

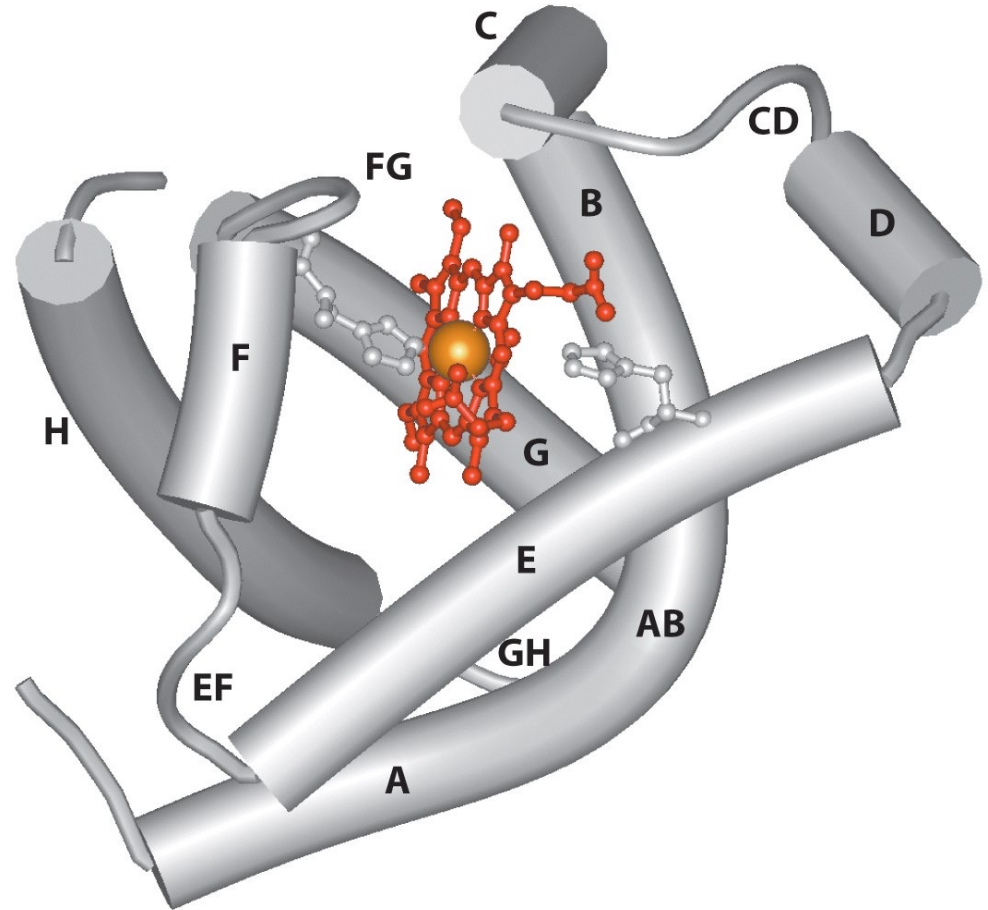
Proteínas altamente especializadas...

- Ligação de O_2 -a Mioglobina e a Hemoglobina
- Enzimas são catalisadores extraordinários e altamente específicos

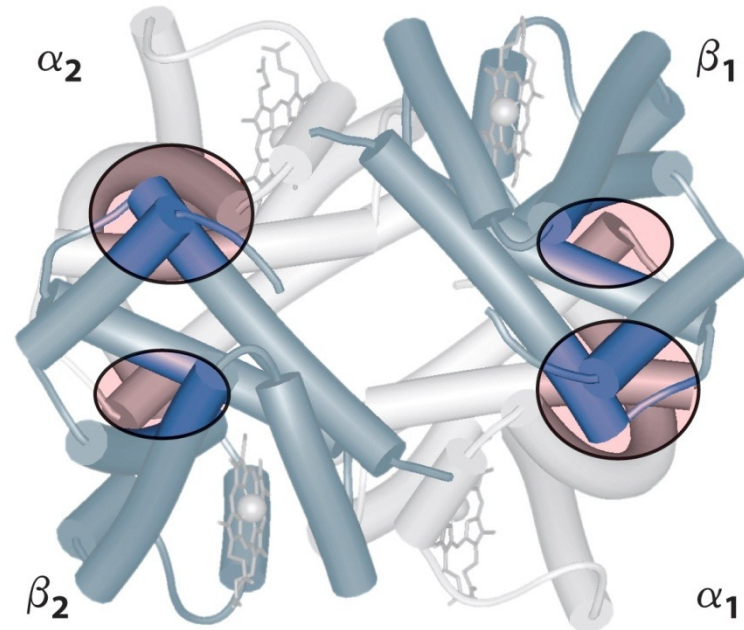
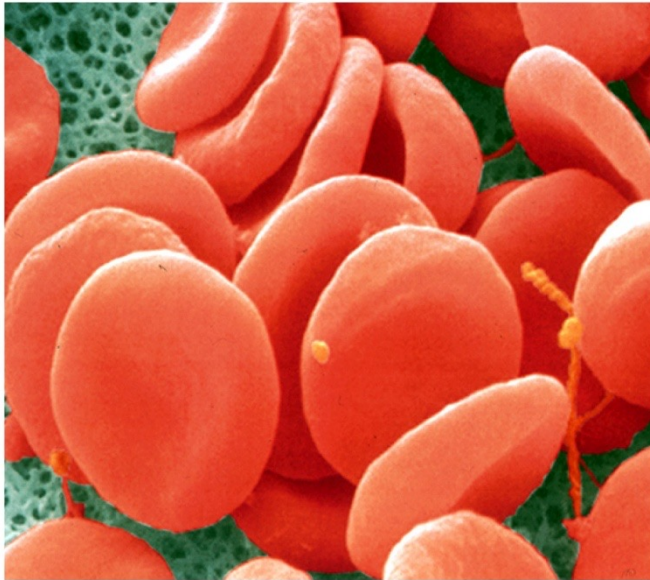
Ligação de O₂ a Mioglobina e a Hemoglobina

A Mioglobina possui 1 sítio de ligação para o O₂

- ** 8 α -Helical segments**
- ** contains one heme**
- ** MW 16,700**
- ** Single O₂ binding site**
- ** reversible protein-ligand interaction**
- ** Oxygen storage**



A Hemoglobina possui 4 sítios de ligação ao O_2

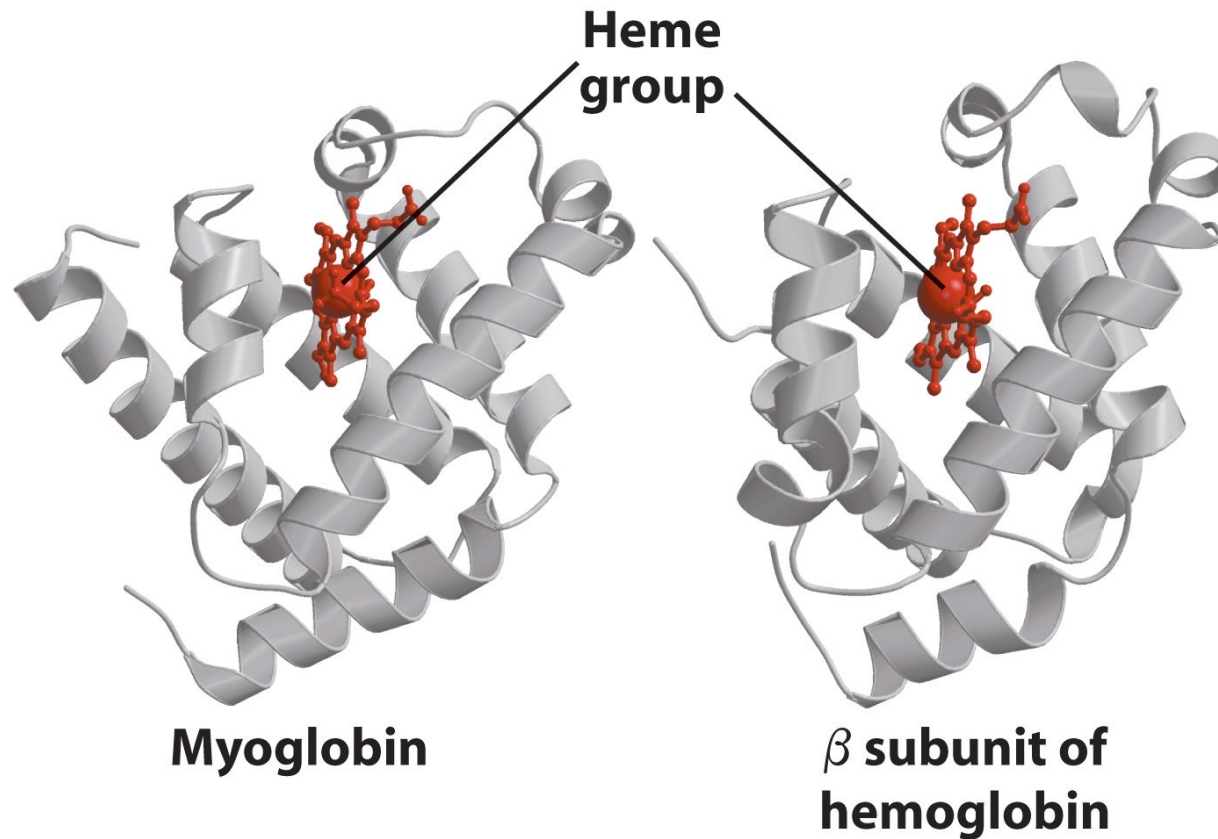


-Estrutura Quaternária

2 unidades α e 2 unidades β

-Interação forte entre as subunidades α e β .

A Comparison of The Structure of **Myoglobin** and The **β -Subunit of Hemoglobin**

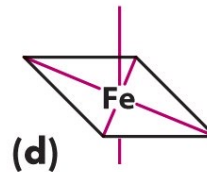
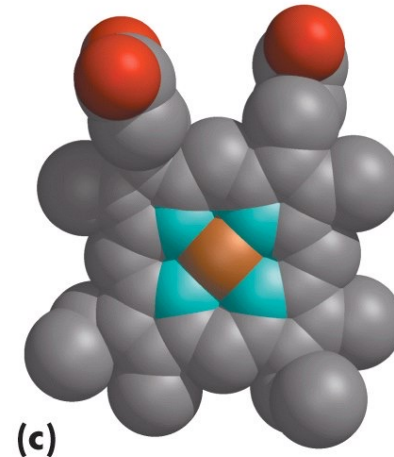
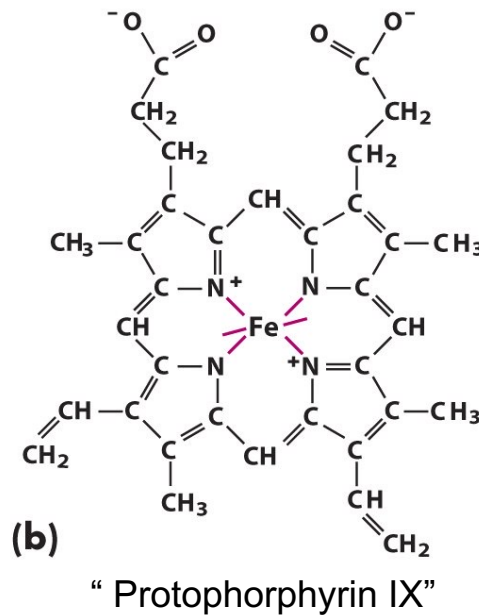
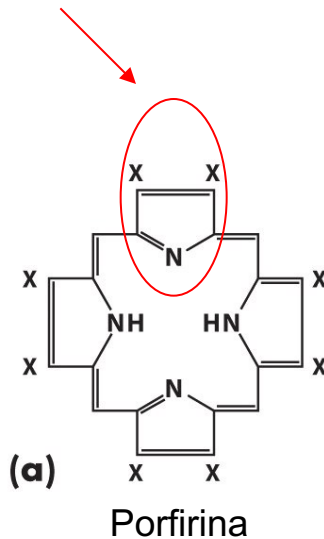


1. Reversible Binding of Proteins to a Ligand:

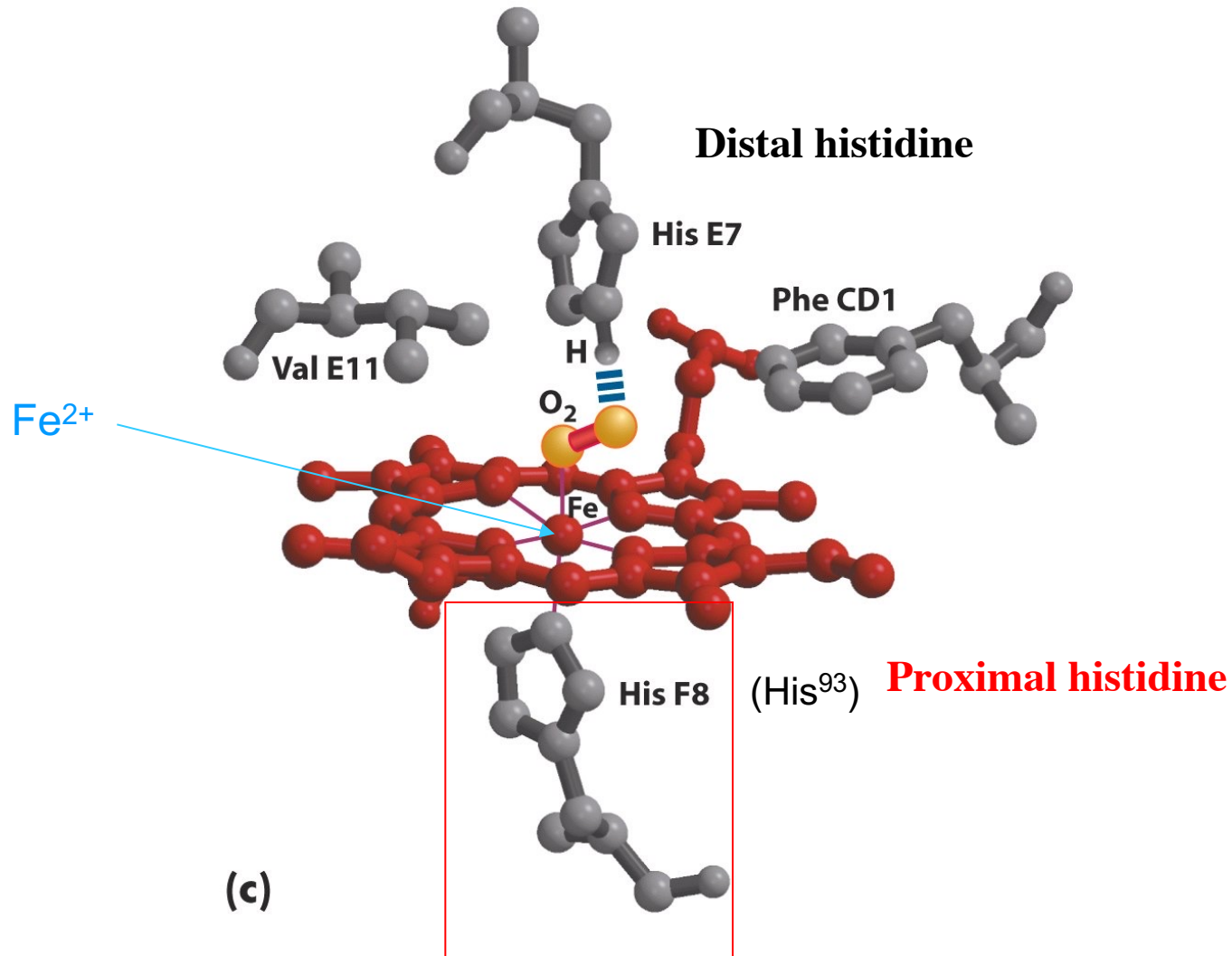
Oxygen Binding Proteins

“Heme” : contain iron.

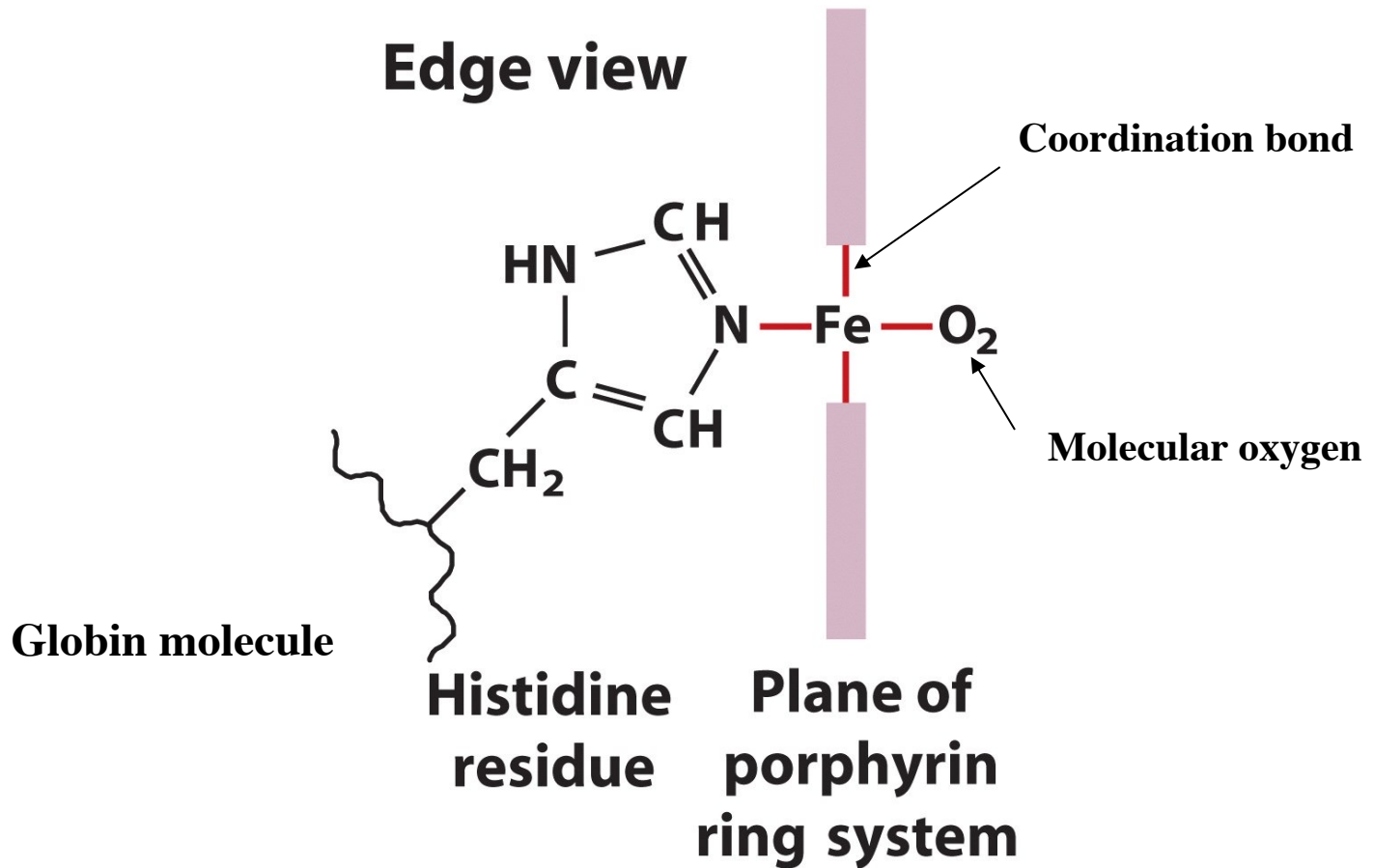
Anéis pirrólicos



A Histidina 93 coordena com o Ferro e auxilia a sua ligação ao O₂



O grupo heme visto de lado



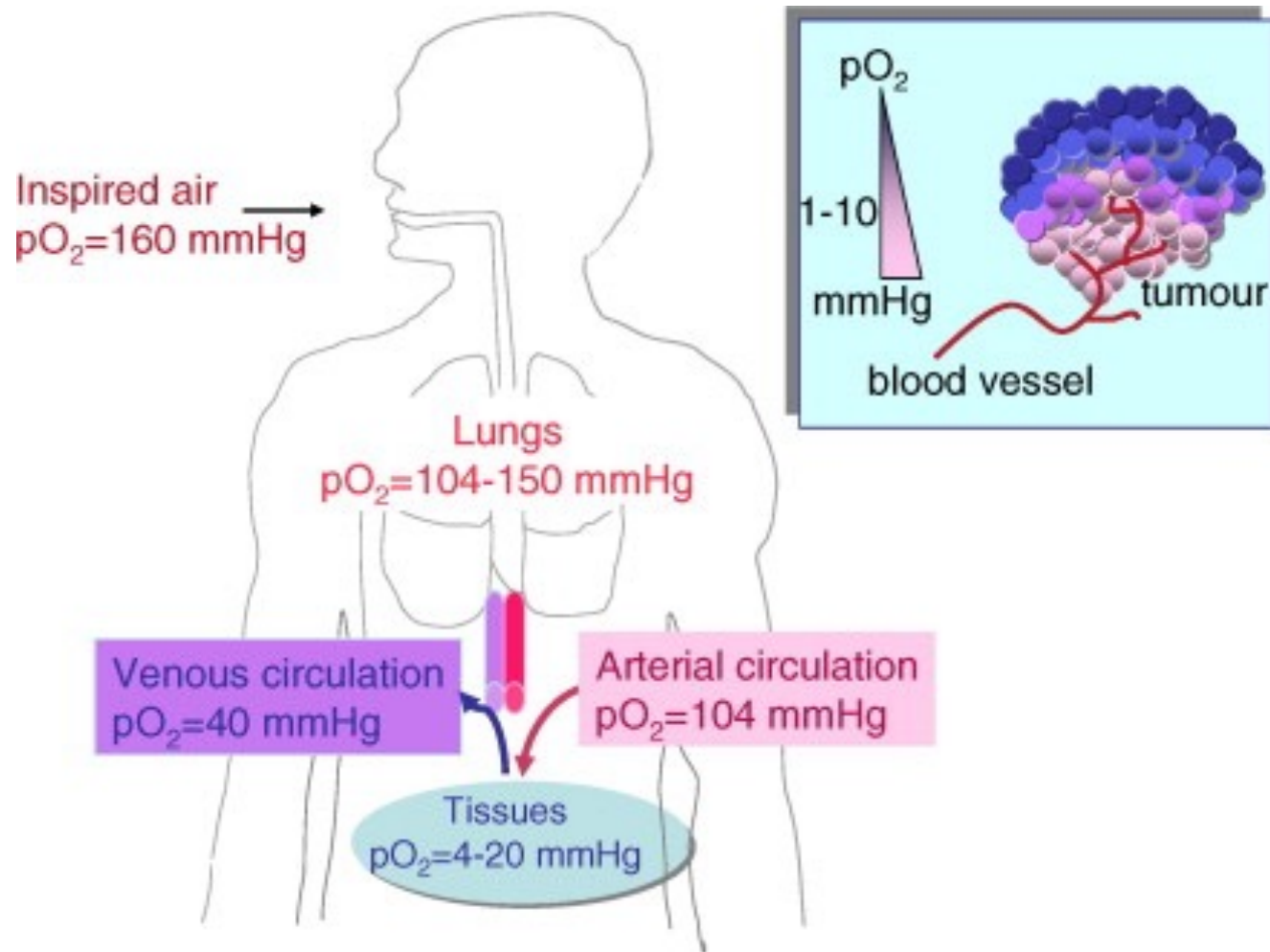
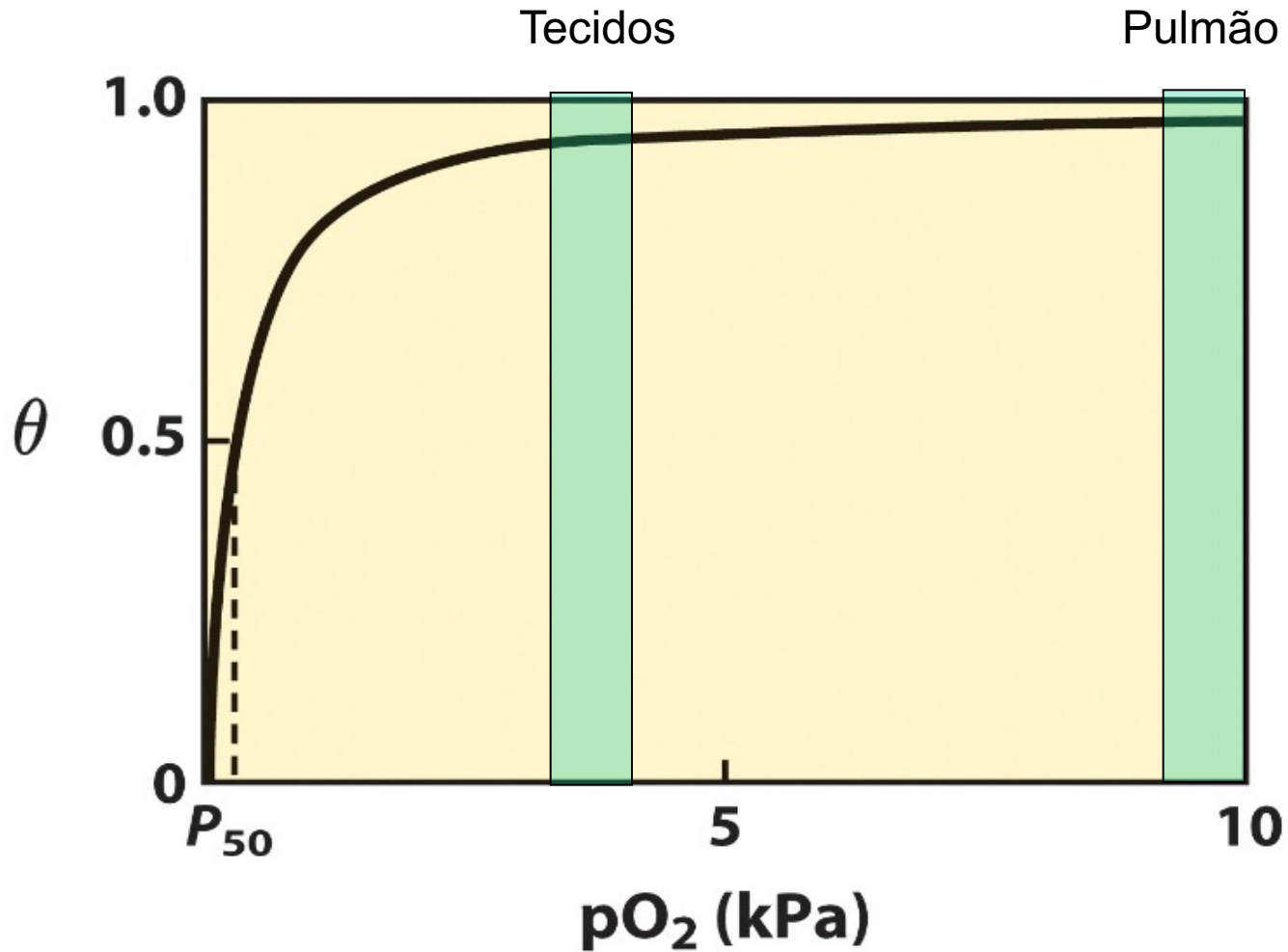
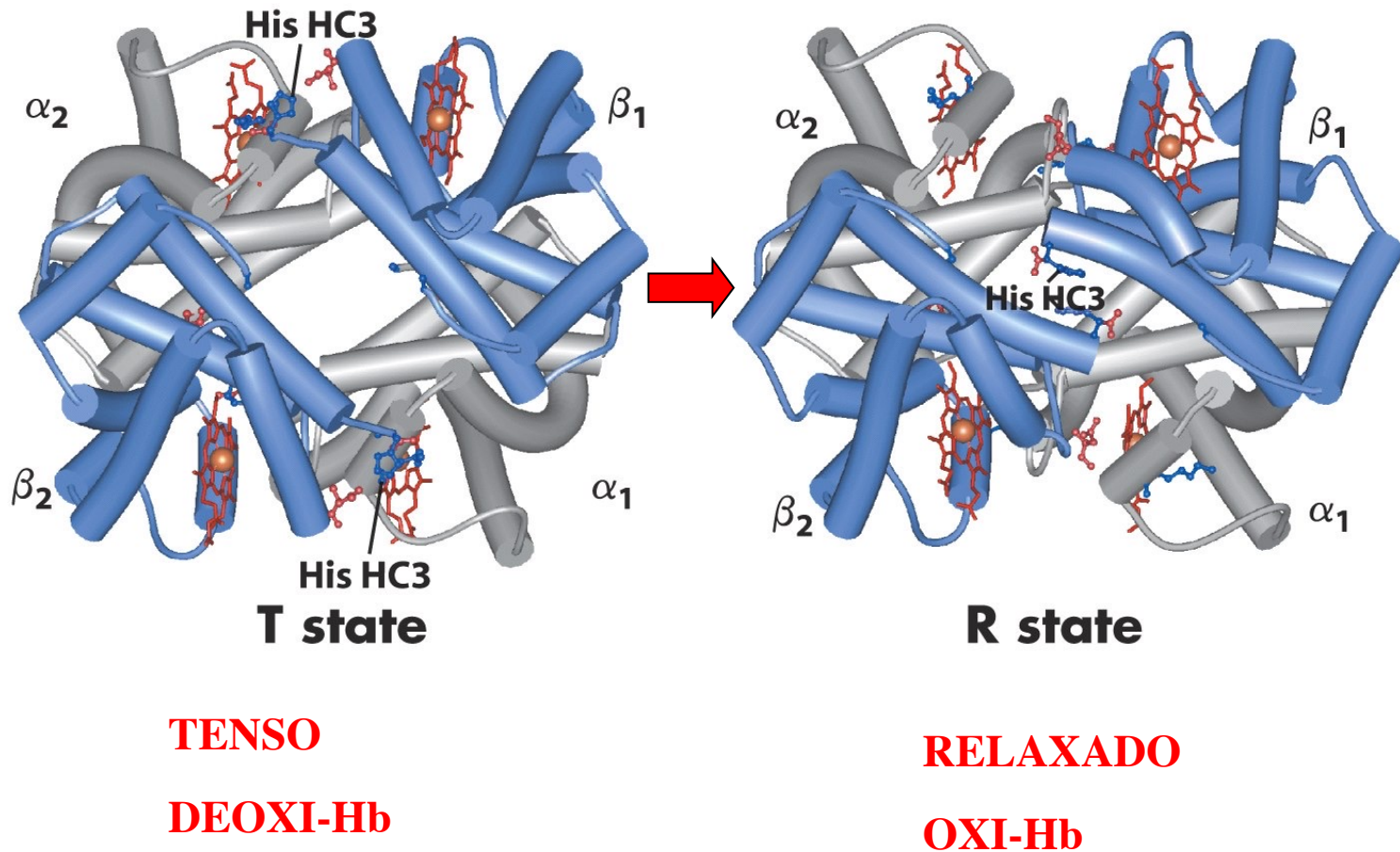


Fig. 1. Physiological and pathophysiological oxygen partial pressures (pO₂). The pO₂ of inspired air drops progressively as oxygen passes from the lungs into the circulation, which irrigates the tissues of major organs, and then in the venous system before re-oxygenation in the lungs. The pO₂ of solid tumours (insert) is generally low compared to that of non-malignant tissues.

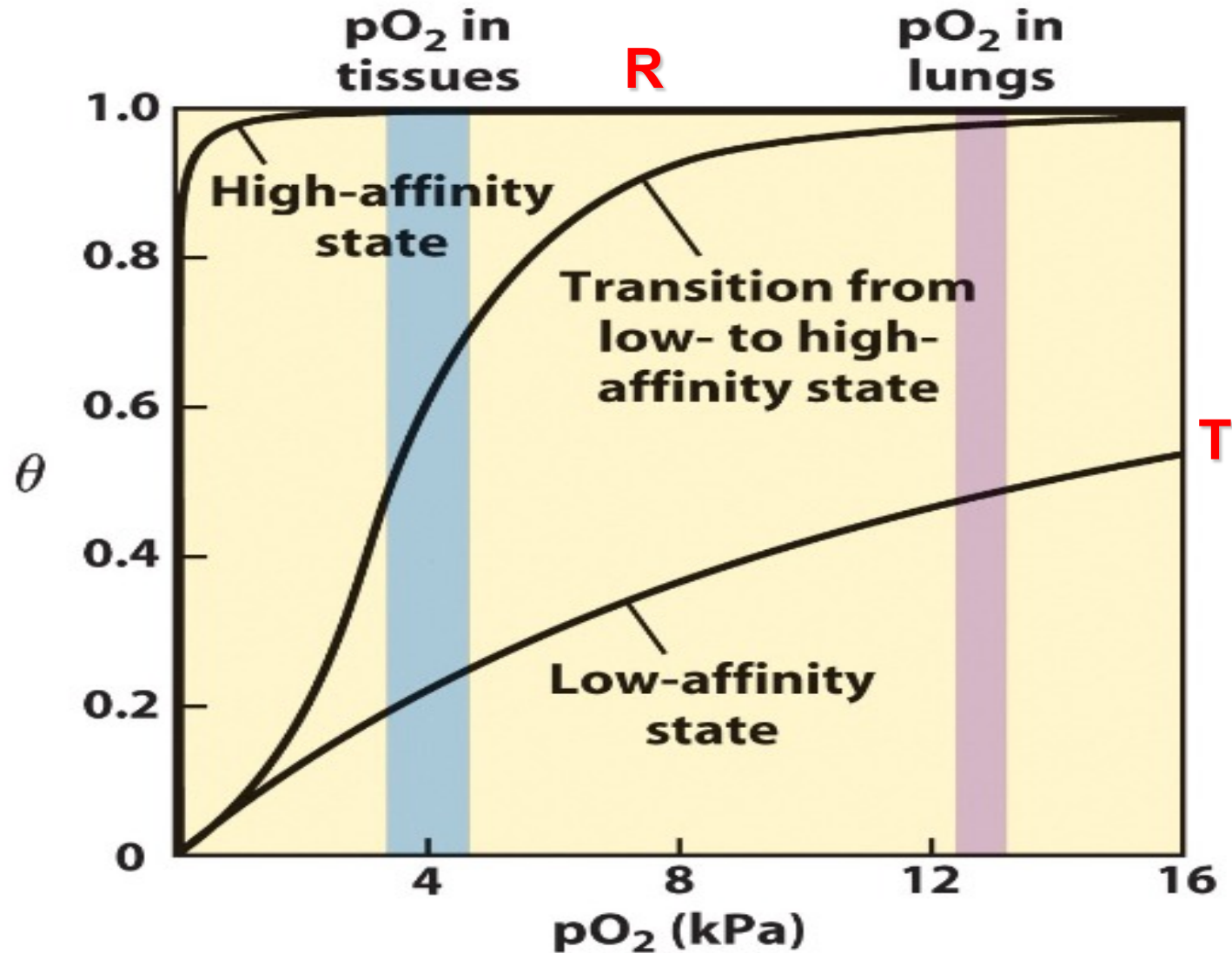
Ligação de O₂ à Mioglobina



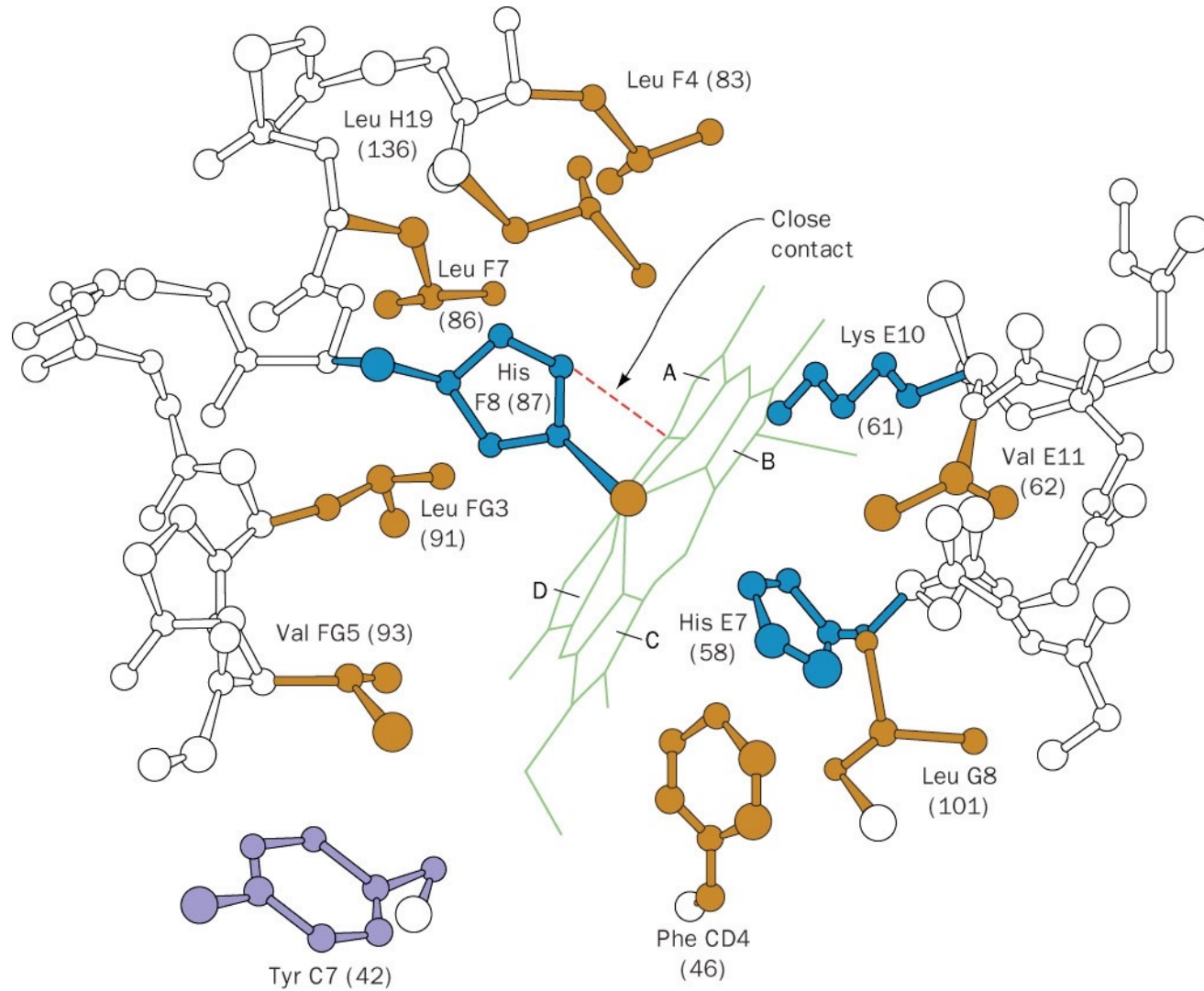
A ligação de O_2 altera a conformação das subunidades da hemoglobina



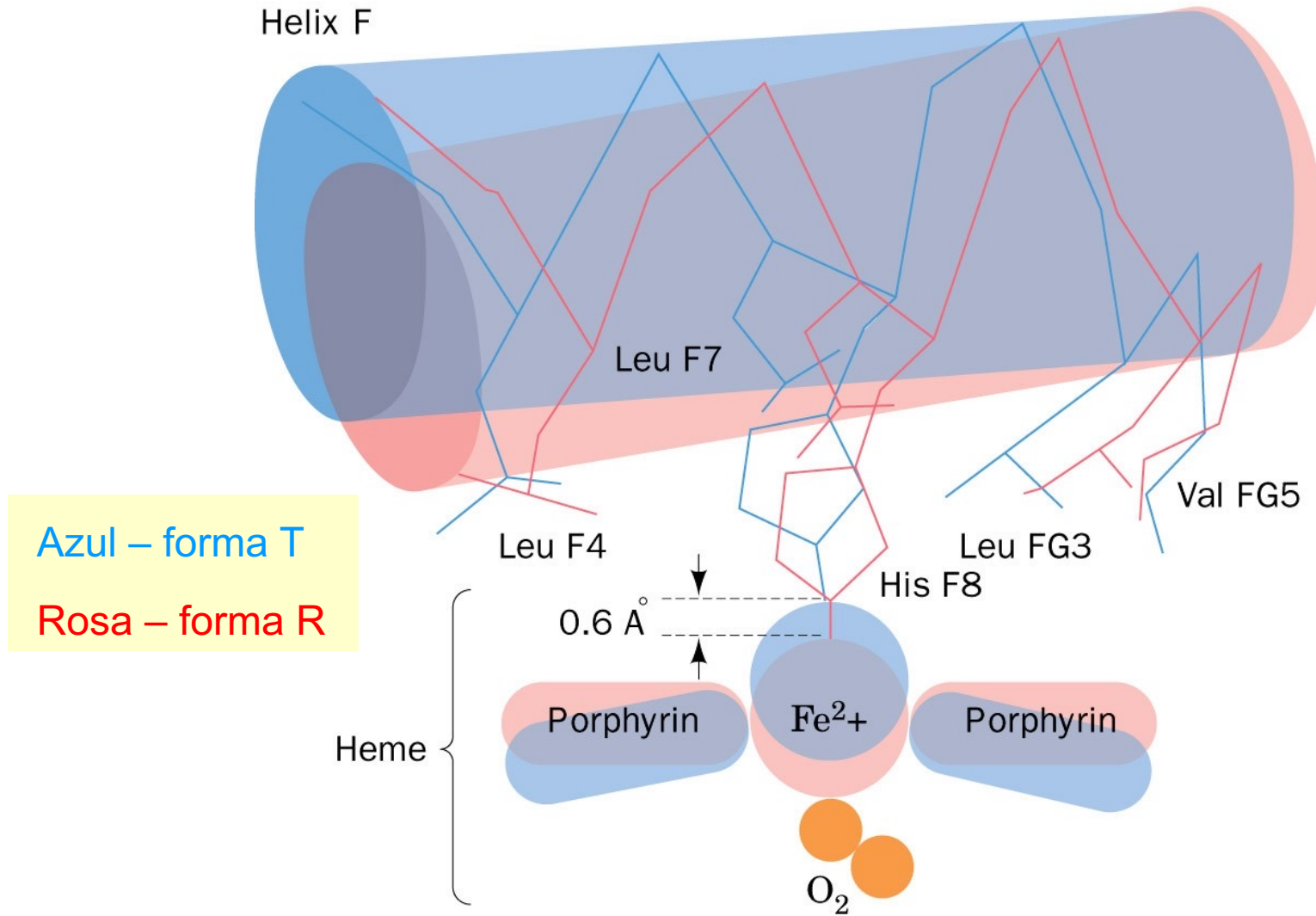
Ligação de O₂ a Hemoglobina



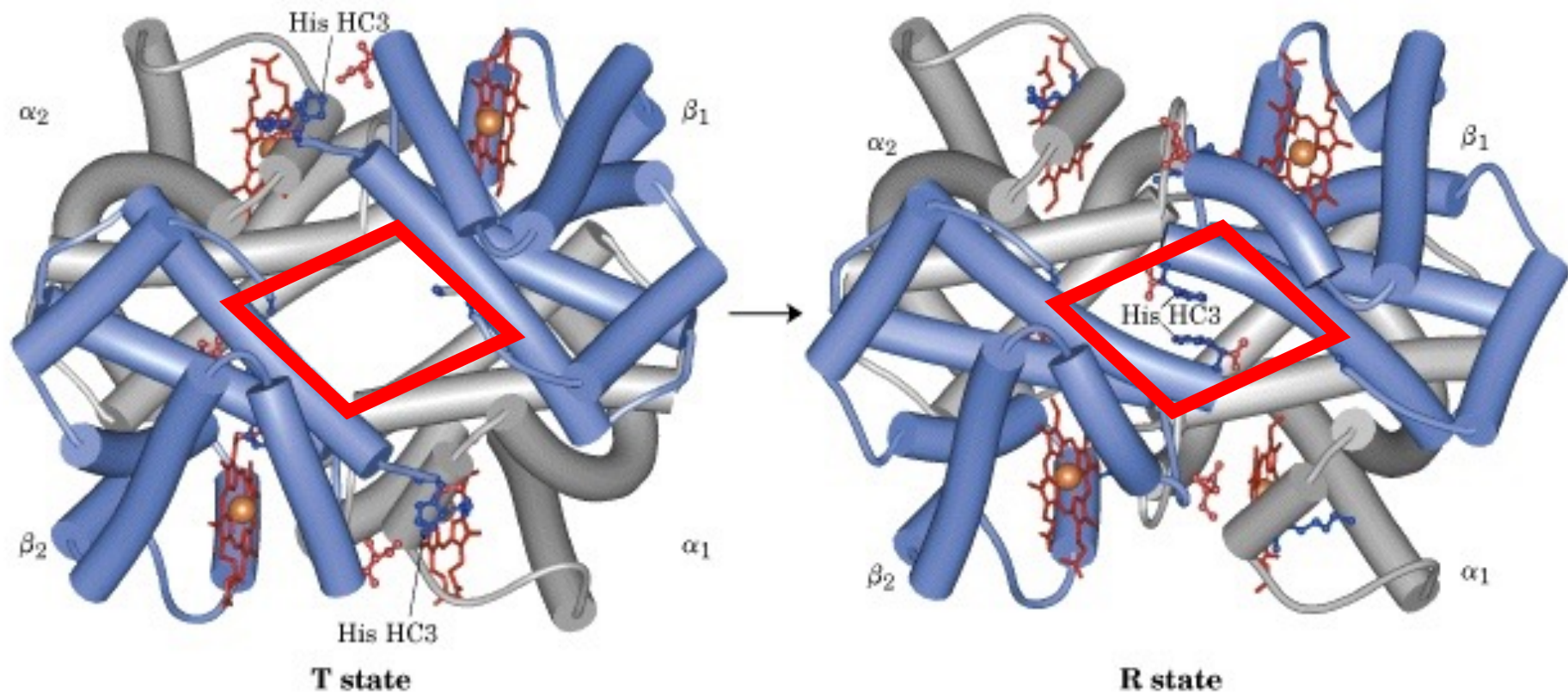
O grupo Heme em seu ambiente na cadeia da Hb humana sem Ligante



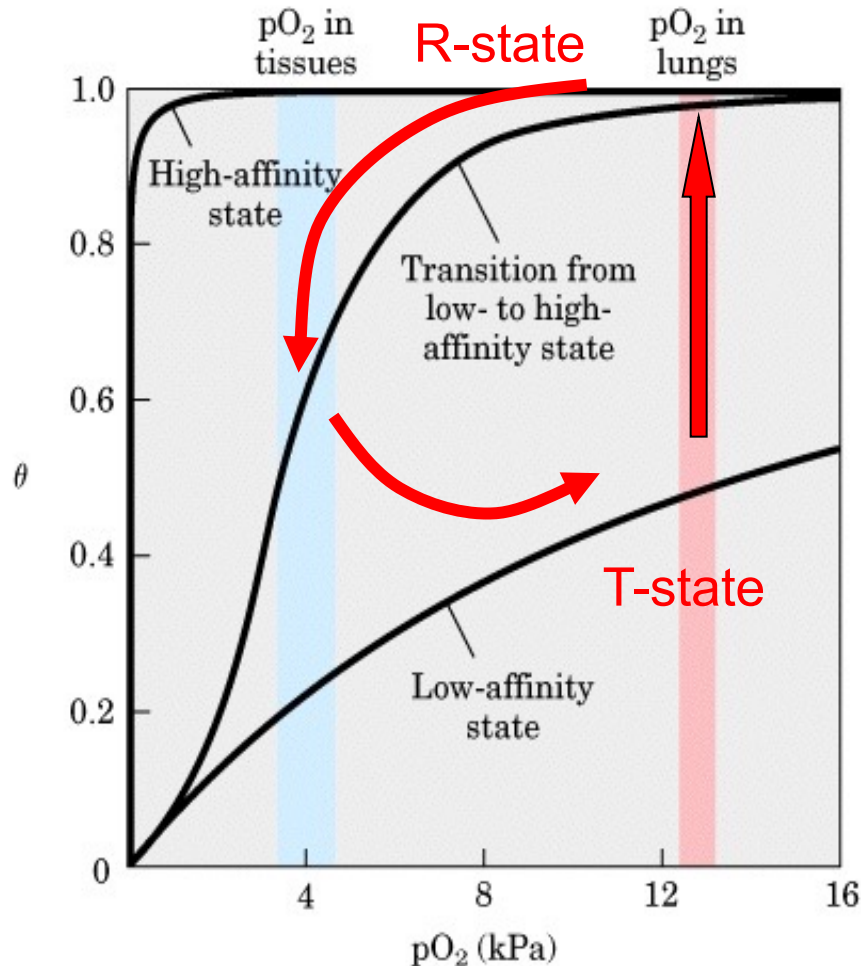
A ligação de O_2 altera a conformação local da cadeia peptídica...



...resultando na alteração da conformação total do tetrâmero...



Cooperatividade entre as subunidades resulta numa curva de ligação de O_2 sigmoidal



DesoxiHb (T) capta O_2 no pulmão, convertendo-se para o estado R, o qual por sua vez, capta mais O_2

OxiHb (R) volta aos tecidos onde a pressão de O_2 é baixa e inicia a liberação de O_2 , promovendo a conversão da Hb em desoxiHb (T)

2,3-BisFosfoGlicerato (BFG) liga-se a Hb reduzindo a sua afinidade por O₂

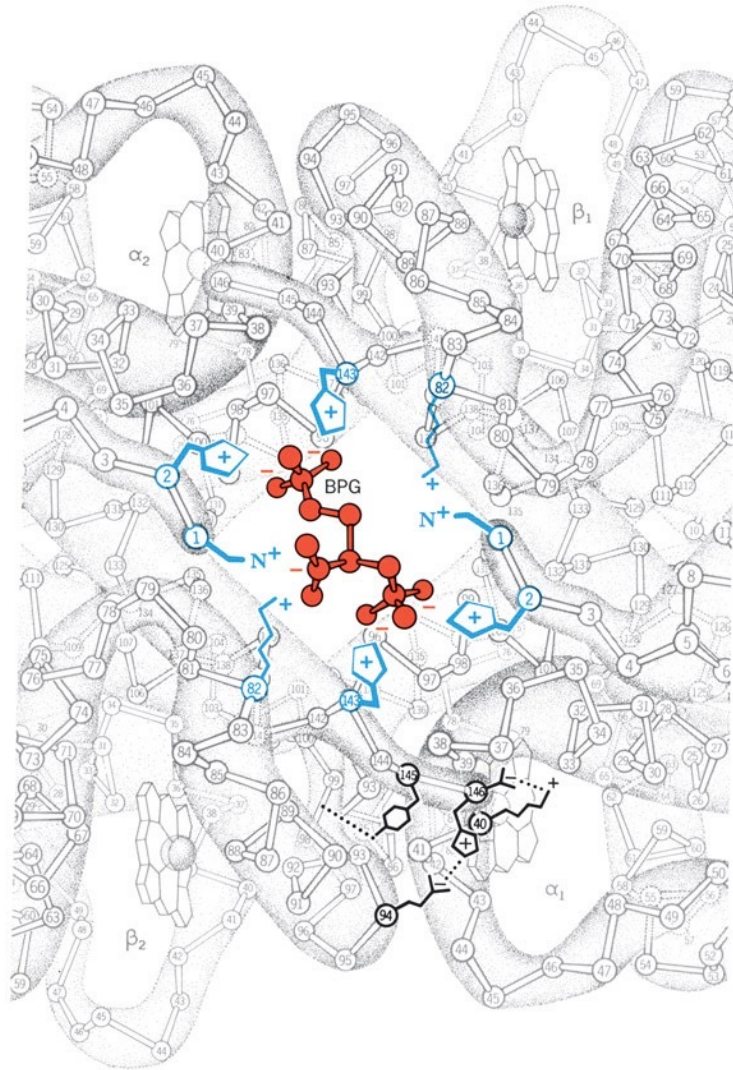
Hb pura libera apenas 8 % do O₂



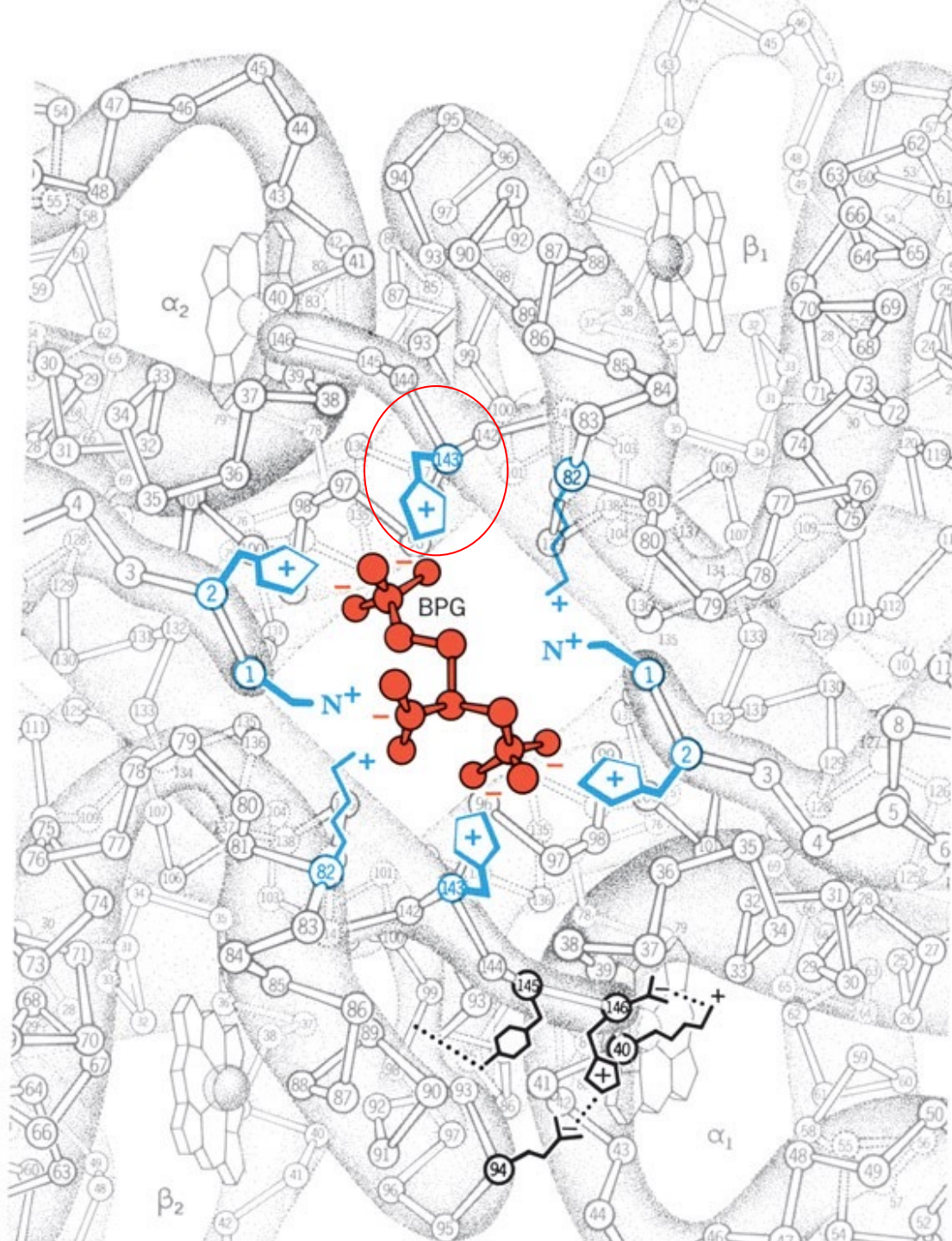
Hb + 2,3-BFG libera 66 % do O₂

2,3-BFG é um efetor alostérico
(allos=outro; stereo=estrutura)

2,3-BFG estabiliza a estrutura
T (desoxi) da Hb

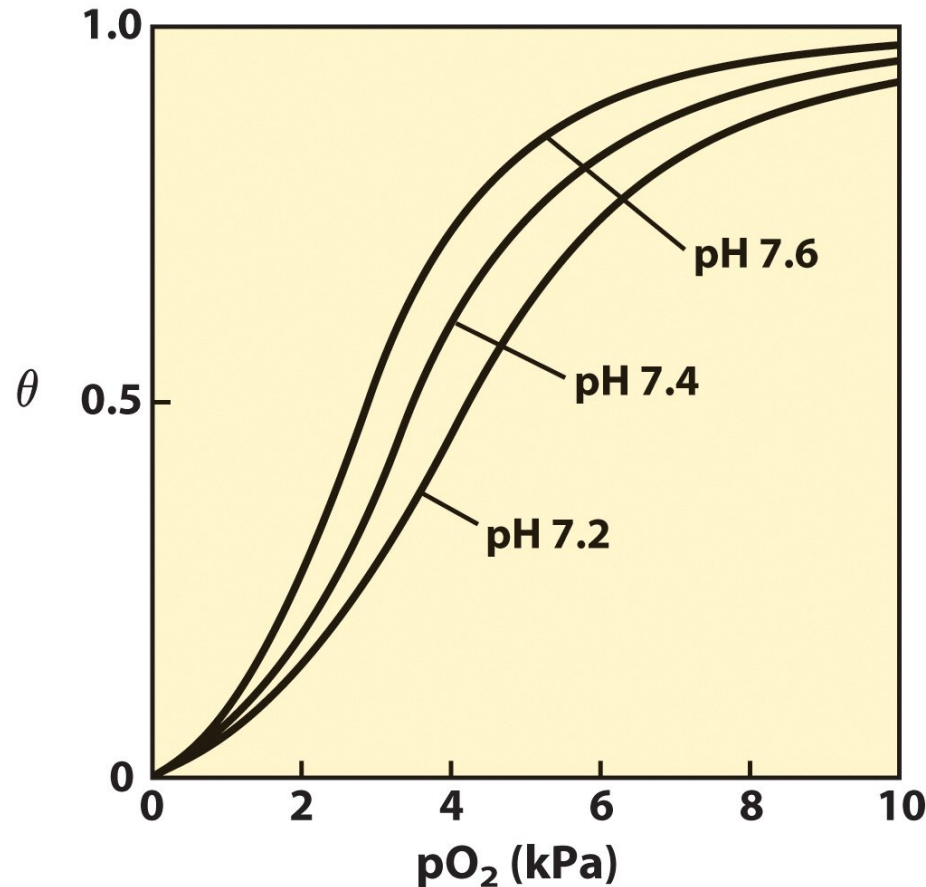


Irving Geis/Geis Archives Trust. Copyright Howard Hughes Medical Institute. Reproduced with permission



Efeito do pH na ligação da Hb ao O₂

(Efeito Bohr, Christian Bohr 1904)



A diminuição do pH afeta a ionização de Histidinas... No pH menor a His 146 está protonada, estabilizando a estrutura T da Hb

A diminuição do pH aumenta a liberação de O₂ nos tecidos

Enzimas

-Enzimas são catalisadores extraordinários e altamente específicos

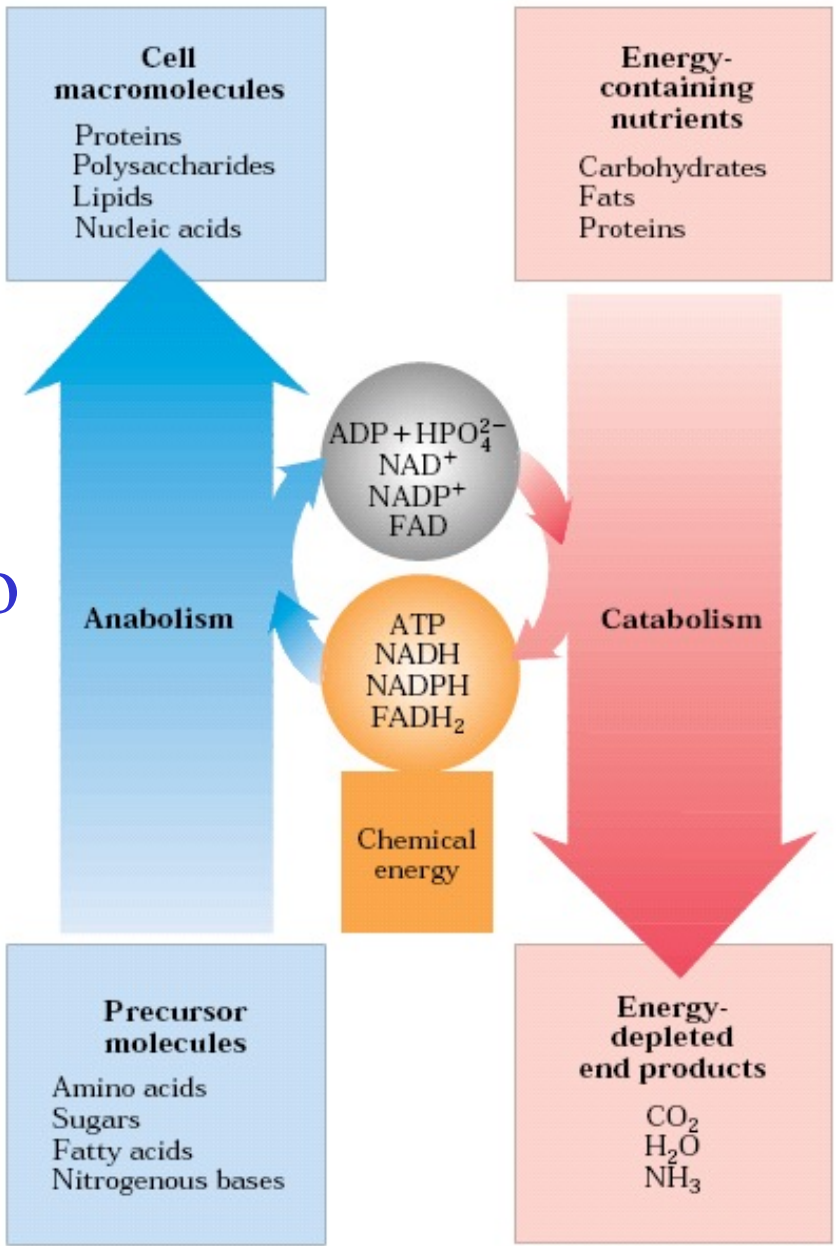
**Energy-
containing
nutrients**

Carbohydrates

Fats

Proteins

Endergônico



Exergônico

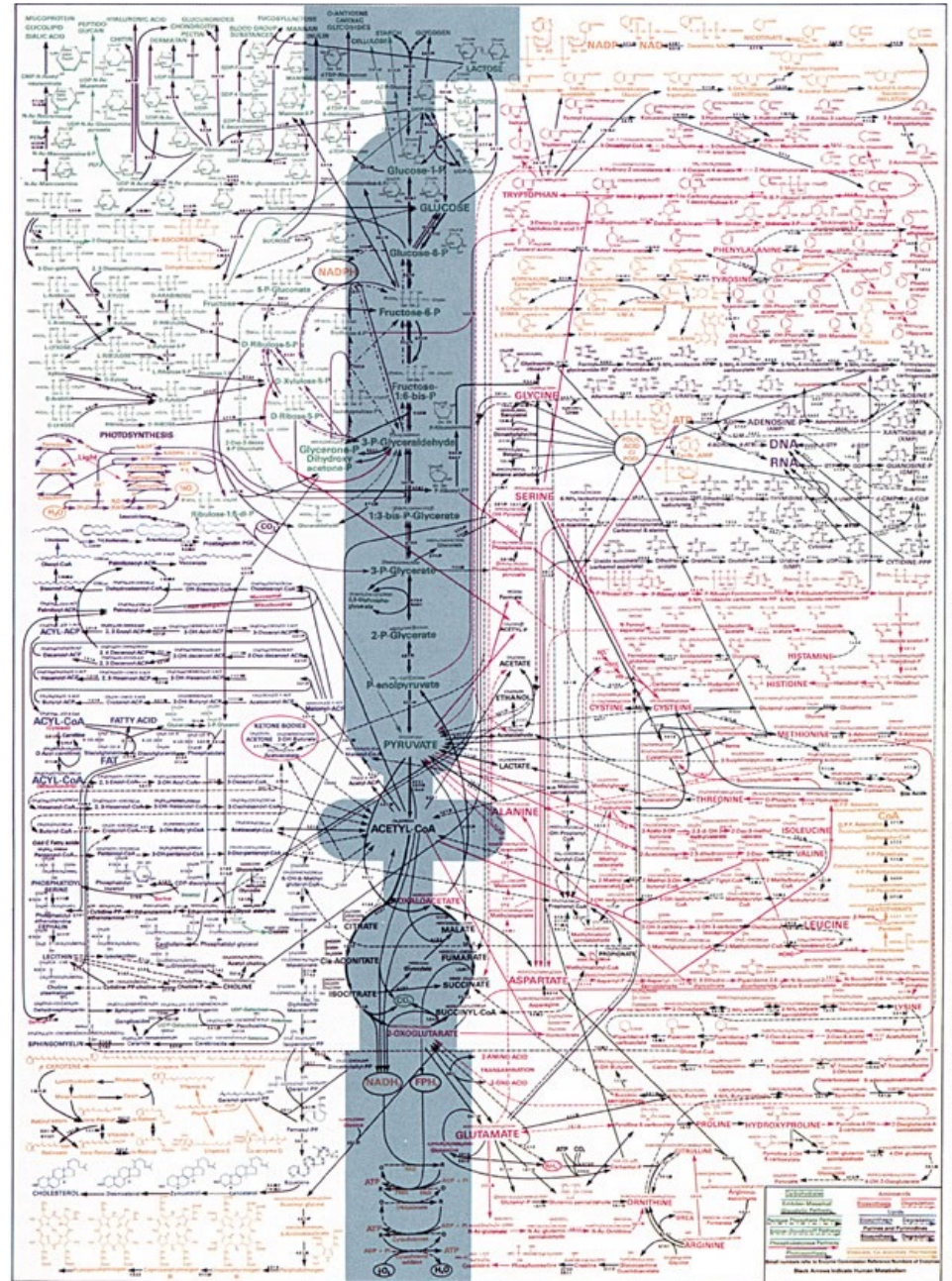
Vias Metabólicas

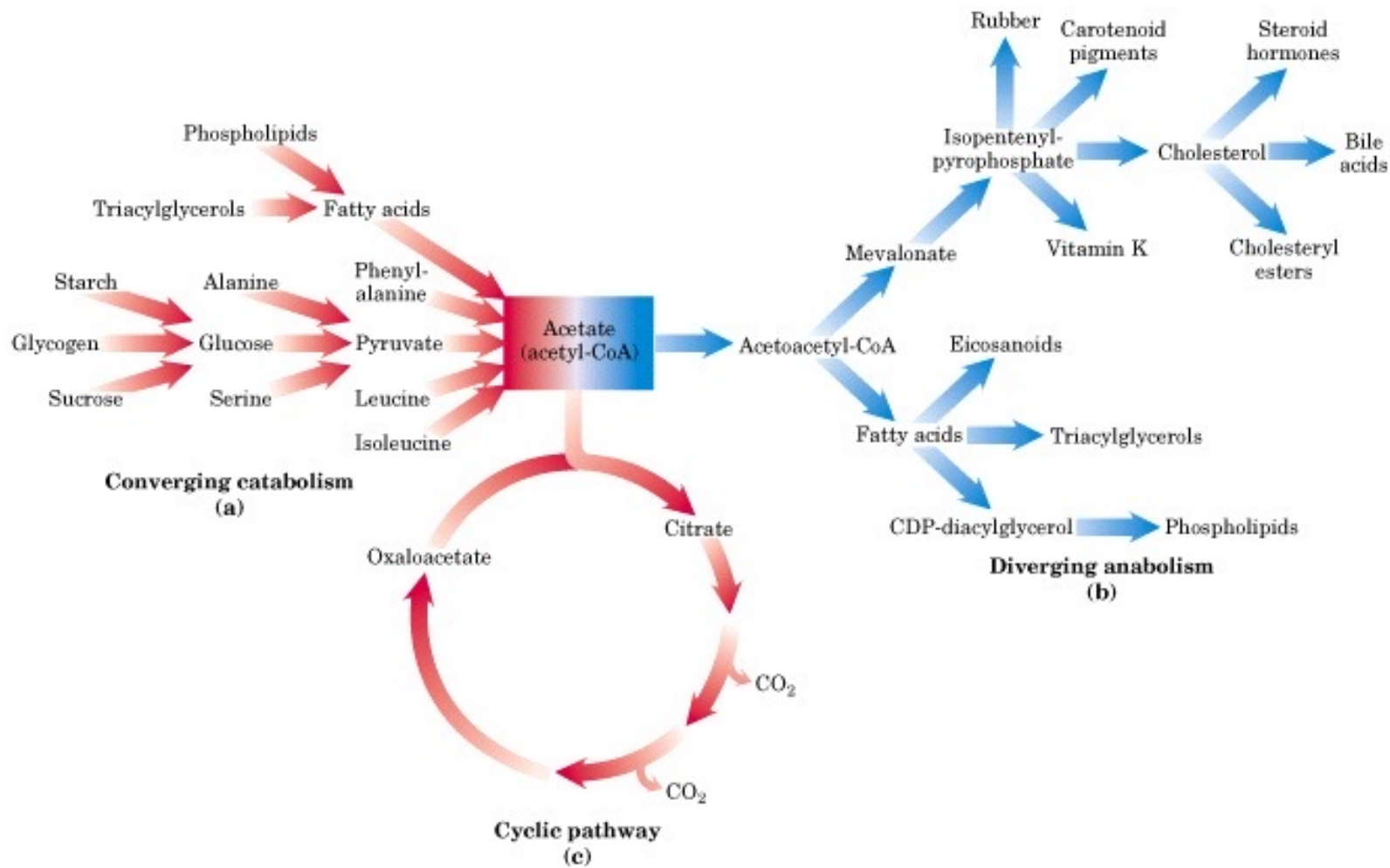
Séries de **reações consecutivas catalisadas enzimaticamente**, que produzem produtos específicos (metabólitos).

Note que: as vias são

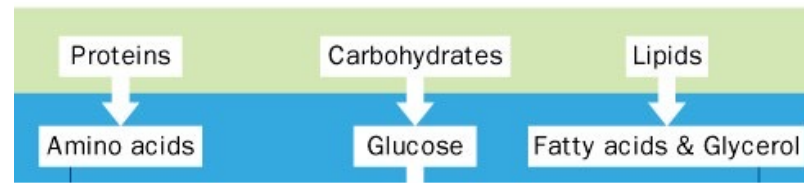
Pontos importantes:

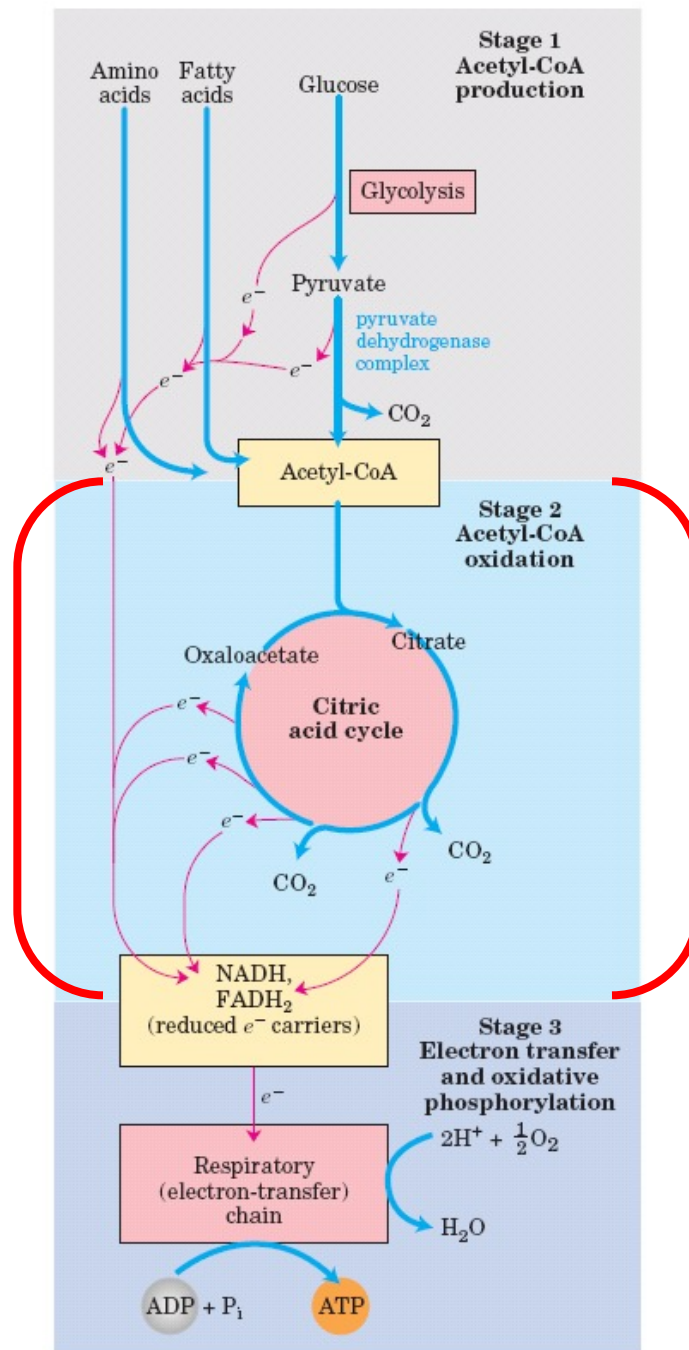
- conhecer as principais avenidas (vias),
- os cruzamentos mais importantes (intermediários comuns) e
- como o fluxo nessas vias são controladas (regulação)...





Visão Geral do Catabolismo



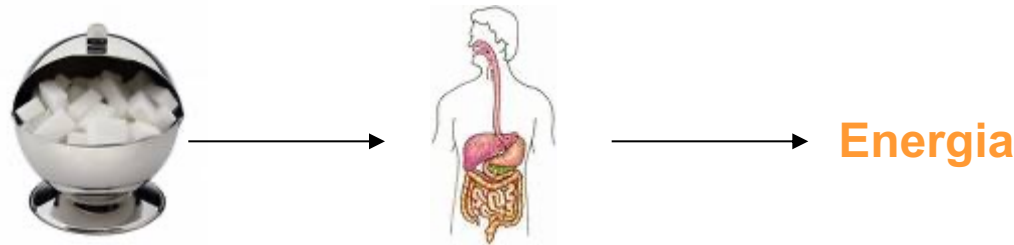


1. Introdução: Enzimas

1. Duas condições fundamentais para a vida :

- (1) capacidade de se autoreplicar
- (2) capacidade de catalisar reações químicas eficiente e seletivamente

Ex. : Açúcar pode ser estocado por anos, mas no organismo ele libera energia química em segundos “ catálise”



2. Catalisadores em sistema biológico:

“ AS ENZIMAS”Proteínas altamente especializadas que possuem
eficiência catalítica extraordinária

alto grau de especificidade

aceleram as reações químicas

Enzimas são catalisadores extraordinários e altamente específicos!

TABLE 6–5 Some Rate Enhancements
Produced by Enzymes

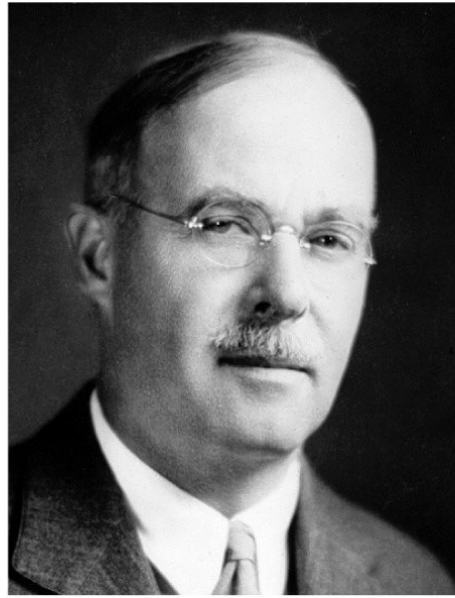
Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

A maior parte da História da Bioquímica coincide com a História das Enzimas

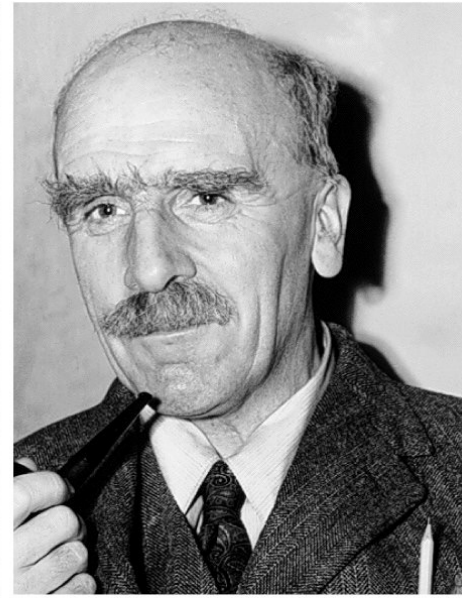
- 1850 Louis PasteurFermentação em células vivas (“força vital”, vitalismo)
1878 Fredrich Wilhelm Kuhne...Enzima (*en*=no e *zyme*=levedura)
1897 Eduard Buchner Extrato de levedura livre de células capaz de realizar a fermentação
1894 Emil FischerHipótese chave-fechadura
1926 James Sumner Cristalização da Urease do Feijão Preto → Demonstrou que enzimas são proteínas
J.B.S. Haldane Interações Enzima-Substrato (Escreveu um tratado sobre Enzimas)



Eduard Buchner
1860–1917



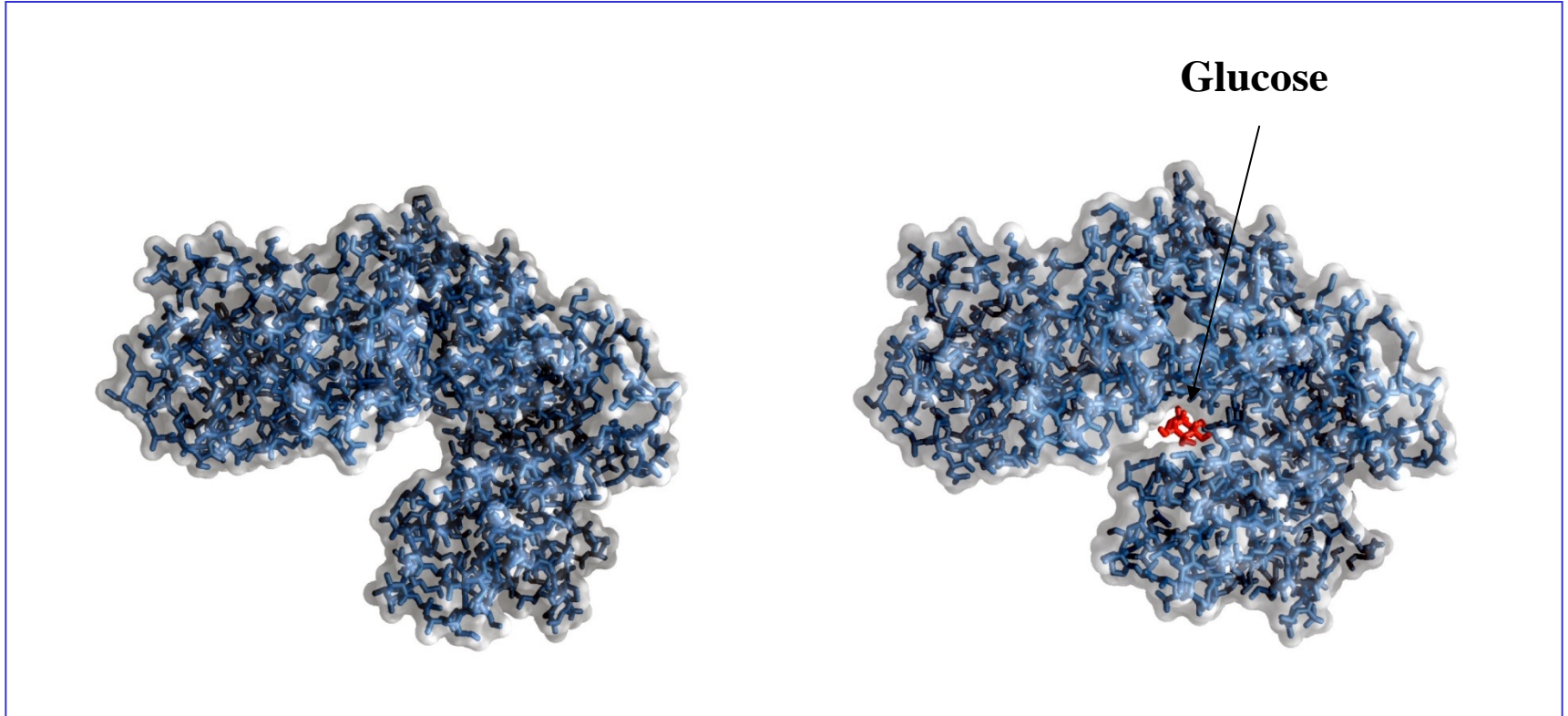
James Sumner
1887–1955

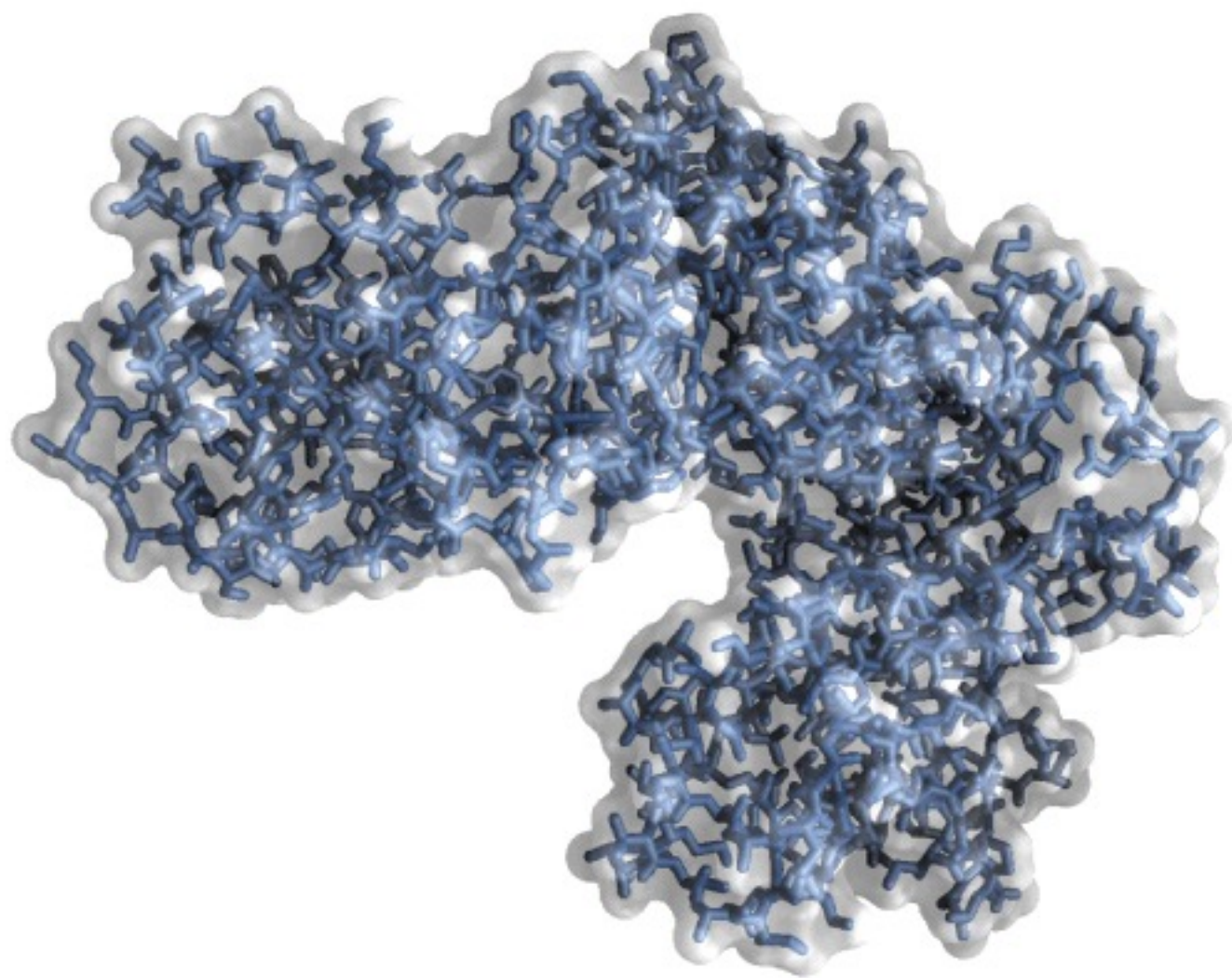


J. B. S. Haldane
1892–1964

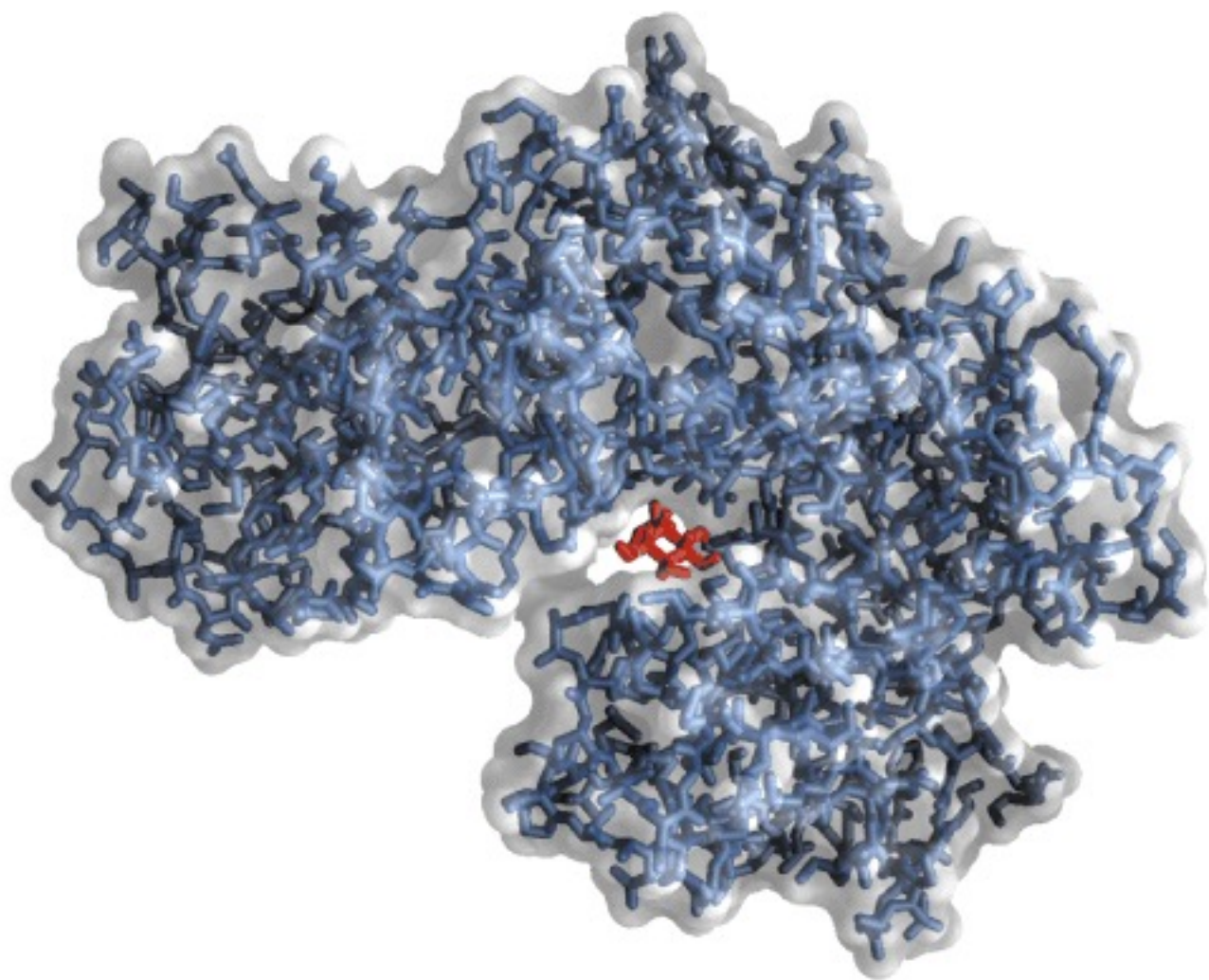
Atividade catalítica depende da conformação proteica

Se a Enzima é desnaturada ou dissociada em subunidades ela perde a atividade catalítica!!



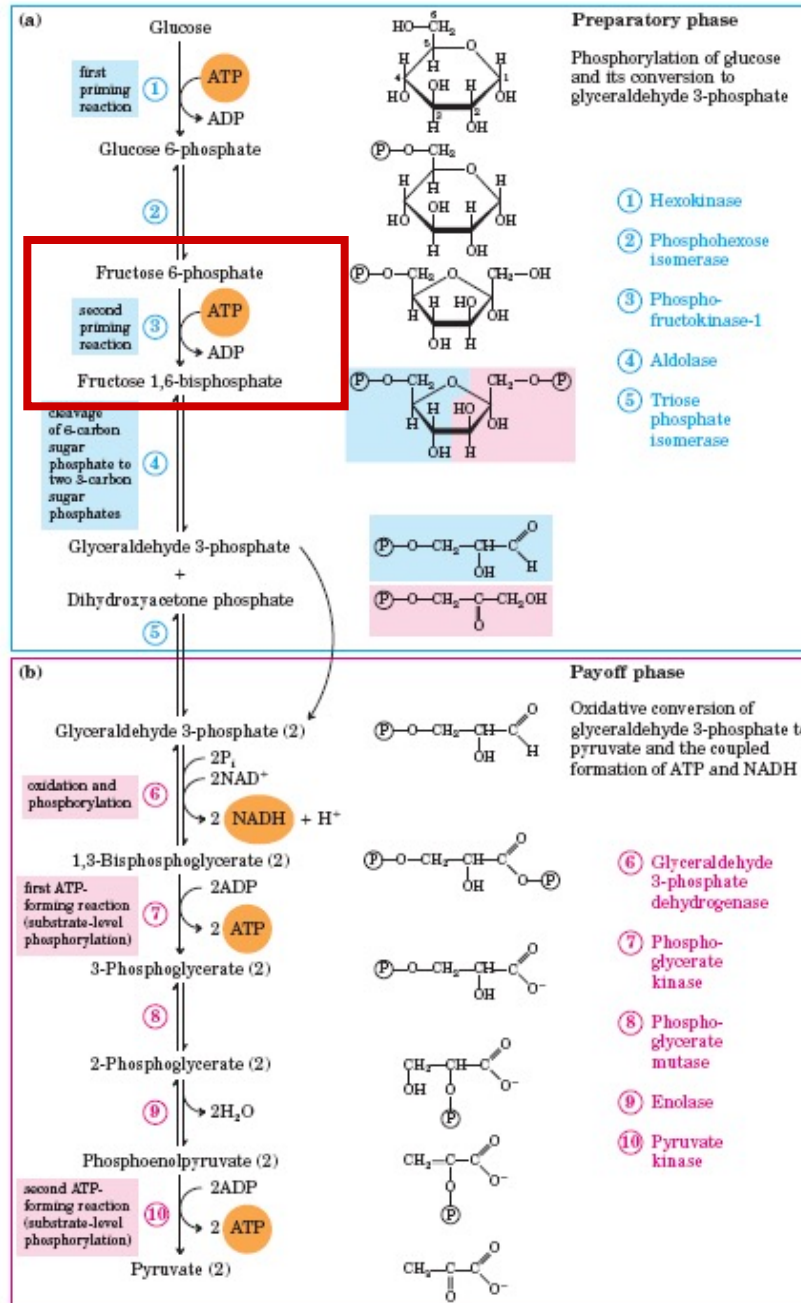


(a)

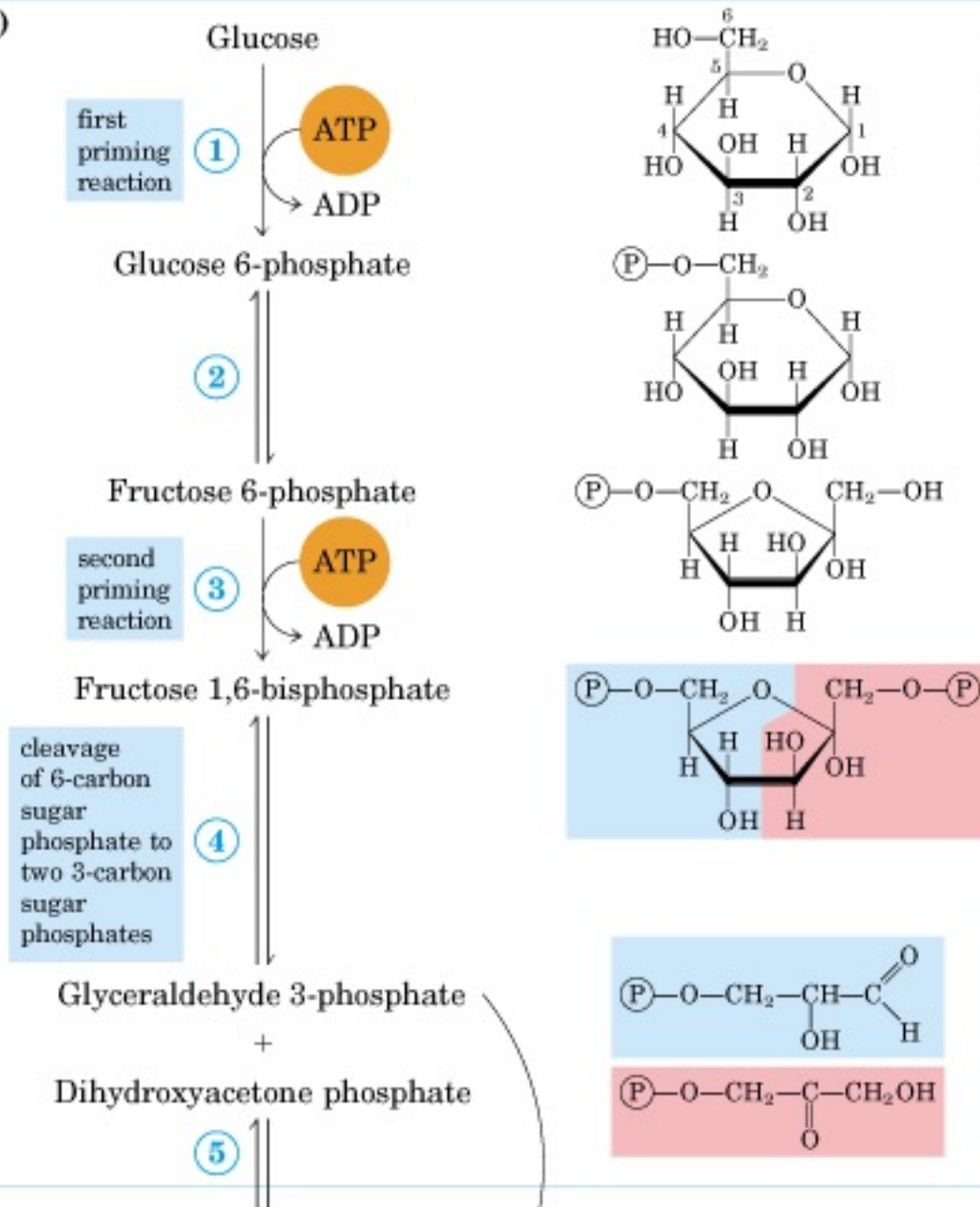


(b)

Glicólise

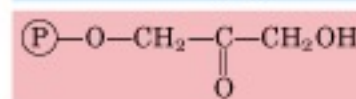
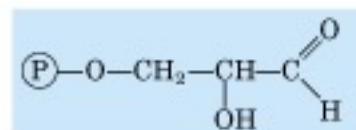
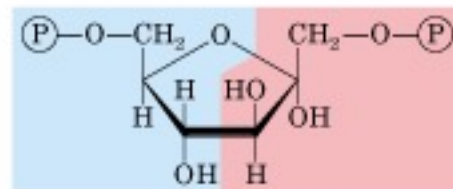
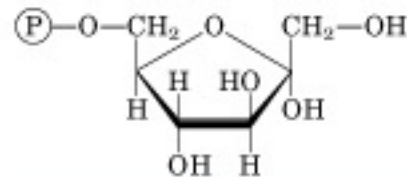
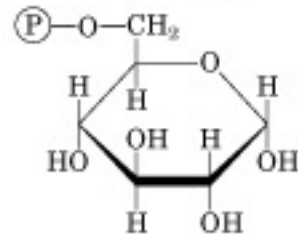
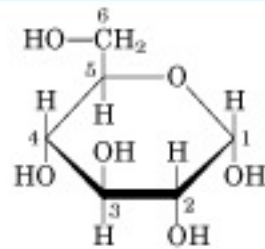


(a)



Preparatory phase

Phosphorylation of glucose and its conversion to glyceraldehyde 3-phosphate



(b)

Glyceraldehyde 3-phosphate (2)

oxidation and phosphorylation

⑥

$2P_i$

$2NAD^+$

$2 \text{ NADH} + H^+$

1,3-Bisphosphoglycerate (2)

first ATP-forming reaction (substrate-level phosphorylation)

⑦

$2ADP$

2 ATP

3-Phosphoglycerate (2)

⑧

2-Phosphoglycerate (2)

⑨

$2H_2O$

Phosphoenolpyruvate (2)

second ATP-forming reaction (substrate-level phosphorylation)

⑩

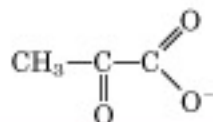
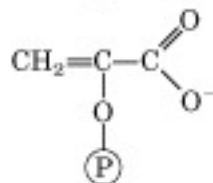
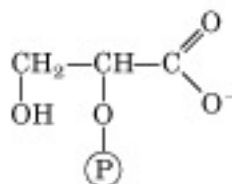
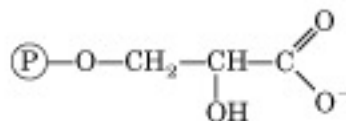
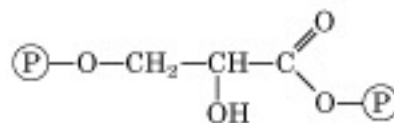
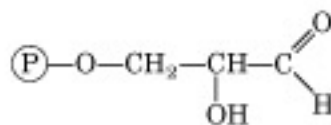
$2ADP$

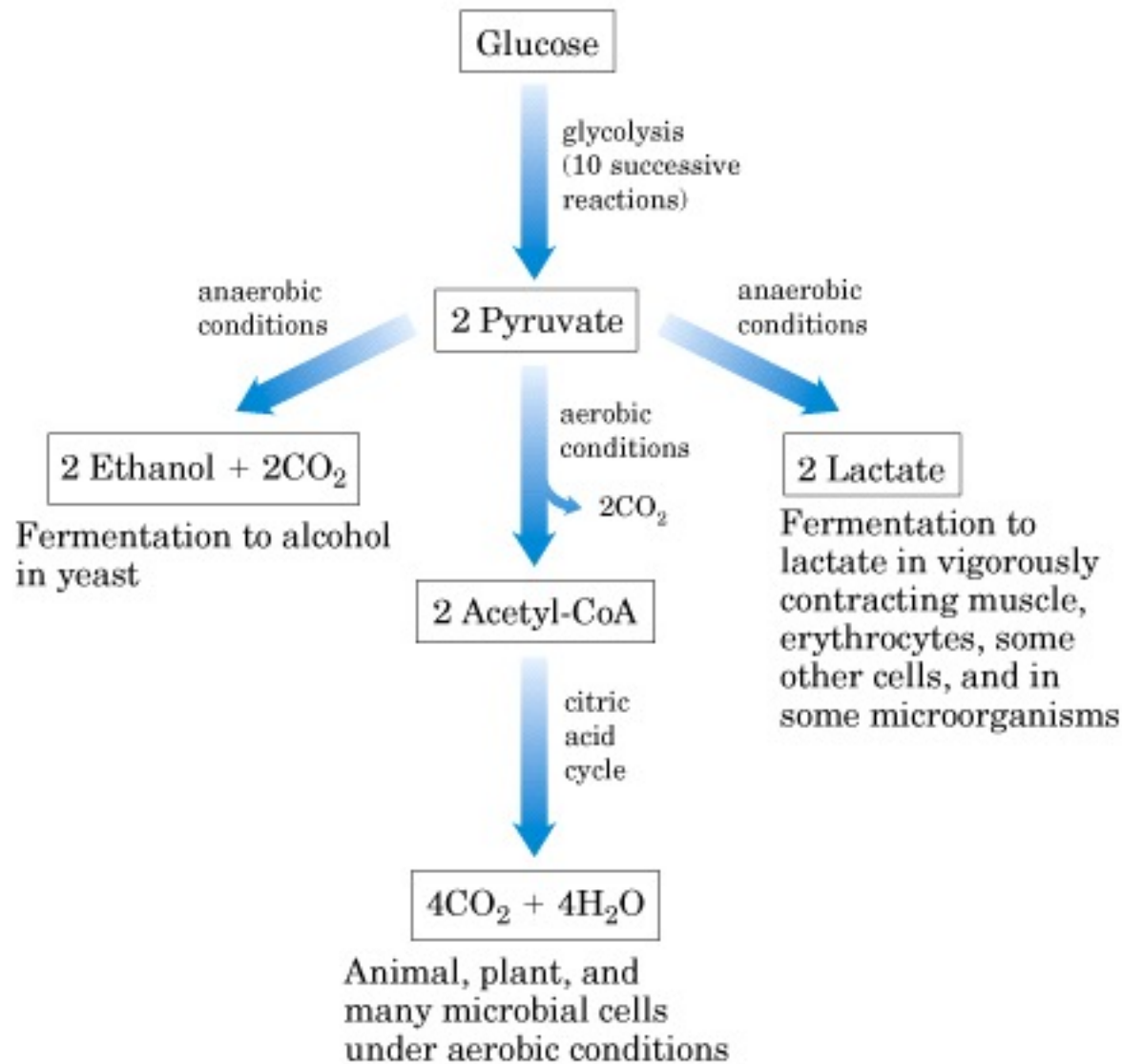
2 ATP

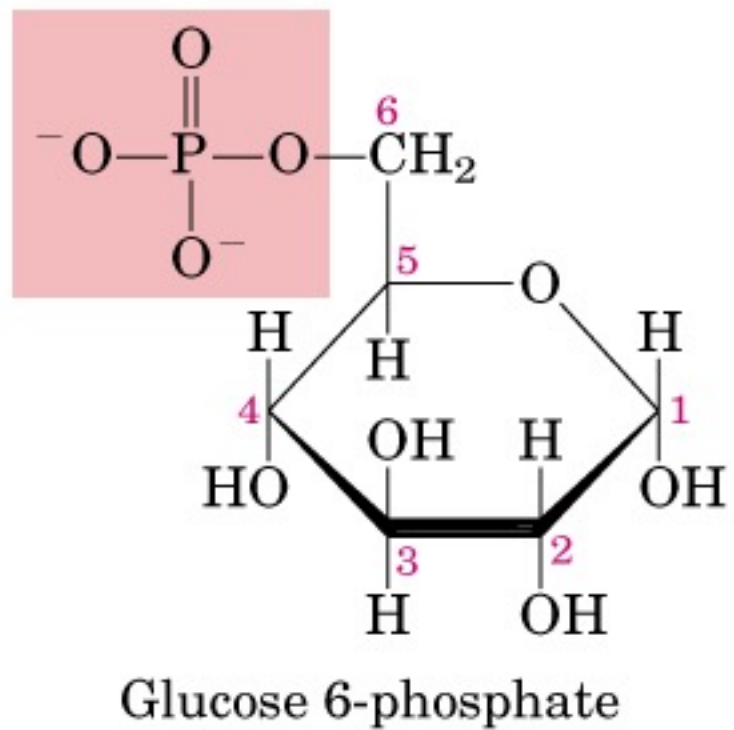
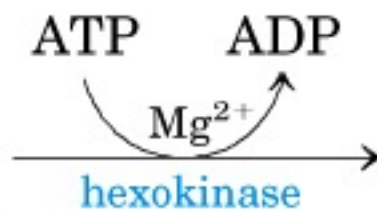
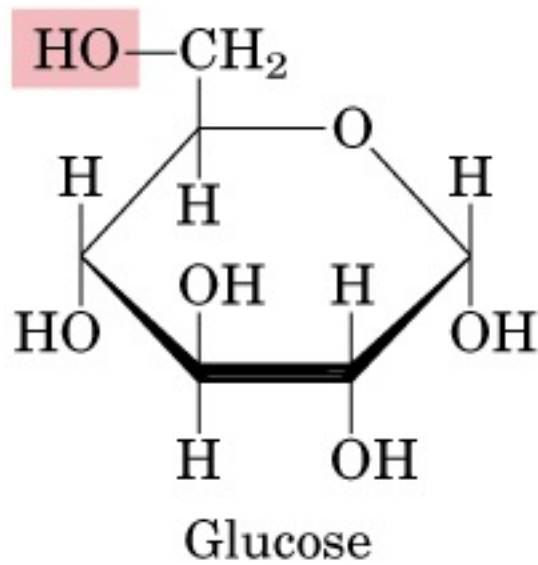
Pyruvate (2)

Payoff phase

Oxidative conversion of glyceraldehyde 3-phosphate to pyruvate and the coupled formation of ATP and NADH

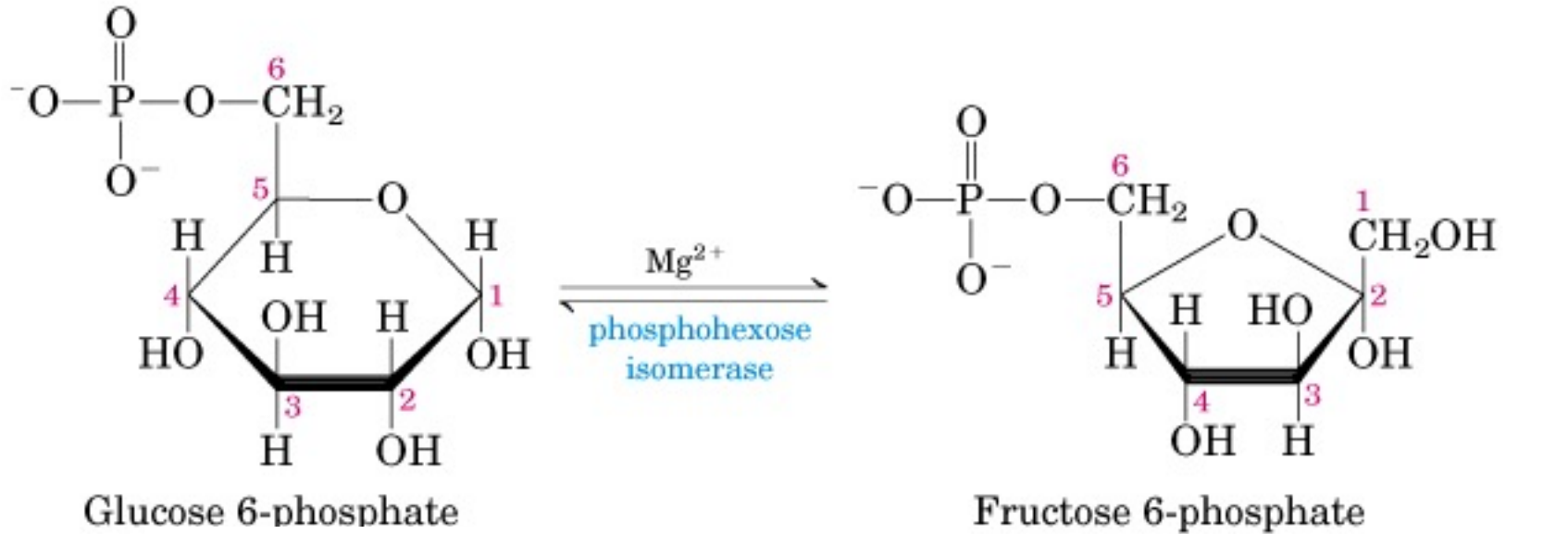




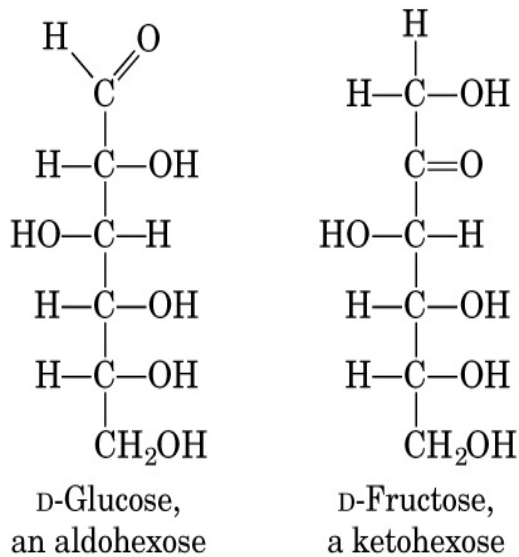


$$\Delta G'^{\circ} = -16.7 \text{ kJ/mol}$$

Isomerização: aldose $\longrightarrow$ cetose

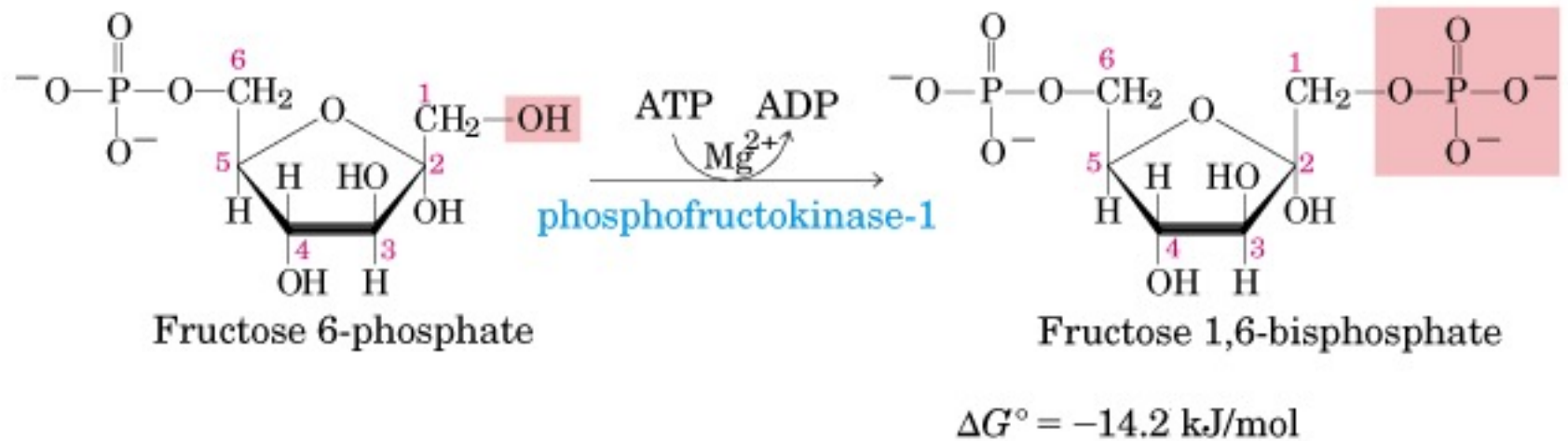


$$\Delta G'^{\circ} = 1.7 \text{ kJ/mol}$$

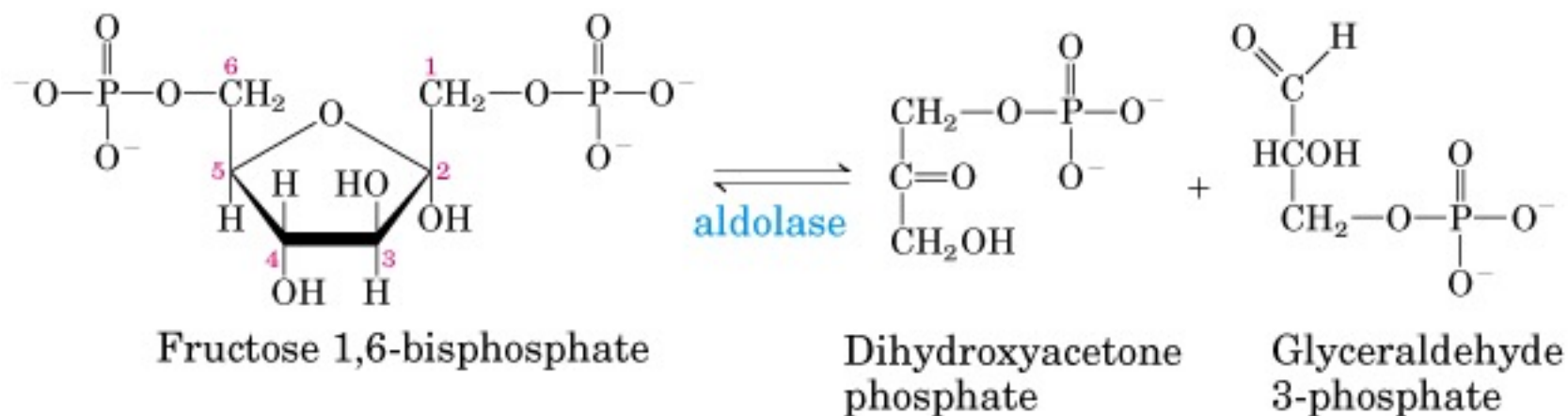


(b)

Enzima alostérica



Clivagem da frutose 1,6-bifosfato



$$\Delta G'^{\circ} = 23.8 \text{ kJ/mol}$$

Grupo Prostético

- Componente químico adicional requerido por certas enzimas
- Estão firmemente ligados às enzimas

Cofatores : compostos inorgânicos

Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}

Coenzimas : compostos orgânicos.

Normalmente derivado de vitaminas

Holoenzima = Apoenzima (porção proteica) + coenzima ou cofator

Cofatores : compostos inorgânicos
(Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+})

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

Coenzimas : compostos orgânicos.
(Normalmente derivado de vitaminas)

TABLE 6-2 Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biocytin	CO_2	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B_{12})	H atoms and alkyl groups	Vitamin B_{12}
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B_2)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion ($:\text{H}^-$)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B_6)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B_1)

Note: The structures and modes of action of these coenzymes are described in Part II.

Classificação

São classificadas de acordo com o tipo de reação que catalisam

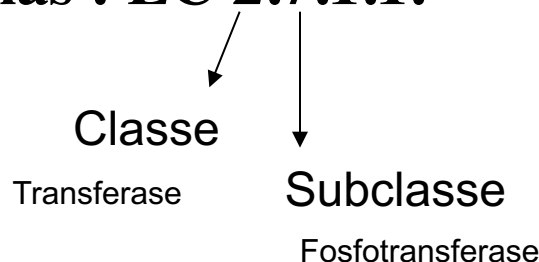
TABLE 6–3 International Classification of Enzymes

No.	Class	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to ATP cleavage

Note: Most enzymes catalyze the transfer of electrons, atoms, or functional groups. They are therefore classified, given code numbers, and assigned names according to the type of transfer reaction, the group donor, and the group acceptor.

Código para Enzimas : EC 2.7.1.1.

ATP glicose fosfotransferase



2. Como as enzimas trabalham?

A função termodinâmica denominada de **energia livre (G)** é importante para compreender como as enzimas trabalham.

Parâmetros termodinâmicos que deve-se considerar:

- 1) A variação de energia livre (ΔG) entre produtos e reagentes
- 2) A energia necessária (energia de ativação) para iniciar a conversão dos reagentes em produtos

ΔG : indica a espontaneidade da reação

Energia de ativação: determina a velocidade da reação

As enzimas afeta apenas a energia de ativação!

Sob condições de temperatura e pressão constantes...

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

ΔH - que reflete os tipos e o número de ligações químicas e interações não-covalentes quebrados e formados

ΔS – que reflete a variação da desordem do sistema

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

$\Delta G < 0$ (negativo) : Reações espontâneas > produtos têm menos energia livre que os reagentes, a qual pode ser utilizada para realizar trabalho – são reações exergônicas.

$\Delta G > 0$ (positivo): Precisam que seja fornecida energia – são reações endergônicas.

$\Delta G'^{\circ}$ negativo $\rightarrow$ $G \text{ reagentes} > G \text{ produtos}$

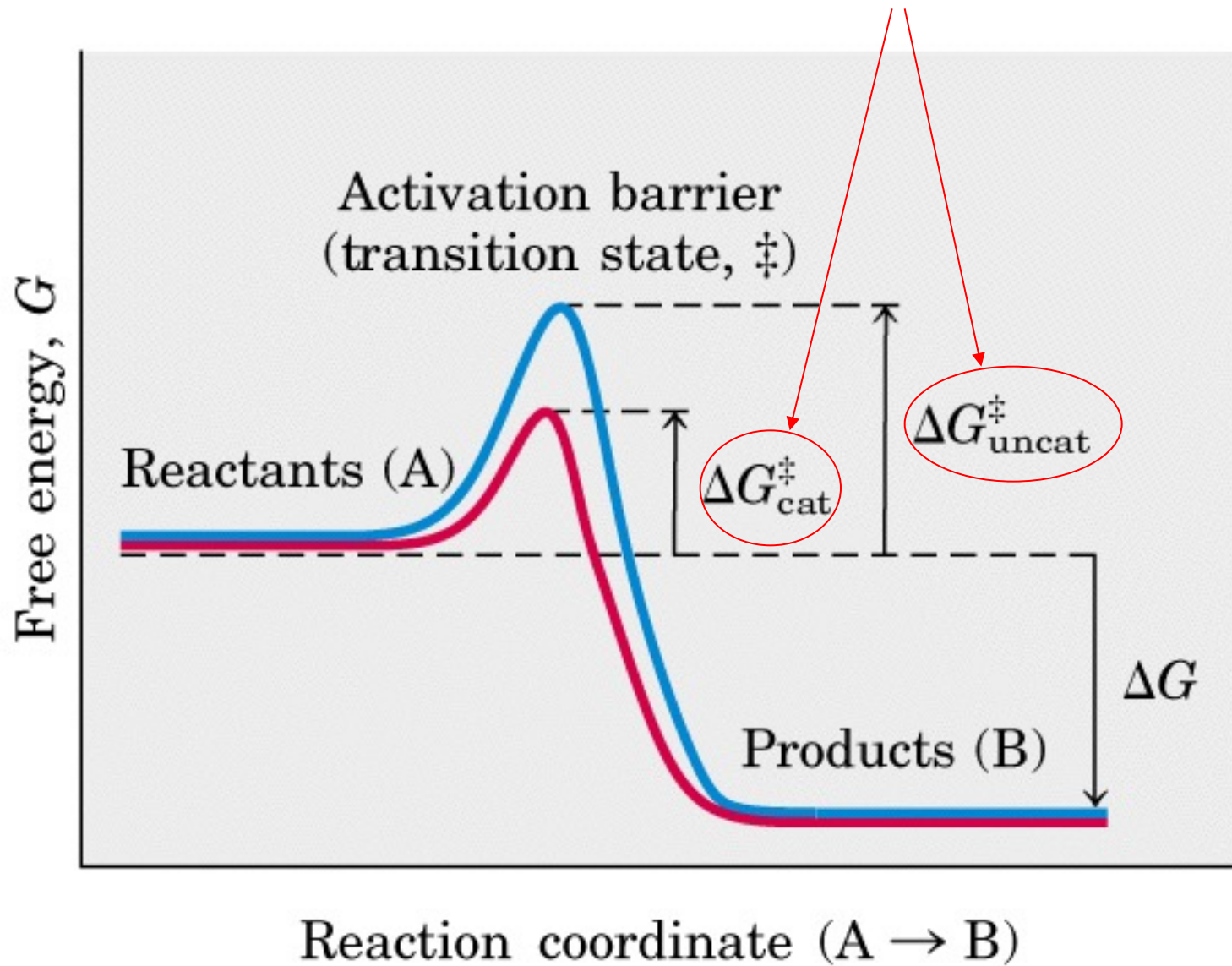
Reação ocorre espontaneamente sob condições padrão.

$\Delta G'^{\circ}$ positivo $\rightarrow$ $G \text{ reagentes} < G \text{ produtos}$

Reação ocorre no sentido reverso, caso seja iniciada com a concentração 1 M (condições padrão)

Lembrem-se todas as reações químicas tendem a ocorrer no sentido que resulta na diminuição de energia livre do sistema.

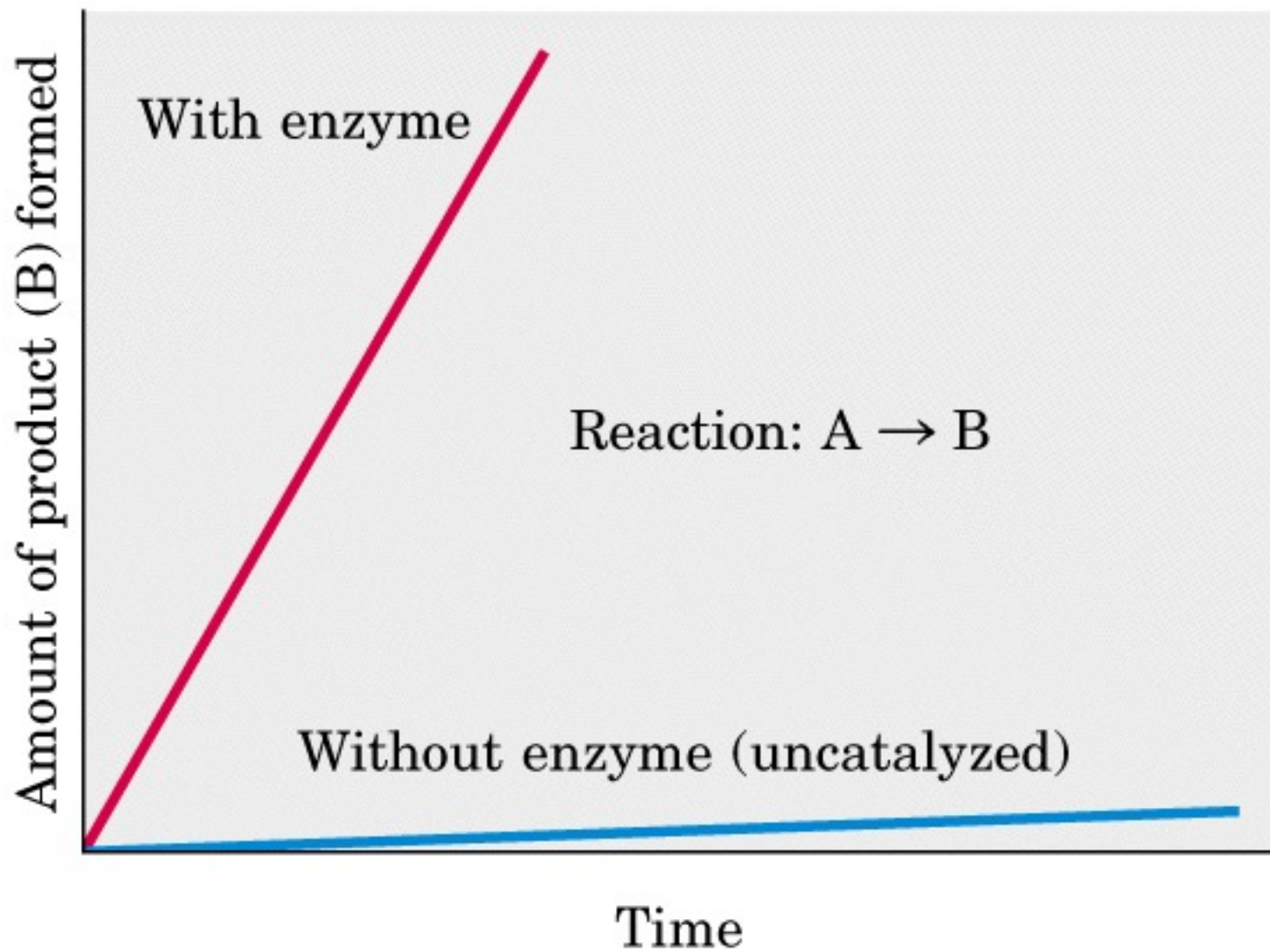
Energia Livre de Ativação



No interior das células as reações químicas ocorrem devido à presença de enzimas

Enzimas: catalisadores capazes de aumentar enormemente a velocidade de reações químicas específicas sem serem consumidos no processo. Elas diminuem a energia de ativação.

Energia de ativação (ΔG^*): energia extra necessária para que a reação ocorra.



Enzimas afetam a velocidade mas não o equilíbrio químico



1. Catalisador não afeta a posição e nem a direção do equilíbrio
2. Um equilíbrio favorável não significa que a conversão de $S \rightarrow P$ ocorra em uma velocidade mensurável

3. A **velocidade** depende da **Energia de Ativação**:

“energia necessária para o alinhamento dos grupos químicos reagentes, formação de cargas transientes, rearranjos de ligações e outras transformações necessária para que a reação ocorra em uma das direções”

O equilíbrio da reação está relacionado à variação de energia livre padrão

TABLE 6-4 Relationship between K'_{eq} and $\Delta G'^{\circ}$

K'_{eq}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)
10^{-6}	34.2
10^{-5}	28.5
10^{-4}	22.8
10^{-3}	17.1
10^{-2}	11.4
10^{-1}	5.7
1	0.0
10^1	-5.7
10^2	-11.4
10^3	-17.1

Um grande valor negativo de $\Delta G'^{\circ}$ indica um equilíbrio de reação favorável à formação dos produtos, mas não significa que ela ocorra a uma velocidade considerável.

Note: The relationship is calculated from $\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{\text{eq}}$ (Eqn 6-3).