

Enzimas

QBQ 0104 – Fisioterapia
2023

Reações químicas em sistemas biológicos devem acontecer numa velocidade compatível com a vida

- Reações podem ser **termodinamicamente favoráveis** mas ocorrerem em velocidades lentas demais!
- Reações precisam ser “**aceleradas**”.
 - A **cinética** das reações precisa ser compatível com a vida.

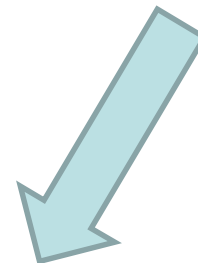
Enzimas



Lento



rápido



Enzimas

Macromoléculas biológicas com atividade catalítica

- Proteínas (maioria) e RNAs catalíticos
- Altamente específicas

Enzimas são catalizadores capazes de aumentar enormemente a velocidade de reações químicas

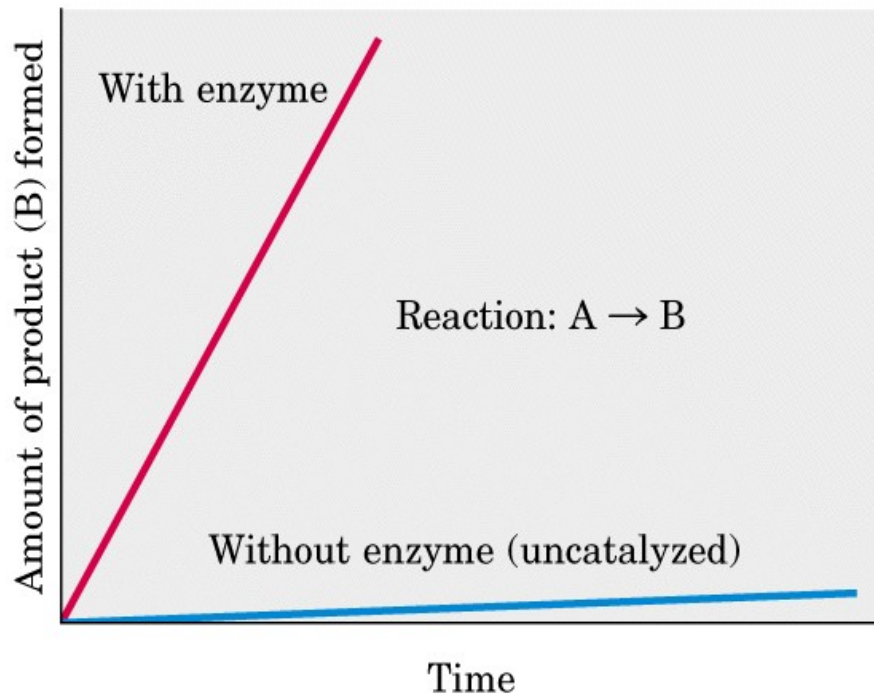


TABLE 6-5 Some Rate Enhancements Produced by Enzymes

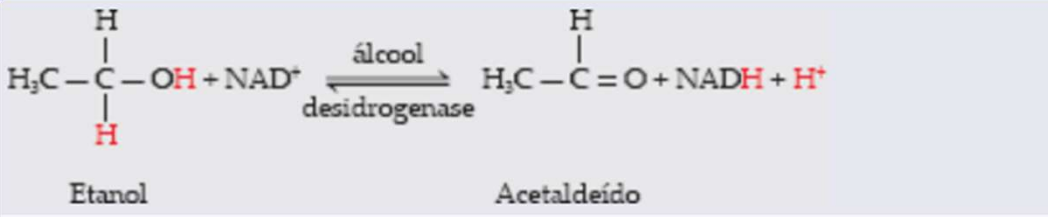
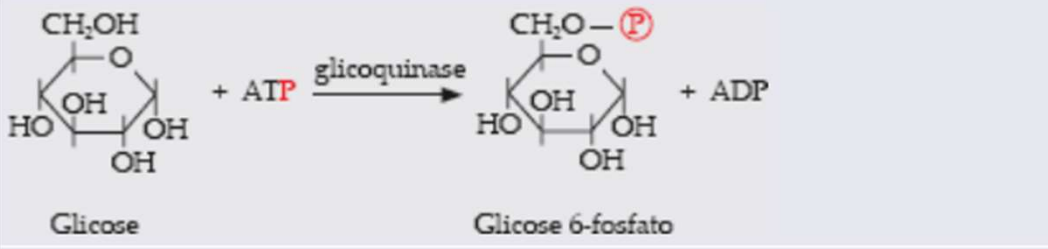
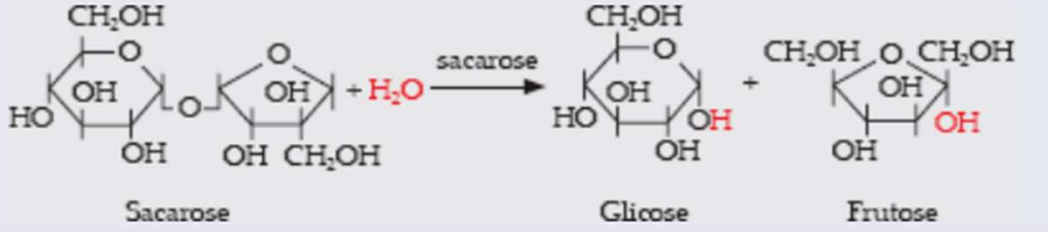
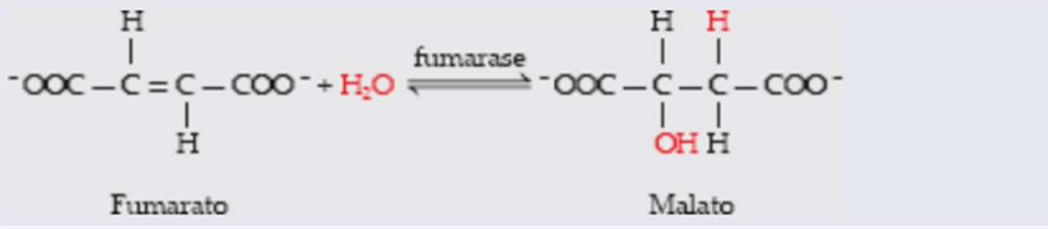
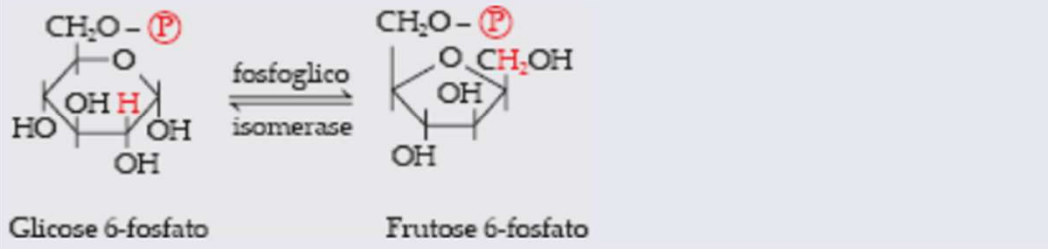
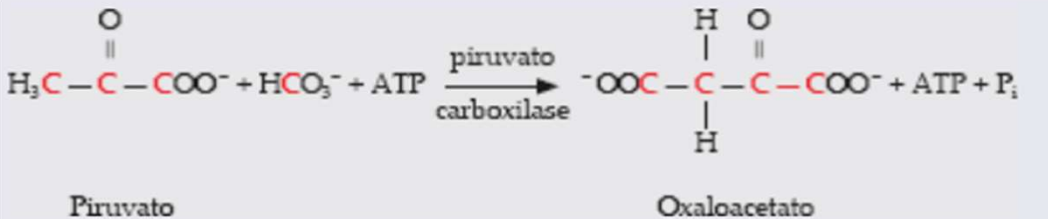
Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

Características das enzimas

- Não são consumidas na reação
- Organizam reações em vias
- Podem ser alvos de regulação

Função depende da estrutura da proteína

Tipos de reações catalisadas por enzimas

<p>1. Oxirredu-tz</p> <p>Oxidação-redução $AH_2 + B \rightleftharpoons A + BH_2$</p>	 <p>Etanol Acetaldeído</p>
<p>2. Transferase</p> <p>Transferência de grupos $A - X + B \rightleftharpoons A + B - X$</p>	 <p>Glicose Glicose 6-fosfato</p>
<p>3. Hidrolases</p> <p>Hidrólise $A - B + H_2O \rightleftharpoons A - H + B - OH$</p>	 <p>Sacarose Glicose Frutose</p>
<p>4. Liases</p> <p>Adição de grupos a duplas ligações ou remoção de grupos, deixando dupla ligação</p> $A = B + \begin{matrix} X & Y \\ & \\ A - & B \end{matrix} \rightleftharpoons A - B$	 <p>Fumarato Malato</p>
<p>5. Isomerases</p> <p>Rearranjos intramoleculares</p> $\begin{matrix} A - B \\ & \\ X & Y \end{matrix} \rightleftharpoons \begin{matrix} A - B \\ & \\ Y & X \end{matrix}$	 <p>Glicose 6-fosfato Frutose 6-fosfato</p>
<p>6. Ligases</p> <p>Condensação de duas moléculas, associada ao consumo de ATP</p> $A + B \rightleftharpoons A - B$	 <p>Piruvato Oxaloacetato</p>

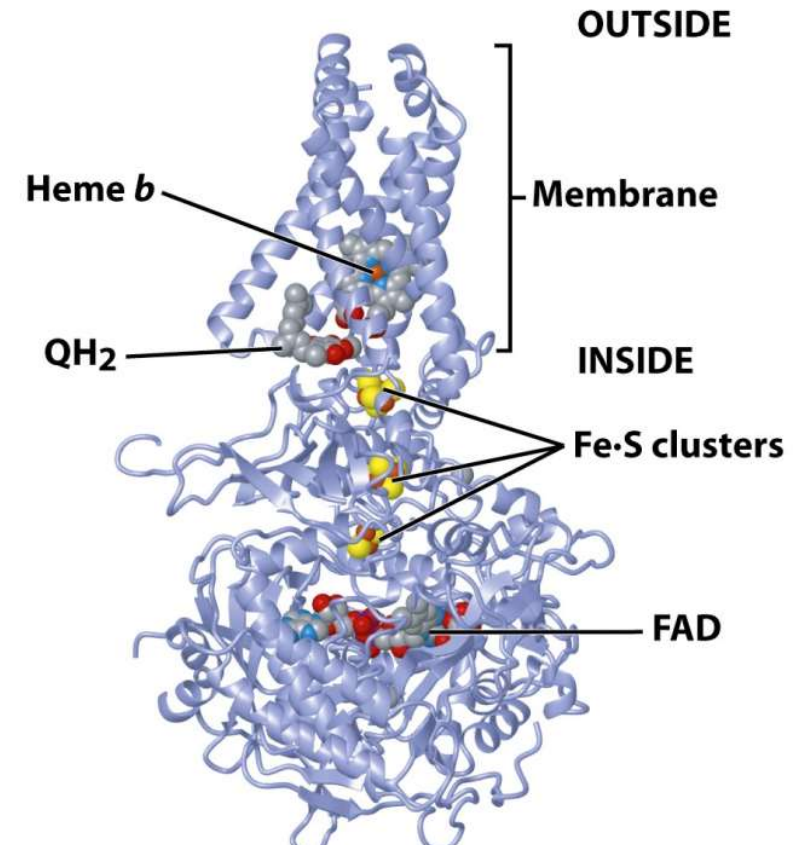
Algumas enzimas precisam de cofatores e/ou coenzimas

- Cofatores:

- íons inorgânicos: Fe^{2+}
 Mg^{2+}

- Coenzimas

- compostos orgânicos que transportam grupos químicos entre moléculas
 - **Vitaminas** são precursores de coenzimas, que devem ser obtidas da dieta



Succinato desidrogenase

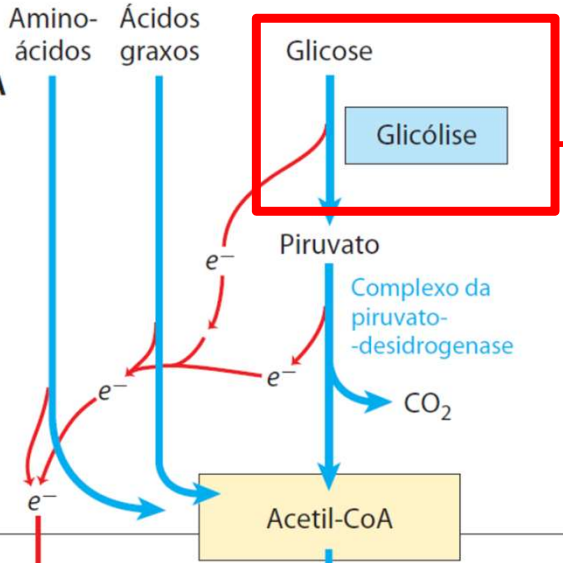
TABLE 6–1 Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu ²⁺	Cytochrome oxidase
Fe ²⁺ or Fe ³⁺	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K ⁺	Pyruvate kinase
Mg ²⁺	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn ²⁺	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni ²⁺	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

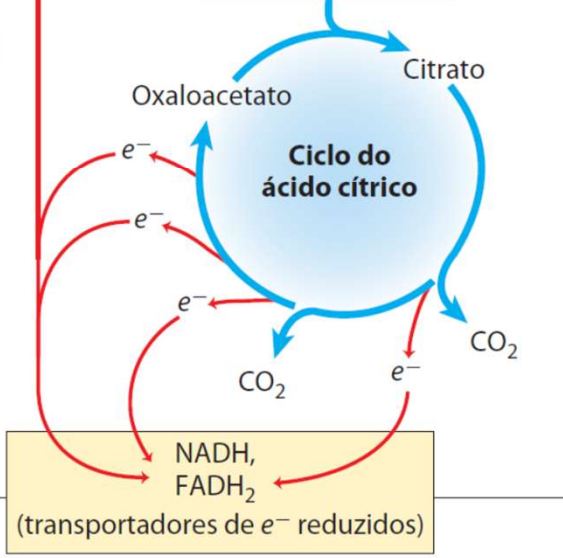
Cofatores e Coenzimas

Coenzima	Grupo transportado	Vitamina
Adenosina trifosfato (ATP)	Fosfato	—
Tiamina pirofosfato (TPP)	Aldeído	Tiamina (B ₁)
Flavina adenina dinucleotídio (FAD)	Hidrogênio	Riboflavina (B ₂)
Nicotinamida adenina dinucleotídio (NAD [≡])	Hidreto	Nicotinamida (B ₃)
Coenzima A	Acila	Ácido pantotênico (B ₅)
Piridoxal-fosfato	Amino	Piridoxina (B ₆)
Biotina	CO ₂	Biotina (B ₇)
Tetraidrofolato	Carbono	Ácido fólico (B ₉)
Metilcobalamina	Metil	Cobalamina (B ₁₂)

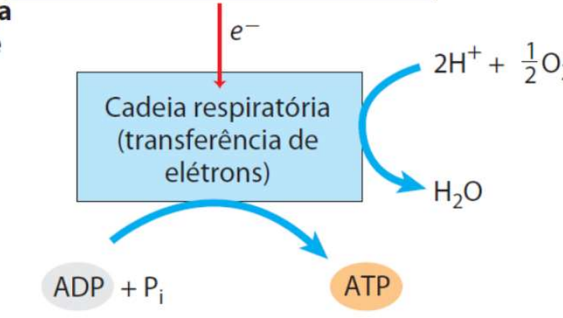
**Estágio 1
Produção
de acetil-CoA**



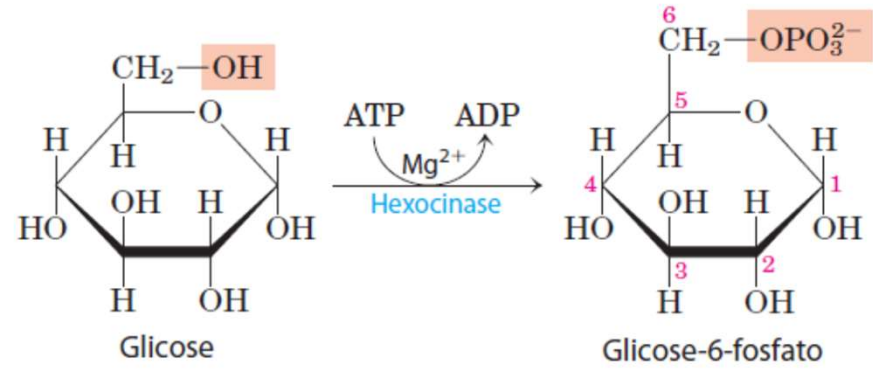
**Estágio 2
Oxidação da
acetil-CoA**



**Estágio 3
Transferência
de elétrons e
fosforilação
oxidativa**



Exemplo de reação com cofator



$\Delta G'^{\circ} = -16,7 \text{ kJ/mol}$

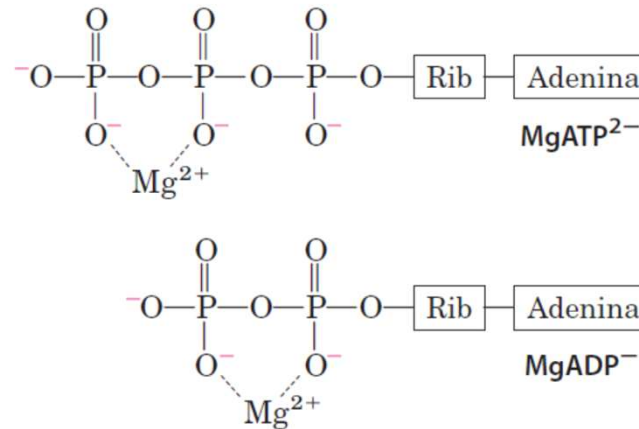
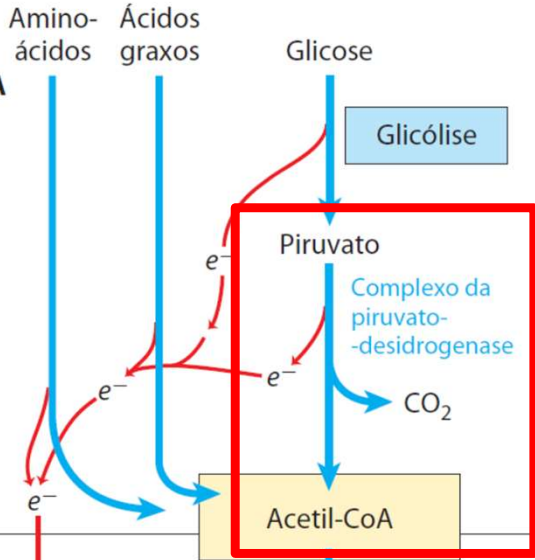
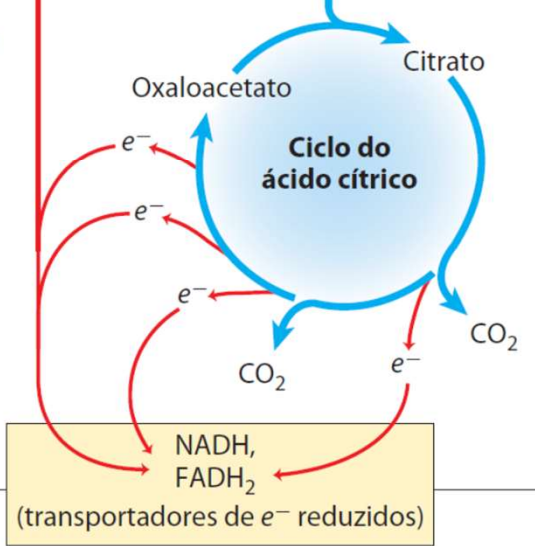


FIGURA 13-12 Mg²⁺ e ATP. A formação dos complexos com o Mg²⁺ isola parcialmente as cargas negativas e influencia a conformação dos grupos fosfato em nucleotídeos como ATP e ADP.

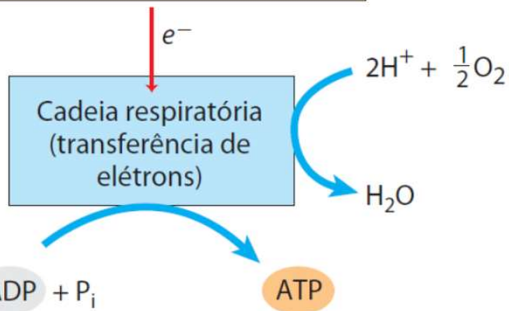
Estágio 1
Produção
de acetil-CoA



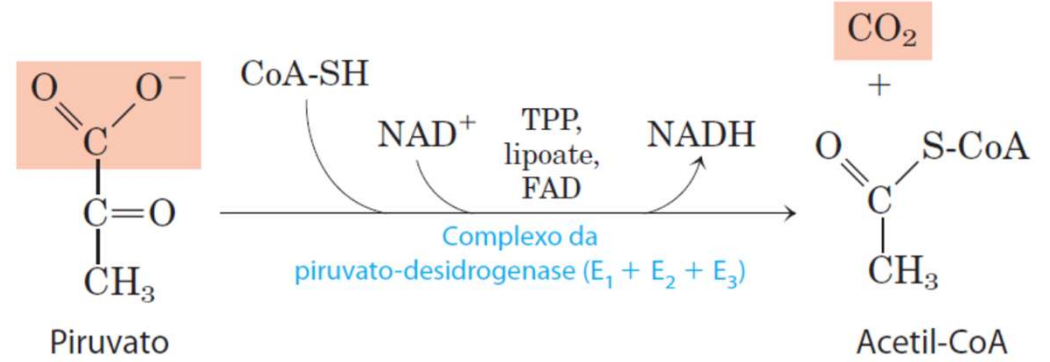
Estágio 2
Oxidação da
acetil-CoA



Estágio 3
Transferência
de elétrons e
fosforilação
oxidativa

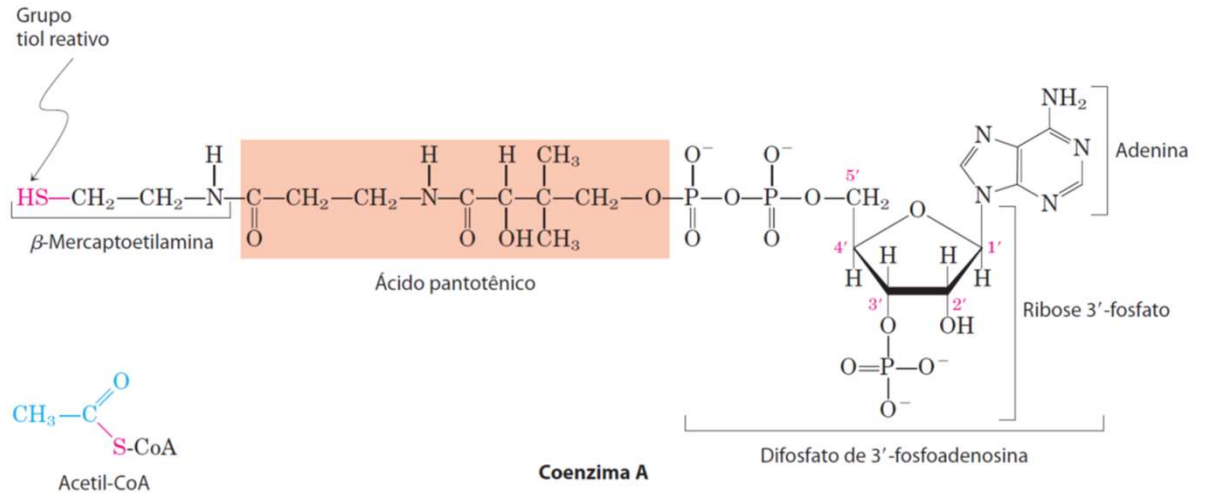


Exemplo de reação com coenzima



$\Delta G'^{\circ} = -33,4 \text{ kJ/mol}$

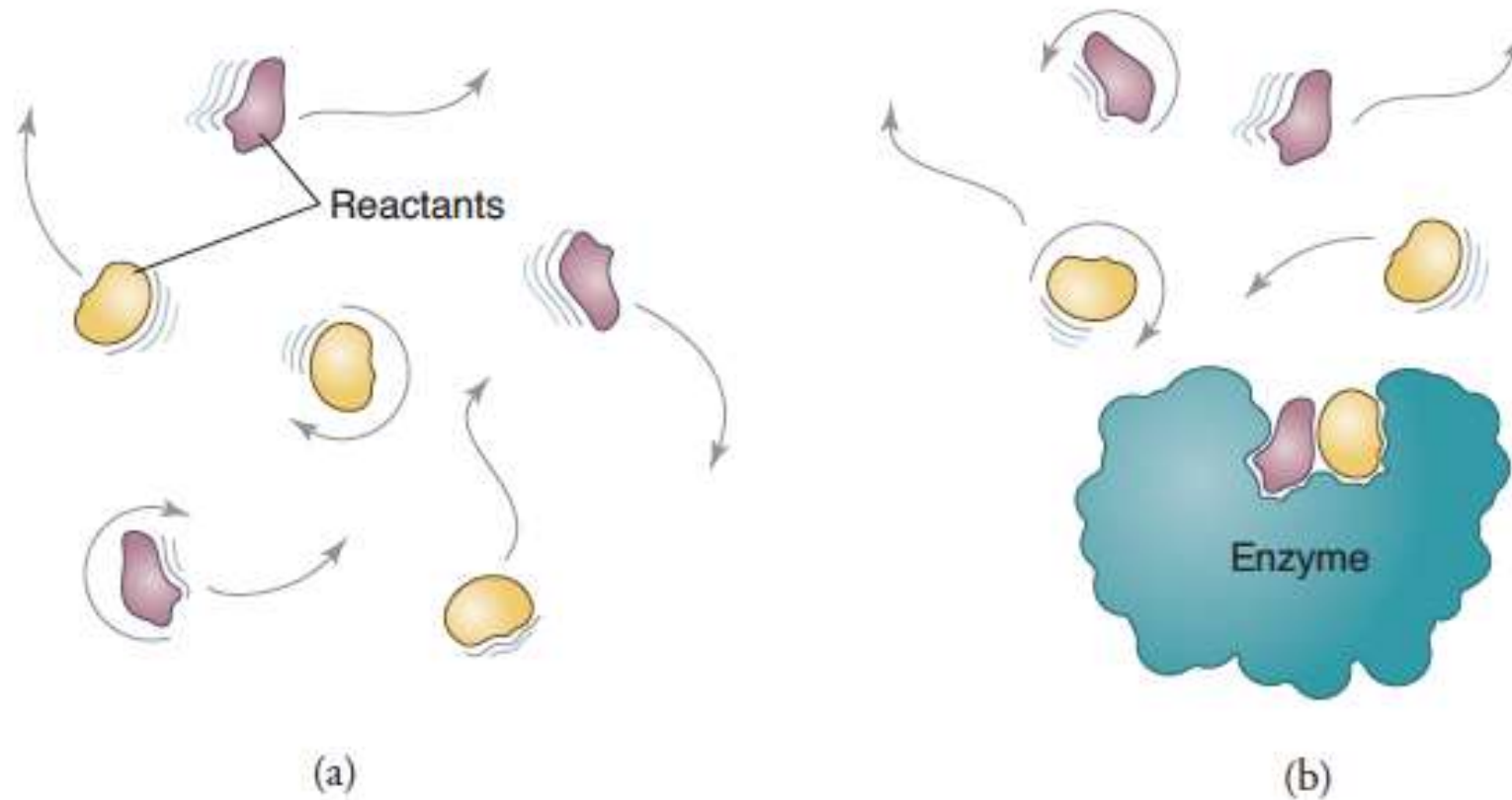
FIGURA 16-2 **Reação geral catalisada pelo complexo da piruvato-desidrogenase.** As cinco enzimas participantes desta reação e as três enzimas que formam o complexo são discutidas no texto.



Como funcionam as enzimas?

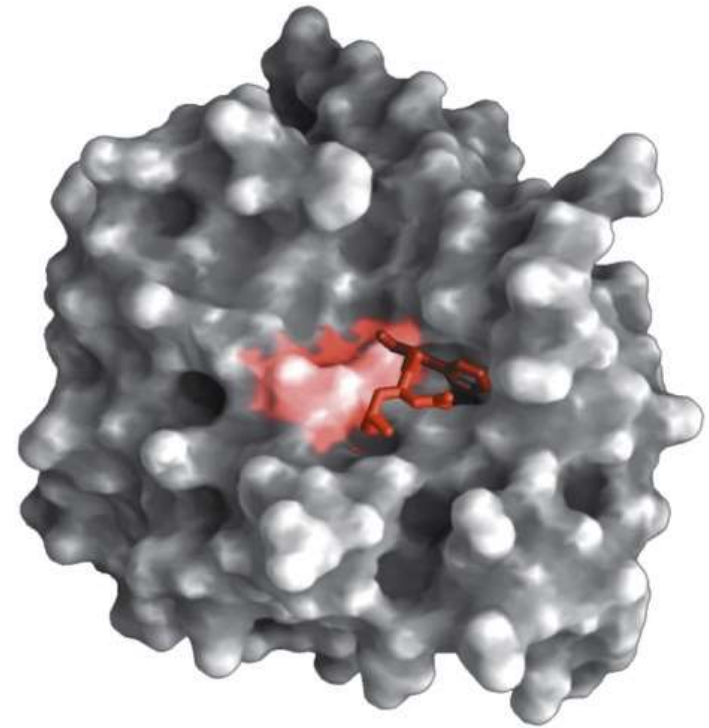
Como elas aceleram a
velocidade de uma reação?

“Colisões Efetivas” são necessárias para formar produto



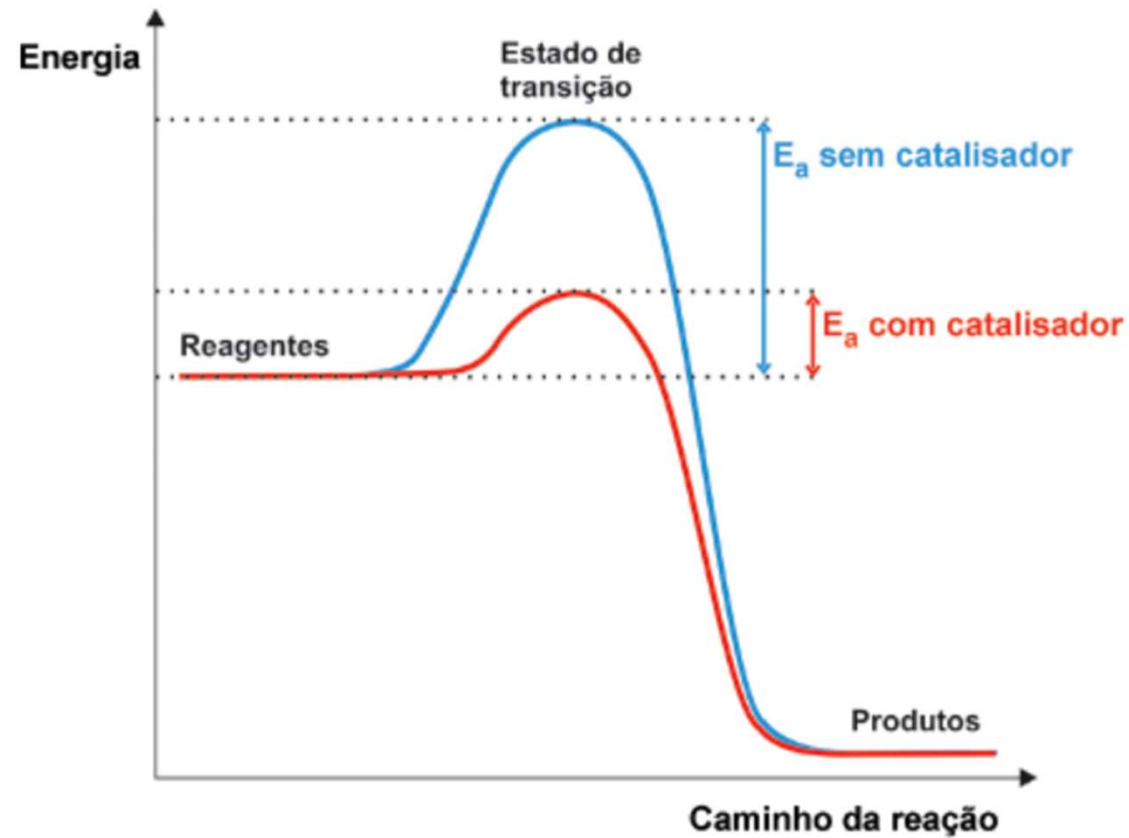
Sítio Ativo

Proporciona um ambiente favorável ao encontro de substratos e catálise



Cadeias laterais de aminoácidos criam uma região específica complementar aos **SUBSTRATOS**

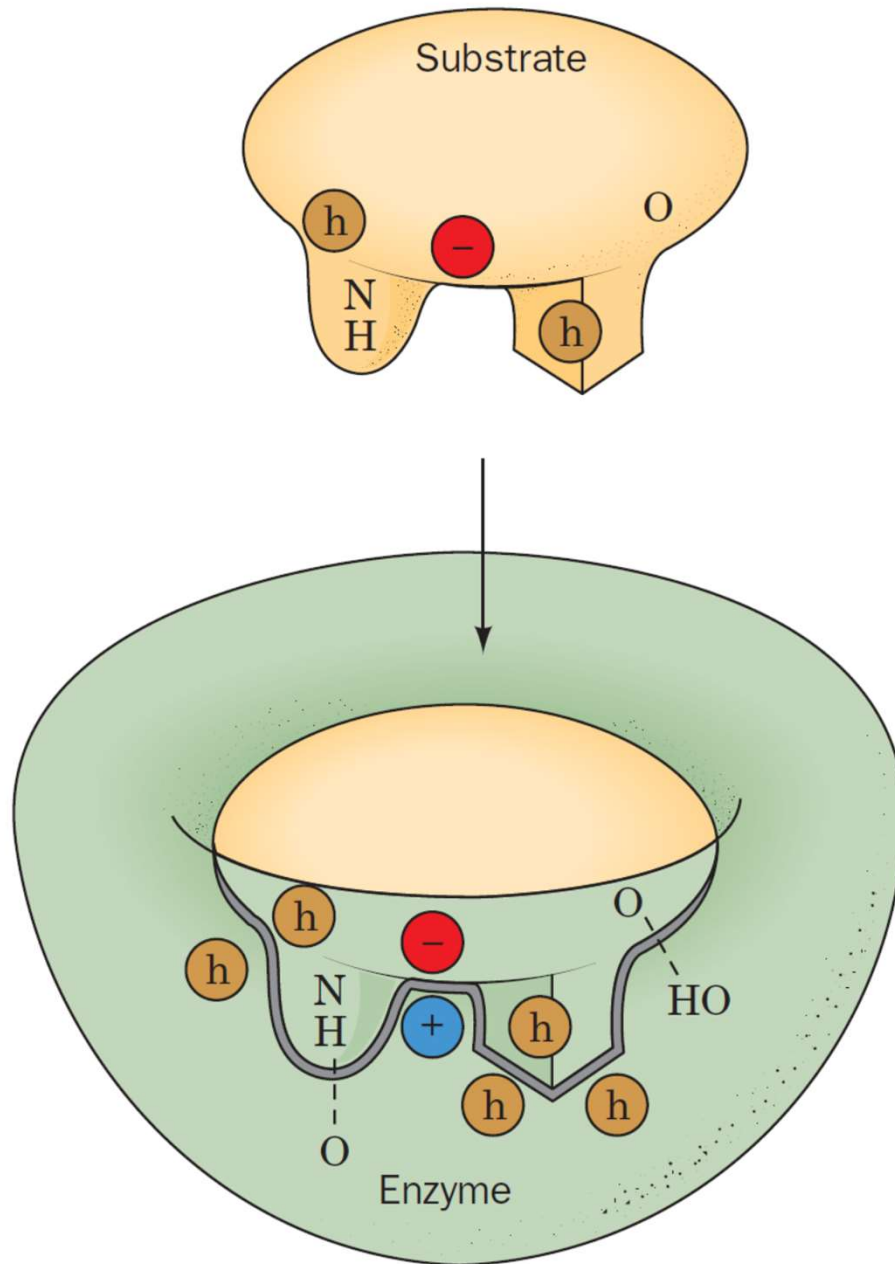
Como funcionam as enzimas?



Como as enzimas diminuem a energia de ativação?

- A formação de cada interação fraca no complexo ES é acompanhada pela liberação de uma pequena quantidade de energia livre que estabiliza a interação.
- Interações fracas são otimizadas no estado de transição da reação. Os sítios ativos das enzimas são complementares não aos substratos por si mesmos, mas aos estados de transição.

Como as enzimas diminuem a energia de ativação?

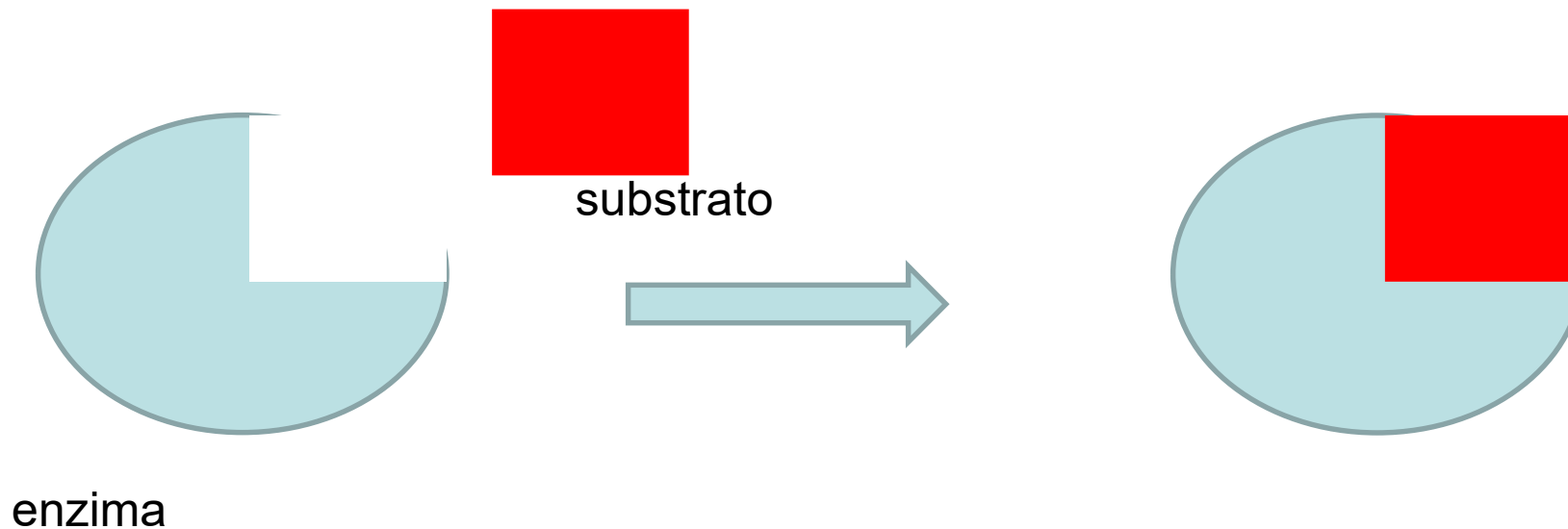


h = região hidrofóbica
+ /- ponte salina
----- ligação de hidrogênio

* As interações são máximas no estado de transição

Modelo chave-fechadura

Emil Fischer, propôs, em 1894, que as enzimas seriam estruturalmente complementares aos seus substratos de modo a se encaixarem como uma chave em uma fechadura

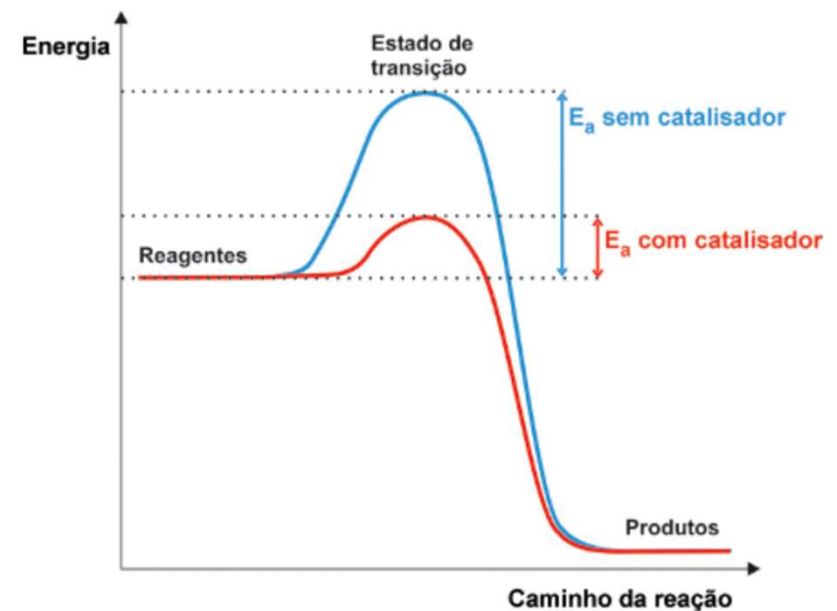
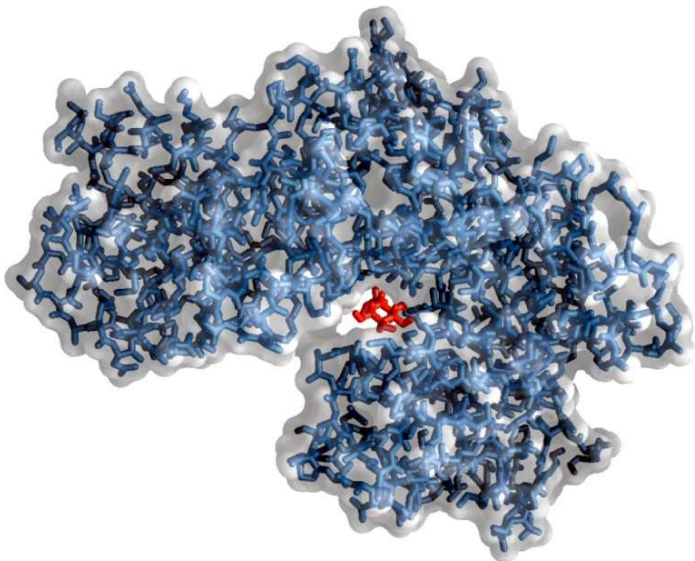


“*induced fit*”

Encaixe Induzido

Proposto por Michael Polanyi (1921) e Haldane (1930),
elaborada por Linus Pauling em 1946 e por William P. Jencks década de 1970.

Para poder catalisar reações, as enzimas devem ser complementares ao *estado de transição da reação*.

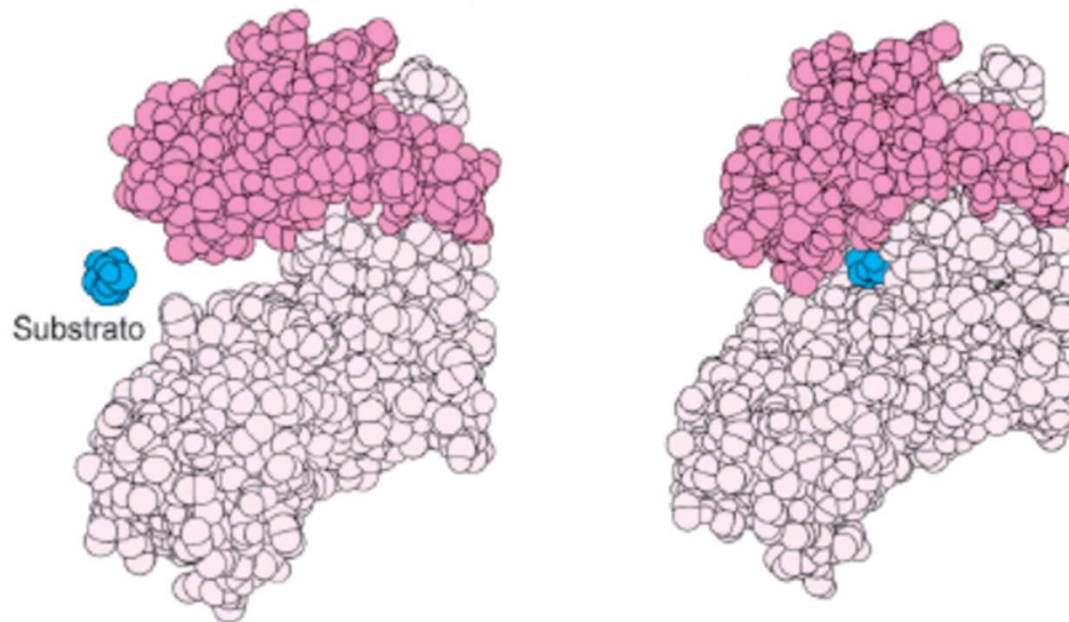


“*induced fit*”

Encaixe Induzido

- A relação substrato-enzima não deve ser entendida como um modelo rígido de chave-fechadura.
- A ligação do substrato induz uma mudança na conformação da enzima, moldando sua forma à do substrato e fazendo-a adquirir uma nova configuração, ideal para a catálise.

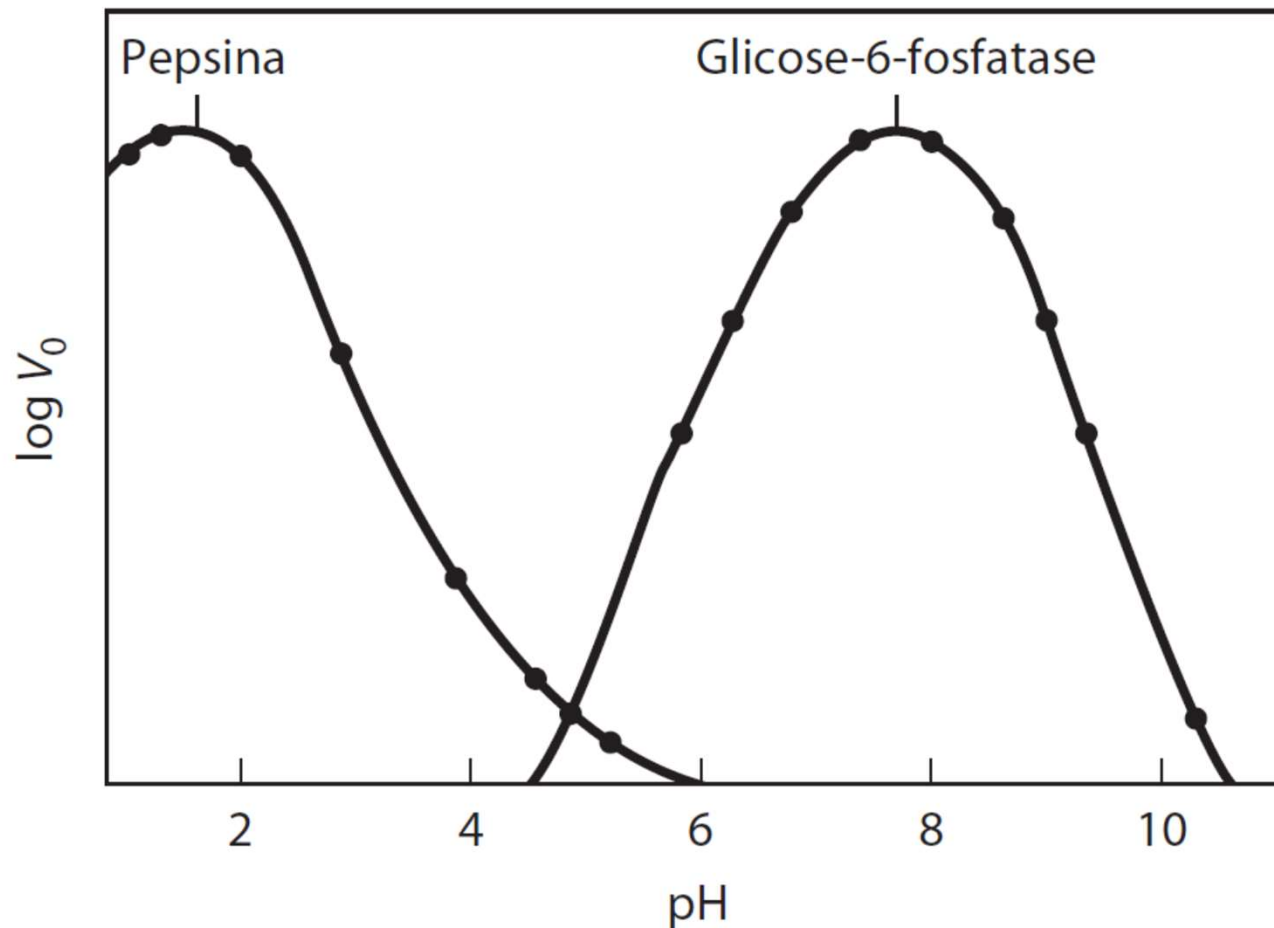
Hexoquinase:
mudança de
conformação
induzida pela
ligação com o
substrato.



Velocidade das reações enzimáticas dependem de:

- Enzima (identidade e concentração)
- Concentração dos substratos
- Temperatura
- pH
- Efetores (cofatores, coenzimas, inibidores, ativadores)

A atividade enzimática depende do pH

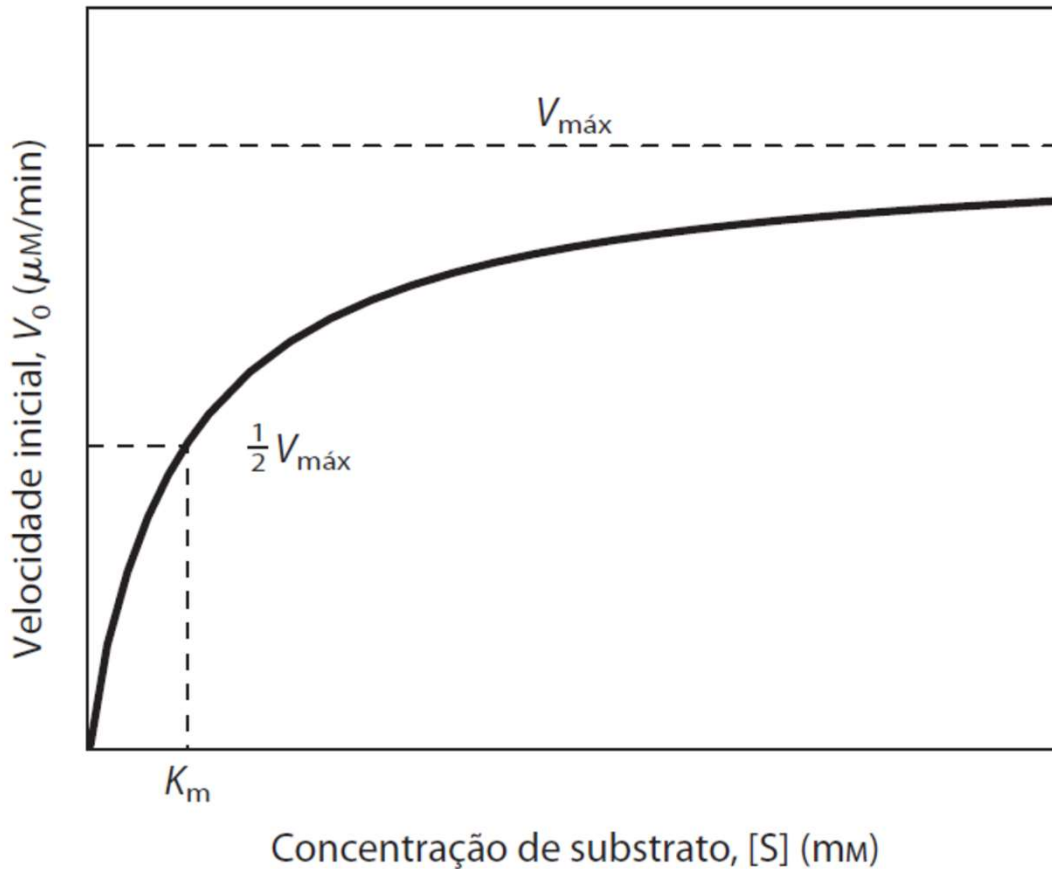


Pepsina: presente no estômago

Glicose-6-fosfato do fígado

Enzimas Michaelianas

Seguem a cinética de Michaelis -Menten



Leonor Michaelis, 1875-1949

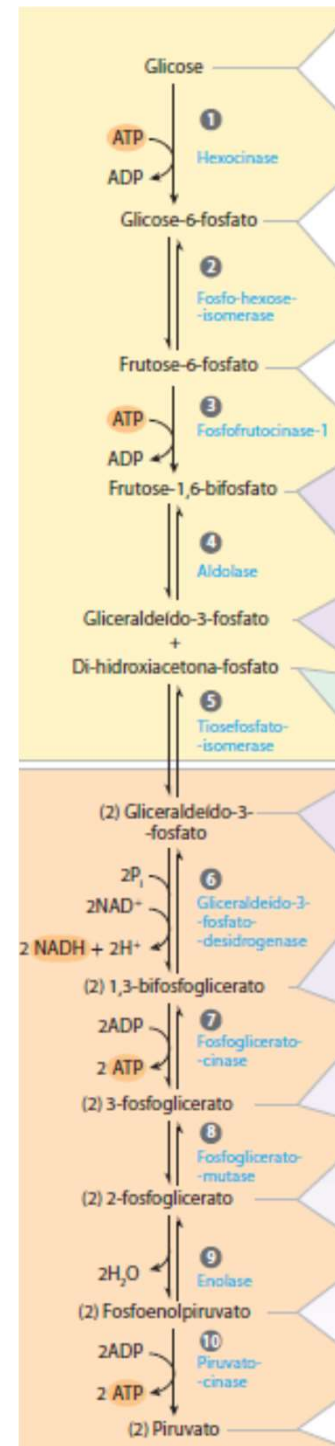


Maud Menten, 1879-1960

dependência hiperbólica de V_0 em relação a $[S]$ são denominadas de enzimas que seguem a cinética de Michaelis e Mentem.

Enzimas Regulatórias

- grupos de enzimas trabalham conjuntamente em **vias sequenciais**
- o produto da reação de uma enzima é o substrato da enzima seguinte
- A maioria das enzimas de vias metabólicas segue cinética Michaelis-Menten (não são regulatórias!).
- **enzimas regulatórias** influenciam a velocidade de todas as reações
- têm a atividade catalítica aumentada ou diminuída em resposta a certos sinais.



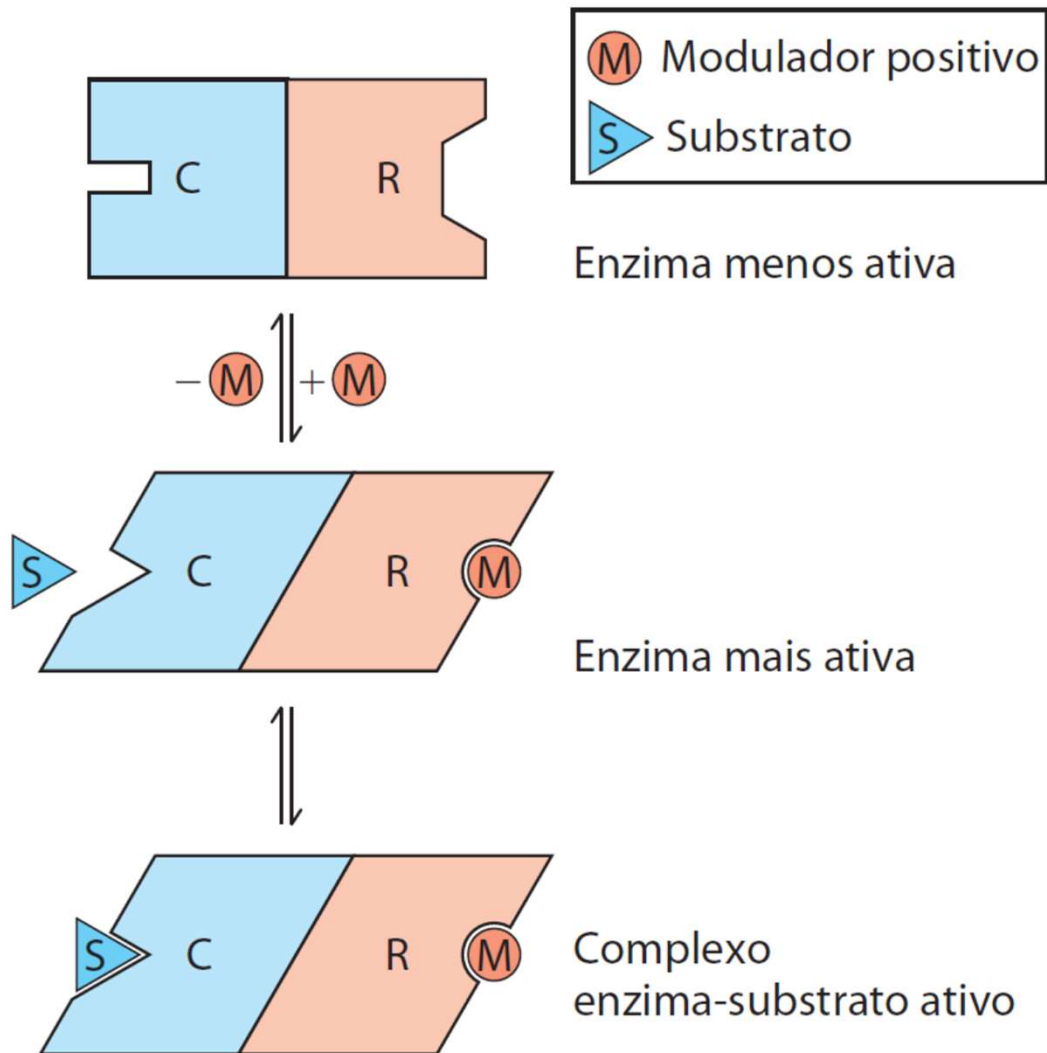
Enzimas Regulatórias

Duas classes :

- **Enzimas Alostéricas** - ligações reversíveis e não covalentes com compostos regulatórios **moduladores alostéricos** ou **efetores alostéricos**, que geralmente são metabólitos pequenos ou cofatores.
- Enzimas reguladas por **modificações covalentes reversíveis**.

enzimas regulatórias tendem a ser proteínas com subunidades múltiplas e, em alguns casos, o(s) sítio(s) regulatório(s) e o sítio ativo se encontram em subunidades separadas.

Enzimas Alostéricas



Atividade regulada
pela ligação de um
efetuador/modulador

Efetuador pode ter
efeito **POSITIVO** ou
NEGATIVO

Enzimas alostéricas

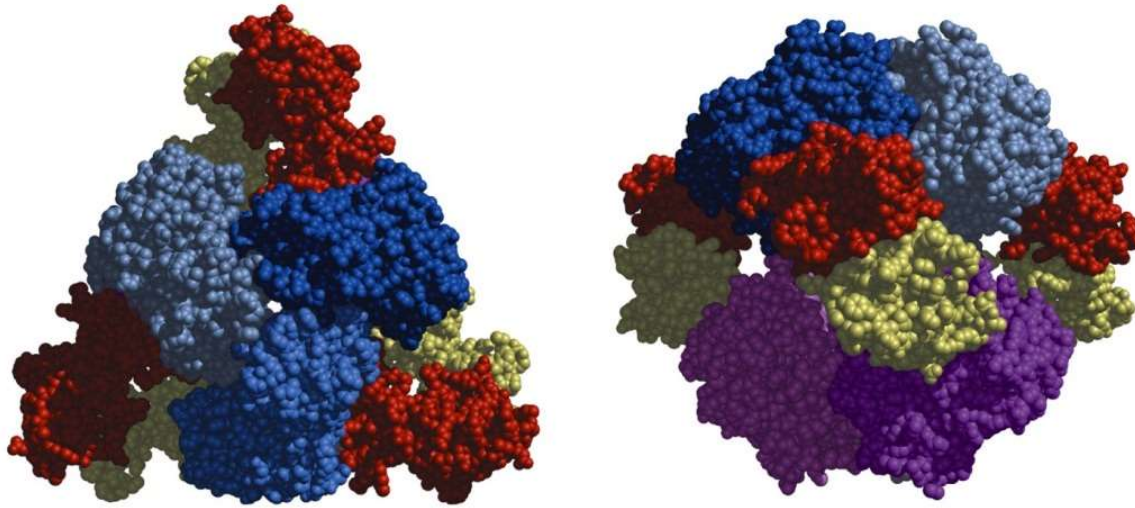
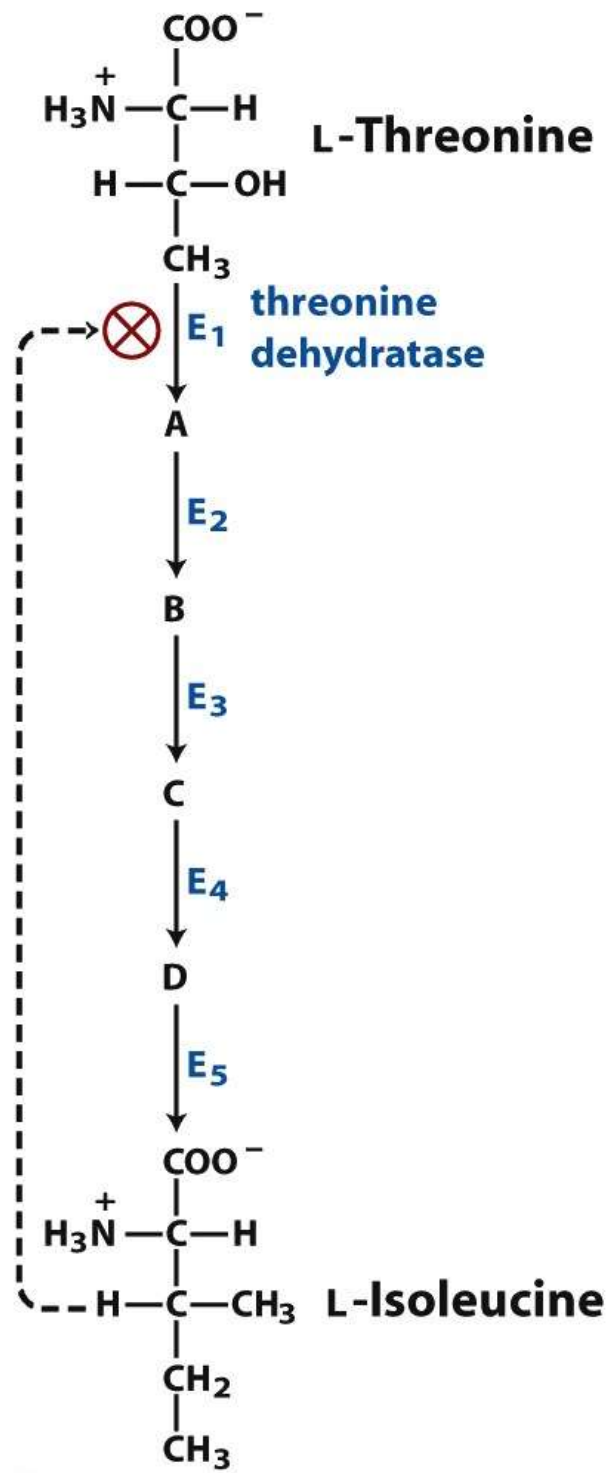


Figure 6-32
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

- Várias subunidades
 - Regulatórias
 - Catalíticas

ligação de um modulador ao sítio específico leva a uma mudança conformacional que afeta o sítio ativo que então é capaz de ligar o substrato (S) com afinidade diferente

Regulação da Atividade Enzimática

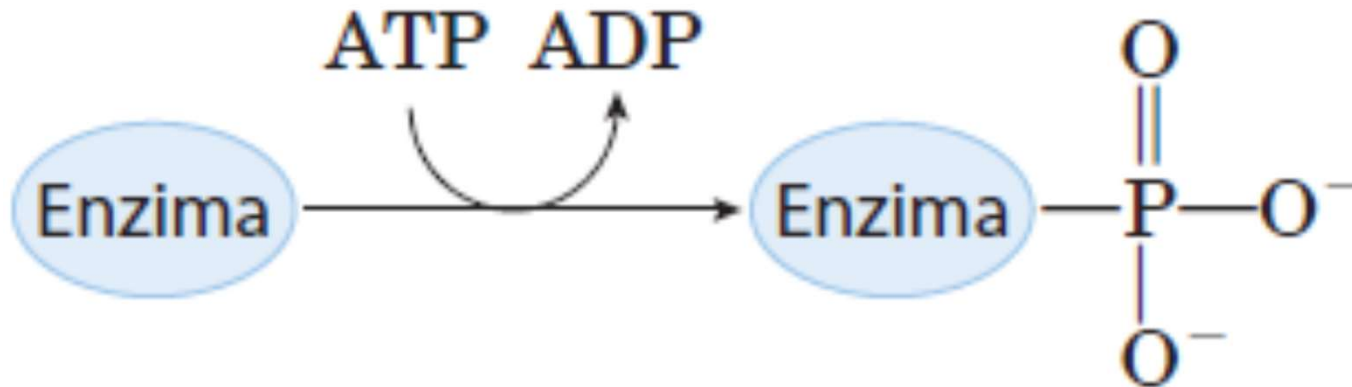


Regulação por
 retroalimentação
 (feedback)
 negativa

Enzimas reguladas por modificações covalentes reversíveis.

Fosforilação

(Tyr, Ser, Thr, His)



grupos modificadores:
fosforil, acetil, adenilil,
uridilil, metil, amida,
carboxil, miristoíl,
palmitoíl, prenil, hidroxila,
sulfato e
ribosiladenosina-difosfato

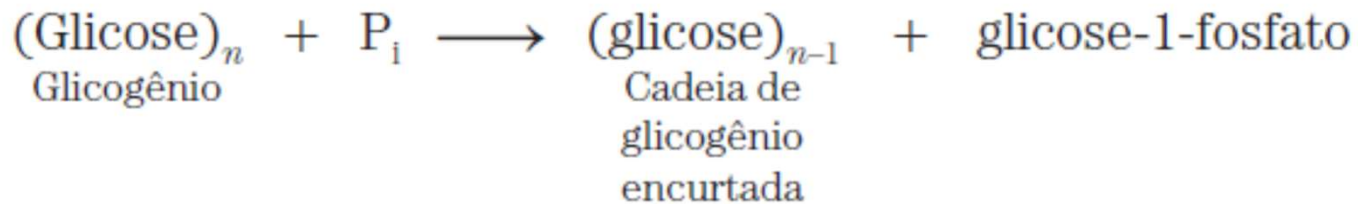
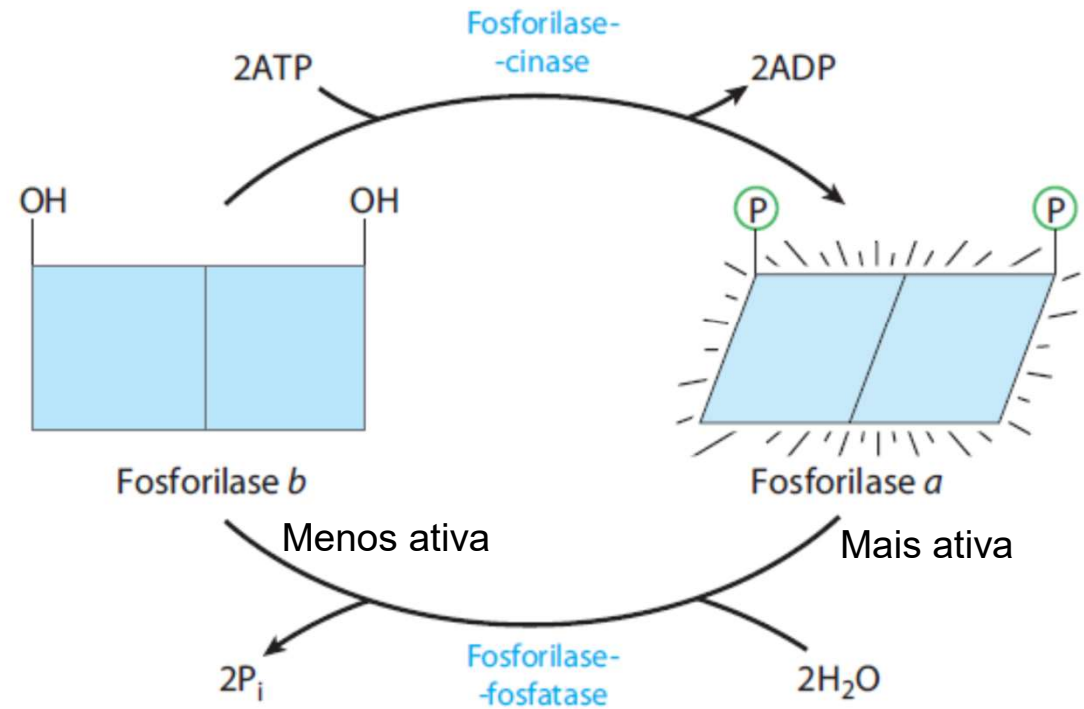
grupos modificadores são ligados e removidos às enzimas regulatórias por enzimas distintas.

A modificação de um resíduo de aminoácido leva a um novo resíduo de aminoácido com propriedades diferentes.

Ex: A introdução de uma carga pode alterar as propriedades locais da enzima e introduzir uma mudança na conformação.

Enzimas reguladas por modificações covalentes reversíveis - fosforilação

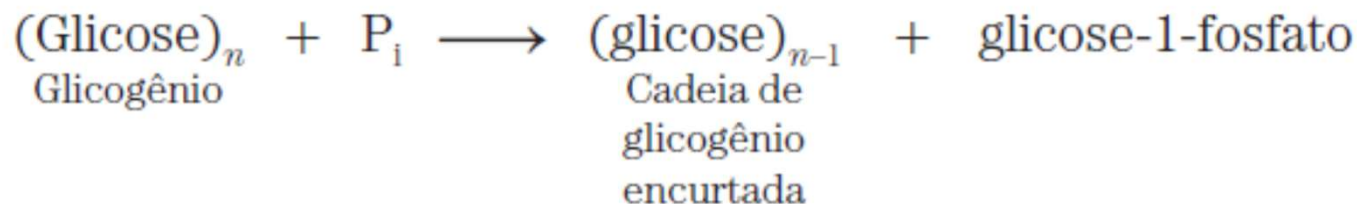
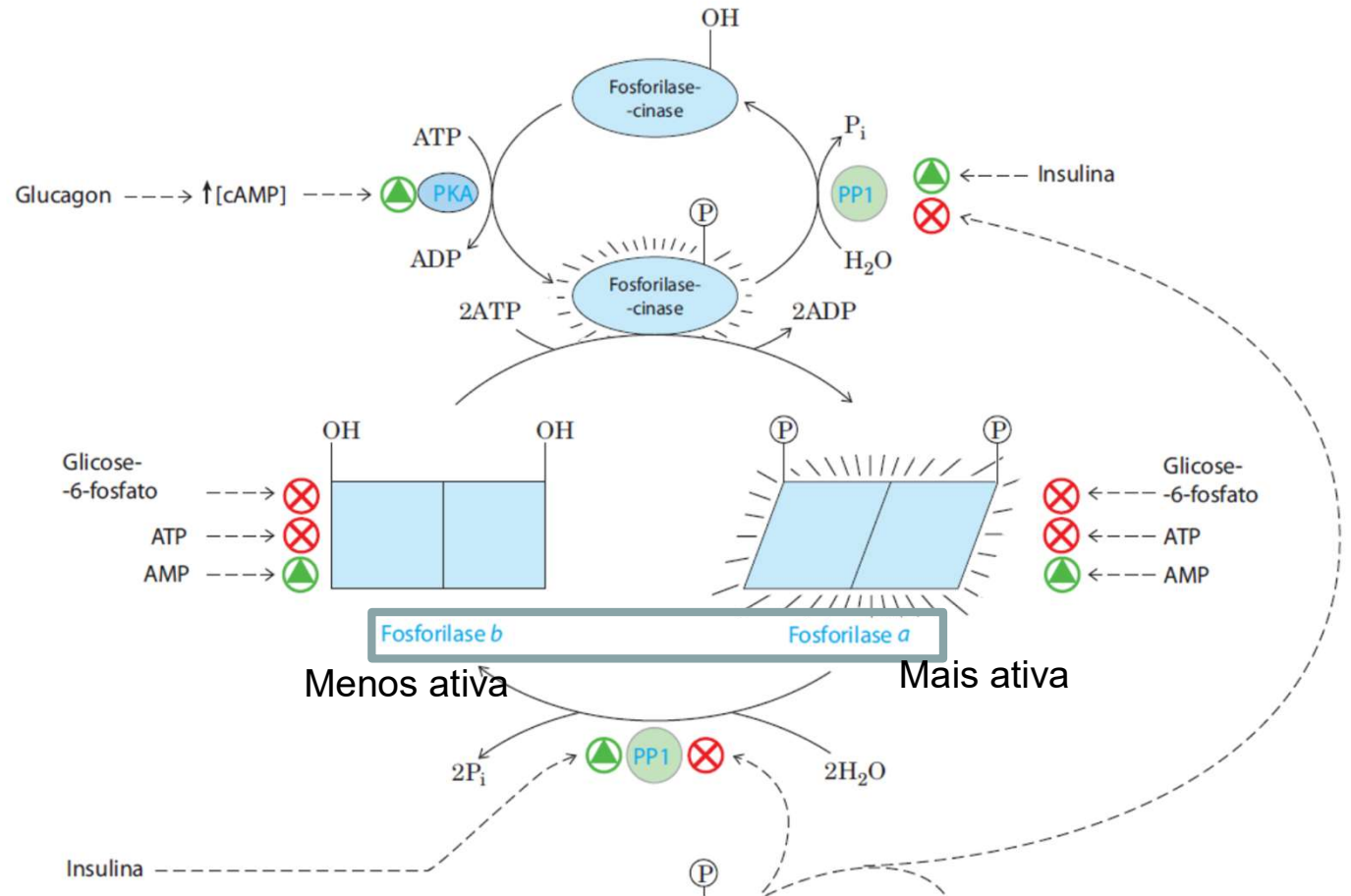
Glicogênio fosforilase



Enzimas reguladas por modificações covalentes reversíveis - fosforilação

Glicogênio fosforilase

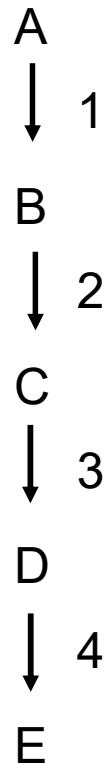
- Regulação alostérica + AMP
- glicose-6-fosfato, ATP
- Regulação por modificação covalente
- Grupos fosfato deixam a enzima mais ativa



Exercícios

- 1) Explique como as enzimas atuam. O que elas modificam em uma reação, e como fazem isso?
- 2) Diferencie uma enzima que segue a cinética de Michaelis-Menten e uma enzima regulatória.
- 3) Diferencie a regulação enzimática alostérica e por modificação covalente.
- 4) Defina: Substrato, Cofator, Coenzima, modulador, retroalimentação negativa
- 5) Proponha uma hipótese para a dependência do pH na atividade enzimática

6) A via metabólica ao lado é composta dos substratos A, B, C, D e E e das enzimas 1, 2, 3 e 4. Sugira qual enzima(s) seria uma enzima alostérica e quais seguiriam a cinética de Michaelis-Menten, e qual substrato seria preferencialmente um regulador de atividade enzimática. Justifique.



7) Quando uma solução de enzima é aquecida, há perda progressiva da atividade catalítica com o tempo, devido à desnaturação da enzima. Uma solução da enzima hexocinase incubada a **45 °C perde 50%** da atividade em 12 minutos, mas, quando incubada a **45 °C na presença de uma grande quantidade de um dos seus substratos, ela perde apenas 3%** da atividade em 12 minutos. Sugira uma explicação para o fato.