

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO AGENO

## Una semplice ipotesi sul meccanismo d'azione degli enzimi

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.3, p. 340–345.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1966\\_8\\_40\\_3\\_340\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_3_340_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

*SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Biofisica.** — *Una semplice ipotesi sul meccanismo d'azione degli enzimi.* Nota (\*) del Corrisp. MARIO AGENO (\*\*).

SUMMARY. — A tentative description of the mechanism of an enzymic reaction is given, making use of simple concepts of elementary quantum mechanics. The model is developed for the particular case in which the reaction consists of the transfer of a group from one molecule to another. The basic idea is that the binding energy of the group to the complex, which is composed of the enzyme and the first substrate, must be equal to the binding energy of the same group to the second substrate. Thus, the system is in a degenerate stationary state when no interaction occurs. In a collision, the two parts of the system interact and the degenerate state splits into two stationary states of somewhat different energies, which are the symmetrical and the antisymmetrical linear combinations of the unperturbed wave functions. If the group is initially bound to the first substrate, the state of the system is not a stationary one, so that the probability of binding to each substrate varies with time. When the group has passed to the second substrate, the enzyme-first substrate complex dissociates and the reaction is over.

The model can be easily applied to any other type of enzymic reaction. The importance of such a resonance transfer mechanism in cell biology is stressed and two examples are given of well-known cellular phenomena which can be easily explained on these grounds.

Le principali caratteristiche che distinguono l'azione catalitica delle sostanze proteiche da quelle dei catalizzatori d'altra natura sembrano essere le seguenti.

a) Le molecole dotate di attività enzimatica sono, di solito, molecole assai complesse, che possono contenere anche migliaia di atomi, mentre i catalizzatori inorganici ed organici di natura non proteica sono in generale molecole molto più piccole. Corrispondentemente, l'azione degli enzimi è assai più specifica di quella degli altri catalizzatori. Vien fatto, a prima vista, di supporre una relazione tra complessità della molecola e specificità della relativa azione catalitica.

b) Le macromolecole dotate di attività enzimatica possono spesso subire dei mutamenti strutturali anche notevoli, senza che per questo l'attività enzimatica venga totalmente soppressa. D'altra parte, mutamenti strutturali di molto minore entità, ma interessanti zone particolari della molecola, portano talora alla completa soppressione dell'attività enzimatica. Si è così giunti al concetto di « siti attivi » della molecola. Non si può tuttavia ammettere che l'attività enzimatica dipenda esclusivamente dalla struttura locale, nelle immediate prossimità dei siti attivi, il che riaccosterebbe l'azione dell'enzima a quella largamente aspecifica dei più semplici catalizzatori inorganici. I cosiddetti fenomeni allosterici dimostrano che in effetti l'intera molecola è coinvolta nell'attività enzimatica e che questa dipende in qualche modo dall'in-

(\*) Presentata nella seduta del 12 marzo 1966.

(\*\*) Laboratori di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

tera struttura, anche se esistono sicuramente dei siti specifici, caratterizzati dal punto di vista stereo-chimico, attraverso i quali l'azione stessa si esplica.

Non sarà poi inutile ricordare che la presenza di un enzima non può comunque alterare sostanzialmente l'equilibrio termodinamico di un sistema e che possono essere accelerate da un enzima solo quelle reazioni alle quali corrisponde una diminuzione d'energia libera. Questa regola sembra avere molte eccezioni in campo biologico: si tratta in realtà di eccezioni solo apparenti, in quanto ciascuna reazione in cui la energia libera sembrerebbe aumentare è in realtà parte di un complesso di reazioni in cui la energia libera diminuisce.

Negli organismi viventi, non c'è praticamente nessuna reazione che coinvolga legami covalenti, la quale si possa svolgere in tempi paragonabili con

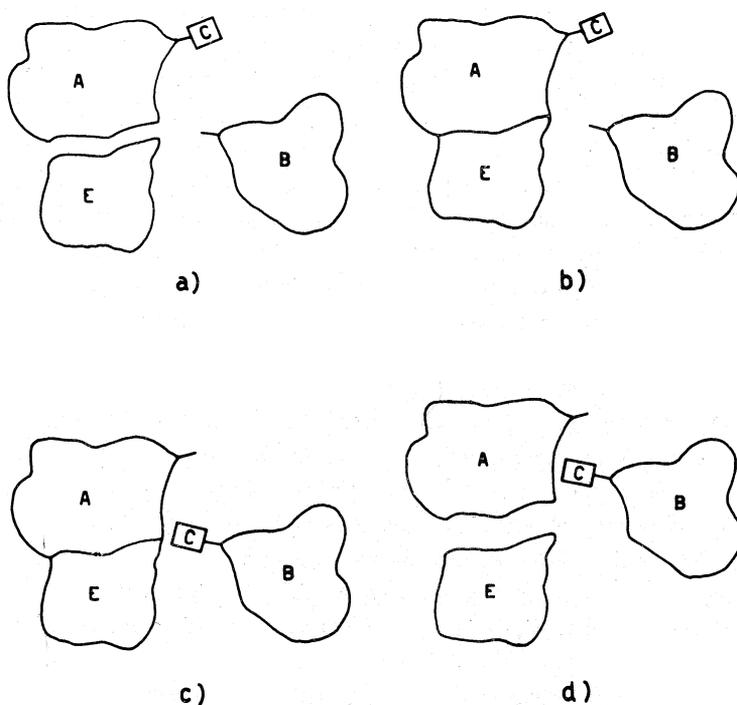
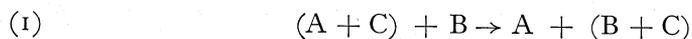


Fig. 1.

quelli biologici senza l'azione acceleratrice di un enzima specifico. Sebbene parecchie di queste reazioni catalizzate da enzimi siano state studiate e descritte particolareggiatamente, manca tuttavia ancora una descrizione coerente e generale degli eventi elementari verificantisi durante una reazione enzimatica, che li colleghi in qualche modo ai principi fondamentali su cui è basata la nostra presente teoria della struttura degli atomi e delle molecole.

Allo scopo di vedere se si può giungere a costruire un modello di validità generale, incominciamo col considerare nei particolari una reazione enzima-

tica del tipo di quella schematicamente rappresentata nella fig. 1. Si tratta di una reazione che comporta il trasferimento di un gruppo da una molecola all'altra; ciò che diremo tuttavia potrà facilmente adattarsi, mediante cambiamenti ovvii e inessenziali, anche a molti altri tipi di reazione enzimatica. Nella figura 1a sono rappresentate due molecole  $(A + C)$  e B che possono reagire tra loro, secondo la formula:



È anche presente una molecola E dell'enzima specifico. In *b* è mostrato il primo passo della reazione: la molecola enzimatica E e la molecola del substrato  $(A + C)$  hanno spontaneamente formato il complesso  $(E + A + C)$ . L'altra molecola B che deve partecipare alla reazione si trova ancora a grande distanza dal complesso, di guisa che tra i due non v'è interazione apprezzabile. In *c* è rappresentato il secondo passo della reazione: è avvenuto un urto tra la molecola B e il complesso  $(E + A + C)$ , durante il quale il gruppo C è passato alla molecola B. Infine, in *d*, il terzo ed ultimo passo della reazione ha avuto luogo: il complesso residuo  $(A + E)$  si è scisso e la molecola enzimatica E è ormai disponibile per un altro processo simile al primo.

Vi sono alcuni punti da mettere in rilievo, nella precedente descrizione dell'evento elementare che sta alla base della reazione enzimatica che ci interessa. Il secondo passo della reazione, cioè il trasferimento del gruppo C dal complesso  $(A + E)$  alla molecola B, è generalmente reversibile. Ciò significa che le energie di legame di C ad  $(A + E)$  e a B sono presso a poco uguali, la differenza tra le due potendo essere al più dell'ordine della energia media dei moti di agitazione termica. D'altra parte, siccome la reazione (1) è per ipotesi esoenergetica, ne segue che l'energia ch'essa libera viene liberata in parte nel primo passo della reazione, quando E ed  $(A + C)$  si riuniscono a formare il complesso  $(E + A + C)$ , e in parte nel terzo passo, quando, trasferito ormai il gruppo C, A ed E si separano spontaneamente.

L'ipotesi su cui si basa questo lavoro consiste nell'ammettere che *le due energie di legame di C ad  $(A + E)$  e a B siano esattamente uguali, o meglio tali che la loro differenza sia minore della larghezza dei rispettivi livelli energetici del sistema.*

In tal caso è possibile una descrizione di prima approssimazione del processo, facendo uso della meccanica quantica. Consideriamo infatti il sistema che ci interessa nei due stati rappresentati nelle figg. 1 *b* e 1 *c*. Se noi supponiamo che non esista nessuna interazione tra le due parti  $(E + A + C)$  e B e, rispettivamente,  $(E + A)$  e  $(B + C)$ , di cui il sistema è composto, nell'ipotesi da noi fatta quei due stati sono evidentemente stati di eguale energia. Scriviamo l'equazione di Schrödinger indipendente dal tempo per tutti gli elettroni che partecipano ai legami del gruppo C; potremo schematizzare l'azione su di essi degli altri elettroni e dei nuclei vicini con un potenziale medio opportuno. È chiaro che, date le proprietà di simmetria dell'equazione differenziale, la simmetria delle soluzioni dipende in modo estremamente critico dalla simmetria di tale potenziale. Se il potenziale si fa variare in modo

continuo, in generale l'energia dei livelli varierà in modo pure continuo. Non si potrà invece dire altrettanto per le autofunzioni, perché se il potenziale si discosta anche di pochissimo dalla simmetria, la simmetria delle soluzioni ne risulta evidentemente abbassata di grado ed il carattere stesso di tali soluzioni ne risulterà del tutto alterato. In altre parole, al caso particolare di un potenziale esattamente simmetrico corrispondono soluzioni dotate di proprietà di simmetria ed antisimmetria, che non esistono affatto in caso diverso. L'ipotesi da noi fatta consiste proprio nel mettersi in quel caso singolare per cui, a causa della simmetria del potenziale, esistono soluzioni dell'equazione di Schrödinger rispettivamente simmetriche ed antisimmetriche.

Osserviamo inoltre che il tempo di collisione tra il complesso (E + A + C) e la molecola B è molto lungo, in confronto ai periodi dei moti elettronici. Infatti la reazione ha luogo in soluzione e le velocità delle due molecole in confronto a quelle degli elettroni sono molto piccole, dato che le loro masse sono molto grandi e le energie cinetiche quelle dei moti di agitazione termica. Possiamo quindi considerare le molecole come se fossero ferme, durante la collisione, per tutto il tempo richiesto per il verificarsi della reazione.

Trascurando allora in un primo tempo ogni interazione tra le due parti di cui il sistema è composto, siano:

$$u = u'_0 \quad \text{e} \quad u = u''_0$$

le parti spaziali (che possiamo supporre reali) delle due autofunzioni corrispondenti ai due stati sopra considerati ed  $E_0$  il relativo valore comune della energia del sistema.  $u'_0$  e  $u''_0$  sono ortogonali (dato che nei due casi il legame è tutto verso l'una, o rispettivamente verso l'altra, delle due parti che compongono il sistema) e possiamo supporre che siano normalizzate. Sia ora  $H'$  l'hamiltoniana di interazione nel corso dell'urto, hamiltoniana che supporremo assai piccola. La nuova autofunzione e la nuova energia del sistema potranno scriversi:

$$u = u'_0 + \lambda u''_0 \quad E = E_0 + \varepsilon$$

dove  $\varepsilon$  risulterà una quantità molto piccola. Sarà quindi:

$$(2) \quad H'(u'_0 + \lambda u''_0) = \varepsilon (u'_0 + \lambda u''_0)$$

Moltiplicando a sinistra per  $u'_0$  e per  $u''_0$  rispettivamente e integrando rispetto a tutte le variabili, avremo:

$$(3) \quad \begin{cases} H_{11} + \lambda H_{12} = \varepsilon \\ H_{21} + \lambda H_{22} = \varepsilon \lambda \end{cases}$$

dove si è posto:

$$H_{11} = \int u'_0 H' u'_0 dV \quad \text{etc.}$$

e dove:  $H_{12} = H_{21}$  a causa dell'hermiticit  di  $H'$  e  $H_{11} = H_{22}$  a causa della simmetria del potenziale. Infatti i due siti ai quali il gruppo C pu  legarsi debbono essere identici dal punto di vista chimico e sterico e siccome anche l'energia di legame di C   nei due casi la stessa, i due integrali debbono essere necessariamente uguali. Si trovano allora le due soluzioni rispettivamente simmetrica ed antisimmetrica:

$$(4) \quad \begin{cases} u' = u'_0 + u''_0 & u'' = u'_0 - u''_0 \\ \varepsilon_1 = H_{11} + H_{12} & \varepsilon_2 = H_{11} - H_{12}. \end{cases}$$

L'interazione sopprime quindi la degenerazione, sostituendo all'unico livello energetico degenerare una coppia di livelli la cui separazione in energia risulta essere

$$(5) \quad \Delta E = -2 H_{12}.$$

Se, ora, al tempo  $t = 0$ , il gruppo C   certamente legato al complesso (A + E) come abbiamo supposto in precedenza, nessuna di queste due soluzioni rappresenta lo stato effettivo del sistema. Il sistema non   quindi in uno stato stazionario e la sua funzione di stato completa pu  scriversi come combinazione lineare delle autofunzioni complete:

$$\psi_1 = e^{-i \frac{E_1}{\hbar} t} u' \quad , \quad \psi_2 = e^{-i \frac{E_2}{\hbar} t} u''$$

relative ai due stati stazionari. La combinazione lineare appropriata risulta essere:

$$(6) \quad \psi = \frac{1}{2} \left( 1 + e^{-i \frac{\Delta E}{\hbar} t} \right) u'_0 + \frac{1}{2} \left( 1 - e^{-i \frac{\Delta E}{\hbar} t} \right) u''_0.$$

Per  $t = 0$    infatti:  $\psi = \psi_1$  e il legame oscilla tra i due siti vicini con la frequenza:

$$\nu = \frac{\Delta E}{h}.$$

Tuttavia, non appena   trascorso il primo mezzo periodo, la funzione di stato   diventata:  $\psi = \psi_2$ , il gruppo C   passato alla molecola B e se una parte dell'energia disponibile non era stata liberata all'atto della formazione del complesso (E + A + C), essa viene liberata ora, con la scissione del complesso residuo (E + A). La molecola enzimatica E   nuovamente libera e disponibile per un nuovo impiego.

A questo punto, risulta ben chiara la funzione svolta dalla molecola enzimatica E nella reazione. Unendosi ad (A + C) essa determina una redistribuzione della carica negativa nell'intera molecola, tale che l'energia di legame del gruppo C al complesso risulta aumentata fino a raggiungere lo stesso valore dell'energia di legame di C alla molecola B. Contemporaneamente, solo una parte dell'energia disponibile si libera. Si comprende come una tale funzione non possa in generale essere svolta da una molecola semplice, comprendente

pochi atomi. La coincidenza tra le due energie di legame deve essere estremamente precisa, perché la simmetria della soluzione non venga distrutta e quindi la molecola enzimatica deve essere molto specializzata e grande abbastanza da permettere un accurato aggiustamento della distribuzione della carica negativa nell'intera molecola, mediante l'azione fine di atomi o gruppi periferici anche molto distanti dai siti attivi. In questo senso quindi effettivamente esiste, secondo questo modello, una relazione diretta tra la specificità dell'azione enzimatica e le dimensioni della corrispondente molecola proteica.

Una volta realizzata l'eguaglianza delle energie di legame, il trasferimento del gruppo C avviene per risonanza, ad energia costante, mentre quel residuo di energia disponibile non ancora reso libero all'atto della formazione del complesso enzima-sostrato viene utilizzato alla fine per liberare la molecola enzimatica.

Ci siamo riferiti, in quanto precede, in particolare al caso di una reazione di trasferimento. È tuttavia chiaro che il modello può applicarsi, con modifiche del tutto inessenziali, a qualunque altro tipo di reazione enzimatica.

Vogliamo ancora soltanto accennare al fatto che il meccanismo di trasferimento dei legami per risonanza qui considerato può spiegare immediatamente un gran numero di fatti ben noti della biologia cellulare, riconducendoli ai principi elementari della meccanica quantica. Citeremo solo due esempi. Il primo è quello della selezione della molecola di RNA solubile specifica da parte del corrispondente amino-acido, in una soluzione in cui sono presenti venti differenti tipi di RNA solubile. Com'è noto, ogni *s*-RNA termina con lo stesso gruppo —C—C—A, al quale si attacca in ogni caso il corrispondente amino-acido, tramite l'azione di un enzima. Come possono l'amino-acido e l'enzima scegliere la molecola giusta di *s*-RNA? È chiaro che la richiesta di una corrispondenza specifica tra le energie di legame e il meccanismo di trasferimento per risonanza danno una soddisfacente risposta a tale domanda e possono anche aprire la via alla spiegazione di certi risultati ambigui che si ottengono *in vitro*.

Il secondo esempio è quello del crossing-over tra due molecole di DNA identiche o quasi identiche. In questo caso non è evidentemente necessario l'intervento di un enzima, perché l'identità dei siti e delle energie di legame permettono senz'altro lo scambio per risonanza.

Questi fenomeni verranno tuttavia discussi più per esteso in un prossimo lavoro.