

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 geralmente várias ordens de grandezas superiores aos obtidos com catalisadores não-enzimáticos!

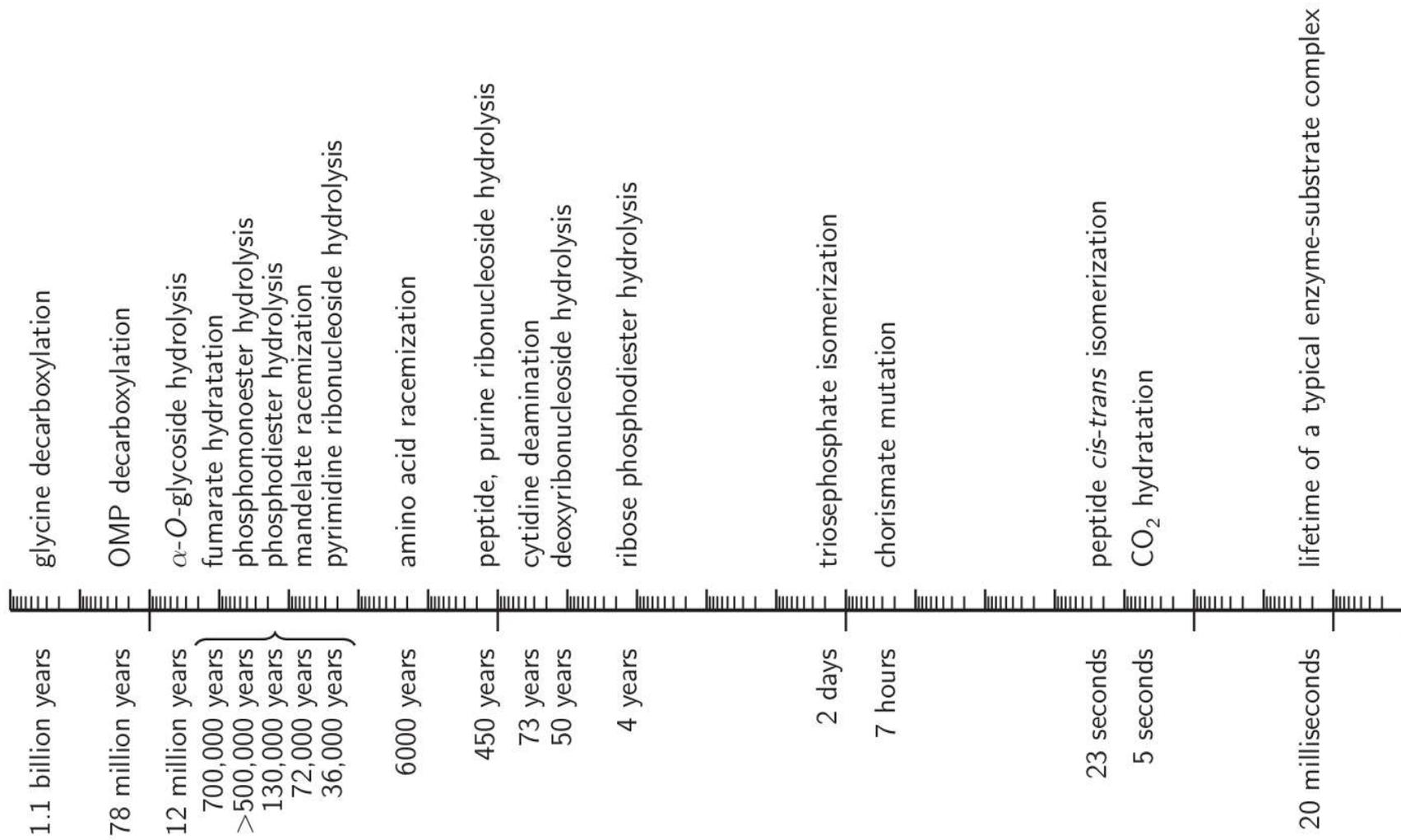
Exemplo - descarboxilação da orotidina-5-fostato:

- tempo de meia vida em solução: 78 milhões de anos
- tempo de meia na célula: 0.017 segundos !

Aceleração da velocidade de reacção

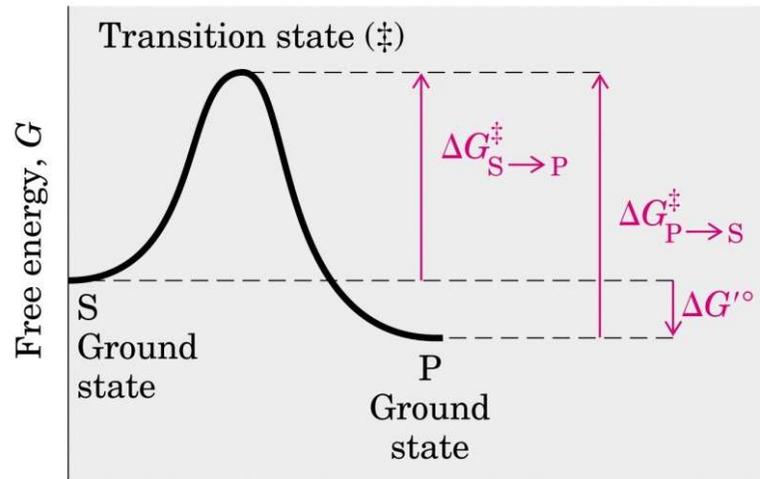
Enzima	$k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$
Ciclofilina	10^5
Anidrase carbónica	10^7
Triose fosfato isomerase	10^9
Carboxipeptidase A	10^{11}
Fosfoglucomutase	10^{12}
Succinil-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Ornitinina mono-P decarboxilase	10^{17}

Tempo de meia vida em meio aquoso



Catálise

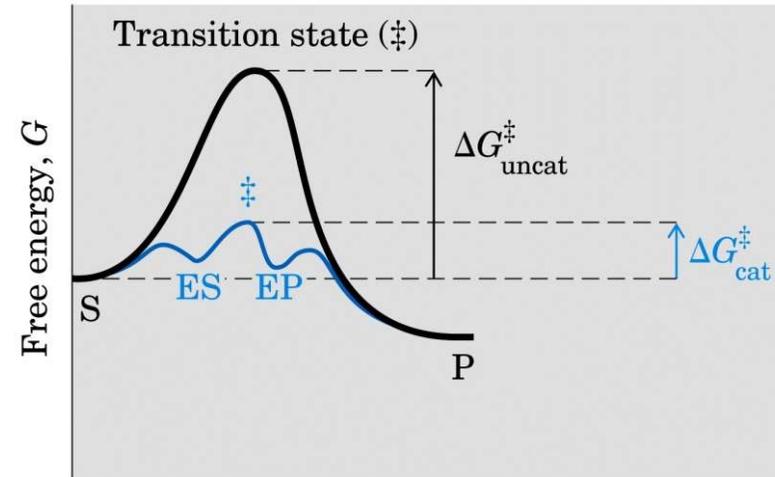
Estado de transição: 10^{-12} a 10^{-13} seg



Reaction coordinate



Catálise enzimática



Reaction coordinate

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

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

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

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

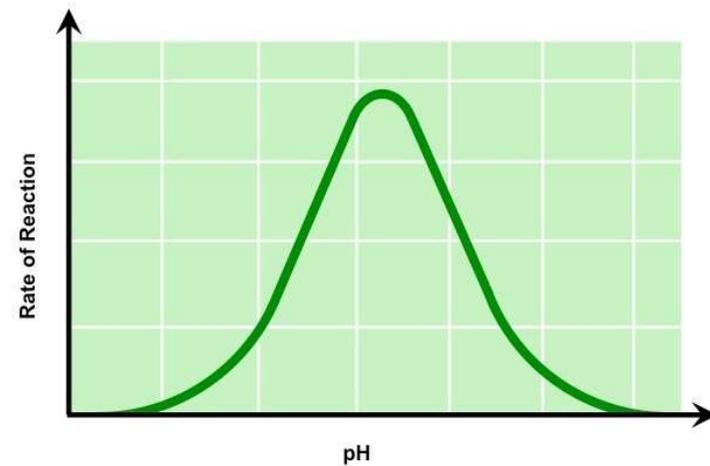
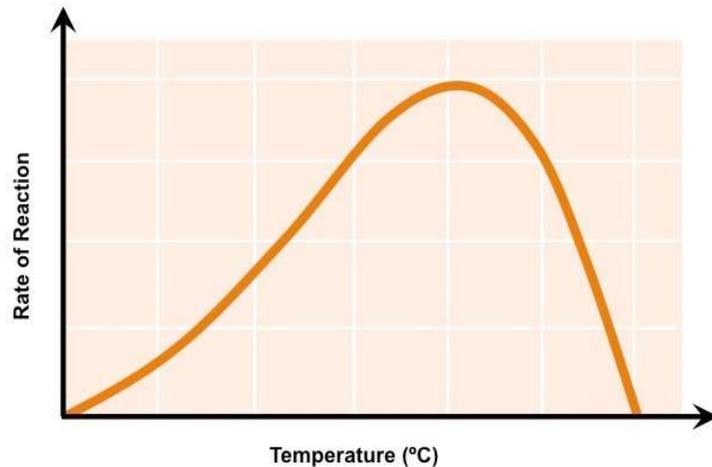
$$\frac{k_{\text{cat}}}{k_{\text{uncat}}} = \exp(\Delta\Delta G^{\ddagger} / RT)$$

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

Factor de aceleração

Condições de reacção suaves

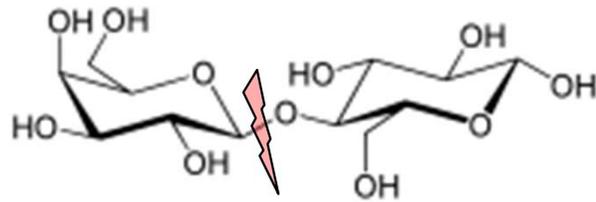
- As reacções catalisadas enzimaticamente dão-se em condições relativamente suaves: temperaturas geralmente muito abaixo dos 100 °C, pressão atmosférica, *pH* próxima da neutralidade.



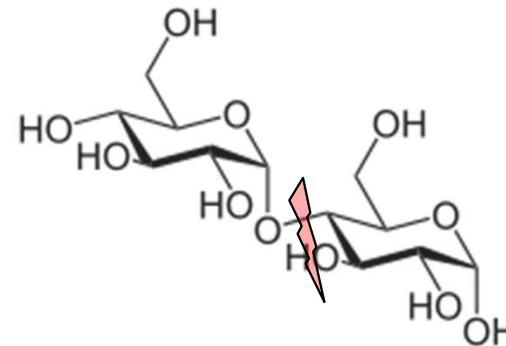
- A catálise inorgânica requer geralmente temperaturas elevadas, e valores extremos de pressão e *pH* !

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.



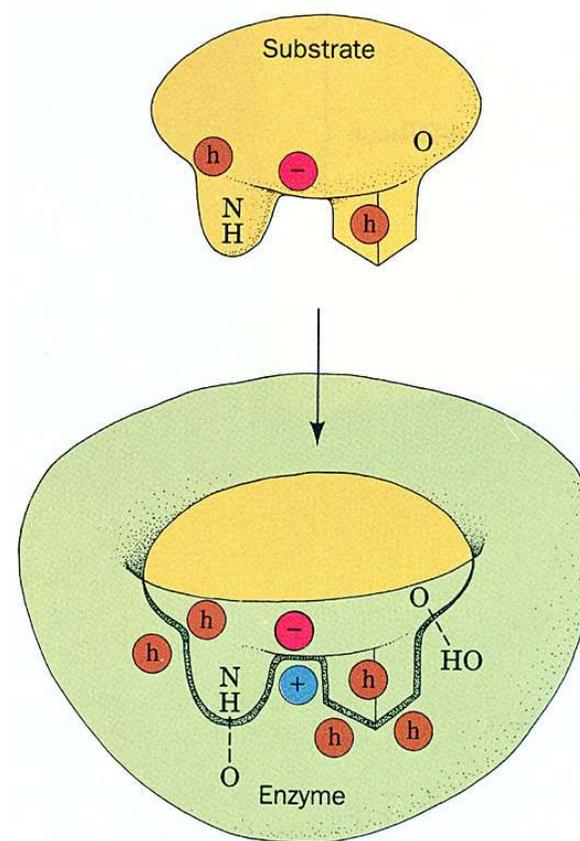
Lactase



Maltase

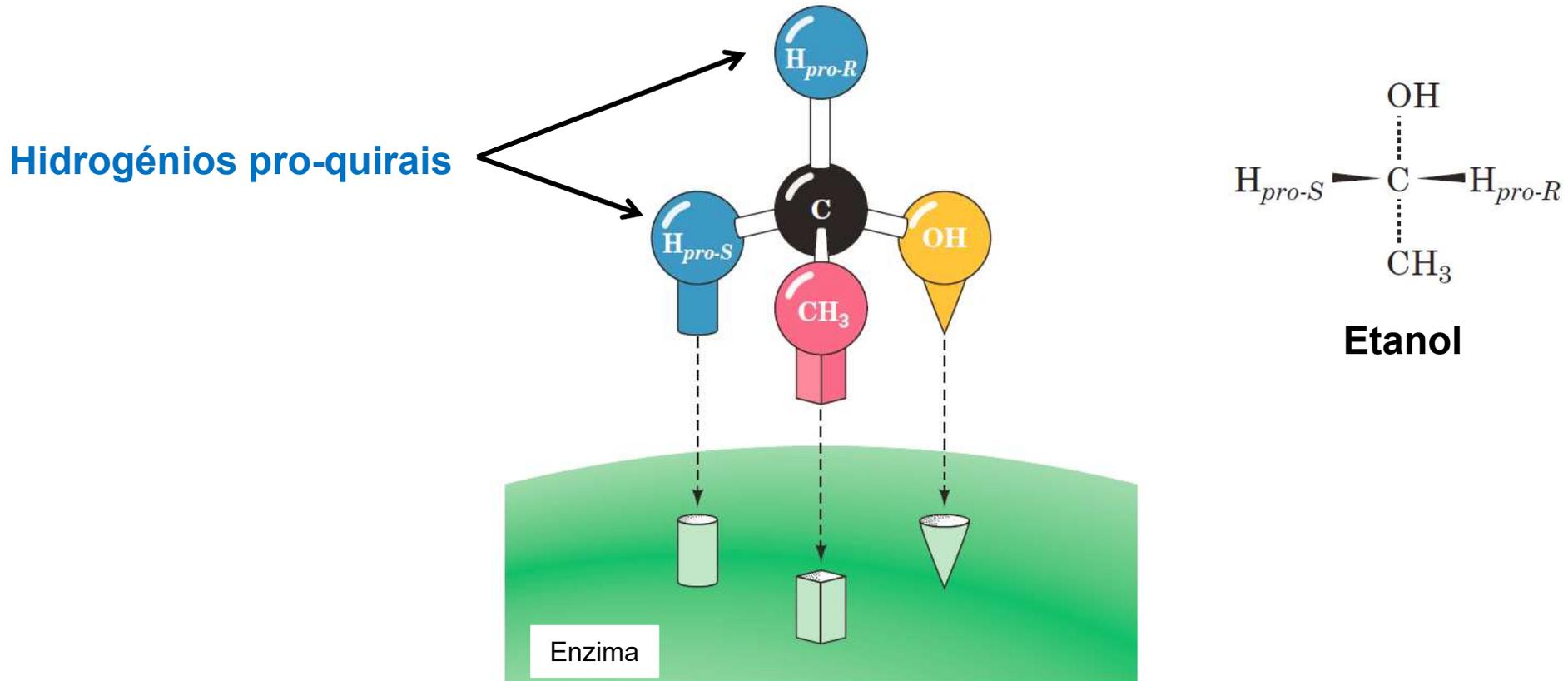
- As reacções catalisadas enzimaticamente raramente dão origem a produtos alternativos.

Interacção enzima-substrato



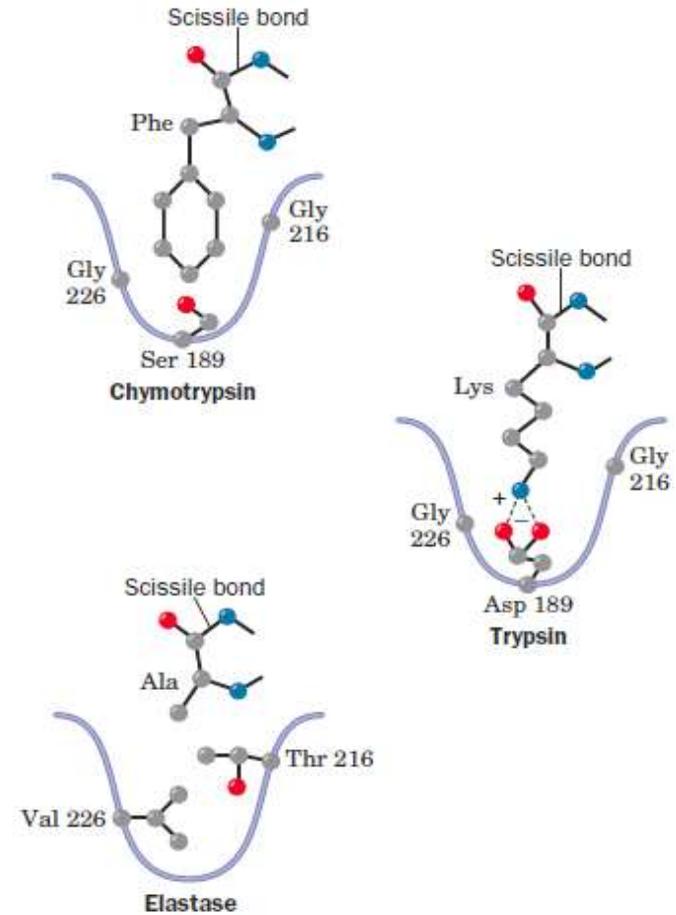
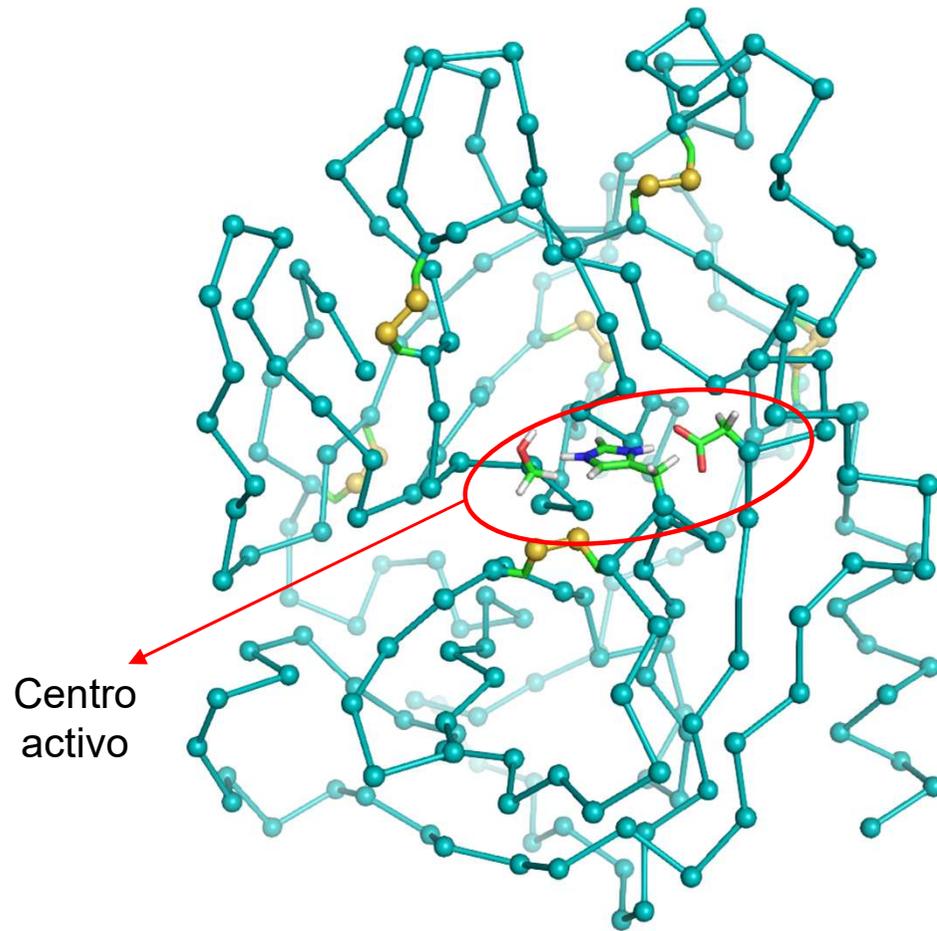
- A associação enzima-substrato é estabilizada por forças não-covalentes: interacções electrostáticas, forças de van der Waals, ligações de hidrogénio, efeito hidrofóbico (as mesmas forças que estabilizam a estrutura proteica).
- O estudos estruturais dos enzimas mostram que os centros activos se encontram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

Estereo-especificidade relativa e absoluta



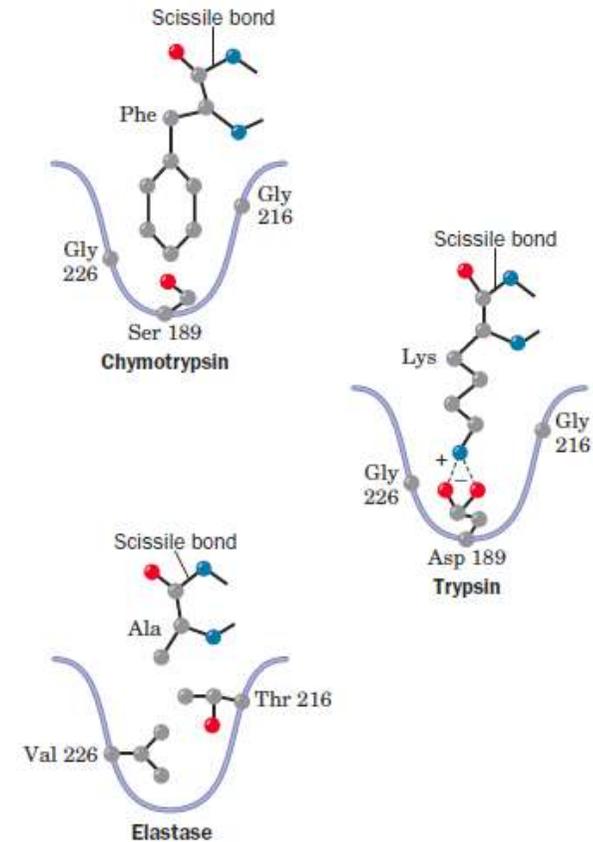
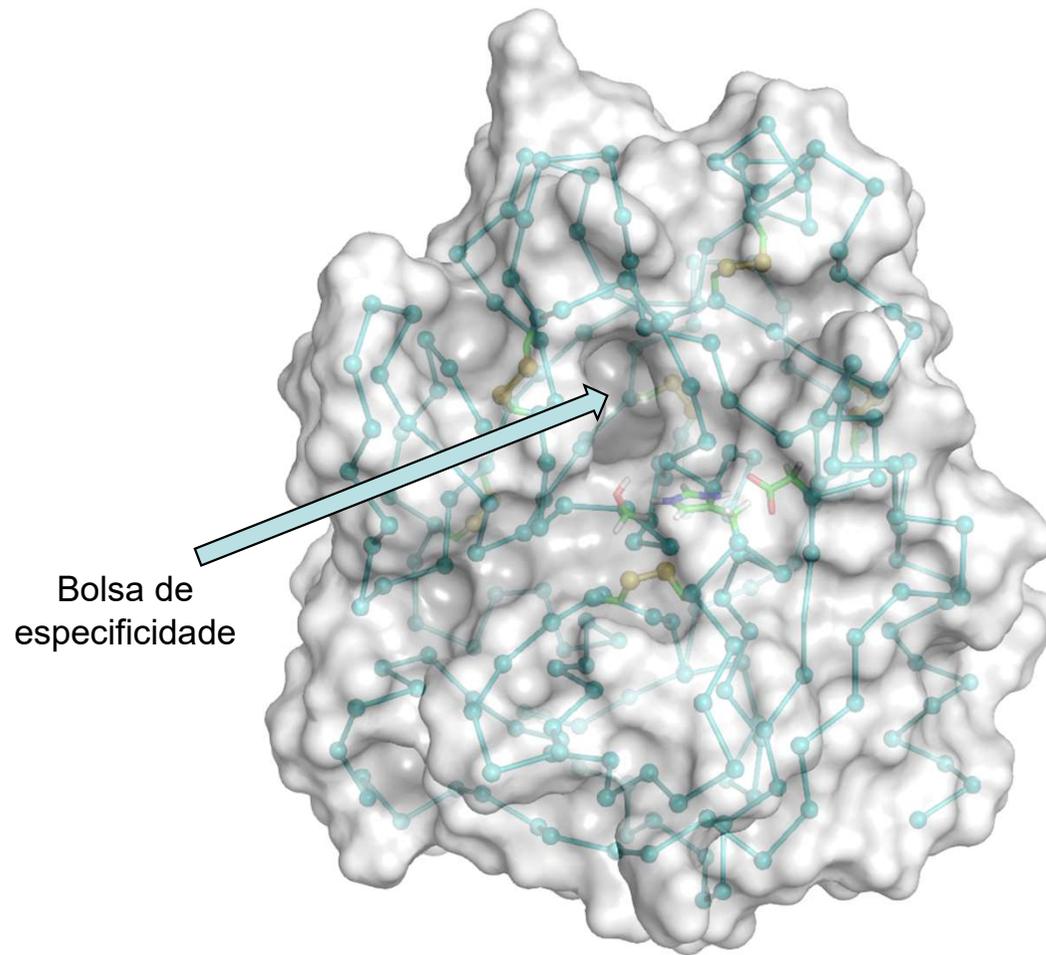
- Os enzimas são altamente específicos tanto em termos da ligação a substratos quirais como na catálise das suas reacções. Esta *estereoespecificidade* resulta da complementaridade estrutural entre **centro activo** e **substratos**.
- Os enzimas podem distinguir entre átomos *pro-quirais* (estereo-especificidade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

Especificidade enzimática

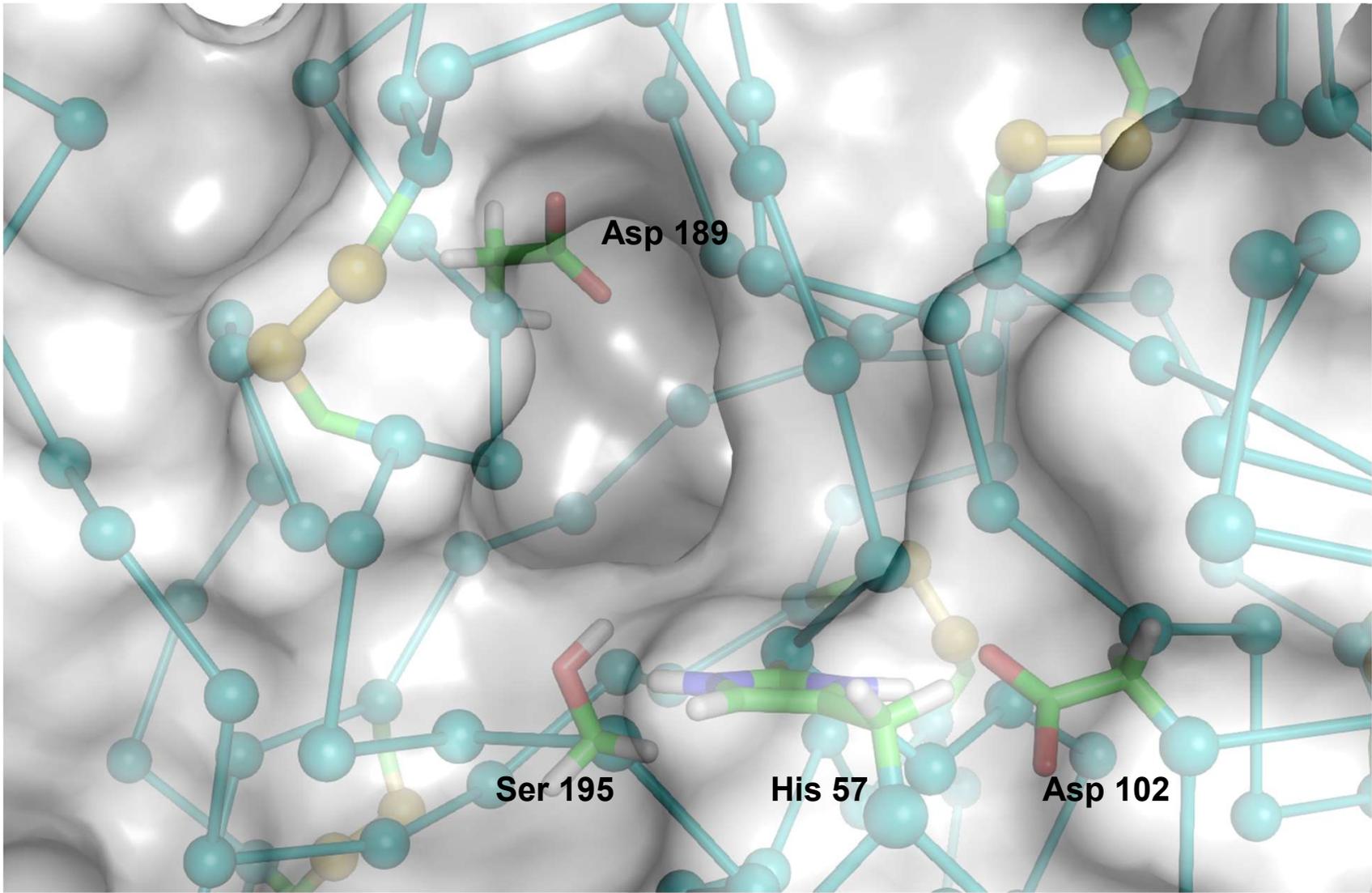


- A especificidade dos enzimas para os seus substratos pode ser modulada pela variabilidade da sequência de aminoácidos no centro activo e na sua vizinhança

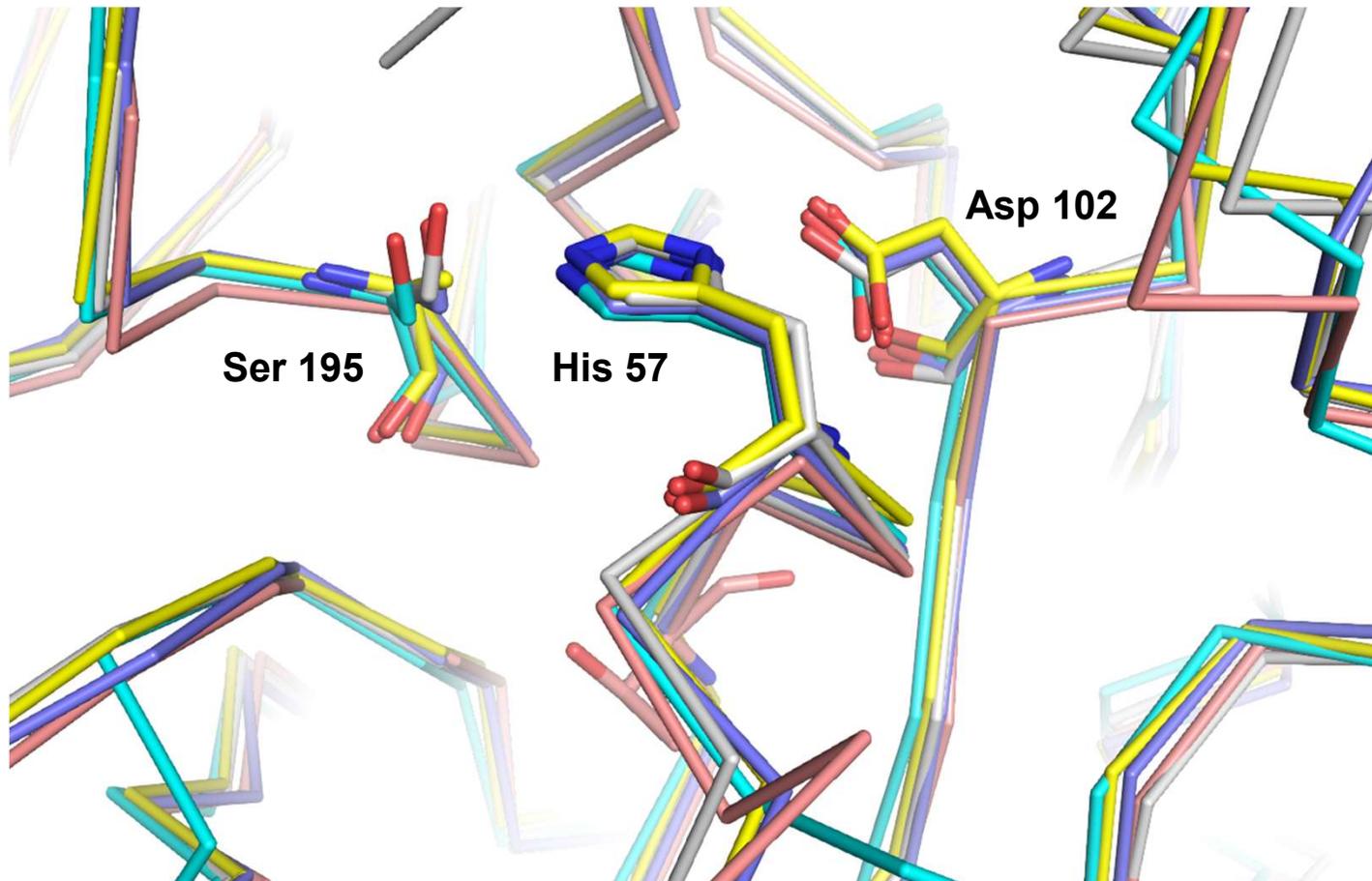
Especificidade enzimática



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

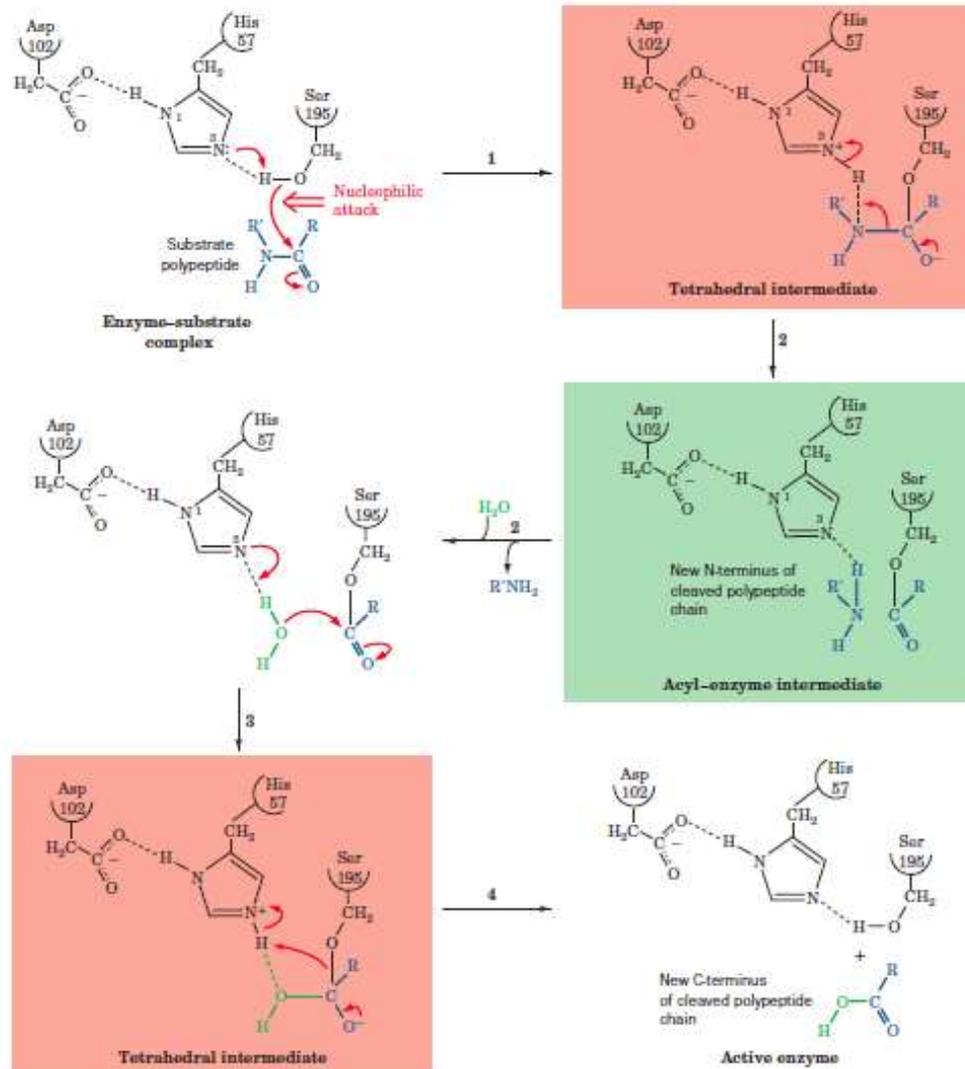


Especificidade enzimática



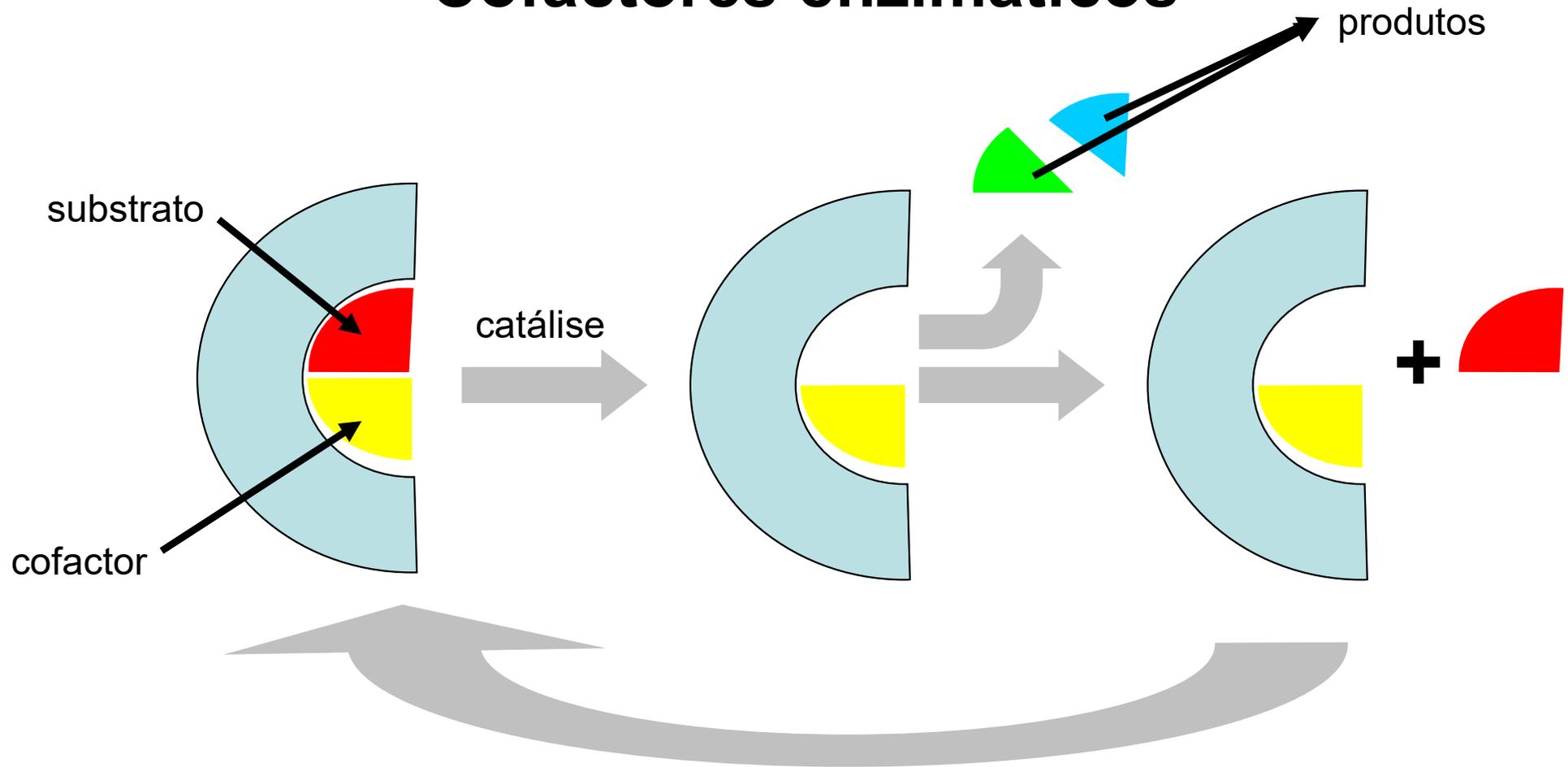
O mecanismo catalítico das proteases de serina está dependente do posicionamento preciso dos resíduos catalíticos do centro activo (tríade catalítica). Nesta ilustração está exibida a sobreposição do centro activo de 5 membros desta família de proteínas.

Especificidade enzimática



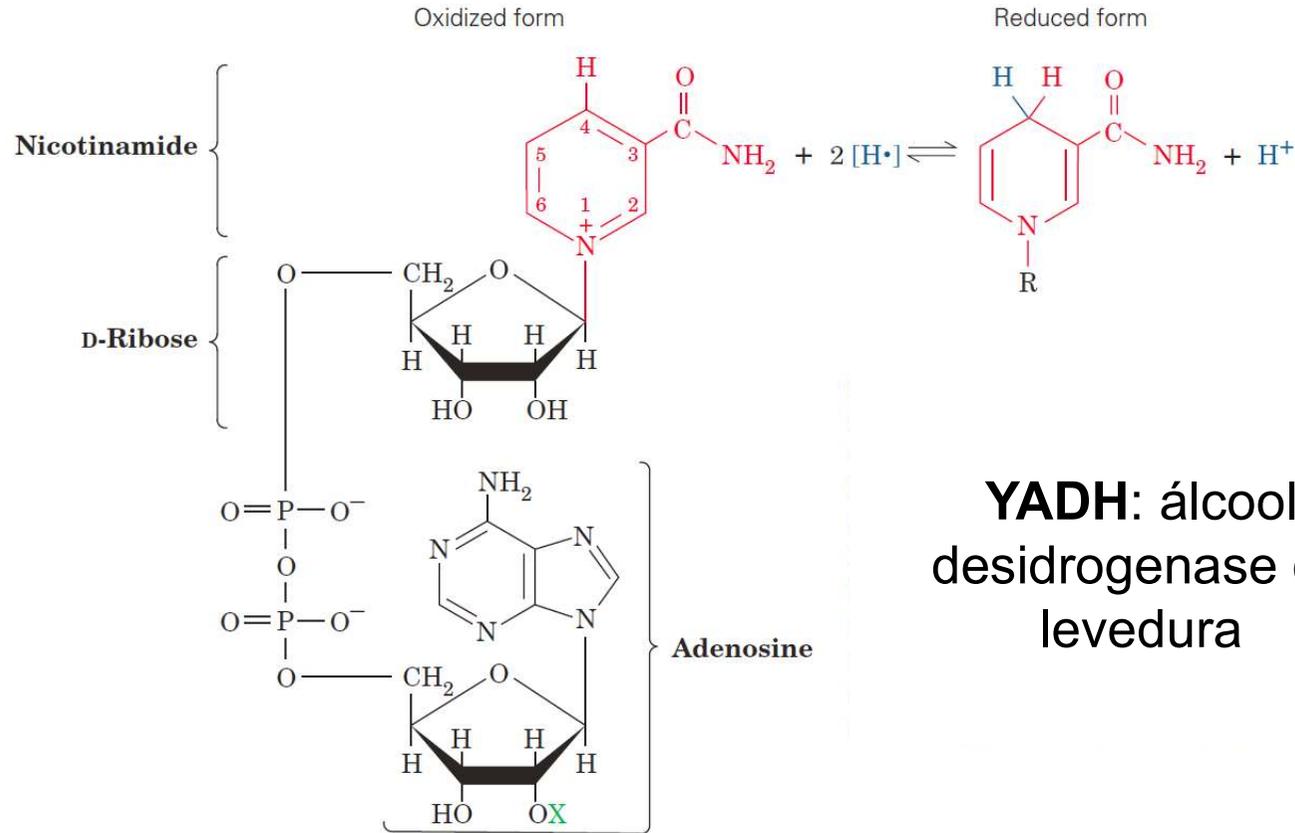
Mecanismo catalítico das proteases de serina

Cofactores enzimáticos



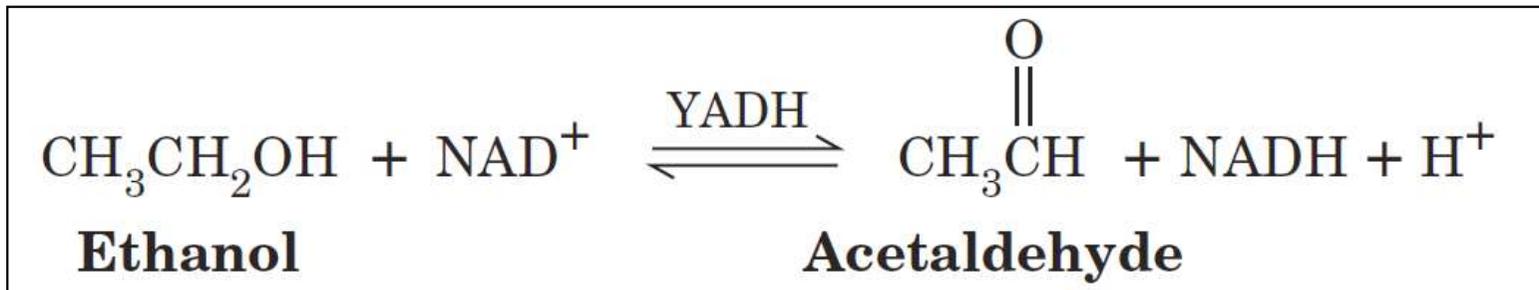
- O repertório químico da catálise enzimática pode ser estendido através de **cofaktos enzimáticos**, cuja estrutura não-proteica permite a existência de grupos funcionais com novas possibilidades catalíticas.

Cofactores enzimáticos



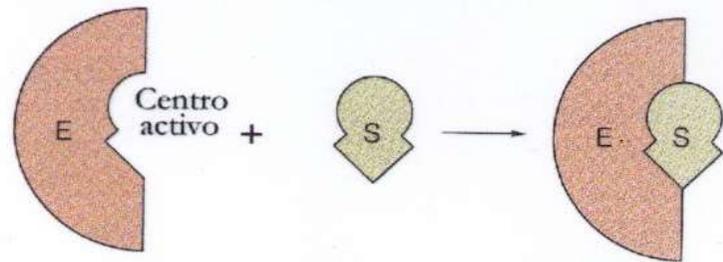
YADH: álcool desidrogenase da levedura

X = H Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)
 X = PO₃²⁻ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺)

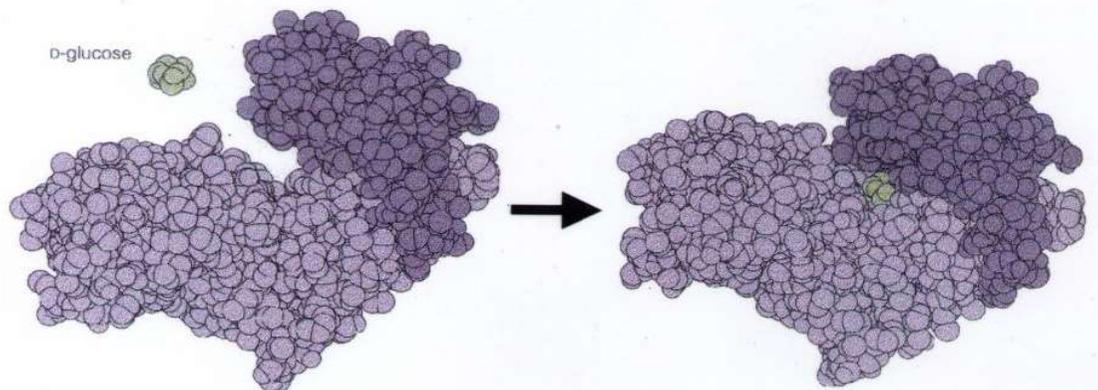
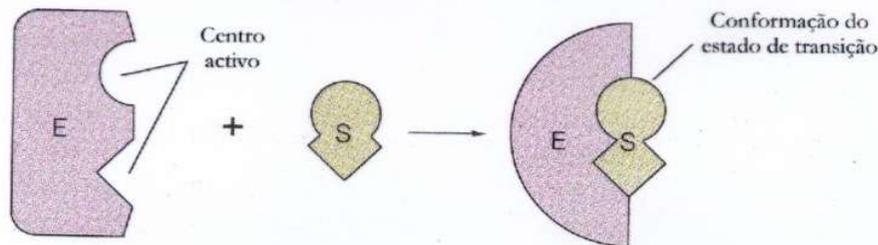


Ajuste induzido

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

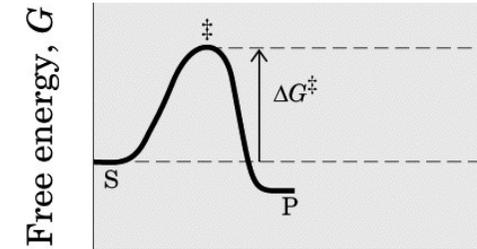
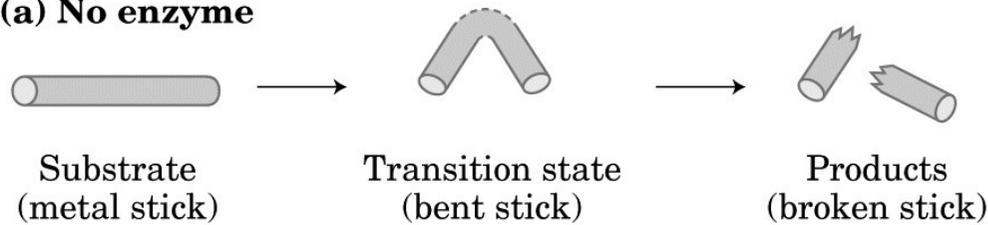


- De acordo com o modelo de **ajuste induzido**, proposto por Koshland em 1954, a estrutura que o enzima acomoda é próxima do *estado de transição* da reacção:

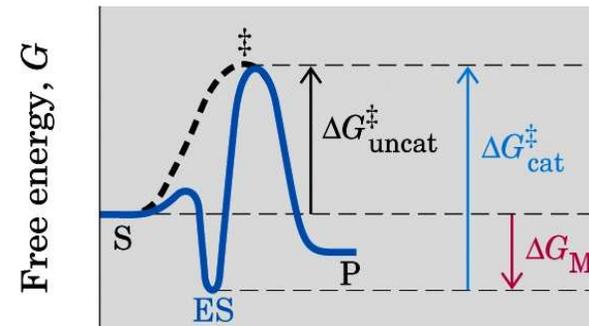
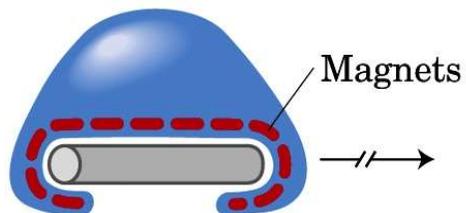


Catálise no modelo *lock-and-key*

(a) No enzyme



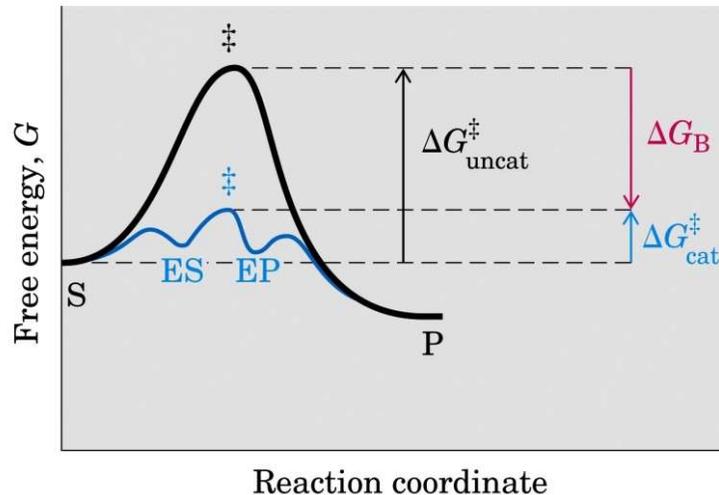
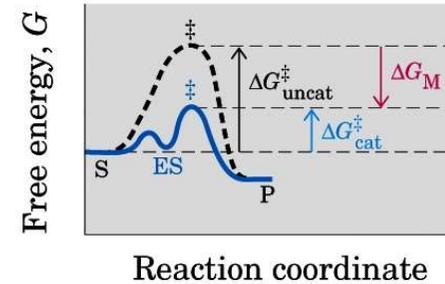
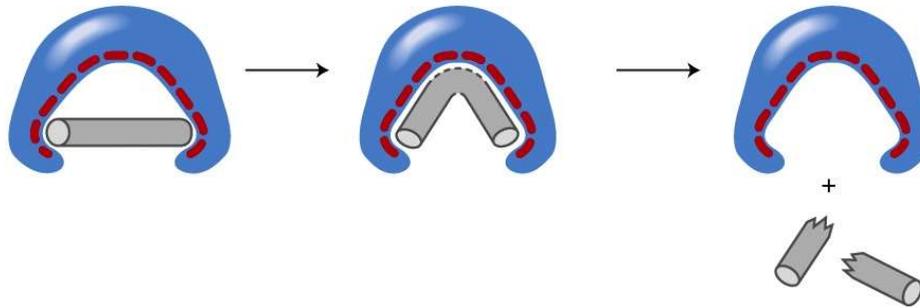
(b) Enzyme complementary to substrate



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



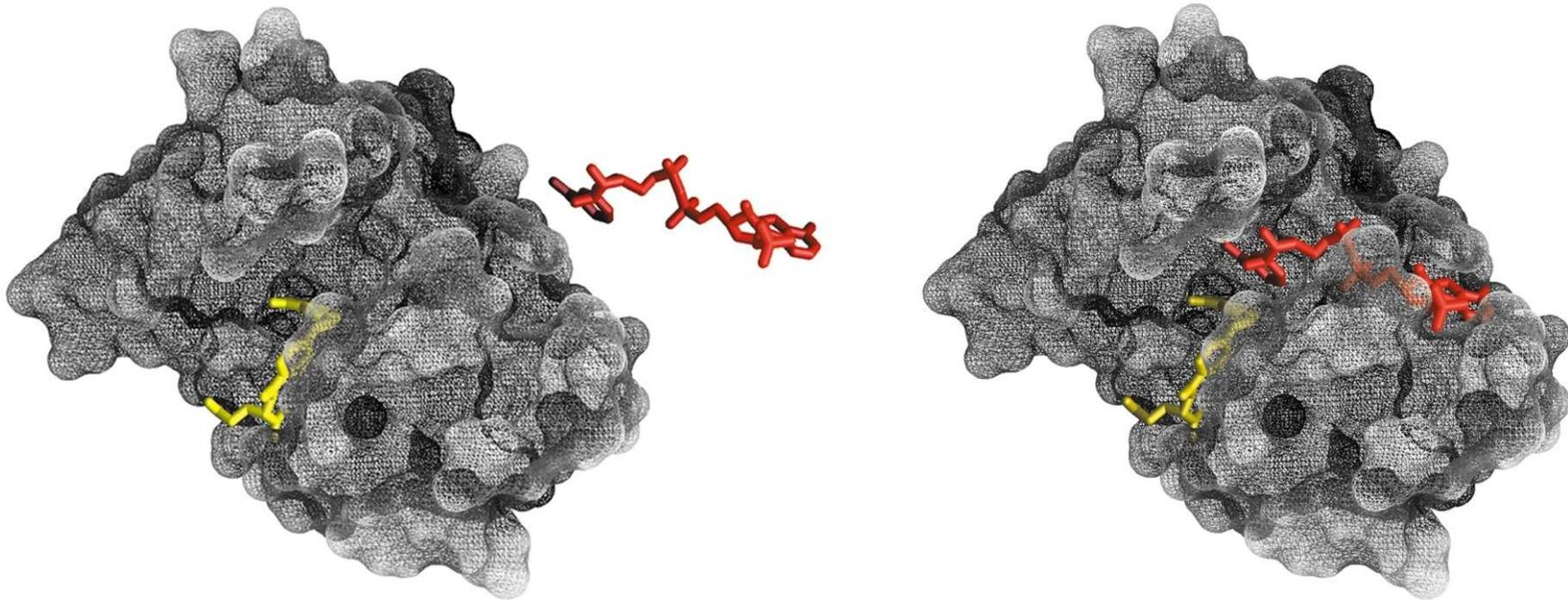
Contributo da energia de ligação do substrato para a catálise

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!

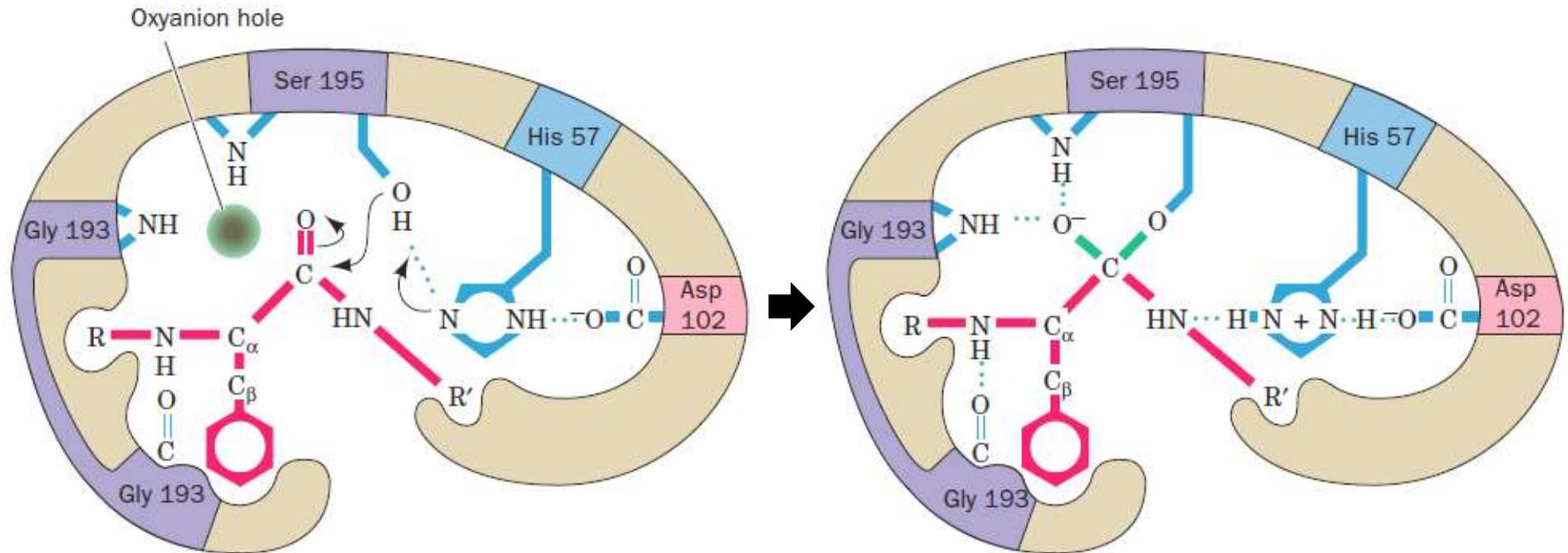
Interação enzima-substrato

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



Complexo de Michaelis

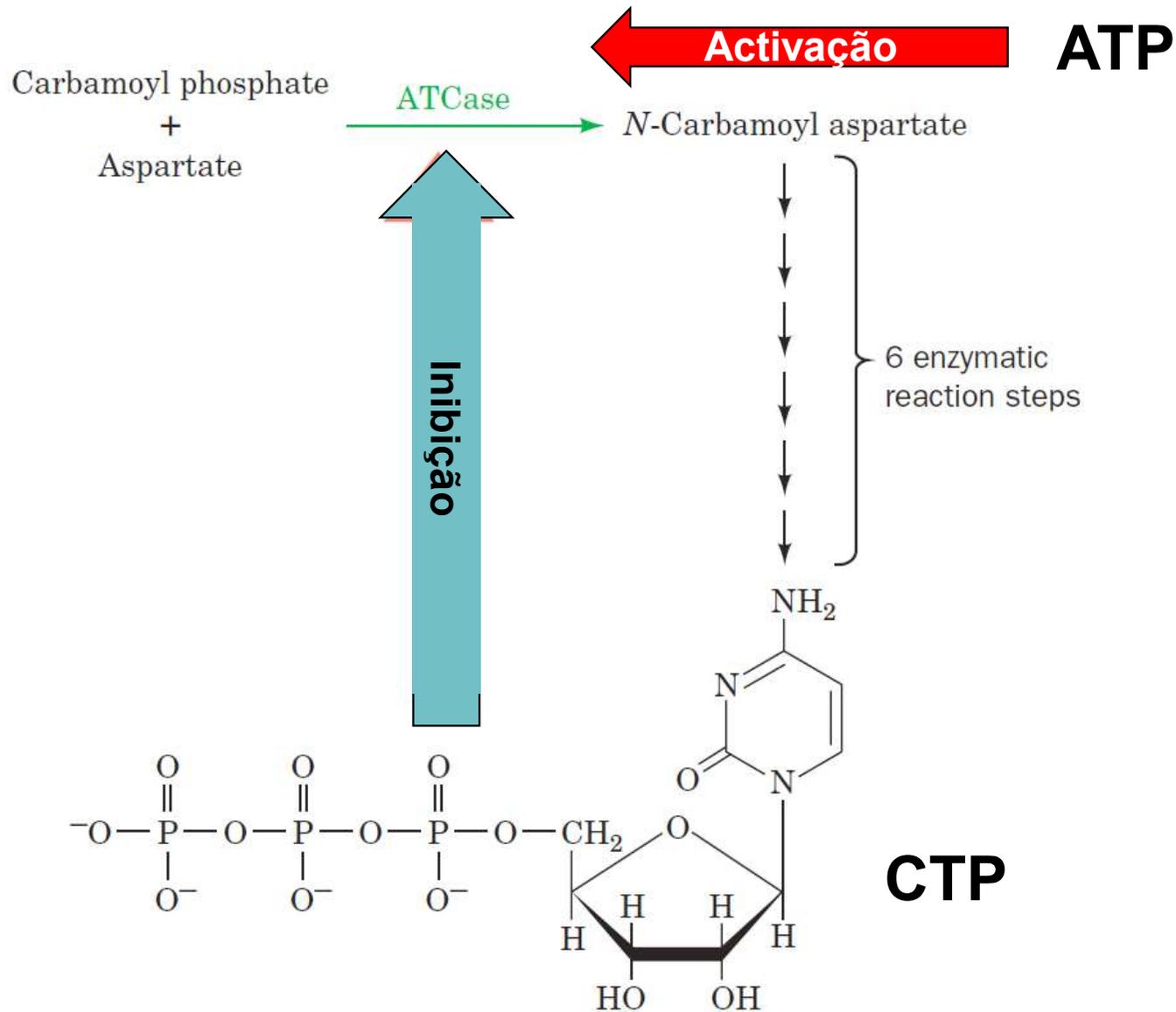
Estabilização do estado de
transição

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:

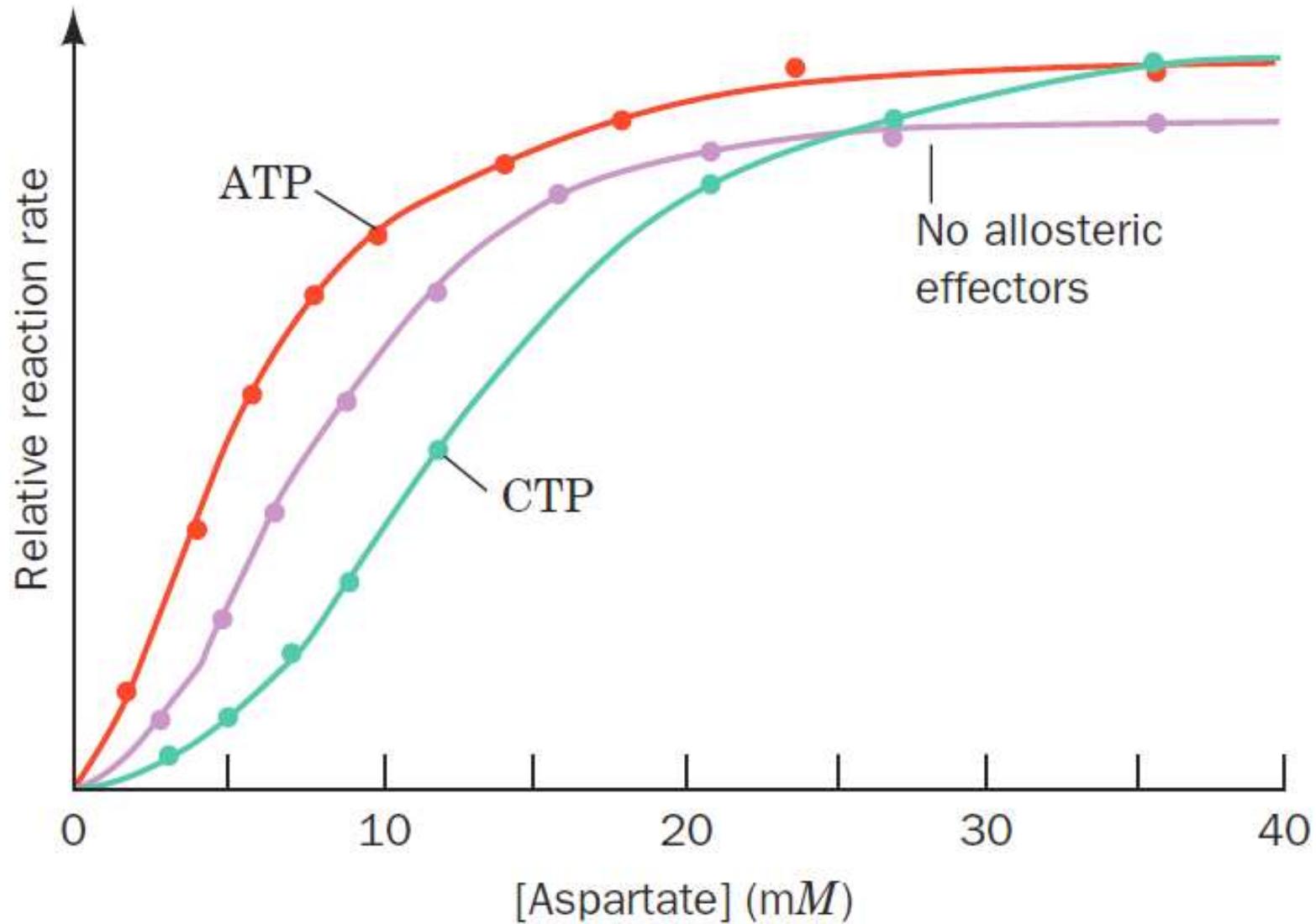
- *Quantidade de enzima disponível:* A quantidade de enzima disponível num dado instante depende das suas taxas de síntese e degradação, e estas podem ser alteradas em resposta a um estímulo do meio, com seja a presença de determinado metabolito.
- *Modificadores de actividade:* A actividade enzimática 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, por exemplo fosforilação ou activação hidrolítica de um zimogéneo.

Controle da actividade enzimática

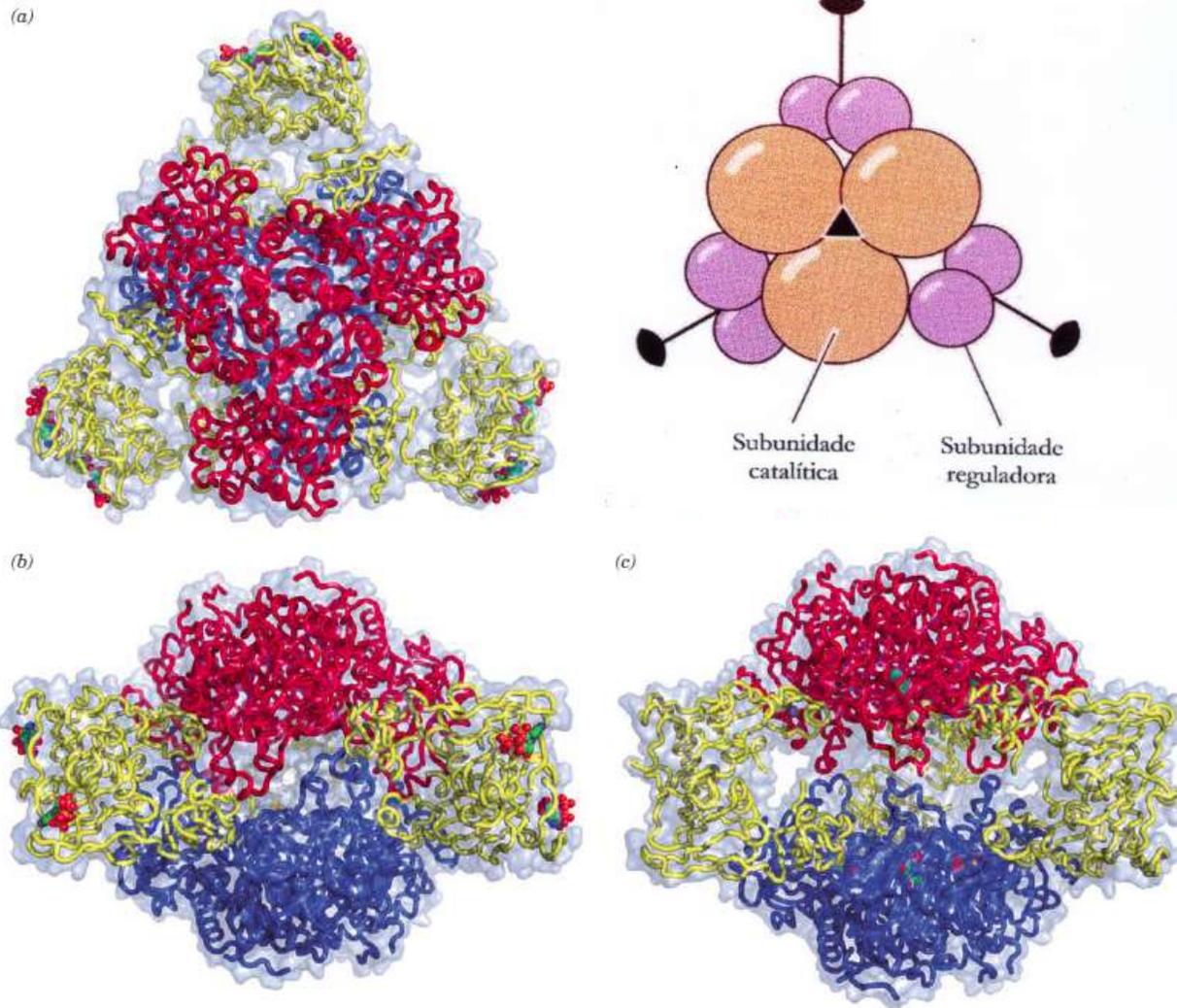


O enzima *aspartato transcarbamilase* (ATCase) catalisa o primeiro passo da biossíntese das pirimidinas.

Controle da actividade enzimática

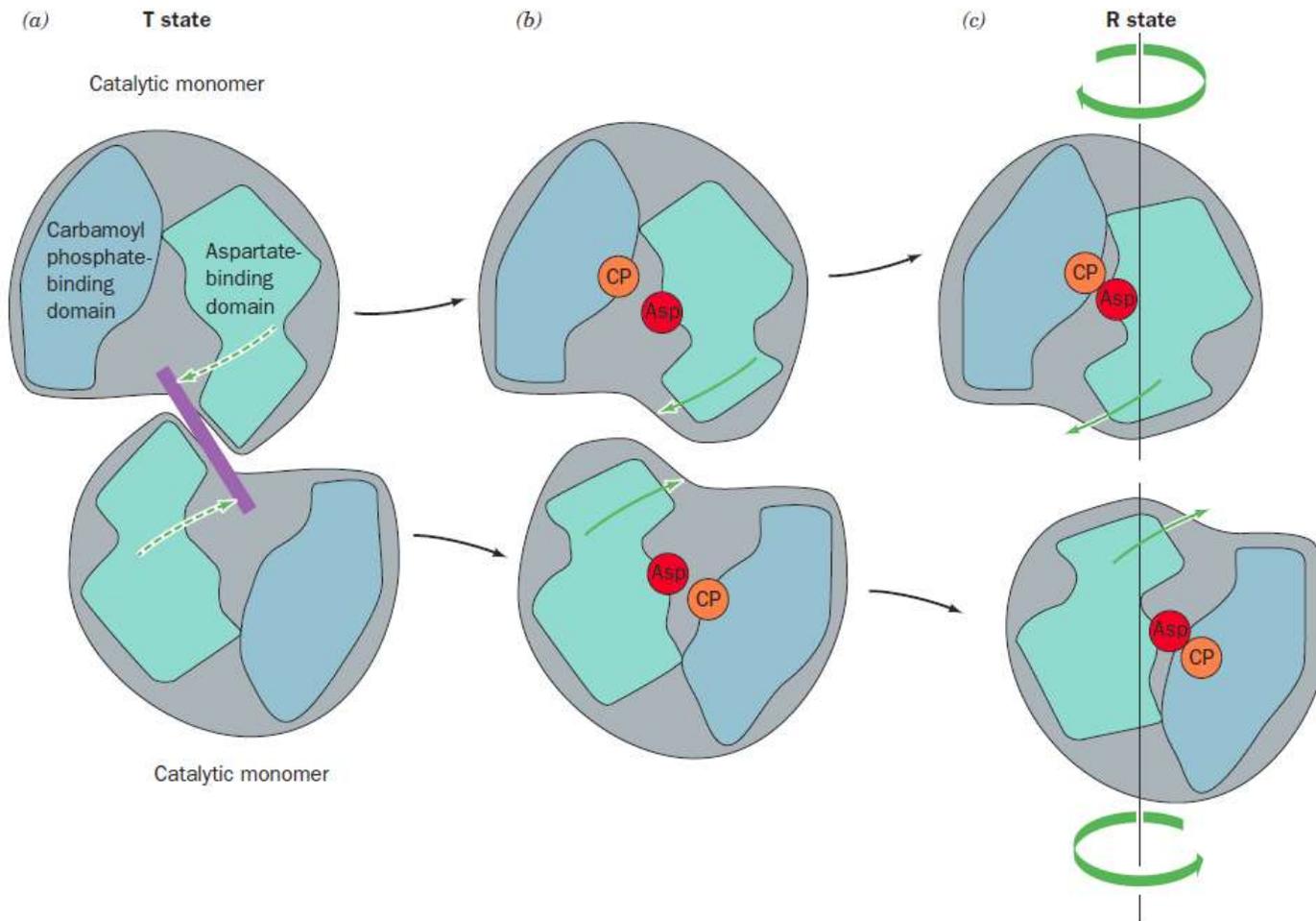


Controle da actividade enzimática



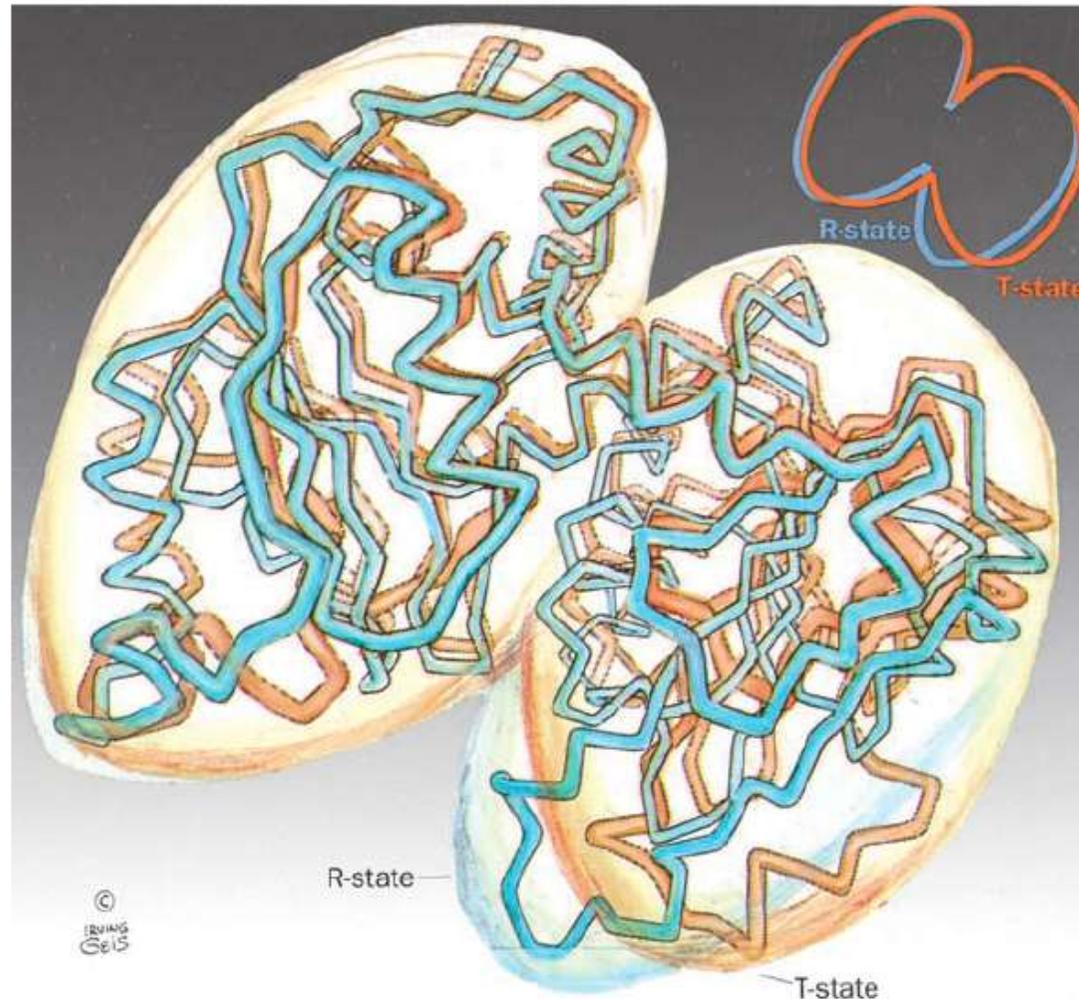
As subunidades catalíticas da ATCase apresentam actividade máxima e independente da concentração dos efectores quando dissociadas das subunidades reguladoras..

Controle da actividade enzimática



Transição do estado T para o estado 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.

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

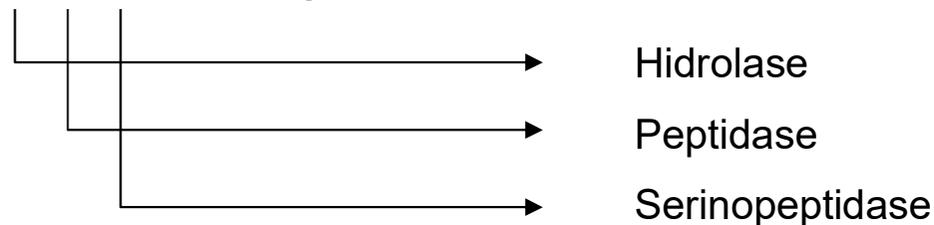
Os enzimas são classificados de acordo com um sistema estabelecido pela *International Commission on Enzymes*, em 1956. Este sistema permite também nomear os enzimas de forma sistemática.

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



Recursos “on-line”

- Expasy ENZYME: <http://enzyme.expasy.org>
- BRENDA: <http://www.brenda-enzymes.org>
- Protein Data Bank: <http://www.pdb.org>
- Biochemical pathways:
<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>
<http://web.expasy.org/pathways>

Expasy Enzyme

Expasy  ENZYME Home | [Contact](#)



ENZYME
Enzyme nomenclature database

ENZYME is a repository of information relative to the nomenclature of enzymes. It is primarily based on the recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) and it describes each type of characterized enzyme for which an EC (Enzyme Commission) number has been provided [[More details](#) / [References](#)].
ENZYME now includes entries with preliminary EC numbers. Preliminary EC numbers include an 'n' as part of the fourth (serial) digit (e.g. [EC 3.5.1.n3](#)).

Release of 10-Feb-21 (6553 active entries)

Access to ENZYME

- by EC number: ...
- by enzyme class
- by description (official name) or alternative name(s):
- by chemical compound
- by cofactor
- by search in comments lines

Documents

- [ENZYME user manual](#)
- [How to obtain ENZYME](#)

Services

- [Report forms for a new ENZYME entry or for an error/update in an existing entry](#)
- [Downloading ENZYME by FTP](#)

Related tools and databases

- [BRENDA](#) - Comprehensive Enzyme Information system
- [IUBMB ExplorEnz Enzyme database](#) - Explore the IUBMB Enzyme Nomenclature List
- [KEGG](#) - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
- [MetaCyc](#) - Metabolic Encyclopedia of enzymes and metabolic pathways
- [IUBMB Enzyme Nomenclature](#)
- [BioCarta](#) - Pathways of Life

Expasy Pathways

Part 1: Metabolic Pathways Part 2: Cellular and Molecular Processes

