Enzimas

- Algumas enzimas funcionam apenas com a parte protéica, outras dependem de uma outra molécula

- Cofator→ um ou mais íons inorgânicos Fe^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} , Zn^{2+}

- Coenzima → complexo orgânico ou molécula orgânica.

Grupo Prostético = coenzima ou metal que tem ligação forte ou covalente com a proteína

Holoenzima = proteína + coenzima ou metal

Apoenzima = parte protéica dessa enzima

table 8–1

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

table 8–2

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 ($:H^-$)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B_6)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B_1)

*The structure and mode of action of these coenzymes are described in Part III of this book.

Table 11-3 Characteristics of Common Coenzymes

Coenzyme	Reaction Mediated	Vitamin Source	Human Deficiency Disease
Biocytin	Carboxylation	Biotin	*a*
Coenzyme A	Acyl transfer	Pantothenate	*a*
Cobalamin coenzymes	Alkylation	Cobalamin (B_{12})	Pernicious anemia
Flavin coenzymes	Oxidation–reduction	Riboflavin (B_2)	*a*
Lipoic acid	Acyl transfer	—	*a*
Nicotinamide coenzymes	Oxidation–reduction	Nicotinamide (niacin)	Pellagra
Pyridoxal phosphate	Amino group transfer	Pyridoxine (B_6)	*a*
Tetrahydrofolate	One-carbon group transfer	Folic acid	Megaloblastic anemia
Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfer	Thiamine (B_1)	Beriberi

[a]No specific name; deficiency in humans is rare or unobserved.

Table 11-3 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Pelagra- diarréia, dermatite, demência

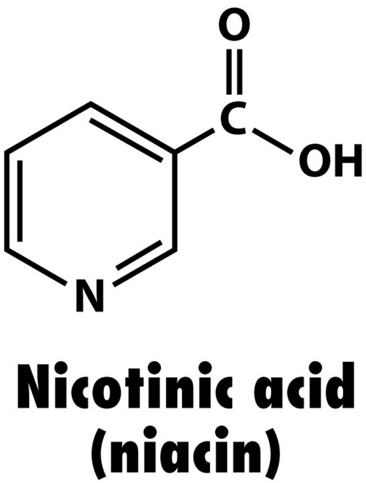


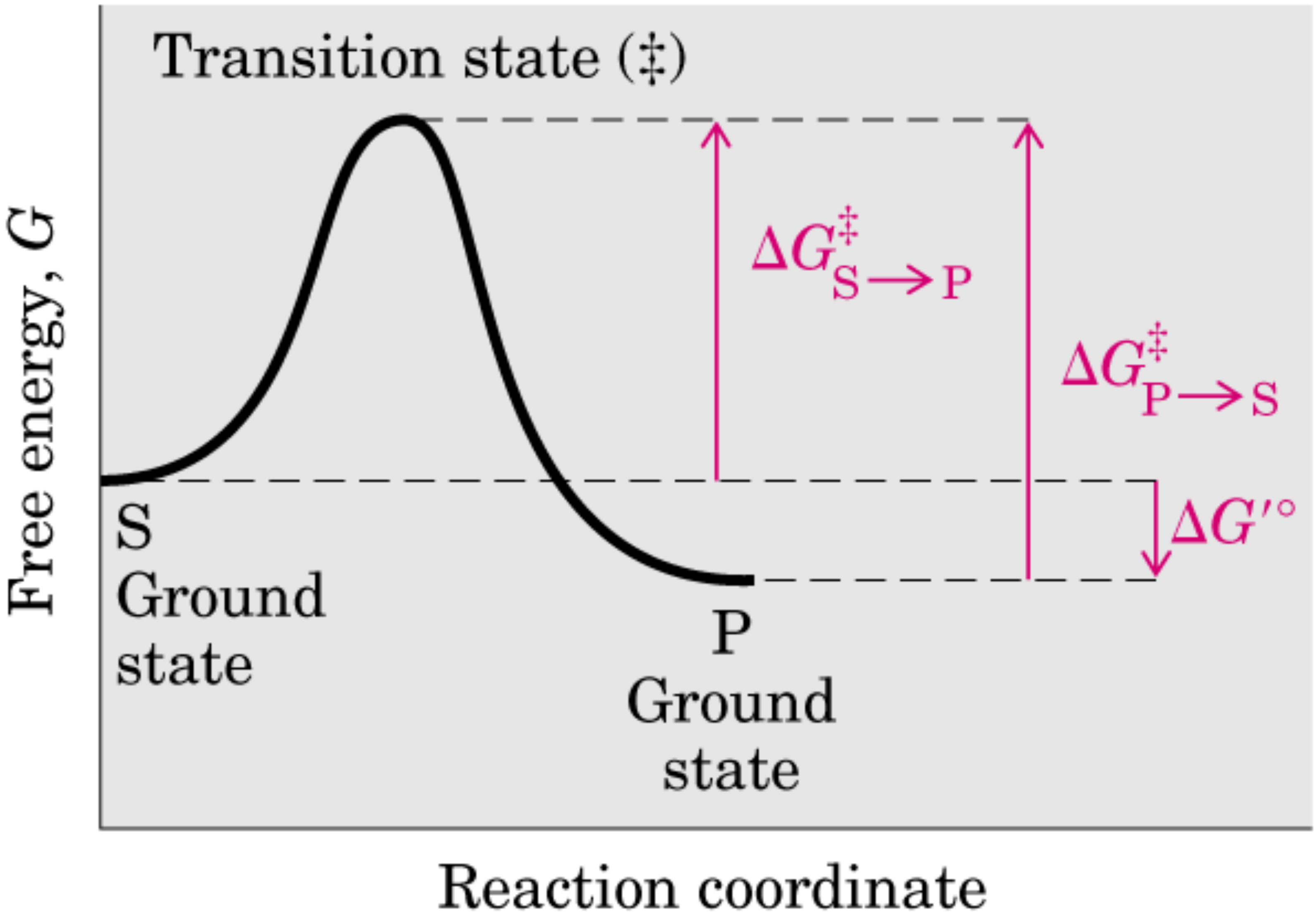
Figure 11-4 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

São encontradas principalmente na levedura, fígado, aves, carnes magras, leite, ovos frutas, cereais, legumes.

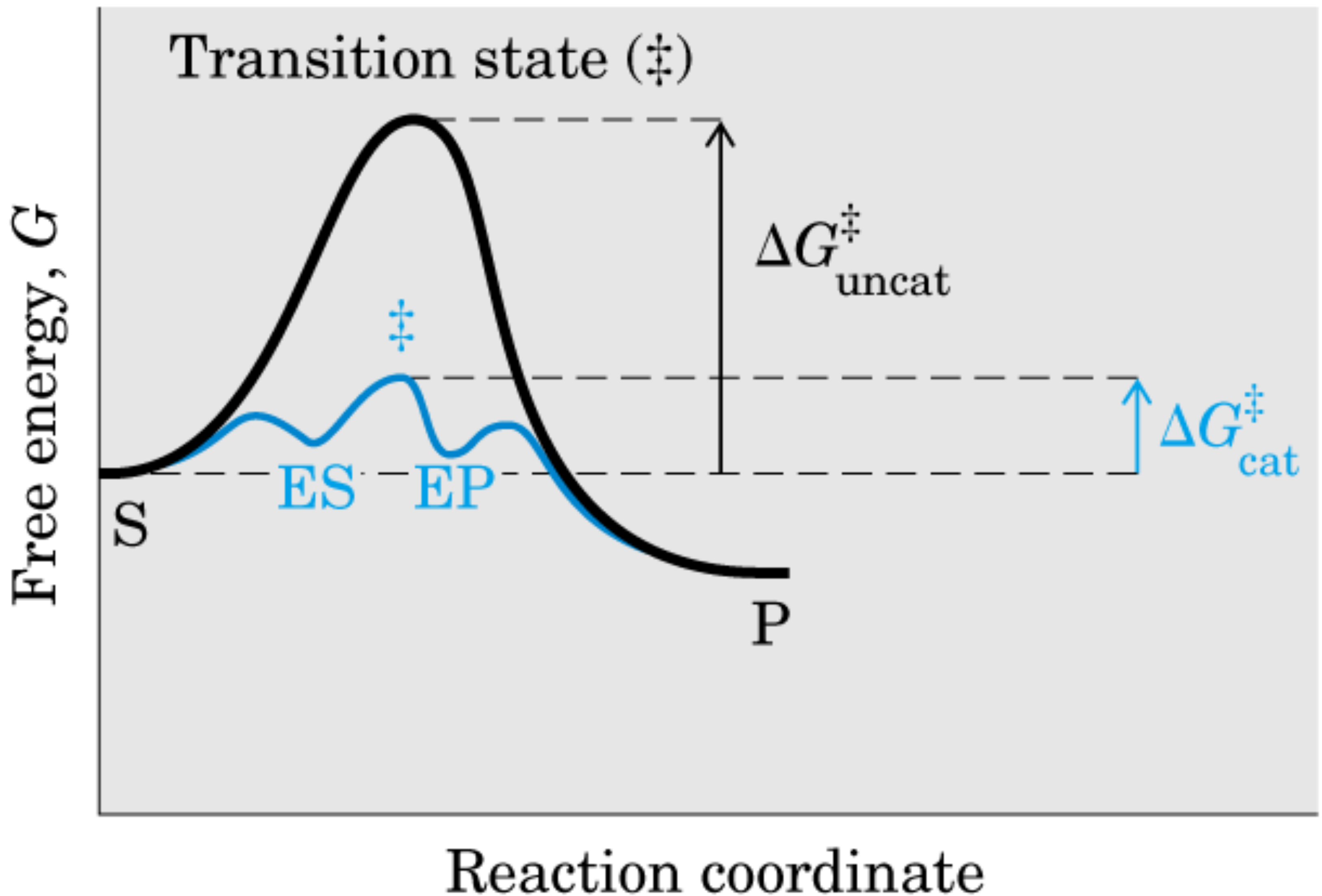
$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P$$

Energia de Ativação

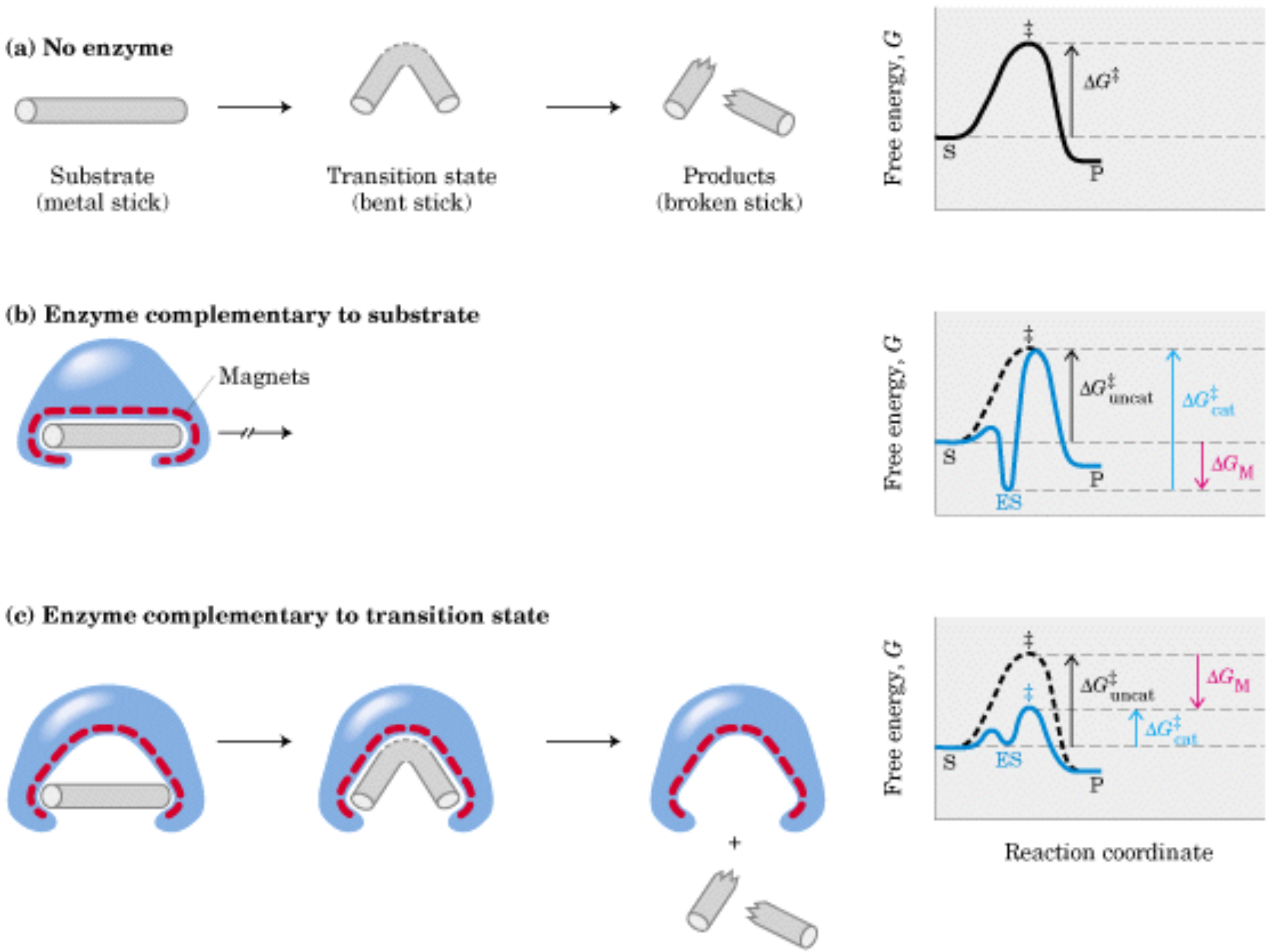
- Diferença entre a energia do estado fundamental e a energia do estado de transição.
- Quando maior a energia de ativação mais lenta é a reação.



Transition state (‡)
$\Delta G^{\ddagger}_{S \rightarrow P}$
$\Delta G^{\ddagger}_{P \rightarrow S}$
$\Delta G'^{\circ}$
S
Ground
state
P
Ground
state
Free energy, G
Reaction coordinate

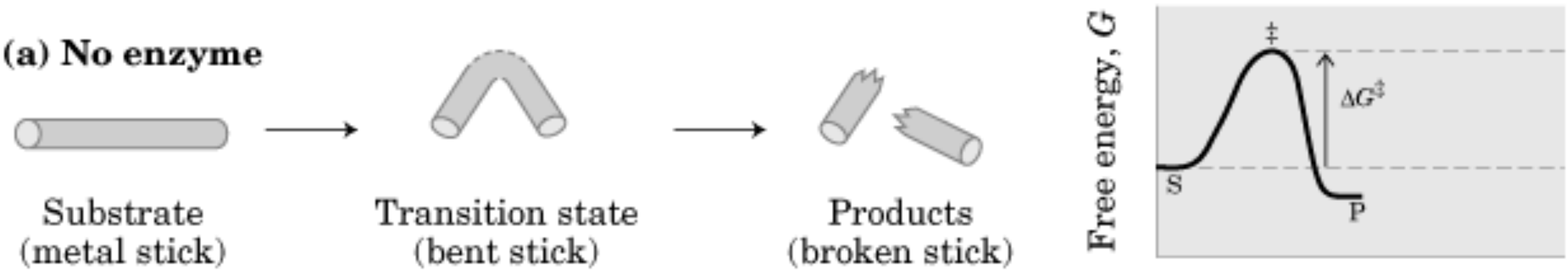


Transition state (‡)
$\Delta G^{\ddagger}_{\text{uncat}}$
‡
$\Delta G^{\ddagger}_{\text{cat}}$
ES
EP
S
P
Free energy, G
Reaction coordinate



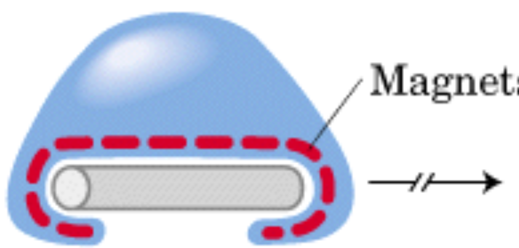
(a) No enzyme
Substrate
(metal stick)
Transition state
(bent stick)
Products
(broken stick)
Free energy, G
‡
ΔG‡
S
P
(b) Enzyme complementary to substrate
Magnets
Free energy, G
‡
ΔG‡uncat
ΔG‡cat
ΔGM
S
P
ES
(c) Enzyme complementary to transition state
+
Free energy, G
‡
ΔG‡uncat
ΔGM
‡
ΔG‡cat
S
ES
P
Reaction coordinate

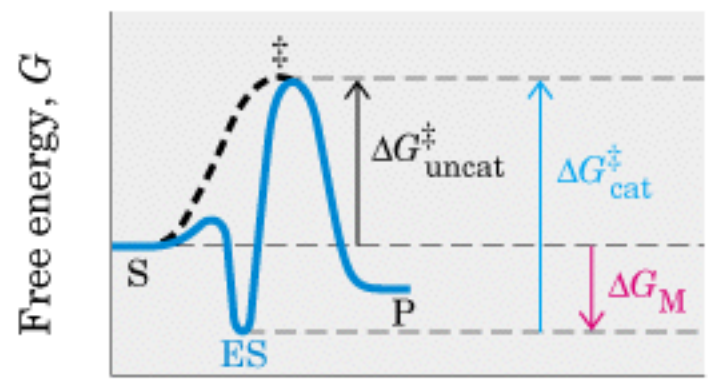
(a) No enzyme



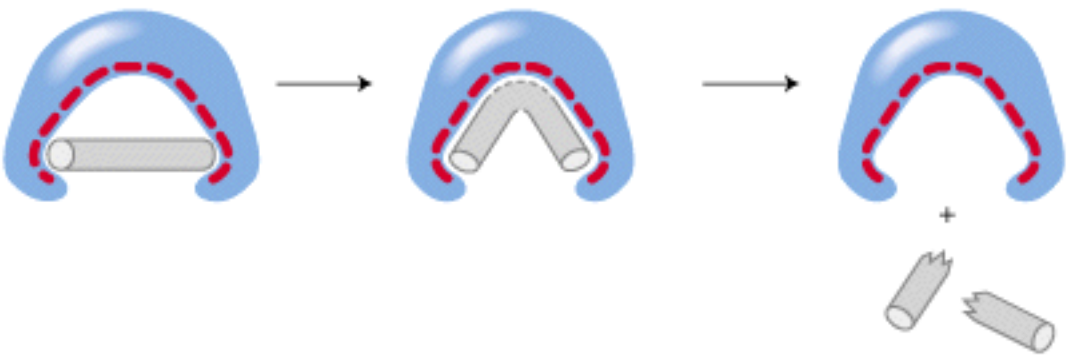
Substrate
(metal stick)
Transition state
(bent stick)
Products
(broken stick)
Free energy, G
‡
ΔG‡
S
P

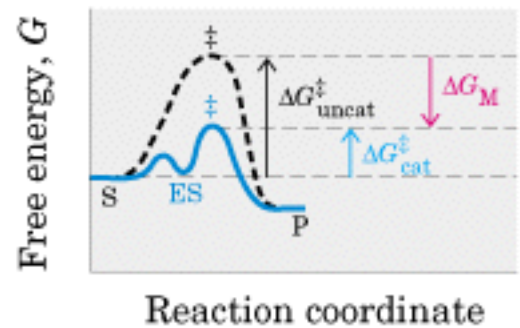
(b) Enzyme complementary to substrate

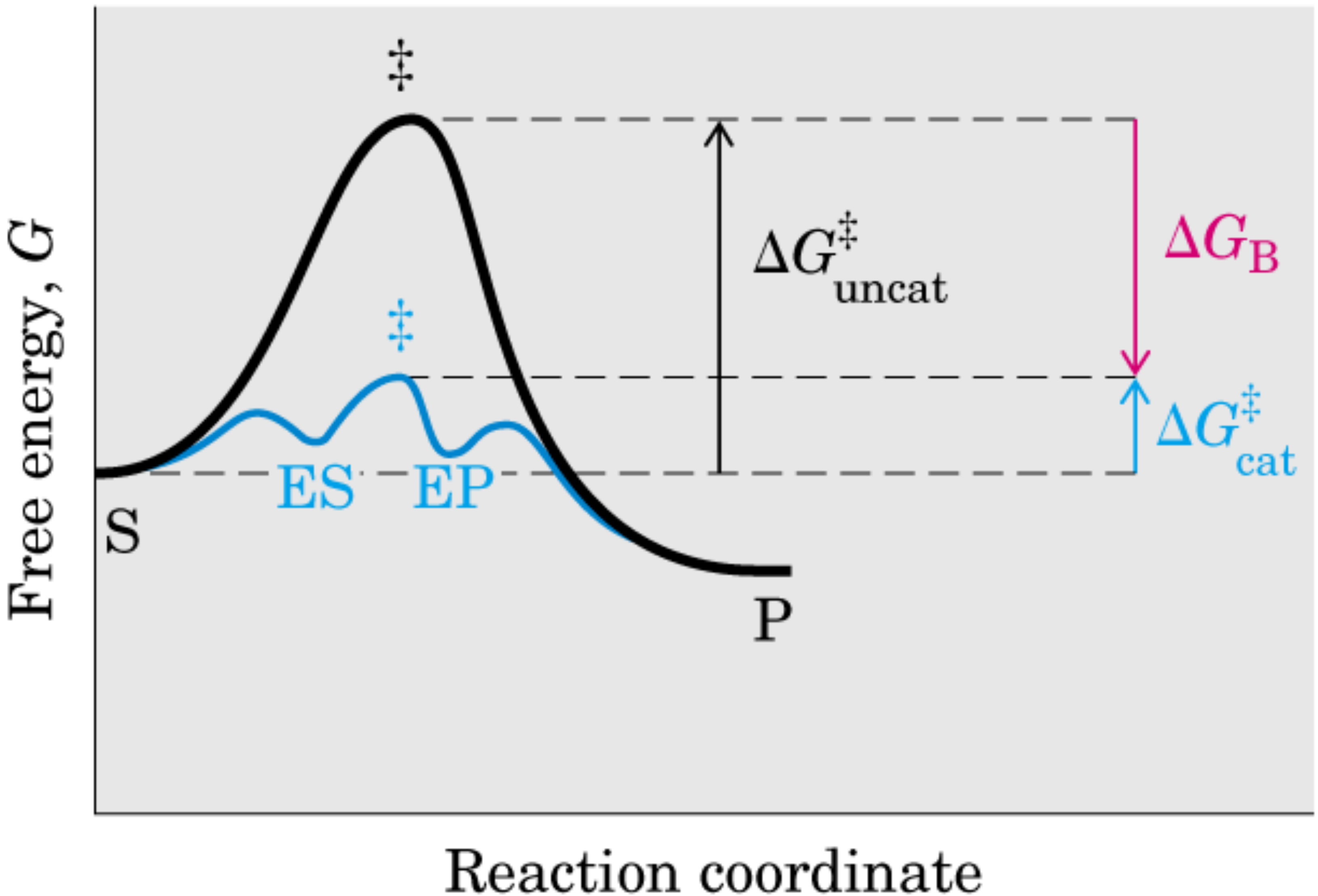




(c) Enzyme complementary to transition state







‡
‡
$\Delta G^{\ddagger}_{uncat}$
ΔG_B
$\Delta G^{\ddagger}_{cat}$
ES
EP
S
P
Free energy, G
Reaction coordinate

Cinética Enzimática

Cinética Química

Uma reação estequiométrica

$$A \longrightarrow P$$

Pode ocorrer por uma sequência de intermediários

$$A \longrightarrow I_1 \longrightarrow I_2 \longrightarrow P$$

A caracterização de cada intermediário constitui a descrição do mecanismo

Ordem de reação

A uma temperatura constante, a velocidade da reação elementar é proporcional à frequência na qual os reagentes colidem.

A constante de proporcionalidade é conhecida como constante de velocidade *k*

$$A \longrightarrow P$$

A velocidade instantânea de formação do produto ou consumo do reagente é

a velocidade da reação *v*

$$v = \frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]$$

a velocidade da reação em qualquer ponto no tempo é proporcional à concentração do reagente

A ordem da reação corresponde ao número de moléculas que devem colidir simultaneamente para formar um produto.

Uma reação elementar unimolecular é de primeira ordem

$$2\,A \longrightarrow P$$

Reação bimolecular de segunda ordem

$V = k[A]^2$

$$E + S \rightleftarrows ES \rightleftarrows EP \rightleftarrows E + P$$

Quando a [S] é muito maior que a [E] a velocidade da reação fica independente
Da [S] e a segunda etapa torna-se a limitante da velocidade da reação.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k2} E + P$$

$$Vo = k_2[ES]$$

Enzima livre $[E] = [Et] - [ES]$

No estado estacionário a velocidade de formação e decomposição de [ES] se igualam

$$k_1([Et]-[ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$k_1([Et]-[ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$\frac{([Et]-[ES])[S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M$$

$$[ES] = \frac{[Et]\,[S]}{Km + [S]}$$

$$[ES] = \frac{[Et]\,[S]}{Km + [S]}$$

$$V_0 = k_2[ES]$$

$$[ES] = vo/k2$$

$$Vo = \frac{k_2[Et]\,[S]}{Km + [S]} \longrightarrow Vmax = k_2[ET]$$

$$Vo = \frac{k_2[Et]\,[S]}{Km + [S]}$$

$$Vmax = k_2[ET]$$

$$V_0 = \frac{V_{\text{max}}[\text{S}]}{K_{\text{m}} + [\text{S}]}$$

$$V_0 = \frac{V_{\mathrm{max}}[\mathrm{S}]}{K_{\mathrm{m}} + [\mathrm{S}]}$$

Equação de Michaelis-Menten descreve uma hipérbole retangular .

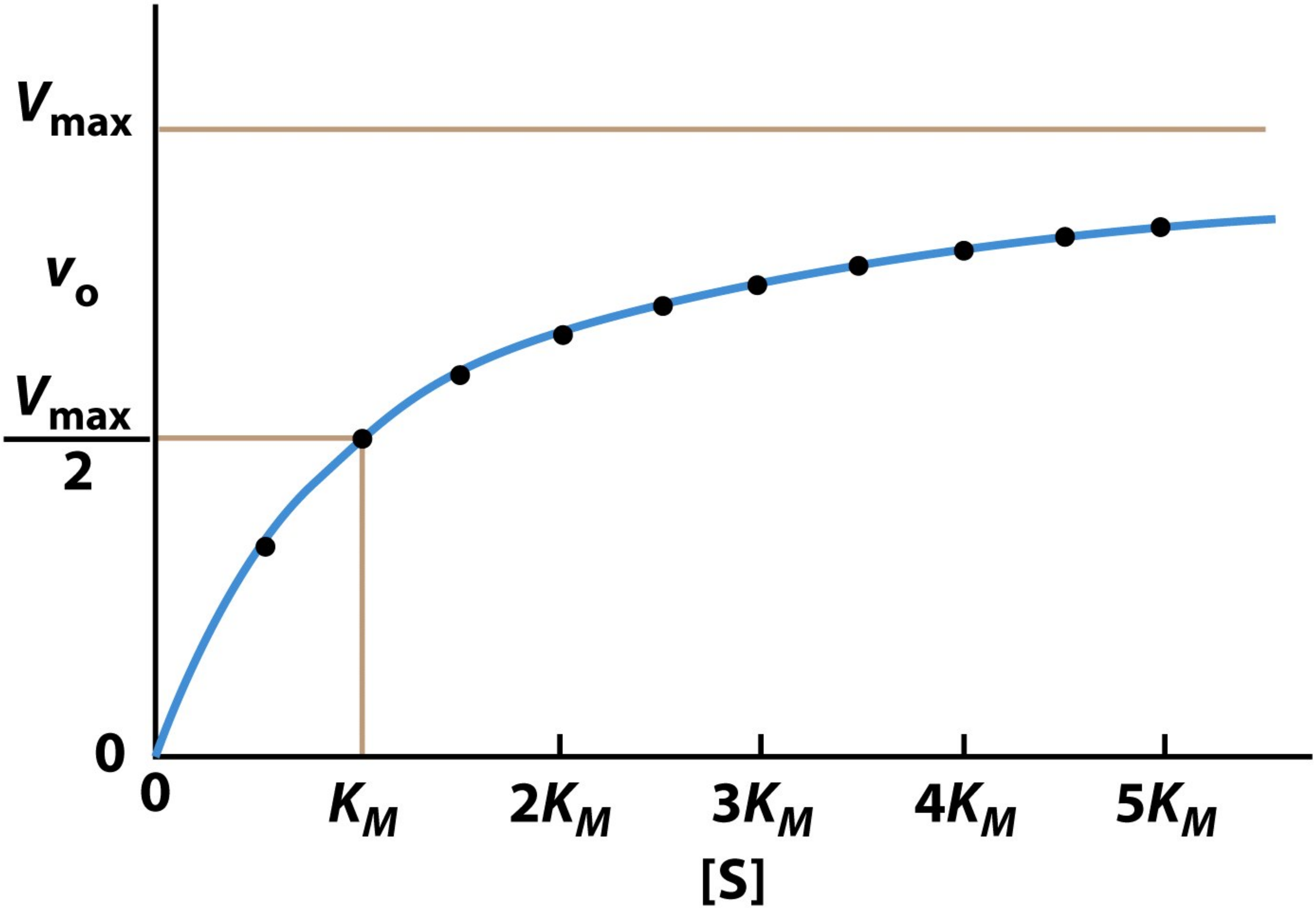


Figure 12-3 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

K_M a Constante de Michaelis

Quando:

$[S] = K_M$

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \longrightarrow Vo = V_{max}/2$$

K_M é a concentração do substrato no qual a velocidade da reação corresponde à metade da velocidade máxima.

Se a enzima tiver um valor pequeno de K_M, ela atingirá a máxima eficiência catalítica em baixas concentrações do substrato

No inicio da reação [P] é desprezivel

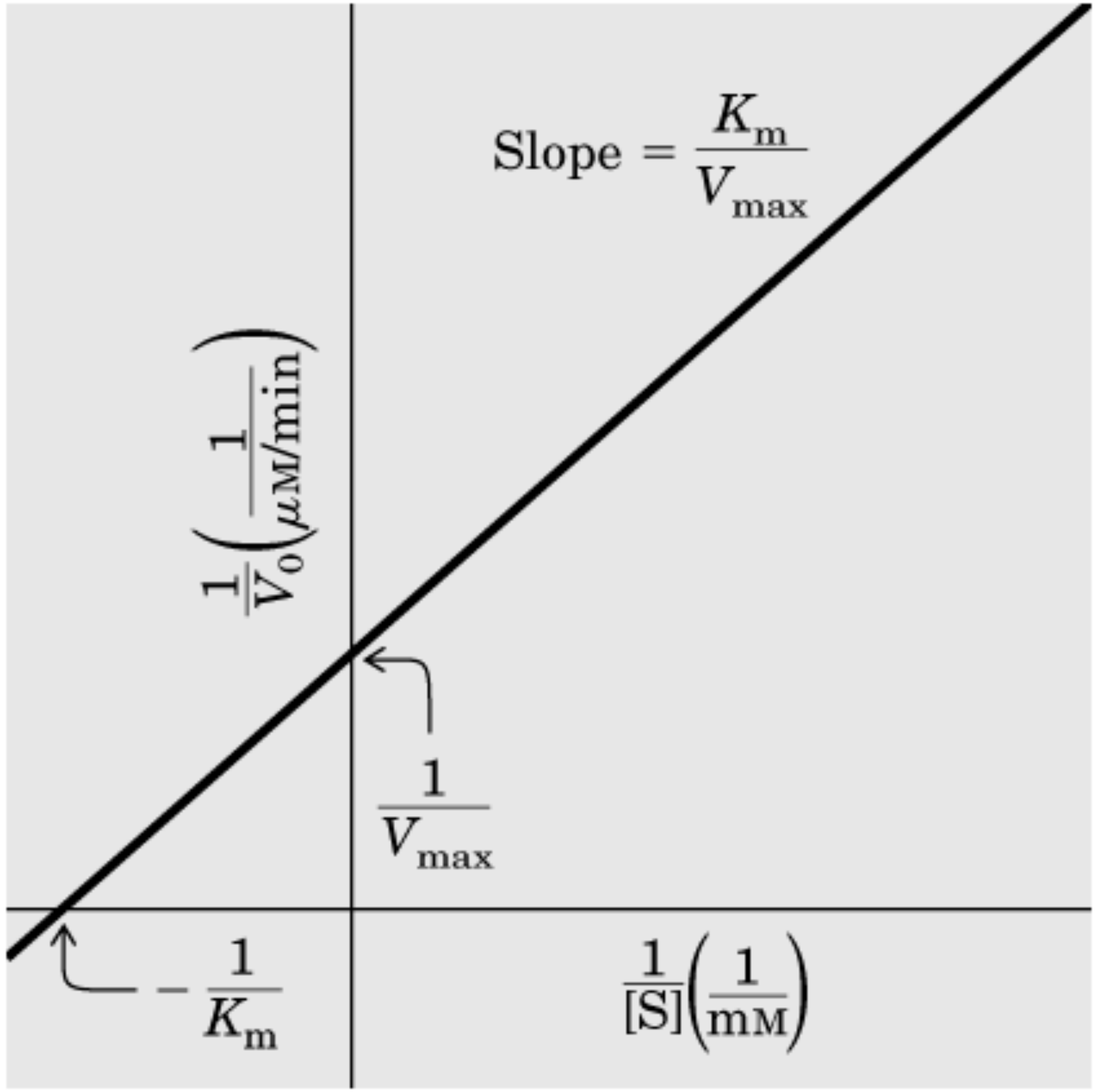
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$k_2 <<< k_{-1}$

$$\boxed{\frac{k_{-1}}{k_1}} + \frac{k_2}{k_1} = K_M$$

Ks constante de dissociação ES = à medida que Ks decresce a afinidade da Enzima pelo substrato aumenta desde que k2/k1 seja pequeno comparado a Ks

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



Slope = $\frac{K_m}{V_{max}}$
$\frac{1}{V_0}\left(\frac{1}{\mu M/min}\right)$
$\frac{1}{V_{max}}$
$-\frac{1}{K_m}$
$\frac{1}{[S]}\left(\frac{1}{mM}\right)$

table 8–6

K_m for Some Enzymes and Substrates

Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Catalase	H_2O_2	25
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

9 (pag 338): A reação Glicose + ATP → glicose 6-fosfato + ADP pode ser catalisada por duas enzimas: hexoquinase e glicoquinase. A partir dos resultados apresentados no quadro a seguir, pode-se concluir qual das enzimas tem maior afinidade pela glicose? Justificar por que as velocidades de reação são diferentes.

Hexoquinase			Glicoquinase		
Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (µmoles/min)	Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (µmoles/min)
1	0,01	0,07	1	5	80
2	0,02	0,14	2	10	160
3	0,05	0,36	3	20	250
4	0,10	0,72	4	50	300
5	0,20	1,20	5	100	320
6	0,50	1,45	6	150	310
7	1,00	1,44	7	200	320
8	2,00	1,44	8	500	320

A hexoquinase tem uma afinidade muito maior para glicose (0.1 mM glicose), comparada a glicoquinase (10 mM glicose). Saturando a enzima rapidamente, o que faz com que a Vmax seja menor do que a glicoquinase.

Unidade Enzimática

- Como é difícil purificar enzima com a mesma atividade, a quantidade numa solução é definida pelo efeito produzido

- I Unidade Internacional= certa quantidade que catalisa a formação de 1 μmol de produto/ min sob condições definidas.
- Atividade específica= número de Unidades por mg de proteína

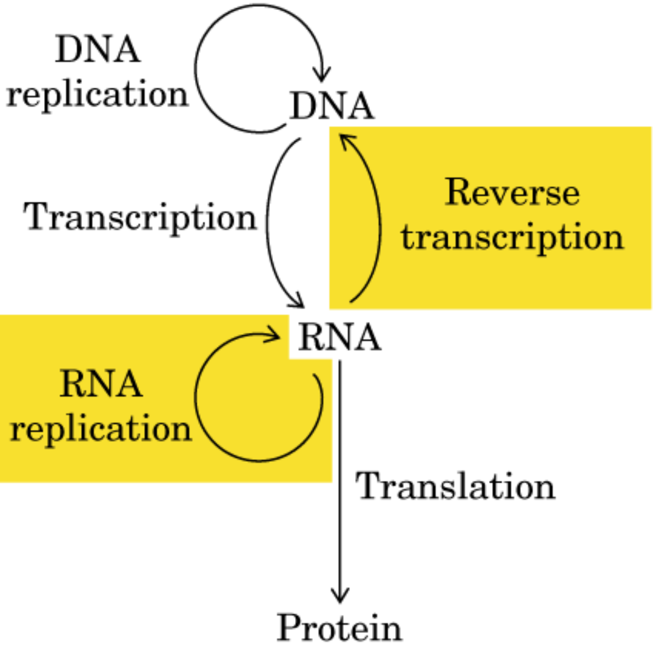
Inibições reversíveis

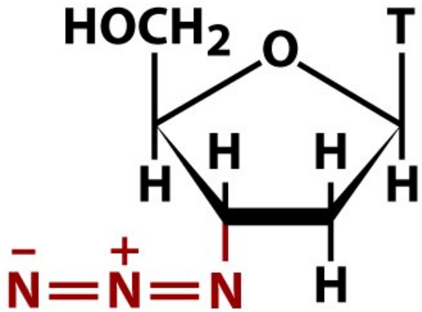
Inibidores Enzimáticos

- Substâncias que reduzem a atividade de uma enzima.

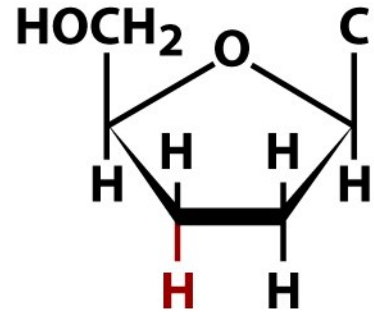
- Exemplo: AZT

Inibidor da transcriptase reversa

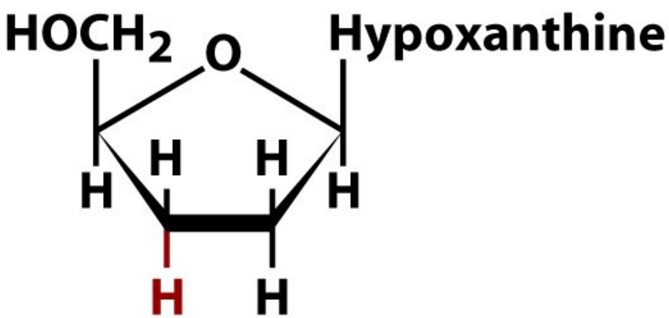




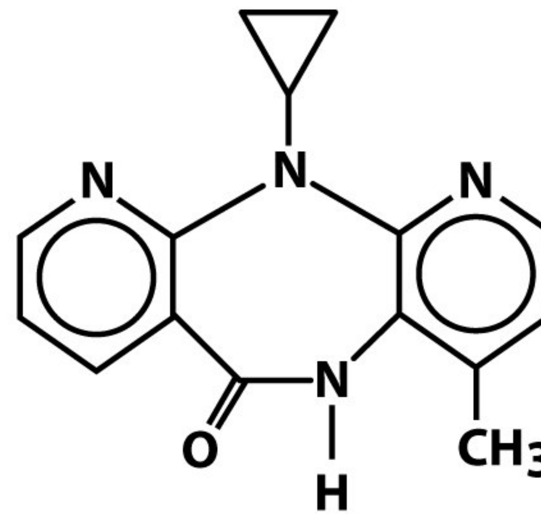
3′-Azido-3′-deoxythymidine (AZT; Zidovudine)



2′,3′-Dideoxycytidine (ddC, Zalcitabine)

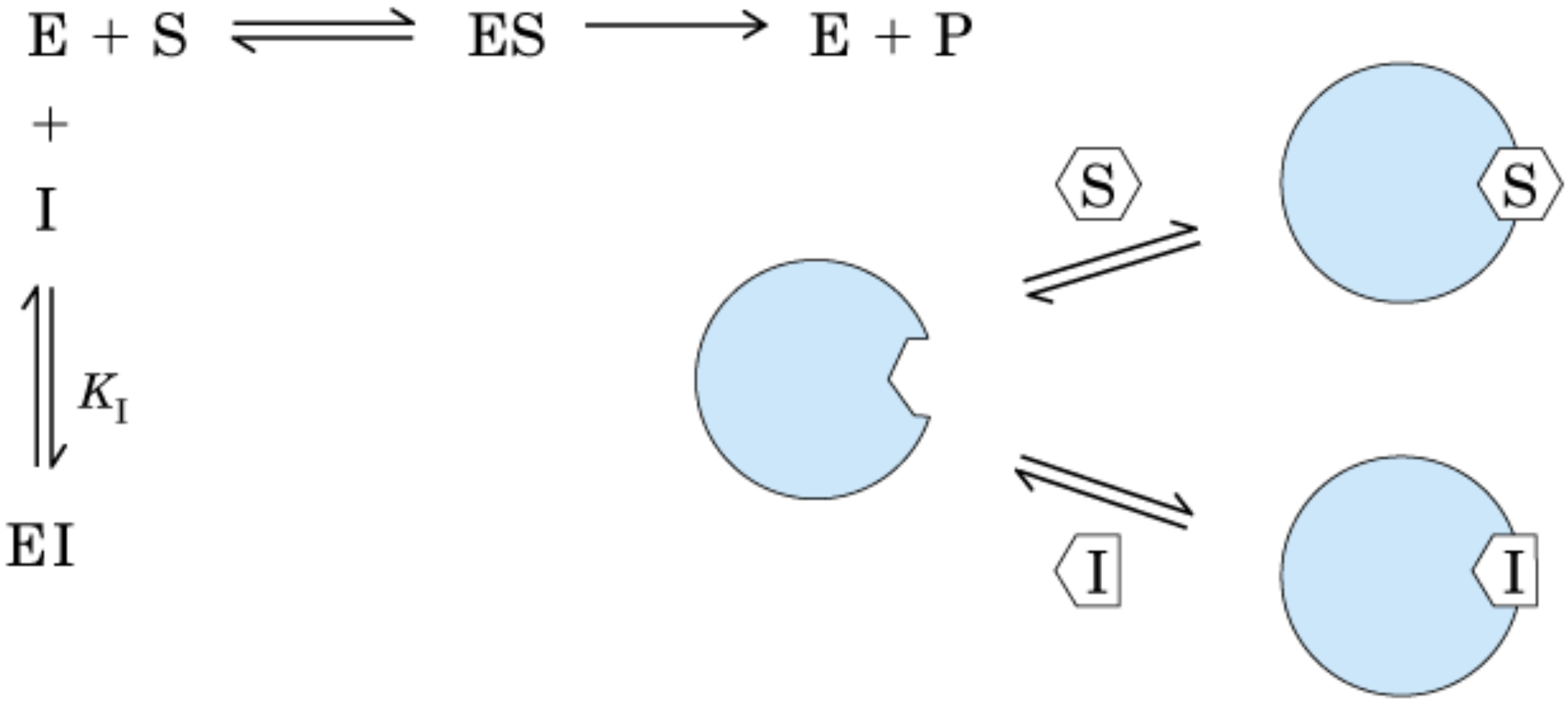


2′,3′-Dideoxyinosine (ddI, Didanosine)



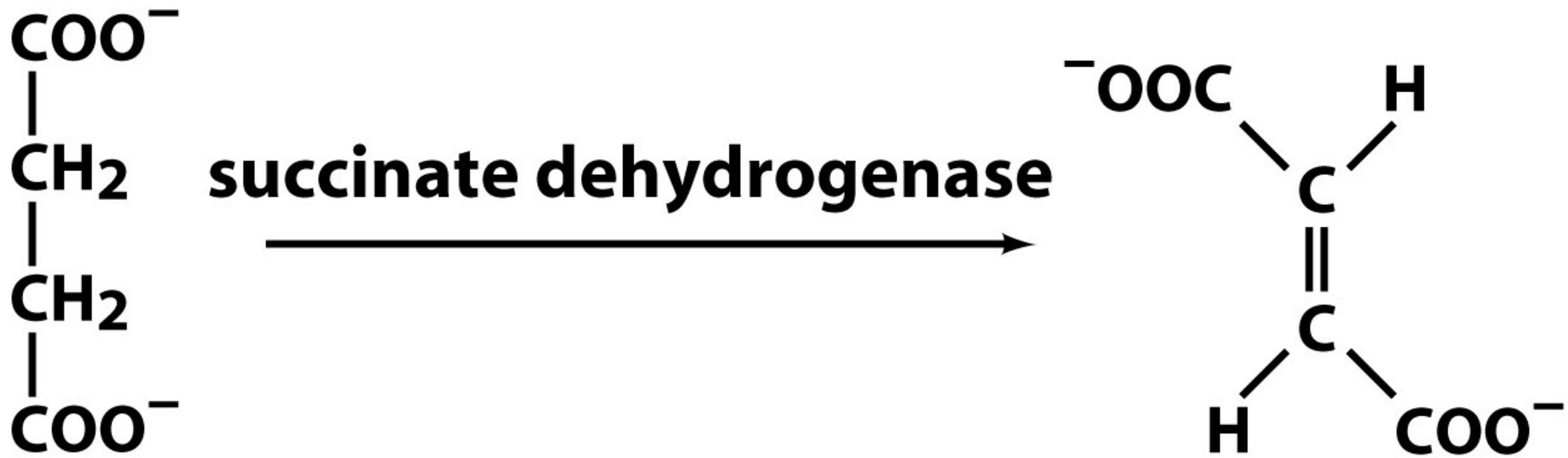
Nevirapine

Box 12-4 figure 2 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

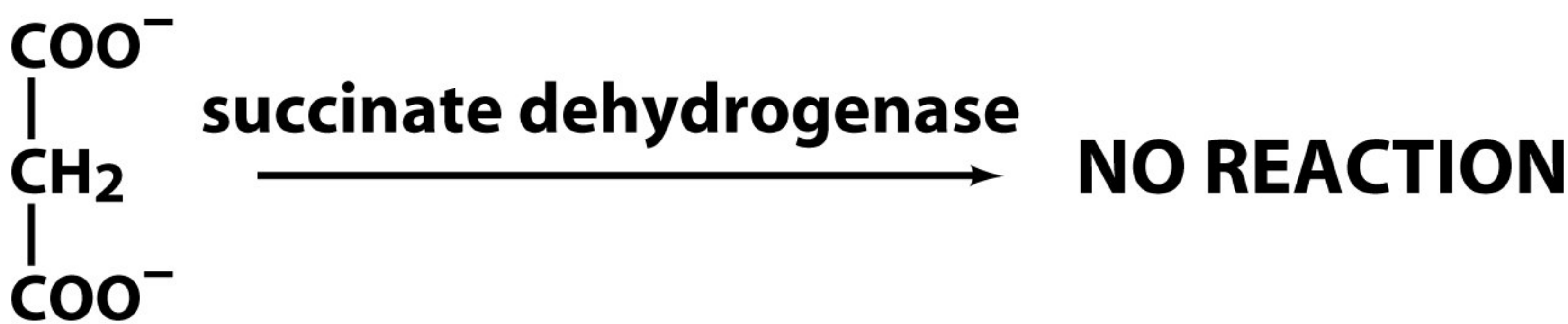


(a) Competitive inhibition

k_I = [E] [I]/ [EI]



Succinate **Fumarate**



Malonate

Unnumbered figure pg 371 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

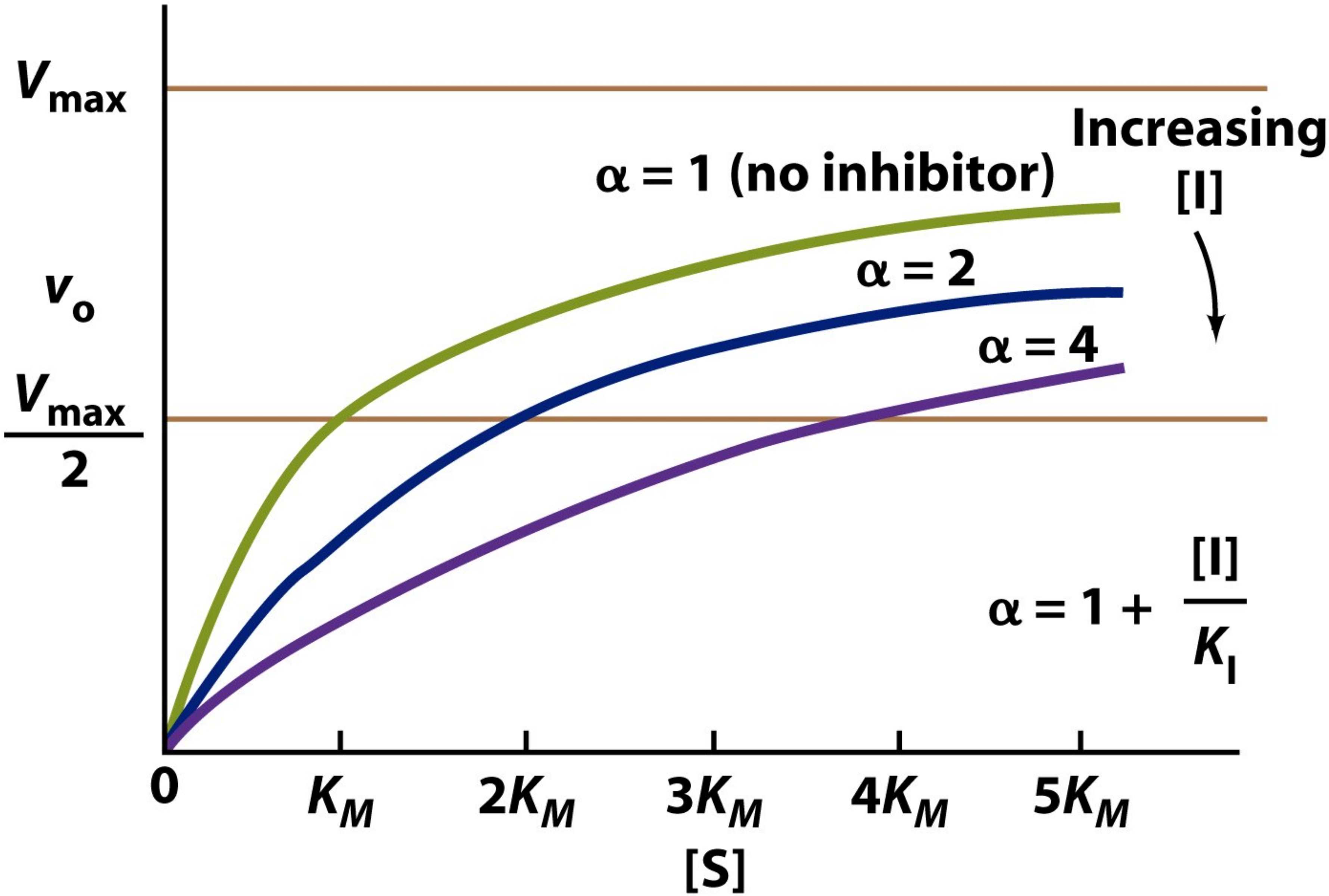


Figure 12-6 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

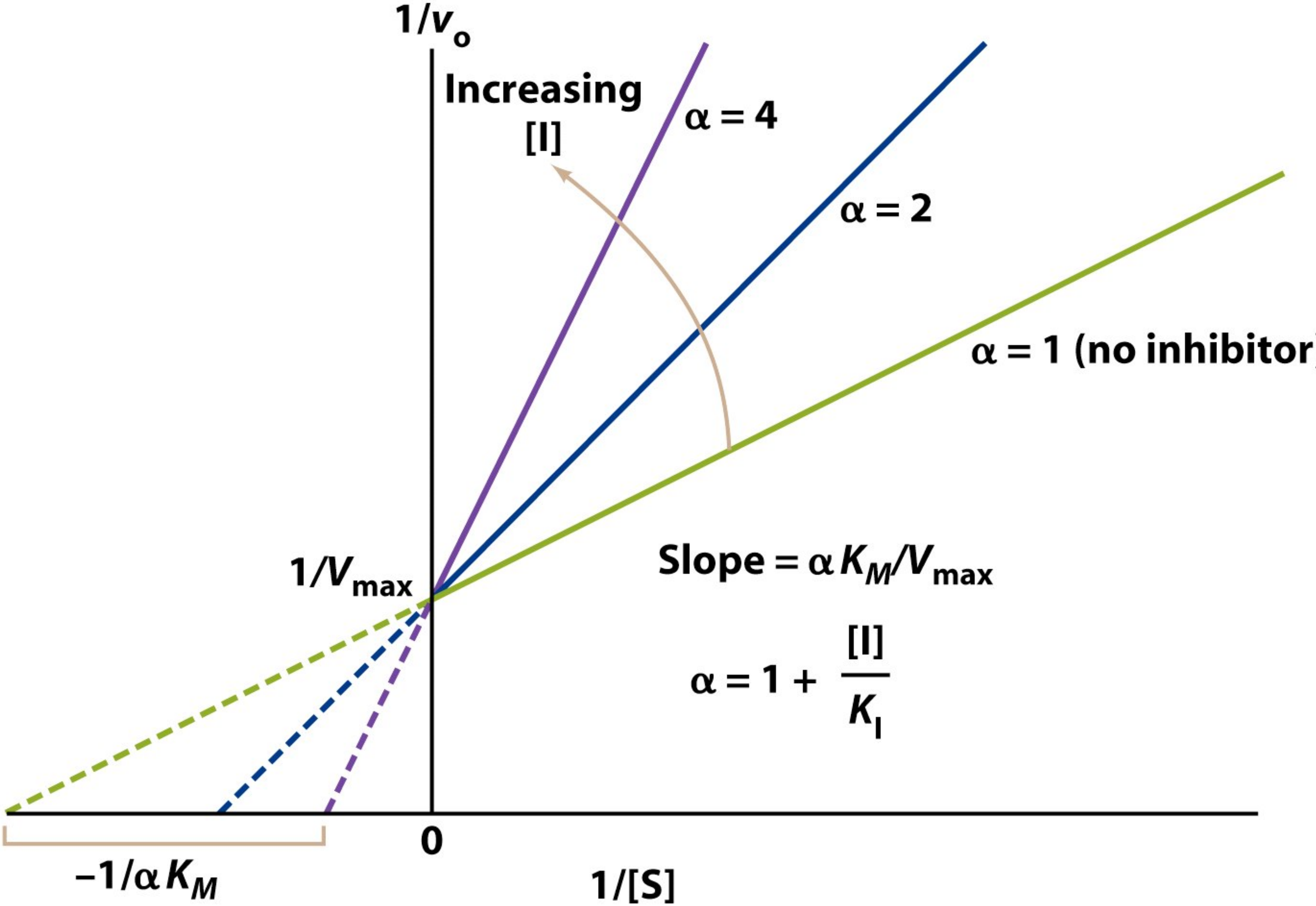
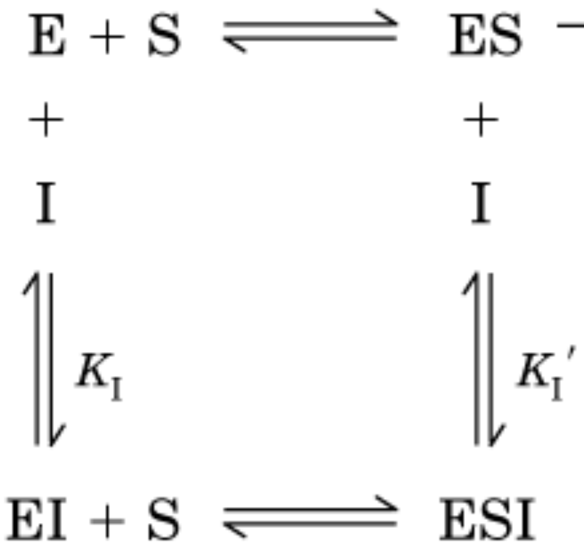
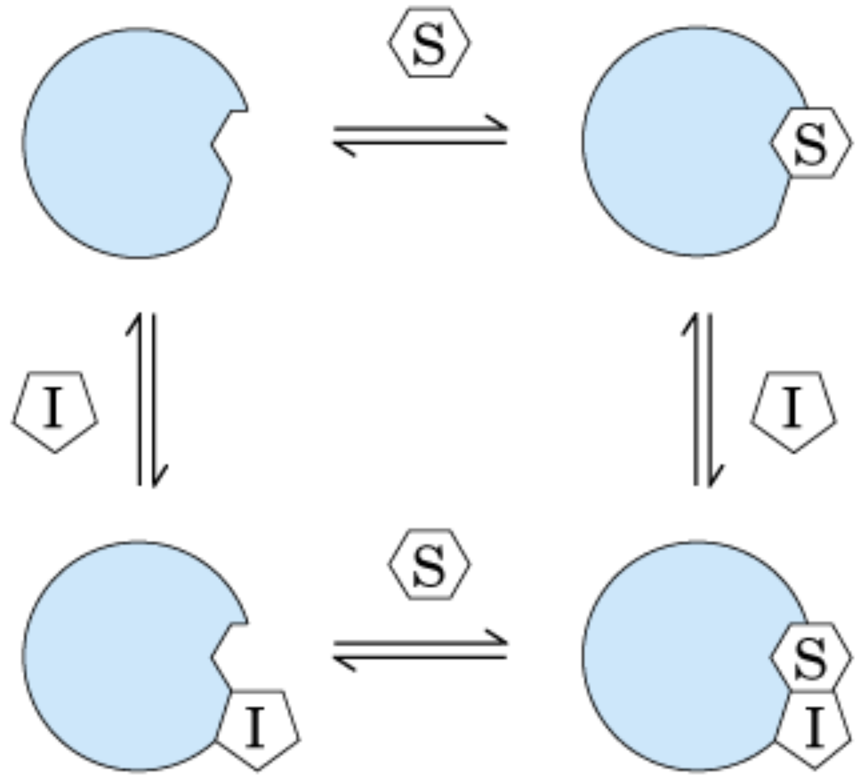


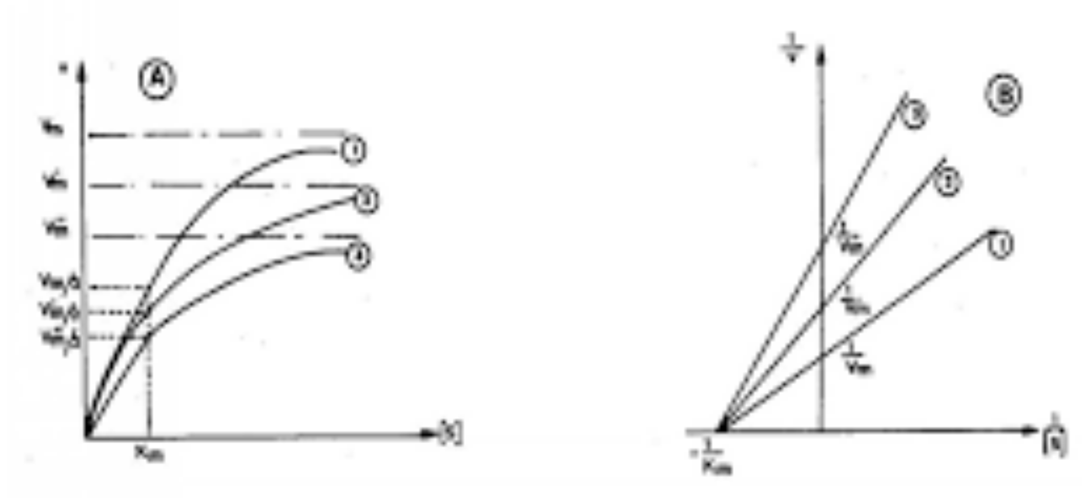
Figure 12-7 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Não competitiva





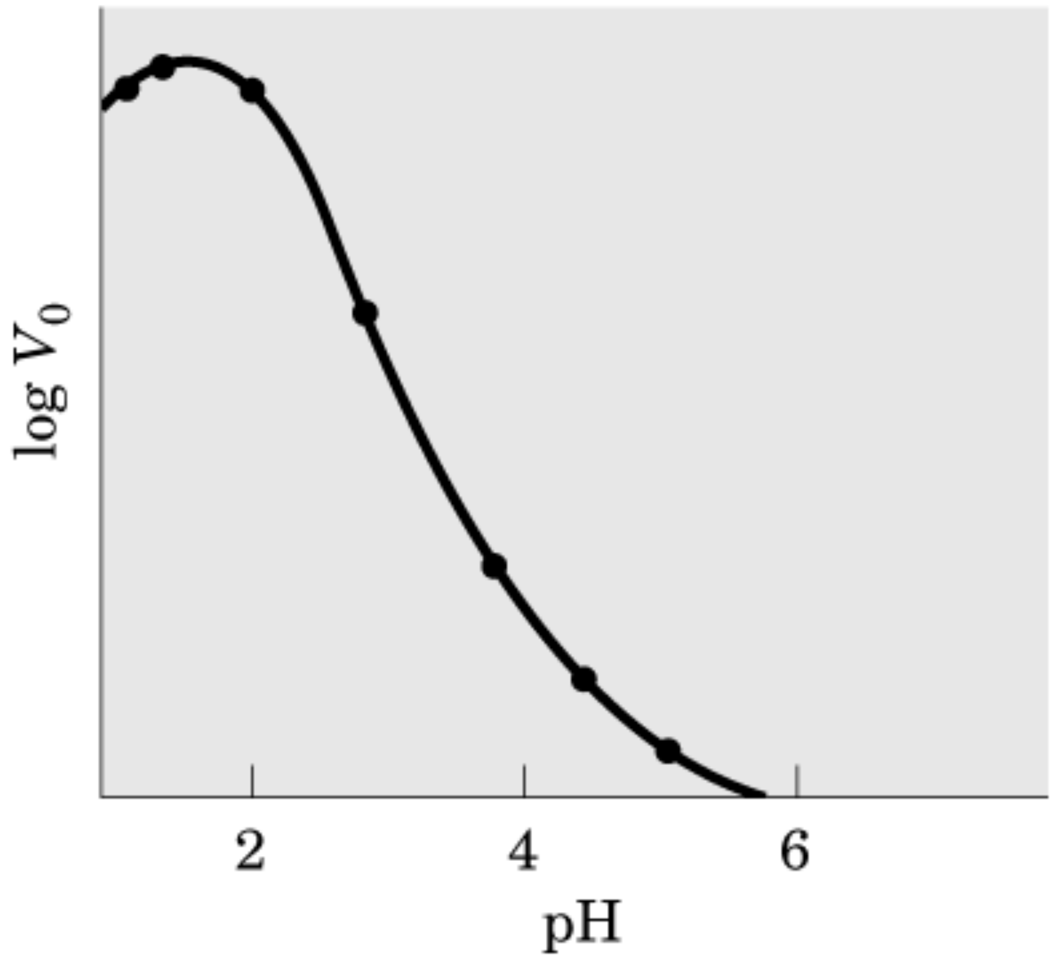
Inibidor Não-Competitivo



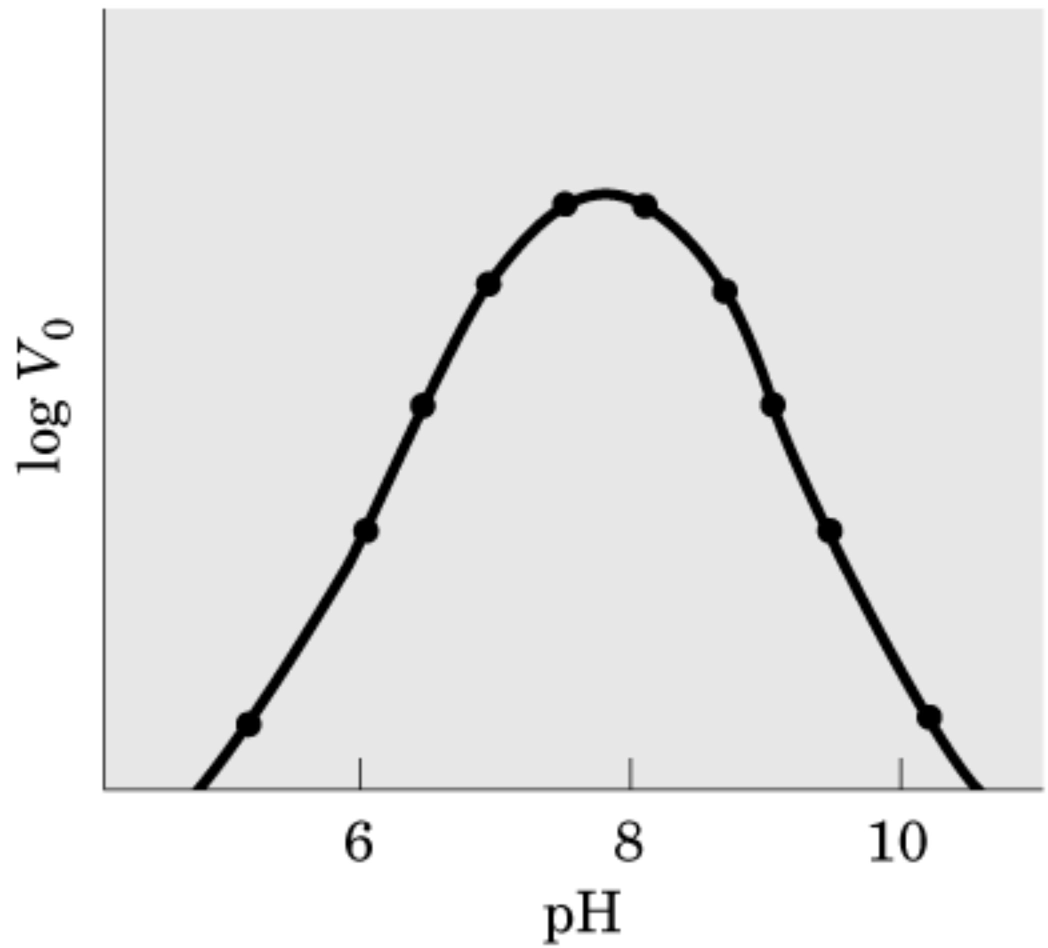
1- sem inibidor
2- com inibidor [I]
3- com inibidor 2[I]

Vmáx diminui, mas o Km não é alterado.

Efeito do pH



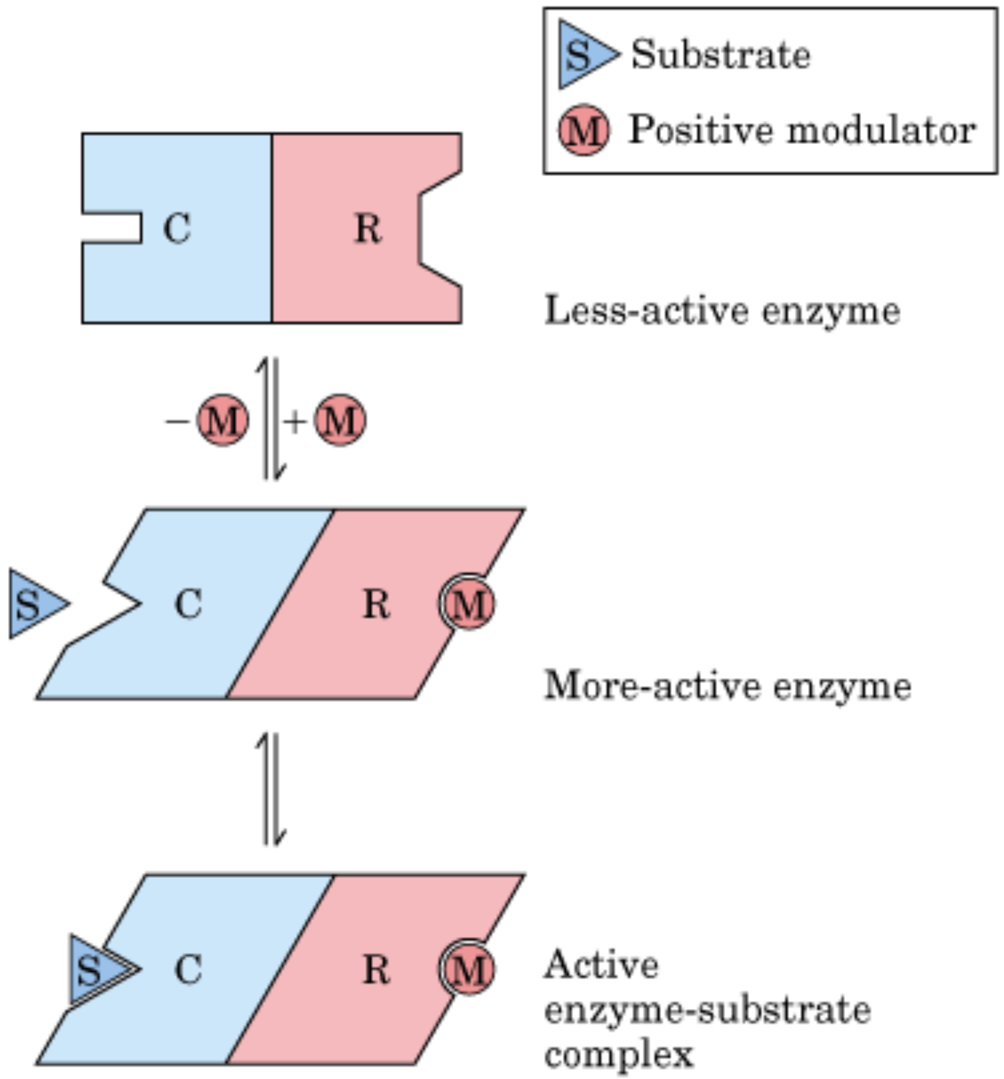
Pepsin
(a)

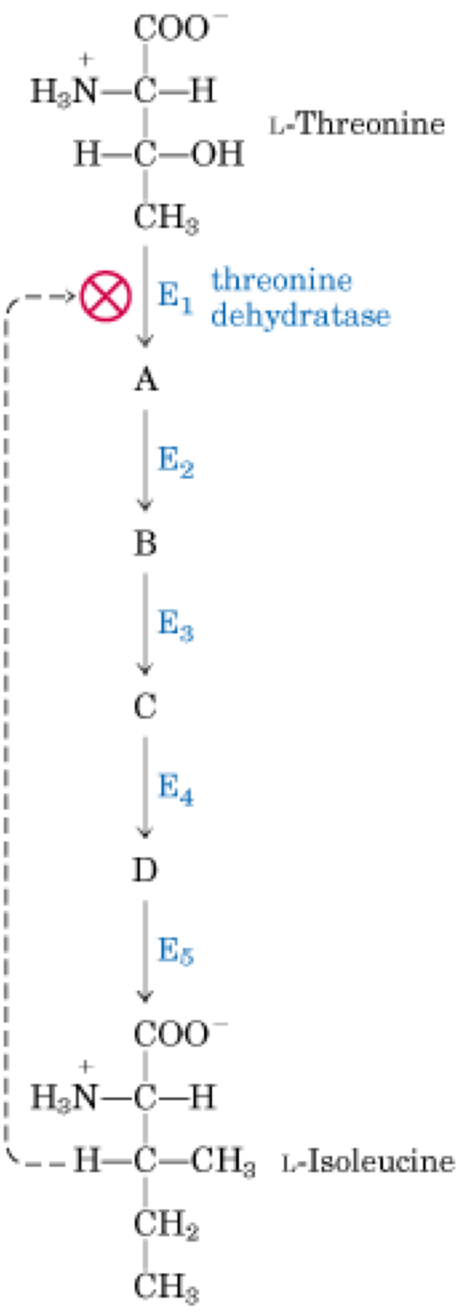


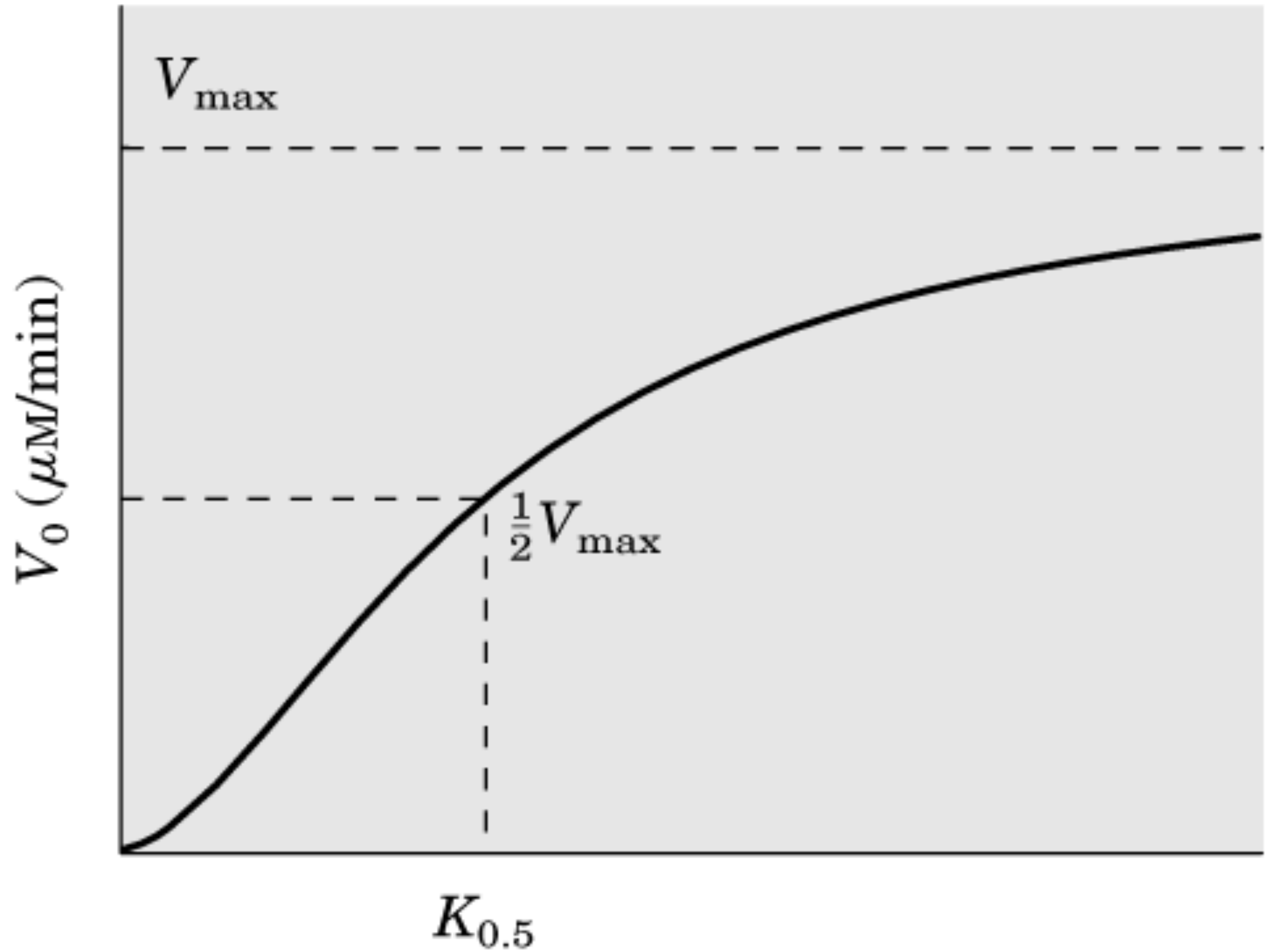
Glucose 6-phosphatase
(b)

Enzimas Regulatórias

Enzimas Alostéricas

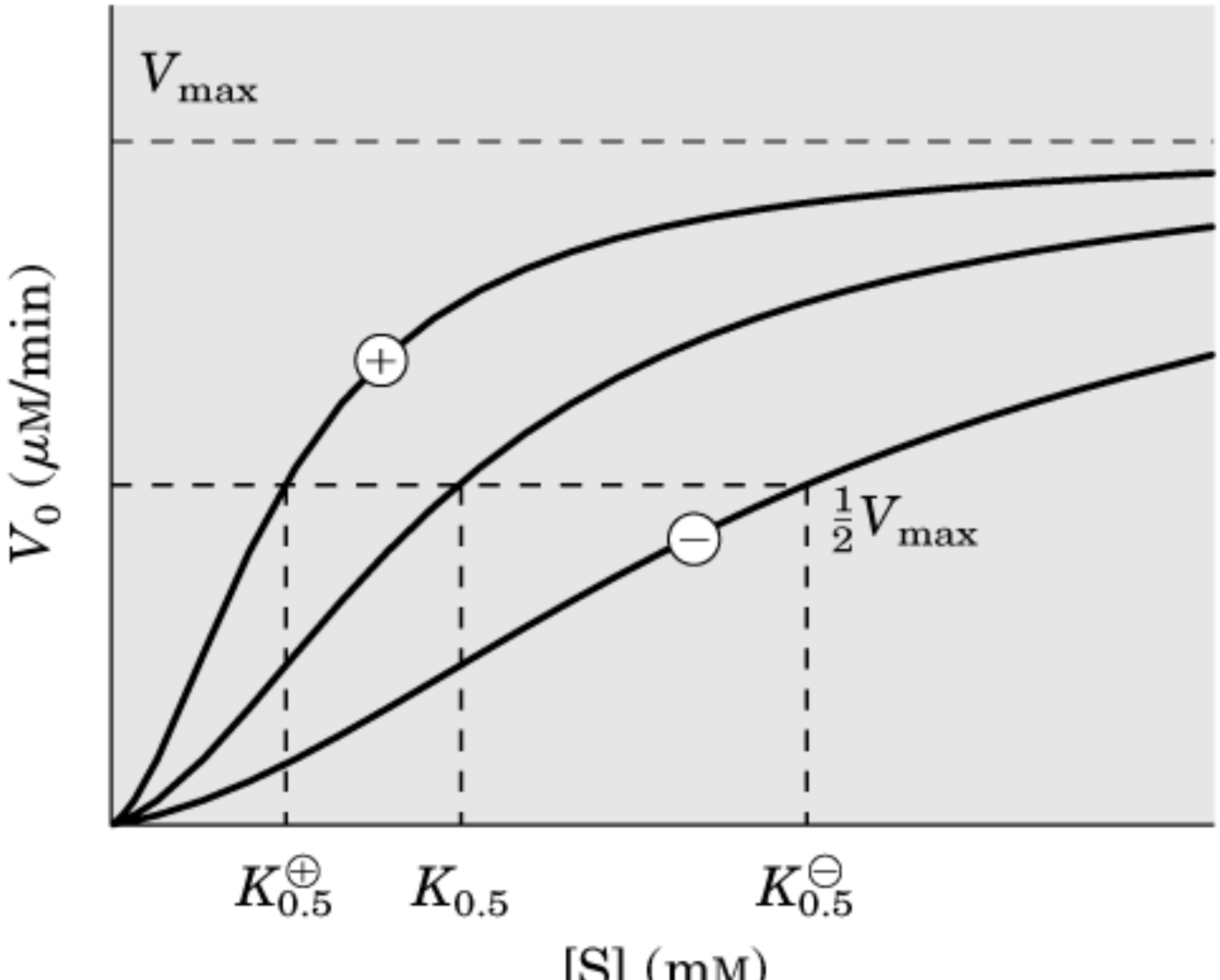



COO⁻
H3N—C—H
H—C—OH
CH3
L-Threonine
E1
threonine dehydratase
A
E2
B
E3
C
E4
D
E5
COO⁻
H3N—C—H
H—C—CH3
CH2
CH3
L-Isoleucine

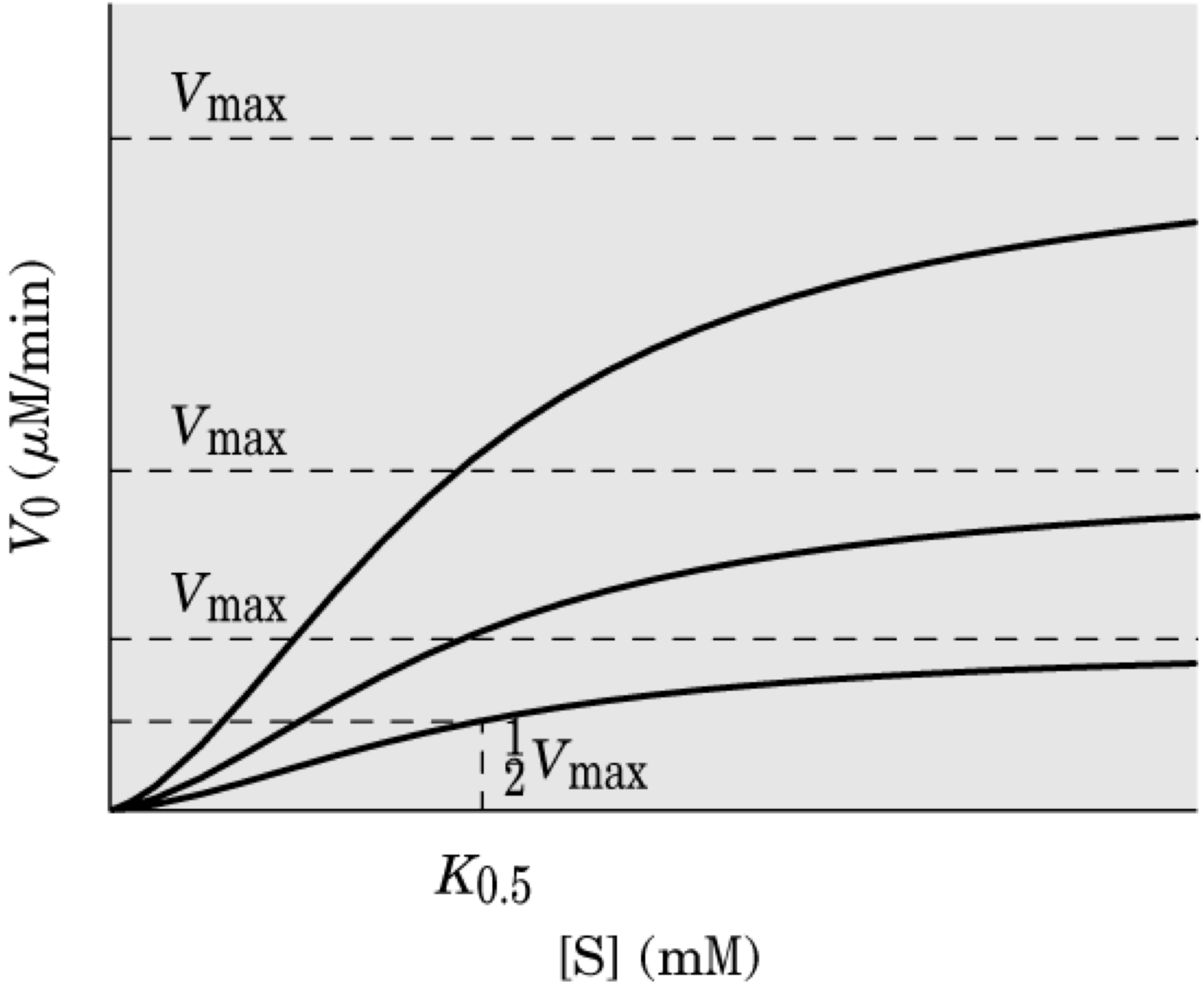


(a)

A curva é sigmoidal, em vez de hiperbólica como as que seguem Michaelis-Menten

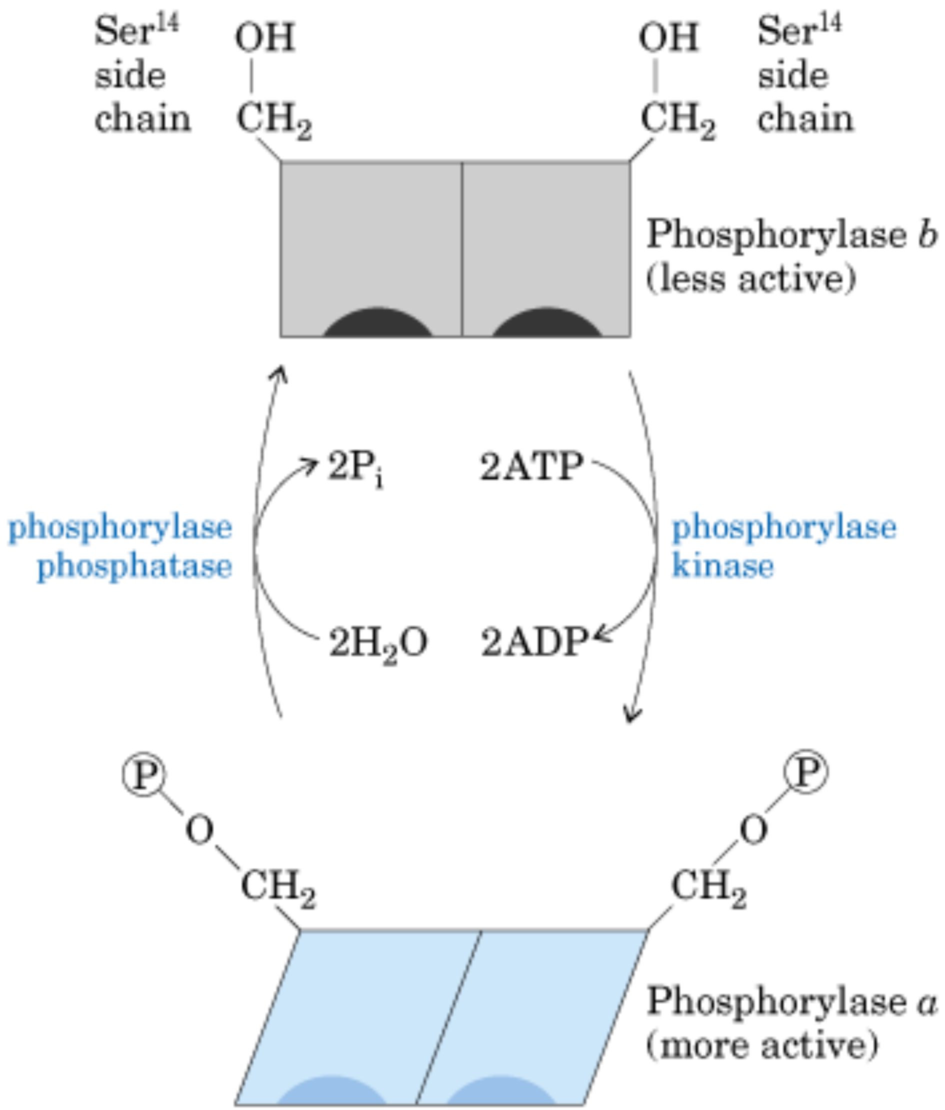


(b)



(c)

Modificação Covalente



Glicogênio fosforilase

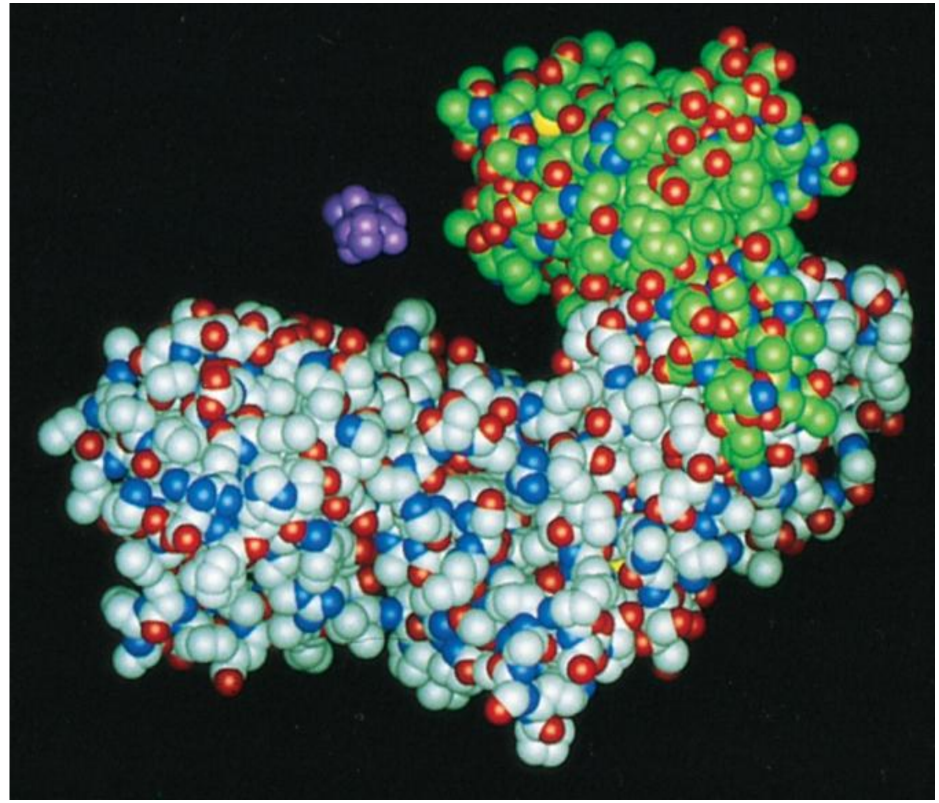
Isozimas

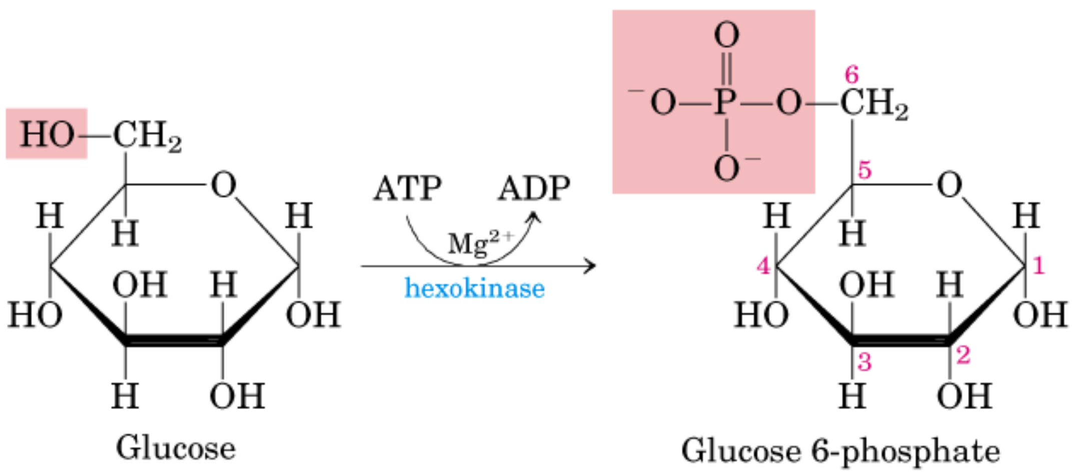
Formas diferentes de uma mesma enzima;

As isozimas ou **isoenzimas** são enzimas que diferem na sequência de aminoácidos, mas que catalisam a mesma reação química. Estas enzimas podem mostrar diferentes parâmetros cinéticos (i.e. diferentes valores de K_M), ou propriedades de regulação diferentes.

Exemplo:
Glicoquinase
Hexoquinase

Hexoquinase





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

No fígado, a glicose é fosforilada pela glicoquinase

A glicoquinase não é inibida por G-6P e tem Km alto