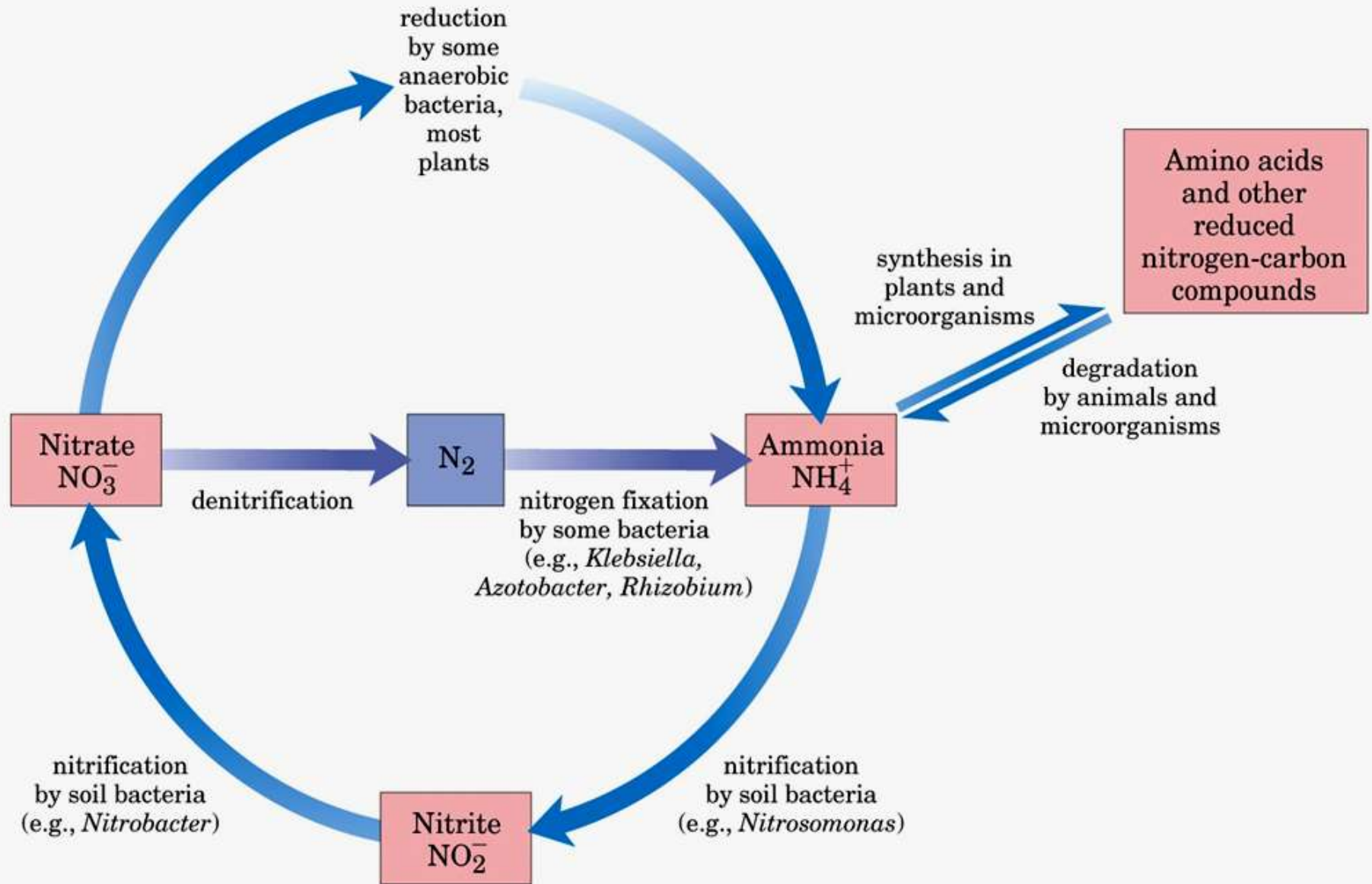


Il metabolismo dell'azoto



La fissazione dell'azoto



Radici di una leguminosa e il simbionte *Rhizobium leguminosarum*.

Microrganismi azotofissatori : ad es. batteri appartenenti ai generi *Clostridium* e *Azotobacter*. Specie del genere *Rhizobium*, attinomiceti del genere *Frankia* e diversi cianobatteri sono organismi azotofissatori **simbionti**.

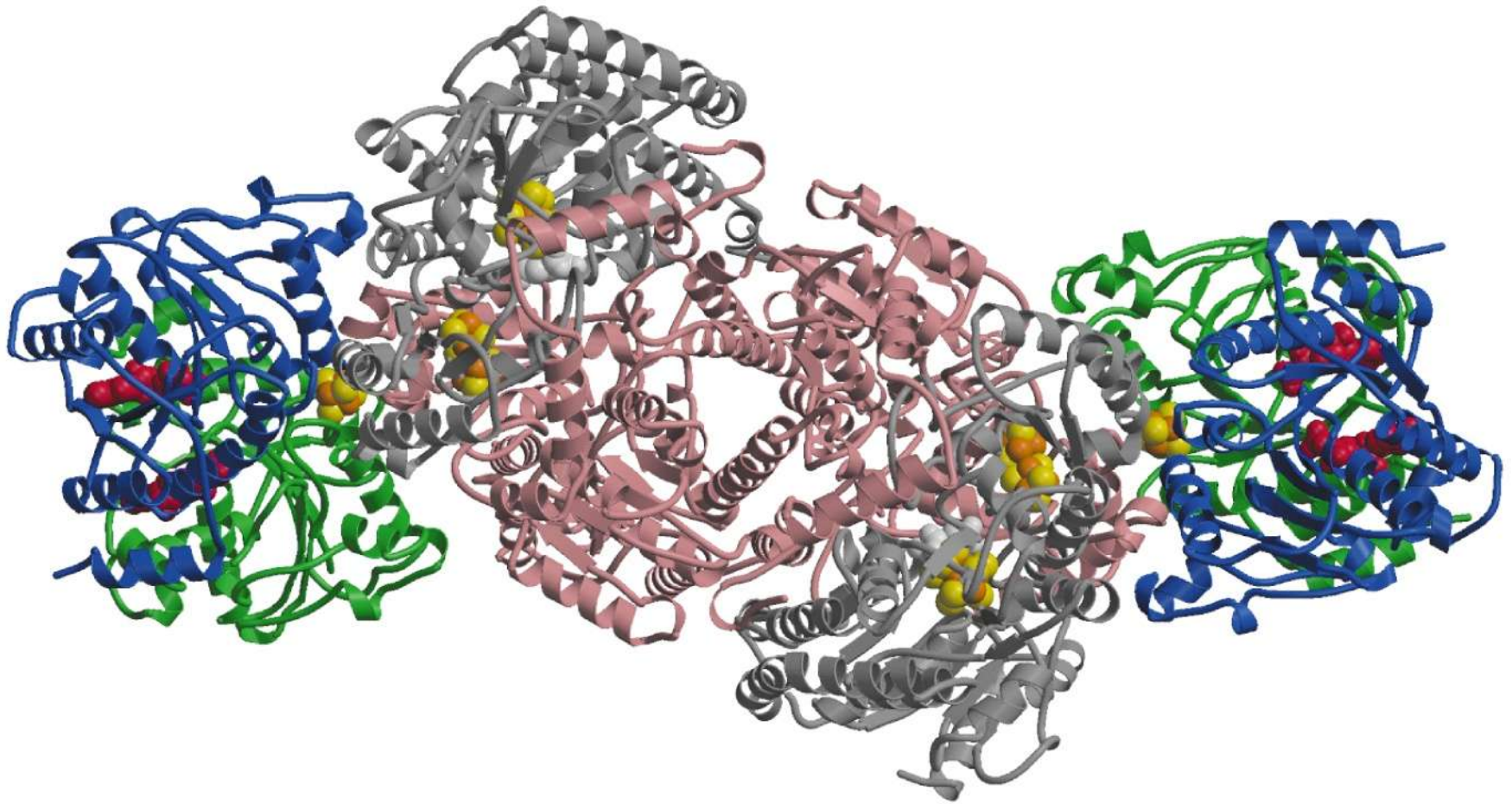
Richiede N, una fonte di elettroni e ATP che vengono utilizzati dal complesso della **nitrogenasi**

La **nitrogenasi** è un complesso enzimatico, appartenente alla classe delle **ossidoreduttasi**, che catalizza il processo di **riduzione dell'azoto atmosferico**, favorendo la sua fissazione da parte di specifici microrganismi (azotofissatori).

L'**azoto** viene trasformato in **ammoniaca** sfruttando l'idrogeno derivante dall'ossidazione dei carboidrati.

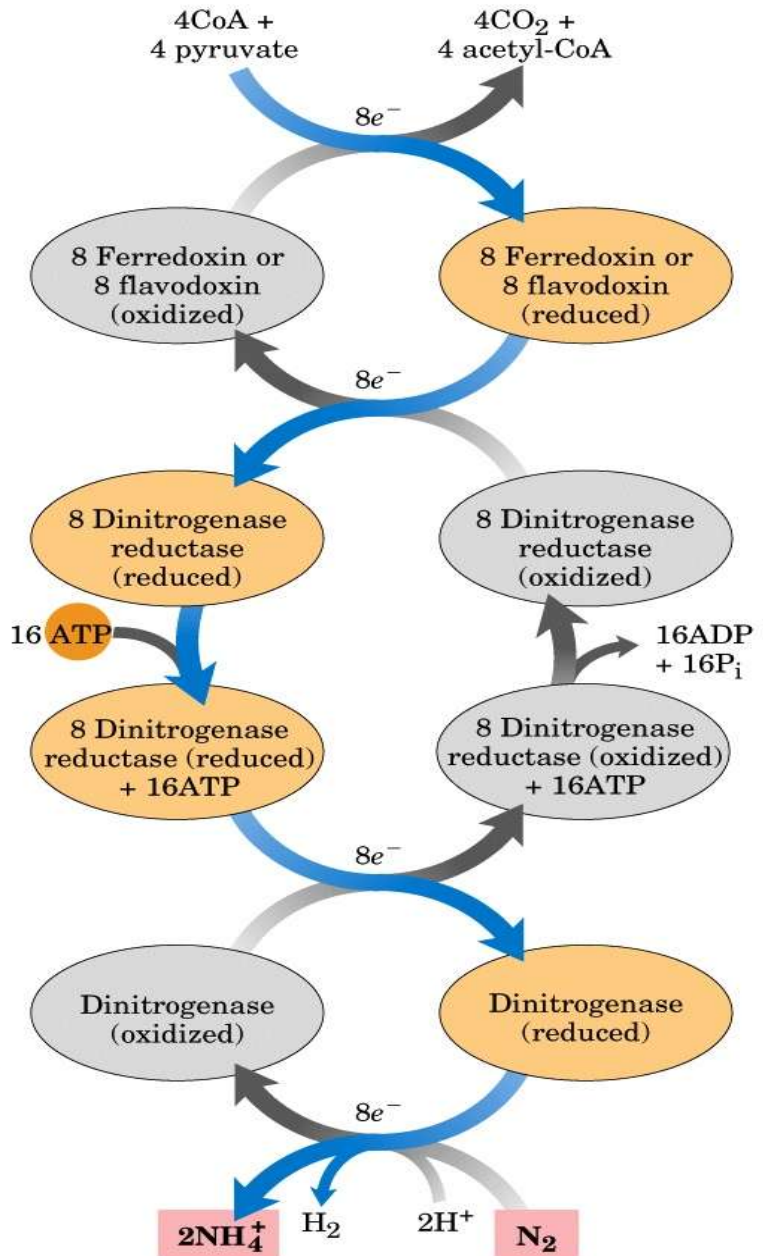
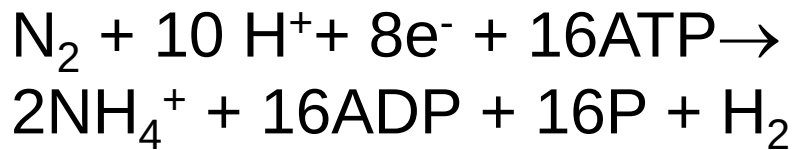
Questa ammoniaca costituisce la materia prima principale per la biosintesi di **acido glutammico** e di **glutamina**.

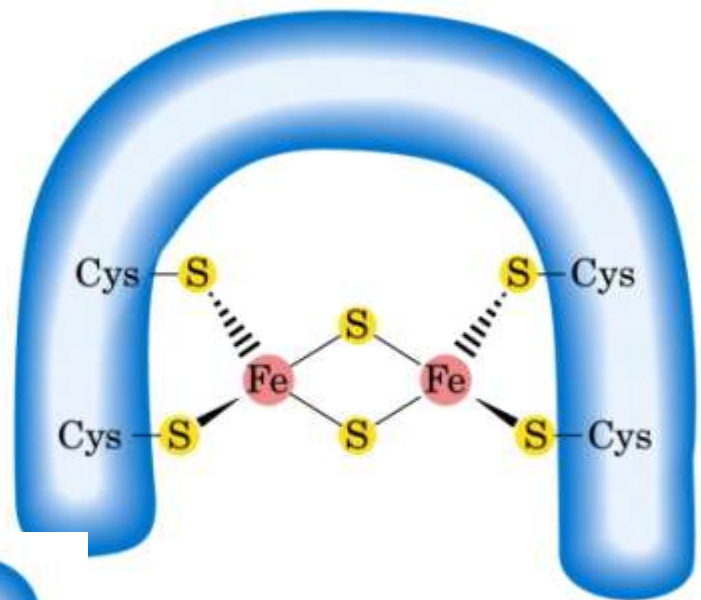
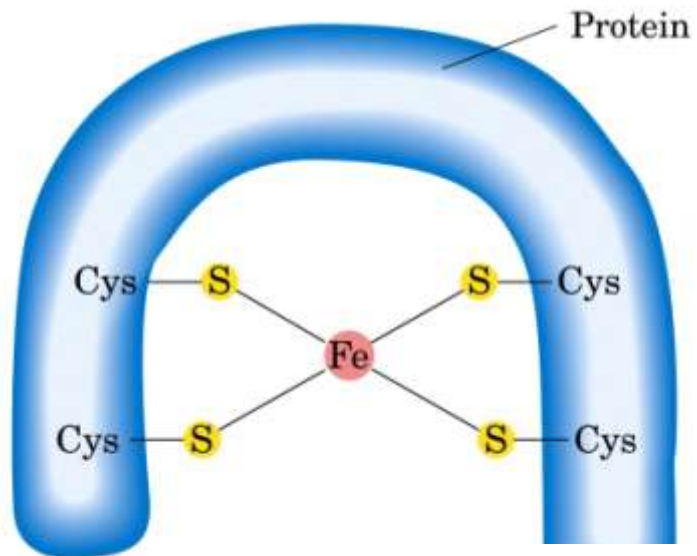
La nitrogenasi è costituita da due proteine: la dinitrogenasi (una Fe-proteina) e la dinitrogenasi reduttasi (una MoFe-proteina).



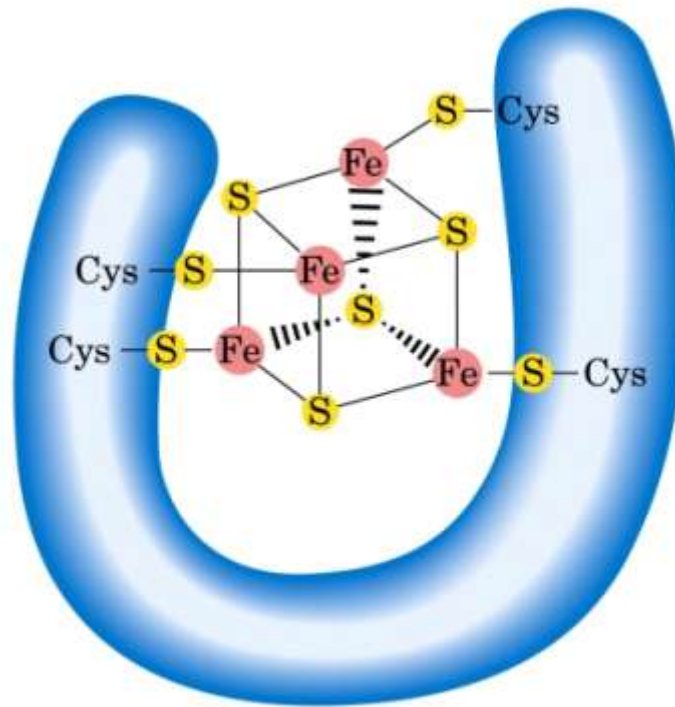
(a)

Complesso della nitrogenasi





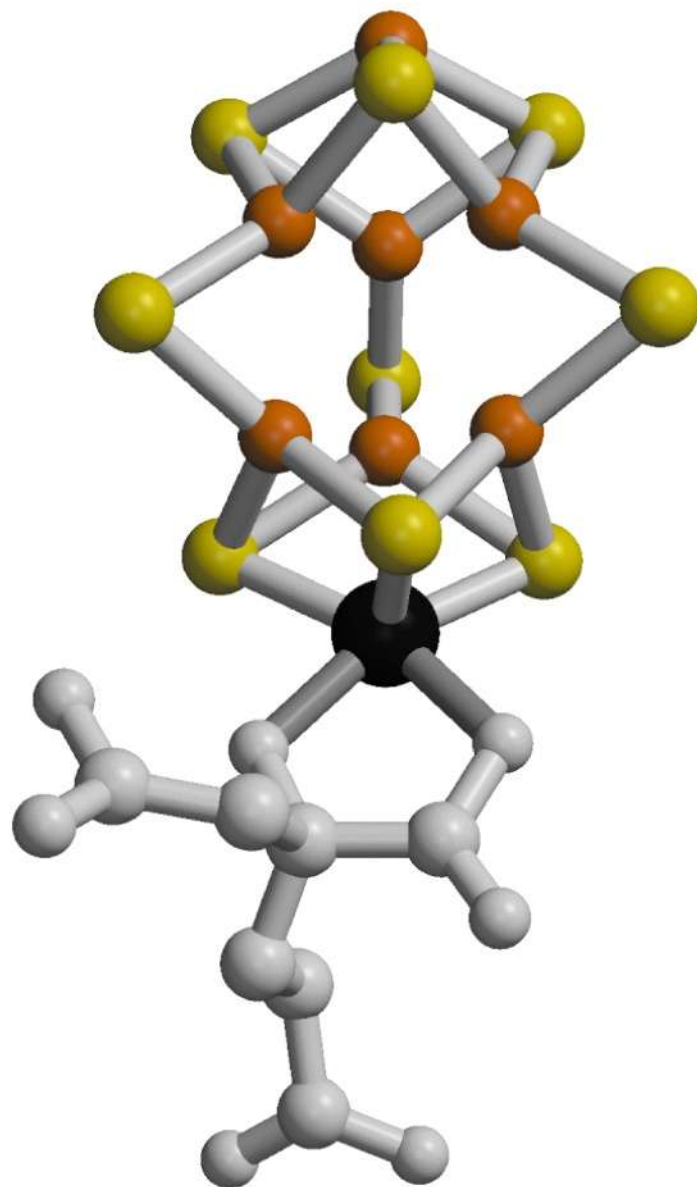
(b)



(c)

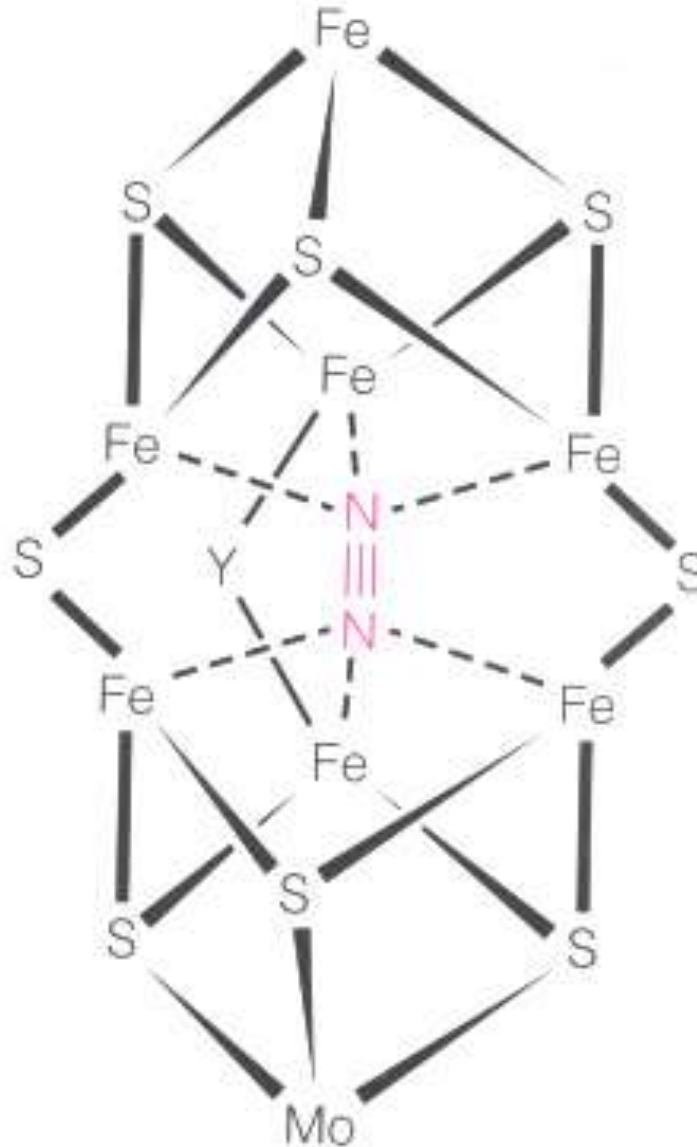
Centri Fe-S

Dinitrogenasi
reduttasi (una
MoFe-proteina).

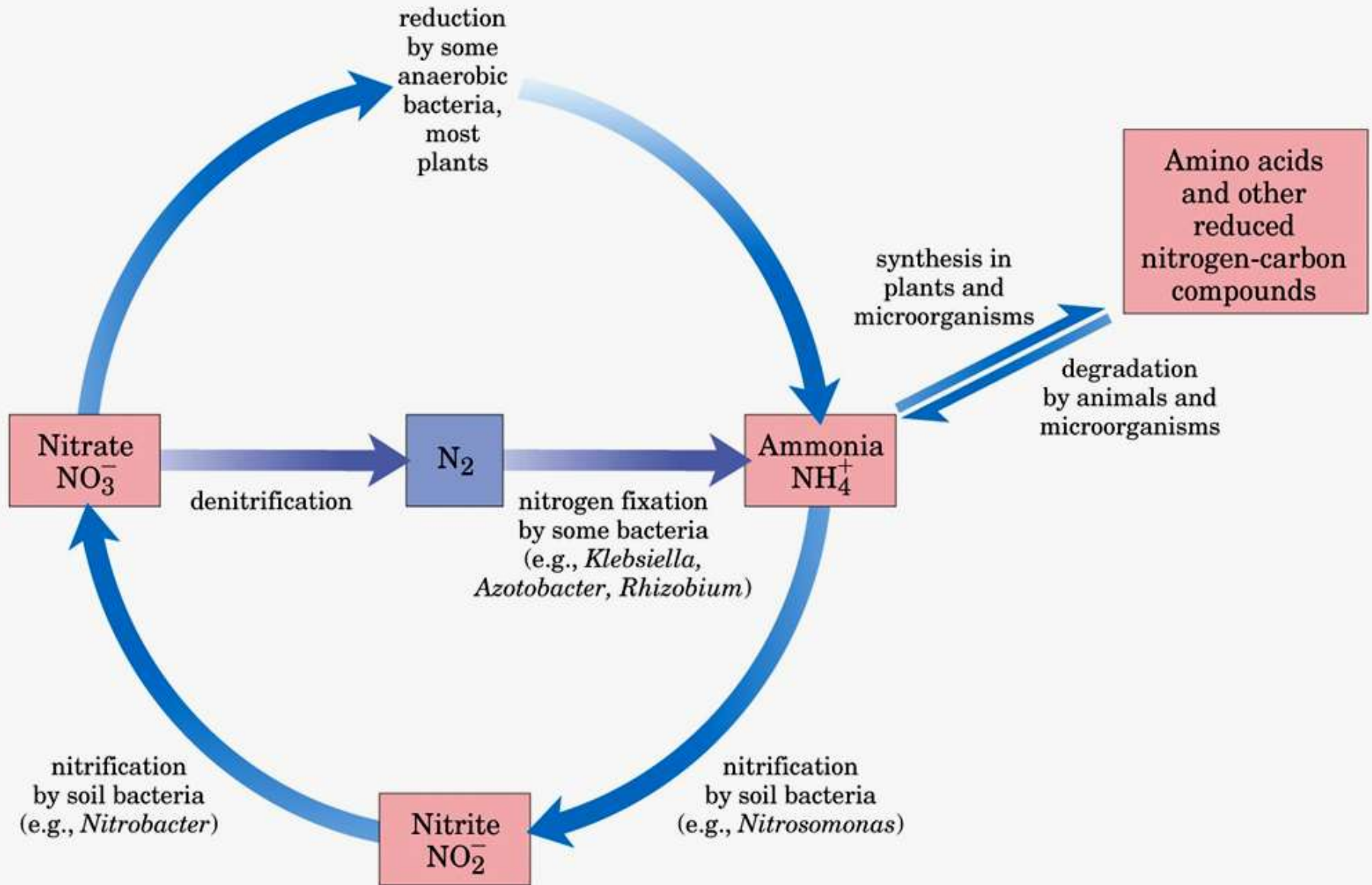


(c)

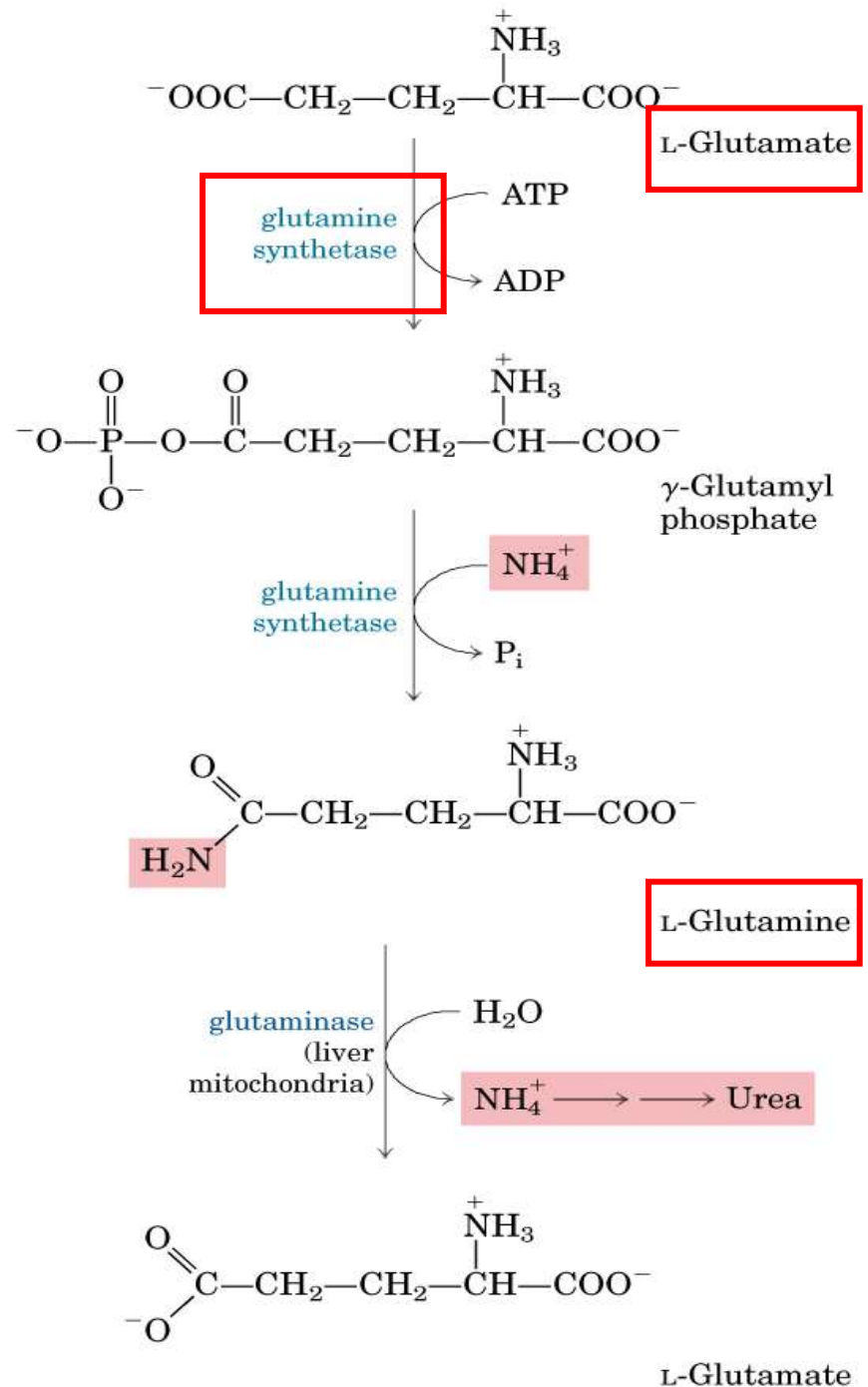
Dinitrogenasi
reduttasi (una
MoFe-proteina).

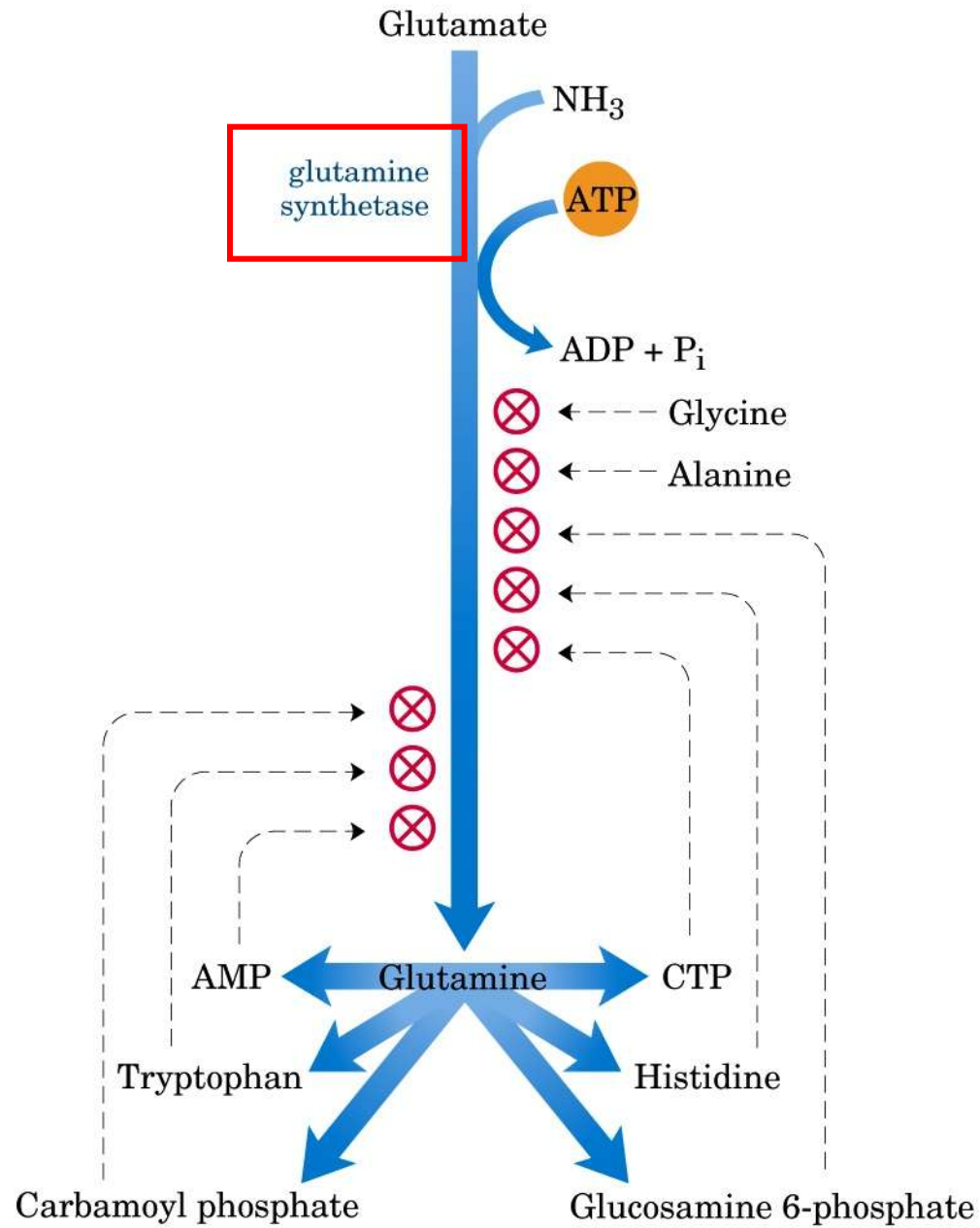


Il metabolismo dell'azoto



L'ammoniaca viene conservata in glutamina, che è anche donatore di gruppi amminici di molti altri prodotti biosintetici





Metabolismo degli aminoacidi

Aminoacidi

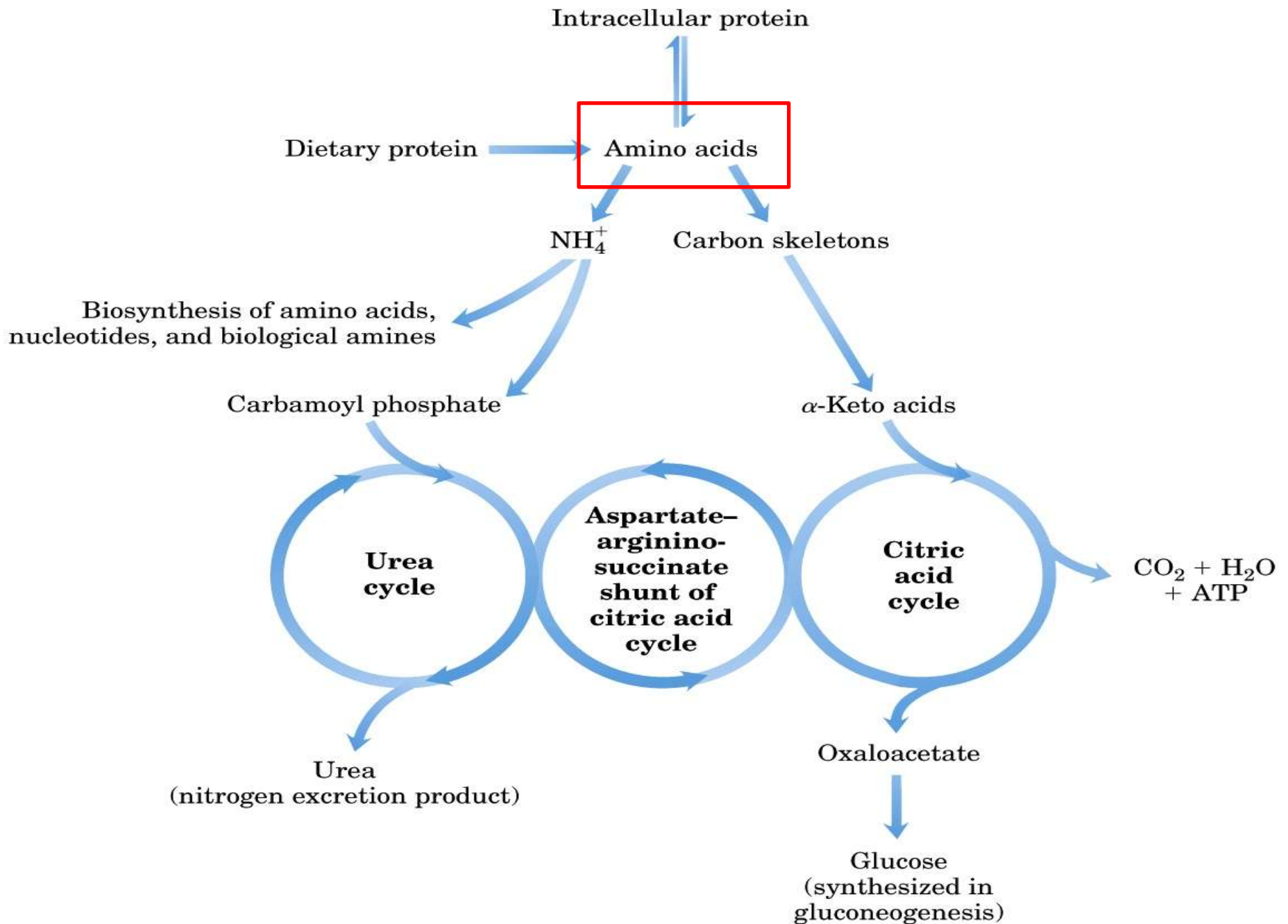
Essenziali

Non essenziali

(nell'uomo)

Arg
His
Ile
Leu
Lys
Met
Phe
Thr
Trp
Val

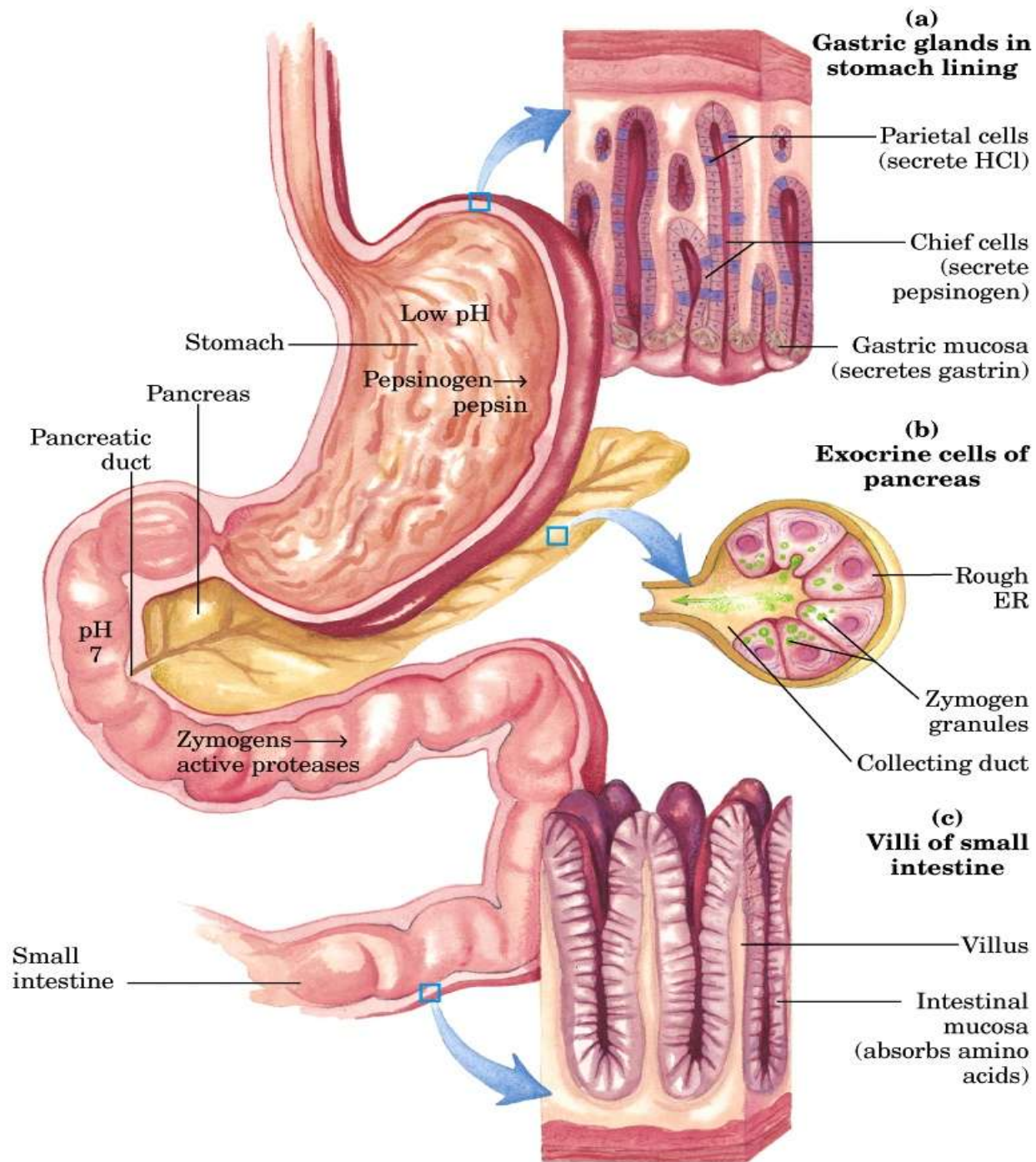
Ala
Asp
Asn
Cys
Glu
Gln
Gly
Pro
Ser
Tyr



Degradazione delle proteine

- Le cellule sintetizzano continuamente proteine partendo da aminoacidi e le degradano ottenendo aminoacidi.
- Risparmio energetico
- Rimozione delle proteine danneggiate
- Regolazione del metabolismo cellulare

Degradazione delle proteine
provenienti dall'alimentazione



Gli zimogeni

Chymotrypsinogen
(inactive)

1 245

↓ trypsin

π -Chymotrypsin
(active)

1 15 16 245
Arg Ile

↓ chymotrypsin
→ Ser¹⁴-Arg¹⁵
+ Thr¹⁴⁷-Asn¹⁴⁸

α -Chymotrypsin
(active)

1 13 16 146 149 245
Leu Ile Tyr Ala
A B C

Trypsinogen
(inactive)

1 6 7
Val-(Asp)₄-Lys-Ile-

↓ enteropeptidase
→ Val-(Asp)₄-Lys

Trypsin
(active)

7 245
Ile

Degradazione **intracellulare** delle proteine

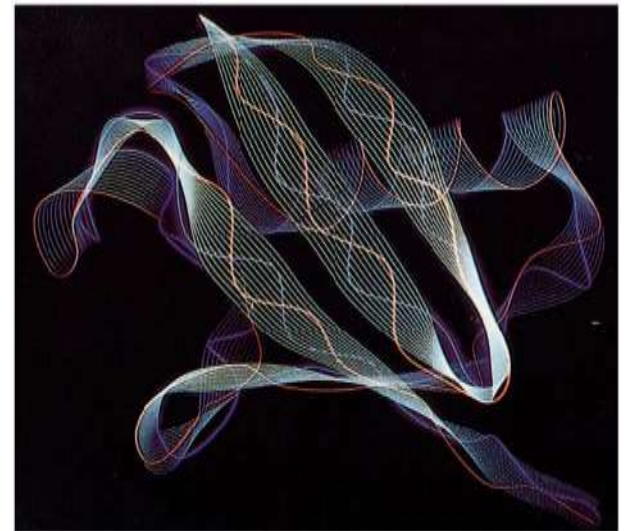
- Degradazione lisosomale – 50 enzimi idrolitici, pH **acido**.
- È attiva sulle proteine assunte per **endocitosi** e, in generale, su tutti i costituenti cellulari racchiusi in vacuoli.
- La degradazione lisosomiale è **non selettiva**, ma in condizioni di **digiuno** prolungato vengono importate solo le proteine citosoliche contenenti il peptide **KFERQ**

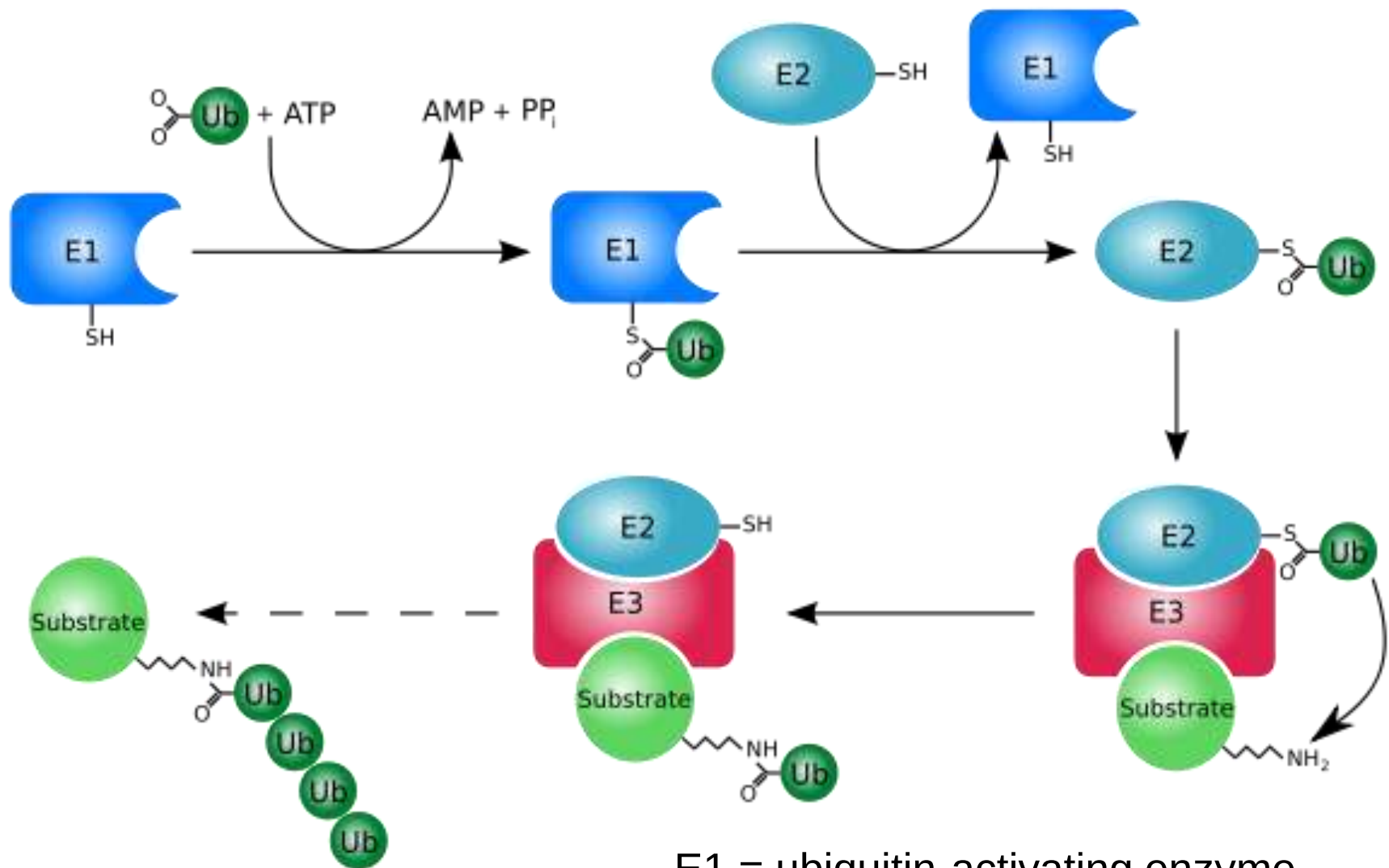
Degradazione intracellulare delle proteine ubiquitina-dipendente

La degradazione può avvenire tramite un processo che richiede **ATP** ed è indipendente dai lisosomi

Le proteine sono marcate per essere degradate tramite un legame covalente con **l'ubiquitina** (76 residui)

Tutti gli eucarioti possiedono ubiquitina



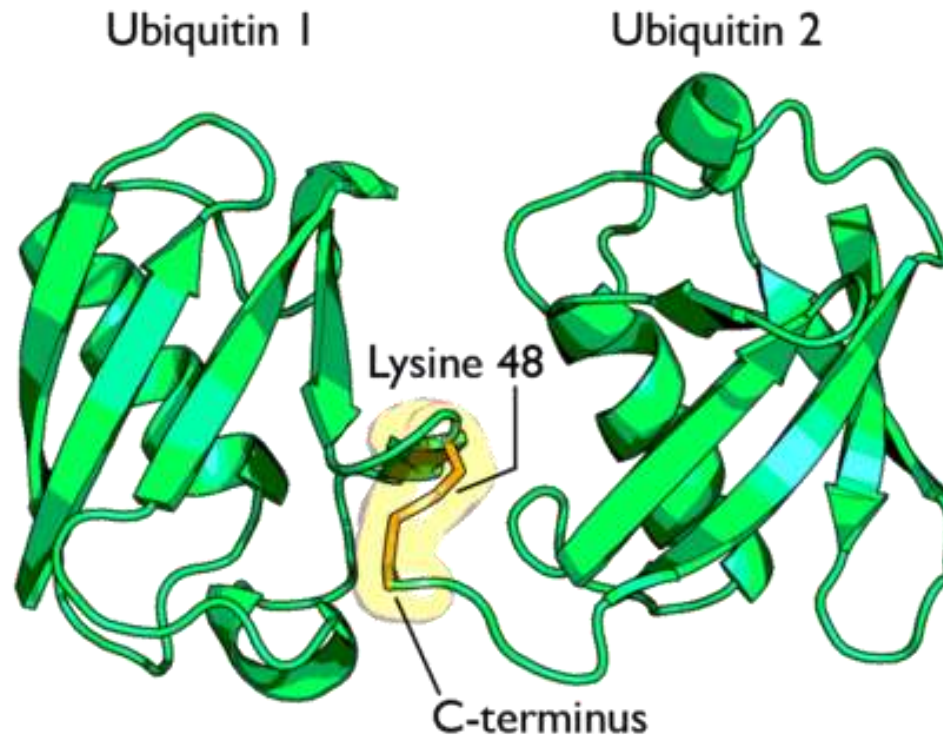


E1 = ubiquitin-activating enzyme

E2 = ubiquitin-conjugating enzyme

E3 = ubiquitin-protein ligase

Più molecole di ubiquitina si legano formando delle lunghe catene (fino a 50 molecole), con legami tra la catena laterale del residuo Lys 48 e il C-terminale dell'ubiquitina successiva



- Le proteine sono caratterizzate da una **diversa emivita**
- Quelle che svolgono importanti funzioni regolative del metabolismo sono degradate più velocemente rispetto a quelle caratterizzate da un'attività catalitica costante in tutte le condizioni fisiologiche

Emivita delle proteine citoplasmatiche

1. Regola dell' N-terminale :

Se è Asp, Arg, Leu, Lys, Phe → 2-3 min

Se è Ala, Gly, Met, Ser, Val → >10-20 ore

2. Altri segnali :

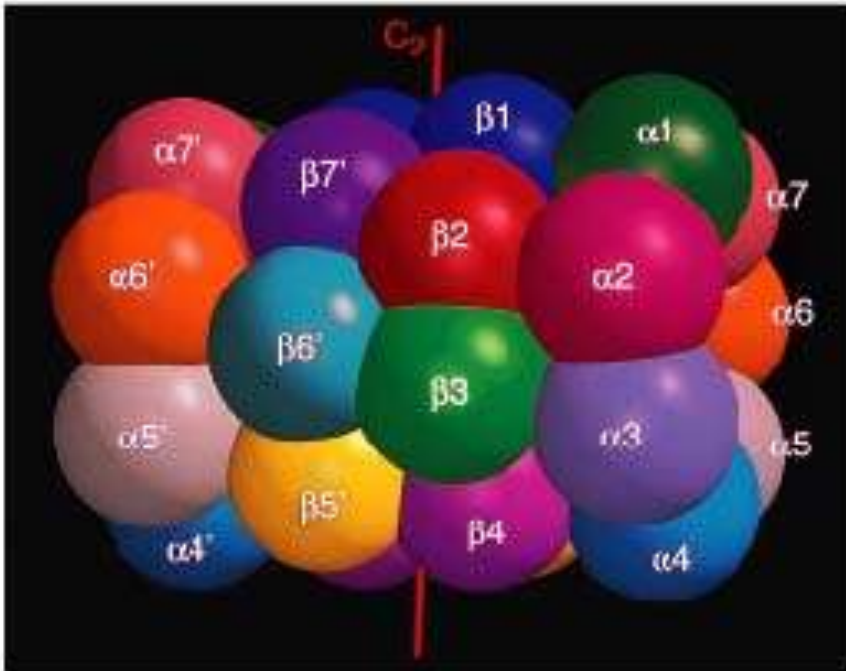
Sequenza PEST (Pro-Glu-Ser-Thr) → degradazione rapida

Il proteasoma

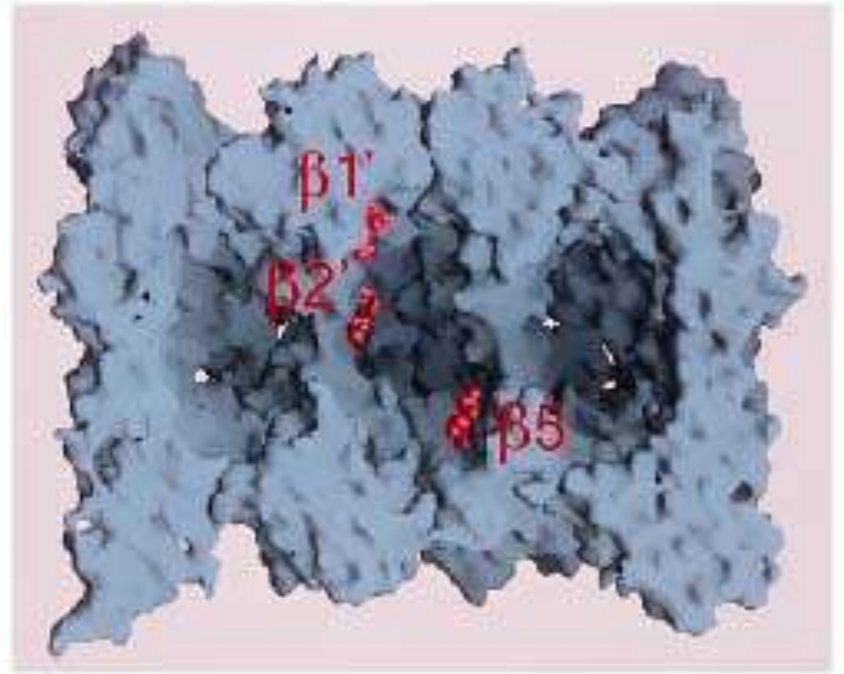
Le proteine **ubiquitinate** vengono degradate tramite un processo ATP-dipendente da un complesso proteico ad alto peso molecolare noto come proteasoma 26S (2000 kDa, 26S).

I prodotti sono peptidi di circa 8 aminoacidi

Il proteasoma di lievito



(a)



(b)

Il proteasoma ha una struttura di base di forma cilindrica, cava, denominata proteasoma 20S. Questo è costituito da sette tipi di **subunità α** e da sette tipi di **subunità β** , dotate di attività **proteolitica**.

Degradazione degli aminoacidi

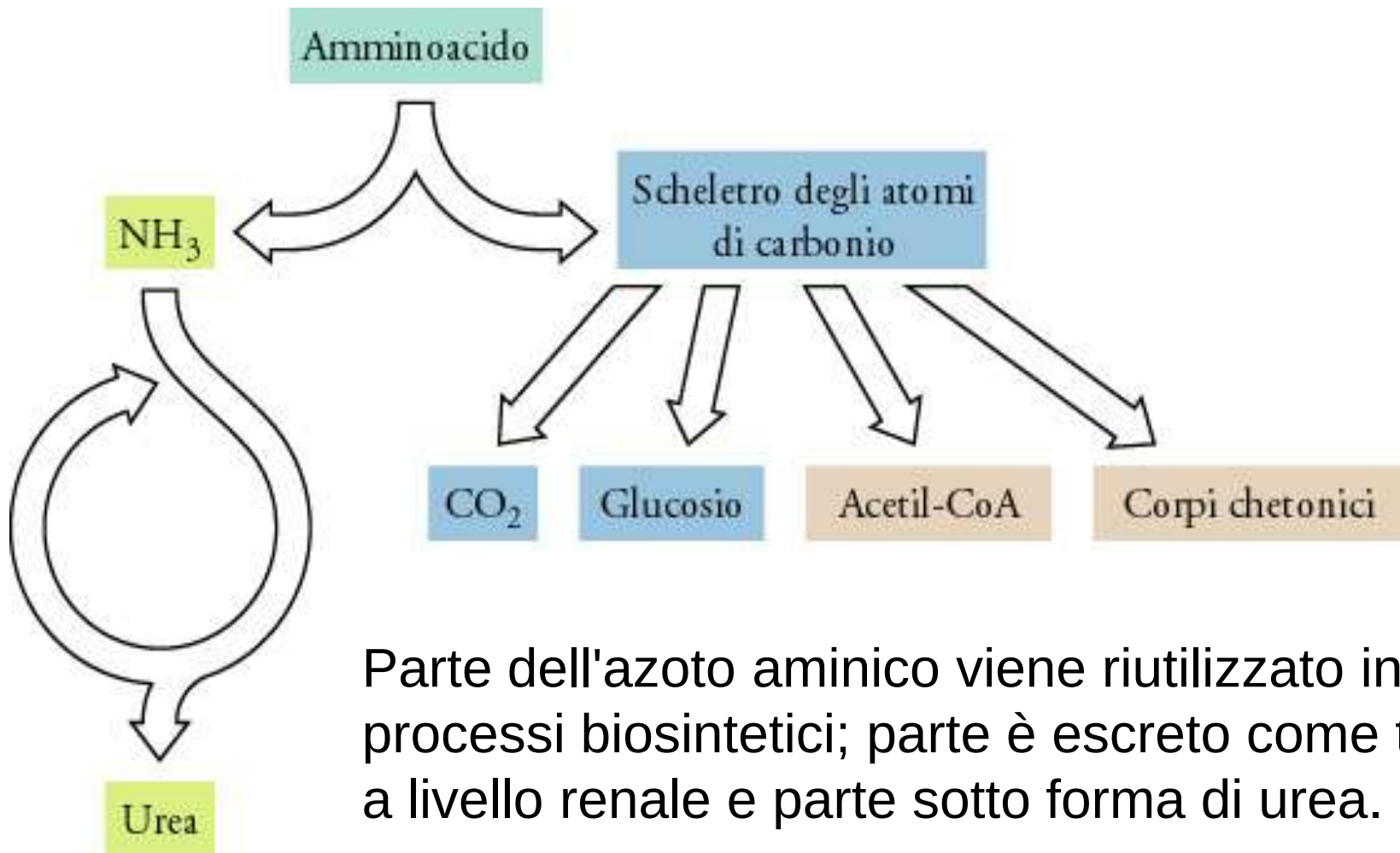
Gli aminoacidi vanno incontro a degradazione :

- 1) per normale turnover delle proteine
- 2) quando il loro apporto con la dieta sia particolarmente abbondante
- 3) quando non siano disponibili carboidrati.

Vengono degradati a composti che possono essere metabolizzati a CO_2 e H_2O oppure utilizzati nella gluconeogenesi.

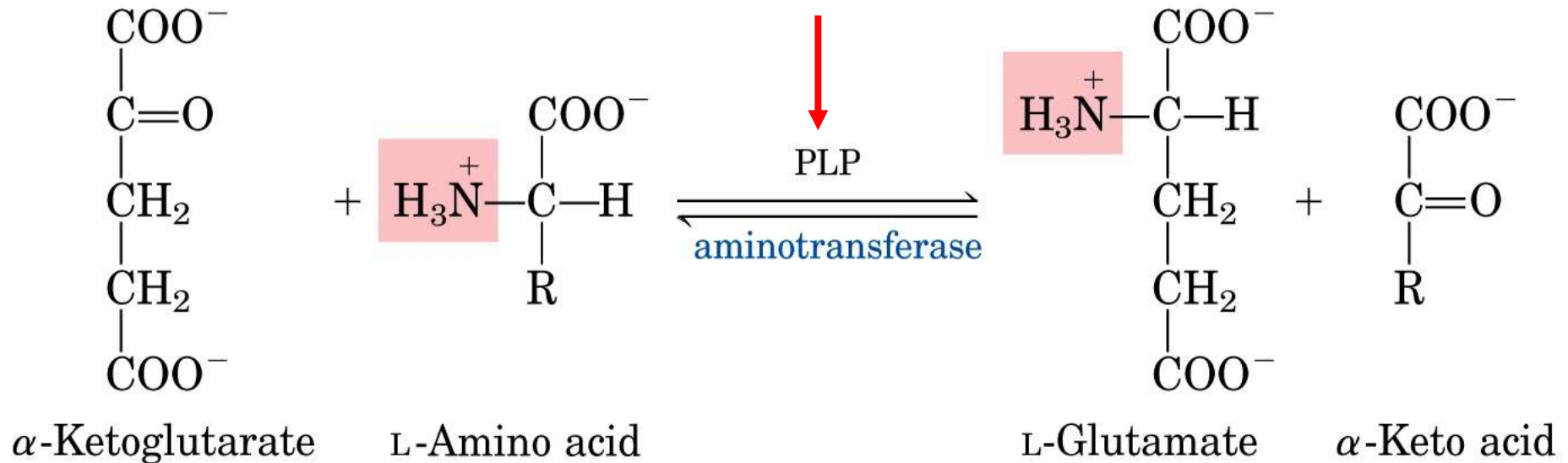
Gli aminoacidi introdotti in eccesso con la dieta vengono convertiti in composti precursori del glucosio (a.a. glucogenici) oppure degli acidi grassi e dei corpi chetonici (a.a. chetogenici).

La via degradativa di **tutti** gli aminoacidi richiede l'allontanamento del gruppo aminico. Lo scheletro carbonioso viene utilizzato nel ciclo di Krebs o nella gluconeogenesi



Parte dell'azoto aminico viene riutilizzato in processi biosintetici; parte è escreto come tale a livello renale e parte sotto forma di urea.

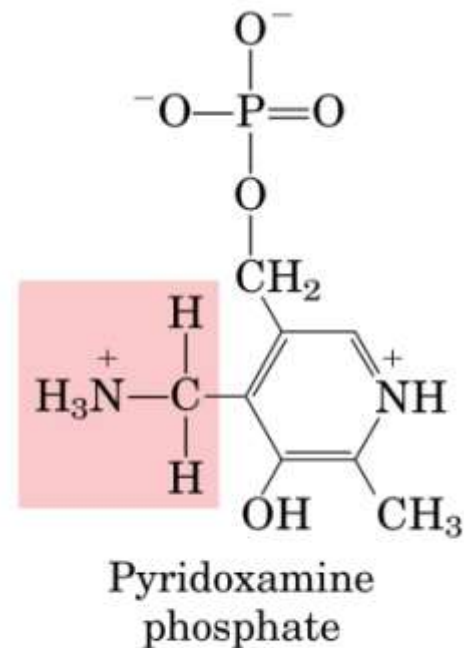
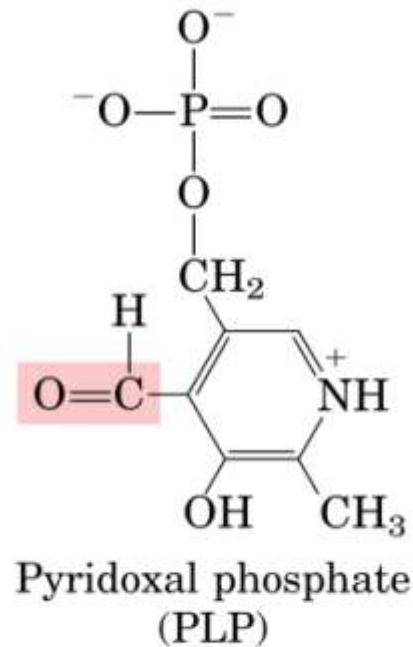
Reazioni di transaminazione



Conservano il gruppo aminico, ma lo mobilitano (spesso in Glu)

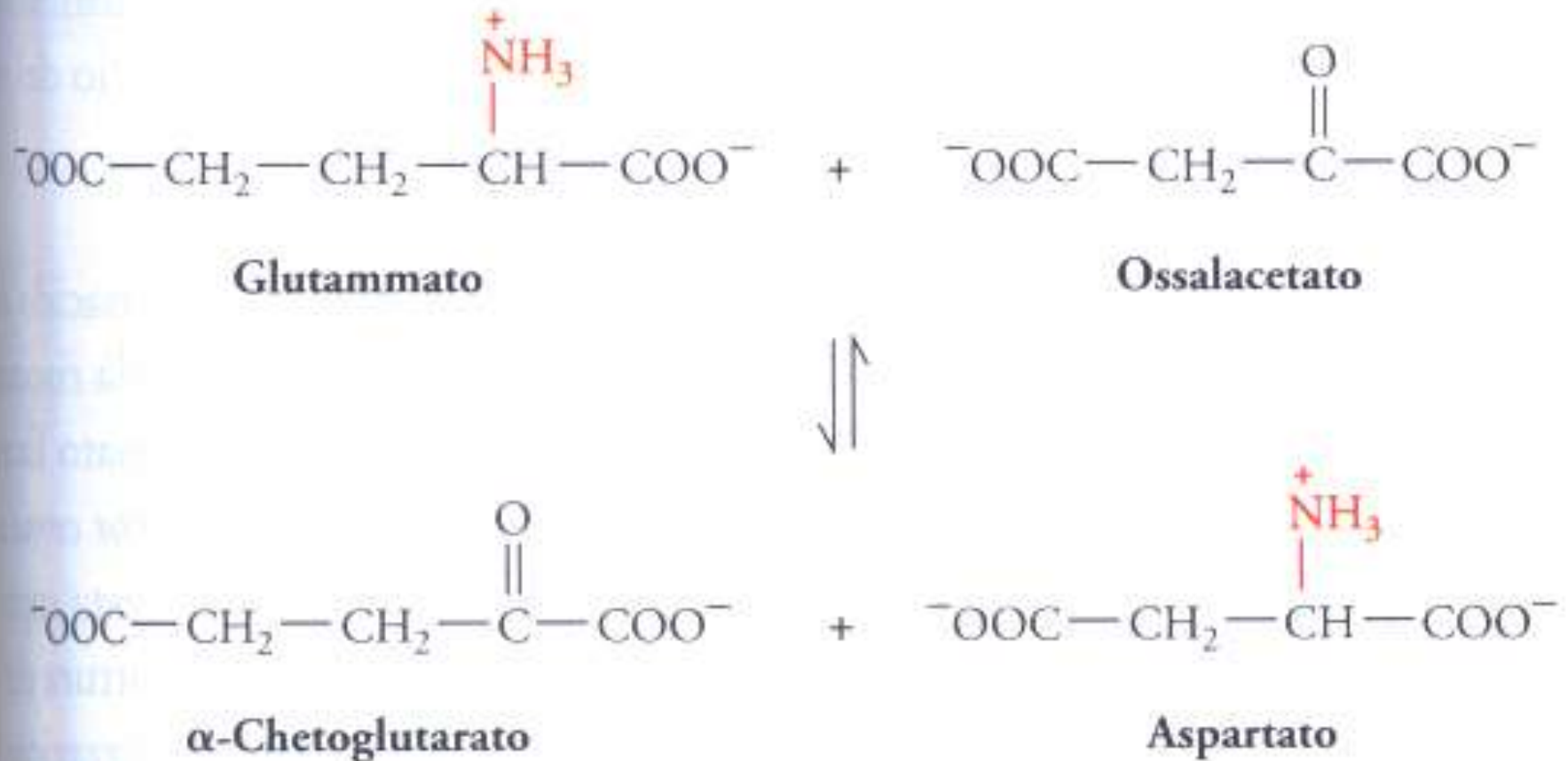
Il piridossal fosfato

E' la forma attiva della Vitamina B6 ed è un cofattore di enzimi transferasi come le transaminasi.



(a)

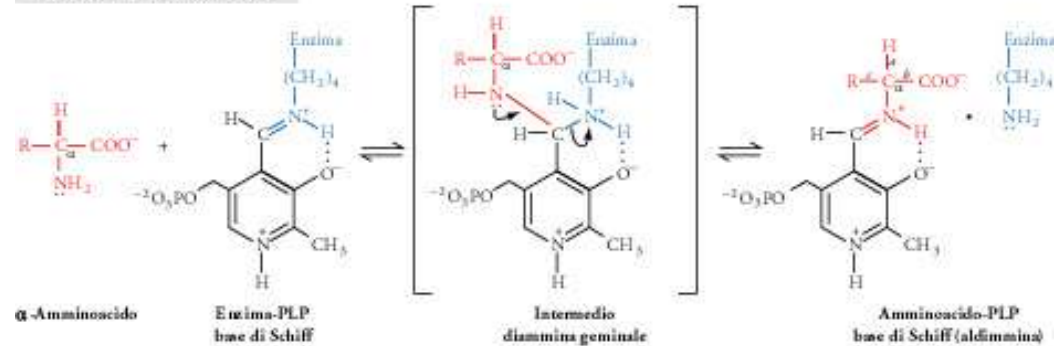
Es. reazioni di transaminazione



Meccanismo della transaminazione

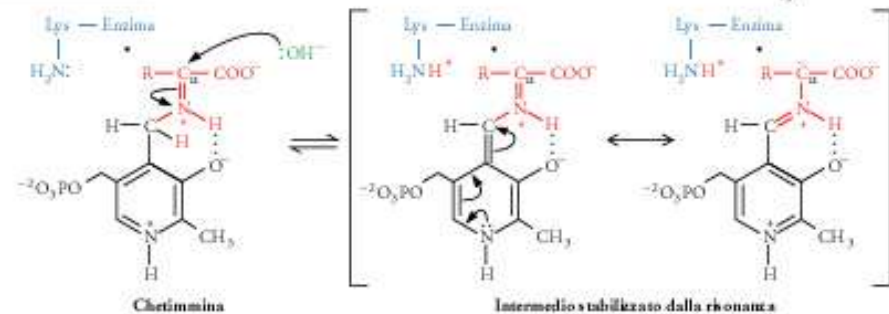
- Transimminazione

Tappe 1 e 1': Transimminazione



- Tautomerizzazione

Tappe 2 e 2': Tautomerizzazione

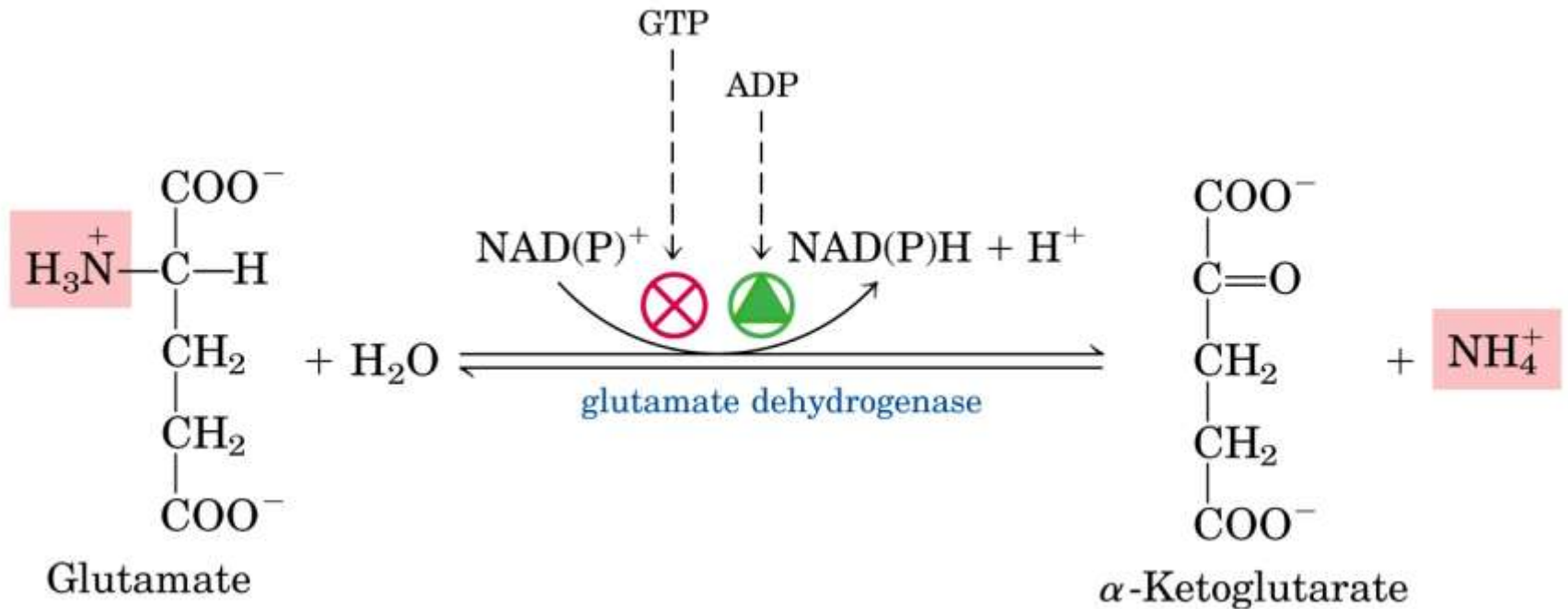


- Idrolisi

Tappe 3 e 3': Idrolisi

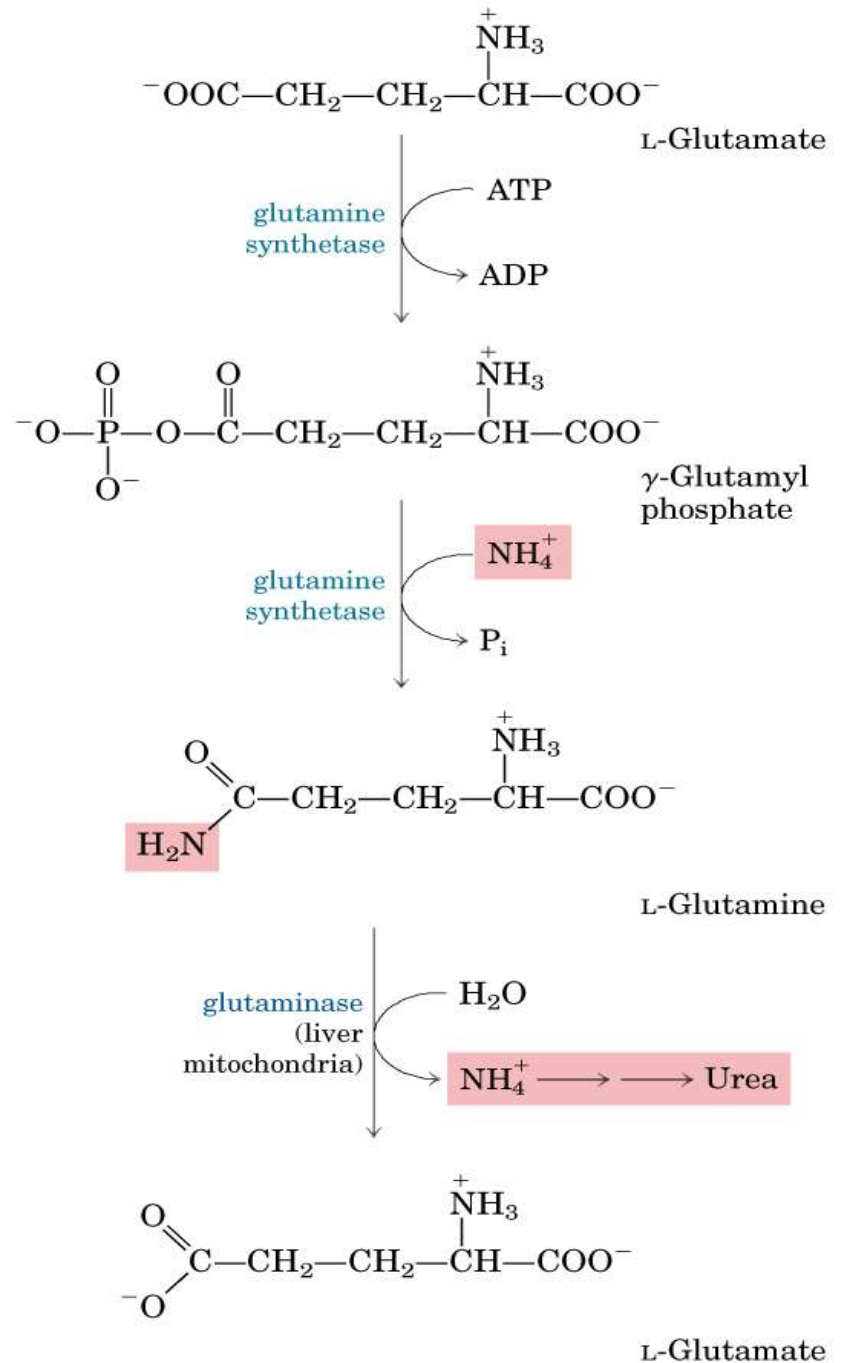


Deamminazione ossidativa

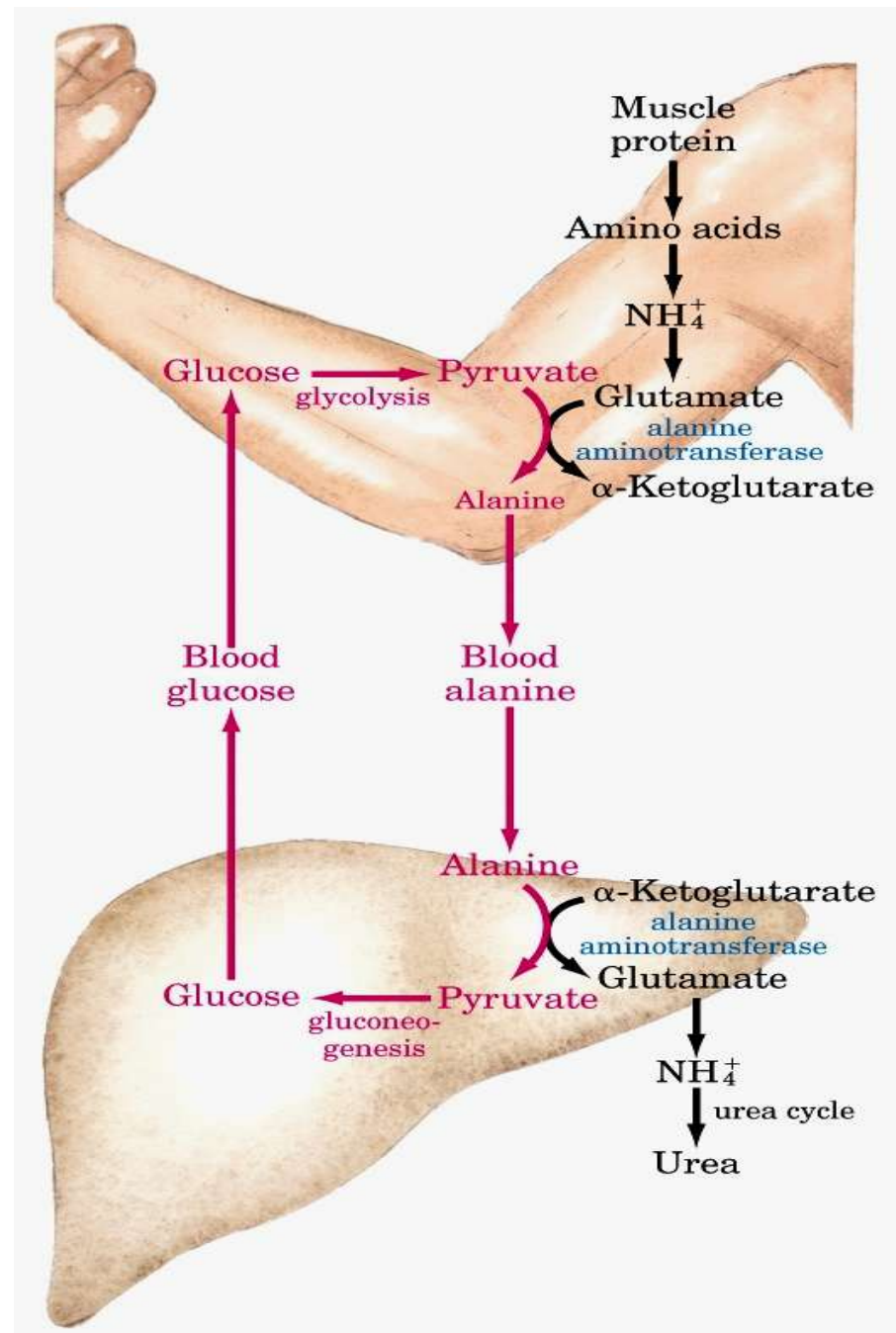


Queste reazioni **rimuovono** il gruppo amminico (tossico)

La **glutamina**
trasporta ammoniaca
attraverso il flusso
sanguigno



L'**alanina** trasporta
l'ammoniaca dal
muscolo al fegato

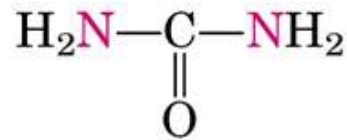


Escrezione dell'azoto



Ammonia (as
ammonium ion)

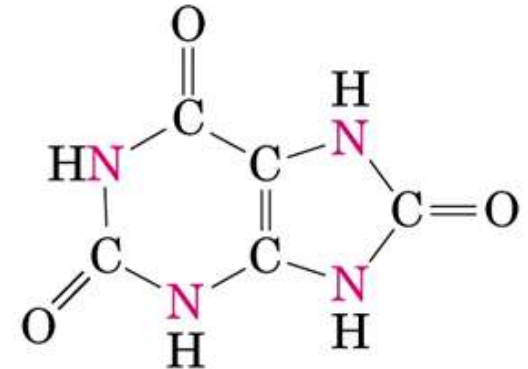
Ammonotelic animals:
most aquatic vertebrates,
such as bony fishes and
the larvae of amphibia



Urea

Ureotelic animals:
many terrestrial
vertebrates; also sharks

(b)



Uric acid

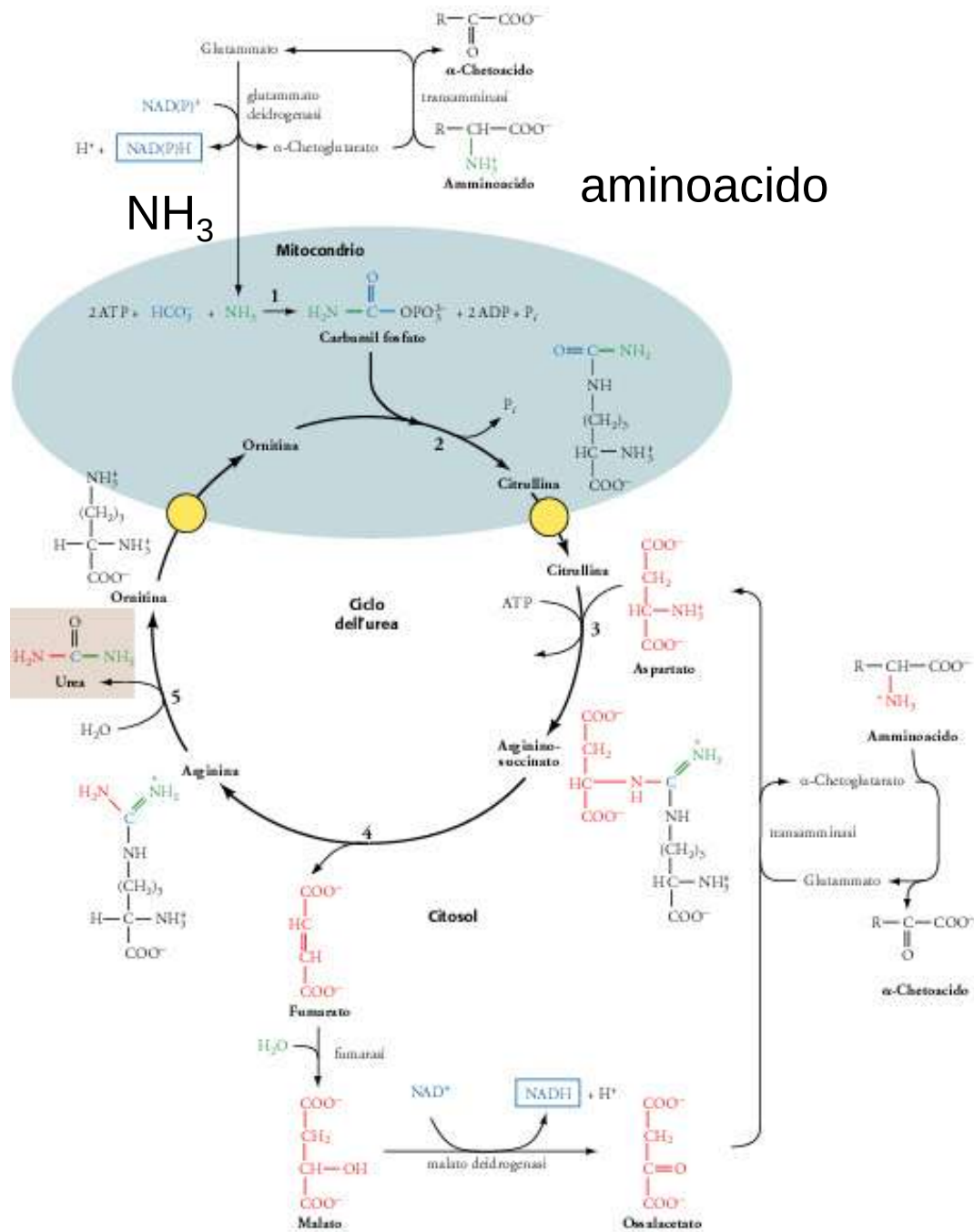
Uricotelic animals:
birds, reptiles

Il ciclo dell'urea

- L'urea viene sintetizzata nel fegato, secreta nel circolo sanguigno, sequestrata dai reni e poi escreta.
- Questo è stato il primo ciclo metabolico ad essere compreso (1932).
- E' composto da 5 reazioni (2 mitocondriali e 3 citoplasmatiche)
- $\text{NH}_3 + \text{HCO}_3^- + \text{aspartato} + 3 \text{ATP} \rightarrow$
Urea + fumarato + 2 ADP + 1 AMP + 2Pi + PPI

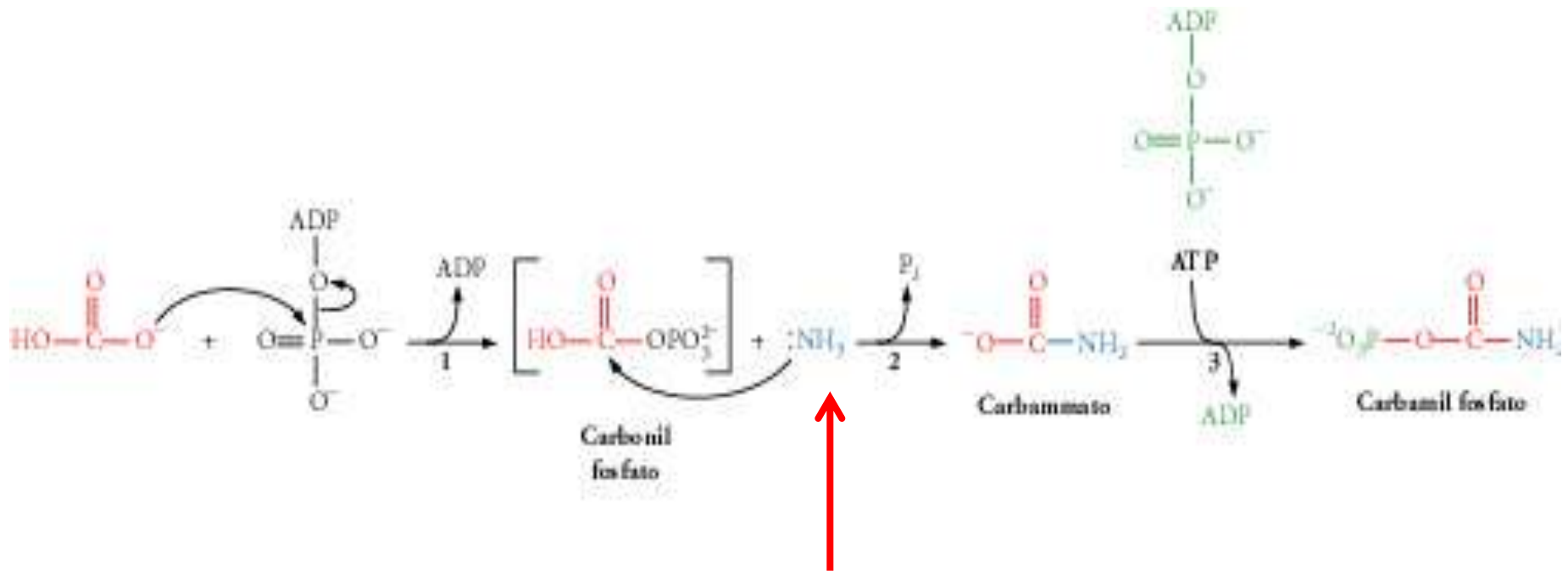
I due atomi di **azoto** provengono dall'ammoniaca e dall'aspartato, il **carbonio** dal bicarbonato

urea



aminoacido

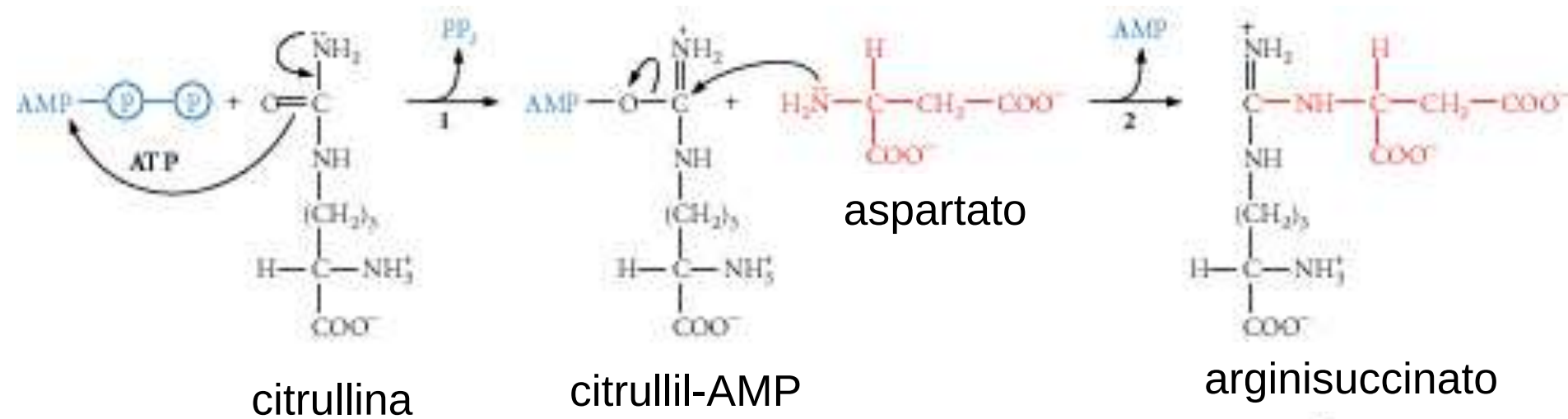
1. Carbamil fosfato sintetasi



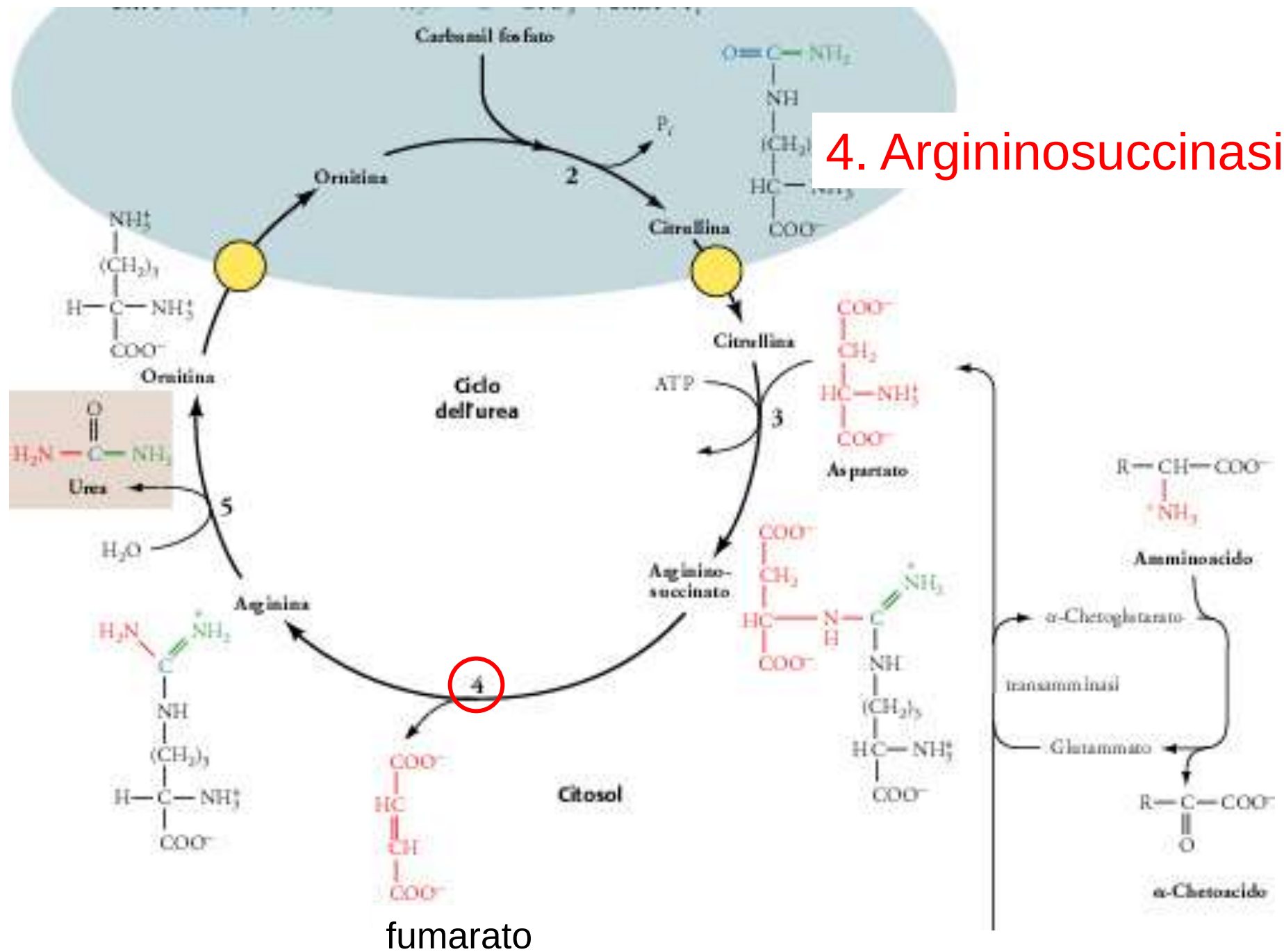
- Questo enzima è il principale sito di regolazione del ciclo (è stimolato da N-acetilglutammato)



3. Arginino-succinato sintetasi

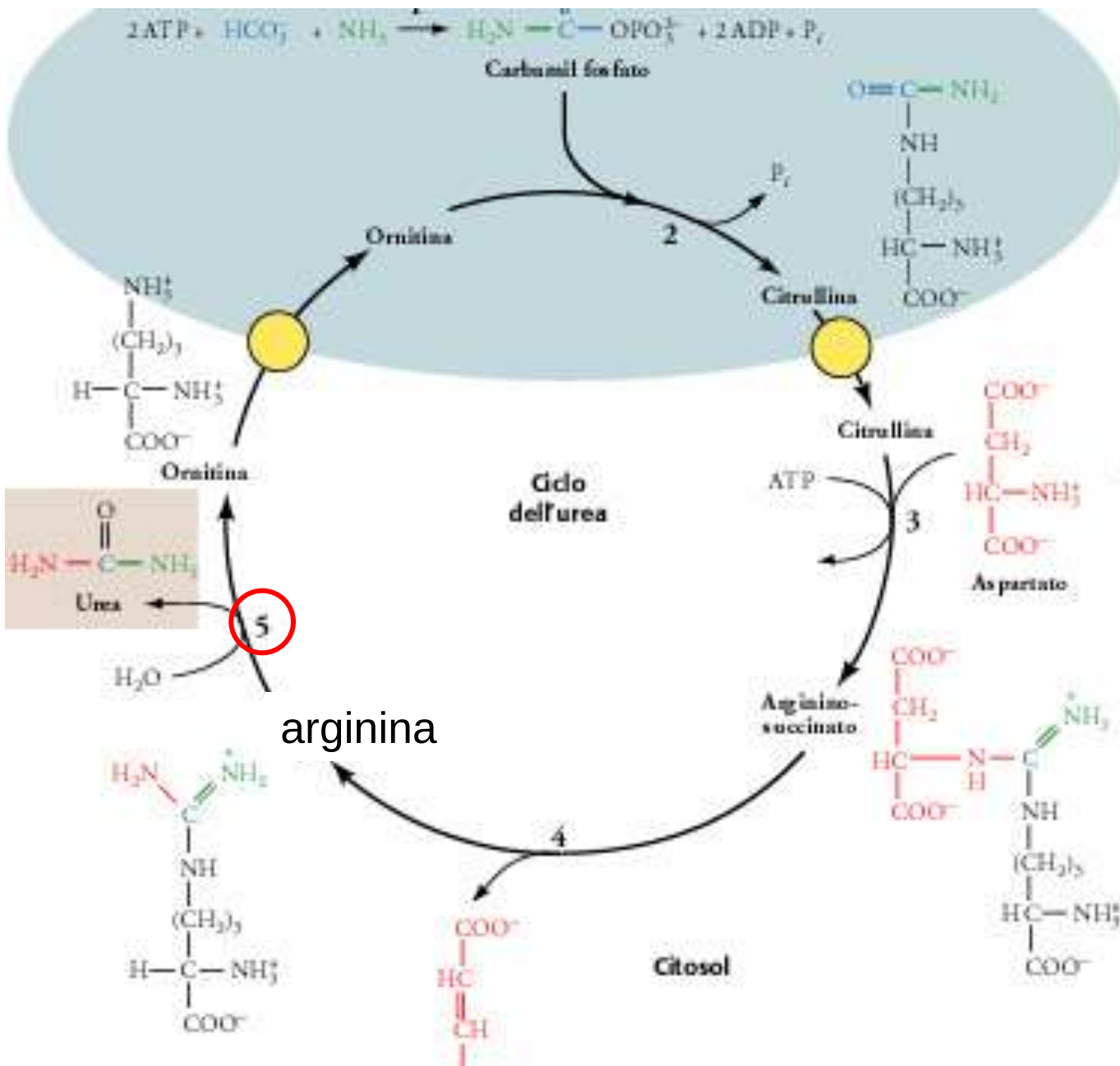


4. Argininosuccinasi



5. Arginasi

L'arginina è il precursore diretto dell'urea

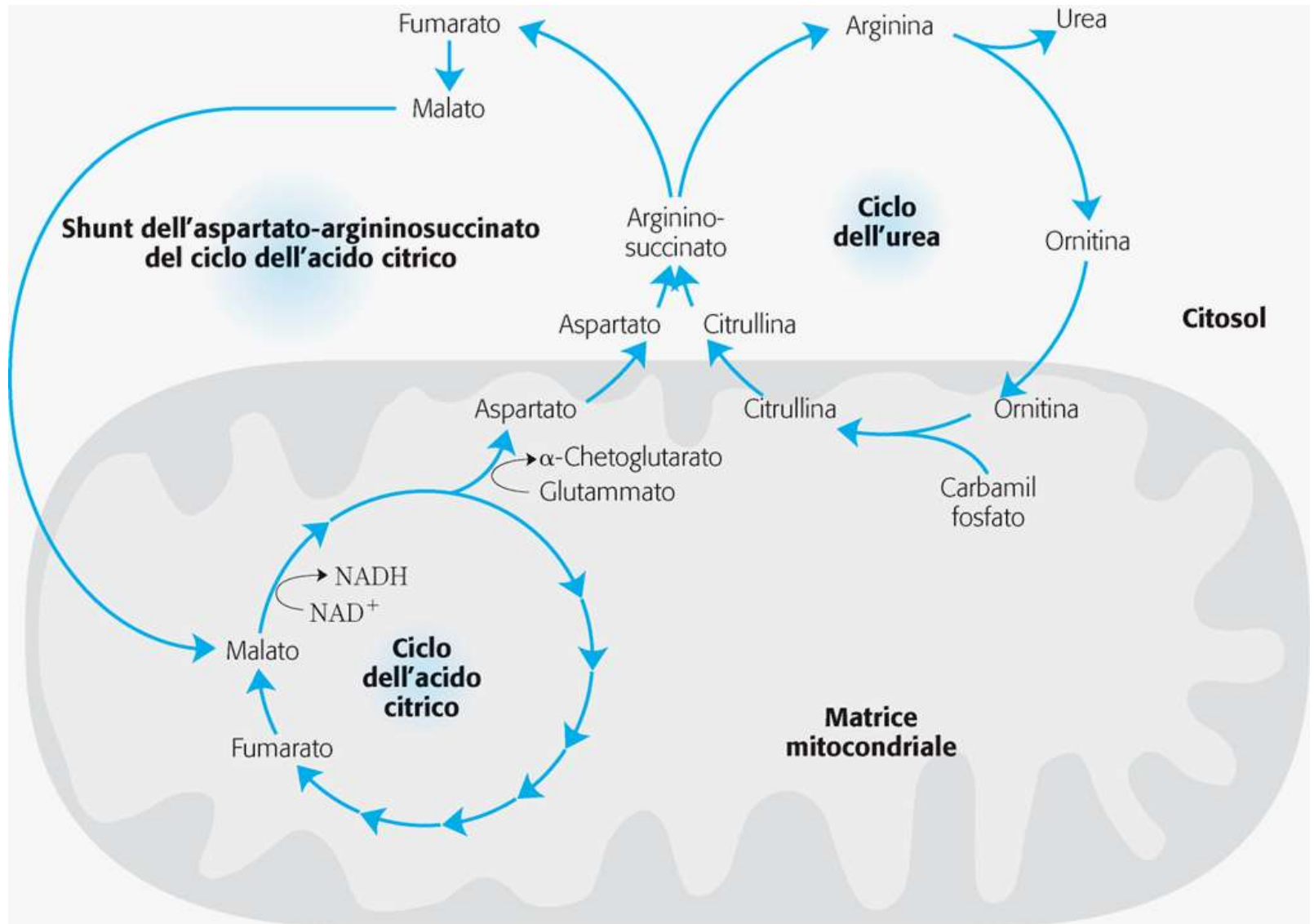


Qual'è il **costo energetico** del ciclo dell'urea?

Apparentemente:

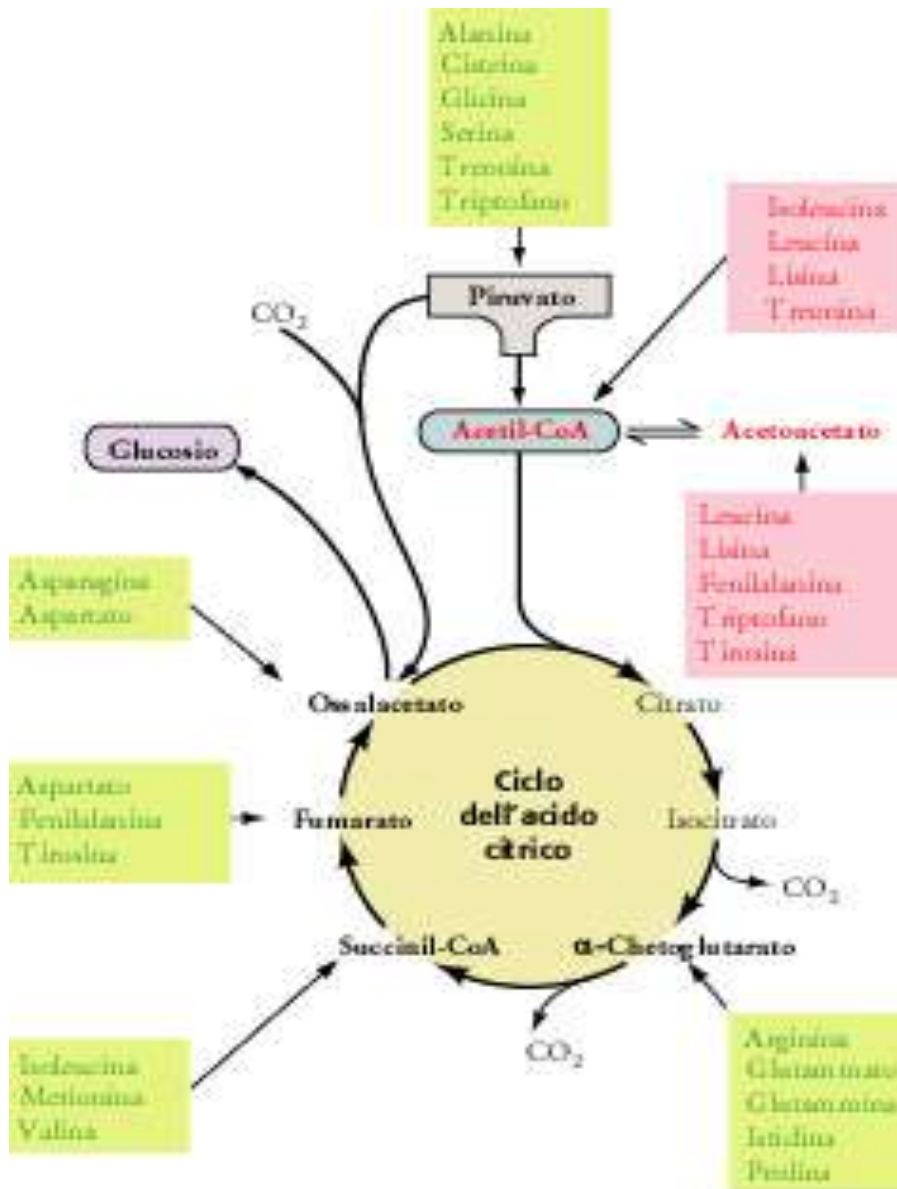


MA : il fumarato...→



Inoltre: nella deaminazione ossidativa si forma NAD(P)H

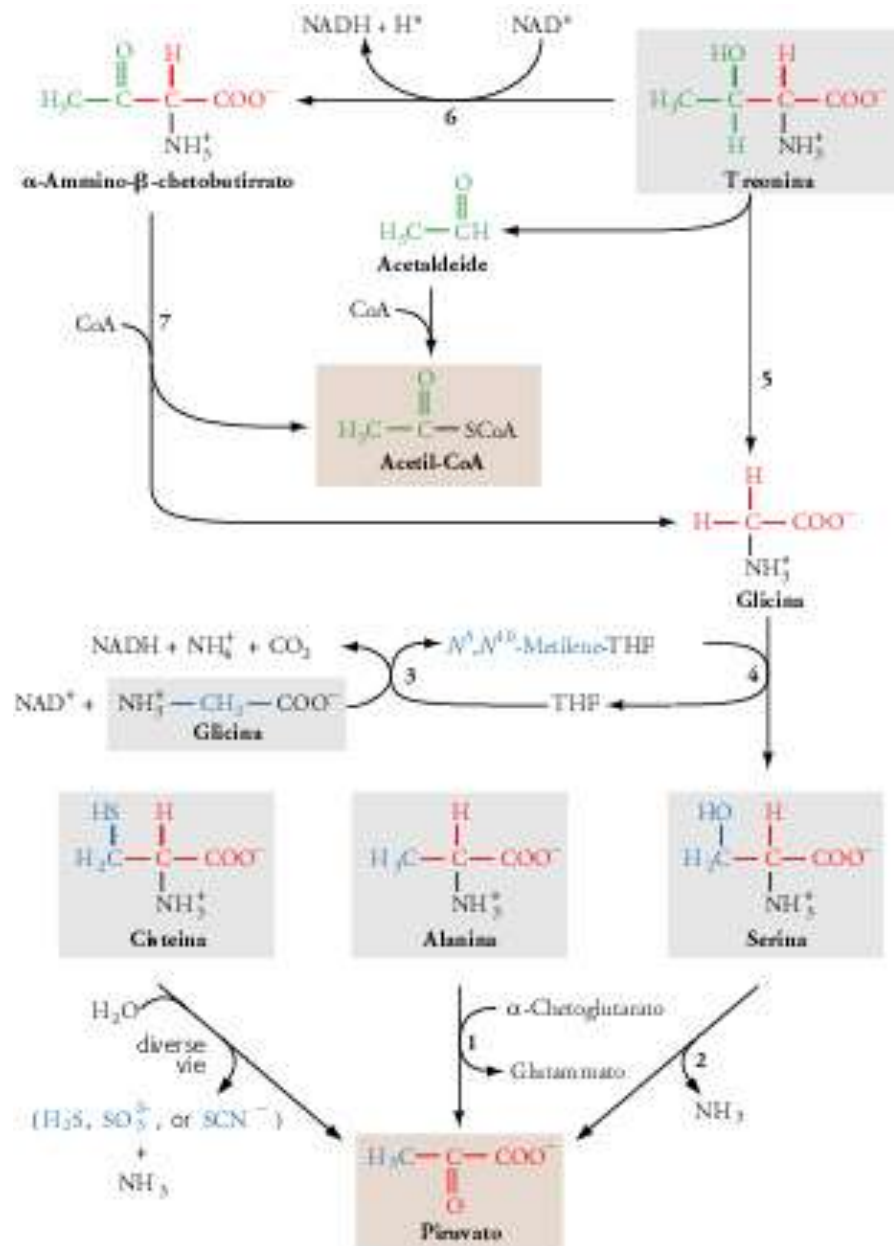
Degradazione degli aminoacidi



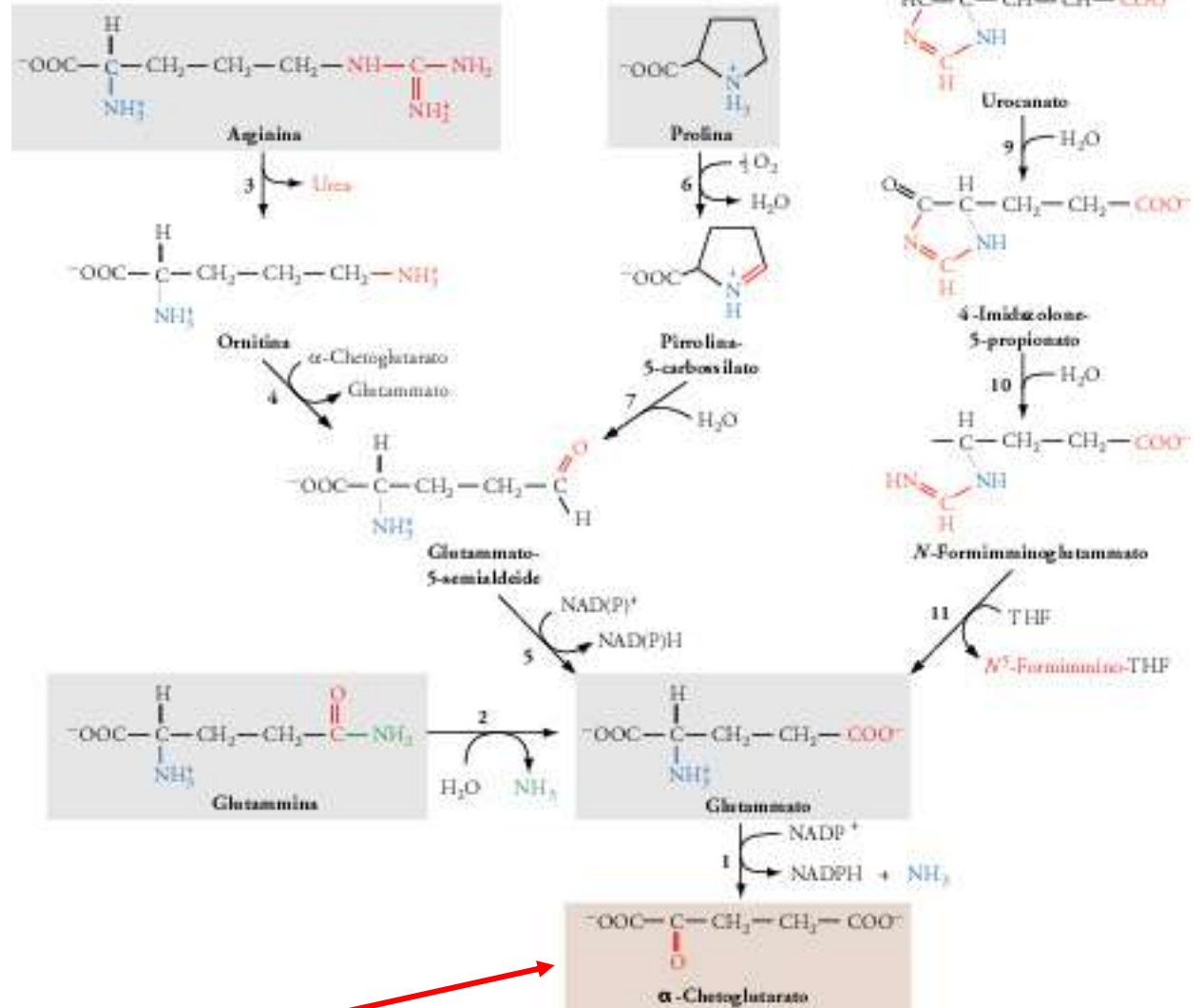
Glucogenici

Chetogenici

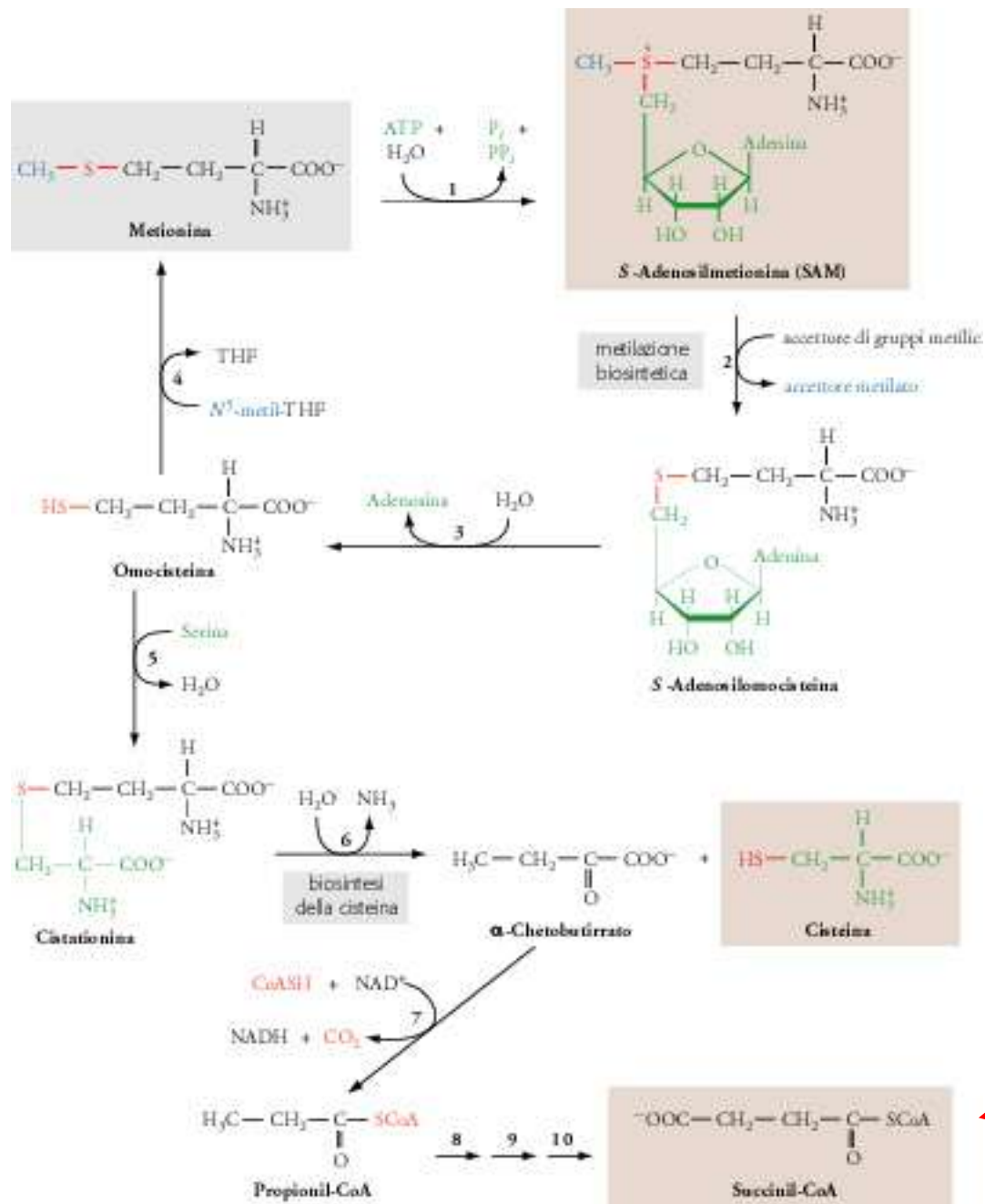
Ala Cys Gly Ser Thr



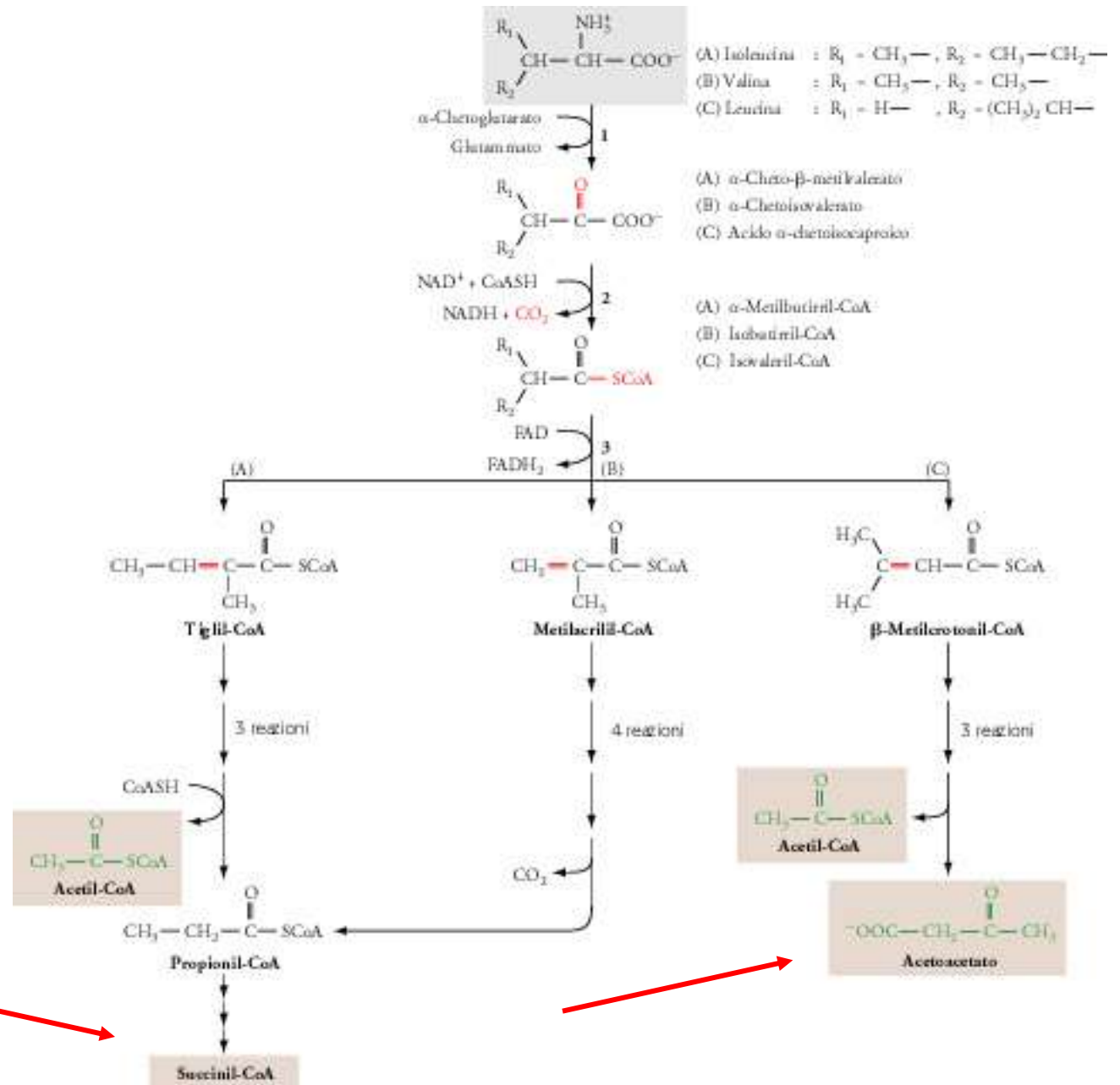
Arg, Glu,
Gln, His, Pro



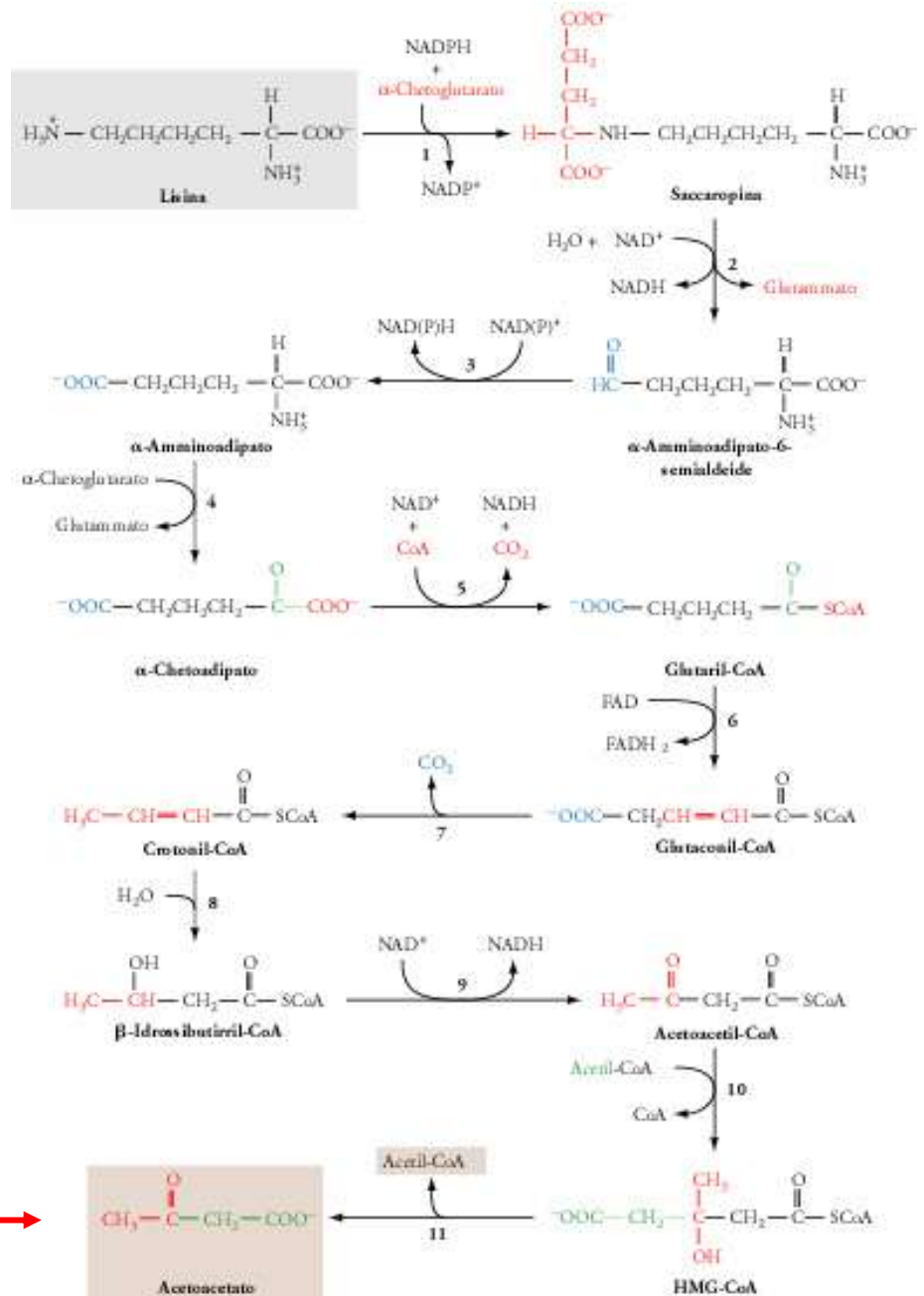
Met



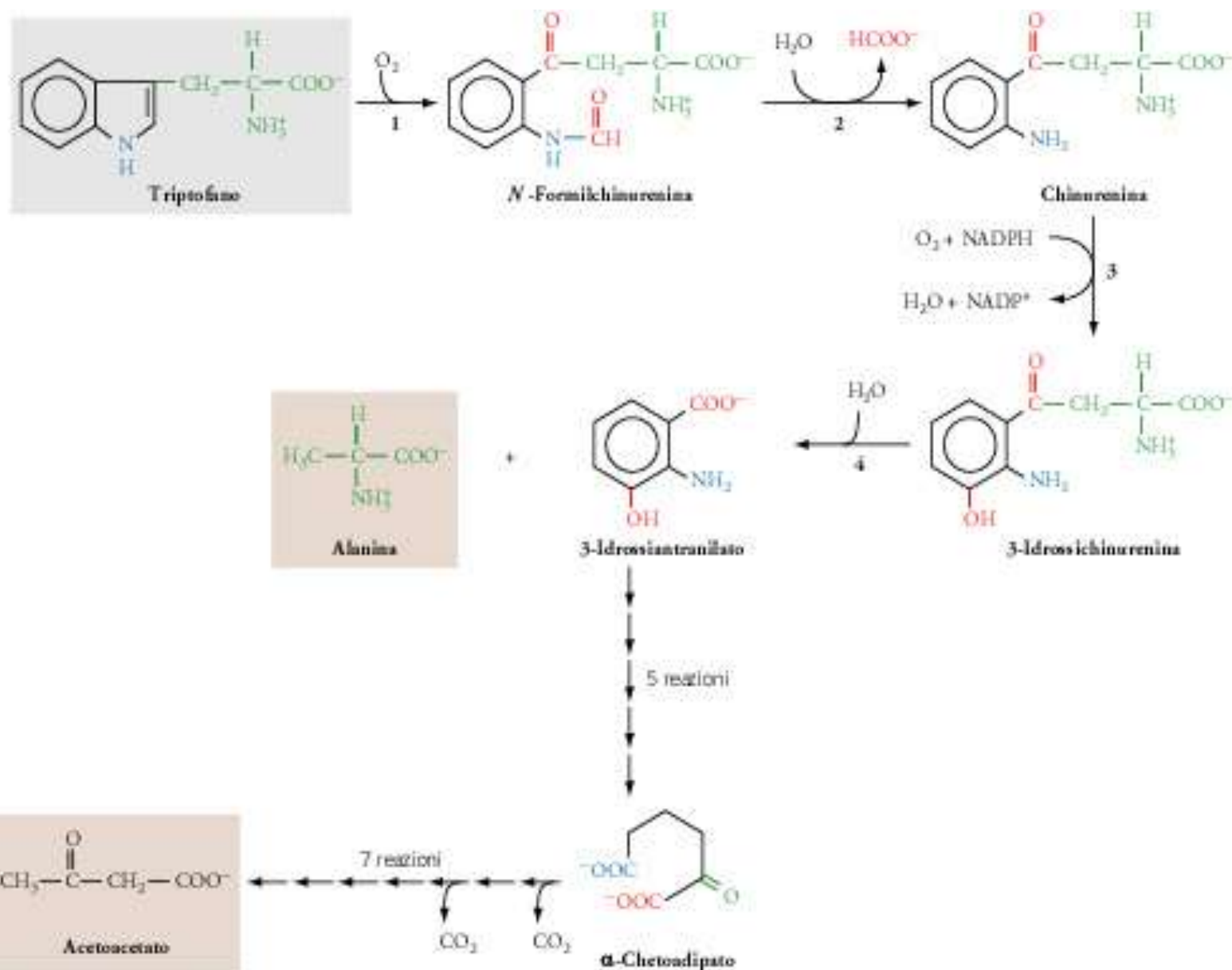
Catena ramificata



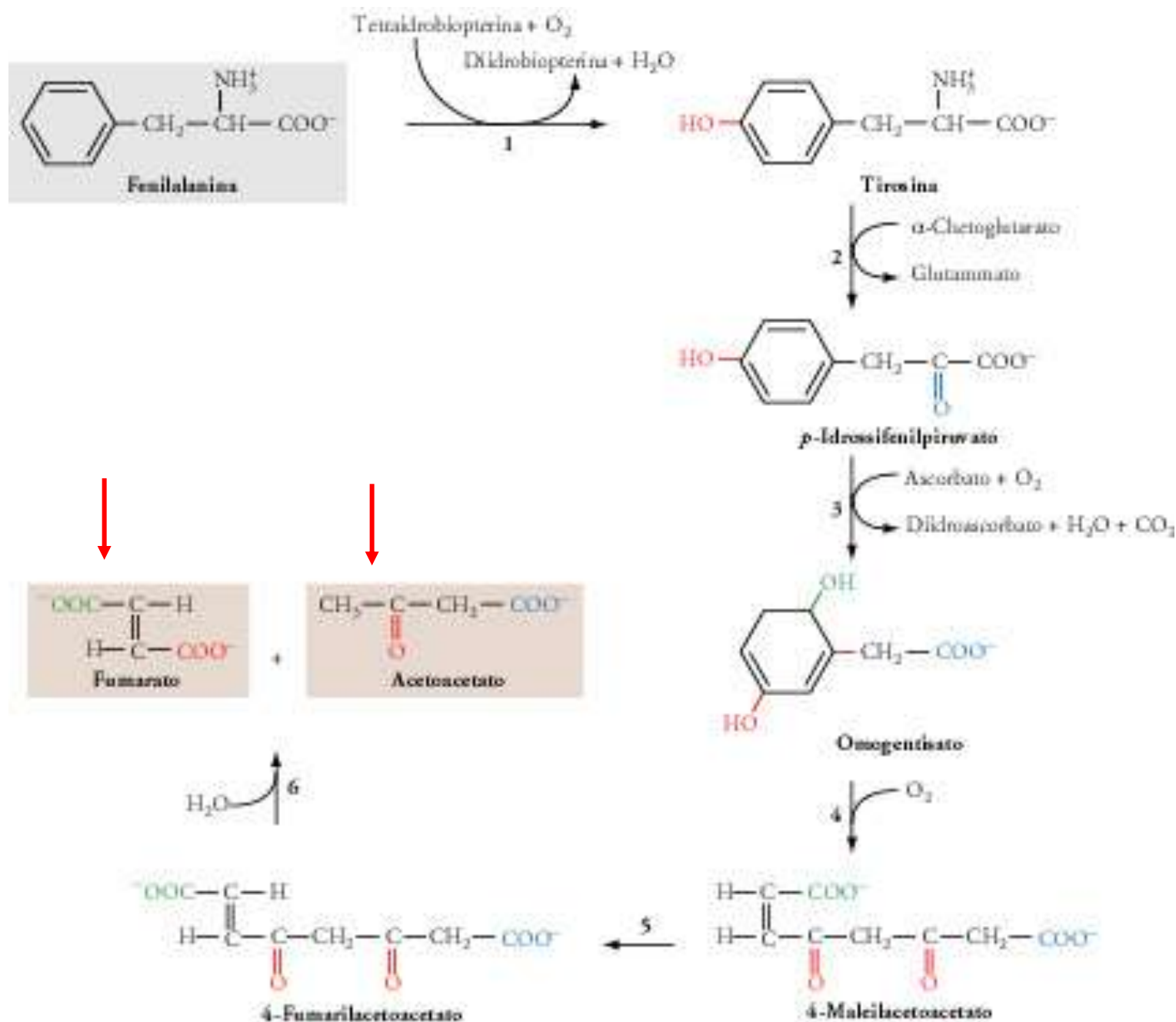
Lys e Leu



Trp



Phe



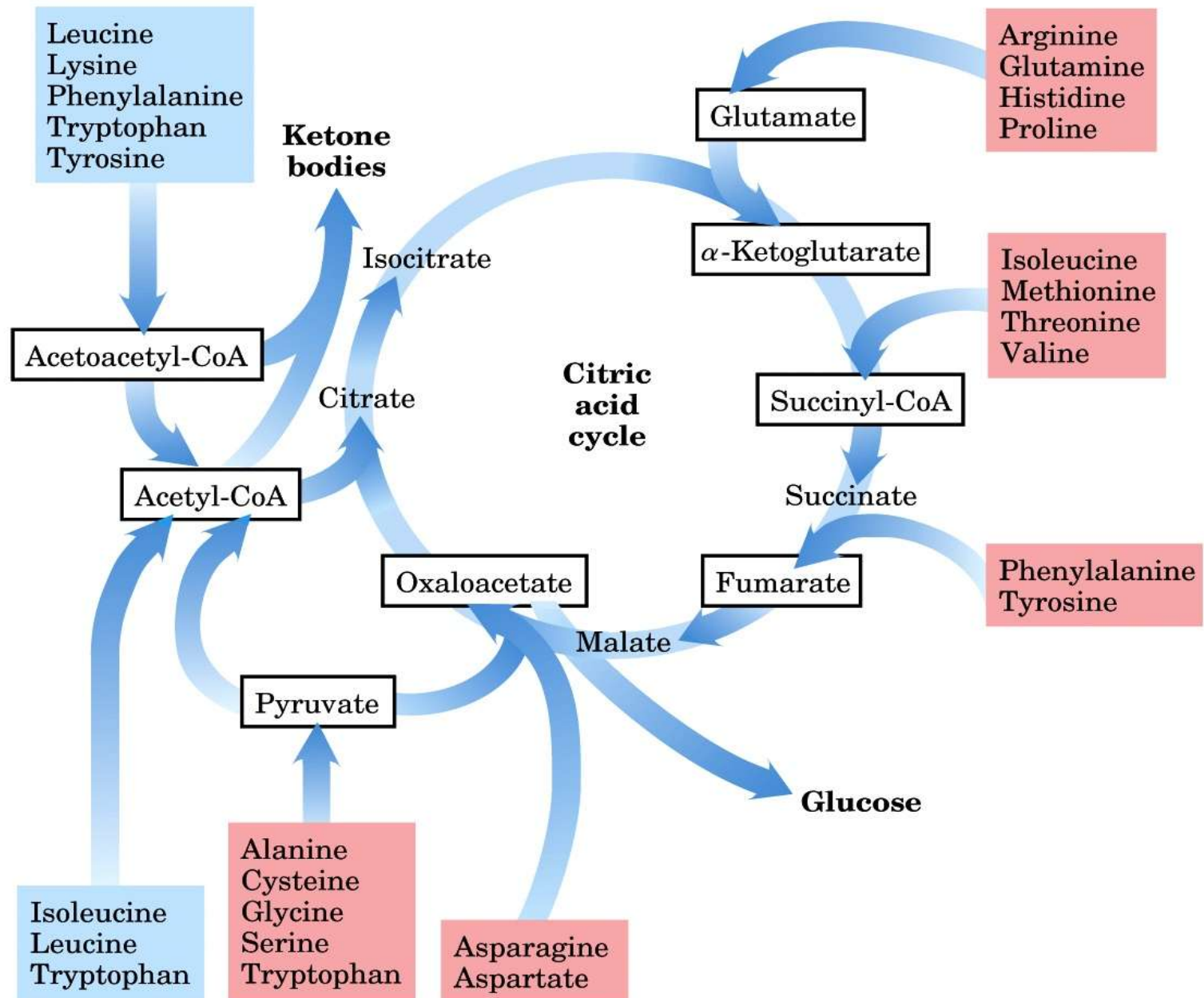
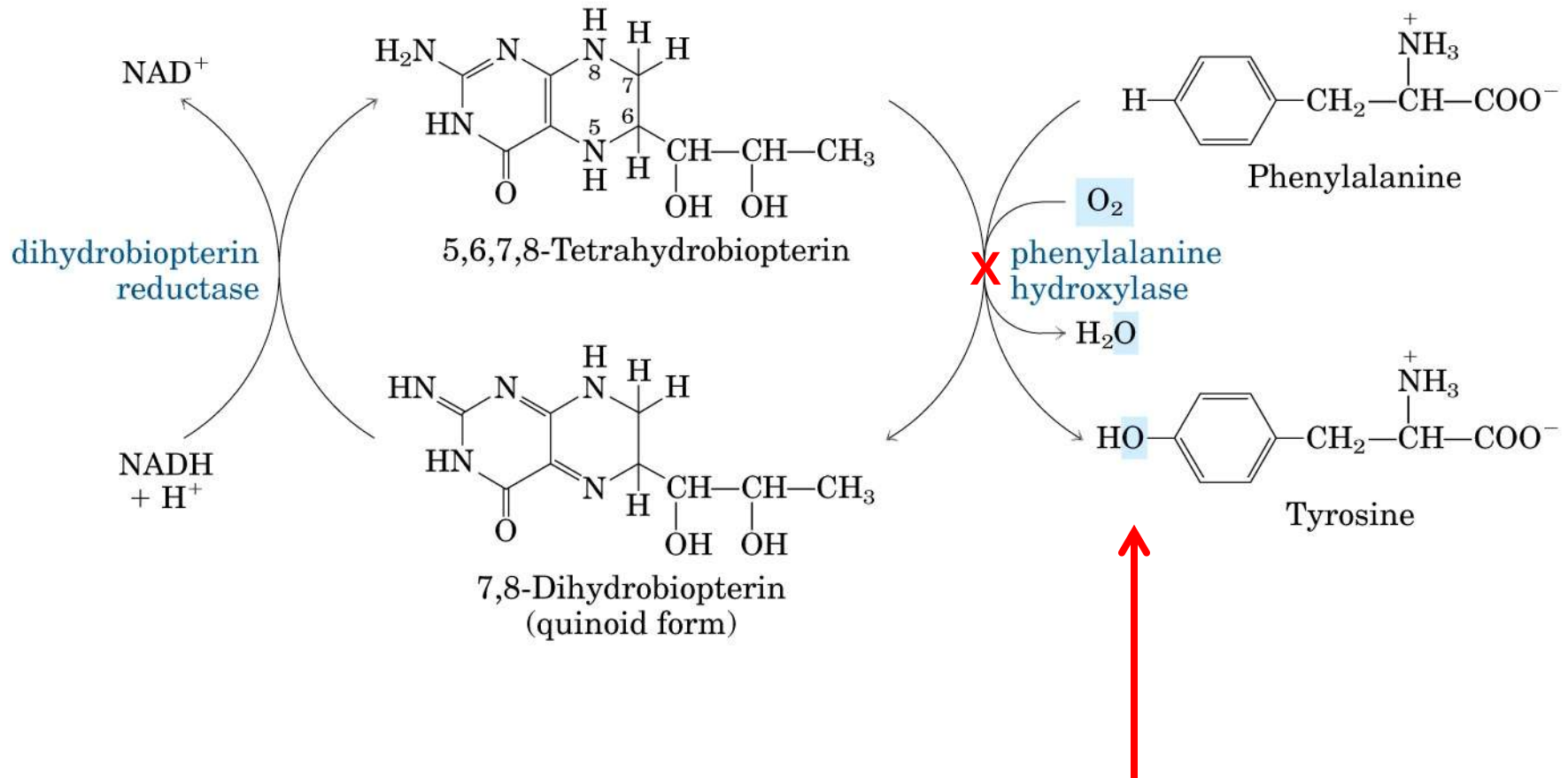


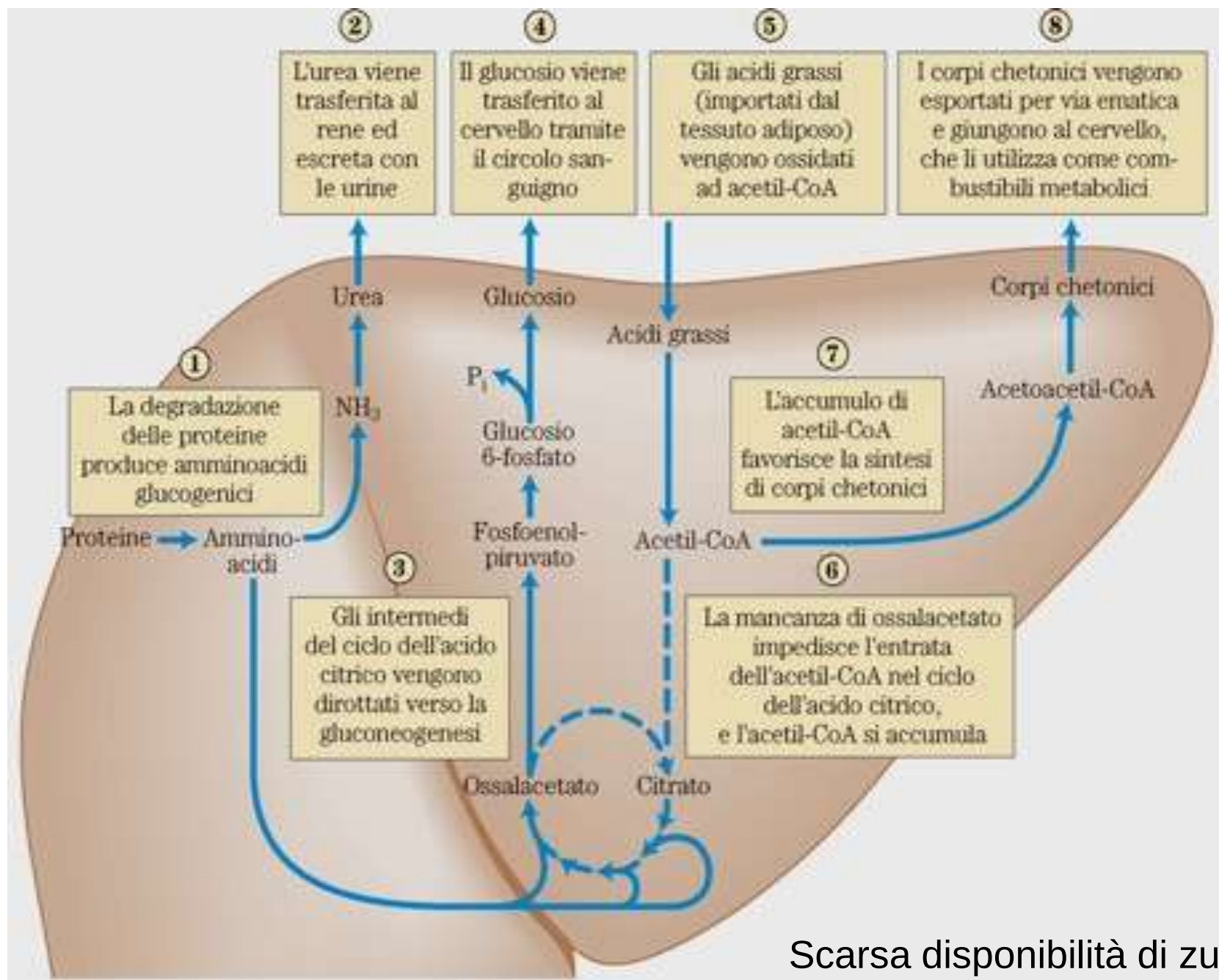
table 18–2

Some Human Genetic Disorders Affecting Amino Acid Catabolism

Medical condition	Approximate incidence (per 100,000 births)	Defective process	Defective enzyme	Symptoms and effects
Albinism	3	Melanin synthesis from tyrosine	Tyrosine 3-mono- oxygenase (tyrosinase)	Lack of pigmentation; white hair, pink skin
Alkaptonuria	0.4	Tyrosine degradation	Homogentisate 1,2-dioxygenase	Dark pigment in urine; late-developing arthritis
Argininemia	<0.5	Urea synthesis	Arginase	Mental retardation
Argininosuccinic acidemia	1.5	Urea synthesis	Argininosuccinate lyase	Vomiting, convulsions
Carbamoyl phosphate synthetase I deficiency	>0.5	Urea synthesis	Carbamoyl phosphate synthetase I	Lethargy, convulsions, early death
Homocystinuria	0.5	Methionine degradation	Cystathionine β -synthase	Faulty bone develop- ment, mental retardation
Maple syrup urine disease (branched- chain ketoaciduria)	0.4	Isoleucine, leucine, and valine degradation	Branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex	Vomiting, convulsions, mental retardation, early death
Methylmalonic acidemia	<0.5	Conversion of propionyl- CoA to succinyl-CoA	Methylmalonyl-CoA mutase	Vomiting, convulsions, mental retardation, early death
Phenylketonuria	8	Conversion of phenyl- alanine to tyrosine	Phenylalanine hydroxylase	Neonatal vomiting; mental retardation

Phenylketonuria





Scarsa disponibilità di zuccheri

