

# Bioquímica Geral

## RFM0004

# Enzimas

Profa. Dra Tie Koide

Contribuição: Matheus Quintana e  
Cintya Mendes Moraes (PAE2019, PAE2021)

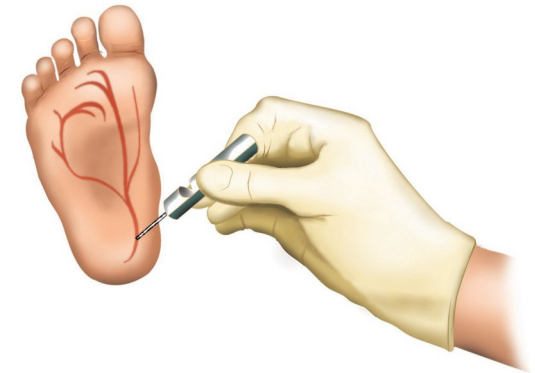
Departamento de Bioquímica e Imunologia  
FMRP-USP



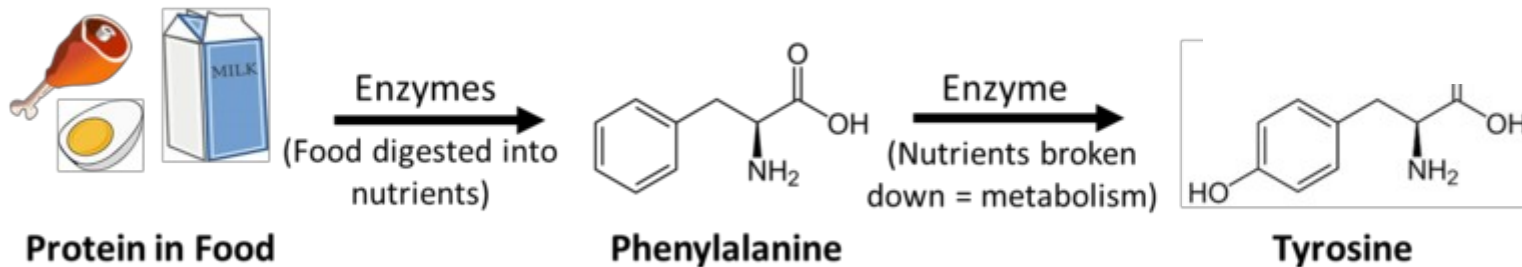
<b>Enzima</b>	<b>Velocidade na ausência de enzima</b> "Reações/segundo"	<b>Velocidade da reação catalisada</b> "Reações/segundo"	<b>Poder catalítico</b>
Anidrase carbônica $\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$	$1.3 \times 10^{-1}$	$1.0 \times 10^6$	$7.7 \times 10^6$
Triosefosfato isomerase	$4.3 \times 10^{-6}$	4.300	$1.0 \times 10^9$
Carboxipeptidase A	$3.0 \times 10^{-9}$	578	$1.9 \times 10^{11}$
AMP nucleosidase	$1.0 \times 10^{-11}$	60	$6.0 \times 10^{12}$
Nuclease de estafilococos	$1.7 \times 10^{-13}$	95	$5.6 \times 10^{14}$

## Enzimas no Metabolismo

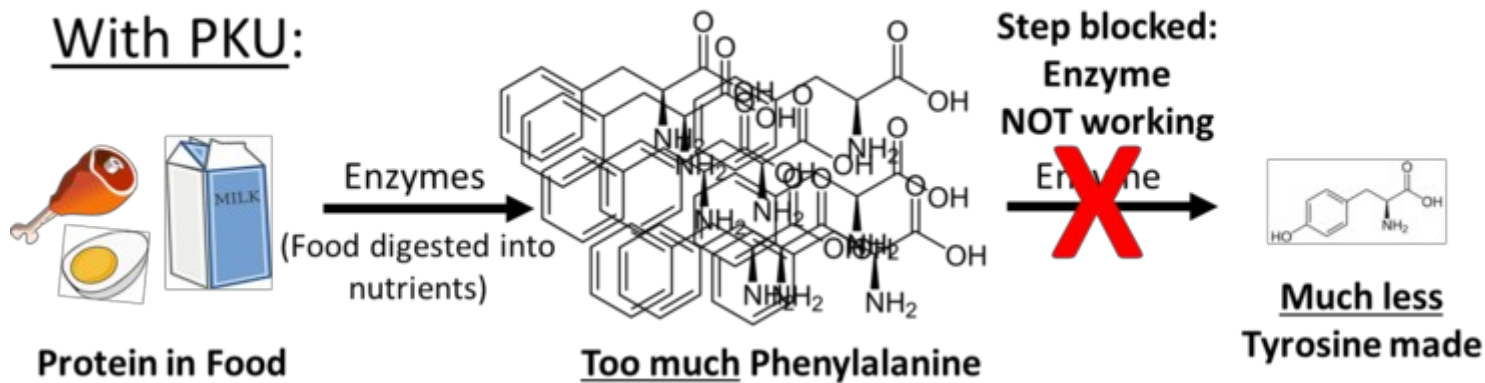
- Fenilcetonúria: Ausência de fenilalanina hidroxilase  
Afeta entre 1:11.000 nascidos vivos; doença metabólica



### Without PKU:



### With PKU:

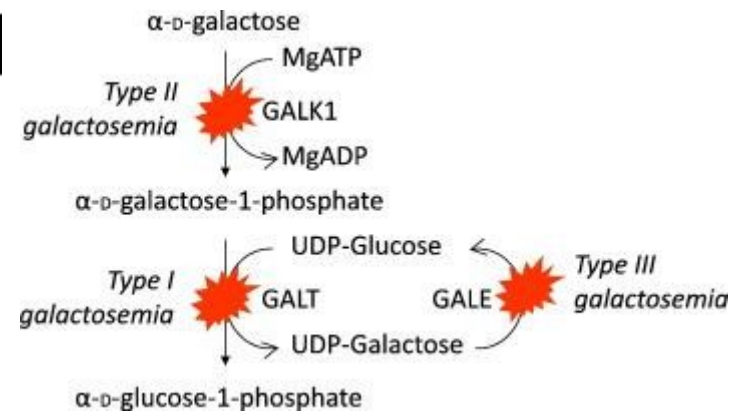
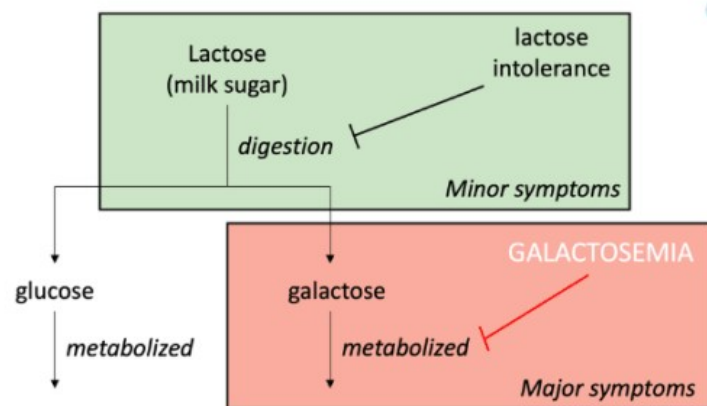


- Galactosemia e intolerância a lactose
- Incidência de 1:40.000 – 60.000 no mundo
- No Brasil: 1:20.000

# What is galactosemia?

@jorntrommelen

- ✓ **Lactose intolerance** is the inability to break down the milk sugar lactose
- ✓ **Galactosemia** is the inability to metabolize the milk sugar component galactose
- ✓ **Arginine supplementation** does not appear helpful in patients with galactosemia



## Por que estudar enzimas?

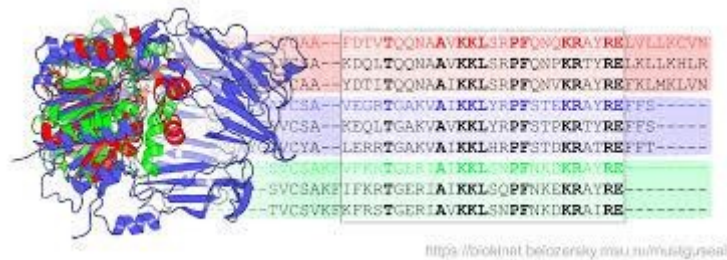
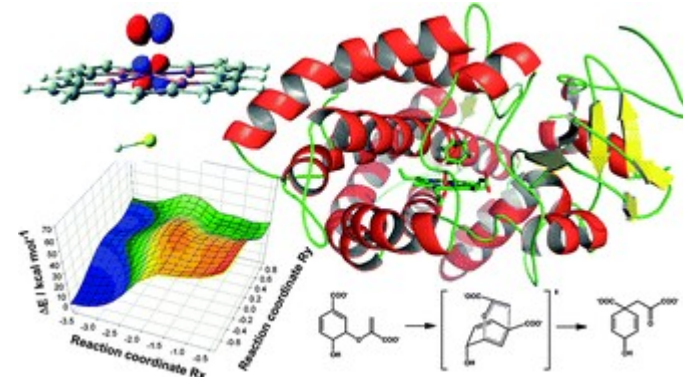
- Responsáveis pelas reações químicas nos sistemas vivos
- Síntese, degradação, transformação de moléculas
- Extremamente importantes na indústria
- Mercado Bilionário (\$\$) no cenário mundial





## Estudo de enzimas

- Funcionamento de enzimas existentes
- Busca por enzimas melhoradas
- Novos fármacos
- Re-modelamento da estrutura enzimática
- Engenharia de enzimas



<https://booknet.belozensky.msu.ru/muaguseal>

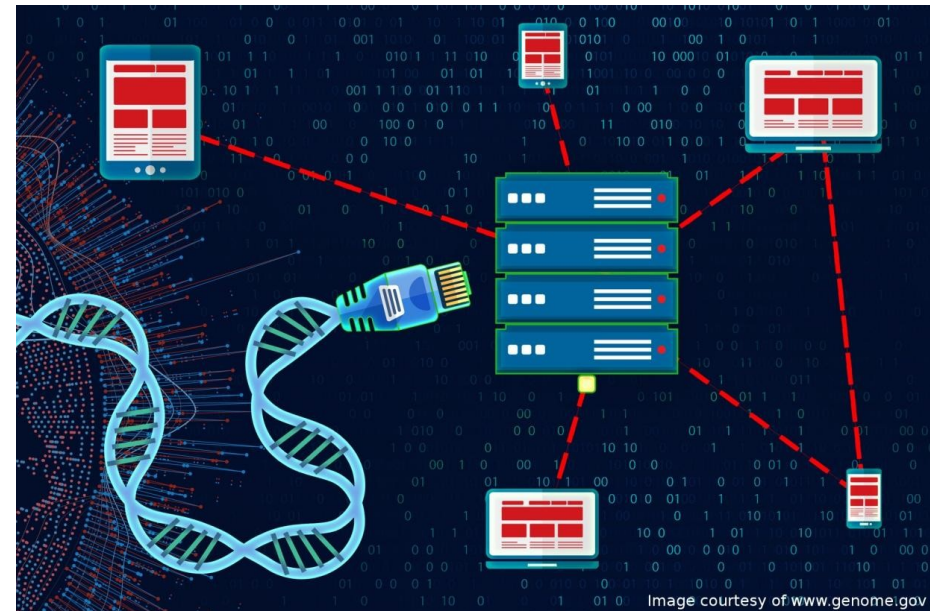
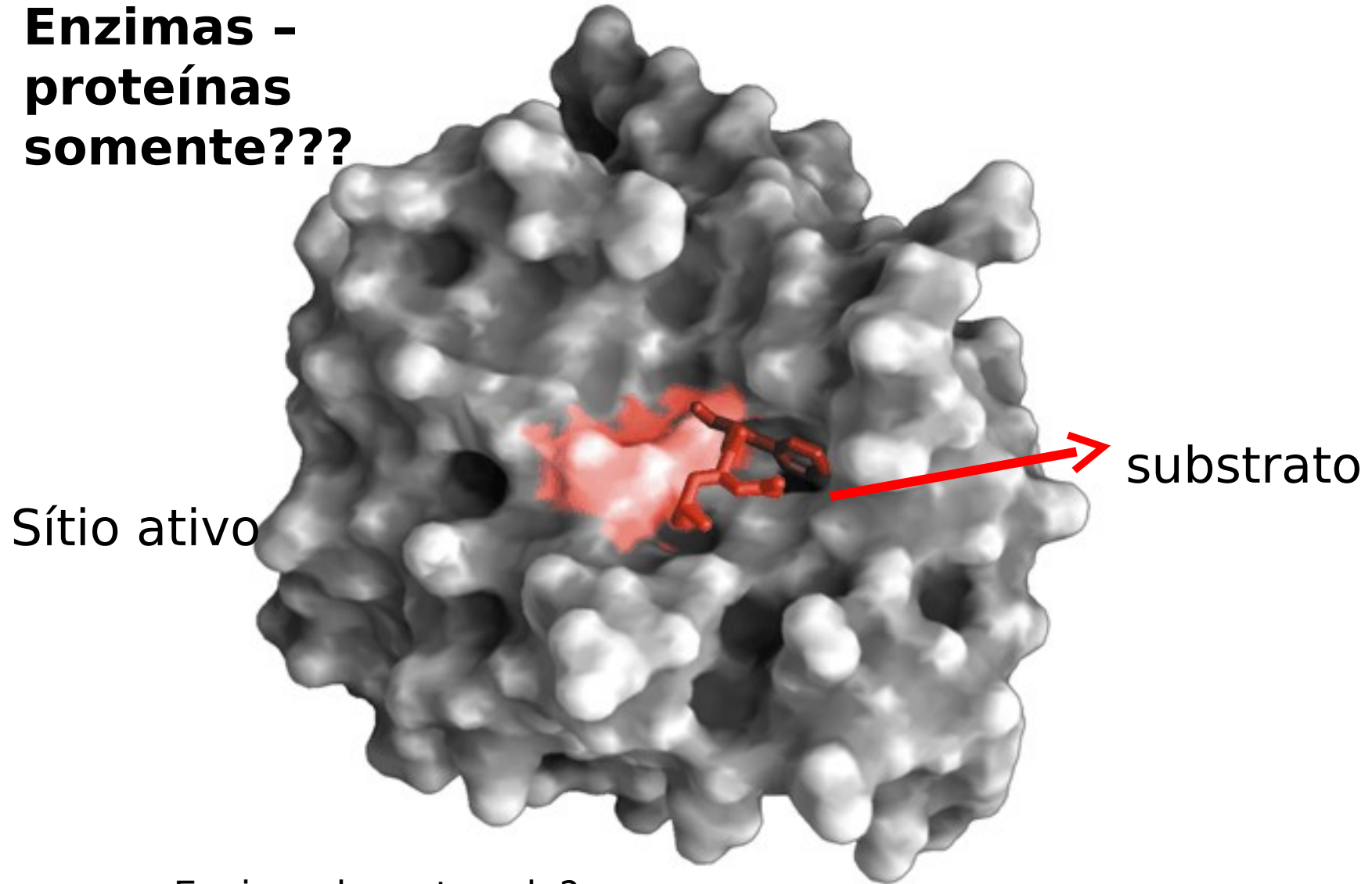


Image courtesy of [www.genome.gov](http://www.genome.gov)



<b>Enzima</b>	<b>Velocidade na ausência de enzima</b> "Reações/segundo"	<b>Velocidade da reação catalisada</b> "Reações/segundo"	<b>Poder catalítico</b>
Anidrase carbônica $\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$	$1.3 \times 10^{-1}$	$1.0 \times 10^6$	$7.7 \times 10^6$
Triosefosfato isomerase	$4.3 \times 10^{-6}$	4.300	$1.0 \times 10^9$
Carboxipeptidase A	$3.0 \times 10^{-9}$	578	$1.9 \times 10^{11}$
AMP nucleosidase	$1.0 \times 10^{-11}$	60	$6.0 \times 10^{12}$
Nuclease de estafilococos	$1.7 \times 10^{-13}$	95	$5.6 \times 10^{14}$

# Enzimas - proteínas somente???

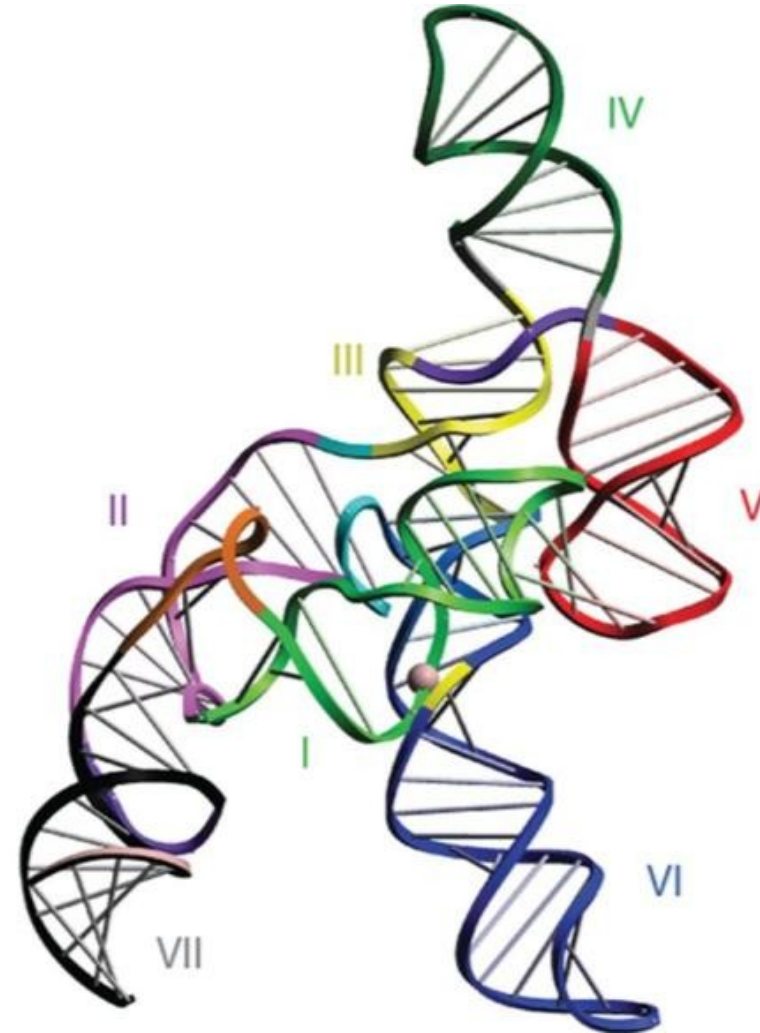
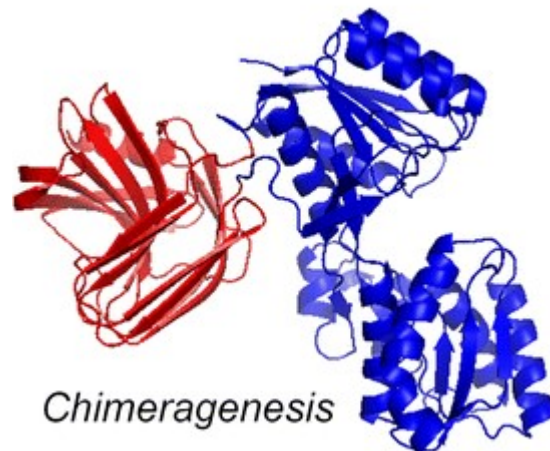
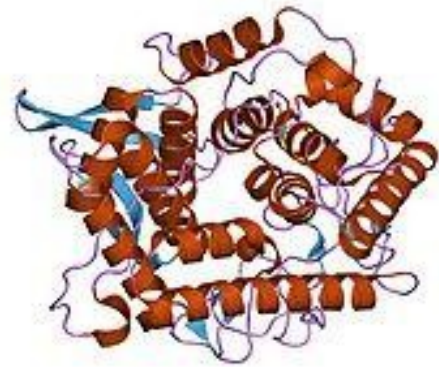


Enzima desnaturada?  
Estrutura 1aria, 2aria, 3aria, 4aria: quais são importantes para que uma enzima catalise uma reação?



## Enzimas

- Catalisadores biológicos
- Aceleram reações químicas
- Proteínas ou RNA (ribozimas)
- Estrutura globular





Sem enzima

Com enzima

Caminho da  
reação

## Anatomia de uma enzima

- Enzimas nem sempre agem sozinhas
- Necessidade de partes NÃO-PROTEICAS para exercer sua função

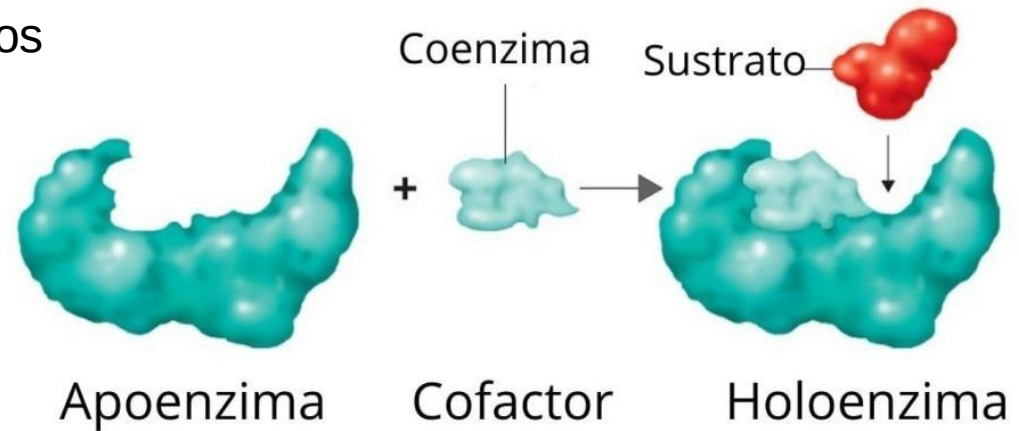
Porção proteica: APOENZIMA

Porção não-proteica: COFATOR

Apoenzima + cofator = HOLOENZIMA

- Cofatores  
Inorgânicos: metais  
Orgânicos:  
coenzimas / grupos prostéticos

- Sítio Ativo
- local da enzima onde a reação ocorre



# Cofatores

## Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

---

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

# Coenzimas

## Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups\*

Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biotin	CO <sub>2</sub>	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B <sub>12</sub> )	H atoms and alkyl groups	Vitamin B <sub>12</sub>
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B <sub>2</sub> )
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion (:H <sup>-</sup> )	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B <sub>6</sub> )
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B <sub>1</sub> )



## **Grupo prostético:**

coenzima ou cofator ligado fortemente a proteína

**Apoenzima** + coenzima =  
**Holoenzima**

↑  
Apoproteína  
Parte proteica

Enzimas podem sofrer modificações:

-Fosforilação

-Glicosilação

→ Regulação da atividade enzimática

# **Nomenclatura e classificação**

**Substrato + “ASE”**

**DNA polimerASE : síntese DNA**

**Urease : hidrólise da uréia**

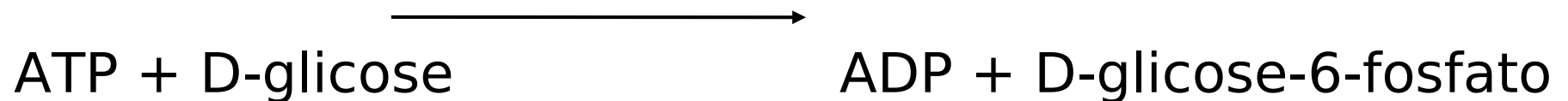
**Outros exemplos: tripsina, pepsina...**

**Enzimas com mais de um nome...**

# Nomenclatura e classificação

Cada enzima deve possuir um número código EC (“Enzyme Commission” )

## Exemplo:



Nome sistemático: **ATP : D-glicose 6 fosfatotransferase**

### **E.C. 2.7.1.1**

**2:** transferases

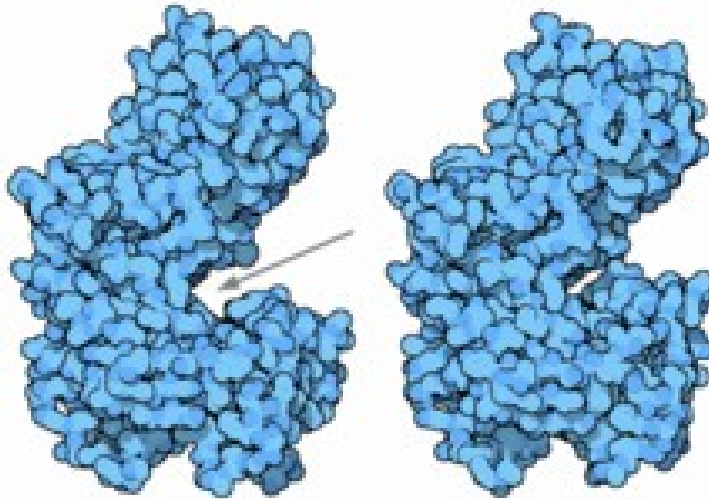
**7:** sub-classe de fosfotransferases

**1:** grupo hidroxila como receptor

**1:** indica a D-glicose como receptor do grupo fosfato

Nome trivial: **hexoquinase**

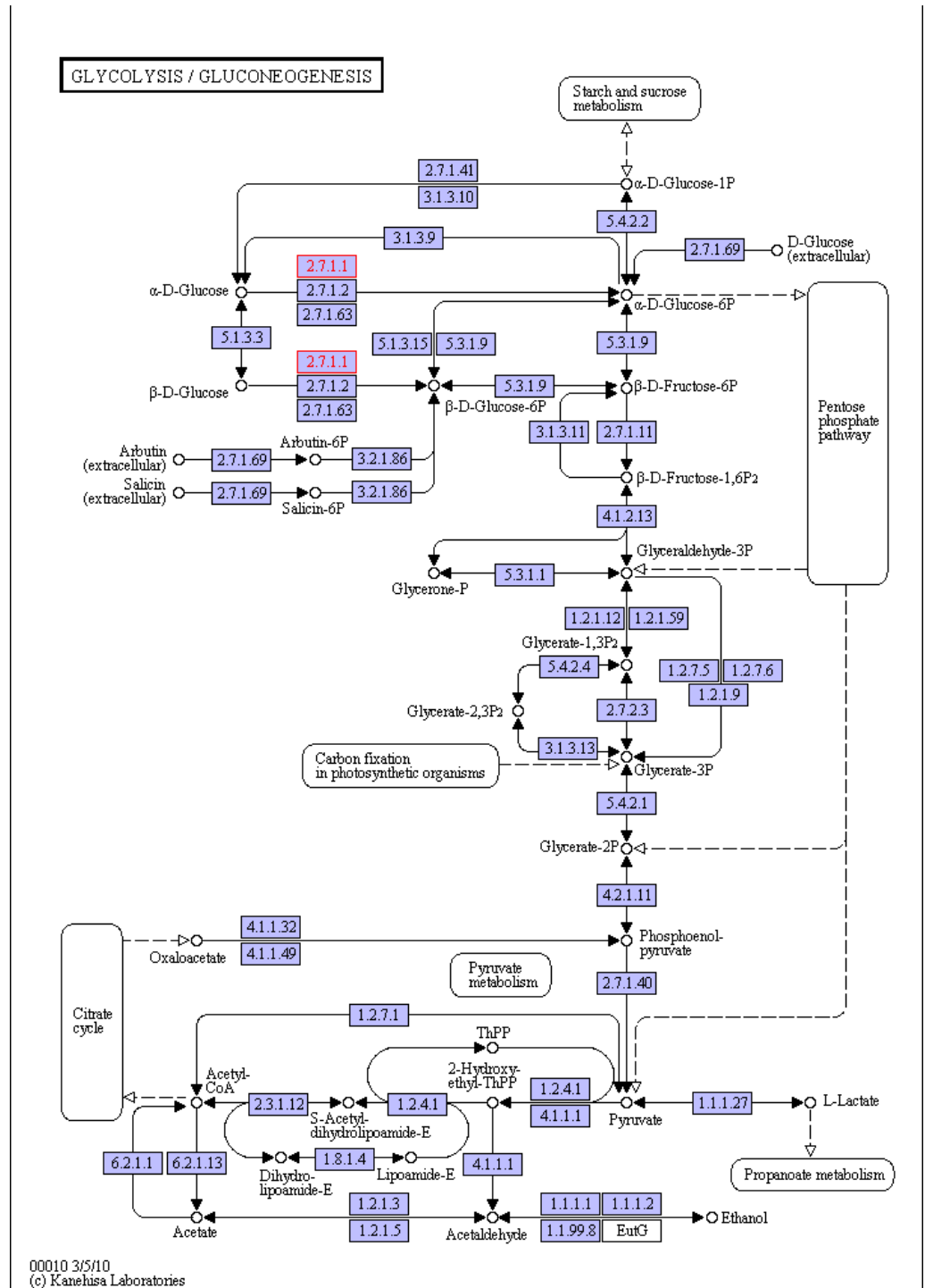
# Hexoquinase



Sem  
glicose  
[PDB](#)  
[1hkg](#)

Com  
Glicose  
[2yhx](#)

[http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ec00010+2.7.1.1](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ec00010+2.7.1.1)

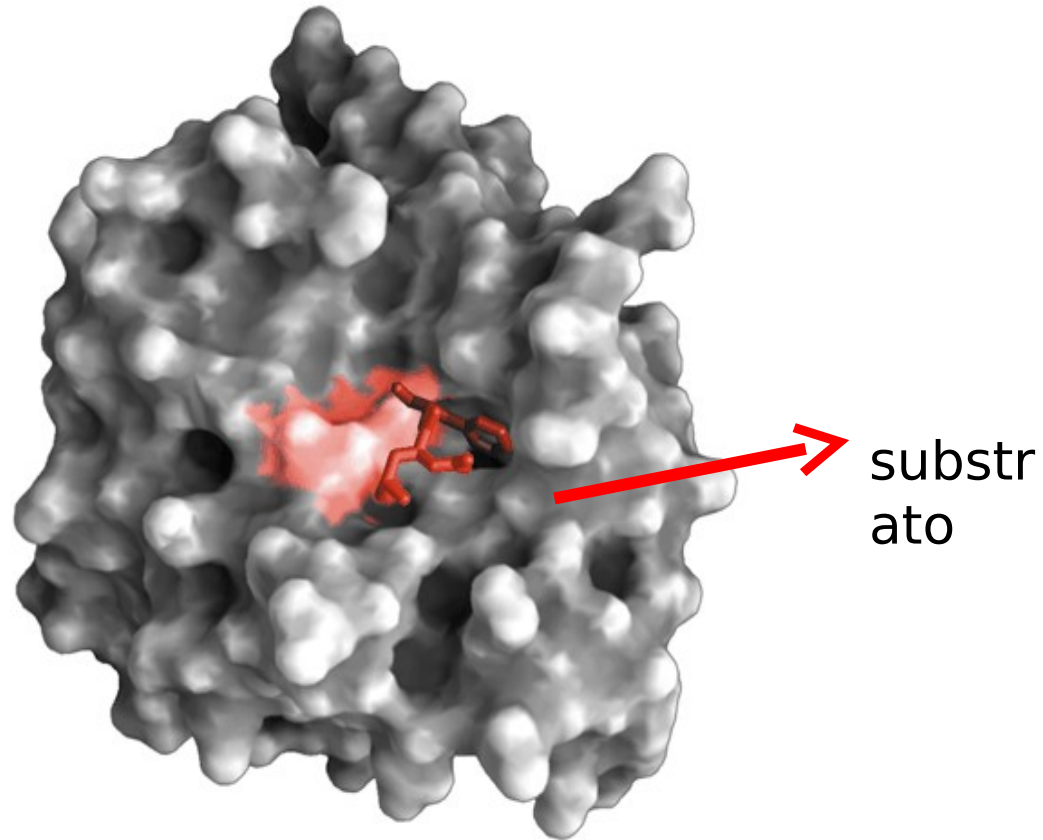


# Classificação das enzimas

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A<sub>red</sub> + B<sub>ox</sub> ⇌ A<sub>ox</sub> + B<sub>red</sub></p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C <sub>1</sub> -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H<sub>2</sub>O ⇌ A-H + B-OH</p>	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	<p>A + B ⇌ A-B</p>	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	<p>A ⇌ Iso-A</p>	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	<p>X = A, G, U, C</p> <p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP</p>	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases



# Como as enzimas trabalham?



- Enzimas atuam aumentando a velocidade das reações químicas
- NÃO HÁ MUDANÇA NO EQUILÍBRIO DA REAÇÃO
- NÃO HÁ CONSUMO DE ENZIMA NO PROCESSO
- Catalisam reações específicas – ALTAMENTE ESPECIALIZADAS

## Reação Química

Processo que leva a transformação de substância química em outra

Sempre há um componente energético implícito



## Termodinâmica de reações químicas

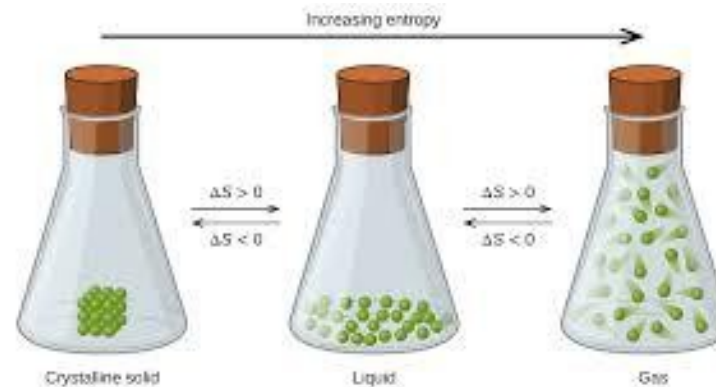
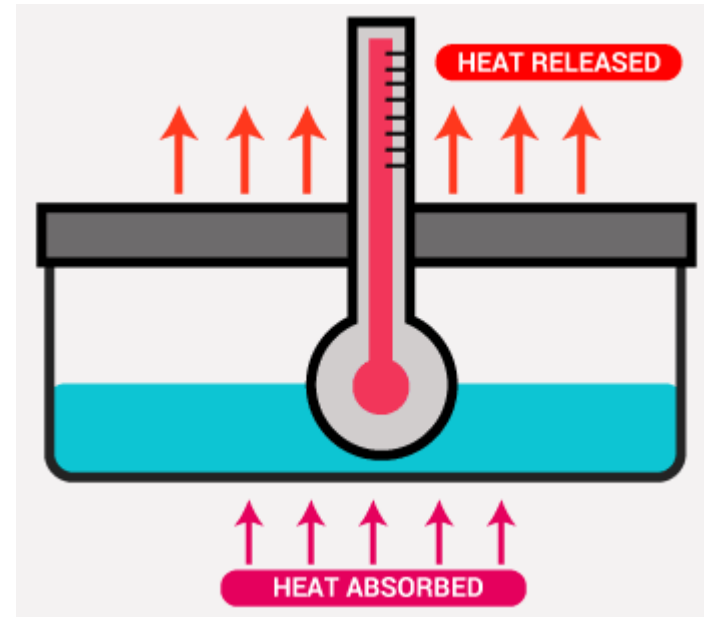
- $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$

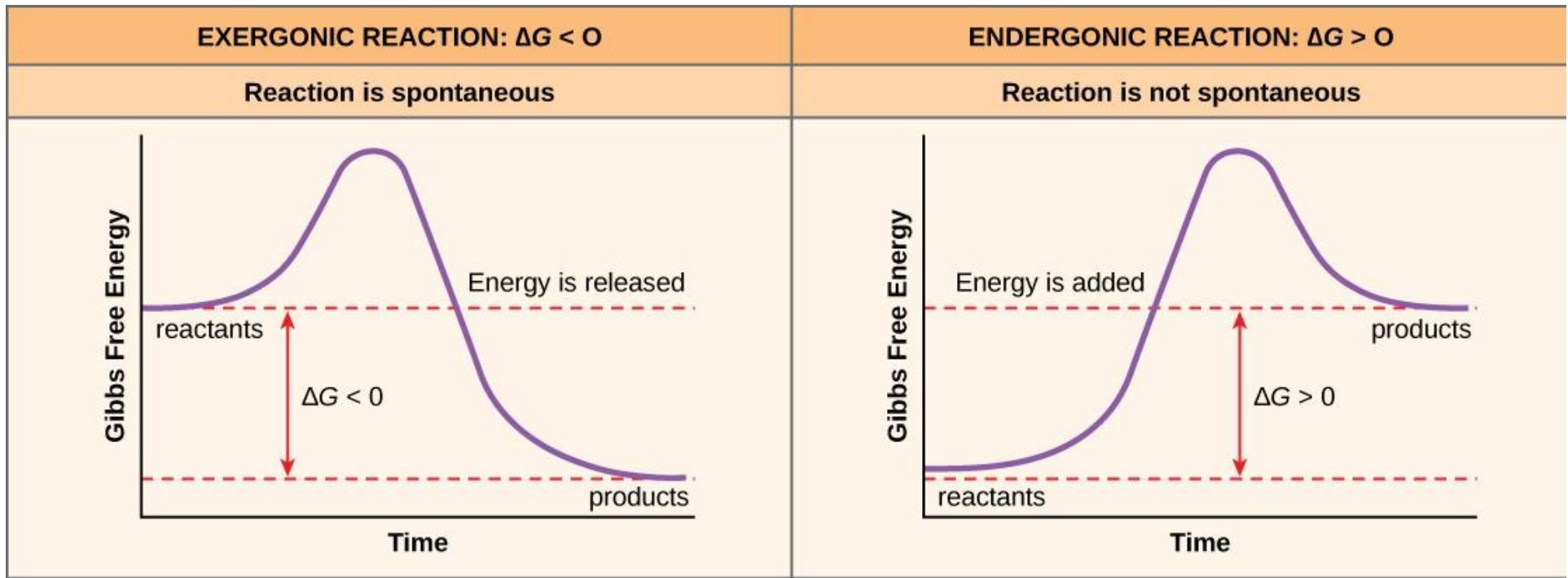
G - energia livre de Gibbs

H – entalpia da reação

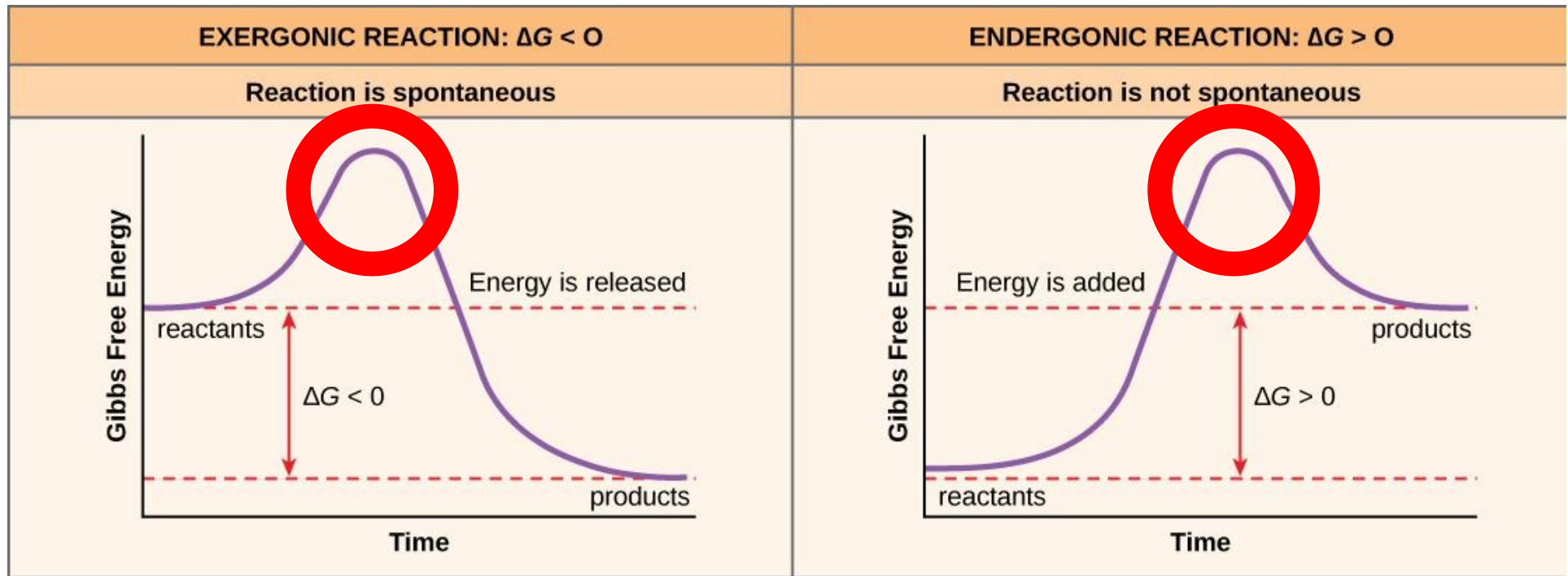
S – entropia da reação

T – temperatura (K)





Observando as curvas, vemos que há um pico de energia livre em reações exergônicas e endergônicas

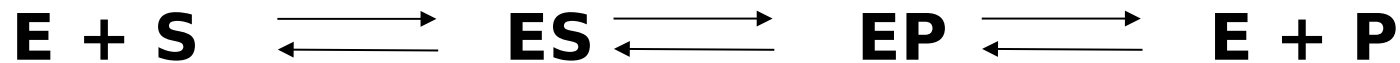


Energia de ativação

- É a energia mínima necessária para iniciar uma reação química



# Como as enzimas trabalham?



**Catalisador:**  
aumenta a **velocidade** de uma reação  
**sem afetar o equilíbrio**

$\Delta G$ : energia livre de Gibbs

$\Delta G^\circ$  : condições padrão, pH 7,0

$\Delta G^\circ > 0$  reação é termodinamicamente desfavorável;

$\Delta G^\circ < 0$  reação é termodinamicamente favorável.

não indica a  
velocidade  
da reação!

# Como as enzimas trabalham?

## **Termodinâmica**

$\Delta G$ : energia livre de Gibbs

$\Delta G^{\circ}$  : condições padrão, pH 7,0

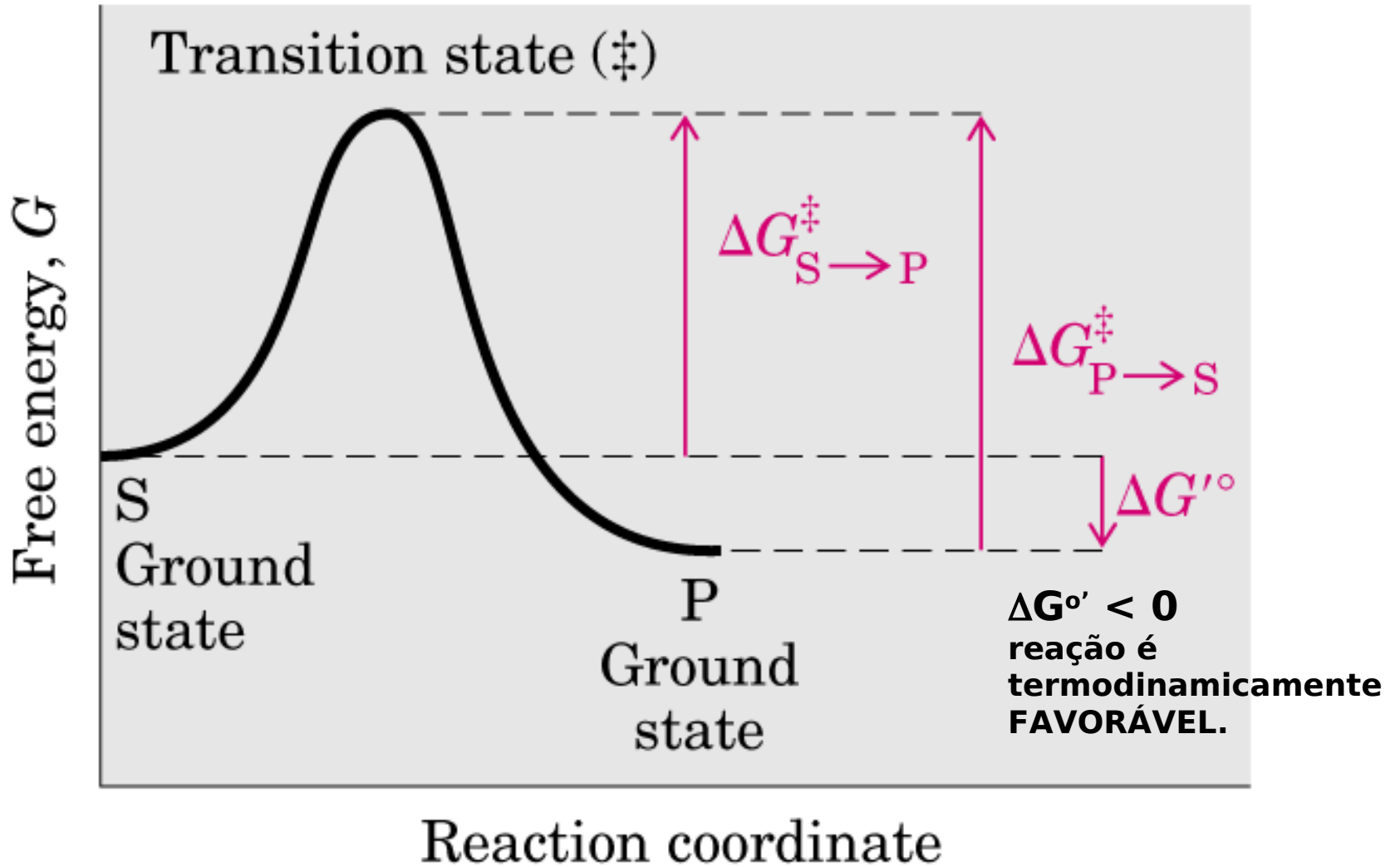
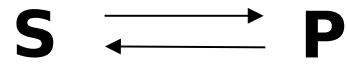
$\Delta G^{\circ} > 0$  reação é termodinamicamente desfavorável;

$\Delta G^{\circ} < 0$  reação é termodinamicamente FAVORÁVEL.

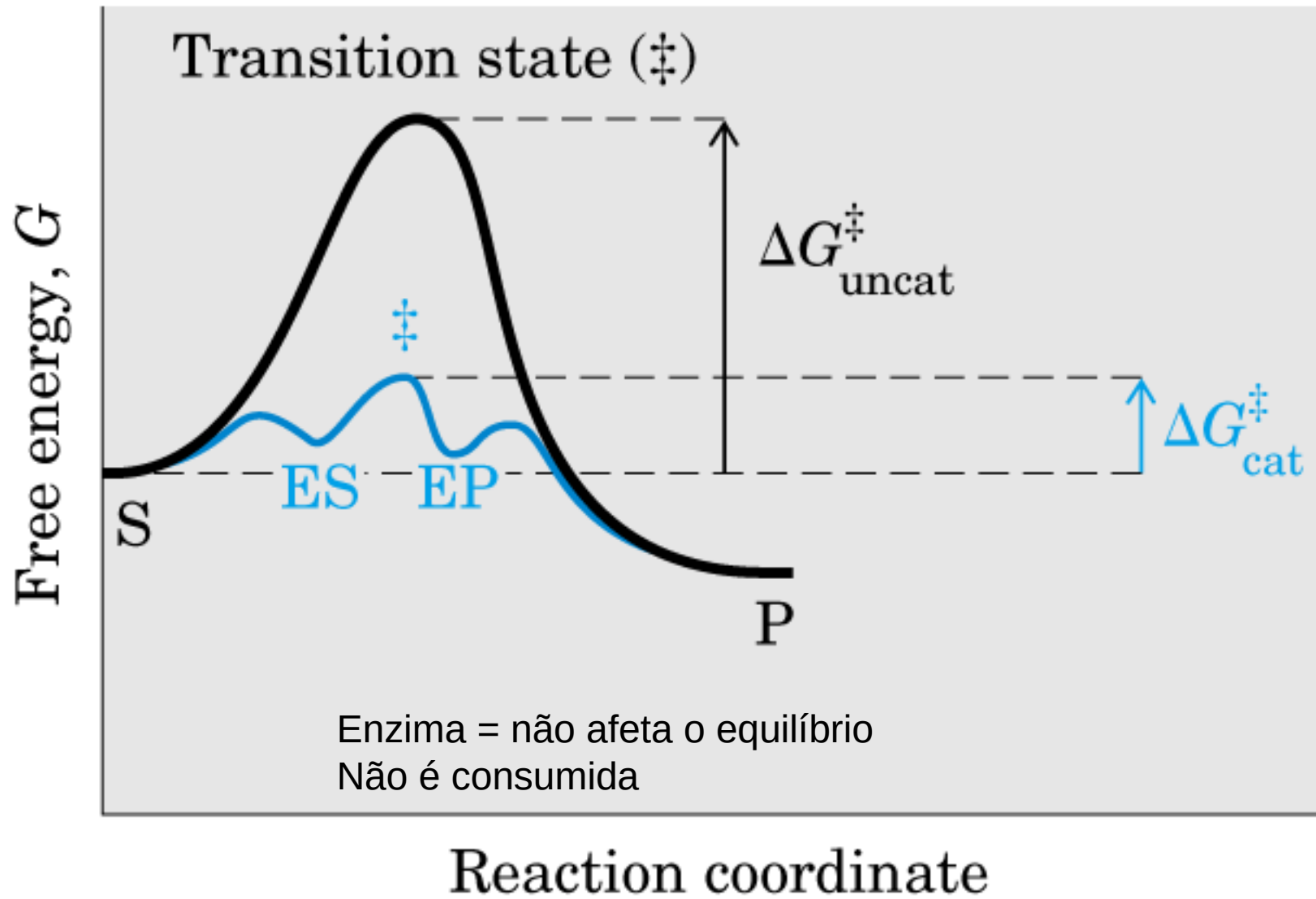
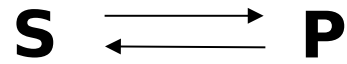
$\Delta G$  de uma reação depende somente do estado final e do estado inicial (produtos - reagentes)

Independe da via ou mecanismo molecular da transformação

Não fornece informação sobre a VELOCIDADE da reação



**Equilíbrio favorável: NÃO IMPLICA que  $S \rightarrow P$  ocorre em taxas detectáveis.**

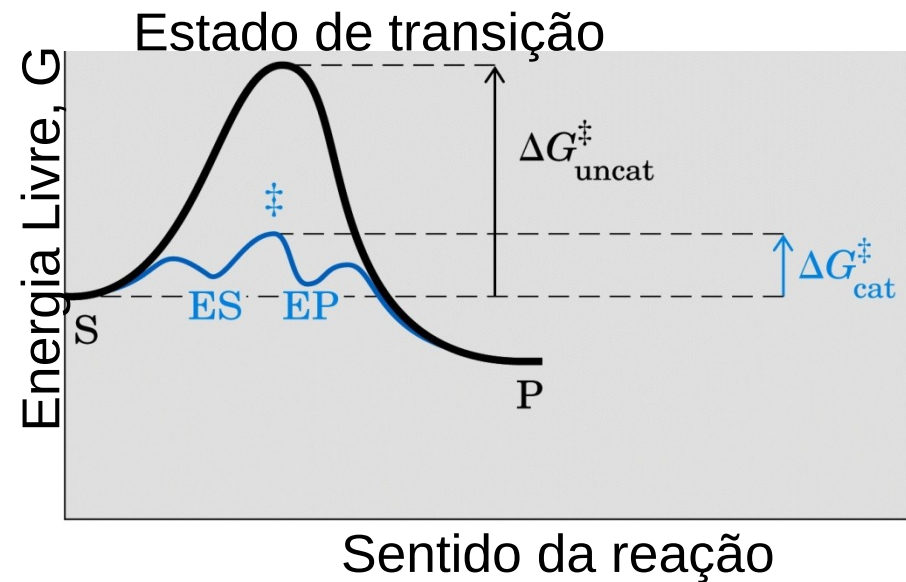
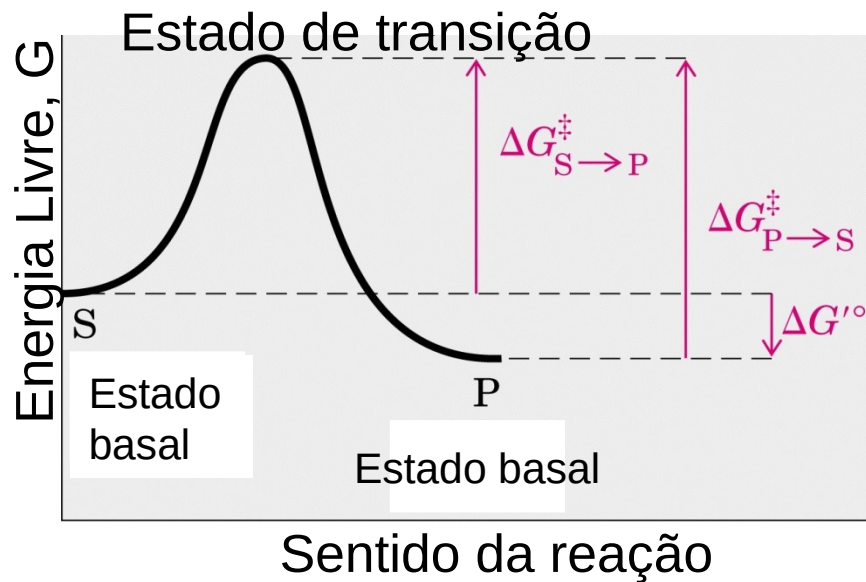


**Velocidade: depende da energia de ativação**

# Como as enzimas trabalham?

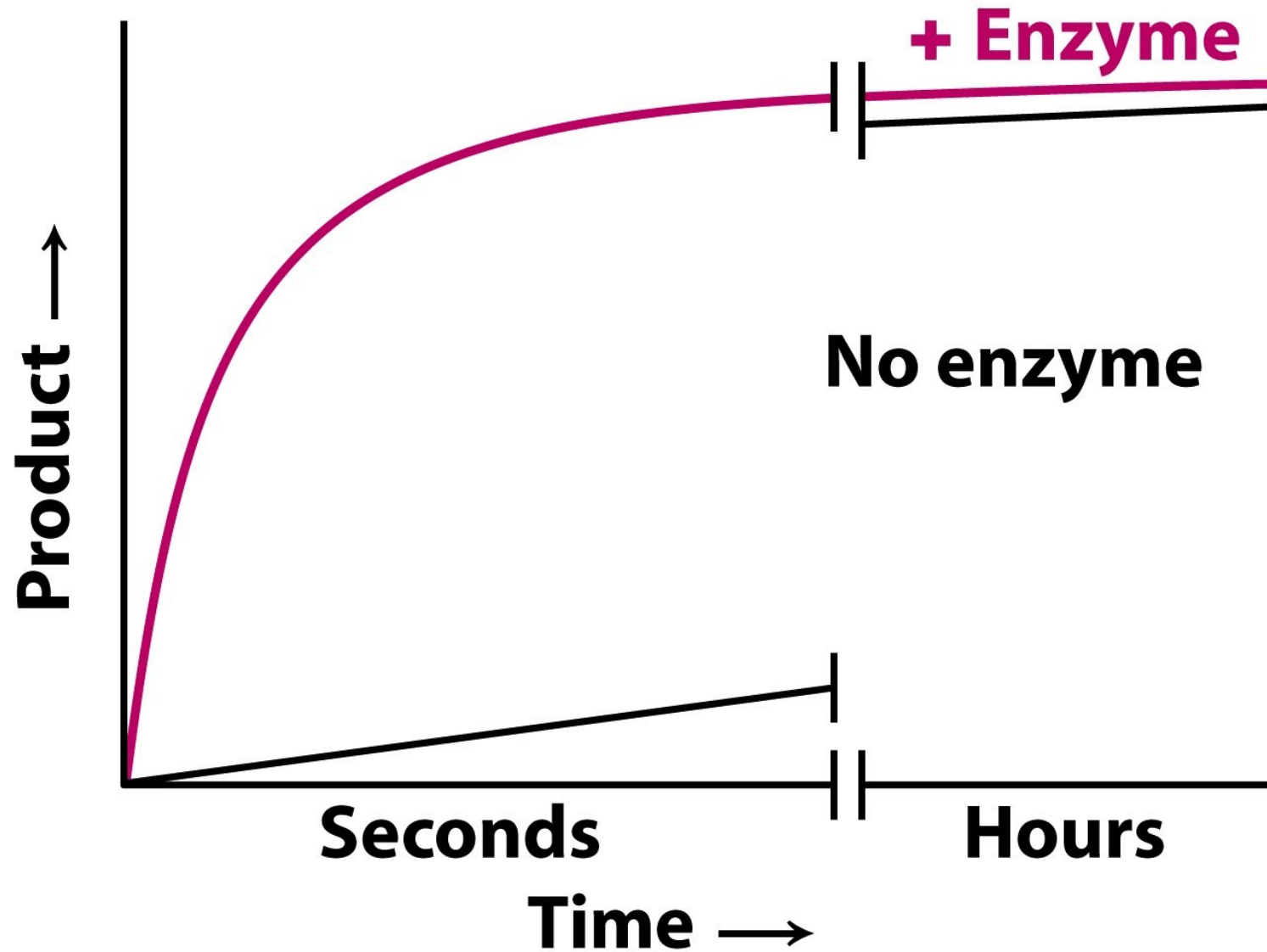
A função de um catalisador é aumentar a velocidade de uma reação sem afetar o equilíbrio da mesma.

↓ a energia de ativação ↑ velocidade da reação.

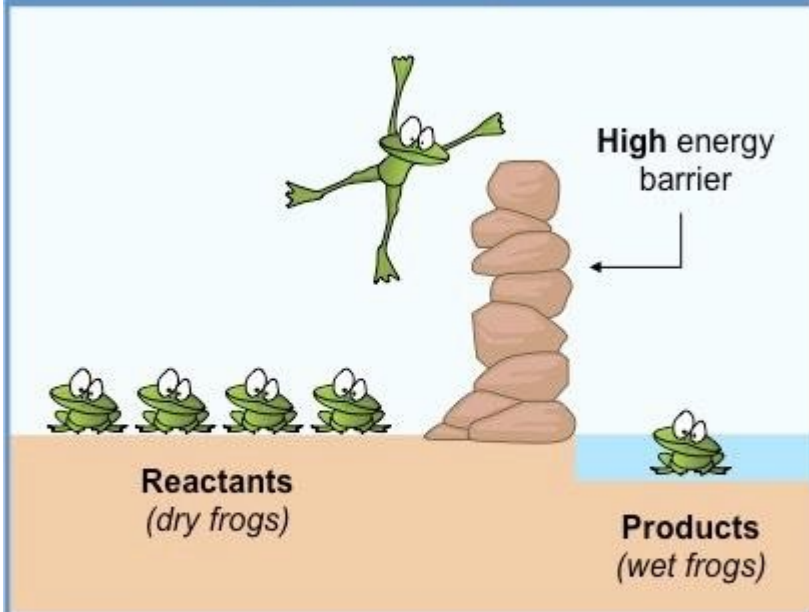




O mesmo ponto de equilíbrio é atingido mas **MUITO MAIS RAPIDAMENTE** na presença de enzimas!!!

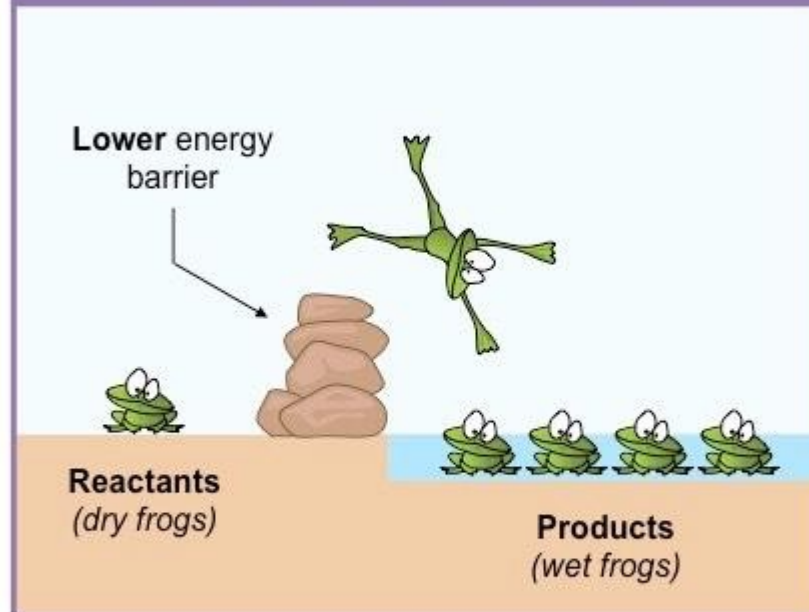


### NORMAL (NO ENZYME) REACTION



Reaction proceeds at a **slow rate** (if at all) due to a prohibitive activation energy threshold

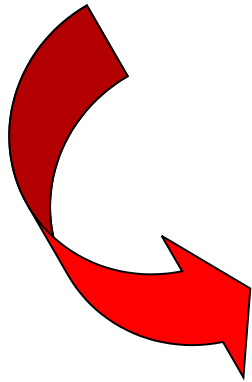
### ENZYME CATALYSED REACTION



Reaction proceeds at a **significantly faster rate** as the activation energy threshold is reduced

# Como as enzimas trabalham?

A **energia de ligação** é a maior fonte de energia livre usada pelas enzimas para baixar a energia de ativação das reações.

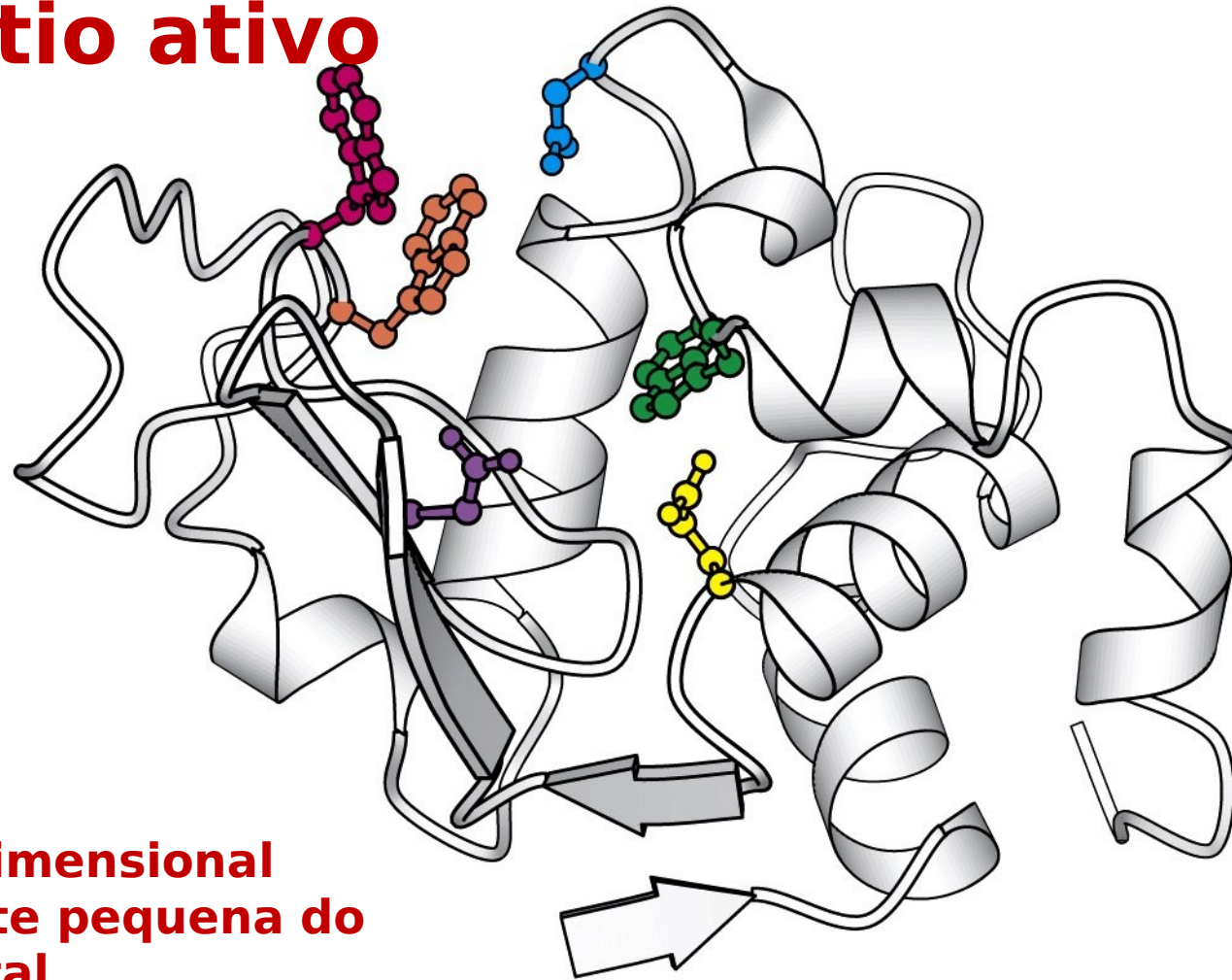


## **Exemplos de ligações entre enzima-substrato:**

pontes de hidrogênio, ligações hidrofóbicas,  
interações iônicas e de van der Waals.

Esta energia de ligação também confere à enzima a **ESPECIFICIDADE** ao substrato.

# (A) Sítio ativo



**Fenda tridimensional**  
**Ocupa parte pequena do**  
**volume total**  
**Microambientes especiais**

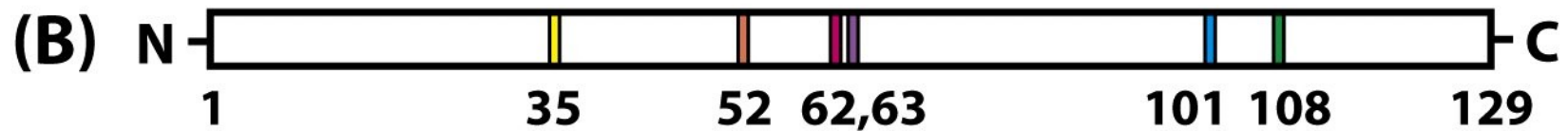
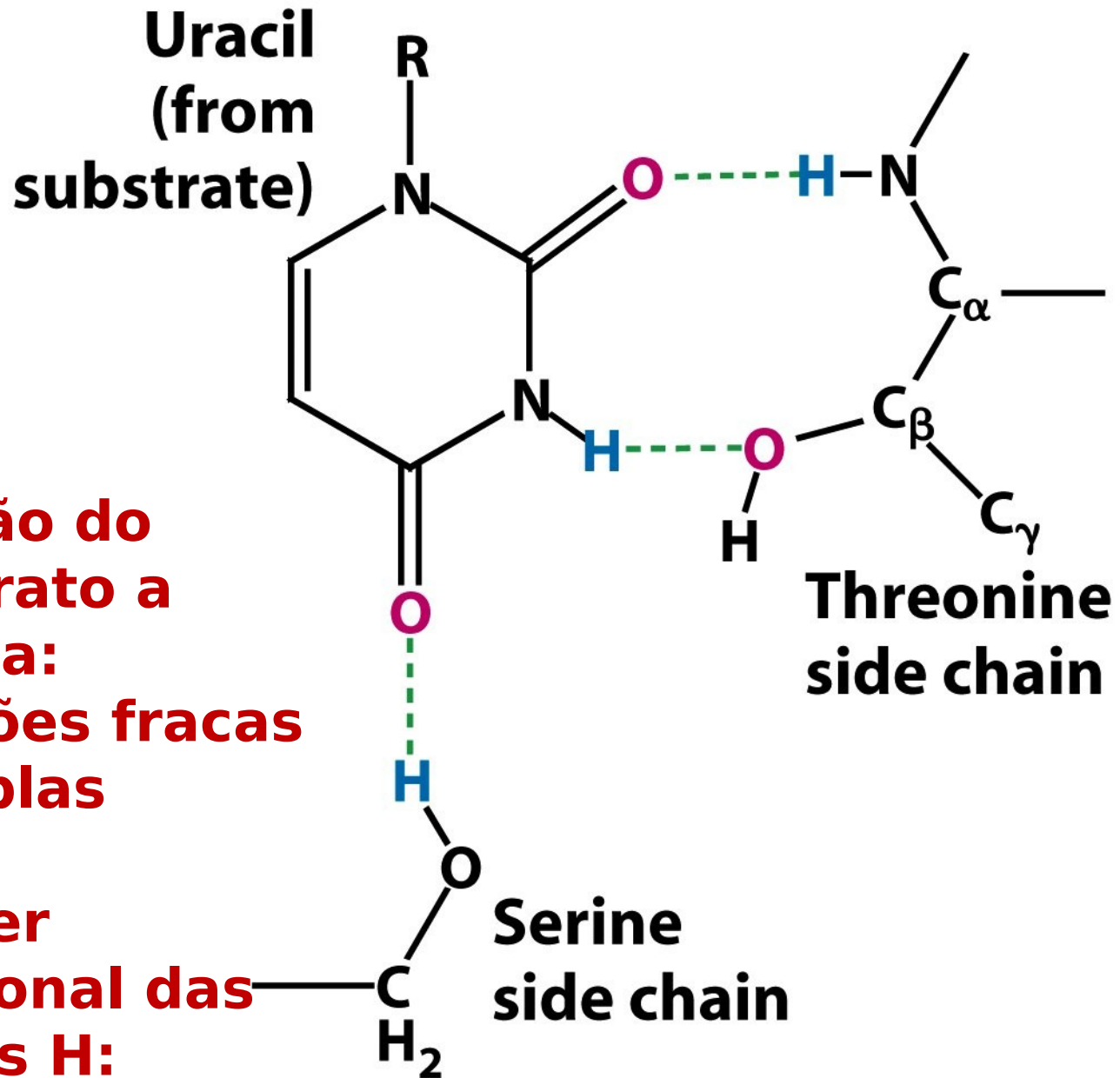


Figure 8-7  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W. H. Freeman and Company



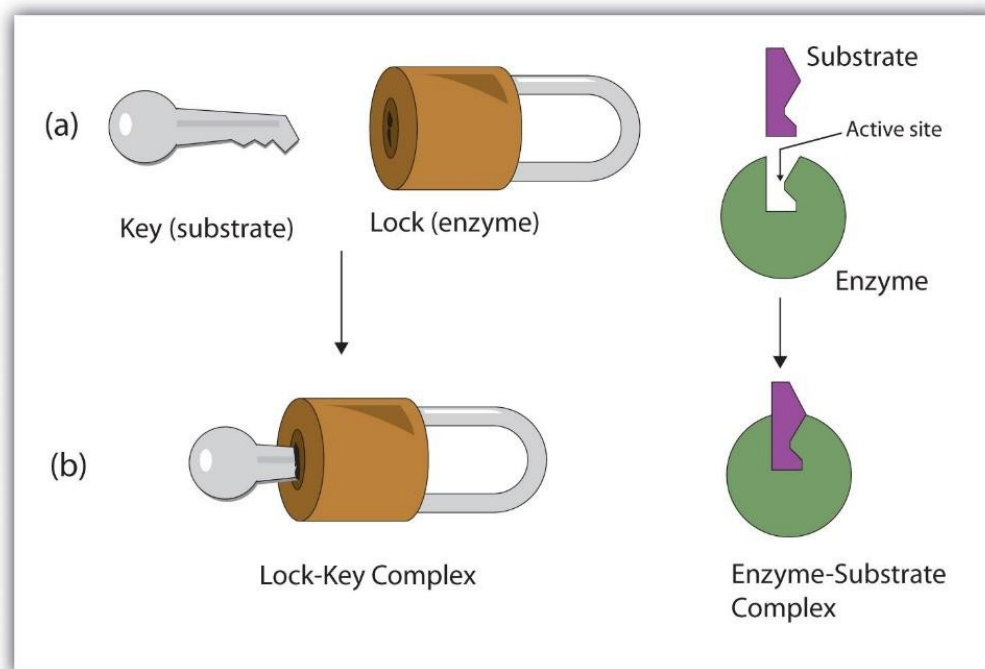
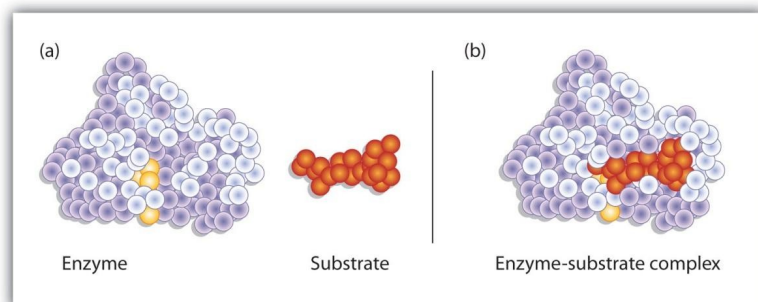
**Ligação do  
substrato a  
enzima:  
ligações fracas  
múltiplas**

**Caráter  
direcional das  
pontes H:  
especificidade**

# Modelos de interação enzima-substrato

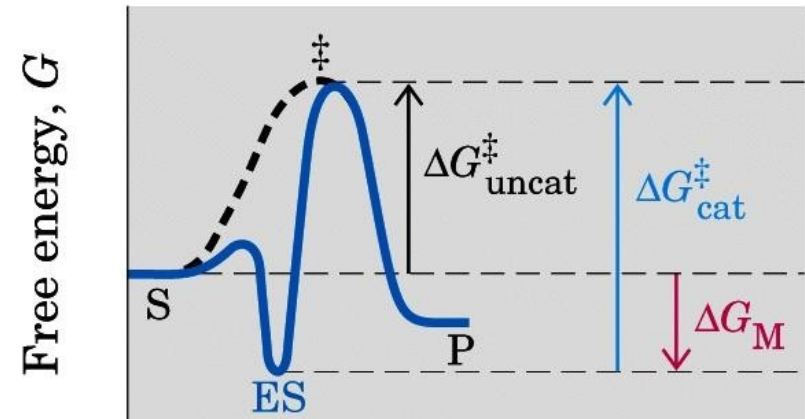
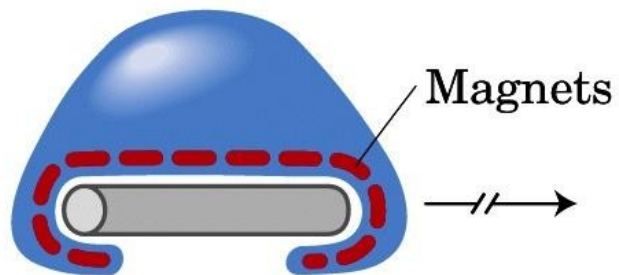
Modelo da chave-fechadura (Fischer, 1894)

- A enzima possui uma estrutura complementar ao substrato, que se liga de forma específica a ela. O sítio ativo teria uma forma mais rígida.
- Este modelo é perfeito em explicar a **especificidade** enzimática...  
**MAS...**



## Modelos de interação enzima-substrato

### (b) Enzyme complementary to substrate

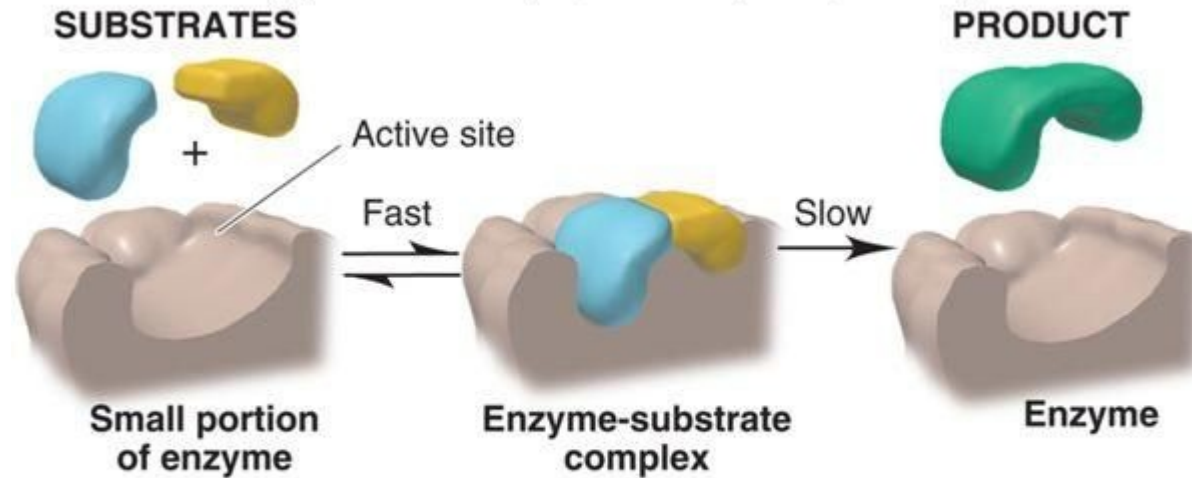


A energia do complexo ES é muito menor do que a do estado de transição e produto, ou seja, o complexo ES é muito mais favorável do que a formação do produto!

Hoje, quando tal fato acontece, entendemos que se trata de um INIBIDOR, ou seja, uma molécula que inibe o acontecimento daquela reação.



# Modelos de interação enzima-substrato



**B Induced-fit model:** *active site changes shape to bind substrate(s) more effectively.*

## Encaixe induzido (Koshland, 1958)

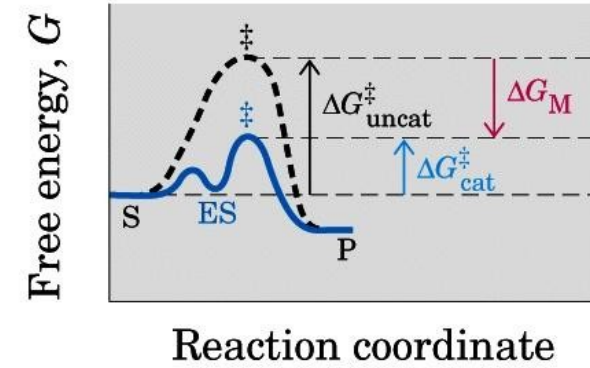
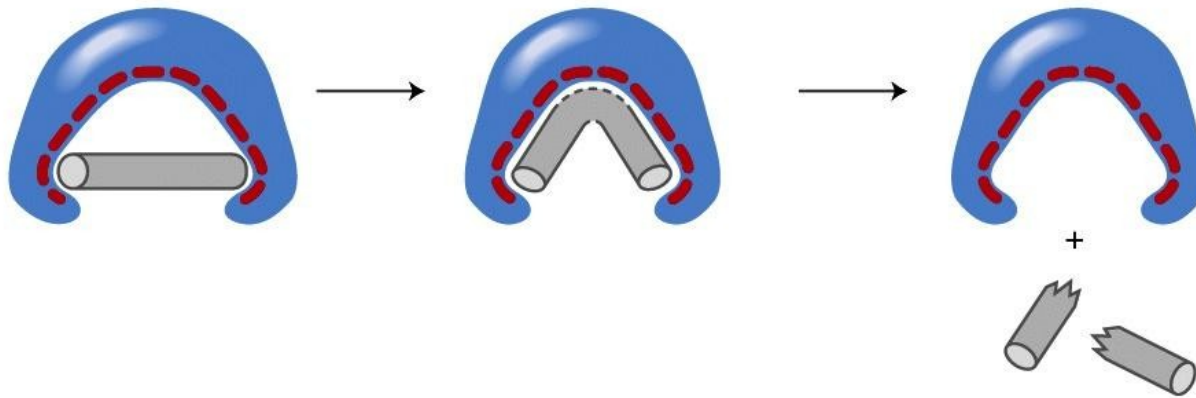
Enzima e substrato NÃO possuem estruturas complementares que se “encaixam” perfeitamente.

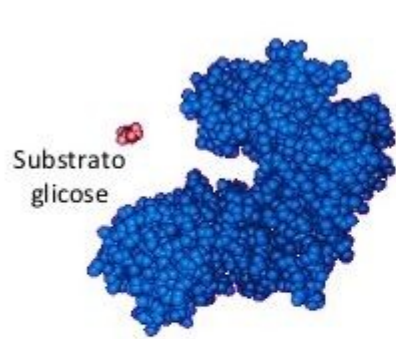
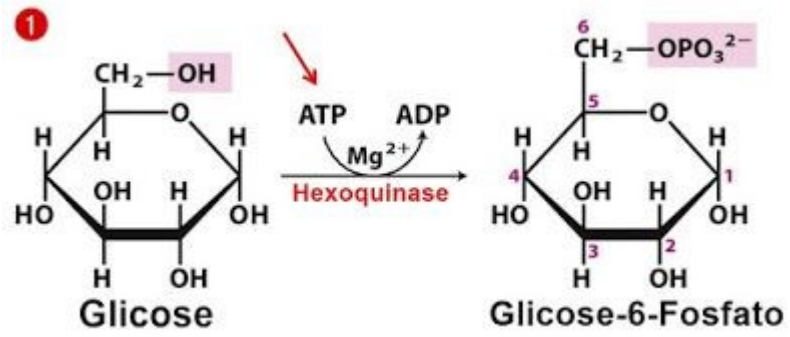
A interação do substrato com o sítio ativo da enzima provoca uma mudança conformacional em sua estrutura;

A estrutura do substrato é complementar ao estado de transição da enzima, ou seja, após a mudança conformacional, E e S possuem estruturas complementares que facilitam a reação chegar aos seus produtos de interesse.

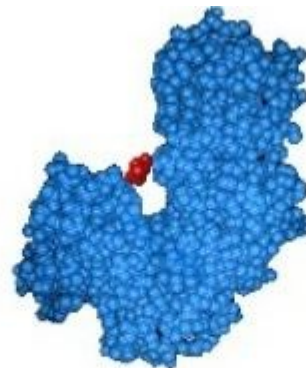
# Modelos de interação enzima-substrato

(c) Enzyme complementary to transition state

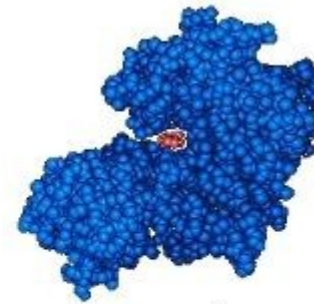




Enzima  
(Hexokinase)



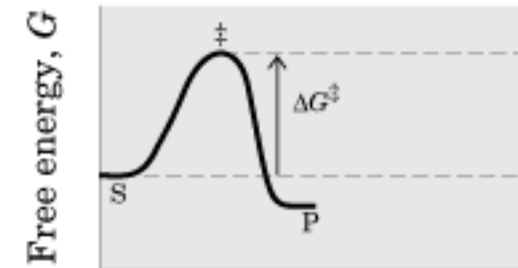
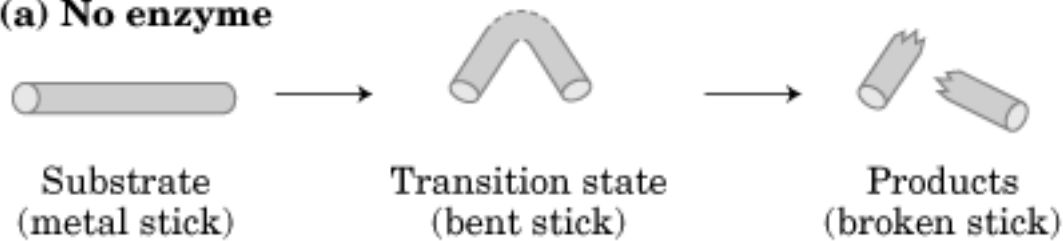
Enzima  
(Hexokinase)



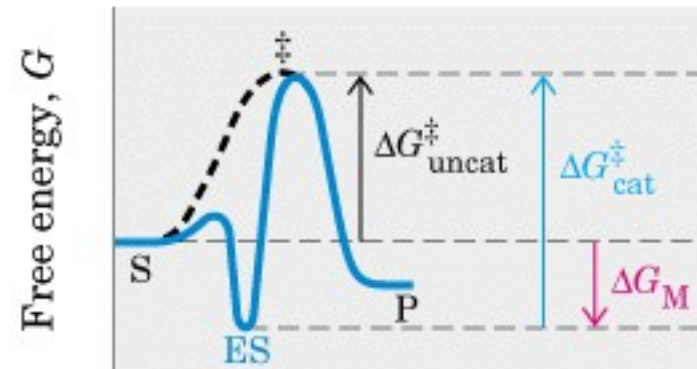
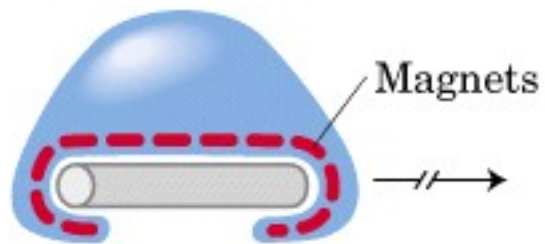
Complexo Enzima-subtrato  
(Hexokinase - Glucose)

# Eficiência deriva da ligação do substrato a enzima!

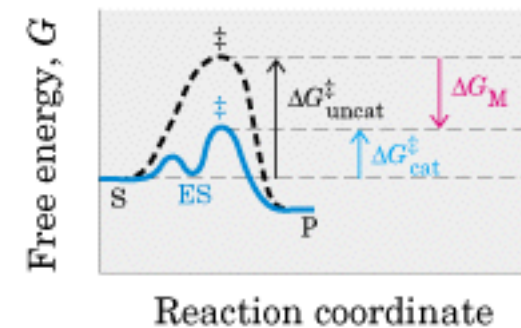
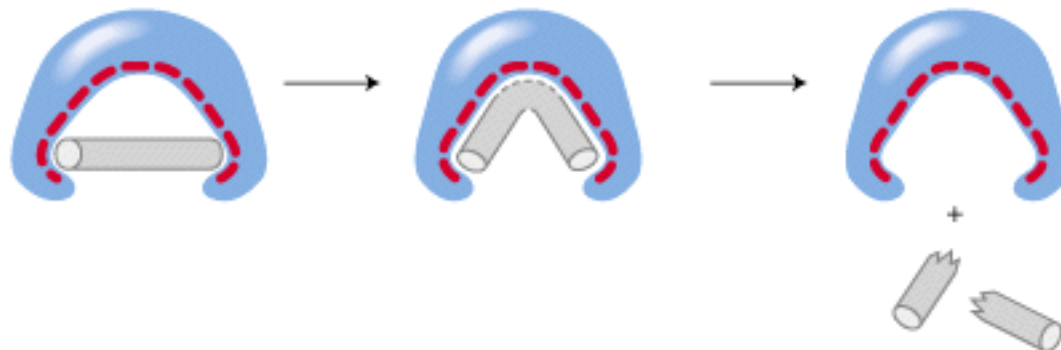
(a) No enzyme



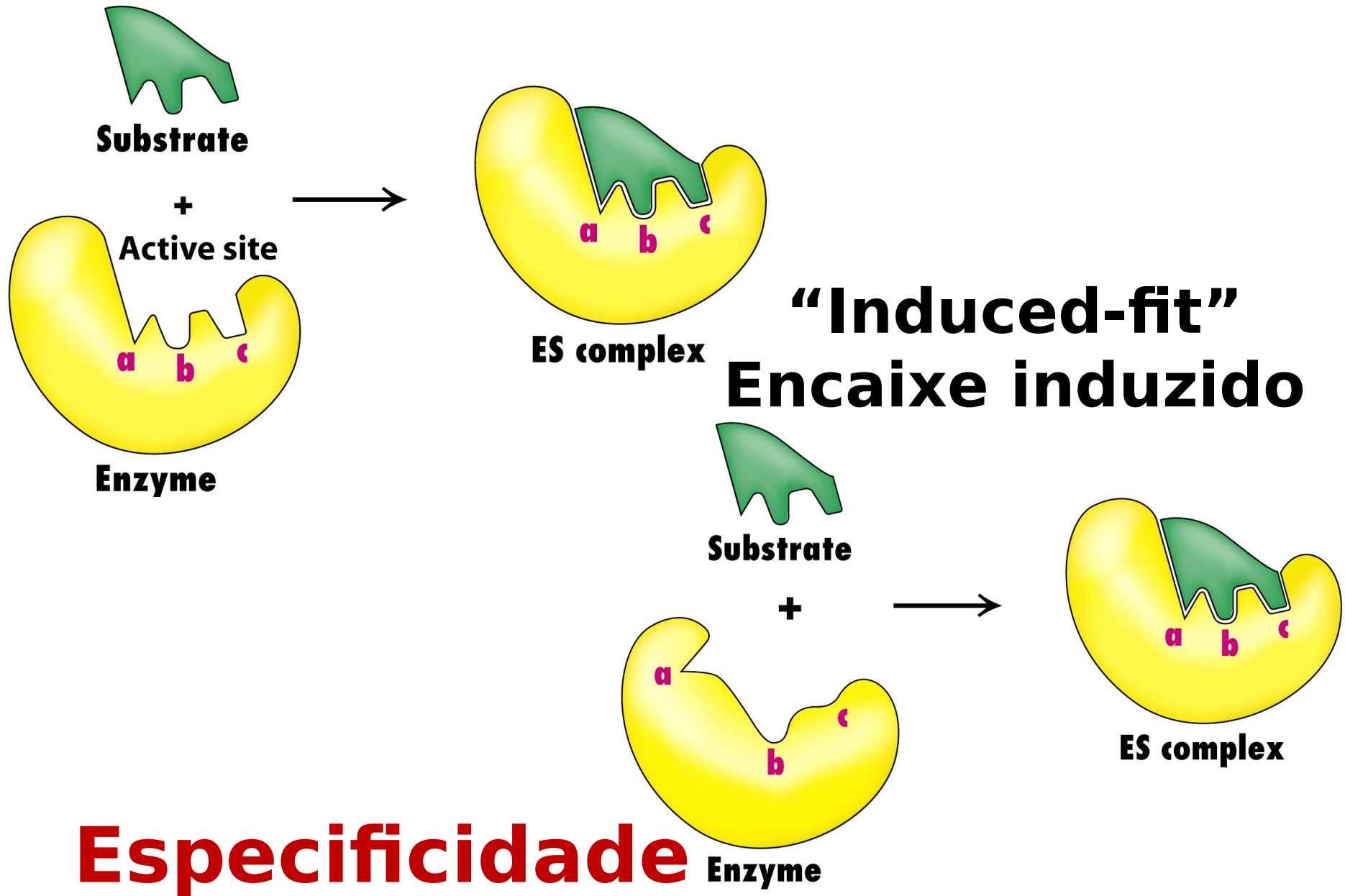
(b) Enzyme complementary to substrate

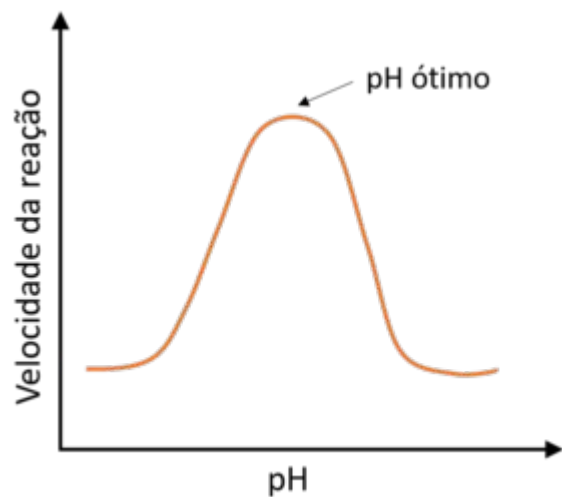


(c) Enzyme complementary to transition state



# Chave-fechadura





Enzima	pH ótimo
Lipase (estômago)	4.0 – 5.0
Lipase (pâncreas)	8.0
Pepsina	1.5 – 1.6
Tripsina	7.8 – 8.7
Urease	7.0
Maltase	6.1 – 6.8
Amilase (pâncreas)	6.7 – 7.0
Catalase	7.0

