

TEMA: Enzimas I

- **Funcionalidad catalítica de proteínas. Enzimas**
- **Clasificación y nomenclatura**
- **Coenzimas y cofactores**
- **Especificidad enzimática**
- **Centro activo**



**Eduard Buchner
(1860-1917)
Premio Nobel de
Química en 1907**

**Demostó que extractos de levaduras,
carentes de células, también podían
catalizar estas reacciones.
Inventó el embudo que lleva su nombre**



**Louis Pasteur
(1822 - 1895)**

**Concluyó que la fermentación
alcohólica llevada a cabo por
levaduras era en realidad
catalizada por unos
“fermentos” (las enzimas)**



James Batcheller Sumner

(1887-1955)

Premio Nobel de Química en 1946

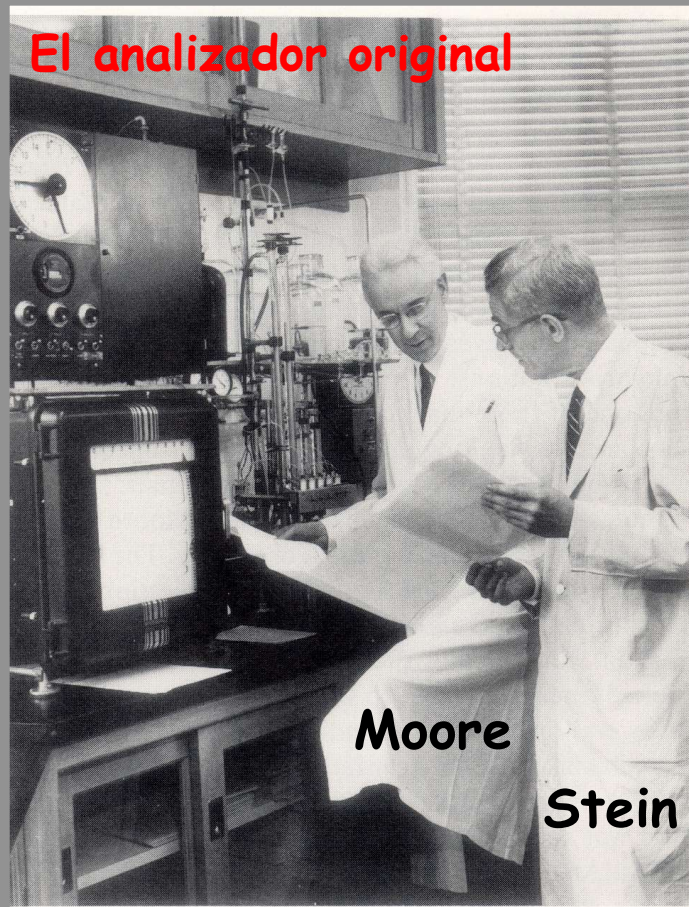


"for his discovery that enzymes can be crystallized"

En 1926 *cristalizó la primera enzima, la ureasa, a partir de semillas de *Canavalia eusiformis* (haba).*

William H. STEIN y Stanford MOORE se incorporan a *The Rockefeller Institute* entre 1938 y 1939, con el fin de desarrollar un método general de fraccionamiento de aminoácidos

El analizador original



Reciben el Premio Nobel de Química en 1972

"for their contribution to the understanding of the connection between chemical structure and catalytic activity of the active centre of the ribonuclease molecule"

Secuencian la primera enzima, la ribonucleasa pancreática bovina o RNasa A

CATALIZADORES BIOLÓGICOS: ENZIMAS

SUSTRATOS \rightleftharpoons PRODUCTOS

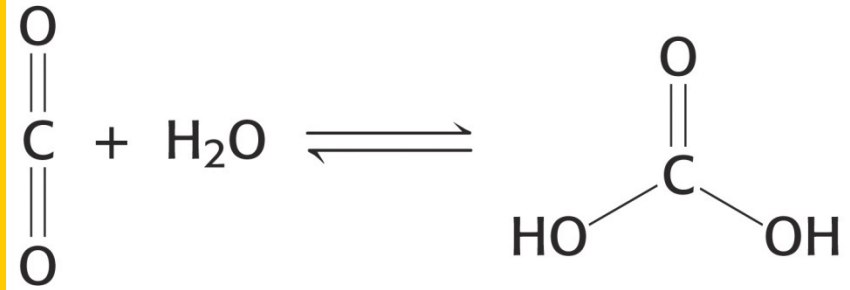
Reacción química

- La enzima NO se altera, ni se consume, tras la reacción global
- La enzima NO altera el equilibrio de la reacción, sólo cambia su velocidad, acelerándola.

METABOLISMO CELULAR: Actuación secuencial de enzimas, que catalizan conjuntos de reacciones consecutivas, llamadas **RUTAS METABÓLICAS**, por las cuales se...

- **Degradan nutrientes**
- **Transforman formas de energía**
- **Sintetizan macromoléculas biológicas**

Anhidrasa carbónica

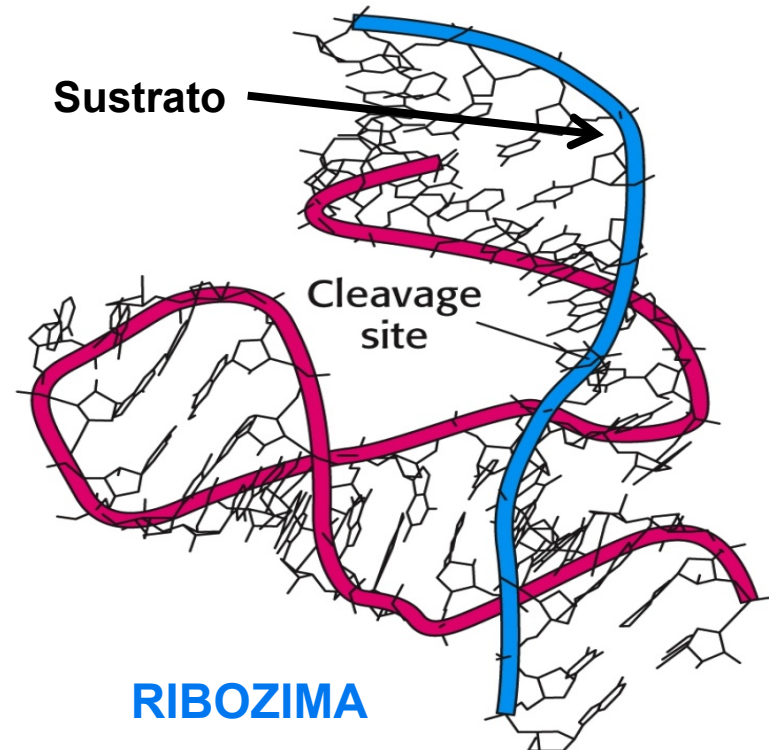
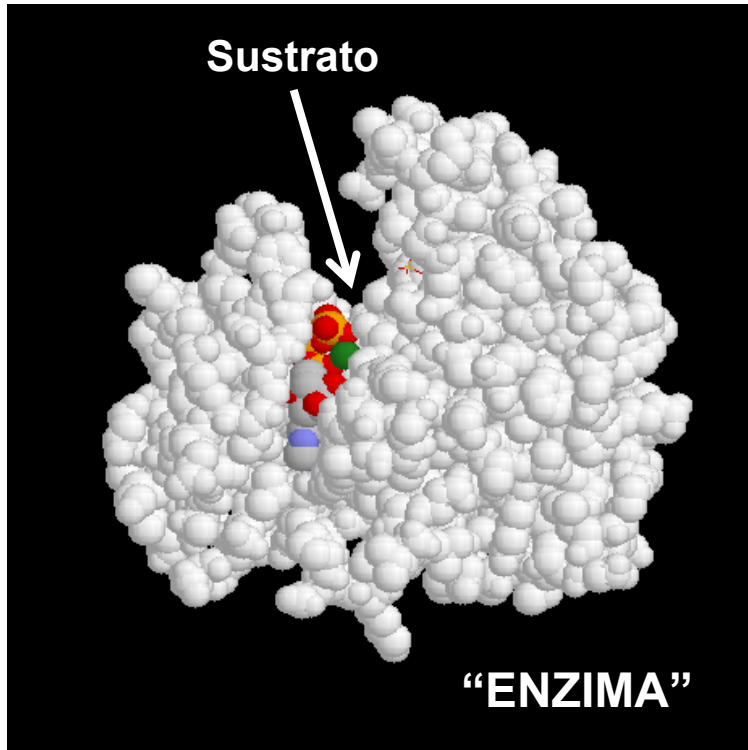


Ejemplo

Some Rate Enhancements Produced by Enzymes

Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

La mayoría de las ENZIMAS conocidas son proteínas



Sin embargo, algunas reacciones bioquímicas, son catalizadas por moléculas de RNA.

Son ENZIMAS de RNA a las que se denomina **RIBOZIMAS**

Propiedades Generales de las Enzimas:

Poder Catalítico

- Elevadísima eficacia
- Muy alto NUMERO DE RECAMBIO (Turnover)
10³ - 10⁶ moléculas Sustrato/segundo/molécula Enzima (!)
- Rendimiento 100%
- No Subproductos

Especificidad

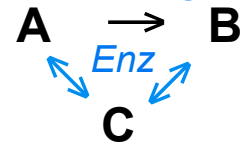
- Por sustrato
- Por producto
- Por tipo de reacción

Reversibilidad

- En su gran mayoría catalizan reacciones reversibles ($S \leftrightarrow P$),
(A veces catálisis en una única dirección)
- Reacciones termodinámicamente irreversibles pueden llegar a ser enzimáticamente reversibles

Carácter Regulable

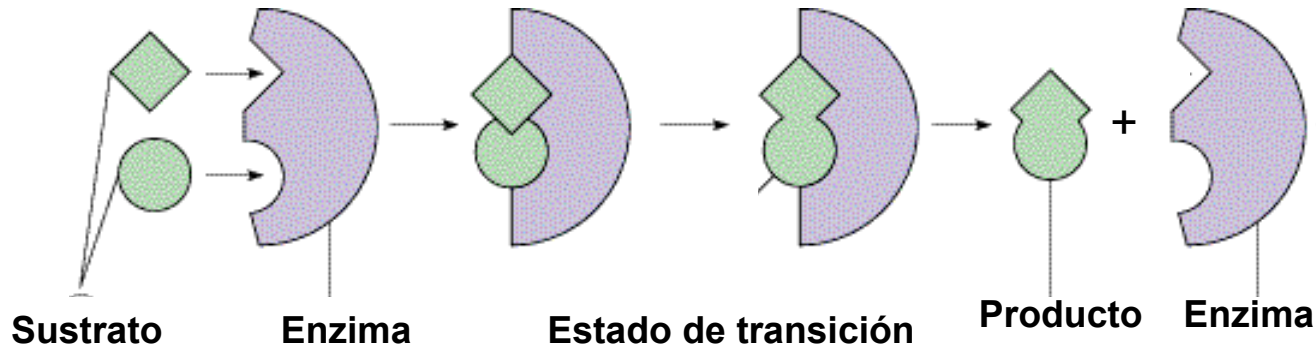
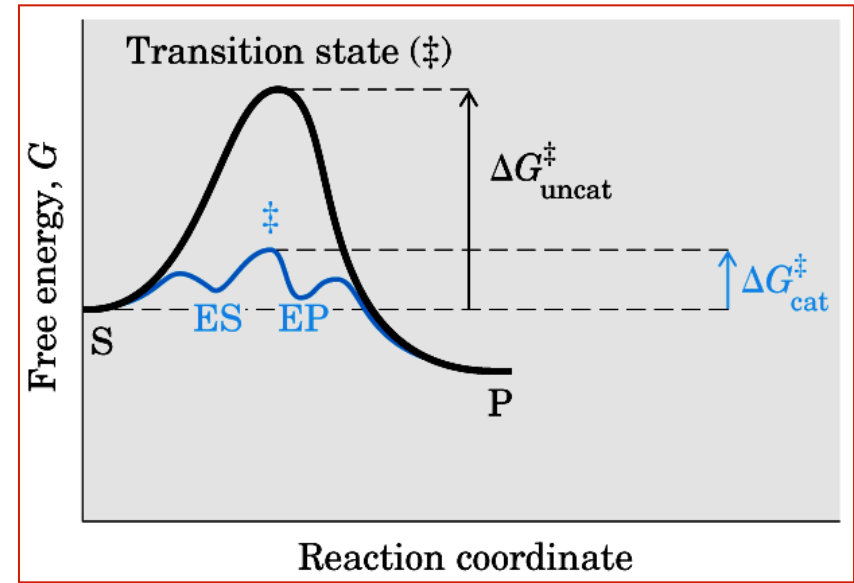
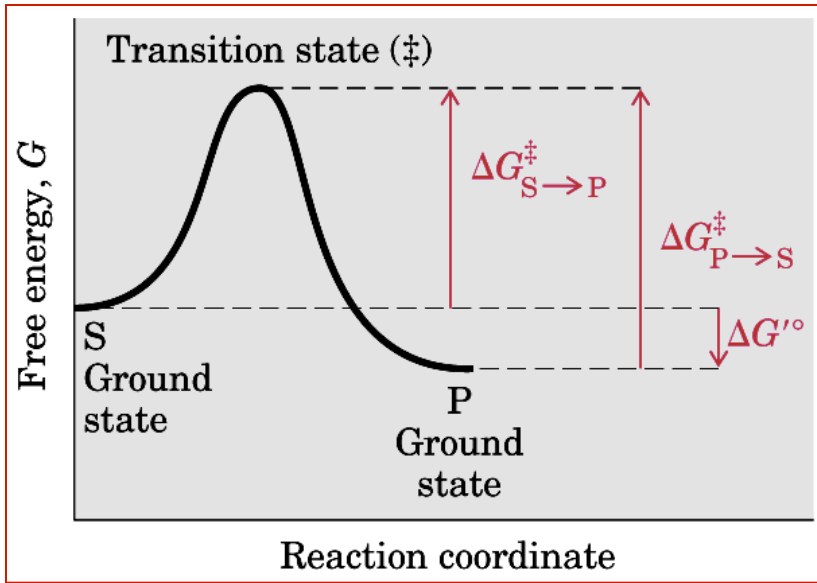
- Regulación de la concentración enzimática
(control genético:enzimas inducibles por S o por P)
- Regulación de la Actividad enzimática
(Enzima activa \leftrightarrow Enzima inactiva)



Amplio espectro funcional

- Oxidación de nutrientes con liberación de energía y síntesis de precursores de macromoléculas
- Biosíntesis de componentes celulares usando la energía de oxidación de nutrientes
- Catálisis de funciones concretas de biomoléculas y componentes celulares

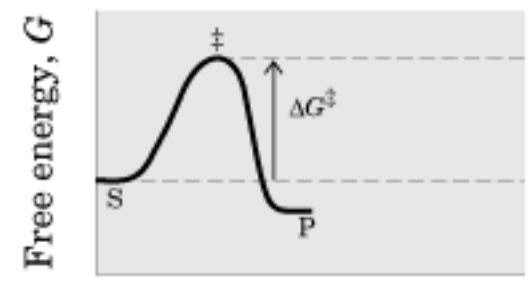
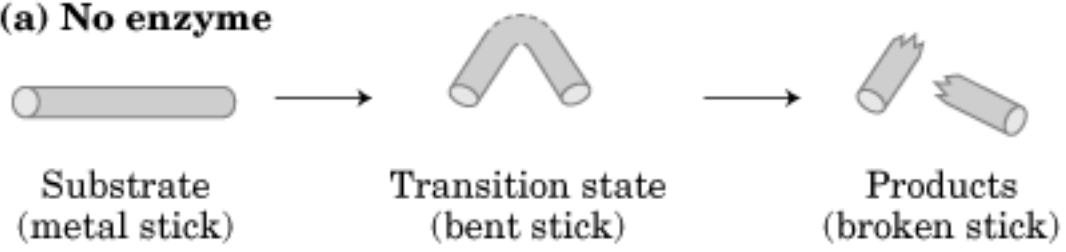
¿Cómo aceleran las enzimas las reacciones químicas, sin modificar el equilibrio?



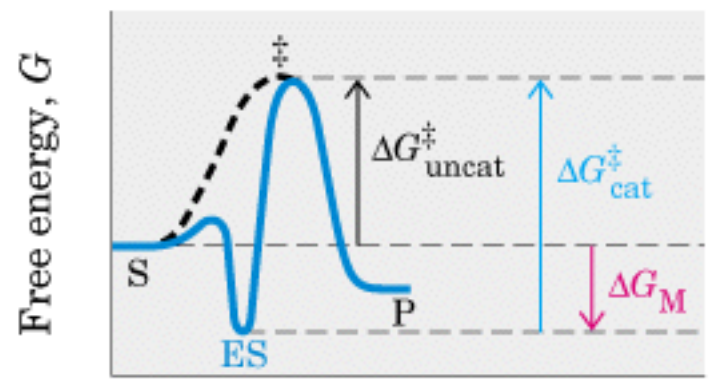
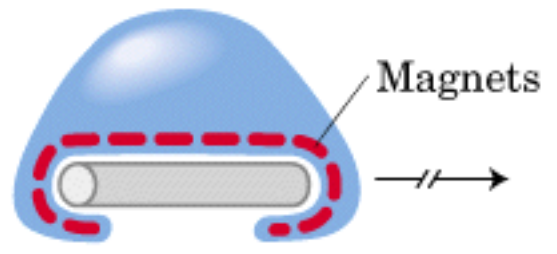
La Enzima NO altera el equilibrio de la reacción sólo la velocidad de reacción

La catálisis enzimática requiere un **SITIO ACTIVO** que propicie una interacción máxima entre la Enzima y el estado de transición del Sustrato

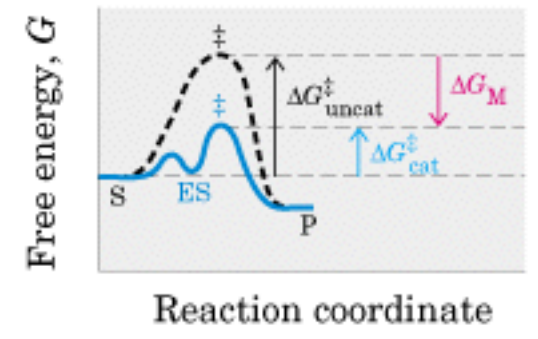
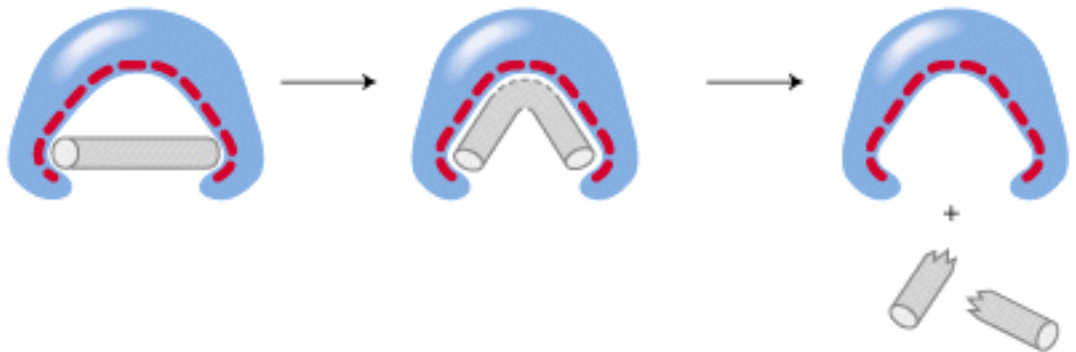
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state



NOMENCLATURA ENZIMÁTICA

Utilización de nombres triviales: Tripsina, pepsina, etc...

Utilización de la terminación **-ASA**

- Designándolas por el nombre del sustrato y añadiéndole el sufijo:
Ureasa o Arginasa, por ejemplo
- Designándolas por el tipo de cambio químico que sufre el sustrato:
Triglicérido hidrolasa o proteína quinasa, por ejemplo

Utilización de las normas de la IUB

Siglas **EC (Enzyme Commission)** con cuatro números
(**clase/subclase/sub-subclase/nº orden**)

LISOZIMA EC 3.2.1.17 $\beta(1,4)$ N-Acetilglucosamina/N-Acilmurámico

Clase: **Hidrolasa**

Enlace glicosídico

Otros ejemplos

E.C. 2.7.1.1.: ATP:D-hexosa-6-fosfotransferasa

E.C. 2.7.1.2.: ATP:D-glucosa-6-fosfotransferasa

CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS

TABLE 8.3 Six major classes of enzymes

Class	Type of reaction	Example
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction	Lactate dehydrogenase
2. Transferases	Group transfer	Nucleoside monophosphate kinase (NMP kinase)
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)	Chymotrypsin
4. Lyases	Addition or removal of groups to form double bonds	Fumarase
5. Isomerases	Isomerization (intramolecular group transfer)	Triose phosphate isomerase
6. Ligases	Ligation of two substrates at the expense of ATP hydrolysis	Aminoacyl-tRNA synthetase

OXIDORREDUCTASAS

Catalizan reacciones en las que un sustrato es oxidado y otro reducido



TRANSFERASAS

Catalizan reacciones en las que un grupo que contiene C, N, P o S es transferido de un sustrato a otro



CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS

HIDROLASAS

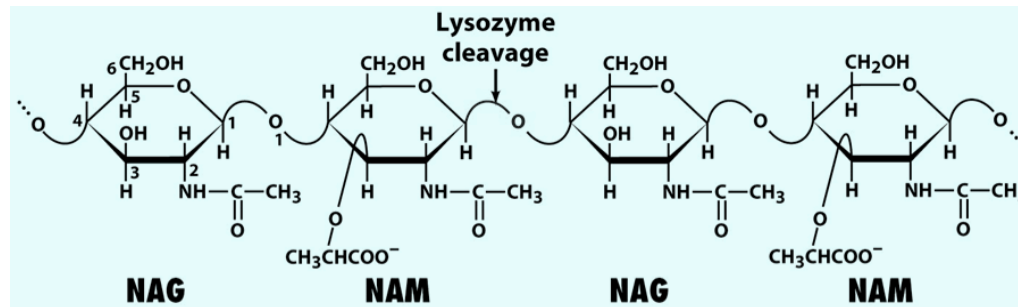
Catalizan la rotura hidrolítica de un enlace, o la reacción reversa, su formación. Son reacciones de hidrólisis

Ejemplos:

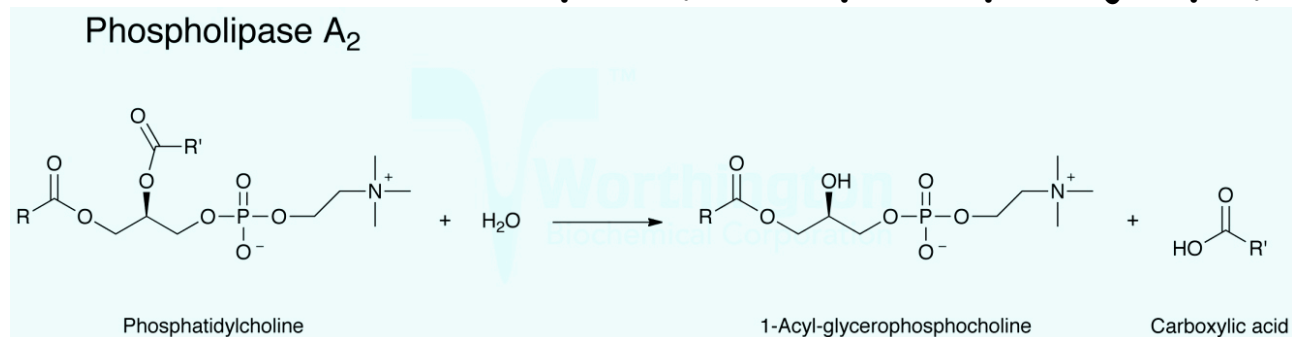
Proteasas: el sustrato son proteínas, rompen el enlace peptídico (tripsina, pepsina, quimotripsina, etc.):



Glicosidasas: el sustrato es un polisacárido (amilasa o lisozima, por ejemplo)



Lipasas: el sustrato es un lípido (fosfolipasa, por ejemplo)



CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS

LIASAS

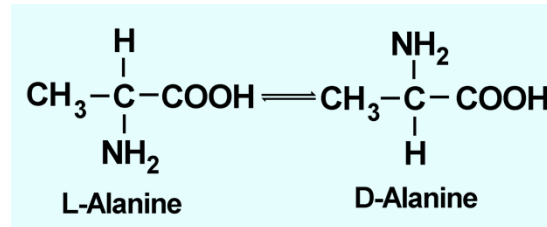
Catalizan reacciones de rotura no hidrolíticas; se rompe un enlace sin que participe el agua. Suelen implicar reordenamiento electrónico



ISOMERASAS

Catalizan reacciones de isomerización. Reordenamientos intramoleculares que no suponen un cambio neto en la composición química del sustrato, ni en la concentración de los otros componentes de la reacción

Ejemplo:



LIGASAS (o SINTETASAS)

Catalizan la formación de enlaces con la consiguiente hidrólisis de un enlace pirofosfato rico en energía, normalmente del ATP.

Ejemplo: Piruvato carboxilasa (piruvato a oxalacetato)



Cofactores enzimáticos

Apoenzima + cofactor = holoenzima

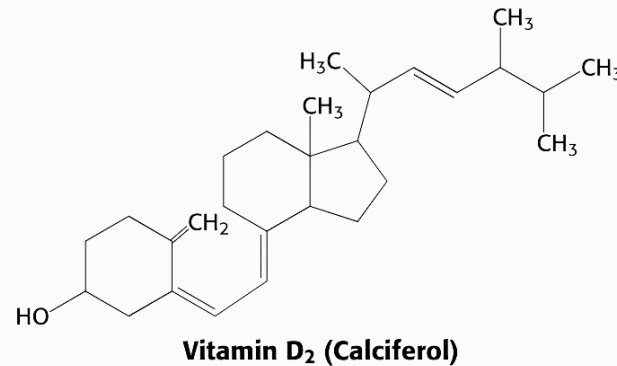
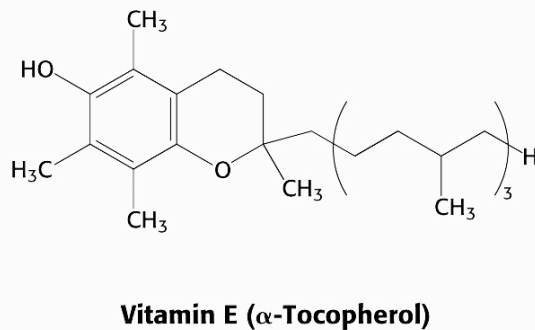
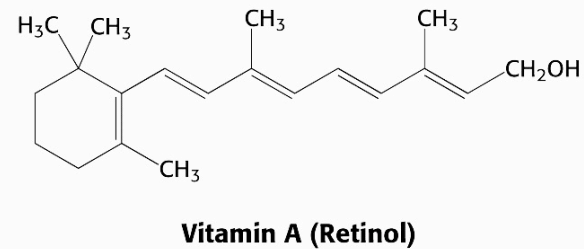
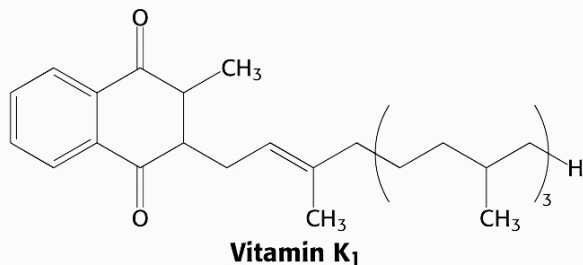
TABLE 8.2 Enzyme cofactors

Cofactor	Enzyme
Coenzyme	
Thiamine pyrophosphate	Pyruvate dehydrogenase
Flavin adenine nucleotide	Monoamine oxidase
Nicotinamide adenine dinucleotide	Lactate dehydrogenase
Pyridoxal phosphate	Glycogen phosphorylase
Coenzyme A (CoA)	Acetyl CoA carboxylase
Biotin	Pyruvate carboxylase
5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Methylmalonyl mutase
Tetrahydrofolate	Thymidylate synthase
Metal	
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase
Zn ²⁺	Carboxypeptidase
Mg ²⁺	<i>EcoRV</i>
Mg ²⁺	Hexokinase
Ni ²⁺	Urease
Mo	Nitrate reductase
Se	Glutathione peroxidase
Mn ²⁺	Superoxide dismutase
K ⁺	Propionyl CoA carboxylase

Muchas coenzimas son, o están directamente relacionados con las VITAMINAS

Vitaminas liposolubles

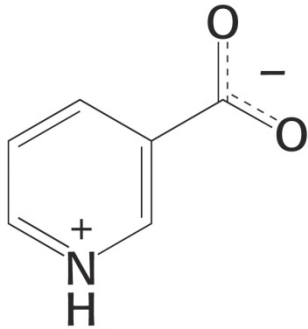
Vitamin	Function	Deficiency
A	Roles in vision, growth, reproduction	Night blindness, cornea damage, damage to respiratory and gastrointestinal tract
D	Regulation of calcium and phosphate metabolism	Rickets (children): skeletal deformities, impaired growth Osteomalacia (adults): soft, bending bones
E	Antioxidant	Inhibition of sperm production; lesions in muscles and nerves (rare)
K	Blood coagulation	Subdermal hemorrhaging



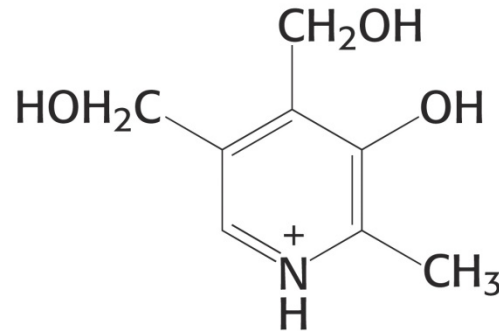
Vitaminas hidrosolubles

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)

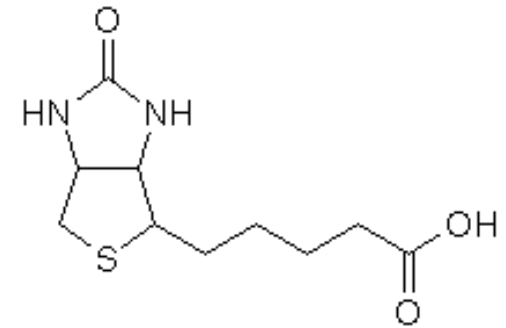
Estructuras de algunas vitaminas hidrosolubles



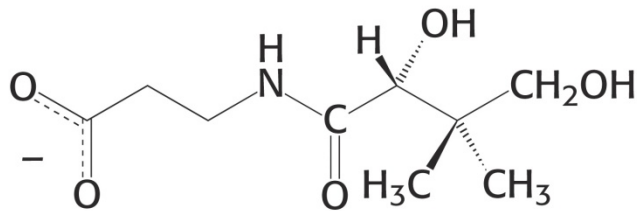
Vitamin B₃
(Niacin)



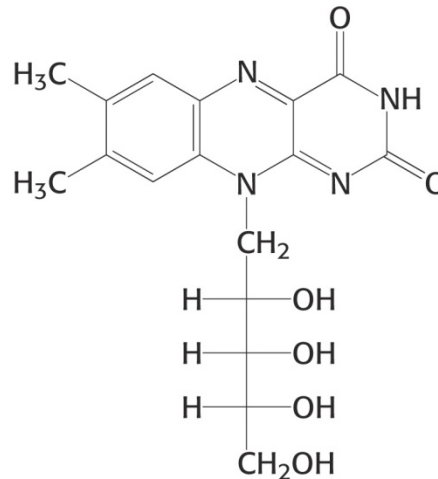
Vitamin B₆
(Pyridoxine)



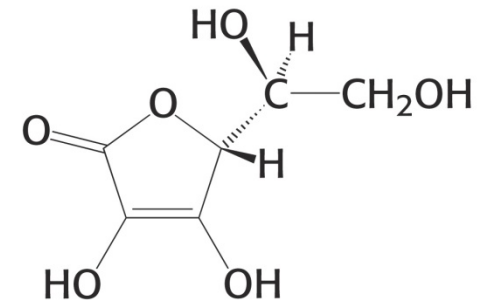
Biotina



Vitamin B₅
(Pantothenate)



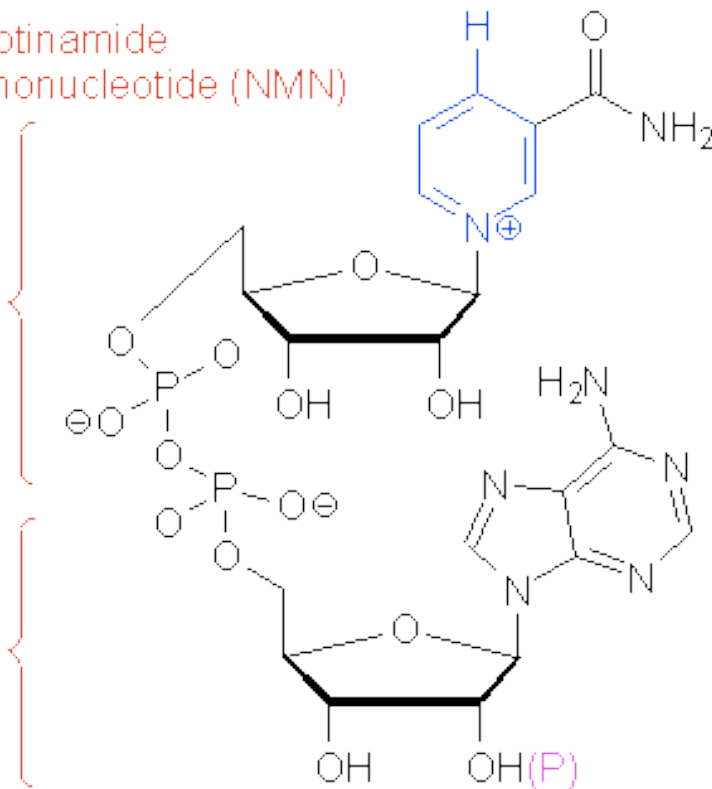
Vitamin B₂
(Riboflavin)



Vitamin C
(Ascorbic acid)

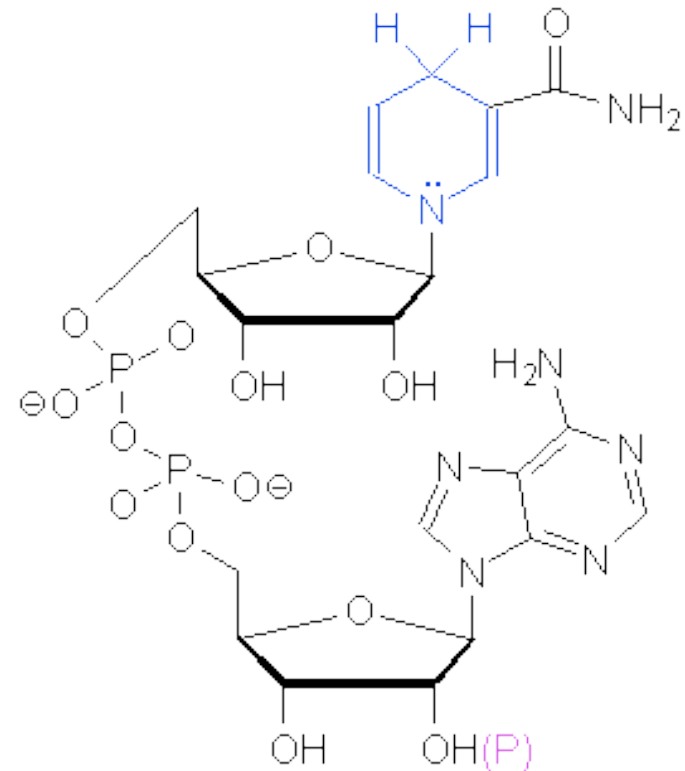
Estructura de las coenzimas NADH y NADPH

Nicotinamide mononucleotide (NMN)



Adenosine monophosphate (AMP)

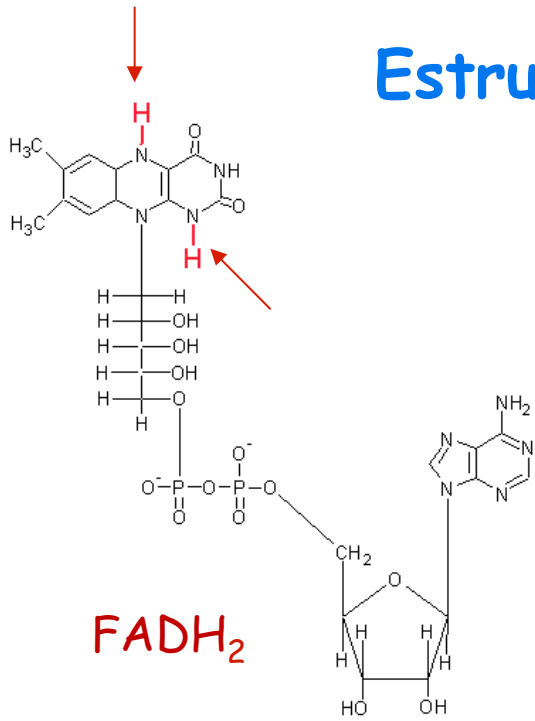
NAD⁺ (NADP⁺)



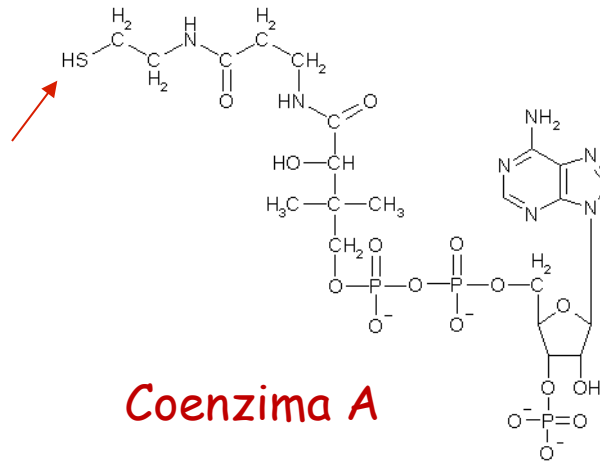
NADH (NADPH)

Relacionado con Niacina (Vit B₃)

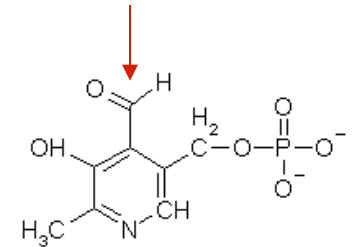
Estructuras de otras coenzimas



relac. con Riboflavina (Vit B₂)

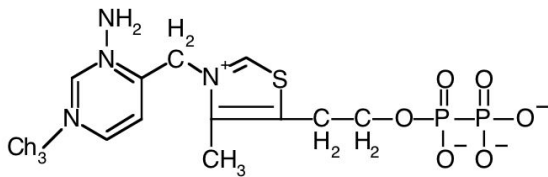


relac. con ác. pantoténico (Vit B₅)

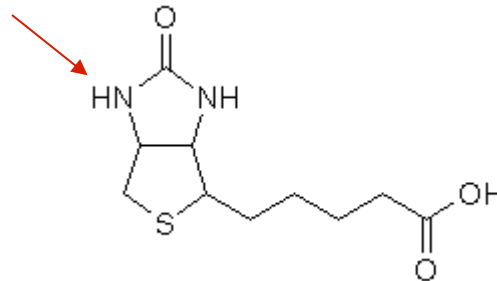


Fosfato de piridoxal

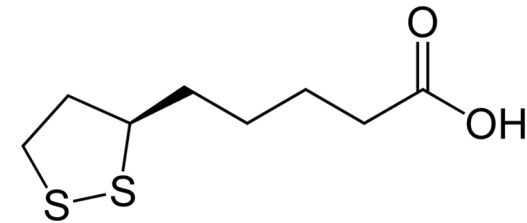
relac. con piridoxina (Vit B₆)



relac. con Tiamina (Vit B₁)

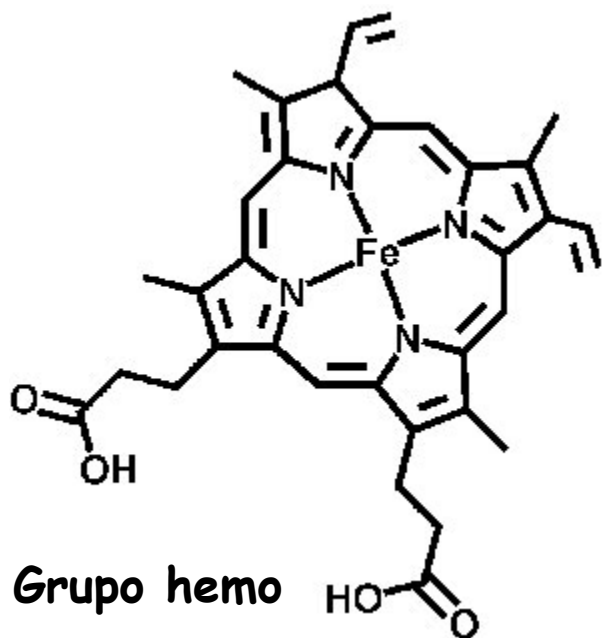
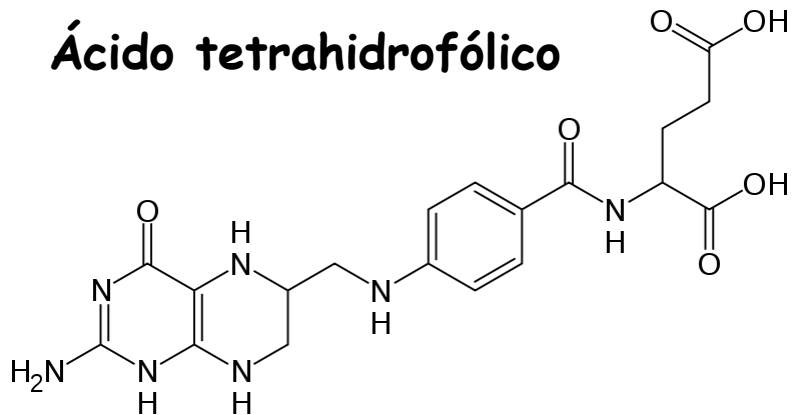


Vit H

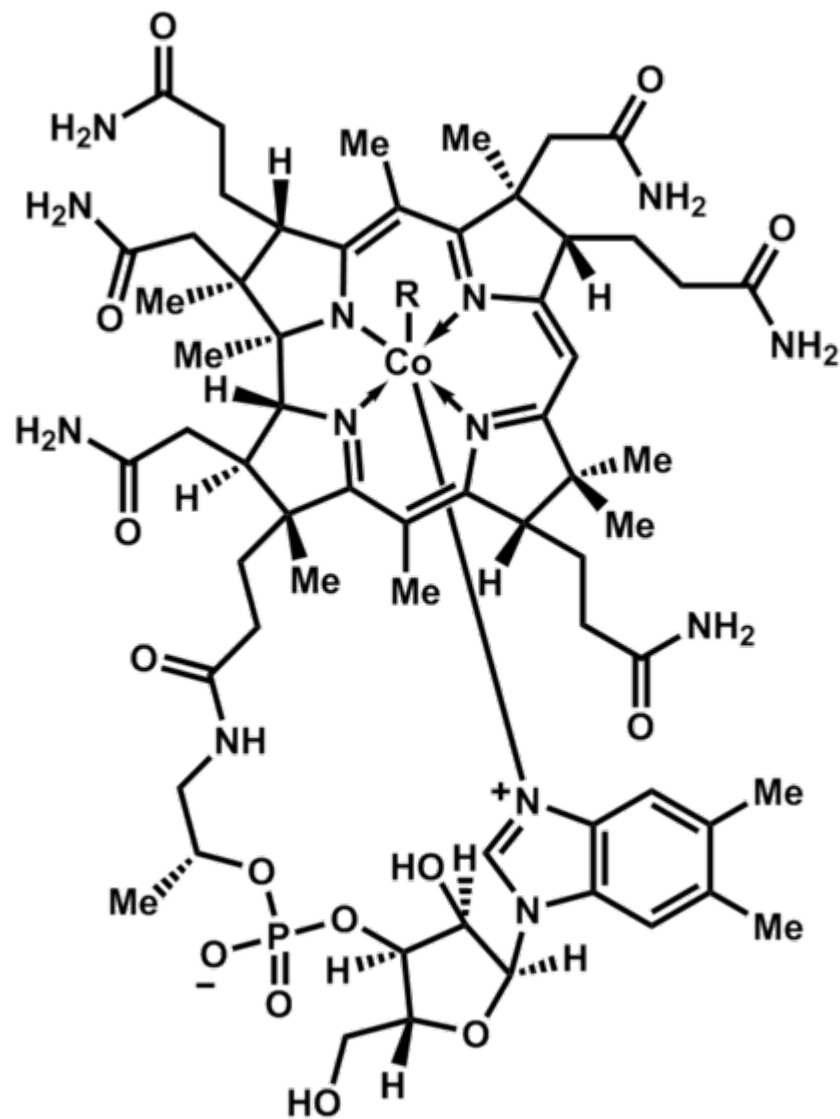


Estructuras de otras coenzimas

Ácido tetrahidrofólico



Grupo hemo



R = CN, OH, Me, 5'-deoxyadenosyl

**Cobalamina
(Vitamina B₁₂)**

Especificidad enzimática: Capacidad de una enzima para discriminar entre dos sustratos distintos

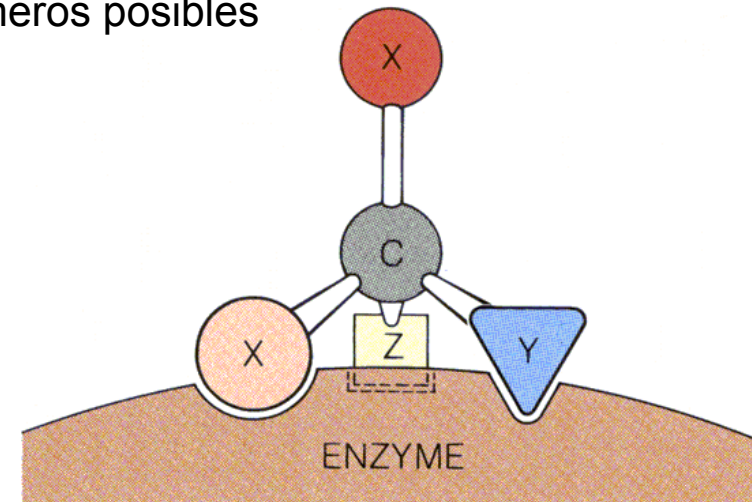
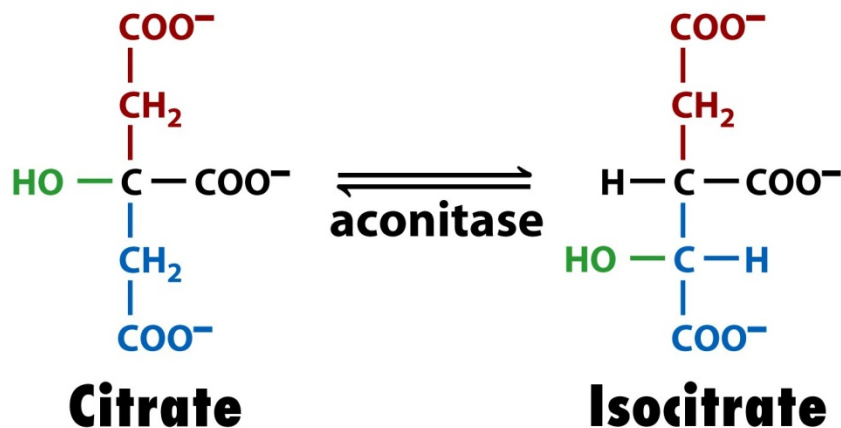
Absoluta: La enzima sólo es capaz de actuar sobre una molécula. Ej.: ureasa sólo reconoce a la urea como su sustrato.

Relativa: La enzima puede reconocer más de un sustrato distinto.

Especificidad relativa de Grupo: La enzima reconoce grupos moleculares. Ej.: Tripsina; capaz de hidrolizar enlaces peptídicos cuyo lado carboxilo lo forme o Lys o Arg. El grupo que requiere en el lado carboxilo es una cadena larga con carga positiva.

Especificidad relativa de Reacción: La enzima es capaz de catalizar una reacción concreta sobre un grupo dado, independientemente de las moléculas que aporten el grupo. Ej.: Fosfodiesterasas; capaces de hidrolizar casi cualquier enlace fosfodiéster, independientemente de dónde aparezca éste (RNA, DNA, ATP, Fosfo-Ser...)

Estereoespecificidad: La enzima reconoce una configuración espacial concreta, quiral e incluso proquiral, en virtud de la asimetría de su centro activo. Ej.: El citrato (con un centro proquiral) es transformado por la aconitasa en isocitrato, rindiendo sólo uno de los estereoisómeros posibles



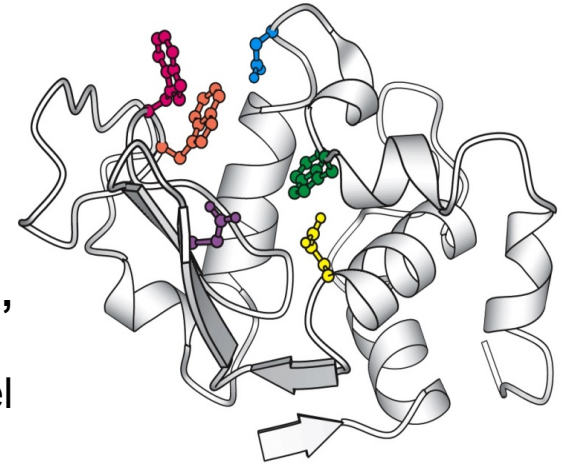
EL CENTRO ACTIVO DE UNA ENZIMA

Localización tridimensional (asimétrica) que representa una **porción pequeña** del tamaño de la proteína

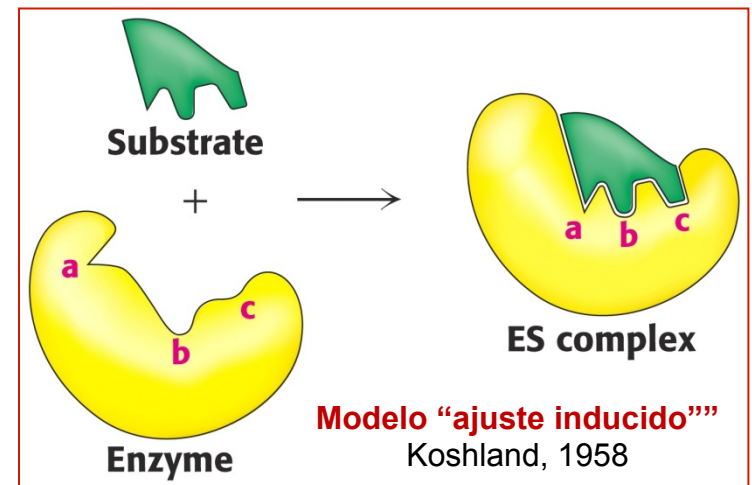
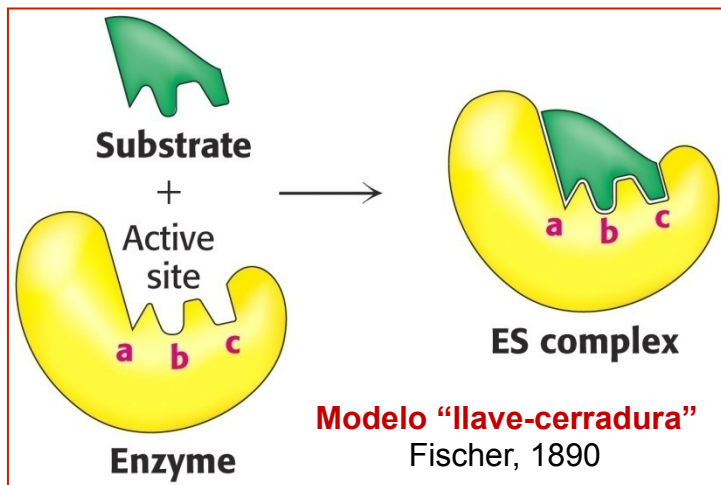
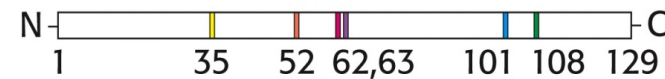
Suele incluir **residuos distantes** en la secuencia

Suele constituir un bolsillo o hendidura de **baja polaridad**, en la que al agua suele quedar excluída, salvo que participe en la reacción

Contiene residuos esenciales para la catálisis (**residuos catalíticos**, en el **centro catalítico**), que suelen ser polares (His, Lys, Arg, Asp, Glu, Ser,...), y residuos específicos para la correcta orientación del sustrato (**residuos de reconocimiento** en el **sitio de unión**)



La unión con el sustrato viene propiciada por numerosas **interacciones débiles** (pares iónicos, puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones hidrofóbicas), lo que implica **complementariedad** entre enzima y sustrato

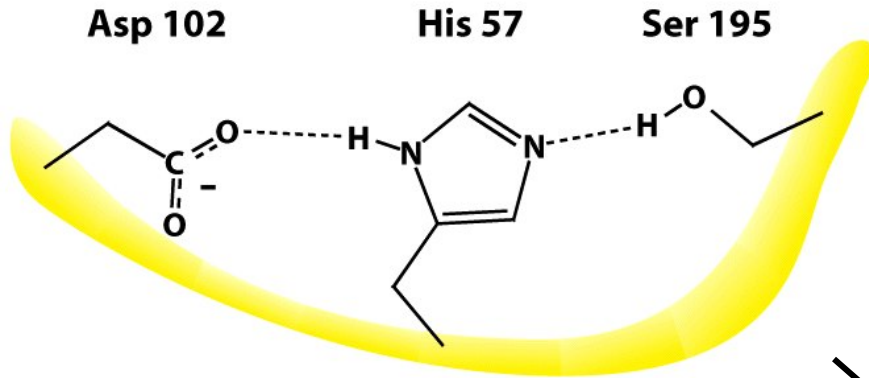


Quimotripsina: Ejemplo de una enzima bien conocida

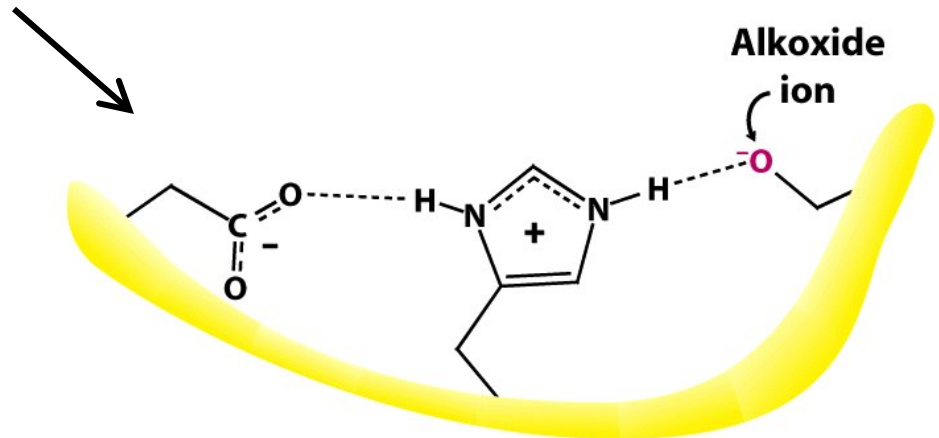
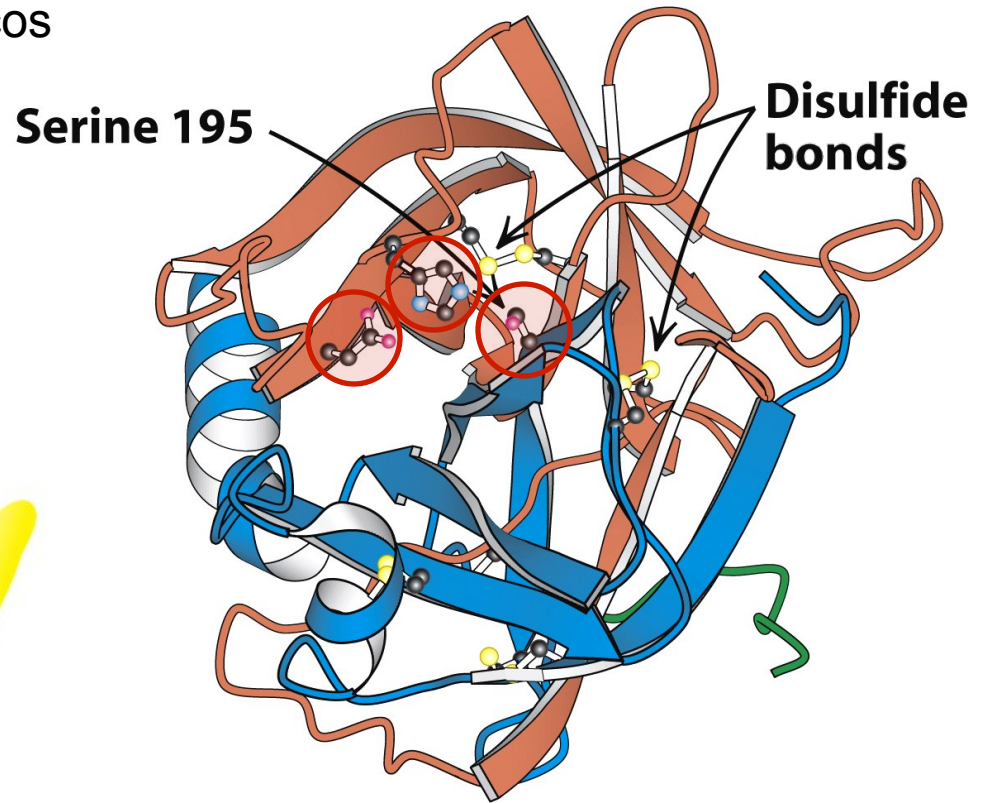
Especificidad: Hidrólisis de enl. peptídicos cuyo lado carboxílico lo aporten residuos voluminosos e hidrofóbicos (Trp, Phe)

Centro catalítico: Serín-proteasa

Tríada catalítica

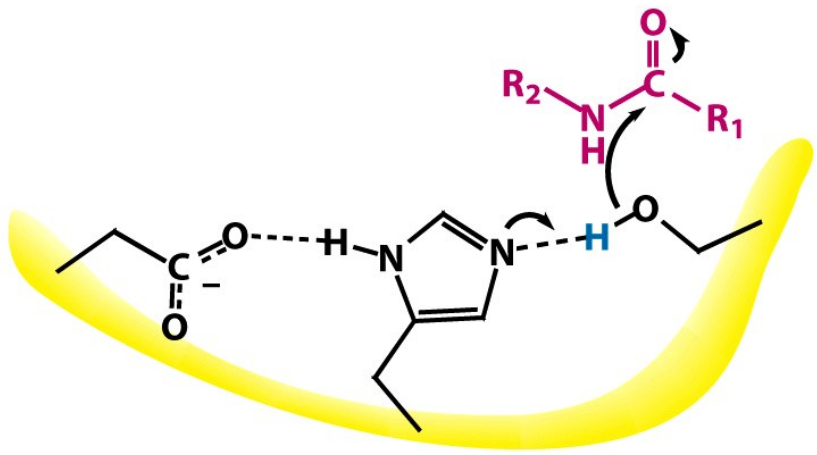


La especial conformación del Centro Catalítico, aporta la tríada catalítica, que asegura la especial reactividad de la Ser-195, convirtiéndola en un potente agente nucleófilo.

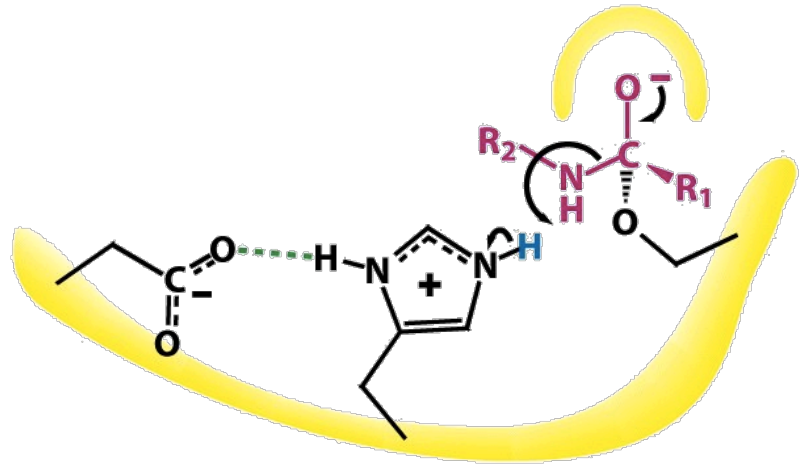


Quimotripsina: Ejemplo de una enzima bien conocida

Oxyanion hole

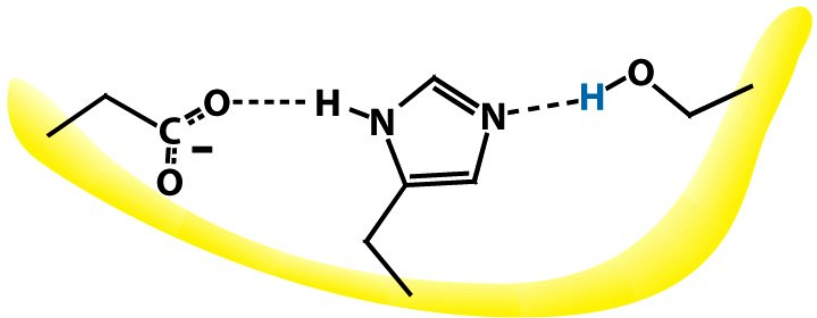
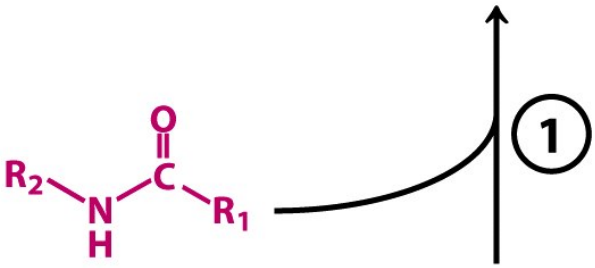


②

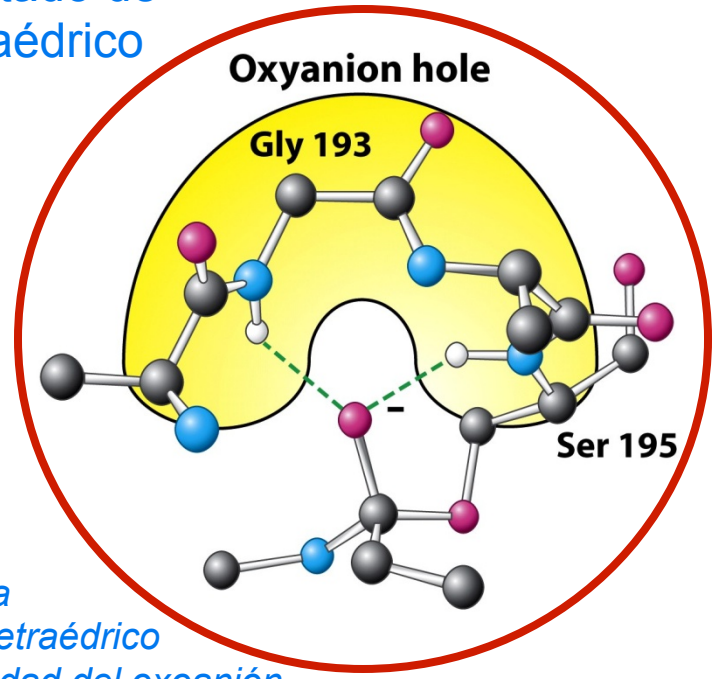


La cavidad del oxianión en el Centro Catalítico estabiliza el estado de transición tetraédrico

Tetrahedral intermediate

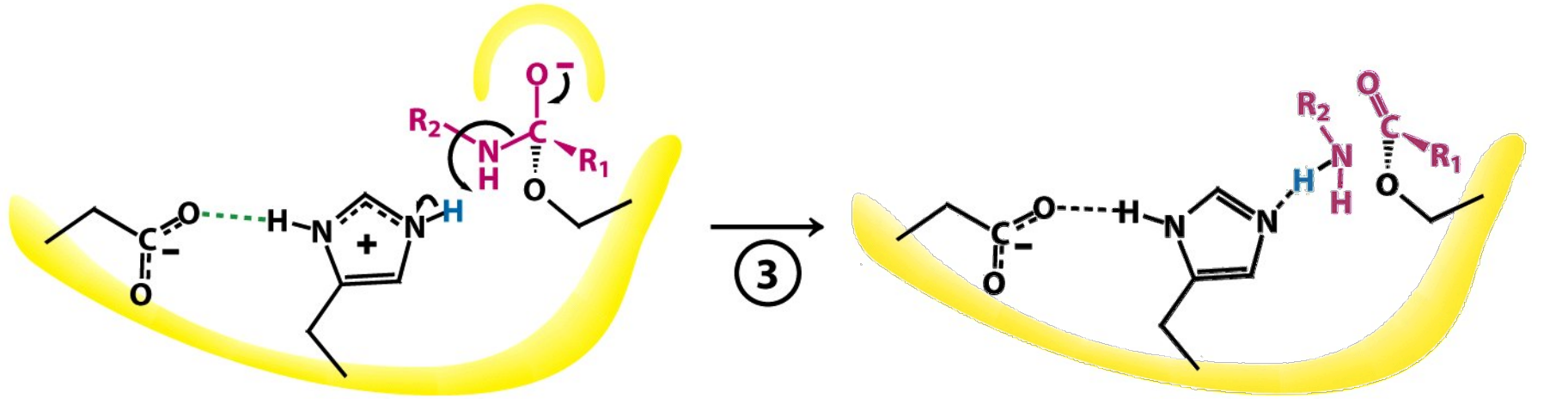


Estabilización de la carga negativa del intermedio tetraédrico por grupos NH en la cavidad del oxoanión



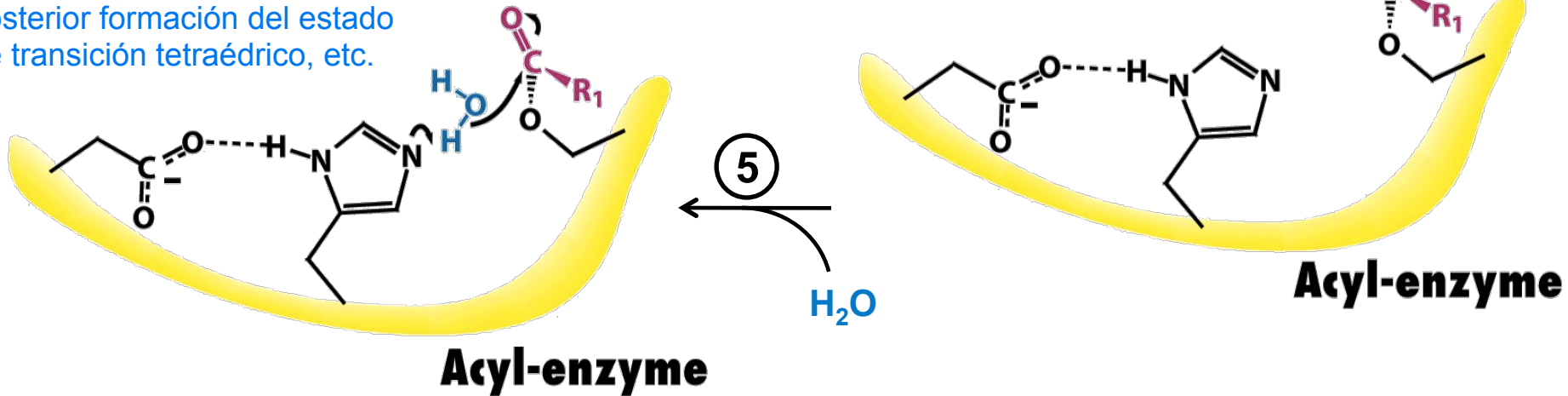
Quimotripsina: Ejemplo de una enzima bien conocida

Oxyanion hole



Tetrahedral intermediate

La His de la tríada vuelve a actuar como catalizador básico, propiciando la formación de OH^- para el segundo ataque nucleófilo al carbonilo, con posterior formación del estado de transición tetraédrico, etc.



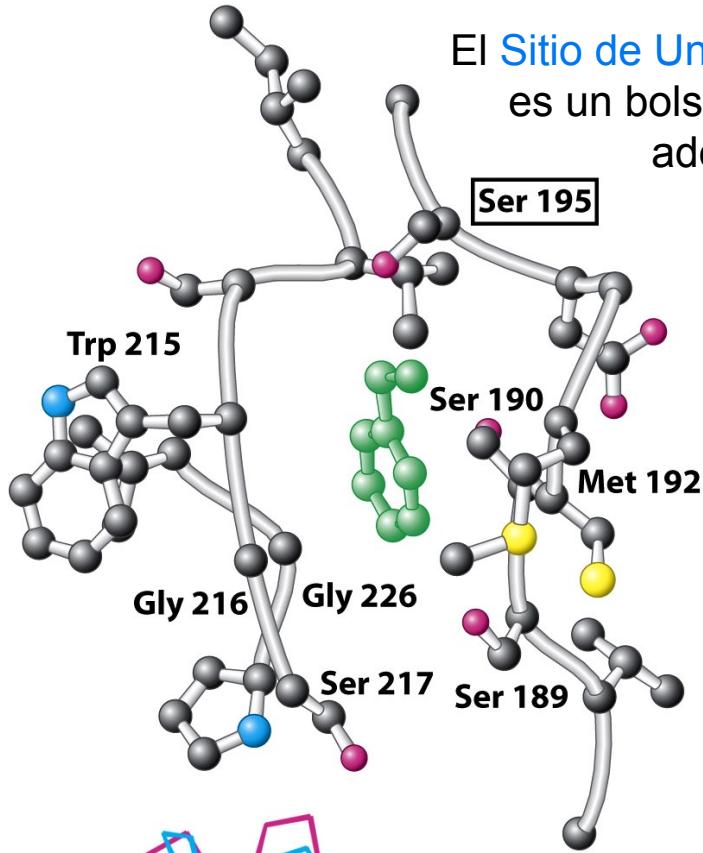
Acyl-enzyme

Acyl-enzyme

Acyl-enzyme

Quimotripsina: Ejemplo de una enzima bien conocida

El **Sitio de Unión** del sustrato, que explica la **Especificidad** de la enzima, es un bolsillo hidrofóbico (S_1). Al unirse a ese sitio la cadena lateral adecuada, el enlace peptídico queda correctamente presentado a la Ser-195 del **Centro Catalítico**



Otras Ser-proteasas (tripsina, elastasa), son prácticamente idénticas, pero tienen distinta especificidad

Quimotripsina: Phe y Trp
Tripsina: Lys y Arg
Elastasa: Ala y Ser

