

* Lezione 8

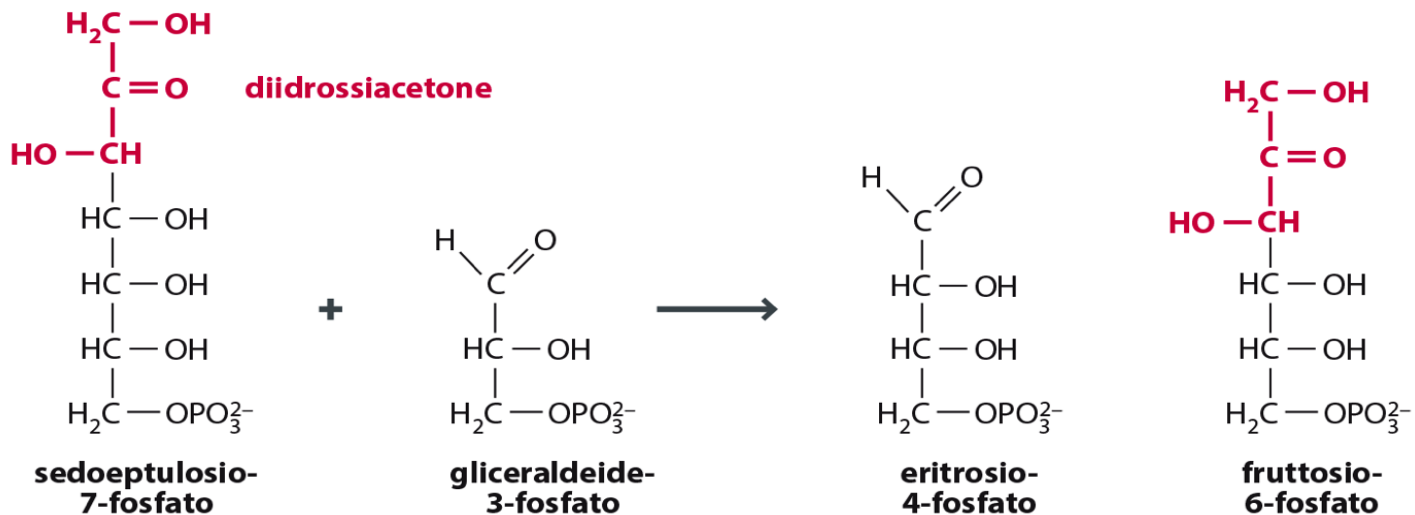
FUNZIONAMENTO DEGLI ENZIMI

- ENZIMA: catalizzatore biologico ovvero sostanza che aumenta la velocità di una reazione chimica senza essere consumata nella reazione.
- La maggior parte delle reazioni biochimiche determina una variazione di energia libera.

(A) reazione catalizzata da una trasferasi



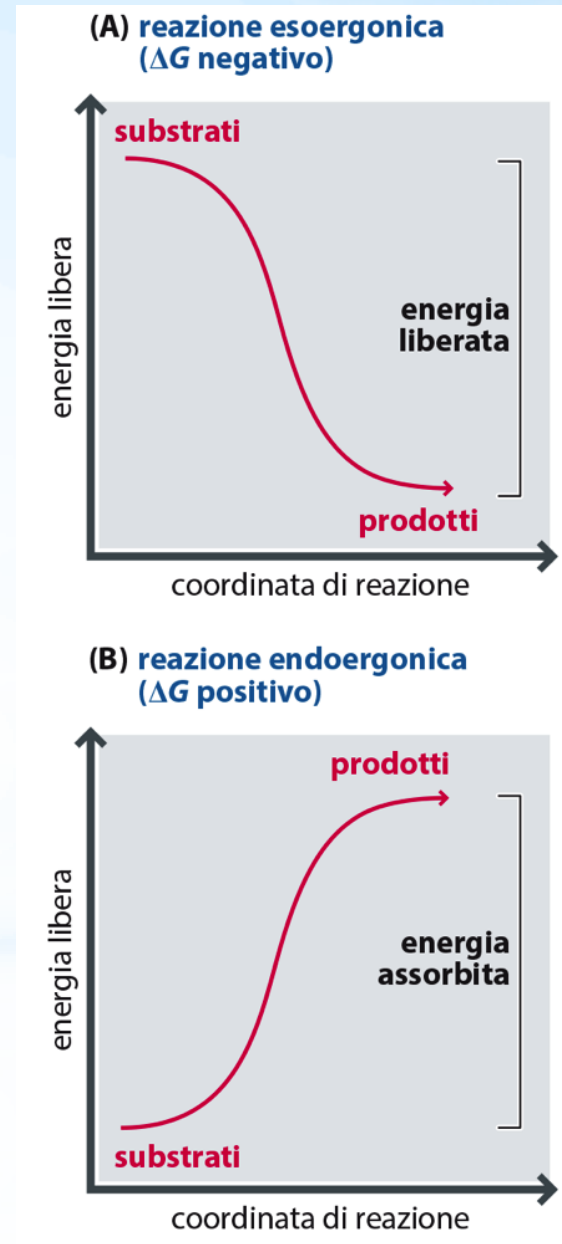
(B) la reazione catalizzata dalla transaldolasi



DIFFERENZA FRA REAZIONI ESOERGONICHE ED ENDOERGONICHE

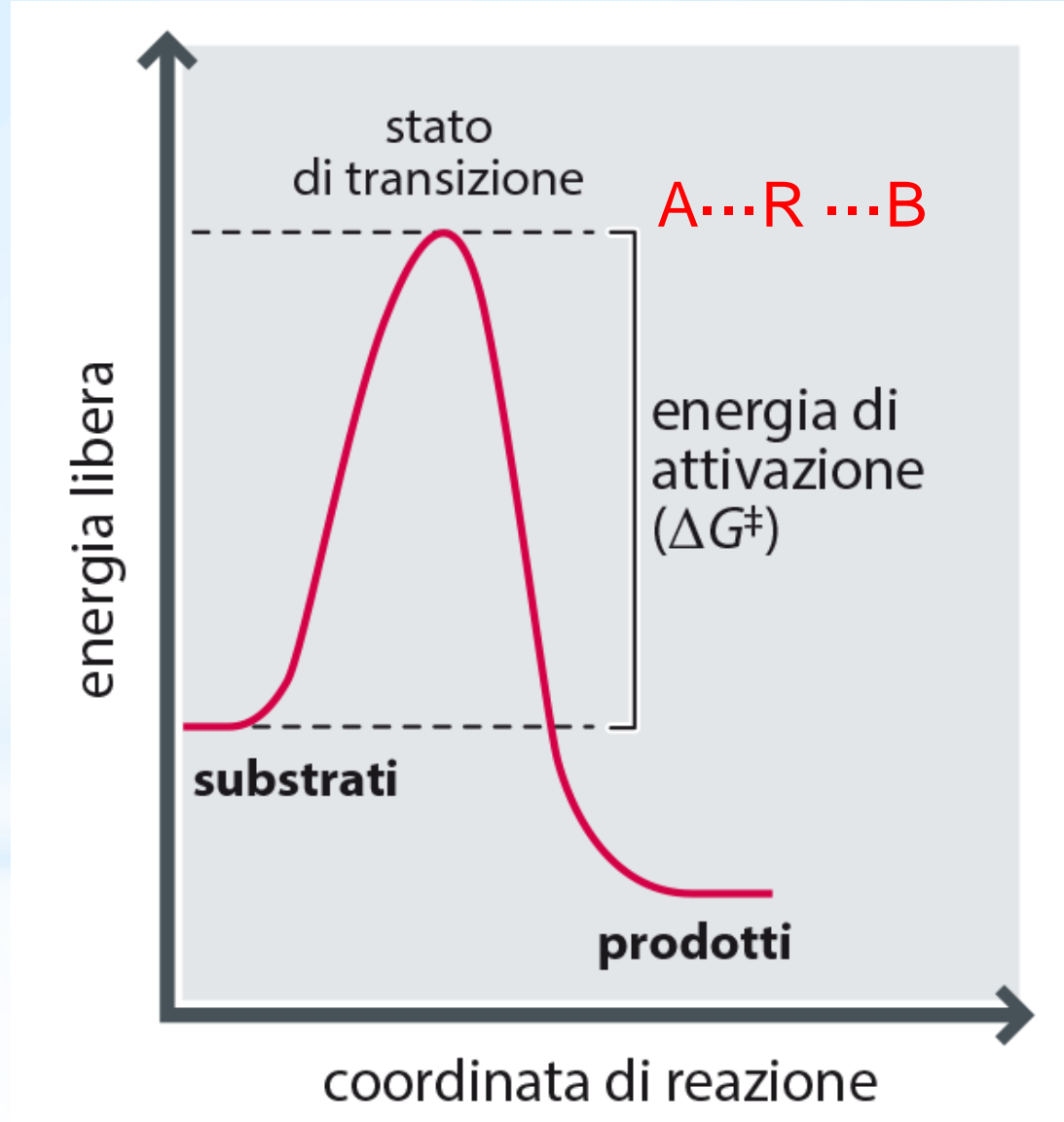
G= misura del contenuto energetico di un «sistema»; un sistema con basso valore di G più stabile di un sistema con alto valore di G.

ΔG : variazione di contenuto energetico tra substrati e prodotti.



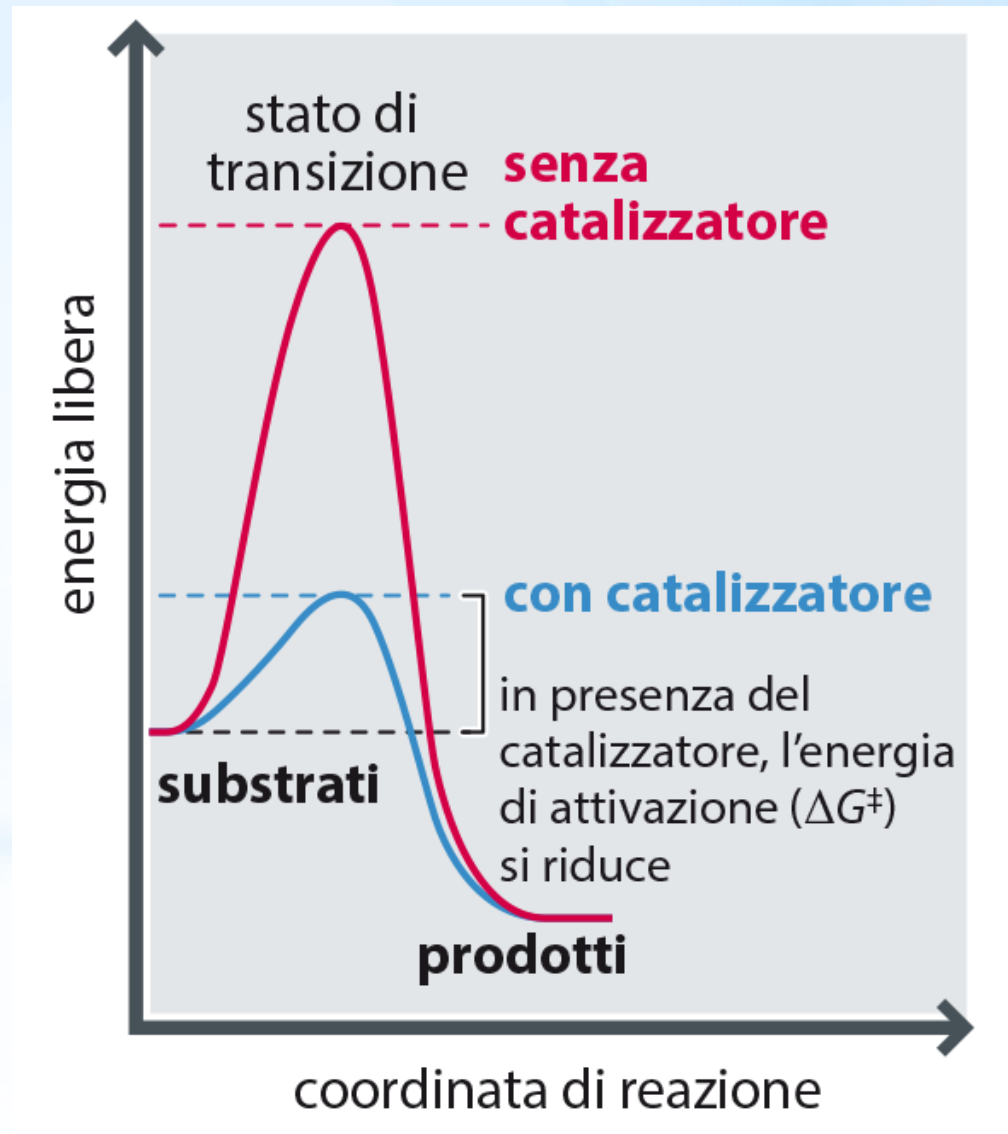
STATO DI TRANSIZIONE E SUE IMPLICAZIONI ENERGETICHE

L'energia di attivazione è necessaria per spingere la reazione oltre la barriera rappresentata dallo stato di transizione; La barriera energetica limita la velocità della maggior parte delle reazioni biochimiche.

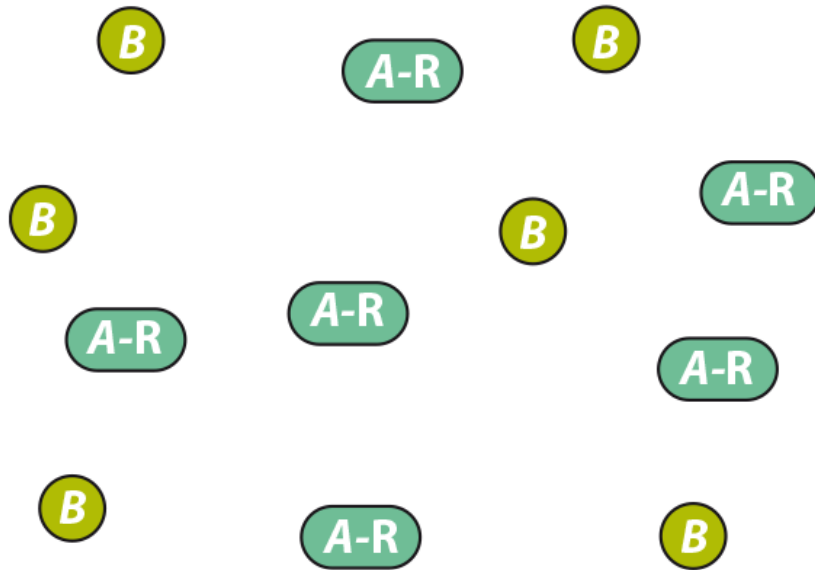


UN CATALIZZATORE RIDUCE L'ENERGIA LIBERA DELLO STATO DI TRANSIZIONE

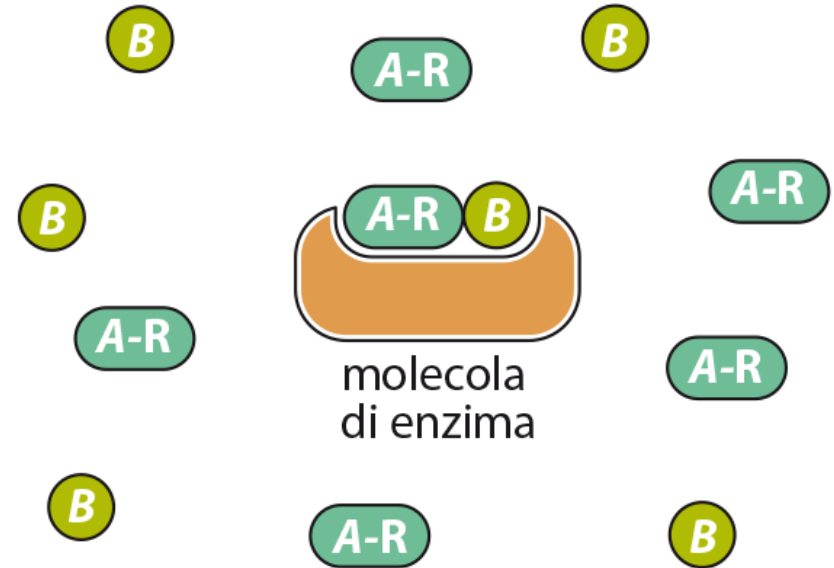
Un catalizzatore stabilizza la struttura intermedia dello stato di transizione mediante la riduzione dell'entropia (misura del grado di disordine del sistema) che determina una riduzione del ΔG^\ddagger



(A) le collisioni casuali sono rare

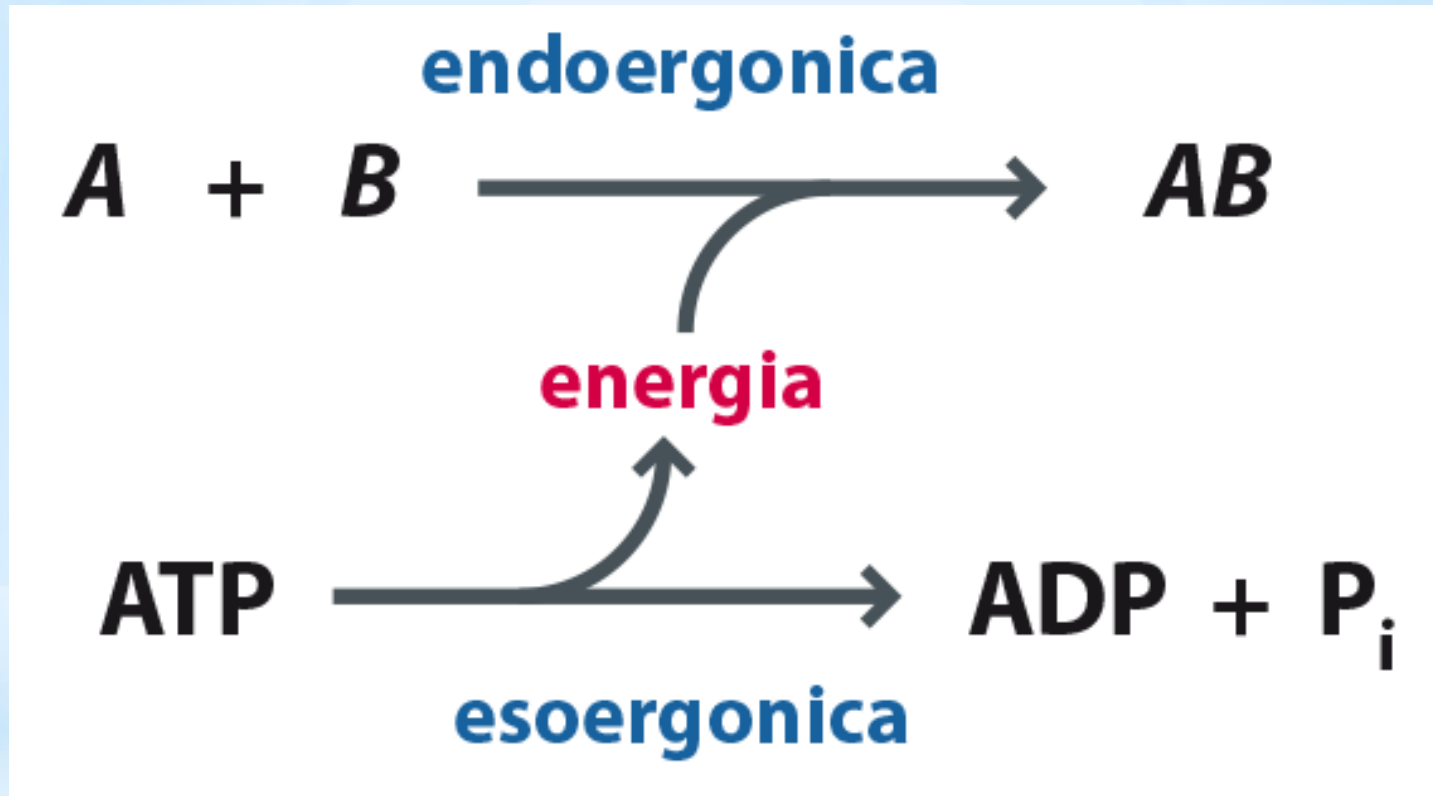


(B) l'enzima avvicina i reagenti fra loro



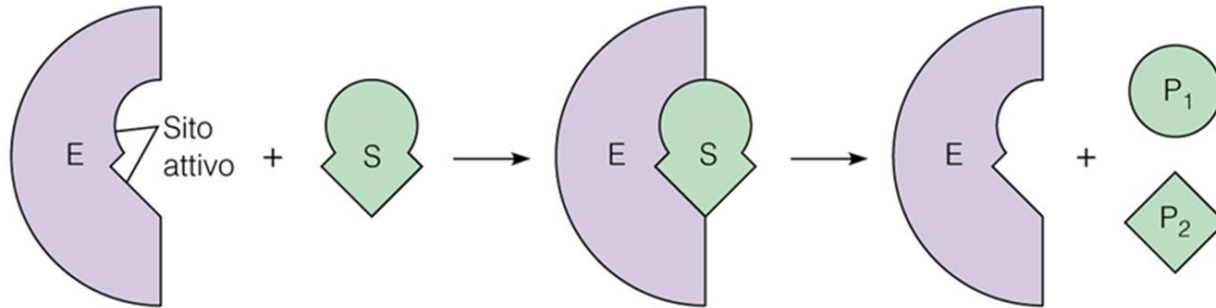
(A) In una miscela di reagenti, lo stato di transizione si forma solo grazie alle collisioni casuali; (B) l'enzima lega i reagenti e riduce l'entropia del sistema, aumentando la velocità di trasformazione dei reagenti in prodotti.

ACCOPPIAMENTO ENERGETICO

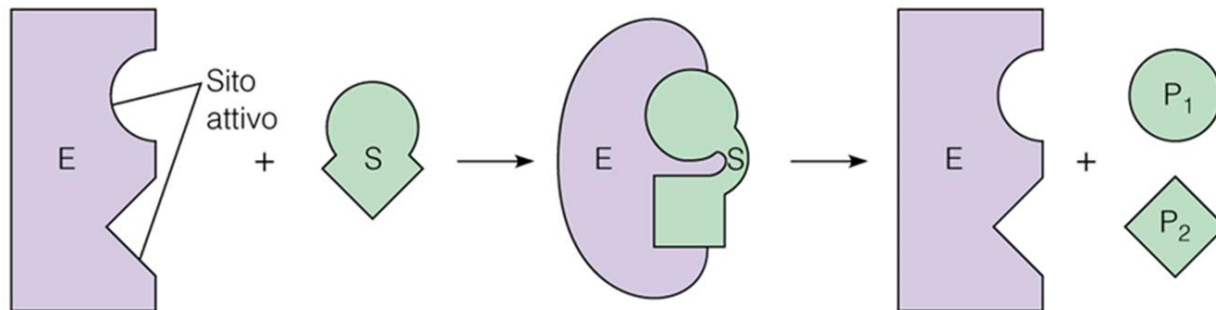


L'energia libera necessaria per la reazione endoergonica, in cui i reagenti A e B si combinano per formare il prodotto AB, è fornita dall'idrolisi dell'ATP ad ADP e fosfato inorganico (Pi).

SPECIFICITA' DI LEGAME DEL SUBSTRATO

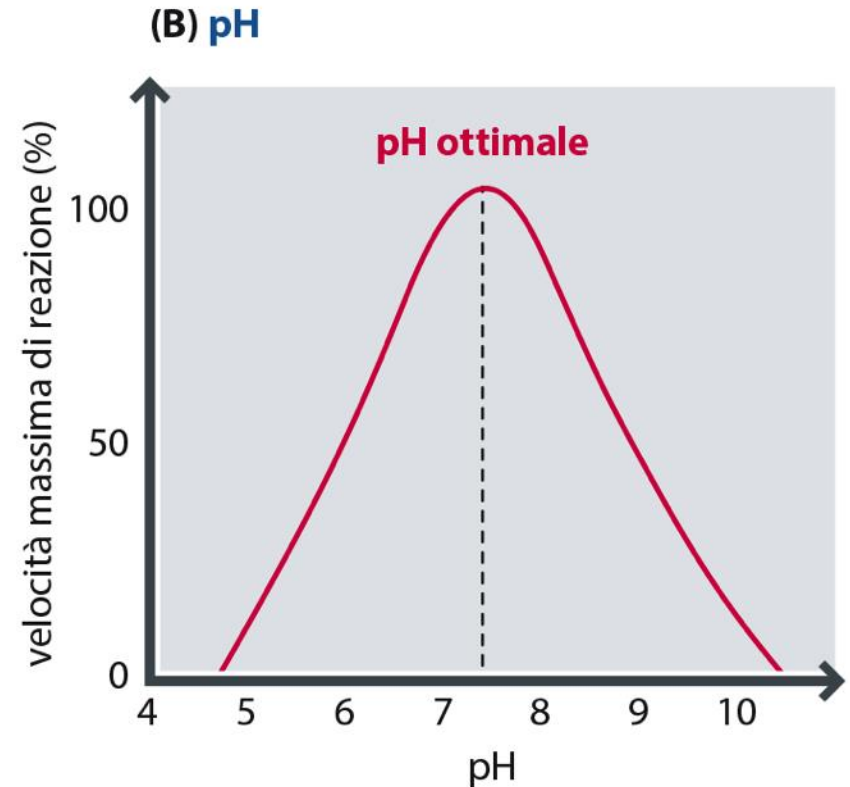
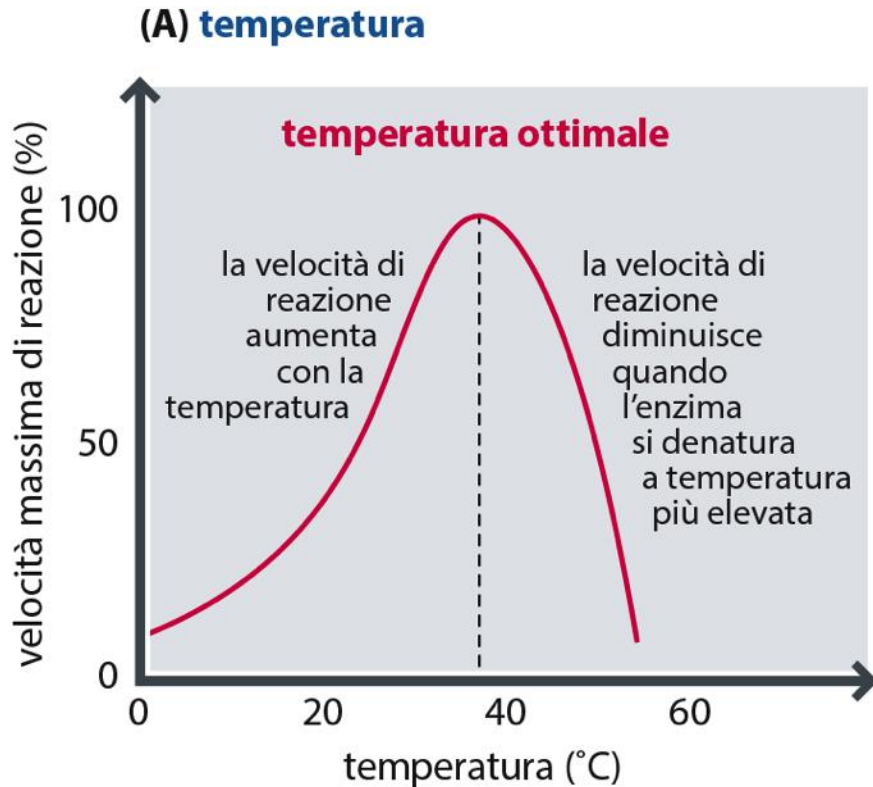


(a) Modello chiave-serratura



(b) Modello dell'adattamento indotto

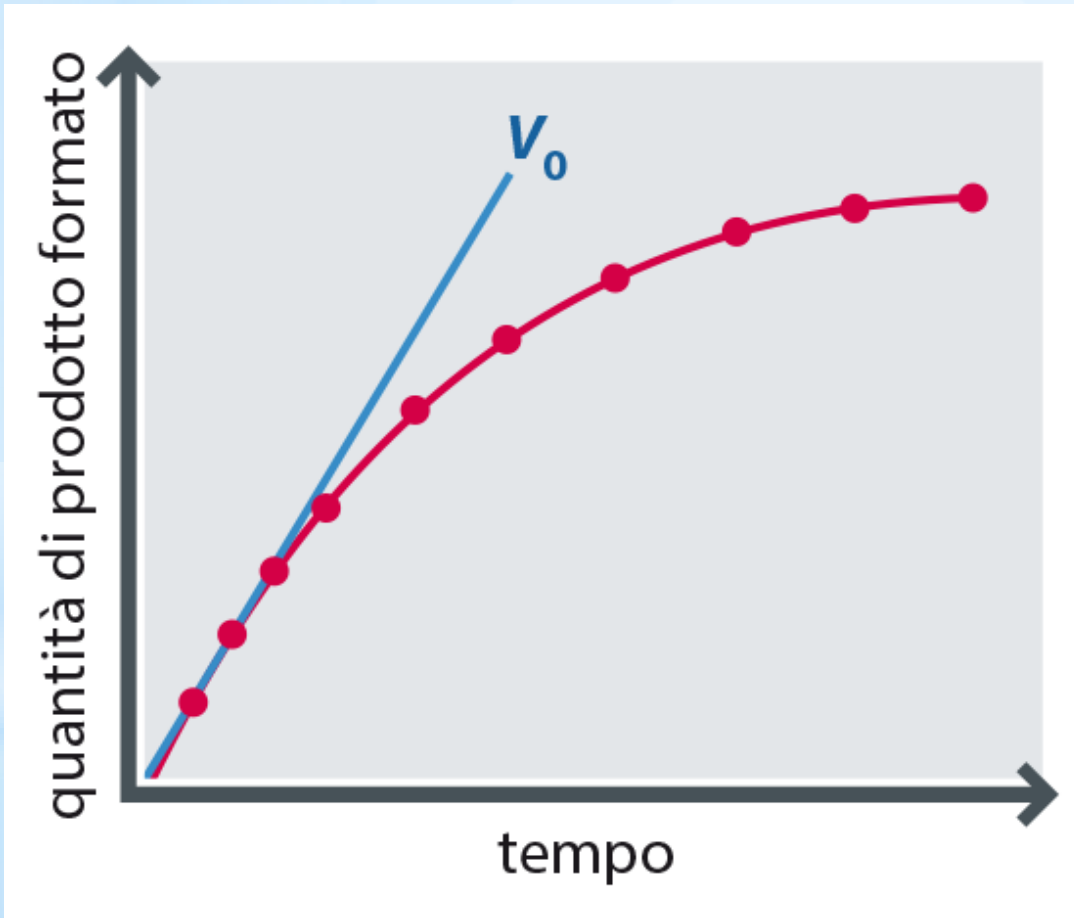
LA VELOCITA' DELLA REAZIONE CATALIZZATA E' INFLUENZATA DA DIVERSI FATTORI



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

DECORSO DI UNA TIPICA REAZIONE ENZIMATICA



La reazione procede ad una velocità lineare, detta VELOCITA' INIZIALE o V_0 che diminuisce poi al diminuire della quantità di substrato disponibile

VELOCITA' DI UNA REAZIONE ENZIMATICA IN PRESENZA DI DIVERSE CONCENTRAZIONI DI SUBSTRATO

VELOCITA' MASSIMA O V_{max}

Velocità massima a cui l'enzima può catalizzare la reazione;

COSTANTE DI MICHAELIS o K_m

concentrazione di substrato a cui la velocità della reazione è pari a metà della velocità massima ($0,5 \times V_{max}$)

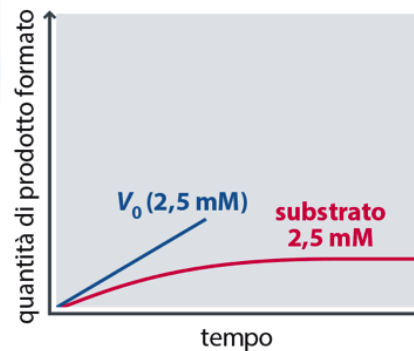
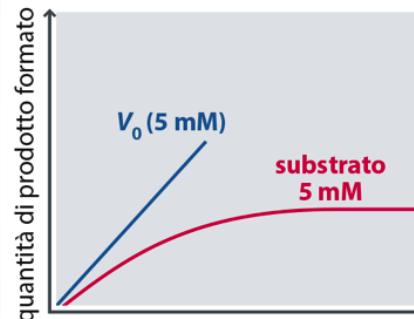
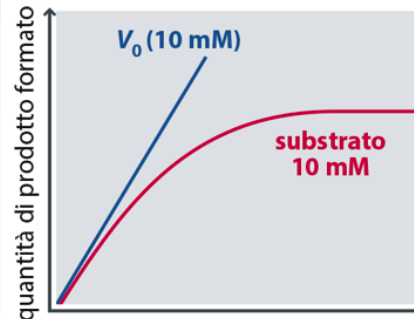


Misura dell'affinità dell'enzima per il suo substrato:

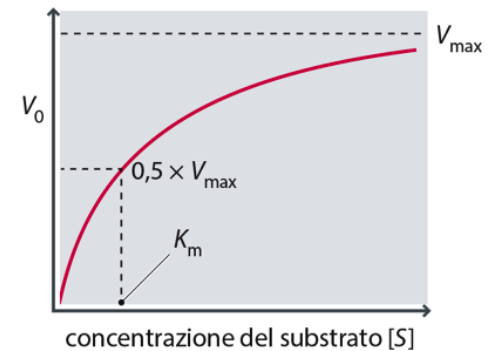
K_m bassa \rightarrow elevata affinità,

K_m alta \rightarrow affinità bassa

(A) V_0 dipende dalla concentrazione del substrato



(B) relazione fra V_0 e concentrazione del substrato



EQUAZIONE DI MICHAELIS MENTEN

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

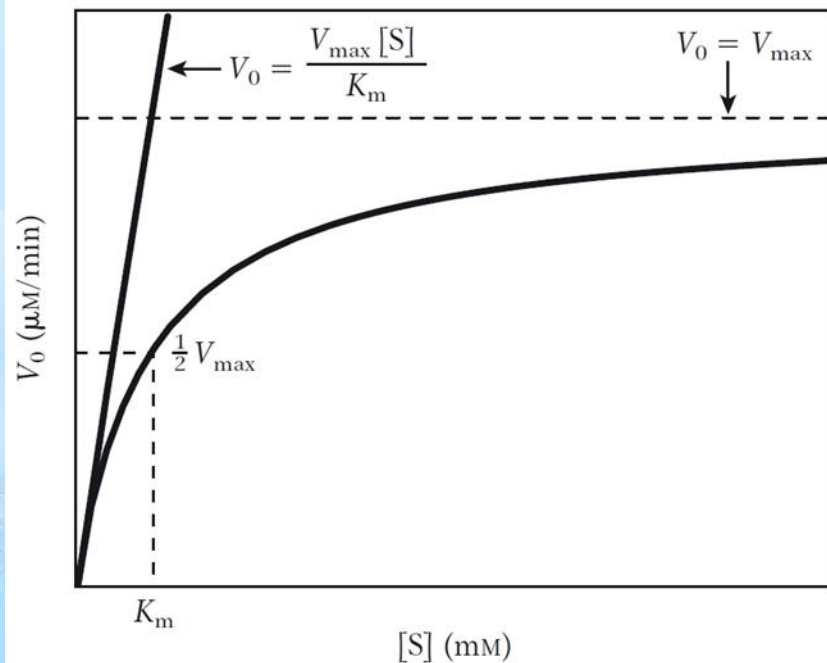
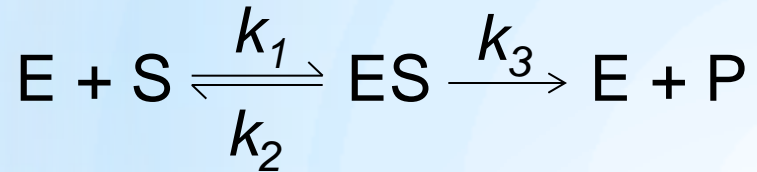


Figura 6.12 Dipendenza della velocità iniziale dalla concentrazione del substrato. Questo grafico mostra alcuni parametri cinetici che definiscono l'andamento della funzione ad alta e a bassa concentrazione di substrato $[S]$. Quando $[S]$ è bassa, si ha che $K_m \gg [S]$ e il termine $[S]$ al denominatore dell'equazione di Michaelis-Menten (Equazione 6.9) diventa irrilevante; l'equazione può essere semplificata in questo modo: $V_0 = V_{\max}[S]/K_m$, e V_0 presenta una dipendenza lineare da $[S]$, cioè varia proporzionalmente all'aumento di $[S]$. Ad alta $[S]$, quando cioè $[S] \gg K_m$, il termine K_m al denominatore dell'equazione di Michaelis-Menten diventa trascurabile e l'equazione può essere semplificata come $V_0 = V_{\max}$; ciò spiega il plateau della curva quando $[S]$ è elevata. L'equazione di Michaelis-Menten verifica quindi la dipendenza della velocità iniziale dalla concentrazione del substrato, e l'andamento della curva è definito dai termini V_{\max}/K_m a bassa $[S]$, e da V_{\max} ad alta $[S]$.

CATALISI ENZIMATICA



$$k_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

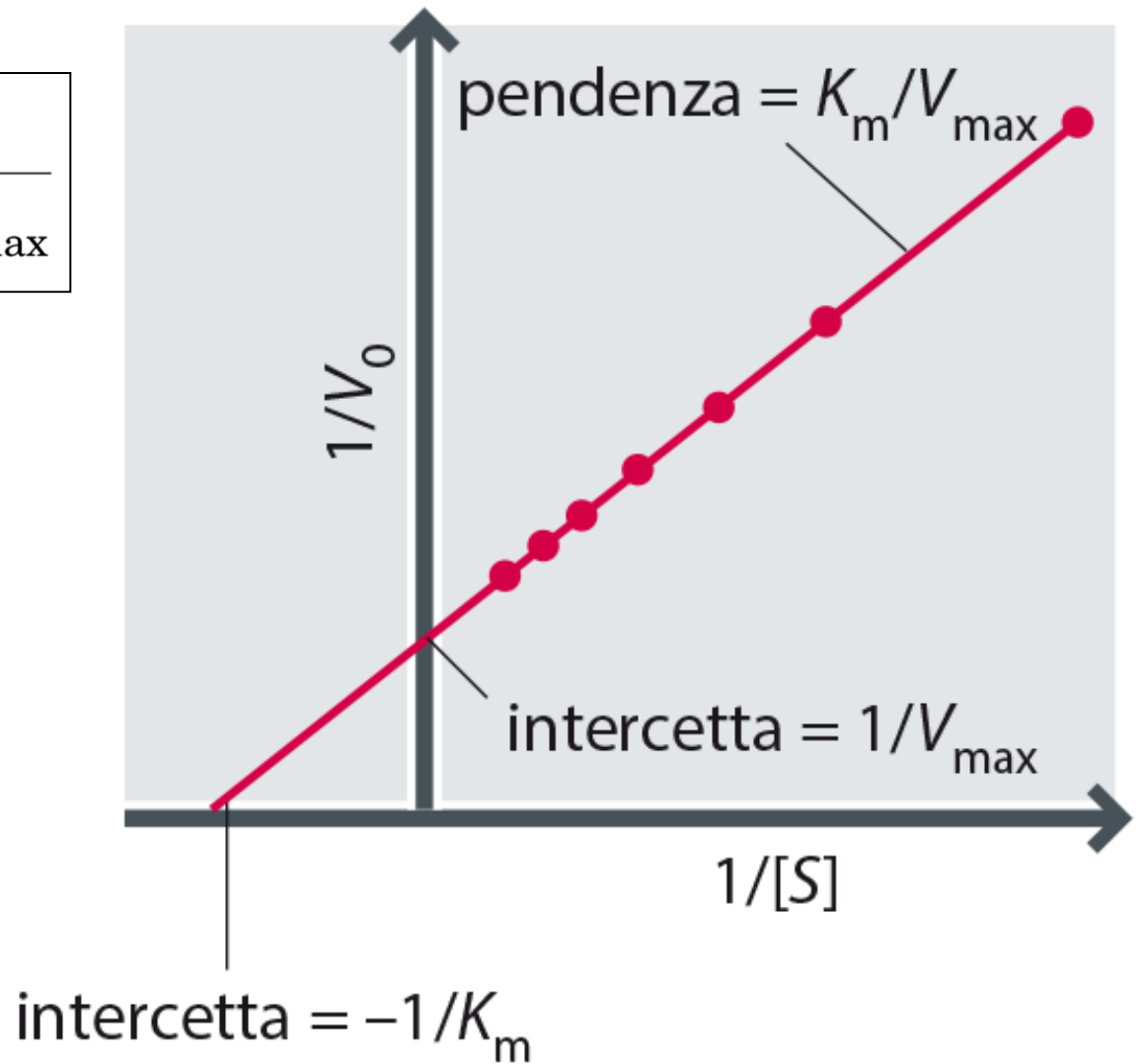
- ❖ Se un enzima ha una debole affinità per il suo substrato, k_2 (dissociazione di ES in E e S) sarà maggiore di k_1 (associazione di E e S a formare ES); K_m elevato
- ❖ Un enzima con elevata affinità per il suo substrato mostrerà un basso valore di k_m perché in questo caso k_1 sarà maggiore di k_2 .

GRAFICO DI LINEWEAVER - BURK

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

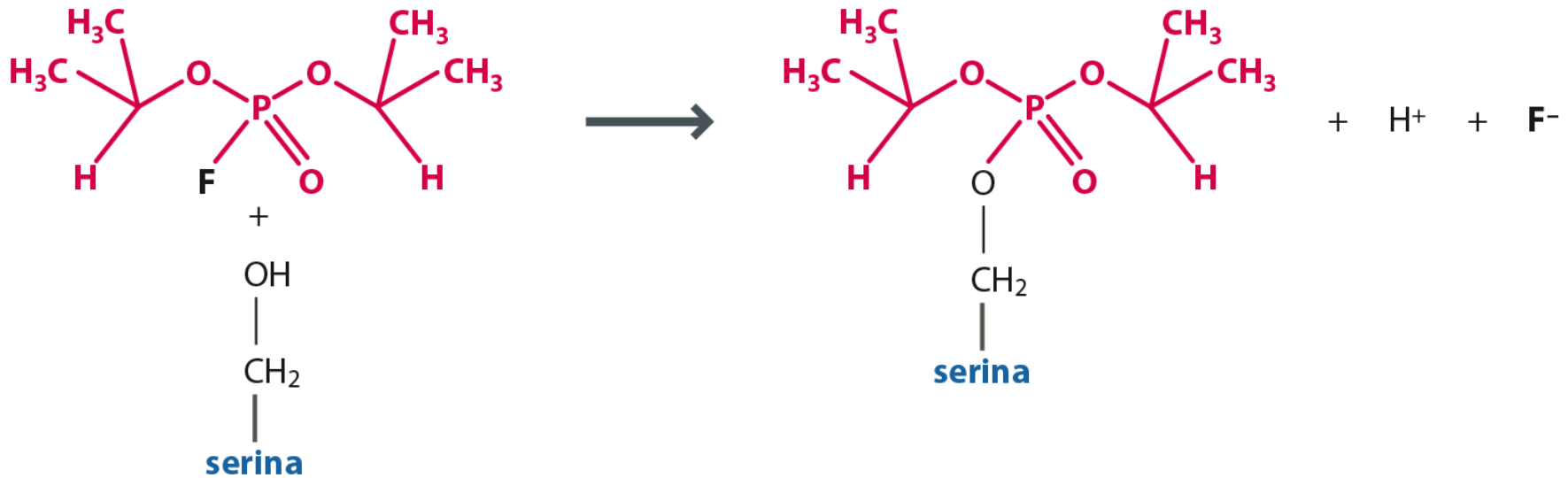
1	K_M	1	1
V_0	V_{\max}	[S]	V_{\max}

$$x = ay + b$$



ESEMPIO DI INIBITORE IRREVERSIBILE: DIISOPROPIL FLUOROFOSFATO (DIFP)

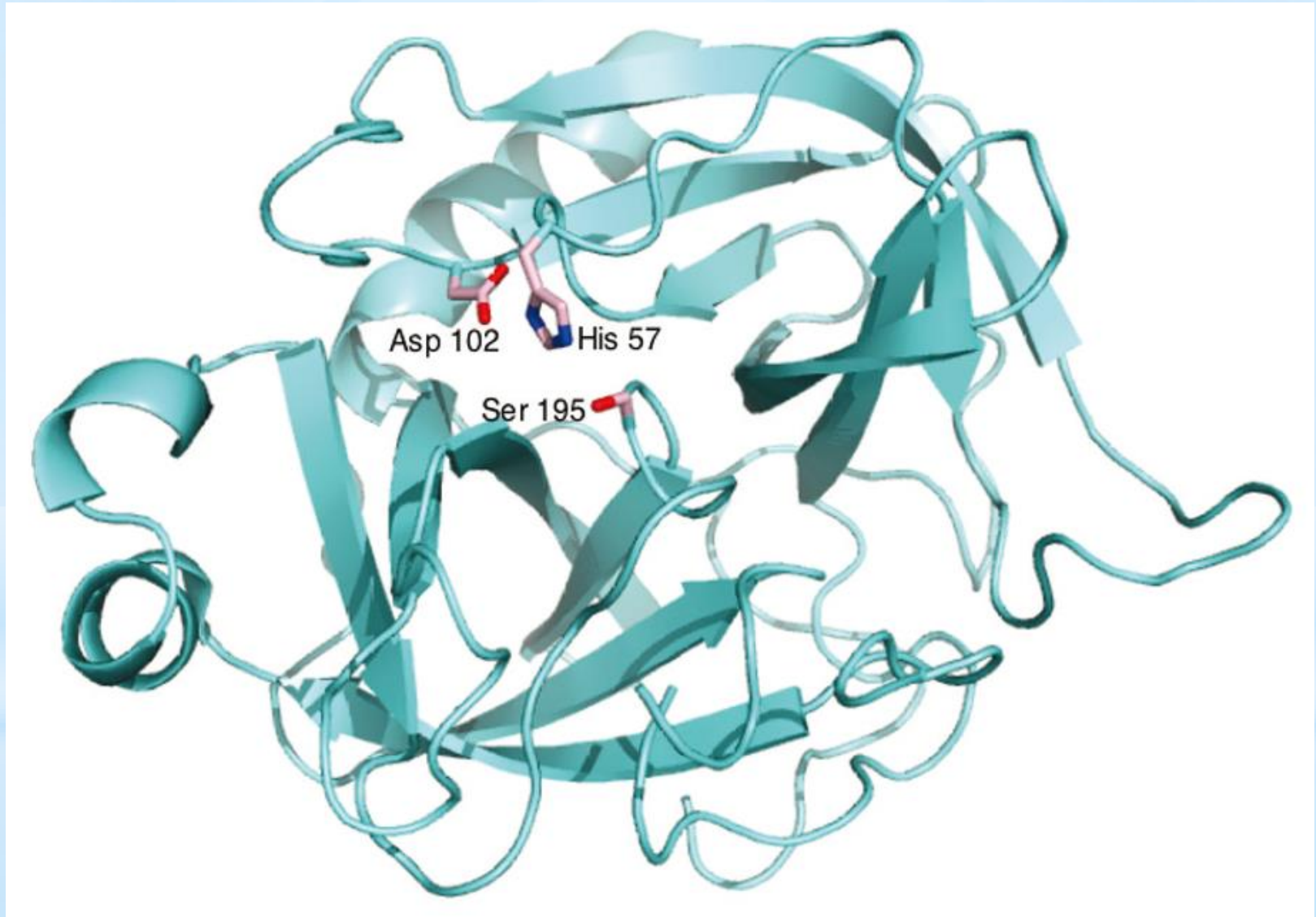
DIFP



INIBITORE: composto che interferisce con l'attività dell'enzima, riducendo la sua capacità di catalisi.

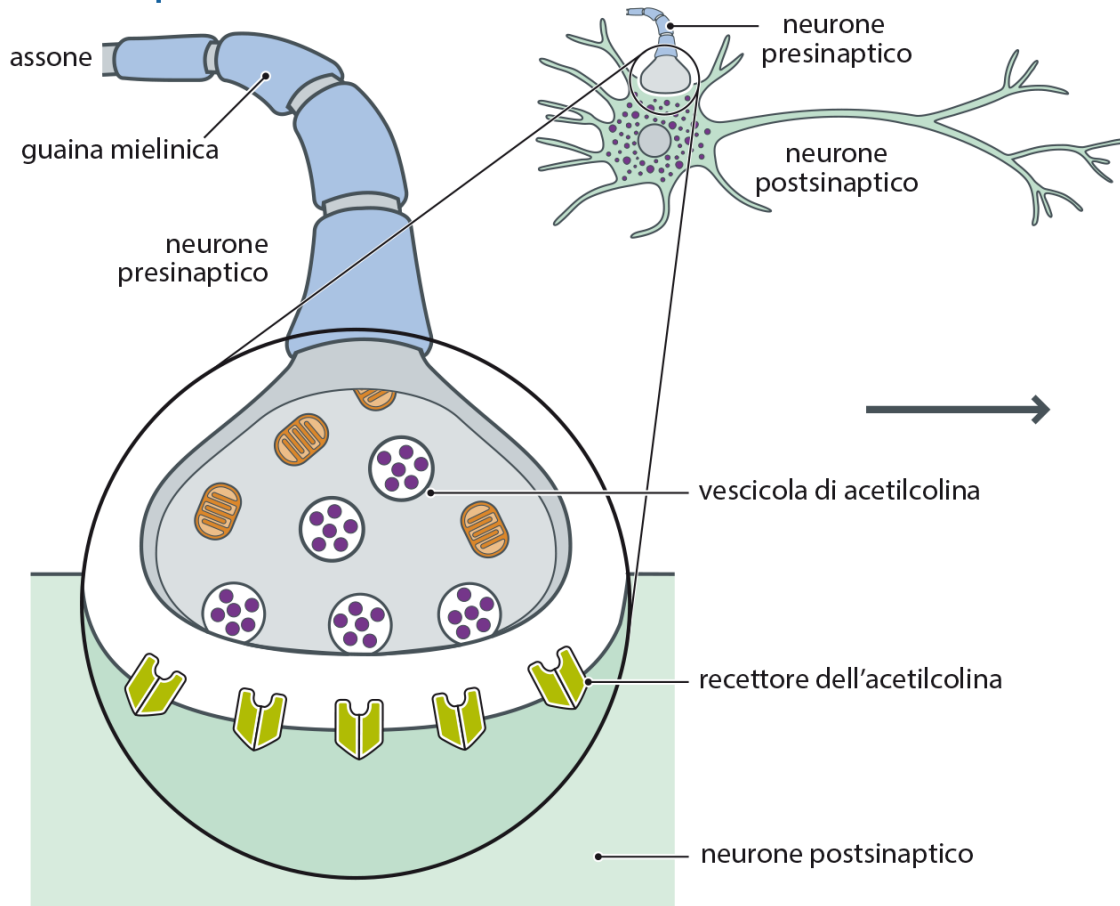
Inibitore irreversibile: modifica il sito attivo di un enzima attraverso la formazione di un legame covalente con aa contenenti gruppi –OH e –SH, impedendo così l'ingresso del substrato.

CHIMOTRIPSINA

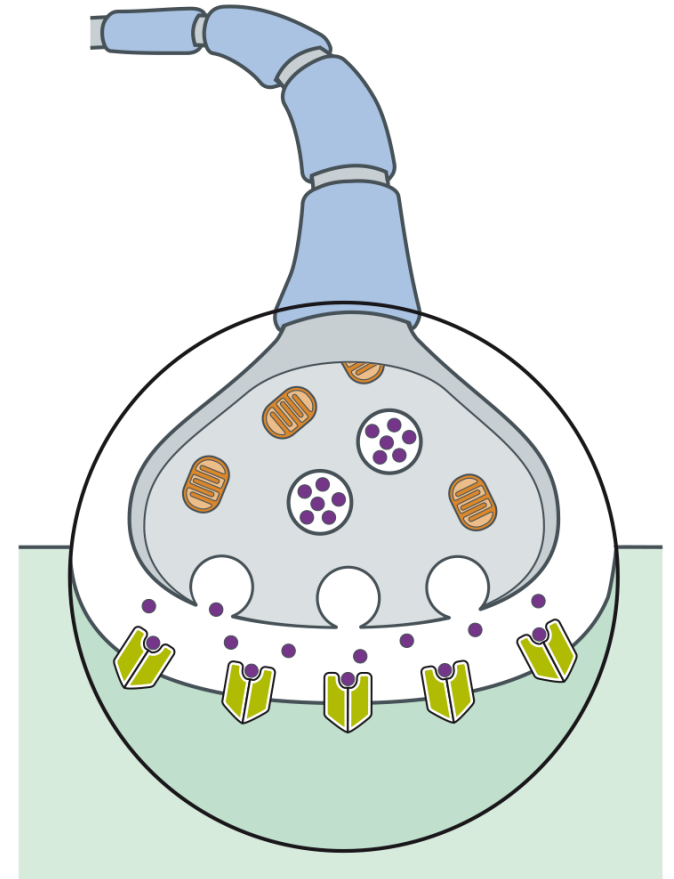


SINAPSI COLINERGICA

stato di riposo

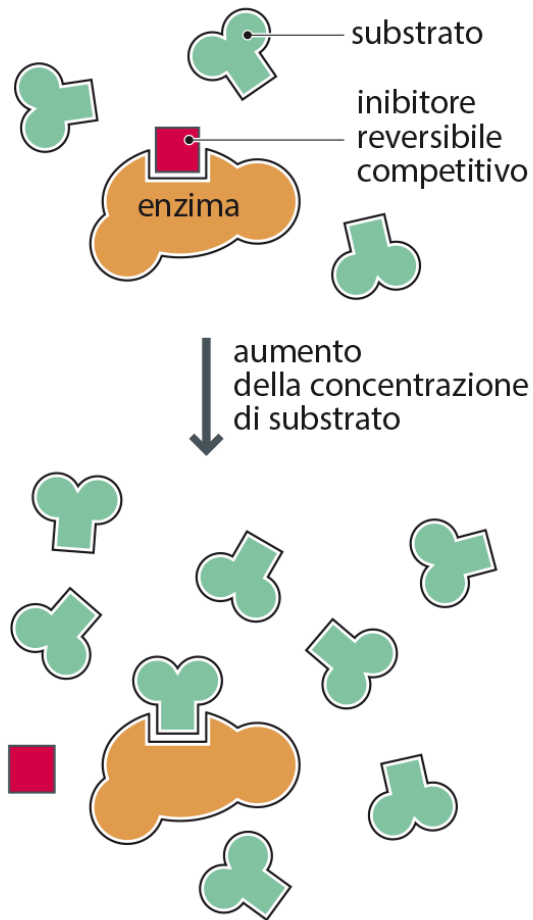


arrivo dell'impulso nervoso

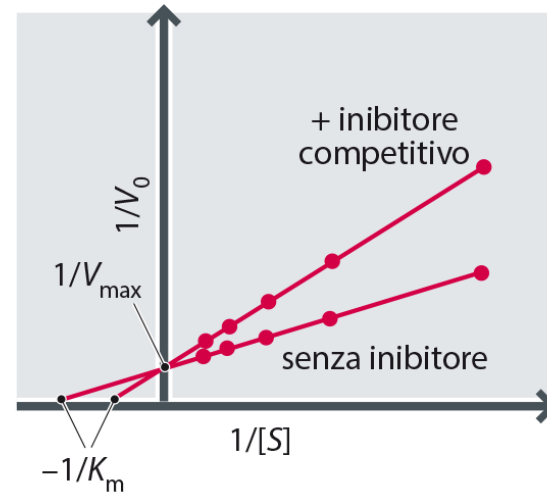


INIBIZIONE REVERSIBILE COMPETITIVA

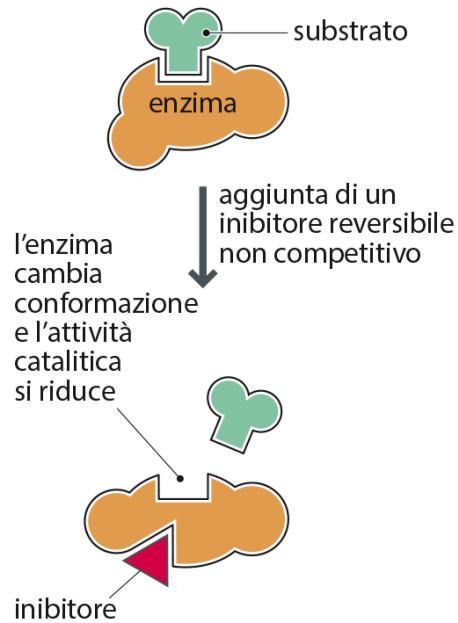
(A) l'effetto della concentrazione del substrato



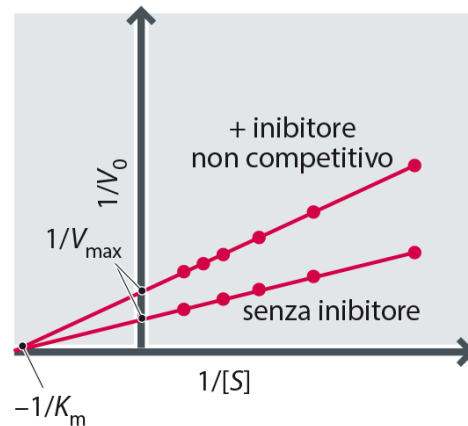
(B) l'effetto su V_{\max} e K_m



(A) l'effetto del legame dell'inibitore



(B) l'effetto su V_{max} e K_m

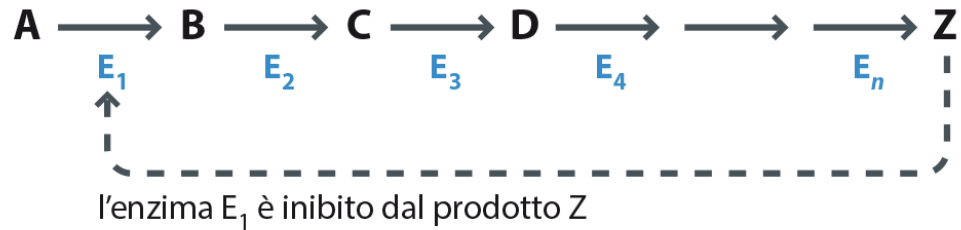


INIBIZIONE REVERSIBILE NON COMPETITIVA

INIBIZIONE ALOSTERICA: l'inibitore si lega ad un sito allosterico e non al sito attivo, causando un cambiamento conformazionale che riduce l'attività catalitica dell'enzima.

INIBIZIONE A FEEDBACK DI UNA VIA METABOLICA

(A) regolazione a *feedback* di una via lineare



(B) regolazione a *feedback* di una via ramificata

