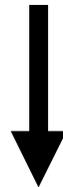


Enzimas como catalisadores moleculares

Função das enzimas

- Grande parte das reações químicas que ocorrem no interior das células, ocorrem entre moléculas complexas e pouco reagente. As reações raramente acontecem sem um mediador, e é aqui que as enzimas entram e são responsáveis pela grande maioria das sínteses feitas no interior das células.



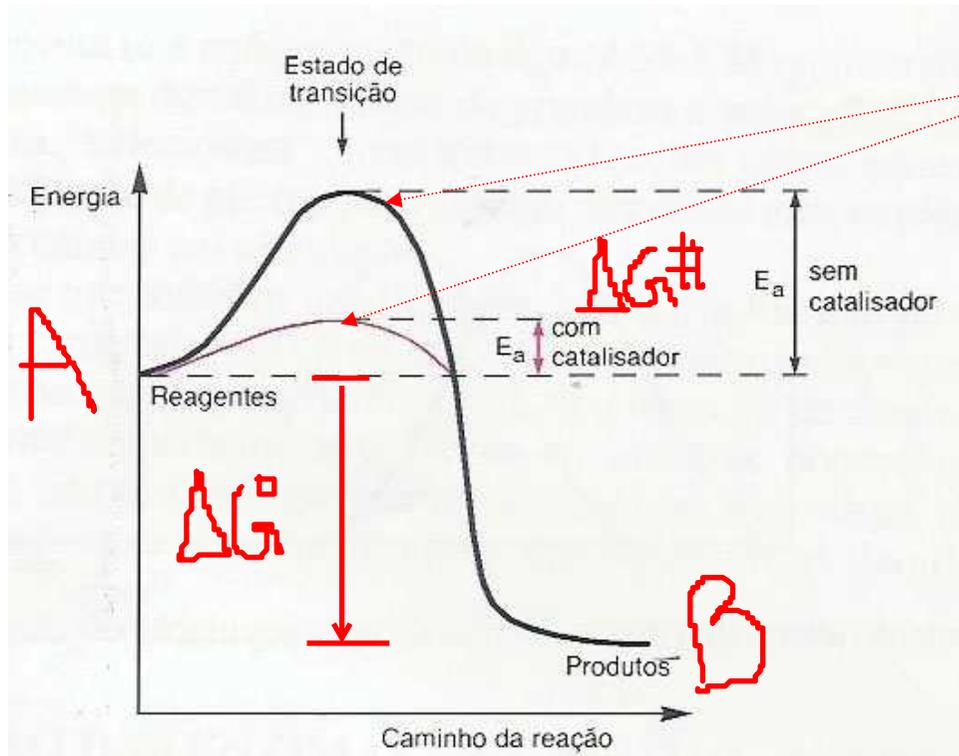
•Enzimas são catalisadores biológicos de grande especificidade. Elas permitem que o substrato se apresente num ambiente e numa orientação ótimos para que a reação ocorra.

- Catálise biológica → início séc. XIX
 - digestão da carne: estômago;
 - digestão do amido: saliva.
- Década de 50
 - Louis Pasteur - concluiu que a fermentação do **açúcar** em **álcool** pela levedura era catalisada por “fermentos” = enzimas
- Eduard Buchner (1897)
 - extratos de levedo podiam fermentar o **açúcar** até **álcool**;
 - enzimas funcionavam mesmo quando removidas da célula viva.

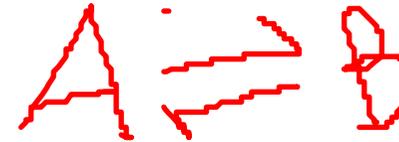
- James Sumner (1926)
 - Isolou e cristalizou a urease;
 - Cristais eram de proteínas;
 - Postulou que “todas as enzimas são proteínas”.
- John Northrop (década 30)
 - Cristalizou a pepsina e a tripsina bovinas;
- Década de 50 – séc. XX
 - 75 enzimas → isoladas e cristalizadas;
 - Ficou evidenciado caráter protéico.
- Atualmente + 2000 enzimas são conhecidas.

- Definição:
 - Catalisadores biológicos;
 - Longas cadeias de pequenas moléculas chamadas aminoácidos.
- Função:
 - Viabilizar a atividade das células, quebrando moléculas ou juntando-as para formar novos compostos.
- Com exceção de um pequeno grupo de moléculas de RNA com propriedades catalíticas, chamadas de **RIBOZIMAS**, todas as **enzimas** são **PROTEÍNAS** (globulares, de estrutura terciária).

Enzimas aceleram reações químicas



Energia de ativação



$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

- Aumentam a velocidade da reação química, atuando como catalisadores;
- Não há variação no produto final da reação, só diminuem o tempo de liberação de energia;
- A presença do catalisador não modifica a predominância do sentido de deslocamento da reação.

As enzimas...

- Aceleram reações químicas

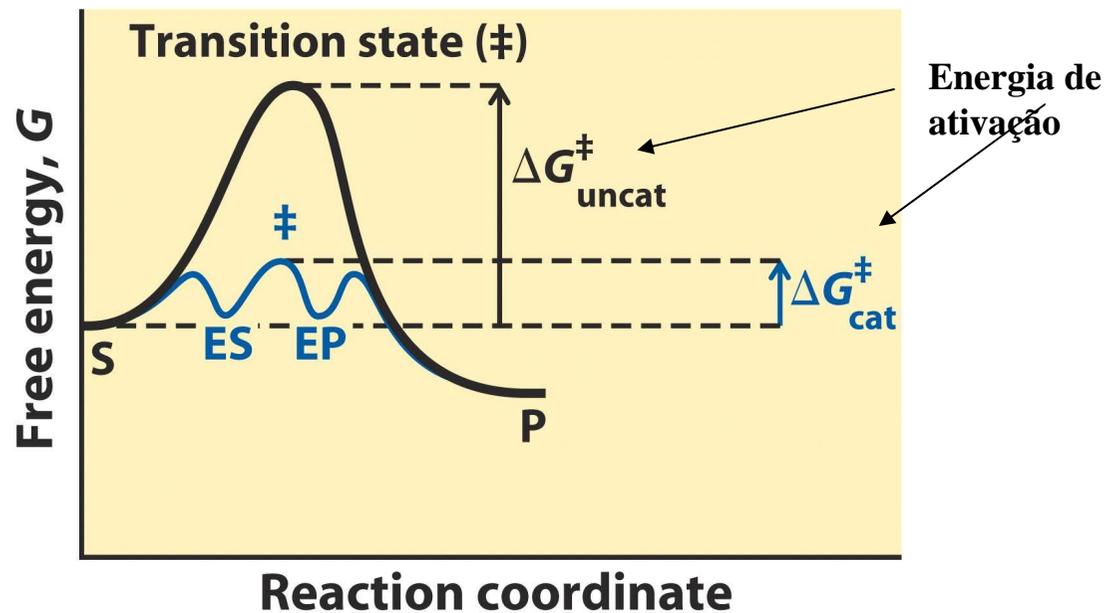


Ex: Decomposição do H_2O_2

Condições da Reação	Energia livre de Ativação		Velocidade Relativa
	KJ/mol	Kcal/mol	
Sem catalisador	75,2	18,0	1
Platina	48,9	11,7	$2,77 \times 10^4$
Enzima Catalase	23,0	5,5	$6,51 \times 10^8$

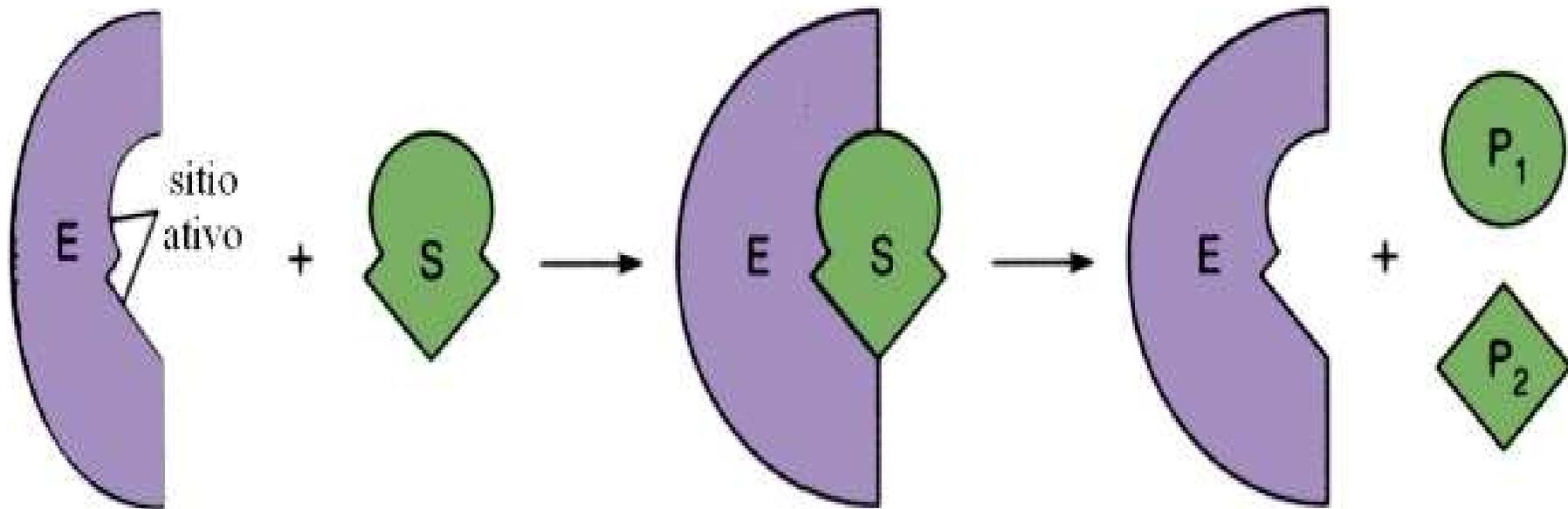


“Enzima acelera a reação por diminuir a energia de ativação.
Não são consumidas na reação.”



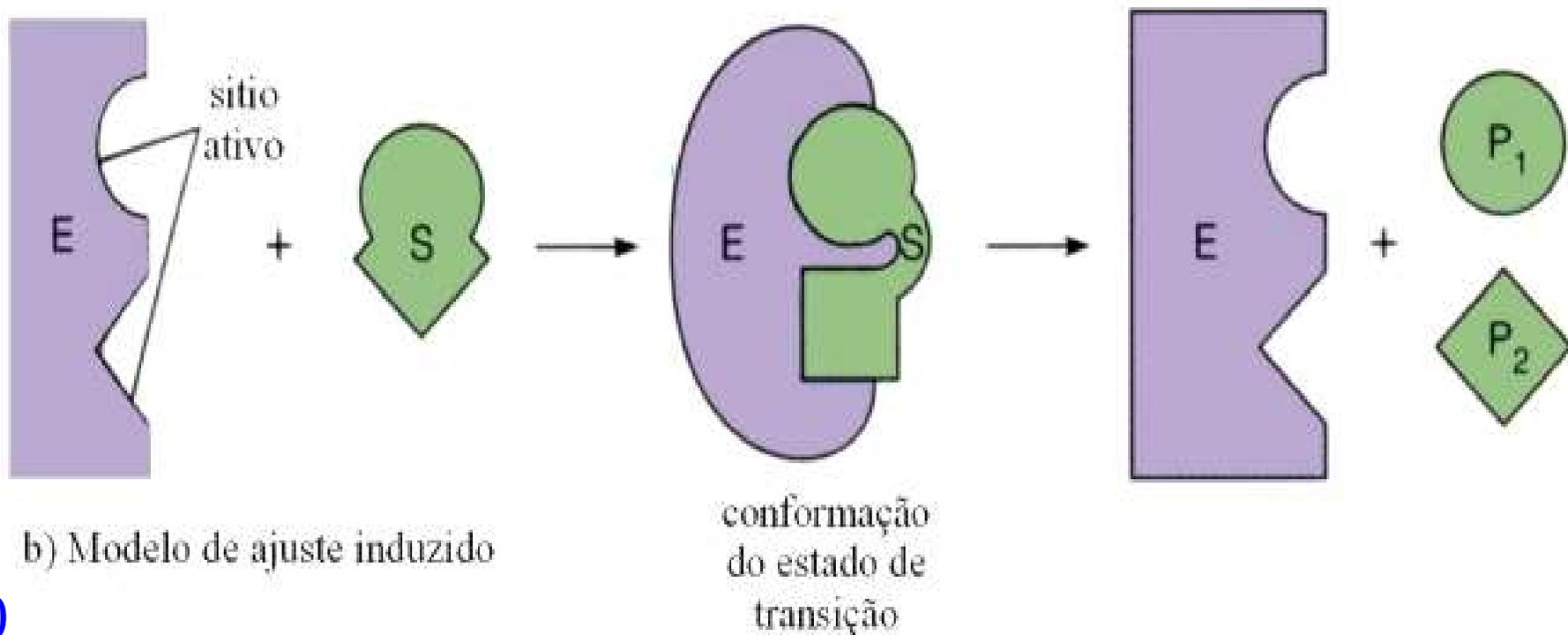
Modelos de ação

- Emil Fischer (1894): alto grau de especificidade das enzimas originou → **Chave-Fechadura** ⇔, que considera que a enzima possui sitio ativo complementar ao substrato.



Modelos de ação

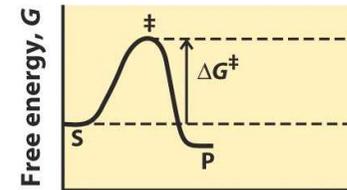
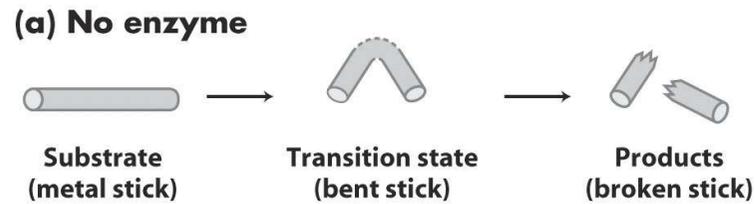
- Koshland (1958): **Encaixe Induzido**, enzima e o o substrato sofrem conformação para o encaixe. O substrato é distorcido para conformação exata do estado de transição.



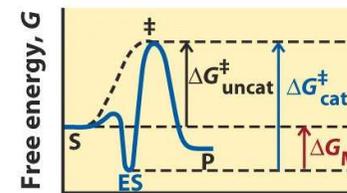
b) Modelo de ajuste induzido

O mecanismo de Encaixe Induzido

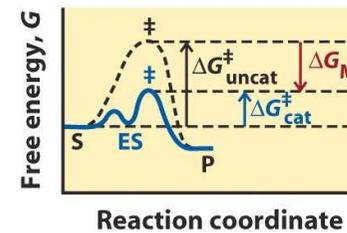
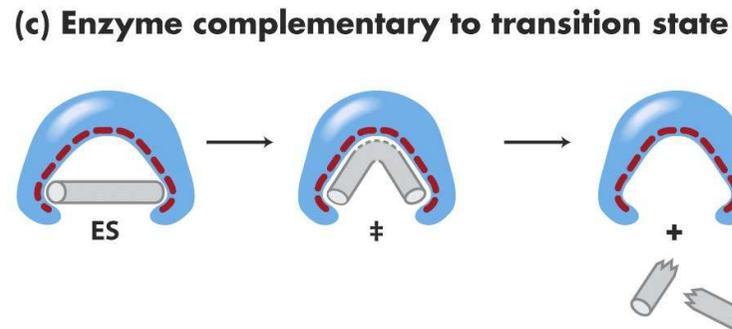
1. **Substrato estavel**
Não há quebra



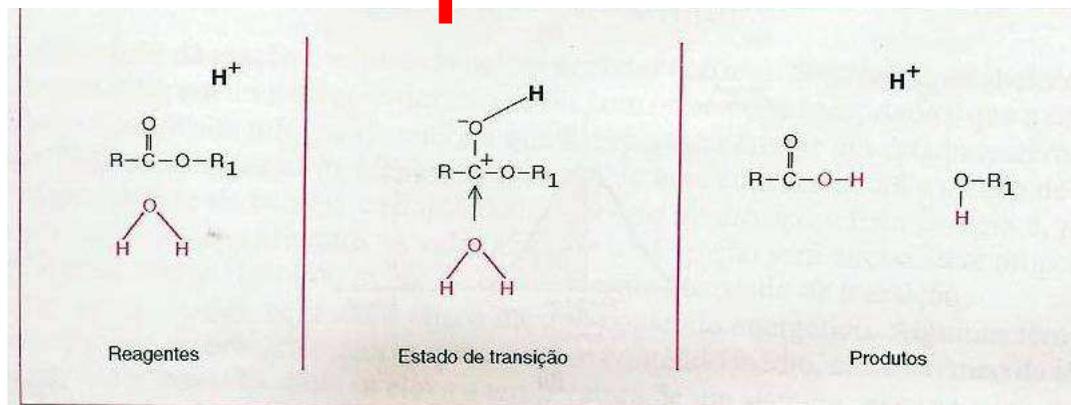
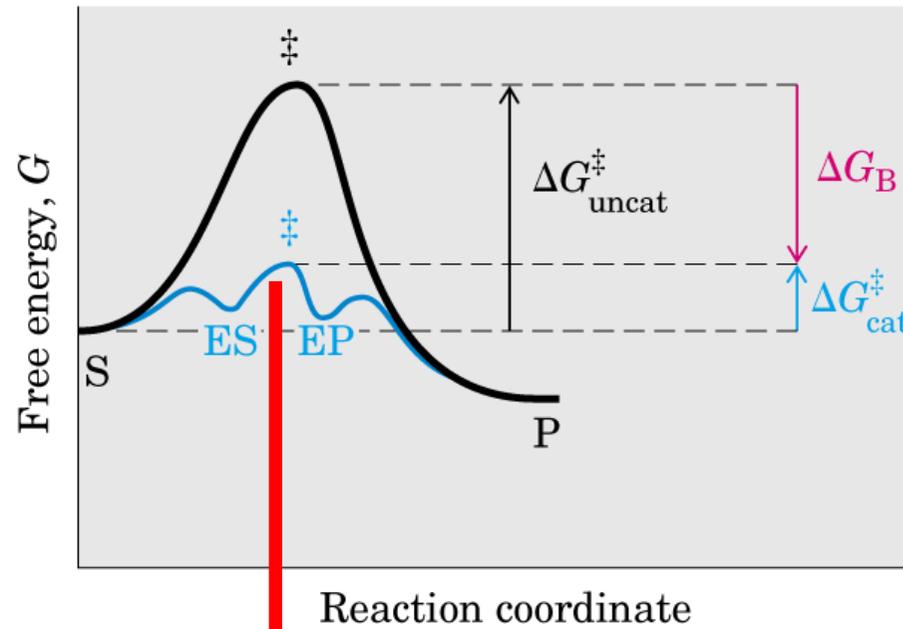
2. **Modelo de chave-fechadura**



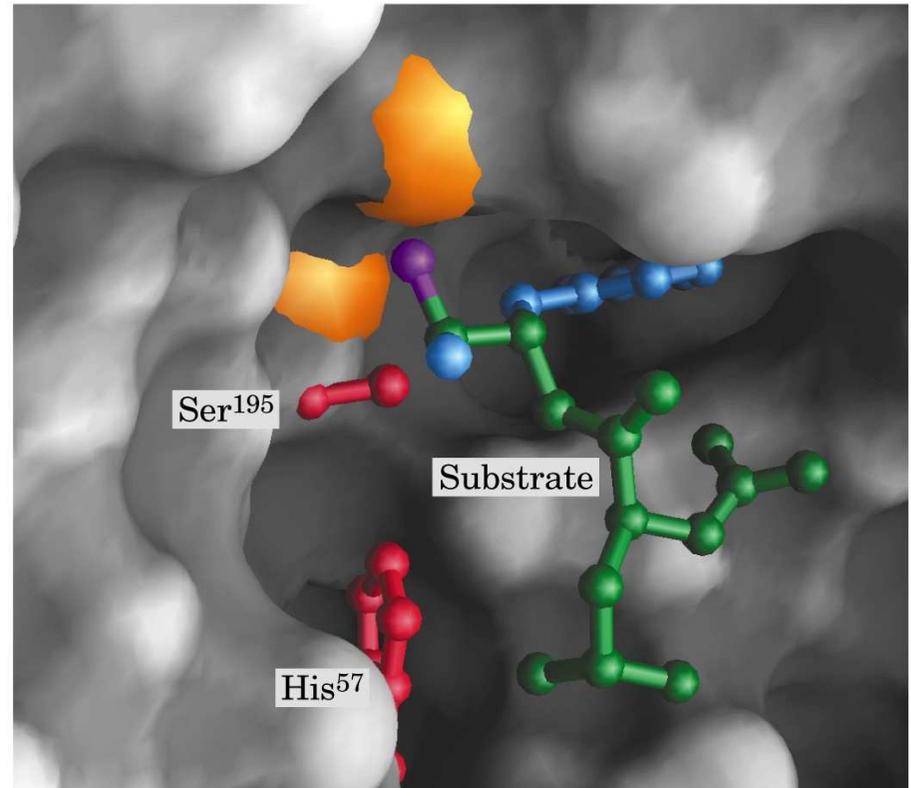
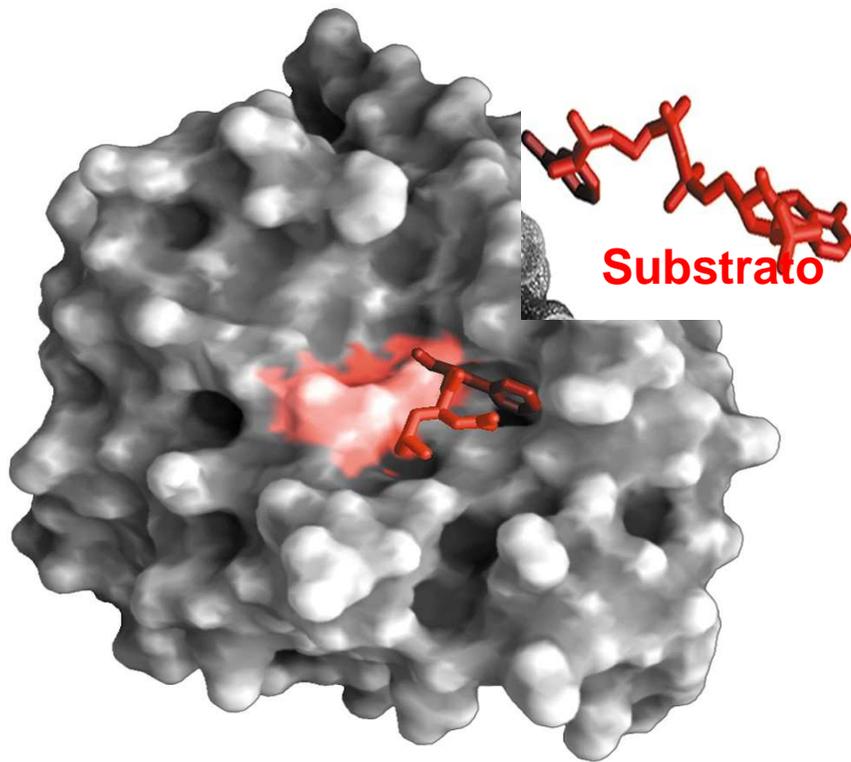
3. **Encaixe-induzido**



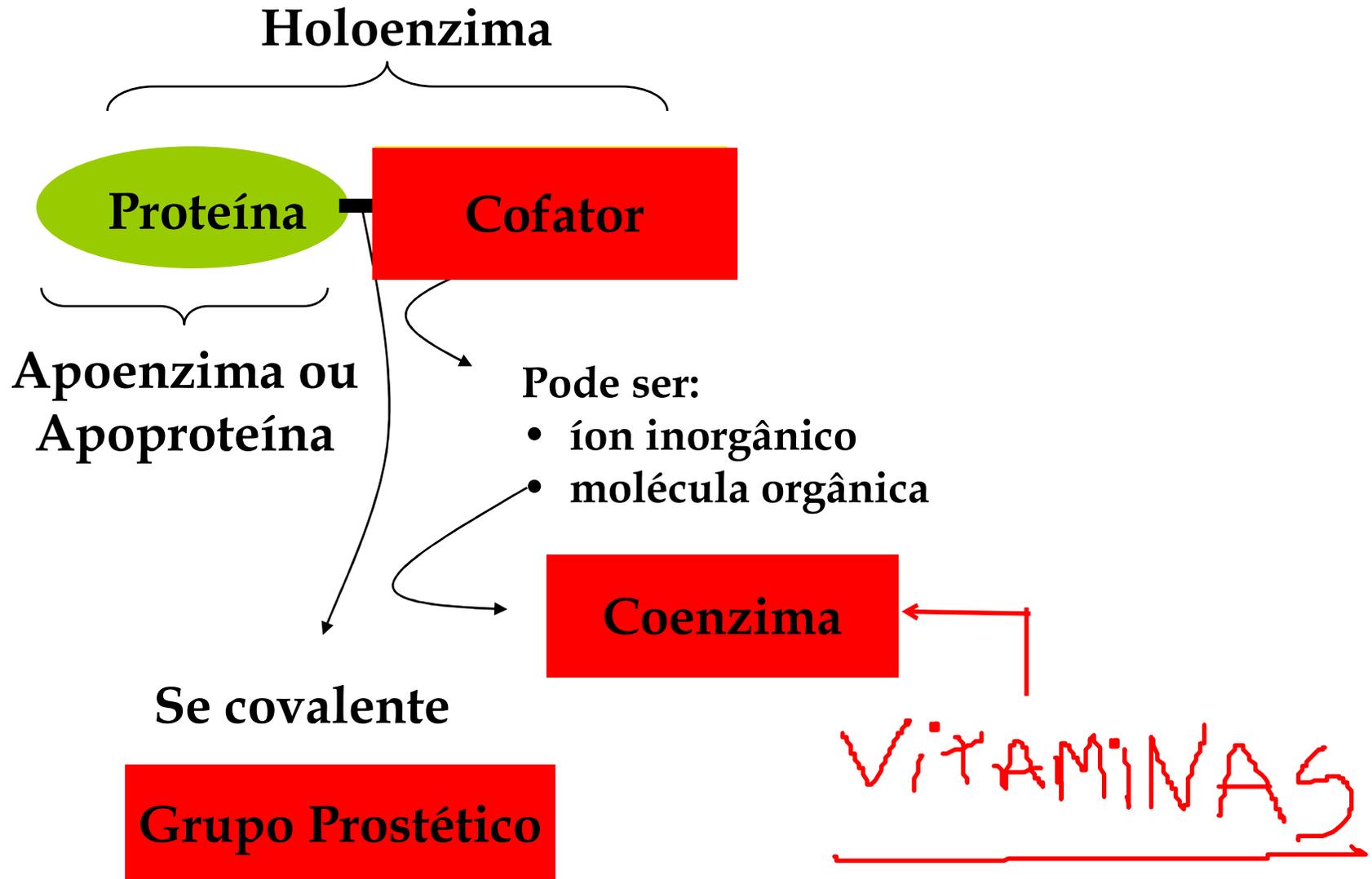
Enzimas estabilizam o estado de transição



❖ **Sítio ativo** – ponto de encaixe entre o substrato e o centro ativo da enzima

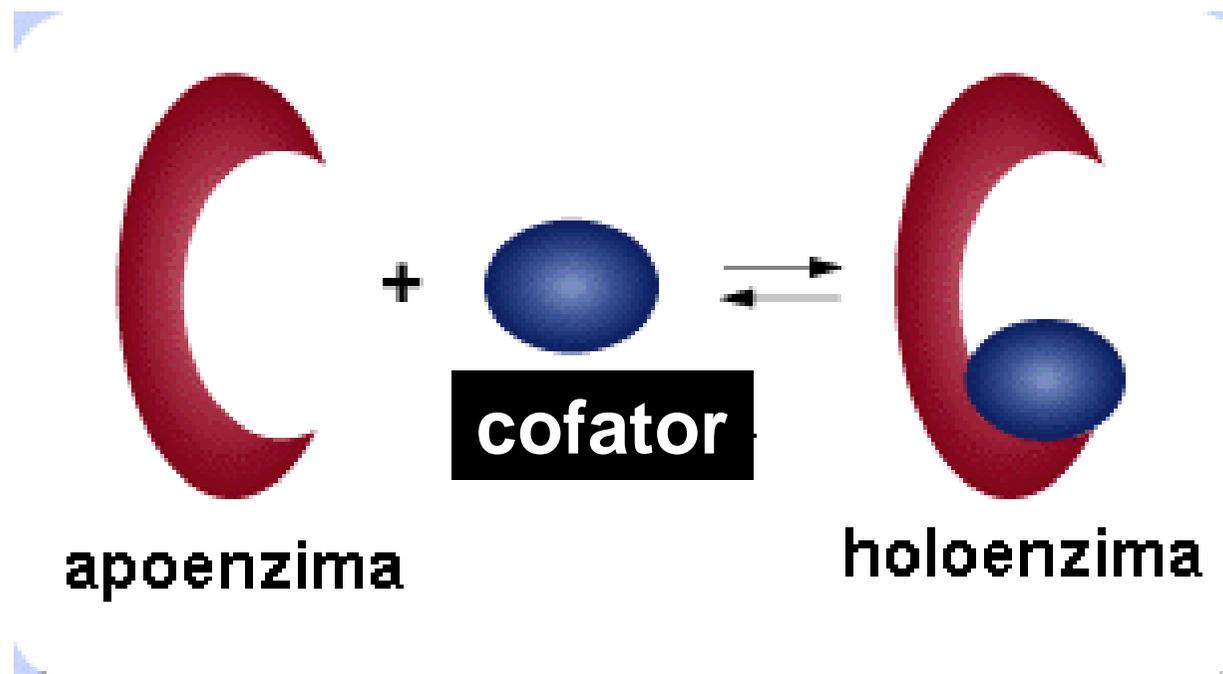


Organização de uma enzima



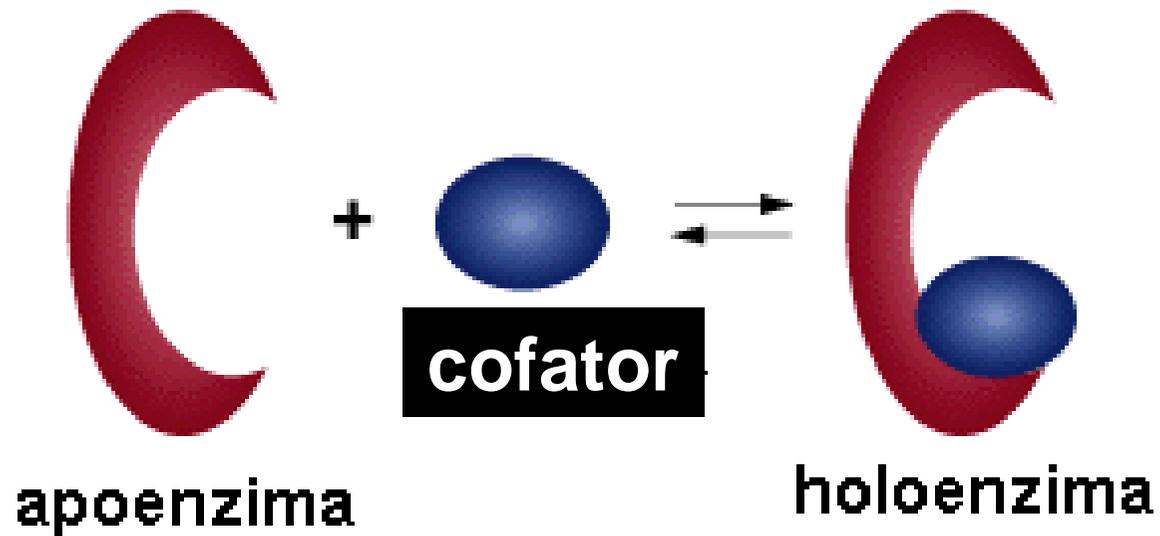
Cofatores

Cofator é um composto químico, a parte não-protéica ligada a uma enzima e necessária para a catálise



Cofatores

- Cofator + enzima = Holoenzima
 - catalicamente ativo
- Holoenzima – Cofator = Apoenzima
 - catalicamente inativo



Cofatores

Necessidades de cofatores (molécula não-proteíca) atuando no processo:

- Cofatores são geralmente metálicos: Íons
 - Cu^{2+} , Fe^{3+} ou Zn^{2+} (dieta)

- Grupos prostéticos:
 - associados a enzimas covalentemente

Classificação das enzimas pelas reações catalisadas

Quadro 5.2 As seis classes de enzimas e as reações que catalisam

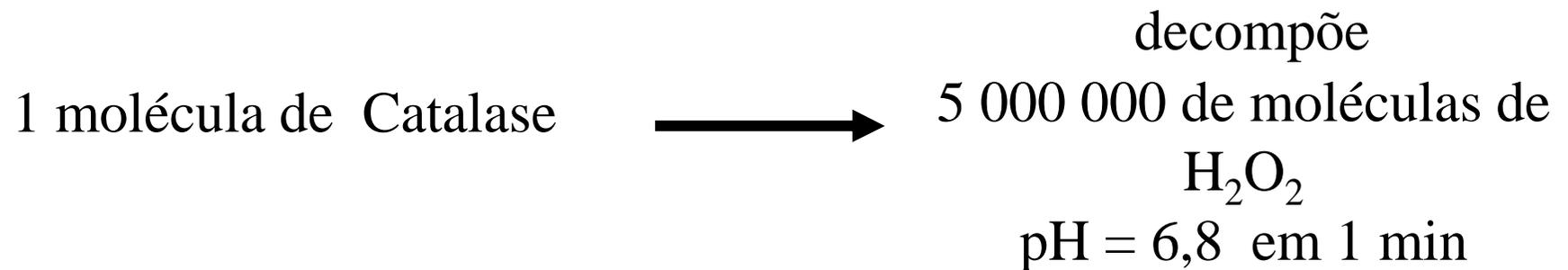
Classe	Tipo de reação	Exemplo
1. Óxido-redutases	<p>Óxido-redução</p> $AH_2 + B \rightleftharpoons A + BH_2$	$H_3C-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-OH + NAD^+ \xrightleftharpoons[\text{desidrogenase}]{\text{álcool}} H_3C-\overset{\text{H}}{\text{C}}=O + NADH + H^+$ <p>Etanol Acetaldeído</p>
2. Transferases	<p>Transferência de grupos</p> $A-X + B \rightleftharpoons A + B-X$	$\text{Glicose} + ATP \xrightarrow{\text{glicoquinase}} \text{Glicose 6-fosfato} + ADP$ <p>Glicose Glicose 6-fosfato</p>
3. Hidrolases	<p>Hidrólise</p> $A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$	$\text{Sacarose} + H_2O \xrightarrow{\text{Sacarase}} \text{Glicose} + \text{Frutose}$ <p>Sacarose Glicose Frutose</p>
4. Liasas	<p>Adição de grupos a duplas ligações ou remoção de grupos, deixando dupla ligação</p> $\begin{matrix} X & Y \\ & \\ A-B \end{matrix} \rightleftharpoons A-B + X-Y$	$\text{Fumarato} + H_2O \xrightleftharpoons{\text{fumarase}} \text{Malato}$ <p>Fumarato Malato</p>
5. Isomerasas	<p>Rearranjos intramoleculares</p> $\begin{matrix} A-B \\ & \\ Y & X \end{matrix} \rightleftharpoons \begin{matrix} A-B \\ & \\ Y & X \end{matrix}$	$\text{Glicose 6-fosfato} \xrightleftharpoons[\text{isomerase}]{\text{fosfoglico}} \text{Frutose 6-fosfato}$ <p>Glicose 6-fosfato Frutose 6-fosfato</p>
6. Ligases	<p>Condensação de duas moléculas, associada à hidrólise de uma ligação de alta energia (em geral, do ATP)</p> $A+B \rightleftharpoons A-B$	$\text{Piruvato} + HCO_3^- + ATP \xrightarrow[\text{carboxilase}]{\text{piruvato}} \text{Oxaloacetato} + ADP + P_i$ <p>Piruvato Oxaloacetato</p>

Regeneração das coenzimas

- **As coenzimas são alteradas quimicamente pela reação enzimática em que participam.**
- **Assim, para completar o ciclo catalítico, a coenzima tem de voltar ao seu estado inicial.**

Atividade enzimática

Em condições ideais:



Contudo atividade enzimática é influenciada por:

pH;

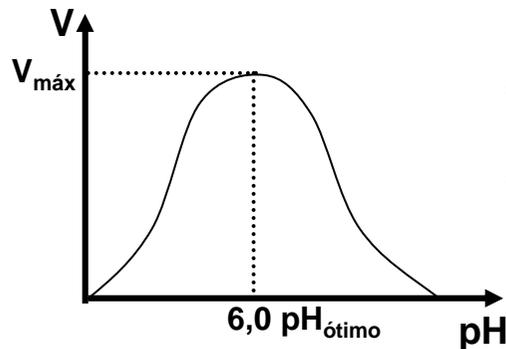
temperatura;

concentração das enzimas;

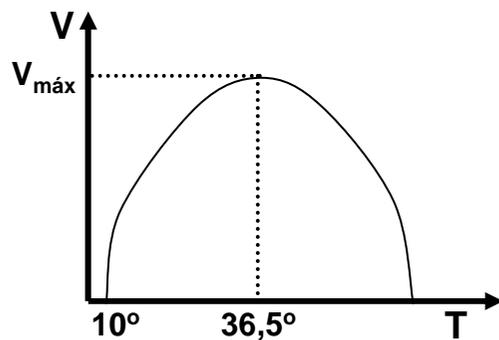
concentração dos substratos;

presença de inibidores.

Atividade enzimática em função do pH e da temperatura

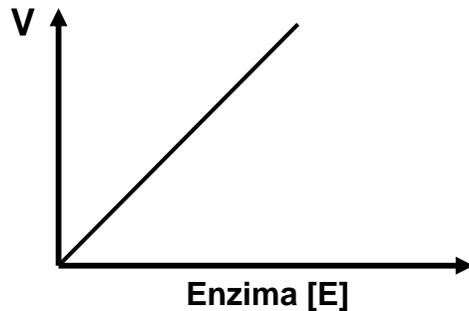


- à medida que \uparrow pH, \uparrow V da reação, até o ponto em que \uparrow pH, vai \downarrow V
- Fixam-se [E], [S] e a temperatura.
- EX.: pH_{ótimo} para pepsina = 1

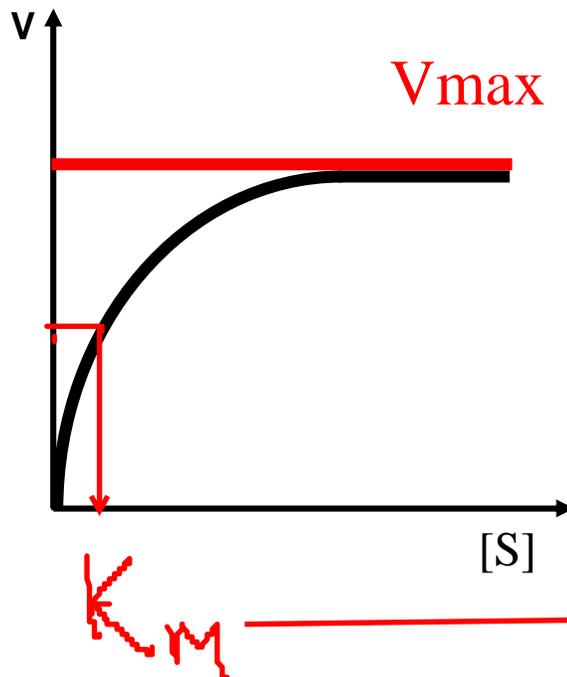


- à medida que \uparrow T, \uparrow V da reação, até o ponto em que \uparrow T, vai \downarrow V
- EX.: Crioenzima tem T_{ótima} \leq 10°C

Velocidade em função de concentração de enzima e substrato



- A velocidade da reação é proporcional à concentração da enzima.
- Fixam-se pH, [S] e a temperatura. Disponibilidade de [S]



- [E] = constante
- [S] pequenas $\rightarrow V_o \uparrow$ linearmente.
- [S] maiores $\rightarrow V_o \uparrow$ por incrementos cada vez menores.
- $V_{max} \rightarrow [S] \uparrow \rightarrow V_o \uparrow$ insignificantes.
- V_{max} é atingida \rightarrow Quando toda E estiver na forma ES e a [E] livre é insignificante, então, E saturada com o S e V não \uparrow com \uparrow de [S].

22

Numericamente igual a concentração de substrato que leva a $V_{max}/2$

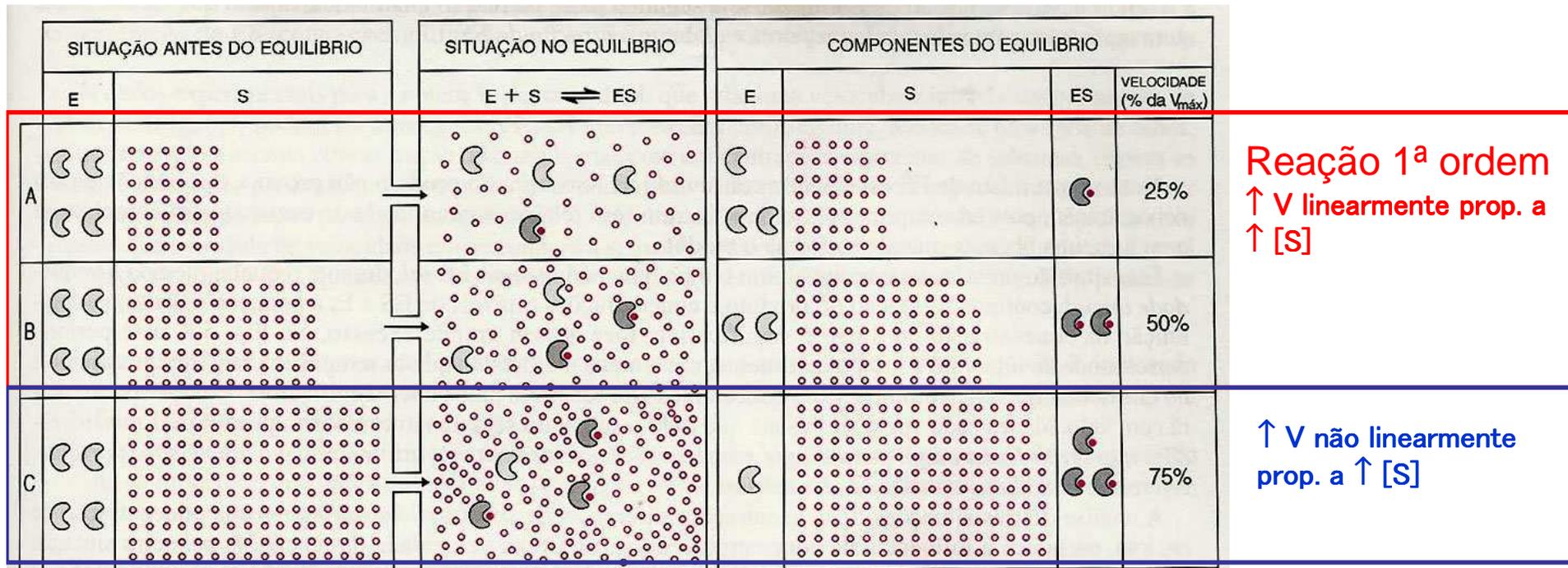
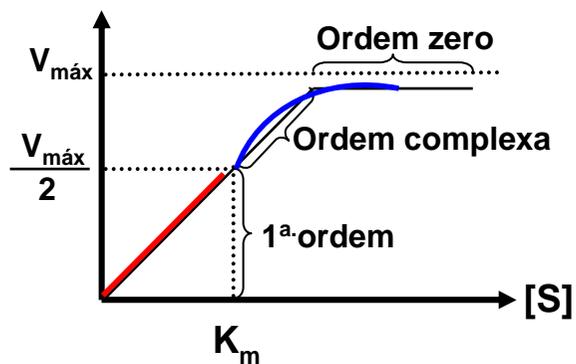


Fig. 5.7 Esquema ilustrativo do equilíbrio $E + S \rightleftharpoons ES$, em três situações (A, B, C) de concentrações diferentes de substrato e mesma concentração de enzima ($[E_{total}] = [E] + [ES]$). Na prática, a relação $[S]/[E]$ é muito maior do que a representada no esquema.



$K_m =$ Constante de *Michaelis-Menten*

K_m - é a concentração de substrato necessária para se atingir a metade da velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$) da reação.

$V_{m\acute{a}x}$ - é a velocidade atingida quando todas as moléculas de enzima existem na forma $[ES]$.

A equação de Michaelis-Menten

Michaelis-Menten deduziram uma equação baseada na reação:



$$\text{Velocidade da reação} = V_m = K_3 [ES]$$

Equação de Michaelis-Menten

$$V = \frac{V_{\text{máx}} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

A Equação de *Michaelis-Menten* permite calcular a velocidade da reação para qualquer concentração do substrato

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

▪ quando K_3 for muito pequena teremos:

$$K_m = \frac{K_2}{K_1}$$

= K_s = Constante de dissociação do Substrato

Faixas de valores de K_m

table 8-6

K_m for Some Enzymes and Substrates			
Enzyme	Substrate		K_m (mM)
Catalase	H_2O_2		25
Hexokinase (brain)	ATP		0.4
	D-Glucose		0.05
	D-Fructose		1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-		26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine		108
	<i>N</i> -Benzoyltyrosinamide		2.5
β -Galactosidase	D-Lactose		4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine		5.0

Os valores de K_m providenciam uma aproximação de $[S]$ in vivo para muitas enzimas

25

K_m



inversamente proporcional a afinidade enzima-substrato

Número de Renovação Enzimática - K_{cat}

“equivale ao número de moléculas de substrato convertidas em produto em certa unidade de tempo em uma única molécula de enzima quando ela for saturada com um substrato”.

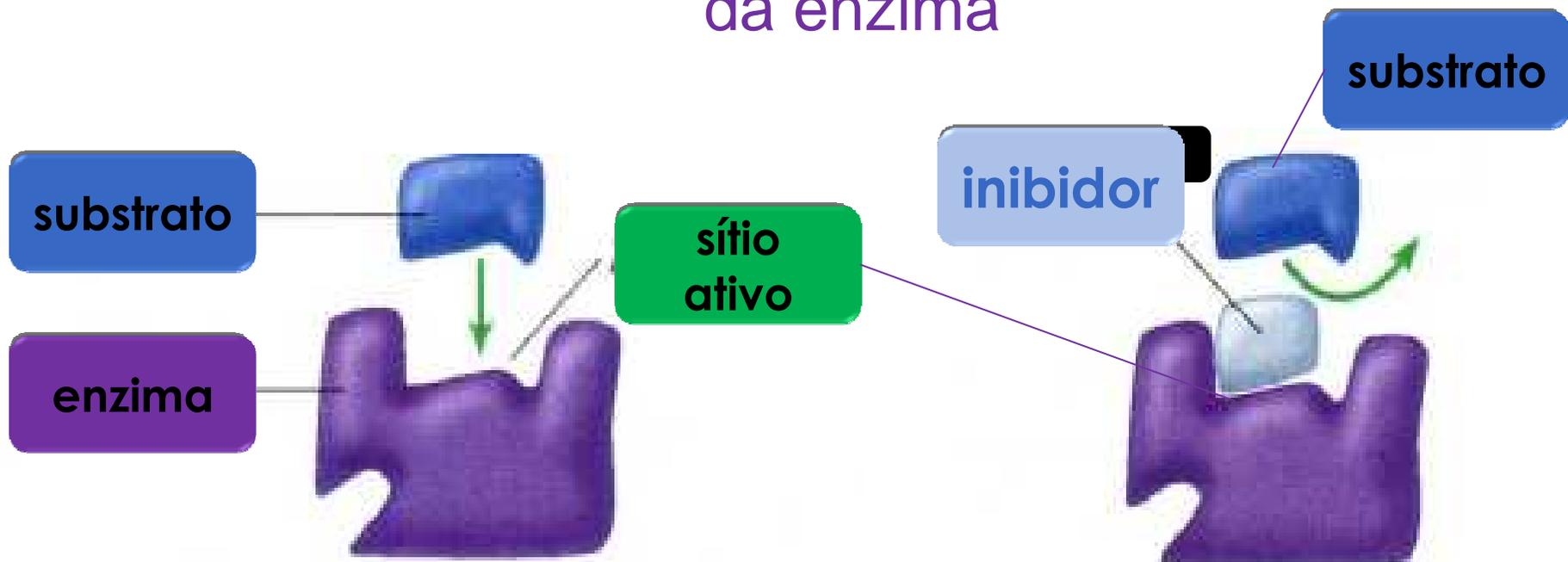
TABLE 6-7 Turnover Numbers, k_{cat} , of Some Enzymes

<i>Enzyme</i>	<i>Substrate</i>	k_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	14,000
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.4

Inibidor Competitivo

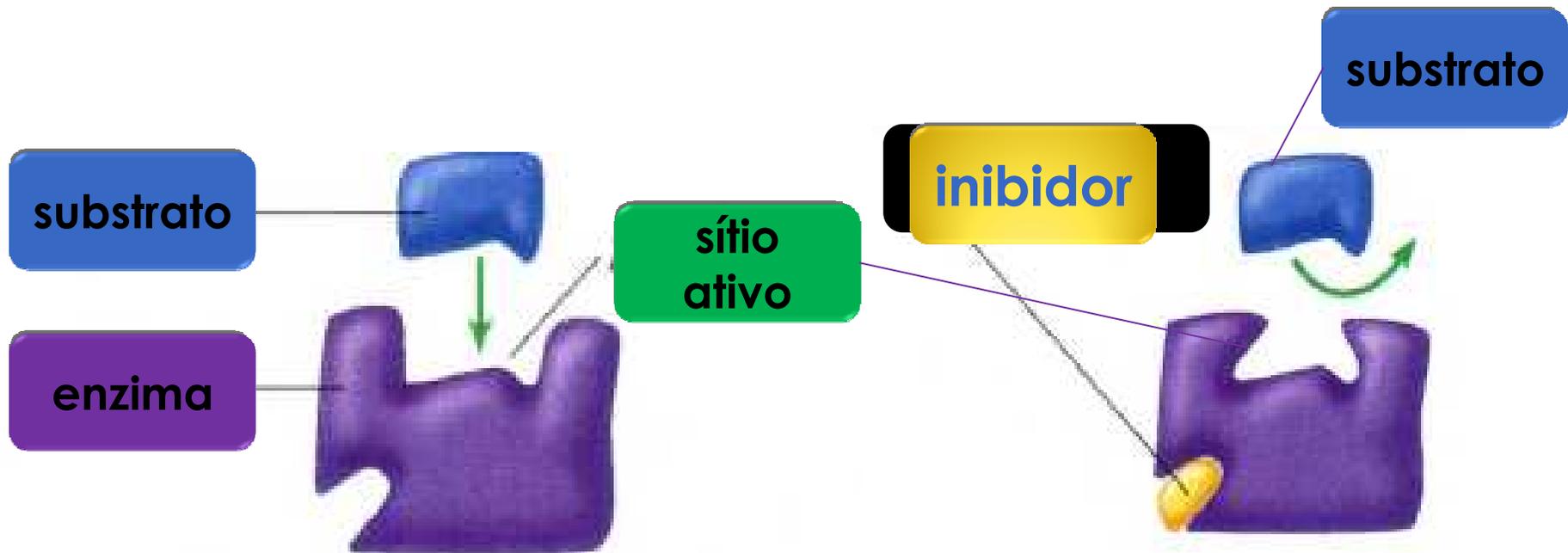


Tem semelhança com o substrato e compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima



Inibidor não-Competitivo

→ não entra no sítio ativo da enzima



Regulação Enzimática

Duas Maneiras de ocorrer:

→ Controle da viabilidade enzimática : a quantidade de enzimas em uma célula da reação de síntese e de degradação.

→ Controle da atividade enzimática : atividade catalítica da enzima pode ser diretamente regulada através de alterações estruturais e conformacionais, ex: alosteria

Controle Alostérico

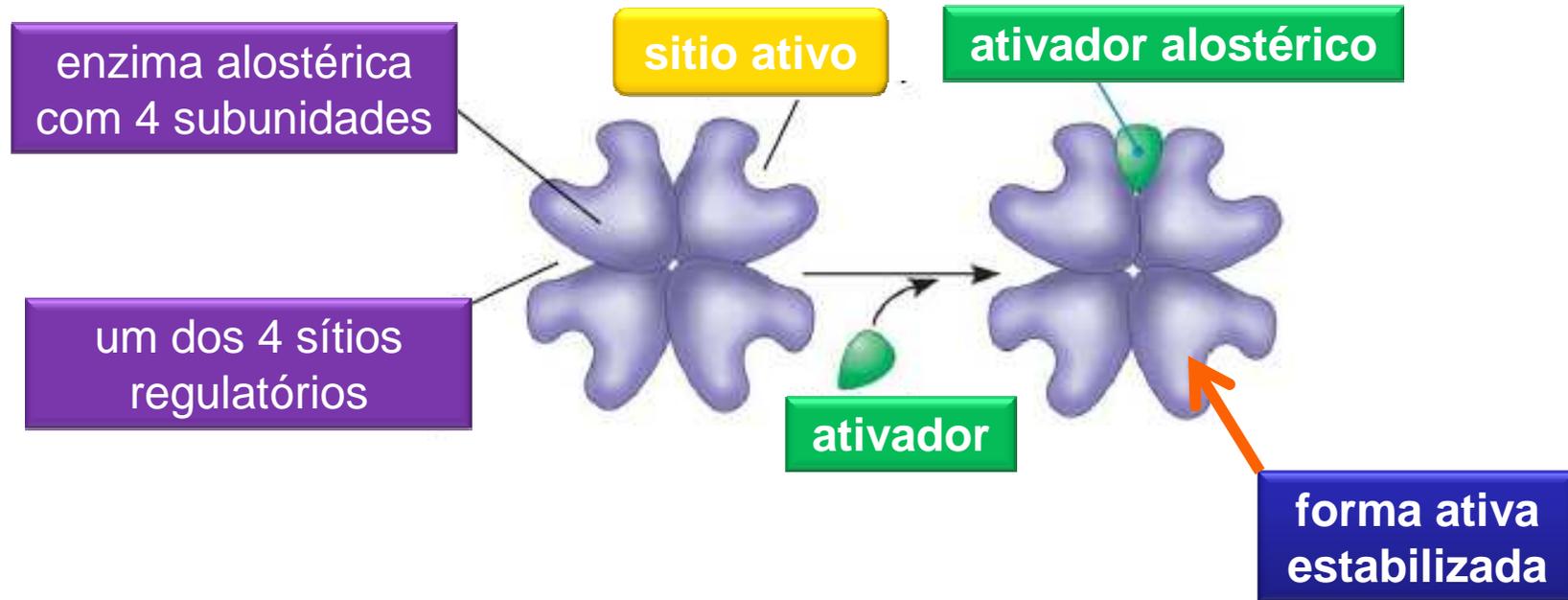


termo usado para descrever a situação em que a função da proteína em um sítio é afetada pela ligação de uma molécula regulatória em outro sítio.



a regulação alostérica pode inibir ou ativar a atividade de uma enzima alterando sua forma para a forma ativa ou inativa.

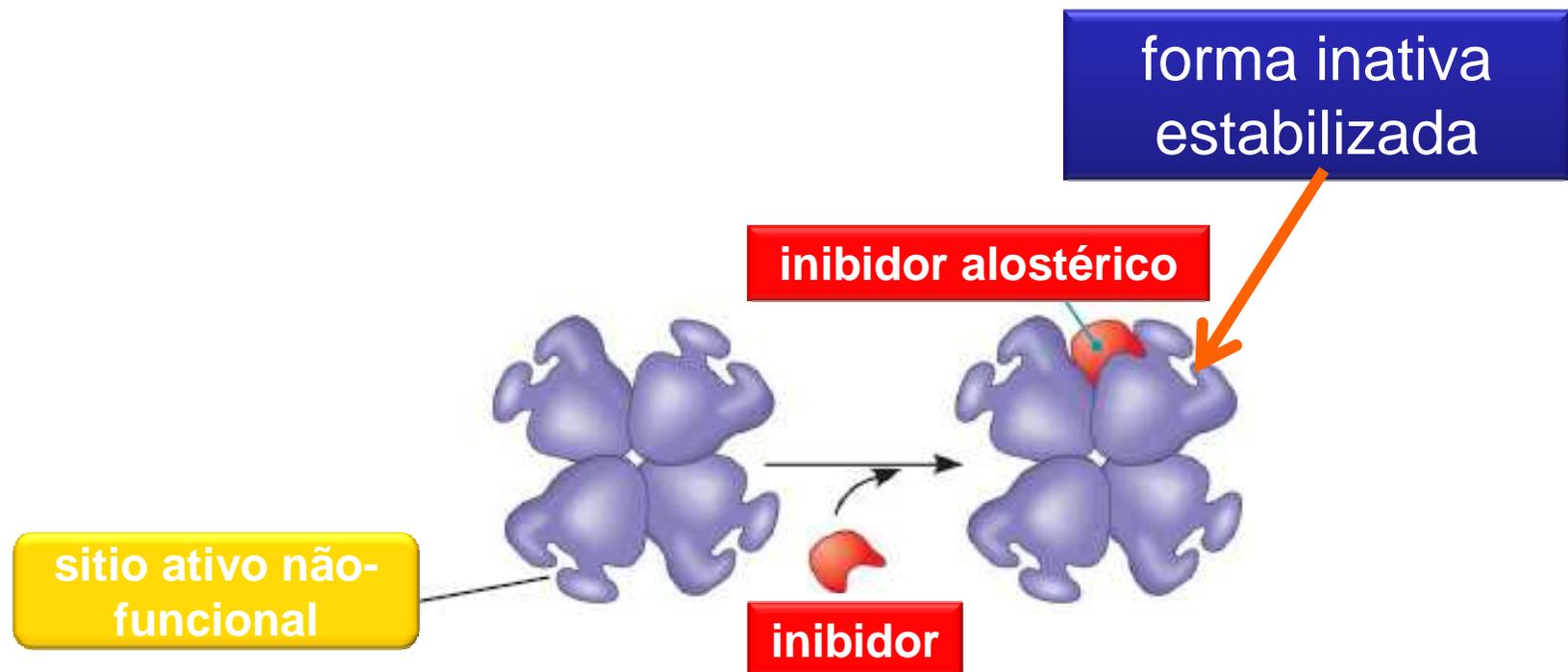
Controle Alostérico



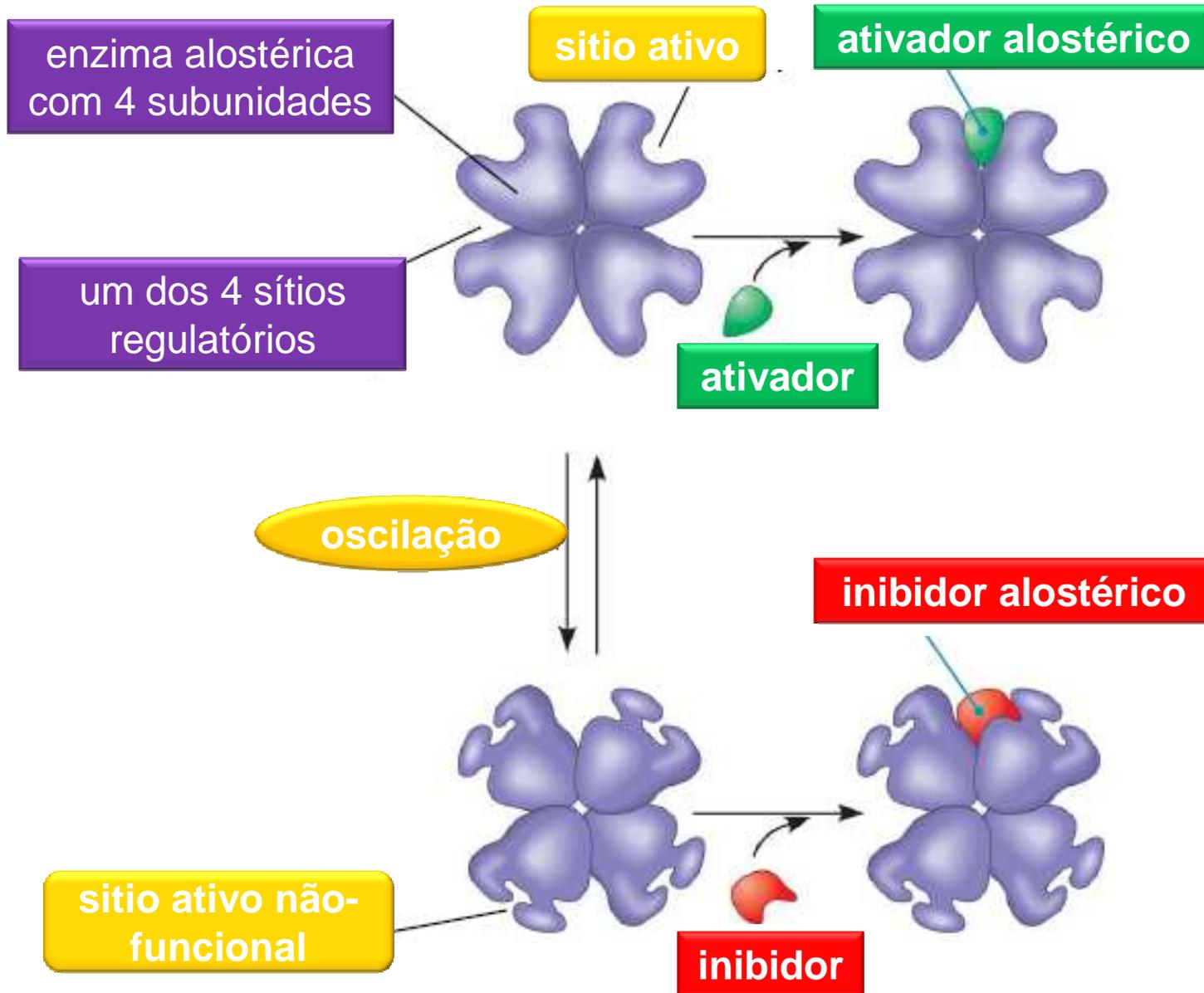
a ligação do **ativador alostérico** estabiliza a forma ativa da enzima

Controle Alostérico

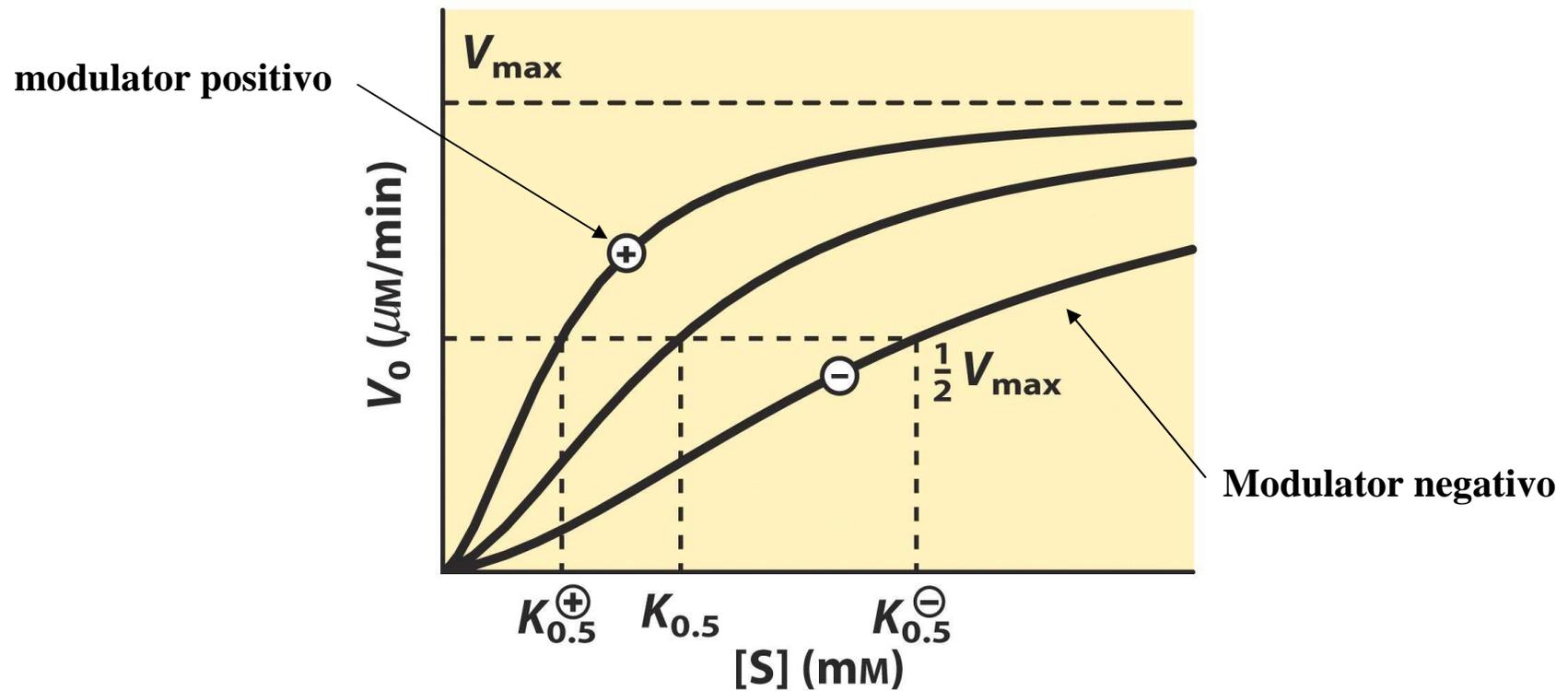
a ligação do **inibidor alostérico** estabiliza a forma inativa da enzima



Controle Alostérico

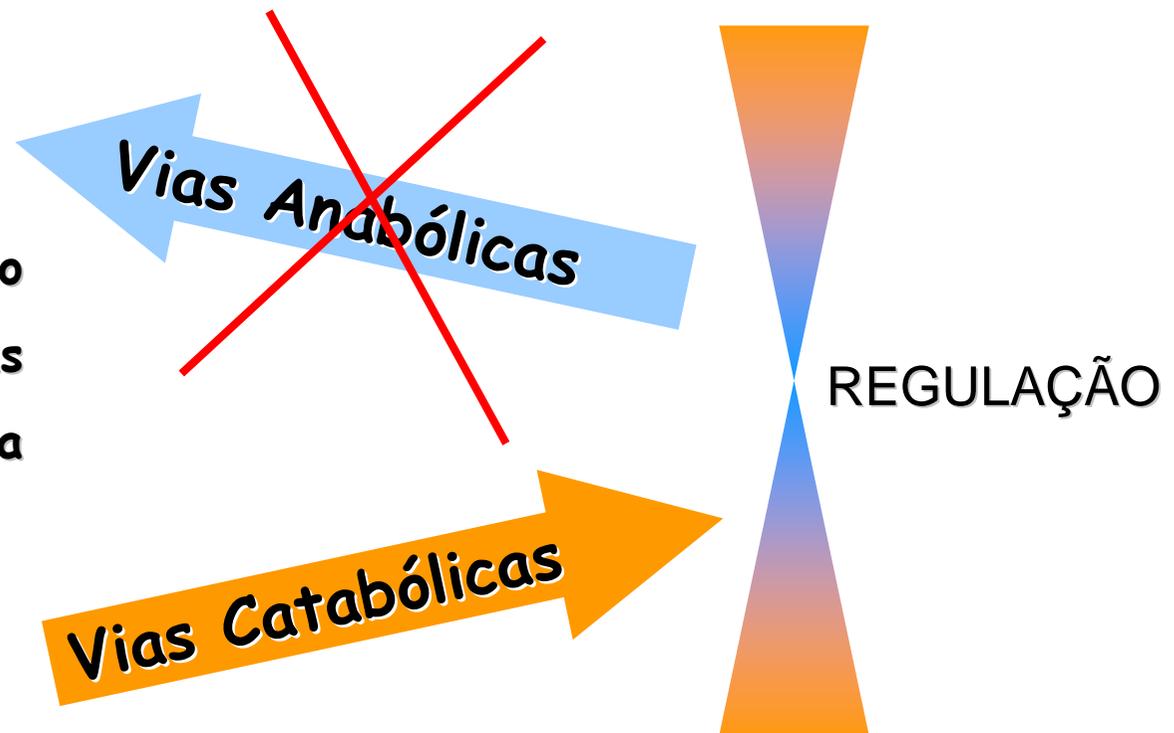


O efeito de um modulador positivo e de um negativo sobre uma enzima alostérica



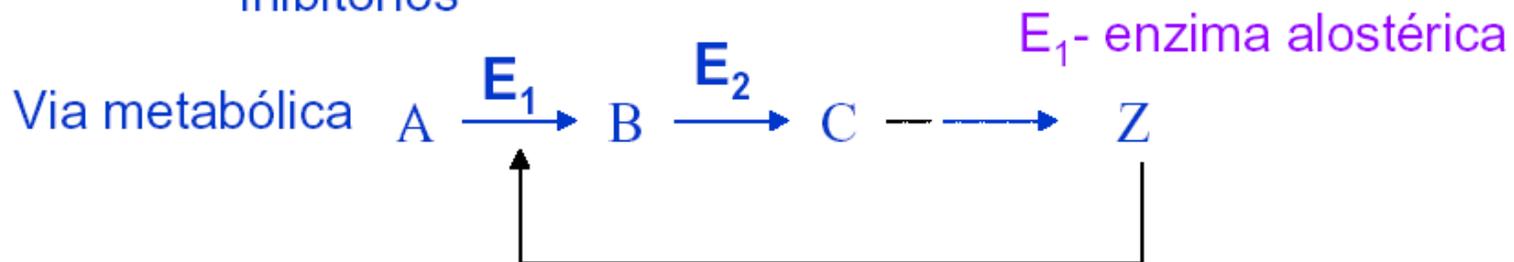
Enzimas das Vias Metabólicas

Só ocorre quando estão envolvidas enzimas diferentes em cada uma das vias



Controlo alostérico da actividade enzimática.

Outros modos de controlo para além de processos inibitórios



Z- efector alostérico, modulador ou ligando alostérico. Afeta a actividade da enzima E_1 sem ser modificado por ela.

Efector alostérico positivo- aumenta a afinidade da enzima pelo substrato ou outro ligando

Efector alostérico negativo- no caso de diminuir essa afinidade

Os efectores positivos ligam-se a locais activadores enquanto os negativos a locais inibidores.