

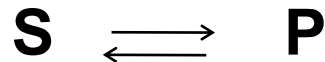
ENZIMI

(dal greco, *en*=dentro; *zyme* = lievito)
coniato nel XIX secolo

sono tutti biocatalizzatori di natura proteica

(eccetto nel caso di enzimi ad RNA detti ribozimi)

Un enzima facilita la trasformazione di un **Substrato** in un determinato **Prodotto**



La maggior parte degli enzimi portano legata e funzionano solo in presenza di una parte non proteica.

In questo caso l'enzima intero prende il nome di **oloenzima**,

la componente solamente proteica di **apoenzima**,

la non proteica di **gruppo prostetico**: più precisamente

- Se il cofattore è legato *saldamente* si parla di **gruppo prostetico** (a volte anche con legami covalenti)
- Se il gruppo prostetico è facilmente dissociabile dall'apoenzima esso prende il nome di **coenzima**

La nomenclatura e la classificazione degli enzimi si basa sul tipo di reazione catalizzata, si hanno così 6 classi di enzimi:

Classi

- Isomerasi** : catalizzano le reazioni di isomerizzazione
- Ossidoreduttasi** : catalizzano le reazioni di ossidoriduzioni
- Transferasi** : catalizzano il trasferimento di gruppi
- Idrolasi** : catalizzano la rottura dei legami con aggiunta di H₂O
- Liasi** : catalizzano l'addizione ai doppi legami
- Ligasi** : catalizzano la formazione di legami

Per l'attività catalitica,
diversi Enzimi richiedono la presenza di cofattori o coenzimi:
semplici o chimicamente più complessi

✓ ioni metallici (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+})

✓ coenzimi o gruppi prostetici:
Introducono specifici gruppi funzionali

Coenzima	Gruppi trasferiti	Precursore
Biotina	CO_2	Biotina
Coenzima B_{12}	Atomi di H; alchili	Vitamina B_{12}
Flavin Adenin Dinucleotide (FAD)	Elettroni	Riboflavina (Vit. B_2)
Nicotinammide Adenin Dinucleotide (NAD)	Ione Idruro (:H-)	Niacina
Piridossal Fosfato	Gruppi amminici	Vitamina B_6
Tiammina Pirofosfato	Aldeidi	Vitamina B_1

Gli enzimi sono **classificati** in base al **tipo di reazione catalizzata** (Nome comune e nome sistematico depositato in banche dati)

	Classe	Reazione
1	Ossidoreduttasi	Trasferimento di elettroni
2	Transferasi	Trasferimento di gruppi funzionali
3	Idrolasi	Rottura idrolitica di legami chimici
4	Liasi	Rottura non idrolitica di legami
5	Isomerasi	Riorganizzazione molecolare
6	Ligasi	Formazione di legami covalenti

Funzioni biologiche principali:

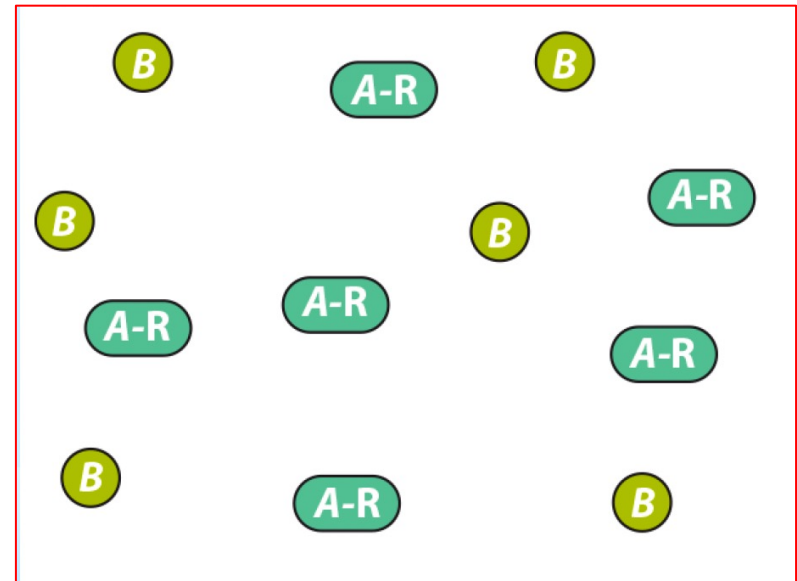
- Reazioni sequenziali a cascata (metabolismo cellulare e tissutale)
- Omeostasi e segnalazione (trasduzione del segnale)
- Contrattilità (ATP-dipendente)
- Trasporto (ATP-dipendente)

Perché un enzima funziona da catalizzatore?

In assenza di catalizzatori... ..

La collisione tra due molecole non provoca necessariamente una reazione chimica. Perché ciò avvenga, le molecole devono:

- essere orientate correttamente
- avere un grado di energia sufficientemente alto per rendere *efficace* la collisione (rottura o formazione di legami)



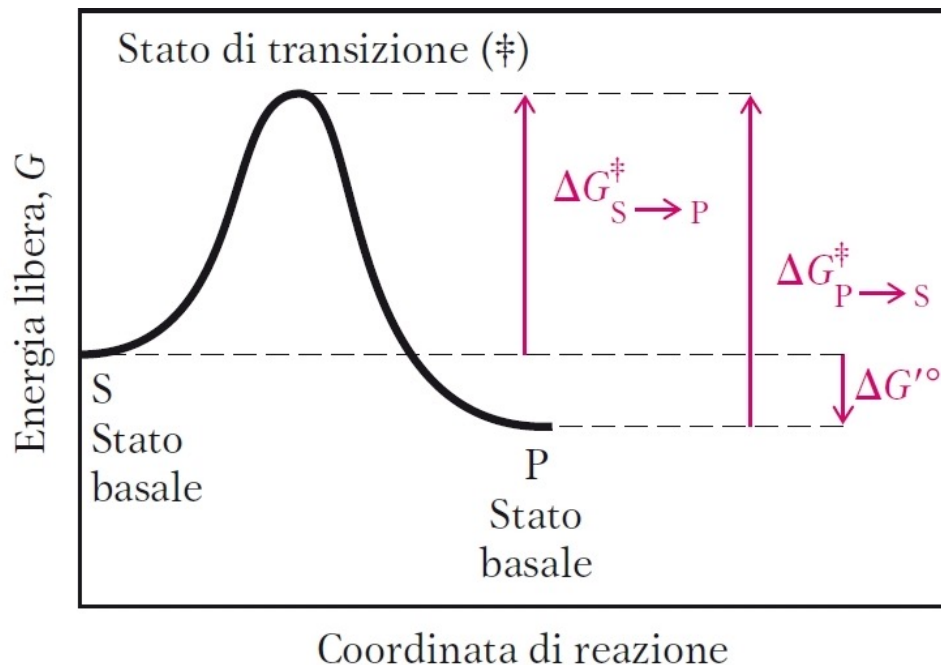
ENERGIA DI ATTIVAZIONE

Perché una reazione chimica possa avvenire, si devono rompere i legami preesistenti e si devono eventualmente formare nuovi legami. Consideriamo una popolazione di molecole A-B che devono reagire per formare il prodotto A⁺ e B⁻.

Affinché una reazione chimica avvenga è necessario:

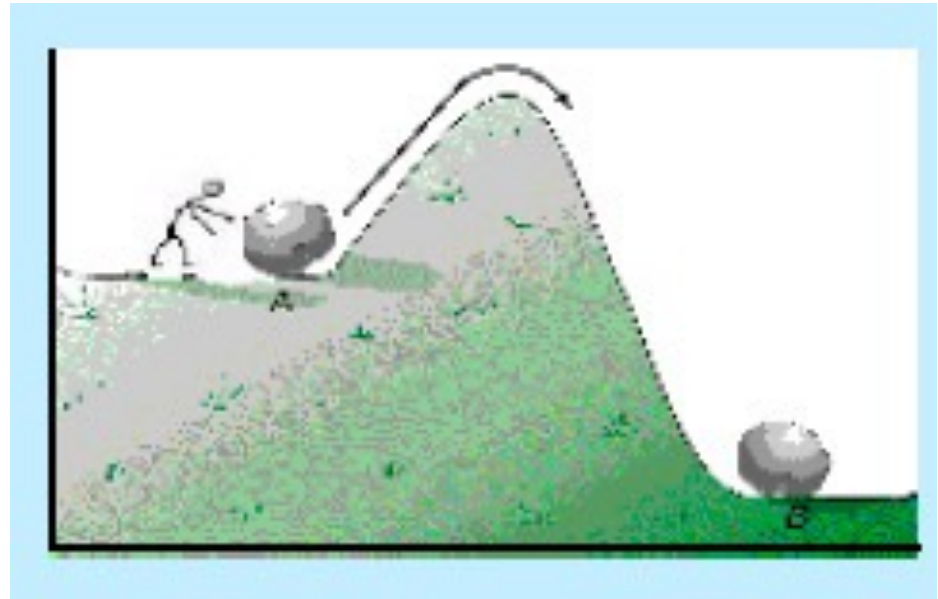
- le molecole si urtino
- urto efficace, nel senso che le molecole che si urtano devono avere un contenuto energetico tale da permettere loro di formare il complesso attivato (A^{δ+}---B^{δ-}) ad alto contenuto energetico e bassa stabilità.

Il livello energetico a cui è localizzato il complesso attivato si chiama **STATO DI TRANSIZIONE**



Il tutto può essere simpaticamente rappresentato come un sasso (reagente) che per arrivare a valle (prodotto) deve superare la montagna (EA).

Maggiore è il numero di molecole R-X capaci di formare, nell'unità di tempo, il complesso attivato, maggiore sarà la **velocità di reazione**.



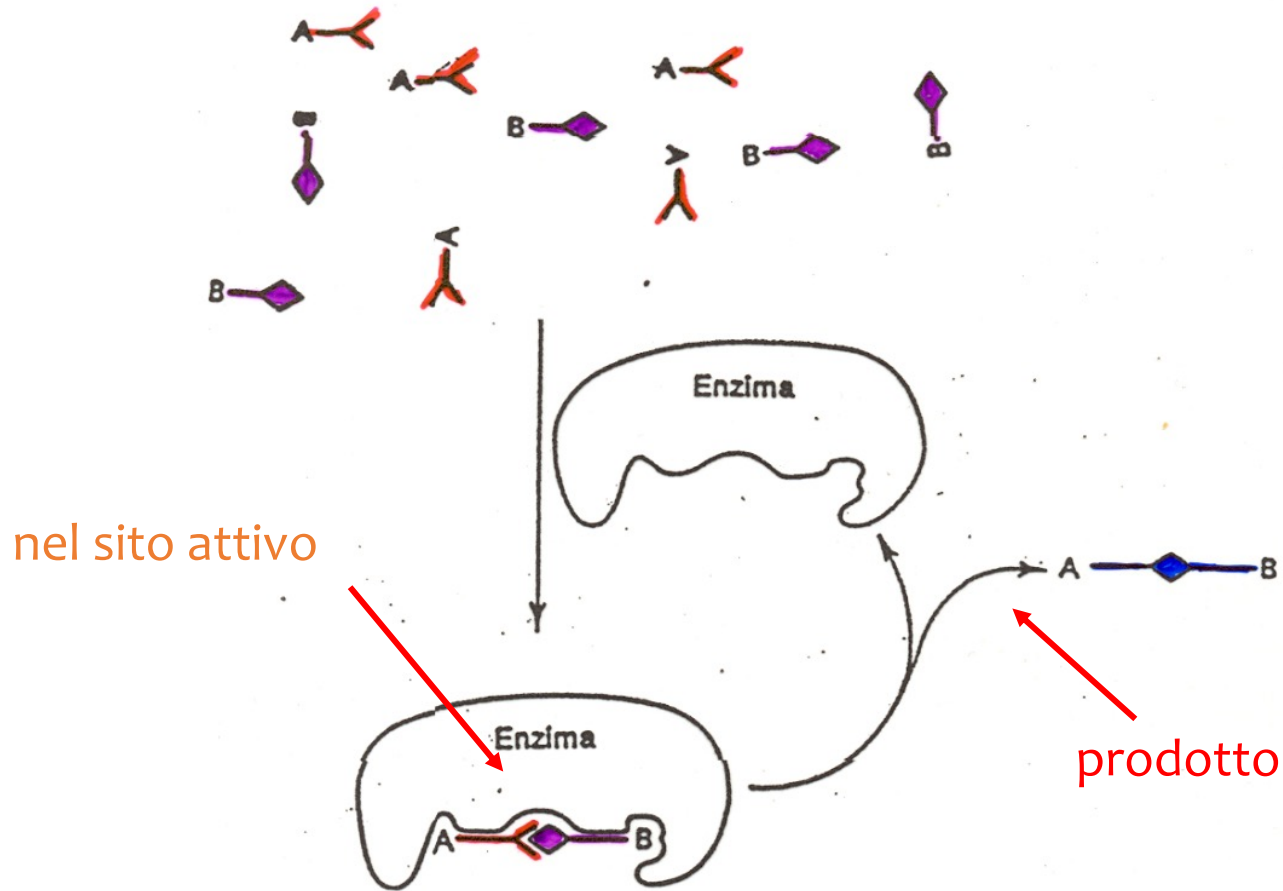
La velocità di reazione è definita come la quantità di sostanza consumata o prodotta nell'unità di tempo (**c= concentrazione**):

$$v = dc/dt$$

Una reazione chimica può essere accelerata aumentando la temperatura. Infatti aumentando la T aumenta l'energia cinetica delle particelle aumenta il numero degli urti efficaci tra le molecole un maggior numero di particelle, nell'unità di tempo, formerà il complesso attivato.

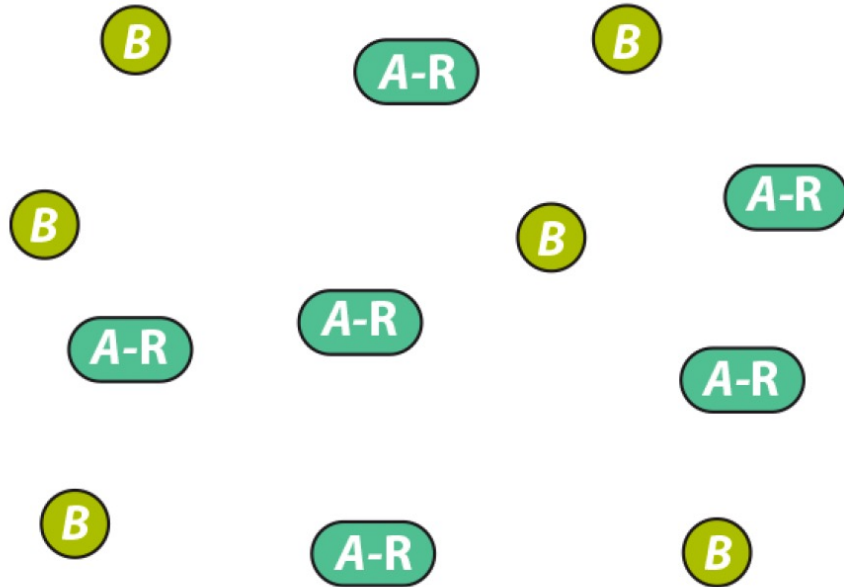
Gli enzimi servono per:

- un corretto orientamento delle molecole, dato che queste si legano all'enzima nel sito attivo

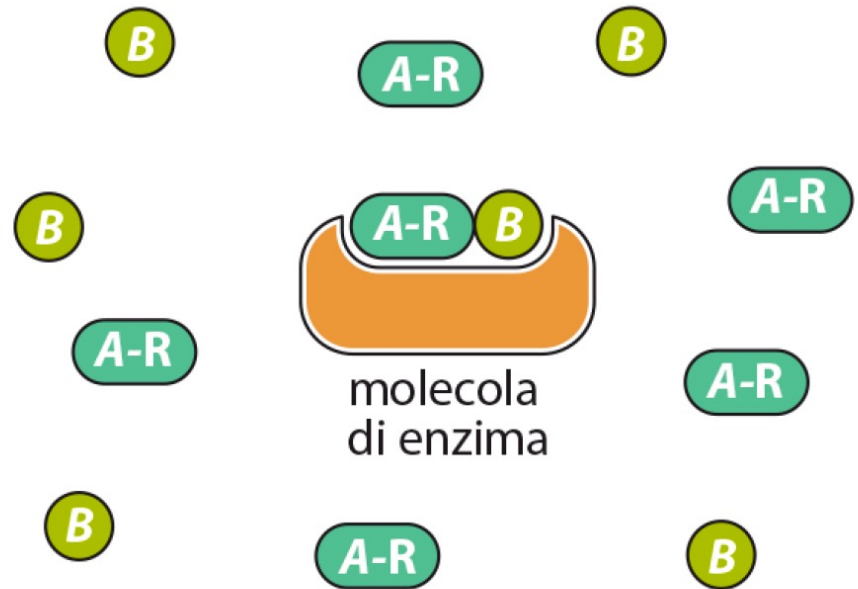


➤ aumentare la loro concentrazione locale e favorire quindi la probabilità della reazione (**RIDUZIONE ENTROPICA**)

(A) le collisioni casuali sono rare



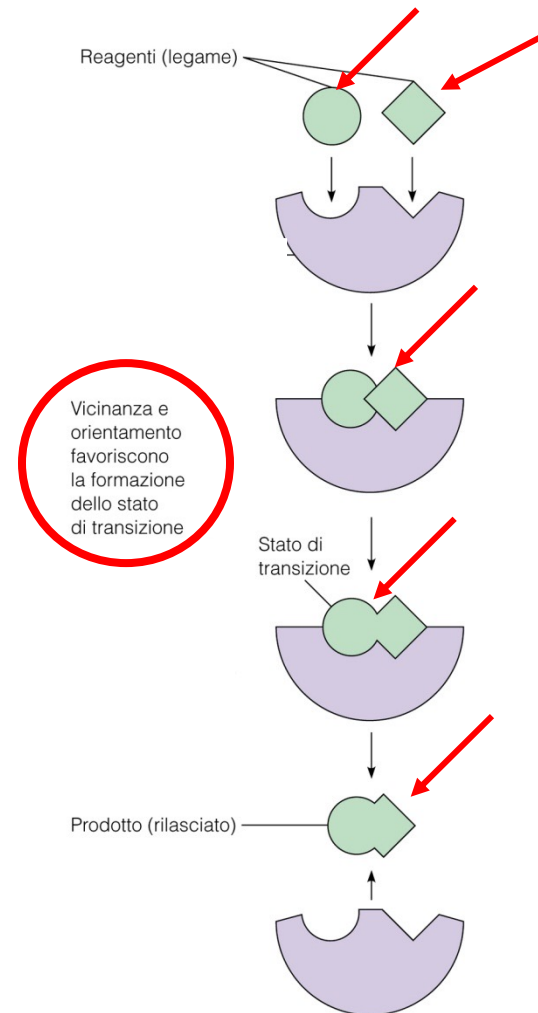
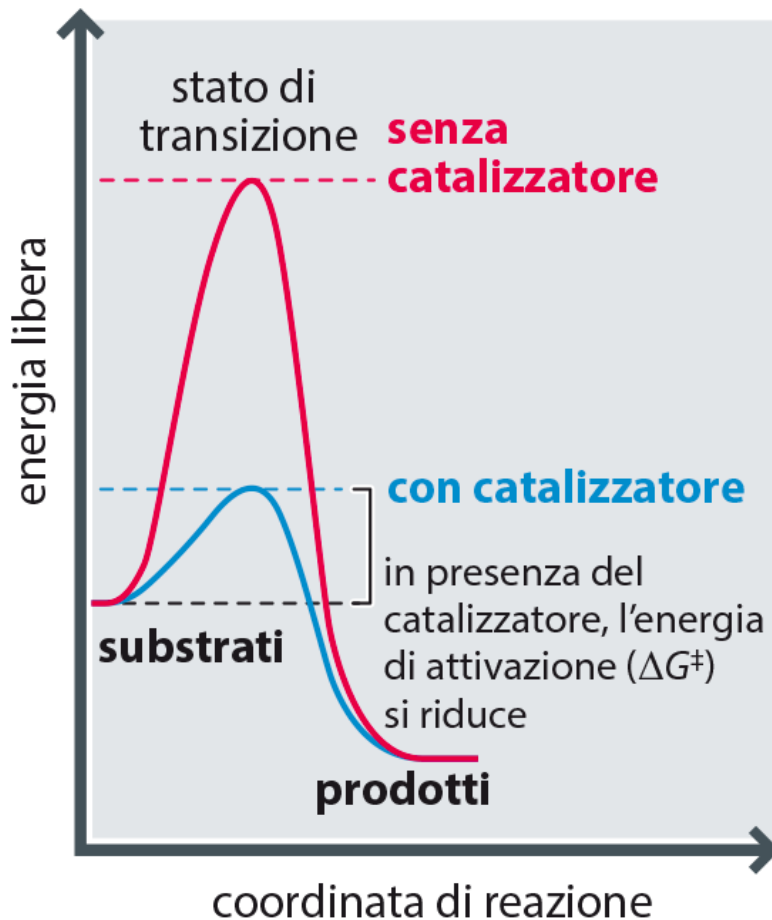
(B) l'enzima avvicina i reagenti fra loro



(A) In una miscela di reagenti, lo stato di transizione si forma solo grazie alle collisioni casuali; (B) l'enzima lega i reagenti e riduce l'entropia del sistema, aumentando la velocità di trasformazione dei reagenti in prodotti.

Gli enzimi servono per:

- **Abbassare il livello energetico dello stato di transizione per far avvenire la reazione.** Infatti, legando opportunamente i reagenti, gli enzimi stabilizzano lo stato di transizione (il cui livello energetico sarà quindi minore che in assenza dell'enzima)

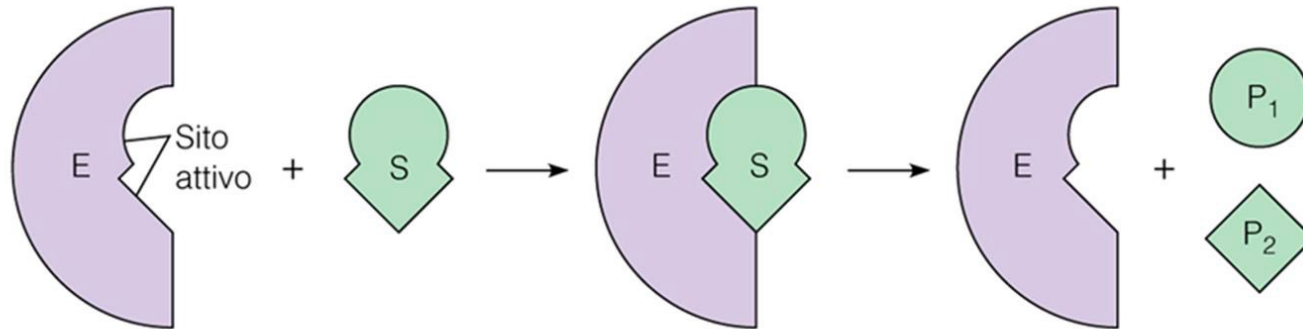


Un modo dunque per accelerare una reazione è quello di aggiungere un enzima (E). **E** si lega alle molecole di **S** per formare il complesso attivato (**ES***) il cui stato di transizione è **ENERGETICAMENTE** più stabile rispetto a quello della reazione non catalizzata. Così alcune molecole di S entrano nello stato di transizione **ES*** per formare i prodotti.

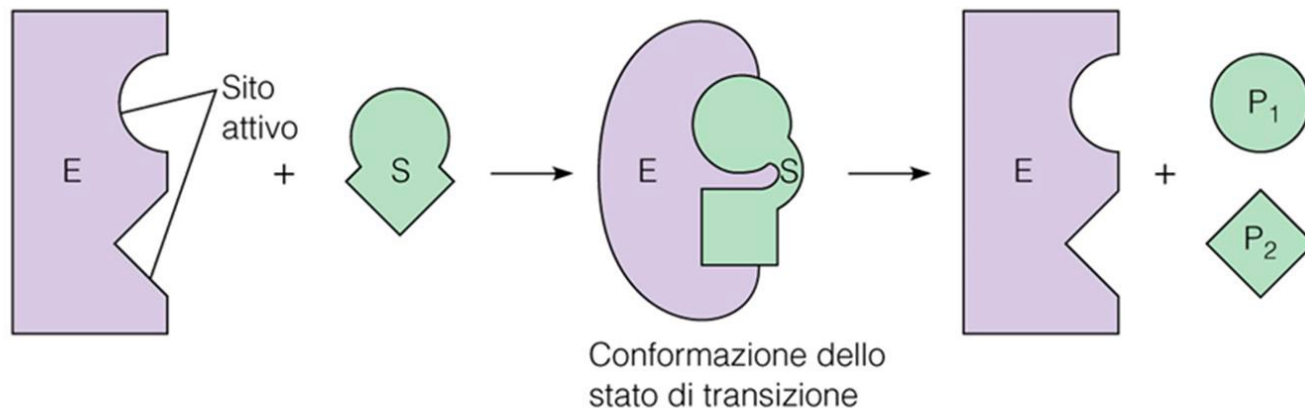
QUALI MODELLI DESCRITTIVI POSSIBILI?

Qual è la relazione tra Energia di Legame e diminuzione dell'Energia di attivazione?

Un'ipotesi iniziale sosteneva che l'Enzima e il Substrato siano **perfettamente complementari** tra loro (*modello chiave-serratura*)



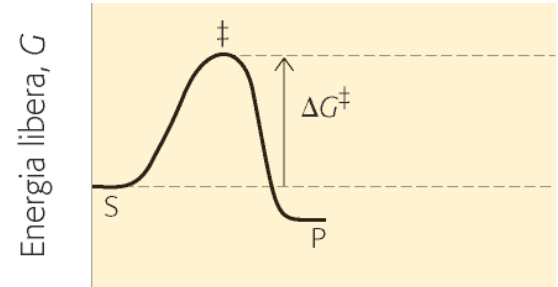
Un modello più recente sostiene che l'Enzima sia **complementare allo stato di transizione** della reazione (ovvero che le *interazioni ottimali* si abbiano solo quando il Substrato raggiunge lo *stato di transizione*)



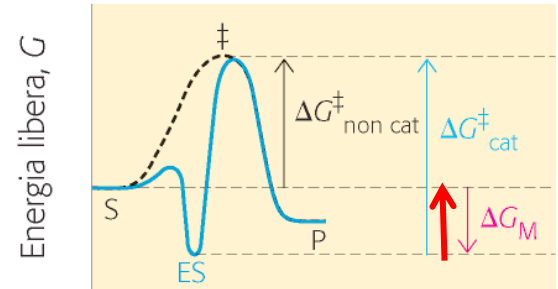
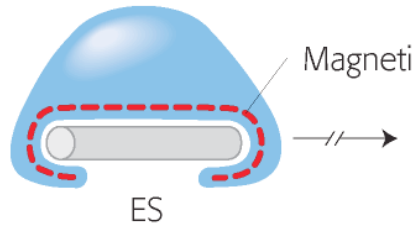
MODELLO DELL'ADATTAMENTO INDOTTO

Energia di Legame ed Energia di attivazione per un enzima immaginario "metallasi"

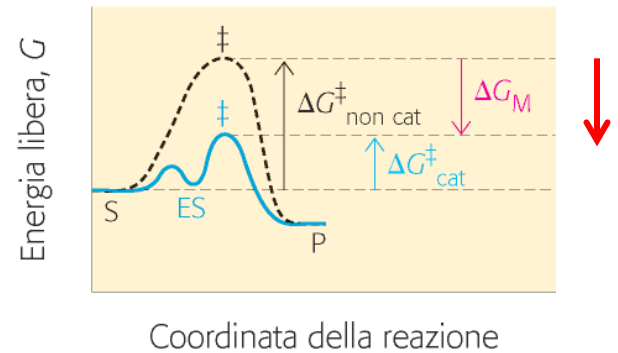
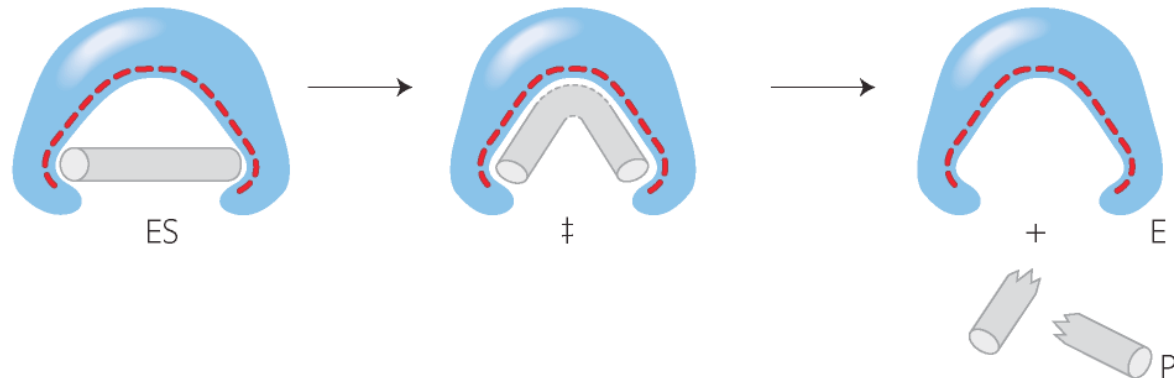
(a) Senza enzima

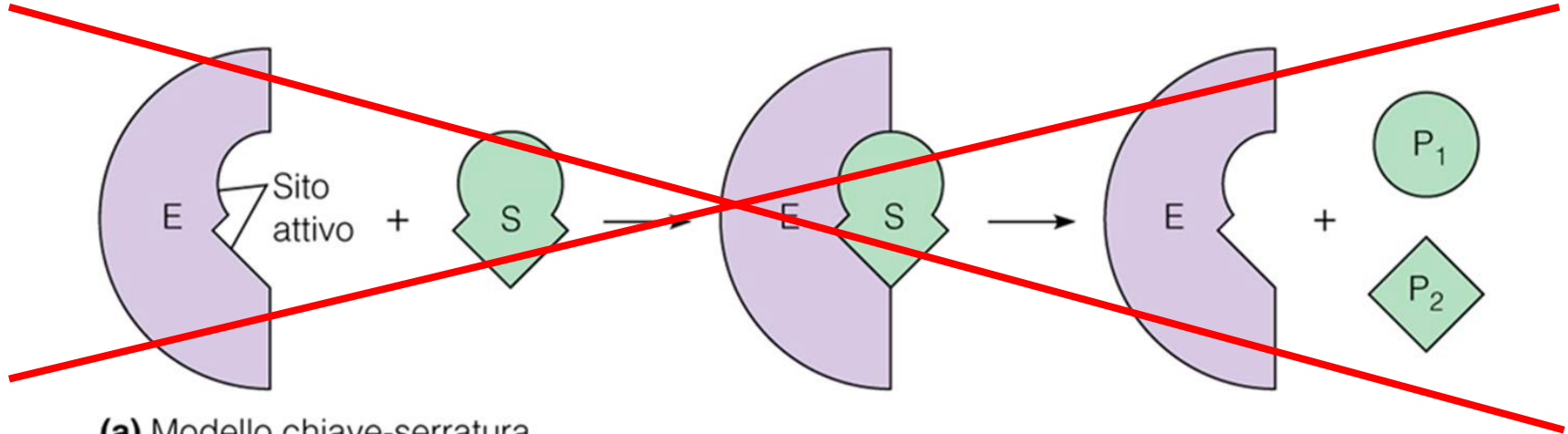


(b) Complementarità tra enzima e substrato

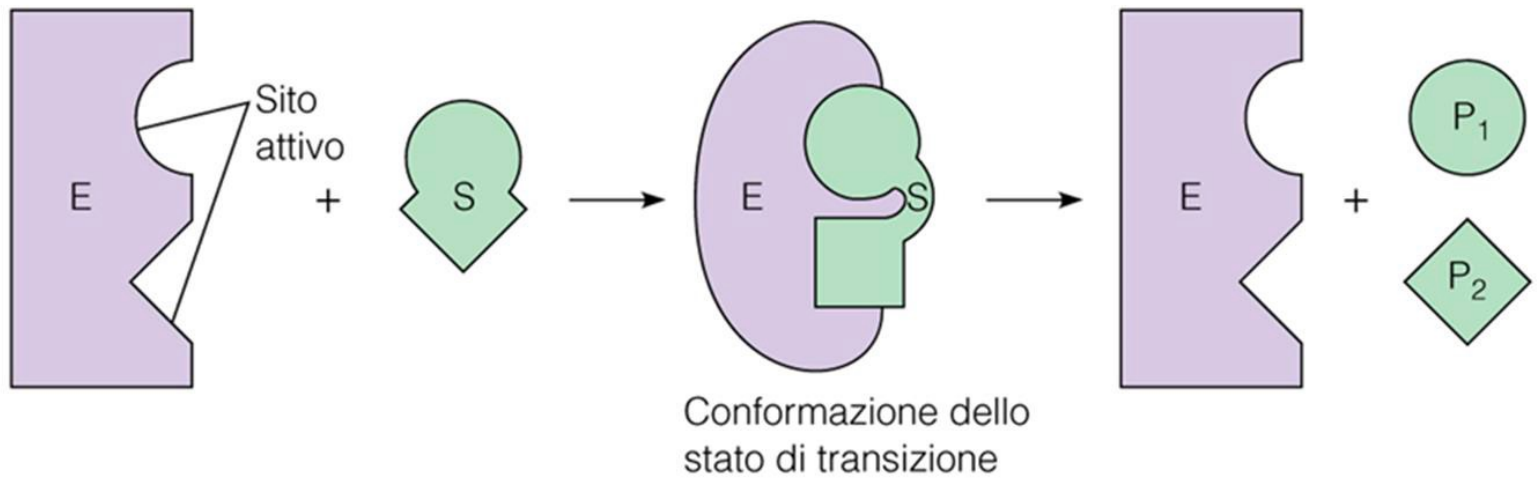


(c) Complementarità tra enzima e stato di transizione





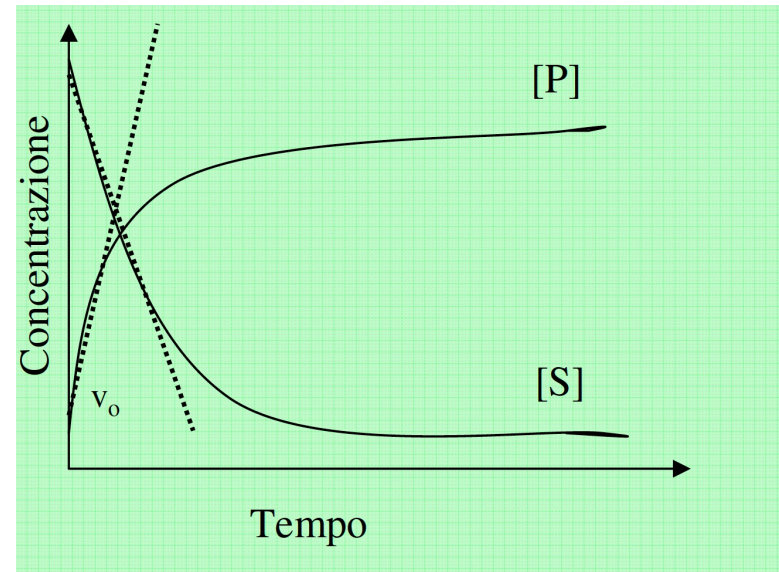
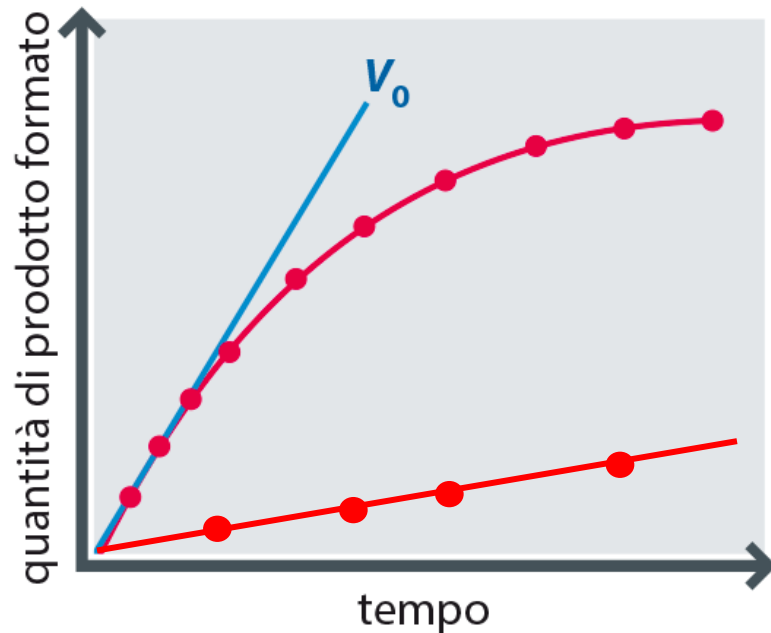
(a) Modello chiave-serratura



(b) Modello dell'adattamento indotto

Come si misura la velocità di una reazione catalizzata

La velocità di reazione è definita come la quantità di sostanza consumata o prodotta nell'unità di tempo.



Velocità di reazione: $v = dc/dt$; $v_0 =$ velocità iniziale



Un altro modo per esprimere la velocità di una reazione catalizzata è il **numero di turnover**. Esso indica il numero di molecole di substrato che reagiscono con **una sola molecola di enzima** nell'unità di tempo. La velocità di reazione cambia da enzima ad enzima ed è caratteristica di ognuno di essi.

Come i catalizzatori non proteici, gli enzimi

- aumentano la velocità di una reazione (da 10^6 a 10^{12} volte)
- non alterano la K_{eq} della reazione
- rimangono inalterati alla fine della reazione

Diversamente dai catalizzatori chimici hanno

- una maggiore efficienza (quindi potere catalitico e reversibilità elevati)
- specificità di substrato
- regolabilità
- consentono la catalisi in ambiente fisiologico (pH, temperatura etc.)

La velocità di una reazione catalizzata è influenzata dai seguenti fattori

*** Concentrazione del substrato**

*** Concentrazione dell'enzima**

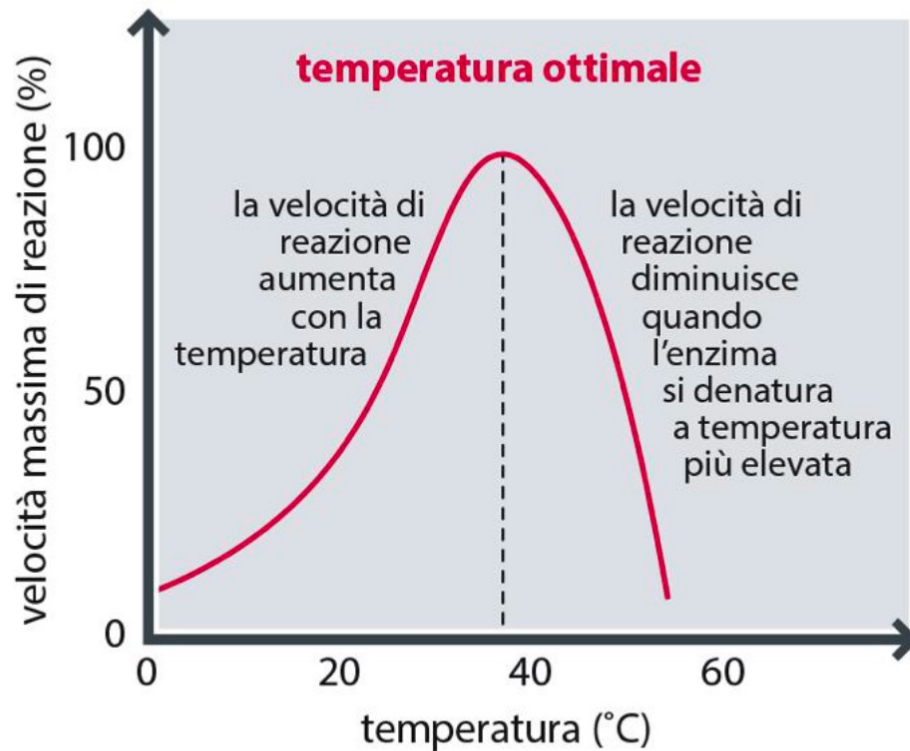
*** Temperatura**

*** pH**

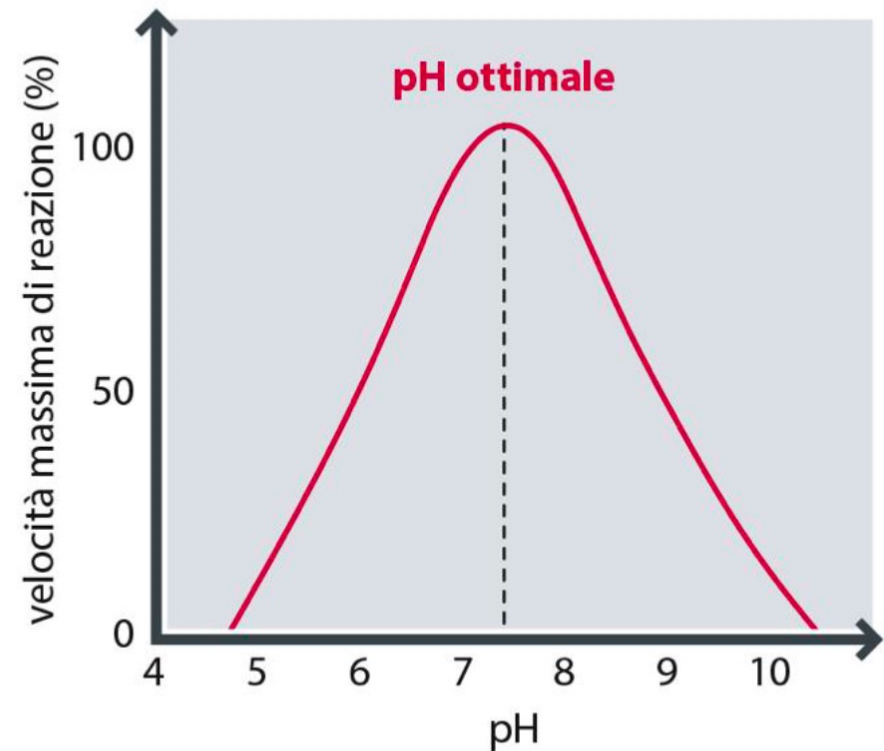
*** Inibitori / Modulatori**

LA VELOCITA' DELLA REAZIONE CATALIZZATA E' INFLUENZATA DA DIVERSI FATTORI

(A) temperatura



(B) pH



La velocità enzimatica aumenta all'aumentare della t fino a raggiungere un valore max; a t più elevate la velocità diminuisce a causa della perdita di struttura dell'enzima.

La maggior parte degli enzimi mostra un pH ottimale di 6,8-7,4; a valori estremi di pH le proteine si denaturano

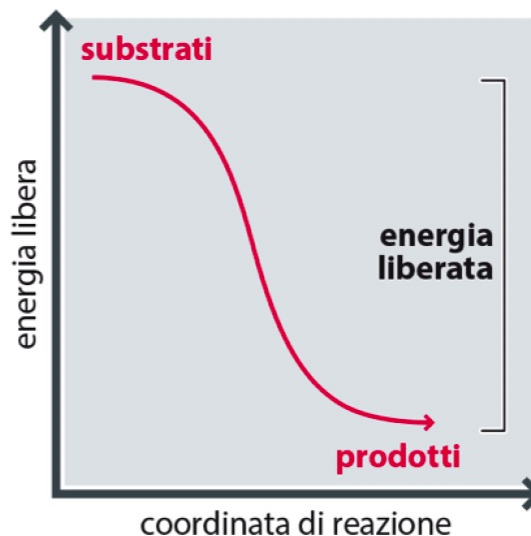
DIFFERENZA FRA REAZIONI ESOERGONICHE ED ENDOERGONICHE

G= misura del contenuto energetico di un «sistema»; un sistema con basso valore di G più stabile di un sistema con alto valore di G.

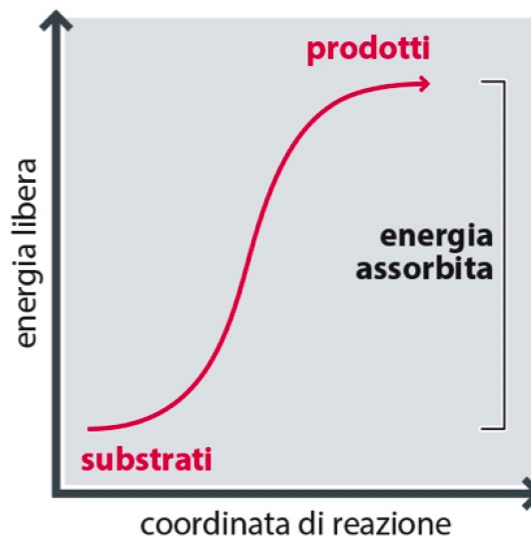
ΔG : variazione di contenuto energetico tra substrati e prodotti.

Gli enzimi non alterano la K_{eq} della reazione
(= non condizionano la termodinamica ΔG del sistema)

(A) reazione esoergonica
(ΔG negativo)



(B) reazione endoergonica
(ΔG positivo)



Energetica e cinetica di una reazione

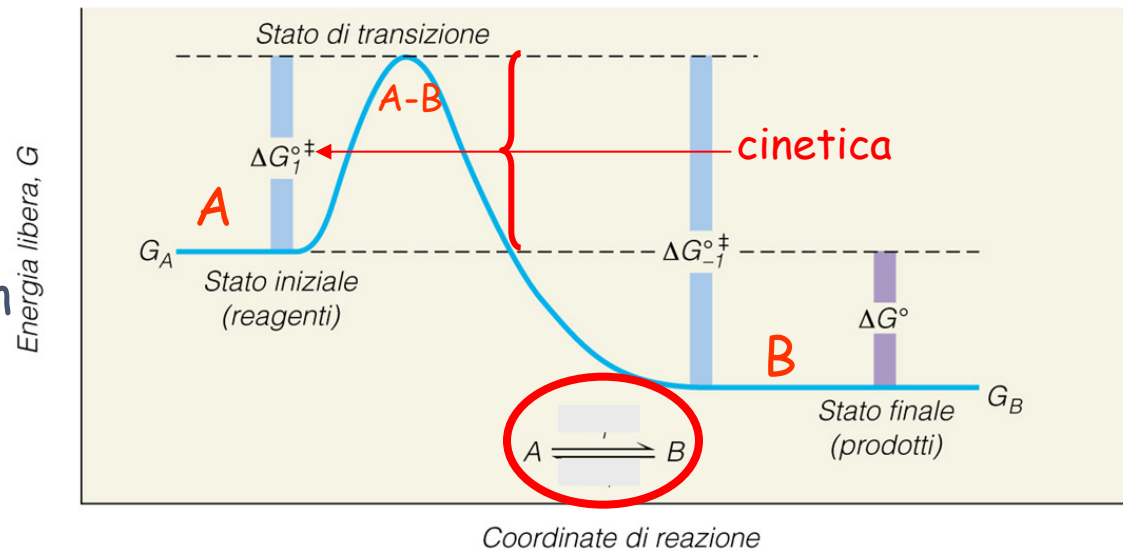
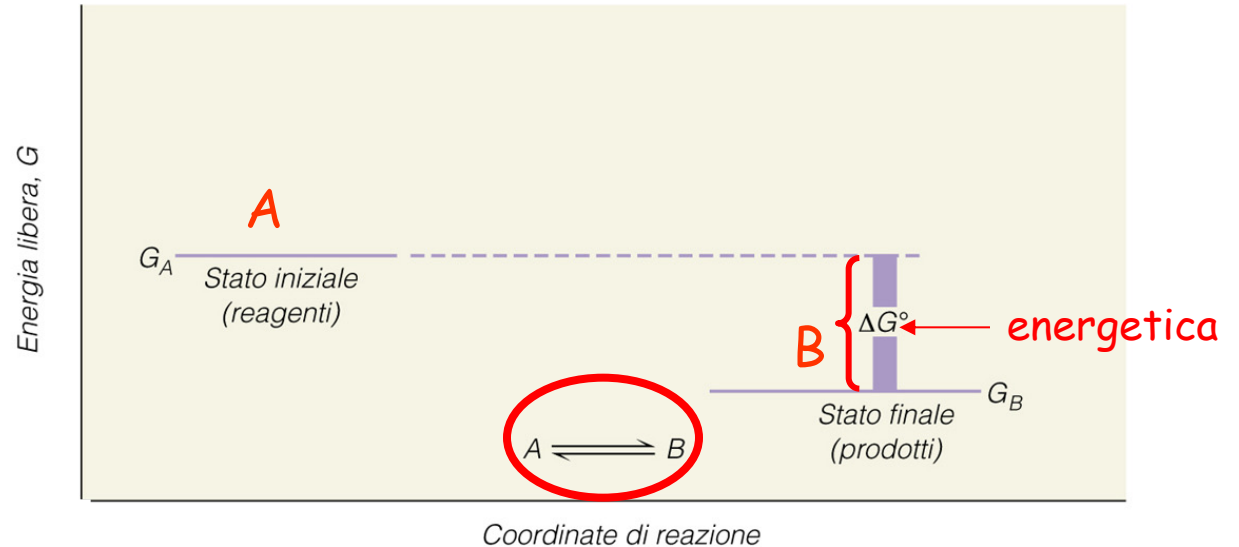


$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

ΔG° considera solo la Δ di energia libera tra gli stati iniziale e finale della reazione

La **cinetica** della reazione dipende dalla "facilità" con cui viene raggiunto lo **stato di transizione (A-B)**

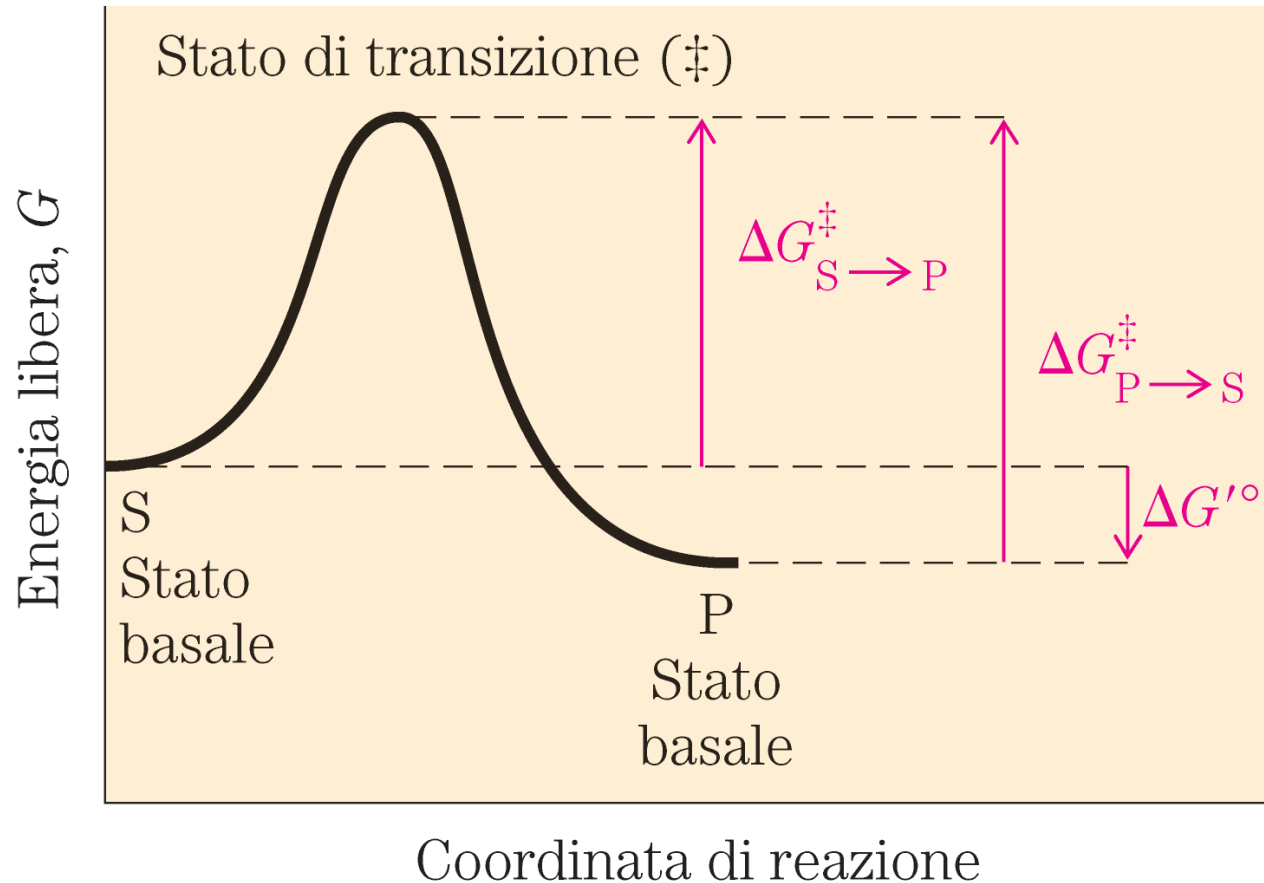


Cioè dalla **energia di attivazione, ΔG^\ddagger**

ΔG° è stata definita dai chimici in condizioni standard di temperatura: 298 K; pressione parziale di 1 atm e concentrazione di ogni soluto 1M

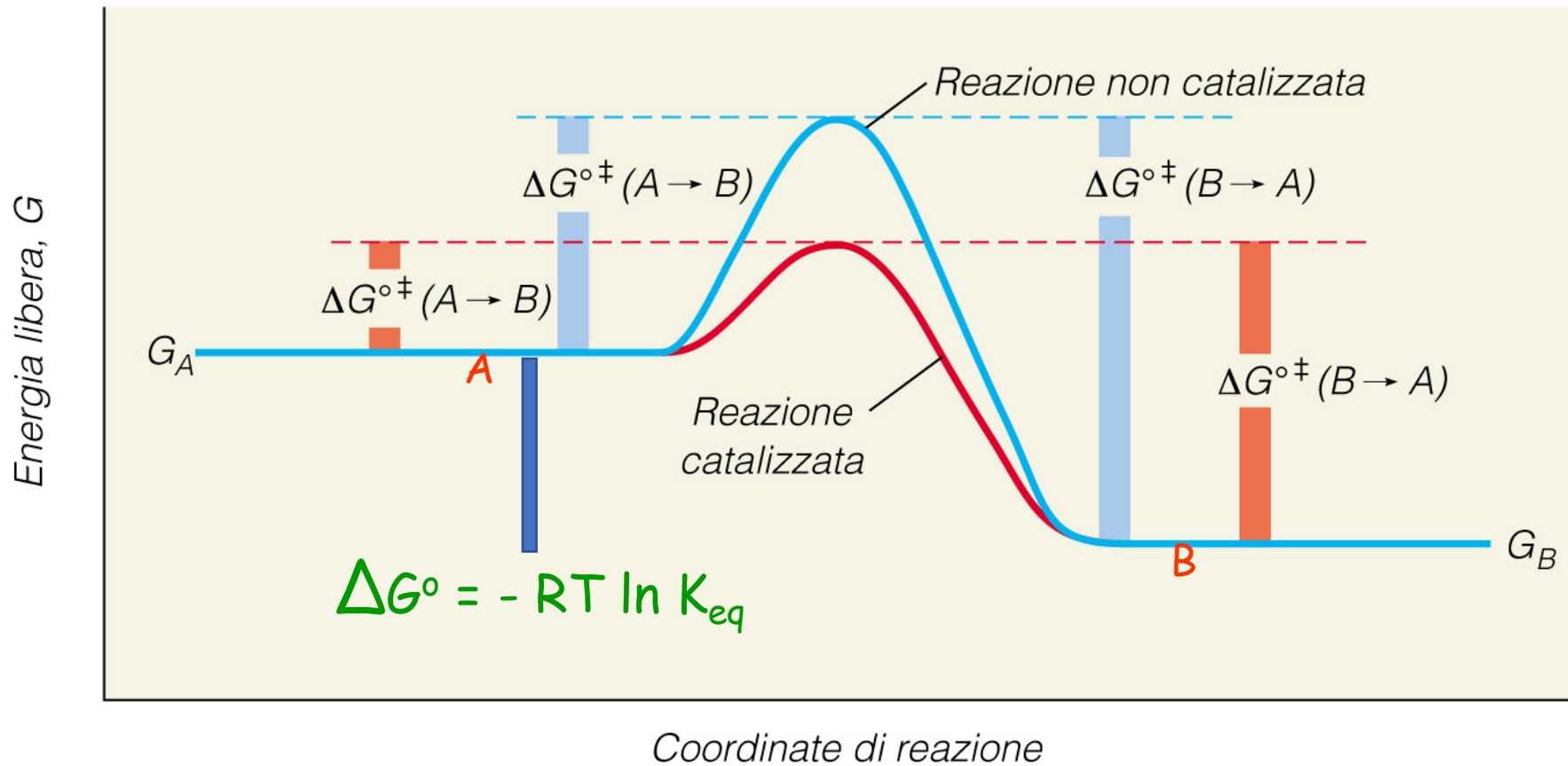
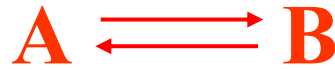
Nei sistemi biologici la $[H^+]$ è molto lontana da 1M

In Biochimica: ΔG° , variazione di energia libera standard a pH 7 cioè $[H^+] = 10^{-7}M$



In questa reazione: $\Delta G^\circ < 0$ e l'equilibrio favorisce P, ma questo non significa che la velocità di conversione da S a P sia elevata

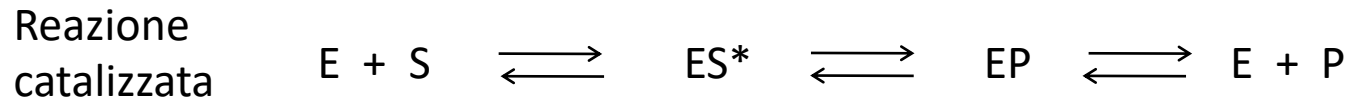
Gli enzimi aumentano la velocità della reazione perché
abbassano l'energia di attivazione ΔG^{\ddagger}



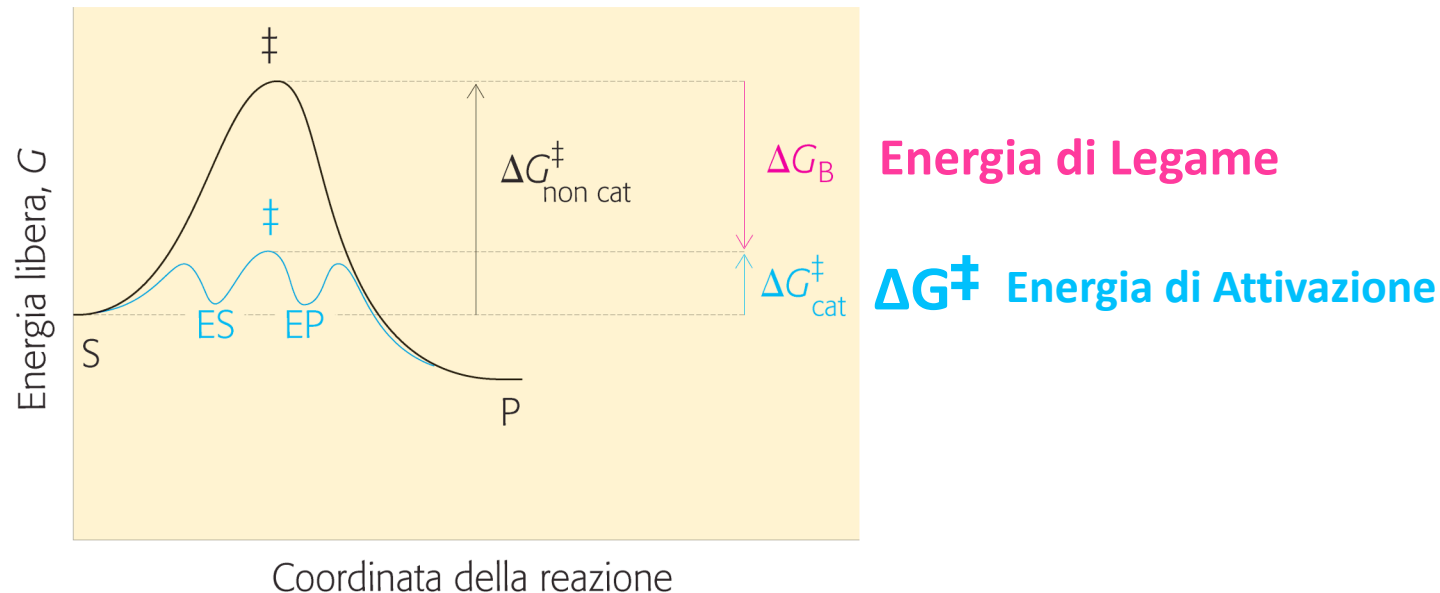
senza però modificare il ΔG° e quindi la K_{eq} della reazione

La interazione enzima-substrato comporta il **riarrangiamento** di legami *covalenti* e interazioni *non covalenti* che provoca una variazione di energia libera definita **Energia di legame** (ΔG_B)

L'energia di legame rilasciata durante la formazione dello stato di transizione controbilancia (almeno in parte) l'energia necessaria per arrivare in cima alla curva energetica



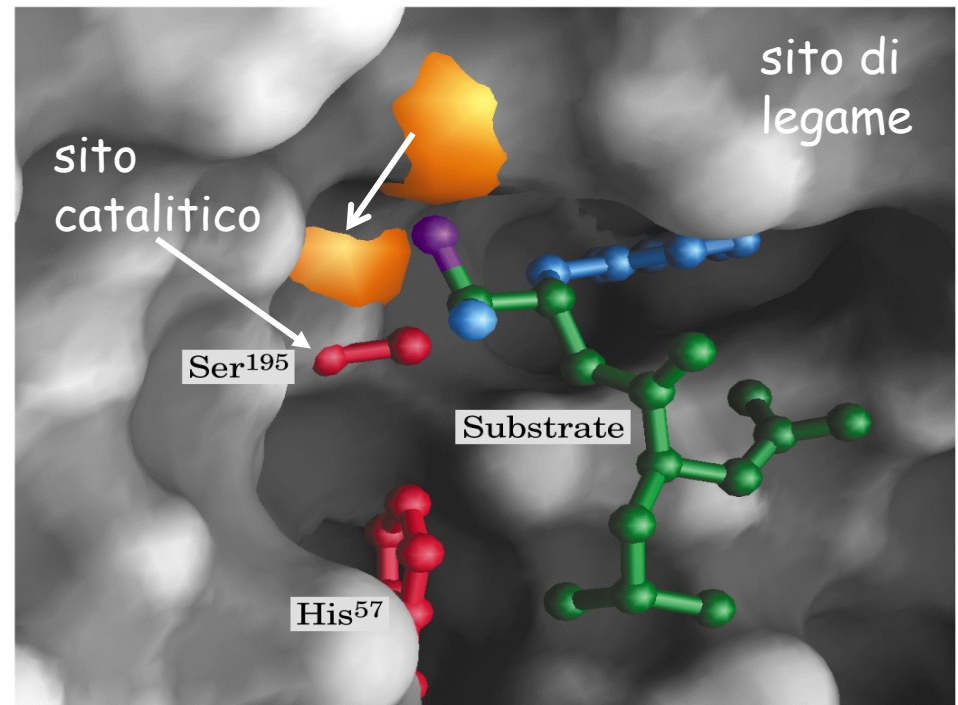
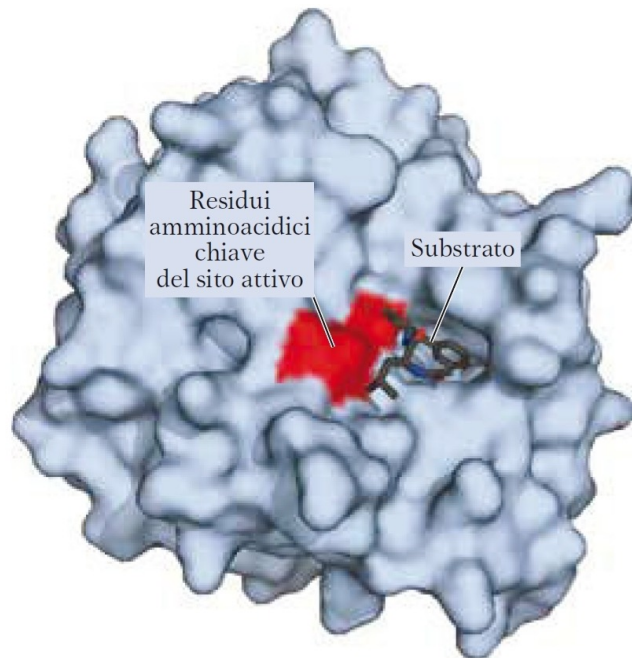
(dove ES e EP sono complessi transitori dell'enzima con il substrato o con il prodotto)



Gli enzimi generano un ambiente specifico in cui la reazione è favorita.

Il sito specifico sull'enzima dove il substrato si lega e dove avviene la catalisi si chiama **SITO ATTIVO**

Nel sito attivo ci sono particolari residui amminoacidici, capaci di interagire in modo specifico con il substrato e catalizzare la reazione (**complesso enzima-substrato**)



SITO ATTIVO DELL' ENZIMA

- ha una struttura tridimensionale formata da residui amminoacidici non necessariamente vicini nella sequenza primaria
- occupa una parte piccola rispetto al volume globale della proteina
- orienta opportunamente i residui amminoacidici coinvolti nella catalisi
- può subire riarrangiamenti conformazionali (ma risulta inalterato al concludersi di ogni ciclo di catalisi)

Gli enzimi hanno specificità di substrato

La specificità per un substrato è determinata dalla **struttura dell'enzima e del suo sito attivo**, che può accomodare **solo** quel substrato (*specificità assoluta*) o un gruppo di molecole **chimicamente affini** (*specificità di gruppo*).

Inoltre, si ha specificità **stereochimica** per gli enzimi che agiscono su substrati *enantiomerici*.

Si distinguono in:

- Costitutivi: la concentrazione rimane COSTANTE
- Inducibili: la concentrazione VARIA con le esigenze della cellula

Esempio:

- in alcuni batteri la sintesi dell'enzima penicillasi è indotta dalla presenza della penicillina (resistenza alla penicillina)
- alcuni enzimi coinvolti nel metabolismo glucidico aumentano o diminuiscono di concentrazione a seconda della presenza di insulina o di ormoni glucocorticoidi (come il cortisolo) o del glucagone

Enzimi

- La funzione di un catalizzatore è quella di aumentare la velocità di una reazione e gli enzimi l'aumentano da 10^5 a 10^{17} volte (alto potere catalitico)
- In condizioni di reazione blande: $37\text{ }^\circ\text{C}$, pH 7
- Bastano quantità piccolissime di enzima: concentrazioni 10^{-9} M (nanomolari)
- Con alta specificità di substrato
- Il **sito attivo** è una cavità o fenditura e occupa una piccola parte del volume totale dell'enzima
- Il **substrato** interagisce con il sito attivo mediante interazioni deboli
- Il **sito attivo** è formato da residui anche distanti nella sequenza amminoacidica
- l'**energia di legame** determina l'alto potere catalitico dell'enzima, e la **specificità**

