

BIOMOLECOLE

BIOCHIMICA STRUTTURALE



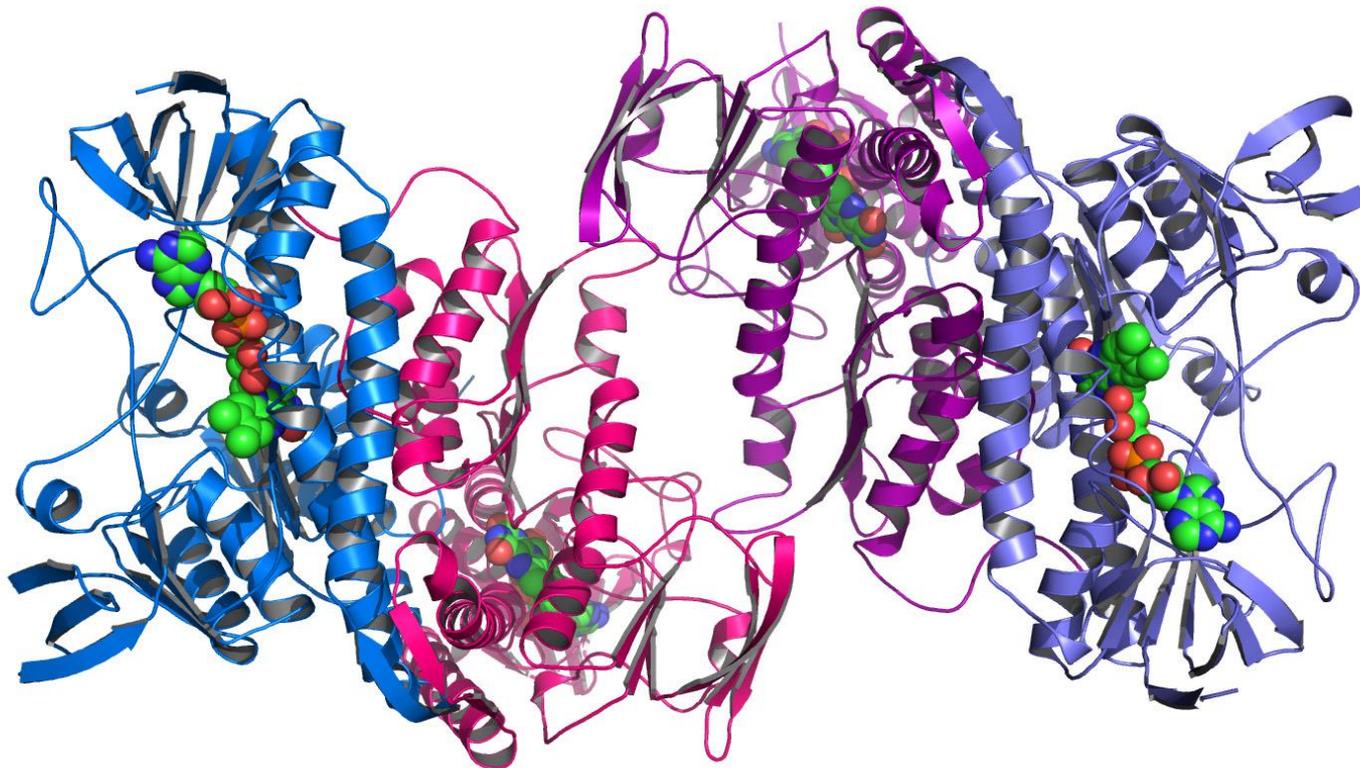
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
PARTHENOPE



AVVERTENZA SULL'USO DEL MATERIALE DIDATTICO FORNITO AGLI STUDENTI

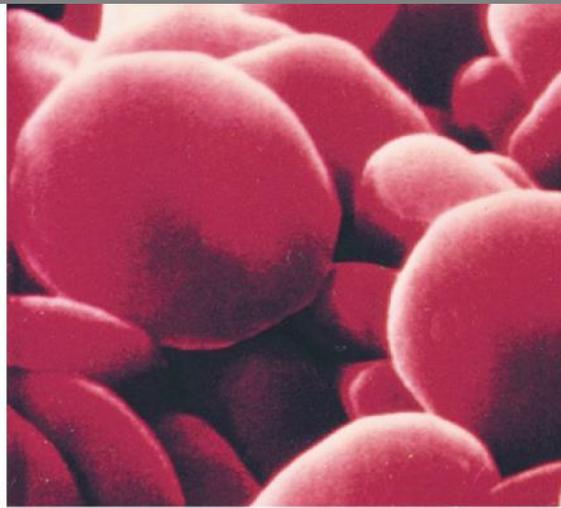
L'uso del materiale didattico fornito agli studenti deve essere considerato strettamente personale e la sua distribuzione deve essere in ogni caso autorizzata dal docente

Proteine





(a)



(b)



(c)

*Luciferina

Emoglobina

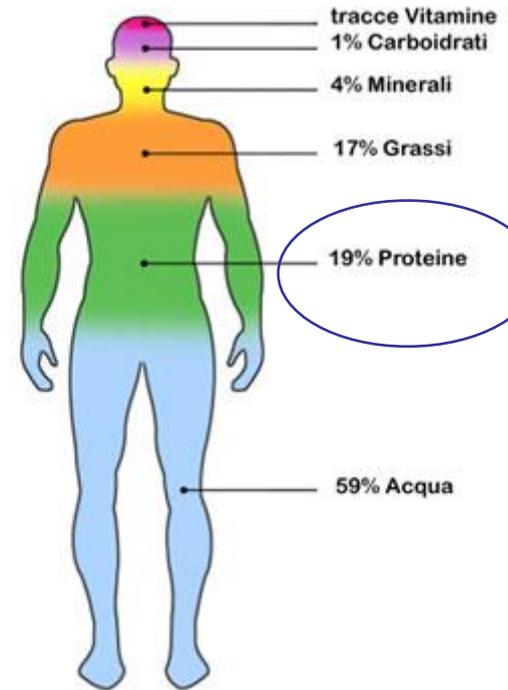
Cheratina

* Lucciola: la luce emessa è dovuta **all'ossidazione** del substrato fotogeno **luciferina** (una proteina) ad ossiluciferina, che avviene in presenza di ossigeno grazie alla catalisi operata dall'enzima luciferasi. È una luce fredda, la cui lunghezza d'onda oscilla fra i 500 ed i 650 nm. L'intensità invece varia a seconda della specie (ne esistono circa 2000). L'emissione luminosa è una funzione che si manifesta nella fase di corteggiamento precedente all'accoppiamento.



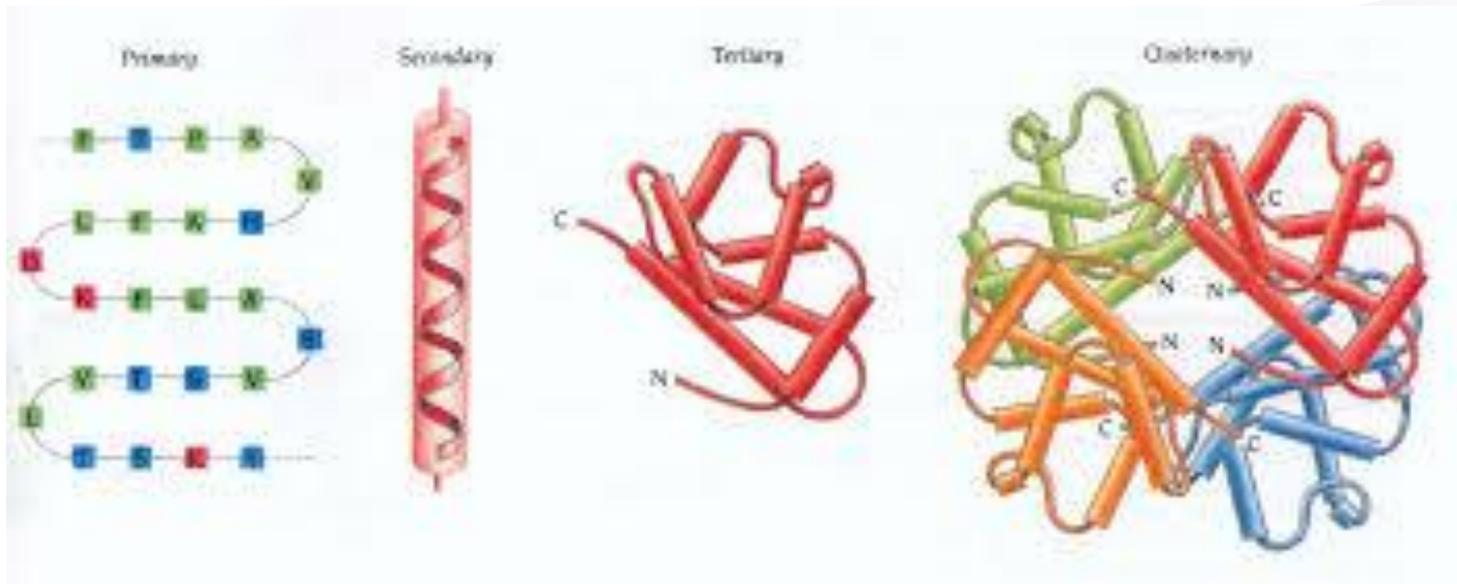
Le proteine sono i costituenti fondamentali degli organismi viventi.

Nell'organismo umano rappresentano circa il 19% (varia in base all'età) del peso corporeo totale.



Proteine

- Classe di macromolecole
- Molecole funzionali

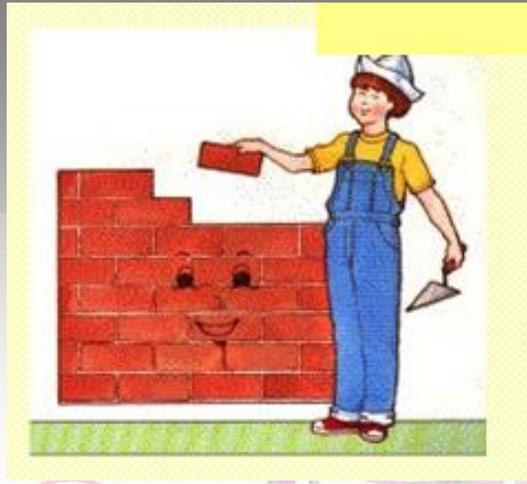


Classi di proteine funzionali

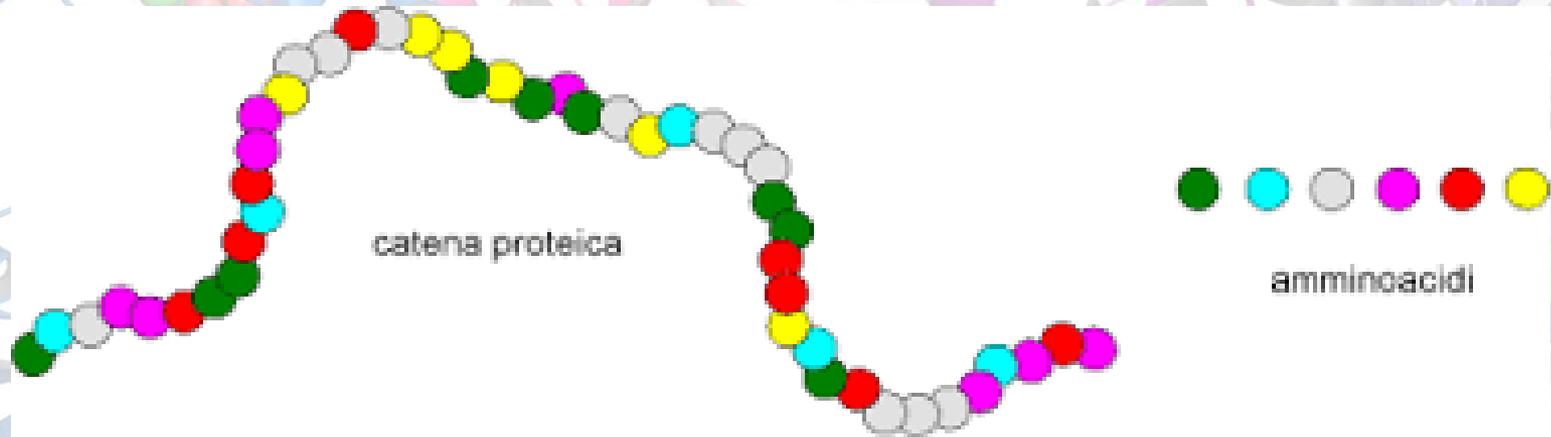
- Catalisi
- Trasmissione di segnali
- Reazione immunitaria
- Movimento
- Trasporto
- Deposito
- Struttura

Tabella 2.1. Classi di proteine funzionali.

Classe	Esempio	Funzione
Enzimi	Pepsina	Catalizza la degradazione delle proteine.
	Ribonucleasi	Catalizza la degradazione dell'acido ribonucleico.
	Catalasi	Catalizza la trasformazione delle molecole di acqua ossigenata in acqua e ossigeno molecolare.
Ormoni	Insulina	Azione ipoglicemizzante; regola l'utilizzazione del glucosio da parte delle cellule.
	Adiuretina	Azione antidiuretica; stimola il riassorbimento di acqua a livello renale.
Anticorpi	Immunoglobuline G	Anticorpi circolanti presenti nel sangue, prodotti in seguito all'ingresso di sostanze estranee, soprattutto proteine.
Proteine contrattili	Actina e miosina	Proteine responsabili dell'accorciamento delle fibre muscolari durante la contrazione.
Proteine di trasporto	Emoglobina	Proteina dei globuli rossi responsabile del trasporto dell'ossigeno dai polmoni ai tessuti.
	Pompa sodio-potassio	Proteina di membrana responsabile del trasporto degli ioni sodio dall'interno all'esterno della cellula e degli ioni potassio in senso inverso.
Proteine di deposito	Ovalbumina	Proteina dell'albume delle uova con funzione nutritiva dell'embrione.
	Gliadina	Proteina dei semi di grano con funzione di nutrizione dell'embrione durante la germinazione.
Proteine strutturali	Collagene ed elastina	Proteine fibrose presenti nei tessuti connettivi, cui conferiscono resistenza ed elasticità.



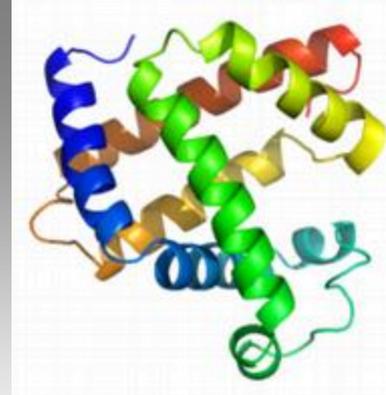
Sono costituite da unità dette amminoacidi



Possiamo immaginare gli amminoacidi come i mattoni per la costruzione delle proteine ed i legami peptidici come il collante che li tiene uniti tra loro.

Amminoacidi

- Le proteine sono **polimeri** di amminoacidi in cui ogni residuo amminoacidico è unito al residuo adiacente da uno specifico tipo di **legame covalente**
- Tutti gli AA hanno nomi comuni, in alcuni casi derivanti dalla **fonte** da cui sono stati isolati:
Asparagina \longrightarrow asparagi
Tirosina \longrightarrow formaggio (dal greco tyròs)



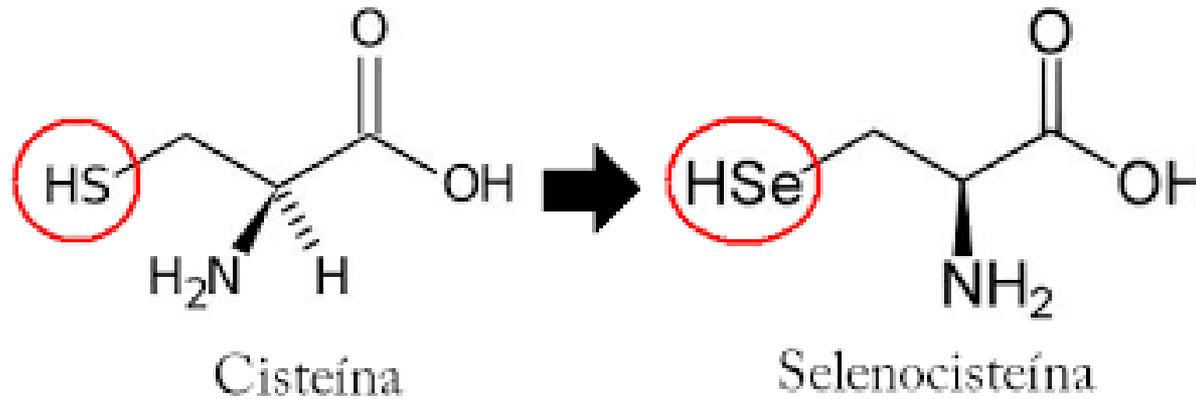
- Le proteine sono soggette ad un continuo processo di demolizione e sintesi, il **turnover proteico** → l'organismo è in grado di rinnovare continuamente le proteine logorate sostituendole con nuovo materiale proteico.
- Questo processo permette all'organismo di **rimpiazzare** gli aminoacidi utilizzati a scopo energetico e di depositarne eventualmente di nuovi per rinforzare determinati tessuti (ad esempio in seguito ad esercizio fisico).
- Quota di aminoacidi che quotidianamente vengono **degradati**: mediamente **30-40 g/die**.

AMMINOACIDI

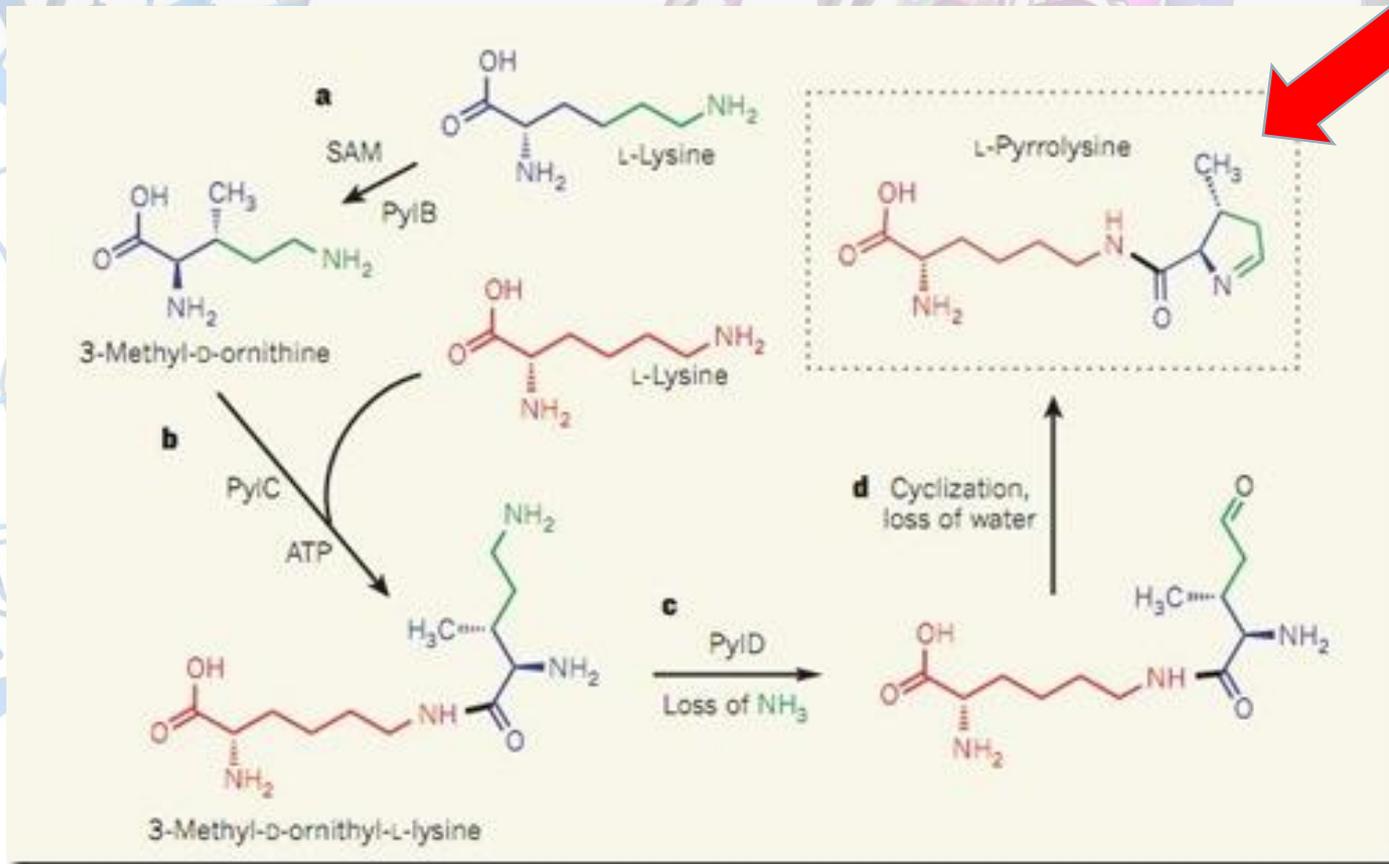
- In natura sono stati finora scoperti **oltre 500** amminoacidi (AA) e svolgono ruoli biologici diversi
- Ancora oggi ne vengono messi in evidenza di nuovi
- Alcuni sono stati addirittura trovati nelle meteoriti, soprattutto in quelle del tipo carbonaceo.
- **Solamente venti** sono coinvolti nella sintesi proteica.
- **20 AA (standard) proteinogenici**

■ Più recentemente ne sono aggiunti altri due: (1986, 2004):

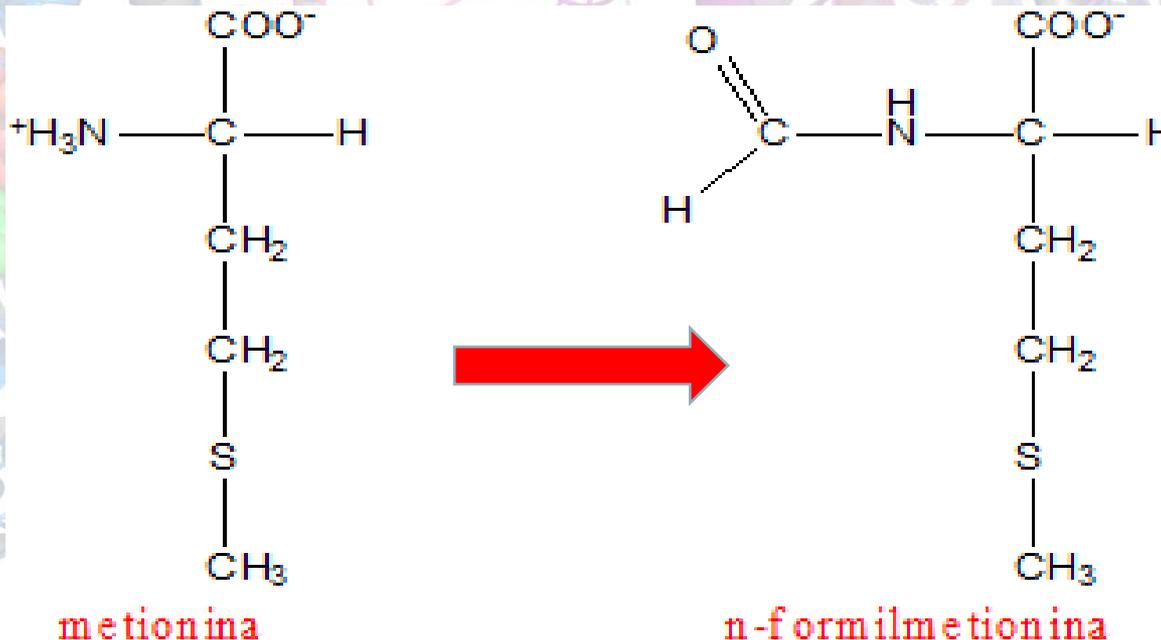
■ Il 21° → la **selenocisteina** (SEC) (1986)



- il 22° → **pirrolisina** (2004) (presente in alcuni archeobatteri, non utilizzata però dagli essere umani).



- Alcuni autori considerano anche un 23° aminoacido proteino-genico → **la N-formilmetionina**, un derivato della metionina, iniziatore della sintesi proteica di alcuni batteri



Gli AA hanno proprietà strutturali comuni

- **20** AA (standard)
- **α** -amminoacidi (acidi e basi deboli)
- Gruppo **carbossilico** e un gruppo **amminico** legati allo stesso atomo di C (alfa= **α**) e differiscono per la catena laterale o **gruppo R**

IONIZZAZIONE

R

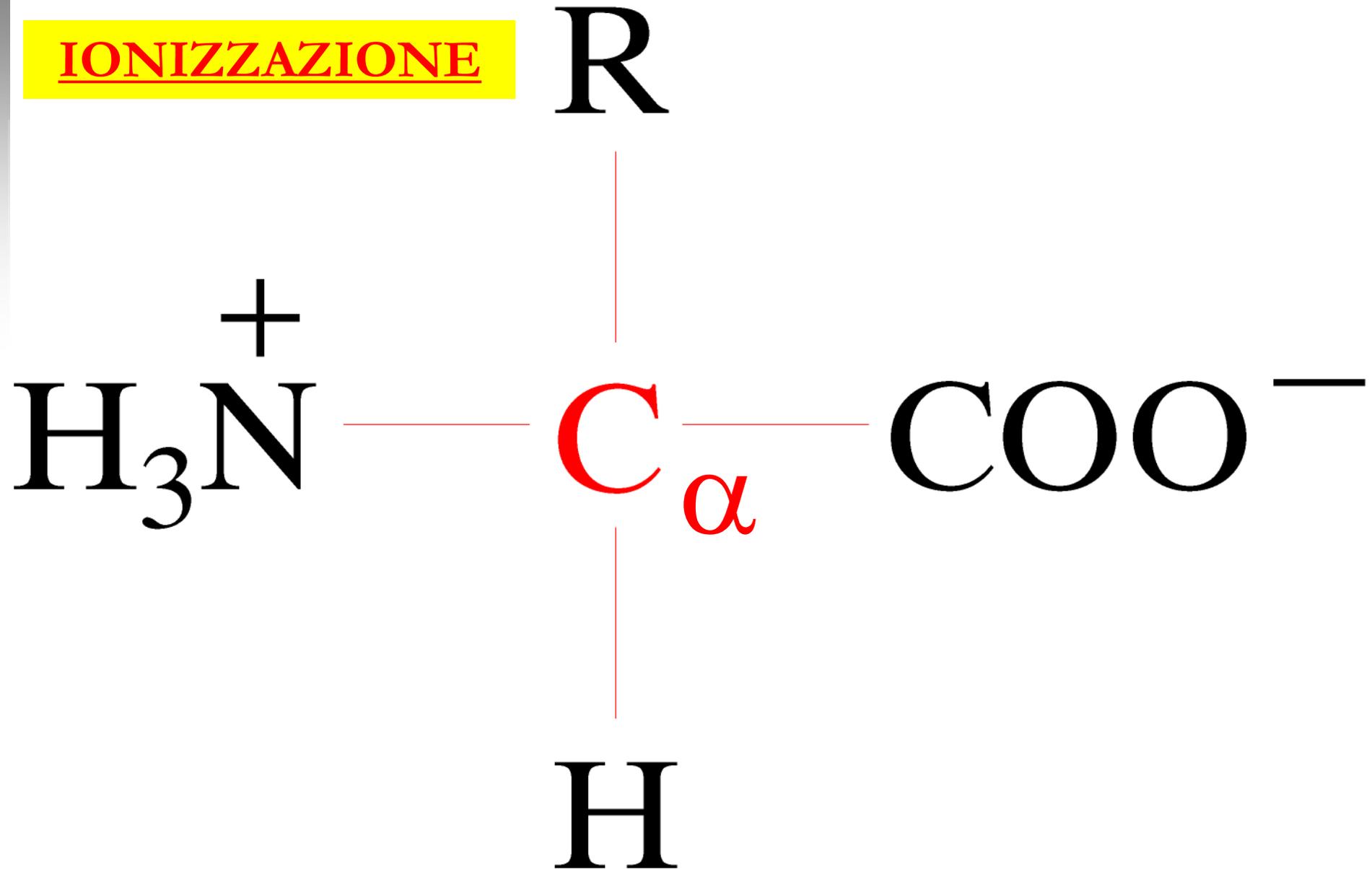
H₂N

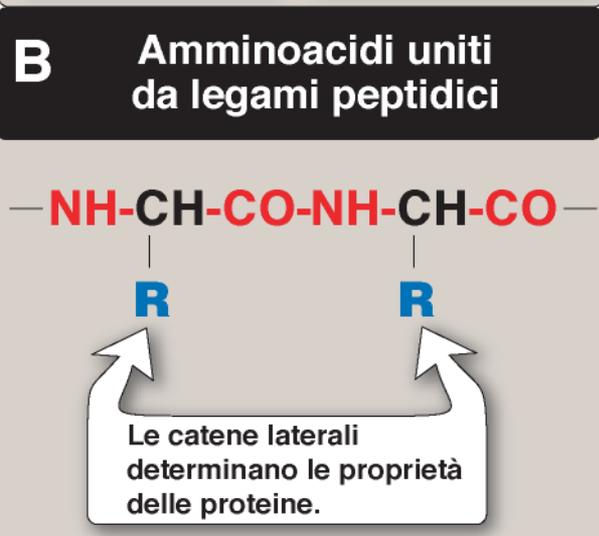
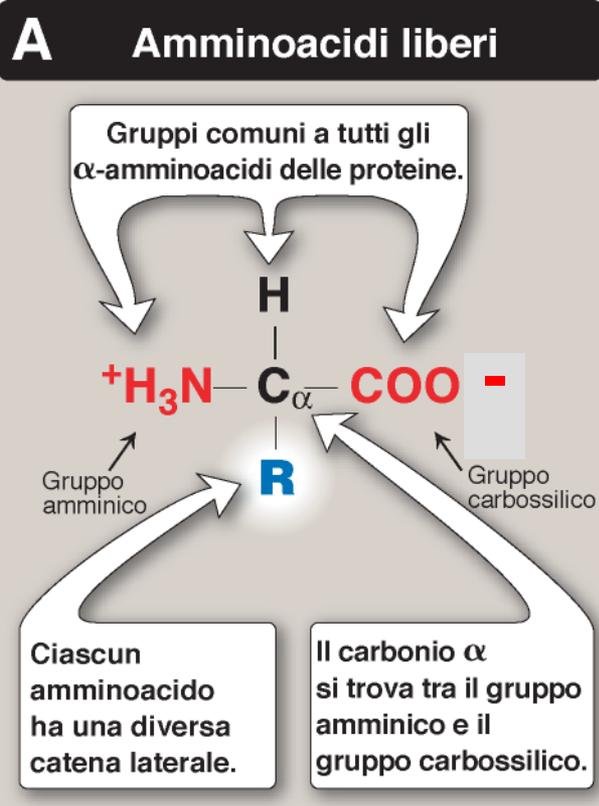
C_α

COOH

H

IONIZZAZIONE





Struttura generale di un AA e di un legame peptidico

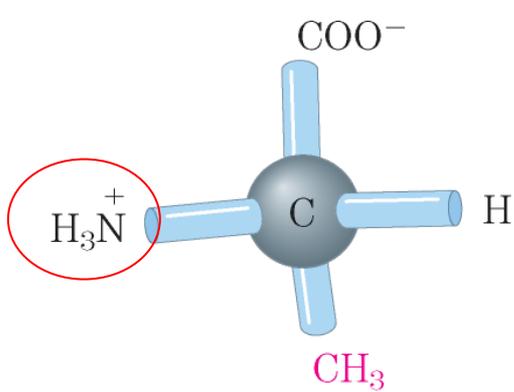
- α -amminoacidi (acidi e basi deboli)
- Gruppo carbossilico e un gruppo amminico legati allo stesso atomo di C (alfa=a)
- Differiscono per la catena laterale o gruppo R

ENANTIOMERI

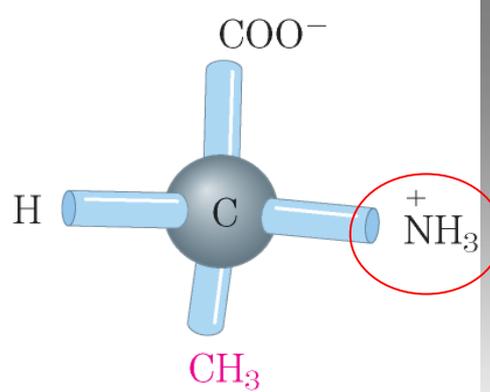
- Ogni amminoacido possiede quindi un centro chirale ($C\alpha$), che consente all'amminoacido di essere otticamente attivo, e due enantiomeri:

D-amminoacido e L-amminoacido

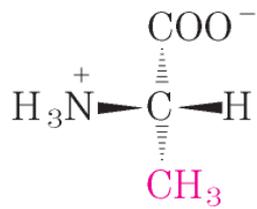
Le forme D-amminoacido sono meno comuni di quelle L-amminoacido, quindi, di norma, si tende a rappresentare gli amminoacidi con la struttura **L-amminoacido**



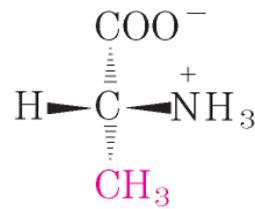
(a) L-Alanina



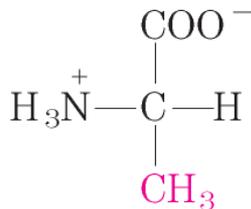
D-Alanina



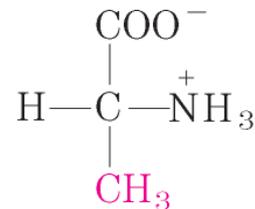
(b) L-Alanina



D-Alanina



(c) L-Alanina



D-Alanina

- Centro chiralico o chirale (glicina no), enantiomeri
- Stereoisomeri/ Enantiomeri **L**

Le forme D e L dell'alanina sono speculari

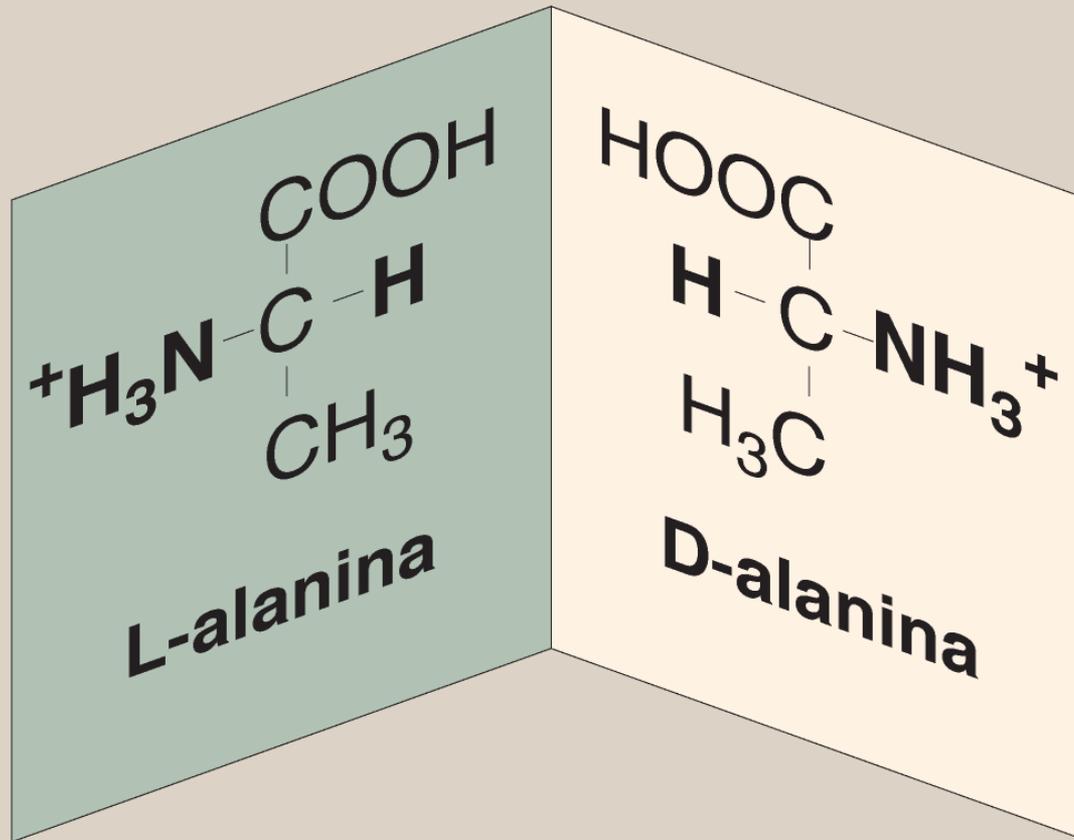




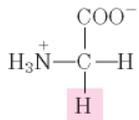
Tabella 3.1 Abbreviazioni degli amminoacidi

Amminoacidi	tre lettere (*)	una lettera	Amminoacidi	tre lettere (*)	una lettera
Alanina	Ala	A	Leucina	Leu	L
Arginina	Arg	R	Lisina	Lys	K
Asparagina	Asn	N	Metionina	Met	M
Aspartato	Asp	D	Fenilalanina	Phe	F
Cisteina	Cys	C	Prolina	Pro	P
Glicina	Gly	G	Serina	Ser	S
Glutamina	Gln	Q	Treonina	Thr	T
Glutammato	Glu	E	Triptofano	Trp	W
Istidina	His	H	Tirosina	Tyr	Y
Isoleucina	Ile	I	Valina	Val	V

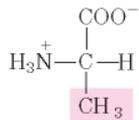
(*) Data la sua adozione universale viene riportata la simbologia inglese

Classificazione AA

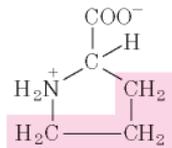
Gruppi R alifatici, non polari



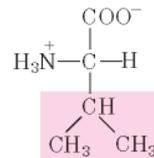
Glicina



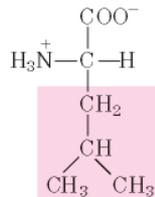
Alanina



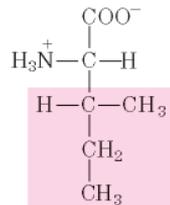
Prolina



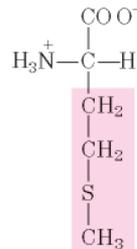
Valina



Leucina

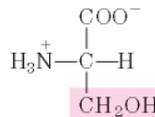


Isoleucina

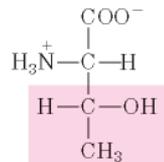


Metionina

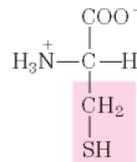
Gruppi R polari, non carichi



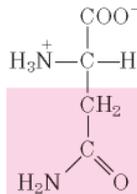
Serina



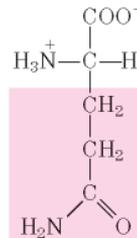
Treonina



Cisteina

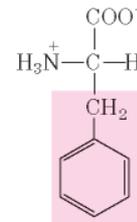


Asparagina

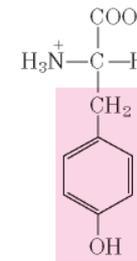


Glutammina

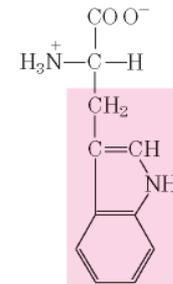
Gruppi R aromatici



Fenilalanina

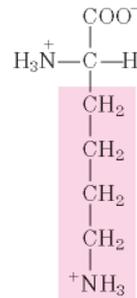


Tirosina

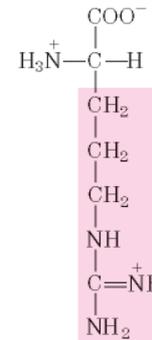


Triptofano

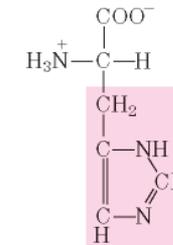
Gruppi R carichi positivamente



Lisina

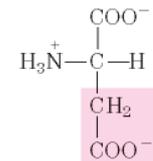


Arginina

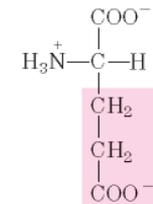


Istidina

Gruppi R carichi negativamente



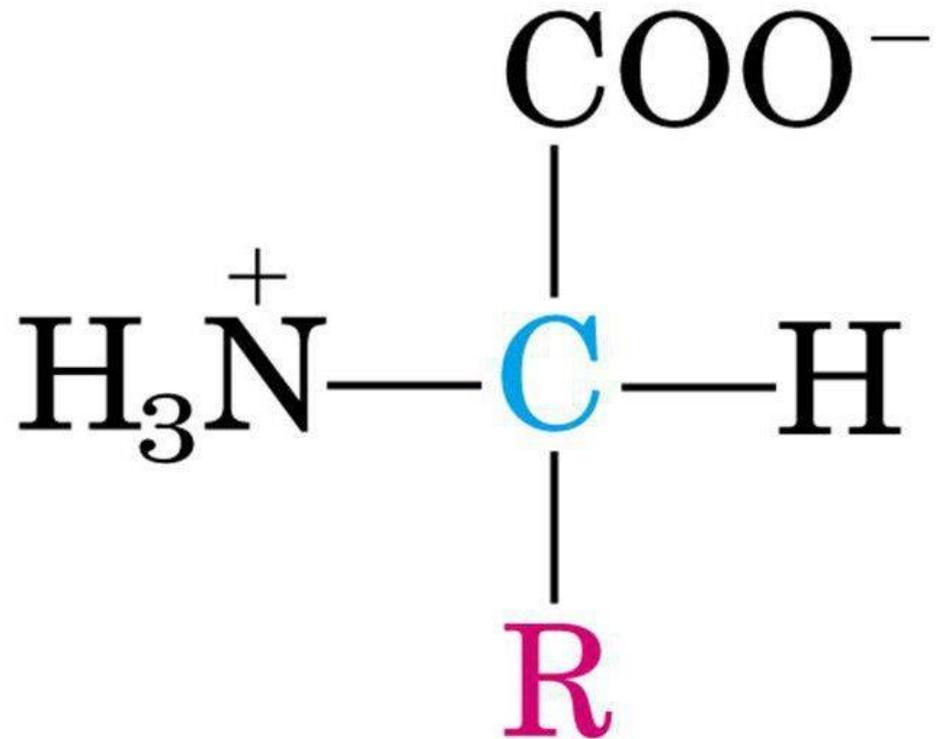
Aspartato



Glutammato

IONIZZAZIONE

- Bisogna ricordare che gli amminoacidi sono carichi perché hanno dei gruppi che possono **ionizzare** (gruppo carbossilico e amminico).
- Si possono comportare sia da **acidi** che da **basi** a seconda del pH in cui si trovano.



Fondamentale classificazione degli AA

- Degli amminoacidi possiamo fare una distinzione biologica
- Li dividiamo in essenziali e non essenziali.
- **Essenziali:** gli AA per i quali abbiamo perso gli enzimi necessari per la catena di reazioni richiesta per sintetizzarli. Dobbiamo introdurli con la dieta.
- **Non essenziali:** elaborati a partire da altri spezzoni molecolari di diversa derivazione. Sono quelli che noi siamo in grado di sintetizzare

A livello cellulare tutti i venti aminoacidi devono essere contemporaneamente presenti

9 devono essere introdotti preformati con gli alimenti in quanto l'organismo non è in grado di sintetizzarli. Questi nove aminoacidi vengono definiti aminoacidi essenziali (AAE).

- **L'essenzialità** di un AA dipende dalla specie animale considerata!

Es. Glicina e Cisteina sono essenziali per il pollo e non per l'uomo.

11 AA non
essenziali

9 AA
essenziali

Arginina, cisteina, e tirosina sono
essenziali durante l'infanzia e lo
sviluppo, essenziali solo nell'età
evolutiva

Tabella 5.1

Proprietà e simboli convenzionali degli amminoacidi standard

Amminoacido	Abbreviazioni	M_r	Valori di pK_a		
			pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH ₃ ⁺)	pK_R (gruppo R)
Gruppi R non polari, alifatici					
Glicina	Gly G	75	2,34	9,60	
Alanina	Ala A	89	2,34	9,69	
Prolina	Pro P	115	1,99	10,96	
Valina	Val V	117	2,32	9,62	
Leucina	Leu L	131	2,36	9,60	
Isoleucina	Ile I	131	2,36	9,68	
Metionina	Met M	149	2,28	9,21	
Gruppi R aromatici					
Fenilalanina	Phe F	165	1,83	9,13	
Tirosina	Tyr Y	181	2,20	9,11	10,07
Triptofano	Trp W	204	2,38	9,39	
Gruppi R polari non carichi					
Serina	Ser S	105	2,21	9,15	
Treonina	Thr T	119	2,11	9,62	
Cisteina	Cys C	121	1,96	10,28	8,18
Asparagina	Asn N	132	2,02	8,80	
Glutammina	Gln Q	146	2,17	9,13	
Gruppi R carichi positivamente					
Lisina	Lys K	146	2,18	8,95	10,53
Istidina	His H	155	1,82	9,17	6,00
Arginina	Arg R	174	2,17	9,04	12,48
Gruppi R carichi negativamente					
Aspartato	Asp D	133	1,88	9,60	3,65
Glutammato	Glu E	147	2,19	9,67	4,25

e
e
e
e

e
→
e

e
→

e
e
→

LA BIOSINTESI DEGLI AMMINOACIDI NON ESSENZIALI

- Tutti gli amminoacidi non essenziali tranne la tirosina vengono sintetizzati attraverso vie semplici che partono da:
 - piruvato
 - ossalacetato
 - α -chetoglutarato

Con più precisione, piruvato, ossalacetato e α -chetoglutarato sono i chetoacidi che corrispondono rispettivamente ad alanina, aspartato e glutammato.

La sintesi di ciascuno di questi amminoacidi consiste in una reazione di **transaminazione**

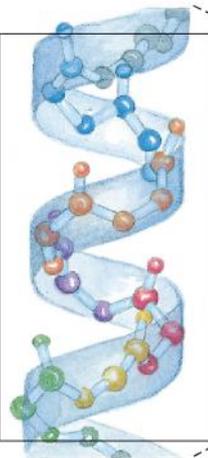
Strutture delle proteine

Struttura primaria



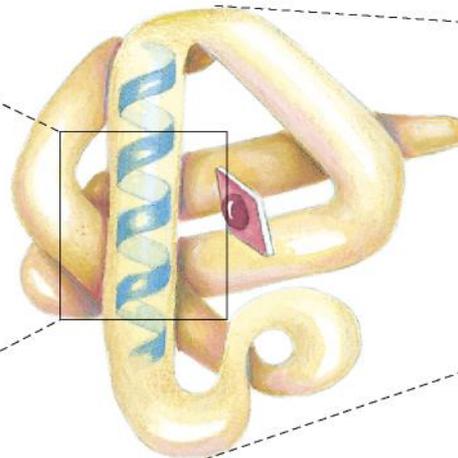
Residui amminoacidici

Struttura secondaria



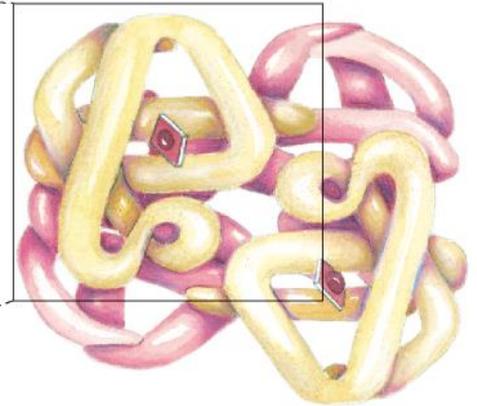
α elica

Struttura terziaria



Catena polipeptidica
Biochimica e Scienze Biomediche

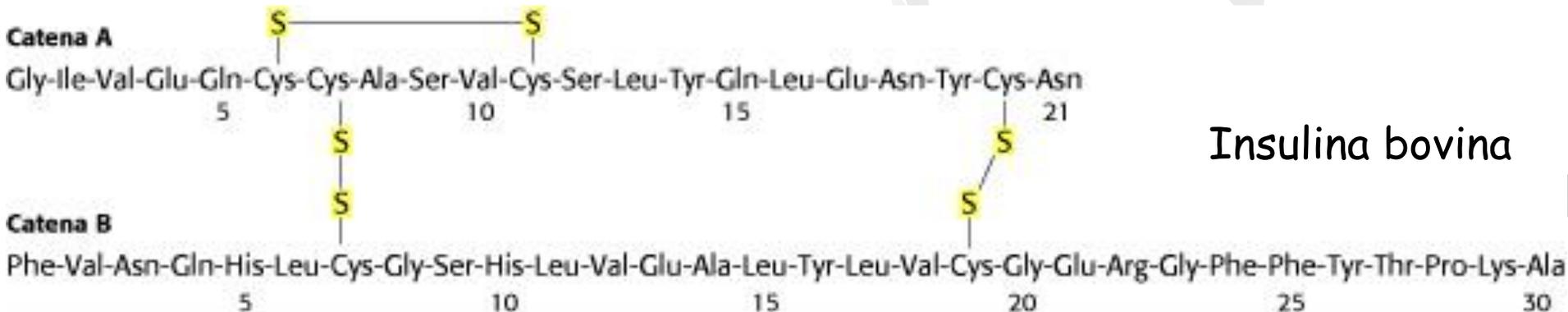
Struttura quaternaria



Subunità associate

Struttura primaria

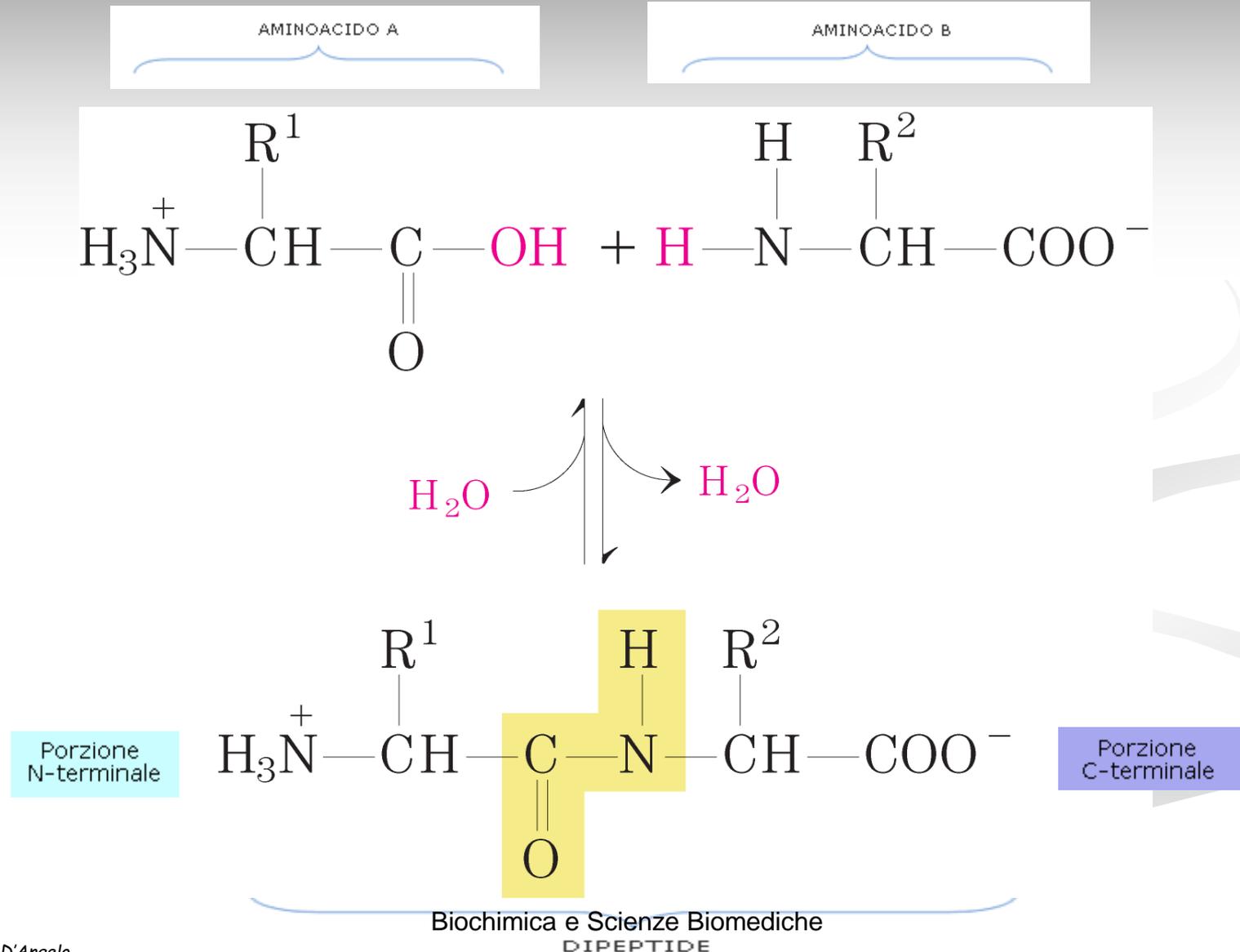
- Composizione di AA e l'ordine con cui si susseguono

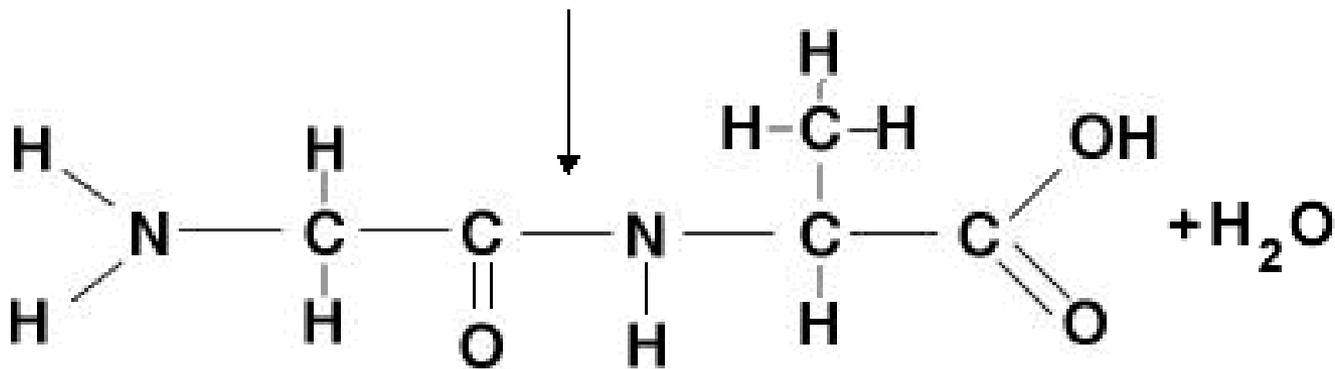
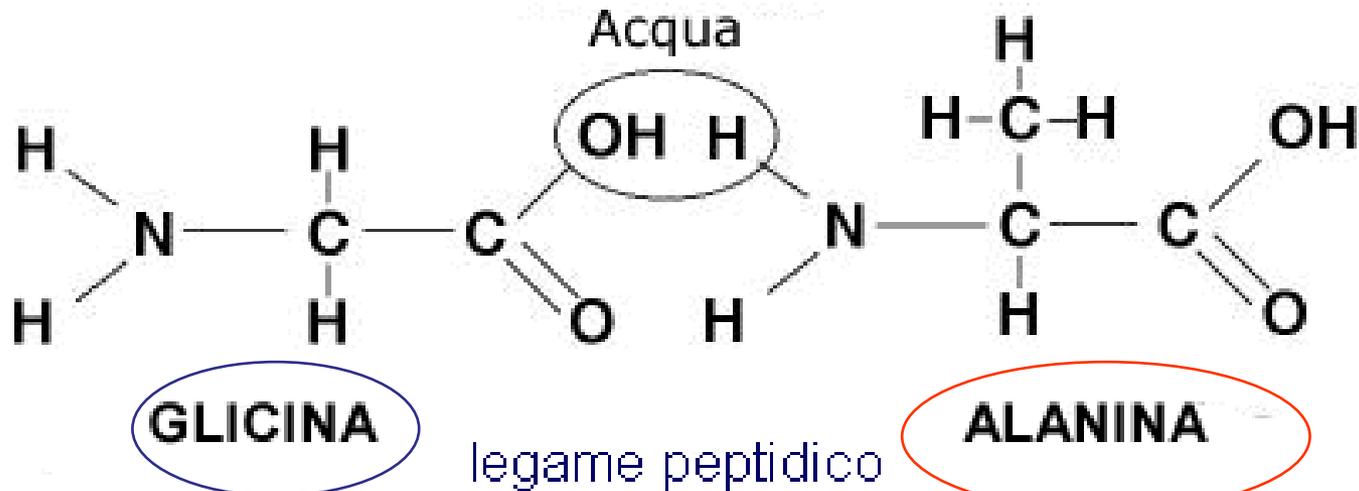
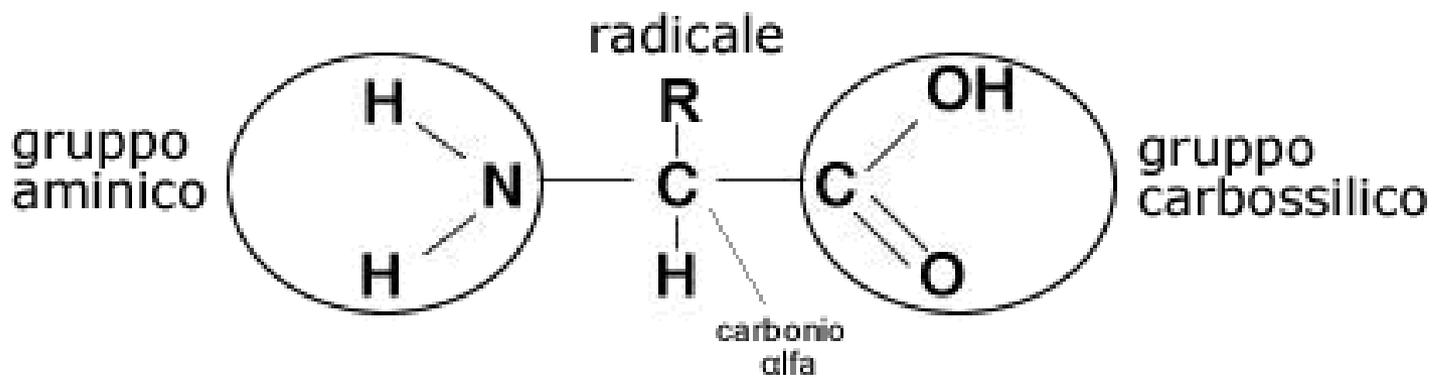


Legame peptidico

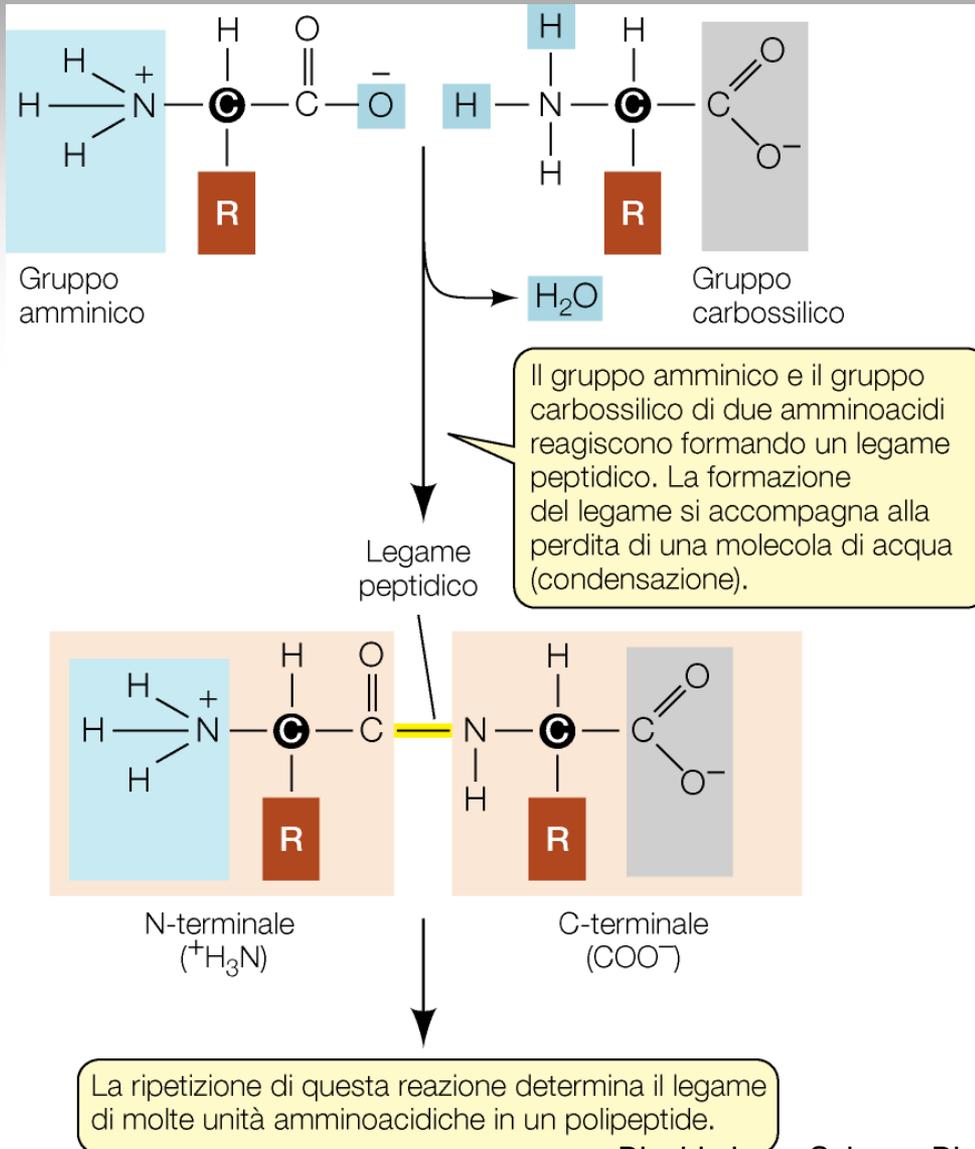
- Reazione di condensazione
- COOH del 1° AA reagisce con NH_2 del 2° AA
- Si libera 1 H_2O
- Legame planare, rigido, parzialmente doppio legame

Legame peptidico





Legame peptidico



Si forma tra il gruppo carbossilico ed il gruppo amminico di 2 amminoacidi vicini

Struttura primaria: sequenza

un tripeptide: GlyAlaPhe

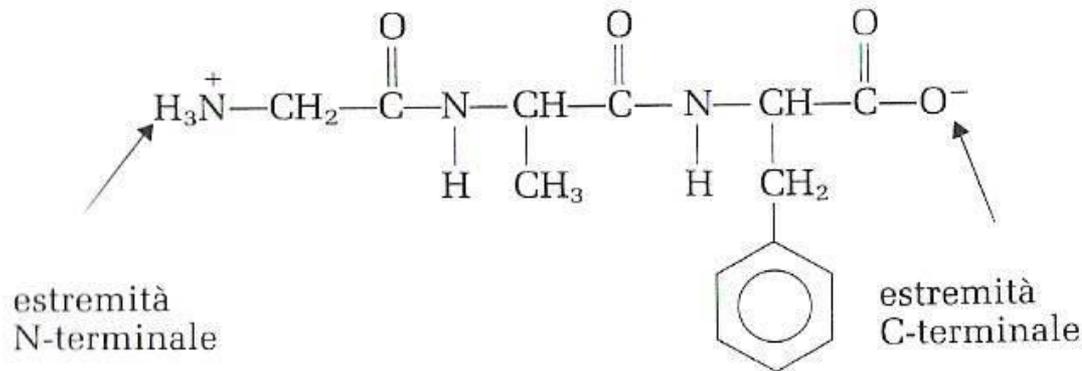
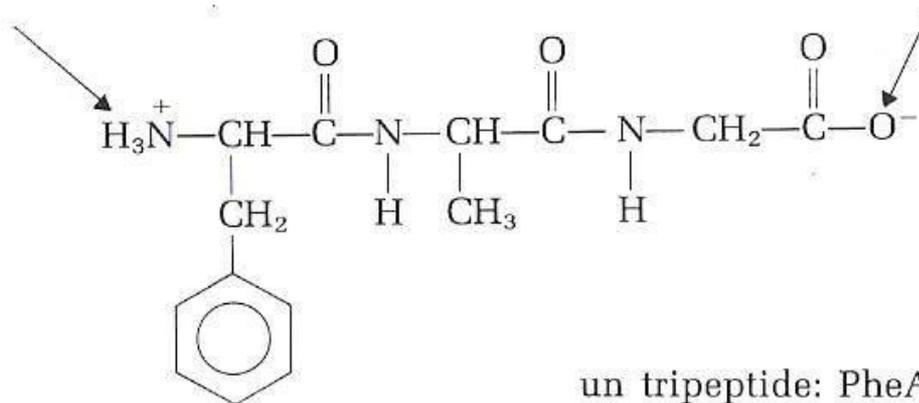
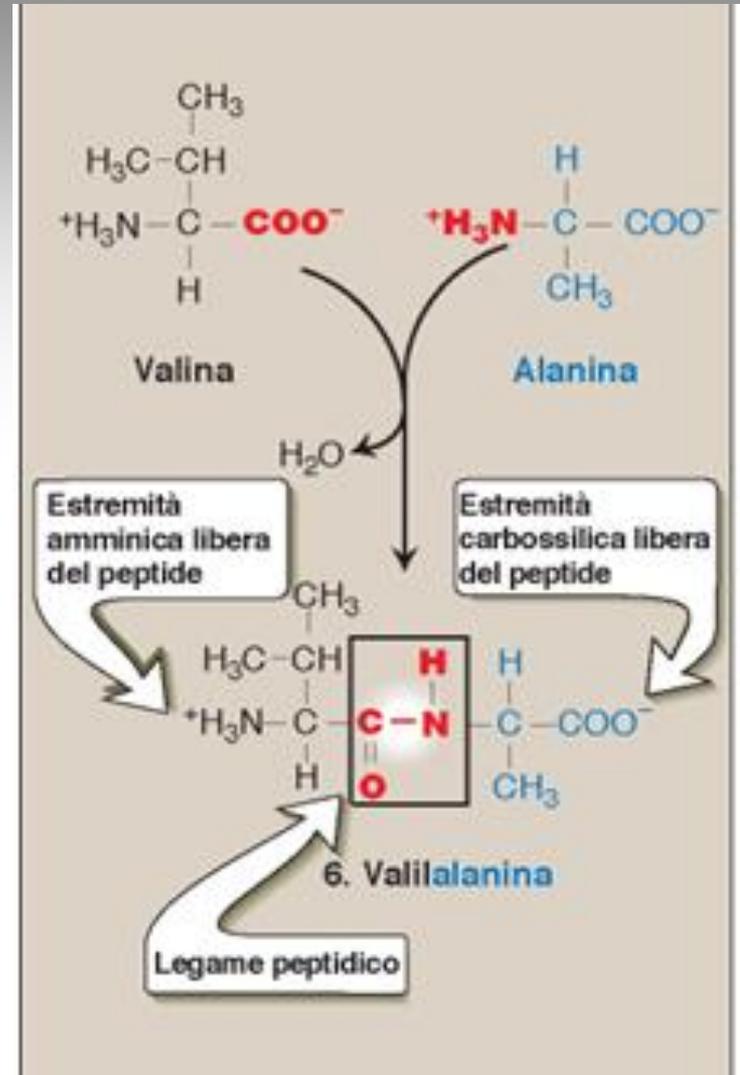


Figura 7. Due tripeptidi A e B formati dagli stessi aminoacidi possono avere caratteristiche chimico-fisiche molto diverse a seconda della sequenza di formazione. Per convenzione a sinistra viene indicato il gruppo amminico (estremità N-terminale) e a destra il gruppo carbossilico (estremità C-terminale).

un tripeptide: PheAlaGly



■ DIREZIONALITA'



■ Nell'uomo è presente un numero variabile di proteine: tra **50.000 e 100.000**.

■ **Alterazioni** anche minime della sequenza possono avere **conseguenze gravi** sull'attività biologica.

Anemia falciforme

Presenza di una forma anomala di emoglobina, chiamata emoglobina S (Hb-S), che polimerizza e deforma i globuli rossi, che assumono la caratteristica forma di falce.

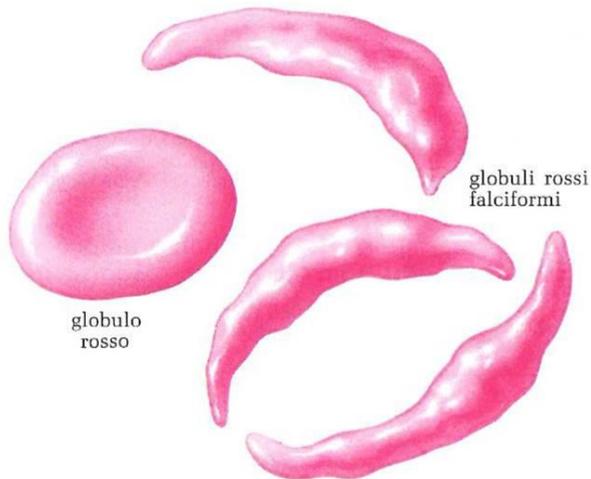
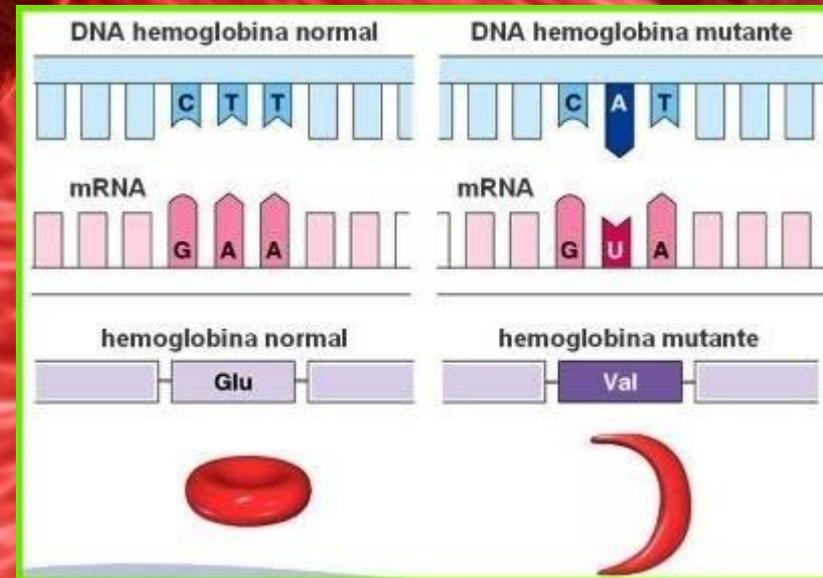
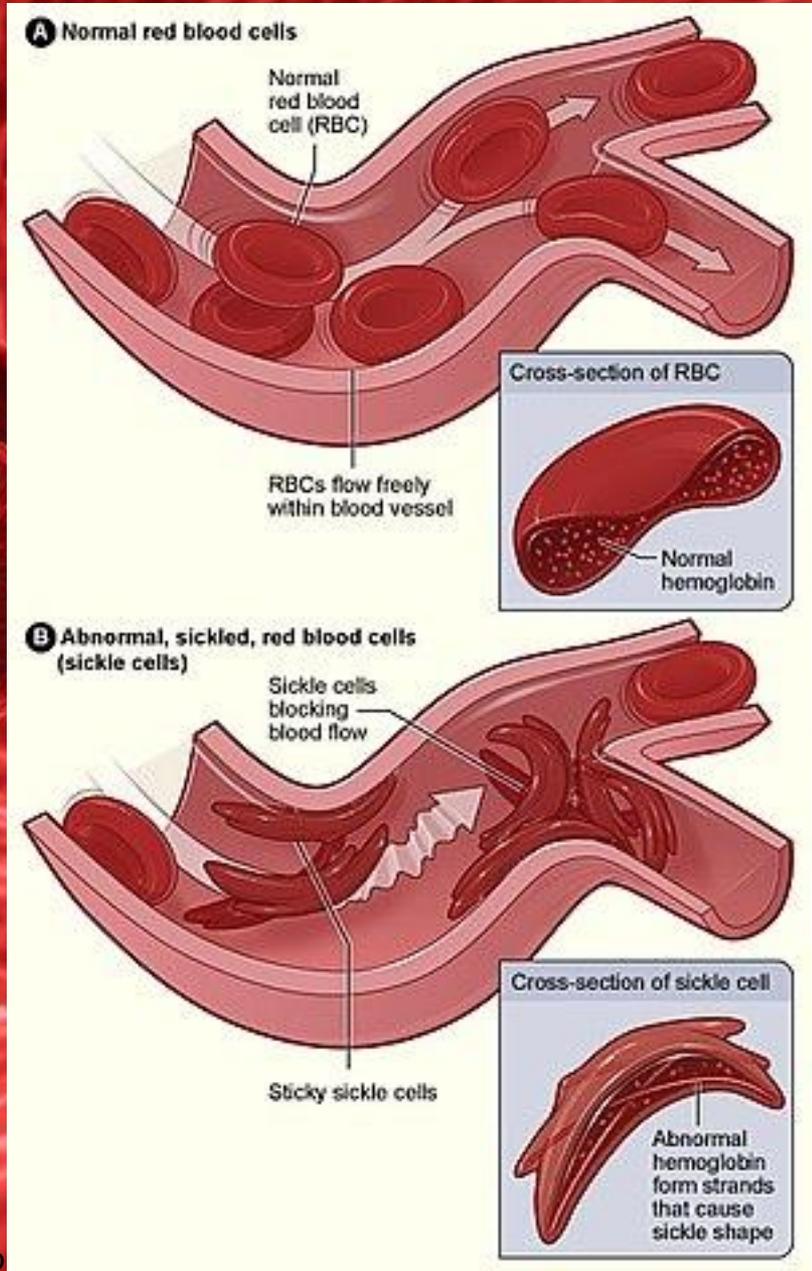


Figura 8. Rappresentazione schematica della forma dei globuli rossi di un malato di anemia falciforme quando si trovano in presenza di basse pressioni di ossigeno. Per paragone, è riportata la rappresentazione di un globulo rosso normale.



do della catena β (l'acido glutammico) con una valina (un amminoacido con un radicale R polare sostituito con un altro con un radicale R apolare).

emoglobina normaleVal-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Gly-Lys-....
 emoglobina anormaleVal-His-Leu-Thr-Pro-Val-Gly-Lys-....
 Tratto di catena β -dell'emoglobina



Livelli strutturali:

- Secondaria
- Terziaria
- Quaternaria

- Modalità di ripiegamento
mai casuale
- L'organizzazione spaziale
degli atomi in una
proteina viene detta
conformazione
- **Vari** livelli strutturali

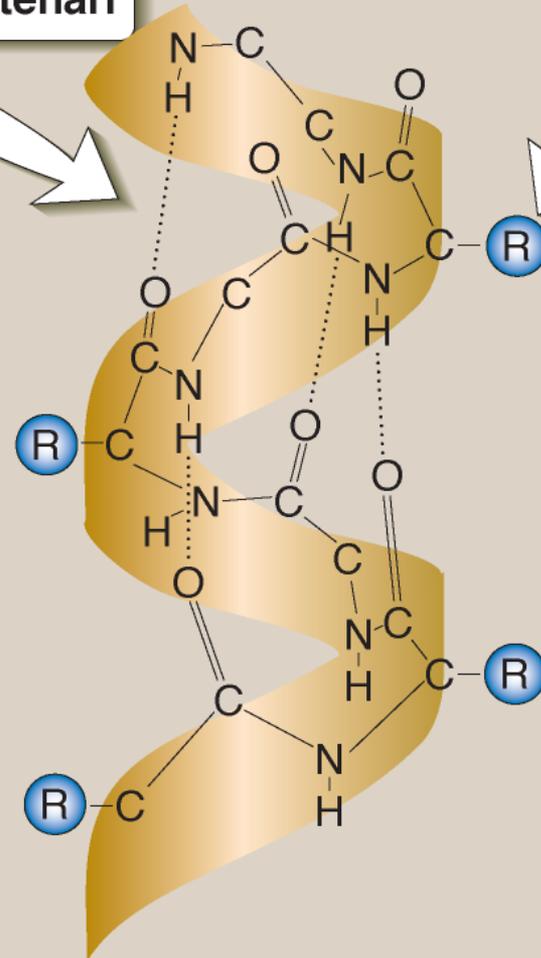
Struttura secondaria

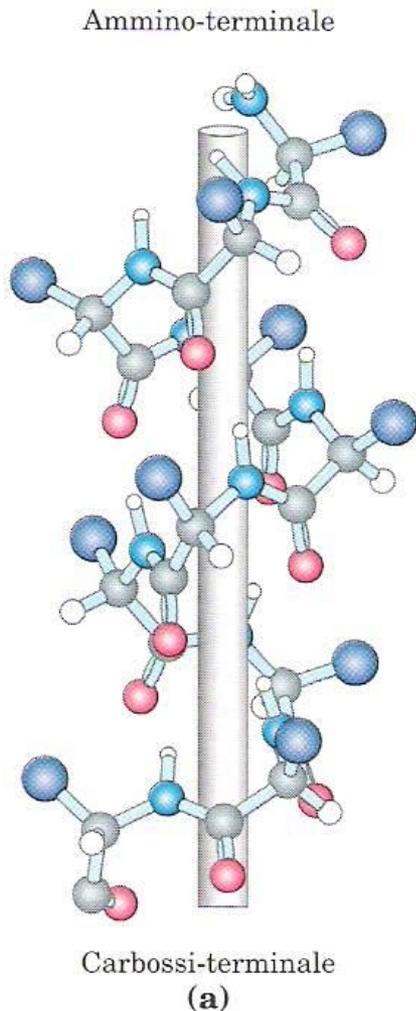
- Livello di organizzazione **interna** delle P
- Deriva dall'instaurarsi in modo **ordinato e specifico** di legami H tra un gruppo C=O di un AA ed il gruppo -NH di un altro AA della stessa catena proteica o di un'altra vicina

Struttura secondaria

Legami a idrogeno intracatenari

Le catene laterali degli amminoacidi sporgono all'esterno

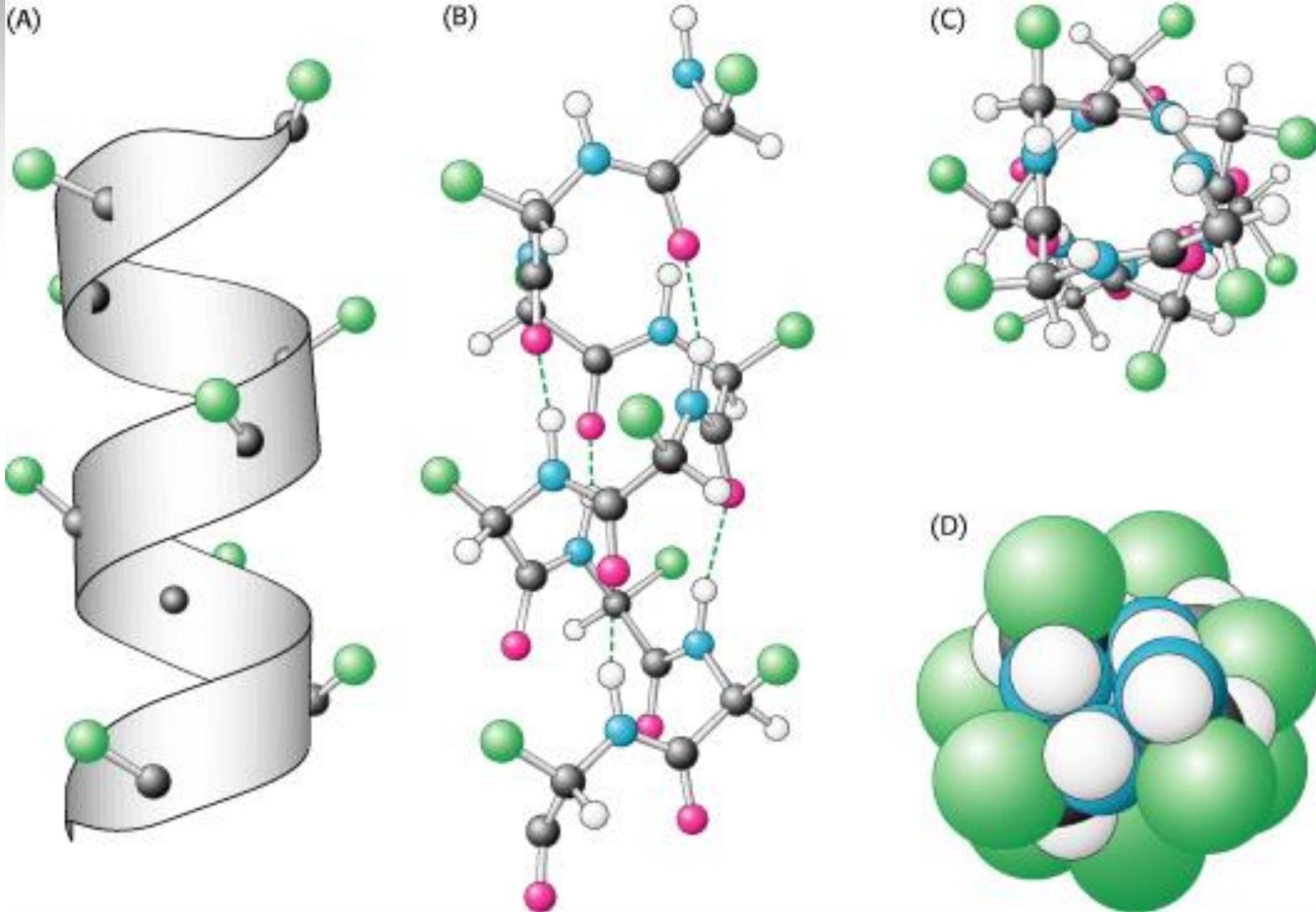




Struttura secondaria: α -elica

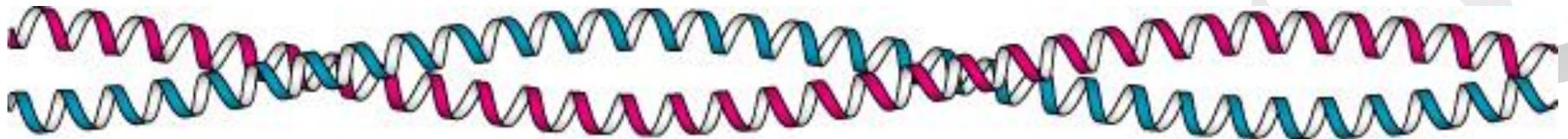
- Lo scheletro della proteina è strettamente **arrotolato** intorno ad un immaginario asse tracciato longitudinalmente attraverso il centro dell'elica. Le catene **R sporgono**.

Struttura secondaria: α -elica



α -elica avvolta

- Le 2 eliche si avvolgono una sull'altra a formare un avvolgimento (cheratina dei capelli, delle penne, delle unghie e delle corna)

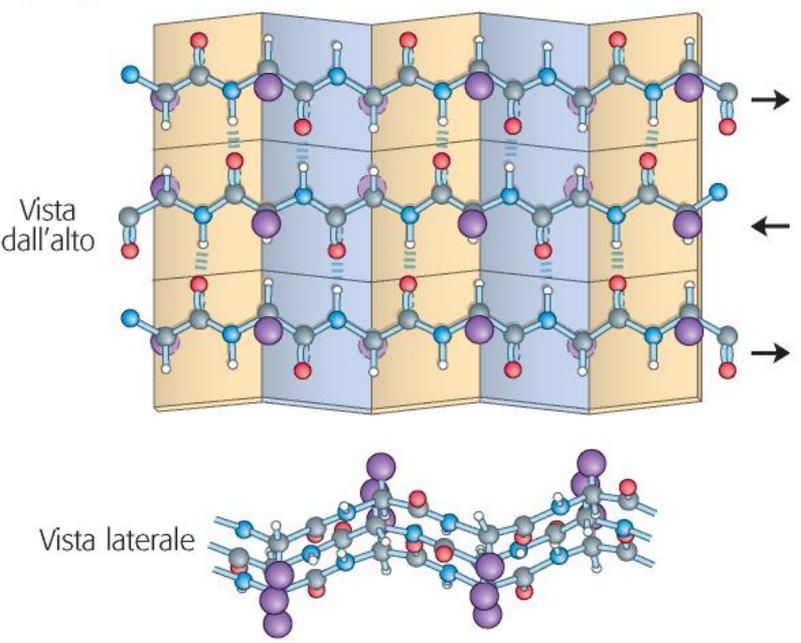


20 Å

Struttura secondaria: β -elica

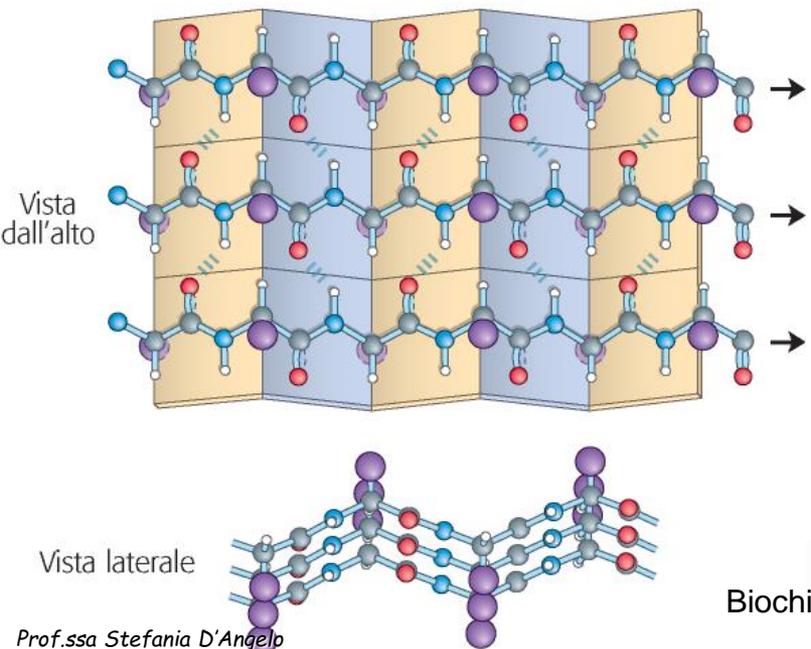
- Le catene polipeptidiche sono disposte l'una a fianco dell'altra formando un modulo costituito da una serie di piegheature: foglietto β .

(a) Foglietto β antiparallelo



■ Le catene β adiacenti hanno **opposte** direzioni

(b) Foglietto β parallelo

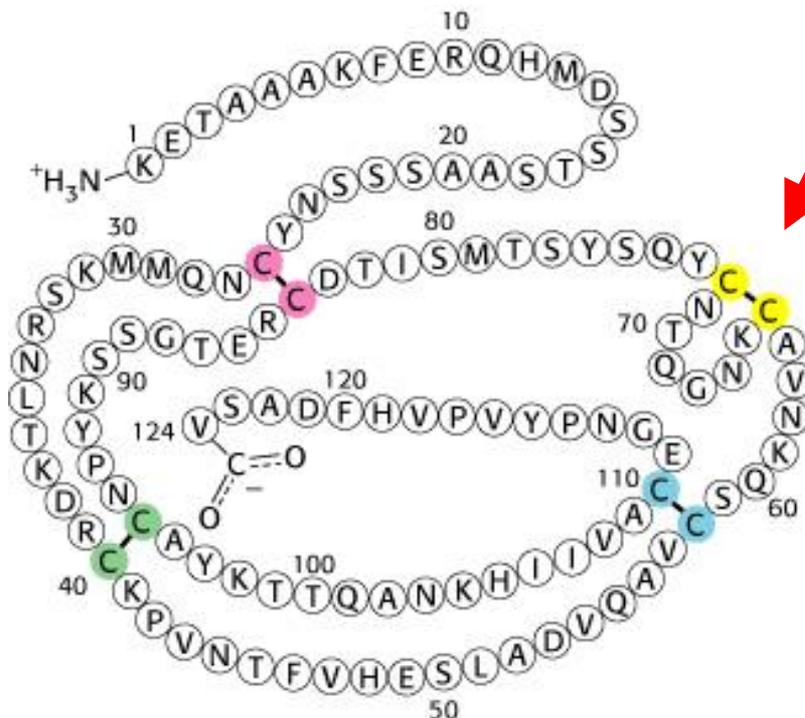


■ Le catene β adiacenti hanno la **stessa** direzionalità

Struttura terziaria

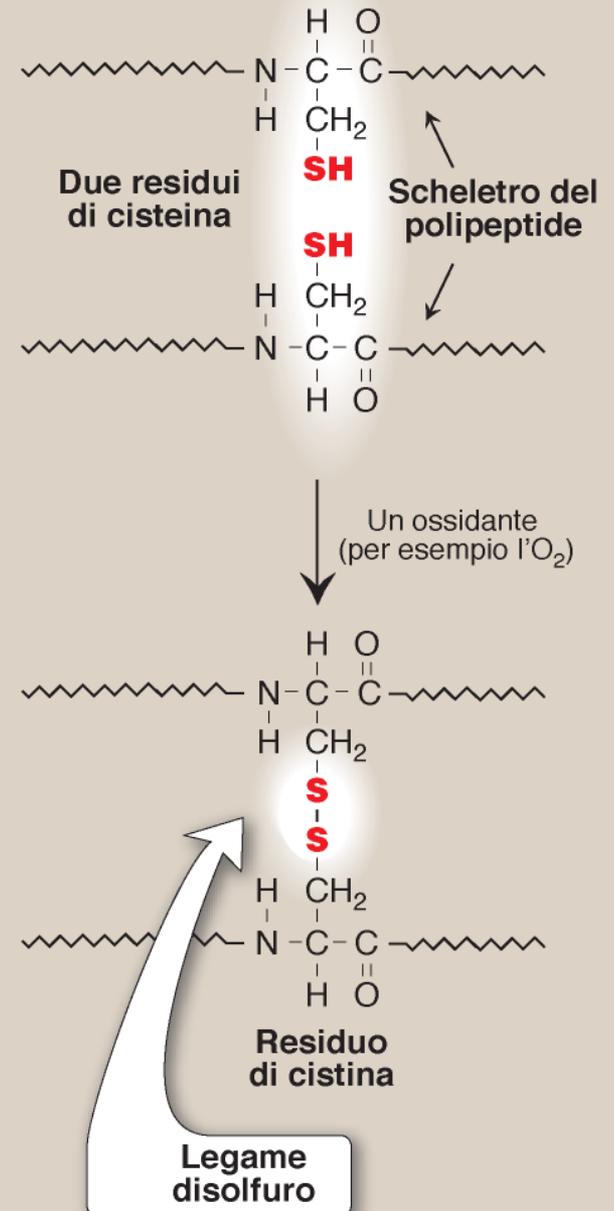
- Disposizione di tutti gli atomi di una **Proteina** nello spazio tridimensionale
- A causa dell'avvolgimento, **AA** che si trovano **lontani** possono interagire

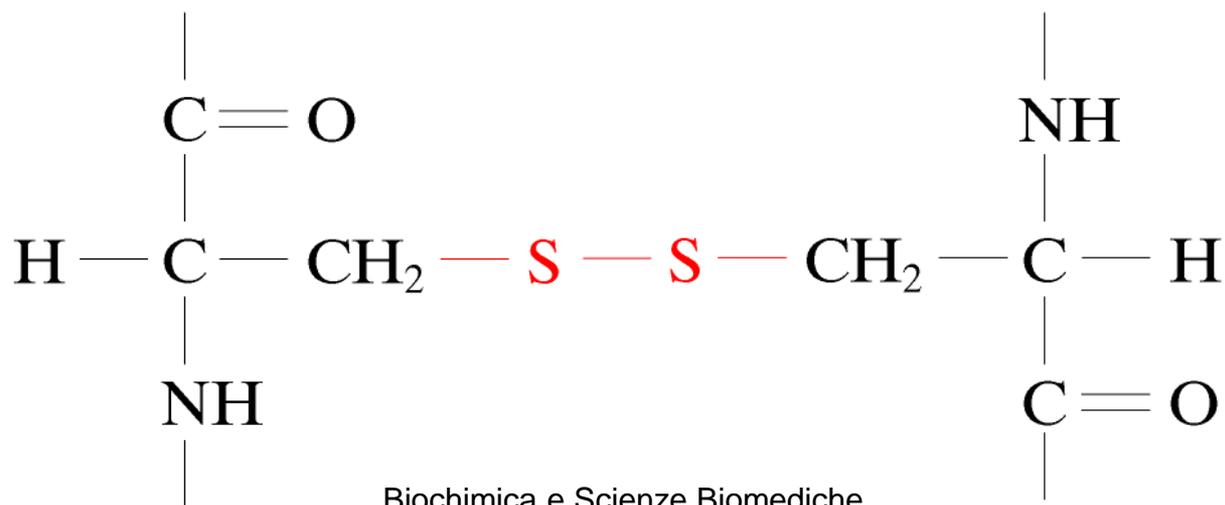
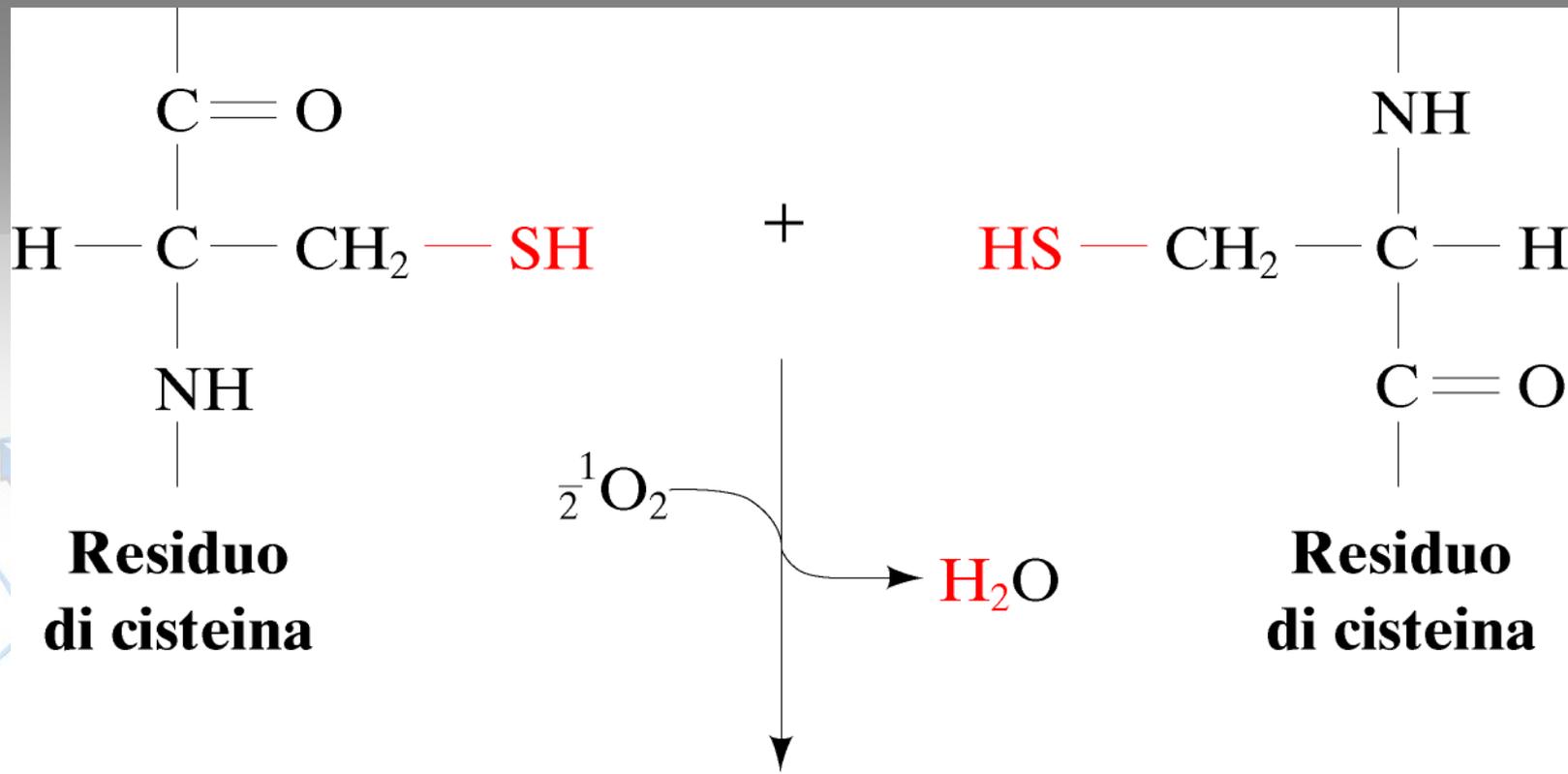
- Possono essere presenti anche **ponti disolfuro** (residui di cisteina)



Ribonucleasi bovina

La formazione del legame disolfuro per l'ossidazione di due residui di cisteina; questa reazione produce un residuo di cistina.





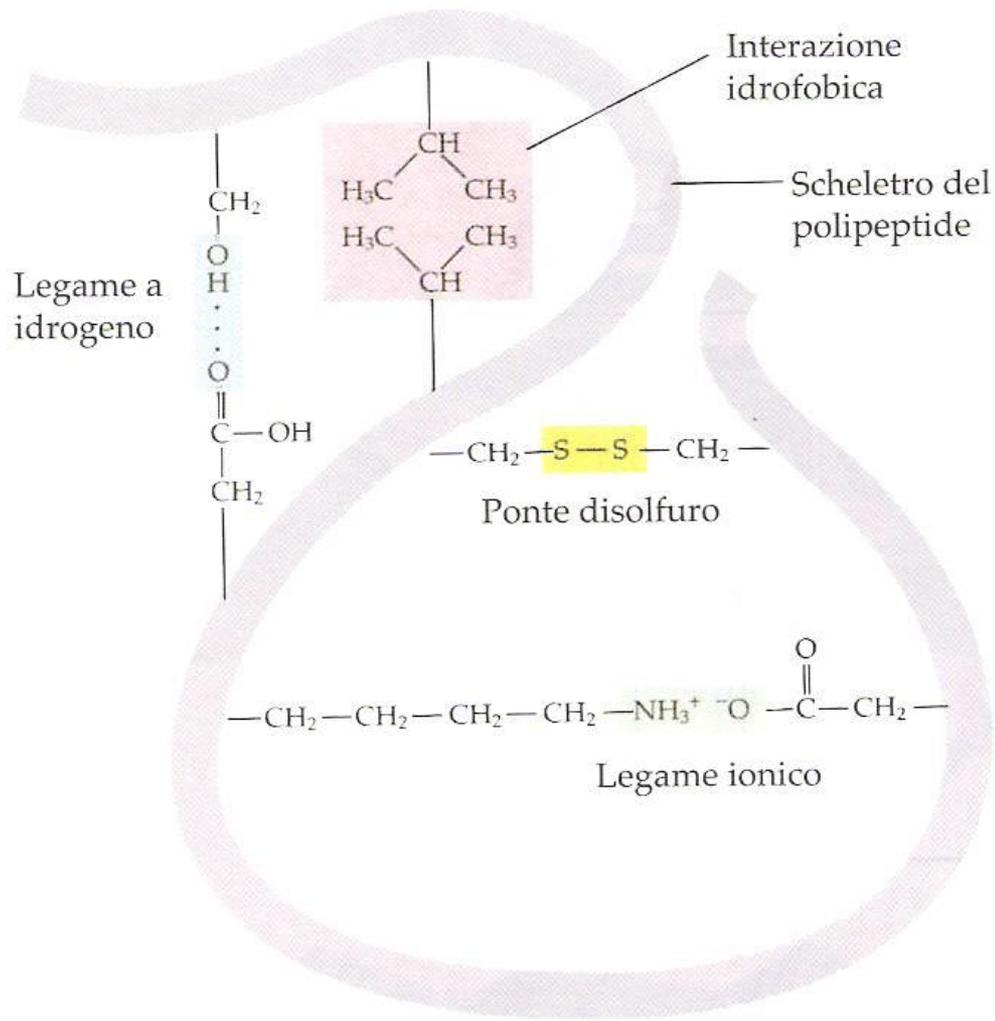
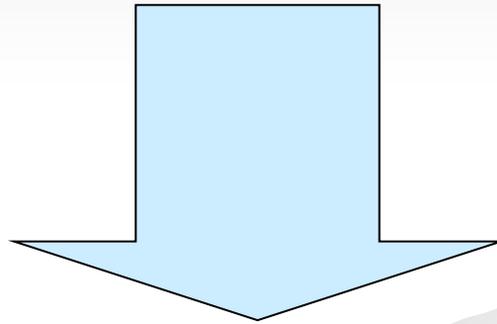


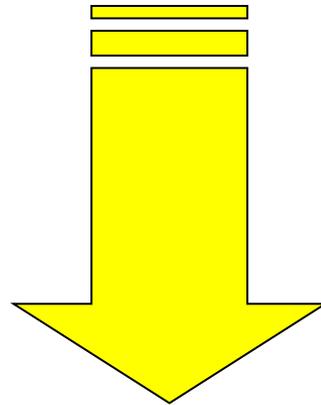
Figura 5.25
Struttura terziaria di una proteina. Legami a idrogeno, legami ionici e interazioni idrofobiche sono i tipi di legami deboli che si formano tra le catene laterali e che, nel loro complesso, stabilizzano la specifica conformazione di una proteina. I legami disolfuro, legami covalenti tra le catene laterali di coppie di cisteine, sono molto più forti.

- Alcune P contengono + subnunità (uguali o diverse)

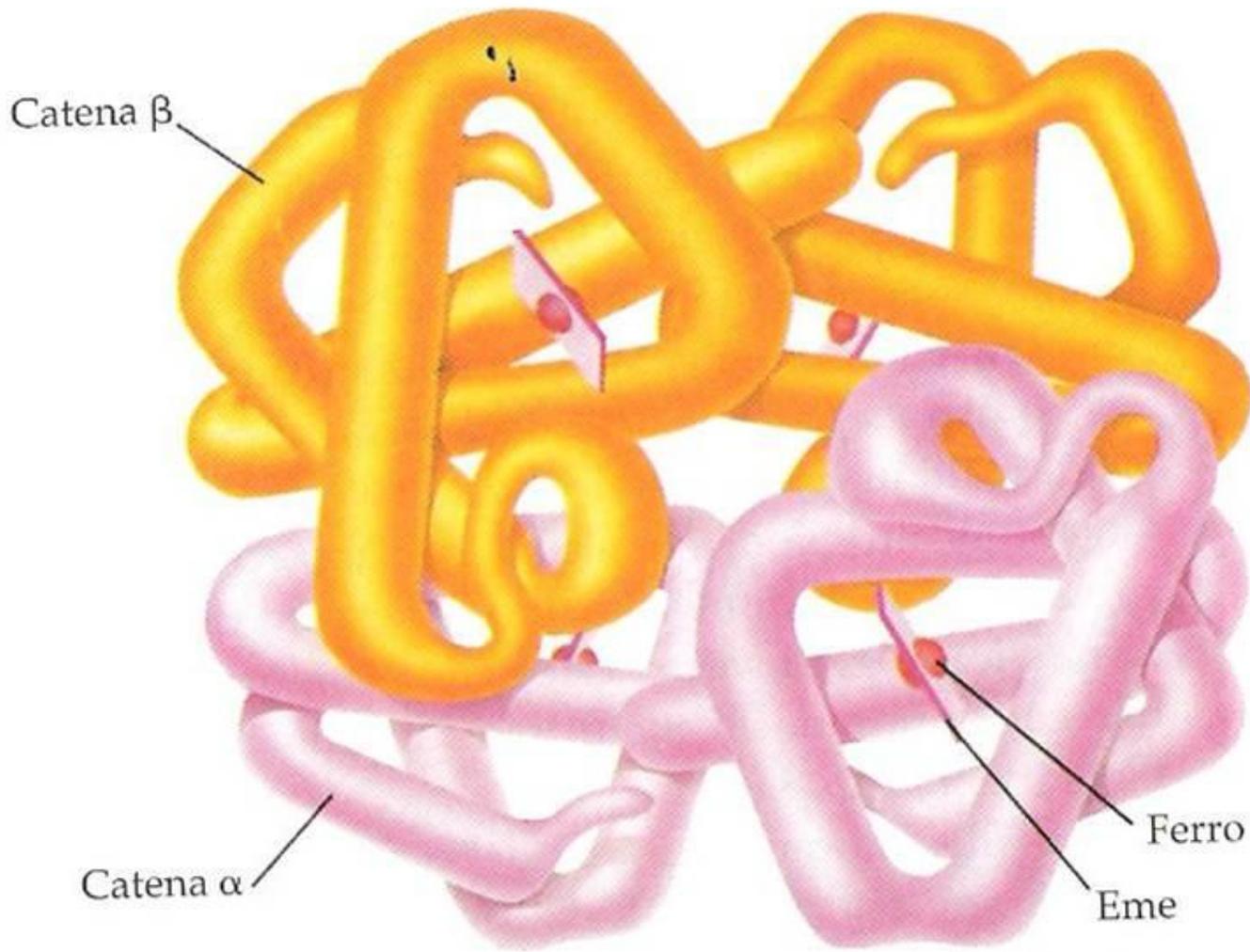


**proteina dimerica,
trimerica o multimerica**

L'associazione delle subunità
polipeptidiche si chiama



Struttura quaternaria

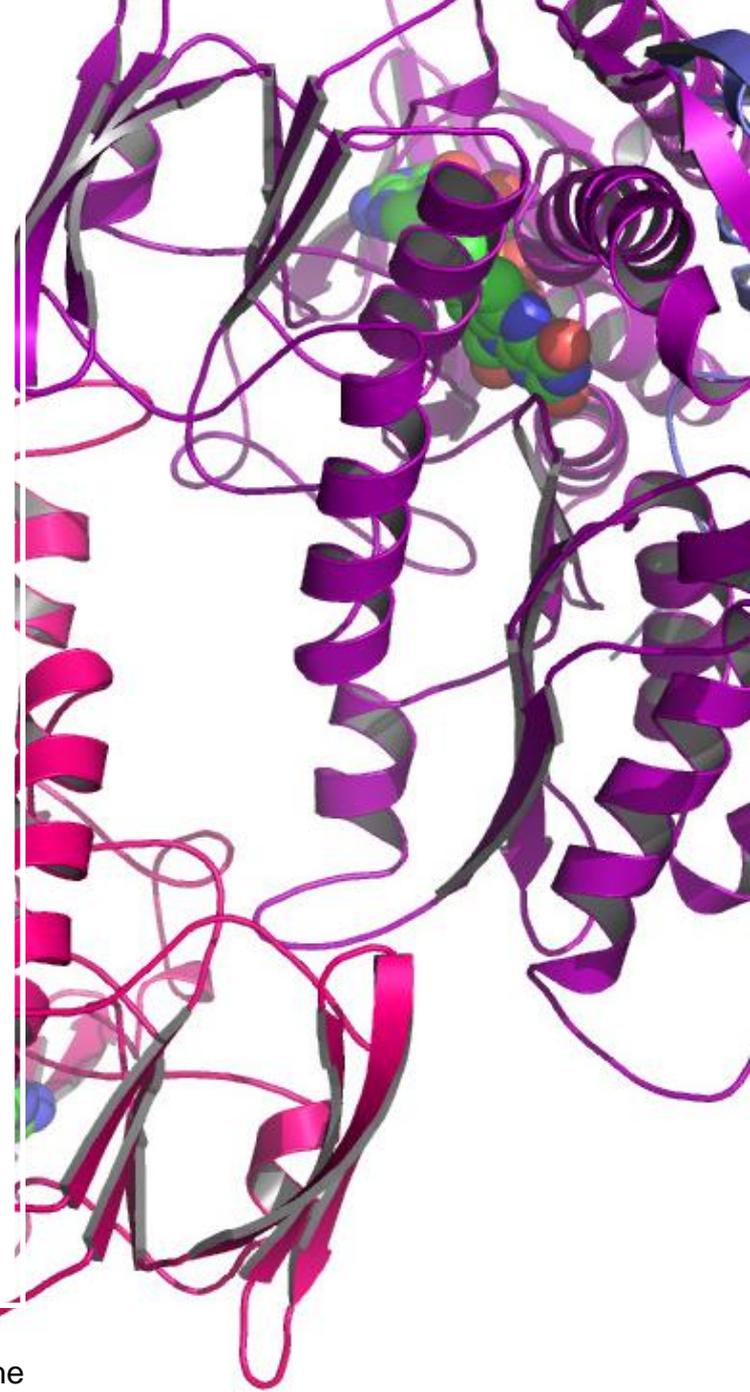


(b) Emoglobina

Es. Struttura quaternaria

Classificazione in base alla struttura

- **Fibrose:** P con catene disposte in lunghi fasci o foglietti
- **Globulari:** P con catene ripiegate ed assumono forme globulari o sferiche

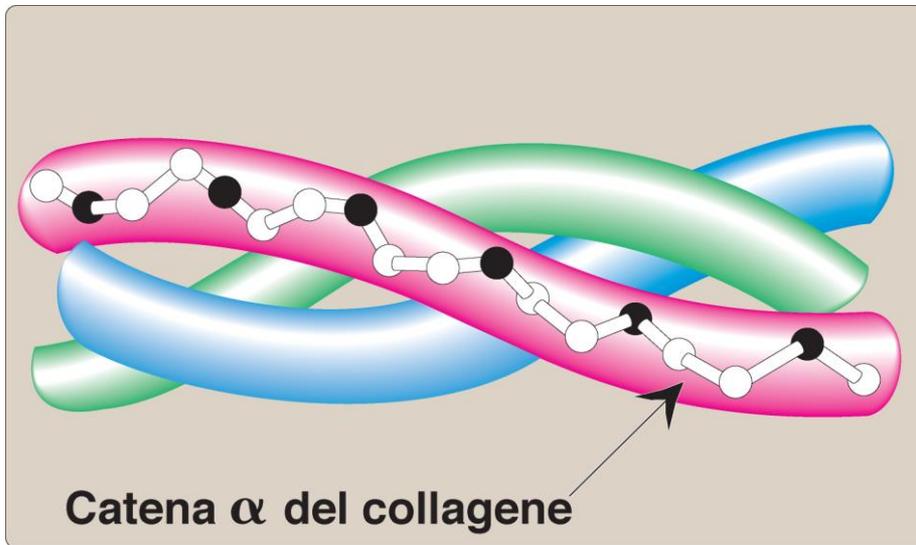
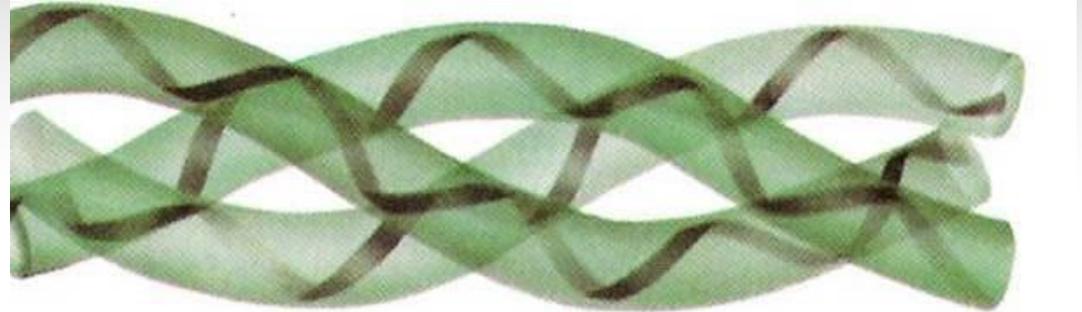


Collageno/e

- Evoluzione per resistere alle **tensioni**
- Rappresenta 1/3 della massa proteica totale
- Tessuto **connettivo** di tendini, cartilagine, matrice organica delle ossa, cornea

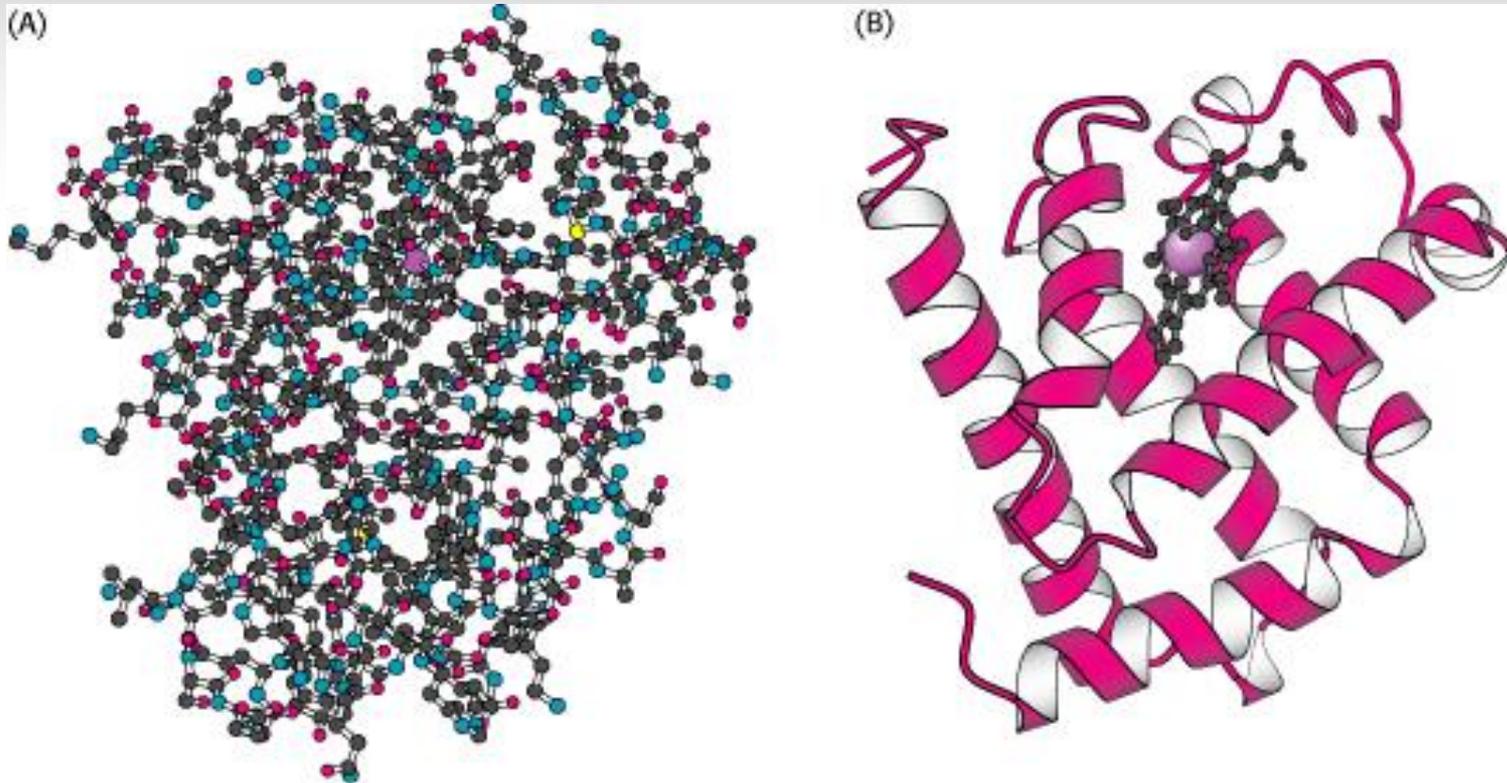
L'elica a tre filamenti del collagene

- Superavvolgimento: **3 catene**



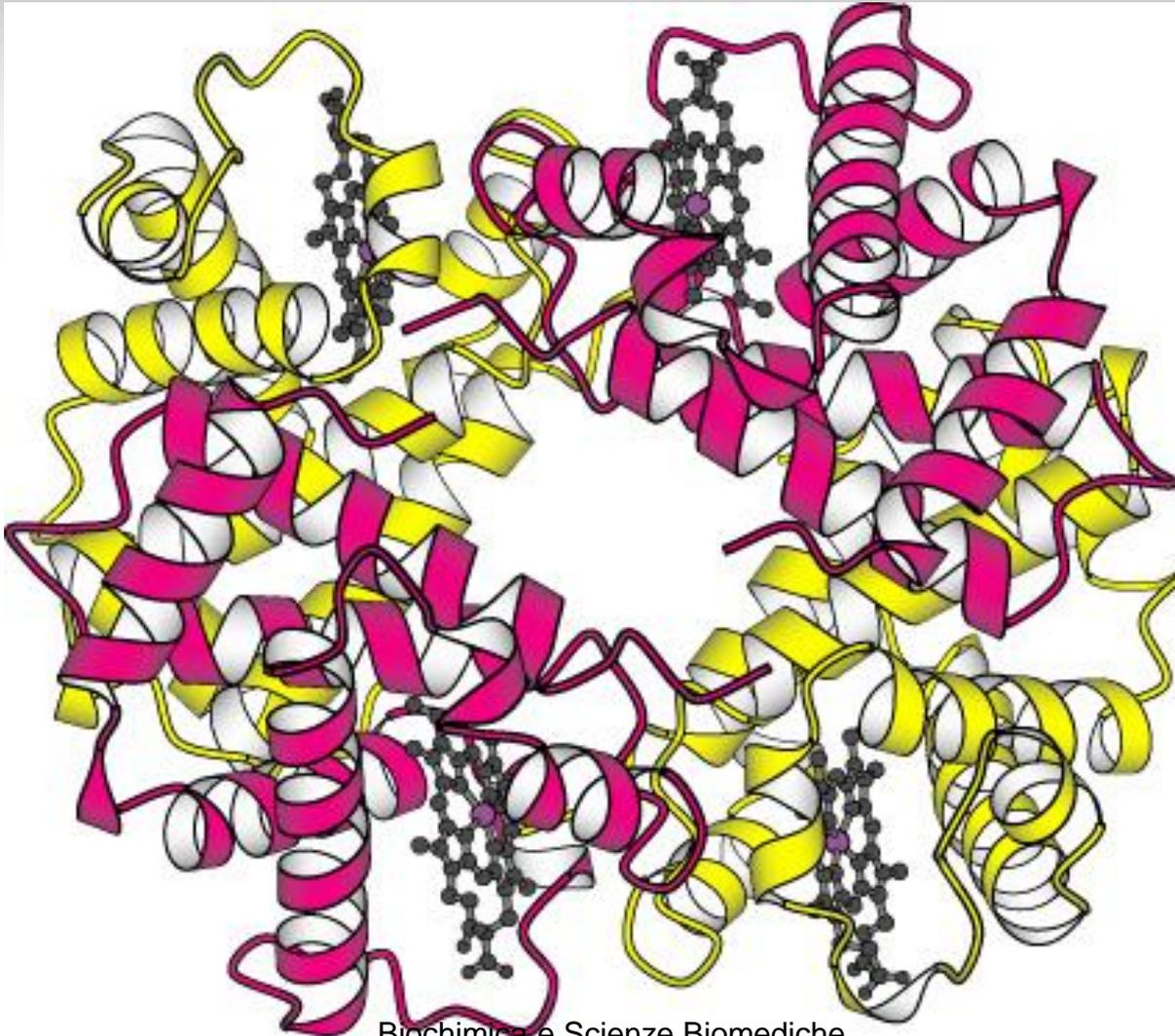
■ Unità base è il **tropocollagene**
Biochimica e Scienze Biomediche

Struttura tridimensionale della mioglobina

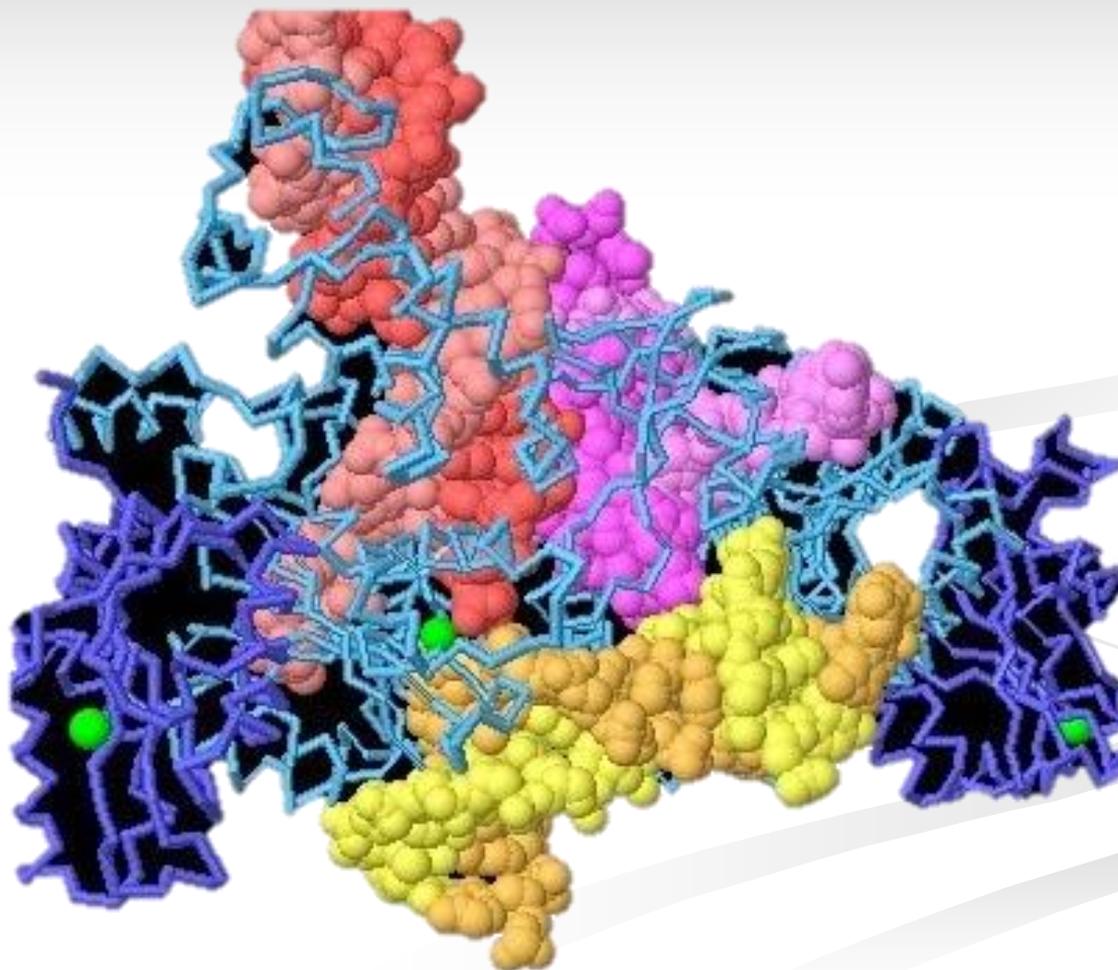


- E' costituita prevalentemente da α -eliche

Tetramero $\alpha_2\text{-}\beta_2$ dell'emoglobina umana



GLI ENZIMI



Enzimi: i protagonisti del metabolismo



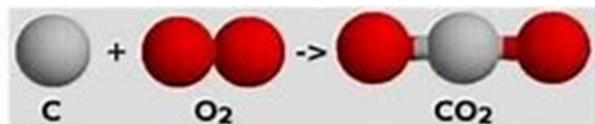
1. Sono **proteine**
2. Altamente **specializzate**
3. Massa molecolare: da 12×10^3 ad oltre 1×10^6 Da
4. **Catalizzatori** biologici

Classificazione

Numero	Classe	Tipo di reazione catalizzata
1	Ossidoreduttasi	Trasferimento di elettroni (ioni idruro H^- o atomi di H)
2	Transferasi	Reazioni di trasferimento di gruppi funzionali
3	Idrolasi	Reazioni di idrolisi (trasferimento di gruppi funzionali all'acqua)
4	Liasi	Addizione di gruppi a legami doppi o formazione di legami doppi mediante eliminazione di gruppi
5	Isomerasi	Trasferimento di gruppi all'interno di molecole per formare isomeri
6	Ligasi	Formazione di legami C-C, C-S, C-O e C-N mediante reazioni di condensazione accoppiate alla scissione di ATP

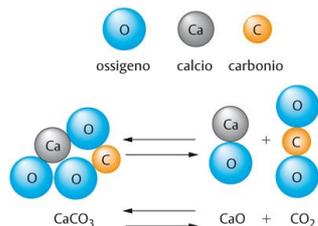
Reazioni chimiche

- Ogni volta che una o più sostanze si trasformano in altre sostanze abbiamo un fenomeno chimico detto anche **reazione chimica**
- In una reazione chimica gli atomi delle sostanze che reagiscono, si ricombinano fra loro formando nuove sostanze e scambiando energia; in altre parole: le sostanze presenti all'inizio della reazione, chiamate **reagenti**, si trasformano in altre sostanze, con caratteristiche differenti da quelle dei reagenti, che vengono chiamati **prodotti**.
- Nelle reazioni chimiche si considera valida la legge di Lavoisier: "nel corso di una reazione chimica **la somma delle masse dei reagenti è uguale alla somma delle masse dei prodotti**".
- In altre parole, nel corso di una reazione chimica **la materia non si crea e non si distrugge**".
- Quindi ogni reazione chimica consiste nella **rottura** di uno o più **legami chimici** nelle molecole che subiscono la trasformazione cioè i **reagenti** seguita dalla formazione di nuovi legami chimici e nuove molecole, i **prodotti**, alla fine della trasformazione



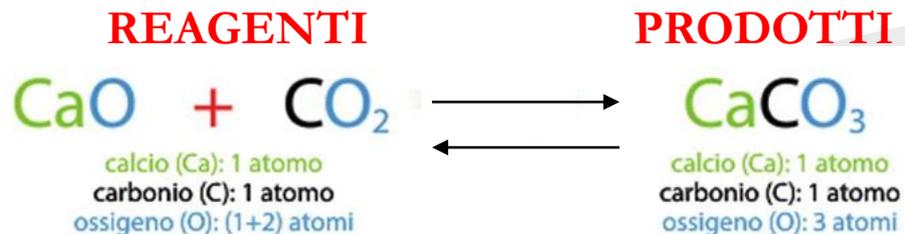
REAGENTI

PRODOTTI



Come si scrivono le reazioni chimiche?

- Per rappresentare una reazione chimica bisogna scrivere da sinistra verso destra le formule dei reagenti separati dal segno più; poi si inserisce una freccia per indicare la direzione verso cui avviene la reazione; poi si scrive il prodotto (possono essere anche più molecole) della reazione

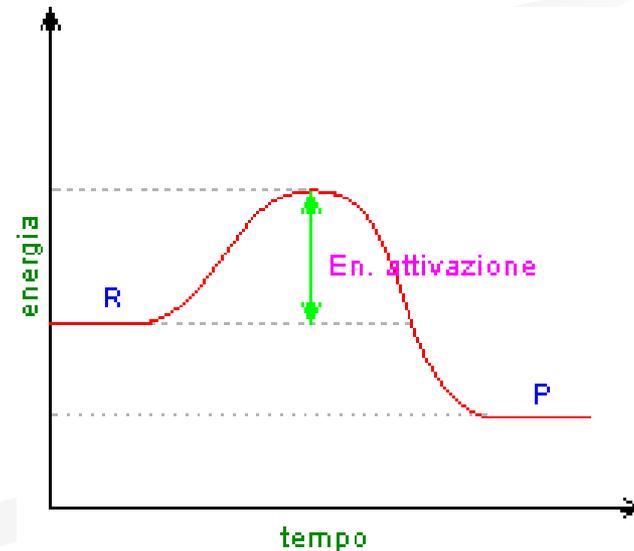
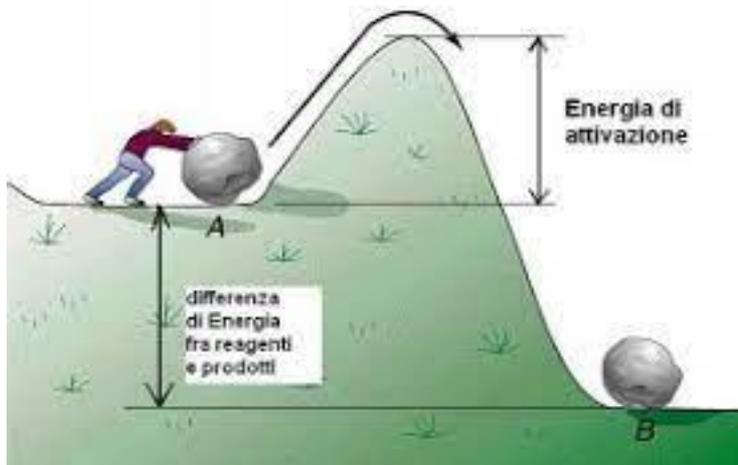


Per **meccanismo di reazione** si deve intendere il percorso che le molecole dei reagenti devono seguire per essere convertite in quelle dei prodotti.

ENERGIA DI ATTIVAZIONE

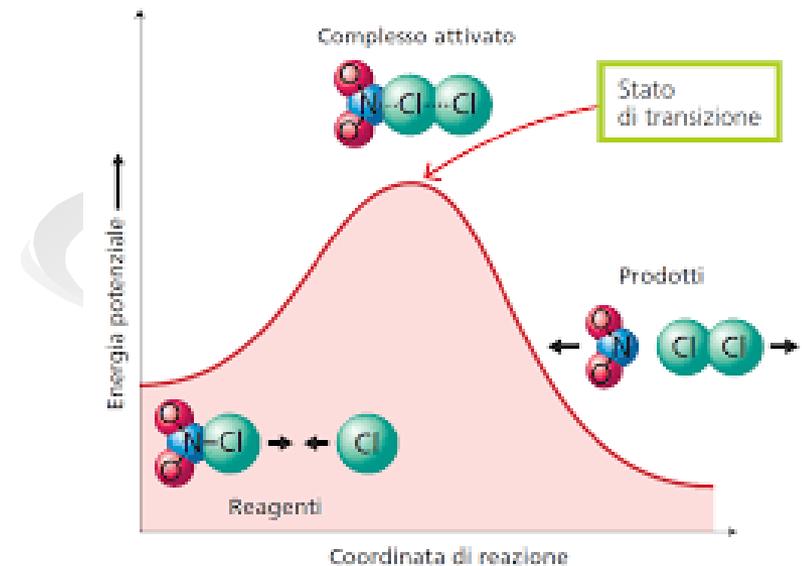
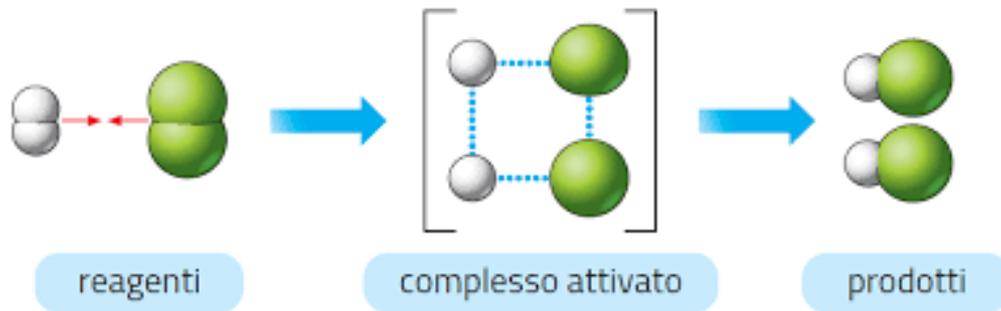
- Ogni reazione per procedere necessita di raggiungere l' **energia di attivazione, cioè l'energia necessaria** per far superare al **sistema** chimico la “collina” che gli impedisce il passaggio da **reagenti** a **prodotti**

L'energia di attivazione aumenta l'**energia cinetica delle molecole di reagente** e, quindi, la **probabilità degli urti produttivi**. Permette la formazione del **composto intermedio**, ricco di energia e instabile, detto **complesso attivato**



Complesso attivato

Il complesso attivato è un **composto intermedio tra i reagenti e i prodotti**, quando ancora non si sono scissi i legami nelle molecole di **reagente** ma non si sono ancora stabilizzati i legami propri delle molecole di **prodotto**.



Equilibrio e velocità delle reazioni

La velocità di reazione è funzione del numero di urti tra le molecole di reagente per unità di tempo ossia della concentrazione dei reagenti secondo una costante di proporzionalità

Si definisce **VELOCITÀ DI REAZIONE** la **diminuzione** nel tempo della concentrazione dei **reagenti** o all'opposto, **l'aumento** nel tempo della concentrazione dei **prodotti**.

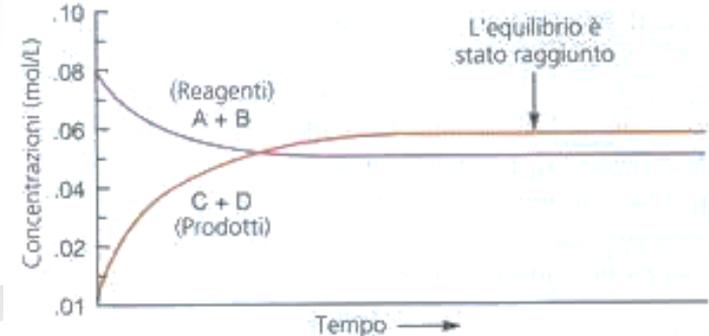
- ✓ Quanto è maggiore la concentrazione dei reagenti tanto più veloce è la reazione.
- ✓ A mano a mano che la reazione prosegue le concentrazioni dei reagenti diminuiscono e la velocità di reazione diminuisce in proporzione.
- ✓ Quando non ci sono più reagenti, la velocità è pari a zero e la reazione non ha **velocità**

In teoria, ogni trasformazione può avvenire anche **in senso opposto** cioè i prodotti di una reazione in seguito a urti tra loro possono riformare i reagenti iniziali: si ha così la trasformazione inversa

Una reazione può avvenire in un **unico stadio**, ad es. $A \rightarrow B$, oppure in **più stadi**, ad es. $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$
Ogni stadio è detto **processo elementare**.

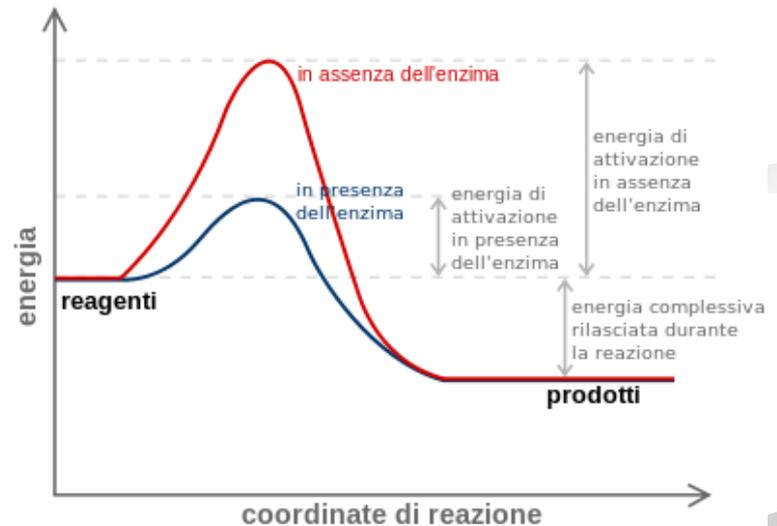
Nel meccanismo di reazione a più stadi, lo stadio che determina la velocità globale della reazione è quello più lento.

$$v = k \times [\text{reagente}]$$

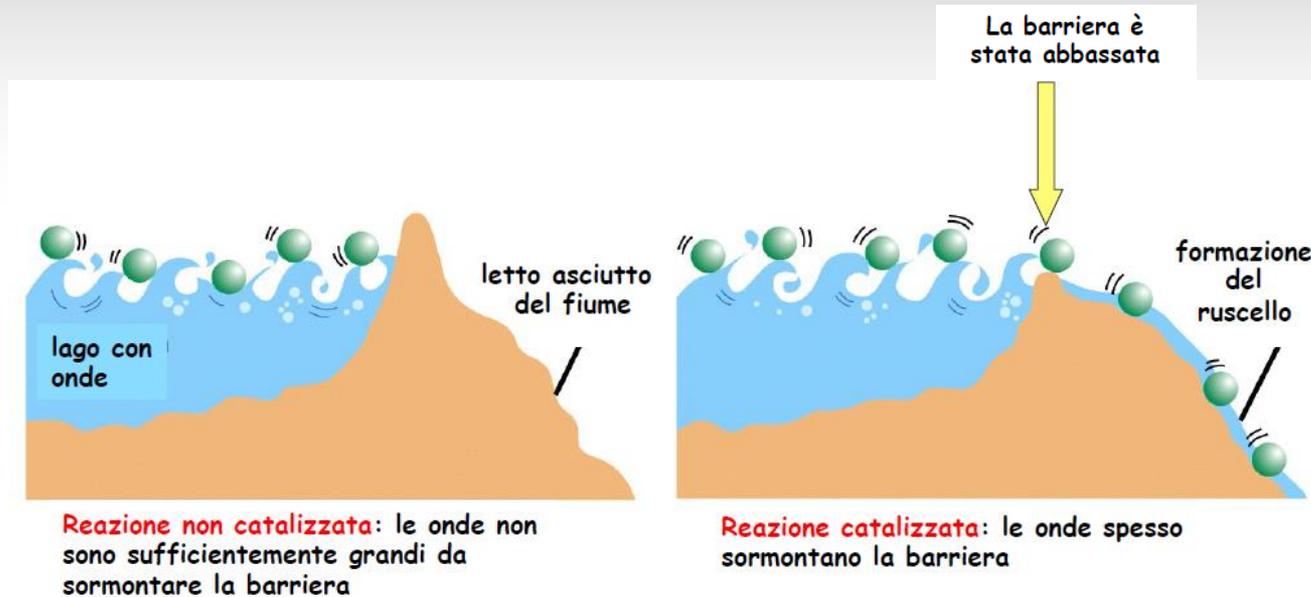


CONCETTO DI CATALIZZATORE

- Il catalizzatore è un elemento, una molecola che ha la capacità di abbassare l'energia di attivazione di una reazione chimica facilitandola, **accelerandola**.
- I catalizzatori fanno aumentare la velocità di raggiungimento dell'equilibrio, facendo percorrere alla reazione un **percorso diverso** da quello che sarebbe spontaneo e che implica quindi un'energia di attivazione minore.
- Pur intervenendo nella reazione (legano reagenti e prodotti) **non vengono consumati** nel corso della reazione stessa.



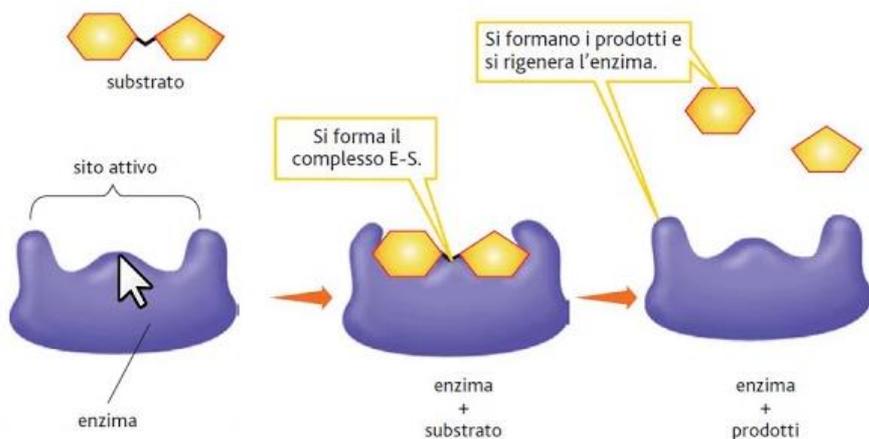
EFFETTO DEL CATALIZZATORE



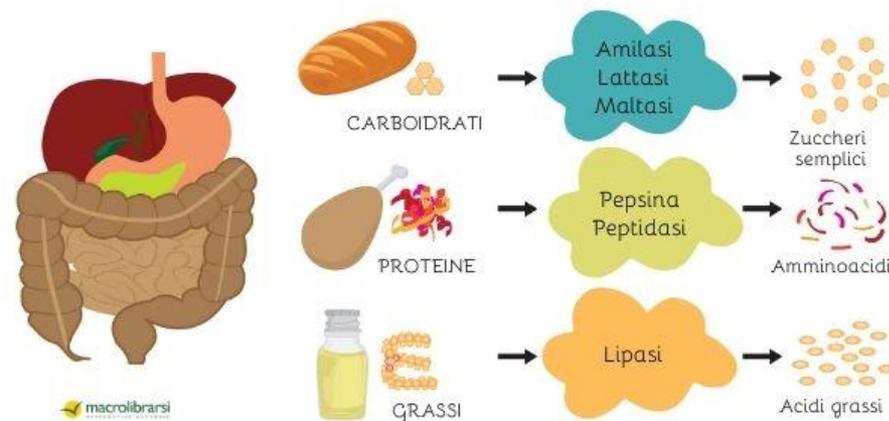
L'azione del catalizzatore consiste appunto nell'abbassare tale barriera, cioè considerando la teoria delle collisioni, nel ridurre il valore dell'energia di attivazione

Le reazioni biochimiche sono catalizzate da molecole specifiche, dette **enzimi**: catalizzatori biologici che accelerano (catalizzano) le reazioni.

Sono proteine altamente specializzate

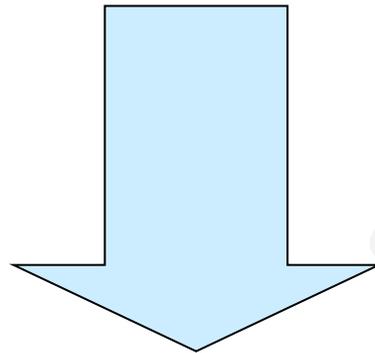


ENZIMI DIGESTIVI



Meccanismo d'azione degli enzimi

Catalizzatori biologici



Il catalizzatore **aumenta** la velocità della reazione abbassando l'energia d'attivazione

- La formazione di un complesso **enzima-substrato (ES)** è la prima tappa nella catalisi enzimatica

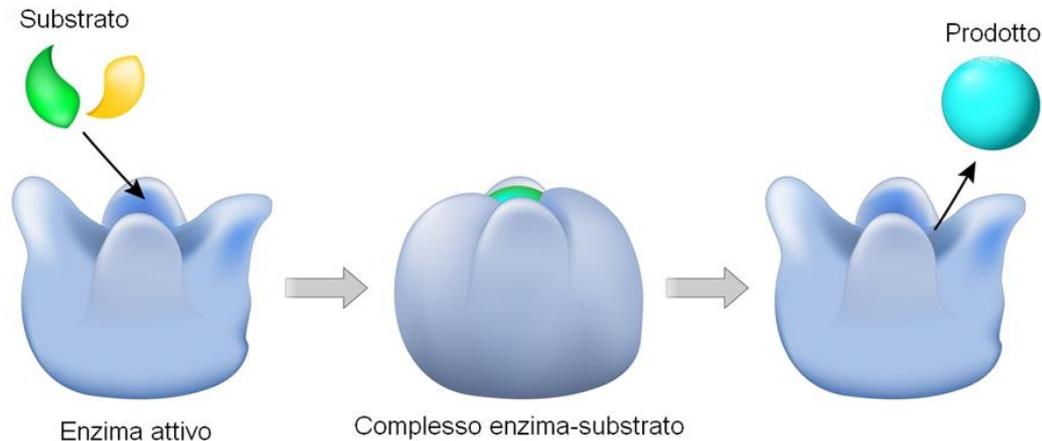
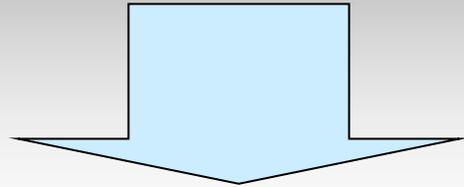


enzima (ES)

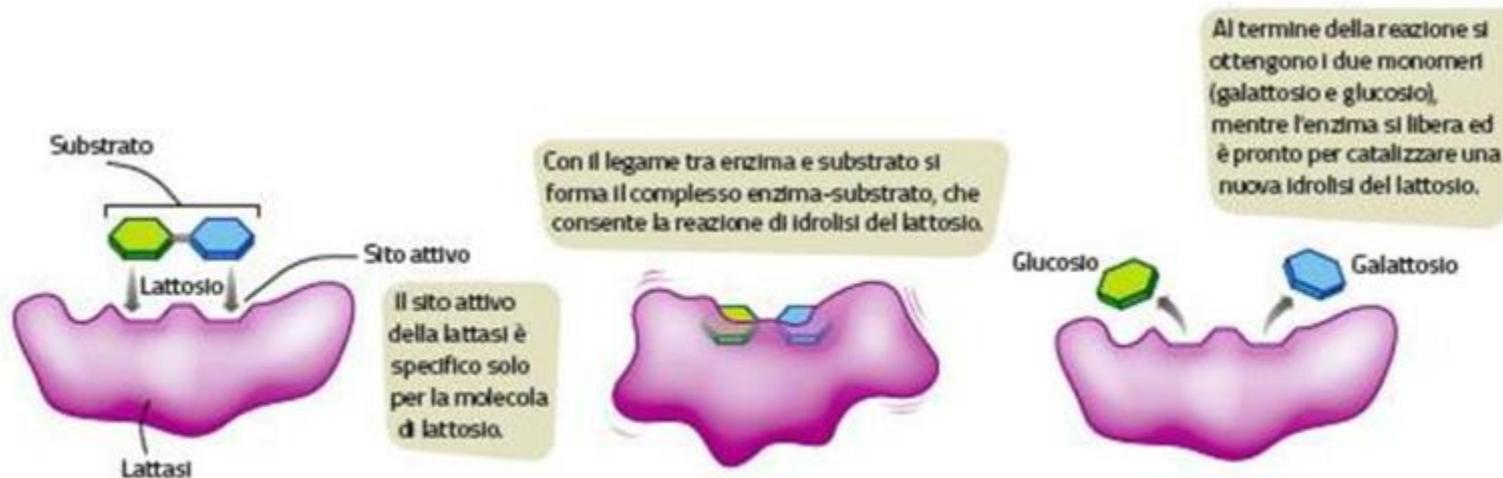


- Gli **E** accelerano la reazione facilitando la formazione dello stato di transizione
- Non alterano gli equilibri di reazione
- Non fanno parte del prodotto
- Non vengono consumati

Una semplice reazione enzimatica può essere descritta

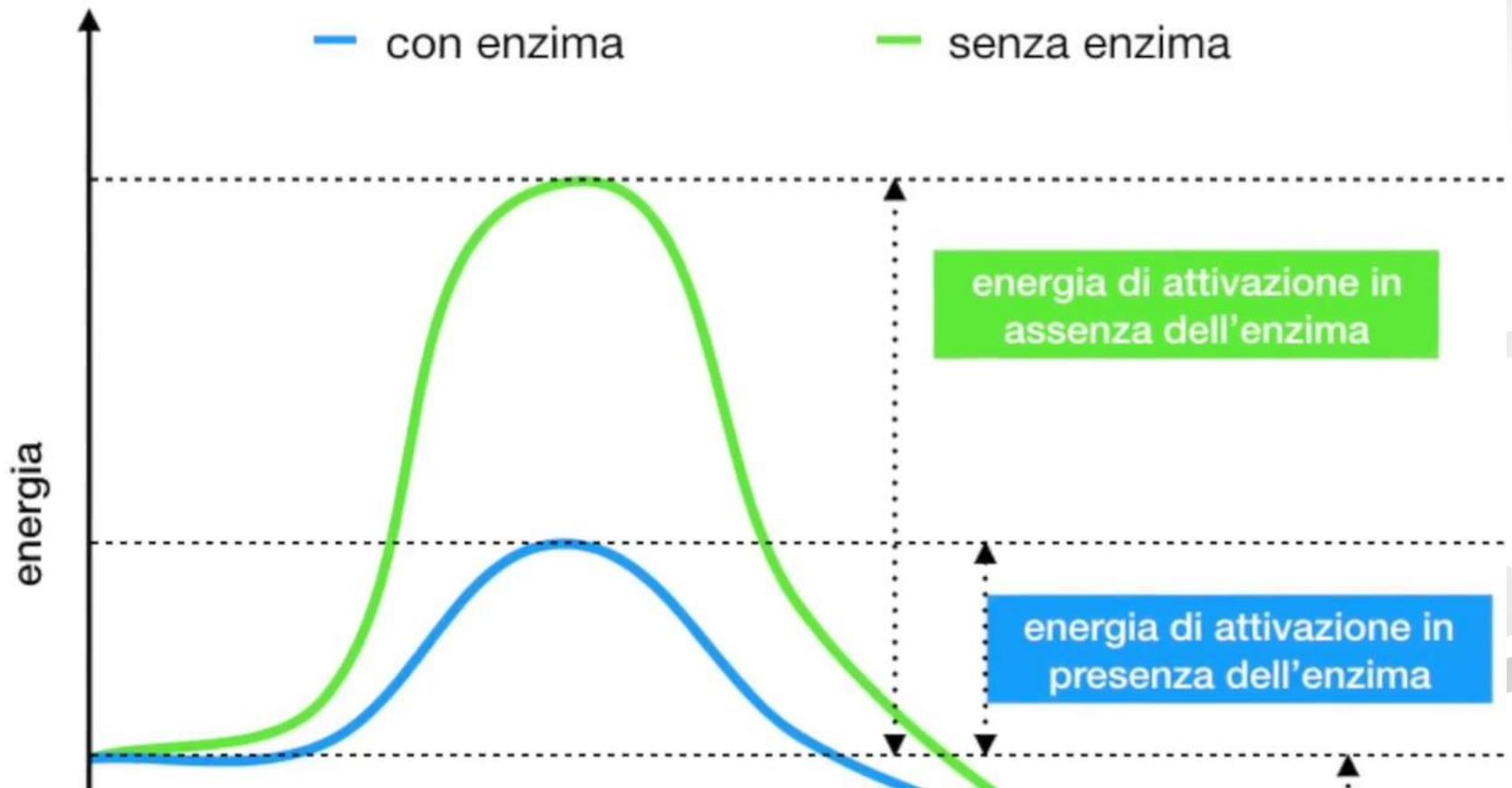


Le molecole di substrato si legano al **sito attivo** di un enzima. Si forma il **complesso enzima-substrato**, che dà origine al prodotto e rilascia l'enzima.



- Gli **E** si combinano con i reagenti **modificando** il meccanismo cinetico della reazione, **con** conseguente **diminuzione** dell'energia di attivazione

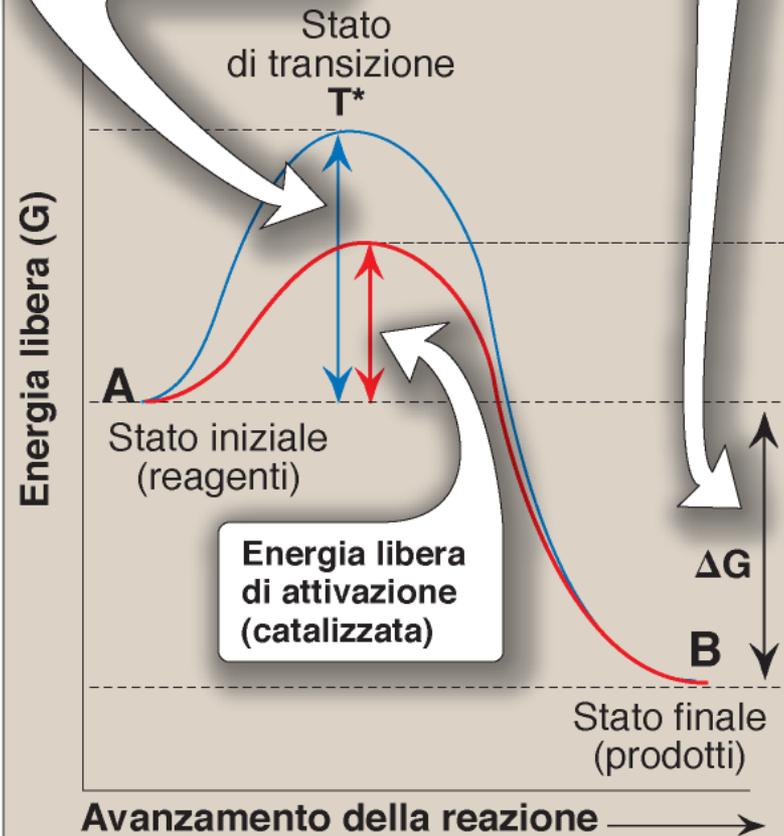
L'effetto di un enzima sull'energia d'attivazione di una reazione



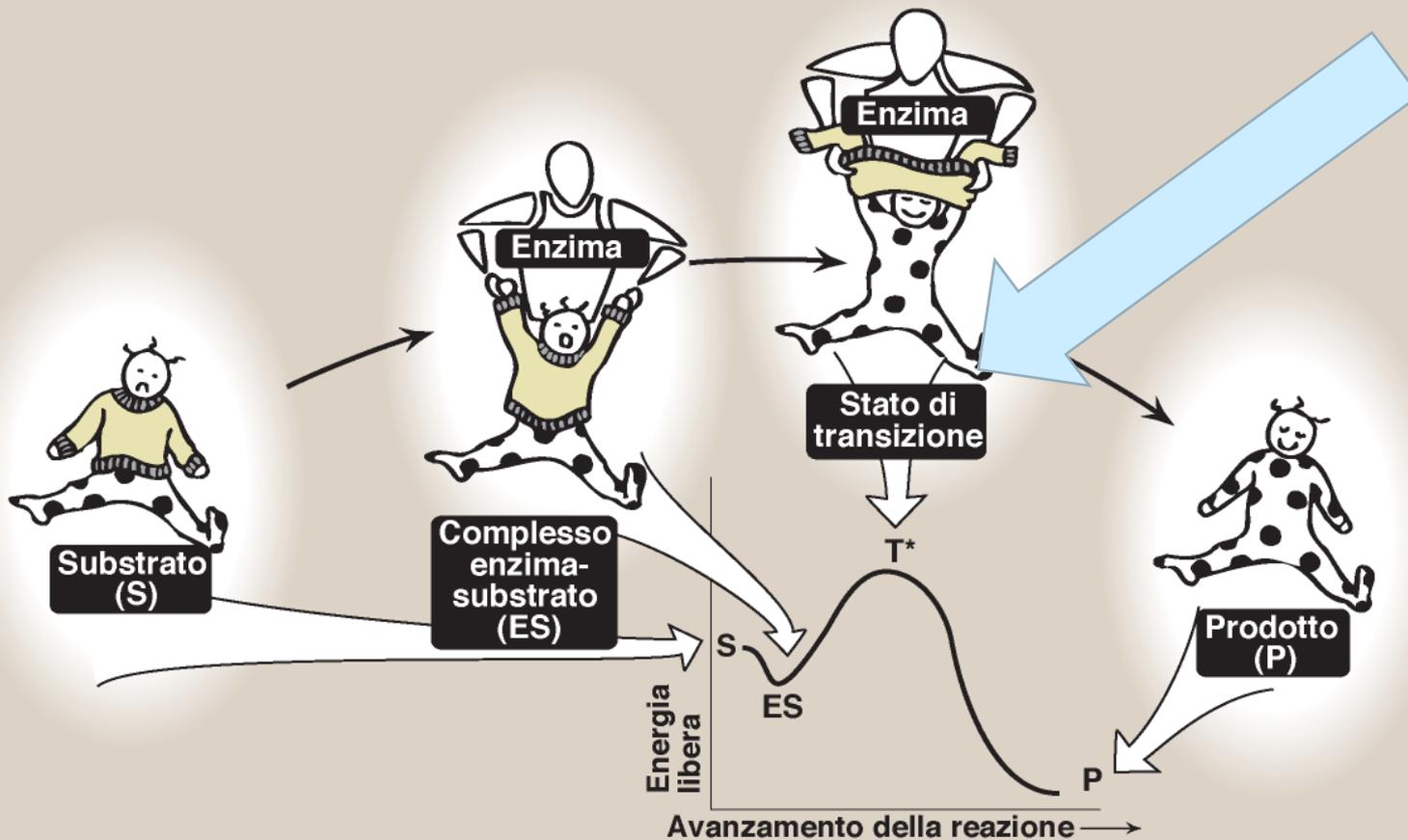
L'effetto di un enzima sull'energia d'attivazione di una reazione

L'energia libera complessiva della reazione (l'energia dei reagenti meno l'energia dei prodotti) è uguale nella reazione catalizzata e nella reazione non catalizzata.

Energia libera di attivazione (non catalizzata)



Una rappresentazione schematica delle modificazioni dell'energia che accompagnano la formazione di un complesso E-S e la successiva formazione di un complesso nello stato di transizione



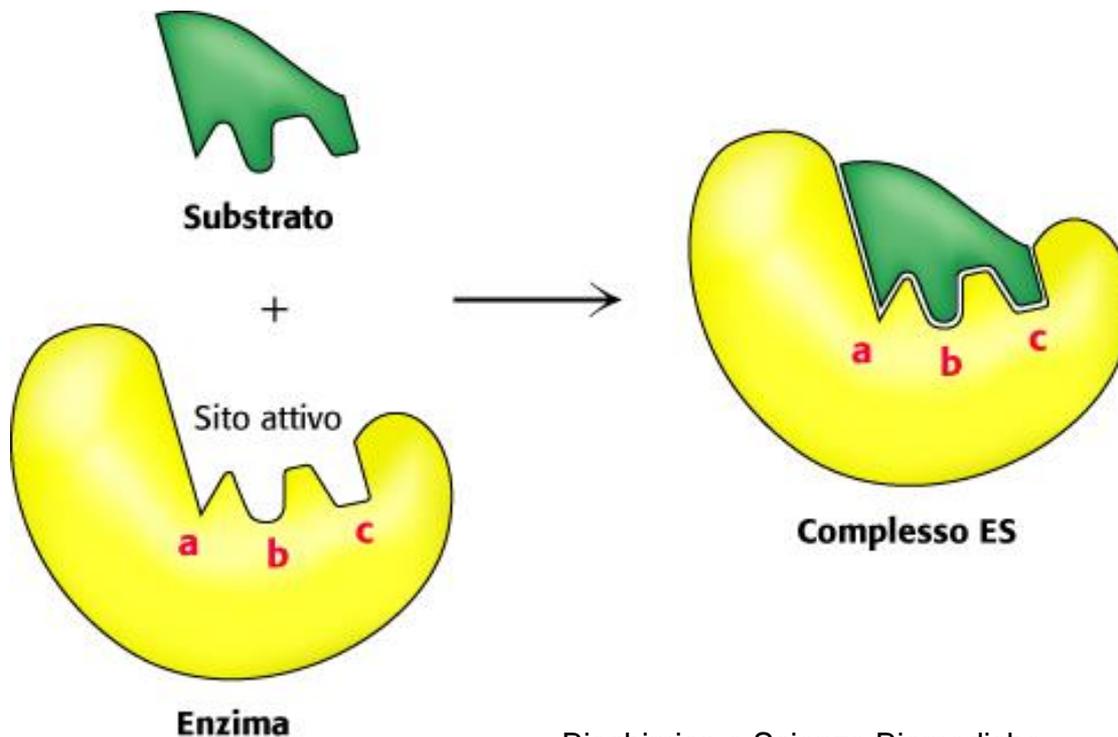
Aumenta considerevolmente
il numero di molecole di
substrato che ogni istante
possono reagire e
trasformarsi in prodotto

Specificità

- ▶ La capacità di un E di discriminare tra composti simili e chimicamente diversi
- ▶ Deriva dalla formazione di molteplici interazioni deboli tra E e substrato
- ▶ 2 teorie spiegano la specificità di un E :
 1. chiave-serratura
 2. adattamento indotto

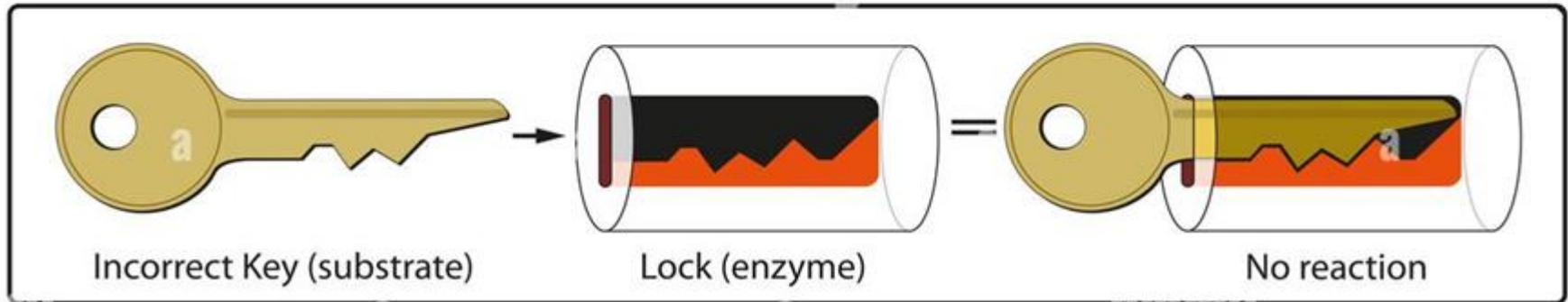
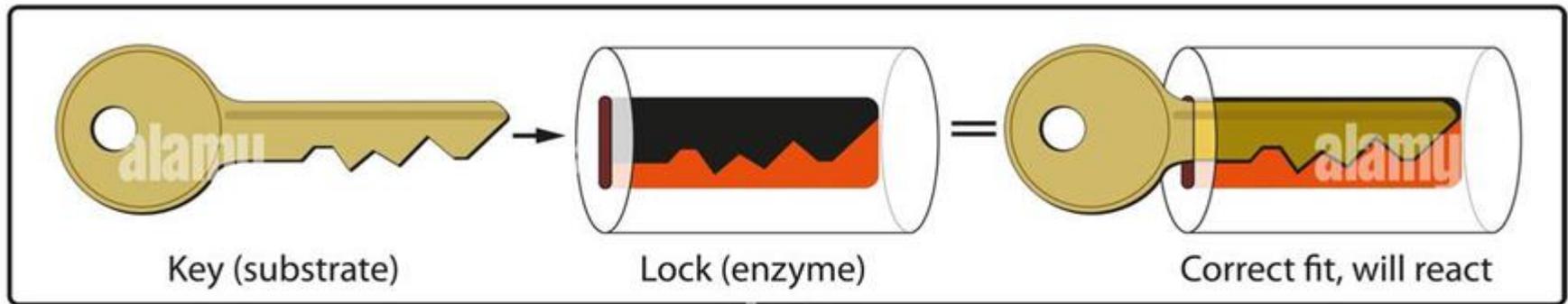
1. Modello: chiave-serratura

- Hermann Emil Fischer nel 1894 propose questo modello
- Il **sito attivo** dell'enzima libero ha una forma **complementare** a quella del substrato (struttura statica)



Premio Nobel per la chimica 1902

1. Modello: chiave-serratura

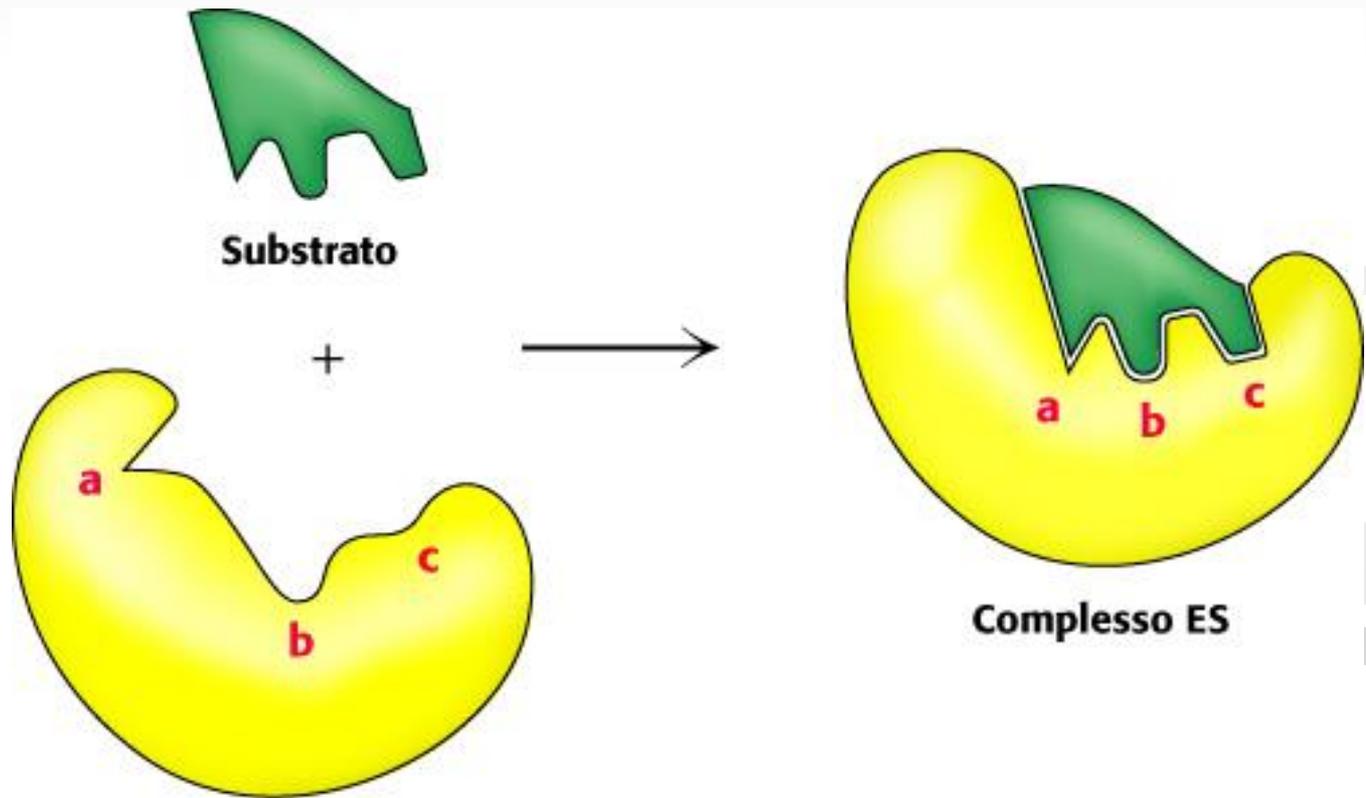


2. Modello: adattamento indotto

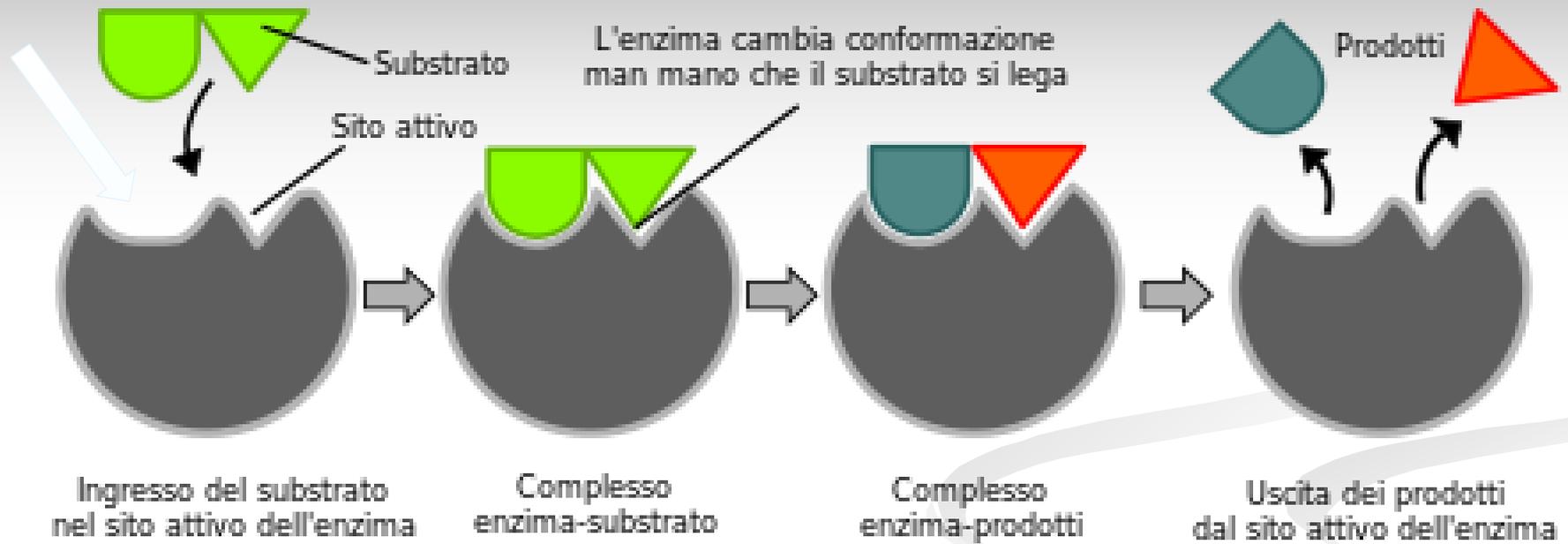
L'**E** cambia forma in seguito al legame con il substrato (struttura dinamica)

mano

quanto



2. Modello: adattamento indotto



Cofattori

Componenti chimici aggiuntivi necessari per il funzionamento di alcuni enzimi

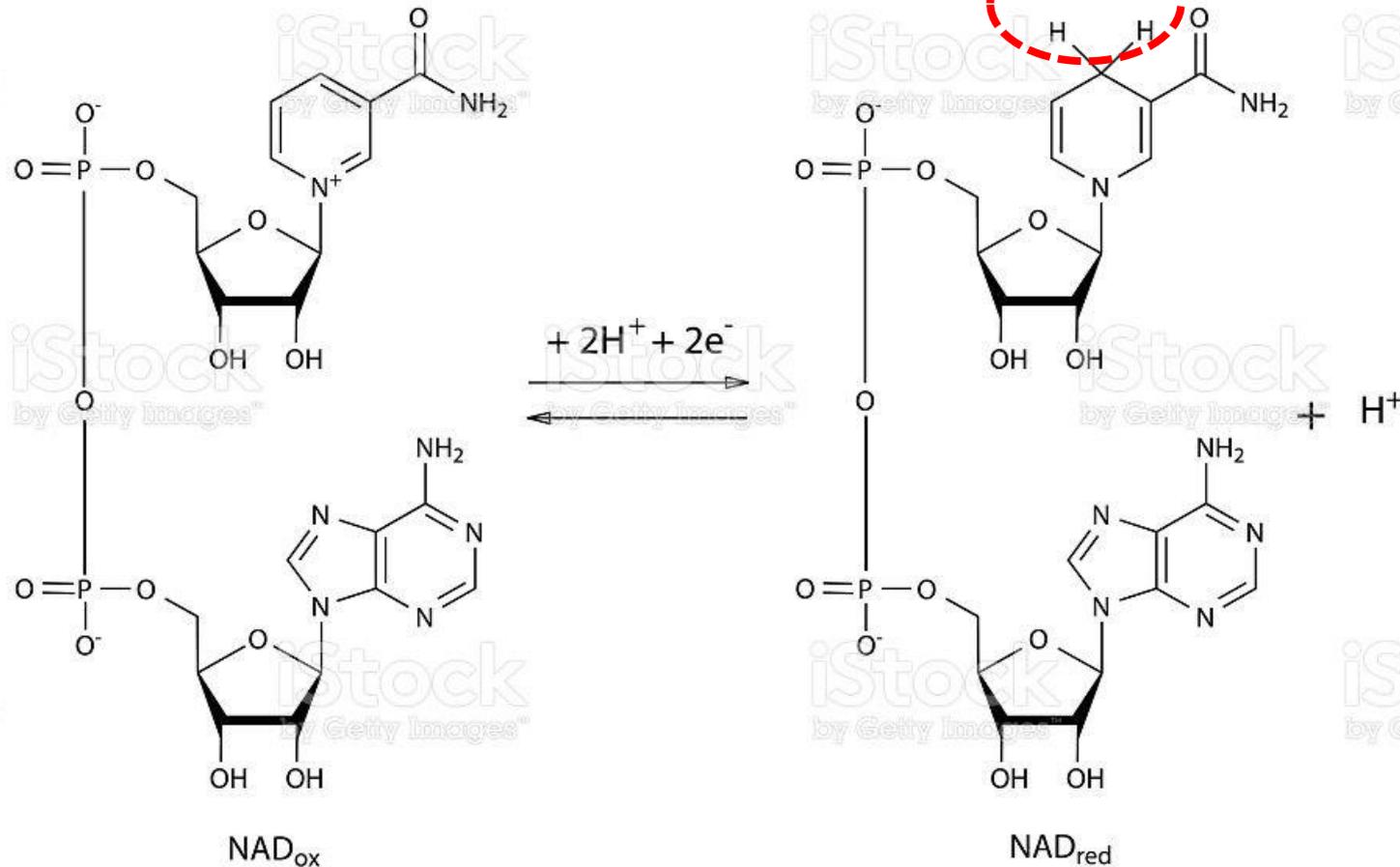
a) ioni inorganici (Mg^{++} , Fe^{++} , etc.)

b) complesse molecole organiche (coenzimi)

Coenzimi

NAD⁺ e NADH (nicotinammide adenin dinucleotide)

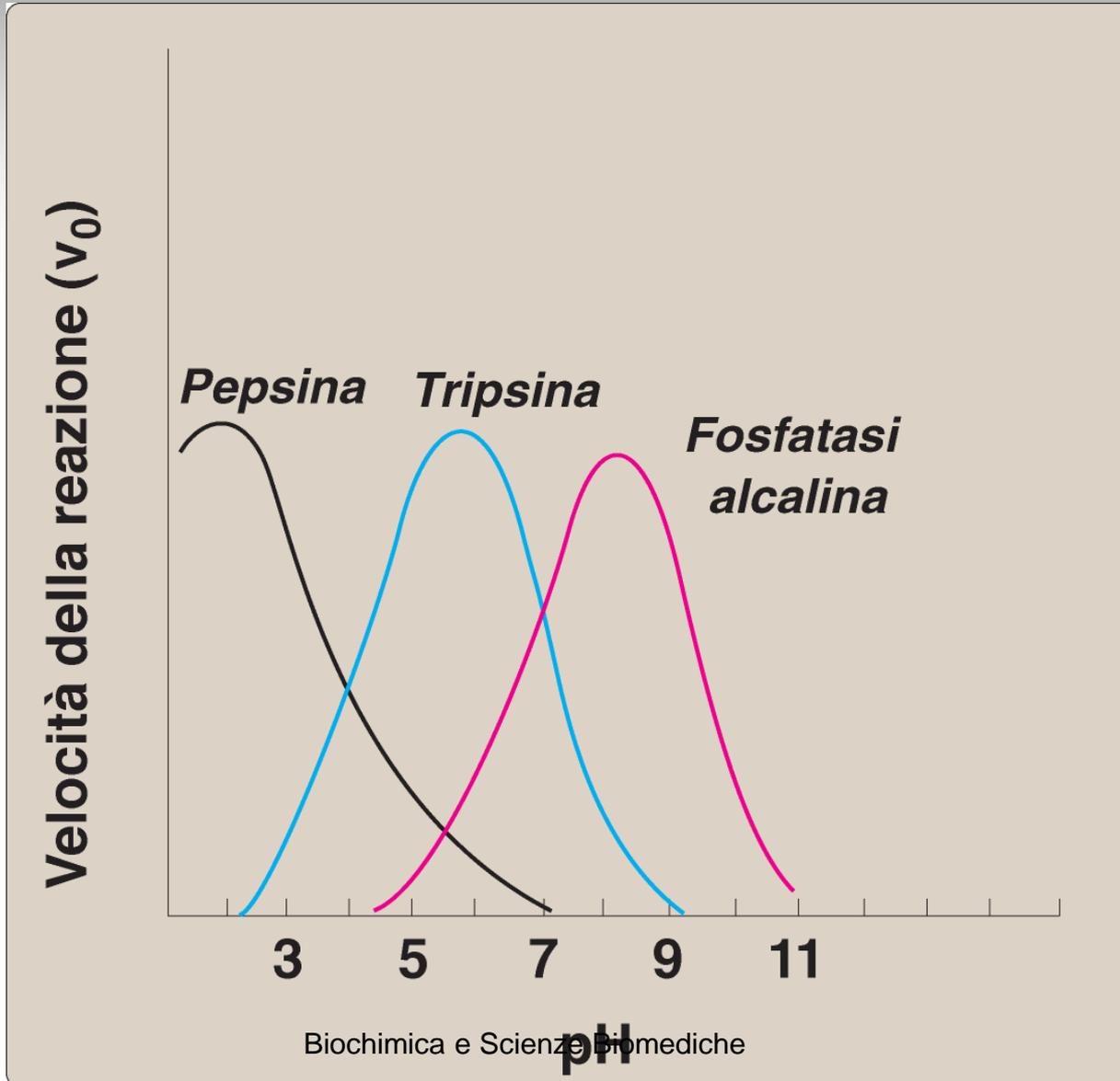
NAD redox reaction



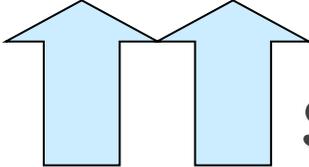
Fattori che condizionano l'attività enzimatica

1. pH
2. Temperatura
3. Concentrazione del substrato
4. Inibitori

1. pH

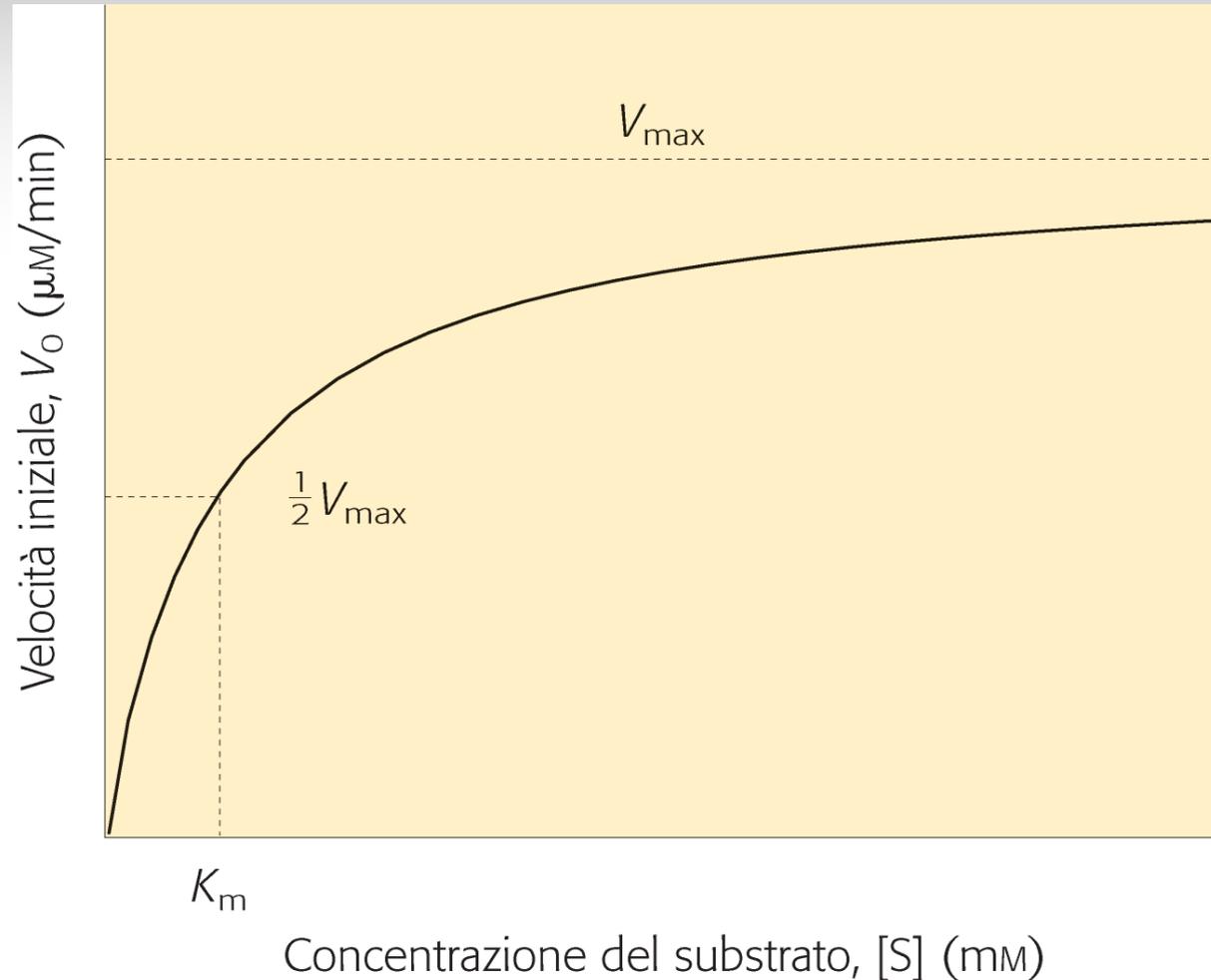


2. Temperatura

- ▶ Generalmente l'attività enzimatica è misurata a 37°C (t.c.)
- ▶ Effetto positivo
- ▶ Se  si ha denaturazione = inattivazione dell'**E**

3. [substrato]

- La velocità aumenta all'aumentare della [substrato]



CINETICA ENZIMATICA- ENZIMOLOGIA

1913: Michaelis e Menten



Leonor Michaelis
1875–1949



Maud Menten
1879–1960

approccio cinetico basato su:
assunzione del "quasi equilibrio" ("equilibrio rapido")
assunzione della **velocità iniziale**

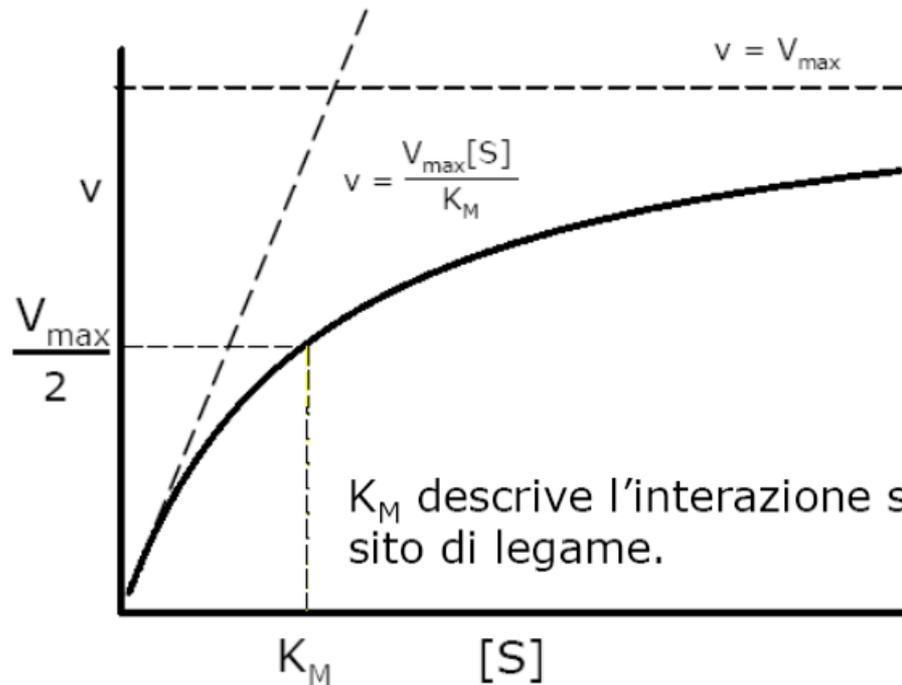
K_M - Costante di Michaelis-Menten

- La Costante di Michaelis-Menten è una grandezza caratteristica di ciascun enzima.
- Essa indica quantitativamente l'affinità tra un Enzima e il suo Substrato (biochimica):
- più basso sarà il valore di K_m e più bassa sarà la concentrazione di substrato che permette di raggiungere una velocità di reazione pari alla metà della velocità massima (il che indica un'alta affinità enzima-substrato).
- Deriva dal modello cinetico di Michaelis-Menten, che prevede la formazione di un **complesso enzima-substrato**.
- Nella formula sono coinvolti: le costanti K , che rappresentano le costanti cinetiche, E che rappresenta l'enzima, S il substrato ed ES un intermedio di reazione Enzima-Substrato. La costante di Michaelis-Menten è caratteristica dell'enzima e non dipende dalla sua concentrazione.

Significato di K_M

⇒ E' la concentrazione di substrato alla quale il 50% dei siti attivi è occupato dal substrato stesso

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



K_M descrive l'interazione substrato-enzima a livello del sito di legame.

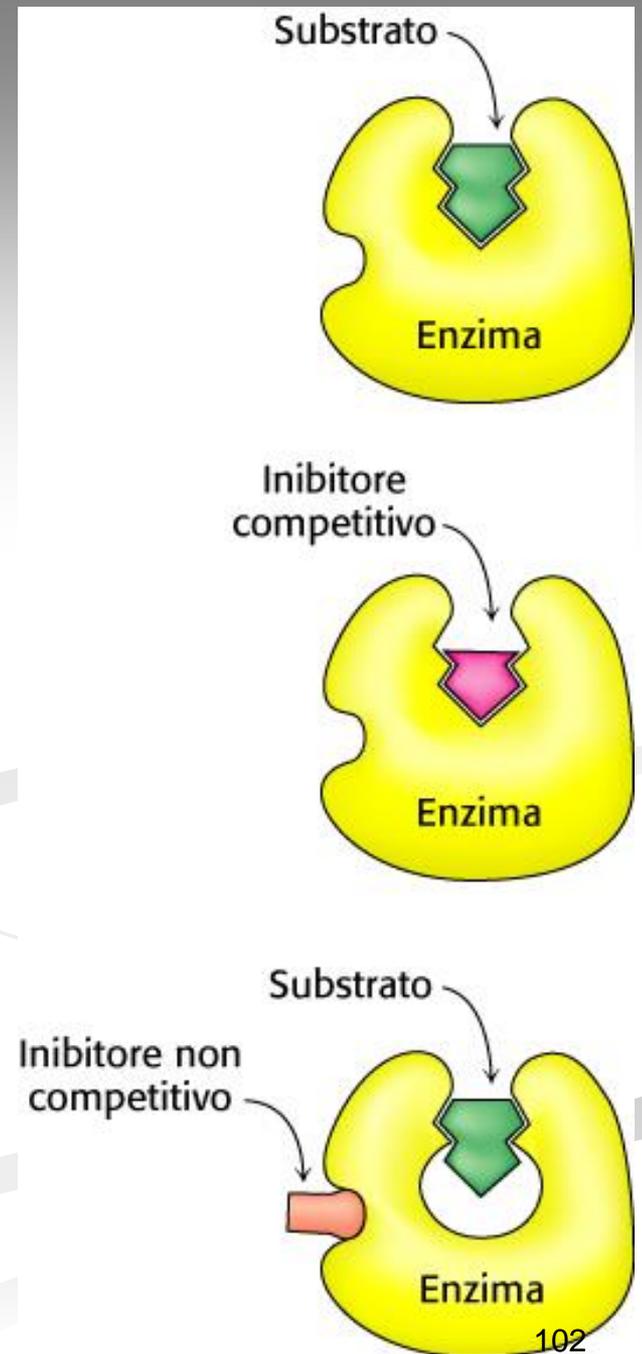
Il valore di K_M è una misura di quanto strettamente il substrato sia legato all'enzima (affinità)

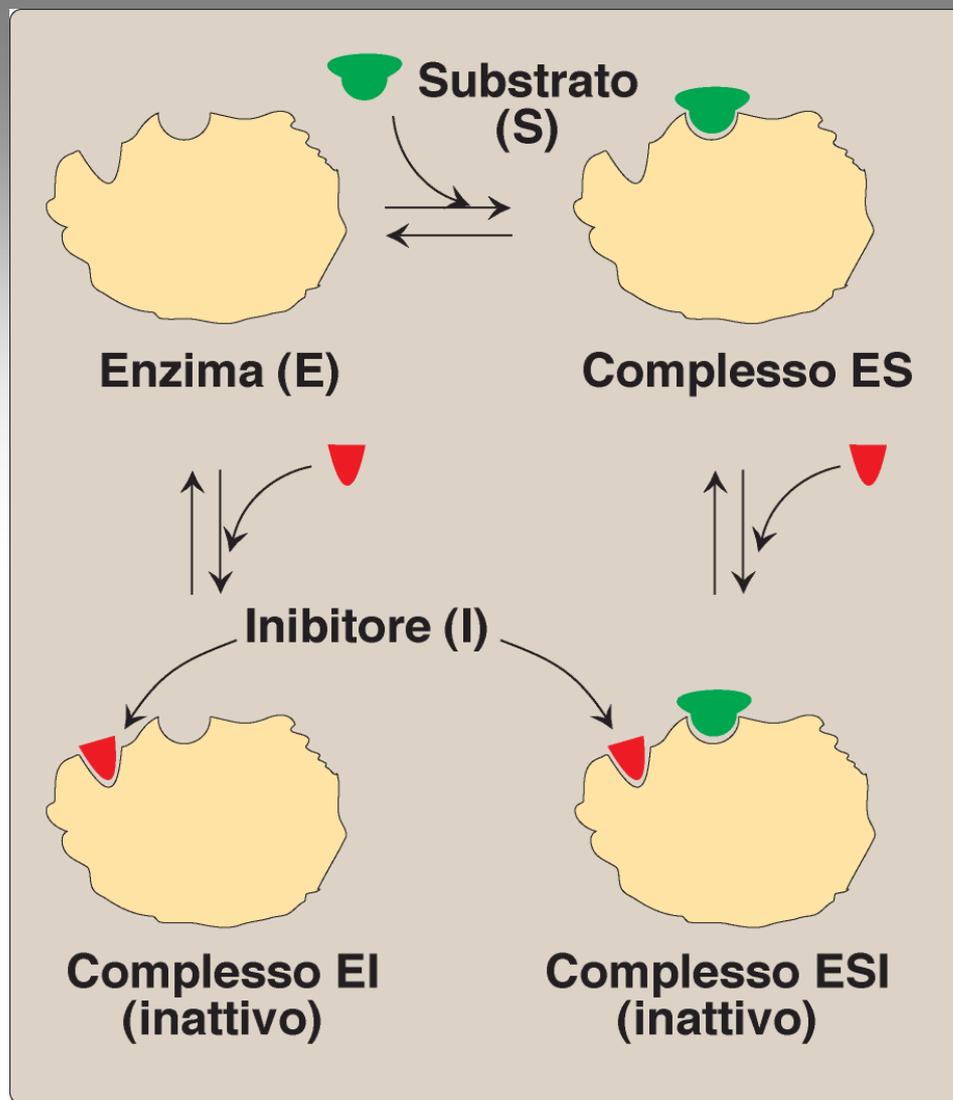
Tanto maggiore sarà il valore di K_M tanto più debole sarà l'interazione tra substrato ed enzima

4. Inibitori

1. Reversibili ed
irreversibili

2. Competitivi e
non
competitivi





Un inibitore è non competitivo se può legarsi sia all'enzima libero sia al complesso E-S

Veleni

- ▶ Hg e Pb: cambiano la conformazione dell'E inattivandolo
- ▶ Composti organici del fosforo: gas nervini ed insetticidi sono inibitori delle colinesterasi
- ▶ Antibiotici (es. penicilline): inibitori sintesi parete cellulare batterica

Misura dell'attività enzimatica

► Attività di un E è proporzionale alla quantità di molecole attive di tale E.

Calcolata in $UI = \frac{\mu\text{moli di substrato}}{\text{minuti}}$

■ La misura di numerose attività **E** sieriche si effettua quotidianamente nei laboratori di analisi chimico-cliniche.

Es.: GOT, LDH, CK,
AMILASI, TRANSAMINASI

Le vie metaboliche degradative e biosintetiche sono indipendenti perché:

1. utilizzano **E** differenti
2. hanno meccanismi di regolazione distinti
3. le reazioni avvengono in differenti compartimenti cellulari
4. l'inibitore di una via può essere attivatore di un'altra via

Isoenzimi o isozimi

- **Forme multiple di un enzima, presenti nello stesso organismo**
- **Gli isoenzimi si distinguono l'uno dall'altro per variazioni della struttura chimica.**
- **Responsabili della stessa reazione chimica nell'organismo, sono caratterizzati ciascuno da proprietà fisico-chimiche diverse (affinità per il substrato, termostabilità e così via) e soprattutto si localizzano in organi differenti.**