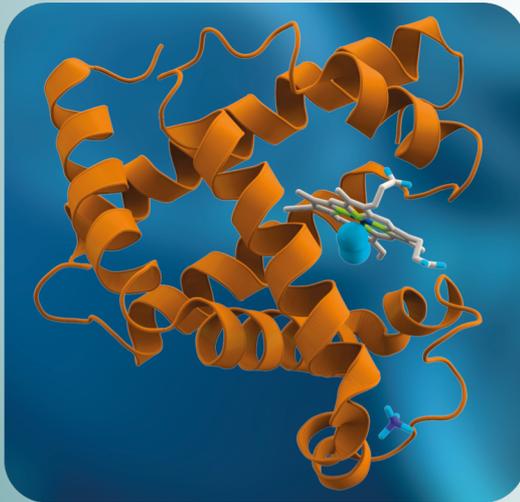


# Bioquímica Estructural y Metabólica

## TEMA 7: ENZIMAS



**Magdalena María Foltman**

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Este material se publica bajo la siguiente licencia:

[Creative Commons BY-NC-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)



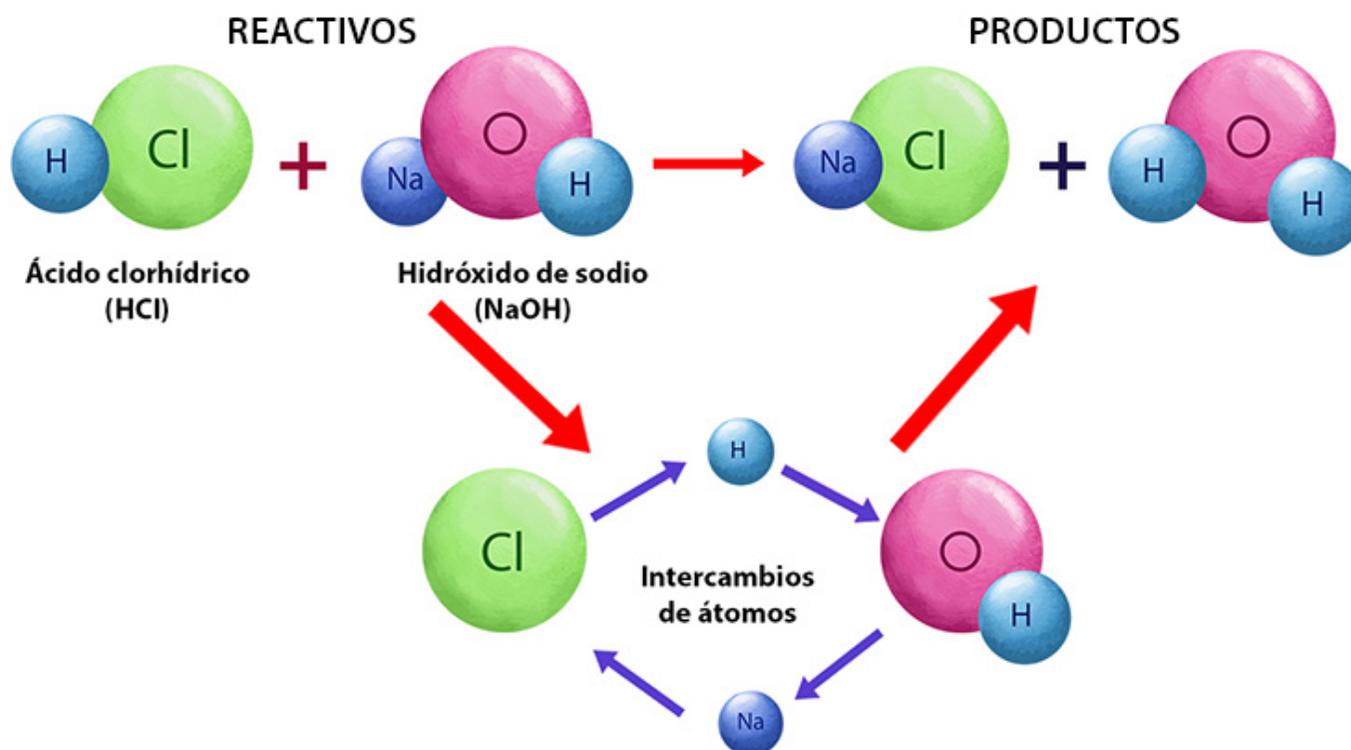
## **TEMA 7. Enzimas.**

Importancia y propiedades. Cofactores. Clasificación. Funcionamiento de los enzimas. El centro activo. Principios de la catálisis enzimática. Energía de activación. Mecanismos de catálisis. Cinética enzimática. Ecuación de Michaelis-Menten. Ecuación de los dobles recíprocos. Inhibición enzimática. Regulación de la actividad enzimática: alosterismo, modificación covalente, zimógenos, isoenzimas.

# REACCIONES QUÍMICAS.

**REACCIÓN QUÍMICA:** PROCESO TERMODINÁMICO en el cual una o varias moléculas (REACTIVOS) sufren una REORDENACIÓN DE SUS ÁTOMOS para dar lugar a otras moléculas distintas (PRODUCTOS).

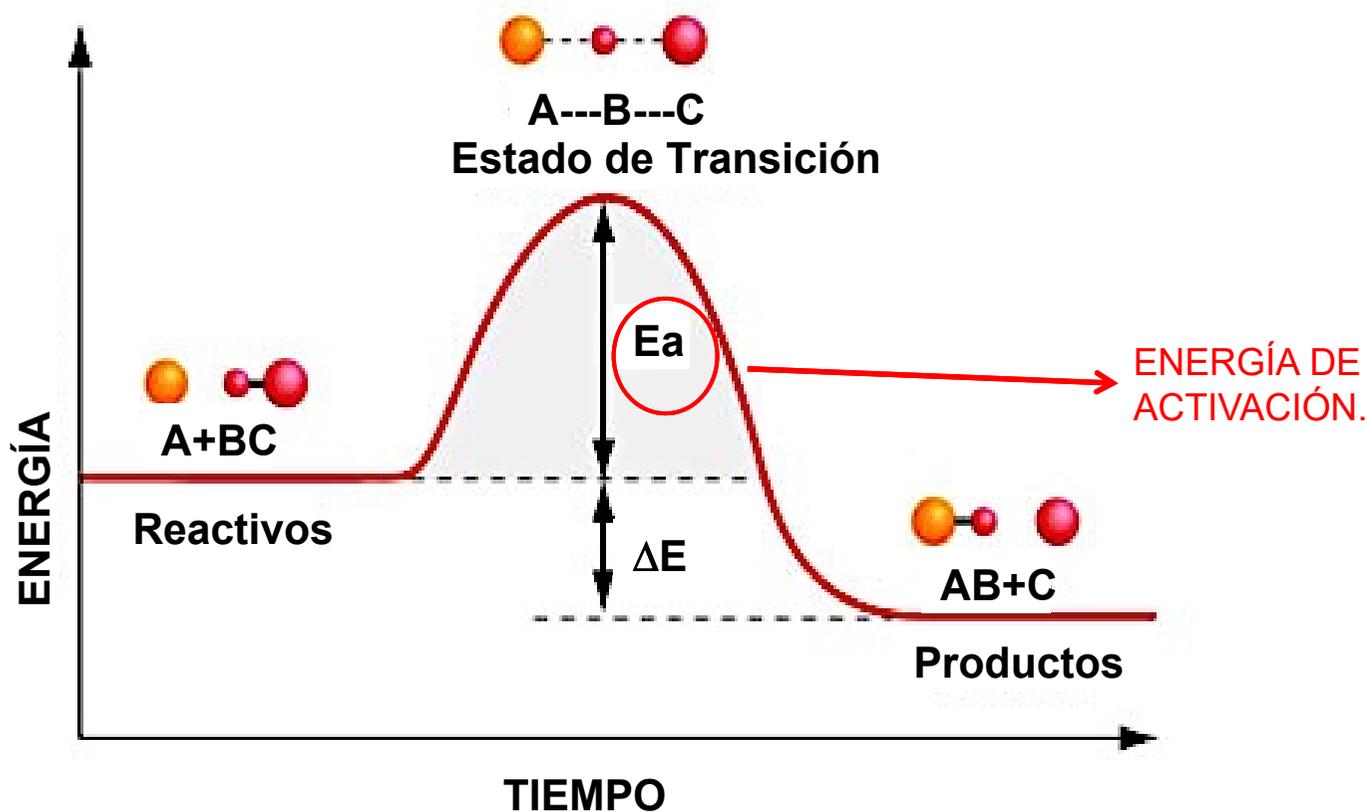
El proceso de reordenación de los átomos implica la rotura y formación de nuevos enlaces.



En toda reacción química, un/os reactivo/s (R) se transforman en producto/s (P).

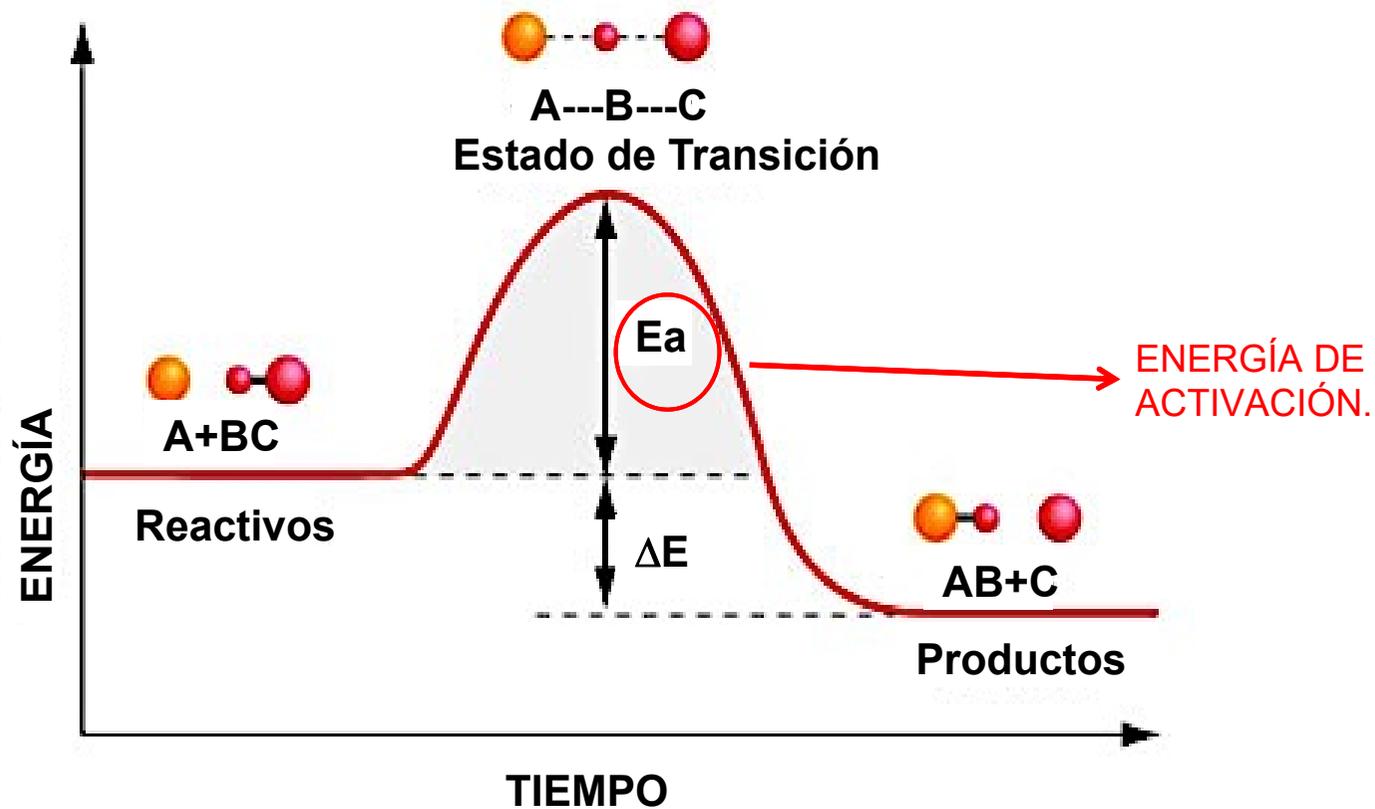
## REACCIONES QUÍMICAS.

La conversión de reactivos en productos se produce a través de la formación de un paso intermedio en el que se forma el llamado **ESTADO ACTIVADO (Ea) DEL REACTIVO** o **ESTADO DE TRANSICIÓN**. Esto necesita un aporte energético (energía de activación  $E_a$ ). Dicha energía puede ser el calor, electricidad, radiaciones, etc.



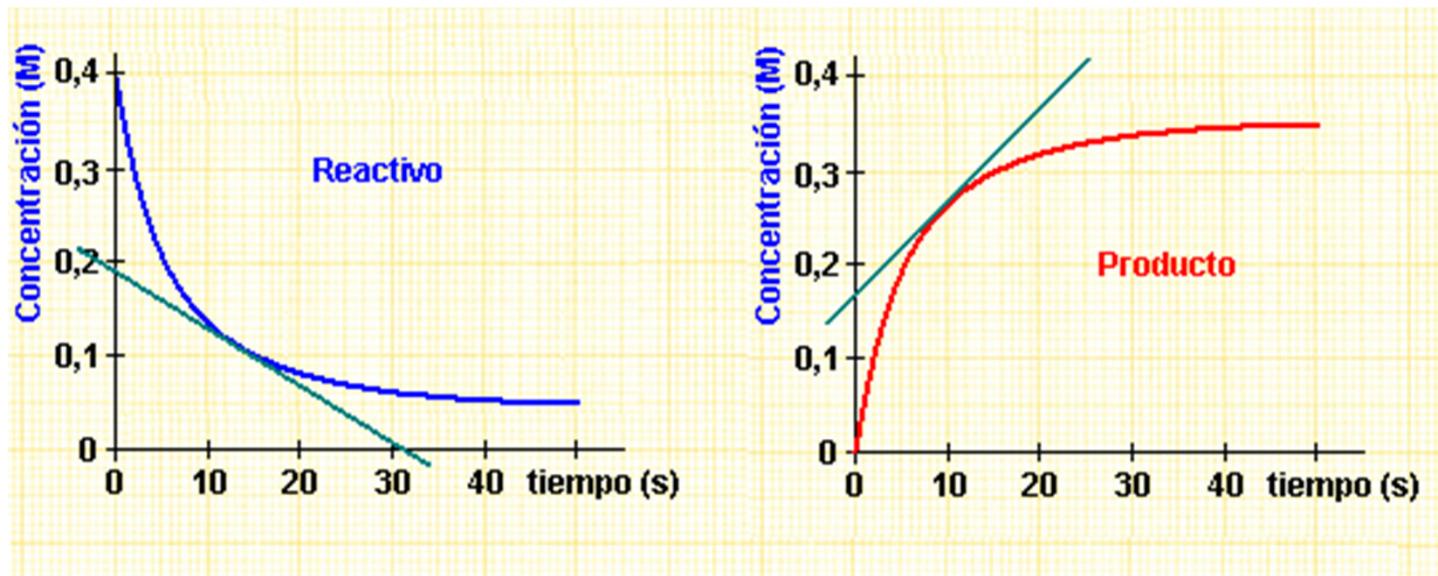
# REACCIONES QUÍMICAS.

El **ESTADO ACTIVADO DEL REACTIVO (EaR)** o **ESTADO DE TRANSICIÓN** es un **MOMENTO MOLECULAR PASAJERO, ALTAMENTE INESTABLE**, en el que unos enlaces químicos están muy próximos a romperse o a formarse para dar lugar a un producto.



## REACCIONES QUÍMICAS. CONCEPTOS BÁSICOS.

**VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN QUÍMICA:** Cantidad de producto formado (si tomamos como referencia un producto) o reactivo transformado (si tomamos como referencia un reactivo) por unidad de tiempo  $V=[P]/t$ .



La velocidad de una reacción química es proporcional al número de moléculas por unidad de tiempo que posee una energía superior al de los reactivos, es decir, al número de moléculas con energía suficiente para alcanzar el estado de transición.

# REACCIONES QUÍMICAS.

## CÓMO AUMENTAR LA VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN QUÍMICA:

Existen dos métodos generales mediante los cuales puede acelerarse la velocidad de una reacción química.

### 1.- AUMENTANDO LA TEMPERATURA.

**La temperatura aumenta el movimiento térmico de las moléculas reaccionantes** aumenta la fracción de moléculas que poseen energía suficiente para alcanzar el estado de transición (Vant Hoff , la velocidad de la reacción se duplica por cada 10 grados que se aumenta la temperatura)

# REACCIONES QUÍMICAS.

## CÓMO AUMENTAR LA VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN QUÍMICA:

Existen dos métodos generales mediante los cuales puede acelerarse la velocidad de una reacción química.

### 1.- AUMENTANDO LA TEMPERATURA.

La temperatura aumenta el movimiento térmico de las moléculas reaccionantes, aumenta la fracción de moléculas que poseen energía suficiente para alcanzar el estado de transición (Vant Hoff , la velocidad de la reacción se duplica por cada 10 grados que se aumenta la temperatura)

**2.- LLEVANDO A CABO LA REACCIÓN EN PRESENCIA DE UN CATALIZADOR** (Sustancia que actúa en pequeñas cantidades aumentando la velocidad de una reacción *sin consumirse en el proceso*).

# CATALIZADORES

## Catalizadores Inorgánicos

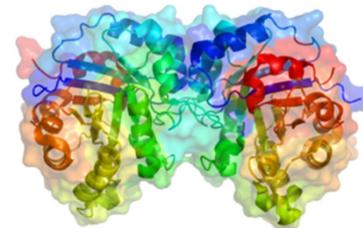
Trabajan de forma eficiente a altas temperaturas y a altas presiones.

Pentóxido de Vanadio



## Catalizadores Enzimáticos BIOCATALIZADORES

Las enzimas se desnaturalizan a altas temperaturas (+ de 40 grados)



**Los catalizadores NO SON NI REACTIVO, NI PRODUCTO de la reacción en la que intervienen.**

**Los catalizadores NO ALTERAN LAS VARIABLES TERMODINÁMICAS DEL PROCESO** porque el catalizador ni aporta ni consume energía del sistema.

**Cuando se forman los productos se regenera el catalizador libre. El catalizador no se consume en el proceso y por lo tanto es necesario en bajas cantidades**

# ENZIMAS

- **La mayoría de las enzimas son proteínas** (aunque hay moléculas de RNA con actividad catalítica = **RIBOZIMAS**).
- **Las enzimas actúan siempre en un entorno acuoso** y su actividad está adaptada al pH del fluido o el tejido en el que trabajan.  
La mayoría funciona a un pH neutro.
- Cada paso de una vía metabólica está catalizado por una enzima. **NO HAY METABOLISMO SIN ENZIMAS.**

# ENZIMAS. IMPORTANCIA CLÍNICA.

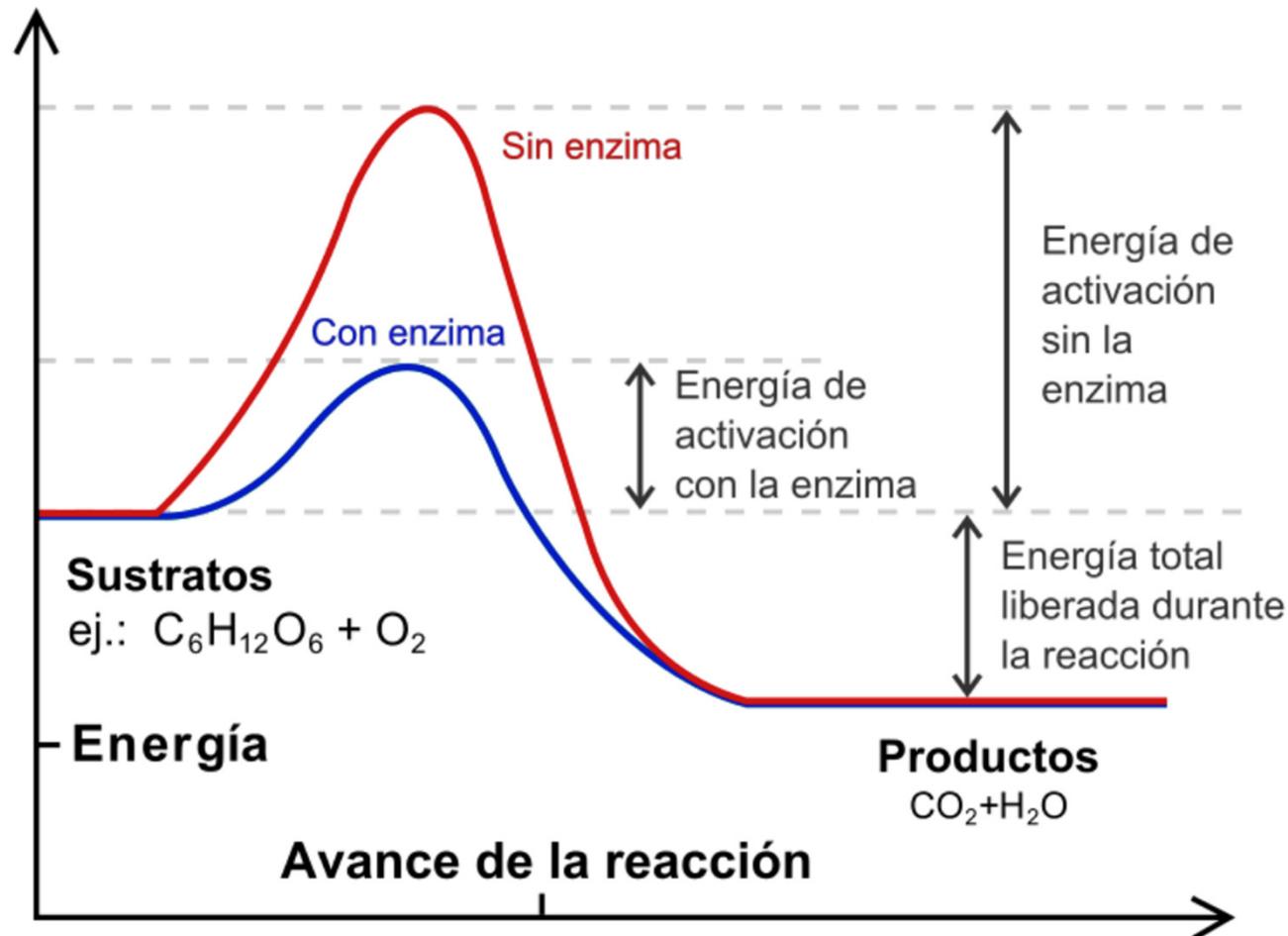
## IMPORTANCIA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

La medida de la actividad enzimática en fluidos biológicos o tejidos es importante para el diagnóstico de muchas enfermedades.

Enzima	Tejido(s)	Uso diagnóstico
Aspartato transaminasa (AST)	Corazón, músculo esquelético, hígado, cerebro	Hepatopatía
Alanina transaminasa (ALT)	Hígado	Hepatopatía, p. ej. hepatitis (ALT > AST)
Aumentan en sangre Cuando existe un <b>DAÑO HEPÁTICO</b>		
Amilasa	Páncreas, glándulas salivales	Pancreatitis aguda, obstrucción biliar
CK	Músculo esquelético, corazón, cerebro	Distrofia muscular, infarto de miocardio
GGT	Hígado	Hepatitis, exceso de alcohol
LDH	Corazón, hematíes hígado	Linfoma, hepatitis
<b>DAÑO EN EL PÁNCREAS.</b>		
Lipasa	Páncreas	Pancreatitis aguda, obstrucción biliar
Fosfatasa alcalina	Osteoblasto	Enfermedad ósea, tumores óseos
Fosfatasa ácida	Próstata	Cáncer de próstata

# ENZIMAS. MODO DE ACCIÓN

LOS ENZIMAS O BIOCATALIZADORES ACTÚAN REDUCIENDO LA ENERGÍA NECESARIA PARA ALCANZAR EL ESTADO DE TRANSICIÓN (ENERGÍA DE ACTIVACIÓN)



## ENZIMAS. MODO DE ACCIÓN

### ¿POR QUÉ LAS ENZIMAS REDUCEN LA ENERGÍA DE ACTIVACIÓN NECESARIA PARA LLEGAR AL ESTADO DE TRANSICIÓN?

Para que una reacción química tenga lugar:

**La unión de los sustratos al enzima permite que los reactantes (sustratos) se unan a su centro activo con una orientación óptima para que la reacción se produzca.**

La unión de los sustratos al enzima a través de interacciones débiles hace que **se libere energía que acerca a los sustratos al estado de transición.**

El enzima modifica las propiedades químicas del sustrato unido a su centro activo, **debilitando los enlaces existentes y facilitando la formación de otros nuevos.**

# ENZIMAS. PROPIEDADES

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS.

### 1. EFICACIA DE LA CATÁLISIS.

- **Actúan en concentraciones muy pequeñas.** Cantidades muy pequeñas de enzimas son capaces de transformar cantidades muy elevadas de sustrato.
- **Aumentan notablemente la velocidad de catálisis** ( $10^7$ - $10^{14}$  veces más rápida que sin enzimas)

### 2. ESPECIFICIDAD

### 3. REGULACIÓN

# ENZIMAS. MODO DE ACCIÓN Y PROPIEDADES

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS.

1.- EFICACIA DE LA CATÁLISIS.

2.- ESPECIFICIDAD. (De sustrato o de Reacción)

DE SUSTRATO

DE REACCIÓN

# ENZIMAS. MODO DE ACCIÓN Y PROPIEDADES

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS.

1.- EFICACIA DE LA CATÁLISIS.

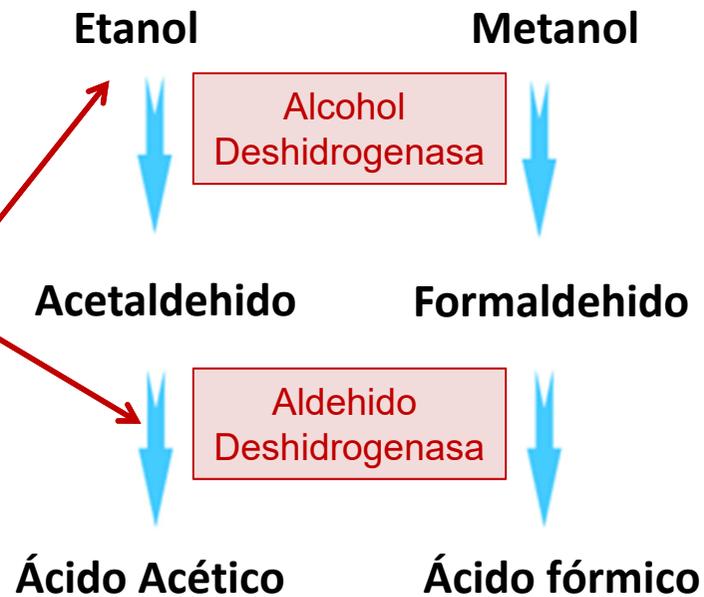
2.- ESPECIFICIDAD. (De sustrato o de Reacción)

**DE SUSTRATO:**

**ABSOLUTA:** Catalizan la reacción de un sustrato concreto (ej. **Glucosa-6-fosfatasa**)

**RELATIVA:** Catalizan la reacción de un grupo de sustratos relacionados estructuralmente

### Metabolismo de etanol y metanol



# INTRODUCCIÓN. CARACTERÍSTICAS DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS.

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS.

1.- EFICACIA DE LA CATÁLISIS.

2.- ESPECIFICIDAD.

### DE REACCIÓN.

La enzima solo cataliza una de las posibles reacciones que puede sufrir un sustrato.

ej. el **glutamato**, por ejemplo, puede experimentar diferentes transformaciones, y se requiere una enzima diferente para cada una de esas transformaciones.

conversión de Glutamato a Glutamina (**Glutamina sintasa**)

conversión de Glutamato a  $\alpha$ -cetoglutarato (**Glutamato deshidrogenasa**)

conversion de Glutamato a Ac.  $\gamma$ -aminobutírico (**Glutamato descarboxilasa**)

# ENZIMAS. MODO DE ACCIÓN Y PROPIEDADES

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS.

1.- EFICACIA DE LA CATÁLISIS.

2.- ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO.

3.-REGULACIÓN.

La actividad enzimática está estrictamente regulada.

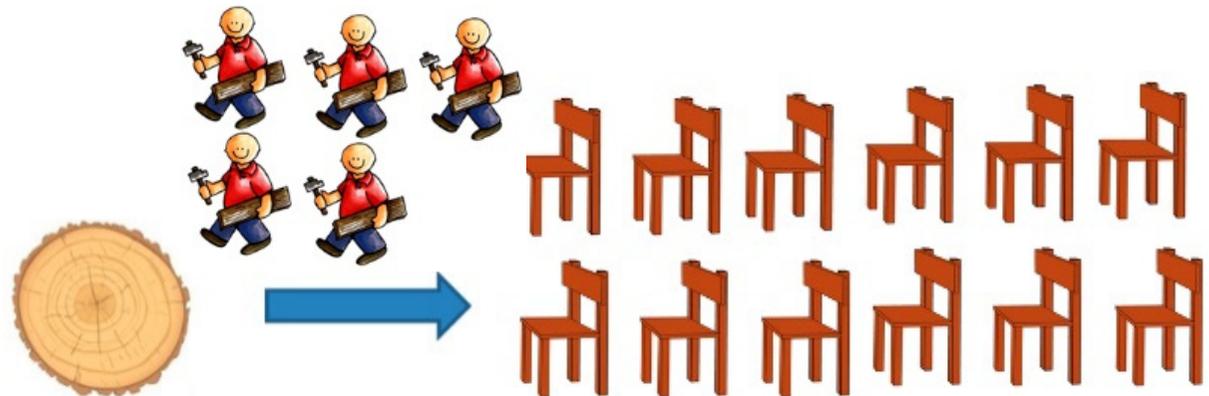
- Mediante la regulación de la **cantidad de enzima**, a través del control de la expresión génica (transcripción).
- Mediante el control de la **actividad enzimática** (ej. **moduladores alostéricos, inhibidores enzimáticos, modificación covalente, etc**).

# REGULACIÓN ALOSTÉRICA/MODIFICACIÓN COVALENTE VS. INDUCCIÓN ENZIMÁTICA

## REGULACIÓN ALOSTÉRICA/ MODIFICACIÓN COVALENTE



## REGULACIÓN POR INDUCCIÓN ENZIMÁTICA

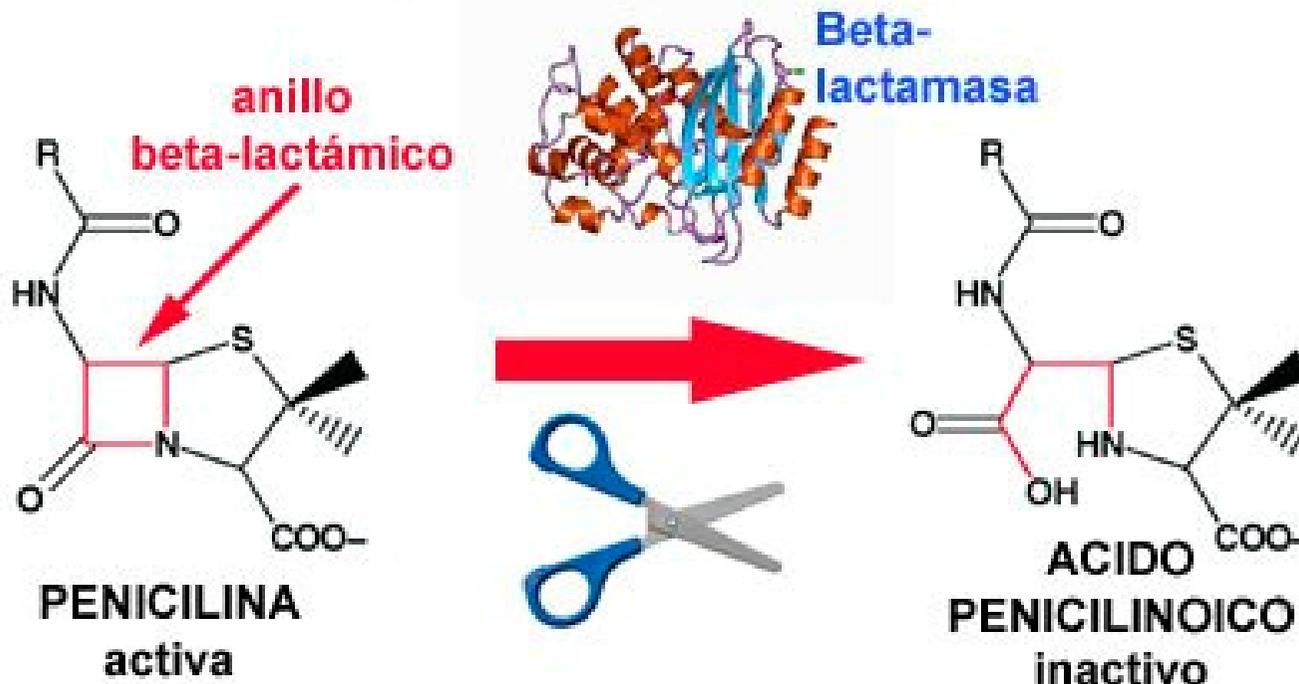


# ENZIMAS. NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN.

## NOMENCLATURA DE ENZIMAS.

Inicialmente se designó a cada enzima con el nombre del sustrato (reactivo de la reacción que cataliza) y se le agrega el sufijo **-asa**. **ESTE ES EL NOMBRE TRIVIAL DE LA ENZIMA** (ureasa, beta-lactamasa, etc)

Por ejemplo, al grupo de enzimas bacterianas que destruyen la penicilina y otros antibióticos beta-lactámicos, como la penicilina o la cefalosporina, se les conoce como *penicilinasas* o *beta-lactamasas*.

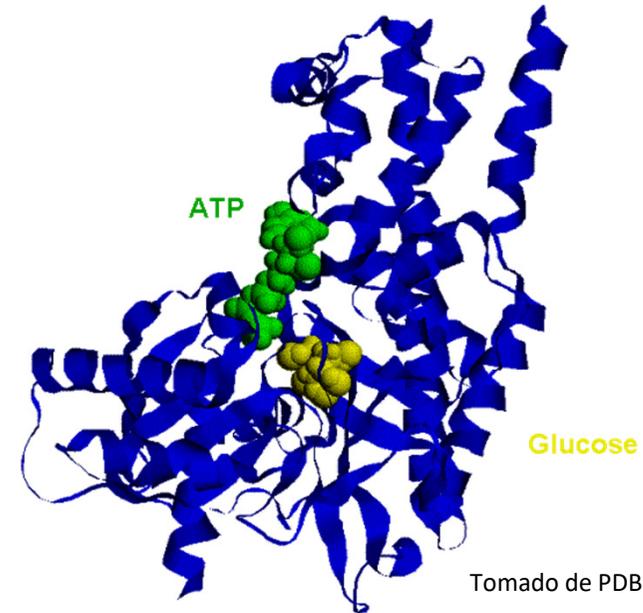


# ENZIMAS. NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN.

## Comité de Nomenclatura Enzimática de la Unión Internacional de Bioquímica.

1. Se toman el (los) sustratos de la enzima.
2. Se separan con dos puntos (:).
3. Se escribe la actividad de la enzima.

Por ejemplo, la enzima que transfiere un grupo fosfato del ATP a la D-glucosa, en el carbono 6 se llamará:



**ATP** : **D-glucosa** **6-fosfotransferasa**

Sustratos  
separados por dos  
puntos (:)

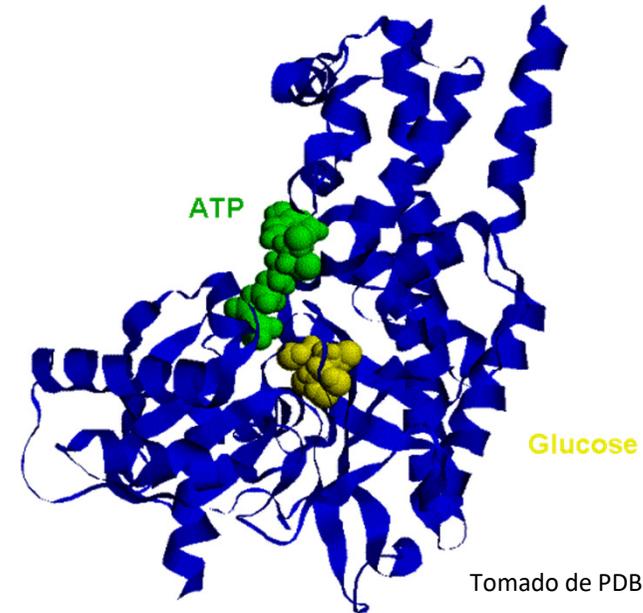
La enzima transfiere 1  
grupos fosfato del ATP  
en la posición 6 de la  
glucosa

# ENZIMAS. NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN.

Comité de Nomenclatura Enzimática de la Unión Internacional de Bioquímica.

1. Se toman el (los) sustratos de la enzima.
2. Se separan con dos puntos (:).
3. Se escribe la actividad de la enzima.

Por ejemplo, la enzima que transfiere un grupo fosfato del ATP a la D-glucosa, en el carbono 6 se llamará:



**ATP : D-glucosa 6-fosfotransferasa**

Sustratos separados por dos puntos (:)

La enzima transfiere 1 grupo fosfato del ATP en la posición 6 de la glucosa

En determinados casos se *recomienda* nombrar en vez de ATP : D-glucosa 6-fosfotransferasa: **glucosa 6-fosfotrasferasa o glucosa 6-quinasa .**

## ENZIMAS. CLASIFICACIÓN FUNCIONAL.

Clasificación **FUNCIONAL** de las Enzimas:  
Las enzimas se clasifican en 6 grandes familias en función de su actividad catalítica específica:

**OXIDORREDUCTASAS**

**TRANSFERASAS**

**HIDROLASAS**

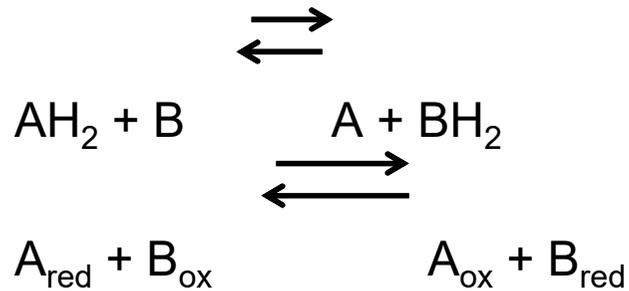
**LIASAS**

**ISOMERASAS**

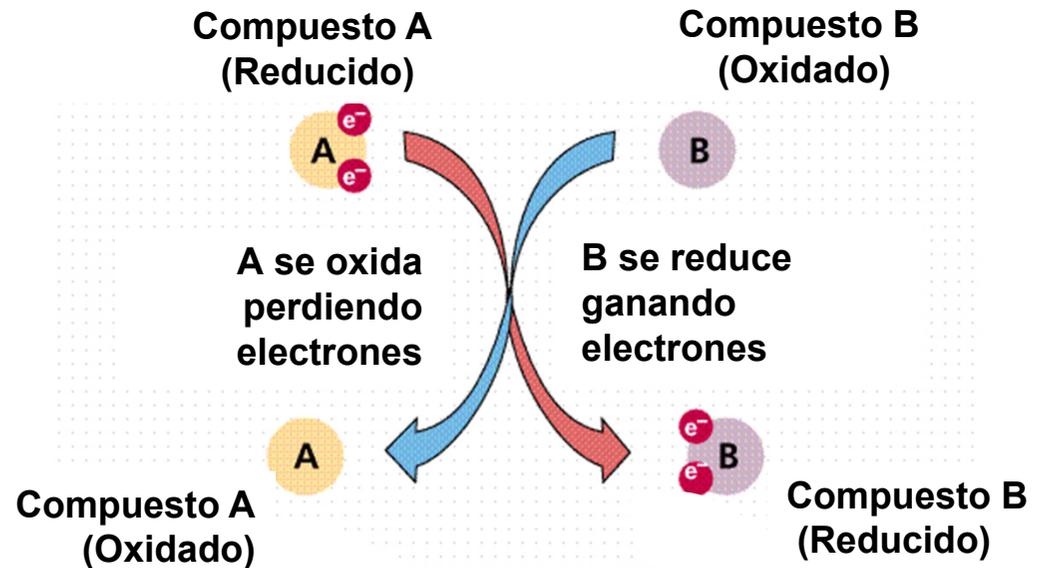
**LIGASAS**

# CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. OXIDORREDUCTASAS

Catalizan reacciones de oxidorreducción, es decir, **transferencia de hidrógeno ( $H^+$ ) o electrones ( $e^-$ ) de un sustrato a otro**, según la reacción general:



**DESHIDROGENASAS**  
**OXIDASAS**  
**OXIGENASAS**  
**REDUCTASAS**

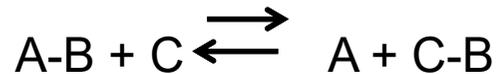


**Oxidación (pérdida de electrones):** En una molécula ocurre cuando se quitan los hidrógenos o se añaden oxígenos.

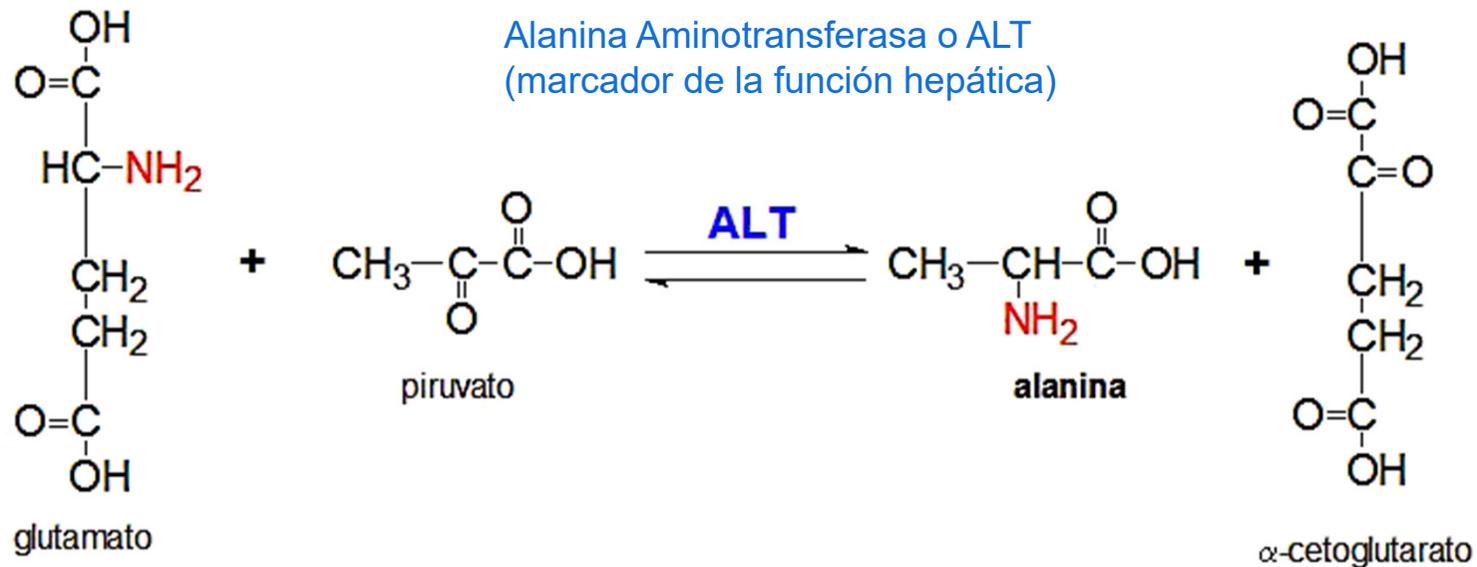
**Reducción (ganancia de electrones):** En una molécula ocurre cuando se añaden los hidrógenos o se quitan los oxígenos.

# CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. TRANSFERASAS

Catalizan la transferencia de un grupo químico (distinto del hidrógeno) de un sustrato a otro, según la reacción:

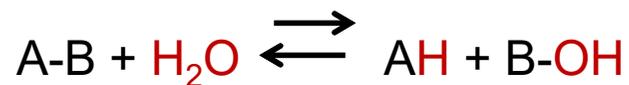


**AMINOTRANSFERASAS**  
**QUINASAS**  
**ACETILTRANSFERASAS**



## CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. HIDROLASAS.

**Catalizan las reacciones de hidrólisis** ("ROTURA POR AGUA") de una molécula dando lugar a dos moléculas, una de la cuales llevará un hidrógeno y otra un grupo hidroxilo procedente del agua.

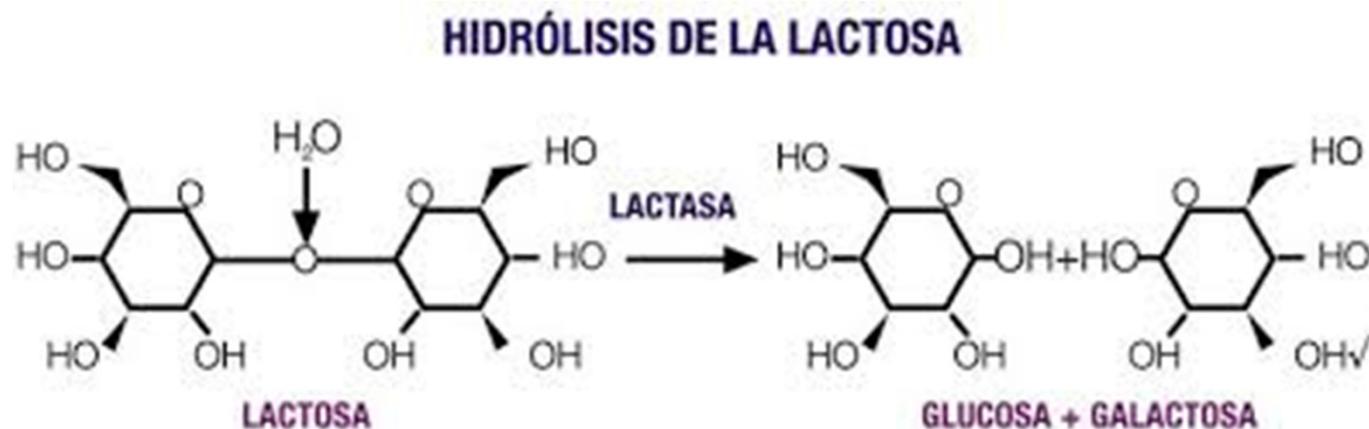


**DISACARASAS** (Maltasa, sacarasa, lactasa)

**GLUCOSIDASAS**

**LIPASAS**

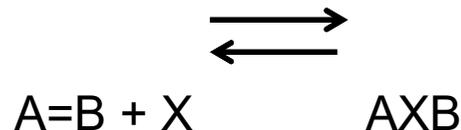
**ENZIMAS GÁSTRICAS** (Pepsina, tripsina, Papaina)



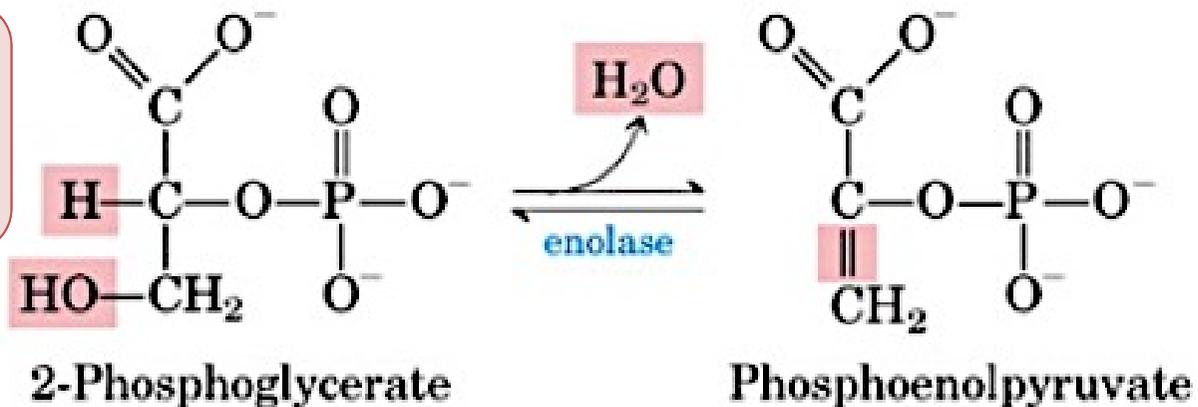
## CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. LIASAS.

Catalizan reacciones **de adición de grupos a dobles enlaces (rotura de dobles enlaces) o formación de dobles enlaces** por eliminación de grupos  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ .

Los enlaces que se modifican son enlaces C-C , C-O, C-N (**siempre NO PEPTIDICOS**). La ruptura de estos enlaces se realiza por métodos diferentes al de hidrolasas u oxidorreductasas.



**DESHIDRATASAS  
DEAMINASAS  
DECARBOXILASAS  
ENOLASAS**



## CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. ISOMERASAS.

Catalizan isomerizaciones de varios tipos. Es decir, **cambian la conformación estructural de las moléculas.**

Las **EPIMERASAS** catalizan la isomerización a nivel de un carbono asimétrico. (ej. Galactosa-1-Fosfato Epimerasa)

Las **MUTASAS**, que catalizan la transferencia intramolecular de un determinado grupo funcional (ej. 1,3-Bifosfoglicerato mutasa que cataliza la transferencia de un grupo fosfato del carbono 1 del Bifosfoglicerato al carbono 2, para dar 2,3-BPG)

Isómero A  $\rightleftharpoons$  Isómero B

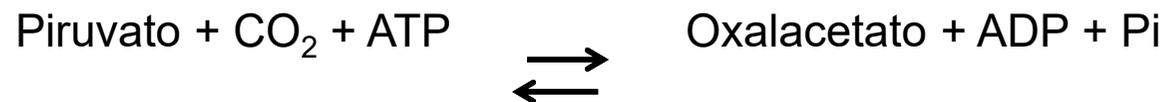
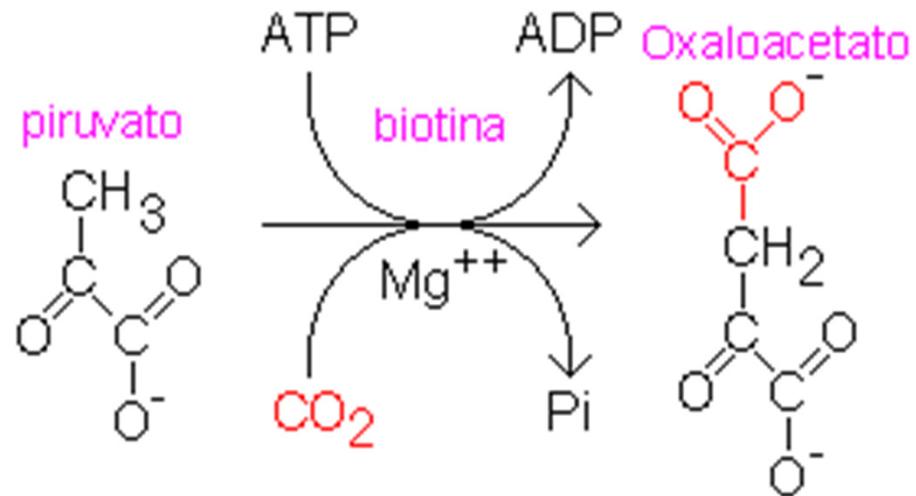


## CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS. LIGASAS.

**Catalizan la formación de enlaces C-C, C-N, C-O y C-S** (la unión de dos grupos químicos) a expensa de la hidrólisis de un enlace de alta energía.



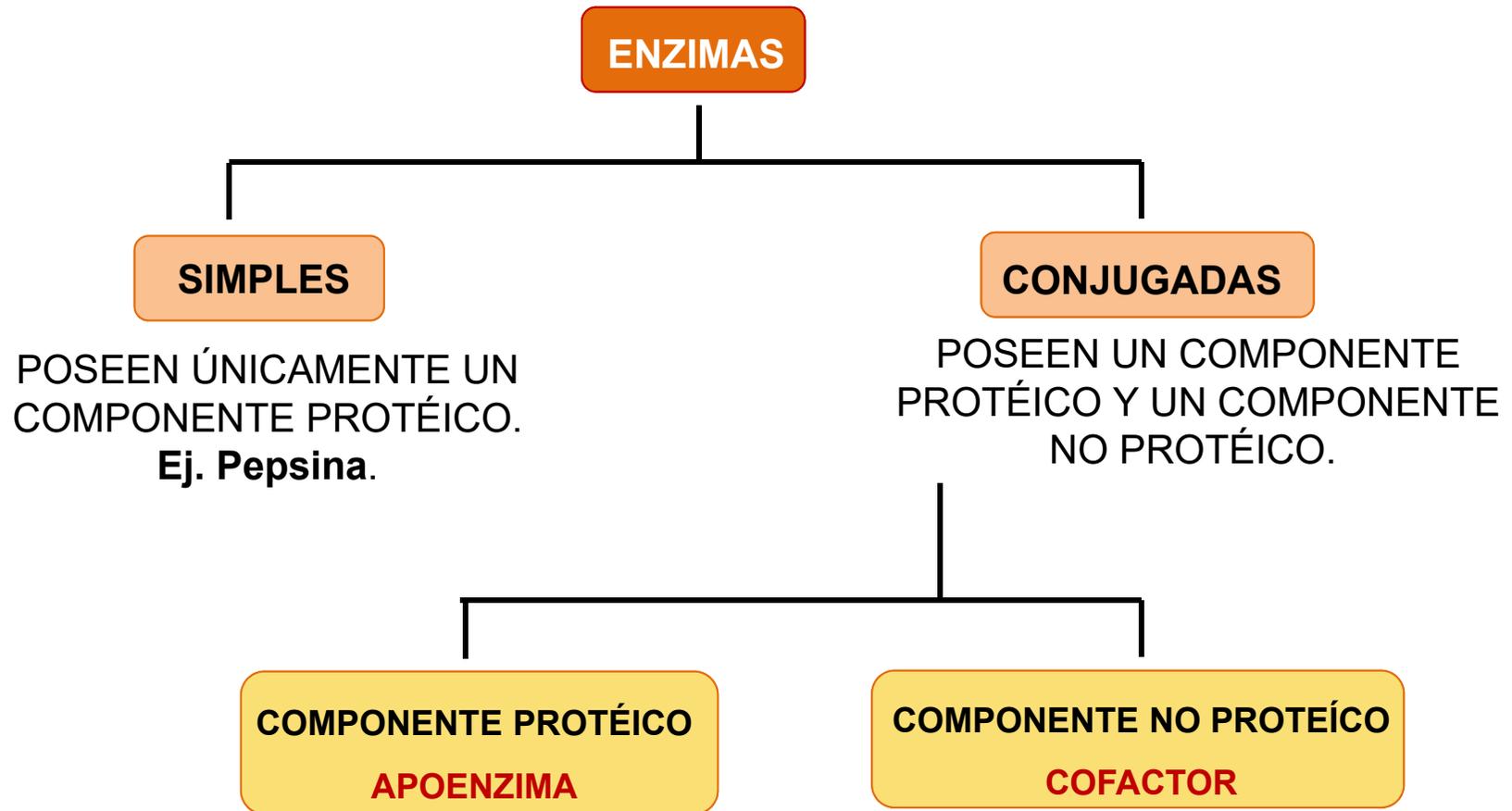
### SINTETASAS CARBOXILASAS



# CLASIFICACIÓN FUNCIONAL DE LAS ENZIMAS

CLASE	TIPO DE REACCIÓN
1. Oxidoreductasas	Transferencia de electrones/H <sup>+</sup> $A(\text{ox}) + B(\text{red}) \rightarrow A(\text{red}) + B(\text{ox})$
2. Transferasas	Reacciones de transferencia de grupo (no hidrógeno) $A-B + C \rightarrow A-C + B$ (quinasas, aminotransferasas)
3. Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis (rotura por al agua) $A-B + H_2O \rightarrow A-H + B-OH$ (proteasas, fosfatasas, lipasas)
4. Liasas	Adición de grupos a dobles enlaces o formación de dobles enlaces por eliminación de grupos Ruptura de enlaces C-C , C-O, C-N por métodos diferentes al de hidrolasas u oxidorreductasas. = (deshidratadas, decarboxilasas, aldolasas, adenilato ciclasas)
5. Isomerasas	Reordenación de grupos dentro de la misma molécula para dar isómeros. Isómero A $\rightarrow$ Isómero B (isomerasas, mutasas)
6. Ligasas	Formación de enlaces C-C, C-S, C-O y C-N por reacciones de condensación acopladas a hidrólisis de ATP . $A+B+ ATP \rightarrow A-B+AD$ (sintetasas, carboxilasas)

# ENZIMAS. CLASIFICACIÓN EN FUNCIÓN DE SU COMPOSICIÓN.

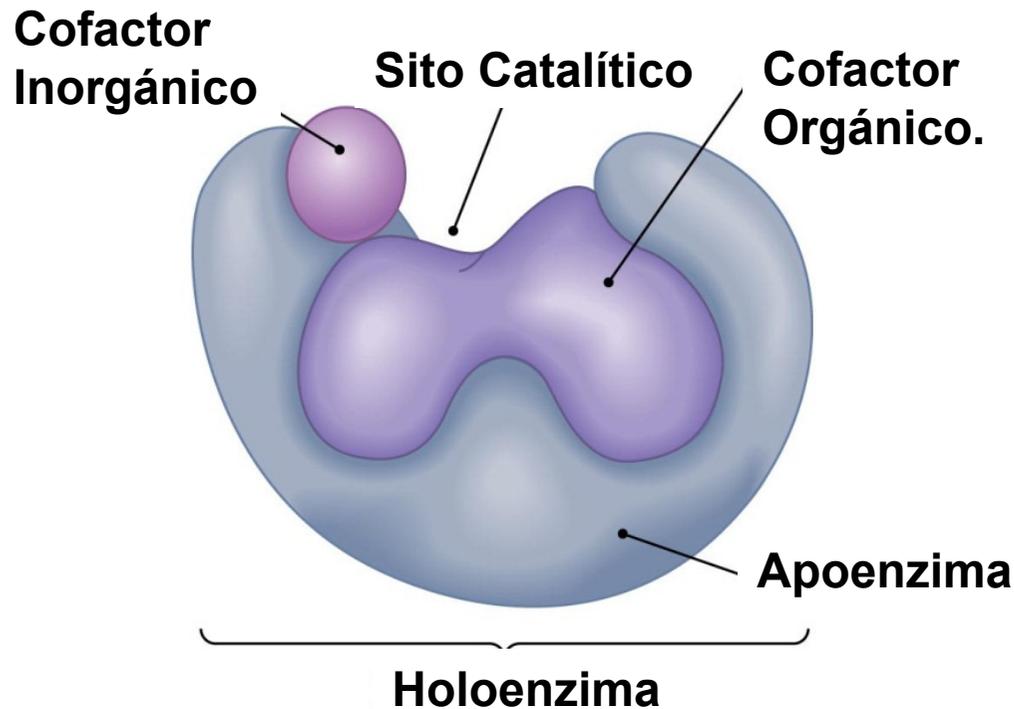


## INTRODUCCIÓN. CONCEPTO DE HOLOENZIMA.

Una **HOLOENZIMA** es una enzima completa y activada catalíticamente.

**HOLOENZIMA = APOENZIMA + COFACTOR.**

Una misma enzima puede necesitar dos cofactores distintos.



**POSIBLES FUNCIONES DEL APOENZIMA:**

1. Función de soporte.
2. Función catalítica

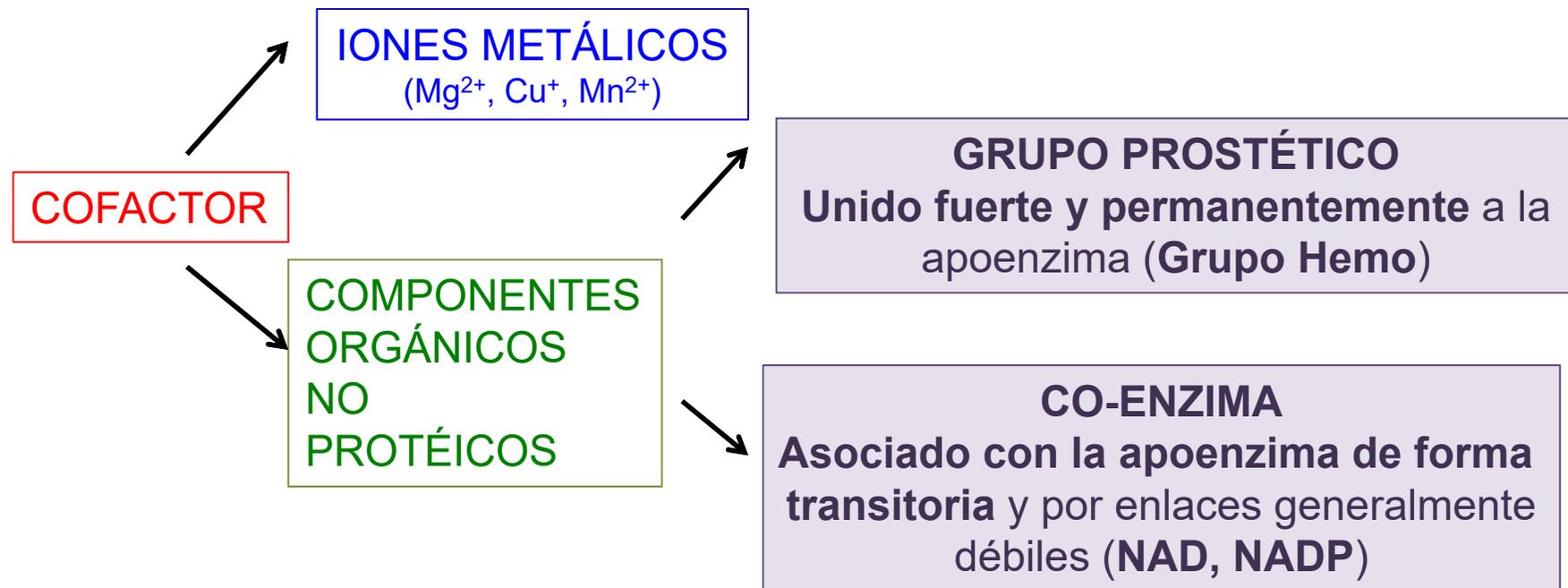
**POSIBLES FUNCIÓN DEL COFACTOR:**

1. Llevar a cabo la catálisis
2. Puente de unión enzima-sustrato
3. Introduce un cambio de conformación moldeando la enzima a su forma activa.

## INTRODUCCIÓN. CONCEPTO DE COFACTOR.

Un **COFACTOR** es una **MOLÉCULA QUÍMICAMENTE DIFERENTE A LA ENZIMA**, que está unida a esta y es necesaria para que ésta pueda tener una actividad catalítica.

**LOS COFACTORES** son sustancias de naturaleza **NO PROTEICA** que son requeridos para que una proteína ejerza su actividad biológica.



# COFACTORES. COENZIMAS.

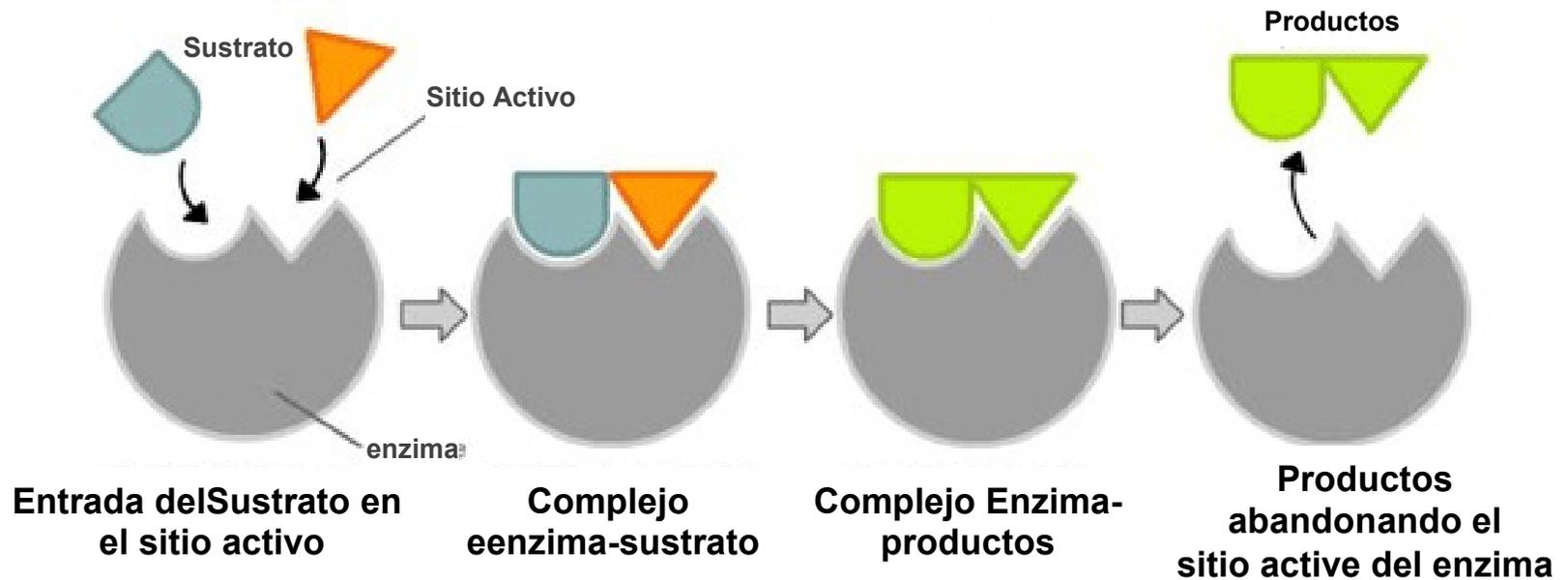
## COENZIMAS

Muchas coenzimas son derivados de la familia de vitaminas B. Funcionan como transportadores de múltiples moléculas.

VITAMINA	COENZIMA	ENZIMA	Grupo transportado
B1, Tiamina	TPP	Piruvato deshidrogenasa α-cetoglutarato DH α-cetoácido DH	Aldehido
B2, Riboflavina	FAD, FMN	Deshidrogenasas (flavoproteínas)	electrones
B3, Niacina	NAD, NADP	Deshidrogenasas	electrones
B5, Pantotenato	CoA	Pir-DH, α-KG-DH, acilCoA sintetasas...	acilos
B6, Piridoxina	Piridoxal fosfato	Aminotransferasas (Glucógeno fosforilasa)	amino
B8, Biotina	Biotina	Carboxilasas	CO <sub>2</sub>
B9, Folato	Tetrahydrofolato	metab. aminoácidos	grupos monocarbonados
B12, cobalamina	CoenzimaB12	oxidación propionato	hidrógenos

## MODELOS DE UNIÓN DEL SUSTRATO AL CENTRO ACTIVO.

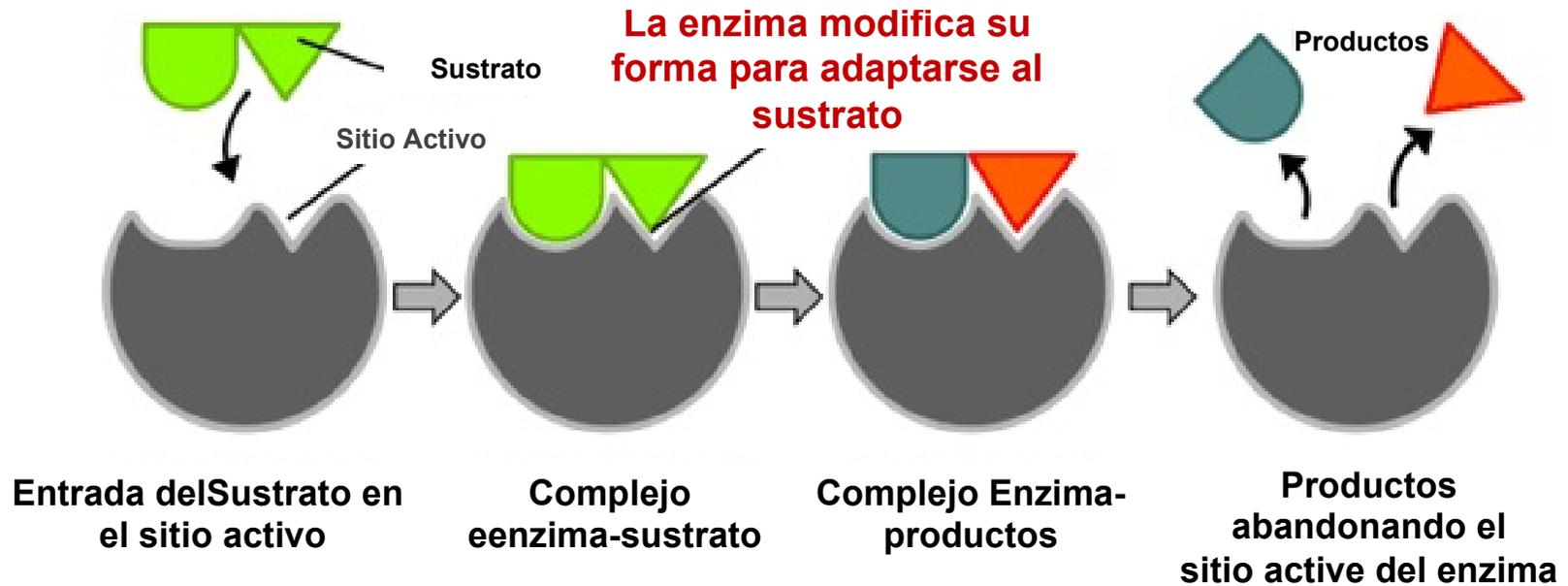
Modelo llave-cerradura.  
FISHER 1894.



Los enzimas son estructuralmente complementarios a sus sustratos de forma que se acoplan del mismo modo que una llave y una cerradura.

# MODELOS DE UNIÓN DEL SUSTRATO AL CENTRO ACTIVO.

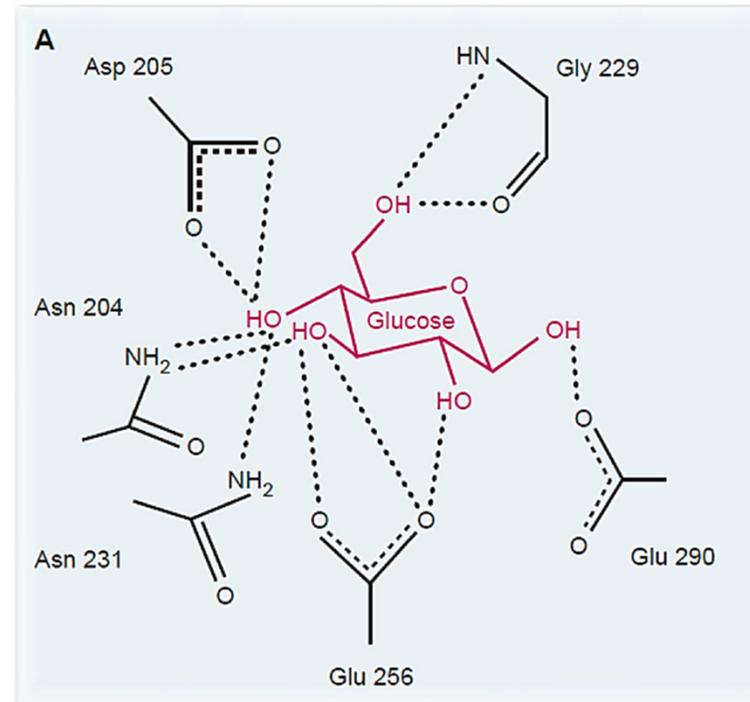
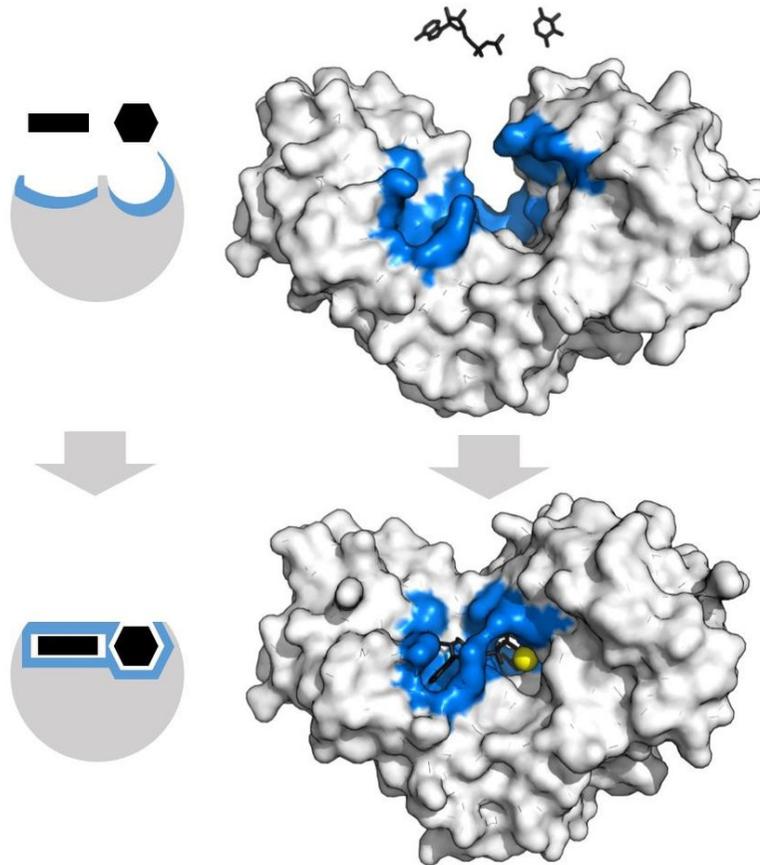
Modelo de Ajuste inducido.  
KOSHLAND 1958



Los enzimas pueden sufrir un cambio de conformación cuando se fijan al sustrato. **Este cambio de conformación aumenta el poder catalítico del enzima.**

# CONCEPTO DE CENTRO ACTIVO.

A nivel del centro activo tiene lugar un **ACOPLAMIENTO ESPACIAL** (las superficies moleculares de sustrato y enzima adoptan formas complementarias) y **también un ACOPLAMIENTO QUÍMICO** (grupos funcionales complementarios del enzima y del/los sustratos establecen diferentes tipos de interacciones débiles entre sí como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas e interacciones hidrofóbicas).



## HEXOQUINASA:

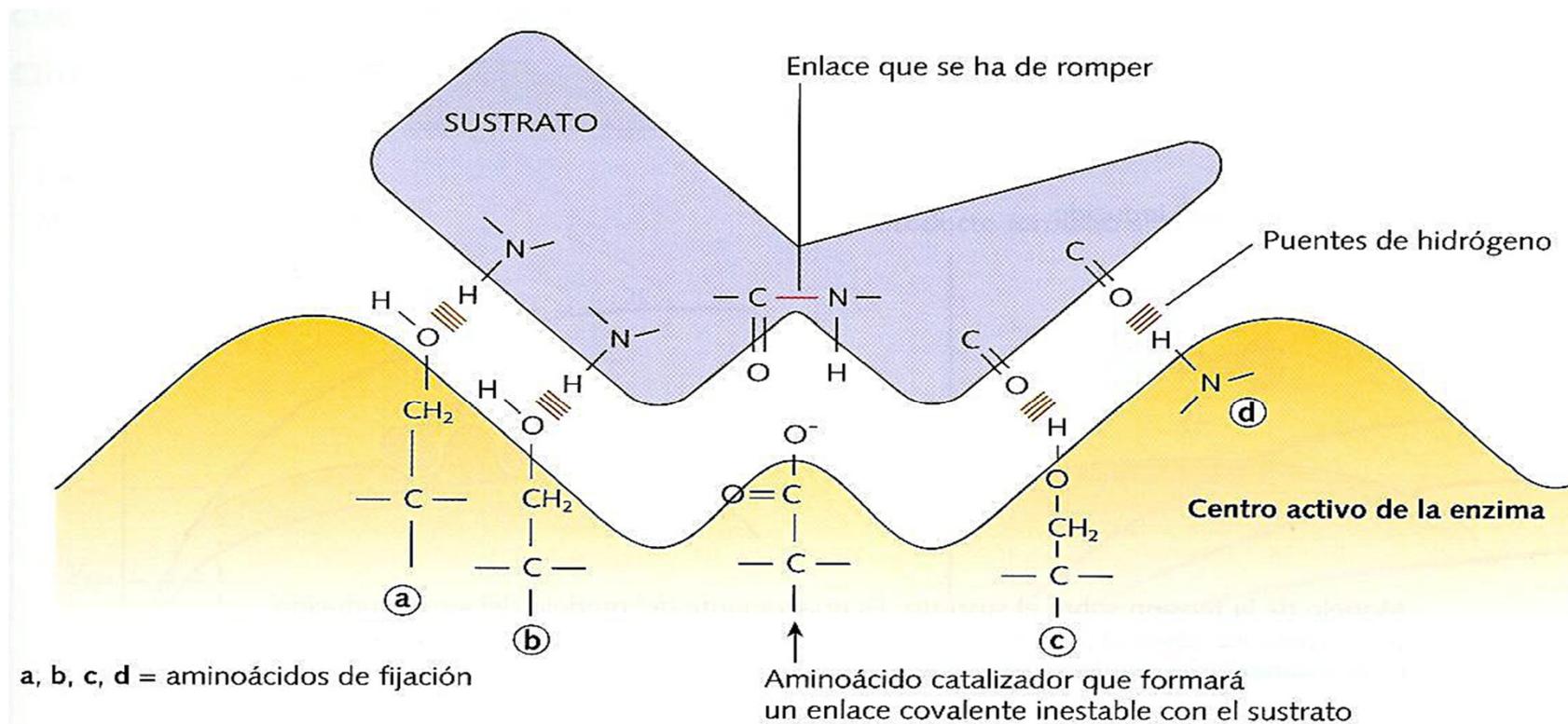
Cataliza la fosforilación de la glucosa para dar lugar a la glucosa 6-Fosfato 36

# INTERACCIÓN ENZIMA-SUSTRATO Y CATALISIS ENZIMÁTICA

Los aa pueden tener diferentes funciones en el centro activo.

**AMINOÁCIDOS CATALIZADORES.**- se encargan de desarrollar la función catalítica. Constituyen el verdadero centro catalítico del enzima.

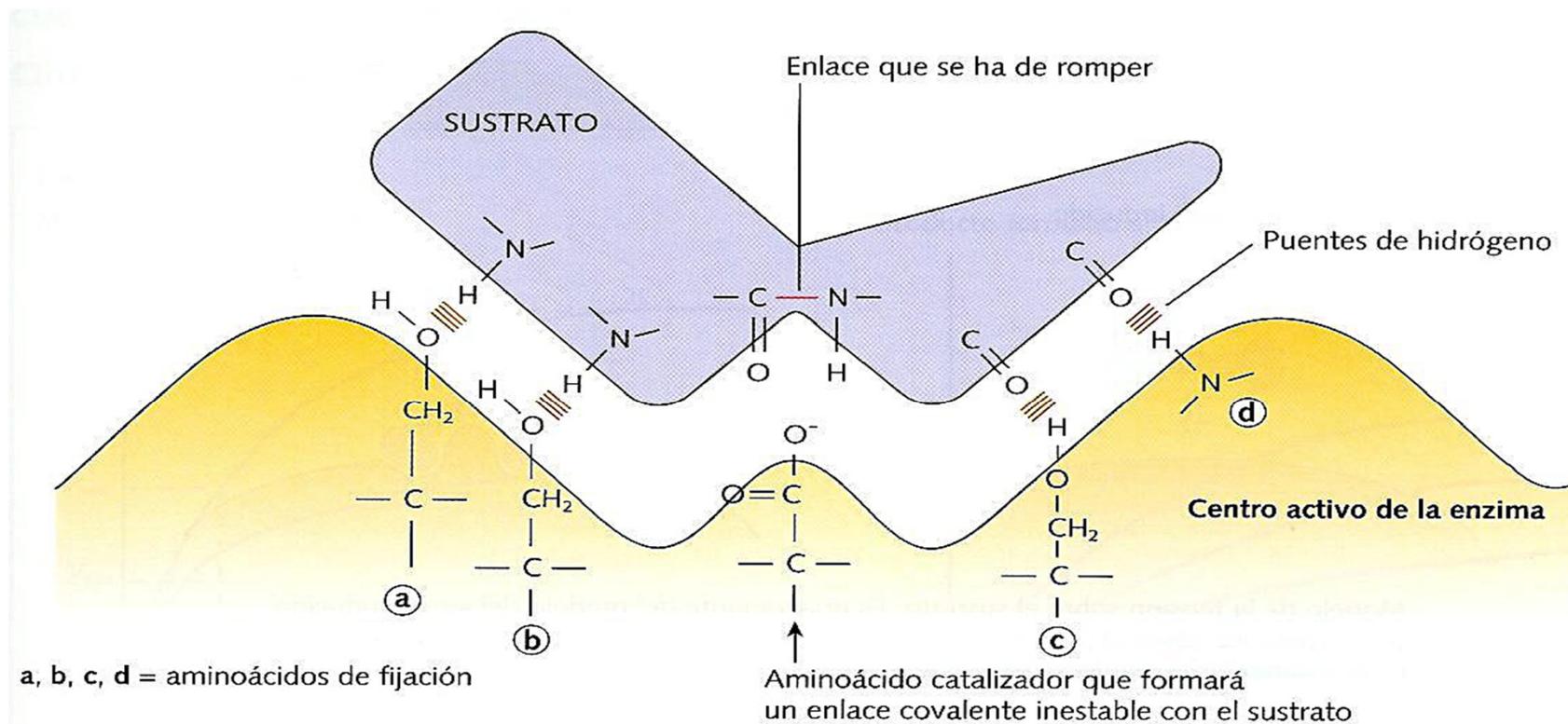
**AMINOÁCIDOS DE UNIÓN O DE FIJACIÓN.** Aminoácidos cuyas cadenas laterales pueden establecer interacciones débiles con grupos funcionales complementarios del sustrato.



Unión de un sustrato con el centro activo de una enzima.

# INTERACCIÓN ENZIMA-SUSTRATO Y CATALISIS ENZIMÁTICA

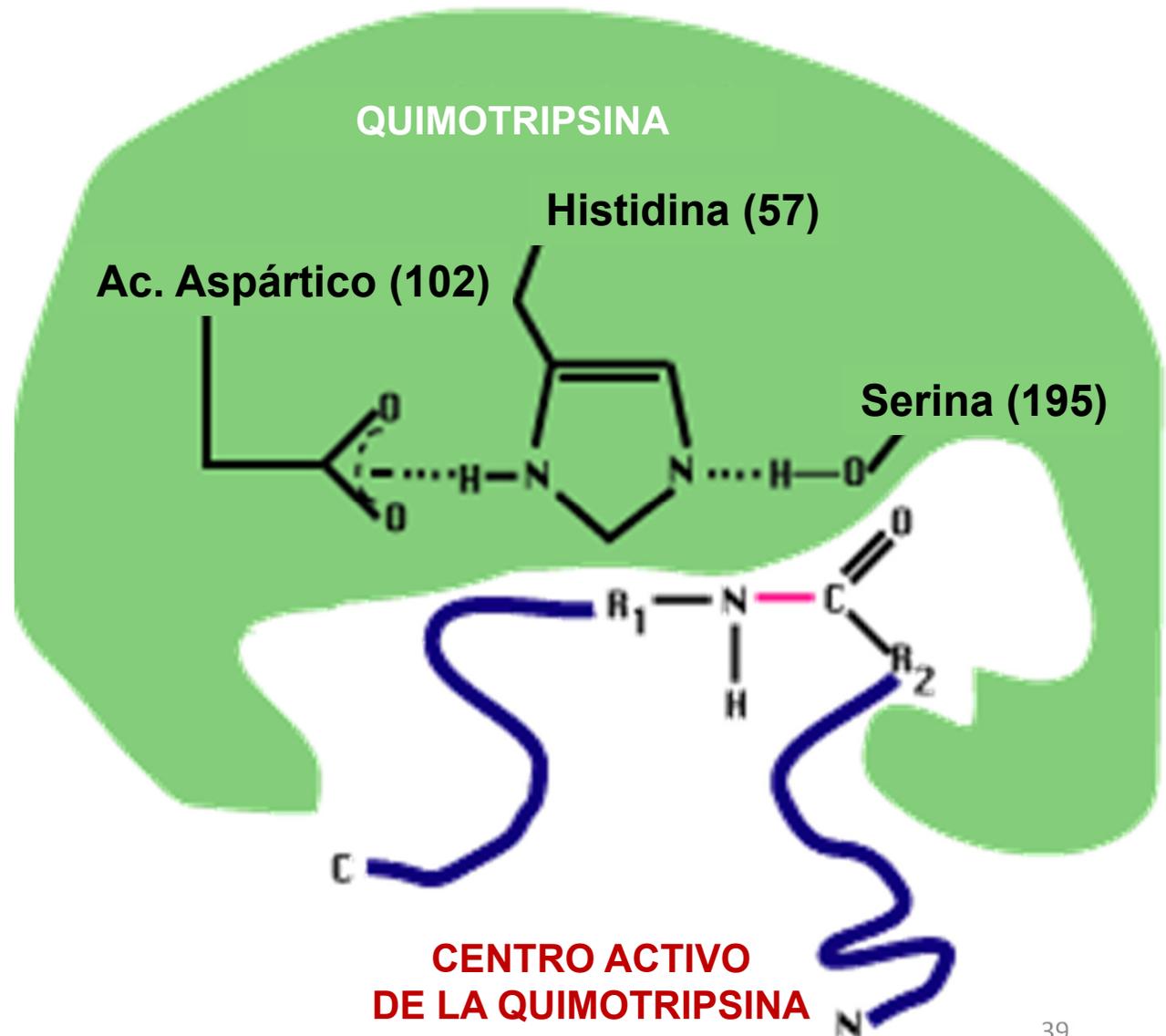
La formación de todos estos enlaces libera la energía necesaria para alcanzar el estado de transición (Energía de Activación  $E_a$ ). Esta energía se conoce como **ENERGÍA de FIJACIÓN**.



Unión de un sustrato con el centro activo de una enzima.

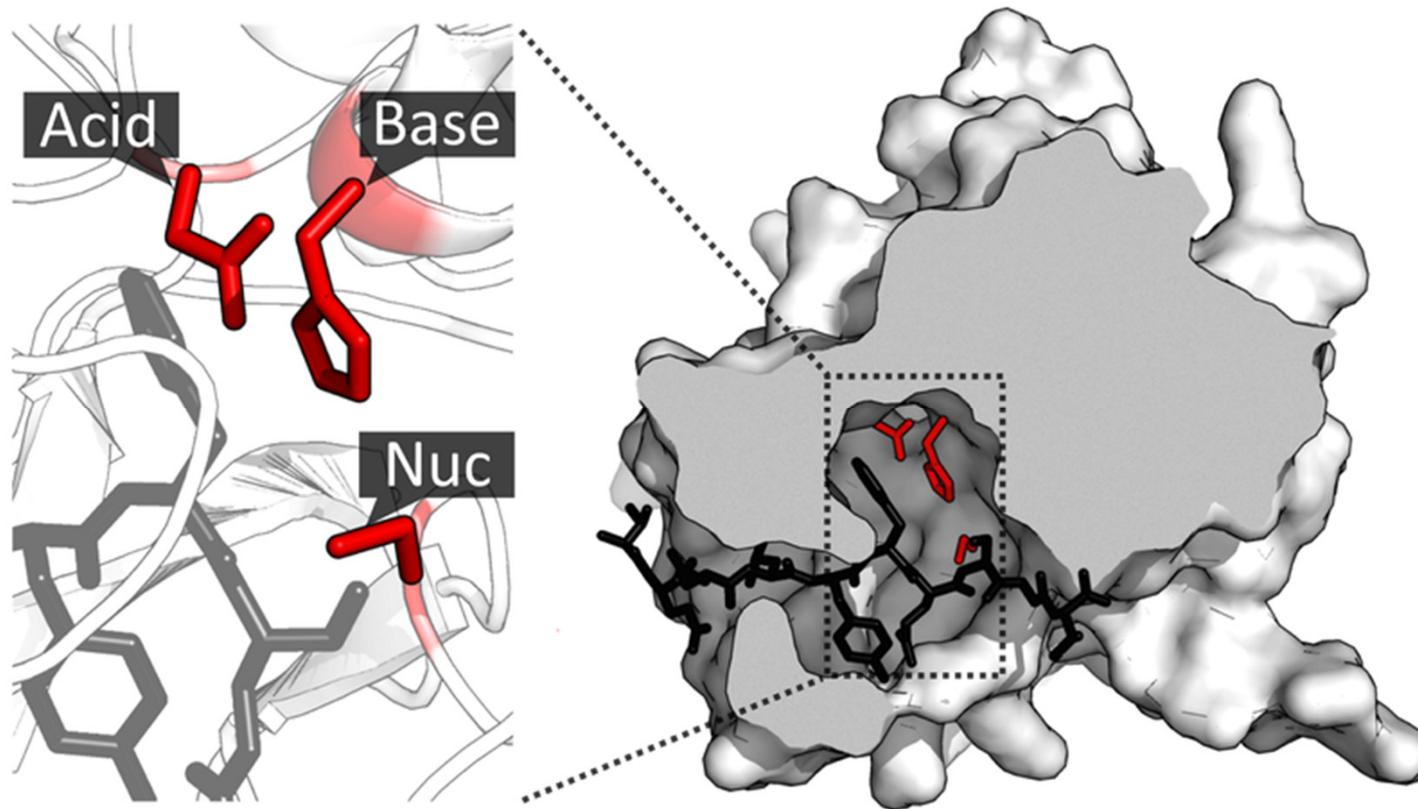
# CONCEPTO DE CENTRO ACTIVO.

**CENTRO ACTIVO.**  
Solamente **unos pocos aminoácidos** de los que constituyen la proteína van a formar parte del centro activo, y además esos aminoácidos **no tienen porque estar juntos en la estructura primaria de la proteína**, sino que pueden encontrarse en posiciones muy alejadas de esa cadena polipeptídica.



## CONCEPTO DE CENTRO ACTIVO.

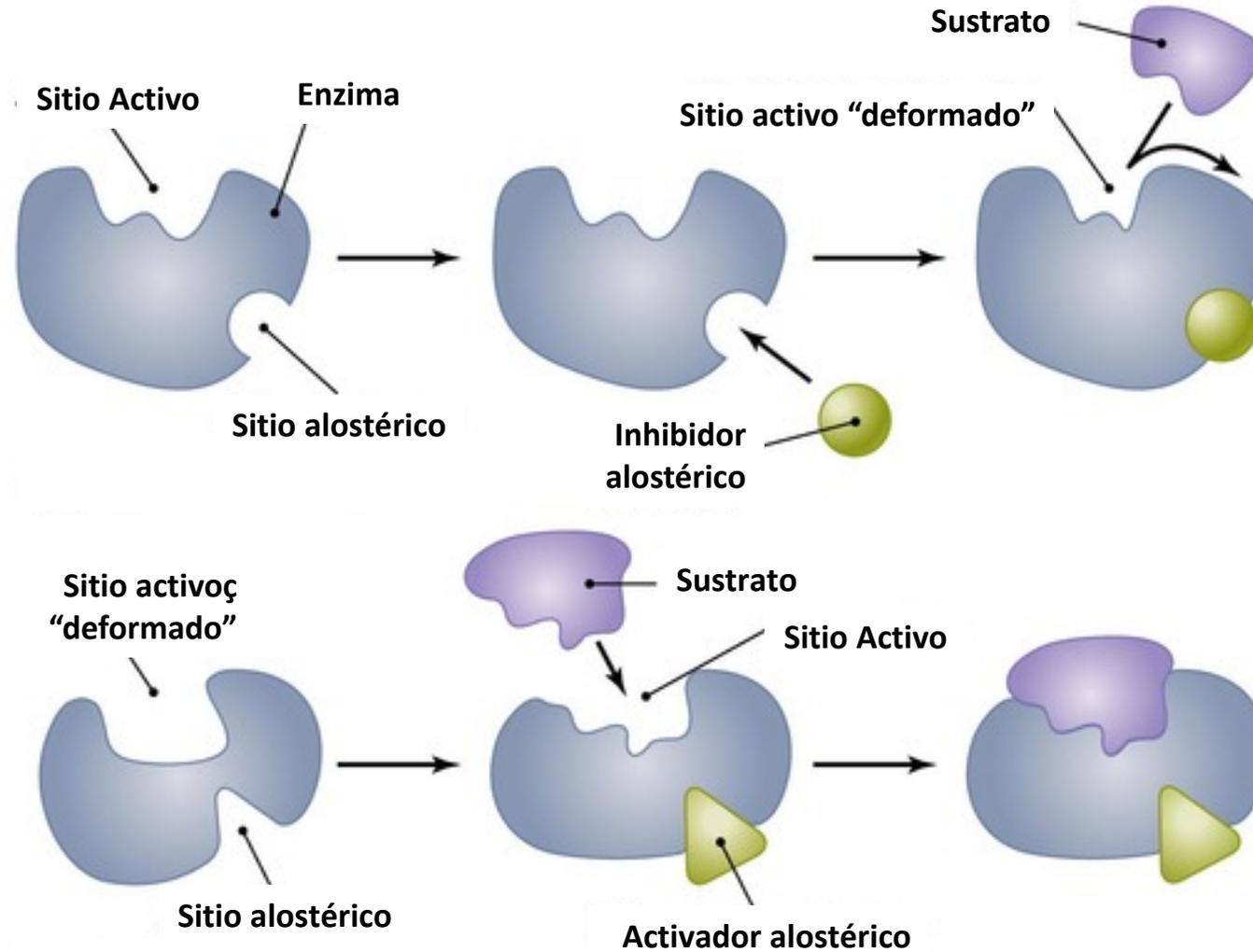
La especificidad de reacción y la especificidad del sustrato están determinadas por la estructura del centro activo.



**Triada Catalítica: Aa ácido (Glu, Asp)  
Aa Básico (His, Arg, Lys)  
Aa Nucleofílico (Ser, Thr)**

# CONCEPTO DE CENTRO ALOSTÉRICO

**Centro alostérico (sitio alostérico)** es una región de una enzima donde interacciona una determinada molécula (efector alostérico), **produciendo la activación o la inhibición de la enzima.**



## TIPOS DE CATÁLISIS

Los grupos catalíticos situados **en el centro activo van a contribuir a la rotura y la formación** de enlaces mediante diversos mecanismos.

En función de esos mecanismos diferenciamos tres tipos principales de catálisis:

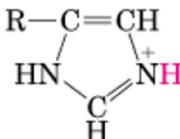
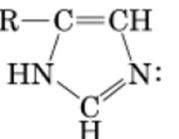
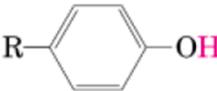
- CATÁLISIS ÁCIDO-BASE
- CATÁLISIS COVALENTE
- CATÁLISIS POR IONES METÁLICOS

# TIPOS DE CATÁLISIS

## CATÁLISIS ÁCIDO-BASE:

La transferencia de protones entre la enzima y el sustrato **da lugar a la formación de sustratos inestables cargados**, que se van a descomponer en productos con mas facilidad.

En los centros activos de los enzimas que llevan a cabo este tipo de catálisis hay aminoácidos cuyos grupos funcionales pueden actuar como **DADORES O ACEPTORES DE PROTONES** (ej. **triosa fosfato isomerasa** que cataliza la interconversión entre gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato).

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
<b>Glu, Asp</b>	$R-COOH$	$R-COO^-$
<b>Lys, Arg</b>	$R-\overset{H}{\underset{H}{\overset{+}{N}}}$	$R-\ddot{N}H_2$
<b>Cys</b>	$R-SH$	$R-S^-$
<b>His</b>		
<b>Ser</b>	$R-OH$	$R-O^-$
<b>Tyr</b>		

Aminoácidos involucrados en la catálisis Acido-base

Tomado de Lehninger. Principios de Bioquímica.

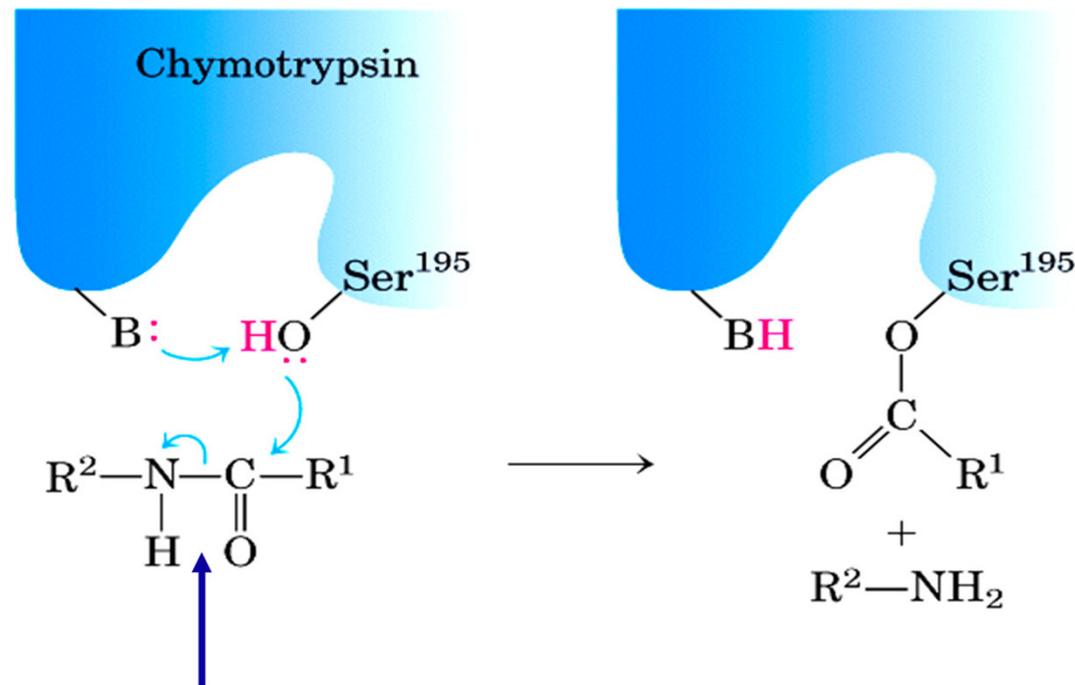
# TIPOS DE CATÁLISIS

## CATÁLISIS COVALENTE:

Este tipo de mecanismo implica la modificación transitoria del sustrato mediante **formación de un enlace covalente con el enzima** para dar lugar a un intermediario mas reactivo (ej. quimotripsina).

El oxígeno del grupo hidroxilo de la Ser en el centro activo ataca al carbonilo del enlace peptídico.

El grupo carbonilo quedará entonces unido al residuo de Ser por un enlace covalente.

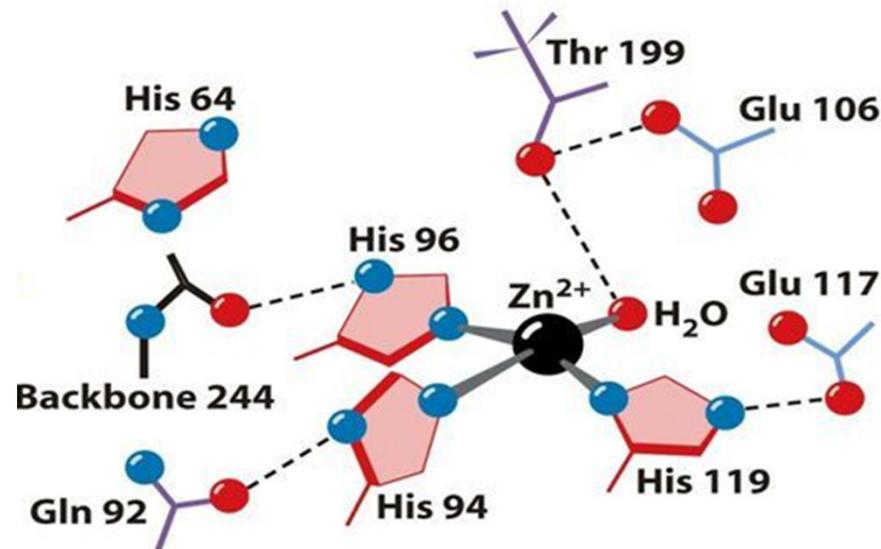
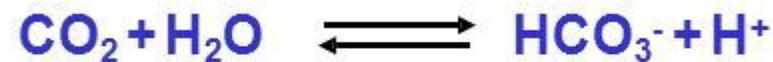


Proteasa: ruptura de enlaces peptídicos

# TIPOS DE CATÁLISIS

## CATÁLISIS POR IONES METÁLICOS:

Ayudan a orientar al sustrato adecuadamente para que se produzca la reacción Estabilizan la conformación del enzima en su forma activa. Facilitan reacciones de óxido-reducción cambiando su propio estado de oxidación (ej. anhidrasa carbónica).



# CINETICA ENZIMATICA

## LA CINÉTICA ENZIMÁTICA ESTUDIA LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS.

Estos estudios proporcionan información directa acerca de:

- **EL MECANISMO** catalítico de la reacción.
- **COMO SE CONTROLA LA ACTIVIDAD** de la enzima (ej. si existen activadores o inhibidores de esa reacción enzimática).
- **LA AFINIDAD DE LA ENZIMA** por el sustrato.

# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

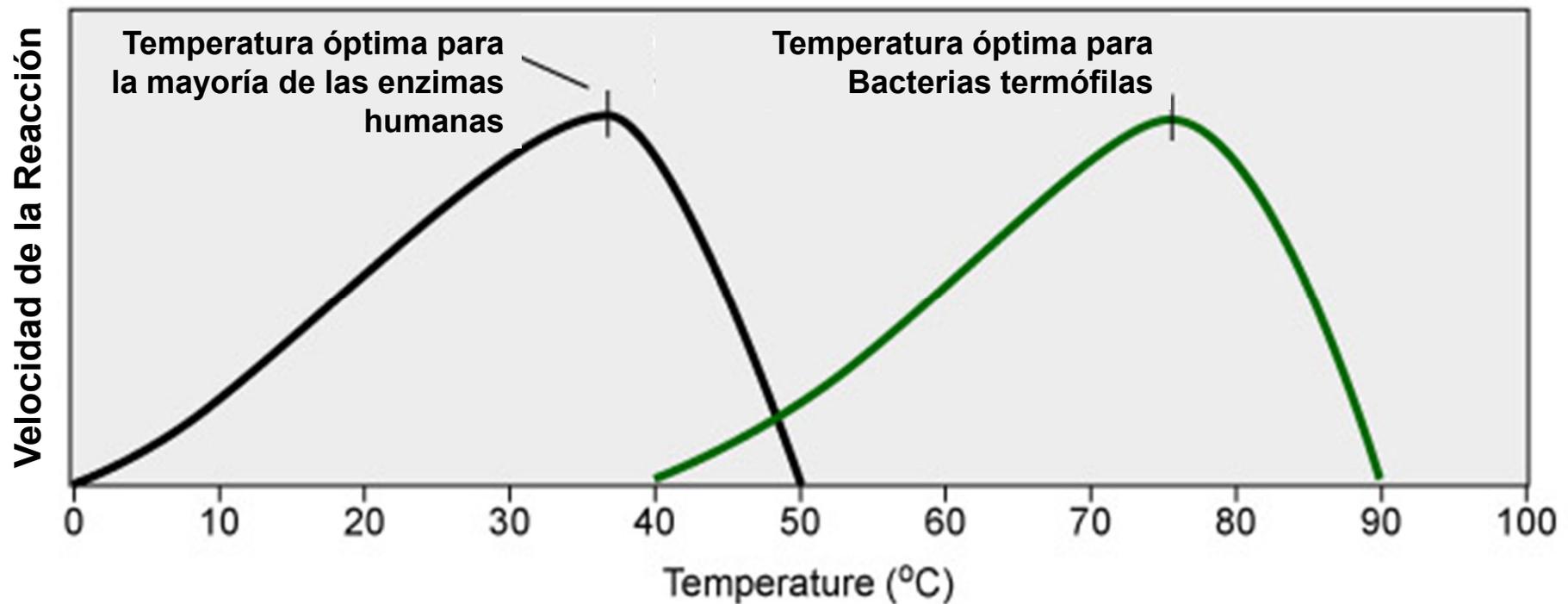
1. **TEMPERATURA.**
2. **pH.**
3. **CONCENTRACIÓN DE ENZIMA Y SUSTRATO.**
4. **MOLÉCULAS REGULADORAS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.**  
Introducen cambios en la conformación del enzima que resultan en variaciones en su actividad (inhibición o activación).
5. **ACTIVACIÓN PROTEOLÍTICA.** Paso de proenzimas o zimógenos a su forma activa.
6. **REGULACIÓN POR ISOENZIMAS.**

# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## 1. TEMPERATURA

Por cada 10°C de incremento, la velocidad de reacción se duplica (Arrhenius) hasta un punto determinado **por encima del cual la estructura de la enzima cambia llegando a desnaturalizarse.**

Temperaturas **por encima de 50°C desnaturalizarían IRREVERSIBLEMENTE todas las enzimas humanas.**

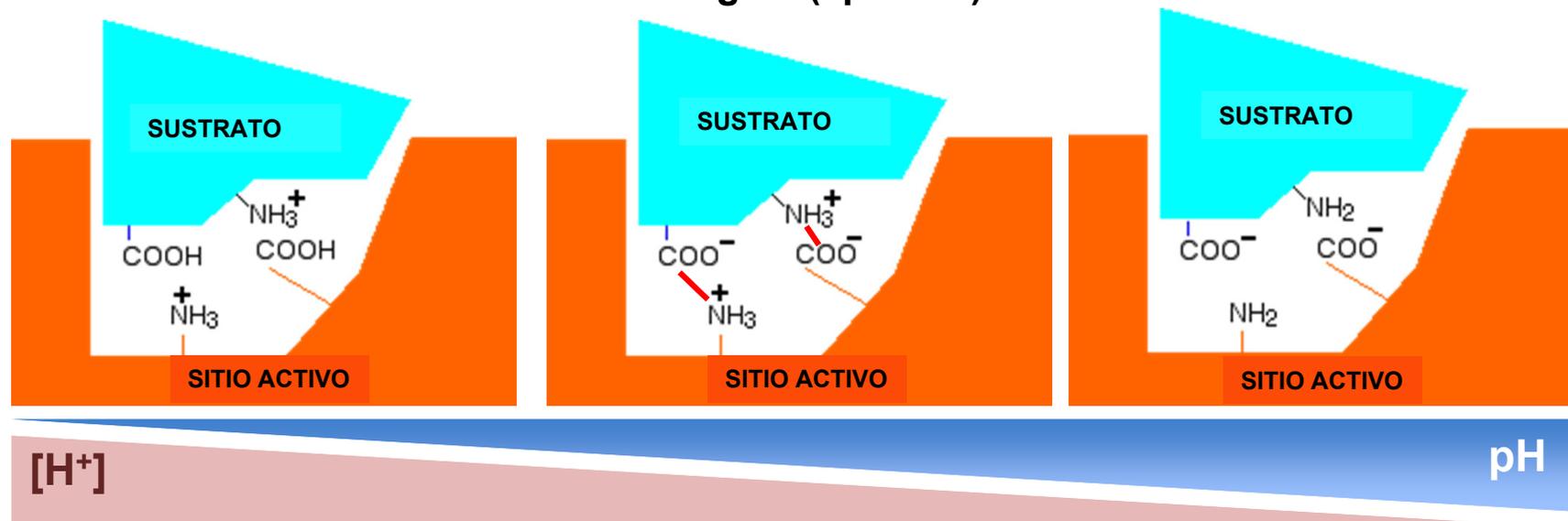


# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## 2. pH

El pH del medio tiene efecto sobre la **ionización del sitio activo**. El pH del medio va a **afectar a la carga de determinados grupos ionizables** en las cadenas laterales de los aminoácidos. Estos cambios de carga pueden conllevar **la rotura de enlaces de tipo débil (enlaces iónicos)**, alterando la **actividad enzimática**.

Formación de enlaces iónicos a pH fisiológico (aprox. 7)

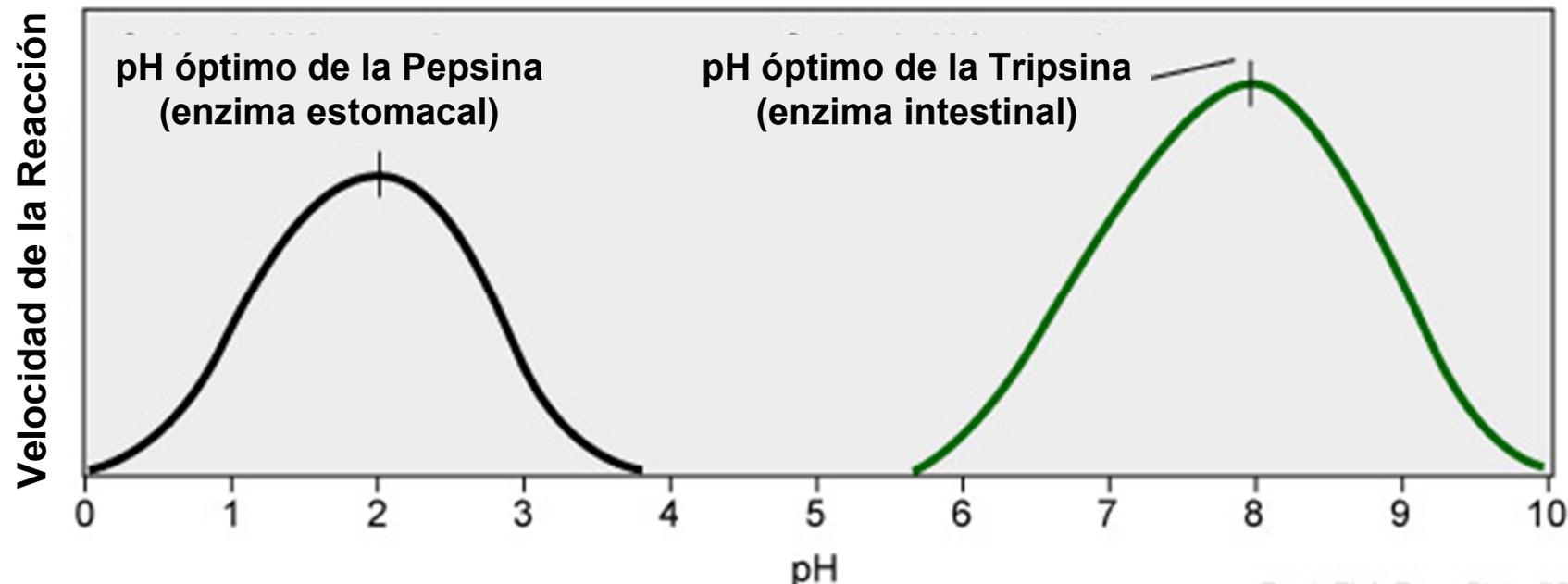


# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

**Efecto sobre la estructura de la proteína.** El pH en el cual la conformación será más adecuada para la actividad catalítica de una enzima se denomina

**pH ÓPTIMO.**

La mayor parte de **enzimas intracelulares** tienen sus pH óptimos entre 6 y 8 (próximos al pH fisiológico). Excepciones a esta regla son las enzimas digestivas.

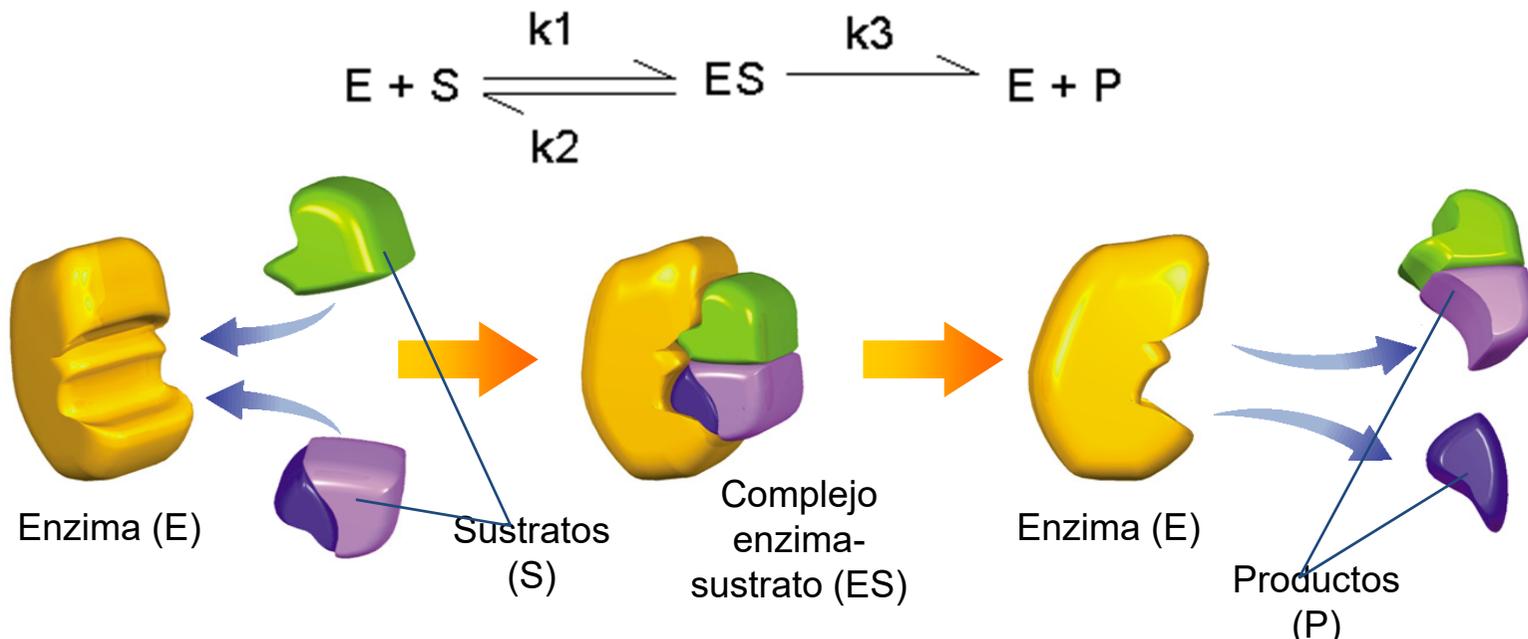


**EXCEPCIÓN:** Existen algunas enzimas cuya actividad no se ve afectada en un rango muy amplio de pH. La PAPAÍNA funciona de en un rango de pH entre 3 y 10.

## 3. CONCENTRACIÓN DE ENZIMA Y SUSTRATO

El proceso enzimático sigue las siguientes etapas:

- En primer lugar, el sustrato/s (**S**) y la enzima (**E**) se unen y forman un complejo enzima-sustrato/s (**ES**).
- Una vez formado el complejo **ES**, tiene lugar la reacción enzimática. El sustrato se transforma en producto formado el complejo enzima-producto (**EP**),
- que se disocia para dar enzima (**E**) más producto (**P**).

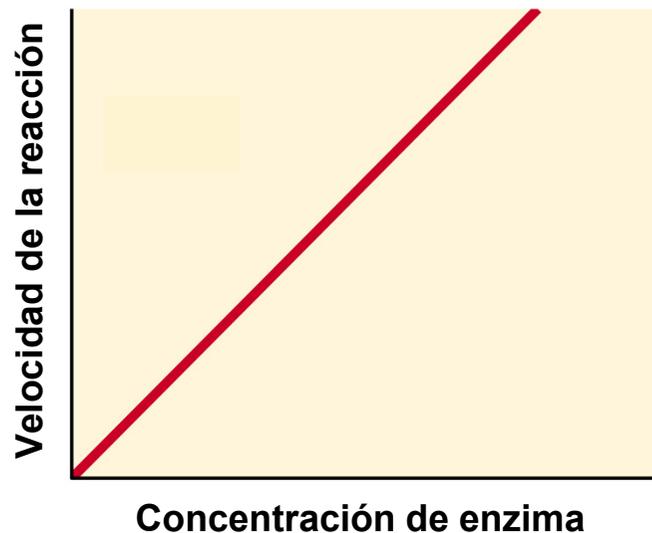


# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## 3. CONCENTRACIÓN DE ENZIMA Y SUSTRATO :

La velocidad con la que se produce una reacción enzimática **depende de la concentración tanto de la enzima como del sustrato.**

En un sistema enzimático donde el pH y la temperatura se mantienen constantes se cumple que:



Si hay exceso de sustrato, **la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la cantidad de enzima presente.**

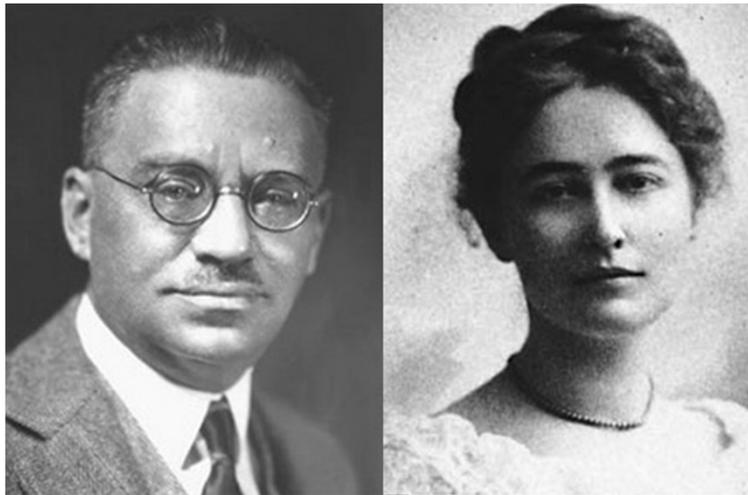
# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## 3. CONCENTRACIÓN DE ENZIMA Y SUSTRATO :

Efecto de la concentración de Sustrato en la velocidad de la reacción:

### CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN

Describe como cambia la velocidad de reacción en función de la concentración de sustrato en reacciones enzimáticas catalizadas por **ENZIMAS MONOMÉRICAS CON UN SOLO SUSTRATO CUANDO LAS CONDICIONES DEL SISTEMA (pH y temperatura) SON CONSTANTES.**



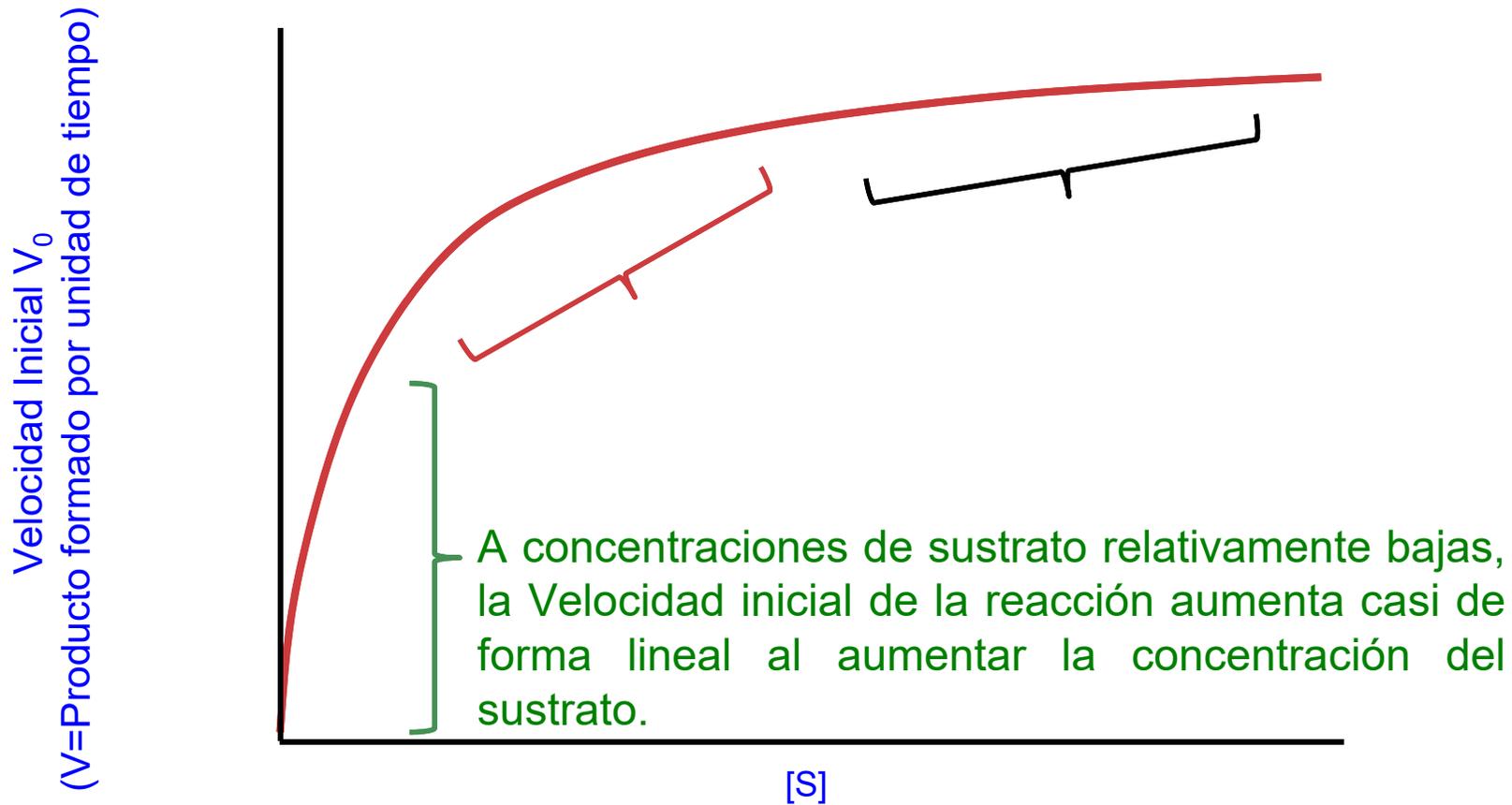
LEONOR MICHAELIS

MAUD MENTEN

# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

## CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

Muestra el efecto de la **variación de la concentración del sustrato [S]** sobre la **velocidad de catálisis** de una enzima monomérica a una concentración de enzima constante.

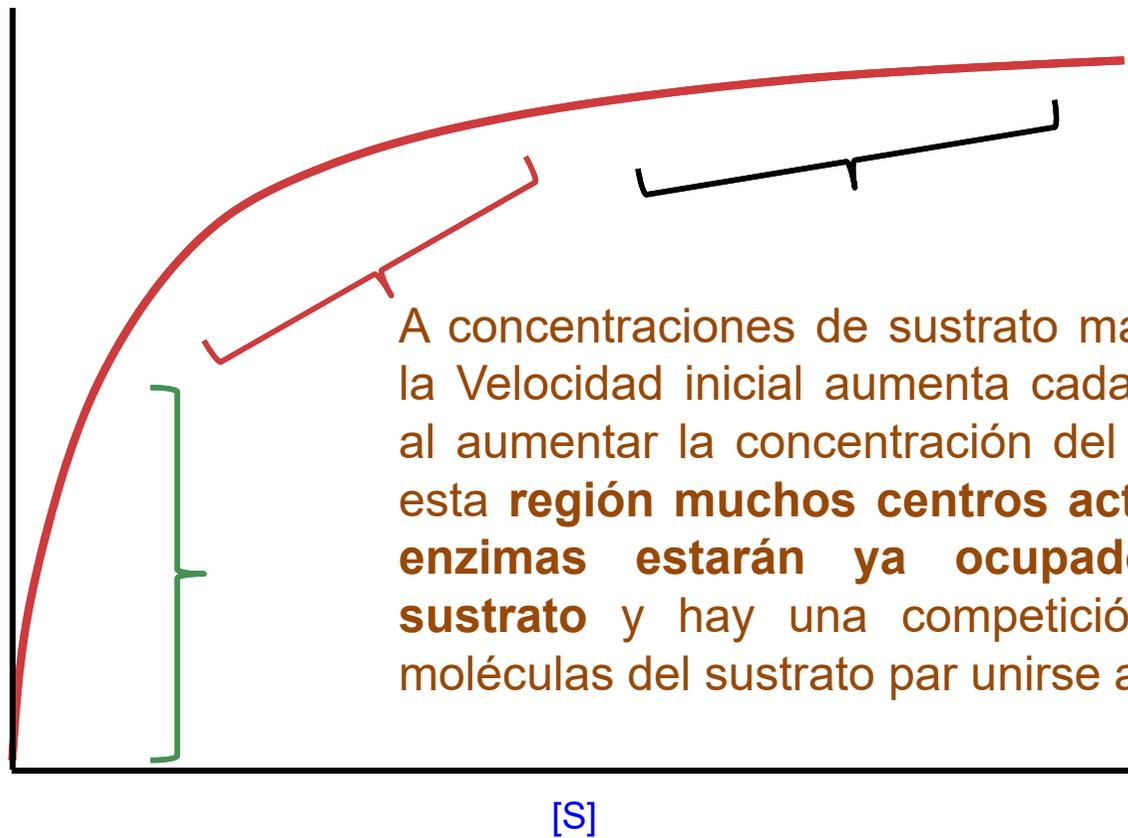


# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

## CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

Muestra el efecto de la **variación de la concentración del sustrato [S]** sobre la **velocidad de catálisis** de una enzima monomérica a una concentración de enzima constante.

Velocidad Inicial  $V_0$   
( $V = \text{Producto formado por unidad de tiempo}$ )

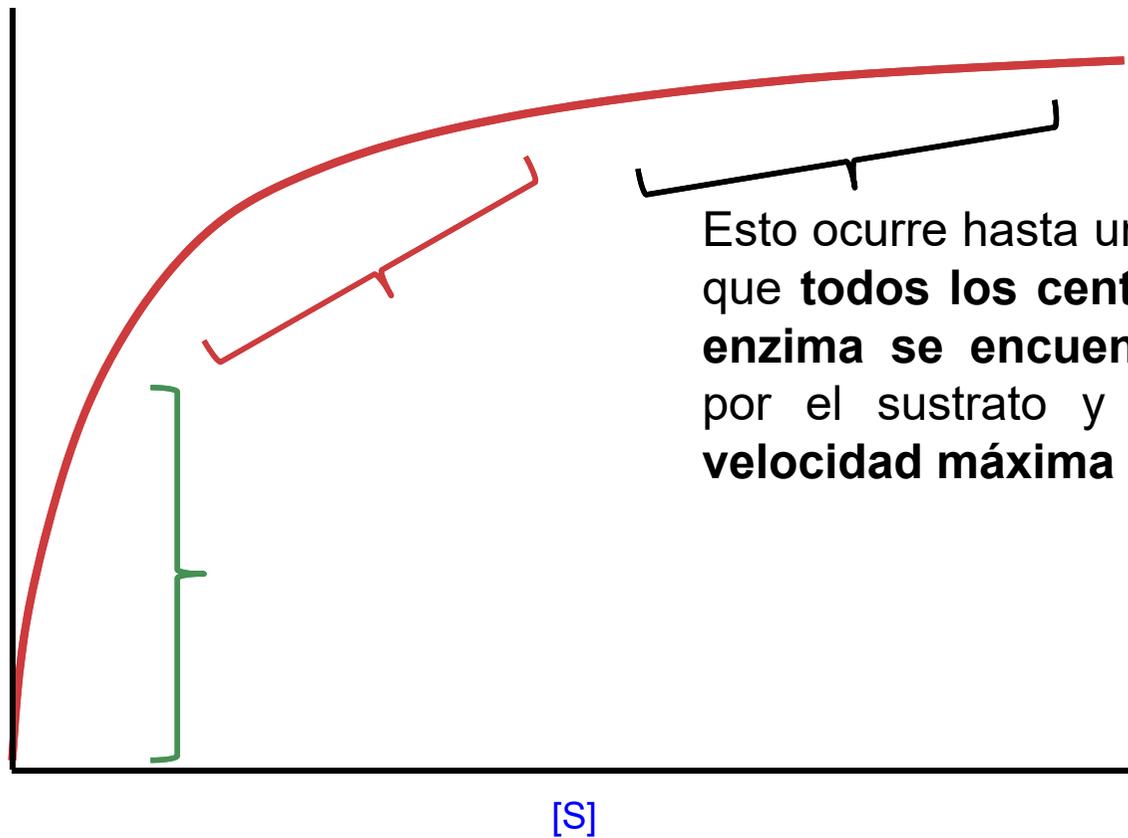


# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

## CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

Muestra el efecto de la **variación de la concentración del sustrato [S]** sobre la **velocidad de catálisis** de una enzima monomérica a una concentración de enzima constante.

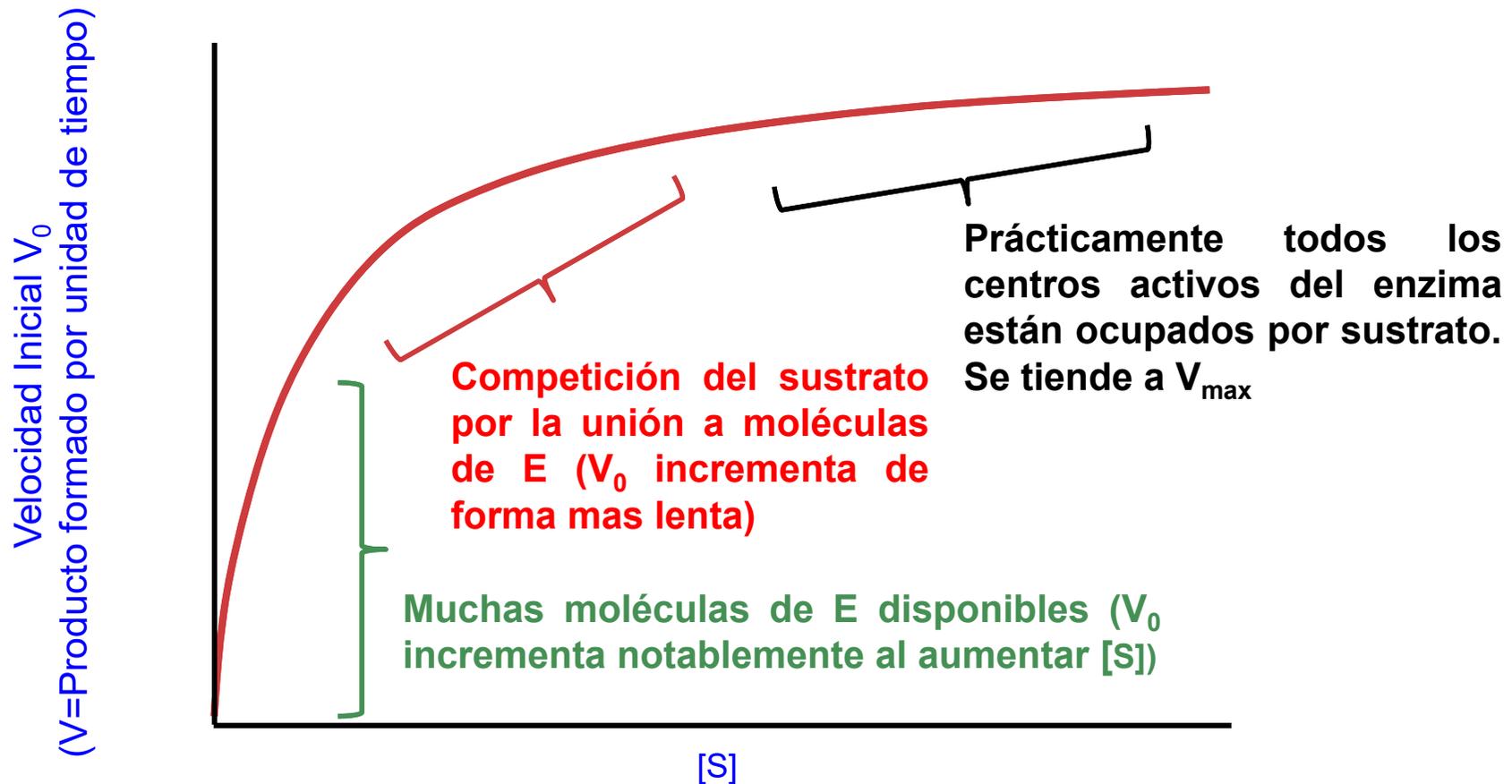
Velocidad Inicial  $V_0$   
( $V = \text{Producto formado por unidad de tiempo}$ )



# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

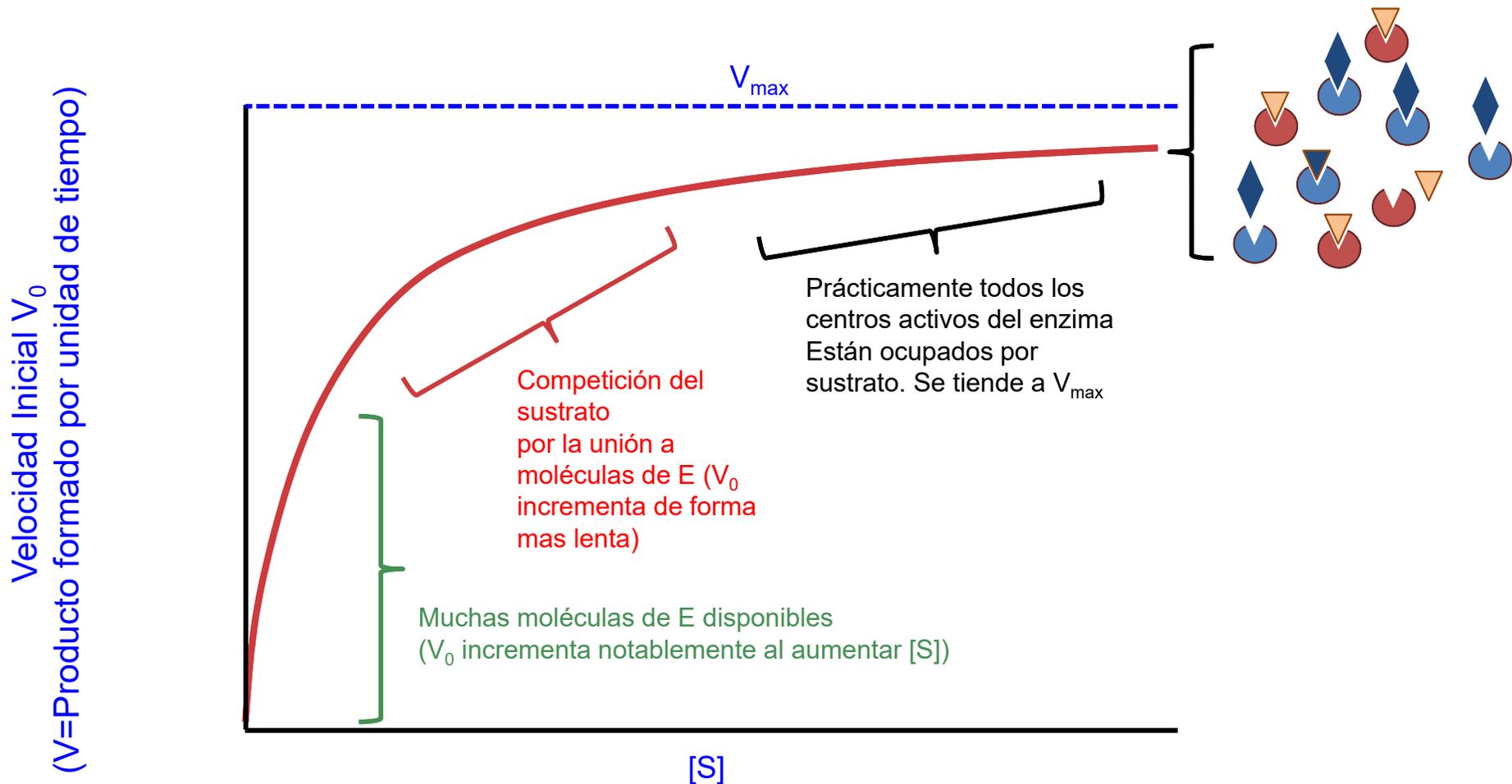
## CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

Muestra el efecto de la **variación de la concentración del sustrato [S]** sobre la **velocidad de catálisis** de una enzima monomérica a una concentración de enzima constante.



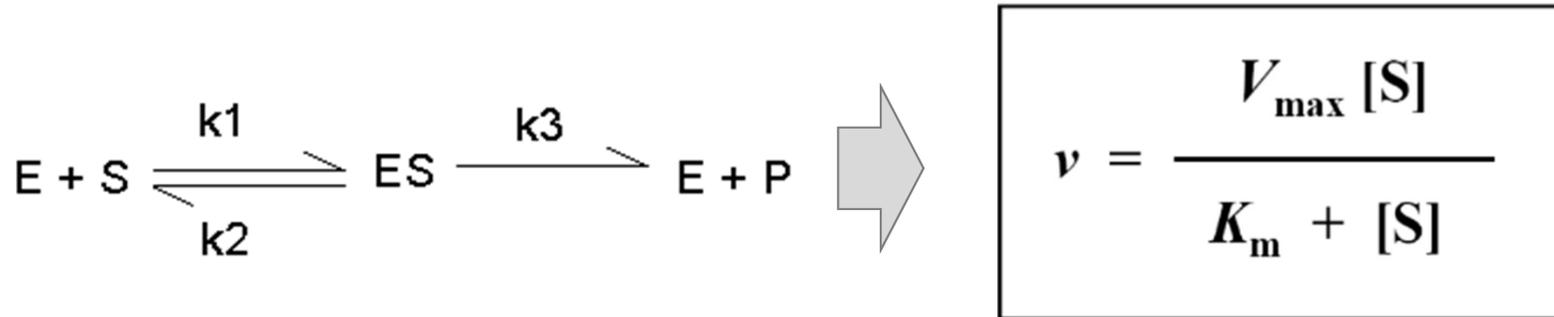
# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

En la representación de MM, la enzima va acercándose asintóticamente su velocidad máxima  $V_{max}$ , pero nunca la alcanza. Por esta razón, no hay un  $[S]$  determinado para la  $V_{max}$ . Esta representación no permite el cálculo de  $V_{max}$ .



# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

## ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN (Ver deducción en el Lehninger)



$K_m$  o Constante de Michaelis (constante para cada enzima) = concentración de S a la que la  $V_0$  es la mitad de la  $V_{\max}$ .

**Es una medida de la afinidad del enzima por S.**

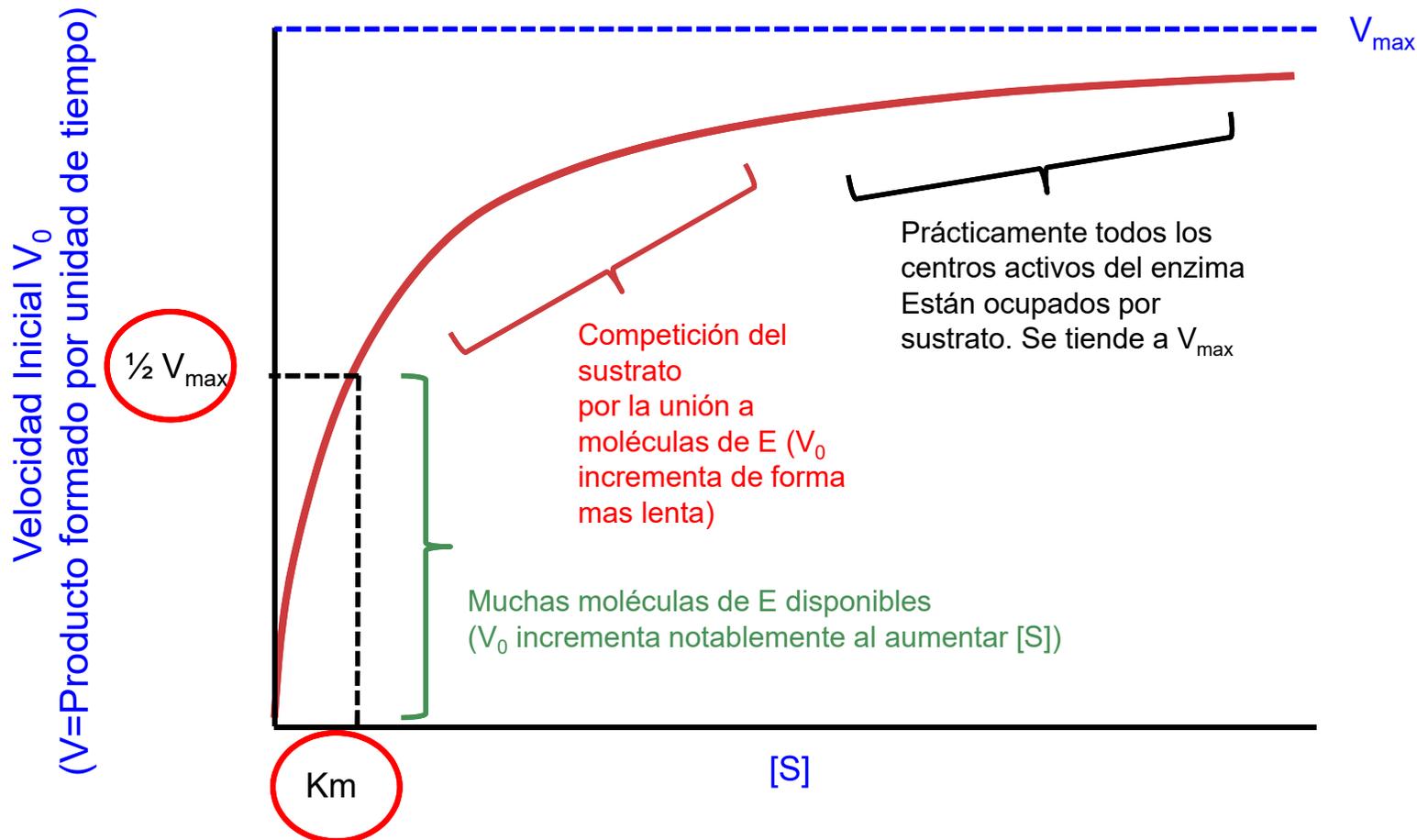
Cuanto menor es  $K_m$ , mayor es la afinidad del enzima por S.  
Para una misma enzima la  $K_m$  difiere según sus distintos sustratos.

**EL VALOR DE LA  $K_m$  se define como la concentración de sustrato a la cual la enzima alcanza  $\frac{1}{2}$  de la Velocidad Máxima.**

$V_{\max}$  = velocidad máxima teórica = la velocidad cuando todos los centros activos están ocupados con sustrato.

# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

La representación de Michaelis-Menten no nos permite calcular la  $K_m$  o la  $V_{max}$  porque esta última no se alcanza nunca.



Constante de Michaelis  
(concentración de sustrato a la que se alcanza  $\frac{1}{2}$  de  $V_{max}$ )

# CINÉTICA ENZIMÁTICA.



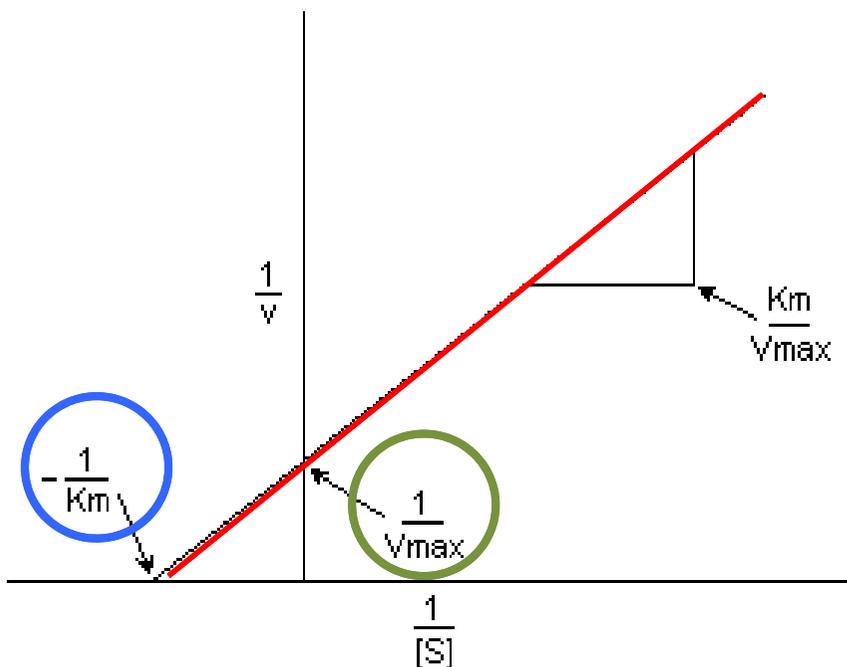
## REPRESENTACIÓN DE LINEWEAVER-BURK (o de los DOBLES RECÍPROCOS)

En bioquímica, el **diagrama de Lineweaver-Burk** se emplea como herramienta gráfica para calcular los parámetros cinéticos de una enzima. Su utilidad consiste en que el recíproco de la cinética de Michaelis-Menten es fácilmente representable y que de él emanan mucha información de interés.

$$V = V_{max} \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Cuyo recíproco es:

$$\frac{1}{V} = \frac{(K_m + [S])}{(V_{max} [S])} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



La representación gráfica de Lineweaver-Burk **permite identificar la  $K_m$  y  $V_{max}$** :

- el punto de corte con el eje de ordenadas es el equivalente a  $1/V_{max}$ ,
- el punto de corte con el de abscisas es el valor de  $-1/K_m$

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

### 4. MOLÉCULAS REGULADORAS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

#### INHIBIDORES

Ciertas moléculas pueden **inhibir la acción catalítica de un enzima**: son los **inhibidores**.

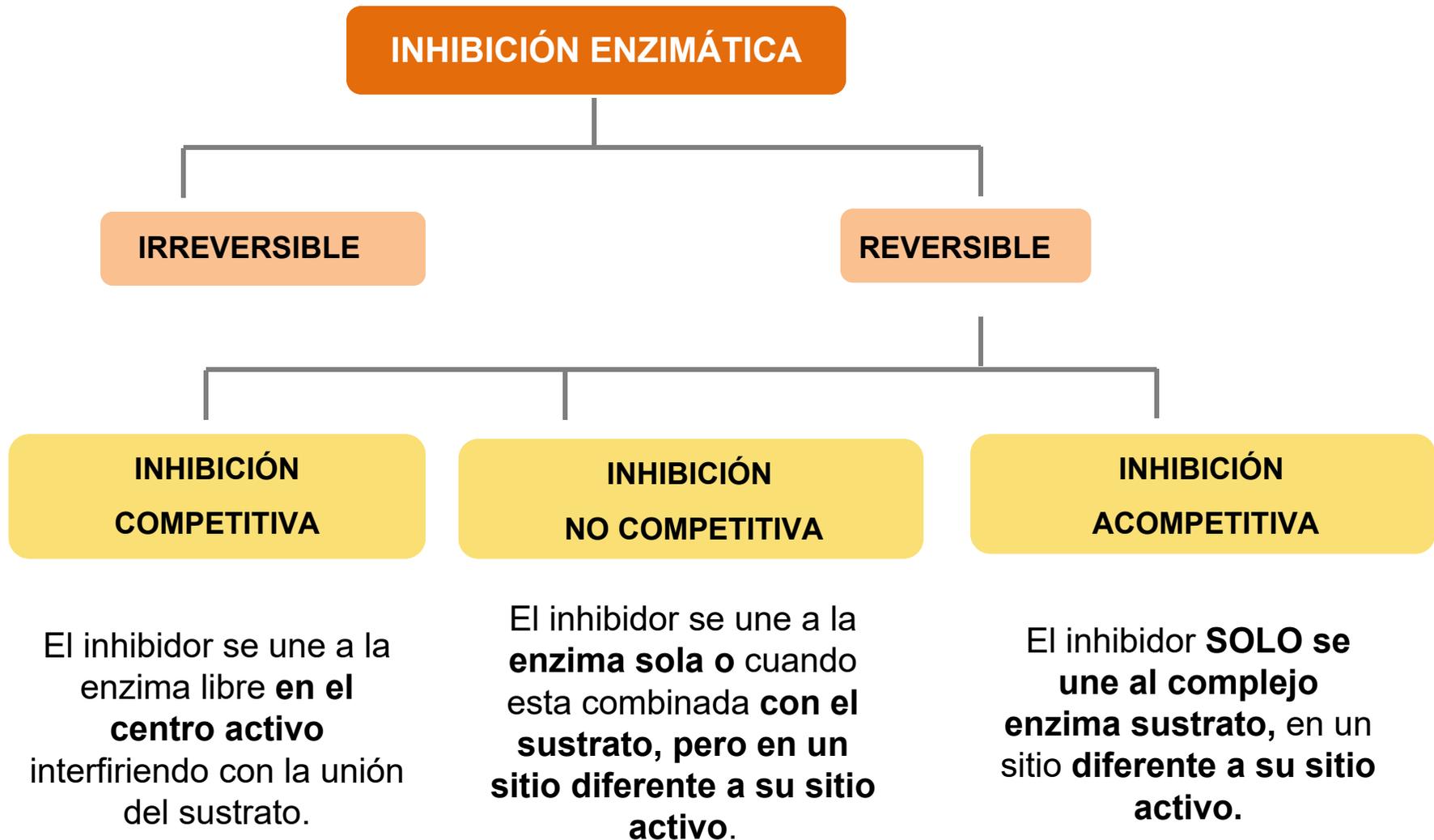
ESTA ACCIÓN PUEDE **SER REVERSIBLE O IRREVERSIBLE**.

Estos inhibidores bien pueden

- **ocupar temporalmente el centro activo** por semejanza estructural con el sustrato original (**inhibidor competitivo**) o bien
- **alterar la conformación espacial del enzima uniéndose a un sitio diferente al centro activo** impidiendo su unión al sustrato (**inhibidor no competitivo**).

Los inhibidores pueden alterar las catálisis enzimáticas haciéndolas mas lentas o incluso deteniéndolas.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

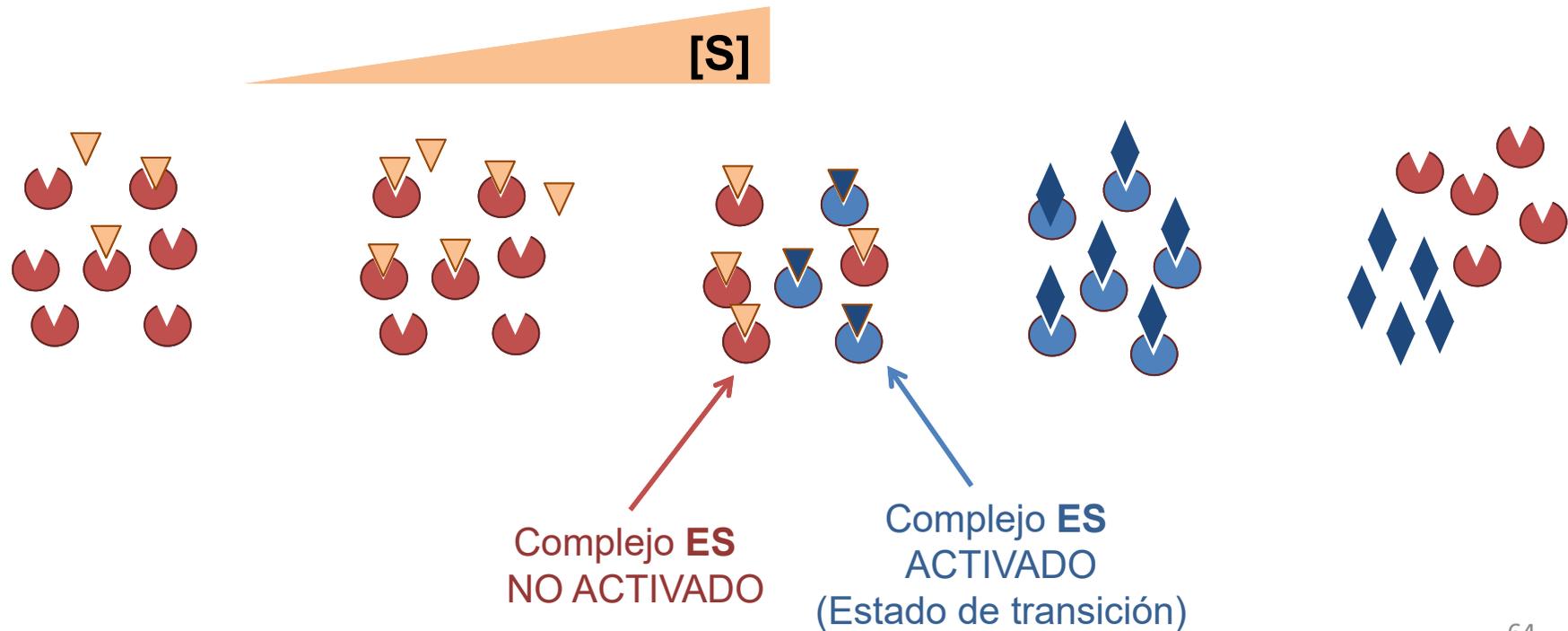


# CINÉTICA ENZIMÁTICA.

## CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN.

Inhibidores que afectan a la formación del complejo ES van a tener un **efecto sobre el valor de la Km.**

Inhibidores que afectan a la activación del complejo ES van a tener un **efecto sobre el valor de Vmax.**



## INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

### INHIBICIÓN COMPETITIVA:

**Un INHIBIDOR COMPETITIVO compite directamente con el sustrato por EL SITIO ACTIVO.**

La unión del inhibidor es de tipo **NO COVALENTE** y no altera la estructura del enzima.

Los inhibidores competitivos son sustancias muchas veces similares químicamente, en forma y tamaño a los sustratos **(ISÓSTEROS)**.

**SOLO AFECTAN A LA  $K_m$  DE LA REACCIÓN**

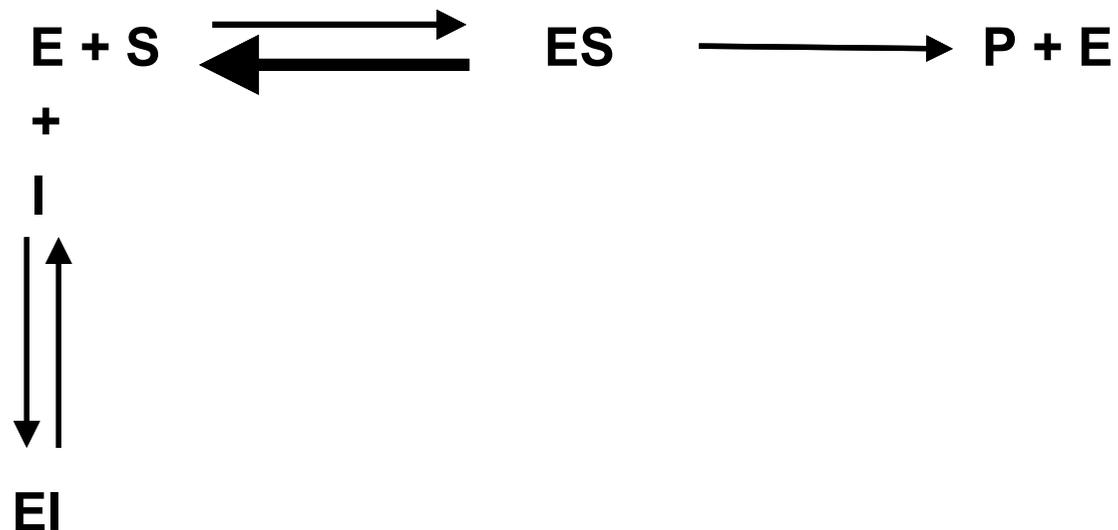
# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN COMPETITIVA:

Al competir, el inhibidor por su unión a la enzima secuestra parte de la enzima, haciendo que el primer equilibrio se desplaza hacia la izquierda.

Se forma menos complejo **ES**, lo cual se entiende como **una reducción aparente de la afinidad de la enzima por el sustrato** (*Aumento de la  $K_m$  aparente*).

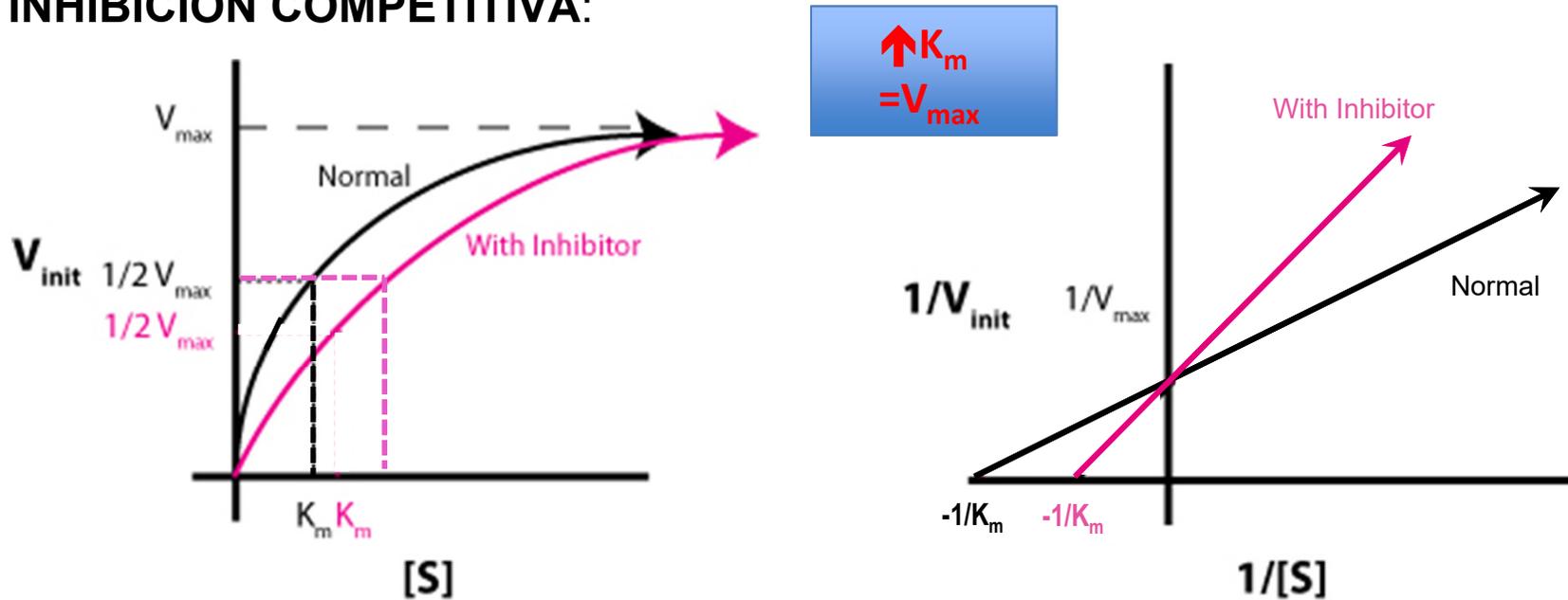
Se necesita mucho mas sustrato para que se pueda llevar a cabo la reacción:



Este tipo de inhibición es **REVERSIBLE** y se puede superar con concentraciones suficientes altas del sustrato.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN COMPETITIVA:



$V_{max}$  remains the same however the inhibitor increases the apparent  $K_m$

## EFEECTO EN LA $V_{max}$ .

A concentraciones adecuadas del sustrato (elevadas), el inhibidor no podrá unirse al enzima y se alcanzará la velocidad máxima.

## EFEECTO EN LA $K_m$ .

**Aumenta la  $K_m$  Aparente** ya que se necesita más sustrato para alcanzar la  $V_{max}$ .

Por la gráfica de Lineweaver Burk observamos que, como la inhibición competitiva no afecta la  $V_{max}$ : el intercepto en "y" ( $1/V_{max}$ ) es idéntico para todas las posibles concentraciones del inhibidor competitivo; todas las líneas intersectan en el mismo punto en el eje de "Y":

## INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

### INHIBICIÓN NO COMPETITIVA:

Un INHIBIDOR NO COMPETITIVO no compite directamente con el sustrato por el centro activo.

**El inhibidor se puede unir a la enzima sola o cuando está combinada con el sustrato.**

La unión se produce en **un sitio diferente al centro activo.**

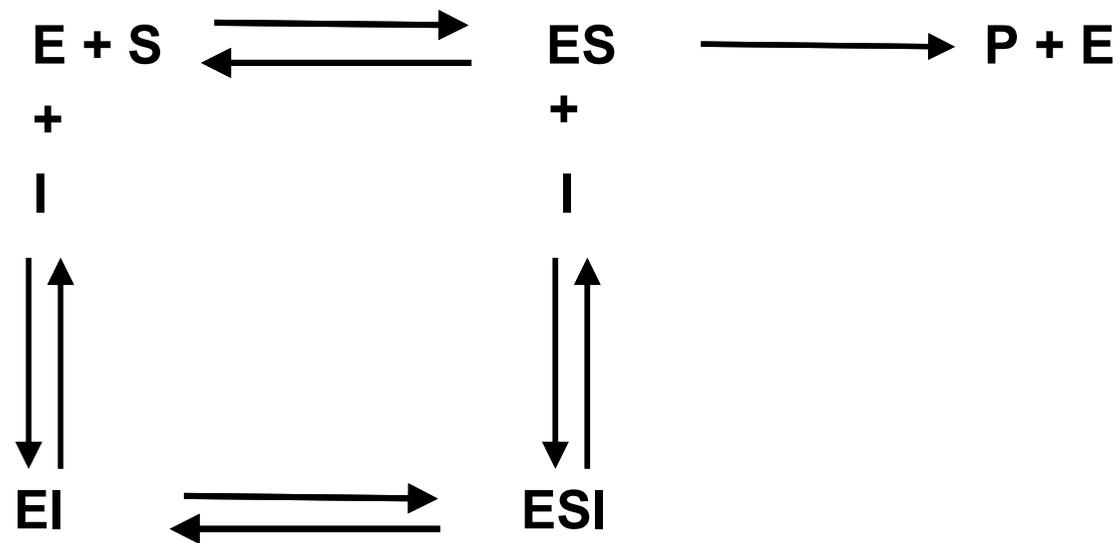
El complejo ESI (Enzima + Sustrato + Inhibidor) **no va a dar lugar a un producto final**, ya que la presencia del inhibidor impide la catálisis. **Se formará menos producto en presencia del inhibidor.**

## INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

### INHIBICIÓN NO COMPETITIVA:

Al no haber competición con el inhibidor, **incrementar la concentración del sustrato no produce un aumento de la tasa de actividad enzimática.**

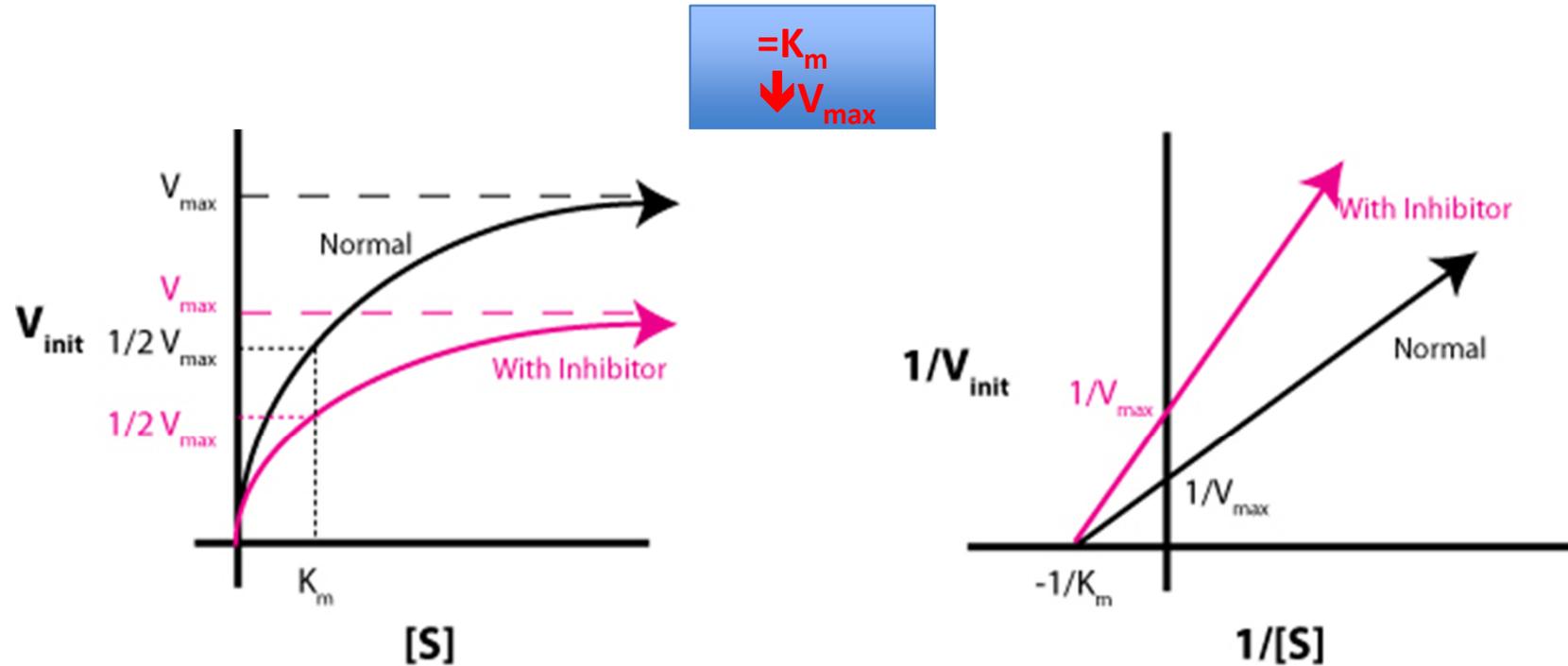
La presencia del inhibidor **no afecta a la formación del complejo ES** y por lo tanto **no va a afectar a la afinidad aparente de la enzima por el sustrato** (no varía la K<sub>m</sub> aparente):



La **V<sub>max</sub> disminuye** porque el complejo ESI no va a dar lugar a ningún producto ya que inhibe la catálisis.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN NO COMPETITIVA:



$V_{max}$  is reduced with an inhibitor however the  $K_m$  remains the same

Inhibición NO COMPETITIVA: El inhibidor (que no tiene porqué parecerse al sustrato) **no se une al centro activo**. La unión de sustrato e inhibidor no son excluyentes. **La enzima deja de ser funcional, aunque este unida con el sustrato.**

**Al haber menos enzima funcional baja la velocidad de la reacción ( $V_{max}$ ), pero la  $K_m$  permanece constante** (estos inhibidores no intervienen con la unión de la enzima y el sustrato). **La afinidad enzima/sustrato no varía.**

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN ACOMPETITIVA:

**Un INHIBIDOR ACOMPETITIVO solo puede fijarse al complejo ES.  
No puede fijarse a la enzima libre.**

En este caso no se puede superar la inhibición aumentando la concentración de sustrato, ya que el sustrato y el inhibidor no compiten por su unión al enzima.

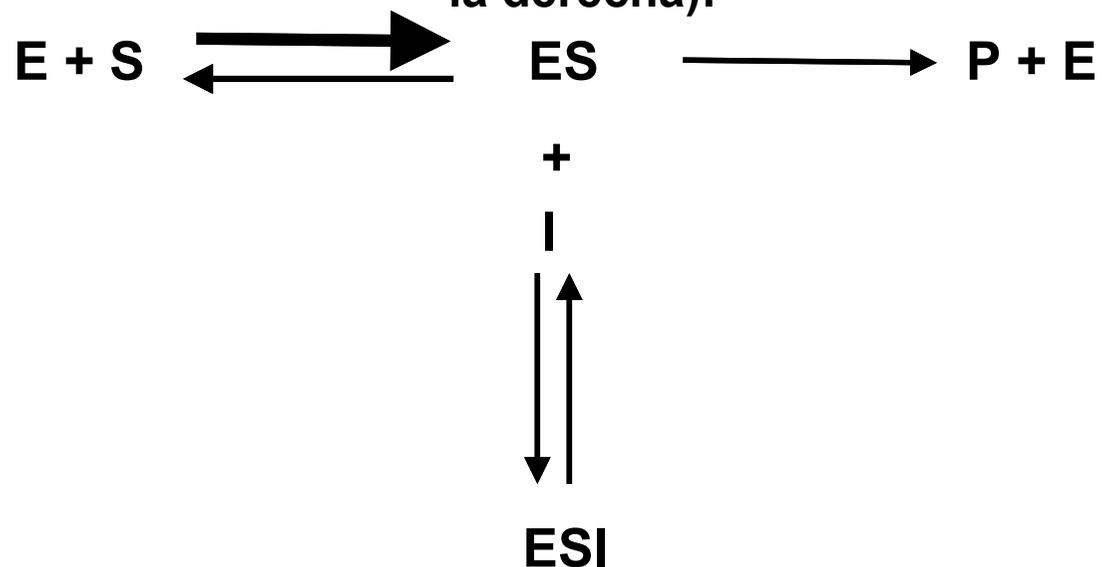
**El inhibidor causa una disminución de la  $V_{\max}$ , puesto que una fracción del complejo enzima/sustrato es desviada por el inhibidor hacia el complejo ESI inactivo.**

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN ACOMPETITIVA:

Al no haber competición con el inhibidor, **incrementar la concentración del sustrato no produce un aumento de la tasa de actividad enzimática.**

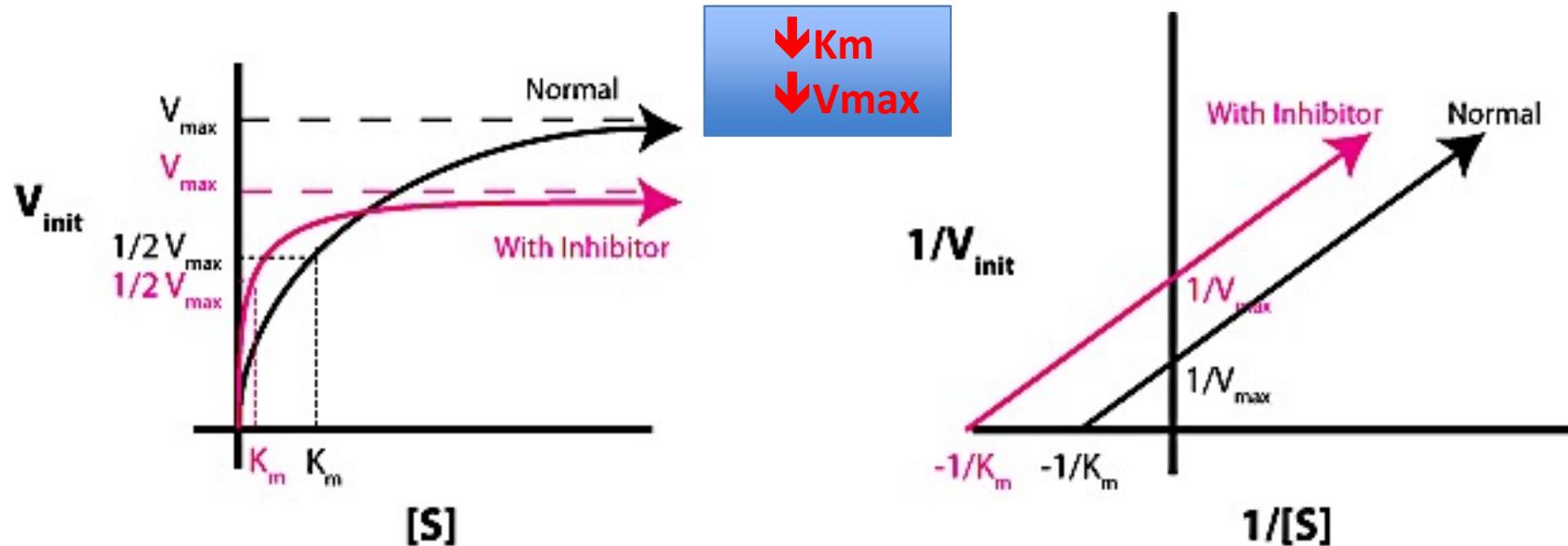
Al secuestrar el inhibidor por parte del complejo ES, hay un aumento aparente de la afinidad de la E por el sustrato (**disminución de la  $K_m$** ), ya que se favorece la formación de este complejo (el primer equilibrio se desplaza hacia la derecha):



La  $V_{max}$  también disminuye porque el complejo ESI no va a dar lugar a ningún producto ya que inhibe la catálisis.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN ACOMPETITIVA:



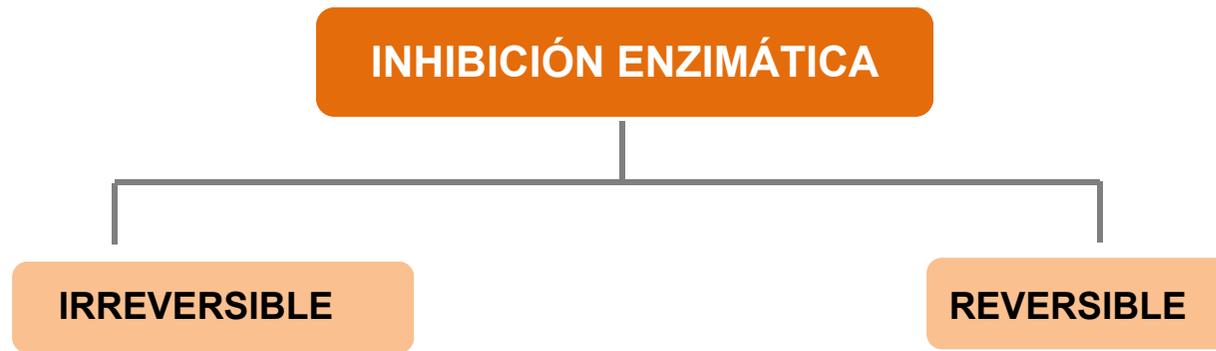
El inhibidor se combina sólo con ES (no con la enzima), por lo que el inhibidor ejerce su efecto sólo a altas concentraciones de sustrato en las que hay gran cantidad de complejo enzima-sustrato (ES). En estas condiciones se favorece la formación de complejo ES y por lo tanto disminuye la  $K_m$  (aumenta la afinidad)

A muy baja concentración de sustrato la enzima está libre (E). Como el inhibidor no se combina con E, éste no afecta la velocidad, así como tampoco la pendiente  $K_m/V_{max}$ , por lo que las pendientes son independientes de la concentración del inhibidor. Sólo se afectan los interceptos en "y" ( $1/V_{max}$ ) y en "x" ( $-1/K_m$ ). Como resultado se obtienen una serie de líneas paralelas cuando se usan diferentes concentraciones del inhibidor.

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

	<b>Competitiva</b>	<b>Non-competitiva</b>	<b>Acompetitiva</b>
<b>Michaelis-Menten</b>			
	$V_{\max}$ no varía $K_m$ aumenta	$V_{\max}$ disminuye $K_m$ no varía	$V_{\max}$ & $K_m$ disminuyen
<b>Dobles Recíprocos</b>			

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA



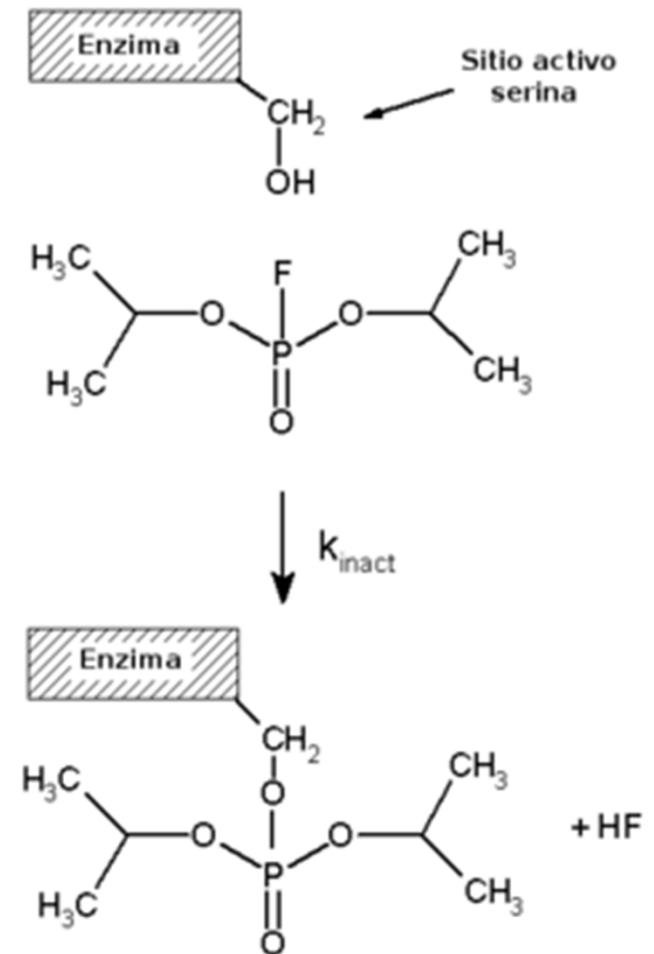
# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INHIBICIÓN IRREVERSIBLE:

Los inhibidores IRREVERSIBLES son **generalmente específicos para un tipo de enzima** y no inactivan todas las proteínas.

No funcionan destruyendo la estructura proteica, sino **alterando específicamente la estructura tridimensional del sitio activo inhabilitándola**. El inhibidor se une a la enzima mediante un **ENLACE COVALENTE**, alterando la estructura del enzima de forma definitiva.

**Los inhibidores irreversibles son por lo general altamente TÓXICOS.**



Reacción del inhibidor irreversible

di-isopropilfluorofosfato (DFP)  
con una serina proteasa.<sup>76</sup>

# INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

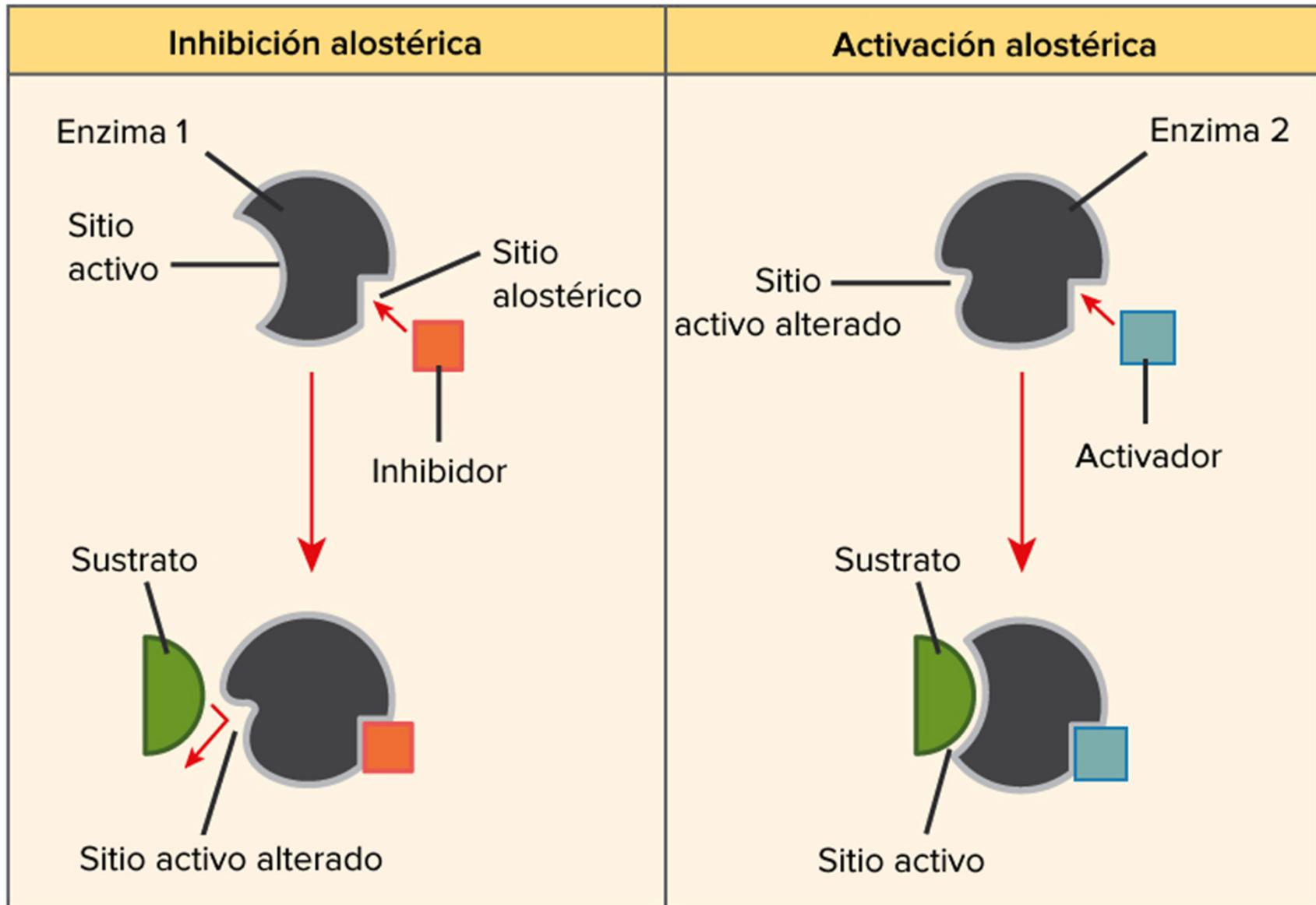
## MODULADORES ALOSTÉRICOS (INHIBIDORES Y ACTIVADORES)

Casi todos los casos de inhibición no competitiva (junto con algunos casos únicos de inhibición competitiva) son formas de **regulación alostérica**.

La regulación alostérica, es cualquier forma de regulación enzimática **donde la molécula reguladora (un activador o un inhibidor) se une a una enzima en algún lugar diferente al sitio activo.**

El lugar de unión del regulador se conoce como **sitio alostérico**.

# MODULACIÓN ALOSTÉRICA



[https://www.youtube.com/watch?v=nID\\_kPXhAUE](https://www.youtube.com/watch?v=nID_kPXhAUE)

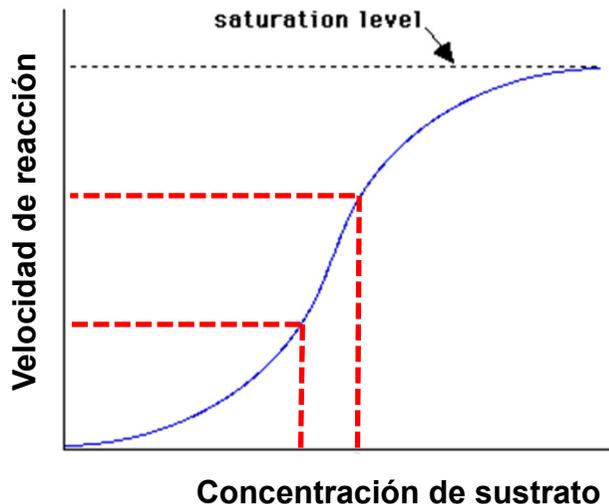
Tomado de <https://es.khanacademy.org/science/biology/energy-and-enzymes/enzyme-regulation/a/enzyme-regulation>

## MODULACIÓN ALOSTÉRICA. ENZIMAS ALOSTÉRICOS.

Normalmente **las enzimas que muestran cooperatividad en su unión al sustrato (ej. hemoglobina) son enzimas alostéricas** : La unión de una molécula a un lugar específico, modula la capacidad de unión al sustrato de un centro activo físicamente distante.

**LAS ENZIMAS COOPERATIVAS NO OBEDECEN LA ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN.** Se dice que su cinética es **NO MICHAELIANA**.

Su gráfica  $v$  frente a  $[S]$  no es una hipérbola, sino una sigmoide.



La **cinética sigmoidea implica la cooperatividad en la unión al sustrato**, pequeñas variaciones en la  $[S]$  en una zona crítica (cercana a la  $K_M$ ) se traducen en grandes variaciones en la velocidad de reacción.

# MODULACIÓN ALOSTÉRICA

## CARÁCTERÍSTICAS DE LAS ENZIMAS CON CINÉTICAS SIGMOIDEAS:

- 1. Poseen estructura cuaternaria.** Están constituidas por más de una cadena polipeptídica.
- 2. Poseen varios lugares para la unión de activadores e inhibidores de forma reversible.**
- 3. PUEDEN ENCONTRARSE EN DOS ESTRUCTURAS REVERSIBLES DIFERENTES:** R, relajada y T, tensa.
- 4. Muestran cooperatividad.**

# REGULACIÓN POR ISOENZIMAS

## REGULACIÓN POR ISOENZIMAS

También llamadas **ISOZIMAS** o **ISOFORMAS**.

- ✓ Las isoenzimas son **proteínas que difieren en la secuencia de aminoácidos pero que catalizan la misma reacción enzimática**, dentro de la misma especie.
  - ✓ Son **estructuralmente similares, pero genéticamente distintas**.
- ✓ Estas enzimas suelen mostrar **diferentes parámetros cinéticos** (valores de  $K_m$  o  $V_{max}$ ) o propiedades de regulación diferentes.
  - ✓ Las diferencias entre ellas surgen para adaptarse a diferentes tejidos o circunstancias específicas
- ✓ Son útiles como marcadores moleculares para identificación rápida de diferentes tejidos.
- ✓ La existencia de Isoenzimas **permite el ajuste del metabolismo** para satisfacer las necesidades particulares de un determinado tejido.

## REGULACIÓN POR ISOENZIMAS

Los transportadores de glucosa GLUT tienen diferentes  $K_m$  con respecto a la glucosa. Tejidos como el cerebro y los eritrocitos tienen transportadores con las  $K_m$  más bajas para asegurar el suministro de glucosa.

Transportador	Transporta	Km	Localización	Enfermedades relacionadas
GLUT 1 (SLC2A1)	glucosa y galactosa	2 mM	Eritrocito, células endoteliales del cerebro, neuronas, riñón y linfocitos	Síndrome de deficiencia del transporte tipo 1
GLUT 2 (SLC2A2)	glucosa	17 mM	Células B pancreáticas, hígado, riñón, intestino delgado	Síndrome de Fanconi- Bickel
GLUT 3 (SLC2A3)	glucosa y galactosa	2 mM	SNC, placenta, hígado, riñón, corazón, linfocitos	Restricción del crecimiento intrauterino fetal
GLUT 4 (SLC2A4)	Glucosa	5 mM	Tejidos sensibles a la insulina, linfocitos	Diabetes tipo II
GLUT 5 (SLC2A5)	Fructosa	10mM	Intestino delgado, testículo y riñón	Algunas células cancerígenas, HPTG+ e HPINS*

# FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

## FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

1. **TEMPERATURA.**
2. **pH.**
3. **CONCENTRACIÓN DE ENZIMA Y SUSTRATO.**
4. **MOLÉCULAS REGULADORAS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.**  
Introducen cambios en la conformación del enzima que resultan en variaciones en su actividad (inhibición o activación).
5. **ACTIVACIÓN PROTEOLÍTICA.** Paso de proenzimas o zimógenos a su forma activa.
6. **REGULACIÓN POR ISOENZIMAS.**