

Bioquímica Geral

RFM0004

Enzimas

Profa. Dra Tie Koide

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

Departamento de Bioquímica e Imunologia
FMRP-USP

TABLE 8.1 Rate enhancement by selected enzymes

Enzyme	Nonenzymatic half-life	Uncatalyzed rate ($k_{un}s^{-1}$)	Catalyzed rate ($k_{cat}s^{-1}$)	Rate enhancement ($k_{cat}s^{-1}/k_{un}s^{-1}$)
OMP decarboxylase	78,000,000 years	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000 years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000 years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3 years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7 weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9 days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4 hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5 seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

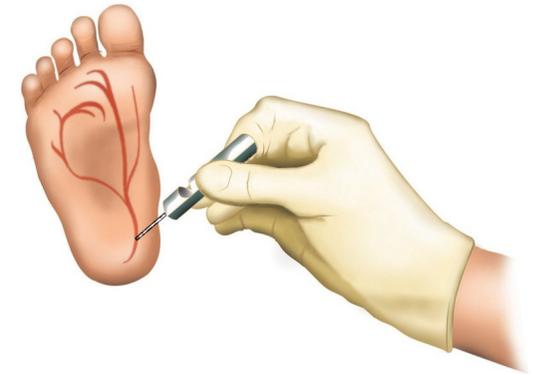
Table 8-1

Biochemistry, Sixth Edition

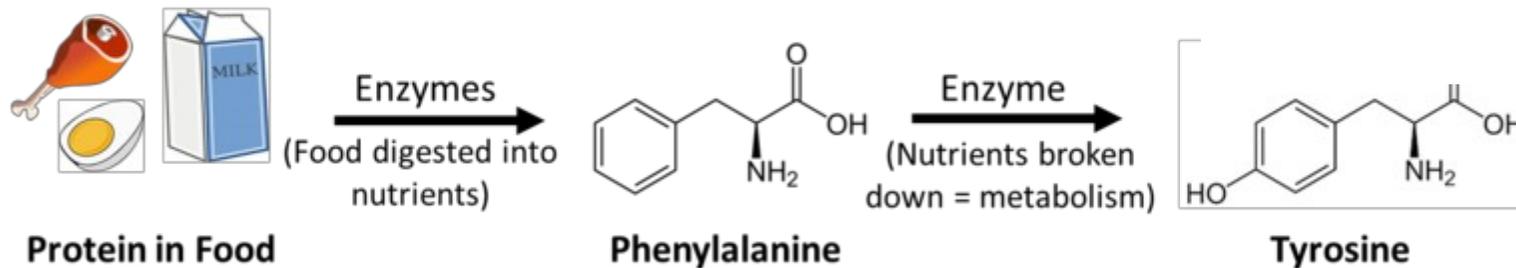
© 2007 W. H. Freeman and Company

Enzimas no Metabolismo

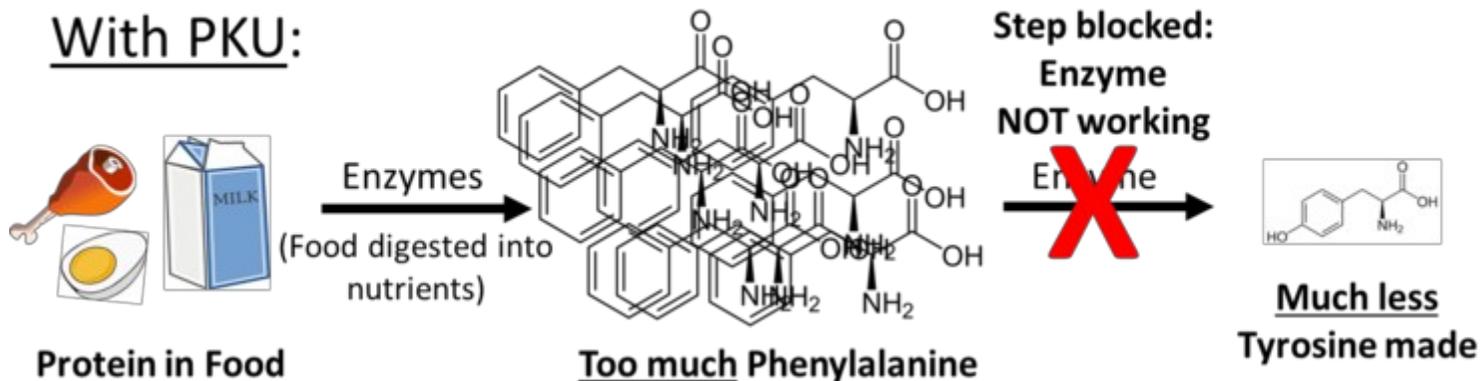
- Fenilcetonúria: Ausência de fenilalanina hidroxilase
Afeta entre 1:11.000 nascidos vivos; doença metabólica



Without PKU:



With PKU:

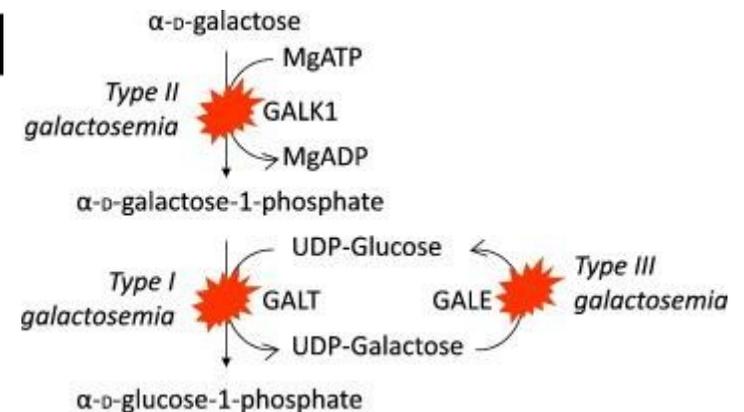
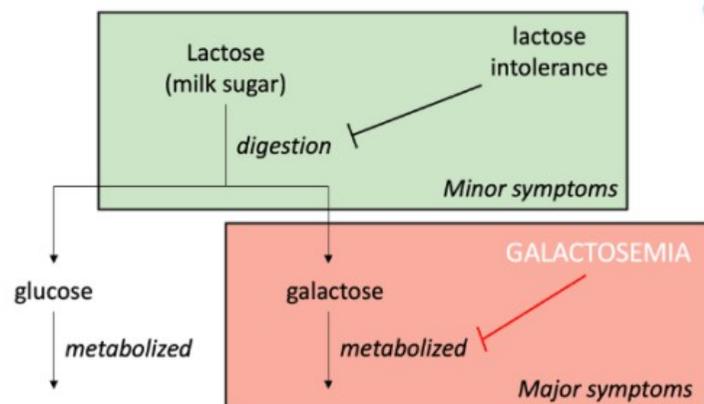


- Galactosemia e intolerância a lactose
- Incidência de 1:40.000 – 60.000 no mundo
- No Brasil: 1:20.000

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

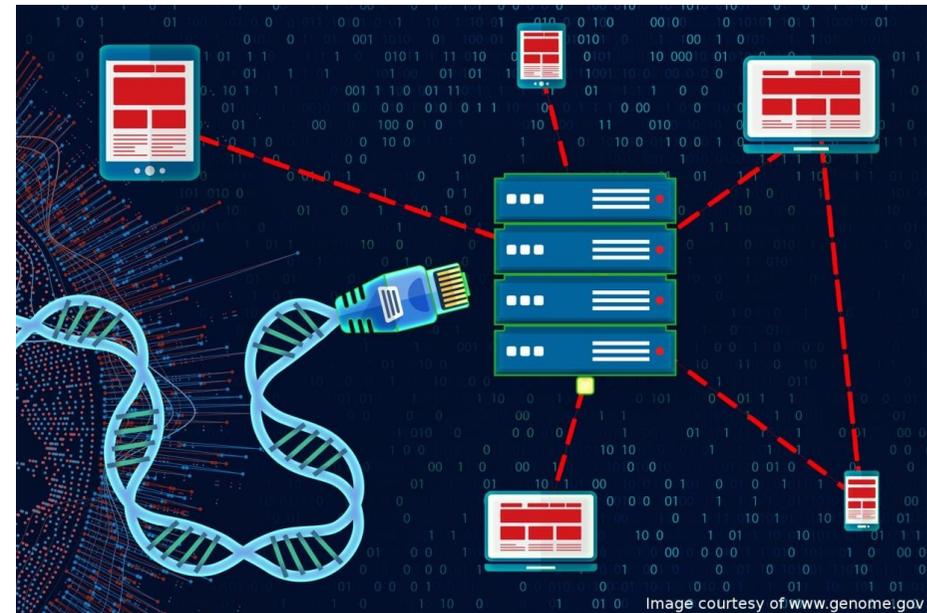
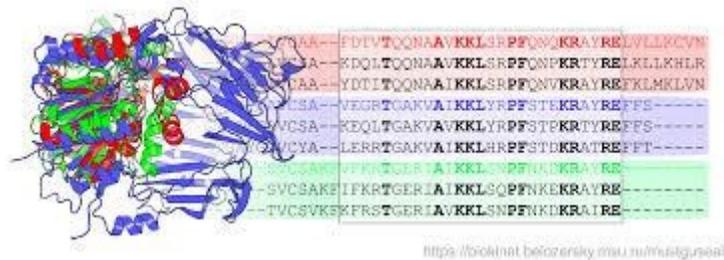
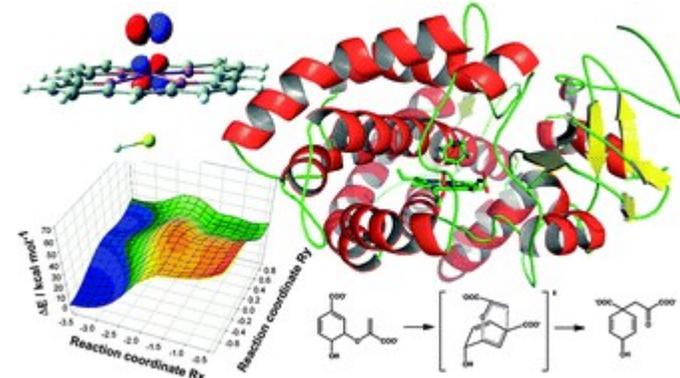


TABLE 8.1 Rate enhancement by selected enzymes

Enzyme	Nonenzymatic half-life	Uncatalyzed rate ($k_{un}s^{-1}$)	Catalyzed rate ($k_{cat}s^{-1}$)	Rate enhancement ($k_{cat}s^{-1}/k_{un}s^{-1}$)
OMP decarboxylase	78,000,000 years	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000 years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000 years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3 years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7 weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9 days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4 hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5 seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

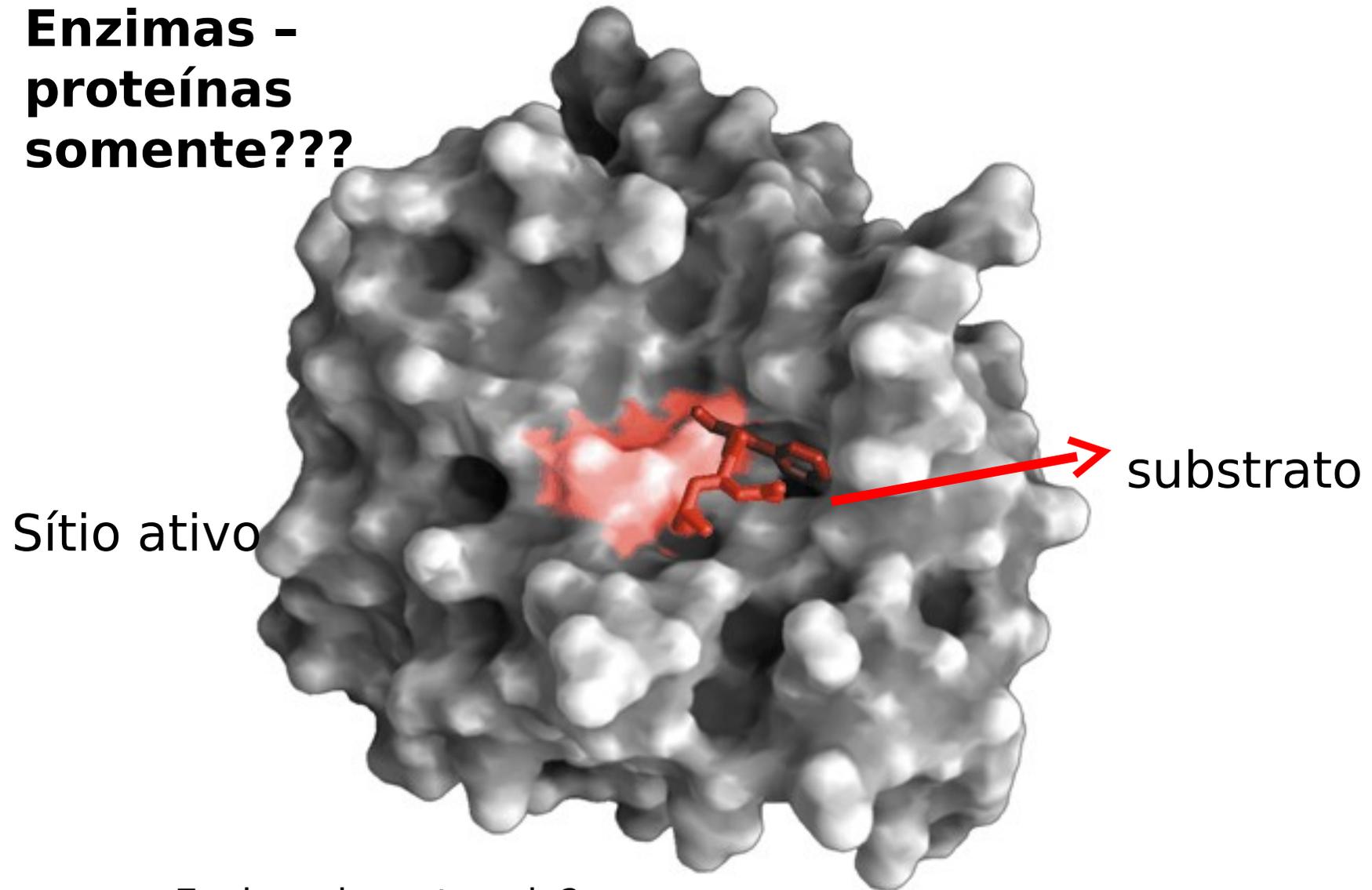
Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

Table 8-1

Biochemistry, Sixth Edition

© 2007 W. H. Freeman and Company

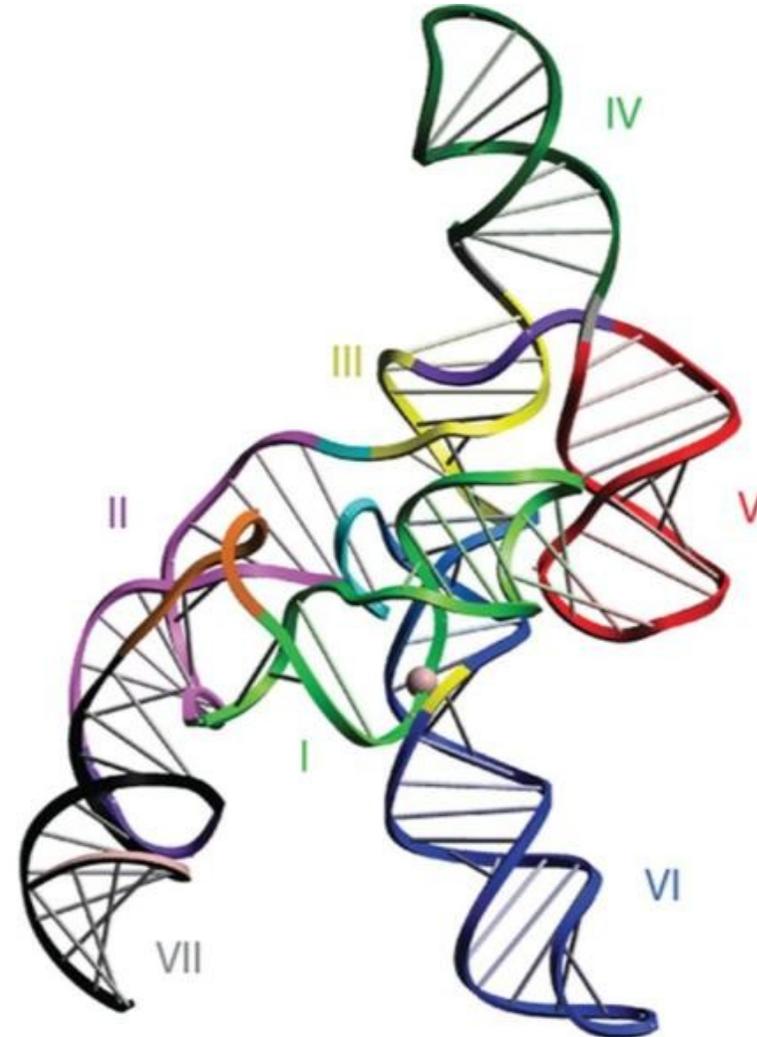
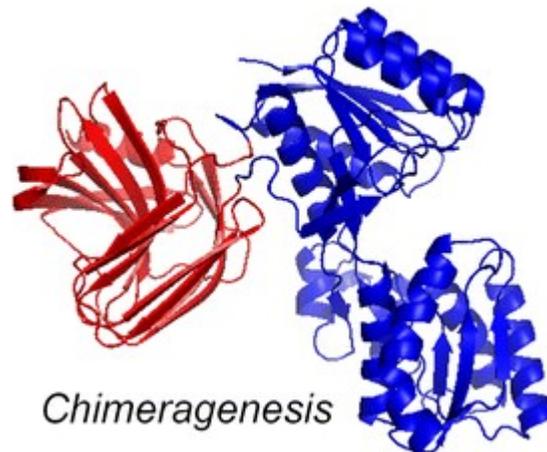
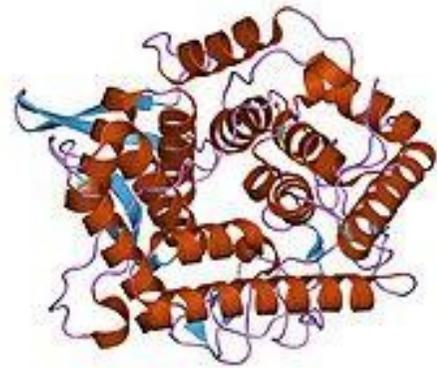
Enzimas - proteínas somente???



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

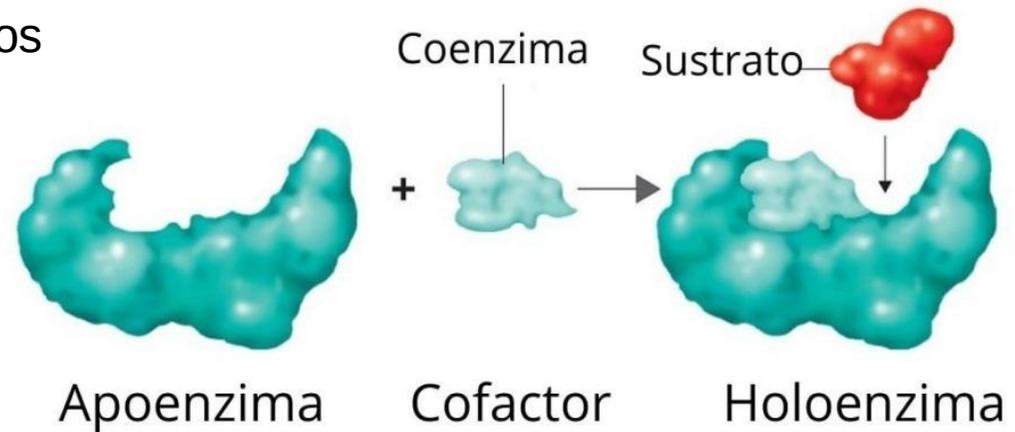
Porção proteica: APOENZIMA

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

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

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 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 (:H ⁻)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B ₆)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B ₁)

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

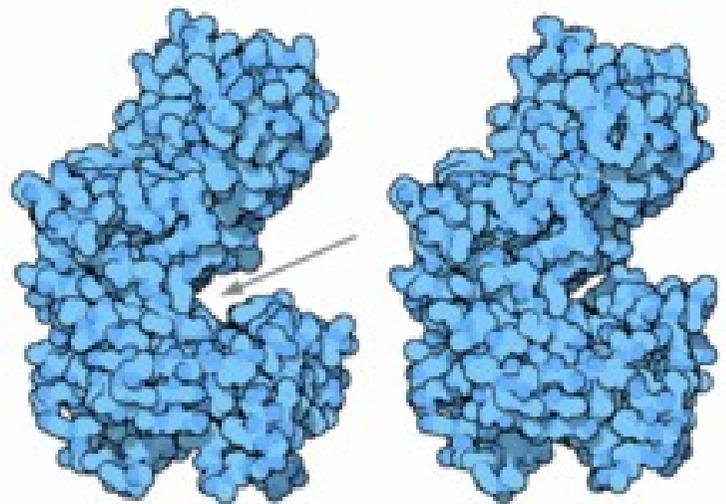
7: sub-classe de fosfotransferases

1: grupo hidroxila como receptor

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

Nome trivial: **hexoquinase**

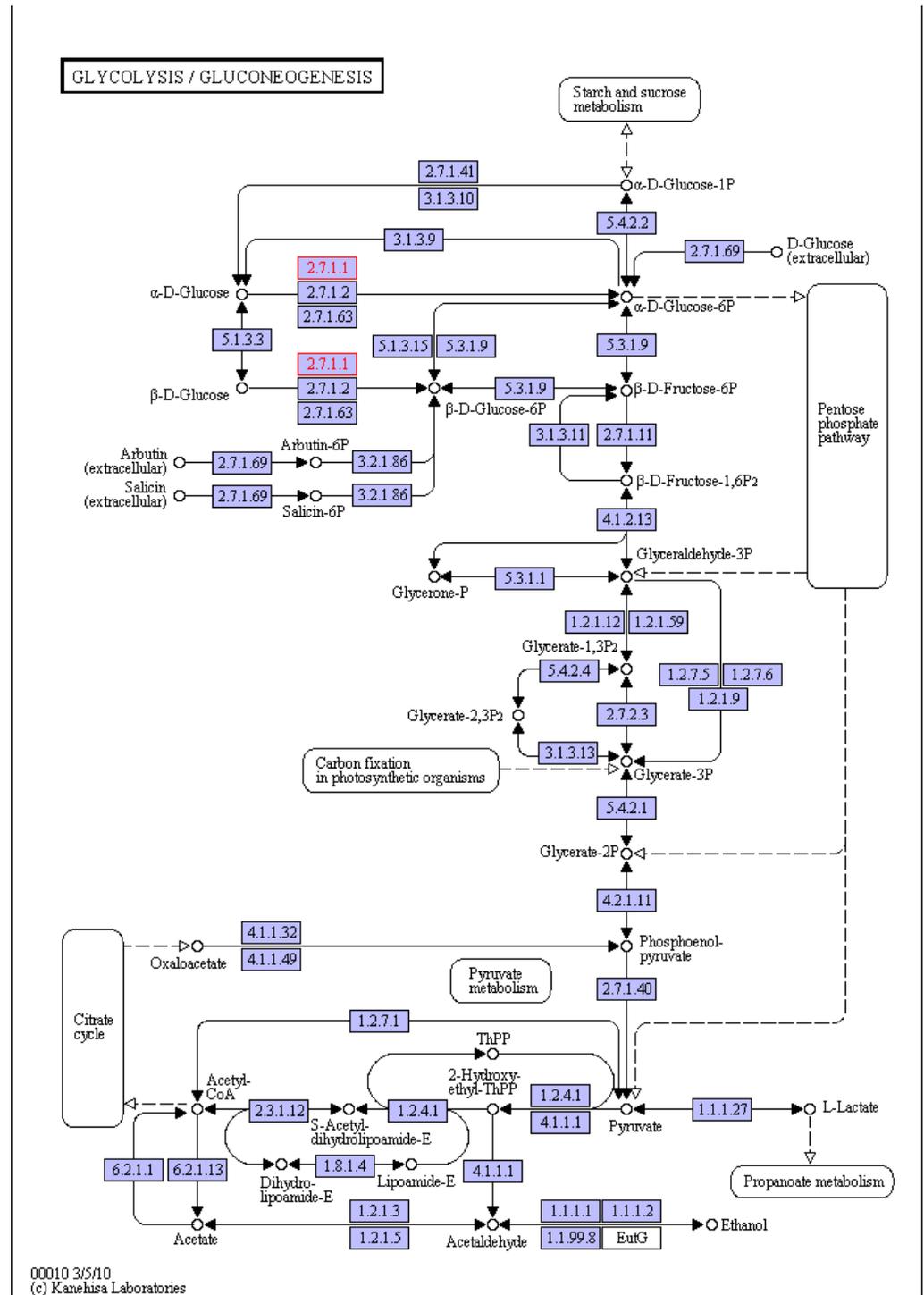
Hexoquinase



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

Com
Glicose
[2yhx](#)

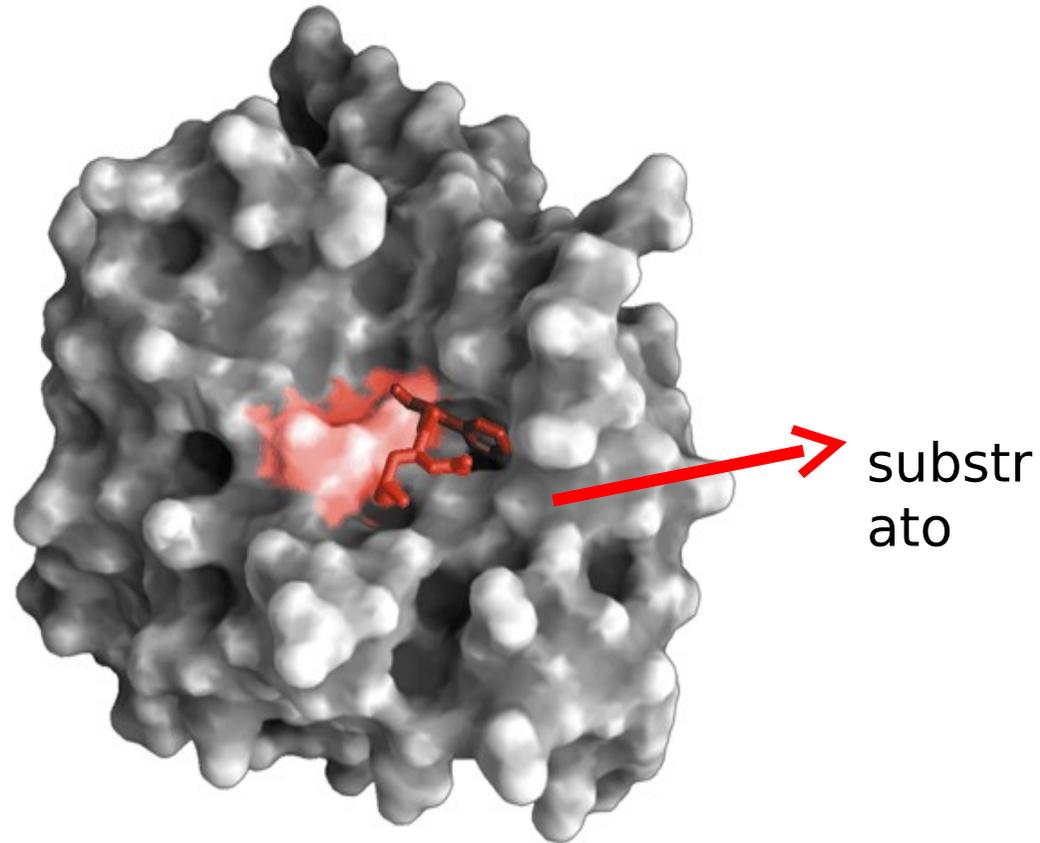
[http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?
ec00010+2.7.1.1](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ec00010+2.7.1.1)



Classificação das enzimas

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H₂O ⇌ 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>B + A + X-PPP ⇌ A-B + X-PP</p> <p>X = A, G, U, C</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

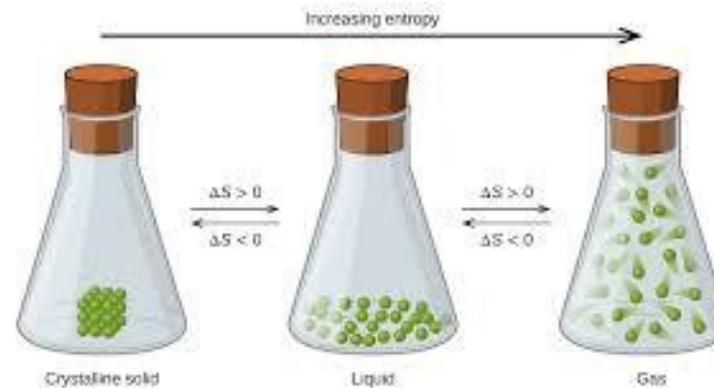
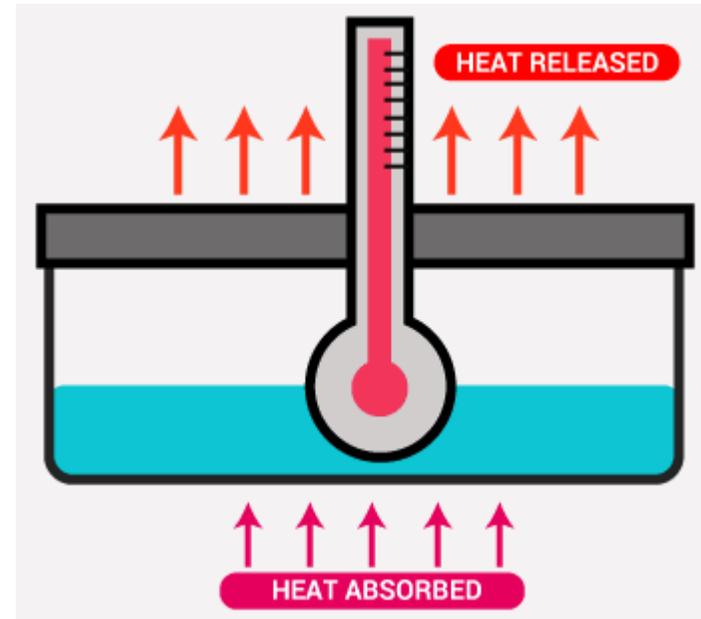
- $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$

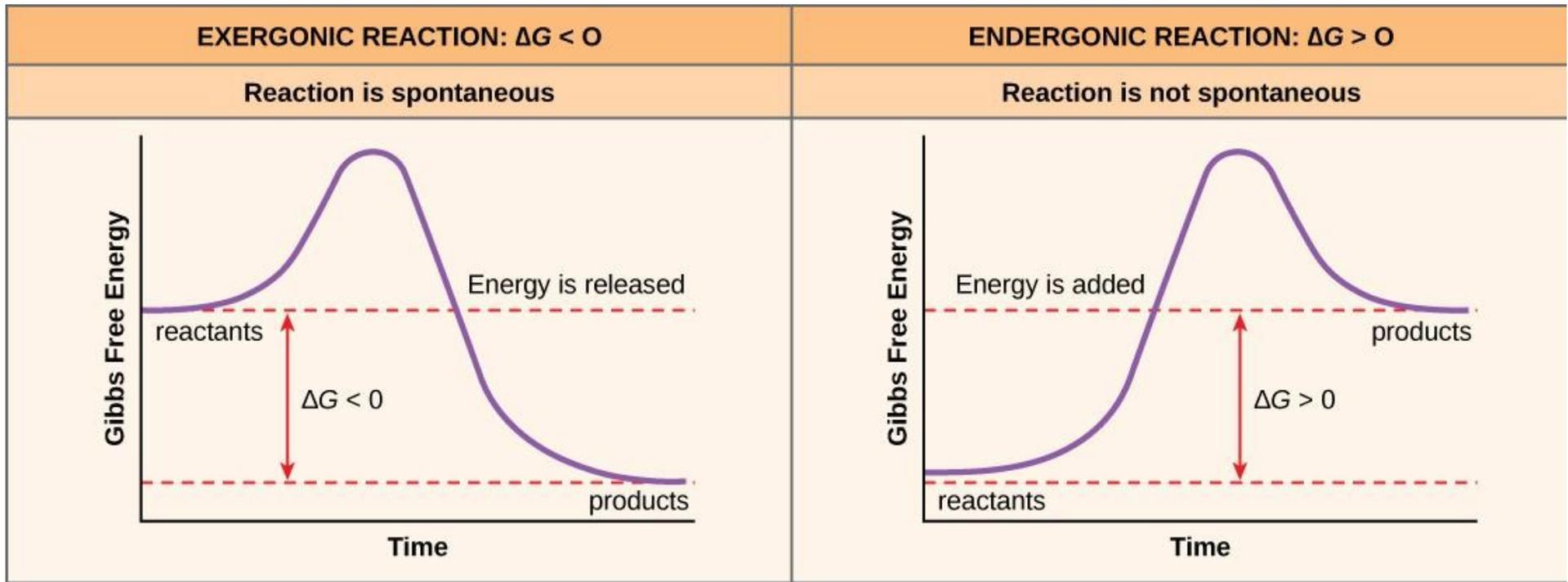
G - energia livre de Gibbs

H – entalpia da reação

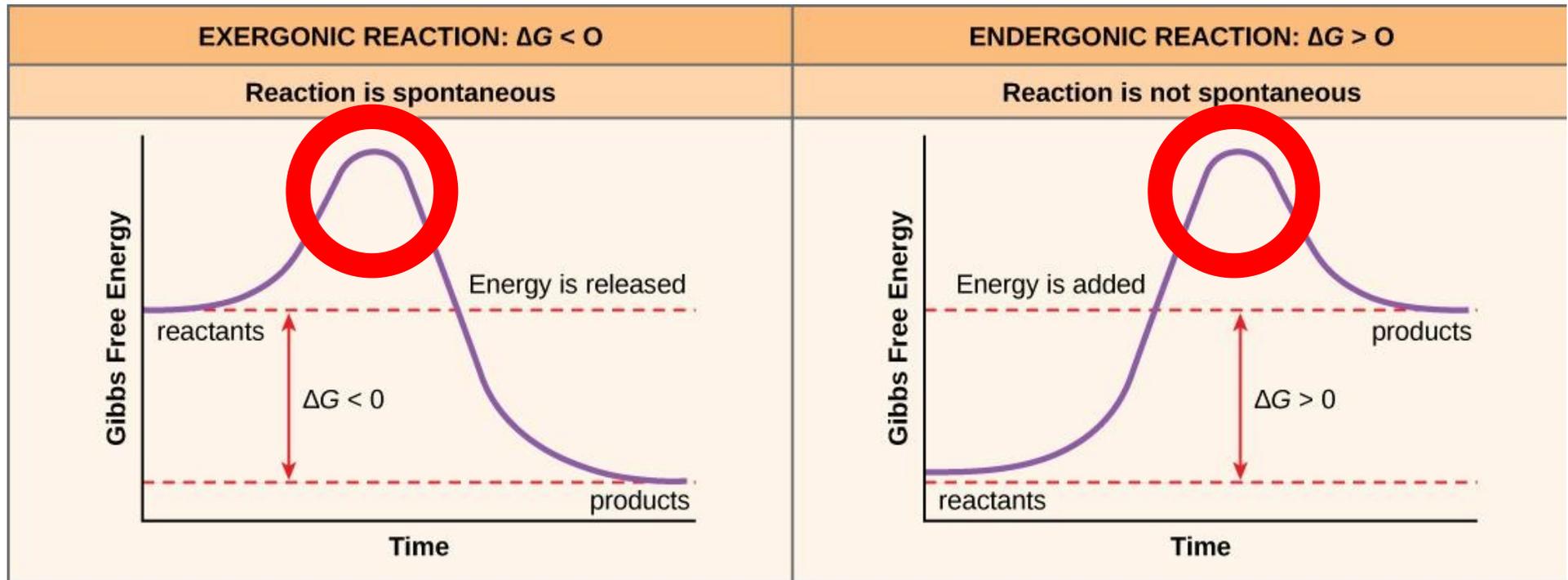
S – entropia da reação

T – temperatura (K)





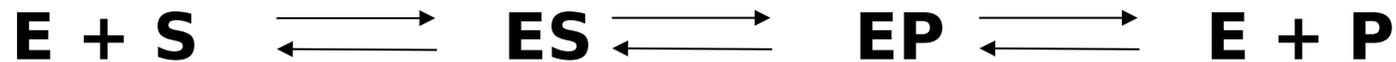
Observando as curvas, vemos que há um pico de energia livre em reações exergônicas e endergônicas



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

ΔG : energia livre de Gibbs

ΔG° : 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

ΔG : energia livre de Gibbs

ΔG° : condições padrão, pH 7,0

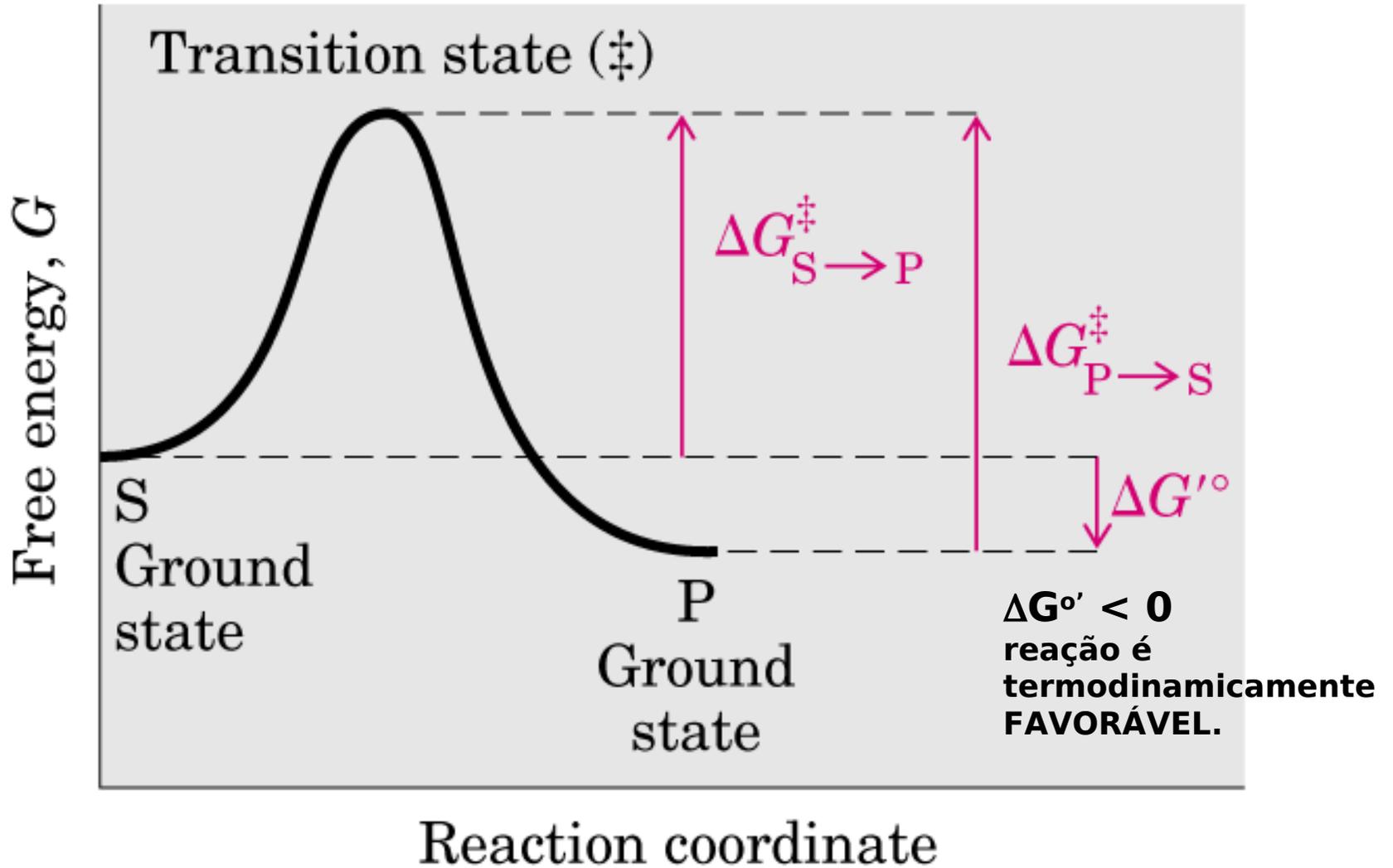
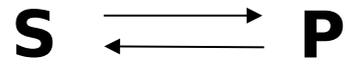
$\Delta G^{\circ} > 0$ reação é termodinamicamente desfavorável;

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

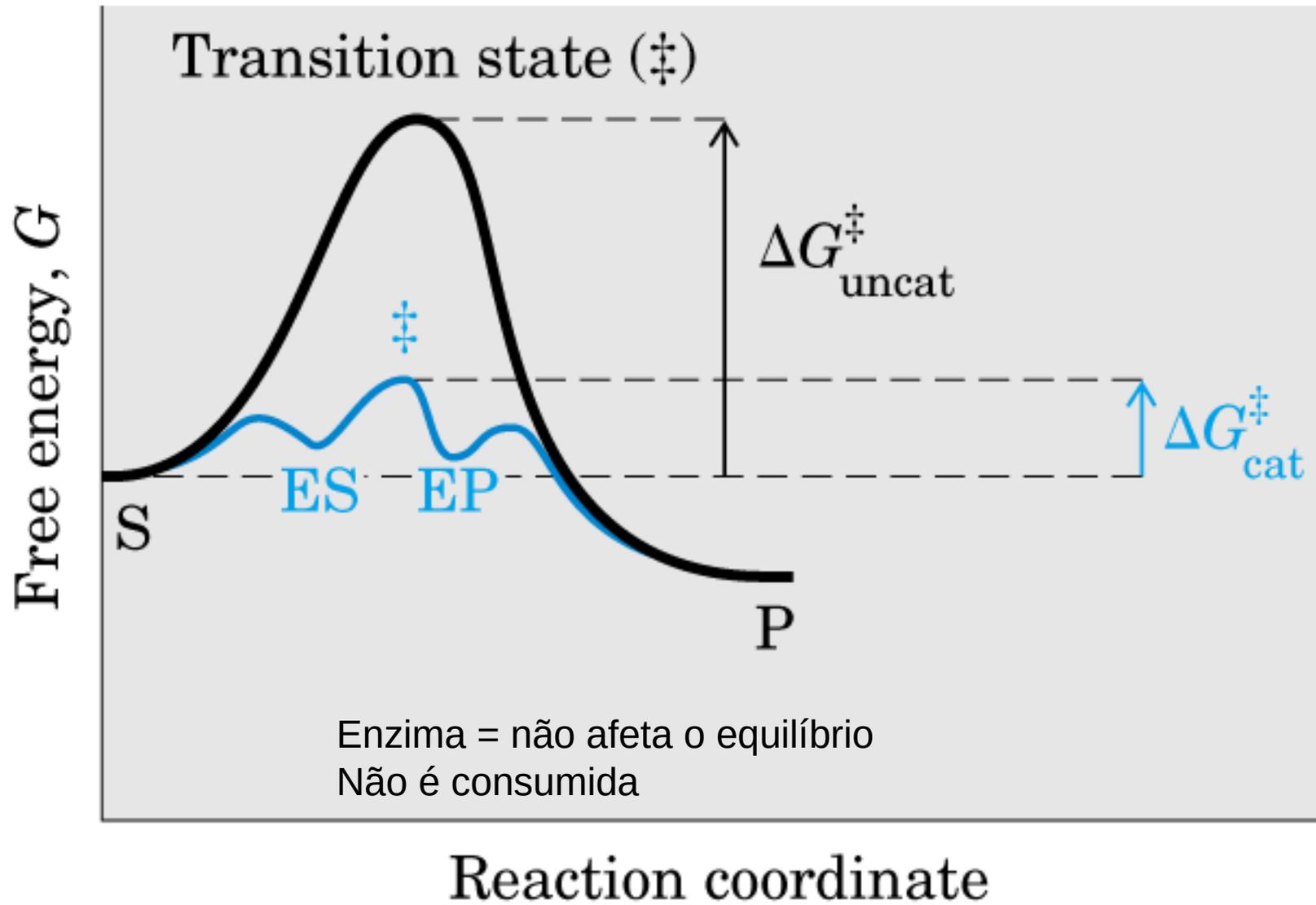
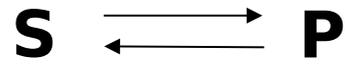
ΔG de uma reação depende somente do estado final e do estado inicial (produtos - reagentes)

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.

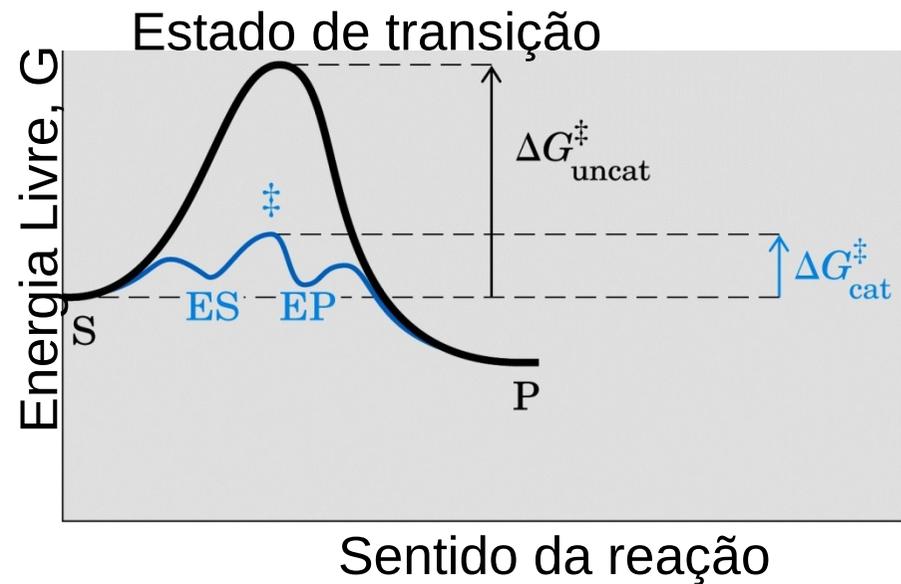
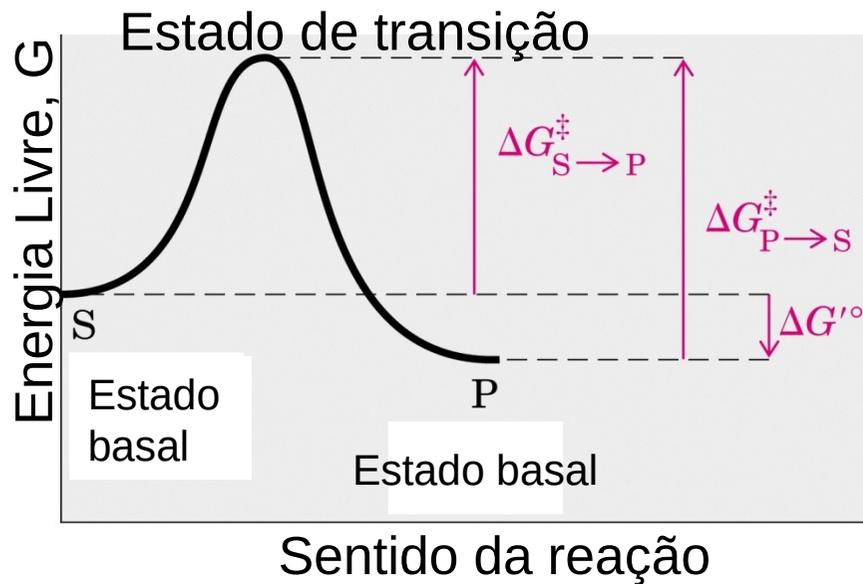


Velocidade: depende da energia de ativação

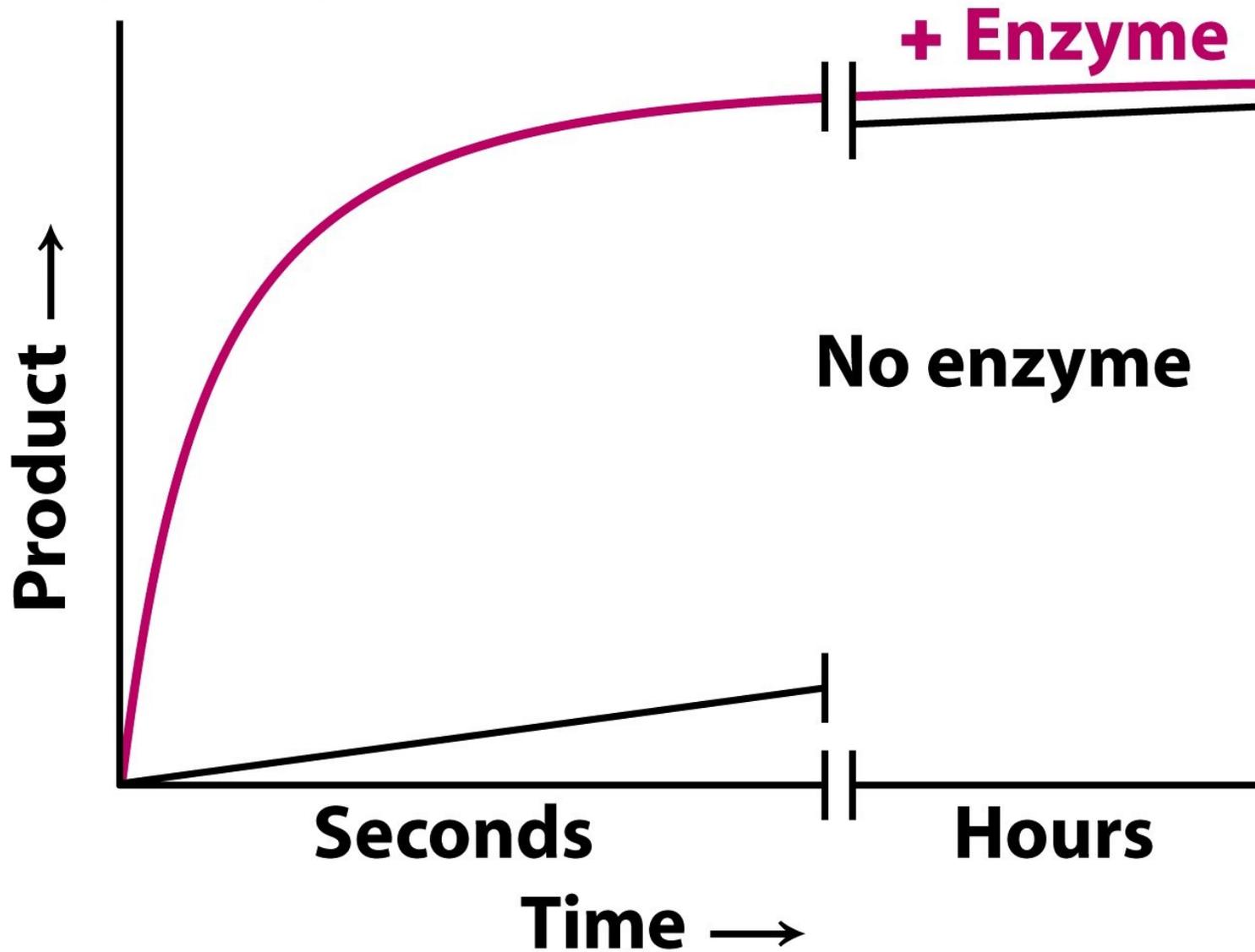
Como as enzimas trabalham?

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

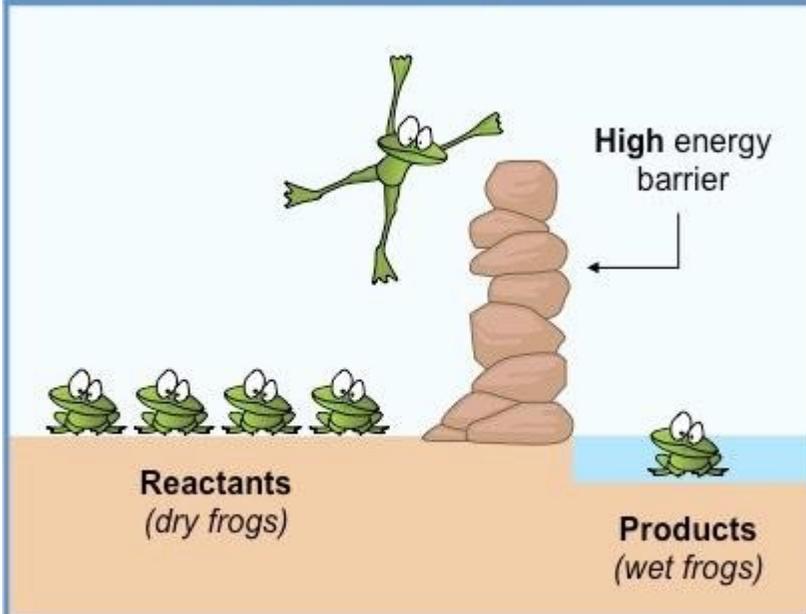
↓ a energia de ativação ↑ velocidade da reação.



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

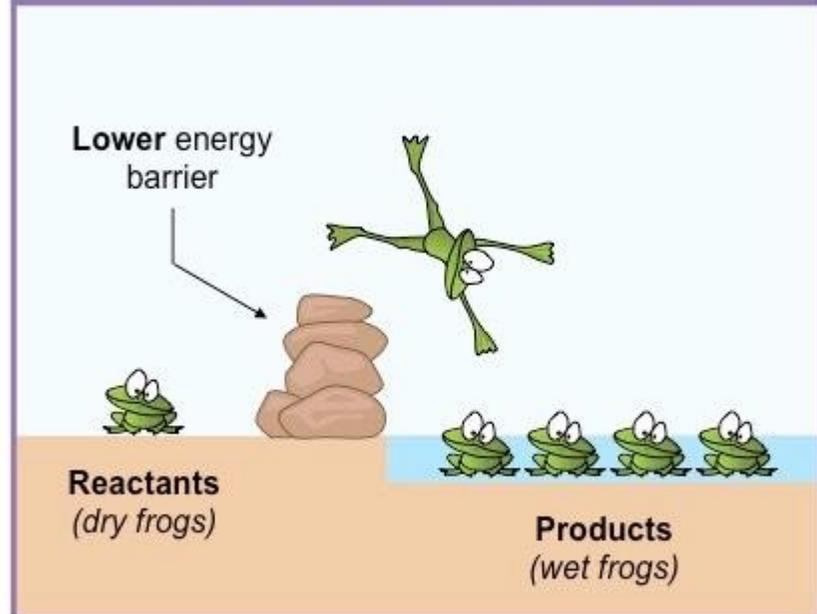


NORMAL (NO ENZYME) REACTION



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

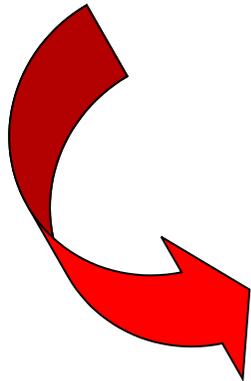
ENZYME CATALYSED REACTION



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.

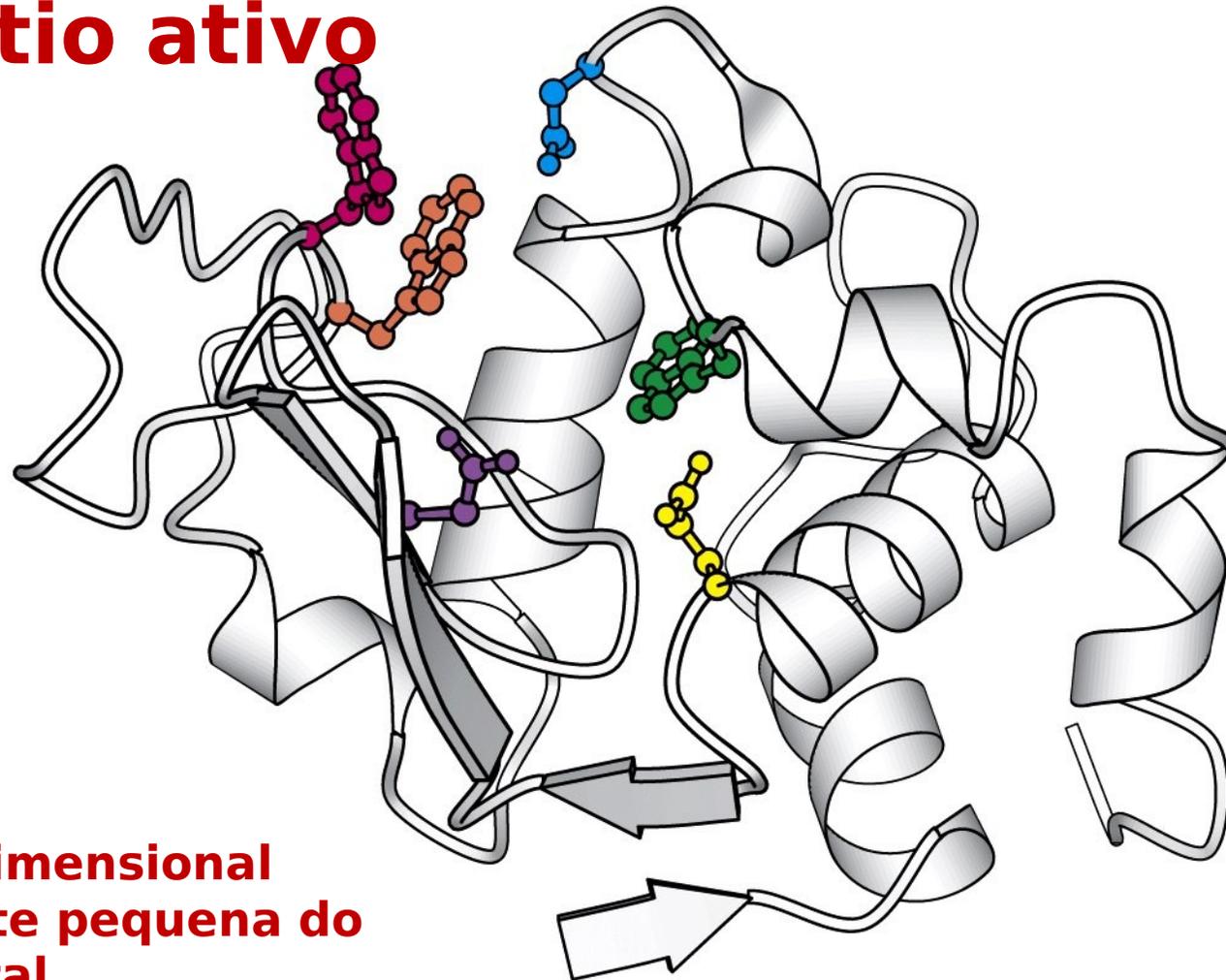


Exemplos de ligações entre enzima-substrato:

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

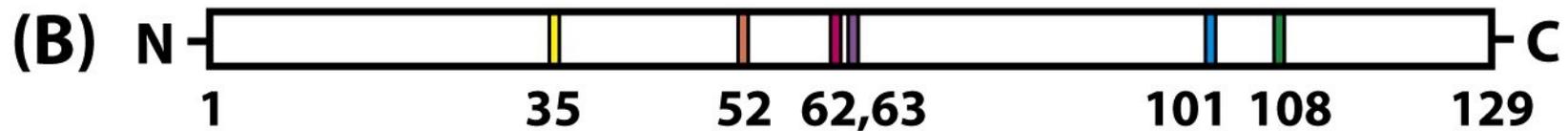
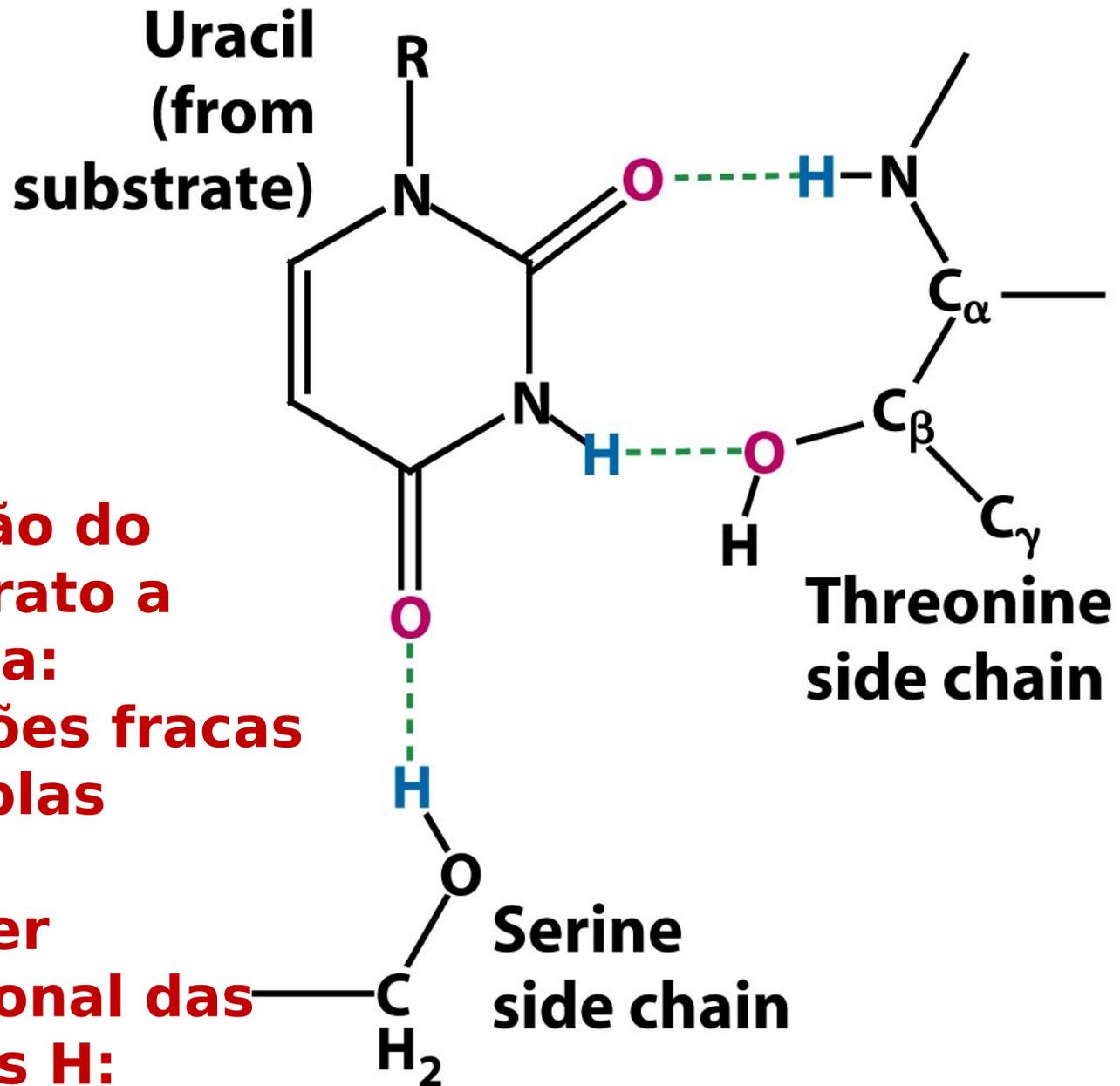


Figure 8-7
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company



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

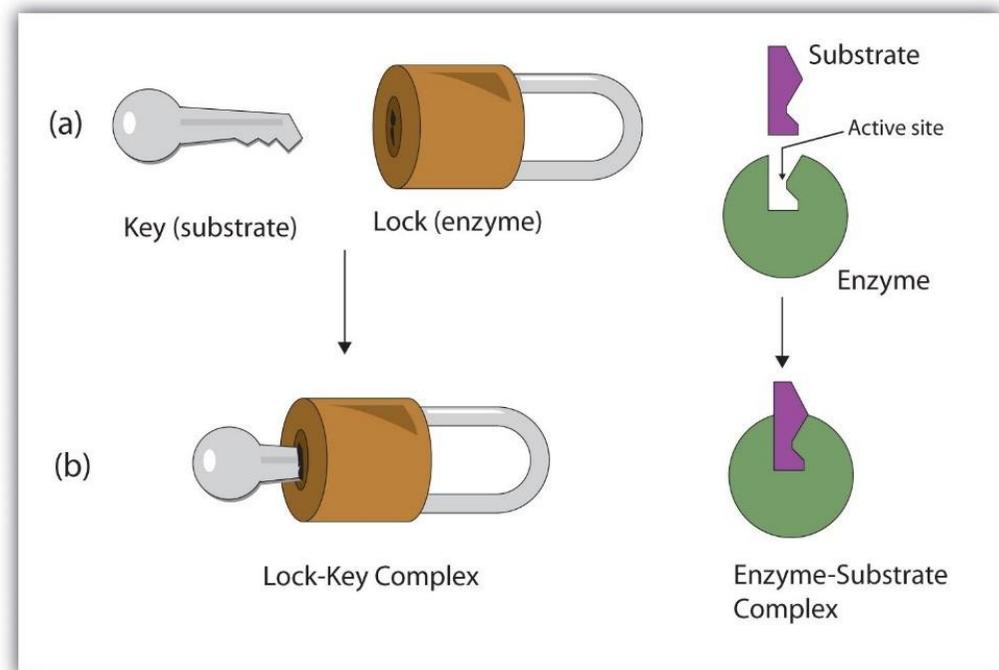
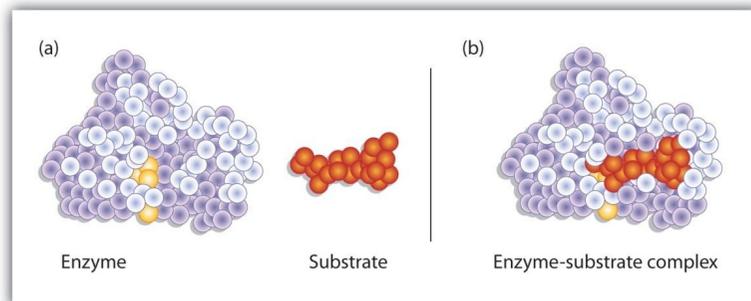
**Caráter
direcional das
pontes H:
especificidade**

Modelos de interação enzima-substrato

Modelo da chave-fechadura (Fischer, 1894)

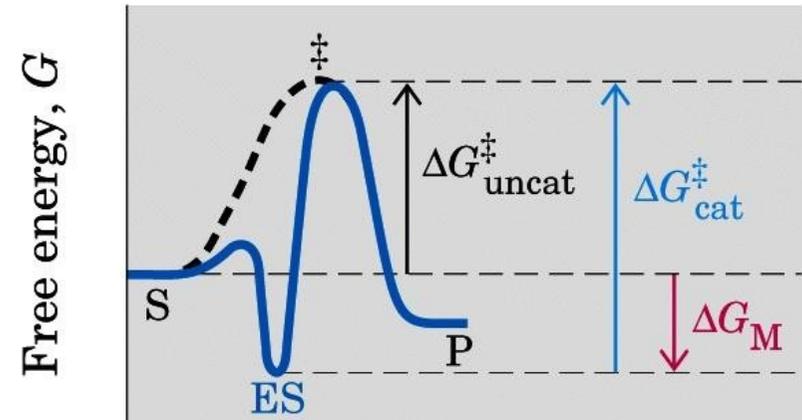
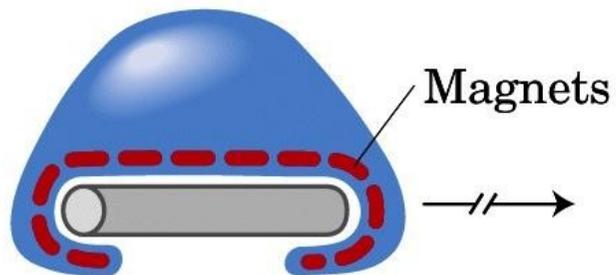
- A enzima possui uma estrutura complementar ao substrato, que se liga de forma específica a ela. O sítio ativo teria uma forma mais rígida.
- Este modelo é perfeito em explicar a **especificidade** enzimática...

MAS...



Modelos de interação enzima-substrato

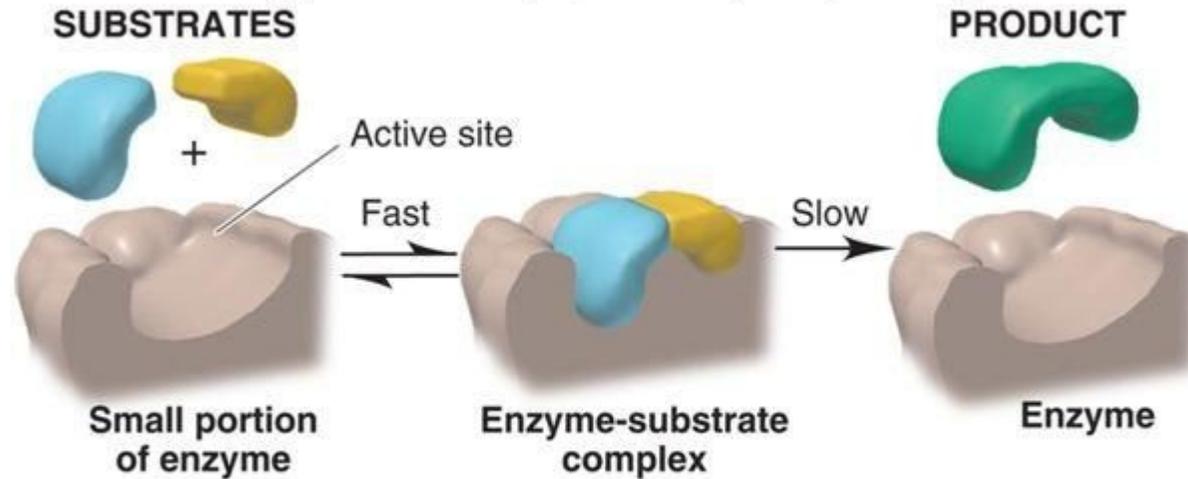
(b) Enzyme complementary to substrate



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)

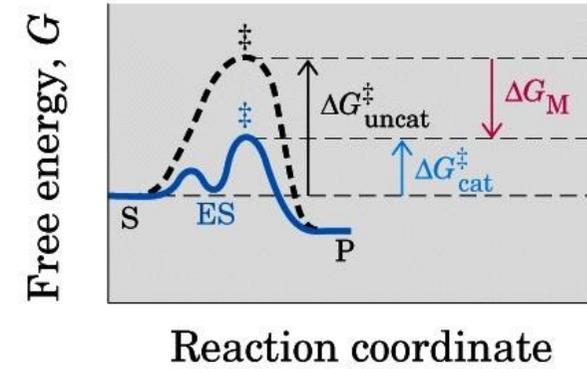
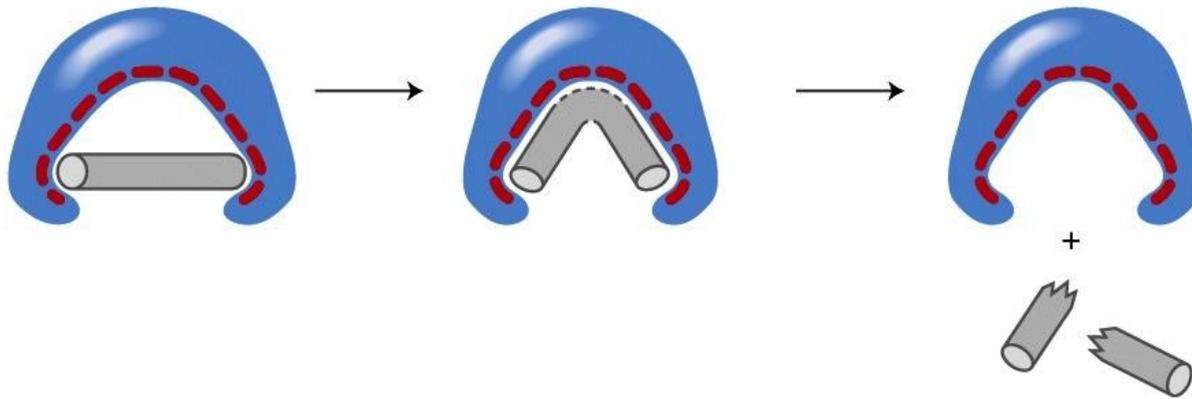
Enzima e substrato NÃO possuem estruturas complementares que se “encaixam” perfeitamente.

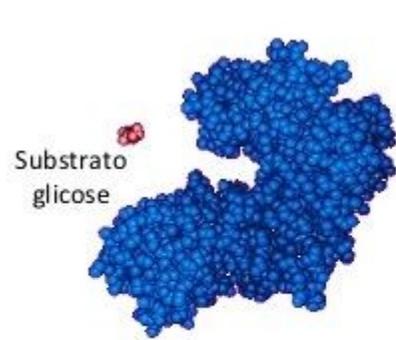
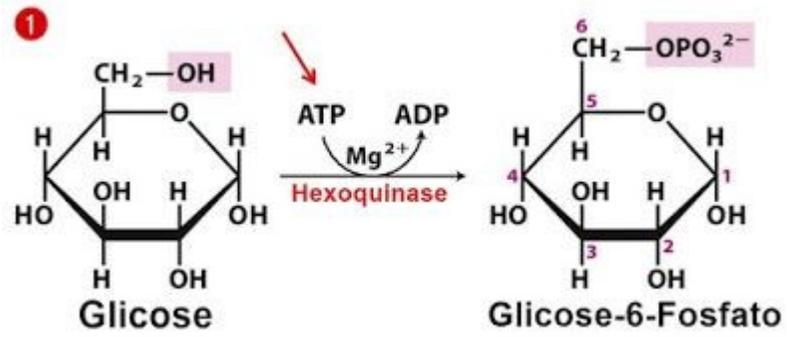
A interação do substrato com o sítio ativo da enzima provoca uma mudança conformacional em sua estrutura;

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.

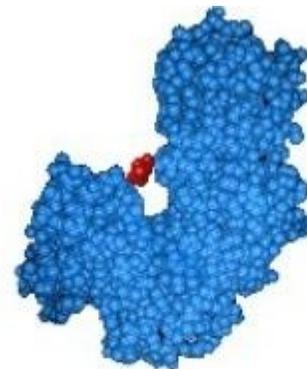
Modelos de interação enzima-substrato

(c) Enzyme complementary to transition state

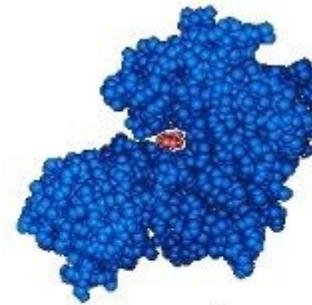




Enzima
(Hexokinase)



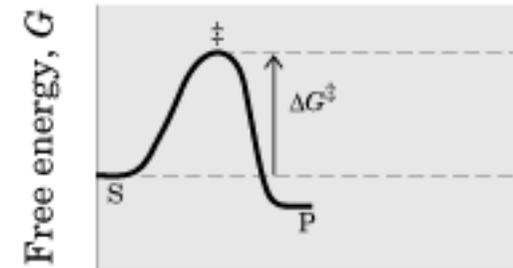
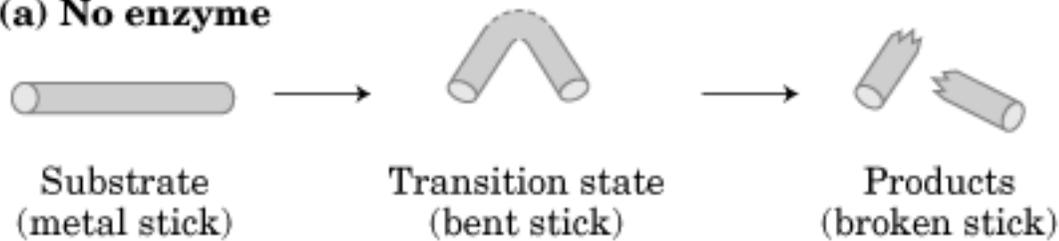
Enzima
(Hexokinase)



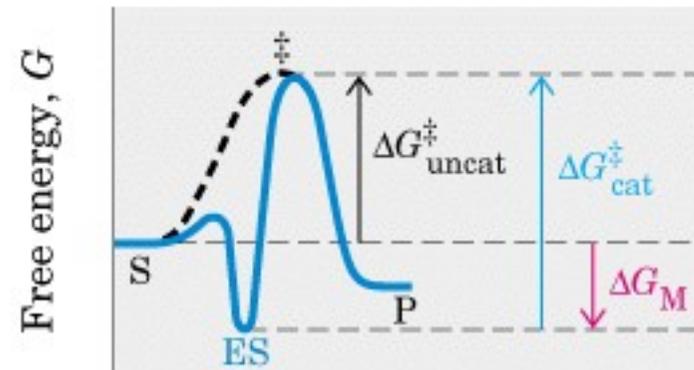
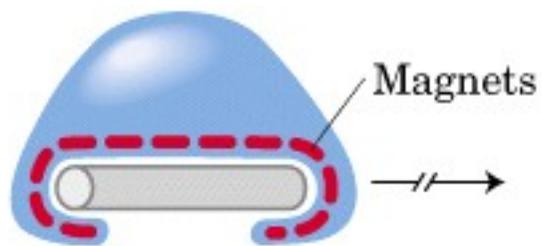
Complexo Enzima-subtrato
(Hexokinase - Glicose)

Eficiência deriva da ligação do substrato a enzima!

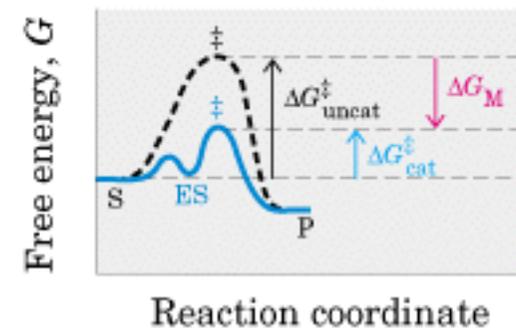
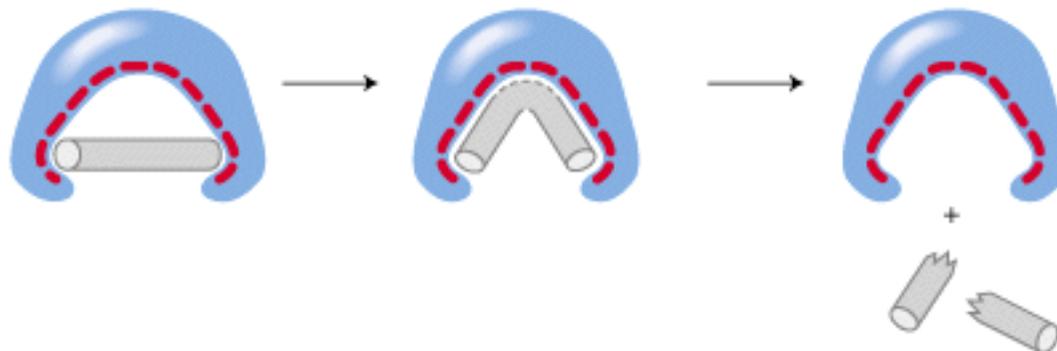
(a) No enzyme



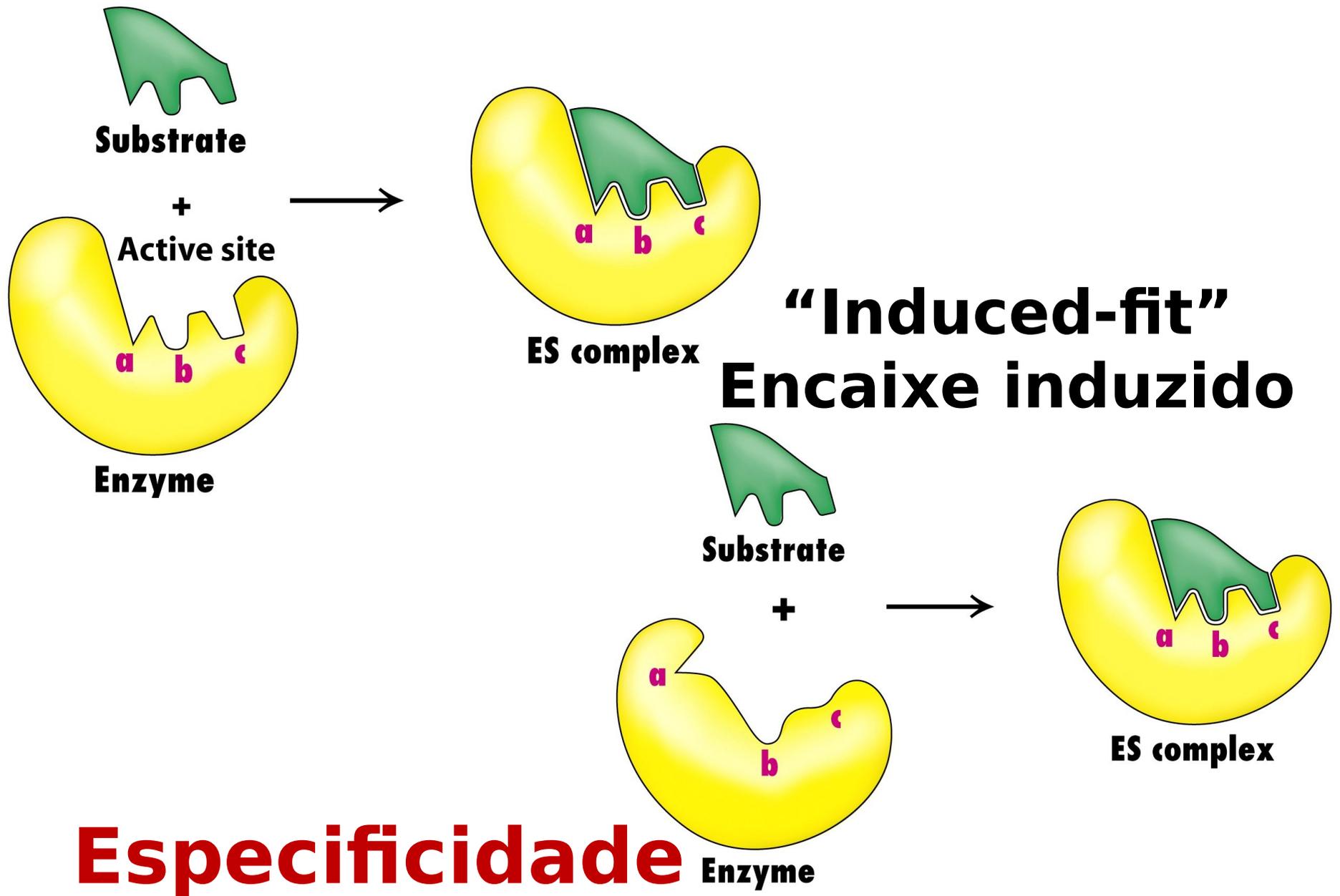
(b) Enzyme complementary to substrate

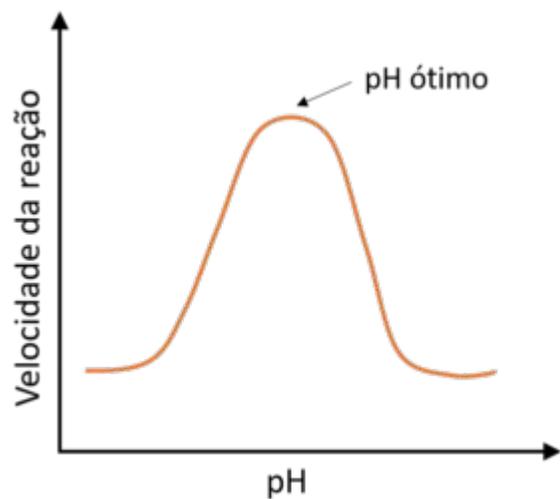


(c) Enzyme complementary to transition state



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

