

## TEMA 10. ENZIMELE

- 10.1. Aspecte generale.
- 5.2. Constituienții și organizarea structurală a enzimelor.
- 5.3. Mecanismele de reglare a activității enzimaticе.
- 5.4. Nomenclatura și clasificarea enzimelor.

### 5.1. ASPECTE GENERALE

Enzimele sunt substanțe organice complexe, prezente în toate celulele țesuturilor și organelor, care accelerează viteza reacțiilor chimice. În 1833 chimistul francez Anselme Payen a descoperit prima enzimă – *amilaza*, care catalizează descompunerea amidonului în maltoză. Câteva decenii mai târziu, Louis Pasteur a studiat procesul de degradare a zahărului în alcool și a tras concluzia că fermentația este indusă de o *forță vitală* din interiorul drojdiei, pe care a numit-o *ferment*. El a postulat că acești fermenți sunt inseparabili de celula vie de drojdie. Apoi, în 1897 chimistul german Eduard Buchner a descoperit că extractele din drojzii pot fermenta zahăr până la alcool. Astfel, s-a demonstrat că fermentația este indusă de molecule, care sunt funcționale după izolarea acestora din drojzii. Moleculele izolate din drojzii au fost denumite în 1877 de către fiziologul german Wilhelm Kuhne *enzime* (din greacă *en* – în, *zyme-zima* – levură).

În prezent sunt cunoscute cca 3,700 de enzime. Biocatalizatorii se caracterizează printr-o serie de proprietăți generale.

1. Enzimele, de regulă, sunt proteine cu structură terțiară care se sintetizează pe ribozomi în conformitate cu codul genetic. Unele enzime reprezintă molecule de ARN (*ribozime*).

2. Nu se consumă și nu se transformă în reacțiile catalizate.

3. Posedă o specificitate care se manifestă la nivel de substrat și tip de reacție.

4. Au un randament de  $\approx 100\%$ , participă doar la cataliză și nu formează produse secundare.

5. Activitatea enzimelor este controlată atât la nivel genetic, cât și de anumiți factori externi – substrat, produsele reacțiilor, factori proteici,  $t^\circ$ , pH, condiții de oxido-reducere.

6. Sunt capabile să catalizeze reacții în cantități extrem de mici; astfel, o moleculă de catalază descompune 44,000 molecule de  $H_2O_2$  timp de 1 s.

7. Viteza reacției catalizate este direct proporțională cu cantitatea de enzimă.

Enzimele, precum și proteinele, posedă un șir de proprietăți caracteristice pentru compușii macromoleculari: sunt substanțe amfotere, posedă mobilitate electroforetică, nu pătrund prin membrane semipermeabile, masa lor moleculară variază într-un diapazon de zeci de mii – câteva mln. daltoni (D), au structură primară, secundară, terțiară și cuaternară.

Activitatea enzimatică se exprimă cantitativ folosind următoarele unități de măsură:

- *unitatea enzimatică (U)* reprezintă cantitatea de enzimă care catalizează transformarea unui micromol ( $1\mu M = 10^{-6}$  mol) de substrat în timp de 1 minut, la  $25^\circ C$ , în condiții optime de pH și de concentrație de substrat;

- *katalul (Kat)* reprezintă cantitatea de enzimă care catalizează transformarea substratului cu viteza 1mol (M) /s;

- *activitatea specifică* reprezintă numărul de *Kat* care corespunde cu 1  $\mu g$  de proteină a preparatului enzimatic;

- *activitatea enzimatică molară* reprezintă numărul de molecule de substrat transformate de către o moleculă de enzimă timp de 1 min (Kat/mol).

## 5.2. CONSTITUIENȚII ȘI ORGANIZAREA STRUCTURALĂ A ENZIMELOR

În funcție de structura lor enzimele se clasifică în 2 clase: *enzime simple* (*monocomponente*) și *enzime complexe* (*bicomponente*). Enzimele simple sunt alcătuite doar din resturi de aminoacizi. Enzimele complexe sunt constituite dintr-o parte proteică (*apoenzimă*) și o parte neproteică (*cofactor*).

Complexul *apoenzimă-cofactor* este denumit *holoenzimă* și este activ din punct de vedere catalitic. Prin îndepărtarea cofactorului rămâne componenta proteică inactivă în formă liberă. Apoenzima fiind de natură proteică, manifestă proprietățile generale ale proteinelor:

- este termolabilă;
- stabilește legătura enzimei cu substratul;
- manifestă grade diferite de afinitate pentru cofactor;
- își poate modifica conformația.

După natura chimică și modul lor de legare la apoenzimă, cofactorii se clasifică în: *coenzime*, *grupări prostetice*, *ioni metalici*.

*Coenzimele* sunt compuși organici – majoritatea derivați de la vitamine care se atașează temporar la apoenzimă prin legături necovalente și care sunt ușor dissociabili de aceasta. Ele pot trece ușor de la o apoenzimă la alta, pot participa la transformarea altor molecule de substrat după terminarea unei anumite reacții. Dintre acestea fac parte derivați ai nucleotidelor –  $NAD^+$ ,  $NADP^+$ ,  $ATP$ ,  $CTP$ .

*Grupările prostetice* sunt substanțe organice fixate pe apoenzimă și care disociază greu de aceasta deoarece sunt asociate prin legături covalente. Dintre aceste grupări se pot menționa derivați ai vitaminelor –  $FAD$ ,  $FMN$ ,  $TPP$ , *piridoxalfosfatul*, *hemul*.

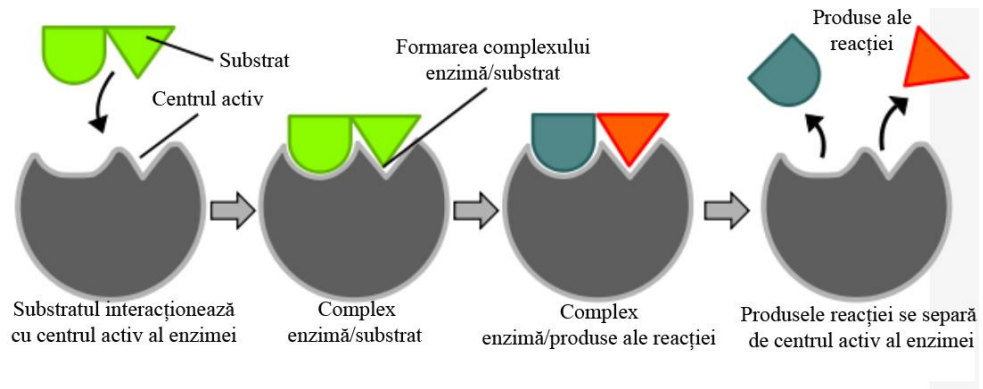
*Ionii metalici* sunt indispensabili pentru exercitarea funcției catalitice a unor enzime, participând în calitate de cofactori sau de componente structurale ale acestora. Aceste enzime se numesc și metal-enzime iar printre ionii care îndeplinesc rol de cofactor se pot menționa:  $Cu^{2+}$ ;  $Fe^{2+}$  sau  $Fe^{3+}$ ;  $K^+$ ;  $Mg^{2+}$ ;  $Mn^{2+}$ ;  $Mo^{2+}$ ;  $Ni^{2+}$ ;  $Zn^{2+}$ .

Cofactorii se caracterizează printr-un șir de proprietăți:

- participă la cataliză;
- asigură contactul între enzimă și substrat;
- stabilizează apoenzima;
- n-au specificitate la nivel de substrat;
- determină tipul și viteza reacției catalizate;
- au o masă moleculară relativ mică și sunt termostabili.

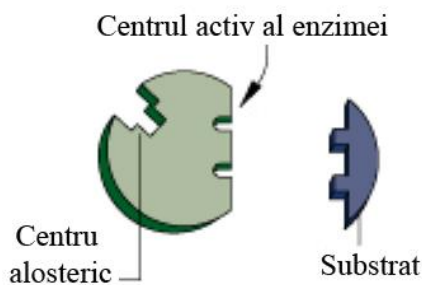
În interacțiunea dintre enzimă și substratul său, enzima participă cu o porțiune limitată din structura sa. Regiunea enzimei care realizează nemijlocit cataliza se numește *centru activ* (*catalitic*). La enzimele monocomponente centrul activ reprezintă totalitatea radicalilor unor anumiți aminoacizi. La enzimele bicomponente centrul activ este alcătuit din două subunități: *de contact* – este responsabilă de recunoașterea și legarea substratului în centrul activ al enzimei; *catalitică* – realizează nemijlocit cataliza reacției.

Centrul activ se află în partea internă hidrofobă a moleculei proteice. În componența centrului activ al enzimei complexe intră și cofactorul. Substanța transformată în cadrul reacției poartă denumirea de *substrat*. Molecula substratului interacționează cu centrul activ al enzimei și formează cu acesta un produs intermediar, instabil, care se descompune, formând produse finale ale reacției. Structura enzimei corespunde cu substratul conform modelului *cheie-lacăt* (fig. 10.1).



**Fig. 10.1. Schema generală a modului de acțiune a enzimei**

O serie de enzime conțin în molecula lor pe lângă centrul activ și un *centru alosteric* (fig. 10.2), care interacționează cu proteine reglatoare specifice – *efectori*.



**Fig. 10.2. Structura enzimei alosterice**

Efectorii se fixează în centrul alosteric, modifică structura terțiară a enzimei, conformația centrului activ și respectiv activitatea enzimatică.

În funcție de organizarea lor structurală, enzimele pot fi: *monomere* și *oligomere*.

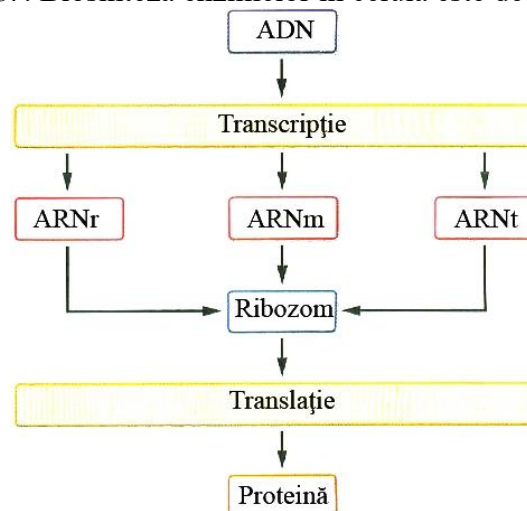
*Enzimele monomere* au o structură constituită dintr-un singur lanț polipeptidic în care este inclus situl catalitic. Sunt într-un număr restrâns, nu pot fi disociate în subunități și posedă mase moleculare relativ mici (13,000 – 35,000).

*Enzimele oligomere* sunt agregate moleculare constituite din două sau mai multe subunități (*protomeri*) asociate într-o structură compactă cu proprietăți catalitice. Au mase moleculare mari, cuprinse între 35,000 și câteva sute de mii. Marea majoritate a enzimelor sunt enzime oligomere.

### 5.3. MECANISME DE REGLARE A ACTIVITĂȚII ENZIMATICE

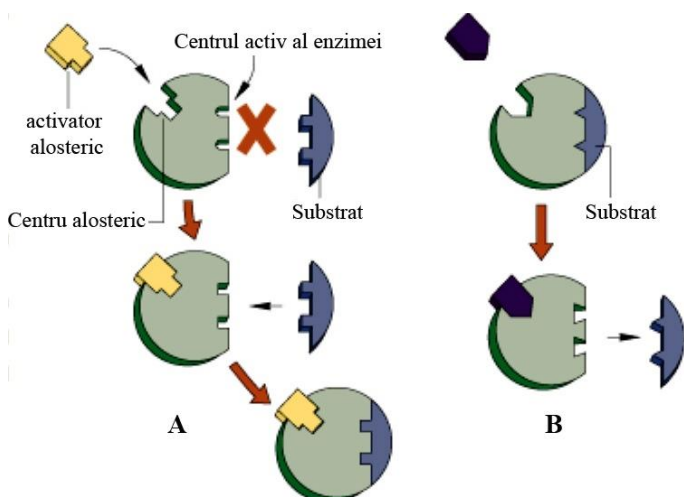
Viteza reacțiilor chimice este influențată de concentrația enzimelor, a substratului, de pH, temperatură etc. La nivel celular, se cunosc diferiți factori care reglează activitatea enzimelor.

1. *Activitatea genelor.* Biosinteza enzimelor în celulă este determinată genetic (fig. 10.3).



**Fig. 10.3. Dogma centrală a biologiei moleculare**

2. *Mediul intracelular.* La nivelul mediului intracelular pot interveni o serie de factori care să regleze activitatea enzimelor. Astfel, concentrația ionilor, cofactorilor, hormonilor, pH-ul



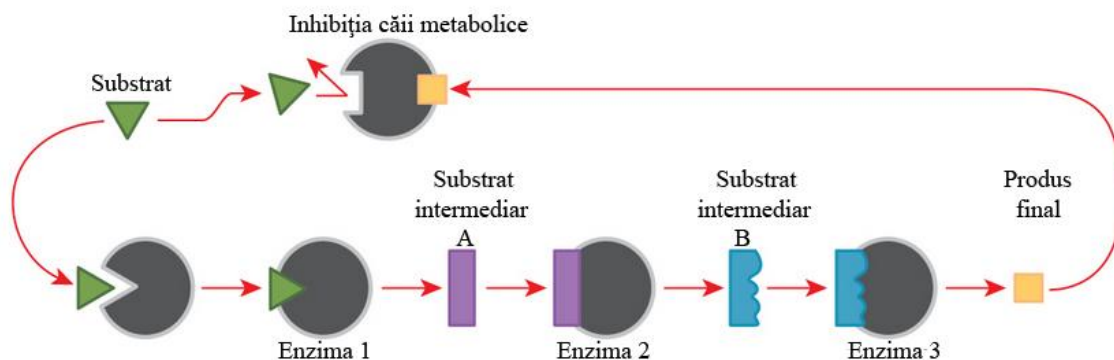
**Fig. 10.4.** A – Activarea enzimei cu o proteină activator; B – Inhibiția enzimei cu o proteină inhibitor

pot avea un efect inhibitor sau activator asupra activității enzimelor.

3. *Membranele celulare.* În celulă există un sistem specific de transport celular reglat de enzime *permeaze* prezente în membranele celulare. De asemenea, membranele intracelulare (lizozomale, mitocondriale etc.) au o permeabilitate selectivă pentru diferite substraturi care permite funcționarea normală a celulei.

4. *Mecanismul de reglare alosterică.* La baza reglării alosterice a enzimelor stă legarea efectorilor de centrul alosteric al enzimei (fig. 10.4).

5. *Mecanismul de reglare de tip retroinhibiție sau feed-back.* Este cel mai răspândit mecanism de reglare enzimatică, în cadrul căruia acumularea produsului final al unei căi metabolice determină inactivarea enzimelor necesare pentru sinteza lui (fig. 10.5). În majoritatea cazurilor produsul final inactivează prima enzimă a căii metabolice.



**Fig. 10.5.** Schema reglării activității enzimelor prin retroinhibiție

6. *Modificările covalente.* Activitatea unor enzime este reglată prin modificări covalente. Unele enzime, care funcționează în tubul digestiv, se sintetizează sub forma de precursori inactivi – *proenzime* sau *zimogene*. Hidroliza unui număr limitat de legături peptidice în molecula proenzimelor duce la conversiunea lor în enzime active. De exemplu, proenzima *chimotripsinogenă* din tubul digestiv sub acțiunea *tripsinei* se transformă în enzima activă *chimotripsină*.

Modificarea covalentă a unor enzime se poate realiza și prin inserția de grupări micromoleculare în moleculele lor. De exemplu, enzima sintezei glicogenului se activează prin inserția de grupări fosforice la resturi de serină, proces care se numește *fosforilare*.

#### 5.4. NOMENCLATURA ȘI CLASIFICAREA ENZIMELOR

Identificarea unui număr tot mai mare de enzime a impus necesitatea unei nomenclaturi. Astfel, în 1961 Comisia de Enzimologie a Uniunii Internaționale de Biochimie a stabilit un sistem de nomenclatură și clasificare pentru enzime. Denumirea unei enzime este constituită din trei părți: denumirea substratului (sau a substraturilor); tipul de reacție; sufixul – *ază*. De exemplu, enzima care catalizează reacția de transformare a acidului lactic în acid piruvic se

numește *lactat dehidrogenază*. În funcție de tipul reacțiilor catalizate, enzimele se clasifică în 6 clase mari (fig. 10.6).

*Oxidoreductazele*, enzimele din I clasă, catalizează reacții de oxido-reducere care stau la baza oxidării biologice.

*Transferazele*, enzimele din clasa II, catalizează reacții de transfer a unor atomi sau a unor grupări de atomi de pe un substrat donator pe un substrat acceptor.

*Hidrolazele*, enzimele din clasa III, catalizează reacții de scindare hidrolitică a legăturilor chimice.

*Liazele*, enzimele din clasă IV, catalizează reacții de scindare nehidrolitică a legăturilor chimice cu formarea în molecule a legăturilor duble.

*Izomerazele*, enzimele din clasa V, catalizează reacții de izomerizare sau rearanjări moleculare ale legăturilor duble și ale grupelor fosfat pe lanțul carbonic.

Clasa enzimelor	Tipul de reacție	Subclasele enzimelor
1. <i>Oxido reductaze</i>		Dehidrogenaze Oxidaze, peroxidaze Reductaze Monooxigenaze Dioxygenaze
2. <i>Transferaze</i>		Transferaze Glicoziltransferaze Aminotransferaze Fosfotransferaze
3. <i>Hidrolaze</i>		Esteraze Glicozidaze Peptidaze Amilaze
4. <i>Liaze</i>		C-C-Liaze C-O-Liaze C-N-Liaze C-S-Liaze
5. <i>Izomeraze</i>		Epimeraze <i>Cis trans</i> izomeraze Transferaze intramoleculare
6. <i>Ligaze (sintetaze)</i>		C-C-Ligaze C-O-Ligaze C-N-Ligaze C-S-Ligaze

Fig. 10.6. Clasificarea enzimelor

*Ligazele*, enzimele din ultima clasă – a VI-a, catalizează reacții de formare a legăturilor chimice între două molecule pe baza energiei ATP-ului.

## TESTE DE EVALUARE

### 1. Completați spațiile libere din text.

- 1.1. Vitamina B<sub>5</sub> este cofactor al enzimelor.....
- 1.2. După modul de legare la apoenzimă cofactorii se clasifică în: a).....; b).....
- 1.3. Enzima polifenoloxidaza se conține în cantități mari în.....
- 1.4. Enzima glucoizomeraza se utilizează în industria alimentară pentru.....
- 1.5. Ureaza scindează.....cu producere de .....

## 2. Alegeți răspunsul corect din două variante alternative: Da / Nu.

- 2.1. Enzimele s-au extras pentru prima dată din hepatocite.
- 2.2. Insulina este o proteină cu structură cuaternară.
- 2.3. La producerea berii pentru scindarea poliglucidelor în malț se folosesc enzimele amilaze.
- 2.4. Enzima catalaza este folosită la pasterizarea laptelui.
- 2.5. La fabricarea cașcavalului pentru hidroliza proteinelor se folosesc enzimele renine.

## 3. Alegeți varianta sau variantele de răspuns corecte.

- 3.1. Termenul de enzimă a fost introdus de către:  
a) Charles Darwin; b) Gregor Mendel; c) Wilhelm Kuhne; d) Luis Pasteur; e) Eduard Buchner.
- 3.2. Proprietățile enzimelor:  
a) simple; b) compuse; c) se modifică în reacții chimice; d) specifice; e) universale.
- 3.3. Proprietățile cofactorilor:  
a) compuși macromoleculari; b) participă la cataliză; c) stabilizează apoenzima; d) determină specificitatea de substrat; e) determină tipul și viteza reacției catalizate.
- 3.4. Centrul activ al enzimei:  
a) realizează nemijlocit cataliza; b) localizat în partea externă a moleculei proteice; c) include cofactorul enzimei; d) este complementar substratului; e) este alcătuit din radicali ai aminoacizilor.
- 3.5. Proteaza – enzimă din clasa: a) oxidoreductaze; b) transferaze; c) hidrolaze; d) liaze; e) izomeraze.

## 4. Asociați. Clasificarea enzimelor

Clasa enzimelor	Tipul reacției
A. Oxidoreductaze	1. Descompunerea hidrolitică a legăturilor chimice
B. Transferaze	2. Descompunerea nehidrolitică a legăturilor chimice
C. Hidrolaze	3. Transferul unor atomi de pe un substrat pe altul
D. Liaze	4. Reacții de izomerizare
E. Izomeraze	5. Formarea unor legături chimice noi
F. Ligaze	6. Reacții de oxido-reducere

## 5. Selectați termenul care nu se încadrează în grupul tematic dat și explicați de ce l-ați separat.

- 5.1. NAD<sup>+</sup>; NADP<sup>+</sup>; ATP; CTP; FMN.
- 5.2. FAD; hem; TPP; acid lipoic; piridoxalfosfat.
- 5.3. Glucoxidază; xantinoxidază; alcool dehidrogenaza; ascorbatoxidază; catalază.

## 6. Completați tabelul. Enzime / Catalizatori chimici

Asemănări	Deosebiri
1.	1.
2.	2.
3.	3.
4.	4.

## 7. Scrieți un referat la tema.

- 7.1. Organizarea structurală și mecanismul de acțiune a enzimelor.
- 7.2. Proprietățile fizico-chimice ale enzimelor.
- 7.3. Reglarea activității enzimaticе.
- 7.4. Preparate enzimaticе. A. Materii prime B. Extracția enzimelor.

## 7.5. Nomenclatura și clasificarea enzimelor.