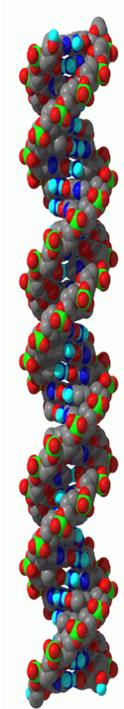


Contenidos teóricos

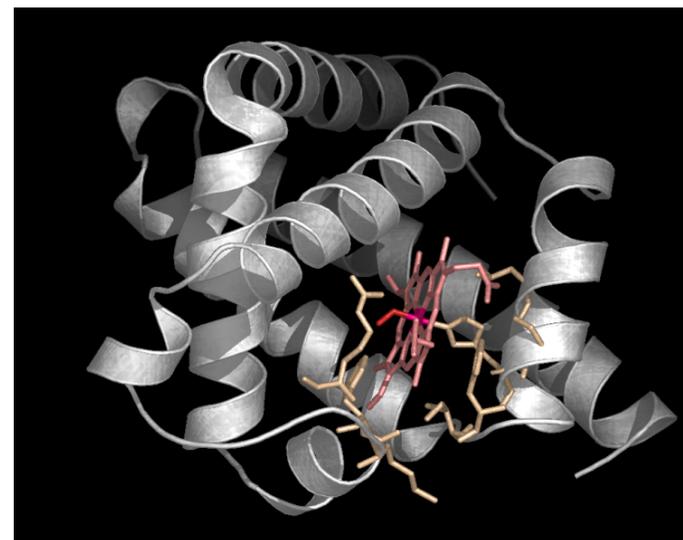


Unidad temática 1. Diseño molecular de vida. _

Tema 1. El agua como disolvente

Tema 2. Principales biomoléculas presentes en los seres vivos y su relación estructura-función: proteínas, glúcidos, lípidos y ácidos nucleicos.

Tema 3. Enzimas. Cinética y regulación.

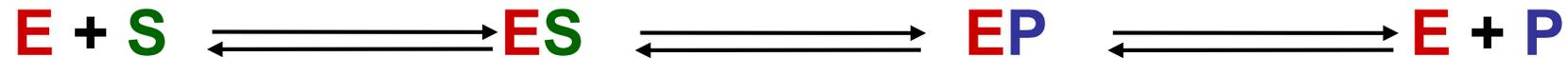


Enzimas

- **Concepto**
- **Características**
- **Clasificación**
- **Centro activo**
- **¿Cómo funcionan las enzimas?**
 - Modelos de interacción enzima-sustrato
- **Coenzimas**
- **Cinética enzimática**
 - Enzimas michaelianas
- **Factores que modifican la actividad de una enzimas**
 - pH
 - Temperatura
 - Inhibidores
- **Regulación**

Definición

Catalizadores biológicos específicos que aumentan la velocidad de las reacciones bioquímicas sin modificar su equilibrio.



- Las enzimas son necesarias para que las reacciones bioquímicas:
 - Se produzcan a una velocidad adecuada para la célula
 - Se dirijan hacia rutas útiles y necesarias según necesidades energéticas y de producción de distintas sustancias.
- Casi todas las enzimas son proteínas excepto las ribozimas (formadas por RNA sólo o asociado a proteínas)
- Importancia
 - Agricultura
 - Industria alimentaria
 - Medicina

Características

- **Gran poder catalítico**

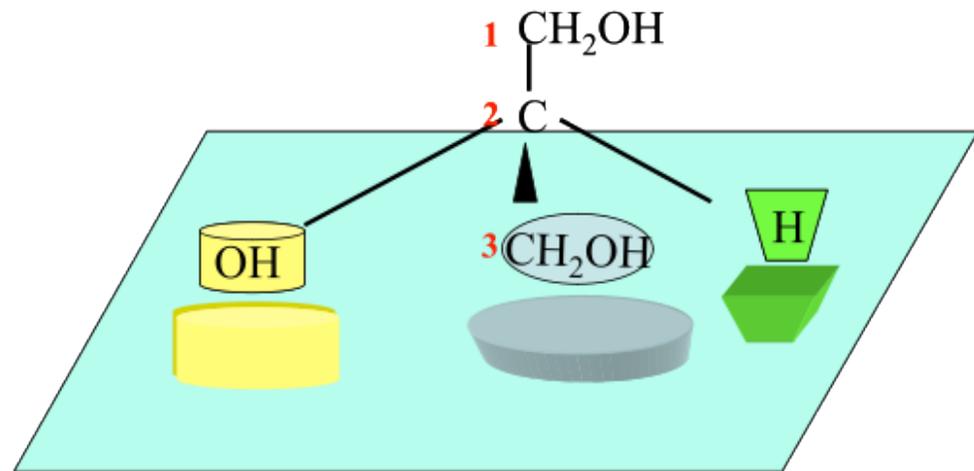
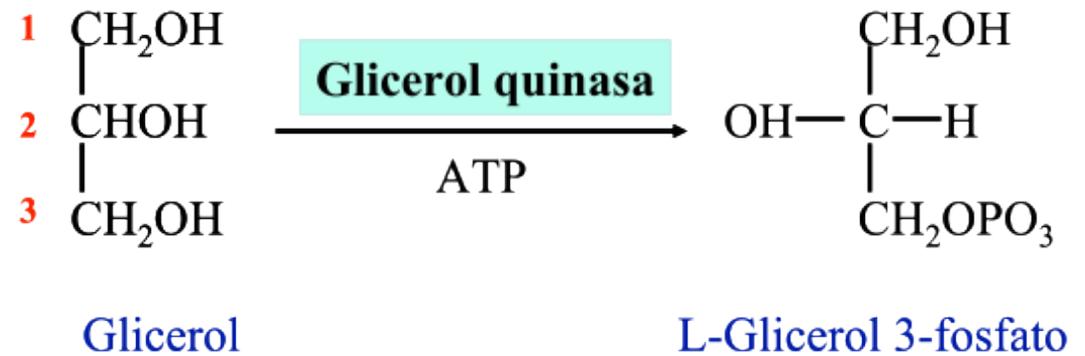
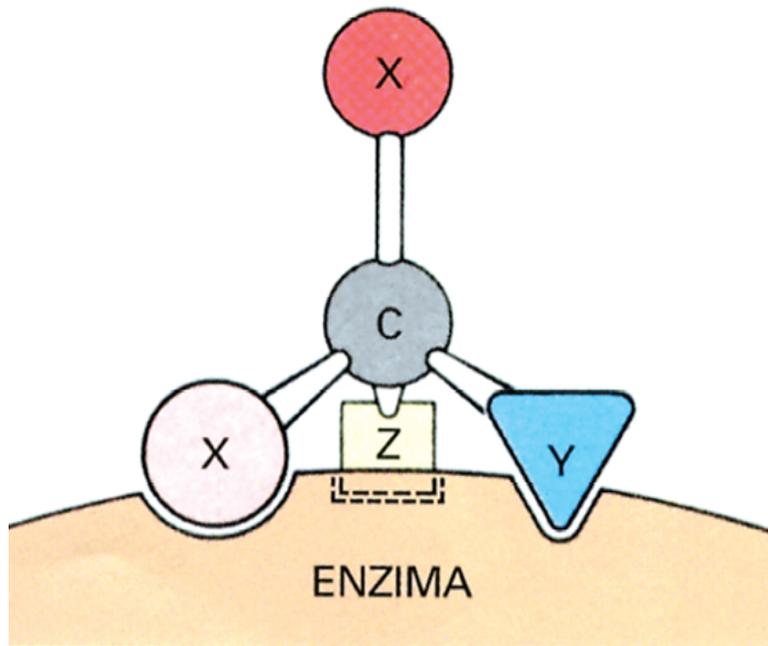
Incrementos de velocidad producidos por algunas enzimas

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}

- **Trabajan bajo determinadas condiciones de temperatura y pH**
- **Regulables**
- **Alta especificidad**

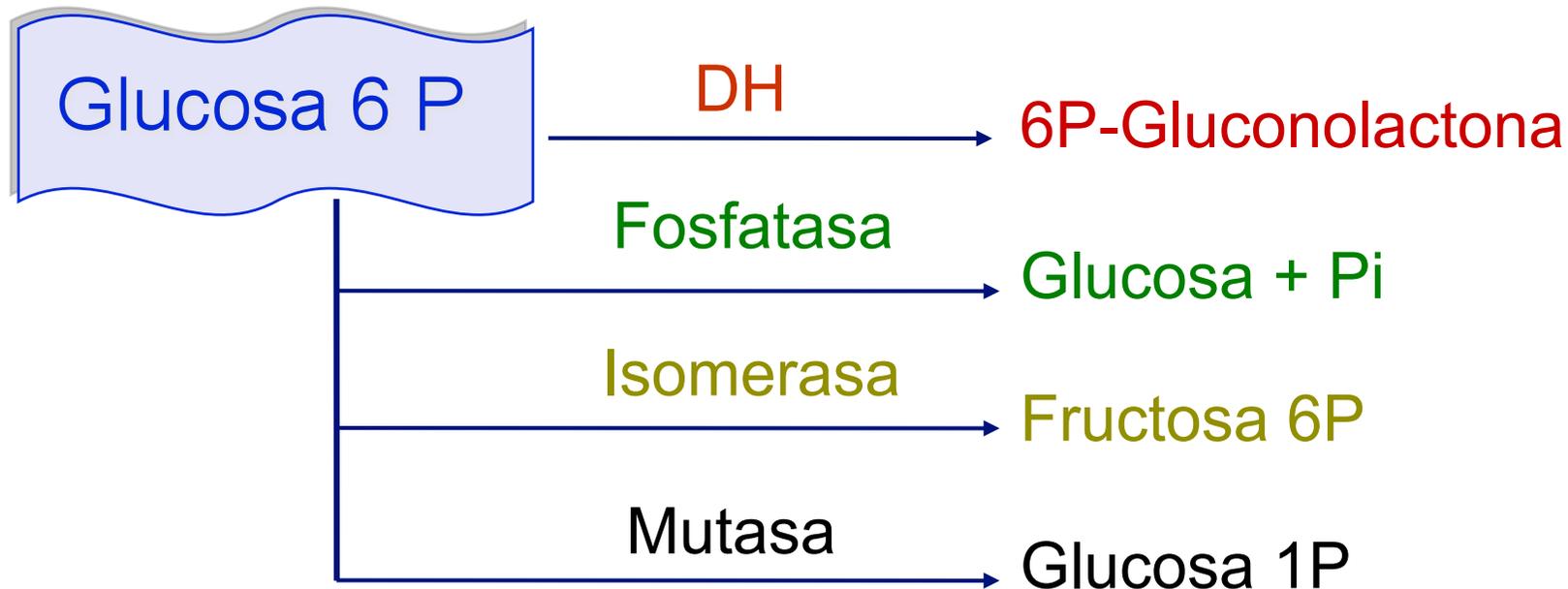
ESPECIFICIDAD

Los enzimas son estereoespecíficos porque forman varias interacciones entre aminoácidos del centro activo y los distintos grupos del sustrato



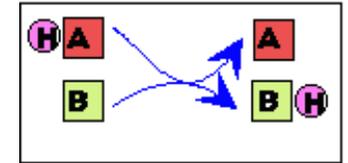
Especificidad enzimática: especificidad de función

Un mismo compuesto puede ser sustrato de varios enzimas, que lo modifican de distinta forma.

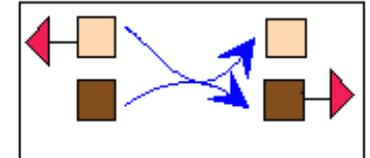


Clasificación de las enzimas

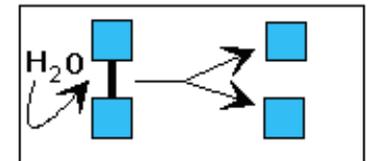
1.- **Oxidoreductasas:** Reacciones de oxido-reducción



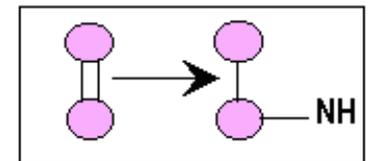
2.- **Transferasas:** Transferencia de grupos intactos de una molécula a otra



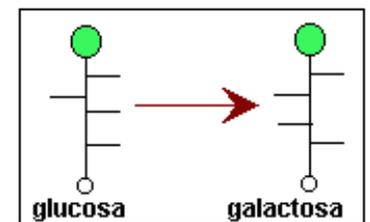
3.- **Hidrolasas:** Reacciones de hidrólisis
(ruptura de enlaces con participación del agua)



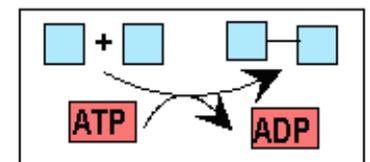
4.- **Liasas:** Adición o separación de grupos sin participación del agua



5.- **Isomerasas:** Isomerización (transferencia intramolecular de grupo)
cis/trans, L/D, aldehído/cetona

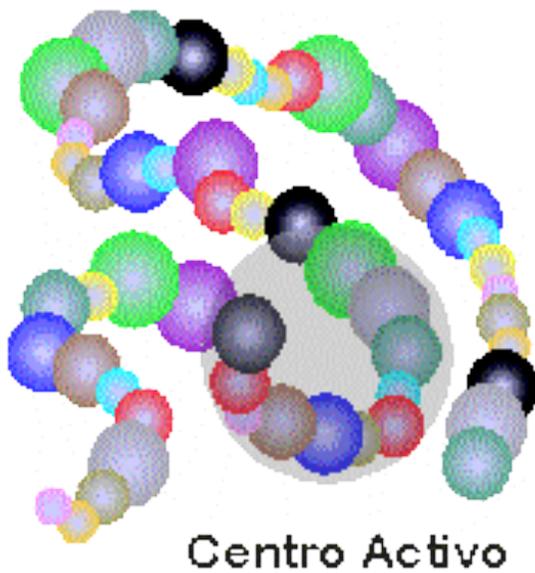


6.- **Ligasas:** Unión de dos sustratos a expensas de la hidrólisis del ATP

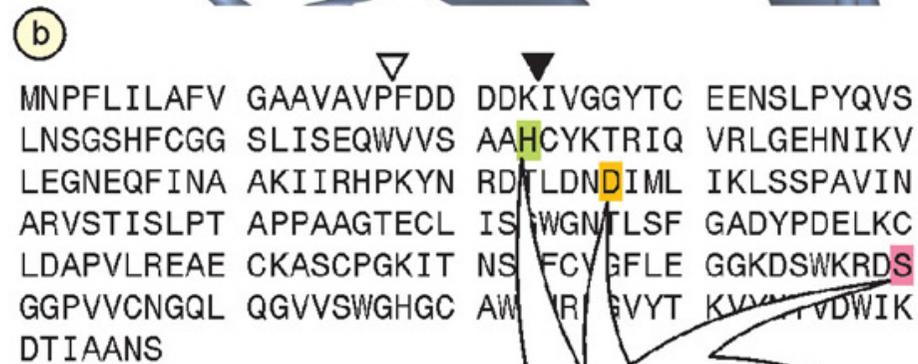
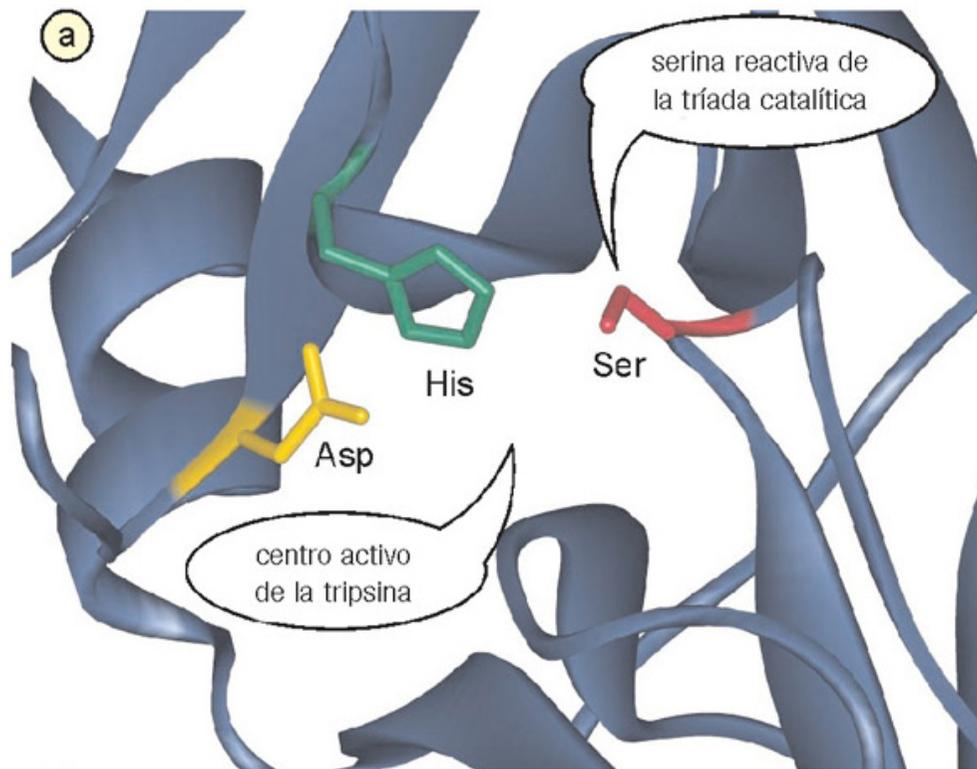


Centro activo

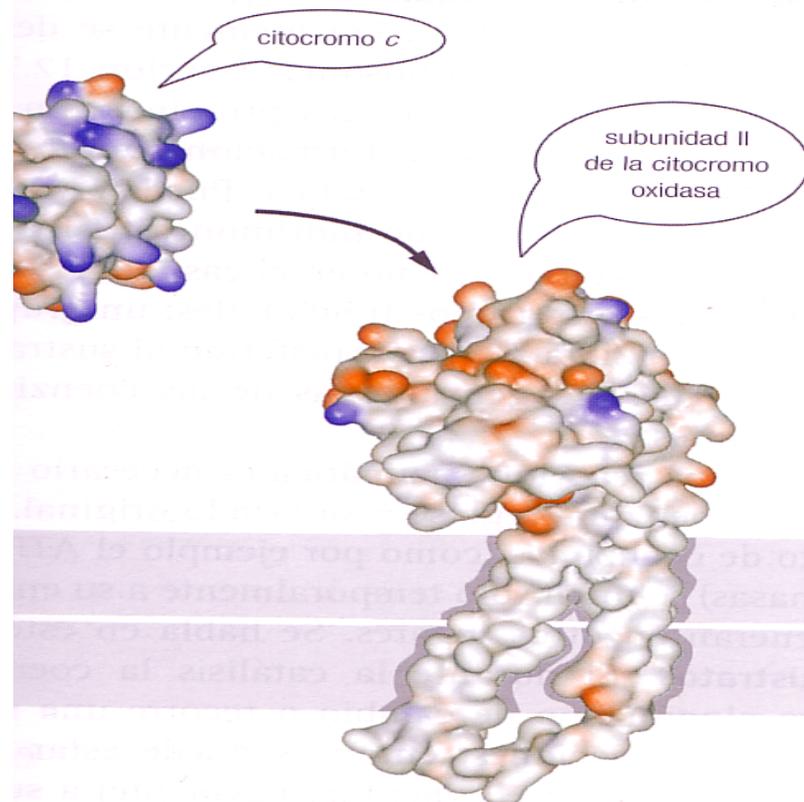
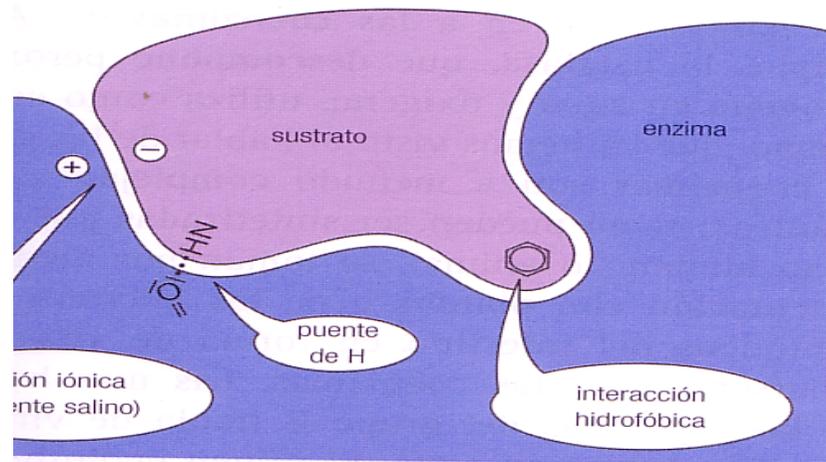
Región de la enzima donde se une el sustrato y se lleva a cabo la catalisis



Centro activo



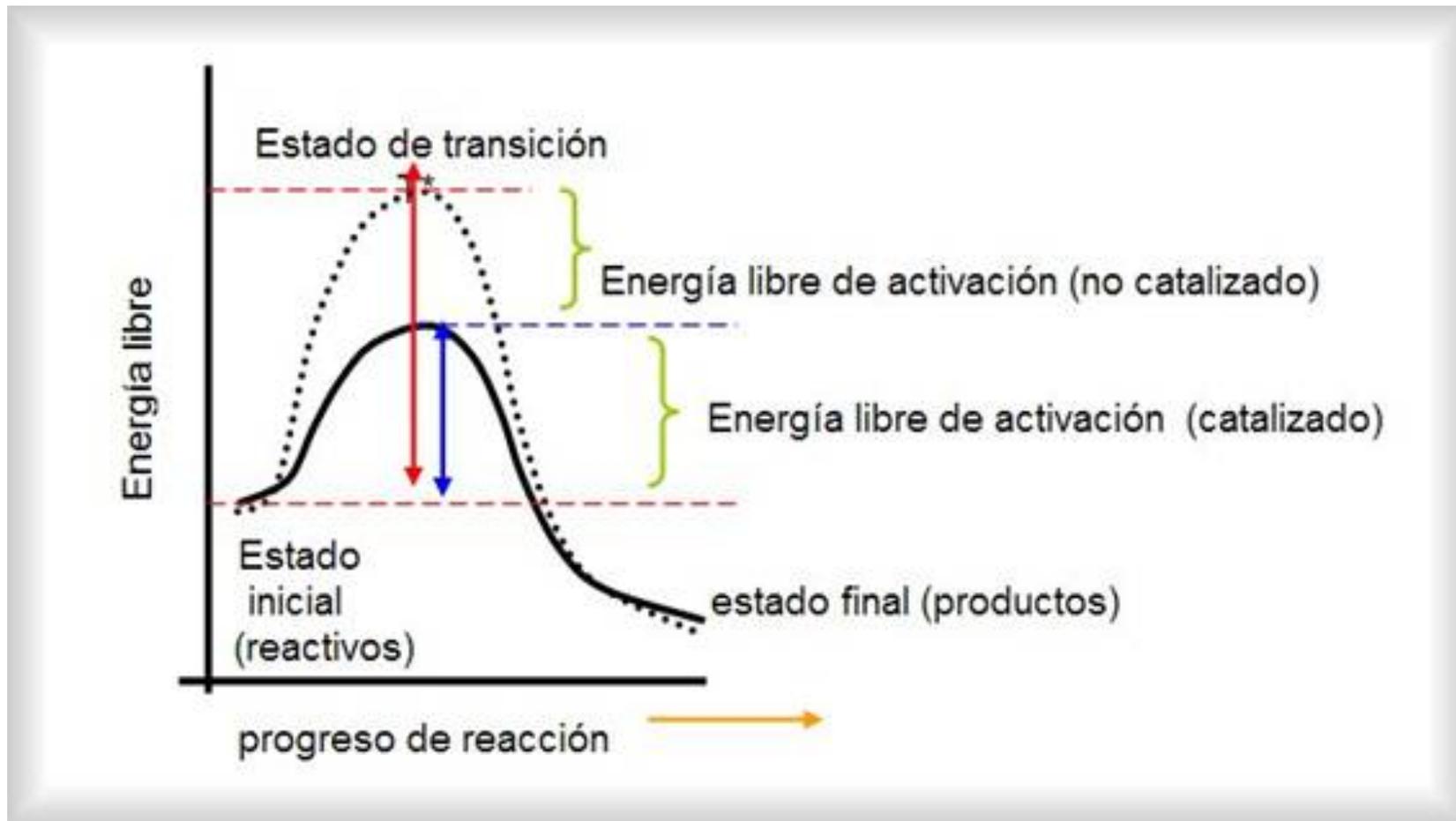
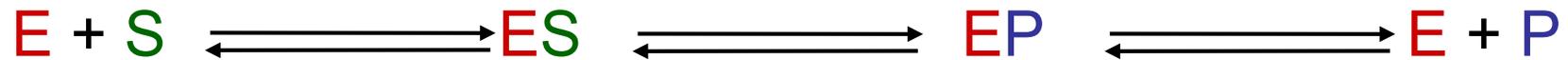
Centro activo



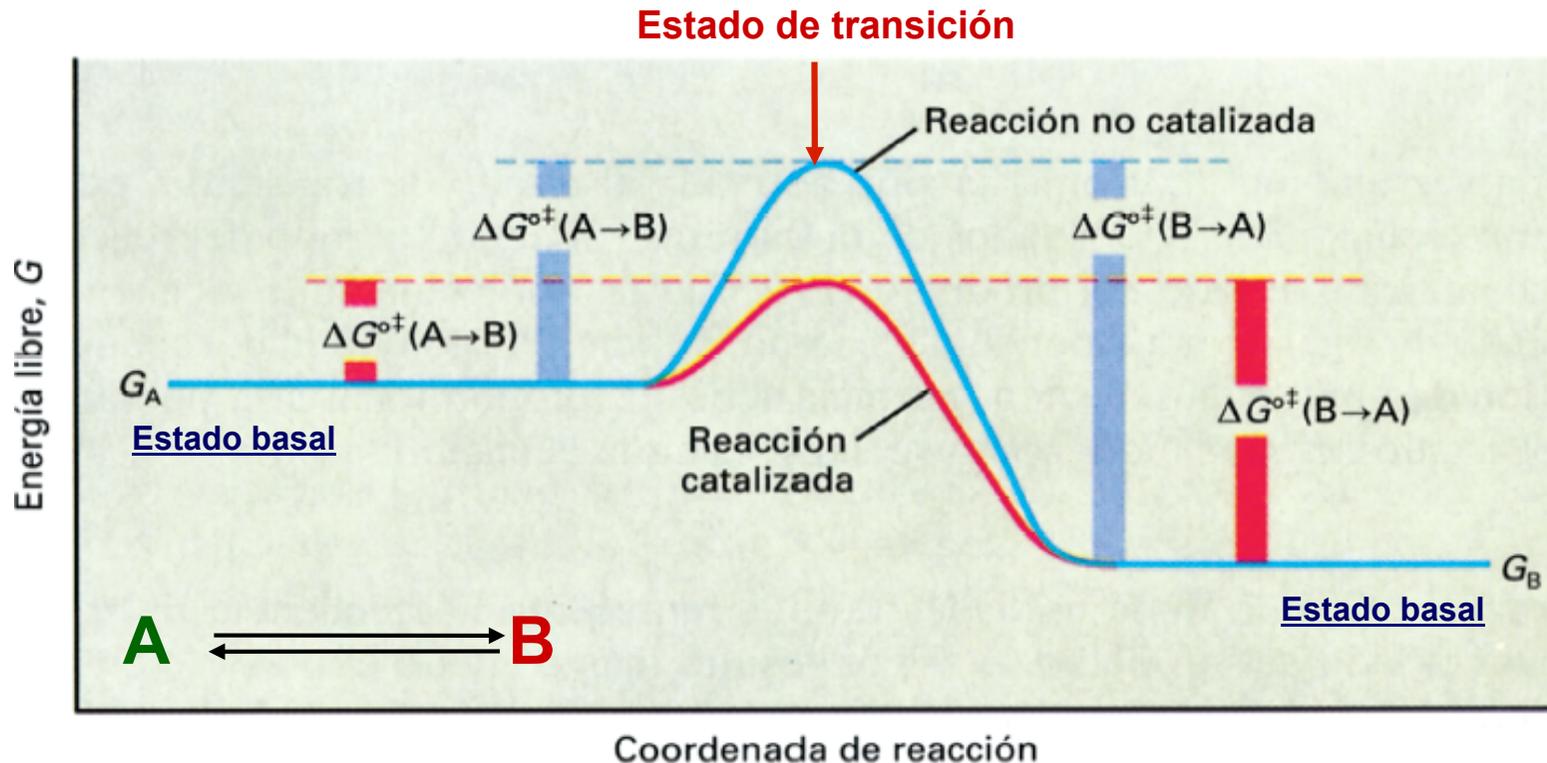
Principios de la catálisis enzimática

Disminuyen la energía de activación sin alterar la energía libre de la reacción

Alteran las velocidades de reacción pero no los equilibrios



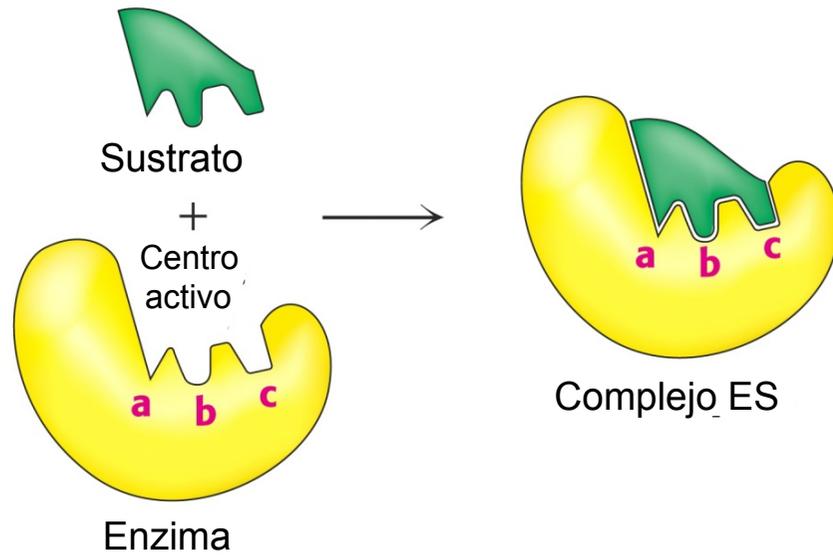
Principios de la catálisis enzimática



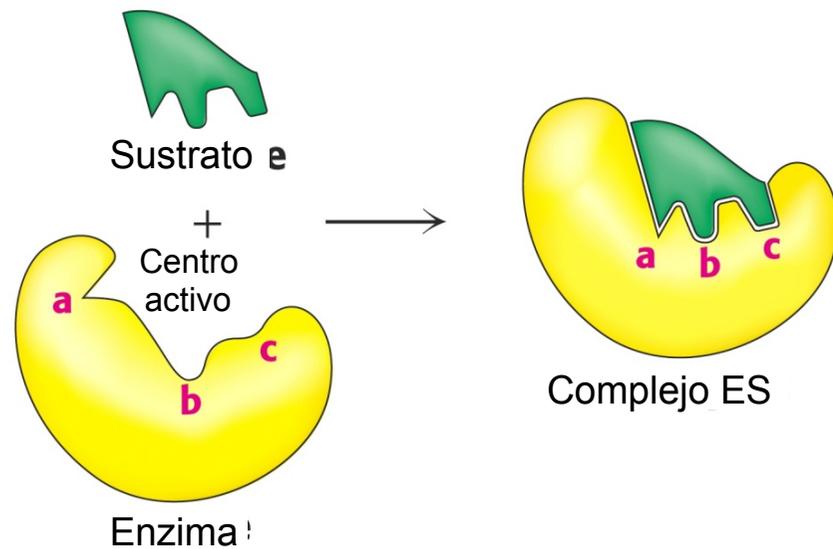
Energía de activación ΔG^{\ddagger} : Energía necesaria para que se alcance el estado de transición y que se produzca la reacción.

- Es la energía necesaria para:
 - Alinear grupos reactivos
 - Formar cargas inestables transitorias
 - Reordenar enlaces

Modelos de interacción E-S



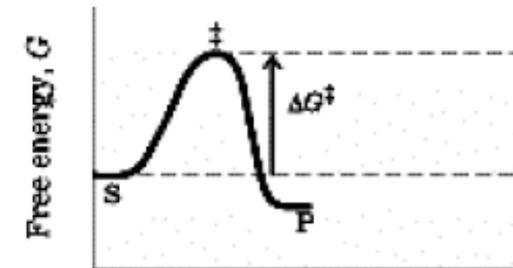
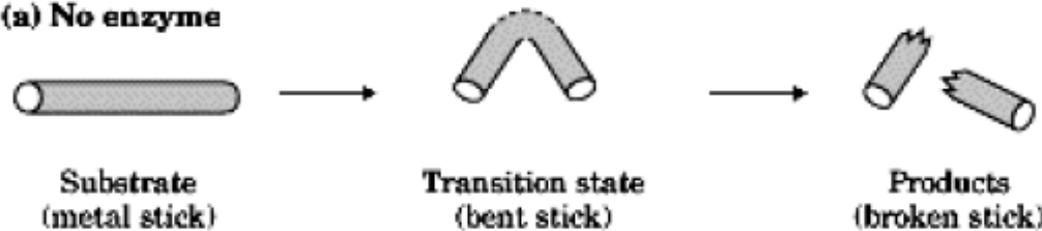
**Modelo llave – cerradura
(Fischer 1890)**



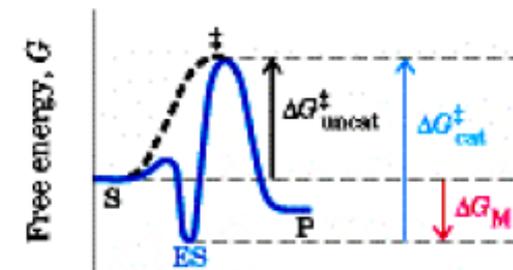
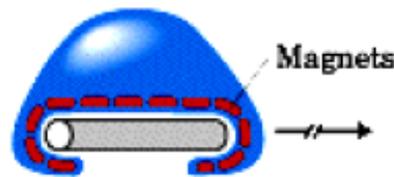
**Modelo del ajuste inducido
(Koshland 1958)**

El centro activo de los enzimas es complementario al estado de transición de la reacción catalizada

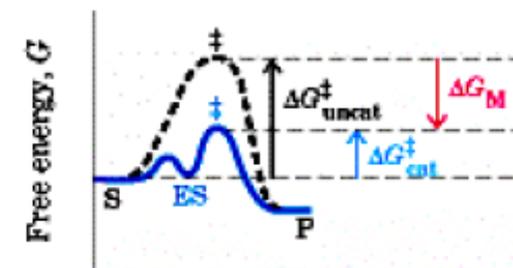
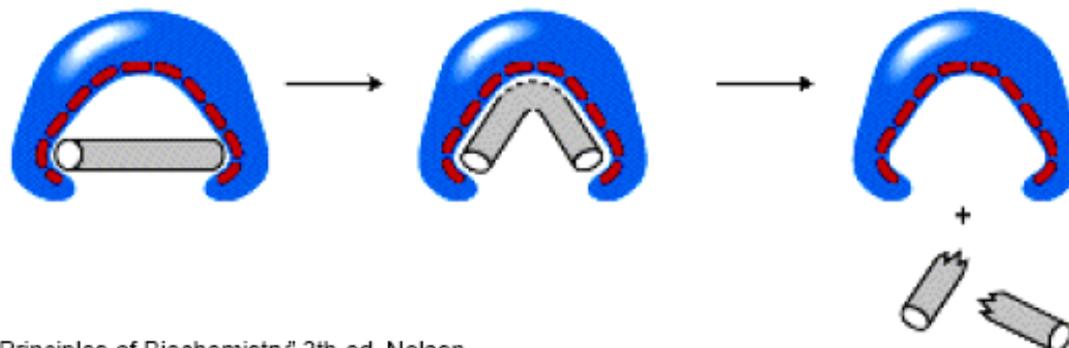
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



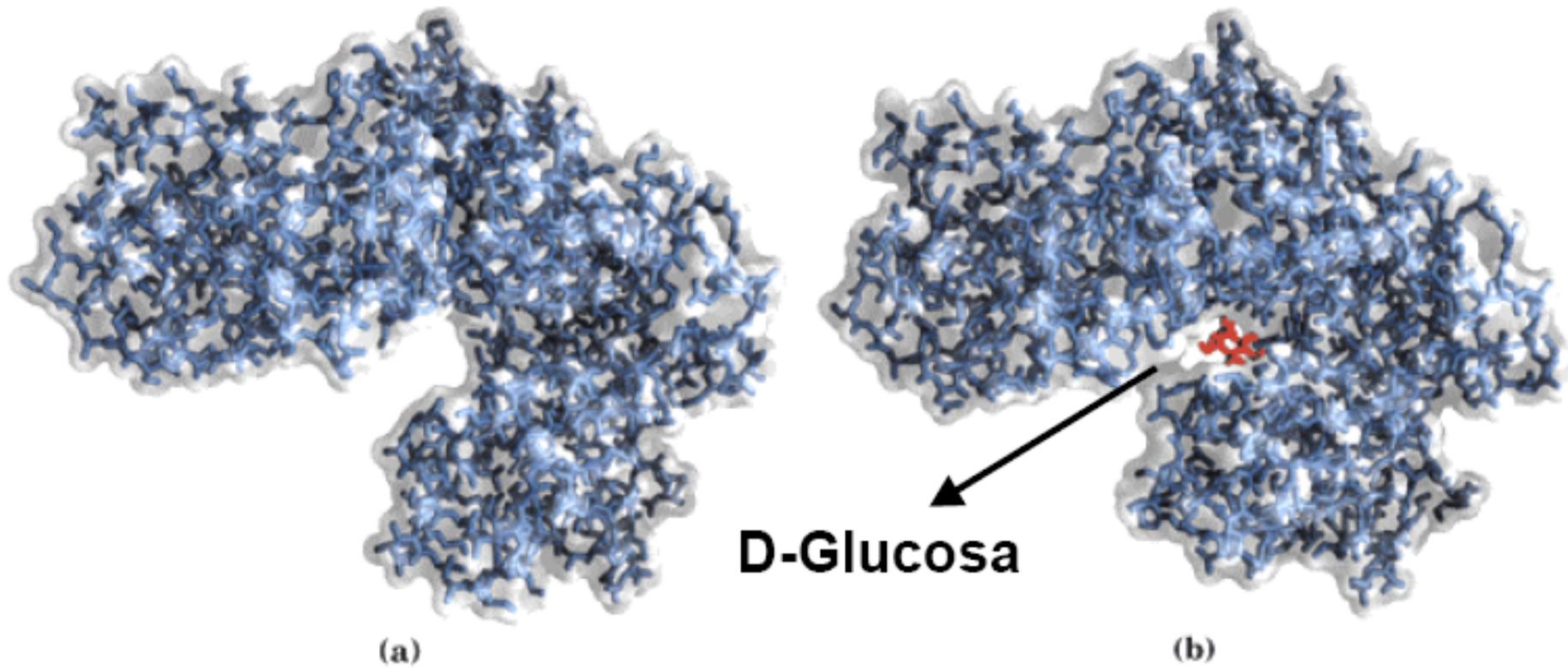
(c) Enzyme complementary to transition state



Progreso de la reacción

Modelos de interacción E-S

Cambio conformacional inducido por la glucosa en la hexoquinasa



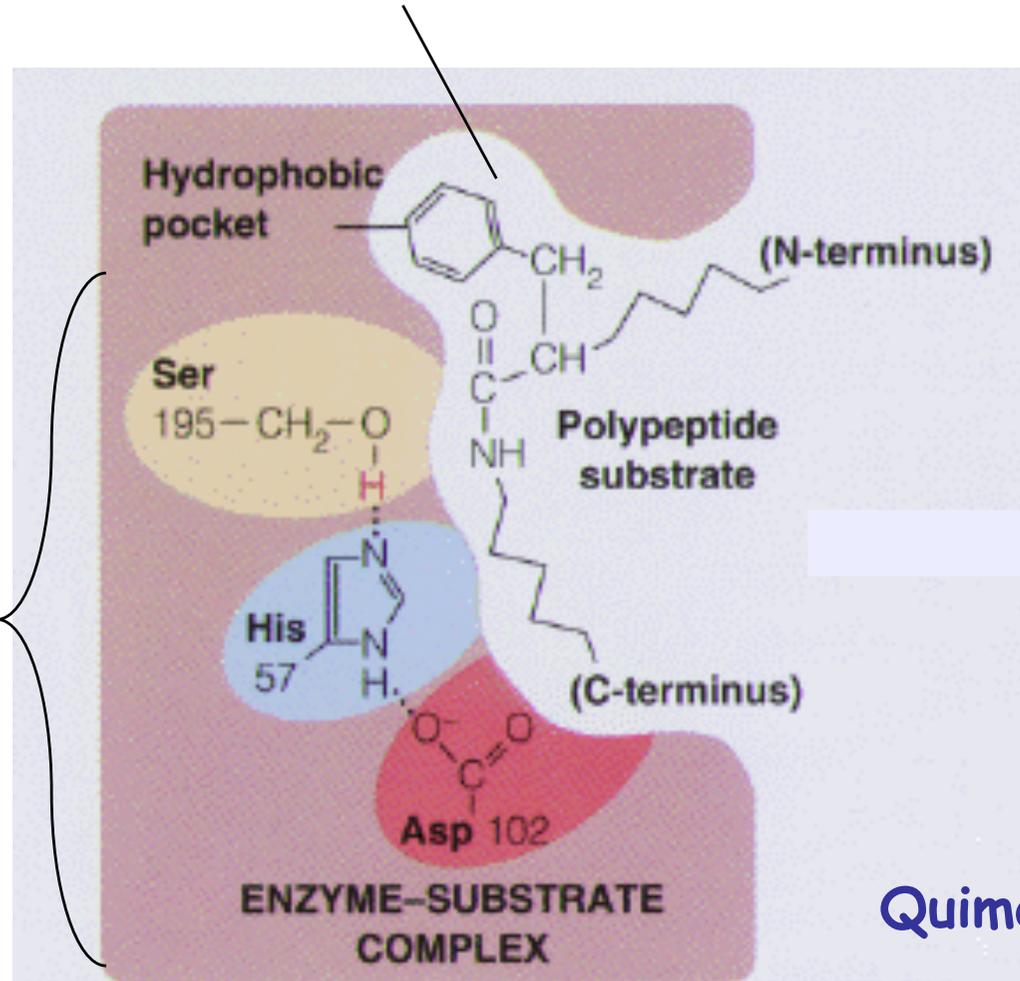
Tipos de catálisis

- **Catálisis covalente**
- **Catálisis ácido-base**
- **Catálisis por iones metálicos**

Centro activo

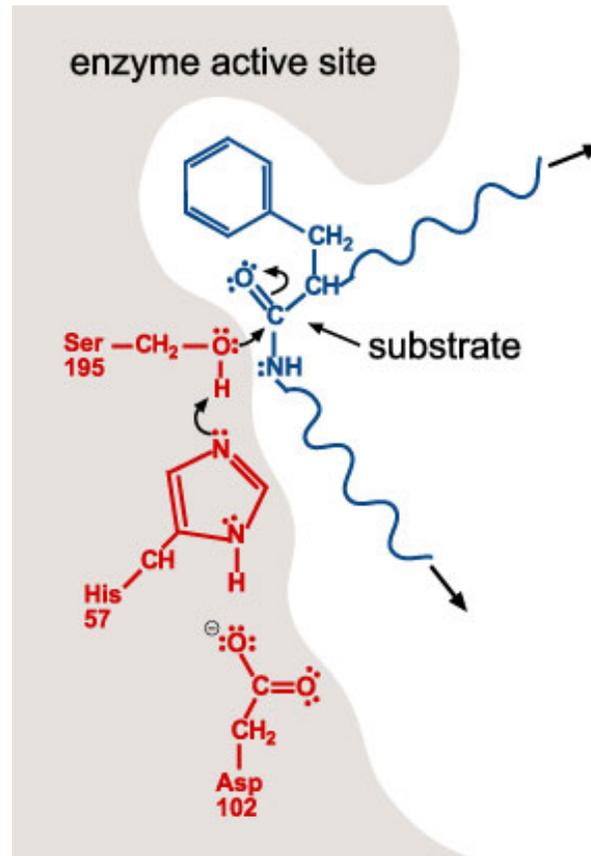
Sitio de unión

Sitio catalítico



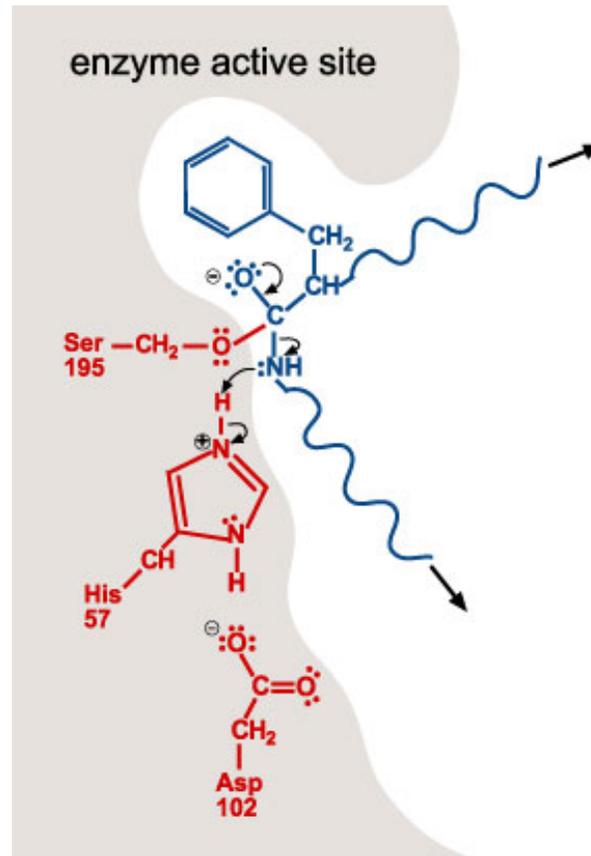
Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



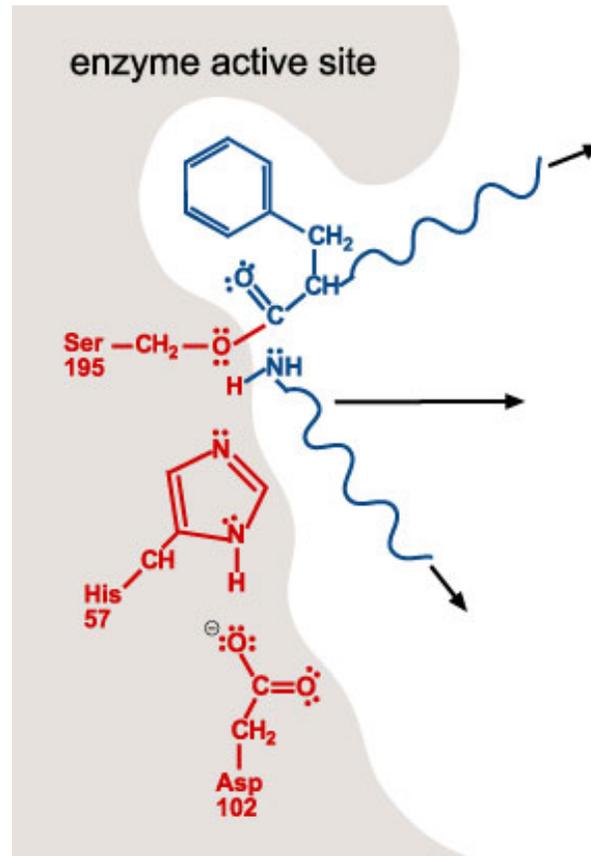
Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



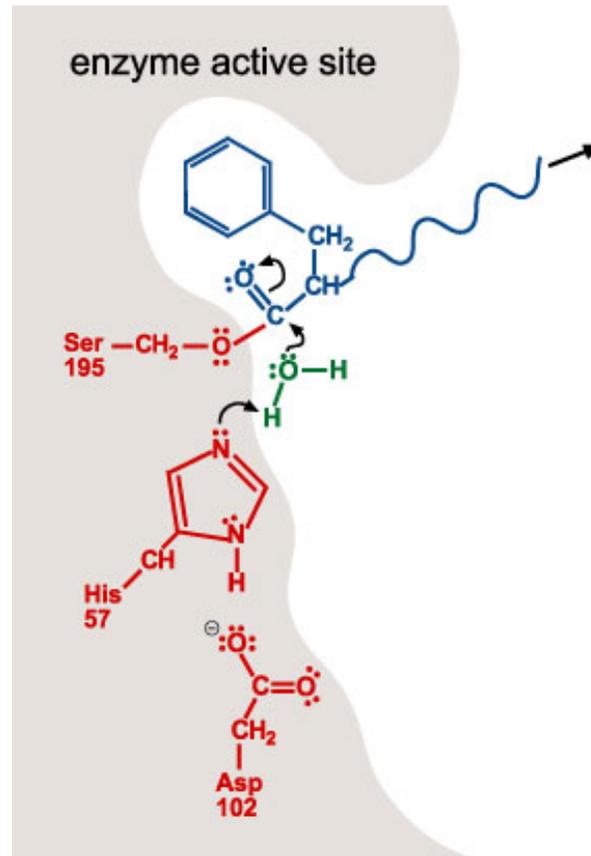
Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



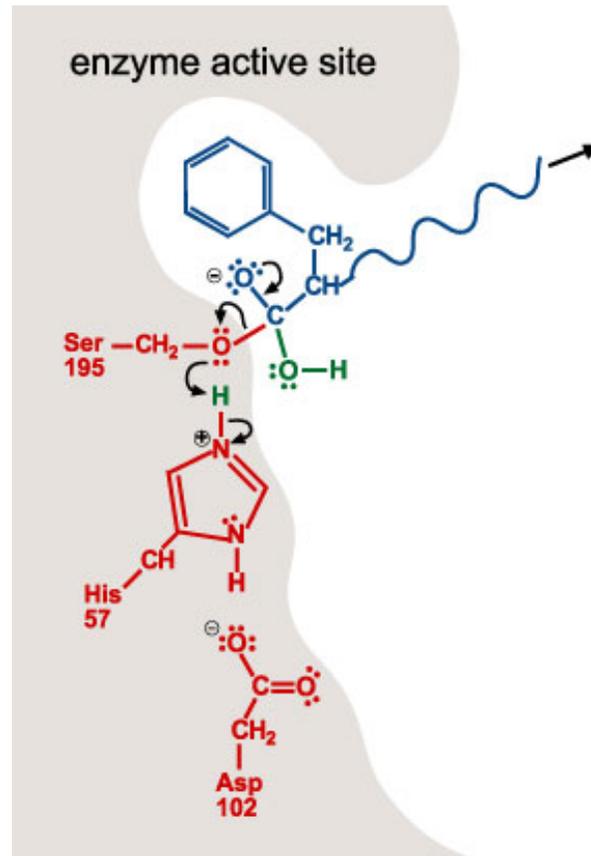
Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



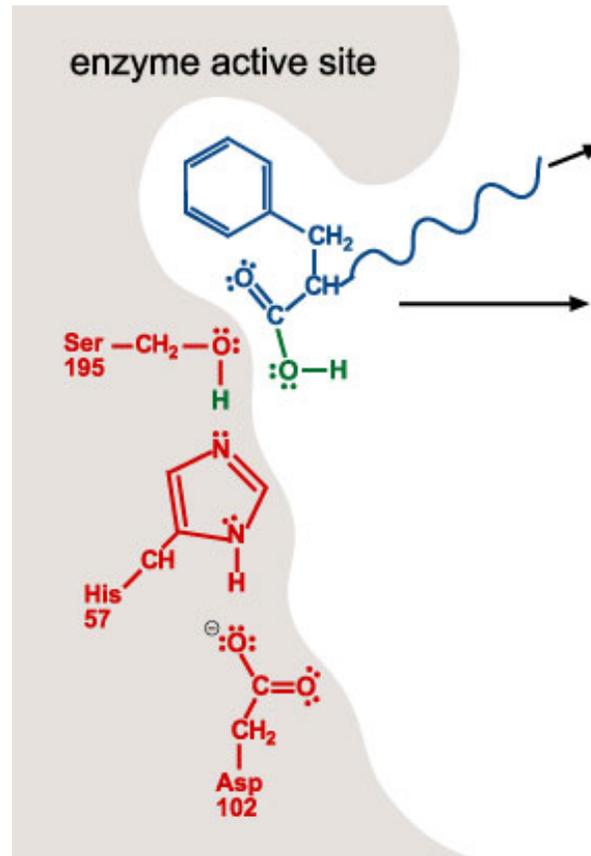
Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



Quimotripsina

Mecanismos de la catalisis



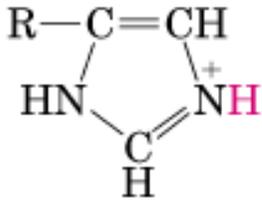
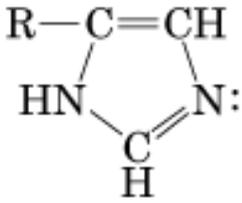
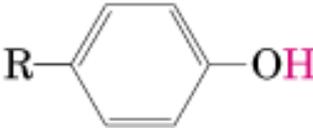
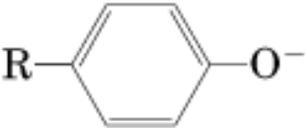
Quimotripsina

Catálisis ácido-base

A pH fisiológico $[H^+]$ y $[OH^-]$ bajas: Baja velocidad

Enzimas donantes o aceptores de $[H^+]$: Aumentan velocidad

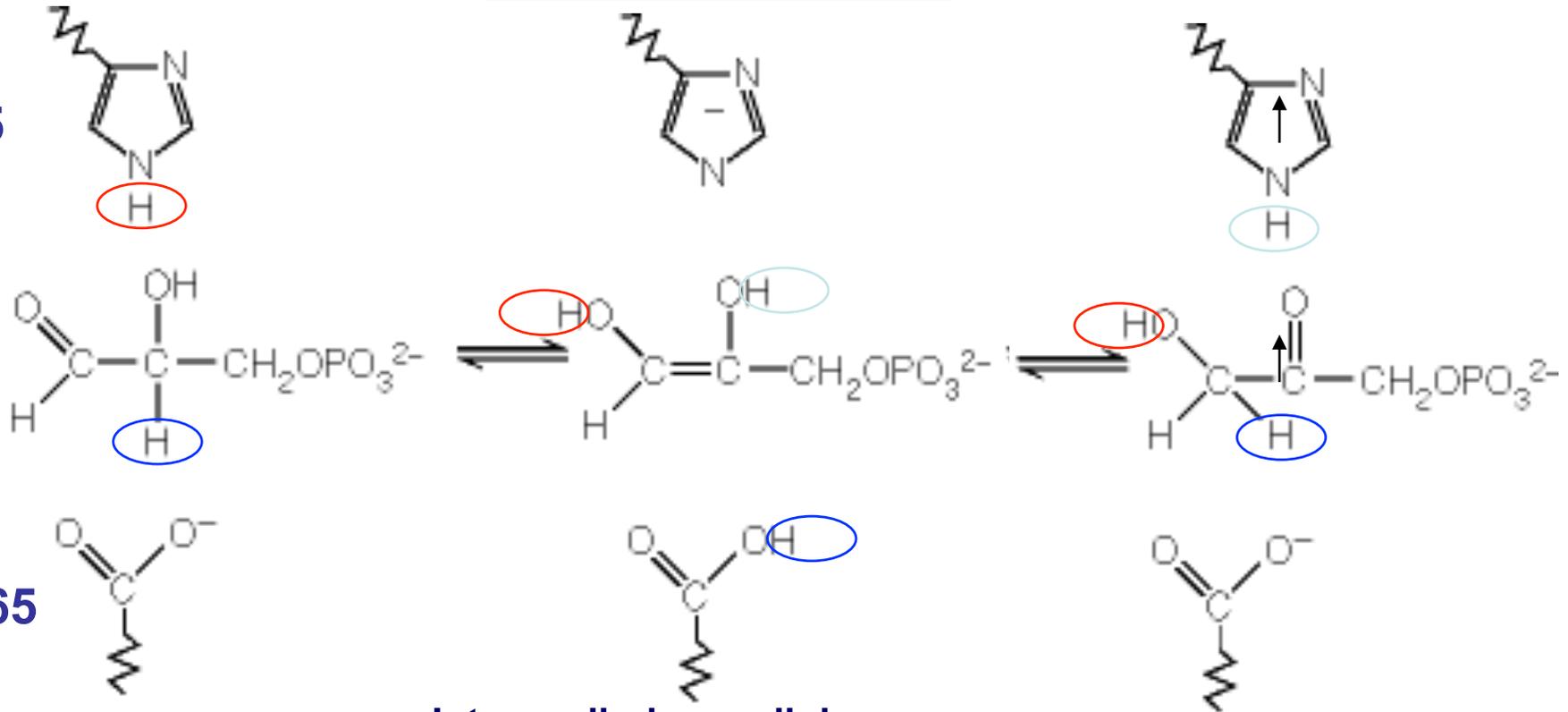
Grupos funcionales de aminoácidos del centro activo participan en el proceso catalítico como donadores o aceptores de H^+

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

Catálisis ácido-base

Triosa fosfato isomerasa

His 95



Glu 165

G3P se une al centro activo

Intermediario enediol, se forma por transferencia de un protón de C2 al Glu 165 y un protón de His 95 al carbonilo

DHAP unida al centro activo



Muchos enzimas requieren cofactores para su actividad

Apoenzima + Cofactor = Holoenzima

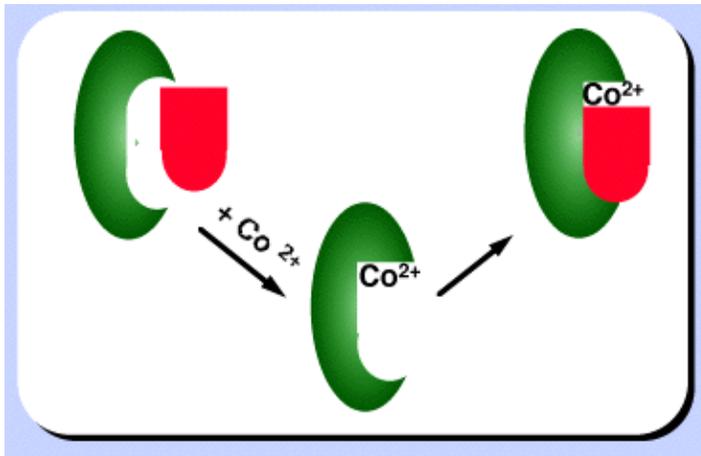
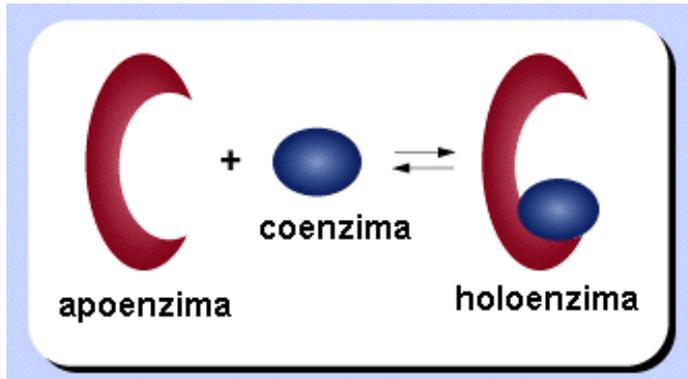
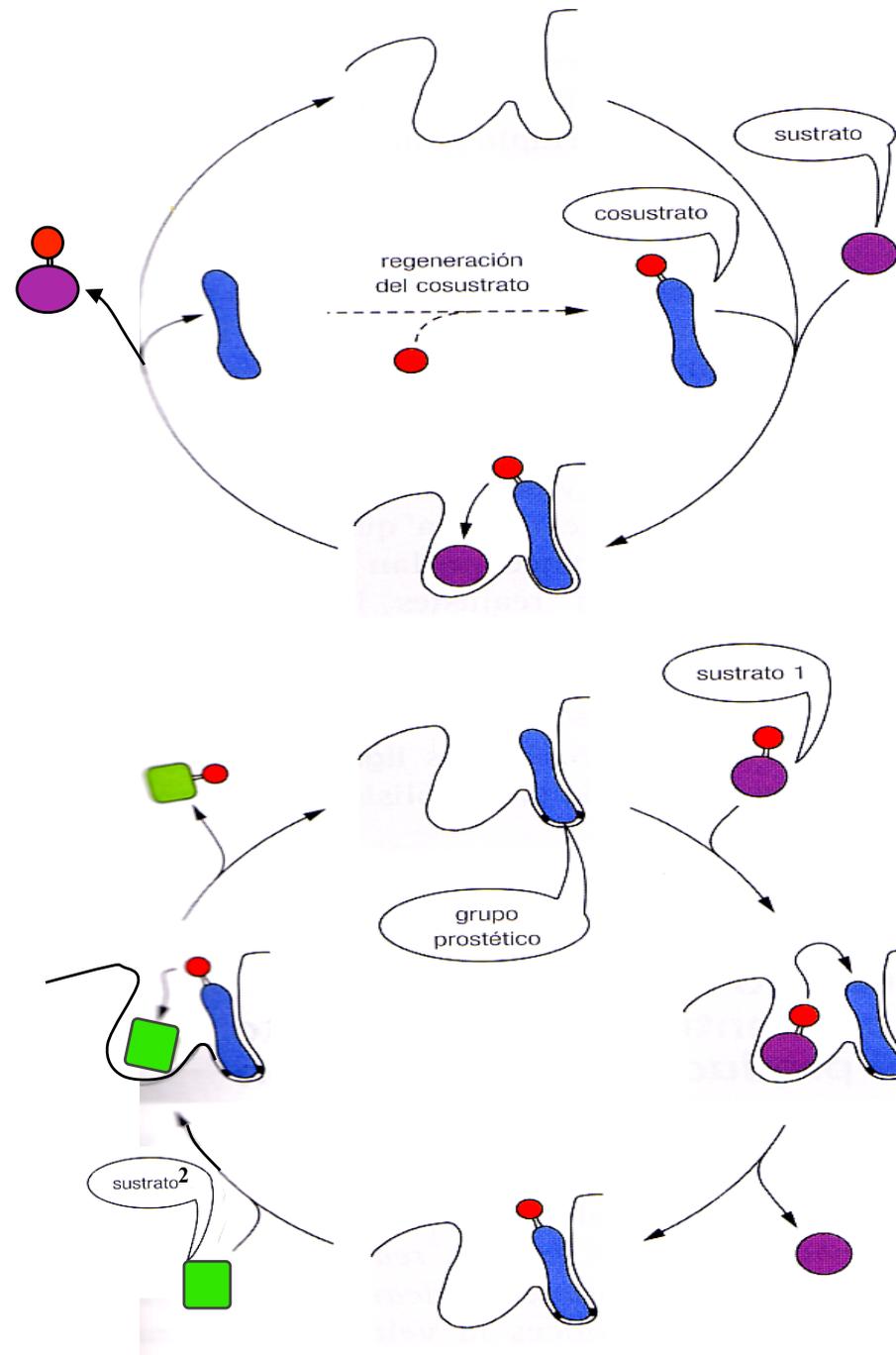


TABLA 8.2 Cofactores de enzimas

Cofactor	Enzima
Coenzima	
Tiamina pirofosfato	Piruvato deshidrogenasa
Flavina adenina nucleótido (FAD)	Monoamino oxidasa
Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	Lactato deshidrogenasa
Piridoxal fosfato	Glucógeno fosforilasa
Coenzima A (CoA)	Acetil-CoA carboxilasa
Biotina	Piruvato carboxilasa
5'-Desoxiadenosil-cobalamina	Metilmalonil-mutasa
Tetrahidrofolato	Timidilato sintasa
Metal	
Zn^{2+}	Anhidrasa carbónica
Zn^{2+}	Carboxipeptidasa
Mg^{2+}	<i>EcoRV</i>
Mg^{2+}	Hexoquinasa
Ni^{2+}	Ureasa
Mo	Nitrato reductasa
Se	Glutación peroxidasa
Mn^{2+}	Superóxido dismutasa
K^{+}	Propionil-CoA carboxilasa

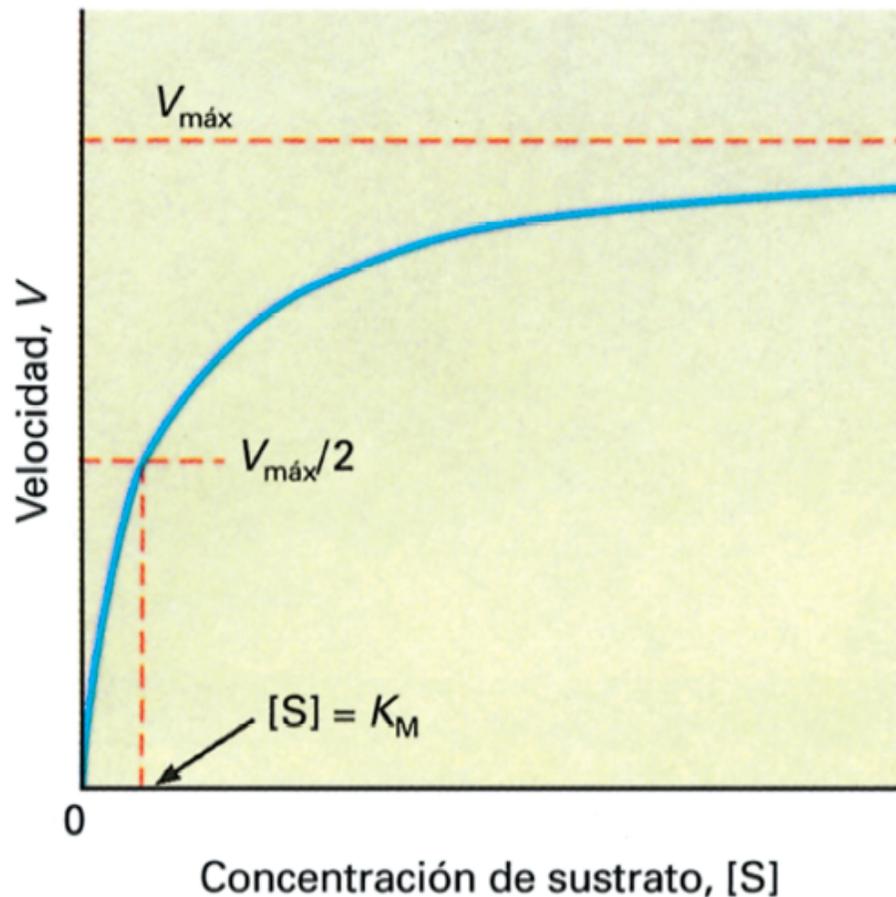
Tipos de coenzimas



Cinética de las reacciones enzimáticas

Las reacciones enzimáticas siguen los principios generales de la cinética de las reacciones químicas, pero además muestran un rasgo característico: la **SATURACIÓN POR SUSTRATO**

V_0 = Velocidad inicial (nº moles P formados/s)



Teoría de la acción enzimática

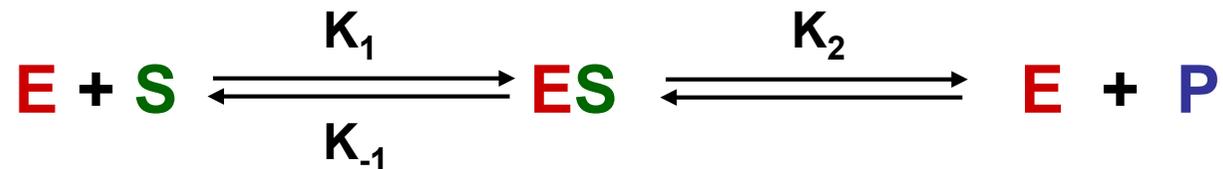


L. Michaelis

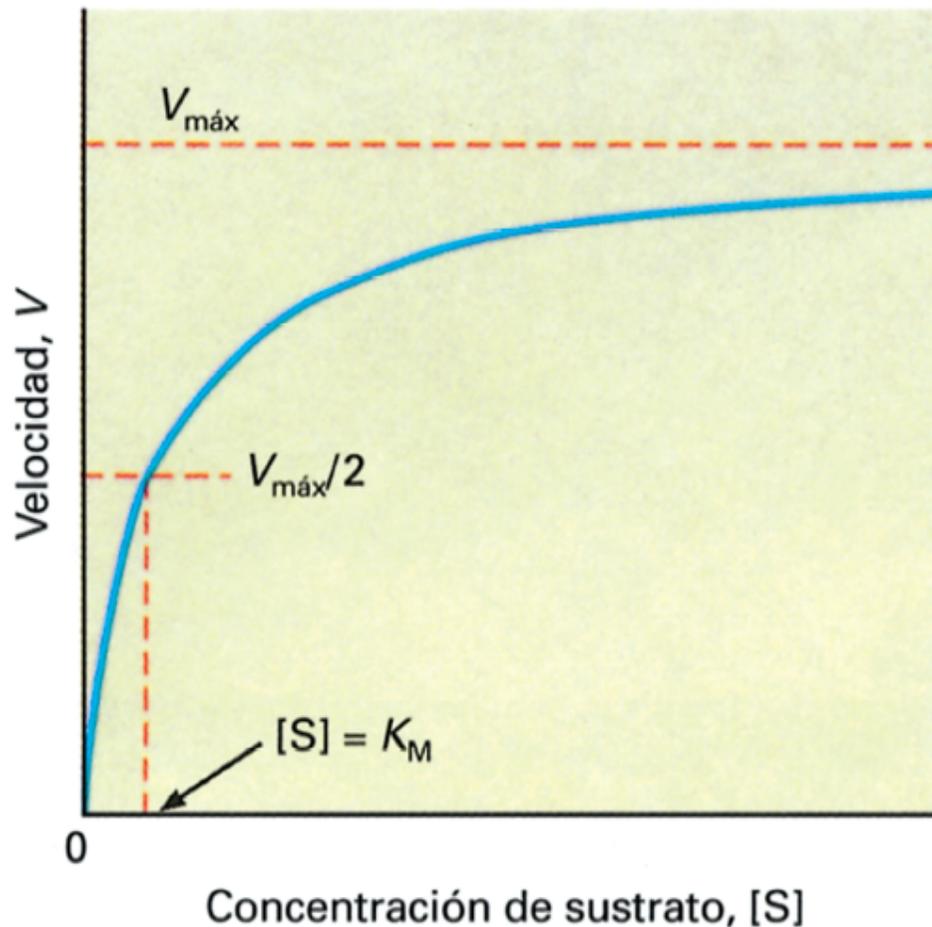
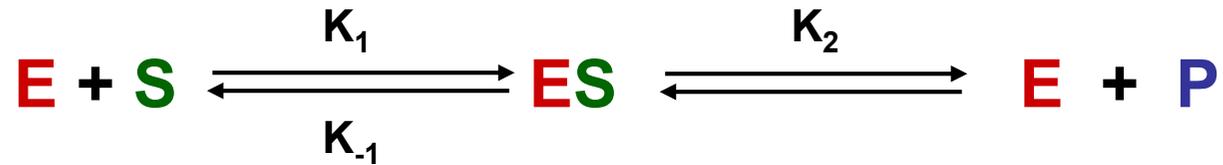


M. Menten

- En 1913 propusieron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de las enzimas



Ecuación de Michaelis-Menten

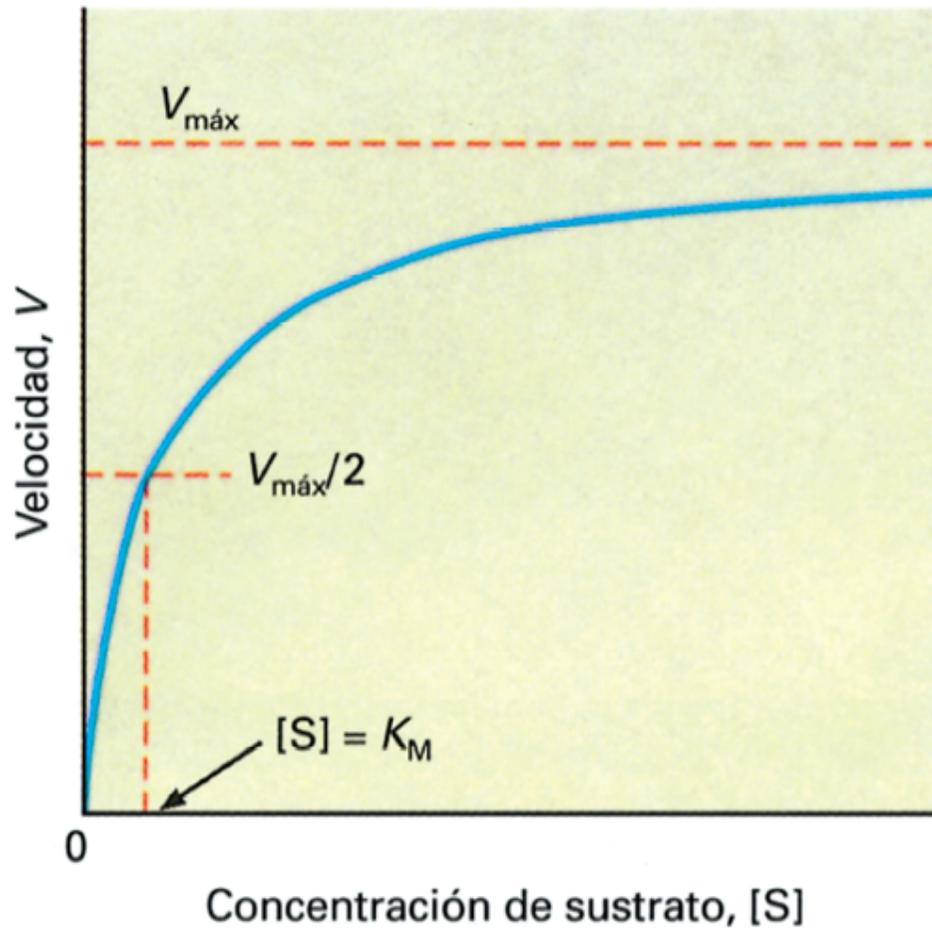


- Bajo condiciones de saturación, toda la enzima interviene en la formación del complejo ES
- Cuando toda la enzima se encuentra en forma de complejo ES, la velocidad de la reacción es la máxima posible (V_{máx})
- El complejo ES se encuentra en estado estacionario

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

Ecuación de Michaelis-Menten

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



$$[S] \ll K_m$$
$$V_o = \frac{V_{\text{máx}}}{K_m} [S]$$

$$[S] \gg K_m$$

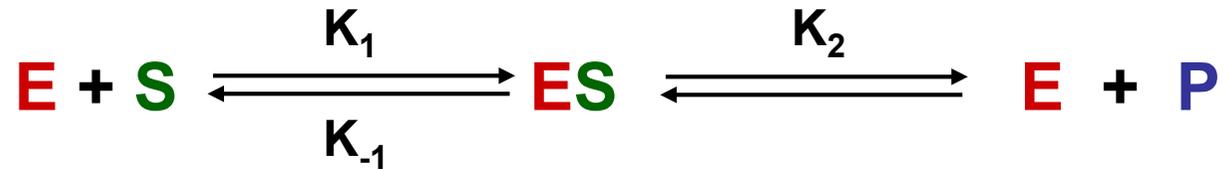
$$V_o = V_{\text{máx}}$$

$$[S] = K_m$$

$$V_o = \frac{1}{2} V_{\text{máx}}$$

K_m : constante de Michaelis

K_m : concentración de sustrato a la cual la velocidad de la reacción es $\frac{1}{2} V_{\max}$



$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad \text{Si } k_2 \ll k_{-1} \quad K_m = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

- K_m índice de afinidad

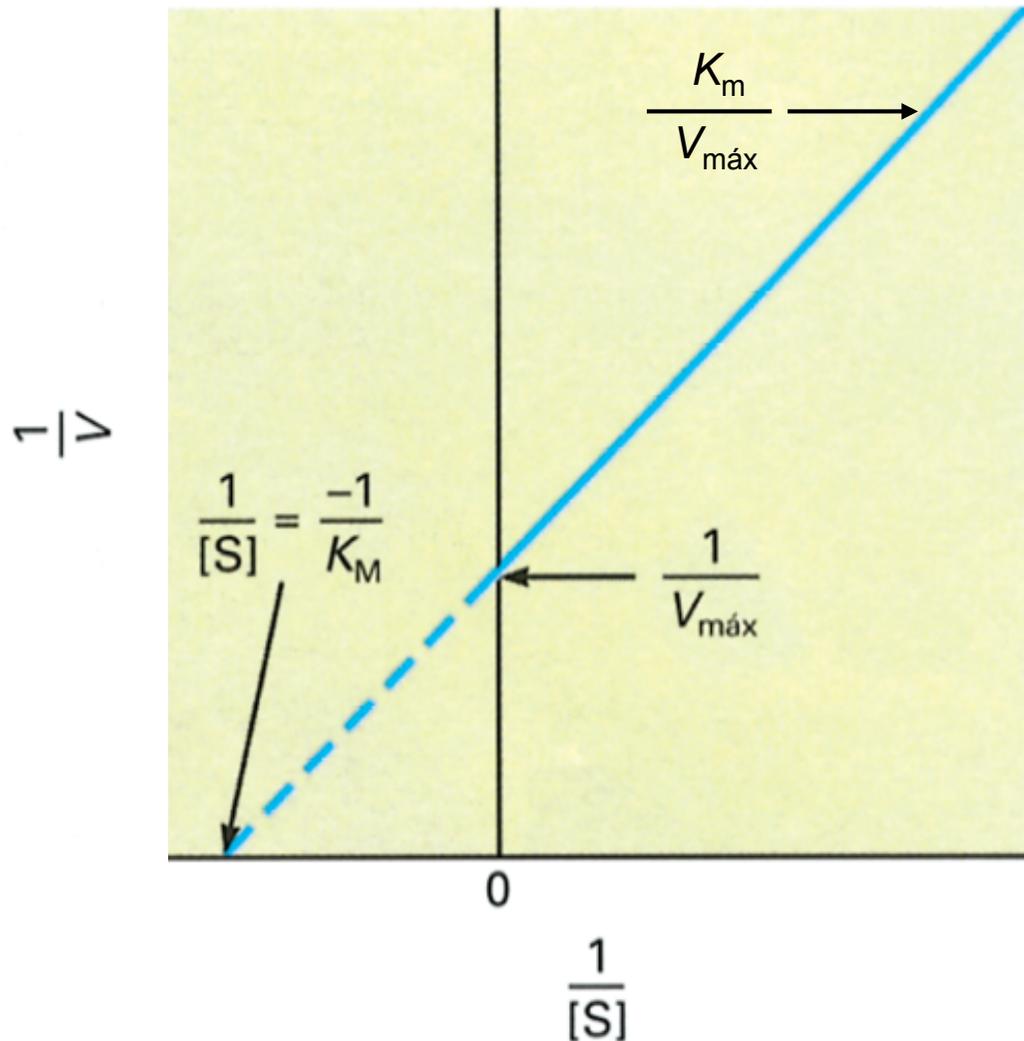
K_m alta \Rightarrow poca afinidad $\Rightarrow k_{-1} > k_1$

K_m baja \Rightarrow alta afinidad $\Rightarrow k_{-1} < k_1$

- Valores de K_m próximos a las [S] fisiológicas

Cálculo de K_m y $V_{m\acute{a}x}$ por ecuación de Lineweaver-Burk

Dobles recíprocos de ecuación de Michaelis-Menten



$$V_o = V_{m\acute{a}x} \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

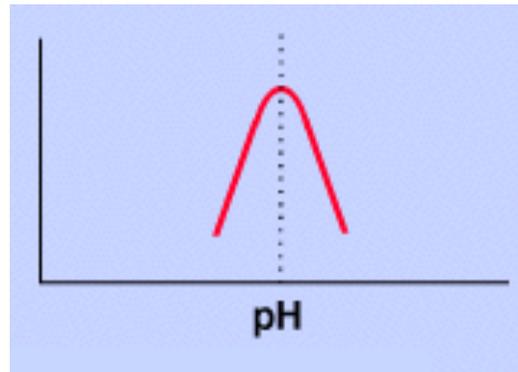
$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m + [S]}{V_{m\acute{a}x} [S]}$$

$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

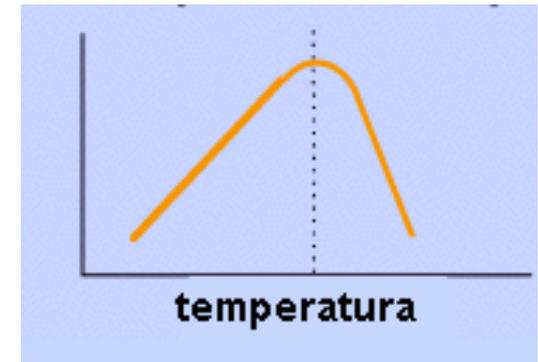
$$y = a x + b$$

Factores que modifican la actividad enzimatica

❖ pH



❖ Temperatura



❖ Inhibidores

Inhibición irreversible

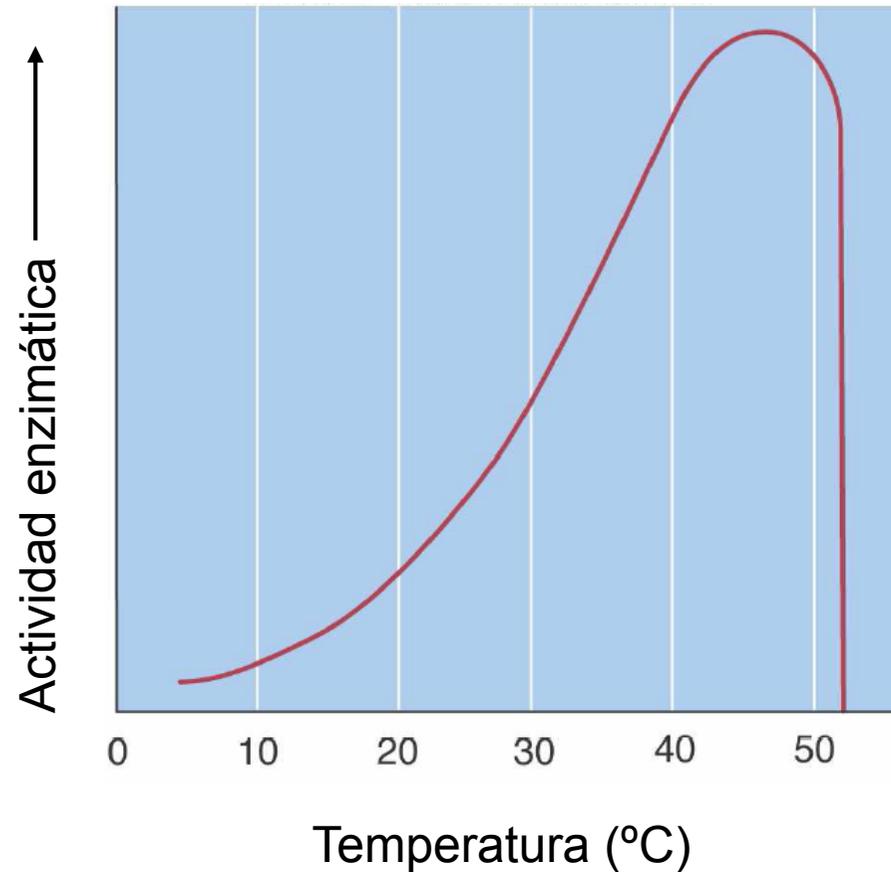
Inhibición reversible

Competitiva

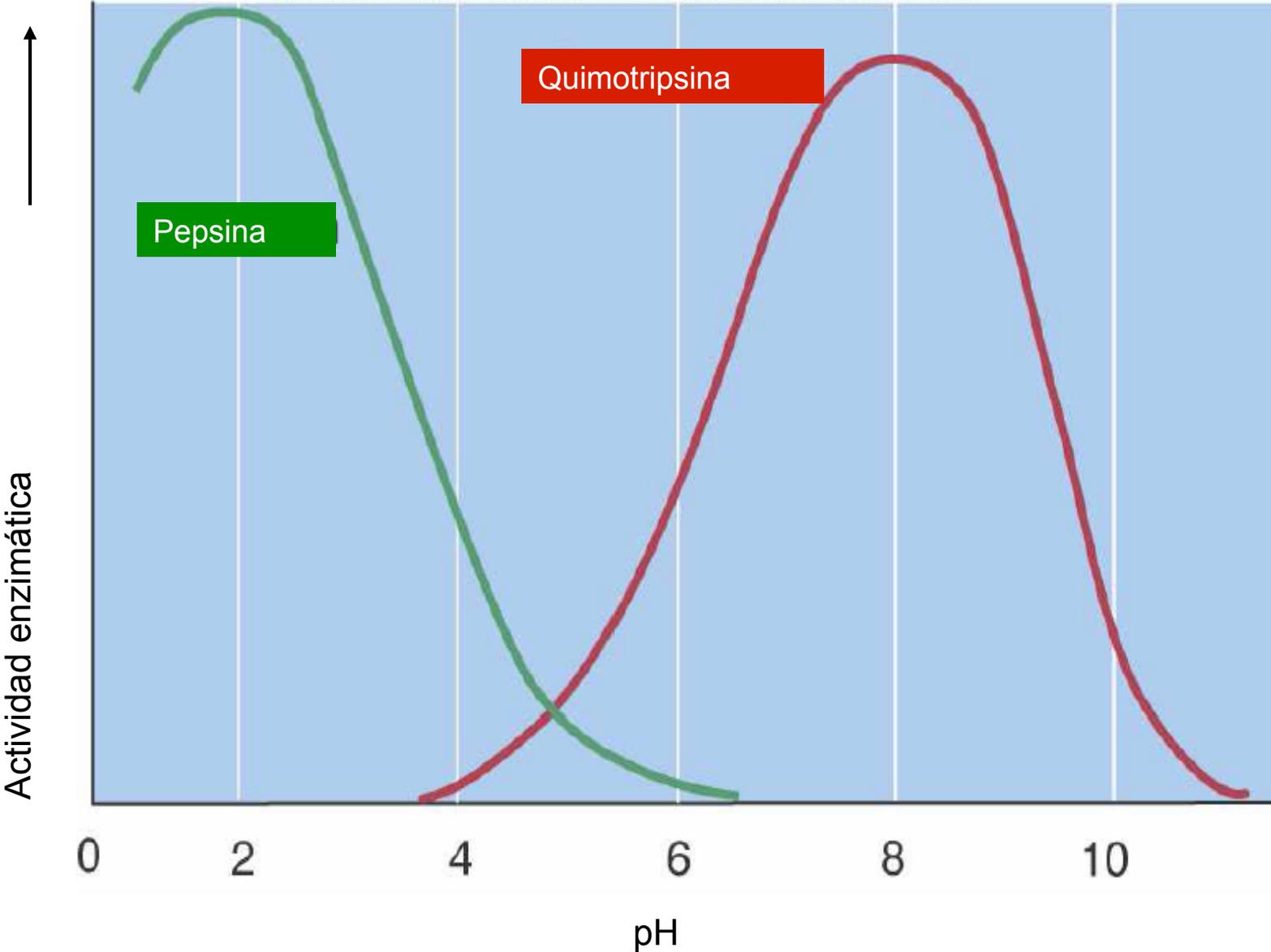
No competitiva

Efecto de la temperatura

- Las enzimas poseen una temperatura óptima a la cual la enzima presenta máxima eficiencia catalítica.
- Existe un intervalo en el cual son estables.

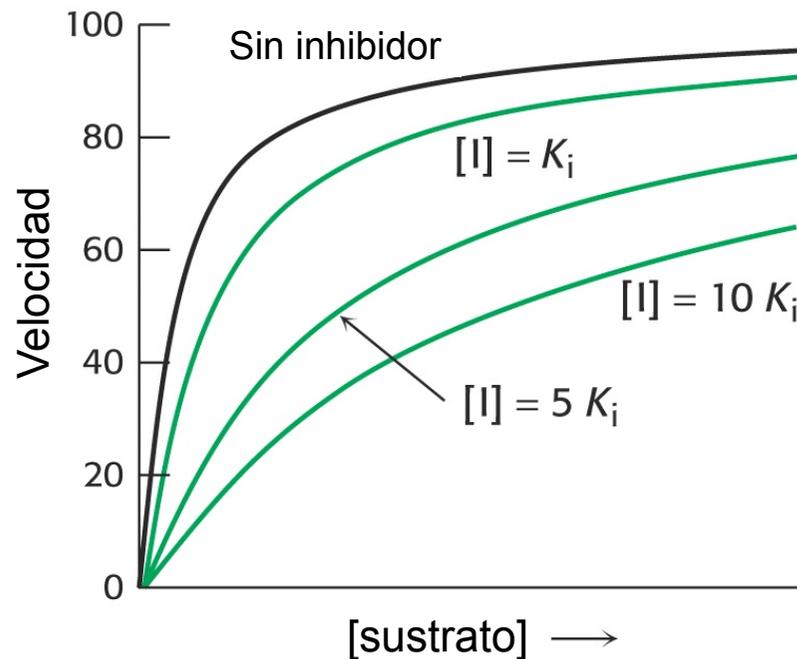
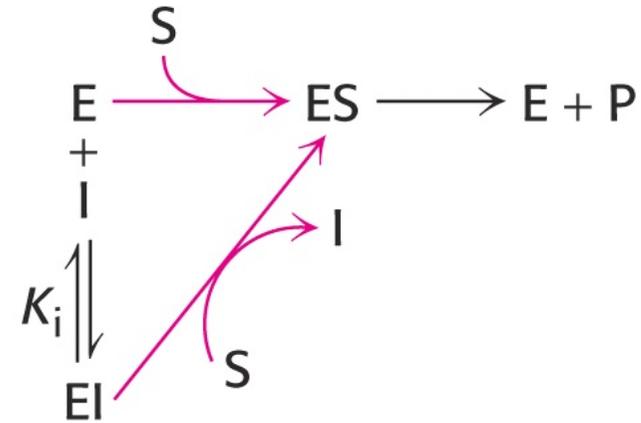
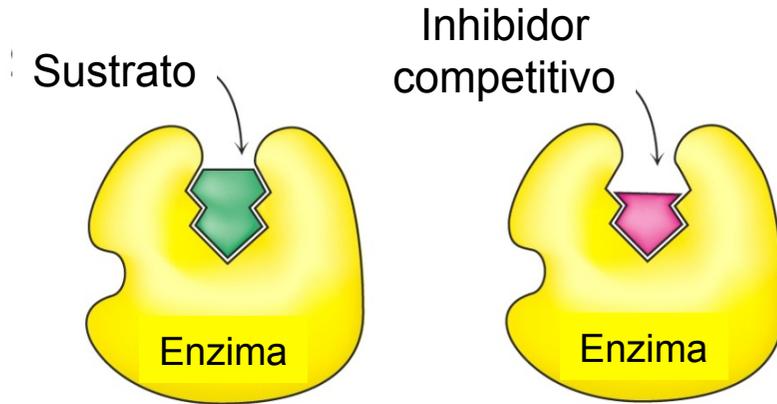


Efecto del pH



Inhibidores competitivos

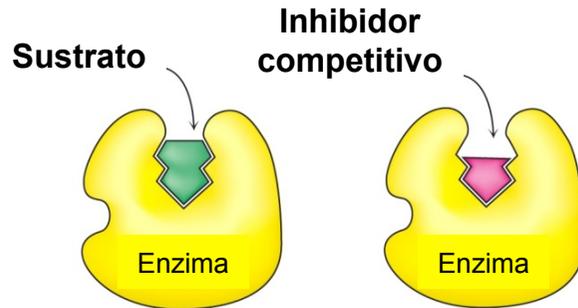
Unión del inhibidor al centro activo del enzima, compite con el sustrato



$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

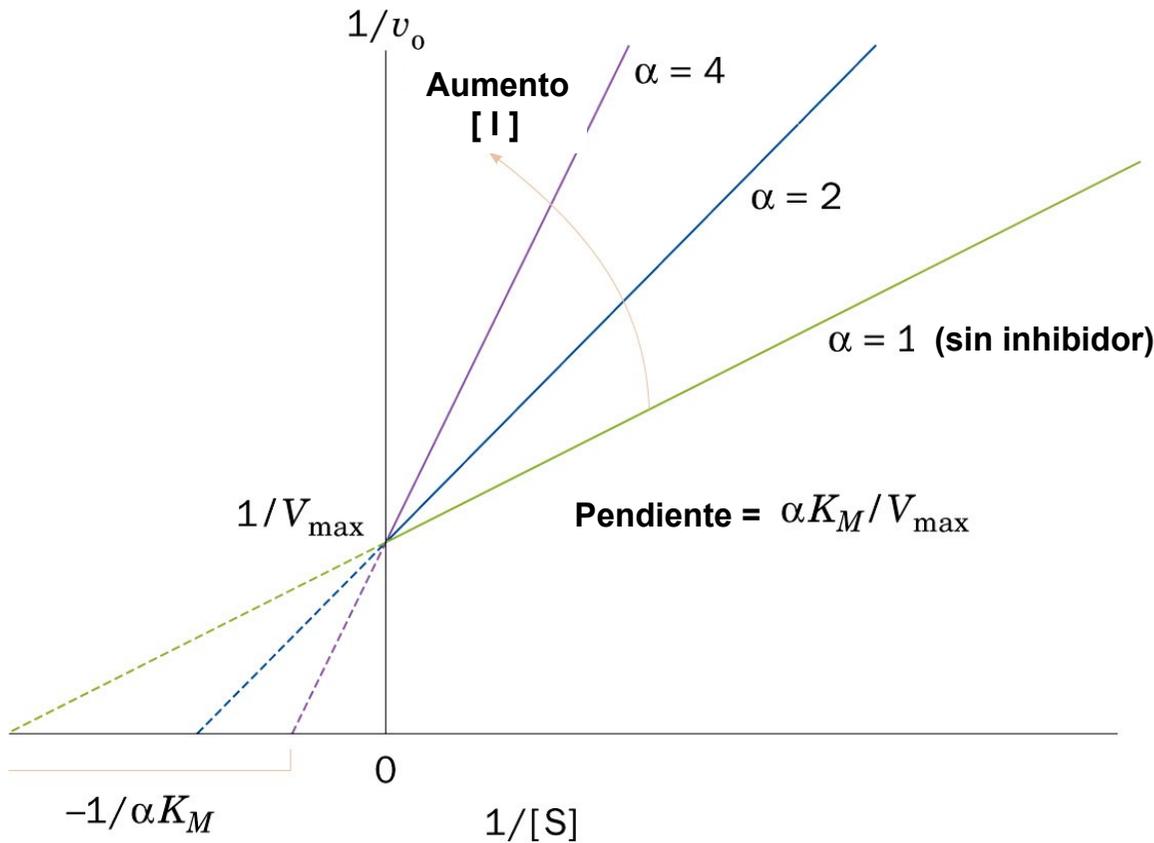
$$K_m^{ap} = \alpha K_m$$

Inhibición reversible competitiva



$$K_m^{ap} = \alpha K_m$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

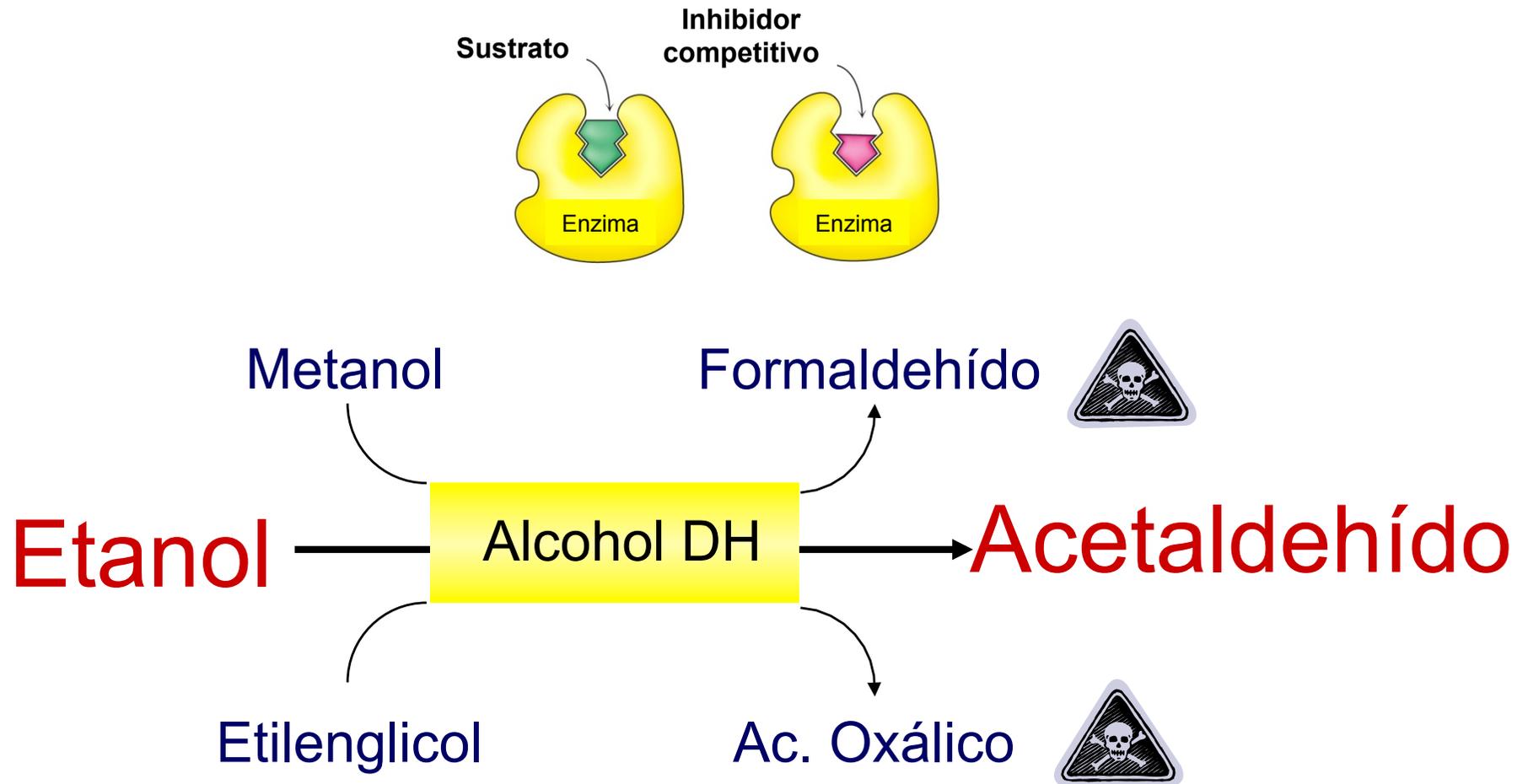


$$K_m^{ap} = \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) K_m$$

Aumenta K_m

= $V_{m\acute{a}x}$

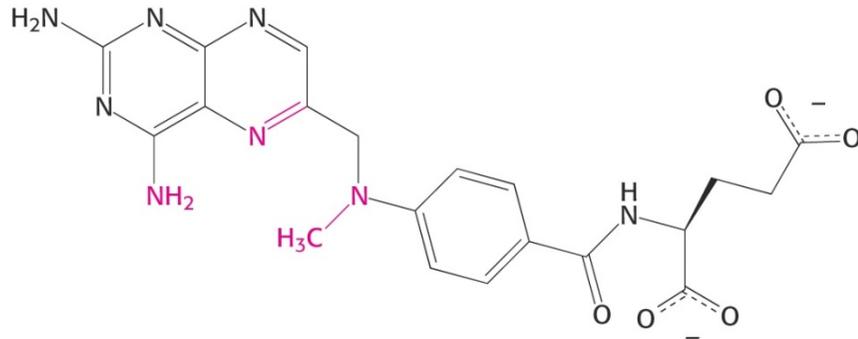
Ejemplos de inhibidores competitivos



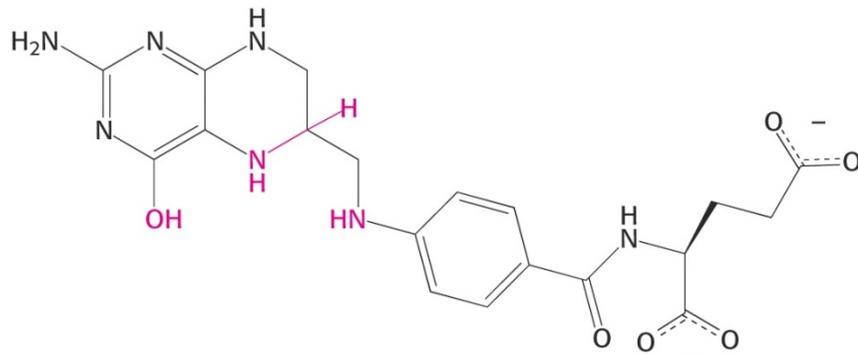
La intoxicación con etilenglicol o metanol se trata con etanol

Ejemplos de inhibidores competitivos

Quimioterapéuticos: metotrexato



Metotrexato



Tetrahidrofolato

- Inhibe síntesis de DNA
- Compite por la dihidrofolato reductasa

Agentes antibacterianos: Sulfamidas

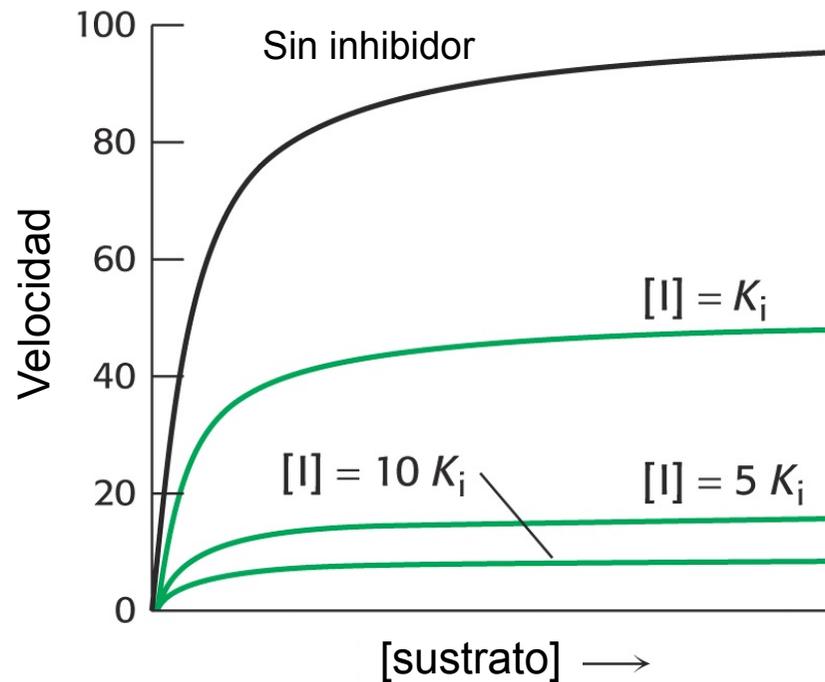
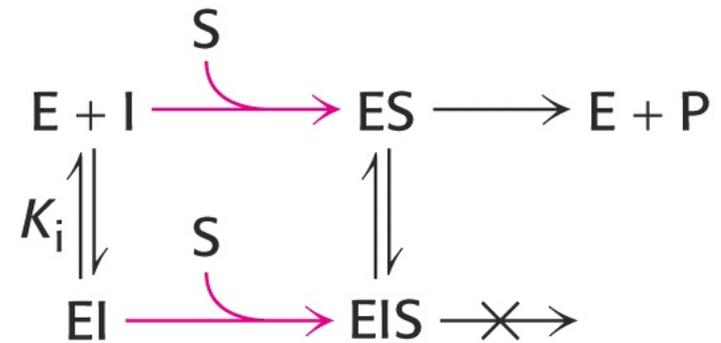
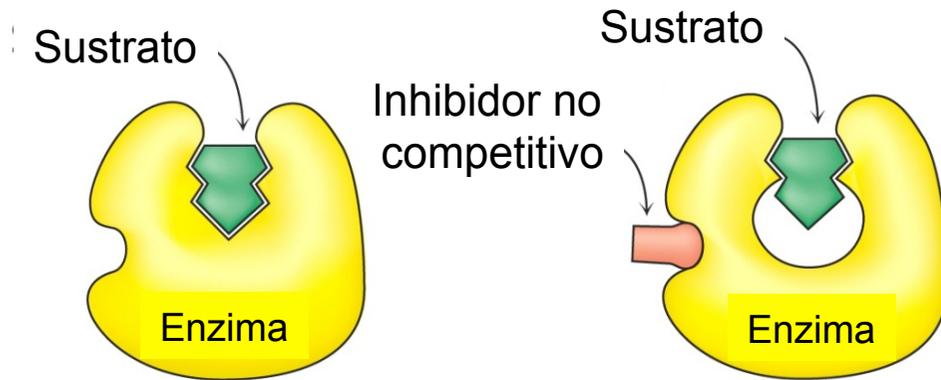
- Compiten con el p-amino-benzoico, necesario para la síntesis de DNA de bacterias.

Estatinas

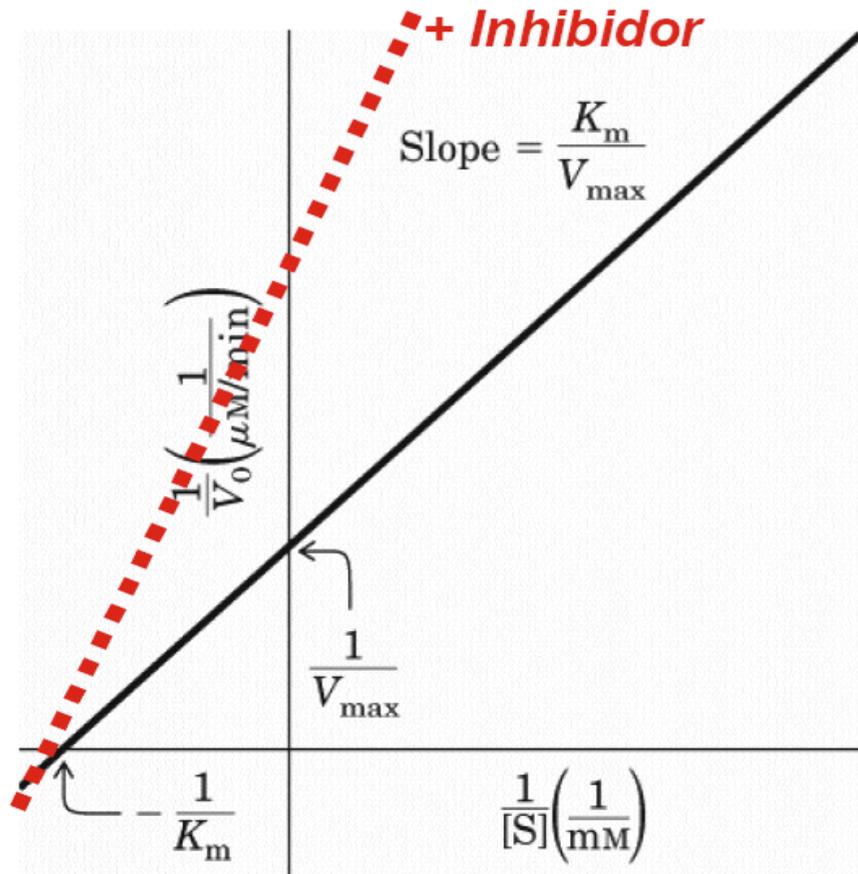
- Inhiben HMG-CoA reductasa, enzima limitante síntesis de colesterol.

Inhibición reversible no competitiva

Unión del inhibidor a un sitio distinto del centro activo, no compite con el sustrato



Inhibición reversible no competitiva



$$K_m^{ap} = K_m$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$V_{m\acute{a}x}^{ap} = \frac{V_{m\acute{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

Disminuye $V_{m\acute{a}x}$

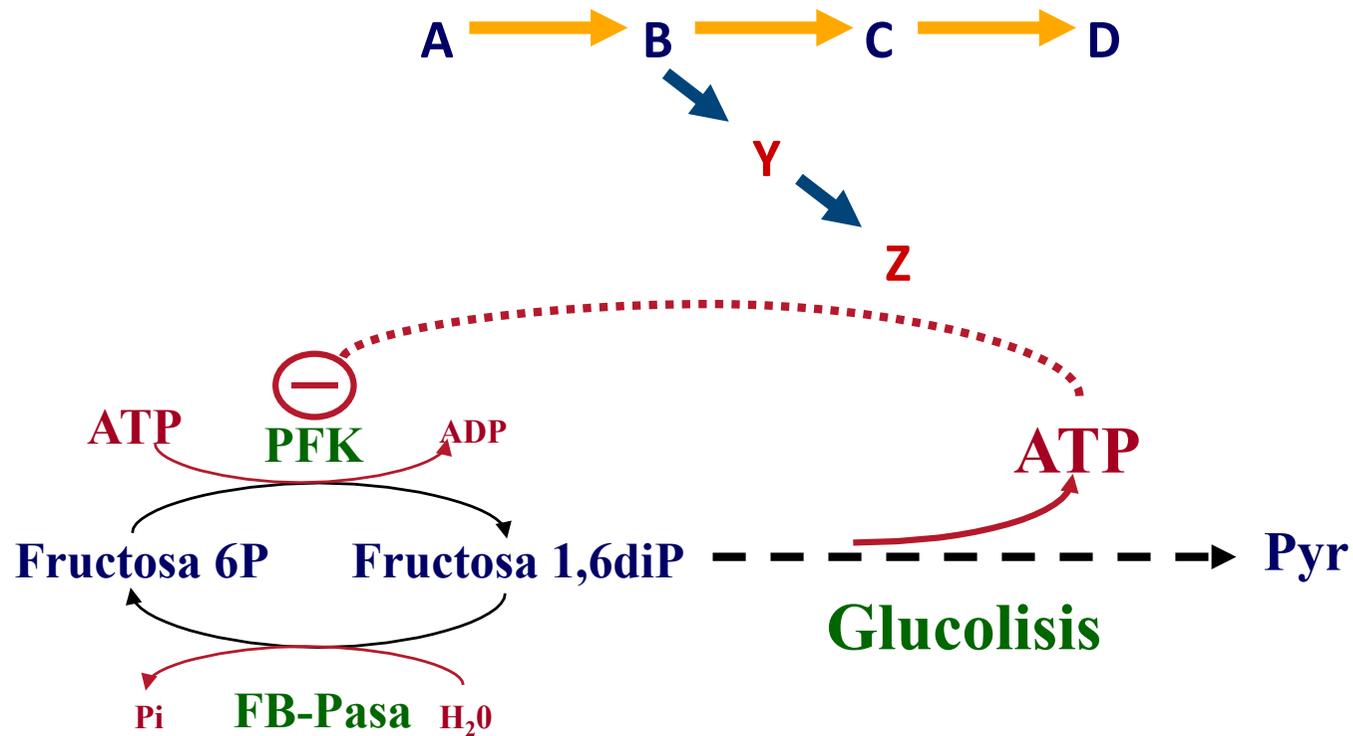
$$= K_m$$

Inhibición irreversible

- Reaccionan con un grupo químico de la enzima, modificándola covalentemente.
- Por lo general son altamente tóxicos. Casi todos los inhibidores enzimáticos irreversibles son sustancias tóxicas (naturales o sintéticas).
 - **Penicilina inhibe la síntesis de la pared bacteriana**
 - **Aspirina inhibe la síntesis de PG**
 - **Gases nerviosos: diisopropil fluorofosfato (DIFP), inhiben neurotransmisores**
 - **Hg²⁺, Pb²⁺, CN⁻, As**

Regulación Enzimática

- Las reacciones enzimáticas están organizadas en **rutas metabólicas**



Reacción limitante: Determina la velocidad de la ruta.
Catalizada por enzimas reguladoras (**Alostericas**)
V_{max} mas baja

Regulación enzimática

- **Regulación por cambios en la cantidad de enzima**

- Síntesis
- Degradación

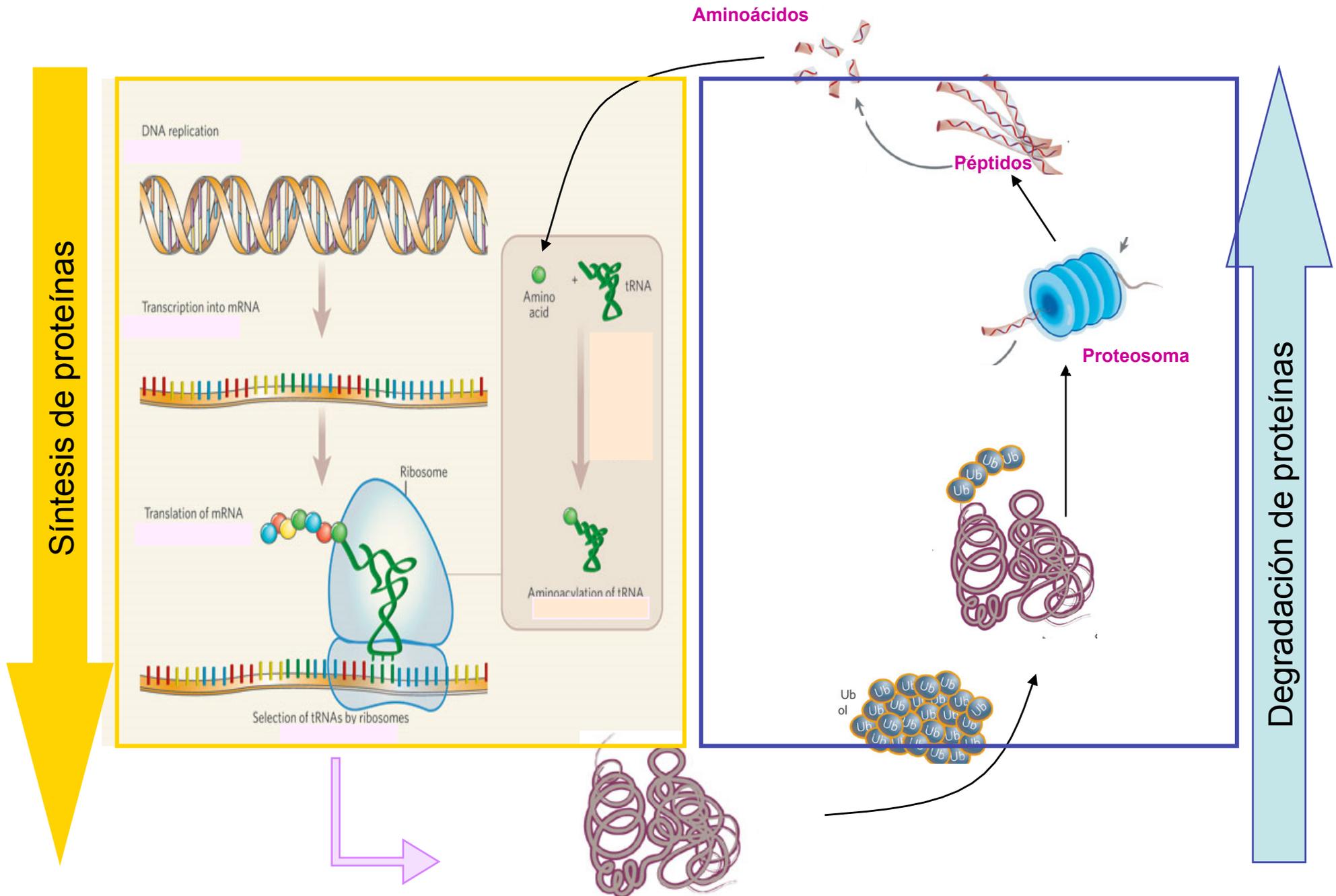
- **Regulación de la eficacia catalítica**

- **Unión de ligandos** {
 - no covalente: Enzimas alostéricas
 - covalente: Fosforilación

- **Rupturas proteolíticas:** zimógenos

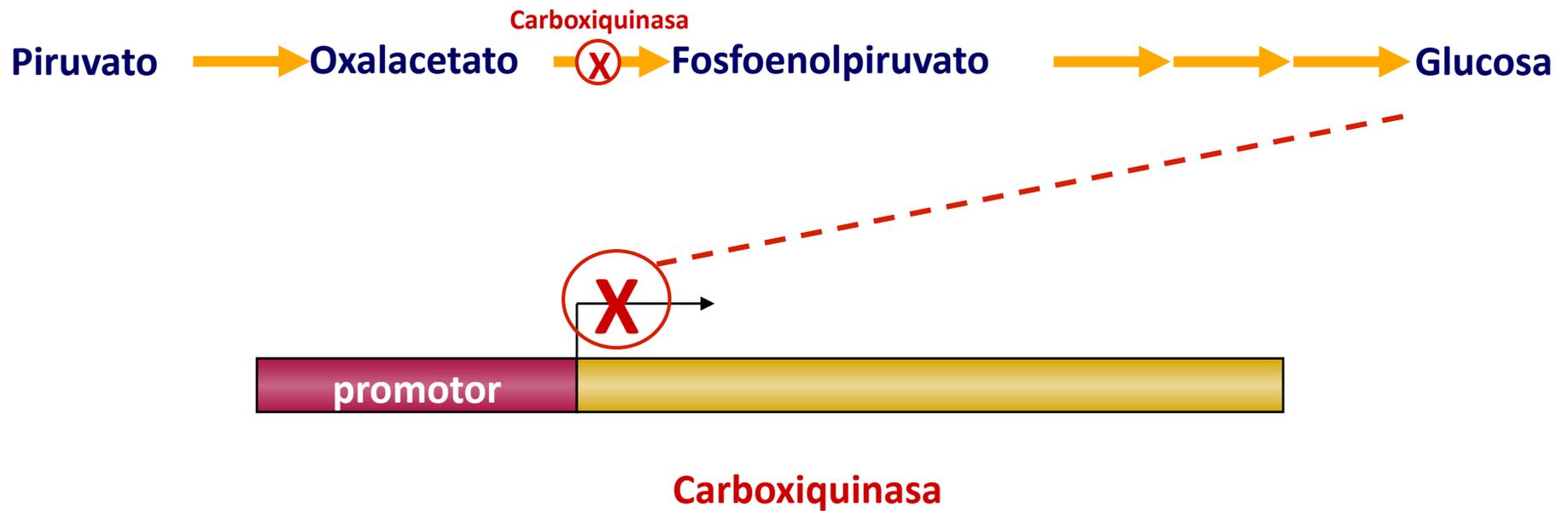
- **Múltiples formas de la enzima:** Isoenzimas, complejos multienzimáticos

Regulación por cambios en la cantidad de enzima



Cambios en la cantidad de la enzima

- Permite control a largo plazo



Regulación enzimática

- **Regulación por cambios en la cantidad de enzima**
 - Síntesis
 - Degradación

- **Regulación de la eficacia catalítica**

- **Unión de ligandos**

no covalente: Enzimas alostéricas

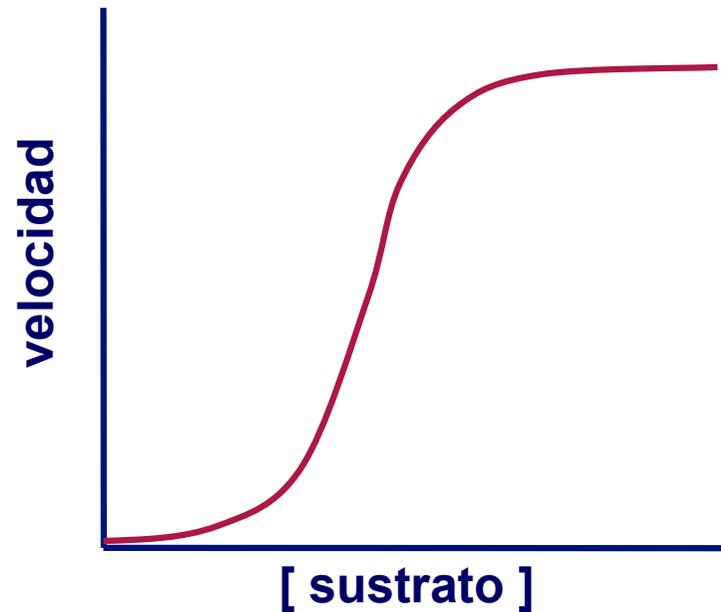
covalente: Fosforilación

- **Rupturas proteolíticas:** zimógenos

- **Múltiples formas de la enzima:** Isoenzimas, complejos multienzimáticos

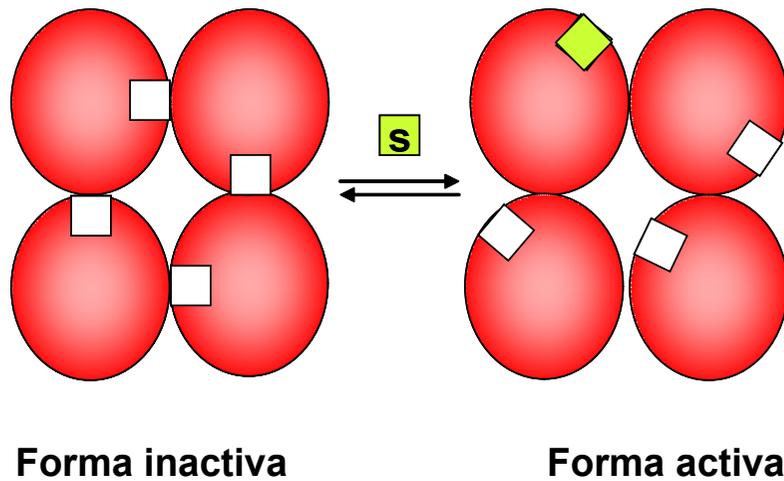
Enzimas alostéricas

- **Enzimas alostéricas:** Alostérico = otro sitio
 - Proteínas con estructura 4^{aria}
 - Más de un centro activo y catalítico
 - Actividad regulada por moduladores alostéricos, unión no covalente
 - Cinéticas sigmoidea
 - Cooperatividad

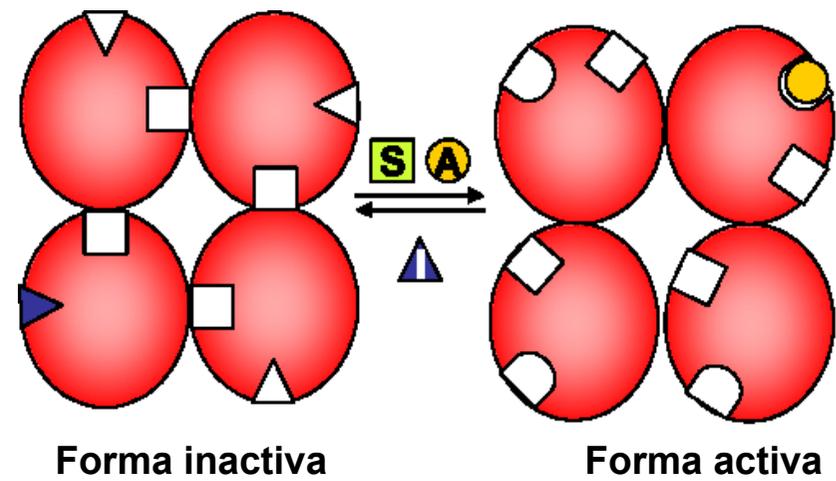


Regulación de la eficacia catalítica: control alostérico

Regulador alostérico: moléculas que se unen a sitios distintos del centro activo y modifican la actividad enzimática



Enzimas homotrópicas
el sustrato actúa como modulador

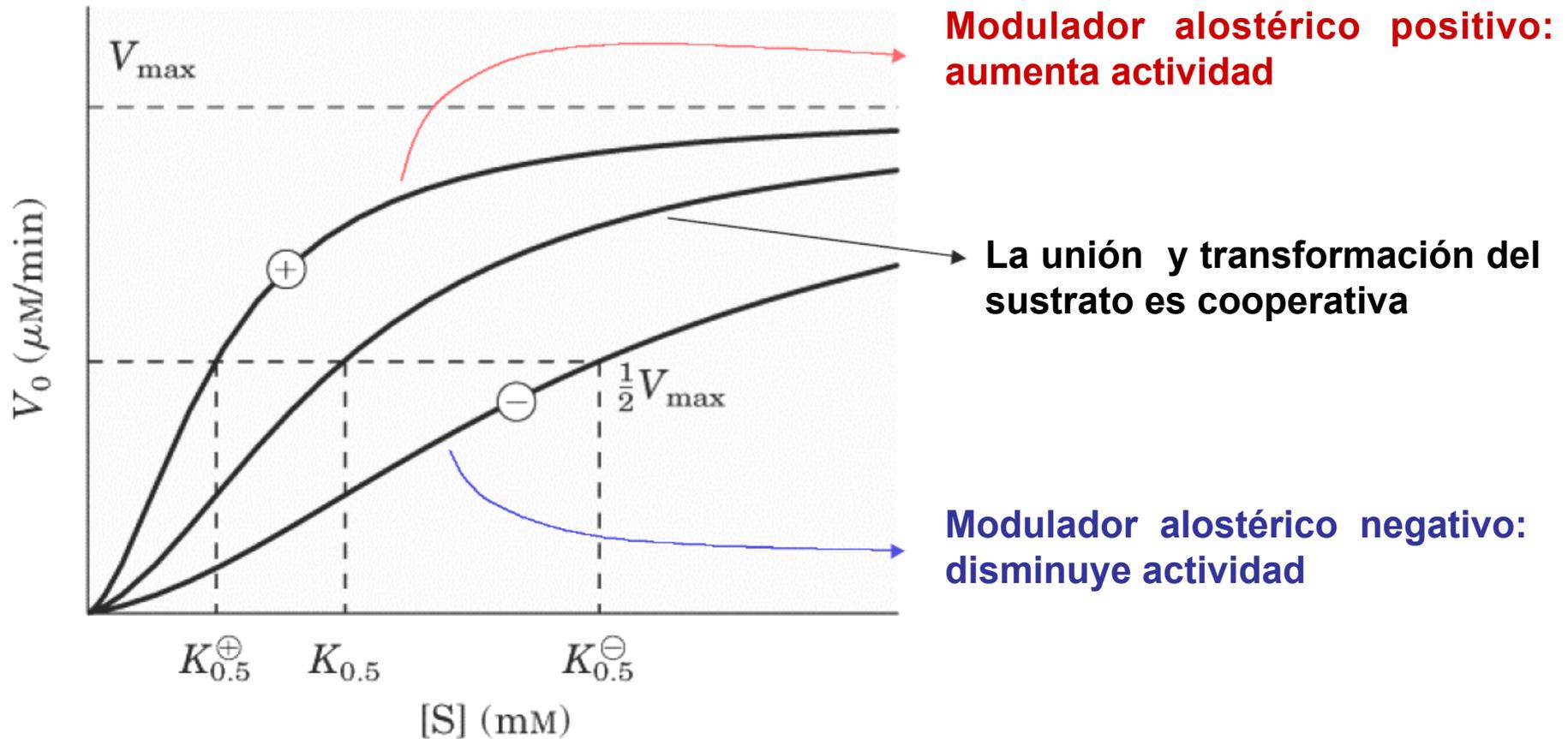


Enzimas heterotrópicas
el modulador es distinto del sustrato

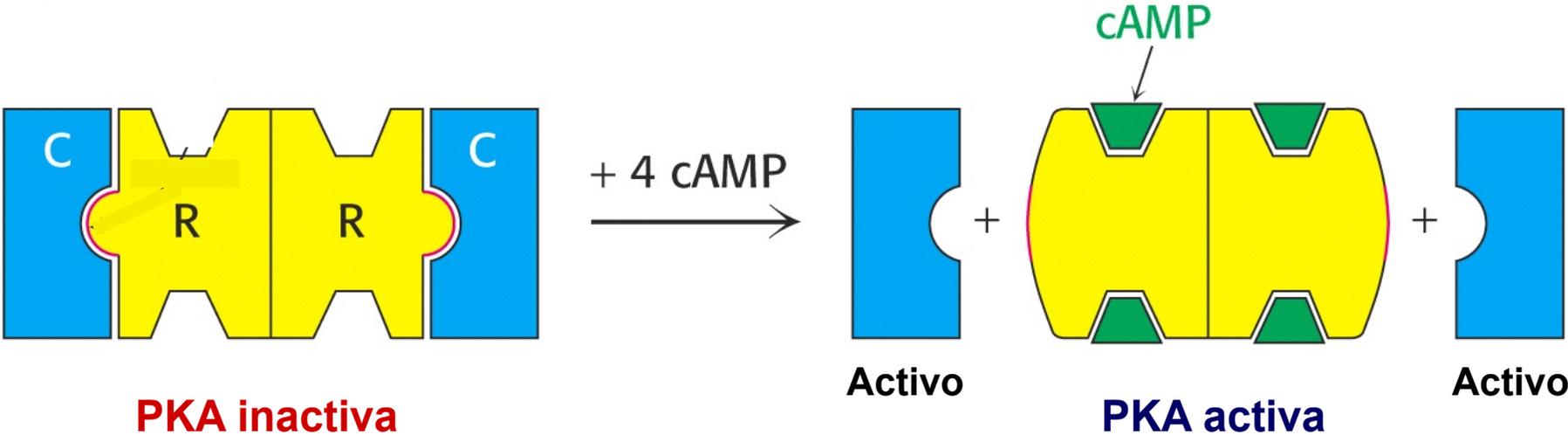
Regulación de la eficacia catalítica: control alostérico

- **Enzimas heterotrópicos**

Al no ser cinética micheliana no se puede usar el término K_m , sino $K_{0,5}$



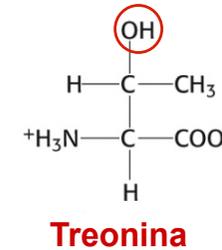
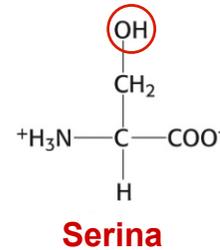
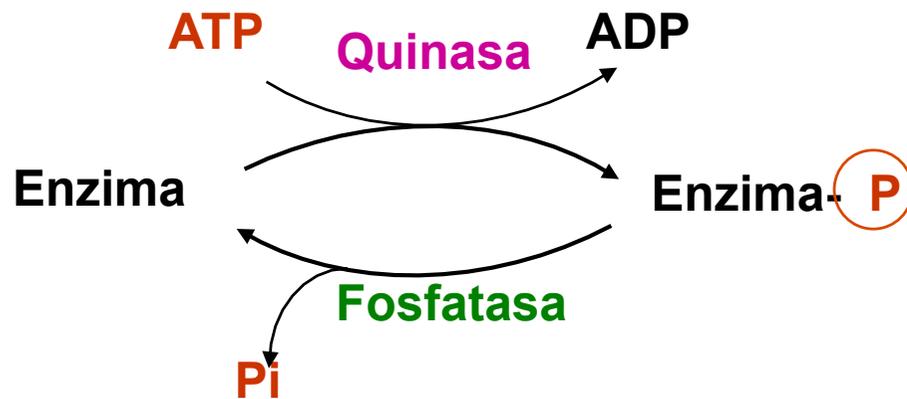
Regulación de la eficacia catalítica: control alostérico



Modificación covalente

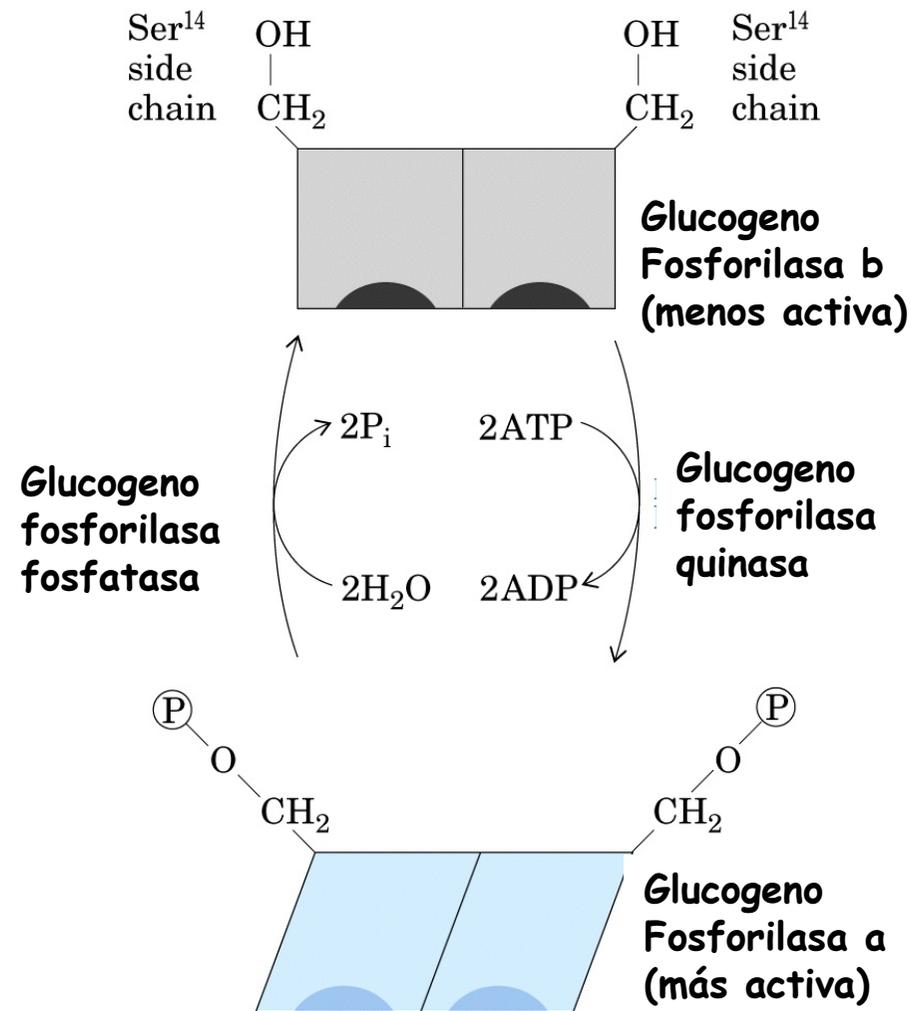
- Unión covalente de ligandos

- Fosforilación/desfosforilación



Modificación covalente

- Unión covalente de ligandos
 - Fosforilación/desfosforilación



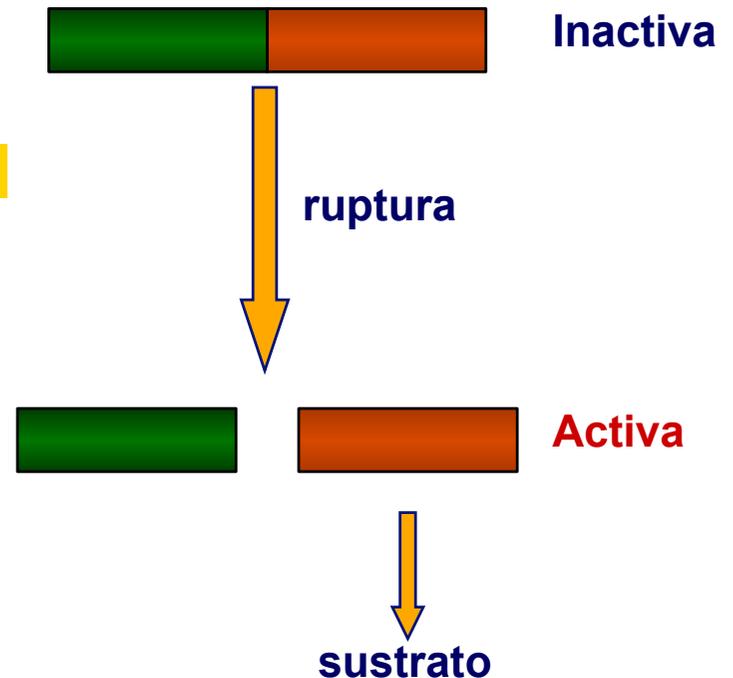
Activación por ruptura proteolítica

Zimógenos o proenzimas (inactivos)

Ruptura enlaces peptídicos (cambio conformacional)

Enzima activa

- No requiere ATP
- Irreversible



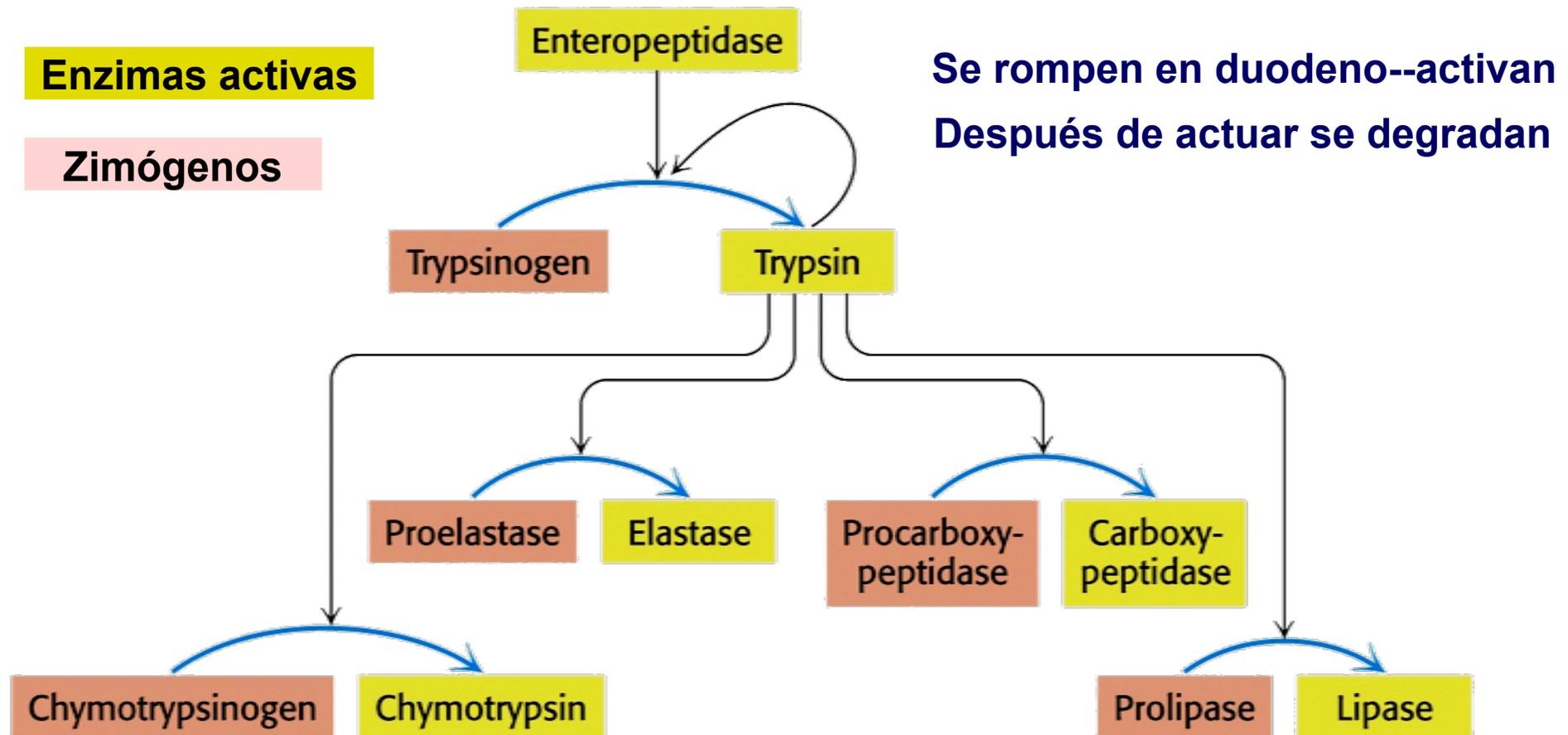
- Enzimas proteolíticas (proteasas) del estómago y páncreas
- Sistema de coagulación de la sangre

Activación por Ruptura Proteolítica: Enzimas Digestivas

- Enzimas proteolíticas (proteasas) del estómago y páncreas



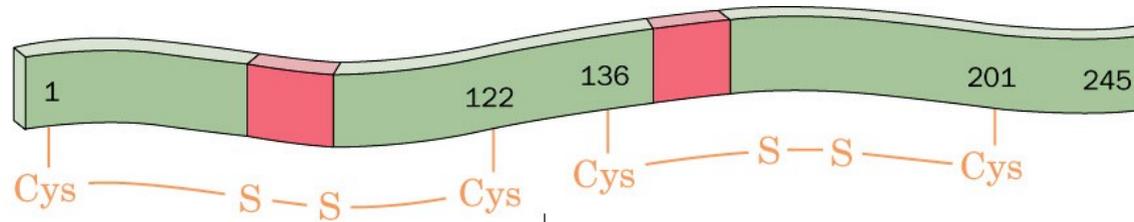
Páncreas: **Tripsinogeno, Quimotripsinogeno, Procarboxipeptidasa (inactivas)**



Activación por ruptura proteolítica

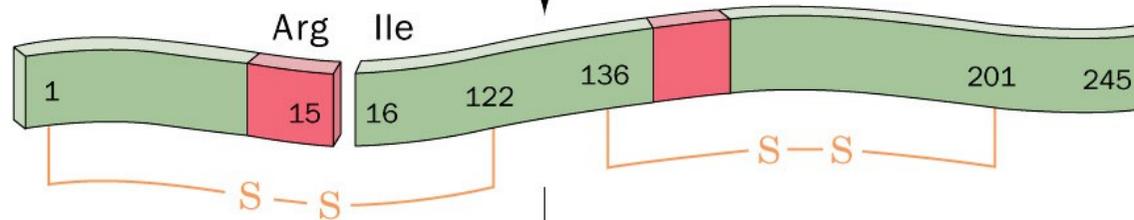
Activación quimiotripsinógeno

Quimotripsinógeno
(inactivo)

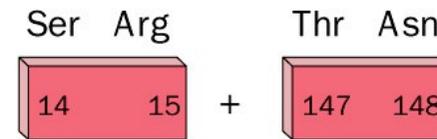


Tripsina

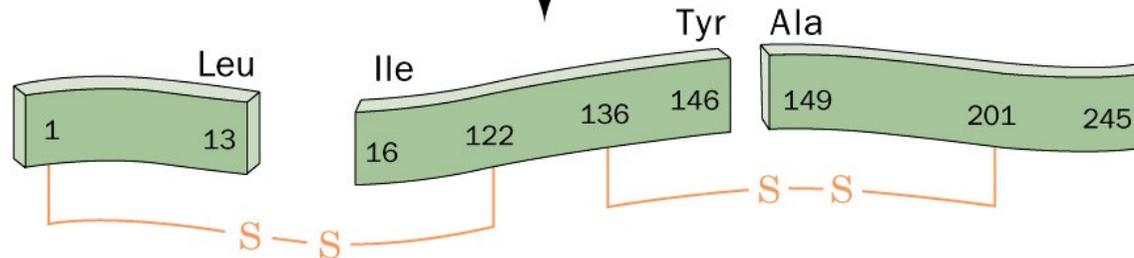
π -quimiotripsina
(activa)



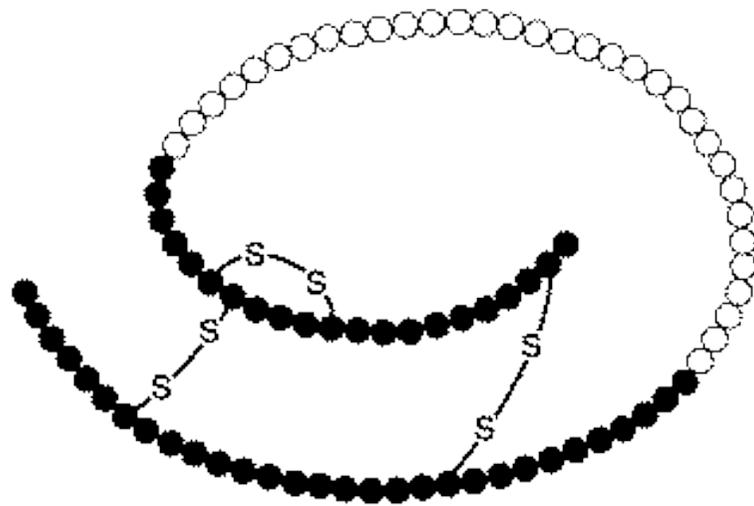
Quimiotripsina



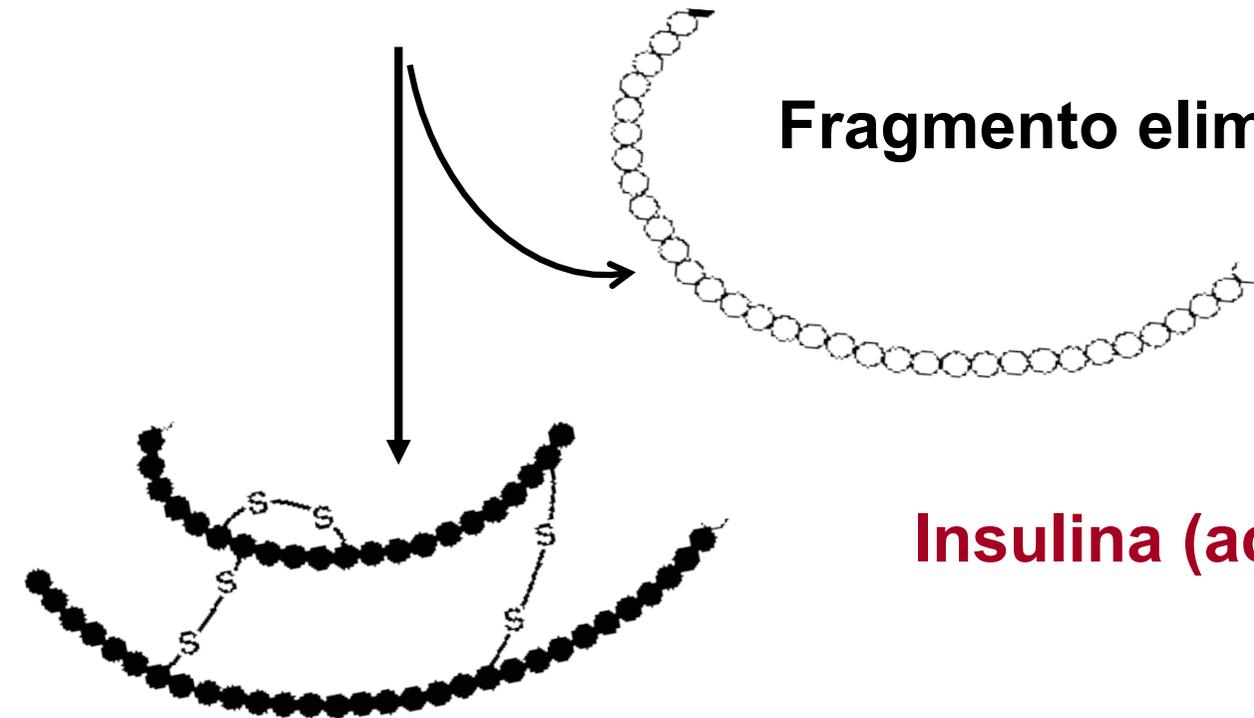
α -quimiotripsina
(activa)



Activación por Ruptura Proteolítica Hormonas Peptídicas



Proinsulina (inactivo)



Fragmento eliminado

Insulina (activa)

Isoenzimas o isozimas

Diferentes formas estructurales de una enzima que catalizan la misma reacción

- Difieren en sus secuencias de aa, en sus parámetros cinéticos y/o propiedades reguladoras
- Juegan un papel importante en la regulación de procesos metabólicos
- Ejemplo: Lactato deshidrogenasa **Piruvato** \longrightarrow **Lactato** (en ausencia de O₂)

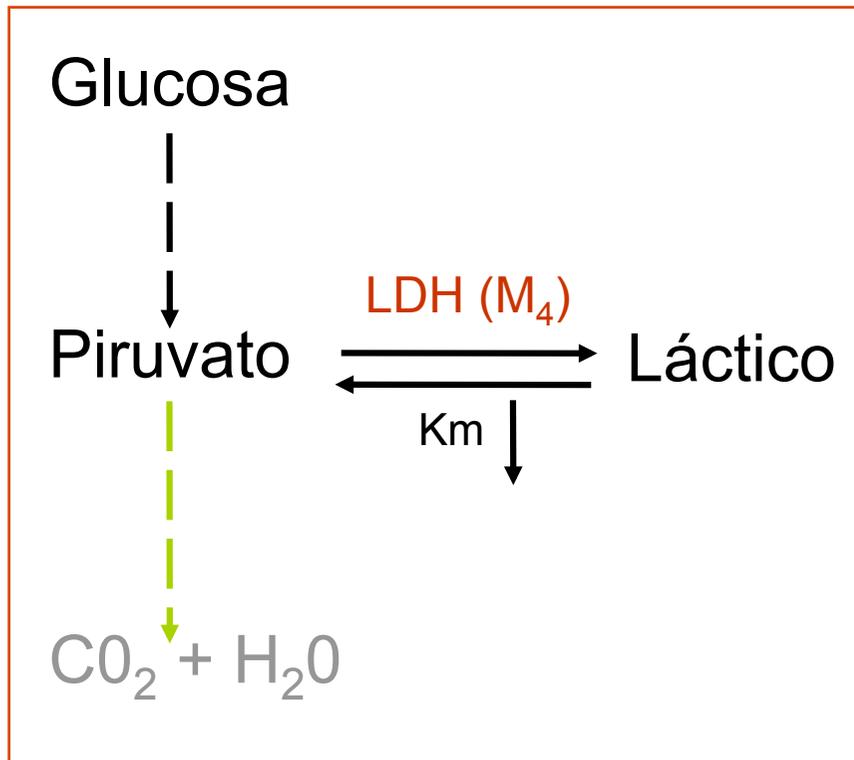
Dos cadenas H y M

	Corazón	Riñón /	Cel. rojas	Cerebro	Leucocitos	Músculo	Hígado
H ₄	████	████	████	████	████	—	—
H ₃ M	████	████	████	████	████	—	—
H ₂ M ₂	—	████	—	████	████	████	—
HM ₃	—	—	—	—	████	—	—
M ₄	—	—	—	—	—	████	████

Isoenzimas o isozimas

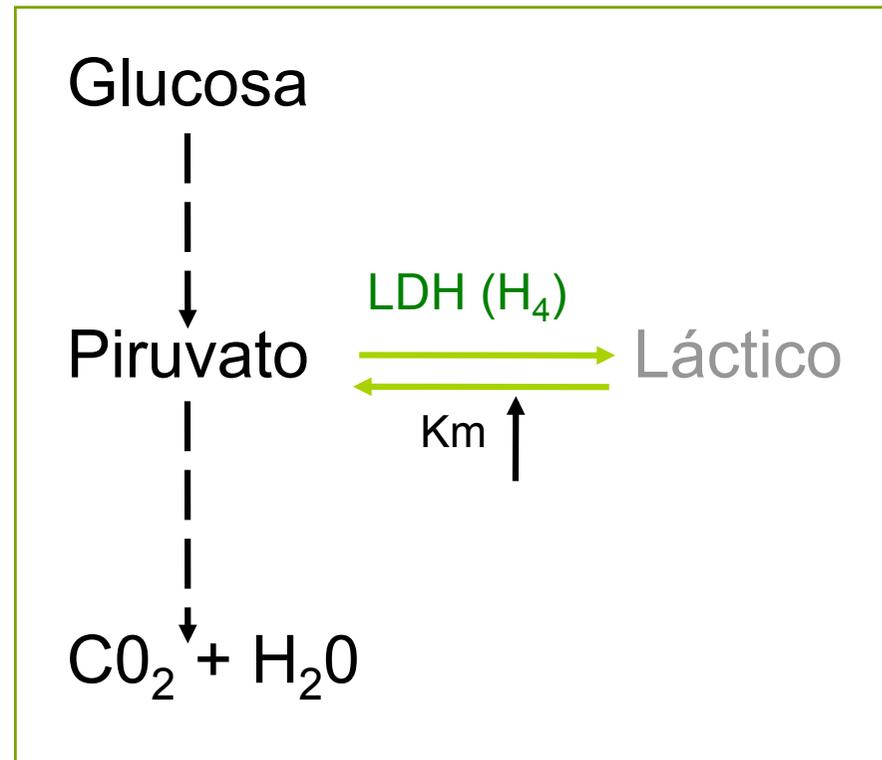
- Aunque catalizan la misma reacción difieren en sus valores de K_m para el piruvato
- El piruvato inhibe alostéricamente H_4 pero no M_4

Músculo



Trabajo anaerobio

Corazón



Trabajo aerobio