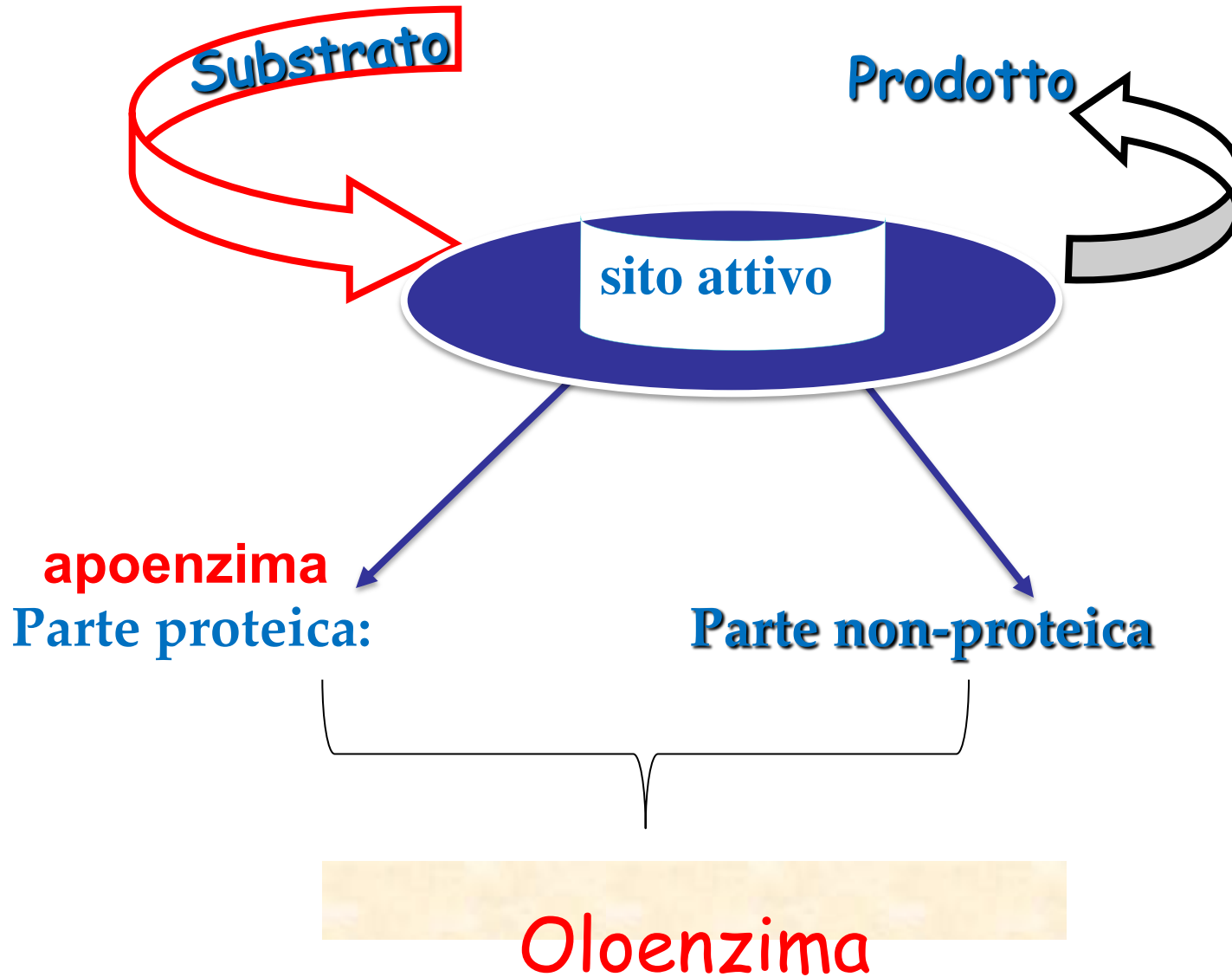


Struttura generale degli enzimi



Parte non-proteica



Cofattori

Denti chimici dell'enzima

INORGANICA
Ioni metallici

ORGANICA
Coenzimi

Co-substrati

LEGAME TRANSITORIO

Gruppi prostetici

LEGAME COVALENTE

Coenzimi

- Molti enzimi per poter essere attivi richiedono la presenza di ioni metallici o di altre molecole, talvolta legate con legami covalenti.
- Queste molecole vengono indicate come *cofattori* o *coenzimi*.

Cofattore: ione o molecola NON PROTEICA la cui presenza è indispensabile perché l'enzima possa svolgere la sua attività catalitica:

- **ioni** di alcuni **elementi metallici**, in particolare Ca, Mg, Mn, Zn, Cu (p.es. tutti gli enzimi che utilizzano ATP richiedono la presenza di ioni Mg^{2+}).

Coenzimi e co-substrati: sono molecole organiche (alcuni di essi derivano da vitamine).

- prendono parte direttamente all'azione catalitica dell'enzima
- spesso si ritrovano modificati chimicamente al termine della reazione (es. NAD^+ / $NADH$).

- I **coenzimi** da soli sono cataliticamente inattivi ma, unendosi all'apoenzima, formano l'enzima cataliticamente attivo.
- Uno stesso coenzima può essere unito a diverse proteine per cui si deduce che la specificità dell'azione enzimatica è proprietà dell'apoenzima e non del coenzima.
- La maggior parte dei coenzimi deriva dalle **vitamine**.
- Per diventare coenzima, la vitamina subisce delle trasformazioni che vanno dalla semplice fosforilazione (uno dei casi più comuni) a trasformazioni più complesse.
- La trasformazione della vitamina in coenzima avviene all'interno delle cellule ed è di natura enzimatica.
- I coenzimi possono essere classificati in gruppi diversi, in base al tipo di reazione catalizzata.

VITAMINE

Molecole organiche non sintetizzabili

idrosolubili

Vitamina C

Vit. Complesso B

Tiamina (B1)

Riboflavina (B2)

Niacina (B4)

Biotina (B7)

Ac. Pantotenico (B5)

Ac. Folico

Piridossina (B6)

Cobalamina (B12)

Ac. Lipoico

liposolubili

Vitamina A (retinolo, β -carotene)

Vitamina D (colecalfiferolo)

Vitamina K (fillochinone)

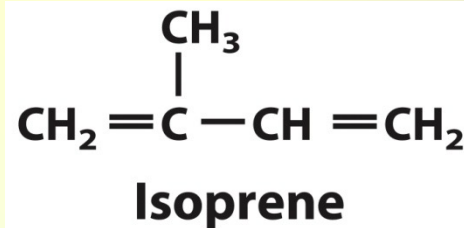
Vitamina E (tocoferolo)

Coenzima Q (Ubichinone)

Altamente idrofobiche, contengono anelli e lunghe catene alifatiche (costituite dal ripetersi di unità isoprenoidi).

Sono assunte con la dieta

Sono modificate e attivate nell'organismo



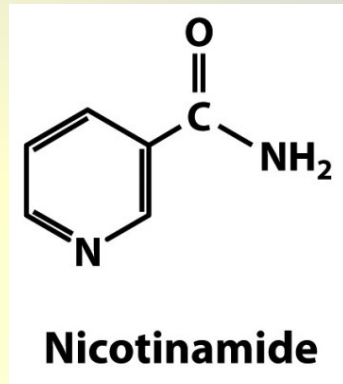
NAD, FAD, UBICHINONE: sono COENZIMI che coadiuvano l'azione di enzimi che catalizzano reazioni di **ossidazione** (ossidoriduttasi, deidrogenasi)

Coenzimi nicotinamidici

NAD⁺ (NICOTINAMMIDE ADENINA DINUCLEOTIDE)

NADP⁺ (NICOTINAMMIDE ADENINA DINUCLEOTIDE FOSFATO)

Derivano dall'acido nicotinico (niacina) o dalla nicotinammide (vitamina B₃)

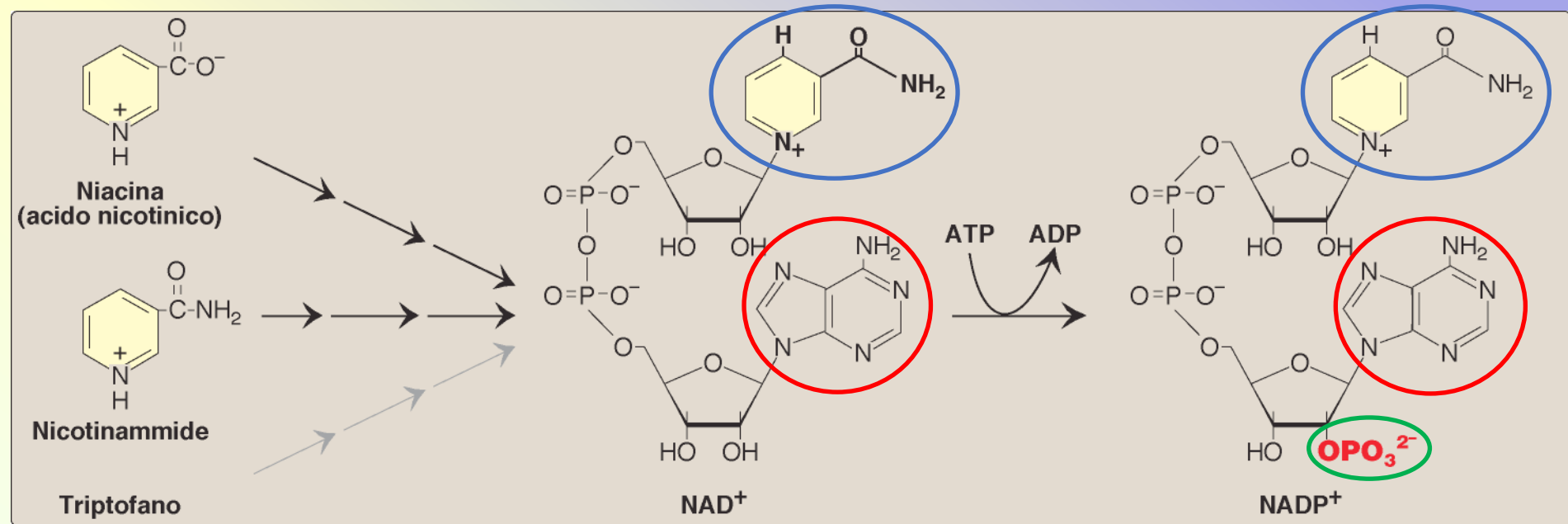


Sono coinvolti nelle reazioni di ossido-riduzione catalizzate dalle DEIDROGENASI, trasferiscono **2 elettroni e 1 protone** dal o al substrato sotto forma di ione idruro



Sono associati al sito attivo dell'enzima attraverso interazioni elettrostatiche (co-substrato)

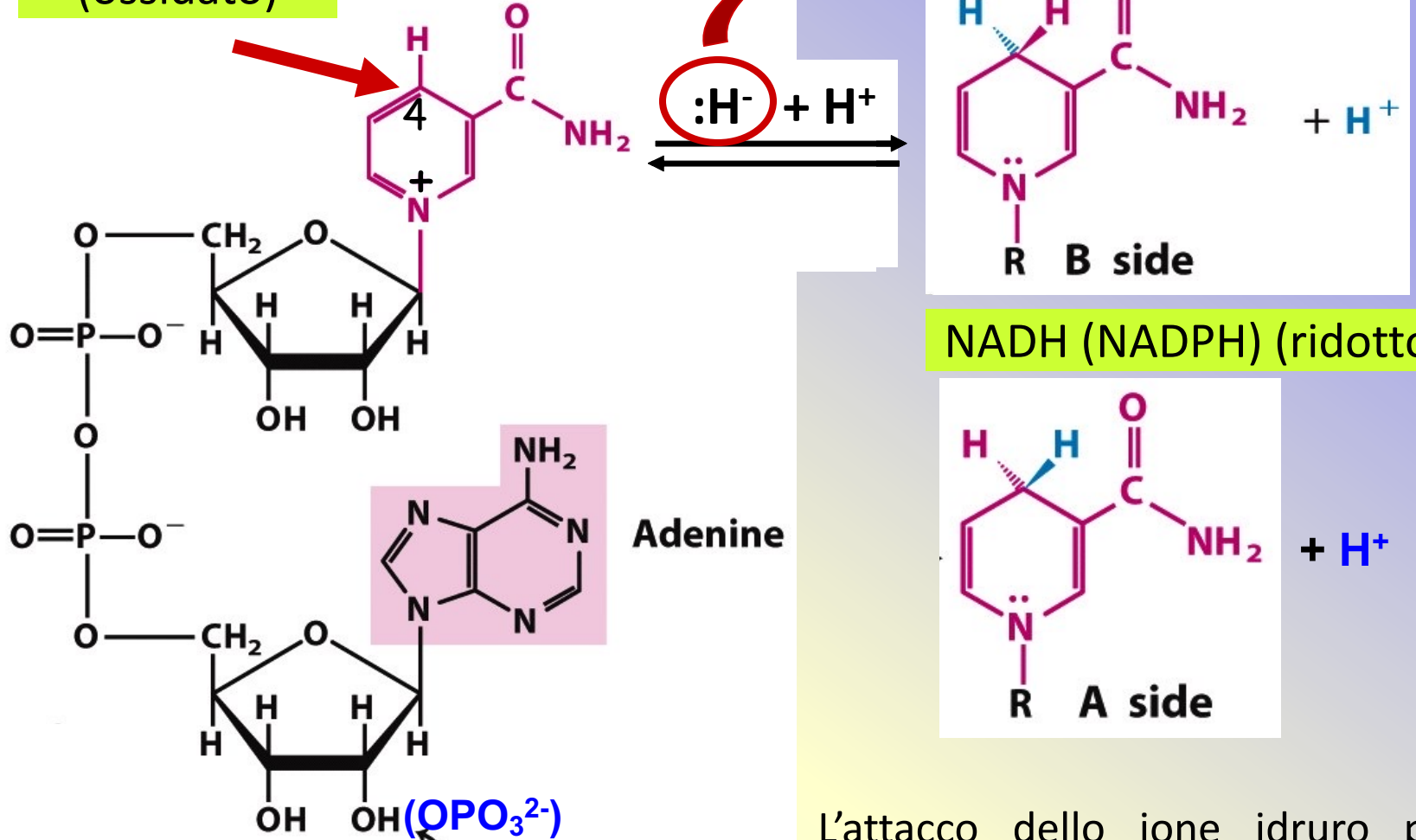
Struttura e biosintesi del NAD⁺ e del NADP⁺.



NAD⁺ (NICOTINAMMIDE
ADENINA DINUCLEOTIDE)

NADP⁺ (NICOTINAMMIDE
ADENINA DINUCLEOTIDE
FOSFATO)

NAD⁺
(ossidato)



NADP⁺ → fosfato in posizione 2
ossidato

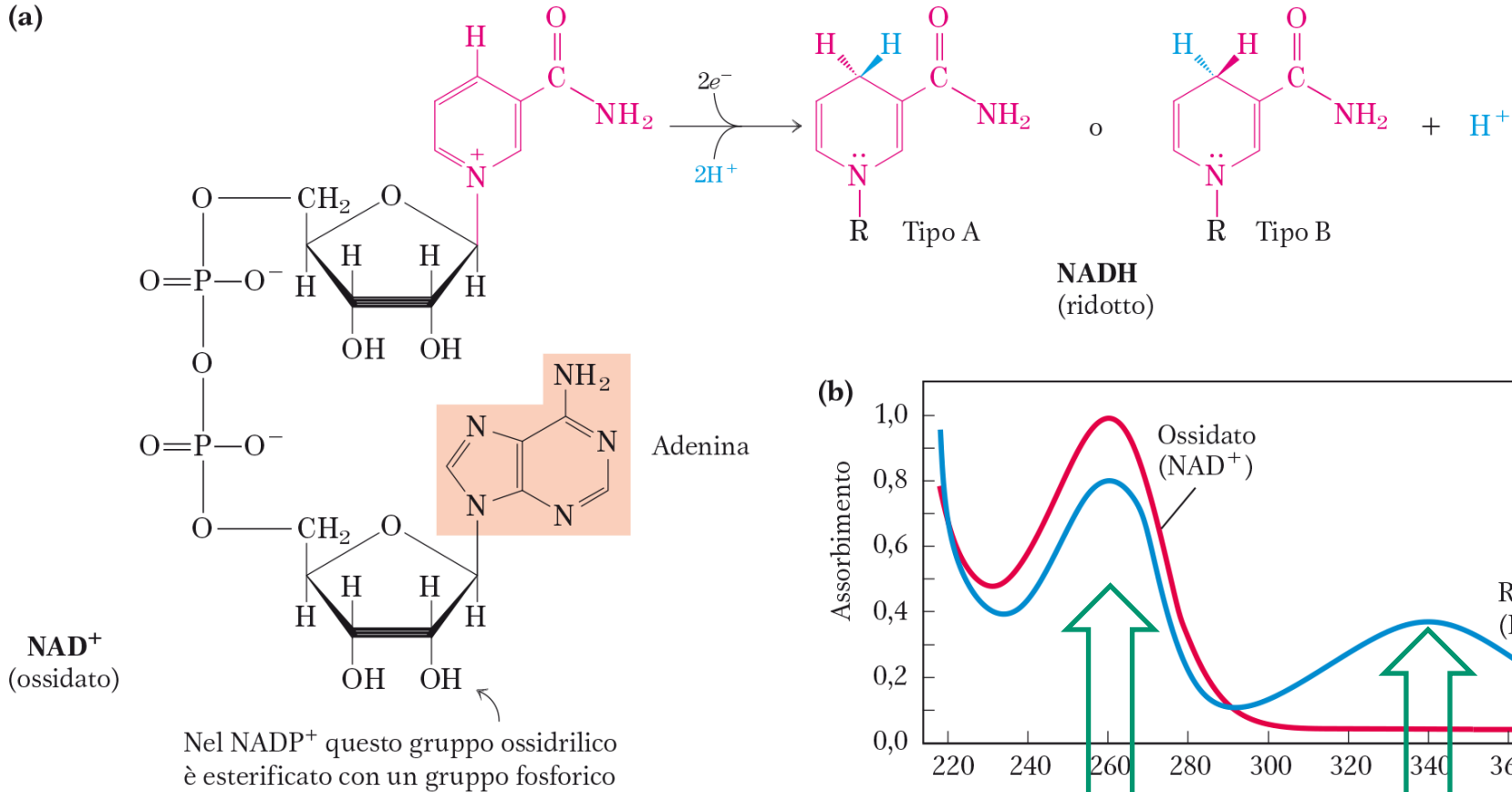
L'attacco dello ione idruro può avvenire sopra (A) o sotto (B) il piano dell'anello nicotinamidico

Figure 13-24a

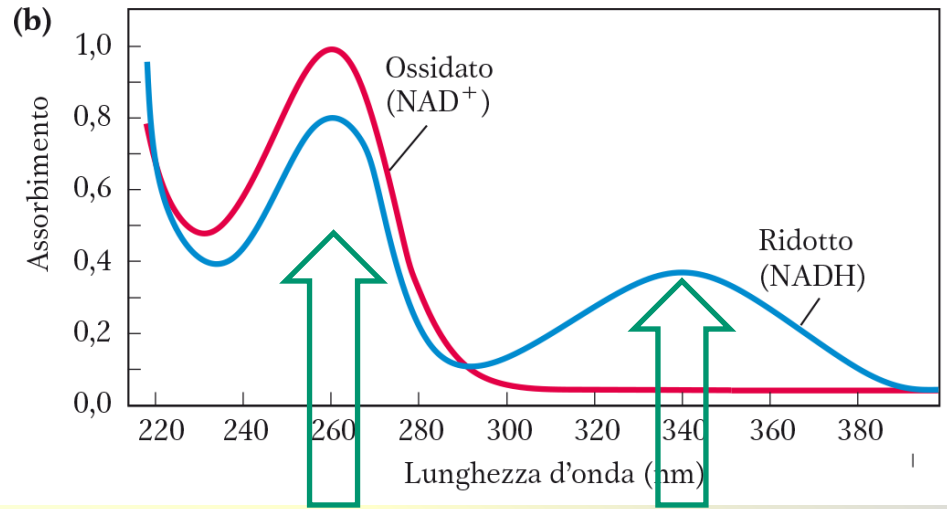
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

(a)



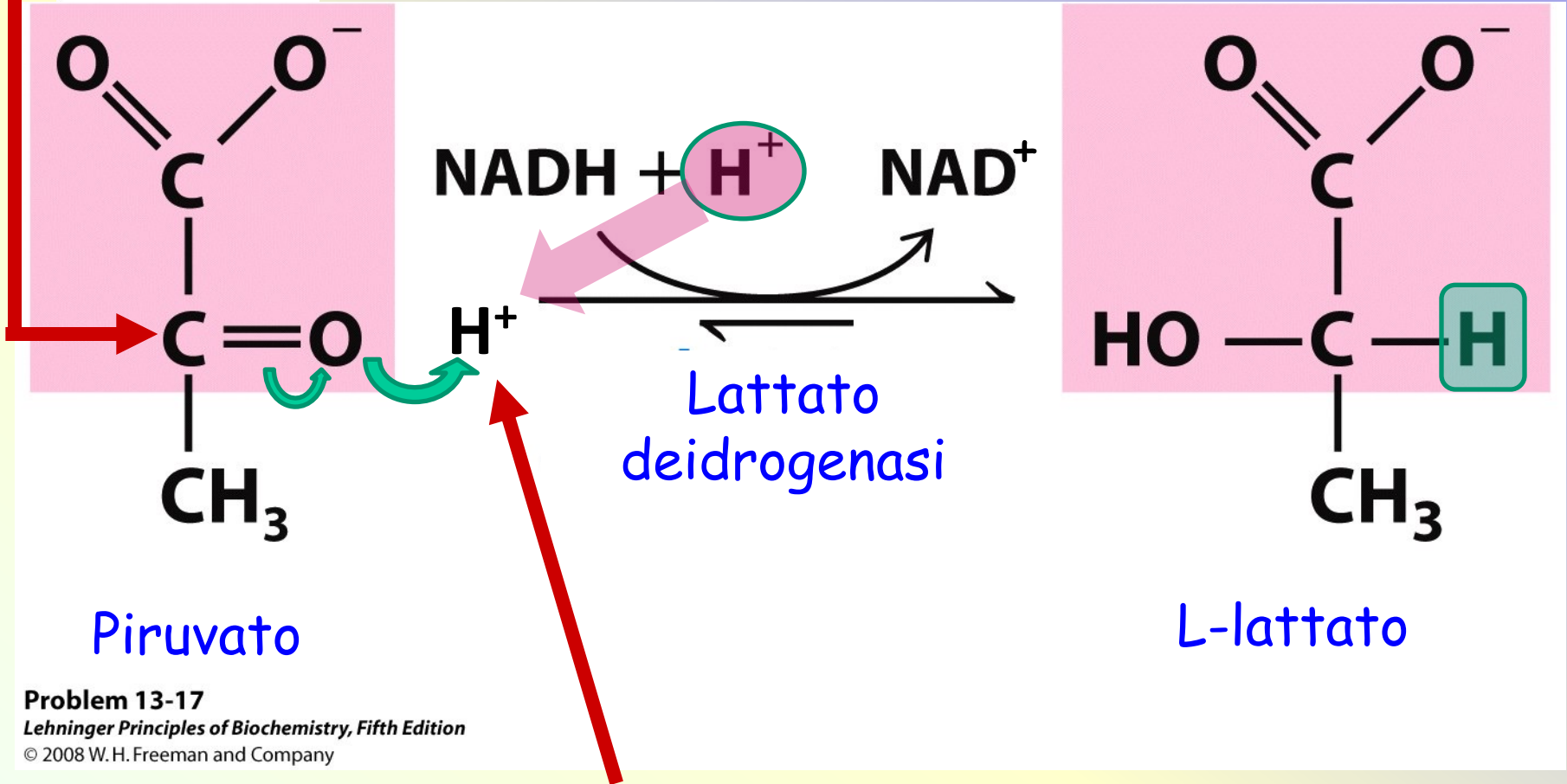
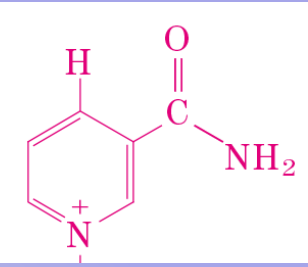
(b)



Assorbimento
della base
azotata

Assorbimento
dell'anello
nicotinammidico
ridotto

Uno ione idruro :H^- è trasferito dal C-4 del NADH al C-2 del piruvato



Uno ione H^+ è trasferito da un residuo di His del sito attivo dell'enzima sull'ossigeno carbonilico che diventa un ossidrile

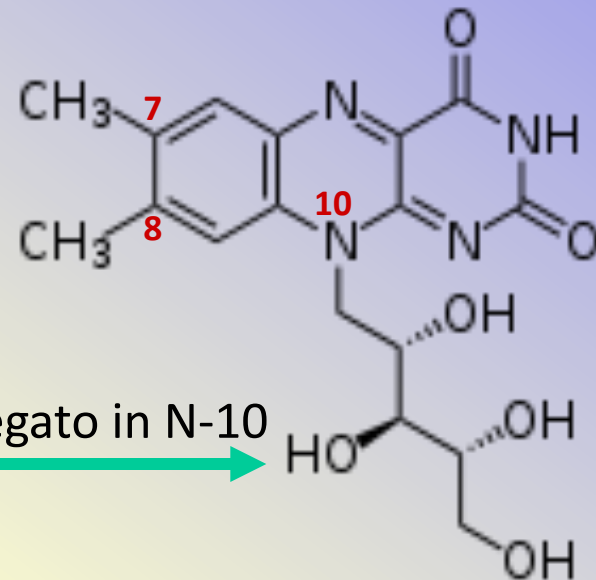
COENZIMI FLAVINICI

FAD (FLAVINA ADENINA DINUCLEOTIDE)

FMN (FLAVINA MONONUCLEOTIDE)

Derivano dalla riboflavina (vitamina B2)

7,8-dimetil-isoallossazina



Ribitolo legato in N-10

Sono saldamente associati (in qualche caso anche covalentemente) al sito attivo di DEIDROGENASI chiamate *flavoproteine*.

Partecipano a reazioni di ossidoriduzione in cui possono accettare o rilasciare **2 elettroni e 2 protoni** (due atomi di idrogeno)

Forma completamente ossidata

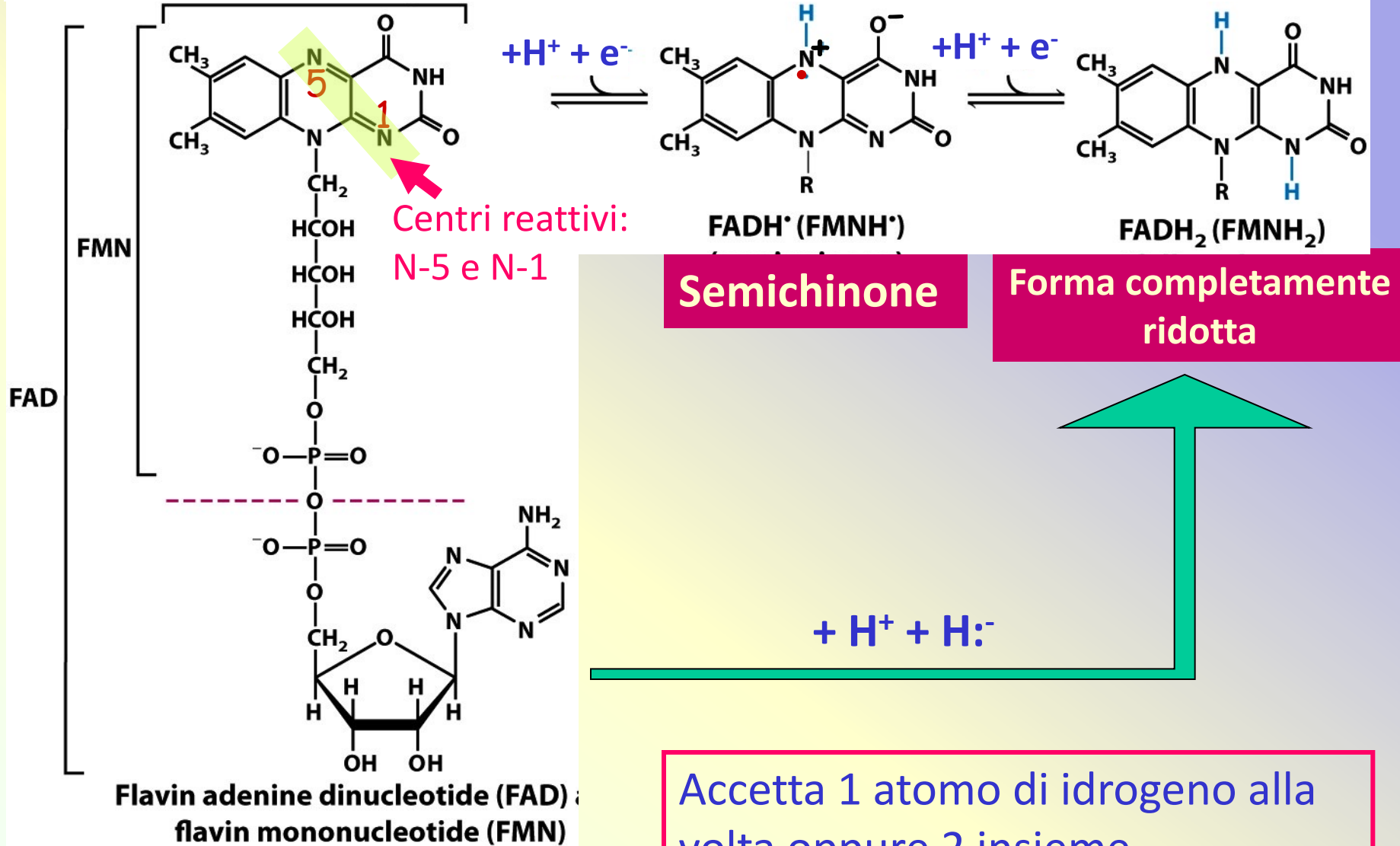


Figure 13-27

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Accetta 1 atomo di idrogeno alla volta oppure 2 insieme

UBICHINONE (COENZIMA Q): benzochinone con 4 sostituenti uno dei quali è una lunga catena isoprenoide (6-10 unità).

Si solubilizza nel doppio strato lipidico delle membrane e essendo un forte agente ossidante ha un ruolo chiave nel trasporto di elettroni attraverso i complessi della catena respiratoria mitocondriale.

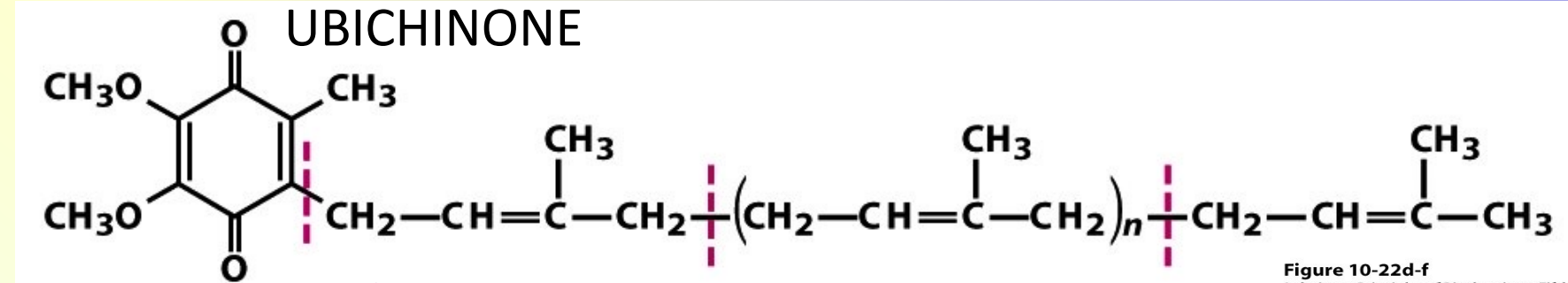
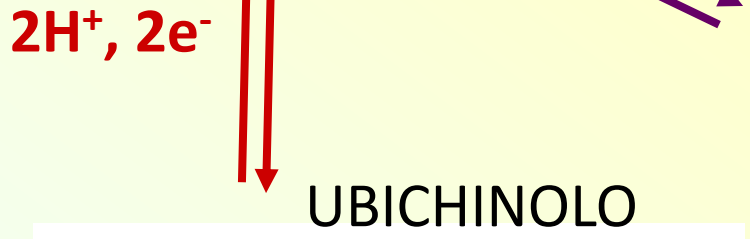
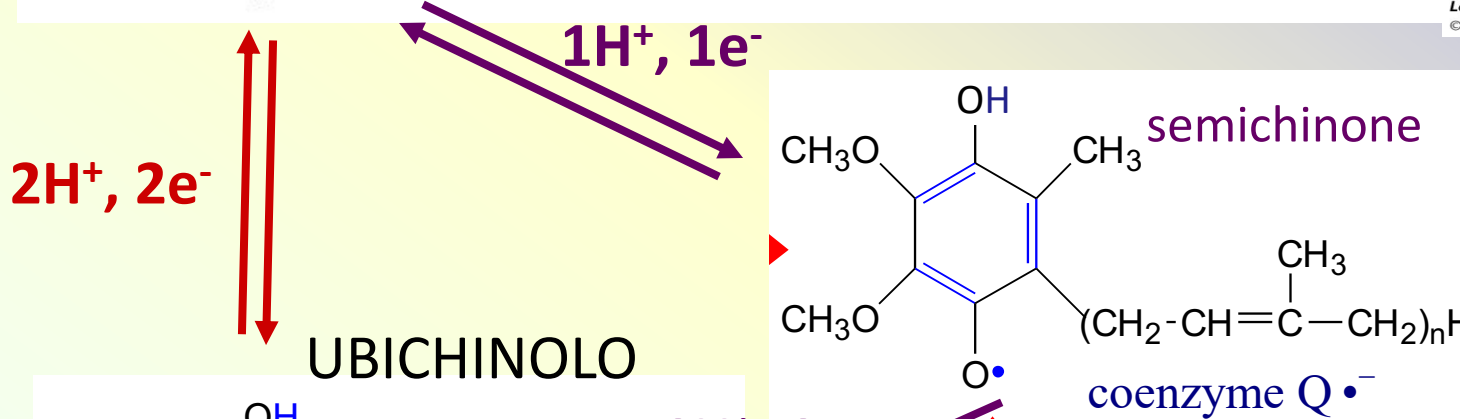


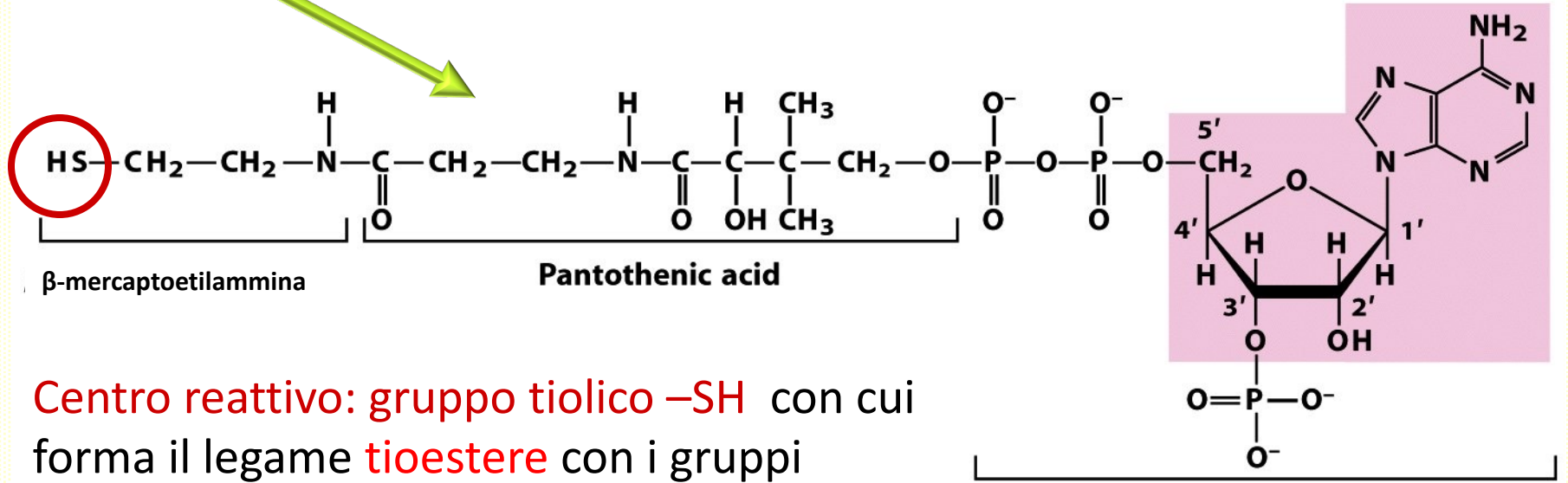
Figure 10-22d-f
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



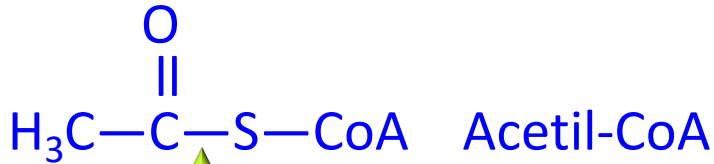
**Ossido-riduzione in 2 tappe
oppure in un'unica tappa**

COENZIMA A (HS-CoA) Trasferimento di gruppi acilici in reazioni di ossidazione di molecole energetiche e di biosintesi di carboidrati e lipidi.

Deriva dalla vitamina B5 (ac. pantotenico)

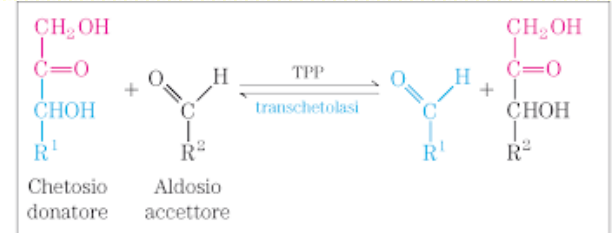
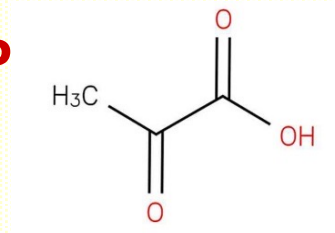


Centro reattivo: gruppo tiolico -SH con cui forma il legame **tioestere** con i gruppi acilici che trasferisce.



Quando si forma un legame tioestere viene conservata energia metabolica che può essere utilizzata per promuovere altri processi.

TIAMINA PIROFOSFATO (TPP)

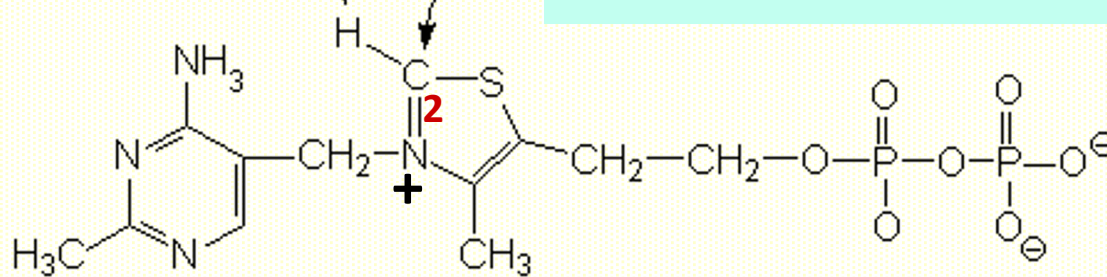


Deriva dalla tiamina (vitamina B₁)

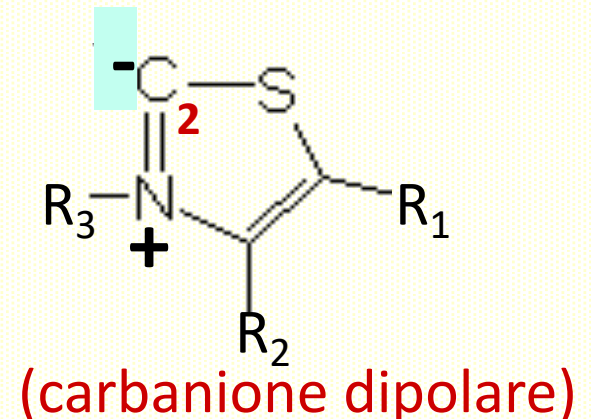
È il gruppo prostetico delle **decarbossilasi** (decarbossilazione degli α -chetoacidi). È anche il gruppo prostetico delle **transchetolasi** (trasferimento di un gruppo a 2 atomi di carbonio contenente una funzione C=O)

Protone dissociabile

Centro reattivo: C-2 dell'anello tiazolico

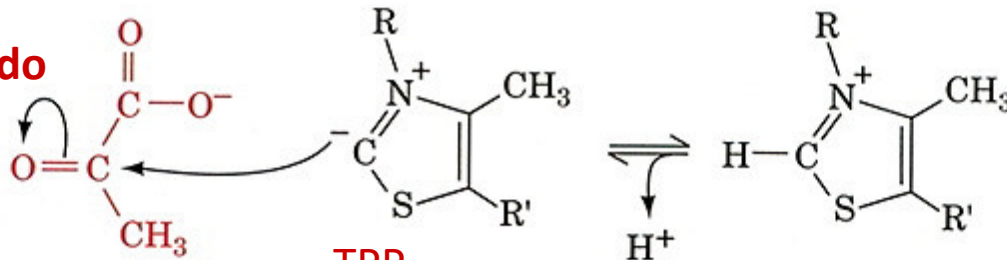


Il carbonio 2 dell'anello tiazolico è molto acido a causa dell'effetto elettronattrattivo esercitato dall'N con carica positiva e dallo zolfo in 1



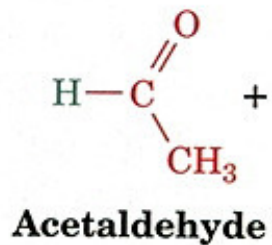
decarbossilazione degli α -chetoacidi

Piruvato
 α -chetoacido



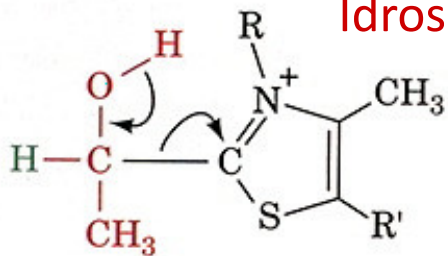
H^+ rimosso da un residuo basico dell'enzima Enz-B:

TPP
(carbanione dipolare)



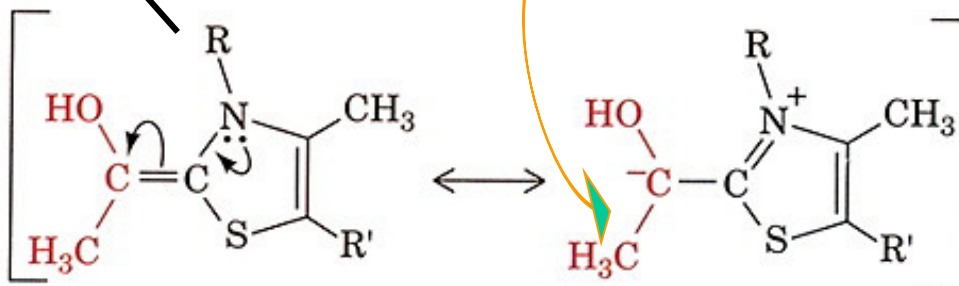
Acetaldehyde

Idrossietil-TPP



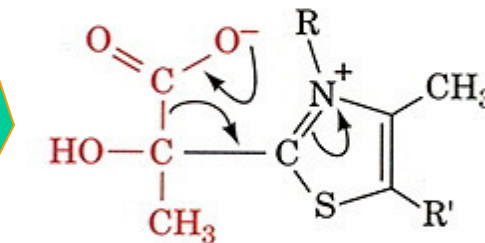
Protonazione del carbanione

Enz-B-H⁺



Resonance-stabilized carbanion

Attacco nucleofilo al carbonio carbonilico

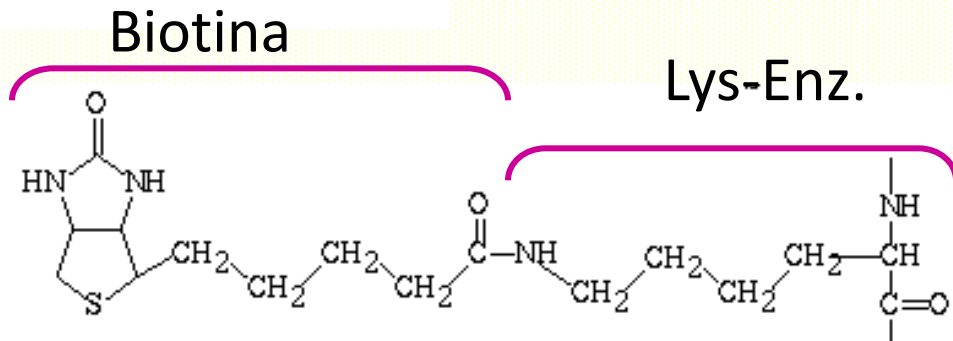
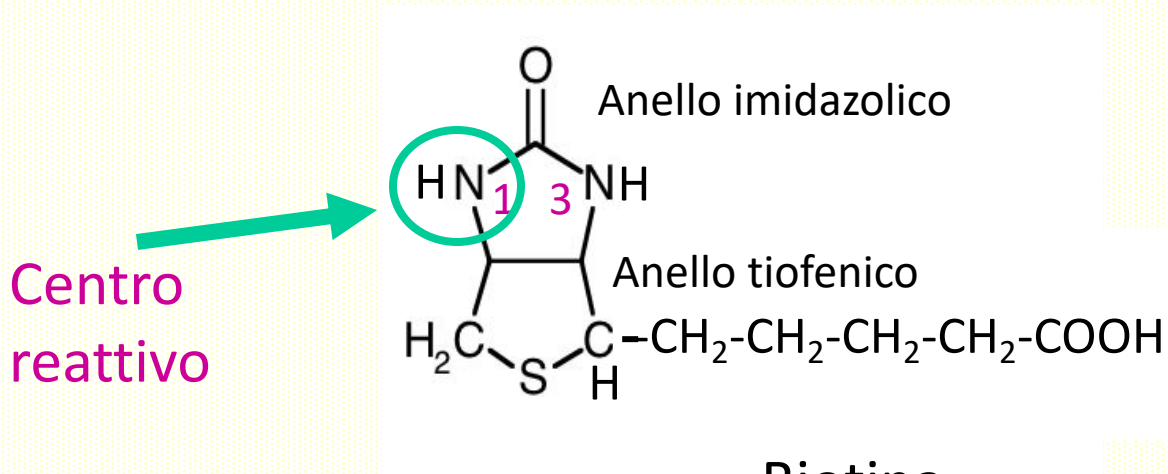


La presenza di un doppio legame nell'azoto quaternario favorisce l'allontanamento della CO_2 e la formazione di un addotto carbanionico

carbanione stabilizzato da risonanza

BIOTINA

Vitamina sintetizzata dai batteri intestinali e poi assorbita

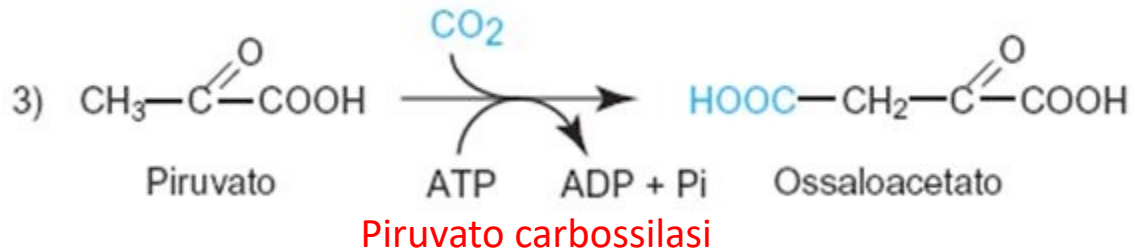
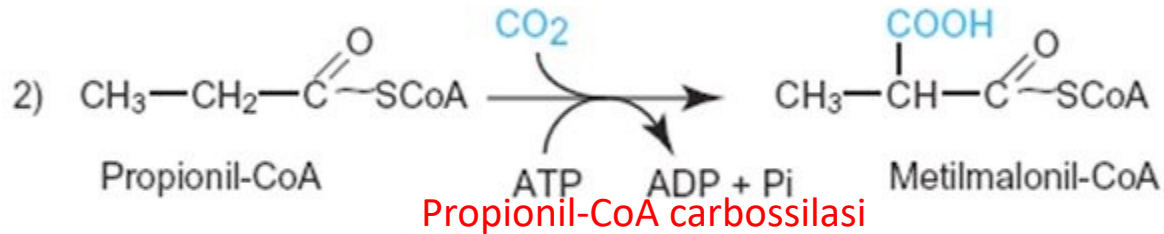
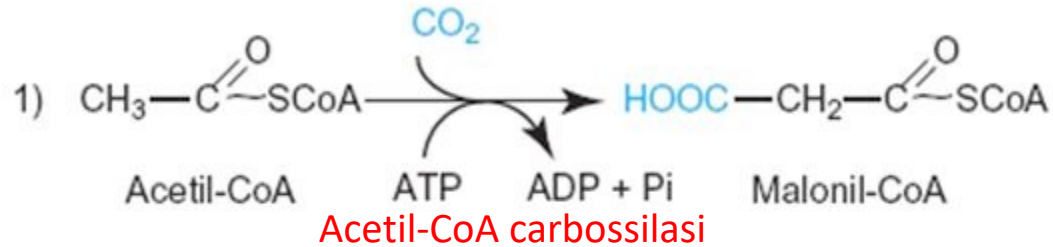


Si lega al sito attivo attraverso un legame carboammidico con un residuo di Lys dell'enzima.

È il **gruppo prostetico** di enzimi che catalizzano reazioni di carbossilazione ATP-dipendenti.

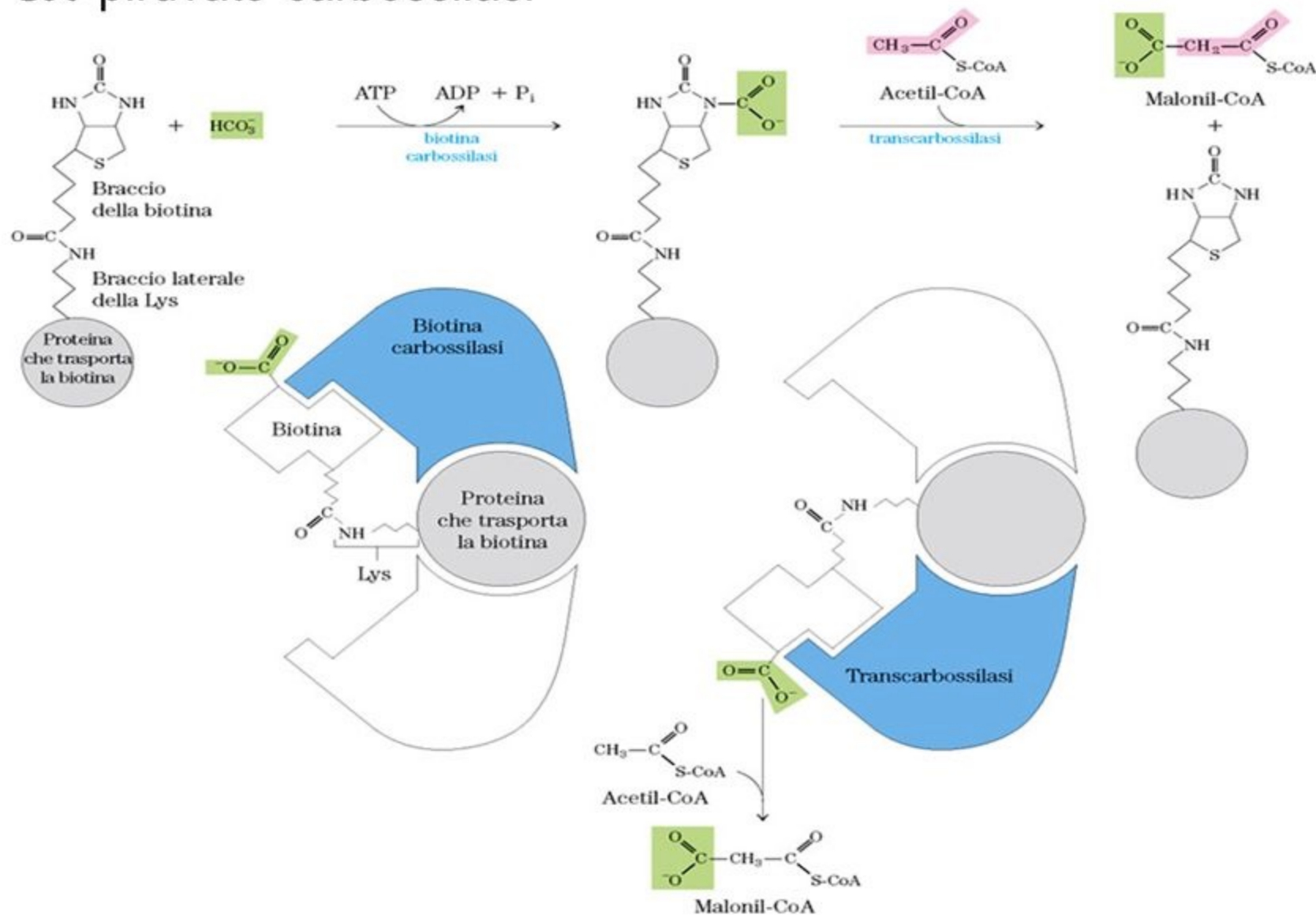
Vitamina B7 (Biotina) (3)

Carbossilasi che utilizzano biotina come cofattore



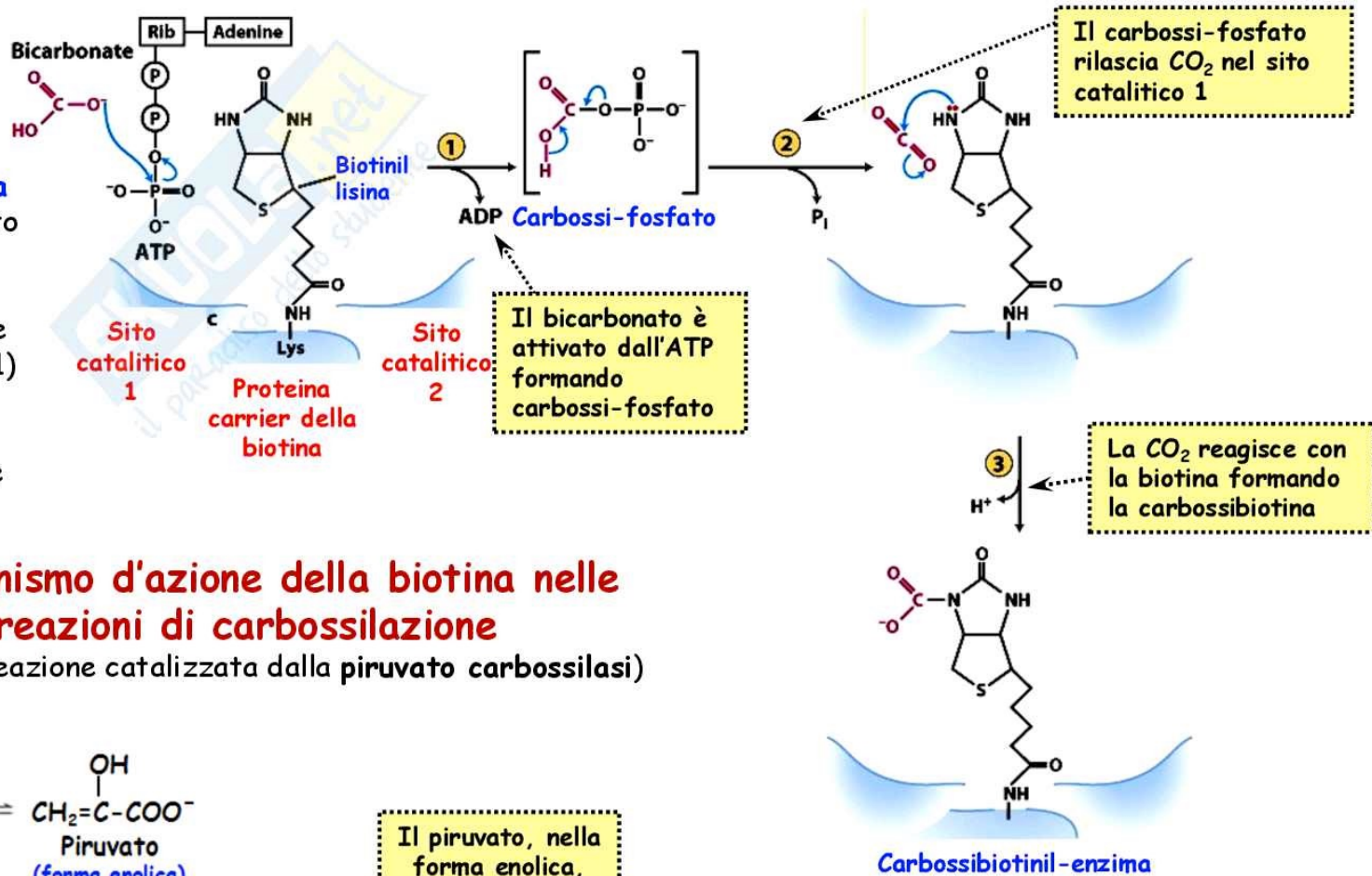
Vitamina B7 (Biotina) (4)

Es: piruvato carbossilasi



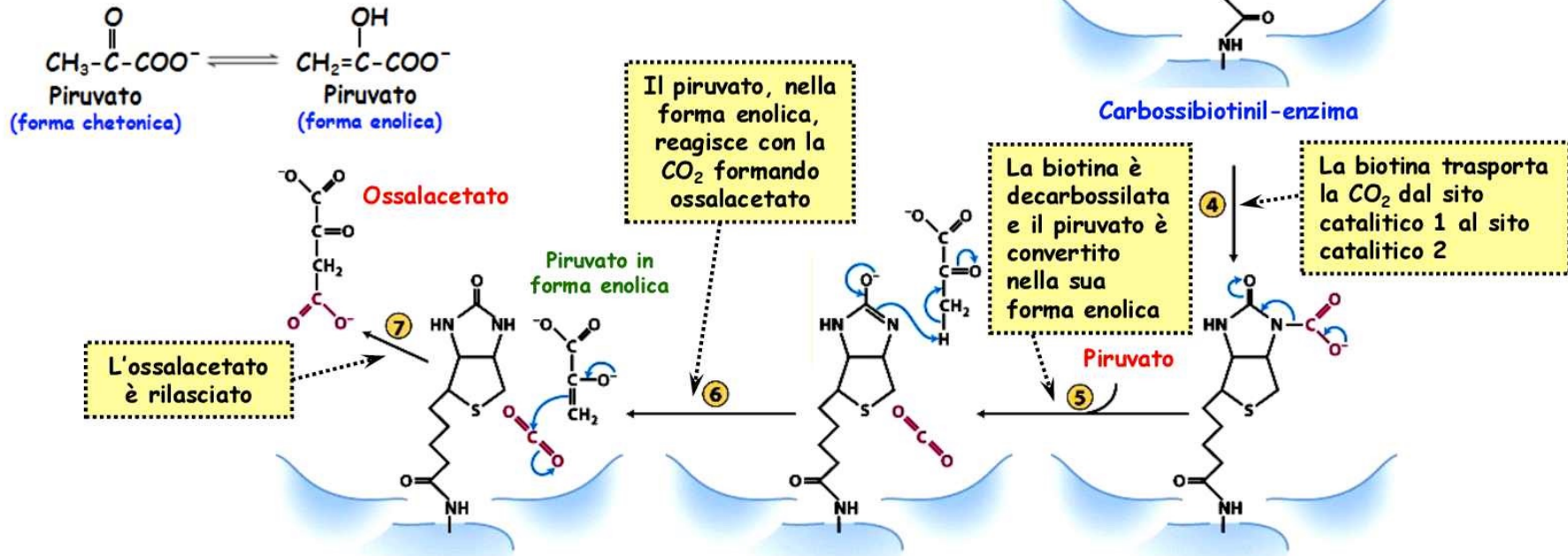
Le carbossilasi sono costituite da tre unità proteiche:

- la **proteina carrier della biotina**, che fa da supporto alla biotina
- la **biotina carbossilasi**, che catalizza la fissazione della CO_2 (sito catalitico 1)
- la **transcarbossilasi** che trasferisce il gruppo carbossilico sull'accettore (sito catalitico 2)



Meccanismo d'azione della biotina nelle reazioni di carbossilazione

(es. nella reazione catalizzata dalla piruvato carbossilasi)



PIRIDOSALE-FOSFATO (PLP)

Deriva dalla famiglia delle Vitamine B₆ (piridossale, piridossina)

Il PLP è il gruppo prostetico di enzimi che catalizzano **transamminazione**, **decarbossilazione**, racemizzazione (L→D) che coinvolgono **amminoacidi**.

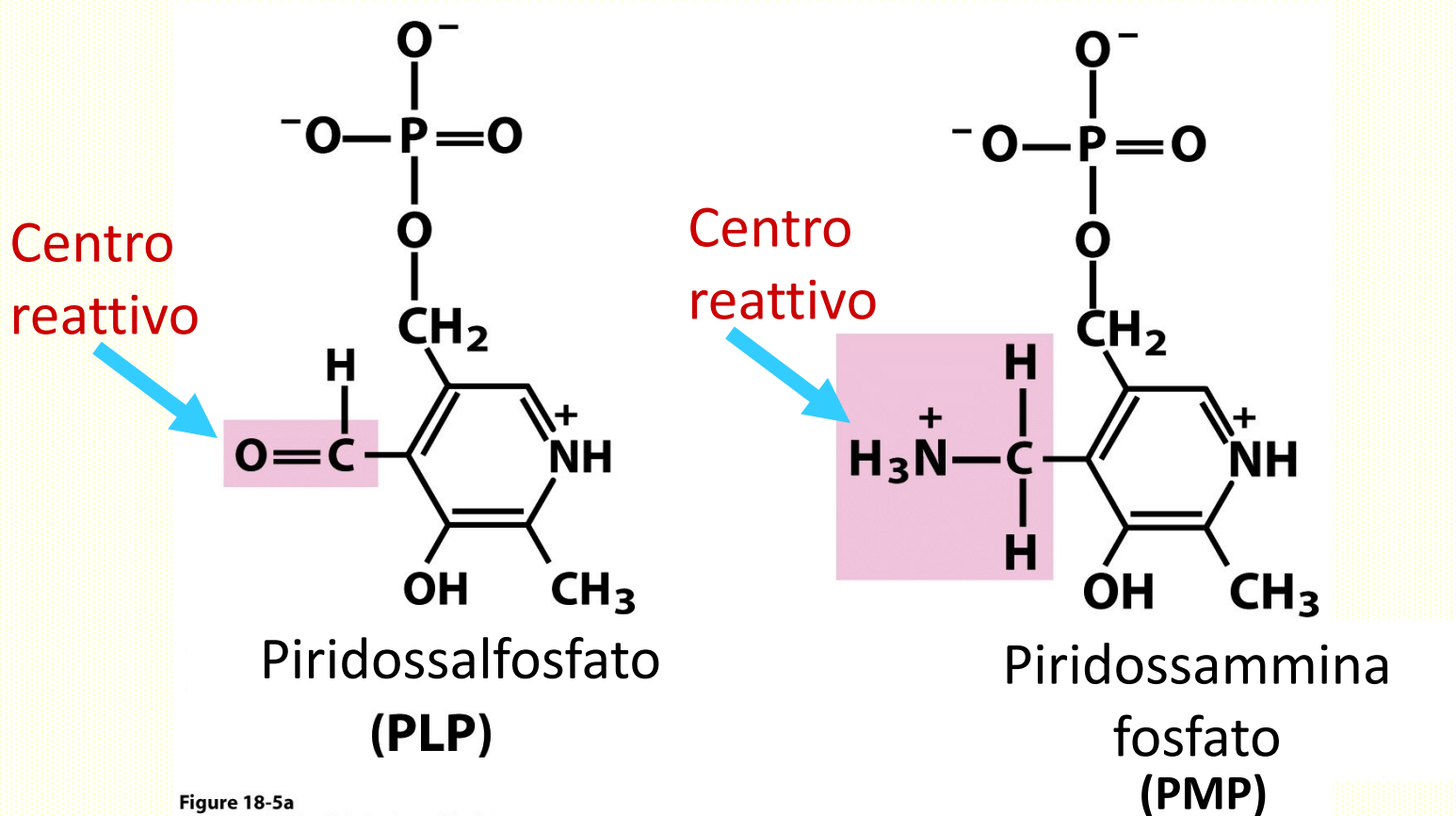
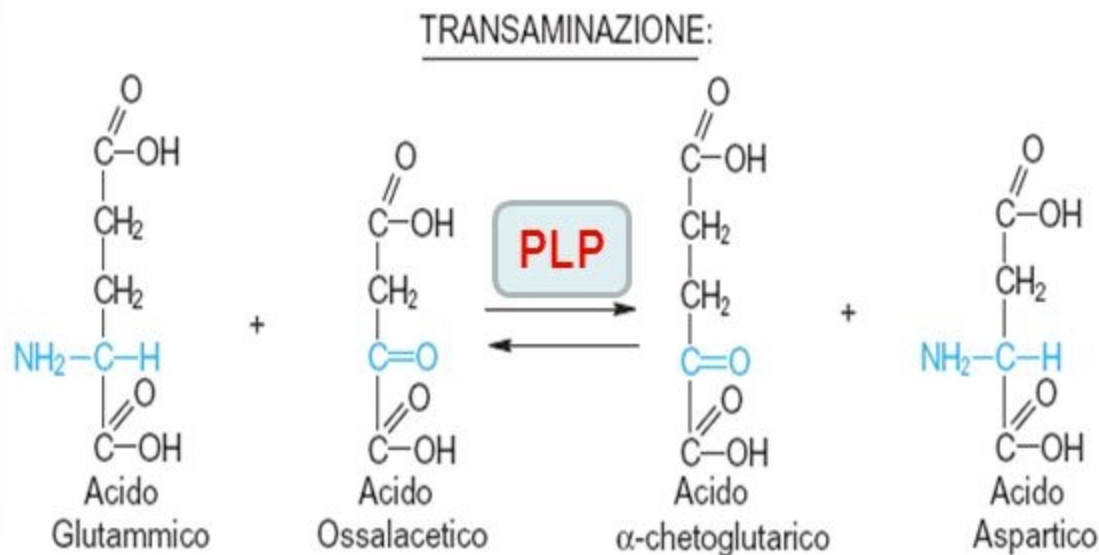
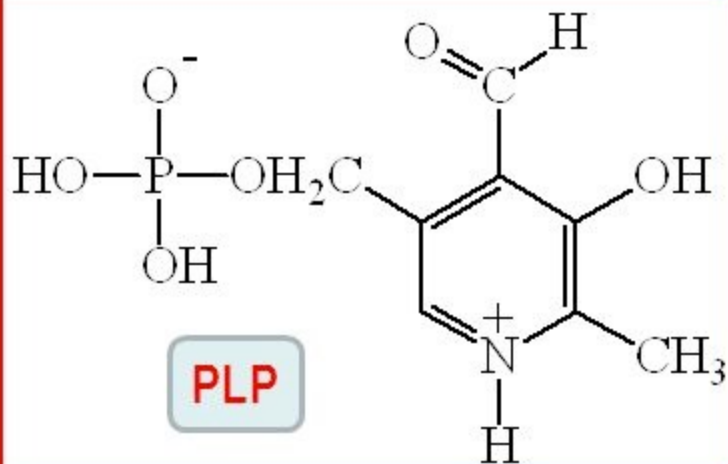


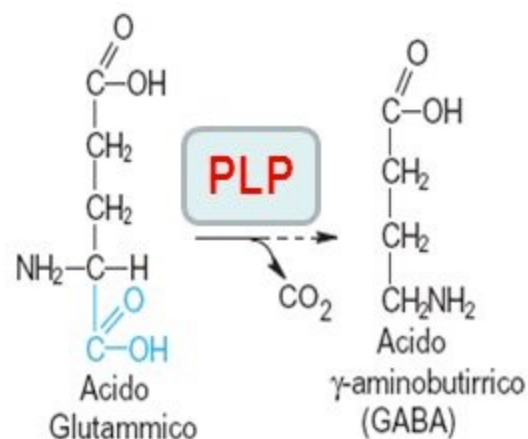
Figure 18-5a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Vitamina B6 (Piridossina) (2)

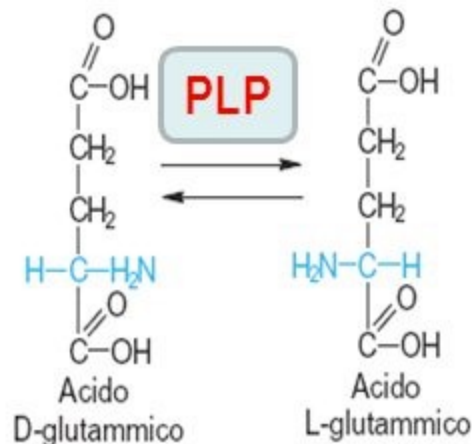
La forma attiva della vitamina B6 è il coenzima **piridossalfosfato (PLP)**



DECARBOSSILAZIONE:



RACEMIZZAZIONE:



La richiesta di vitamina B6 è proporzionale alla attività del metabolismo proteico. E' importante durante la gravidanza e l'allattamento

Le reazioni di **TRANSAMMINAZIONE PLP dipendenti** catalizzate dalle transamminasi o amminotransferasi sono reazioni a ping-pong a due substrati.

Il **gruppo amminico di un aminoacido** è trasferito su un **α -chetoacido**, l'amminoacido diventa α -chetoacido e l' α -chetoacido diventa aminoacido.

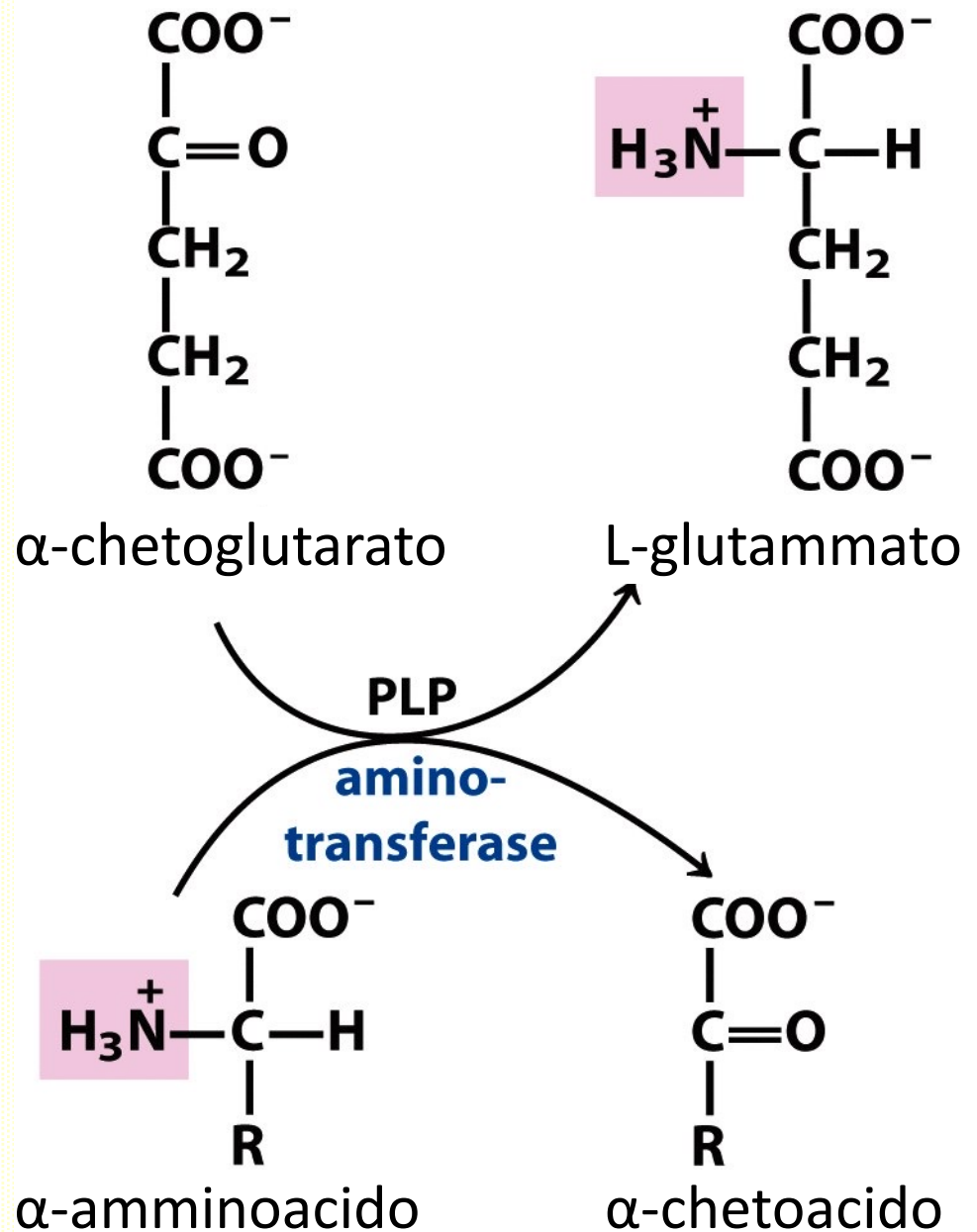


Figure 18-4

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Quando l'enzima è "a riposo" il PLP è legato all'enzima mediante un **Base di Schiff** che si forma fra il gruppo aldeidico del PLP e l' ϵ -amminogruppo di un residuo di Lys del sito attivo (Aldimina interna)

<https://www.youtube.com/watch?app=desktop&v=61ZVXmh6ae0>

3 STEPS:

- 1) Transamminazione
- 2) Trasferimento protonico
- 3) Idrolisi

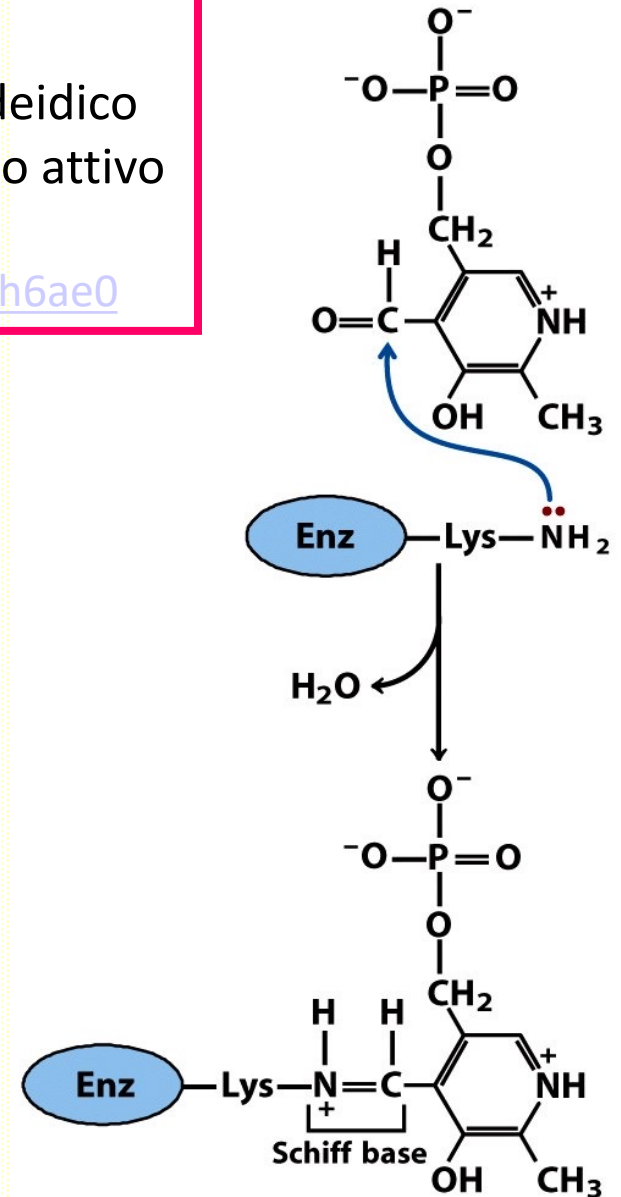


Figure 18-5b

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

1) Transamminazione

Il **passaggio iniziale** di tutte le reazioni enzimatiche PLP dipendenti che coinvolgono gli aminoacidi prevede l'ingresso dell'amminoacido nel sito attivo dell'enzima e la formazione di un'**aldimmina esterna (1^a base di Schiff)**. Il gruppo aldeidico del PLP si lega al **gruppo α -amminico** dell'amminoacido.

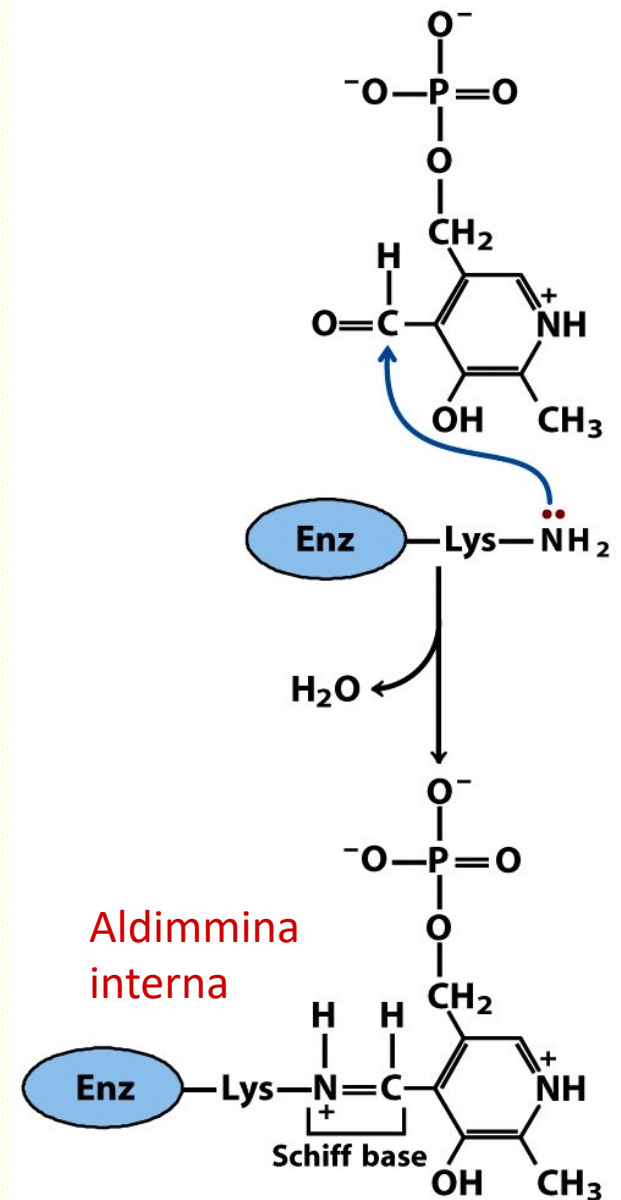
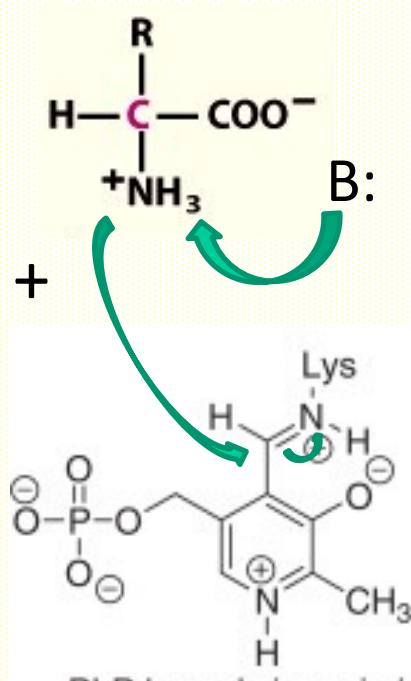
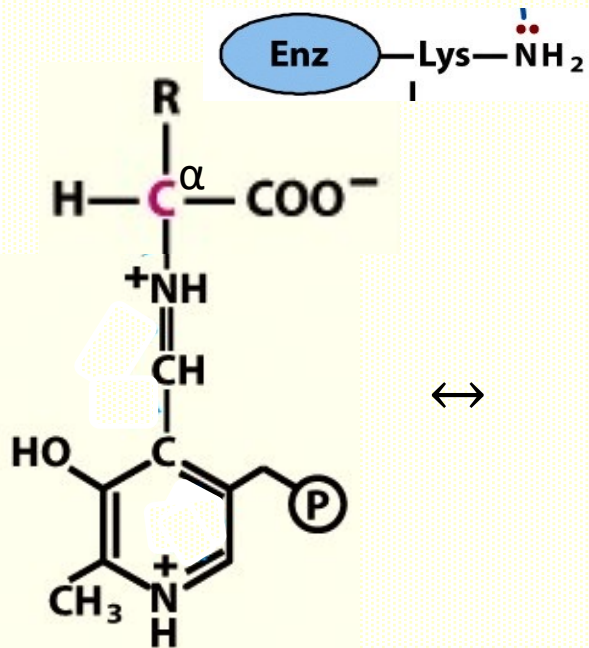
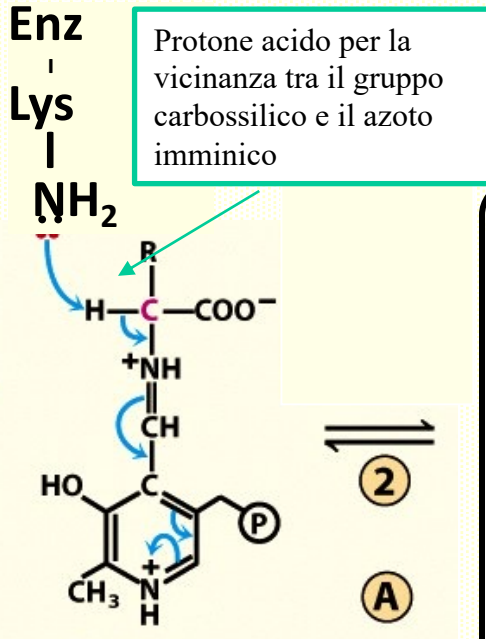


Figure 18-5b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

aldimmina esterna - 1^a base di Schiff

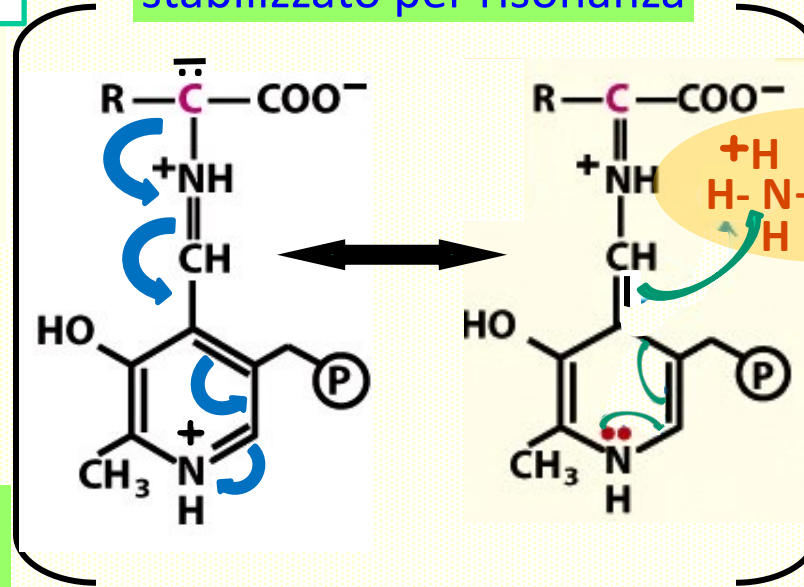
2) Trasferimento protonico



Aldimmina esterna 1^a base di Schiff

Le transaminasi rimuovono un protone dal C-α per mezzo di un residuo di Lys del sito attivo dell'enzima. La deprotonazione porta alla formazione di un carbanione che viene stabilizzato per risonanza

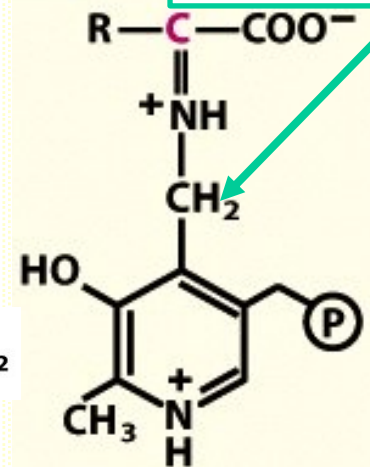
Si forma un Carbanione stabilizzato per risonanza



L'Enz. cede un H⁺ al C del centro reattivo del PLP

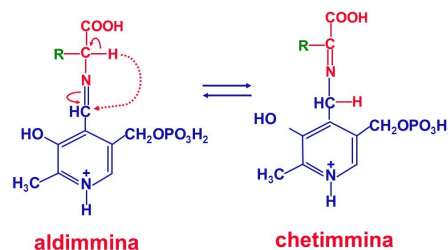
riarrangiamento

Il protone in alfa preso dall'enzima nello step precedente viene ricollocato sul coenzima

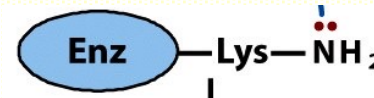


Chetimmina 2^a base di Schiff

L'anello piridinico positivo funziona da trappola di elettroni e stabilizza per risonanza il carbanione che si

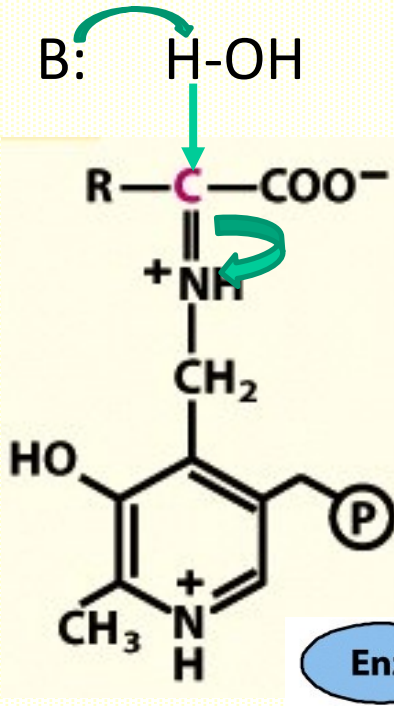


Le aldimmine possono essere primarie e hanno formula generale R-CH=N-H o secondarie e hanno formula generale R-CH=N-R' che anche dette basi di Schiff; le chetimmine possono essere primarie e hanno formula generale RR'C=N-H o secondarie e hanno formula generale RR'C=N-R''.

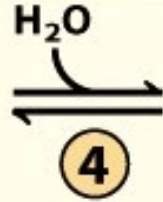


3) Idrolisi

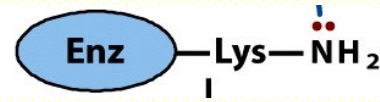
Una molecola d'acqua attivata attacca il carbonio formando un intermedio tetraedrico che poi viene idrolizzato



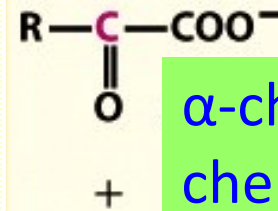
Idrolisi della 2^a base di Schiff



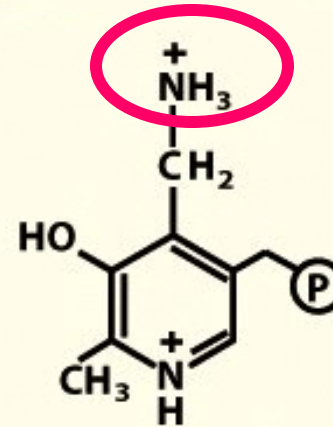
Chetimmina



Enzima libero



α -cheto acido che si dissocia



Piridossammina-fosfato (PMP)

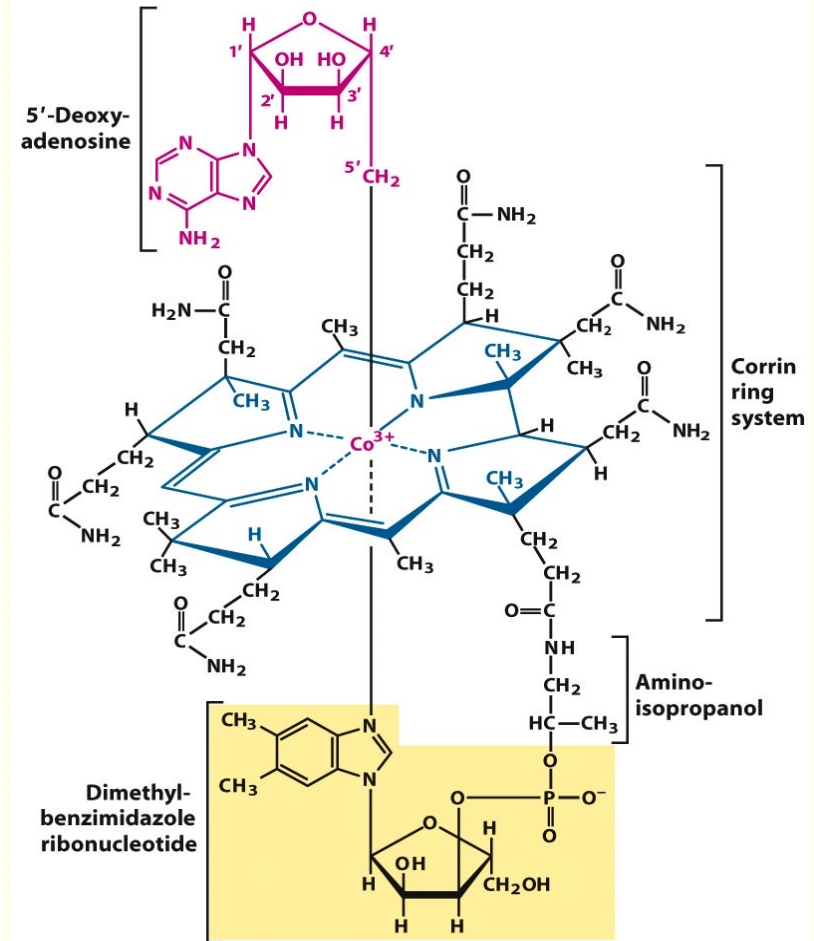
Il **gruppo amminico** della PMP viene trasferito in una **seconda fase** su un **secondo α -cheto acido** attraverso una serie di passaggi **inversi a quelli visti sinora**: si ottiene un nuovo aminoacido e si rigenera il PLP

COBALAMMINA

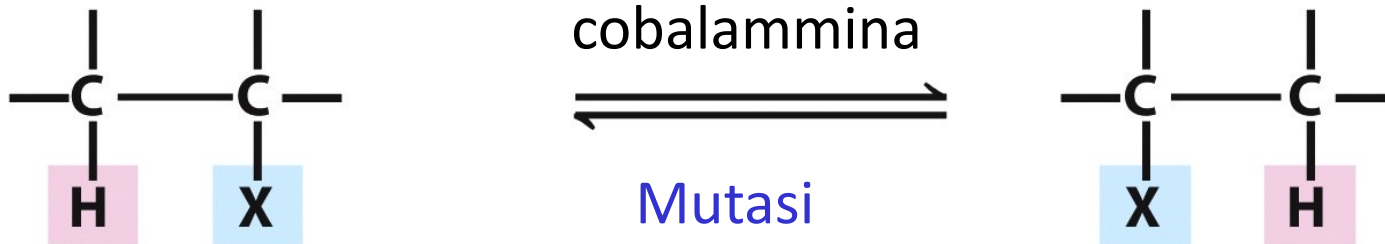
Vitamina B₁₂

Sintetizzata da alcune specie di batteri e assunta dall'uomo con alimenti di origine animale. È assorbita dalla mucosa intestinale grazie ad un fattore intrinseco.

Prende parte a reazioni di **ri-arrangiamento intramolecolare** di tipo radicalico, **catalizzate da mutasi o transferasi**



Box 17-2 figure 2



Box 17-2 figure 1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

LIPOAMMIDE

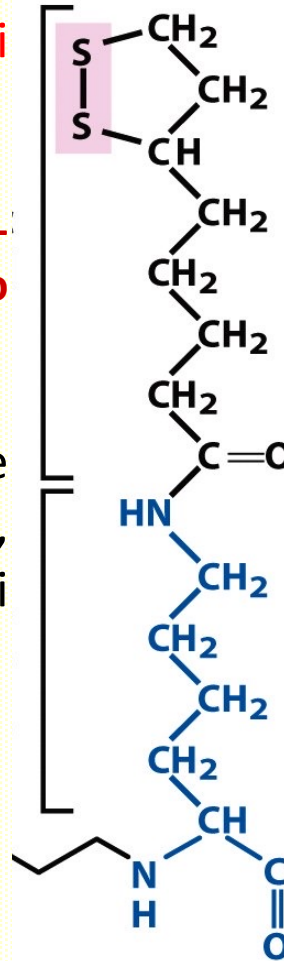
Acido LIPOICO: acido carbossilico a 8 atomi di carbonio con due **gruppi tiolici** in C-6 e C-8.

Viene sintetizzato dagli animali.

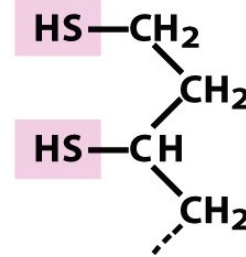
Si lega con **legame ammidico** all' ϵ -amminogruppo di una Lys del sito attivo.

È il gruppo prostetico delle **diidrolipoammidi aciltransferasi**, enzimi che fanno parte di complessi multienzimatici (piruvato-deidrogenasi, α -chetoglutarato deidrogenasi)

Forma ossidata

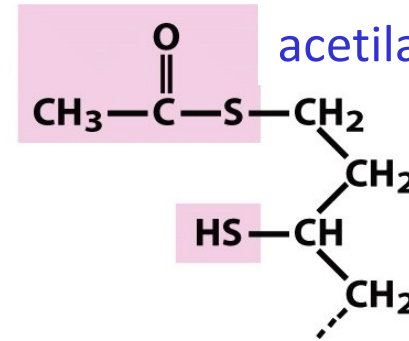


Forma ridotta



Funziona come un braccio oscillante che **trasferisce gruppi acilici**

Forma acetilata



VITAMINA	ALTRI NOMI	FORMA ATTIVA	FUNZIONE
Acido folico	—	Acido tetraidrofolico	Trasferisce unità monocarboniose Sintesi della metionina, delle purine e della timina
Vitamina B ₁₂	Cobalamina	Metilcobalamina Deossiadenosil-cobalamina	Cofattori delle reazioni: Omocisteina → Metionina Metilmalonil CoA → Succinil CoA
Vitamina C	Acido ascorbico	Acido ascorbico	Antiossidante Cofattore in reazioni di idrossilazione, per esempio nel procollagene: Prolina → Idrossiprolina Lisina → Idrossilisina
Vitamina B ₆	Piridossina Piridossamina Piridossale	Piridossal fosfato	Cofattore enzimatico, in particolare nel metabolismo degli amminoacidi
Vitamina B ₁	Tiamina	Tiamina pirofosfato	Cofattore degli enzimi che catalizzano: Piruvato → Acetil CoA α-Chetoglutarato → Succinil CoA Ribosio 5-P + Xilulosio 5-P → Sedoepitulosio 7-P + Gliceraldeide 3-P
Niacina	Acido nicotinico Nicotinamide	NAD ⁺ , NADP ⁺	Trasferimento di elettroni
Vitamina B ₂	Riboflavina	FMN, FAD	Trasferimento di elettroni
Biotina	—	Biotina legata agli enzimi	Reazioni di carbossilazione
Acido pantotenico	—	Coenzima A	Trasportatore di gruppi acilici
IDROSOLUBILI			
LIPOSOLUBILI			
Vitamina A	Retinolo Retinale Acido retinoico β-Carotene	Retinolo Retinale Acido retinoico	Mantenimento della funzione riproduttiva Visione Differenziamento e conservazione dei tessuti epiteliali Espressione genica
Vitamina D	Colecalciferolo Ergocalciferolo	1,25-diidrossi-colecalciferolo	Assunzione del calcio
Vitamina K	Menadione Menachinone Fillochinone	Menadione Menachinone Fillochinone	γ-Carbossilazione dei residui di glutammato dei fattori della coagulazione e di altre proteine
Vitamina E	α-Tocoferolo	Vari derivati del tocoferolo	Antiossidante

CARENZA	SEGNI E SINTOMI	TOSSICITÀ	NOTE
Anemia megaloblastica Difetti del tubo neurale	Anemia Difetti congeniti	Nessuna	La somministrazione di dosi elevate di folati può mascherare una carenza della vitamina B ₁₂
Anemia perniciosa Demenza Degenerazione spinale	Anemia perniciosa Sintomi neuropsichiatrici	Nessuna	L'anemia perniciosa si tratta con la somministrazione per via IM o con dosi elevate per via orale
Scorbuto	Gengive irritate e di consistenza spugnosa Allentamento dei denti Cicatizzazione difficoltosa	Nessuna	I benefici derivanti dalla somministrazione non sono stati accertati con sperimentazioni controllate
Rara	Glossite Neuropatia	SI	La carenza può essere indotta dall'isoniazide La neuropatia sensoriale si verifica a dosi elevate
Beriberi Sindrome di Wernicke-Korsakoff (specialmente tra gli alcolisti)	Tachicardia, vomito, convulsioni Apatia, perdita della memoria, nistagmo	Nessuna	—
Pellagra	Dermatite Diarrea Demenza	Nessuna	La niacina a dosi elevate è impiegata nel trattamento dell'iperlipidemia
Rara	Dermatite Stomatite angolare	Nessuna	—
Rara	—	Nessuna	Il consumo di grandi quantità di albume d'uovo crudo (contenente la proteina avidina, che lega a sé la biotina) può indurre una carenza della biotina
Rara	—	Nessuna	—
IDROSOLUBILI			
LIPOSOLUBILI			
Impotenza Cecità notturna Ritardo dell'accrescimento Xeroftalmia	Aumento della soglia visiva Secchezza corneale	SI	Il β-carotene è privo di tossicità acuta, ma l'assunzione di un supplemento non è indicata Un eccesso di vitamina A può far aumentare l'incidenza delle fratture
Rachitismo (nei bambini) Osteomalacia (negli adulti)	Ossa tenere e flessibili	SI	La vitamina D non è una vera e propria vitamina, perché può essere sintetizzata nella pelle. Se si applicano dei prodotti che schermano dalla radiazione solare o se la pelle è scura, la sintesi è ridotta
Nei neonati Rara negli adulti	Sanguinamento	Rara	La vitamina K è prodotta dai batteri intestinali La carenza della vitamina K è comune nei neonati Si raccomanda la somministrazione per via parenterale della vitamina alla nascita
Rara	Fragilità dei globuli rossi, che comporta un'anemia emolitica	Nessuna	I benefici derivanti dalla somministrazione non sono stati accertati con sperimentazioni controllate