

Competitive inhibitor

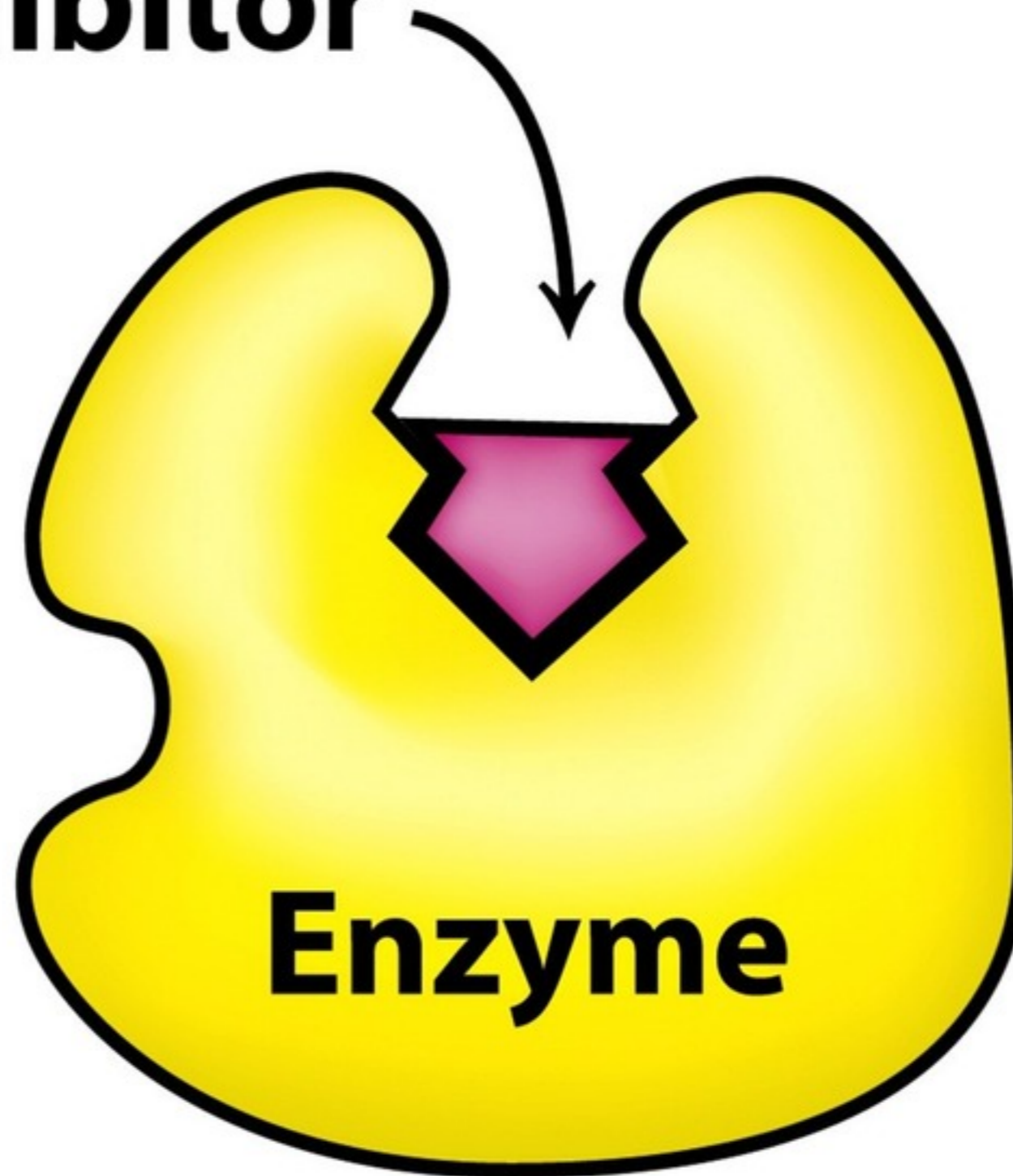
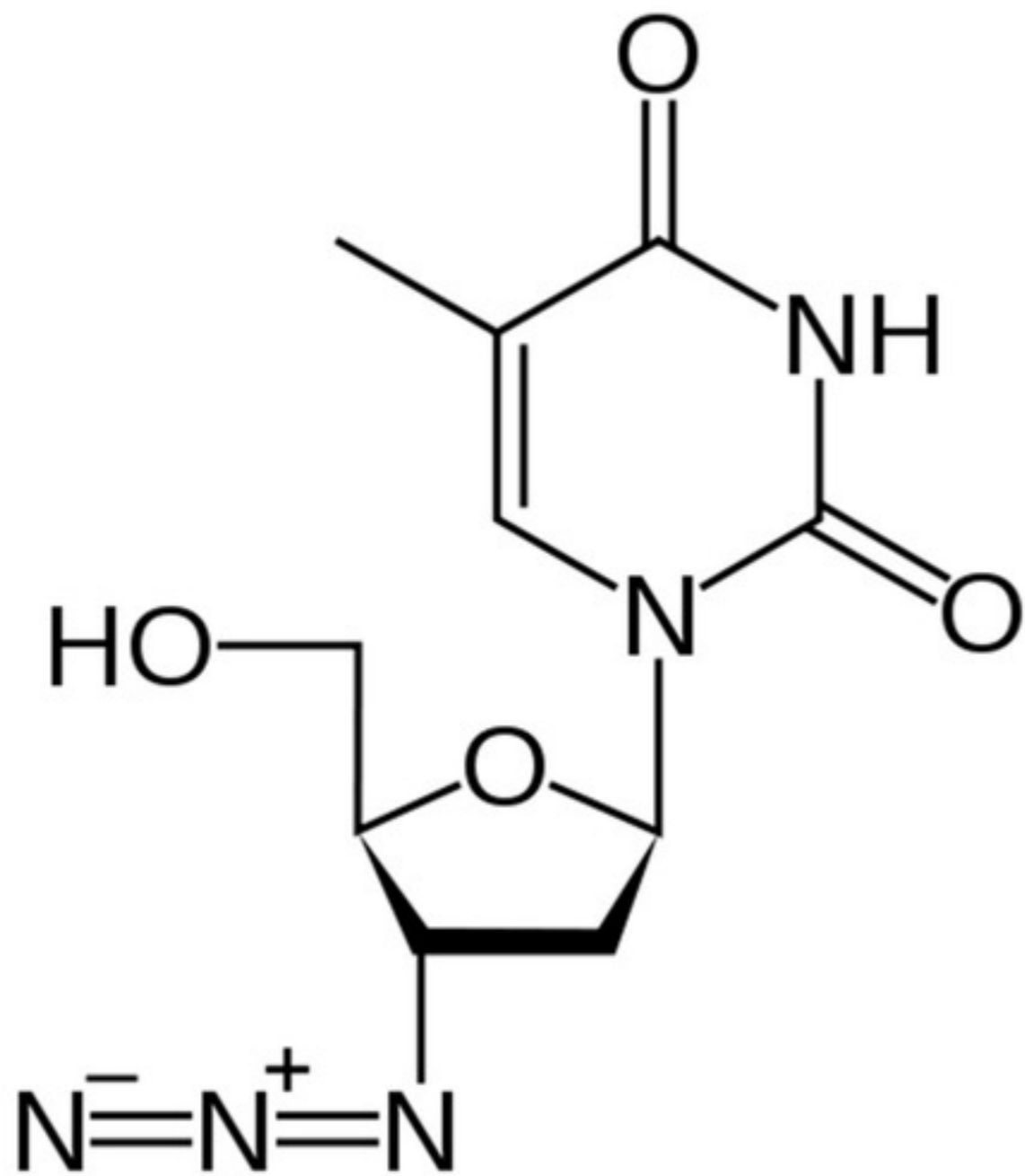
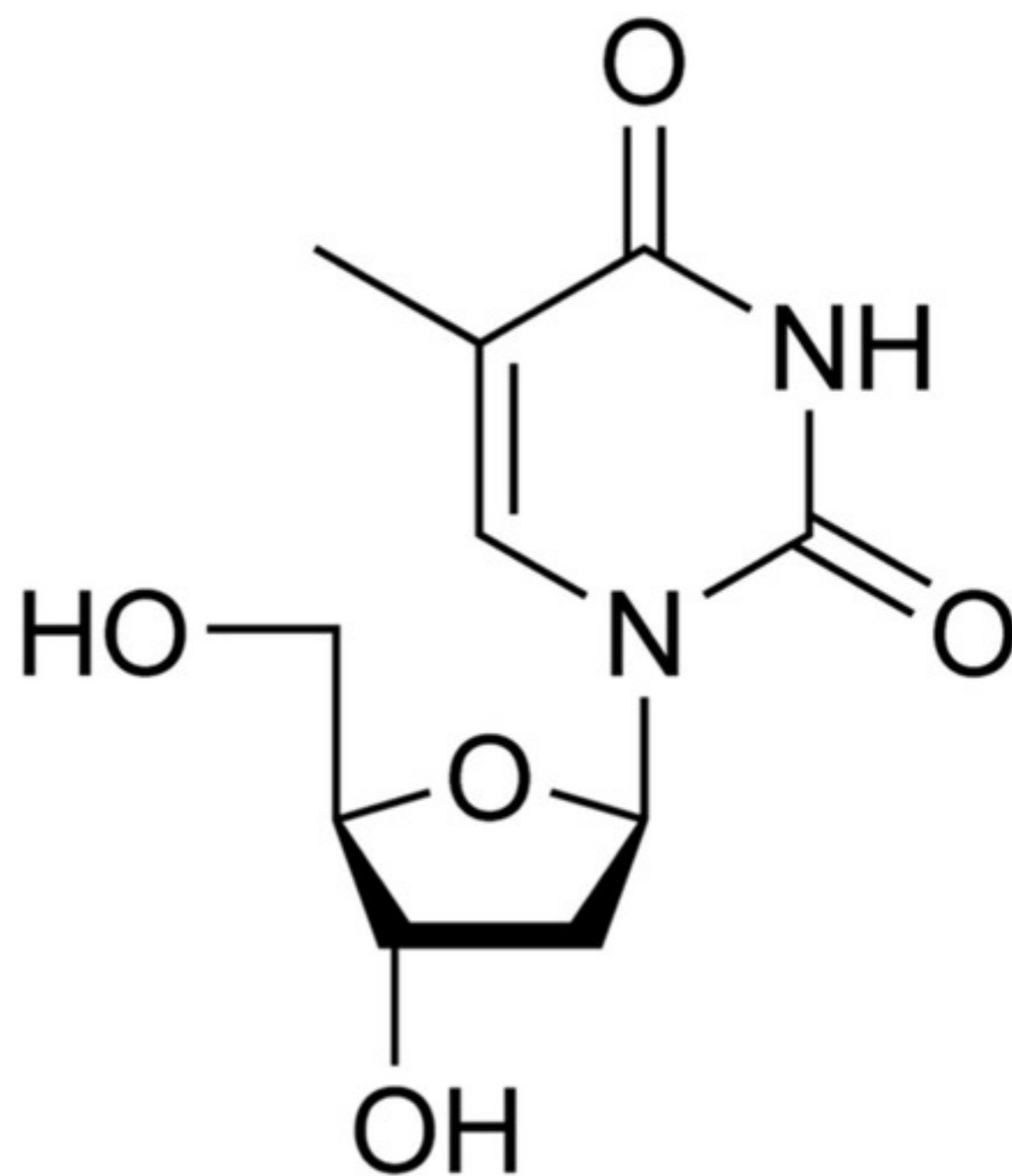


Figure 8-15b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

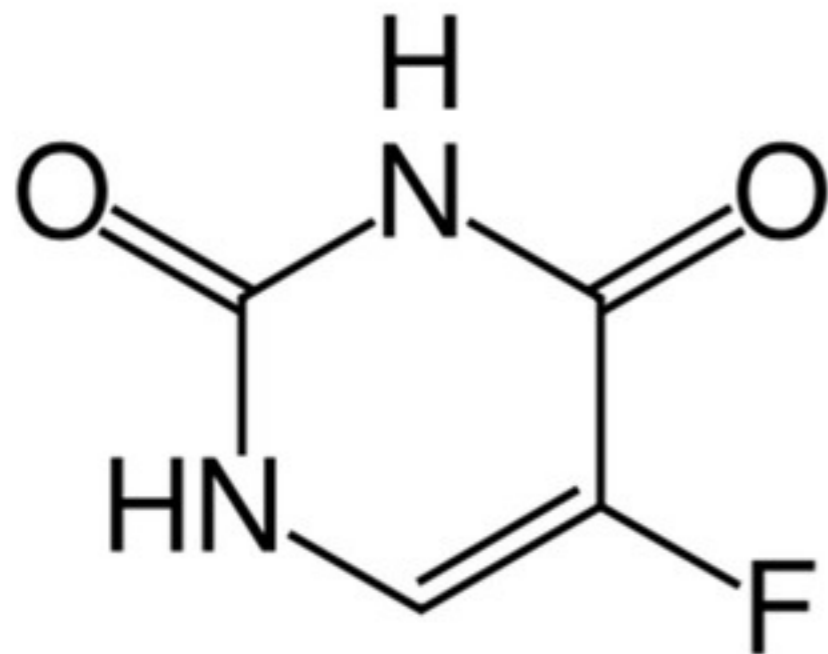


AZT
(3'azido-2'desoxitimidina)

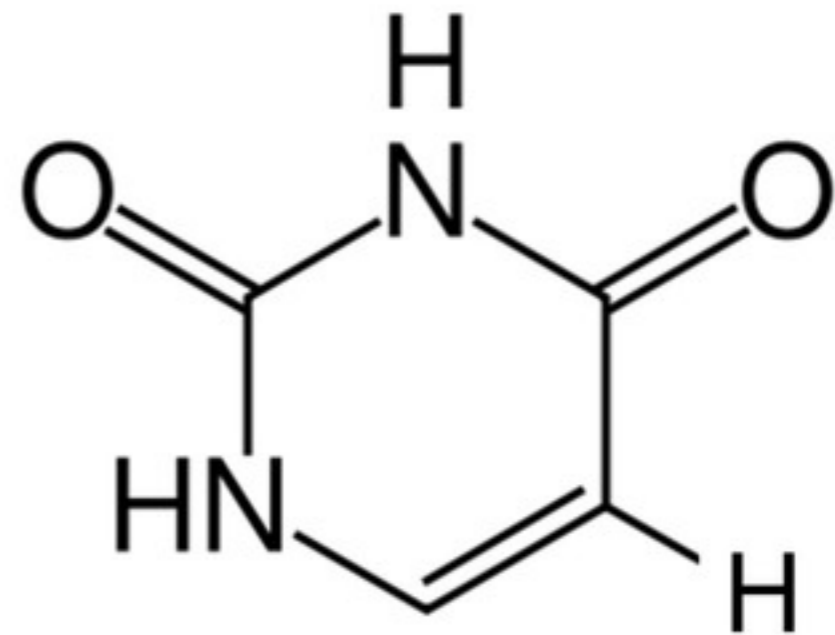


Desoxitimidina

Enzima: DNA polimerase viral
Tratamento AIDS



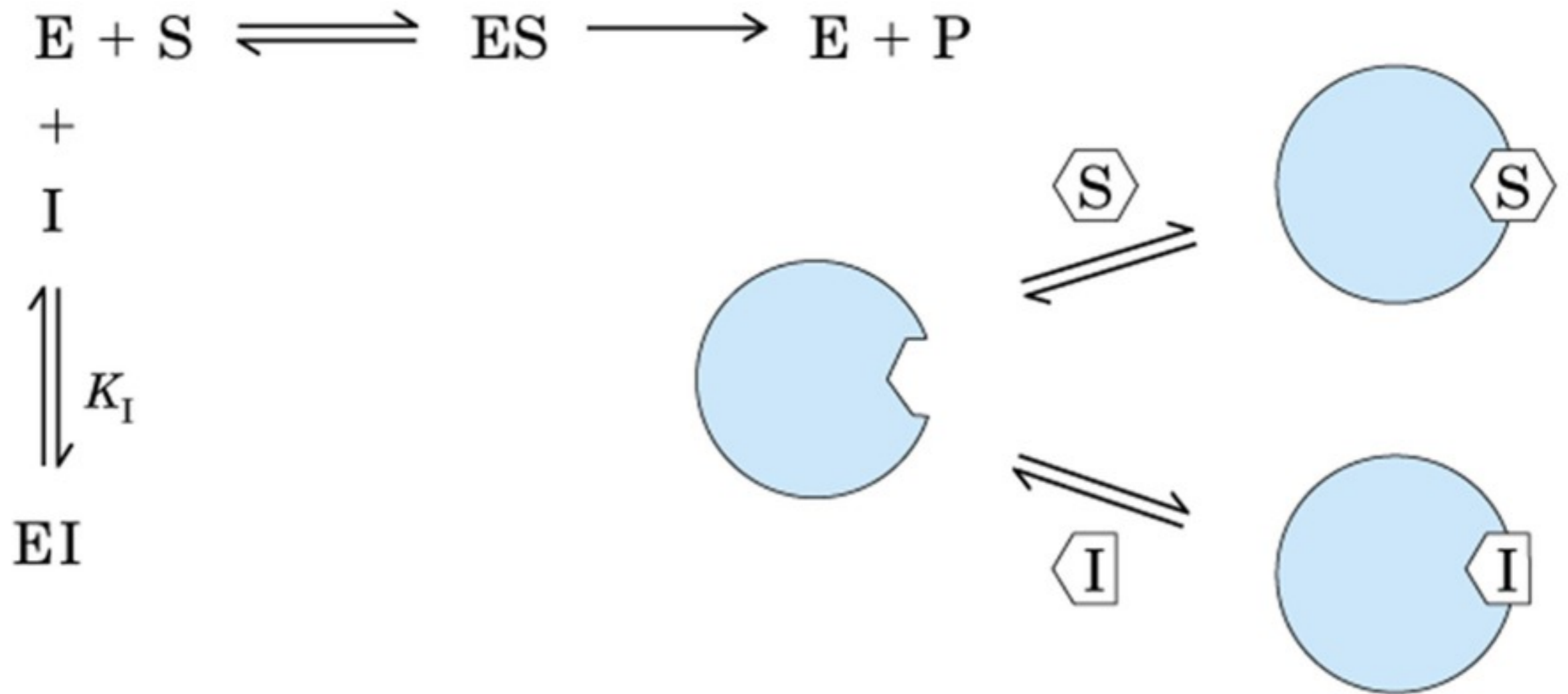
5 fluorouracila



Uracila

Enzima: timidilato sintase

Tratamento de tumores



(a) Competitive inhibition

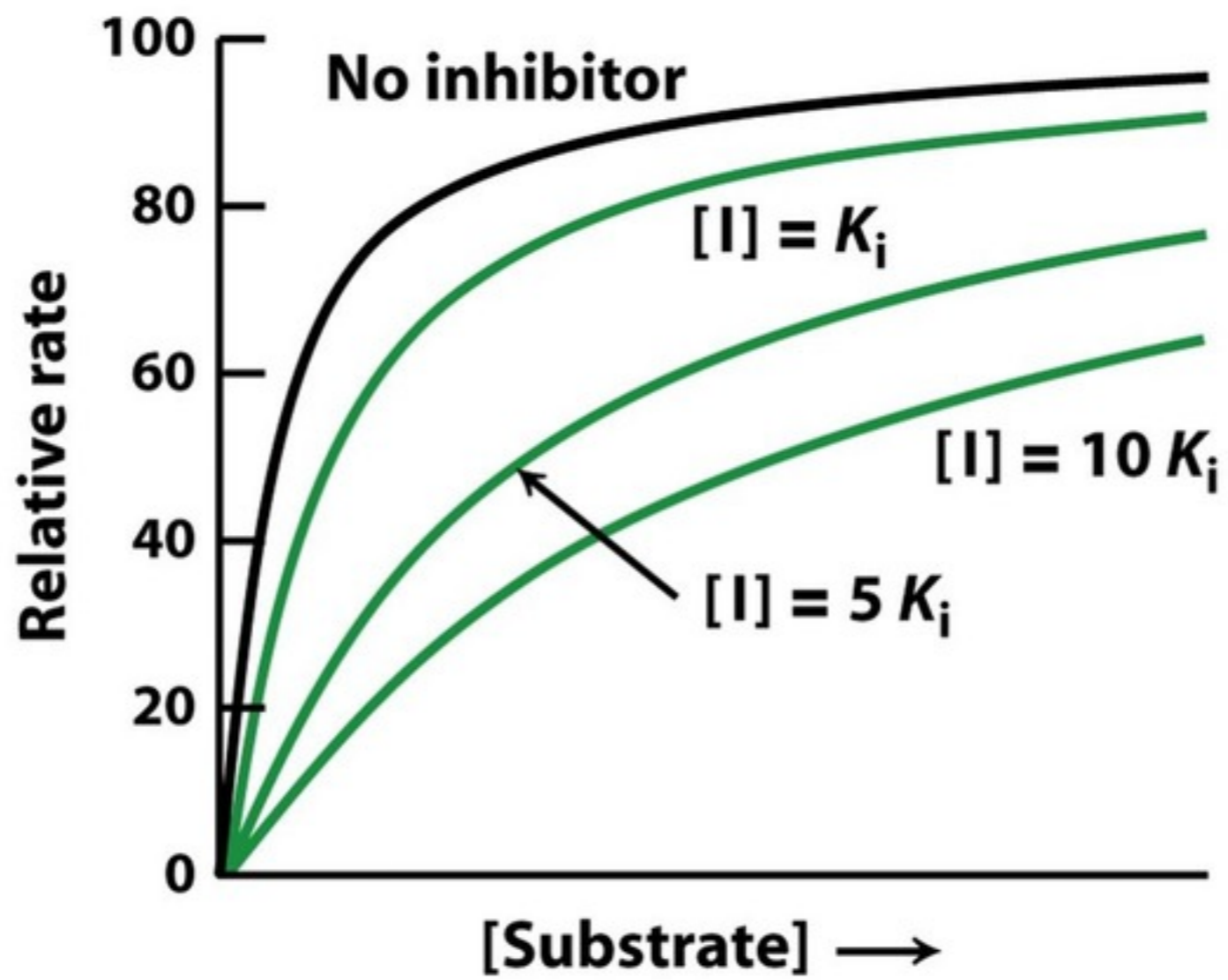
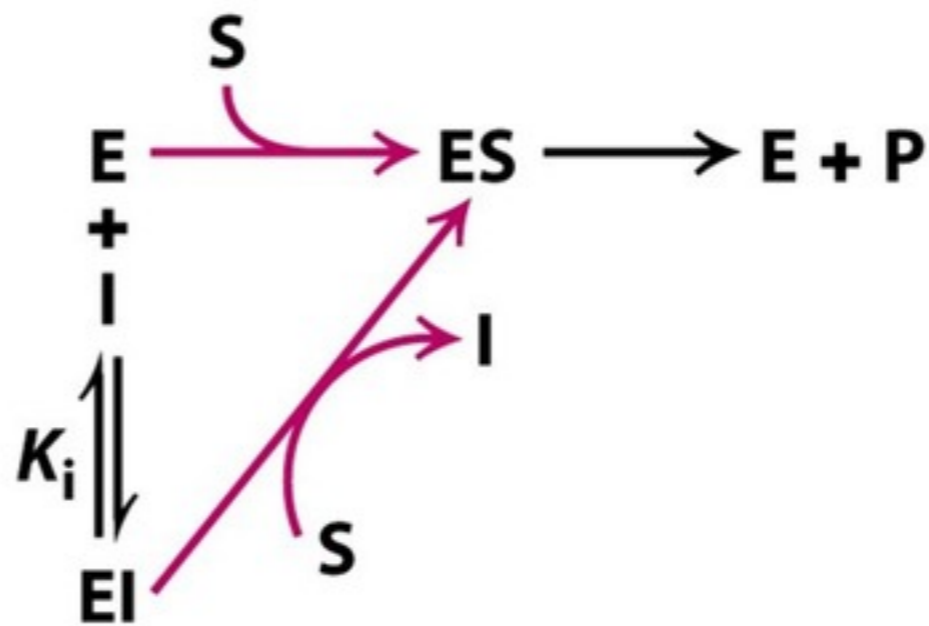


Figure 8-17
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

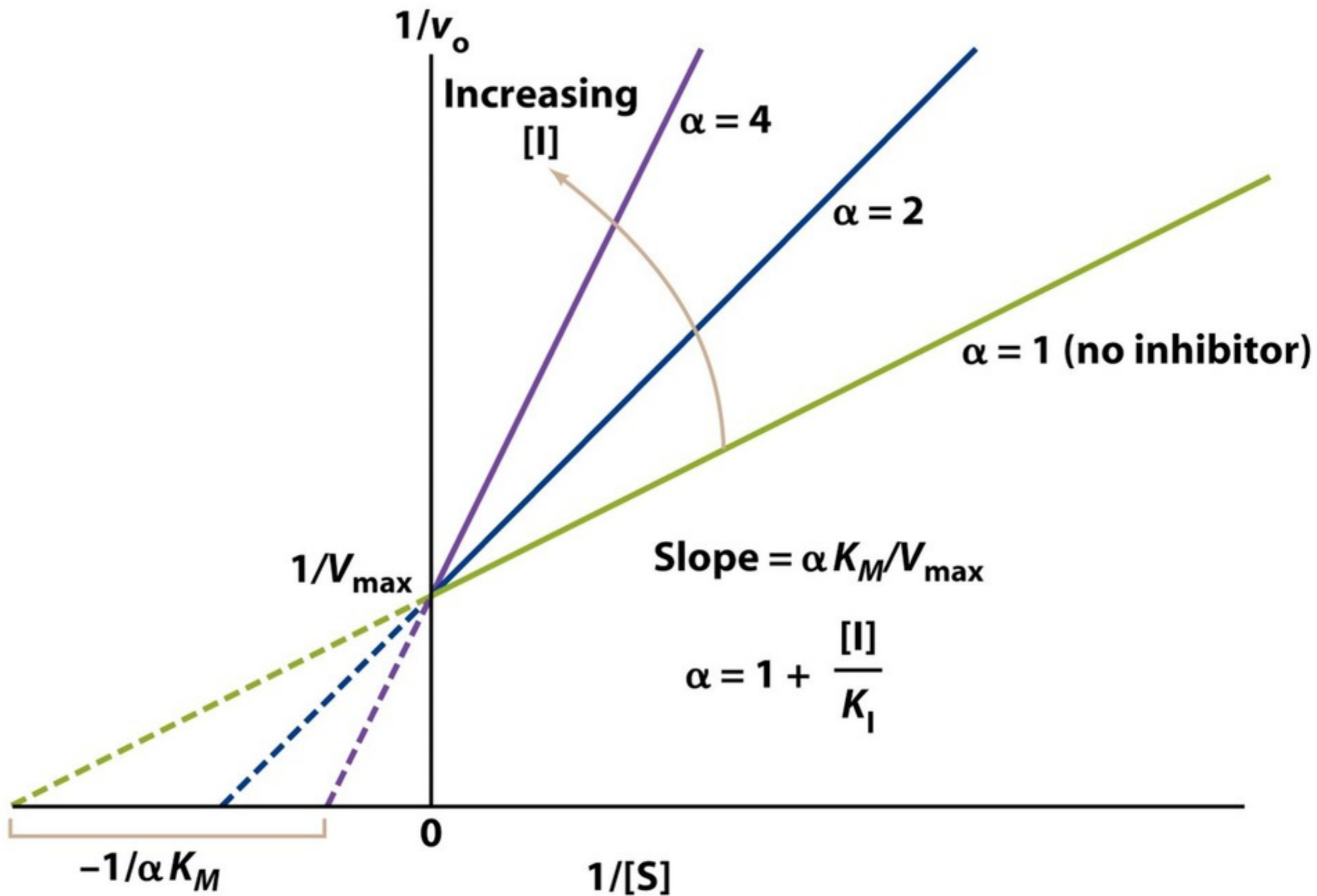
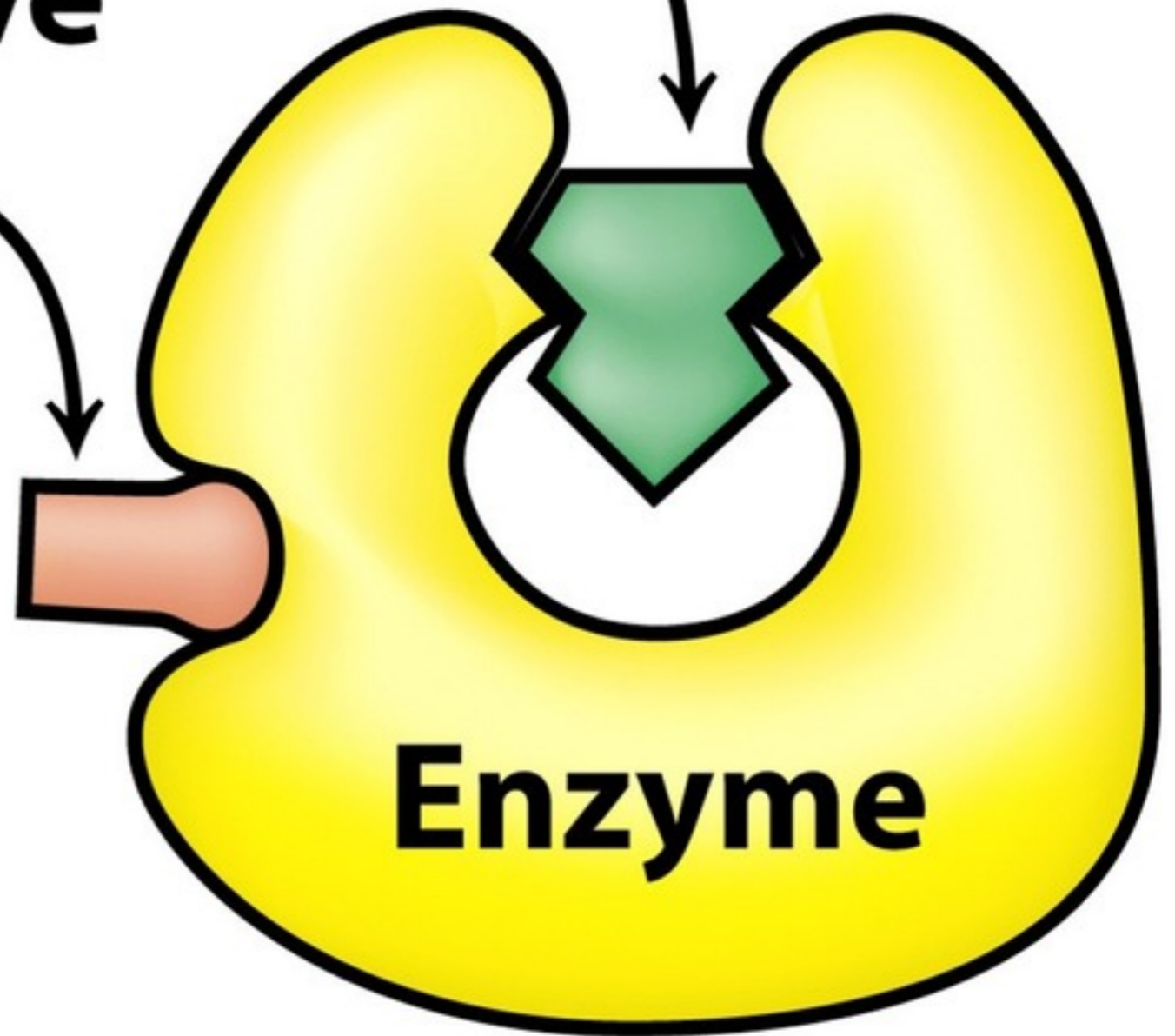


Figure 12-7 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
 © 2006 John Wiley & Sons

Substrate

Noncompetitive inhibitor



Exemplos de inibidores não-competitivos:

Hg^{+2} , Pb^{+2} = reagem com grupos $-\text{SH}$ das proteínas

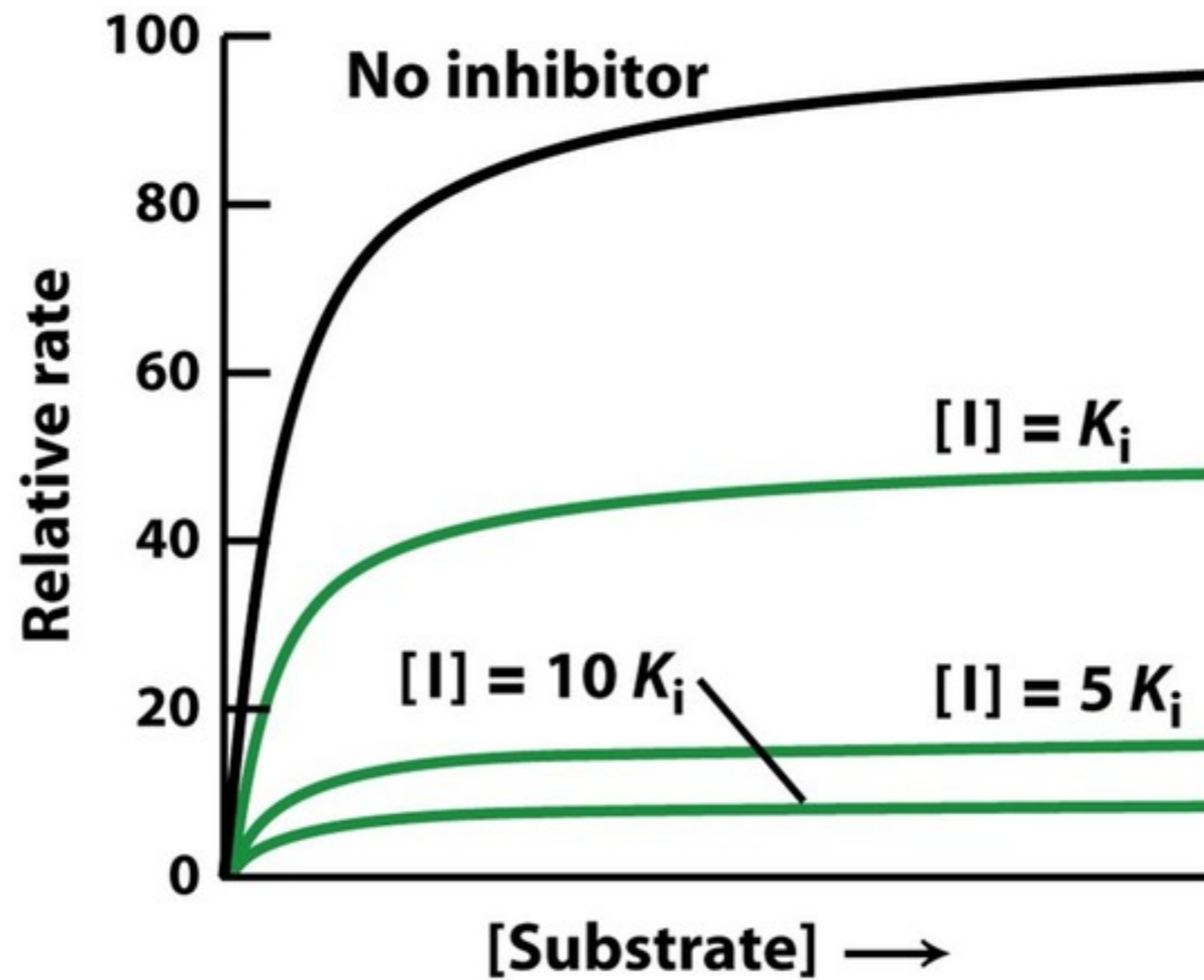
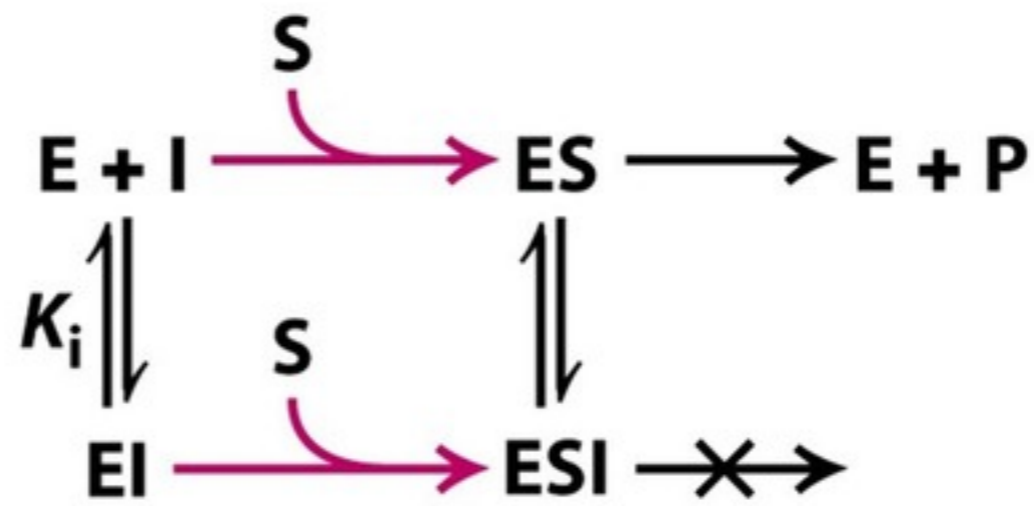


Figure 8-19
Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

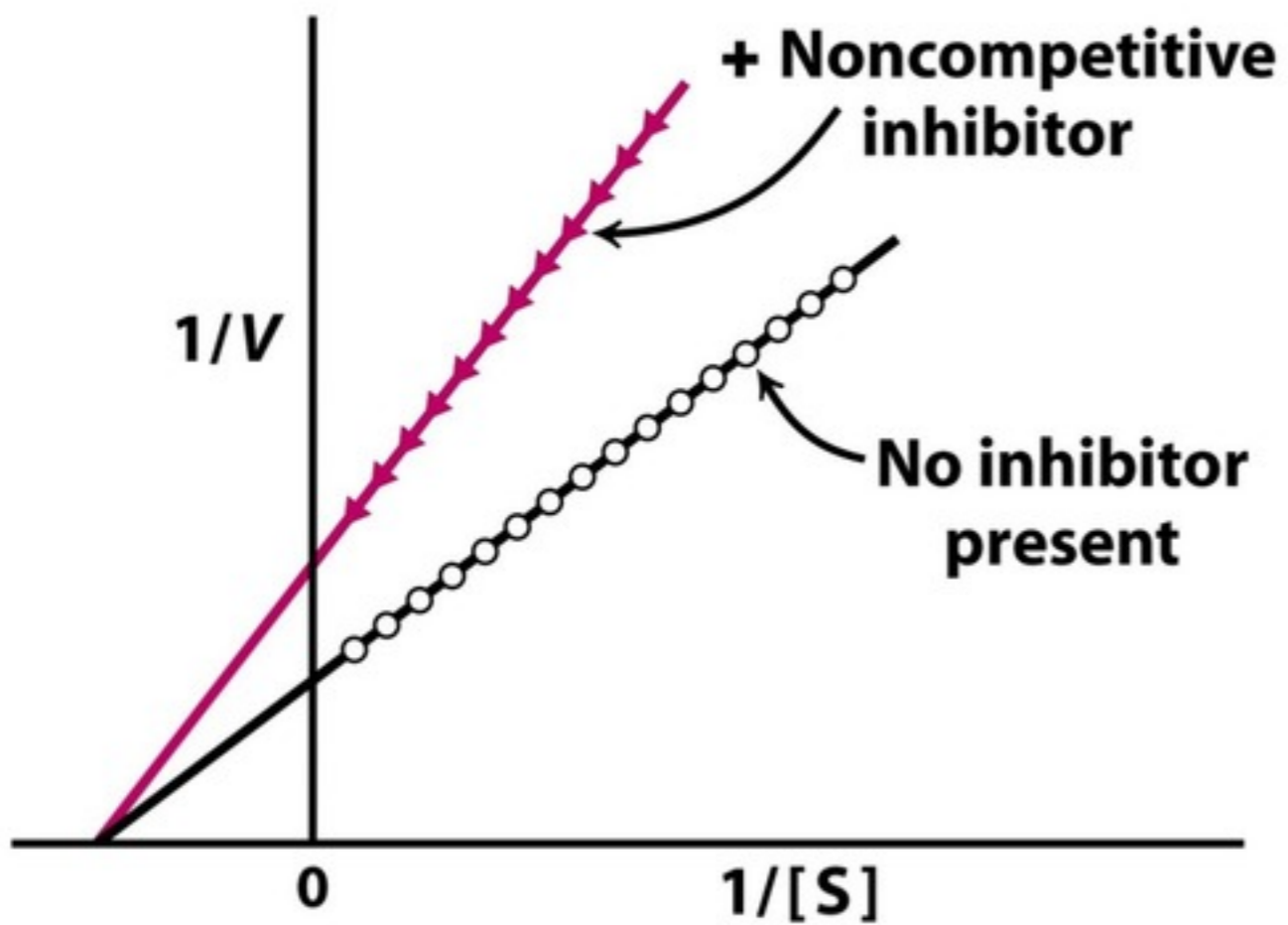


Figure 8-22
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

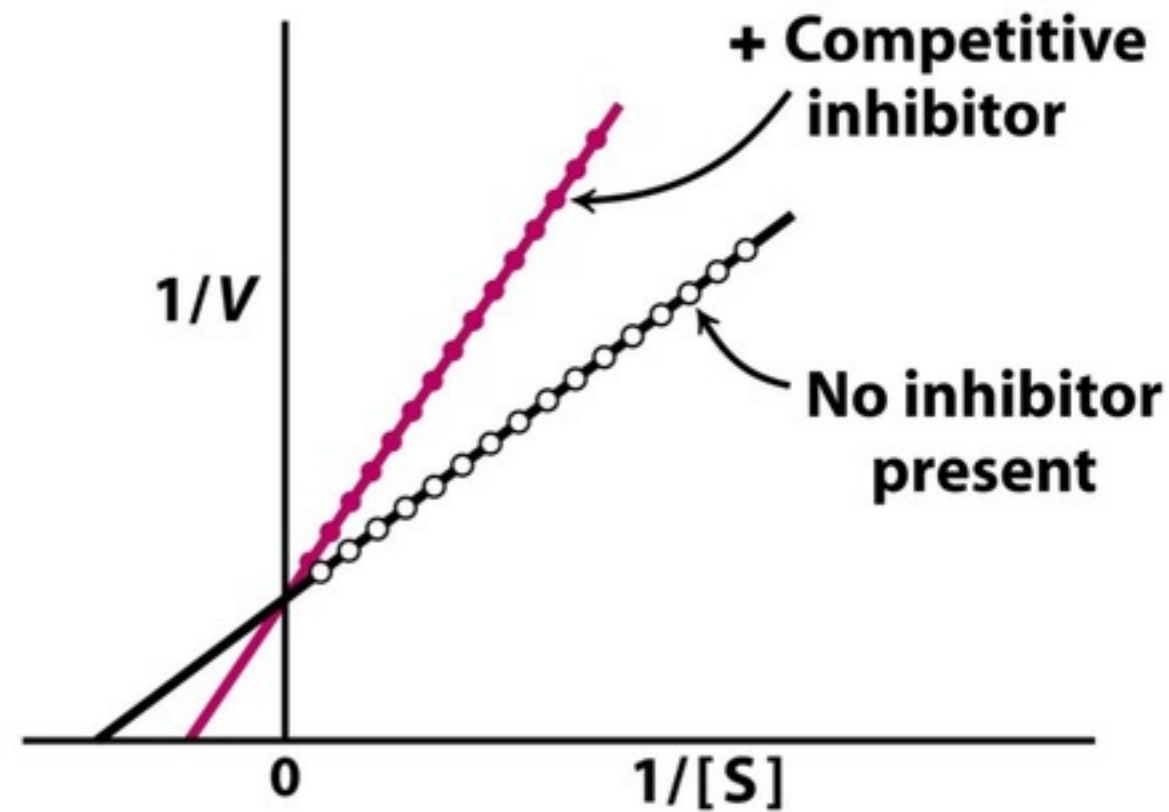
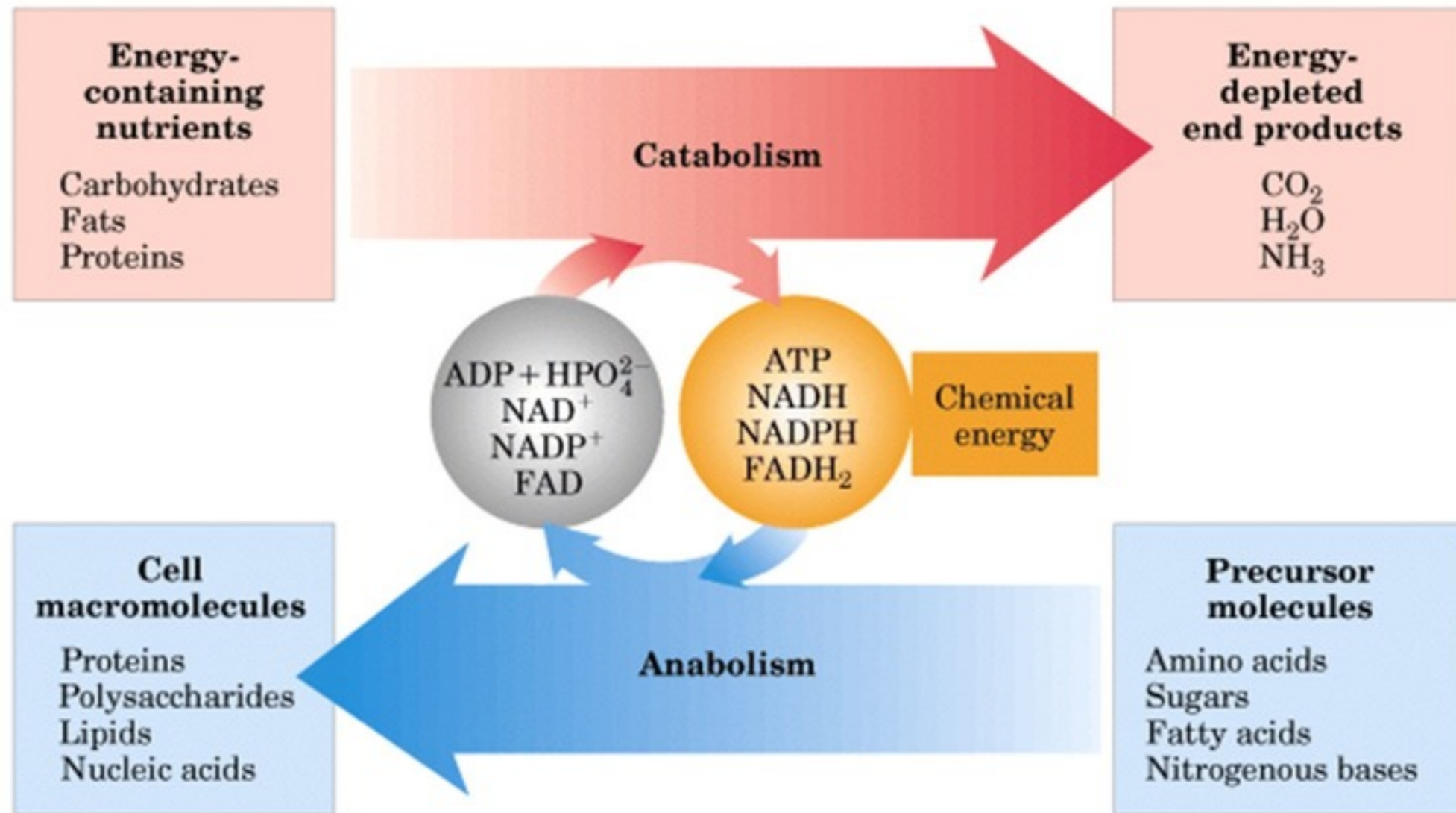
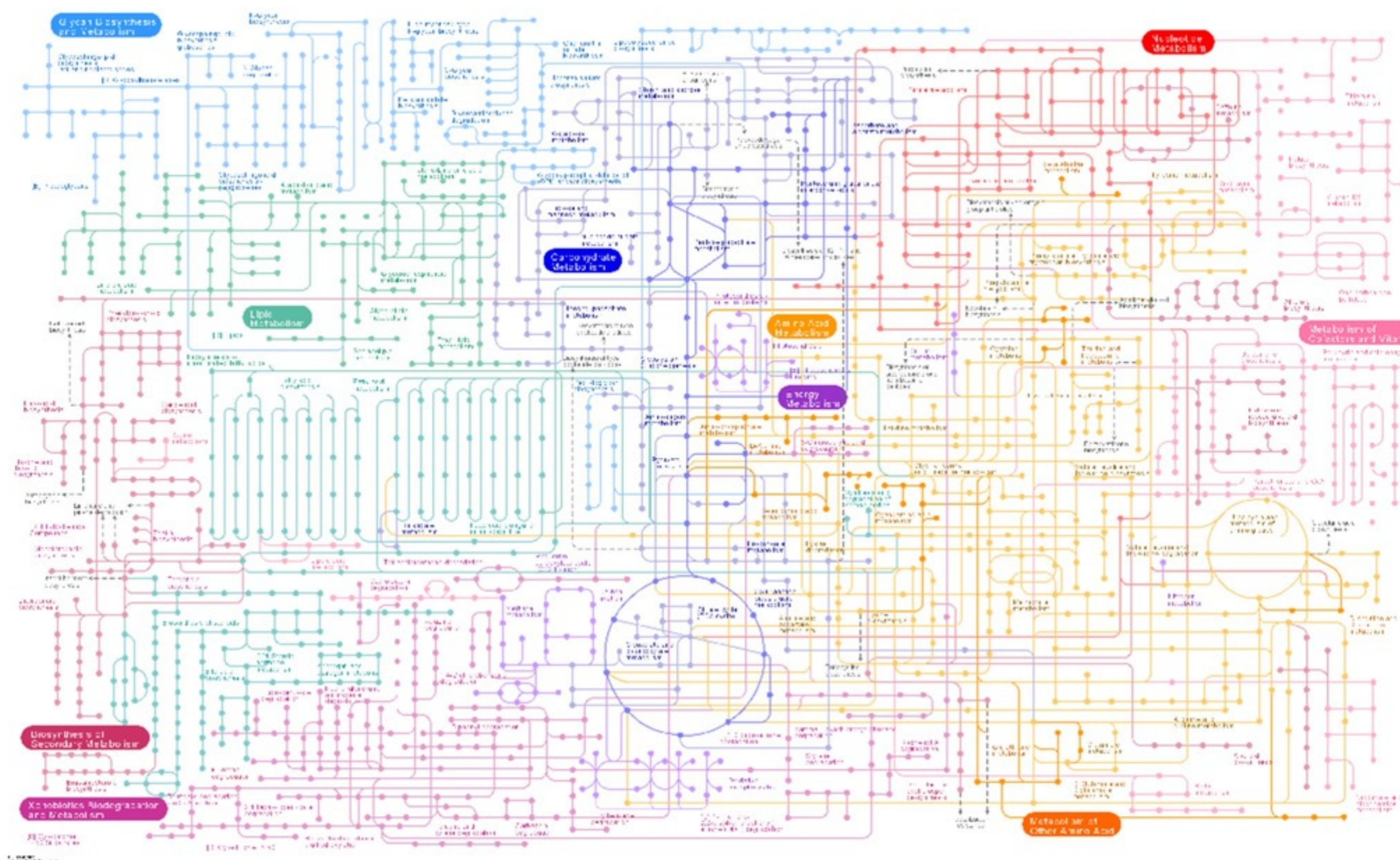


Figure 8-20
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

Regulação da Atividade Enzimática

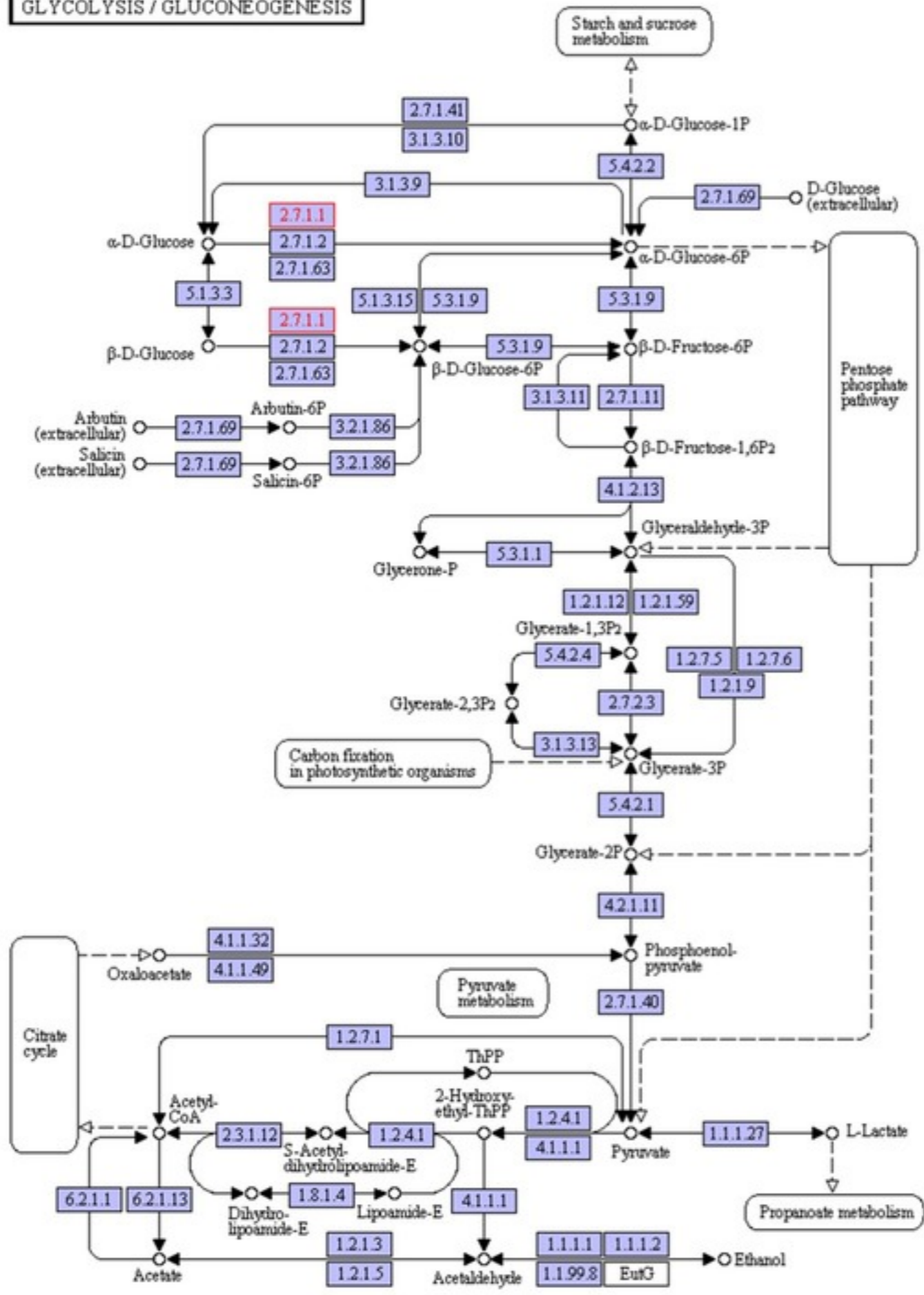
A regulação enzimática é importante para manter a homeostase celular





Vias de síntese e degradação das biomoléculas

GLYCOLYSIS / GLUCONEOGENESIS



00010 3/5/10
 (c) Kanehisa Laboratories

Estratégias de regulação enzimática

- **Físico**
- **[] do substrato**
- **[] da enzima**
- **Expressão gênica**
- **Alosterismo**
- **Isoenzimas**
- **Modificações covalentes**
- **Ativação enzimática**

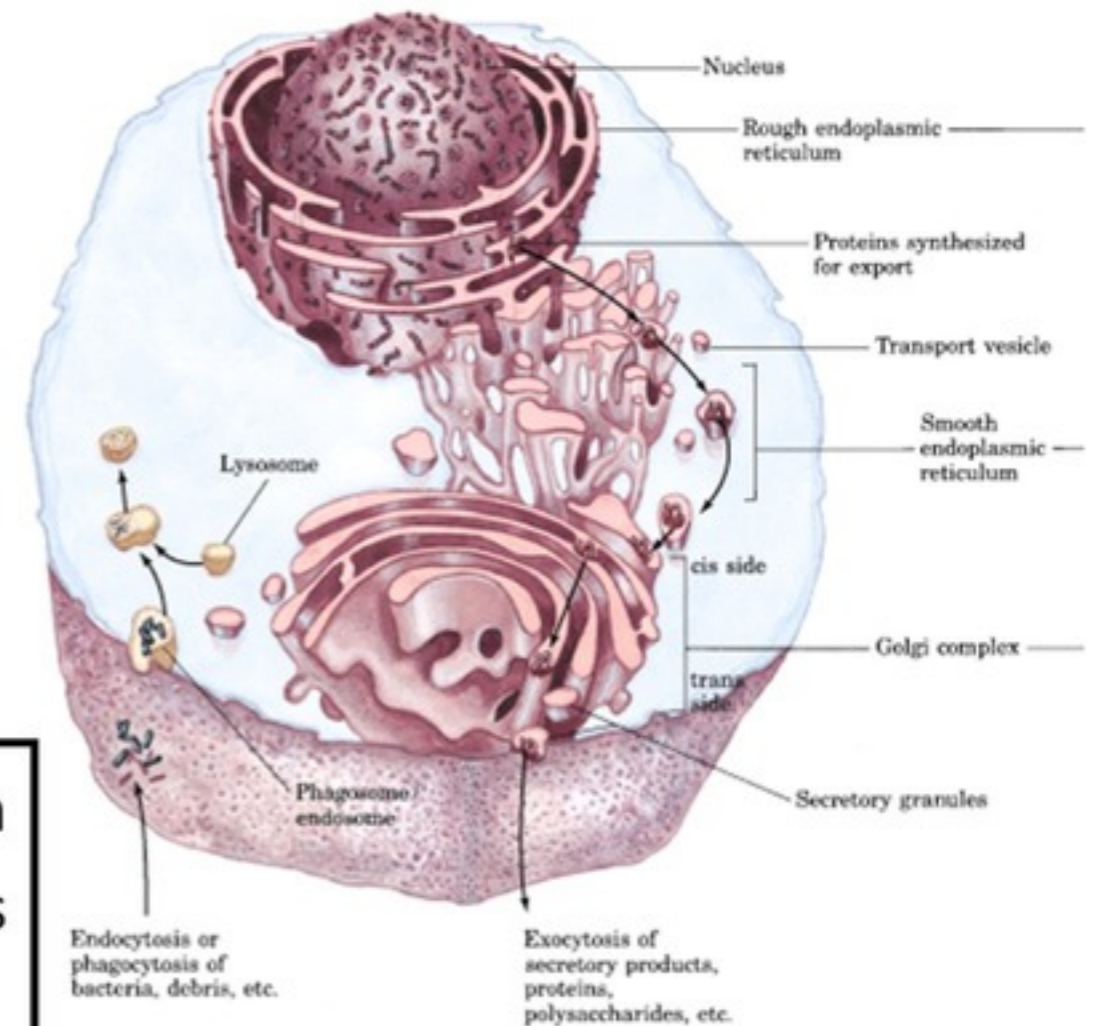
Mecanismos Regulatórios

FÍSICO

A enzima e o seu substrato devem estar no mesmo compartimento celular. **(compartimentalização).**

As reações catabólicas e anabólicas ocorrem geralmente em diferentes compartimentos celulares.

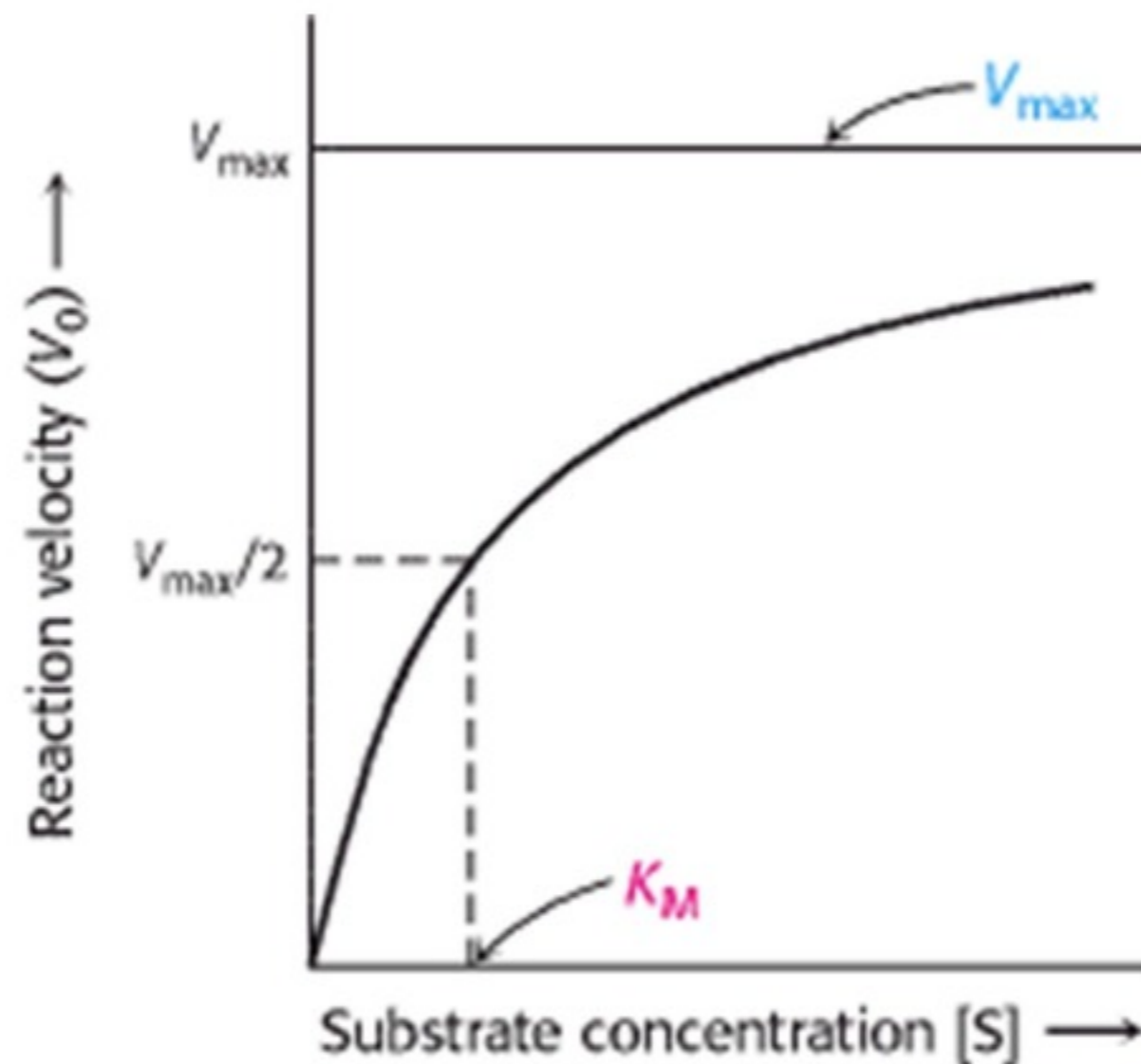
Por exemplo, o catabolismo de ác. graxos ocorre nas mitocôndrias e a síntese de ác. graxos ocorre no citosol.



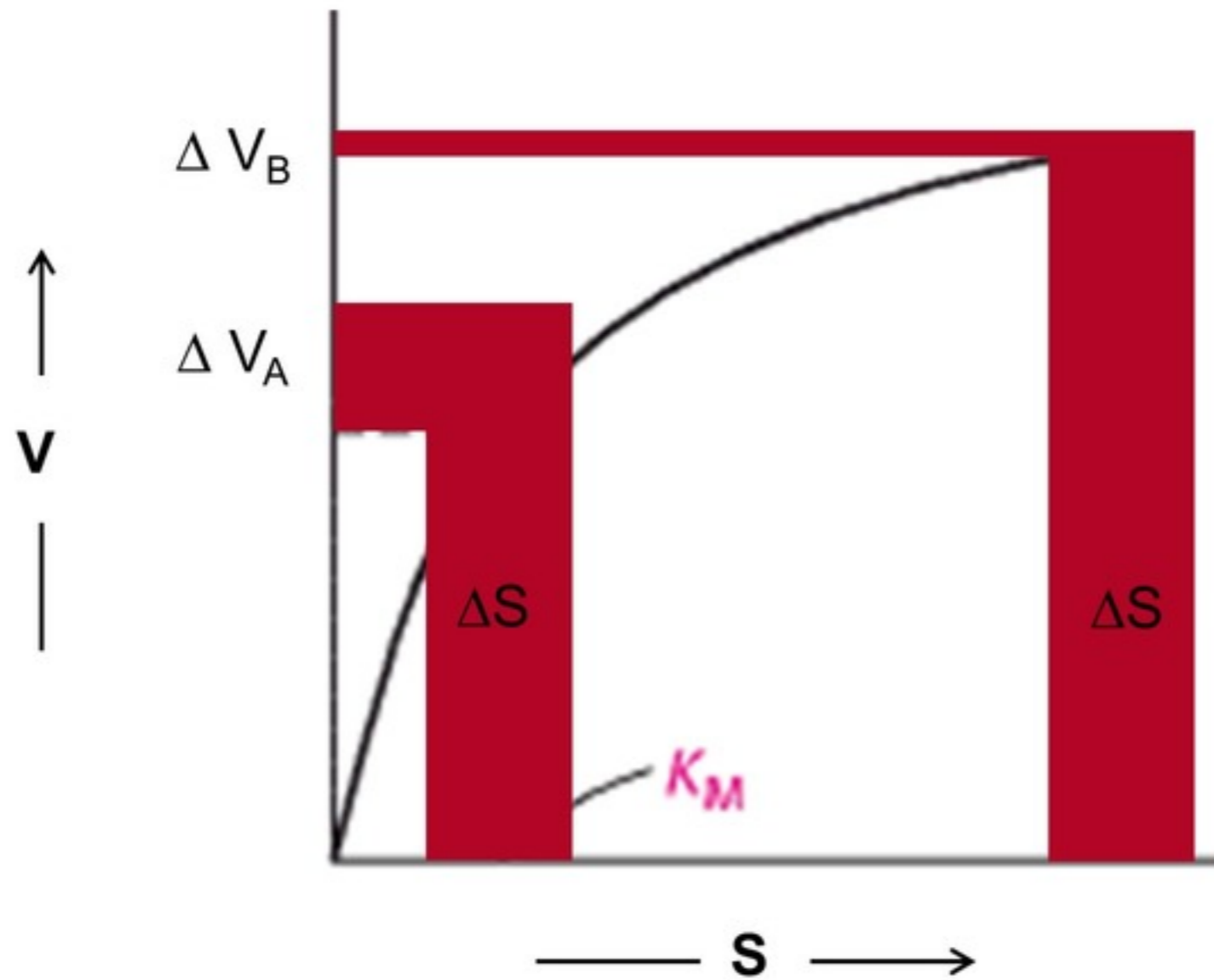
CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO

Geralmente a concentração celular do substrato na célula tende a ser muito similar ao K_M da enzima.

Por quê não usar o máximo da capacidade enzimática?



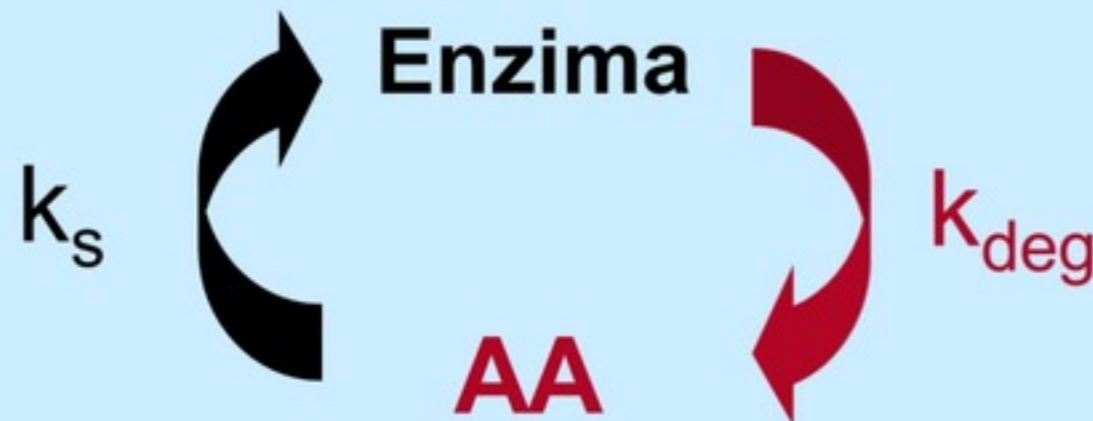
CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO



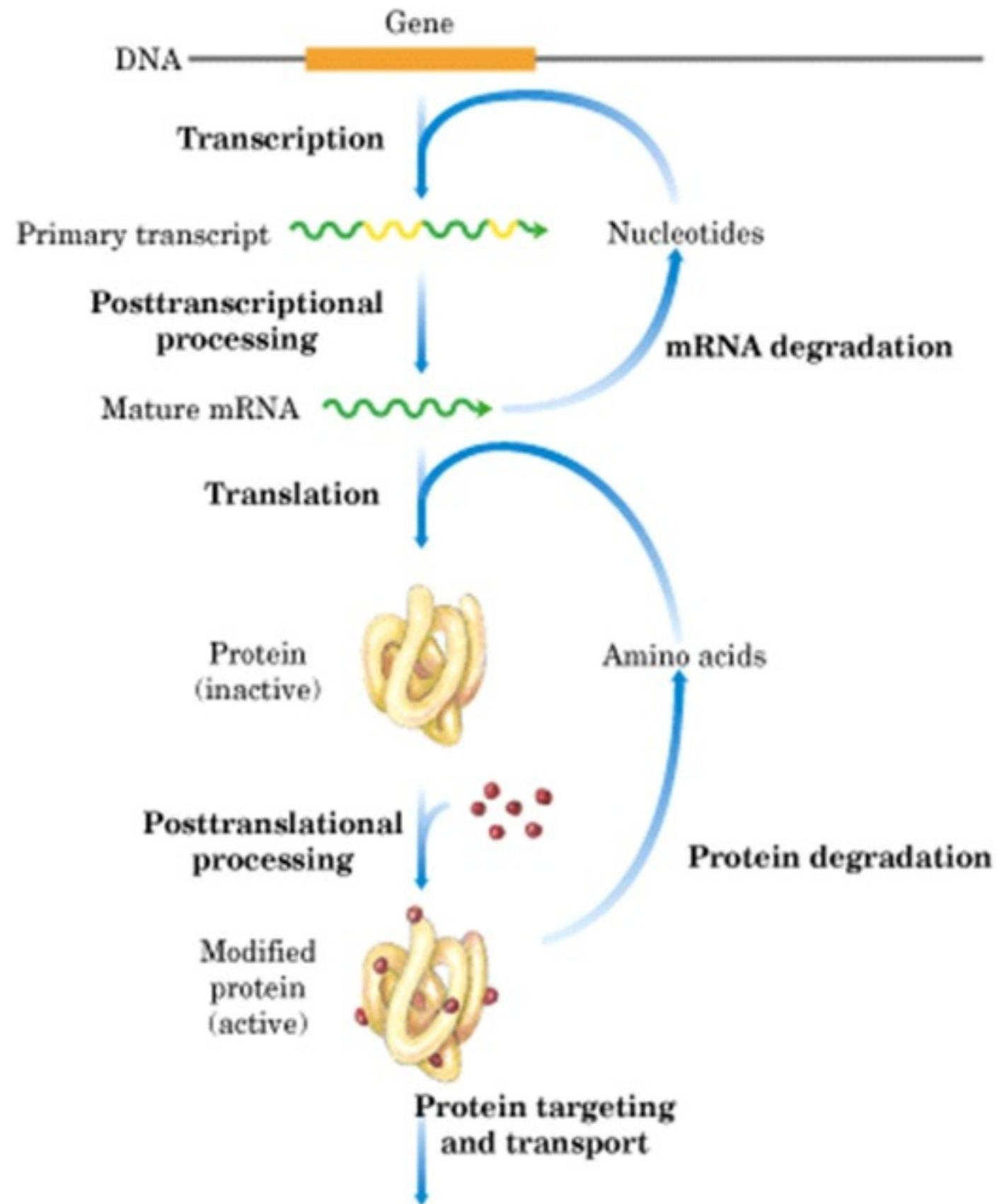
CONCENTRAÇÃO ENZIMÁTICA

Síntese e degradação

Assim como qualquer outra proteína, a concentração de uma dada enzima vai depender da relação entre as taxas de síntese (k_s) e degradação (k_{deg})



CONCENTRAÇÃO ENZIMÁTICA



Estratégias de regulação enzimática

- **Físico**
- [] do substrato
- [] da enzima
- **Expressão gênica**
- **Alosterismo**
- **Isoenzimas**
- **Modificações covalentes**
- **Ativação enzimática**

CONTROLE ALOSTÉRICO

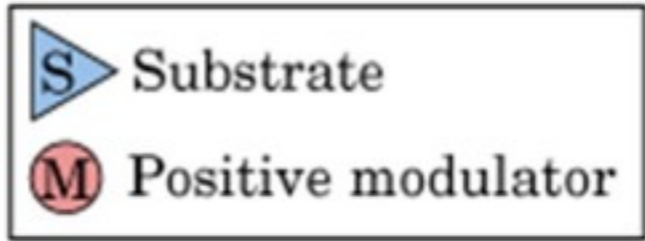
Proteínas **alostéricas** são aquelas que adquirem diferentes conformações induzidas pela ligação de moduladores.

O mesmo conceito se aplica para as enzimas.

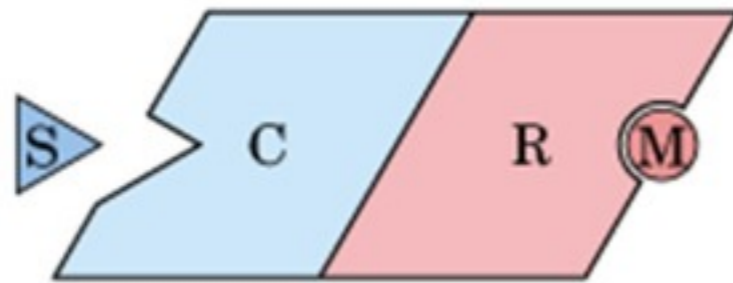
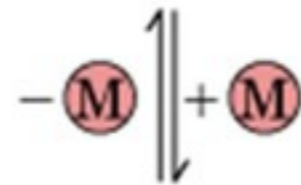
- **Moduladores:**

podem ser tanto inibidores como estimuladores.

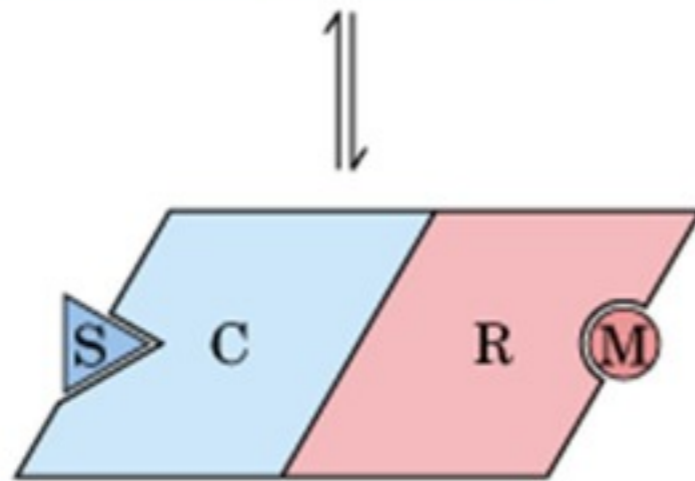
Modelo de alosterismo



Less-active enzyme

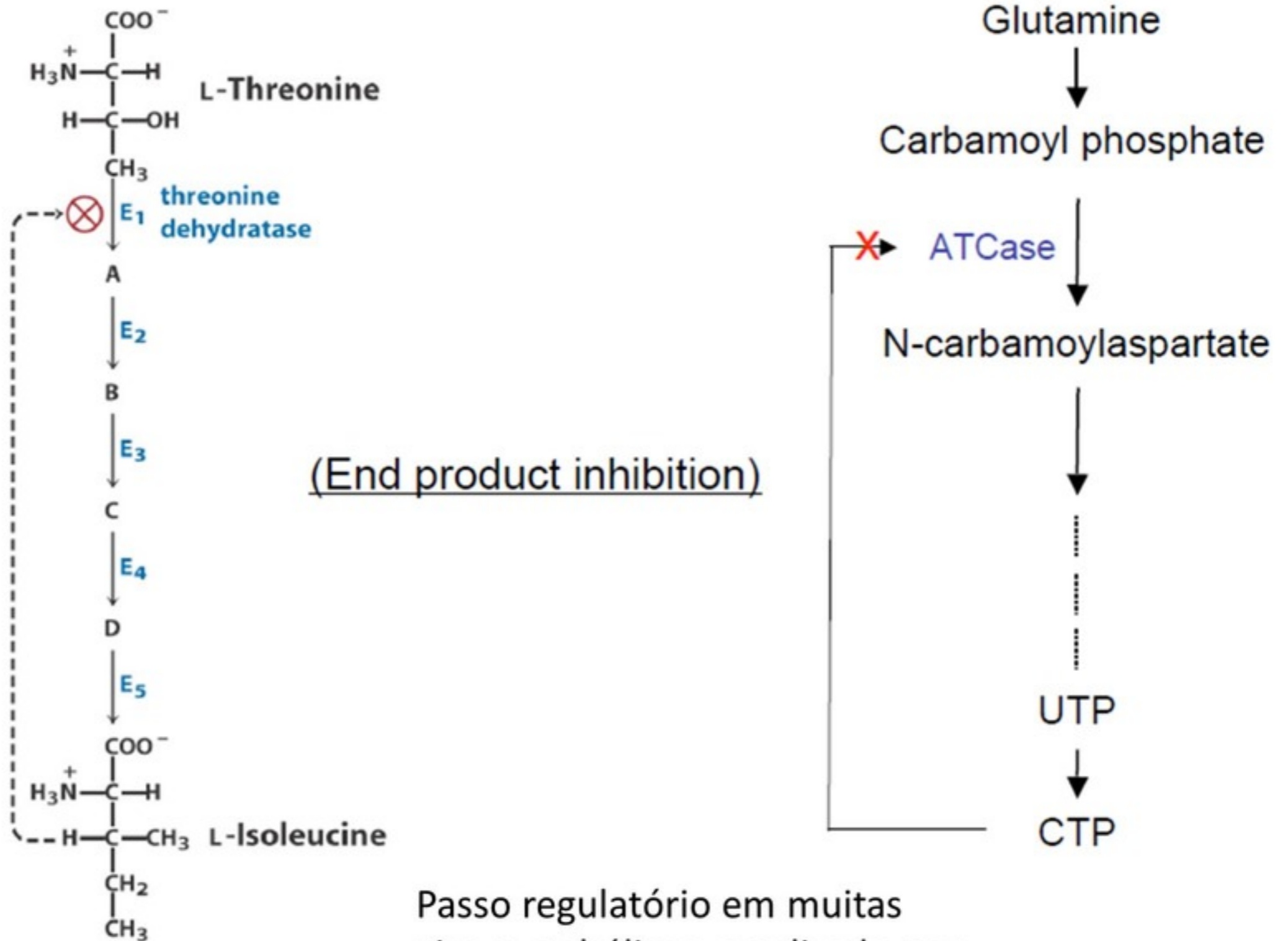


More-active enzyme



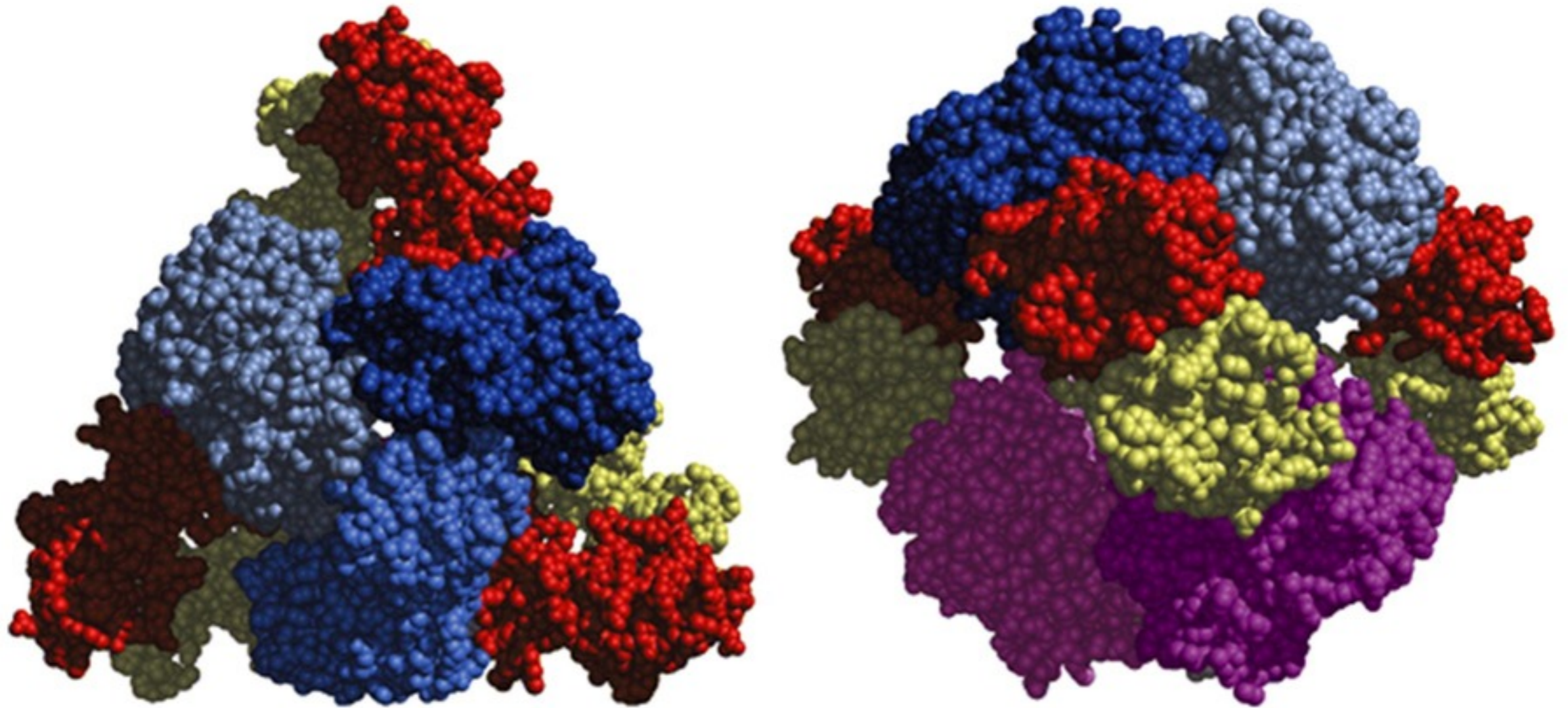
Active enzyme-substrate complex

Inibição por “feedback”

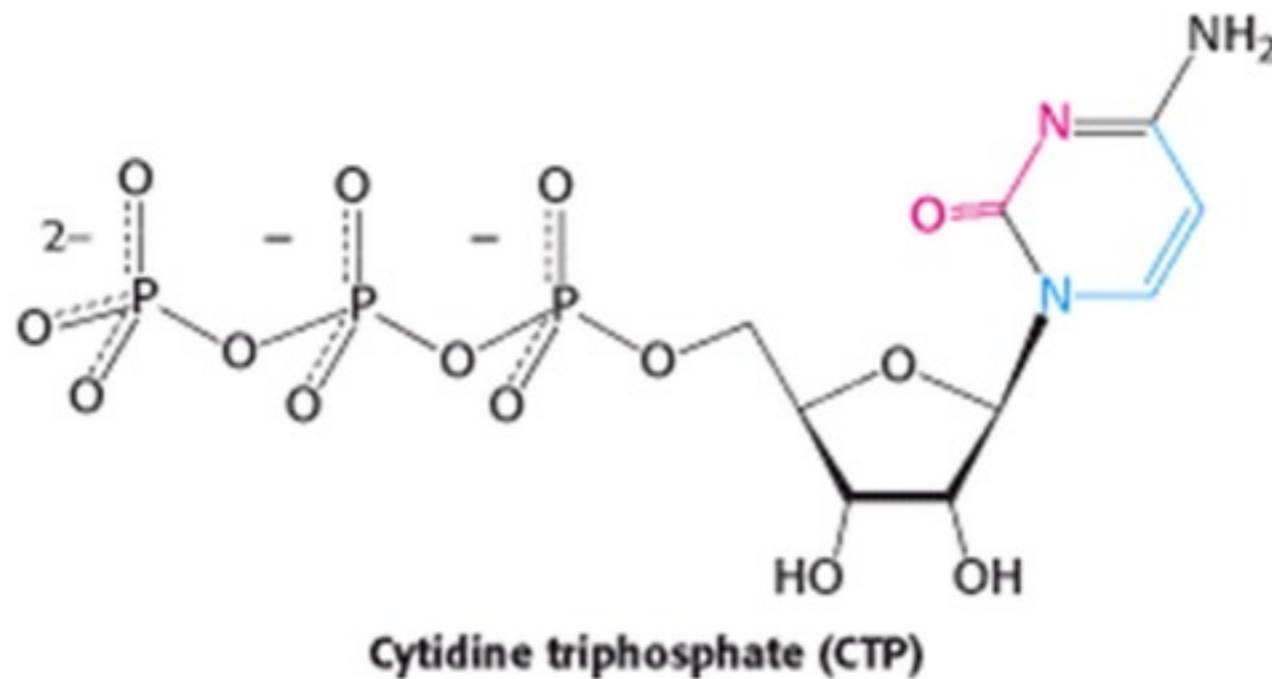
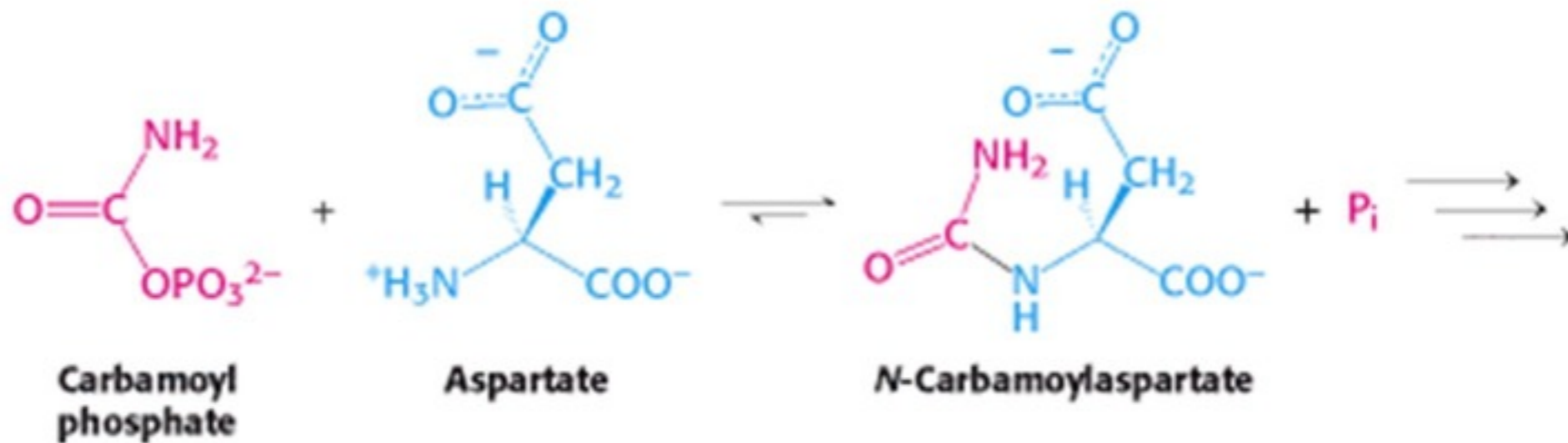


Passo regulatório em muitas vias metabólicas: catalisado por enzimas alostéricas

Modelo de alosterismo: aspartato transcarbaminase (ATCase)

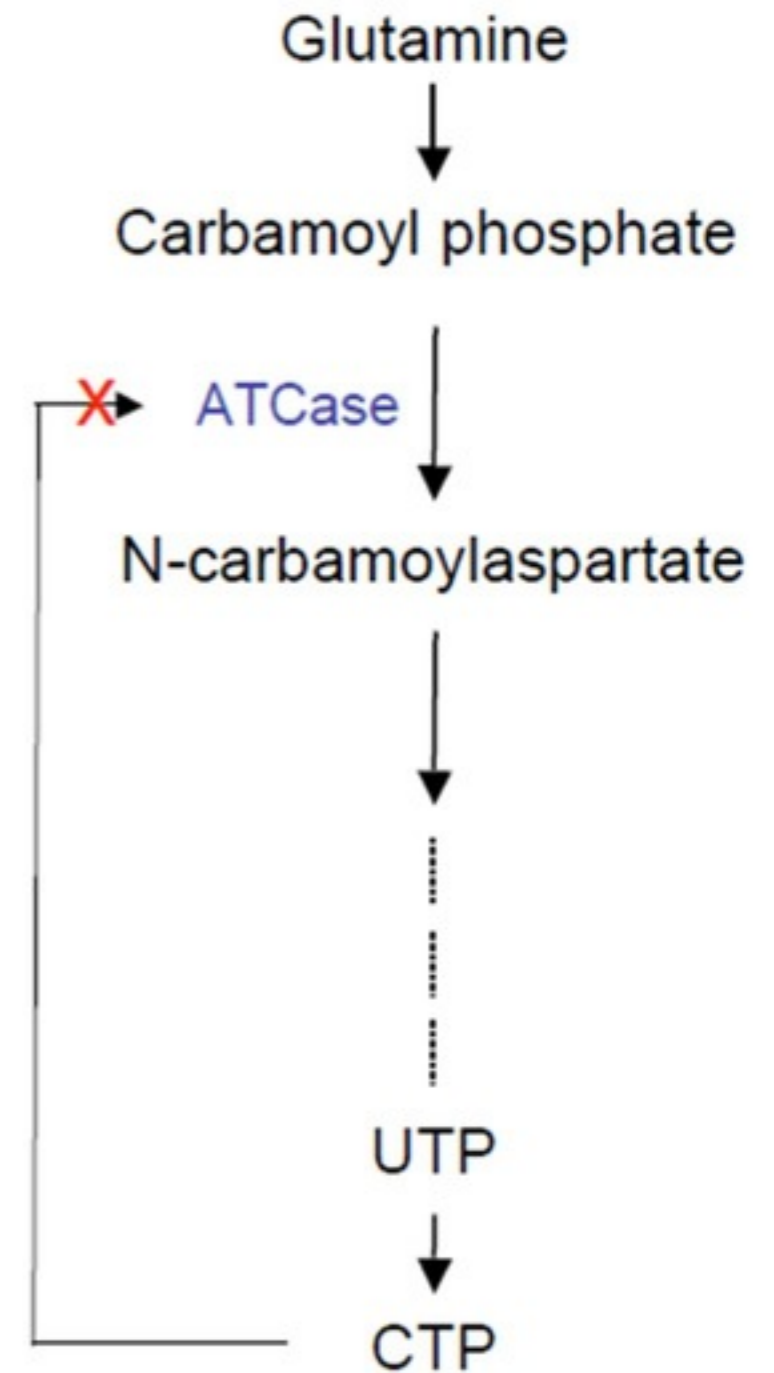
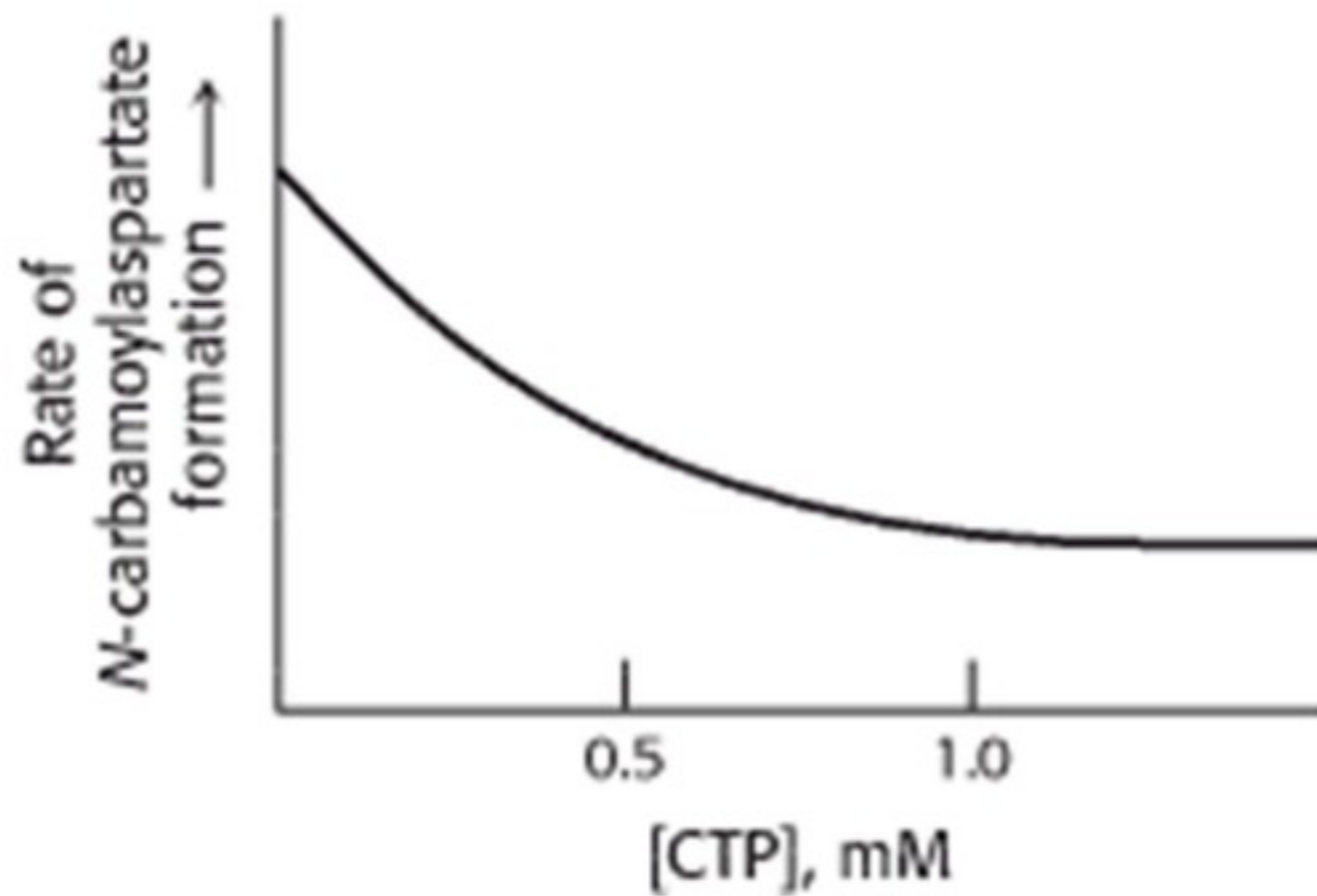


Modelo de alosterismo: aspartato transcarbaminase (ATCase)

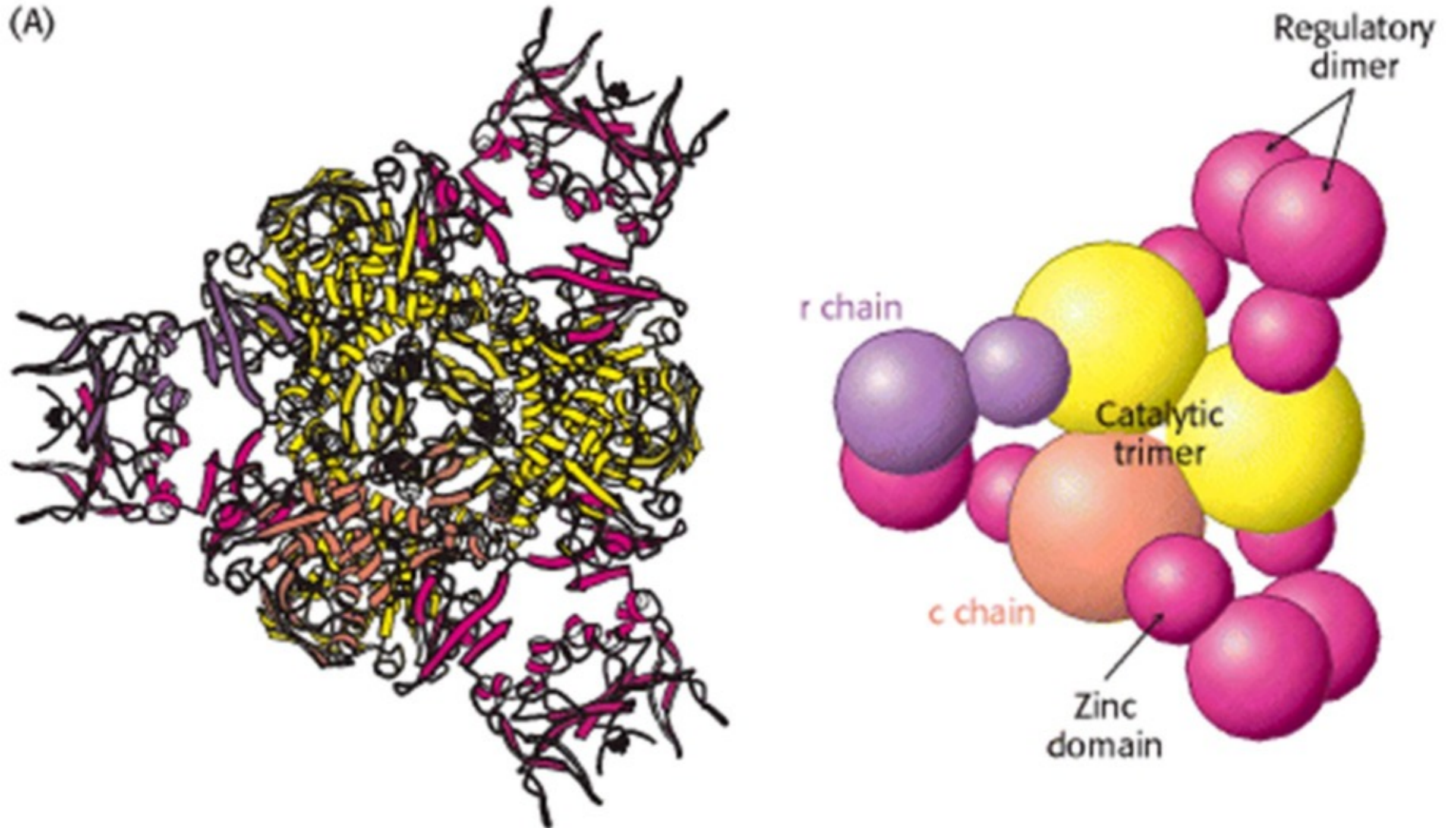


Reação da ATCase. A enzima catalisa a condensação do carbamil fosfato e o aspartato para formar o N-carbamilaspartato, na síntese dos nucleotídeos pirimidínicos.

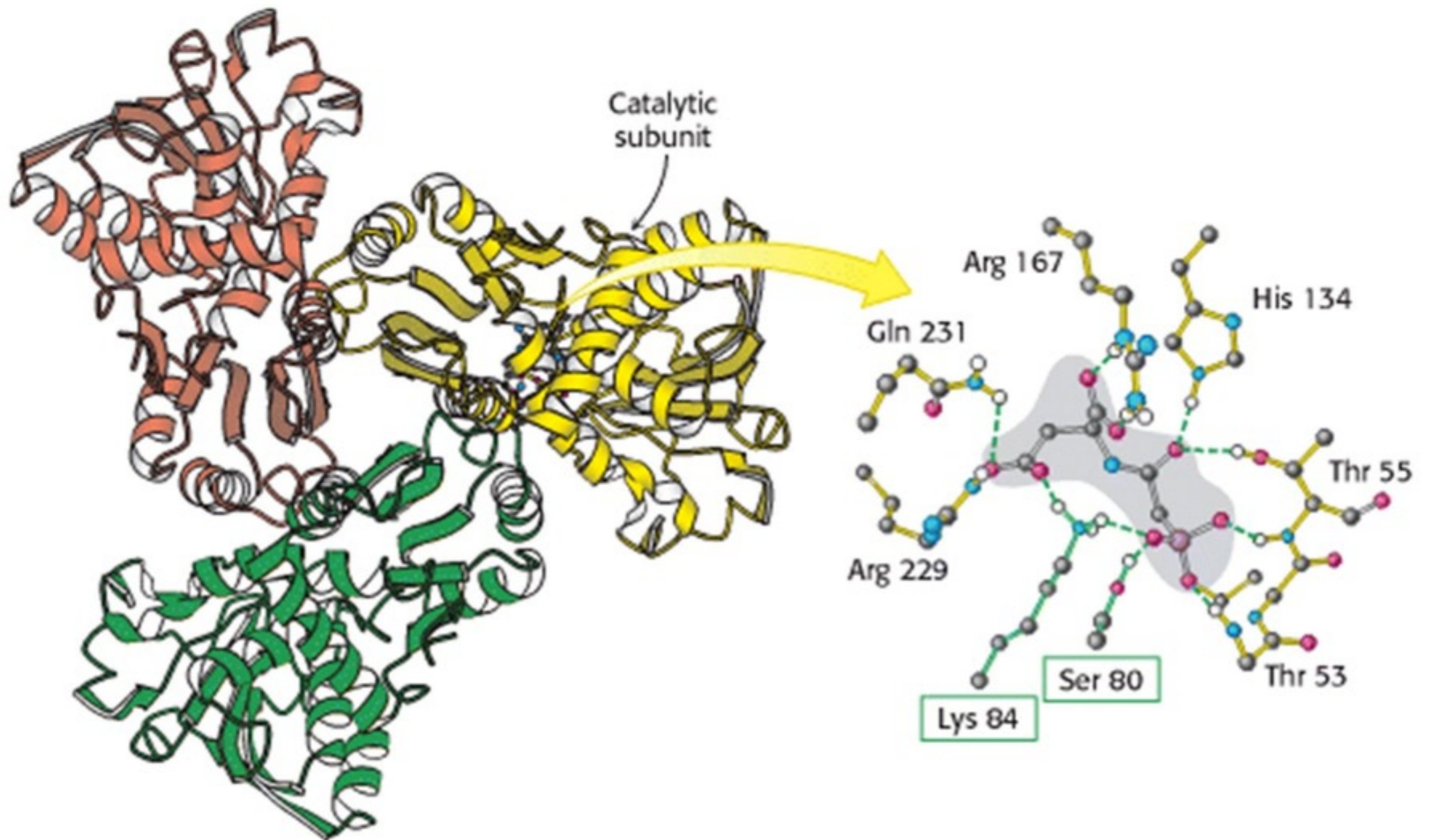
ATCase é inibida pelo CTP



Estrutura quaternária da ATCase

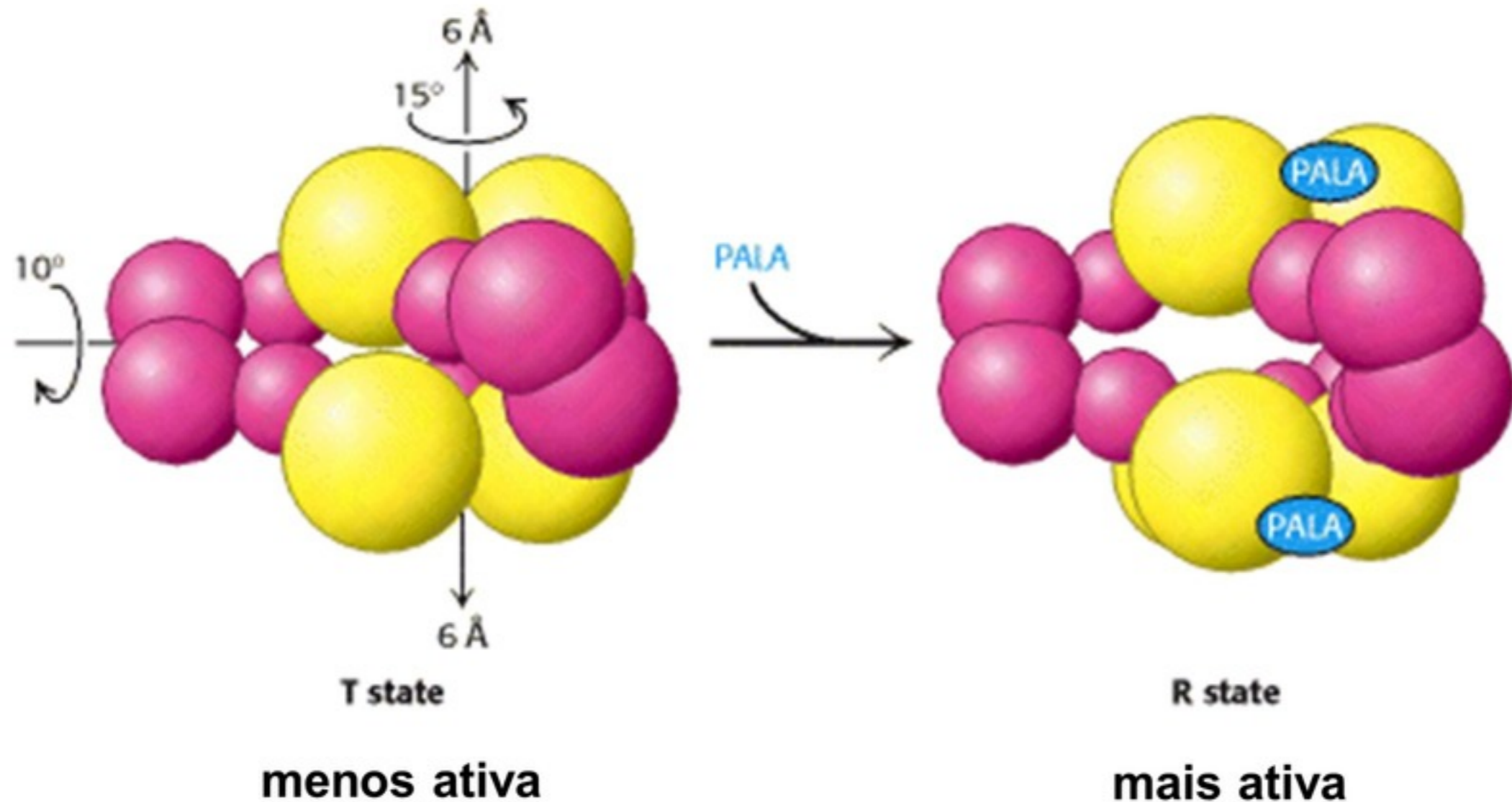


Estrutura da ATCase na presença do *PALA*



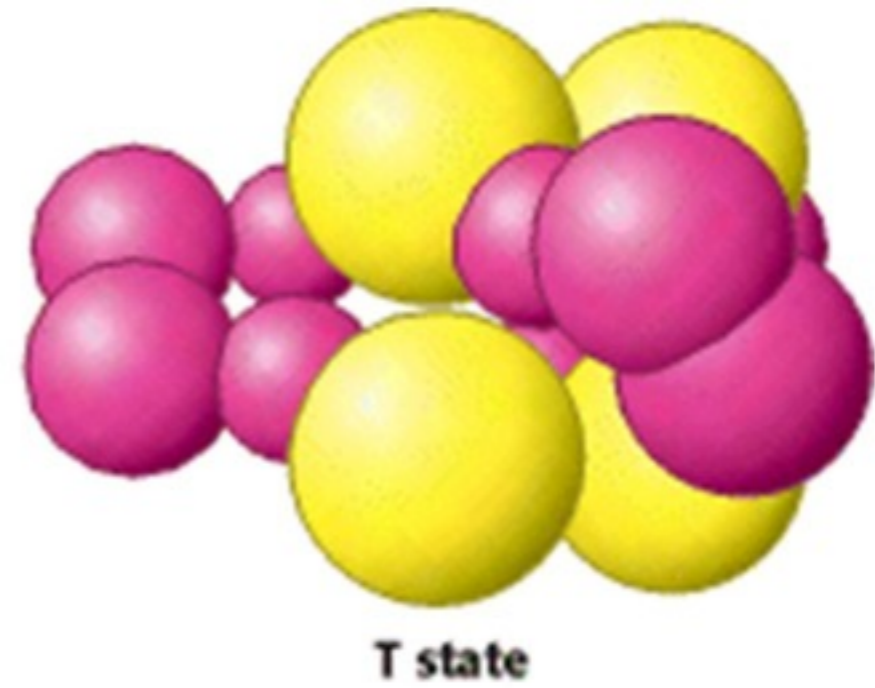
As conformações da ATCase. A ATCase existe em duas conformações: uma compacta e menos ativa (*tense state*, T) e outra expandida (*relaxed state*, R). A ligação do PALA estabiliza a conformação R.

PALA é um substrato não hidrolisável, logo um inibidor competitivo.

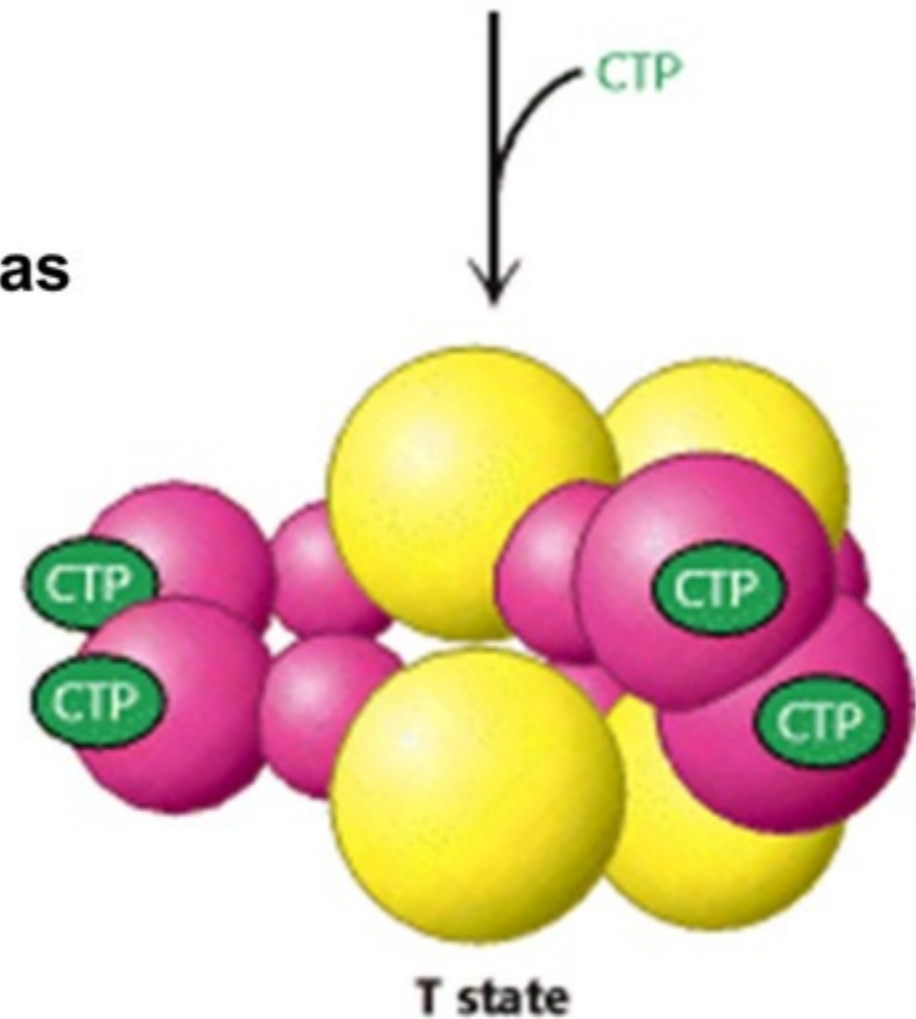


Por outro lado...

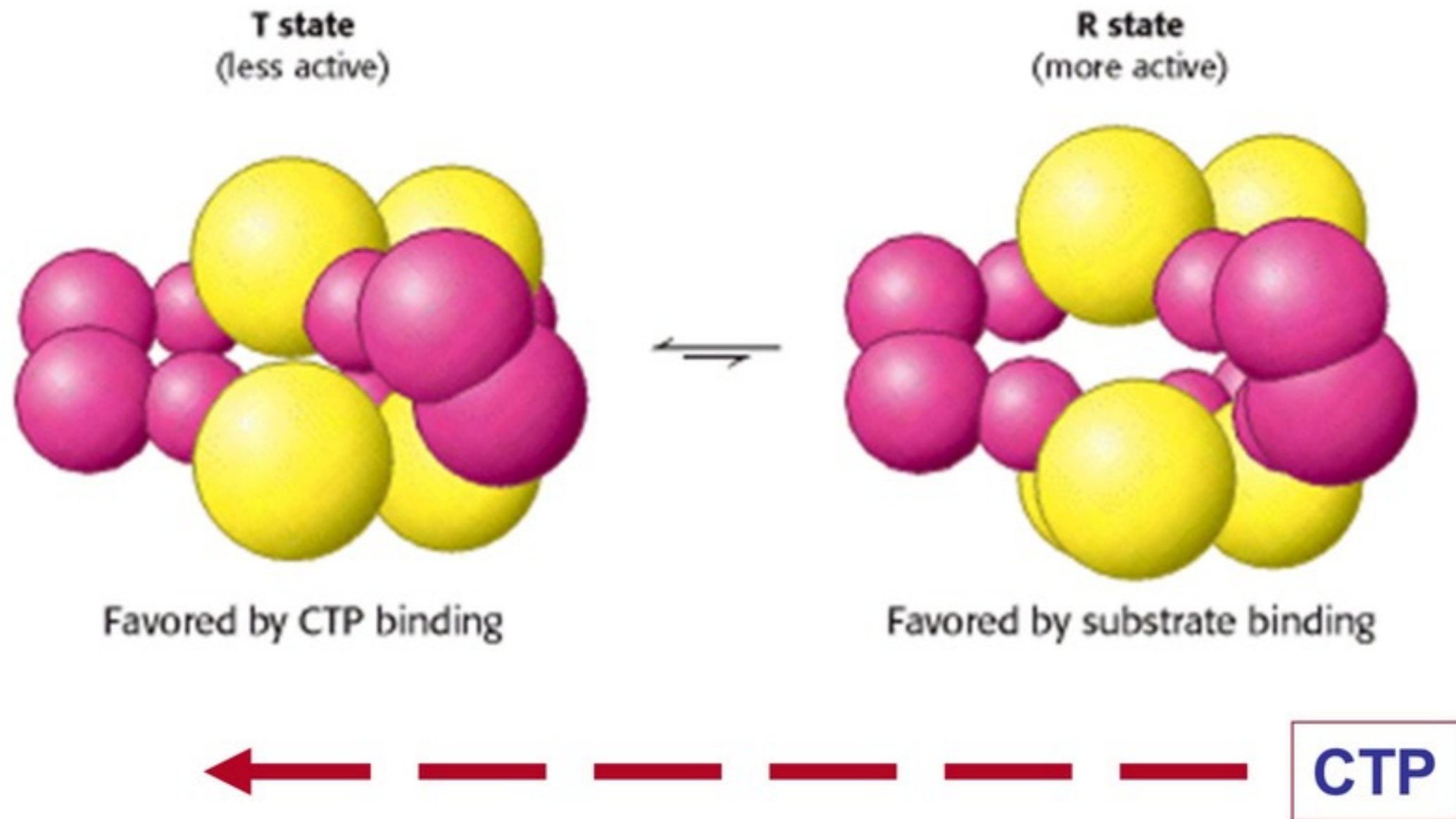
O CTP estabiliza o estado T.

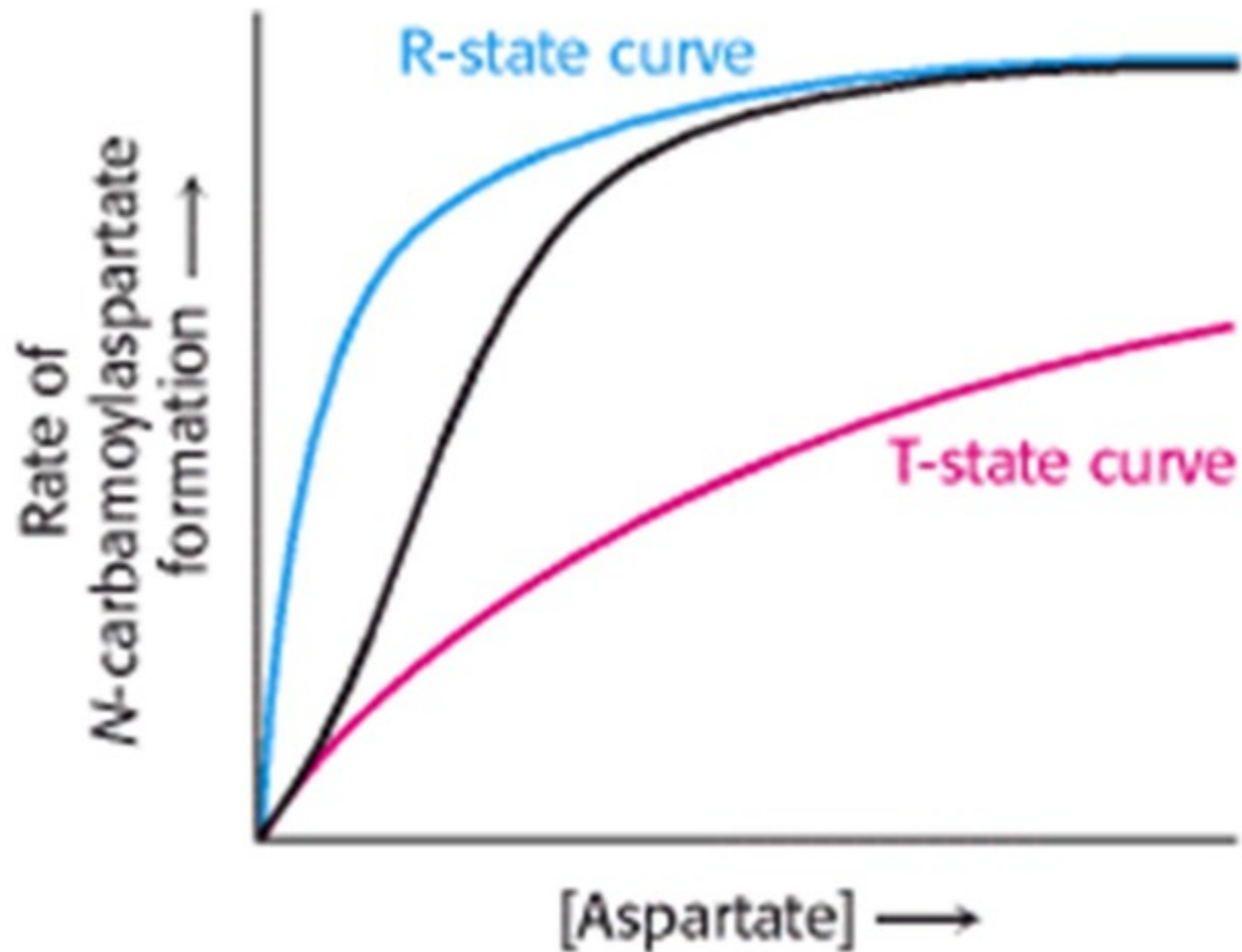


O CTP se liga na subunidades regulatórias

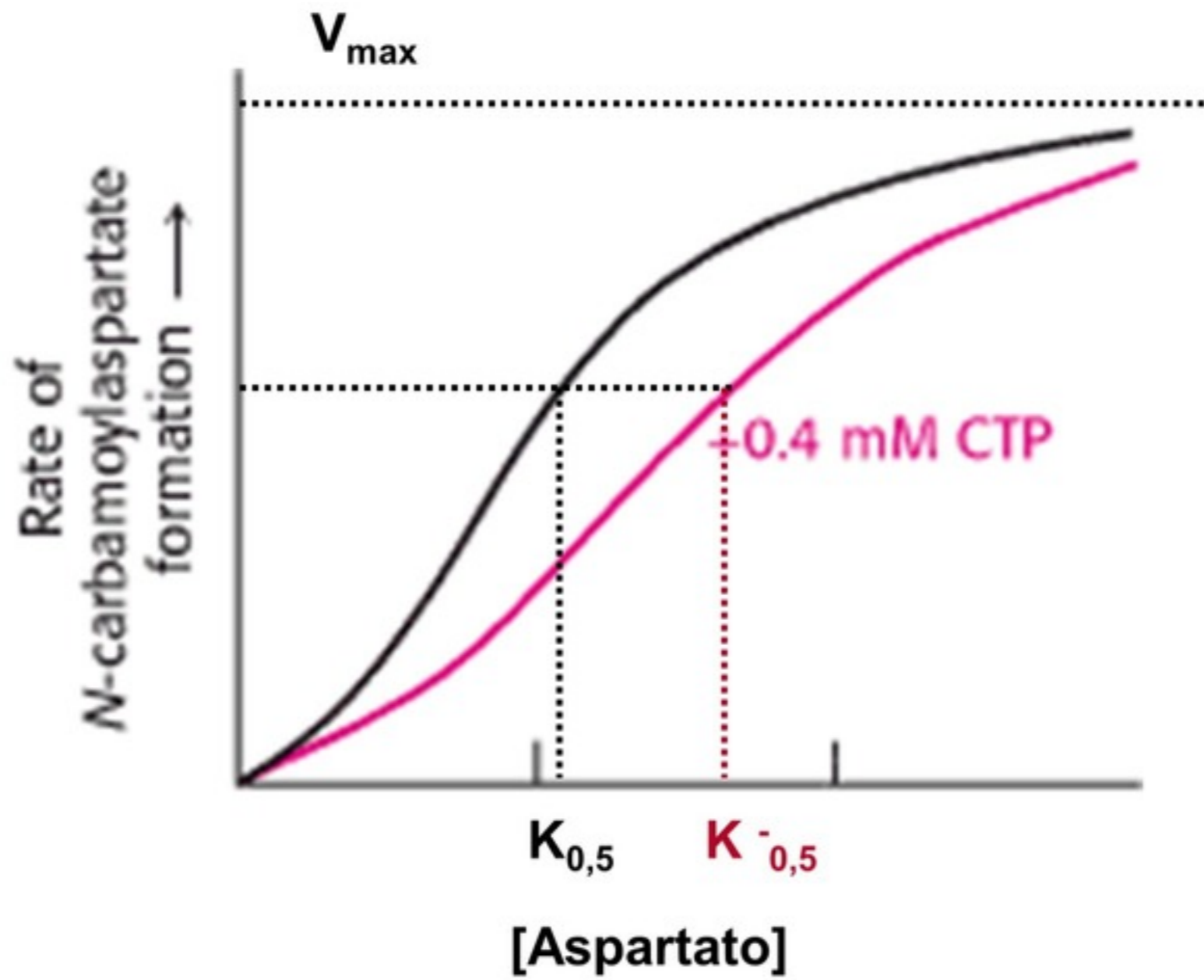


Na ausência de substrato ou moduladores:
o estado R e o estado T estão em equilíbrio
(estado T é favorecido em uma relação de 200:1).

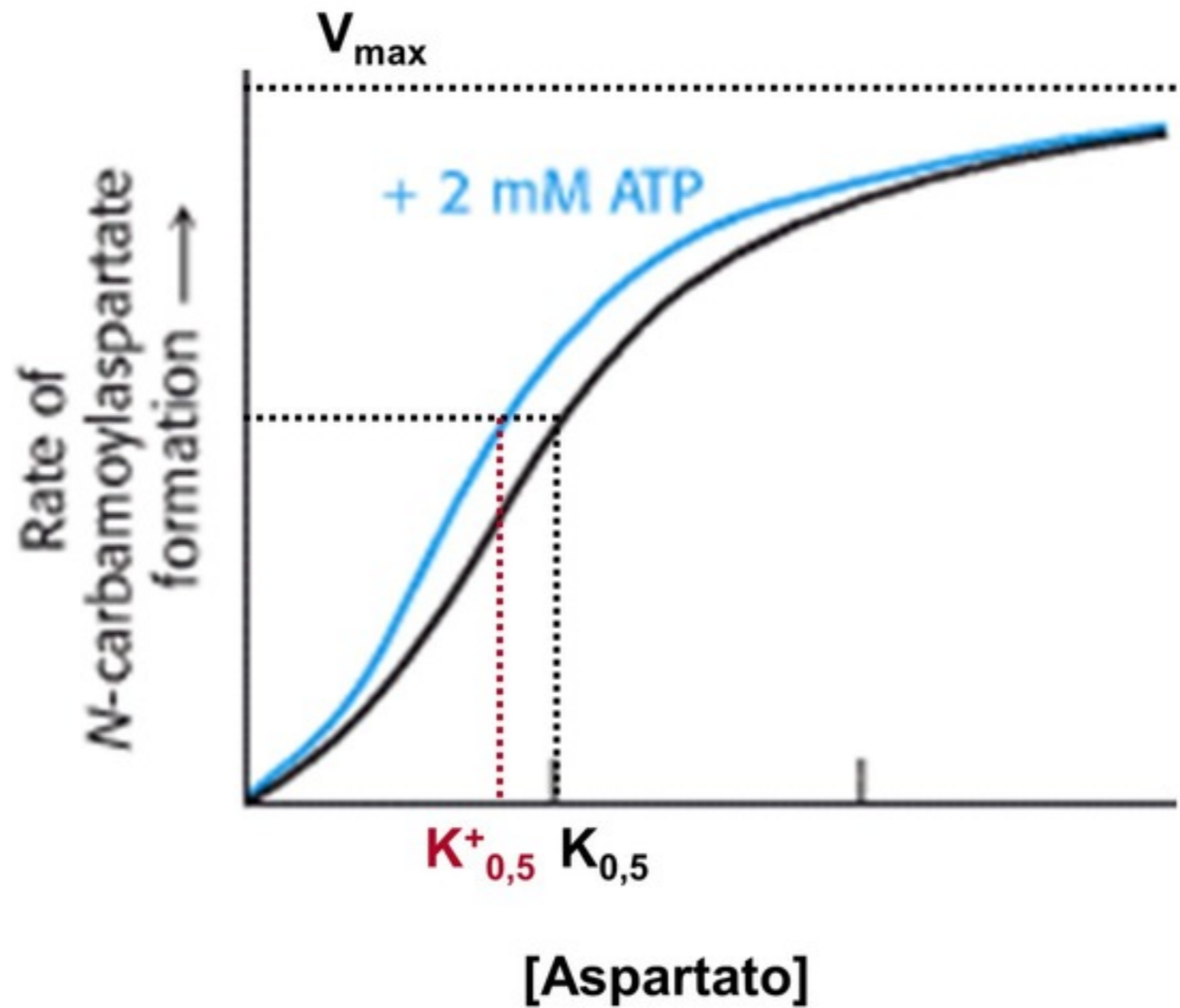




Base da curva sigmóide. O gráfico sigmóide pode ser entendido como uma mistura da cinética de 2 enzimas com K_m diferentes: Os K_m para *T state* e para *R state*. Com o aumento da [] de Asp o equilíbrio se desloca do *T state* para o *R state*, que resulta num aumento da atividade.



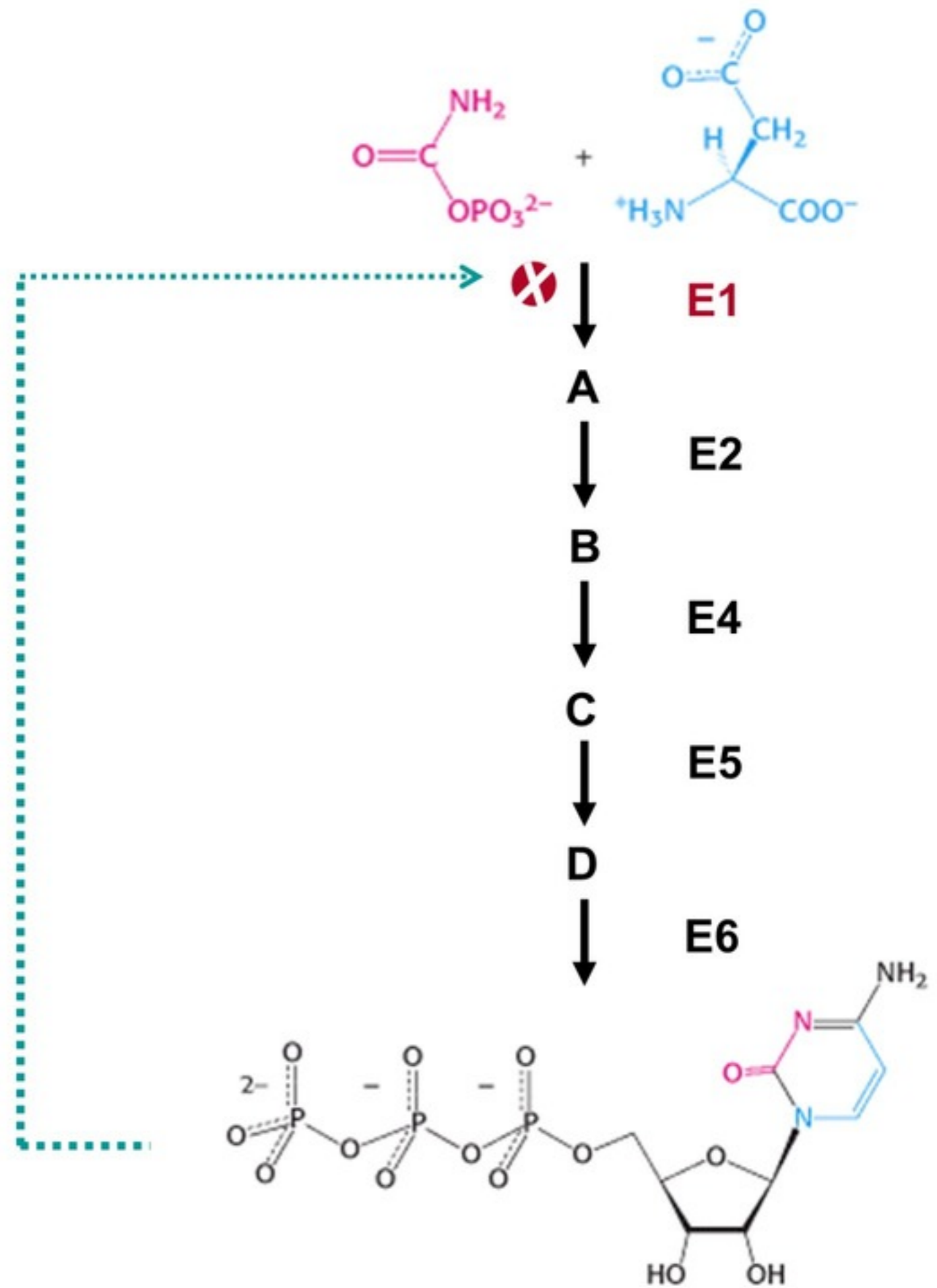
O CTP age como um modulador negativo!



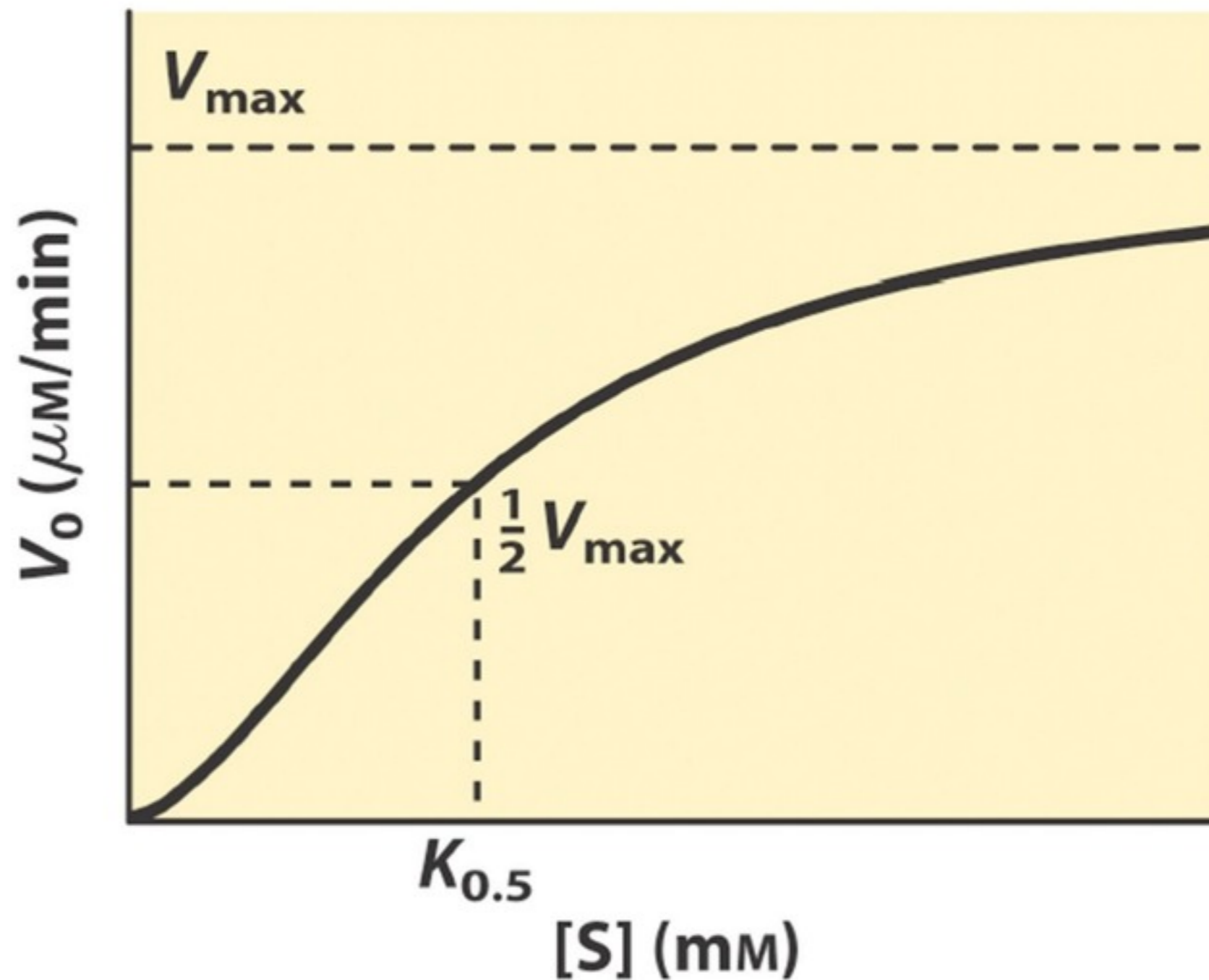
O ATP age como um modulador positivo!

Inibição por retroalimentação, ou retroinibição

- não se liga no sítio ativo, mas em um sítio regulatório
- Inibição do tipo **alostérica**

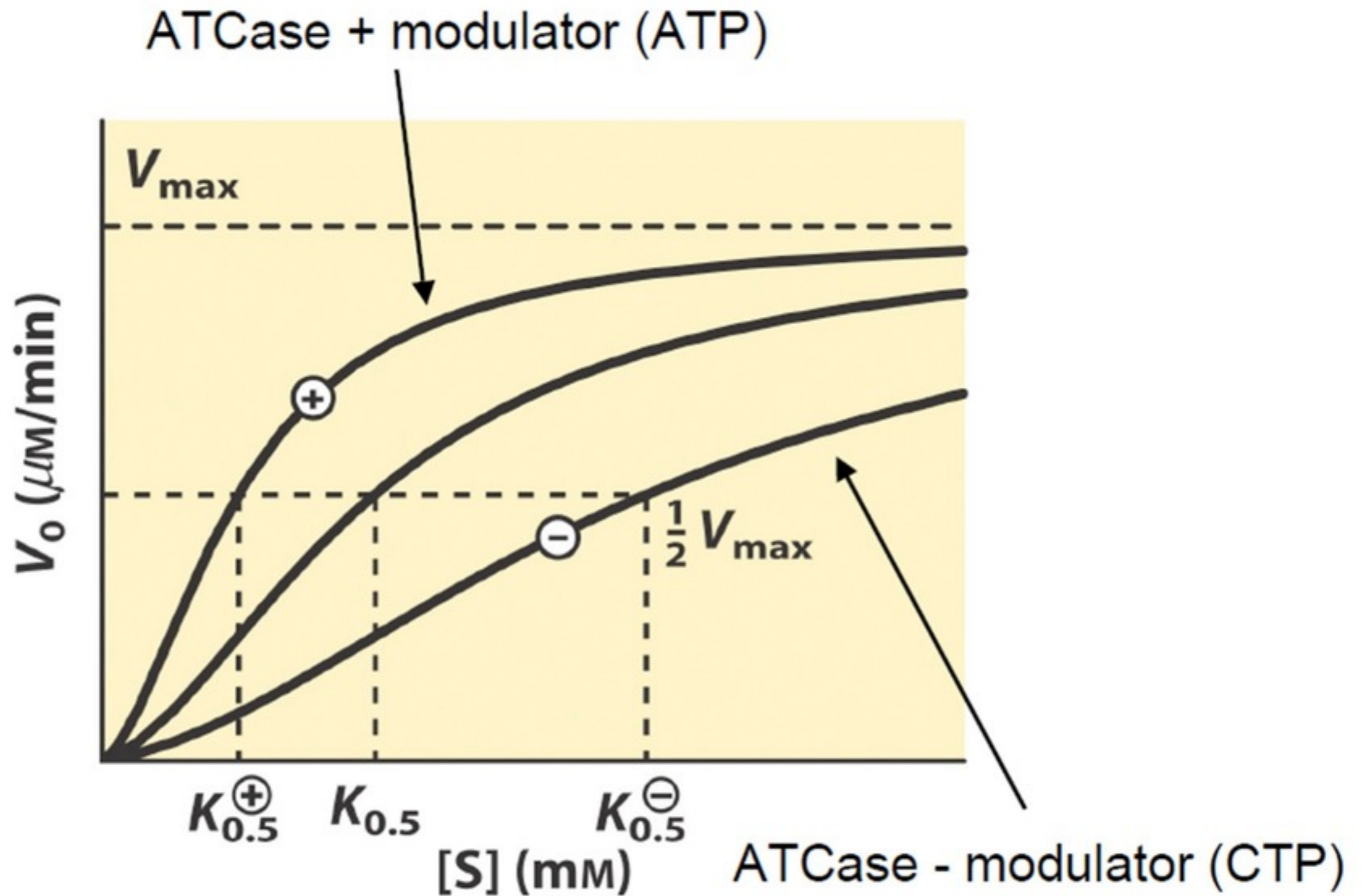


Allosteric enzymes have sigmoidal kinetic curves

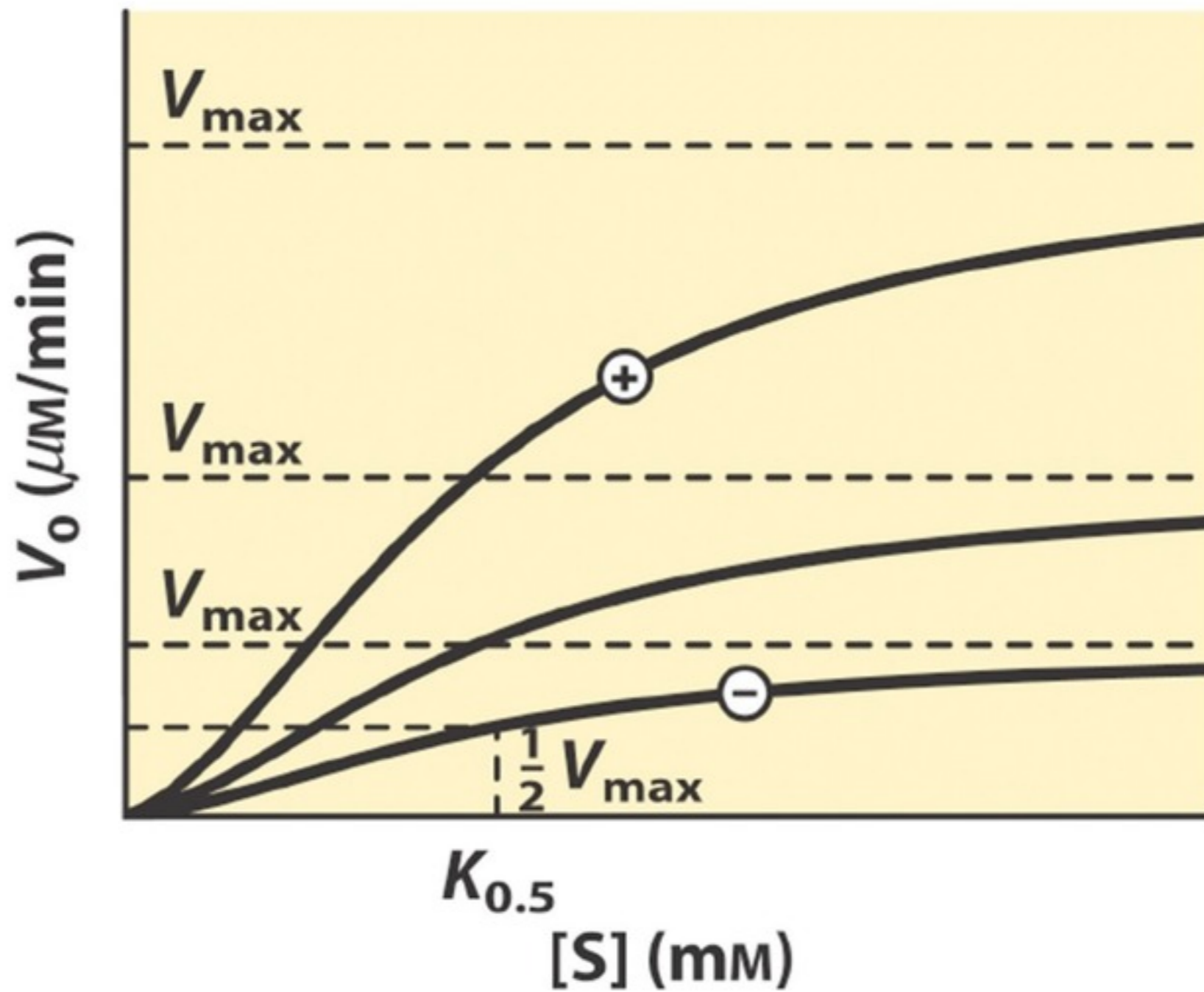


Typical of a **homotropic** enzyme (substrate is the positive modulator)

Modulators of heterotropic enzymes



Heterotropic enzymes may have less common curve shapes



Modificações covalentes

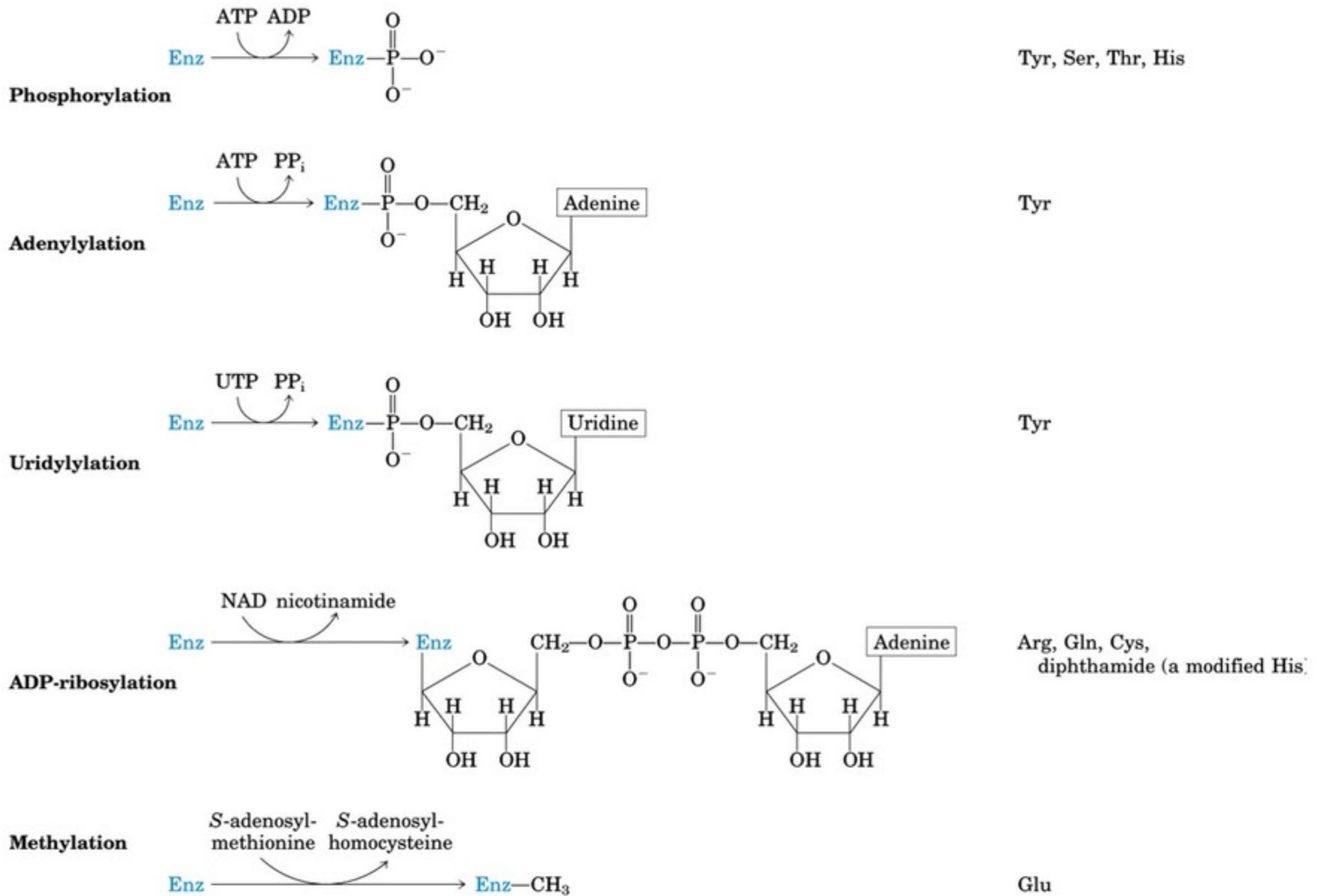


TABLE 10.1 Common covalent modifications of protein activity

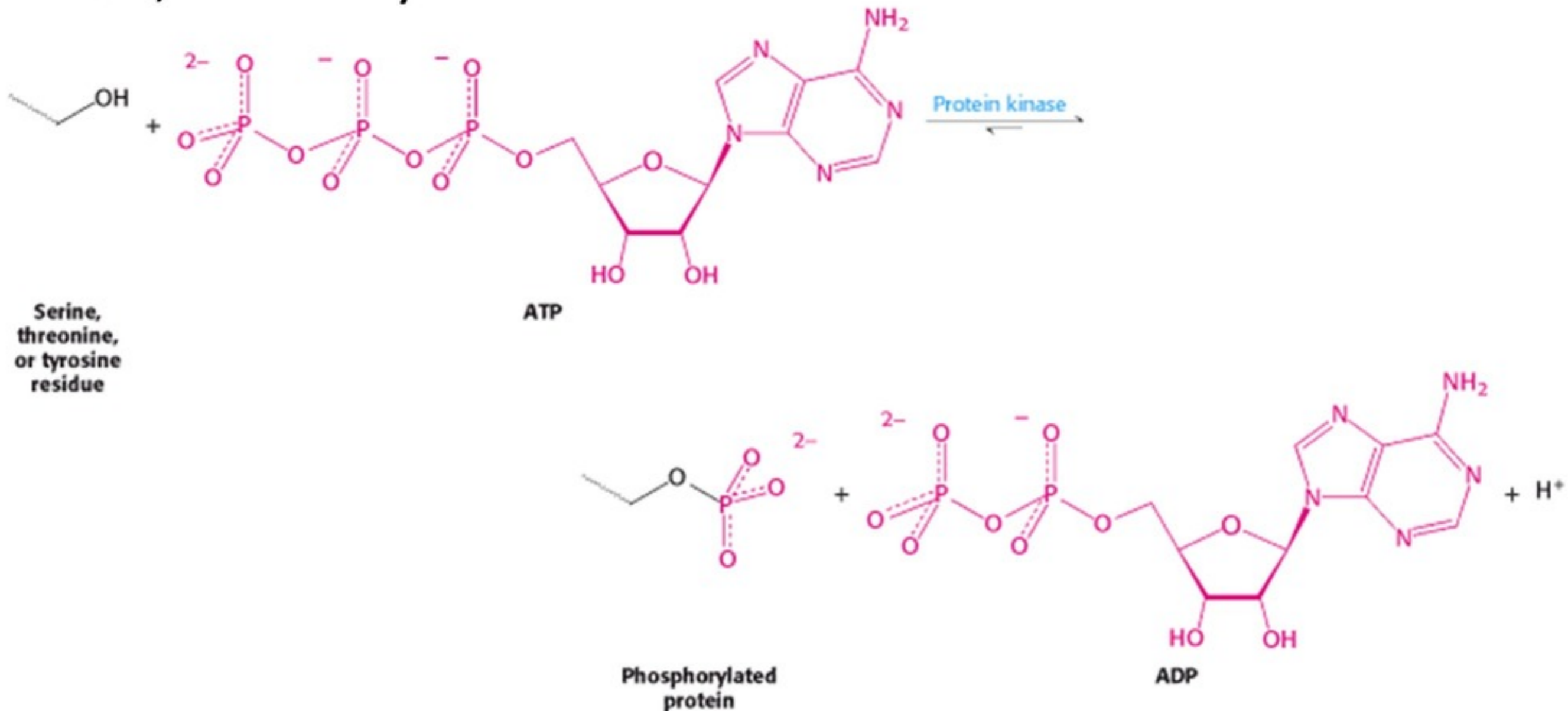
Modification	Donor molecule	Example of modified protein	Protein function
Phosphorylation	ATP	Glycogen phosphorylase	Glucose homeostasis; energy transduction
Acetylation	Acetyl CoA	Histones	DNA packing; transcription
Myristoylation	Myristoyl CoA	Src	Signal transduction
ADP ribosylation	NAD⁺	RNA polymerase	Transcription
Farnesylation	Farnesyl pyrophosphate	Ras	Signal transduction
γ-Carboxylation	HCO₃⁻	Thrombin	Blood clotting
Sulfation	3'-Phosphoadenosine-5'-phosphosulfate	Fibrinogen	Blood-clot formation
Ubiquitination	Ubiquitin	Cyclin	Control of cell cycle

Table 10-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

FOSFORILAÇÃO

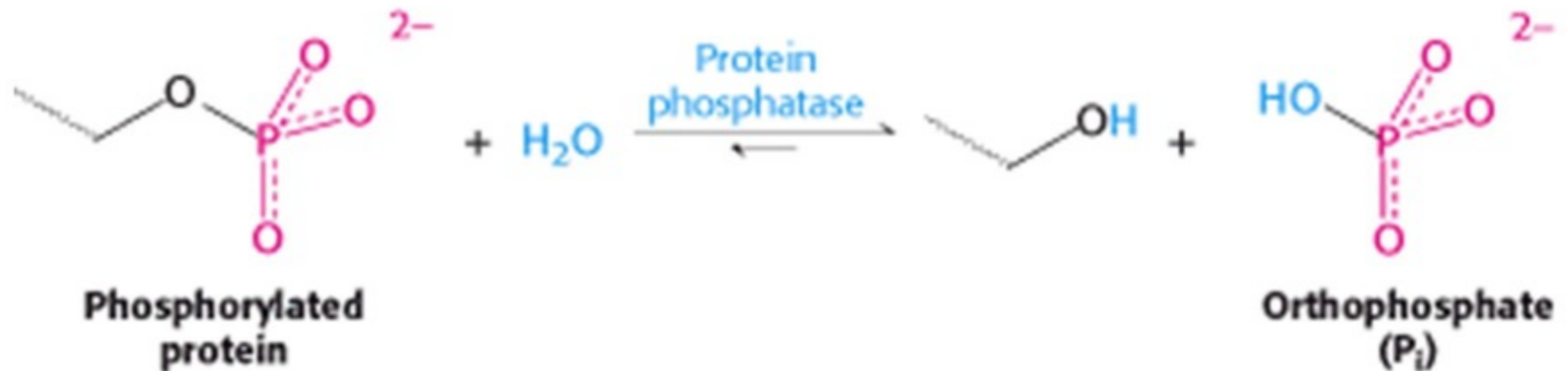
Proteínas quinases:

catalisam a adição de um grupo fosfato a resíduo de Ser, Thr ou Tyr.



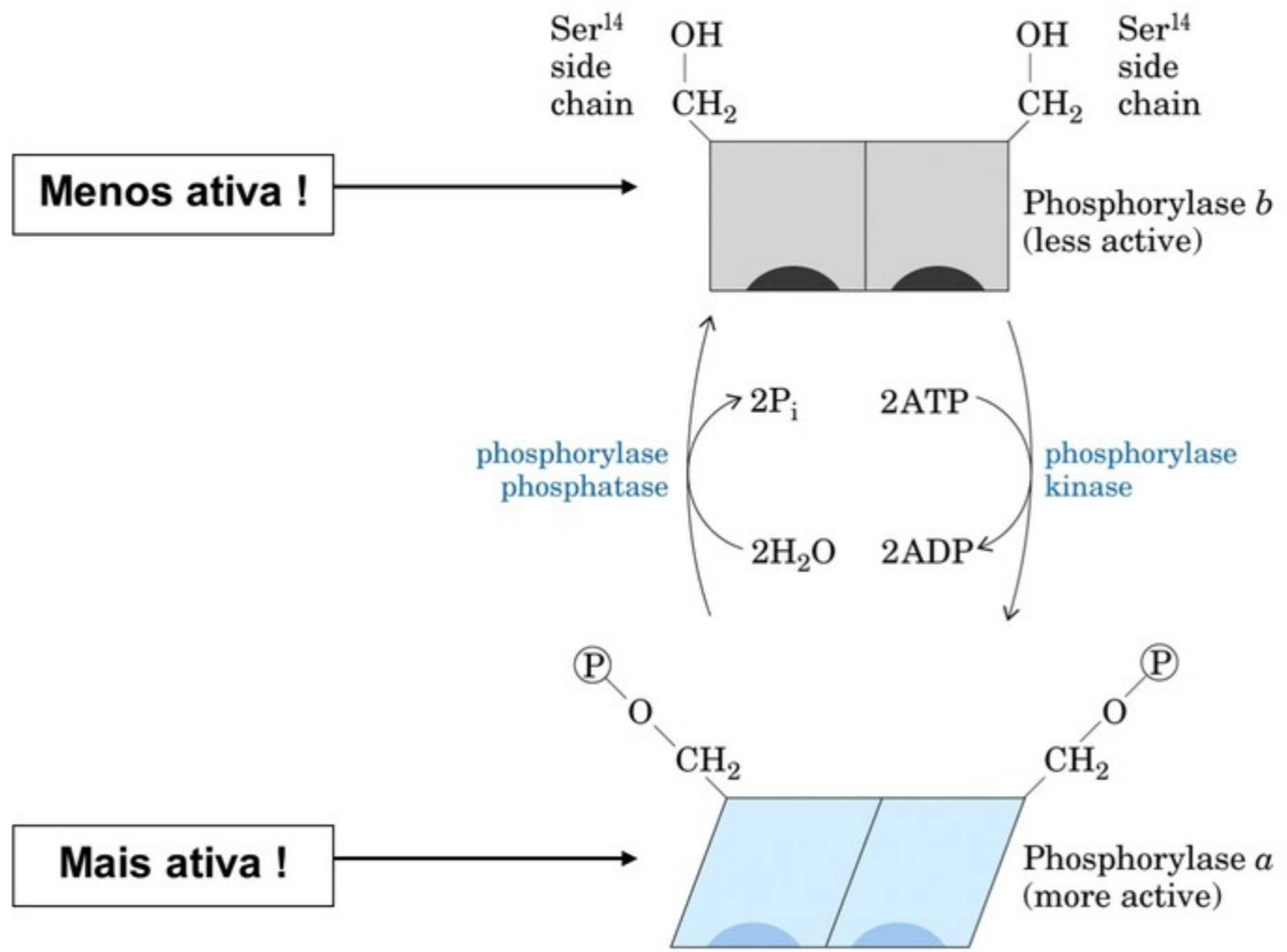
DESFOSFORILAÇÃO

Proteínas fosfatases catalisam a remoção de um grupo fosfato de resíduos de Ser, Thr ou Tyr.



EXEMPLO

Regulação da glicogênio fosforilase por fosforilação e desfosforilação



Fosforilações múltiplas: regulação

Consensus Sequences for Protein Kinases	
Protein kinase	Consensus sequence and phosphorylated residue*
Protein kinase A	-X-R-(R/K)-X-(S/T)-B-
Protein kinase G	-X-R-(R/K)-X-(S/T)-X-
Protein kinase C	-(R/K)-(R/K)-X-(S/T)-B-(R/K)-(R/K)-
Protein kinase B	-X-R-X-(S/T)-X-K-
Ca ²⁺ /calmodulin kinase I	-B-X-R-X-X-(S/T)-X-X-X-B-
Ca ²⁺ /calmodulin kinase II	-B-X-(R/K)-X-X-(S/T)-X-X-
Myosin light chain kinase (smooth muscle)	-K-K-R-X-X-S-X-B-B-
Phosphorylase b kinase	-K-R-K-Q-I-S-V-R-
Extracellular signal-regulated kinase (ERK)	-P-X-(S/T)-P-P-
Cyclin-dependent protein kinase (cdc2)	-X-(S/T)-P-X-(K/R)-
Casein kinase I	-(Sp/Tp)-X-X-(X)-(S/T)-B
Casein kinase II	-X-(S/T)-X-X-(E/D/Sp/Yp)-X-
β -Adrenergic receptor kinase	-(D/E) _n -(S/T)-X-X-X-
Rhodopsin kinase	-X-X-(S/T)-(E) _n -
Insulin receptor kinase	-X-E-E-E-Y-M-M-M-M-K-K-S-R-G- D-Y-M-T-M-Q-I-G-K-K-K-L-P-A- T-G-D-Y-M-N-M-S-P-V-G-D-
Epidermal growth factor (EGF) receptor kinase	-E-E-E-E-Y-F-E-L-V-

Fosforilações múltiplas: regulação fina



Kinase	Glycogen synthase sites phosphorylated	Degree of synthase inactivation
Protein kinase A	1A, 1B, 2, 4	+
Protein kinase G	1A, 1B, 2	+
Protein kinase C	1A	+
Ca ²⁺ /calmodulin kinase	1B, 2	+
Phosphorylase <i>b</i> kinase	2	+
Casein kinase I	At least 9 sites	+ + + +
Casein kinase II	5	0
Glycogen synthase kinase 3	3A, 3B, 3C	+ + +
Glycogen synthase kinase 4	2	+

Estratégias de regulação enzimática

- **Físico**
- **[] do substrato**
- **[] da enzima**
- **Expressão gênica**
- **Alosterismo**
- **Isoenzimas**
- **Modificações covalentes**
- **Ativação enzimática**

Isoenzimas ou isozimas

Diferem na seq de aa, estrutura, mas catalisam a mesma reação
Km, Vmax distintos

Ajuste fino do metabolismo: dependendo do tecido ou estágio de desenvolvimento

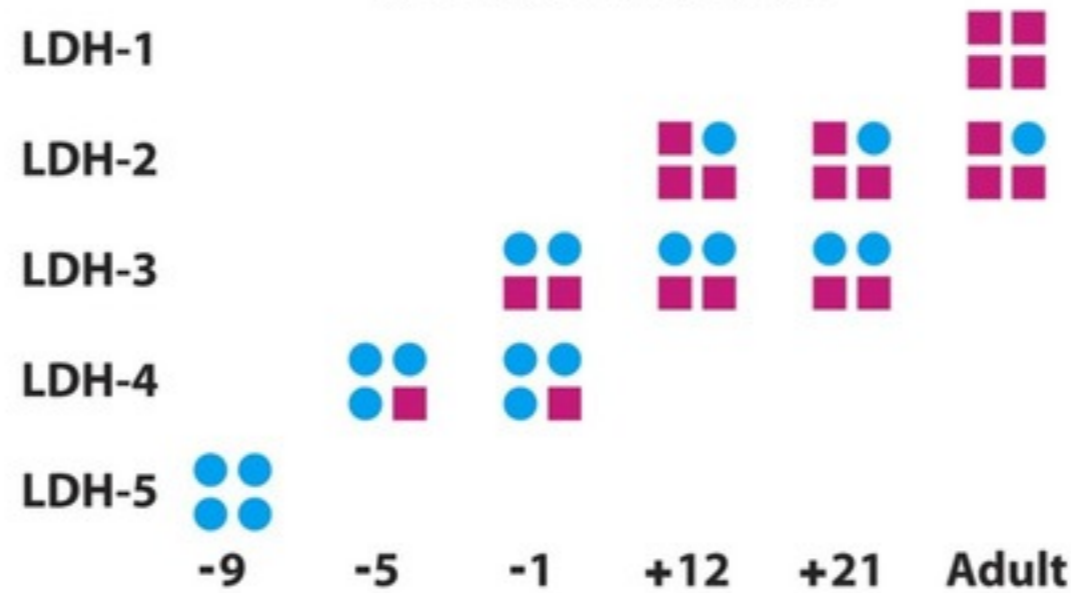


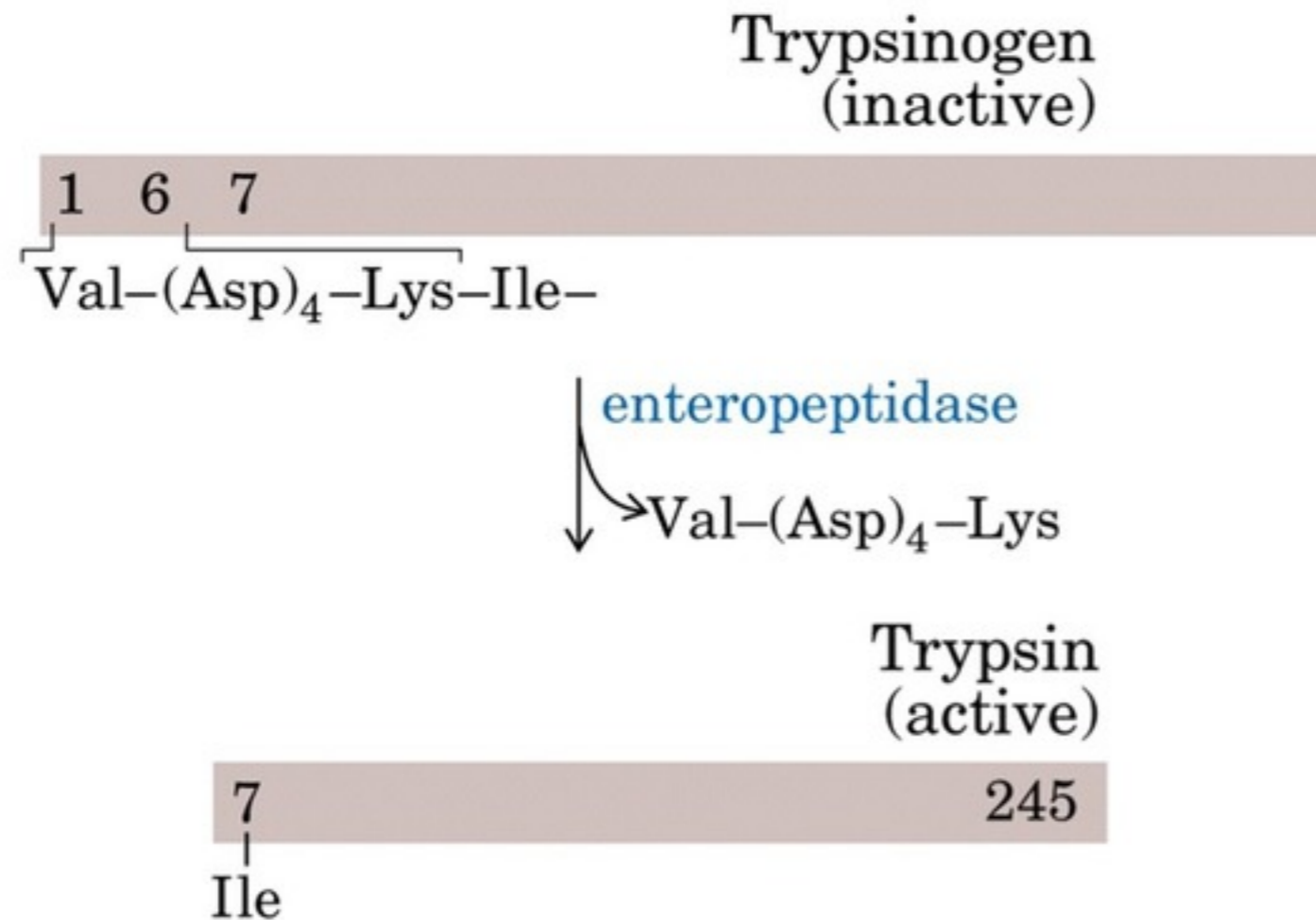
Figure 10-16a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

	Heart	Kidney	Red blood cell	Brain	Leukocyte	Muscle	Liver
H ₄	████	████	████	████	████	—	—
H ₃ M	████	████	████	████	████	—	—
H ₂ M ₂	—	████	—	████	████	████	—
HM ₃	—	—	—	—	████	—	—
M ₄	—	—	—	—	—	████	████

Figure 10-16b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Regulação por clivagem de um precursor enzimático zimogênio: precursor inativo ou proenzima

Ativação por clivagem proteolítica



OBS. Diferentemente da regulação mediada por um efetor, a regulação por meio de uma quebra proteolítica é irreversível.

Chymotrypsinogen
(inactive)

1 245

↓ trypsin

π -Chymotrypsin
(active)

1 15 16 245
| |
Arg Ile

↓ chymotrypsin
→ Ser¹⁴-Arg¹⁵
+ Thr¹⁴⁷-Asn¹⁴⁸

α -Chymotrypsin
(active)

1 13 16 146 149 245
| | | |
Leu Ile Tyr Ala
A B C

TABLE 10.3 Gastric and pancreatic zymogens

Site of synthesis	Zymogen	Active enzyme
Stomach	Pepsinogen	Pepsin
Pancreas	Chymotrypsinogen	Chymotrypsin
Pancreas	Trypsinogen	Trypsin
Pancreas	Procarboxypeptidase	Carboxypeptidase
Pancreas	Proelastase	Elastase

Table 10-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Coagulação sanguínea:
Cascata de ativações de zimogêneos

Hormônios: proinsulina → insulina

Apoptose (morte celular programada): procaspase → caspase

Estratégias de regulação enzimática

- **Físico**
- **[] do substrato**
- **[] da enzima**
- **Expressão gênica**
- **Alosterismo**
- **Isoenzimas**
- **Modificações covalentes**
- **Ativação enzimática**

