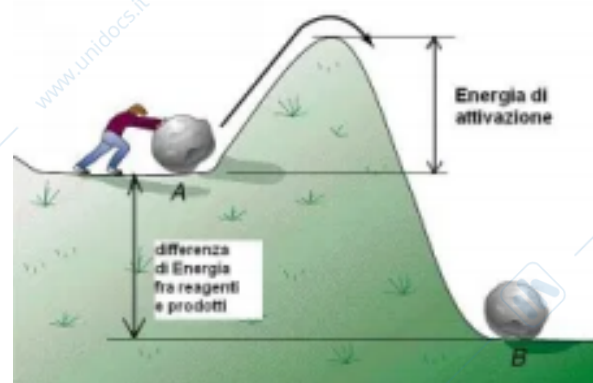


## ENZIMI-ENERGIA DI ATTIVAZIONE E STATO METASTABILE

Anche una reazione esoergonica ha bisogno di un input energetico iniziale per poter superare la barriera di energia di attivazione che qui è rappresentato come un piccolo dosso. D'altra parte, bisogna considerare che in un sistema biologico non tutte le reazioni sulla "carta" spontanee necessariamente avvengono con una velocità apprezzabile perché è probabile che abbiano un'energia di attivazione da superare o perché comunque pur spontanea avverrebbero con una lentezza enorme e non compatibile con gli altri processi.

Intanto questa immagine è quella che descrive un processo .

la parte centrale è quella che simula la presenza di un dosso energetico, una sorta di ostacolo energetico che impedisce al processo di procedere direttamente ed è una situazione in cui il masso non può liberamente scivolare giù dalla posizione A alla posizione B ma deve prima valicare questa barriera che ,nel caso della caduta di un masso in un campo gravitazionale, è una barriera di energia potenziale. il masso,quindi, pur avendo in A un'energia potenziale maggiore rispetto a B (processo endoergonico)non può passare linearmente dalla posizione A alla posizione B perchè c'è questo ostacolo energetico da superare.



Quindi anche per le reazioni esoergoniche esiste questa barriera, ma non solo, anche nelle barriere chimiche, in questo grafico troviamo rappresentato simbolicamente una reazione chimica di composti A B e C D. Perché da A B si formi A C e B D come due entità di prodotti differenti , è necessario che in uno stato di transizione, cioè in una condizione in cui i reagenti a cui è stata trasferita energia iniziano a vibrare (infatti i legami sono stati rappresentati in modo ondulato), fa capire che quel legame che prima era saldo in condizione dei reagenti inizia ad essere debole e proprio perché gli viene trasferita energia ,allora i legami iniziano a vibrare ed indebolirsi e si romperanno in esito della trasformazione chimica e quindi, nella condizione di prodotti A e C stabiliscono dei nuovi legami, come pure B e D e i vecchi legami vengono rotti. I prodotti sono ad un livello energetico più basso rispetto ai reagenti. Questo vuol dire che la trasformazione è di tipo esoergonico perché il  $\Delta G$  della reazione è negativo. Questo è un modo di dire che anche in chimica ci sono reazioni esoergoniche che hanno bisogno di un input energetico che faccia loro superare lo stato di transizione e che questa condizione è particolarmente importante nella cellula

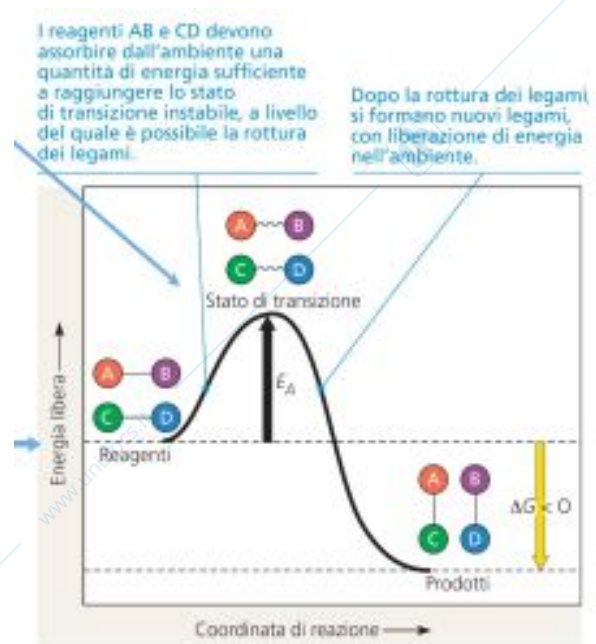
e lo stato energetico dei reagenti è detto **stato metastabile**, ciò significa che garantisce una certa **stabilità transitoria** a dire che sono molecole che potenzialmente possono trasformarsi in prodotti, però lo possono fare solo se ci sono le condizioni di valicazione dell'energia di attivazione. lo stato metastabile è una condizione in cui siamo pronti per partire ma non partiamo ancora perché servono gli enzimi.

L'energia di attivazione è molto importante perché permette un controllo delle trasformazioni biologiche che non devono all'interno della cellula poter procedere indiscriminatamente solo in virtù di leggi chimiche o termodinamiche, ma queste trasformazioni devono poter essere controllate da chi controlla l'altezza di questo valico da superare. Accanto al termine stato metastabile impariamo anche un altro termine, cioè lo **stato stazionario** che individua una condizione in cui dei reagenti sono potenzialmente adatti a trasformarsi in prodotti ma questo può avvenire soltanto quando un'entità che velocizza la reazione, cioè un catalizzatore enzimatico lo permette e ciò significa due cose:

**1-è disponibile molecularmente**

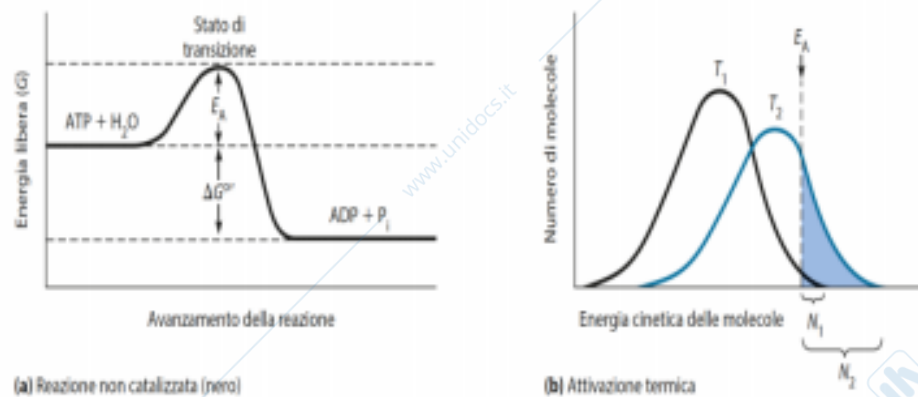
**2-è in forma attiva**

Quindi molto importante è che ci siano dei costituenti allo stato metastabile, cioè pronti per essere trasformati ma comunque in attesa del catalizzatore e che sia disponibile una risorsa di energia che faccia valicare i reagenti lo stato di transizione. A proposito di valicazione di questa barriera energetica è importante riflettere su come in un sistema biologico l'enzima sia di fondamentale importanza perché questo dislivello venga valicato.



Qui poi viene paragonata una stessa reazione che viene fatta svolgere in modo chimico e la stessa reazione che viene svolta in modo biochimico. Questa è una reazione esoergonica in cui i reagenti sono a livello energetico più alto rispetto ai prodotti ed è presente comunque questa barriera energetica dello stato di transizione. In una reazione chimica che è quella riportata a destra, si può aumentare la temperatura dei reagenti perché la reazione proceda verso destra, quindi per aiutare i reagenti a trasformarsi in prodotti. In questa trasformazione si può vedere una linea tratteggiata che

è la barriera di trasformazione ovvero la linea di confine superata la quale le molecole contenute al di sotto delle due curve T1 e T2



hanno

un'energia sufficiente per reagire. Con T1 minore di T2, quindi con una temperatura più bassa, il numero di molecole che possono reagire sono quelle appartenenti a questo piccolo tratto di curva, se aumentiamo la temperatura, aumentiamo l'energia cinetica delle molecole e tutta quest'area celeste sarà quella delle molecole più numerose che riescono a reagire. Quindi in una reazione esotermica basta aumentare la temperatura e fornire calore per aiutare la reazione a procedere da sinistra verso destra.

In un sistema biologico (figura a sinistra) però questo non lo possiamo fare perché le cellule sono sistemi isotermici che si avvantaggiano della presenza dell'acqua proprio per tamponare le differenze di temperatura, quindi nelle cellule il calore non può aiutare le reazioni biochimiche a procedere, ma serve un'alternativa. L'alternativa è appunto il **catalizzatore enzimatico**, ovvero una macromolecola che permette di velocizzare una reazione, non aumentando la temperatura, ma abbassando l'energia di attivazione, in modo tale che con una risorsa energetica minore è possibile per il processo procedere da sinistra verso destra e valicare una barriera energetica molto più bassa. Gli enzimi accelerano le reazioni metaboliche proprio grazie alla loro capacità di abbassare l'energia di attivazione.

## GLI ENZIMI SONO DEI CATALIZZATORI BIOLOGICI

### Come fa l'enzima a far abbassare l'energia di attivazione?

- L'enzima rende il reagente più prestante nella sua trasformazione e questo significa che molte volte viene formato un complesso ternario che permette alle molecole coinvolte nel processo di trasformazione di trovarsi vicine grazie alla presenza dell'enzima che è una macromolecola capace di accogliere più molecole e quindi avvicinandole e poi deformandole, a volte creando un intermedio reattivo riescono a giungere uno step di trasformazione che è come una sorta di molla carica e che è molto reattiva e prestante nel trasformarsi. Questo però non significa che la presenza di un enzima trasformi una reazione endoergonica in una esoergonica, ma l'unica cosa che può fare è abbassare l'energia di attivazione, il delta G della reazione rimane comunque dello stesso segno.

Inoltre prima parlando di stato metastabile, gli enzimi sono dei controllori della trasformazione proprio perché solo loro sono in grado di abbassare l'energia di attivazione e di far procedere la reazione, per cui solo con la loro presenza in forma attiva la reazione può andare avanti e questo significa solo nel momento in cui è disponibile il giusto enzima. Ci sono quindi dei rapporti di specificità di grande importanza. In questo grafico si porta a confronto che la trasformazione chimica prima descritta avviene variando la temperatura e la trasformazione biochimica abbassa l'energia di attivazione, nel grafico di destra abbassare l'energia di attivazione significa spostare la linea tratteggiata di confine verso sinistra ovvero verso un valore di energia cinetica minore richiesta perché l'urto sia efficace, affinché la trasformazione possa avvenire. Non a caso in questo esempio, la stessa reazione catalizzata può avvenire per un ampio numero di molecole, mentre se la reazione non fosse catalizzata le molecole che si potrebbero trasformare sarebbero poche.



Figura 8.14 Effetto di un enzima sull'energia di attivazione. Senza modificare il valore della variazione di energia libera ( $\Delta G$ ) della reazione, un enzima accelera la reazione stessa riducendone l'energia di attivazione ( $E_A$ ).

## Quali sono le caratteristiche delle proteine enzimatiche?

Sono varie:

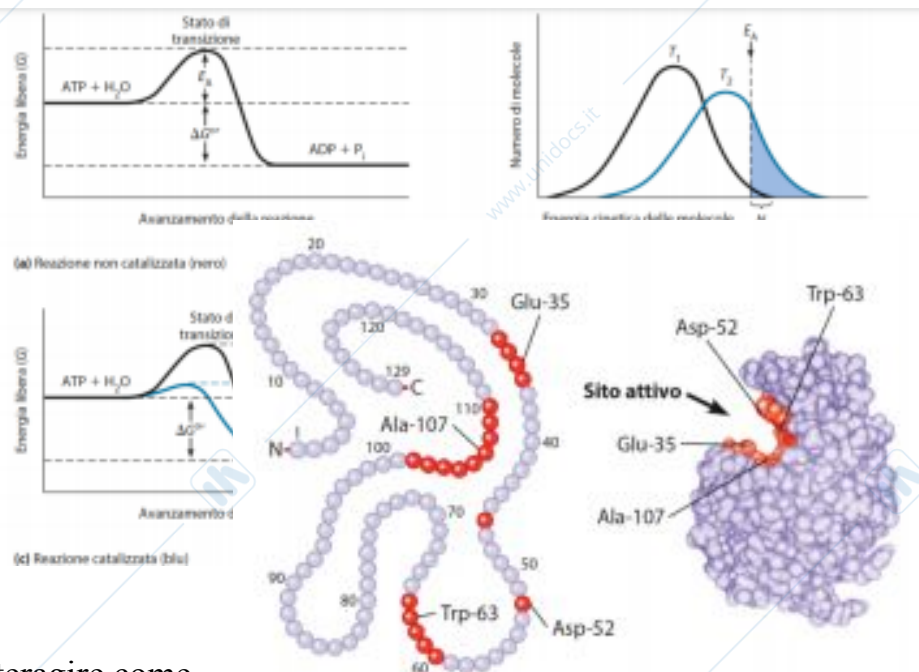
- la prima relativa al **sito attivo** che è localizzato in una regione dello spazio (dominio catalitico), il quale individuerà la zona della proteina in cui si trovano riavvicinati amminoacidi anche molto distanti nella struttura primaria. L'avvolgimento è dovuto ai residui amminoacidici che stabiliscono interazioni apolari, polari, legami idrogeno.. che impongono una certa conformazione alla proteina; una conformazione che però non è cristallizzata, non è immobile, anzi è mobile e flessibile perché con la rottura e la nuova formazione dei tanti legami deboli, questa proteina enzimatica può adattarsi alla forma del substrato che viene accolto nel sito catalitico. Il substrato non è altro che il reagente di una reazione enzimatica, quindi quando il substrato si avvicina all'enzima, quest'ultimo si modifica un po' nella sua forma e induce una trasformazione strutturale anche nella molecola (adattamento indotto, una modificazione strutturale reciproca di substrato e enzima).

-L'enzima può contenere anche dei **cofattori** che sono delle molecole non proteiche che sono associate alla proteina enzimatica e questi fattori possono essere dei **gruppi prostetici** o anche **vitamine (coenzimi)**;

-Un'altra caratteristica è la **specificità di substrato**, un enzima ha un suo substrato

specifico che riconosce sulla base della forma e della presenza di gruppi funzionali che hanno

caratteristiche di polarità diverse e che quindi possono interagire come piccole calamite con il sito catalitico. La forma è fondamentale al punto che, ad esempio, due isomeri, come il fumarato e il maleato, non sono substrati dello stesso enzima e ciò significa che affinché una

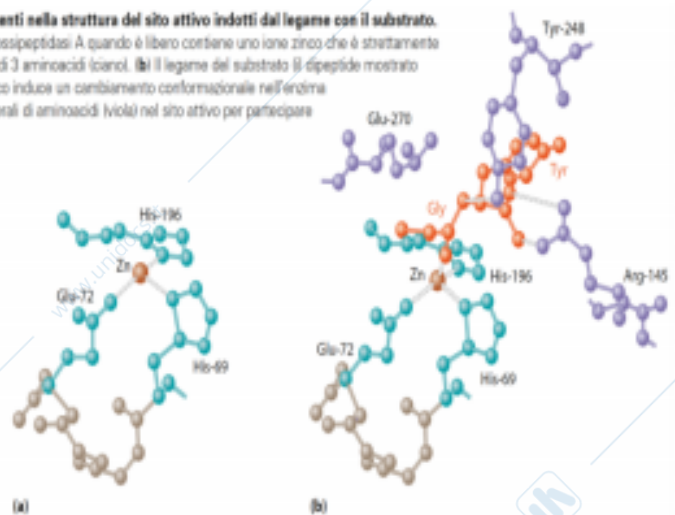


**FIGURA 6.2** Sito attivo del lisozima. (a) Nella struttura primaria del lisozima distesi i 4 residui amminoacidici che sono importanti per il legame al substrato e la catalisi sono distanti. (b) Quando il lisozima si ripiega nella sua struttura terziaria attiva, questi residui si ritrovano vicini a formare il sito attivo.

cellula possa mandare avanti il suo programma metabolico ha bisogno di una quantità elevata di enzimi.

la figura di fianco mostra come una proteina avvolta nella sua struttura terziaria possa avere un sito catalitico nel quale si insinua il substrato che quando entra a contatto con la proteina enzimatica ne modifica un po' la forma, anche se non tanto. Questo perché la proteina si richiuda su di essa quindi più residui amminoacidici tocchino diversi punti della molecola che deve essere trasformata.

**FIGURA 6.6** Cambiamenti nella struttura del sito attivo indotti dal legame con il substrato. (a) Il sito attivo della carbossipeptidasi A quando è libero contiene uno ione zinco che è strettamente legato alle catene laterali di 3 amminoacidi (ciano). (b) Il legame del substrato (il dipeptide mostrato in arancione) allo ione zinco induce un cambiamento conformazionale nell'enzima che porta altre catene laterali di amminoacidi (violetti) nel sito attivo per partecipare alla catalisi.



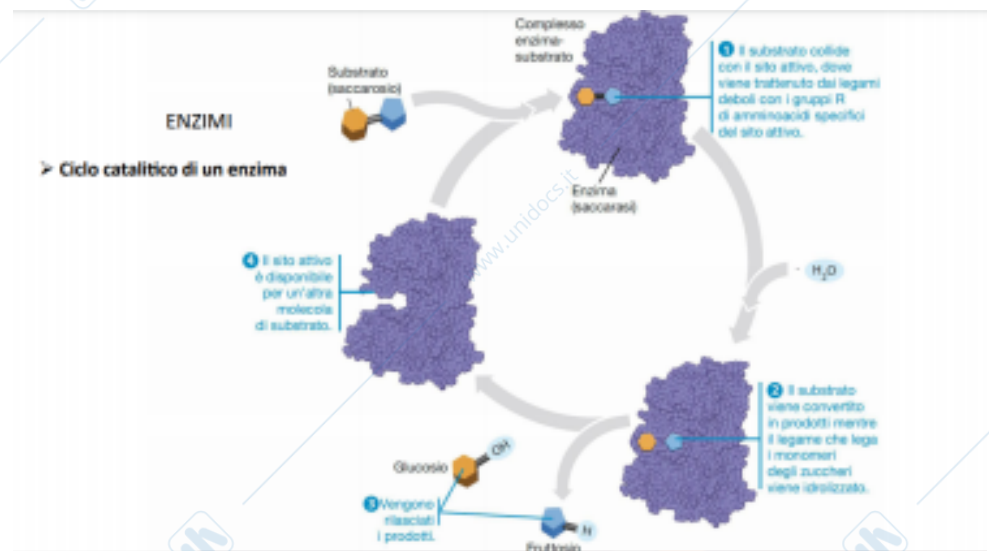
## ADATTAMENTO INDOTTO

Un altro esempio è quello del **ciclo catalitico** di un enzima in cui di nuovo si vede l'adattamento indotto, la forma diversa della proteina quando lega il substrato.

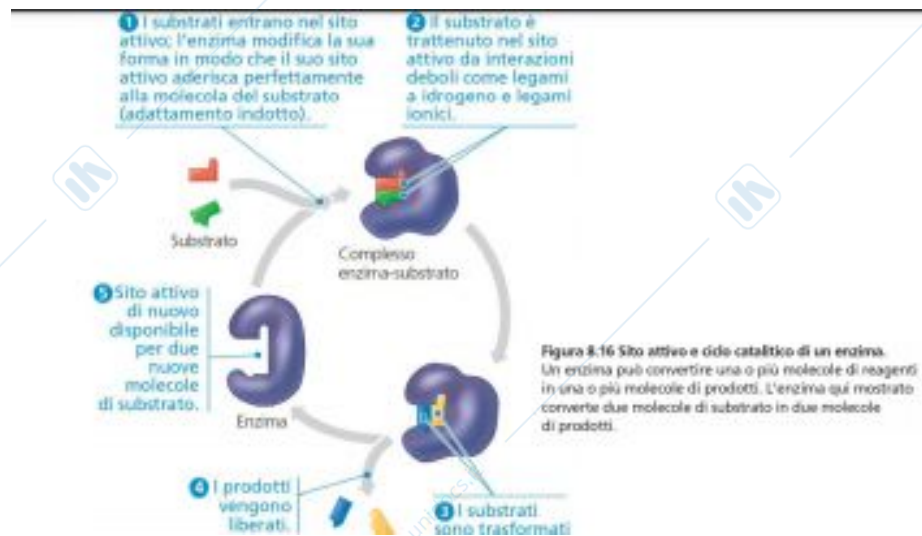
In questo caso il substrato è il saccarosio che viene scisso nei due monosaccaridi che lo

compongono grazie all'idrolisi dell'acqua catalizzata dall'enzima. Avevamo già detto che i polimeri si formano per condensazione con l'eliminazione di una molecola d'acqua e che si scindono per idrolisi; adesso capiamo che entrambi questi due fenomeni non sono solo di tipo chimico ma bio-chimico e serve l'enzima che catalizza sia l'idrolisi che la condensazione quando viene formato il legame glicosidico.

Altro esempio: per dire che non esiste soltanto la modificazione di una molecola in un'altra, non esiste



soltanto la scissione di un disaccaride in due monosaccaridi, ma esiste anche la possibilità che due molecole di substrato vadano



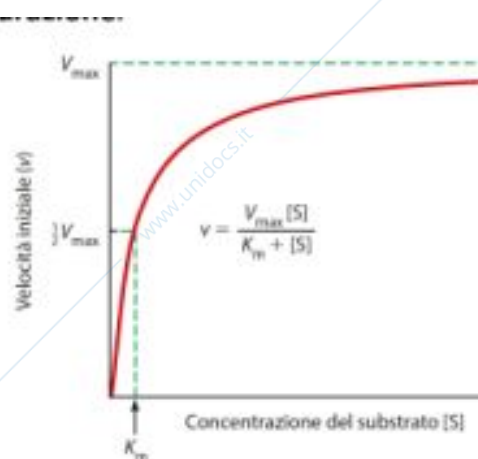
contemporaneamente ad occupare il sito catalitico dell'enzima e conseguentemente alla trasformazione enzimatica i due substrati vengano trasformati in due prodotti diversi.

Bisogna ricordare quanto importante è la specificità di substrato e le condizioni micro ambientali presenti perché la reazione possa verificarsi effettivamente.

## REGOLAZIONE ENZIMATICA

Quando avviene una trasformazione biochimica catalizzata dall'enzima in certe condizioni di concentrazione di molecola enzimatica, entro certi limiti di aggiunta di reagenti la reazione procede in modo esponenziale e questo vuol dire che all'aumentare della concentrazione del substrato aumenta in modo direttamente proporzionale anche la velocità di reazione, non all'infinito, ma solo fintantoché l'enzima non raggiunge una condizione di saturazione, quindi finché la velocità

di trasformazione del substrato in prodotto è compatibile con la velocità raggiunta del substrato stesso. Ad un certo punto se aggiungo troppo substrato, più di quanto possa lavorarne l'enzima, questo si accumula nella cellula e rimane inutilizzato, non trasformato in prodotto, e la curva che definisce questa concentrazione substrato velocità nella reazione enzimatica ha un flesso tale da raggiungere un plateau e da



**FIGURA 6.8** Relazione tra velocità di reazione e concentrazione del substrato. Per una reazione catalizzata da un enzima, la velocità iniziale tende a una velocità limite massima,  $V_{max}$ , quando la concentrazione di substrato  $[S]$  tende all'infinito.  $K_m$  corrisponde a quella concentrazione di substrato alla quale la reazione procede a metà della velocità massima.

permettere, con la legge di Michaelis-Menten, di individuare un valore specifico, di  $V_{max}$ , ossia di velocità massima di lavoro dell'enzima oltre il quale non può andare, dato sempre una certa concentrazione di molecole enzimatiche che è la costante.

Ricordiamo quindi che l'enzima è saturabile e che questo accumulo nel substrato raramente si verifica perché in una catena di reazioni enzimatiche ci sarà un controllo di velocità di ciascun passaggio della catena in modo tal che, in condizioni normali, fisiologiche, il lavoro possa essere svolto in modo corretto senza andare in contro a saturazioni.

La cinetica enzimatica (velocità di trasformazione biochimica catalizzata dall'enzima) dipende da

-temperatura ;

-  $P_h$

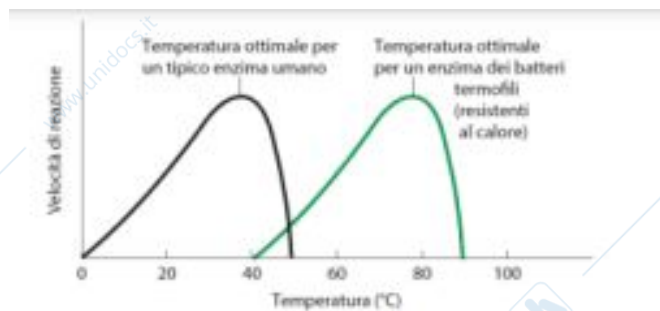
questo vuol dire che:

1) esistono valori di temperatura e  $p_h$  ottimali per diversi enzimi;

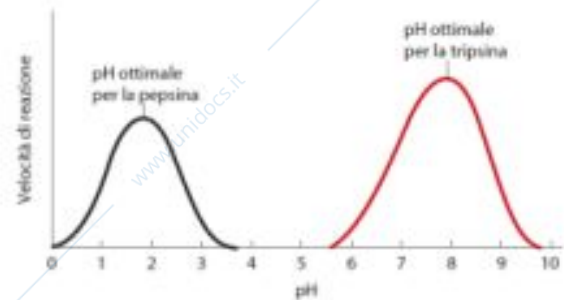
2) non esiste un valore assoluto (es. per noi 37 gradi e per altri microrganismi temperature diverse).

A seconda della specie è possibile avere valori di temperatura anche molto diversi ai quali si ha un massimo rendimento in termini di cinetica, ovviamente i nostri enzimi funzionano meglio a 37 gradi perché il nostro organismo ha dei meccanismi di termoregolazione che ci mantengono a 37 gradi e a quella temperatura si ha il metabolismo migliore.

Altri individui, come organismi unicellulari, gli archea che vivono nei gaiser, hanno ottimizzato degli enzimi che sono resistenti alle alte temperature e inoltre hanno una velocità massima, una massima efficienza di lavoro enzimatico proprio alle temperatura dell'habitat in cui vivono (arrivano anche a 70 gradi, ad es. il *thermus aquaticus*).



(a) Dipendenza dalla temperatura. La velocità di reazione per un tipico enzima umano (in nero) e un tipico enzima di un batterio termofilo (in verde) varia con la temperatura. È massima alla temperatura ottimale, che è di circa 37 °C (temperatura corporea) per l'enzima umano e di circa 75 °C (temperatura di una tipica sorgente d'acqua calda) per quello batterico. Al di sopra della temperatura ottimale, l'enzima è rapidamente inattivato per denaturazione.



(b) Dipendenza dal pH. La velocità di reazione è massima al pH ottimale, che è circa 2,0 per la pepsina (pH dello stomaco) e circa 8,0 per la tripsina (pH dell'intestino). Al pH ottimale per un enzima, i gruppi ionizzabili sulle molecole di enzima e di substrato sono nella forma più favorevole per la reattività.

**FIGURA 6.4** Effetto della temperatura e del pH sulla velocità delle reazioni catalizzate da enzimi. Ciascun enzima ha una temperatura e un pH ottimali che in genere riflettono l'ambiente in cui l'enzima si trova in natura.

## IL PH

Il Ph è un altro elemento importante nel condizionare la cinetica enzimatica, anche all'interno di uno stesso organismo come ad esempio gli enzimi digestivi che lavorano in ambiente gastrico, dove il ph è acido e a quelli che lavorano nel duodeno, dove il ph è basico; è ovvio che enzimi come la pepsina devono poter lavorare al meglio al ph dell'ambiente gastrico, mentre invece enzimi che vengono secreti a livello duodenale hanno un ph ottimale di 8 o 9 per poter funzionare, quello dell'ambiente in cui si trovano.

Abbiamo detto che il ph condiziona lo stato di protonazione dei residui amminoacidici; ci sono alcuni amminoacidi acidi e alcuni amminoacidi basici, relativamente ai gruppi carbossilici e amminici che sono sempre impegnate nei legami peptidici, ma quelli del gruppo R. A seconda del ph i gruppi carbossilici e i gruppi amminici avranno delle protonazioni diverse, tipo COOH in ambiente acido e quindi gli enzimi che lavorano in ambiente acido a livello dei residui amminoacidici acidi non hanno una carica negativa; il COOH in ambiente acido è protonato, non è COO<sup>-</sup>, questo significa che in ambiente acido manca la carica negativa, manca la possibilità di formare un legame ionico che magari piega la proteina in una certa forma. Quindi bisogna tener presente che le proteine sono molecole chimiche e che l'ambiente le condiziona nella loro struttura e nella possibilità di formare quei legami deboli che piegano la struttura terziaria e che quindi definiscono in modo ottimale il sito catalitico.

Due cose sono importanti quindi:

- ricordare che le varianti micro ambientali modificano la cinetica enzimatica;
- tali modifiche dipendono da una modifica della struttura terziaria.

## LA REGOLAZIONE ENZIMATICA

“REGOLAZIONE ENZIMATICA” significa fare in modo che l'enzima abbia una conformazione attiva o non attiva, e ci sono vari modi perché ciò avvenga. Bisogna quindi ricordare che la modificazione conformazionale dipende da questa flessibilità della struttura molecolare e quindi la possibilità di avere un sito catalitico strutturato in modo ottimale per la trasformazione biochimica o no. Quindi avendo bene in mente questo possiamo capire bene che gli enzimi sono sensibili a inibitori e attivatori enzimatici.

*Gli inibitori possono essere irreversibili o reversibili.*

Sono **irreversibili** quelli che, legandosi in corrispondenza del sito catalitico,

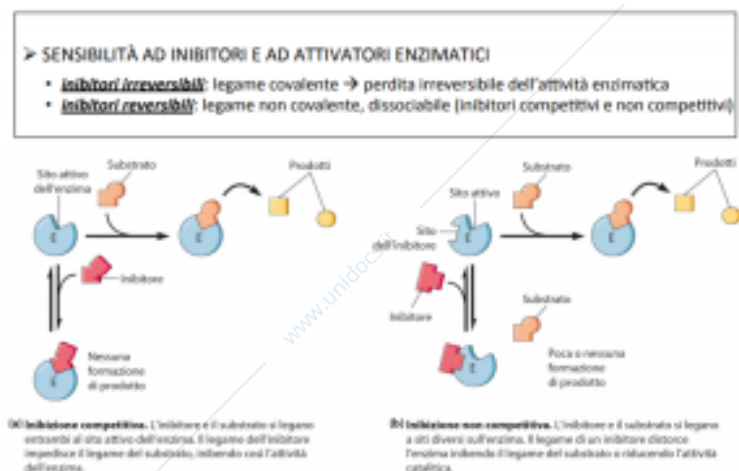
rimangono legati lì; alcuni addirittura stabiliscono delle interazioni di tipo covalente, in questo modo il sito catalitico è impegnato, il substrato non può entrare e i prodotti non possono formarsi.

Se invece l'inibizione è **reversibile**, l'inibitore che entra e che lega il sito catalitico può farlo in modo non stabile, e si può avere una doppia freccia, quindi un equilibrio dinamico tra forma enzimatica legante l'inibitore e non legante l'inibitore. In queste condizioni c'è disponibilità di enzima libero affinché il substrato si leghi e venga trasformato in prodotto.

**Gli inibitori reversibili possono essere di tipo competitivo o non competitivo;** sono **competitivi** quando competono con il substrato per la stessa tasca enzimatica;

invece **gli inibitori non competitivi**, sempre reversibili, si legano ad un sito accessorio, il sito dell'inibitore che dopo chiameremo anche allosterico perché ha una posizione diversa da quella principale del substrato, e l'inibitore non competitivo che si lega ad un altro sito ha comunque un effetto che si ripercuote sul legame del substrato stesso e che viene rappresentato con la

deformazione della tasca enzimatica da tasca punta a tasca stondata, che impedisce l'adesione vera e propria, cioè l'adesione efficiente, del substrato alla sua tasca. Quindi un inibitore non competitivo lega in un altro sito, non in quello catalitico, l'enzima, e ne deforma la struttura terziaria in modo tale che il sito catalitico assuma un'altra forma non adatta al legame del substrato che quindi non può legarsi e non può essere trasformato in prodotto.



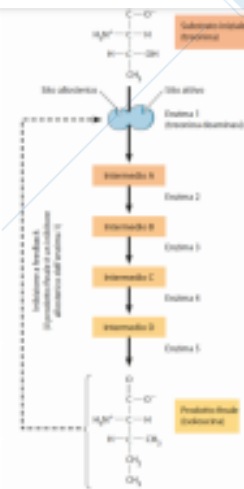
**FIGURA 6.11** Modalità di azione degli inibitori competitivi e non competitivi. Sia gli inibitori competitivi (A) sia quelli non competitivi (B) si legano reversibilmente all'enzima (E), inibendone in questo modo l'attività. Tuttavia, i due tipi di inibitori differiscono per il sito dell'enzima al quale si legano.

## INIBIZIONE A FEEDBACK

Un altro aspetto di questo tipo di inibizione è l'inibizione a feedback (o da prodotto finale) qua rappresentata da una catena enzimatica catabolica in cui un substrato iniziale, la treonina in questo caso, viene trasformata in isoleucina attraverso diversi passaggi enzimatici. Il prodotto finale può legare in un sito allosterico, quindi secondario diciamo, non quello catalitico, il primo enzima, quindi esegue un feedback negativo, torna indietro e inibisce il processo metabolico e questo ha un significato funzionale molto importante perché vuol dire che quando è stato prodotto abbastanza amminoacido, in questo caso, abbastanza prodotto finale, si dà uno stop alla via anabolica di costruzione perché ha già una concentrazione sufficiente quel prodotto che è stato appena realizzato, non serve farne di più. Inoltre non solo c'è un'inibizione da feedback sull'enzima responsabile dell'avvio della trasformazione metabolica, ma mostra anche che, se l'isoleucina viene utilizzata dalla cellula, cioè se il prodotto finale comunque viene smaltito, allora si ha un via libera all'ulteriore produzione di isoleucina. Questo fa capire anche il discorso dello stato metastabile; via via che capiamo la regolazione enzimatica, capiamo anche il via libera o no al superamento di quella barriera

di energia di attivazione, che altro non è se non questo primo step, ad esempio. Se l'enzima è inibito allostericamente non è disponibile per far superare al reagente iniziale, al substrato, quella prima energia di attivazione. Quindi disponibilità dell'enzima significa anche questo, essere non solo presente come proteina, ma presente in forma attiva, in forma non inibita.

### INIBIZIONE A FEEDBACK DA PRODOTTO FINALE



**FIGURA 6.12** Regolazione allosterica dell'attività enzimatica. L'inibizione a feedback come avviene nella via metabolica che porta alla sintesi dell'amminoacido isoleucina a partire dalla treonina, un altro amminoacido. Il primo enzima della sequenza, la treonina deidrossilasi, è inibito in modo allosterico dal prodotto finale, l'isoleucina, che si lega all'enzima in un sito allosterico diverso dal sito attivo.

Possiamo avere sia un **inibitore allosterico** che diminuisce l'affinità dell'enzima per il suo substrato ma anche un **attivatore allosterico** in questo caso la molecola che ancora non si lega al sito catalitico, ma ad un altro sito del dominio regolatore, modifica la struttura terziaria della proteina enzimatica, in modo tale che essa sia più affine al substrato.

Vedete che il piccolo sito attivo diventa più largo e quindi capace di legare il substrato più facilmente. Questa è una regolazione allosterica, non un'inibizione allosterica. Se parlo di regolazione intendo un processo che modula in modo negativo o positivo un processo, quindi può esserci una regolazione positiva o una regolazione negativa; **regolazione** è un termine neutro, come neutro è il termine modulazione.

## REGOLAZIONE MEDIANTE AGGIUNTA O RIMOZIONE DI GRUPPI CHIMICI

Se riprendiamo il glicogeno, che può essere degradato scindendo i legami  $\alpha$ -1,4 glicosidici, vediamo nello schema che non è una semplice idrolisi quella che demolisce il glicogeno, ma una reazione più complessa, catalizzata da più enzimi, che a loro volta sono regolati. Allora vediamo che le unità di glucosio possono essere staccate dal glicogeno per fosforilazione, cioè per formazione di un intermedio che si chiama glucosio-1-fosfato.

Questo lo fa un enzima che è la glicogeno fosforilasi.

Affinché quest'ultima sia attiva lei stessa deve essere fosforilata cioè, legando due gruppi fosfato assume una conformazione adatta per poter attaccare un gruppo fosfato che deriva da un ATP al monomero di glicogeno e staccarlo. La glicogeno fosforilasi assume la sua forma attiva, che si chiama a, solo quando un altro enzima che è una chinasi, vuol dire che è un enzima che aggiunge il gruppo fosfato (tutti gli enzimi che aggiungono il

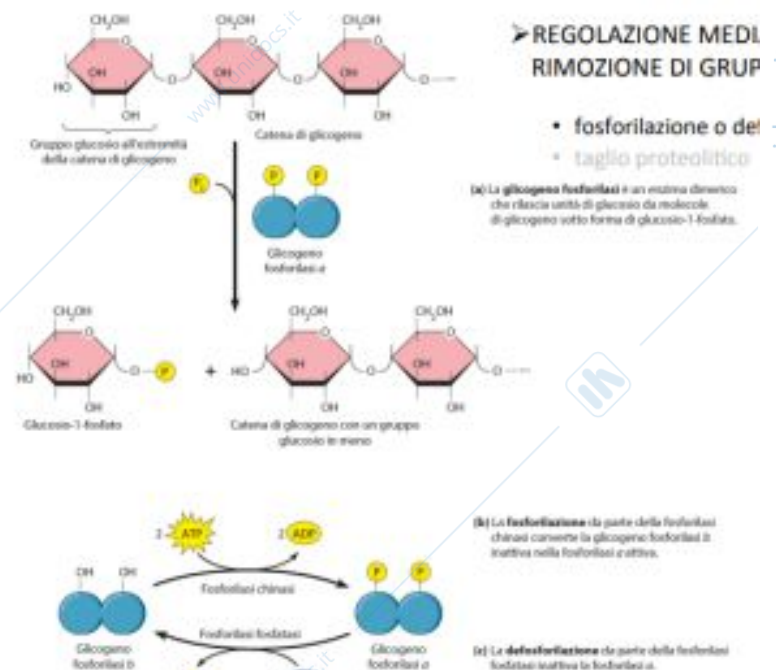


FIGURA 6.14 Regolazione della glicogeno fosforilasi mediante fosforilazione. L'attività della glicogeno fosforilasi è regolata da reazioni reversibili di fosforilazione da parte della fosforilasi chinasi e di defosforilazione da parte della fosforilasi fosfatasi.

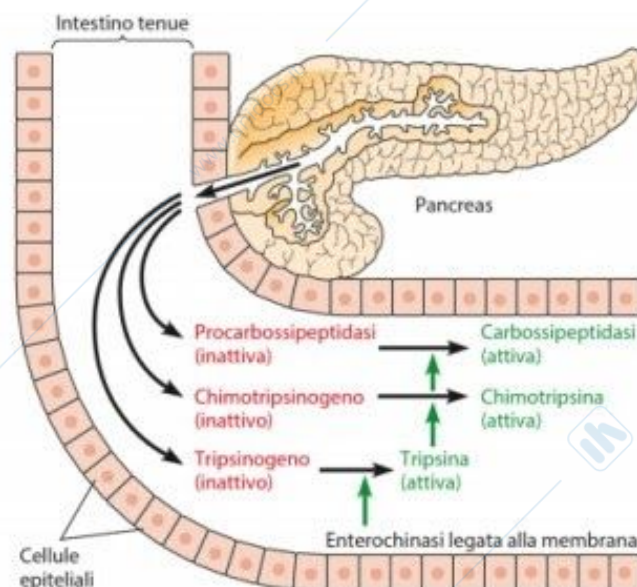
gruppo fosfato si chiamano chinasi) e la specifica di questa chinasi è la fosforilasi chinasi perché è l'enzima che chinasi fosforila una fosforilasi. La forma attiva della glicogeno fosforilasi vien assunta solo quando un altro enzima, la fosforilasi chinasi la fosforila, e può passare questo enzima di nuovo ad una forma inattiva quando la fosfatasi la defosforila. Vediamo quanto siano estremamente complesse le trasformazioni metaboliche perché è fondamentale che siano estremamente regolate, non per aumentare la complessità del sistema, non per complicare la vita alla cellula che va comunque sempre avanti in modo che ci sia una minor spesa possibile di energia e una massima semplicità del sistema. Quindi se un sistema è complesso, vuol dire che c'è un motivo, ossia la rigorosissima regolazione, il rigorosissimo controllo di questa molecola energetica viene degradata, perché non deve essere degradata troppa o troppo poca. E allora perché sia demolita proprio all'occorrenza nella giusta quantità, il sistema di controllo enzimatico è molto complesso.

## TAGLIO PROTEOLITICO

A proposito di regolazione c'è anche quella delle peptidasi. Quindi la regolazione non avviene solo per mezzo di una fosforilazione o di una defosforilazione, ma anche per mezzo di un taglio proteolitico. L'esempio classico è quello delle peptidasi che vengono secrete in forma inattiva insieme ai succhi pancreatici e riversati nel duodeno. Queste

procarbossipeptidasi, chimotripsinogeno, tripsinogeno, sono tutti in forma inattiva, scritta rossa, semaforo rosso, vuol dire che in quella forma non funzionano; per poter essere attive e per eseguire tagli proteolitici, sono enzimi che spezzano le proteine quindi tagliano i legami peptidici, hanno bisogno di un primo enzima che a cascata permette l'attivazione di tutti, che è un enterochinasi che è attiva quando arriva il contenuto alimentare proveniente dallo stomaco, dallo svuotamento gastrico

e che taglia il tripsinogeno e lo trasforma in tripsina; la tripsina attiva taglia il chimotripsinogeno e lo trasforma in chimotripsina e poi la tripsina fa un altro taglio proteolitico sulla procarbossipeptidasi che trasforma in carbossipeptidasi attiva.



E quindi solo questi enzimi tagliati sono gli enzimi attivi che a loro volta tagliano i legami peptidici delle proteine degli alimenti ingeriti con una specificità di substrato che motiva perché ci sono diverse peptidasi e non c'è soltanto una peptidasi per tutte le proteine che ingeriamo.

### **MOLECOLE DI RNA COME ENZIMI: I RIBOZIMI**

non tutti gli enzimi sono di natura proteica, esistono i ribozimi, molecole di RNA ribosomiale che sono le responsabili dell'attività sintetica del legame peptidico a livello dei ribosomi. Sono gli enzimi ribosomali, e non le proteine, che saldano il legame tra gruppo carbossilico e gruppo amminico di due amminoacidi adiacenti nella sintesi del filamento polipeptidico nei ribosomi.

nei ribosomi sono presenti anche proteine; tuttavia è la molecola di RNA ribosomiale che ha l'attività enzimatica per la sintesi del legame peptidico.

oltre a questo, gli RNA sono anche in grado di rimuovere gli introni. Quindi queste osservazioni relative alla capacità catalitica degli RNA hanno fatto pensare ad un'origine della vita come ad un mondo a RNA. Non sono le proteine le prime macromolecole informatiche perché queste hanno bisogno di un codice per poter essere sintetizzate. Si pensa siano invece stati piuttosto gli RNA le prime macromolecole dotate di attività catalitica e quindi capaci di dare il via ad un meccanismo biochimico così complesso che si è trasformato in una entità vivente come quella della cellula.