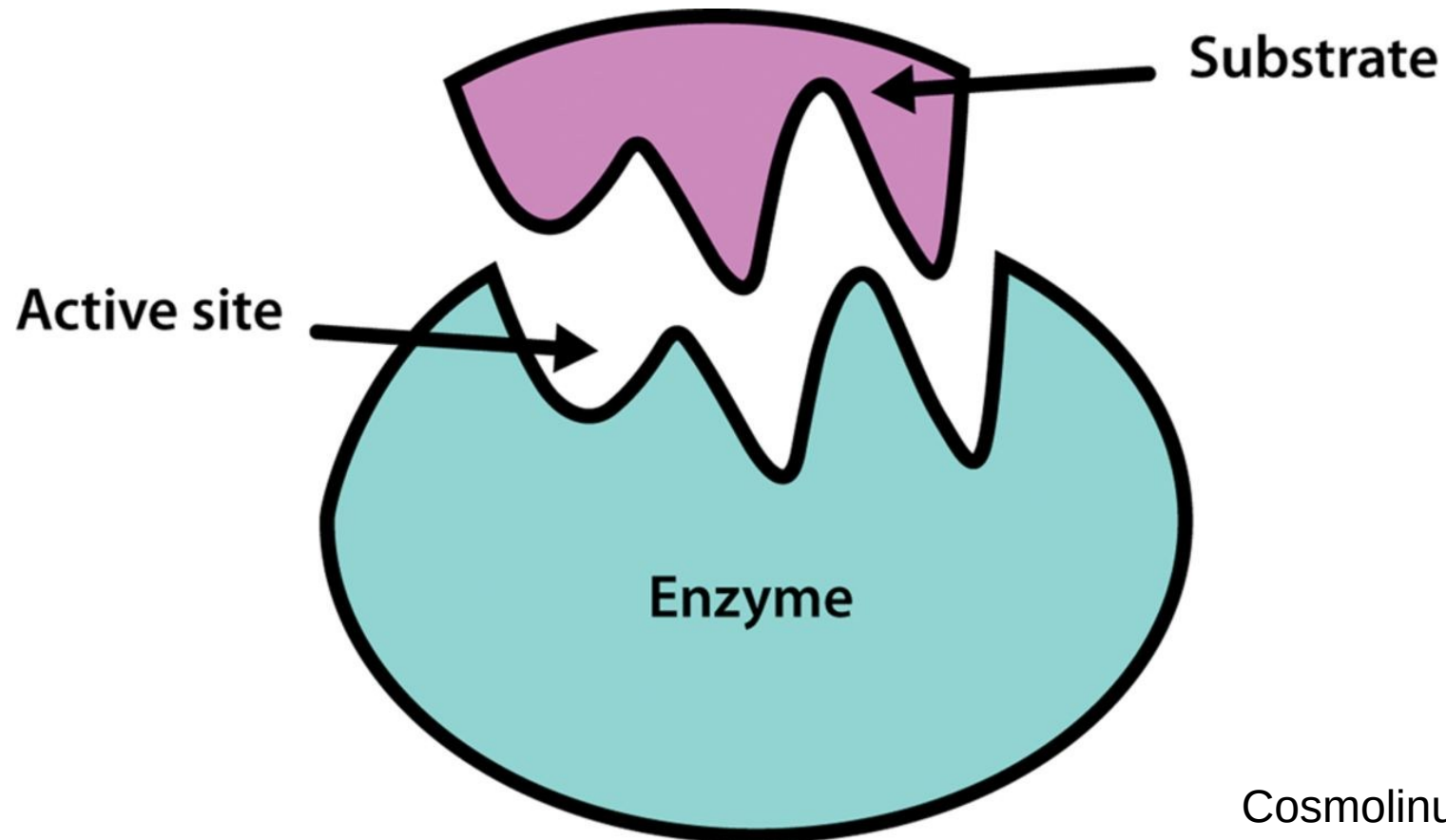


Enzymes



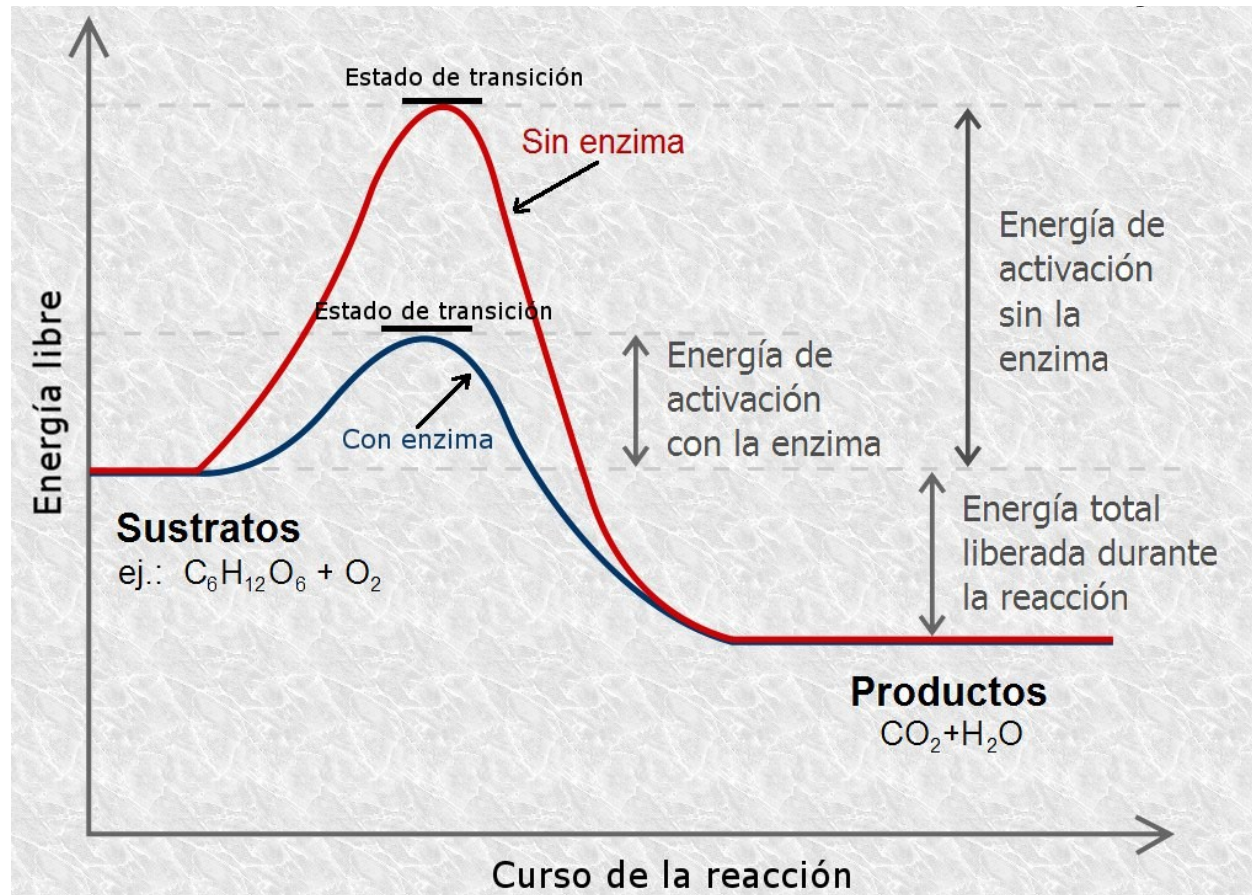
Els enzims

Són biocatalitzadors, és a dir, catalitzadors de les reaccions biològiques.



Els enzims actuen rebaixant l'energia d'activació, és a dir, la quantitat d'energia que s'ha d'afegir a una reacció per a que aquesta comenci.

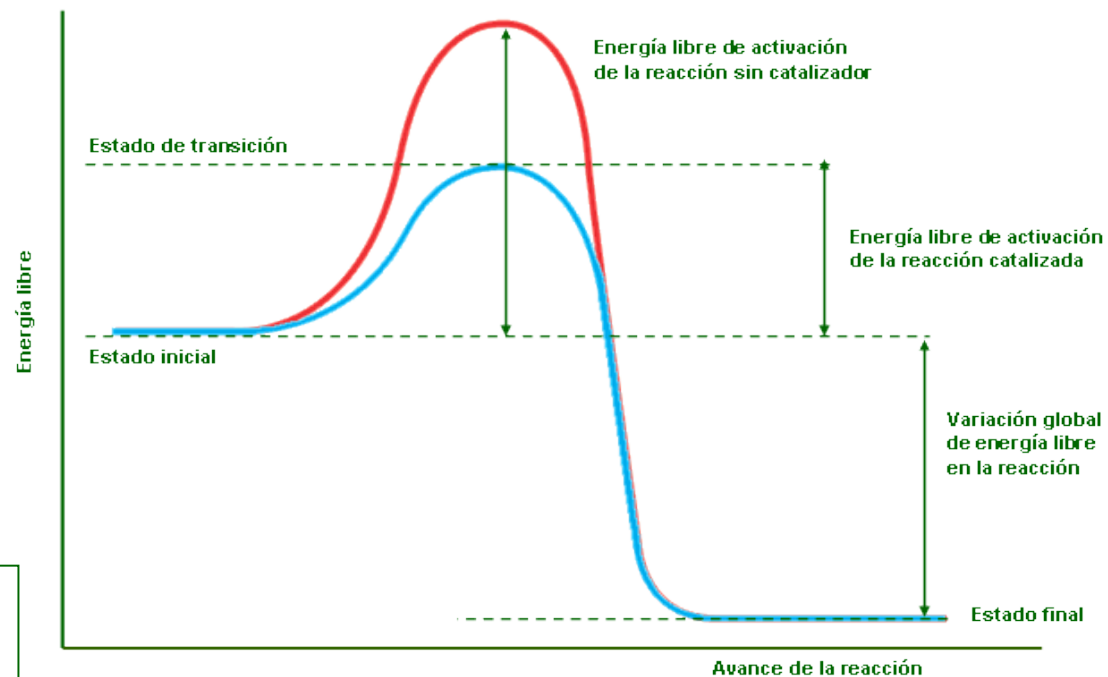
Per tant, els enzims augmenten la velocitat de la reacció.





Para lanzar en poco tiempo muchos objetos por la ventana se puede aumentar el número de trabajadores o rebajar el dintel de la ventana.

Gráfica de la energía de activación



De igual forma, para acelerar una reacción química se pueden calentar los reactivos o añadir un catalizador, es decir, una sustancia que disminuya la energía de activación necesaria para llegar al estado de transición.

Característiques dels enzims

- La majoria són proteïnes globulars (tot i que hi ha molècules de RNA amb acció catalítica, els ribozims)
- Acceleren molt una reacció química fins i tot en concentracions molt baixes.
- No es consumeixen durant la reacció.
- Són molt específics.
- Actuen a temperatures i pH fisiològics.

Els cofactors

Són components necessaris per a l'activitat d'alguns enzims.

Poden ser...

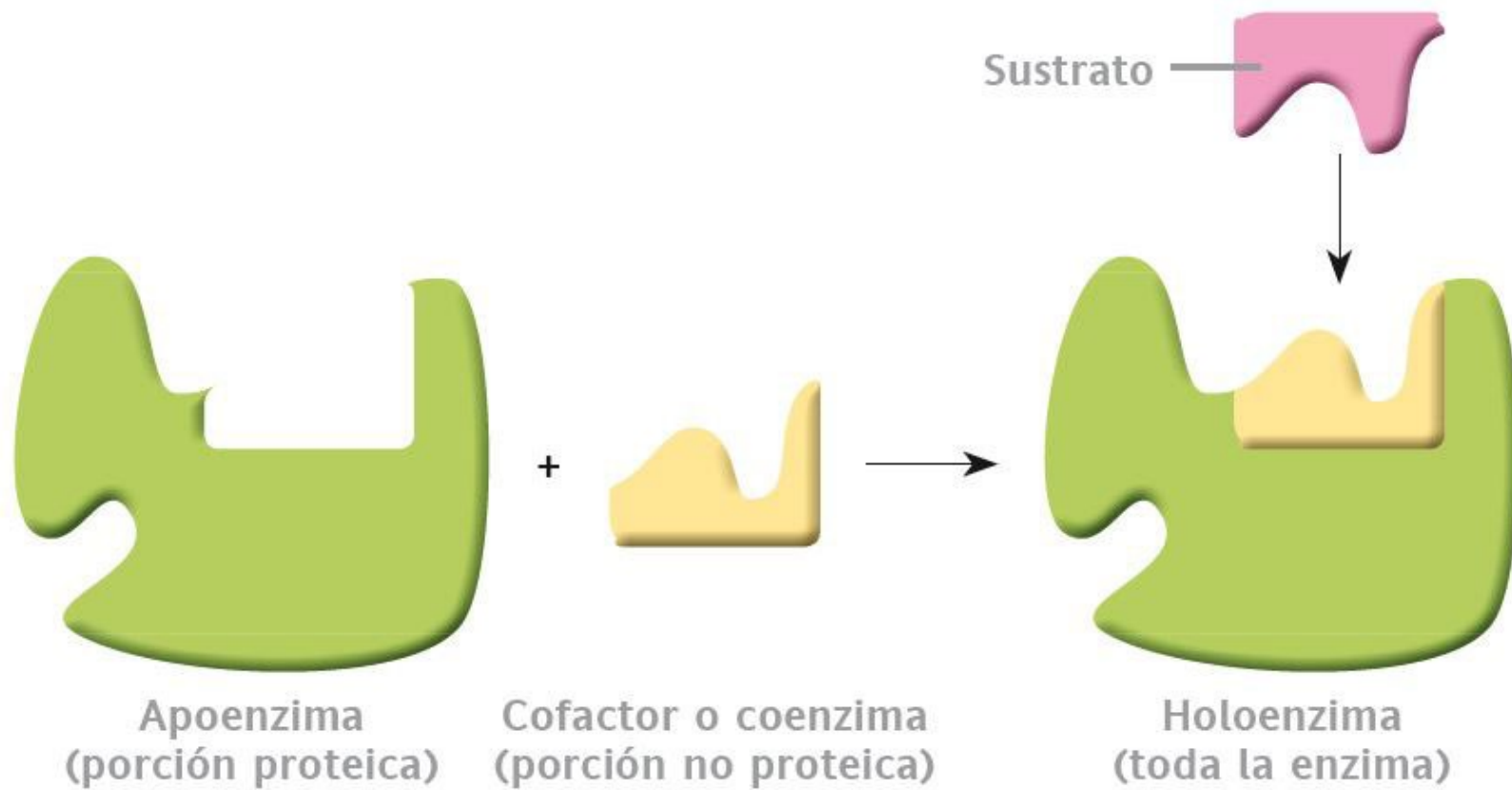
- Cations metàl·lics (**cofactors inorgànics**) o
- Molècules orgàniques (cofactors orgànics o **coenzims**).

Poden unir-se dèbilment a l'enzim en el moment de l'acció o trobar-se fortament units formant part de l'enzim (en aquest cas es parla de **grup prostètic**).

Quan l'enzim requereix d'un cofactor, s'utilitza una **terminologia específica** per diferenciar la part proteica de la no proteica:

Apoenzim: part proteica de l'enzim (no actiu)

Holoenzim: apoenzim + cofactor



Bioquímica. Conceptos Esenciales

Feduchi / Romero / Yáñez / Castiñeyra / García-Hoz.

Editorial Médica Panamericana © 2015

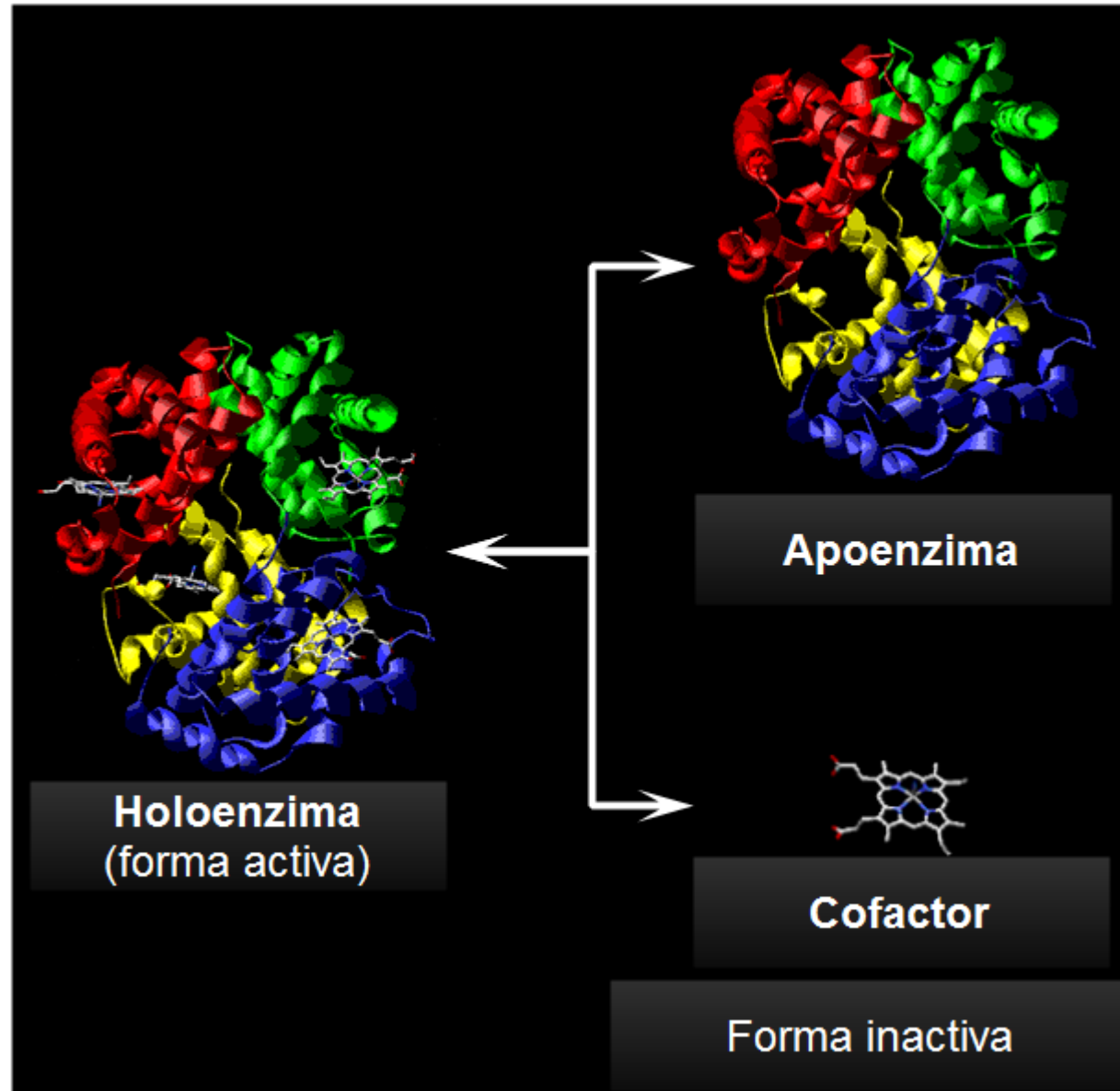


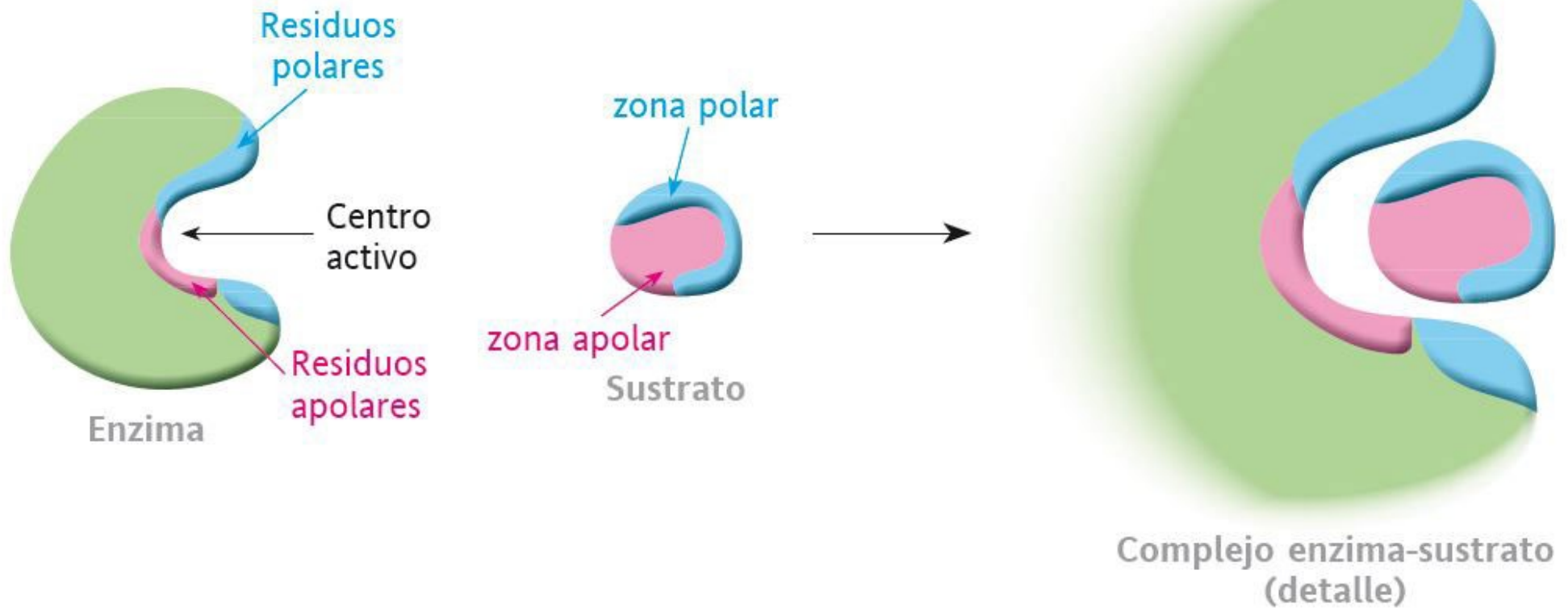
TABLE 8.2 Enzyme cofactors

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

L'activitat enzimàtica

- Els enzims (E) acceleren les reaccions biològiques actuant sobre substrats (S) específics que es transformaran en els productes (P) de la reacció.
- Aquesta funció l'aconsegueixen gràcies a que presenten una estructura tridimensional característica que permet la interacció amb el substrat i la formació d'un **complex enzim-substrat** (ES).



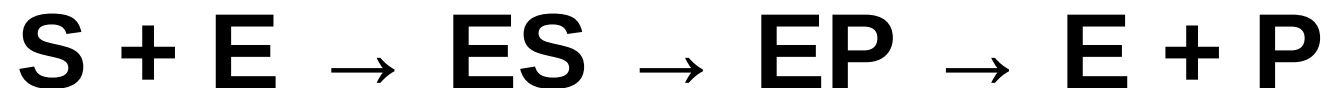
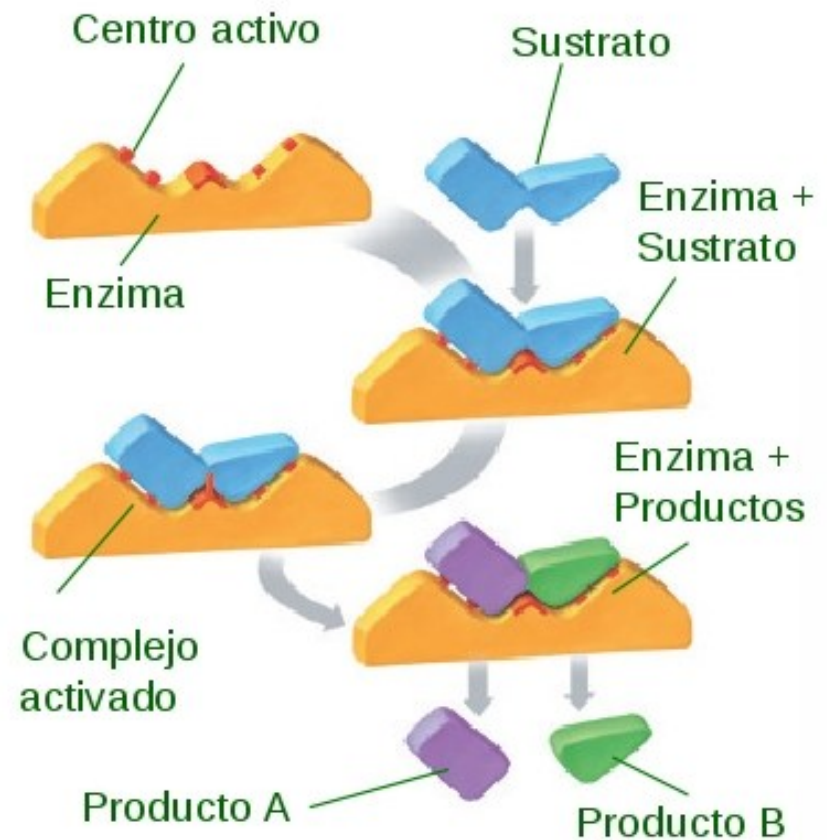


Bioquímica. Conceptos Esenciales
Feduchi / Romero / Yáñez / Castiñeyra / García-Hoz.
Editorial Médica Panamericana © 2015

Els enzims funcionen "engantxant-se" a les molècules del reactiu i subjectant-les de tal manera que faciliten el trencament d'enllaços i la formació de nous.

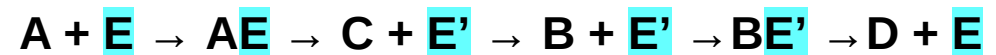
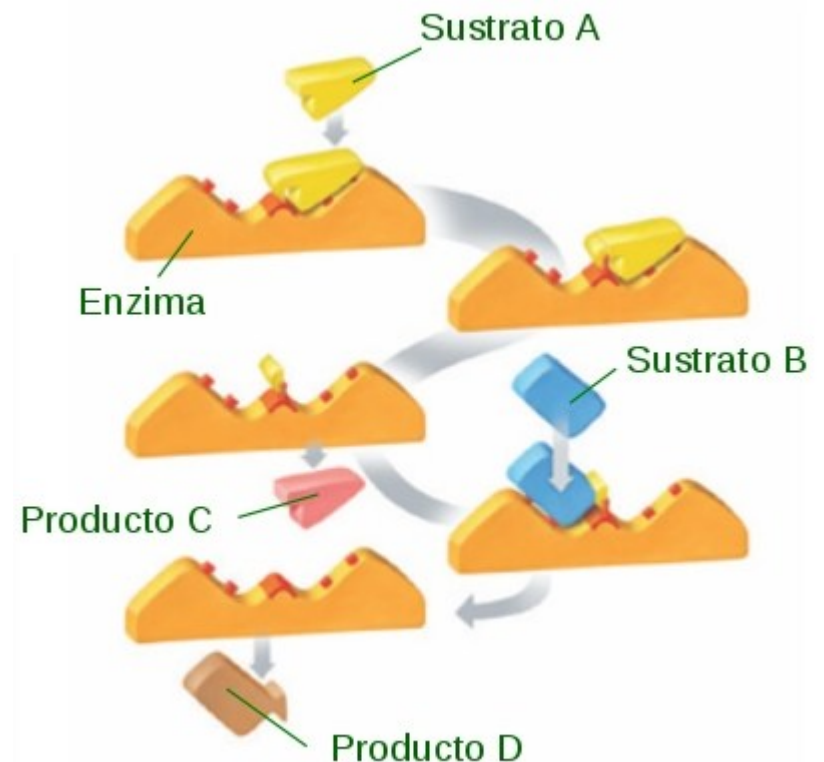
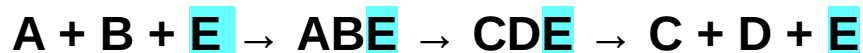
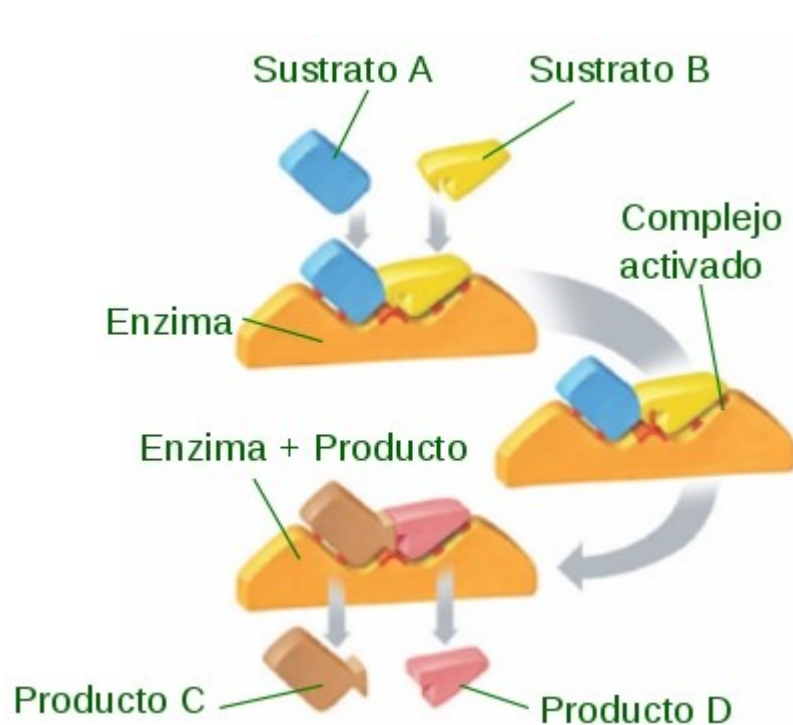
L'activitat enzimàtica: reaccions amb un sol substrat

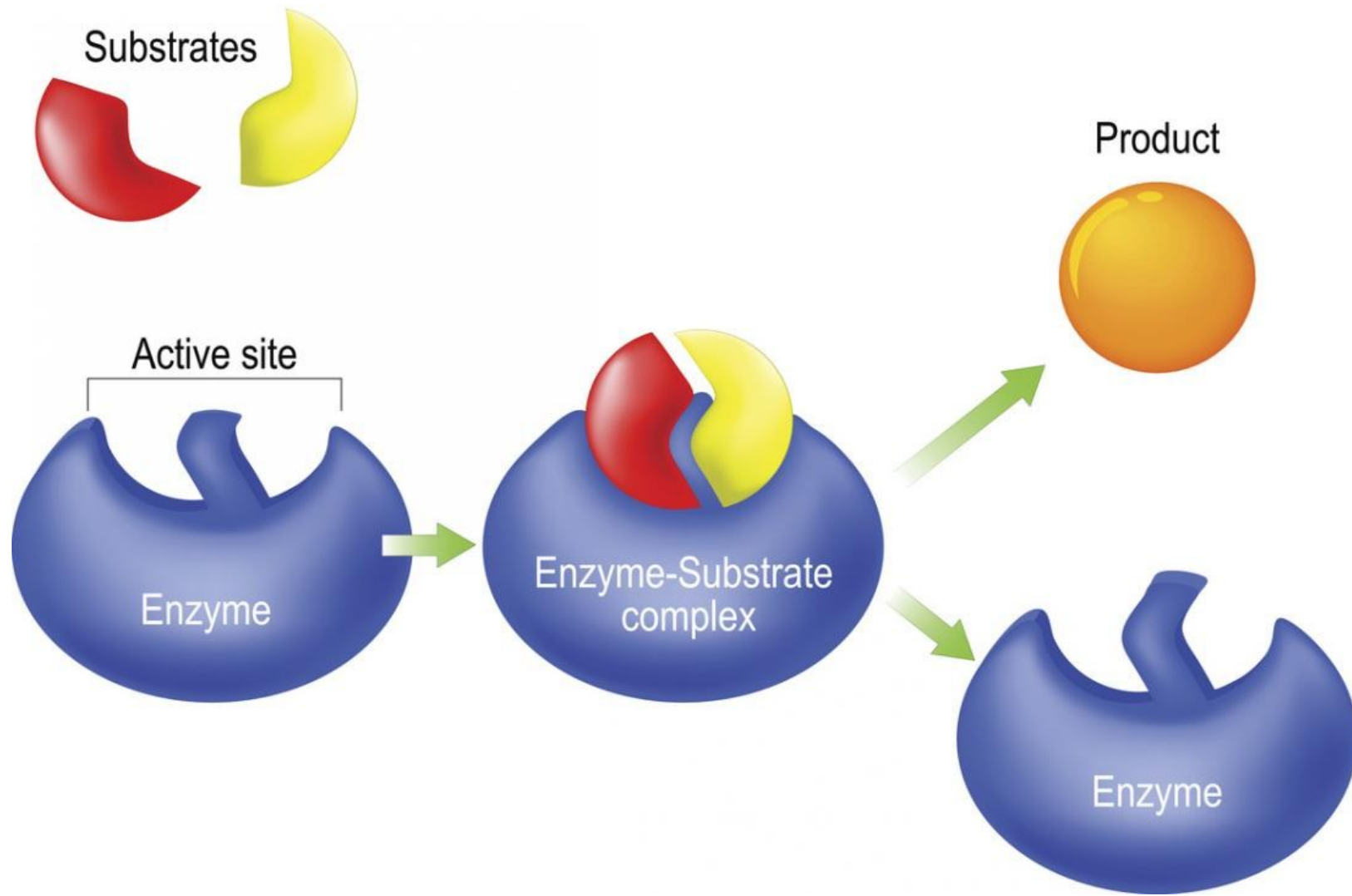
- L'enzim fixa el substrat a la seva superfície per mitjà d'enllaços febles (ponts d'hidrogen, enllaços iònics...), formant-se el complex enzim-substrat (ES).
- Aquesta unió genera tensions que debiliten els enllaços interns del substrat disminuint així l'energia d'activació i facilitant la formació de nous enllaços.
- Finalitzada la transformació, els productes tenen menys afinitat pel centre actiu i s'alliberen. L'enzim no resulta alterat.



L'activitat enzimàtica: reaccions amb dos substrats

L'enzim actua atraient els reactius cap a la seva superfície, de manera que augmenta la probabilitat de que es trobin i que quedin orientats convenientment per tal que la reacció es produeixi.

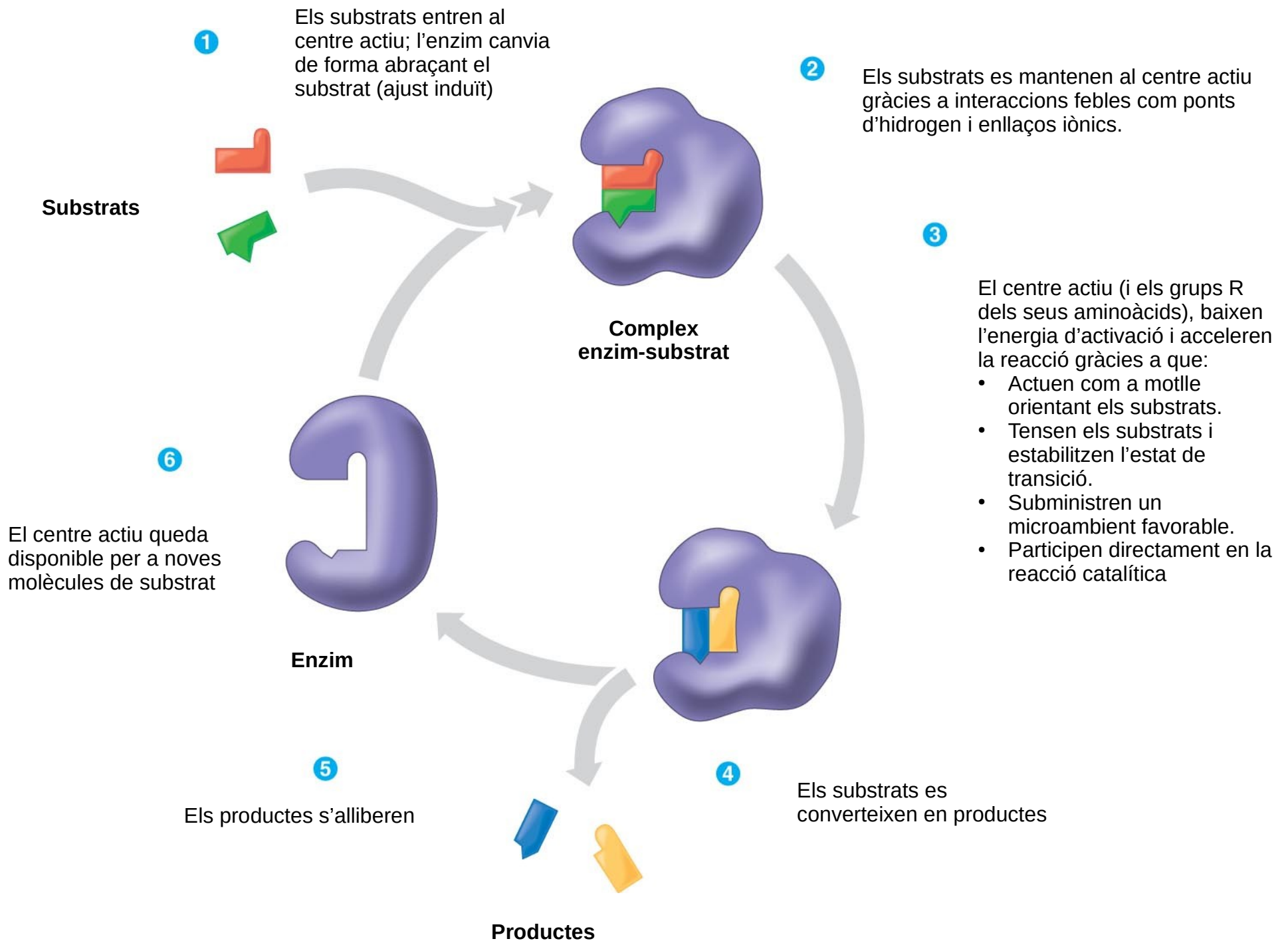




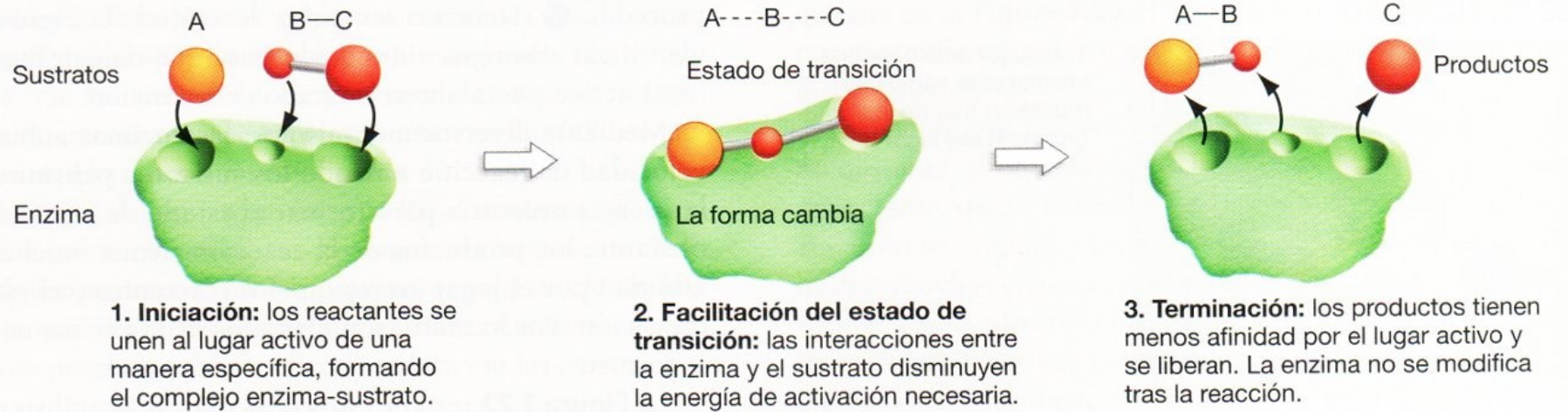
Un cop realitzada la reacció, l'enzim torna al seu estat normal i pot tornar actuar.

Els enzims actuen sense patir modificacions permanents.

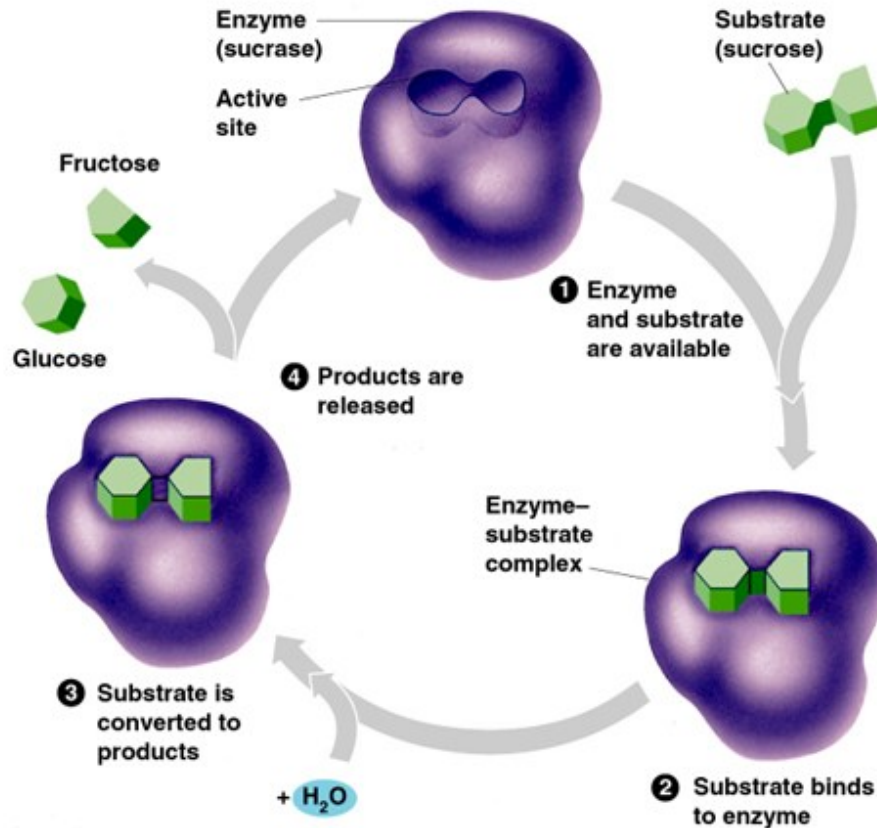
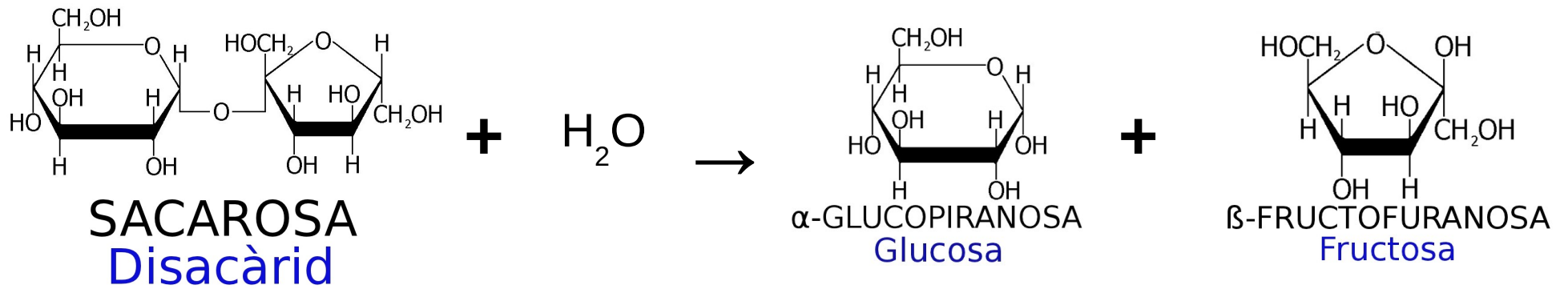
La unió temporal de l'enzim i el substrat, condicionen una particular cinètica de reacció: els enzims es saturen.

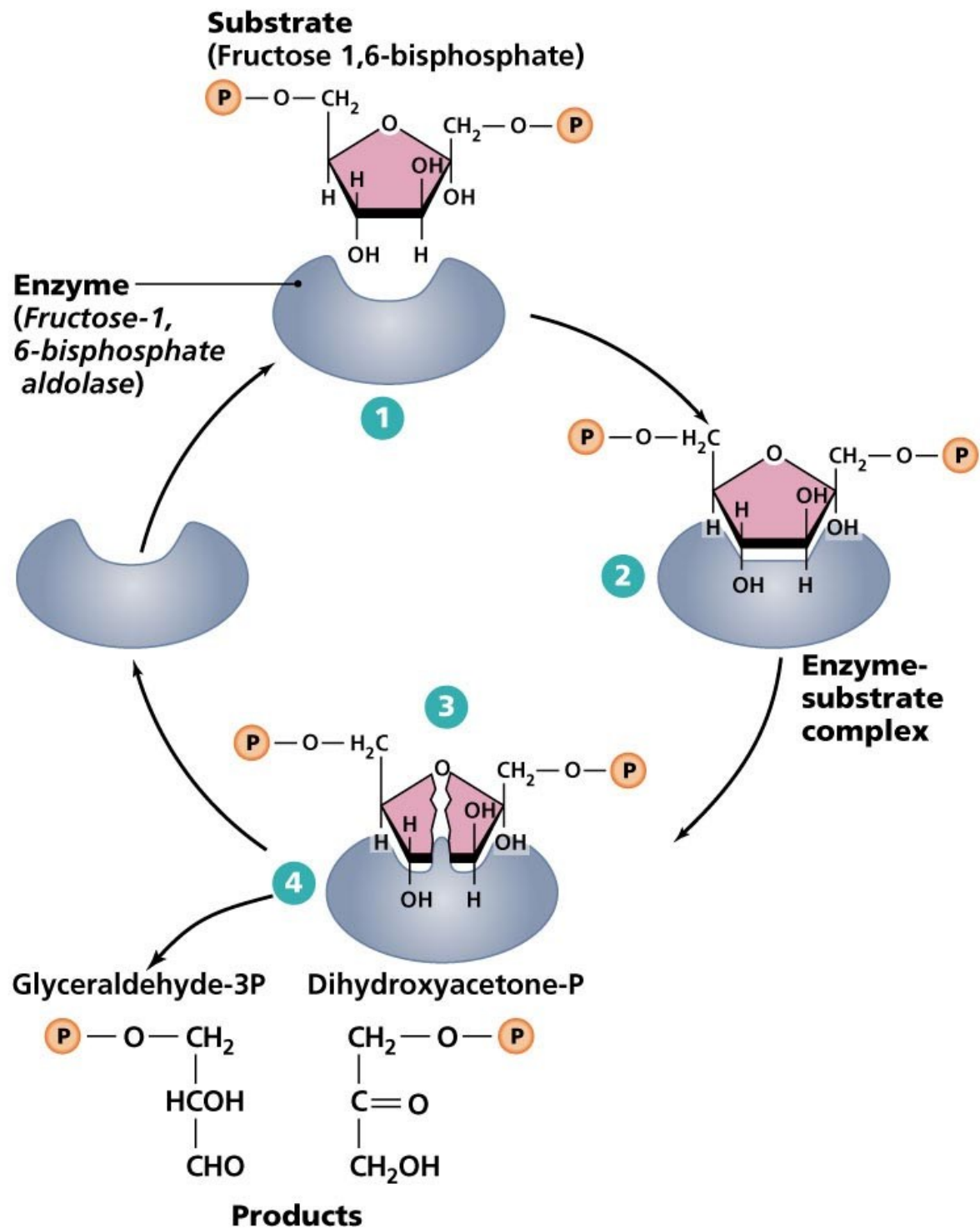


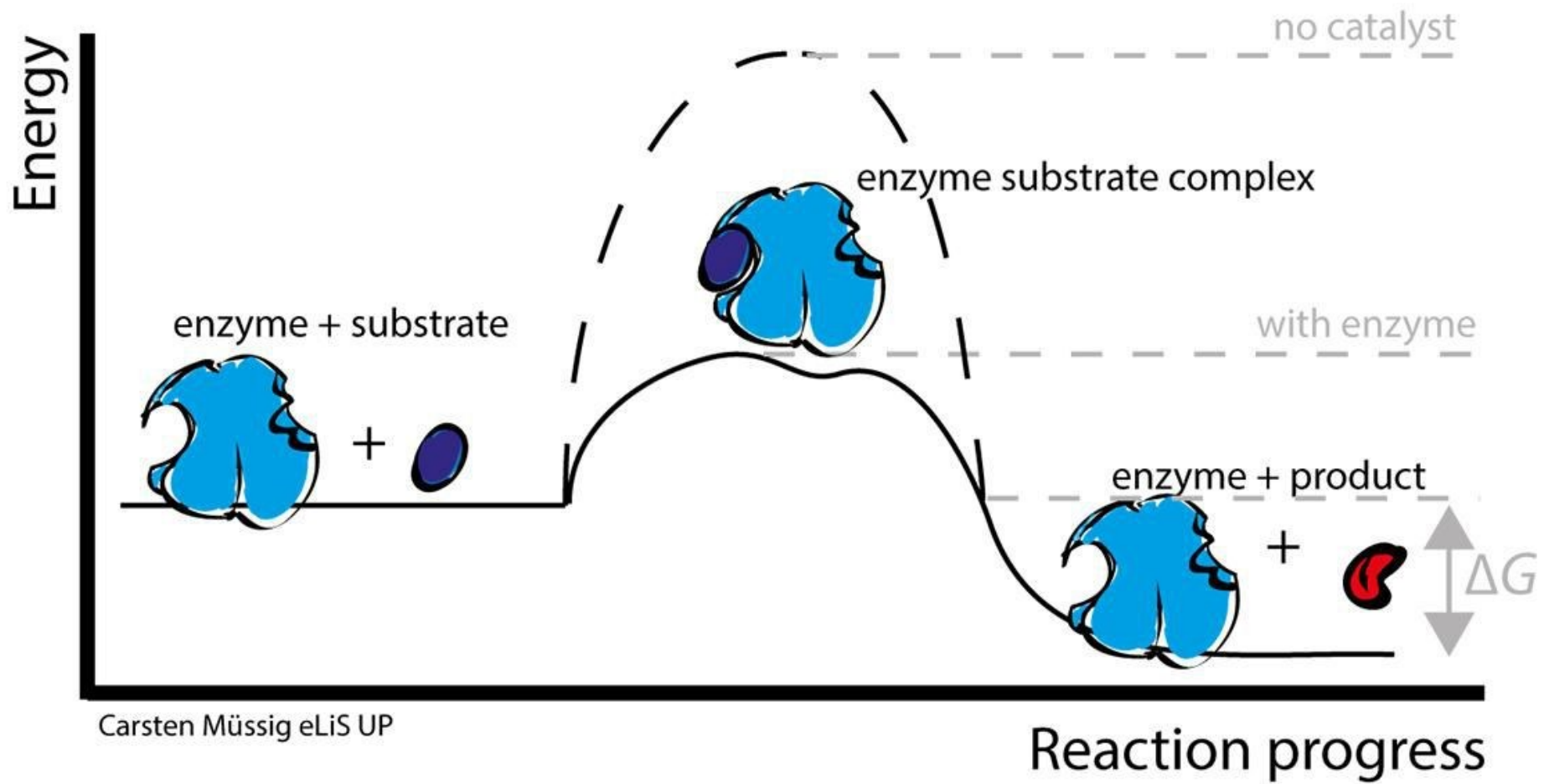
UN MODELO DE ACCIÓN ENZIMÁTICA

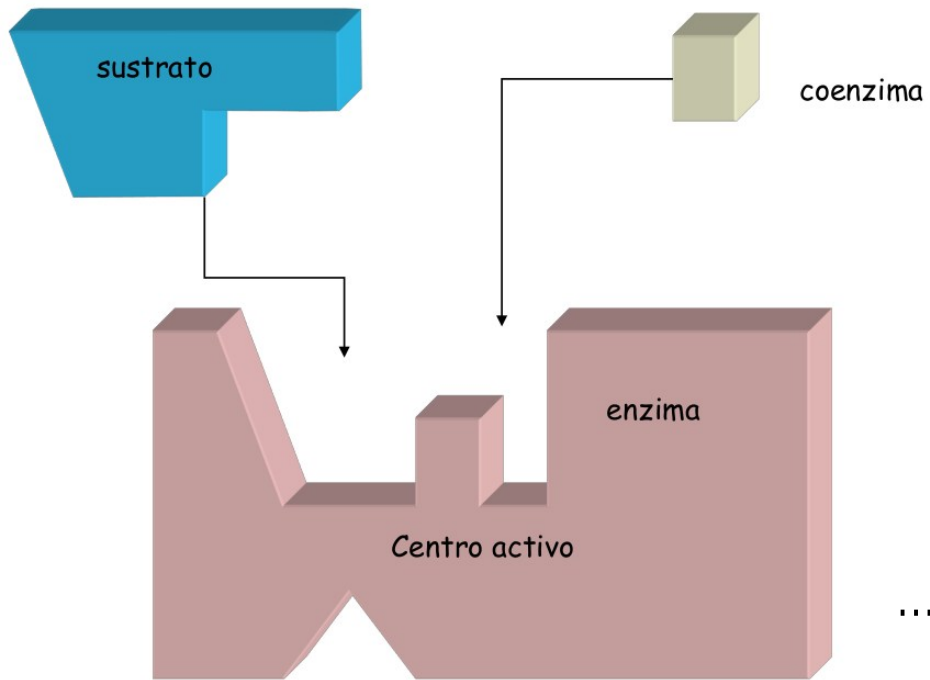


Reacció d'hidròlisi de la sacarosa per l'enzim sacarasa

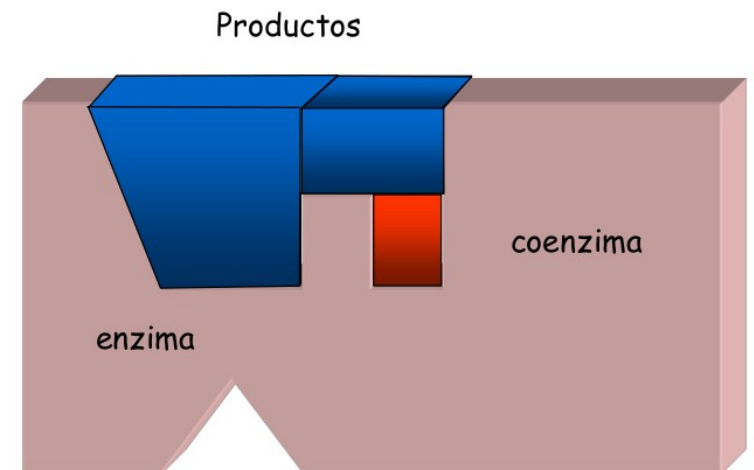
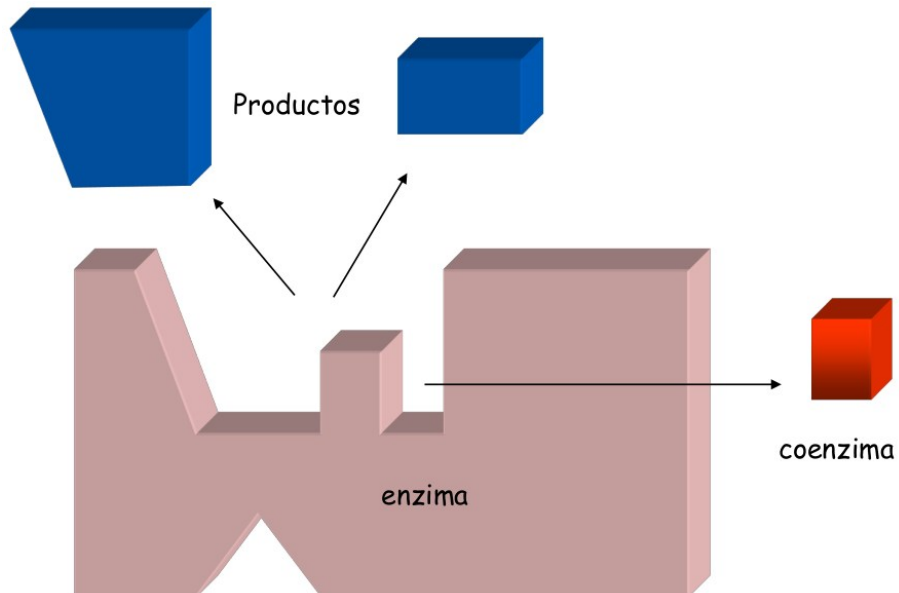
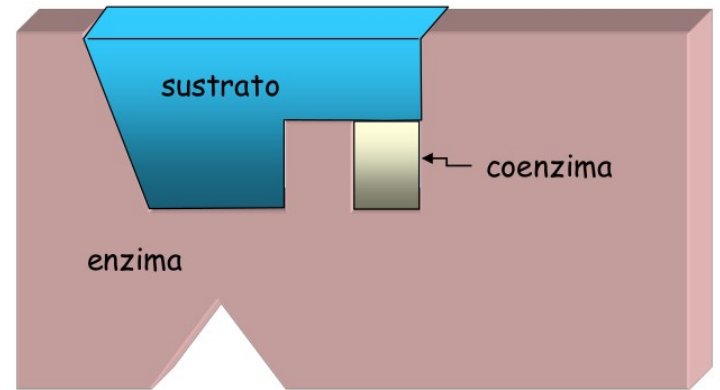








En cas de que hi participi un coenzim.. igual

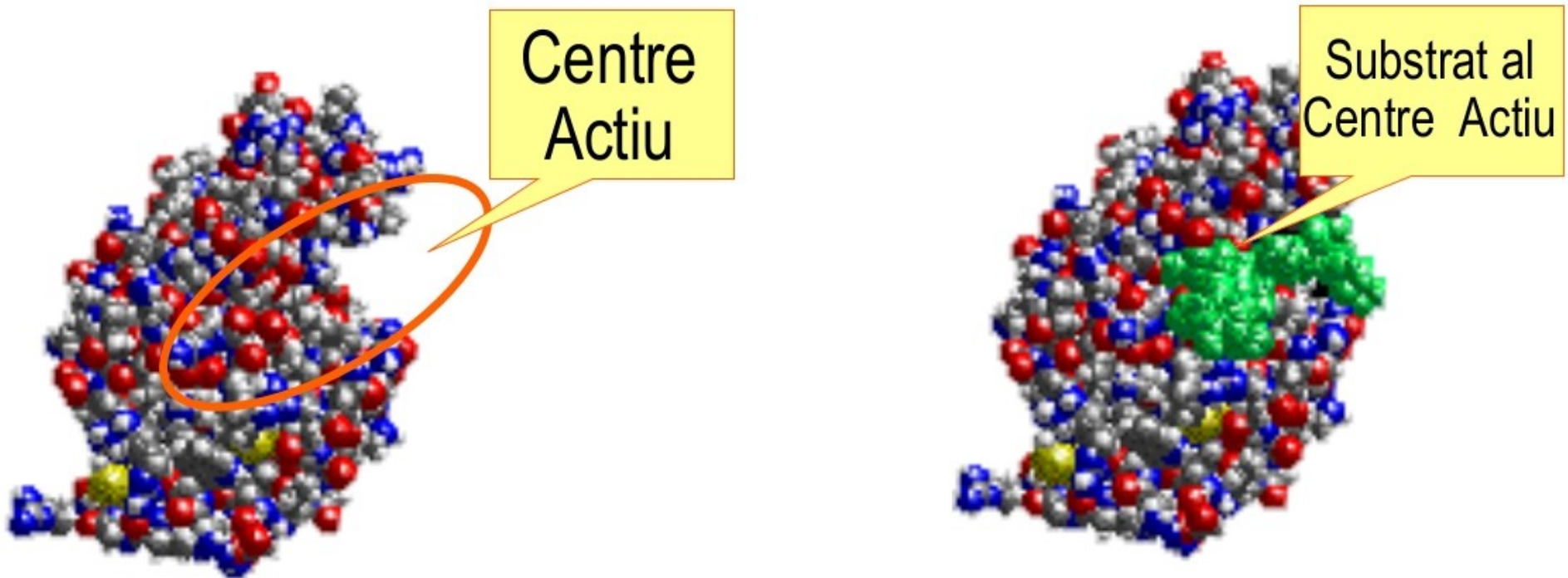


El centre actiu de l'enzim

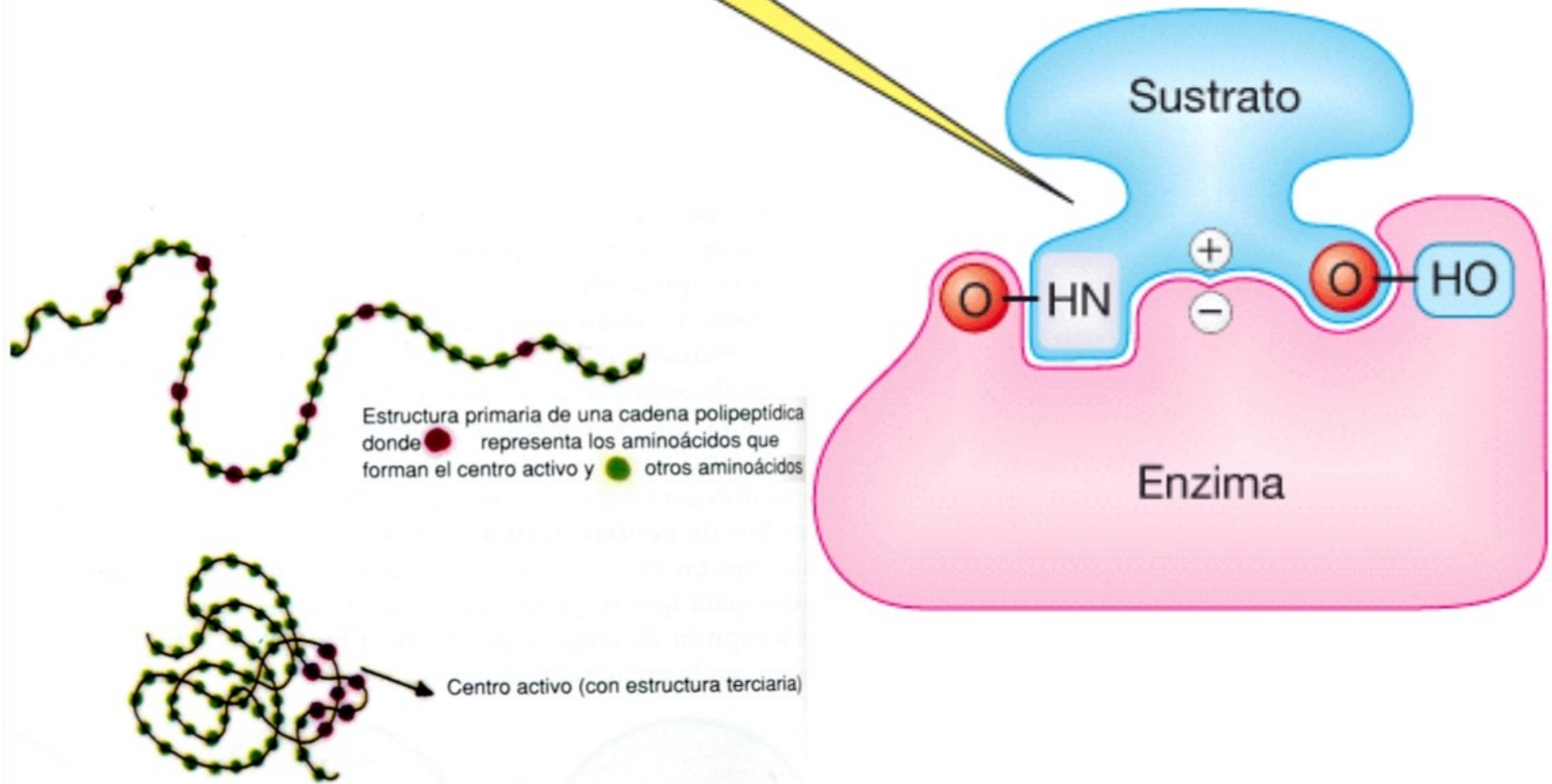
Regió de l'enzim que s'uneix al substrat.

L'activitat catalitzadora dels enzims s'inicia amb la formació del complex enzim-substrat.

Aquesta unió es duu a terme gràcies als radicals d'uns quants aminoàcids que estableixen enllaços amb el substrat i després trenquen algun dels seus enllaços.

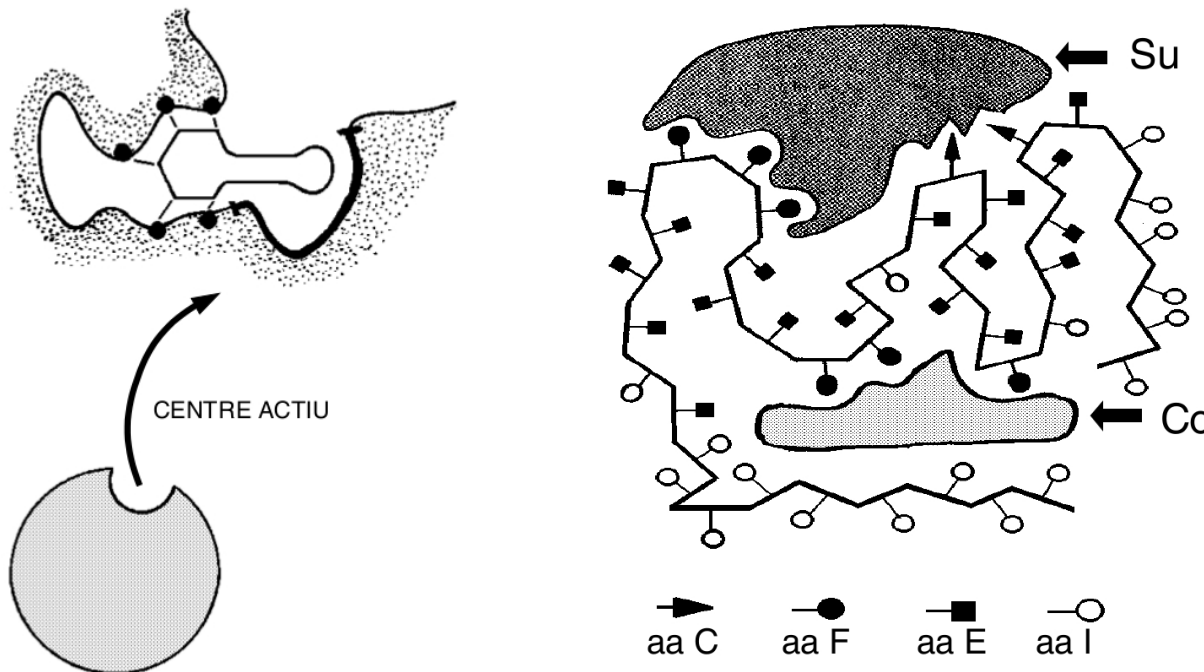


El sustrato se une al centro activo de la enzima mediante enlaces débiles: puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y de van de Waals.

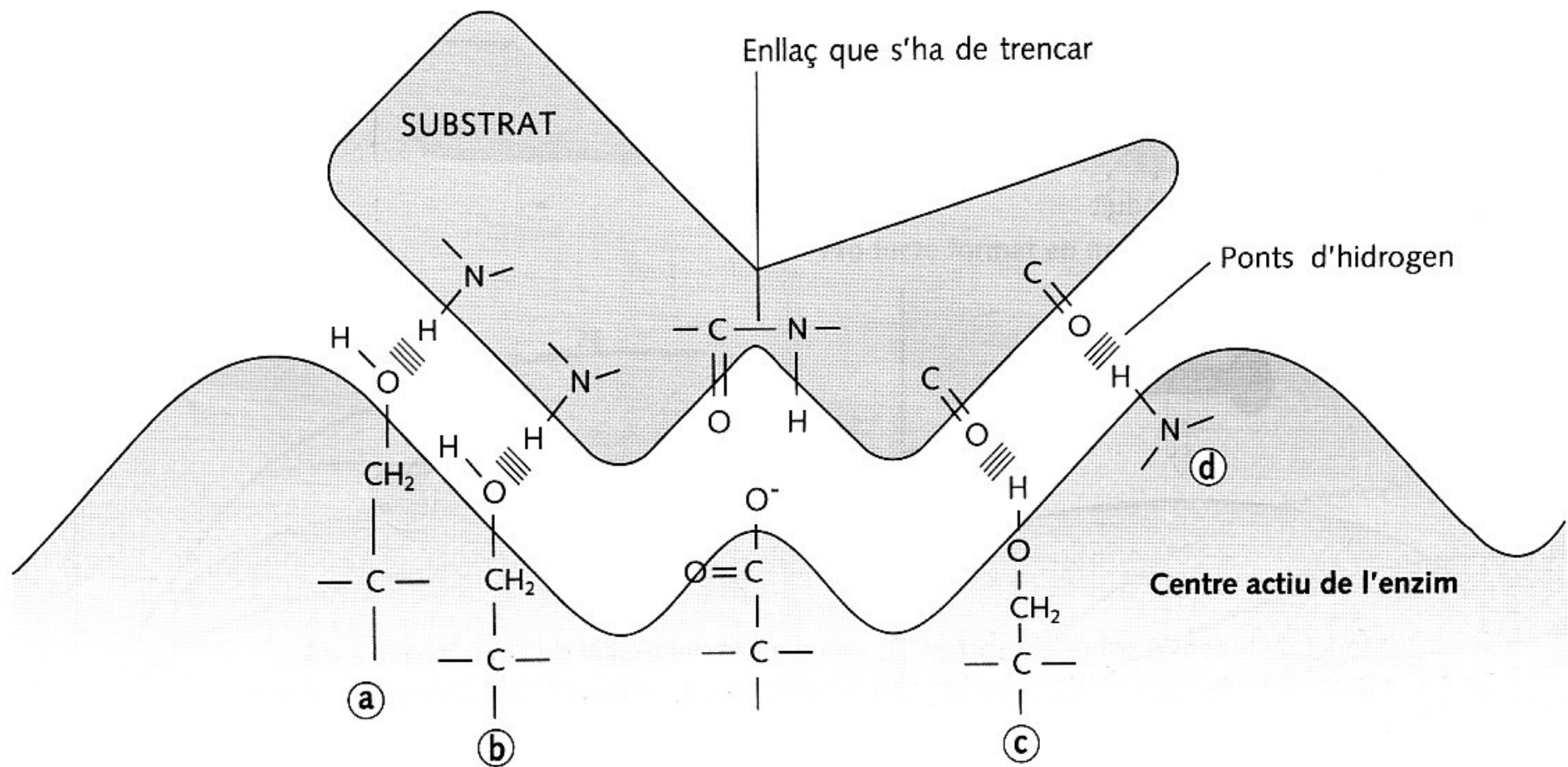


Els enzims són proteïnes globulars que regulen la major part de les reaccions metabòliques dels éssers vius. Són formades per diferents tipus d'aminoàcids:

- Els **aminoàcids estructurals** mantenen l'estructura terciària de la proteïna. Si s'alteren poden alterar l'activitat enzimàtica ja que al modificar l'estructura terciària (la disposició espacial) es modifica el centre actiu de l'enzim.
- Els **aminoàcids de fixació** són els encarregats d'establir enllaços febles amb el substrat, apropen i subjecten l'apoenzim i el substrat i orienten el substrat cap al lloc catalític.
- Els **aminoàcids catalitzadors** són els responsables de l'acció enzimàtica. Formen el centre catalític. S'uneixen amb el substrat debilitant la seva estructura molecular i contribuint a la ruptura i formació d'enllaços.
- Els **aminoàcids no essencials** no contribueixen ni directa ni indirectament en el procés catalític. Es podrien eliminar de la cadena sense que l'enzim perdés la seva activitat.



Els aminoàcids catalitzadors
i els aminoàcids de fixació
formen el centre actiu
de l'enzim



a, b, c, d = aminoàcids de fixació

Aminoàcid catalitzador que formarà un enllaç covalent inestable amb el substrat

Encara que els enzims són diferents (per la seva estructura i especificitat) els seus **centres actius** presenten una sèrie de **propietats comunes**:

- Constitueixen una petita part del volum total de l'enzim.
- Presenten una estructura tridimensional, amb una mena de cavitat (o fenedura) conformada per radicals d'aminoàcids que poden provenir de llocs distants en la seqüència de la cadena peptídica.
- Tenen una afinitat per una part del substrat o per tot ell, cosa que produeix una atracció enzim-substrat
- Quan el substrat s'introdueix en el centre actiu, s'hi produeix una interacció per enllaços dèbils, que modifica la conformació del substrat, i en ocasions la forma del centre actiu de l'enzim (ajustament induït).
- La interacció entre el substrat i el centre actiu de l'enzim estableix l'estat de transició i incrementa la reactivitat del complex. Determinats aminoàcids del centre actiu creen les condicions físicoquímiques perquè el substrat es transformi en producte (deformen un enllaç, treuen o posen protons, formen enllaços covalents transitoris, etc).
- Quan la reacció acaba, l'enzim adquireix de nou la seva conformació primitiva.

L'especificitat dels enzims

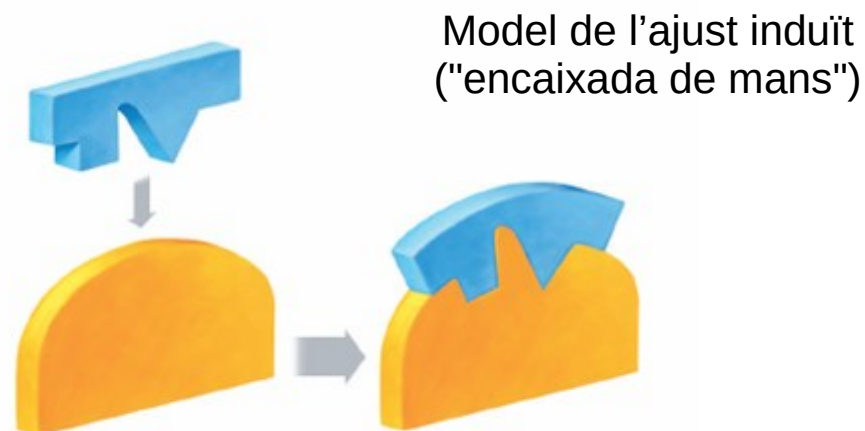
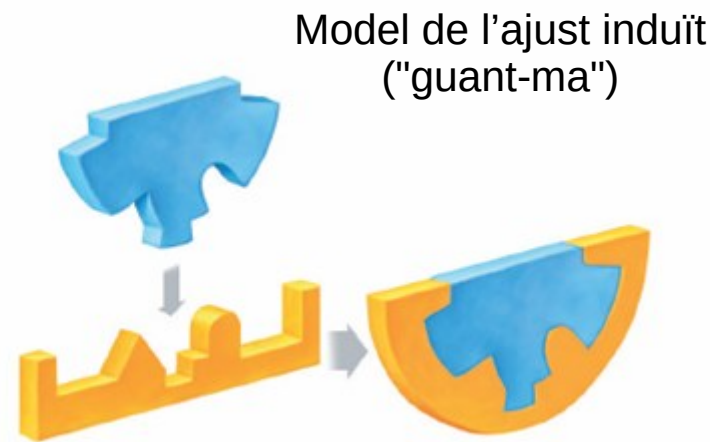
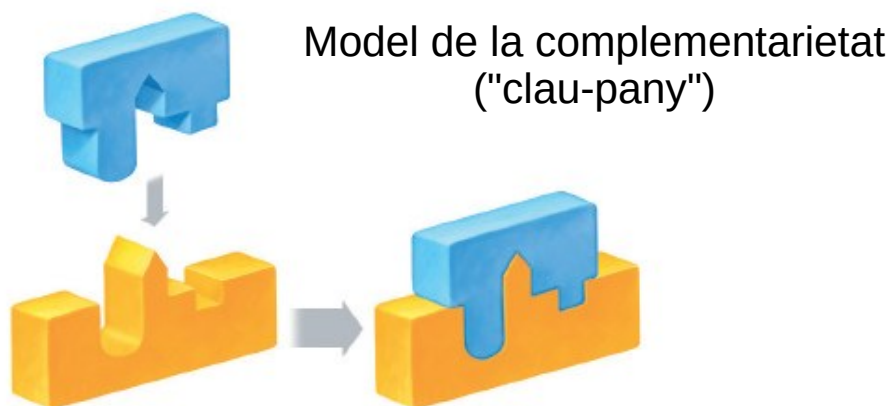
- Tan sols els substrats que tenen la forma adequada poden accedir al centre actiu.
- Tan sols els que poden establir un enllaç amb els radicals dels aminoàcids fixadors es poden fixar.
- Tan sols els substrats que presenten un enllaç susceptible de trencar-se proper als radicals dels aminoàcids catalítics poden ser alterats.
- ...

Tot això origina una **alta especificitat entre l'enzim i el substrat.**

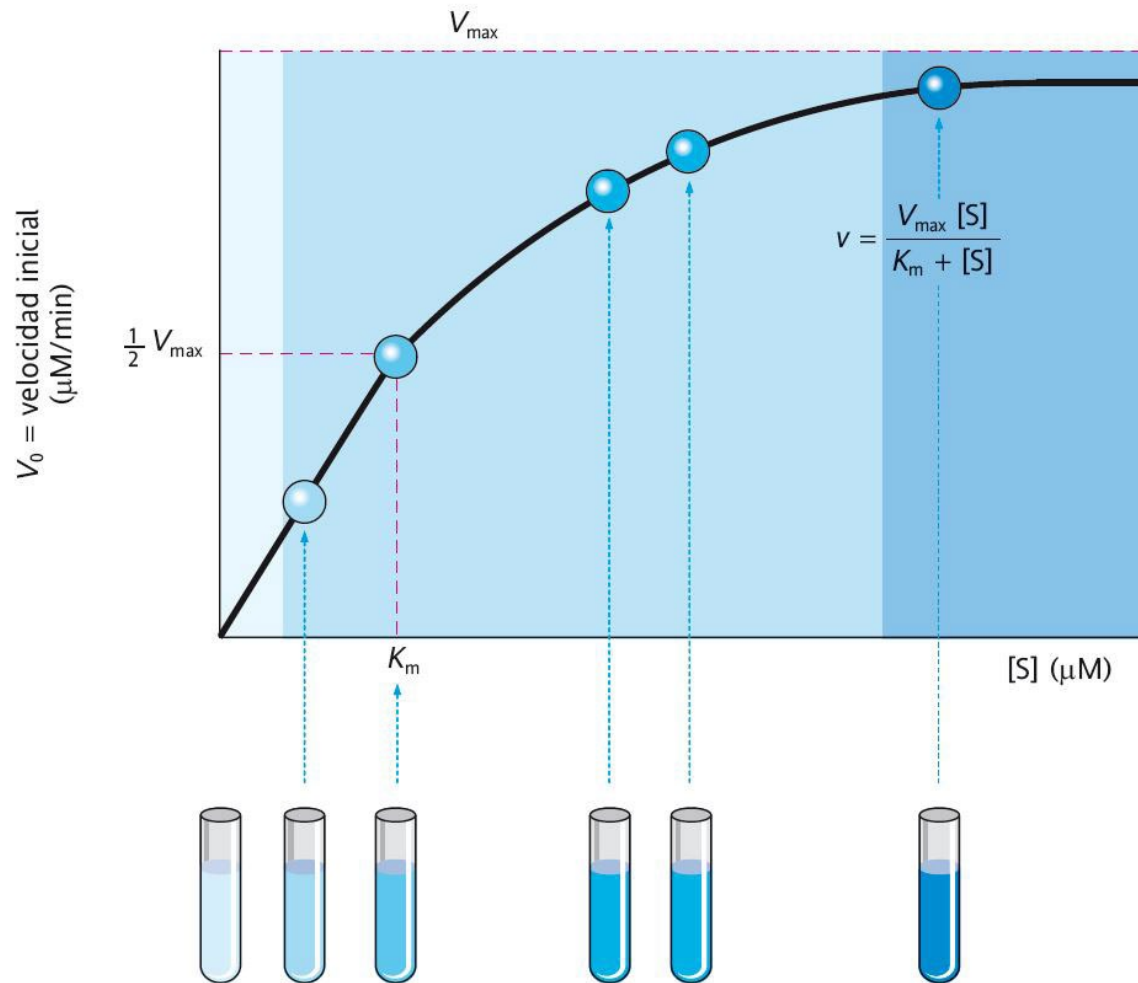
L'especificitat es pot donar en diferents graus: pot ser absoluta, de grup i de classe.

Especificitat enzimàtica:

Mecanismes de reconeixement Enzim ↔ Substrat



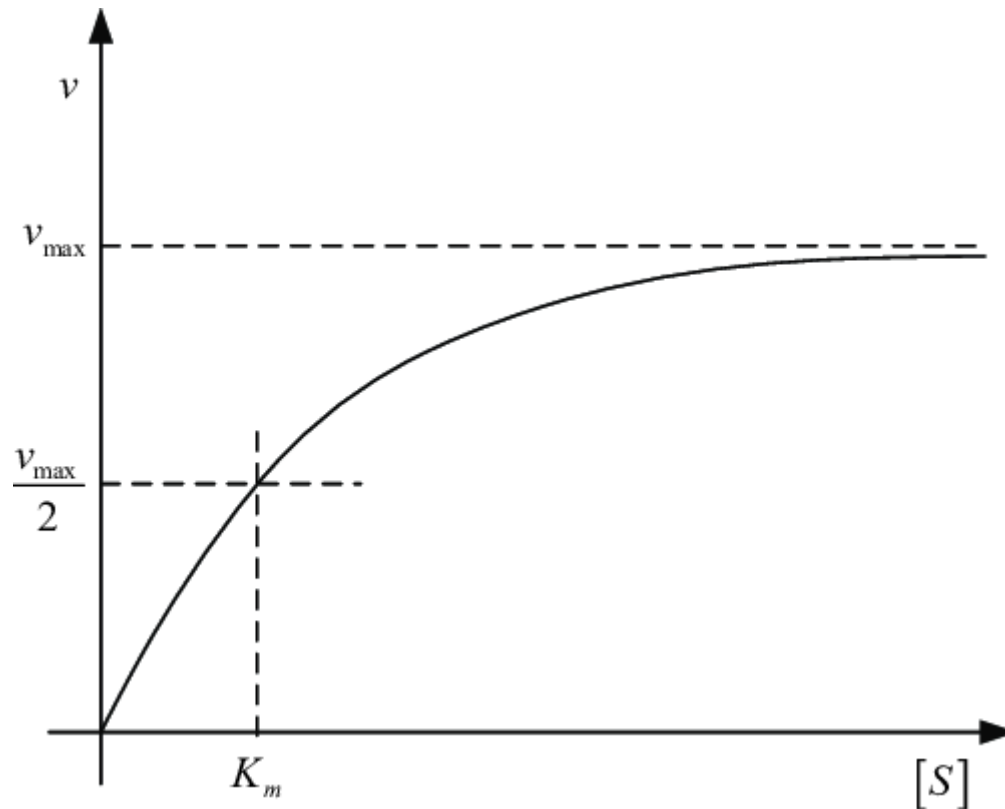
Cinètica enzimàtica i equació de Michaelis Menten



Bioquímica. Conceptos Esenciales
Feduchi / Romero / Yáñez / Castiñeyra / García-Hoz.
Editorial Médica Panamericana © 2015

Variació de la velocitat de la reacció segons la concentració de substrat, per a una concentració d'enzim constant: la velocitat de la reacció augmenta amb la concentració de substrat fins a arribar a una velocitat màxima, que equival al punt de saturació de l'enzim. La K_m equival a la concentració de substrat que es necessita per assolir la meitat de la V_{max} .

Cinètica enzimàtica i equació de Michaelis Menten



$V_{\max}$ = **Velocitat màxima**. S'assoleix quan es produeix la **saturació de l'enzim**. Tot l'enzim està en forma ES. La $V_{\max}$ és un indicador de l'eficàcia catalítica.

K_M = **Constant de Michaelis Menten**.

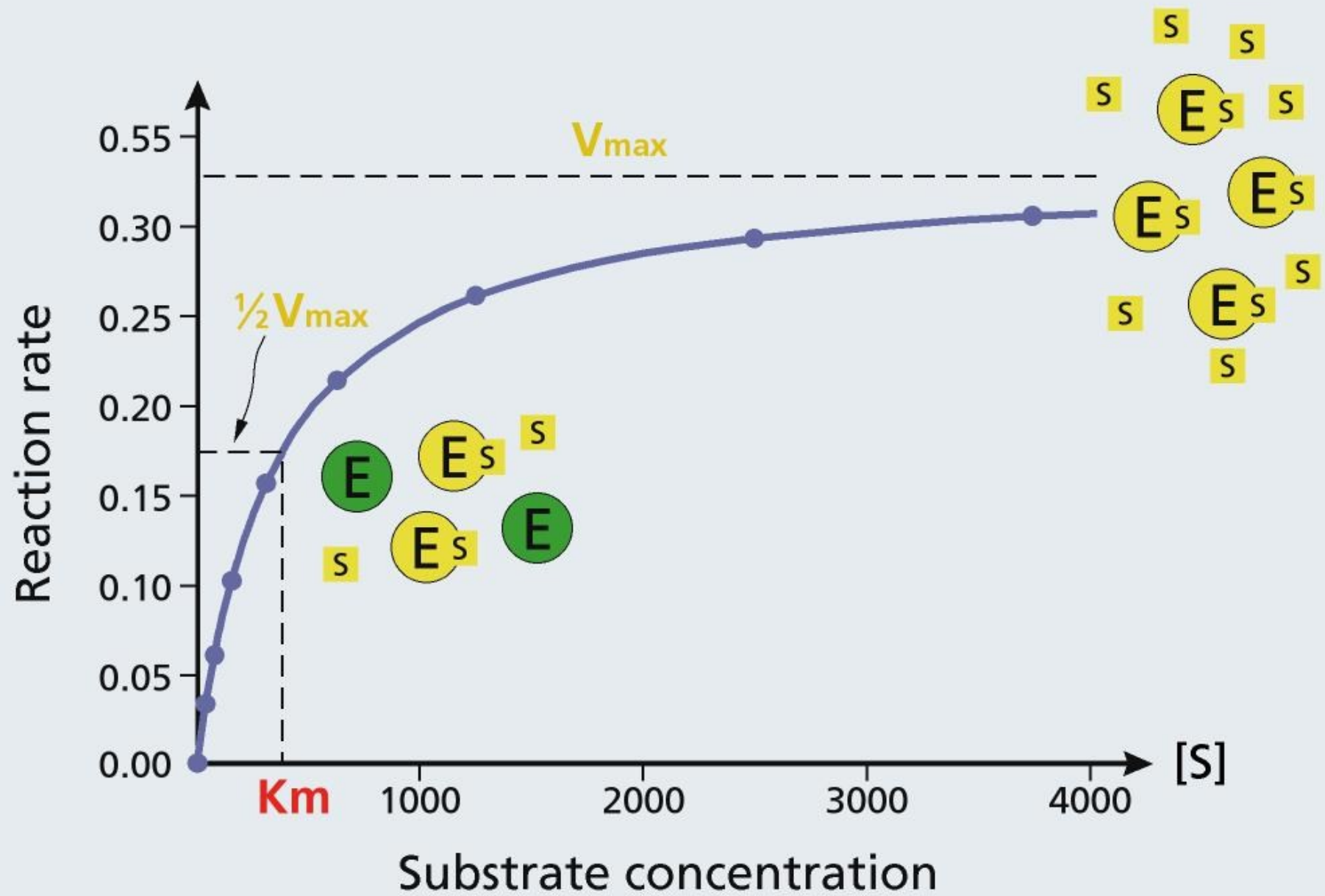
Correspon a la concentració de substrat $[S]$ en la que la velocitat de la reacció és $V_{\max}/2$.

La K_M és una mesura de l'afinitat de l'enzim pel substrat:

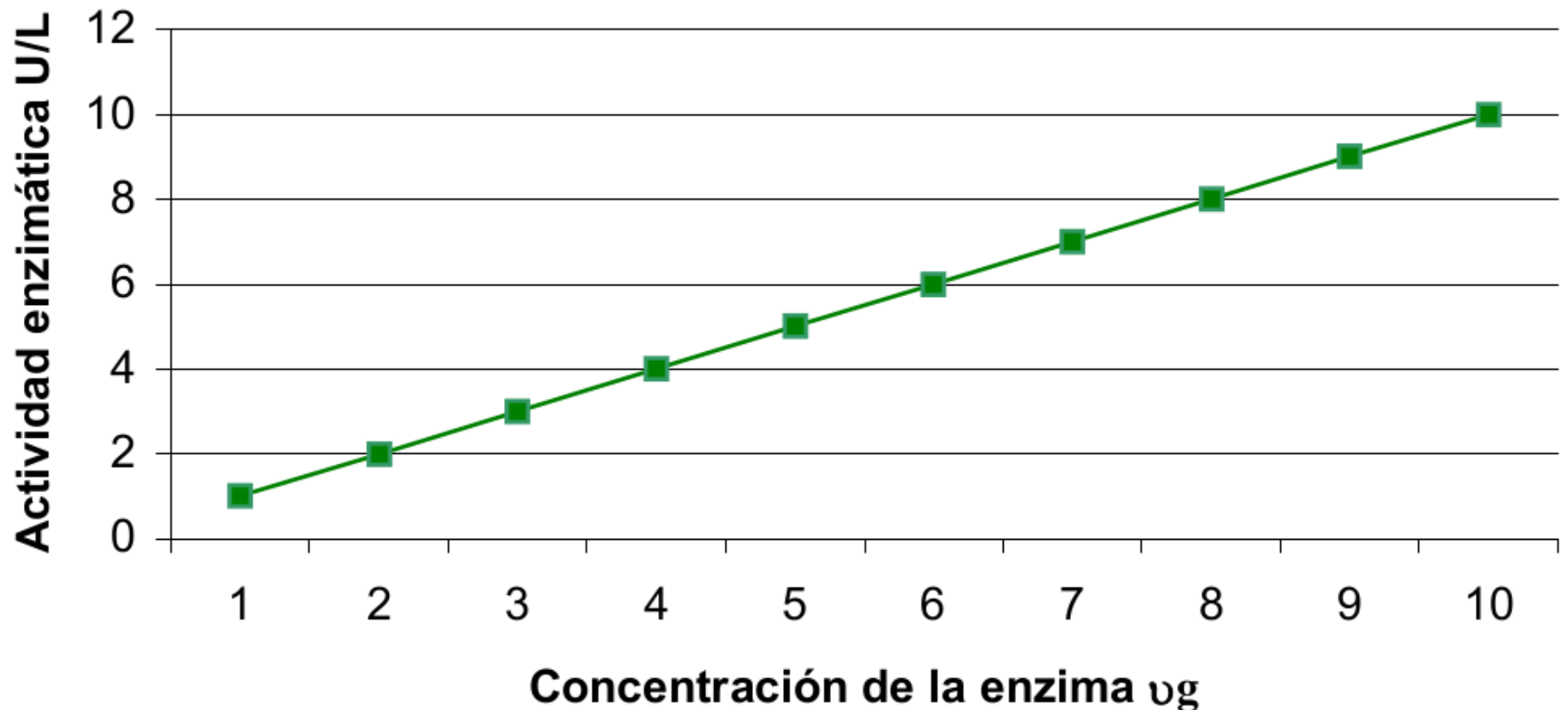
- Una K_M baixa indica gran afinitat
- Una K_M alta, suposa poca afinitat.

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

Equació de Michaelis Menten. Ens permet calcular, conegudes la $V_{\max}$ i la K_M la velocitat d'una reacció a una determinada concentració de substrat.



Actividad enzimática frente a la concentración de la enzima



Variació de la velocitat d'una reacció en funció de la concentració d'enzim, per a una concentració de substrat determinada: La velocitat de reacció és directament proporcional a la concentració de l'enzim

Factors que afecten l'activitat enzimàtica

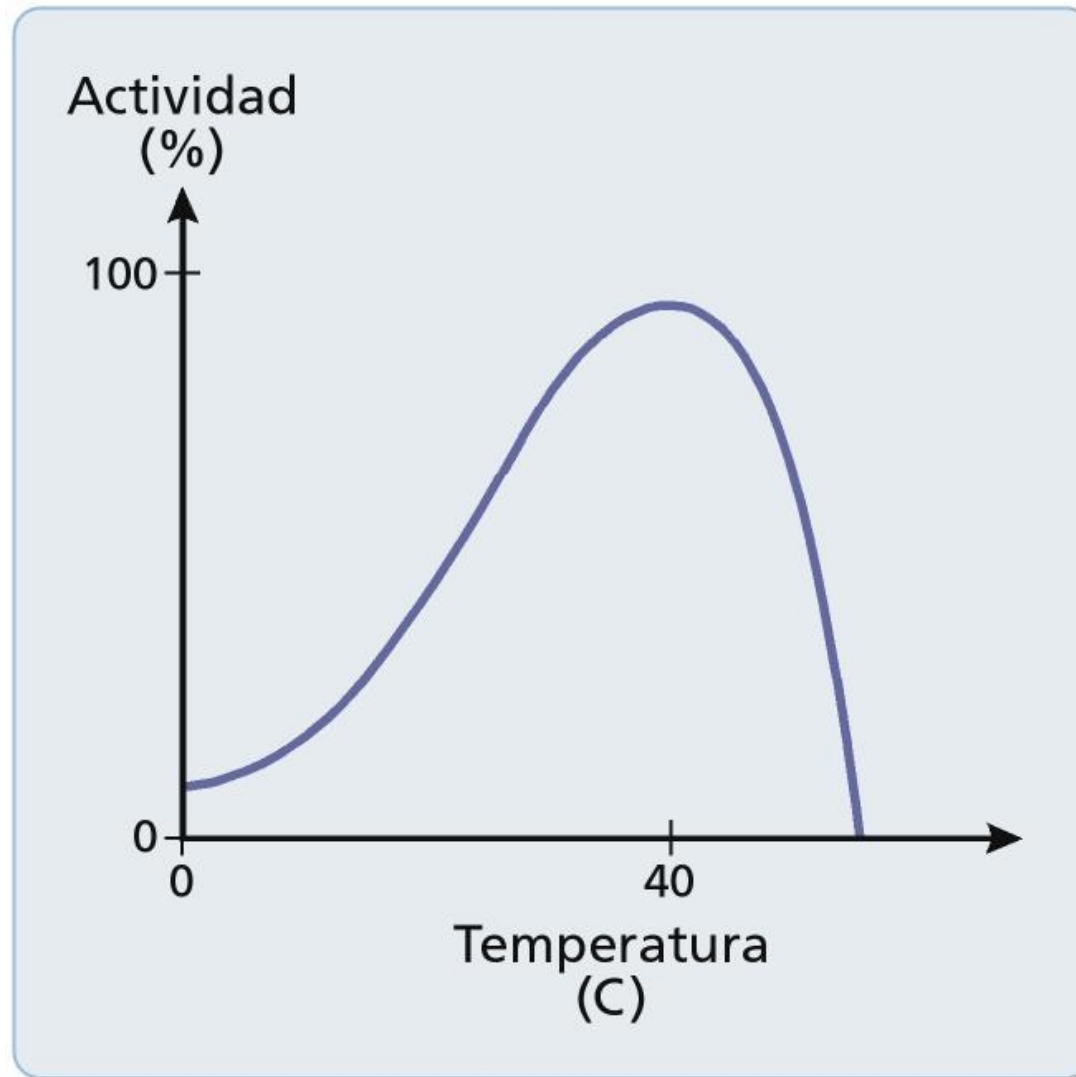
Els enzims són proteïnes que funcionen en un medi, ja sigui intra o extracel·lular, en el que les condicions poden canviar, i per tant, el nivell d'activitat de l'enzim es pot veure modificat.

Entre els factors que afecten l'activitat enzimàtica destaquen:

- La temperatura
- El pH
- La presència d'inhibidors

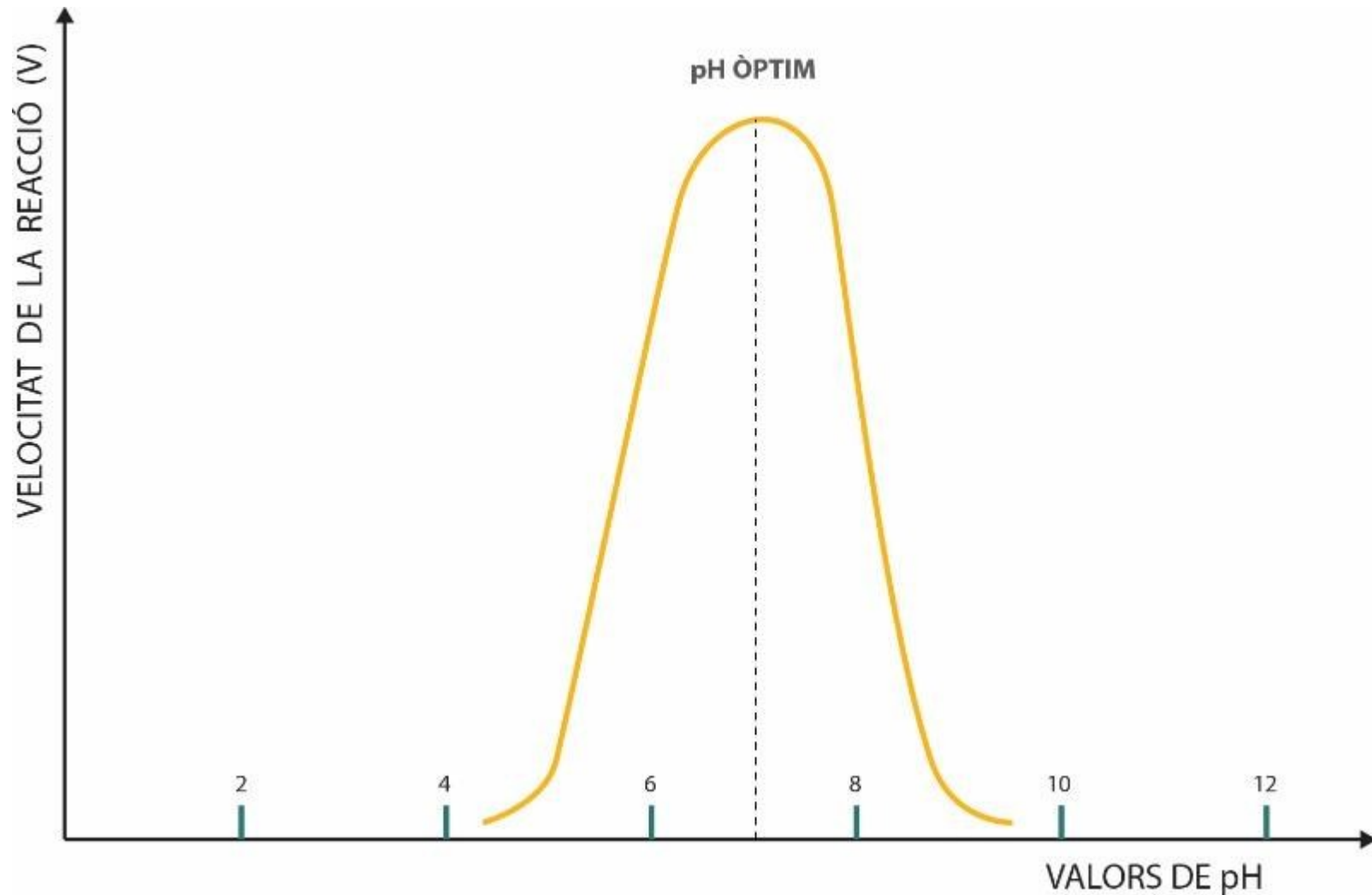
Factors que afecten l'activitat enzimàtica

Influència de la **temperatura** sobre l'activitat enzimàtica

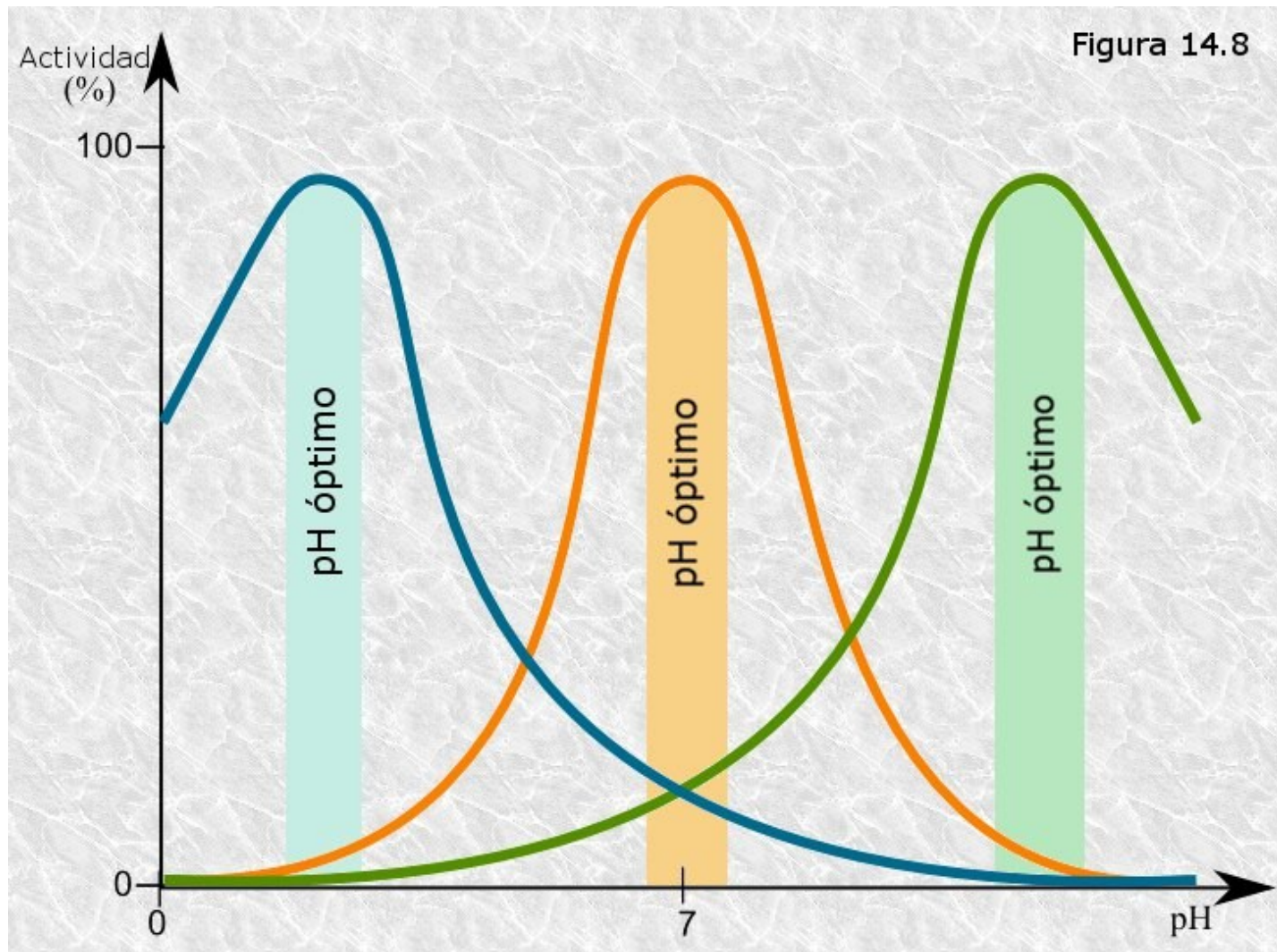


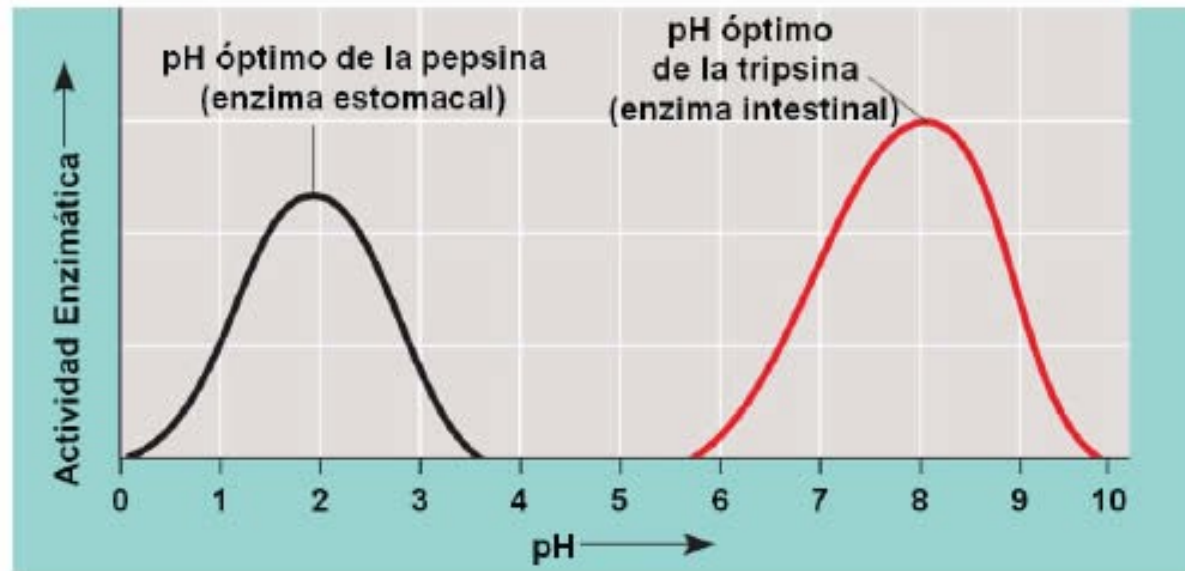
Factors que afecten l'activitat enzimàtica

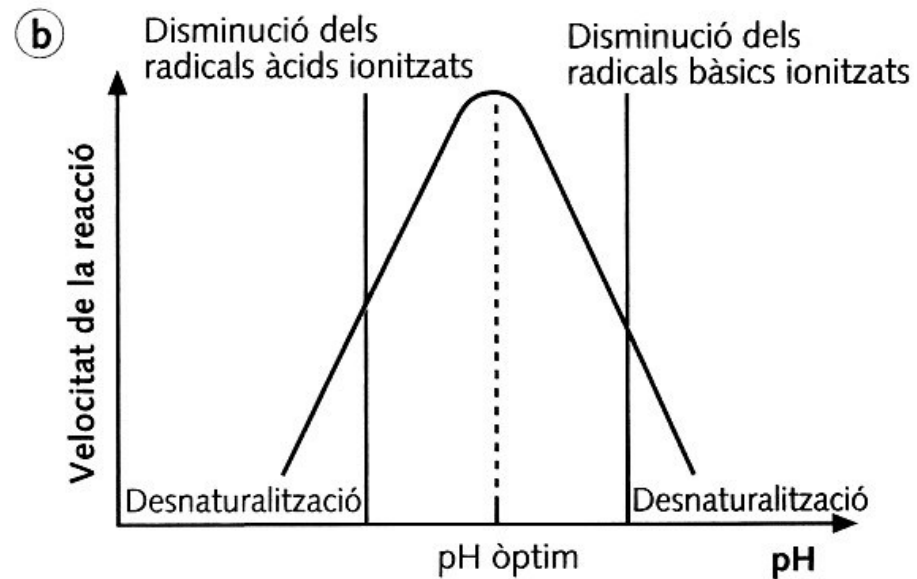
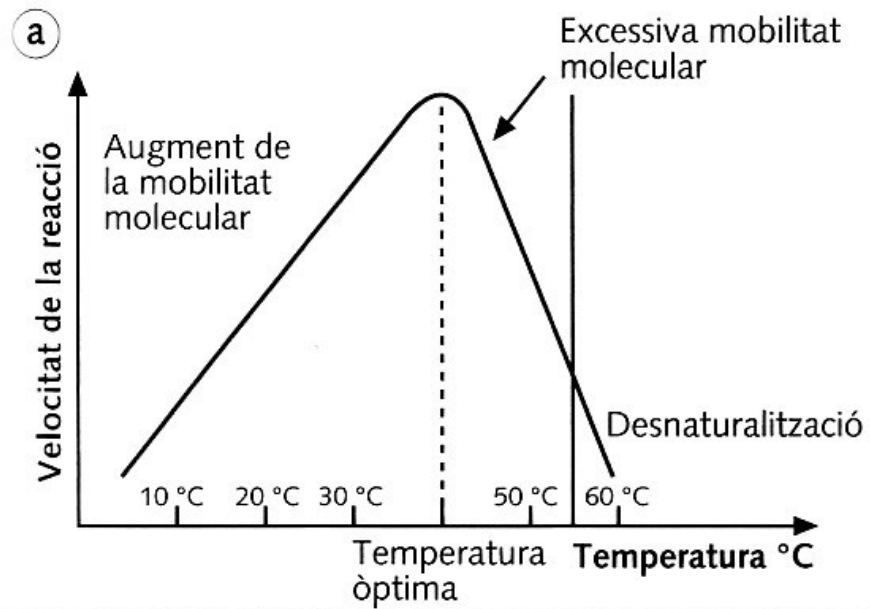
Influència del pH sobre l'activitat enzimàtica



En la majoria dels casos, el pH òptim està pròxima a la neutralitat







Factors que afecten l'activitat enzimàtica

Influència dels **inhibidors** sobre l'activitat enzimàtica

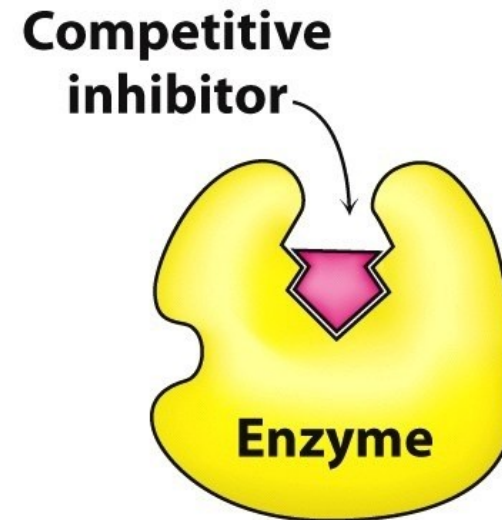
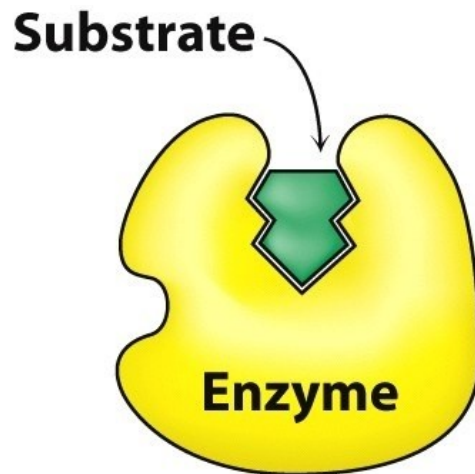
Els inhibidors són molècules que disminueixen o impedeixen l'activitat de l'enzim.

Hi ha dos grups:

- **Inhibidors irreversibles**: s'uneixen permanentment a l'enzim mitjançant enllaços covalents forts irreversibles. Inutilitzen l'enzim. També s'anomenen verins.
- **Inhibidors reversibles**: s'uneixen temporalment a l'enzim per enllaços no covalents, reversibles. Hi ha diferents tipus.
 - **Inhibidors reversibles competitiu**: l'inhibidor competeix amb el substrat per unir-se al centre actiu.
 - **Inhibidors reversibles no competitiu**: l'inhibidor s'uneix a llocs diferent del centre actiu, per tant no hi ha competència amb el substrat.

Inhibició reversible **COMPETITIVA**

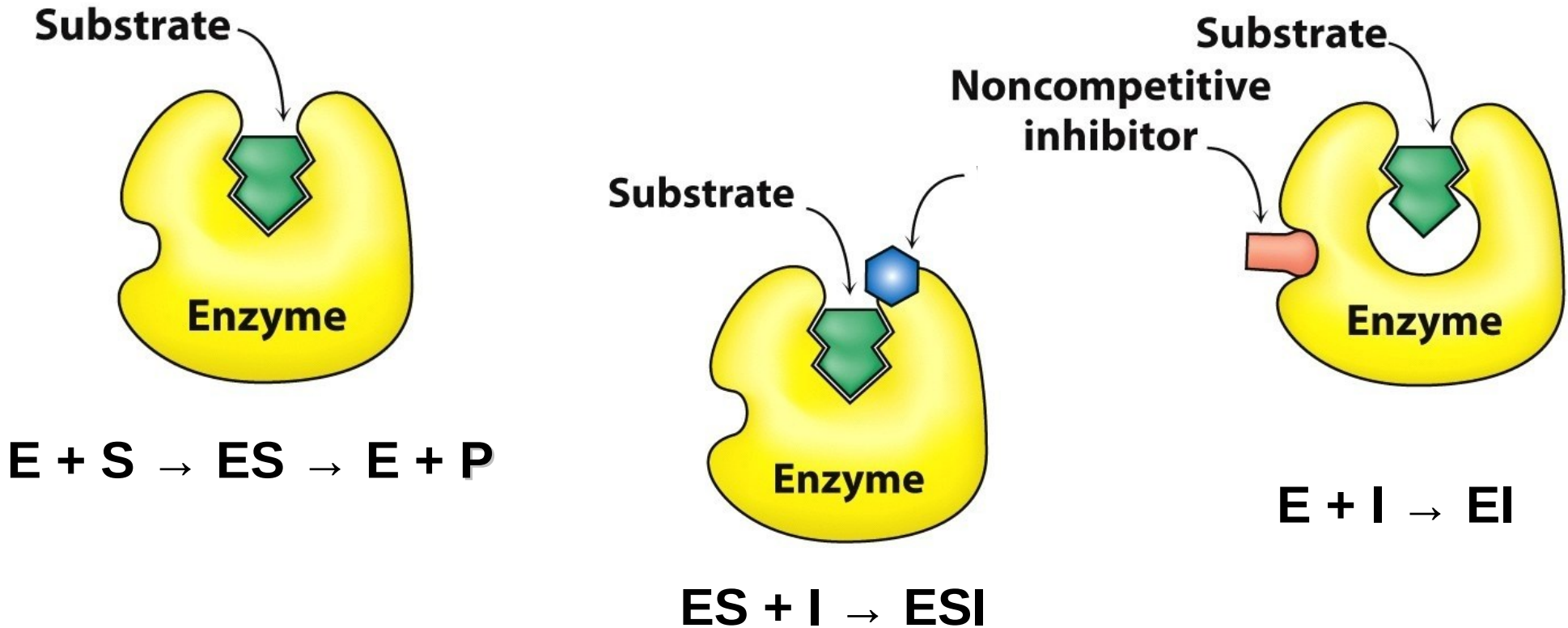
L'inhibidor s'uneix al mateix lloc que el substrat, impedit la formació del complex ES i la formació de producte. Estructuralment sol ser una molècula similar al substrat, de manera que totes dues competeixen per unir-se al centre actiu.



Des del punt de vista cinètic suposa una disminució de la velocitat de la reacció. Tot i així, si la concentració d'inhibidor es manté fixa, és possible revertir la situació incrementant la concentració de substrat, de manera que augmenti la probabilitat que el centre actiu estigui ocupat pel substrat i no pas per l'inhibidor. La reacció, a concentracions altes de substrat mostra una $V_{\max}$ normal.

Inhibició reversible **NO** COMPETITIVA

L'inhibidor mostra afinitat tan per l'enzim lliure com pel complex ES i la unió es realitza en un lloc diferent al centre actiu. La unió de l'inhibidor impossibilita la formació de producte.



El seu efecte no es pot evitar augmentant la concentració de substrat per tant es produeix una disminució de la $V_{\max}$ ja que ni el complex EI ni el complex ESI generen producte.

Cinètica de la reacció amb inhibidor competitiu vs no competitiu

