

Conceitos - Enzimas

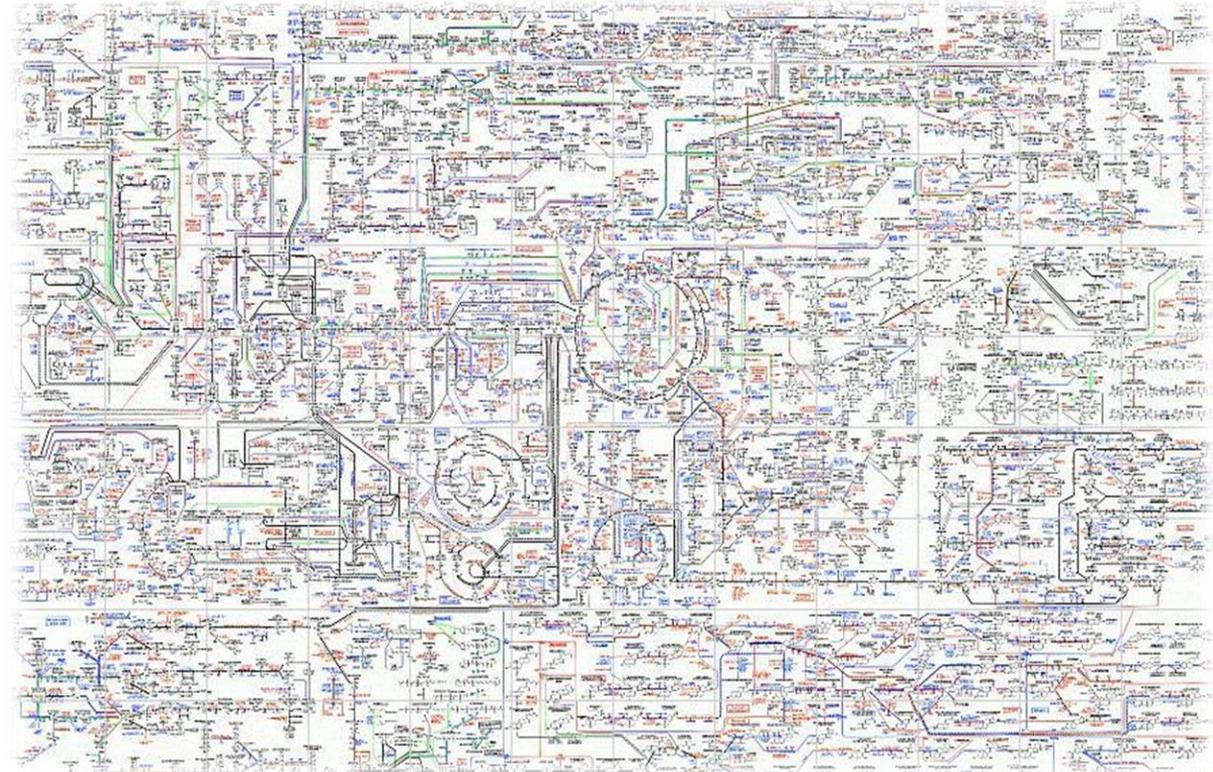
Daniela Ramos Truzzi
dtruzzi@iq.usp.br



A manutenção da vida da célula depende de reações químicas:

1. Que devem ocorrer em **velocidades adequadas**
2. Precisam ter alto grau de **especificidade**

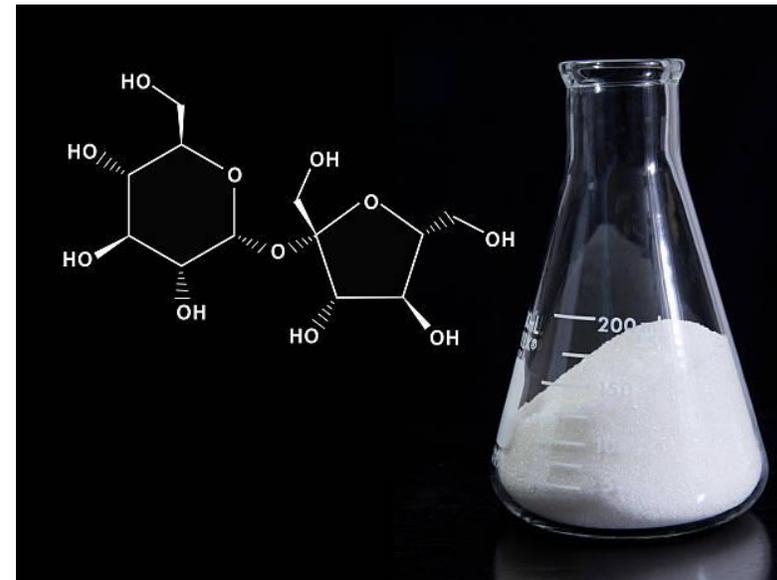
- ✓ Nos seres vivos, a maior parte das reações tem **velocidade desprezível**, apesar de serem termodinamicamente favoráveis.
- ✓ As **enzimas têm um poder catalítico extraordinário**, geralmente muito maior do que os catalisadores sintéticos.



A manutenção da vida da célula depende de reações químicas:

Por exemplo, a **oxidação de carboidratos** é a principal forma que **retiramos energia** do meio ambiente

- ✓ Um saco de açúcar pode permanecer anos na prateleira em contato com o oxigênio sem que a glicose seja oxidada em CO_2 e H_2O (apesar desta reação ser exergônica)
- ✓ Enquanto nos organismos, a glicose é rapidamente oxidada através de reações catalíticas.



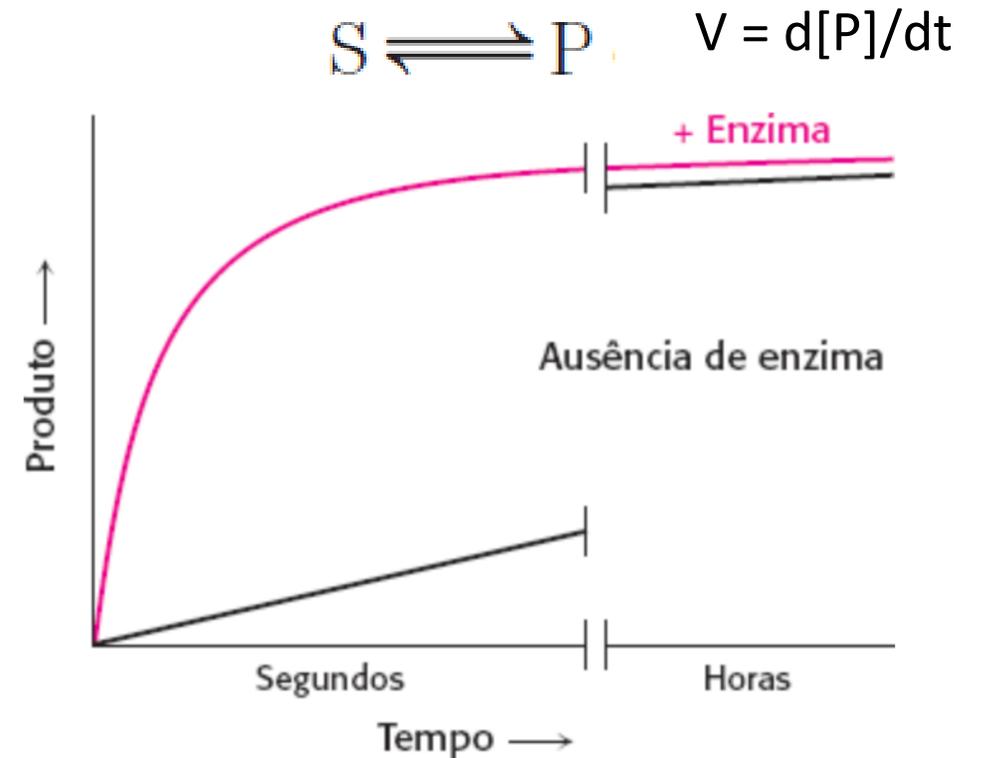
O que são as enzimas?

✓ São os catalisadores das reações biológicas → **umentam a velocidade** de reação por um fator de **10^5 a 10^{17}**

TABELA 6-5 Alguns aumentos de velocidade proporcionados por enzimas

Ciclofilina	10^5
Anidrase carbônica	10^7
Triose-fosfato-isomerase	10^9
Carboxipeptidase A	10^{11}
Fosfoglicomutase	10^{12}
Succinil-CoA-transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidina-monofosfato-descarboxilase	10^{17}

Princípios de bioquímica de Lehninger; David L. Nelson, Michael M. Cox;
6. ed, Artmed, 2014.

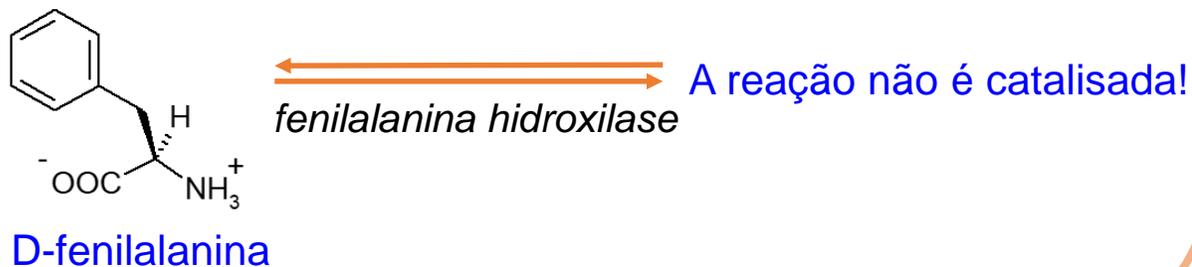
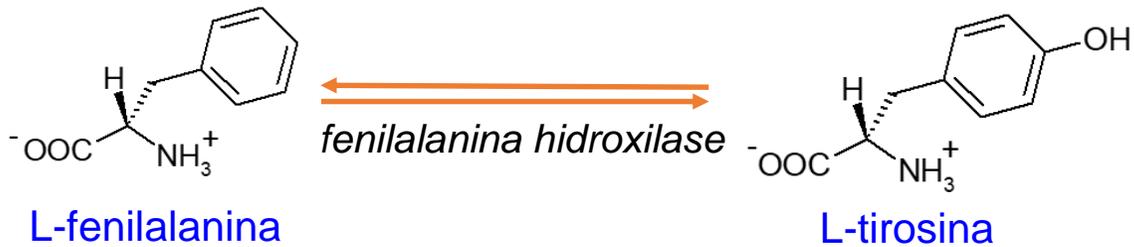


Bioquímica Básica - A. Marzzoco & B.B. Torres - Ed. Guanabara
Koogan – 2ª ed. - 1998.

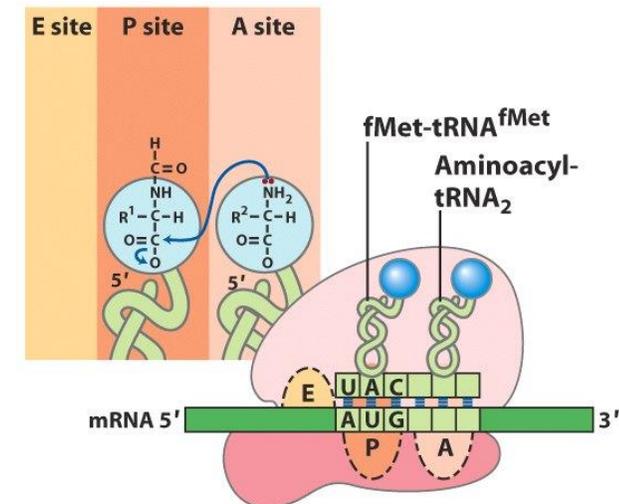
O que são as enzimas?

- ✓ São os catalisadores das reações biológicas → **umentam a velocidade** de reação por um fator de **10^5 a 10^{17}**

- ✓ Altamente especializadas → **Alto grau de especificidade com substratos**



- ✓ Exceto pelo RNA catalítico (ribozimas), todas as enzimas são **proteínas**

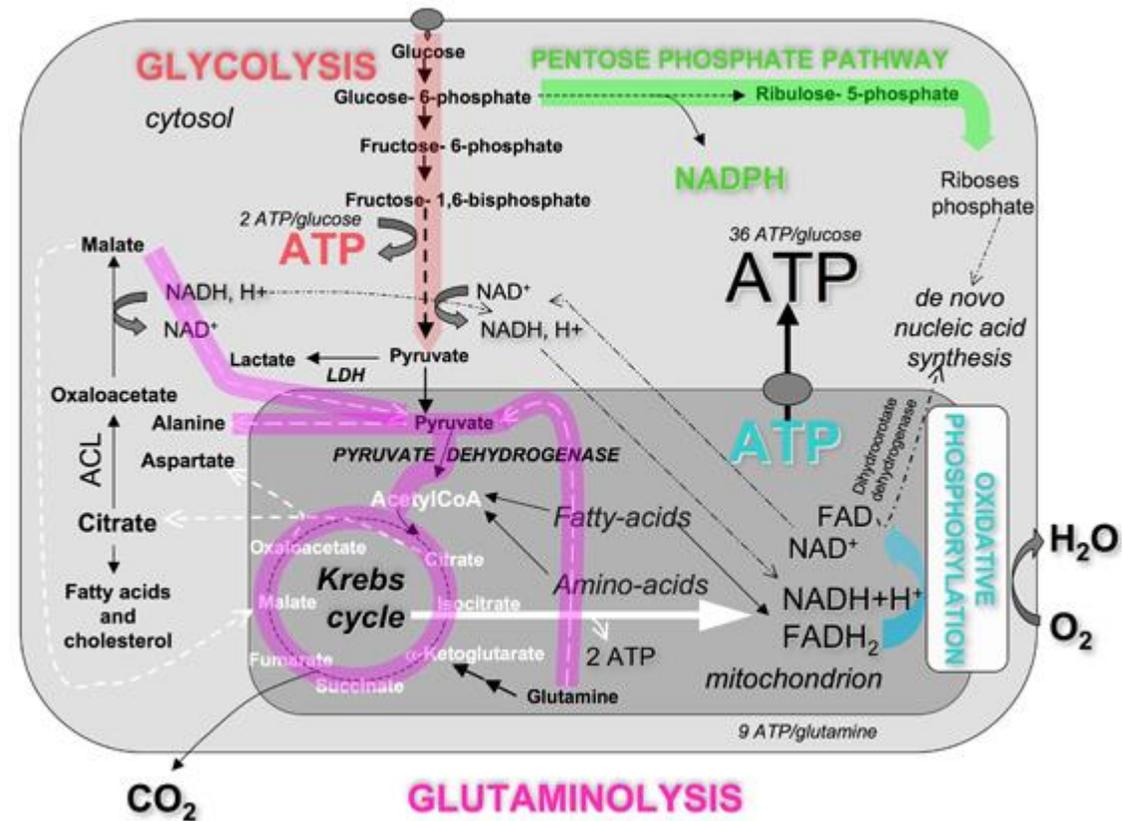


Proteínas são sintetizadas nos ribossomos

Princípios de bioquímica de Lehninger; David L. Nelson, Michael M. Cox; 6. ed, Artmed, 2014.

As enzimas participam de diversas reações bioquímicas essenciais, como as que fazem parte das **vias metabólicas**. Enzimas são, portanto, essenciais nos seres vivos

- ✓ **Enzimas** realizam o controle preciso do metabolismo celular
- ✓ O **metabolismo energético** é um dos principais temas de estudo da bioquímica
- ✓ Permitem resposta e adaptação a um meio em mudança



Doenças genéticas e adquiridas podem ocorrer devido ao mal funcionamento de enzimas

Exemplos:

- Defeito no gene na tirosina hidroxilase resulta em **albinismo**
- Diversos tipos de **câncer** apresentam desregulação de enzimas de sinalização
- Diversas **doenças metabólicas** são resultado de disfunção de enzimas



albinismo é resultado de atividade defectiva da enzima que converte tirosina à um precursor da melanina, o pigmento da pele, cabelo e olhos

Algumas enzimas precisam de cofatores ou coenzimas

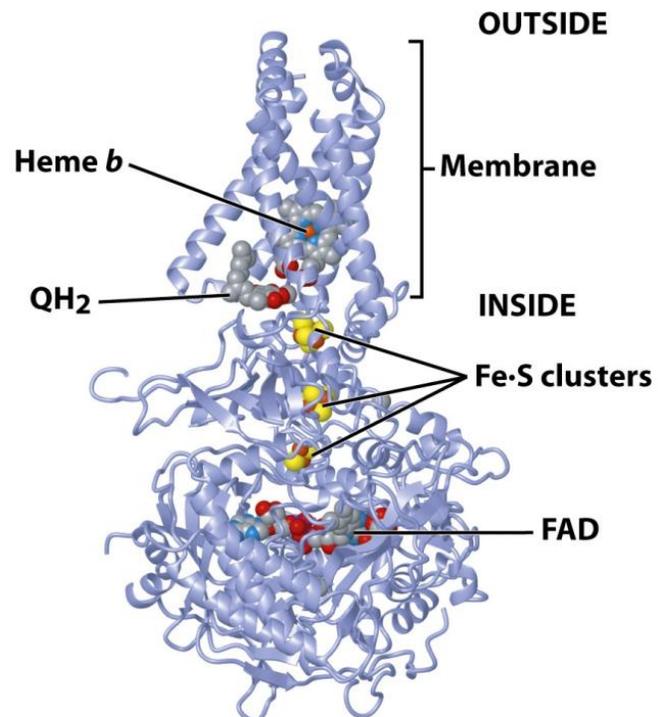


Figure 14-8 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

As enzimas podem conter apenas a **cadeia polipeptídica**, ou podem conter ainda:

Cofatores (íons inorgânicos)

Coenzimas (moléculas orgânicas ou metalorgânicas)

Succinato desidrogenase

Exemplos de Cofatores e Coenzimas

TABELA 6-1 Alguns íons inorgânicos que servem de cofatores para enzimas

Íons	Enzimas
Cu ²⁺	Citocromo-oxidase
Fe ²⁺ ou Fe ³⁺	Citocromo-oxidase, catalase, peroxidase
K ⁺	Piruvato-cinase
Mg ²⁺	Hexocinase, glicose-6-fosfatase, piruvato-cinase
Mn ²⁺	Arginase, ribonucleotídeo-redutase
Mo	Dinitrogenase
Ni ²⁺	Urease
Zn ²⁺	Anidrase carbônica, álcool-desidrogenase, carboxipeptidases A e B

TABELA 6-2 Algumas coenzimas que servem como

Coenzima

Biocina

Coenzima A

5'-Desoxiadenosilcobalamina (coenzima B₁₂)

Flavina-adenina-dinucleotídeo

Lipoato

Nicotinamida-adeninadinucleotídeo

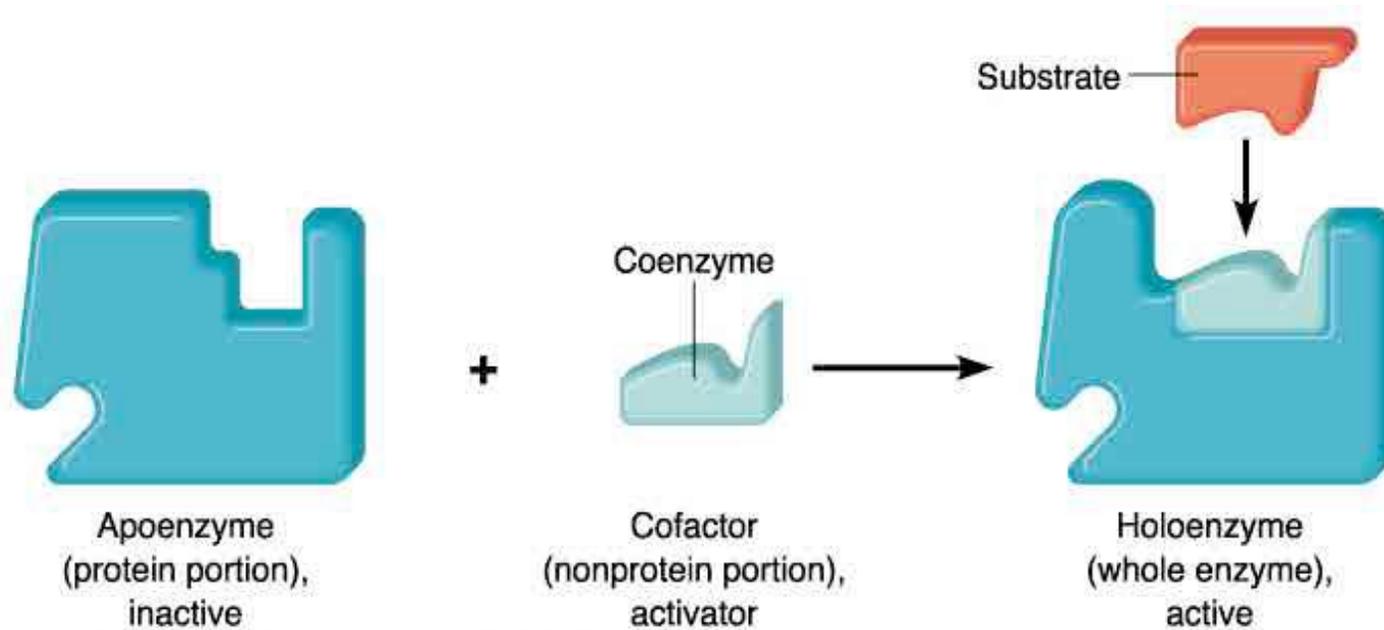
Piridoxal-fosfato

Tetra-hidrofolato

Tiamina-pirofosfato

Nota: As estruturas e os modos de ação destas coenzimas

Os cofatores e coenzimas participam da reação,
ou seja, sem o cofator ou a coenzima, a reação não ocorre.



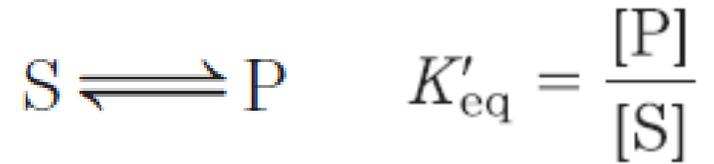
Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Apoenzima

Holoenzima

O que são as catalisadores?

✓ Catalisadores são moléculas que aceleram a velocidade de uma reação sem alterar o equilíbrio químico (a proporção entre reagentes e produtos).

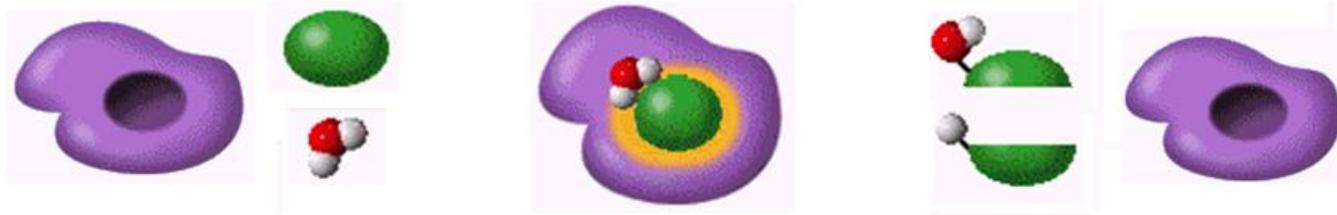


✓ O catalisador participa da reação, sofrendo alterações na sua estrutura química durante o processo, porém, retorna à sua forma original quando a reação termina.



✓ Como o catalisador é “reciclado” sua concentração é constante na reação, assim pode atuar em quantidades muito pequenas, de várias ordens de grandezas menores que as concentrações dos reagentes

Como as enzimas funcionam?



As enzimas proporcionam um ambiente para que determinadas reações ocorram mais rapidamente, sem alterar o equilíbrio.

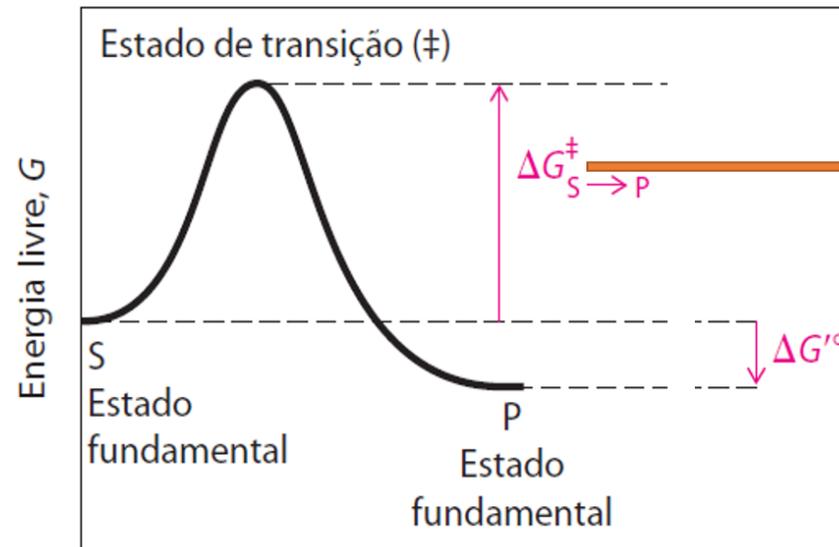
- ✓ **Sítio ativo** → região da enzima em que a reação ocorre
- ✓ **Substrato** → molécula que se liga ao sítio ativo

A velocidade de uma reação pode ser aumentada por:

1. Aumentando a **concentração** do reagente
2. Elevando a **temperatura**
3. Diminuindo a **energia de ativação**



As **enzimas** aceleram a velocidade da reação por diminuir a energia de ativação da reação

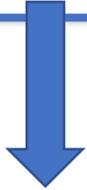


Parâmetro Cinético
 $k = Ae^{\Delta G^\ddagger/RT}$
 $k \rightarrow$ cte de velocidade

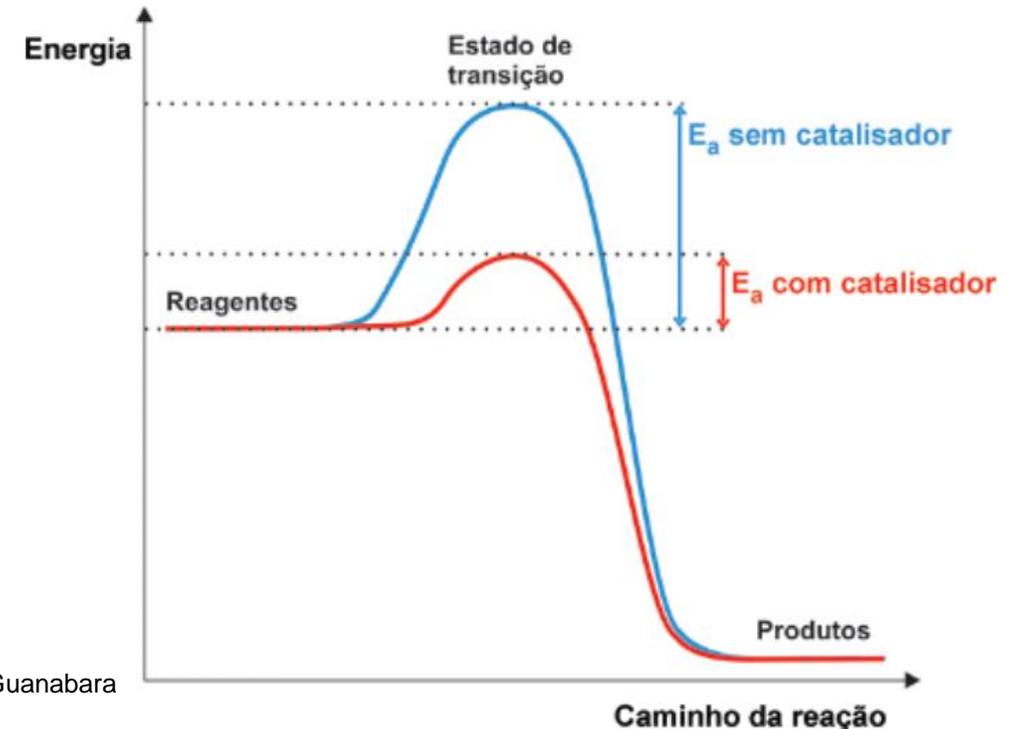
Parâmetro Termodinâmico
 $\Delta G'^\circ = -RT \ln(K_{eq})$
 $K_{eq} \rightarrow$ cte de equilíbrio

A velocidade de uma reação pode ser aumentada por:

1. Aumentando a **concentração** do reagente
2. Elevando a **temperatura**
3. Diminuindo a **energia de ativação**



As **enzimas** aceleram a velocidade da reação por diminuir a energia de ativação da reação



A velocidade de uma reação pode ser aumentada por:

1. Aumentando a **concentração** do reagente
2. Elevando a **temperatura**
3. Diminuindo a **energia de ativação**



As **enzimas** aceleram a velocidade da reação por diminuir a energia de ativação da reação

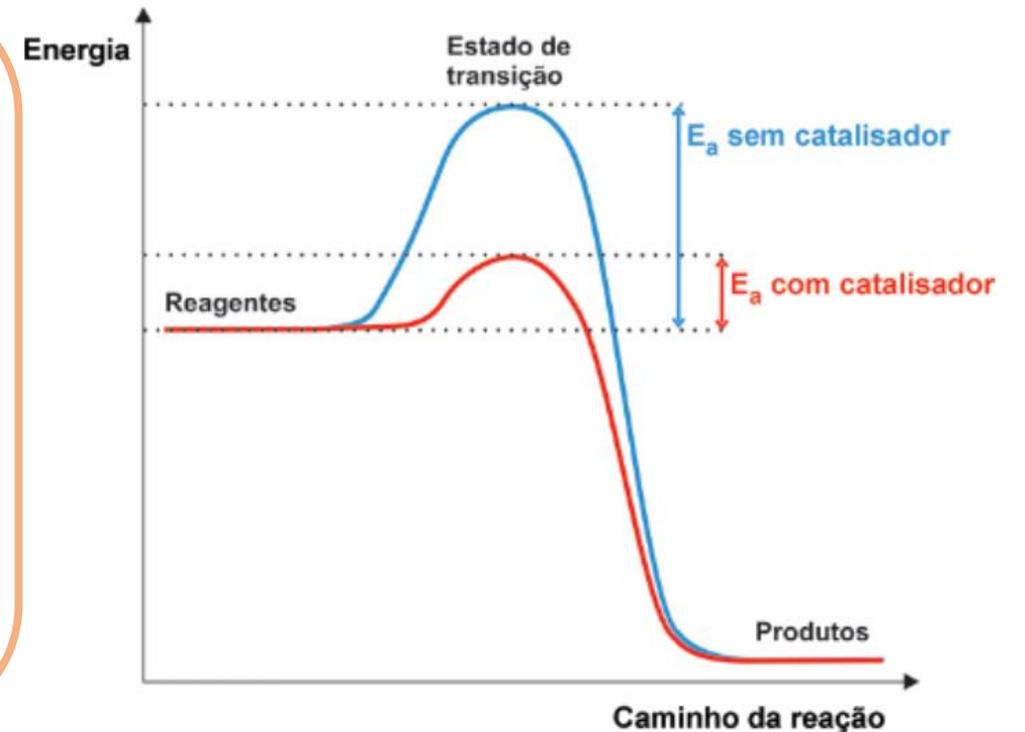


Como a energia de ativação é diminuída?

Formação de **ligações covalentes** e de **interações não covalentes** (ligações de hidrogênio e iônicas e interações hidrofóbicas) entre o substrato e a enzima no sítio ativo.



Contribuem para a catálise (abaixamento da energia de ativação) e para a **especificidade**.



Especificidade pelo substrato → complementariedade

- ✓ O reconhecimento do substrato envolve a interação com diferentes grupos na enzima, os quais estão organizados no espaço
- ✓ Reconhecimento → estereoespecífico

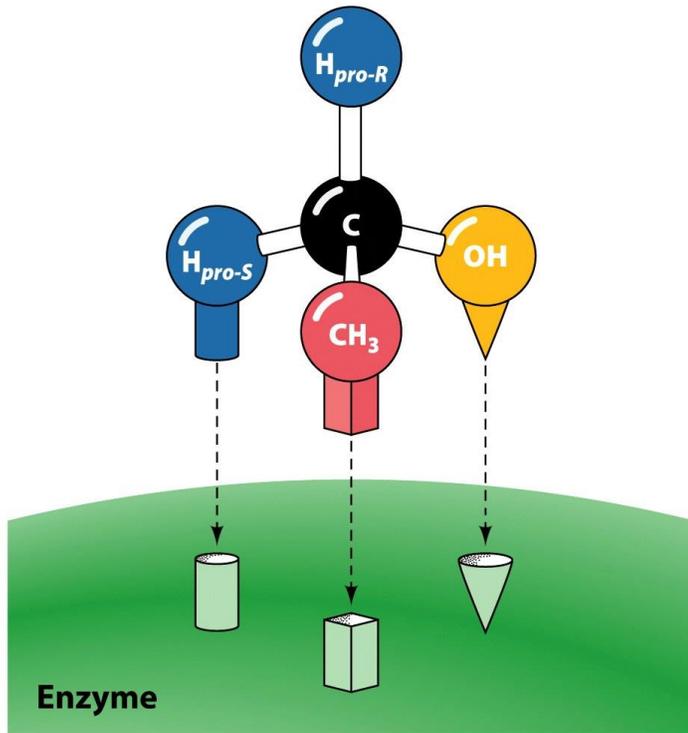


Figure 13-3
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

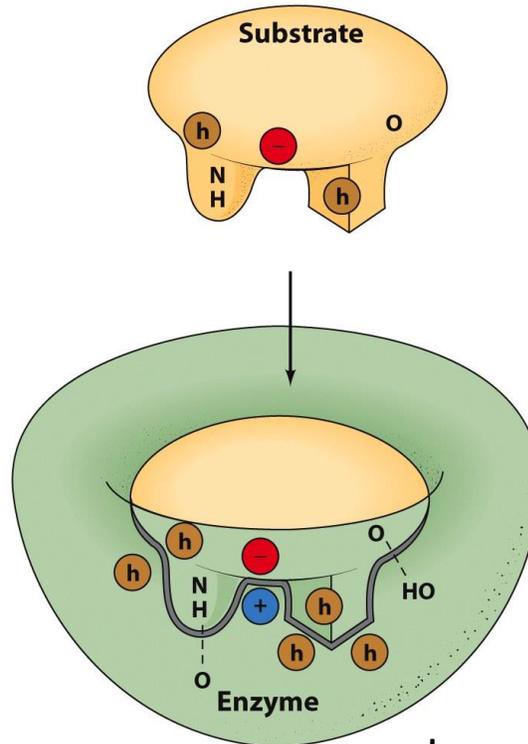


Figure 13-1
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

h = grupos hidrofóbicos

A ligação substrato com a enzima se dá pelo sítio ativo

- ✓ O **sítio ativo** consiste em uma cavidade de forma definida com suas **paredes revestidas de cadeias laterais de aminoácidos**
- ✓ Um **substrato** deve **ter forma espacial complementar** a do sítio ativo e conter **grupos químicos** capazes de estabelecer ligações precisas com cadeias laterais de aminoácidos do sítio ativo.
- ✓ No geral, há grande **diferença de tamanho** entre as moléculas de enzimas e as de seus substratos

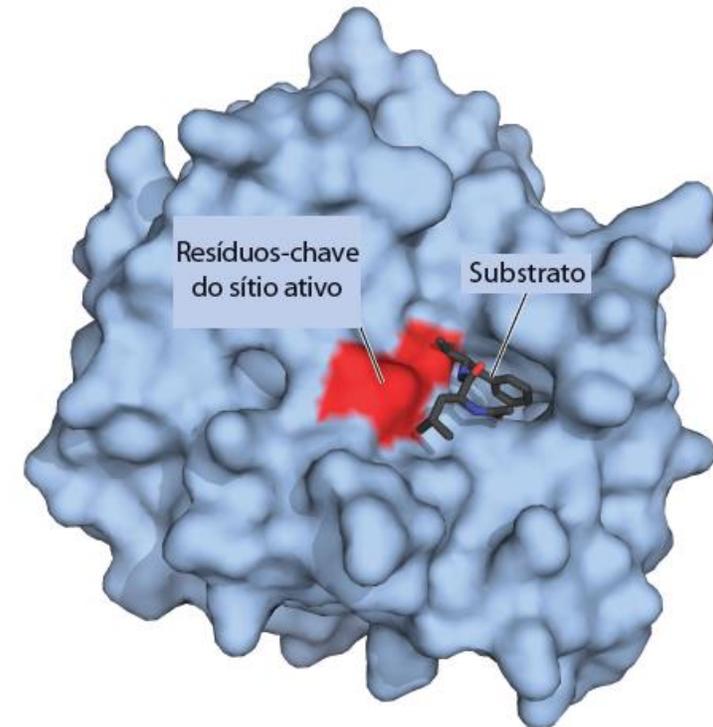
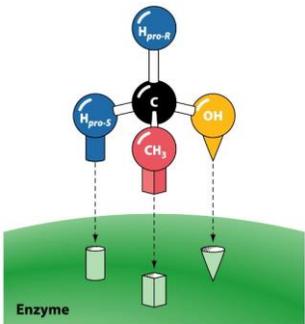
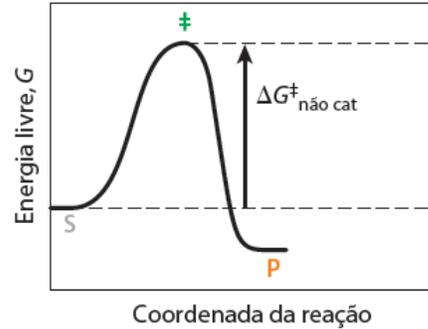
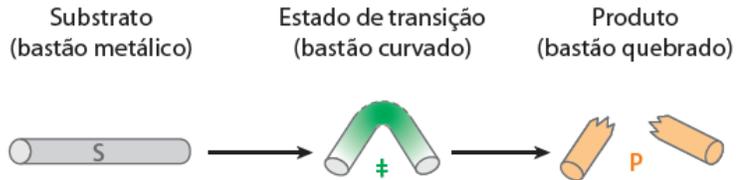


FIGURA 6-1 Ligação de um substrato no sítio ativo de uma enzima.

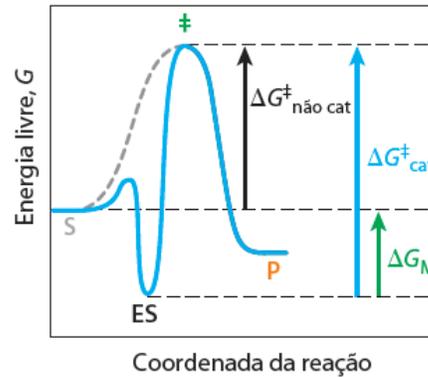
A enzima quimotripsina, com o substrato ligado (PDB ID 7GCH). Alguns dos resíduos-chave do sítio ativo aparecem como uma mancha vermelha na superfície da enzima.

Princípios de bioquímica de Lehninger; David L. Nelson, Michael M. Cox; 6. ed, Artmed, 2014.

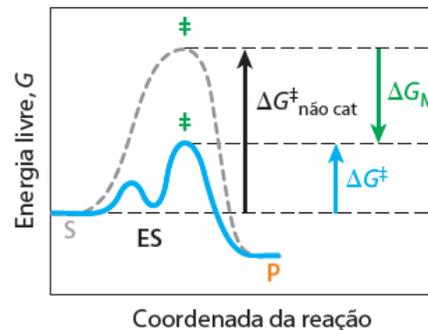
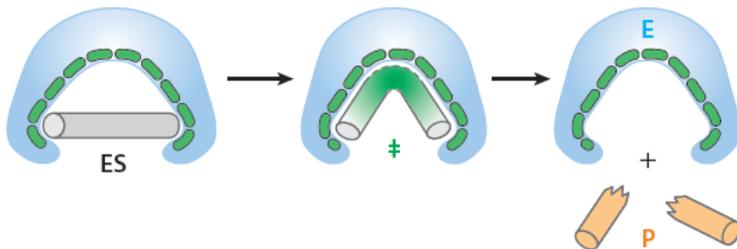
(a) Sem enzima



(b) Enzima complementar ao substrato



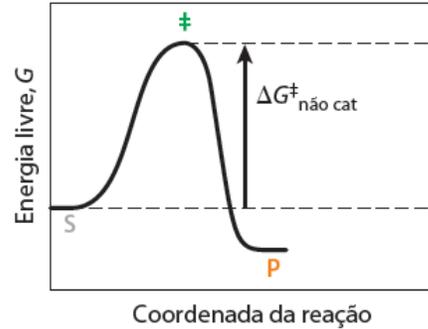
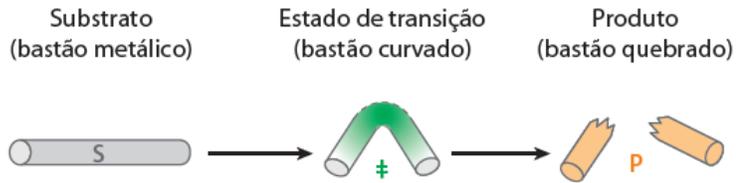
(c) Enzima complementar ao estado de transição



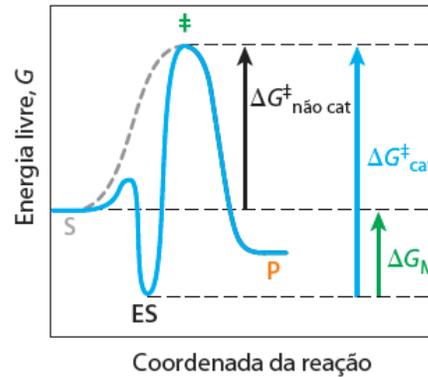
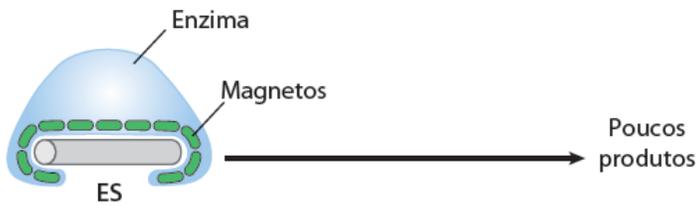
1894 – Emil Fischer → **Modelo chave e fechadura** → enzimas seriam estruturalmente complementares a seus substratos

Problema : uma enzima totalmente complementar ao seu substrato seria **pouco eficiente**

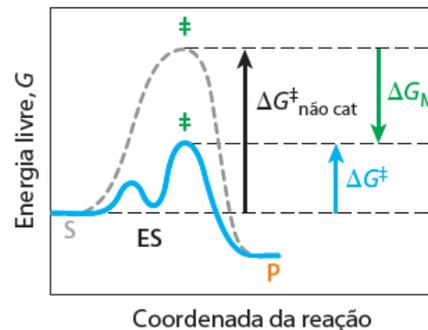
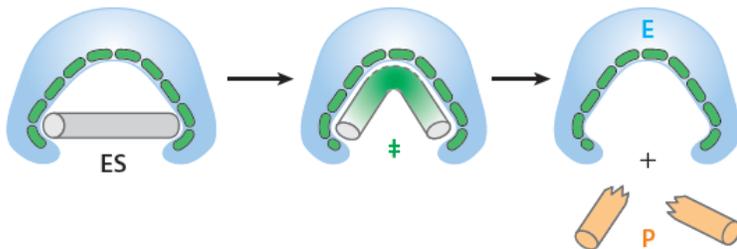
(a) Sem enzima



(b) Enzima complementar ao substrato



(c) Enzima complementar ao estado de transição



1958 – Daniel Koshland → **Ajuste induzido** → a enzima sofre mudança de conformação quando o substrato se liga a ela, o que **induz a formação de interações adicionais durante o estado de transição**

As enzimas são classificadas segundo o tipo de reação que catalisam

Classificação	Tipo de reação catalisada
1. Oxidorredutases	Reações de oxirredução
2. Transferases	Transferência de grupos funcionais
3. Hidrolases	Reações de hidrólise
4. Liases	Eliminação de grupos para formação de ligações duplas
5. Isomerases	Isomerização
6. Ligases	Formação de ligações pelo acoplamento com hidrólise de ATP

Milhares de reações diferentes podem ser classificadas nesses seis grupos!

Grupos catalíticos específicos contribuem para a catálise

Uma vez que o substrato esteja ligado a enzima, grupos funcionais catalíticos posicionados de modo apropriado ajudam no rompimento e na formação de ligações por vários mecanismos incluindo **catálise ácido-base**, **catálise covalente** e **catálise por íons metálicos**

catálise ácido-base → transferência de H^+ mediada por alguma outra molécula que não a água

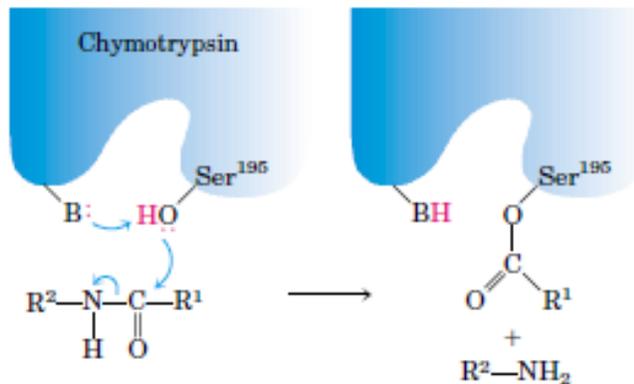


figure 8-10

Covalent and general acid-base catalysis. The first step in the reaction catalyzed by chymotrypsin is the acylation step. The hydroxyl group of Ser¹⁹⁵ is the nucleophile in a reaction aided by general base catalysis (the base is the side chain of His⁵⁷). This provides a new pathway for the hydrolytic cleavage of a peptide bond. Catalysis occurs only if each step in the new pathway is faster than the uncatalyzed reaction. The chymotrypsin reaction is described in more detail in Figure 8-19.

Resíduo de aminoácido	Forma geral ácida (doador de próton)	Forma geral básica (aceptor de próton)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{+}{N}H_2$	$R-NH_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His	$R-C(=CH-NH^+)-NH$	$R-C(=CH-N)-N:$
Ser	$R-OH$	$R-O^-$
Tyr	$R-C_6H_4-OH$	$R-C_6H_4-O^-$

FIGURA 6-9 Aminoácidos na catálise geral acidobásica. Muitas reações orgânicas são favorecidas por doadores (ácidos gerais) ou aceptores (bases gerais) de prótons. Os sítios ativos de algumas enzimas têm grupos funcionais de aminoácidos, como os mostrados aqui, que podem participar dos processos catalíticos como doadores ou aceptores de prótons.

Grupos catalíticos específicos contribuem para a catálise

Catálise ácido-base → transferência de H⁺ mediada por alguma outra molécula que não a água

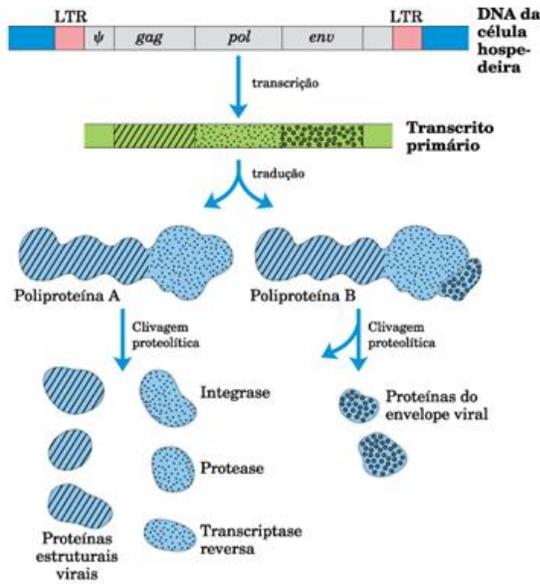
Catálise covalente → há formação de ligação covalente transitória entre enzima e substrato



Catálise por íons metálicos → Metais, tanto ligados à enzima quanto tomados da solução juntamente com o substrato, podem participar na catálise de várias maneiras, por exemplo, por meio de **interações iônicas** ou **reações de oxidorredução**. Aproximadamente um terço de todas as enzimas conhecidas necessita de um ou mais íons metálicos para a atividade catalítica.

A maioria das enzimas combina várias estratégias de catálise para proporcionar um aumento na velocidade das reações.

Mecanismo da catálise da protease do HIV



- ✓ Dois resíduos de aspartato no sítio ativo facilitam um ataque direto da água sobre a ligação peptídica. O produto inicial do ataque da água é um intermediário tetraédrico instável que se assemelha em estrutura e energia ao estado de transição
- ✓ Os inibidores da protease do HIV são analógos ao estado de transição

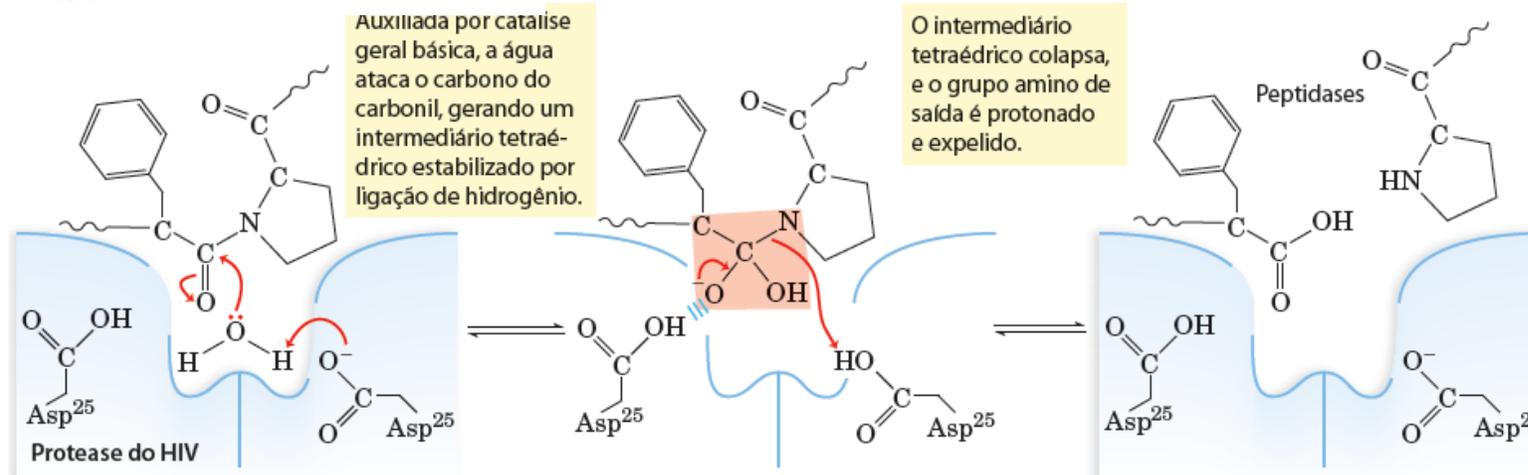
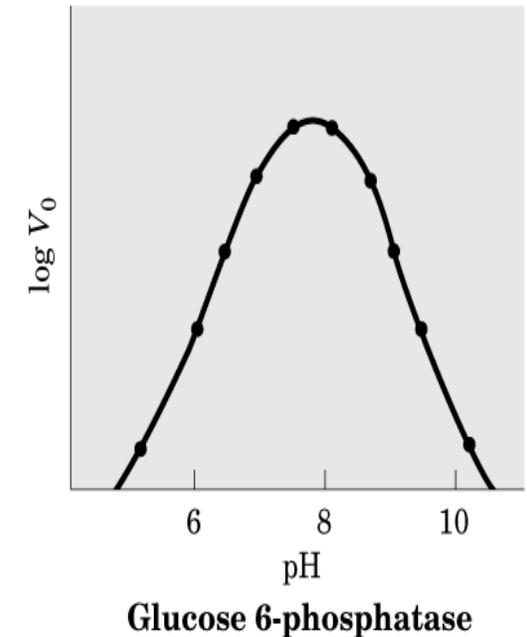
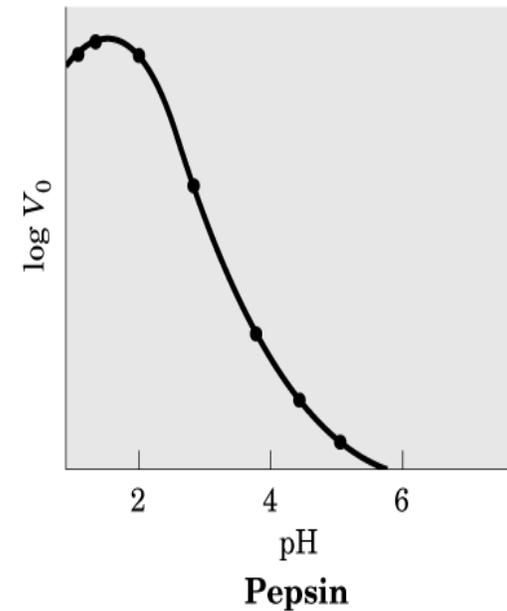


FIGURA 6-23 Mecanismo de ação da protease do HIV. Dois resíduos de Asp do sítio ativo (de diferentes subunidades) agem como catalisador geral acidobásico facilitando o ataque da água sobre a ligação peptídica.

O intermediário tetraédrico instável formado no curso da reação está sombreado em cor salmão.

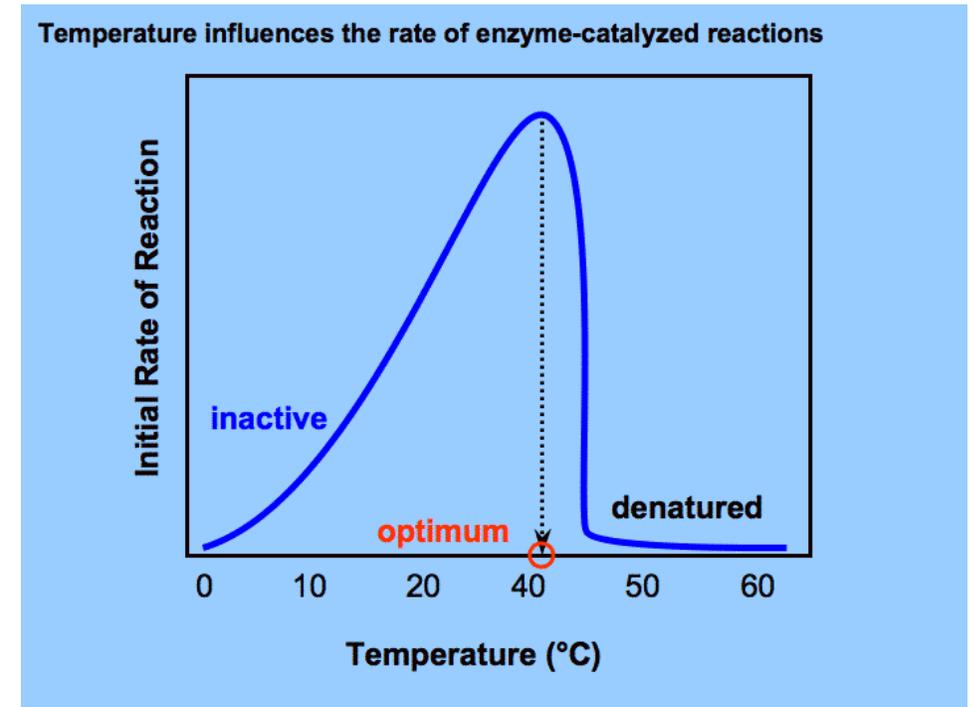
O pH interfere na atividade enzimática

- ✓ Há um **pH ótimo** para a atividade máxima das enzimas → **grupos ionizáveis nos resíduos** (arginina, aspartato, cisteína, glutamate, histidina, lisina e tirosina)
- ✓ **Substratos também podem conter grupos ionizáveis**, portanto o pH pode afetar suas cargas

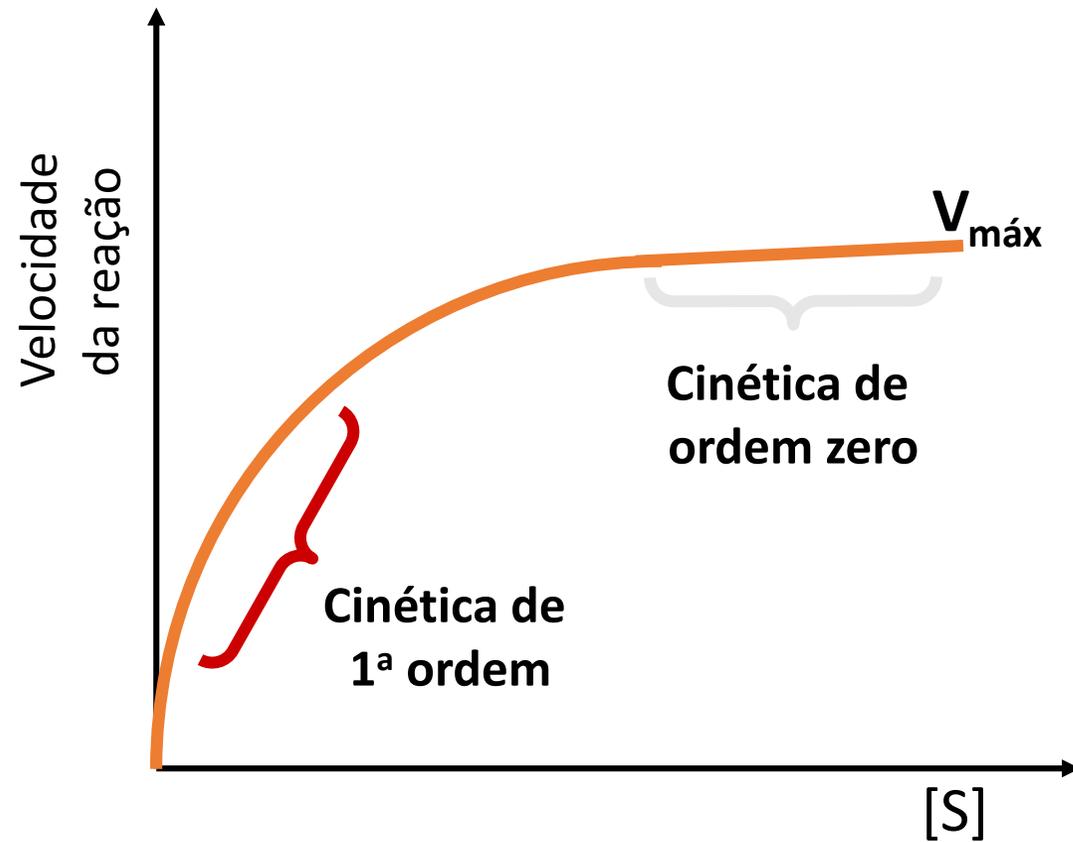


A temperatura interfere na atividade enzimática

- ✓ A atividade enzimática aumenta com a temperatura, mas até certo ponto, enquanto a enzima conserva a sua estrutura nativa.
- ✓ Acima de **50-55°C**, a maioria das proteínas globulares são **desnaturadas**, incluindo as enzimas.
- ✓ A temperatura pode interferir nas interações que mantém as estruturas secundárias e terciárias (pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas), podendo levar à desnaturação proteica.



A concentração do substrato interfere na atividade enzimática



Por que a curva da velocidade da reação é hiperbólica?

Concentrações baixas de substrato ocorre aumento linear entre Velocidade(V_0) e o Substrato [S]

$\uparrow\uparrow [S] \rightarrow V_0$ aumenta cada vez menos até atingir um patamar (V_{max})

