



ENZIMAS

Prof. Damián O.Peralta Septiembre de 2013

Introducción

- En los diversos compartimientos celulares transcurre un gran número de reacciones químicas que proporcionan a la célula energía y los componentes necesarios para su mantenimiento.
- La vida depende de la existencia de catalizadores poderosos y específicos

ENZIMAS

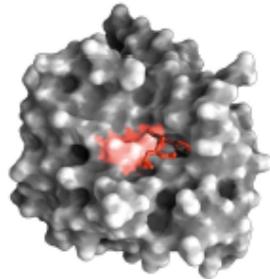
Proteínas que funcionan como catalizadores biológicos

Ribozimas son moléculas de RNA que funcionan como catalizadores biológicos

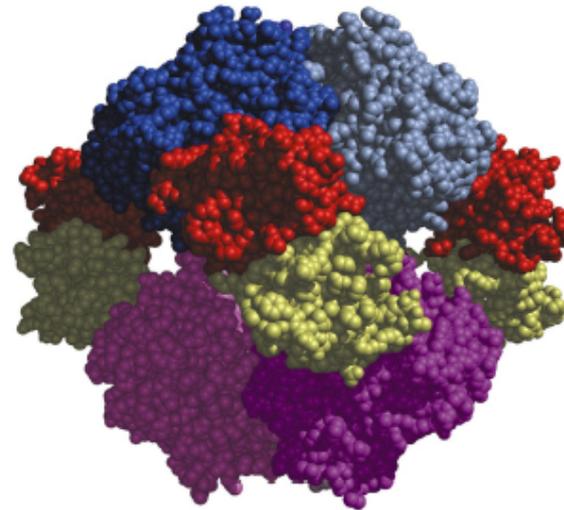
Estructura de las enzimas

Puede estar formada por:

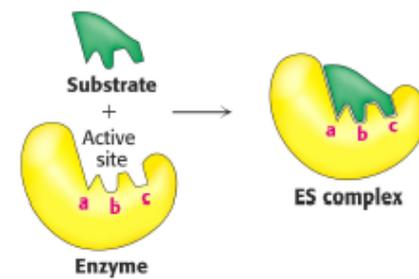
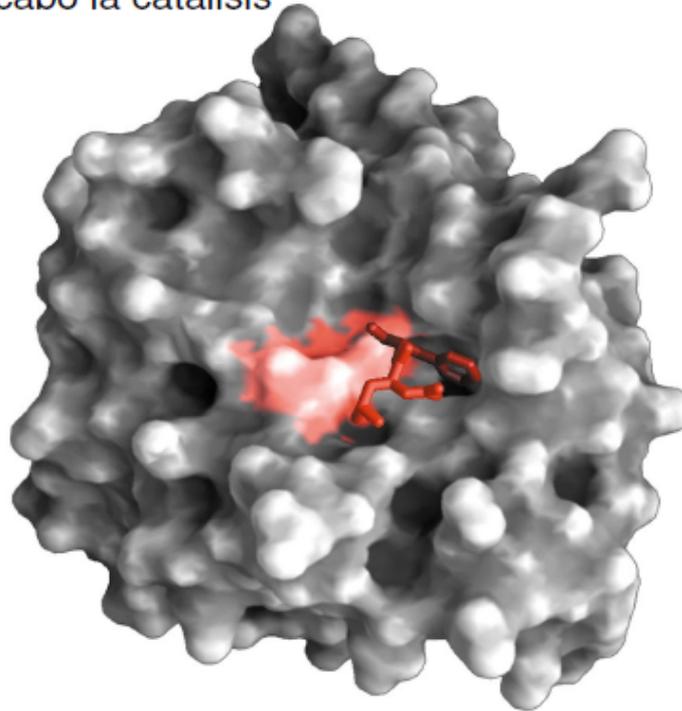
Una cadena peptídica
(estructura terciaria)

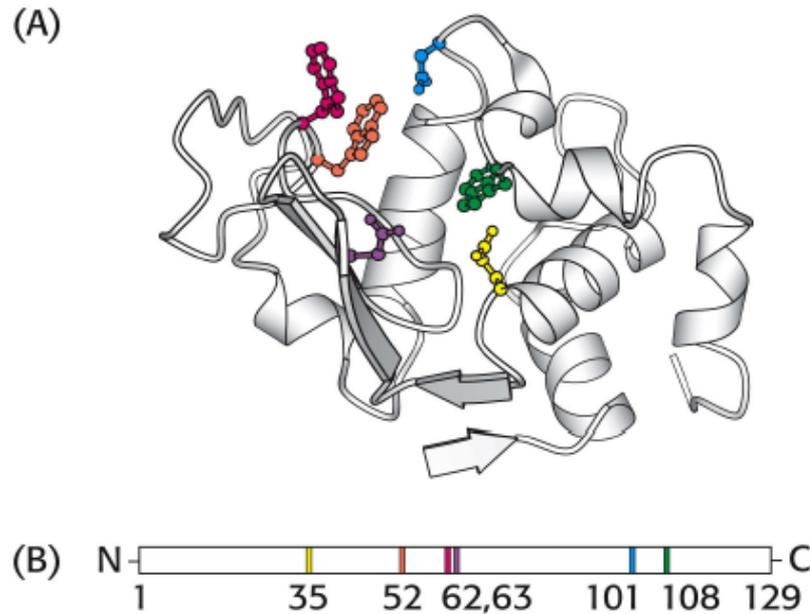


Varias cadenas peptídicas:
(estructura cuaternaria)



El sitio activo es el sitio unión del sustrato a la enzima y donde se lleva a cabo la catalisis





Es necesario el arreglo tridimensional adecuado de los aminoácidos que forman la cadena polipeptídica de la enzima para lograr la actividad funcional correcta

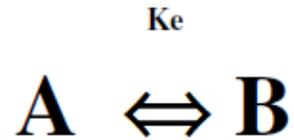
Características generales de las enzimas

- No sufren modificación al final de la reacción.
- No cambian la constante de equilibrio de una reacción química.
- Son muy específicas.
- Aceleran varios ordenes de magnitud mayor con respecto a la reacción no catalizada.
- Actúan en condiciones moderadas de presión y temperatura.

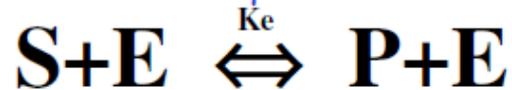
Incrementos de velocidad producidos por enzimas

Anhidrasa carbónica	10^7
Carboxipeptidasa A	10^{11}
Fosfoglucomutasa	10^{12}
Ureasa	10^{14}

Representación de una reacción química:



Representación de la reacción química catalizada por una enzima:

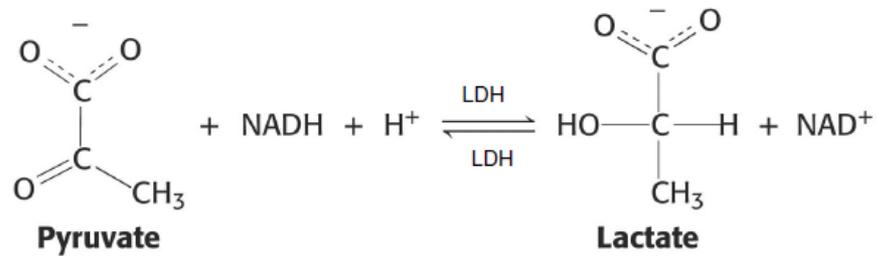


S representa el (los) reactante(s)
(llamado sustrato)

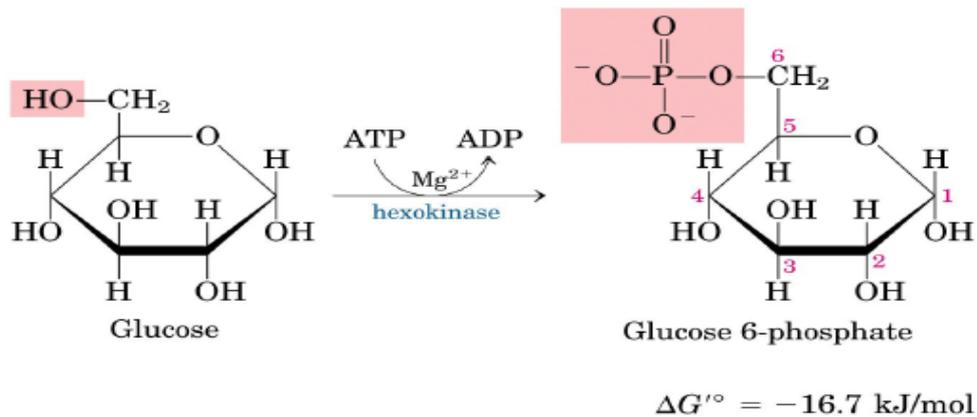
P representa el (los) producto(s)

Reacciones químicas son reversibles, sin embargo las enzimas pueden catalizar una reacción de manera reversible o irreversible

Ejemplo de reacción catalizada de manera reversible por una enzima



Ejemplo de reacción catalizada de manera irreversible por una enzima



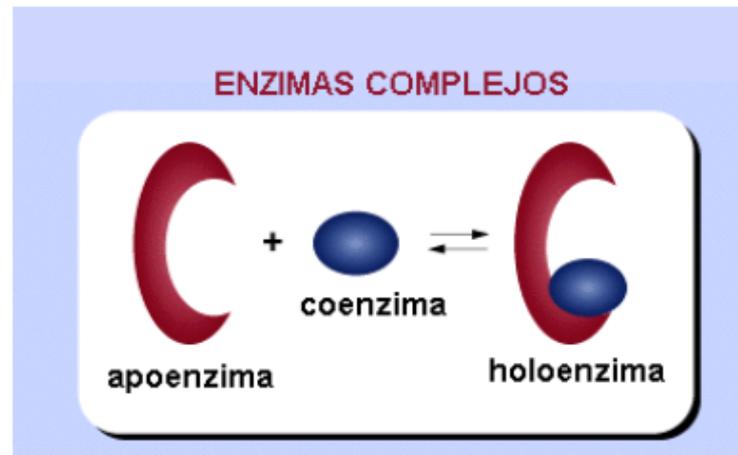
Isoenzimas

- Las **isoenzimas** o **isozimas** son enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química. Estas enzimas suelen mostrar diferentes parámetros cinéticos , o propiedades de regulación diferentes.
- La existencia de las isoenzimas permite el ajuste del metabolismo para satisfacer las necesidades particulares de un determinado tejido o etapa del desarrollo.

Muchas enzimas requieren cofactores para su actividad:

Pueden ser de naturaleza.

- Inorgánica
- Orgánica (coenzimas)



Términos relacionados con la acción enzimática

- **Apoenzima:**

Referido solo a la parte proteica de la enzima

- **Holoenzima:**

Es la proteína unido a una coenzima y/o ión metálico

- **Grupo Prostético:**

Componente orgánico unido fuertemente (covalentemente) a la apoenzima. Es frecuente la confusión entre cofactor y grupo prostético, pero la diferencia radica en la fuerza de su unión a la enzima

Términos relacionados con la acción enzimática

Cofactor:

Son moléculas orgánicas ó inorgánicas, cuya presencia es necesaria para que la enzima sea activa.

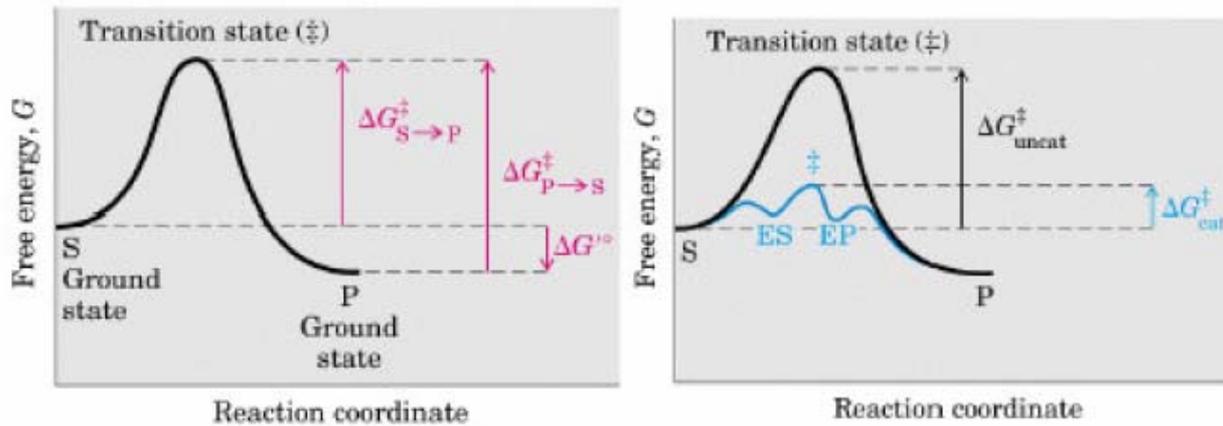
a) Iones inorgánicos

Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} etc.

b) Complejos orgánicos (Coenzimas)

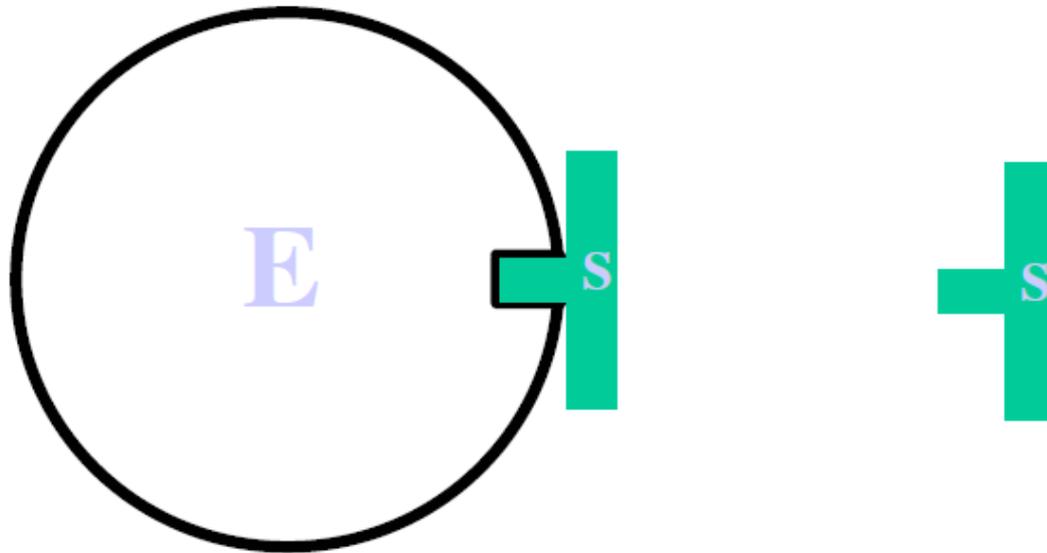
Vitaminas hidrosolubles

Los enzimas aceleran las reacciones bajando la energía de activación

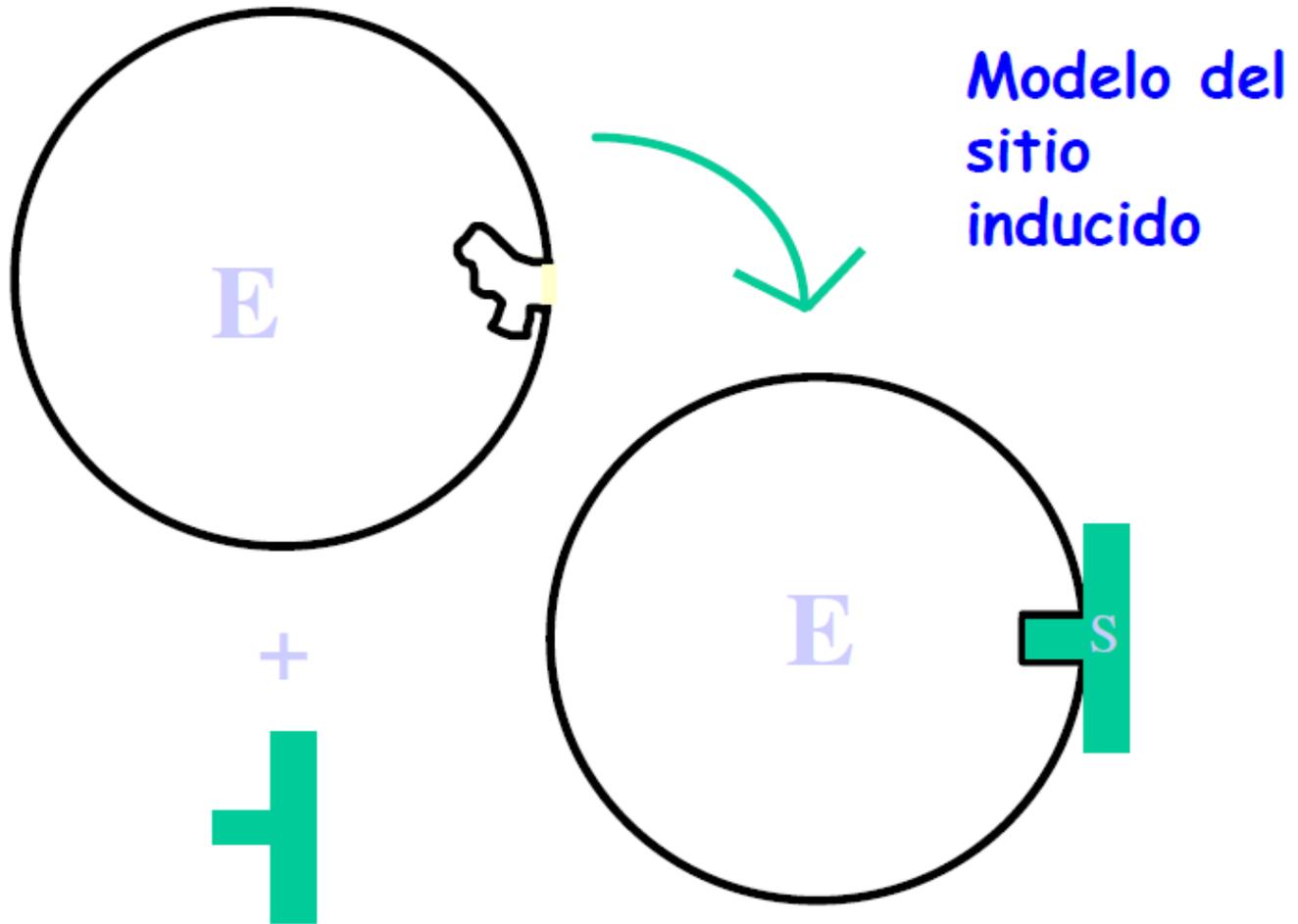


(“Lehninger Principles of Biochemistry” 3th ed. Nelson, DL and Cox, M.M. Worth Publishers, 2000.)

Modelo de la llave y cerradura



E y S tienen forma complementaria



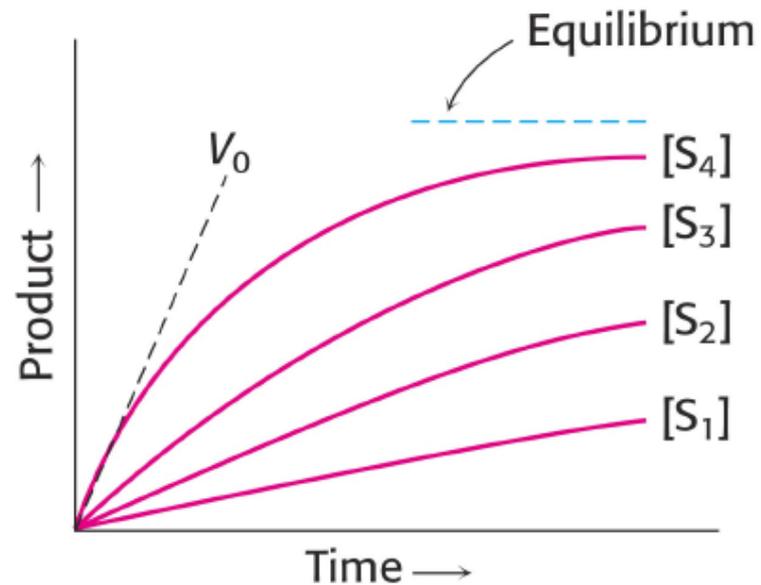
II. CINÉTICA ENZIMÁTICA

Estudia la velocidad de las reacciones catalizadas enzimáticamente

Los principios generales de las reacciones químicas se aplican también a las reacciones enzimáticas

Definición de la velocidad de reacción

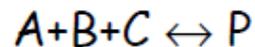
$$V = \frac{-d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$



Conceptos básicos de cinética química

Las reacciones químicas se clasifican en:

Monomoleculares, bimoleculares y trimoleculares según el número de reaccionantes sea uno, dos o tres.



Las reacciones químicas también se clasifican en:

reacciones de orden cero, primer orden, segundo orden y tercer orden dependiendo de cómo la velocidad de reacción es influenciada por la concentración de los reaccionantes.

$$V = \frac{-d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

Conceptos básicos de cinética química

En una reacción de orden cero, la velocidad de formación del producto es independiente de la concentración de sustrato: $v = k$

En una reacción de primer orden la velocidad de formación de los productos es directamente proporcional a la concentración del sustrato: $v = k [A]$

Una reacción de segundo orden es aquella en la que la velocidad de formación del producto depende

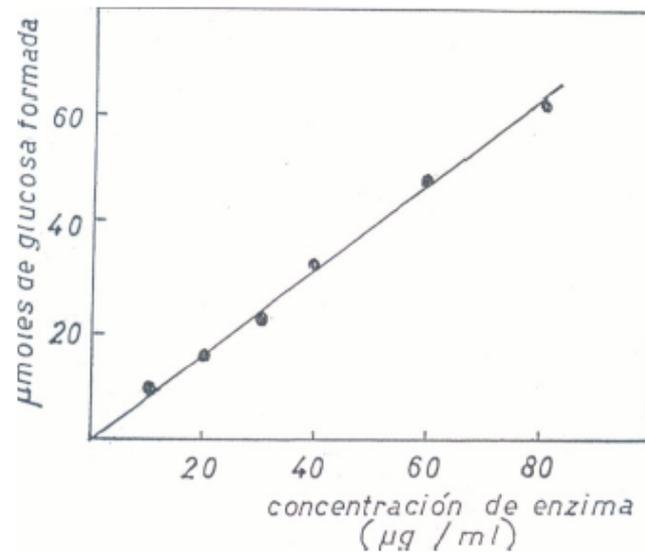
- de la concentración de dos sustratos (como en una reacción de condensación): $v = k [A_1] [A_2]$
- del cuadrado de la concentración de un único sustrato (reacción de dimerización): $v = k [A]^2$

Factores que afectan la velocidad de una reacción enzimática

1. Concentración de Enzima
2. Concentración de sustrato
3. pH
4. Temperatura
5. Presencia de Inhibidores

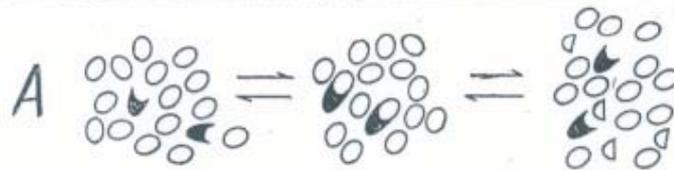
Factores que afectan la velocidad de una reacción enzimática

1. Concentración de Enzima

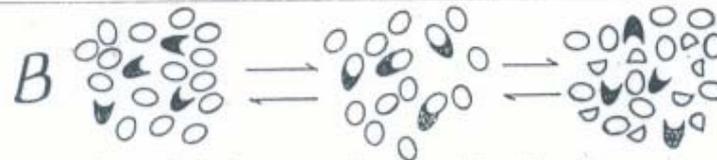


FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

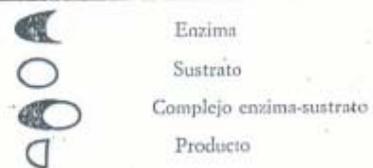
I. Concentración de Enzima



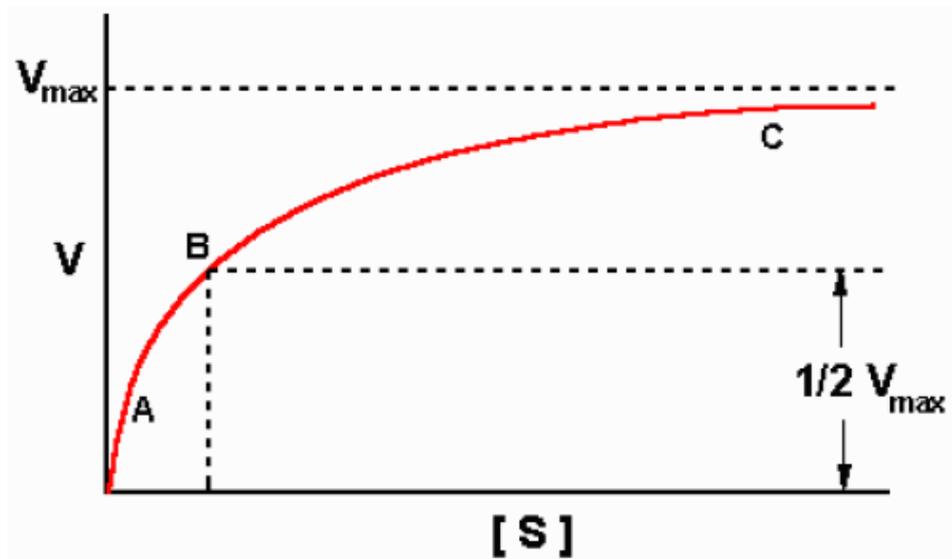
Dos moléculas de sustrato transformadas en un tiempo X.

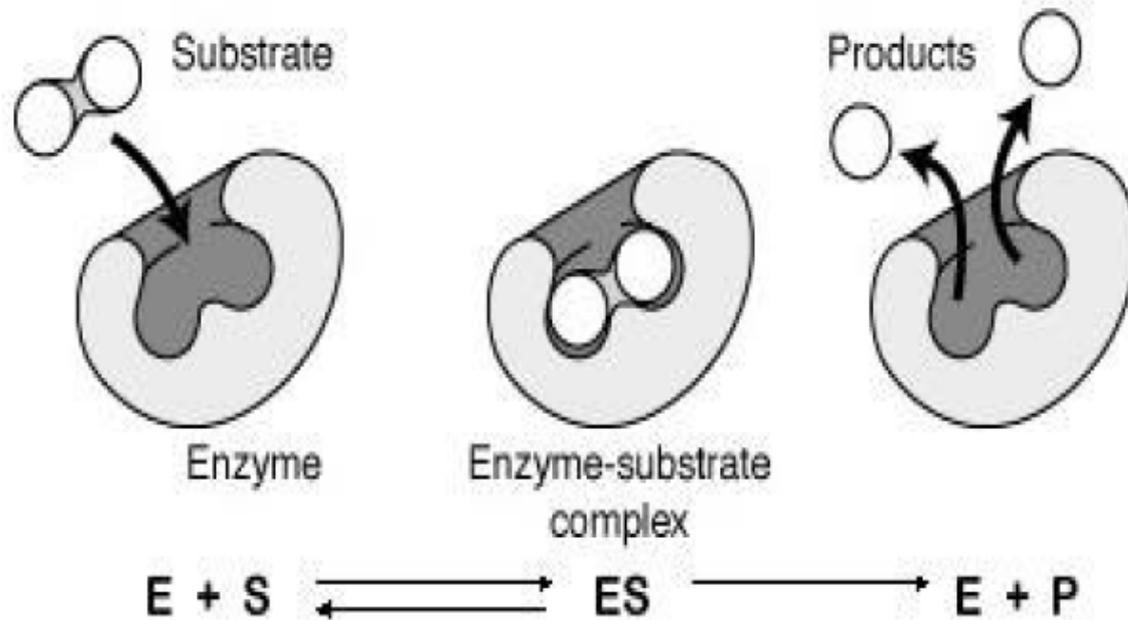
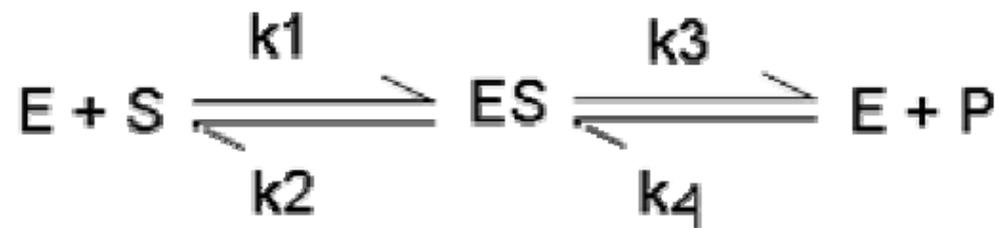


Cuatro moléculas de sustrato transformadas en el mismo tiempo X.



2. Concentración de sustrato

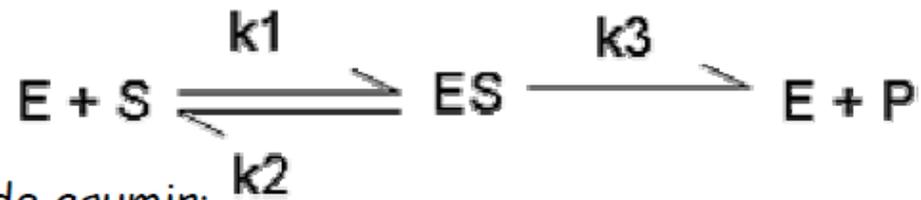




Modelo Cinético de Michaelis - Menten

La derivación de la ecuación se basa en:

- 1) que la concentración de S es mayor que la concentración de E
- 2) La concentración de Producto al inicio de la reacción es insignificante
- 3) el paso limitante de la velocidad es la transformación de ES a E+P



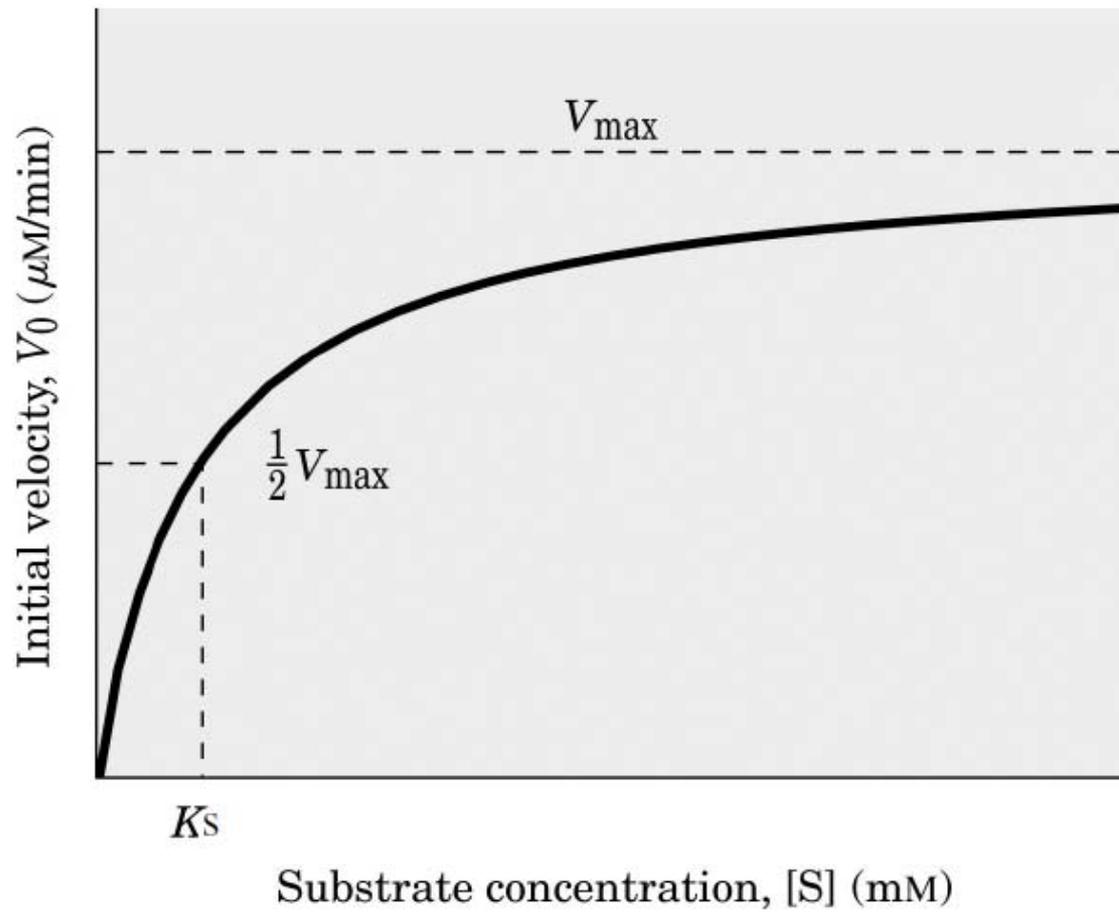
Se puede asumir:

En equilibrio rápido:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_s + [S]}$$

En estado estacionario:

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$$



En estado estacionario:

$$K_1 [E] [S] = k_2 [ES] + K_3 [ES]$$

$$[ES] = \frac{K_1 [E] [S]}{(k_2 + K_3)}$$

Si $v_o = k_3 [ES]$

$$\frac{V_o}{[E]_t} = \frac{k_3 [ES]}{[E] + [ES]}$$

Si $k_3 [E]_t = V_{\max}$

$$\frac{V_o}{V_{\max}} = \frac{[ES]}{[E] + [ES]}$$

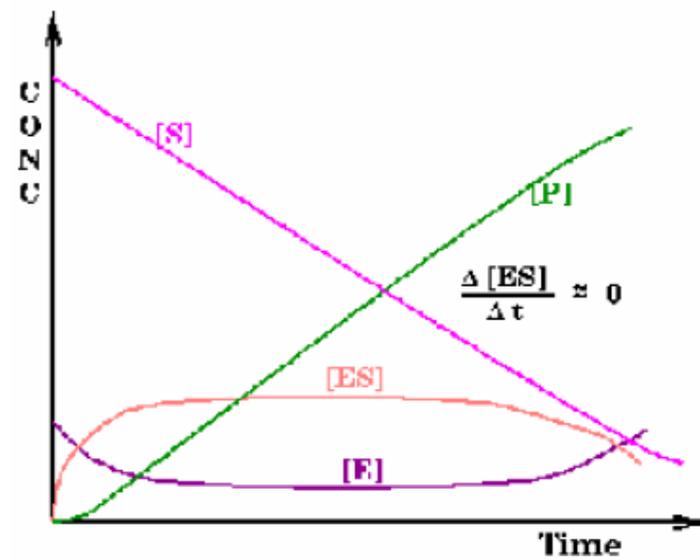
$$\frac{V_o}{V_{\max}} = \frac{K_1 [E][S]/(k_2 + K_3)}{[E] + K_1 [E][S]/(k_2 + K_3)}$$

$$\frac{V_o}{V_{\max}} = \frac{[S]/K_m}{1 + [S]/K_m}$$

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

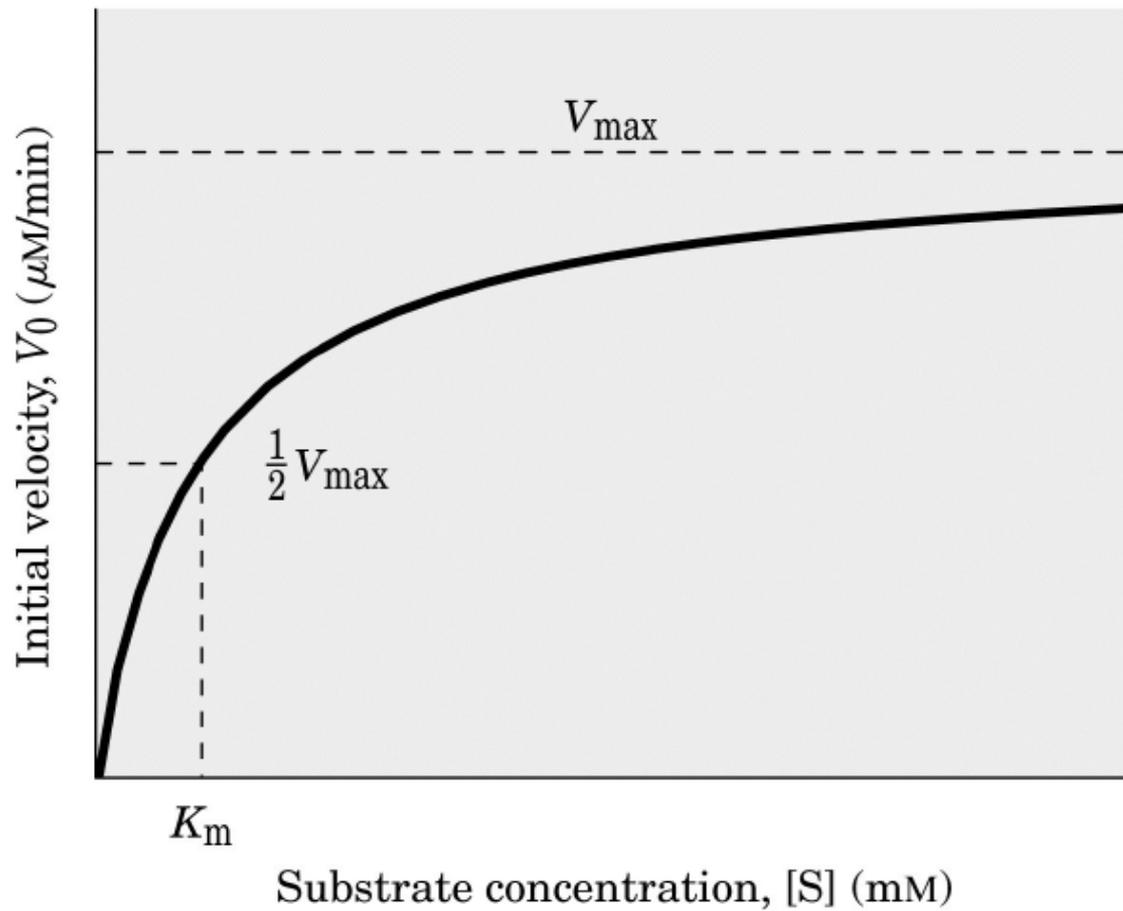
$$K_m = \frac{(k_2 + K_3)}{K_1}$$

Estado estacionario: La concentración del complejo ES se mantiene constante en el tiempo



Ecuación de la velocidad de una reacción enzimática

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$



Parámetros enzimáticos

1. K_m (constante para cada enzima) = concentración de S a la que la V_o es $1/2 V_{max}$. Es una medida de la afinidad del enzima por S. Cuanto menor es K_m , mayor es la afinidad del enzima por S
2. K_{cat} (constante para cada enzima) = número de recambio = número de moléculas de sustrato convertidas en producto por molécula de enzima y unidad de tiempo, en condiciones de saturación de sustrato.
3. V_{max} = velocidad máxima teórica = la velocidad cuando todos los centros activos están ocupados con sustrato (nunca alcanzada en la realidad)
4. Unidad de enzima = cantidad de enzima que transforma 1 μmol de sustrato por min = una forma común de expresar la velocidad
5. Actividad específica = unidades por mg de proteína total de la preparación enzimática. En el caso de enzimas en suero: unidades/L = U/L. Unidad más moderna: kat = nmoles de producto / seg

¿Por qué determinar K_m ?

K_m es una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato cuando $k_3 < k_2$. $K_m = (k_{-2} + k_3) / k_1$

K_m establece un valor aprox. para el valor intracelular de sustrato

K_m es constante para una enzima dada, permite comparar enzimas de diferentes organismos o tejidos o entre distintas proteínas

Un cambio en el valor de K_m es un modo de regular la enzima

Tomando las inversas de la ecuación de velocidad, tenemos:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Plot de Lineweaver-Burk

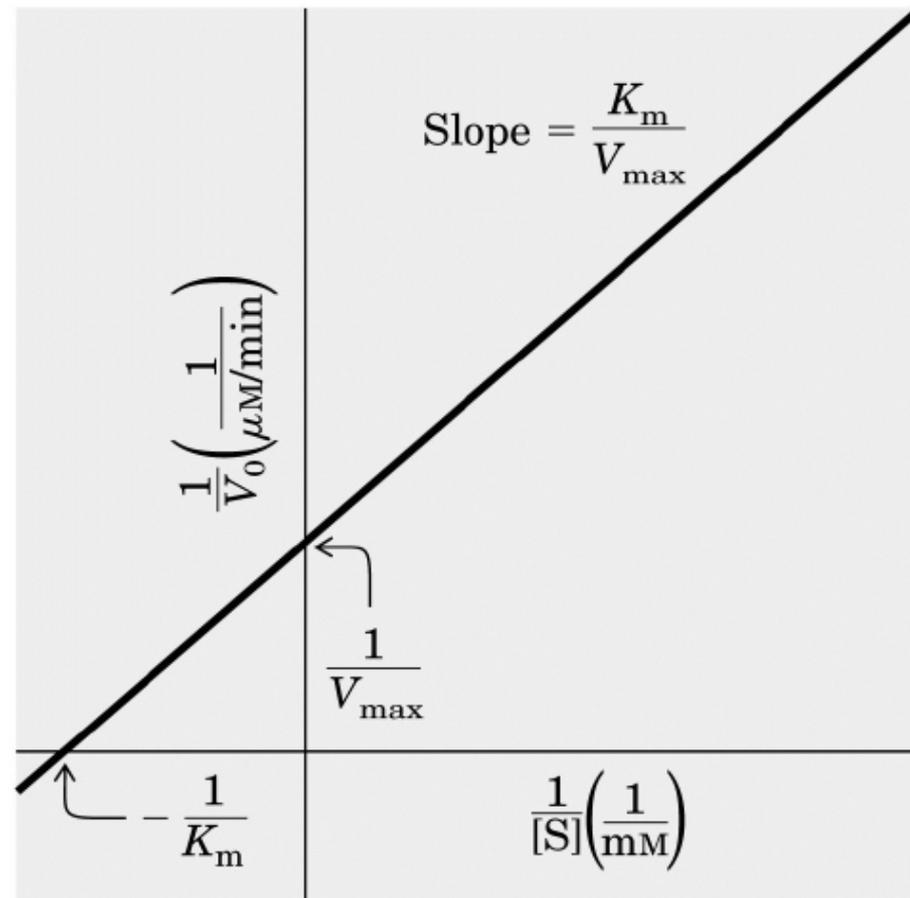
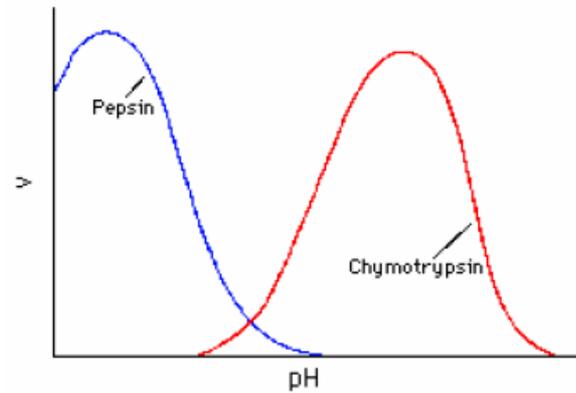


table 8–6

K_m for Some Enzymes and Substrates

Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Catalase	H_2O_2	25
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	<i>N</i> -Benzoyltyrosinamide	2.5
β -Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

3. pH del medio



3. Efecto del pH del medio

El sitio activo de la enzima está frecuentemente compuesto de grupos ionizables que deben estar en la forma iónica adecuada para mantener la conformación, unir los sustratos o catalizar la reacción.

La actividad de la enzima debe ser medida al pH óptimo

4. Efecto de la Temperatura

A medida que aumenta la temperatura por lo general aumenta la actividad catalítica dentro del margen de estabilidad de la enzima

