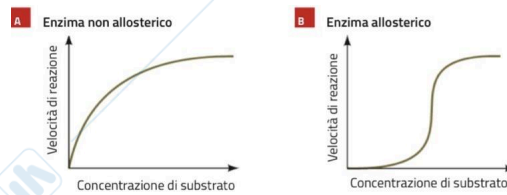


Quando la concentrazione del substrato è bassa, un enzima allosterico con più siti attivi e un enzima non allosterico con un unico sito attivo mostrano **velocità di reazione diverse**.



- Enzima **non allosterico**= la curva della velocità di reazione in funzione della concentrazione del substrato è **iperbolica**= la **velocità aumenta rapidamente all'aumentare della concentrazione del substrato**, per poi rallentare fino a raggiungere un livello massimo costante. Questo livello si raggiunge quando tutti gli **enzimi sono saturati dal substrato**.
- Enzima **allosterico**= il grafico della velocità di reazione ha un **andamento sigmoide**. Inizialmente, quando la concentrazione di substrato è bassa, **la velocità di reazione cresce lentamente**, una volta che il substrato si lega al primo sito attivo dell'enzima, la struttura quaternaria dell'enzima cambia, rendendo gli altri siti più pronti a legare il substrato. Questo porta a un **brusco aumento della velocità di reazione**. Quando **tutti i siti attivi sono saturati dal substrato**, la velocità di reazione diventa **costante**.

C'è quindi un certo intervallo in cui la velocità di reazione risponde molto intensamente a piccoli cambiamenti nella concentrazione di substrato. **Grazie a questa sensibilità, gli enzimi allosterici sono utilizzati per regolare in modo fine e preciso le vie metaboliche.**

LE VIE METABOLICHE REGOLATE PER EFFETTO ALLOSTERICO

Nelle vie metaboliche sono presenti:

- Una **sostanza di partenza**
- Vari **prodotti intermedi**
- **Prodotto finale**: serve alla cellula per qualche scopo.

Ogni via metabolica è costituita da una serie di **reazioni catali** ciascuna caratterizzata da un enzima che porta ad un valore intermedio

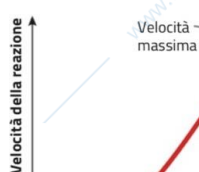


La prima tappa di una via costituisce il **passaggio obbligato**= una volta avvenuta quella reazione catalitica, le altre si susseguono fino all'ottenimento del prodotto finale.

E se la cellula non ha più bisogno di quel prodotto? Continuare a sintetizzarlo sarebbe uno spreco di energia, bisogna allora fare in modo che il prodotto finale si comporti da **inibitore** nei confronti dell'enzima che catalizza il passaggio obbligato, **interrompendo la via metabolica al suo inizio** (figura 15).

→ Tale inibizione spesso avviene **per via allosterica**: il prodotto finale va a occupare un sito allosterico dell'enzima della prima reazione e lo rende inattivo, questo meccanismo viene detto **inibizione retroattiva** o **feedback negativo**.

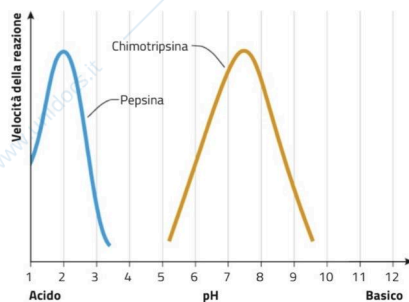
La temperatura e il pH agiscono sull'attività enzimatica



Il meccanismo di **regolazione allosterica** controlla in modo specifico l'attività di enzimi, vi sono però anche altre variabili, come il **pH** o la **temperatura** → hanno un effetto generalizzato su tutti gli enzimi.

La **velocità** di una reazione **aumenta con l'aumentare della temperatura**, ma vale **fino a un certo valore di temperatura**, oltre la quale velocità si riduce bruscamente, perché l'aumento di temperatura rompe i legami a idrogeno che determinano la sua struttura tridimensionale.

Alcuni enzimi si **denaturano a 40 °C**, mentre altri sono **stabili fino al punto di ebollizione**, di solito questi enzimi presentano una struttura terziaria tenuta insieme da *legami covalenti* (ponti disolfuro o interazioni di cariche elettriche).



Gli enzimi del nostro corpo resistono a temperature più elevate di quelli dei batteri che ci infettano: per questo una febbre moderata riesce a denaturare un enzima batterico, un valido meccanismo di difesa contro le infezioni.

Ogni **enzima raggiunge il massimo della sua attività a un valore di pH** ben definito: *se l'ambiente diventa più acido o più basico* la sua attività **diminuisce**.

IL METABOLISMO DEL GLUCOSIO → considerato la fonte di energia principale di tutti gli organismi

Gli esseri viventi ricavano energia mediante l'**ossidazione dei macronutrienti** (*carboidrati, proteine e lipidi*) derivati dagli alimenti.

Il **metabolismo dei carboidrati** può essere identificato con il **metabolismo del glucosio**. Dal glucosio o dai suoi cataboliti possono essere ricavati gli **scheletri carboniosi** utili alla produzione di tutti gli *amminoacidi*, degli *acidi grassi* e di altri composti indispensabili per la sopravvivenza dell'organismo.

La reazione di combustione del glucosio è un'**ossidazione** in cui il *glucosio si ossida a CO₂*, e *l'ossigeno si riduce ad acqua*, la stessa equazione si applica al catabolismo del glucosio che avviene all'interno delle cellule → l'ossidazione è un processo controllato e suddiviso in numerose reazioni intermedie, ognuna delle quali è **catalizzata da un enzima specifico** per evitare la dispersione di energia e l'aumento di temperatura intracellulare:

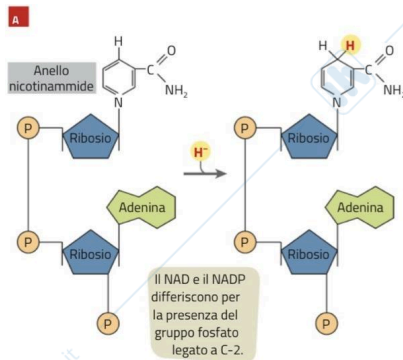
$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{energia libera}$$

Durante il processo l'energia contenuta nei legami carbonio-carbonio del glucosio è utilizzata **direttamente** (tramite «**fosforilazione a livello del substrato**») o **indirettamente** (tramite il **trasferimento di elettroni ai coenzimi NAD e FAD**) per formare **composti del fosfato** (ATP) a elevata energia di idrolisi, utilizzati dalla cellula in tutti gli scambi energetici.

Le reazioni metaboliche del glucosio coinvolgono diversi enzimi e coenzimi

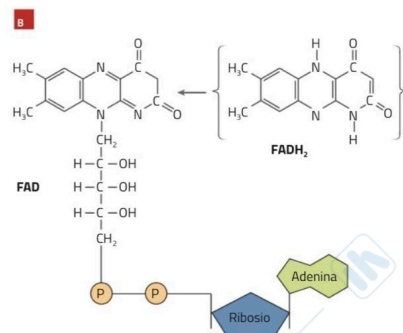
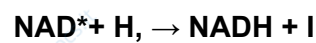
Molte delle reazioni del metabolismo del glucosio sono delle **ossidazioni** e sono catalizzate da enzimi della famiglia delle **deidrogenasi**.

Tramite queste reazioni, gli elettroni sono trasferiti **dallo zucchero** (che si ossida) **ad alcuni coenzimi** (che si riducono) → *trasferiscono elettroni e atomi di idrogeno da un donatore a un accettore*.



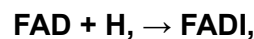
Uno dei coenzimi coinvolti nelle reazioni cataboliche del glucosio è il *nicotinammide adenina dinucleotide*, abbreviato in **NAD**, la forma attiva della vitamina B3 o niacina; è una molecola formata da **due nucleotidi** costituiti entrambi da una **base azotata** (nicotinammide l'uno, adenina l'altro) da uno **zucchero a cinque atomi di carbonio** (ribosio) e da un **gruppo fosfato**.

Il NAD, indicato come NAD^* , può accettare un protone e due elettroni, riducendosi a **NADH**.



Un altro coenzima coinvolto nell'ossidazione del glucosio è il *flavin adenina di-nucleotide*, il **FAD**, che deriva dalla vitamina B2 o riboflavina; è una molecola formata da **due nucleotidi**, costituiti da una **base azotata** (riboflavina e adenina), da uno **zucchero a cinque atomi di carbonio** (ribosio) e da un **gruppo fosfato** (figura 2B).

Può accettare due protoni e due elettroni riducendosi a **FADH**:



Nella fase finale della **respirazione cellulare**, il NADH e il FADH, **cedono i loro elettroni** a una serie di trasportatori fino ad arrivare all'**ossigeno**, che rappresenta l'accettore finale. A mano a mano che gli elettroni scendono a livelli energetici inferiori si **libera energia**, che viene usata per **sintetizzare ATP**, quando gli elettroni raggiungono il livello energetico più basso si combinano con i protoni e l'ossigeno, e **si forma acqua**.

Alla glicolisi può seguire un processo in aerobiosi o in anaerobiosi

Ci sono due possibili percorsi che può seguire il **catabolismo del glucosio dopo la glicolisi**, a seconda della presenza o assenza di ossigeno.

- **Glicolisi**: è il primo stadio del catabolismo del glucosio, comune a tutte le cellule (procariotiche ed eucariotiche). Non richiede ossigeno (**processo anaerobico**) e avviene nel **citoplasma**.

Durante la glicolisi, una **molecola di glucosio viene convertita in due molecole di piruvato**, con produzione di una piccola quantità di energia sotto forma di NADH e ATP.

1. In *presenza di ossigeno (aerobiosi)* avviene la **respirazione cellulare**: segue la glicolisi e avviene nei **mitocondri delle cellule eucariotiche** e sulla **membrana plasmatica dei procarioti aerobi**. Durante questo processo, il **piruvato** viene trasformato in **acqua (H₂O)** e **diossido di carbonio (CO₂)**.
Questo processo libera la maggior parte dell'energia sotto forma di ATP.
2. In *assenza di ossigeno (anaerobiosi)* avviene la **fermentazione**: completa la glicolisi nel **citoplasma**. La fermentazione permette la continuazione della glicolisi rigenerando il NAD⁺, necessario per la glicolisi, ma **l'ossidazione del glucosio rimane incompleta**. Questo processo produce meno energia rispetto alla respirazione cellulare.

→ In sintesi, *il destino del piruvato prodotto dalla glicolisi dipende dalla disponibilità di ossigeno*: in sua presenza, si avvia la **respirazione cellulare** nei **mitocondri**, mentre in assenza di ossigeno, si procede con la **fermentazione** nel **citoplasma**.

LA GLICOLISI

È una **via metabolica** che **converte una molecola di glucosio in due molecole di piruvato**, producendo energia sotto forma di **ATP** e **NADH**.

Si svolge attraverso una serie di 10 reazioni (tappe) ciascuna catalizzata da un enzima specifico. È un processo che avviene in **anaerobiosi**.

La glicolisi si divide in **2 fasi principali**: la fase **endoergonica** (richiede energia) e la fase **esoergonica** (rilascia energia).

FASE ENDOERGONICA (PREPARATORIA)

In questa fase, il glucosio viene preparato per essere diviso in **2 molecole da 3 atomi di carbonio**. Questa preparazione richiede l'uso di energia sotto forma di **ATP**.

La cellula consuma 2 molecole di ATP e produce 2 molecole di **gliceraldeide 3-fosfato**.

La glicolisi è formata da **10 tappe**:

1) FOSFORILAZIONE DEL GLUCOSIO:

Il gruppo fosfato terminale di una molecola di ATP si trasferisce al carbonio in posizione 6 della molecola di glucosio, formando **glucosio 6-fosfato**.

La reazione è catalizzata dall'enzima **esochinasi**

2) ISOMERIZZAZIONE DEL GLUCOSIO 6-FOSFATO A FRUTTOSIO 6-FOSFATO

L'anello esagonale del glucosio è convertito nell'anello pentagonale del fruttosio, grazie all'enzima **fosfoesoso isomerasi**. La reazione è reversibile.

Entrambi hanno la stessa formula chimica ma diversa disposizione degli atomi (**isomeri**).

3) FOSFORILAZIONE DEL FRUTTOSIO 6-FOSFATO A FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATO

Il fruttosio 6-fosfato guadagna un secondo fosfato che si lega al carbonio in posizione 1, proveniente da un'altra molecola di ATP grazie all'azione dell'enzima **fosfofruttochinasi**.

4) SCISSIONE DEL FRUTTOSIO 1,6-BISFOSFATO

La molecola di fruttosio 1,6-bisfosfato, formata da sei atomi di carbonio, è scissa in due molecole a tre atomi dall'enzima **aldolasi**: il **diidrossiacetone fosfato** e la **gliceraldeide 3-fosfato**. Questa è la *tappa litica* che dà il nome alla glicolisi

5) INTERCONVERSIONE DEI TRIOSI FOSFATO

Le molecole di **diidrossiacetone fosfato** e **gliceraldeide 3-fosfato** sono isomeri, convertibili l'una nell'altra grazie all'enzima trioso **fosfato isomerasi**.

La **gliceraldeide 3-fosfato** è metabolizzata nelle reazioni successive.

Il **diidrossiacetone fosfato** è convertito in gliceraldeide 3-fosfato.

Si conclude la **fase endoergonica**: i prodotti di tutte le tappe successive devono essere **moltiplicati x2**, perché tali sono le molecole di **gliceraldeide 3-fosfato** prodotte a partire da una di glucosio.

FASE ESOERGONICA

Le due molecole di gliceraldeide 3-fosfato che si sono formate per ogni molecola di glucosio sono convertite in **molecole di piruvato**, accompagnate dalla formazione di 4 molecole di ATP e di 2 di NADH. Gli enzimi coinvolti in questa fase appartengono alle **ossidoreduttasi** (**gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi**), **transferasi** (**fosfoglicerato chinasi** e **piruvato chinasi**), **isomerasi** (**fosfoglicerato mutasi**) e **liasi** (**enolasi**).

6) OSSIDAZIONE E FOSFORILAZIONE DELLA GLICERALDEIDE 3-FOSFATO

Le molecole di **gliceraldeide 3-fosfato** si **ossidano** a **1,3-bisfosfoglicerato** per azione della **gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi**.

Gli atomi di idrogeno sono trasferiti al NAD^{*}, che si **riduce a NADH**: il bilancio è la **formazione di 2 molecole di NADH e 2 ioni H⁺** per ciascuna molecola di glucosio.

Questa reazione è **esoergonica**. Poiché la quantità di NAD disponibile è inferiore a quella del glucosio, se il NADH non viene riossidato la reazione si arresta

7) SINTESI DI ATP

L'1,3-bisfosfoglicerato, un composto ad alta energia, dona un gruppo fosfato a una molecola di ADP per formare ATP. Questa reazione, chiamata fosforilazione a livello del substrato, è catalizzata dall'enzima **fosfoglicerato chinasi**.

Questa tappa si ripete 2 volte per ogni molecola di glucosio, producendo 2 molecole di ATP che compensano le 2 molecole di ATP consumate nelle fasi precedenti della glicolisi.

8) CONVERSIONE DEL 3-FOSFOGLICERATO E 2-FOSFOGLICERATO

L'enzima **fosfoglicerato mutasi** catalizza il trasferimento del gruppo fosfato rimanente dal carbonio in posizione 3 al carbonio 2 del **glicerato**, con formazione di **2-fosfoglicerato**.

9) DEIDRATAZIONE DEL 2-FOSFOGLICERATO

L'enzima **enolasi** rimuove una molecola di acqua dal **2-fosfoglicerato**, creando **fosfoenolpiruvato** (PEP). Questo riordinamento interno modifica la distribuzione energetica della molecola perché concentra l'energia nel legame del gruppo fosfato, che diventa molto instabile e prepara la molecola alla reazione.

10) FORMAZIONE DI PIRUVATO E ATP

L'enzima piruvato chinasi trasferisce il *gruppo fosfato* ad alta energia dal *fosfoenolpiruvato* (PEP) a una **molecola di ADP**, formando ATP.

Questa reazione è chiamata **fosforilazione a livello del substrato**: la forma enolica del PEP è instabile, per cui si trasforma nella forma chetonica più stabile, liberando energia.

Anche in questo caso si ottengono due molecole di ATP per molecola di glucosio.

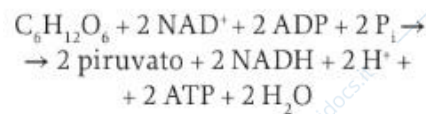
Questa tappa è l'unica reazione irreversibile della **fase di recupero** della glicolisi.

Il bilancio della glicolisi è di due ATP, due NADH, acqua e piruvato

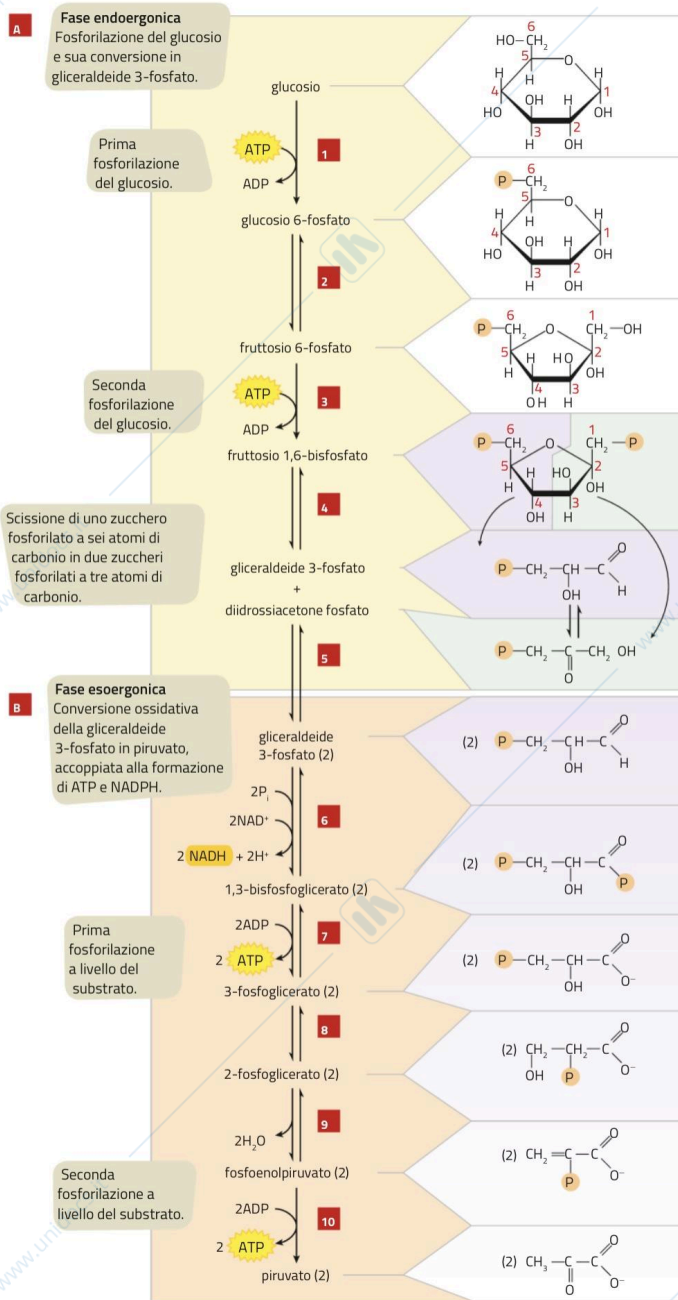
Durante la glicolisi, una **molecola di glucosio viene convertita in 2 molecole di piruvato**.

Durante questo processo, vengono utilizzate **2 molecole di ATP** per iniziare la reazione,

mentre vengono prodotte **4 molecole di ATP e 2 molecole di NADH**, che rappresentano il guadagno energetico netto della glicolisi.



La maggior parte dell'energia del glucosio rimane nelle molecole di piruvato, che possono poi seguire varie vie metaboliche a seconda delle condizioni ambientali, come la respirazione aerobica in presenza di ossigeno o la fermentazione lattica o alcolica in assenza di ossigeno.



Fosforilazione del fruttosio 6-fosfato a fruttosio 1,6-bisfosfato.

Il fruttosio 6-fosfato guadagna un secondo fosfato che si lega al carbonio in posizione 1, proveniente da un'altra molecola di ATP grazie all'azione dell'enzima **fosfofruttochinasi**.

Scissione del fruttosio 1,6-bisfosfato.

La molecola di fruttosio 1,6-bisfosfato, formata da sei atomi di carbonio, è scissa in due molecole a tre atomi dall'enzima **aldolasi**: il diidrossiacetone fosfato e la gliceraldeide 3-fosfato. Questa è la *tappa litica* che dà il nome alla glicolisi.

Interconversione dei triosi fosfato.

Le molecole di diidrossiacetone fosfato e gliceraldeide 3-fosfato sono isomeri, convertibili l'una nell'altra grazie all'enzima trioso **fosfato isomerasi**.

La *gliceraldeide 3-fosfato* è metabolizzata nelle reazioni successive.

Il *diidrossiacetone fosfato* è convertito in gliceraldeide 3-fosfato.

Si conclude la **fase endoergonica**: i prodotti di tutte le tappe successive devono essere **moltiplicati x2**, perché tali sono le molecole di *gliceraldeide 3-fosfato* prodotte a partire da una di glucosio.

Nella fase esoergonica le due molecole di gliceraldeide 3-fosfato che si sono formate per ogni molecola di glucosio sono convertite in altrettante molecole di piruvato, accompagnate dalla formazione di quattro molecole di ATP e di due di NADH.

Gli enzimi coinvolti in questa fase appartengono alle **ossidoreduttasi** (*gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi*), **transferasi** (*fosfoglicerato chinasi e piruvato chinasi*), **isomerasi** (*fosfoglicerato mutasi*) e **liasi** (*enolasi*).

Ossidazione e fosforilazione della gliceraldeide 3-fosfato.

Le molecole di *gliceraldeide 3-fosfato* si **ossidano** a **1,3-bisfosfoglicerato** per azione della **gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi**.

Gli atomi di idrogeno provenienti da questa ossidazione, sono trasferiti al NAD*, che si riduce a NADH: il bilancio è la formazione di due molecole di NADH e due ioni H⁺ per ciascuna molecola di glucosio.

Questa reazione è **esoergonica**; l'energia liberata è impiegata dallo stesso enzima per legare un gruppo fosfato al prodotto ossidato, formando **1,3-bisfosfoglicerato**.

Poiché la quantità di NAD disponibile è inferiore a quella del glucosio, se il NADH non viene riossidato la reazione si arresta.

Sintesi di ATP.

L'1,3-bisfosfoglicerato è un composto a elevata energia di idrolisi, che tende a cedere facilmente il gruppo fosfato a una molecola di ADP per formare ATP. Questa reazione è detta **fosforilazione a livello del substrato** perché il donatore del gruppo fosfato è il substrato dell'enzima **fosfoglicerato chinasi**. In questa tappa, che si ripete due volte per ciascuna molecola di glucosio, le due molecole di ATP compensano le due molecole di ATP consumate nella prima parte della glicolisi.

Conversione del 3-fosfoglicerato a 2 fosfoglicerato.

L'enzima **fosfoglicerato mutasi** catalizza il trasferimento del gruppo fosfato rimanente dal carbonio in posizione 3 al carbonio 2 del glicerato, con formazione di **2 fosfoglicerato**.

Deidratazione del 2 fosfoglicerato.

L'enzima **enolasi** elimina una molecola di acqua dal 2-fosfoglicerato, producendo **fosfoenolpiruvato** (PEP). Questo riordinamento interno modifica la distribuzione energetica della molecola perché concentra l'energia nel legame del gruppo fosfato, che diventa molto instabile e prepara la molecola alla reazione

Formazione di piruvato e ATP.

Il gruppo fosfato ad alta energia del fosfoenolpiruvato è trasferito dall'enzima **piruvato chinasi** a una molecola di ADP per formare ATP; si tratta della **seconda fosforilazione a livello del substrato**: la forma enolica del piruvato (il PEP) è instabile, per cui si trasforma nella forma chetonica più stabile, liberando energia.

Anche in questo caso si ottengono due molecole di ATP per molecola di glucosio.

Questa tappa è l'unica reazione irreversibile della **fase di recupero** della glicolisi.