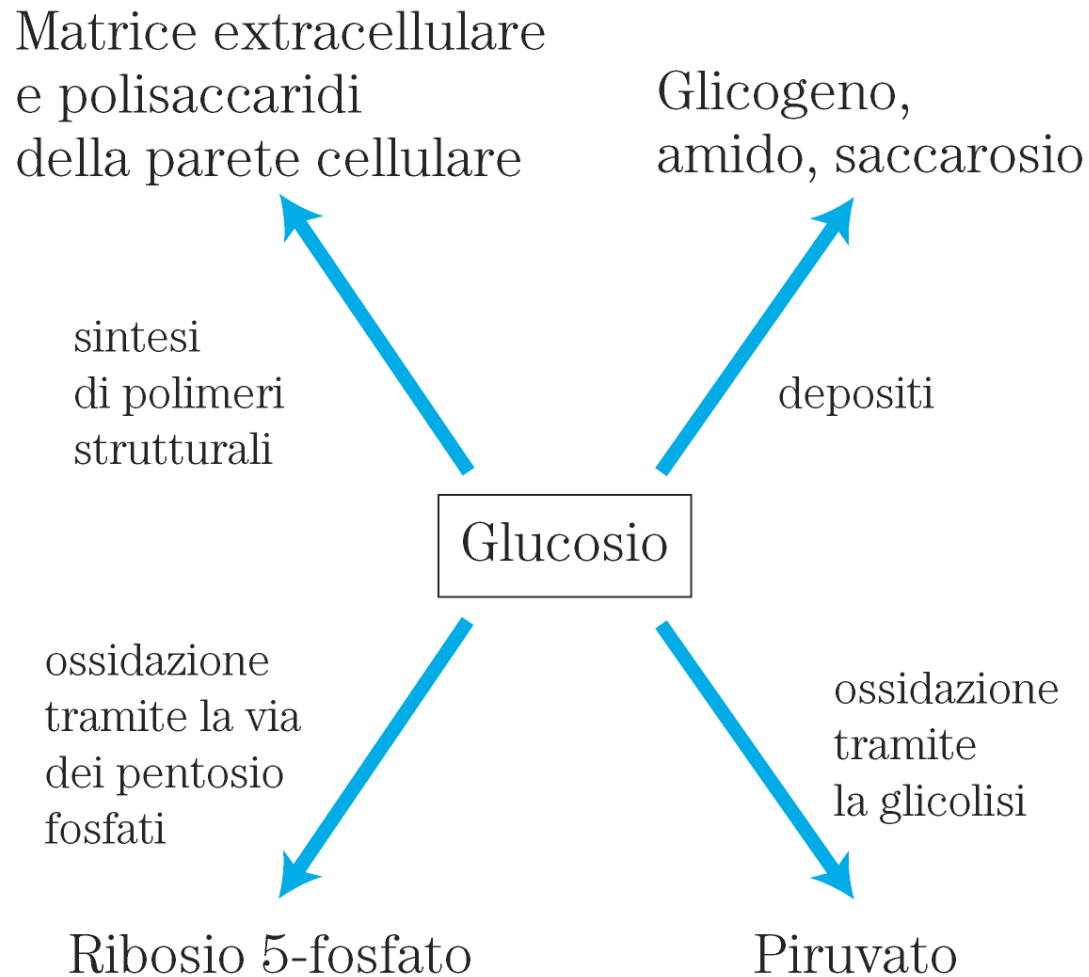


## **LA GLICOLISI**

- **La prima via metabolica ad essere stata identificata: è la via metabolica universale per l'utilizzo del glucosio**
- **La via centrale per il catabolismo (degradazione) del glucosio a piruvato**
- **La degradazione del glucosio è accompagnata dalla formazione di ATP e NADH**

## PRINCIPALI VIE DI UTILIZZO DEL GLUCOSIO

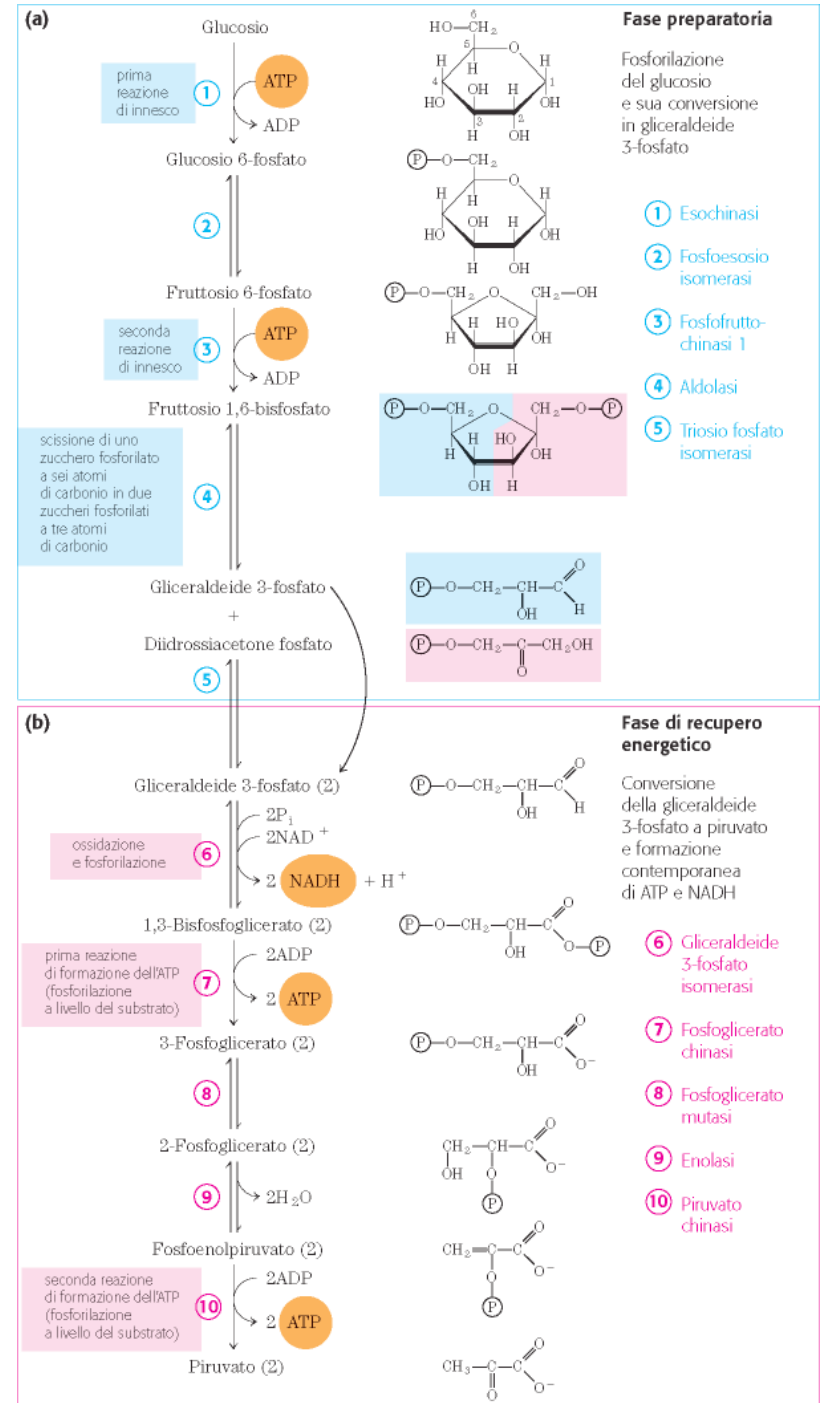
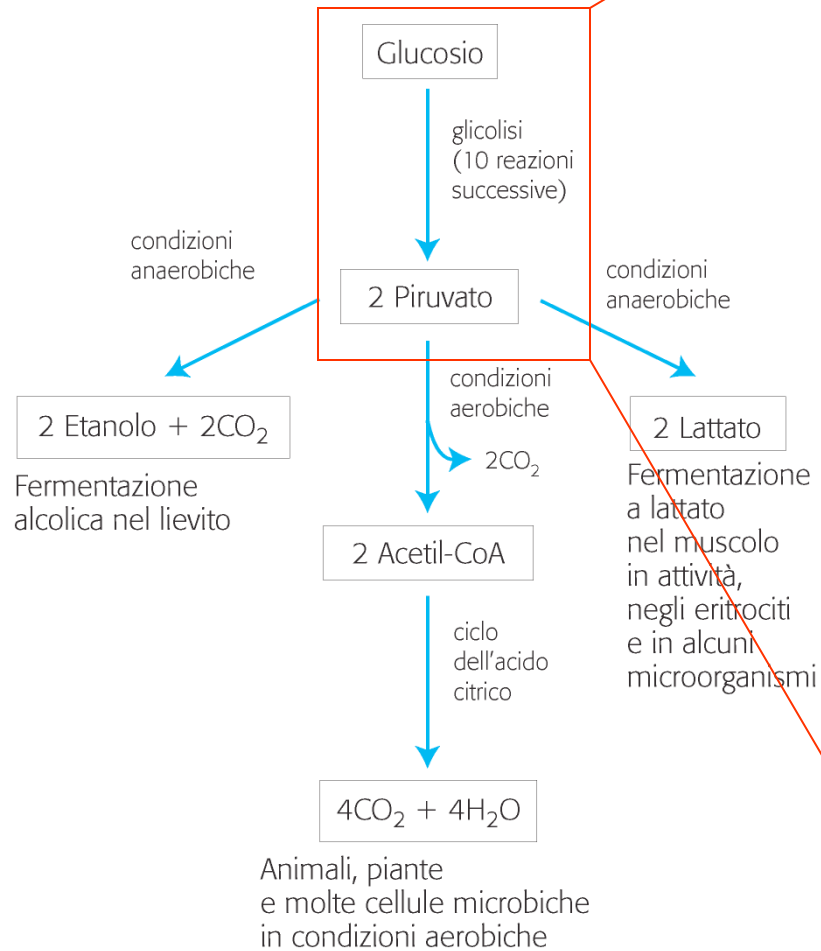


**Posizione centrale del GLUCOSIO nel metabolismo di piante, animali e microorganismi**

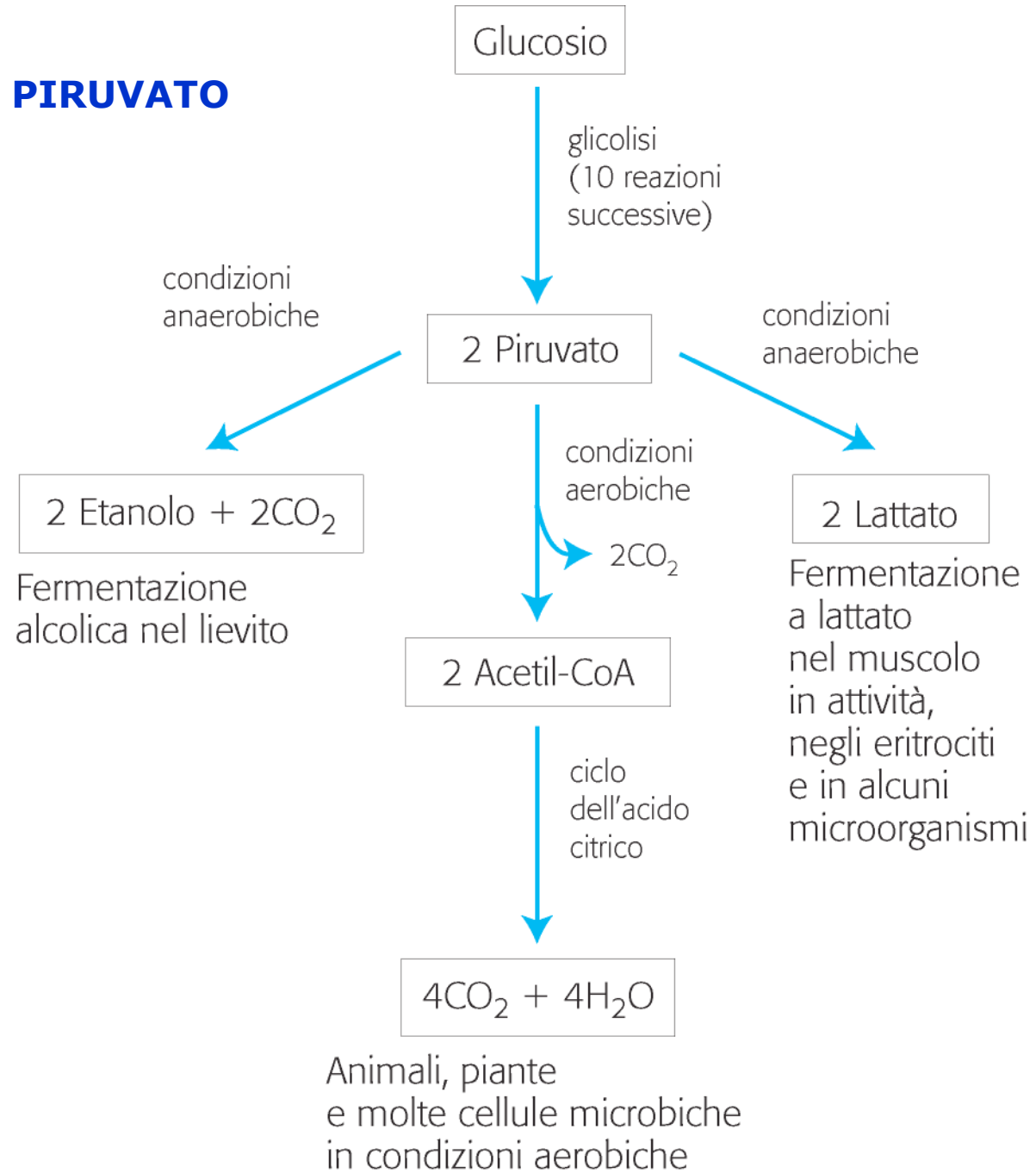
## **LA GLICOLISI**

- **Ha luogo nel citosol**
- **Consta di 10 tappe tutte catalizzate da enzimi altamente conservati**
- **Può essere suddivisa in due fasi: preparatoria e di recupero energetico**
- **Produce energia sotto forma di ATP e NADH, un coenzima ridotto**
- **Tutti gli intermedi metabolici sono fosforilati**

## nel citosol



## DESTINO DEL PIRUVATO



# LA GLICOLISI

Procede in due fasi

## FASE PREPARATORIA

Il glucosio è scisso in due molecole di gliceraldeide 3-fosfato

Vengono utilizzate 2 molecole di ATP

## FASE DI RECUPERO ENERGETICO O OSSIDATIVA

La gliceraldeide 3-fosfato è convertita in piruvato

Vengono prodotte 4 molecole di ATP e 2 di NADH



# LA GLICOLISI

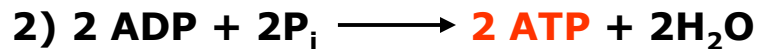
Può essere vista come accoppiamento di una fase energeticamente favorevole ed una invece sfavorita:

- **CONVERSIONE ESOERGONICA DI GLUCOSIO IN PIRUVATO**



$$\Delta G_1'^{\circ} = -146 \text{ kJ/mol}$$

- **FORMAZIONE ENDOERGONICA DI ATP A PARTIRE DA ADP E P<sub>i</sub>**



$$\Delta G_2'^{\circ} = 61 \text{ kJ/mol}$$

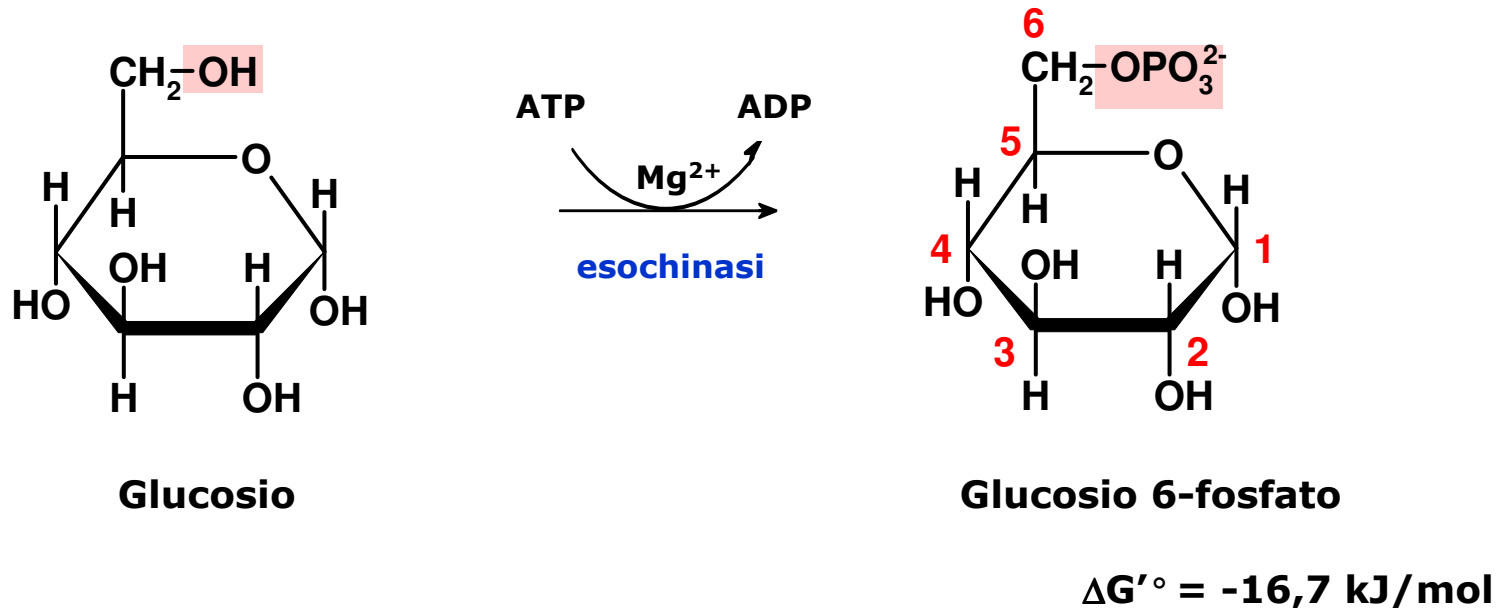
- **SOMMANDO LE EQUAZIONI 1 E 2:**



$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{tot}}'^{\circ} &= \Delta G_1'^{\circ} + \Delta G_2'^{\circ} = -146 \text{ kJ/mol} + 61 \text{ kJ/mol} \\ &= -85 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

## FASE PREPARATORIA

### 1) FOSFORILAZIONE DEL GLUCOSIO

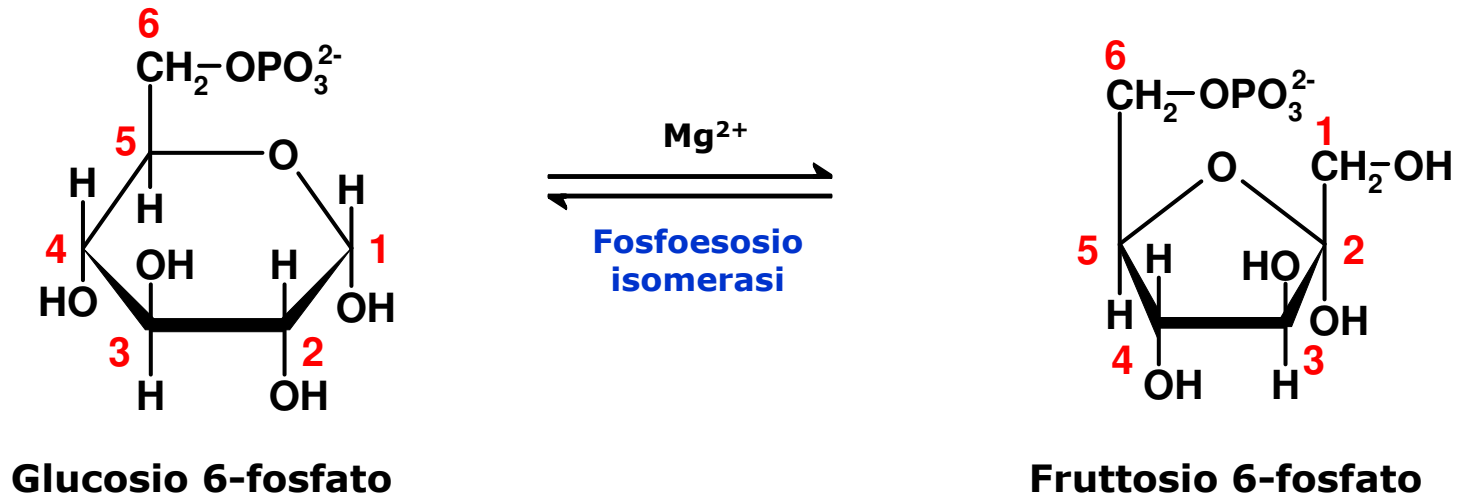


- **Prima reazione di innesco**
- **Primo sito di regolazione della glicolisi**
- **Enzimi chinasi: transferasi che catalizzano il trasferimento di gruppi fosfato da ATP a molecole che fungono da accettori**
- **Consuma di 1 molecola di ATP**
- **Reazione irreversibile nelle condizioni intracellulari**



## FASE PREPARATORIA

### 2) CONVERSIONE DEL GLUCOSIO 6-FOSFATO A FRUTTOSIO 6-FOSFATO

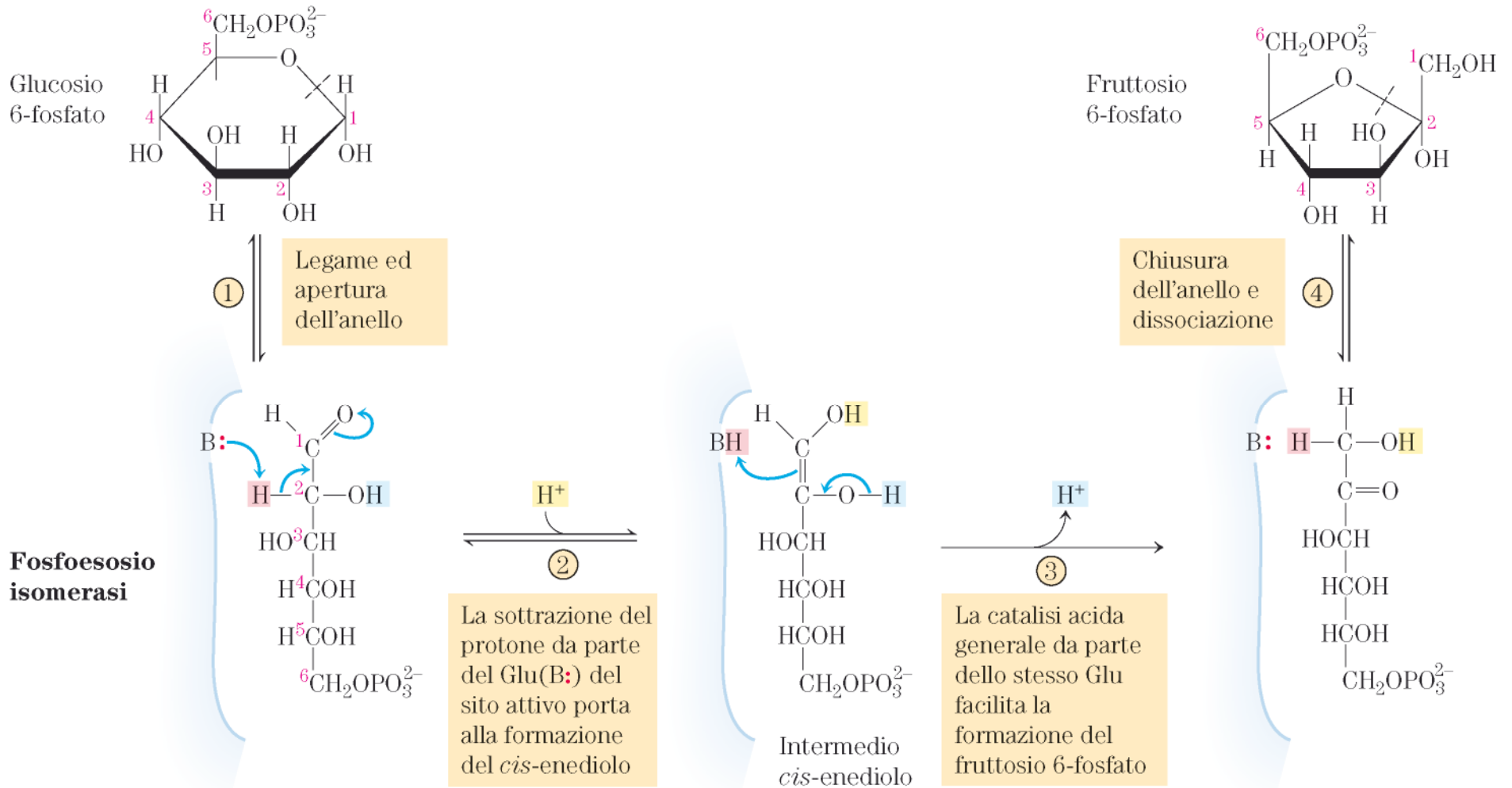


$$\Delta G'^{\circ} = -1,7 \text{ kJ/mol}$$

- **Fosfoesosio isomerasi:** isomerasi che catalizza l'isomerizzazione di un aldoso nel corrispondente chetoso
- **Necessaria affinché nelle tappa successiva avvengano la fosforilazione del C-1 e la rottura del legame tra C-3 e C-4, che richiede un carbonile al C-2**
- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari**

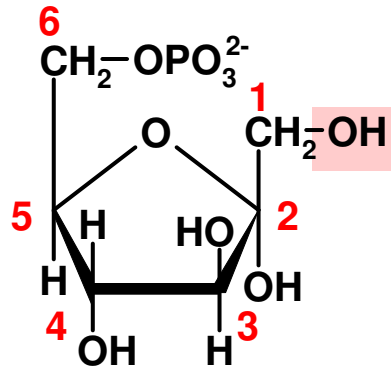
# FASE PREPARATORIA

## 2) CONVERSIONE DEL GLUCOSIO 6-FOSFATO A FRUTTOSIO 6-FOSFATO

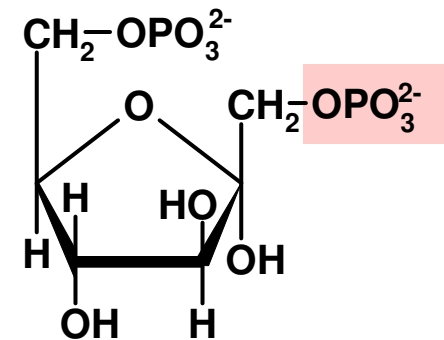
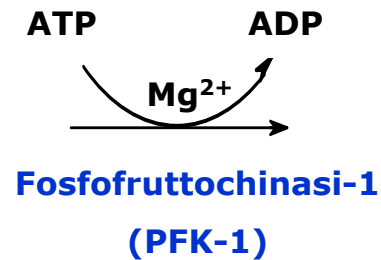


## FASE PREPARATORIA

### 3) FOSFORILAZIONE DEL FRUTTOSIO 6-FOSFATO A FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATO



Fruttosio 6-fosfato



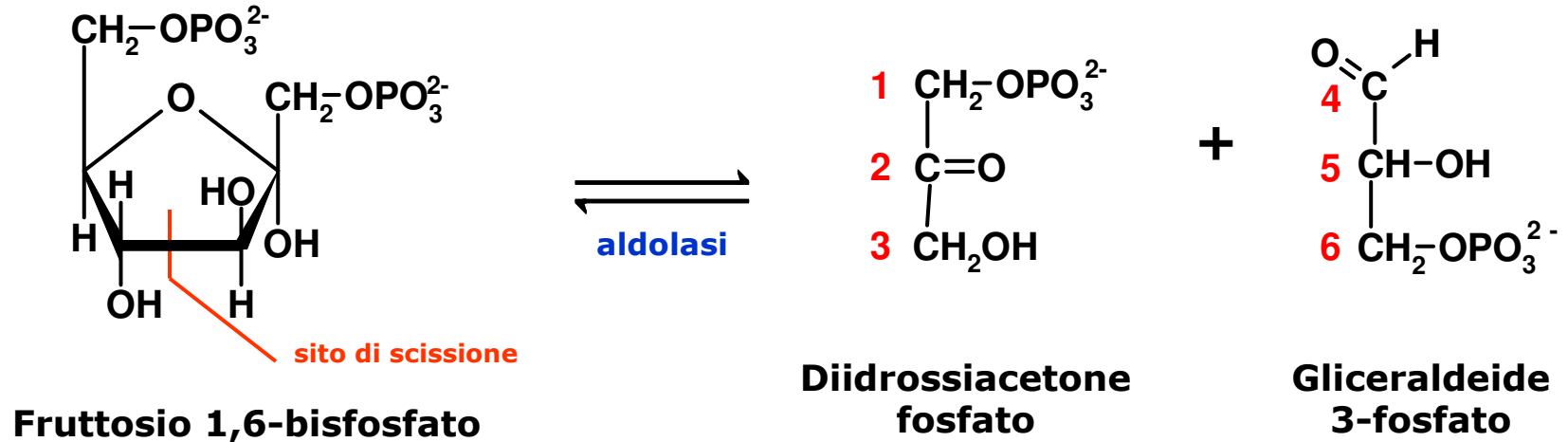
Fruttosio 1,6-bisfosfato

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

- Seconda reazione di innesco
- Principale sito di **regolazione** della glicolisi
- Fosfofruttochinasi-1 (PFK-1): una chinasi, enzima allosterico
- Consumo di 1 molecola di **ATP**
- Reazione **irreversibile** nelle condizioni intracellulari

## FASE PREPARATORIA

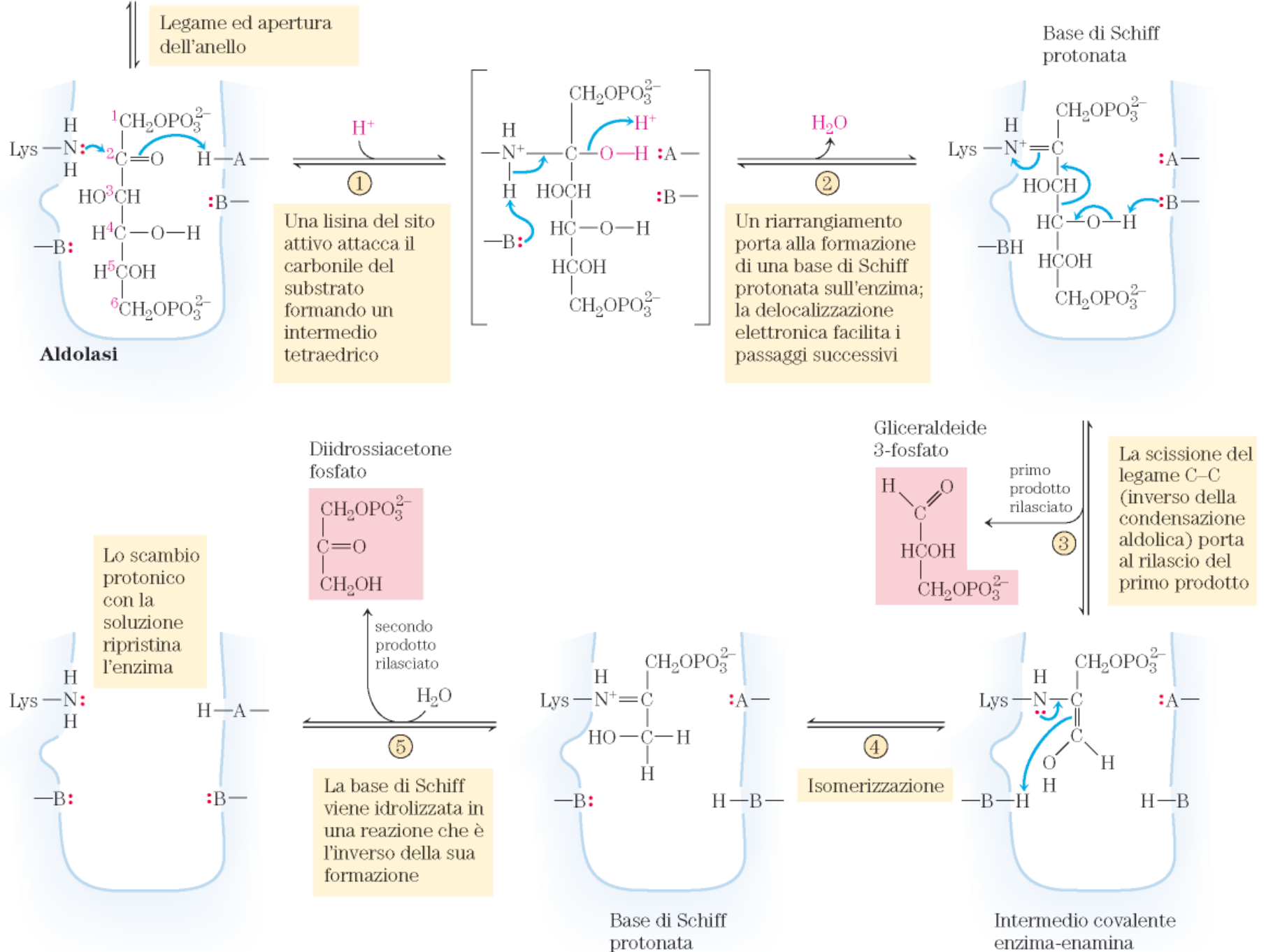
### 4) SCISSIONE DEL FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATO (tappa LITICA)

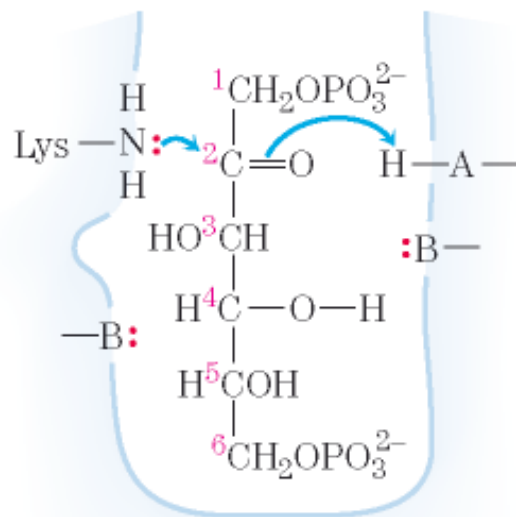


$$\Delta G'^{\circ} = 23,8 \text{ kJ/mol}$$

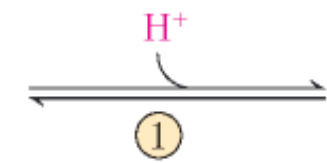
- **Fruttosio 1,6-bisfosfato aldolasi o semplicemente aldolasi:** enzima che catalizza una reazione inversa alla condensazione aldolica
- **Aldolasi di classe I;** quelle di classe II presentano uno ione  $\text{Zn}^{2+}$  che stabilizza l'intermedio enolato
- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari** in virtù delle basse concentrazioni dei reagenti, inoltre diidrossiacetone fosfato e gliceraldeide 3-fosfato vengono continuamente rimossi, in tal modo l'equilibrio è spostato verso la formazione dei prodotti finali

## F 1,6-bisfosfato

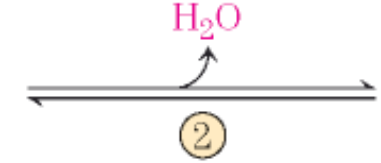
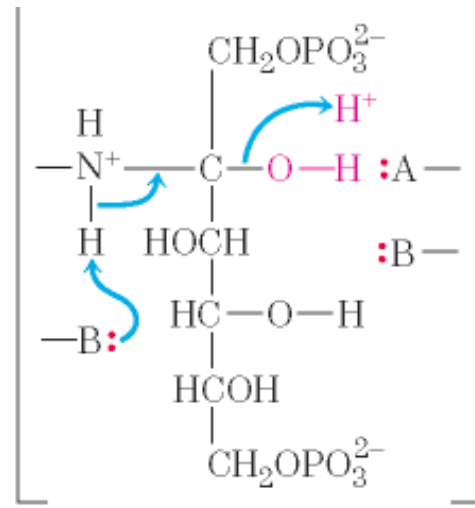




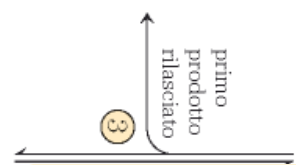
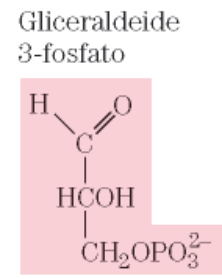
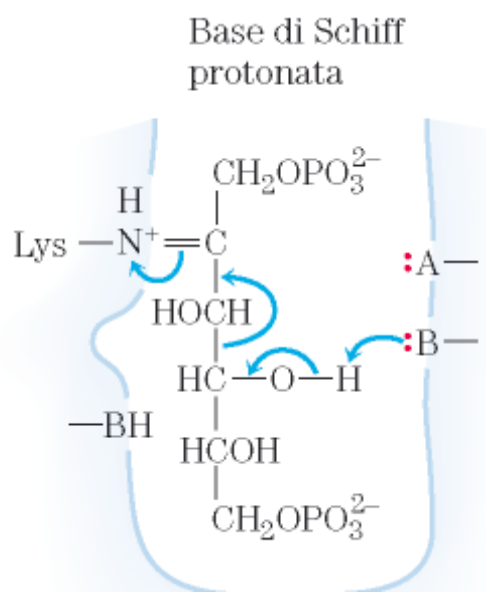
**Aldolasi**



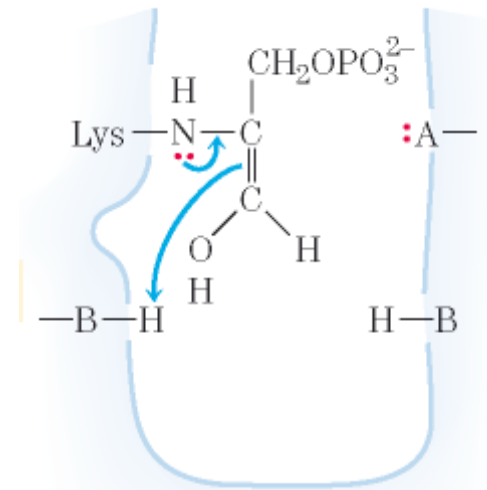
Una lisina del sito attivo attacca il carbonile del substrato formando un intermedio tetraedrico



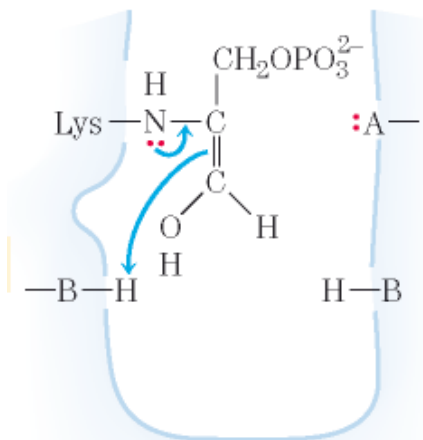
Un riarrangiamento porta alla formazione di una base di Schiff protonata sull'enzima; la delocalizzazione elettronica facilita i passaggi successivi



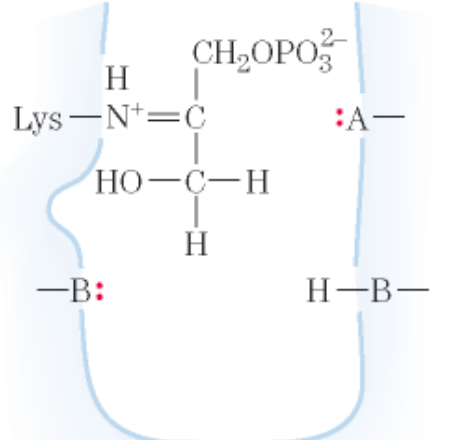
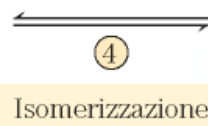
La scissione del legame C-C (inverso della condensazione aldolica) porta al rilascio del primo prodotto



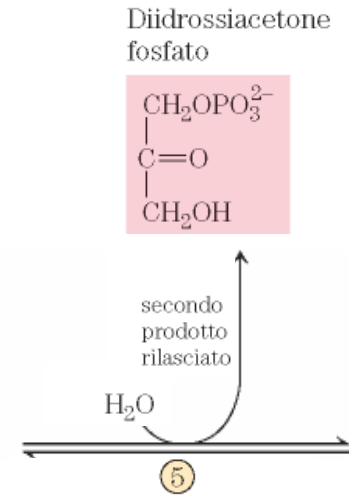
Intermedio covalente enzima-enamina



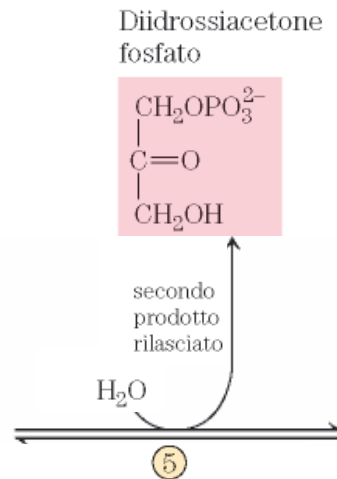
Intermedio covalente enzima-enamina



Base di Schiff protonata



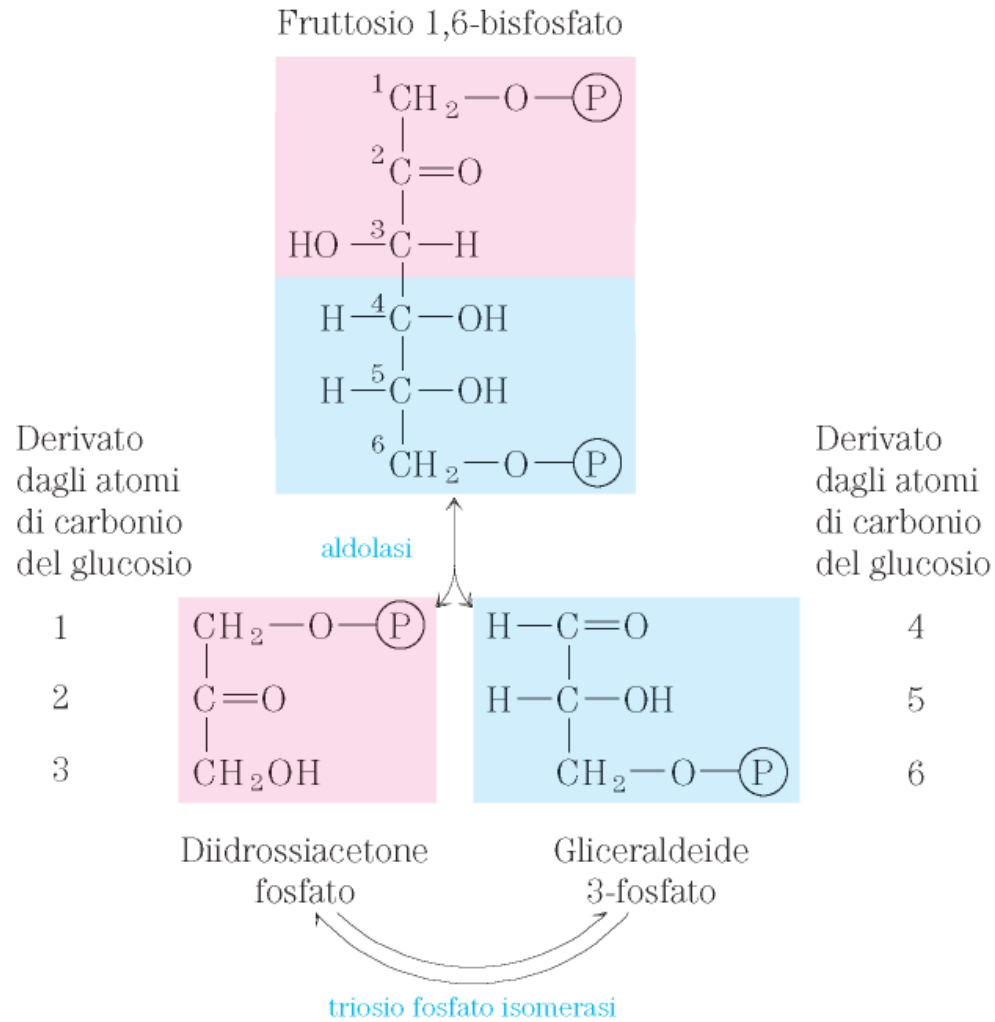
La base di Schiff viene idrolizzata in una reazione che è l'inverso della sua formazione



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



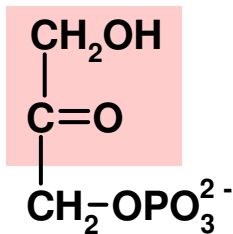
## 4) SCISSIONE DEL FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATO



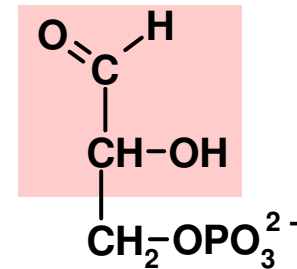


## FASE PREPARATORIA

### 5) INTERCONVERSIONE DEI TRIOSI FOSFATO



**Diidrossiacetone fosfato**



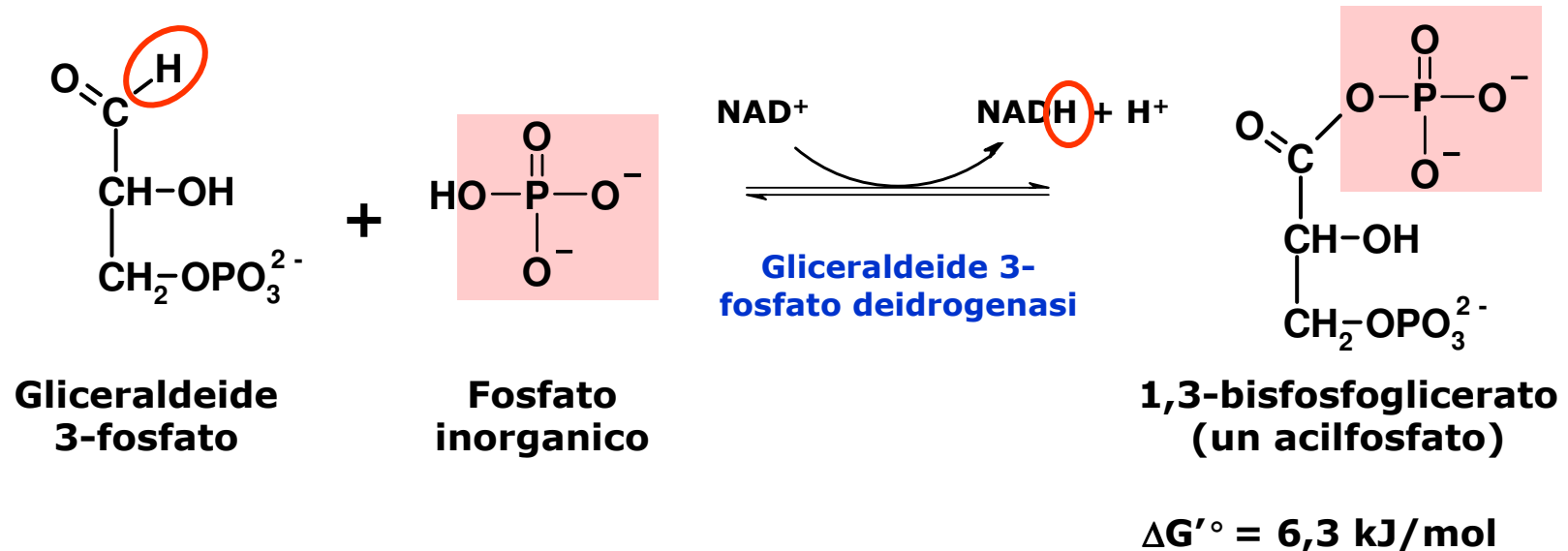
**gliceraldeide-3-fosfato**

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

- **Triosio fosfato isomerasi:** catalizza l'isomerizzazione del diidrossiacetone fosfato a gliceraldeide 3-fosfato in quanto solo quest'ultima può entrare nella fase successiva della glicolisi
- **Meccanismo simile alla isomerizzazione glucosio ⇌ fruttosio**
- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari**

## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

### 6) OSSIDAZIONE DELLA GLICERALDEIDE 3-FOSFATO AD 1,3-BISFOSFOGLICERATO

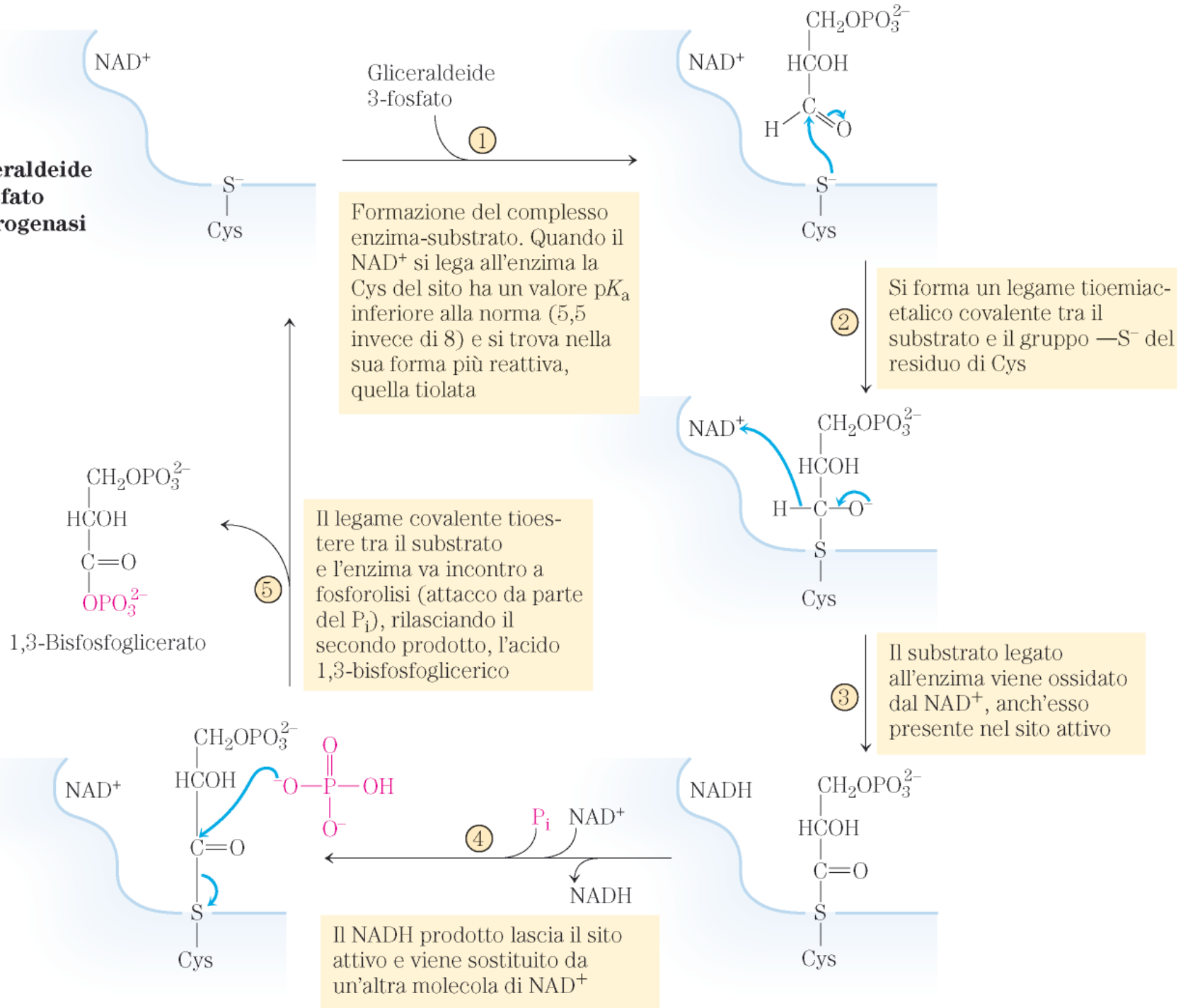


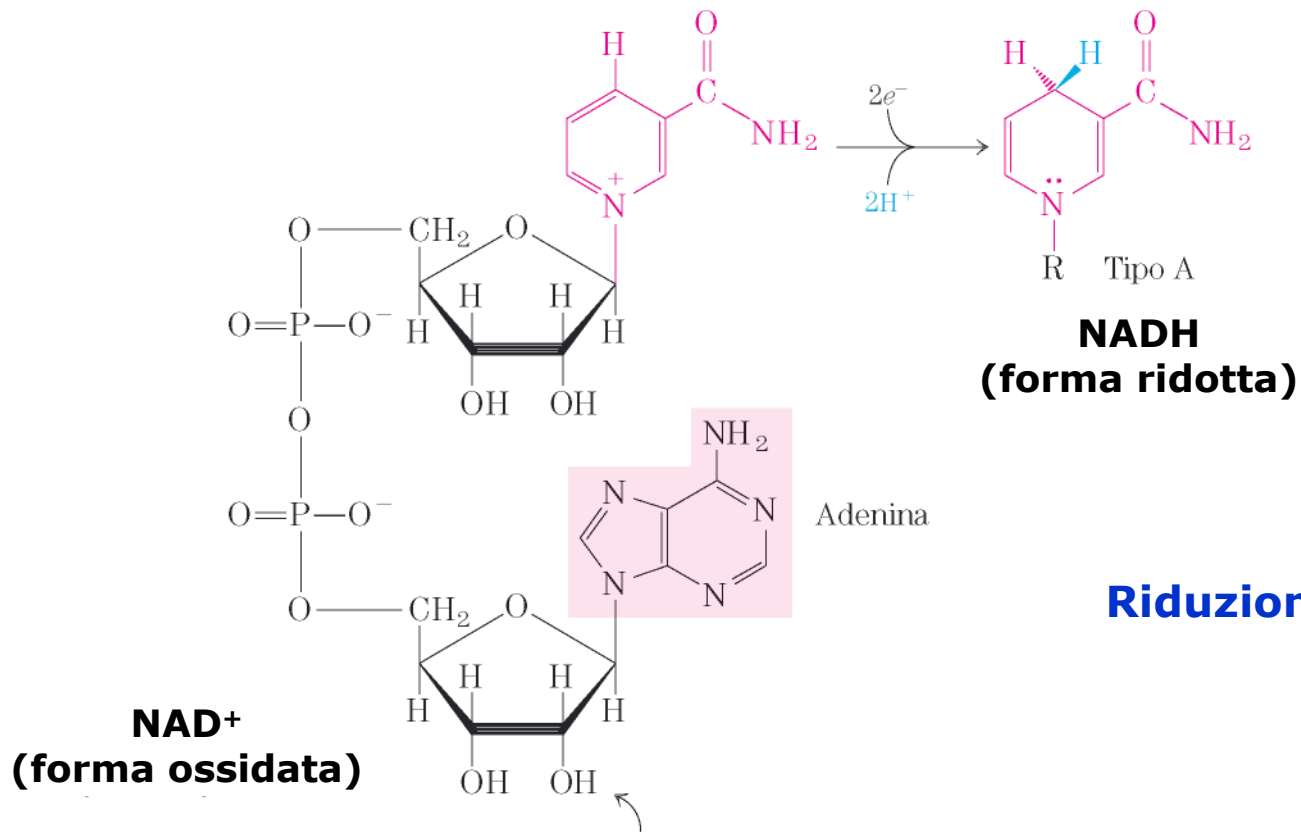
- **Gliceraleide 3-fosfato deidrogenasi: deidrogenasi NAD-dipendente, catalizza la deidrogenazione del gruppo aldeidico che è in tal modo ossidato a fosfoanidride (enzimi deidrogenasi, catalizzano reazioni redox in cui l'acceptore di elettroni è un coenzima)**

- **Formazione di un composto fosforilato 1,3-bisfosfoglicerato che presenta un'alta energia libera standard di idrolisi (-49,3 kJ/mol)**

- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari**

**Gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi**





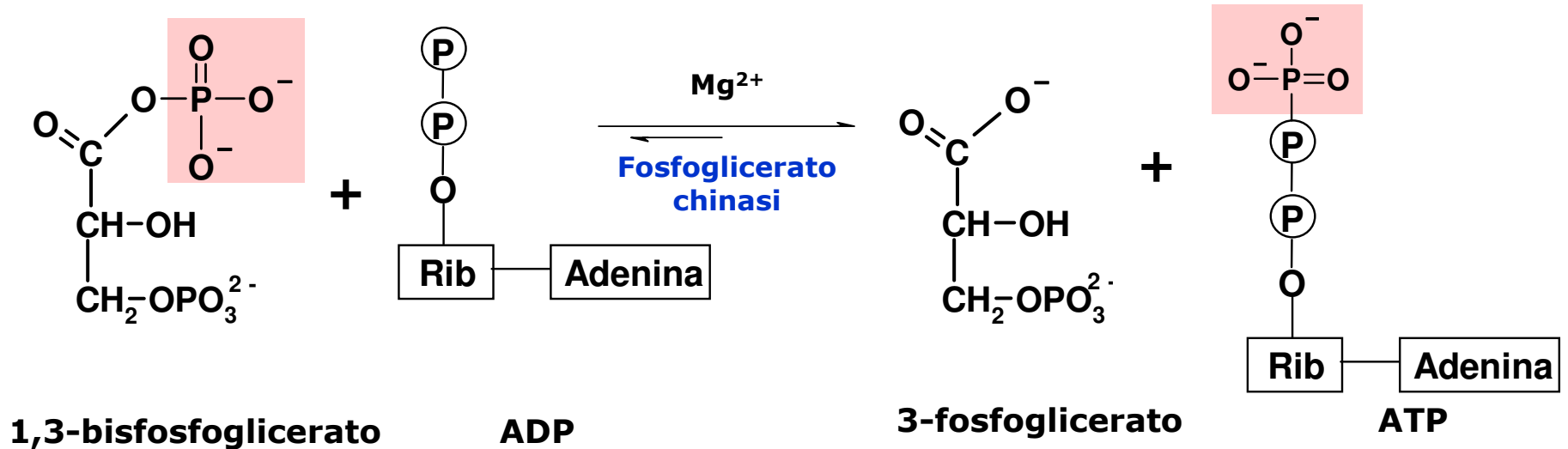
## Riduzione del NAD<sup>+</sup>

Nel NADP<sup>+</sup> questo gruppo ossidrilico è esterificato con un gruppo fosforico

- la quantità di NAD presente nella cellula ( $\leq 10^{-5}\text{M}$ ) è molto minore rispetto a quella del glucosio, pertanto esso necessita continuamente di essere ri-ossidato per consentire l'ossidazione di tutto il glucosio che entra nella glicolisi

## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

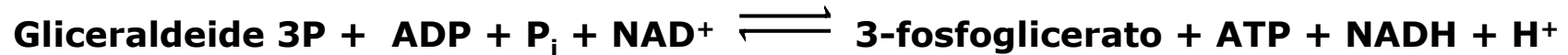
### 7) TRASFERIMENTO DEL GRUPPO FOSFORICO DALL' 1,3-BISFOSFOGLICERATO ALL'ADP



$$\Delta G'^{\circ} = - 18,5 \text{ kJ/mol}$$

- **FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO:** produzione di **ATP** mediante trasferimento di gruppi fosforici da un substrato all'ADP; è catalizzata da enzimi solubili e coinvolge intermedi chimici
- Sito di regolazione
- Produce 1 molecola di **ATP** per ogni molecola di 1,3-bisfosfoglicerato

**Combinando le tappe 6 e 7 si ottiene un processo di accoppiamento energetico**

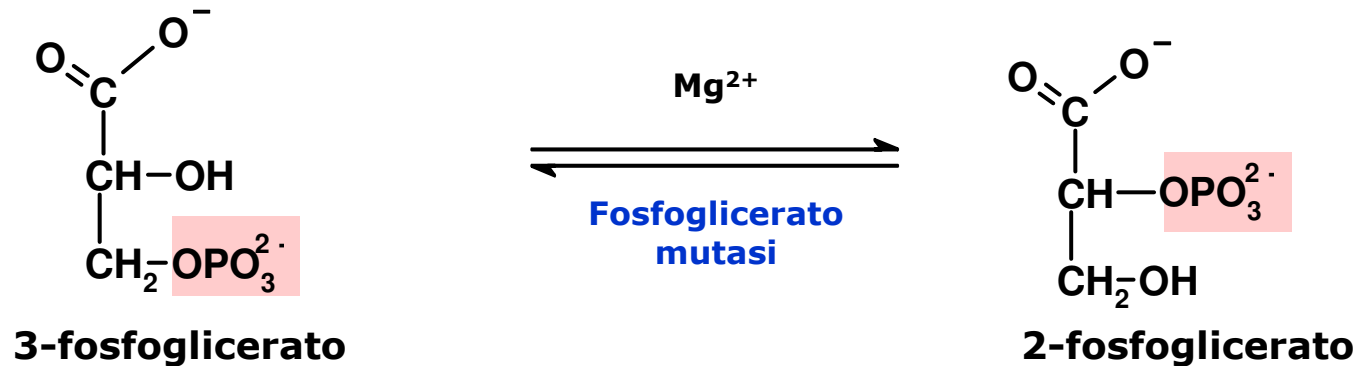


**$\Delta G'^{\circ} = - 12,2$  kJ/mol**

**Le tappe 6 e 7 hanno in comune l'1,3-bisfosfoglicerato ovvero sono accoppiate mediante un intermedio comune: questo rende possibile il processo endoergonico di sintesi di un composto fosforilato ad alta energia di idrolisi ovvero l'1,3-bisfosfoglicerato**

## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

### 8) CONVERSIONE DEL 3-FOSFOGLICERATO A 2-FOSFOGLICERATO

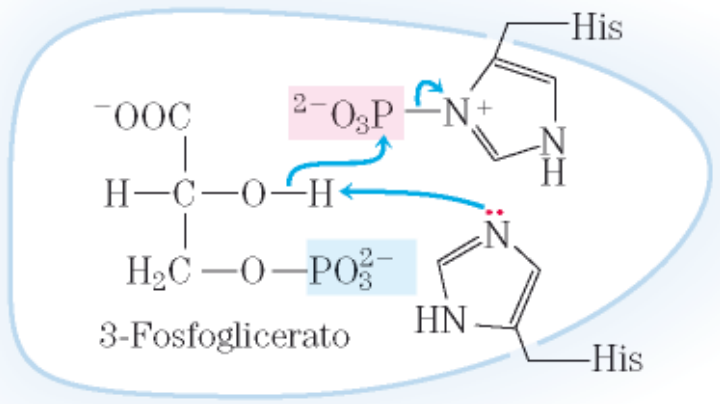


$$\Delta G'^{\circ} = 4,4 \text{ kJ/mol}$$

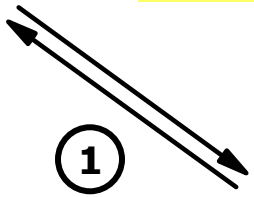
- **fosfoglicerato mutasi**: le mutasi sono una sottoclasse delle isomerasi; sono enzimi che catalizzano l'interconversione di stereoisomeri, isomeri strutturali o posizionali
- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari**

## 8) CONVERSIONE DEL 3-FOSFOGLICERATO A 2-FOSFOGLICERATO

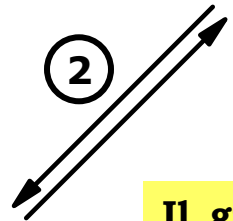
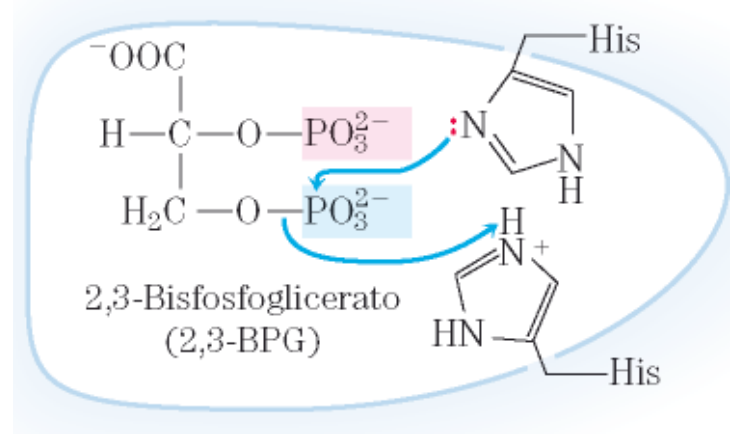
### Fosfoglicerato mutasi



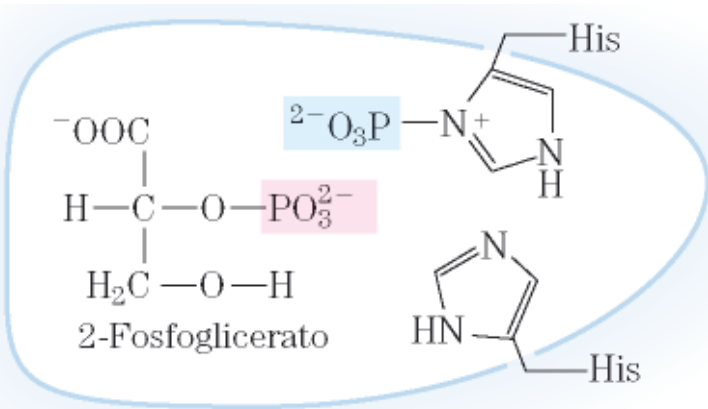
Il gruppo fosforico è trasferito da un residuo di His del sito attivo al C-2 (OH) del substrato. Un secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore base-generale



La reazione procede in due tappe



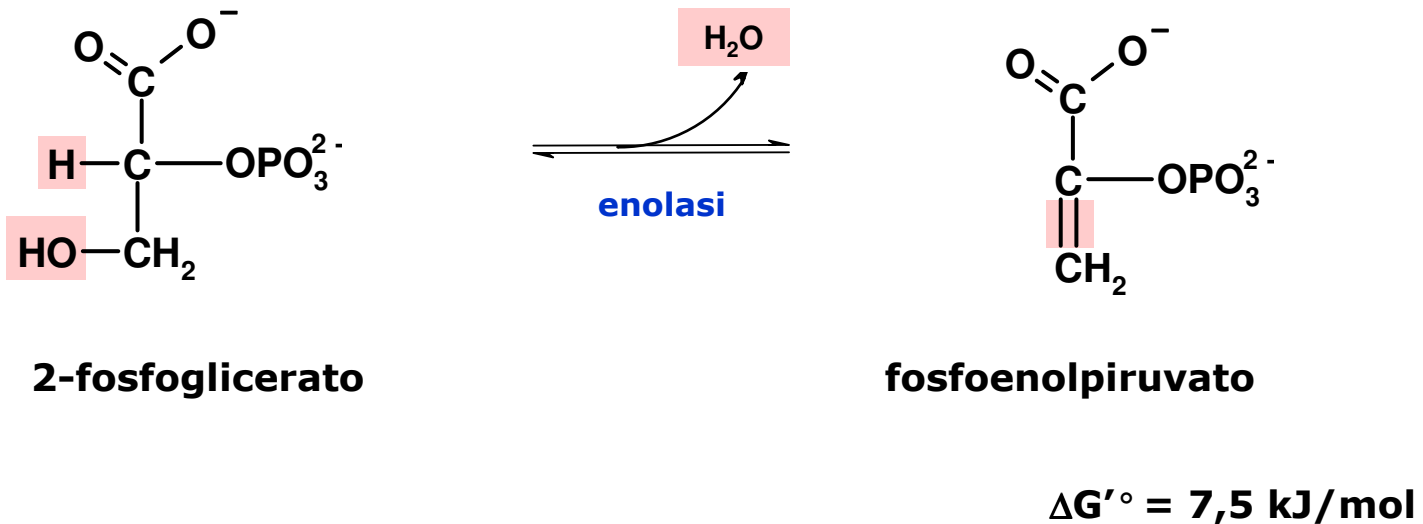
Il gruppo fosforico è trasferito dal C-3 del substrato al primo residuo di His del sito attivo. Il secondo residuo di His del sito attivo si comporta come un catalizzatore acido generale





## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

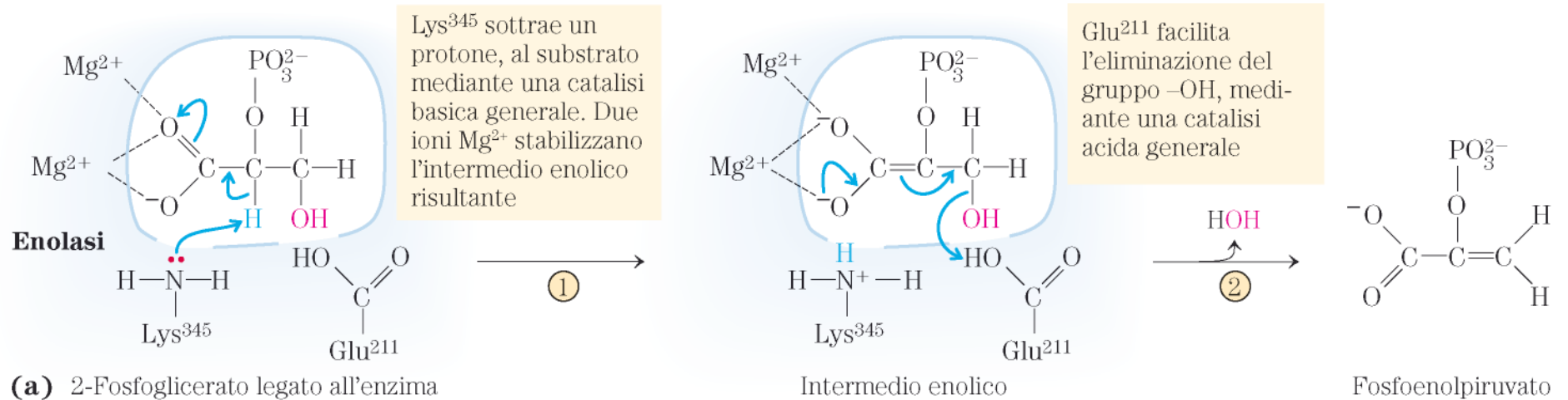
### 9) DEIDRATAZIONE DEL 2-FOSFOGLICERATO A FOSFOENOLPIRUVATO



- **Enolasi:** catalizza l'eliminazione di una molecola d'acqua dal 2-fosfoglicerato
- **Formazione di un composto fosforilato ad alta energia di idrolisi:** fosfoenolpiruvato
- **Reazione reversibile nelle condizioni intracellulari**

# FASE DI RECUPERO ENERGETICO

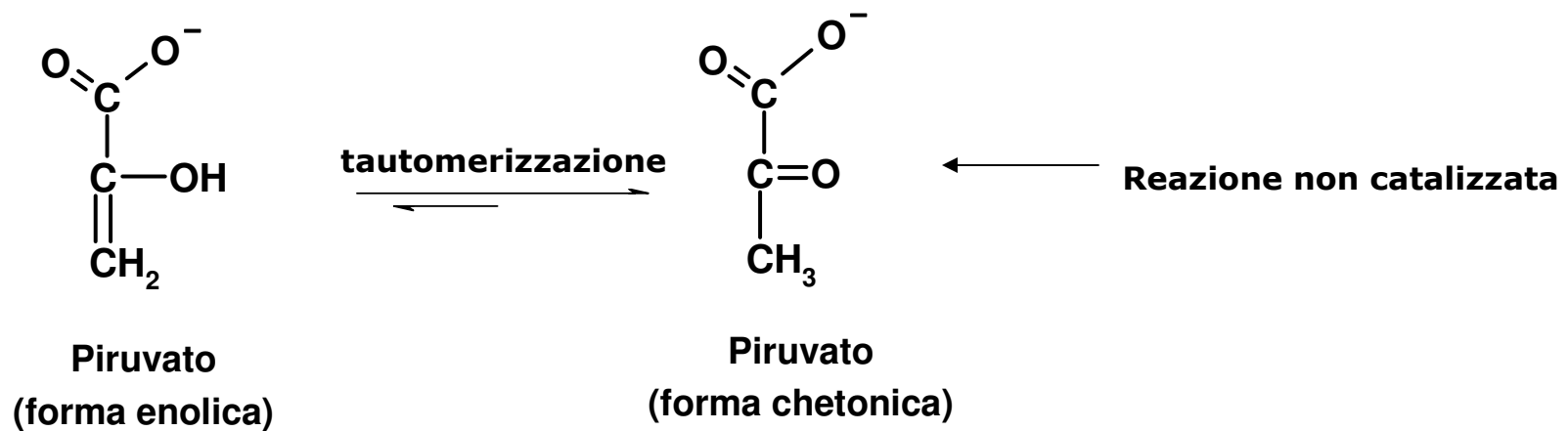
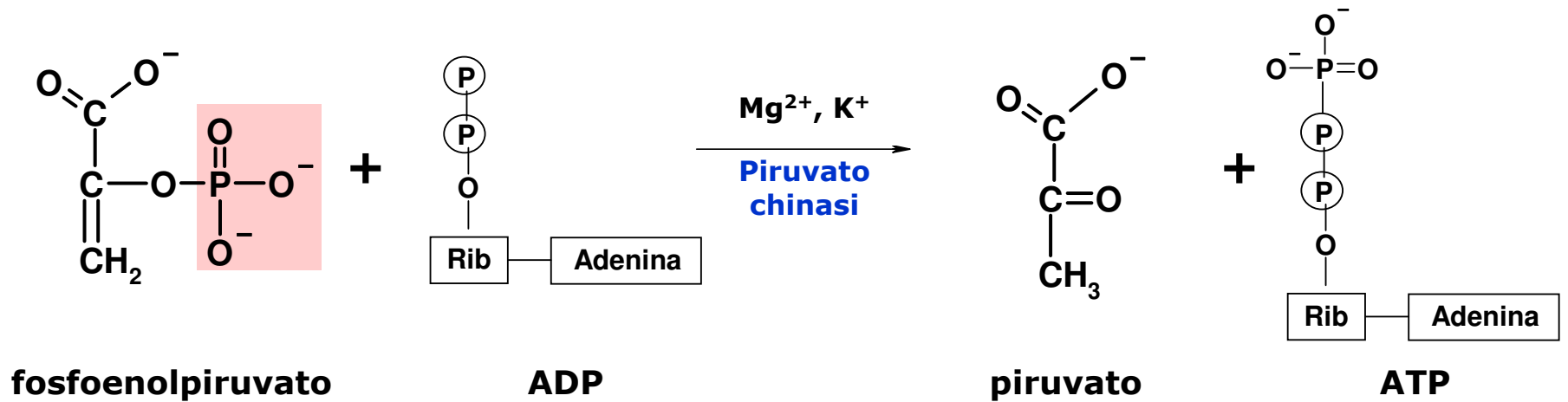
## 9) DEIDRATAZIONE DEL 2-FOSFOGLICERATO A FOSFOENOLPIRUVATO



•l'eliminazione di una molecola d'acqua dal 2-fosfoglicerato procede con la formazione di un intermedio enolico che è stabilizzato dalla presenza del Mg<sup>2+</sup>

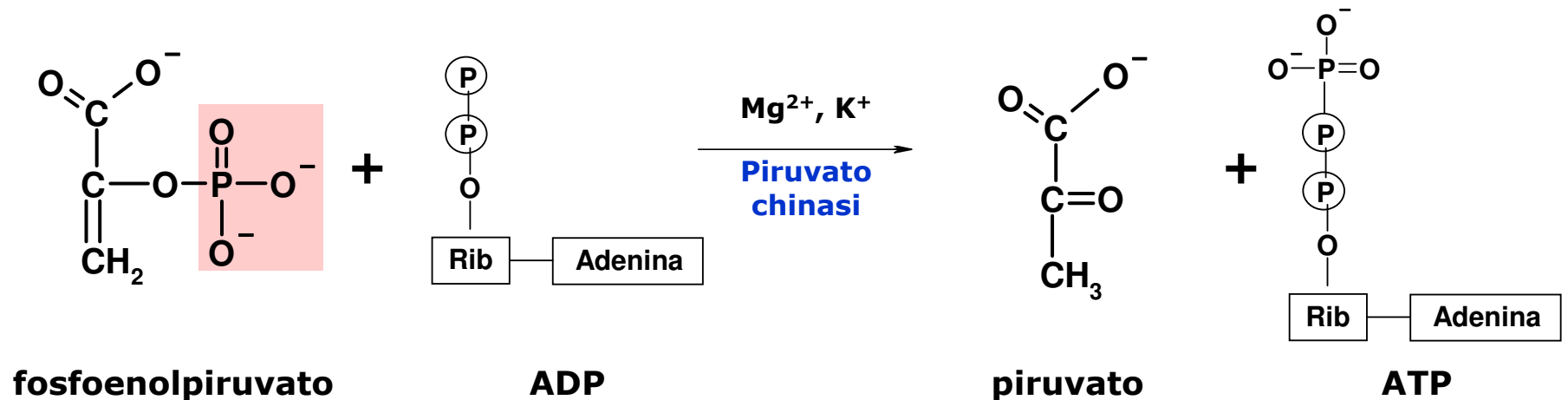
## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

### 10) TRASFERIMENTO DEL GRUPPO FOSFORICO DAL FOSFOENOLPIRUVATO ALL'ADP



## FASE DI RECUPERO ENERGETICO

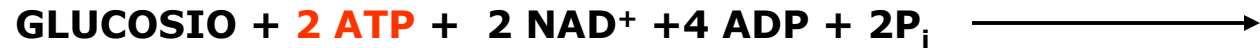
### 10) TRASFERIMENTO DEL GRUPPO FOSFORICO DAL FOSFOENOLPIRUVATO ALL'ADP



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

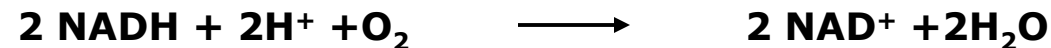
- **FOSFORILAZIONE A LIVELLO DEL SUBSTRATO**: produzione di **ATP** mediante trasferimento di gruppi fosforici da un substrato all'ADP; è catalizzata da enzimi solubili e coinvolge intermedi chimici
- Produce **1 molecola di ATP** per ogni molecola di piruvato
- Sito di **regolazione** della glicolisi
- Reazione **irreversibile** nelle condizioni intracellulari

## BILANCIO COMPLESSIVO DELLA GLICOLISI



$$\Delta G_{\text{tot}}^{\prime\circ} = - 85 \text{ kJ/mol}$$

### •In condizioni aerobiche



Il NADH è ossidato a spese dell'O<sub>2</sub> dalla catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri: per ogni molecola di NADH ossidata si producono 2.5 molecole di ATP

### •Bilancio energetico totale della glicolisi

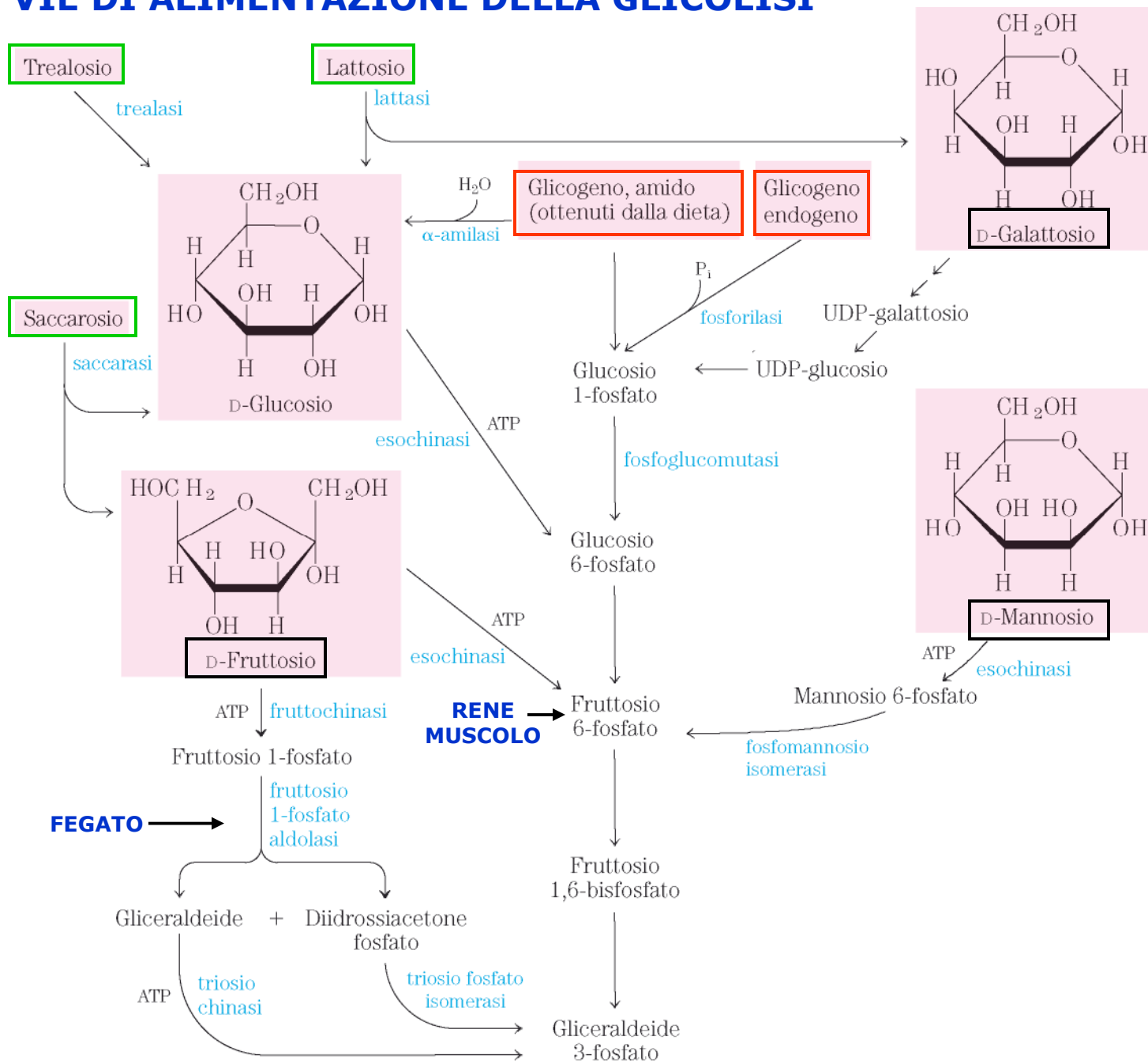


# VIE DI ALIMENTAZIONE DELLA GLICOLISI

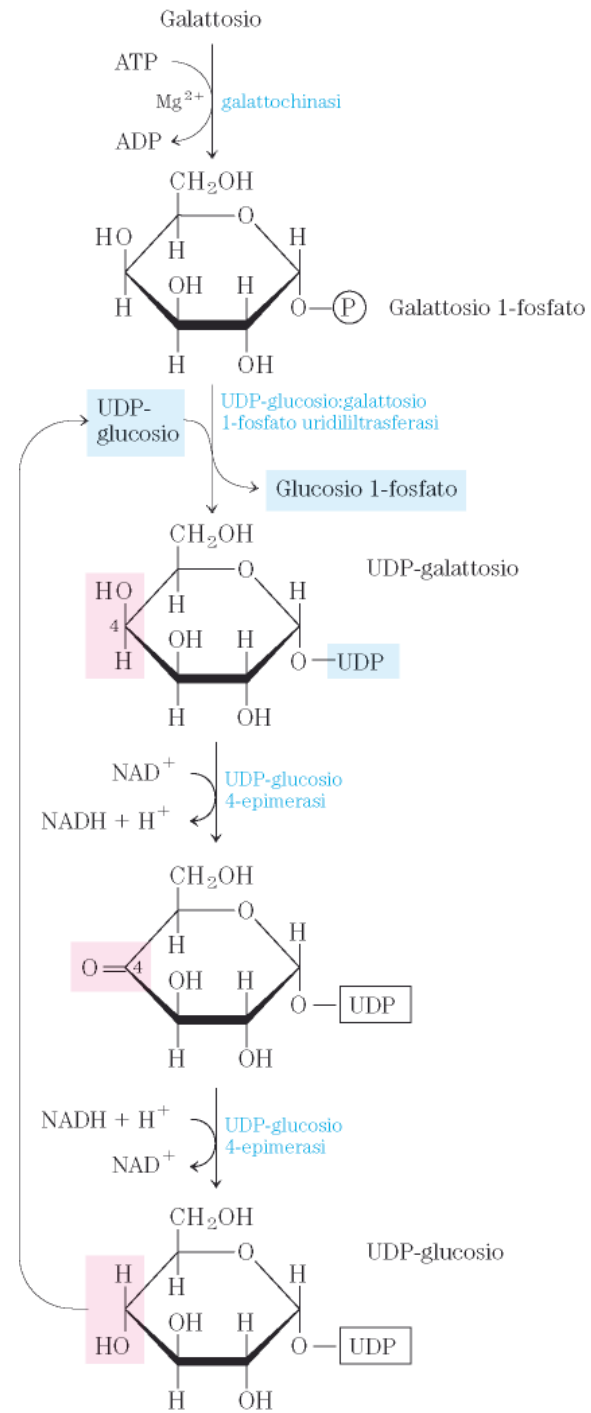
**polisaccaridi**

**disaccaridi**

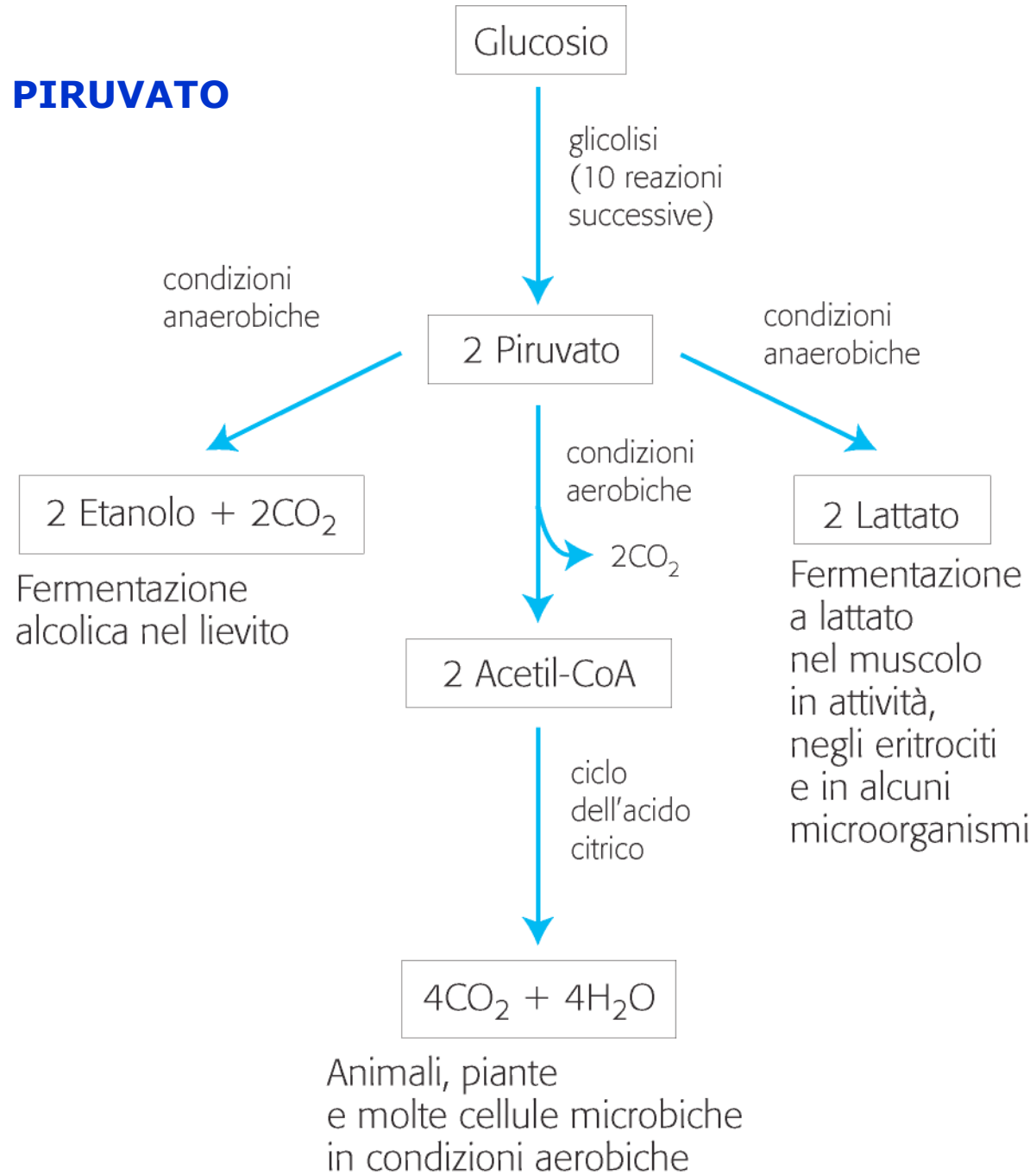
**monosaccaridi**



# Conversione del galattosio in glucosio 1-fosfato



## DESTINO DEL PIRUVATO

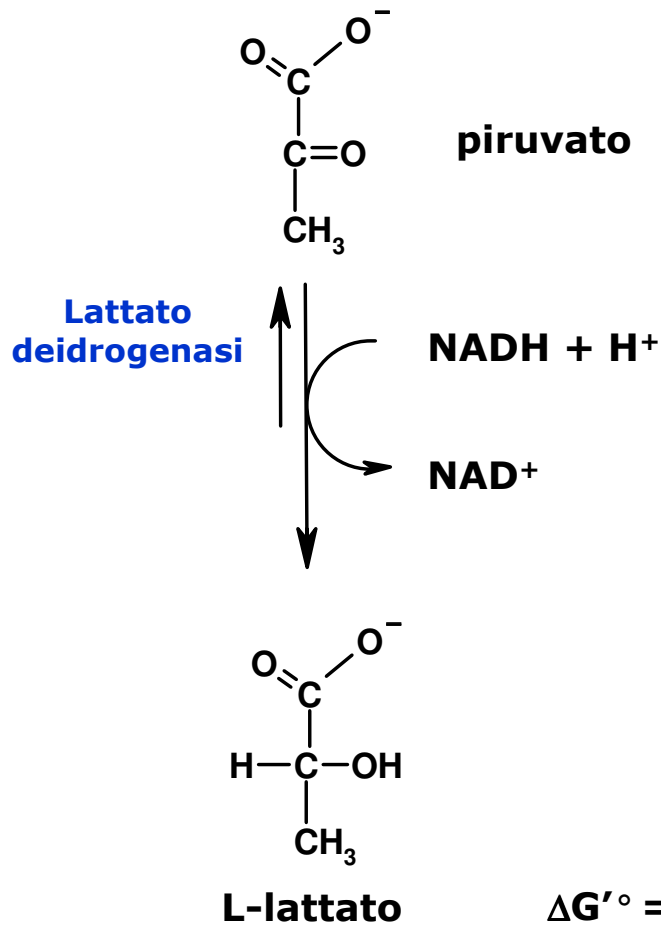




**In condizioni anaerobiche**

**Cellule animali: FERMENTAZIONE LATTICA**

**il piruvato funge da accettore terminale degli elettroni del NADH**



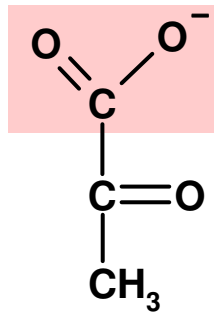
**FERMENTAZIONE**

**Processo in cui viene prodotta energia senza consumo di ossigeno**

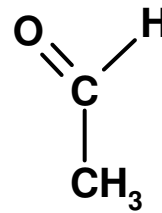
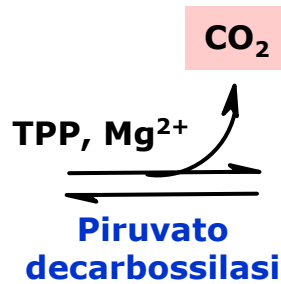
$\Delta G'^{\circ} = - 25,1 \text{ kJ/mol}$

In condizioni anaerobiche

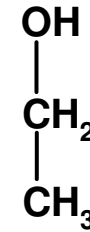
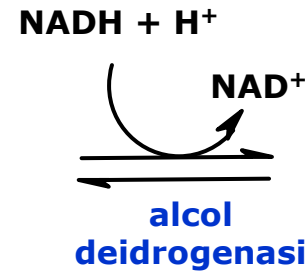
## Lieviti e microorganismi: FERMENTAZIONE ALCOLICA



piruvato



acetaldeide

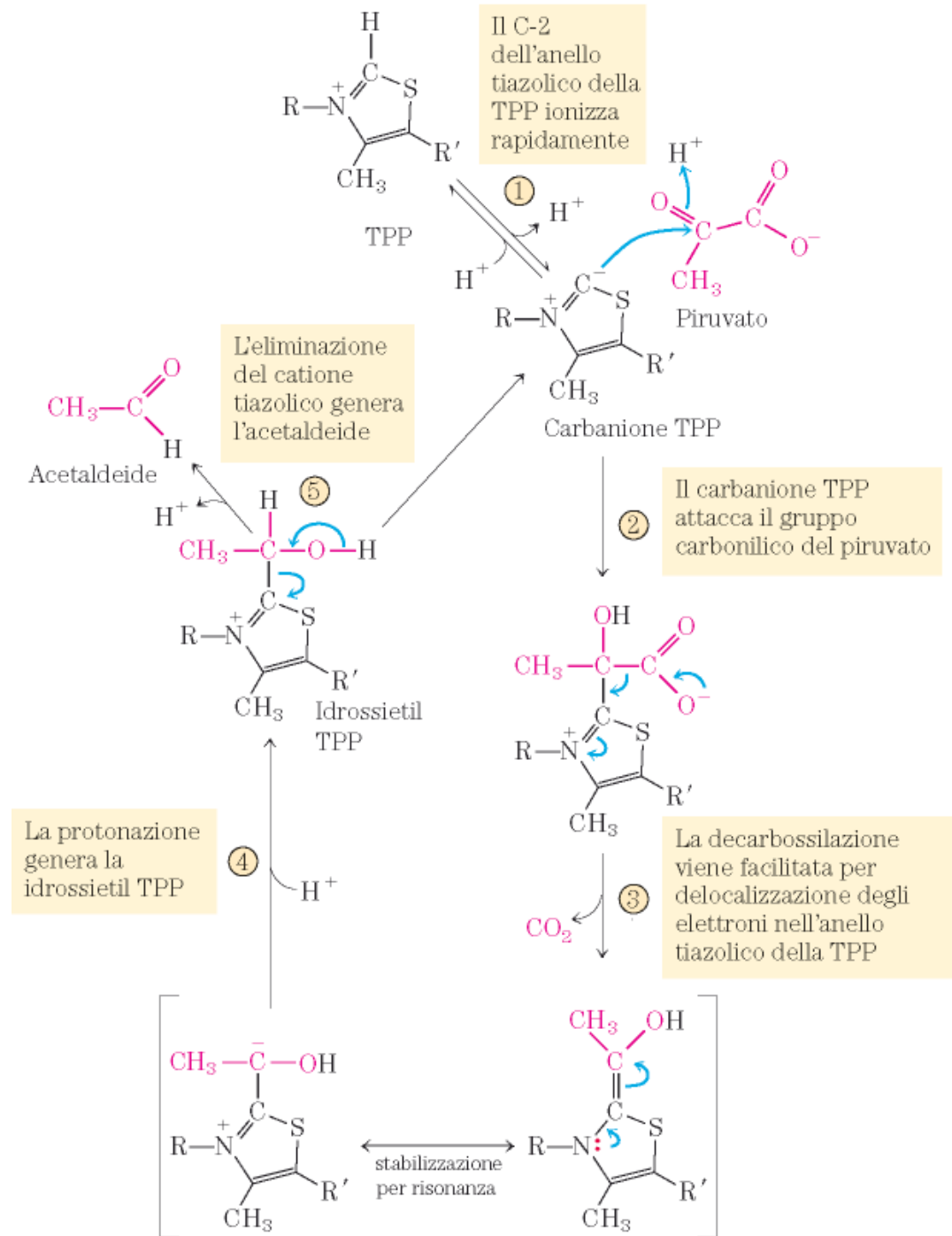


etanolo

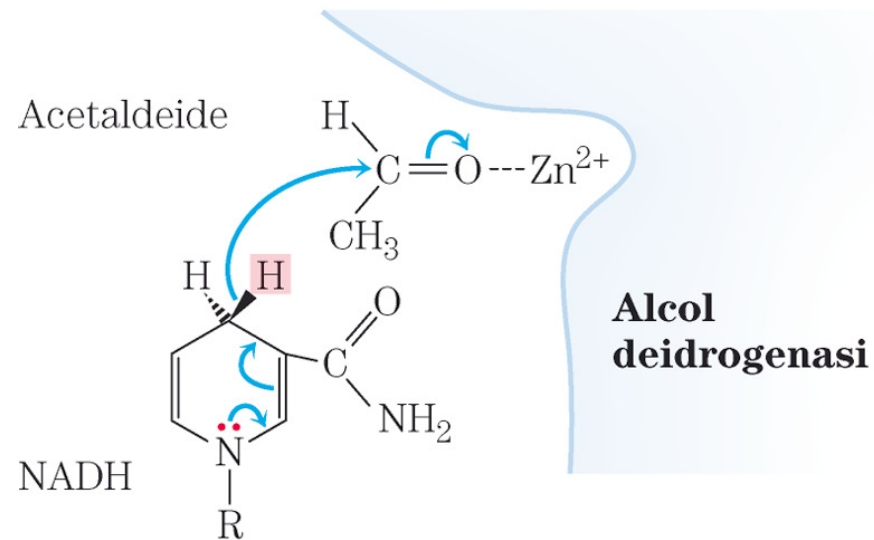
### • Bilancio netto della fermentazione alcolica



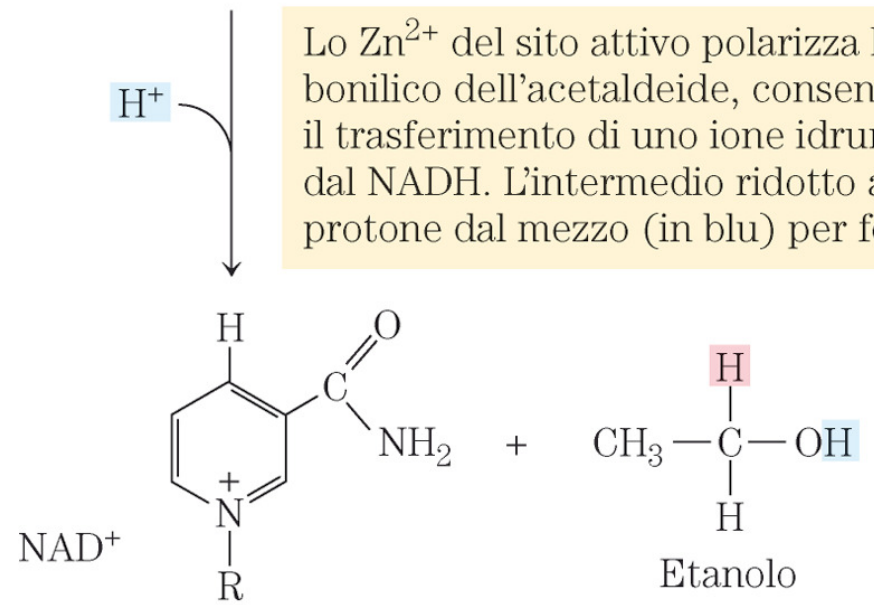
# Decarbossilazione del piruvato



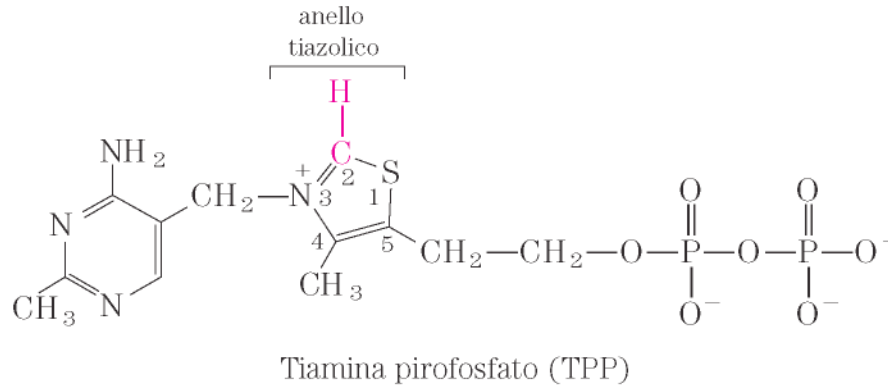
## Riduzione dell'acetaldeide ad etanolo



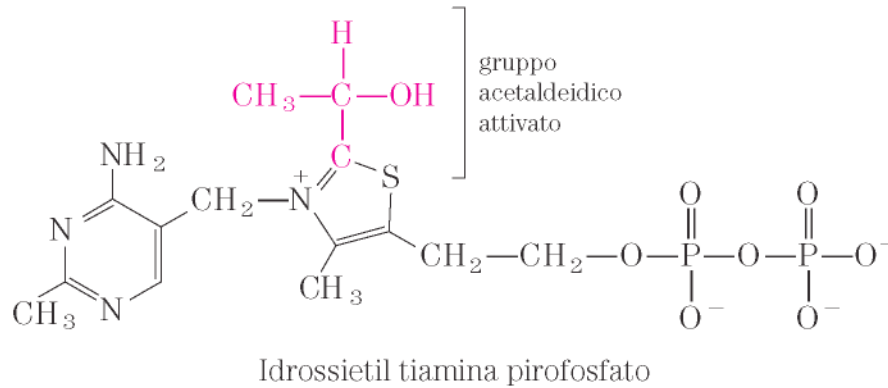
Lo  $Zn^{2+}$  del sito attivo polarizza l'ossigeno carbonilico dell'acetaldeide, consentendo il trasferimento di uno ione idruro (in rosa) dal NADH. L'intermedio ridotto acquista un protone dal mezzo (in blu) per formare etanolo.



## TPP: tiamina pirofosfato



(a)



(b)

**La tiamina pirofosfato è la forma coenzimatica della vitamina B<sub>1</sub> (tiamina).**

## **REGOLAZIONE DELLA GLICOLISI**

- **Mantenere una concentrazione costante di ATP per rispondere al fabbisogno energetico della cellula**
- **Assicurare quantità adeguate di precursori biosintetici derivanti dal catabolismo del glucosio (ad esempio: 3-fosfoglicerato per la sintesi degli aminoacidi)**

### **SITI DI REGOLAZIONE DELLA GLICOLISI**

**I siti di regolazione della glicolisi sono a livello delle reazioni catalizzate da:**

- **fosfofruttochinasi-1 (tappa che comanda alla cellula di far entrare il glucosio nella glicolisi)**
- **esochinasi**
- **piruvato chinasi**