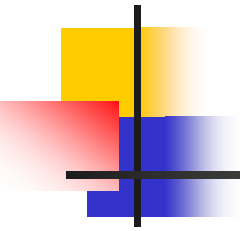


BIOQUÍMICA
BÁSICA EM IMAGENS
- um guia para a sala de aula

Enzimas

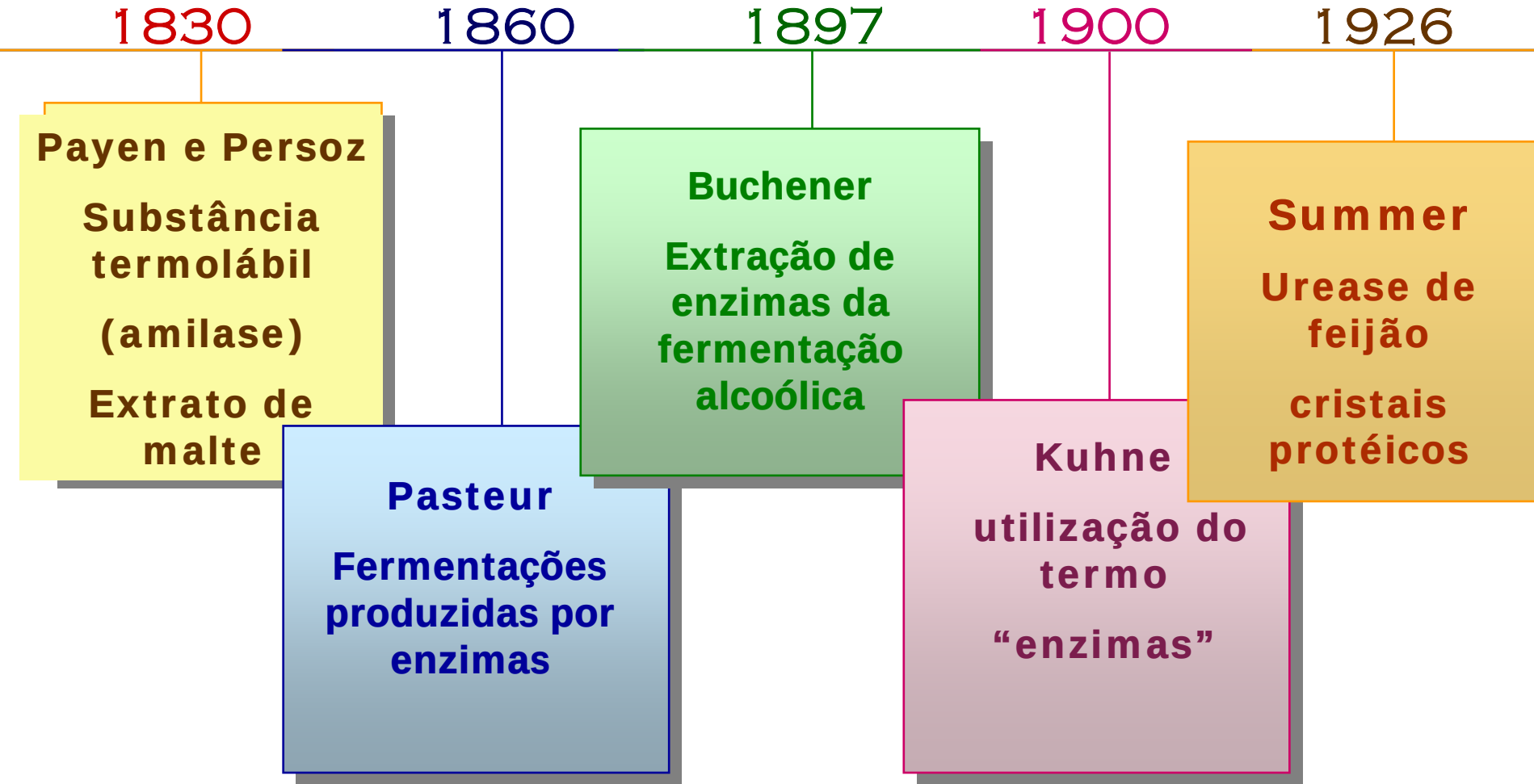


1. Introdução

- Generalidades

- Grande parte da história da pesquisa da bioquímica → enzimas (início séc. XIX)
- Etimologia da palavra → "in yeasts" (leveduras)
catálises biológicas → fermentação do açúcar em álcool
- Nos organismos vivos → reações muito lentas sem enzimas
- Reações enzimáticas → fundamentais para manutenção da vida

- Histórico



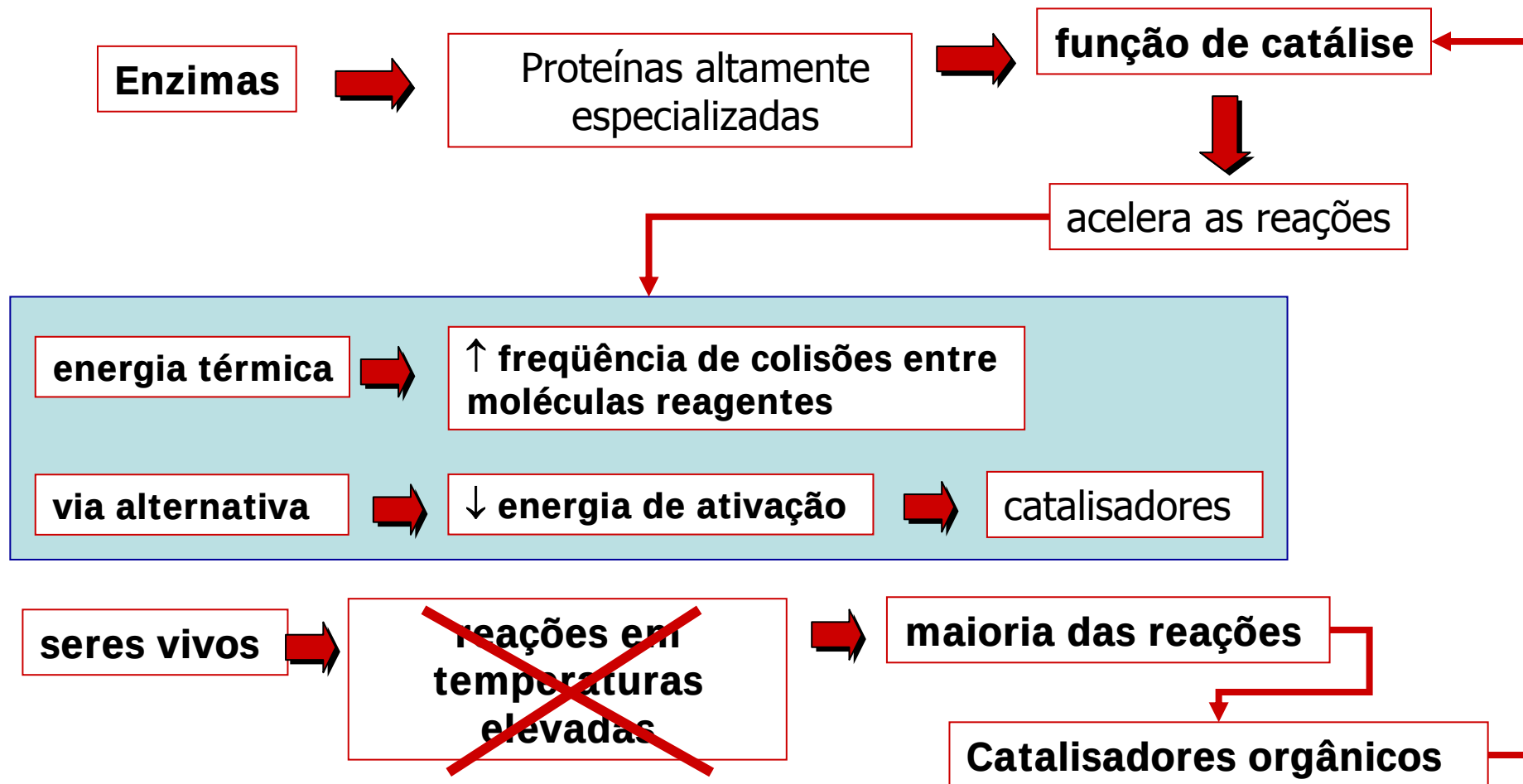
- Conceito

- **Catalisadores** biológicos de natureza protéica *
- com $\uparrow$ PM (estruturas 3^{ária}, 4^{ária})
- responsáveis diretas pela maioria das reações bioquímicas dos seres vivos

- Propriedades / características

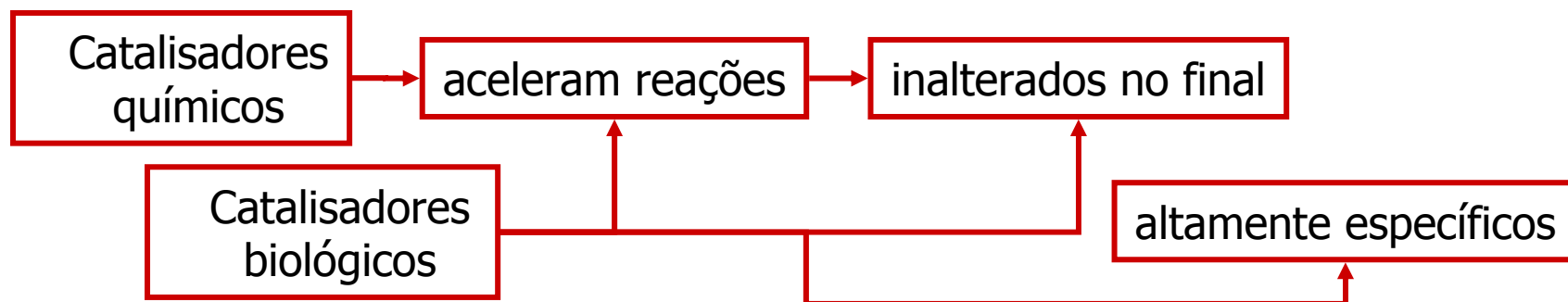
- Eficiência **catalítica** maior que os catalisadores químicos
- Alto grau de especificidade pelo substrato
- Funcionam em soluções aquosas
- Atuam em condições suaves de t° e pH
- Aparecem com estrutura inalterada ao final da reação
- Não alteram o equilíbrio químico das reações, apenas o aceleram
- Atuam em quantidades mínimas (qtde. $E < S$)

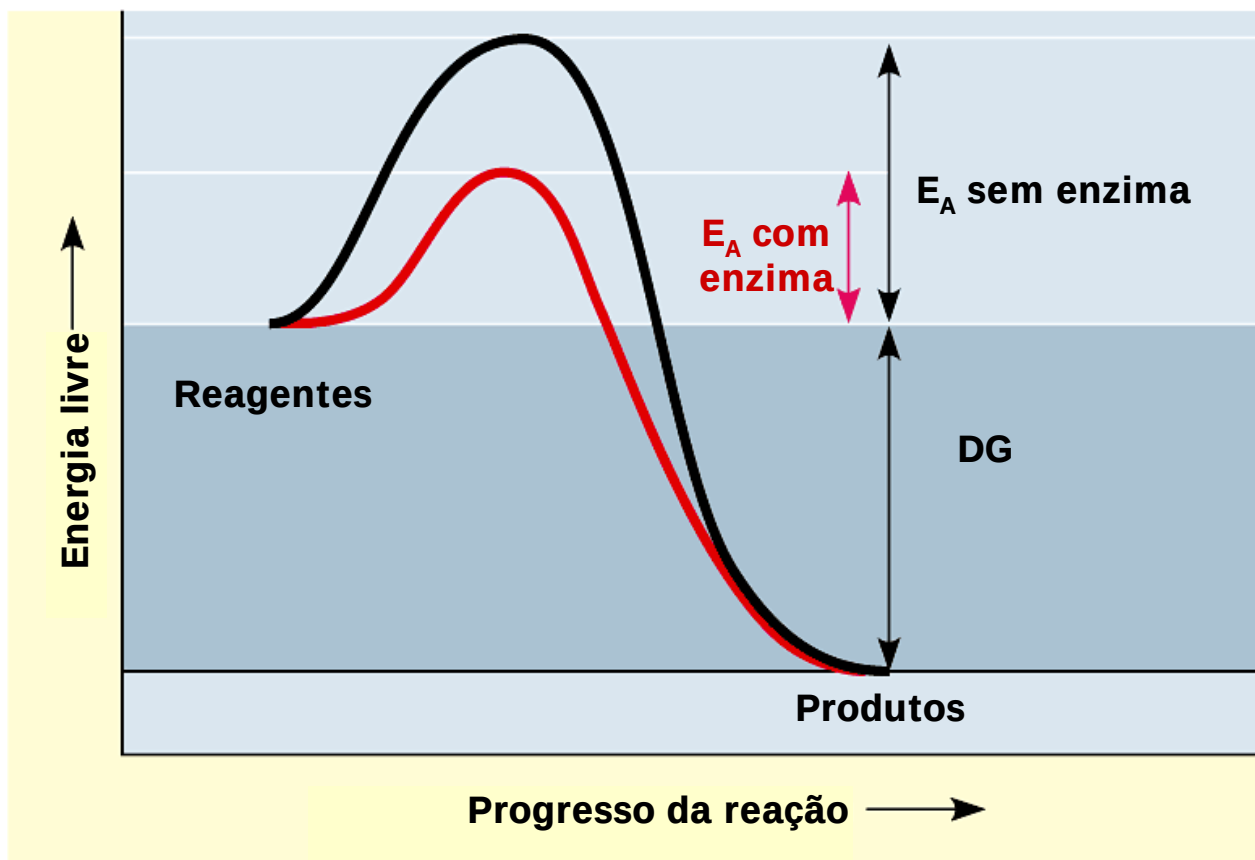
- Catálise química x catálise biológica



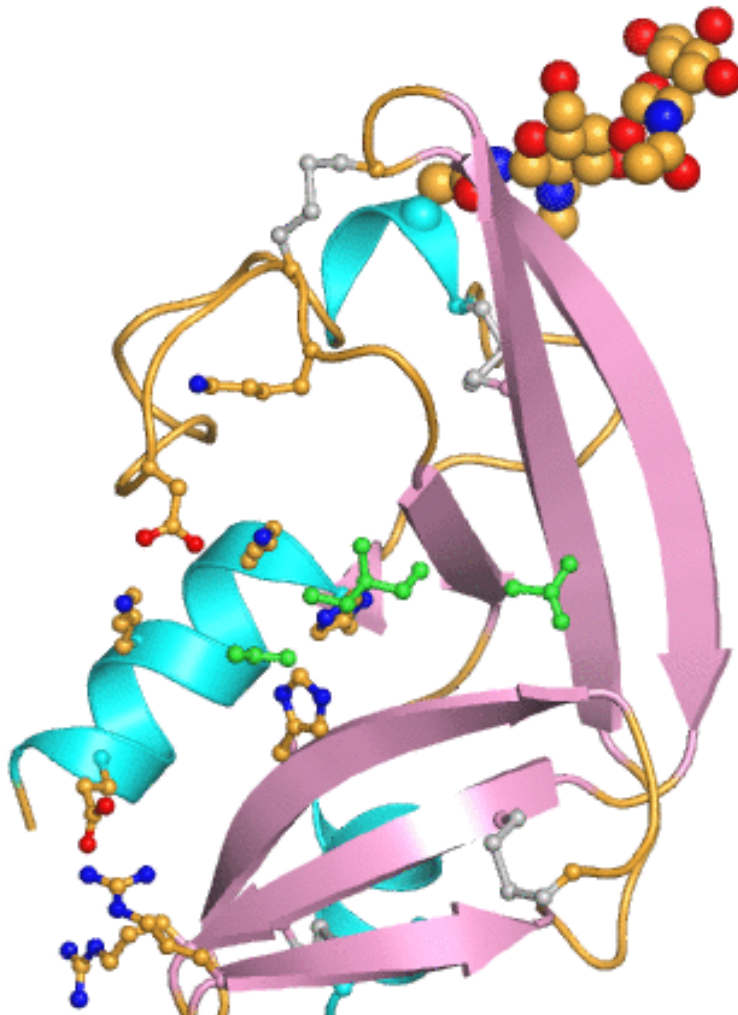
• Catálise química x catálise biológica

Reação	Catalisador	Energia de ativação (Kcal.M ⁻¹)
Decomposição de H ₂ O ₂	nenhum	18,0
	Platina coloidal	11,7
	Catalase	<2
Hidrólise da caseína	H ⁺	20,6
	Tripsina	12,0
Hidrólise da sacarose	H ⁺	25,7
	Invertase de levedura	11,0

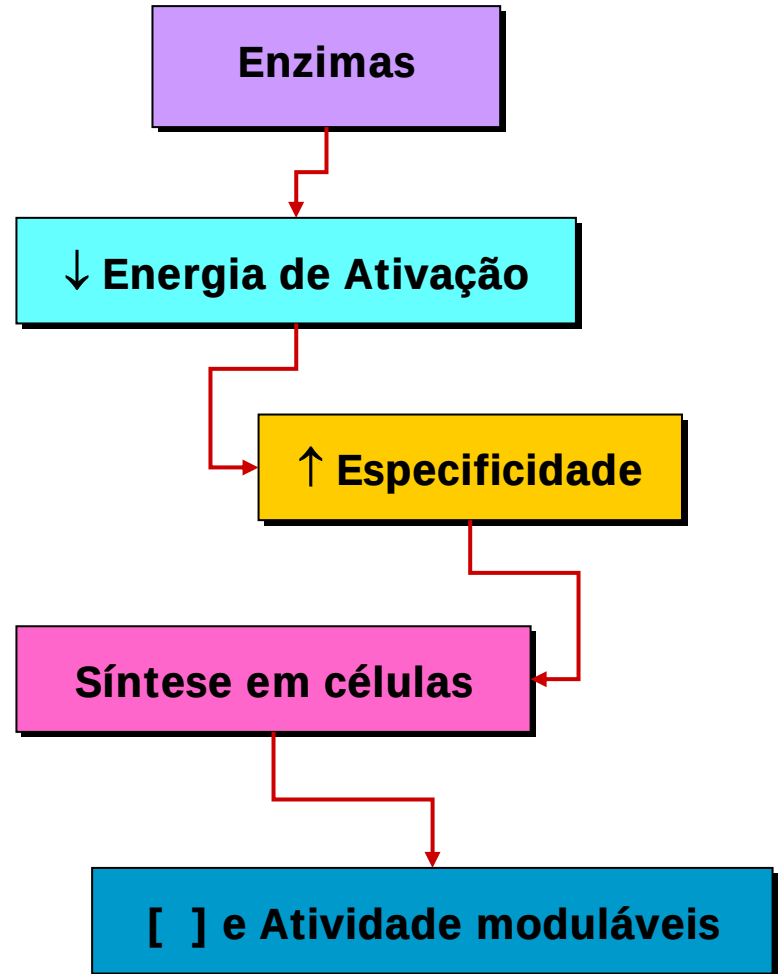




A função das Enzimas é $\downarrow$ a Energia de ativação de modo seletivo assim $\uparrow$ a velocidade das reações necessárias à sobrevivência da célula sem afetar o equilíbrio das reações

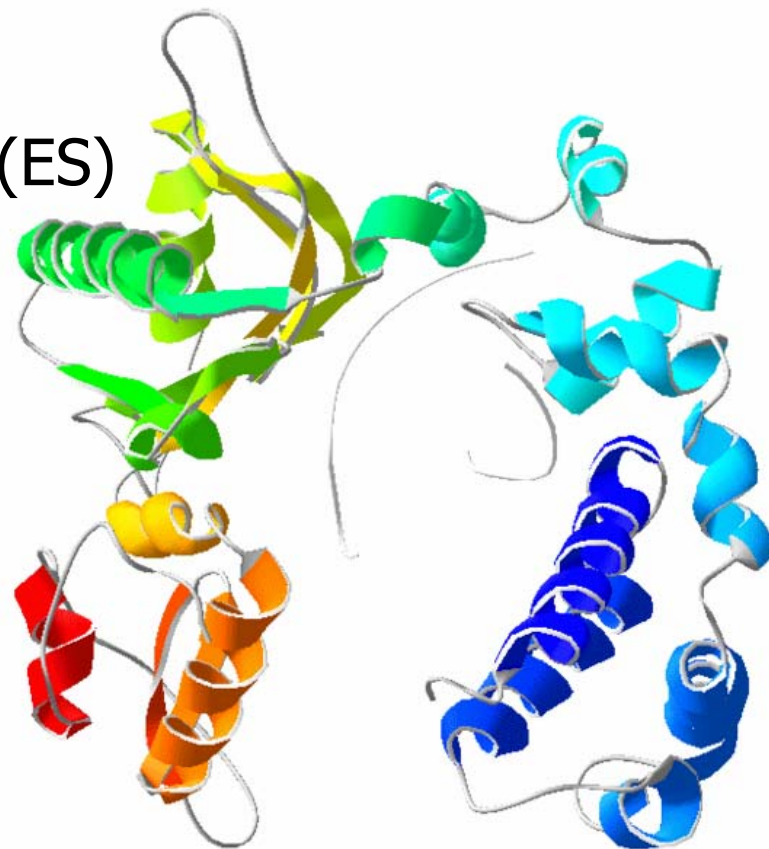


Amphinase – (sapo leopardo do norte -*Rana pipiens*): reconhece os oligossacarídeos das membranas de células tumorais e se ligam à sua superfície antes de invadir a célula e inativar o RNA nela contido, causando a morte do tumor.

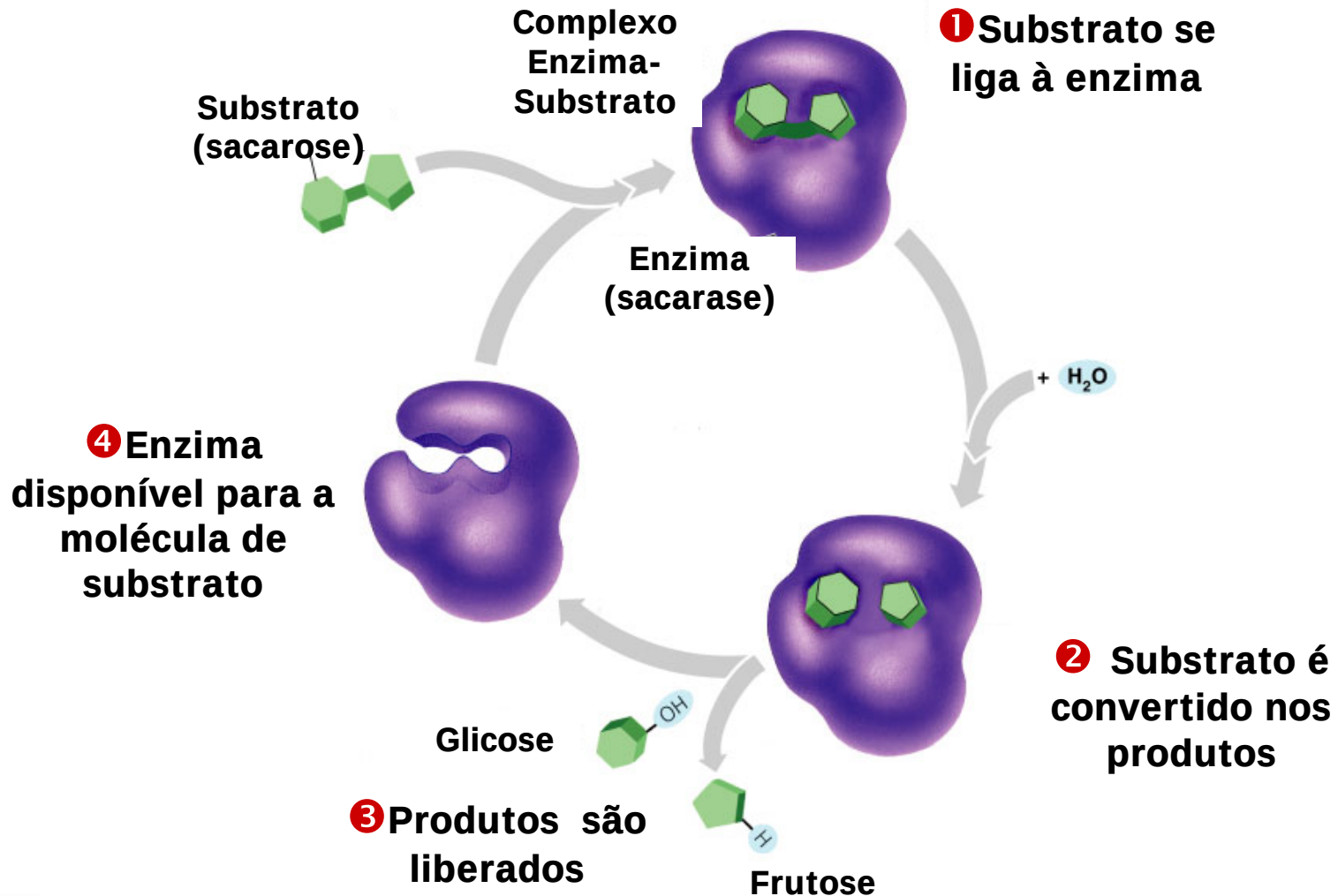


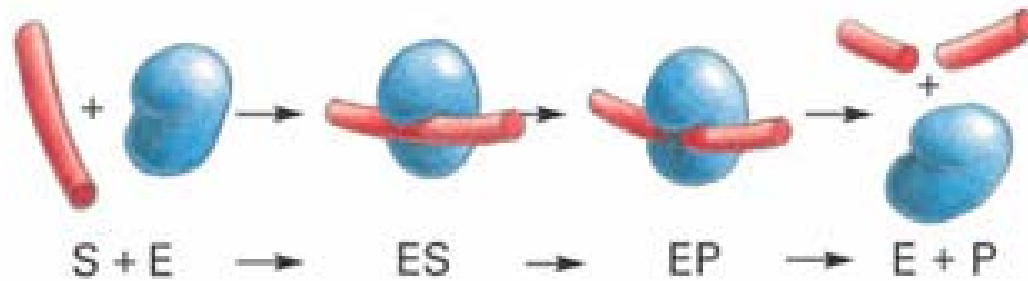
2. Mecanismo da reação enzimática

- Conceito
 - complexo enzima-substrato (ES)
- Componentes
 - Enzima (E)
 - Substrato (S)
 - Cofator
 - Outros

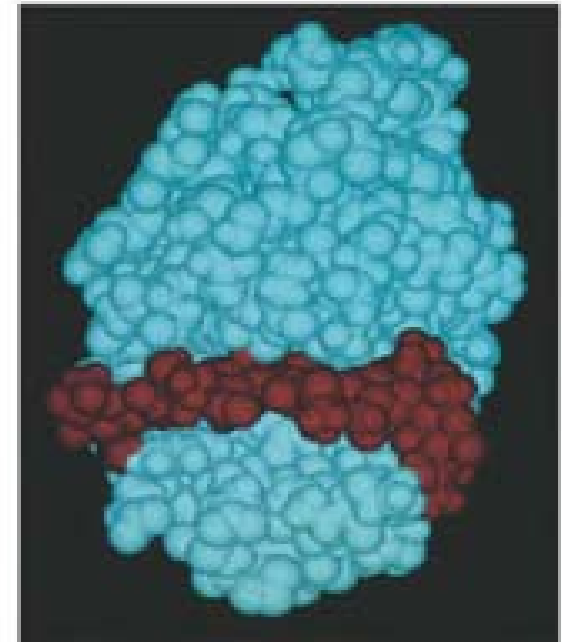


Estrutura da DNA polimerase (EC 2.7.7.7), uma das enzimas responsáveis pela síntese do DNA, um processo fundamental na replicação do material genético





(A)



(B)

Massas moleculares aproximadas de enzimas e seus substratos

Enzima	Substrato	Massa molecular aproximada
Catalase	H₂O₂	200.000
Urease	Uréia	34
Fosfofrutoquinase	Frutose-6-P	500.000
Glutamina sintetase	Glutamato	60
		380.000
		300
		600.000
		150

- Conceitos importantes

- Estado de transição

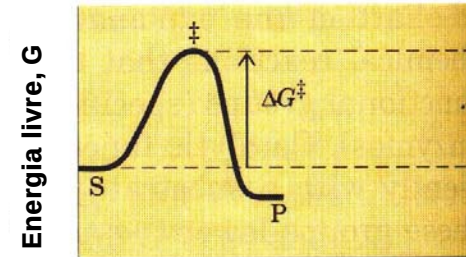
forma ativada de uma molécula, em que a mesma é capaz de sofrer uma reação (composto instável e de alta energia)

- Energia de ativação

quantidade de energia (cal) necessária para se levar 1 mol de uma substância ao estado de transição

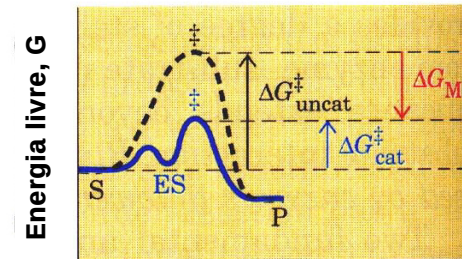
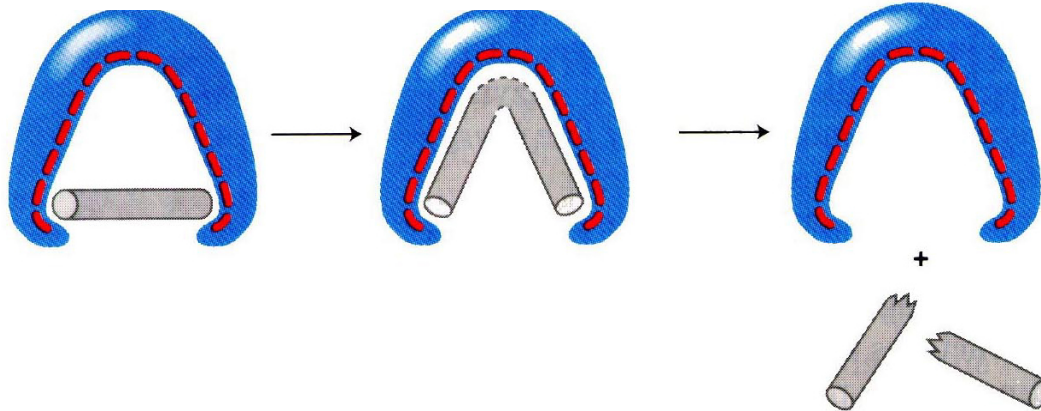
- 
- energia fornecida a um sistema p/ vencer a inércia química dos reagentes
 - barreira que separa R dos P
 - barreira energética p/ as reações químicas
 - crucial p/ a existência dos organismos vivos,
 - pois $\uparrow$ Energia ativação $\rightarrow \uparrow$ estabilidade molecular

Sem enzima



Progresso da reação

Com enzima



Progresso da reação

- Conceitos importantes

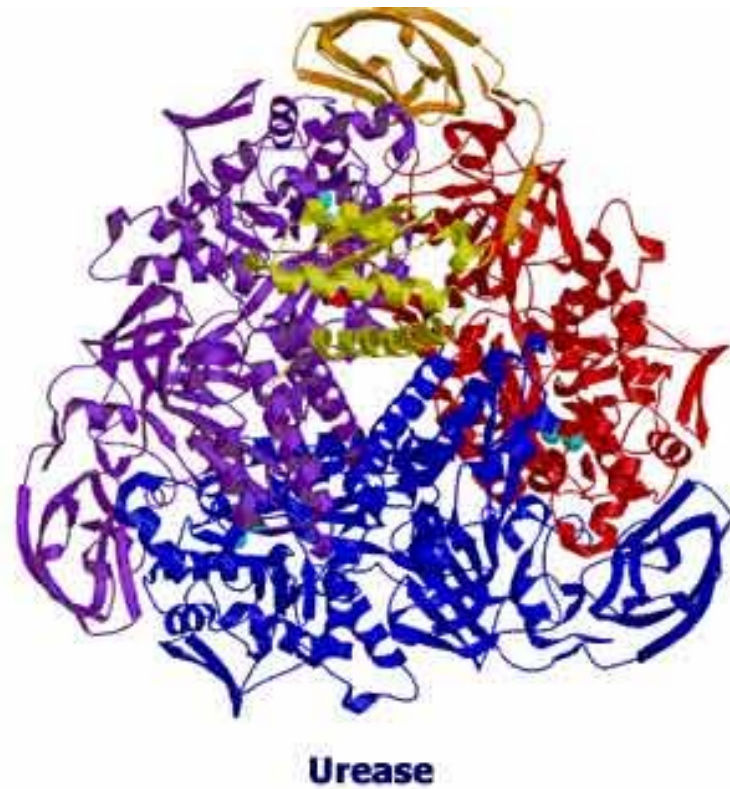
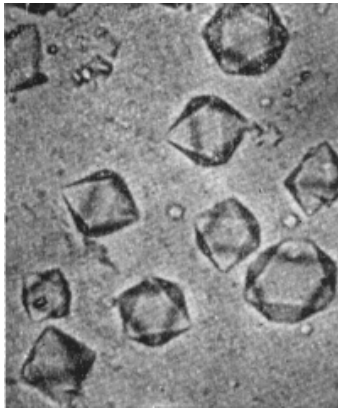
- Atividade enzimática

- É a dosagem de uma E, expressa em unidades (U)
- 1U = quantidade de E capaz de formar 1 μmol de P/min)
- (condições ótimas de pH, t° , ...)
- Determinada experimentalmente

- Número de catálise

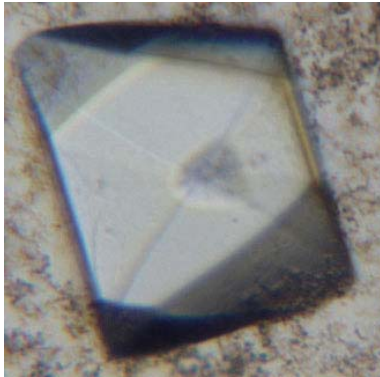
- n° moles de S que 1 mol de E catalisa por minuto
- n° de moles de P produzidos por 1 mol de E /min
- pode ser referido em termos moleculares
- número de renovação (*turnover number*)

- Número de catálise



A Urease catalisa 420.000 moles de uréia/min

- Número de catálise



A desidrogenase láctica catalisa 1.000.000 moles de lactato /min

3. Cofatores enzimáticos

- Conceito
- Tipos

a) Inorgânicos

Íons: Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , K^+ , Na^+

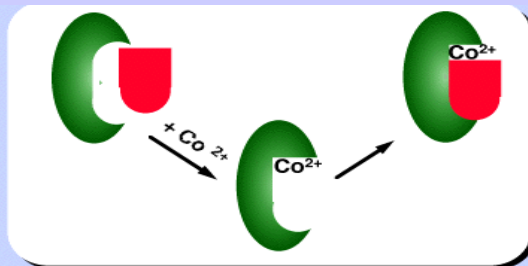
b) Orgânicos

Grupos prostéticos (fortemente ligados à E)
Ex: FAD

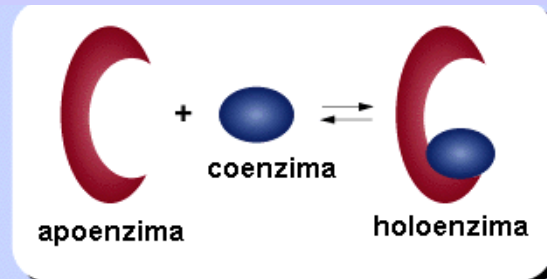
Coenzimas

Co-substrato (fracamente ligados à E)
Ex: NAD

cofator



coenzima



a) Cofatores inorgânicos – íons

Elemento	Enzima Ativada
Zn ⁺⁺	Deshidrogenases, anidrase carbônica, RNA e DNA polimerases
Mg ⁺⁺	Hexoquinase, Glicose-6-fosfato, Piruvato quinase, RUBISCO
Mn ⁺⁺	Arginases, peptidases, quinases
Mo	Nitrato redutase, nitrogenase
Fe ²⁺ , Fe ³⁺	Citocromos, catalases, ferredoxina, peroxidases, nitrito redutase
Cu ²⁺	Citocromo oxidase, tirosinase, ácido ascórbico oxidase, plastocianina
Ca ²⁺	1,3 β glucana sintetase, calmodulina
K ⁺	Piruvato fosfoquinase, ATPase
Co	Vitamina B ₁₂ encontrada em microorganismos e animais, mas não em plantas. Importante na fixação simbiótica de nitrogênio
Ni	Urease
Se	Glutathione peroxidase

b) Cofatores orgânicos – coenzimas

Vitaminas	Funções e Coenzimas Relacionadas	Enfermidades carenciais
C (ácido ascórbico)	Coenzima de algumas peptidases. Intervém na síntese de de colágeno	Escorbuto
B1 (tiamina)	Coenzima das descarboxilases e de enzimas que transferem grupos aldeídos	Beriberi
B2 (riboflavina)	Constituinte das coenzimas FAD e FMN	Dermatites e lesões nas mucosas
B5 (ácido pantotênico)	Constituinte da CoA	Fadiga e trastornos do sono
B3 (niacina)	Constituinte das coenzimas NAD e NADP	Pelagra
B6 (piridoxina)	Intervém nas reações de transferência de grupos amino.	Depressão, anemia
B12 (cobalamina)	Coenzima na transferência de grupos metil.	Anemia perniciosa
Biotina	Coenzima das enzimas que transfieren grupos carboxila, no metabolismo de aminoácidos.	Fadiga, dermatites

- Algumas coenzimas funcionam como transportadoras transientes de grupos funcionais ou de átomos específicos

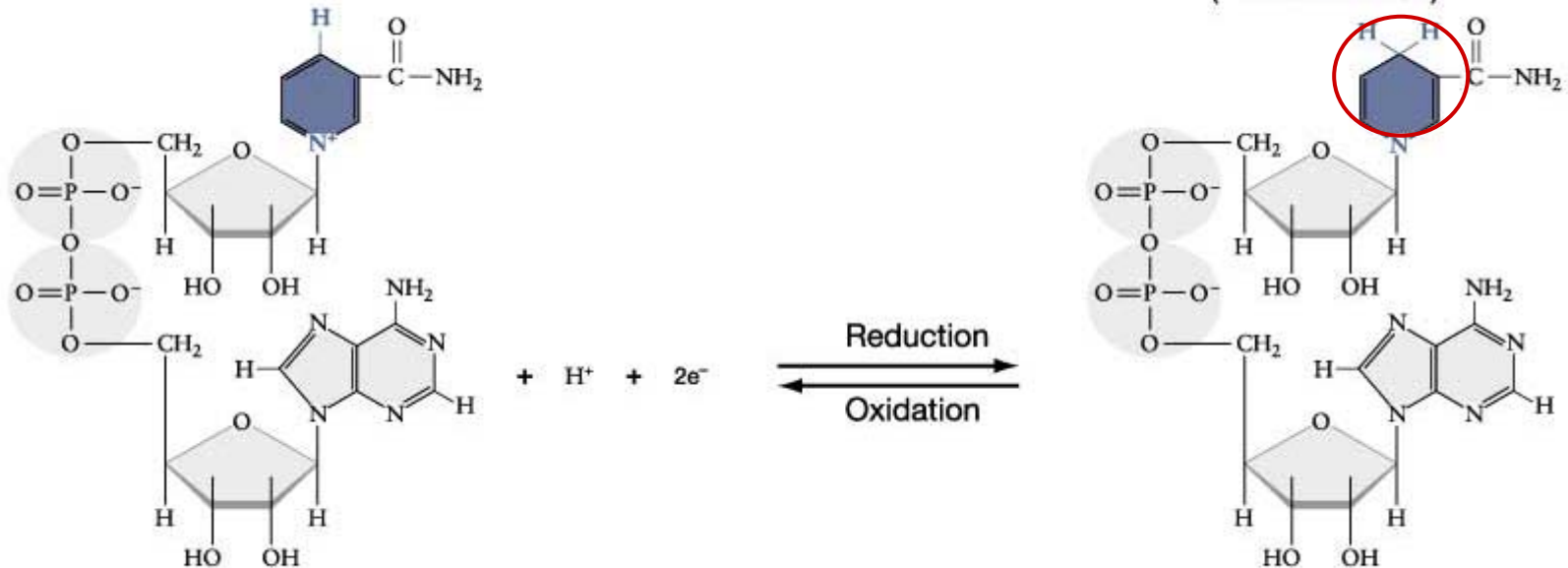
Coenzima	Alguns grupos químicos transferidos	Precusores dietéticos (mamíferos)
Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD)	Elétrons	Riboflavina (Vit. B ₂)
Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NAD)	Hidreto	Niacina (Vit. B ₅)
Coenzima A (CoA)	Grupos acila	Ác. pantotênico (Vit. B ₃)
Piridoxal fosfato (PYF)	Grupos amino	Piridoxina (Vit. B ₆)
Tiamina pirofosfato (TPP)	Aldeídos	Tiamina (Vit. B ₁)
Tetrahidrofolato	Un. Mono C	Ácido Fólico
Biocitina	CO ₂	Biotina



Apostila sobre Vitaminas

• Principais coenzimas

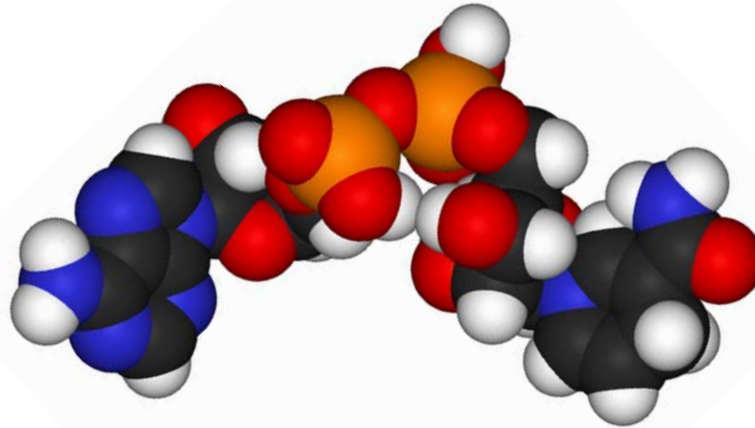
NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo)



- NAD^+ pode se reduzir a NADH^+ , ao receber elétrons (na forma de íon hidreto)
- A forma oxidada, NAD^+ , é reciclada pela transferência dos elétrons para a cadeia respiratória, enquanto ATP é produzido

- Principais coenzimas

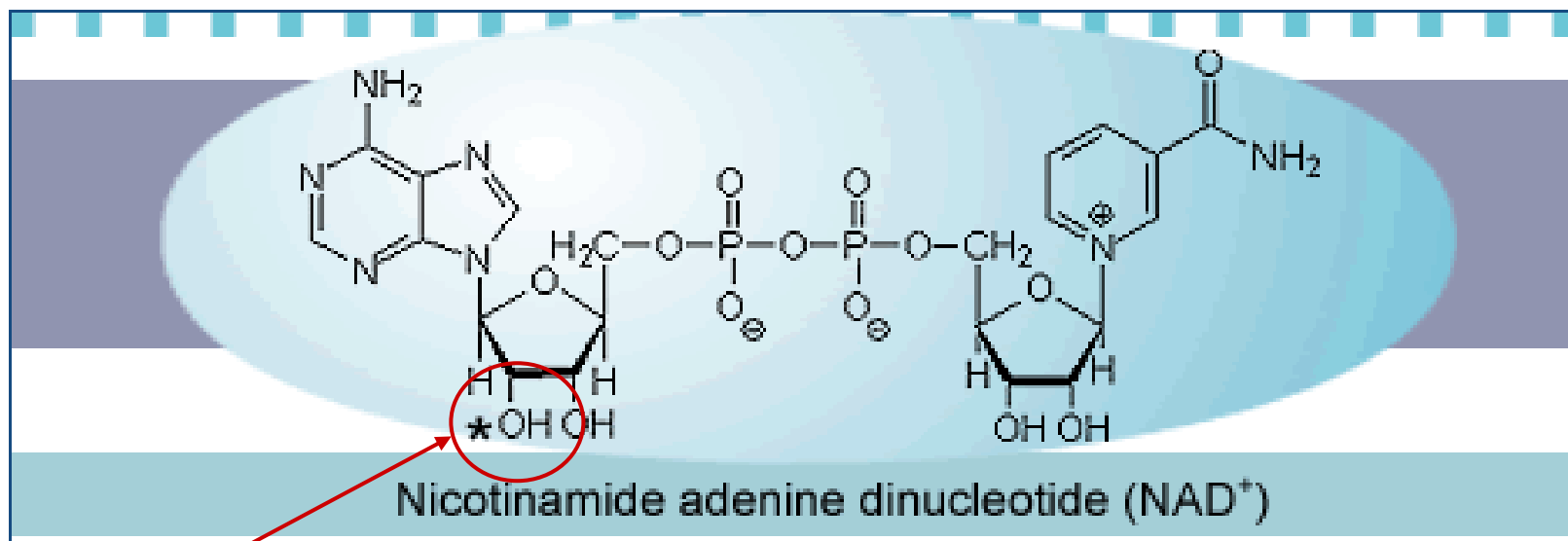
NAD
(nicotinamida adenina dinucleotídeo)



- NAD^+ pode se reduzir a NADH^+ , ao receber elétrons (na forma de íon hidreto)
- A forma oxidada, NAD^+ , é reciclada pela transferência dos elétrons para a cadeia respiratória, enquanto ATP é produzido

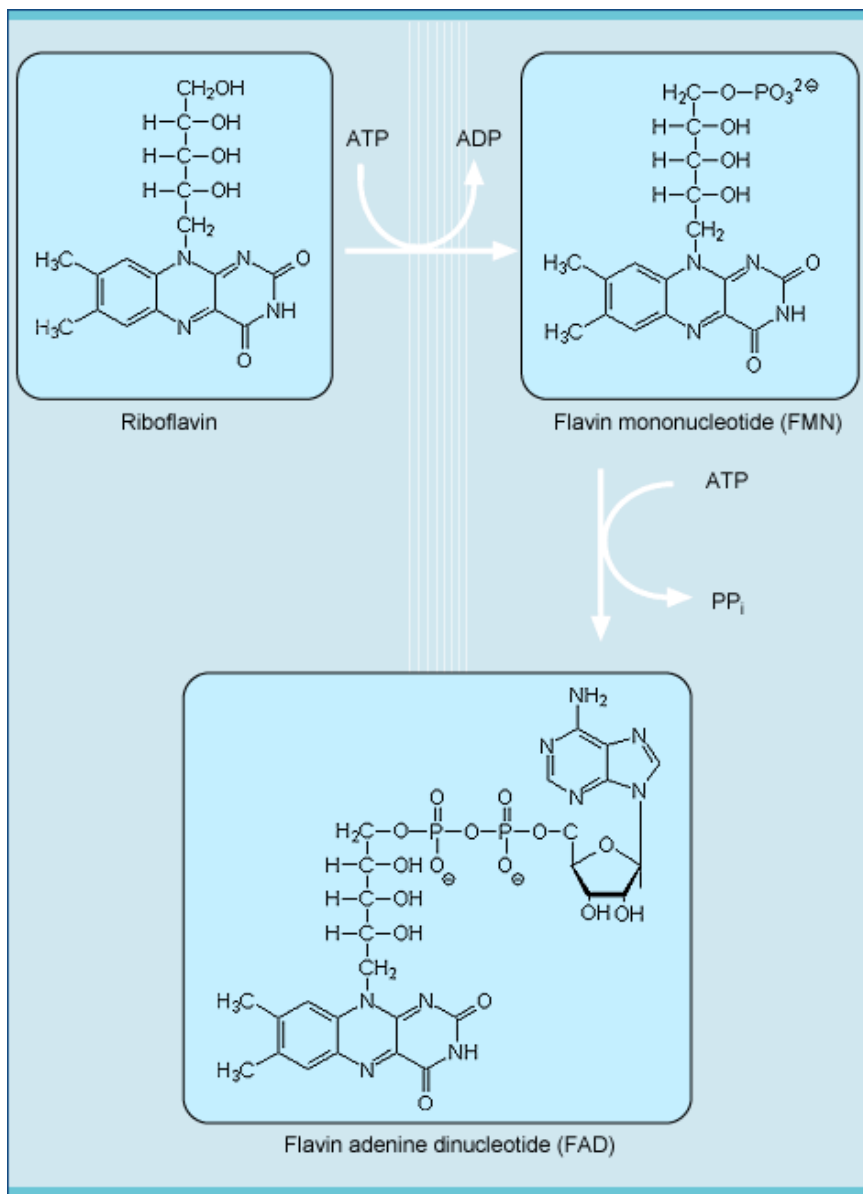
- Principais coenzimas

NADP
(nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato)

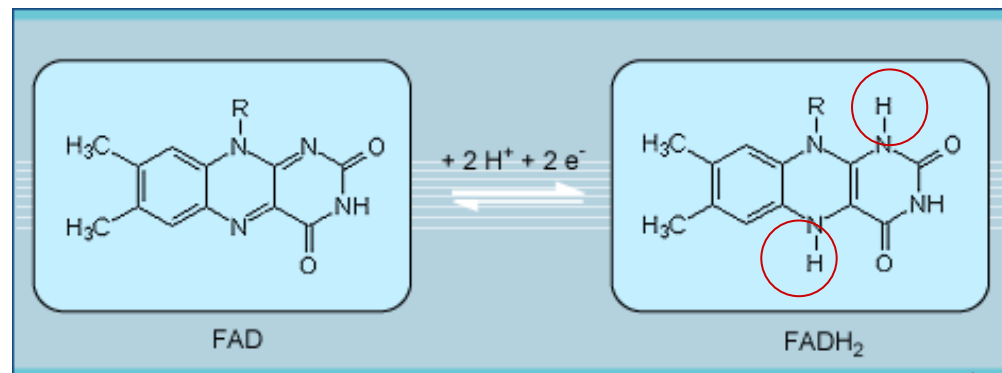


- NADP⁺ é sintetizado a partir do NAD⁺ pela fosforilação no O*, usando ATP
- NADP⁺ é obtido na via das pentoses fosfato e serve como agente redutor em vias biossintéticas redutivas.

• Principais coenzimas



• FMN (flavina mononucleotídeo)

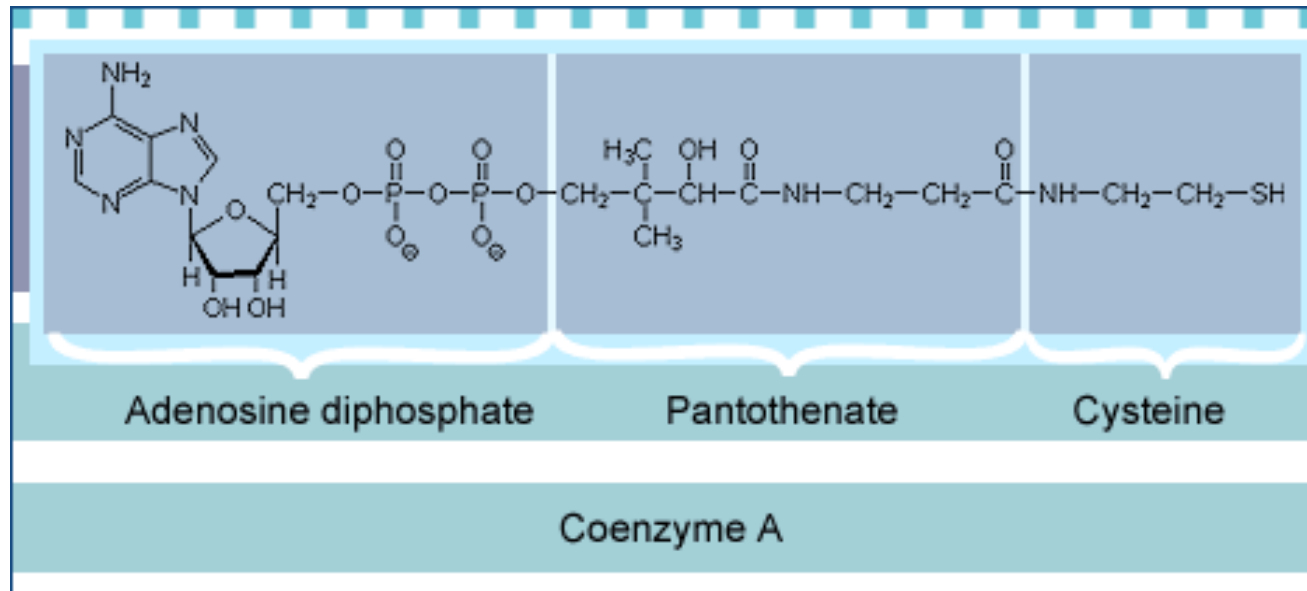


• FAD (flavina adenina dinucleotídeo)

- Coenzimas em reações de oxi-redução no metabolismo energético
- Mais de 50 flavoproteínas são conhecidas
- Podem aceitar elétrons de substratos ou então da coenzima NADH

- Principais coenzimas

CoA
(coenzima A)



- metabolismo de lipídeos (ativação de ácidos graxos e transporte de grupamentos ácidos)
- Ciclo de Krebs

4. Nomenclatura e classificação

- a) **Nome Usual** : Consagrado pelo uso
Exs: *Tripsina, Pepsina, Ptialina*
- b) **Nome Recomendado**: sufixo "ase" para caracterizar a enzima.
Exs: *Urease, Arginase, Fosfatase, DNA polimerase*
- c) **Nome Sistemático**: informações mais precisas sobre a função metabólica (International Union of Biochemistry and Molecular Biology – IUBMB)

6 Classes (Classificação Internacional)

Exs: *ATP:creatina fosfotransferase*
ATP-Glicose-Fosfo-Transferase

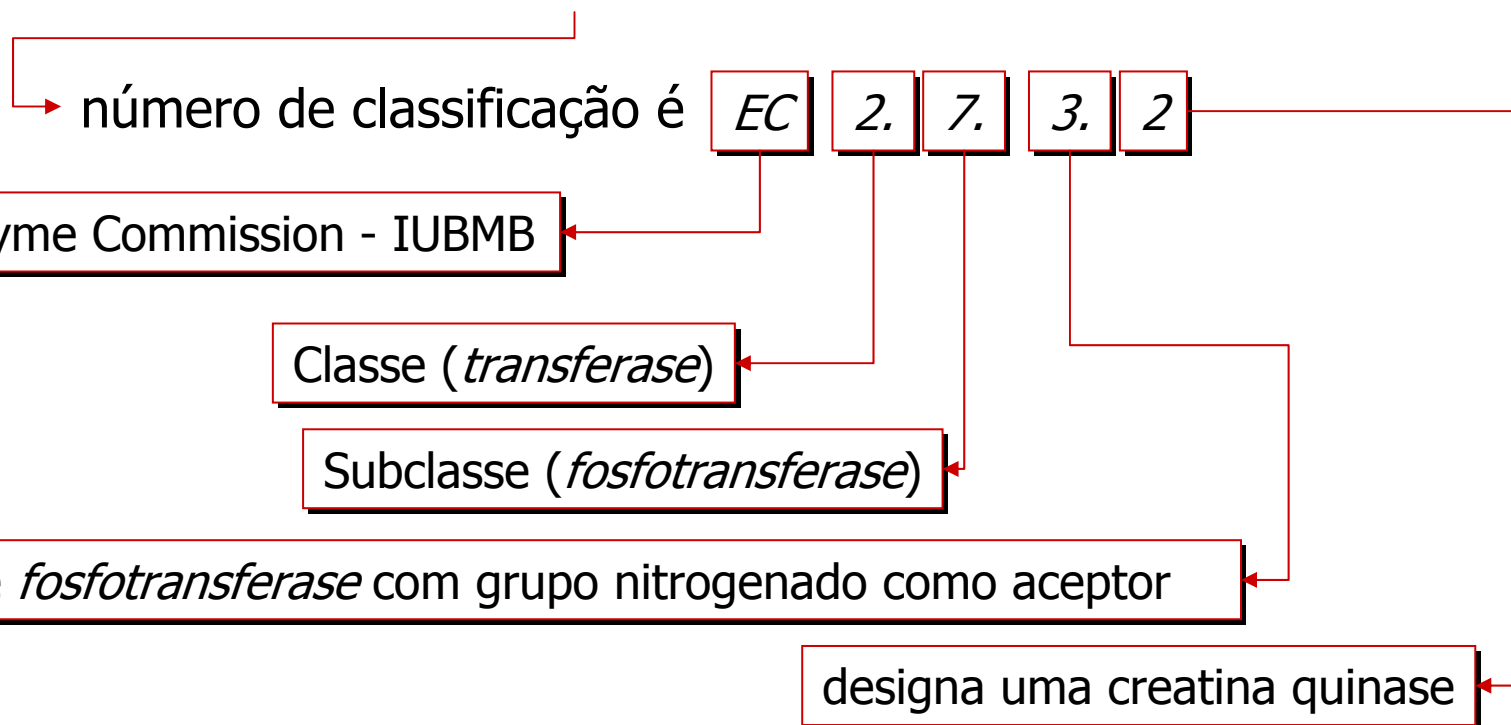


Texto sobre Nomenclatura e Classificação de Enzimas

• Exemplo



- Nome Recomendado: creatininaquinase
- Nome Sistemático: ATP:creatina fosfotransferase



1. **Oxido-redutases** (reações de oxidação-redução ou transferência de elétrons – *Desidrogenases* e *Oxidases*)

- 1.1.atuando em CH-OH
- 1.2.atuando em C=O
- 1.3.atuando em C=O-
- 1.4.atuando em CH-NH₂
- 1.5.atuando em CH-NH-
- 1.6.atuando em NADH, NADPH

2. **Transferases** (transferem grupos funcionais como amina, fosfato, acil, carboxil – *Quinases* e *Transaminases*)

- 2.1.grupos com um carbono
- 2.2.grupos aldeído ou cetona
- 2.3.grupos acil
- 2.4.grupos glicosil
- 2.7.grupos fosfatos
- 2.8.grupos contendo enxôfre

3. **Hidrolases** (reações de hidrólise de ligação covalente - *Peptidases*)

- 3.1.ésteres
- 3.2.ligações glicosídicas
- 3.4.ligações peptídicas
- 3.5.outras ligações C-N
- 3.6.anidridos ácidos

4. **Liases** (catalisam a quebra de ligações covalentes e a remoção de moléculas de água, amônia e gás carbônico – *Dehidratases* e *Descarboxilases*)

4.1. $=C=C=$

4.2. $=C=O$

4.3. $=C=N-$

5. **Isomerases** (reações de interconversão entre isômeros óticos ou geométricos - *Epimerases*)

5.1. racemases

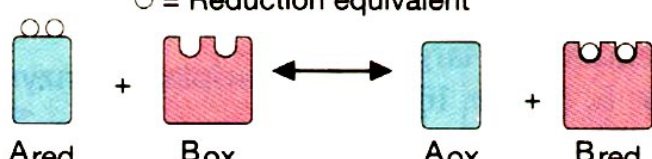
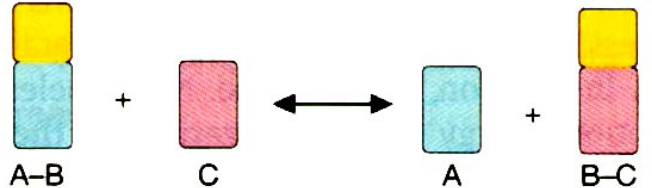
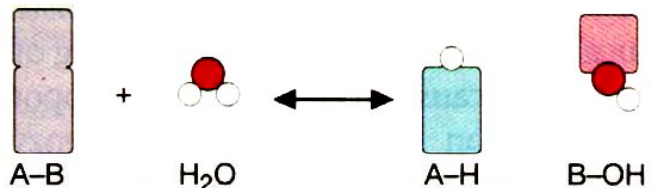
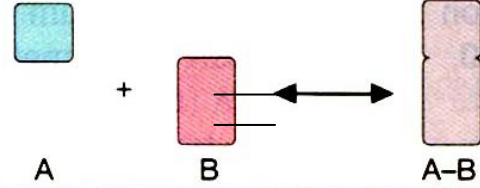
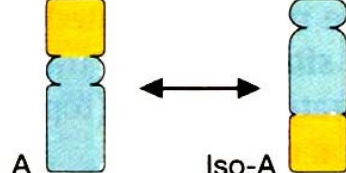
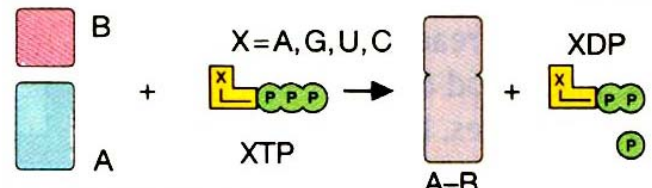
6. **Ligases** (catalisam reações de formação de novas moléculas a partir da ligação entre duas pré-existentes, sempre às custas de energia - *Sintetases*)

6.1. C-O

6.2. C-S

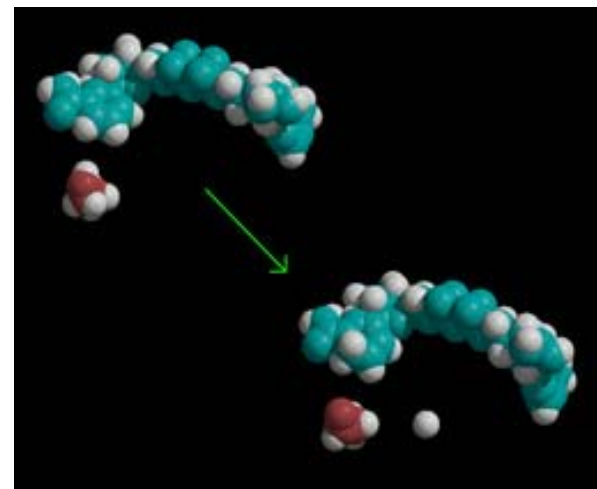
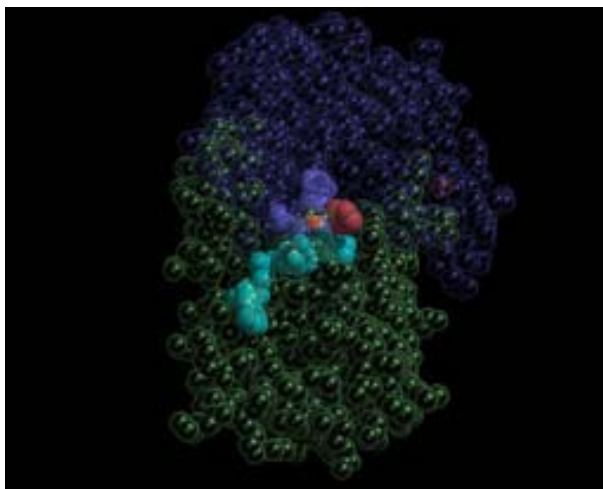
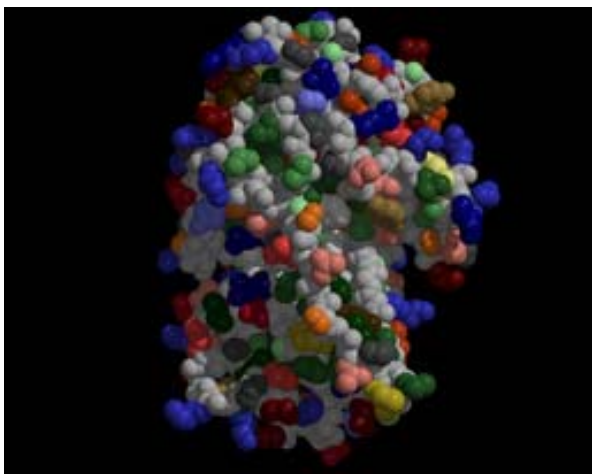
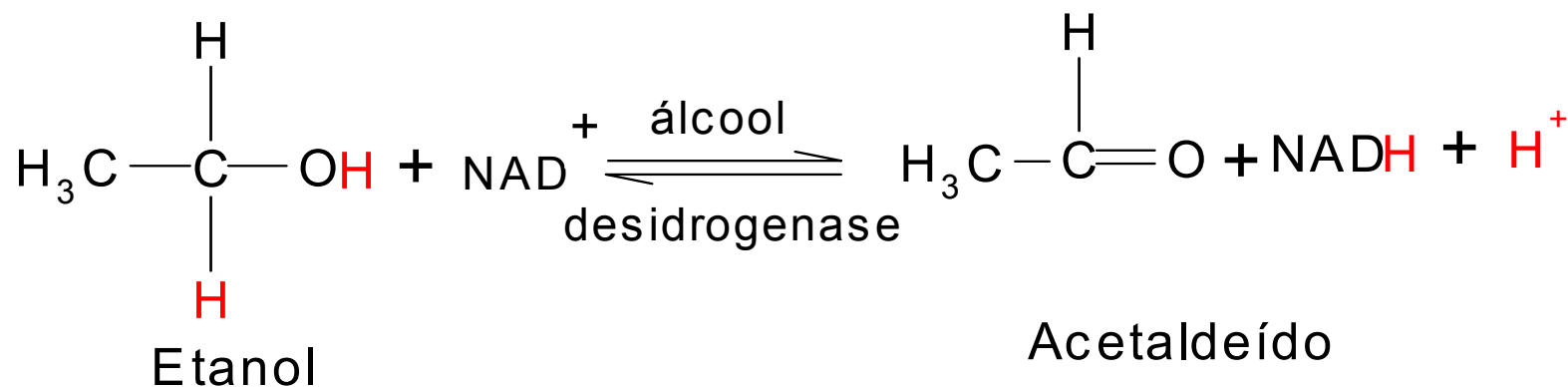
6.3. C-N

6.4. C-C

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	○ = Reduction equivalent  A_{red} + B_{ox} ↔ A_{ox} + B_{red}	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases, dioxygenases
2 Transferases	 A-B + C ↔ A + B-C	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	 A-B + H₂O ↔ A-H + B-OH	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	 A + B ↔ A-B	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	 A ↔ Iso-A	Epimerases <i>cis-trans</i> -Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	 B + A + XTP → A-B + XDP X = A, G, U, C	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

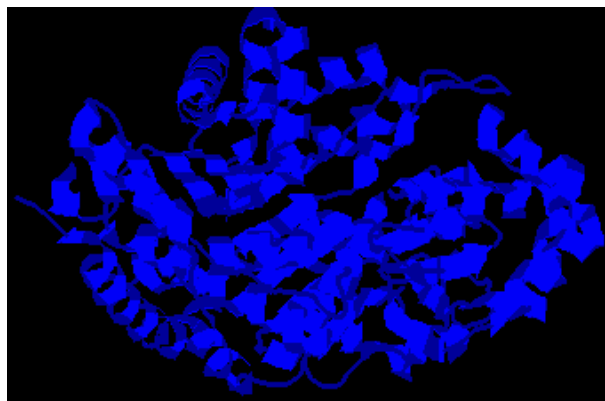
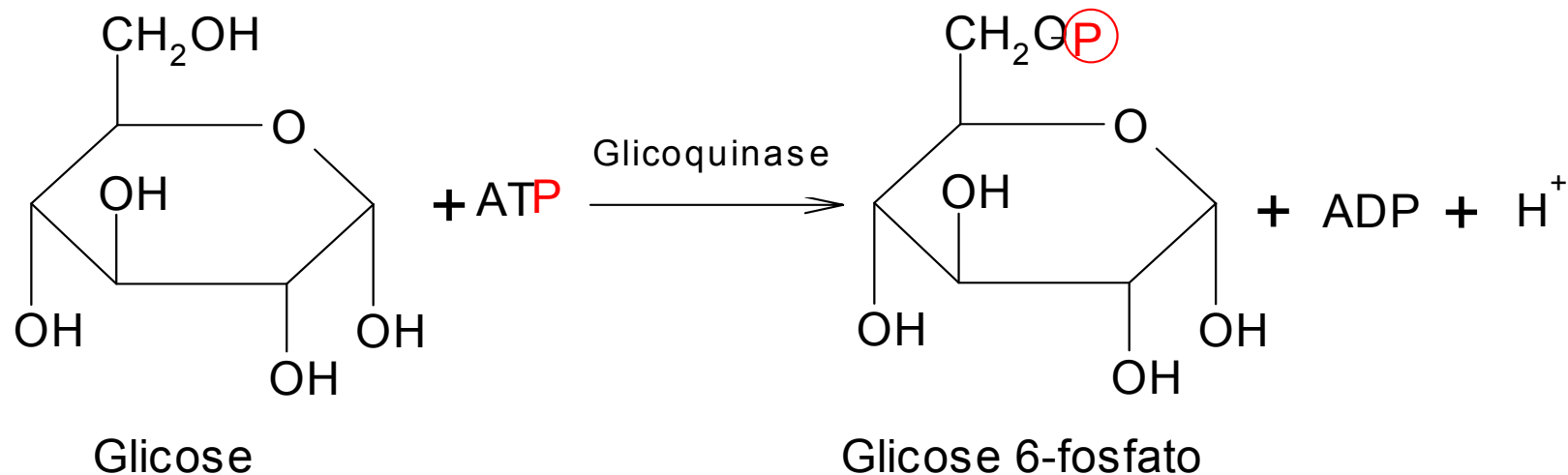
1. Oxidoredutases



Alcool Desidrogenase (ADH) - E.C. 1.1.1.1

- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

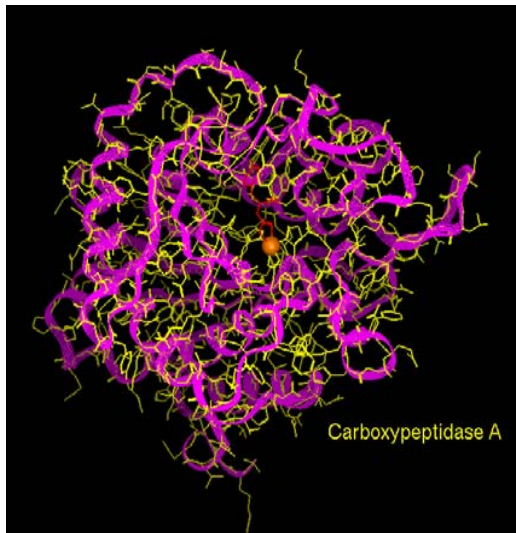
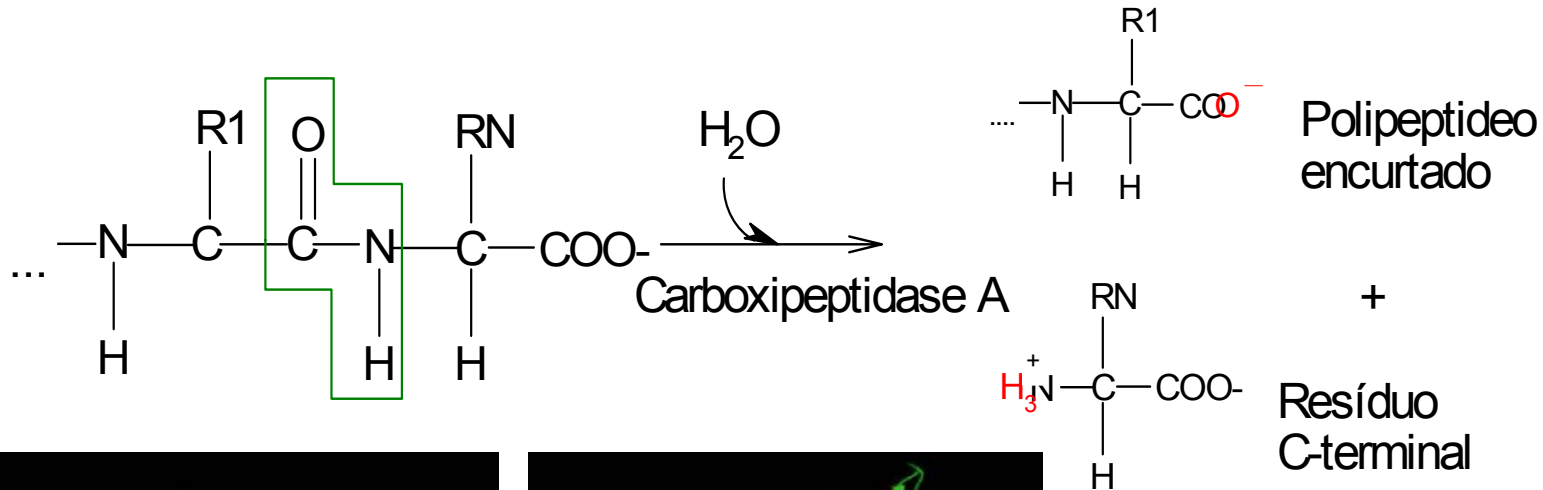
2. Transferases



Glicoquinase - EC 2.7.1.2

- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

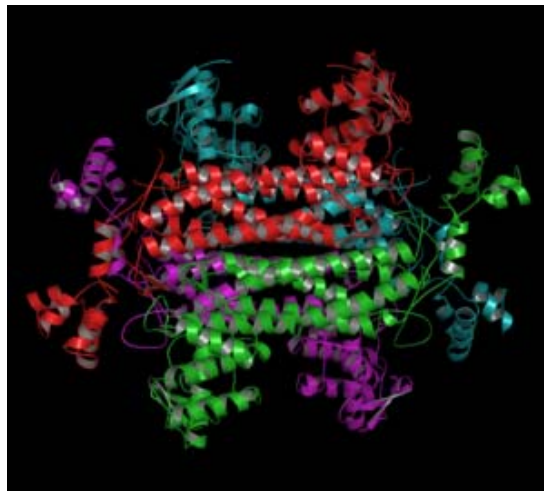
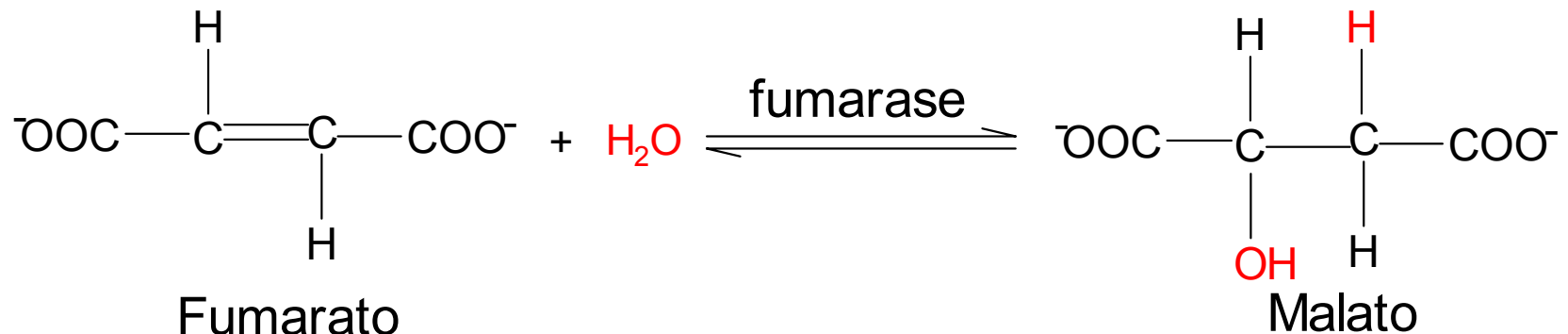
3. Hidrolases



Carboxipeptidase A - EC 3.4.17.1

- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

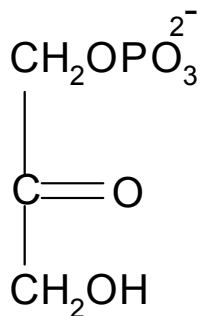
4. Liases



Fumarase - EC 4.2.1.2

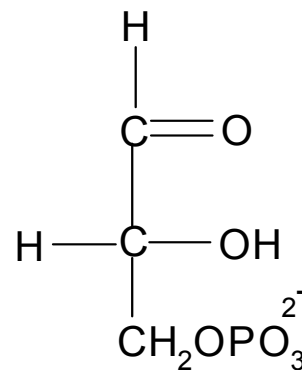
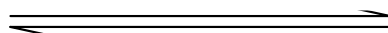
- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

5. Isomerases

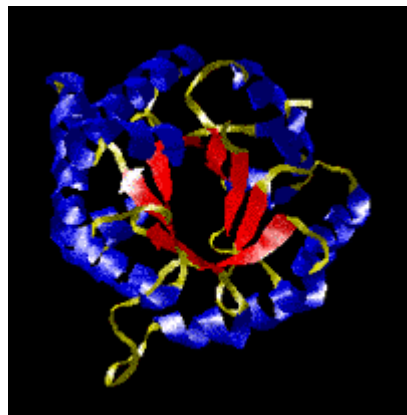


Diidroxiacetona fosfato

Triose Fosfato
Isomerase



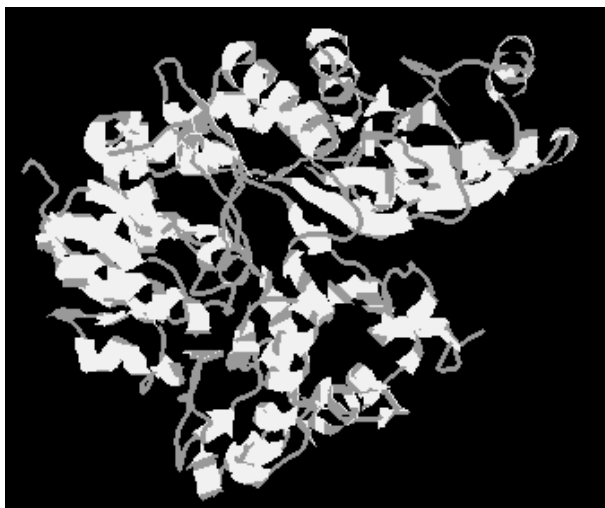
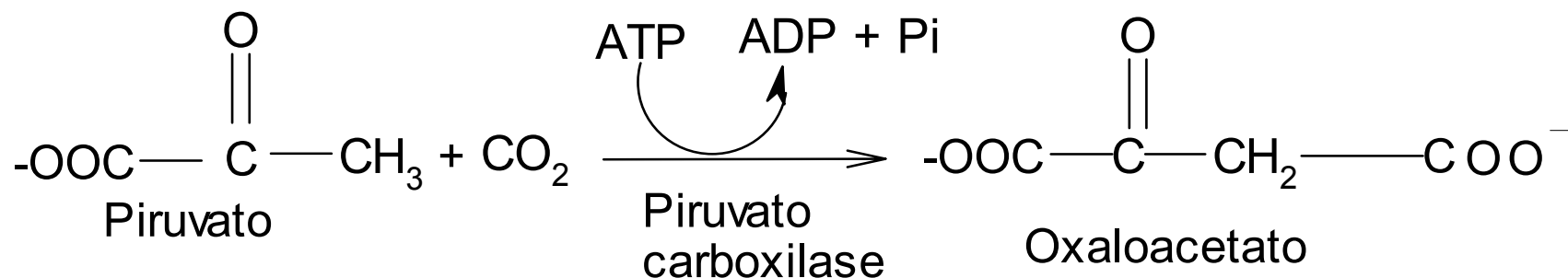
D-Gliceraldeído 3-Fosfato



Triose fosfato isomerase – EC 5.3.1.1

- Nomenclatura e classificação oficial (IUBMB)

6. Ligases



Piruvato carboxilase - EC 6.4.1.1

5. Características estruturais e funcionais

atividade biológica

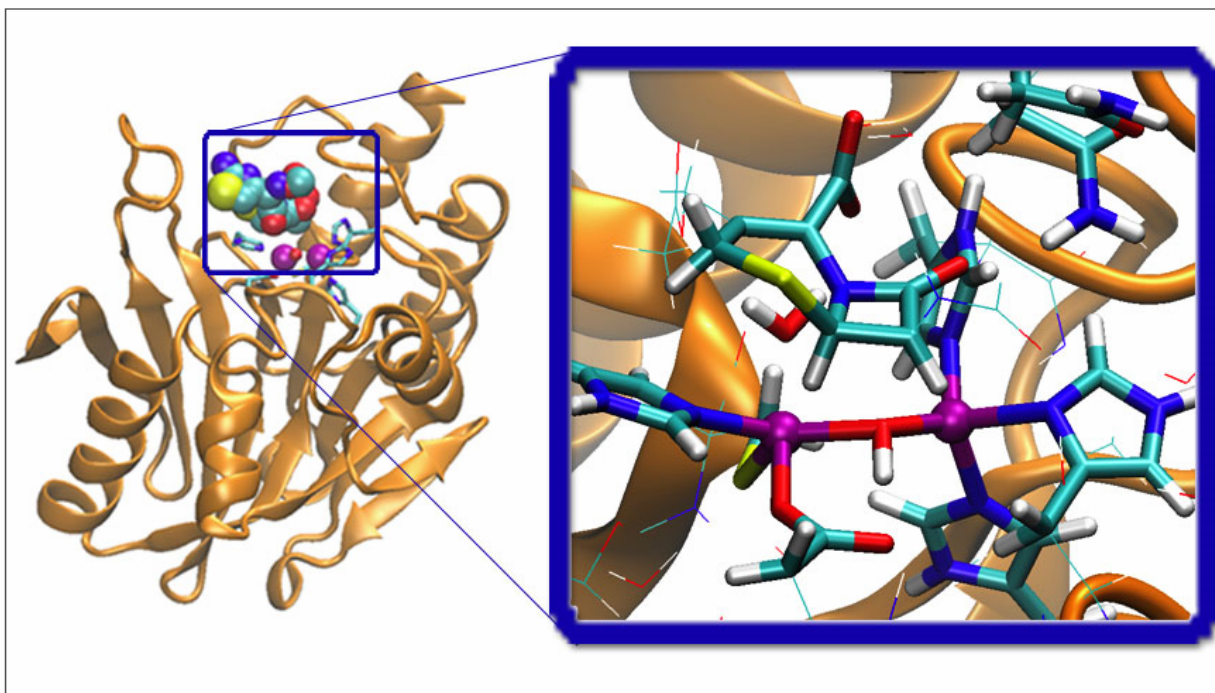
conformação espacial

define regiões específicas

atividade da Enzima

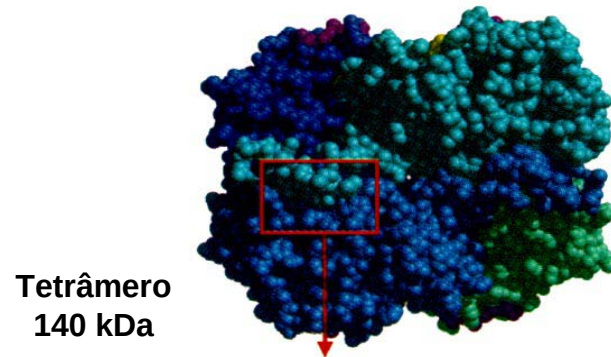
a) Sítio ativo

b) Sítio alostérico

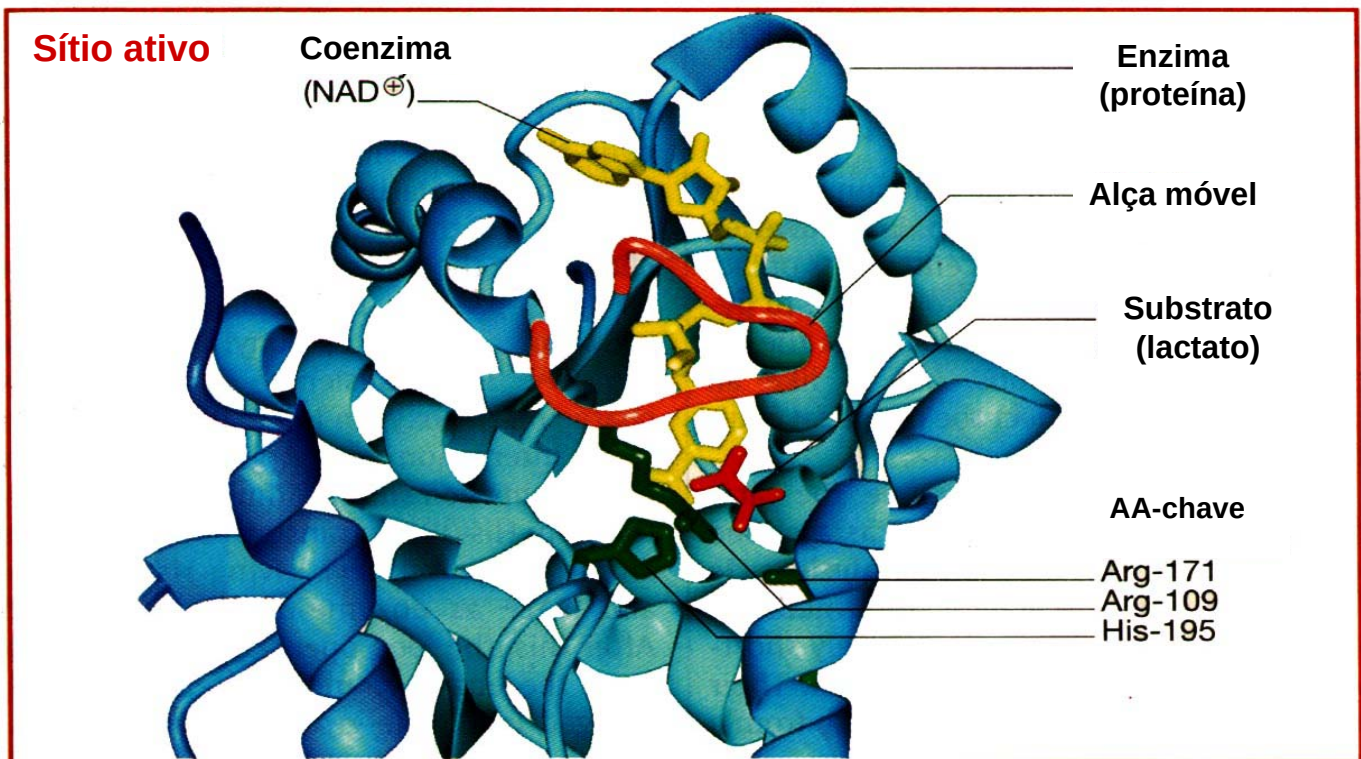
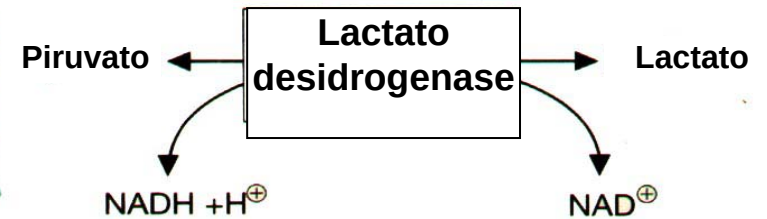


a) Sítio ativo

- Conceito
- Exemplos

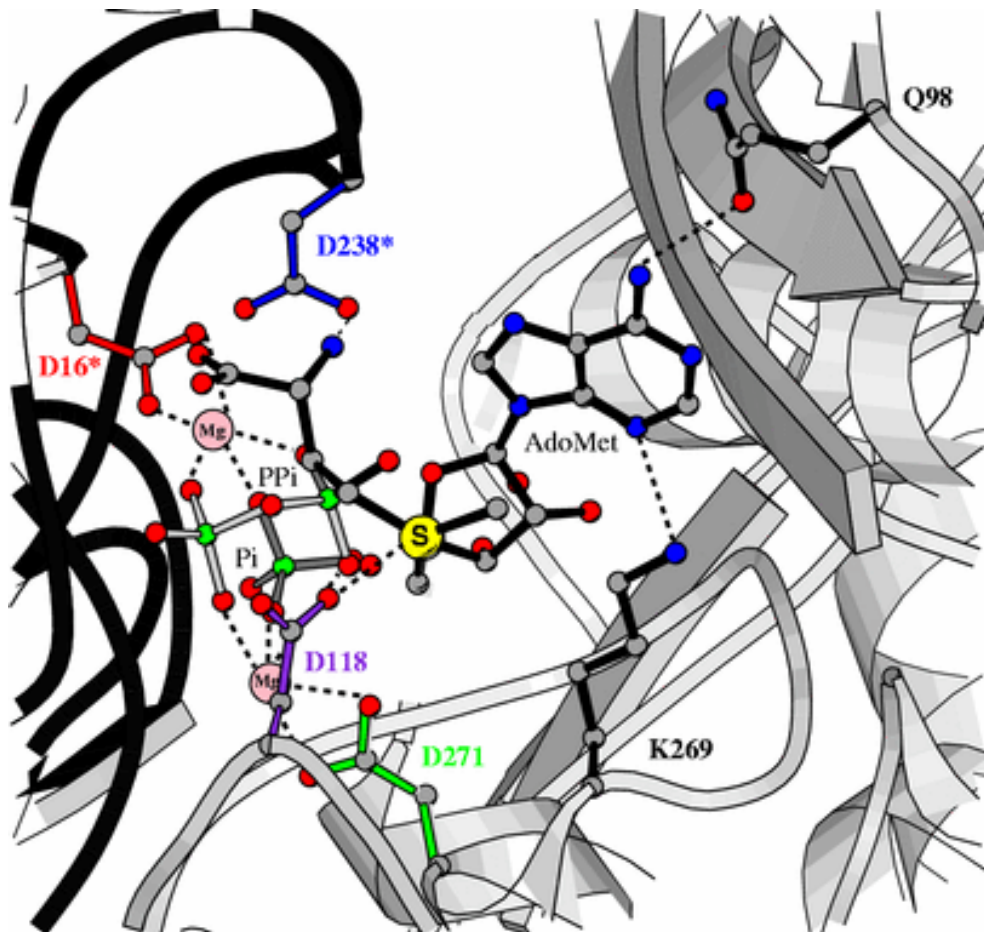


- Lactato desidrogenase
(EC 1.1.1.27)



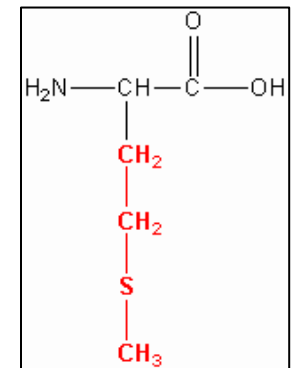
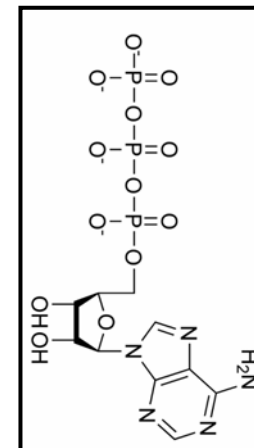
• Exemplos

- Metionina-adenosil transferase (AdoMet sintetase)
(EC 2.5.1.6)



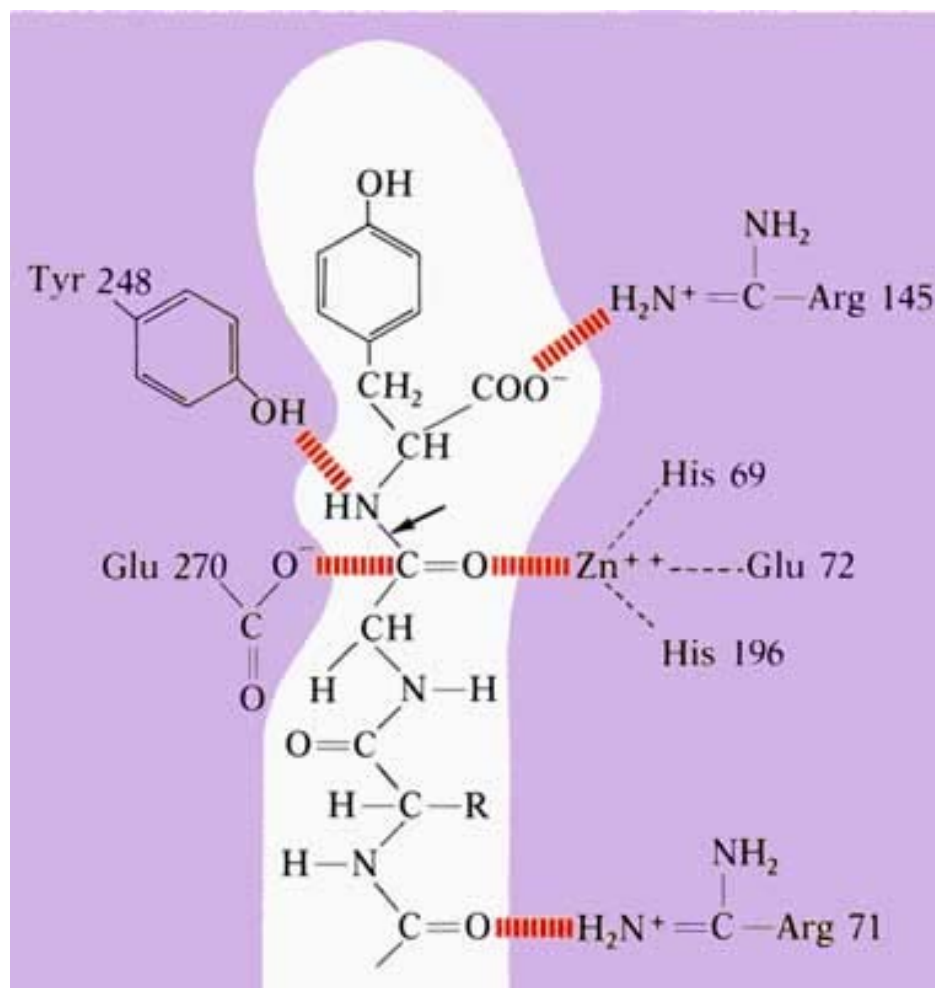
AAs do Sítio ativo

D – Ácido aspártico 16-118-238-271
K – Lisina 269
Q – Glutamina 98



- $\text{ATP} + \text{L-metionina} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{fosfato} + \text{di-P} + \text{S-adenosil-L-metionina}$

• Exemplos



- Carboxipeptidase (EC 3.4.17.1)

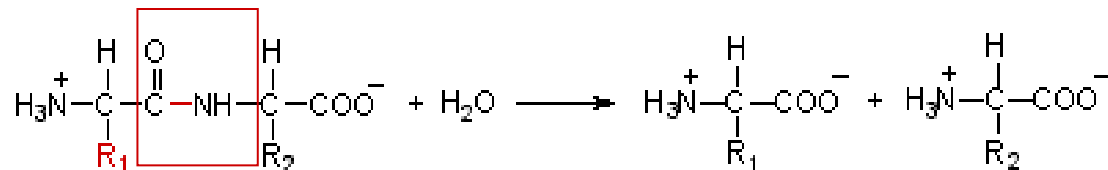
AAs do Sítio ativo

His 69 – 196

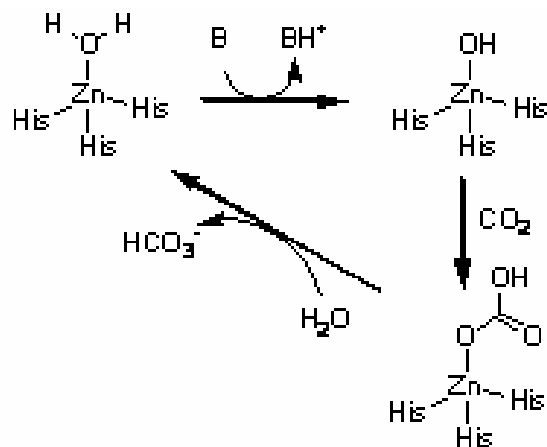
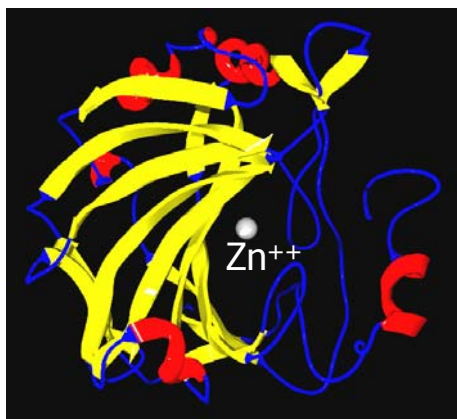
Arg 71 - 145

Glu 72 – 270

Tyr 248

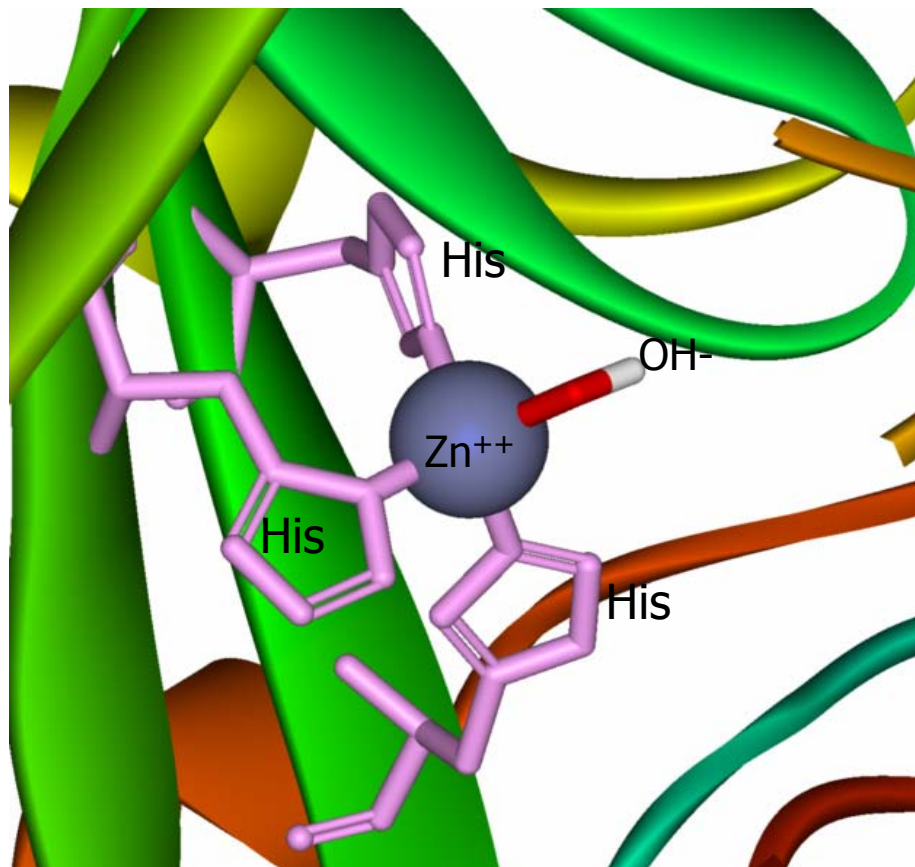


• Exemplos



Mechanism of carbonic anhydrase

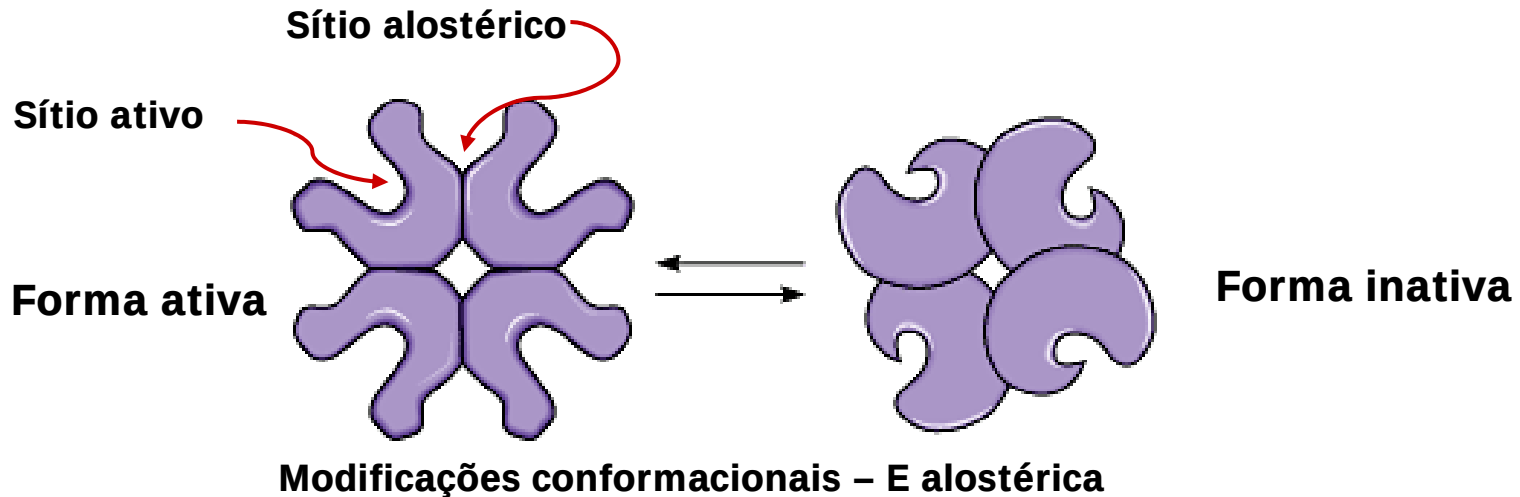
- anidrase carbônica (EC 4.2.1.1)



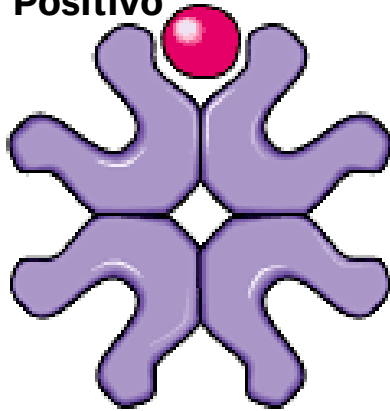
transporte de CO_2 e controle do pH do sangue

b) Sítio alostérico

- Conceito



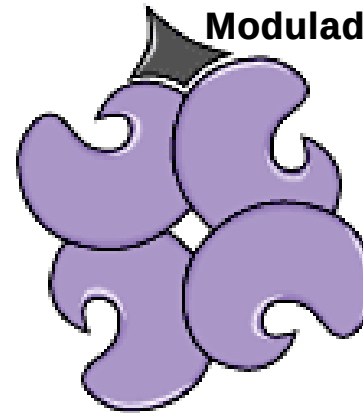
Modulador Positivo



Forma ativa

estabilizada por
um modulador +

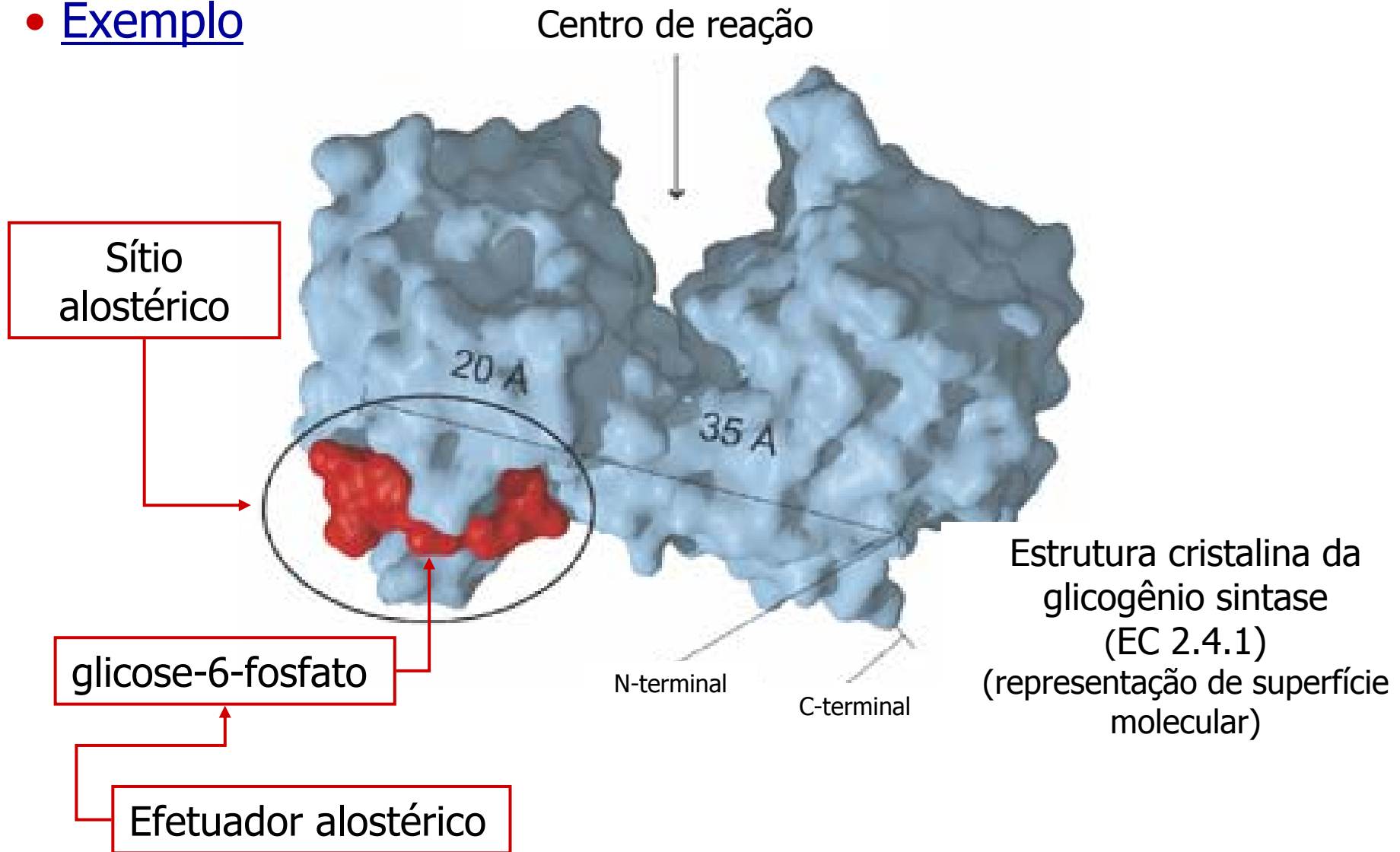
Modulador Negativo



Forma inativa

estabilizada por um
modulador -

• Exemplo



ligações de glicose $\alpha 1 \rightarrow 4$ no glicogênio (alongamento – exclusivo)

6. Especificidade enzimática

- Conceito
- Níveis (tipos)

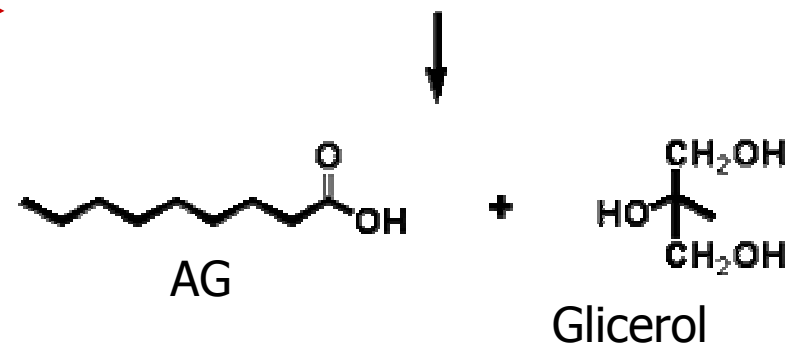
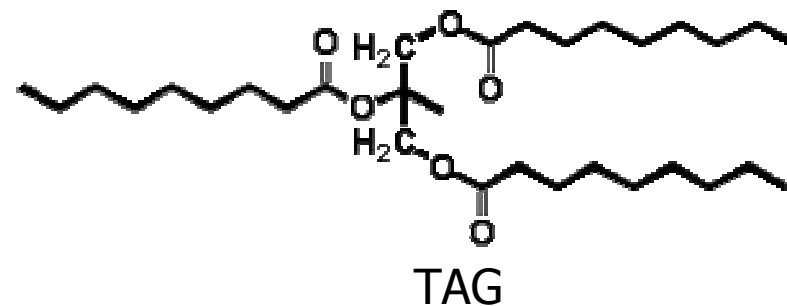
a) Especificidade baixa

- Relação com tipos de ligação
Peptidases (peptídicas)
Fosfatases (fosfato-éster)
Esterases (carboxi-álcool)

- Mais comum em enzimas degradativas

Ex.: lipases

(hidrólise em quase todos os ésteres orgânicos)

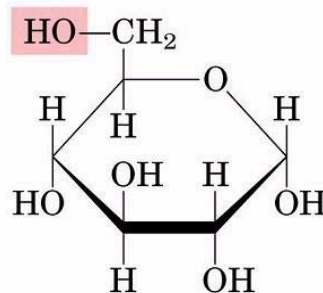
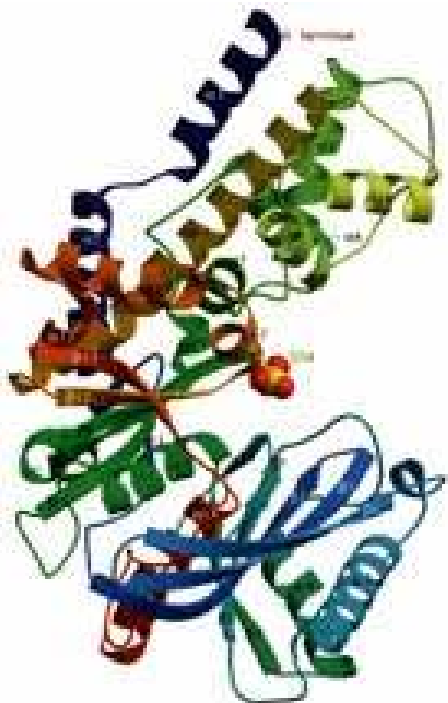


b) Especificidade intermediária

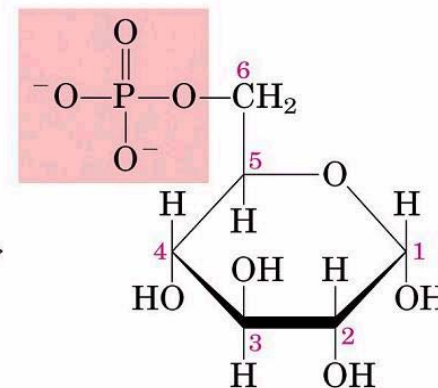
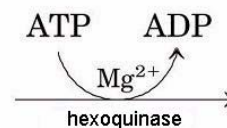
- Relação com grupos químicos

Ex.: hexoquinases
(fosforilação)

- hexoses

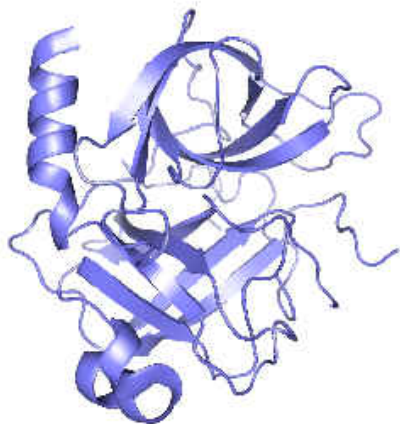


Glicose



Glicose-6-fosfato

c) Especificidade alta (absoluta)



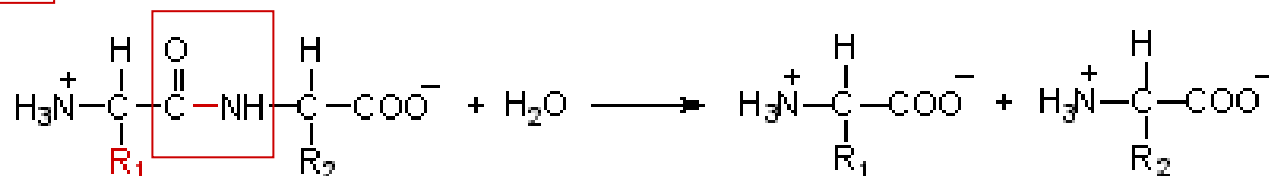
- **Quimotripsina** (E.C. 3.4.21.1)
- específica para ligações peptídicas
- **R1** hidrofóbicas (Phe, Tyr, Trp)



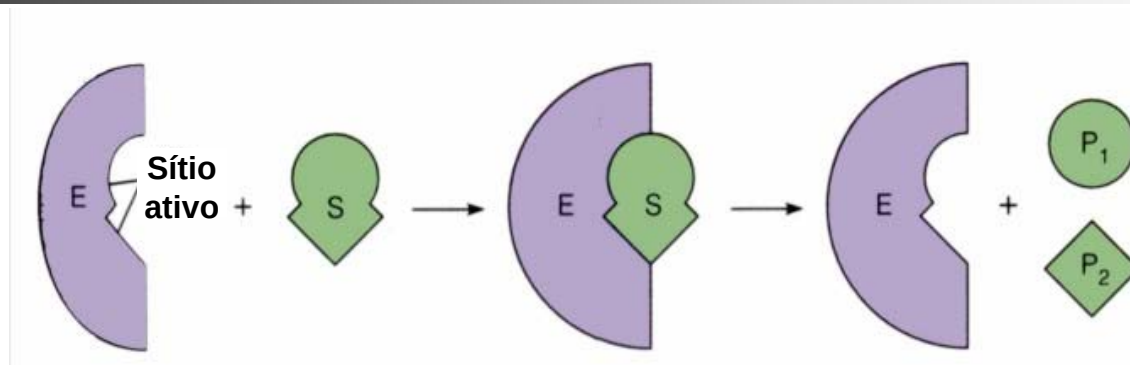
- **Tripsina** (E.C. 3.4.21.4)
- específica para ligações peptídicas
- **R1** carga + (Arg, Lys)

- estereoespecificidade

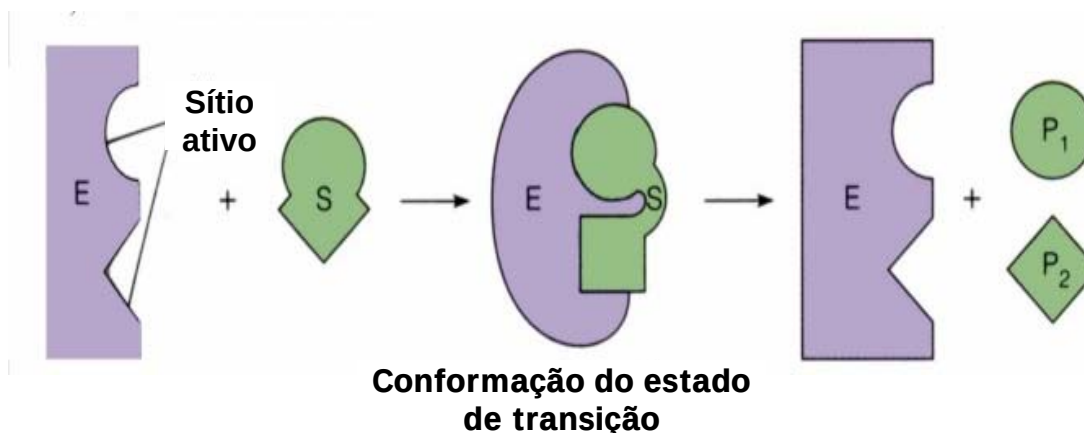
Peptidases



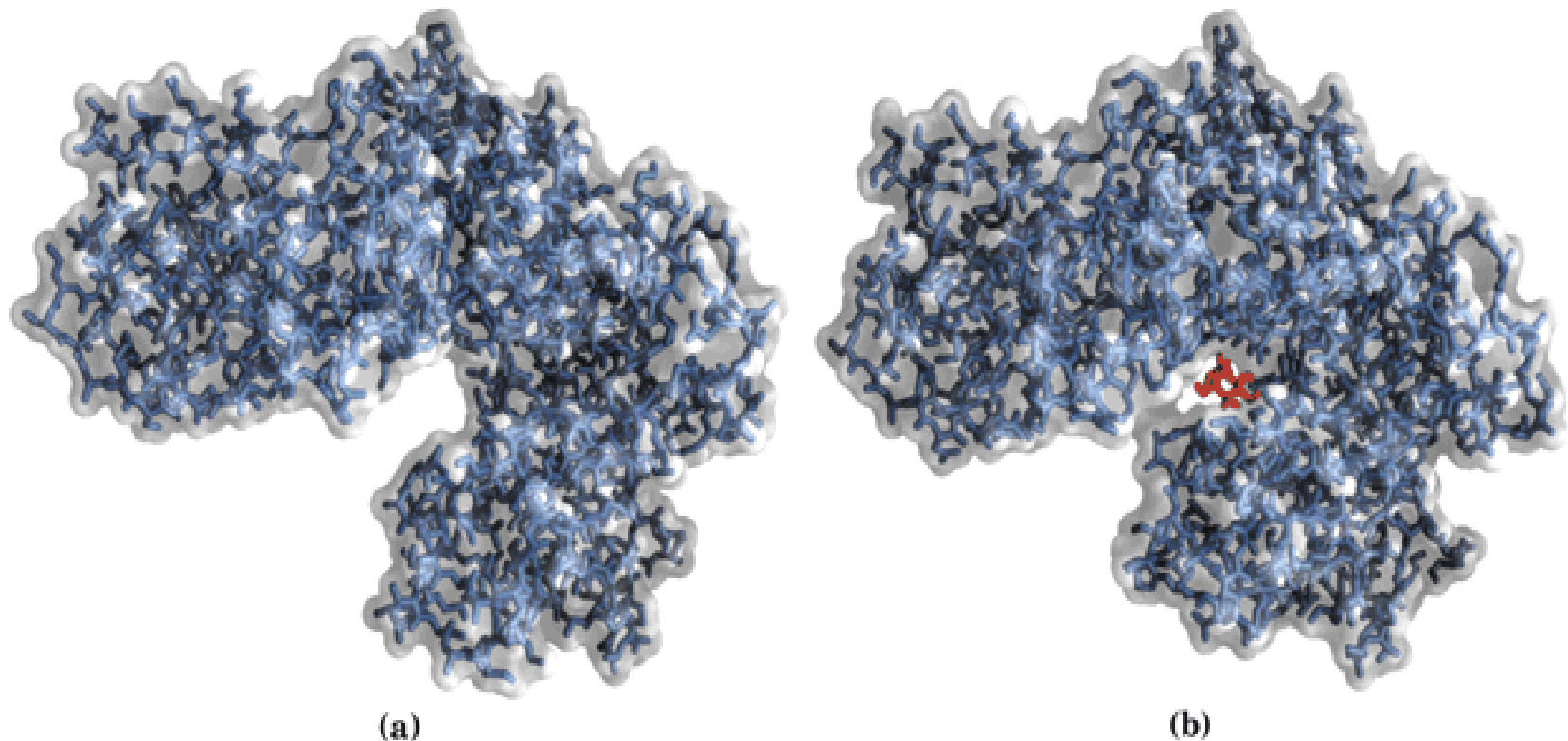
6.1. Teorias que explicam a especificidade enzimática



a) Modelo chave e fechadura (Fischer)

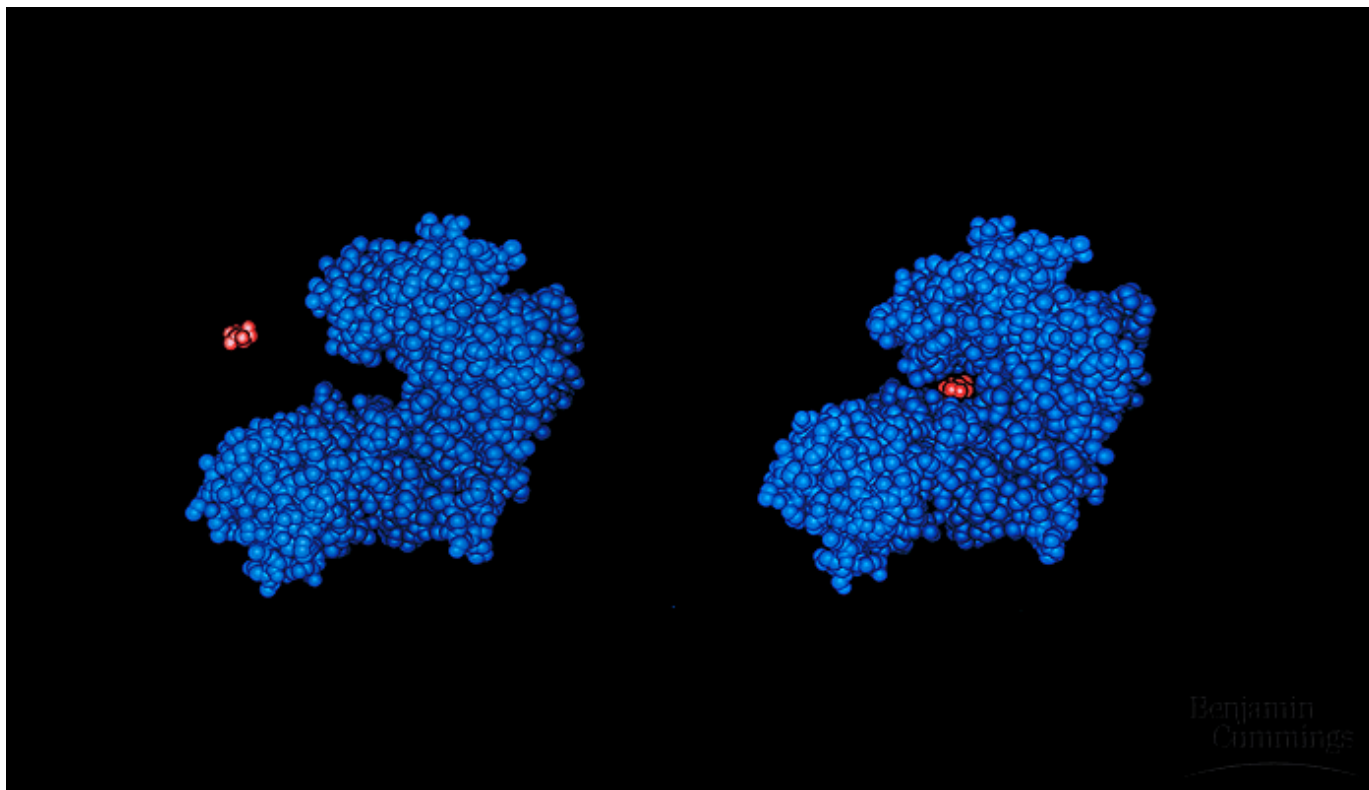


b) Modelo de ajuste induzido (Koshland)



Ajuste induzido na hexoquinase

As porções finais da hexoquinase em formato de U (a) aproximam-se uma em direção à outra em uma mudança conformacional induzida pela ligação da D-glicose (b)

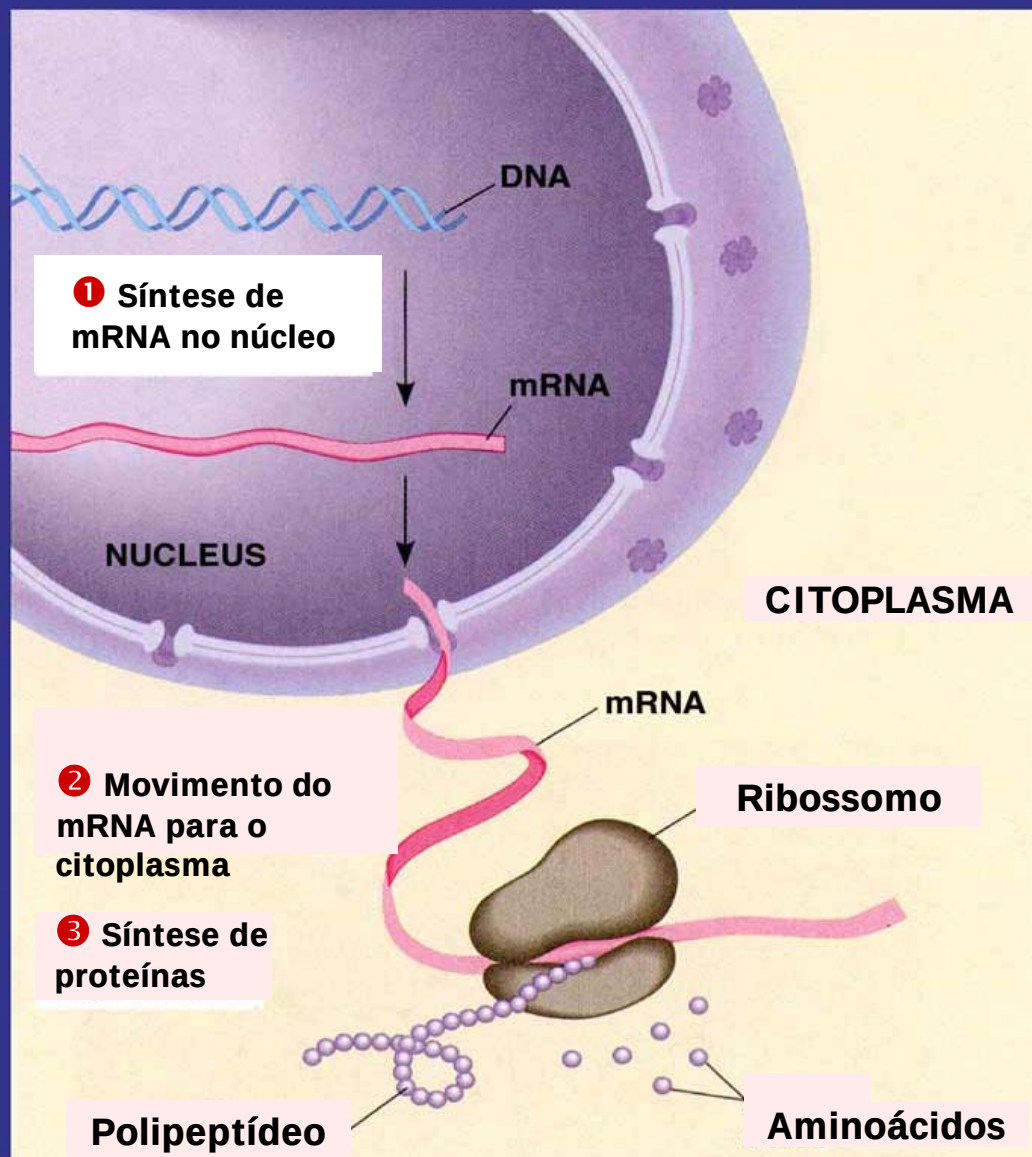


Ajuste induzido na hexoquinase

As porções finais da hexoquinase em formato de U (a) aproximam-se uma em direção à outra em uma mudança conformacional induzida pela ligação da D-glicose (b)

Dogma central da Biologia Molecular

DNA → RNA → Proteína



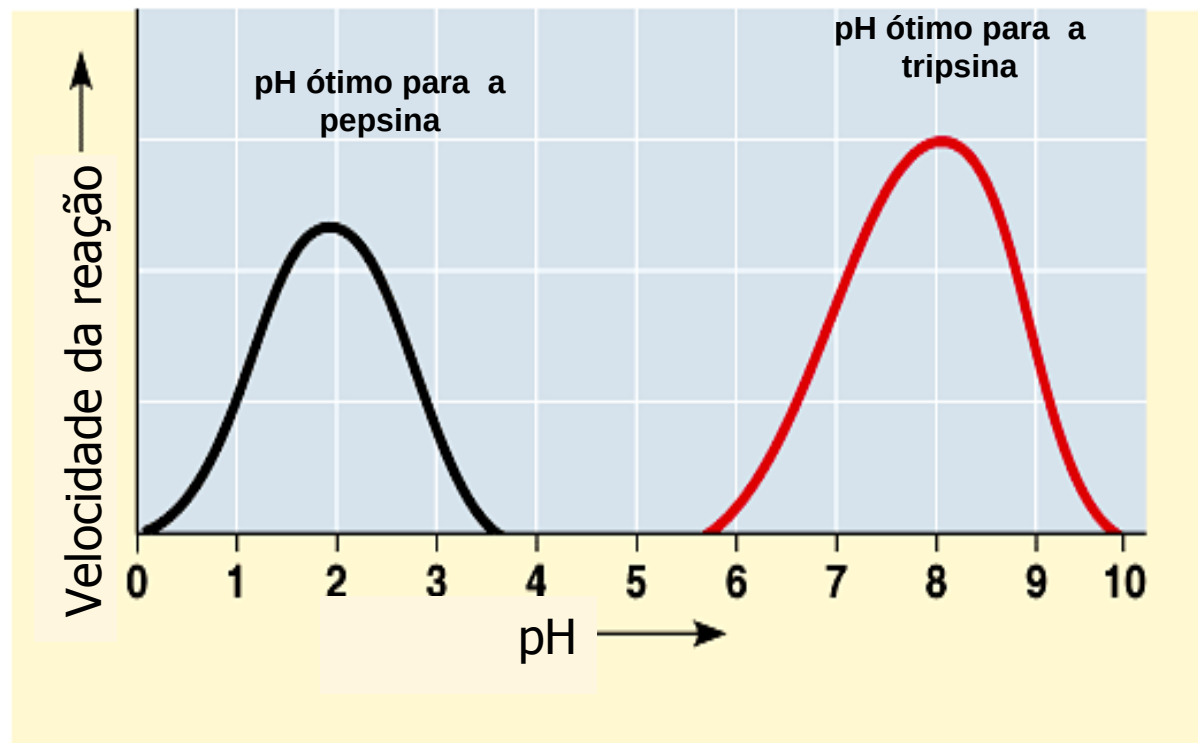
8. Cinética enzimática

- Conceito
- Fatores que afetam a velocidade das reações enzimáticas



- pH
- temperatura
- Concentração de Substrato [S]
- Concentração de Enzima [E]

- Efeito do pH

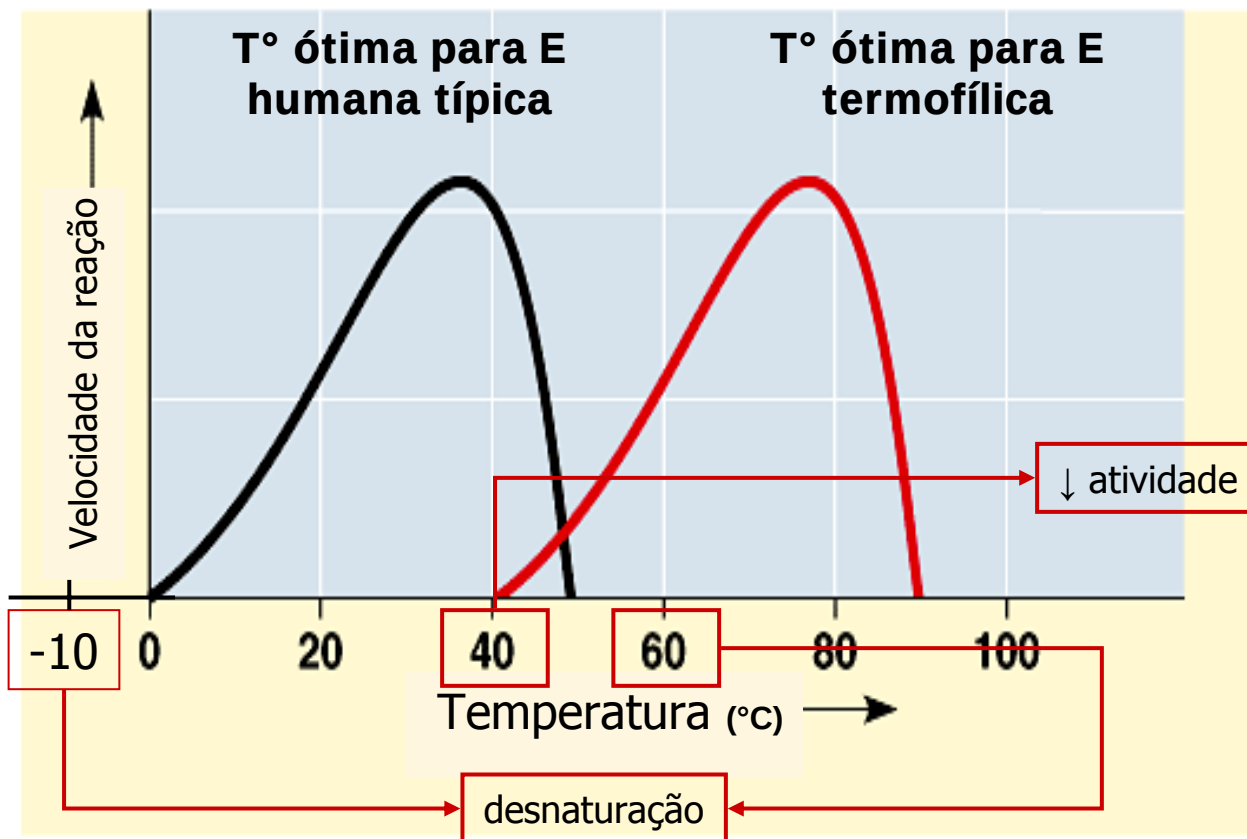


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

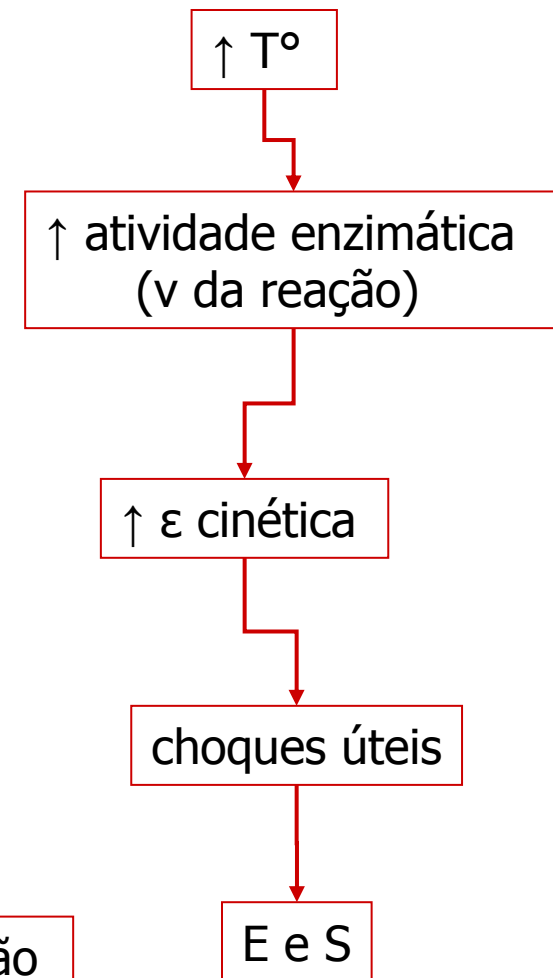
- Efeito do pH
- Exemplos

Enzima	pH Ótimo
Pepsina	1,5
Tripsina	7,7
Catalase	7,6
Arginase	9,7
Fumarase	7,8
Ribonuclease	7,8

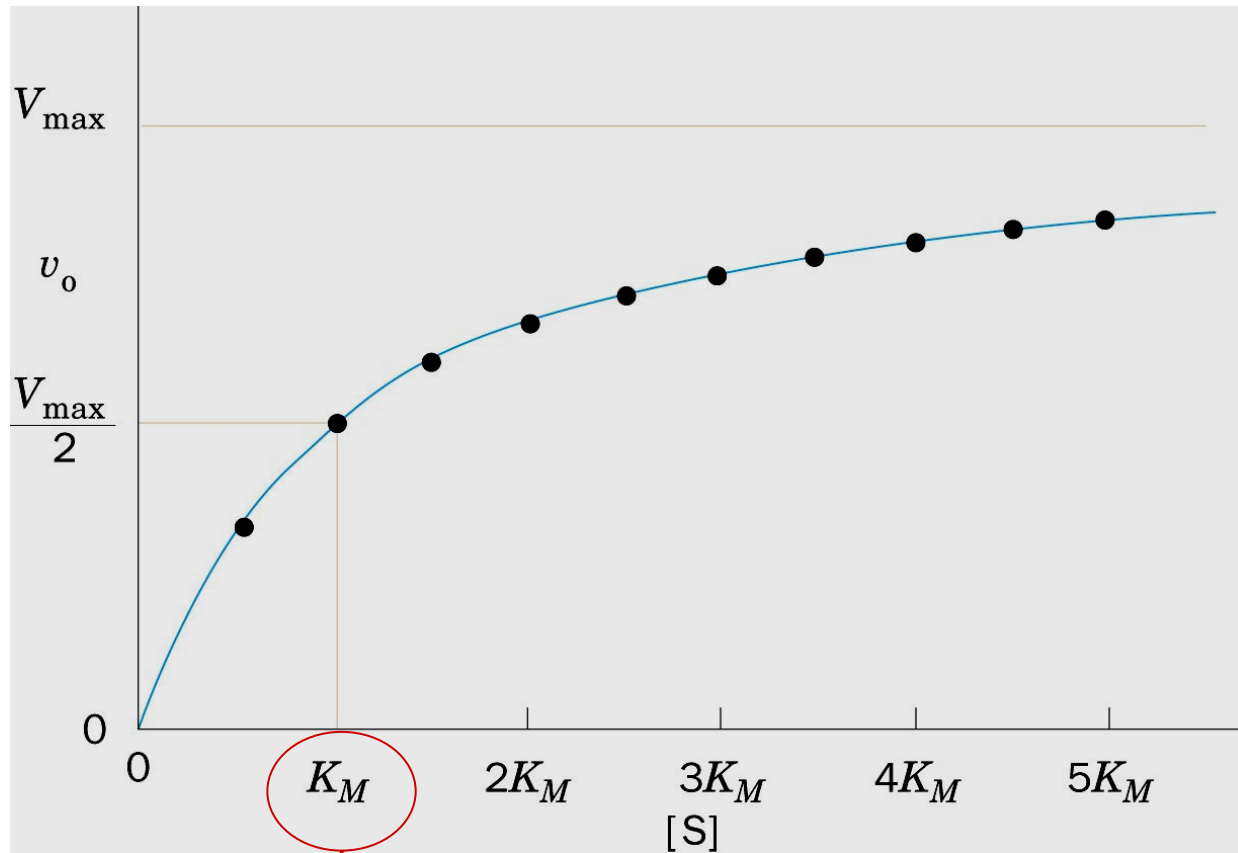
• Efeito da temperatura



T° ideal → máxima velocidade / mínimo de desnaturação



• Efeito da [S]



Leonor Michaelis
1875–1949



Maud Menten
1879–1960

Equação de Michaelis-Menten

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

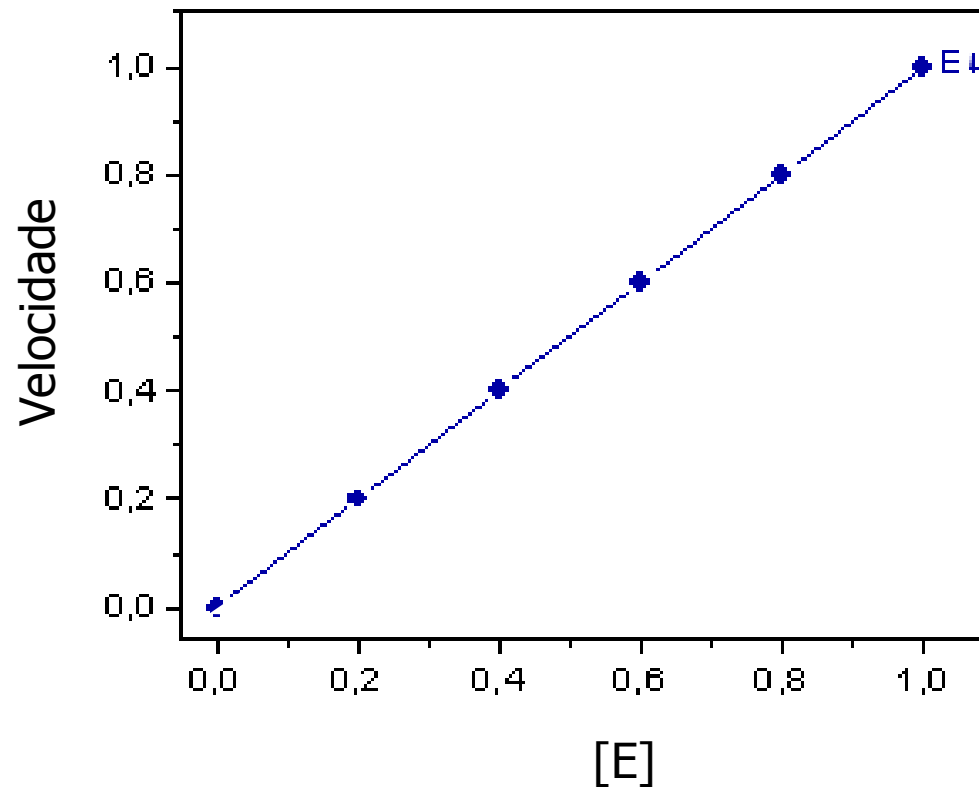
Constante de Michaelis-Menten

Valor numérico: expressa > ou < afinidade da E pelo S

- Efeito da [S]

Enzima	Substrato	K_m (mM)
Catalase	H_2O_2	25
Hoxoquinase	Glicose Frutose	0,15 1,5
Quimiotripsina	N-benziltirosinamida N-formiltirosinamida N-acetiltirosinamida Gliciltirosinamida	2,5 12,0 32 122
Anidrase carbônica	HCO_3^-	9,0
Glutamato desidrogenase	Glutamato α -cetoglutarato NH_4^+ NAD_{ox} NAD_{red}	0,12 2,0 57 0,025 0,018
Aspartato aminotransferase	Aspartato α -cetoglutarato Oxalacetato Glutamato	0,9 0,1 0,04 4,0

- Efeito da [E]



9. Inibição Enzimática

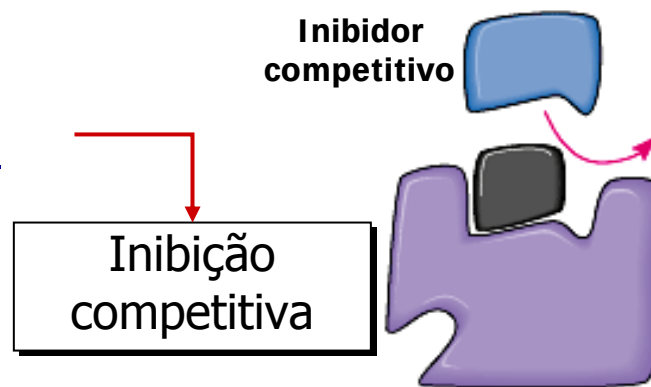
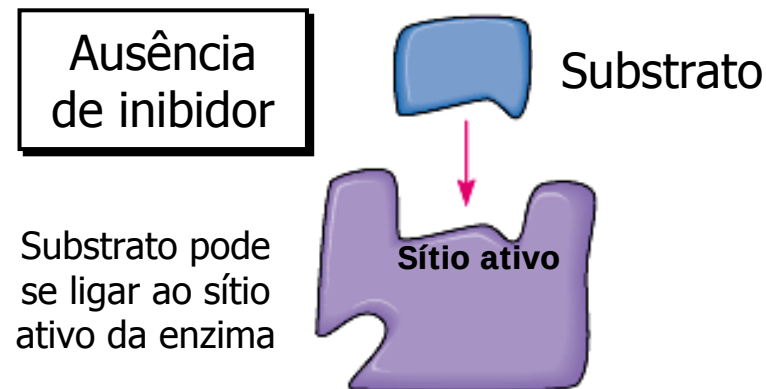
- Conceito de inibidor enzimático

- Tipos de inibição

- a) Reversível competitiva

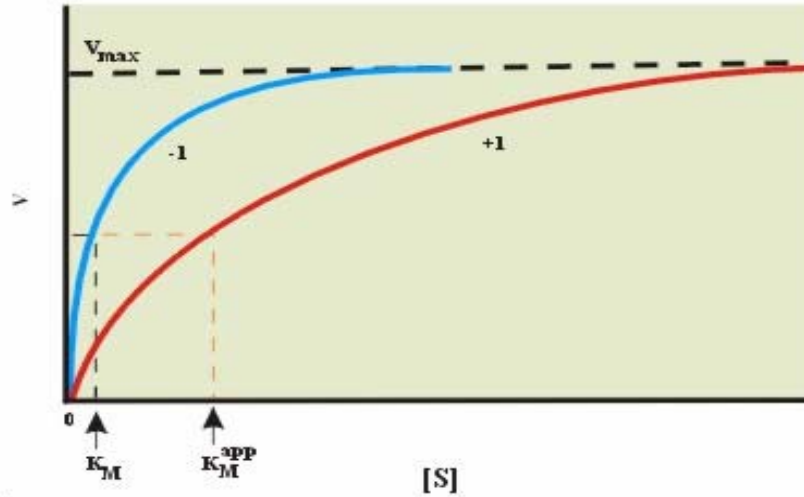
- b) Reversível não competitiva

- c) Irreversível



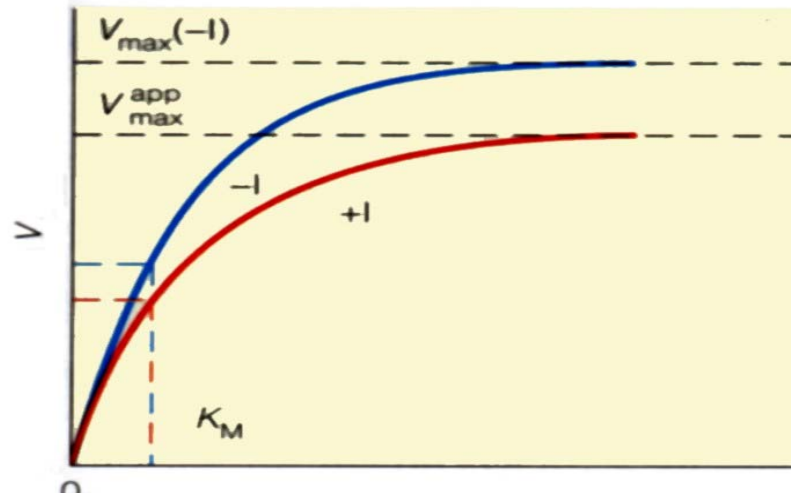
- Influência do inibidor sobre $V_{\text{máx}}$ e K_M

- Competitivo



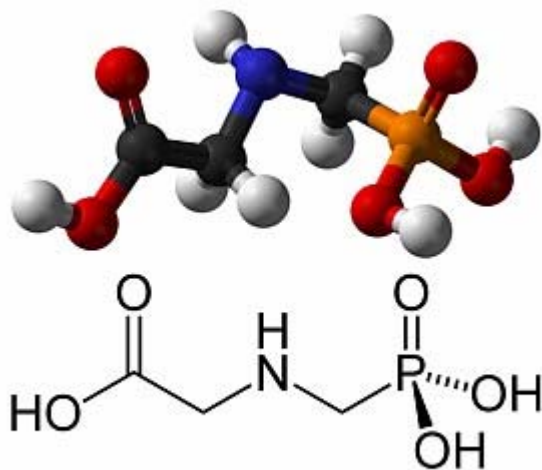
- $\uparrow K_M$ (competição pelo S.A.)
- Não altera a $V_{\text{máx}}$

- Não competitivo



- Não altera o K_M
- $\downarrow V_{\text{máx}}$

- Exemplos (Competitiva)



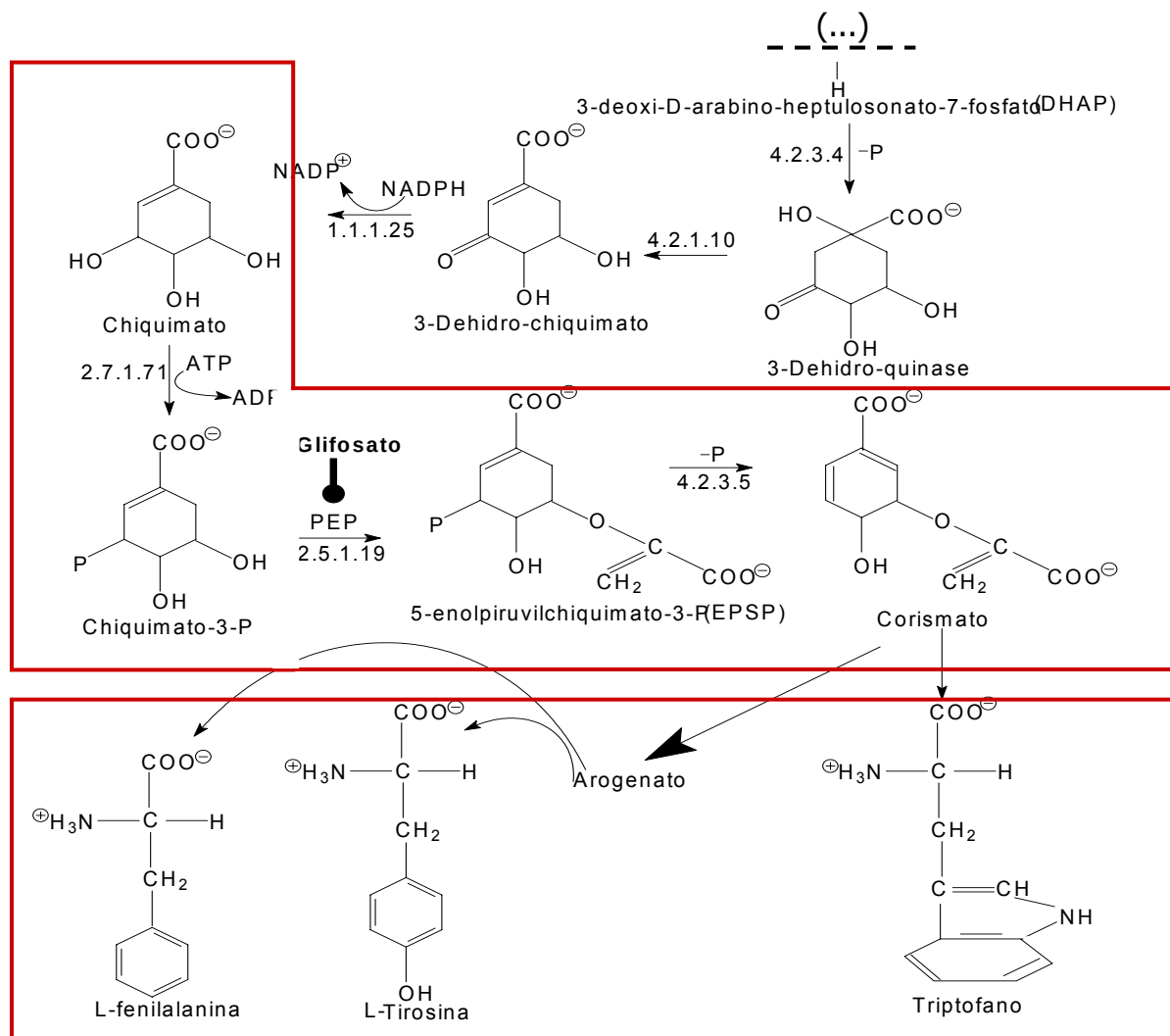
Glifosato - <http://es.wikipedia.org/wiki/Glifosato>

Via de biossíntese dos aminoácidos
aromáticos (via do ácido chiquímico)

Inibidor da EPSPS
(5-enolpiruvilshiquimato-3-fostato sintase)

- Glifosato
(herbicida)

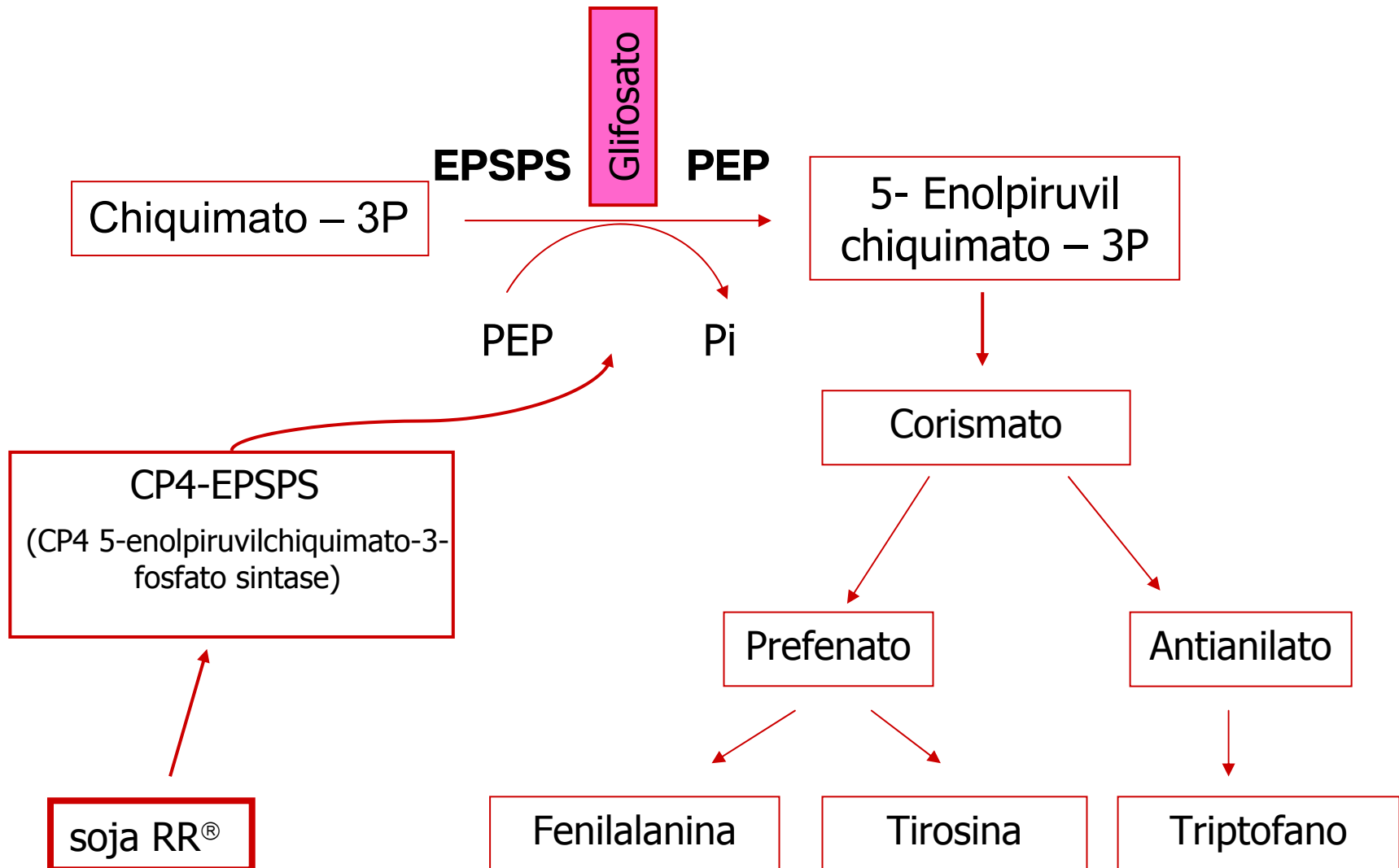
Via de biossíntese dos aminoácidos aromáticos (via do ácido chiquímico)



Compostos aromáticos

- Vitaminas K e E
- Hormônios (auxinas, etileno)
- Alcalóides
- Lignina
- Antocianina...

Via de biossíntese dos aminoácidos aromáticos (via do ácido chiquímico)



Variedade de soja RR[®] (resistente ao herbicida glifosato)

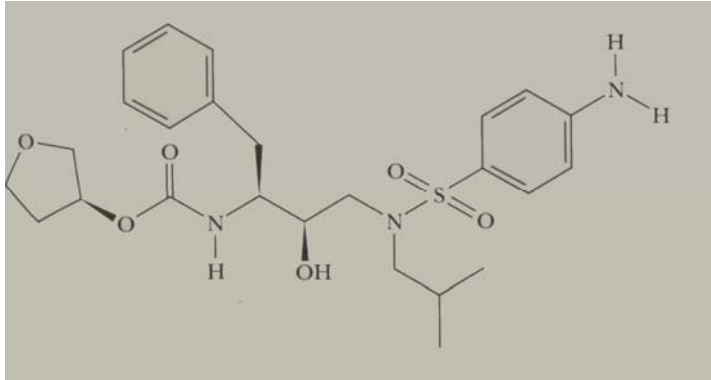


antes da aplicação



alguns dias após aplicação

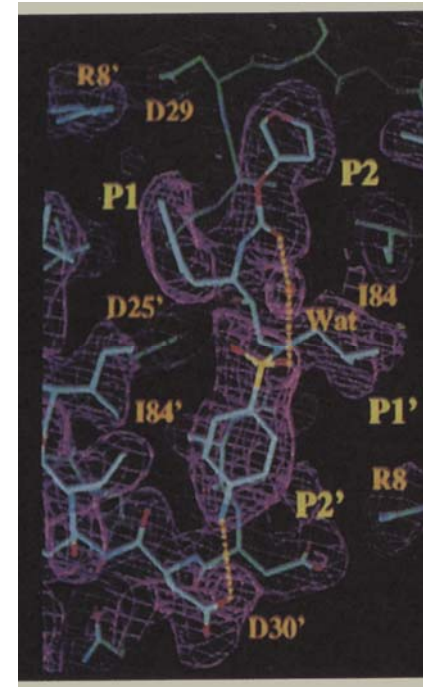
- Exemplos (Competitiva)



Estrutura do **Amprenavir**(VX-478), um inibidor da protease do HIV desenvolvido pela Vertex-Pharmaceuticals

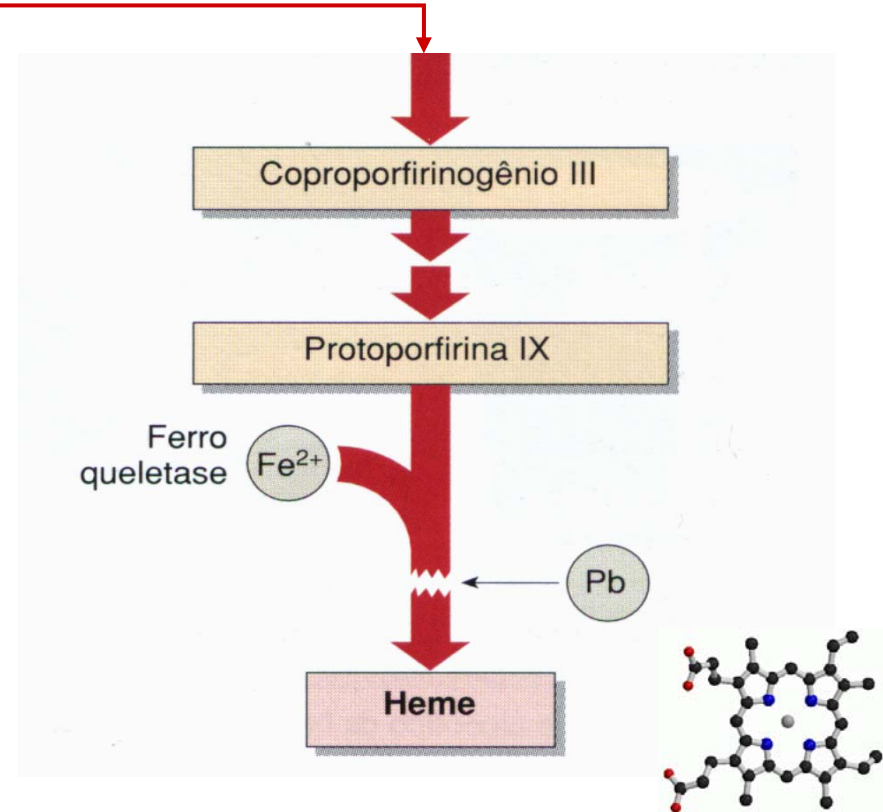
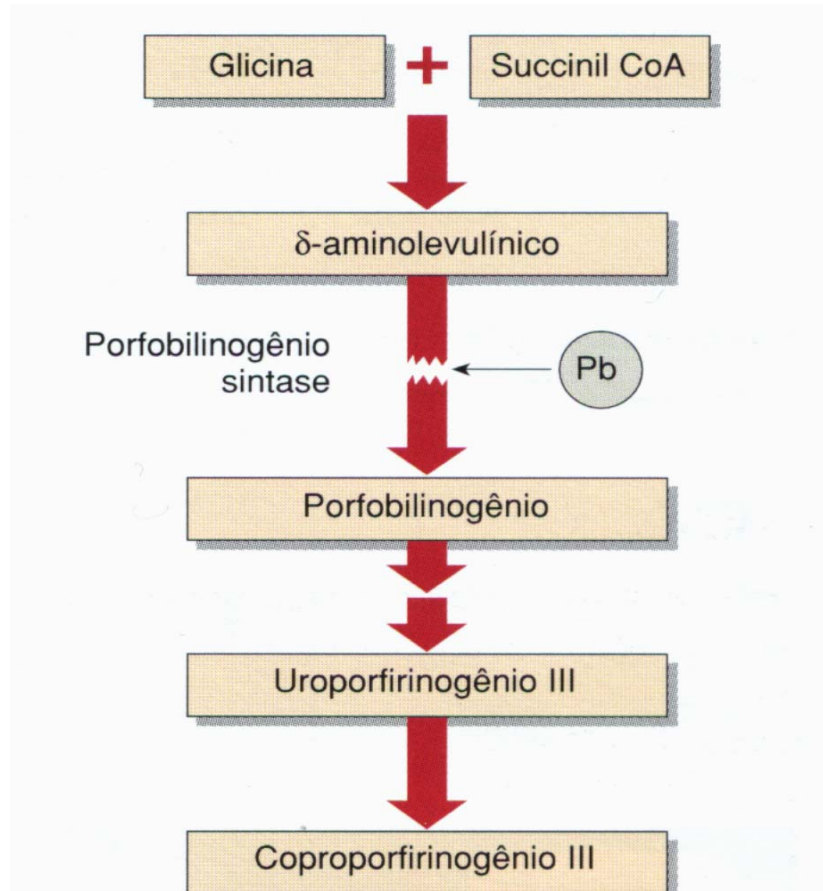
- Amprenavir

Sítio ativo da protease do HIV-1 complexado com o VX-478.



• Exemplos (Não Competitiva)

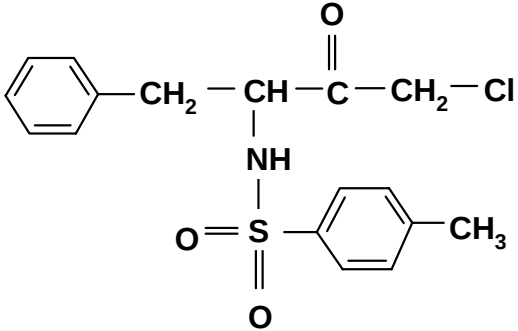
• Chumbo



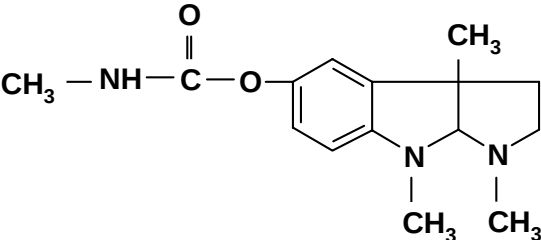
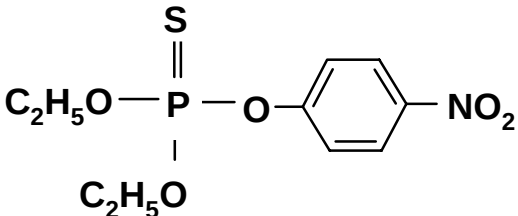
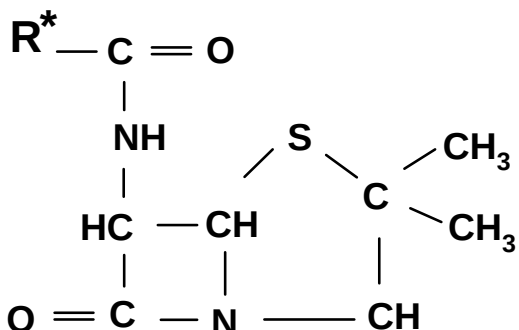
Efeito do chumbo na síntese do heme.

O chumbo (Pb) inibe a porfobilinogênio sintase e a incorporação de Fe²⁺ no heme, resultando em níveis aumentados de ácido δ -aminolevulínico e de coproporfirina na urina e protoporfirina nos eritrócitos.

• Exemplos (Irreversível)

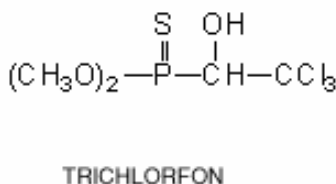
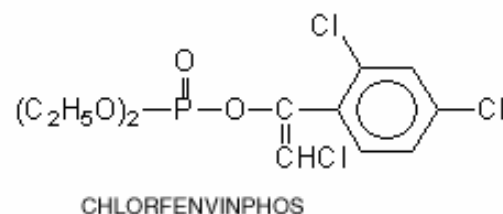
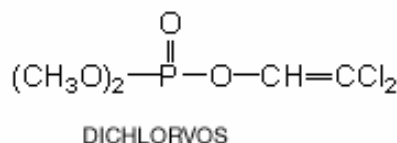
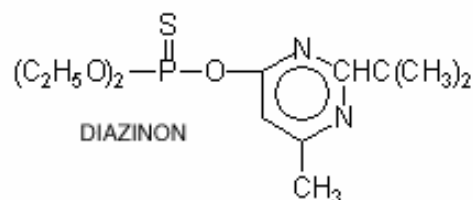
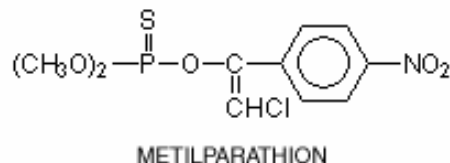
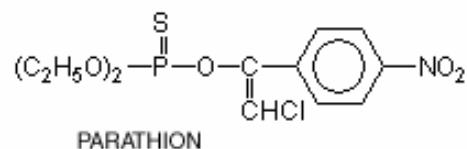
Nome	Fórmula	Fonte	Modo de ação
• <u>Cianeto</u>	CN^-	"Amêndoas amargas"	Reage com íons metálicos de enzimas (Fe, Zn, Cu...)
• <u>Disopropil Fluorofosfato (DFP)</u>	$ \begin{array}{c} \text{F} \\ \\ (\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{O} - \text{P} - \text{O} - \text{CH} - (\text{CH}_3)_2 \\ \\ \text{O} \end{array} $	Sintético	Inibe enzimas com serina no centro ativo
• <u>Sarin</u>	$ \begin{array}{c} \text{F} \\ \\ (\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{O} - \text{P} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array} $	Sintético (gás nervoso)	Inibe enzimas com serina no centro ativo
• <u>N-tosil-L-fenilalaninacloro-metil cetona (TPCK)</u>		Sintético	Reage com a His 57 da quimotripsina

• Exemplos (Irreversível)

Nome	Fórmula	Fonte	Modo de ação
• <u>Fisostigmina</u>		“Feijões calabar”	Forma derivados acil com a acetilcolinesterase
• <u>Paration</u>		Sintético (inseticida)	Inibição da acetil colinesterase
• <u>Penicilina</u>		Fungos do gênero <i>Penicillium</i>	Inibe enzimas da síntese de parede celular em bactérias

R* = Grupo variável conforme o tipo de penicilina

- Exemplos (Irreversível)



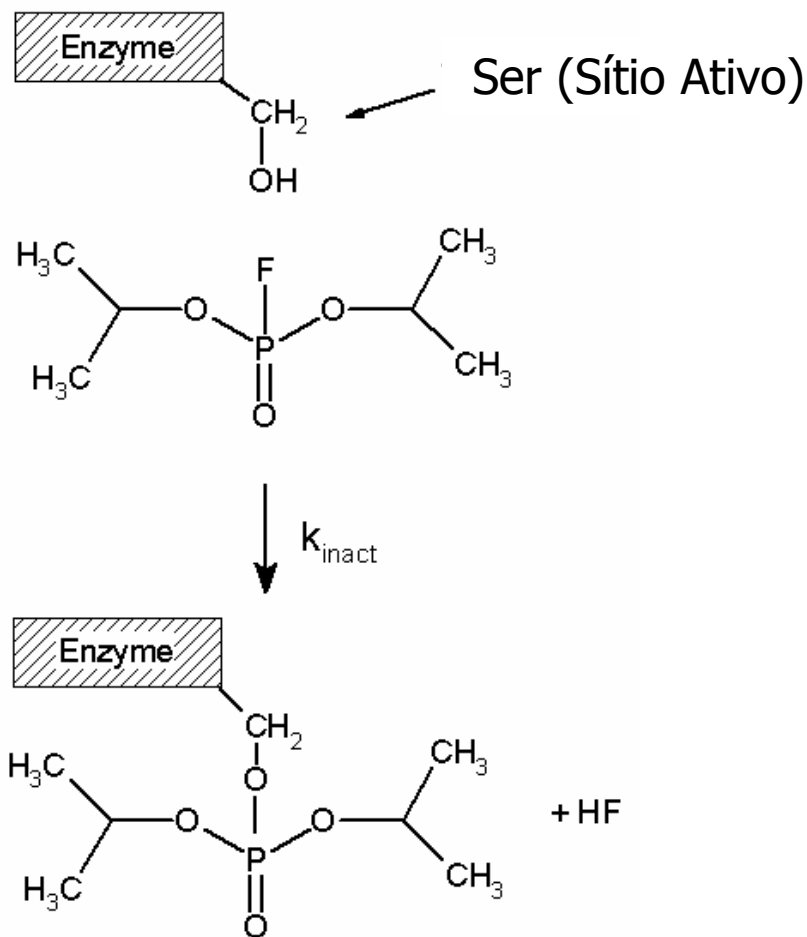
Essas substâncias reagem com as enzimas que possuem resíduos do aminoácido serina (enzimas de serina) no sítio ativo, entre elas a acetilcolinesterase, que decompõe a acetilcolina após a transmissão do impulso nervoso de um neurônio a outro.

Ao ser inativada, a acetilcolinesterase não pode mais decompor a acetilcolina, que se acumula nos receptores sinápticos, impedindo as transmissões nervosas que acarretam a morte por falência dos órgãos.

- Organofosforados

• Exemplos (Irreversível)

• Diisopropilfluorofosfato (DFP)



- Reação do inibidor irreversível **diisopropilfluorofosfato (DFP)** com uma Ser de uma protease

10. Regulação da atividade enzimática

atividade enzimática

regulada temporal e espacialmente

● Controle da [E]

● Compartimentalização celular

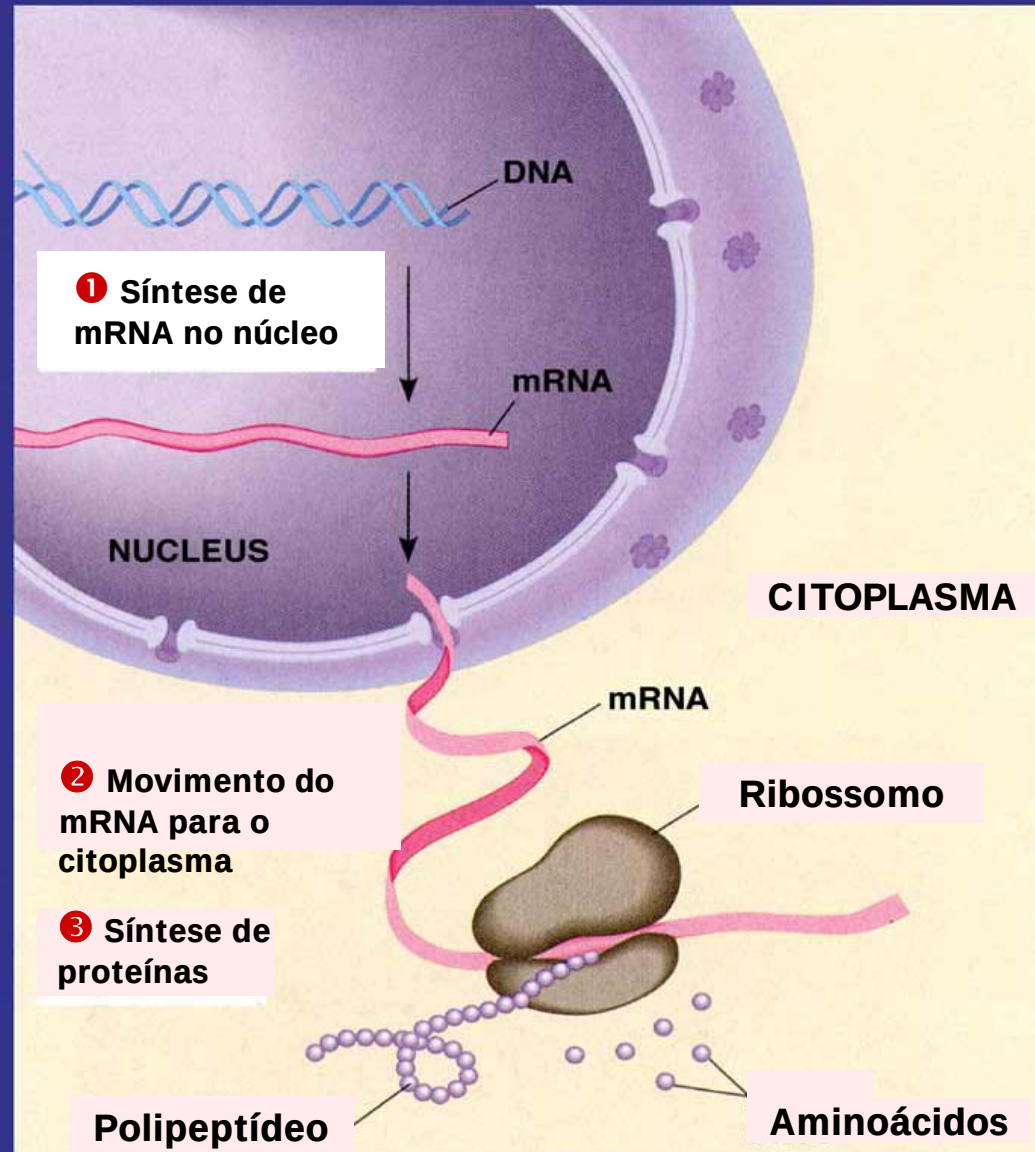
● Controle da atividade enzimática



10.1. Controle da [E]

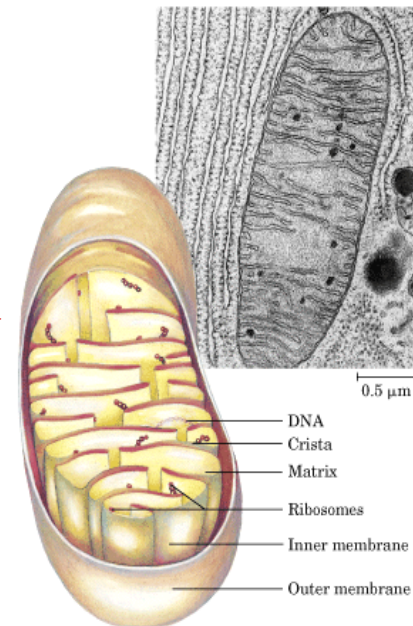
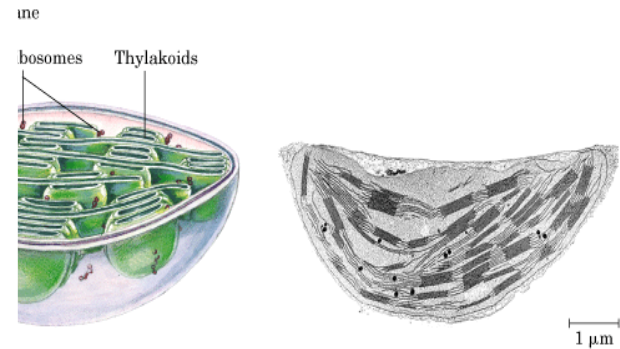
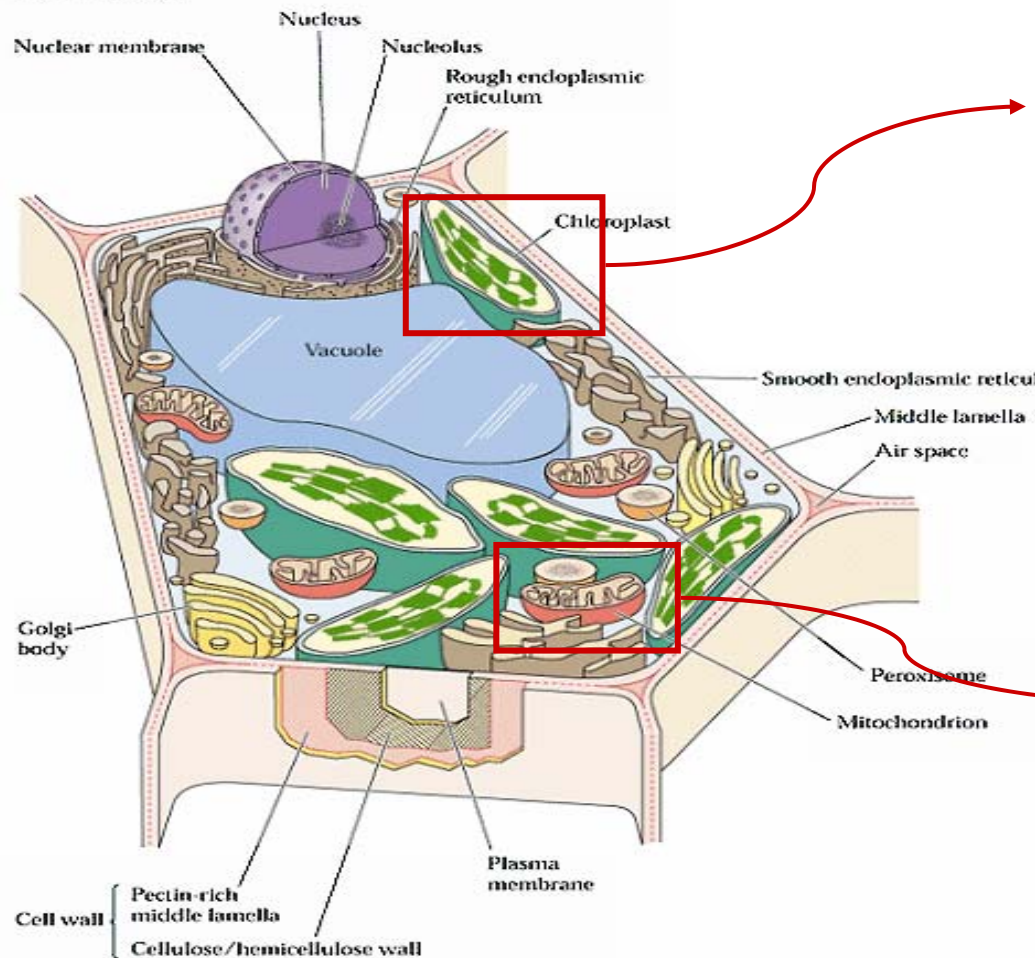
Dogma central da Biologia Molecular

DNA → RNA → Proteína



10.2. Compartimentalização celular

(A) Mesophyll



10.3. Controle da atividade enzimática

a) Controle alostérico

**modulação
induzida por
ligante**

Sítio alostérico

Sítio ativo

Forma inativa

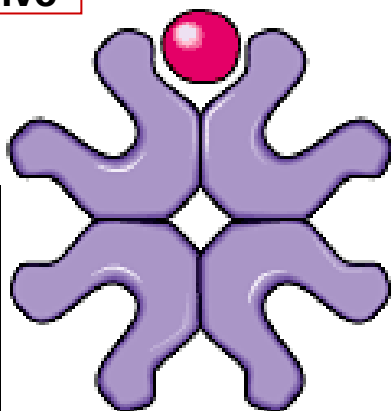
Forma ativa

Modificações conformacionais – E alostérica

Modulador Positivo

Forma ativa

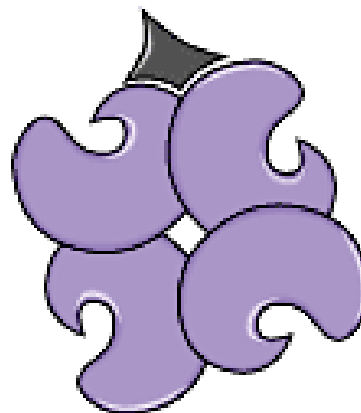
**estabilizada por
um modulador +**



Modulador Negativo

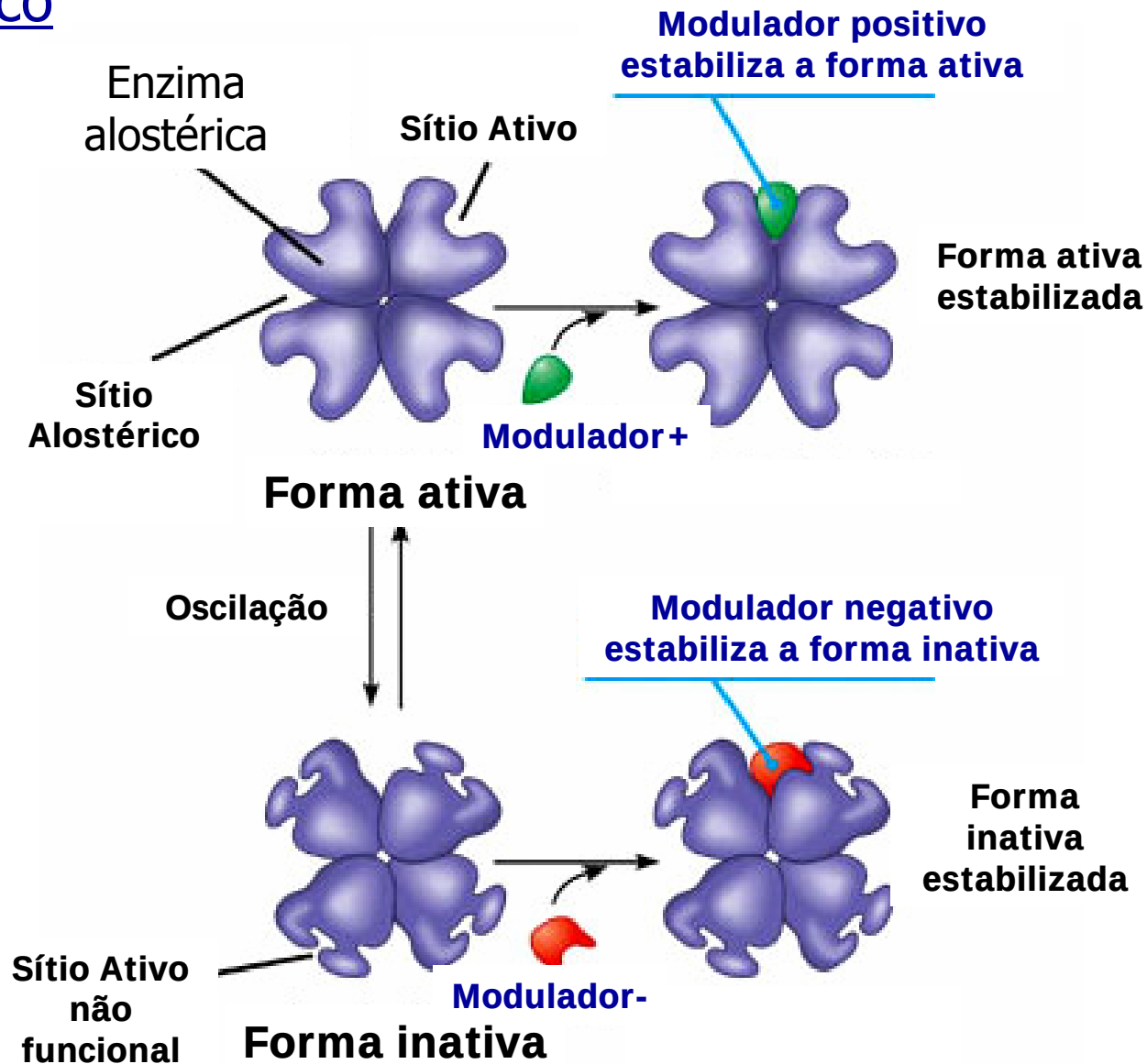
Forma inativa

**estabilizada por um
modulador -**



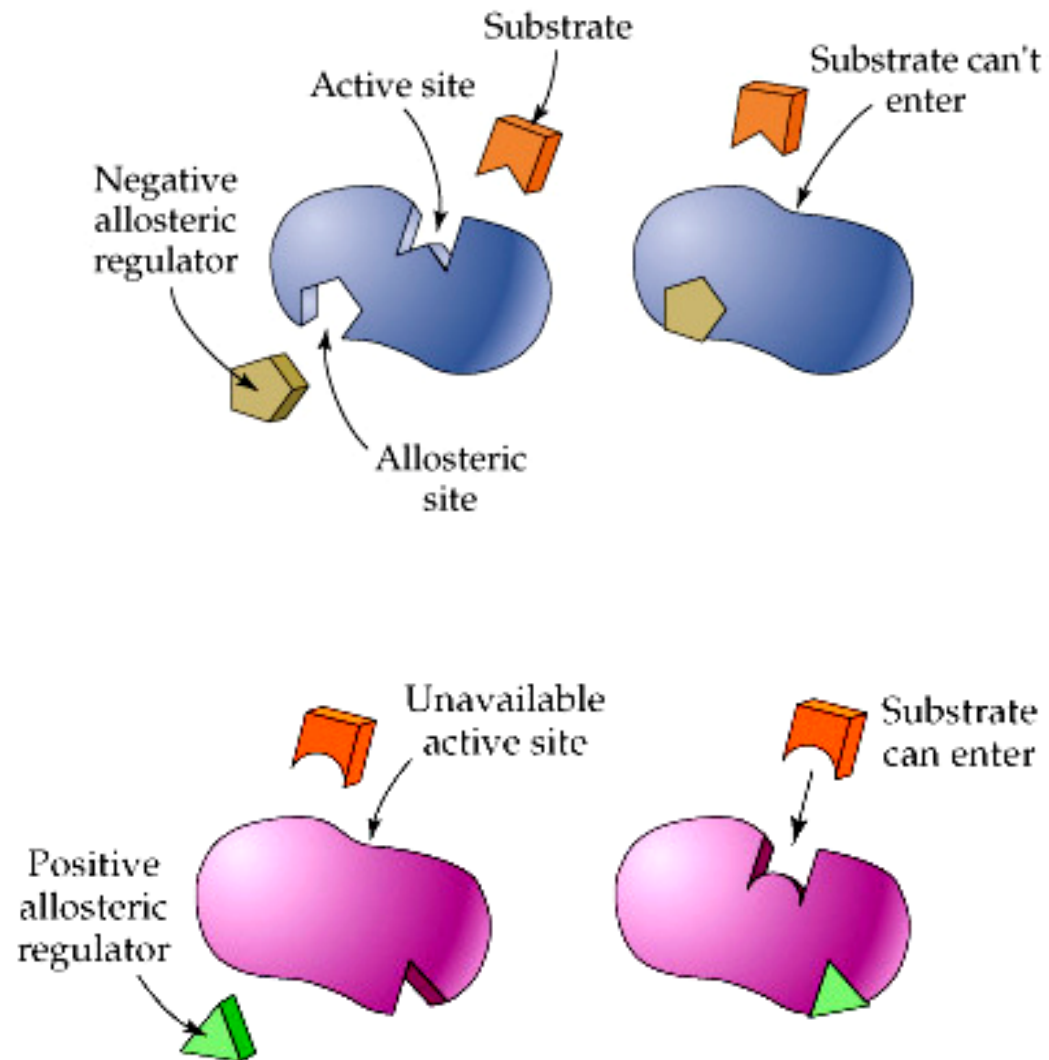
a) Controle alostérico

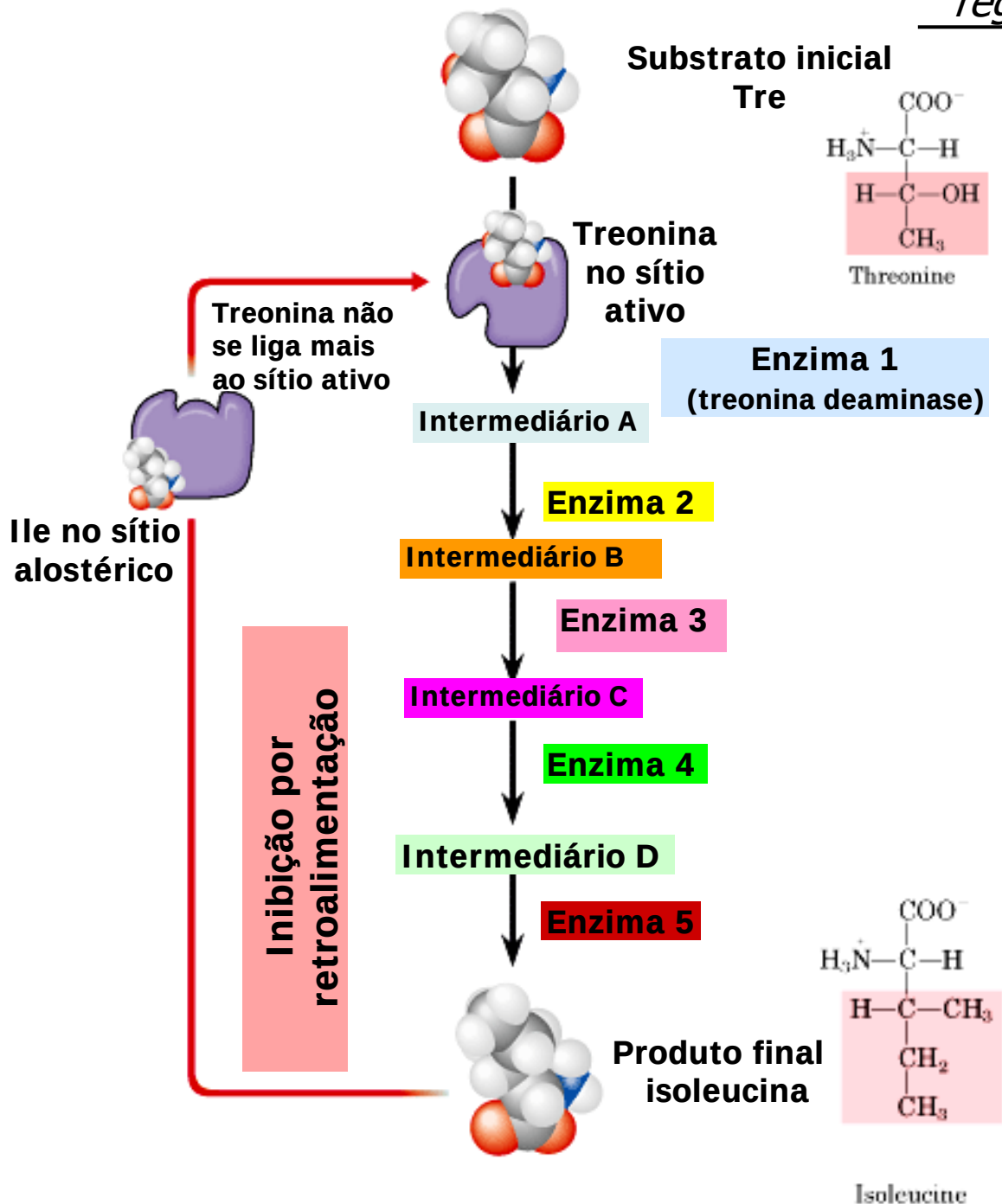
Modulação
induzida por
ligante



a) Controle alostérico

**Modulação
induzida por
ligante**





Treonina
no sítio
ativo

Enzima 1
(treonina deaminase)

Intermediário A

Enzima 2

Intermediário B

Enzima 3

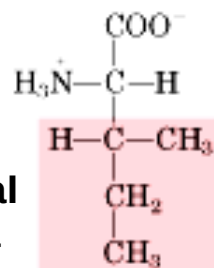
Intermediário C

Enzima 4

Intermediário D

Enzima 5

Produto final
isoleucina



Treonina não
se liga mais
ao sítio ativo

Ile no sítio
alostérico

**Inibição por
retroalimentação**

• **Controle
alostérico**

**retroalimentação
ou *feedback***

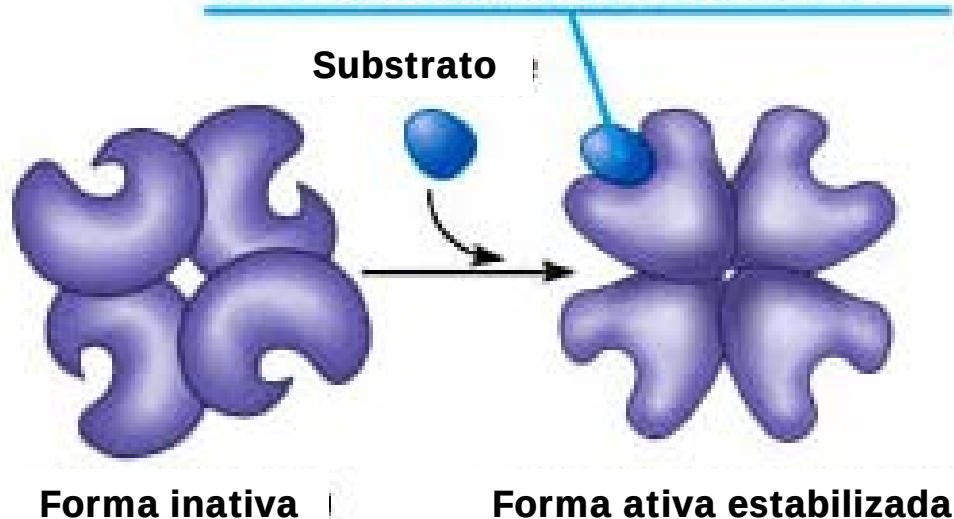
Enzima regulada
no início da via

economia celular

- **Controle alostérico**

Cooperatividade

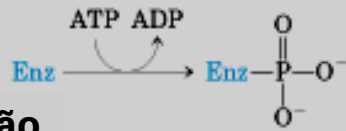
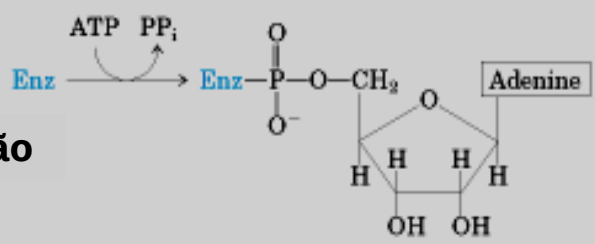
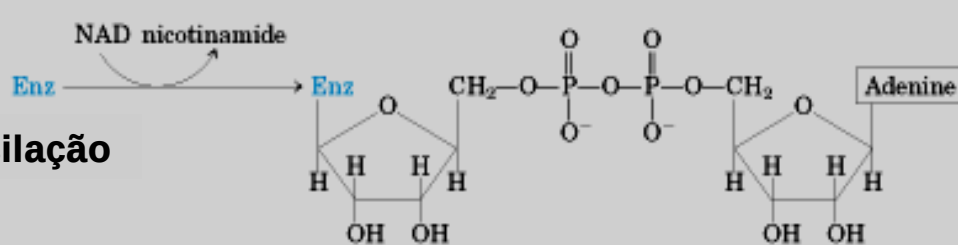
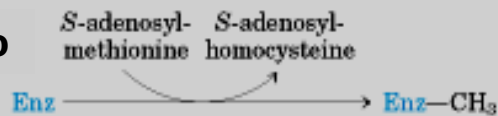
A ligação de uma molécula de substrato ao Sítio Ativo de uma subunidade estabiliza todas as subunidades na conformação ativa



- Exemplos de moduladores alostéricos

Enzimas alostéricas	Efetuator alostérico		Via metabólica
	negativo	positivo	
Hexoquinase	Gli-6-P		Glicólise
Piruvato desidrogenase	Acetil-CoA, NADH, ATP		Pir → Acetil-CoA
Piruvato carboxilase		Acetil-CoA	Gliconeogênese
Isocitrato desidrogenase	NADH	ADP	CK

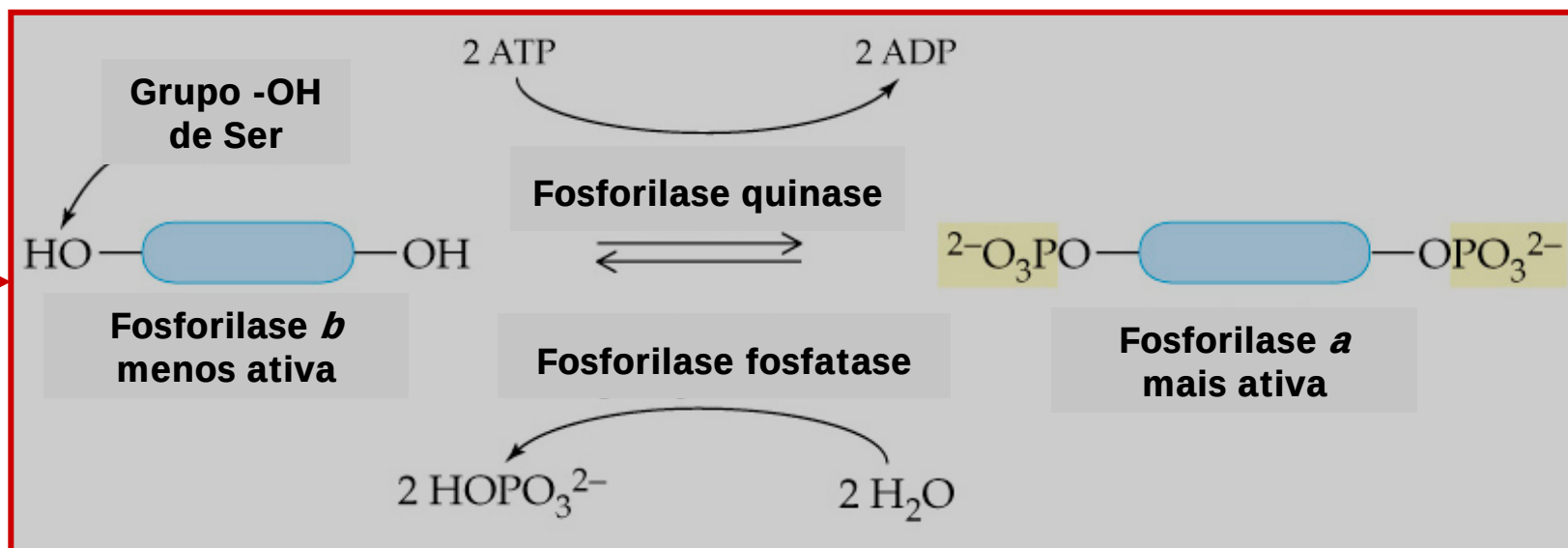
b) Controle por modificação covalente

Modificação covalente	Resíduos de AA que aceitam a modificação covalente
Fosforilação 	Tyr, Ser, Thr, His
Adenilação 	Tyr
ADP-ribosilação 	Arg, Gln, Cys Diftamida (uma His modificada)
Metilação 	Glu

- Exemplo de modificação covalente

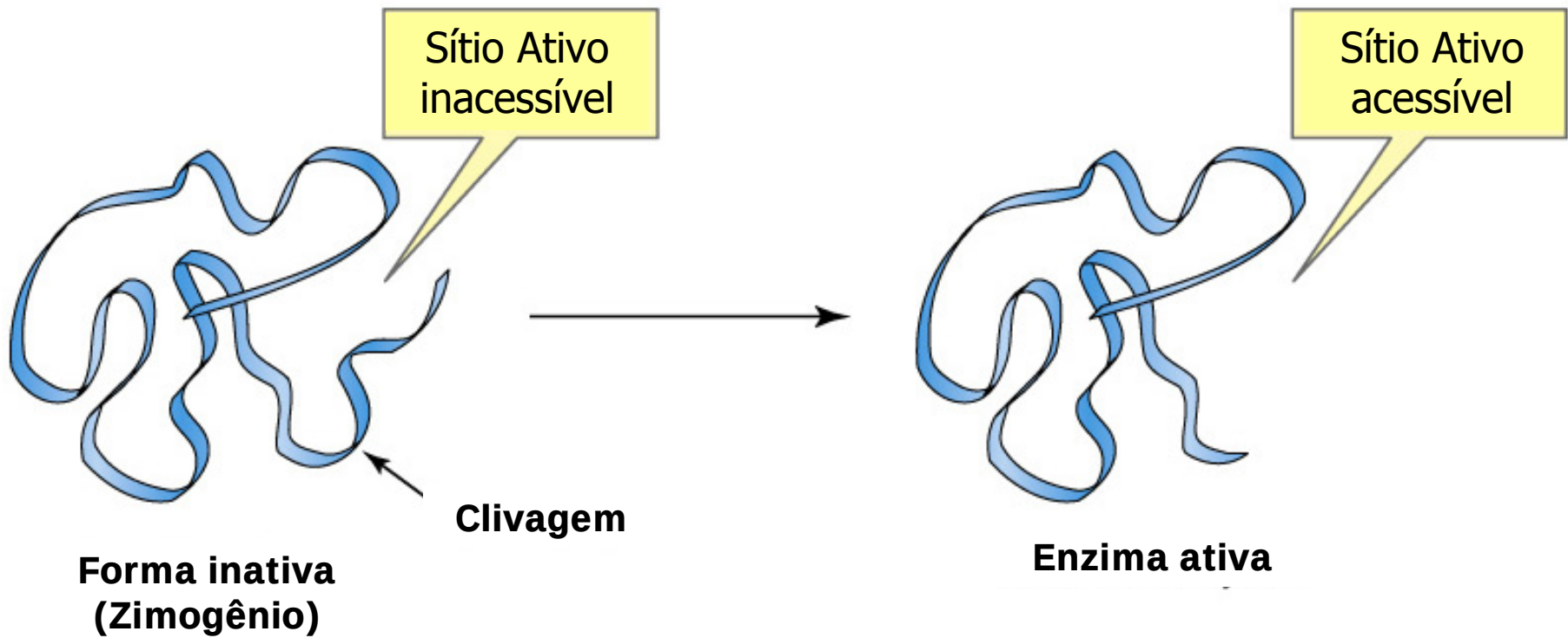
- fosforilação

Enzima fosforilada	Atividade	Via metabólica
Glicogênio fosforilase	Ativa	Glicogenólise
Piruvato desidrogenase	Inativa	Pir $\rightarrow$ Acetil-CoA
Lipase	Ativa	Lipólise

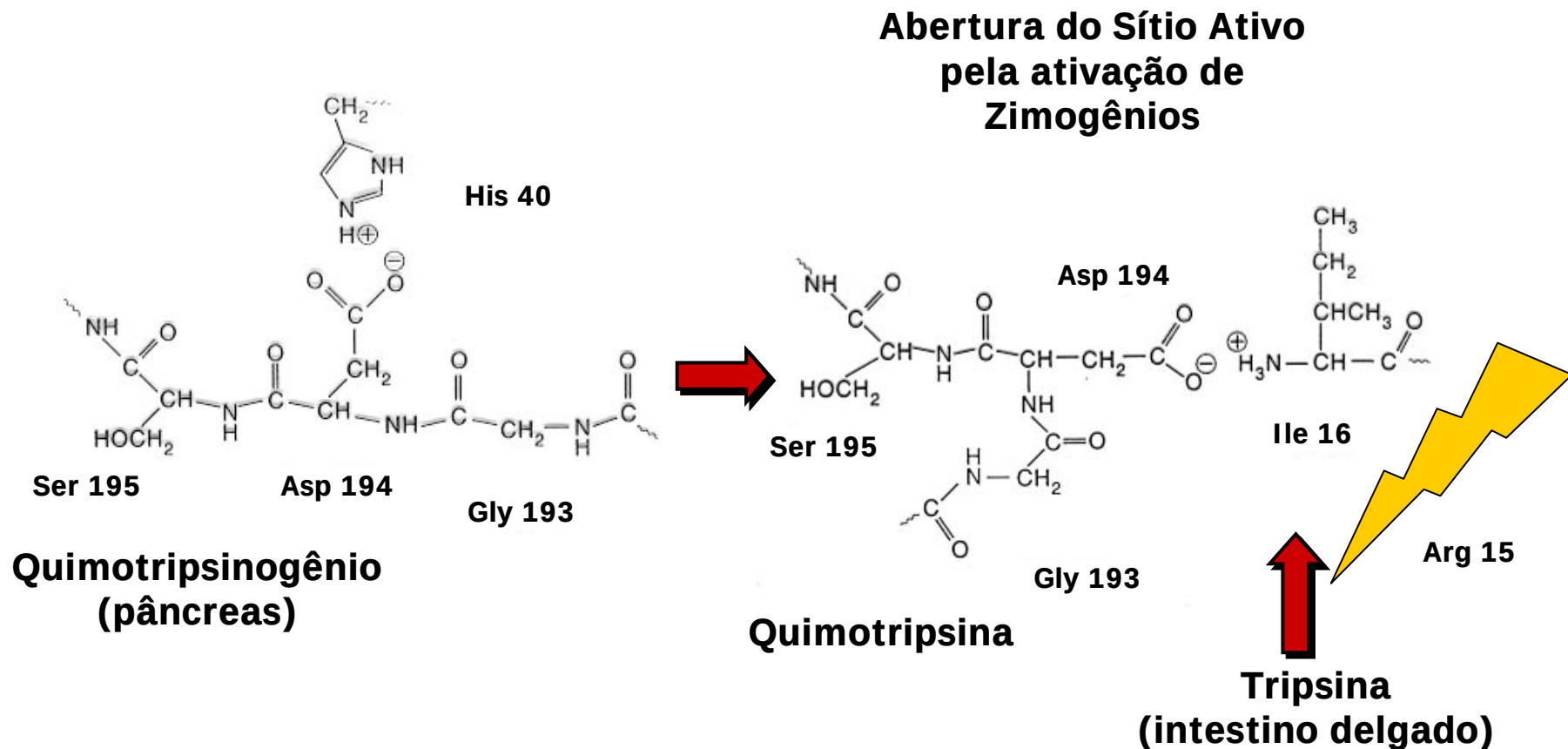


c) Controle por clivagem proteolítica

- Zimogênios



- Exemplo de clivagem proteolítica



11. Isoenzimas

- Conceito
- Exemplos
- fosforilação da glicose

Hexoquinase (maioria dos tecidos) $\Rightarrow K_M = 0,1 \text{ mM}$

Glicoquinase (fígado) $\Rightarrow K_M = 10 \text{ mM}$

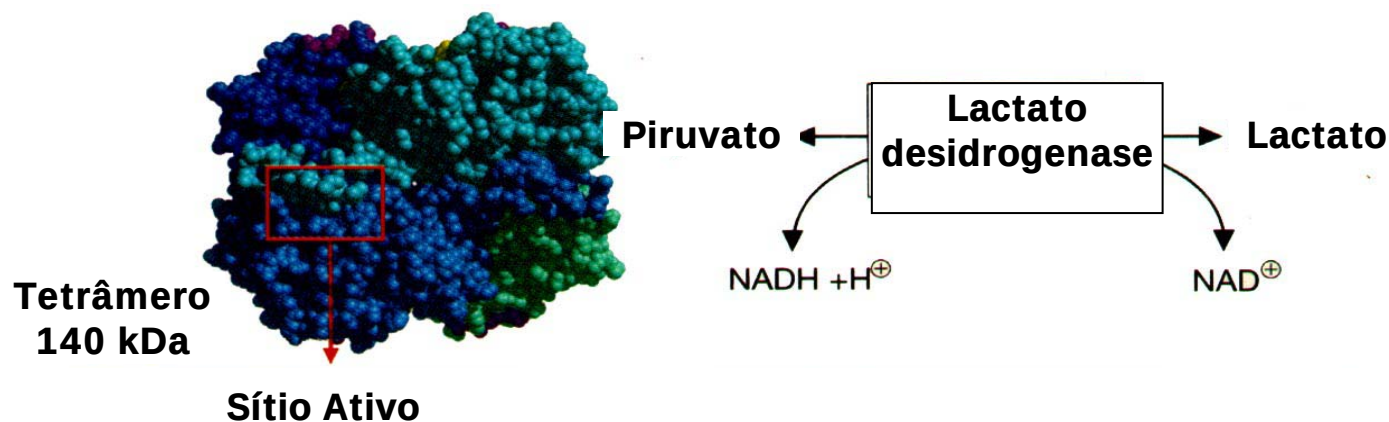
A glicoquinase tem K_M 100 x maior que a hexoquinase

2 situações

**① $\uparrow$ [gli] plasmática: $\uparrow$ veloc. da reação catalisada pela Glicoquinase (ex.: após refeição)
Glic armazenada como glicogênio**

**② $\downarrow$ [gli] plasmática: $\downarrow$ restringe a captação de Glic pelo fígado
disponibilidade de Glic p/ tecidos estritamente dependentes de Glic (ex.: cérebro)**

- Exemplos
- LDH (lactato desidrogenase)



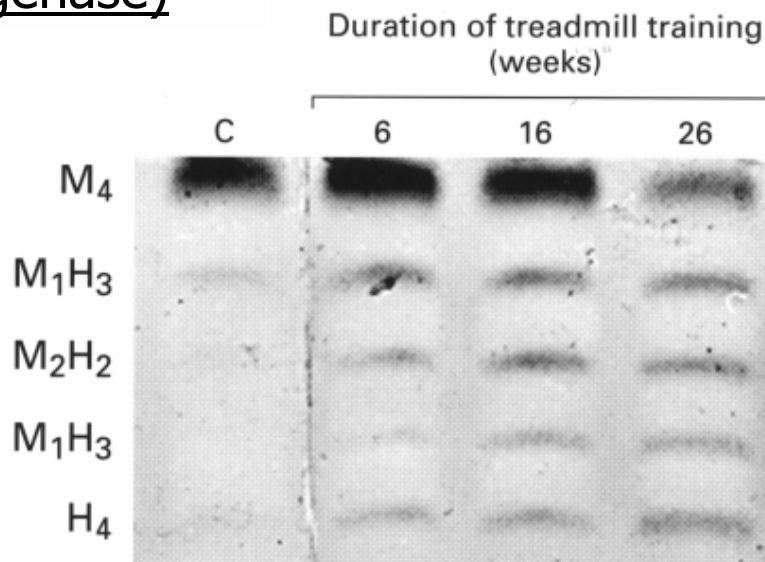
H4	H3M1	H2M2	H1M3	M4																				
<table><tr><td>H</td><td>H</td></tr><tr><td>H</td><td>H</td></tr></table>	H	H	H	H	<table><tr><td>H</td><td>H</td></tr><tr><td>H</td><td>M</td></tr></table>	H	H	H	M	<table><tr><td>H</td><td>M</td></tr><tr><td>H</td><td>M</td></tr></table>	H	M	H	M	<table><tr><td>H</td><td>M</td></tr><tr><td>M</td><td>M</td></tr></table>	H	M	M	M	<table><tr><td>M</td><td>M</td></tr><tr><td>M</td><td>M</td></tr></table>	M	M	M	M
H	H																							
H	H																							
H	H																							
H	M																							
H	M																							
H	M																							
H	M																							
M	M																							
M	M																							
M	M																							

Coração

Outros tecidos

Músculos e fígado

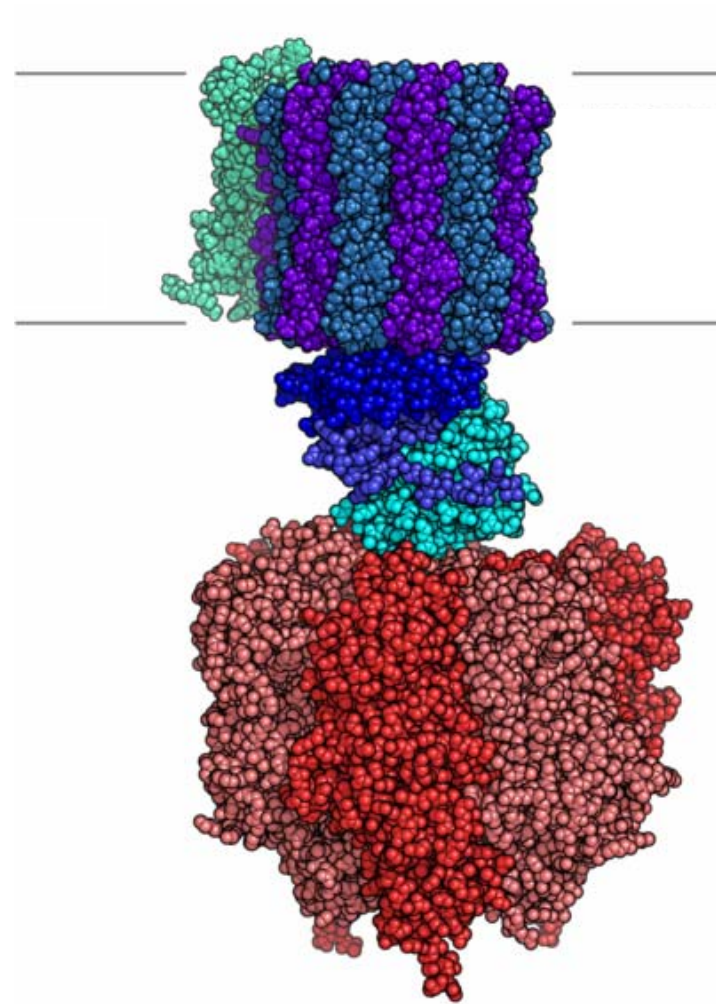
- Exemplos
- LDH (lactato desidrogenase)



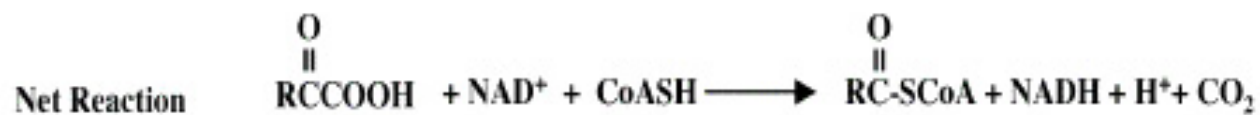
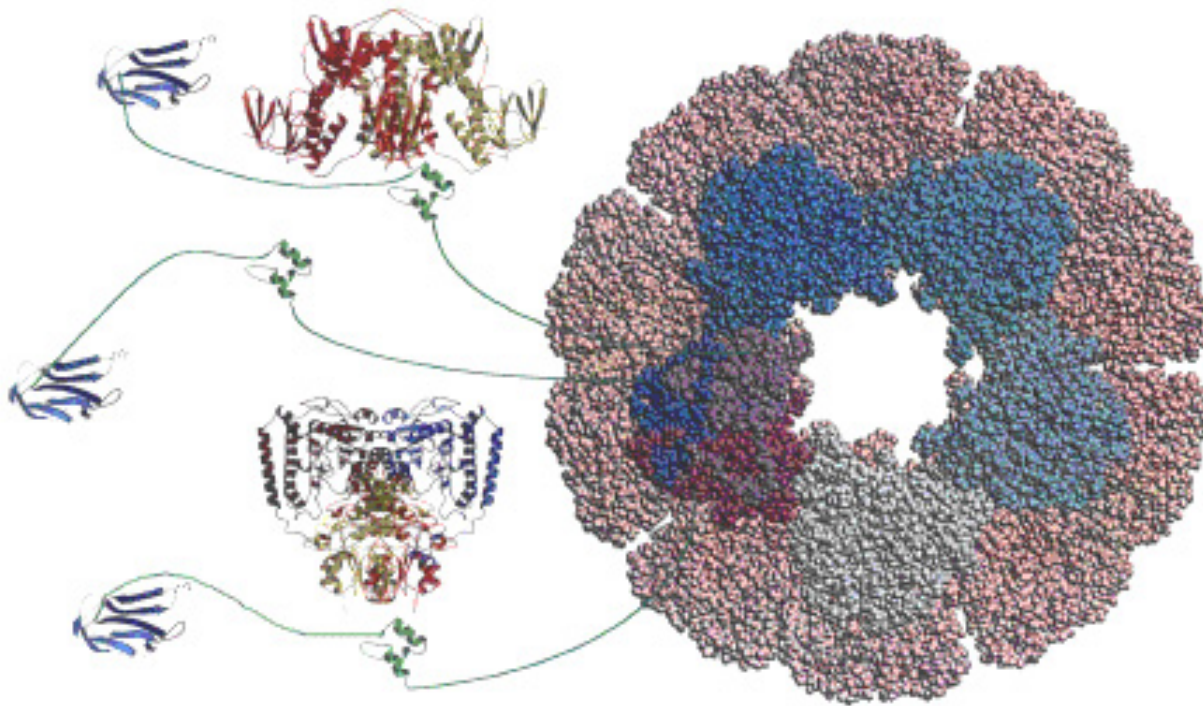
Determinação eletroforética do perfil de isoenzimas da lactato desidrogenase (LDH) derivada de músculo de cobaias. Os homogeneizados musculares foram preparados a partir de músculos retirados de cobaias submetidos a treinamento aeróbico (*treadmill*) por 6, 16 ou 26 semanas. A quantidade de homogeneizado de cada amostra da enzima (equivalente a 0,15 U) foi submetido a SDS-PAGE, sendo o gel escaneado. Os símbolos na margem esquerda correspondem às cinco isoenzimas da enzima LDH compostas de várias combinações das subunidades H e M.

12. Complexos multienzimáticos

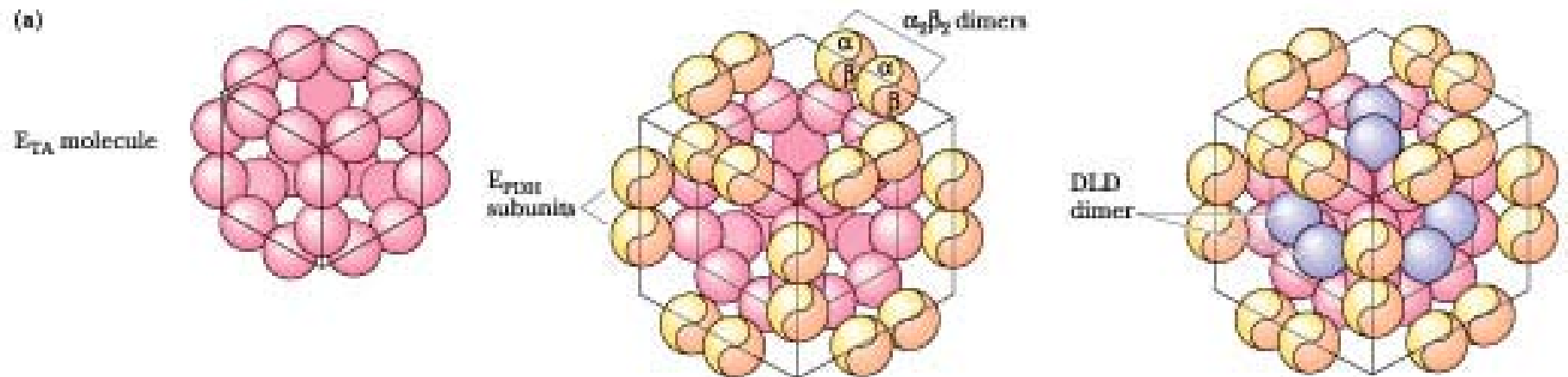
- Exemplos
- ATPase



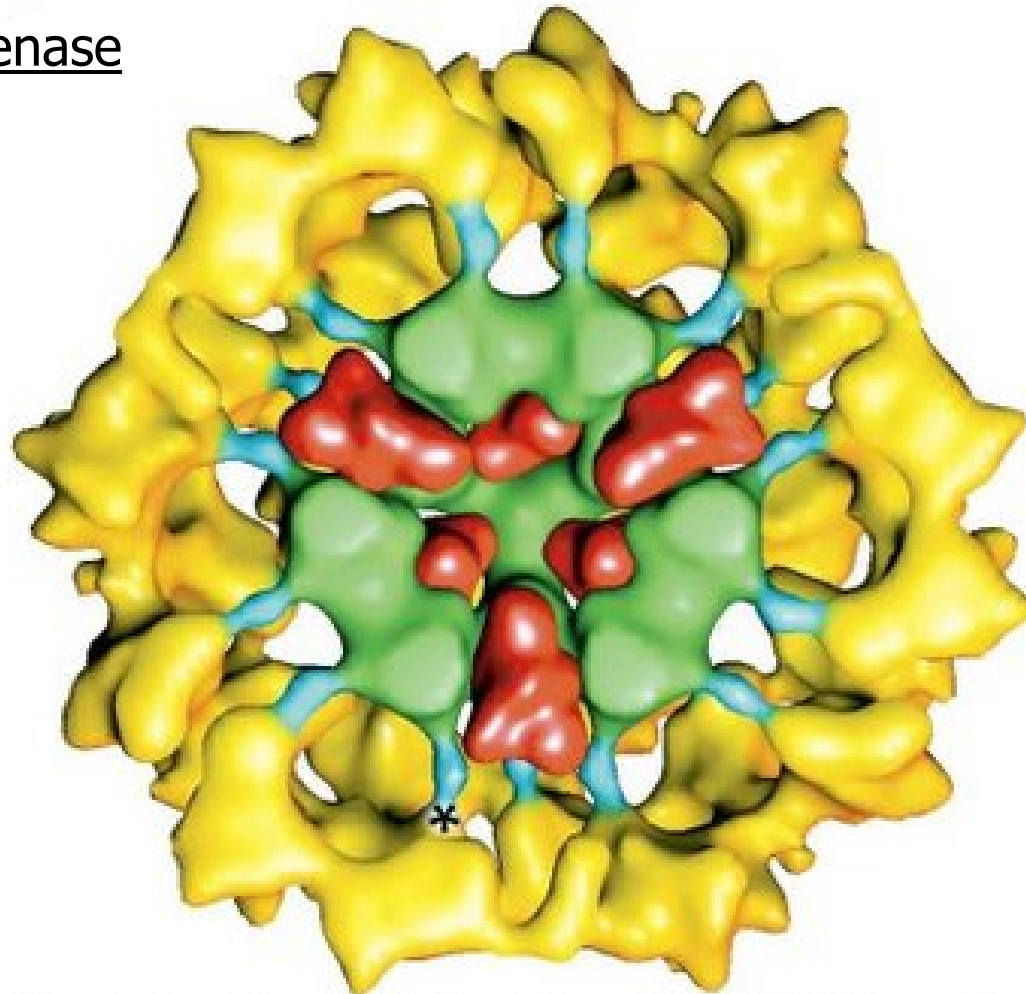
- Exemplos
- piruvato desidrogenase



- Exemplos
- piruvato desidrogenase



- Exemplos
- piruvato desidrogenase



Cutaway view of the complete complex showing the outer E1 enzymes (yellow) and the BP-E3 enzymes (red) located in the space between the E2 enzymes of the inner core. [from Zhou, H.Z. et al. (2001) The remarkable structural and functional organization of the eukaryotic pyruvate dehydrogenase complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 98, 14082-14087.]

Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.