

- Enzimi semplici - utilizzano esclusivamente le reattività chimiche di alcuni residui AA
- Enzimi coniugati - richiedono la reattività chimica aggiuntiva di **COFATTORI o COENZIMI – gruppi prostetici**

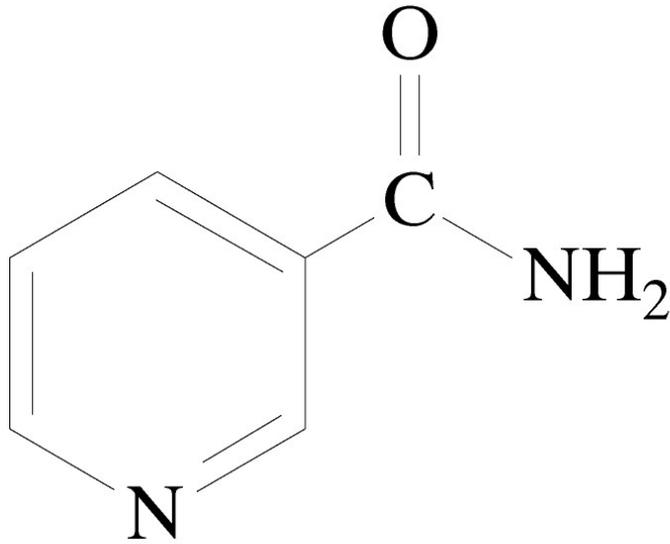
## COENZIMI

Molto spesso gli enzimi da soli non sono in grado di catalizzare la loro specifica reazione, ma necessitano di molecole non proteiche, dette **coenzimi**. Il coenzima interviene con alcuni suoi gruppi funzionali specifici, che l'enzima non possiede, e che sono necessari durante la catalisi.

I coenzimi vengono sintetizzati nelle nostre cellule a partire da molecole, le **vitamine idrosolubili**, che invece non siamo in grado di produrre: in altre parole, i coenzimi sono vitamine modificate chimicamente.

Le vitamine sono prodotte dalle **piante** e, in molti casi, anche dai **batteri intestinali**.

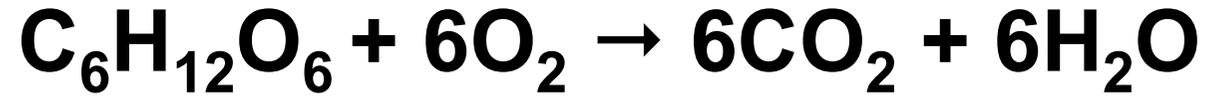
# Un esempio di VITAMINA: la nicotinamide (niacina) Vitamina PP (Pellagra Preventing) o B3



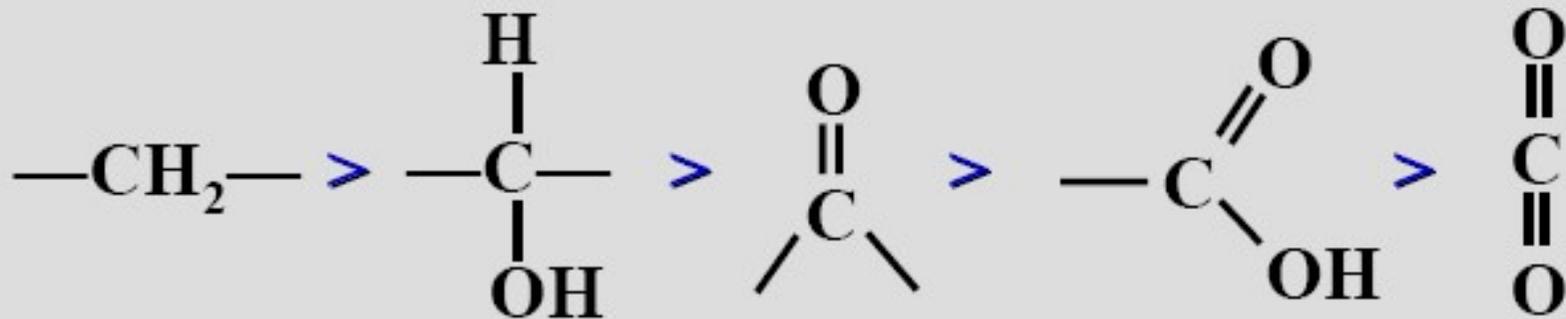
**Nicotinamide  
(niacinamide)**

- La carenza di niacina provoca la **pellagra**.
- Tale malattia era comune in popolazioni la cui alimentazione si basava quasi esclusivamente sul granturco (polenta).
- La carenza si manifesta con alterazioni cutanee, intestinali e nervose (demenza)

**Essenziale per la sintesi di COENZIMI delle  
OSSIDO-REDUTTASI**



## Stati di riduzione del carbonio



Pienamente ridotto:  
e' legato ad atomi  
poco elettronegativi

Pienamente  
ossidato: e' legato  
ad atomi molto  
elettonegativi

Nutrienti immagazzinati

Cibo ingerito

Fotoni solari

**CATABOLISMO**

**OSSIDATIVO**

Vie di reazioni cataboliche (eso-ergoniche)

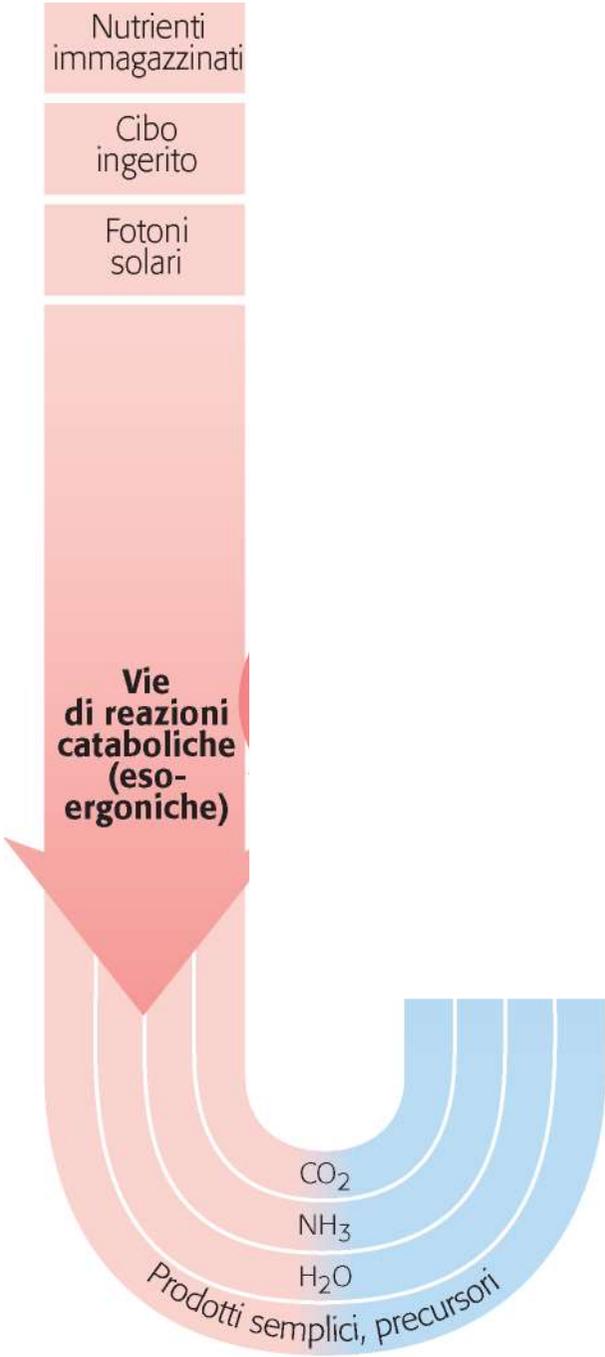
**Rilascia energia**

CO<sub>2</sub>

NH<sub>3</sub>

H<sub>2</sub>O

Prodotti semplici, precursori



## Coenzimi delle Reazioni di OSSIDO-RIDUZIONE

In biochimica ossidazione è sinonimo di DEIDROGENAZIONE:  
perdita netta di 2 e<sup>-</sup> e 2 H<sup>+</sup>

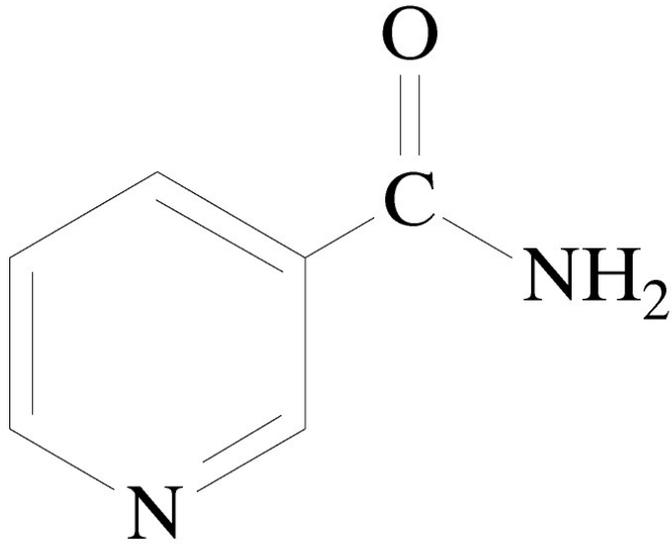
-Molte reazioni redox avvengono per trasferimento  
di coppie di atomi di H o di ioni idruro

**ione idruro: un protone con due elettroni      H:<sup>-</sup>**

**DEIDROGENASI: enzimi che catalizzano le reazioni redox**

**RICHIEDONO COENZIMI**

**Un esempio di VITAMINA: la nicotinamide (niacina)  
Vitamina PP (Pellagra Preventing) o B3**

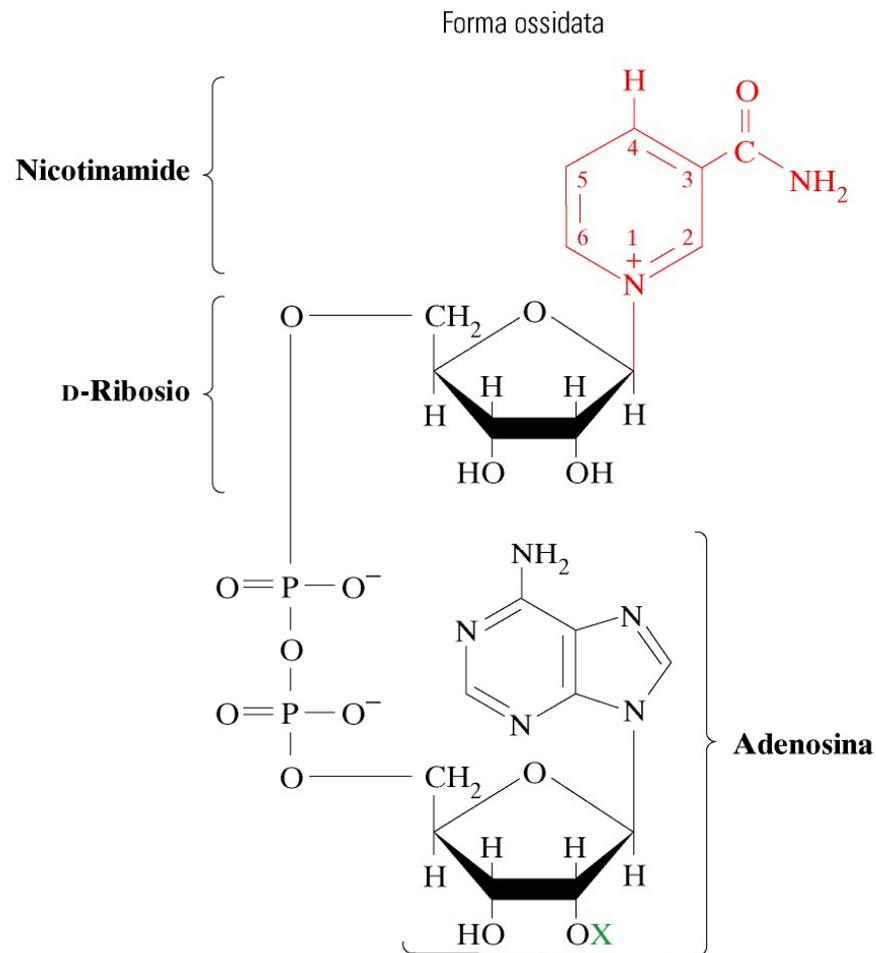


**Nicotinamide  
(niacinamide)**

**Essenziale per la sintesi di COENZIMI delle  
DEIDROGENASI o OSSIDO-REDUTTASI**

# Nicotinammide Adenina Dinucleotide

NAD<sup>+</sup> è un coenzima delle **deidrogenasi**, la classe di enzimi che catalizza le reazioni di ossido-riduzione. E' un dinucleotide contenente AMP. I due mononucleotidi sono uniti da un **legame fosfoanidridico**.

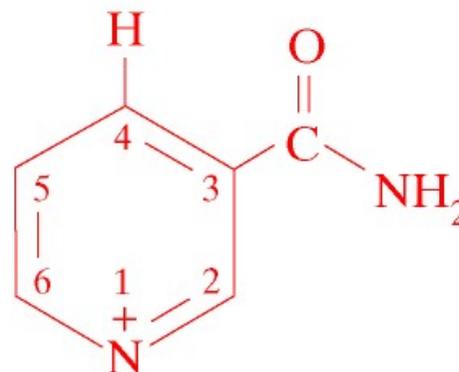


X = H Nicotinamide adenina dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)

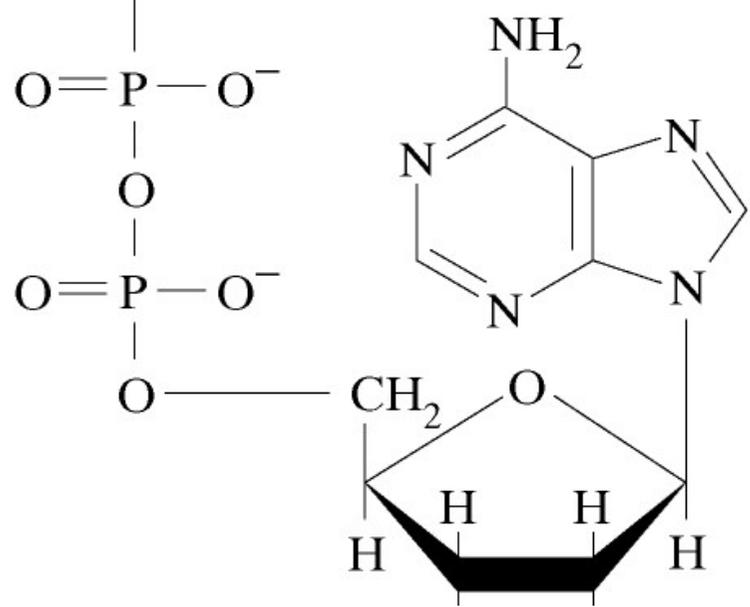
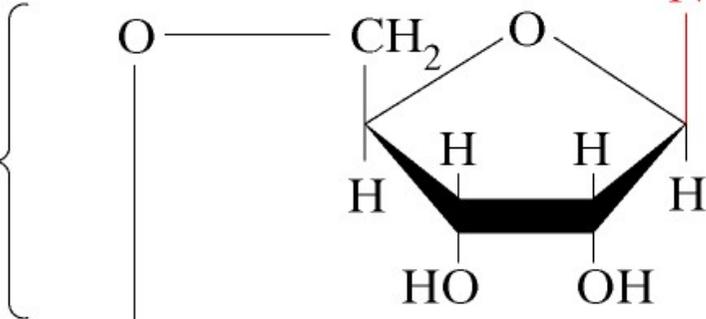
X = PO<sub>3</sub><sup>2-</sup> Nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADP<sup>+</sup>)

Forma ossidata

**Nicotinamide**

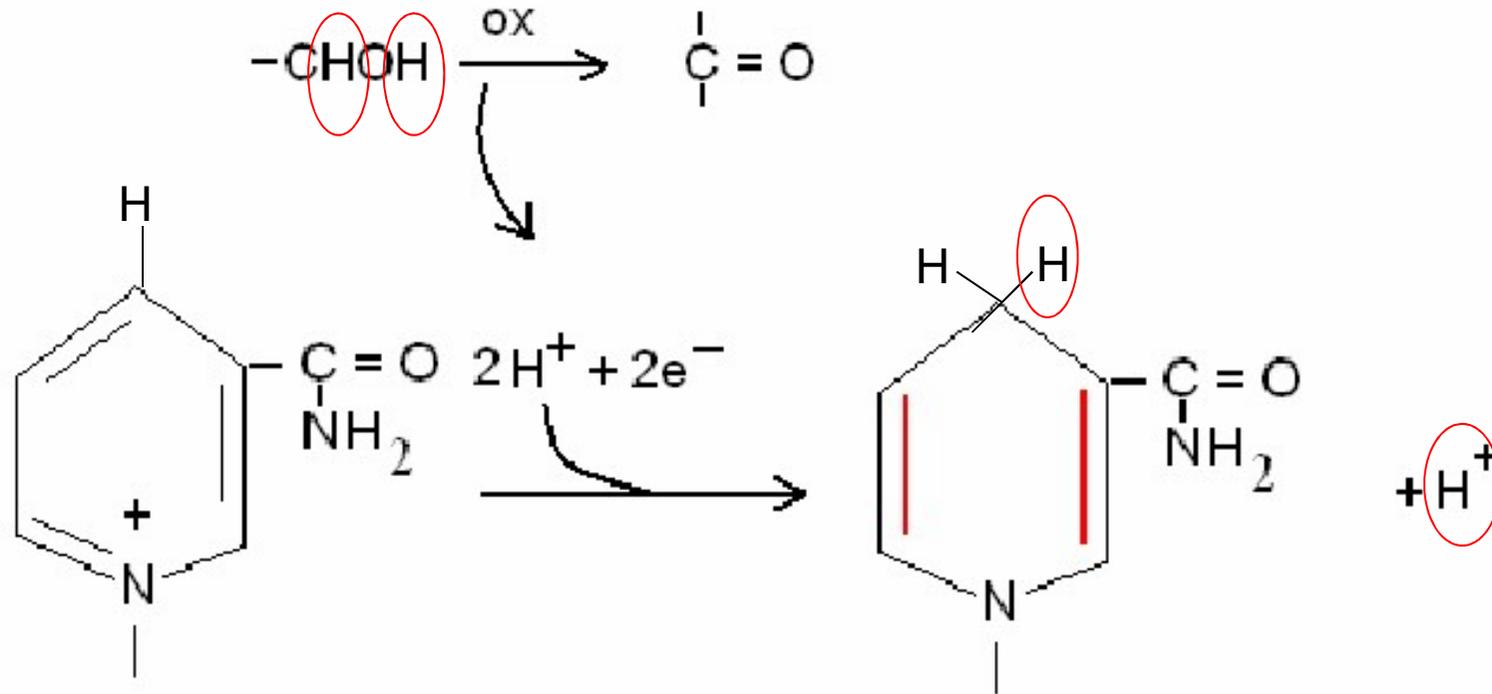


**D-Ribosio**



**Adenosina**

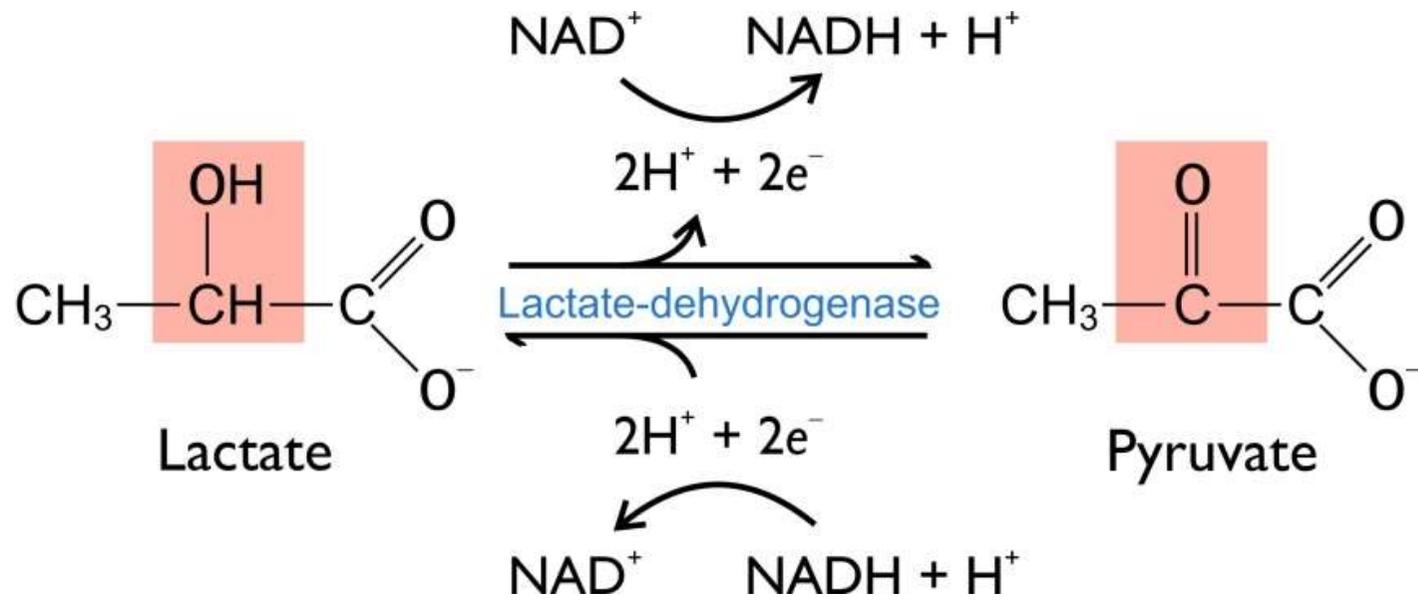
**Il NADH trasporta 2 elettroni e 1 H<sup>+</sup> (1 ione idruro). Il secondo H<sup>+</sup> liberato dall'ossidazione del substrato è libero nel mezzo.**

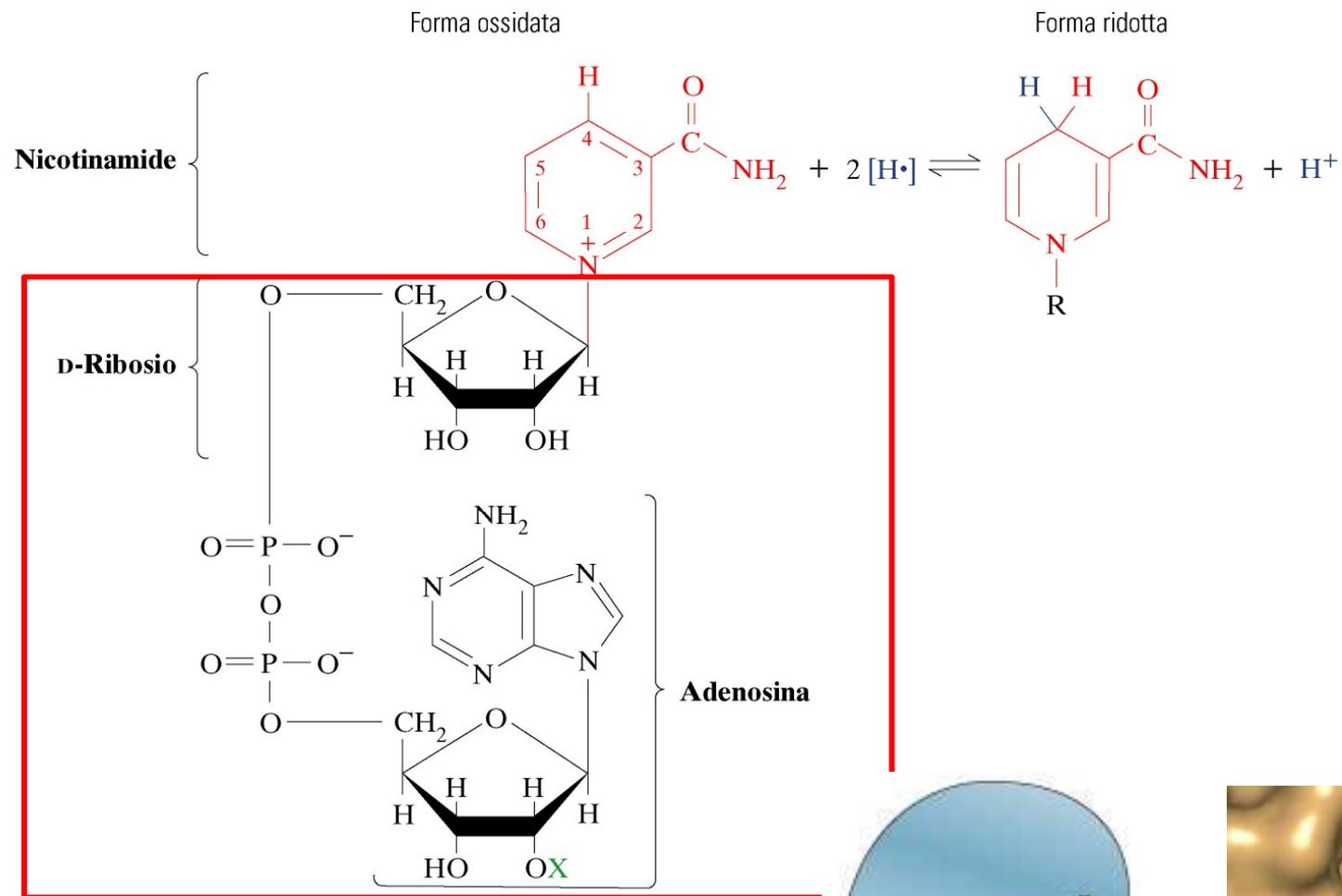


Nicotinammide ossidata  
NAD<sup>+</sup>

Nicotinammide ridotta  
- NADH + H<sup>+</sup>

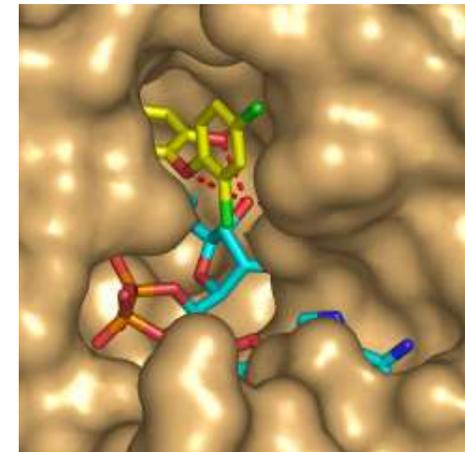
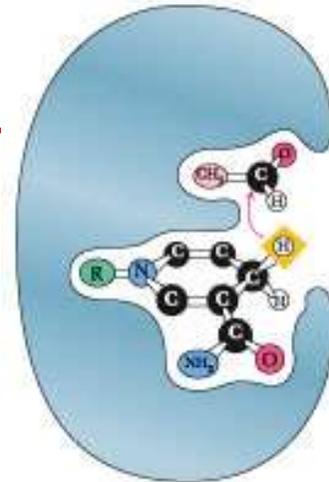
**Il NAD<sup>+</sup> è il coenzima nelle reazioni di ossidazione dei gruppi alcolici ad aldeidici e dei gruppi aldeidici a carbossilici (esempi nella glicolisi e ciclo di Krebs).**





X = H Nicotinamide adenina dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)

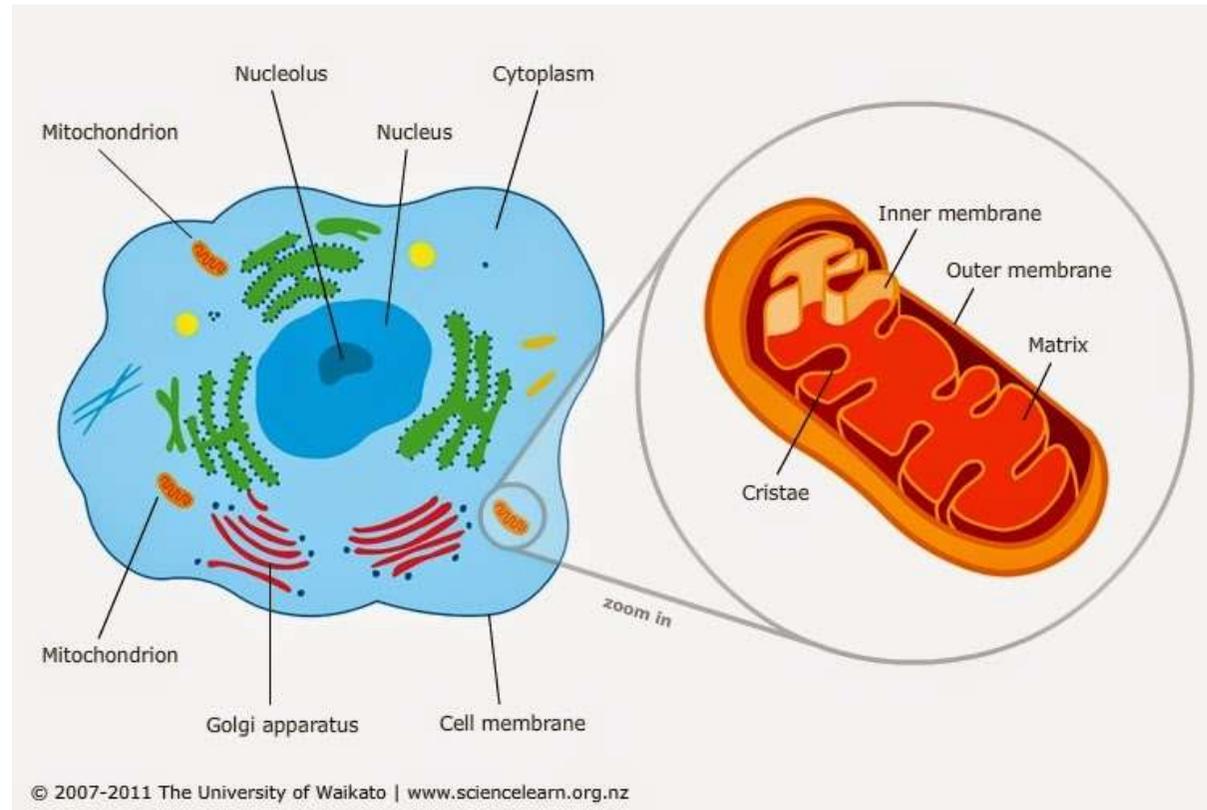
X = PO<sub>3</sub><sup>2-</sup> Nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADP<sup>+</sup>)



Per ogni distretto cellulare la concentrazione di  $\text{NAD}^+ + \text{NADH}$  è **COSTANTE = 100%**

Quello che varia è il rapporto tra la forma ossidata e quella ridotta

$\text{NAD}^+/\text{NADH}$



Non c'è permeabilità (trasportatori) delle membrane interne al dinucleotide: ogni compartimento cellulare è isolato e indipendente dagli altri

## COENZIMI e VITAMINE

### VITAMINE

<b>idrosolubili</b>	<b>coenzimi</b>	<b>gruppi trasportati/ modificati</b>	<b>fonti</b>
niacina	NADH, NADPH	2e <sup>-</sup> (H)	carne, veg., uova, lattic.
B2 (riboflavina)	FADH <sub>2</sub> , FMNH <sub>2</sub>	1 o 2 e <sup>-</sup>	latte, uova, verd., fegato
B3	coenzima A (CoA)	acili	tutti i cibi naturali
acido lipoico	lipoammide	Acili	carne, spinaci
B1	tiammina pirofosfato	aldeidi	carne, veg.,
B6	piridossal fosfato	amminici	carne, veg., uova, latticini
biotina	biocitina	CO <sub>2</sub>	legumi, cereali, latte, lievito
B12	cobalammina	H, alchilici	carne, pesce, pollame, lattic.
folato	tetraidrofolato	unità monoC	verdure, succhi, lenticchie
C	acido ascorbico	riduzione FeIII	verdura, frutta

# REGOLAZIONE

L'attività di molti enzimi è regolata :

- **CONTROLLO GENICO (+/-)**

- **MODIFICAZIONI COVALENTI REVERSIBILI (+/-)**  
**Fosforilazione**

- **MODIFICAZIONI COVALENTI IRREVERSIBILI (+)/(-)**  
**taglio proteolitico della catena enzimatica**

- **CONTROLLO ALLOSTERICO (+/-)**

L'inibizione (irreversibile o reversibile, competitiva o non competitiva) non va considerata una forma di regolazione perché si basa sull'intervento di molecole **ESOGENE**

## REGOLAZIONE ENZIMATICA

### CONTROLLO GENICO (+/-)

Viene regolata l'ESPRESSIONE (quantità) dell'enzima a livello di trascrizione e traduzione del gene

**E' REVERSIBILE**

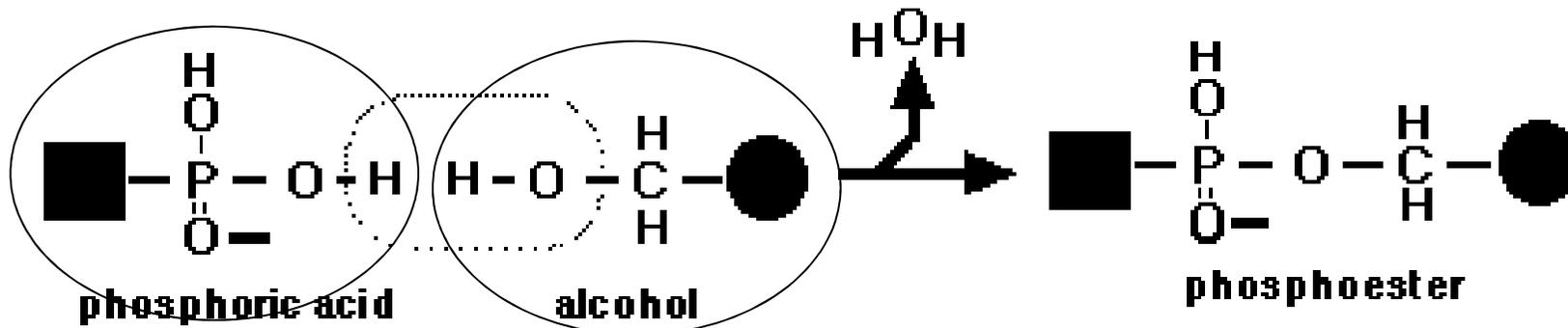
switch trascrizionale:  
Attivazione (o inattivazione) di Fattori di Trascrizione  
su specifici Promotori

**Tempo: decine di min**

# REGOLAZIONE : MODIFICAZIONI COVALENTI REVERSIBILI

**FOSFORILAZIONE E DEFOSFORILAZIONE:** sintesi e idrolisi di un legame fosfo-estere

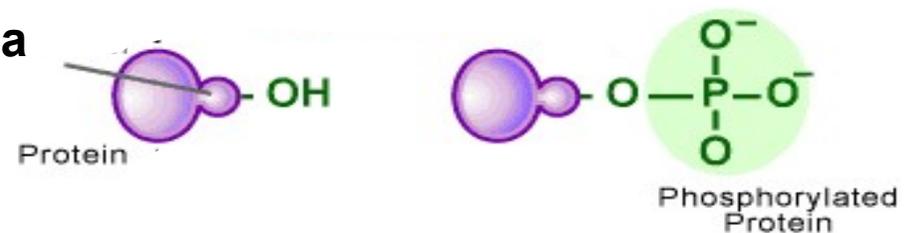
Sintesi di un FOSFO-ESTERE: condensazione tra un FOSFORILE e un ossidrile



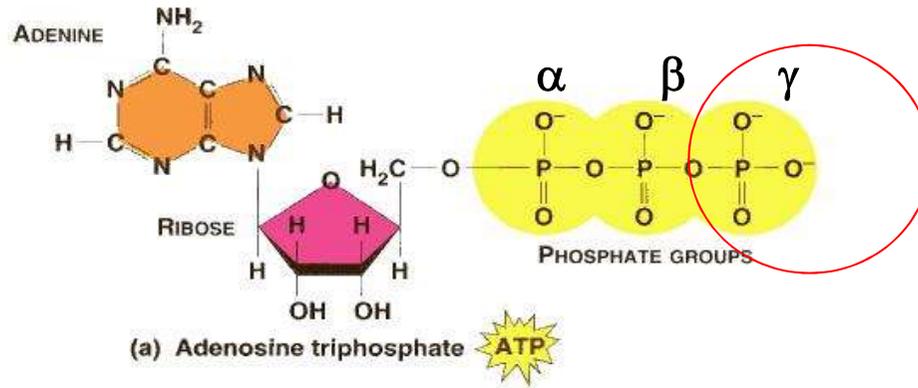
donatore di fosfato

accettore di fosfato

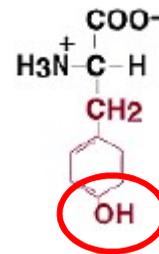
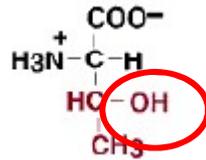
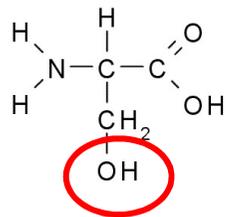
L'ossidrile è un gruppo  $-\text{OH}$  di una proteina



# FOSFORILAZIONE PROTEICA: il legame fosfo-estere



Il donatore di fosfato è l'ATP che "dona" il fosfato  $\gamma$



L'acceptore è il gruppo  $-OH$  di un aa (Ser, Thr o Tyr) all'interno dell'enzima



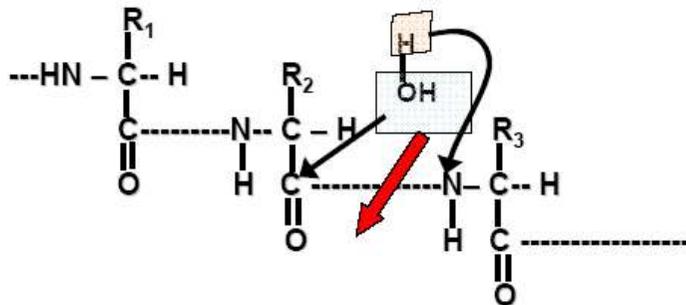
## MODIFICAZIONI COVALENTI IRREVERSIBILI

### - TAGLIO PROTEOLITICO della catena enzimatica (+)

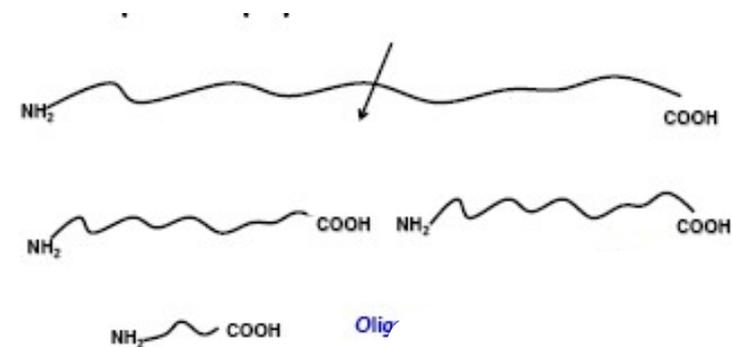
Alcuni enzimi (proteasi) sono prodotti e secreti in forma inattiva (proenzimi o zimogeni). La conversione di una preproteina nella proteina matura richiede un processo di proteolisi selettiva, mediante uno o più tagli proteolitici.

- Le proteine vengono degradate ad opera di enzimi idrolitici in grado di rompere i legami peptidici con cui gli aminoacidi sono uniti tra loro.
- Questi enzimi sono conosciuti come:

### Peptidasi



### ENDO peptidasi



### ESO peptidasi



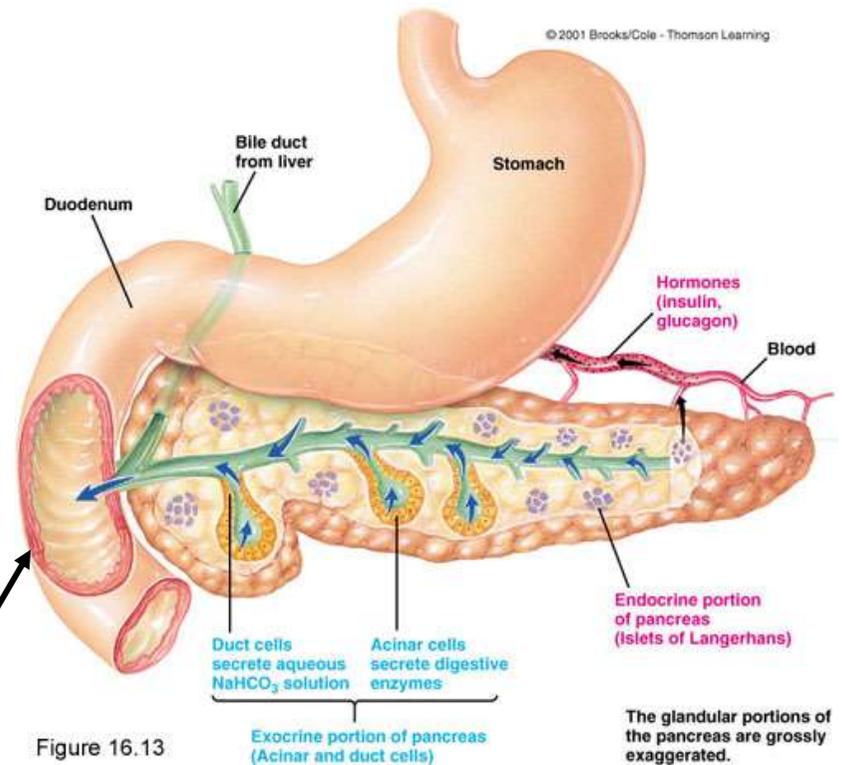
# Attivazione degli zimogeni pancreatici mediante taglio proteolitico

## Proteasi pancreatiche

Il succo pancreatico contiene tre zimogeni (proteasi inattive):

- **Tripsinogeno**
- **Chimotripsinogeno**
- **Procarbossipeptidasi**

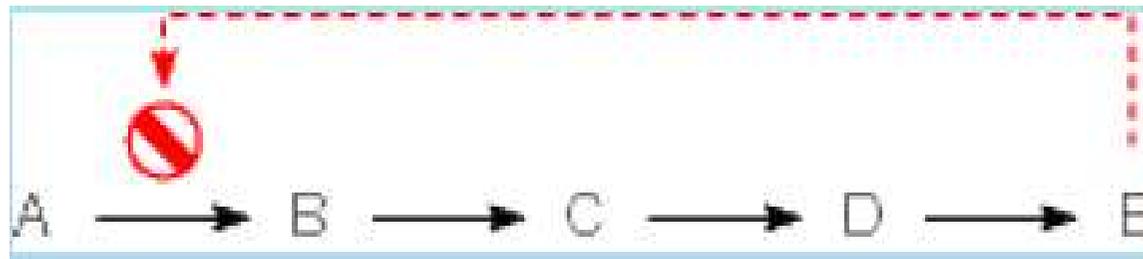
Il fattore chiave per l'attivazione di questi tre enzimi è l'enzima: **enteropeptidasi** prodotto dalle cellule duodenali all'arrivo del chimo.



## Regolazione a FEEDBACK - (retroazione)

### Feedback negativo (inibizione a feedback)

⇒ il prodotto finale di una via metabolica inibisce l'attività dell'enzima che catalizza la prima reazione



### Feedback positivo (attivazione a feedback)

⇒ il prodotto finale di una via metabolica aumenta l'attività dell'enzima che catalizza la prima reazione



# Regolazione attiva dell'attività enzimatica: MECCANISMI ALLOSTERICI

- un enzima regolatore è quello che controlla le quantità di sostanze che devono essere trasformate in una via metabolica (catalizza la reazione più lenta)
- tali enzimi non seguono la cinetica di Michaelis – Menten e sono responsabili della modulazione della velocità con cui decorre l'intero processo metabolico

ENZIMI  
ALLOSTERICI

- *generalmente* struttura quaternaria (due o più subunità proteiche)

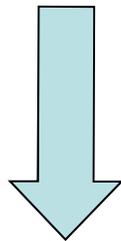
# GLI ENZIMI ALLOSTERICI non seguono una cinetica di tipo Michaelis-Menten

andamento della velocità di trasformazione del substrato

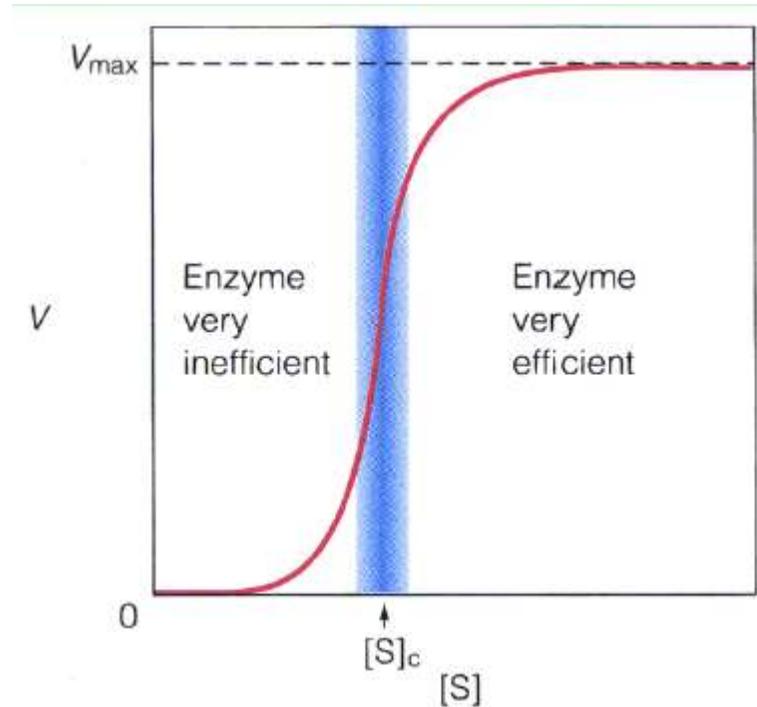


La cinetica enzimatica segue un andamento SIGMOIDALE

Piccole variazioni di  $[S]$  inducono grosse variazioni nella  $V_0$

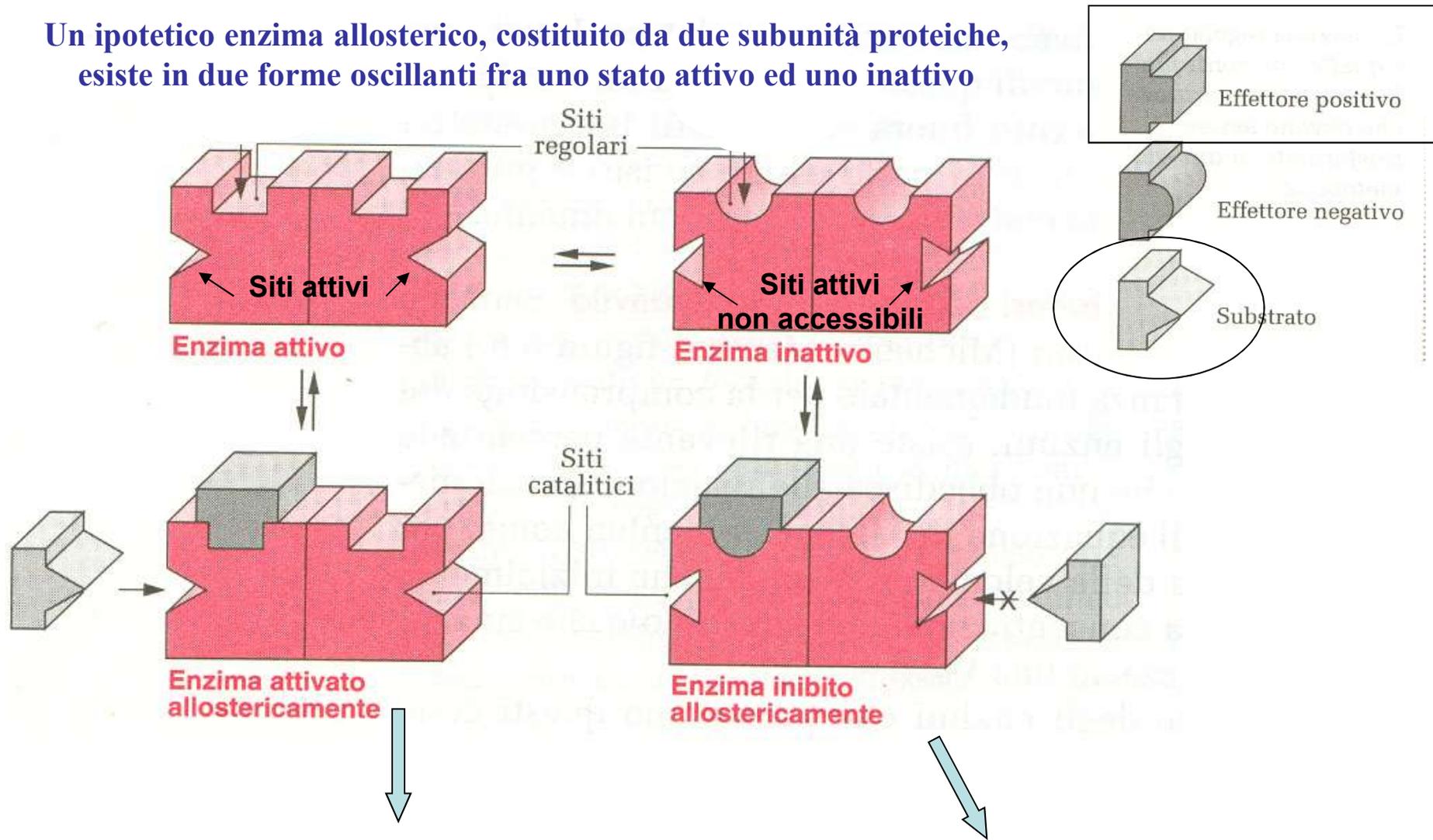


**cooperatività**



**GLI ENZIMI ALLOSTERICI hanno più subunità che agiscono in maniera cooperativa.**

Un ipotetico enzima allosterico, costituito da due subunità proteiche, esiste in due forme oscillanti fra uno stato attivo ed uno inattivo

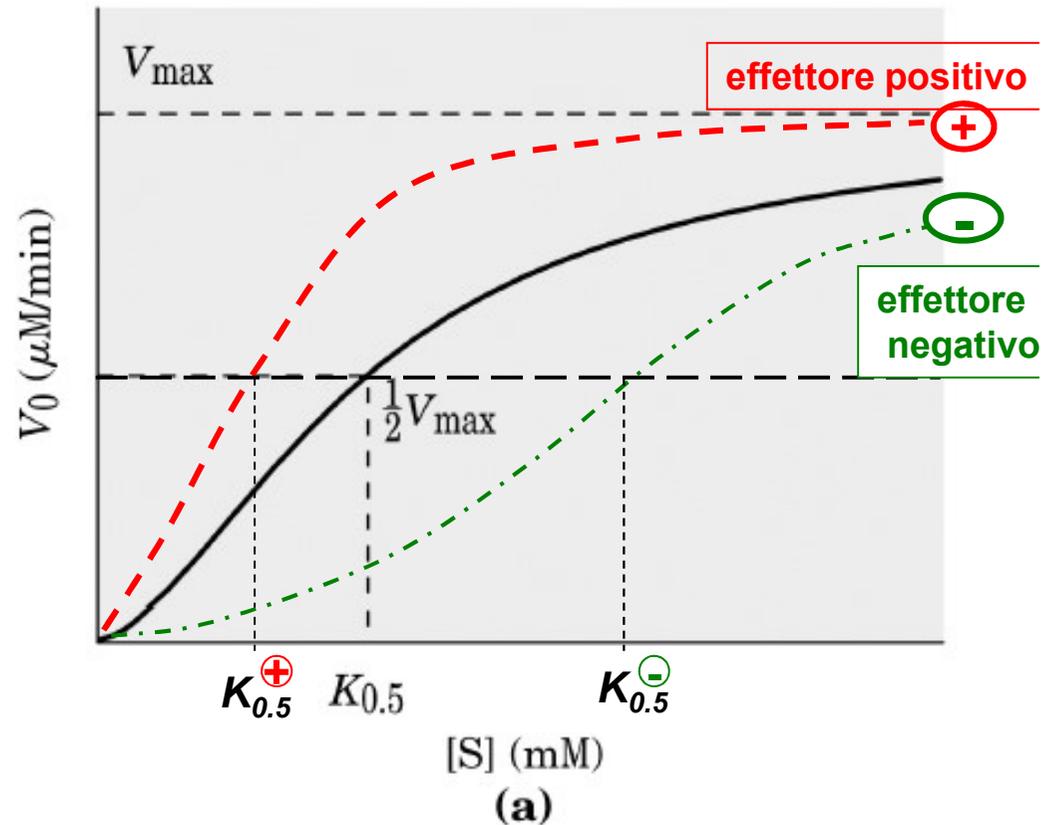


**effettore positivo**  
induce modificazioni che stabilizzano l'enzima nella sua forma attiva: essa può legarsi al substrato

**effettore negativo**  
induce una modificazione del sito attivo tale da impedire all'enzima di funzionare

## Cinetica di un enzima allosterico

L'attivazione allosterica da parte di un *effettore positivo* porta ad una **diminuzione della  $K_M$**  per il substrato



L'inibizione allosterica da parte di un *effettore negativo* porta ad un **aumento della  $K_M$**  per il substrato