

Capítol 3 – ENZIMS I CINÈTICA ENZIMÀTICA

ENZIMS

Els **enzims** són catalitzadors biològics, la seva funció és augmentar la velocitat de determinades reaccions que tenen lloc al nostre cos, sense consumir-se ni alterar-se en el procés. Actuen sobre substrats específics i els transformen en productes per mitjà de la reacció $E+S \rightarrow E+P$.

1. NATURALESA QUÍMICA DELS BIOCATALITZADORS

No tots els enzims són proteïnes, encara que la gran majoria sí que ho són, ja que s'ha demostrat que el RNA, per exemple, és autocatalític.

i) Biocatalitzadors proteics

Els enzims proteics tenen una estructura compacta on no hi ha gaire aigua. Les parts hidrofòbiques de l'estructura estan dirigides cap a dins i les hidrofíliques, cap a fora. Reben el nom d'**holoenzims** quan estan formats per dues parts diferents:

- Apoenzim: porció proteica
- Cofactor: component no proteic, termostable i de baixa massa molecular. Pot ser inorgànic (ions metàl·lics com el Fe(II), Mn (III), Zn(II)...) o orgànic i, aleshores, rep el nom de coenzim. Els **coenzims** poden ser **grups prostètics** quan s'uneixen covalentment a l'apoenzim o **cosubstrats** quan no s'uneixen per mitjà d'un enllaç covalent.

ii) RNA Catalític

També rep el nom de **riboenzim**. És una molècula de RNA amb capacitat enzimàtica que es creu va tenir un paper fonamental en l'origen de la vida. Pot actuar com a catalitzador en adoptar una estructura tridimensional determinada en els següents processos:

- Reacció autocatalítica d'eliminació d'introns del grup I.
- Reacció autocatalítica d'eliminació d'introns del grup II.
- Processament del *pre*-t-RNA per ribonucleasa P.
- Escissió autocatalítica del RNA.

2. COFACTORS

Els cofactors són els components no proteics dels holoenzims. Com s'ha comentat anteriorment, els podem dividir en dos grans grups en funció de la seva naturalesa (inorgànica o orgànica):

Ions metàl·lics:

Mg²⁺ i **Mn²⁺**: són importants en reaccions de fosforilació de l'ATP. Estan presents a l'enzim *fosfotransferasa*.

Fe³⁺/Fe²⁺ i **Cu²⁺/Cu⁺**: intervenen en reaccions d'oxidació-reducció.

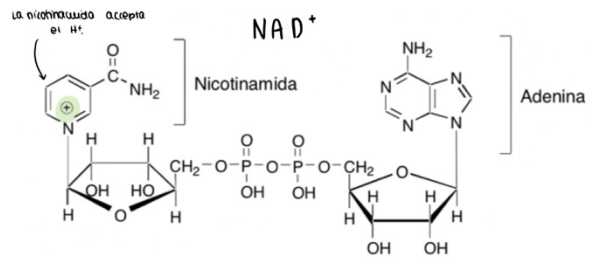
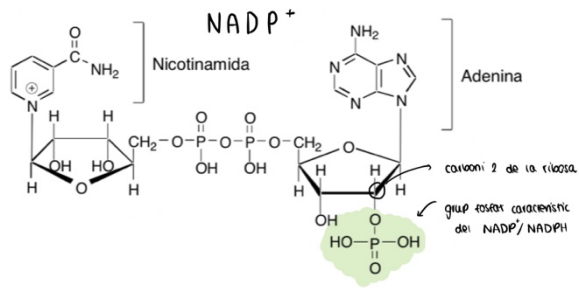
Na⁺: el podem trobar a les *ATPases*, que catalitzen la descomposició d'ATP en ADP + Pi.

K⁺: es troba a la *piruvat quinasa*, un enzim de la glucòlisi que catalitza la transferència d'un fosfat del fosfoenolpiruvat a l'ADP obtenint, com a productes, ATP i piruvat.

Coenzims:

CoA-SH: també rep el nom de coenzim A i té un paper important a la síntesi d'àcids grassos i la seva beta-oxidació, així com en la descarboxilació de l'àcid pirúvic prèvia al cicle de Krebs. Forma èsters de sobre amb grups acils (R-CO-).

NADH/NADPH (Nicotinamida adenina dinucleòtid): està format per dos nucleòtids, un d'adenina i un de nicotinamida, units per un enllaç anhidrid de fosfat. Si el carboni 2 de la ribosa de l'adenina està fosforilat aleshores rep el nom de NADP⁺, sinó és el NAD⁺. És l'anell de sucre de la nicotinamida la que capta els protons a l'equilibri NAD⁺/NADH o NADP⁺/NADPH.



FADH₂ (Flavina adenina dinucleòtid): està format per dos nucleòtids, un de flavina i l'altra d'adenina. És un coenzim que intervé com a donador o acceptor d'electrons en reaccions redox. FAD és el seu estat oxidat i FADH₂ el reduït.

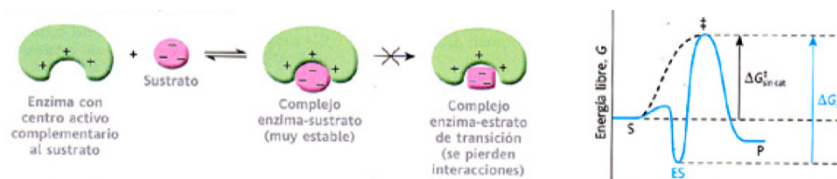
FMNH₂ (Flavina mononucleòtid): es troba en diversos tipus d'oxidoreductases com el NADH *deshidrogenasa* i en alguns fotoreceptors biològics pel color blau. En tots dos casos, és l'anell de flavina el que intervé a les reaccions. El que diferencia un de l'altre és que el FMN té un grup fosfat i el FAD, en comptes d'un hidrogen enllaçat a l'oxigen del fosfat, té un nucleòtid d'adenina unit pel carboni 5.

Coenzim Q₁₀ (Ubiquinona): la trobem sobretot a la membrana mitocondrial interna però també, en menor proporció, al reticle endoplasmàtic, als lisosomes, a les plaquetes... Rep el nom d'ubiquinona per que s'ubica a l'ésser humà i en totes les seves cèl·lules. La Q es refereix al grup quinona i el 10 al nombre de subunitats isoprenoides que té.

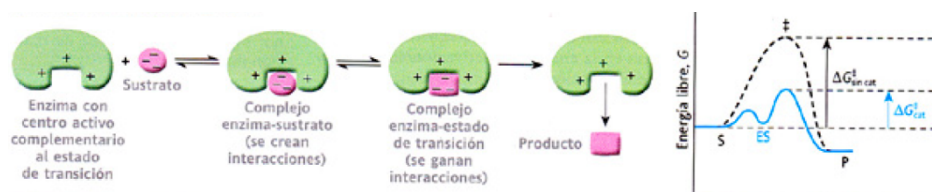
TPP (Pirofosfat de tiamina): s'encarrega de transportar grups aldehyd. Pot variar l'estructura del seu sucre central.

3. MODELS D'ACCIÓ ENZIMÀTICA

El **model de Fischer** és un model que explica la interacció entre l'enzim i el substrat que també rep el nom de clau-pany (*llave-cerradura*). Aquest model suggereix que l'estructura del substrat i la del centre actiu són complementàries, encaixen com una clau dins un pany. El **centre actiu** és la cavitat asimètrica d'un enzim on té lloc la reacció catalitzada.



El **model de Koshland**, que també rep el nom d'ajust induït, suggereix que el centre actiu canvia de conformació i no és rígid com un pany. La interacció física entre les molècules de l'enzim i el substrat provoca un canvi en la geometria del centre actiu que es desfà una vegada ha acabat la reacció, ja que un enzim no pateix cap canvi net d'inici a fi.



4. AMINOÀCIDS ENZIMÀTICS

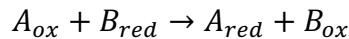
Els aminoàcids d'un enzim poden classificar-se en:

- Catalítics: són els residus responsables de la catàlisi.
- De contacte o d'unió: són els residus responsables de la unió amb el substrat.
- De conformació: són els residus responsables de la conformació de l'enzim.
- No-essencials: són els residus no necessaris per l'actuació d'un enzim.

5. TIPUS D'ENZIMS I CLASSIFICACIÓ

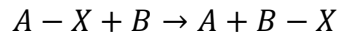
Oxido-reductases: catalitzen reaccions d'oxidació-reducció. Els electrons procedents de la substància oxidada els accepta la reduïda.

Exemples: L'oxigen és el principal agent oxidant. Els cofactors FAD i NAD⁺ participen en moltes reaccions redox.



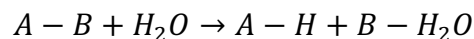
Transferases: transfereixen un grup químic d'una molècula a una altra.

Exemples: Les quinases catalitzen la transferència d'un grup fosfat a una altra molècula des d'un nucleòsid trifosfat.



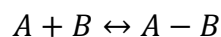
Hidrolases: són un tipus especial de transferases que transfereixen un grup -OH des de l'aigua fins un altre substrat. Són de caràcter irreversible i els substrats acostumen a ser enllaços èster.

Exemples: La *glucosa-6-fosfatasa*, que transforma la glucosa-6-fosfat en glucosa més Pi.



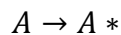
Liases: catalitzen reaccions de trencament i/o formació d'enllaços, normalment el trencament reversible d'enllaços C-C. Si només tenen com a funció formar enllaços, com que no necessiten aportació energètica, reben el nom de sintases.

Exemples: La *citrato intasa* catalitza la primera etapa del cicle de l'àcid cítric: la condensació de l'acetil CoA amb l'oxalacetat que dona com a resultat el citrat.

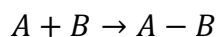


Isomerases: catalitzen reaccions d'isomerització: només impliquen el moviment de grups funcionals o de dobles enllaços dins la molècula i resulten en l'obtenció d'un nou isòmer.

Exemples: Les *epimerases* catalitzen la conversió d'isòmers D a L. Les *mutases* catalitzen el canvi de posició d'un grup fosfat.



Ligases: catalitzen la formació d'enllaços però, a diferència de les liases, requereixen energia que obtenen de la hidròlisi de l'ATP. També reben el nom de sintetases.



NTP* → *NMP* o *NDP Nucleòtid trifosfat → nucleòtid monofosfat o nucleòtid difosfat = font energètica.

Translocases: són enzims que permeten el pas d'ions i d'altres molècules a través de membranes a canvi de crear NTP.

Els enzims tenen una codificació relacionada amb la seva funció que varia un funció del tipus d'enzim de què es tracti. Aquest codi està format per 4 xifres.

- La primera fa referència al grup d'enzims al qual pertany: 1 per oxido-reductases, 2 per transferases, 3 per hidrolases, 4 per liases, 5 per isomerases i 6 per ligases.
- El segon prové de la funció concreta dins de cada grup, la subclasse de l'enzim.
- El tercer als aspectes específics de la reacció (substrat, grup funcional que participa a la reacció...)
- El 4 dígit senyala el nombre concret que ocupa l'enzim dins la subclasse.

Un enzim que es dediqui a formar enllaços C-O serà una ligasa i, per tant, tindrà el següent codi: E.C_{6.1.X.X}. Un enzim la funció del qual sigui trencar enllaços peptídics serà una hidrolasa i tindrà el següent codi: E.C_{3.4.X.X}.

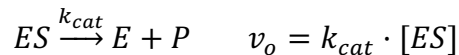
CINÈTICA ENZIMÀTICA

La cinètica enzimàtica estudia la velocitat de les reaccions catalitzades per enzims. La velocitat d'una reacció enzimàtica equival a la quantitat de substrat transformat per unitat de temps. Podem expressar-la de diferents maneres:

- **Activitat enzimàtica:** quantitat d'enzim que transforma 1 μmol de substrat per minut a 25°C. Es pot expressar amb dos magnituds diferents:
Unitats internacionals: $1 \text{ U.I.} = 1 \mu\text{mol S} / \text{min}$ Catal: $1 \text{ kat} = 1 \text{ mol S} / \text{s}$
- **Activitat específica:** les unitats d'enzim per mil·ligram de proteïna. Té unitats de kat/kg de proteïna o, el que és el mateix, μkat/mg de proteïna.
- **Activitat molecular o activitat molar:** nombre de molècules de substrat transformades per unitat de temps per una sola molècula d'enzim. S'expressa com a kat/mol d'enzim o s⁻¹.

La velocitat de les reaccions enzimàtiques s'estudia fent reaccionar una concentració coneguda d'enzim amb una concentració concreta de substrat i mesurant la desaparició d'aquest o la formació de producte al llarg del temps. A la majoria de reaccions catalitzades podem identificar tres zones clarament diferenciades:

- Etapa lineal, a baixes concentracions de substrats en què la reacció es comporta com si fos de primer ordre. $E + S \leftrightarrow ES \quad v = k_1 \cdot [S]$
- Etapa curvilínia, a concentracions de substrat intermèdies, en què hi ha un descens de la resposta de l'enzim a causa d'un augment en la concentració dels substrats.



Com que és una etapa molt més lenta, en general $k_{cat} \lll k_1$.

$$[ES] = \frac{[E_{lliure}] \cdot [S]}{k_1 + [S]} \quad v_o = k_{cat} \cdot \frac{[E_{lliure}] \cdot [S]}{k_1 + [S]}$$

Quan $[S]$ tendeix a l'infinit tot l'enzim es troba com a complex ES i, per tant, $v_{m\grave{a}x} = k_{cat} \cdot [E]$

- Última etapa, la velocitat no varia en augmentar la concentració de substrat, l'enzim està **saturat** i la cinètica és d'ordre zero.

És l'etapa més lenta la que determina la velocitat d'una reacció, ja que és una etapa limitant.

6. TEORIA DE MICHAELIS-MENTEN

És una teoria que descriu la velocitat de reacció de moltes reaccions enzimàtiques. És un model només vàlid quan la concentració de substrat és més gran que la d'enzim i quan la concentració del complex enzim-substrat no varia amb el temps.

$$v_o = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + [S]} \quad \text{Equació de Michaelis – Menten} \quad \text{on} \quad k_m = \frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1}$$

Coneixem diferents paràmetres que ens serveixen per descriure la cinètica d'un enzim:

V_{màx}: és la velocitat màxima teòrica d'una reacció catalitzada que es pot obtenir en unes condicions determinades. És la velocitat que correspon a un valor de $[S]$ que tendeix a l'infinit.

k_s: és el que resulta de dividir la k_1 entre la k_{-1} (inversa k_1). És una constant de dissociació del complex ES que deriva de constants de velocitat. Ens serveix per conèixer l'afinitat d'un enzim pel substrat. Un **valor elevat de k_s** indica **poca afinitat pel substrat** mentre que un **valor baix** indica una **gran afinitat pel substrat**. Té unitats de concentració (M) ja que k_1 és una constant de segon ordre (M⁻¹·s⁻¹) i k_{-1} és de primer ordre (s⁻¹).

k_m: és la concentració de substrat necessària perquè $v = \frac{1}{2} \cdot v_{m\grave{a}x}$. És equivalent dir que representa la concentració de substrat en què la meitat dels centres actius de les molècules d'enzim estaran ocupats per substrat. També es pot considerar com una mesura de l'afinitat ES seguint els mateixos paràmetres que la k_s , sempre i quan $k_2 \ll k_{-1}$. El seu valor varia en funció de l'enzim i del substrat. Si $k_m \gg [S]$, la reacció és de primer ordre. Si $k_m \ll [S]$, la reacció és d'ordre zero.

k_{cat} : és la constant de velocitat de l'etapa limitant (la més lenta) de la transformació del substrat en producte i l'alliberament de l'enzim lliure. S'expressa en unitats de temps^{-1} .

$$k_{cat} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{[E_{total}]}$$

També rep el nom de **nombre de recanvi**, que és el nombre de molècules de substrats que es transformen en producte per unitat de temps. La seva inversa és el temps necessari perquè l'enzim bescanviï una molècula de substrat.

L'**eficiència catalítica** és el quocient entre la k_{cat} i la k_m . Té unitats de $M^{-1} \cdot s^{-1}$. Un valor elevat d'aquesta proporció indica una alta capacitat de transformació $E \rightarrow S$ (k_{cat} elevada) i una elevada afinitat aparent (k_m baixa). L'eficàcia d'un enzim la determina la k_{cat} i l'eficiència el quocient k_{cat}/k_m . Un enzim pot ser més eficaç en un substrat però més eficient en un altre ja que l'afinitat és menor.

El **percentatge de saturació** d'un enzim o, el que és equivalent, la **fracció d'enzim unit al substrat**, és el resultat de dividir la velocitat de la reacció a una concentració $[S]$ determinada, entre la velocitat màxima d'aquesta:

$$\%S = \frac{v}{v_{m\grave{a}x}} \cdot 100$$

No tots els enzims són michaelians, només aquells que experimentalment i en condicions normals, en representar la velocitat inicial de reacció en front de la concentració de substrat presenten una corba hiperbòlica. Els enzims no michaelians mostren corbes diferents, com per exemple sigmoïdals.

7. MODELS PER CALCULAR ELS PARÀMETRES DE L'EQUACIÓ DE MICHAELIS-MENTEN

i) Gràfic de Michaelis-Menten:

$$v = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + [S]} \quad v([S] \rightarrow \infty)$$

ii) Gràfic de Lineweaver-Burk: (Doble recíproca)

Representació de la inversa de la velocitat en front la concentració del substrat. Aquesta és l'equació d'una recta de pendent $k_m/v_{m\grave{a}x}$ amb un punt de tall a l'eix de les x de $x = -1/k_m$ i un punt de tall a l'eix de les y de $y = 1/v_{m\grave{a}x}$.

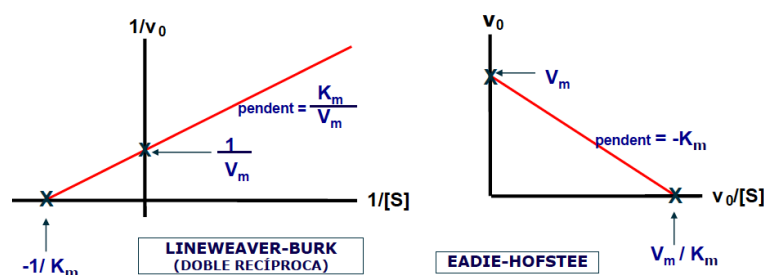
$$\frac{1}{v} = \frac{k_m}{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]} + \frac{1}{v_{m\grave{a}x}}$$

iii) Gràfic d'Eadie-Hofstee:

Representació gràfica de la velocitat d'una reacció catalitzada per un enzim, en funció de la concentració de substrat. Resulta de fer la inversa de l'equació de Michaelis-Menten, multiplicar tots els termes per $v \cdot v_{m\grave{a}x}$ i tornar a fer la inversa de l'equació resultant.

$$\frac{1}{v} = \frac{k_m}{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]} + \frac{1}{v_{m\grave{a}x}} \quad v_{m\grave{a}x} = k_m \cdot \frac{v}{[S]} + v \quad v = -k_m \cdot \frac{v}{[S]} + v_{m\grave{a}x}$$

Aquesta és una funció de pendent $-k_m$, punt de tall amb l'eix y, $y=v_{m\grave{a}x}$ i punt de tall amb l'eix x, $x=v_{m\grave{a}x}/k_m$



8. FACTORS QUE ALTEREN L'ACTIVITAT ENZIMÀTICA

Els enzims, com les proteïnes, tenen unes condicions òptimes d'actuació ja que fora d'aquestes acostumen a perdre la seva estructura. Alguns magnituds que poden afectar-la són els següents:

- **pH:** Les variacions en el pH del medi poden afectar l'estat de ionització dels grups R de les cadenes polipeptídiques. Si aquests grups R es troben al centre actiu i es veuen modificats pel canvi de condicions, l'afinitat entre enzim i substrat es pot veure alterada i, per tant, l'activitat enzimàtica també. El **pH òptim** és el valor de pH en què l'activitat de l'enzim és màxima.
- **Temperatura:** Un canvi bruscat en les temperatures d'actuació d'un enzim poden causar també canvis en la seva estructura i, per tant, en la seva funció. Un augment de temperatura comporta un augment de la velocitat ja que l'energia cinètica de les partícules augmenta. Això és cert sempre i quan no s'arribi a la temperatura de desnaturalització de la proteïna. La **temperatura òptima** és la temperatura en què l'activitat de l'enzim és màxima.
- Altres magnituds com la força iònica o la presència d'inhibidors també poden alterar l'activitat enzimàtica.

9. INHIBIDORS

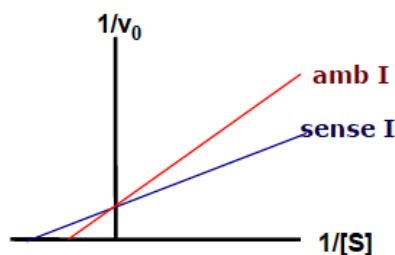
Els **inhibidors** són molècules que alenteixen o detenen les reaccions enzimàtiques per mitjà de diferents mecanismes. Hi ha de dos tipus:

- **Irreversible:** són molècules que s'uneixen a l'enzim per mitjà d'interaccions covalents als residus necessaris per catalitzar les reaccions. D'aquesta manera impedeixen que l'enzim realitzi la seva funció. L'inhibidor es pot unir a l'enzim o al complex enzim-substrat, disminuint així la quantitat d'enzim efectiu. Els seus efectes no es reverteixen en disminuir [I],
- **Reversibles:** són molècules que s'uneixen a l'enzim per mitjà d'interaccions covalents de manera reversible. Els efectes es reverteixen en disminuir [I]. Hi ha diferents tipus d'inhibidors reversibles.

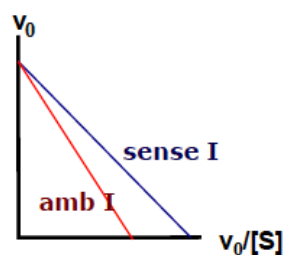
10. INHIBIDORS REVERSIBLES

1. **Inhibició competitiva:** l'inhibidor s'uneix al mateix lloc que el substrat (centre actiu) impedit la formació del complex ES i posterior formació del producte. Solen ser molècules estructuralment similars al substrat. Quan la concentració de substrat és molt elevada, és poc probable que l'inhibidor s'uneixi a l'enzim i, per tant, la velocitat serà normal: $v_{màx} = v_{màx,i}$. El paràmetre que no és igual és la k_m , ja que es necessita més substrat perquè $v = 0,5 \cdot v_{màx}$ i, per tant, $k_{m,i}$ és major que k_m .

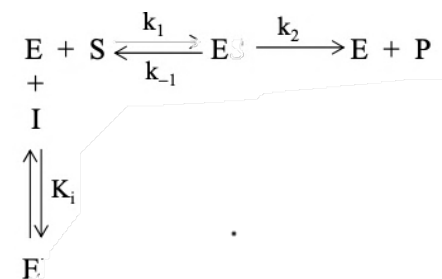
$$v_{màx} = v_{màx,i} \quad k_m < k_{m,i} \quad v_{o,i} = k_m \cdot \frac{v_{màx} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S]} \quad k_i = \frac{[E] \cdot [I]}{[EI]} \neq k_{m,i} = k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)$$



Representació de
Lineweaver-Burk



Representació
d'Eadie-Hofstee



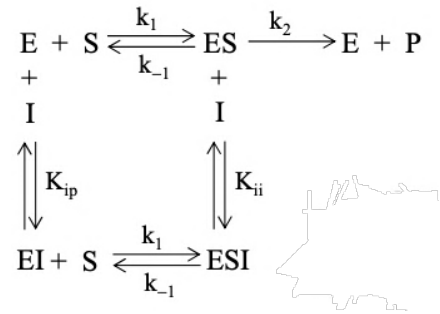
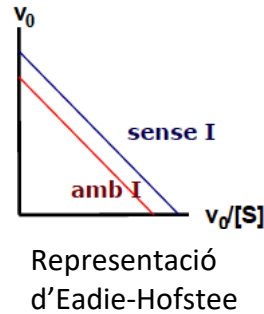
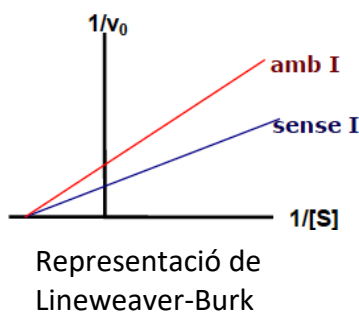
Com podem comprovar amb la representació de Lineweaver-Burk la presència d'inhibidor no canvia el punt d'intersecció de la recta amb l'eix y, és a dir, la inversa de $v_{màx}$ no varia i per tant, aquesta, tampoc. El que sí que varia és el punt d'intersecció amb l'eix x i, per tant, també ho fa el pendent, que no és més que $k_m/v_{màx}$.

A mesura que augmenta la concentració de [I] el pendent també ho fa. Això concorda amb l'augment de la k_m proporcional a l'augment de [I].

2. Inhibició no competitiva: l'inhibidor es pot unir a l'enzim lliure o al complex ES. Com que la unió amb l'enzim no té lloc al seu centre actiu, el seu efecte no es pot evitar augmentant la concentració de substrat com passava amb els de tipus competitiu. Això implica que la $v_{m\grave{a}x}$ disminueix, ja que hi ha menys E i S disponibles per tirar endavant la reacció, mentre que k_m no canvia en romandre el centre actiu intacte. Hi ha dos tipus d'inhibició no competitiva:

- No competitiva pura: $k_m = k_{m,i}$ mentre que $v_{m\grave{a}x} \neq v_{m\grave{a}x,i}$.

$$v_{m\grave{a}x} < v_{m\grave{a}x,i} \quad k_m = k_{m,i} \quad v_{m,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)} \quad v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$$



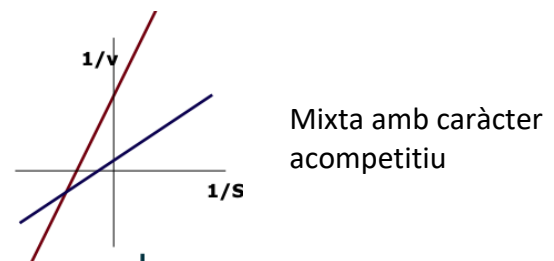
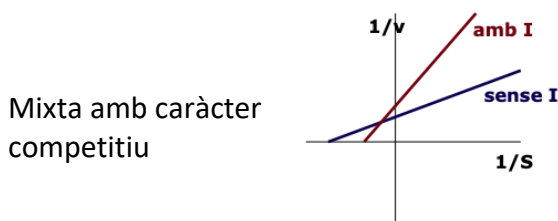
Amb absència o presència d'inhibidor podem comprovar com el punt d'intersecció amb l'eix d'abscisses és el mateix, ja que la k_m no canvia. El pendent i el punt de tall amb l'eix y sí que canvien, ja que en no mantenir-se constant $v_{m\grave{a}x}$ el pendent també varia. A mesura que augmenta [I] el pendent de la recta també ho farà i, per tant, $v_{m\grave{a}x}$ disminuirà.

- No competitiva mixta: $k_m \neq k_{m,i}$ i $v_{m\grave{a}x} \neq v_{m\grave{a}x,i}$. Això es deu a que les k_i de l'inhibidor amb l'enzim i amb el complex enzim-substrat no són la mateixa.

$$v_{m\grave{a}x} < v_{m\grave{a}x,i} \quad k_m \neq k_{m,i} \quad v_{m,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_{ii}}\right)} \quad v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{k_{ip}}\right)}$$

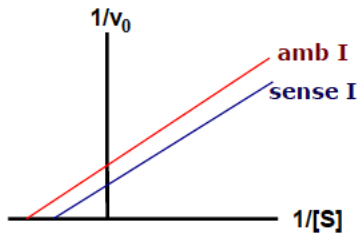
Hi ha diferents tipus d'inhibició mixta:

- No competitiva: $k_{i,i} = k_{i,p}$ $v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{(k_m + [S]) \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$
- Caràcter competitiu: $k_{i,i} \gg k_{i,p}$ $v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_{ip}}\right) + [S]}$. Si k_{ii} tendeix a ∞ , serà del tot competitiu.
- Caràcter acompetitiu: $k_{i,i} \ll k_{i,p}$ $v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + \left(1 + \frac{[I]}{k_{ii}}\right) \cdot [S]}$. Si k_{ip} tendeix a ∞ , serà del tot acompetitiu.

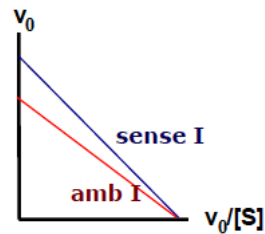


3. Inhibició acompetitiva: l'inhibidor s'uneix exclusivament al complex ES per una localització diferent a la del centre actiu. Tant $v_{m\grave{a}x}$ com k_m disminueixen respecte un escenari en què [I]=0, ja que una [S] elevada no desplaça l'inhibidor.

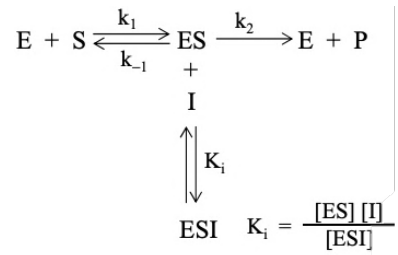
$$v_{m\grave{a}x} > v_{m\grave{a}x,i} \quad k_m > k_{m,i} \quad v_{m\grave{a}x,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)} \quad v_{o,i} = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) \cdot [S]} \quad k_{m,i} = \frac{k_m}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$$



Representació de
Lineweaver-Burk



Representació
d'Eadie-Hofstee



Amb la representació de Lineweaver-Burk podem observar com la presència d'inhibidor no canvia el pendent de la recta però sí la intersecció d'aquesta amb els dos eixos. Això concorda amb la baixada dels valors de k_m i $v_{màx}$ ja que com més gran sigui la seva inversa, més petits són ells. A mesura que augmentem la concentració d'inhibidor passarà el mateix: el pendent, $k_m/v_{màx}$, no canvia, però els dos valors van disminuint.

Sense inhibició	K_M	V_{MAX}
Inhibició competitiva	$K_{M\ ap} = K_M \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})$	V_{MAX}
Inhibició no competitiva Pura (K_i igual a K'_i)	K_M	$V_{MAX\ (I)} = \frac{V_{MAX}}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}$
Inhibició acompetitiva	$K_{M\ ap} = \frac{K_M}{(1 + \frac{[I]}{K'_i})}$	$V_{MAX\ (I)} = \frac{V_{MAX}}{(1 + \frac{[I]}{K'_i})}$

K_i menor que K'_i
Mixta-Competit.

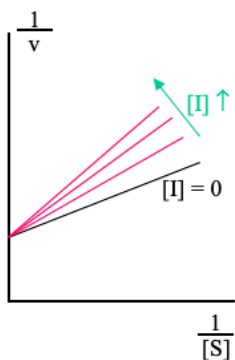
K_i major que K'_i
Mixta-Acompetit.

COMPETITIU



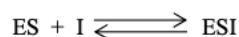
$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) + [S]}$$

$$\begin{cases} V_{max(I)} = V_{max} \\ K_{M(I)} = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) \end{cases}$$



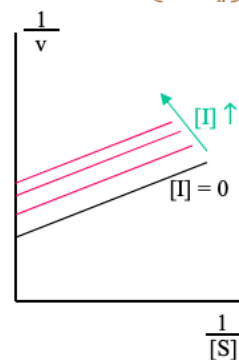
$$i = \frac{K_M \frac{[I]}{K_{ip}}}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) + [S]}$$

ACOMPETITIU



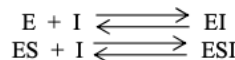
$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right)}$$

$$\begin{cases} V_{max(I)} = V_{max} / \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right) \\ K_{M(I)} = K_M / \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right) \end{cases}$$



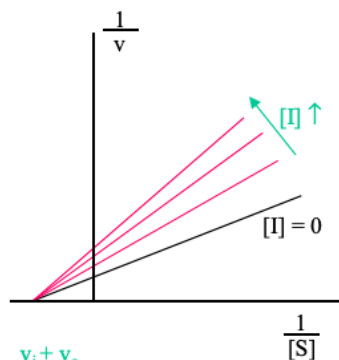
$$i = \frac{S \frac{[I]}{K_{ii}}}{K_M + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right)}$$

NO COMPETITIU



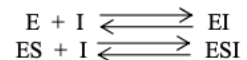
$$v = \frac{V_{max} [S]}{(K_M + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

$$\begin{cases} V_{max(I)} = V_{max} / \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \\ K_{M(I)} = K_M \end{cases}$$



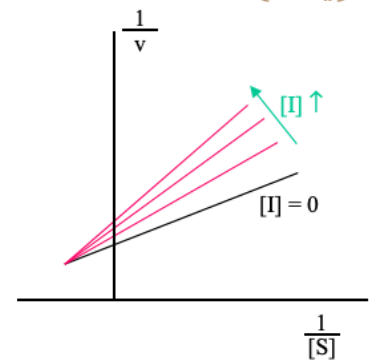
$$i = \frac{[I]}{K_i + [I]}$$

MIXTE



$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right)}$$

$$\begin{cases} V_{max(I)} = V_{max} / \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right) \\ K_{M(I)} = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) / \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right) \end{cases}$$



$$i = \frac{K_M \frac{[I]}{K_{ip}} + S \frac{[I]}{K_{ii}}}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{ip}}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{ii}}\right)}$$

$$i = \frac{v_i + v_o}{v_o}$$

11. ENZIMS NO MICHAELIANS

Els **enzims no michaelians** són aquells que no obeeixen l'equació de Michaelis-Menten i, per tant, les gràfiques de v_{\max} en funció de $[S]$ no són hiperbòliques sinó sigmoïdals. Els enzims no michaelians tenen, per exemple, més d'una subunitat: són dímers, trímers... Això es tradueix en una velocitat inicial baixa i es deu a dos possibles escenaris:

- Cooperativitat positiva: les primeres molècules de substrat no s'adeqüen a l'enzim, no es col·loquen de manera correcta.
- Cooperativitat negativa: les primeres molècules de substrat es col·loquen de manera adequada però en canvi, les últimes, no.

Hi ha dos models que expliquen la cooperativitat enzimàtica:

- Model de Monod: suposa que un enzim només existeix sota dues conformacions diferents: una forma R, la relaxada i que presenta major afinitat pel substrat, o una forma T, la tensa i amb una menor afinitat pel substrat. En absència de lligant, les dues conformacions es troben en equilibri. Els inhibidors s'uneixen fortament a la forma T i desplacen l'equilibri cap a la seva formació mentre que els activadors o substrats s'uneixen a la forma R i desplacen l'equilibri cap a aquesta.
- Model de Koshland: en absència de lligands, l'enzim existeix com una única conformació. Quan se'n uneix un, indueix un canvi estructural que es transmet per tot l'enzim i modifica la seva afinitat per un segon lligand. Un activador augmentarà l'afinitat mentre que un inhibidor la farà disminuir.

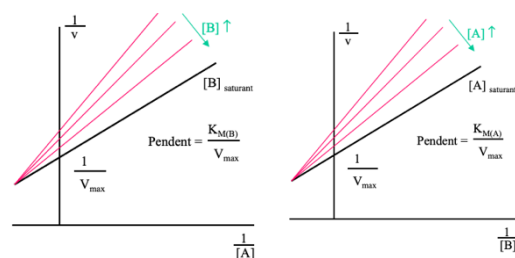
12. CINÈTICA DE LES REACCIONS BISUBSTRAT

Existeixen moltes reaccions biocatalitzades en què intervé més d'un substrat. En aquest tipus de reaccions els substrats es poden unir a l'enzim de manera simultània o successiva. Hi ha dos mecanismes que expliquen el comportament de les reaccions substrat:

1. Mecanisme seqüencial o de desplaçament simple:

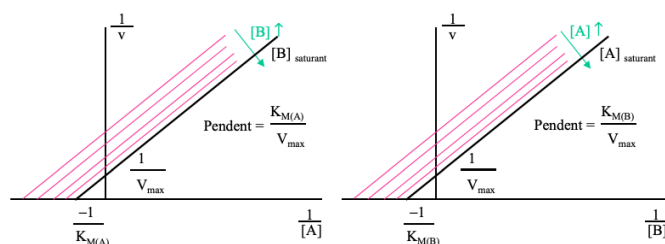
Primer s'uneixen tots els substrats a l'enzim i, després, s'obtenen els diferents productes. Pressuposa la formació intermèdia d'un complex ternari no covalent ES_1S_2 .

Els substrats poden fixar-se a l'atzar, no importa quin s'uneixi primer a l'enzim, o de manera ordenada, primer un i després l'altre.



2. Mecanisme *ping-pong* o de desplaçament doble:

En aquestes reaccions no es forma cap complex ternari sinó que el primer substrat s'allibera com a producte abans que s'uneixi el segon. Després de la reacció entre el primer substrat i l'enzim, aquest últim es veu modificat i, després de la reacció amb el segon substrat, torna a la seva conformació inicial.



13. REGULACIÓ ENZIMÀTICA

Els **enzims reguladors** són els encarregats de regular la velocitat de processos biològics, en els quals també hi participen, que tenen lloc en moltes etapes diferents i, sovint, el producte d'una d'elles catalitza la següent. Aquests enzims poden augmentar o disminuir la seva activitat per modificar la velocitat general del procés com a resposta a diferents senyals. L'ajust de la velocitat d'aquestes reaccions i, per tant, de processos metabòlics, permet a la cèl·lula satisfer les necessitats canviants d'energia i biomolècules. L'activitat enzimàtica es pot regular de manera covalent o no covalent.

Regulació no covalent:

1. Concentració de l'enzim: A més concentració de l'enzim, més elevada serà l'activitat enzimàtica.
2. Concentració del substrat: A major concentració del substrat, més elevada serà l'activitat enzimàtica.
3. Concentració de cofactors: Hi ha enzims que necessiten substàncies no proteïques que col·laborin a la catàlisi, els cofactors, que s'uneixen de manera no covalent.
4. Inhibidors: tal com s'ha mencionat en apartats anteriors, la presència d'inhibidors provoca una disminució en l'activitat enzimàtica ja sigui perquè aquest ocupa el centre actiu de l'enzim, altera la conformació d'aquest i impedeix la unió amb el substrat o s'uneix al complex ES.
5. Interacció entre proteïnes complexes multienzimàtiques o *chanelling*: es formen complexos multienzimàtics, que són un conjunt d'enzims associats que s'encarreguen de catalitzar una seqüència coordinada de reaccions metabòliques.
6. Efectors al·lostèrics: els **enzims al·lostèrics** són enzims que pateixen un canvi de conformació quan una molècula o efector s'uneix al seu centre al·lostèric (que pot ser un lloc diferent al centre actiu o un altre centre actiu) per regular la seva activitat. Un enzim pot tenir:
 - Cooperativitat nul·la.
 - Cooperativitat homotròpica: la unió del substrat S fa que es modifiqui l'afinitat d'altres centres buits per a S. Pot ser positiva, quan l'afinitat per S augmenta, o negativa, quan disminueix.
 - Cooperativitat heterotròpica: la unió d'un efector X fa que es modifiqui l'afinitat d'altres centres buits per a S. Pot ser positiva o negativa.

Regulació covalent:

1. Regulació irreversible o Proteòlisi controlada: alguns enzims no es sintetitzen com a tal sinó com a proteïnes sense activitat enzimàtica i reben el nom de **proenzims** o **zimògens**. Per tal d'activar-se pateixen un atac hidrolític que origina la pèrdua d'un o més pèptids i el canvi de conformació de la molècula. Com sabem, l'estructura d'un enzim és el que determina la seva funció i, per tant, gràcies a aquest canvi estructural el zimogen passa a ser un enzim actiu. Sovint no tenen activitat enzimàtica en un inici perquè podrien destruir la cèl·lula que les conté.
2. Regulació reversible o Addició de grups: hi ha enzims que passen d'una forma menys activa a una que ho és més unint-se covalentment a un grup químic de petita mida.
 - Fosforilació (o bé desfosforilació): addició d'un grup fosfat catalitzada per quinases.
 - Metilació: addició d'un grup metil
 - Adenilació: addició d'un grup adenil.
 - Reacció redox: formació de ponts disulfur a partir de sulfhídriels.

	Sense inhibidor	Inhibició competitiva	Inhibició acompetitiva	Inhibició no competitiva	
				Pura	Mixta
Reacció	$E + S \leftrightarrow ES$	$E + I \leftrightarrow EI$	$ES + I \leftrightarrow ESI$	$E + I \leftrightarrow EI$ $ES + I \leftrightarrow ESI$	$E + I \leftrightarrow EI$ $ES + I \leftrightarrow ESI$
Equació de velocitat	$v = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + [S]}$	$v = k_m \cdot \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S]}$	$v = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m + \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) \cdot [S]}$	$v = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$	$v = \frac{v_{m\grave{a}x} \cdot [S]}{k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{k_{ip}}\right)}$
K _m	k_m	$k_{m,i} = k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)$	$k_{m,i} = \frac{k_m}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$	$v_{m\grave{a}x} = k_{m,i}$	$k_{m,i} = k_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{k_{ip}}\right) / \left(1 + \frac{[I]}{k_{ii}}\right)$
V _{màx}	$v_{m\grave{a}x}$	$v_{m\grave{a}x} = v_{m\grave{a}x,i}$	$v_{m\grave{a}x,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$	$v_{m\grave{a}x,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)}$	$v_{m\grave{a}x,i} = \frac{v_{m\grave{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_{ii}}\right)}$
K _i	-	$k_i = \frac{[I] \cdot k_m}{k_{m,i} - k_m}$	$k_i = \frac{[I]}{\frac{k_m}{k_{m,i}} - 1}$	$k_i = \frac{[I]}{\frac{v_m}{v_{m,i}} - 1}$	