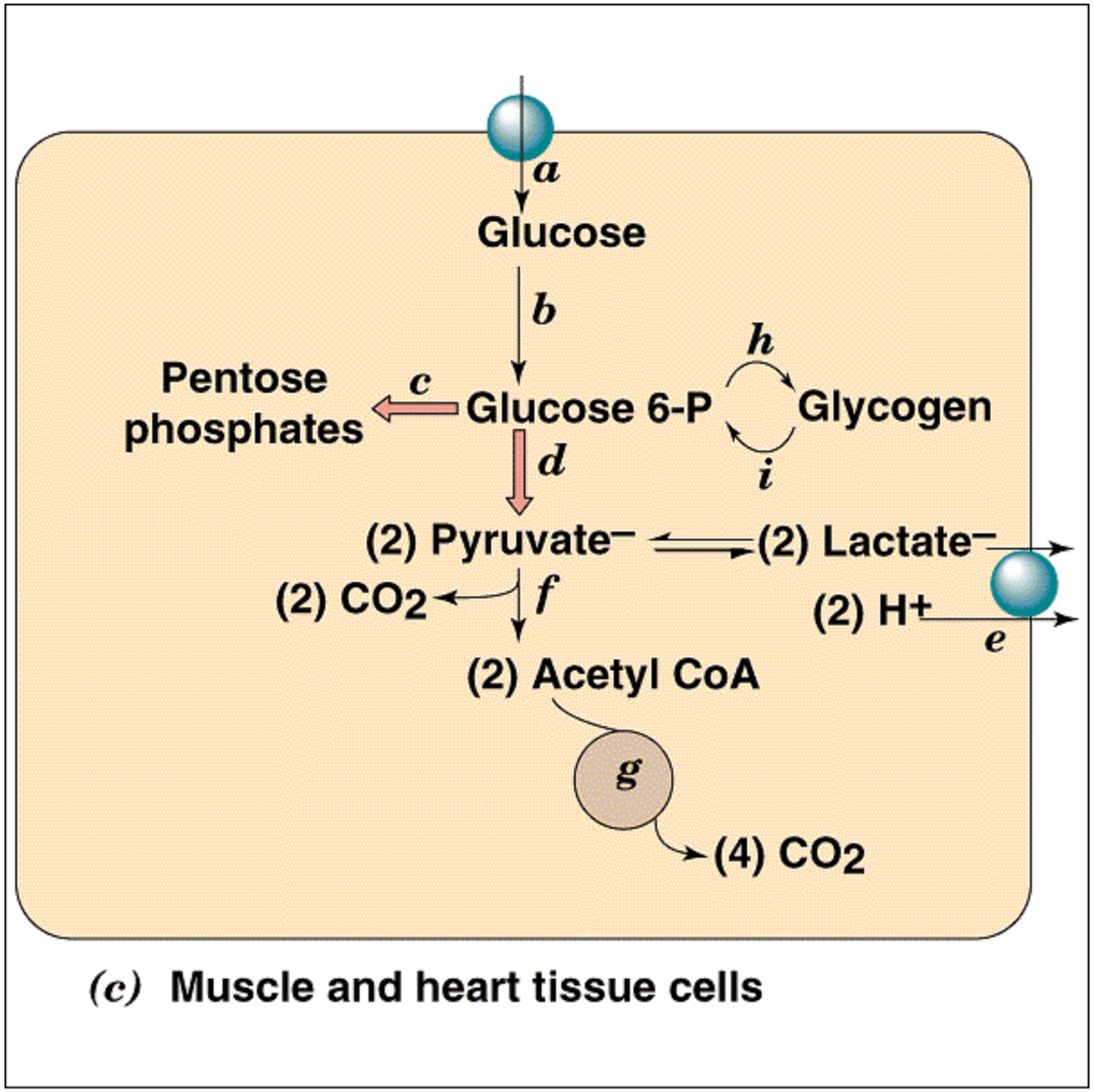
Via das pentoses e ciclo de nitrogênio

Prof. Henning Ulrich

Via das Pentose Fosfatos

Geração de NADPH e riboses

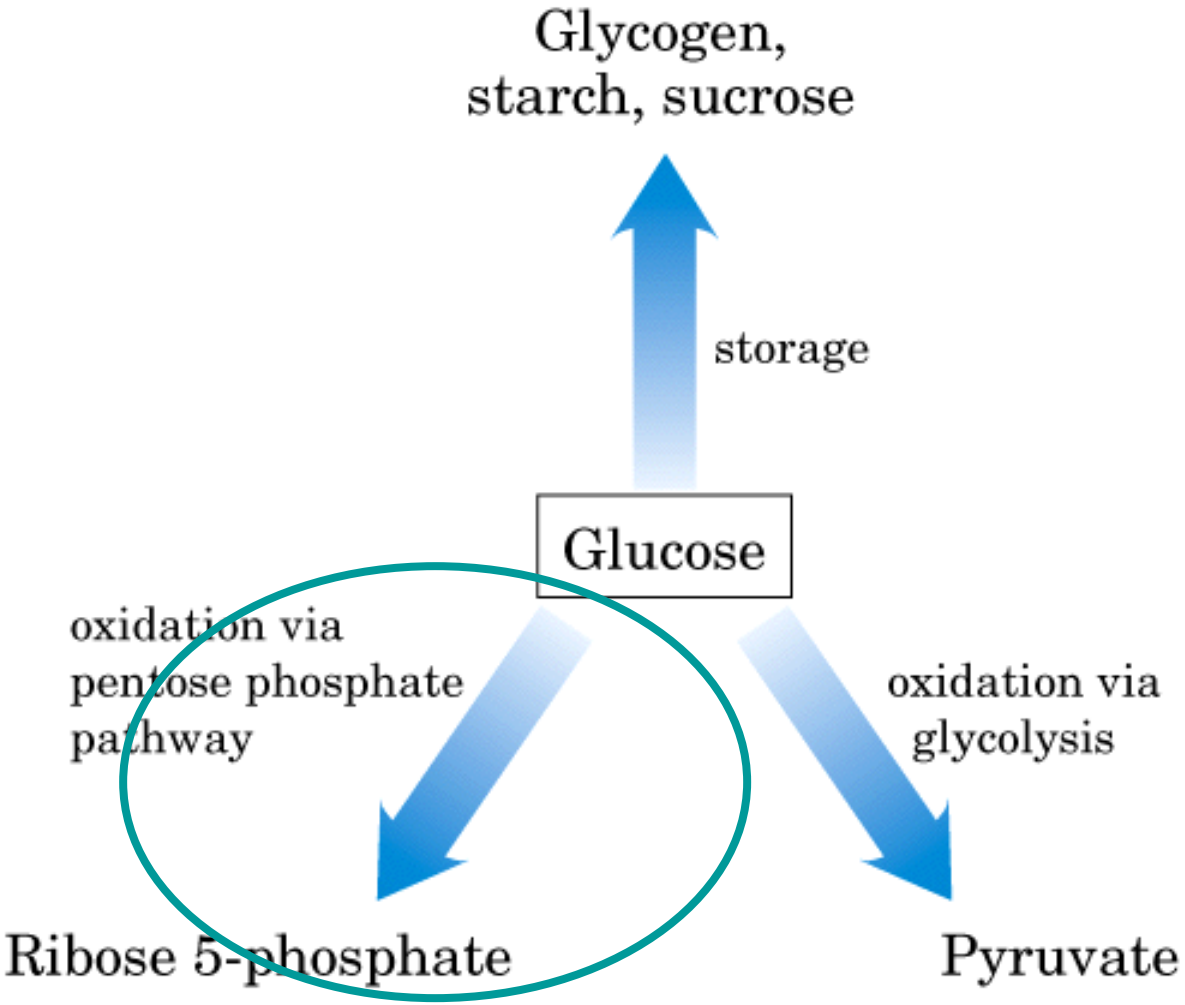


(c) **Muscle and heart tissue cells**

Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

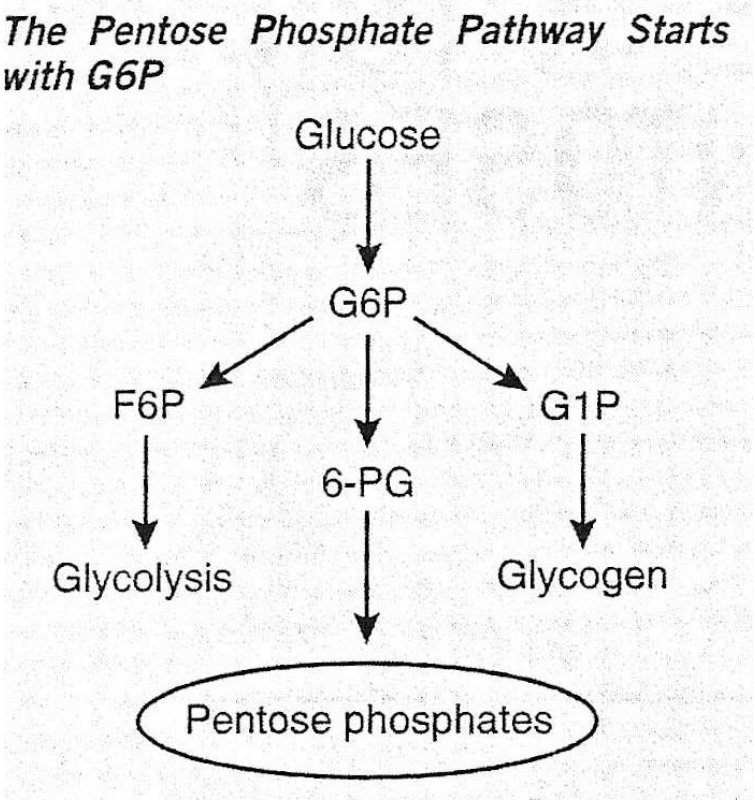
Via das pentoses fosfato

Importante para a síntese de ribose 5-fosfato e NADPH



Via das pentose fosfatos

- Função
  - Producão de riboses
    - Produção de potencial redutor
      - Vias de síntese
    - Importante para anti-oxidantes célulares
  - Síntese de riboses
    - Ácidos nucleícos e nucleotídeos



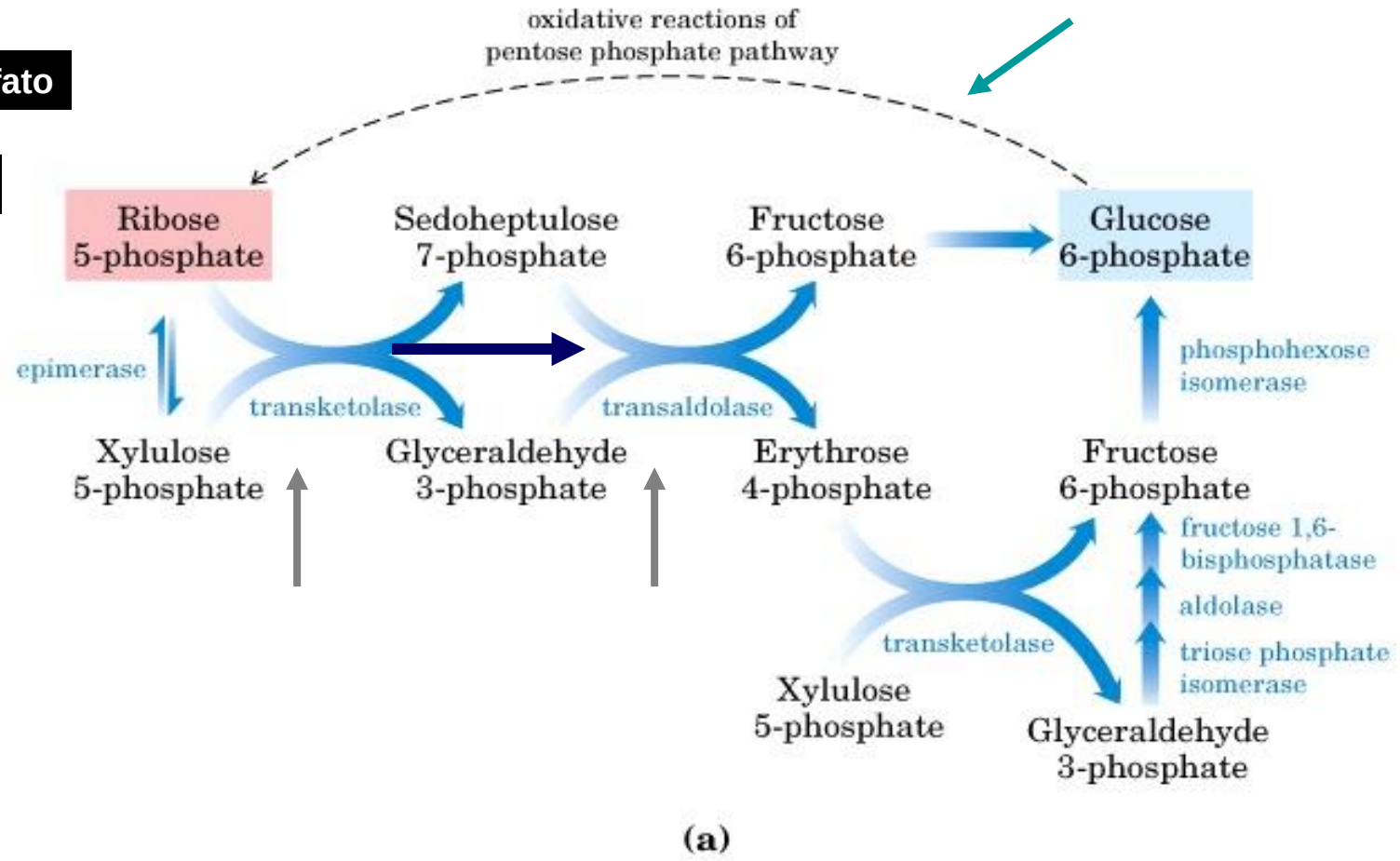
Regulação da via das pentoses -fosfato

As partes oxidativa e não oxidativa da via podem ser acionadas separadamente

NAPH e Ribose 5-fosfato

Ribose 5-fosfato

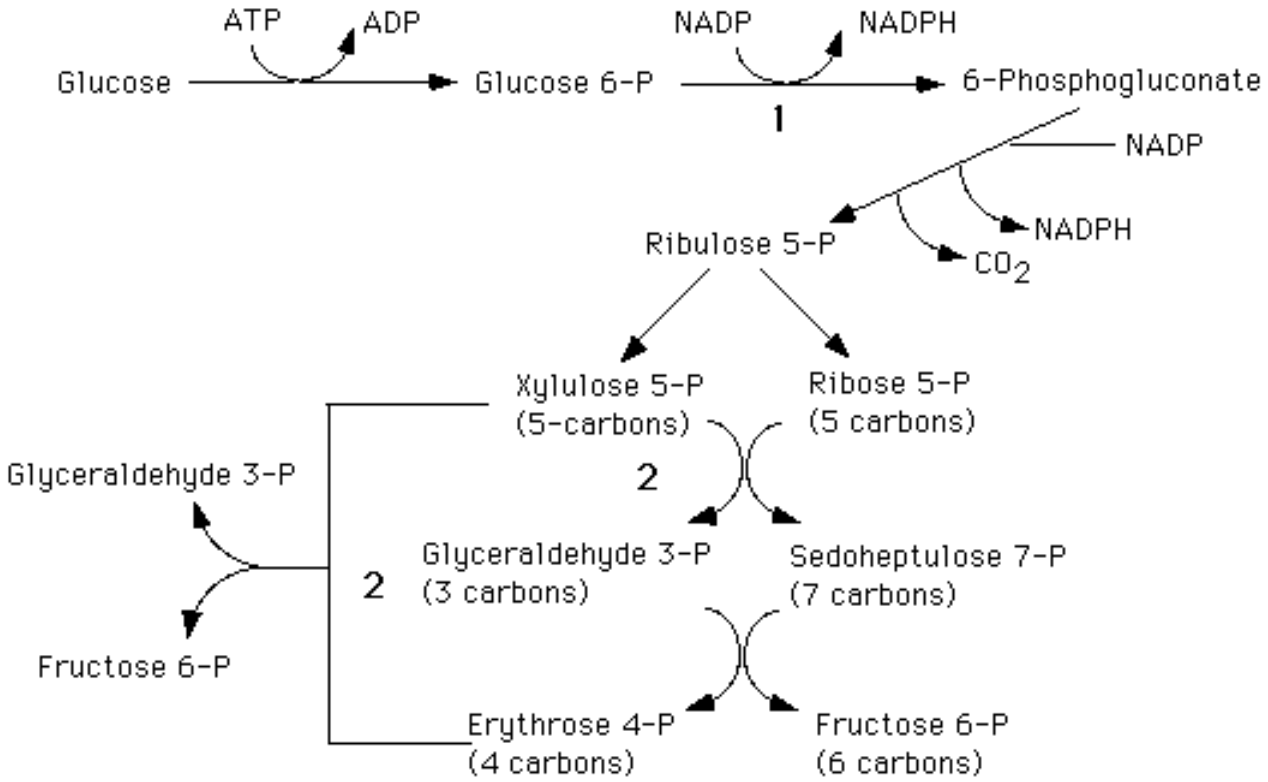
NADPH



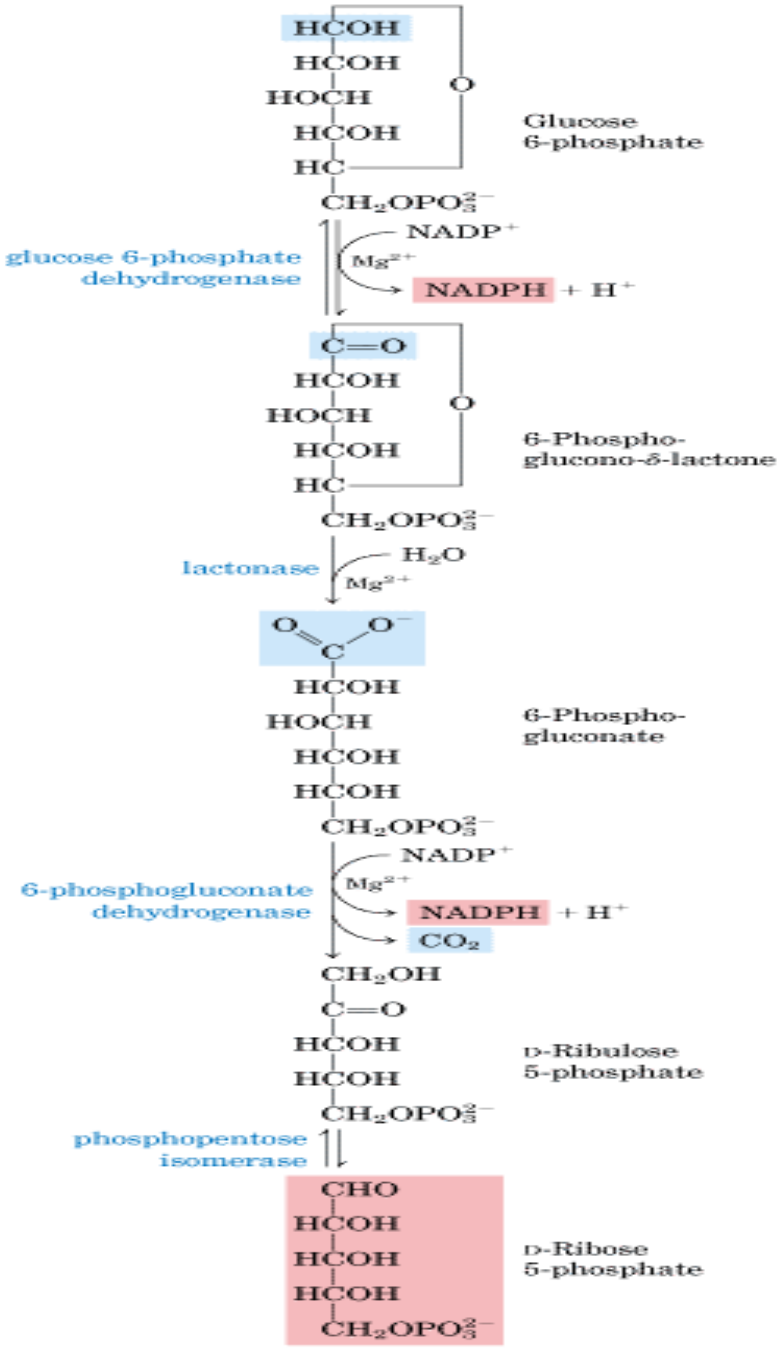
$NAD^+ \neq NADP^+$

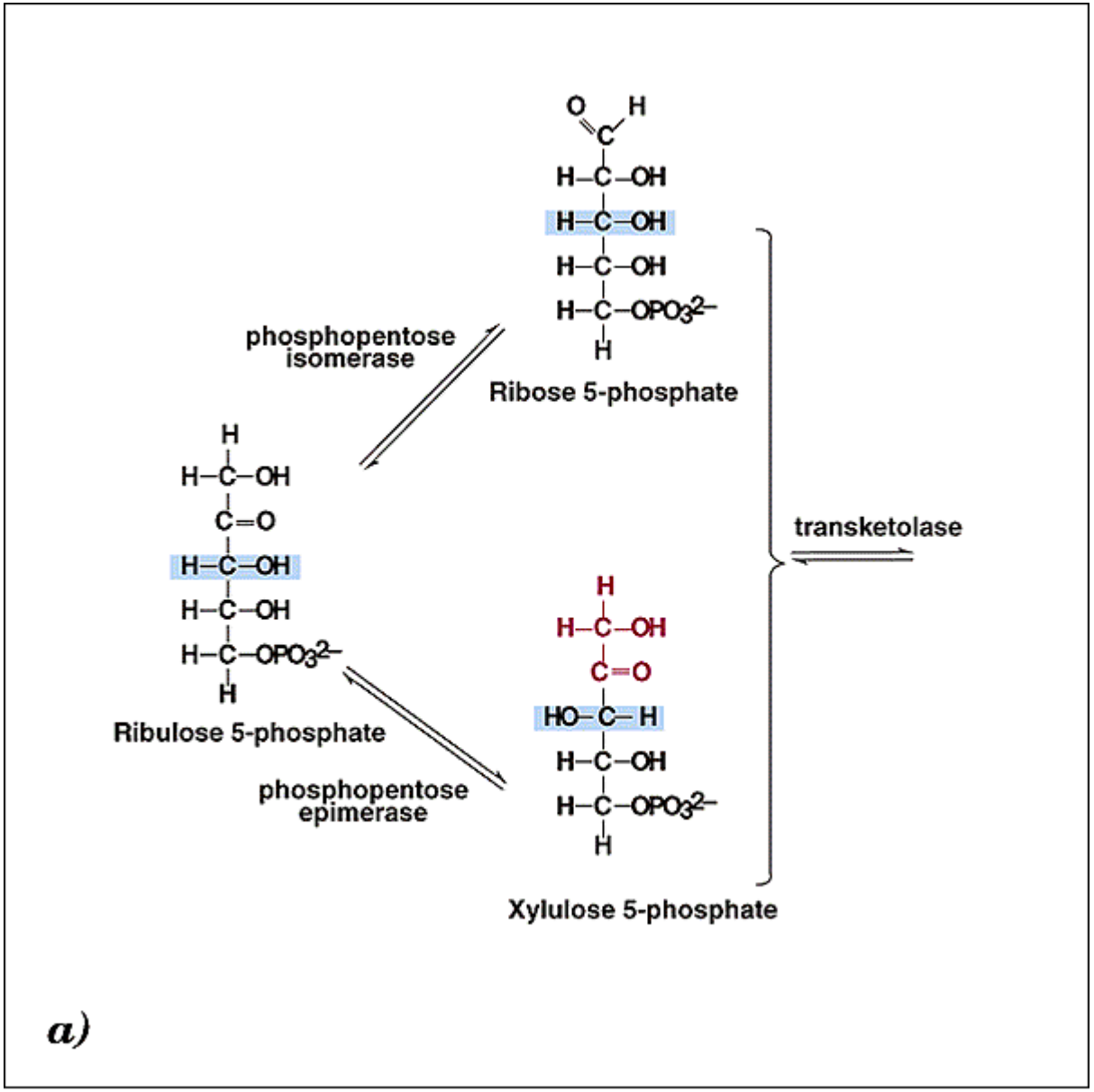
NADH $\rightarrow$ oxidado na cadeia respiratória $\rightarrow$ ATP

NADPH $\rightarrow$ doador de elétrons (Hidreto) nas biossínteses redutivas

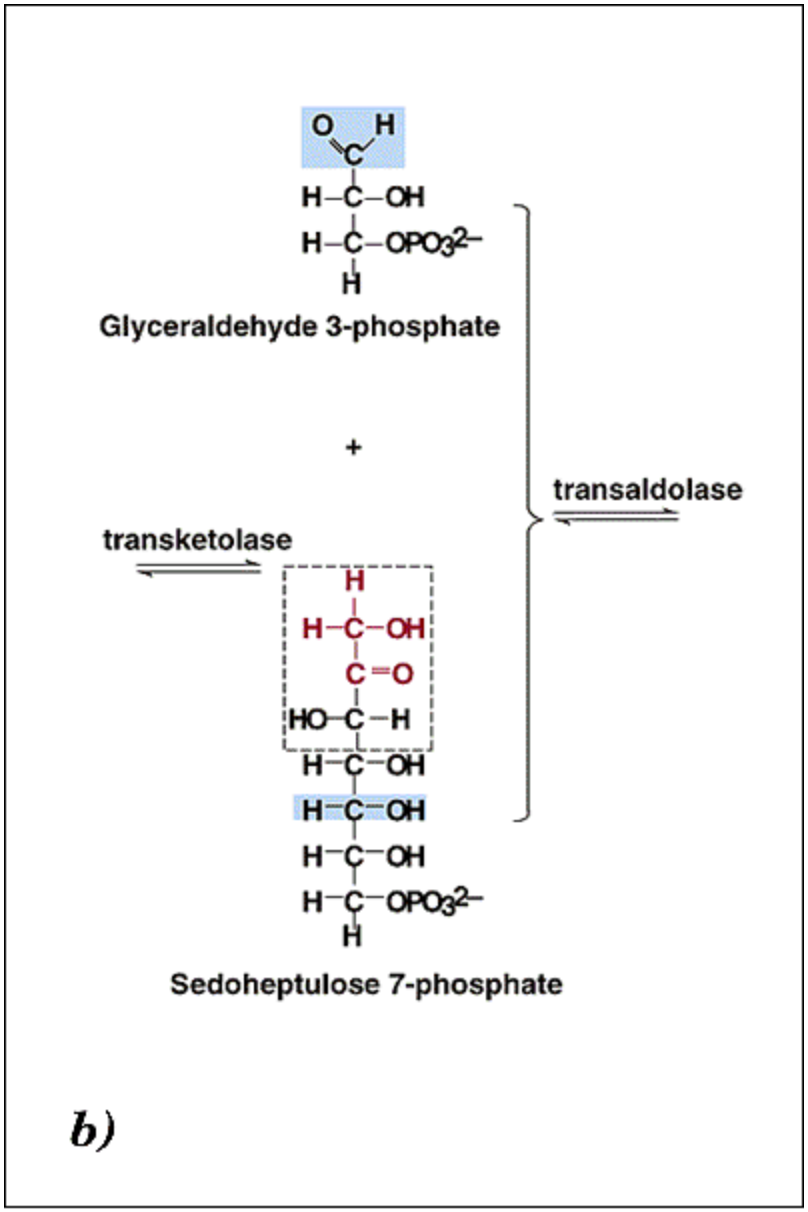

ATP
ADP
Glucose
Glucose 6-P
NADP
NADPH
1
6-Phosphogluconate
NADP
NADPH
Ribulose 5-P
CO_2
Xylulose 5-P
(5-carbons)
Ribose 5-P
(5 carbons)
2
Glyceraldehyde 3-P
Glyceraldehyde 3-P
(3 carbons)
Sedoheptulose 7-P
(7 carbons)
2
Fructose 6-P
Erythrose 4-P
(4 carbons)
Fructose 6-P
(6 carbons)

Etapas da via das pentoses

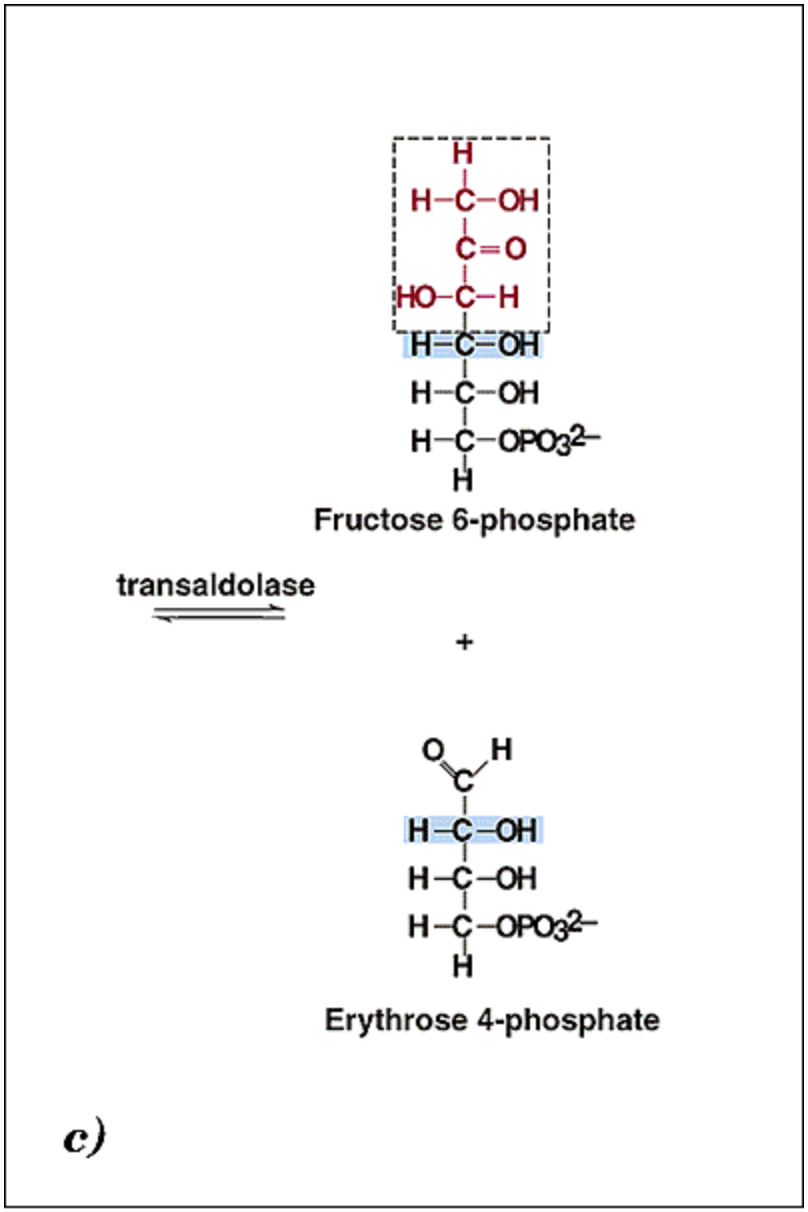




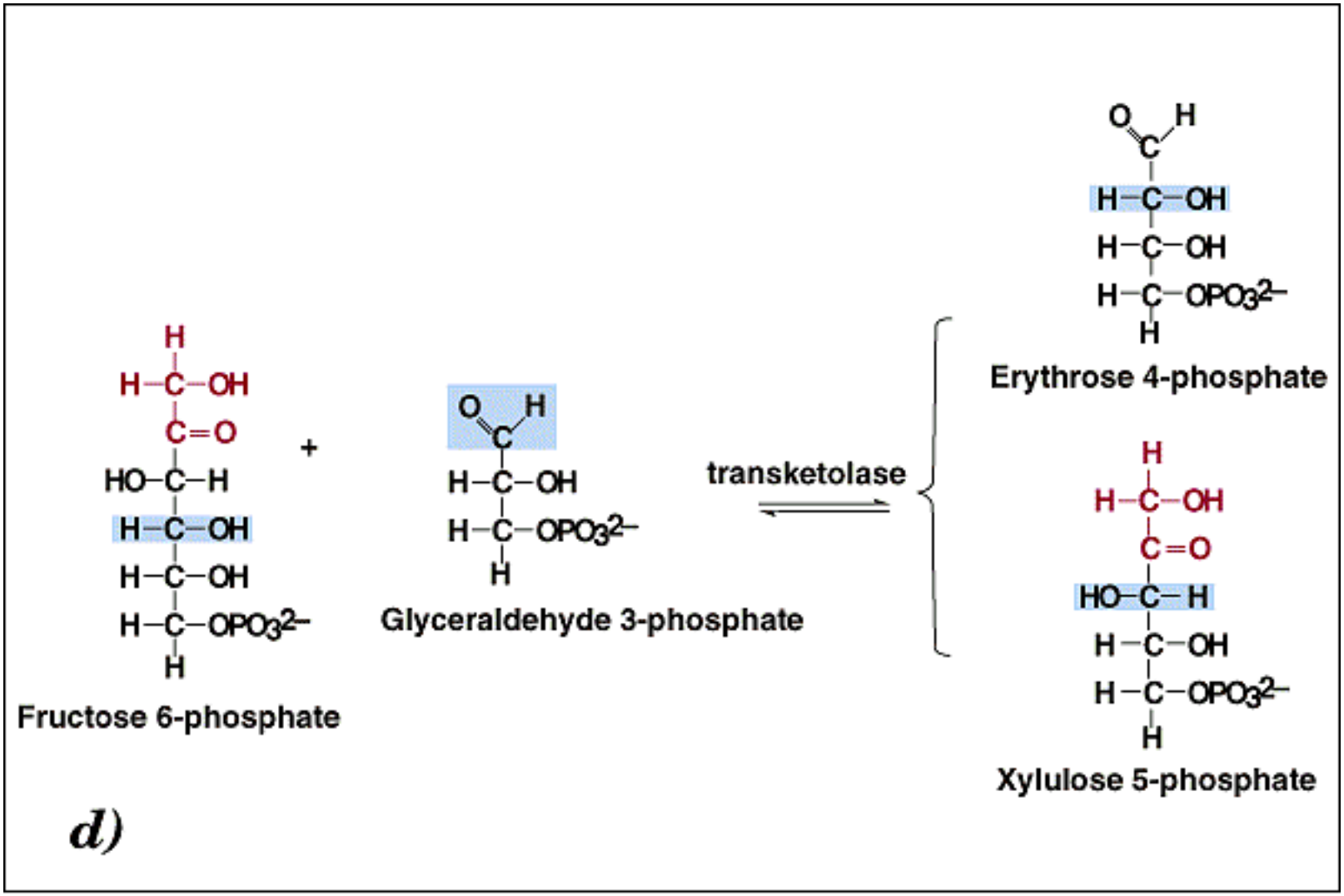
Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.



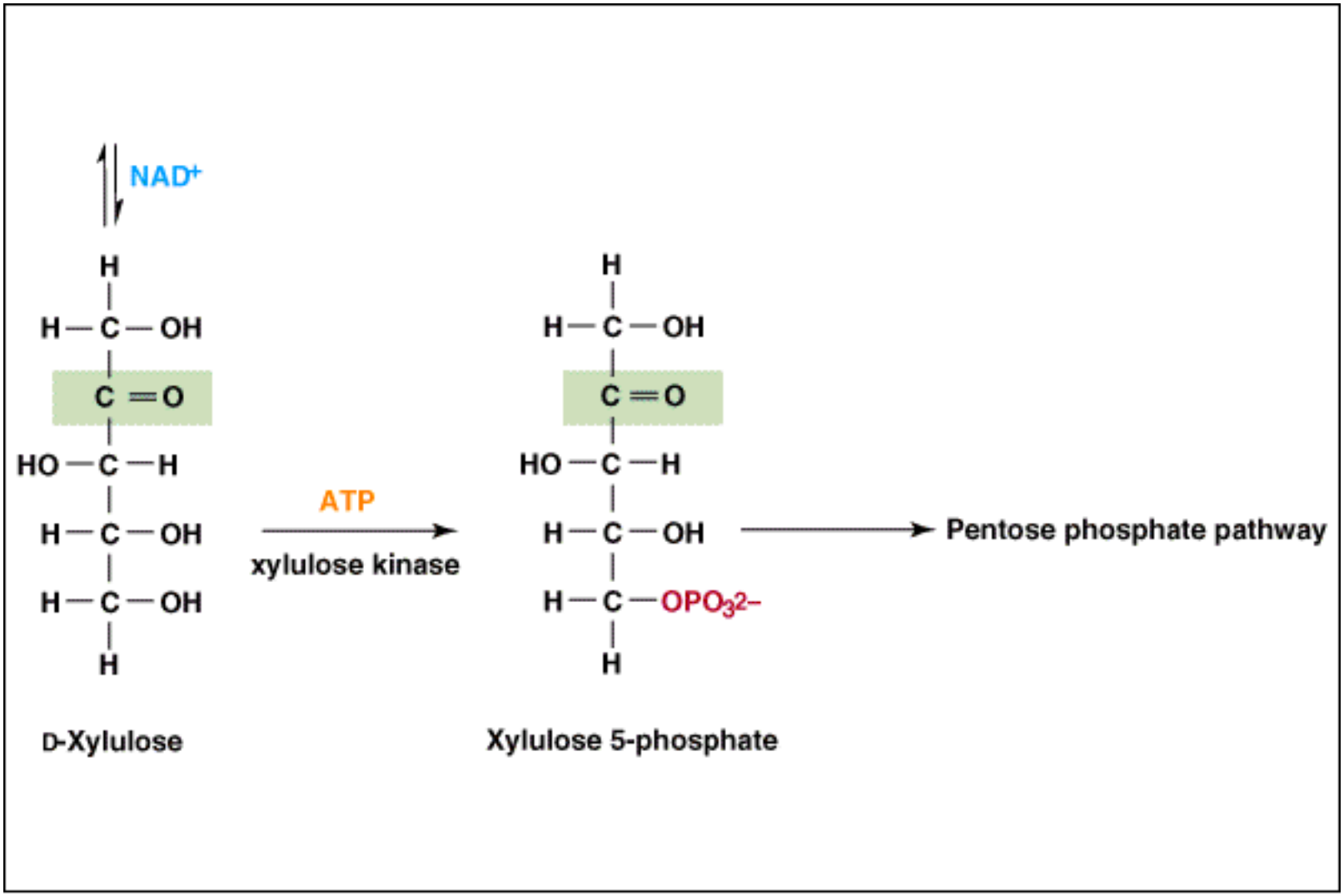
Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.



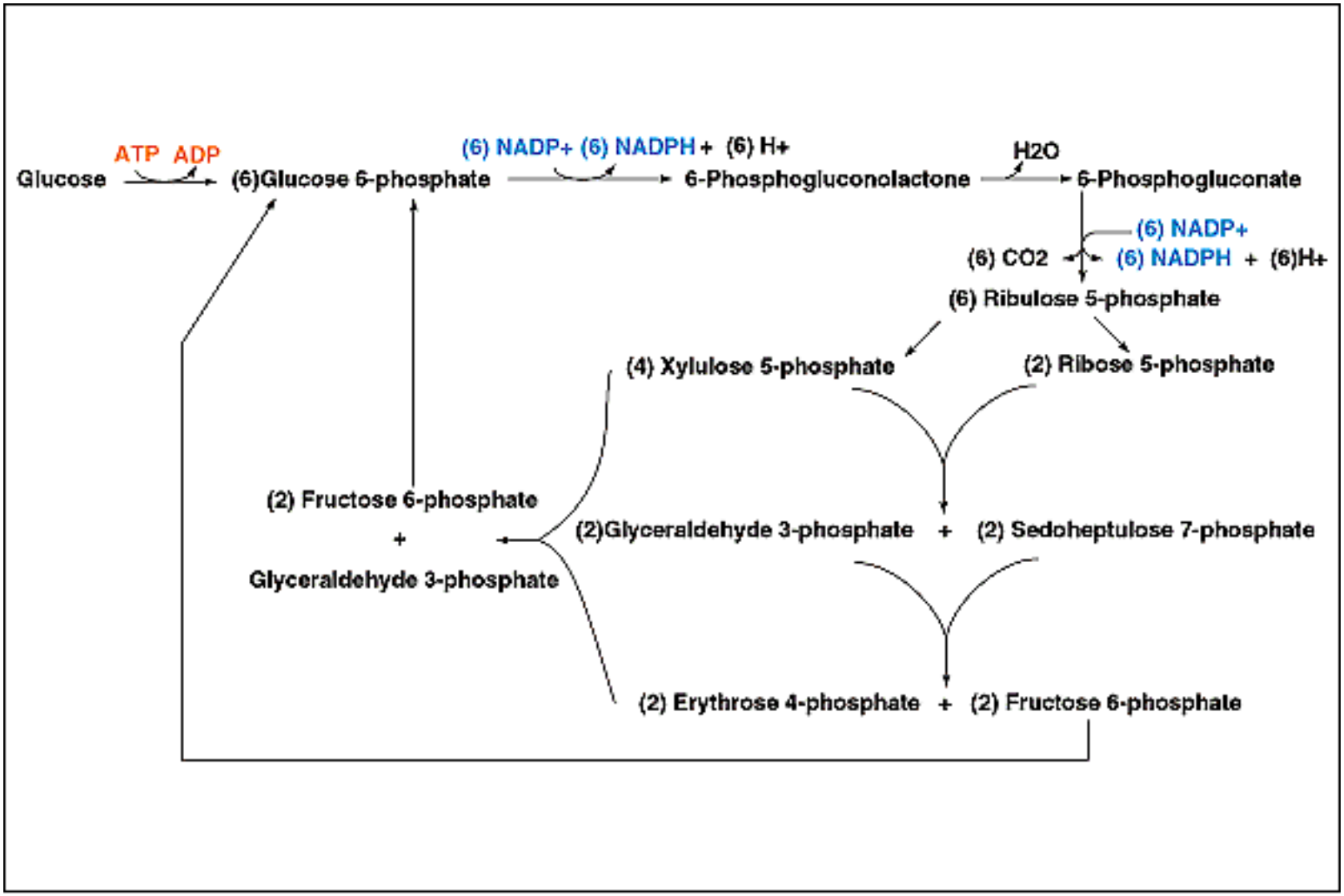
Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Controle:

1- Primeiro passo IRREVERSÍVEL!! Fator determinante é nível de $NADP^+$.

2- NAD^+ / NADH ~ 700

$NADP^+$/ NADPH ~ 0.014

Operação da Via,

Caso1 – célula necessita de Ribose5P , células em divisão

$G6P \rightarrow F6P \rightarrow G3P$

$G3P + 2\ F6P \rightarrow 3\ Ribose5P$

$5\ G6P + ATP \rightarrow 6\ Ribose5P + ADP$

Caso2 - necessita NADPH e Ribose5P

$G6P + 2\ NADP^{+} + H2O \rightarrow Ribose5P + 2\ NADPH + CO2$

Caso 3 – necessita de NADPH

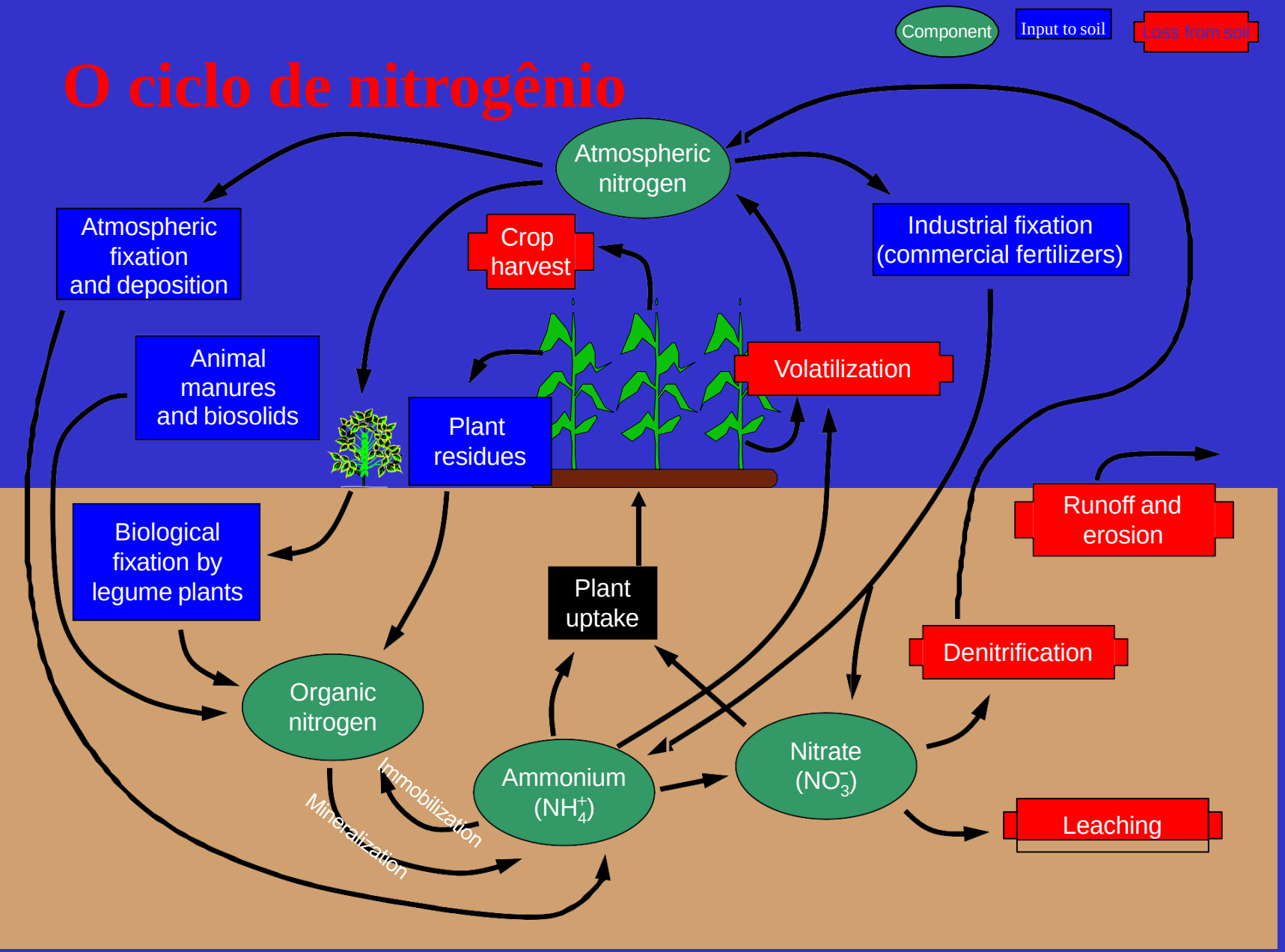
$G6P + 12\ NADP^{+} + 7\ H2O \rightarrow 12\ NADPH + 6\ CO2 + Pi$

Detalhe-Tecido Adiposo faz muito mais Via das Pentoses do que Músculo Esquelético. **Por que????**

O ciclo de nitrogênio

- **O nitrogênio existe em quatro formas:**
- ⇨ **como gas: N_2**
- ⇨ **ammonio: NH_4^+**
- ⇨ **oxidos nitrosos: NO_x and N_2O**
- ⇨ **forma organica (amino ácidos)**

O ciclo de nitrogênio

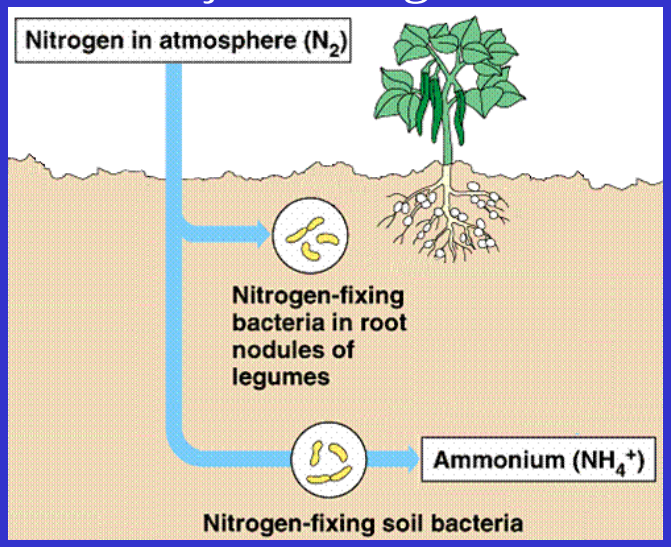


Aquisição de nitrogênio

- Proteínas e aminoácidos contém N na forma reduzida.
- As formas principais inorgânicas de N estão na forma oxidada.
- Porém, a aquisição de N envolve a redução das formas oxidadas (N_2 and NO_3^-) para NH_4^+.
- A fixação de nitrogênio ocorre somente em plantas e cianobactérias. Animais ganham nitrogênio pela dieta.

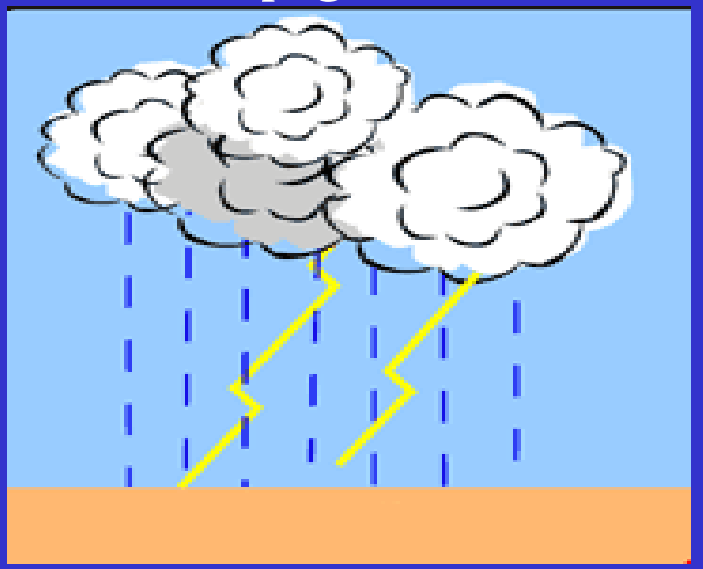
Fixação de nitrogênio:

1. Fixação biológica



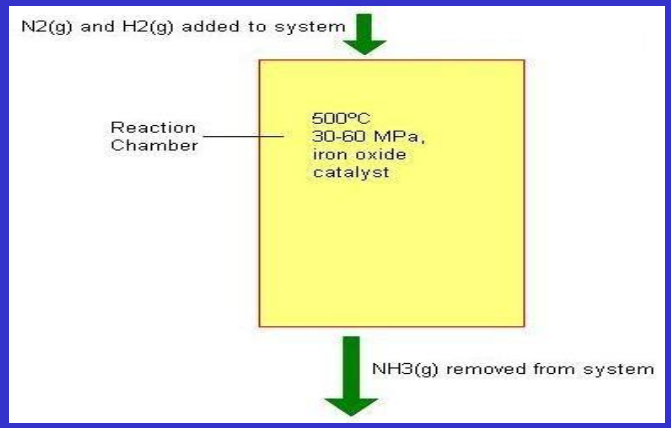
$N_2 + 3H_2 \longrightarrow 2NH_3$

2. Relâmpago



- $N_2 + O_2 \longrightarrow 2NO$

3. Processo Industrial de Haber



$N_2 + 3H_2 \longrightarrow 2NH_3$

Fixação simbiotica em plantas

- A redução de N_2 é exotérmica ($N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3$ $\Delta H = -33.3$ kJ mol^{-1})

N_2 Fixa

- bactérias de vida livre (eg *Klebsiella, Azotobacter, Clostridium*),
- simbióticas *Rhizobium;*
- Bactéria fotosintética (*Rhodospirillum*);
- actinomicetos filamentosos;
- cianobactérias

O fixador:

- nitrogenase, o qual é inativada pelo oxigênio
- Bem, veremos como *Rhizobium* resolve o problema em associação com a plantas superiores









Vicia faba (feijão)acima

Pisum sativum (ervilha) direita

Glycine max (soja) abaixo



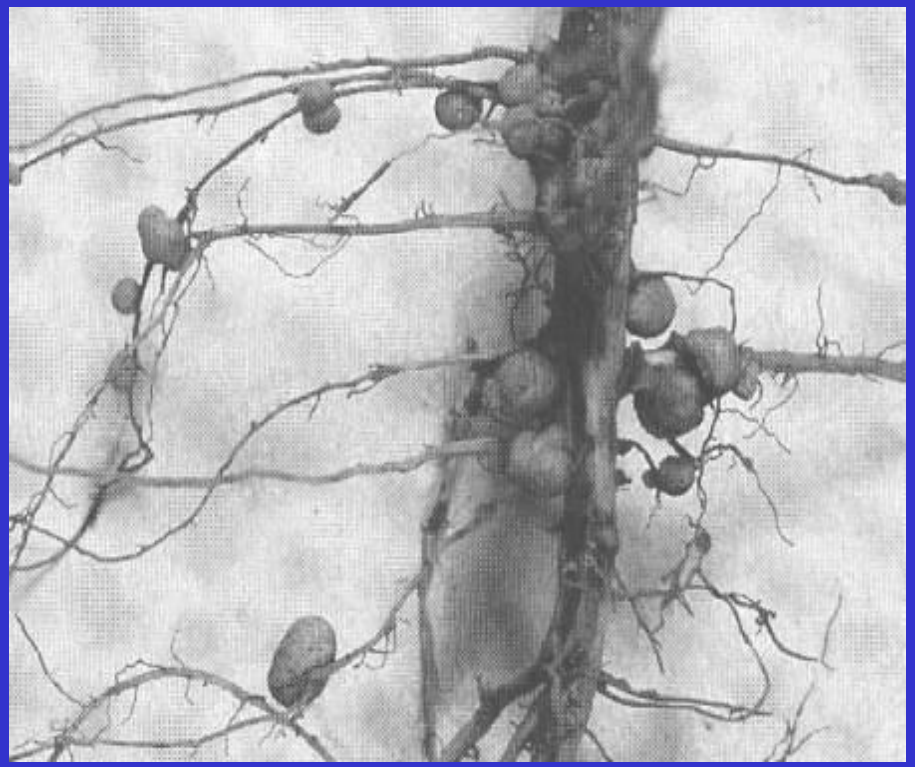


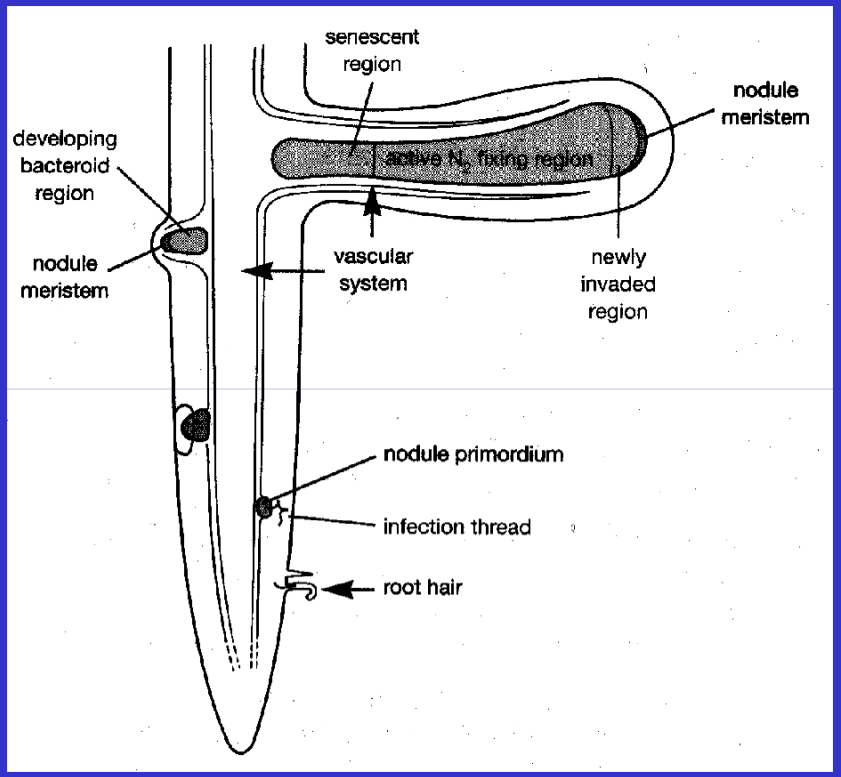


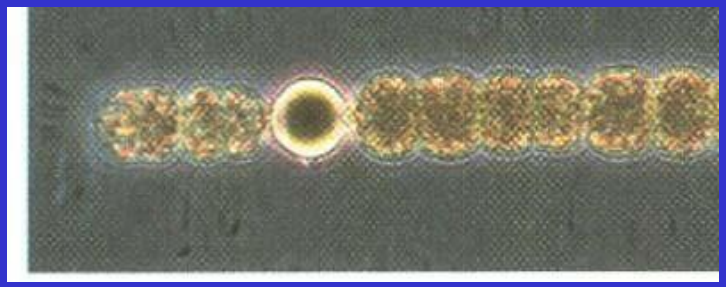
Vigna (chickpea)



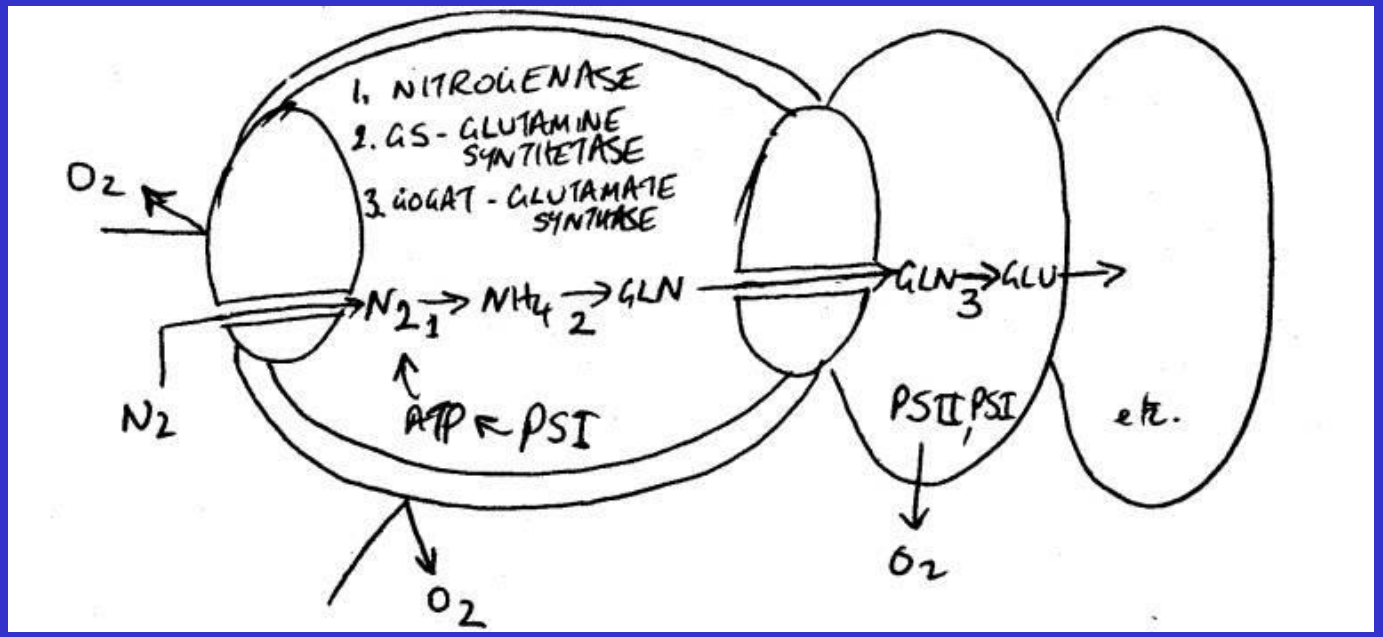
•Dentro do nódulo, o ambiente microaeróbico permite a bactéria sintetizar ATP; tecido vascular providência esqueletos de carbono para o metabolismo bacteriano e os aminoácidos produzidos para a exportação.







Cianobactéria e suas associações: Anabaena e heterocisto.



Heterocistos são células especificamente diferenciadas para manter o oxigênio baixo, com PSI providenciando ATP-O_2 livre e GS (glutamina sintase) separado de GOGAT (glutamato sintase) para promover exportação.

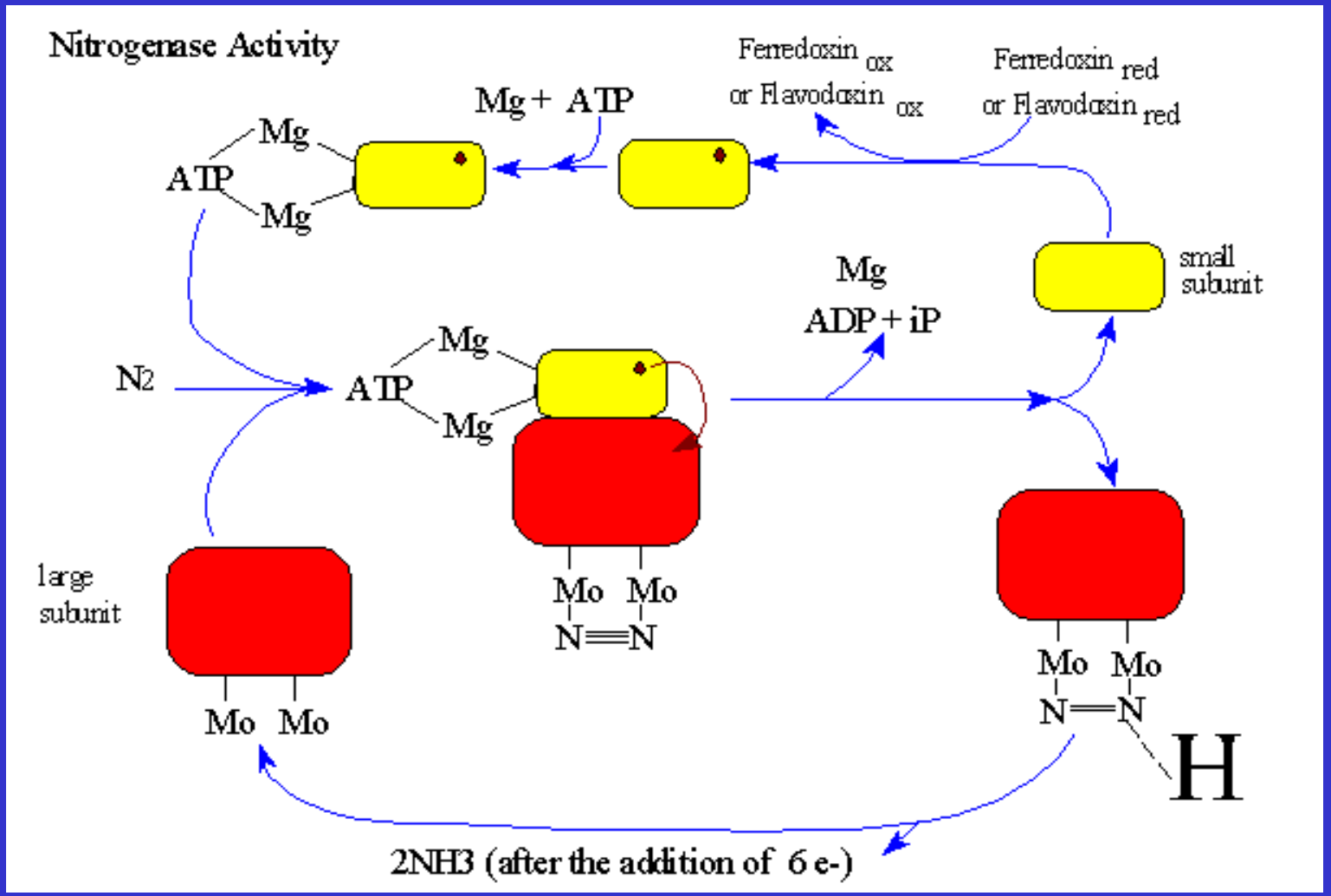
A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO

1. A reação de fixação do nitrogênio caracteriza-se pela *redução* do N_2 à NH_3 (NH_4^+). A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO



2. Para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, mediado por moléculas aptas a realizá-lo.
3. A enzima nitrogenase é formada por duas unidades protéicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons. Durante a reação de redução do N_2, a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina.
4. O modelo proposto para a evolução da reação pode ser entendido do seguinte modo:

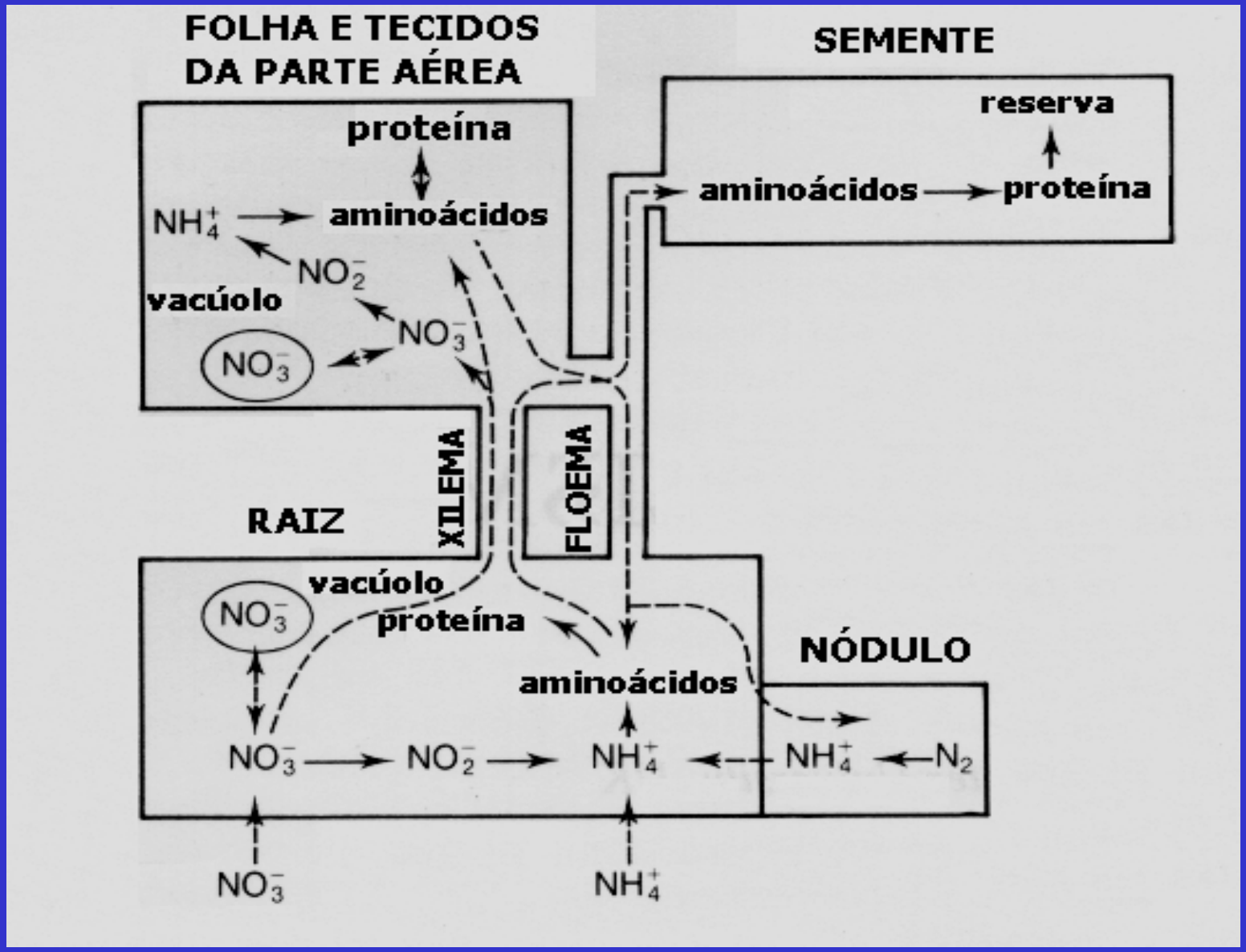
- A ferridoxina, na sua forma reduzida, transfere um elétron para a unidade Fe-proteína da nitrogenase.
- A Fe-proteína, então reduzida, doa o elétron recebido para a MoFe-proteína.
- A MoFe-proteína acumula os elétrons. Após 8 transferências, essa unidade terá acumulado 8 elétrons e, então, fará a redução do N_2 à NH_3.
- Para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de N_2 são necessários 8 (oito) elétrons e, portanto, 16 ATPs.


Nitrogenase Activity
Ferredoxin ox
or Flavodoxin ox
Ferredoxin red
or Flavodoxin red
Mg + ATP
Mg
ATP
Mg
small subunit
Mg
ADP + iP
N2
Mg
ATP
Mg
large subunit
Mo Mo
N=N
Mo Mo
N=N
H
Mo Mo
2NH3 (after the addition of 6 e-)

A LEGHEMOGLOBINA

1. As células das raízes da planta, bem como os próprios bacterióides, precisam de O_2 para a respiração celular. Mas o oxigênio (O_2) é altamente inibitório para a atividade da Nitrogenase (Nase).

O QUE AS PLANTAS FAZEM????


FOLHA E TECIDOS
DA PARTE AÉREA
SEMENTE
proteína
reserva
aminoácidos
proteína
NH_4^+
aminoácidos
NO_2^-
vacúolo
NO_3^-
NO_3^-
XILEMA
FLOEMA
RAIZ
vacúolo
NO_3^-
proteína
NÓDULO
aminoácidos
NO_3^-
NO_2^-
NH_4^+
NH_4^+
N_2
NO_3^-
NH_4^+

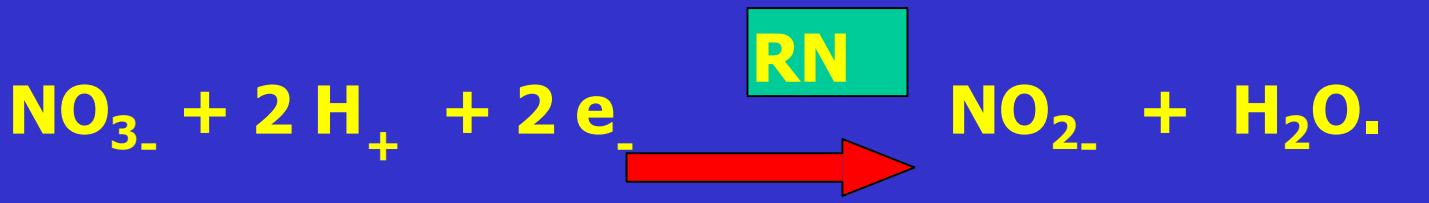
REDUÇÃO DO NITRATO

O nitrato é reduzido a amônia/amônio (NH_3/NH_4^+) por dois processos catalíticos:

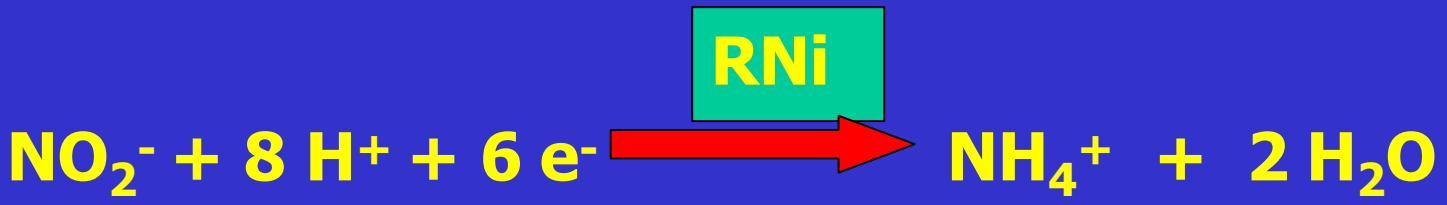
- **A) REDUTASE DO NITRATO.**
- **B) REDUTASE DO NITRITO.**

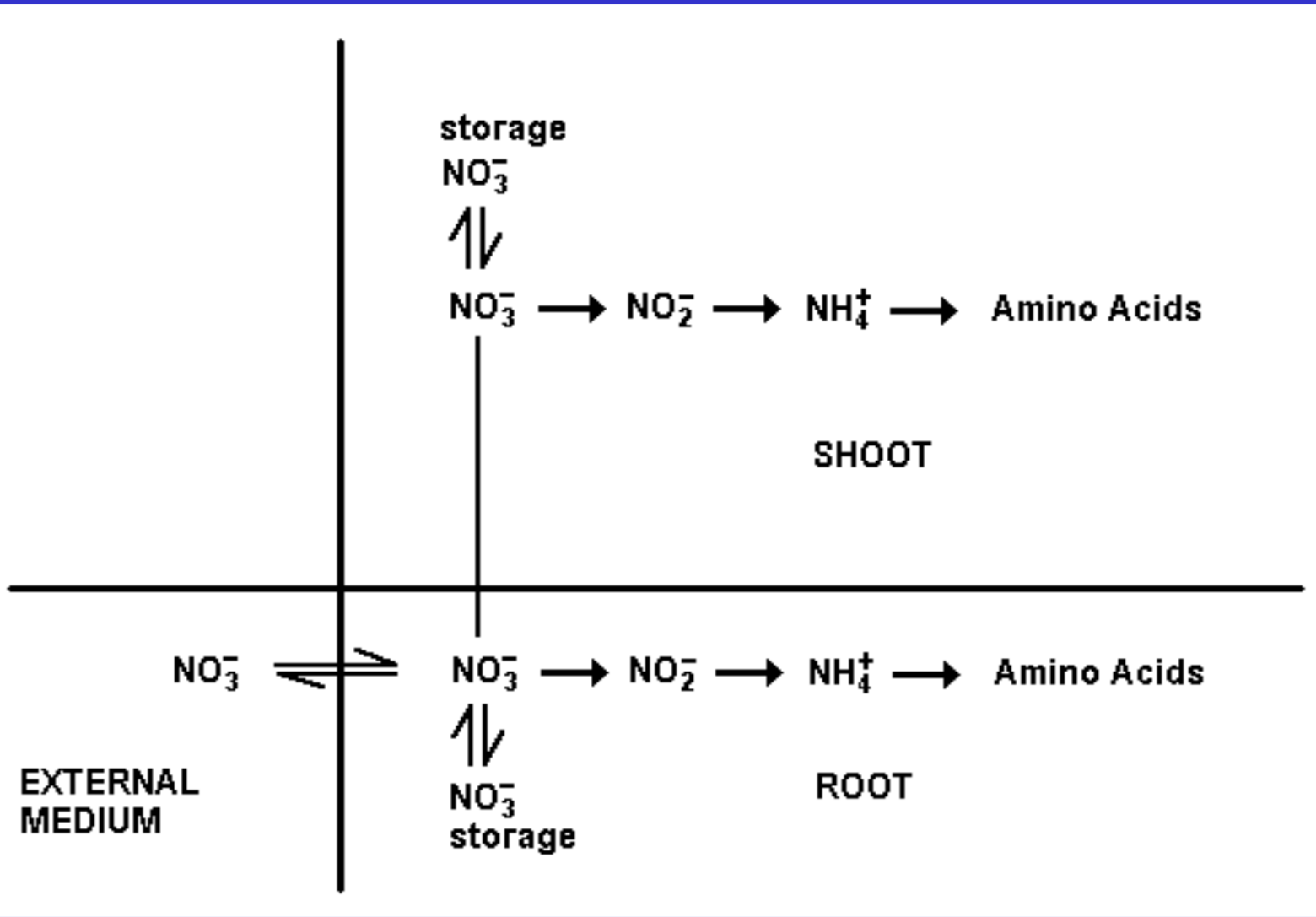
Esta redução pode ocorrer na raiz e/ou folha, dependendo da espécie, idade e suprimento de NO_3^-.

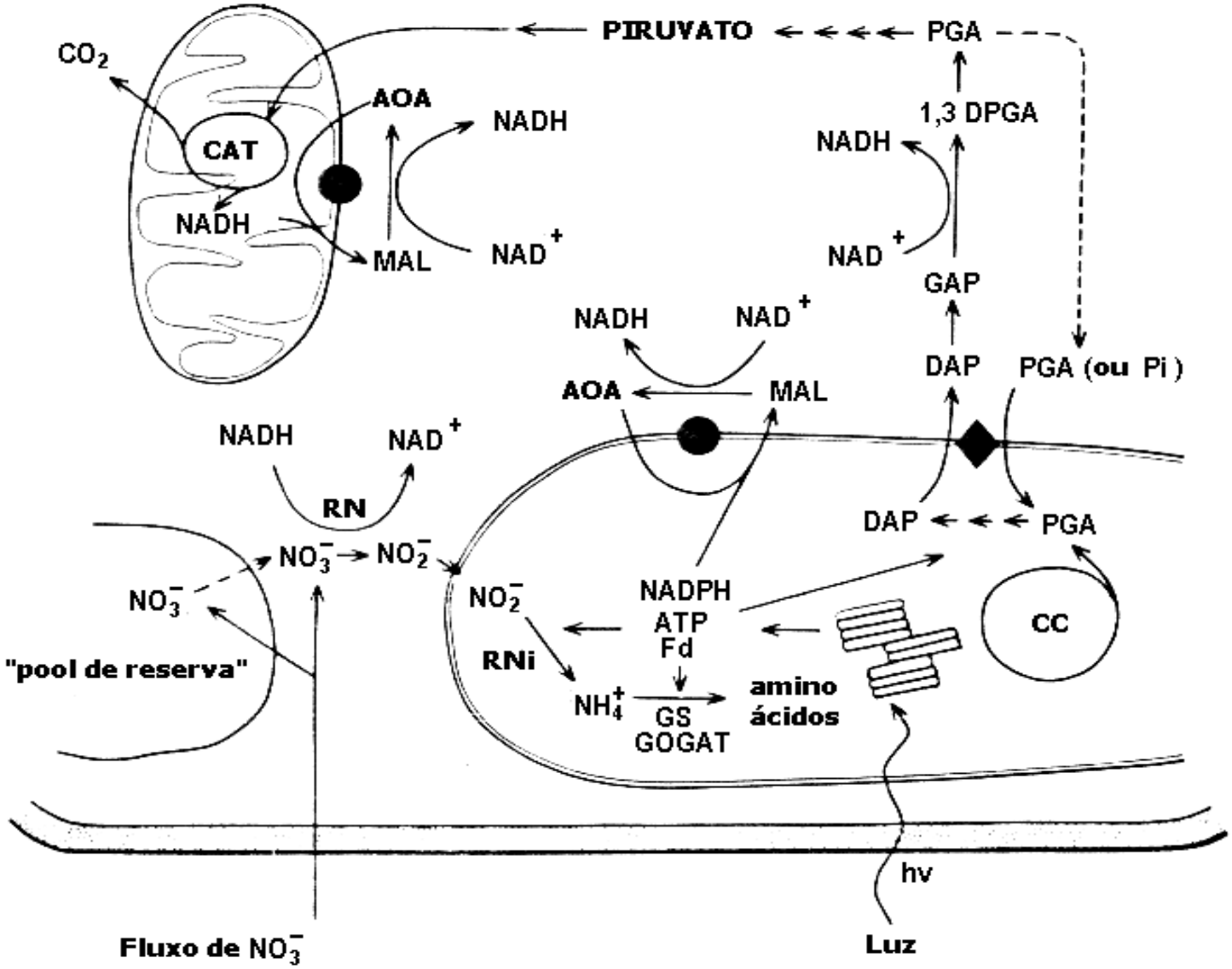
NO CITOSOL



NO CLOROPLASTO OU PLASTÍDEO

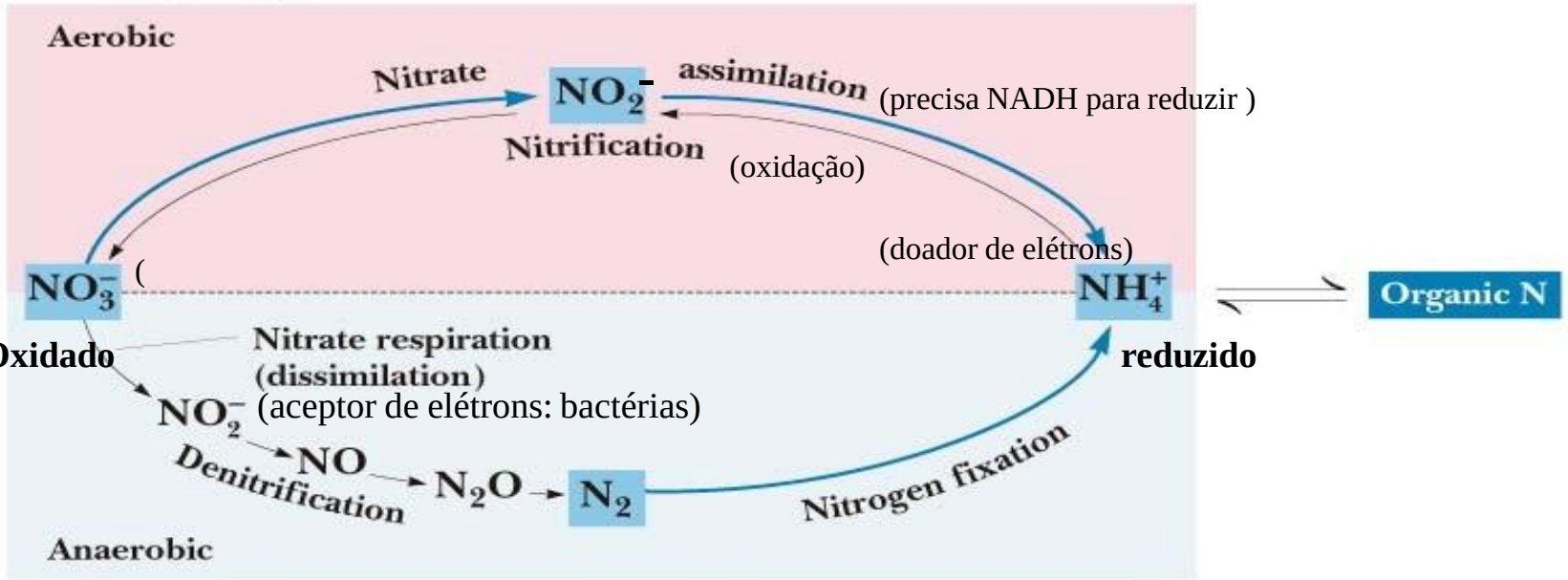



storage
NO_3^-
NO_3^- → NO_2^- → NH_4^+ → Amino Acids
SHOOT
NO_3^-
NO_3^- → NO_2^- → NH_4^+ → Amino Acids
EXTERNAL MEDIUM
NO_3^- storage
ROOT

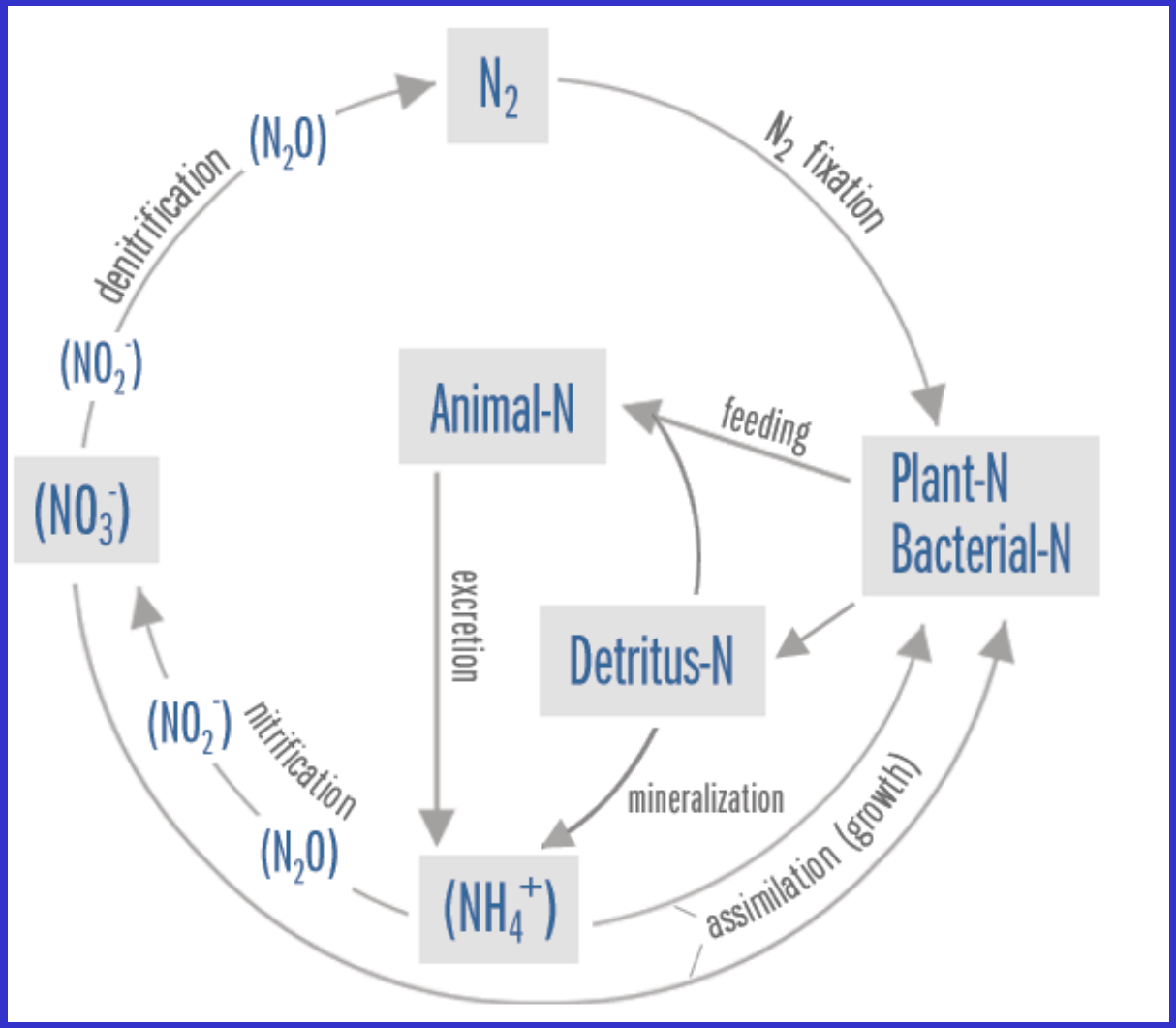

PIRUVATO
PGA
CO_2
AOA
NADH
CAT
1,3 DPGA
NADH
NADH
NAD^+
MAL
NAD^+
GAP
NADH
NAD^+
DAP
PGA (ou Pi)
AOA
MAL
NADH
NAD^+
RN
DAP
PGA
NO_3^-
NO_2^-
NO_3^-
NO_2^-
NADPH
ATP
Fd
CC
"pool de reserva"
RNi
NH_4^+
GS
GOGAT
amino
ácidos
hv
Fluxo de NO_3^-
Luz

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 26.1

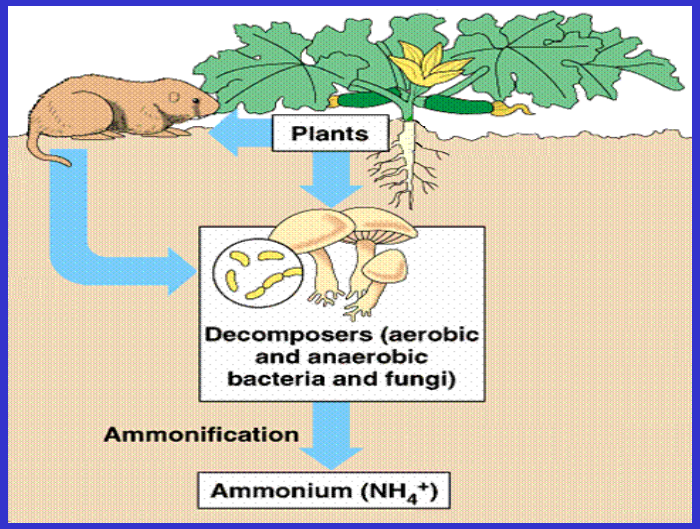
The Nitrogen Cycle:



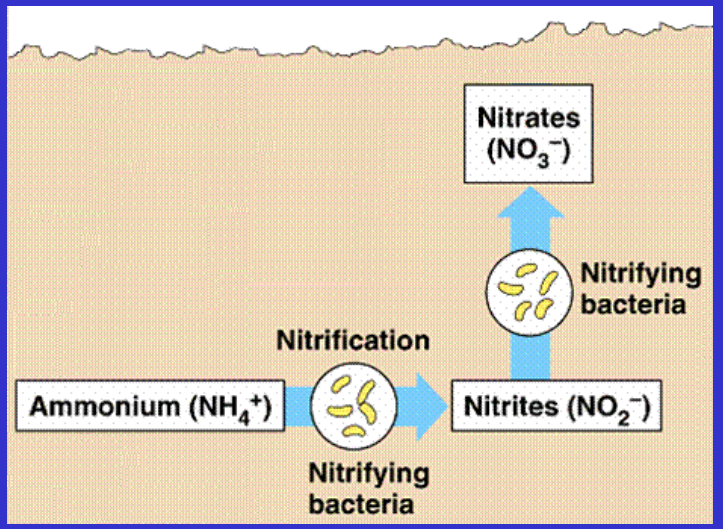
Saunders College Publishing


N_2
N_2 fixation
Plant-N
Bacterial-N
feeding
Animal-N
excretion
Detritus-N
mineralization
(NH_4^+)
assimilation (growth)
(NO_2^-)
nitrification
(N_2O)
(NO_3^-)
(NO_2^-)
denitrification
(N_2O)

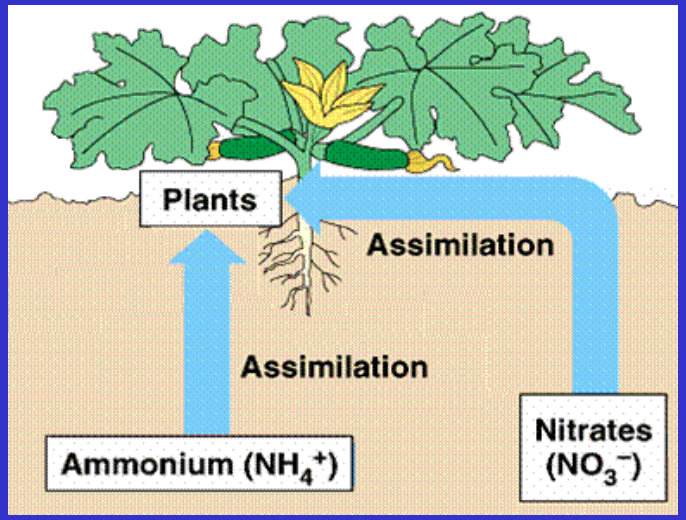
Conversão do nitrogênio orgãnico para amônia



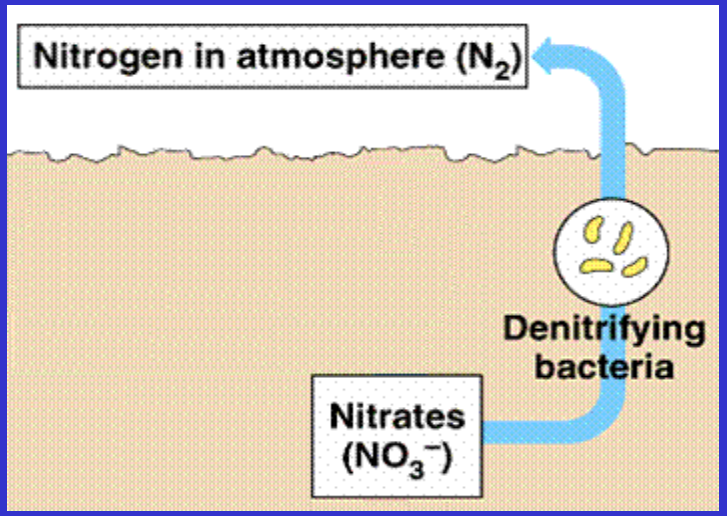
Conversão de amônia para nitrato



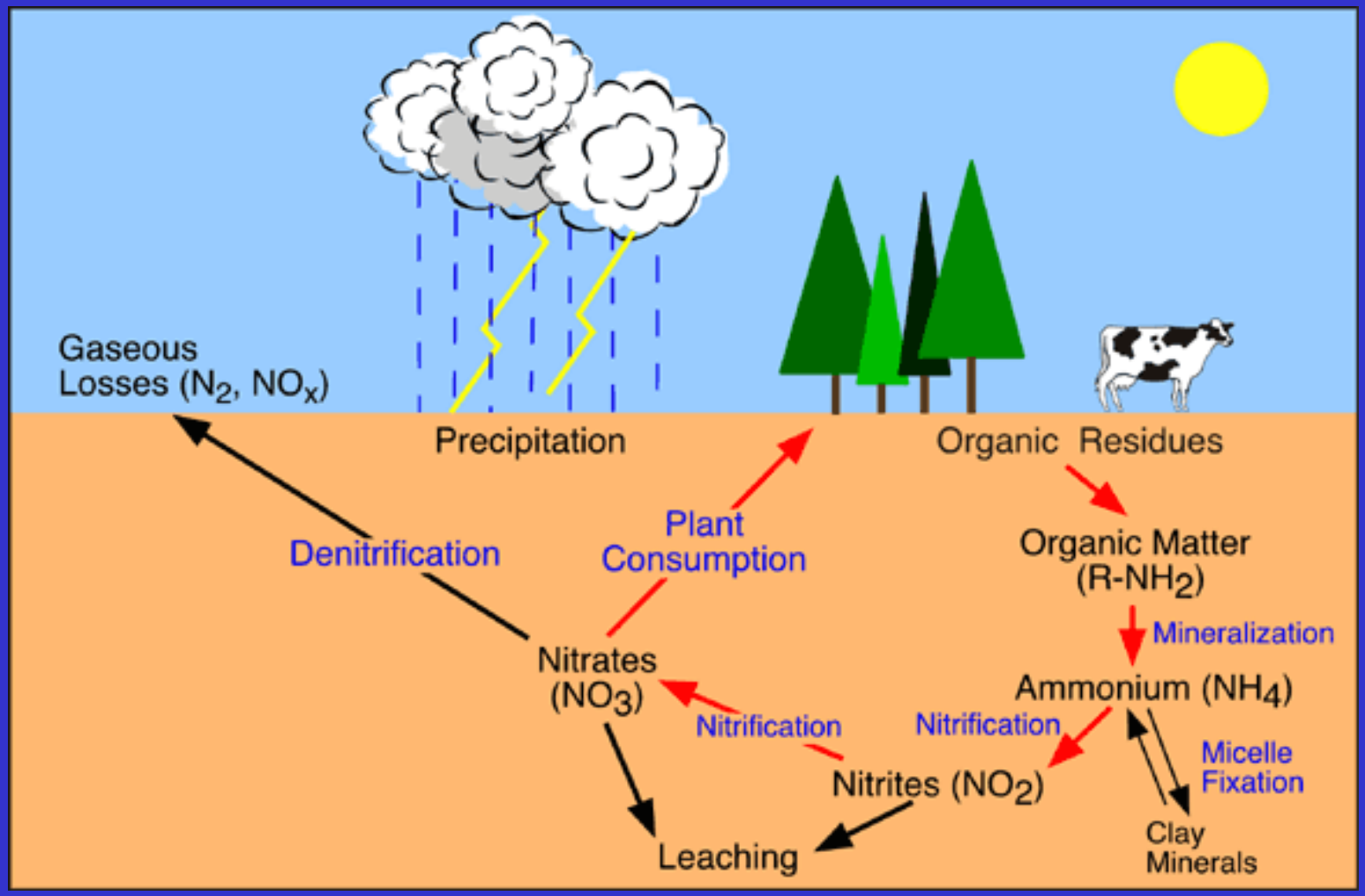
NO_3^- or NH_4^+ ⇨ orgânico N (amino ð



Conversão de **nitrato** para **N gasoso**



O ciclo de nitrogênio



Assimilação do nitrato

Elétrons são transferidos do NADH para o nitrato

- Via involvida -SH da enzima, FAD, citocromo b e MoCo – todas proteínas ligadas
- Nitrato é reduzido para nitrito, N_2O, e finalmente N_2.

Nitrito Redutase

A luz dirige a redução das ferredoxinas e fluxo de elétrons para 4Fe-4S e siroheme então para nitrito.

- Em plantas superiores, nitrito redutase está em cloroplastos, mas nitrato redutase é citosolico.

Sequence Organization of the Nitrate Assimilation Enzymes

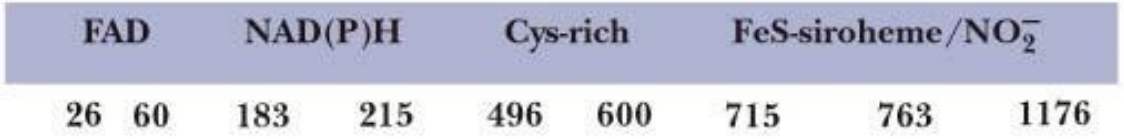
Plant and Fungal Nitrate Reductases
(~200 kD homodimers)



Plant Nitrite Reductases
(63 kD monomers)



Fungal Nitrite Reductases
(~250 kD homodimers)

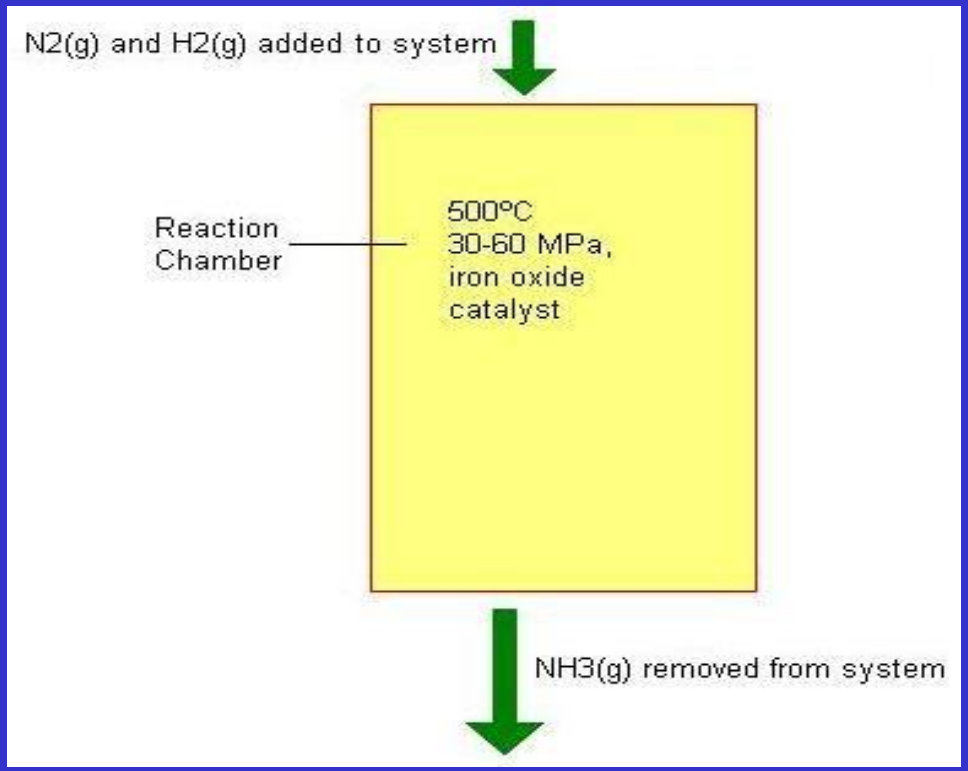


- **Haber process: Fixação industrial do Nitrogênio**

⇨ Manufatura industrial de amônia

⇨ 40% de fixação global de N

- $N_2 + 3H_2 \xrightarrow{\text{Catálise metálica}} 2NH_3$



Enzimologia da fixação do N

Apenas ocorre em procariotos

- *Rhizobia* fixa nitrogênio em associação simbiótica
- *Rhizobia* fixa N para as plantas a as plantas *Rhizobia* fornece com substratos de carbonos
- Eles requerem nitrogenase, um redutor (ferredoxina reduzida), ATP, condições livres de oxigênio e controles regulatórios.

Complexo Nitrogenase

Dois componentes proteicos: nitrogenase redutase

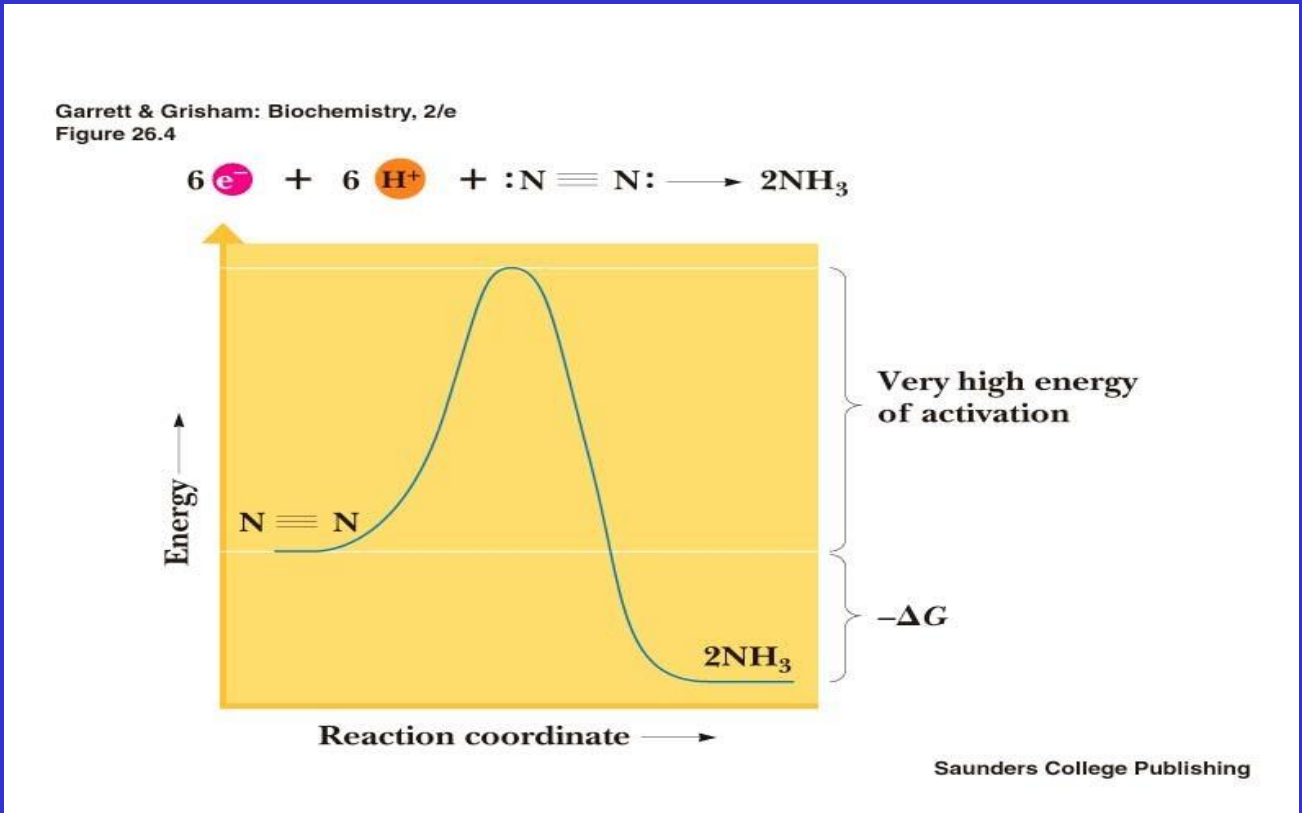
and nitrogenase

- 4ATP são requeridos por par de elétrons transferidos.
- Redução de N_2 para $2NH_3 + H_2$ requerem 4 pares de elétrons, então 16 ATP são consumidos por N_2

•Porém, a energia de ativação para quebrar a tripla ligação N-N é enorme

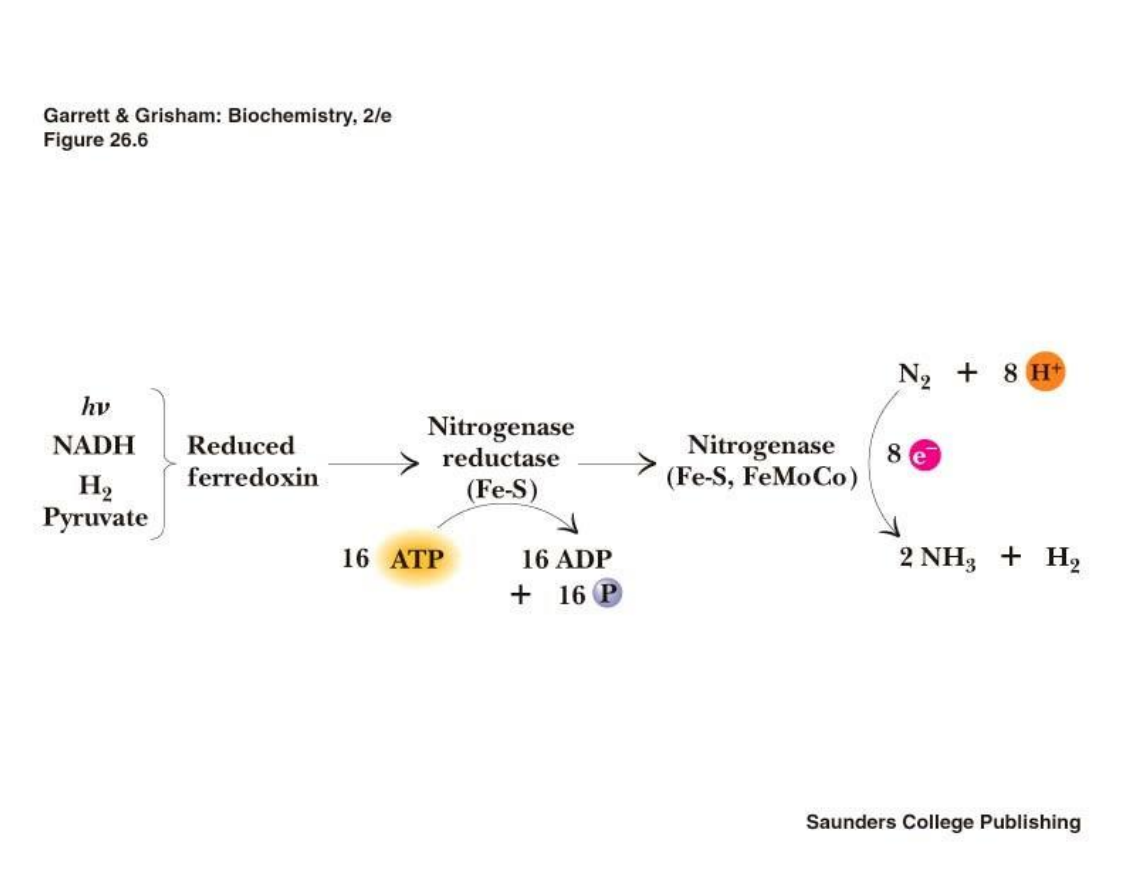
•16 ATP providenciam a energia de ativação necessária

•A redução de N_2 para amônia é termodinamicamente favorável

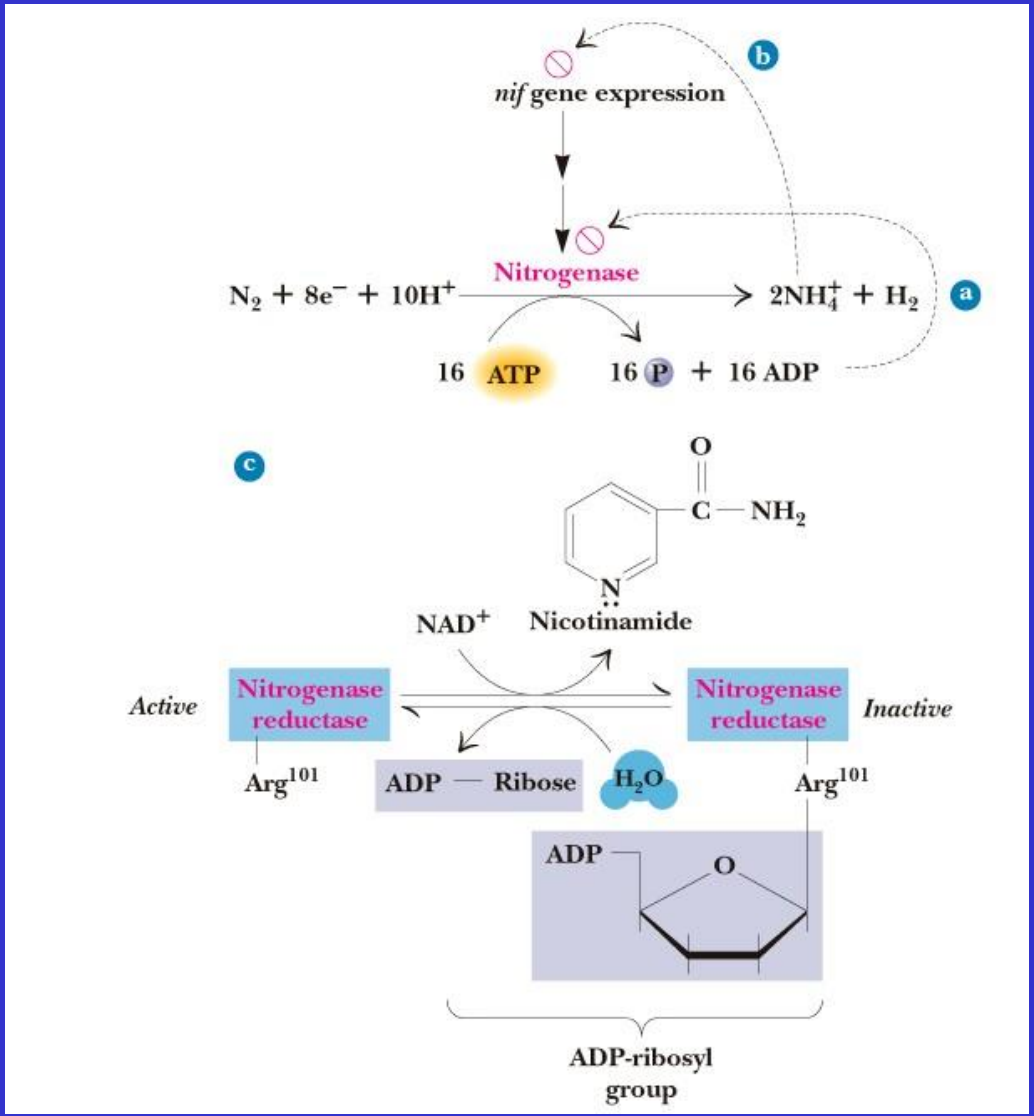


Nitrogenase

- A velocidade enzimática da nitrogenase é lenta- 12 pares de e^- por segundo, exemplo, apenas três moléculas de N por segundo.



Regulação da Nitrogenase



O destino do amônio

Três reações em todas as células

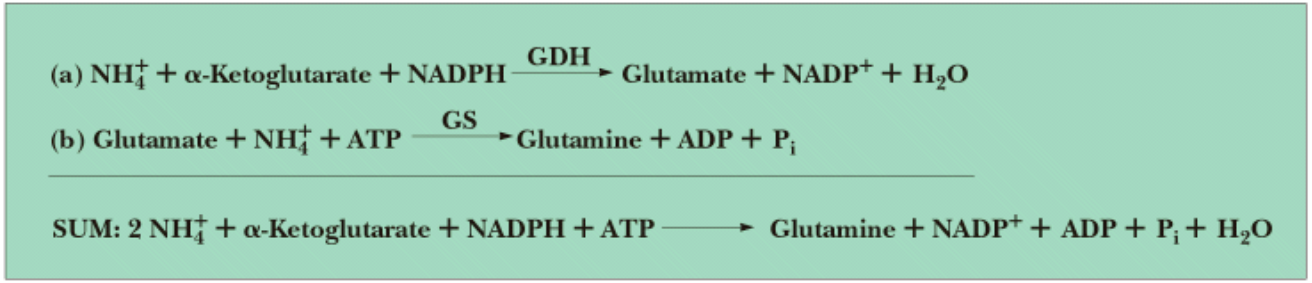
- Carbamoil-fosfate sintetase I
  - dois ATP requeridos – um para ativar bicarbonato, um para fosforilar carbamato
- Glutamato desidrogenase
  - aminação redutiva de alpha-cetoglutarate para glutamato
- Glutamina sintetase
  - Amidação ATP-dependente de glutamate para glutamina

Assimilação de amônio

Duas principais vias

- Rota principal : Glutamato desidrogenase/Glutamina sintase em organismos ricos em N
- Rota Secundaria : Glutamato sintase/glutamate:oxo-glutarate amino transferase/Glutamina sintase em organismos que enfrentam limitação no N.

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 26.11



Saunders College Publishing