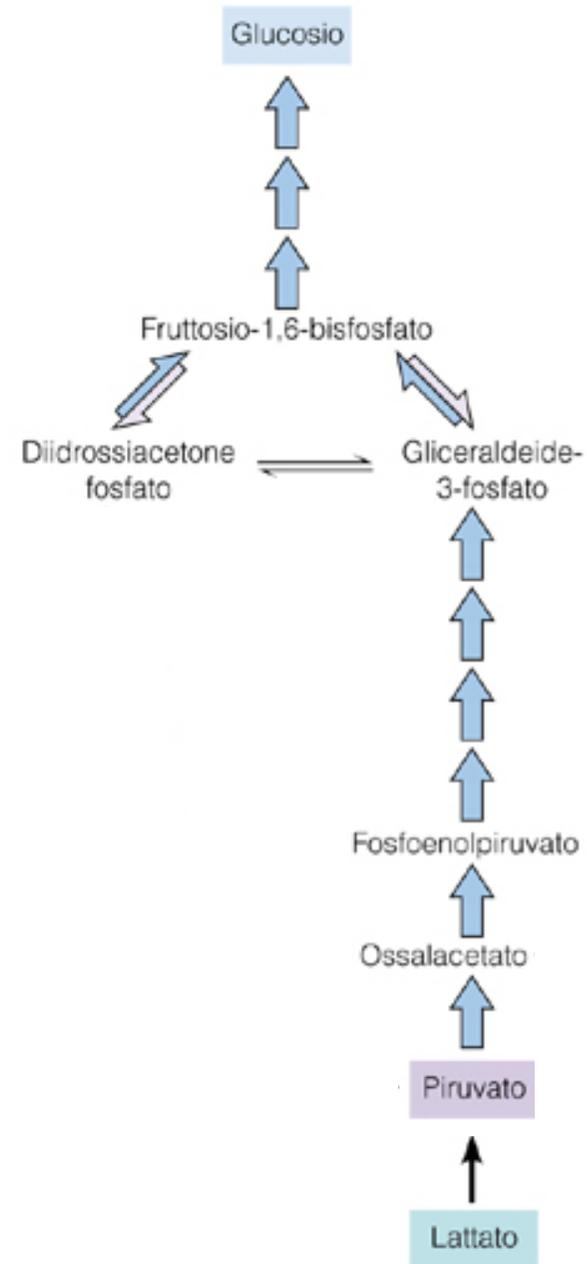


## Glucosio-6-fosfatasi

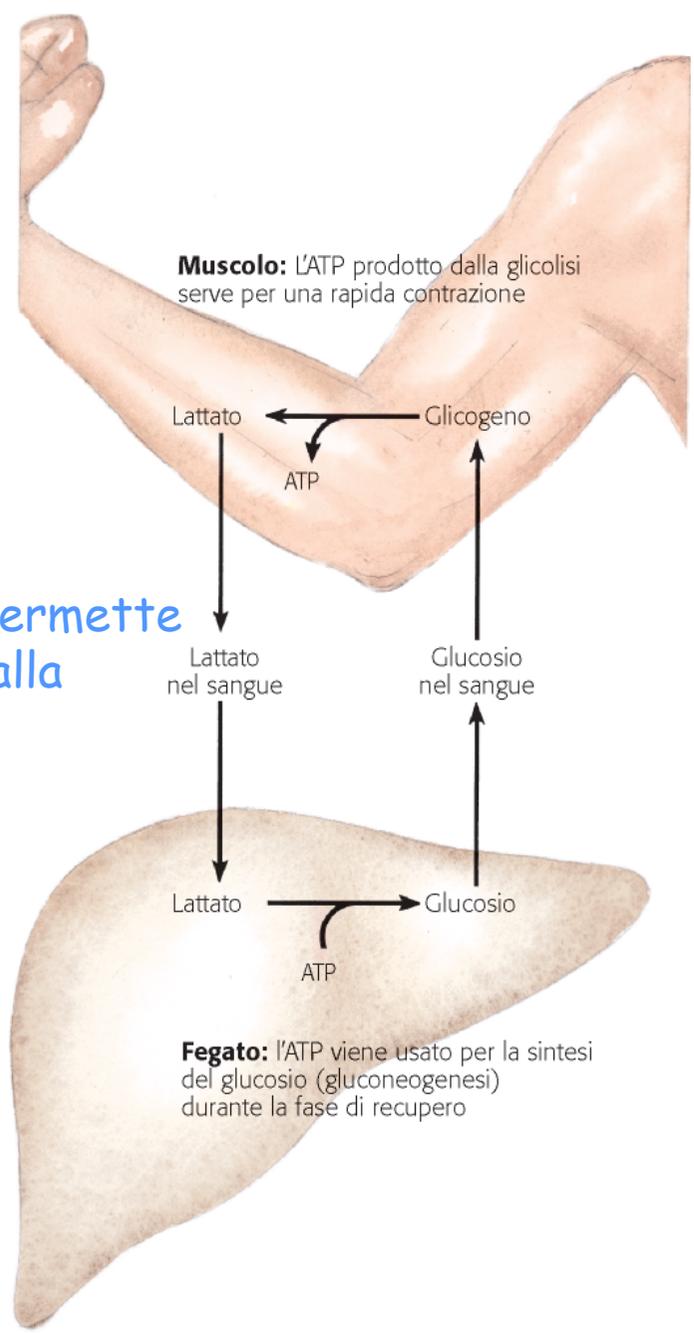
Reticolo  
endoplasmatico degli  
epatociti



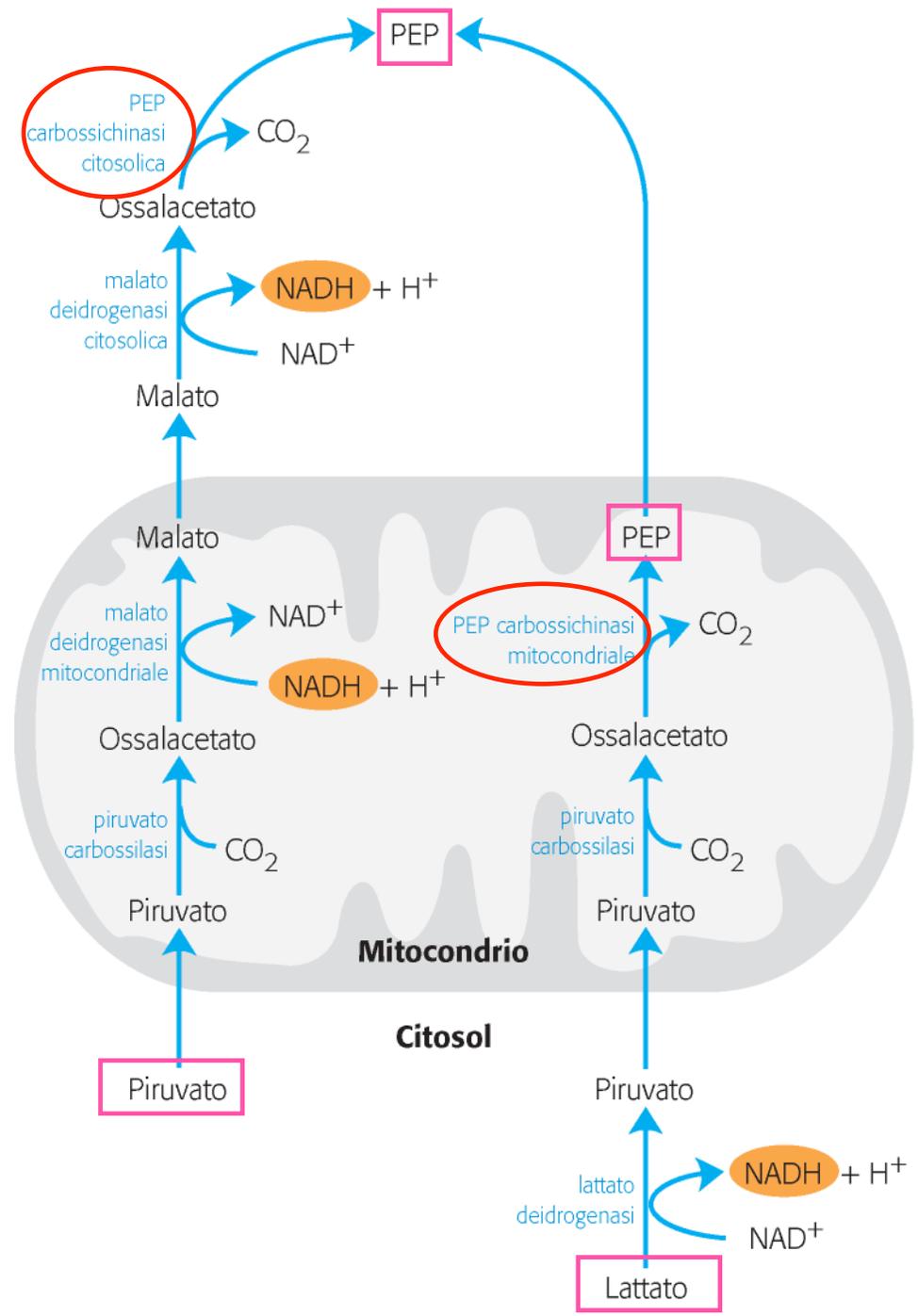


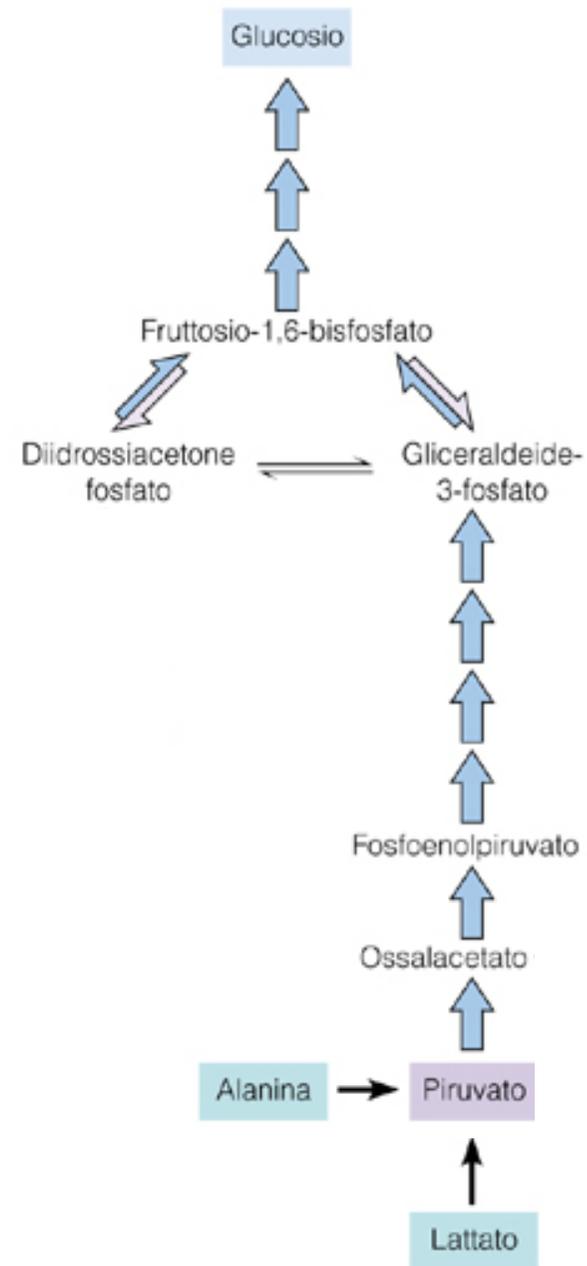


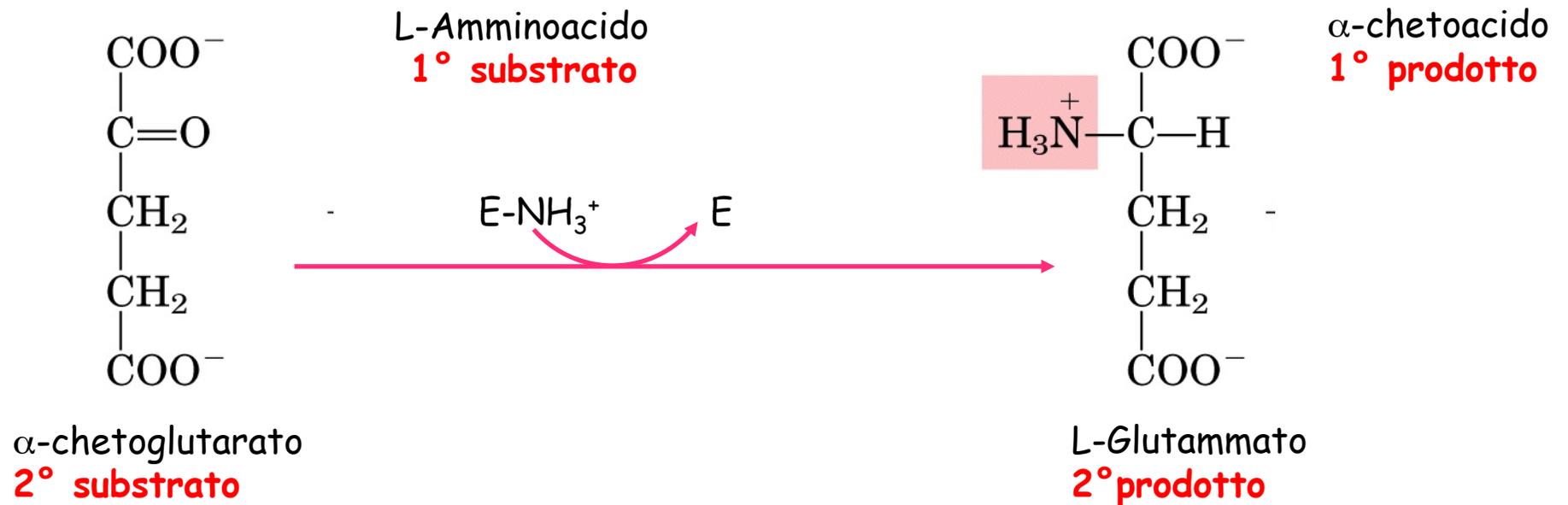
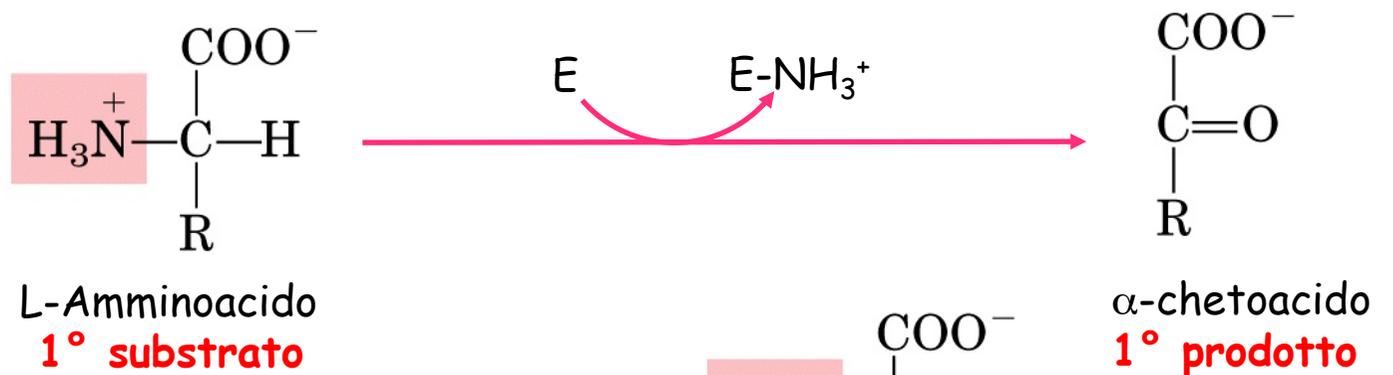
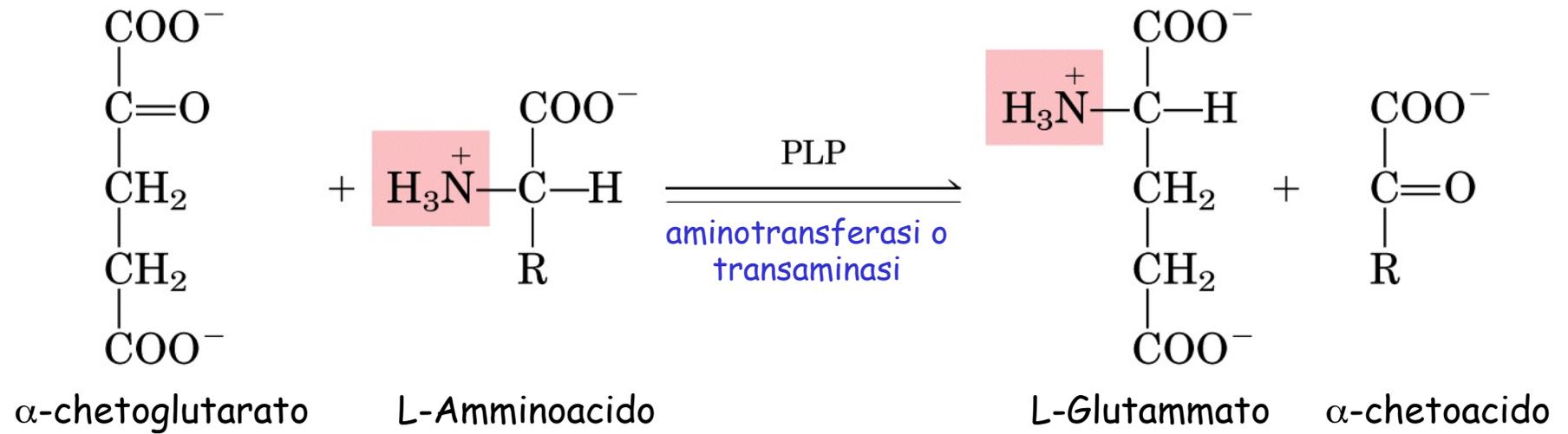
# Ciclo di Cori

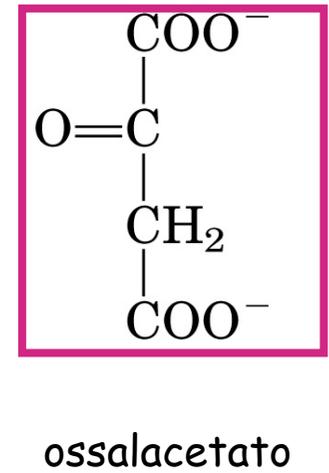
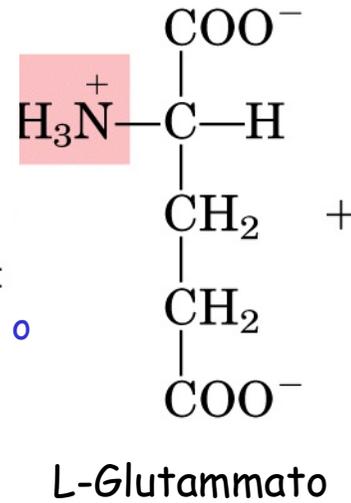
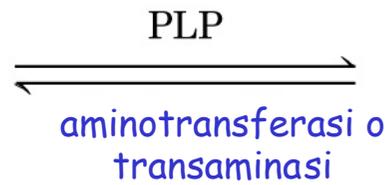
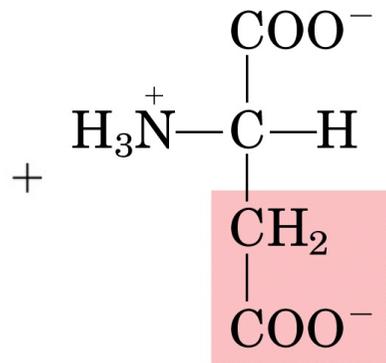
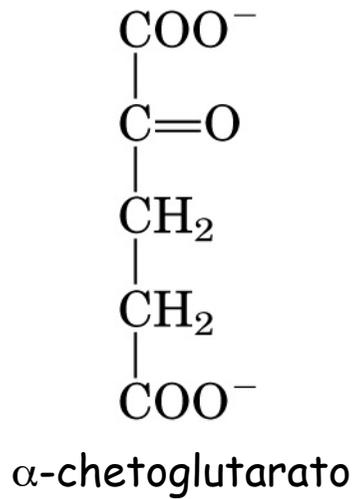
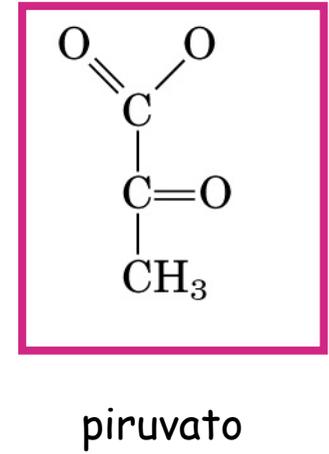
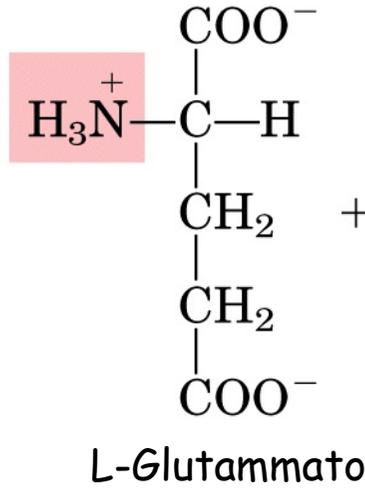
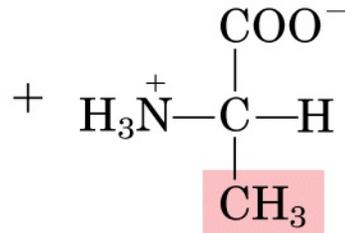
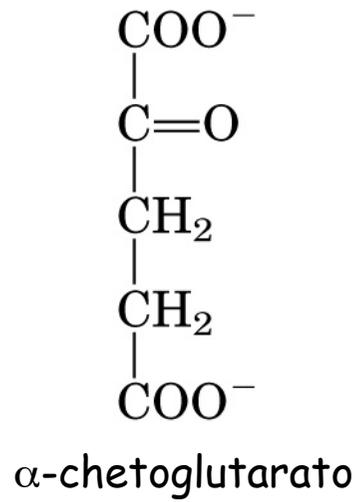


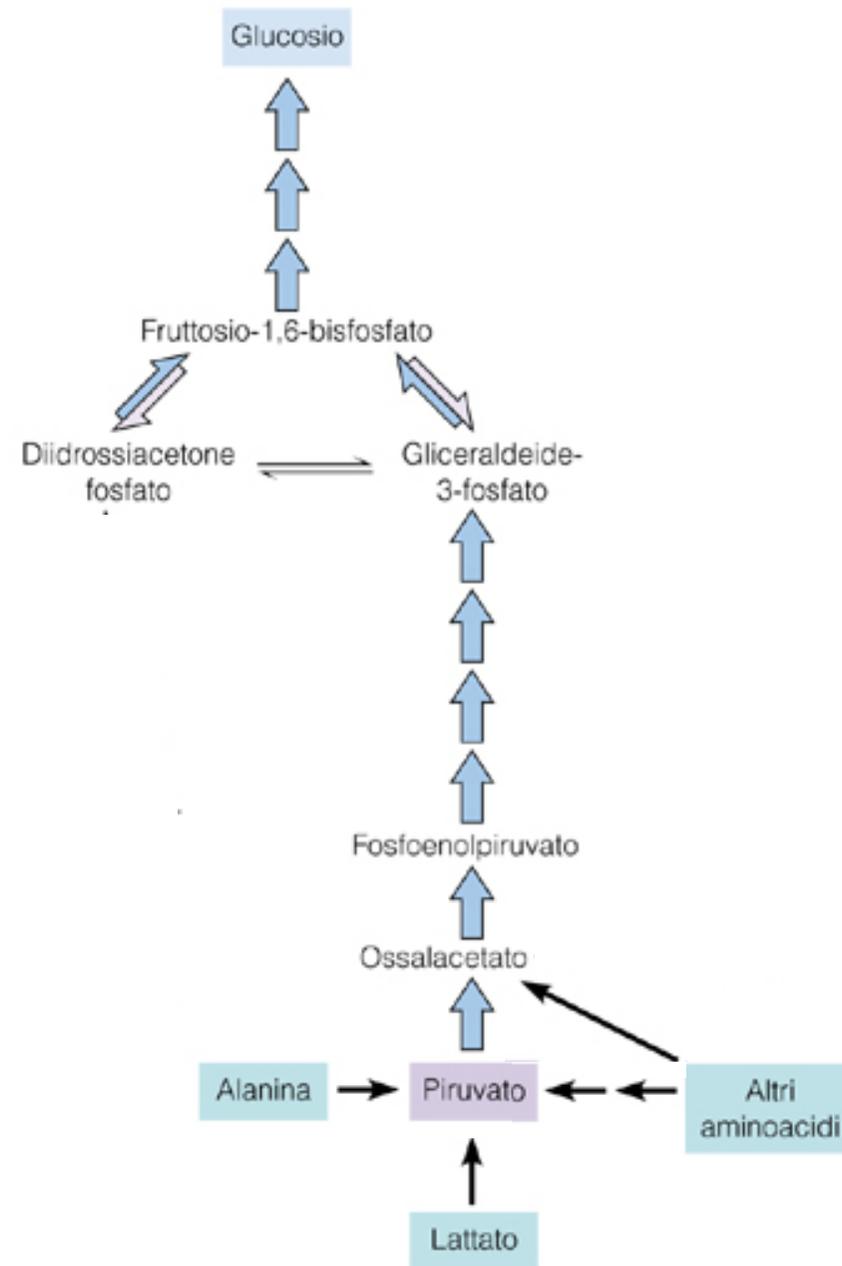
Un simporto Lattato/H<sup>+</sup> permette la fuoriuscita di lattato dalla cellula muscolare

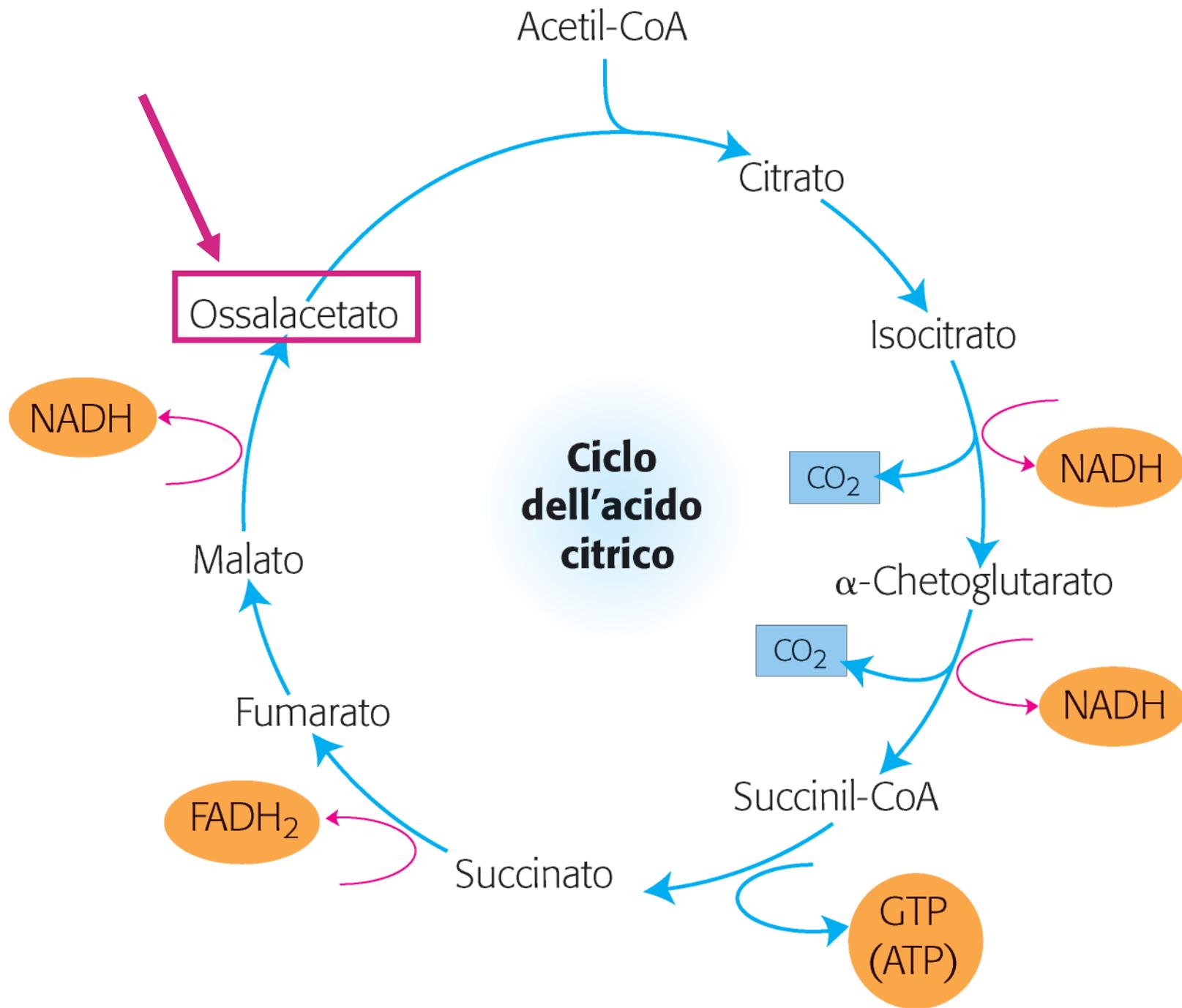


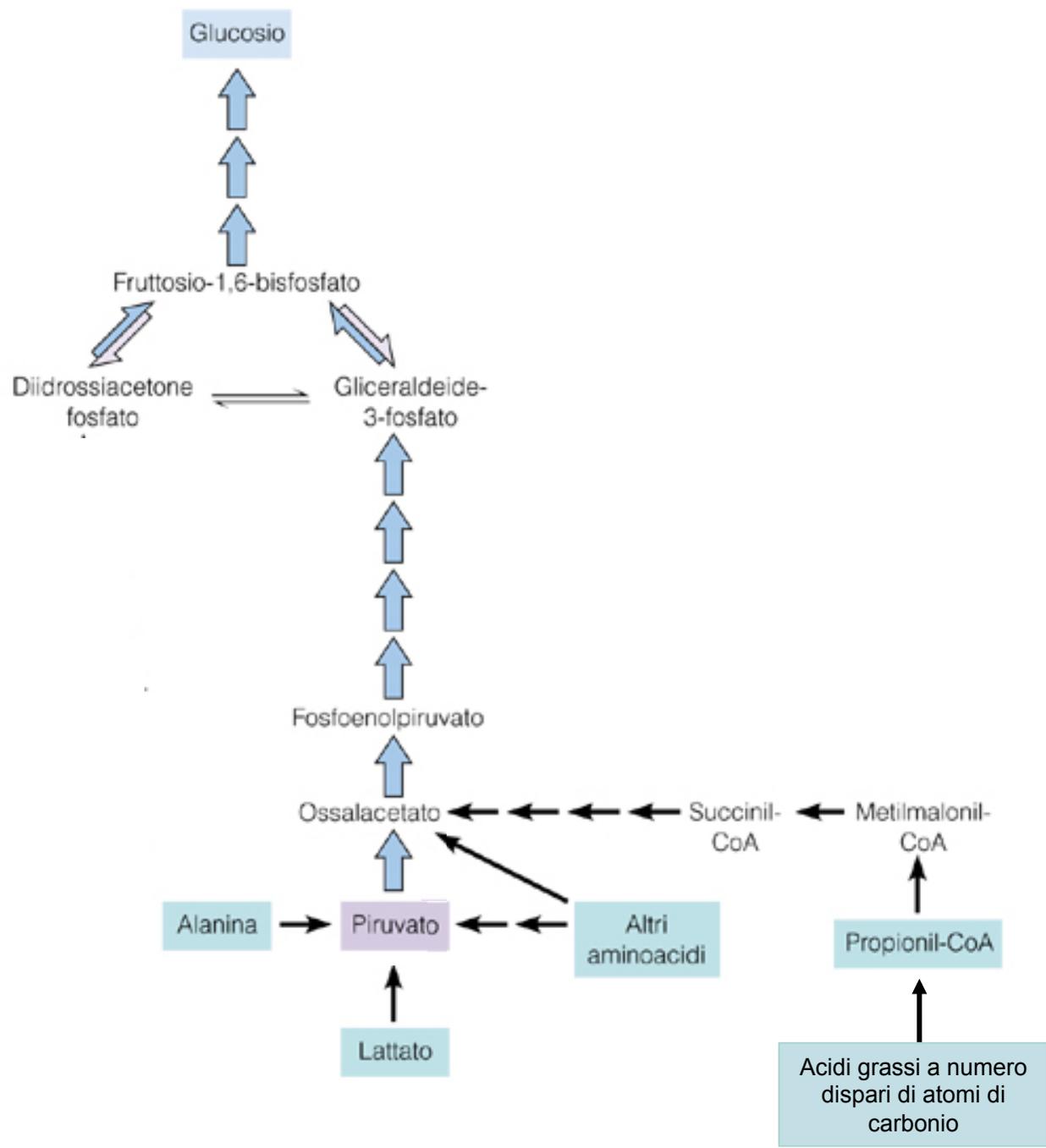


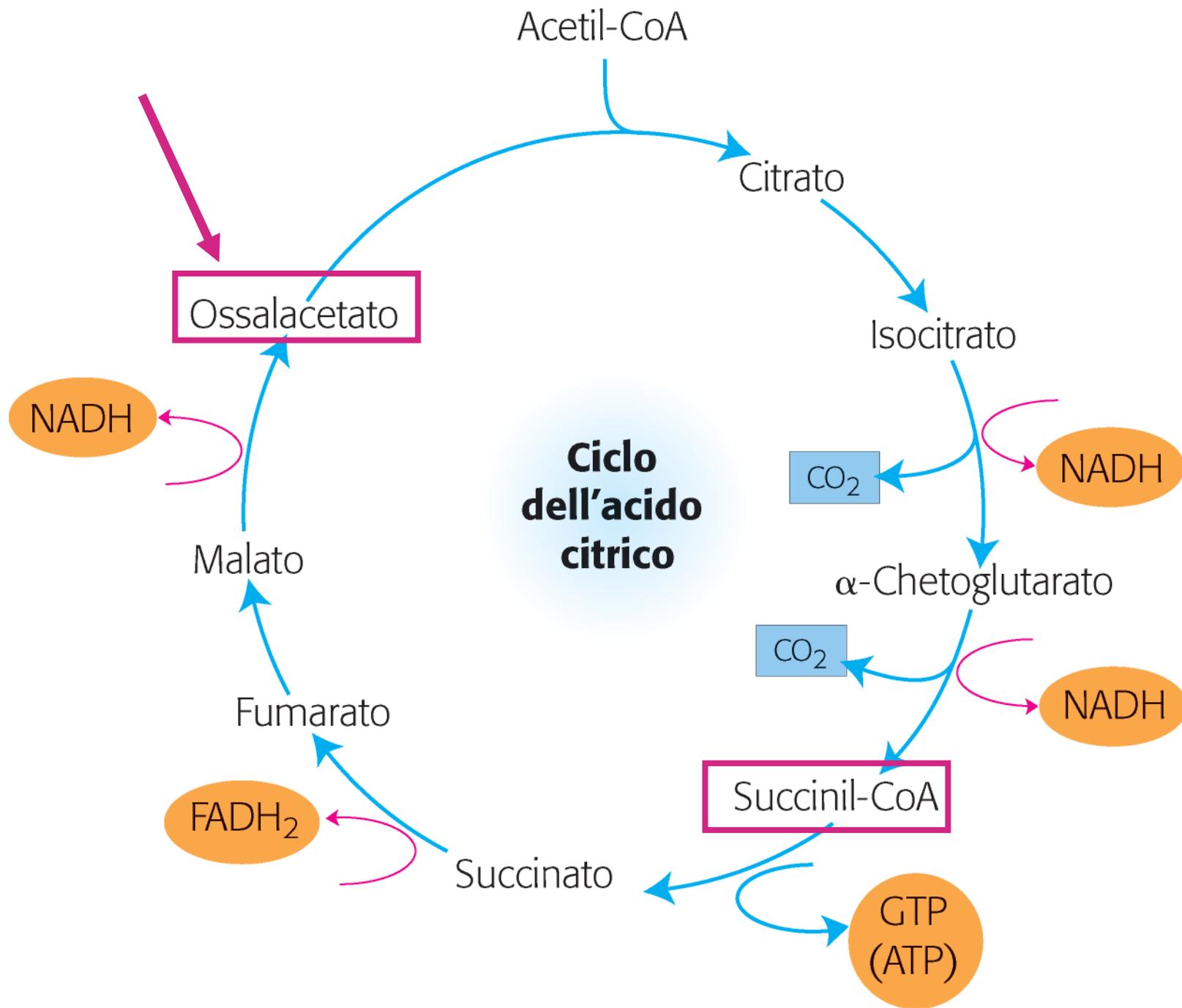


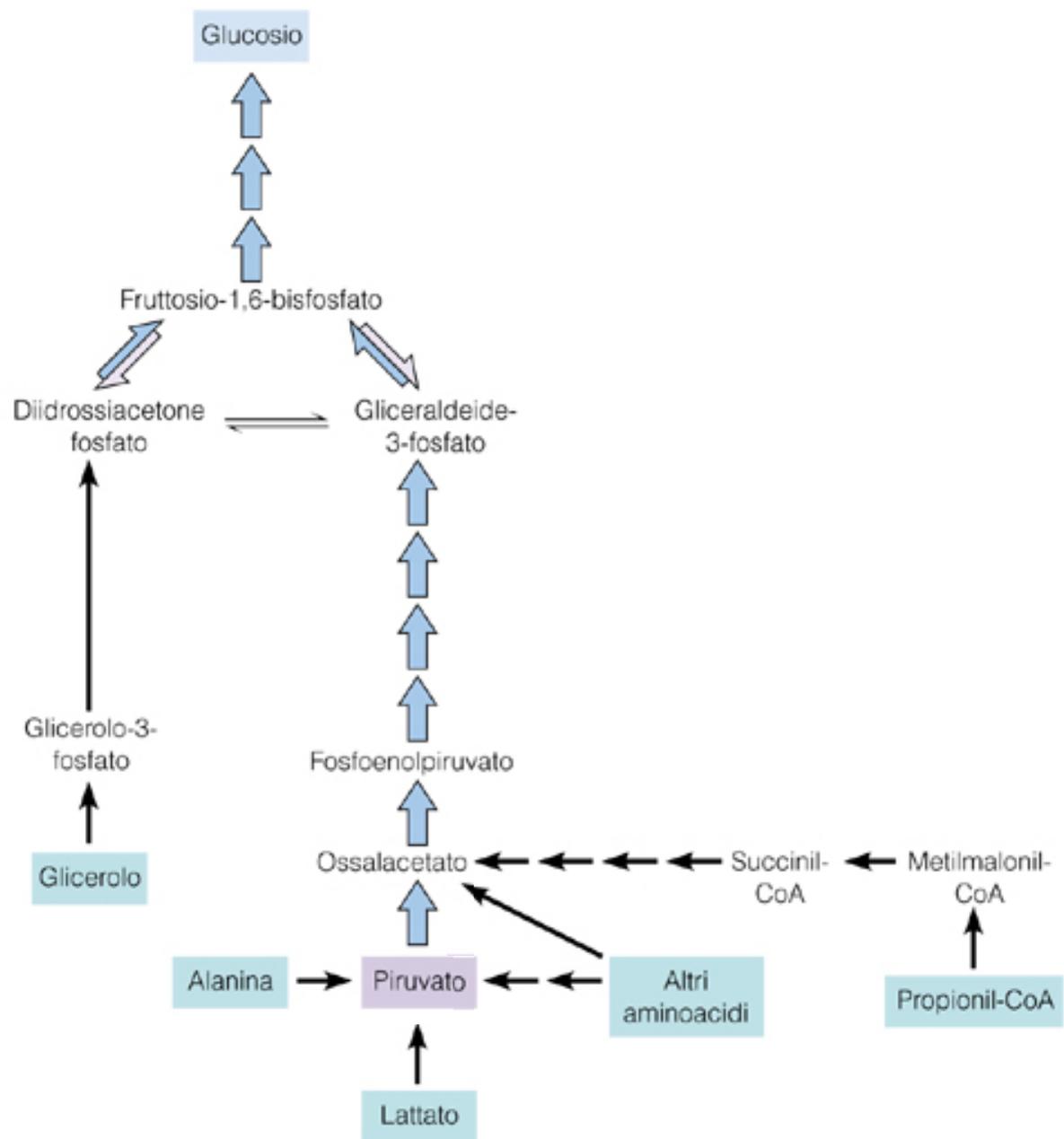


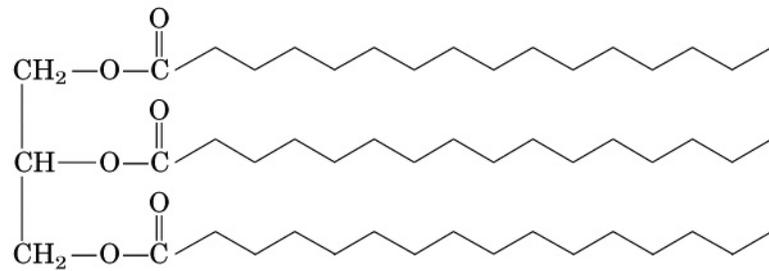




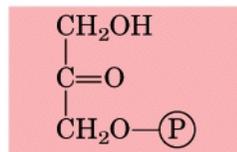








**Triacilglicerolo**

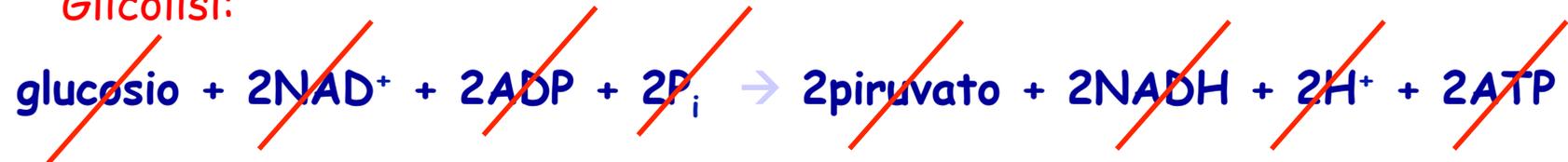


**Diidrossiacetone fosfato**

## SUBSTRATI PER LA GLUCONEOGENESI

- Piruvato
- Lattato
- Alanina
- Altri amminoacidi che producono piruvato, ossalacetato o altri intermedi del ciclo di Krebs
- Glicerolo
- PropionilCoA (Acidi grassi a catena dispari)

Glicolisi:



Gluconeogenesi:



Idrolisi di 4 legami "ad alta energia" per ogni ciclo futile

Matrice extracellulare  
e polisaccaridi  
della parete cellulare

Glicogeno,  
amido, saccarosio

sintesi  
di polimeri  
strutturali

depositi

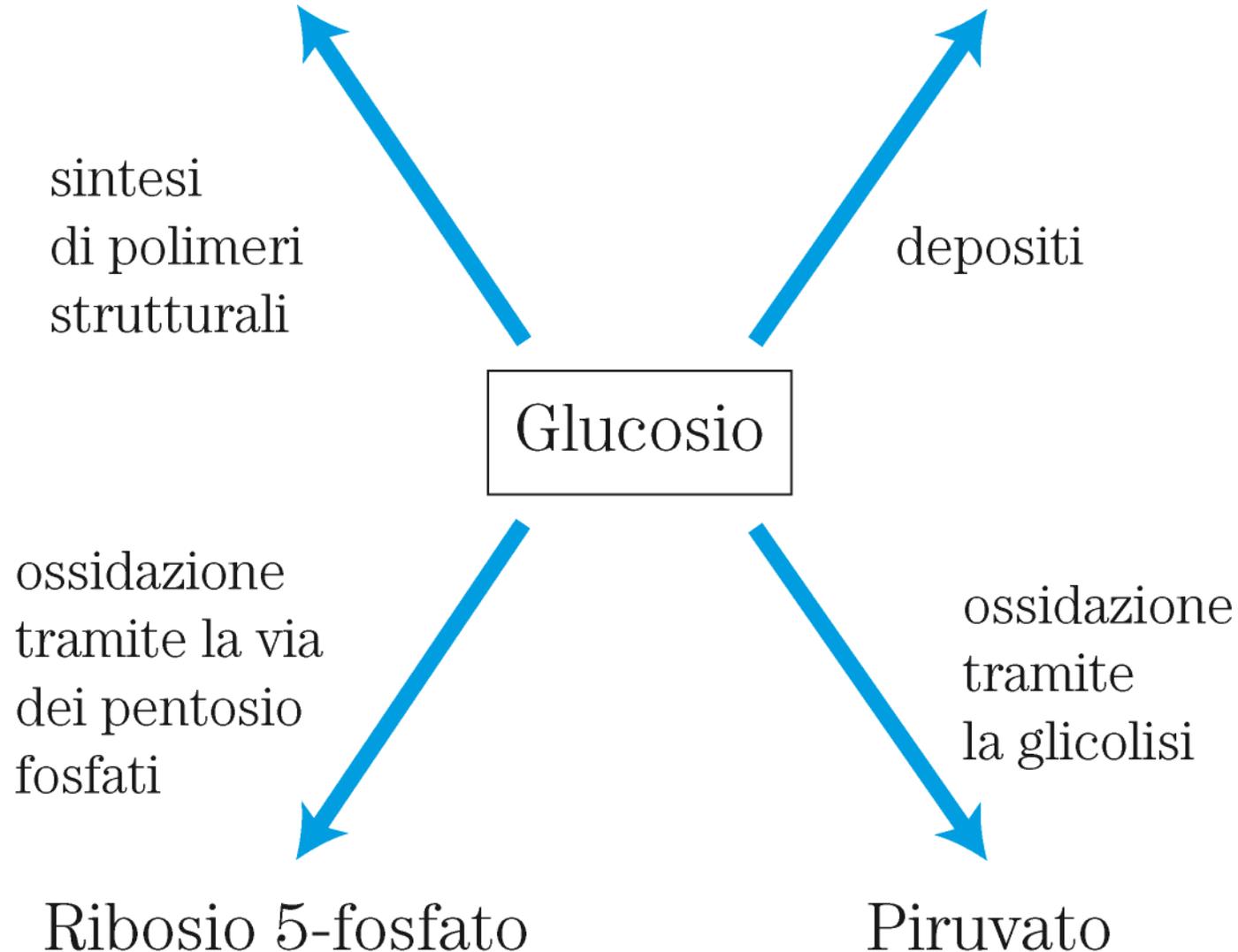
Glucosio

ossidazione  
tramite la via  
dei pentosio  
fosfati

ossidazione  
tramite  
la glicolisi

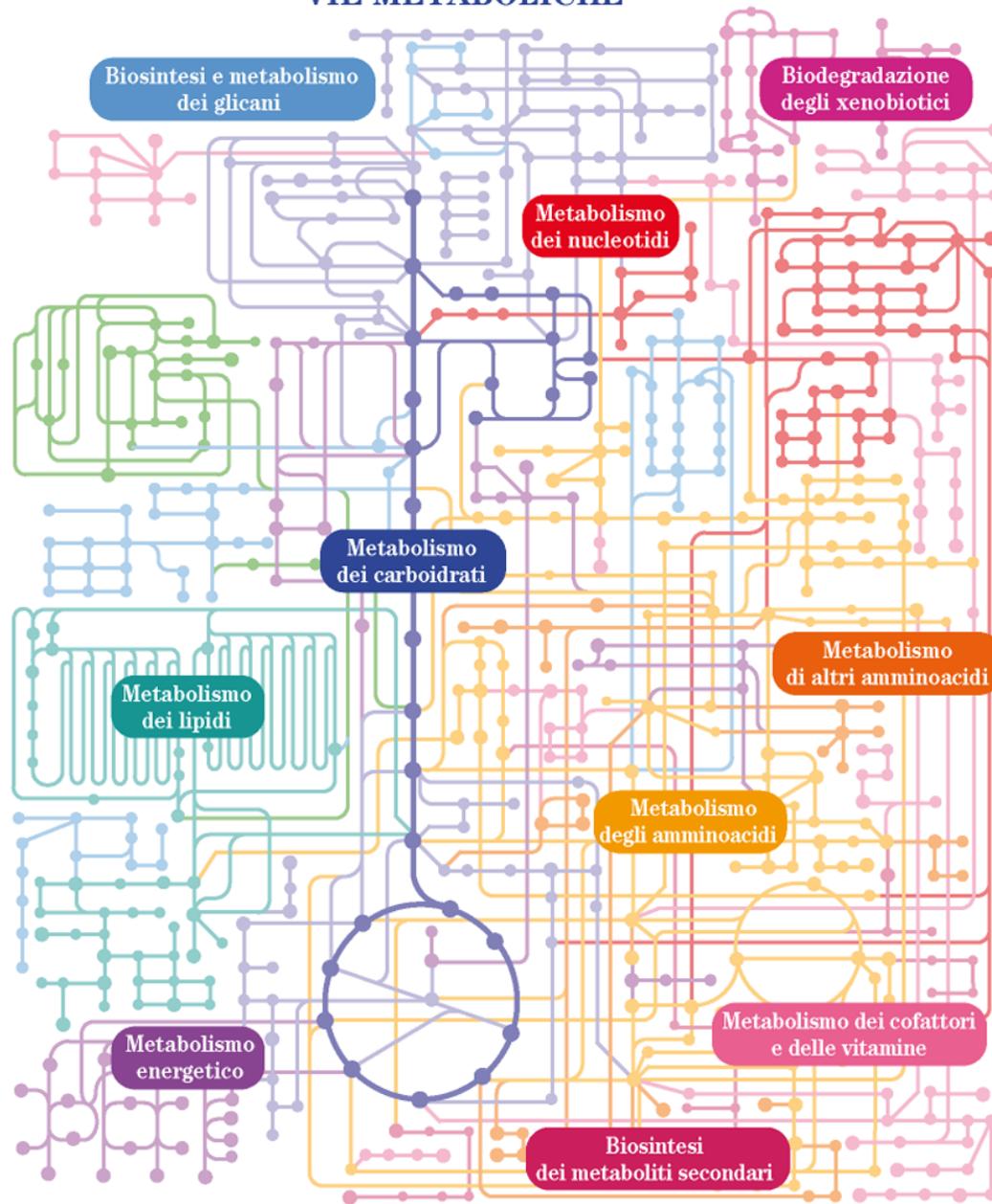
Ribosio 5-fosfato

Piruvato





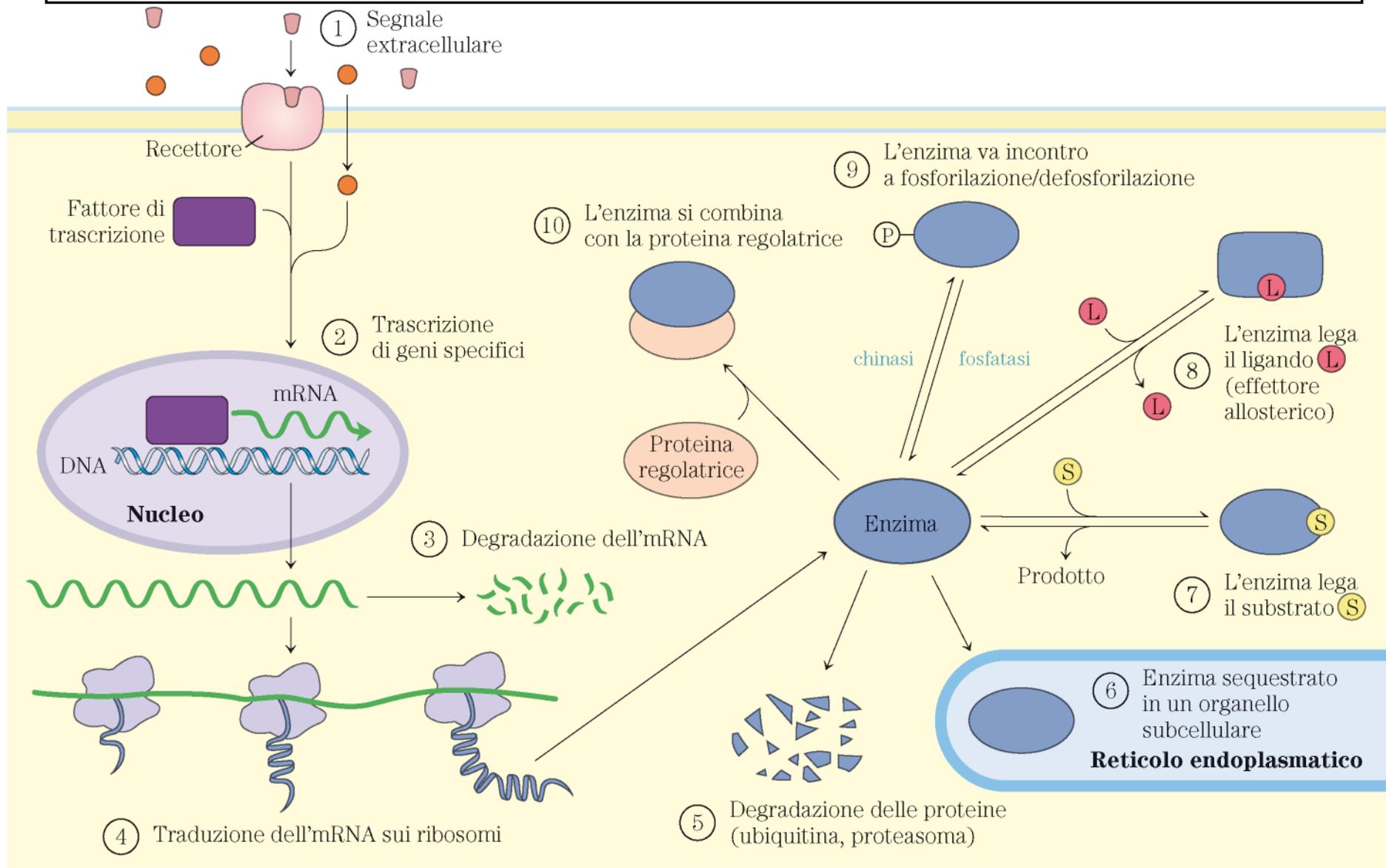
## VIE METABOLICHE



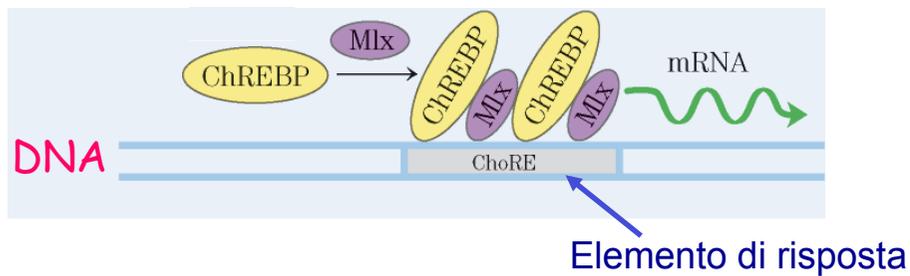
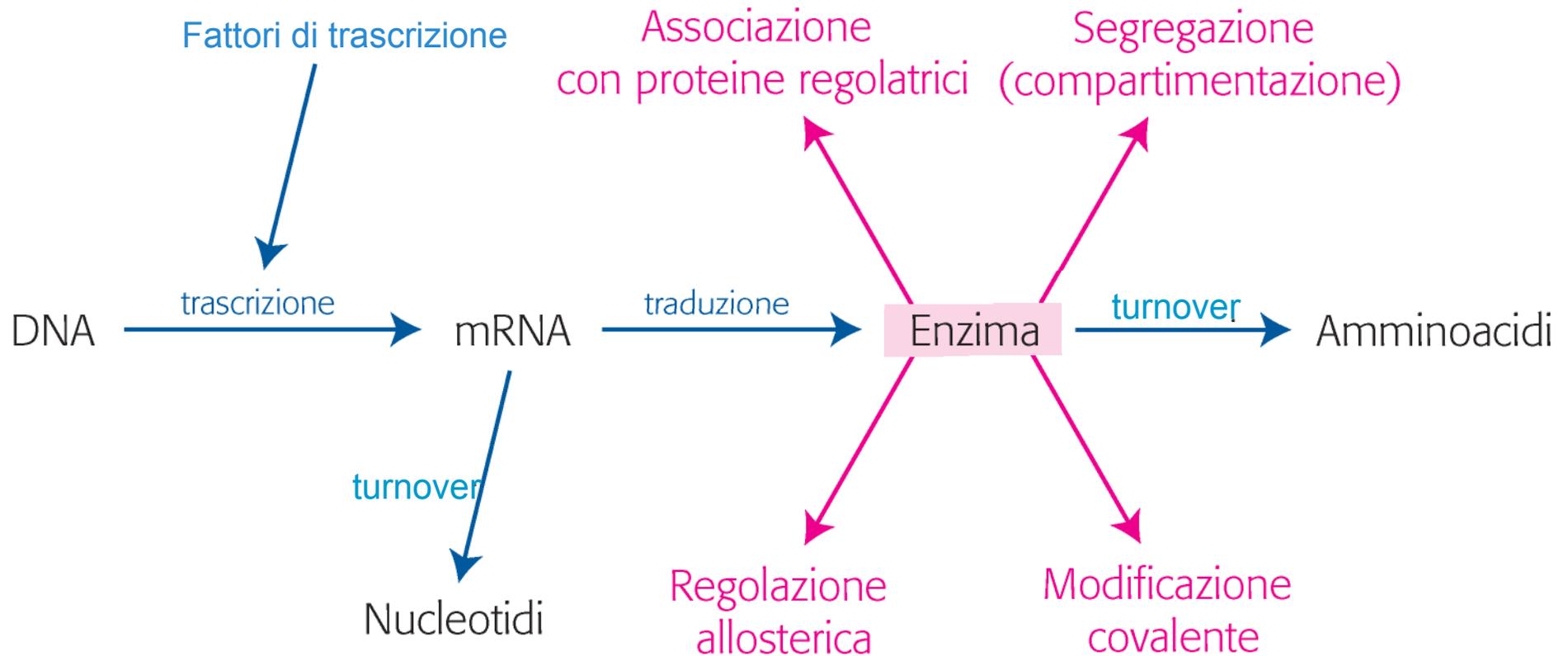
BANCA DATI ONLINE: KEGG PATHWAY

[www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01100.html](http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01100.html)

# Fattori che controllano la quantità e l'attività di un enzima



# Fattori che controllano la quantità e l'attività di un enzima



# Regolazione dell'attività degli enzimi

<b>Evento regolatore</b>	<b>Effettore tipico</b>	<b>Effetto</b>	<b>Tempo necessario per la modificazione</b>
Disponibilità del substrato	Substrato	Modificazione della velocità ( $v_o$ )	Immediata
Inibizione da parte del prodotto	Prodotto della reazione	Modificazione della $V_{max}$ e/o della $K_m$	Immediata
Controllo allosterico	Prodotto finale della via	Modificazione della $V_{max}$ e/o della $K_{0,5}$	Immediata
Modificazione covalente	Un altro enzima	Modificazione della $V_{max}$ e/o $K_m$	Immediata in pochi minuti
Sintesi o degradazione dell'enzima	Ormone o metabolita	Modificazione della quantità di enzima	Ore o giorni

# Regolazione della glicolisi

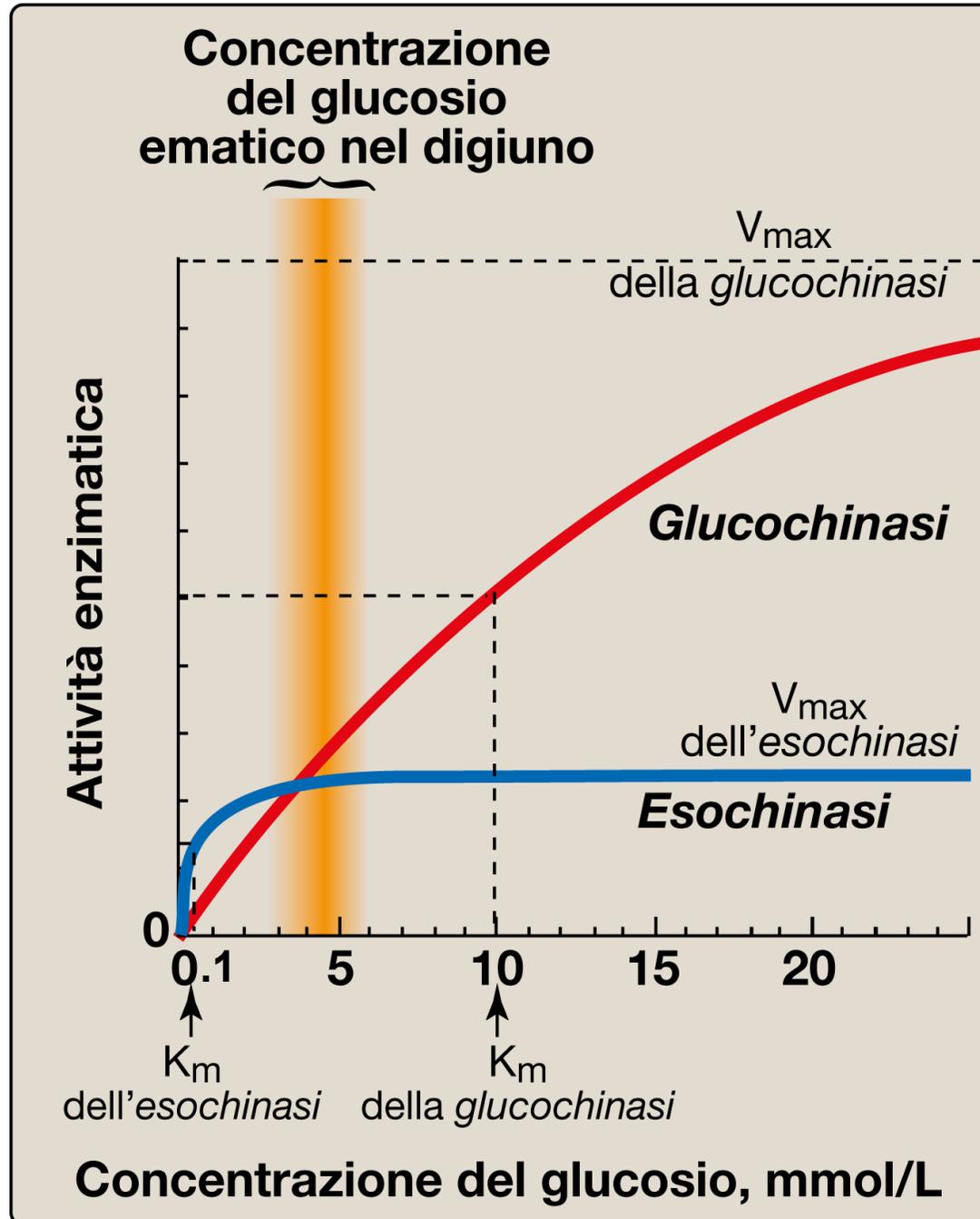
- Esocinasi
- Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)
- Piruvato chinasi

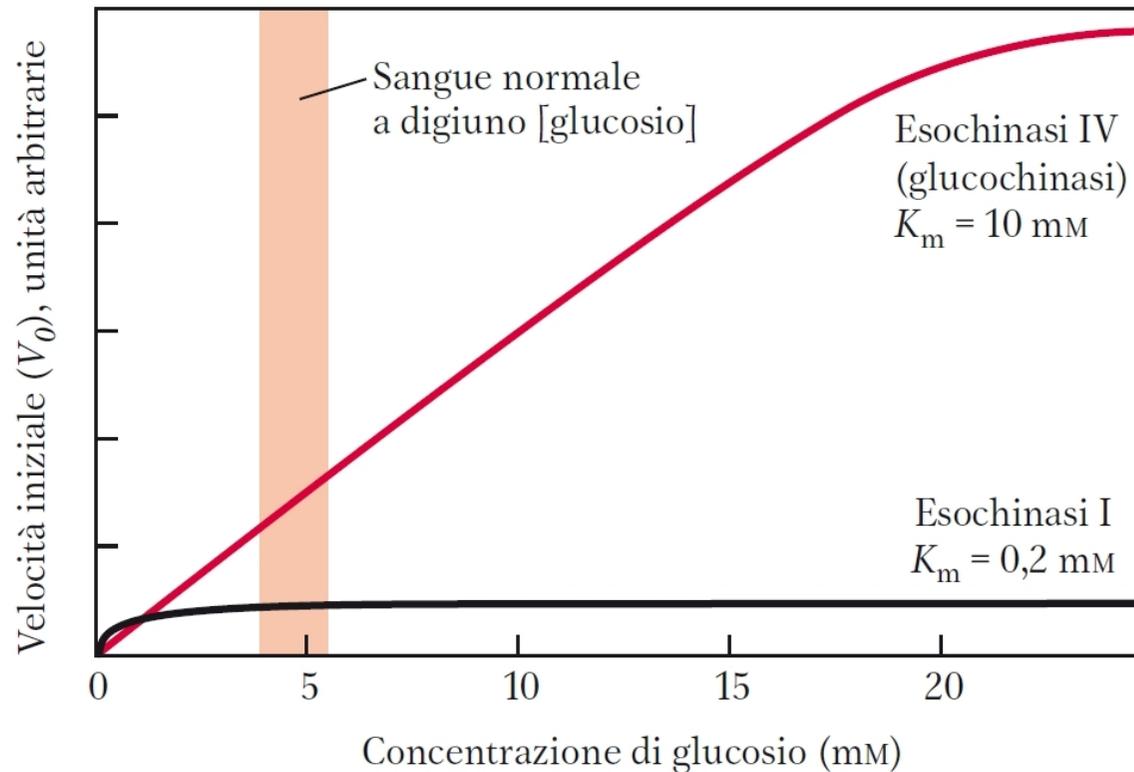
## Esochinasi I, II e III

- Inibizione allosterica da prodotto
- Km bassa (0.1-0.2 mM)

## Esochinasi IV (Glucocinasi) epatica

- Km più alta (10 mM)
- Non è inibita dal prodotto
- Associazione ad una proteina regolatrice e segregazione nel nucleo





**Esochinasi I-III  
hanno simili  
proprietà  
cinetiche**

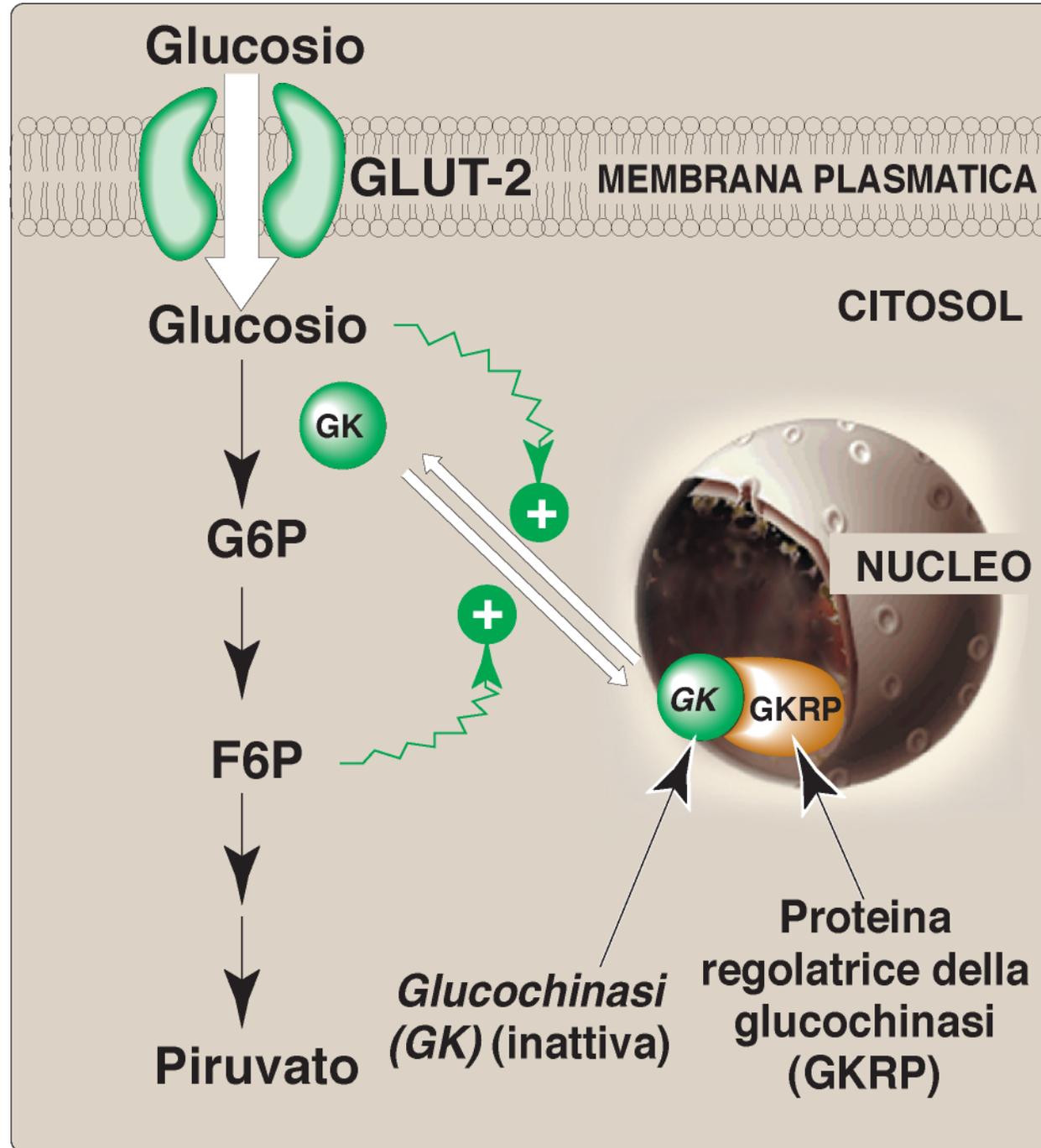
**Esochinasi II** nei miociti, ha una alta affinità per il glucosio ed è per metà satura ad una [glucosio] di 0.1 mM ed, alla [glucosio] del sangue (4-5 mM), nella cellula c'è una concentrazione di zucchero che già satura l'enzima

**Esochinasi IV** negli epatociti è per metà satura ad una [glucosio] di 10 mM molto più alta della [glucosio] normale del sangue (4-5 mM). Il GLUT2 mantiene equilibrata la concentrazione del glucosio nel citosol e quella nel sangue

**GLUCOCHINASI epatica**

Regolazione mediante associazione con una proteina regolatrice e segregazione in un organello subcellulare

Glucosio compete con il fruttosio 6-Pi per il legame ad un sito allosterico provocando la dissociazione della glucochinasi dalla proteina regolatrice



Matrice extracellulare  
e polisaccaridi  
della parete cellulare

Glicogeno,  
amido, saccarosio

sintesi  
di polimeri  
strutturali

depositi

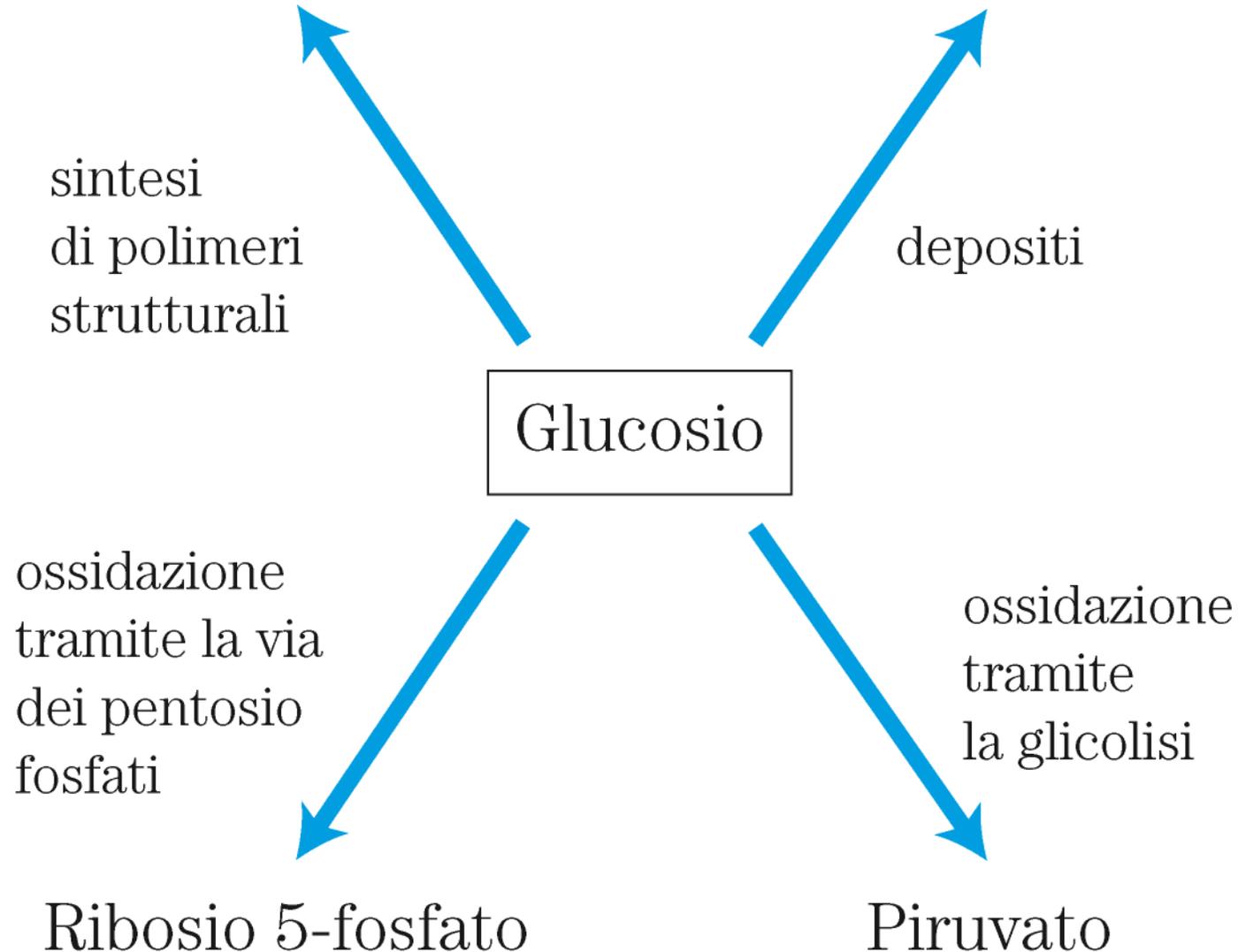
Glucosio

ossidazione  
tramite la via  
dei pentosio  
fosfati

ossidazione  
tramite  
la glicolisi

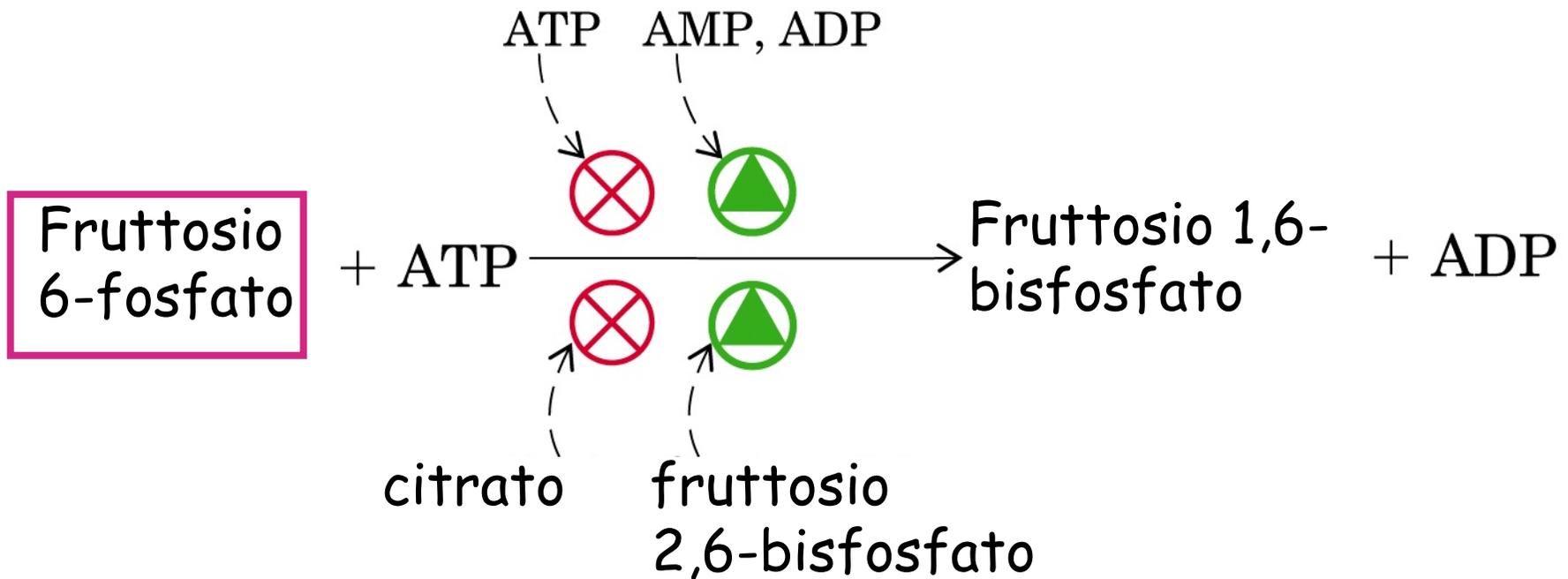
Ribosio 5-fosfato

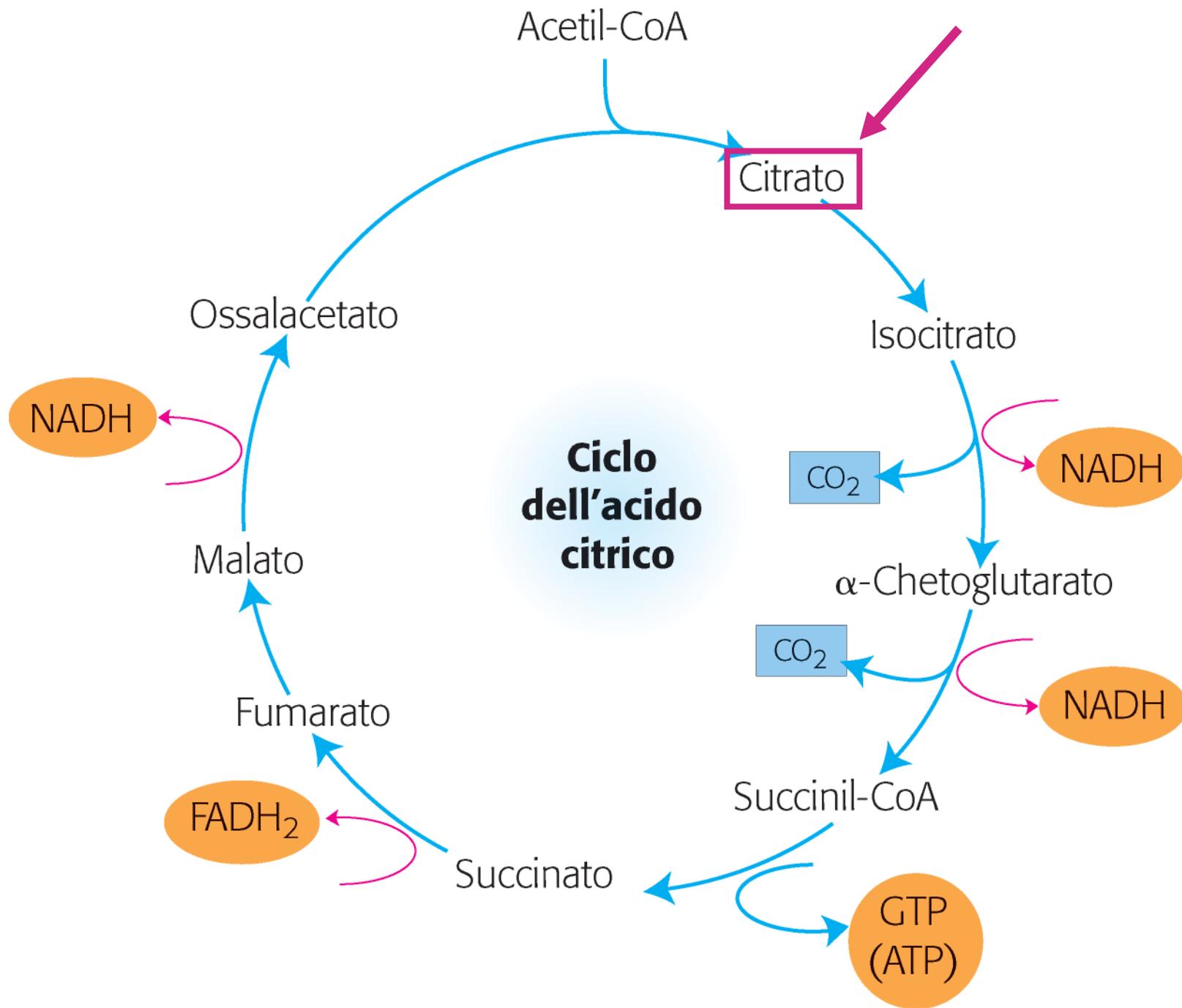
Piruvato



Regolazione della glicolisi

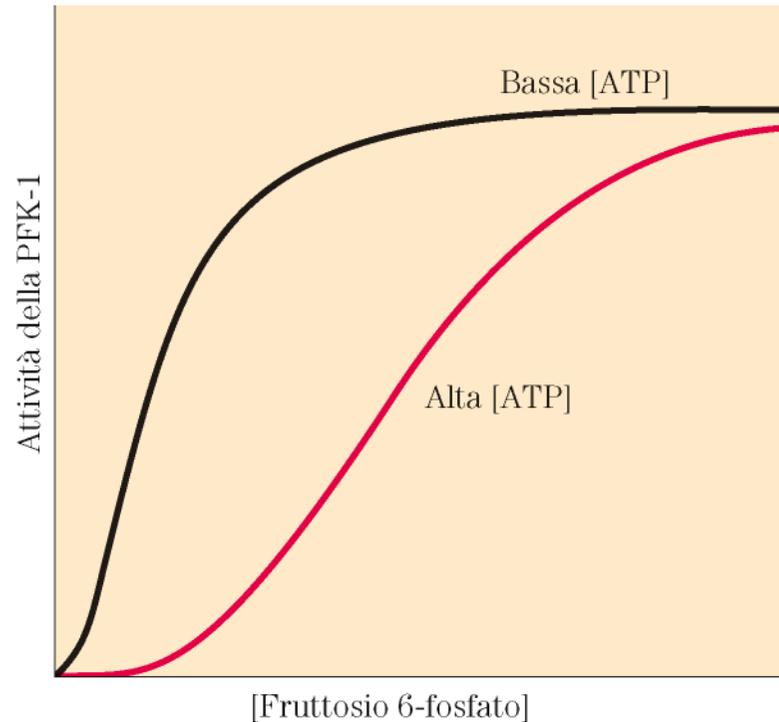
## Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)





# Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

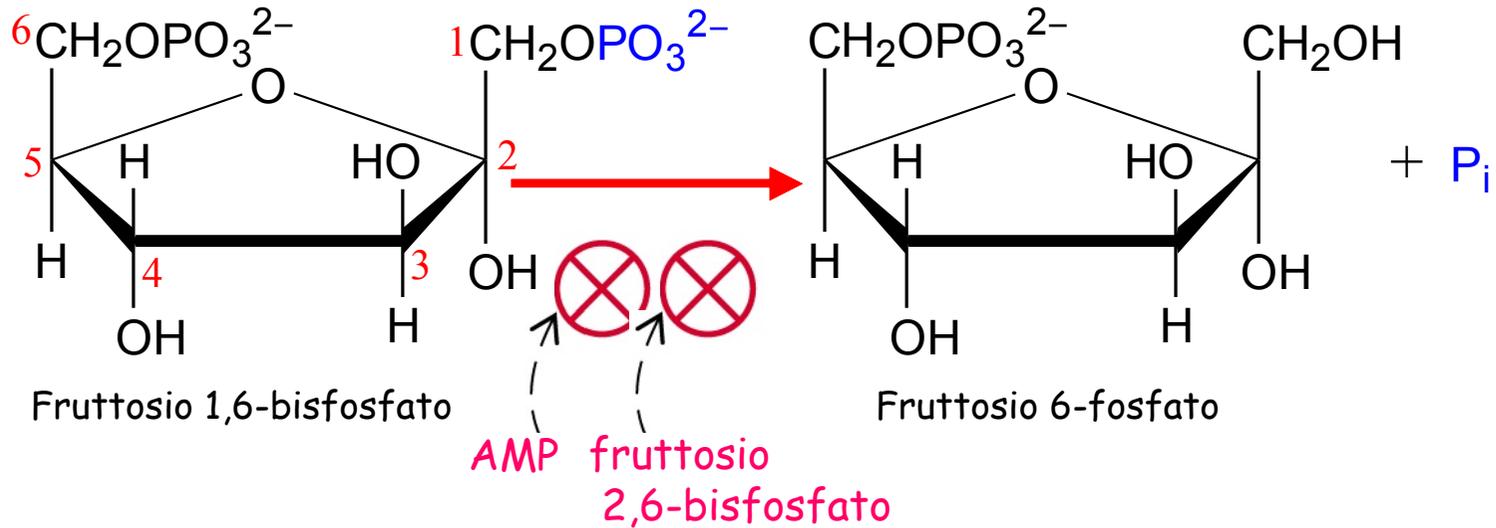
**ATP, ADP e AMP** sono modulatori allosterici della PFK-1



**ATP** è un substrato dell'enzima ed un prodotto della glicolisi che, quando aumenta di concentrazione, riduce l'attività dell'enzima PFK-1 (tetramero) legandosi ad un sito allosterico e facendo diminuire l'affinità dell'enzima per il substrato.

**ADP e AMP** legandosi allo stesso sito di legame dell'ATP rimuovono la sua inibizione

## Fruttosio 1,6-bisfosfatasi



**L'AMP** è un inibitore allosterico invece per l'enzima della gluconeogenesi

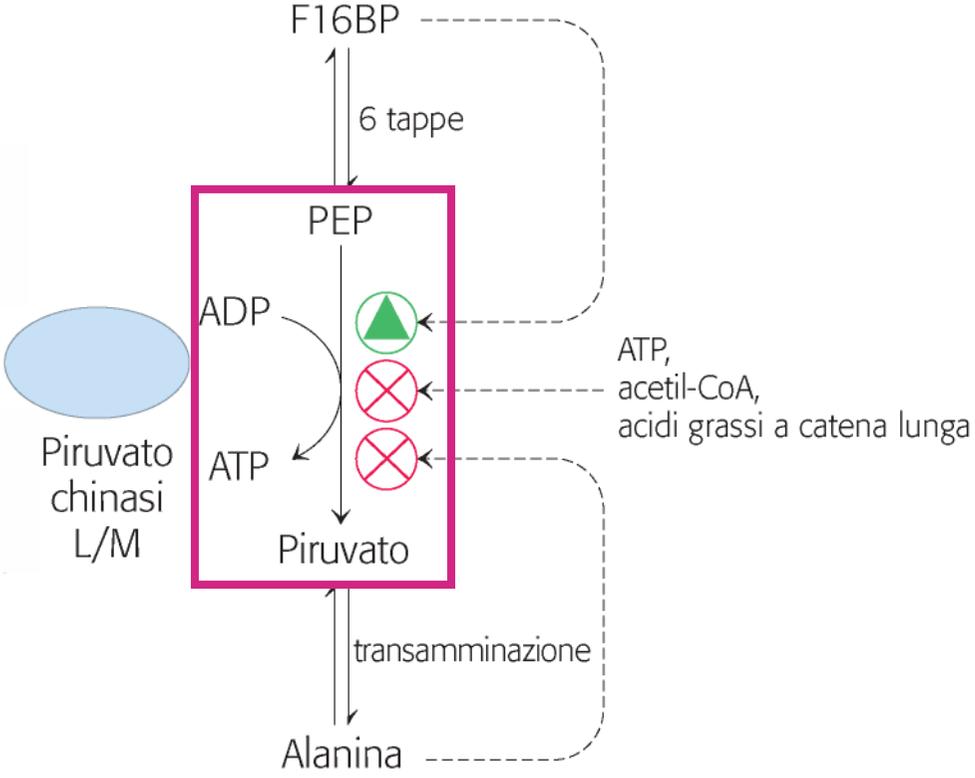
Regolazione della  
glicolisi

## Piruvato chinasi

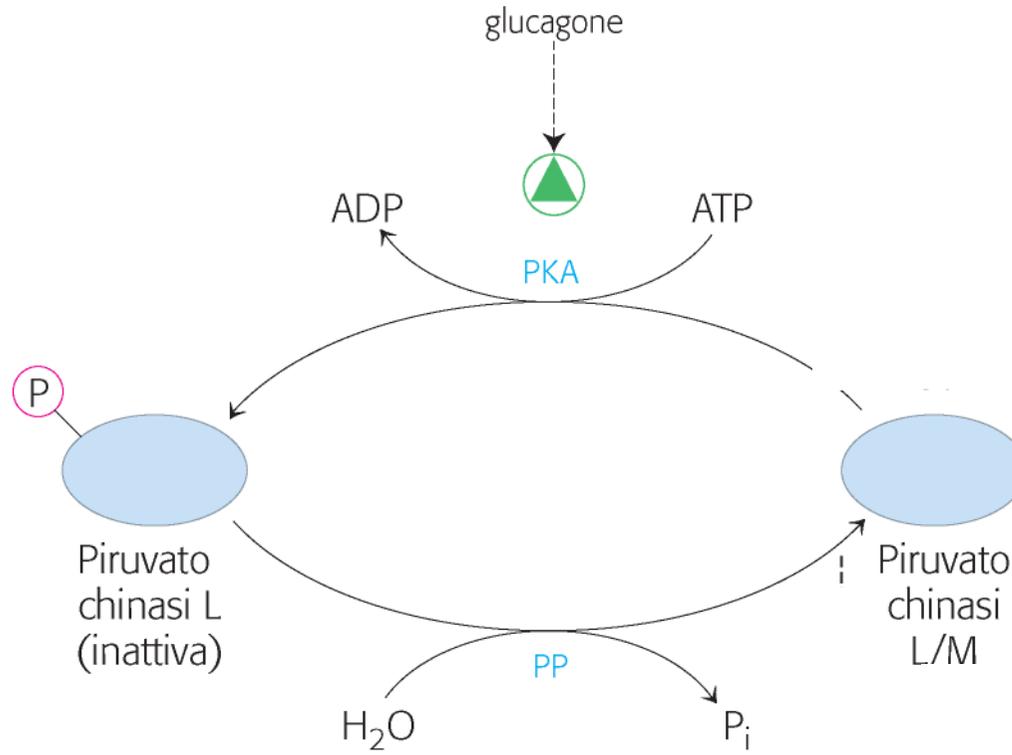
Inibizione da ATP, acetilCoA, acidi grassi ed alanina

Attivazione da fruttosio-1,6-bisfosfato

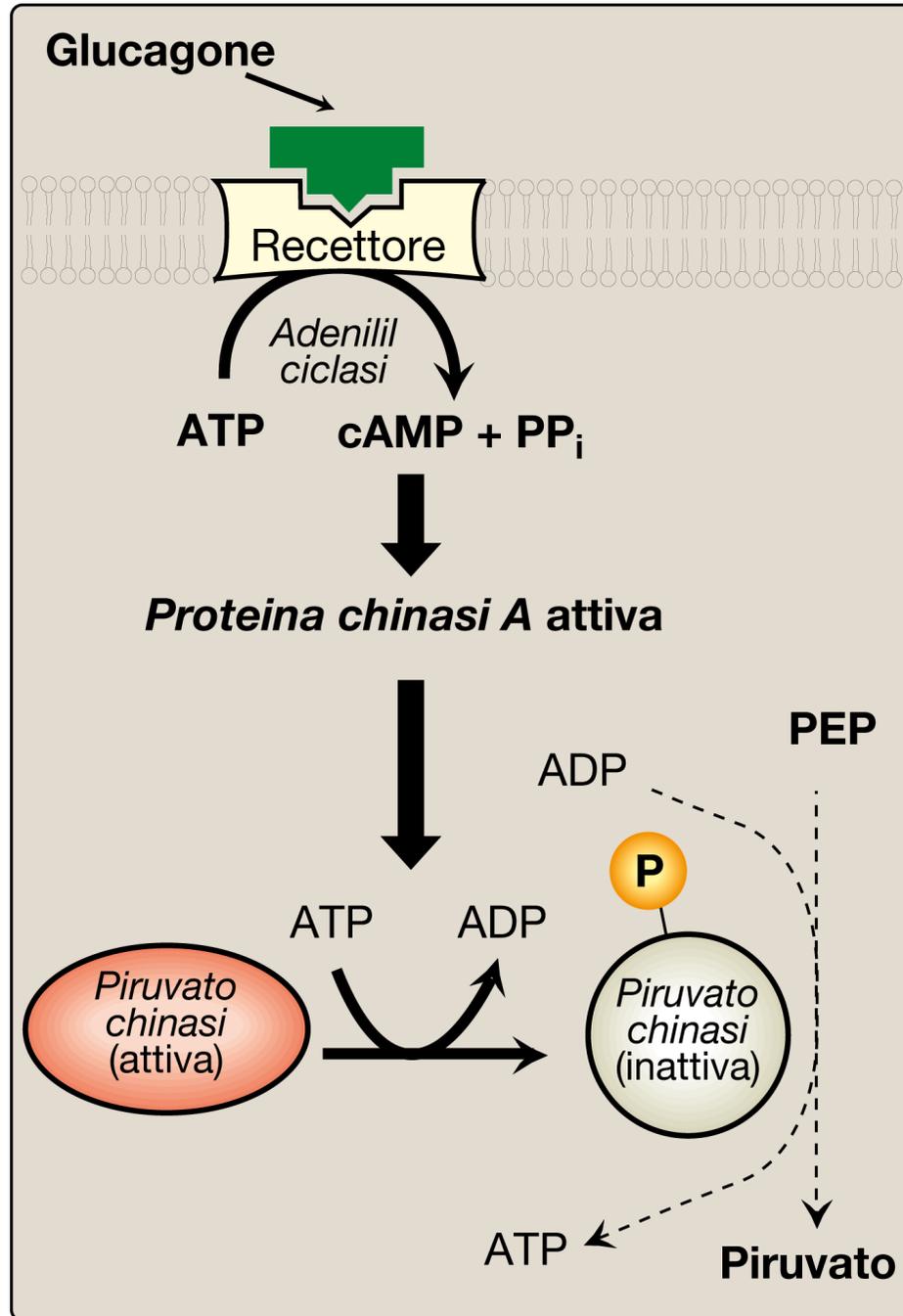
# In tutti gli altri tessuti glicolitici



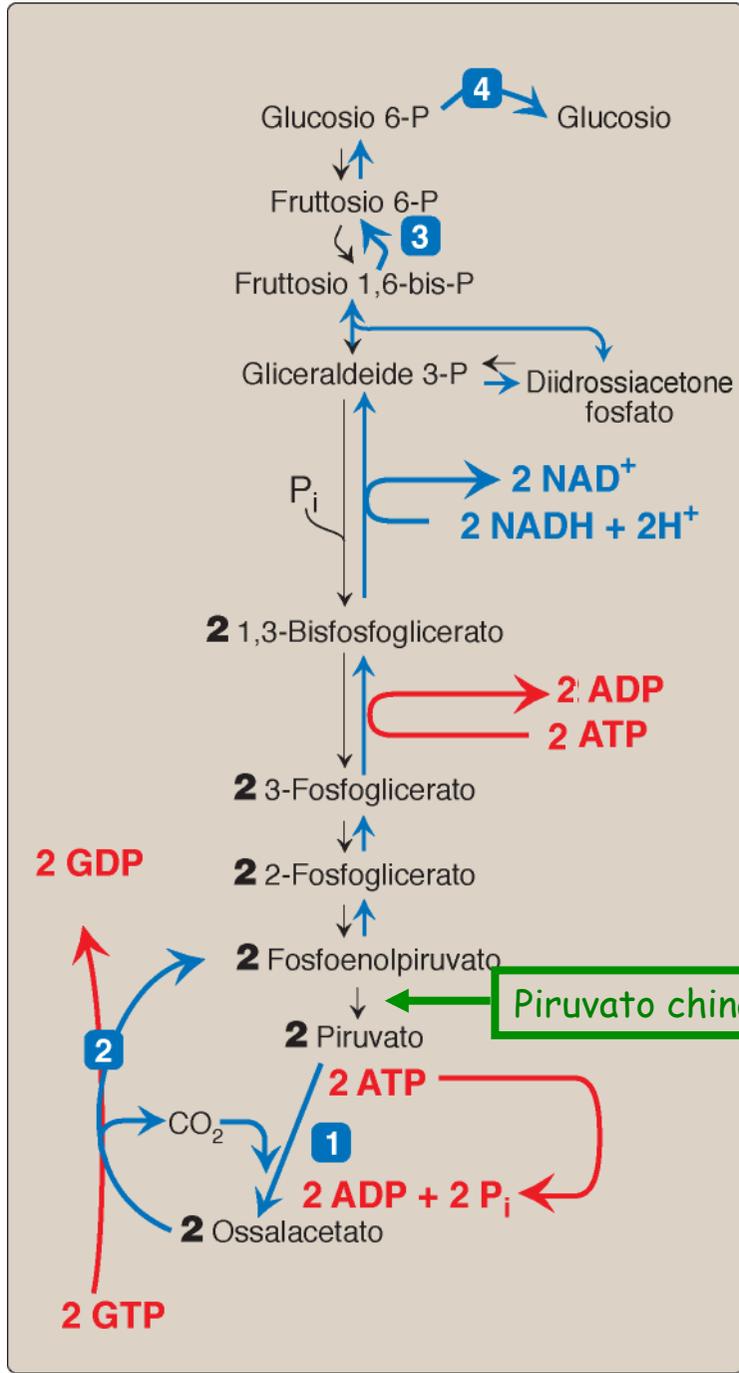
# Solo nel fegato



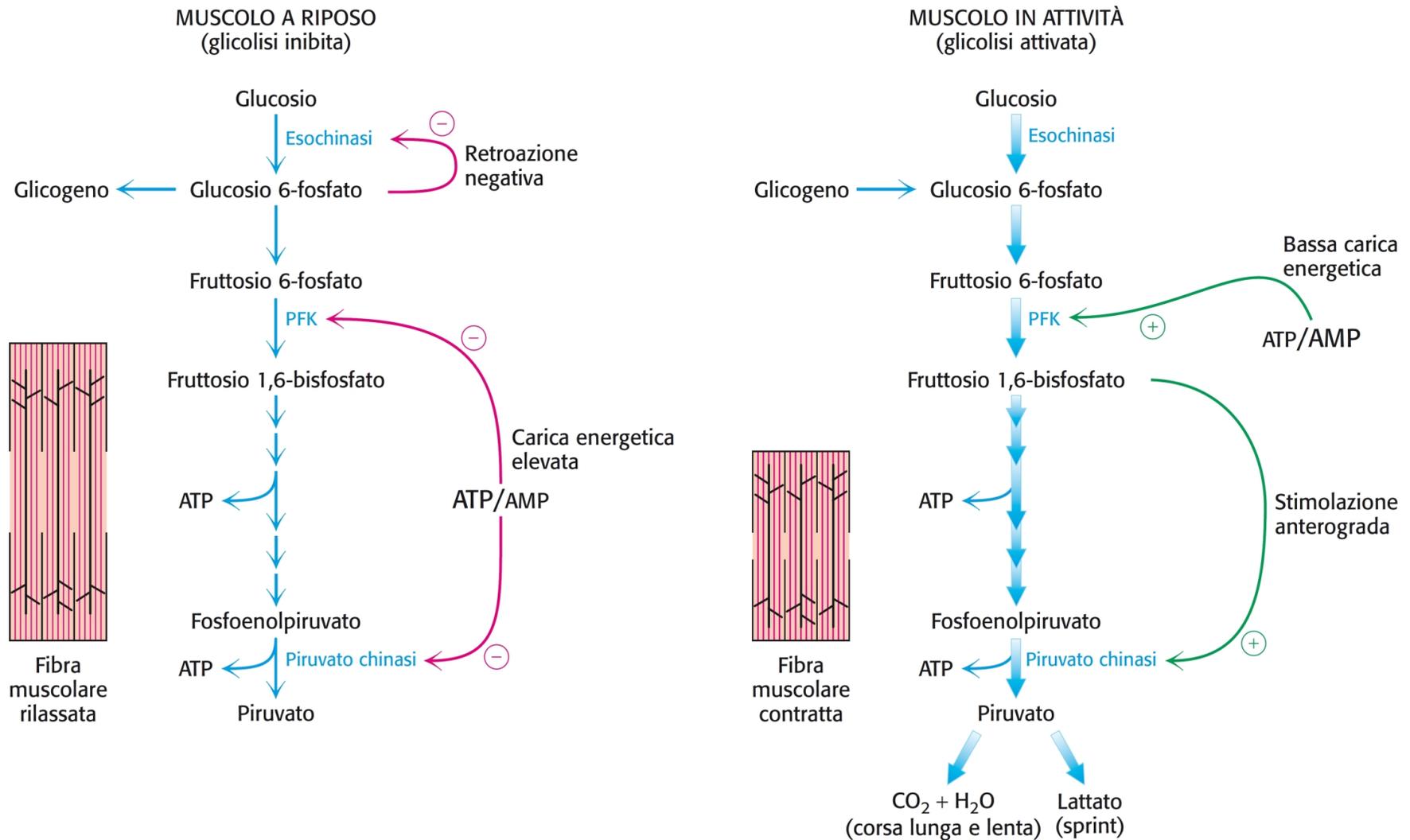
Solo nel fegato



**Glicolisi**



**Gluconeogenesi**



**Figura 16.21** Regolazione della glicolisi nel muscolo

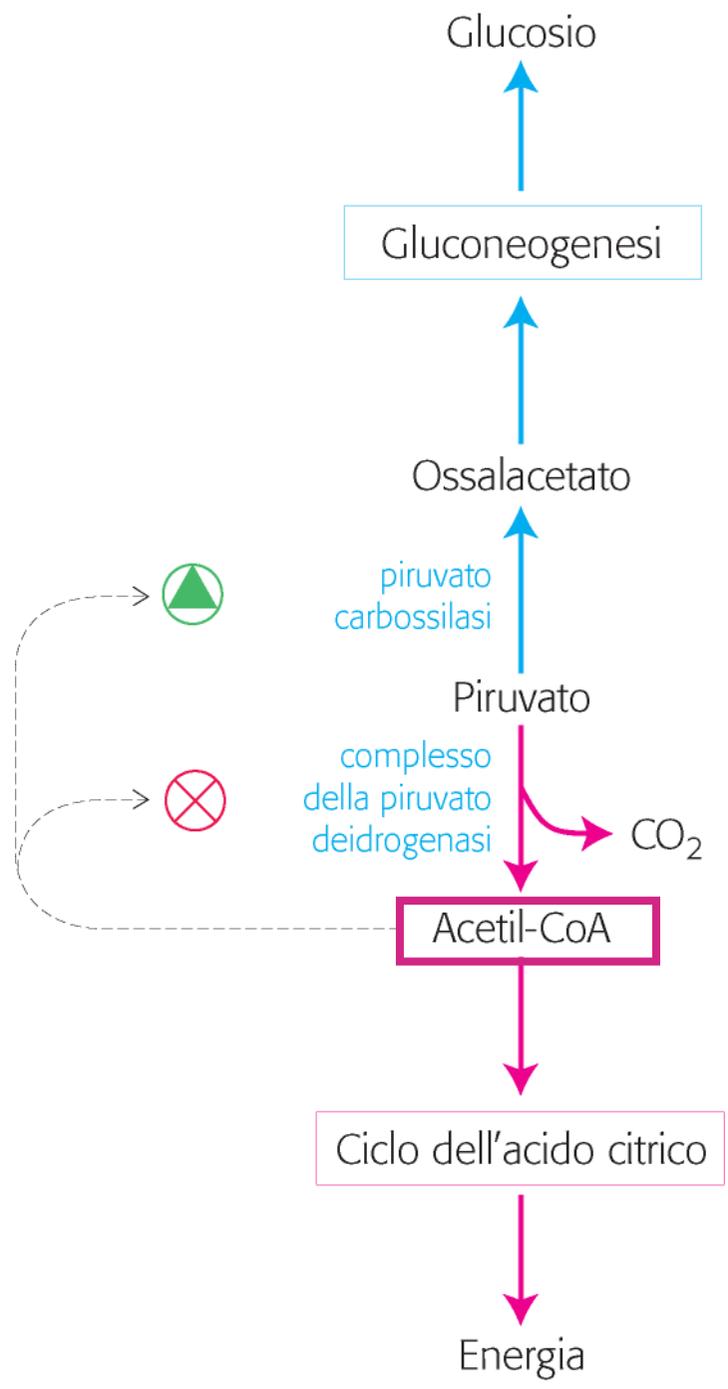
Nel muscolo a riposo (a sinistra), la glicolisi è poco attiva (frecche sottili). L'elevata concentrazione di ATP inibisce la fosfofruttochinasi (PFK), la piruvato chinasi e l'esochinasi. Il glucosio 6-fosfato viene convertito in glicogeno (vedi cap. 21). Nel muscolo in attività (a destra), la diminuzione del rapporto ATP/AMP causata dalla contrazione muscolare attiva la fosfofruttochinasi, e quindi la glicolisi. Il flusso glicolitico aumenta, come indicato dalle frecche spesse.

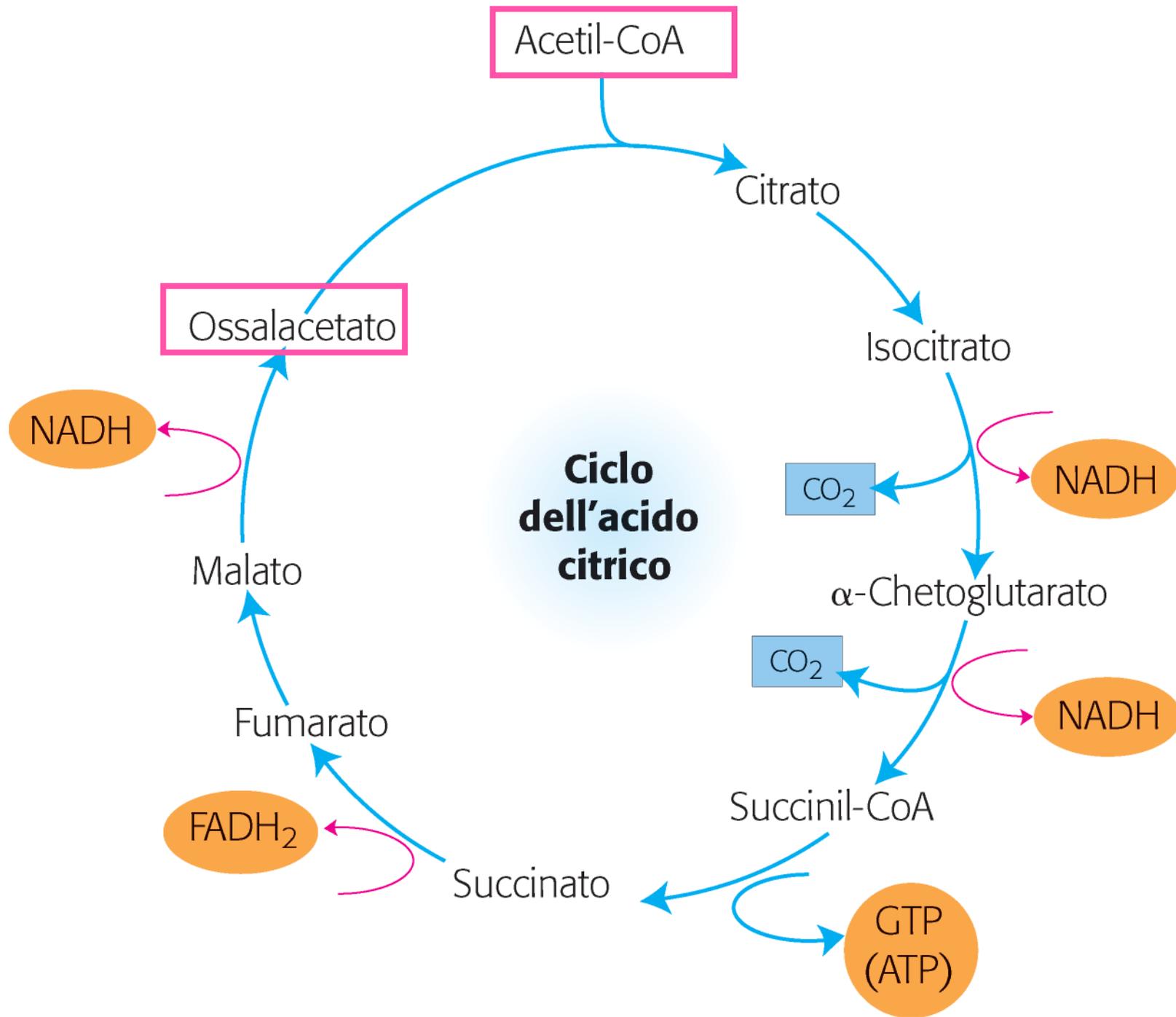
# Regolazione della gluconeogenesi

- Piruvato carbossilasi
- Fruttosio 1,6-bisfosfatasi-1 (FBPasi-1)
- PEP carbossichinasi (regolazione della sua sintesi e demolizione)

**Regolazione della gluconeogenesi**

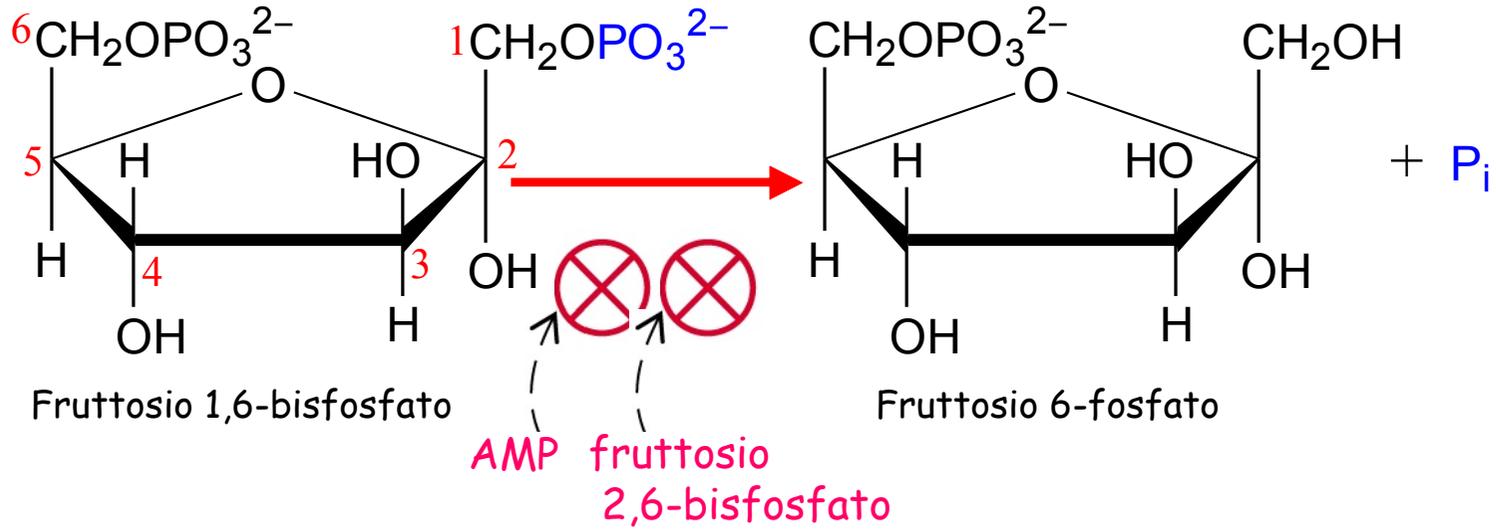
**Mitocondri**

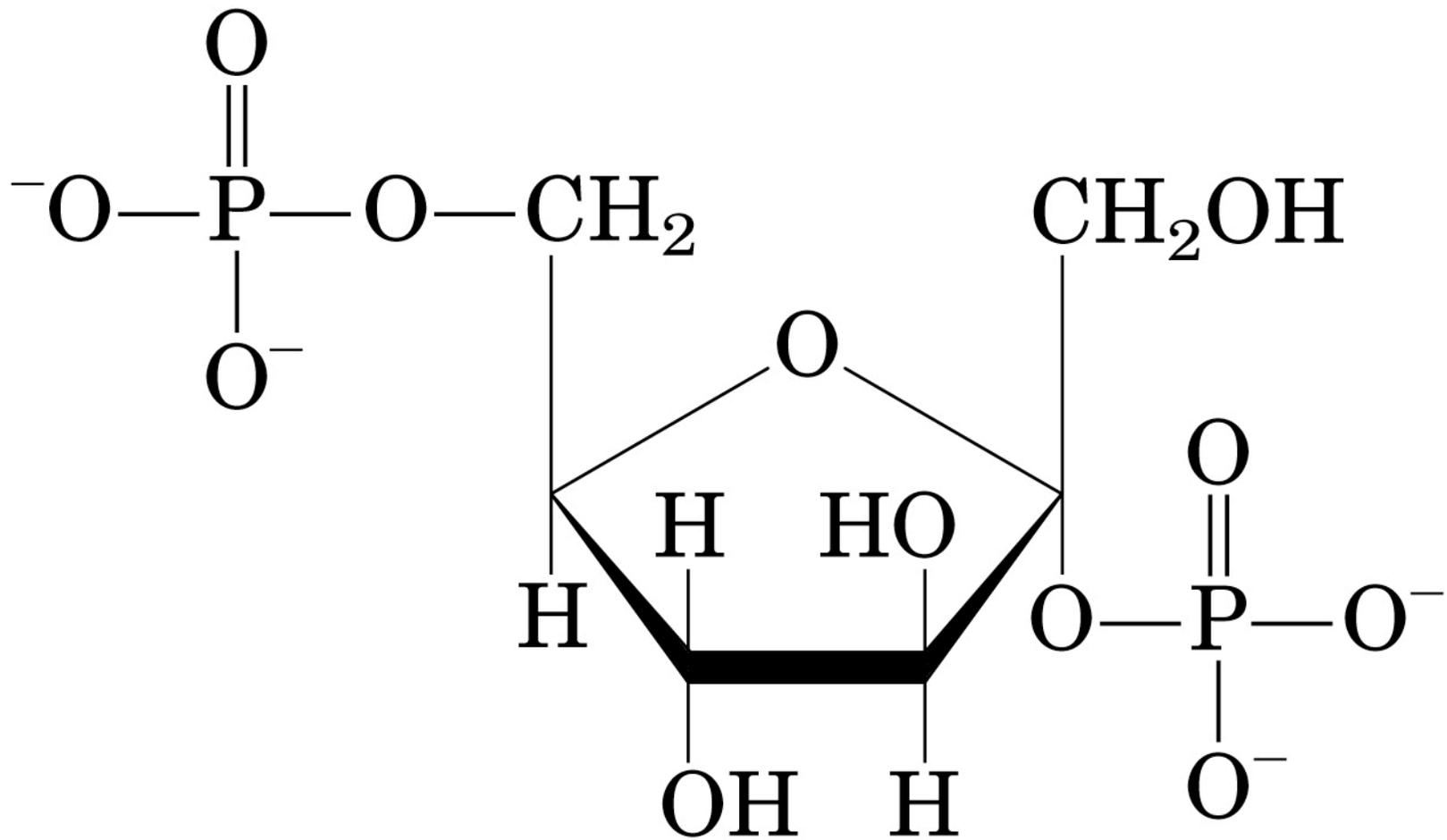




Regolazione della gluconeogenesi

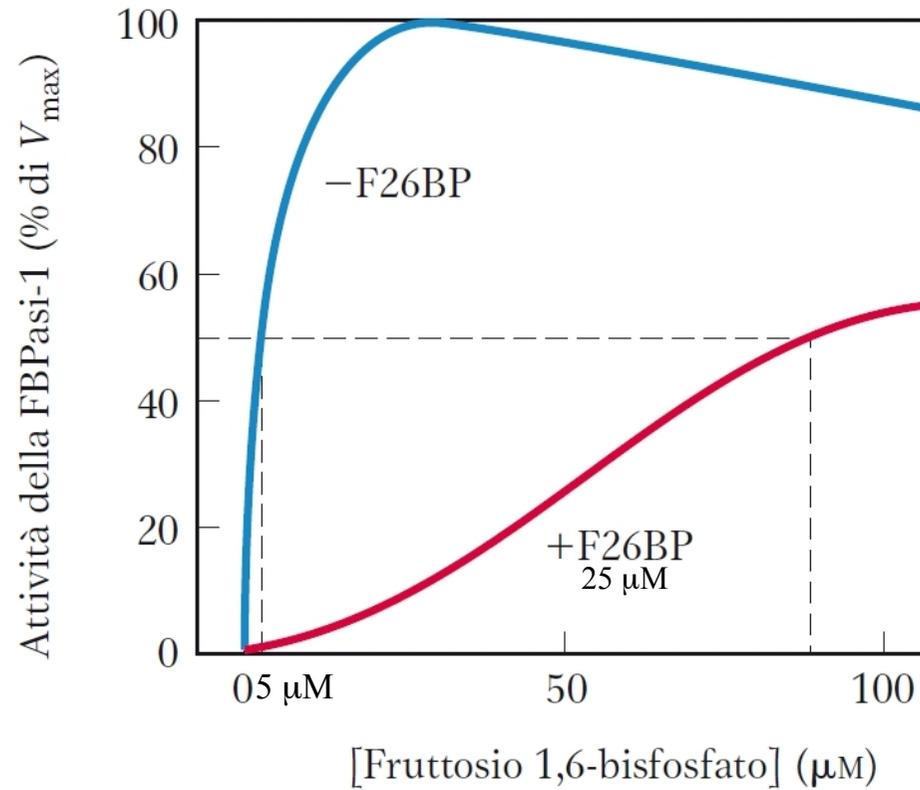
Fruttosio 1,6-bisfosfatasi (FBPasi-1)





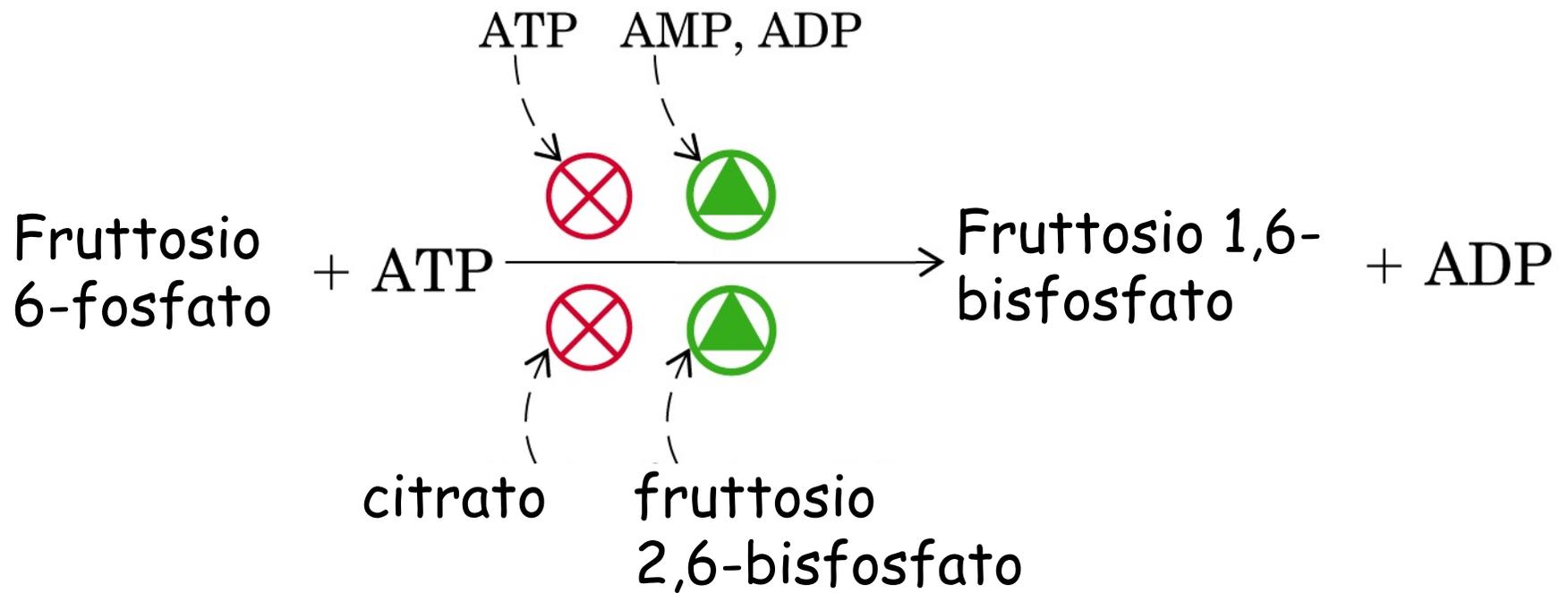
Fruttosio 2,6-bisfosfato

# Fruttosio 1,6-bisfosfatasi-1 (FBPasi-1)

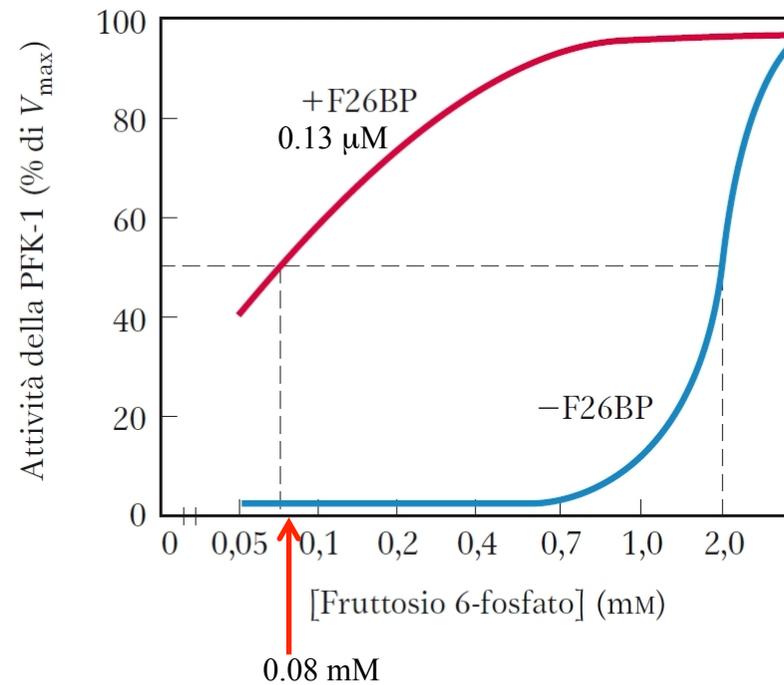


Il fruttosio 2,6-bisfosfato fa diminuire l'affinità per il substrato e potenzia l'effetto inibitorio dell' AMP

## Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)

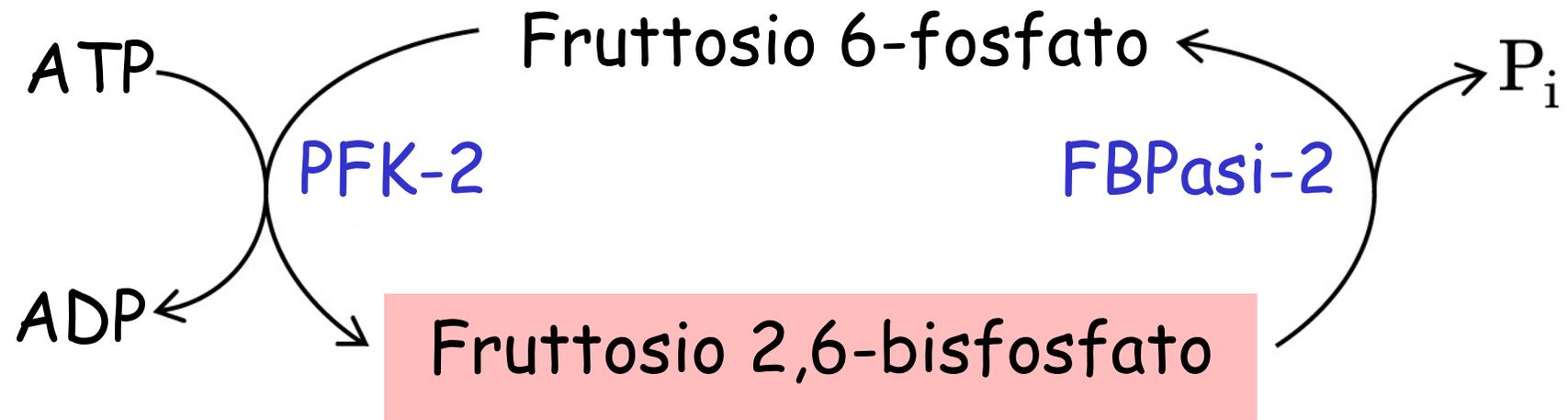


## Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1)



Il fruttosio:

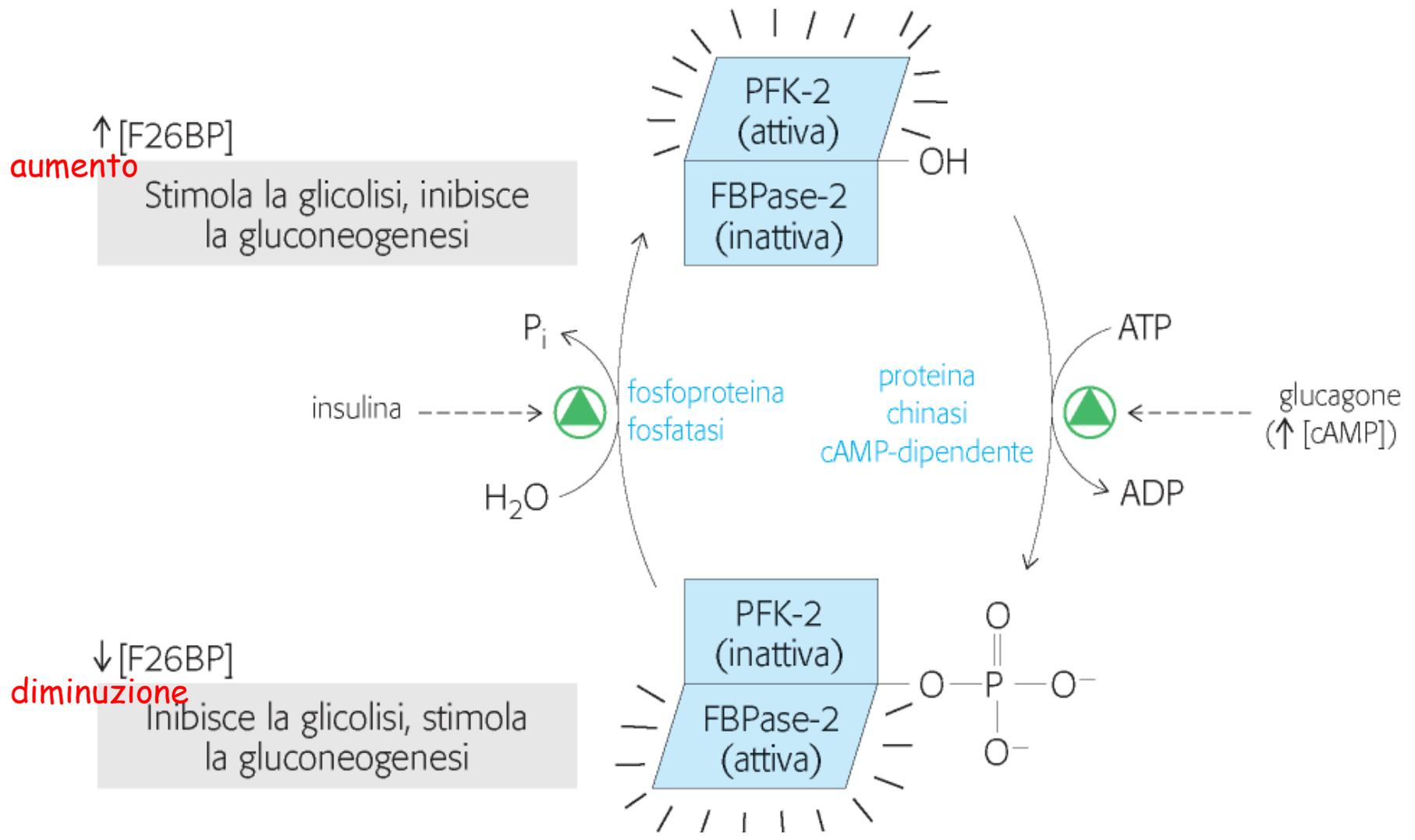
- 2,6-bisfosfato aumenta l'affinità per il substrato
- diminuisce l'affinità dell'enzima per gli inibitori allosterici ATP e citrato



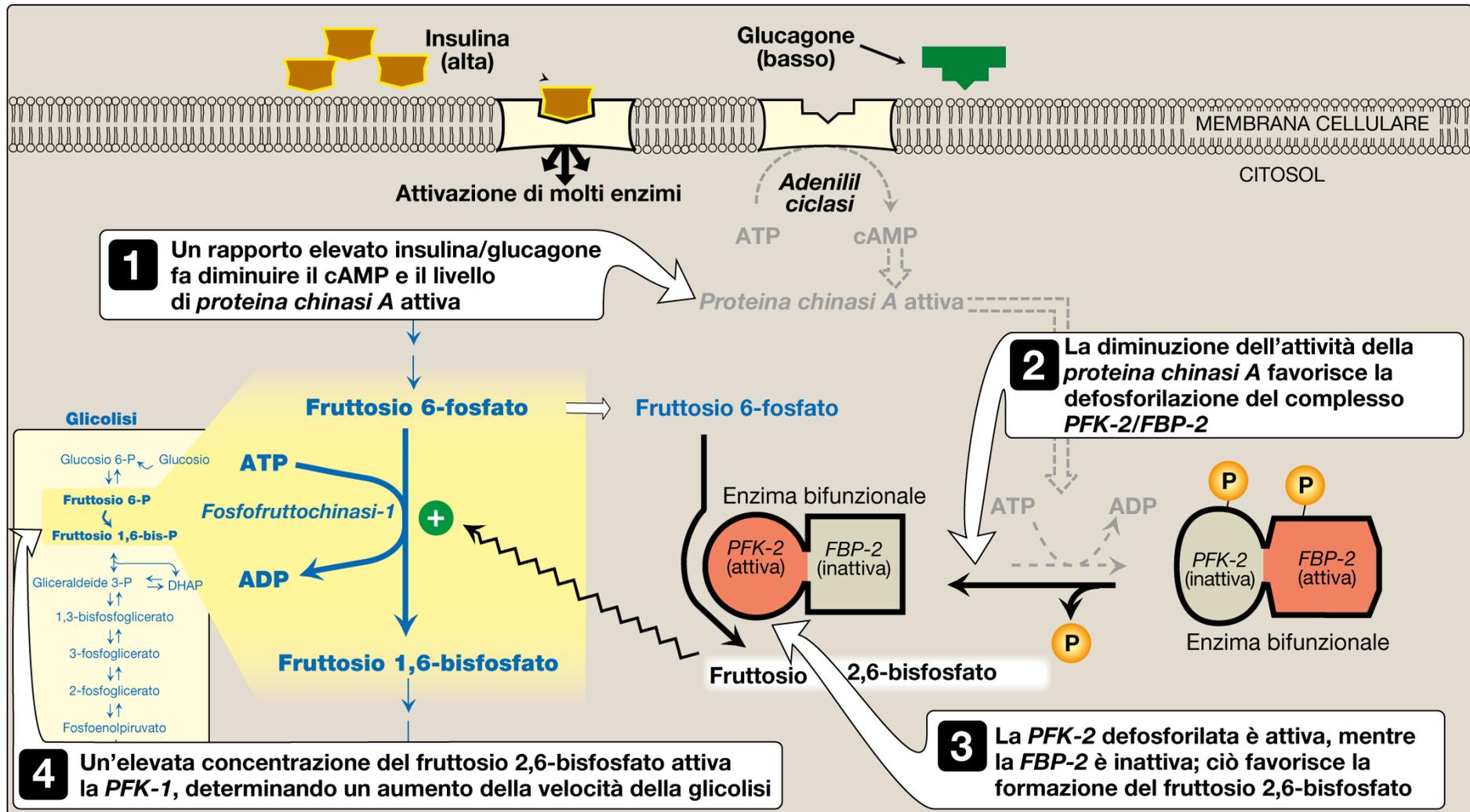
PFK-2= fosfofruttochinasi-2

FBPasi-2= fruttosio 2,6-bisfosfatasi

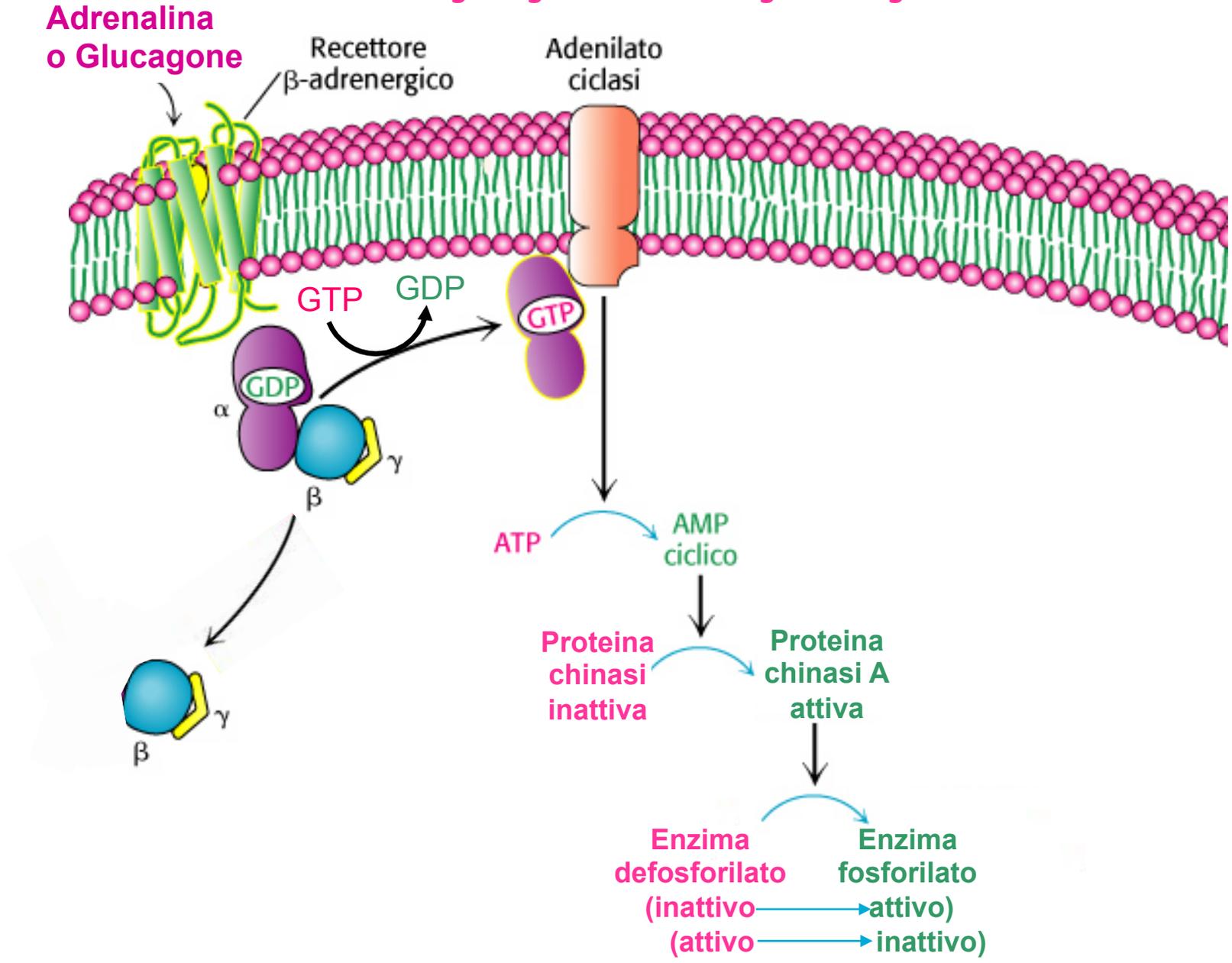
# Nel fegato



# Nel fegato avviene la glicolisi se esiste un alto rapporto insulina/glucagone



# Il glucagone stimola la gluconeogenesi

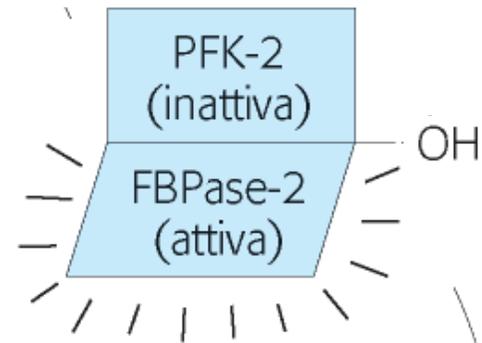


## Nel cuore

diminuzione

↓ [F26BP]

Inibisce la glicolisi,



proteina  
chinasi  
cAMP-dipendente

ATP

adrenalina

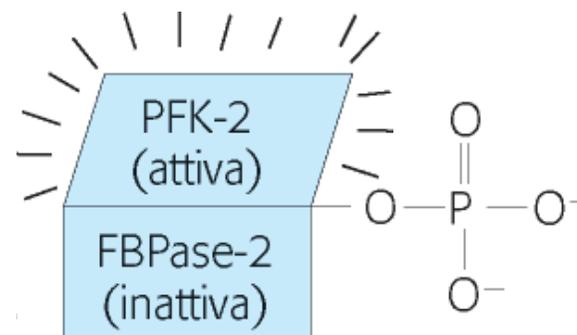
(↑ [cAMP])

ADP

aumento

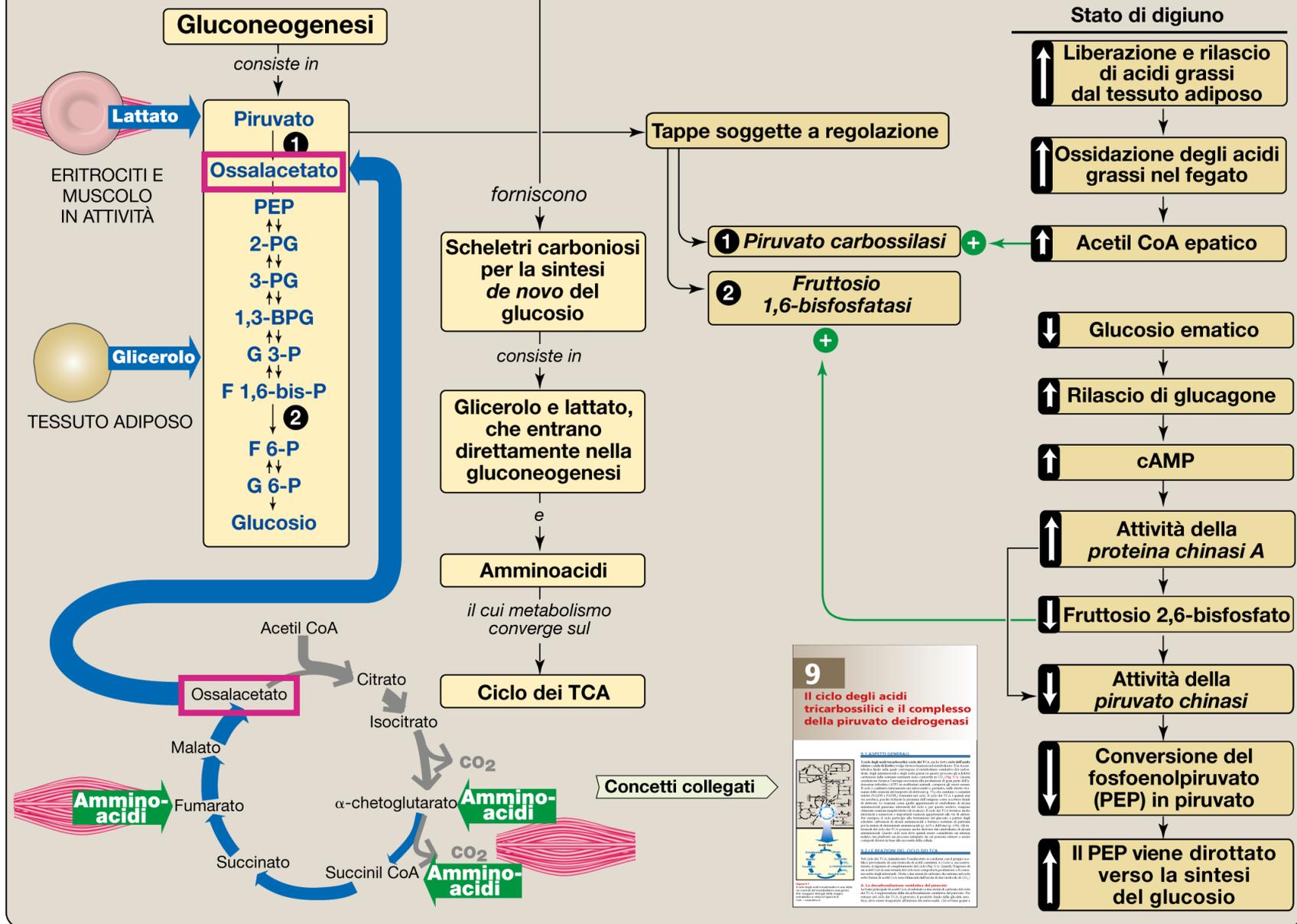
↑ [F26BP]

Stimola la glicolisi



# Substrati della gluconeogenesi

# Regolazione della gluconeogenesi durante il digiuno



## Regolazione della gluconeogenesi

L' **insulina** fa rallentare l'espressione dei geni che codificano i due enzimi della gluconeogenesi:

- PEP carbossichinasi
- Glucosio 6-fosfatasi

Il **glucagone** fa aumentare l'espressione dei geni che codificano i due enzimi della gluconeogenesi:

- PEP carbossichinasi
- glucosio 6-fosfatasi

grazie al fattore di trascrizione **CREB** (proteina che lega l'elemento di risposta al cAMP)

L'**insulina** fa aumentare l'espressione dei geni che codificano per gli enzimi della glicolisi:

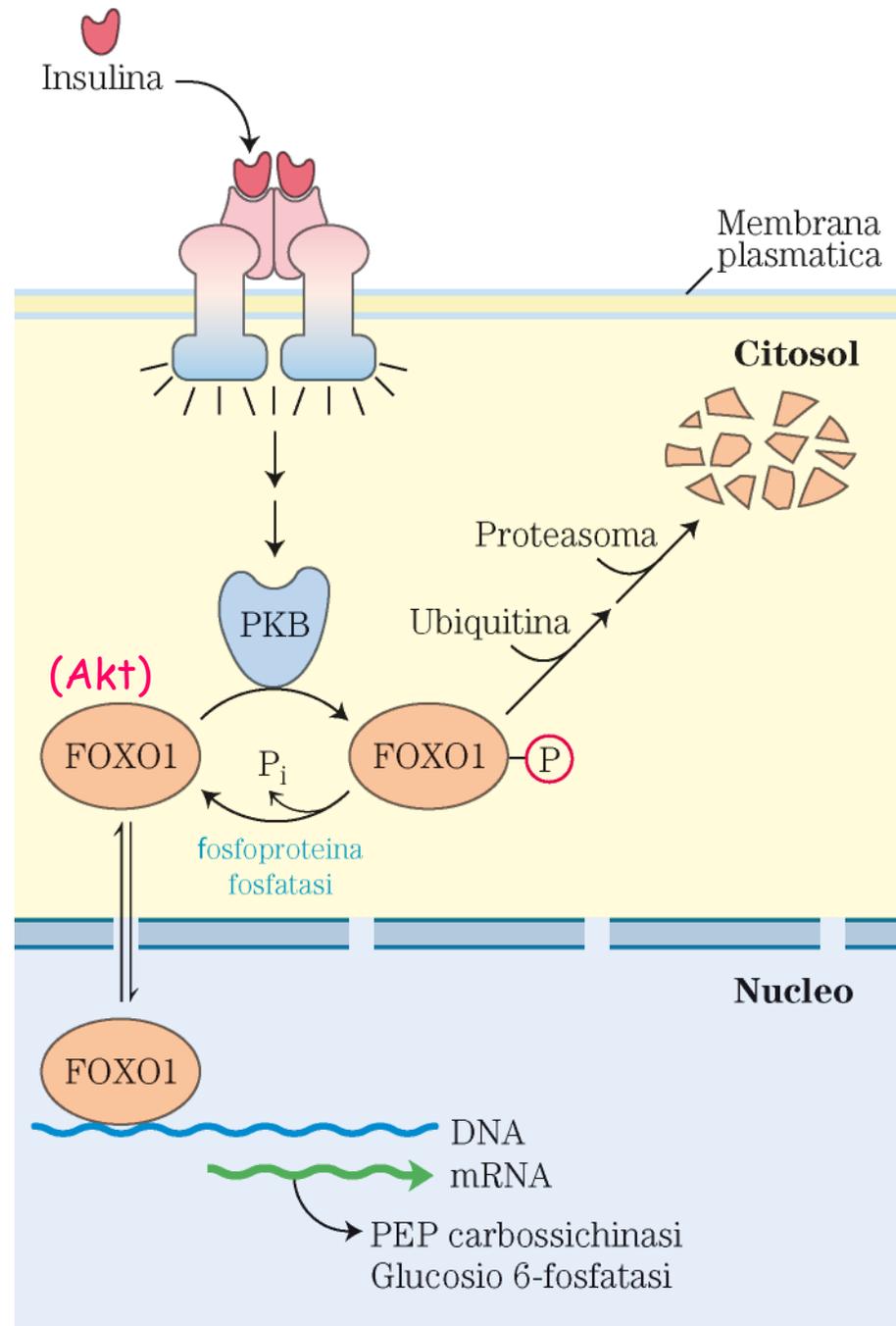
- Esochinasi II e IV
- PFK-1
- Piruvato chinasi

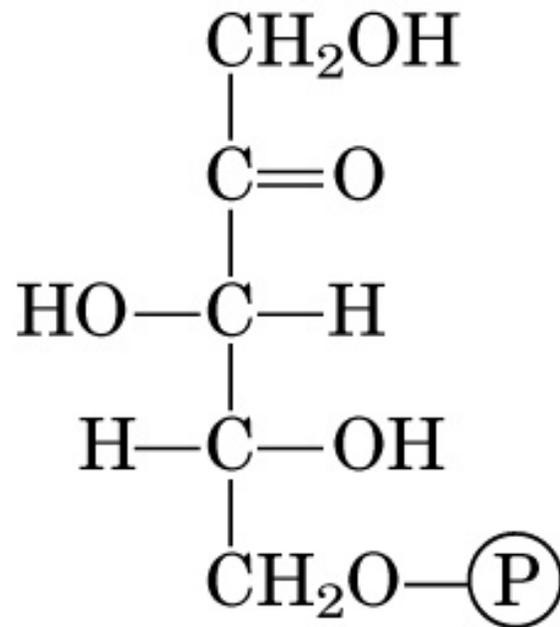
# Regolazione della gluconeogenesi

- Piruvato carbossilasi
- Fruttosio 1,6-bisfosfatasi-1 (FBPasi-1)
- PEP carbossichinasi (regolazione della sua sintesi e demolizione)

L'insulina rallenta l'espressione dei geni che codificano i due enzimi della gluconeogenesi:

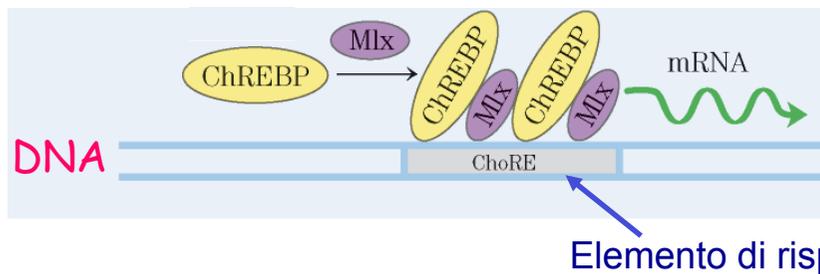
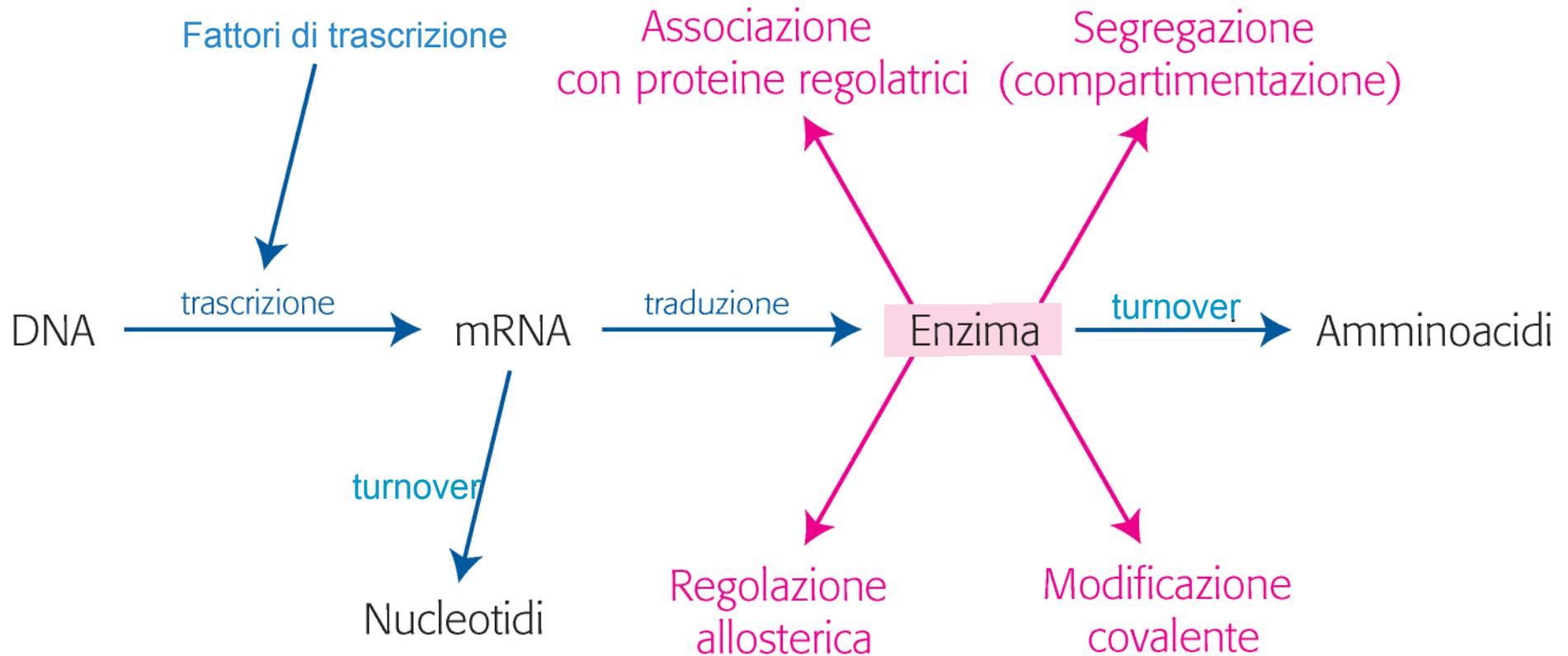
- PEP carbossichinasi
- Glucosio 6-fosfatasi





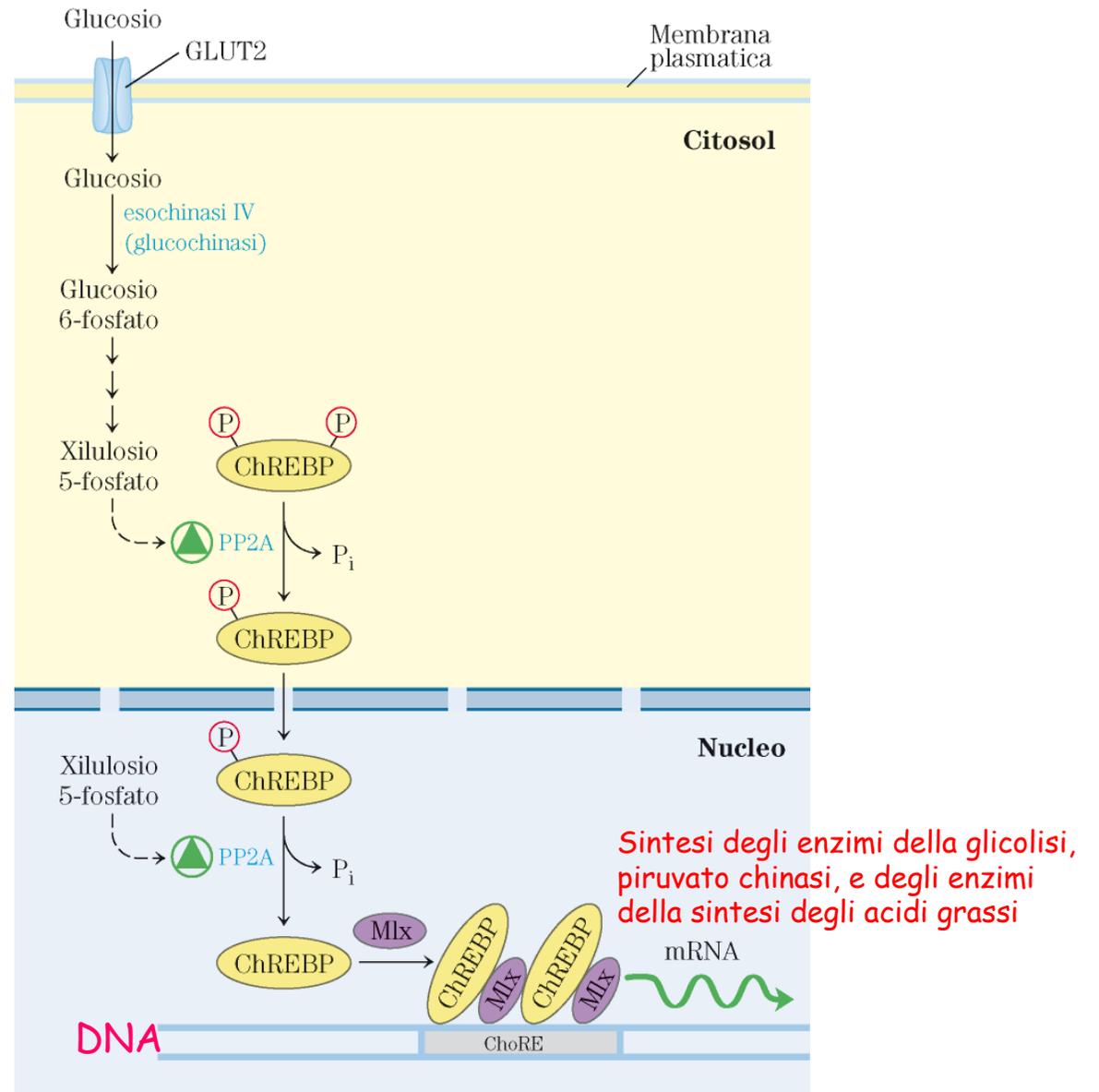
Xilulosio 5-fosfato  
fa aumentare la  
velocità della glicolisi  
nel fegato attivando  
una fosfoproteina  
fosfatasi (PP2A)

# Fattori che controllano la quantità e l'attività di un enzima

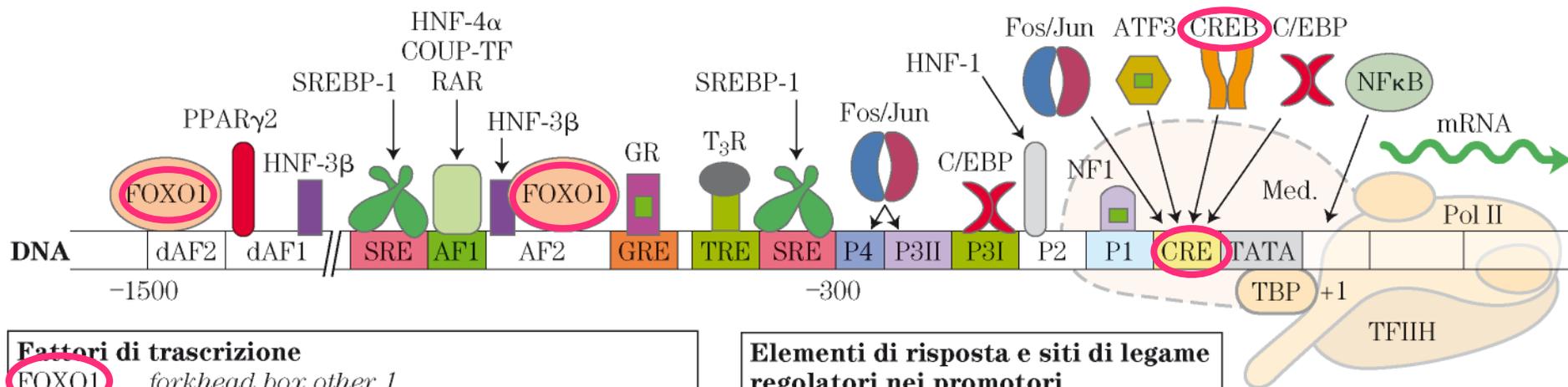


Sintesi degli enzimi della glicolisi, piruvato chinasi, e degli enzimi della sintesi degli acidi grassi

**Regolazione genica da parte del fattore di trascrizione ChREBP**



**ChREBP= Proteina che lega l' elemento di risposta dei carboidrati,  
ChoRE= Elemento di risposta ai carboidrati presente sul sito promotore**



### Fattori di trascrizione

<b>FOXO1</b>	<i>forkhead box other 1</i>
PPAR $\gamma$ 2	recettore $\gamma$ -attivato dal proliferatore dei perossisomi
HNF-3 $\beta$	fattore nucleare epatico 3 $\beta$
SREBP-1	proteina-1 che lega l'elemento di regolazione degli steroli
HNF-4 $\alpha$	fattore nucleare epatico 4 $\alpha$
COUP-TF	fattore di trascrizione che lega il promotore per la sintesi dell'ovalbumina di pollo
RAR	recettore dell'acido retinoico
GR	recettore dei glucocorticoidi
T $_3$ R	recettore dell'ormone tiroideo
C/EBP	proteina che lega il CAAT enhancer
HNF-1	fattore nucleare-1 epatico
NF1	fattore nucleare-1
ATF3	fattore 3 di attivazione della trascrizione
<b>CREB</b>	proteina che lega l'elemento di risposta al cAMP
NF $\kappa$ B	fattore nucleare $\kappa$ B
TBP	proteina che lega il TATA-box
Med.	mediatore
TFIIH	fattore di trascrizione IIIH

### Elementi di risposta e siti di legame regolatori nei promotori

<b>dAF2</b>	fattore accessorio distale 2
dAF1	fattore accessorio distale 1
SRE	elemento di regolazione degli steroli
AF1	fattore accessorio 1
<b>AF2</b>	fattore accessorio 2
GRE	elemento di regolazione dei glucocorticoidi
TRE	elemento di regolazione dell'ormone tiroideo
<b>CRE</b>	elemento di regolazione del cAMP

**Regione del promotore della PEP carbossichinasi, enzima della gluconeogenesi**