



Tema 2.

Noțiuni generale despre enzime



plan

- Natura chimica a enzimelor
- Centrul activ și alosteric
- Activatorii și inhibitorii
- Mecanismul acțiunii enzimelor



enzime

- sunt catalizatori biochimici , care măresc viteza reacțiilor chimice ce se desfășoară în sistemele biologice, fără să se consume în cursul lor.

lat. «fermentum» — fermentare,
grec. « enzyme» - în drojdii

•Toate enzime sunt **proteine**, dar nu toate proteine sunt enzime!!!



Enzime

enzime endogene

- - **enzimele digestive**

(ajută la scindarea moleculelor mari provenite din hrană, în structuri mai mici, care pot trece din intestin în sânge)

- - **enzime metabolice**

(susțin toate funcțiile fiziologice și viața însăși - intracelulari, cât și interstițiali.).

enzime exogene (alimentare)

- microbiologice,
- vegetale
- enzimele de origine animală



denumirea

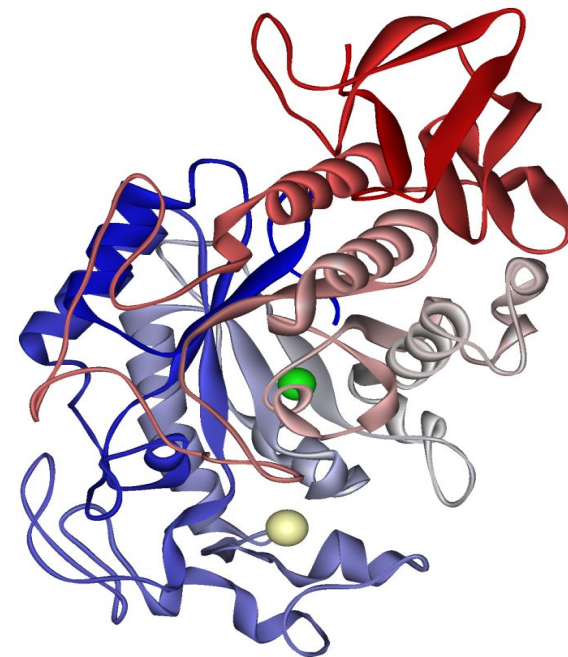
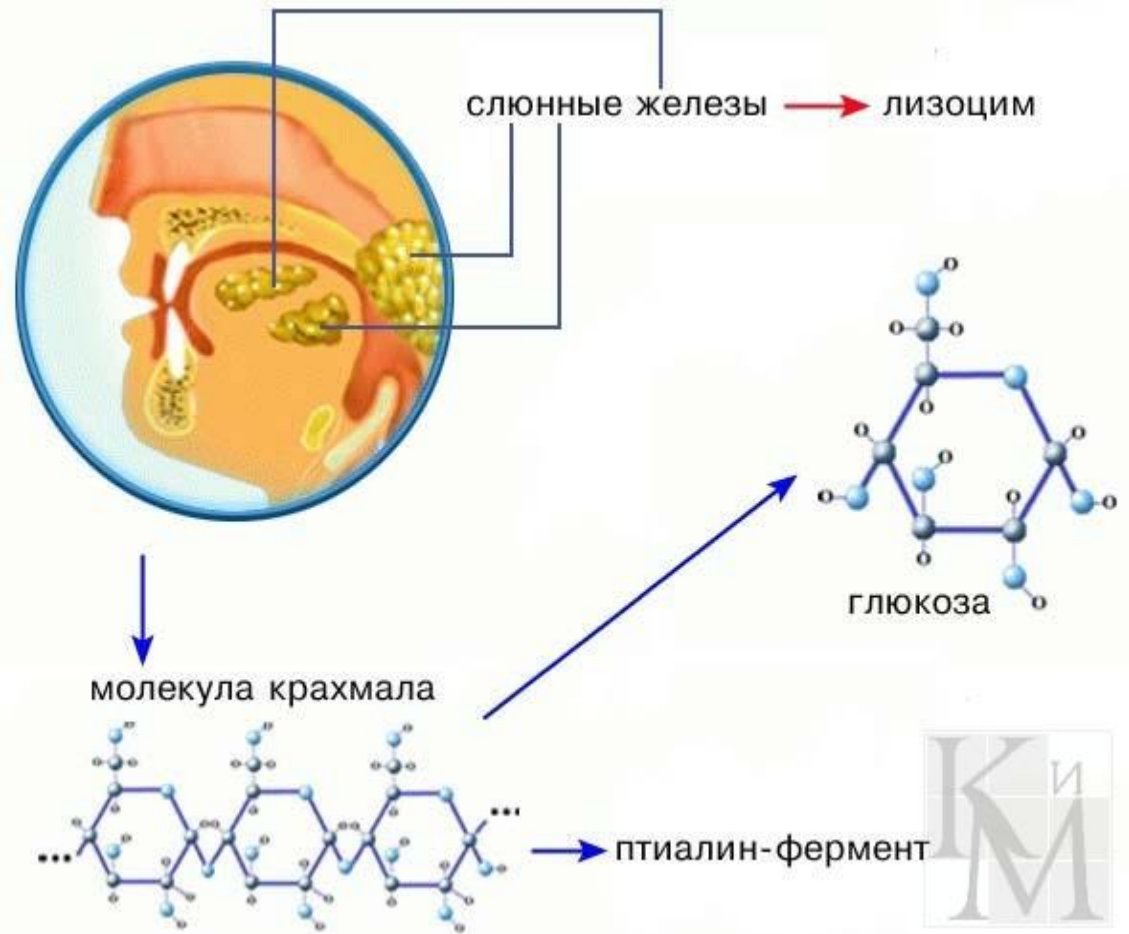
- În general, numele acestor substanțe, derivă de la substratul sau substraturile pe care le catalizează.

substrat + aza = denumirea

- lipidele + aza = lipaza
- proteine + aza = proteaza
- amidon + aza =amilaza
- lactoza + aza = lactaza



амилаза



амилаза



Rolul enzimelor:

Ele sunt implicate în majoritatea proceselor care au loc în organism

- procesele de digestie și absorbție,
- de sinteză și descompunere reacții de substanțe
- eliberarea de energie,
- asigurarea reacțiilor biochimice de coordonare.



E au proprietăți comune cu catalizatorii chimici:

nu se consumă și nu se transformă în reacțiile catalizate;

catalizează numai reacțiile termodinamic posibile;

nu modifică starea finală de echilibru a reacțiilor, ci măresc numai viteza cu care se realizează acest echilibru;



Proprietăți specifice numai E:

toate E sînt poliprotide superioare solubile termolabile;

acționează în cantități de ordini mai mici de cît catalizatorii chimici;

De exemplu, 1g de Fe^{3+} scindează $10^{-5}\text{M/s H}_2\text{O}_2$, dar un gram de *catalaza* scindează $10^5\text{M/s H}_2\text{O}_2$

au o specificitate înaltă în privința substratului și tipului de reacție;

ușor se reglează, anume prin reglarea activității fermenților se coordonează procesele metabolice;

reacția enzimatică se caracterizează cu randamentul produsului final aproape de 100% (nu se formează produse secundare);



după structura

enzime

simple

compuse

monocomponente (proteine)

și **bicomponente** (proteide).



Enzime compuse - holoenzime

holoenzima = apoenzima + cofactor

**Partea
proteică
termolabilă**

**Partea
neproteică
termostabilă**

- ✓ Apoenzima are specificitate de substrat (recunoaște doar anumite substanțe)
- ✓ Coenzima are specificitate de acțiune (reacționează doar într-un anumit fel, în anumite condiții).



După modul de legare la apoenzimă cofactorii se clasifică în

- *coenzime* (ușor disociabile)
- *grupări prostetice* (nedisociabile).



După *structura chimică* cofactorii se divizează

Derivați ai nucleotidelor
(NAD^+ , NADP^+)

Derivați ai vitaminelor (tiaminpirofosfat,
 FADH_2 , CoA-SH , ș. a.)

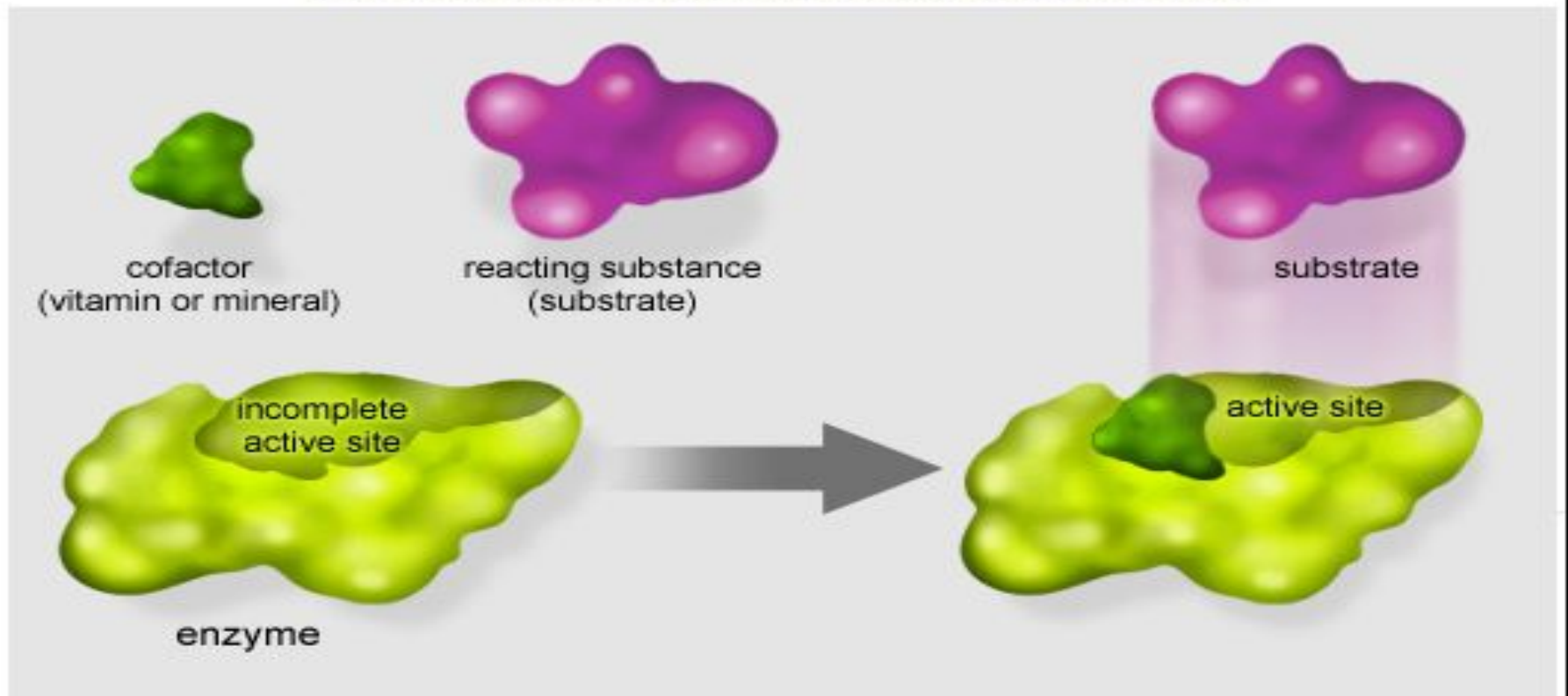
Metale și compușii lor (Fe , Zn , Cu , Mo ,...)

Alte structuri (glutation)



cofactor

Vitamin and mineral cofactors make enzymes work



Many enzymes need a cofactor (vitamin or mineral) to activate them. Without the cofactor, the enzyme can't lock the reacting substance (substrate) into its active site, so the reaction can't take place. Most vitamin deficiency diseases happen this way.



Proprietățile cofactorilor:

Au masa moleculară relativ mică

Sînt termostabili.

Participă la formarea contactului între E și substrat

Participă în cataliză

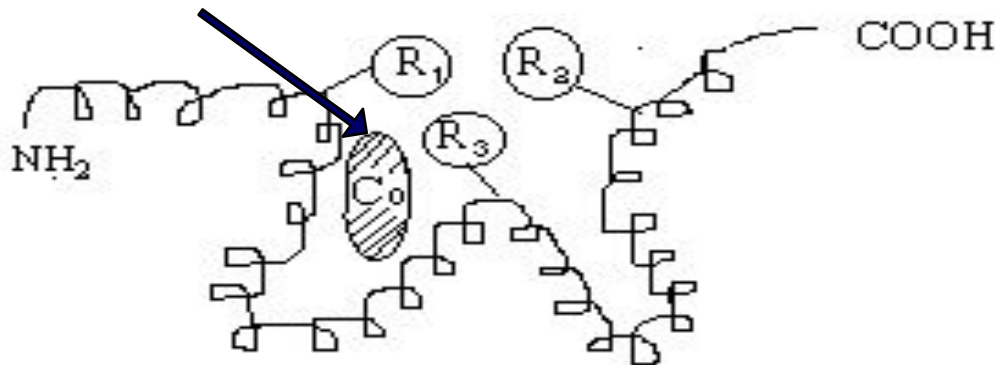
Stabilizează apoenzima

Nu răspund pentru specificitatea și tipul de reacție

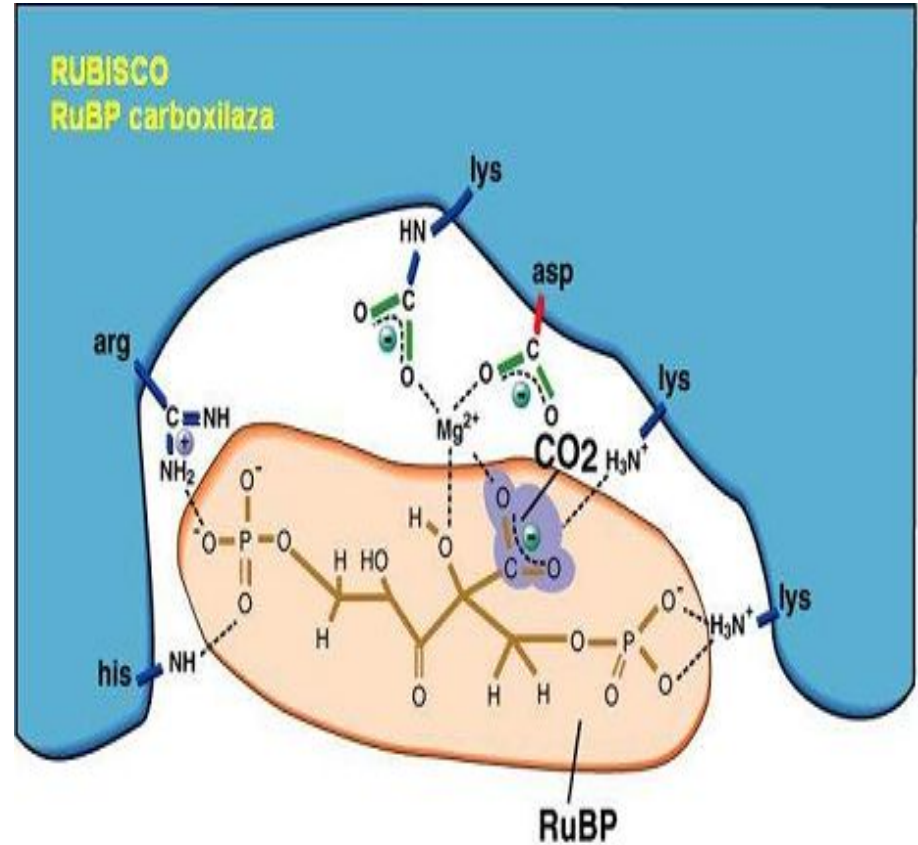
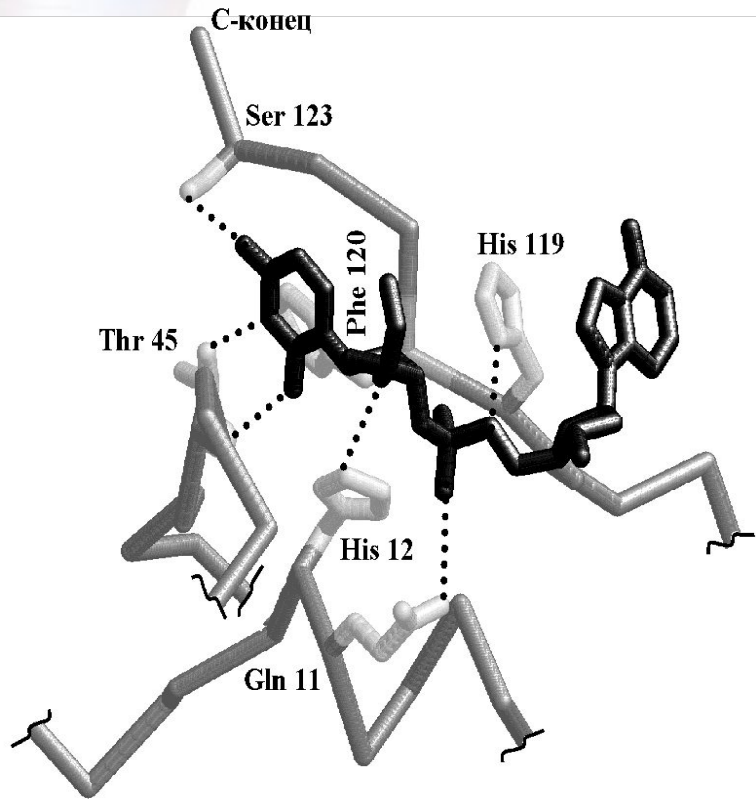


Centrul catalitic sau centrul activ

- Este totalitatea grupurilor chimice din molecula E care recunosc, leaga specific si transforma molecula de substrat
- Confera specificitate enzimelor pentru substrat
- La E **monocomponente** centrul activ este format prin asocierea radicalilor anumitor aminoacizi.
- La E **bicomponente** în centrul activ intră și cofactorul.



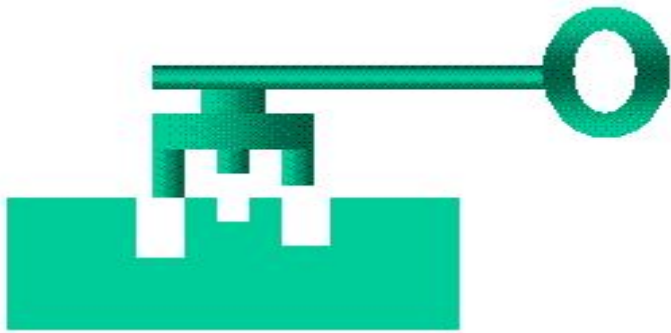
Centrul (situs) activ



Situsul activ al RUBISCO



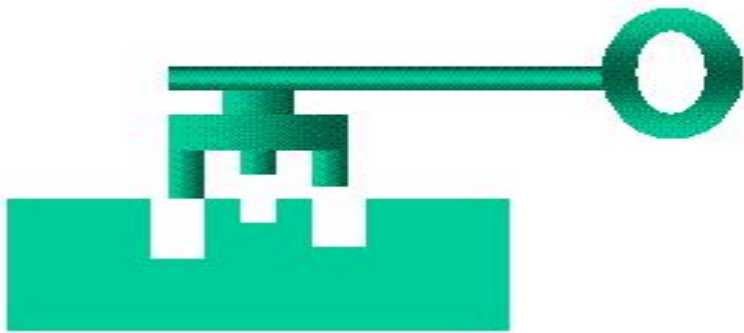
"cheie - lacăt"



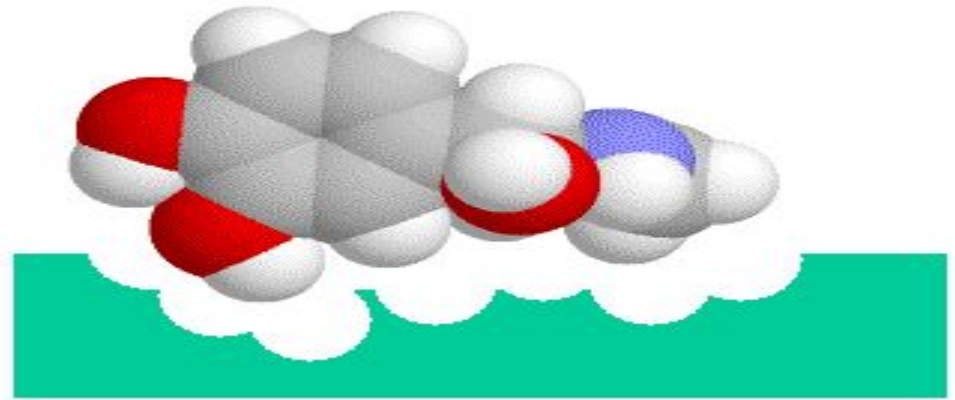
Centrul activ se află în partea internă hidrofobă a moleculei proteice. Organizarea lui structurală corespunde ca "cheie - lacăt" *substratului (S)*, substanței care se transformă în reacția dată.



Interactiunea centru activ substrat

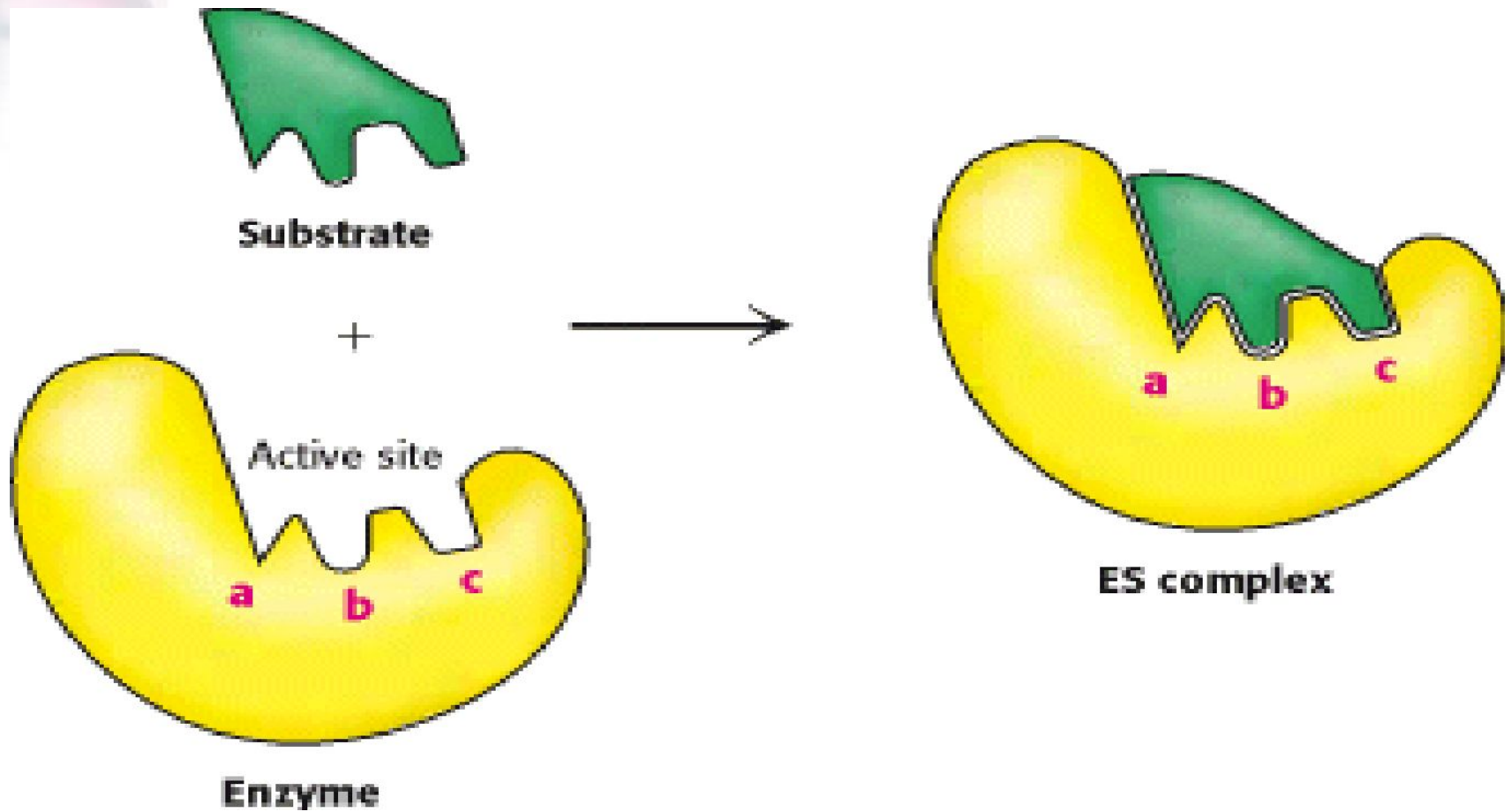


Mecanismul cheie-broasca-
Emil Fischer, 1890



Mecanismul potrivirii induse-
Daniel E. Koshland, Jr., 1958

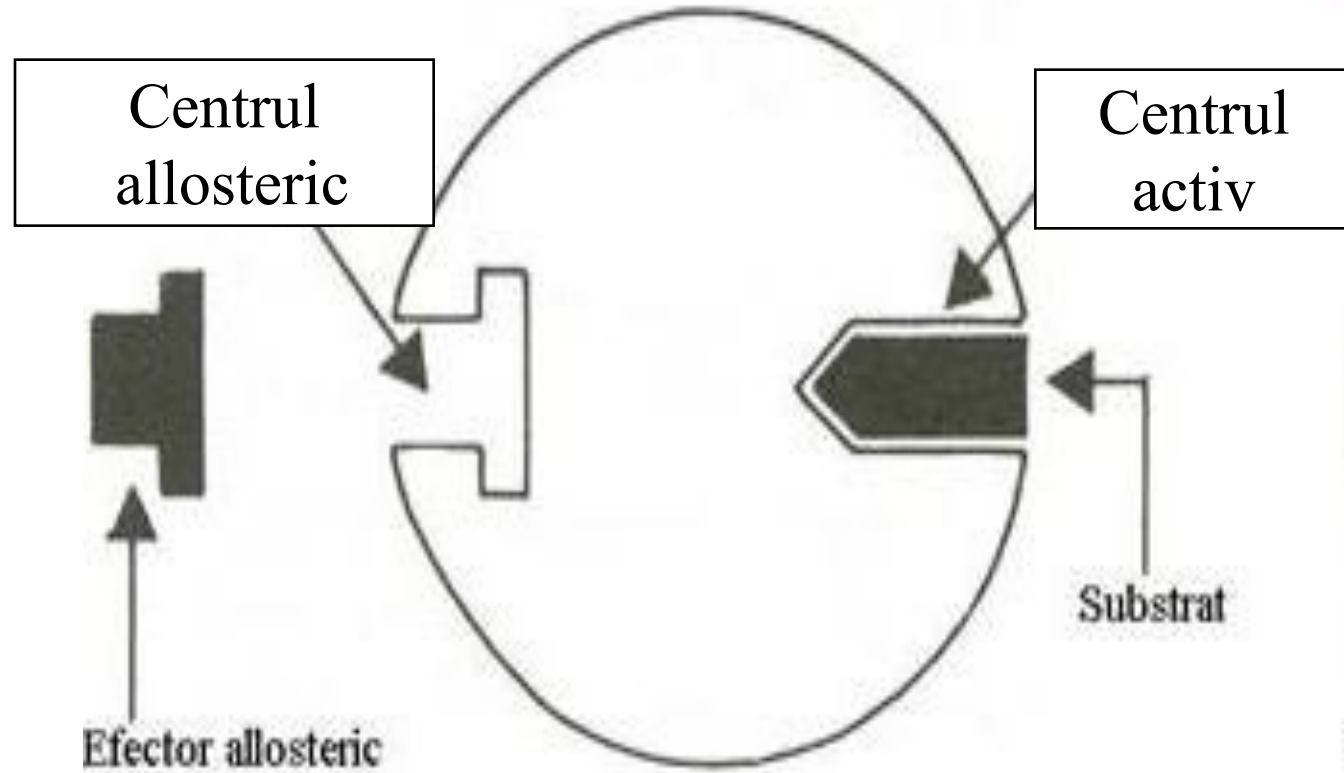
Mecanismul „cheie-broasca-” Emil Fischer, 1890





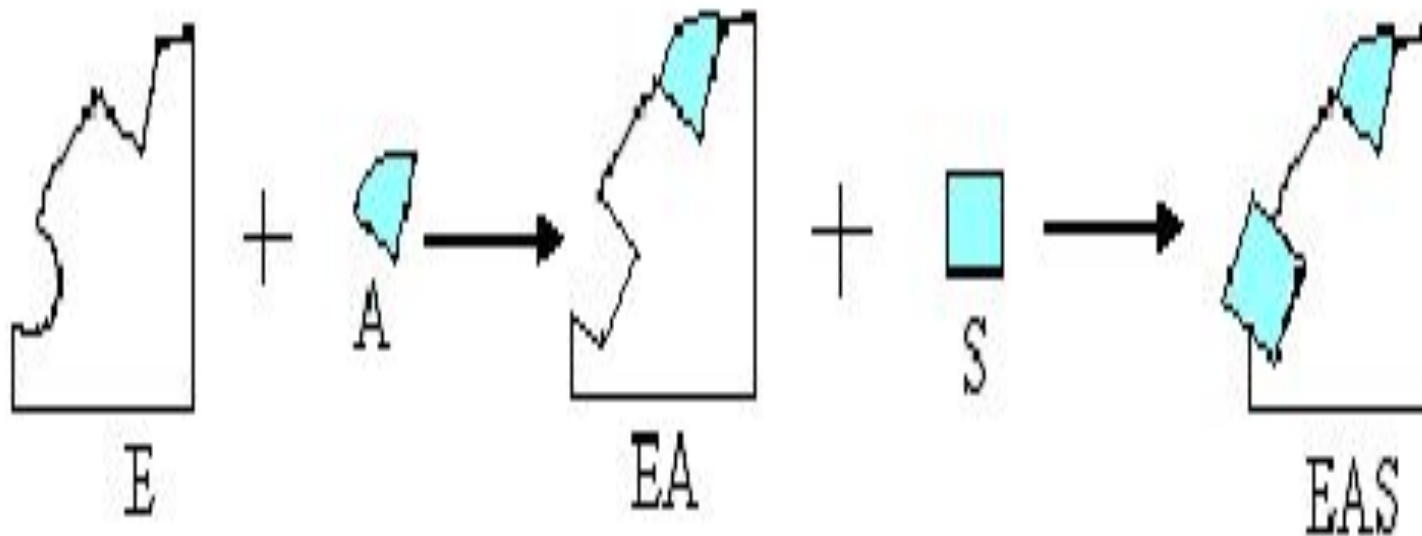
Centrul activ și centrul alosteric

Fixarea
efectorului
alosteric în *centrul
alosteric* duce la
schimbarea
structurii
terțiare și prin
aceia și
activității
enzimei



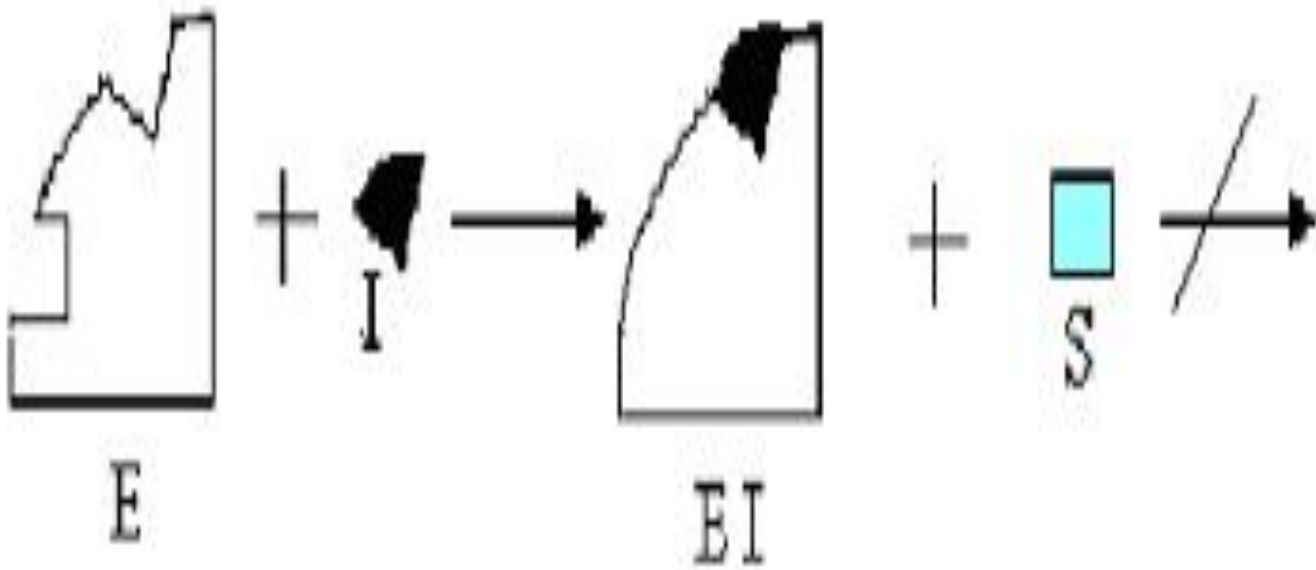


Activarea enzimei cu activator (A)





Inhibiția enzimei cu inhibitor (I)

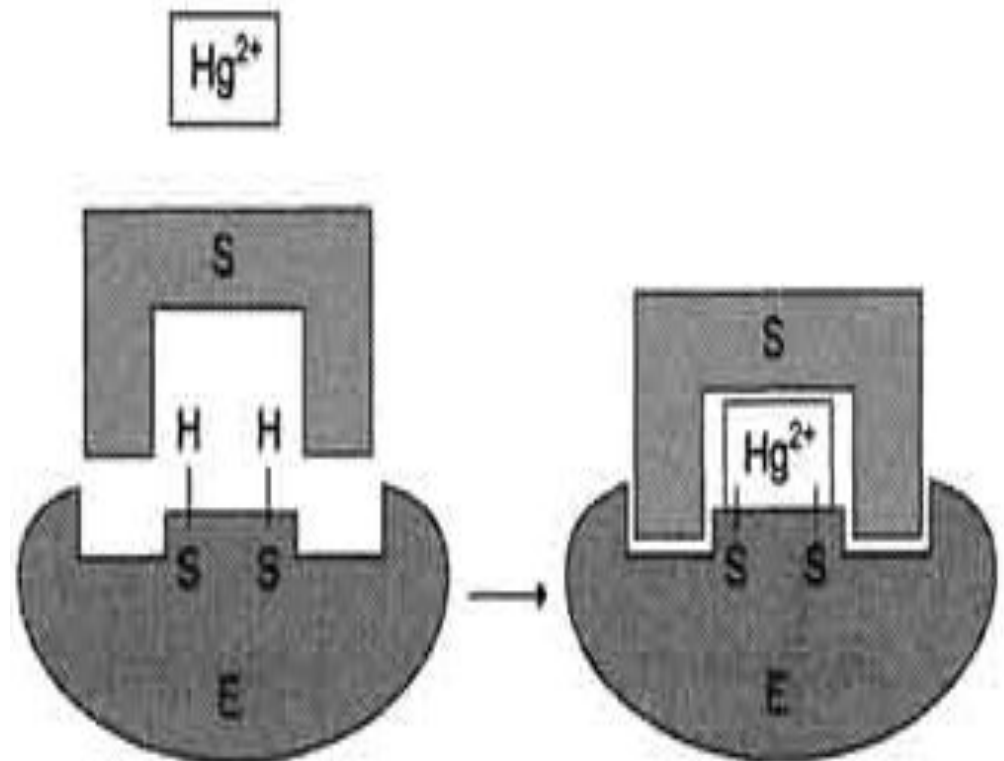




INHIBIȚIA IREVERSIBILĂ



- Ioni metalelor grele
- Razele UV
- Acizii și baze conc.





INHIBIȚIA REVERSIBILĂ

($E+I \rightleftharpoons EI$)

- Antibioticele
- Antivitamine
- Metaboliți
- antienzime

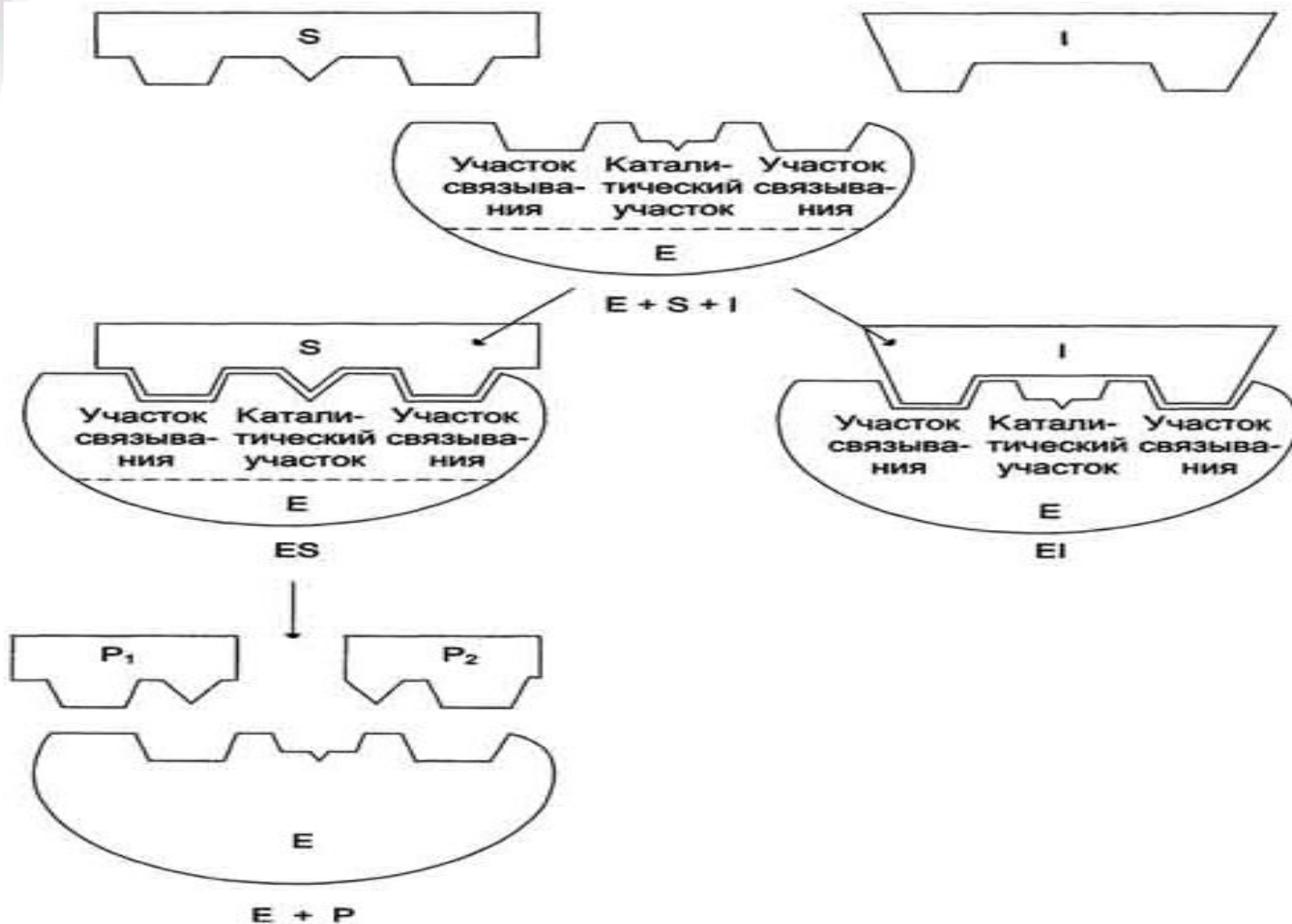
INHIBIȚIA COMPETITIVĂ

- Inhibitorul reacționează cu centrul activ

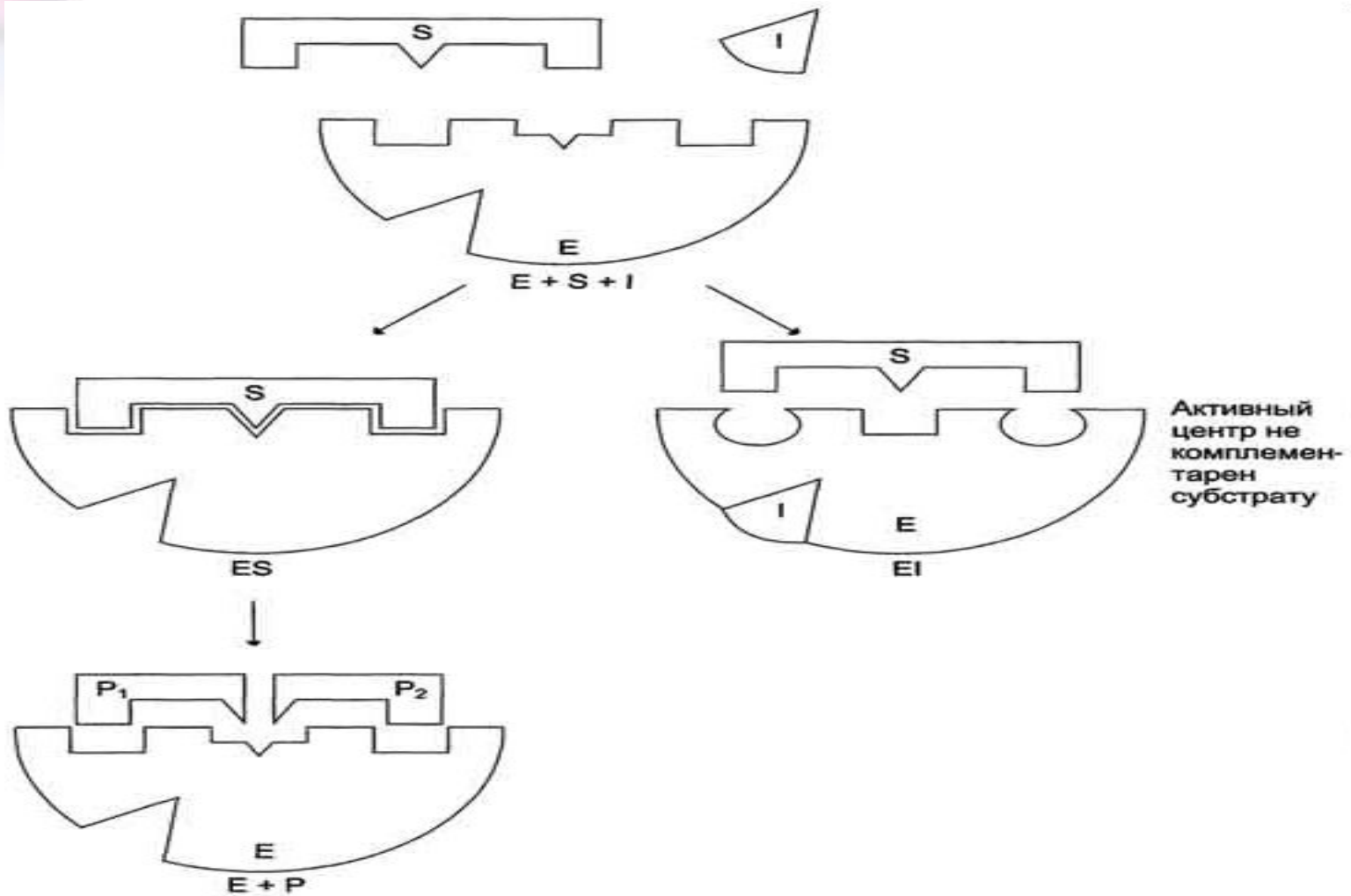
Inhibiția Necompetitivă (allosterică)

- Inhibitorul reacționează cu centrul allosteric

Inhibiția competitivă

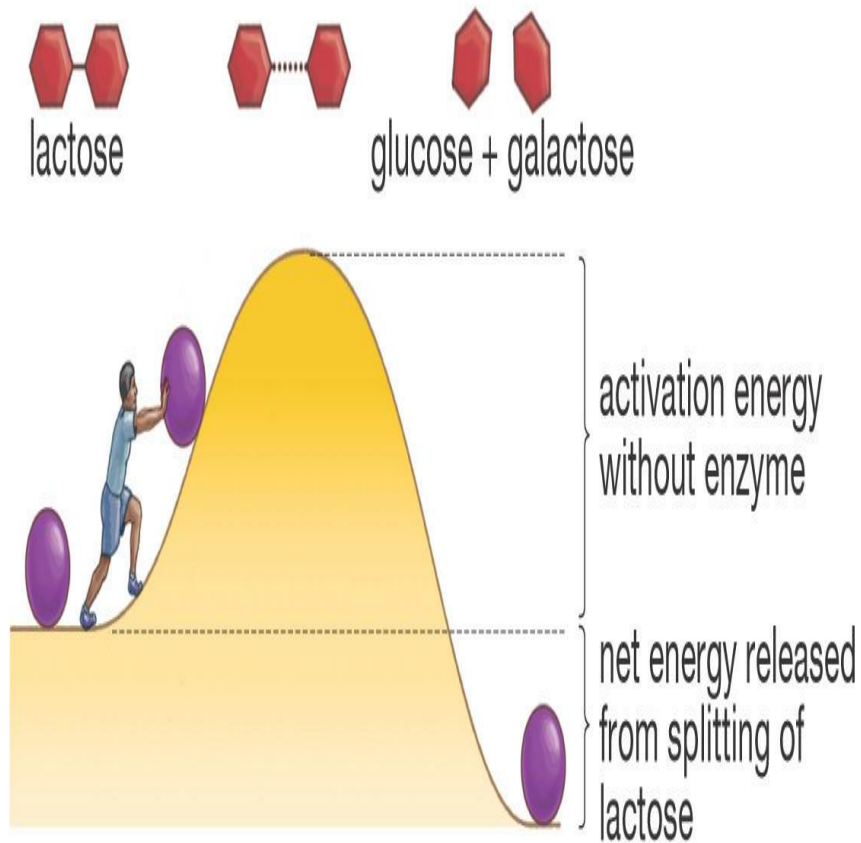


INHIBIȚIA NECOMPETITIVĂ

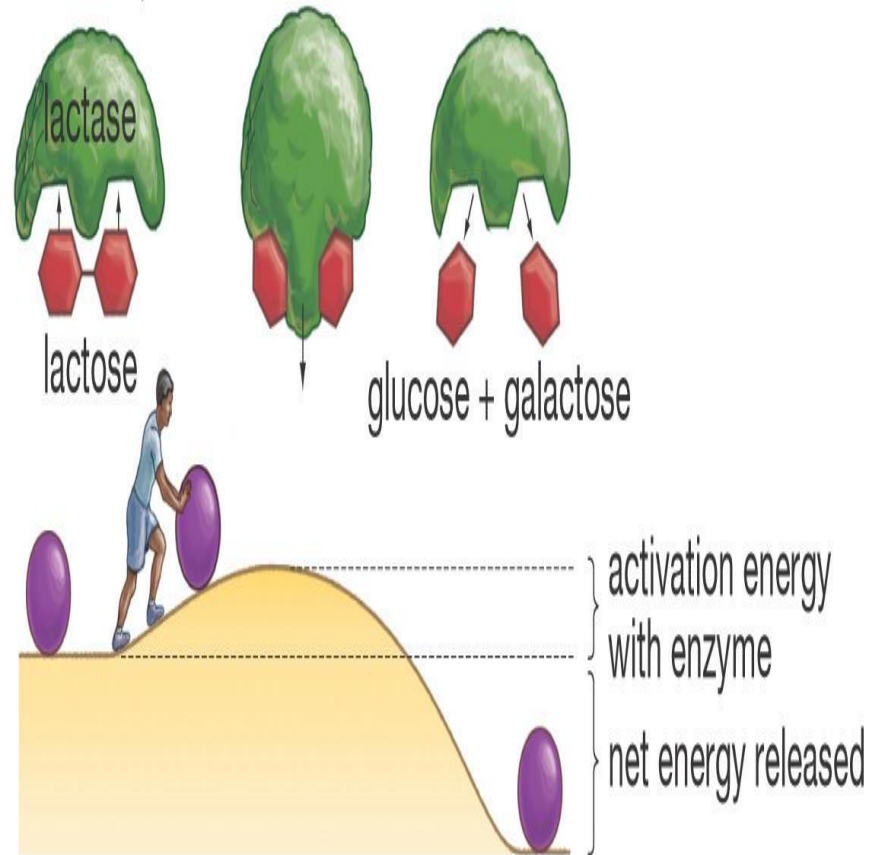




(a) Without enzyme



(b) With enzyme





Procesul catalizei enzimatică poate fi divizat convențional în 3 stadii:

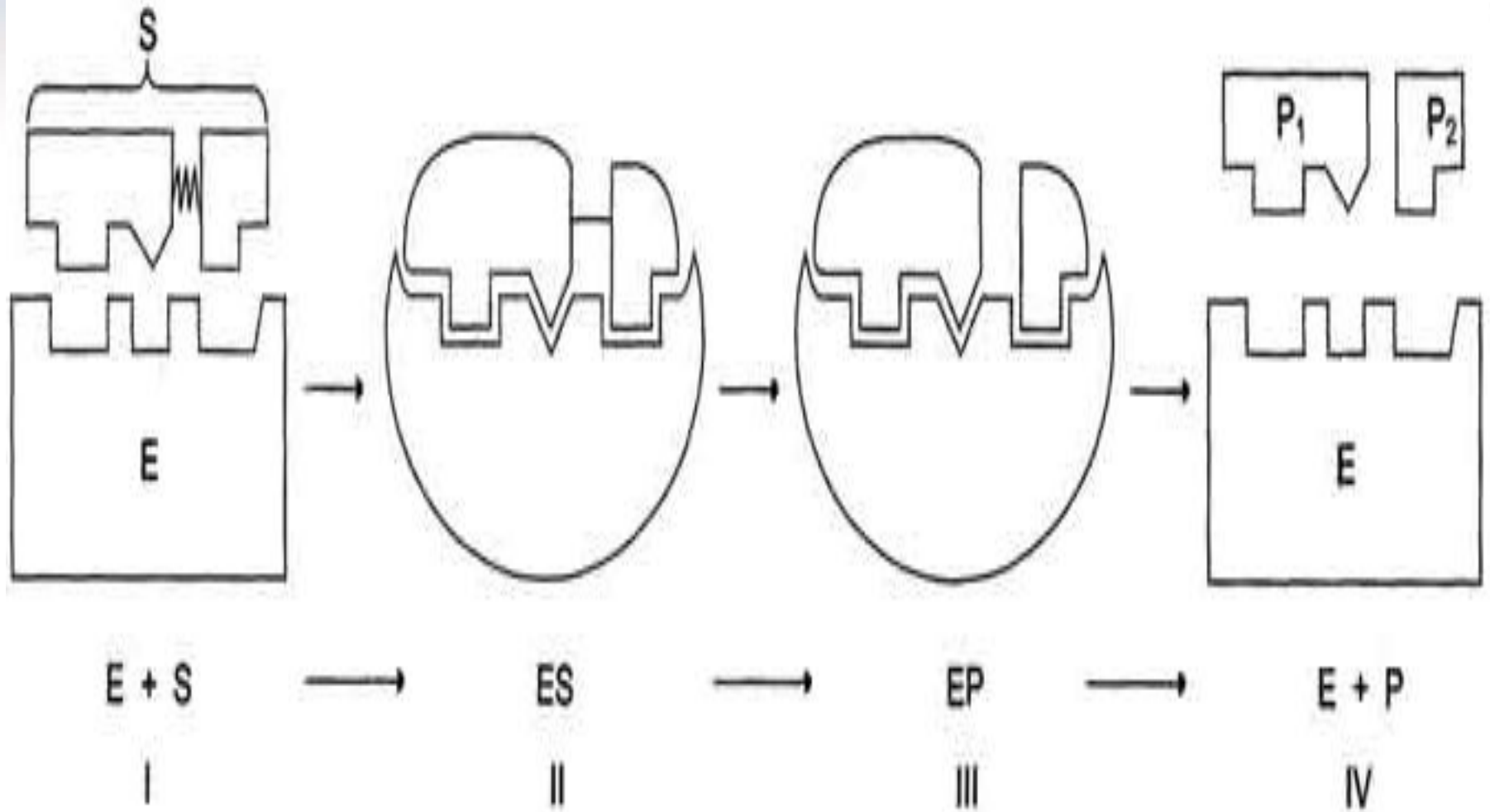
1. Activarea E

2. Difuzia S spre E și legarea cu CA al E - formarea complexului ES. Prima etapă de scurtă durată depinde de concentrația substratului și de viteza lui de difuzie spre centrul activ al enzimei.

3. Transformarea complexului primar ES în unul sau câteva complexe activate - ES^* , ES^{**} (este cea mai lentă) La această etapă are loc dereglarea legăturilor S, ruperea lor sau formarea noilor legături în urma interacțiunii grupelor catalitice ale E.

4. Despărțirea produselor reacției de CA al E și difuzia lor în mediul ambiant (complexul EP disociază în E și P).

Mecanismul de acțiune ale enzimelor





specificitatea

- De grup
- absolută
- stereospecificitatea

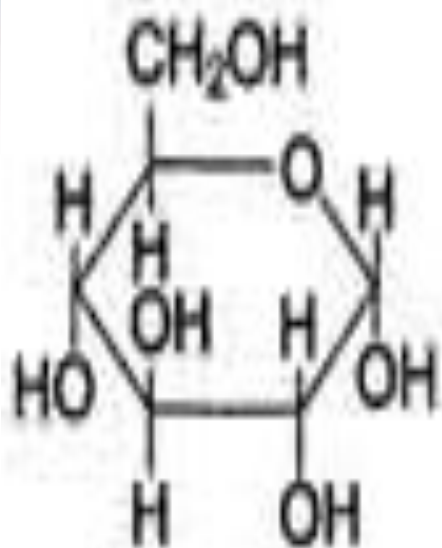


Specificitatea absolută





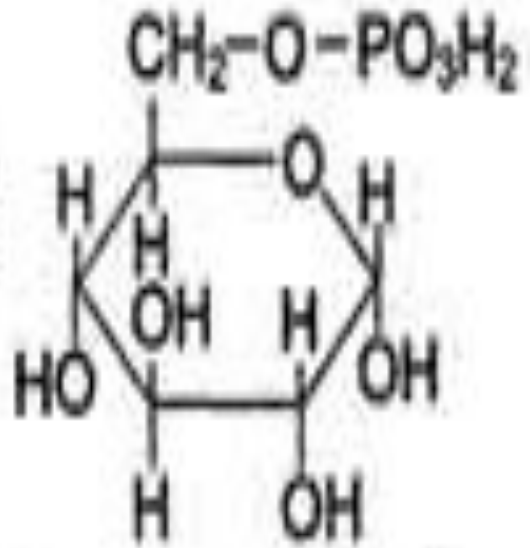
Stereospecificitatea



D-glucoza

+ ATP

hexokinaz
a



D-glucozo-6-fosfat

+ ADP



Cinetica reacțiilor enzimaticice

- Studiază funcția reacției enzimaticice în dependența de natura chimică a substanțelor reagente, concentrația lor , t, pH, acțiunea efectorilor.



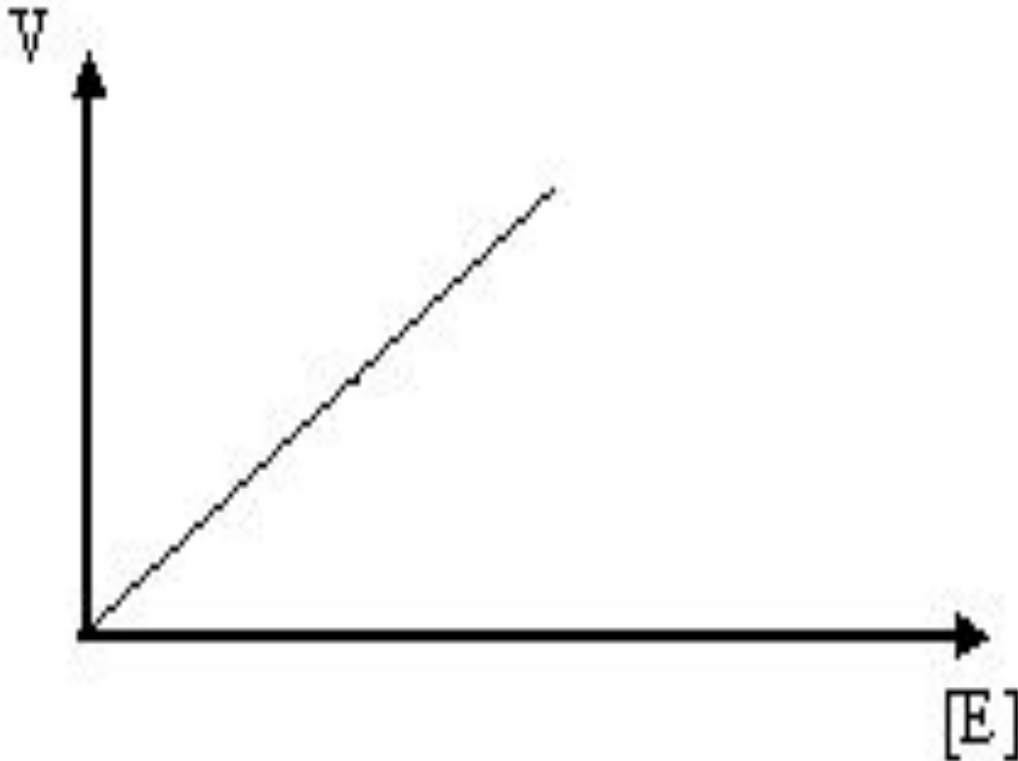
Viteza reacțiilor enzimatice depinde de:

1. Concentrația substratului
2. concentrația enzimelor;
3. temperatura;
4. pH ;
5. activatori;
6. inhibitori;



Dependența vitezei de concentrația E

- Cu cât mai mare vor fi concentrația enzimei, cu atât mai repede va fi transformările chimice

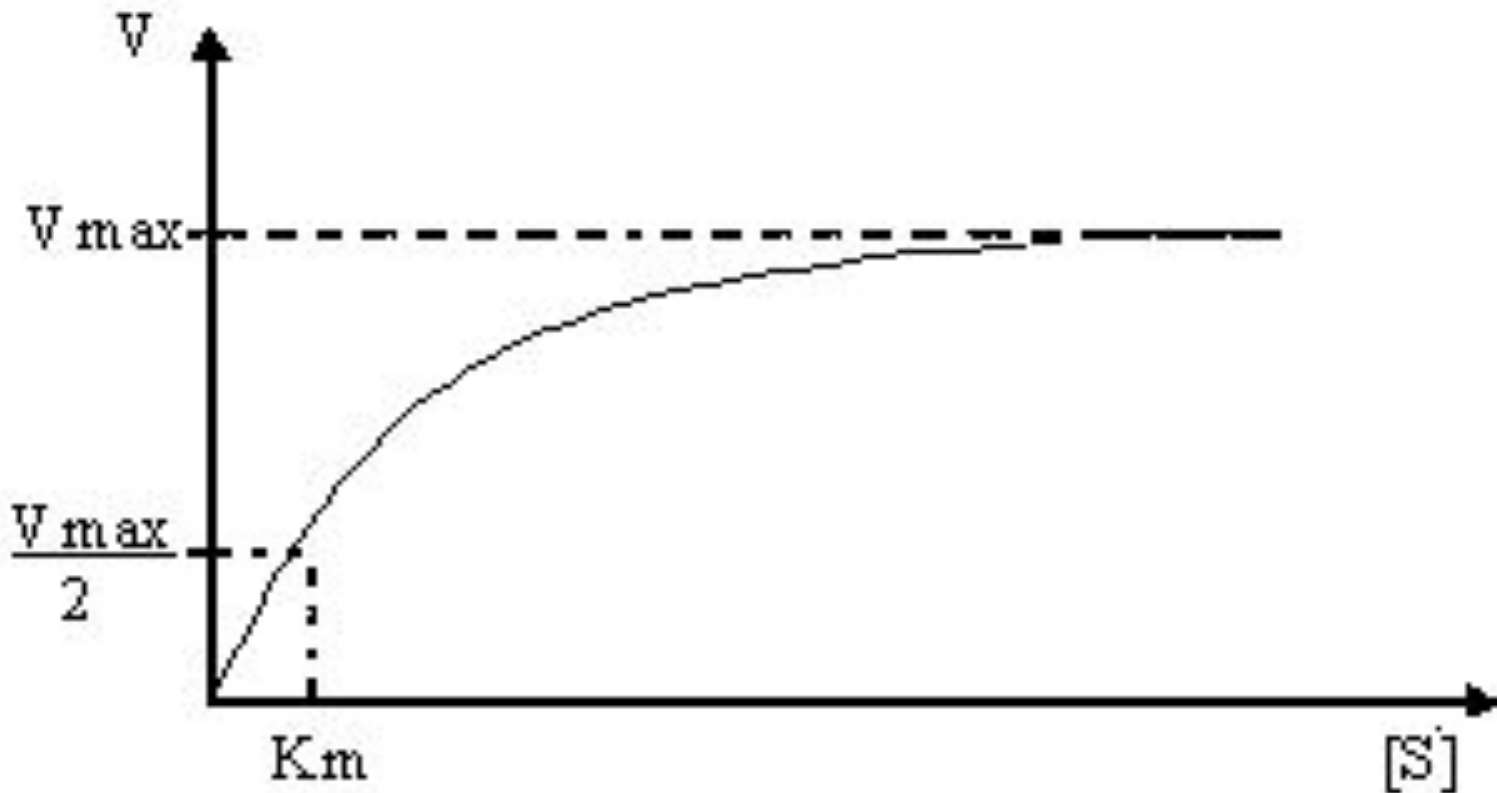




Dependența vitezei de concentrația S

Viteza de reacție este proporțională cu concentrațiile mici de substrat

La concentrații mari de substrat viteza de reacție devine maximală și constantă - E atinge starea de saturație





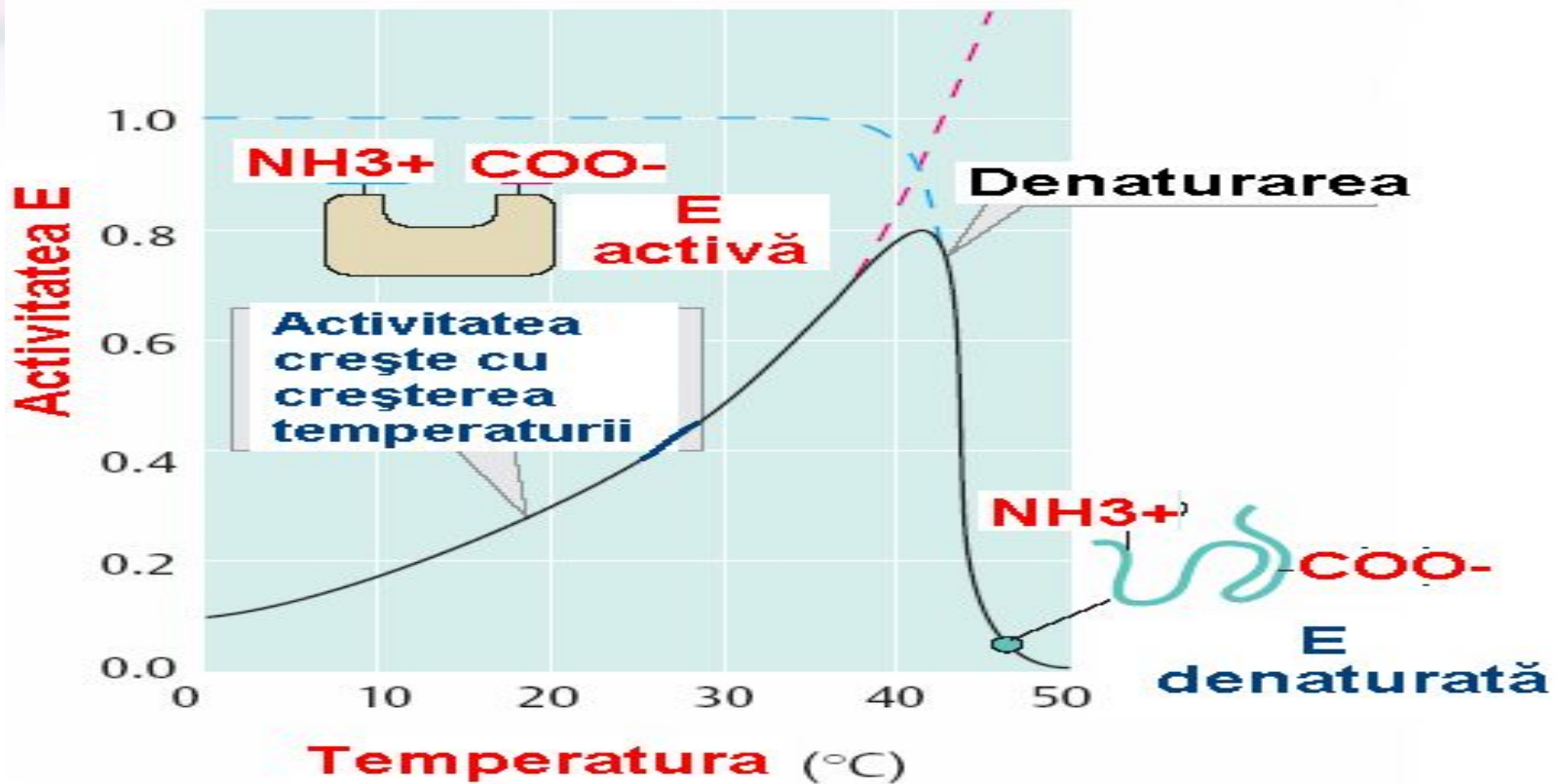
$$v = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

ecuația Michaelis-Menten

- În care:
 - V - este viteza de reacție la un moment dat;
- V_{\max} — viteza maximă de reacție, corespunzătoare concentrației mari de substrat, când enzima este saturată cu substrat ;
- $[S]$ —concentrația substratului ;
- K_m — constanta Michaelis-Menten, moli/l.

$$V = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Acțiunea T asupra activității enzimaticе

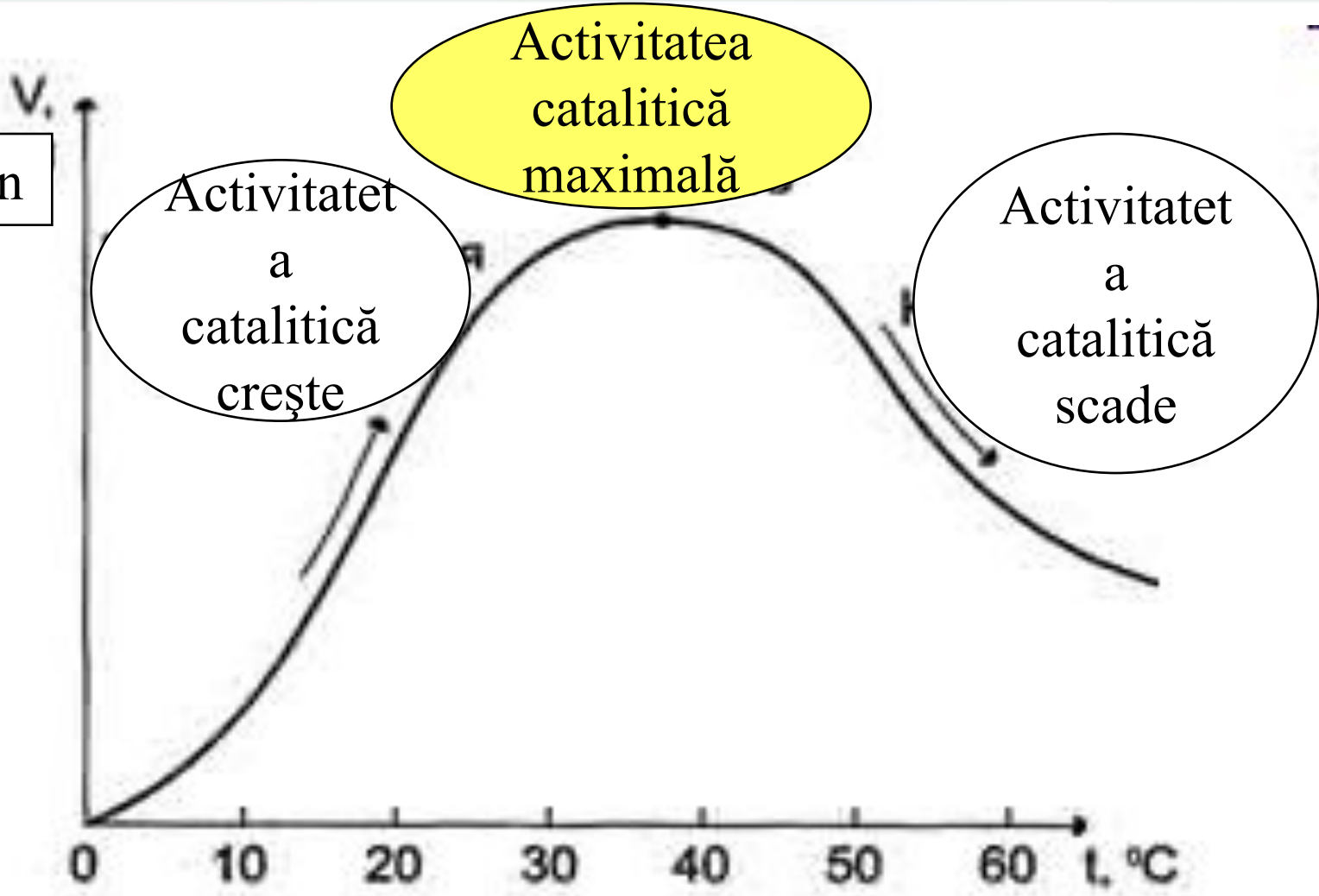


- t optimă a majorității E se află în limitele 20 ° - 40° C



de temperatura

mmol/min

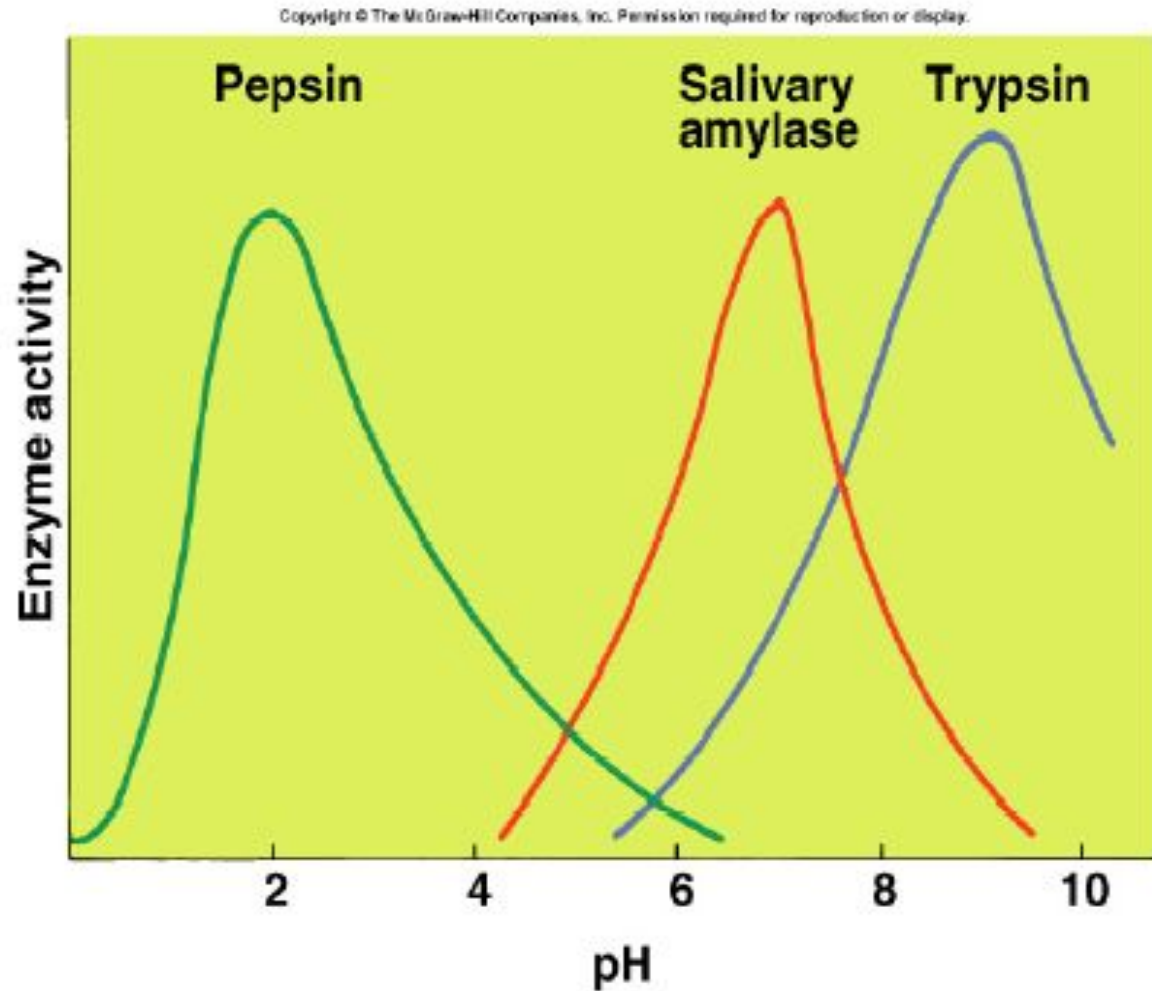




Acțiunea pH asupra activității enzimatică

Fiecare E are un pH optim propriu la care își manifestă activitatea maximală. Majoritatea E celulare au pH-ul optim-7,4

8
1.8





pH

Enzima	optimum pH
pepsina	1,5
tripsina	7,7
catalaza	7,6
arginaza	9,7
fumaraza	7,8
ribonucleaza	7,8

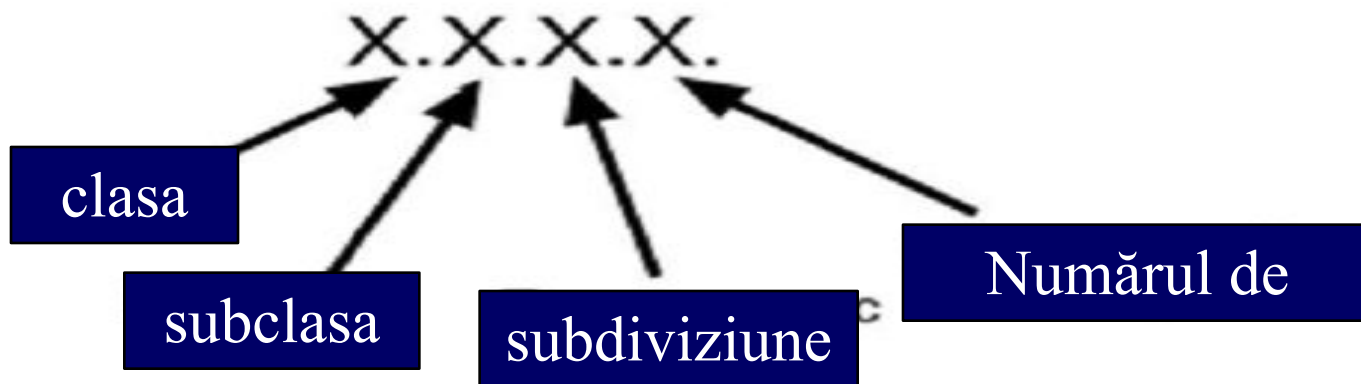


Clasificarea și nomenclatura

- 1 clasa. Oxidoreductaze
- 2 clasa. Transferaze
- 3 clasa. Hidrolaze
- 4 clasa. Liaze
- 5 clasa. Izomeraze
- 6 clasa. Ligaze (sintetaze)



Cod de patru cifre



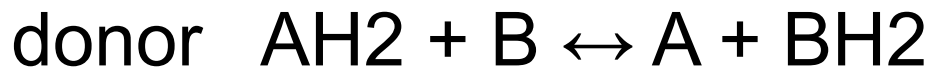


1 Clasa Oxidoreductazelor

dehidrogenaze, oxidaze

- dehidrogenazele care catalizează reacțiile dehidrogenării după următoarea schemă:

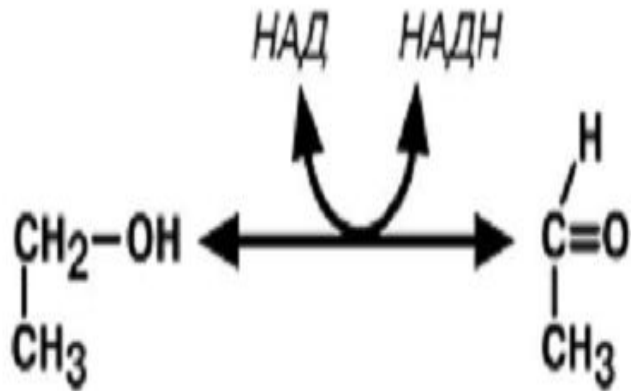
acceptor





1 Clasa Oxidoreductazelor

1.1.1.1 Alcooldehidrogenaza



Alcool etilic

acetaldehid

Систематическое название

Алкоголь:НАД-оксидоредуктаза

Рабочее название

alcooldehidrogenaza



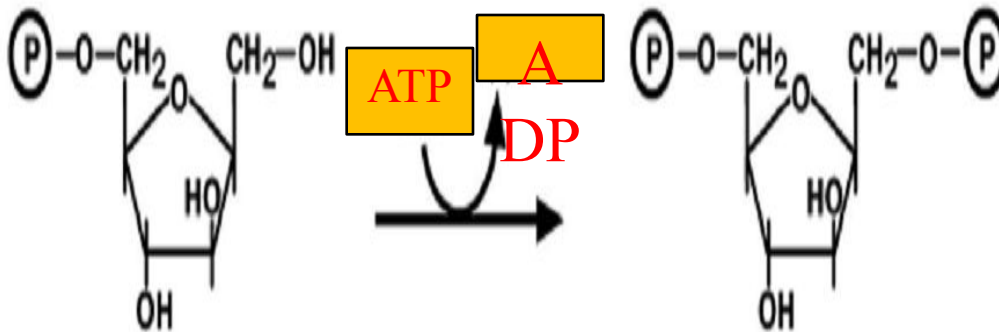
2 Clasa Transferazelor

transaminaze, kinaze, metiltransferaze

- catalizează reacțiile *de transfer* a diferitor grupe și radicali chimici de la o moleculă la alta.



2 Clasa Transferazelor



Систематическое название

Фруктозо-6-фосфат:АТФ-фосфо-трансфераза

2.7.1.17.Fosfofructokina
za

Fructozo-6-fosfat

Fructozo-1,6-difosfat



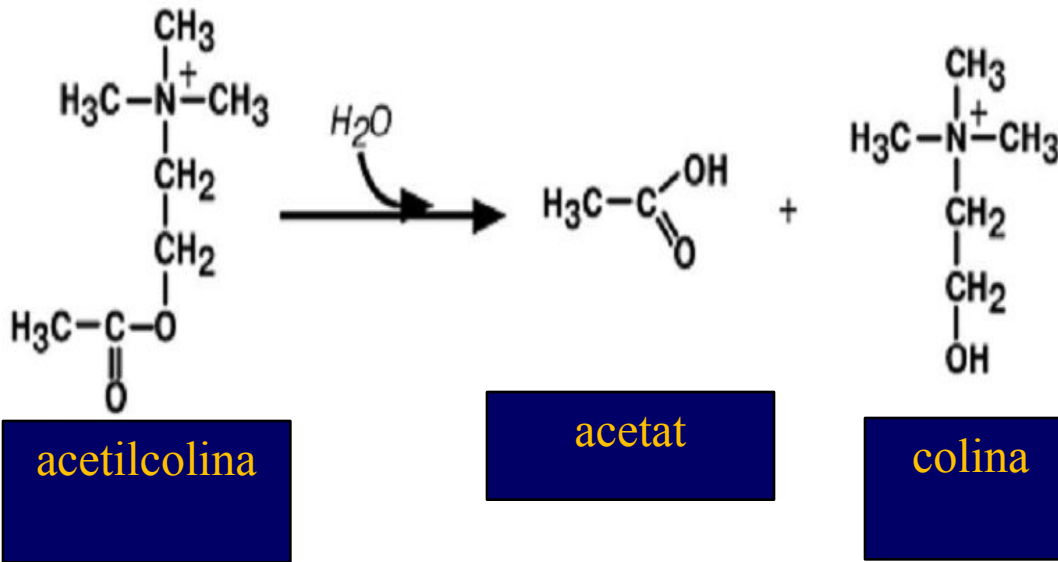
3 Clasa Hidrolazelor

peptidaze, glicozidaze, esteraze

- catalizează *scindarea legăturilor chimice* cu participarea moleculelor de apă după următorul mecanism:
- $R1 - R2 + HOH \rightarrow R1 - OH + R2 - H$



3 Clasa Hidrolazelor



3.1.1.7 Acetilcolinesteraza



4 Clasa Liazelor

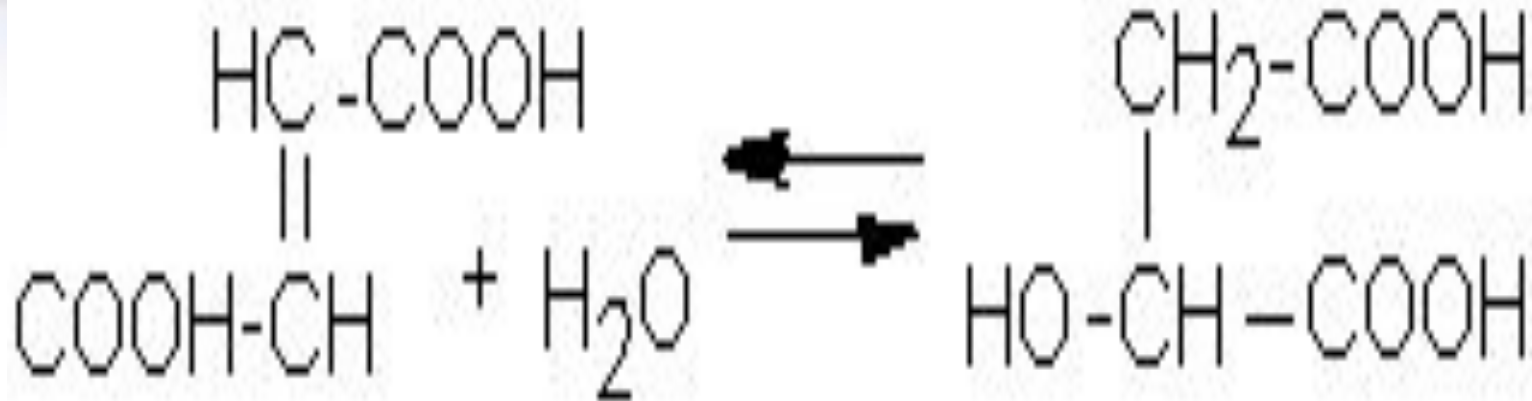
decarboxilaze, mutaze

- catalizează reacțiile de *scindarea nehidrolitică* a legăturilor chimice.
- Se elimină molecule de **CO₂**, **H₂O**, **NH₃** etc. și des se *formează legături duble*. Catalizează și reacțiile inverse.



4 Clasa Liazelor

decarboxilaze, mutaze



acid

Fumaric

acid malic

Fumarathidrataza

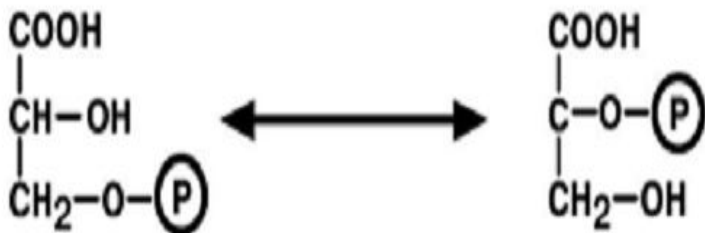
catalizează transformarea acidului fumaric în L – malic prin adiție de H₂O la dublă legătură.



5 Clasa Izomerazelor

mutaze, racemaze

- catalizează reacțiile de izomerizare.



3-
fosfoglicerat

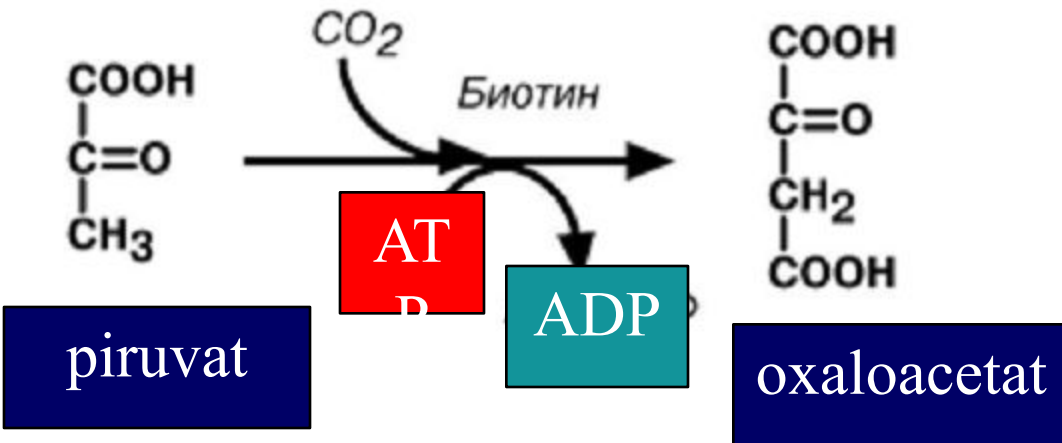
2-
fosfoglicerat

5.4.2.1. Fosfogliceromutaza



6 Clasa Ligazelor (sintetazelor)

- catalizează reacțiile *de formare legăturilor chimice* între două molecule. Reacțiile de sinteză sunt însoțite de scindarea legăturii *pirofosforice* în molecula de ATP.



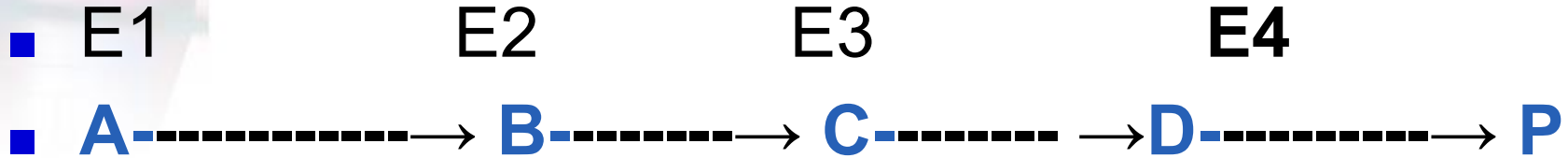
6.4.1.1. Piruvat -
carboxilaza

The enzyme classes

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH</p>	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	<p>A + B ⇌ A-B</p>	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	<p>A ⇌ Iso-A</p>	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	<p>X = A, G, U, C</p> <p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP + P</p>	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases



complexe multienzimatice



produsul reacției primei enzime servește
drept substrat pentru enzima următoare etc.



Izoenzime sau izozime

- ❑ Sunt enzime localizate în aceeași celulă sau în celule diferite,
- ❑ îndeplinesc funcții catalitice **identice**:
- ❖ Au același mecanism de acțiune
- ❖ Specificitate de substrat identică

- ❑ dar diferă prin proprietăți fizico-chimice cum ar fi:
- ✓ *Compoziția de AC*
- ✓ *Mobilitatea electroforetică*
- ✓ *Termostabilitate*
- ✓ *pH*



B. Isoenzymes

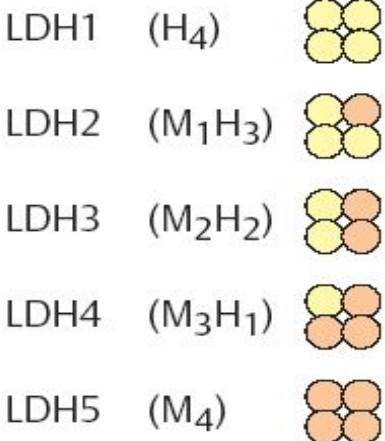
Lactate dehydrogenase M

RYLMGERLGVHPLSCHGWVVLGEHGDSSVPVWVSGMNVAGCSLKTLPDLGTD..

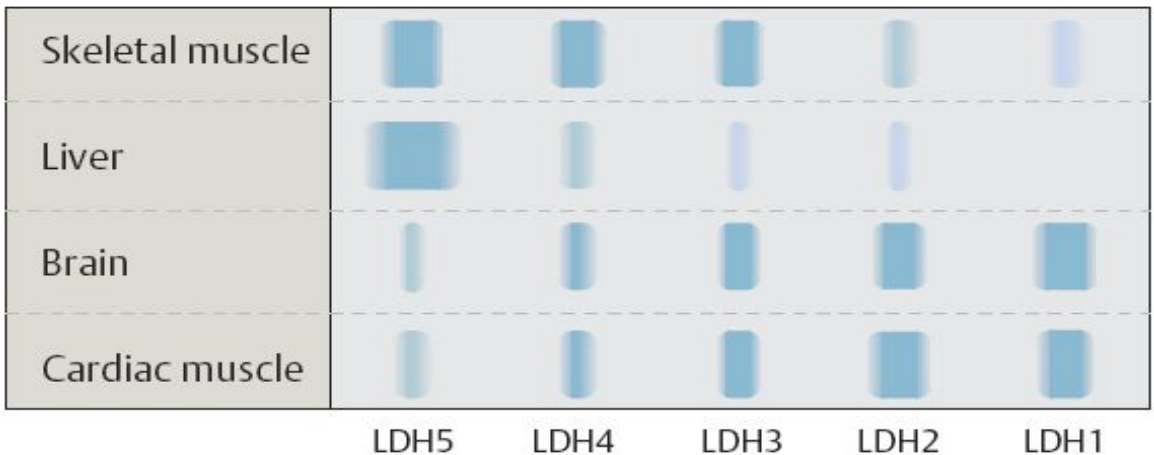
1. Gene

RYLMAEKLGIHPSSCHGWVVLGEHGDSSVAVWVSGVNVAGVSLQELNPDMGTD..

Lactate dehydrogenase H



2. Forms



3. Separation by gel electrophoresis



Proenzime

E Inactive.

- Proenzimele nu îndeplinesc rolul de biocatalizatori, decât dacă sunt activate de anumiți factori sau de către alte enzime - în cadrul sistemelor enzimatiche.
- Proenzimă → Enzimă

HCl

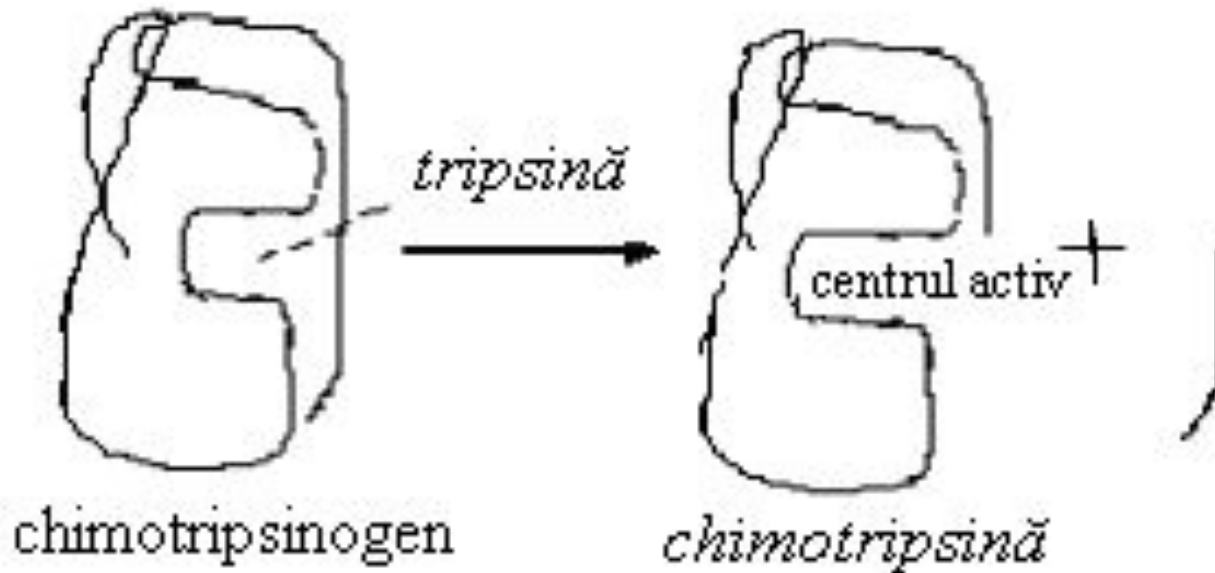
Pepsinogenul → pepsina (suc gastric)

enterokinaza

tripsinogenul → tripsina (suc pancreatic)



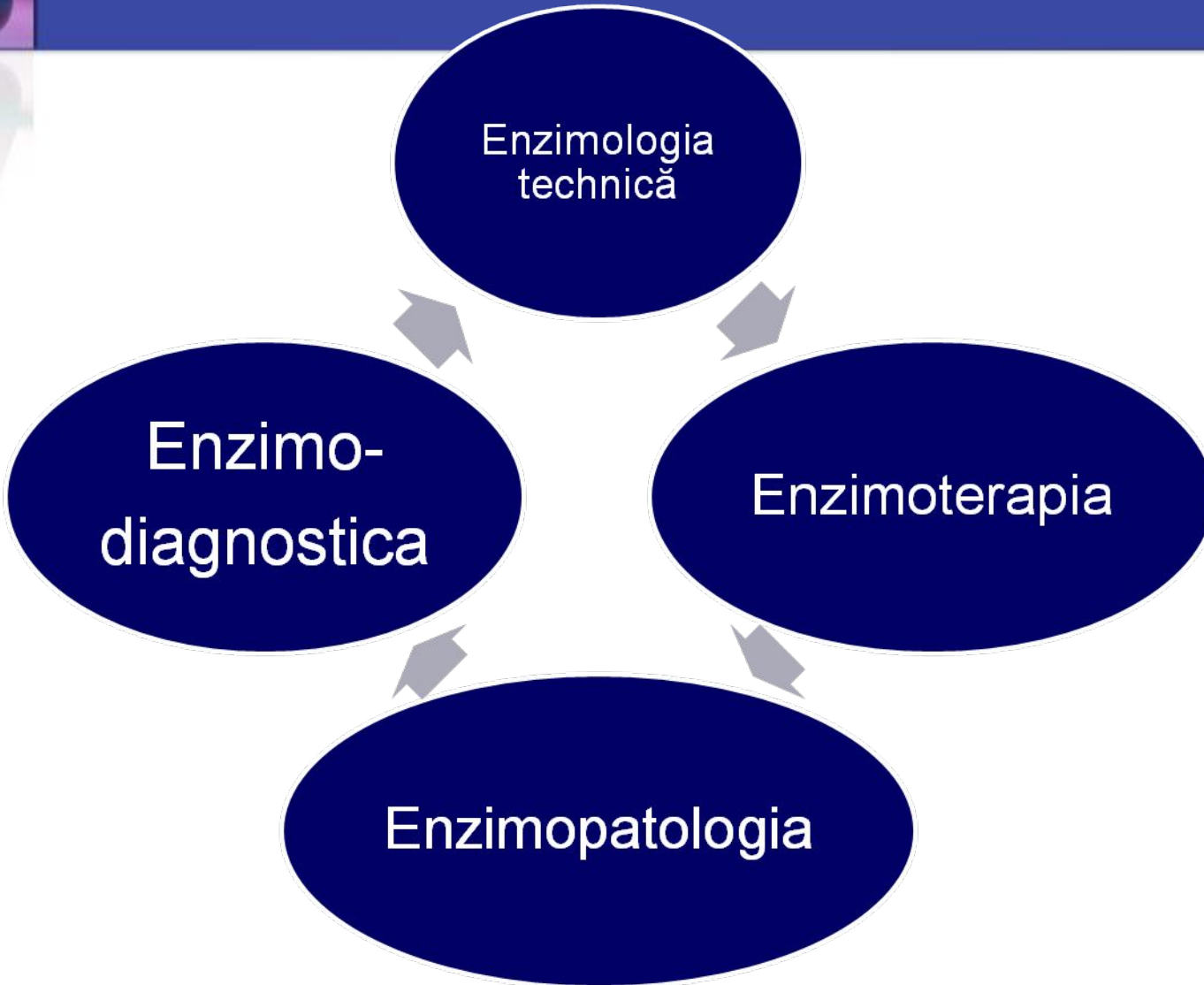
Proenzima = zimogen – precursori inactivi



chymotripsinogena (proenzima, zimogen)
sub acțiunea *tripsinei* se transformă în *chymotripsină*
(enzima).



Direcțiile enzimologiei





Importanța **E digestive**

Suplimentele enzimatice compensează o sinteză insuficientă a acestor elemente în corp în cazul afecțiunilor digestive

- **AMILAZA** - descompune carbohidrații (amidonul)
- **PROTEAZA; PEPSINA, TRIPSINA** - la digestia proteinelor
- **LIPAZA** - grăsimile (din alimente și țesut adipos) ;
- **RENINA** - hidrolizează cazeina
- **INVERTAZa** (mierea) - hidrolizează zaharoza în fructoza și glucoza
- **LACTAZA** - descompune lactoza



Enzimoterapia

- Terapia moderna cu enzime dateaza de la inceputul secolului XX.

In 1906 dr. John Beard, embriolog din Edinburg, a descris utilizarea enzimei **tripsina** in tratamentul cancerului.

- - **TRIPSINA, PAPAINA, A-CHIMOTRIPSINA, LIDAZA** .-în afecțiuni dermatologice (cicatrice)
- **LIZOZIMUL, TRIPSINA, A-CHIMOTRIPSINA** -în afecțiunile oftalmologice
- **HEMOCOAGULAZA** -pentru tratarea hemoragiilor nedeterminate de deficitul unor factori ai coagularii
- **STREPTOKINAZA** -pentru activarea hidrolizei trombilor (infarct miocardic)



E metabolice

regleaza procesele metabolice interne

- **CATALAZA** -efect antioxidant prin descompunerea peroxidului de hidrogen în apă și oxigen
- **UREAZA** - la formarea ureei
- **FOSFATAZA ALCALINA** - la fixarea fosforului în oase
- **TROMBOLIZINA**- la dizolvarea cheagurilor de sânge
- **CERULOPLASMINA**- participă la metabolismul fierului și sinteza de hemoglobină,
- etc----



Enzimodiagnostica (E-markeri)

- **Alanin-aminotransferaza (ALT)** - are o localizare în interiorul celulelor rinichilor și ficatului.

Nivelul ALT \geq în cazul distrugerii celulelor (**hepatită, cancer, ciroză**).

- **Aspartat-aminotransferaza (AST)**, localizarea sa fiind la nivelul ficatului, a mușchilor scheletici și la nivelul eritrocitelor.

Nivelul AST \geq în **bolile hepatice**, însă nu atât de mult ca ALT.

- \geq **amilaza** în sânge – pancreatita acută
- \geq **fosfataza alcalină** în sânge - cancerul prostatei



Enzimopatologia

HEMOFILIA A –

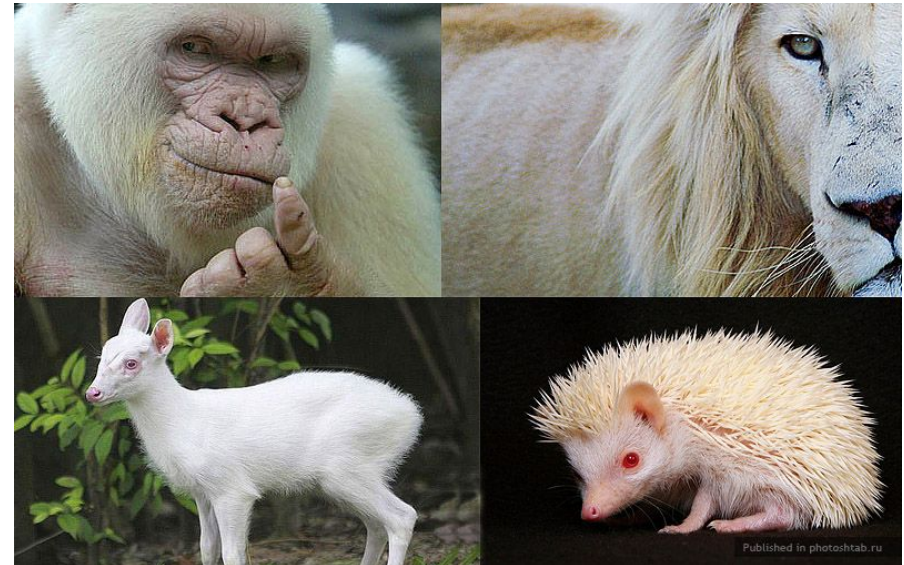
constă într-o predispoziție spre HEMORAGIE, cauzată de deficitul **factorului VIII** coagulării și prelungirea timpului de coagulare a sângelui

ALBINISM lipsa **TIROZINAZEI** → →

melanina

Фенилаланин ≠ тирозин

олигофрения





Enzimologia tehnica

- Industria textilă
- Industria tăbăcăriei
- Blănurilor
- în Curățătorii chimice (bio detergenți)
- Panificație
- Chimia analitică
- etc