



Instituto de Química – USP

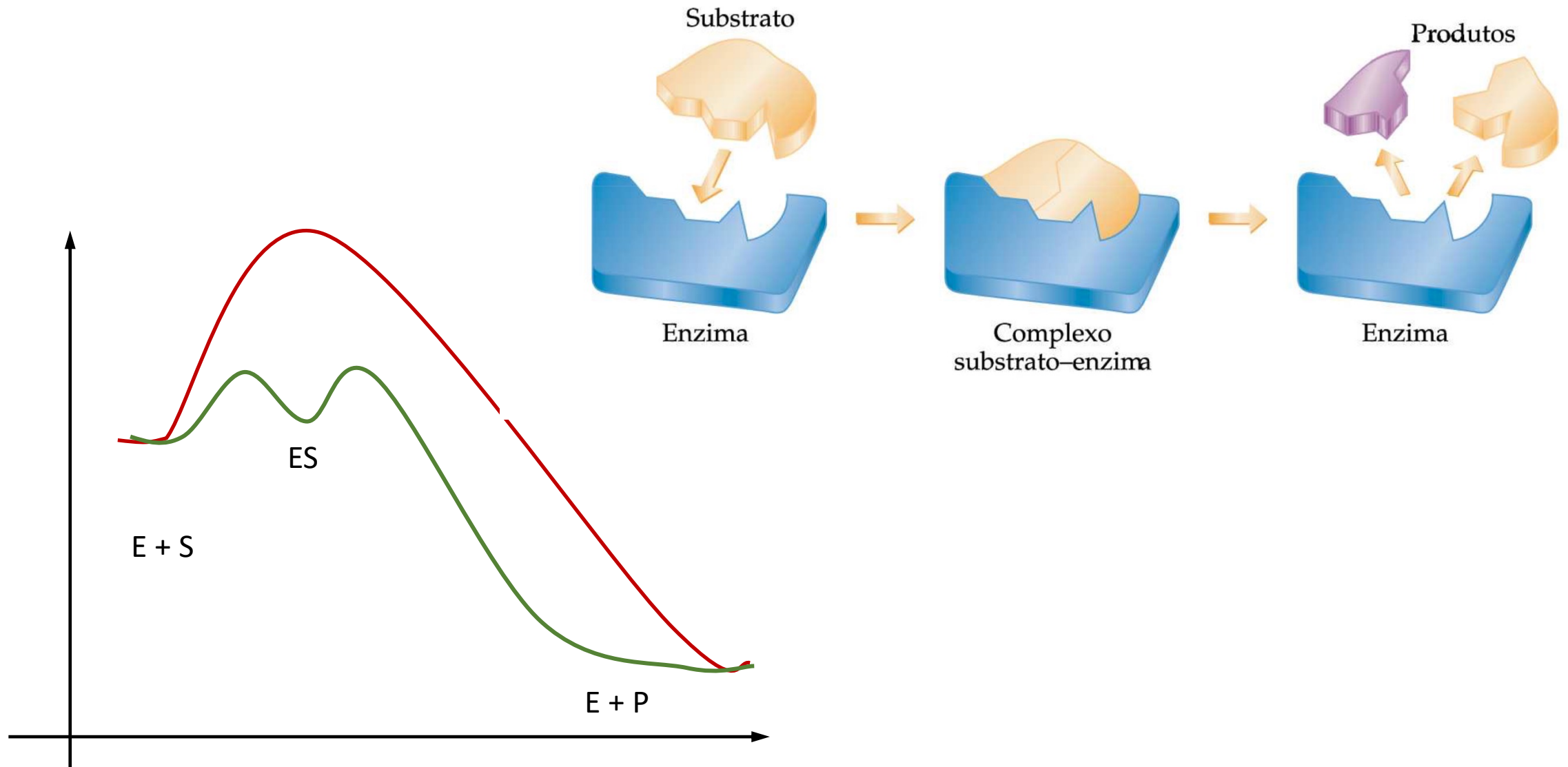
QFL 0450

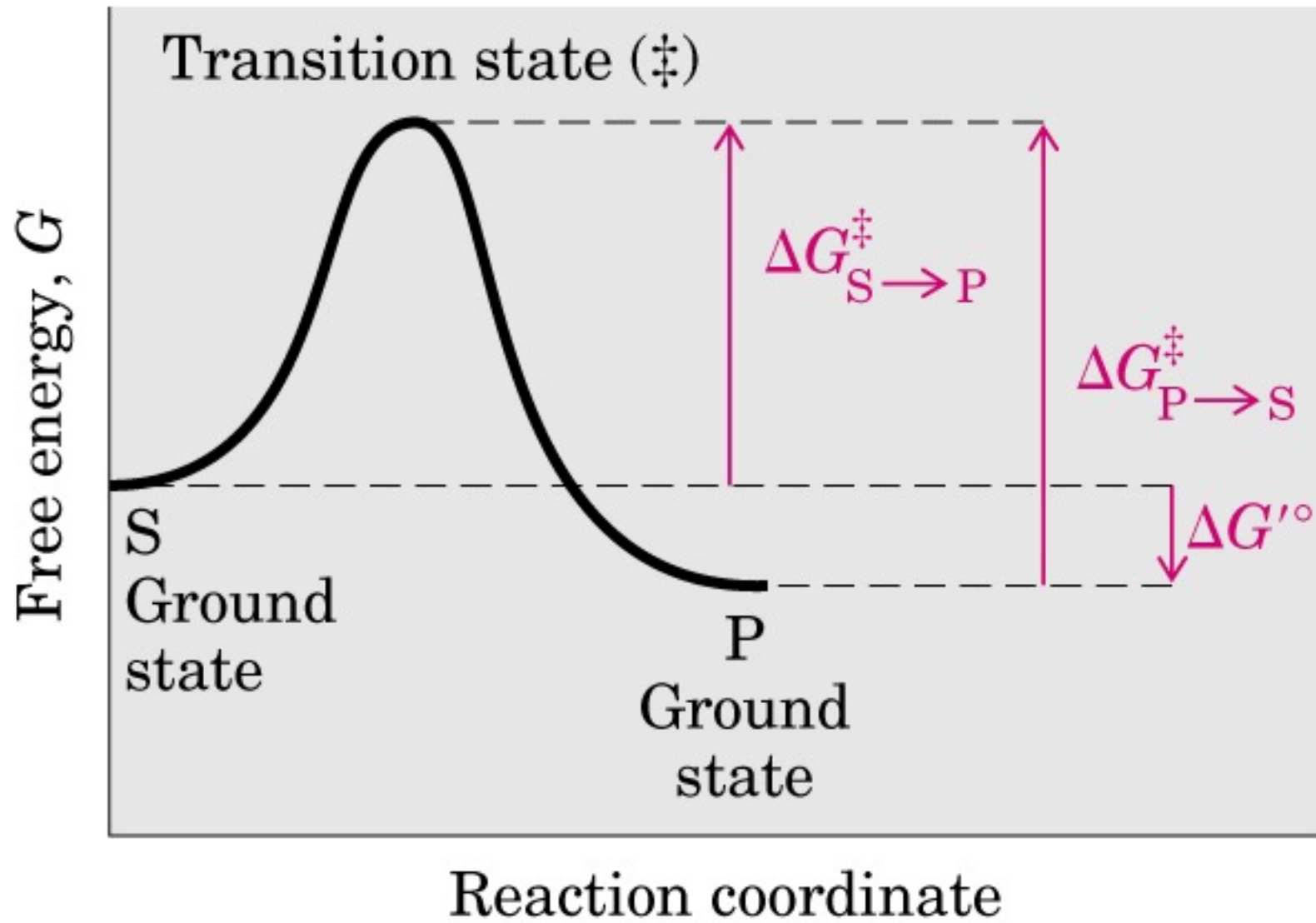
Química Geral e Orgânica para Biomedicina

**Catálise
Enzimática**



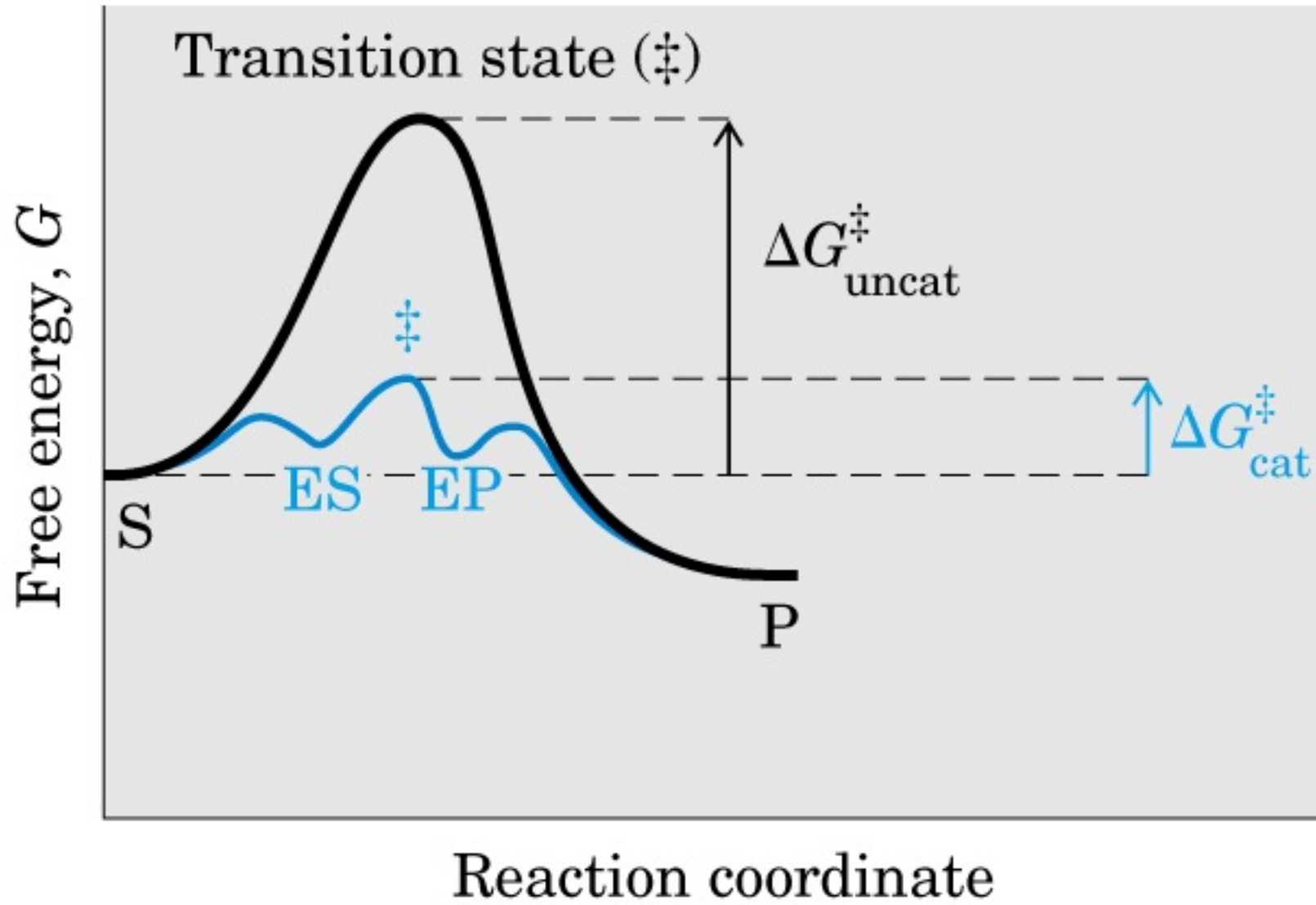
Catálise enzimática





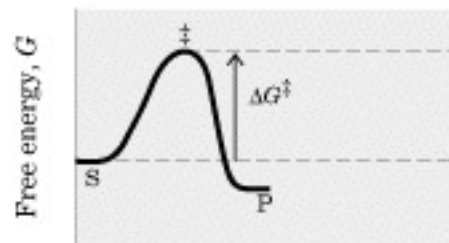


Catálise Enzimática

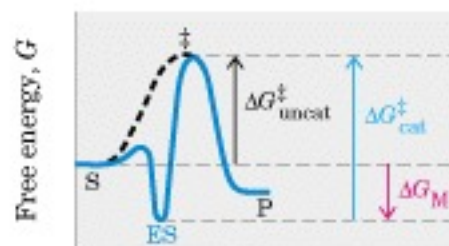
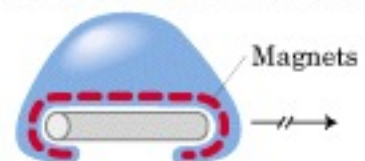




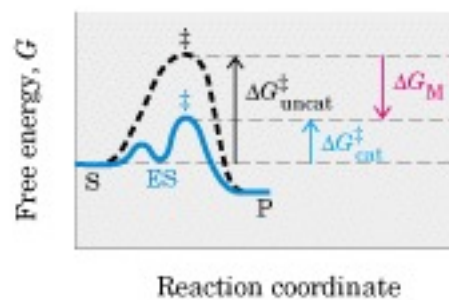
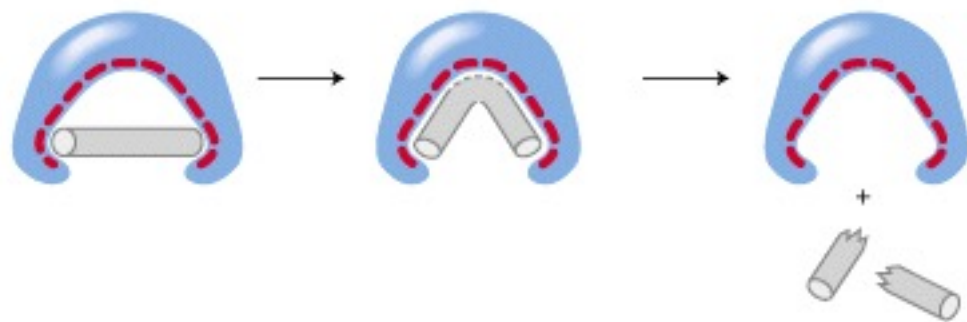
(a) No enzyme

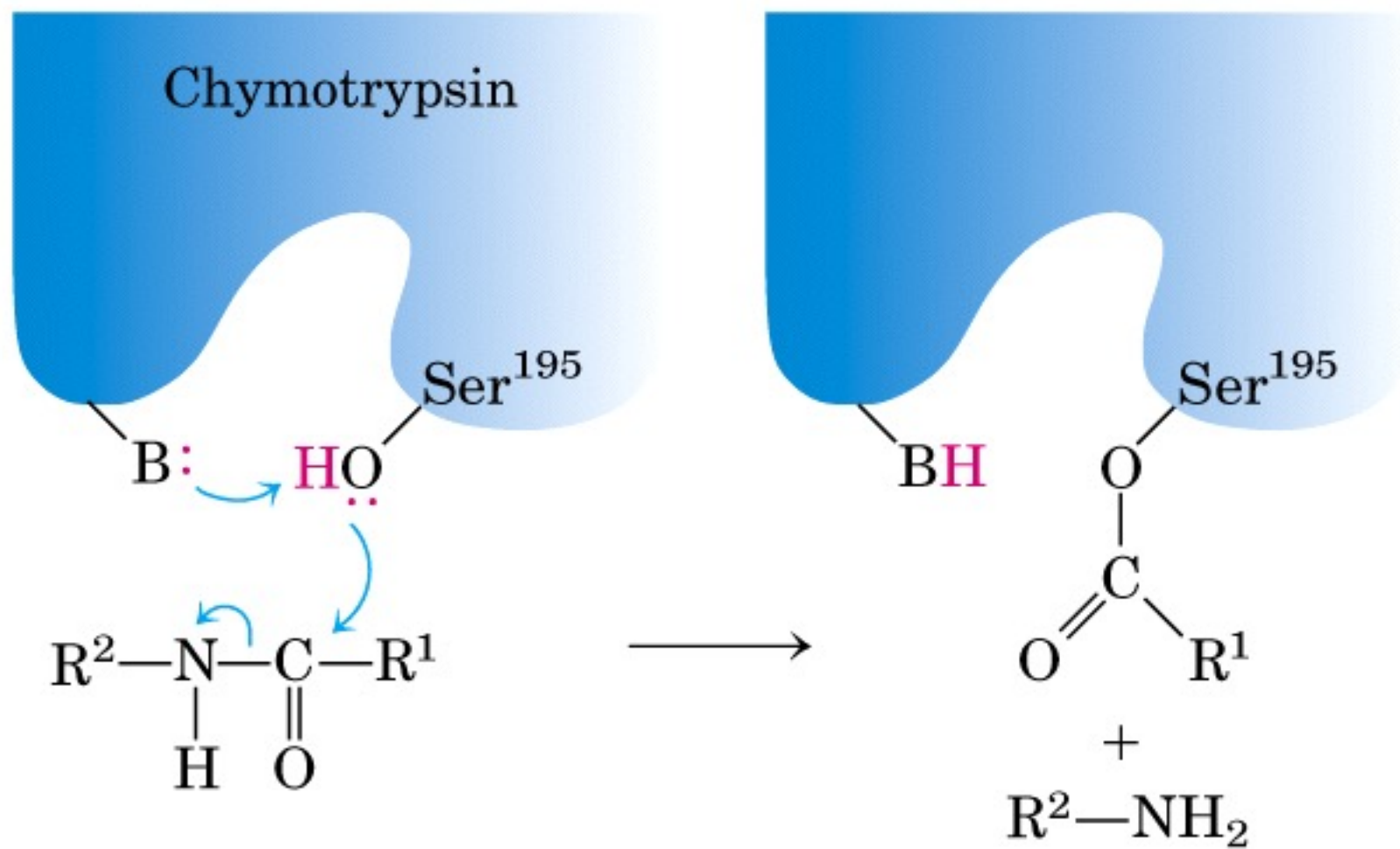


(b) Enzyme complementary to substrate



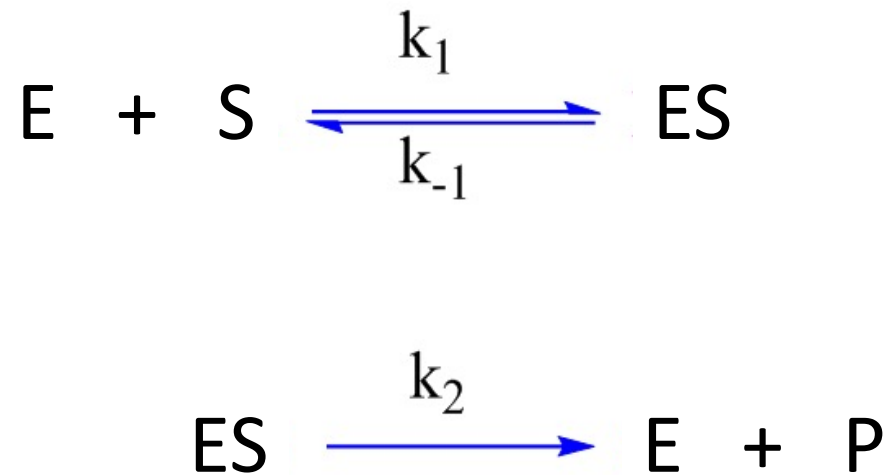
(c) Enzyme complementary to transition state







REAÇÕES CONSECUTIVAS



1. ES é o complexo enzima-substrato
2. k_{-2} é desprezível no início da reação
3. Aproximação

$$V_0 = k_2[ES]$$



No “Estado de Equilíbrio Dinâmico”

(ou Estado Estacionário) :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad \text{ou seja}$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 [E] [S] - k_{-1} [ES] - k_2 [ES] \quad (1)$$

[E] não é uma quantidade experimentalmente mensurável , mas $[E]_T$ o é

$[E]_T$ = concentração total de enzima

[E] = concentração de enzima livre (não associada ao substrato)



Modelo de Michaelis-Menten

Da equação (1) :

$$k_1 [E] [S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES] \quad (2)$$

Considerando que $[E]_T = [E] + [ES]$ e rearranjando (2)

$$\frac{([E]_T - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

K_M

$$K_M [ES] = ([E]_T - [ES]) [S] \implies [ES] = \frac{[E]_T [S]}{K_M + [S]}$$



$$V_0 = k_2 \frac{[E]_T [S]}{K_m + [S]}$$

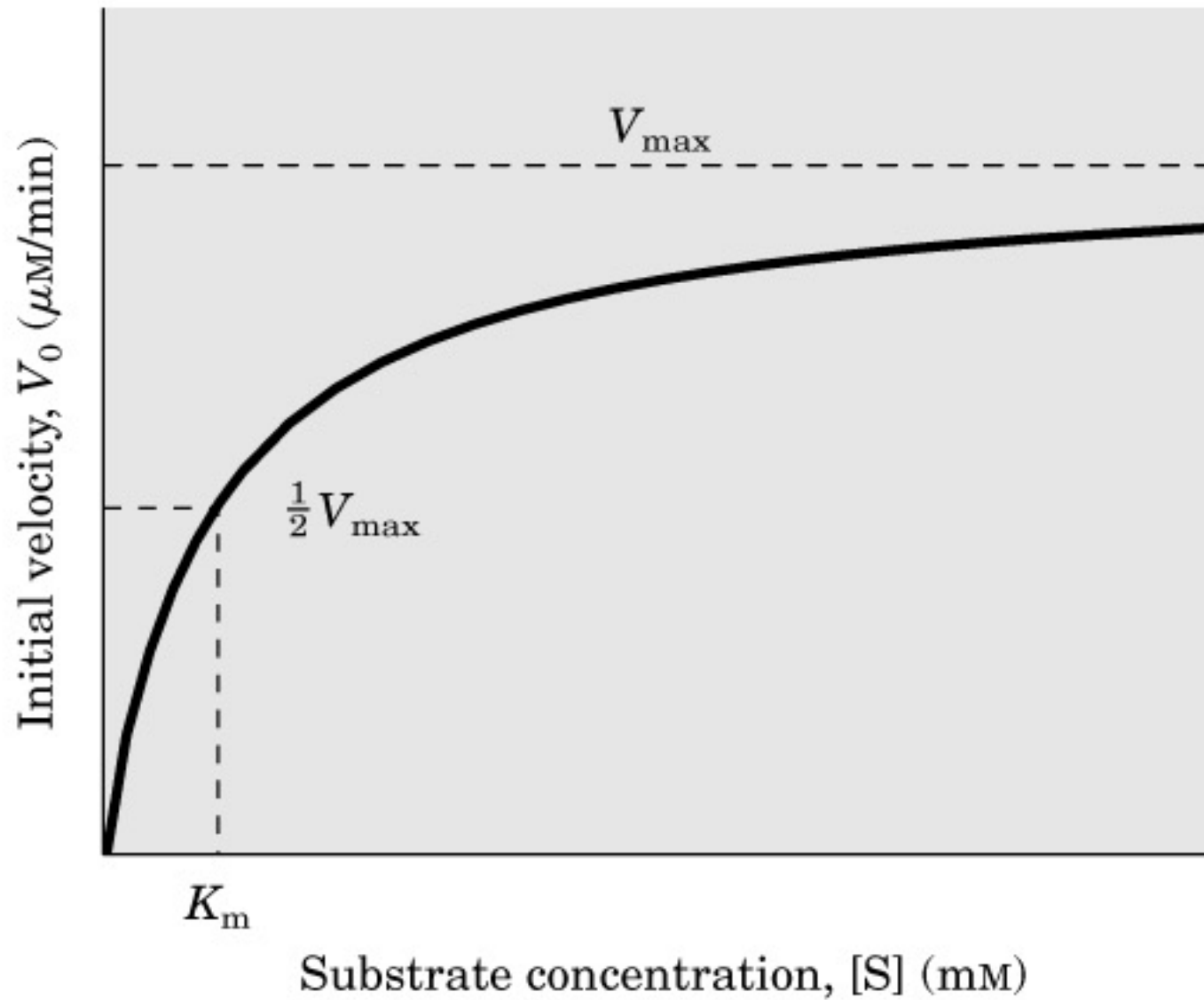
Quando todos os sítios estão saturados:

$$V_{max} = k_2 [E]_T$$

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$



Modelo de Michaelis-Menten



$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$V_0 = \frac{V_{\text{max}}[S]}{K_m + [S]}$$

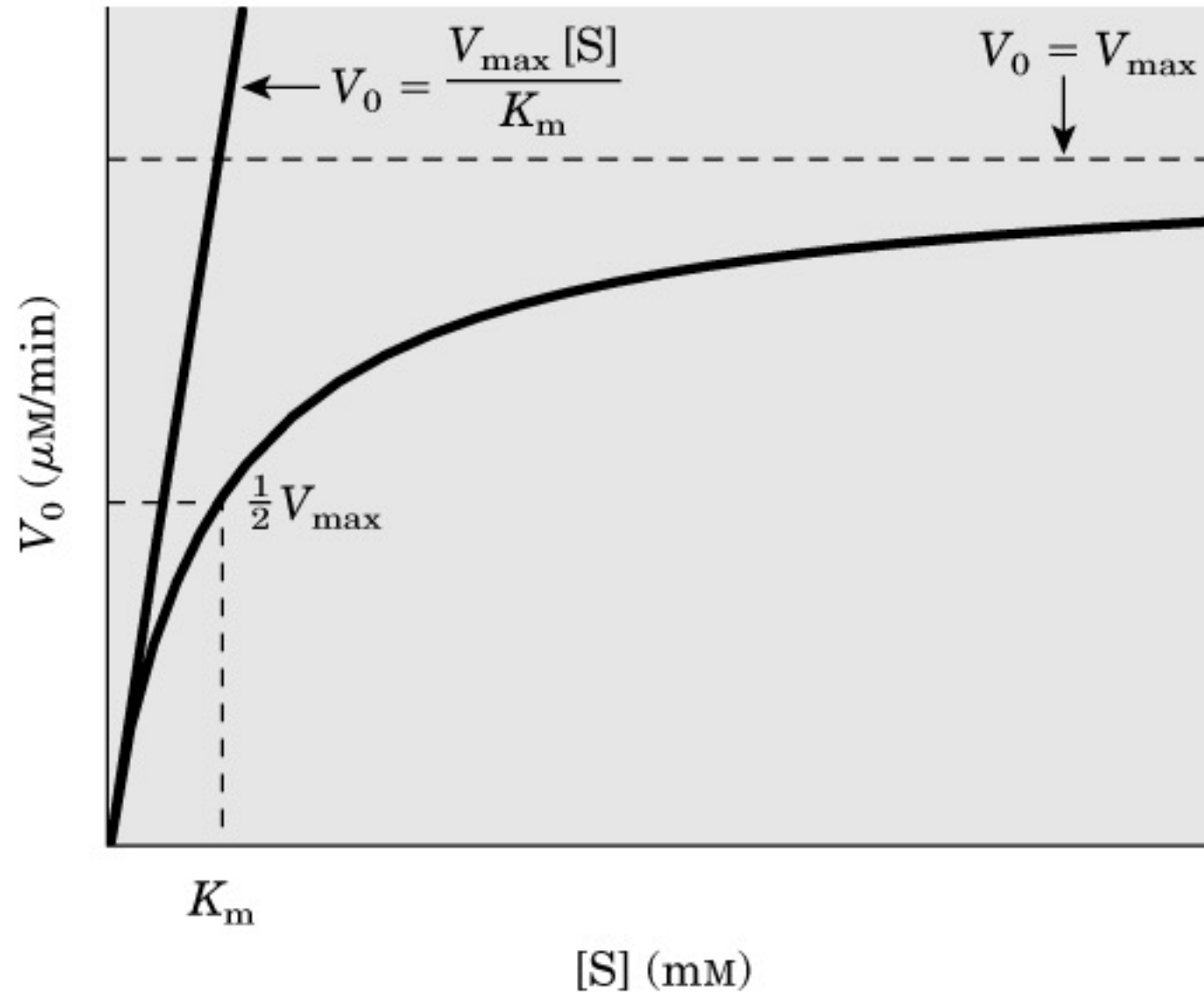


Modelo de Michaelis-Menten

$$V_{max} = k_2[E]_T$$

$$V_{max} = k_{cat}[E]_0$$

$$\epsilon = \frac{k_{cat}}{K_m}$$



$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

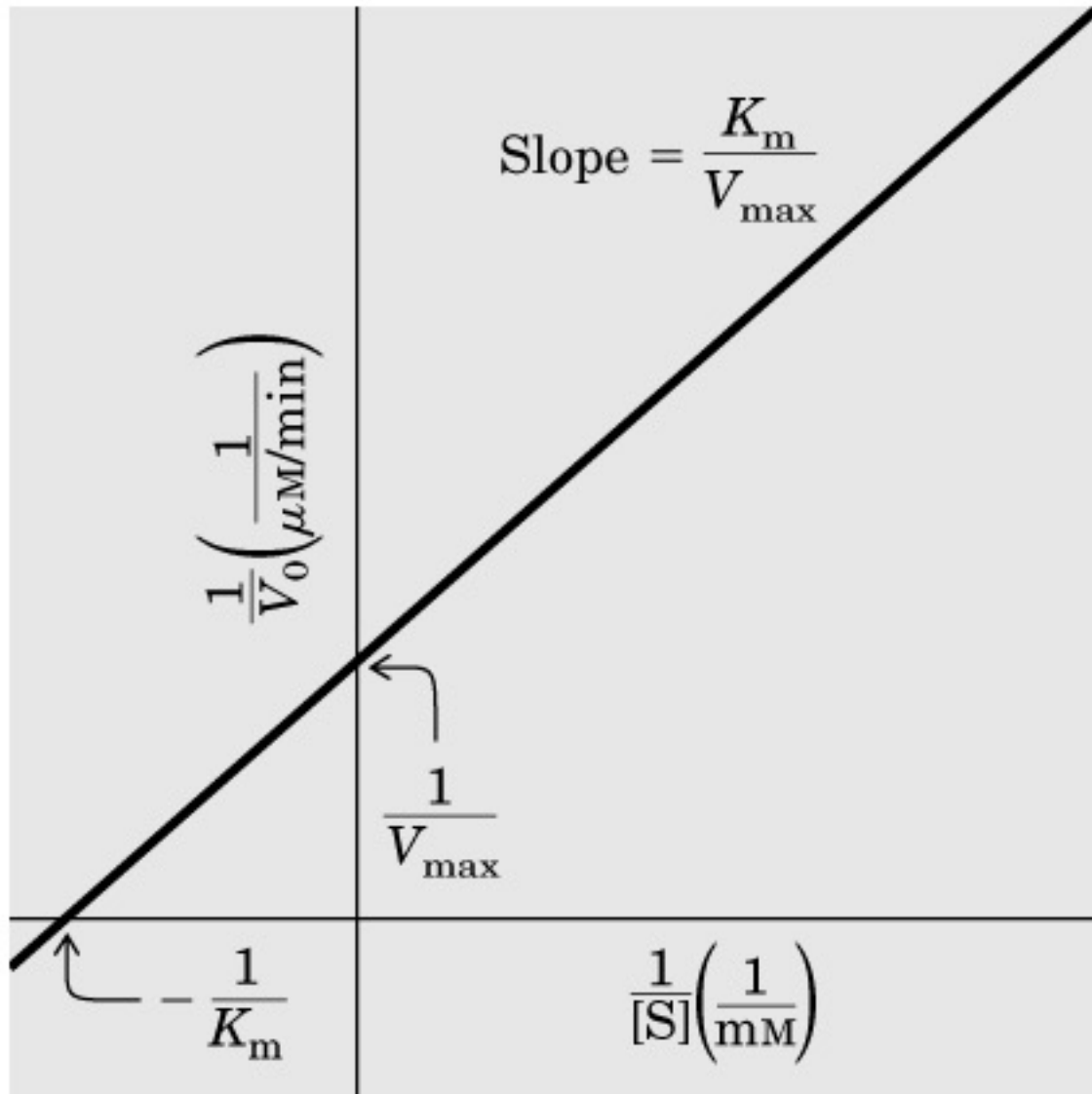


Gráfico de Lineweaver-Burke

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$



K_m para algumas enzimas

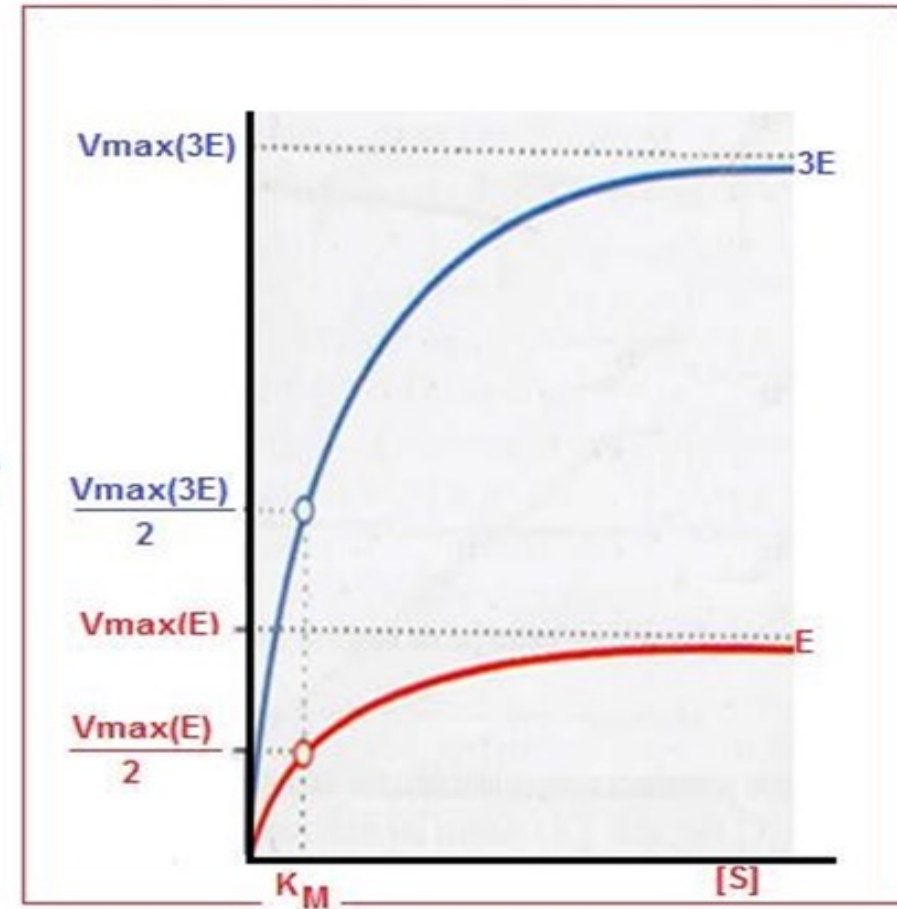
Enzima	Substrato	Função	K_M mmol/L
Anidrase carbônica	CO_2	$CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3$	7,5
Álcool desidrogenase	Etanol	Etanol \rightarrow acetaldeído	0,5
Hexoquinase	Glicose	Glicose \rightarrow Glicose-fosfato	0,15
Hexoquinase	Frutose	Frutose \rightarrow Frutose-fosfato	1,5

K_M pode indicar o grau de afinidade da enzima pelo substrato

$$[ES] = \frac{[E]_T [S]}{K_M + [S]}$$

velocidade (V) = $k_2 [ES]$ e $V_{max} = k_2 [E]_T$

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]} \Rightarrow$$





Para uma determinada reação enzimática, em que um substrato S foi transformado em um produto P, foram obtidos os seguintes dados, para uma mesma concentração de enzima, variando-se a concentração de substrato.

[S] mol/L	V (número de nmols . L ⁻¹ .min ⁻¹)
$6,25 \times 10^{-6}$	15,00
$7,50 \times 10^{-5}$	56,25
$1,00 \times 10^{-4}$	60,00
$1,00 \times 10^{-3}$	74,90
$1,00 \times 10^{-2}$	75,00

PS. A **velocidade** foi calculada pela fórmula : **Concentração de produto formado / tempo decorrido**



a) Como você poderia deduzir qual é a velocidade máxima dessa transformação? E qual o valor da constante de Michaelis-Menten (KM)?

Vemos que nos últimos dados da tabela a velocidade é praticamente a mesma. A enzima acha-se saturada e a velocidade é a velocidade máxima.

Portanto,

$$V_{\max} = 75 \text{ mol/L} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} \Rightarrow \frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Para o terceiro dado da tabela:

$$V = 60,00 \text{ mol/L} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$60 / 75 = 10^{-4} / K_M + 10^{-4}$$

$$V_{\max} = 75 \text{ mol/L} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$K_M = 2,5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$



- b) Como podemos calcular a velocidade para uma concentração de substrato de $5,0 \times 10^{-5}$ mol/L? O que aconteceria se dobrássemos a concentração de enzima, mantendo a concentração de substrato?

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_M + [S]} \Rightarrow \frac{V}{75} = \frac{5 \times 10^{-5}}{(2,5 \times 10^{-5}) + (5 \times 10^{-5})}$$

$$V = 50 \text{ nmol / L . min}^{-1}$$

Dobrando a concentração de enzima, para uma mesma concentração de substrato, a velocidade dobrará, pois

$V_{\max} = k_2 [E]_T$ Se V_{\max} dobra, a velocidade também dobra, pois k_2 é característico da reação e não muda.



a) Para o primeiro dado da tabela, qual foi a conversão porcentual de substrato em um período de 10 minutos?

$$[S] = 6,25 \times 10^{-6} \text{ mol/L} \text{ e } V = 15 \text{ nmol/L} \cdot \text{min}^{-1}$$

Em 10 minutos, teremos uma concentração de produto de 150 nmol/L

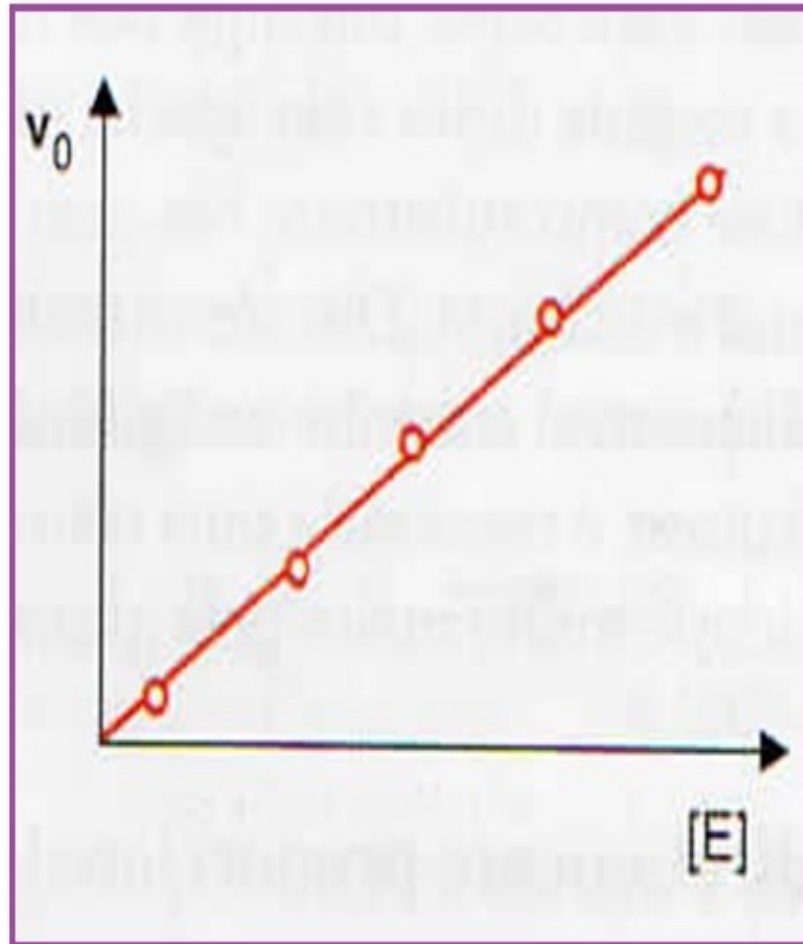
Considerando a quantidade de nmols presentes em um litro :

$$(150 \times 10^{-6} / 6,25 \times 10^{-6}) \times 100 =$$

2,4% do substrato foi convertido



Dosagem de enzima pela Atividade Enzimática



U = Unidade Internacional de atividade

U = quantidade de enzima

capaz de formar 1 mmol de

produto por minuto

Ex: Dosagem laboratorial de Alanina transaminase

Valor de referência = até 21

Resultado laboratorial = 1000

diagnóstico = provável hepatite viral aguda