

ENZIMAS

A close-up photograph of a green flower bud with numerous red stamens and a small fly perched on it. The flower is in the center of the frame, with a soft, blurred background. The stamens are long and thin, with small, round anthers at the tips. The fly is small and has transparent wings. The overall scene is brightly lit, highlighting the textures of the flower and the insect.

QUÍMICA BIOLÓGICA

FCEN UNCUYO

MARIA BELEN HAPON

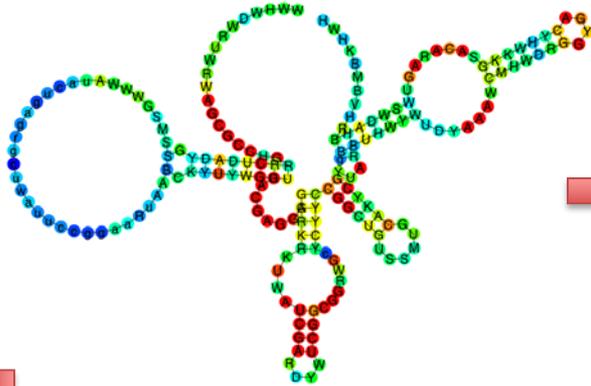
2019

bhapon@mendoza-conicet.gob.ar

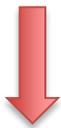
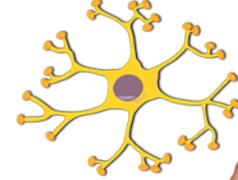
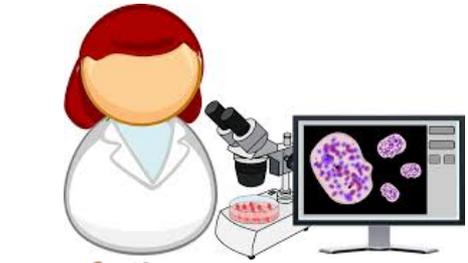
- * Las enzimas. Que son y como actúan.
- * Efecto del pH y la temperatura.
- * Concepto de sustratos, co-factores y co-enzimas. Sitios catalíticos y sitios reguladores.
- * Cinética enzimática.
- * Enzimas alostéricas.
- * Regulación enzimática. Inhibición reversible e irreversible. Inhibición competitiva y no competitiva.
- * Tipos de enzimas: degradativas (proteasas, lipasas, glicosidasas, nucleasas), de óxido-reducción, transferasas, isomerasas, etc. Pro-enzimas.

Las enzimas. ¿Qué son? ¿Cómo actúan?

(Proteínas>>> ribosimas)

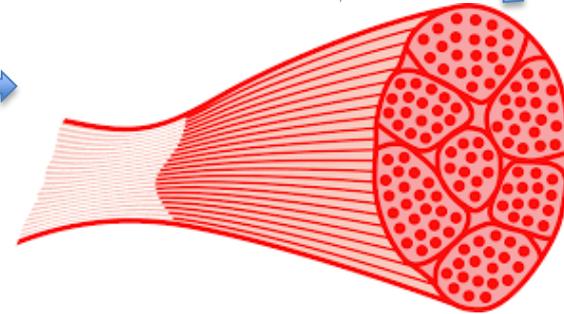
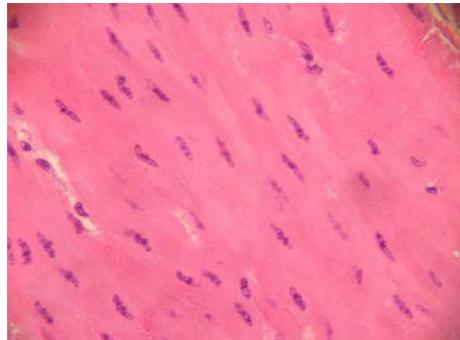


Energía

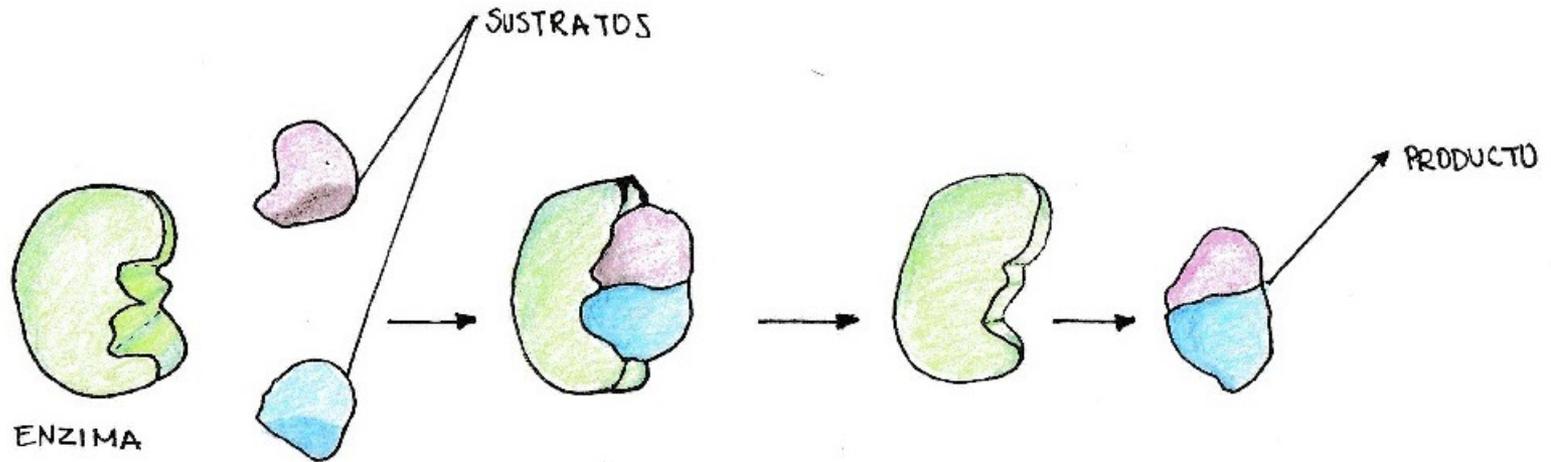


0 1
Sequence conservation

Síntesis

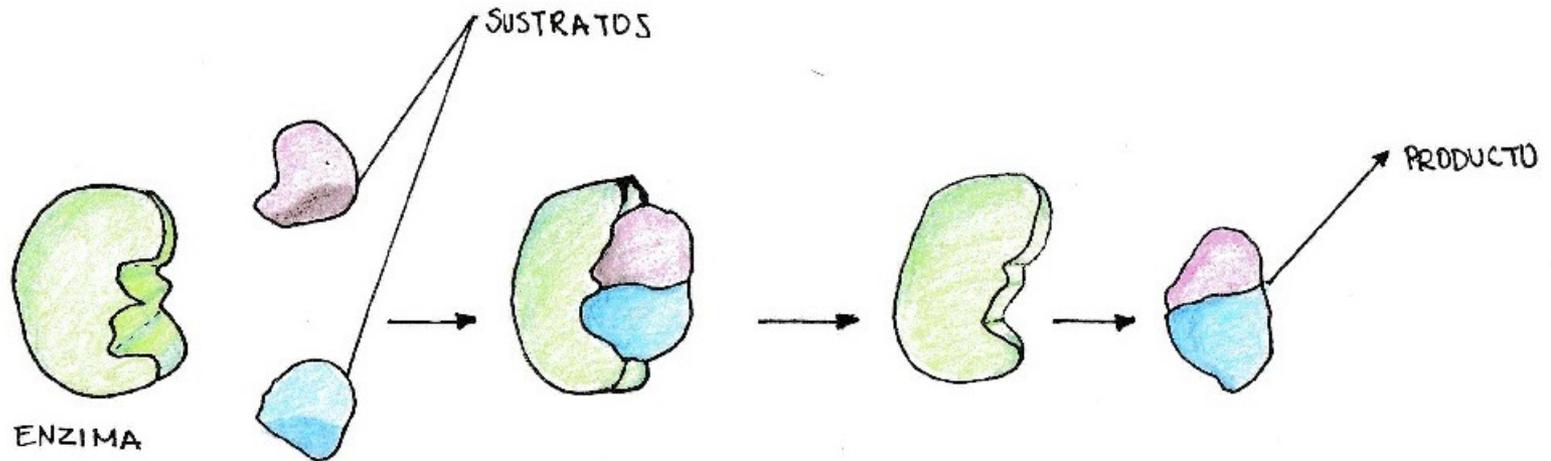


Las enzimas. Qué son y cómo actúan



Actividad enzimática  Sangre
Extracto celular

Las enzimas. Qué son y cómo actúan



Actividad enzimática

Sangre

Extracto celular

- Defectos genéticos
- Deficiencia nutricional
- Infección viral o bacteriana

Enfermedad

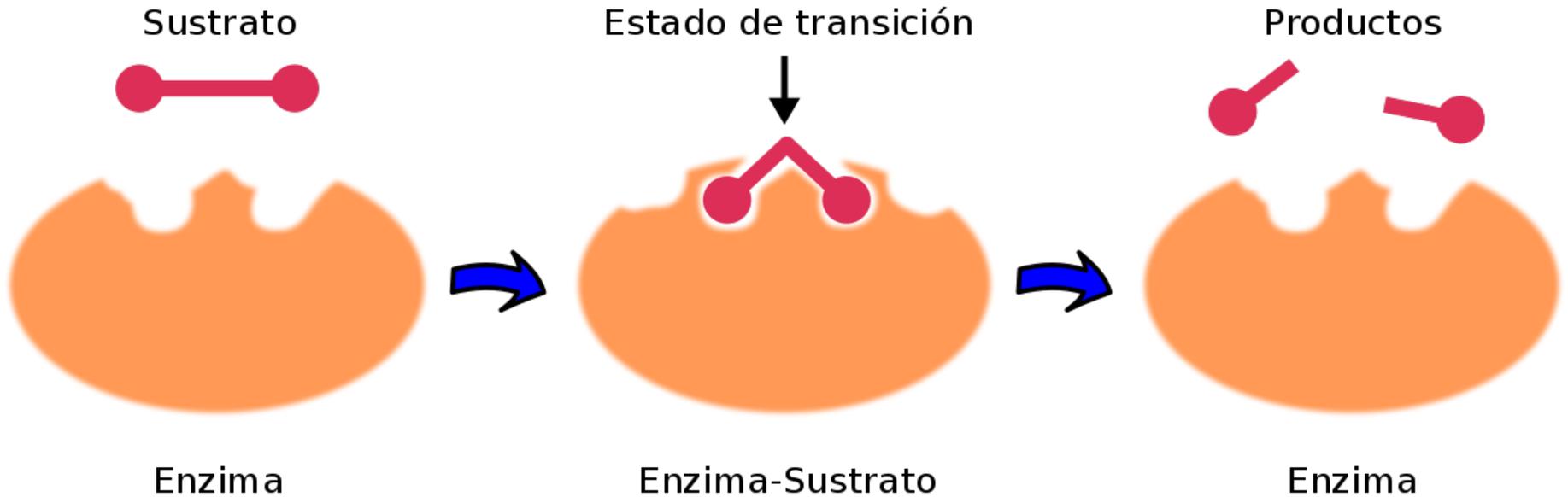


- Terapia génica
- Fármacos

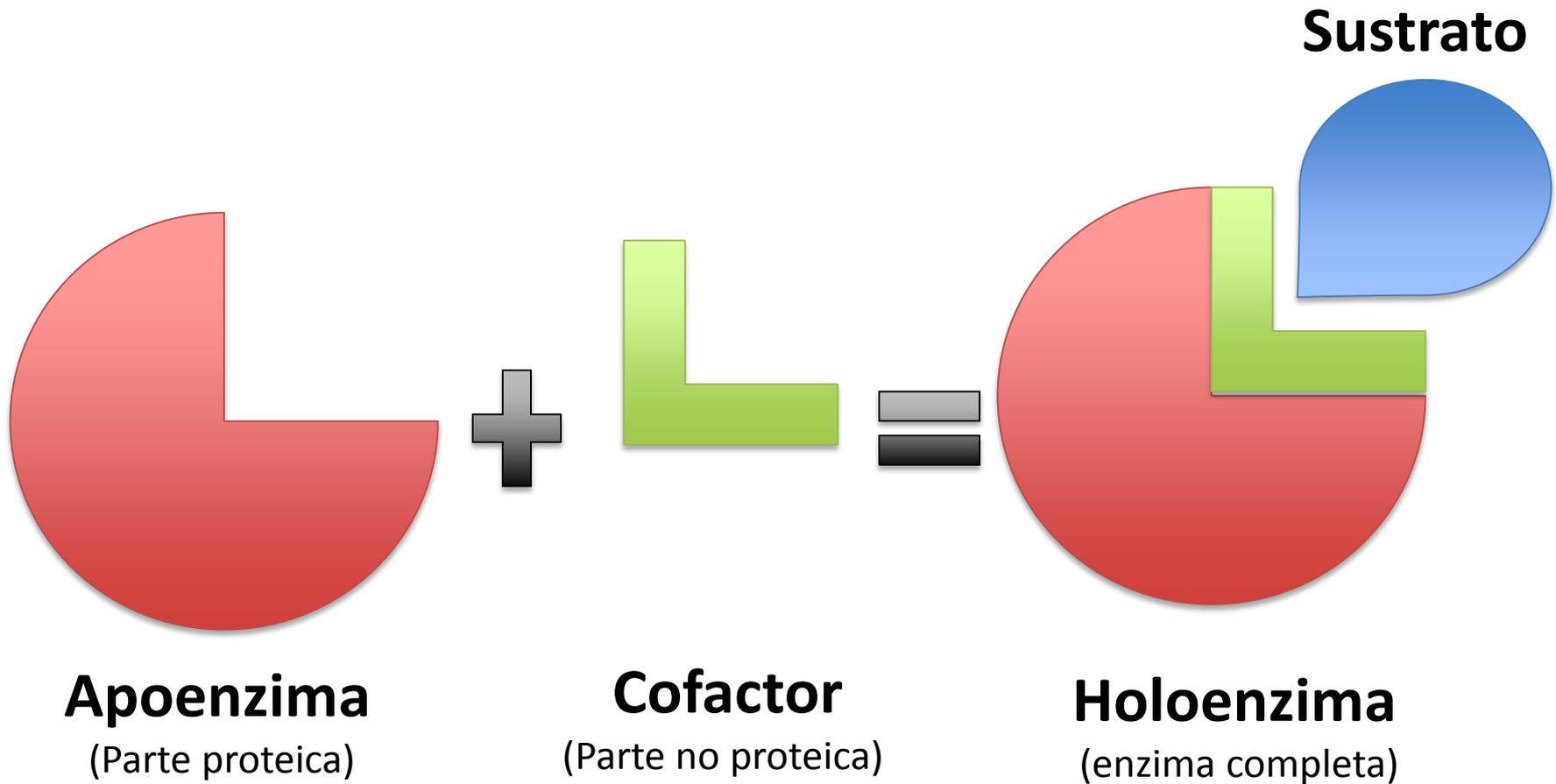
Las enzimas. Qué son y cómo actúan



La catálisis tiene lugar en el sitio activo



Concepto de sustratos, co-factores y co-enzimas.



Concepto de sustratos, co-factores y co-enzimas.

Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

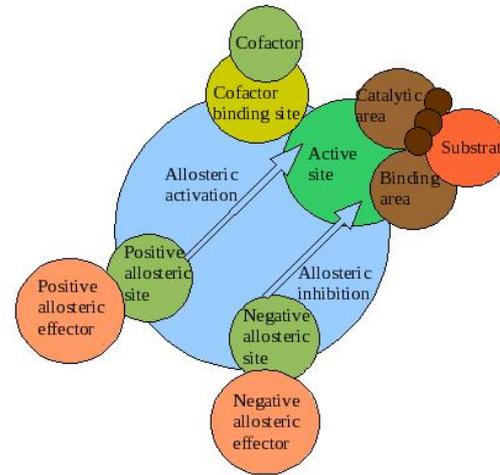
Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

Las coenzimas sirven como reactivos en la transferencia de grupos

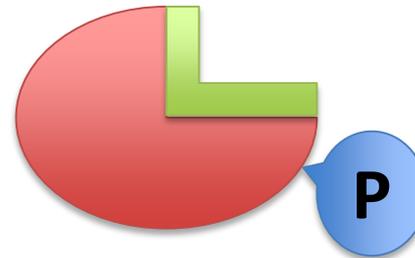
Vitamin	Coenzyme	Typical reaction type	Consequences of deficiency
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfer	Beriberi (weight loss, heart problems, neurological dysfunction)
Riboflavin (B ₂)	Flavin adenine dinucleotide (FAD)	Oxidation–reduction	Cheliosis and angular stomatitis (lesions of the mouth), dermatitis
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Group transfer to or from amino acids	Depression, confusion, convulsions
Nicotinic acid (niacin)	Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD ⁺)	Oxidation–reduction	Pellagra (dermatitis, depression, diarrhea)
Pantothenic acid	Coenzyme A	Acyl–group transfer	Hypertension
Biotin	Biotin–lysine complexes (biocytin)	ATP-dependent carboxylation and carboxyl–group transfer	Rash about the eyebrows, muscle pain, fatigue (rare)
Folic acid	Tetrahydrofolate	Transfer of one-carbon components; thymine synthesis	Anemia, neural-tube defects in development
B ₁₂	5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Transfer of methyl groups; intramolecular rearrangements	Anemia, pernicious anemia, methylmalonic acidosis
C (ascorbic acid)		Antioxidant	Scurvy (swollen and bleeding gums, subdermal hemorrhages)

Mecanismos de regulación enzimática

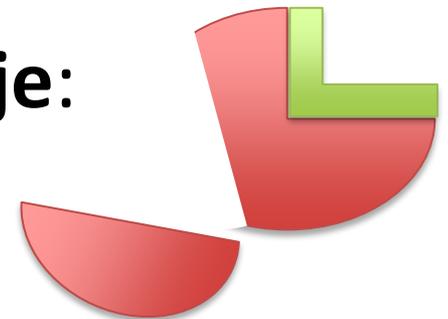
- **Regulación alostérica:**

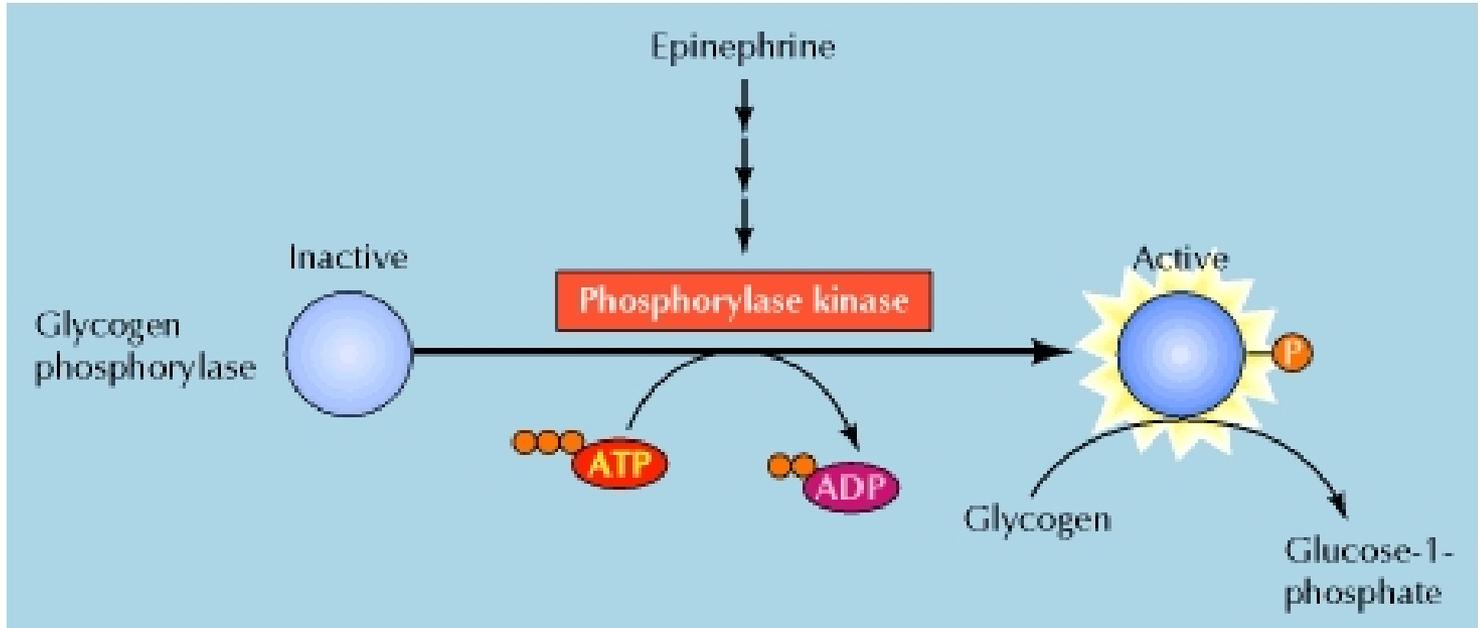
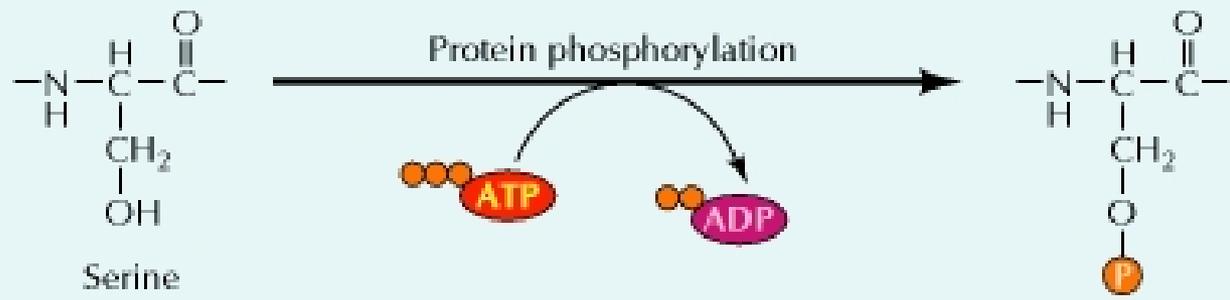


- **Modificación covalente:**



- **Activación o desactivación por clivaje:**





¿Cómo les asignamos un nombre a las enzimas?

1-Nombre recomendado: corto y apropiado para su uso coloquial, por ej. Creatin-quinasa.

2-Nombre sistemático: identifica la reacción que cataliza, por ejemplo ATP-creatinfosfotransferasa.

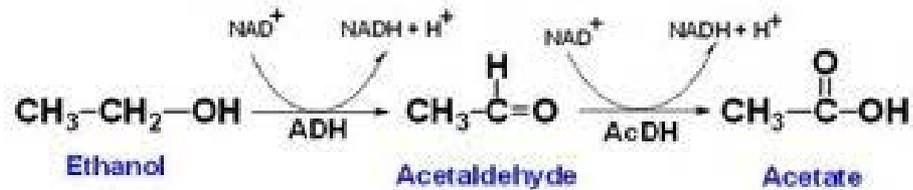
3-Número de clasificación: asignado por convenciones internacionales de especialistas que se utilizan como identificador inequívoco, por ej. en publicaciones científicas, EC2.7.3.2

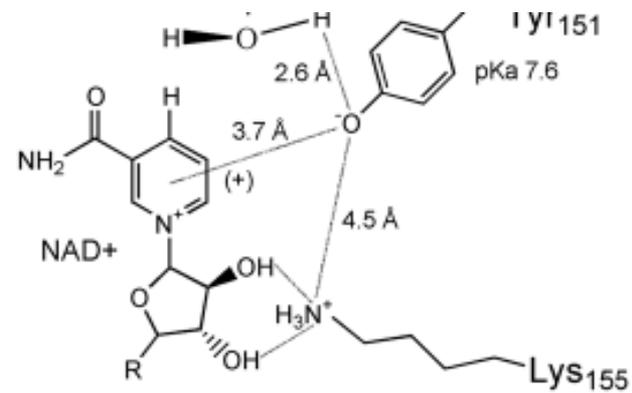
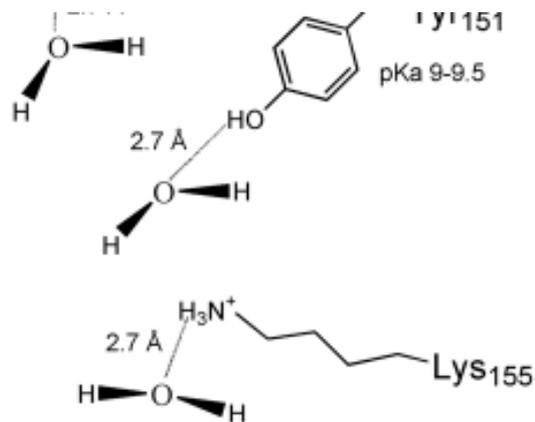
- 1. **Oxidoreductasas** (catalizan oxidaciones y reducciones)
- 2. **Transferasas** (catalizan la transferencia de restos con grupos glucosidos, metilos, fosfatos)
- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- 4. **Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace.
- 5. **Isomerasas** (catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una misma molécula)
- 6. **Ligasas** (catalizan la unión de dos moléculas acoplada a la hidrólisis del ATP)

- Según la IUB el nombre de la hexoquinasa es:
- ATP:D-hexose 6-phosphotransferase E.C. 2.7.1.1. Este nombre identifica a la hexoquinasa como un miembro de la clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferasas de grupos fosfato), sub-subclase 1 (alcohol es el aceptor del fosfato), y "hexose-6" indica el alcohol fosforilado es en el carbono 6 de la hexosa.

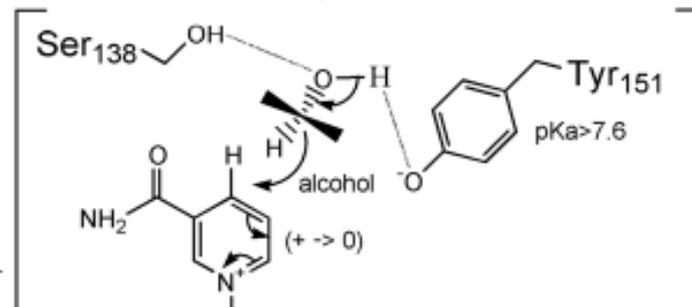
Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 1. **Oxidoreductasas** (catalizan oxidaciones y reducciones)

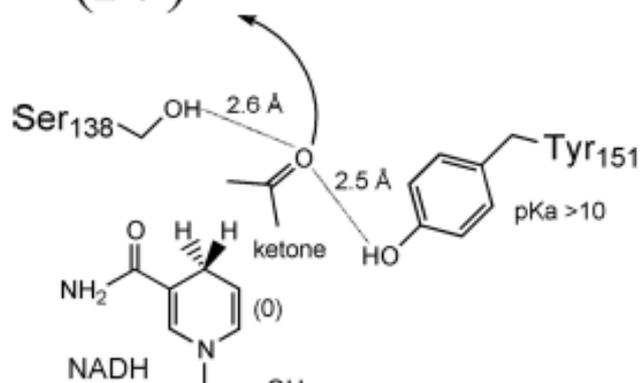




(III)

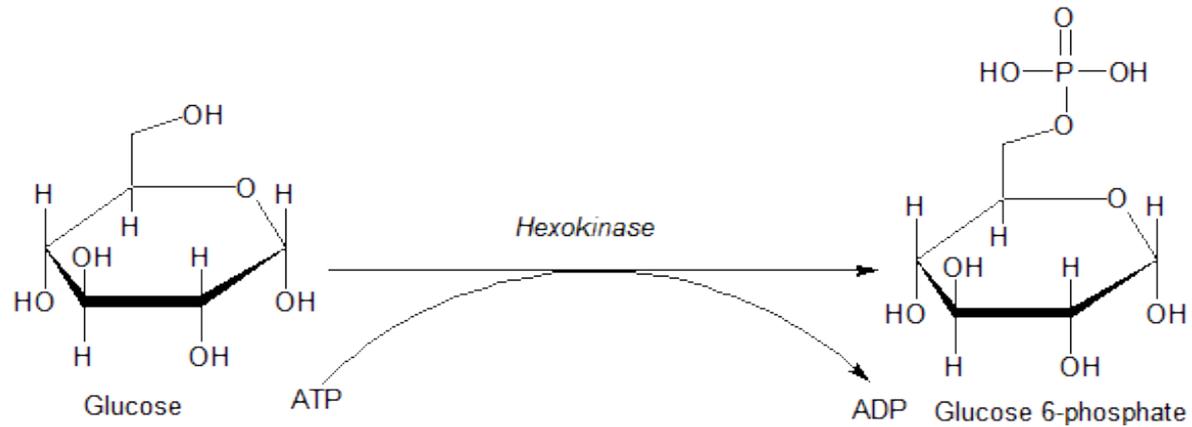


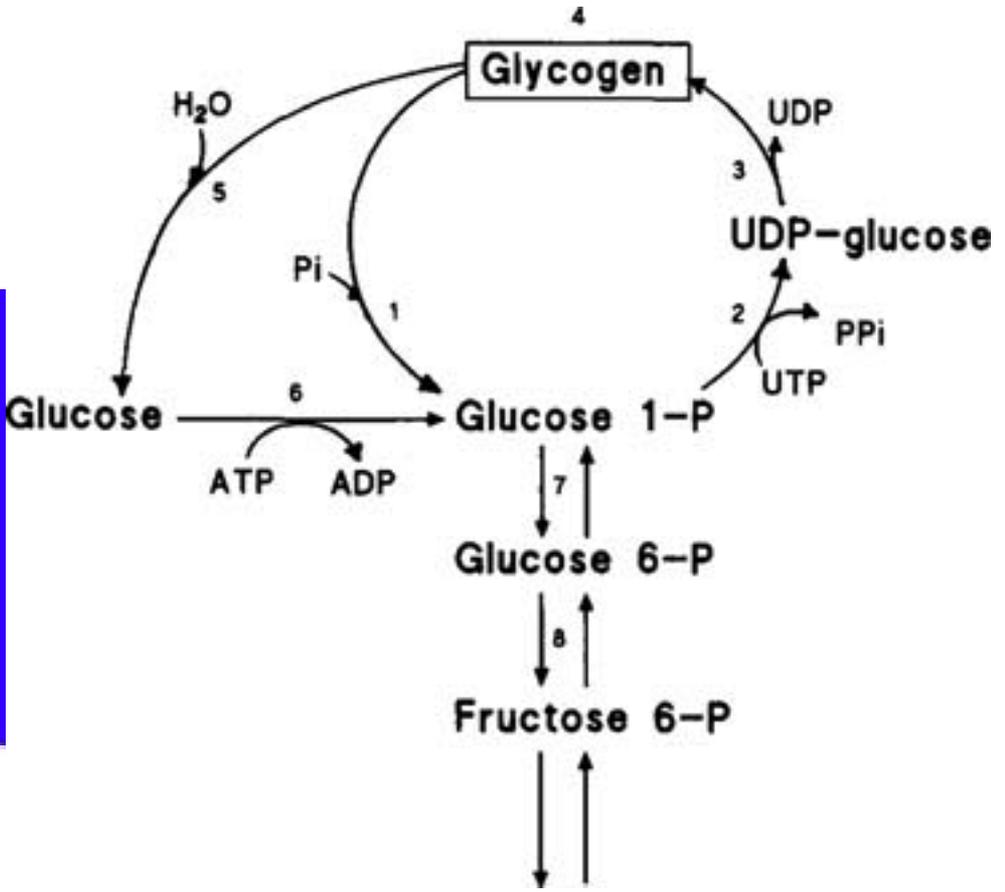
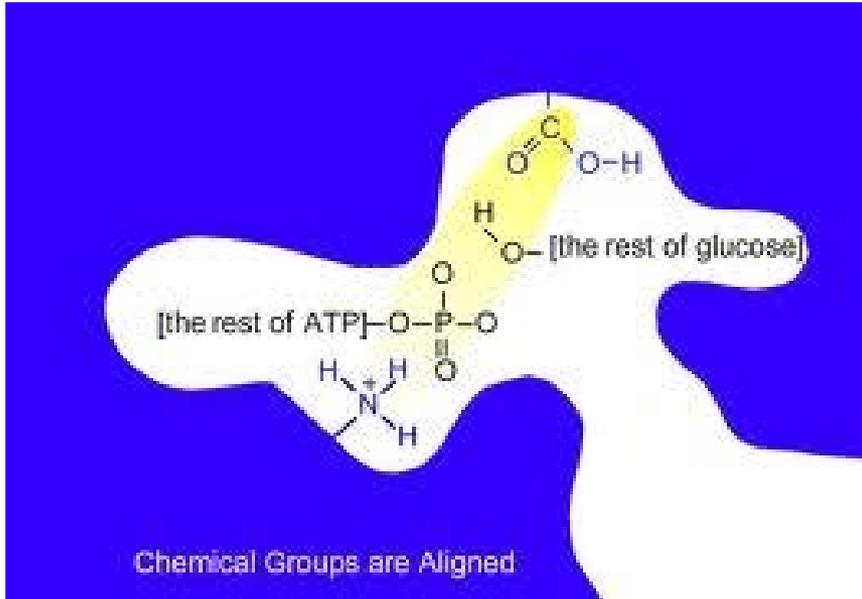
(IV)



Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 2. **Transferasas** (catalizan la transferencia de restos con grupos glucósidos, metilos, fosfatos)



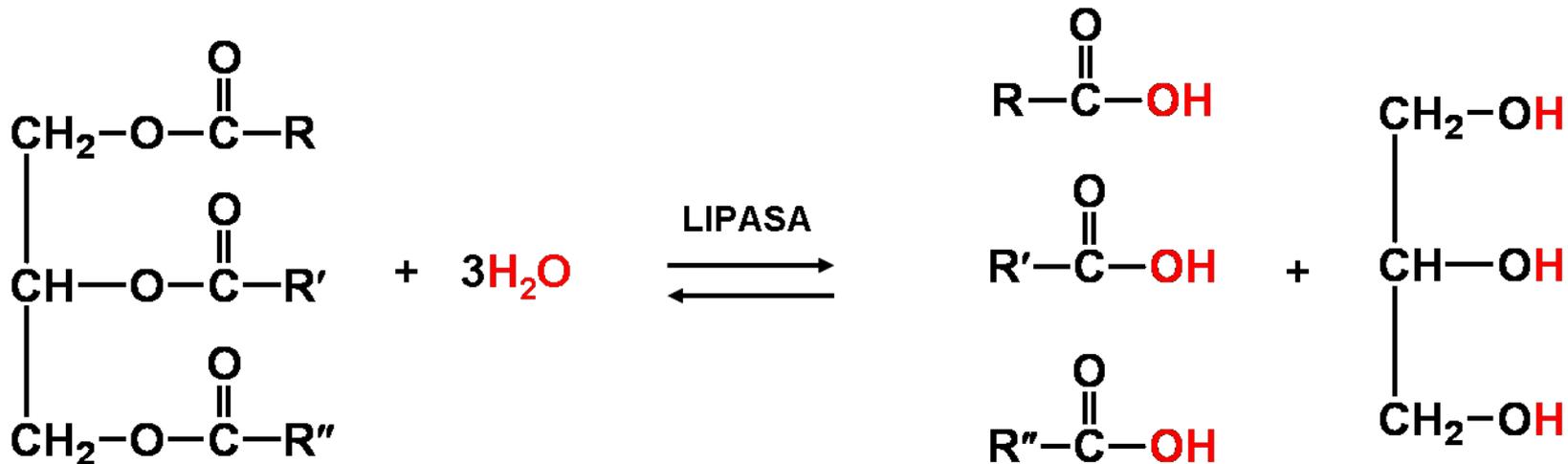


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- EC 3.1: Actúan sobre enlaces éster. (Esterasas, nucleasas, fosfodiesterasas, lipasas, fosfatasas)
- EC 3.2: Glicosilasas.
- EC 3.3: Actúan sobre enlaces éter.
- EC 3.4: Actúan sobre enlaces peptídicos. (Peptidasas)
- EC 3.5: Actúan sobre enlaces carbono-nitrógeno no peptídicos.
- EC 3.6: Actúan sobre los anhídridos de los ácidos. (Helicasas, GTPasa)
- EC 3.7: Actúan sobre los enlaces carbono-carbono.
- EC 3.8: Actúan sobre los enlaces haluro.
- EC 3.9: Actúan sobre los enlaces fósforo-nitrógeno.
- EC 3.10: Actúan sobre los enlaces azufre-nitrógeno.
- EC 3.11: Actúan sobre los enlaces carbono-fósforo.
- EC 3.12: Actúan sobre los enlaces azufre-azufre.
- EC 3.13: Actúan sobre los enlaces carbono-azufre.

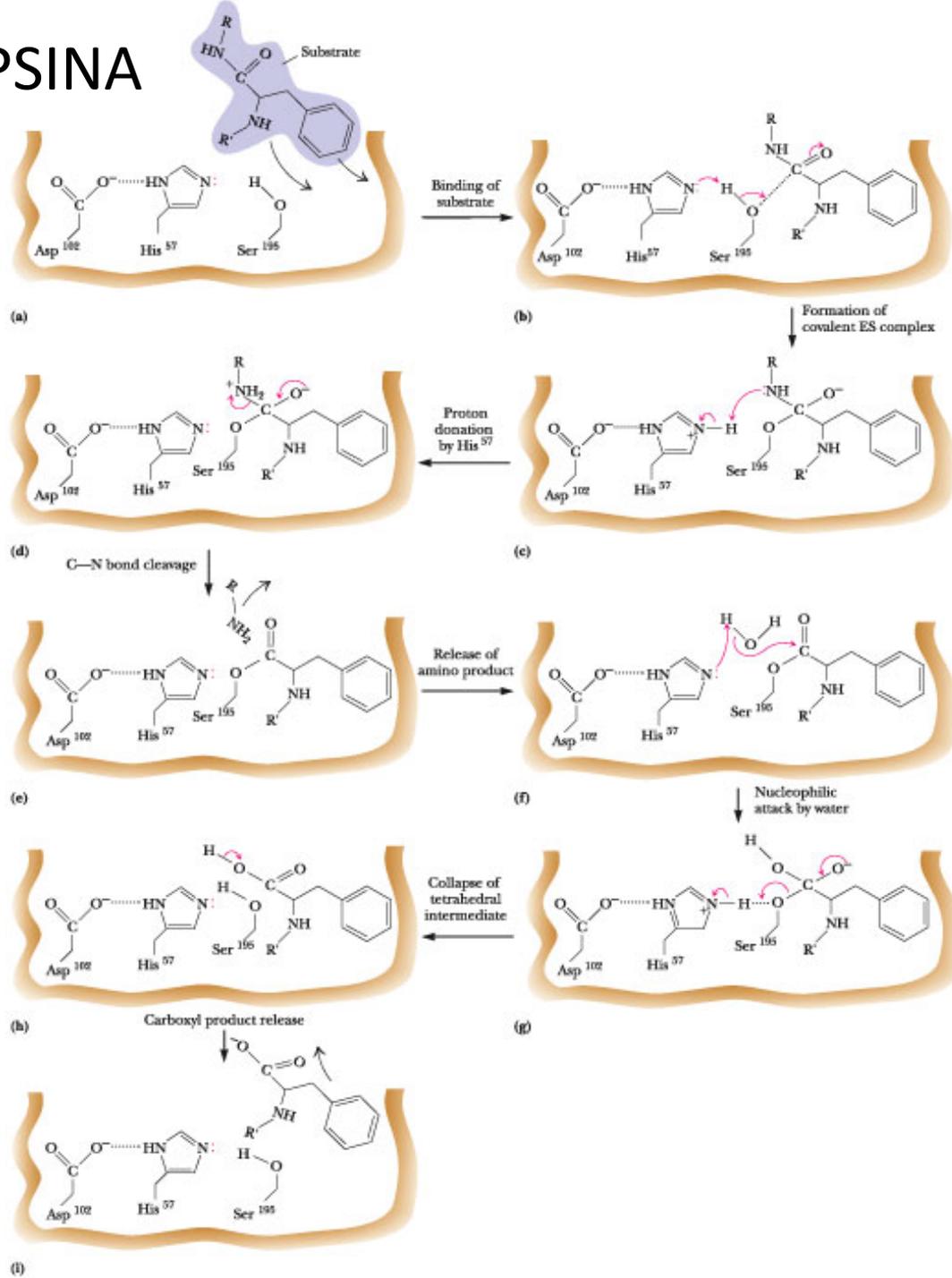
Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- La lipasa es una enzima ubicua que se usa en el organismo para disgregar las grasas de los alimentos de manera que se puedan absorber. Su función principal es catalizar la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol. Las lipasas se encuentran en gran variedad de seres vivos.



- 3. **Hydrolasas** (catalizan la ruptura hidrolítica de $C-C$, $C-O$, $C-N$, y otros tipos de uniones)
- La lipasa es una enzima ubicua que se usa en el organismo para disgregar las grasas de los alimentos de manera que se puedan absorber. Su función principal es catalizar la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol. Las lipasas se encuentran en gran variedad de seres vivos.

QUIMIOTRIPSINA

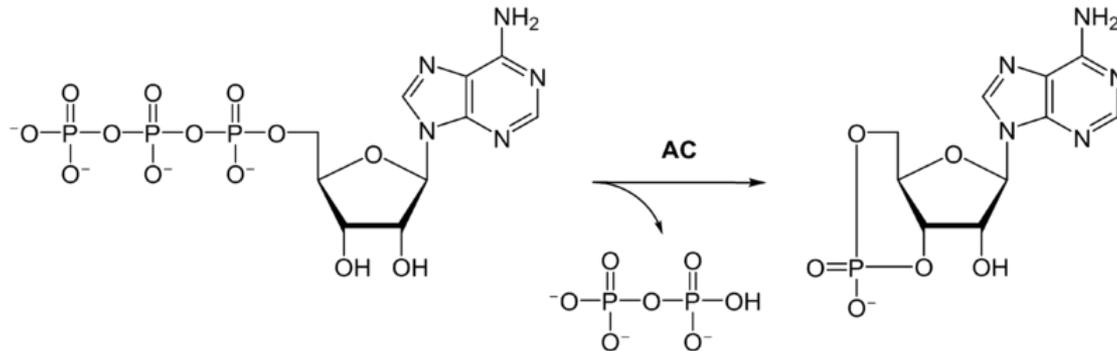


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

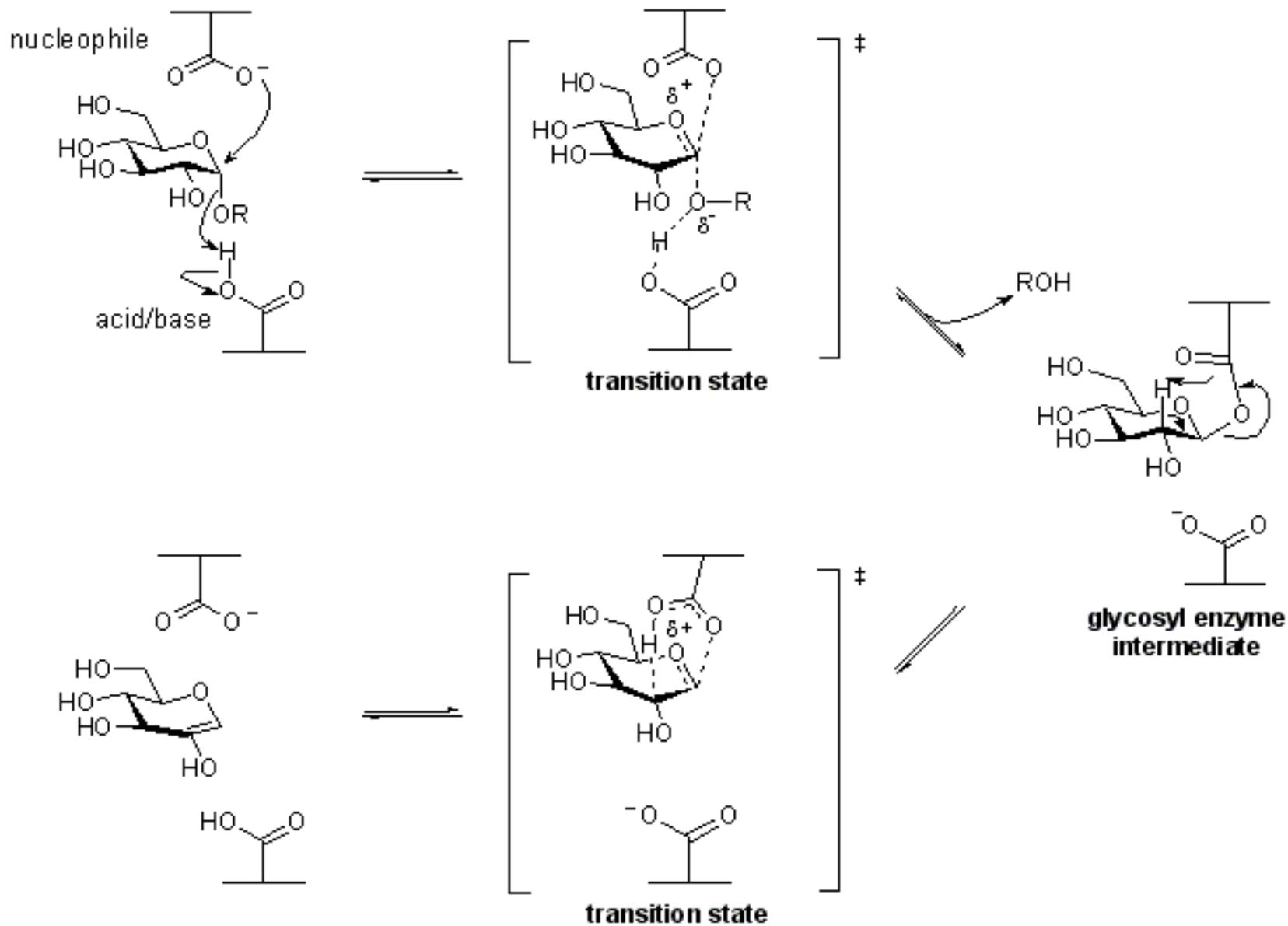
- **4. Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces C—C, C—O, C—N, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace).
- En bioquímica, una liasa es una enzima que cataliza la ruptura de enlaces químicos en compuestos orgánicos por un mecanismo distinto a la hidrólisis o la oxidación, reacciones que son realizadas por enzimas específicas llamadas hidrolasas y deshidrogenasas respectivamente. Resultado del proceso de ruptura se forman frecuentemente nuevos dobles enlaces o nuevas estructuras en anillo.
- Los nombres sistemáticos de estas enzimas son "substrato grupo liasa". Los nombres comunes incluyen descarboxilasas, deshidratasas, aldolasas, etc
- EC 4.1, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-carbono como las descarboxilasas (EC 4.1.1), aldehído liasas (EC 4.1.2), oxoácido liasas (4.1.3) y otros (4.1.99).
- EC 4.2, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-oxígeno como las deshidratasas.
- EC 4.3, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-nitrógeno.
- EC 4.4, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-azufre.
- EC 4.5, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-halógeno.
- EC 4.6, incluye enzimas que rompen enlaces carbono-fósforo como la adenilato ciclasa y la guanilato ciclasa.
- EC 4.99, incluye otros tipos de liasas como la ferroquelatasa.

Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 4. **Liasas** (catalizan la ruptura de enlaces C—C, C—O, C—N, y otros tipos de uniones por eliminación de un átomo dejando un doble enlace).

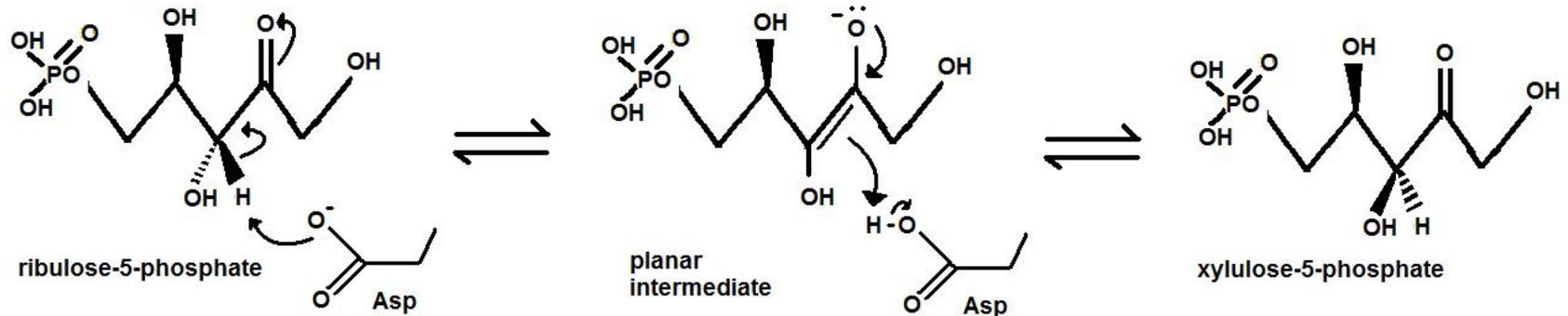


Adenilato ciclasa cataliza la conversión de ATP a AMPc, una importante molécula en la transducción de la señal en eucariotas, conocida como un segundo mensajero, y pirofosfato:



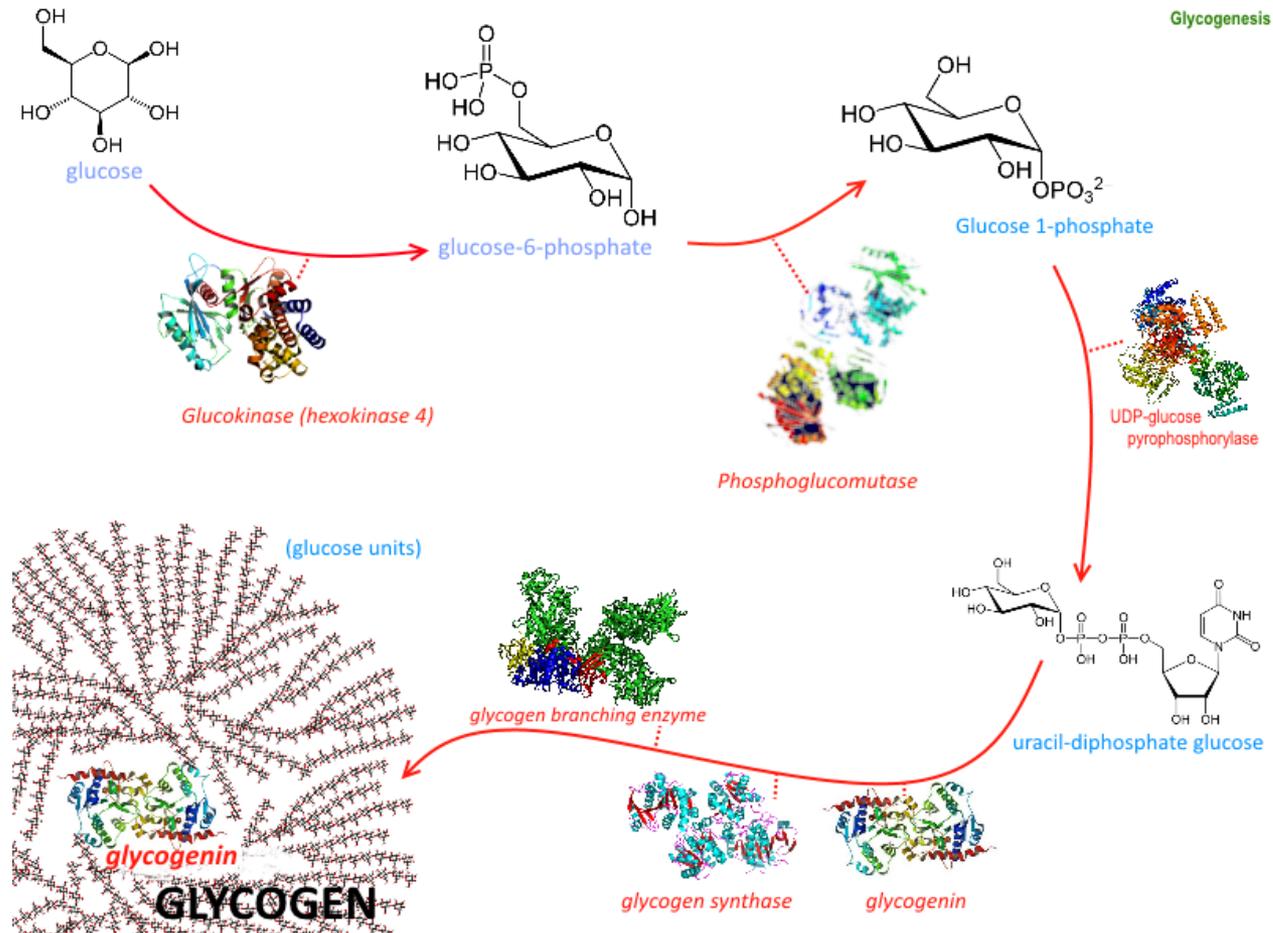
Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

- 5. **Isomerasas** (catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una misma molécula)
- En bioquímica, una enzima isomerasa es una enzima que transforma un isómero de un compuesto químico en otro. Podrá, por ejemplo, transformar una molécula de ribulosa en una de xilulosa.
- Son isómeros dos cuerpos químicos que tienen la misma fórmula molecular pero unas características distintas debido a la organización diferente de los átomos en la molécula.

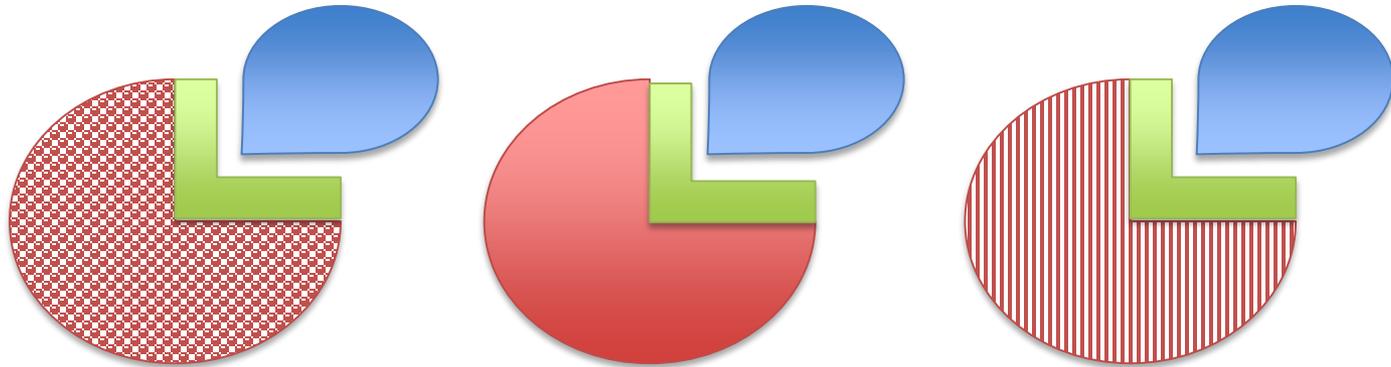


Las enzimas se clasifican según el tipo de reacción en que intervengan

6. **Ligasas** (catalizan la unión de dos moléculas acoplada a la hidrólisis del ATP)/Sintetasa, carboxilasa. Una ligasa (del latín ligar "pegar") es una enzima capaz de catalizar la unión entre dos moléculas de gran tamaño, dando lugar a un nuevo enlace químico; generalmente, sucede junto con la hidrólisis de un compuesto de alta energía, como el ATP, que proporciona energía para que dicha reacción tenga lugar.



ISOENZIMAS



DISTINTAS
VERSIONES DE LA
MISMA ENZIMA

CATALIZAN LA
MISMA
REACCIÓN

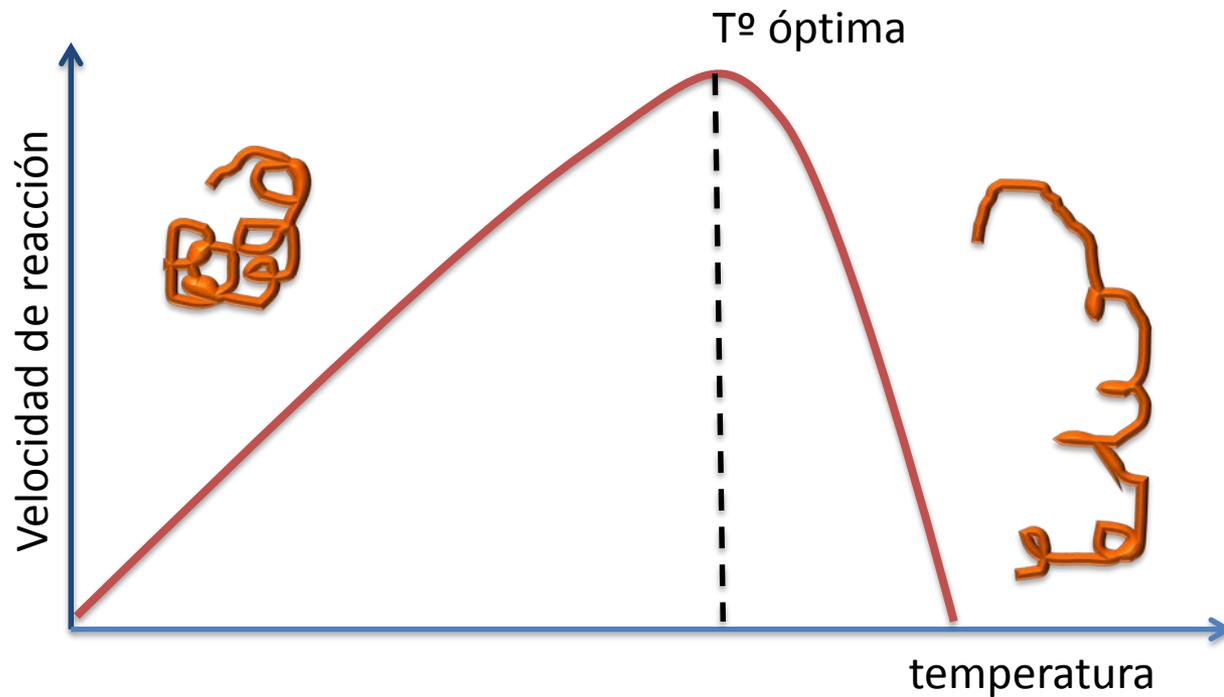
PROVIENEN DE
LA
DUPLICACION
GÉNICA

DISTINTA
SENSIBILIDAD A
FACTORES
REGULATORIOS O
AL SUSTRATO

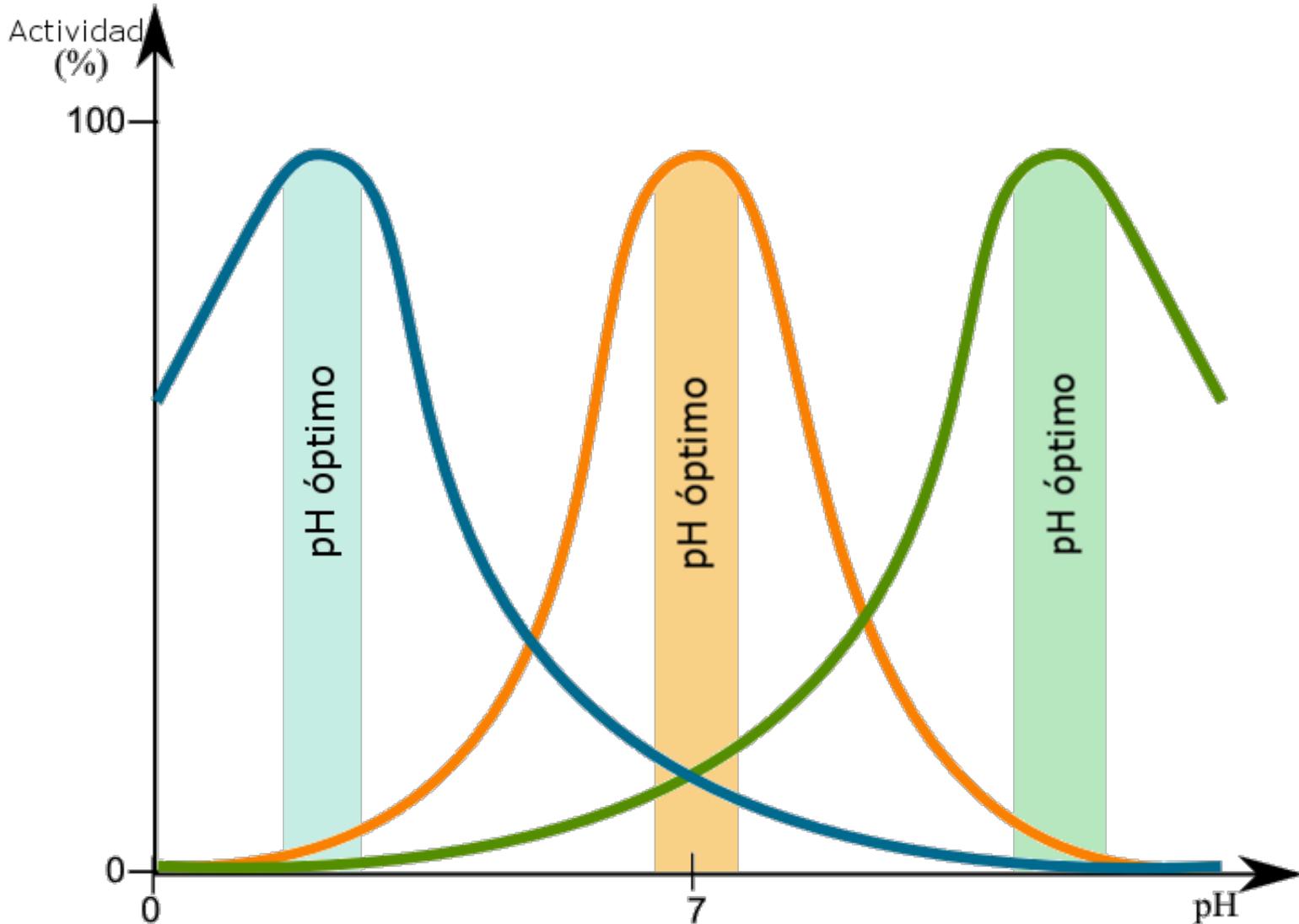
PROVEEN
COPIAS DE
RESERVA PARA
ENZIMAS
ESENCIALES

Temperatura

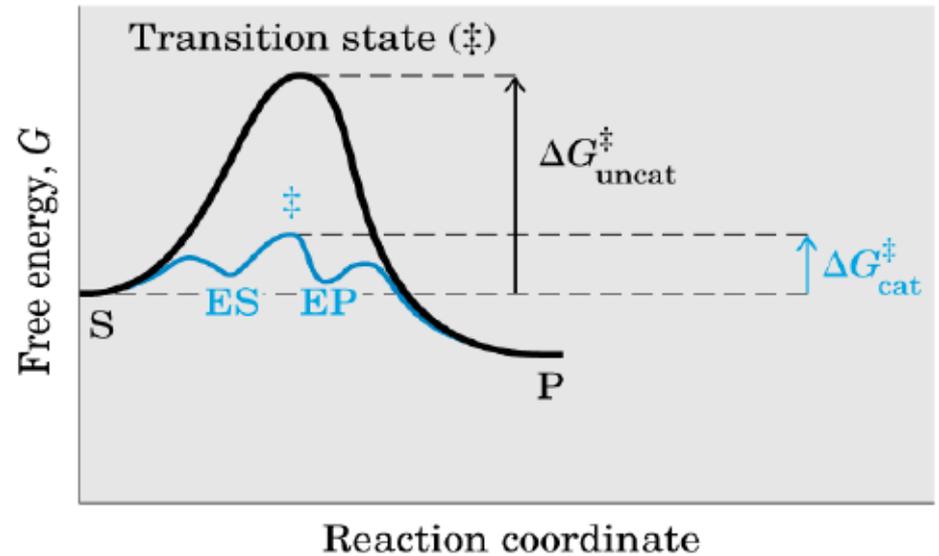
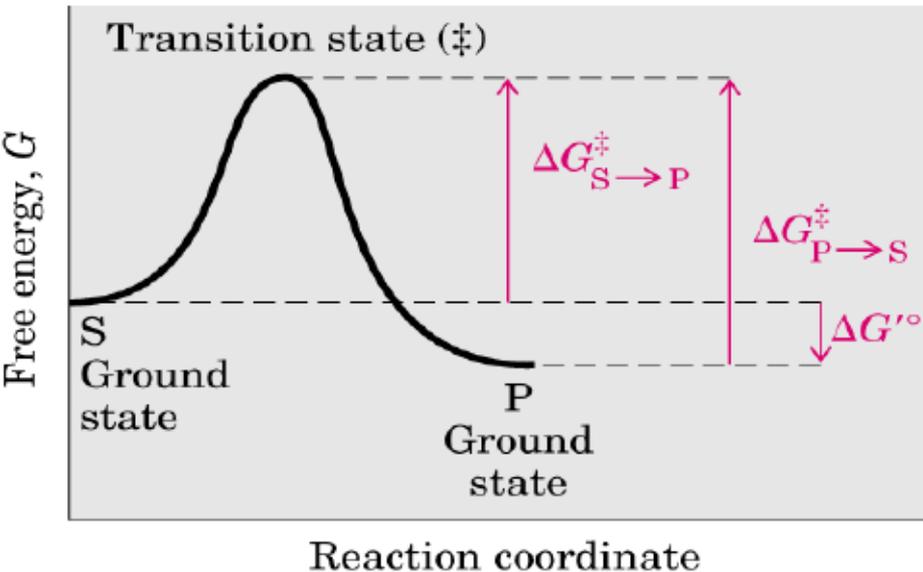
- El **Q10**, o **coeficiente de temperatura**, es el factor por el cual la velocidad del proceso biológico aumenta cada 10°C de aumento de la temperatura.



Concentración de ión hidrógeno



Cinética enzimática

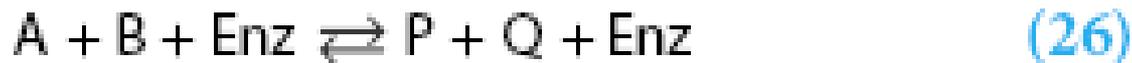


Las **enzimas** disminuyen la barrera de la energía de activación para determinada reacción.

Las enzimas no afectan la constante de equilibrio K_{eq}

- Si bien las enzimas pueden sufrir modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre terminan intactas después que se completa la reacción.
- **ΔG^0 para la reacción final**, es función exclusivamente de los reactantes de las etapas iniciales y finales de la reacción

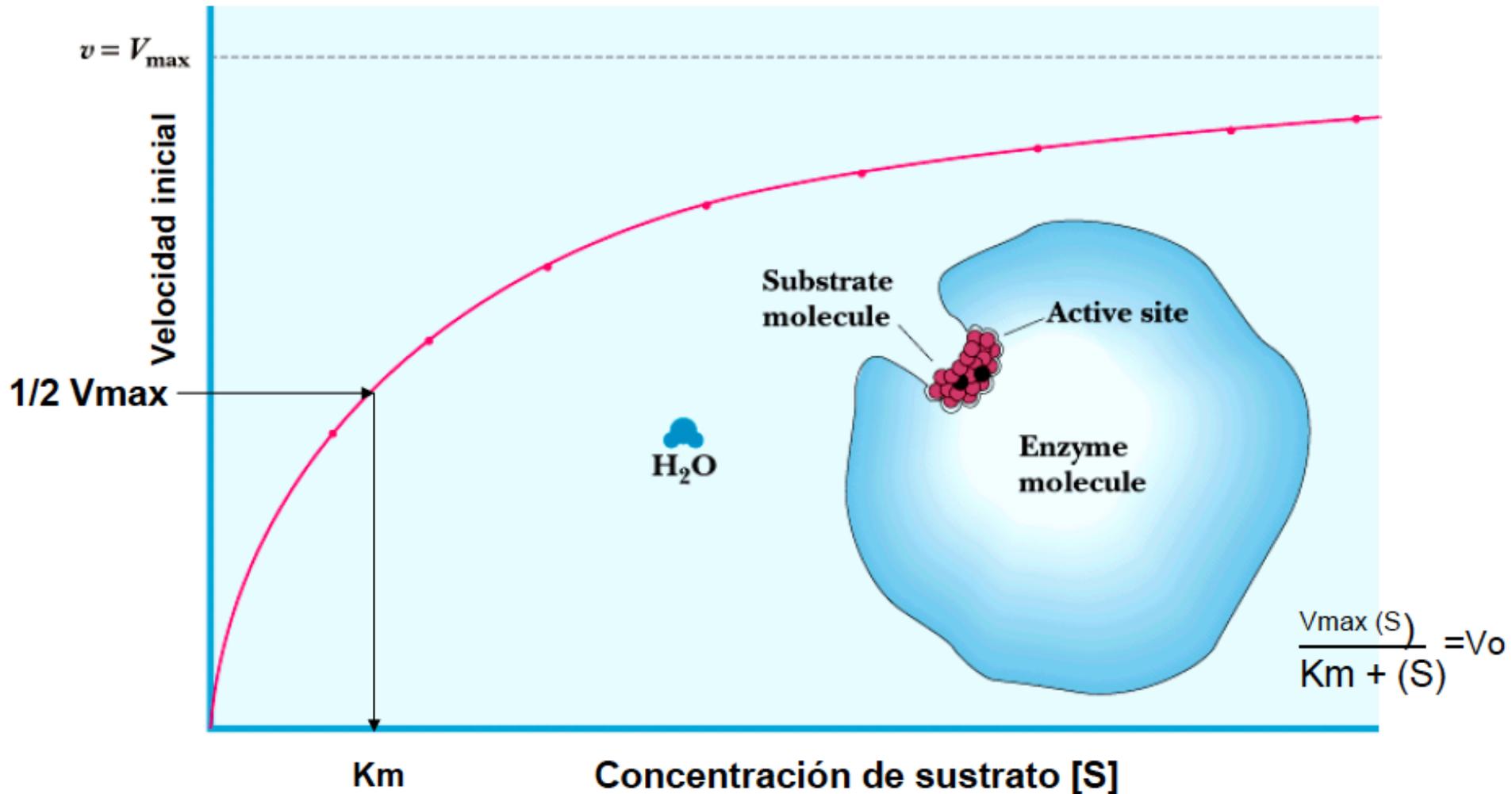
$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (25)$$



$$K_{eq} = \frac{[P][Q][\text{Enz}]}{[A][B][\text{Enz}]} \quad (27)$$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (28)$$

La concentración del sustrato afecta la velocidad de reacción



La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

$$v_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (29)$$



1. Cuando $[S]$ es mucho menor que K_m , el término $K_m + [S]$ es esencialmente equivalente a K_m . Si $K_m + [S]$ por K_m reducimos la ecuación a (29)

$$v_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad v_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m} = \left(\frac{V_{max}}{K_m} \right) [S] \quad (30)$$

En donde significa que es “aproximadamente igual a”. Debido a que V_{max} y K_m son ambas constantes, su proporción es constante también. En otras palabras, cuando $[S]$ es considerablemente menor que K_m , v_o es proporcional a $[S]$. La velocidad de la reacción inicial por lo tanto es proporcional a $[S]$.

La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

- **2. Cuando** $[S]$ es mucho mayor que K_m , entonces el término $K_m + [S]$ es esencialmente igual a $[S]$. Reemplazando $K_m + [S]$ por $[S]$ reduce la ecuación (29) a:

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad v_i = \frac{V_{\max} [S]}{[S]} = V_{\max} \quad (31)$$

Entonces, cuando $[S]$ excede significativamente K_m , la velocidad de la reacción es máxima y no es afectada por mayores concentraciones de sustrato.

La ecuación de Michaelis-Menten muestra el efecto de la concentración de sustrato

3. Cuando $[S] = K_m$ la ecuación (32) establece que cuando $[S]$ es igual a K_m , la velocidad inicial es la mitad del valor máximo. La ecuación (32) también muestra que k_m la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es la mitad del valor máximo

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{\max} [S]}{2[S]} = \frac{V_{\max}}{2} \quad (32)$$

En resumen, la ecuación de Michaelis Menten, es la **ecuación de la velocidad** para una reacción de **un solo sustrato** catalizada **enzimáticamente**.

La forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se usa para determinar K_m & V_{max}

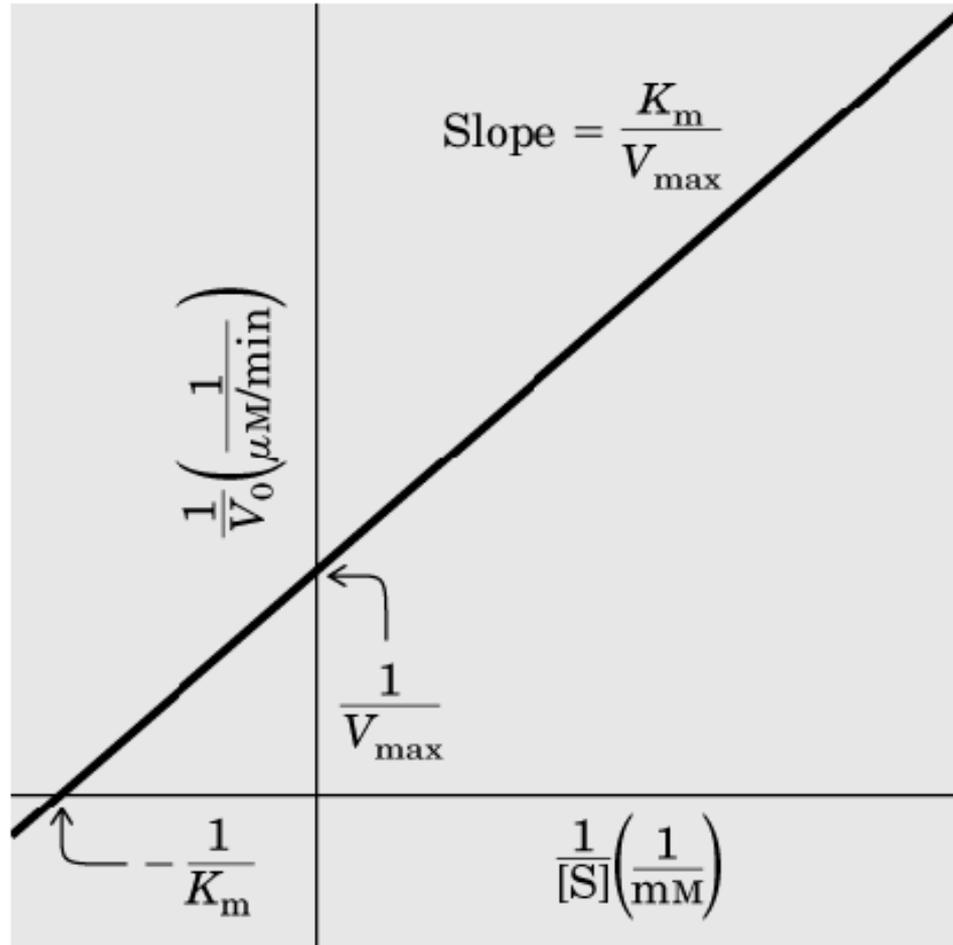
$$v_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (29)$$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} [S]} \quad (33)$$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{[S]}{V_{max} [S]} \quad (34)$$

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (35)$$

La doble recíproca o ecuación de Lineweaver-Burk o el gráfico de $1/v_i$ versus $1/[S]$ se usa para evaluar K_m y V_{max} .



El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva

- La estructura de los **inhibidores competitivos** más clásicos se parecen a la estructura del sustrato, por lo tanto se los denomina **análogos**.
- En la inhibición competitiva **el inhibidor se une a la parte del sitio activo**. Por lo tanto, interfiere con la unión del sustrato .
- Los efectos de los inhibidores competitivos **pueden ser revertidos aumentando la concentración de sustrato**.

El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva



$$K_i = \frac{[E][I]}{[E + I]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \quad (46)$$

Los inhibidores competitivos actúan disminuyendo el número de moléculas de enzima libre disponibles para unir el sustrato, por ejemplo para formar ES, y por lo tanto eventualmente forman productos tal como se describe a continuación:

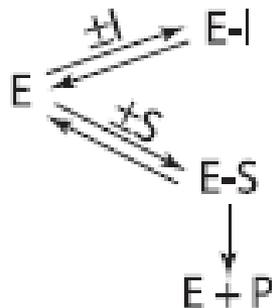
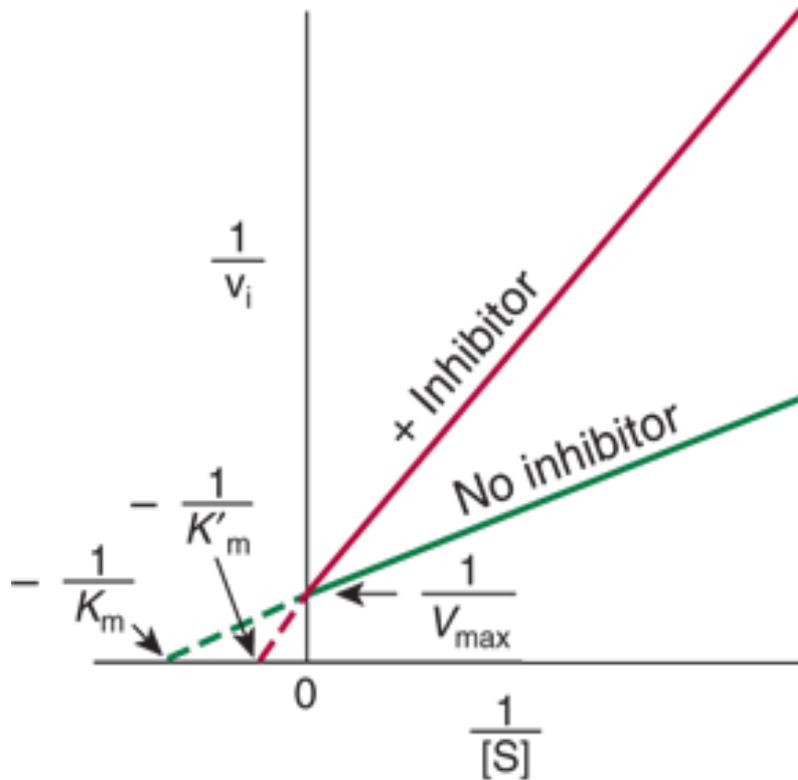
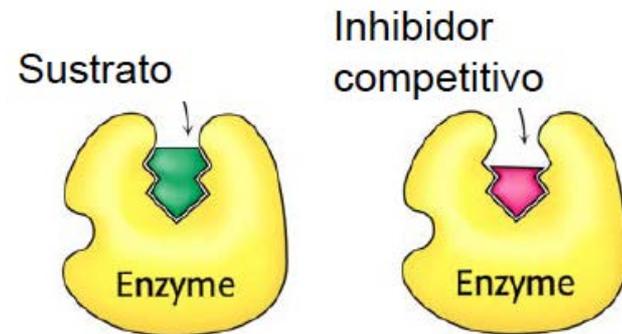


Gráfico de Lineweaver-Burk para inhibidores competitivos.

- La inhibición se revierte a altas [S], la velocidad max. es independiente de su presencia.
- Mientras menor es K_i , la inhibición es mas efectiva.
- El inhibidor competitivo no tiene efecto sobre la V_{max} , pero aumenta el k'_m .



$$x = \frac{-1}{K_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \quad (47)$$



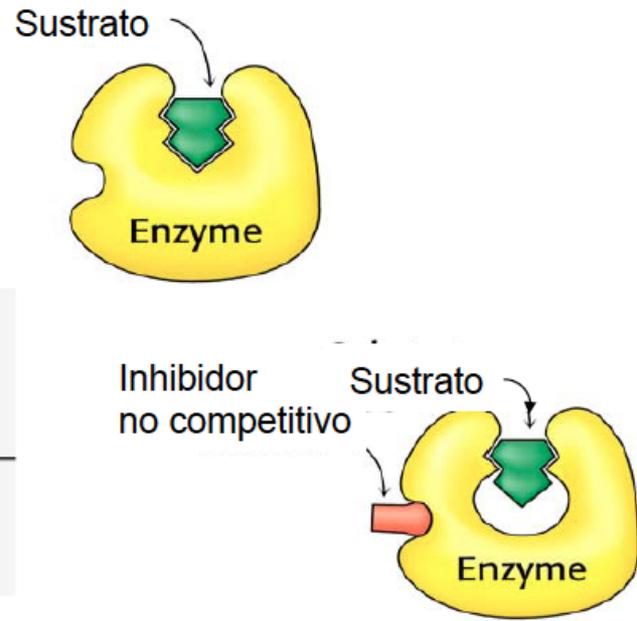
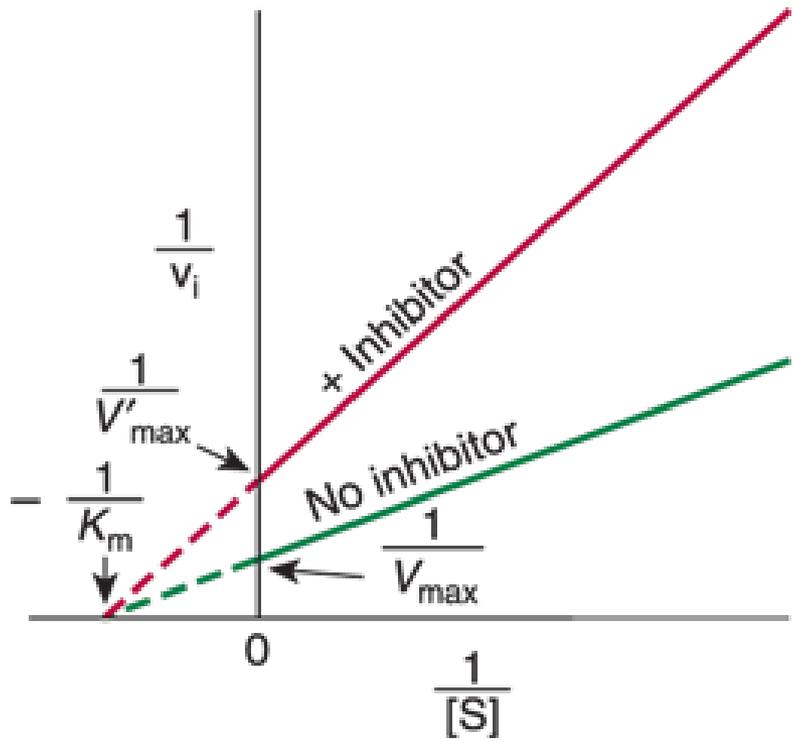
Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

El análisis cinético distingue entre la inhibición competitiva y no competitiva

- Para los inhibidores **no competitivos**, la unión del inhibidor **no afecta la unión del sustrato**.
- El complejo enzima- inhibidor puede unir el sustrato, pero disminuye la eficiencia para transformarlo, y la ***V_{max}*, disminuye**.
- Los inhibidores no competitivos **se unen a la enzima en sitios distinto al sitio de unión al sustrato**, no tienen semejanza estructural con el mismo.
- La **km no se ve modificada**.

Gráfico de Lineweaver-Burk para inibidores no competitivos.

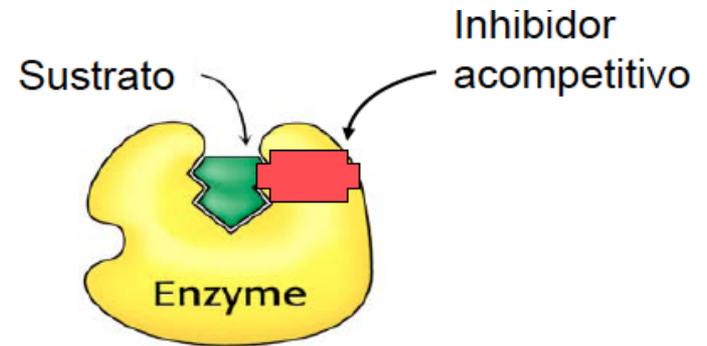
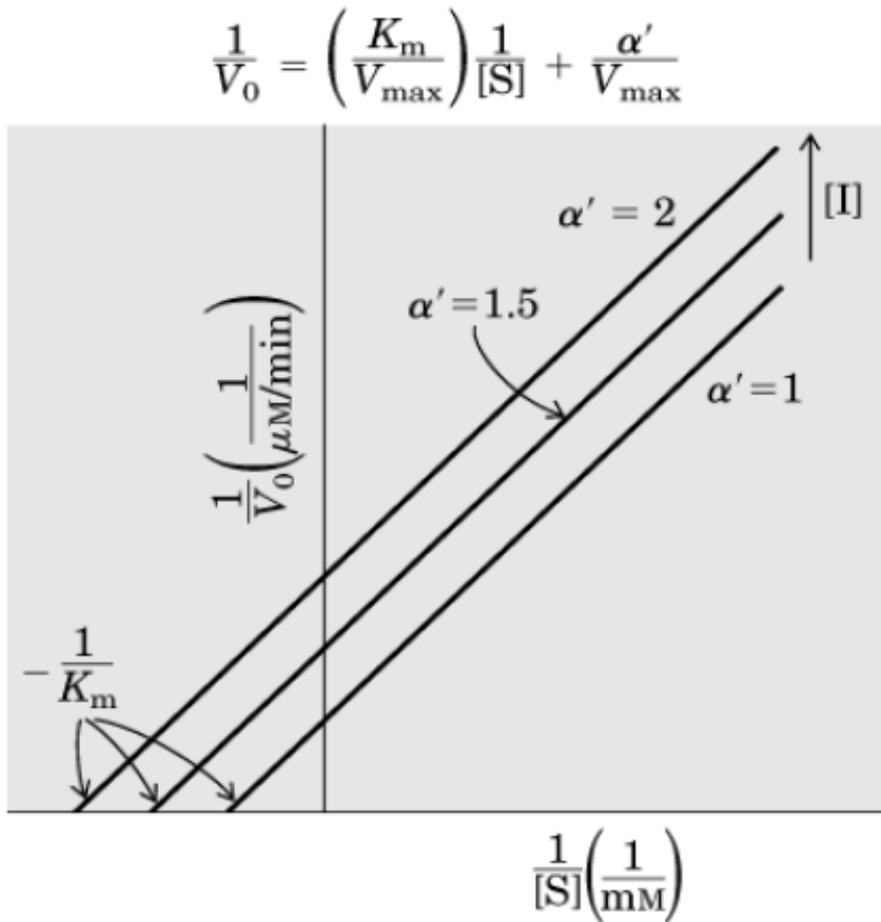


Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Inhibidor acompetitivo

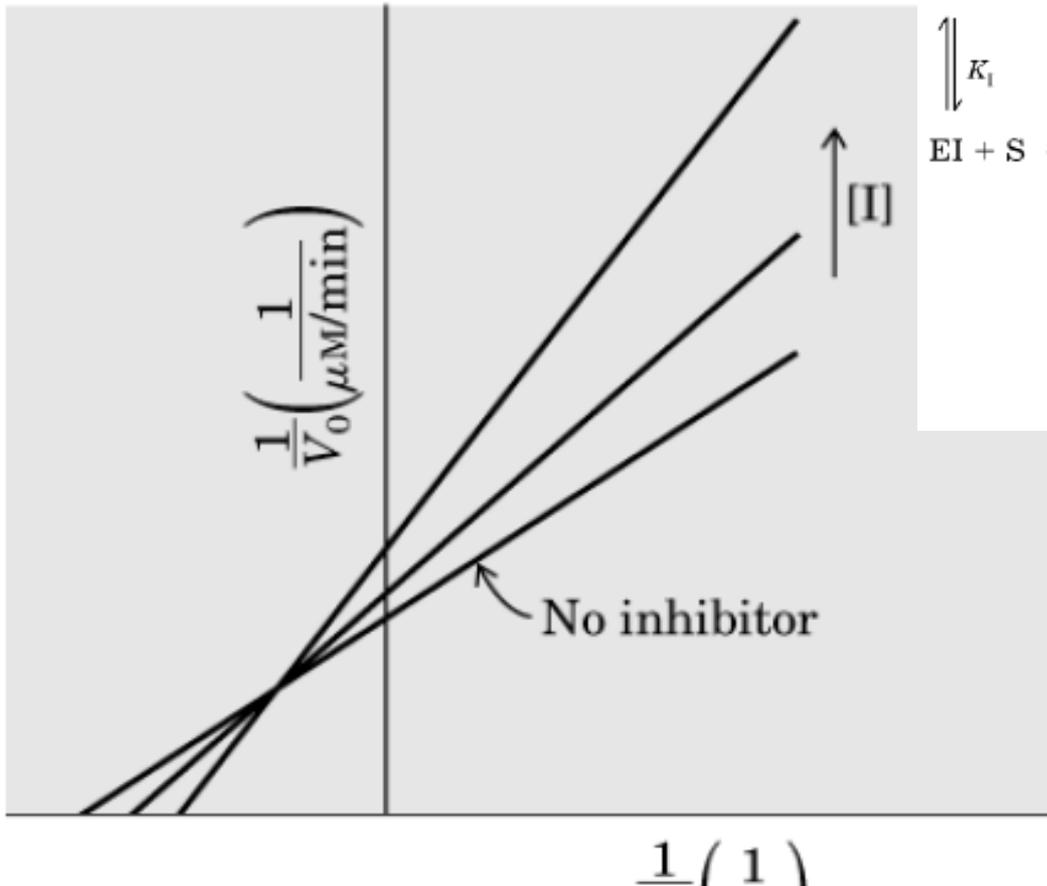
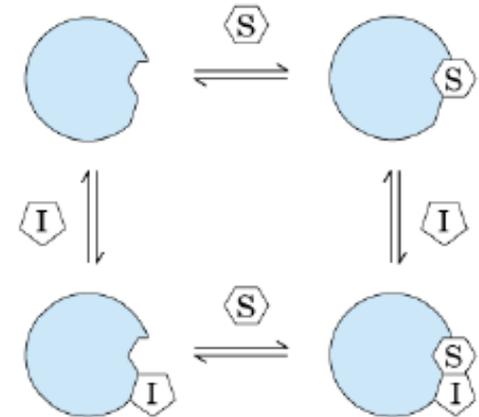
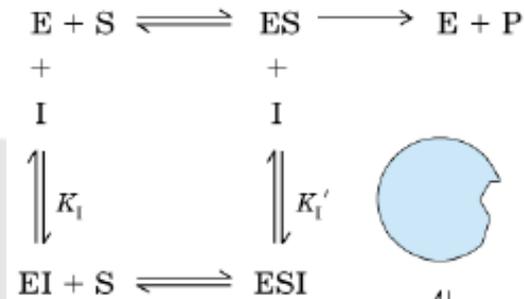
El inhibidor no se une a la enzima sola, se une al complejo enzima sustrato impidiendo que la reacción tenga lugar. Es frecuente en las reacciones que tienen más de un sustrato



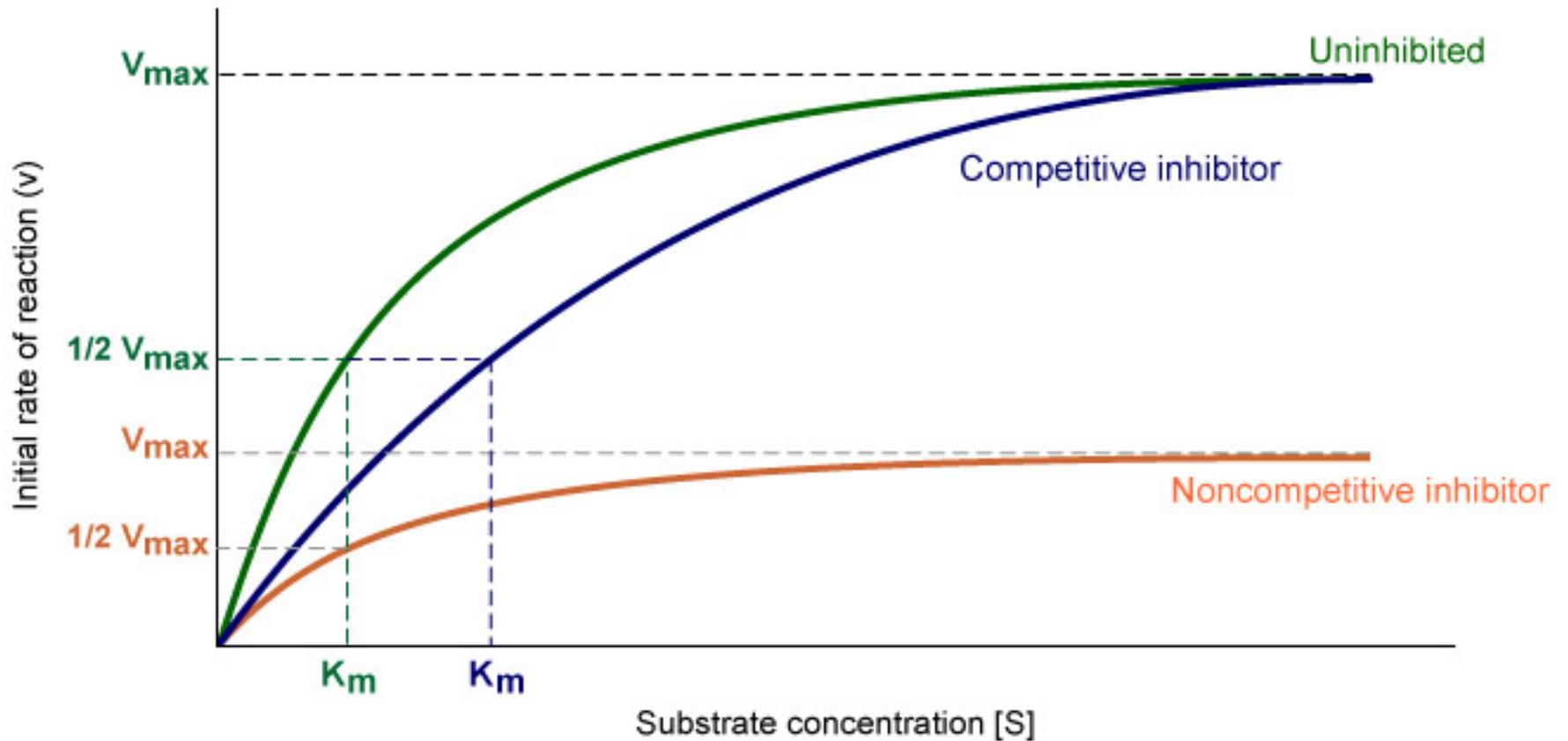
Inhibición mixta

Generalmente estas enzimas tienen uno o más sustratos, se une al complejo enzima sustrato y la enzima sola en un lugar distinto al sitio activo.

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\max}}$$



The Effects of Inhibition on Enzyme Kinetics



Inhibidores irreversibles

- **Modifican químicamente la enzima.**
- **Se unen covalentemente** a aminoácidos esenciales para la **unión del sustrato, para la reacción o para el mantenimiento de la conformación** de la enzima activa.
- Son uniones estables, la enzima es **“envenenada” por un inhibidor irreversible (metales pesados o agentes alquilantes)**, permanece inhibida aun despues que se ha eliminado el inhibidor del medio circundante.

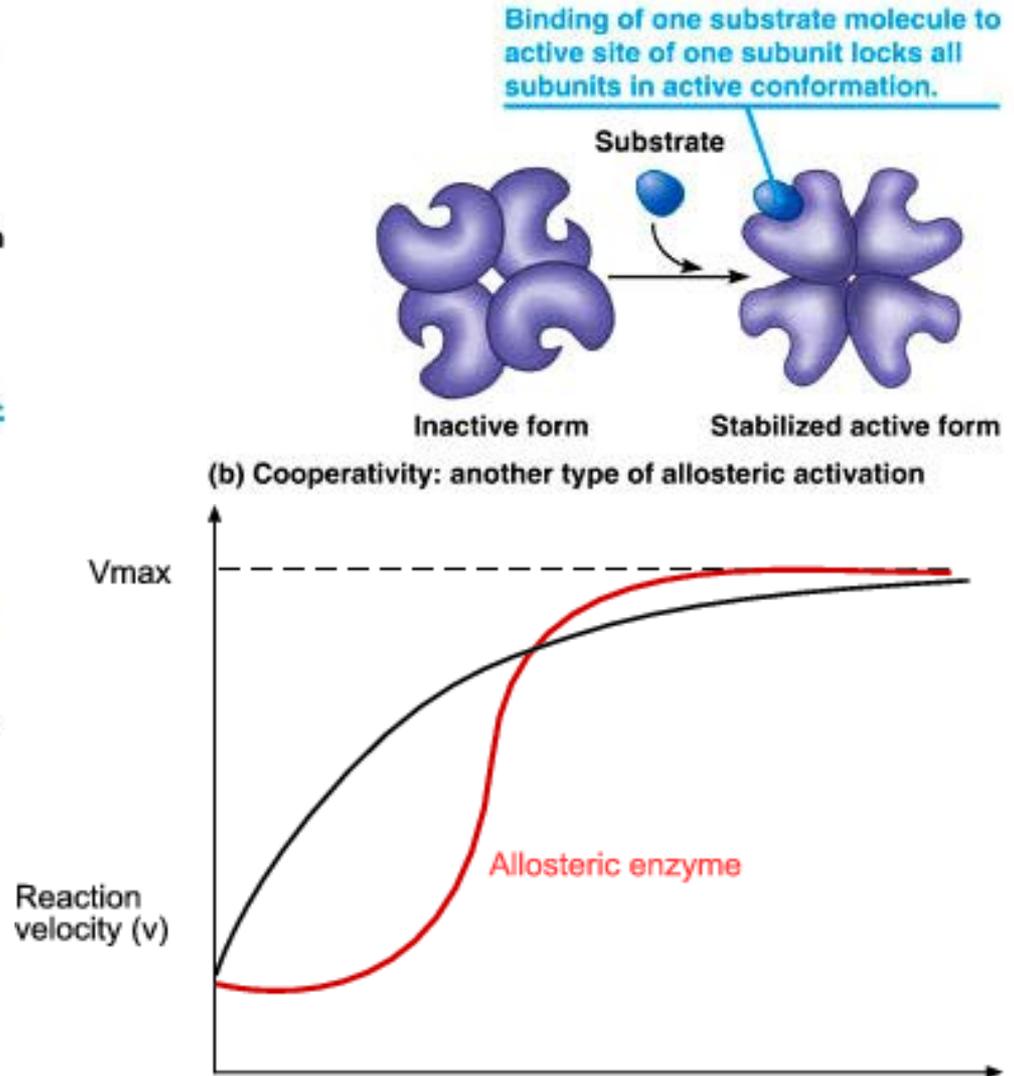
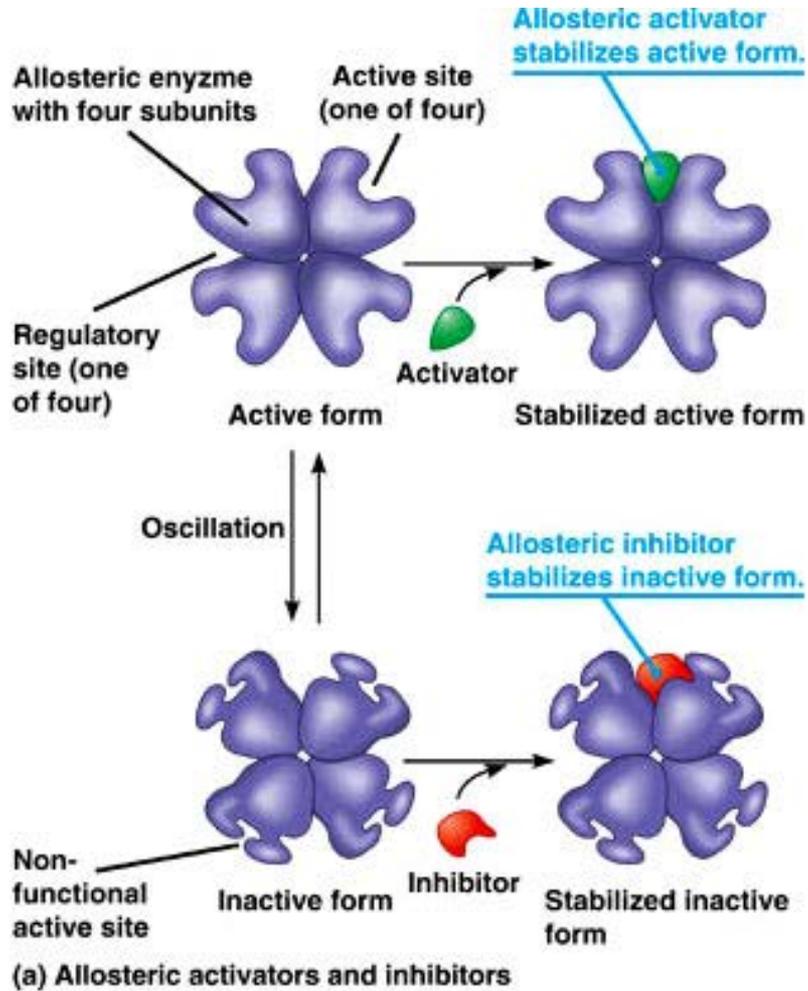
Inhibidores irreversibles



Enzimas alostéricas

- Las enzimas alostéricas son aquellos enzimas (proteínas globulares que catalizan reacciones químicas) que presentan **centros alostéricos, activadores e inhibidores**, además del habitual centro activo.
- A este **centro alostérico se fija un ligando que modifica la actividad del enzima**. Los ligandos que se unen a los centros alostéricos se conocen como efectores o moduladores alostéricos.
- La gráfica que presentan estos enzimas obedece a una **cinética sigmoidea** (forma de Σ característica) de la velocidad inicial frente a la concentración de sustrato, tal como se puede ver en la imagen. Esto es una consecuencia de la interacción entre el centro del sustrato, el centro del activador y el centro del inhibidor.
- La mayoría de los enzimas alostéricos se encuentran **al inicio o en las ramificaciones de las rutas metabólicas**.

Enzimas alostéricas



Paso 1

Paso 2

Join at www.kahoot.it or with the **Kahoot! app**
with Game PIN:

XXXXXXXX



0
Players

Kahoot!

Start

 Waiting for players...



Encuesta sobre evaluación continua

- <https://forms.gle/WHEMEAzaXt4kvcZK6>