

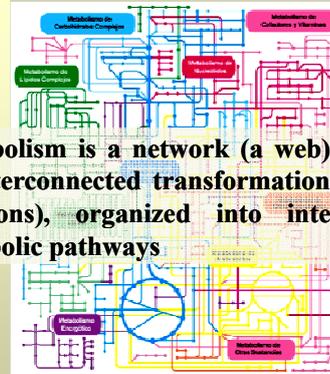


Universidad de Chile

Programa Académico de Bachillerato

Introducción a la Biología Celular 2014

Eduardo Kessi C.
Departamento de Ciencias Biológicas Animales
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Universidad de Chile
ekessi@uchile.cl



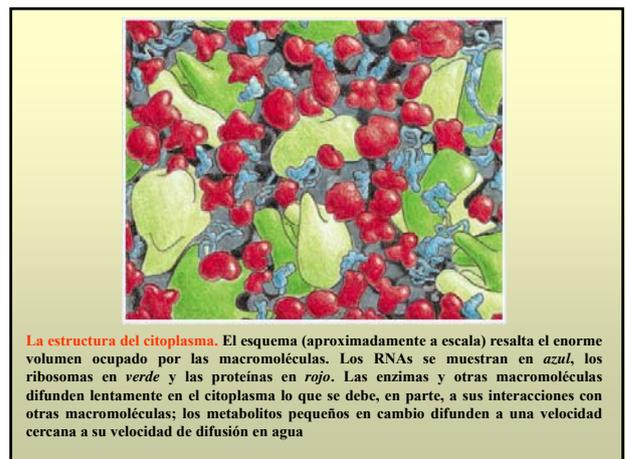
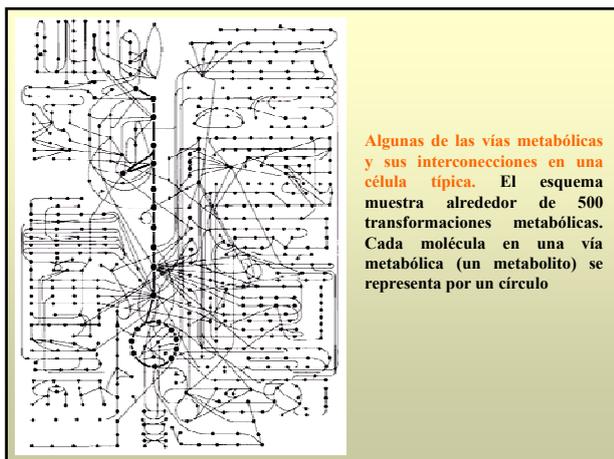
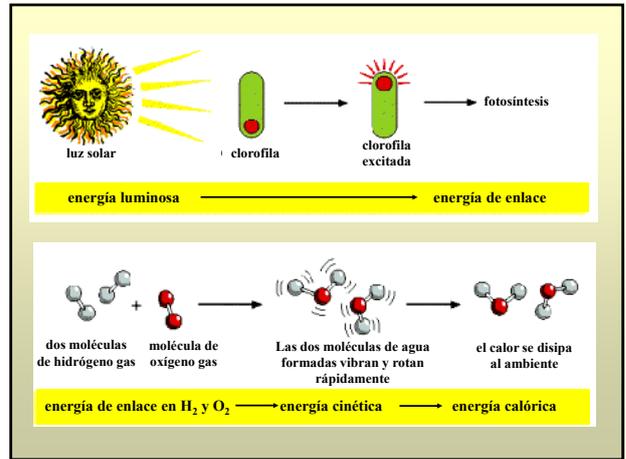
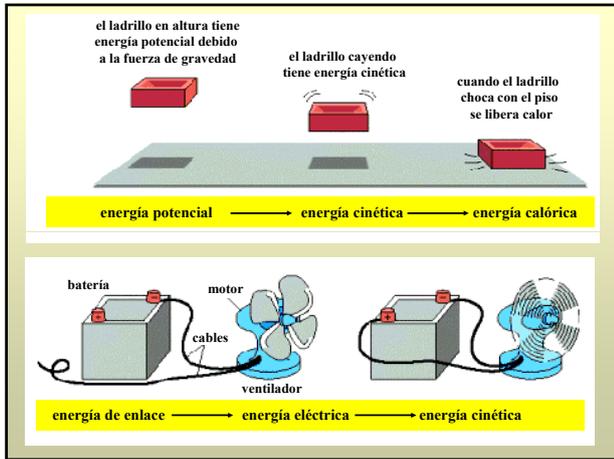
Metabolism is a network (a web) structured by interconnected transformations (chemical reactions), organized into interdependent metabolic pathways

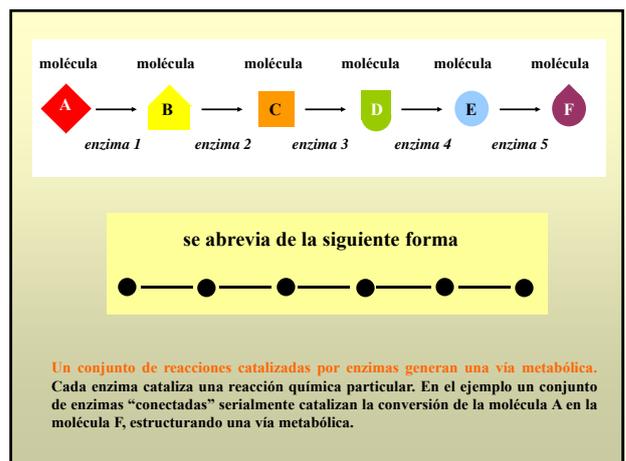
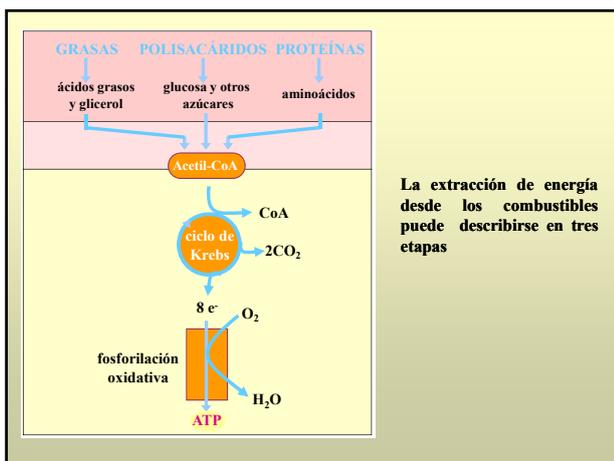
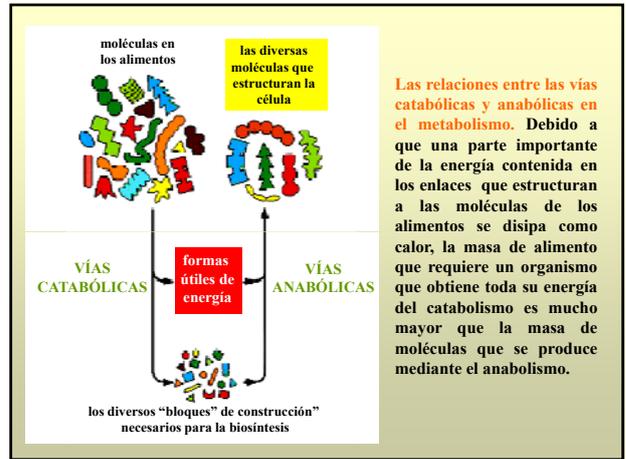
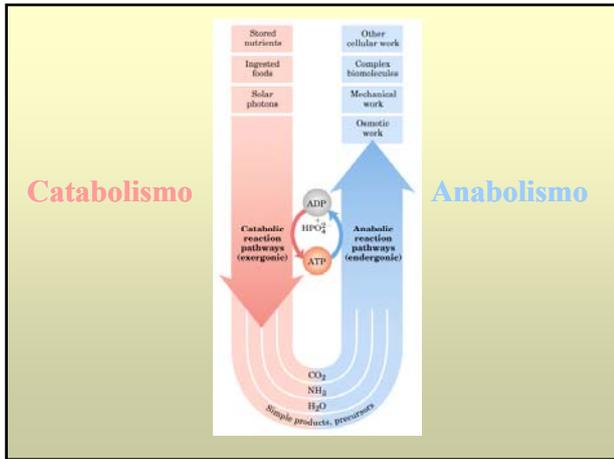
Entender la organización del metabolismo supone, al menos, contestar dos preguntas

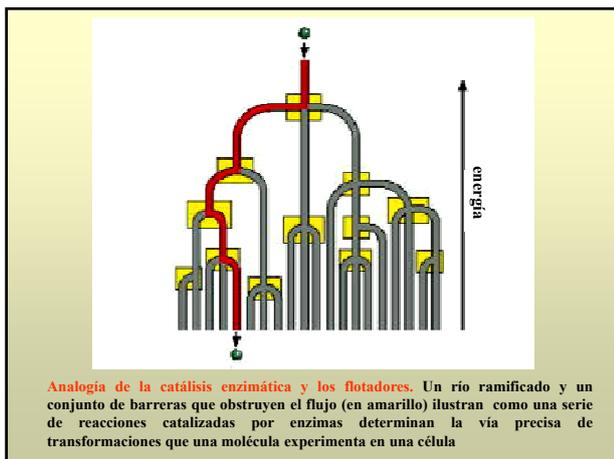
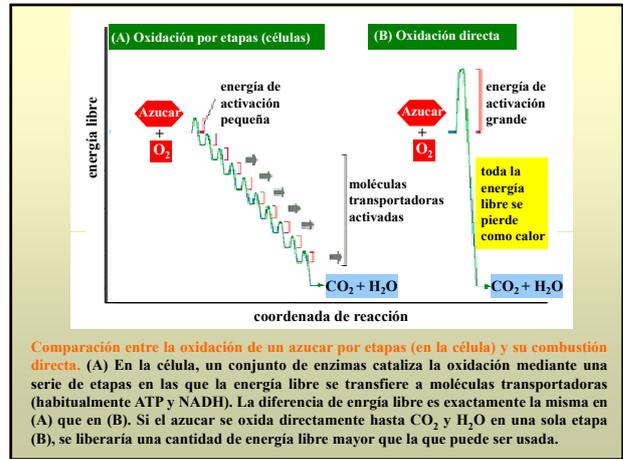
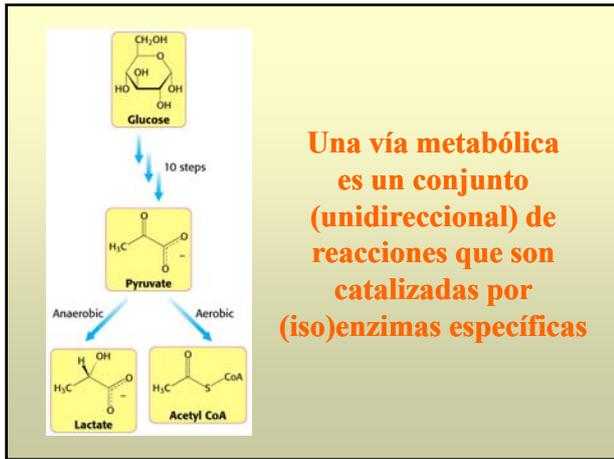
- **Cómo los organismos, o las células, extraen energía y poder reductor desde el medio?**
- **¿Cómo los organismos, o las células, sintetizan los monómeros que constituyen sus macromoléculas, y las macromoléculas mismas?**

Los organismos, y las células, son capaces de transformar diferentes tipos de energía

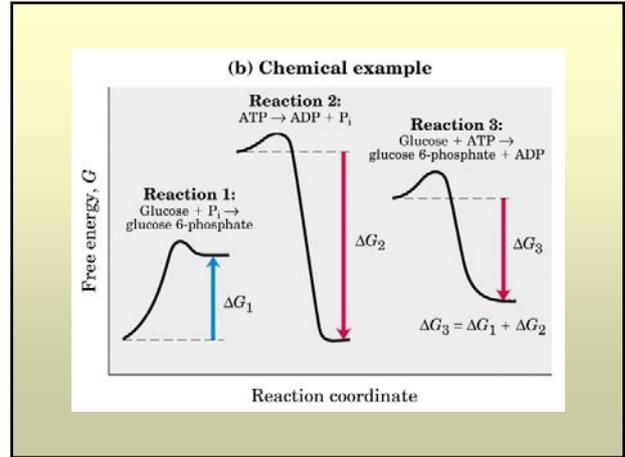
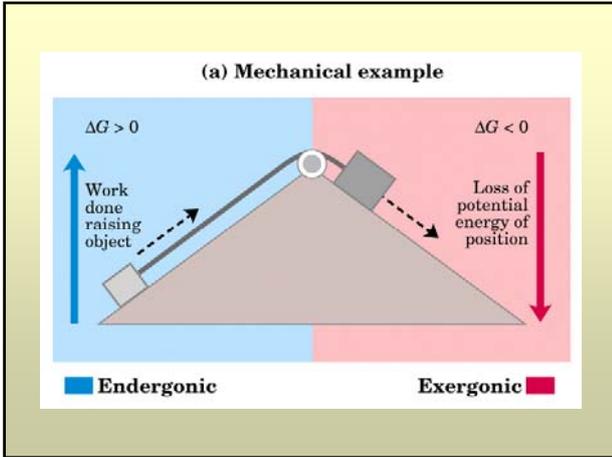
La energía calórica NO es una forma de energía útil para los seres vivos







Una reacción termodinámicamente desfavorable puede ser impulsada por una reacción favorable

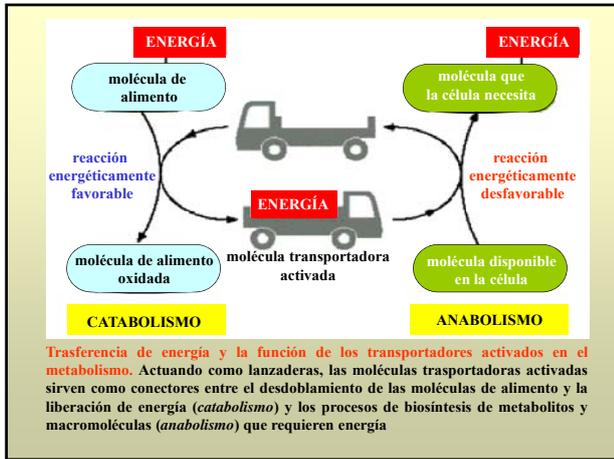


El cambio de energía libre puede usarse para predecir la dirección en que ocurrirá una determinada reacción química en las condiciones intracelulares

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq}$$

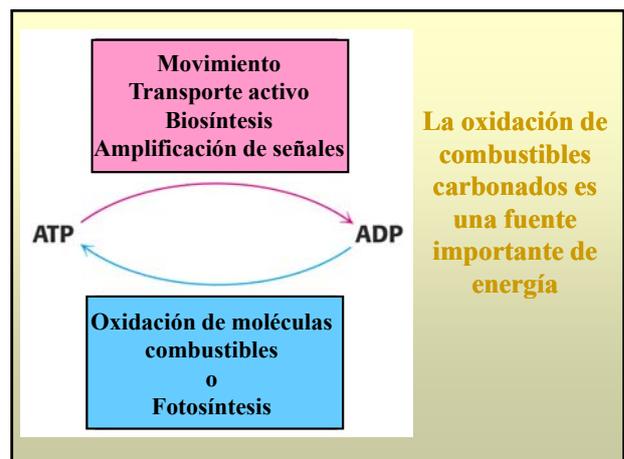
(1)	$A \longrightarrow B$	$\Delta G_1'^{\circ}$	
(2)	$B \longrightarrow C$	$\Delta G_2'^{\circ}$	
Sum:	$A \longrightarrow C$	$\Delta G_1'^{\circ} + \Delta G_2'^{\circ}$	

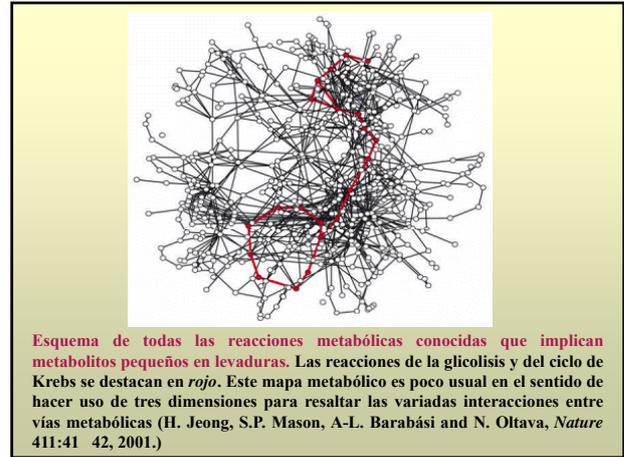
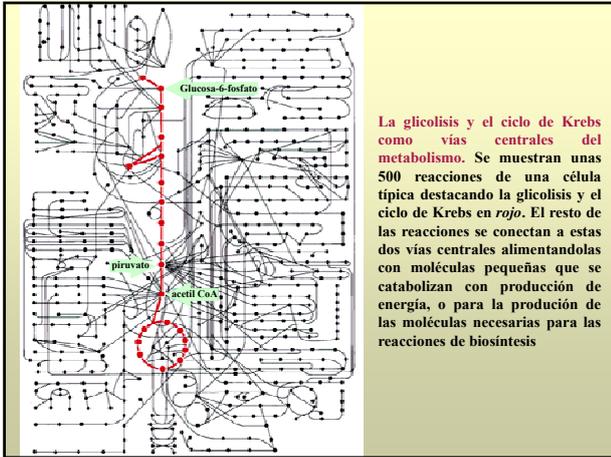


El ATP es la “moneda” universal de intercambio de energía libre en los seres vivos

La hidrólisis del ATP impulsa el metabolismo desplazando el equilibrio de reacciones acopladas

El sistema $ATP \rightarrow ADP + P_i$ se encuentra en una posición lejana del equilibrio





Los procesos metabólicos se regulan de tres maneras principales

Cantidad de enzima

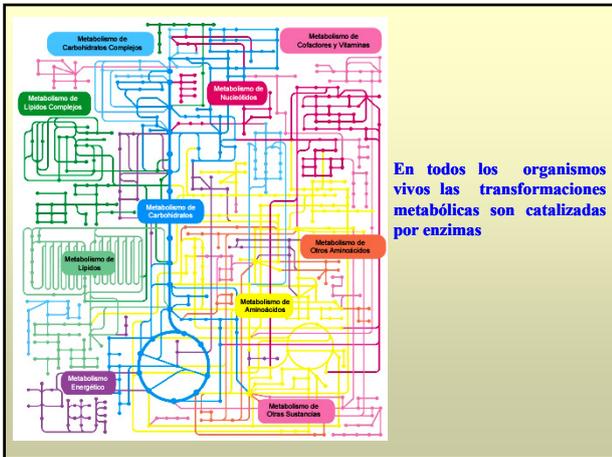
Actividad de la enzima

Disponibilidad de los sustratos

Las hormonas coordinan las relaciones metabólicas entre tejidos

El transporte de metabolitos (y de enzimas) entre compartimientos es otro elemento de regulación

La compartimentación segrega vías de sentido opuesto



CATALIZADOR

Una sustancia que acelera una reacción química sin que sea requerida por la estequiometría de la reacción

ENZIMAS

Proteínas con actividades catalíticas que actúan acelerando una reacción normalmente lenta (tanto que su velocidad es indetectable), pero que es una reacción teóricamente (y termodinámicamente) posible

EFICIENTES

ESPECÍFICAS

REGULABLES

ENZIMA

APOENZIMA termolábil

COENZIMA (cofactor) (grupo prostético) termoestable

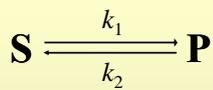
Algunos elementos inorgánicos que sirven como cofactores de enzimas

Elemento	Enzima
Cu^{2+}	<i>Citocromo oxidasa</i>
Fe^{2+} o Fe^{3+}	<i>Citocromo oxidasa, Catalasa, Peroxidasa</i>
K^+	<i>Piruvato quinasa</i>
Mg^{2+}	<i>Hexoquinasa, glucosa 6-fosfatasa, Piruvato quinasa</i>
Mn^{2+}	<i>Arginasa, Ribonucleótido reductasa</i>
Mo	<i>Dinitrogenasa</i>
Ni^{2+}	<i>Ureasa</i>
Se	<i>Glutati6n peroxidasa</i>
Zn^{2+}	<i>Anhidrasa carb6nica, Alcohol deshidrogenasa, Carboxipeptidasas A y B</i>

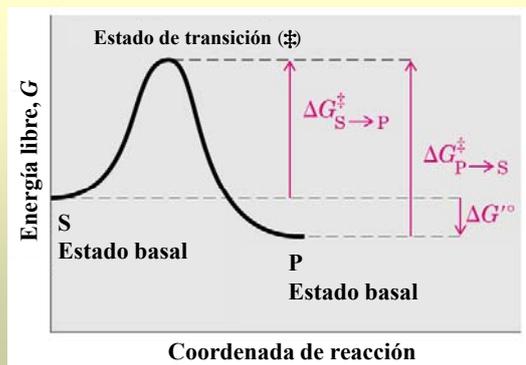
Algunas coenzimas que sirven como trasportadores transitorios de átomos específicos o grupos funcionales

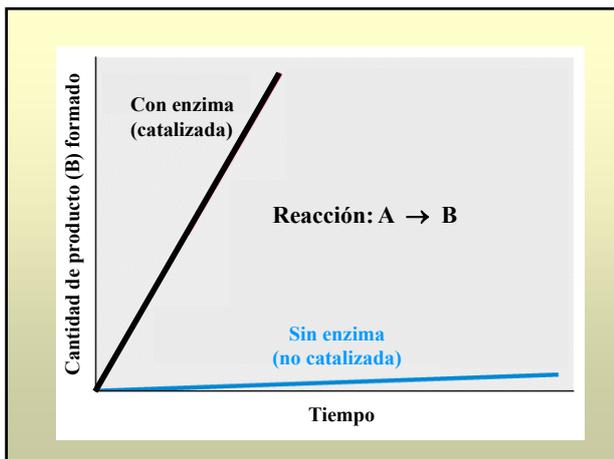
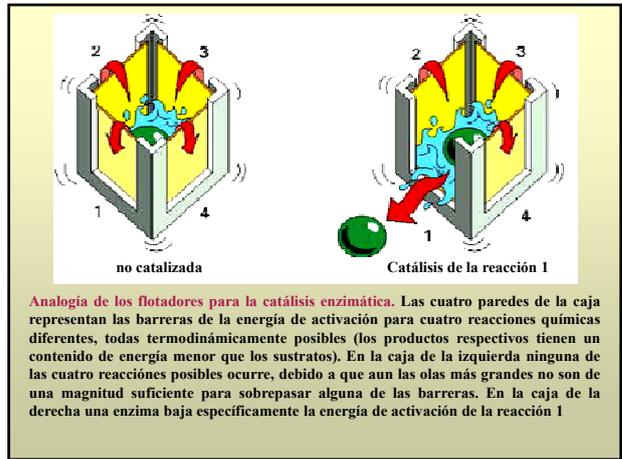
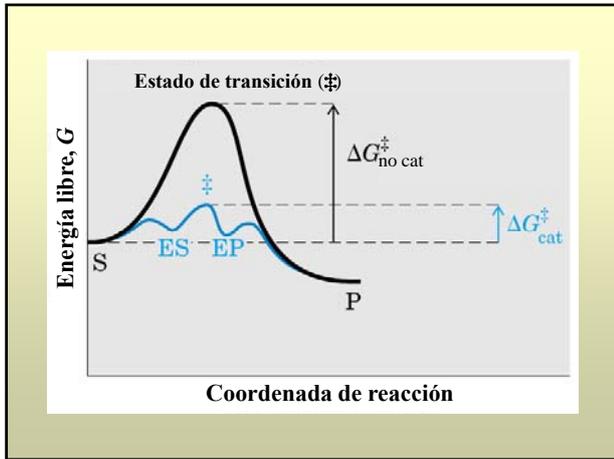
Coenzima	Grupo químico que Transfiere	Precursor (dieta mamíferos)
<i>Biotina</i>	CO ₂	Biotina
<i>Coenzima A</i>	Grupos acilo	Ácido pantoténico y otros compuestos
<i>5'-desoxiadenosil cobalamina (coenzima B₁₂)</i>	Átomos de H y grupos alquilo	Vitamina B₁₂
<i>FAD</i>	Electrones	Riboflavina (B₂)
<i>Lipoato</i>	Electrones y grupos acilo	No se requiere en la dieta
<i>NAD</i>	Ión hidruro (:H)	Ácido nicotínico
<i>Piridoxal fosfato</i>	Grupos amino	Piridoxina (B₆)
<i>Tetrahidrofolato</i>	Unidades de un átomo de carbono	Ácido fólico
<i>Tiamina pirofosfato</i>	aldehidos	Tiamina (B₁)

EFICIENCIA



$$V = k_1[S] - k_2[P]$$





Las enzimas disminuyen el valor de la Energía de Activación (E_a)

Reacción	Catalizador	E_a (cal/mol)
<i>Descomposición del H_2O_2</i>	Ninguno	18.000
	Platino	13.500
	Catalasa hepática	2.000
<i>Hidrólisis de la sacarosa</i>	Protones (H^+)	26.000
	Invertasa de levadura	11.500
<i>Hidrólisis de caseína</i>	Protones (H^+)	20.600
	Invertasa de malta	13.000
	Tripsina	14.000

Números de recambio (k_{cat}) de algunas enzimas

Reacción	Sustrato	k_{cat} (s^{-1})
<i>Catalasa</i>	H_2O_2	40,000,000
<i>Anhidrasa carbonica</i>	HCO_3^-	400,000
<i>Acteicolinesterasa</i>	Acetilcolina	140,000
β -lactamasa	Benzilpenicilina	2,000
<i>Fumarasa</i>	Fumarato	800
<i>proteína RecA (ATPasa)</i>	ATP	0.4

Enzimas para las que k_{cat} / K_m es cercano al límite controlado por la difusión (10^8 to $10^9 M^{-1} s^{-1}$)

Enzima	Sustrato	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat} / K_m ($M^{-1} s^{-1}$)
<i>Acteicolinesterasa</i>	Acetilcolina	1.4×10^4	9.0×10^{-5}	1.6×10^8
<i>Anhidrasa carbónica</i>	CO_2	1.0×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO_3^-	4.0×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
<i>Catalasa</i>	H_2O_2	4.0×10^7	1.1×10^0	4.0×10^7
<i>Crotonasa</i>	Crotonil-CoA	5.7×10^3	2.0×10^{-5}	2.8×10^8
<i>Fumarasa</i>	Fumarato	8.0×10^2	5.0×10^{-5}	1.6×10^8
	Malato	9.0×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β -lactamasa	Benzilpenicilina	2.0×10^3	2.0×10^{-5}	1.0×10^8
<i>Triosa fosfato isomerasa</i>	GAP	4.3×10^3	4.7×10^{-4}	2.4×10^8

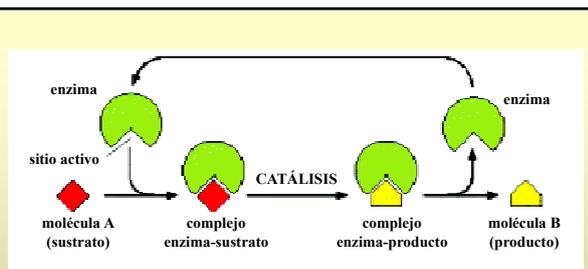
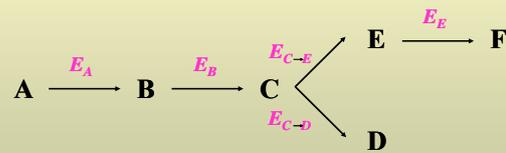
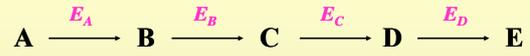
Eficiencia catalítica de algunas enzimas

Enzima	$k_{cat} / k_{no\ cat}$
β -amilasa de camote	7.2×10^{17}
Orotidina-5'-fosfato descarboxilasa	1.4×10^{17}
<i>Fumarasa</i>	3.5×10^{15}
<i>Mandelato racemasa</i>	1.7×10^{15}
<i>Carboxipeptidasa B</i>	1.3×10^{13}
<i>AMP nucleosidasa</i>	6.0×10^{12}
<i>Adenosina deaminasa</i>	2.1×10^{12}
<i>dipeptidasa de tumor ascítico</i>	1.2×10^{12}
<i>Citidina deaminasa</i>	1.2×10^{12}
<i>Cetoesteroide isomerasa</i>	3.9×10^{11}
<i>Fosfotriesterasa</i>	2.8×10^{11}
<i>Triosa fosfato isomerasa</i>	1.0×10^9
<i>Anhidrasa carbónica</i>	7.7×10^6
<i>Corismato mutasa</i>	1.9×10^6
<i>Ciclofilina (rotamasa)</i>	4.6×10^5
<i>Anticuerpos catalíticos</i>	$10^2 - 10^5$

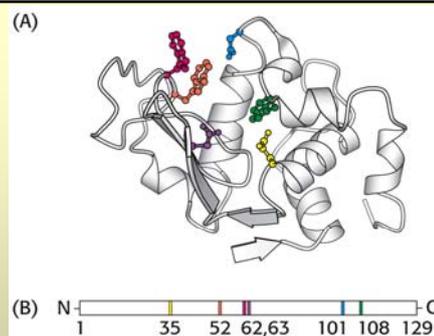
ESPECIFICIDAD

Clasificación internacional de las enzimas

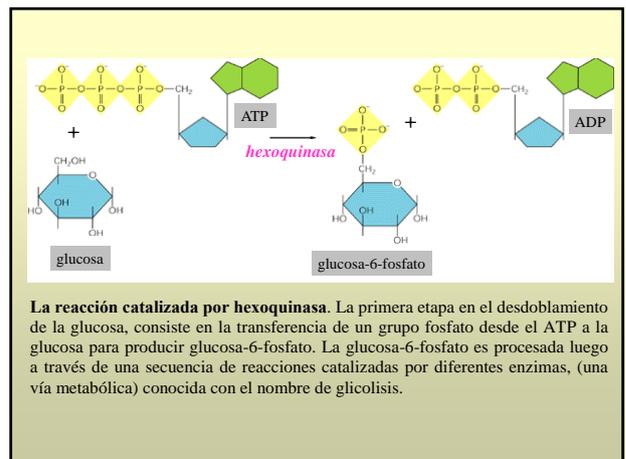
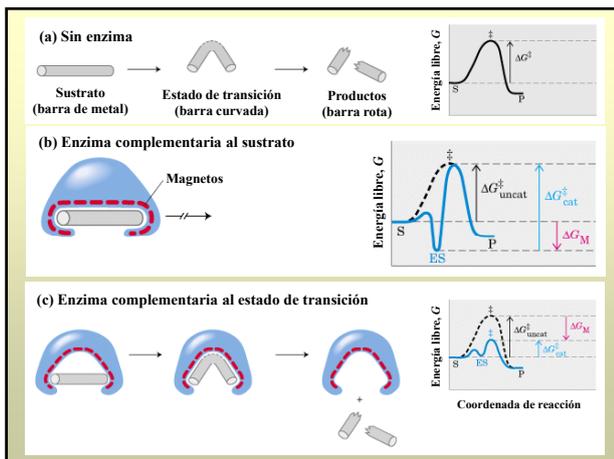
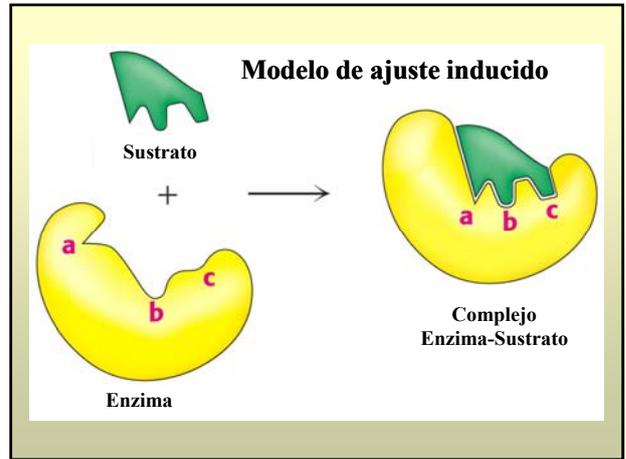
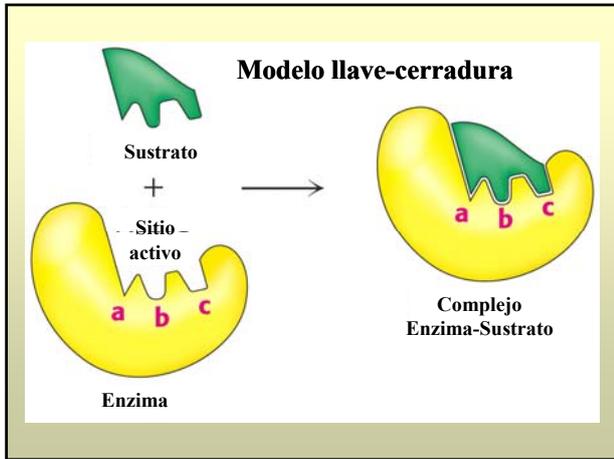
Nº	Clase	Tipo de reacción catalizada
1	Oxidoreductasas	Transferencia de electrones (iones hidruro o átomos de H)
2	Transferasas	Reacciones de transferencia de grupos
3	Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis (transferencia de grupos funcionales al agua)
4	Liasas	Adición de grupos a dobles enlaces, o formación de dobles enlaces por remoción de grupos
5	Isomerasas	Transferencia de grupos dentro de moléculas para producir formas isoméricas
6	Ligasas	Formación de enlaces C-C, C-S, C-O and C-N mediante reacciones de condensación acopladas a ruptura de ATP

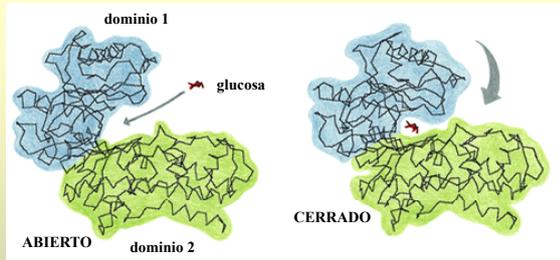


Como funcionan las enzimas. Cada molécula de enzima tiene un sitio activo al cual se une el sustrato (o los sustratos) formandose un complejo enzima-sustrato. La reacción ocurre en el sitio activo de modo que se produce un complejo enzima-producto. El producto abandona el sitio activo lo que permite que la enzima pueda unir una nueva molécula de sustrato

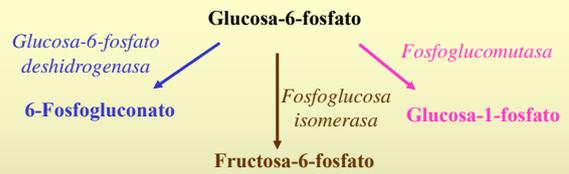


El sitio de activo de una enzima involucra residuos distantes. Los aminoácidos que se muestran en color (A) forman parte del sitio activo de la lisozima. Una representación esquemática de la estructura primaria de la enzima (B) muestra que los aminoácidos que conforman el sitio activo se encuentran en diferentes partes de la cadena polipeptídica.





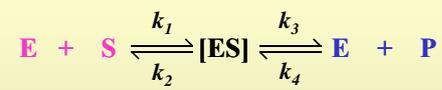
La unión de glucosa causa un cambio en la conformación en la hexoquinasa. Las líneas indican el recorrido del esqueleto polipeptídico de la hexoquinasa. Las estructuras se determinaron por difracción de rayos X usando cristales de la proteína obtenidos en presencia y ausencia de glucosa. La unión de glucosa induce el cambio de conformación abierta a conformación cerrada.



Las tres enzimas reconocen al mismo sustrato pero catalizan tres reacciones diferentes

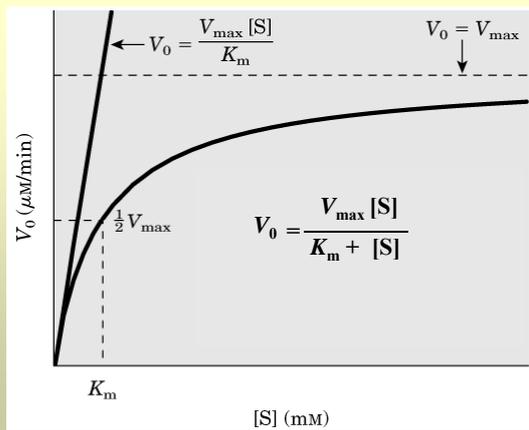
ESPECIFICIDAD EN EL RECONOCIMIENTO

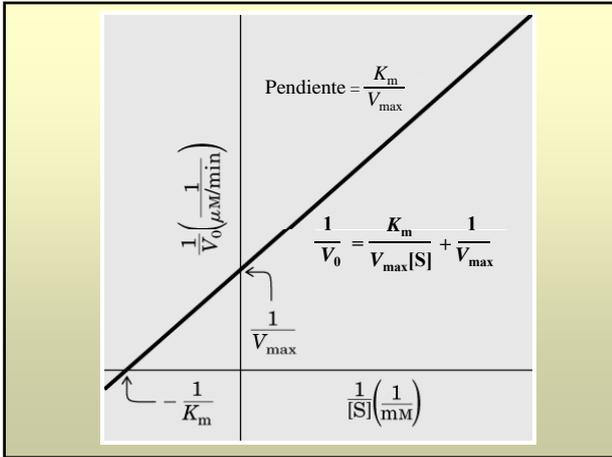
ESPECIFICIDAD EN LA ACTIVIDAD



Especificidad en el reconocimiento (unión)

Especificidad en la actividad (catálisis)





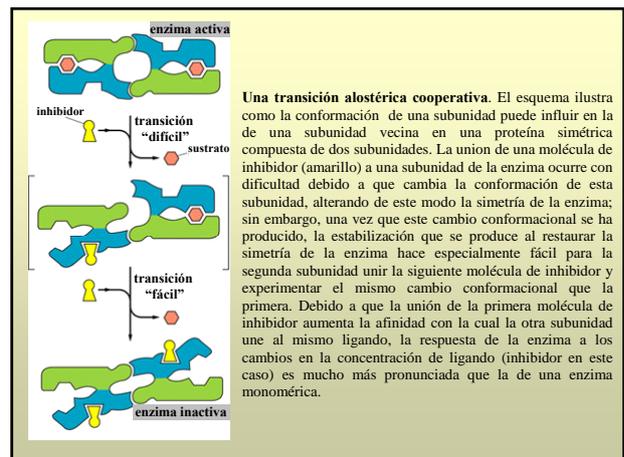
K_m para algunas enzimas y sustratos

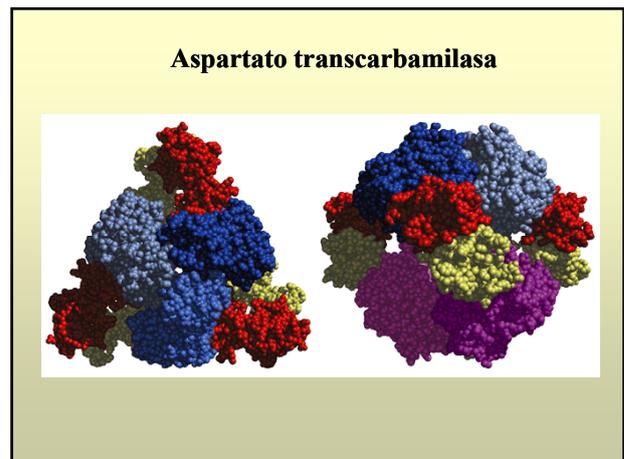
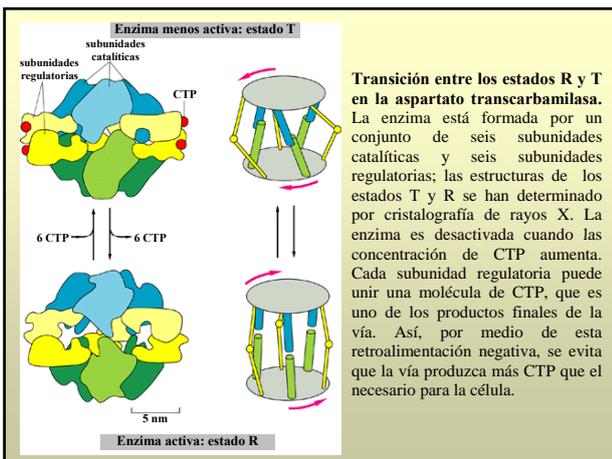
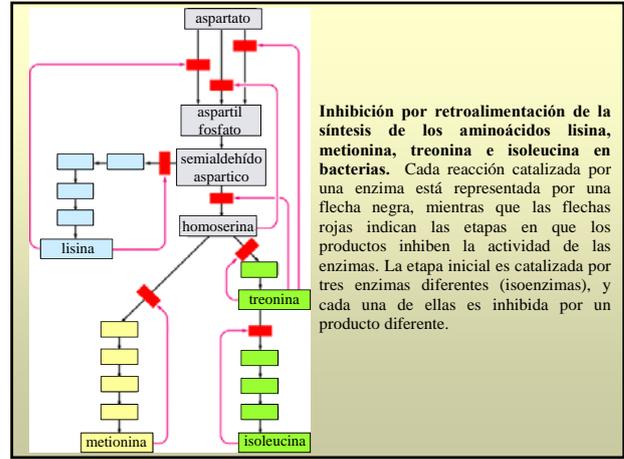
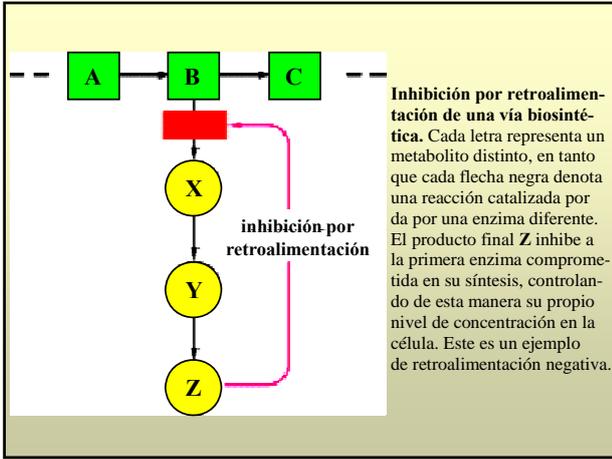
Enzima	Sustrato	K_m (mM)
<i>Catalasa</i>	H ₂ O ₂	25
<i>Hexoquinasa (cerebro)</i>	ATP	0.4
	D-Glucosa	0.05
<i>Anhidrasa carbonica</i>	D-Fructosa	1.5
	HCO ₃ ⁻	26
<i>Quimotripsina</i>	Gliciltirosinilglicina	108
	N-Benzoiltirosinamida	2.5
<i>β-Galactosidasa</i>	D-Lactosa	4.0
<i>Treonina deshidratasa</i>	L-Treonina	5.0

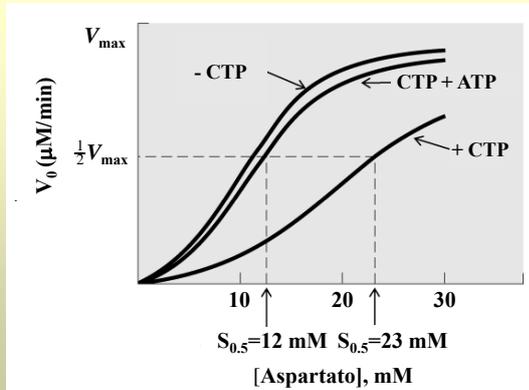
REGULACIÓN

Cantidad de la enzima

Actividad de la enzima







EL LADO OSCURO DE LAS ENZIMAS...

Algunas enfermedades genéticas asociadas a la ausencia o defecto en una enzima o proteína

Enfermedad	Efectos fisiológicos	Enzima o proteína
Fibrosis quística	Secreción anormal en los pulmones, páncreas, glándulas salivales; enfermedad pulmonar crónica que generalmente conduce a la muerte en niños y jóvenes	Canal de cloruro
Síndrome de Lesch-Nyan	Defectos neurológicos, automutilación, retardo mental	Hipoxantina guanina fosforibosil transferasa
Inmunodeficiencia	Pérdida severa de la respuesta inmune	Purina nucleósido fosforilasa
Inmunodeficiencia	Pérdida severa de la respuesta inmune	Adenosina desaminasa
Enfermedad de Gaucher	Erosión de huesos, articulación de la cadera, a veces daño cerebral	Glucocerebrosidasa

Algunas enfermedades genéticas asociadas a la ausencia o defecto en una enzima o proteína

Enfermedad	Efectos fisiológicos	Enzima o proteína
Gota (primaria)	Sobre producción de ácido úrico que resulta en ataques recurrentes de artritis aguda	Fosforibosil pirofosfato sintetasa
Raquitismo dependiente de vitamina D	Estatura baja, convulsiones	25-hidroxicolecalciferol-1-hidroxilasa
Hipercolesterolemia familiar	Aterosclerosis resultante de concentraciones elevadas de colesterol en la sangre; a veces muerte prematura por falla cardíaca	Purina nucleósido fosforilasa
Enfermedad de Tay-Sachs	Debilidad motora, deterioro mental, muerte a los 3 años app.	Hexosa aminidasa A
Anemia falciforme	Dolor, hinchazón en manos y pies; puede conducir a dolor súbito y severo en huesos o articulaciones, muerte	Hemoglobina

... Y COMO HEMOS APRENDIDO A USARLAS

USO DE ENZIMAS EN DIAGNÓSTICO

ENFERMEDADES HEPÁTICAS

Fosfatasa alcalina
 γ -glutamyltransferasa
Aspartato aminotransferasa
Alanina aminotransferasa

ENFERMEDADES CARDÍACAS

Creatina quinasa
Lactato deshidrogenasa
Aspartato aminotransferasa

USO DE ENZIMAS PARA DETERMINAR CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS

Metabolito	Enzima
Glucosa (sangre)	<i>Hexoquinasa, Glucosa oxidasa, Glucosa deshidrogenasa</i>
Ácido úrico	<i>Urato oxidasa</i>
Urea	<i>Ureasa</i>
Colesterol	<i>Colesterol oxidasa</i>
Triacilglicéridos	<i>Glicerol quinasa + Piruvato quinasa + Lactato deshidrogenasa</i>

USOS BIOTECNOLÓGICOS DE ENZIMAS

Proceso (producto)	Enzima usada
Bebidas alcohólicas	<i>Amilasas</i>
Pan	<i>α y β amilasas</i>
Quesos	<i>Quimosina, (coagulación de la leche)</i>
Ablandadores de carne	<i>Proteasas (papaina, tripsina, quimotripsina)</i>
Edulcorantes	<i>Glucosidasas, Xilosa isomerasa</i>
Clarificación de cerveza, vino y jugos de fruta	<i>Amilasas o Poligalacturonasas</i>
Detergentes	<i>Amilasas, Proteasas neutras y alcalinas</i>