

Tema 6

Cinética Enzimática

1

Son Proteínas de alto peso molecular (macromoléculas, 10^4 a 10^6 g/mol, 10^2 a 10^4 aminoácidos)

Su actividad depende de la integridad de su conformación proteica.

Metales pueden formar parte de su centro activo, o de otra parte de la enzima (co-factor).

Los reactivos de la reacciones catalizadas por enzimas se denominan sustratos.

Los enzimas son catalizadores específicos: cada enzima cataliza un solo tipo de reacción, y casi siempre actúa sobre un único sustrato o sobre un grupo muy reducido de ellos.



4

TEMA 7

CINÉTICA ENZIMÁTICA

1. DEFINICIONES

¿CÓMO ACTÚAN LOS ENZIMAS?

2. CINÉTICA ENZIMÁTICA

MODELO DE MICHAELIS-MENTEN

REPRESENTACIONES

3. INHIBICIONES EN REACCIONES ENZIMÁTICAS

INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA

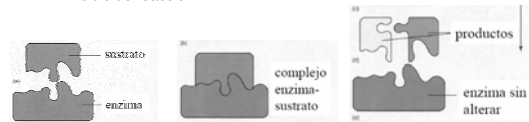
4. MODULACIÓN ALOSTÉRICA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

2

¿Cómo actúan los enzimas?

En una reacción catalizada por un enzima:

- La sustancia sobre la que actúa el enzima (**sustrato**).
- El sustrato se une a una región concreta del enzima (**centro activo**).
 - Un sitio de unión formado por los aminoácidos que están en contacto directo con el sustrato.
 - Un sitio catalítico, formado por los aminoácidos directamente implicados en el mecanismo de la reacción.
- Formados los **productos** el enzima puede comenzar un nuevo ciclo de reacción



5

1 DEFINICIONES

LAS ENZIMAS son proteínas (RNA) que catalizan reacciones químicas en las células.

Cada enzima es altamente específica para la reacción que cataliza.

Esta especificidad está determinada por el centro activo de la enzima (en donde se hallan los grupos químicos responsables de la catálisis).

Muchas enzimas necesitan co-factores (co-reactivos, co-sustratos) para cumplir su función catalítica.



3

¿Cómo actúan los enzimas?

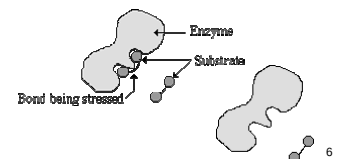
Hipótesis de la Cerradura y la llave (E. Fischer, 1894)



Hipótesis del Ajuste Inducido (Daniel Koshland, 1958)

- E Induce al S a configuración aproximada al Estado de Transición

- UNE S
- REDUCE E_a
- IMPULSA Catálisis
- LIBERA P
- SE REGENERA



6

CINÉTICA ENZIMÁTICA

Estudio de la velocidad de reacciones catalizadas enzimáticamente

La velocidad de una reacción catalizada por un enzima depende de

1. la concentración de moléculas de sustrato [S]
2. la temperatura
3. la presencia de inhibidores
4. pH del medio, que afecta a la conformación (estructura espacial) de la molécula enzimática

7

MODELO DE MICHAELIS-MENTEN

Modelo matemático:



Definiciones:

$$s = [S]; e = [E]; c = [ES]; p = [P]; \\ e_0 = [E_0] = [E] + [ES] = e + c$$

$$\begin{aligned} \bullet \frac{ds}{dt} &= k_{-1}c - k_1se \\ \bullet \frac{de}{dt} &= (k_{-1} + k_2)c - k_1se \\ \bullet \frac{dc}{dt} &= k_1se - (k_{-1} + k_2)c \\ \bullet \frac{dp}{dt} &= k_2c \end{aligned}$$

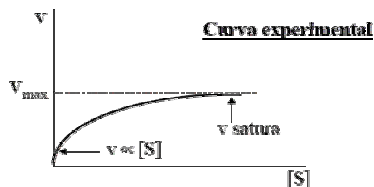
10

2

CINÉTICA ENZIMÁTICA



Aparentemente: $v = \frac{d[P]}{dt} = k[E][S] \quad (v \propto [S])$



8

MODELO DE MICHAELIS-MENTEN

$$\frac{dc}{dt} = k_1se - (k_{-1} + k_2)c \approx 0 \Rightarrow c = \frac{k_1se}{k_{-1} + k_2} = \frac{se}{K_m}; \quad \left(K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \right)$$

$$e_0 = e + c = e + \frac{se}{K_m} \Rightarrow e = \frac{e_0}{1 + \frac{s}{K_m}}; \quad \Rightarrow e = \frac{e_0}{1 + \frac{s}{K_m}}$$

Luego: $c = \frac{se}{K_m} = \frac{se_0}{K_m + s}$, y

$$v = \frac{dp}{dt} = k_2c = \frac{k_2e_0s}{K_m + s} = \frac{V_{max}s}{K_m + s}; \quad (V_{max} = k_2e_0)$$

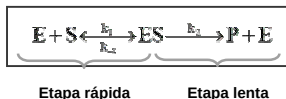
$$v = \frac{V_{max}s}{K_m + s}$$

11

MODELO DE MICHAELIS-MENTEN

Hipótesis básicas:

enzima y sustrato forman un complejo intermedio ES



- $[E_0] = [E] + [ES] \equiv \text{constante}$
- el proceso $ES \rightarrow P + E$ es irreversible (concentración de producto pequeña)
- **Hipótesis cuasi-estacionaria:** después de una fase inicial transitoria, la concentración de las distintas formas enzimáticas (E, ES) no varía

9

MODELO DE MICHAELIS-MENTEN

$$v = \frac{V_{max}s}{K_m + s}$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}; \quad \text{constante de Michaelis}$$

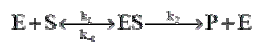
(si $k_2 \ll k_{-1}$: $K_m \approx \frac{k_{-1}}{k_1}$ es la constante de disociación del complejo enzima-sustrato: $E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} ES$)

$$V_{max} = k_2e_0; \quad \text{velocidad máxima de reacción}$$

$$\text{para } s = K_m \longrightarrow v = V_{max} / 2$$

12

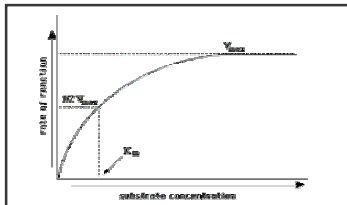
MODELO DE MICHAELIS-MENTEN



$$v = \frac{V_{max} S}{K_m + S}$$

✓ para $s \ll K_m$: $v \approx \frac{V_{max}}{K_m} s$

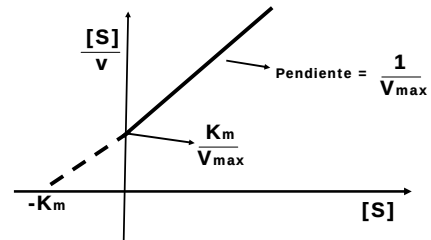
✓ para $s \gg K_m$: $v \approx V_{max} = k_2 e_t$



13

Representación de Hanes-Woolf

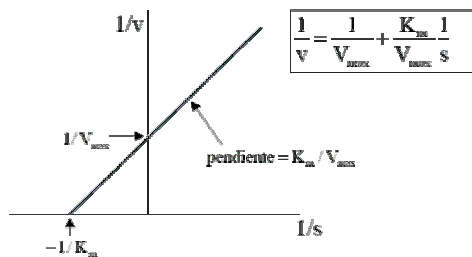
$$\frac{[S]}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} [S]$$



16

Representación de Lineweaver-Burk

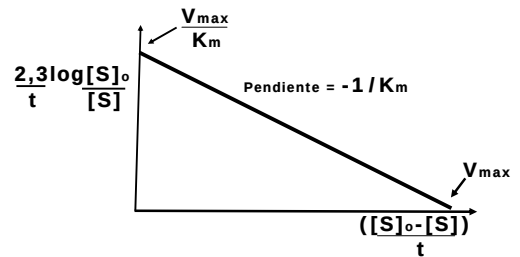
Representa $1/v$ frente a $1/s$ y permite determinar a partir de medidas experimentales parámetros básicos de la cinética enzimática como la constante de Michaelis y la velocidad máxima de reacción



14

Representación integrada de Michaelis-Menten

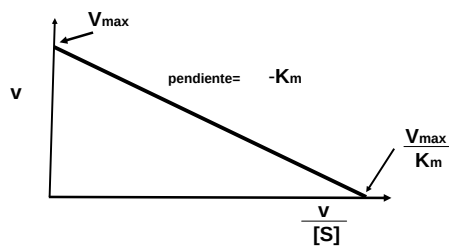
$$\frac{2,3}{t} \log \frac{[S]_0}{[S]} = \frac{V_{max}}{K_m} - \frac{1}{K_m} \frac{([S]_0 - [S])}{t}$$



17

Representación de Eadie-Hofstee

$$v = V_{max} - K_m \frac{v}{[S]}$$



15

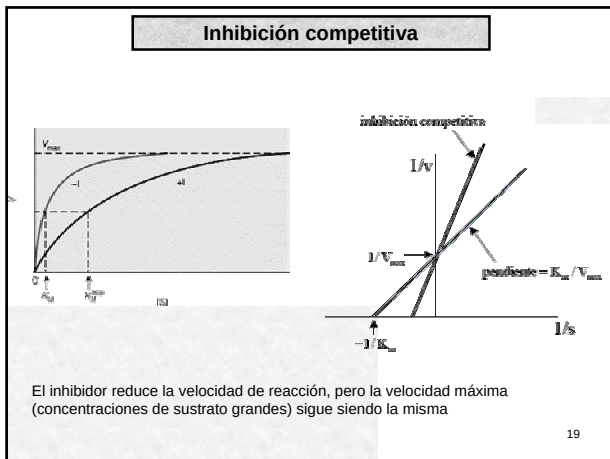
3

INHIBICIÓN EN REACCIONES ENZIMÁTICAS

Inhibición enzimática: moléculas diferentes del sustrato pueden unirse al enzima reduciendo total o parcialmente su actividad catalítica. Estas moléculas reciben el nombre de **inhibidores**



18



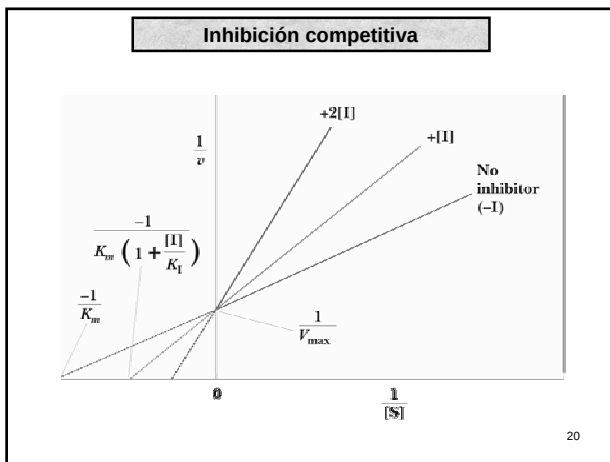
4 MODULACIÓN ALOSTÉRICA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Hay enzimas que pueden adoptar 2 conformaciones interconvertibles llamadas R (relajada) y T (tensa). R es la forma más activa porque se une al sustrato con más afinidad. Las formas R y T se encuentran en equilibrio

Ciertas sustancias tienden a estabilizar la forma R. Son los llamados **moduladores positivos**. El propio sustrato es a menudo un modulador positivo.

Las sustancias que favorecen la forma T y disminuyen la actividad enzimática son los **moduladores negativos**.

22



Modulación alostérica de la actividad enzimática

Las moléculas que favorecen la forma R pero que actúan sobre una región del enzima distinta del centro activo son los **activadores alostéricos**.

Si los moduladores negativos actúan en lugares distintos del centro activo del enzima (inhibición no competitiva) se llaman **inhibidores alostéricos**.

23

