

GLI ENZIMI

3° livello

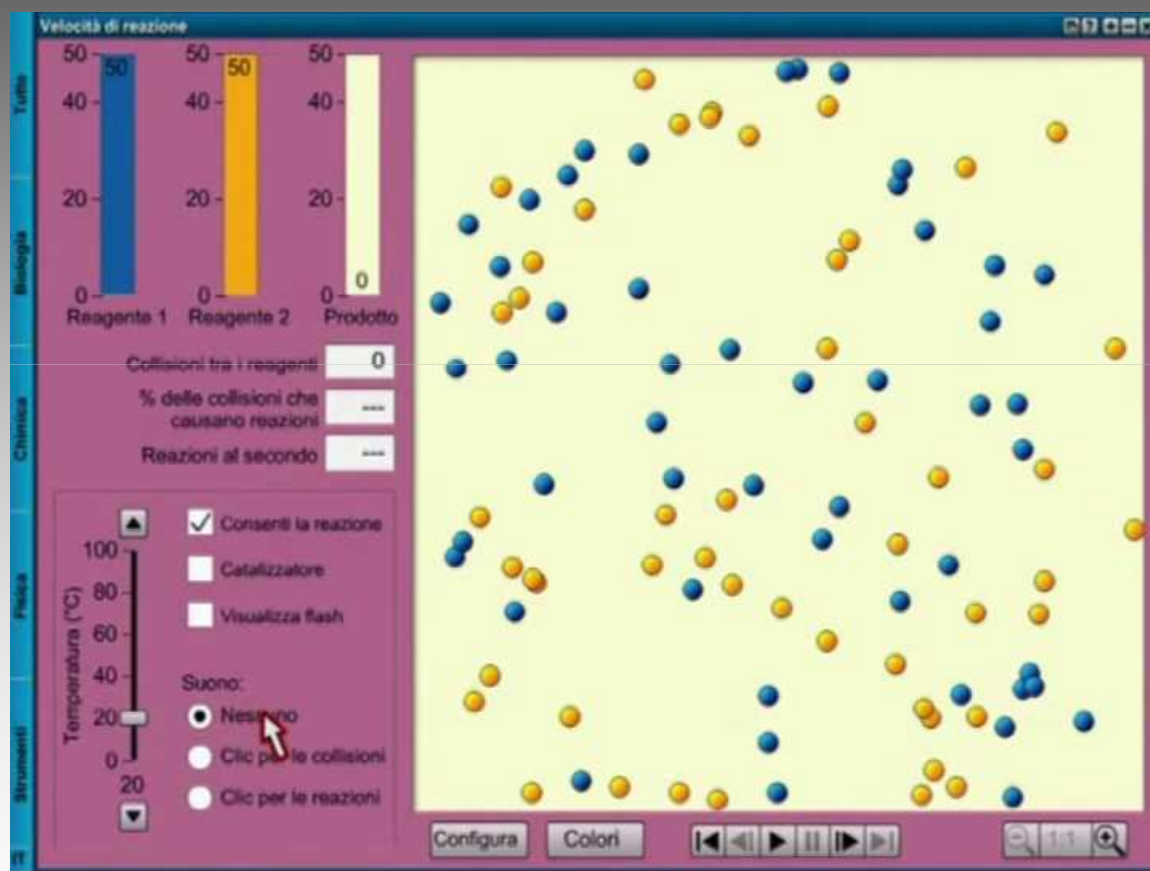
Presentazione curata da
Loredana Savì

MENU

- [La velocità di una reazione chimica](#)
- [Energia di attivazione](#)
- [Il ruolo degli enzimi](#)
- [Proprietà degli enzimi](#)
- [Fattori che influenzano le reazioni catalizzate dagli enzimi](#)
- [Nomenclatura degli enzimi](#)
- [Inibizione enzimatica](#)
- [Regolazione enzimatica](#)
- [Cinetica delle reazioni catalizzate](#)

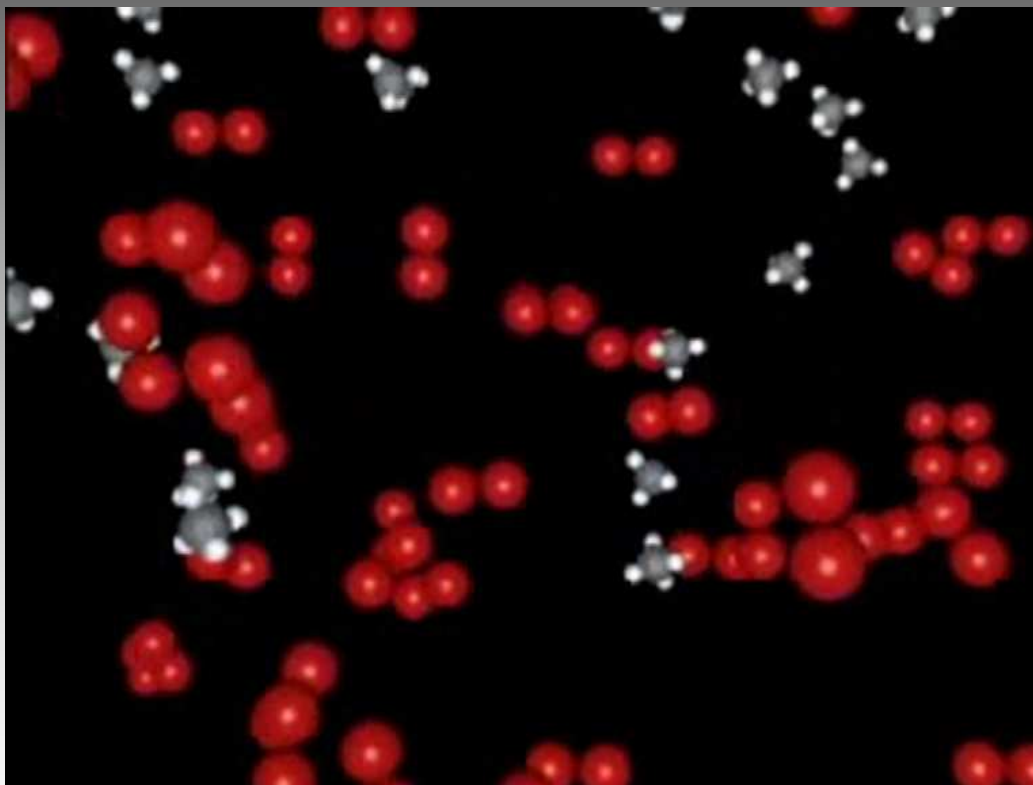
La velocità di una reazione chimica

Le molecole e gli atomi sono in costante movimento. Quando una sostanza assorbe calore gli atomi e le molecole che la compongono si muovono più rapidamente. Questo fenomeno è alla base della cinetica chimica, che permette di prevedere la velocità delle reazioni chimiche e in che modo la temperatura ed altri fattori influenzano su tale velocità.



http://www.youtube.com/watch?v=PHwzEdd1_GA

La maggior parte delle molecole che si accalcano e si scontrano a caso non possiede la **energia cinetica** sufficiente per avviare una reazione chimica, oppure anche quando reagiscono non lo fanno con la velocità necessaria a soddisfare il fabbisogno cellulare di prodotti.



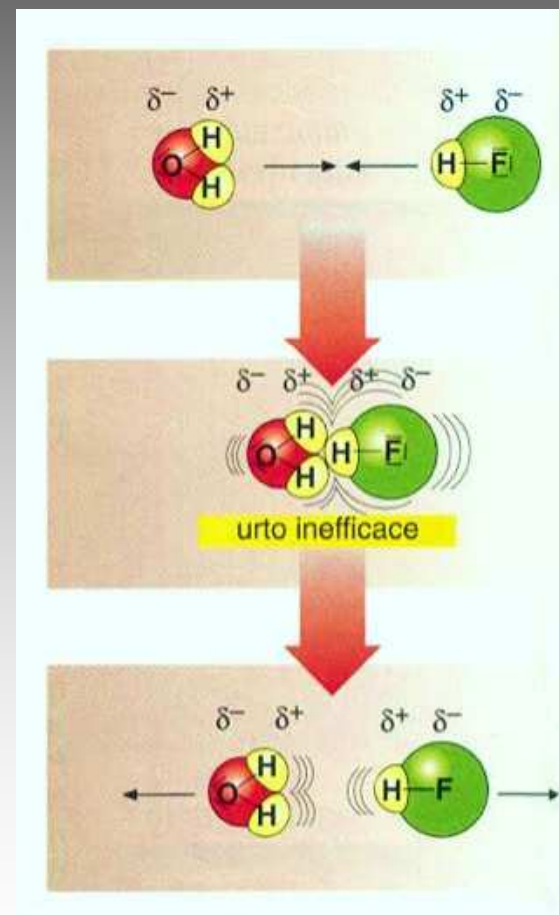
<http://www.youtube.com/watch?v=VbIaK6PLrRM&feature=related>

Energia di attivazione

Le condizioni necessarie perché una reazione chimica si svolga sono:

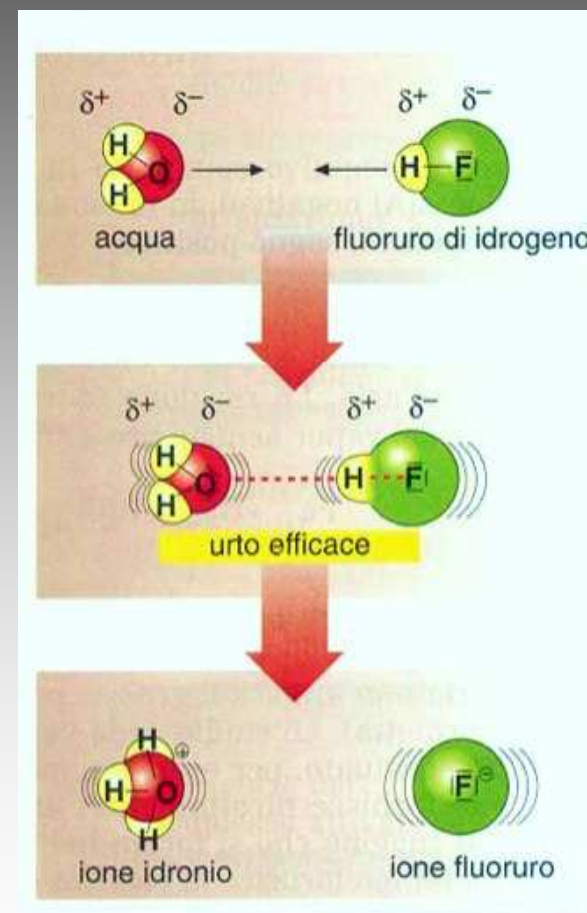
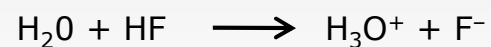
- ❖ i reagenti devono trovarsi in intimo contatto reciproco per potersi urtare, tanto è più elevata la concentrazione dei reagenti tanto maggiore sarà la probabilità che la reazione avvenga;
- ❖ i reagenti devono urtarsi orientando adeguatamente gli orbitali di legame;

Esempio di urto inefficace: l'orientamento spaziale dei reagenti conseguente alla geometria delle molecole non comporta un urto favorevole e la reazione non avviene.

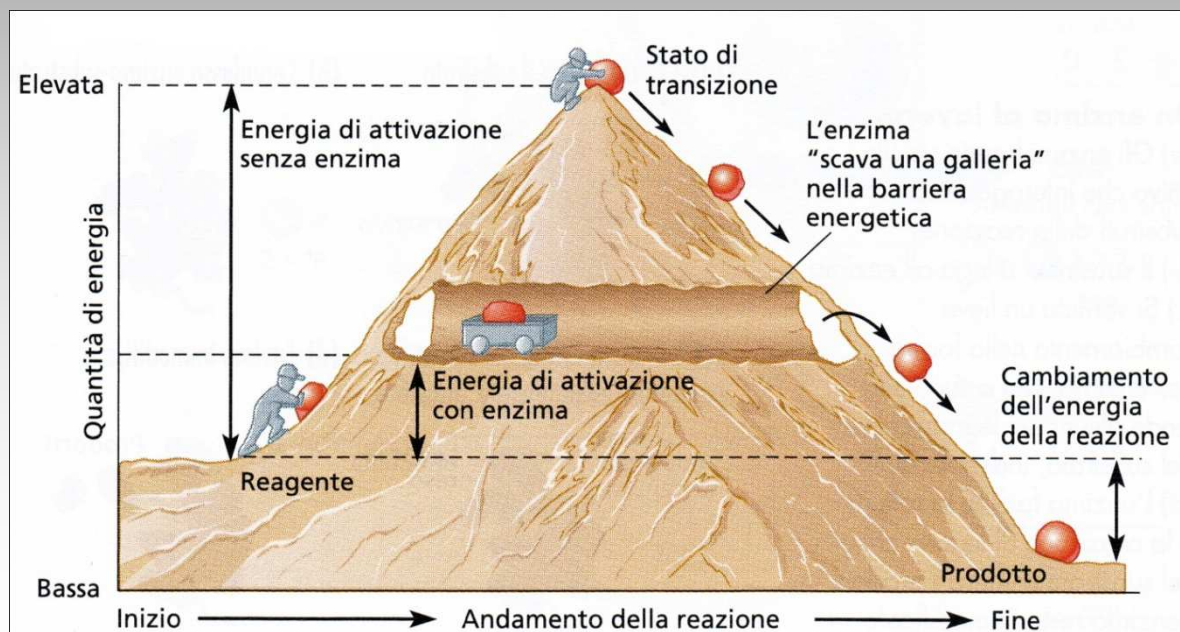


- ◆ *i reagenti devono urtarsi con una energia che sia sufficientemente elevata da permettere la rottura dei legami chimici e la formazione dei nuovi legami chimici nei prodotti di reazione.*

Esempio di urto efficace: i due reagenti si incontrano in condizioni ottimali e avviene la reazione



L'energia di collisione necessaria perché la reazione avvenga prende il nome di **energia di attivazione**; essa si può raffigurare come una barriera energetica che deve essere superata perché la reazione possa avvenire, e può essere assimilata ad una collina che un corpo pesante riesce a superare solo se gli viene impressa una spinta opportuna. Per un brevissimo istante durante la conversione, i legami chimici dei reagenti sono distorti, tale brevissimo stato intermedio si definisce **stato di transizione**.



Maggiore è la temperatura, maggiore è la velocità media con cui le molecole si muovono. Tuttavia la temperatura è soltanto una misura dell'energia media posseduta dalle molecole: ciascuna può infatti possedere una diversa quantità di energia cinetica.

Se però l'ambiente si riscalda, tutte le reazioni cellulari accelerano e non soltanto quelle necessarie. Inoltre un eccessivo aumento di temperatura sareb-

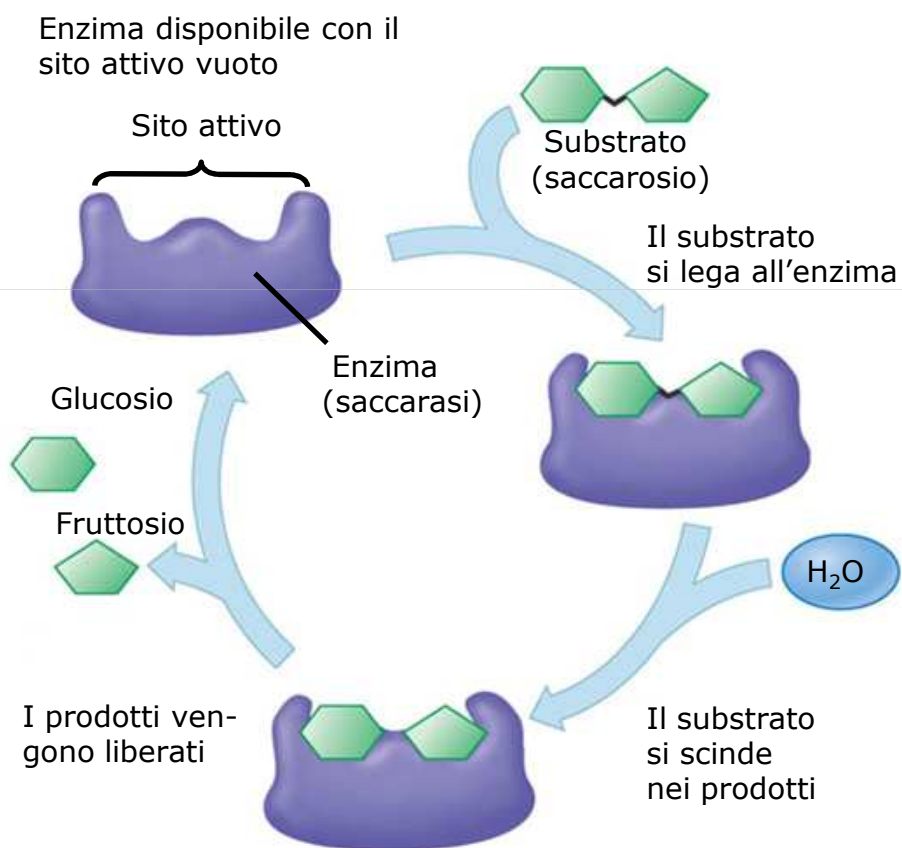


be letale per la cellula, perché provocherebbe la rottura di molti legami che tengono insieme la struttura delle molecole proteiche.

Se non si può aumentare l'energia delle molecole occorre allora abbassare la energia di attivazione, ciò è possibile mediante l'azione di particolari proteine che prendono il nome di **enzimi**.

<http://www.youtube.com/watch?v=V4OPO6JQLOE>

Il ruolo degli enzimi

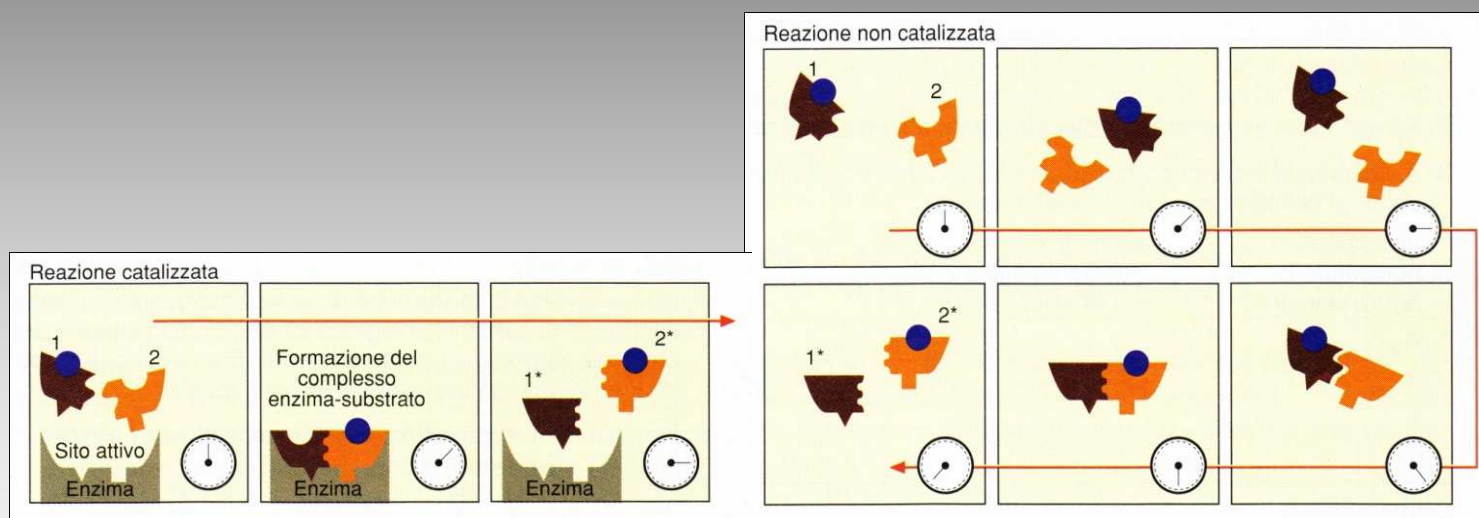


L'enzima favorisce l'incontro delle molecole dei reagenti e la formazione dei prodotti, senza intervenire direttamente nella reazione chimica.

*Il reagente specifico sul quale agisce un enzima è indicato come **substrato**; un substrato si lega ad una regione dell'enzima chiamata **sito attivo**, una sorta di tasca presente sulla superficie dell'enzima.*

Modello chiave - serratura

L'enzima ed il relativo substrato combaciano secondo un meccanismo spiegabile con il modello **chiave-serratura** (l'enzima è stato paragonato ad una serratura, il substrato alla chiave specifica), dall'interazione si forma il complesso **enzima-substrato**.

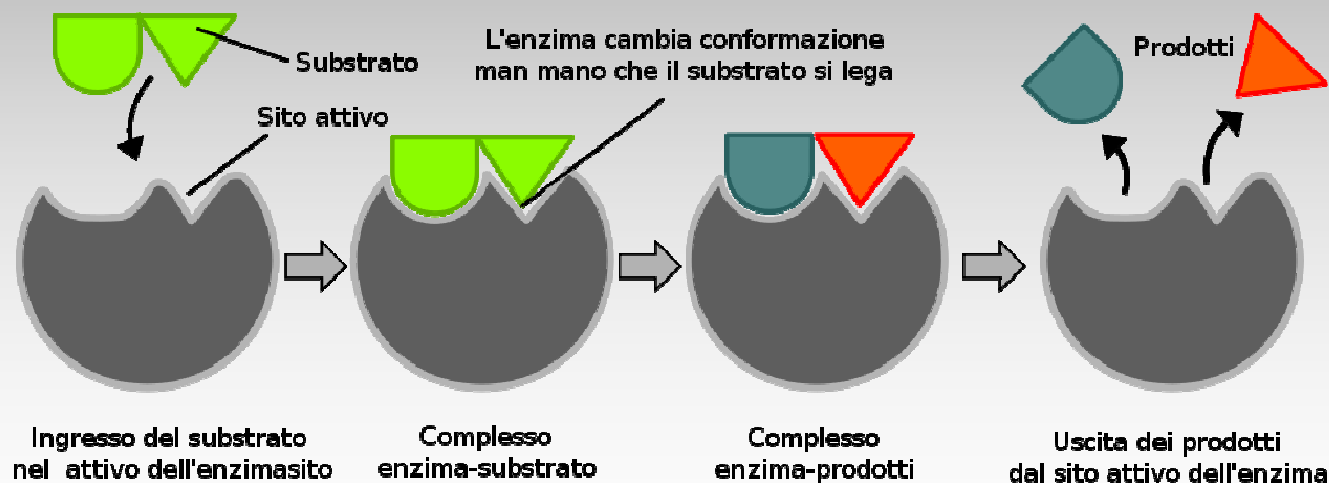


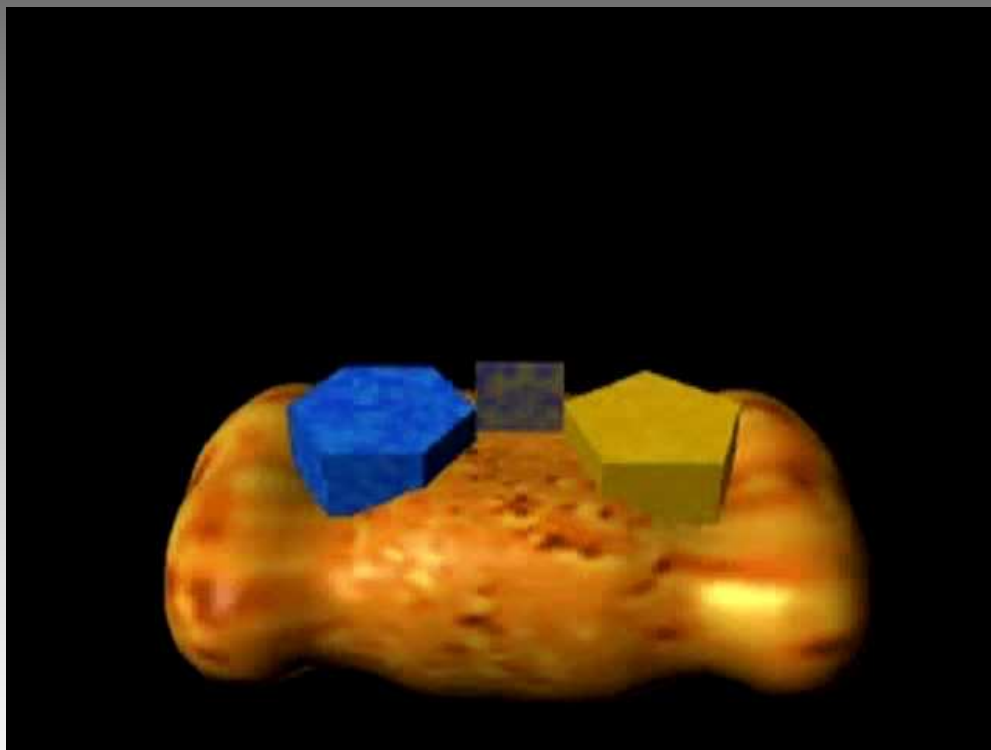
La reazione avviene più velocemente: i reagenti (substrato) si adattano all'enzima (sito attivo).

La reazione avviene solo quando i due reagenti si incontrano casualmente.

Modello ad adattamento indotto

L'evidenza sperimentale ha messo in luce che il modello **chiave-serratura** non risponde più alle esigenze dei fenomeni osservati. Il **modello ad adattamento indotto** propone che il sito attivo dell'enzima può cambiare forma quando il substrato vi si lega, adattandosi meglio ad esso. In questo processo la molecola cambia leggermente conformazione e modifica l'orientamento dei substrati coinvolti, stirando e distortendo le loro molecole, cosicché queste vengano a contatto tra di loro in corrispondenza di determinate zone della loro superficie.





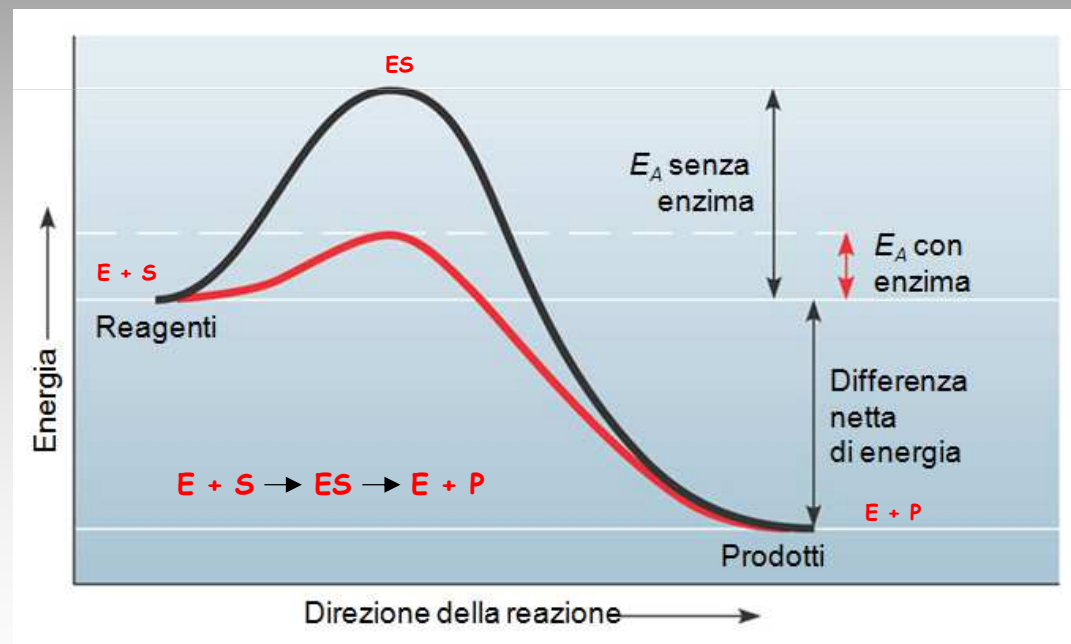
<http://www.youtube.com/watch?v=zFWsSjA4R58>

Proprietà degli enzimi

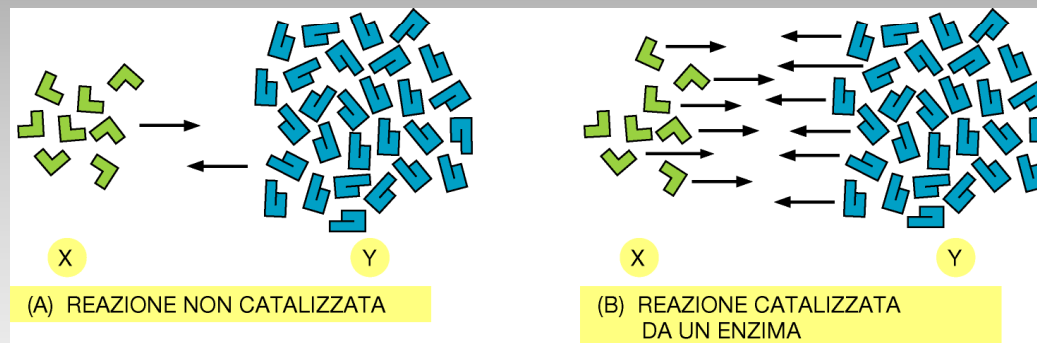
- ◆ Gli enzimi sono proteine globulari (la loro struttura tridimensionale è conseguente al ripiegamento delle molecole tale da far assumere loro una forma pseudo-sferica).



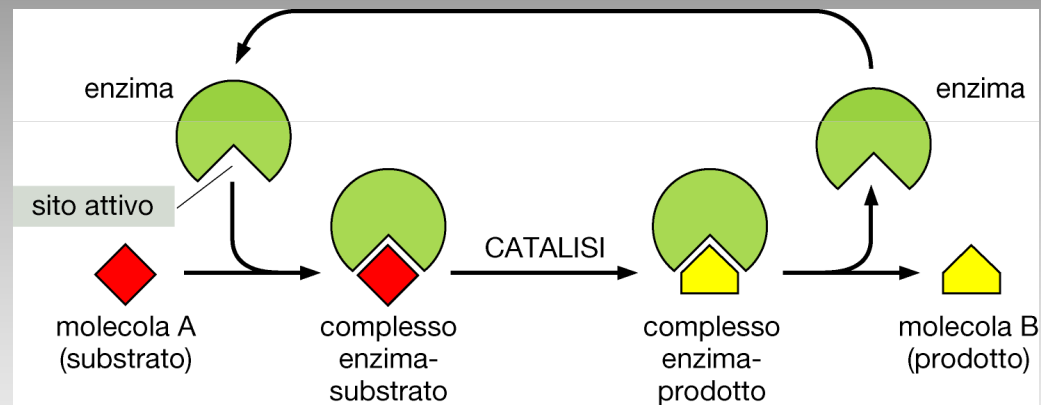
- ✦ Sono catalizzatori biologici in grado di aumentare la velocità delle reazioni abbassando l'energia di attivazione, cioè agiscono su un singolo substrato, o su un numero limitato di substrati chimicamente simili. Molti catalizzatori inorganici, invece, possono promuovere indiscriminatamente differenti reazioni chimiche.



- ✦ *Gli enzimi agiscono in piccole quantità.*
- ✦ *Sono dotati di elevatissima specificità.*
- ✦ *Non modificano l'equilibrio della reazione, ma solo la velocità con la quale l'equilibrio viene raggiunto.*

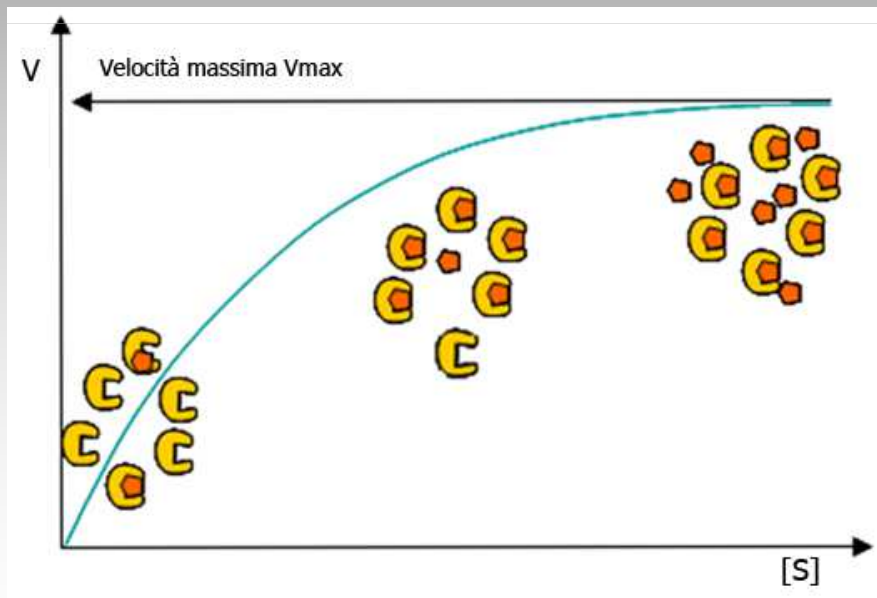


- ✦ *Gli enzimi non si consumano nel corso delle reazioni, al termine del processo possono perciò essere riutilizzati.*



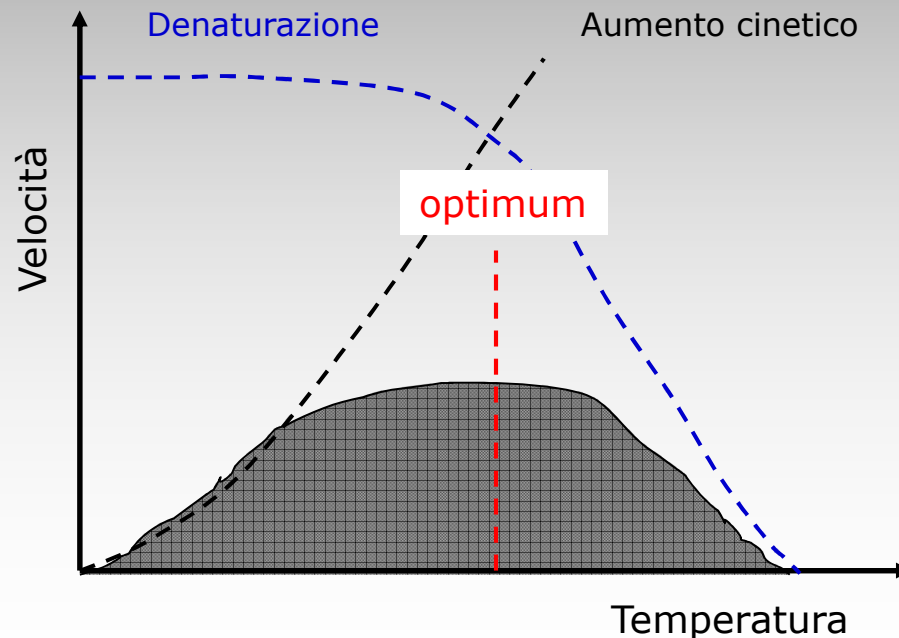
Fattori che influenzano le reazioni catalizzate dagli enzimi

La concentrazione del substrato: facendo reagire quantità definite di enzima $[E]$ con concentrazioni via via crescenti di substrato $[S]$, la velocità della reazione, in un primo tempo aumenta linearmente in modo proporzionale alla concentrazione del substrato stesso, successivamente in modo non proporzionale fino ad un massimo (V_{max}), raggiunto il quale rimane costante anche se la concentrazione del substrato aumenta ulteriormente.

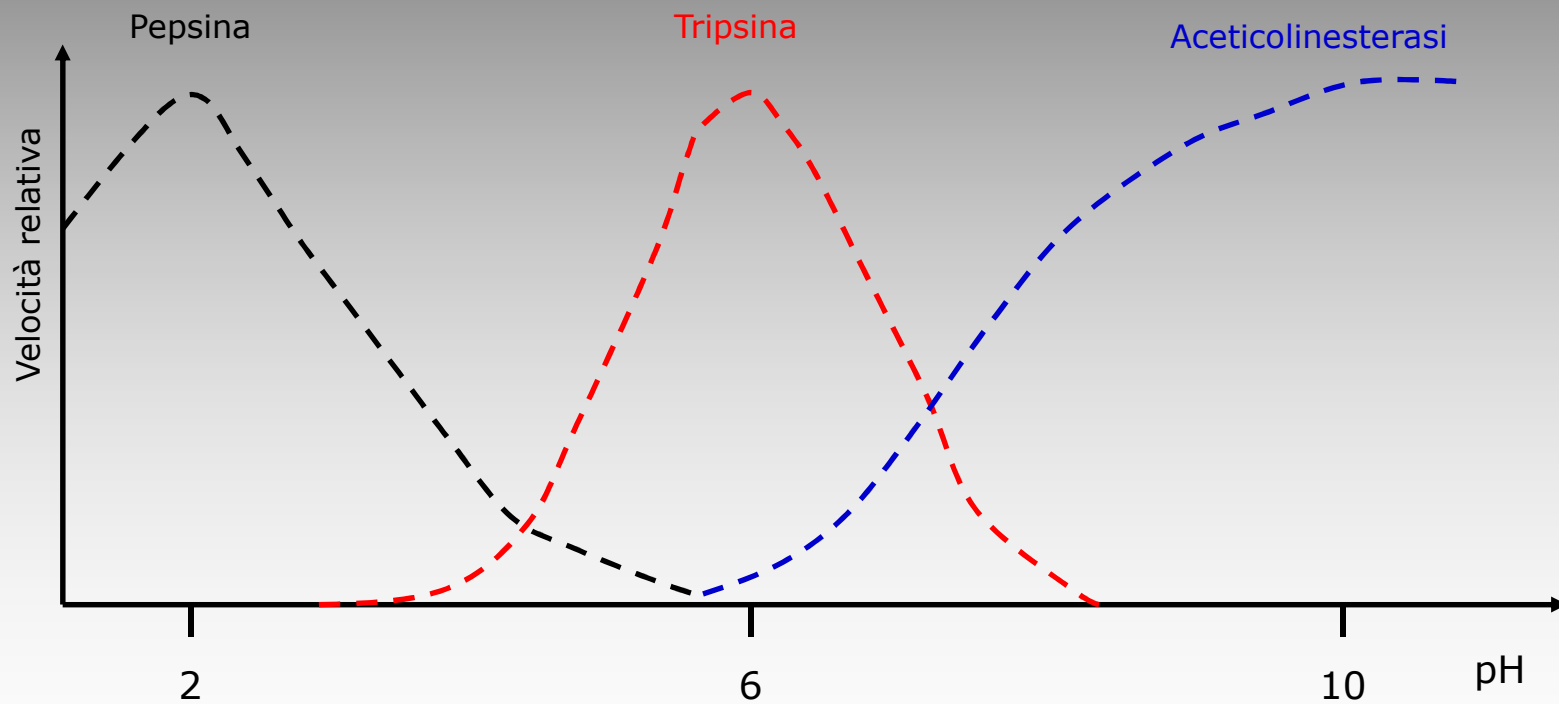


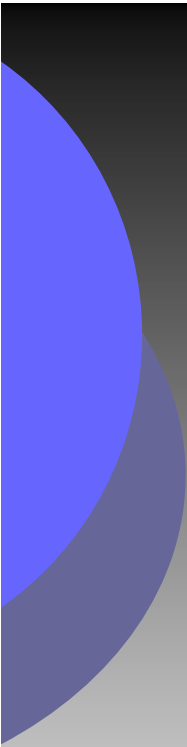
La concentrazione dell'enzima: in presenza di un eccesso di substrato l'attività enzimatica aumenta proporzionalmente alla concentrazione dell'enzima.

La temperatura: essa influisce sul movimento delle molecole, quella ottimale è la temperatura che produce la più alta percentuale di collisioni tra le molecole dei reagenti ed il sito attivo dell'enzima. Temperature molto elevate denaturano l'enzima. La stabilità di una proteina dipende dalla temperatura.



III pH: la maggior parte degli enzimi opera in uno stretto intervallo di pH compreso tra 6 e 8.



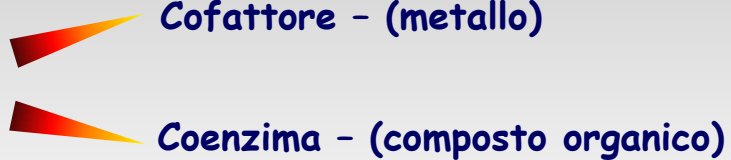


I cofattori: Per funzionare, alcuni enzimi richiedono molecole non proteiche chiamate cofattori. I cofattori possono essere sostanze inorganiche, come gli ioni metallo, o molecole organiche, in questo caso si chiamano coenzimi.

Oloenzima: Molecola proteica + gruppo prostetico

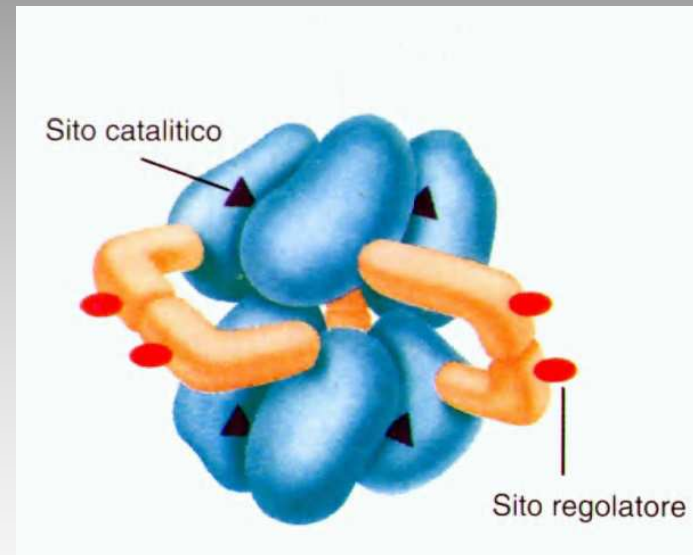
Apoenzima: Molecola proteina

Gruppo prostetico



- Cofattore - (metallo)
- Coenzima - (composto organico)

Gli enzimi allosterici: sono caratterizzati da una struttura quaternaria, in essi esistono più siti chimicamente attivi: quello per il substrato ed un altro al quale si può legare un effettore allosterico positivo o negativo.

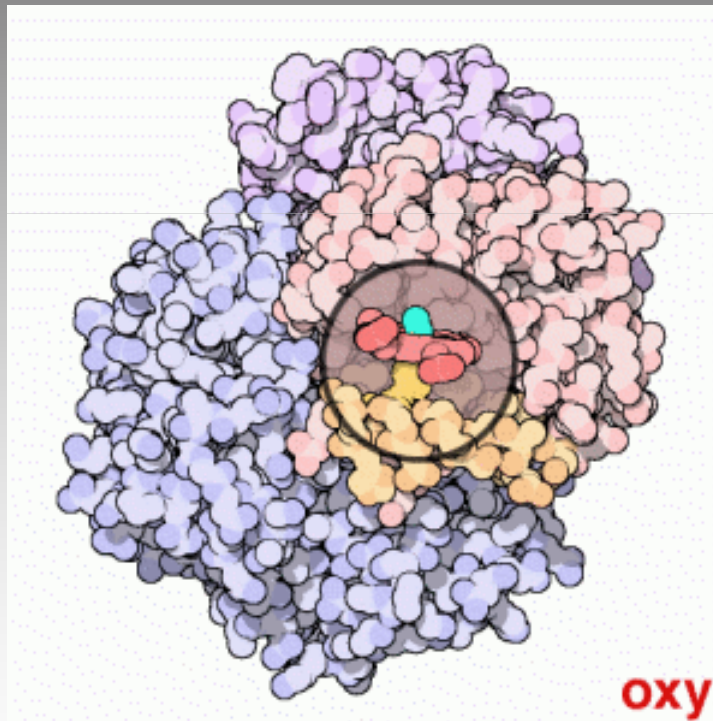


Coenzimi

Con il termine **coenzima** si intende una piccola molecola di natura non proteica che si associa all'enzima e ne rende possibile l'attività catalitica tipica dell'enzima stesso. La maggior parte degli enzimi che richiedono il legame a coenzimi, infatti, perde ogni funzionalità in caso di assenza del cofattore stesso.

Esempi: ATP, NAD⁺, FAD, CoA.

Enzimi allosterici



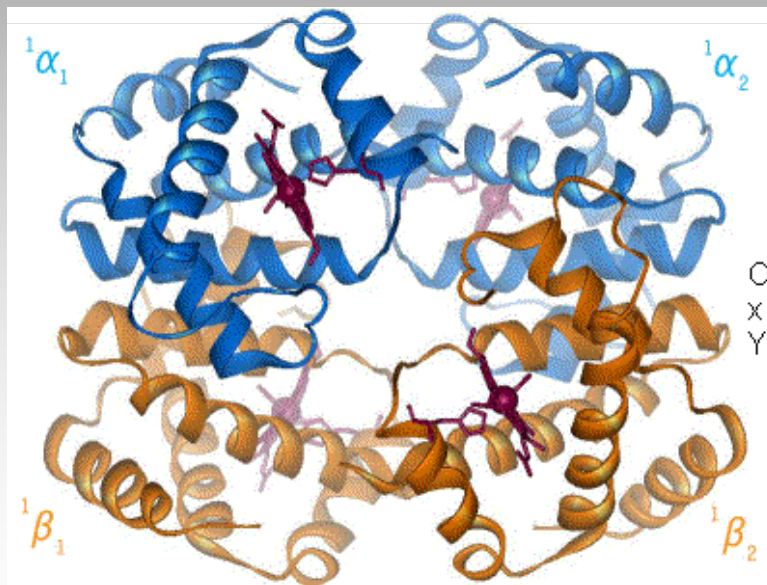
oxy e deoxy emoglobina

La **regolazione allosterica** (o **allosteria**, o **allosterismo**) è la regolazione di un enzima o di una proteina mediata da una molecola detta effettore, che svolge tale funzione legandosi presso il sito allosterico. Un enzima dotato di siti allosterici è detto **enzima allostero****ico**; non segue la cinetica di Michaelis-Menten.

Le macromolecole sottoposte a regolazione allosterica presentano solitamente una struttura quaternaria e, su ogni subunità, presentano un sito allosterico.

Il legame dell'effettore presso tali siti è in grado di modificare leggermente la struttura terziaria dell'enzima e quindi di variare la sua affinità per il substrato, consentendo di incrementare o di ridurre l'attività catalitica a seconda delle esigenze della cellula.

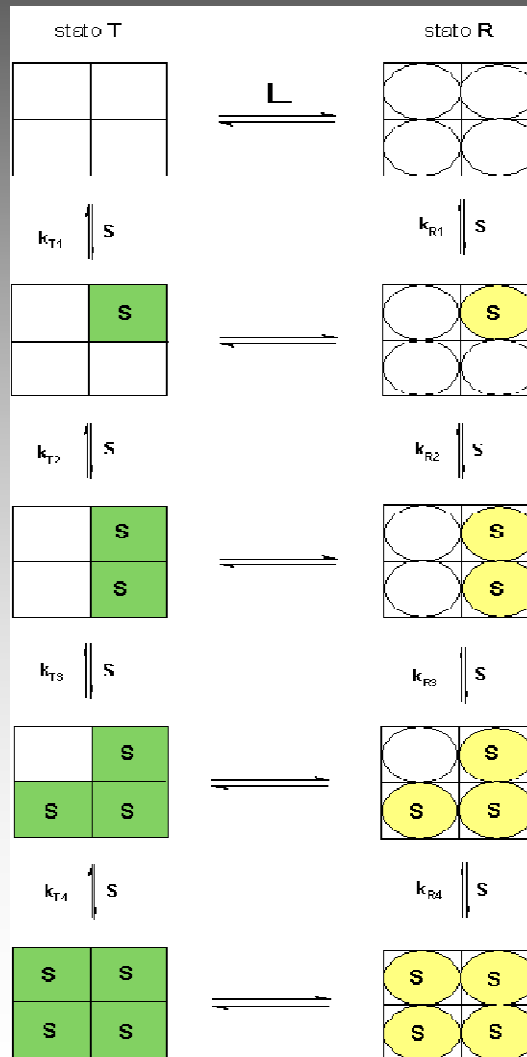
Gli effettori che intensificano l'attivazione della proteina vengono detti attivatori allosterici, quelli che al contrario diminuiscono l'attivazione della proteina sono gli inibitori allosterici.



emoglobina

Gli effettori possono essere effettori omotropi o eterotropi a seconda che presentino o meno la stessa natura chimica del substrato dell'enzima. A volte la regolazione allosterica può fungere da controllo retroattivo (feedback negativo) quando l'effettore allosterico inibitore è rappresentato dal prodotto della reazione enzimatica.

Modello simmetrico



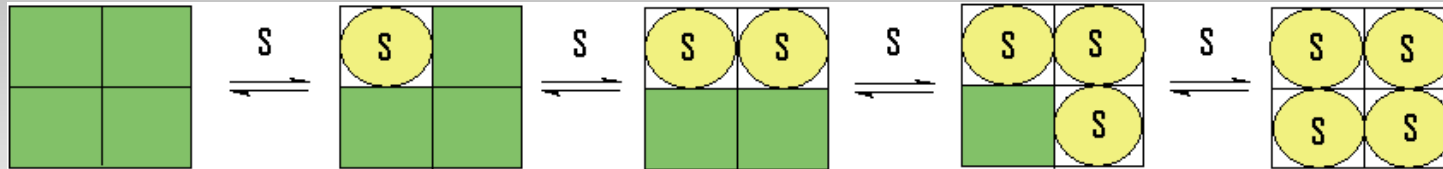
Per questo tipo di enzimi sono stati elaborati modelli che giustificano il loro comportamento: modello simmetrico e modello sequenziale. Le subunità enzimatiche esistono in due stati conformazionali definiti T ed R (Teso e Rilassato), in equilibrio tra di loro. Il legame di un substrato modifica l'equilibrio spostandolo verso la forma R.

Il substrato può legare l'enzima sia che le subunità siano R, sia che siano T, sebbene l'affinità di legame sia diversa, R ha maggiore affinità, T minore.

L'attacco del primo, del secondo ecc. substrato aumenta sempre più la probabilità che la proteina passi allo stato R.

Modello sequenziale

Le subunità non hanno bisogno di esistere nella stessa conformazione; le molecole di substrato vengono legate tramite adattamento indotto: il legame causa un cambiamento di conformazione della subunità dalla conformazione Tesa (T) a quella Rilassata (R); legare un substrato causa una maggiore affinità per il substrato nelle subunità adiacenti. Il modello simmetrico è infatti un caso limite del modello sequenziale.



Nomenclatura degli enzimi

Gli enzimi sono suddivisi in **6 classi**, in base alla reazione catalizzata. Gli enzimi hanno una doppia nomenclatura: un **nome corrente** di uso comune e un **nome sistematico**.

Il nome sistematico ha lo scopo di definire con maggior precisione la reazione catalizzata.

✦ Denominazione classica costituita da 3 parti:

- Nome del substrato (Lattico)
- Nome del coenzima (NAD)
- Nome della reazione catalizzata + "asi" (deidrogenasi)

Esempio: Lattico-NAD-deidrogenasi

✦ International Enzyme Commission (EC), fondata nel 1956 da Prof. M. Florin, International Union of Biochemistry:

- Classificazione degli enzimi secondo il sistema delle classi EC

Esempi: Lattato deidrogenasi: EC 1.1.1.27.

Adenosintrifosfato : creatin N-fosfo trasferasi

Creatin kinasi: EC 2.7.3.2.

Lattato : NAD⁺ ossidoreduttasi

EC

1 = classe ossidoriduttasi

1 = sotto classe

1 = sotto sotto classe

27 = 27esima posizione nella sotto sotto classe

Classi:

1: Ossidoreduttasi

2: Transferasi

3: Idrolasi

4: Liasi

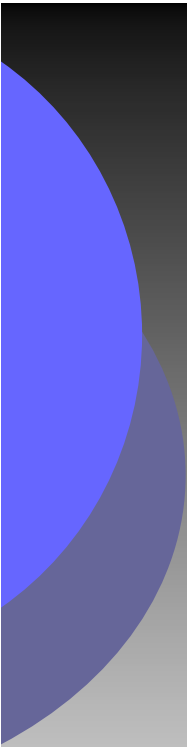
5: Isomerasi

6: Ligasi

Classificazione internazionale degli enzimi

1 - ossidoreduttasi: reazioni di ossido-riduzione

- 1.1 agisce sul gruppo CHOH del donatore*
- 1.2 agisce sul gruppo aldeidico o chetonico del donatore*
- 1.3 agisce sul gruppo CH-CH del donatore*
- 1.4 agisce sul gruppo CH-NH₂ del donatore*
- 1.5 agisce sul gruppo C-NH del donatore*
- 1.6 agisce su NADH₂ o NADPH₂*
- 1.7 agisce su altri composti azotati*
- 1.8 agisce su gruppi solforati*
- 1.9 agisce sui gruppi eme*

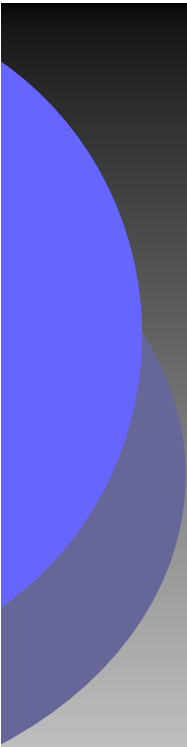


2 - transferasi: trasferimento di gruppi chimici da una molecola ad un'altra

- 2.1 gruppi ad una unità di carbonio*
- 2.2 gruppi chetonici o aldeidici*
- 2.3 gruppi acilici*
- 2.4 gruppi glicosidici*
- 2.5 gruppi alchilici*
- 2.6 gruppi azotati*
- 2.7 gruppi fosforici*
- 2.8 gruppi contenenti zolfo*

3 - idrolasi: reazioni di idrolisi

- 3.1 legami esterei*
- 3.2 legami glicosidici*
- 3.3 altri legami*
- 3.4 legami peptidici*
- 3.5 legami C-N non peptidici*
- 3.6 legami anidridici*
- 3.7 legami C-C*



4 - liasi: reazioni di addizione a doppi legami

4.1 legami C = C

4.2 legami C = O

4.3 legami C = N

4.4 legami C = S

5 - isomerasi: reazioni di trasformazione di una molecola nel suo isomero

5.1 racemasi

5.2 cis-trans isomerasi

6 - ligasi: reazioni di formazione di nuovi legami con rottura di ATP in AMP e pirofosfato o ADP e Pi

6.1 legami C-O

6.2 legami C-S

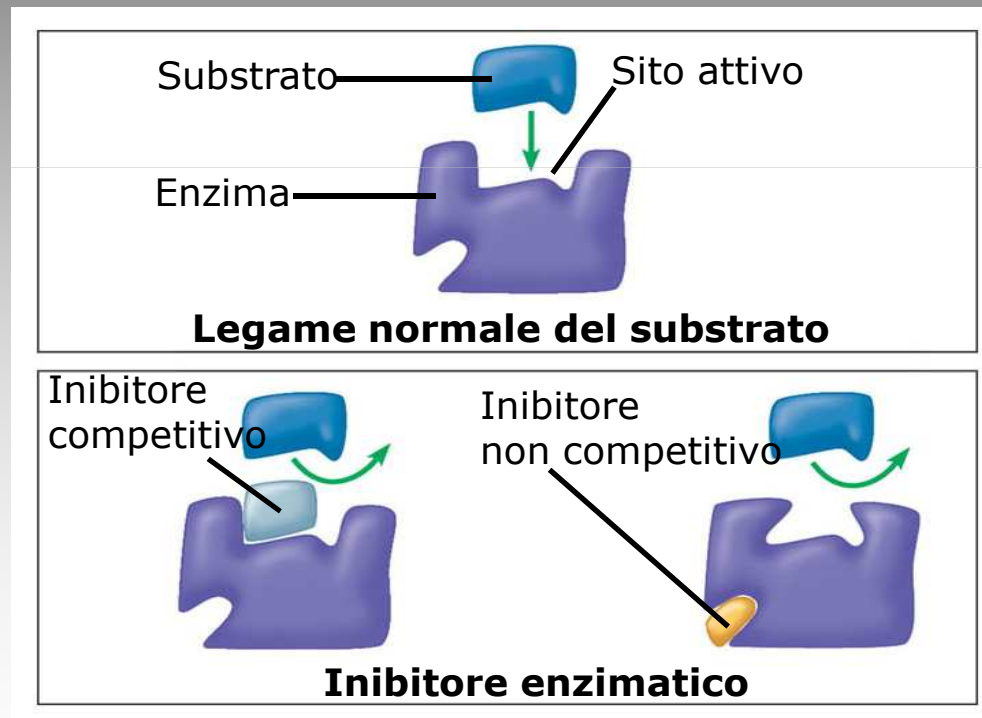
6.3 legami C-N

6.4 legami C-C

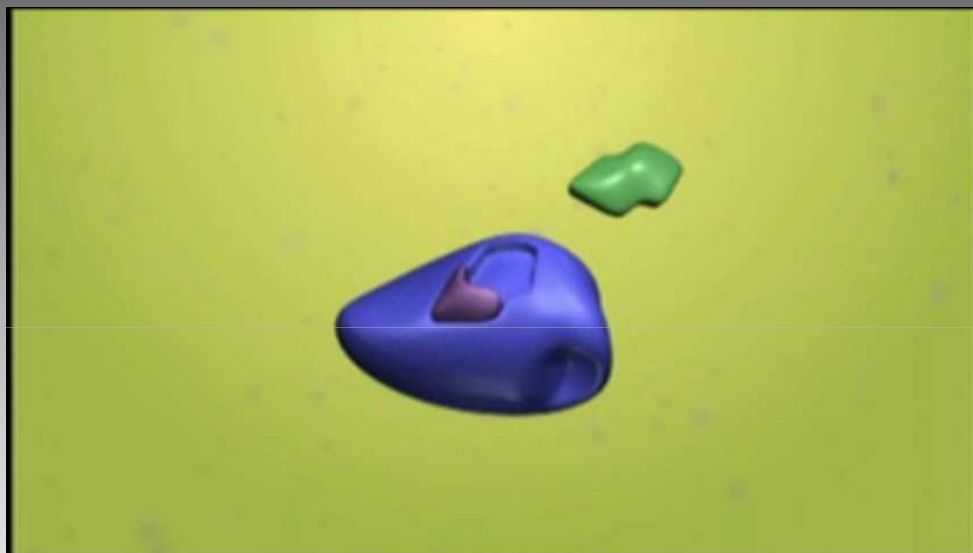
Inibizione enzimatica

Gli inibitori competitivi occupano il sito attivo di un substrato.

Gli inibitori non competitivi cambiano la funzione dell'enzima modificando la sua forma.



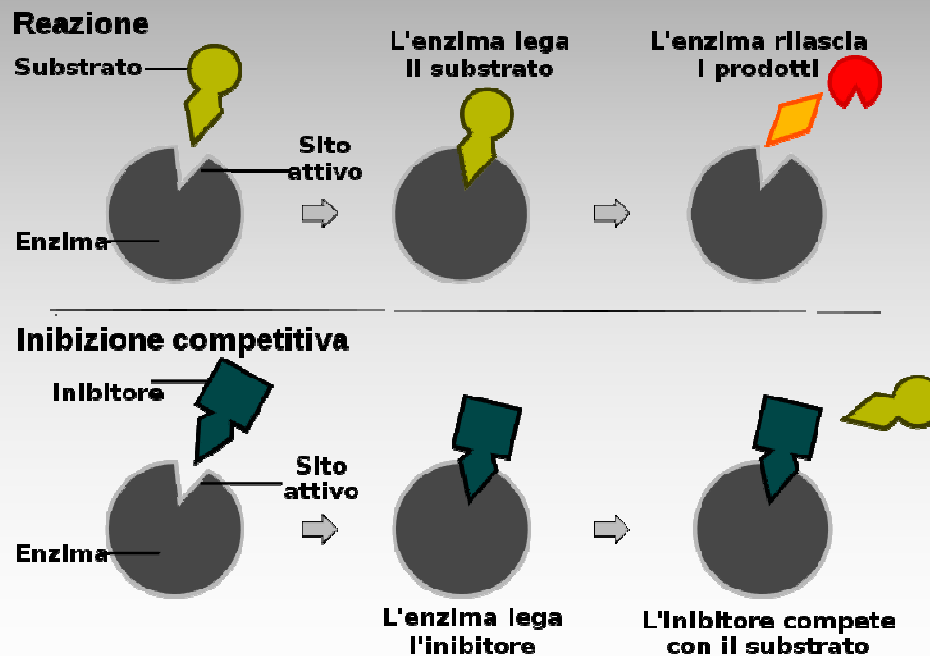
Gli inibitori incompetitivi si legano reversibilmente al complesso enzima-substrato durante il processo catalitico.



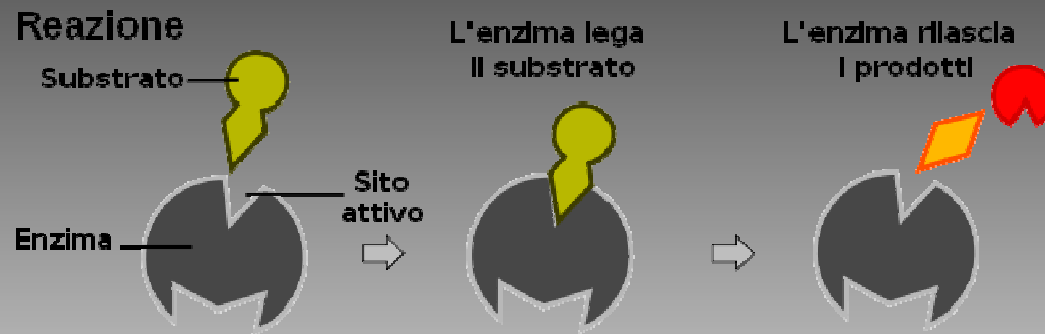
<http://www.youtube.com/watch?v=PILzvT3spCQ&list=QL&feature=BF>

Inibizione competitiva

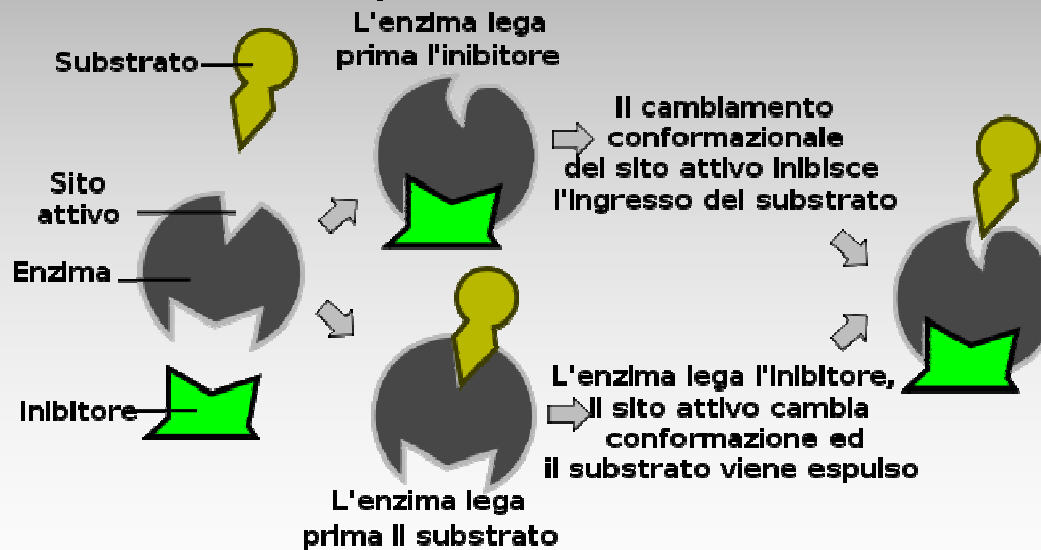
Alcuni inibitori sono simili per struttura al normale substrato dell'enzima e competono con esso per occupare il sito attivo. Questo tipo di **inibitore competitivo** riduce la produttività dell'enzima impedendo alle molecole del substrato di entrare nel sito attivo. L'inibizione competitiva può essere superata aumentando la concentrazione del substrato, ossia aumentando la probabilità che una molecola di substrato (e non di inibitore) si trovi nelle vicinanze di un sito attivo quando quest'ultimo è disponibile.



Inibizione non competitiva



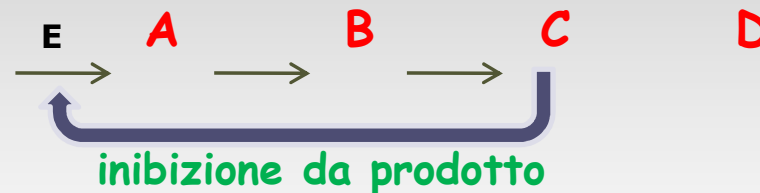
Inibizione non competitiva



Un **inibitore non competitivo**, invece, non interagisce con il sito attivo, ma si lega un'altra regione della molecola enzimatica, modificandone la forma in modo che il sito attivo non riesce più ad adattarsi al substrato.

Regolazione enzimatica

Le cellule usano gli inibitori per regolare il proprio metabolismo. Nella cellula la maggior parte delle reazioni chimiche è organizzata in vie metaboliche lungo le quali una molecola viene modificata in una serie di passaggi per formare un prodotto finale. Se una cellula produce una quantità di prodotto maggiore di quella di cui necessita, il prodotto stesso può comportarsi da inibitore di uno degli enzimi coinvolti nelle prime tappe della via metabolica. Questo tipo di inibizione, nella quale una reazione viene bloccata dai suoi stessi prodotti, è detta **feed-back negativo** (o **retroazione negativa**) e rappresenta uno dei più importanti meccanismi regolatori del metabolismo cellulare.



Ogni lettera indica un substrato che è contemporaneamente il prodotto di una reazione precedente; il prodotto D può inibire l'enzima che catalizza la reazione $A \rightarrow B$

Cinetica delle reazioni catalizzate

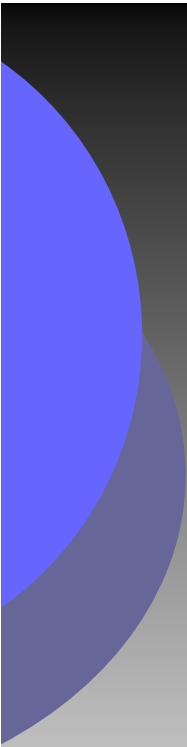
La velocità della reazione enzimatica $S \rightarrow P$ può essere espressa in funzione della variazione della concentrazione dei reagenti nel tempo per cui:

$$V = d[P] / dt$$

$$V = - d[S] / dt$$

dove V indica la velocità della reazione, $d[S]$ o $d[P]$ la variazione della concentrazione del substrato o del prodotto e dt il tempo della reazione. Il valore di $d[S]$ è negativo poiché si prende in considerazione la concentrazione delle molecole che scompaiono mentre il valore di $d[P]$ è positivo poiché si considera invece la concentrazione delle molecole che compaiono nel corso della reazione. Se tutte le condizioni che possono influenzare la velocità della reazione enzimatica rimangono costanti, la velocità della reazione è proporzionale alla concentrazione del substrato, per cui:

$$V = k [S]$$



dove V indica la velocità della reazione, k è un coefficiente definito come costante di velocità(indica la probabilità che ha la reazione di avvenire in certe condizioni di temperatura , pH, ecc.) e $[S]$ è la concentrazione del substrato. Pertanto se nel corso della reazione la concentrazione del substrato diminuisce, anche la velocità della reazione diminuirà proporzionalmente: se invece la concentrazione del substrato rimane costante, anche la velocità della reazione rimane costante.

In presenza di un eccesso di substrato quindi la velocità della reazione è indipendente dalla concentrazione del substrato stesso e dipende invece dalla concentrazione dell'enzima, per cui:

$$V = k [E]$$

dove V è la velocità di reazione, k la costante di velocità e $[E]$ la concentrazione dello enzima.

L'analisi quantitativa dell'attività enzimatica, o cinetica enzimatica dà informazioni utili su come agiscono gli enzimi. Questo ci consente di rapportare fra loro i diversi enzimi, o lo stesso enzima in condizioni differenti.

La cinetica enzimatica è chiarita dall'equazione di Michaelis-Menten di seguito riportata:

$$\frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

Rappresentando schematicamente il decorso di una reazione enzimatica si ha:

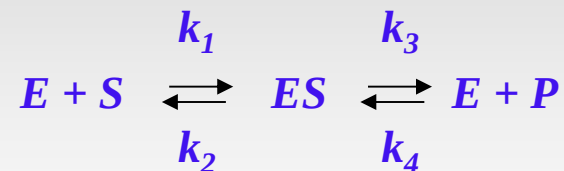


L'enzima prima si combina con il substrato formando il complesso enzima-substrato.



Successivamente il complesso si decompone producendo l'enzima libero ed il prodotto della reazione. La seconda reazione è più lenta quindi limita la velocità della reazione complessiva.

In qualsiasi istante, l'enzima E_T (enzima totale) è presente in due forme, quella libera E e quella combinata con il substrato ES . Quando la $[S]$ è bassa, la maggior parte dell'enzima sarà nella forma libera E . Quindi la velocità sarà proporzionale a $[S]$, in quanto, secondo l'equilibrio dell'equazione (1), man mano che la $[S]$ tende ad aumentare, viene favorita la formazione del complesso ES . La velocità massima V_{max} della reazione catalizzata si osserva quando tutto l'enzima è presente sotto forma di complesso ES e la concentrazione di E libero è trascurabile. Quando il complesso ES si decompone e si forma il prodotto P , l'enzima torna libero e pronto ad iniziare un altro ciclo catalitico. La reazione complessiva è:

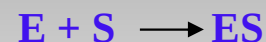


Poiché V_0 (velocità di reazione) dipende dalla velocità di demolizione di ES:

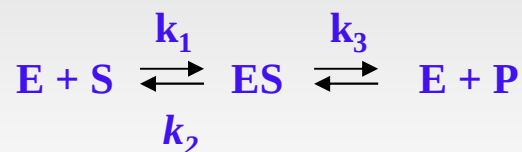
$$V_0 = k_3 [ES]$$

In una reazione tra enzima (E) e substrato (S), possiamo distinguere due fasi:

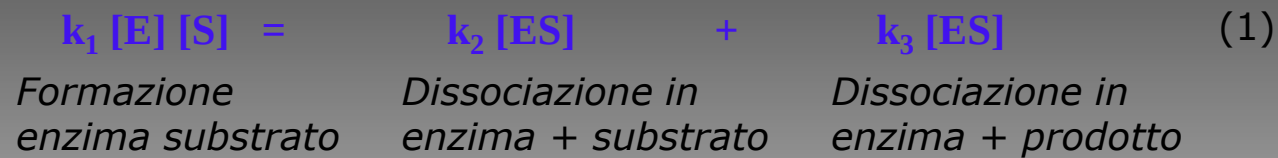
1: legame tra E e S per formare il complesso ES



2: stato stazionario in cui la concentrazione dell'intermedio [ES] è costante, mentre si modificano [S] e [P]. Ciò avviene quando la velocità di formazione di [ES] è uguale alla velocità di scissione:



Velocità formazione ES = velocità di dissociazione ES



$$[E_{\text{tot}}] = [E] + [ES]$$

$$[E] = [E_{\text{tot}}] - [ES]$$

Andiamo a sostituire $[E]$ nell'equazione (1)

$$k_1 \{[E_{\text{tot}}] - [ES]\} [S] = k_2 [ES] + k_3 [ES]$$

$$k_1 [E_{\text{tot}}] [S] - k_1 [ES] [S] = k_2 [ES] + k_3 [ES]$$

Esplicitiamo per $[ES]$

$$k_1 [E_{\text{tot}}] [S] = (k_2 + k_3) [ES] + k_1 [ES] [S]$$

Dividiamo tutto per k_1

$$[E_{\text{tot}}] [S] / k_1 = (k_2 + k_3) [ES] / k_1 + [ES] [S] / k_1 \quad (k_2 + k_3) / k_1 = K_M$$

K_M è la costante detta di Michaelis-Menten

$$[E_{\text{tot}}] [S] = K_M [ES] + [ES] [S]$$

$$[E_{\text{tot}}] [S] = (K_M + [S]) [ES]$$

$$ES = [E_{\text{tot}}] [S] / (K_M + [S]) \quad V_0 = k_3 [ES]$$

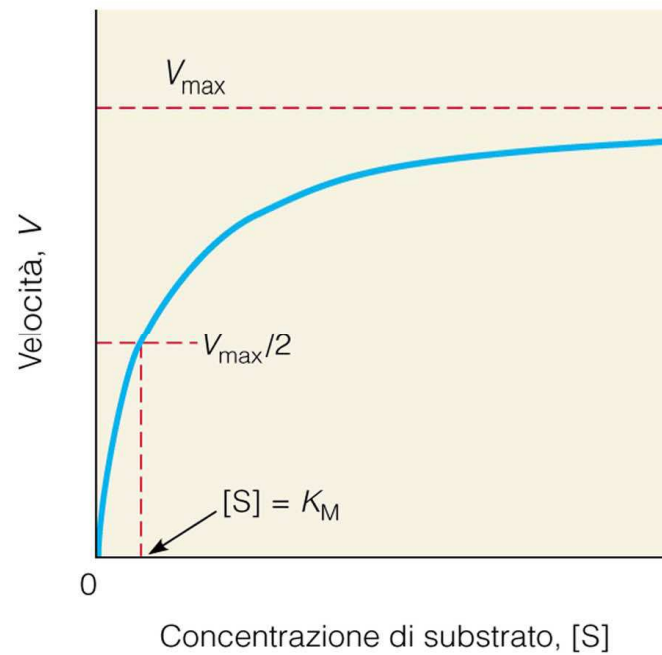
$$V_0 = k_3 [E_{\text{tot}}] [S] / K_M + [S]$$

Quando tutto E_{tot} diventa ES allora la velocità sarà massima.

$$V_{\text{max}} = k_3 [E_{\text{tot}}]$$

Quando il substrato satura l'enzima allora la velocità sarà massima

$$V_0 = V_{\max} [S] / K_M + [S]$$



Significato della K_M

È la concentrazione di substrato alla quale la velocità della reazione è metà della V_{max}

La K_M è approssimativamente la misura dell'affinità di un enzima per il substrato.

Più alta è la K_M minore sarà l'affinità perché se per formare un complesso enzima-substrato è necessaria un'alta concentrazione di substrato per saturare metà delle molecole di enzima, allora vuol dire che l'enzima ed il substrato hanno l'uno per l'altro, una bassa attrazione.

Sostituendo V_0 con $\frac{1}{2} V_{max}$ l'equazione di Michaelis-Menten sarà

$$\frac{1}{2} V_{max} = V_{max} [S] / K_M + [S]$$

$$\frac{1}{2} = [S] / K_M + [S]$$

$$K_M + [S] = 2[S]$$

$$K_M = [S]$$

Nell'inibizione competitiva: V_{max} non cambia, K_M aumenta.

Nell'inibizione non competitiva: K_M non cambia, V_{max} diminuisce

Nell'inibizione incompetitiva: cambiamenti simultanei di K_M e V_{max}