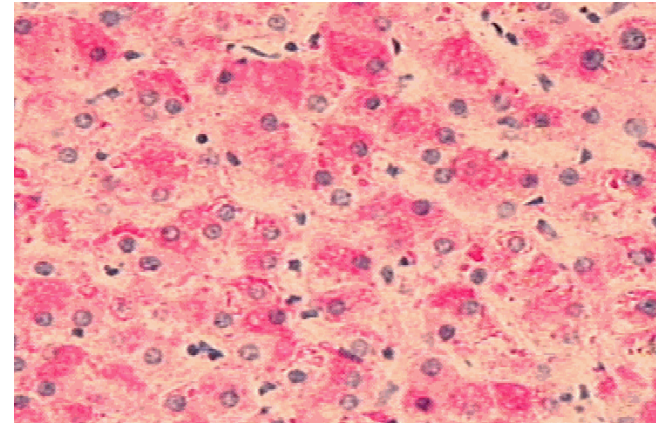


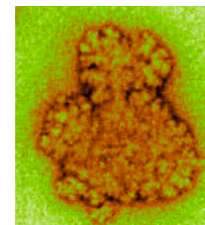
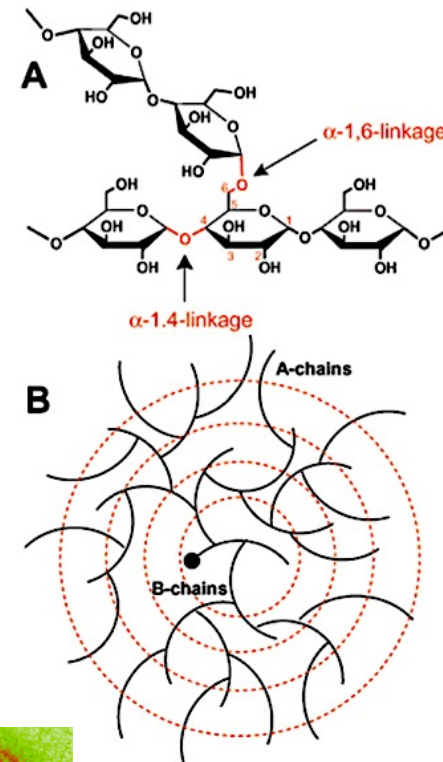
# GLIKOGENSKI DELCI

- histološke raziskave:
  - subcelularni delci
  - glikogen skupaj z encimi
- izolirani glikogen polidisperzen, skupaj z encimi:
  - sposobni konverzije glikogena do laktata
  - 1,3  $\mu\text{mol}/\text{min}/100 \text{ mg}$  proteina
- v mišici:
  - 40  $\mu\text{mol}/\text{min}/100 \text{ mg}$  proteina
- razvejan polimer
  - zaloga energije
- metabolizem glikogena hormonsko uravnavan
  - insulin
  - glukagon
  - adrenalin
- centralni encim glikogen sintaza/glikogen fosforilaza
  - kovalentno regulirana
  - alosterično regulirana
- Napredek v razumevanju v zadnjih 10 letih:
  - 3D struktura glikogenina in glikogen sintaze
  - raziskave na genetsko spremenjenih miših
  - lizosomska razgradnja glikogena
  - fosforilacija glikogena in bolezni



# GLIKOGEN - struktura

- homopolimer
- 120.000 glukoznih enot
- $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) in  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) povezave
- mesta razvejanosti niso določena (povprečje 13 ostankov)
  - B verige (2 razvejanji)
  - A-verige nerazvejani
- nahajajo v celicah, ki glikogen potrebujejo
  - $\alpha$ -delci, večji, v jetrih
  - $\beta$ -delci v mišici, v obliki rozete
  - ledvice, jetra, možgani
- mehanizem agregacije ni poznan
- polimer glukoze s modifikacijami
  - vezan glukozamin
  - fosforilacija



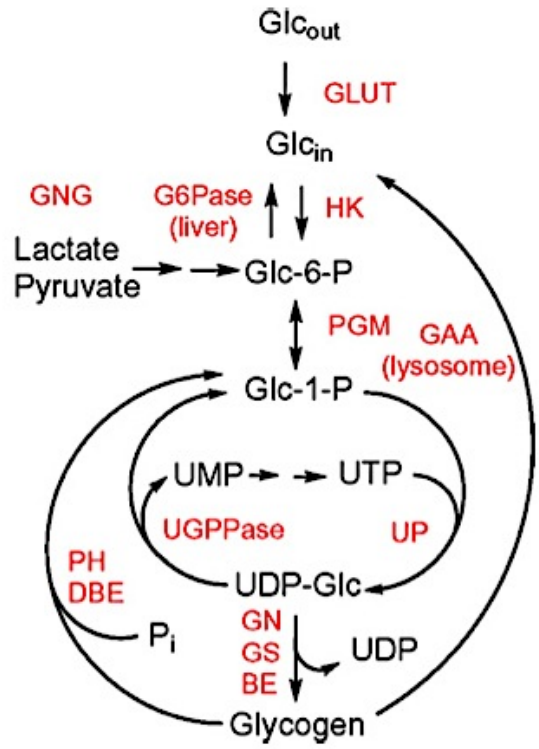
# GLIKOGENSKI DELCI

- metabolni encimi (vijola):
  - glikogenin(GN),
  - glikogen sintaza (GS)
  - fosforilaza (PH)
  - encimi razvejanja (DBE)
- protein kinaze (rdeče)
  - fosforilaza kinaza (PH kinaze)
  - AMPK (AMP-activated protein kinase)
- fosfataze (zeleno)
  - katalitična podenota tipa-1 (PP1c)
  - laforin (LF)
- PP1 glikogen-tarčne podenote (modro)
  - RGL, GL and PTG
- fosforilaza kinaza, Stbd1 in RGL se vežejo na membrane
- številne dodatne protein-protein interakcije

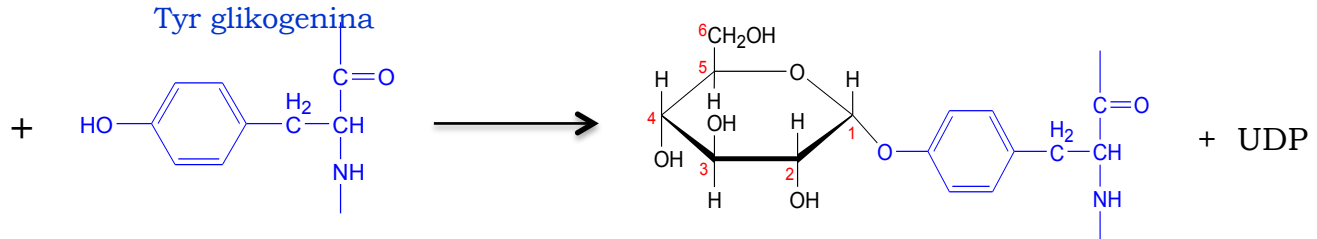
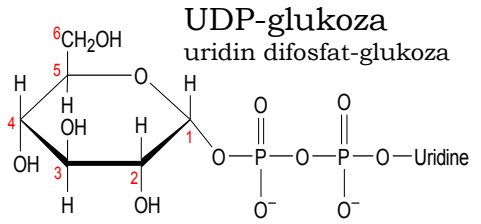


# GLIKOGEN – sinteza glikogena

- transport glukoze v celico
- GLUT transporter/insulin
- sinteza glikogena:
  - mišice, jetra
  - možgani, ledvice, srce
- UDP-glukoza – neposredni glukozni donor glukoze
- HK, G6Paza, PGM encimi omogočijo nastanek UDP-glukoze
- UGP-aza encim, ki regulira nivo UDP-glukoze



Glc(out) extracellular glucose  
 Glc(in) intracellular glucose  
 HK, hexokinase  
 G6Pase, glucose- 6-phosphatase  
 PGM, phosphoglucomutase  
 UP, UDP-glucose pyrophosphorylase  
 UGPPase, UDP-glucose pyrophosphatase  
 GN, glycogenin  
 GS, glycogen synthase  
 BE, branching enzyme  
 PH, glycogen phosphorylase  
 DBE, debranching enzyme  
 GAA, lysosomal  $\alpha$ -glucosidase  
 GNG, gluconeogenesis

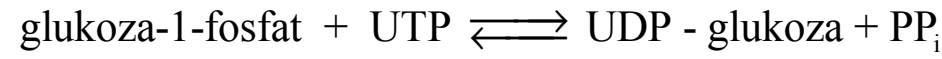


# GLIKOGEN – sinteza glikogena

## glycogenin

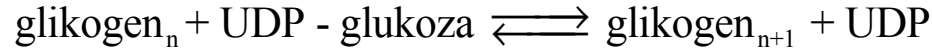
37 kD protein samega sebe glikozilira

## UDP-glukoza-pirofosforilaza



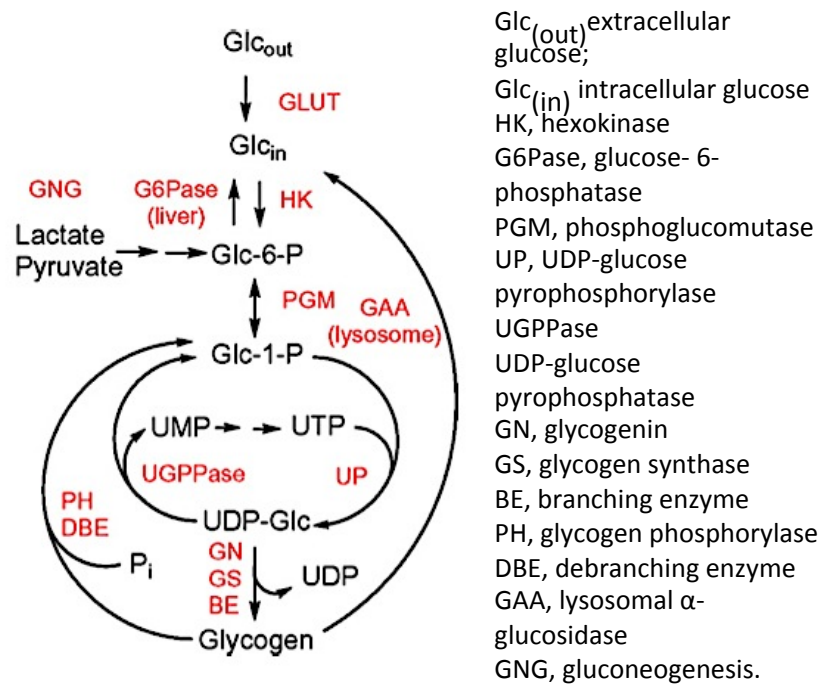
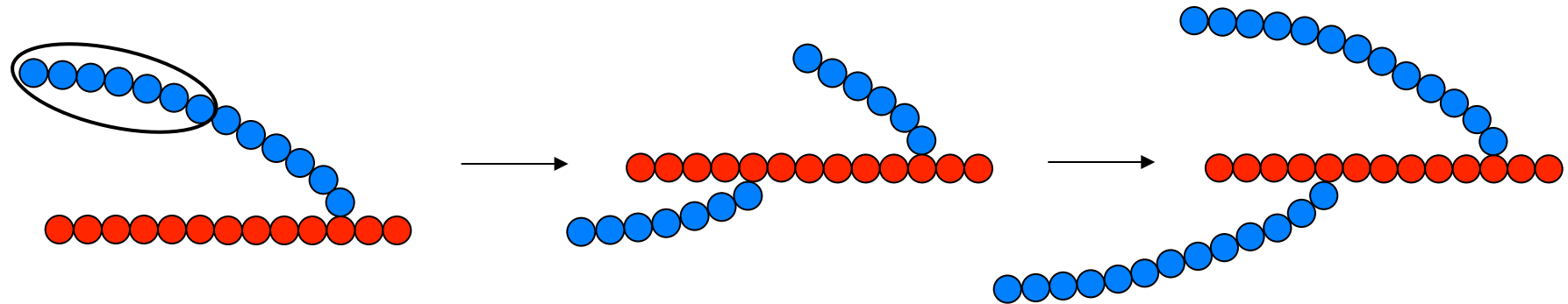
## glikogen-sintaza

$\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) vezava



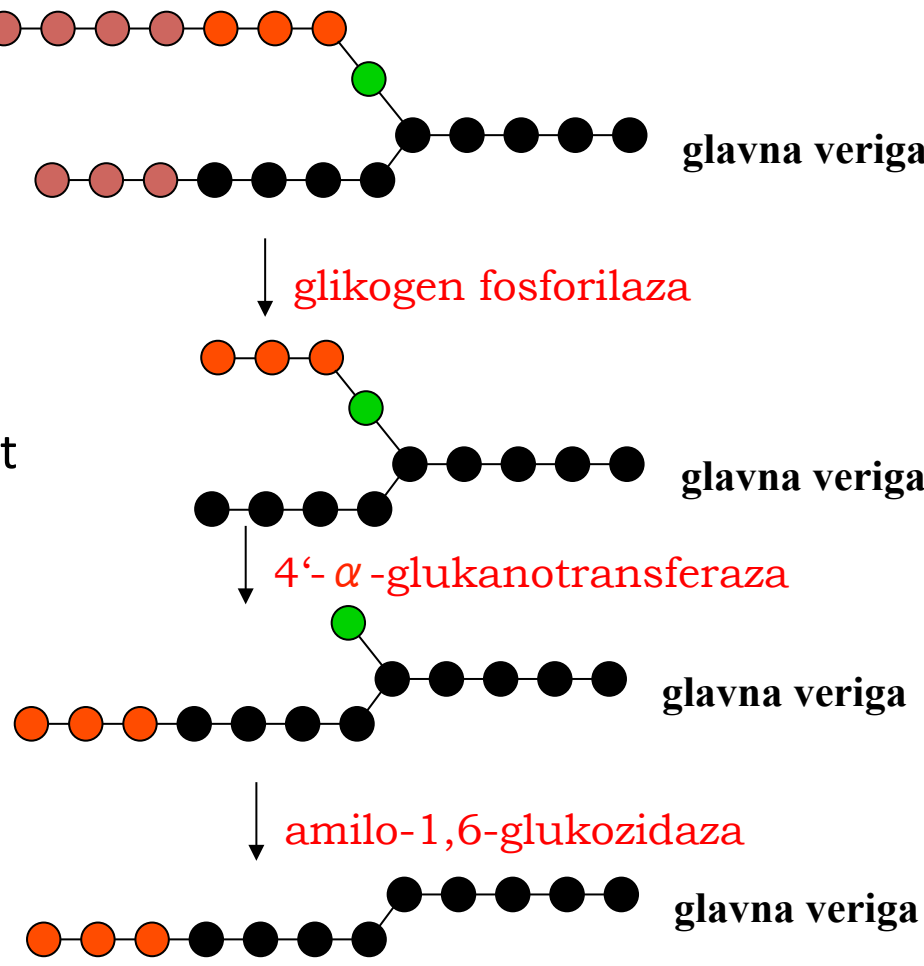
## encimi za razvejanje (amilo-(1,4 $\rightarrow$ 1,6) transglikozilaza)

$\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) vezava

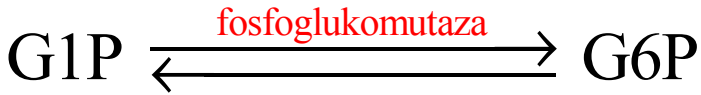
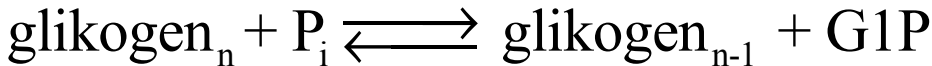


# GLIKOGEN – razgradnja glikogena

- razgradnja glikogena za namene:
  - energije
    - v mišicah
    - stimulus m. aktivnost,  $\uparrow$ cAMP,  $\uparrow$ Ca<sup>2+</sup>
  - za pridobivanje glukoze za transport v kri
    - v jetrih
    - stimulus lakota,  $\uparrow$ glukagon

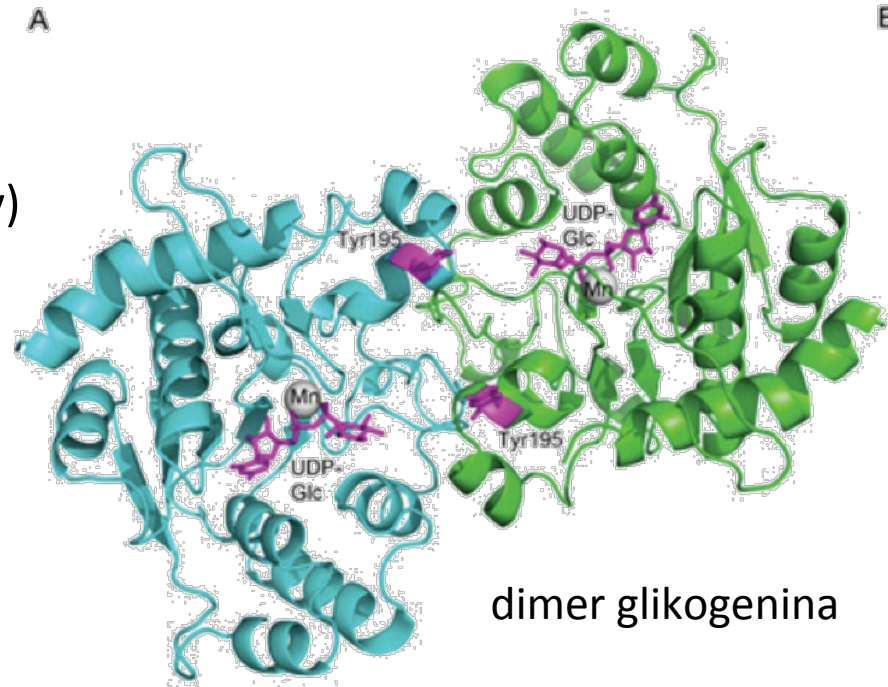


• encimi vpleteni v razgradnjo:



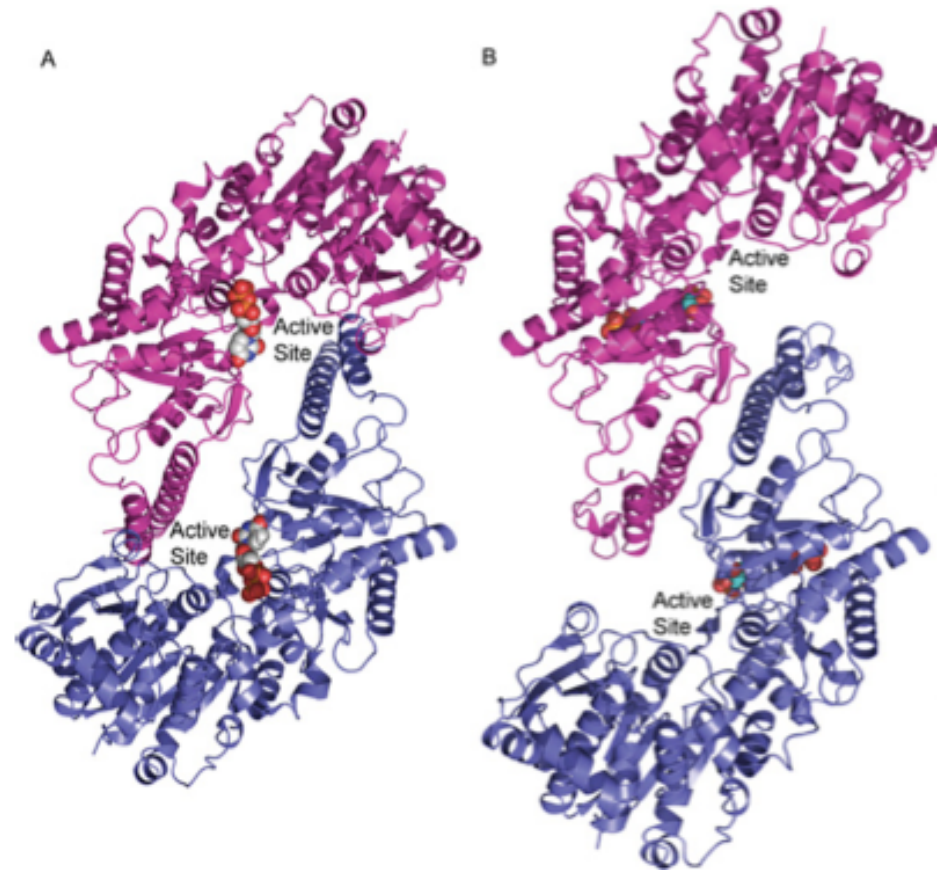
# GLIKOGENIN

- glukozilira samega sebe
  - prenos glukoze iz UDP glukoze na Tyr
  - $\alpha$  (1→4) glikozidna vez (do 20 ostankov)
- sledi delovanje glikogen sintaze
- dve obliki glikogenin 1 in -2
  - vezava UDP-glukoze preko  $Mn^{2+}$
  - mutacija vodi do neaktivne oblike
- asociacija glikogenina in glikogen sintaze
  - preko glukozilnega “primerja” v aktivnem mestu
  - protein-protein interakcija (C-konec glikogenina)



# GLIKOGEN SINTAZA

- najpomembnejši encim za sintezo  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) glikozidne vez iz UDP-glukoze kot donorja
  - 2 gena GS1 in GS2
  - nima kovinskega iona
  - dimer
- kovalentna modifikacija
  - fosforilacija na več mestih
  - defosforilacija z PP1c
  - O-vezan N-acetilglukozamin
  - acetilacija Lys (do 5)
- GS alosterično regulirana
  - aktivirana z G6P
  - negativno z kovalentno fosforilacijo
- encimski mehanizem še ni poznan

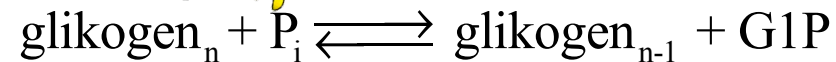
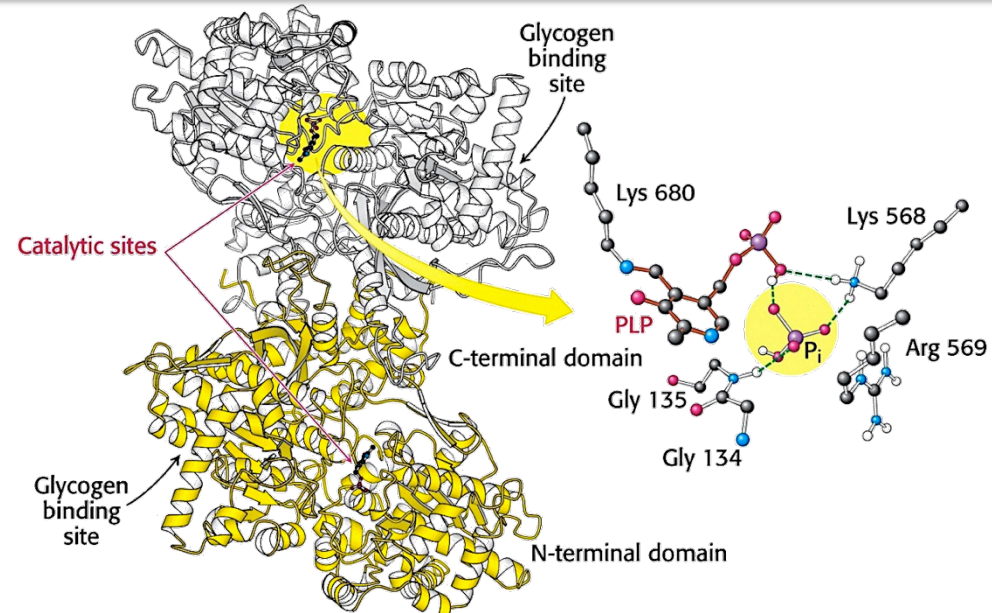


Velike strukturne spremembe v GS (zaprta oblika) ob vezavi G6P (odprta oblika)

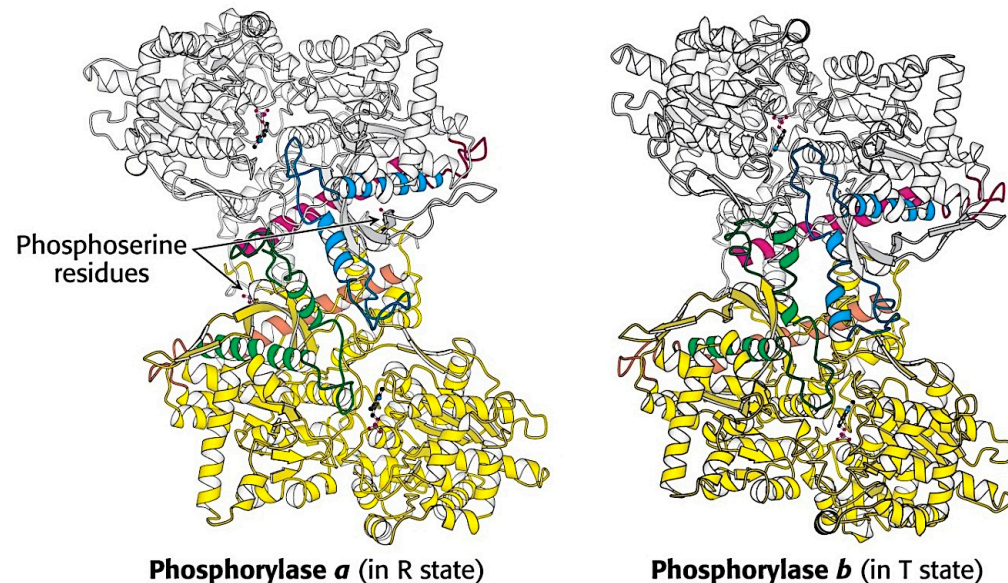


# GLIKOGEN FOSFORILAZA

- sprosti sladkorne enote do 5 pred razvejanjem
- učinkovit encim
  - dimer dveh podenot 842 aa
  - N- in C- domeni
  - katalizira regulatorno stopnjo pri razgradnji glikogena- odcepi G1P
  - v aktivnem mestu PLP (piridoksal fosfat)
  - vezavno mesto za glikogen 30Å oddaljeno od katalitičnega mesta



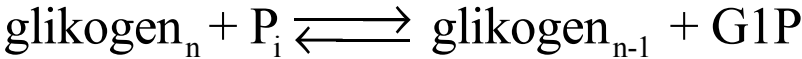
- reguliran z:
  - alosteričnimi interakcijami
    - negativno reguliran z ATP, G6P, glukozo
    - aktiviran z AMP
  - kovalentnimi modifikacijami
    - fosforilacija Ser14 (a oblika ↑ aktivna)
    - fosforilacija na več nivojih
    - defosforilacija (b oblika ↓ aktivna)



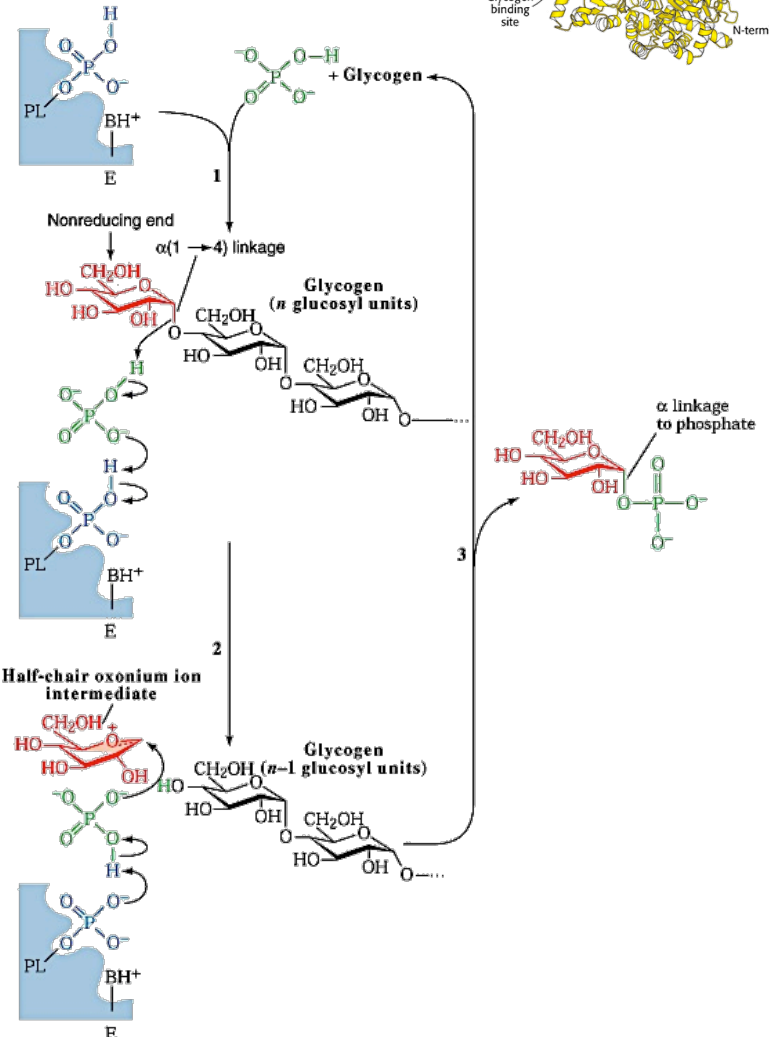
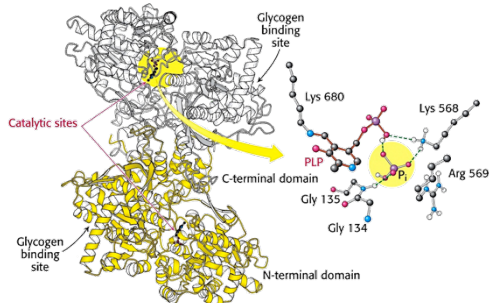
Phosphorylase *a* (in R state)

Phosphorylase *b* (in T state)

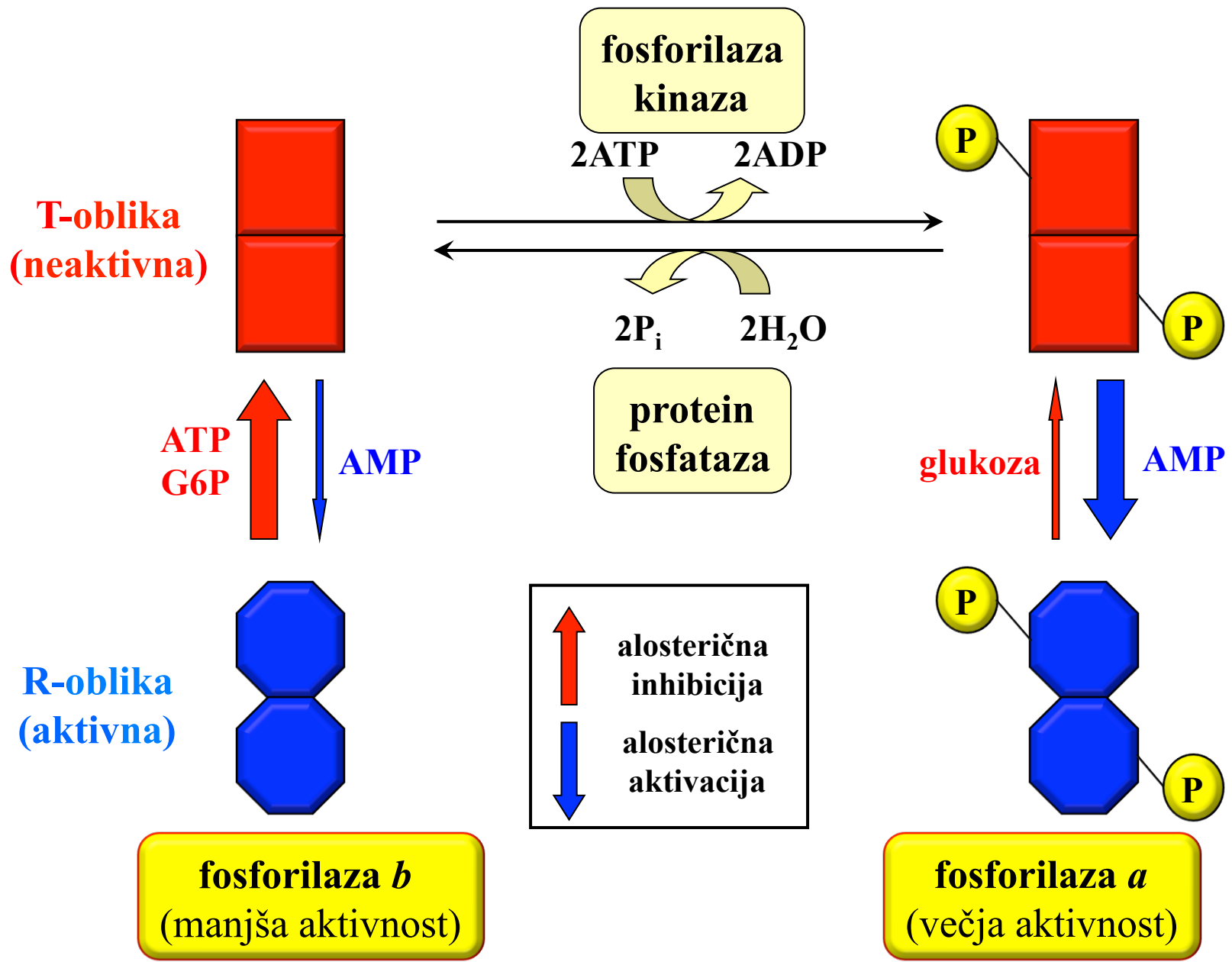
# GLIKOGEN FOSFORILAZA-mehanizem reakcije



- v aktivnem mestu PLP (piridoksal fosfat)
- BH<sup>+</sup> pozitivno nabita ak (Lys) za nevtralizacijo naboja
- nastanek trojnega kompleksa E · Pi · glikogen
- tvorba oksonijevega intermedjata
- kislinsko bazna kataliza z Pi ob pomoči PLP
- konformacija polstola
- reakcija Pi z oksonijevim ionom do D-glukoze -1-fosfata
- glikogen se vrne nazaj v cikel razgradnje
- vezavno mesto za glikogen oddaljeno od katalitičnega mesta omogoča sistem, da glikogen ostane vezan



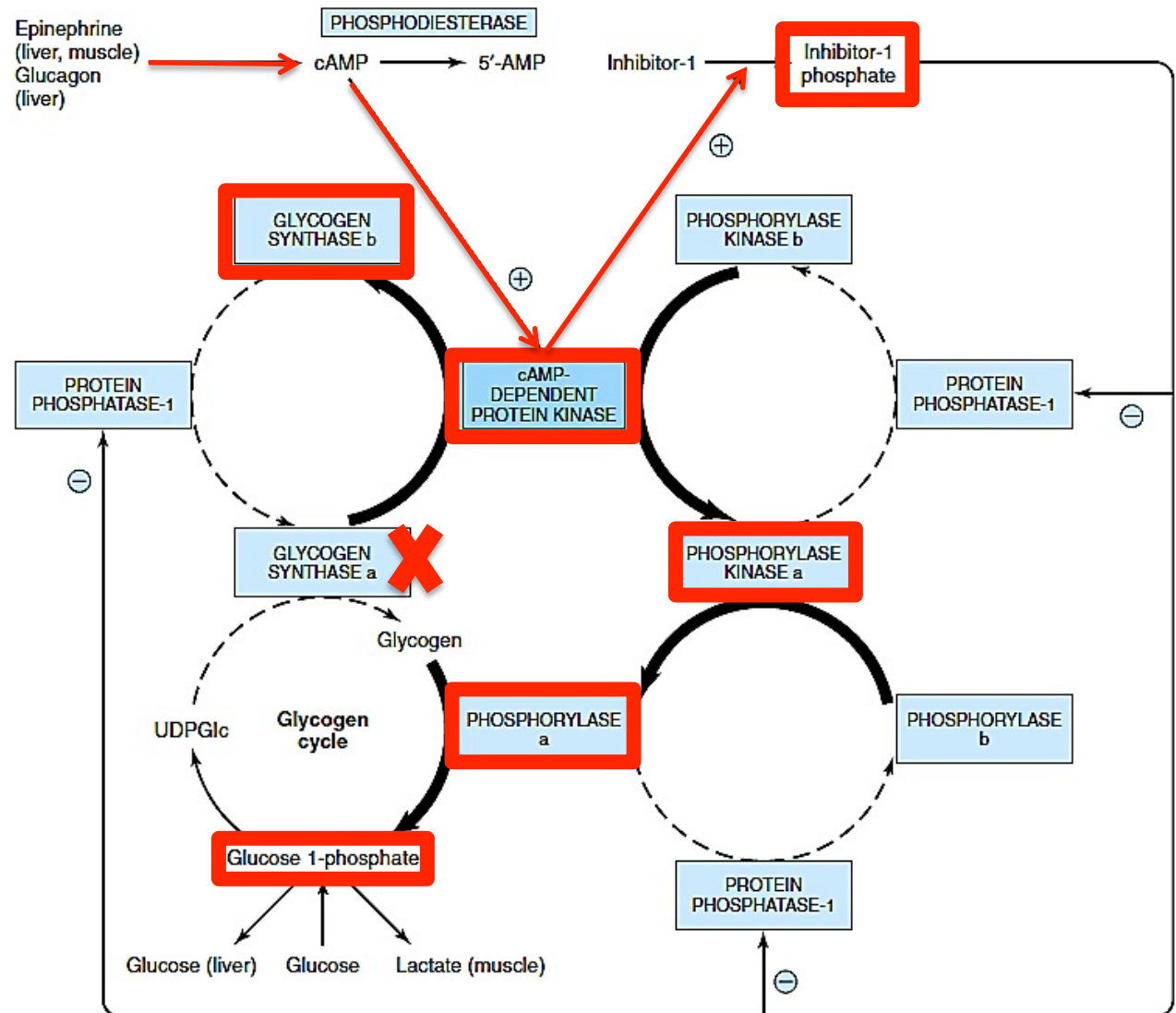
# GLIKOGEN FOSFORILAZA



# Recipročna regulacija glikogen sintaze in fosforilaze kinaze

## Rabimo sladkor

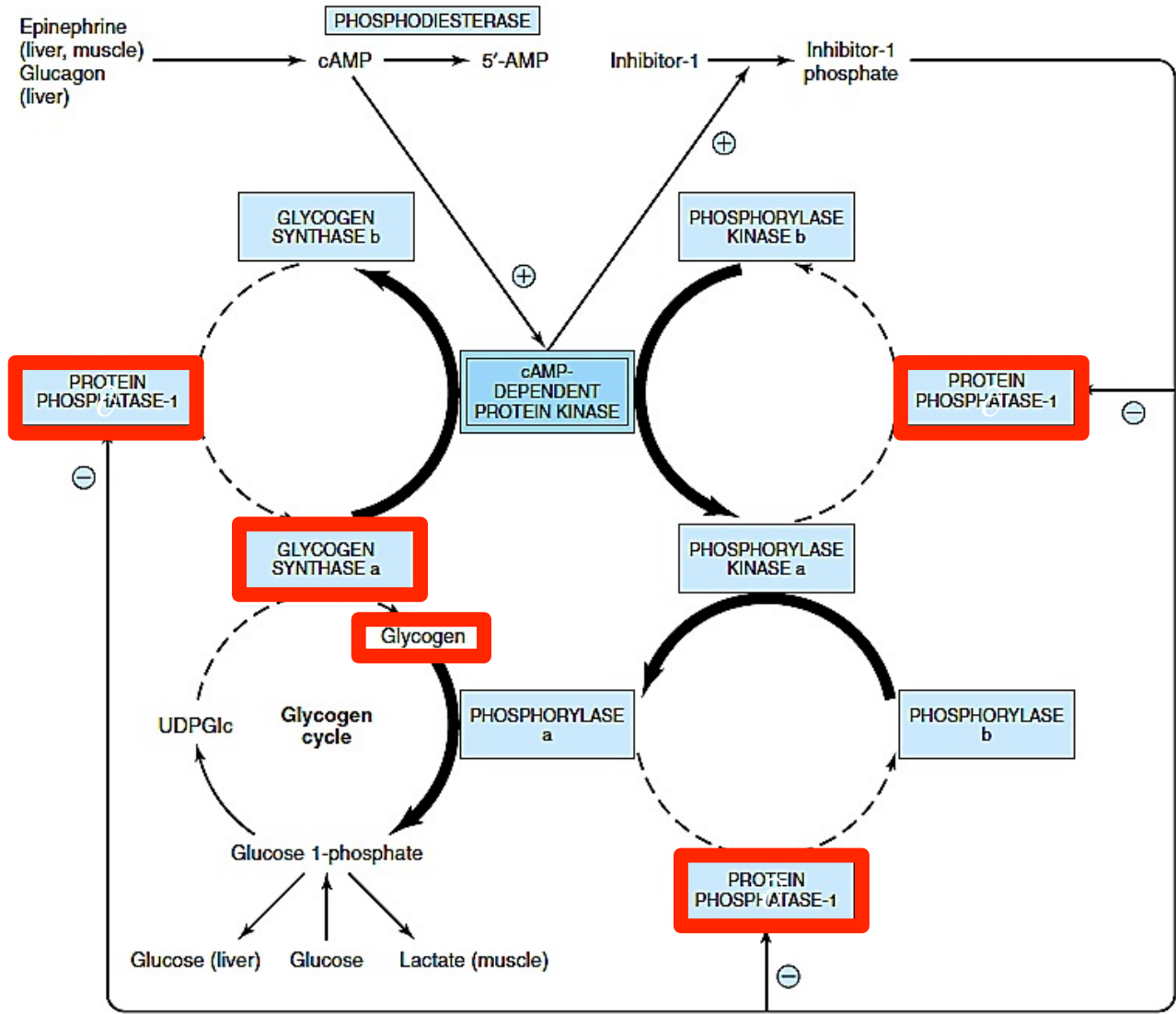
- $\uparrow$ cAMP
- inaktivacija glikogen sintaze (preko fosforilacije)
- aktivacija fosforilaze kinaze
- aktivacija fosforilaze b



# Recipročna regulacija glikogen sintaze in fosforilaze kinaze

## Rabimo glikogen

- ↓ cAMP
- deluje glikogen sintaza



Fosforilaza kinaza in glikogen sintaza:

- se lahko reverzibilno fosforilirata na več kot enem mestu z drugimi kinazami in fosfatazami (večmestna fosforilacija)
- alosterična regulacija
- hormonska kontrola
  - jetra (glukagon)
  - mišice (adrenalin)
- ločeno delovanje, vsak encim svoja kaskada

obolenje	simptomi
Tip I pomankanje <b>glukoze-6-fosfataze</b> (von Gierkevo obolenje)	kot posledica akumulacije glikogena hipoglikemija povečana jetra
Tip IV pomankanje <b>encimov za razvejanje</b> (Andersenovo obolenje)	nepravilno delovanje jeter in zgodnja smrt
Tip V pomankanje <b>glikogen-fosforilaze</b> v mišicah (Andersenovo obolenje)	mišični krči
Tip VII pomankanje <b>fosfofruktokinaze</b> v mišicah	nezmožnost gibanja
Laforovo obolenje <b>mutacija laforina</b> nerazvejani, netopni glikogen v celicah ganglijev	nevrodegenerativno obolenje, epilepsija, demenca