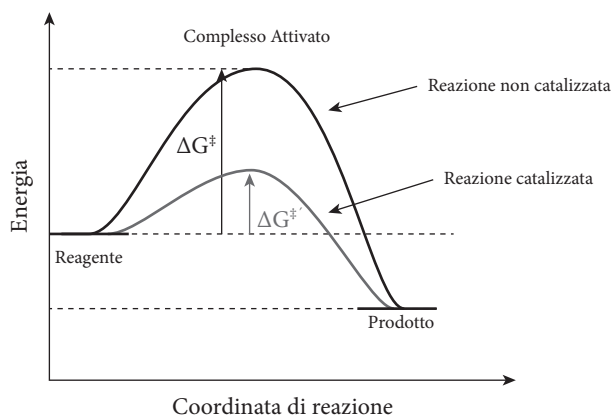


- 1 Un enzima è un particolare tipo di proteina con funzione di catalizzatore, cioè è in grado di aumentare la velocità di una reazione chimica. Gli enzimi svolgono la loro azione legando le molecole dei reagenti, o substrati, e determinando la trasformazione di questi ultimi nei prodotti. (*Suggerimento*: si veda pag. 47)
- 2 Un enzima agisce in quantità ridottissime e si mantiene inalterato nel corso della reazione. È in grado di aumentare la velocità del processo perché abbassa il livello dell'energia di attivazione della reazione, ma ne lascia inalterato l'equilibrio. (*Suggerimento*: si veda pag. 47)



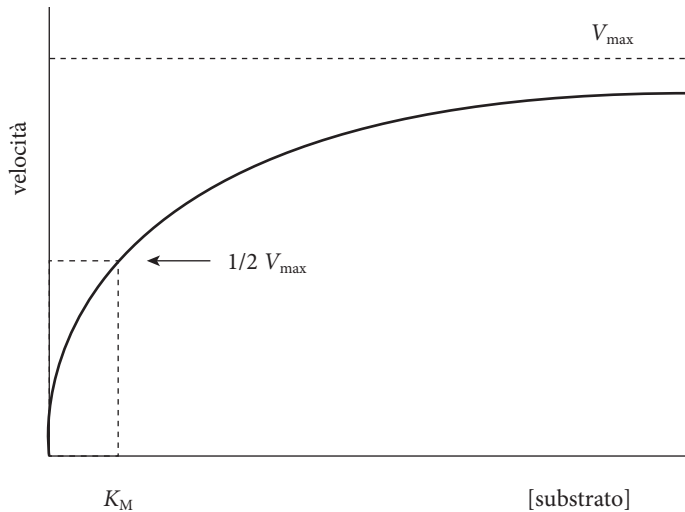
- 3 Secondo il modello chiave-serratura, enzima e substrato avrebbero strutture perfettamente complementari, come una chiave che apre soltanto la propria serratura. Secondo il più attuale modello dell'adattamento indotto, invece, il sito attivo dell'enzima e il substrato vanno incontro a una variazione conformazionale quando entrano in contatto, e questo consente alle due strutture di adattarsi l'una all'altra in maniera perfettamente complementare, solo dopo che si è formato il legame fra loro. (*Suggerimento*: si veda pag. 48)
- 4 A differenza dei comuni catalizzatori inorganici, gli enzimi sono straordinariamente efficienti e aumentano la velocità di una reazione molto più di quanto non siano in grado di fare i catalizzatori inorganici; inoltre sono altamente specifici e riconoscono selettivamente il proprio substrato. Gli enzimi sono anche modulabili, cioè la velocità di una reazione catalizzata da un enzima può essere regolata in maniera fine, grazie all'azione di specifiche molecole che agiscono da modulatori. Inoltre gli enzimi agiscono in condizioni fisiologiche, cioè alle condizioni di pH, temperatura e pressione tipiche degli organismi viventi, a differenza dei catalizzatori inorganici che agiscono in condizioni molto differenti da quelle cellulari. (*Suggerimento*: si vedano pagg. 48-49)
- 5 La IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) ha definito sei diverse classi di enzimi: le ossidoreduttasi (catalizzano reazioni di ossidoriduzione), le trasferasi (catalizzano reazioni di trasferimento di gruppi chimici da un substrato donatore a un accettore), le idrolasi (catalizzano reazioni di idrolisi), le liasi (catalizzano reazioni di addizione a doppi legami), le isomerasi (catalizzano reazioni di isomerizzazione), le ligasi (catalizzano reazioni di sintesi). (*Suggerimento*: si veda pag. 49, paragrafo 4.2)

- 6 Le più importanti ossidoreduttasi sono le *deidrogenasi*, enzimi che ossidano i substrati mediante l'eliminazione di due atomi di idrogeno, che vengono legati da coenzimi quali NAD⁺ e FAD.
Le più importanti trasferasi sono le *transaminasi*, enzimi che trasferiscono gruppi amminici da un amminoacido donatore a un α-chetoacido accettore, e le *chinasi*, che trasferiscono gruppi fosfato dall'ATP a una molecola accettrice. (Suggerimento: si veda pag. 49, paragrafo 4.2)
- 7 Le idrolasi catalizzano reazioni di idrolisi, in cui si rompono legami covalenti mediante l'introduzione di una molecola di H₂O: per esempio sono idrolasi gli enzimi digestivi. Le liasi catalizzano reazioni di addizione a doppi legami e, a volte causano la rottura di una molecola in due parti. Le isomerasi catalizzano reazioni di isomerizzazione, cioè di trasformazione di una molecola in un suo isomero. Le ligasi catalizzano reazioni di sintesi, sempre accompagnate da un dispendio energetico. (Suggerimento: si veda pag. 49, paragrafo 4.2)
- 8 Il nome di un enzima deriva dalla sua classificazione funzionale. Esiste da tempo una nomenclatura approvata dalla IUBMB, ma ancora oggi è molto in uso la nomenclatura tradizionale, nella quale il nome corrente di un enzima è costituito dal nome del substrato e da un secondo termine, con suffisso -asi, che specifica il tipo di reazione catalizzata. Ad esempio la fosfoglucoisomerasi è un enzima che catalizza una reazione di isomerizzazione del glucosio-6-fosfato in fruttosio-6-fosfato. A volte il suffisso -asi è stato aggiunto al solo substrato, ad esempio gli enzimi ureasi o fumarasi; altre volte il nome dell'enzima è stato attribuito a una particolare funzione in cui esso è coinvolto, come nel caso del lisozima e della pepsina. (Suggerimento: si veda pag. 49, paragrafo 4.2)
- 9 I cofattori sono ioni o piccole molecole organiche necessarie per l'attività catalitica di alcuni enzimi. (Suggerimento: si veda pag. 50)
- 10 I coenzimi sono particolari tipi di cofattori di natura organica che prendono parte direttamente all'azione catalitica dell'enzima. Possono legarsi covalentemente all'enzima (e si chiamano gruppi prostetici) o associarsi in modo blando (in tal caso sono detti cosubstrati); nella maggior parte dei casi derivano da vitamine idrosolubili, in particolare quelle appartenenti al gruppo B. (Suggerimento: si veda pag. 50)
- 11 I principali ioni metallici che agiscono come cofattori enzimatici sono: Mn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ e Cu⁺. Spesso gli ioni metallici svolgono un ruolo nella stabilizzazione della struttura tridimensionale dell'enzima; in altri casi partecipano alla catalisi costituendo parte del sito attivo dell'enzima e favorendo il legame e la trasformazione del substrato. (Suggerimento: si veda pag. 50)
- 12 Le vitamine idrosolubili del gruppo B comprendono: la vitamina B₁ o tiamina; la B₂ o riboflavina; la B₃ o PP, nota anche come niacina; la vitamina B₅ o pantotenato; la B₆ o piridossina; la B₈ o biotina; la B₁₂ o cobalammina; la B₉ o acido folico. (Suggerimento: si veda pag. 51)

- 13 Dalla vitamina B₁ o tiamina, si forma il coenzima tiaminpirofosfato, coinvolto nelle reazioni enzimatiche di decarbossilazione di α -chetoacidi. La vitamina PP o B₃ è il precursore dei coenzimi NAD⁺ e NADP⁺ coinvolti nelle reazioni di deidrogenazione, idrossilazione e di riduzione. La vitamina B₆ o piridossina forma il coenzima piridossal-5'-fosfato, implicato nelle reazioni di transaminazione e nelle reazioni di decarbossilazione di α -amminoacidi. Dalla vitamina B₁₂ o cobalammina, derivano i coenzimi metilcobalammina e 5'-desossadenosilcobalammina, coinvolti nelle reazioni di metilazione. (*Suggerimento*: si veda pag. 51)
- 14 Vitamin B₂ gives rise to FAD, vitamin PP to NAD. Biocytin derives from vitamin B₈ and tetrahydrofolic acid from vitamin B₉. (*Suggerimento*: si veda pag. 51)
- 15 La vitamina C è un antiossidante idrosolubile ed è coinvolta nella biosintesi del collagene. (*Suggerimento*: si veda pag. 51)
- 16 NAD⁺ e FAD sono coenzimi molto diffusi nelle cellule, infatti la maggior parte delle reazioni di ossidoriduzione sono catalizzate da deidrogenasi NAD⁺ o FAD dipendenti. Queste due molecole sono ottimi ossidanti perché hanno una grande stabilità e, a differenza di ossidanti come l'ossigeno, non danno luogo a reazioni indesiderate e potenzialmente pericolose per la cellula, come la formazione di radicali liberi. (*Suggerimento*: si veda pag. 52)
- 17 Gli isoenzimi sono forme molecolari diverse dello stesso enzima; catalizzano la stessa reazione sul medesimo substrato, ma spesso con affinità, velocità e meccanismi di regolazione diversi. (*Suggerimento*: si veda pag. 53, paragrafo 4.4)
- 18 Lactate dehydrogenase (LDH) is a protein composed by four subunits of two different types (M and H). There are five different LDH isoenzymes, with different subunits composition: H₄ (composed by four H subunits), H₃M (composed by one M subunit and three H subunits), H₂M₂ (composed by two M subunits and two H subunits), HM₃ (composed by one H subunit and three M subunits) and M₄ (composed by four M subunits). (*Suggerimento*: si veda pag. 53, paragrafo 4.4)
- 19 Il ciclo catalitico di un enzima si compone di quattro fasi: nella prima il substrato si combina con il sito attivo dell'enzima formando il complesso enzima-substrato (complesso ES); questo induce la seconda fase, l'attivazione del substrato, nella quale alcuni legami chimici della molecola diventano più reattivi e il substrato si predispone alla trasformazione; la terza fase è quella in cui si attua la trasformazione vera e propria del substrato nel prodotto; infine, nella quarta fase, il prodotto si dissocia dall'enzima. (*Suggerimento*: si vedano pagg. 53-54)
- 20 Nella prima fase del ciclo catalitico il substrato si combina con il sito attivo dell'enzima formando il complesso enzima-substrato, a questo legame possono partecipare anche cofattori. Questa è una fase reversibile del processo e il complesso ES può dissociarsi rigenerando enzima e substrato senza che si compia alcuna trasformazione. La costante k_1 rappresenta la costante di velocità della formazione del complesso enzima-substrato. (*Suggerimento*: si vedano pagg. 53-54)

- 21 L'efficienza catalitica di un enzima è espressa dal numero di turnover, che rappresenta il numero di molecole di substrato trasformate in prodotto da un enzima nel tempo di un secondo e in condizioni di reazione ottimali. (*Suggerimento*: si veda pag. 54, paragrafo 4.5)
- 22 L'anidrasi carbonica è un enzima molto efficiente, con un numero di turnover di 600 000 molecole al secondo; la lattato deidrogenasi ha invece un valore di turnover di 1000 molecole al secondo; il lisozima è un enzima molto meno efficiente, con un valore di turnover di 0,5 molecole al secondo. (*Suggerimento*: si veda pag. 54, paragrafo 4.5)
- 23 L'attività enzimatica è l'azione catalitica di un enzima misurata in condizioni ottimali e definita come la quantità di substrato che viene trasformata in prodotto nell'unità di tempo. (*Suggerimento*: si veda pag. 54, paragrafo 4.6)
- 24 L'attività enzimatica può essere espressa in Unità Internazionali (U.I.), dove 1 U.I. è l'attività enzimatica che catalizza la trasformazione di 1 μ mole di substrato in 1 minuto. Nel Sistema Internazionale delle unità di misura si usa invece il katal, definito come l'attività enzimatica che catalizza la trasformazione di 1 mole di substrato in 1 secondo. (*Suggerimento*: si veda pag. 54, paragrafo 4.6)
- 25 In biologic samples enzymes are present at very low concentrations, so their quantification is laborious and needs very sensitive and expensive technologies. Instead we can easily estimate the enzyme's presence by measuring its enzymatic activity. (*Suggerimento*: si veda pag. 54, paragrafo 4.6)
- 26 L'attività enzimatica è influenzata in modo marcato da alcuni fattori chimico-fisici, come il pH, la temperatura e la concentrazione del substrato. Fattori come il pH e la temperatura possono influenzare l'attività di un enzima anche perché sono in grado di indurre modificazioni significative della struttura tridimensionale di una proteina. (*Suggerimento*: si veda pag. 55, paragrafo 4.7)
- 27 Il pH influenza lo stato di ionizzazione delle catene laterali di alcuni amminoacidi; quindi il pH del mezzo in cui agisce un enzima è responsabile dello stato di ionizzazione di alcuni gruppi chimici del sito attivo. Istidina, lisina, aspartato e glutammato sono amminoacidi che hanno una catena laterale ionizzabile e si trovano spesso nei siti attivi degli enzimi, dove hanno un ruolo nel legame del substrato o nella catalisi. Il loro grado di ionizzazione dipende da piccole variazioni del pH e ha importanti conseguenze sull'attività enzimatica. Gran parte degli enzimi opera in modo ottimale a valori di pH prossimi alla neutralità (pH 7,4). (*Suggerimento*: si veda pag. 55, paragrafo 4.7)
- 28 La temperatura può determinare modificazioni significative nell'attività di un enzima; all'aumentare della temperatura generalmente l'attività di un enzima aumenta per effetto cinetico, fino a un certo valore. Oltre tale valore di temperatura, l'attività diminuisce bruscamente a causa della denaturazione dell'enzima. La temperatura ottimale è il valore di temperatura a cui l'enzima esprime la massima attività e corrisponde di solito a 37 °C, cioè la temperatura corporea. (*Suggerimento*: si veda pag. 55, paragrafo 4.7)

29



L'equazione di Michaelis-Menten rappresenta in grafico la velocità di una reazione enzimatica (v) in funzione della concentrazione del substrato ($[S]$). Il grafico rappresentato è un'iperbole: questo ci indica che la velocità della reazione (cioè l'attività enzimatica) aumenta all'aumentare della concentrazione del substrato e tende a un valore massimo, indicato con la sigla V_{max} , che viene raggiunto quando le concentrazioni di substrato sono in grado di saturare tutti i siti attivi delle molecole di enzima presenti. In queste condizioni, le molecole di enzima sono tutte legate al substrato e la velocità di catalisi è massima. (Suggerimento: si veda pag. 56)

- 30** La costante nota come K_M o costante di Michaelis corrisponde alla concentrazione di substrato per la quale la reazione procede ad una velocità pari a metà di quella massima. La K_M esprime l'affinità di un enzima per il proprio substrato: minore è il valore della K_M di un enzima per il suo substrato, maggiore è la sua affinità per esso e viceversa. Il valore della K_M è indipendente dalla quantità di enzima presente ed è caratteristico di ogni enzima per uno specifico substrato. (Suggerimento: si veda pag. 56)
- 31** L'attività degli enzimi deve essere finemente regolata in modo da rispondere alle esigenze delle cellule; i meccanismi con cui si può controllare l'attività di un enzima sono: la concentrazione dei substrati all'interno della cellula, l'allosterismo, le modificazioni covalenti e l'inibizione enzimatica. (Suggerimento: si veda pag. 57)
- 32** Gli enzimi sottoposti a controllo allosterico sono spesso proteine multimeriche, provviste di struttura quaternaria. L'effettore allosterico è una molecola in grado di legarsi all'enzima, in modo specifico ma non covalente a livello di un sito allosterico diverso dal sito attivo, e di indurre un lieve cambiamento conformazionale dell'enzima. Questa variazione strutturale può modificare quantitativamente l'attività dell'enzima in senso positivo (aumento dell'attività) o negativo (riduzione dell'attività). (Suggerimento: si veda pag. 57)

- 33 The most important reversible enzyme's covalent modification is phosphorylation, in which phosphate groups are bounded to serine, treonine or tyrosine lateral chains. The phosphorylated enzyme undergoes to a conformational change that modifies its activity. (*Suggerimento*: si veda pag. 57)
- 34 Gli inibitori enzimatici sono molecole in grado di legarsi ad un enzima riducendo, in parte o integralmente, la capacità di legare il substrato e/o di catalizzarne la trasformazione. (*Suggerimento*: si veda pag. 58)
- 35 Il meccanismo dell'inibizione enzimatica ha un ruolo determinante nella regolazione dell'attività degli enzimi cellulari ed è molto importante in campo farmacologico: molti farmaci, quali antibiotici, chemioterapici, antiipertensivi, inibitori della sintesi del colesterolo, cardiotonici e antinfiammatori, sono inibitori enzimatici. (*Suggerimento*: si veda pag. 58)
- 36 Gli inibitori enzimatici possono essere suddivisi in due classi: gli inibitori irreversibili e quelli reversibili. Gli inibitori irreversibili, o inattivatori, si legano all'enzima in modo stabile, inattivandolo, non hanno un ruolo nella regolazione enzimatica, ma sono per lo più veleni o tossine dannosi per l'organismo. Gli inibitori reversibili, invece, sono inibitori molto comuni nei meccanismi di regolazione dell'attività enzimatica; si legano all'enzima tramite interazioni deboli e successivamente possono essere rimossi, rendendo l'enzima di nuovo attivo. (*Suggerimento*: si veda pag. 58)
- 37 Gli inibitori reversibili possono ridurre l'attività degli enzimi secondo meccanismi di tipo competitivo o non competitivo. Nell'inibizione competitiva, gli inibitori sono molecole strutturalmente simili al substrato che si legano nel sito attivo al posto del substrato, questo comporta un aumento del valore della K_M , cioè una riduzione dell'affinità dell'enzima per il proprio substrato. Nell'inibizione non competitiva, gli inibitori si legano all'enzima in una regione diversa dal sito attivo e formano un complesso cataliticamente inattivo con l'enzima e il substrato, la conseguenza è una riduzione della V_{max} della reazione catalizzata. (*Suggerimento*: si veda pag. 58)