

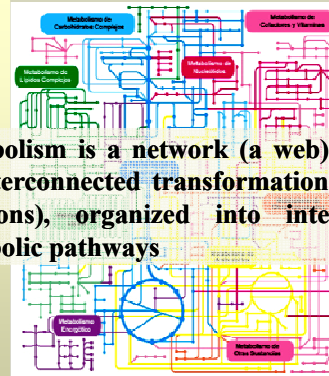


Universidad de Chile

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



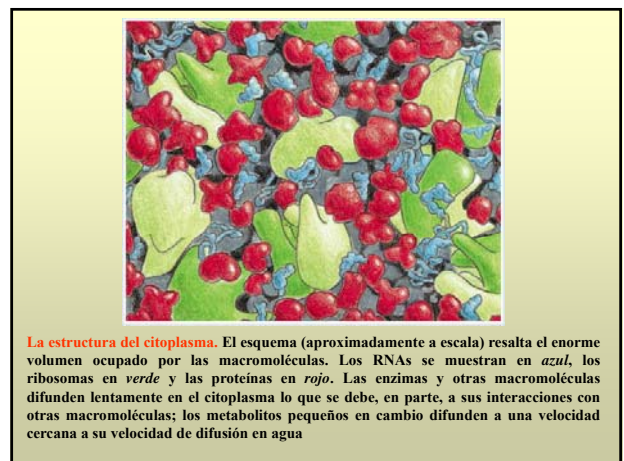
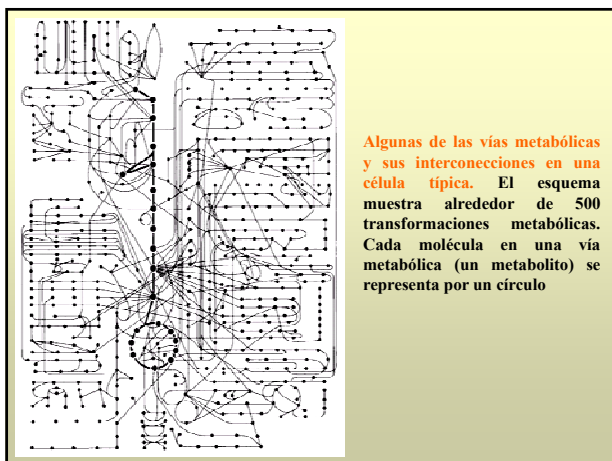
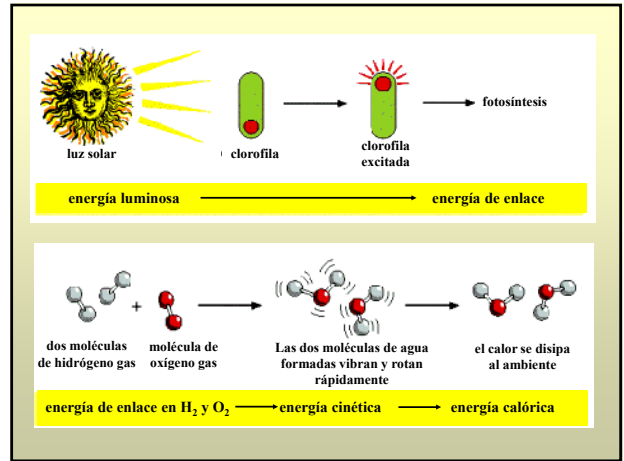
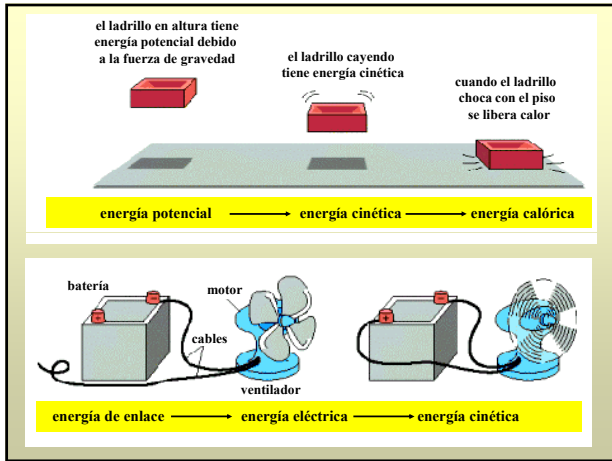
Metabolism is a network (a web) structured by interconnected transformations (chemical reactions), organized into interdependent metabolic pathways

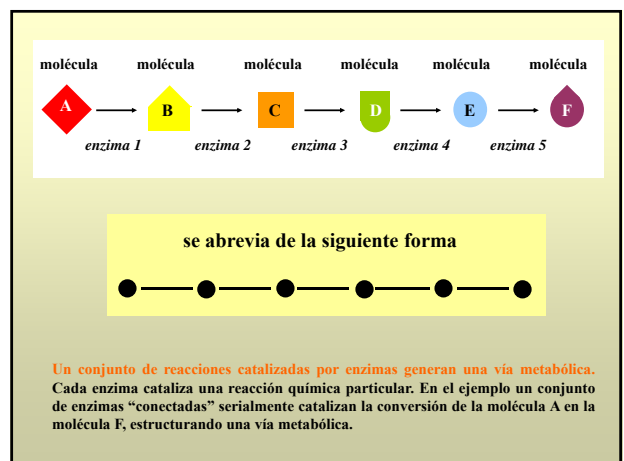
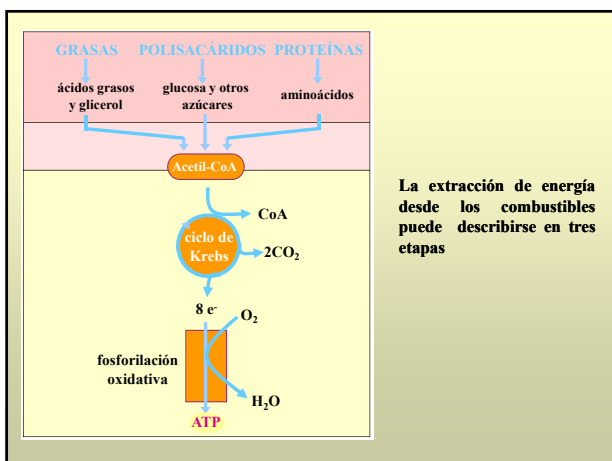
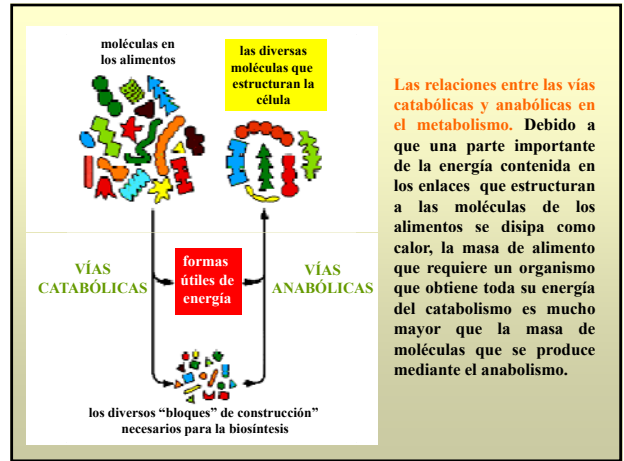
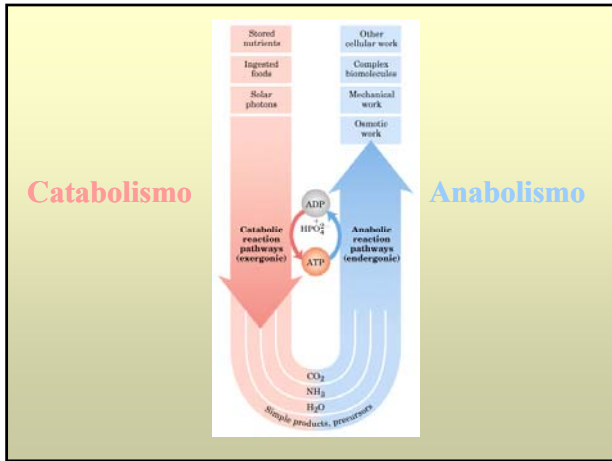
**Entender la organización del metabolismo supone, al menos, contestar dos preguntas**

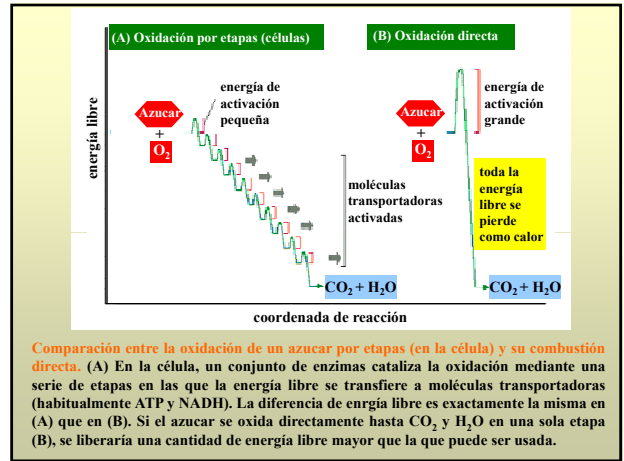
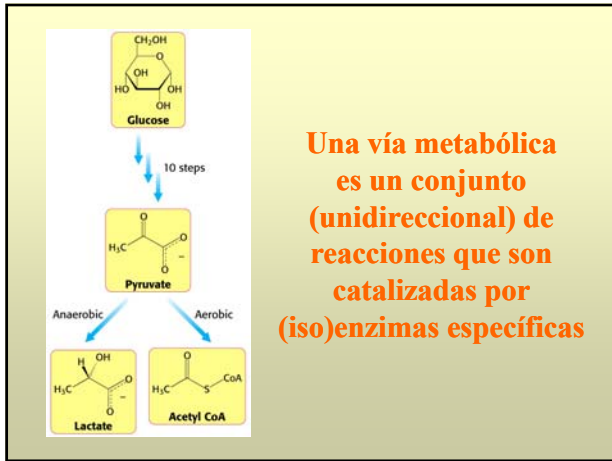
- **Cómo los organismos, o las células, extraen energía y poder reductor desde el medio?**
- **¿Cómo los organismos, o las células, sintetizan los monómeros que constituyen sus macromoléculas, y las macromoléculas mismas?**

**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**







(A) Oxidación por etapas (células) (B) Oxidación directa

energía libre

energía de activación pequeña

energía de activación grande

moléculas transportadoras activadas

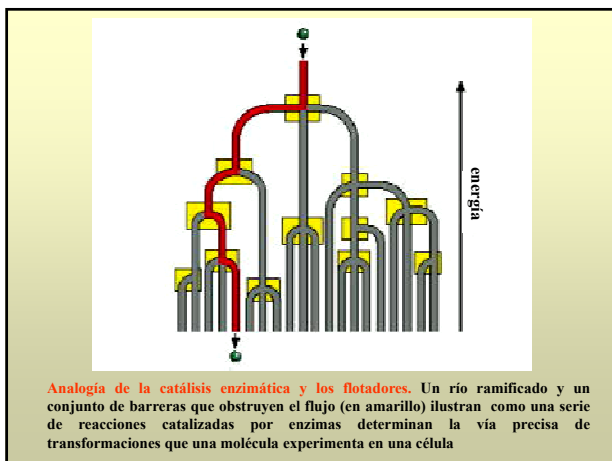
toda la energía libre se pierde como calor

coordenada de reacción

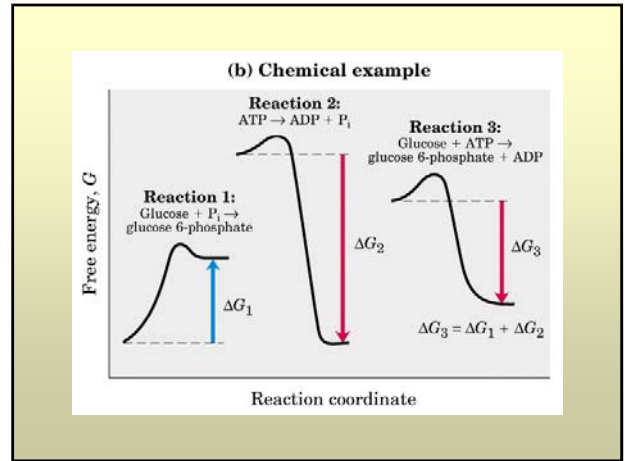
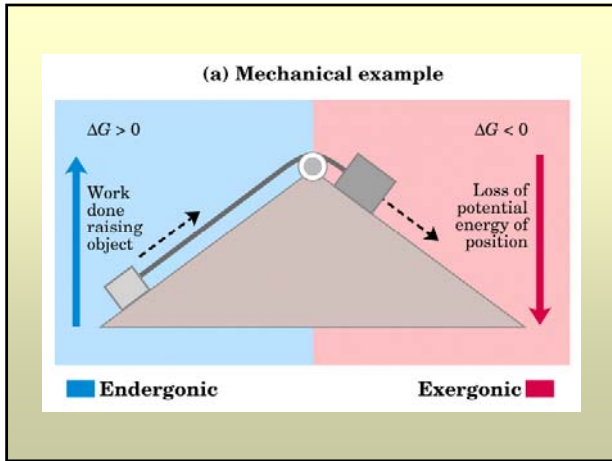
CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O

CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O

Comparación entre la oxidación de un azúcar por etapas (en la célula) y su combustión directa. (A) En la célula, un conjunto de enzimas cataliza la oxidación mediante una serie de etapas en las que la energía libre se transfiere a moléculas transportadoras (habitualmente ATP y NADH). La diferencia de energía libre es exactamente la misma en (A) que en (B). Si el azúcar se oxida directamente hasta CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O en una sola etapa (B), se liberaría una cantidad de energía libre mayor que la que puede ser usada.



**Una reacción termodinámicamente desfavorable puede ser impulsada por una reacción favorable**

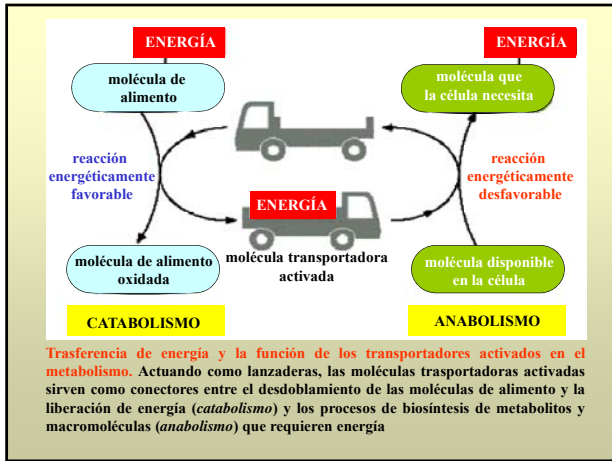


**El cambio de energía libre puede usarse para predecir la dirección en que ocurrirá una determinada reacción química en las condiciones intracelulares**

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

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

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

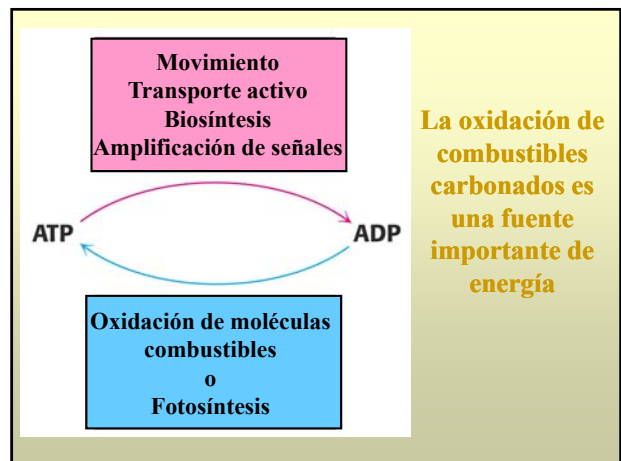


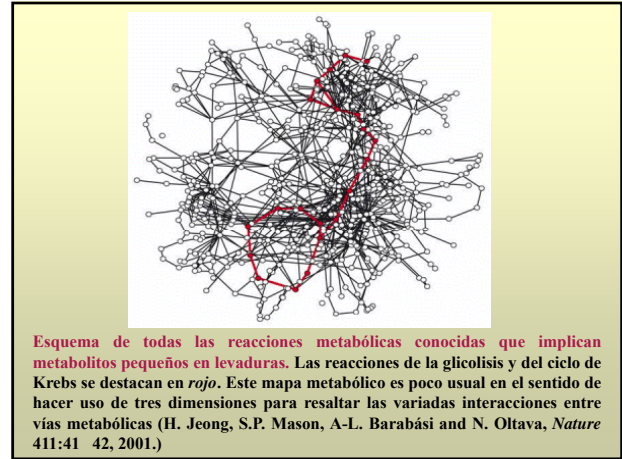
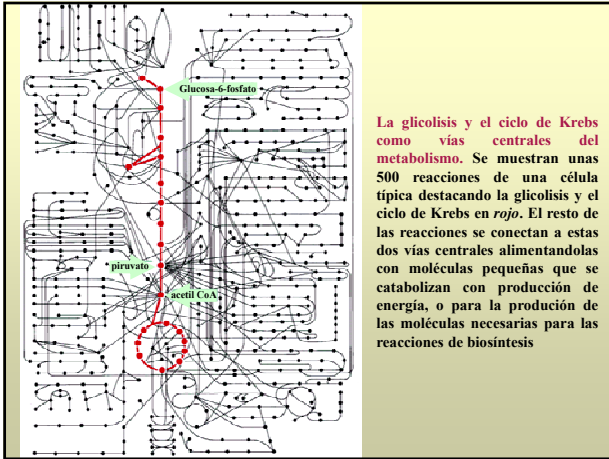
### El ATP es la “moneda” universal de intercambio de energía libre en los seres vivos

Chemical structure of ATP (Adenosine Triphosphate) showing the adenine base, ribose sugar, and three phosphate groups.

### 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

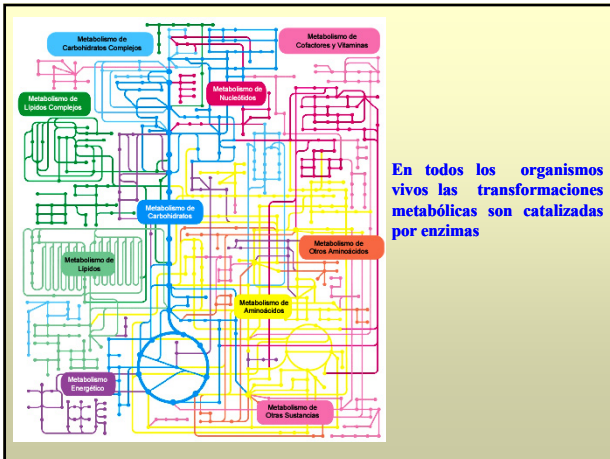
Actividad de la enzima

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

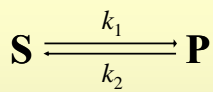
Elemento	Enzima
$\text{Cu}^{2+}$	Citocromo oxidasa
$\text{Fe}^{2+}$ o $\text{Fe}^{3+}$	Citocromo oxidasa, Catalasa, Peroxidasa
$\text{K}^+$	Piruvato quinasa
$\text{Mg}^{2+}$	Hexoquinasa, glucosa 6-fosfatasa, Piruvato quinasa
$\text{Mn}^{2+}$	Arginasa, Ribonucleótido reductasa
Mo	Dinitrogenasa
$\text{Ni}^{2+}$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



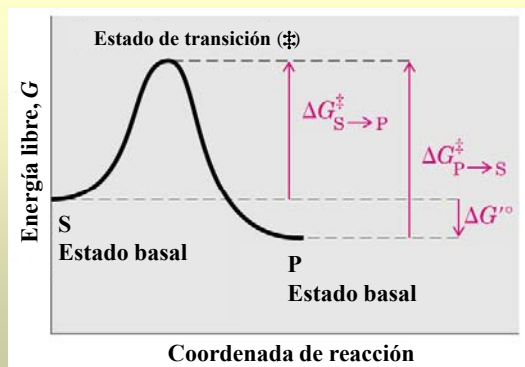
Algunas coenzimas que sirven como trasportadores transitorios de átomos específicos o grupos funcionales

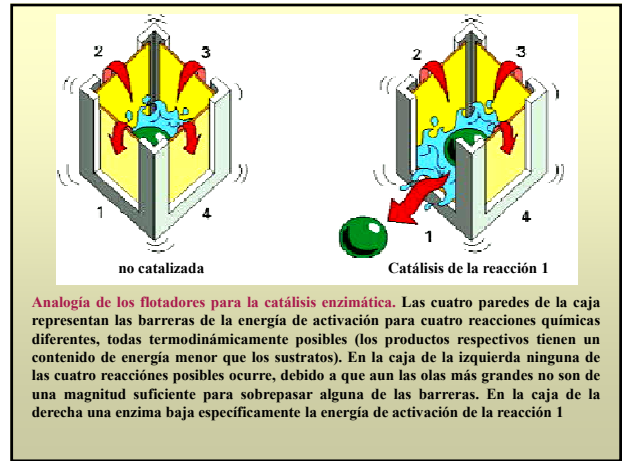
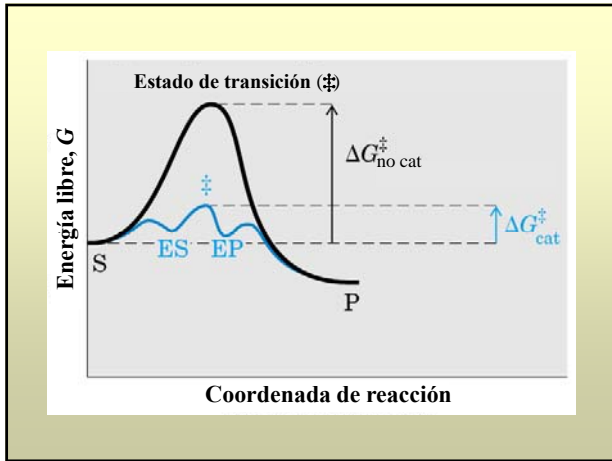
Coenzima	Grupo químico que Transfiere	Precursor (dieta mamíferos)
<i>Biotina</i>	CO <sub>2</sub>	<b>Biotina</b>
<i>Coenzima A</i>	Grupos acilo	<b>Ácido pantoténico y otros compuestos</b>
<i>5'-desoxiadenosil cobalamina (coenzima B<sub>12</sub>)</i>	Átomos de H y grupos alquilo	<b>Vitamina B<sub>12</sub></b>
<i>FAD</i>	Electrones	<b>Riboflavina (B<sub>2</sub>)</b>
<i>Lipoato</i>	Electrones y grupos acilo	<b>No se requiere en la dieta</b>
<i>NAD</i>	Ión hidruro (:H)	<b>Ácido nicotínico</b>
<i>Piridoxal fosfato</i>	Grupos amino	<b>Piridoxina (B<sub>6</sub>)</b>
<i>Tetrahidrofolato</i>	Unidades de un átomo de carbono	<b>Ácido fólico</b>
<i>Tiamina pirofosfato</i>	aldehidos	<b>Tiamina (B<sub>1</sub>)</b>

## EFICIENCIA

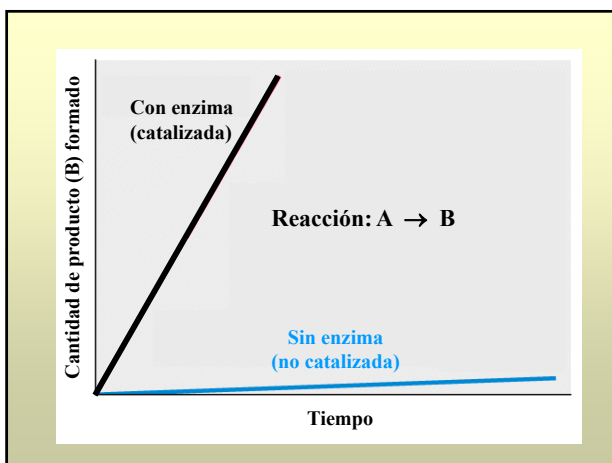


$$V = k_1[S] - k_2[P]$$





**Analogía de los flotadores para la catálisis enzimática.** Las cuatro paredes de la caja representan las barreras de la energía de activación para cuatro reacciones químicas diferentes, todas termodinámicamente posibles (los productos respectivos tienen un contenido de energía menor que los sustratos). En la caja de la izquierda ninguna de las cuatro reacciones posibles ocurre, debido a que aun las olas más grandes no son de una magnitud suficiente para sobrepasar alguna de las barreras. En la caja de la derecha una enzima baja específicamente la energía de activación de la reacción 1



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

Reacción	Catalizador	$E_a$ (cal/mol)
<i>Descomposición del <math>H_2O_2</math></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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	40,000,000
<i>Anhidrasa carbonica</i>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	400,000
<i>Acteicolinesterasa</i>	Acetilcolina	140,000
$\beta$ -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<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>)

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

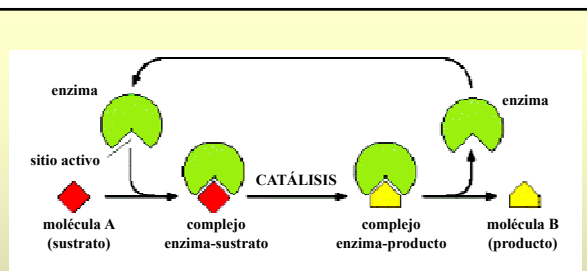
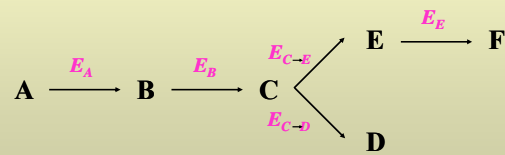
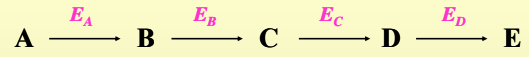
### Eficiencia catalítica de algunas enzimas

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

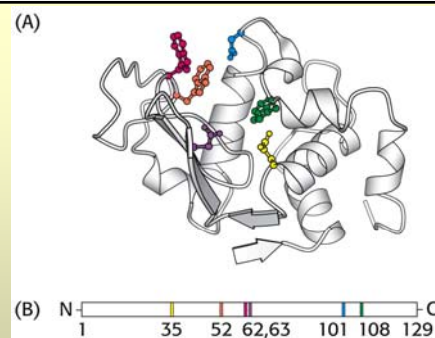
## ESPECIFICIDAD

### Clasificación internacional de las enzimas

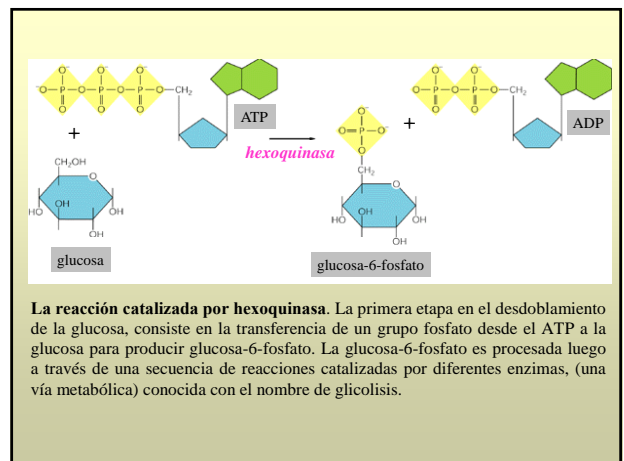
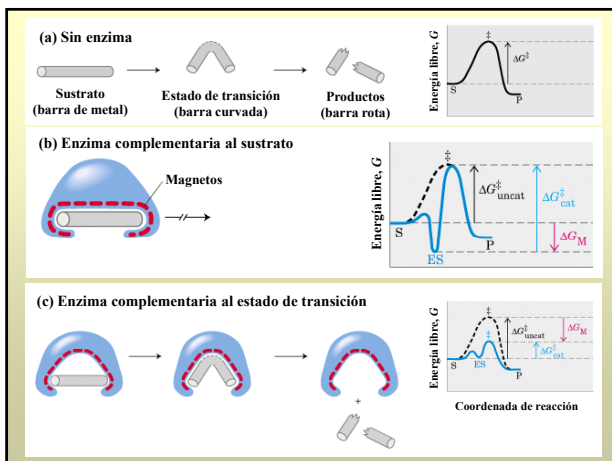
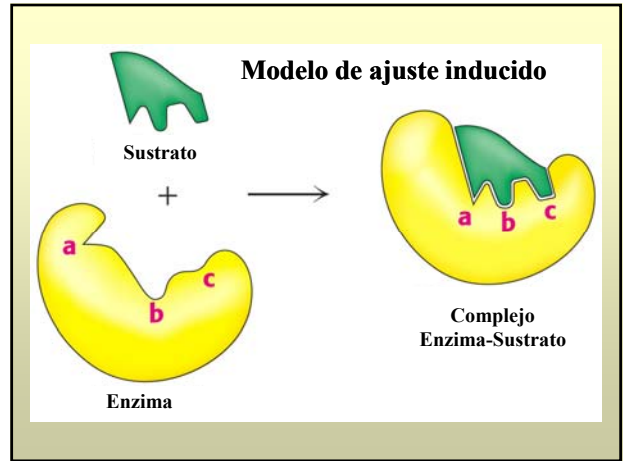
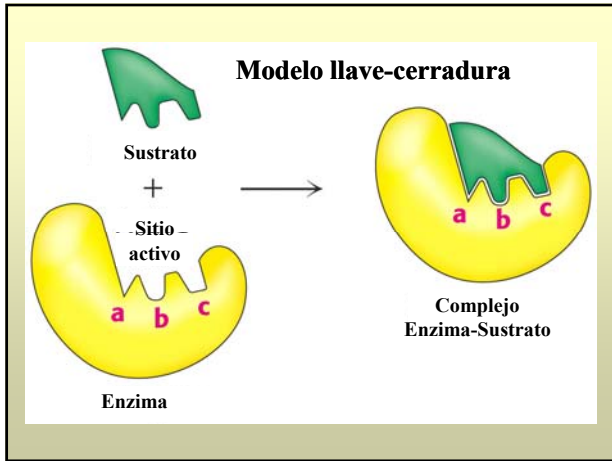
Nº	Clase	Tipo de reacción catalizada
1	Oxidoreductasas	Transferencia de electrones (iones hidruro o átomos de H)
2	Transferasas	Reacciones de transferencia de grupos
3	Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis (transferencia de grupos funcionales al agua)
4	Liasas	Adición de grupos a dobles enlaces, o formación 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

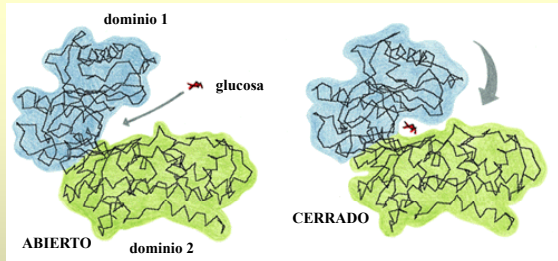


**Como funcionan las enzimas.** Cada molécula de enzima tiene un sitio activo al cual se une el sustrato (o los sustratos) formandose un complejo enzima-sustrato. La reacción ocurre en el sitio activo de modo que se produce un complejo enzima-producto. El producto abandona el sitio activo lo que permite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

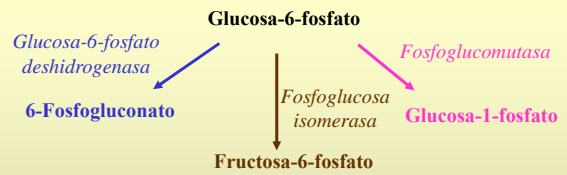


**El sitio de activo de una enzima involucra residuos distantes.** Los aminoácidos que se muestran en color (A) forman parte del sitio activo de la lisozima. Una representación esquemática de la estructura primaria de la enzima (B) muestra que los aminoácidos que conforman el sitio activo se encuentran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





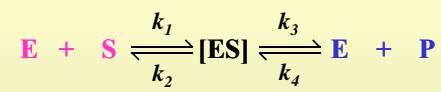
La unión de glucosa causa un cambio en la conformación en la hexoquinasa. Las líneas indican el recorrido del esqueleto polipeptídico de la hexoquinasa. Las estructuras se determinaron por difracción de rayos X usando cristales de la proteína obtenidos en presencia y ausencia de glucosa. La unión de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



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

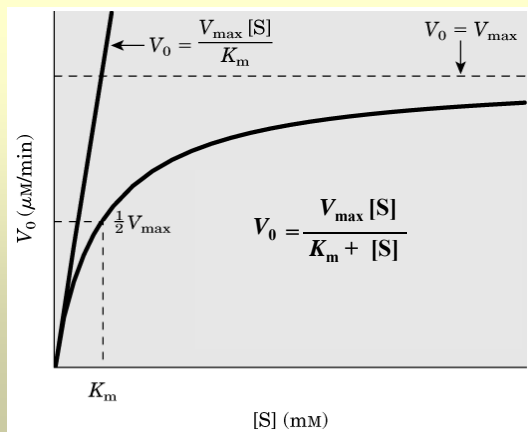
**ESPECIFICIDAD EN EL RECONOCIMIENTO**

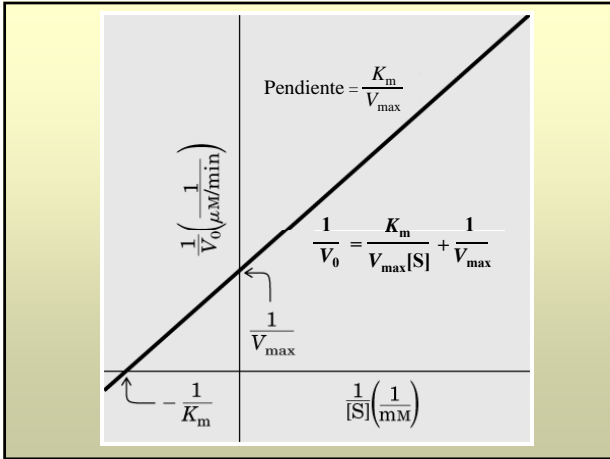
**ESPECIFICIDAD EN LA ACTIVIDAD**



**Especificidad en el reconocimiento (unión)**

**Especificidad en la actividad (catálisis)**





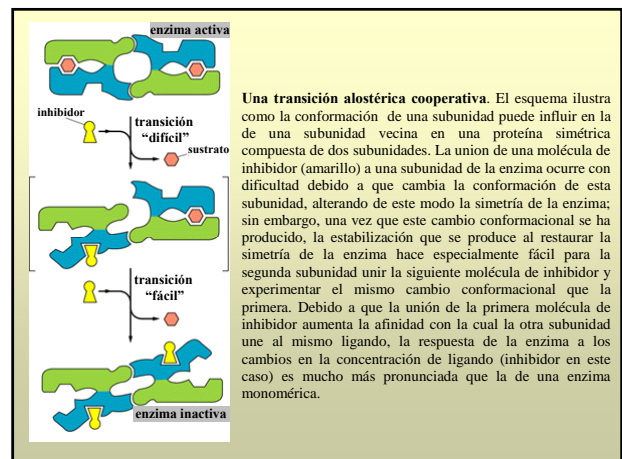
**$K_m$  para algunas enzimas y sustratos**

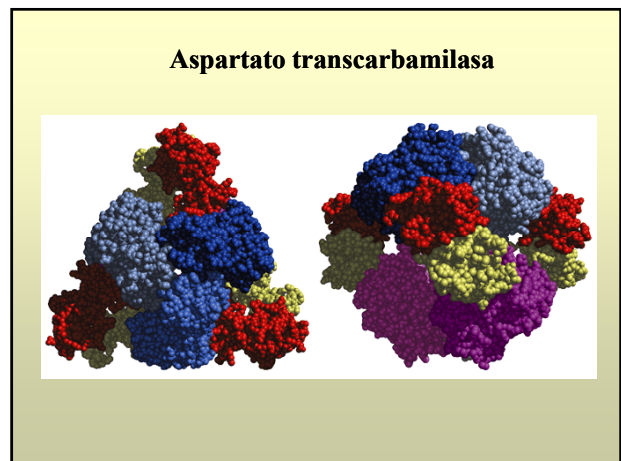
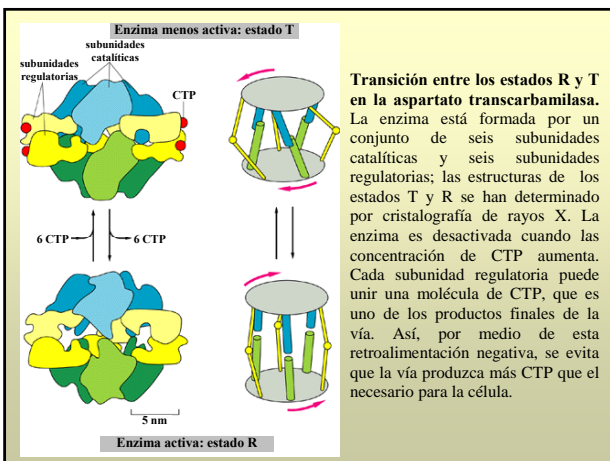
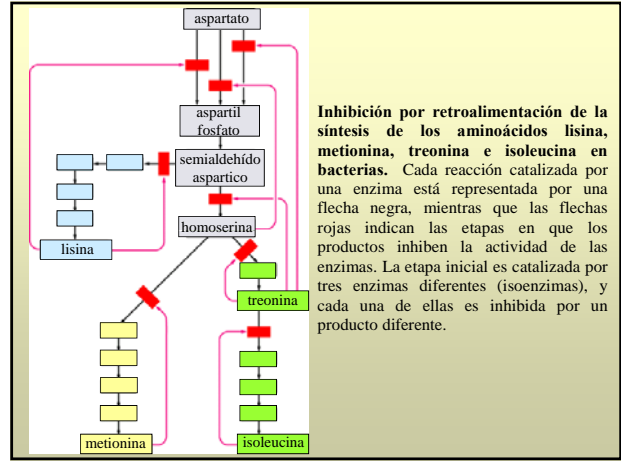
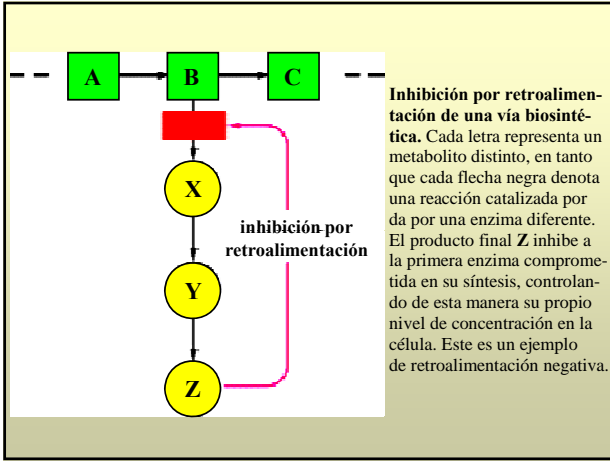
Enzima	Sustrato	$K_m$ (mM)
<i>Catalasa</i>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25
<i>Hexoquinasa (cerebro)</i>	ATP	0.4
	D-Glucosa	0.05
<i>Anhidrasa carbonica</i>	D-Fructosa	1.5
	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	26
<i>Quimotripsina</i>	Gliciltirosinilglicina	108
	N-Benzoiltirosinamida	2.5
<i>β-Galactosidasa</i>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

# REGULACIÓN

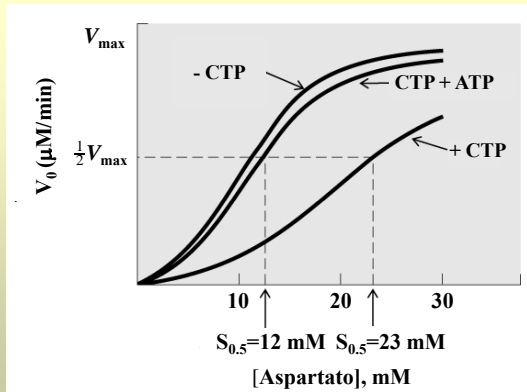
**Cantidad de la enzima**

**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*  
 *$\gamma$ -glutamilttransferasa*  
*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><math>\alpha</math> y <math>\beta</math> 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>