

Enzimología

Definimos enzima como toda proteína con la propiedad de catalizar una reacción. Sin embargo, en los años ochenta, se encontró que no sólo las proteínas pueden funcionar como catalizadores, sino que otras biomoléculas, más concretamente el RNA, entra a formar parte del juego. Estos catalizadores de ácido nucleico, se llaman **ribozimas**, para diferenciarlas de los biocatalizadores comunes, que son proteicos.

Estas ribozimas se encontraron por primera vez en un protozoo ciliado, implicadas en el procesamiento del rRNA, cuyo proceso es catalizado por él mismo (**autocatálisis**). La maduración de este tipo de RNA consiste principalmente en la eliminación de los intrones transcritos. No sólo aparecen en procesos autocatalíticos, también en procesos de maduración de los tRNAs, dando en primer lugar un precursor y posteriormente el tRNA maduro

tRNA * Precursor-tRNA * tRNA maduro

Cooperación

No siempre es suficiente con la proteína para que el proceso catalítico sea efectivo, siendo necesario en algunas ocasiones, la participación de otros elementos:

	<i>Apoenzima</i>	proteína
Holoenzima	<i>Cofactor</i>	ión metálico molécula orgánica

La unión del cofactor a la apoenzima, puede ser de dos tipos principales. Estos se distinguen por la diferente fuerza o intensidad del proceso necesario para separarlos. Las uniones débiles, son aquellas en las que basta con un proceso de dilución de la muestra para separar el cofactor de la parte proteica. Estas suelen ser de tipo electrostático. Las interacciones fuertes requieren procesos más drásticos y, por tanto, entran a formarlas fuerzas de tipo covalente, hidrofóbico o enlaces de coordinación con iones metálicos (NAD, NADP, FAD, PPO).

Catálisis

Si recordamos de Física-Química, un catalizador es toda aquella sustancia que aumenta la velocidad de reacción, pero no interfiere en la constante de equilibrio. Esto significa que llegaremos antes al estado de equilibrio y que esta molécula cataliza la reacción inversa y la directa.

Diferencias entre catalizadores orgánicos e inorgánicos

Estas son principalmente tres:

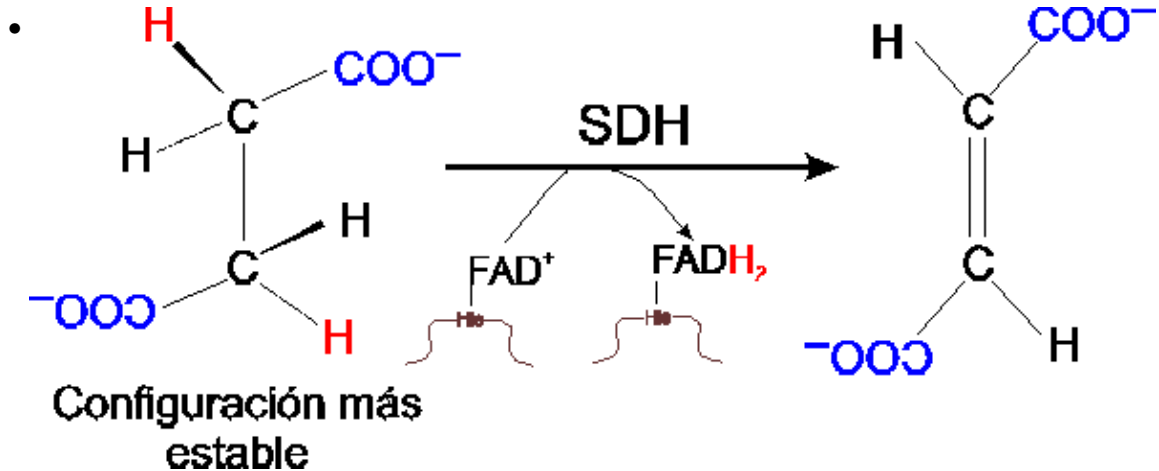
- **Especificidad:** Ésta es imprescindible para la vida. Hay varios tipos:
 - *Absoluta:* 1 enzima para una molécula. Podemos hablar de diferenciar estereoisómeros (+/_).
 - *Amplia:* De donde podemos diferenciar varios tipos, de grupo y de reacción.
- **Regulación:** Algo totalmente distinto a lo que ocurre con los catalizadores inorgánicos, aunque sí es cierto que no todas las enzimas son regulables en su función. También hay diferentes tipos:

- *Alostérica*: donde el cambio conformacional de una de las subunidades de un complejo enzimático, transmite el cambio a gran velocidad al resto del complejo.
- *Covalente*: como la fosforilación, la metilación, la isoprenilación o la ADP-ribosilación.

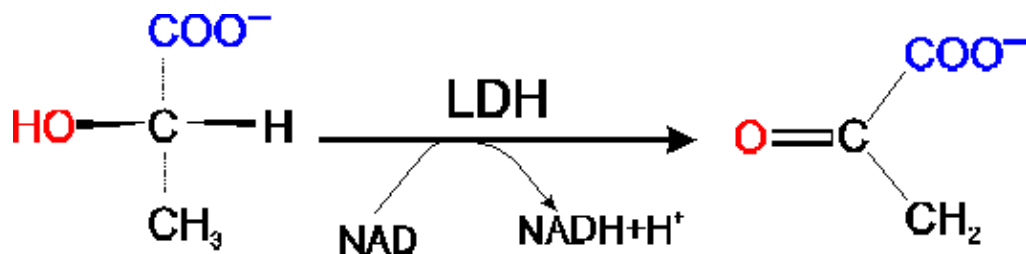


Poder catalítico: La gran capacidad de aceleración de la velocidad de reacción.

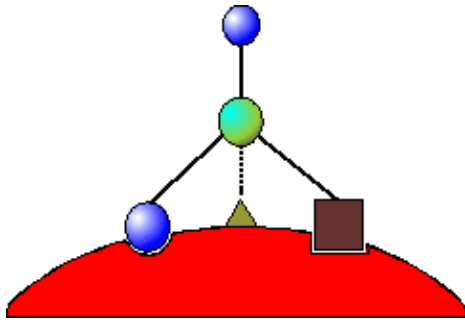
- **Especificidad**: Distingamos ahora de forma más profunda entre los diferentes tipos.



Absoluta: Se trata del máximo nivel de especificidad al que se puede llegar. Para ello veamos dos ejemplos, la Lactato deshidrogenasa y la Succinato deshidrogenasa. Comenzando con la SDH, vemos que en principio el succinato no presenta estereoisómeros. Sin embargo, si que se suele encontrar en la configuración más estable, representada en la figura y denominada anti. El anti se refiere preferentemente a la posición de los dos carboxilos, pero también afecta a los dos hidrógenos (marcados en rojo) que serán eliminados por la enzima. El hecho de encontrarse el succinato en una disposición preferente condiciona el producto. Éste es el ácido trans-butenodioico, el fumarato. La enzima puede catalizar también la reacción si se incorpora succinato en otra configuración que no sea anti, salvo que entonces el producto es en ácido cis-butenodioico, llamado ácido maleico y que es un inhibidor de la SDH. Esta enzima presenta FAD unido covalentemente, lo que lo convierte en una coenzima.



La otra enzima, la Lactato deshidrogenasa, sí tiene especificidad por el estereoisómero L del lactato, convirtiéndolo en piruvato. En este caso se utiliza el NAD para captar los hidrógenos, pero éste no se encuentra unido a la enzima.



La especificidad viene determinada por el espacio físico de la enzima donde se producen las interacciones E-S. a este espacio se le denomina centro activo, y es esencial en el reconocimiento del sustrato. Si es cierto que aunque el sustrato no sea asimétrico en un principio, la asimetría puede crearse de forma indirecta por la interacción diferencial de los sustituyentes del carbono asimétrico, como se muestra en la figura. En ella, se diferencian los dos sustituyentes azules por que uno de ellos interactúa con la enzima, de modo que en ese momento todos son diferentes, siendo el compuesto asimétrico. Aunque esta es una asimetría algo inestable, sí que condiciona la del producto, como sucedía con la SDH.

Las interacciones que se producen en el centro activo, no son de tipo covalente, sino de tipo débil, y suelen ser puentes de hidrógeno, fuerzas electrostáticas o fuerzas hidrofóbicas. Quedamos en que es la formación de estas interacciones las que condicionan la especificidad, y tienen también como función el estabilizar el complejo E-S, paso imprescindible en la catálisis.

- **Amplia:** Ya en un grado más bajo de especificidad, no encontramos con la amplia. Esta a su vez se divide en dos, la de grupo y la de reacción, con mayor y menor especificidad respectivamente. La especificidad amplia de grupo se refiere principalmente a las proteasas, las cuales rompen un mismo tipo de enlace, el amida o peptídico. La diferencia entre las distintas proteasas, viene determinada por los residuos que rodean al enlace, de modo que algunas cortarán si avanzando por la cadena se encuentran Lis, Arg, otras si es Met, pero no lo harán si hay una prolina. Todo esto dependiendo de cada enzima. Para aclarar esto, muestro la lista de enzimas proteasas de estructural.
- **Endopeptidasas:**
 - Dependen del primer aminoácido del enlace, es decir, que cortan el enlace aa1-C-N-aa2 según cómo sea aa1. Se dice que cortan detrás de:
 - Tripsina: Corta detrás de Lys y Arg, es decir, de aminoácidos básicos con carga, y siempre que detrás no haya un prolina. Es altamente específica y la imposibilidad de cortar antes de prolina se debe a la cadena lateral ciclada. Se encuentra en el estómago y es especialmente activa a pH 2.
 - Quimiotripsina: Corta detrás de Phe, Tyr, Trp y Leu, es decir, aminoácidos aromáticos o muy hidrófobos. Tampoco puede haber prolina detrás.
 - Clostripaína: Corta siempre detrás de arginina.
 - Dependen del segundo aminoácido del enlace, es decir, cortan el enlace aa1-C-N-aa2 según cómo sea aa2. Se dice que cortan delante de:
 - Pepsina: Corta delante de aminoácidos aromáticos o muy hidrófobos y también de aminoácidos ácidos: Phe, Tyr, Trp, Leu, Asp y Glu; y siempre que el aminoácido anterior no sea la prolina. Sustituye a la tripsina en el intestino y es activa a pH 7.
 - Termolisina: Corta delante de aminoácidos aromáticos y alifáticos (con cadena lateral de hidrocarburo simple) siempre que sean ramificados: Phe, Tyr, Trp, Leu, Ile y Val. Tampoco puede haber una prolina antes.
- **Exopeptidasas:** Sólo se enumeran dos carboxipeptidasas, pero hay muchas más:
 - Carboxipeptidasa A: Corta todos los extremos C-terminales excepto si son residuos de aminoácidos básicos con carga a pH fisiológico o prolina, es decir, corta los extremos que no sean Arg, Lys o Pro.

Aunque la histidina también es un aminoácido básico, la forma mayoritaria está desprotonada y sin carga a pH fisiológico, lo que unido a su rareza la excluyen de la lista antes mencionada. Además de esto, no cortará ningún extremo si el resto anterior es uno de prolina.

- **Carboxipeptidasa B:** Corta todos los extremos excepto los que sean de aminoácidos básicos con carga (otra vez sin His) o de cisteína, es decir, corta los extremos que no sean Arg, Lys o Cys, y tampoco cortará si hay un resto de prolina anterior.

La especificidad amplia de reacción, se refiere especialmente al grupo de las lipasas, extraordinariamente grande. Todas ellas rompen el enlace ester. Dentro de las lipasas, las hay específicas de fosfolípidos, de triglicéridos, de esfingolípidos, de gangliosidos, pero dentro de cada uno de estos grupos, da igual el R y el R'.

Repasando los dos tipos de especificidad amplia, creo que se puede diferenciar claramente entre la de reacción y la de grupo. Ambas son específicas de un tipo de enlace (peptídico, ester), sin embargo, la de grupo discrimina su acción en función de R y R' (aminoácido antes o después), mientras que la de reacción no (da lo mismo el ácido graso del que se trate).

$$\bullet \frac{V_{\text{con enzima}}}{V_{\text{sin enzima}}} \quad 10^5 - 10^{14} \text{ veces}$$

Poder catalítico: Sin lugar a dudas otra de las cosas que diferencia los catalizadores inorgánicos de las enzimas. El poder catalítico se determina mediante esta formula:

Evidentemente este grado de multiplicación de la velocidad se refiere a los catalizadores biológicos. Las proteasas, unas de las enzimas más lentas presentarían un poder catalítico de 10⁵. El RNA (ribozimas) ni siquiera llegan a este extremo y los catalizadores inorgánicos ni digamos.

- **Regulación:** Como tercera gran diferencia se encuentra la de la regulación. Ésta permite a la célula regular en cada momento la actividad enzimática, bien aumentándola, bien disminuyéndola. Hay que tener en cuenta que no todas las enzimas son regulables. Una de las formas más importantes de regulación es la del alosterismo. Éste se define como la regulación mediante interacciones no covalentes de las enzimas (proteínas en último caso) con moléculas más pequeñas. Estas moléculas son normalmente derivadas del metabolismo intermediario, y la interacción con la enzima suele producirse en un lugar alejado del centro activo (no son competidores con el sustrato). La regulación viene dada por un cambio en la conformación de la enzima que puede aumentar la afección por el sustrato o disminuirla, dependiendo de los casos. Este cambio conformacional puede trasladarse a las subunidades de la enzima (en el caso de que esta sea multimérica), sin necesidad de que las demás interaccionen directamente con el modulador alostérico.

Nomenclatura

Hay cuatro formas de nombrar a las enzimas. La más exacta es la determinada por la comisión de enzimas como el E.C. número (número de la comisión de enzimas). Otra forma también específica es la del nombre sistemático. La forma más usual de nombrarlas es mediante su nombre común y su abreviatura.

- **E.C. número:** serie de números separados por un punto. Cada número representa

ENZIMOLOGÍA

5

Introducción



$$\frac{V_{\text{con enzima}}}{V_{\text{sin enzima}}} \quad 10^5 - 10^{14} \text{ veces}$$