

Enzimas *versus* “outros” catalisadores

- Catalisadores proteicos
- Elevados factores de aceleração das reacções
- Grande especificidade para os substratos
- Estereo-especificidade (também absoluta)
- Reduzido número de subprodutos de reacção
- Condições de reacção suaves (temperatura, pH, salinidade,...)
- Capacidade de regulação

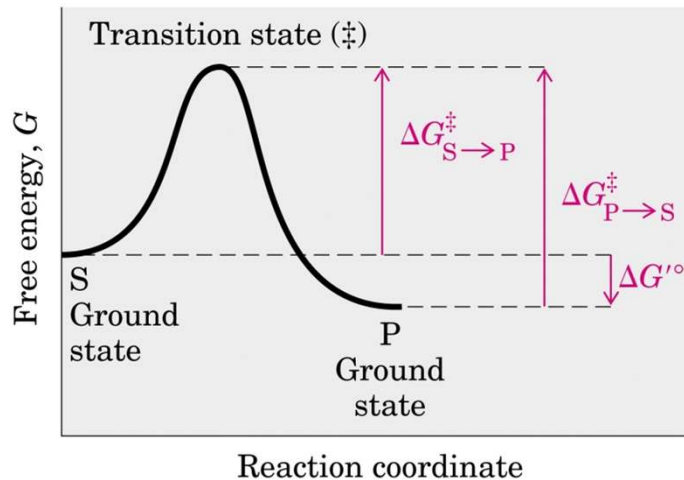
Aumento da velocidade de reacção

- As reacções catalisadas enzimaticamente apresentam, factores de aceleração da ordem de 10^6 - 10^{17} relativamente às reacções não-catalisadas.
- Os incrementos observados são sempre várias ordens de grandezas superiores aos obtidos com catalisadores não-enzimáticos!

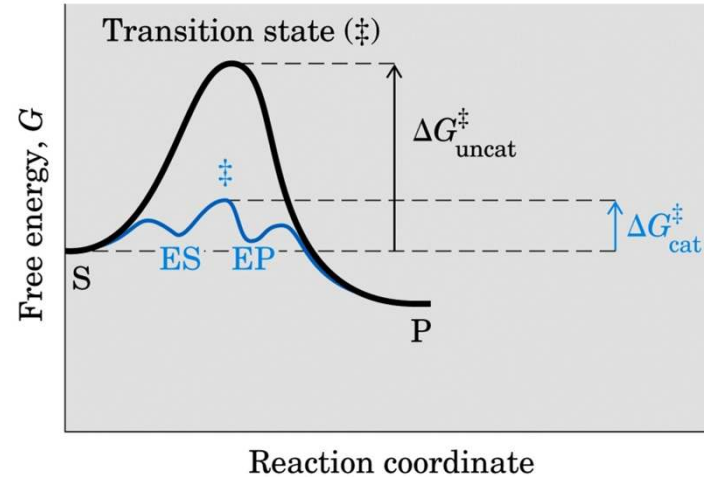
Aceleração da velocidade de reacção

Enzima	$k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$
Ciclofilina	10^5
Anidrase carbónica	10^7
Triose fosfato isomerase	10^9
Carboxipeptidase A	10^{11}
Fosfoglucomutase	10^{12}
Succinil-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Ornitinina mono-P decarboxilase	10^{17}

Catálise



**Catálise
enzimática**



$$\Delta G_{\text{cat}}^{\ddagger} < \Delta G_{\text{uncat}}^{\ddagger}$$

$$\Delta G_{\text{uncat}}^{\ddagger} = -RT \ln k_{\text{uncat}}$$

$$\Delta G_{\text{cat}}^{\ddagger} = -RT \ln k_{\text{cat}}$$

$$\Delta G_{\text{uncat}}^{\ddagger} - \Delta G_{\text{cat}}^{\ddagger} = \Delta\Delta G^{\ddagger} = RT \ln(k_{\text{cat}} - k_{\text{uncat}})$$

$$\frac{k_{\text{cat}}}{k_{\text{uncat}}} = \exp(\Delta\Delta G^{\ddagger} / RT)$$

$$\frac{k_{\text{cat}}}{k_{\text{uncat}}}$$

Factor de
aceleração

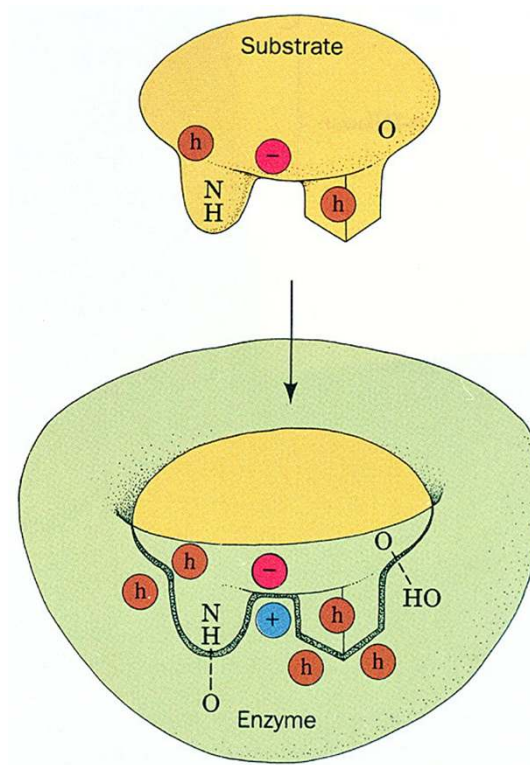
Condições de reacção suaves

- As reacções catalisadas enzimaticamente dão-se em condições relativamente suaves: temperaturas geralmente muito abaixo dos 100 °C, pressão atmosférica, *pH* próxima da neutralidade.
- A catálise inorgânica requer geralmente temperaturas elevadas, e valores extremos de pressão e *pH* !

Especificidade elevada

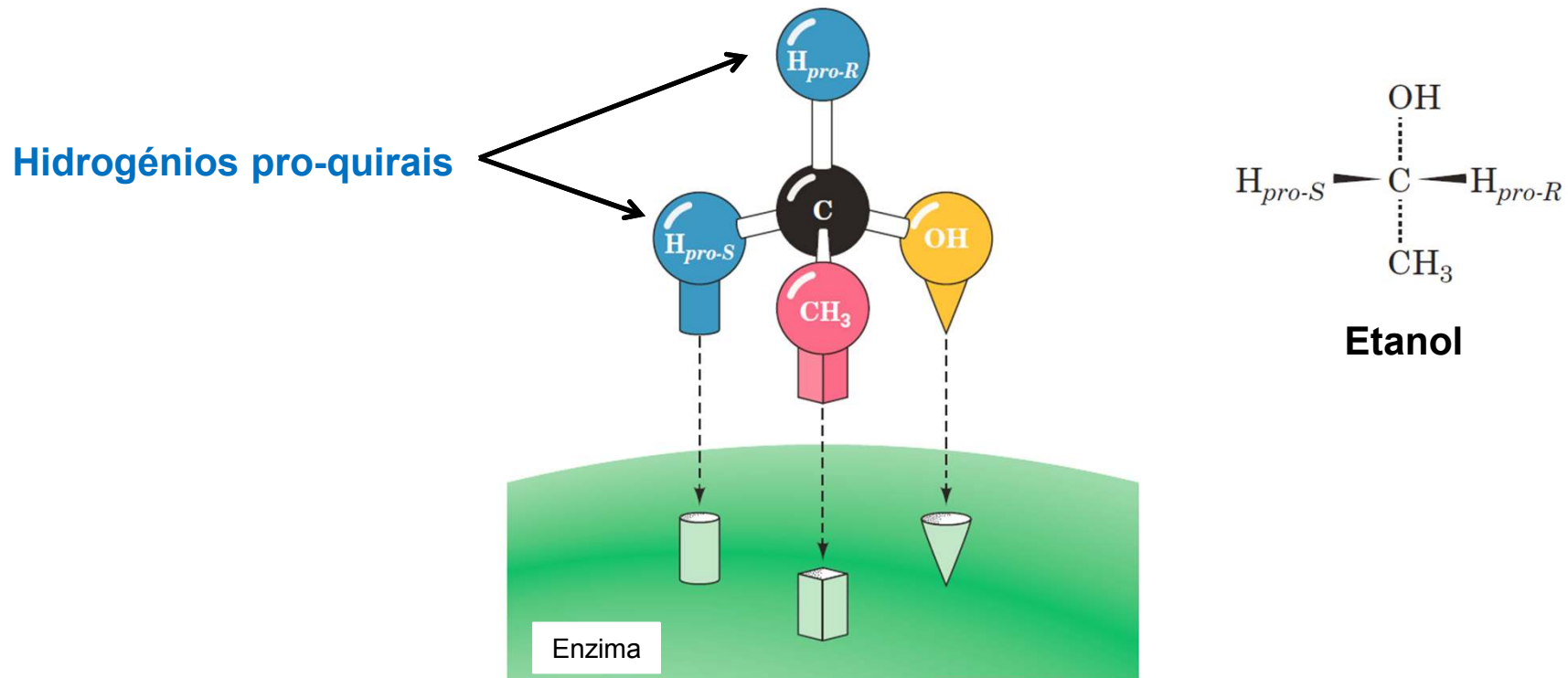
- Os enzimas podem ser extraordinariamente específicos tanto em relação aos seus *substratos*, como em relação aos seus *produtos* – muito mais que os catalisadores químicos.
- As reacções catalisadas enzimaticamente raramente dão origem a produtos alternativos.

Interacção enzima-substrato



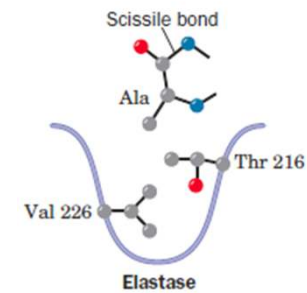
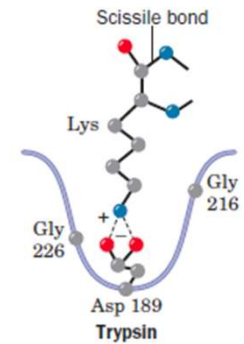
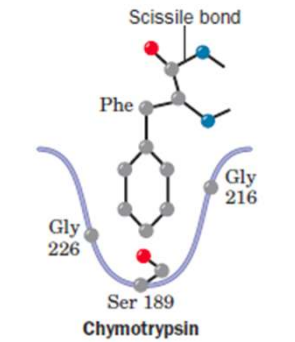
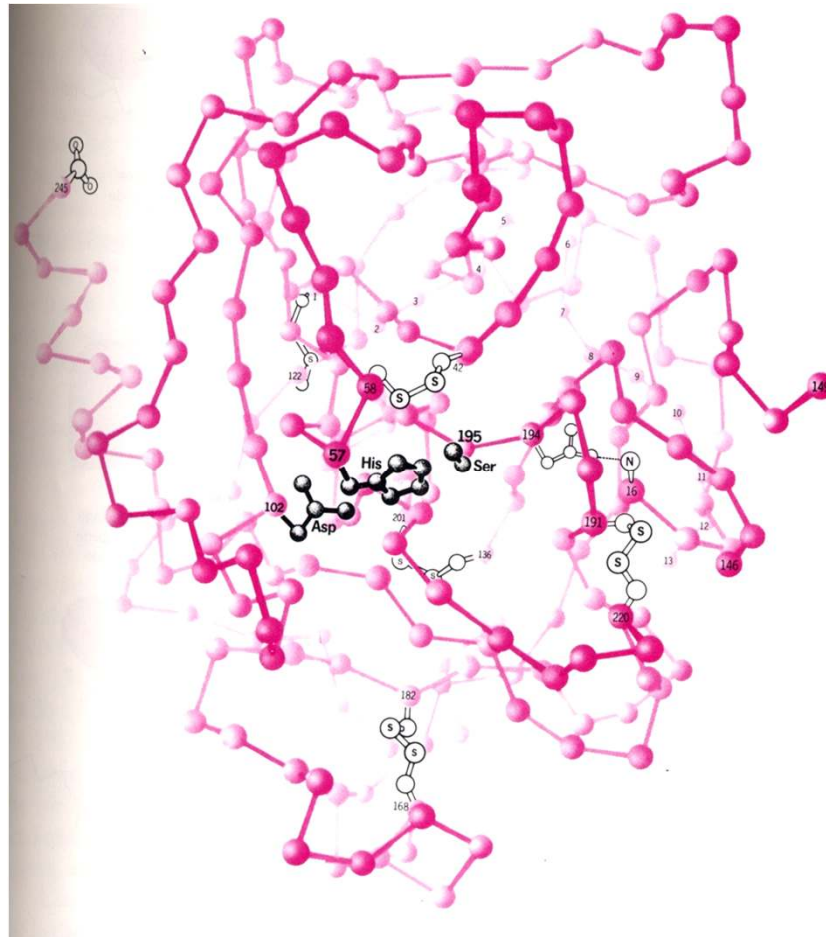
- A associação enzima-substrato é estabilizada por forças não-covalentes: interacções electrostáticas, forças de van der Waals, ligações de hidrogénio, efeito hidrofóbico (as mesmas forças que estabilizam a estrutura proteica).
- O estudos estruturais dos enzimas mostram que os centros activos se encontram *largamente preformados* na ausência dos seus substratos.

Estereo-especificidade relativa e absoluta



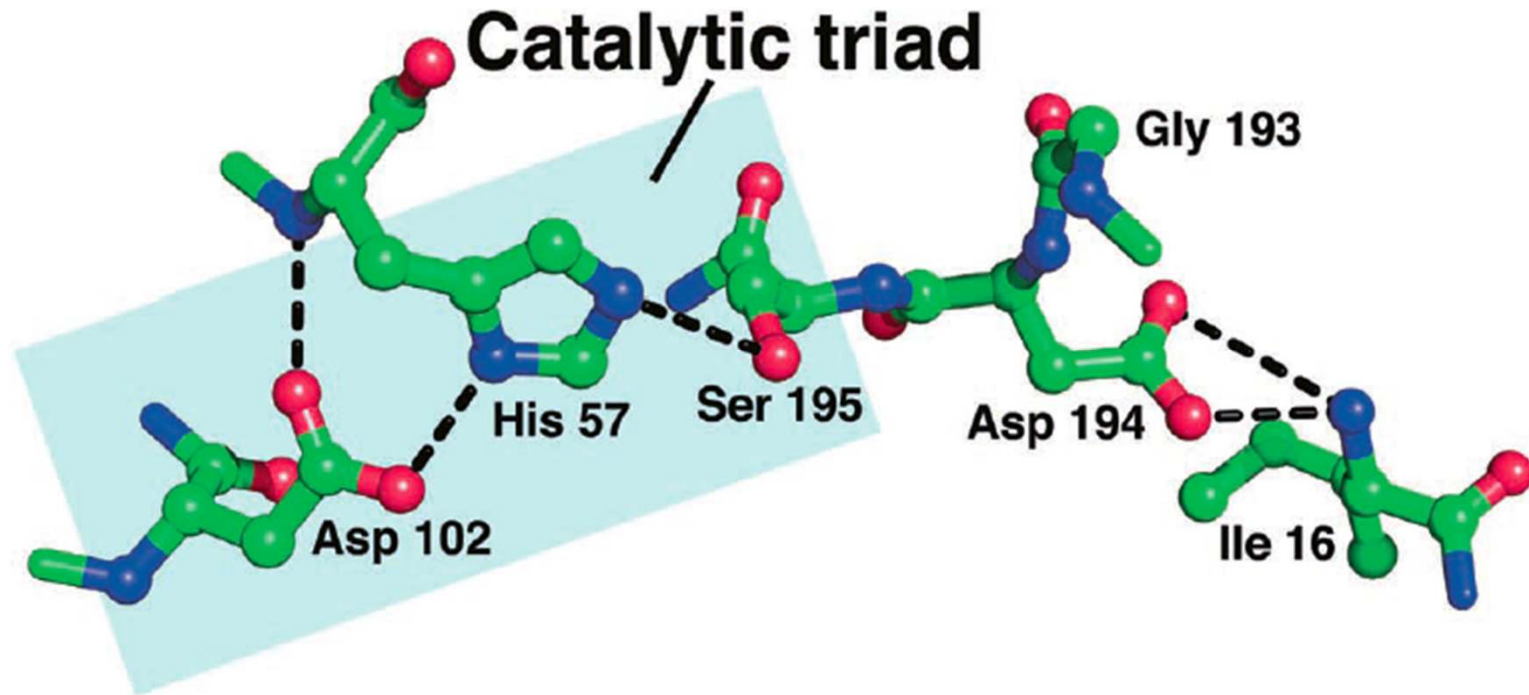
- Os enzimas são altamente específicos tanto em termos da ligação a substratos quirais como na catálise das suas reacções. Esta *estereoespecificidade* resulta da complementaridade estrutural entre **centro activo** e **substratos**.
 - Os enzimas podem distinguir entre átomos *pro-quirais* (estereo-especificidade *absoluta*).
- Ex: álcool desidrogenase distingue entre $\text{H}_{\text{pro-R}}$ e $\text{H}_{\text{pro-S}}$ da molécula de etanol.

Especificidade enzimática



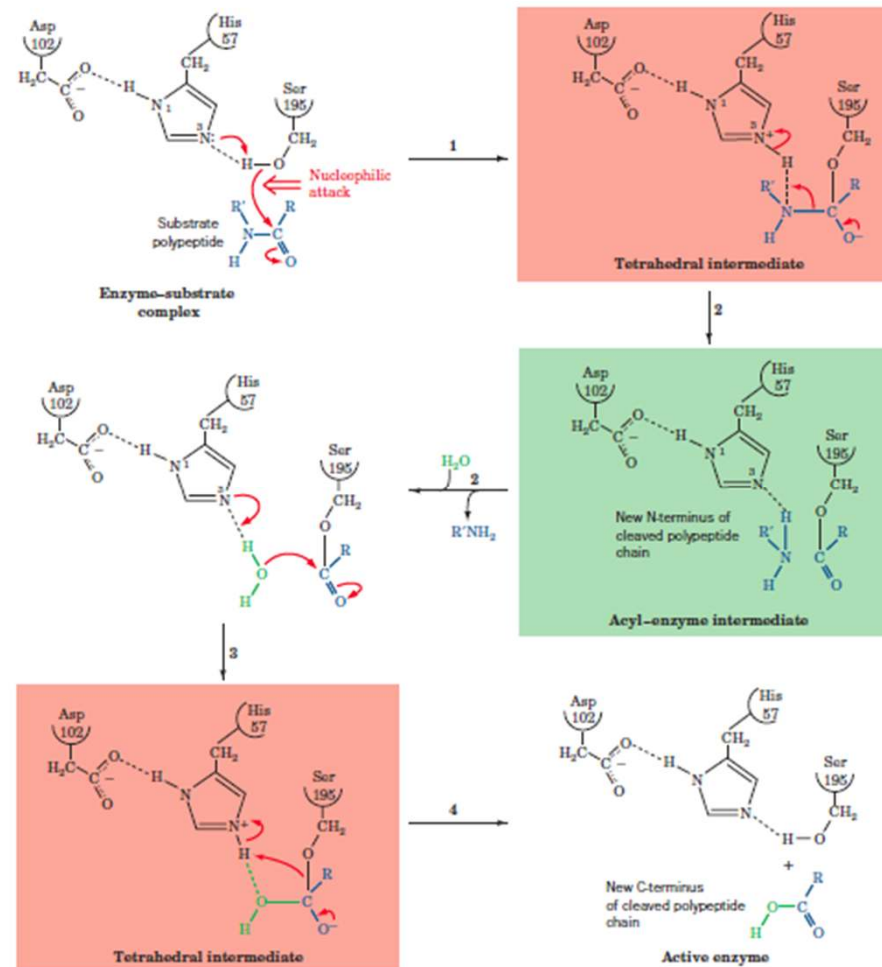
- A especificidade dos enzimas para os seus substratos pode ser modulada pela variabilidade da sequência de aminoácidos no centro activo e na sua vizinhança

Especificidade enzimática



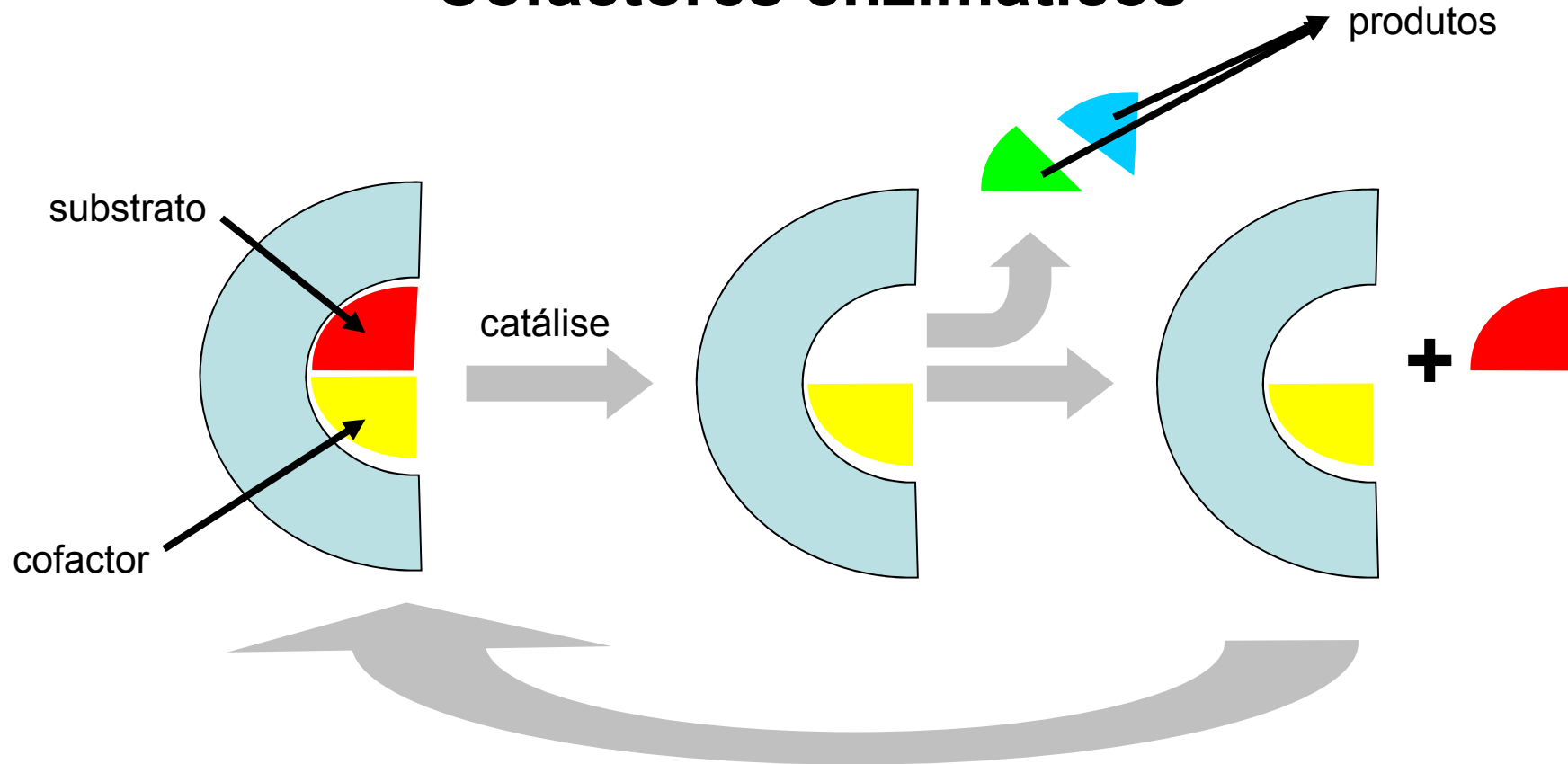
O mecanismo catalítico das proteases de serina está dependente do posicionamento preciso dos resíduos catalíticos do centro activo (tríade catalítica).

Especificidade enzimática



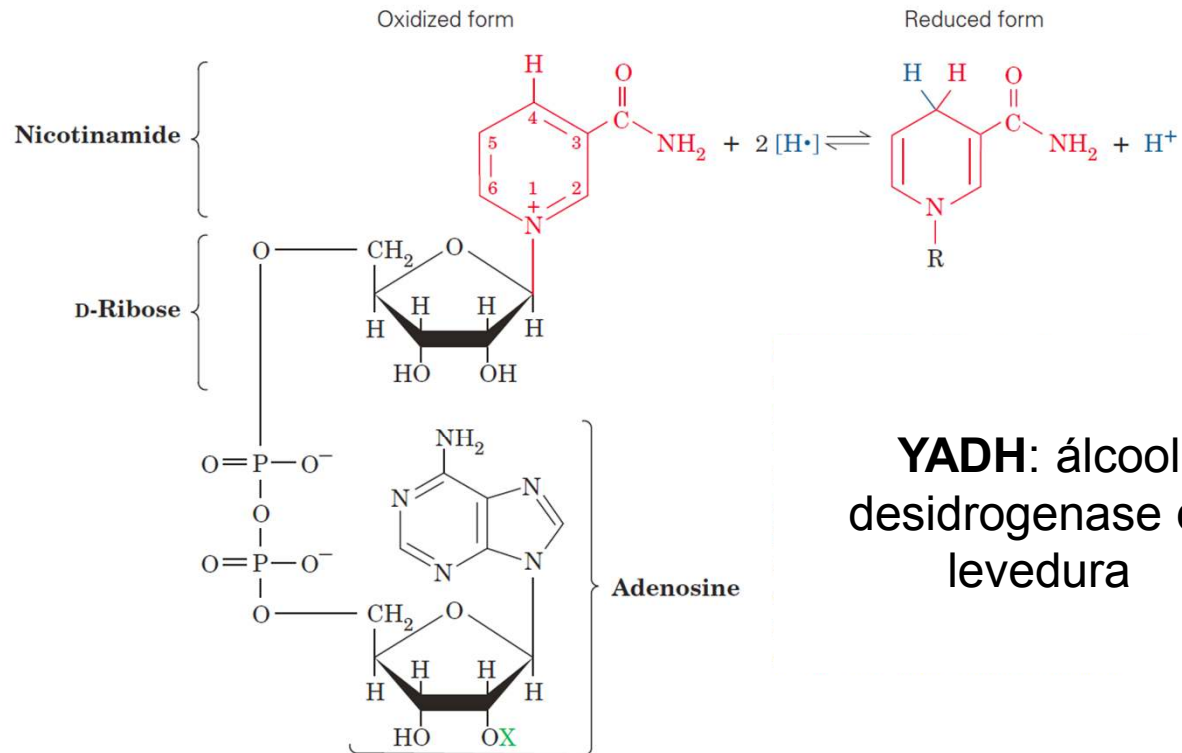
Mecanismo catalítico das proteases de serina

Cofactores enzimáticos



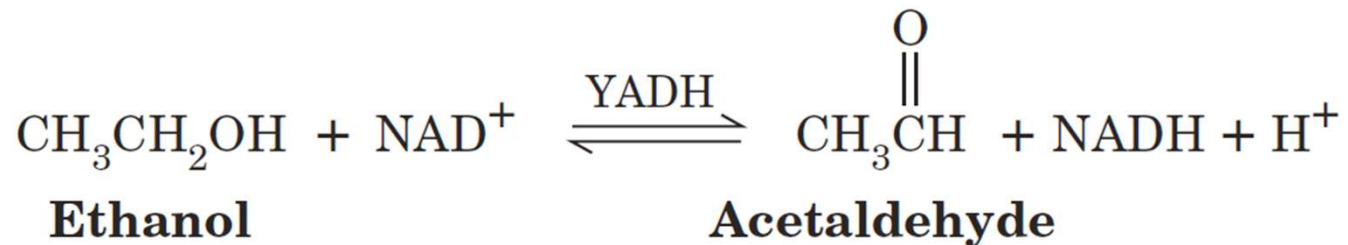
- O repertório químico da catálise enzimática pode ser estendido através de **cofaktorens enzimáticos**, cuja estrutura não-proteica permite a existência de grupos funcionais com novas possibilidades catalíticas.

Cofactores enzimáticos



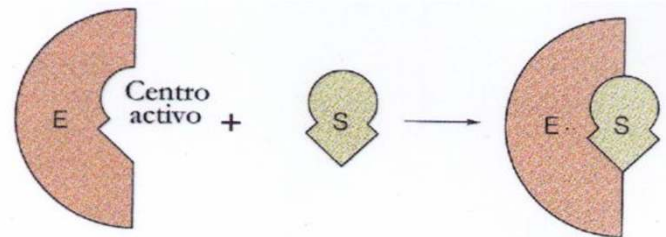
YADH: álcool
desidrogenase da
levedura

$\text{X} = \text{H}$ Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+)
 $\text{X} = \text{PO}_3^{2-}$ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP^+)

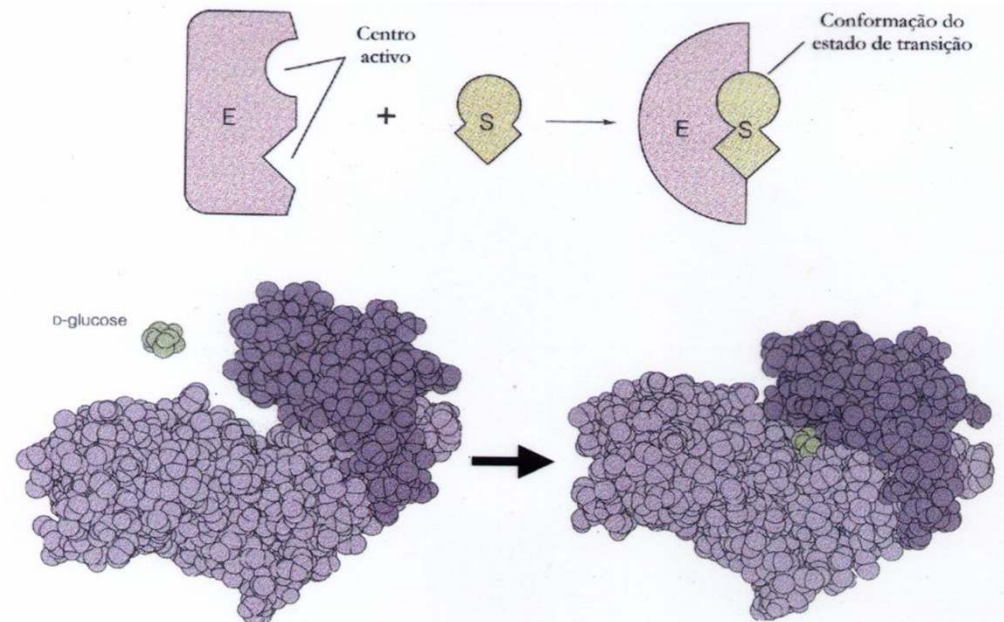


Ajuste induzido

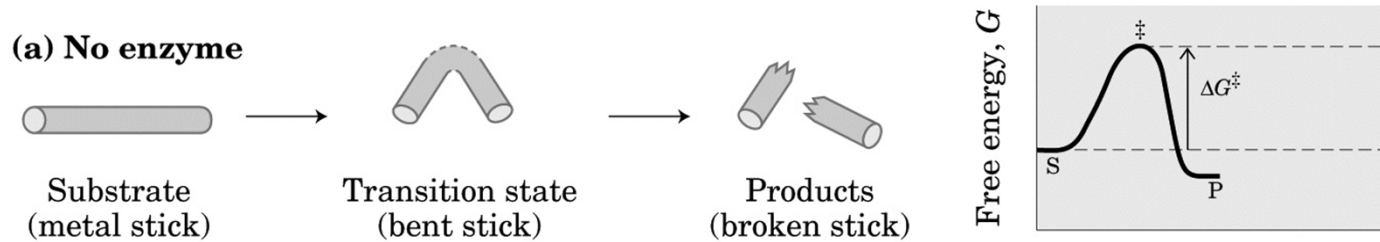
- Em 1894, Emil Fischer propõe que o enzima acomoda o seu substrato como uma chave numa fechadura (lock-and-key model)



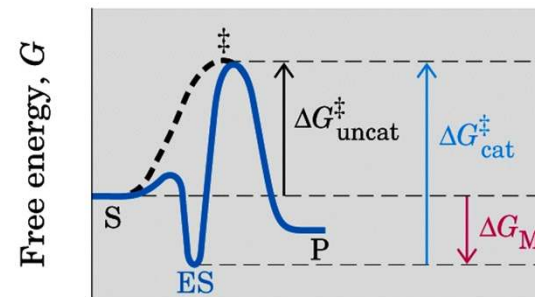
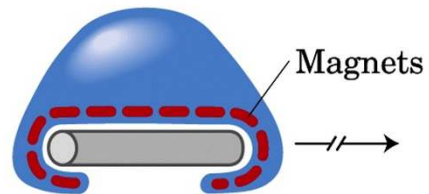
- De acordo com o modelo de **ajuste induzido**, proposto por Koshland em 1954, a estrutura que o enzima acomoda é próxima do *estado de transição* da reacção:



Catálise no modelo *lock-and-key*



(b) Enzyme complementary to substrate

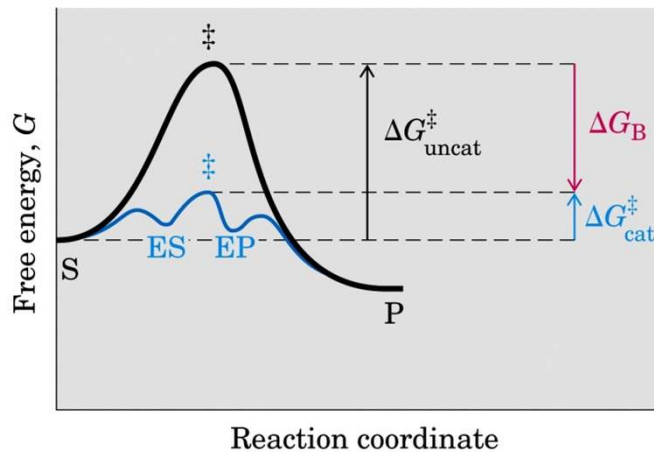
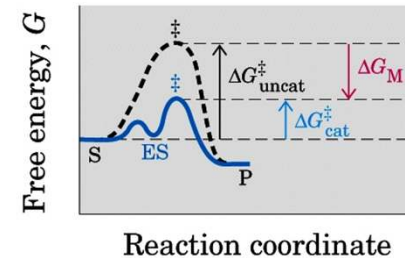
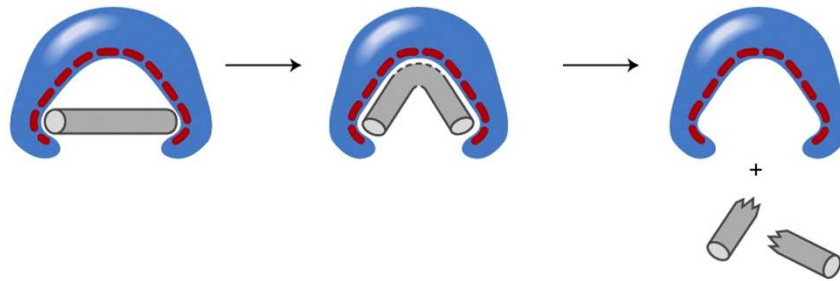


A formação do complexo enzima-substrato leva a uma estabilização com o consequente aumento da energia de activação ΔG^\ddagger .

Não consegue explicar a catálise enzimática!

Catálise no modelo de ajuste induzido

(c) Enzyme complementary to transition state



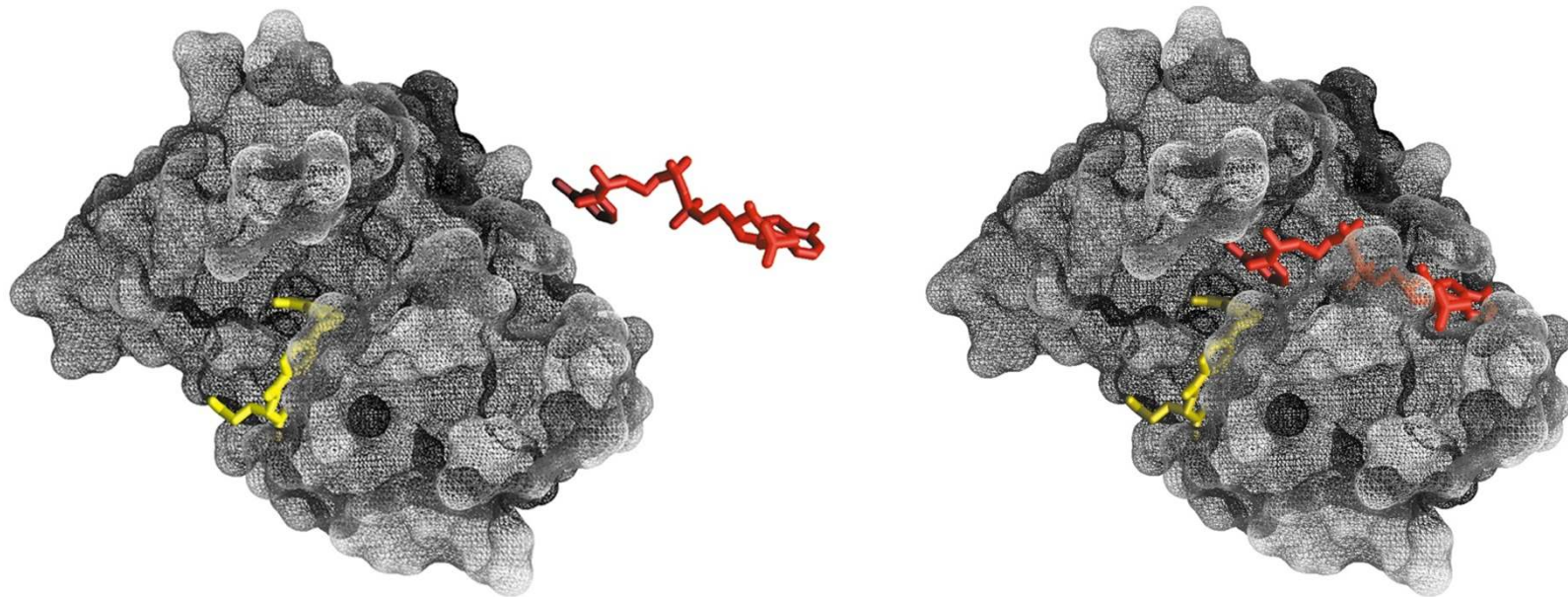
Contributo da energia de ligação do substrato para a catálise

A formação do complexo enzima-estado de transição leva a uma estabilização deste, com a consequente diminuição da energia de activação ΔG^\ddagger .
Consegue explicar a catálise enzimática!

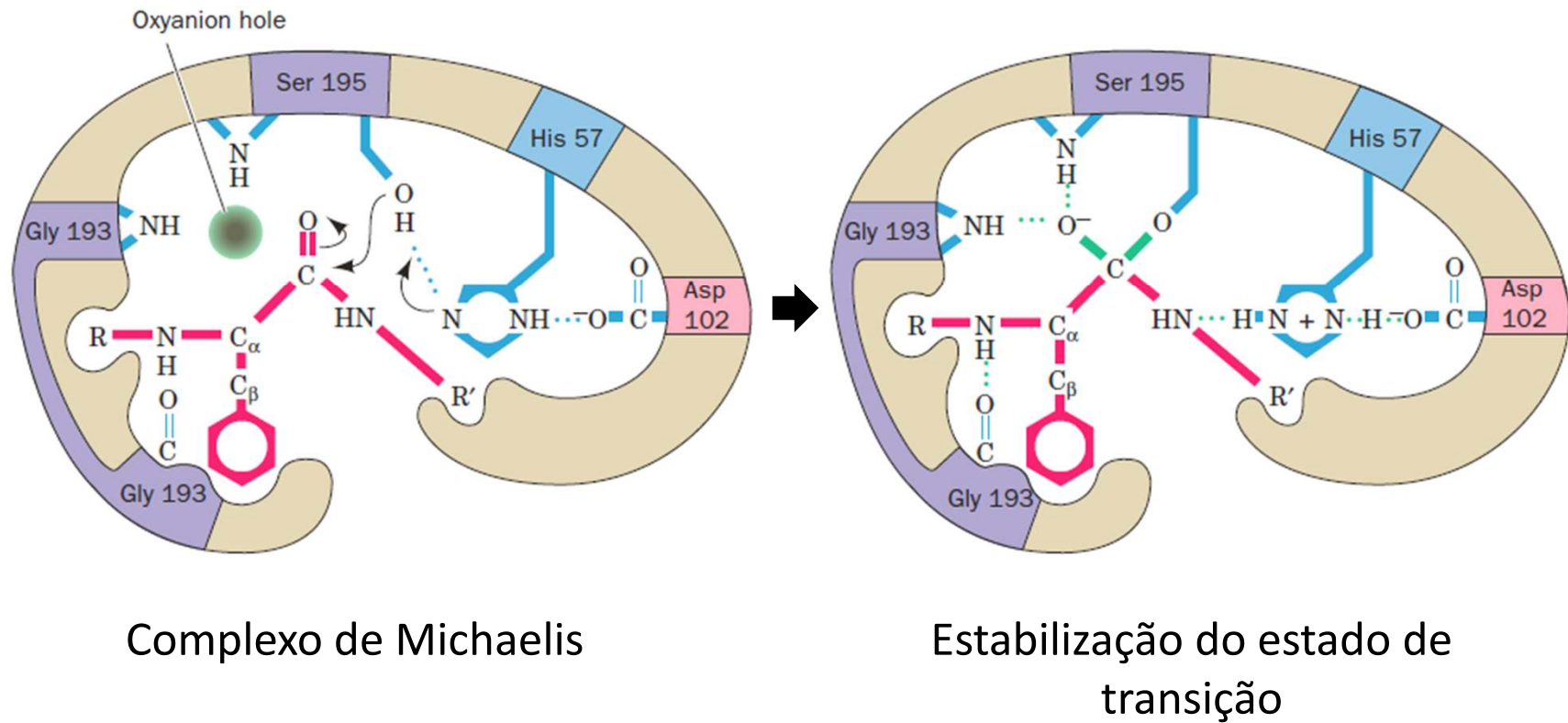
Interação enzima-substrato

Muito do potencial catalítico dos enzimas deriva da energia livre libertada na formação de múltiplas interacções fracas com o substrato

As interacções fracas são maximizadas no estado de transição da reacção - o enzima é complementar do estado de transição e não do substrato!



Estabilização do estado de transição nas protéases de serina

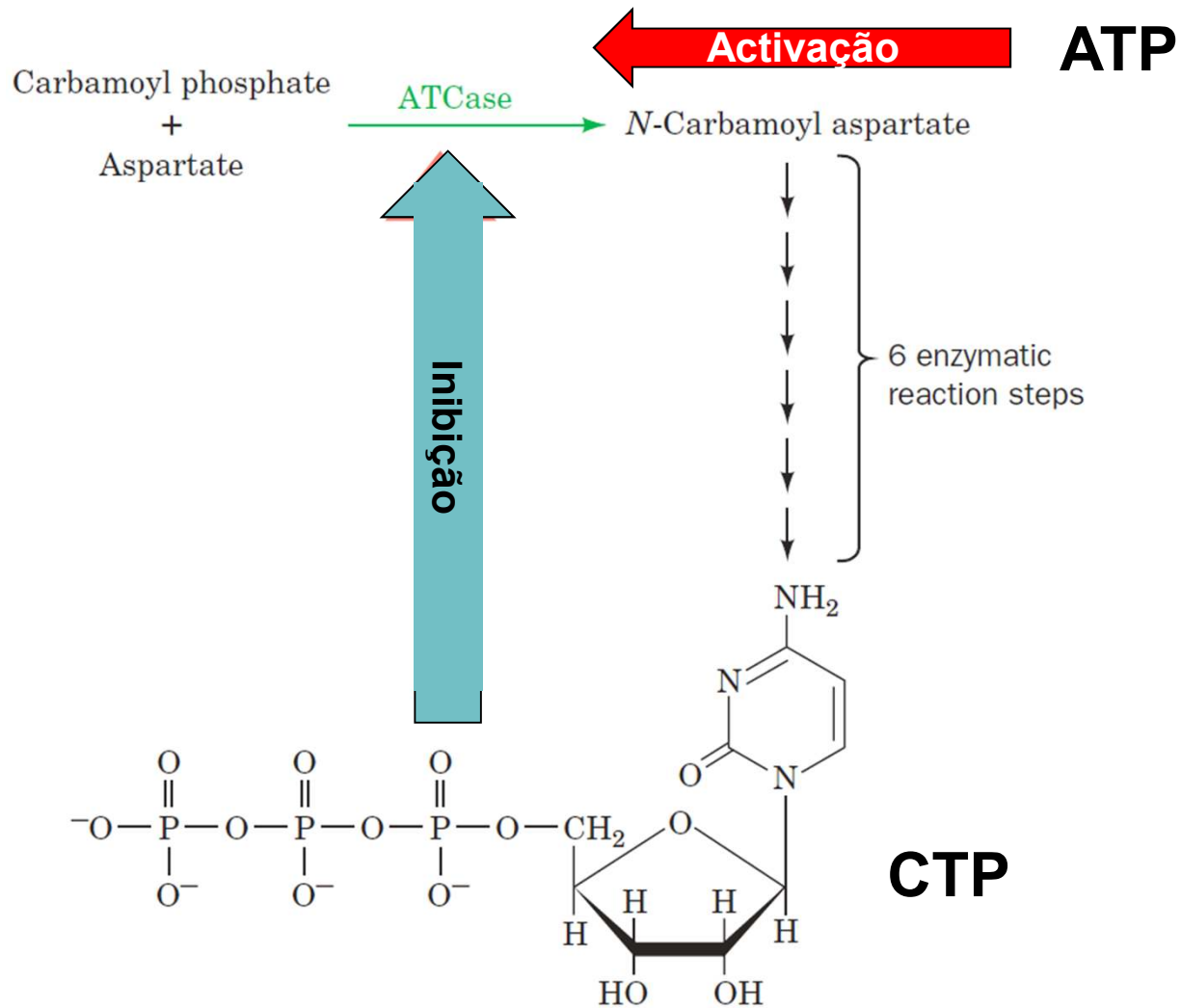


Controle da actividade enzimática

Os seres vivos têm necessidade absoluta de regular o fluxo das suas vias metabólicas, de modo a ter controle sobre os processos internos e responder aos estímulos do ambiente. Esta regulação é conseguida operando essencialmente a três níveis:

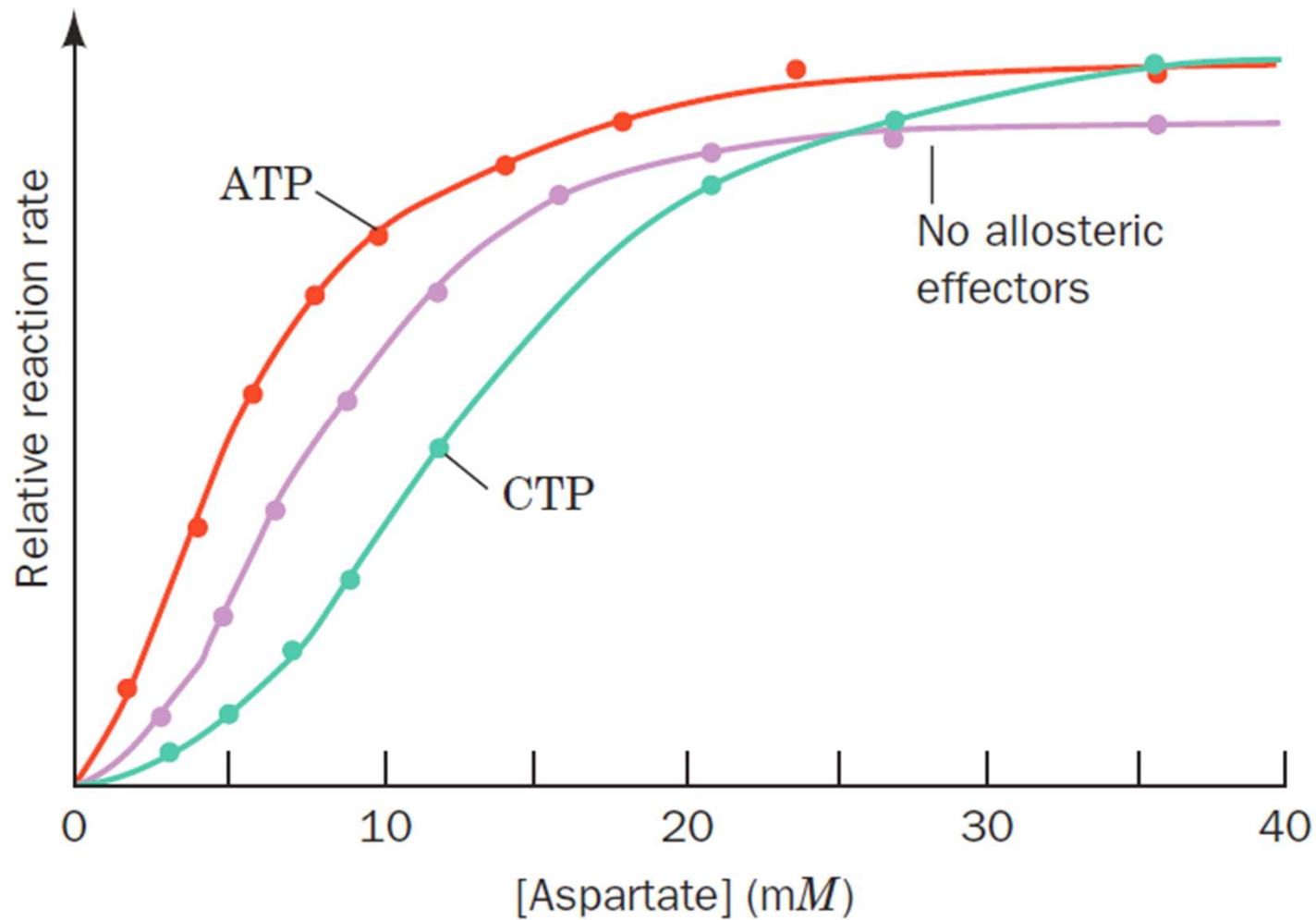
- *Controle da actividade enzimática:* A quantidade de enzima disponível num dado instante depende das suas taxas de síntese e degradação, e estas podem ser alteradas em resposta a um estímulo do meio, com seja a presença de determinado metabolito.
- *Controlo da actividade enzimática:* A actividade enzimática pode ser regulada directamente através de alterações estruturais ou conformacionais. A afinidade do enzima para o substrato(s) pode ser alterada pela ligação de um **efector**, ou modificador da actividade. Se este efector se ligar a um outro local que não o centro activo, diz-se ser um **efector alóstereo**.
- *Modificação covalente do enzima:* A actividade enzimática pode ser alterada por modificação da estrutura covalente do enzima.

Controle da actividade enzimática

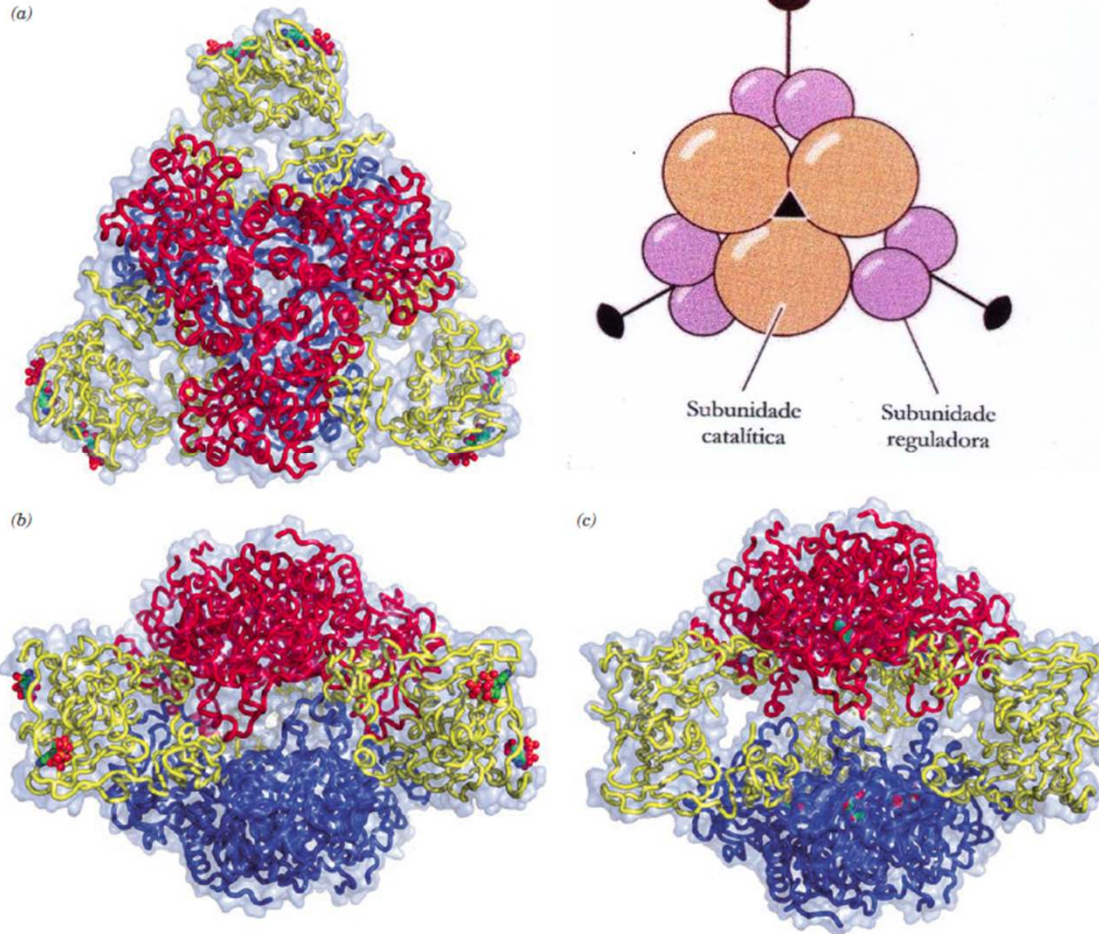


O enzima *aspartato transcarbamilase* (ATCase) catalisa o primeiro passo da biossíntese das pirimidinas.

Controle da actividade enzimática

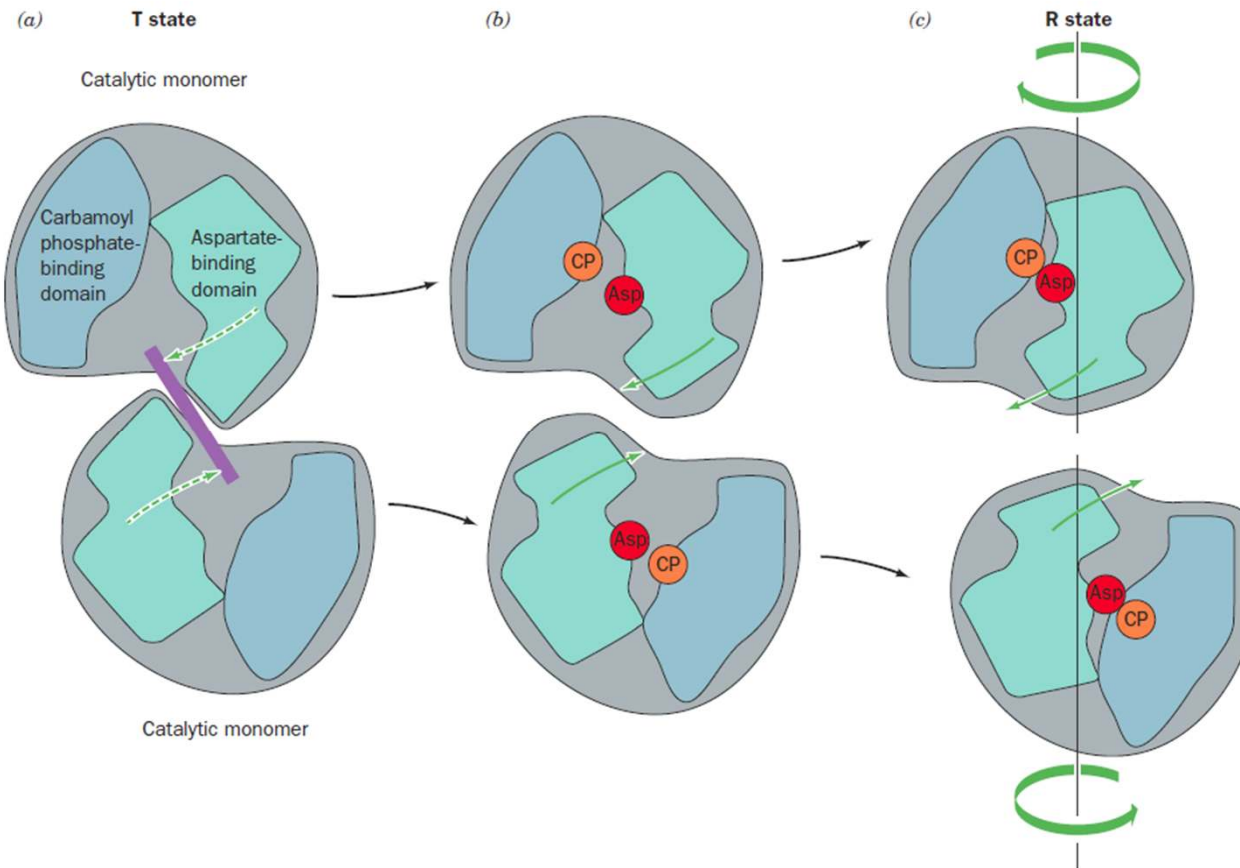


Controle da actividade enzimática



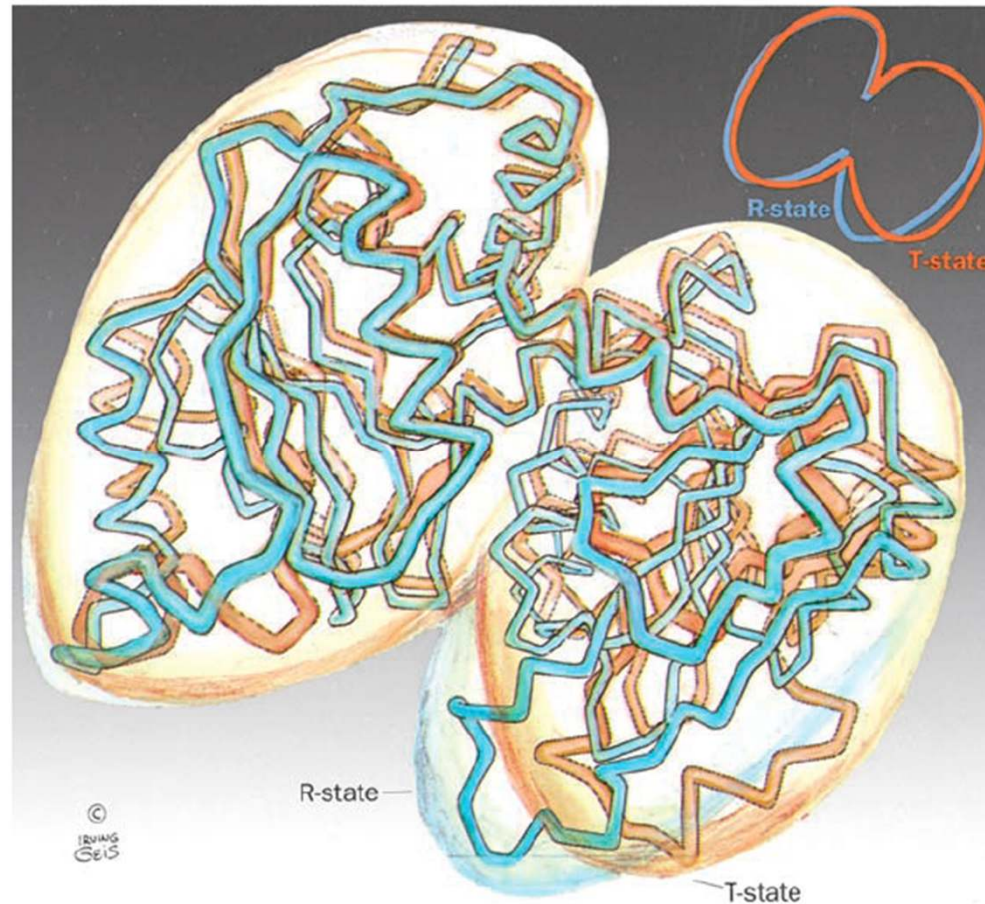
As subunidades catalíticas da ATCase apresentam actividade máxima e independente da concentração dos efectores quando dissociadas das subunidades reguladoras..

Controle da actividade enzimática



Transição do estado T para o estado R da ATCase pela ligação dos seus dois substratos. Os contactos que impedem a rotação das subunidades catalíticas desaparecem com a ligação dos substratos, permitindo a passagem ao estado R.

Controle da actividade enzimática



Transição do estado T para o estado S da ATCase pela ligação dos seus dois substratos. Os contactos que impedem a rotação das subunidades catalíticas desaparecem com a ligação dos substratos, permitindo a passagem ao estado R.

Classificação dos enzimas

Os enzimas são classificados de acordo com um sistema estabelecido pela *International Commission on Enzymes*, em 1956. Este sistema permite também nomear os enzimas de forma sistemática.

International Classification of Enzymes*

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

EC 1.1.1.1 Alcool desidrogenase

EC 3.4.21.4 Tripsina

