

Gli enzimi

Proprietà generali

Classificazione e nomenclatura

Catalisi enzimatica

Gli Enzimi sono catalizzatori biologici

cioè hanno il potere di *accelerare* enormemente le *reazioni* chimiche tipiche dei processi vitali

Gli enzimi hanno molte caratteristiche in comune con tutti gli altri catalizzatori:

- *Non* fanno *avvenire reazioni* che non siano *termodinamicamente possibili*
- *Modificano* la *velocità* della reazione ma *non* ne alterano *l'equilibrio*
- Si ritrovano *inalterati* alla *fine* del *processo di catalisi*

Ma si distinguono dai catalizzatori chimici per molti aspetti

Sono straordinariamente efficienti

La *velocità* di una reazione catalizzata da un enzima *aumenta* rispetto a quella della reazione non catalizzata

Sono spesso altamente specifici

Molti enzimi sono *stereospecifici*, essendo attivi su uno solo di due *enantiomeri*.

Altri, anche se *dotati di specificità* meno stretta, agiscono solo su *molecole* molto *simili* e lo fanno comunque *con affinità e velocità diverse*

Sono modulabili

La *velocità* di una reazione enzimatica può essere *regolata* in maniera fine e selettiva, sia in senso *positivo* che *negativo*, mediante l'interazione con altre molecole, *attivatori* o *inibitori*

Enzimi

Potere catalitico

Specificità

Regolazione

Essi giocano un **ruolo fondamentale**:

- nel **metabolismo**, **controllando il flusso delle reazioni chimiche**
- nelle **attività regolatorie** necessarie a soddisfare le **necessità metaboliche** contingenti delle cellule.

Gli enzimi sono efficienti catalizzatori altamente specifici

Potere catalitico. Gli enzimi accelerano le reazioni chimiche di parecchi ordini di grandezza (spesso di 1×10^6)

Specificità. Sono specifici sia nel **tipo di reazione** catalizzata sia nella scelta dei propri reagenti (**substrati**)

Rese elevate. Forniscono prodotti con rese molto elevate ($> 95\%$)

Complementarietà. La specificità e la resa del prodotto sono dovute al **riconoscimento molecolare tra substrato ed enzima** basato sulla **complementarietà strutturale**

Regolazione. L'attività degli enzimi è regolata da molteplici fattori:
controllo della **quantità di enzima prodotto**,
interazione con specifici **attivatori** ed **inibitori** dell'attività enzimatica

CLASSIFICAZIONE E NOMENCLATURA DEGLI ENZIMI

Inizialmente i nomi venivano assegnati arbitrariamente sulla base del:

- **nome del substrato**

Es.: ureasi, enzima che catalizza l'idrolisi dell'urea

- **ruolo** svolto in determinati processi

Es.: Pepsina, dal greco pepsis (digestione)

La IUBMB

International Union of Biochemistry and Molecular Biology

si è occupata allora di dare le **basi nella classificazione** degli enzimi, anche se alcuni nomi tradizionali come pepsina e papaina, restano ancora in uso

Gli enzimi vengono posti in 6 classi:

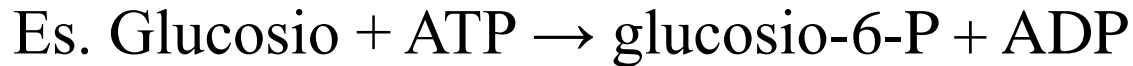
Gli enzimi sono classificati in base al tipo di reazione che catalizzano

Numero della classe	Nome della classe	Tipo di reazione catalizzata
1	Ossidoreduttasi	Reazioni di ossidoriduzione. Es.: ossidoreduttasi, deidrogenasi, ossidasi ...
2	Trasferasi	Trasferimento di gruppi funzionali. Esempi: acetiltransferasi, metilasi, kinasi ...
3	Idrolasi	Reazioni di idrolisi. Esempi: proteasi, nucleasi, fosfatasi ...
4	Liasi	Rottura di legami C-C C-O C-S e C-N con meccanismo diverso dall'idrolisi. Esempi: decarbossilasi, aldolasi ...
5	Isomerasi	Reazioni di riarrangiamento intramolecolare per formare isomeri
6	Ligasi	Formazione di legami C-C, C-O, C-S, C-N con idrolisi di ATP. Esempi: DNA polimerasi

Nomenclatura degli enzimi

Sistema **IUBMB** (International Union of Biochemistry and Molecular Biology)
Definisce il nome: nome sistematico (e comune) + un codice numerico

- Nome sistematico: **nome substrato(i) + tipo di reazione + suffisso -asi**
- Numero di classificazione: **Numero E.C. (Enzyme Commission)**



- Nome sistematico: **ATP:D-esoso-6-fosfotransferasi**

Classe: 2. Transferasi
Sottoclasse 2.7 trasferimento di gruppi P (chinasi)
Sotto-sottoclasse 2.7.1 trasferimento di gruppi P su OH accettore
Numero seriale **2.7.1.1**

- Nome comune: **Esochinasi**

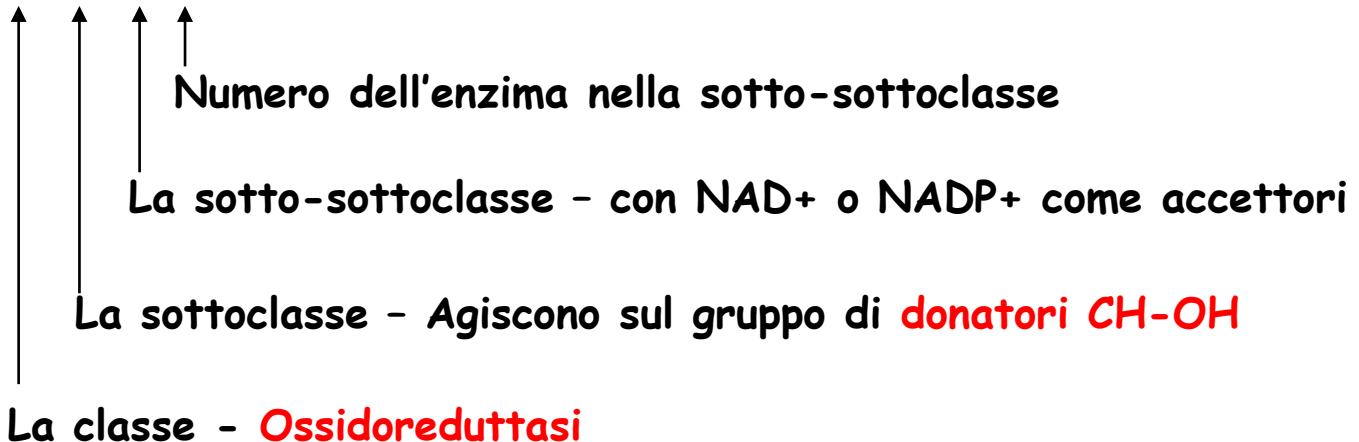
Classificazione gerarchica degli enzimi

Per esempio:



- Nome comune: **alcool deidrogenasi**
- Nome sistematico: **alcool:NAD⁺ ossidoreduttasi**

• **EC 1.1.1.1**

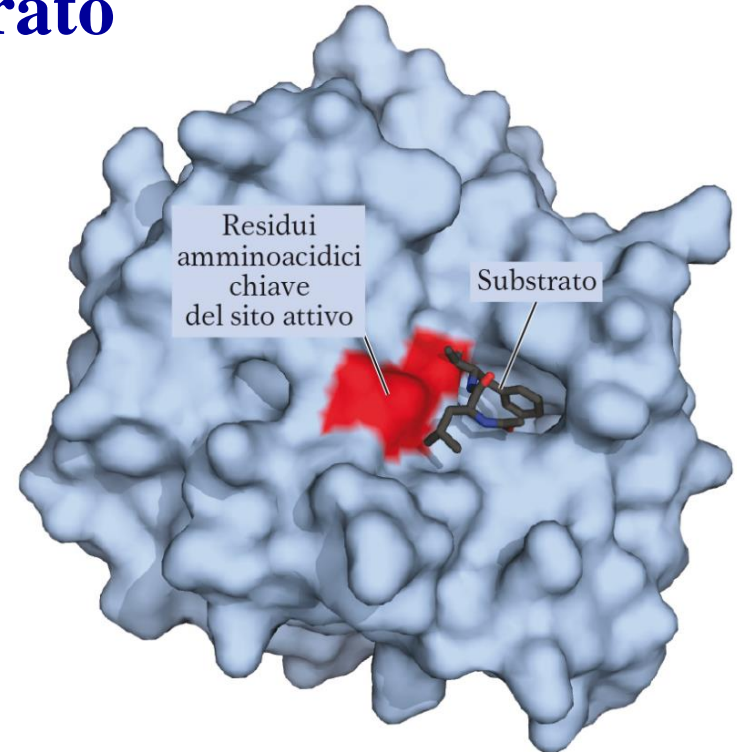


Come lavorano gli enzimi?

Il sito attivo e il Complesso Enzima-Substrato

Le reazioni avvengono presso una zona ristretta, un **solco o cavità** della proteina, con **elevata complementarità geometrica** per la molecola che vi si lega (**substrato**) definito **sito attivo**.

Generalmente coinvolge *pochi residui*, spazialmente *vicini nella struttura 3D* che può comprendere anche *cofattori* (**ioni** o **coenzimi**).



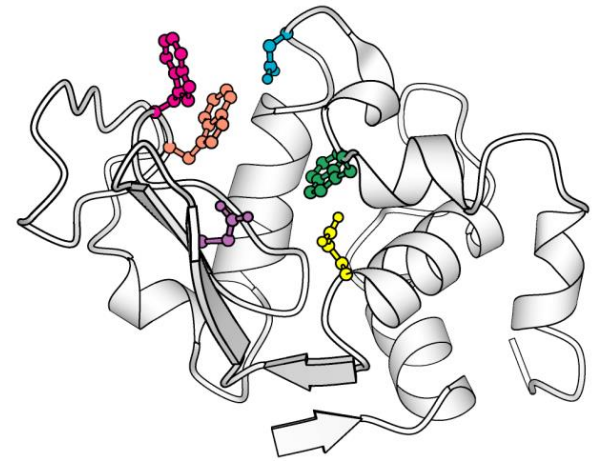
RIBONUCLEASI A (RNAsi)

Il *legame tra sito attivo* dell'enzima e substrato origina un *complesso enzima-substrato* (**ES**) stabilizzato da interazioni deboli multiple.

Caratteristiche dei siti attivi degli enzimi

- Sono presenti alcuni residui che partecipano alla formazione dei legami nella catalisi (**gruppi catalitici**).
- L'interazione tra il sito attivo di E ed S promuove la formazione dello **stato di transizione**.

(A)



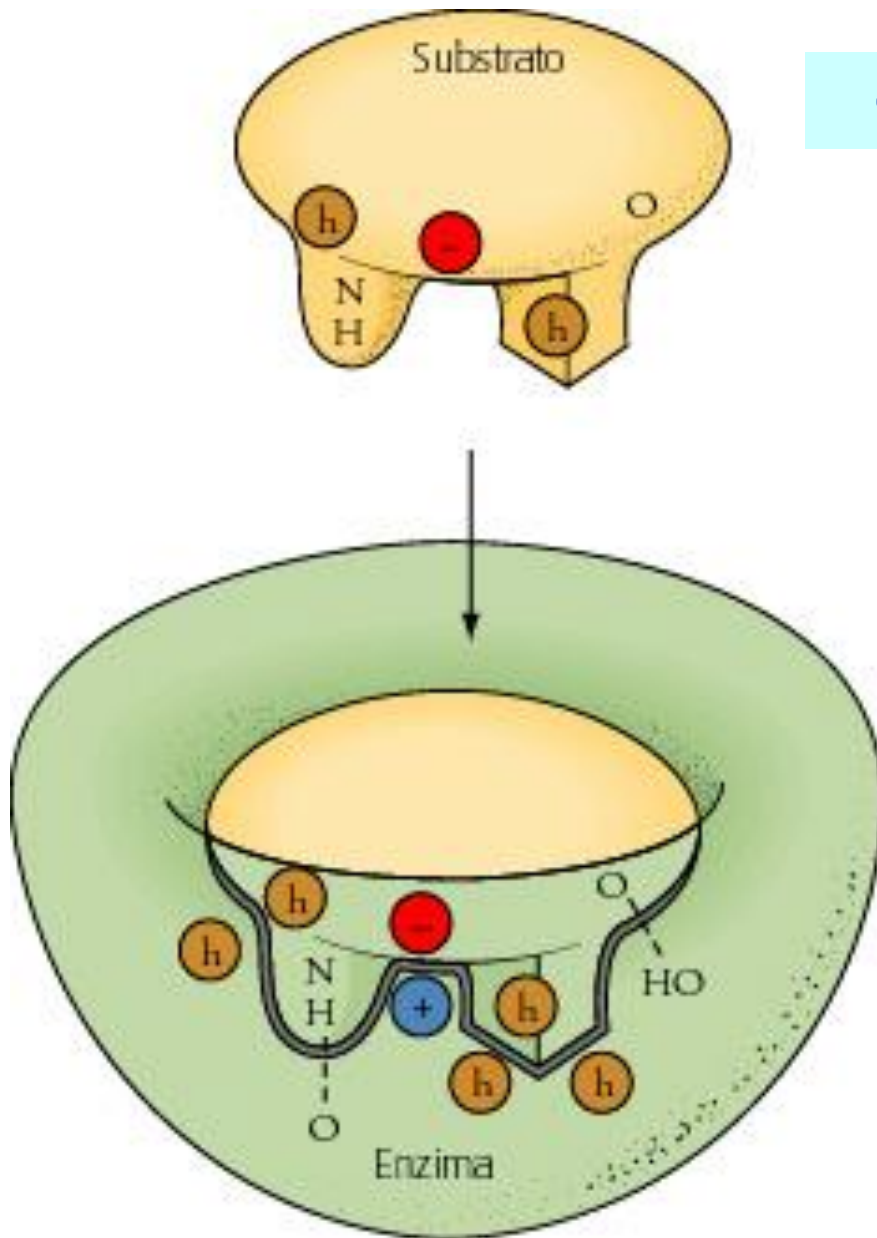
Gruppi catalitici del lisozima



- I substrati si legano all'enzima attraverso un certo numero di **interazioni deboli** con energie di interazione di $-12, -50 \text{ kJ mol}^{-1}$.
- La **specificità di legame** dipende dalla disposizione degli atomi nel sito attivo: **complementarietà strutturale**

Complesso enzima -substrato

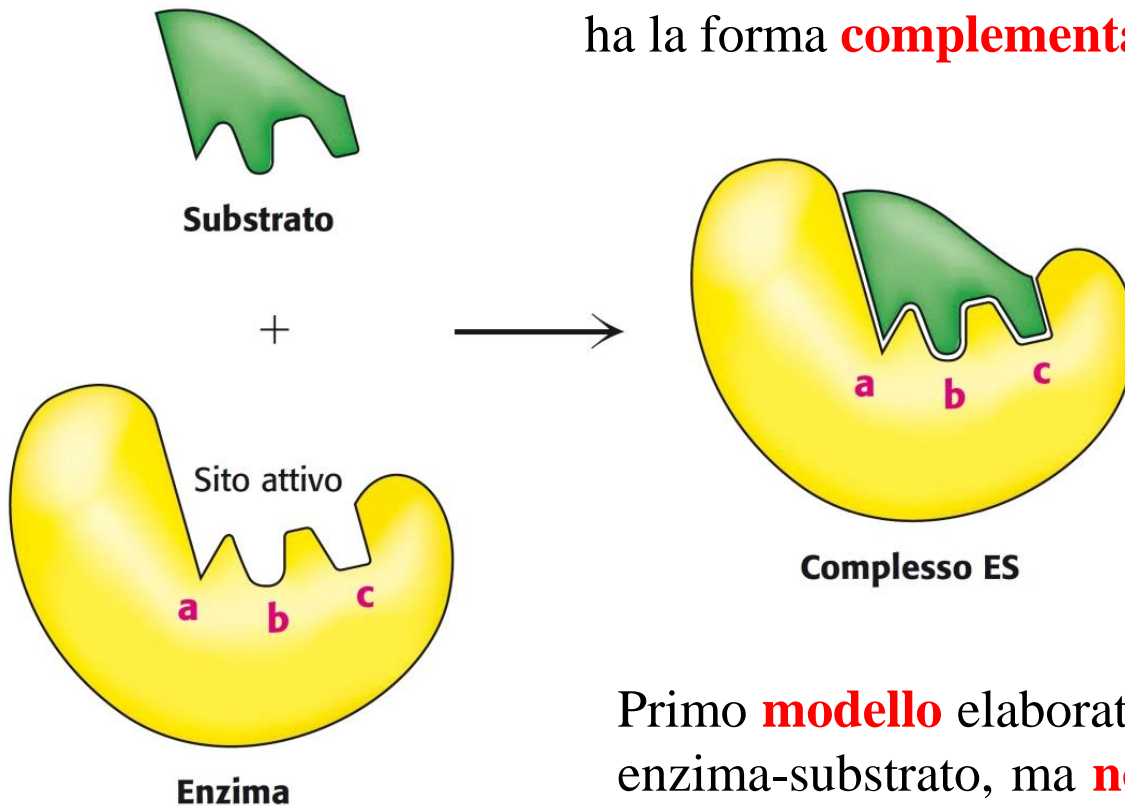
Complementarietà strutturale



Il **sito attivo** è un **incavo** o una **fessura** sulla superficie dell'enzima

Modello *CHIAVE-SERRATURA*

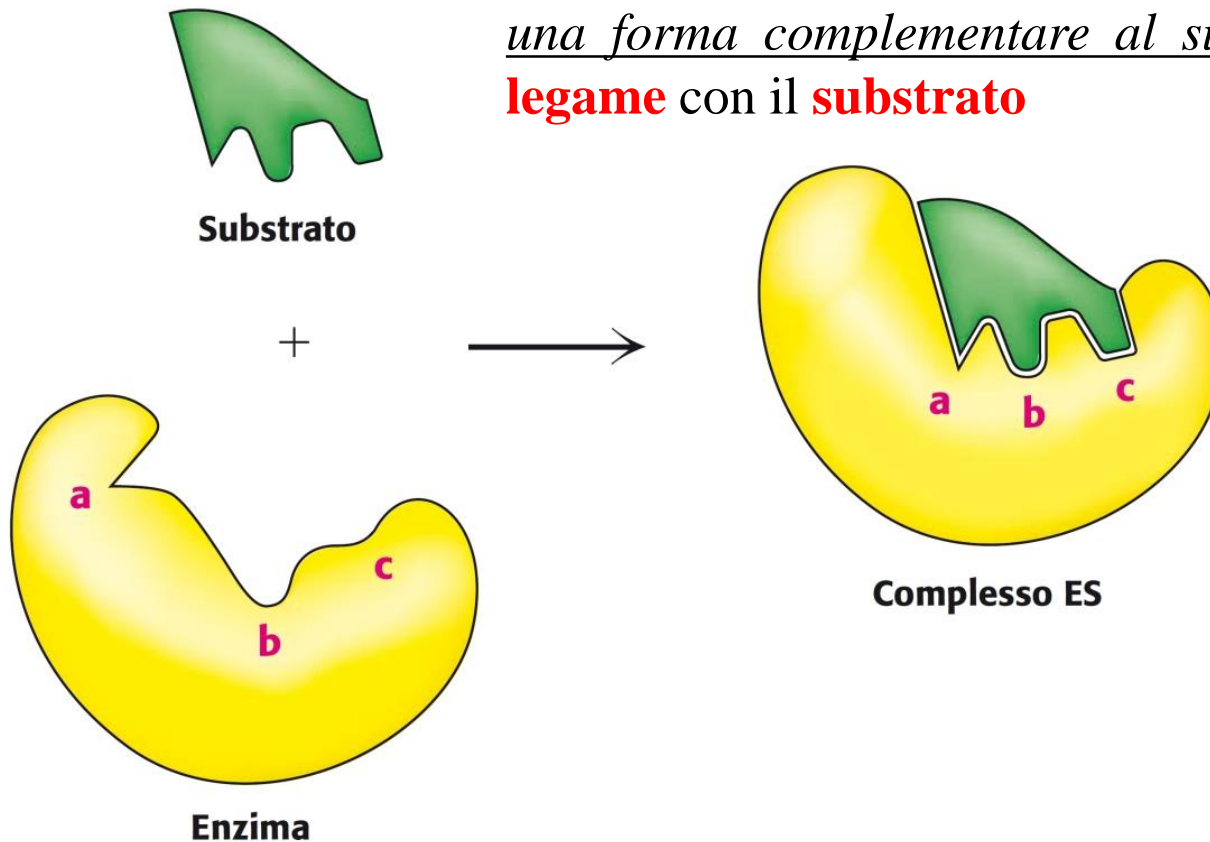
In questo modello il sito attivo dell'enzima libero ha la forma **complementare** a quella del substrato



Primo **modello** elaborato per spiegare l'interazione enzima-substrato, ma **non** più **esauriente** perché è ora evidente che la **forma** del **sito attivo** di molti enzimi è **modificata** in maniera marcata dal **legame** con **S**

Modello dell'ADATTAMENTO INDOTTO (*induced fit*)

In questo modello l'**enzima cambia conformazione** in seguito al legame del substrato. Il sito attivo assume una forma complementare al substrato solo **dopo** il **legame** con il **substrato**



Specificità degli enzimi

Specificità assoluta: l'enzima catalizza solo una reazione

Specificità di gruppo: l'enzima agisce solo su molecole che hanno uno *specifico gruppo chimico*

Specificità di legame: l'enzima agisce solo su un particolare tipo di legame chimico senza tenere conto del resto della molecola di Substrato

Specificità stereochimica: l'enzima agisce solo su un particolare *isomero sterico o ottico*

Come lavorano gli enzimi?

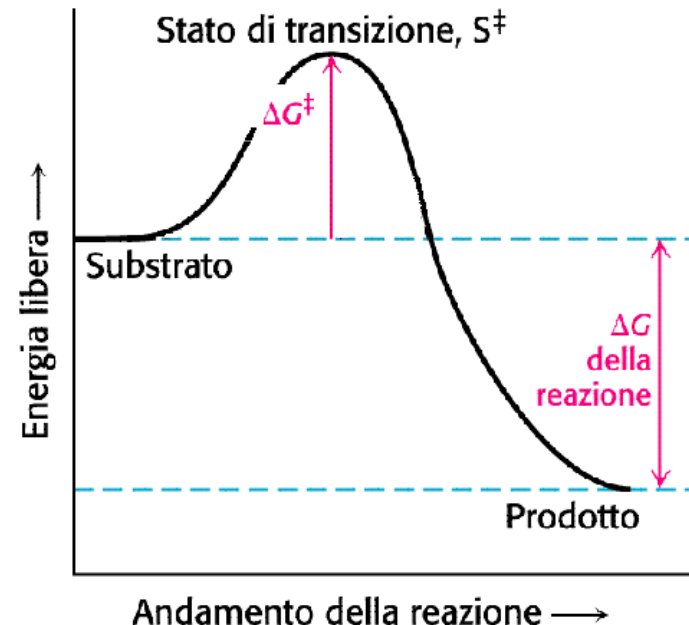


La funzione di un **catalizzatore** è quella di **aumentare la velocità di reazione**

I catalizzatori **non modificano** gli **equilibri di reazione**

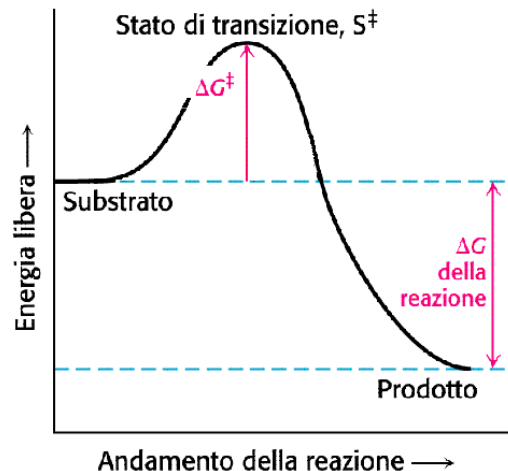
Essi **stabilizzano** lo **stato di transizione** e cioè la specie a più elevata energia

Gli enzimi possono **accelerare la velocità delle reazioni chimiche** anche più di 1.000.000 di volte



Lo stato di transizione

- Uno **stato di transizione** NON è un intermedio della reazione
- Uno **stato di transizione** è un “arrangiamento” molecolare intermedio tra la struttura dei reagenti e quella dei prodotti
- Uno **stato di transizione** NON è isolabile. La sua struttura può solo essere ipotizzata



Per descrivere le variazioni dei livelli di energia tra S e P si definisce *una funzione termodinamica*: **ENERGIA LIBERA (G)**

Che informazione ci da il ΔG ?

1. Una reazione avviene solo se $\Delta G < 0$ (reazioni **esoergoniche**)
2. Se $\Delta G = 0$ non ci sono variazioni nette (**equilibrio**)
3. Una reazione con ΔG positivo ($\Delta G > 0$) può avvenire SOLAMENTE **fornendo energia**
4. Il valore di ΔG dipende **dall'energia dei prodotti** (*stato finale*) e energia libera **dei reagenti** (*stato iniziale*): NON DAL MECCANISMO
5. Il valore di ΔG non dà informazioni sulla velocità della reazione

Da cosa dipende la velocità di una reazione?

Dalla *variazione* della *concentrazione* dei *reagenti* o dei *prodotti* nell'unità di tempo

Ogni reazione chimica procede con una determinata velocità, che dipende dalla *temperatura*, oltre che dalla *natura* stessa dei *reagenti*

Anche una *reazione termodinamicamente spontanea* ($\Delta G < 0$) può *richiedere moltissimo tempo* per generare i prodotti

Non vi è infatti *nessuna correlazione specifica fra termodinamica e cinetica di una reazione*

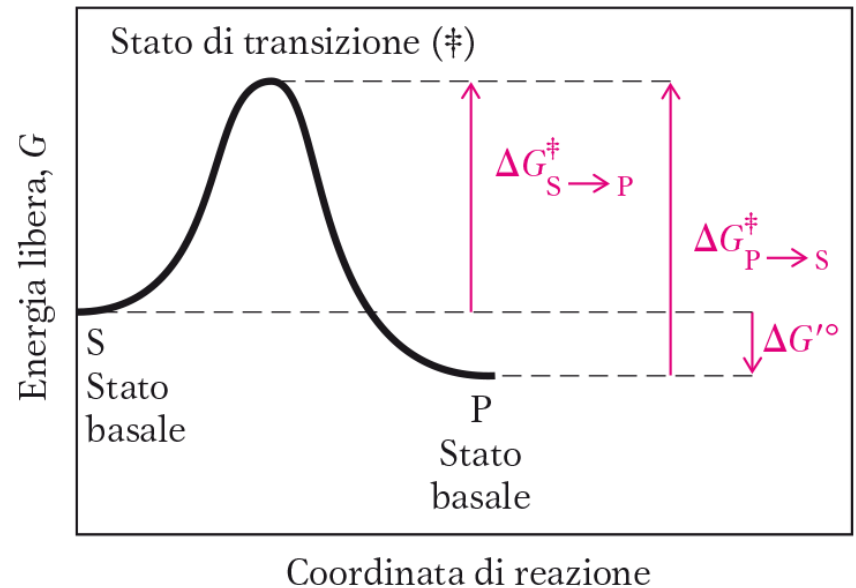
Ciò che impedisce ad una reazione, sia pur spontanea, di avvenire istantaneamente, è una "*barriera energetica*" definita *energia di attivazione*

Da cosa dipende la velocità?

energia libera di attivazione ΔG^\ddagger

Gli *equilibri* delle reazioni dipendono dal $\Delta G'^{\circ}$

La *velocità* è correlata al ΔG^\ddagger (*energia libera di attivazione*)



$$K'_{\text{eq}} = [\text{P}]/[\text{S}]$$

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{\text{eq}}$$

$$R = 8,315 \text{ J/mole} \cdot \text{K}$$

$$T = 298 \text{ K (25}^\circ\text{C)}$$

Energia libera di attivazione ΔG^\ddagger

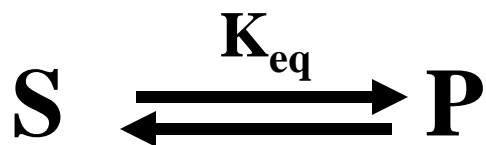
L'energia di attivazione è una barriera per la reazione biochimica, ma è *fondamentale per la vita*

La *stabilità* delle *molecole aumenta* con *l'aumentare* della *barriera* di *attivazione*.

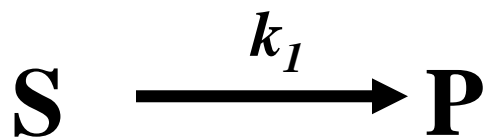
Senza questa barriera le *molecole* complesse tenderebbero a *convertirsi spontaneamente* in forme molecolari più semplici

Gli *enzimi* hanno sviluppato la *capacità* di *abbassare* in modo *selettivo* solo *l'energia di attivazione delle reazioni necessarie per la sopravvivenza della cellula*

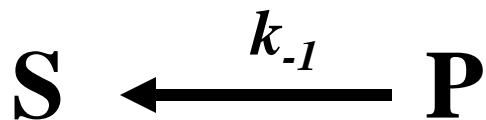
Equilibrio Chimico e Cinetica Chimica



$$K_{\text{eq}} = [P]_{\text{eq}} / [S]_{\text{eq}}$$

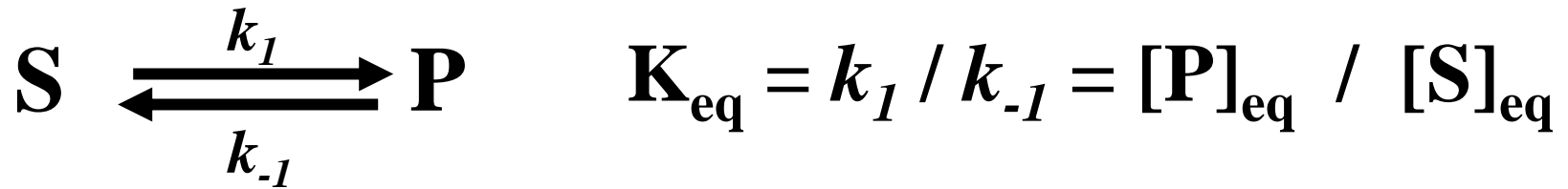


$$v_{S \rightarrow P(t)} = k_1 [S]_t$$



$$v_{P \rightarrow S(t)} = k_{-1} [P]_t$$

$$K_{\text{eq}} = k_1 / k_{-1}$$



$$k_1 = 1 \quad k_{-1} = 0.01$$

equilibrio lento
Non catalizzato

$$K_{\text{eq}} = k_1 / k_{-1} = 100 = [\text{P}]_{\text{eq}} / [\text{S}]_{\text{eq}}$$

$$k_1 = 100000 \quad k_{-1} = 1000$$

equilibrio veloce
catalizzato

$$K_{\text{eq}} = k_1 / k_{-1} = 100 = [\text{P}]_{\text{eq}} / [\text{S}]_{\text{eq}}$$

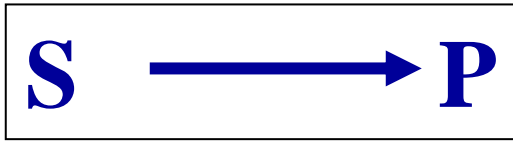
Un **CATALIZZATORE** trasforma un equilibrio lento in un equilibrio veloce *senza alterare la K_{eq}* e quindi il rapporto k_1 / k_{-1}

Un **CATALIZZATORE** è necessario in quantità *substechiometriche* rispetto a reagenti e prodotti (bastano poche molecole di catalizzatore a catalizzare l'interconversione di molte molecole di reagenti e prodotti)

*Un **CATALIZZATORE** è inalterato al termine della reazione*

*il catalizzatore **interviene** nella reazione ma la sua **struttura chimica non cambia***

**Gli enzimi stabilizzano lo stato di transizione
diminuendo l'energia libera di attivazione**



S[‡] = stato di transizione

