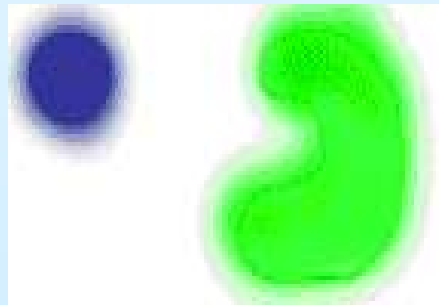


# ENCIMAS



**Carmen Cid Manzano**

**I.E.S. Otero Pedrayo. Ourense. Departamento Bioloxía e Xeoloxía.**

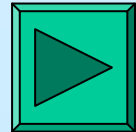
# CONCEPTO DE ENCIMA

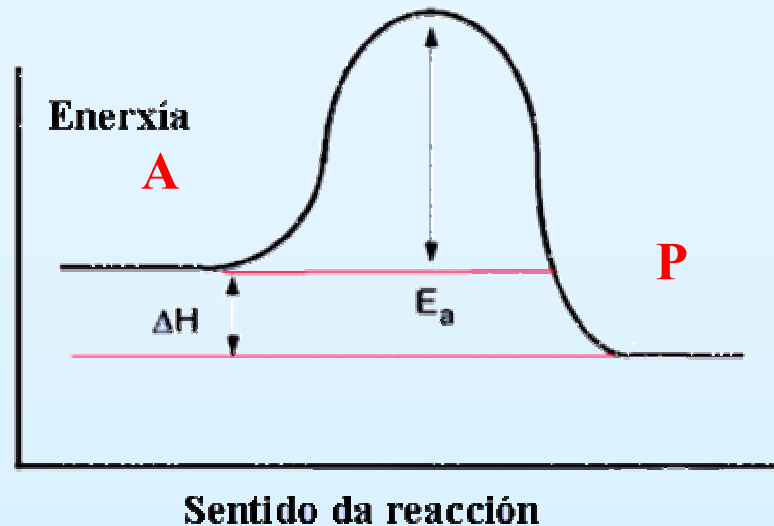
As encimas son proteínas ou asociación de proteínas con outras moléculas orgánicas ou inorgánicas que catalizan reaccións químicas nos seres vivos.

Son catalizadores, é dicir:

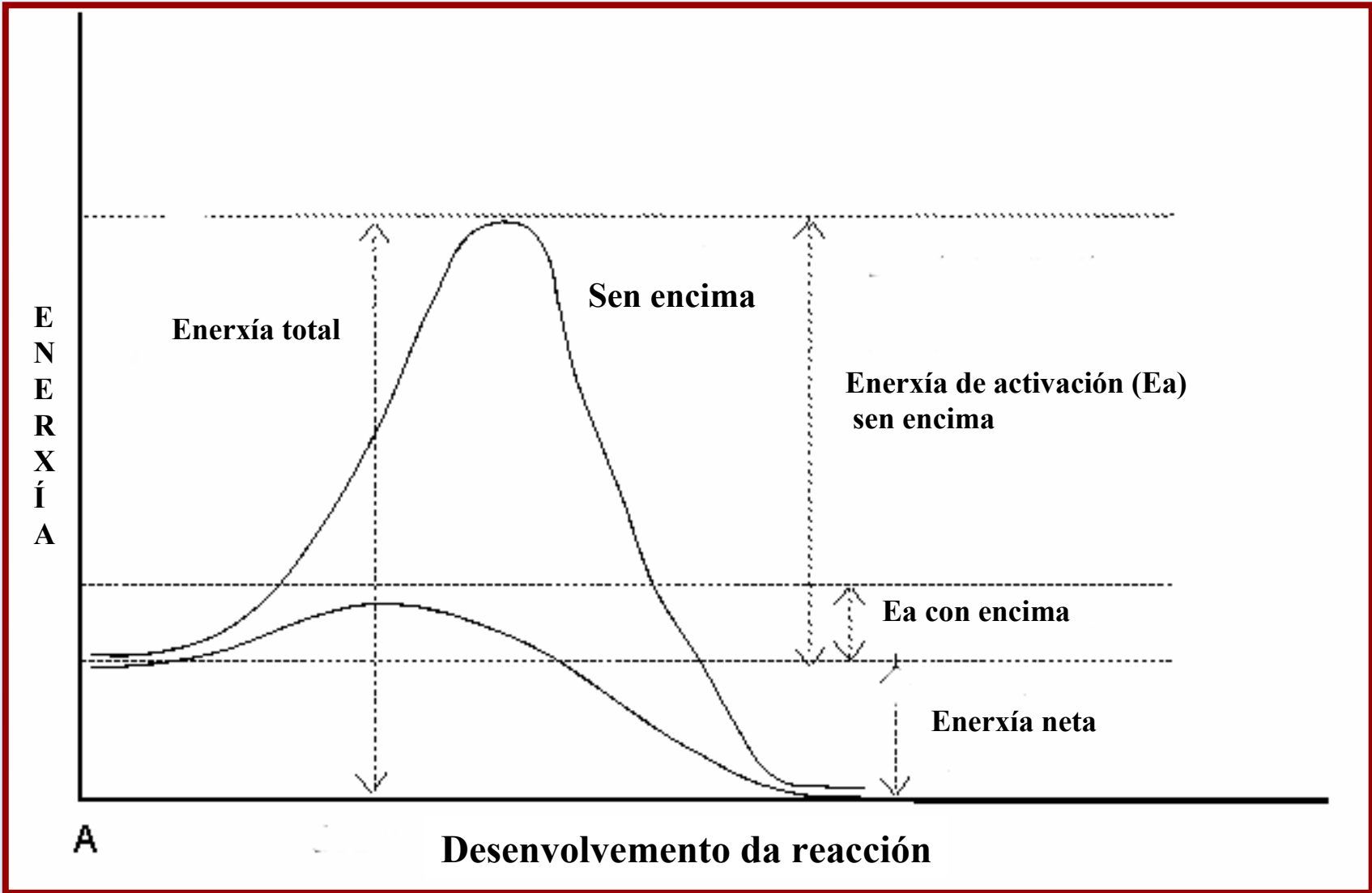
- substancias que, sen consumirse nunha reacción, aumentan notablemente a súa velocidade.
- diminúen a enerxía de activación.
- non modifican a constante de equilibrio.
- necesítanse en pequenas cantidades.

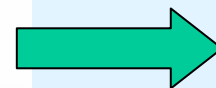
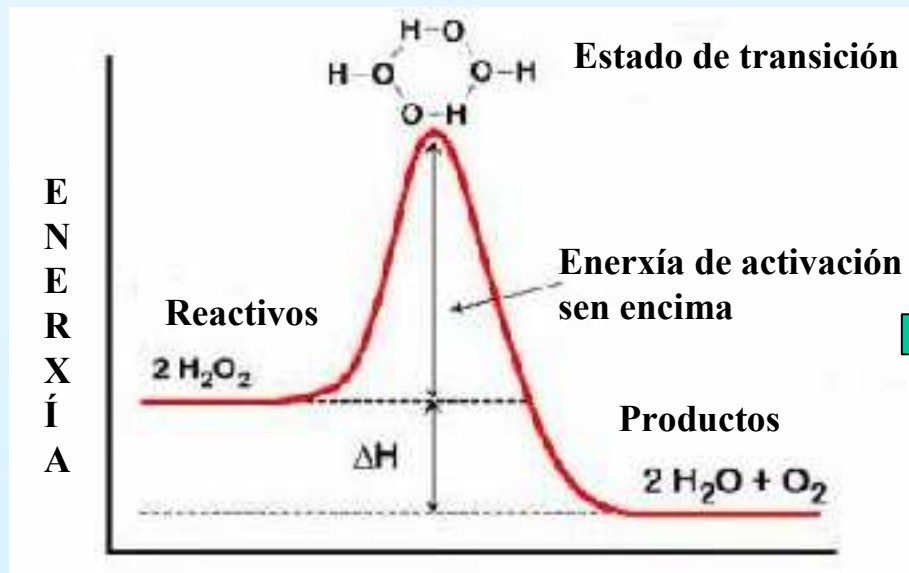
Non fan factibles as reaccións imposibles, senón que só aceleran as que espontaneamente poderían producirse. Isto fai posible que en condicións fisiolóxicas teñan lugar reaccións que sen catalizador requirirían condicións extremas de presión, temperatura ou pH.



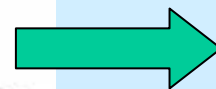
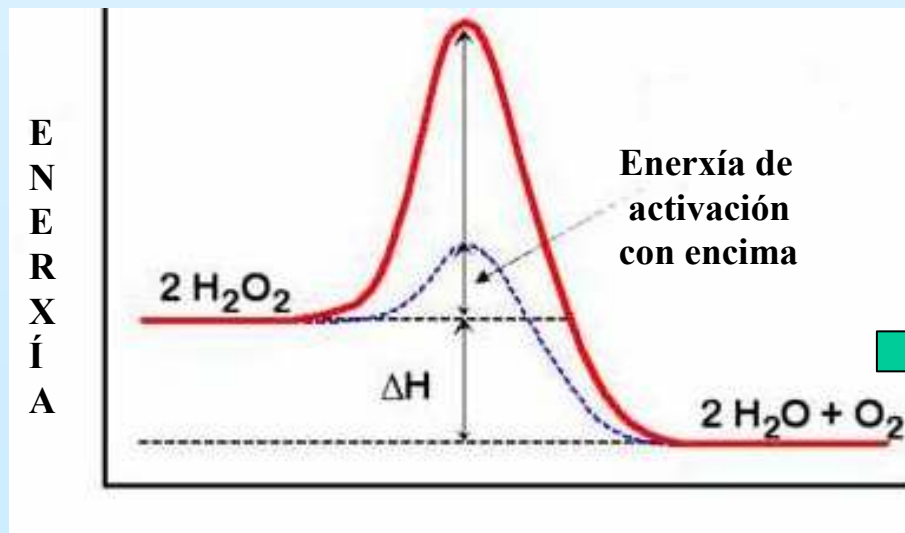


"A" representa as **moléculas reaccionantes**, que constitúen o **estado inicial**. "P" representa os **productos** ou **estado final**. A reacción química de A a P é un proceso posible se a enerxía de P é menor que a de A. Pero hai unha **barreira de enerxía** que os separa; se non é por ela, A non existiría, posto que non sería estable e transformaría en P. Este escollo é unha barreira enerxética, a **enerxía de activación** ( $E_a$ ), que corresponde ó **estado de transición**.





**Reacción sen catalizador**



**Reacción catalizada pola encima catalasa**

A acción dos catalizadores consiste en diminuír a  $E_a$ .

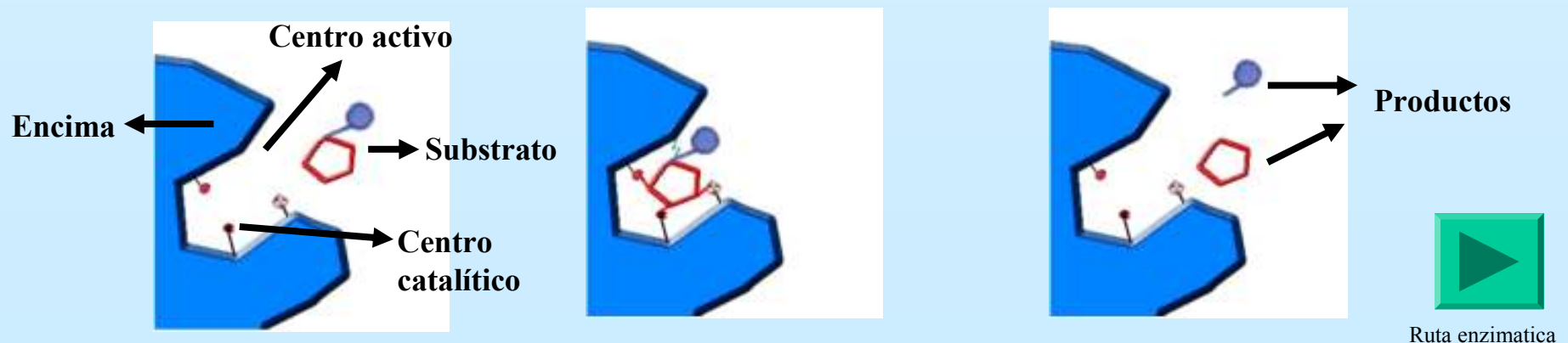
As encimas son catalizadores especialmente eficaces, xa que diminúen a  $E_a$  aínda máis que os catalizadores inorgánicos.

<b>Reacción de descomposición do</b> <b><math>2H_2 O_2 \rightarrow 2H_2 O + O_2</math></b>	<b>Energía de activación</b>
sen catalizador	18 Kcal/mol
cun catalizador inorgánico (platino)	12 Kcal/mol
cun encima específico (catalasa)	6 Kcal/mol

O platino acelera a reacción 20.000 veces, mentres que a catalasa a acelera 370.000 veces.

Nunha reacción catalizada por unha encima:

- A substancia sobre a que actúa a encima chámase **substrato**.
- O substrato únese a unha rexión concreta da encima, chamada **centro activo**. O centro activo comprende (1) un sitio de unión formado polos aminoácidos que están en contacto directo co substrato e (2) un sitio catalítico, formado polos aminoácidos directamente implicados no mecanismo da reacción
- Unha vez formados os **productos** a encima pode comezar un novo ciclo de reacción



# COMPOSICIÓN DAS ENCIMAS

A maioría delas son proteínas globulares, aínda que existen algúns ARN con propiedades catalíticas (as ribocimas).

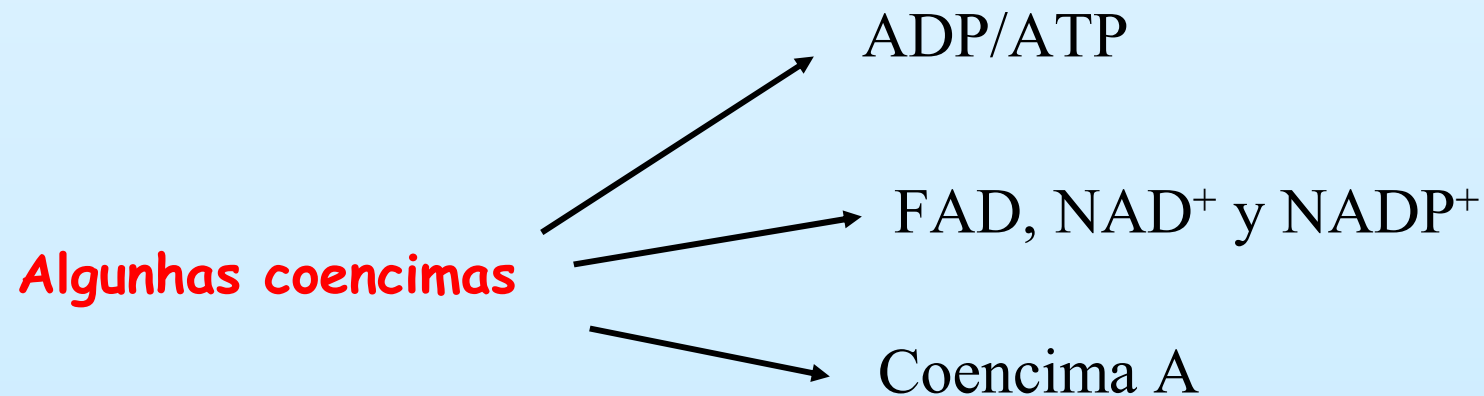
Nas encimas proteicas distínguense:

- 1) Encimas sinxelas: compostas só por unha ou varias cadeas polipeptídicas.
- 2) Encimas conxugadas ou holoenzimas: compostas dunha fracción proteica, a **apoenzima**, e unha fracción non proteica, o **cofactor**.

No caso das **holoencimas**, o **cofactor** pode ser un **cación metálico** o unha **molécula complexa**; neste último caso, ó cofactor chámasele:

a) **grupo prostético**, se está fortemente unido á apoencima cun enlace covalente.

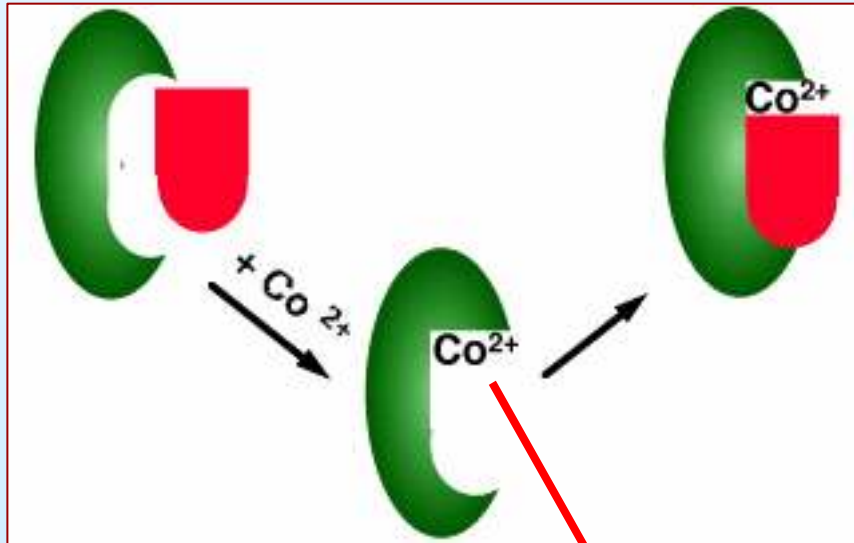
b) **coencima**, se a unión coa apoencima é lábil ou interaccións non covalentes.



A apoencima recoñece ó substrato e a coenzima intervén na reacción.

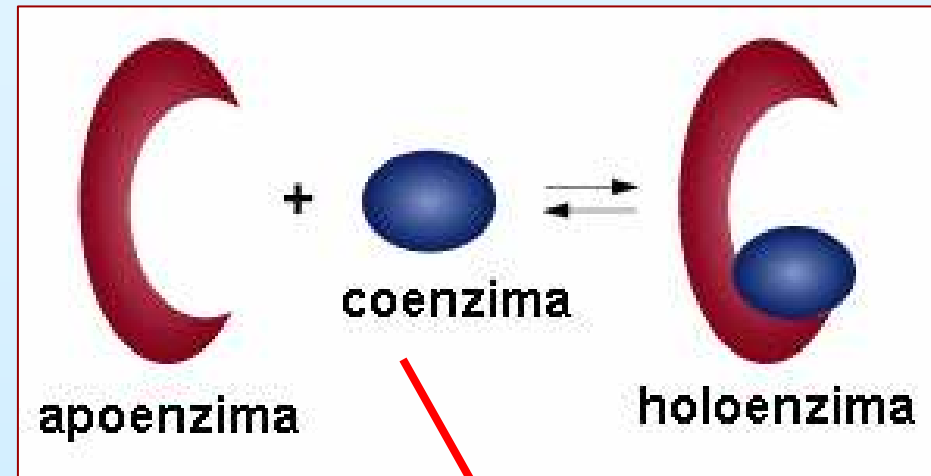
As coencimas non son específicas a apoenzima si.

Encima con cofactor metálico

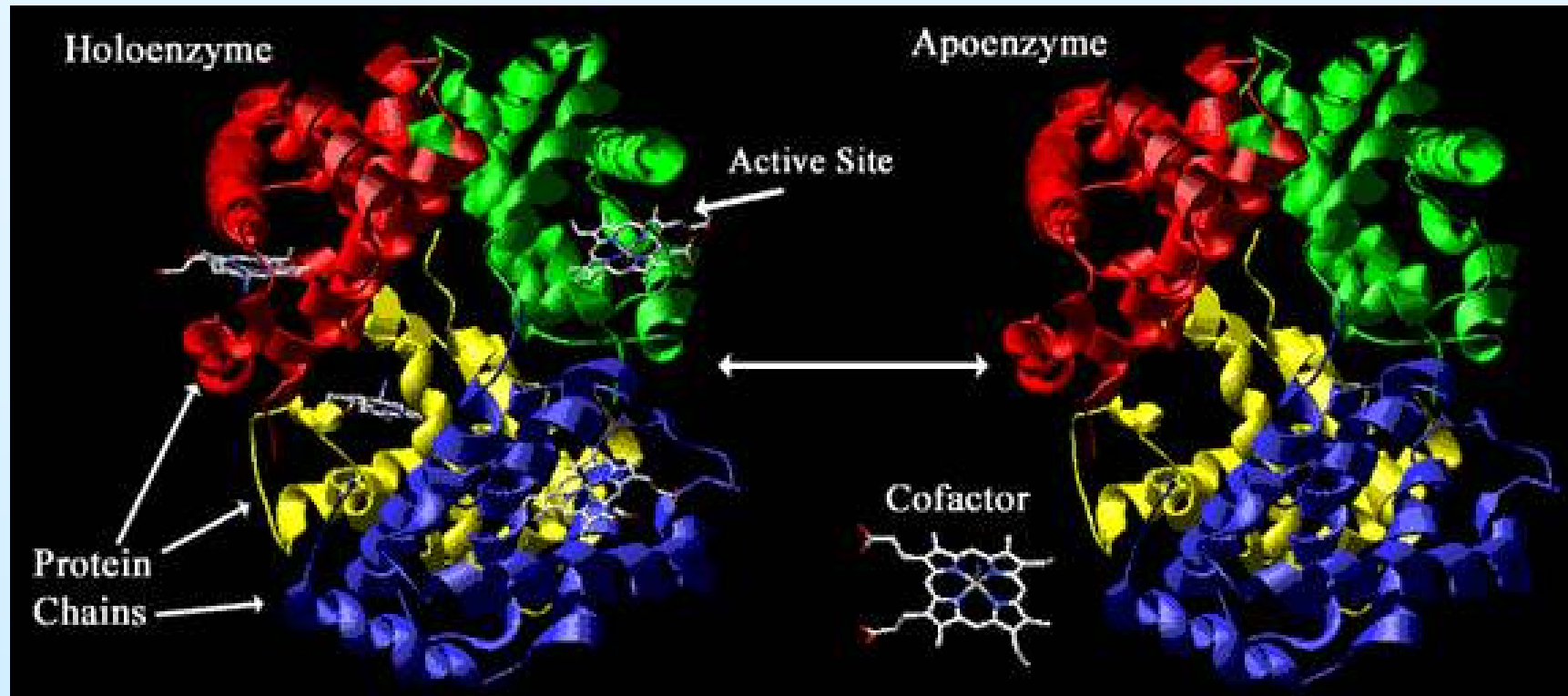


Ión metálico

Encima con coenzima

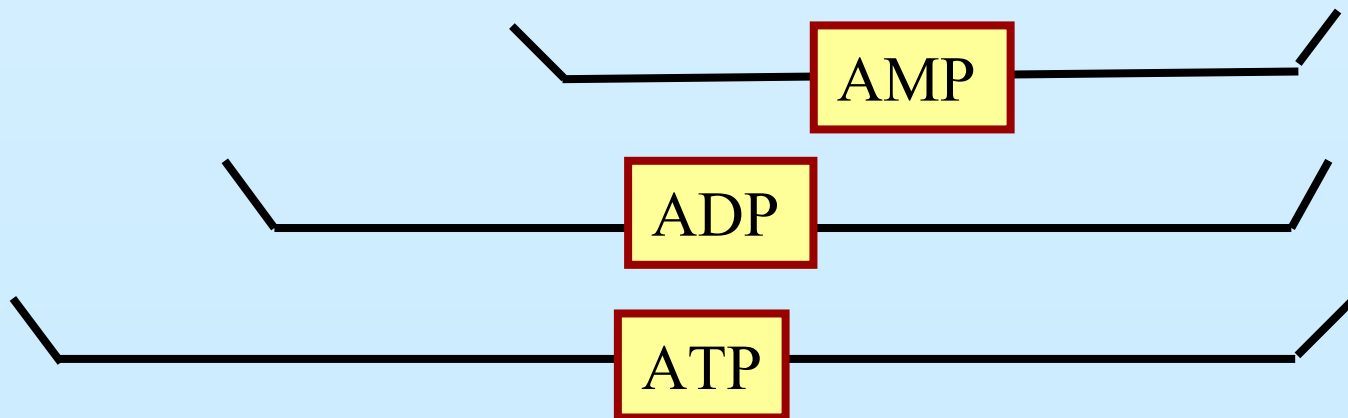
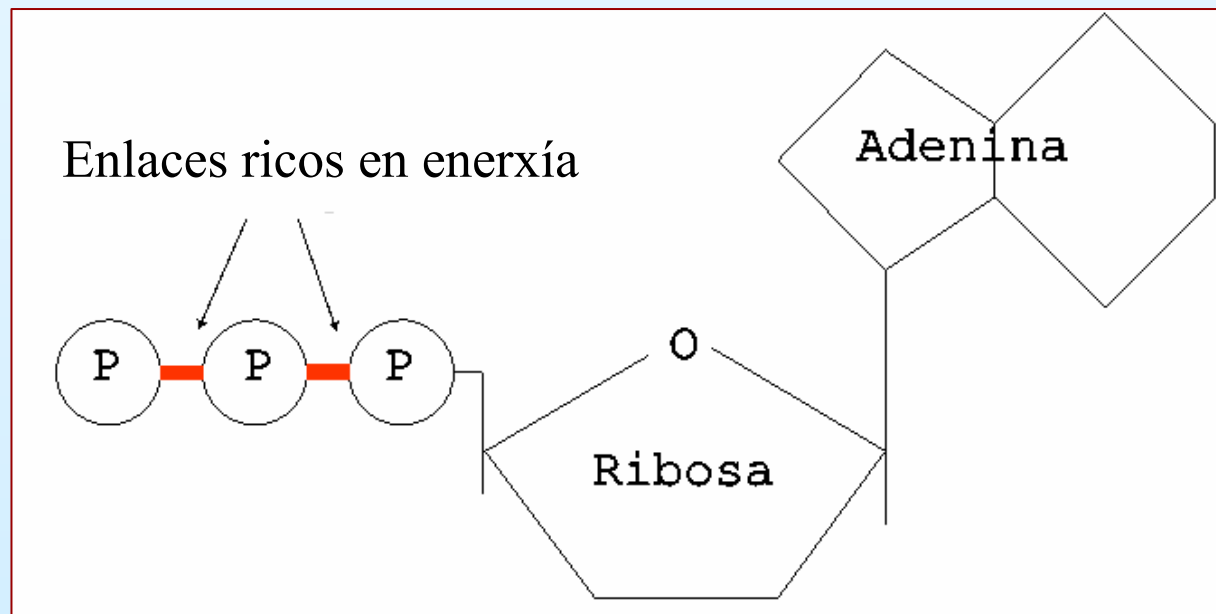


Molécula orgánica

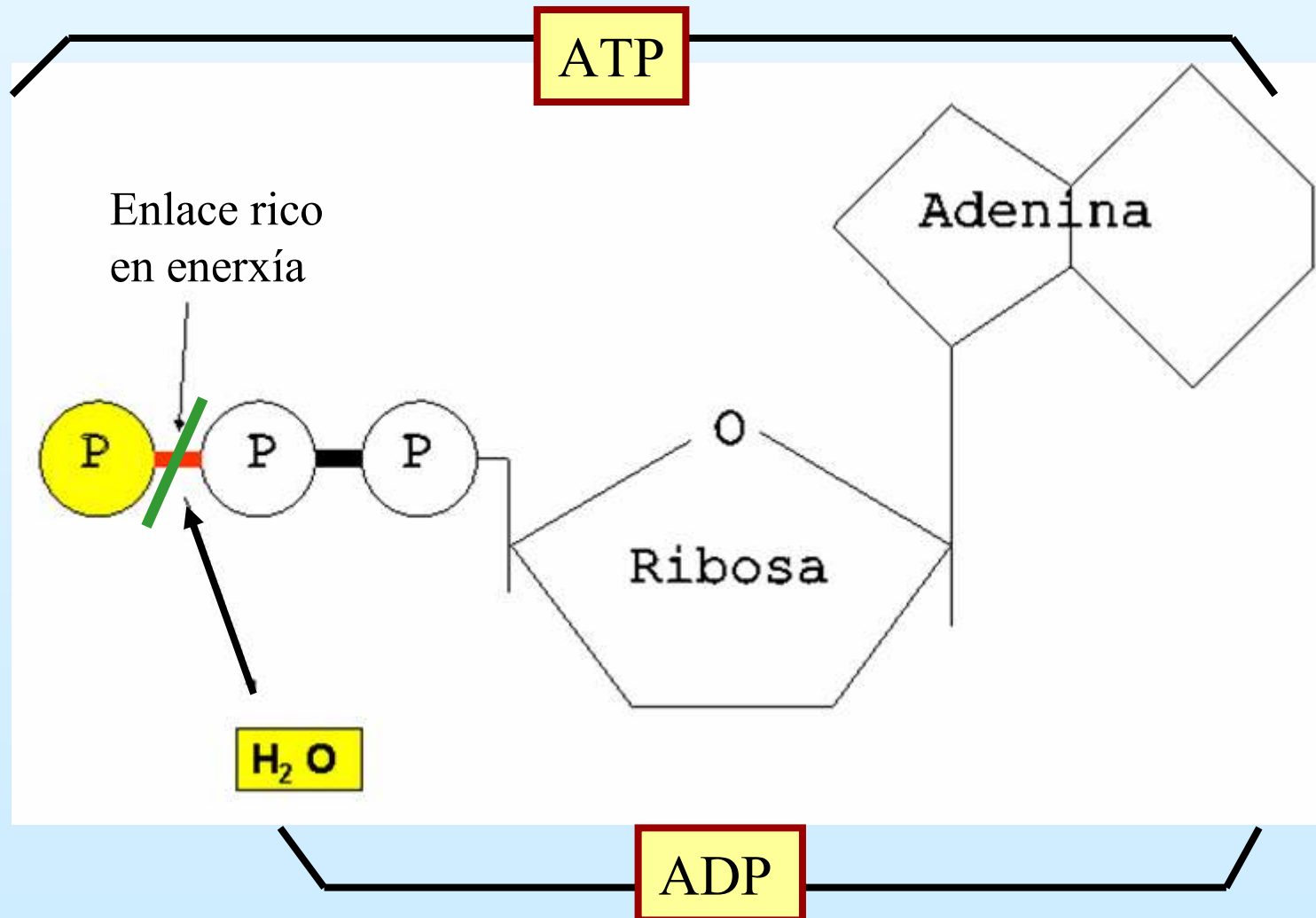


A **apoencima** reconece a substrato e polo tanto é a parte específica da encima, non intervén na reacción. A **coencima** intervén na reacción e non é específica.

# ADENOSINFOSFATOS



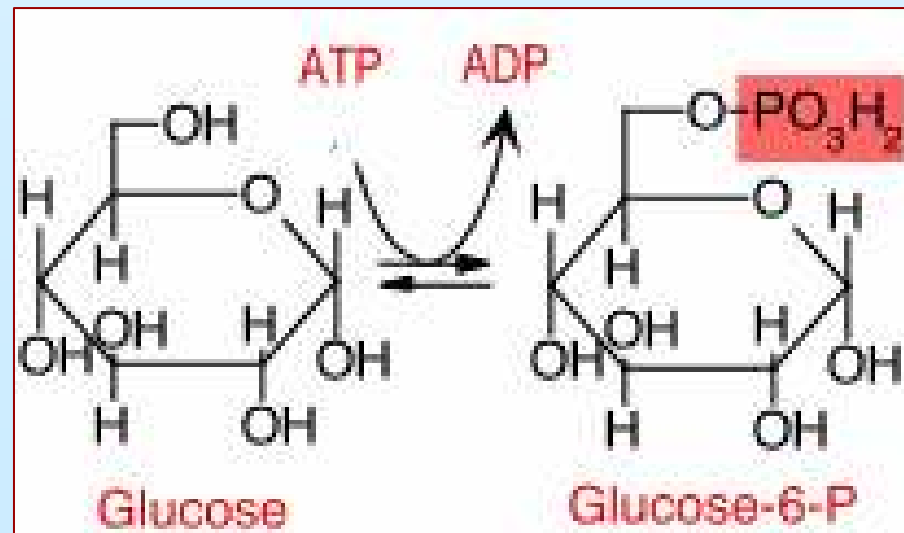
## Formación de nucleótidos de Adenina



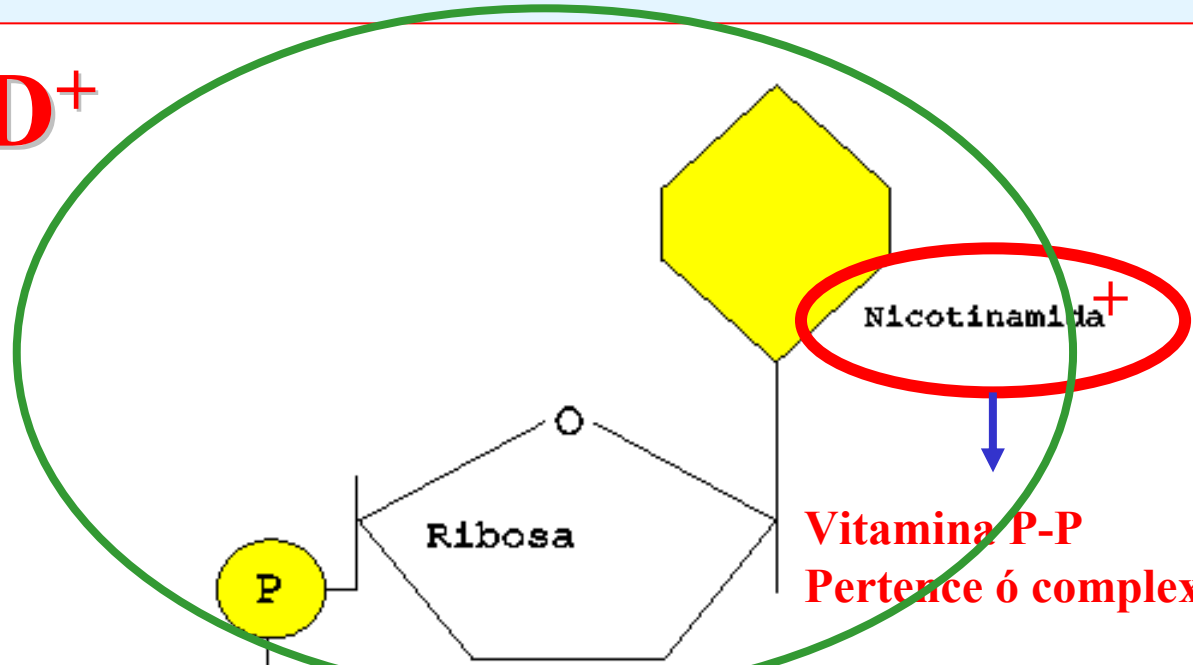
A hidrólise dun enlace éster no ATP produce liberación de enerxía (7 Kcal/mol) e ADP. A reacción contraria suporía almacenamento de enerxía no ATP.

## FUNCIÓN DE LOS ADENOSIN FOSFATOS

- Almacenamiento de energía
- Liberación de energía
- Transferencia de grupos fosfato

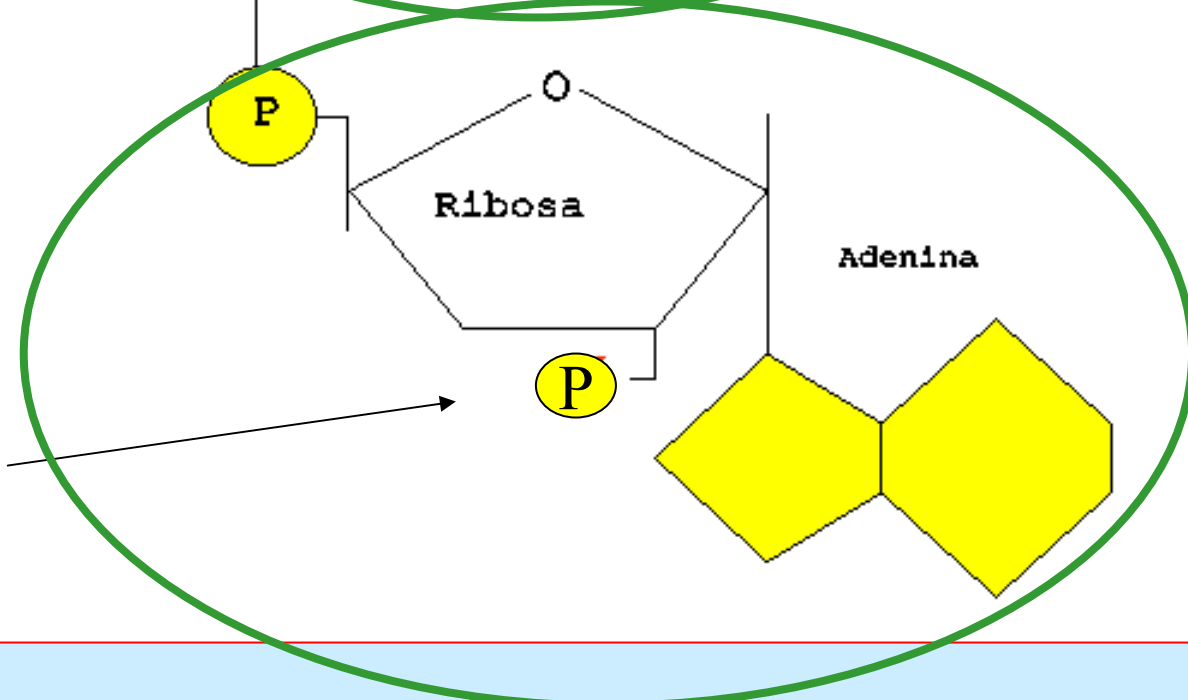


**NAD<sup>+</sup>**

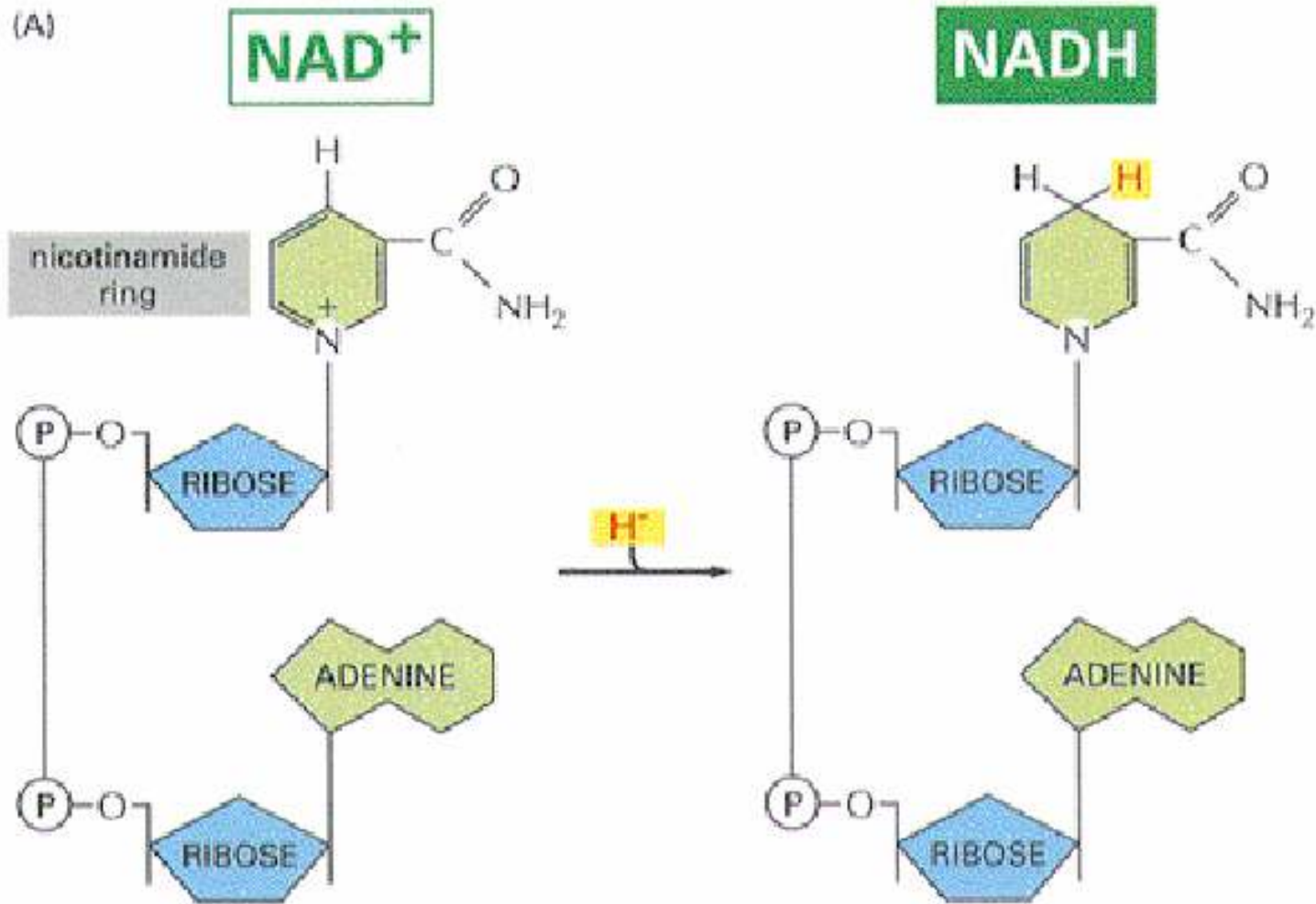


**Vitamina P-P  
Pertence ó complexo B**

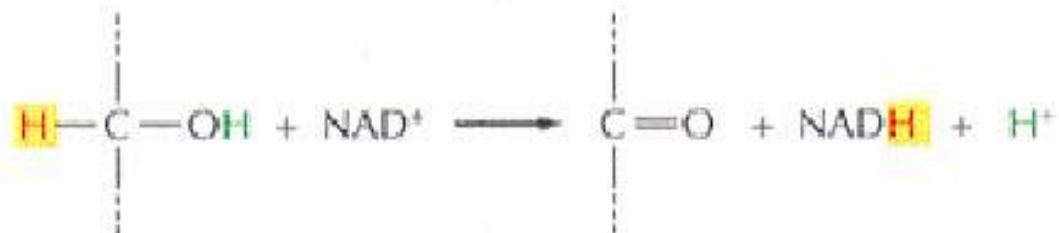
**NADP<sup>+</sup>**



(A)



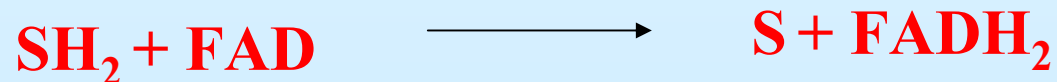
(B)



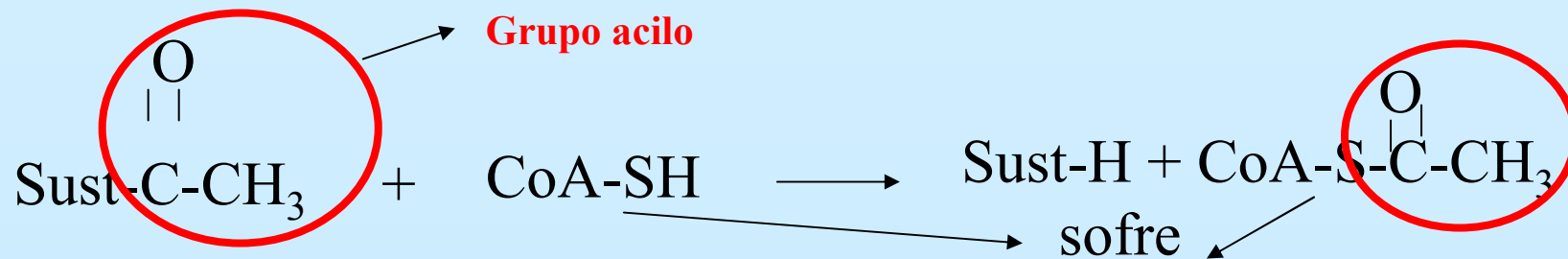
**NAD<sup>+</sup>** e o **NADP<sup>+</sup>** son coencimas de encimas deshidroxenasas, intervén a primeira na respiración celular e a segunda na fotosíntese.



A riboflavina ou vitamina B<sub>2</sub> forma parte do **FAD**, coencima de encimas deshidroxenasas que interveñen na respiración celular.



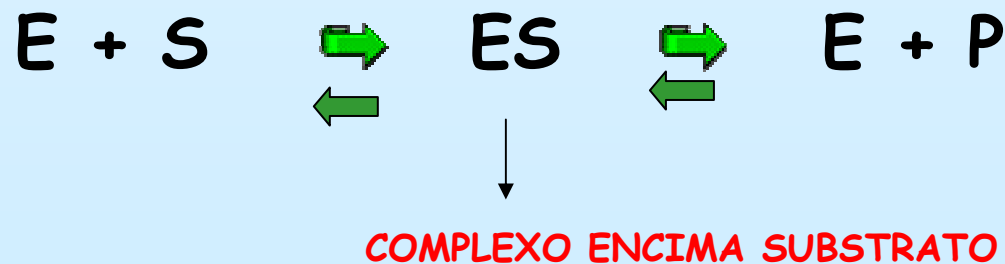
**Coenzima A** intervén na transferencia de grupos acilo



Moitas **vitaminas hidrosolubles** funcionan como **coencimas**; e as deficiencias producidas pola falla de vitaminas responde a que non se pode sintetizar unha determinada encima no que a vitamina é o coencima.

VITAMINAS	FUNCIONES	Enfermidades carenciais
<b>C (ácido ascórbico)</b>	Coencima dalgunhas peptidasas. Intervén na síntese de colaxeno	<b>Escorbuto</b>
<b>B1 (tiamina)</b>	Coencima das descarboxilasas e das encima que transfíren grupos aldehidos	<b>Beriberi</b>
<b>B2 (riboflavina)</b>	Constituíntes dos coencimas <b>FAD</b> e <b>FMN</b> ↑	<b>Dermatite e lesiona nas mucosas</b>
<b>B3 (ácido pantoténico)</b>	Constituíntes da <b>CoA</b> ◀	<b>Fatiga e trastornos do sono</b>
<b>B5 (niacina)</b>	Constituínte das coencimas <b>NAD</b> e <b>NADP</b> ▲ ▲	<b>Pelagra</b>
<b>B6 (piridoxina)</b>	Intervén nas reaccións de transferencia de grupos aminos.	<b>Depresión, anemia</b>
<b>B12 (cobalamina)</b>	Coencima na transferencia de grupos metilo.	<b>Anemia perniciosa</b>
<b>Biotina</b>	Coencima das encimas que transfíren grupos carboxilo, no metabolismo de aminoácidos.	<b>Fatiga, dermatite...</b>

- A acción encimática caracterízase pola formación dun **complexo** (ES) que representa o estado de transición.



Entre a encima e o substrato existe complementariedade de volume e complementariedade de cargas.

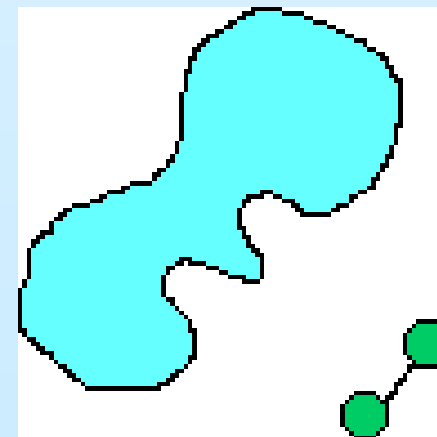
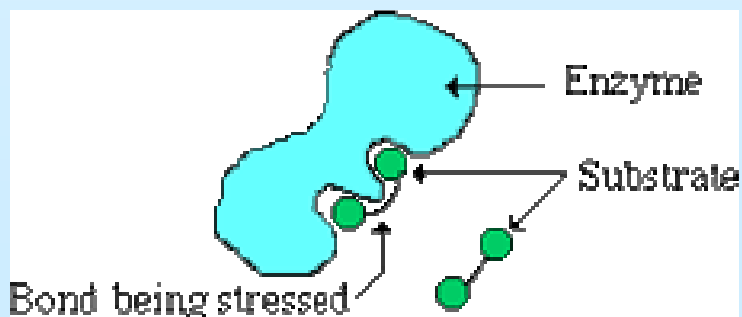
## Reacción enzimática



# MODO DE ACCIÓN DAS ENCIMAS

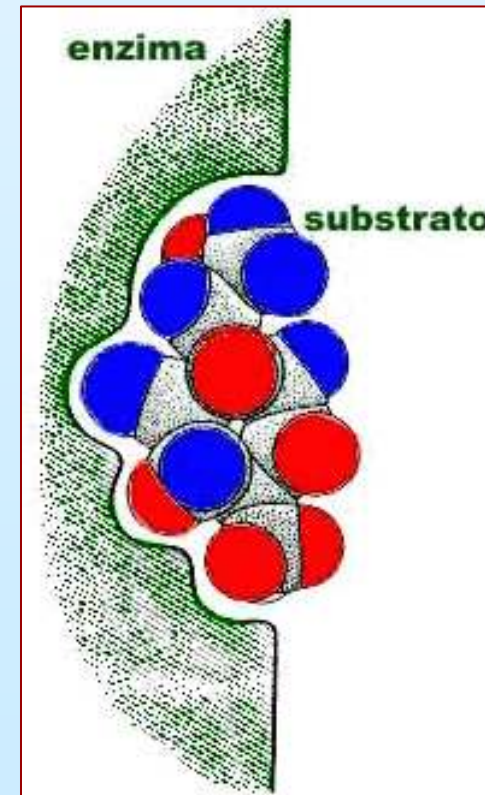
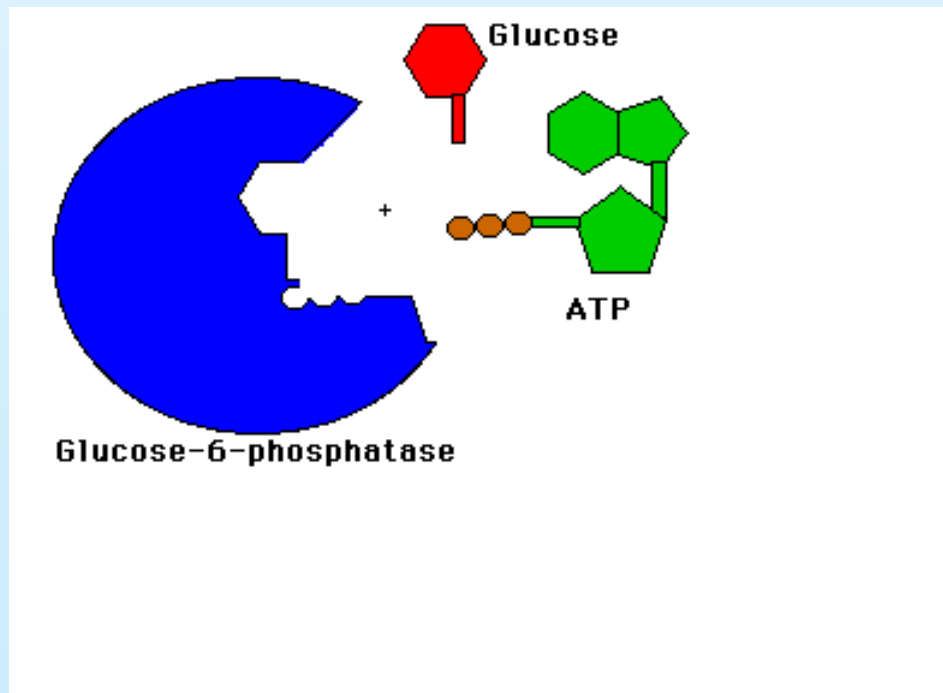
Para que unha reacción química teña lugar, as moléculas dos reactivos deben chocar cunha enerxía e unha orientación adecuadas. A actuación do encima:

- Permite que os substratos se unan ó seu centro activo cunha orientación óptima para que a reacción se produza.
- Modifica as propiedades químicas do substrato unido ó seu centro activo, debilitando os enlaces existentes e facilitando a formación doutros novos.



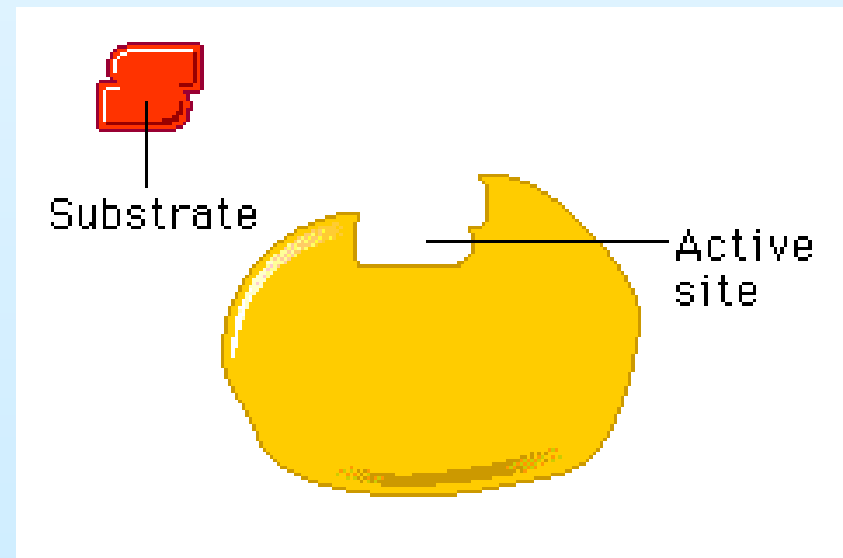
## Modelos ou formas que se une o substrato ó centro activo da encima:

Modelo chave-pechadura (Fischer 1894) supón que a estrutura do substrato e a do centro activo son complementarias, da mesma forma que unha chave encaixa nunha pechadura. Este modelo foi rexeitado.



O modelo del ajuste inducido/mano-luva. Koshland (1958).

O centro activo adopta a conformación idónea só en presenza do substrato. A unión do substrato ó centro activo do encima desencadea un cambio conformacional que da lugar á formación do produto.



# PROPIEDADES DAS ENCIMAS

As propiedades das encimas derivan do feito de ser proteínas e de actuar como catalizadores. Como proteínas posúen a conformación natural máis estable. Así, cambios na conformación van asociados a cambios na actividade catalítica.

## Por ser proteínas:

- Composición química específica: son proteínas con estrutura terciaria e cuaternaria.
- Pódense desnaturalizar.
- Moléculas sintetizadas pola propia célula.
- Específicas: para cada reacción hai unha encima determinada.
- Suxeitas a regulación: están reguladas en cantidade e función.

### Por ser catalizadores:

- Eficientes en pequenas cantidades
- Non se modifican durante a reacción.
- Non afectan o equilibrio da reacción.
- Aceleran as reacciónes.
- Diminúen a enerxía de activación

## Diferencias entre as encimas e os catalizadores inorgánicos

- ✓ As encimas catalizan reaccións específicas (aínda que con distintos grados de especificidade).
- ✓ As encimas son máis eficaces
- ✓ As encimas presentan cinética de saturación polo substrato.
- ✓ As encimas presentan funcionamento regulado.

# ESPECIFICIDADE ENCIMÁTICA

- Especificidade de acción: cada encima só efectúa sobre un substrato un tipo de transformación.
  
- Especificidade de substrato. Esta especificidade é variable de unhas encimas a outras e pode darse a tres niveis diferentes:
  - a) Absoluta: cando a encima é específica dun único substrato.
  
  - b) De grupo: cando a encima actúa só sobre un grupo funcional ou un enlace químico determinado, dun ou varios substratos.
  
  - c) Estereoquímica: cando a encima é capaz de diferenciar entre isómeros, actuando só sobre unha das posibles configuracións.

# **FACTORES QUE CONDICIONAN A ACTIVIDADE ENCIMÁTICA**

- Concentración de sustrato**
- pH**
- Temperatura**
- Presencia de inhibidores**
- Presencia de activadores**

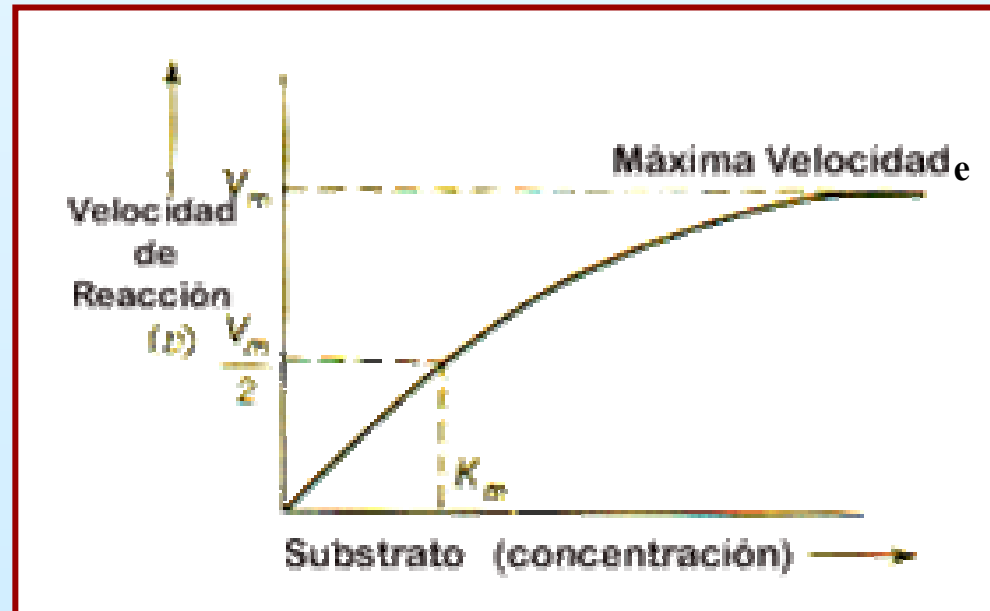
## Efecto da concentración de substrato sobre a actividade encimática

Os estudos sistemáticos do efecto da concentración del substrato sobre a actividade encimática comezaron a realizarse a finais do século XIX.

En 1913, **Leonor Michaelis e Maud Menten** propuxeron unha ecuación que explicaba o comportamento cinético das encimas.

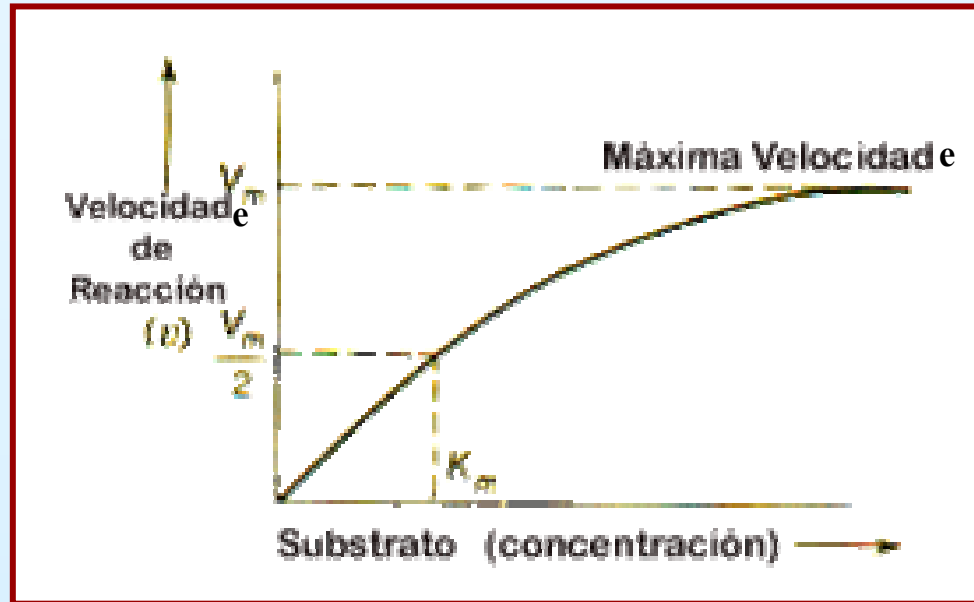


Segundo o modelo de Michaelis-Menten, si se mide a velocidade dunha reacción catalizada a unha temperatura determinada e a unha concentración constante de encima e facemos variar a concentración de substrato, obtense unha gráfica como a seguinte:



A representación gráfica da ecuación de Michaelis-Menten é unha hipérbola.

A  $K_M$  corresponde á concentración de substrato á que a velocidade da reacción é a metade da  $V_{max}$ .



Podemos observar como a velocidade de reacción é directamente proporcional á concentración de substrato, ata chegar a un certo límite no que se alcanza un máximo ( $V_{max}$ ) e xa non varía aínda que se incrementa a concentración de substrato.

Alcánzase a **saturación**, ou o que é o mesmo: a velocidade é máxima cando a encima está saturada ou formando o chamado complexo E-S. É o momento que corresponde ó chamado **estado de transición**, no que se produce a total interacción do substrato co centro activo da encima.

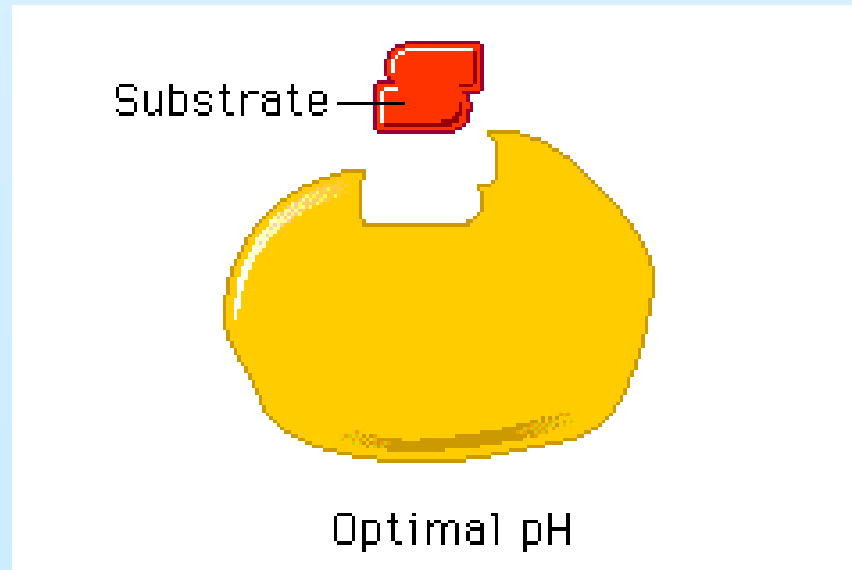
## Significado biolóxico de $K_m$ :

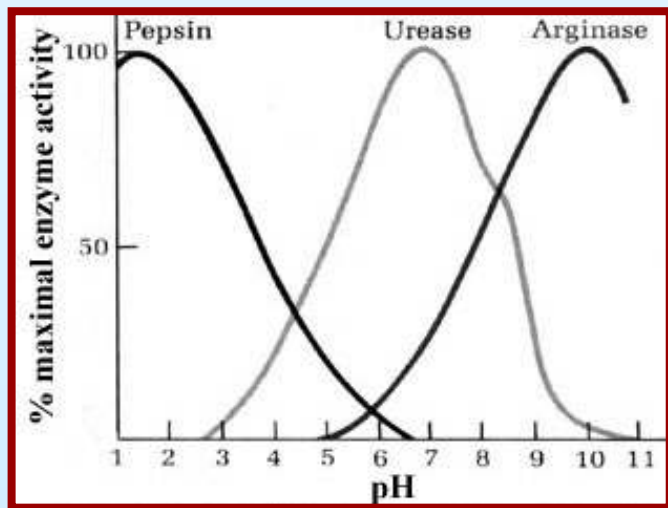
A  $K_m$  dunha encima indica o **grao de afinidade** desta respecto do substrato. Concretamente:

- a) Un valor alto de  $K_m$  quere expresar que para conseguir a velocidade semimáxima requírese unha elevada concentración de substrato e que, polo tanto, a encima non ten gran afinidade por el.
- b) Valores baixos de  $K_m$  indican que o complexo E-S fórmase a baixas concentracións de substrato, é dicir, a encima ten gran afinidade por el.

## EFEECTO DO pH SOBRE A ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

As encimas posúen grupos químicos ionizables (carboxilos -COOH; amino -NH<sub>2</sub>; tiol -SH, etc.) nas cadeas laterais dos seus aminoácidos. Segundo o pH do medio, estes grupos poden ter carga eléctrica positiva, negativa ou neutra. Como a conformación das proteínas depende, en parte, das súas cargas eléctricas, haberá un pH no que a conformación será a máis adecuada para a actividade catalítica. Este é o chamado pH óptimo, a este pH a velocidade da reacción encimática será máxima.



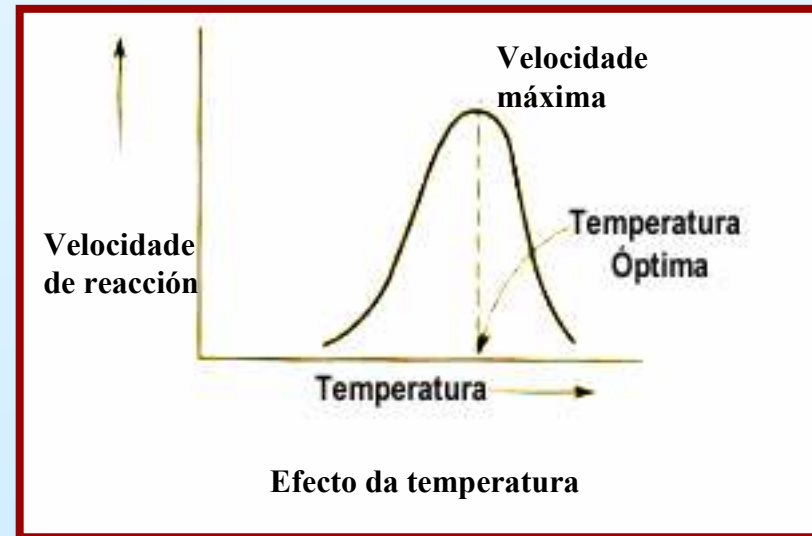


A maioría das encimas son moi sensibles ós cambios de pH. Desviacións de poucas décimas por encima ou por debaixo do pH óptimo poden afectar drasticamente a súa actividade. Así, a pepsina gástrica ten un pH óptimo de 2, a ureasa teno a pH 7 e a arginasa teno a pH 10. Como lixeiros cambios do pH poden provocar a desnaturalización da proteína, os seres vivos desenvolveron **sistemas tampón** para manter estable o pH.

## EFECTO DA TEMPERATURA SOBRE A ACTIVIDADE ENCIMÁTICA

En xeral, por cada  $10^{\circ}\text{C}$  de incremento, a velocidade dunha reacción duplicase. As reaccións catalizadas por encimas seguen esta lei xeral. Isto é debido a que o calor, ó ser captado polas moléculas transfórmase en enerxía cinética, o que favorece a mobilidade das moléculas e fai que aumente a posibilidade de que se atope a encima co substrato. Sen embargo, ó ser as encimas proteínas, a partir da  $T^{\circ}$  óptima modifican a súa estrutura e a velocidade diminúe podendo chegar a desnaturalizarse.

A temperatura á que a actividade catalítica é máxima chámase **temperatura óptima**



# INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

## Inhibición reversible

Trátase de casos nos que se forma un complexo E-I, que pode dissociarse e deixar activa á encima.

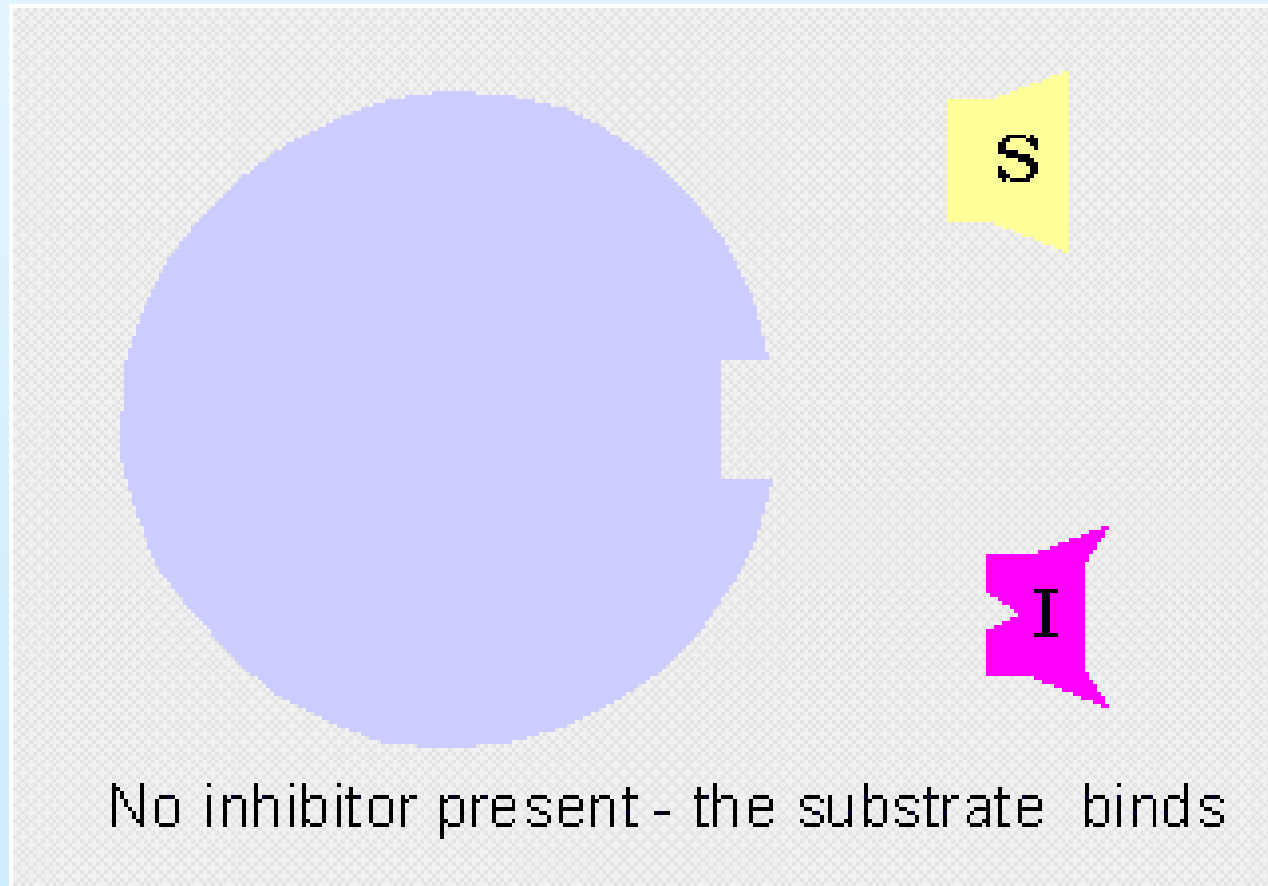
### a) Competitiva:

O inhibidor e o substrato parécense e compiten por unirse ó centro activo da encima. Fórmase un complexo E-I reversible. O seu efecto pódese inverter aumentando a [S].

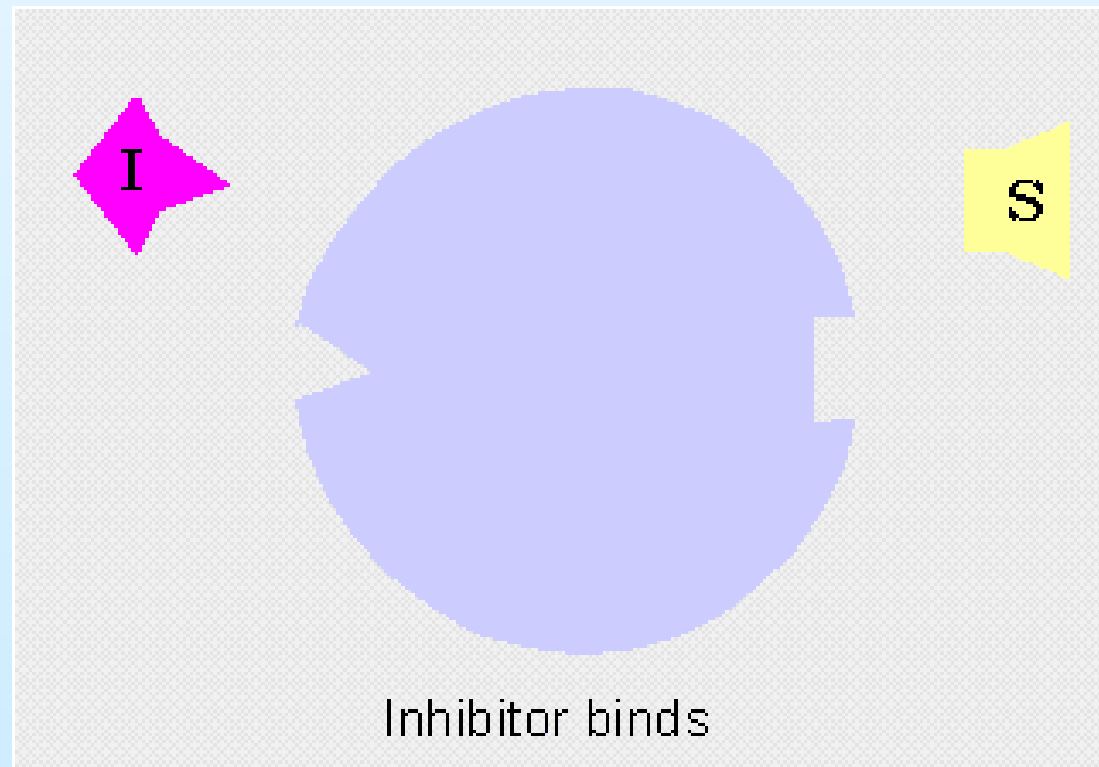
### b) Non competitiva:

Neste caso o inhibidor e o substrato poden unirse simultaneamente á encima, aínda que en puntos distintos da súa molécula, pero ó unirse o inhibidor prodúcese un cambio na conformación do centro activo e a actividade encimática queda bloqueada.

# Inhibición competitiva

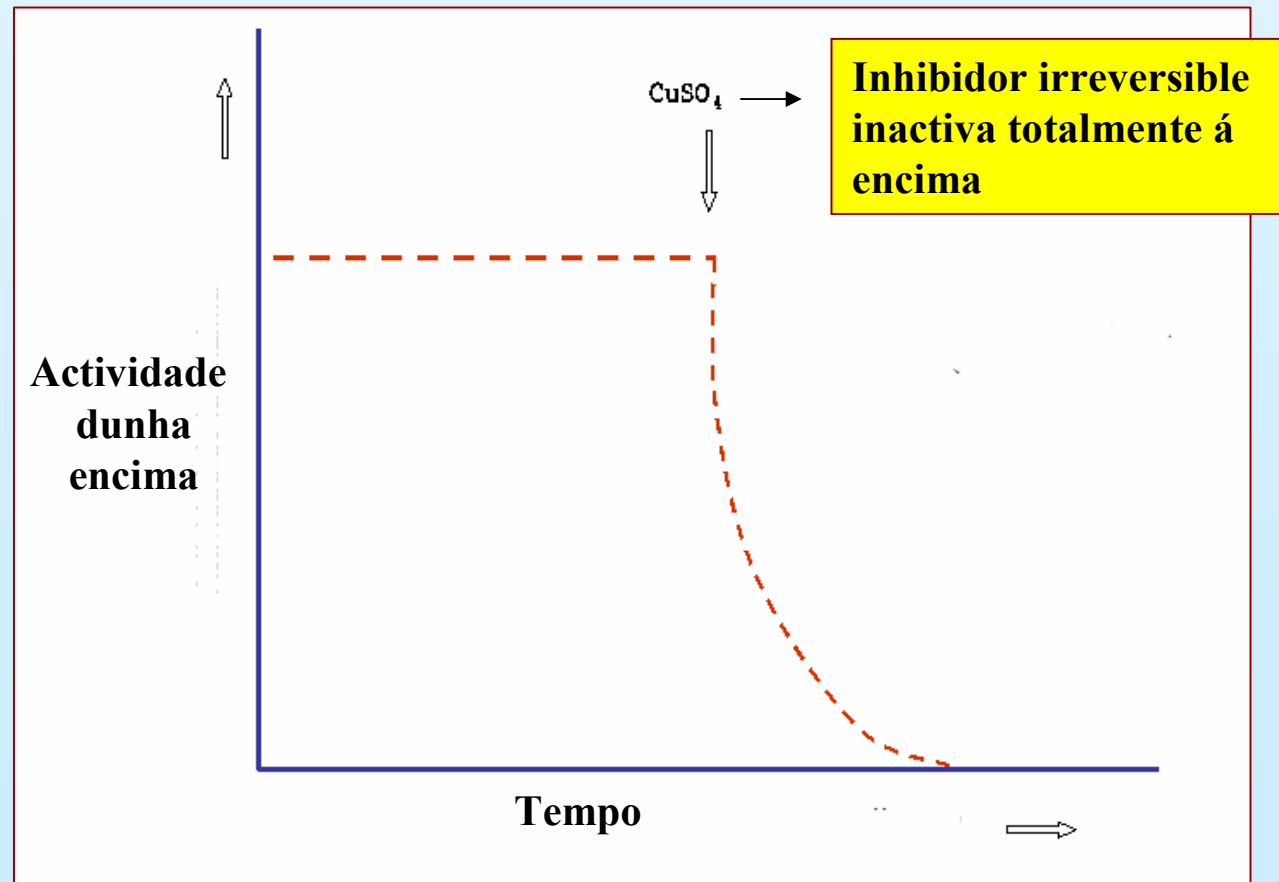


# Inhibición no competitiva

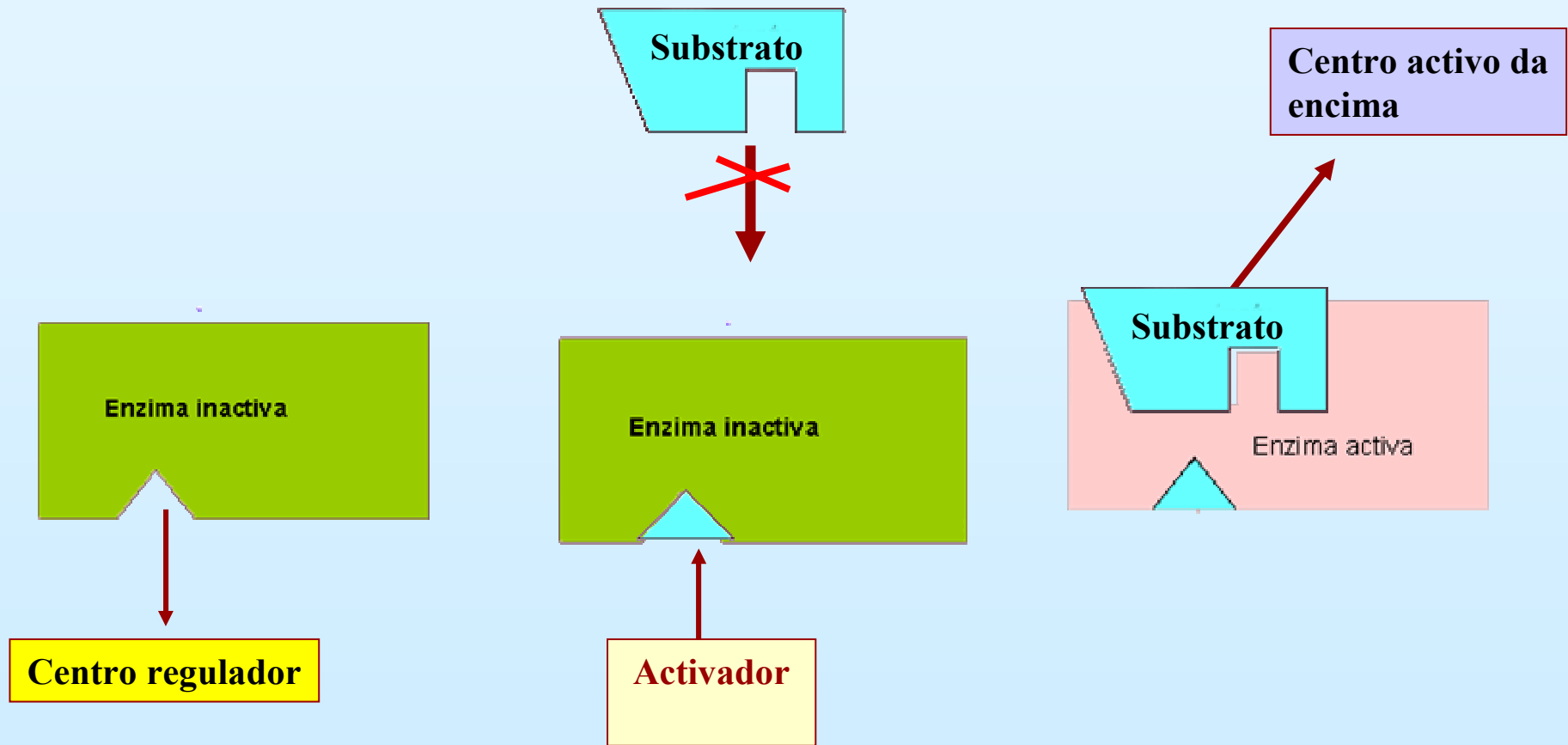


## Inhibición irreversible

O inhibidor modifica a estrutura da encima ou únese tan fortemente a ela que a inactiva totalmente.



# ACTIVADORES



O activador únese o centro regulador da encima cambiando a súa conformación e posibilitando a unión do substrato ó centro activo da encima.

# Regulación da actividade encimática

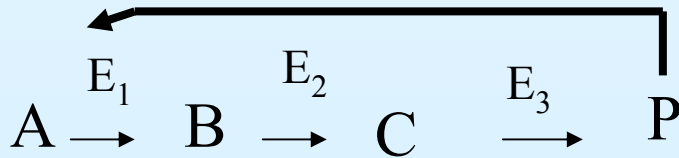
A regulación da actividade encimática evita un gasto inútil de enerxía e tamén un gasto innecesario de bioprecusores.

Tipos de regulación encimática:

- **Retroinhibición ou retroalimentación**
- **Modulación alostérica**
- **Modificación covalente**
- **Proenzimas ou cimóxenos**
- **Isoencimas**

# Retroinhibición ou retroalimentación

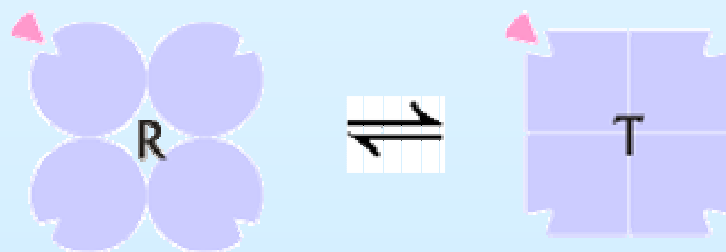
É un tipo de regulación moi frecuente no metabolismo.



- Trátase dun mecanismo no que o inhibidor é o propio produto dunha reacción.
- En moitos sistemas multiencimáticos, un dos produtos, polo xeral o último da serie de reaccións, actúa como inhibidor dunha encima, moitas veces situada ó comezo da secuencia.
- O produto (neste caso inhibidor) funciona a modo de sinal de que existe unha concentración adecuada do mesmo e que xa non se necesita máis, para que a reacción se deteña.

## Regulación alostérica da actividade encimática

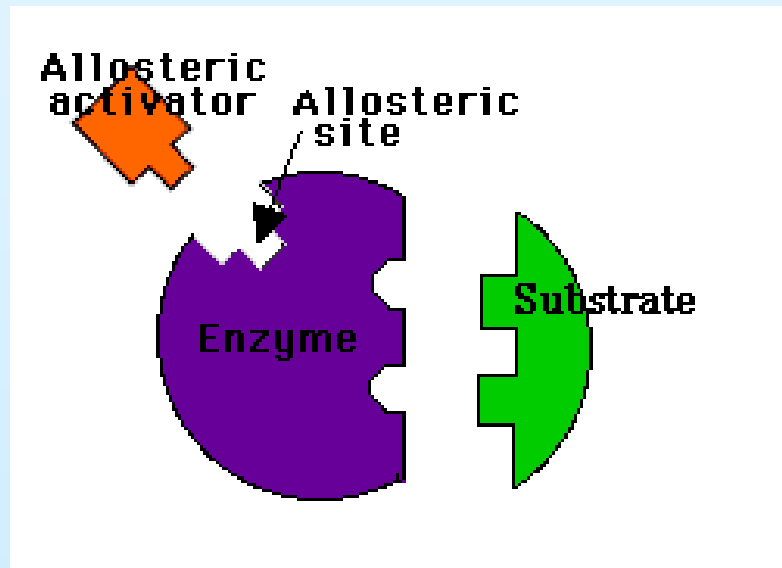
Existen encimas que poden adoptar dúas conformacións interconvertibles chamadas R (relaxada) e T (tensa). R é a forma máis activa porque se une ó substrato con máis afinidade. As formas R e T atópanse en equilibrio  $R \rightleftharpoons T$



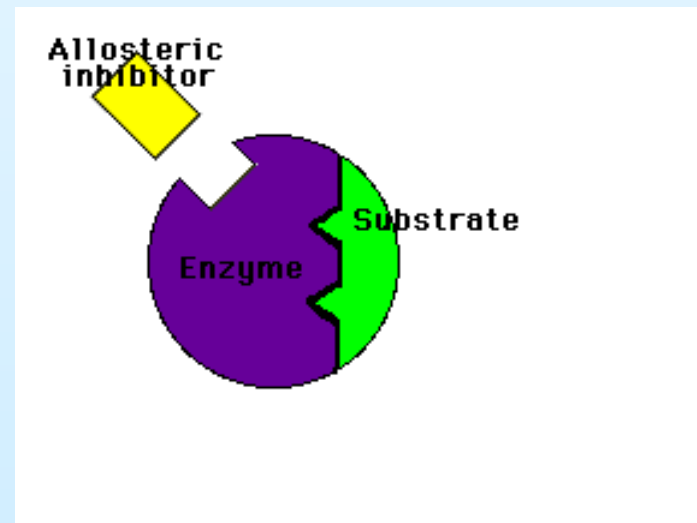
Certas substancias tenden a estabilizar a forma R. Son os chamados **moduladores positivos**. O propio substrato é a miúdo un modulador positivo.

As moléculas que favorecen a forma R pero que actúan sobre unha rexión do encima distinta do centro activo son os **activadores alostéricos**

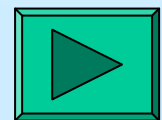
As substancias que favorecen a forma T diminúen a actividade encimática son os **moduladores negativos**. Se estes moduladores actúan en lugares distintos do centro activo da encima chámanse **inhibidores alostéricos**



**Activador alostérico:**  
favorece a unión do  
substrato



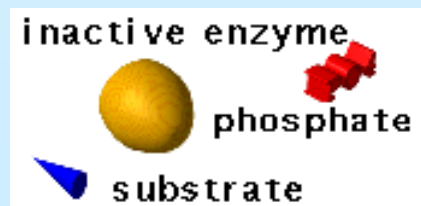
**Inhibidor alostérico:**  
impide a unión do  
substrato



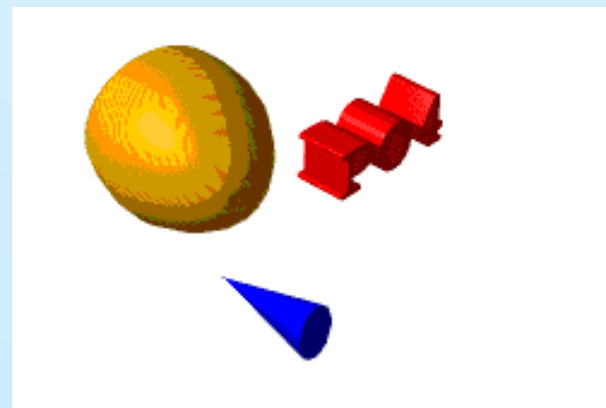
# Regulación covalente da actividade encimática

Outros encimas pasan dunha forma menos activa a outra máis activa uníndose covalentemente a un grupo químico de pequeno tamaño como un grupo fosfato ou o AMP. Tamén se dá o caso inverso, no que unha encima moi activa desactívase ó liberar algún grupo químico. Nas encimas das vías degradativas do metabolismo, a forma fosforilada é máis activa que a non fosforilada, mentres que nas vías biosintéticas ocorre o contrario.

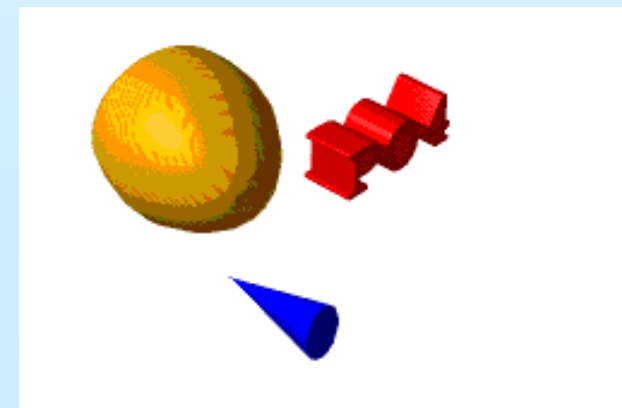
Elementos da  
reacción



A encima non fosforilada  
é inactivo

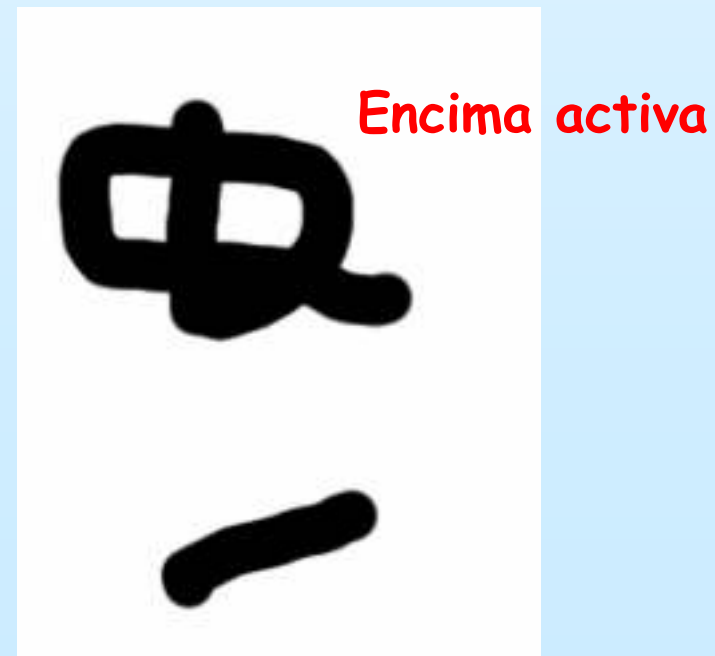
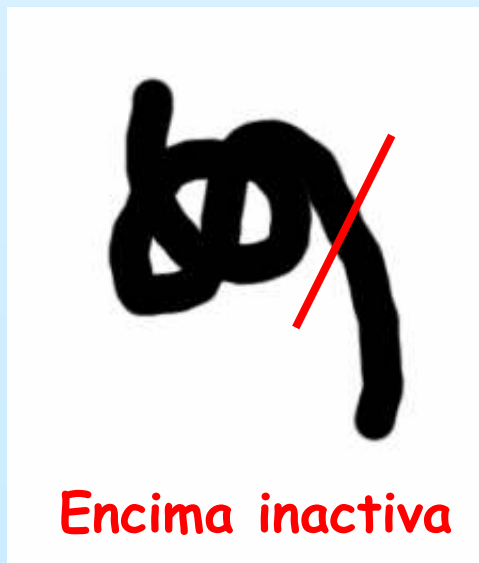


A encima  
fosforilada é activa



## Proencimas ou cimóxenos

Algunhas encimas non se sintetizan como tales, senón como proteínas precursoras sen actividade encimática. Estas proteínas chámanse **proencimas** ou **cimóxenos**. Para activarse, os cimóxenos sofren un ataque hidrolítico que orixina a liberación dun ou varios péptidos. O resto da molécula proteica adopta a conformación e as propiedades da encima activa.



Algúñas encimas dixestivas segréganse en forma de zimógenos e no tubo dixestivo convértense na forma activa. Se estas encimas se sintetizasen directamente na forma activa destruirían a propia célula que as produce. Así, a tripsina pancreática (unha proteasa) sintetízase como tripsinóxeno (inactivo). Se por algunha razón actívase no propio páncreas, a glándula sofre un proceso de autodestrución (pancreatite aguda), a miúdo mortal.

# Regulación da actividade encimática por medio de isoencimas

Algunhas encimas teñen distinta estrutura molecular aínda que a súa función biolóxica é similar. Chámanse **isocimas** ou **isoencimas**. Estas diferencias de estrutura se traducen en lixeiros cambios nas súas propiedades, de forma que cada isocima se adapta perfectamente á función que debe realizar. Así, podemos observar a existencia de isoencimas en función de:

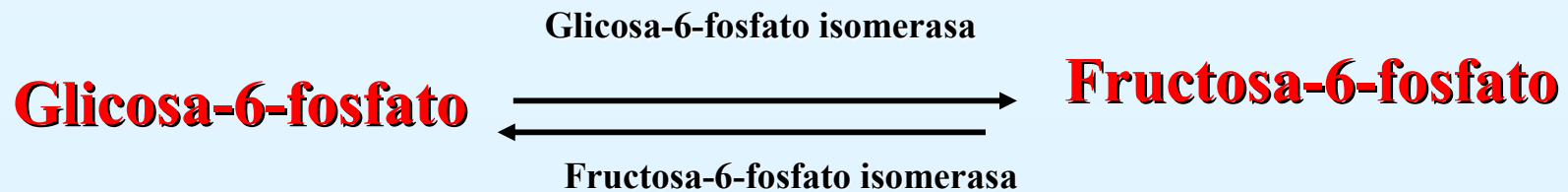
- **O tipo de tecido:** Por exemplo, a lactato deshidroxenasa presenta isocimas distintas en músculo e corazón.
- **O compartimento celular** onde actúa: Por exemplo, a malato deshidroxenasa do citoplasma é distinta á da mitocondria.
- **O momento concreto do desenvolvemento** do individuo: Por exemplo, algúns encimas da glicólise do feto son diferentes dos mesmos encimas no adulto.

# NOMENCLATURA DAS ENZIMAS

❖ Antigamente, as encimas recibían **nomes particulares**, asinados polo descubridor. Ó ir aumentando o número de encimas coñecidos, fíxose necesaria unha nomenclatura sistemática que informara sobre a acción específica de cada encima e os substratos sobre os que actuaba.

❖ O **nome sistemático** costa de tres partes:

- Substrato preferente
- Tipo de reacción catalizada
- Terminación asa



Moitas encimas catalizan **reaccións reversibles**. Non hai unha maneira única para fixar cal dos dous sentidos utilízase para nomear á encima. Así, a glicosa fosfato isomerasa tamén podería chamarse fructosa fosfato isomerasa.

Cando a acción típica da encima é a **hidrólise** do substrato, o segundo compoñente do nome omítese e por exemplo, a lactosa hidrolasa chámase só lactasa. Ademais dos nomes sistemáticos, aínda persisten outros consagrados polo uso. Así, a glicosa ATP fosforiltransferasa chámase habitualmente glicoquinasa (as encimas que fosforilan se lles denomina quinases).

## ❖ NOMENCLATURA DA COMISIÓN ENCIMÁTICA

O nome de cada encima pode ser identificado por un **código numérico**, encabezado por as letras **EC** (Enzyme Commission), **seguidas de catro números separados por puntos**:

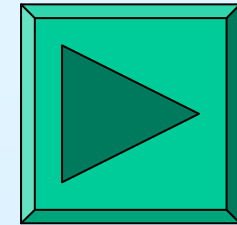
- O primeiro número indica a clase a que pertence a encima,
- O segundo refírese a distintas subclases dentro de cada grupo,
- O terceiro e o cuarto refírense ós grupos químicos específicos que interveñen na reacción.

*Ex: a ATP:glicosa fosfotransferasa (glicoquinasa) defínese como EC 2.7.1.2. O número 2 indica que é unha transferasa, o 7 que é unha fosfotransferasa, o 1 indica que o acceptor é un grupo OH, e o último 2 indica que é un OH da D-glicosa o que acepta o grupo fosfato.*

**□ MODELOS DE ACTUACIÓN DAS  
ENCIMAS**

**□ NOMENCLATURA E CLASIFICACIÓN**

**□ INHIBICIÓN ENCIMÁTICA**



# CLASIFICACIÓN DAS ENCIMAS

En función da súa acción catalítica específica, as encimas clasifícanse en 6 grandes grupos ou clases:

- Clase 1: OXIDORREDUCTASAS
- Clase 2: TRANSFERASAS
- Clase 3: HIDROLASAS
- Clase 4: LIASAS
- Clase 5: ISOMERASAS
- Clase 6: LIGASAS

## Clase 1: OXIDORREDUCTASAS

Catalizan reacciones de oxidorreducción, é dicir, transferencia de hidróxeno (H) ou electróns ( $e^-$ ) dun substrato a outro, segundo a reacción xeral:



Por exemplo:

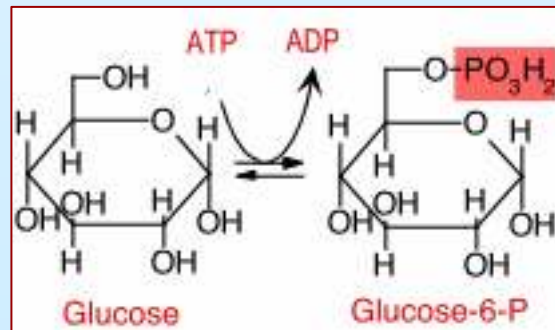
- 1) Deshidroxenasas: separan hidróxeno dun substrato e cédeno a un aceptor (NAD, NADP, FAD, ...) que se reduce.
- 2) Oxidasas: captan electróns dun substrato e cédenos ó osíxeno.

## Clase 2: TRANSFERASAS

Catalizan a transferencia dun grupo químico (distinto do hidróxeno) dun substrato a outro, segundo a reacción:



Un exemplo é a glicoquinasa, que cataliza a reacción seguinte:

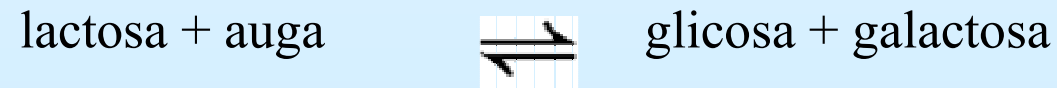


## Clase 3: HIDROLASAS

Catalizan as reacciones de hidrólise:



Un exemplo é a lactasa, que cataliza a reacción:



Exemplos:

Glicosidasas (amilasa, sacarasa, ...): rompen enlaces O-glicosídicos.

Esterasas (lipasas): rompen enlaces éster.

Proteasas (pepsina, tripsina, ...): rompen enlaces peptídicos.

Nucleasas: rompen enlaces fosfodiéster

## Clase 4: LIASAS

Catalizan a adición ou eliminación de grupos funcionais.

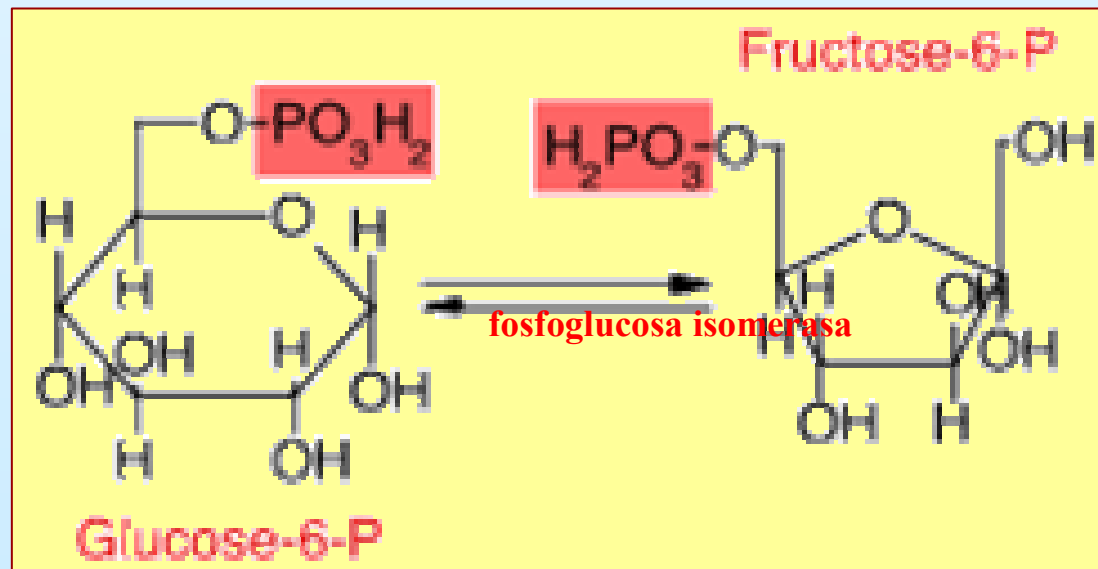


Exemplo:

- 1) Carboxilasas e descarboxilasas: adicionan ou eliminan dióxido de carbono.
- 2) Aminasas e desaminasas: adicionan ou eliminan grupos amino.
- 3) Cetolasas: eliminan grupos cetona.
- 4) Aldolasas: eliminan grupos aldehído.

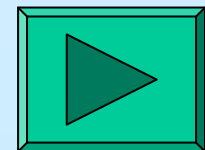
## Clase 5: ISOMERASAS

Catalizan a interconversión de isómeros:



## Clase 6: **LIGASAS O SINTETASAS**

Catalizan a unión de dous substratos con hidrólise simultánea dun nucleótido trifosfato (ATP, GTP, etc.):





*Departamento Bioloxía e Xeoloxía  
I.E.S. Otero Pedrayo. Ourense.*