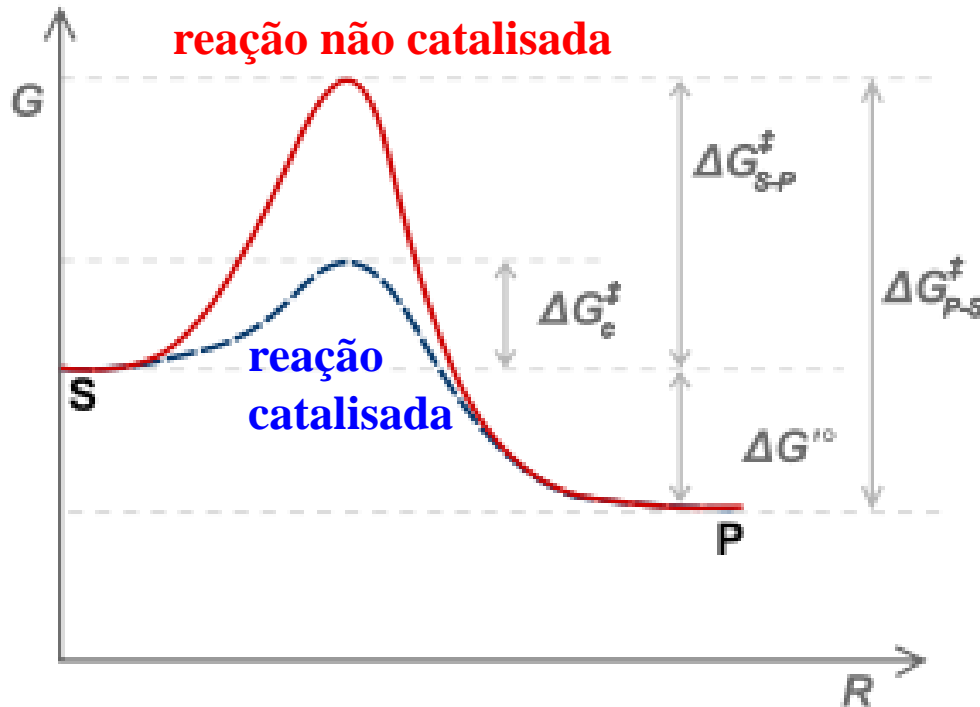


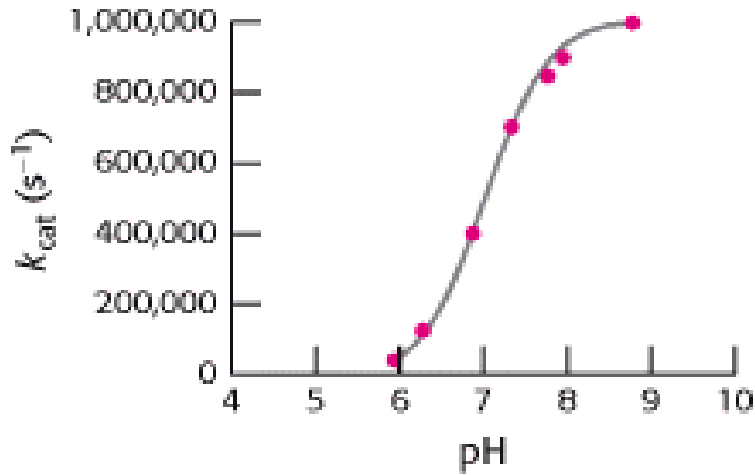
Ao se ligar **especificamente** ao(s) substrato(s) e apresentar grupos químicos em **ambiente específico** (**sítio ativo**), as enzimas propiciam a geração de um **novo caminho** para a **reação de formação de produto(s)**:

energia de ativação menor do que a da reação não catalisada

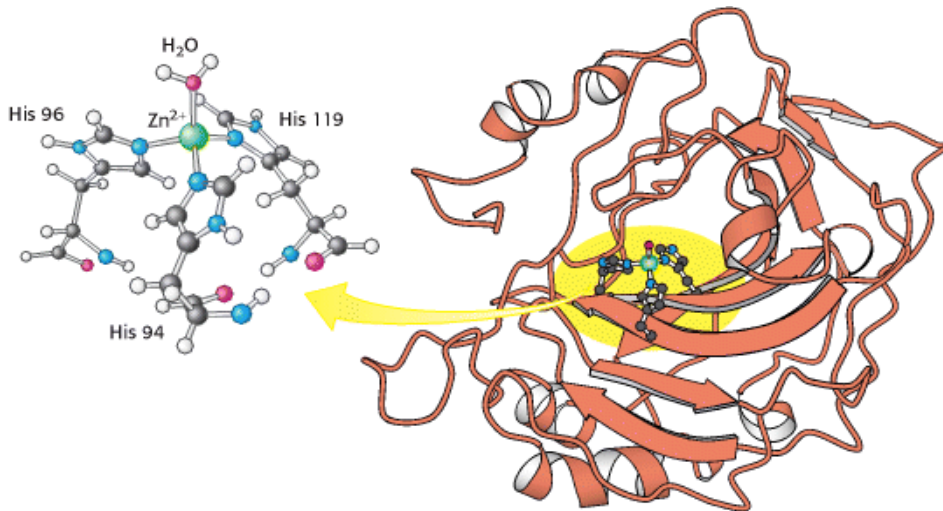


Atividade catalítica depende: ambiente onde atua e cofator

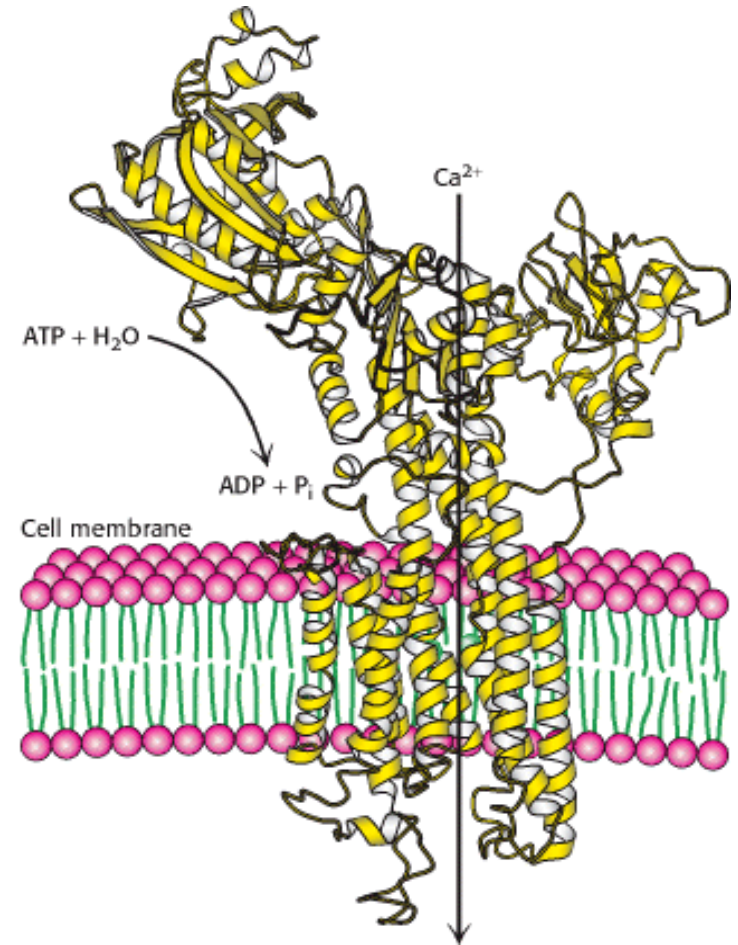
MTM
20/06/23



pH e atividade da anidrase carbônica



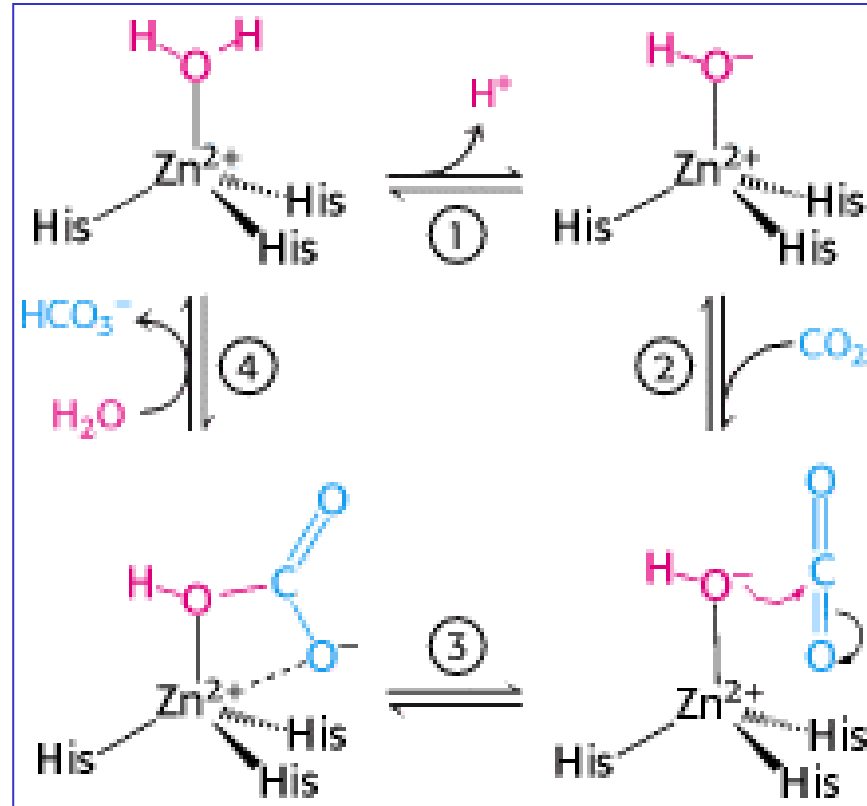
ATPase dependente de Ca^{2+}



Anidrase carbônica e seu sítio de ligação ao Zn^{2+}

Mecanismo de ação enzimática?

Monitoramento da reação química e dos intermediários formados

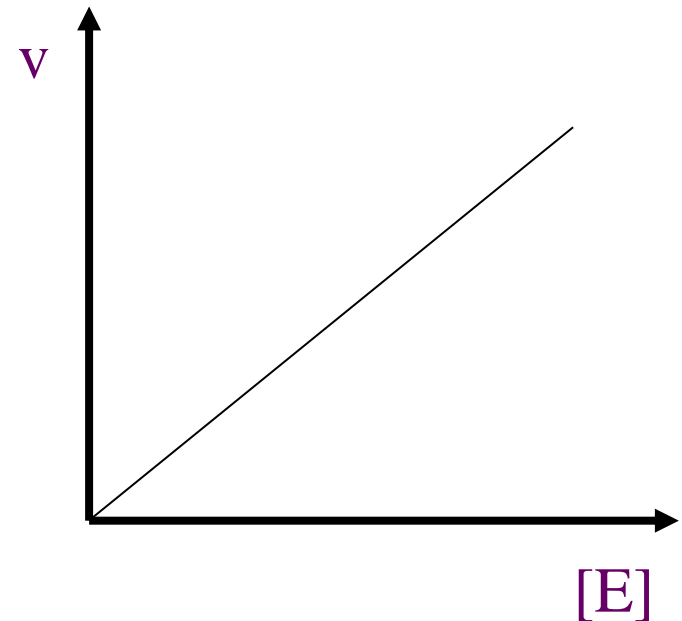
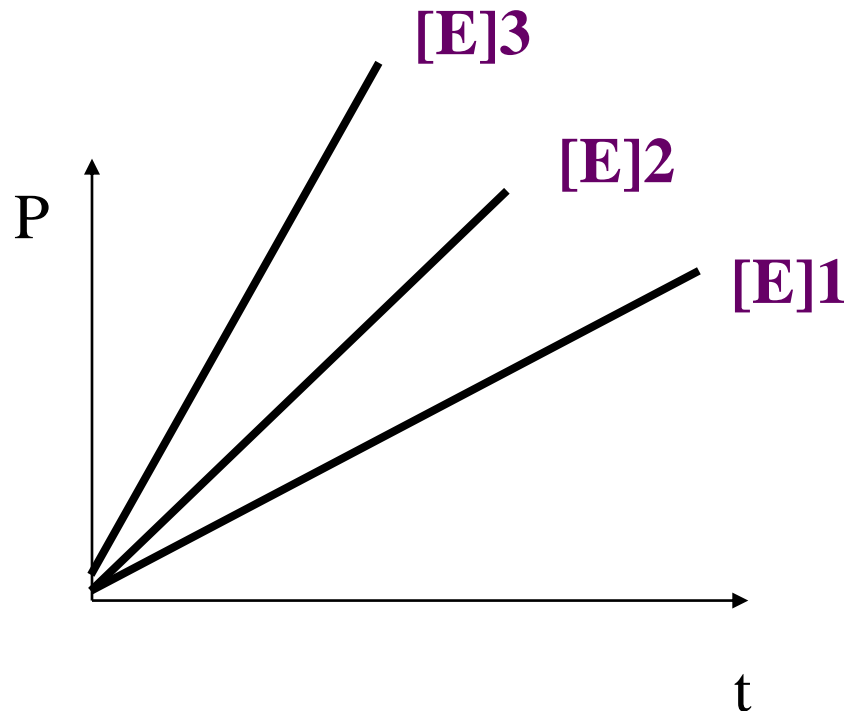


Cinética Enzimática Experimental

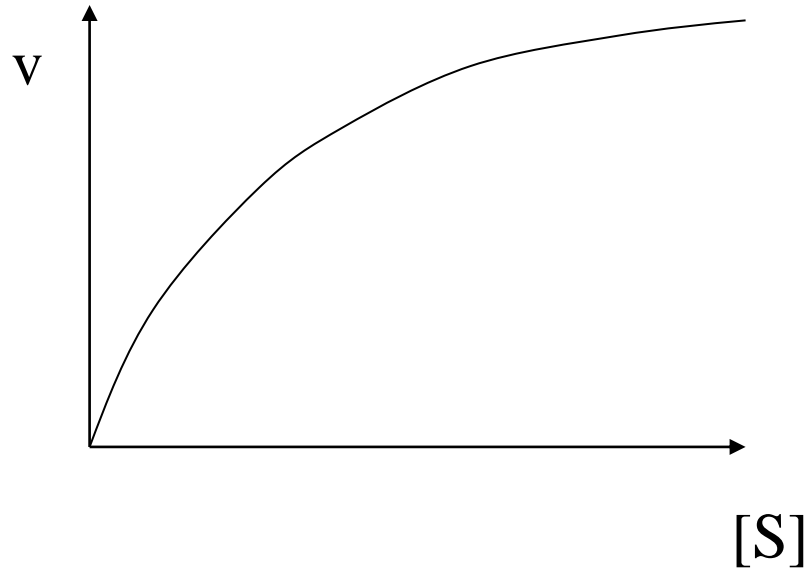
MTM
20/06/23

permite caracterizar/identificar enzimas
caracterizar a sua inibição (e inibidores enzimáticos)

Uma reação catalisada enzimaticamente pode ser escrita de forma simplificada como:



Porém, observou-se que a **velocidade da reação não aumenta linearmente com o aumento de [S]**.



Este resultado → proposta da existência de um complexo **ES**.

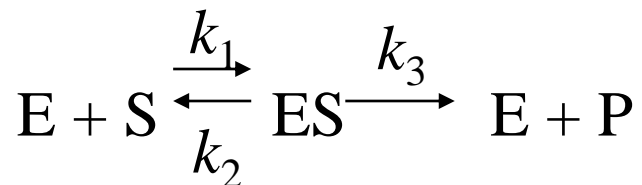
Portanto →

reação catalisada enzimaticamente pode ser descrita pelo esquema:



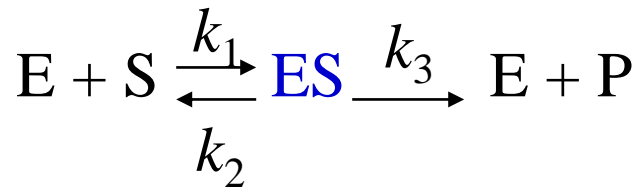
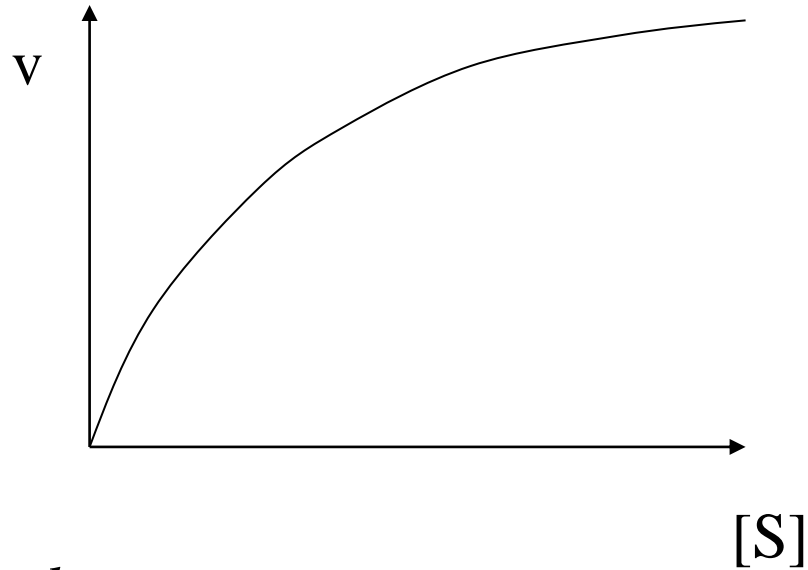
Simplificações:

Para baixo consumo de S (até ~ 5%) a concentração de produto é muito baixa. Assim, a etapa inversa a partir de P pode ser ignorada:



Logo → para [E] fixa, com o **aumento de [S]** ocorre um **aumento de [ES]** até que toda enzima esteja complexada a S.

Além deste ponto → não há aumento de [ES]



$$V \text{ de formação de P} = k_3[ES]$$

Além do ponto de saturação de toda $[E] \rightarrow$ não há aumento da velocidade de formação de P $\rightarrow v =$ **Velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$)**

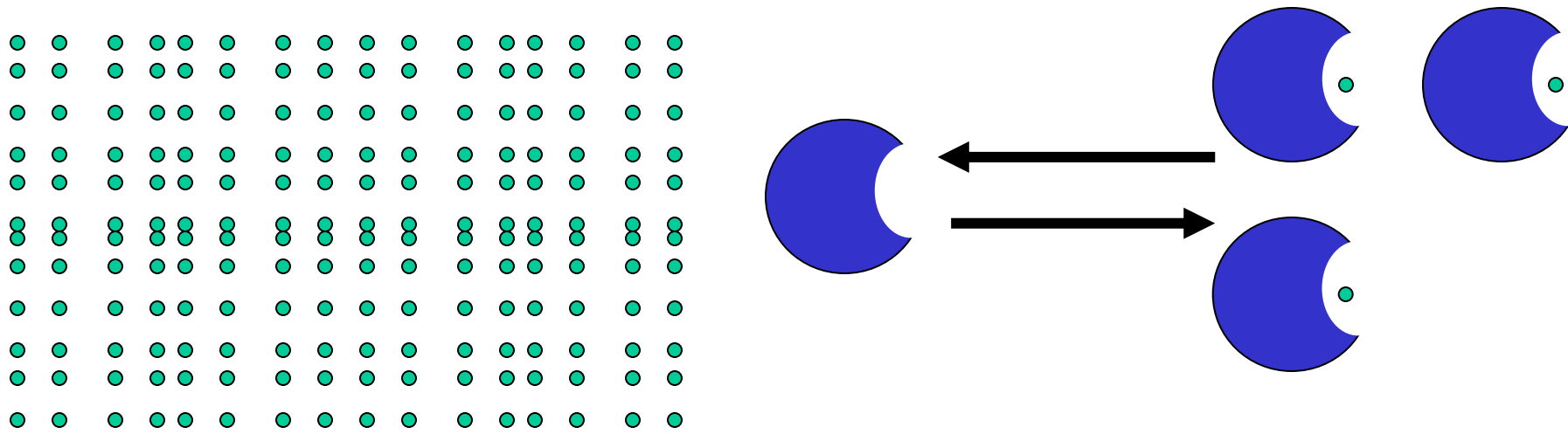
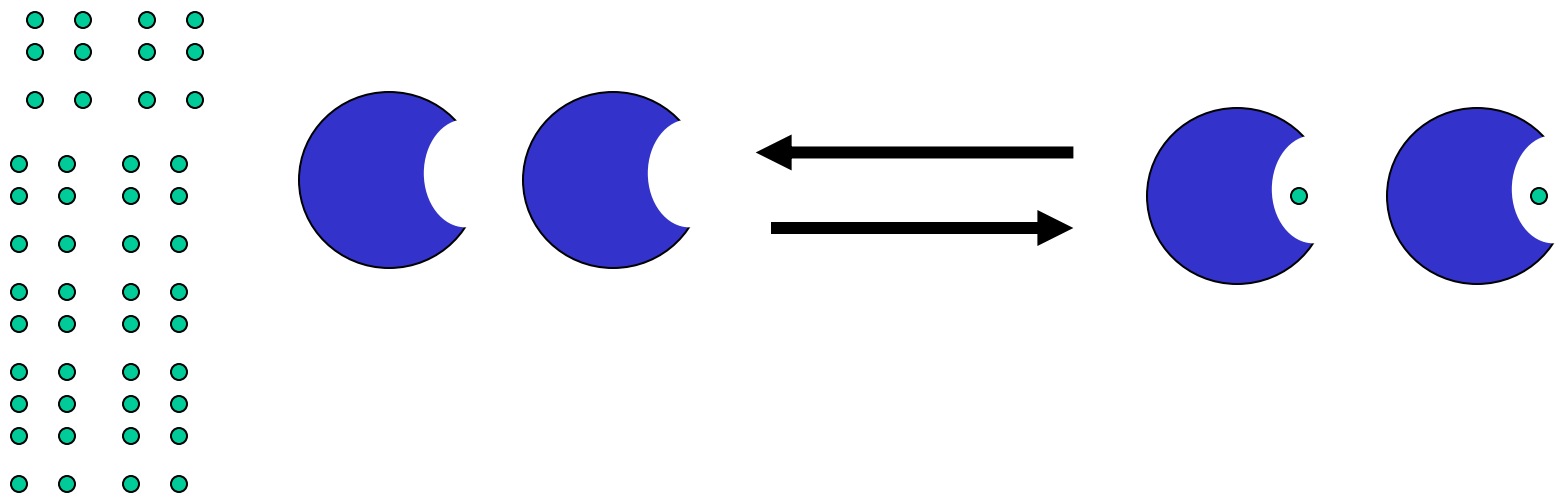
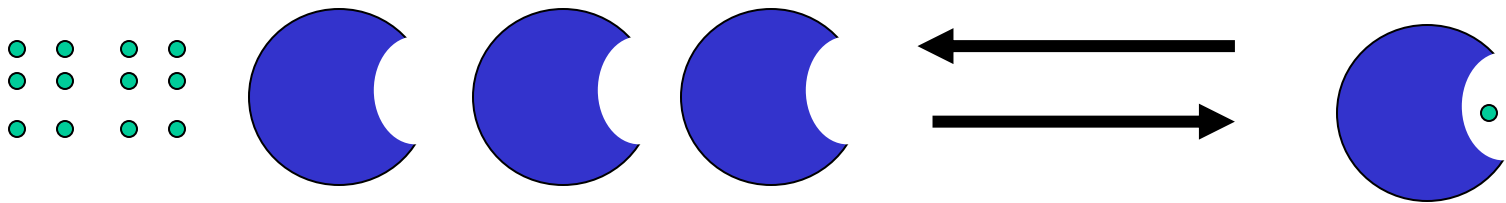
A $V_{\text{máx}}$ é diretamente proporcional à $[E]_{\text{total}}$.

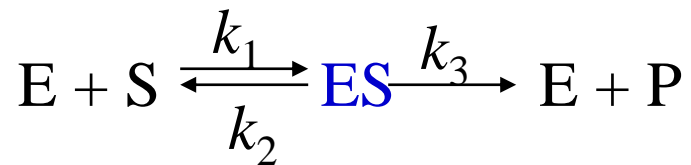


$$K = [ES]/[E][S] \quad [ES] = K[E][S] \quad [E]_{\text{total}} = [ES] + [E]$$

$$E_{\text{total}} = 10^{-6} \longrightarrow K = 10$$

S	E_{total}	E_{livre}	ES
10^{-3}	10^{-6}	$9,9 \cdot 10^{-7}$	$9,9 \cdot 10^{-9}$
10^{-2}	10^{-6}	$9,1 \cdot 10^{-7}$	$9,9 \cdot 10^{-8}$
10^{-1}	10^{-6}	$5 \cdot 10^{-7}$	$5,0 \cdot 10^{-7}$
1	10^{-6}	$9,1 \cdot 10^{-8}$	$9,1 \cdot 10^{-7}$
10	10^{-6}	$9,9 \cdot 10^{-9}$	$9,9 \cdot 10^{-7}$





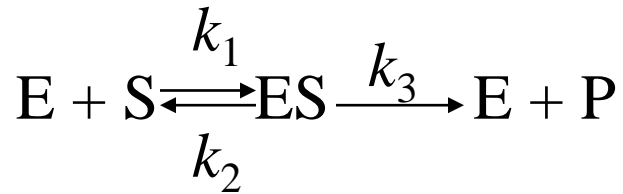
Se a etapa 3 for muito mais lenta que a etapa 1 e 2, as formas livres de E e S podem entrar em equilíbrio com ES e, então, podemos expressar a constante de dissociação de ES como K_s :

$$K_s = k_2/k_1 = [\text{E}].[\text{S}] / [\text{ES}]$$

K_s é inversamente proporcional a afinidade entre E e S (= K_m)

lembrar → sítio ativo é local de interações específicas entre S e E; é formado por aminoácidos envolvidos na formação do complexo ES e no mecanismo de catálise

Por outro lado, partindo do esquema



e supondo que existe um equilíbrio entre E, S e ES, que pouco S seja convertido em P e que $v = k_3[ES]$ deve existir uma relação entre v e [S]:

$$v_0 = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_s + [S]}$$

Esta equação (**Michaelis-Menten**) descreve justamente a relação entre v_0 e [S] observada experimentalmente

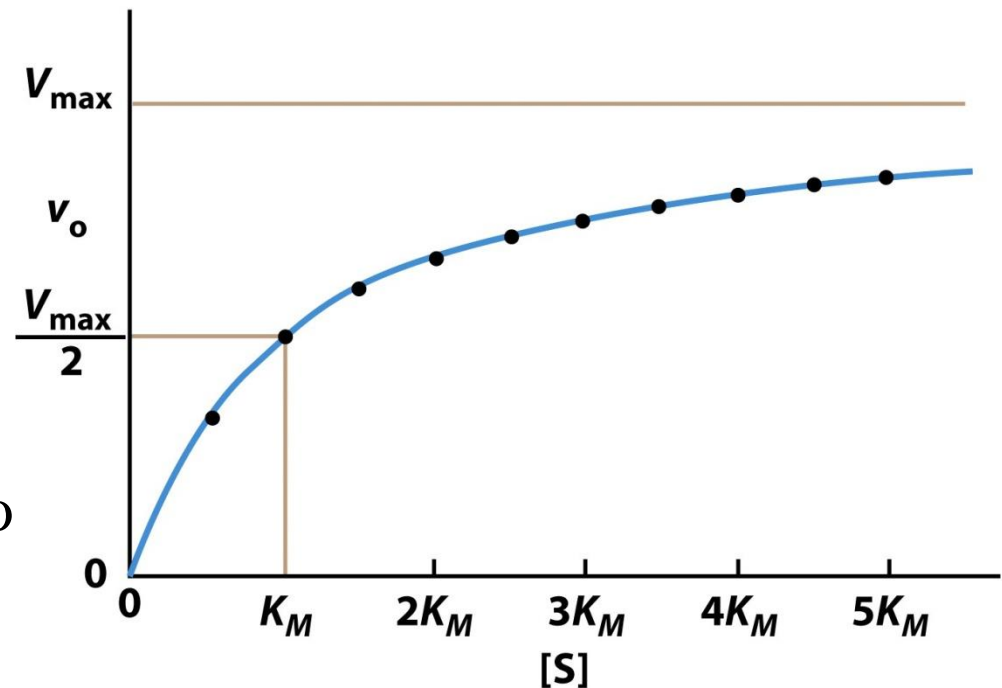


Figure 12-3 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Porque conhecer K_s ?

- comparar enzimas de diferentes fontes (tecidos, organismos, fase do ciclo de vida, etc...).
- comparar diferentes substratos de uma mesma enzima (relação com afinidade)

Porque conhecer V_{\max} ?

Para uma mesma preparação enzimática é possível comparar a velocidade de catálise para diferentes tipos de substrato ($V_{\max} \rightarrow k_3$).

Porque conhecer V_{\max}/K_s ?

Eficiência de catálise frente a diferentes substratos (**comparação real**)

Pode ser difícil determinar a V_{\max} : somente é atingido em $[S]$ infinita

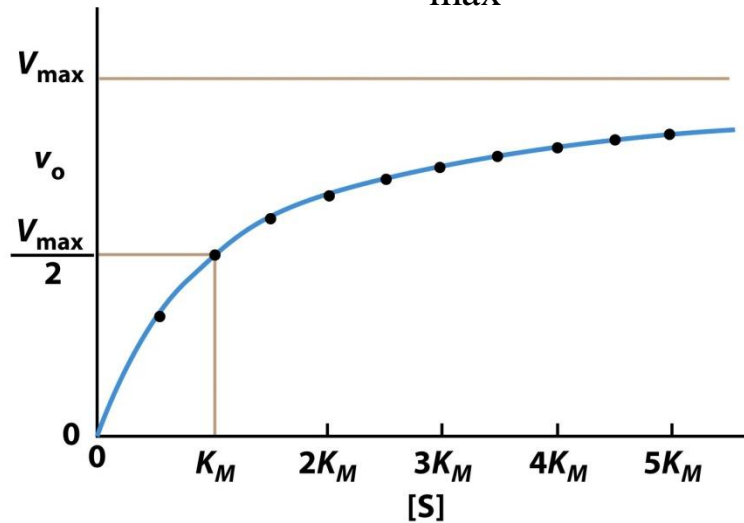
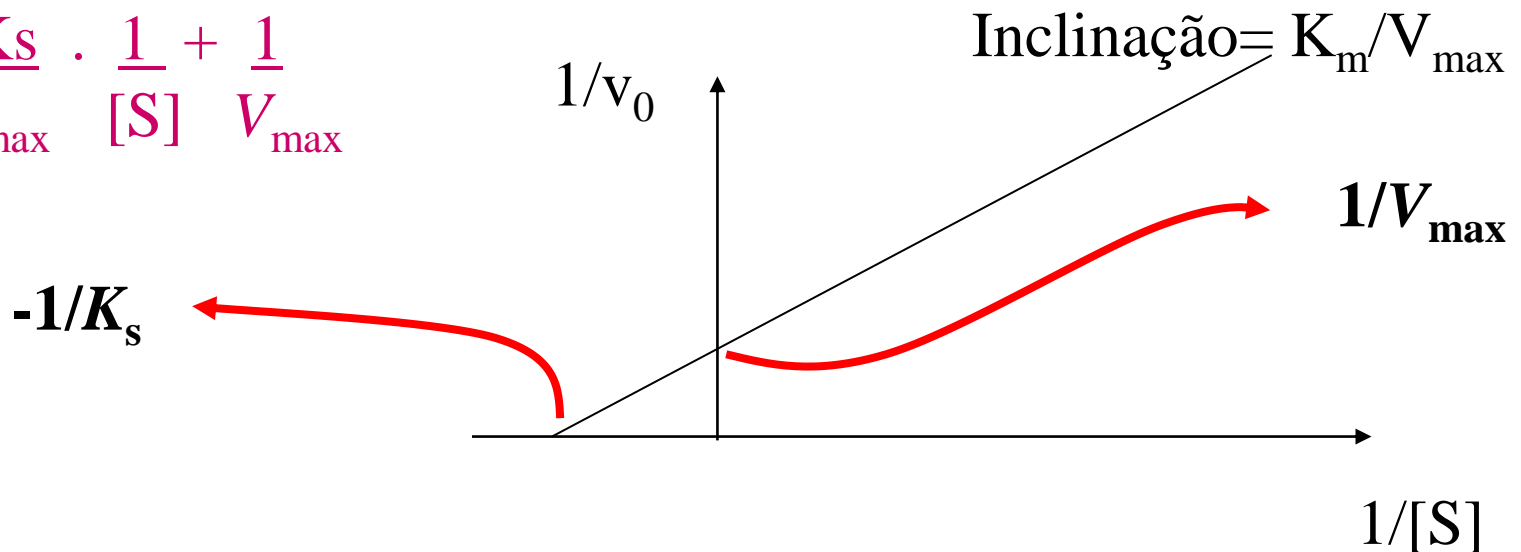


Figure 12-3 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Busca-se → Linearização da equação de Michaelis-Menten:
(gráfico do duplo recíproco : Plote de Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_s}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

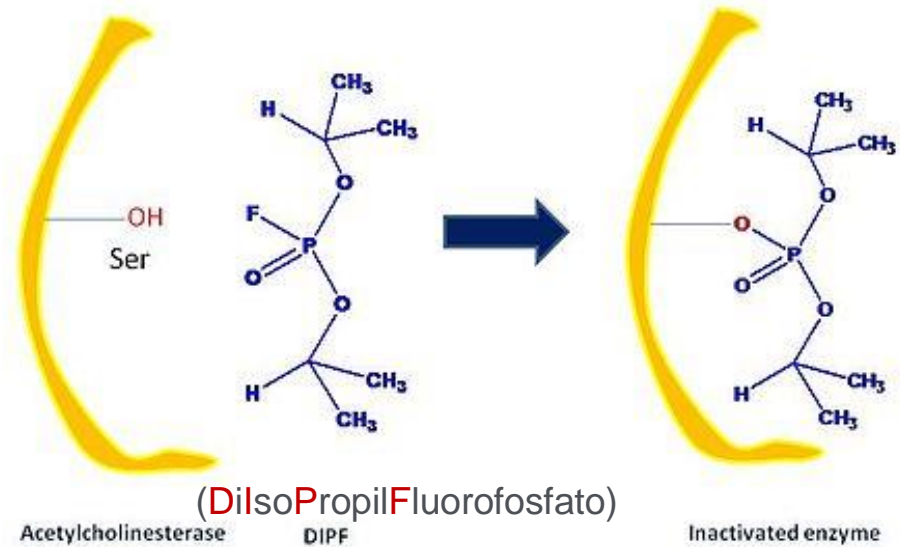


Inibidores irreversíveis

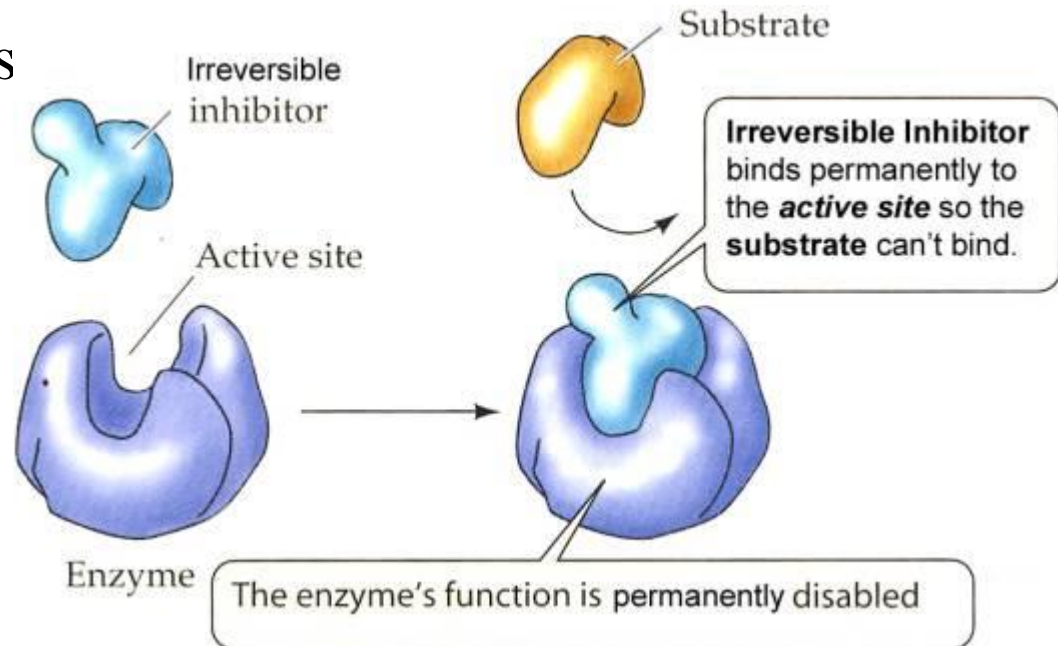
Arsênio (As)

Chumbo (Pb)

Venenos → Ex: DIFP



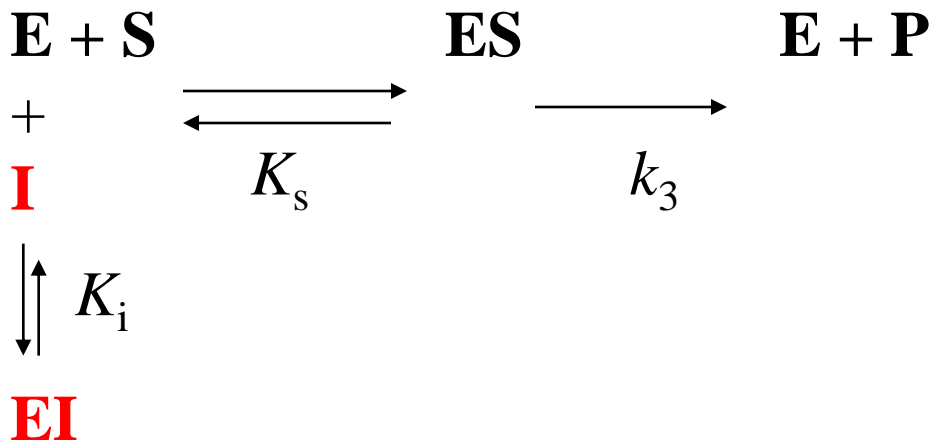
Ex: Proteínas



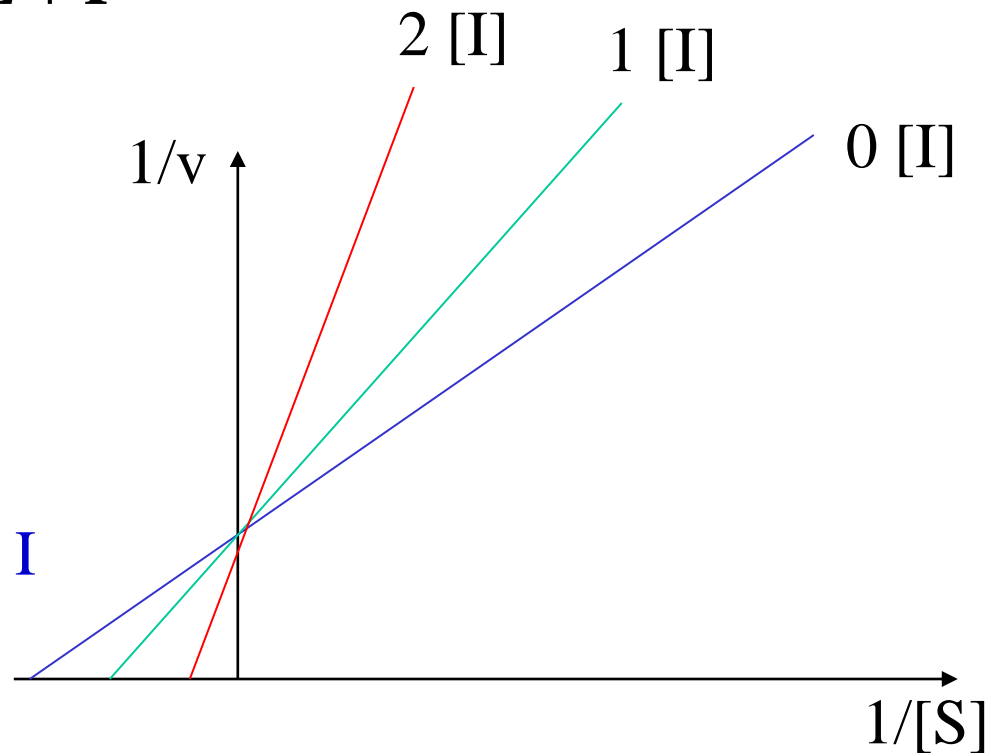
Inibidores reversíveis

Moléculas que reduzem a velocidade da reação catalisada por meio de uma interação reversível com a enzima

1. Reversíveis Competitivos



- Semelhança estrutural entre S e I
- K_i inversamente proporcional à afinidade entre E e I



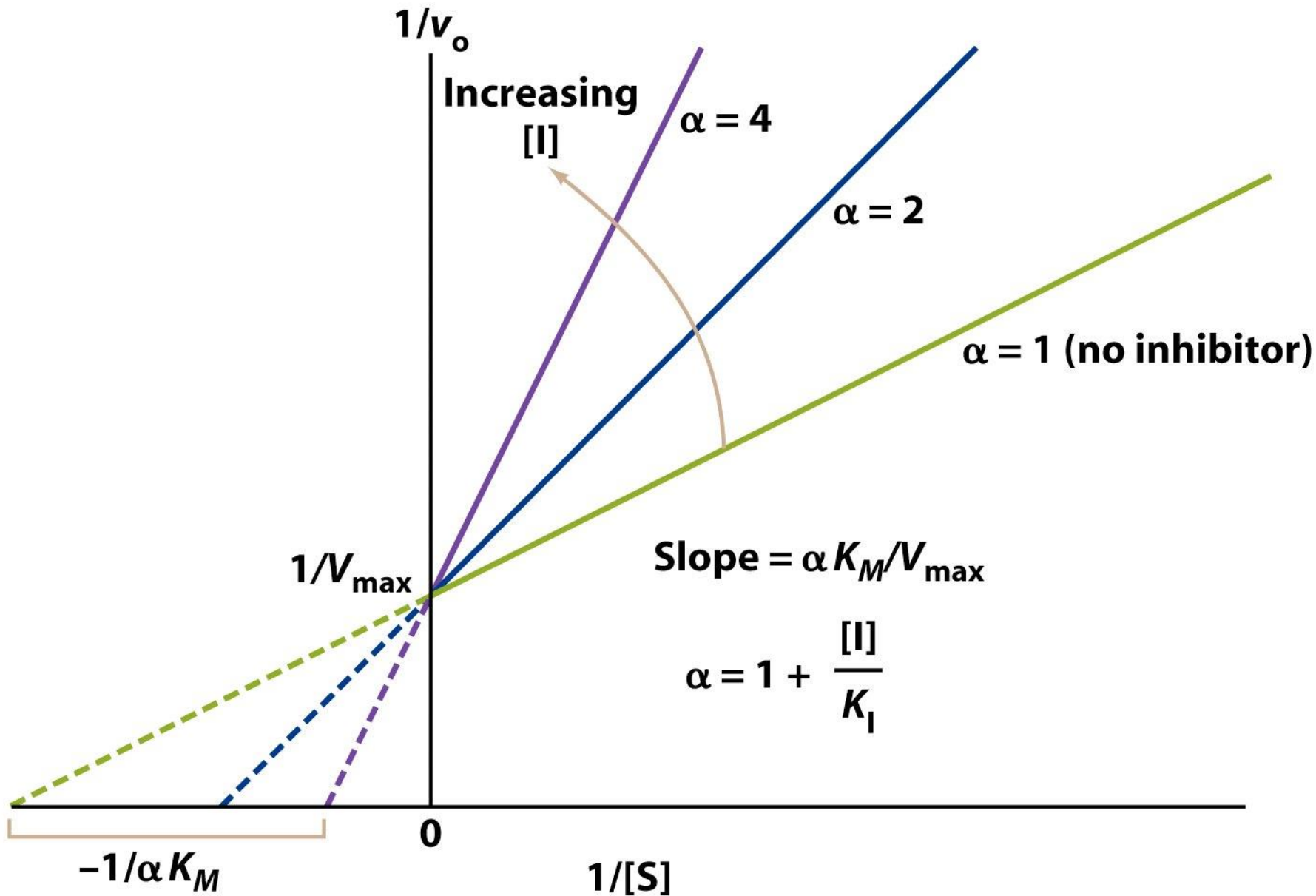
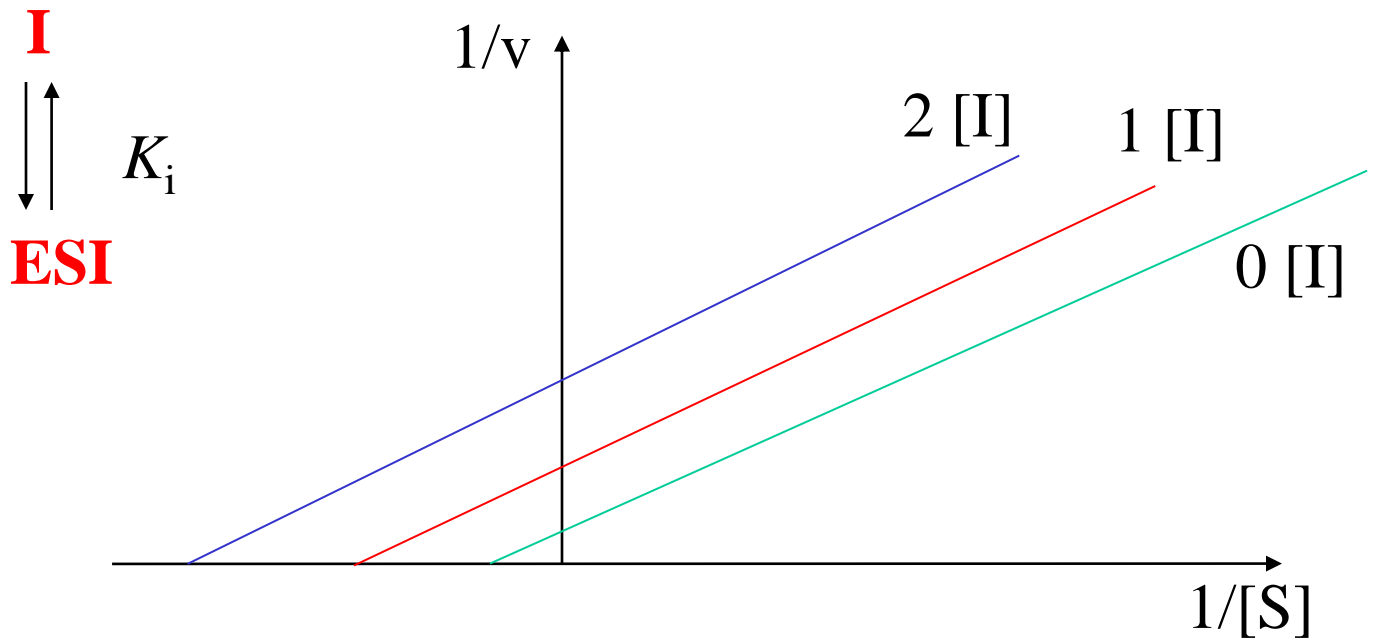


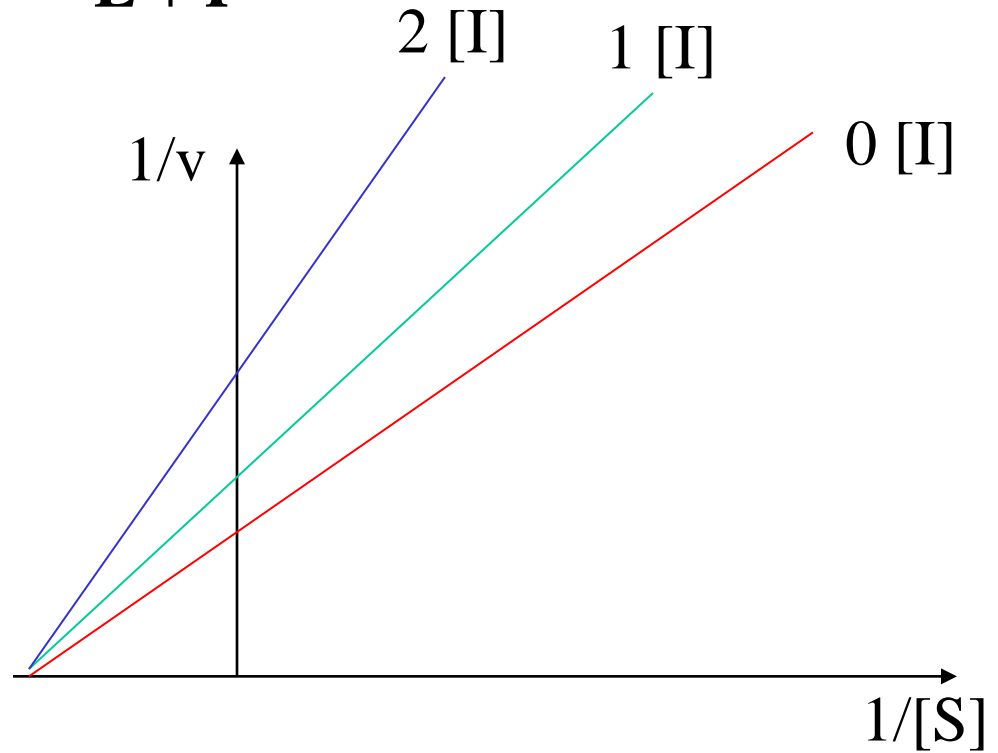
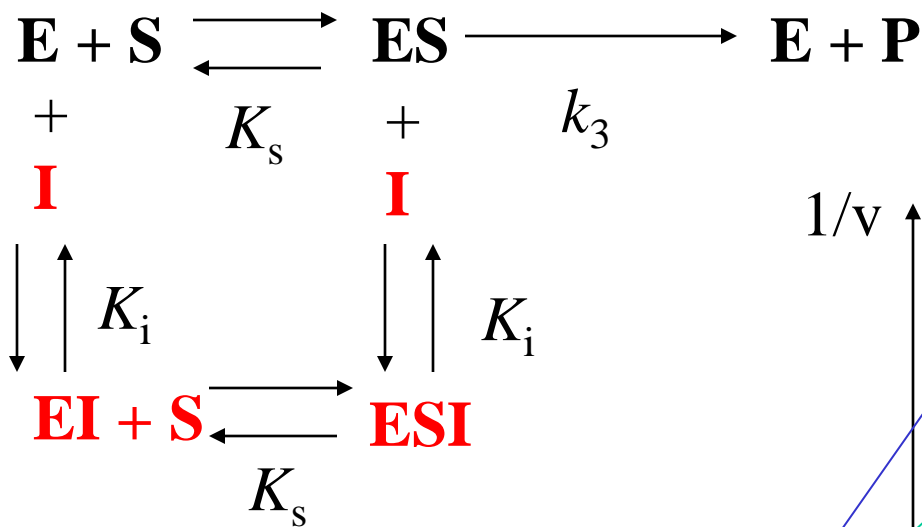
Figure 12-7 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
 © 2006 John Wiley & Sons

2. Reversíveis Acompetitivos



- Não há semelhança estrutural entre S e I
- K_i é inversamente proporcional à afinidade entre E e I

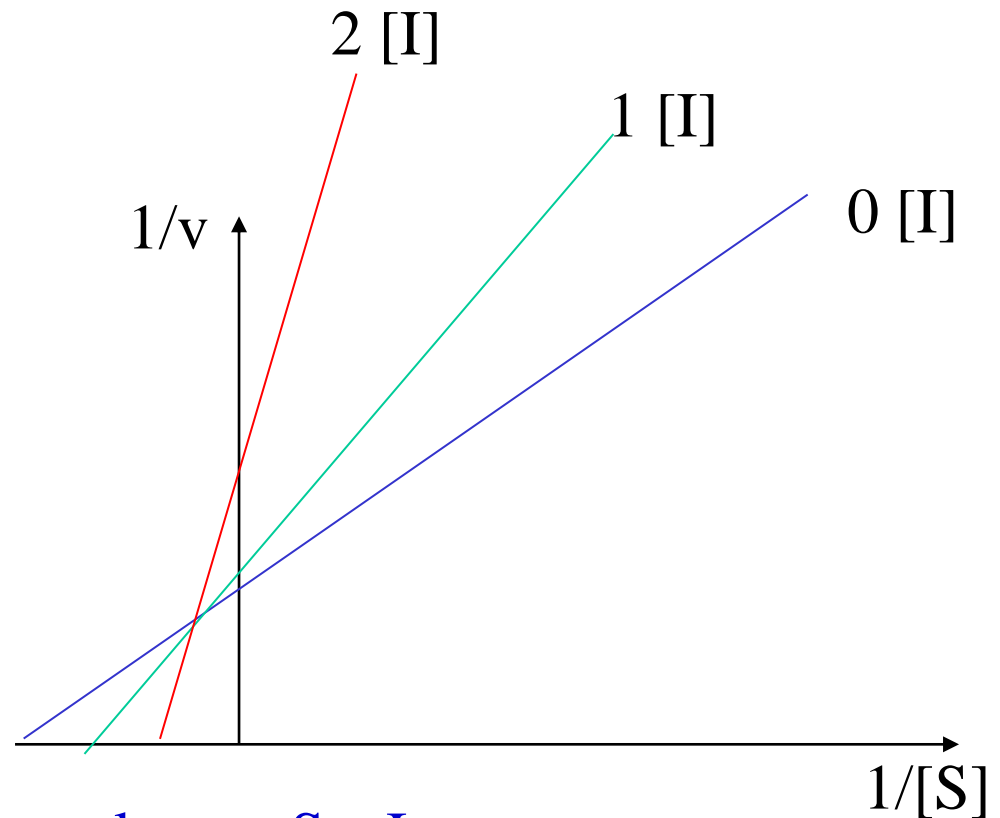
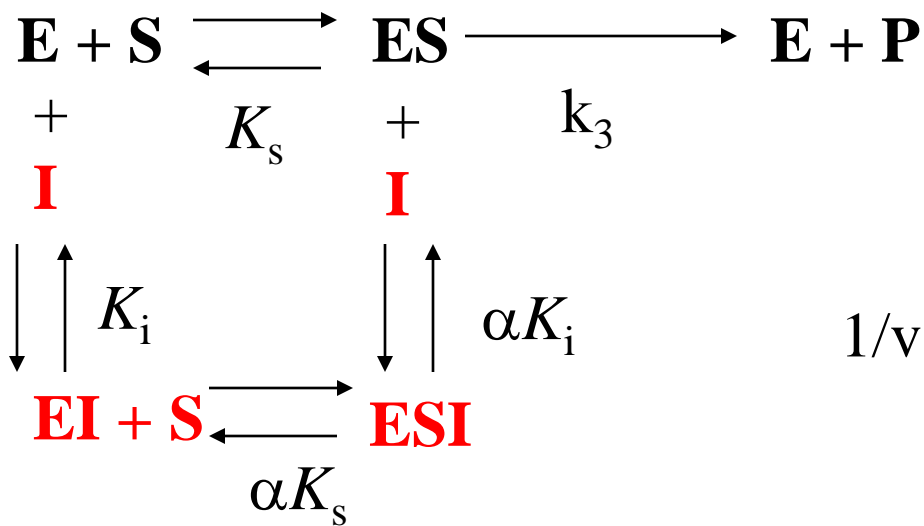
3. Reversíveis Não-competitivos



Não há semelhança estrutural entre S e I

K_i é inversamente proporcional à afinidade entre E e I

4. Reversíveis Do tipo misto



- Não há semelhança estrutural entre S e I
- K_i é inversamente proporcional à afinidade entre E e I