

Enzimas - *Aspectos estruturais* Parte 1

Ignéz Caracelli



Julio Zukerman Schpector



São Carlos, 03 de junho de 2017



Bioinformática I

*Julio Zukerman
Ignéz Caracelli*

1

Informações gerais

Enzimas que agem como catalizadores biológicos.

- 1. As enzimas tem um enorme poder catalítico.*
- 2. São altamente específicas.*
- 3. A formação de um complexo enzima-substrato **E-S** é o primeiro passo na catálise enzimática*
- 4. As enzimas aceleram reações, estabilizando estados de transição **ES**.*
- 5. A atividade catalítica de muitas enzimas ocorre com reguladores.*



Bioinformática I

*Julio Zukerman
Ignéz Caracelli*

2

Enzimas

até 1981:

“Toda enzima é uma proteína, mas nem toda proteína é uma enzima”

Enzimas são de natureza protéica (com atividade intra ou extracelular) que têm funções catalisadoras.



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

3

Enzimas

em 1981:

Thomas Robert Čech e Sidney Altman descreveram pela primeira vez um rRNA* que era capaz de sofrer cisão sozinho, sem a intervenção de uma enzima proteica.



Thomas Robert Čech



Sidney Altman

1989 [Nobel Prize](#) em Química

propriedades catalíticas do [RNA](#)



The Nobel Prize in Chemistry 1989

*rRNA RNA ribossômico



Bioinformática I

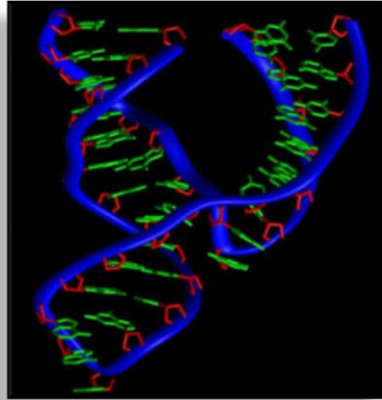
Julio Zukerman
Ignez Caracelli

4

Enzima - RNA

A **ribozyme** (from **ribo**nucleic acid **enz**yme), also called RNA enzyme or catalytic RNA.

Uma **ribozima** (**enzima** de ácido **ribonucléico**), também chamada de enzima RNA ou RNA catalítico.

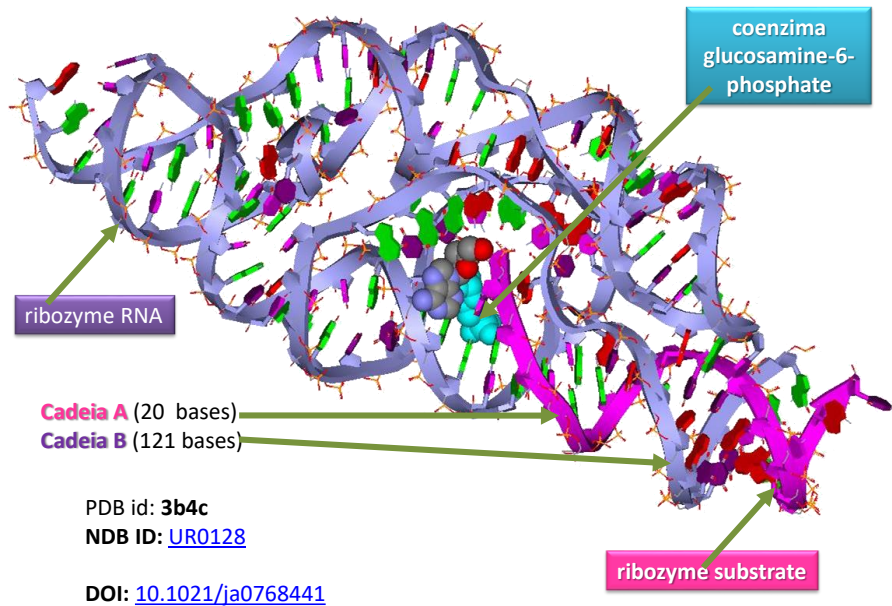


Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

5

Ribozima



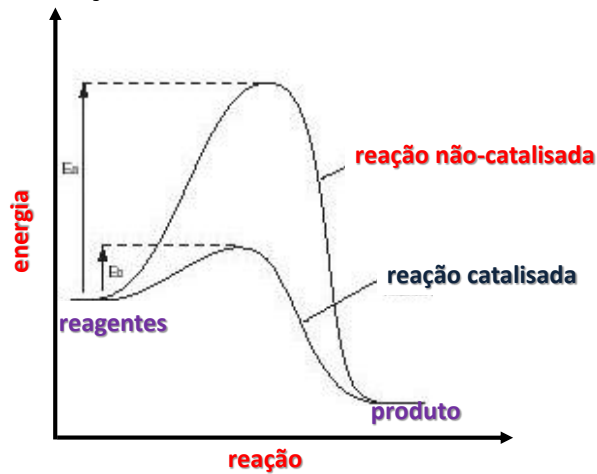
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

6

Enzimas

As reações químicas que catalisam, sem a sua presença, dificilmente aconteceriam.



Enzimas: sua atuação

Ocorre o abaixamento da energia de ativação necessária para que se dê uma reação química, resultando no aumento da velocidade da reação e possibilitando o metabolismo dos seres vivos.

Enzimas

A capacidade catalítica das enzimas torna-as adequadas para aplicações industriais, como na indústria farmacêutica ou na alimentar.



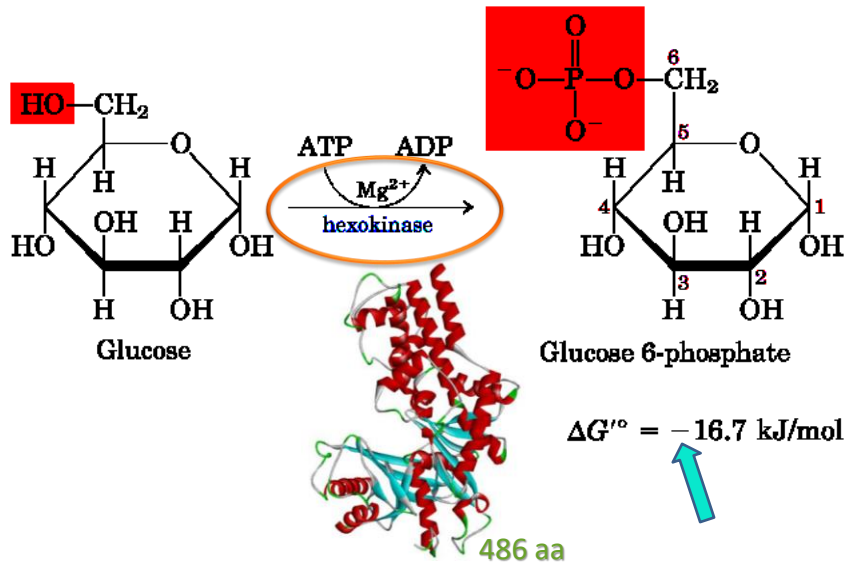
Enzimas

Em sistemas vivos, a maioria das reações bioquímicas ocorre em vias metabólicas, que são sequências de reações em que o produto de uma reação é utilizado como reagente na reação seguinte.

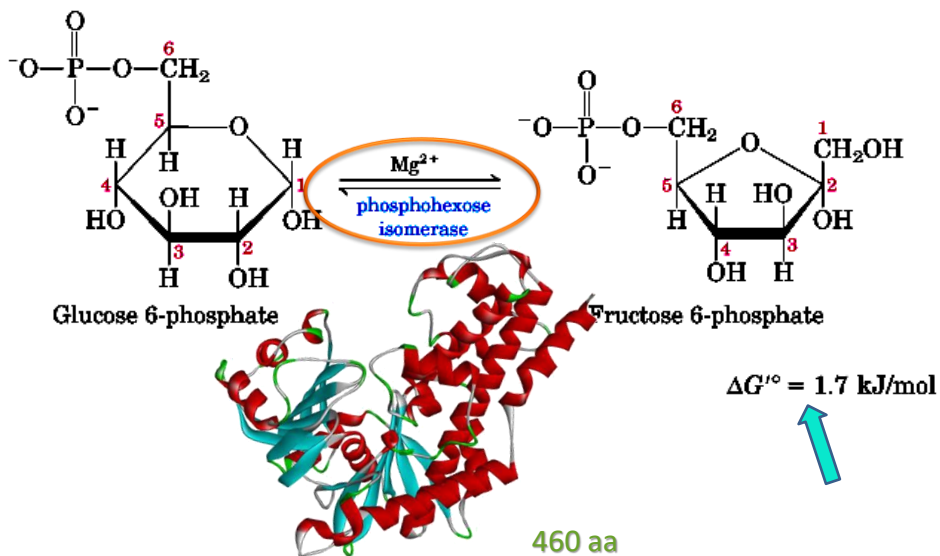
Diferentes enzimas catalisam diferentes passos de vias metabólicas, agindo de forma concertada de modo a não interromper o fluxo nessas vias



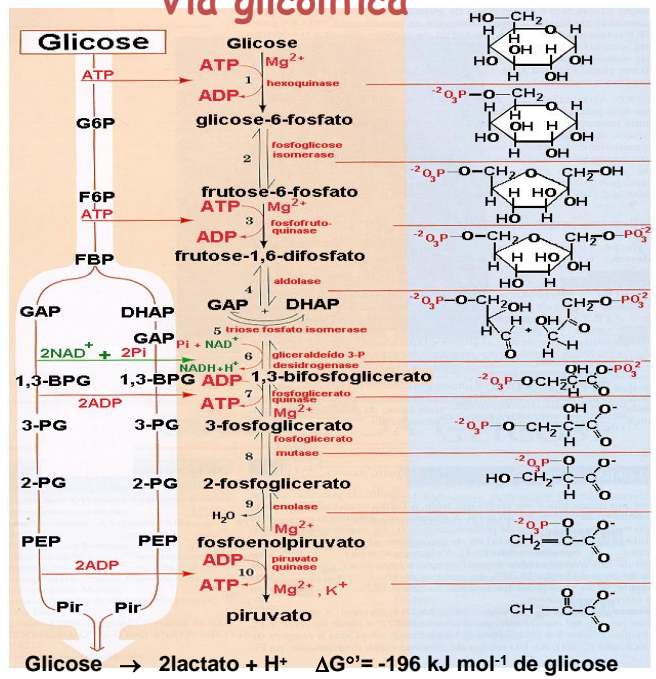
Via glicolítica: início



Via glicolítica: reação 2



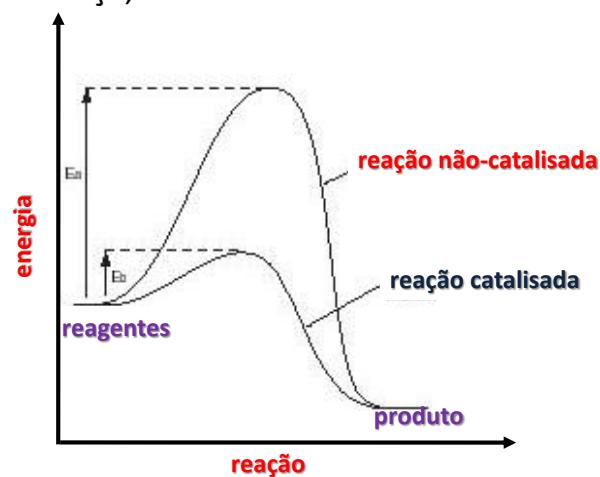
Via glicolítica



13

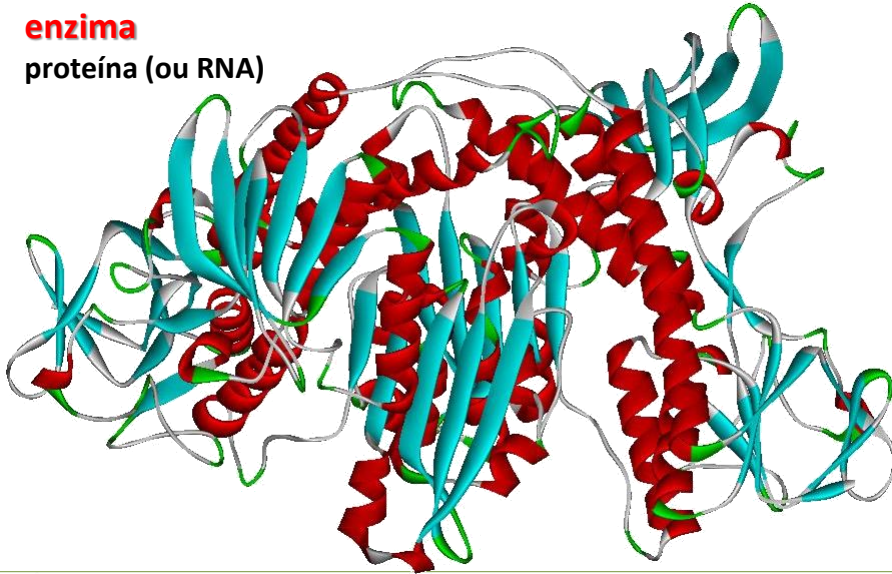
Enzimas

As reações químicas que catalisam, sem a sua presença, dificilmente aconteceriam.



Nomenclatura

enzima
proteína (ou RNA)



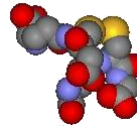
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

15

Nomenclatura

substrato
molécula sobre a qual a enzima atua



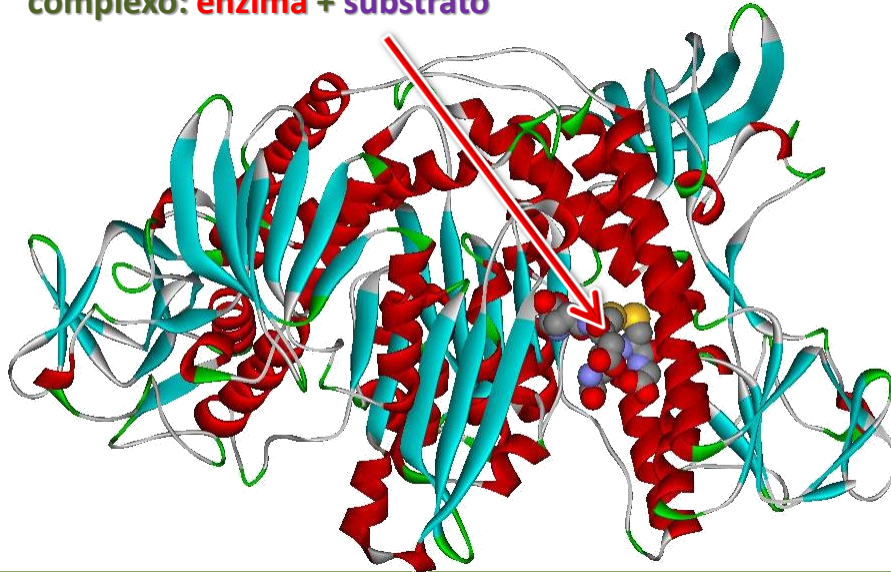
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

16

Nomenclatura

complexo: **enzima** + **substrato**



Nomenclatura

Substrato

molécula específica sobre a qual a enzima atua

Sítio Ativo, **Centro ativo** ou **Sítio Catalítico**

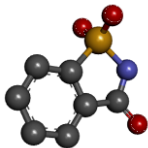
de uma **enzima** é a porção da molécula onde ocorre a atividade catalítica.

Sítio Ativo, **Centro ativo** ou **Sítio Catalítico**

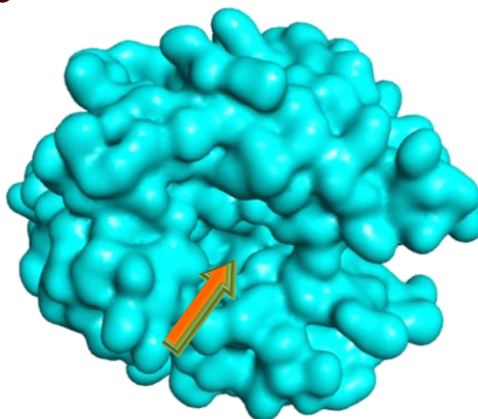
de uma enzima é a porção da molécula onde se liga o substrato.

Nomenclatura

Substrato



Sítio Ativo,
Centro ativo ou
Sítio Catalítico



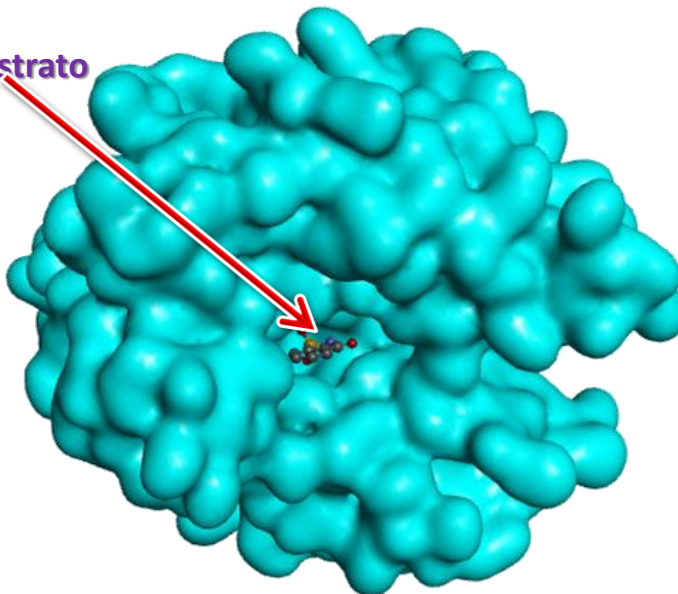
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

19

Nomenclatura

Enzima + substrato



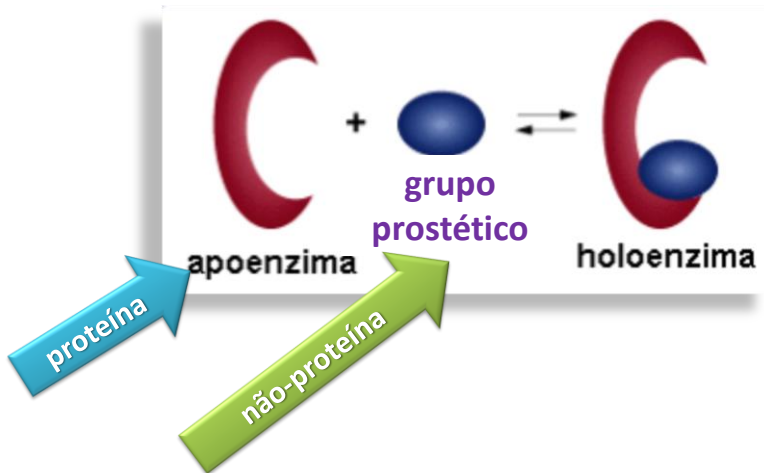
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

20

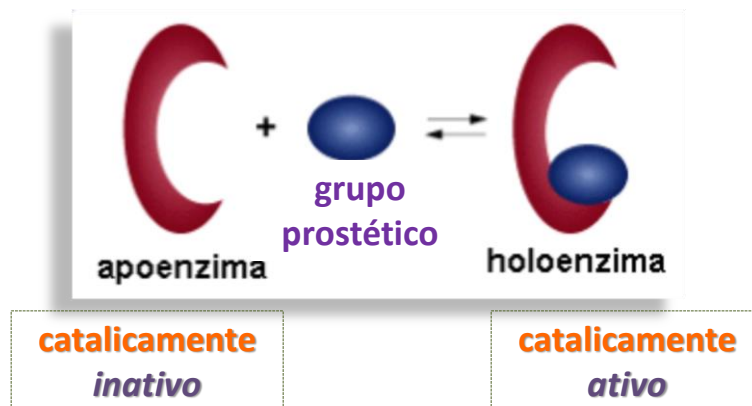
Holoenzima

parte proteica + parte não-proteica



Holoenzima

parte proteica + parte não-proteica



Coenzima

- são pequenas moléculas orgânicas, não-protéicas que transportam grupos químicos entre enzimas.
- algumas vezes são chamadas de co-substratos.
- não fazem parte permanente da enzima.
- **coenzima** \neq cofator.



Regeneração das coenzimas

As coenzimas são alteradas quimicamente pela reação enzimática em que participam.

Assim, para completar o ciclo catalítico, a coenzima tem de voltar ao seu estado inicial.

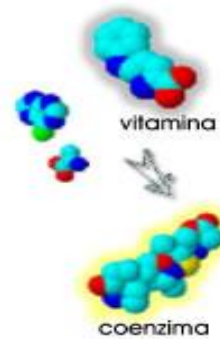


Vitaminas

Muitas vitaminas são precursoras das coenzimas.

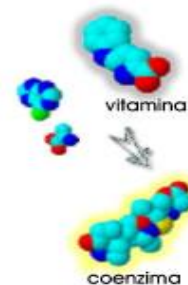
Muitos organismos não conseguem sintetizar certas porções das coenzimas essenciais.

Tais substâncias devem estar presentes na dieta desses organismos – são as vitaminas.



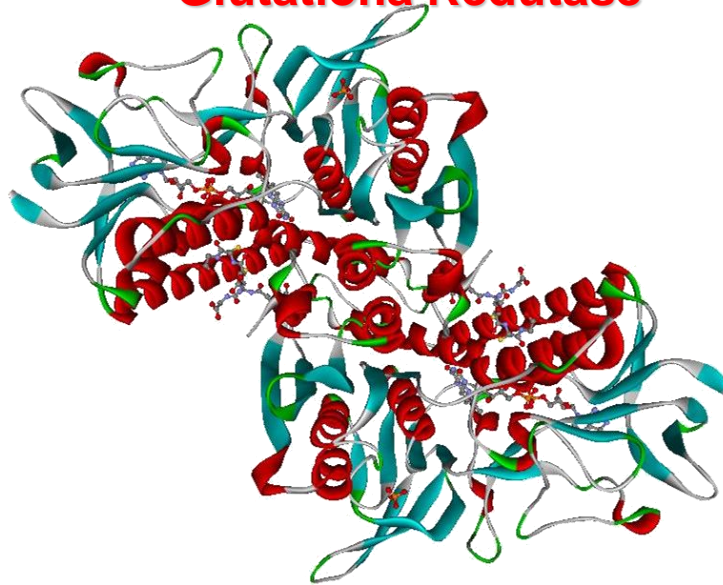
Vitaminas

Muitos organismos não são capazes de sintetizar certas coenzimas;



Carência pode provocar uma série de doenças causadas por catálises enzimáticas incompletas.

Glutathione Redutase

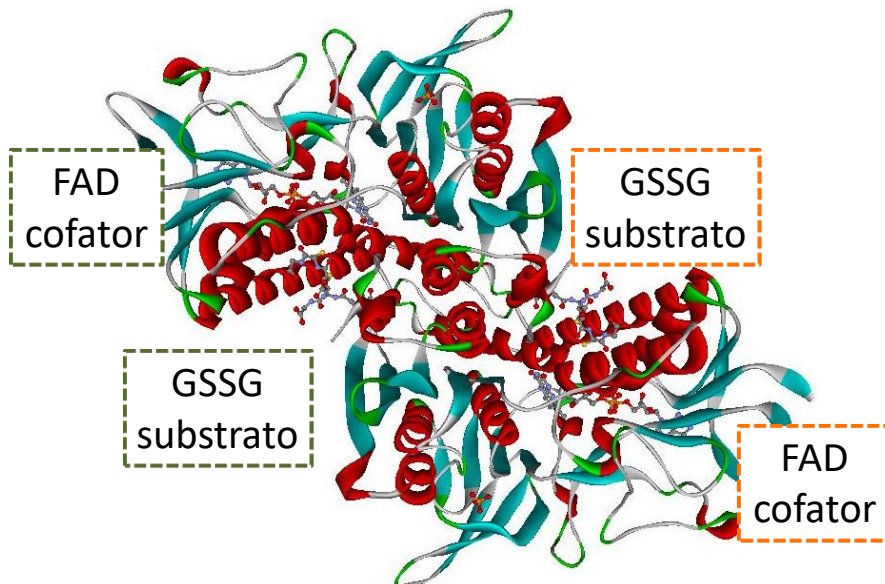


Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

27

Glutathione Redutase

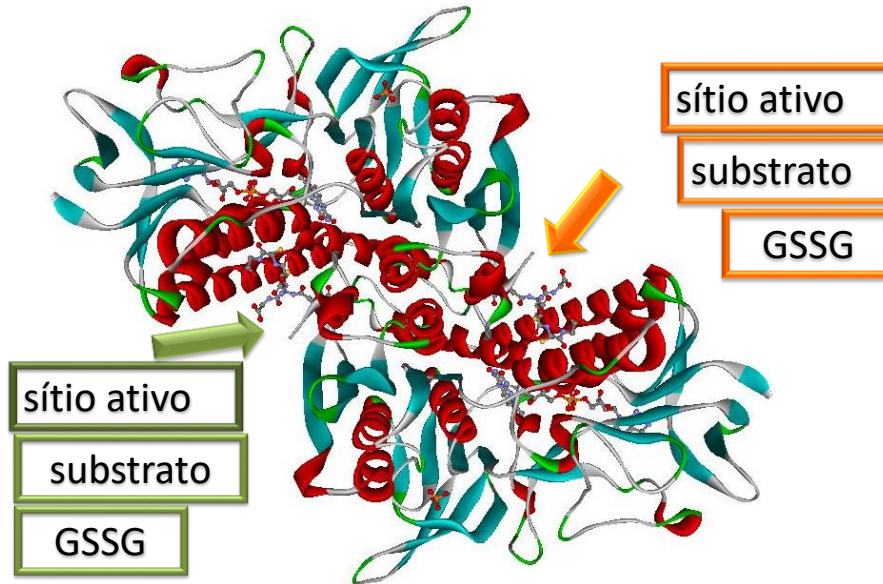


Bioinformática I

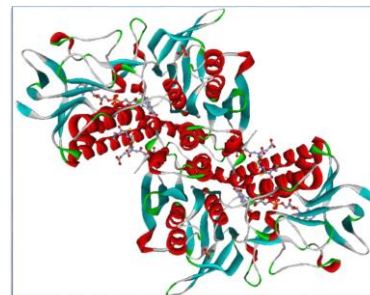
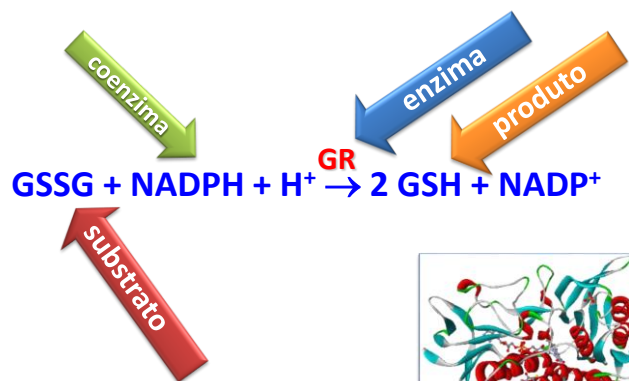
Julio Zukerman
Ignez Caracelli

28

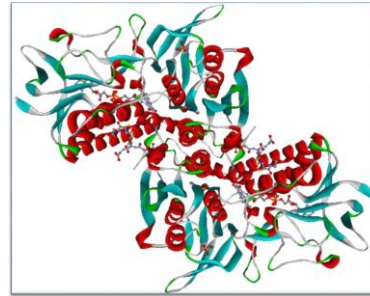
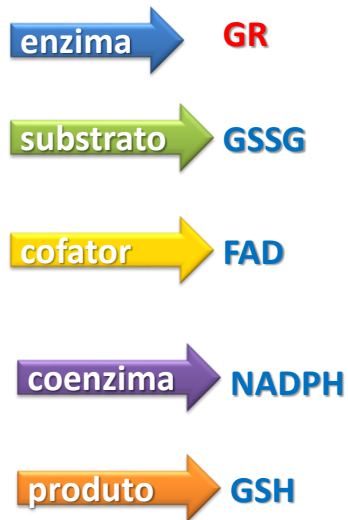
Glutationa Redutase



Glutationa Redutase (GR)

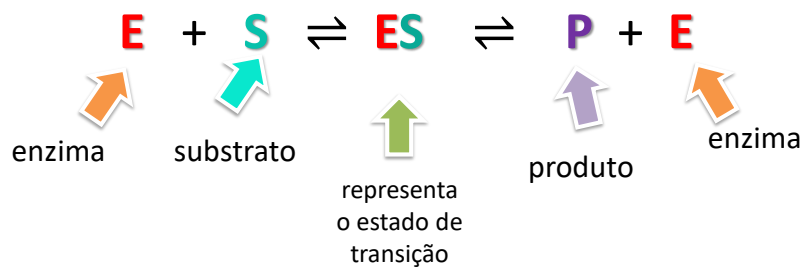


Glutaciona Redutase (GR)



Reação Enzimática

Equação geral de uma reação enzimática:



Nomenclatura

- 1833 - Duclaux -
adicionar o sufixo **ase** à substância sobre a qual a enzima é ativada ou indicar o tipo de reações catalisadas.
- *exemplo*:
enzima: glutatona redut**ase**
substrato: glutatona



Nomenclatura

1961 – União Internacional de Bioquímica
propôs um código que divide as enzimas em 6 grandes grupos :



Nomenclatura

<u>Grupo</u>	<u>Tipos de reações catalisadas</u>
1 Oxidoreduases	Oxi-redução
2 Transferases	Transferência de grupos doadores para aceptores
3 Hidrolases	Clivagem de ligações, com intervenção de água
4 Liases	Clivagem de ligações, sem hidrólise ou oxidação
5 Isomerases	Isomerizações
6 Ligases	Formação de ligações



Classes das enzimas

Classe 1 [Oxirredutases](#) Catalisam reações de oxirredução, transferindo elétrons, hidretos (H^-) ou prótons (H^+).

Transferência de elétrons

Se uma molécula se reduz, há outra que se oxida.



Classes das enzimas

Classe 2

Transferases

Transferem grupos químicos entre moléculas.

- grupos aldeído
- grupos acila
- grupos glucosil
- grupos fosfatos (quinases)

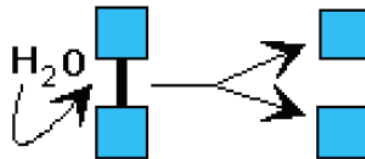


Classes das enzimas

Classe 3

Hidrolases

Utilizam a água como receptor de grupos funcionais de outras moléculas.



Catalisam reações de hidrólise de ligação covalente.

exemplo: as peptídes

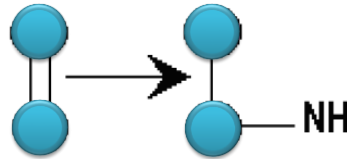
Classes das enzimas

Classe 4

Liases

Formam ou destroem ligações duplas, respectivamente retirando ou adicionando grupos funcionais.

- Entre C e C
- Entre C e O
- Entre C e N



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

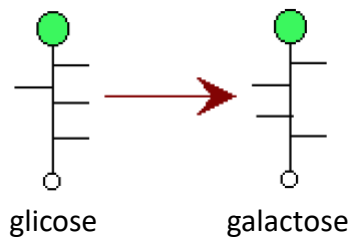
39

Classes das enzimas

Classe 5

Isomerases

Transformam uma molécula em um seu isômero.



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

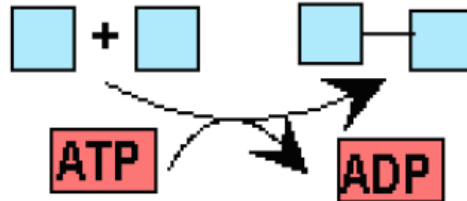
40

Classes das enzimas

Classe 6

Ligases

Formam ligações químicas por reações de condensação, consumindo energia sob a forma de ATP.



Nomenclatura

Atualmente a *Enzyme Commission* identifica cada enzima iniciando-as pelas letras **EC** seguido por um código numérico de quatro números separados por pontos.

Exemplo: EC 6.1.1.1 – Tirosina T-RNA ligase

Nomenclatura

Classificação das Enzimas: *considera o tipo de reação e substratos*

ATPase (Adenosinatrifosfatase): EC 3.6.1.3



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

43

Nomenclatura

- Atualmente a *Enzyme Commission* identifica cada enzima iniciando-as pelas letras EC seguido por um código numérico de quatro números separados por pontos.
- Exemplo: EC 6.1.1.1 – Tirosina T-RNA ligase



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

44

Nomenclatura



mas são as mesmas enzimas?



Nomenclatura



PDB id: 1xan

Name: Glutathione reductase

Title: Human glutathione reductase in complex with a xanthene inhibitor

Structure: Glutathione reductase. Chain: a. Engineered: yes

Source: Homo sapiens. Human. Expressed in: escherichia coli.

Biological unit: Dimer (from PQS)

UniProt: [P00390](#) (GSHR_HUMAN) [Pfam]

Seq:

Struc:

Seq:

Struc:

Seq: 522 a.a.

Struc: 461 a.a.

Enzyme class: [E.C.1.8.1.7](#) [Enz] [ExPASy] [KEGG] [BRENDA]

Reaction: + NADP⁺ = glutathione disulfide + NADPH

(see diagram below)

Cofactor: FAD



Nomenclatura

http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/enzymes/GetPage.pl?ec_number=1.8.1.7

EC-PDB
 EC 1.8.1.7 Glutathione-disulfide reductase. 29 PDB entries

Enzymes
 EC 1.-.- Oxidoreductases. [5,625 PDB entries]
 EC 1.8.-.- Acting on a sulfur group of donors. [237 PDB entries]
 EC 1.8.1.- With NAD(+) or NADP(+) as acceptor. [143 PDB entries]
 EC 1.8.1.7 Glutathione-disulfide reductase. [29 PDB entries] **PDBe**

Reaction: 2 glutathione + NADP(+) = glutathione disulfide + NADph.

2 × glutathione + NADP(+) = glutathione disulfide + NADPH

Other name(s): Glutathione reductase. Glutathione reductase (NADPH). Glutathione S-reductase. Gsh reductase. Gssg reductase. NADPH-glutathione reductase. NADPH-Gssg reductase. NADPH-oxidized-glutathione oxidoreductase.
 Cofactor(s): FAD.

FAD



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

47

Nomenclatura

glutathione reductase



EC 1.8.1.7

Oxidoreductases

Acting on a sulfur group of donors

With NAD(+) or NADP(+) as acceptor

Glutathione-disulfide reductase



Bioinformática I

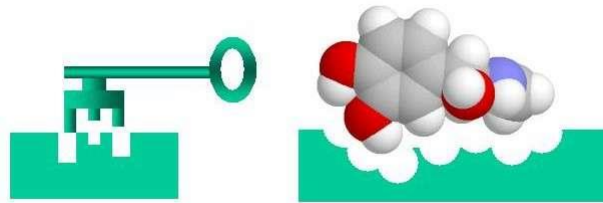
Julio Zukerman
Ignez Caracelli

48

Modelo chave-fechadura

Proposto por Emil Fischer em 1891.

A especificidade da enzima (*fechadura*) para com seu substrato (*chave*) aumenta de acordo com a suas formas geométricas complementares.



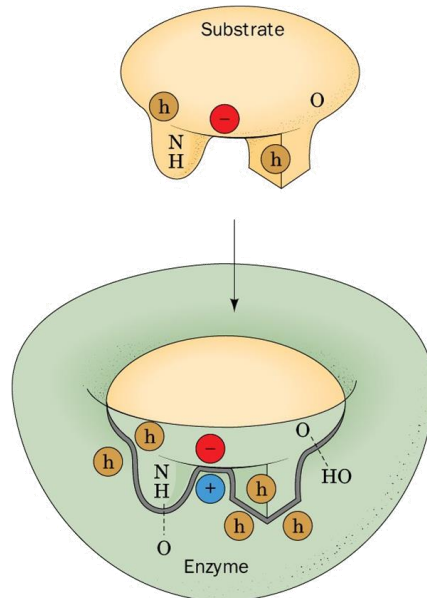
Modelo chave-fechadura

Interação enzima-substrato: complementaridade geométrica (necessária mas não suficiente para catálise).



Modelo chave-fechadura

Voet Biochemistry 3e
© 2004 John Wiley & Sons, Inc.
Page 460

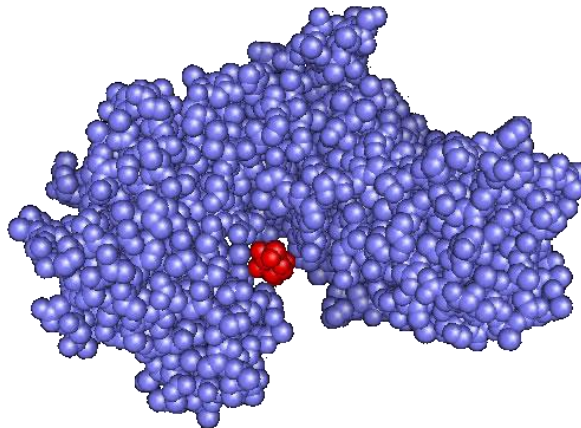


Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

51

Modelo chave-fechadura?

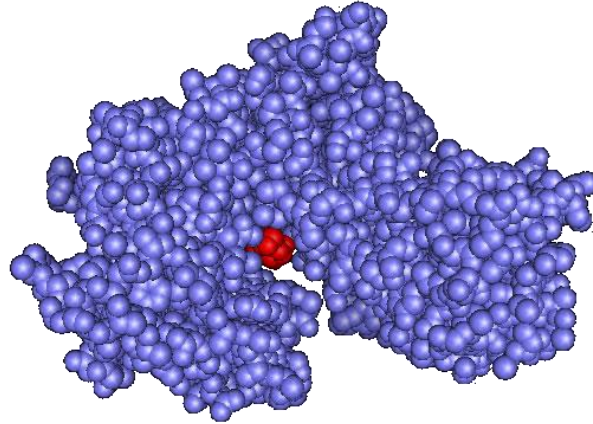


Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

52

Modelo chave-fechadura ?



Mecanismo do Ajuste Induzido

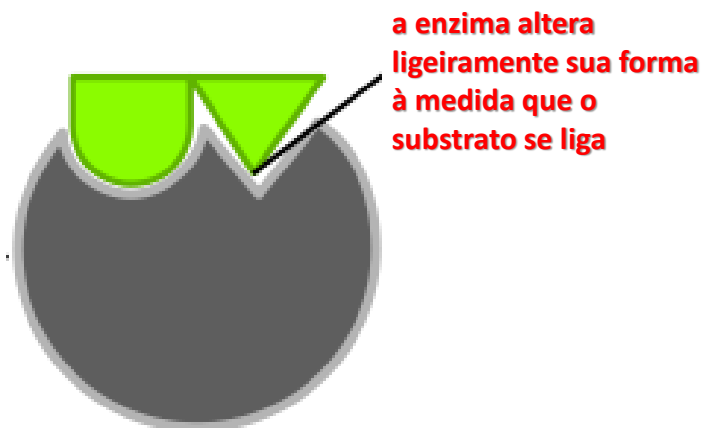
Modelo proposto por Daniel Koshland em 1958

Mecanismo do Ajuste Induzido



substrato entrando no sítio ativo da enzima

Mecanismo do Ajuste Induzido



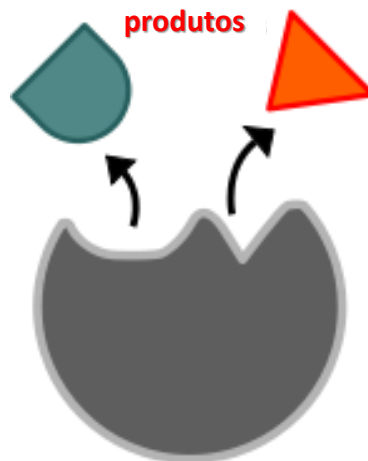
complexo enzima/substrato

Mecanismo do Ajuste Induzido



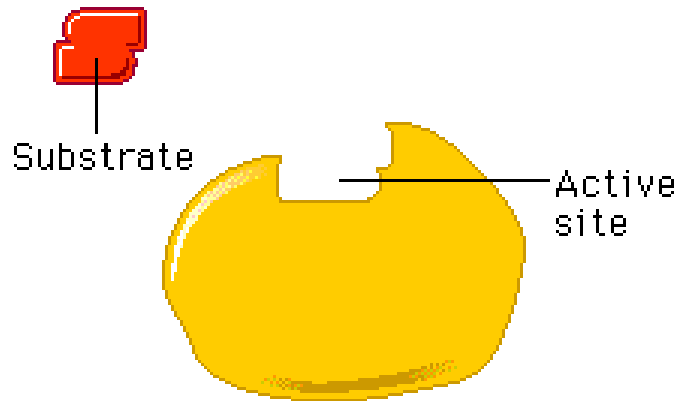
complexo enzima/**produto**

Mecanismo do Ajuste Induzido



produtos deixando o sítio ativo da enzima

Mecanismo do Ajuste Induzido



http://leavingbio.net/ENZYMES_files/image009.gif



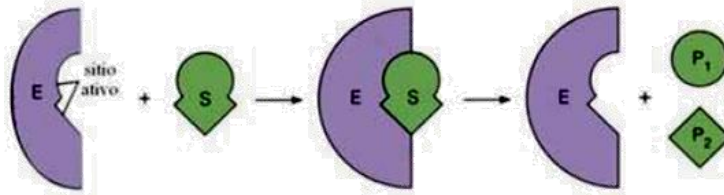
Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

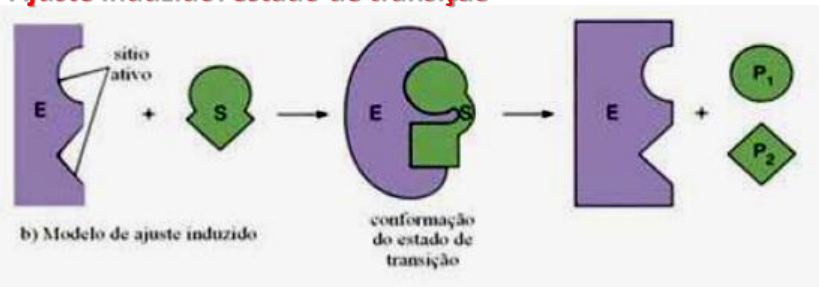
59

Comparação dos mecanismos

Chave-fechadura: complementaridade geométrica e eletrônica



Ajuste induzido: estado de transição



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

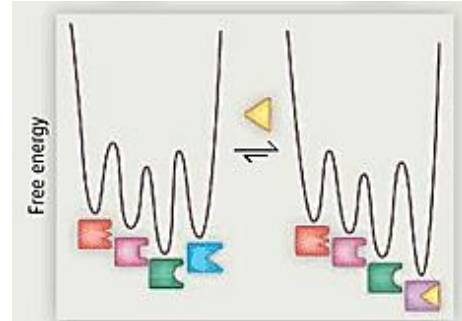
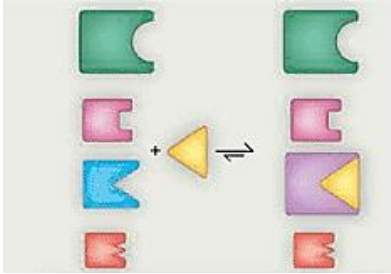
60

Mecanismo de Seleção Conformacional



O **Ajuste induzido** assume que há uma interação inicial entre a proteína e o ligante seguida por uma mudança conformacional que atua para otimizar a interação.

Seleção Conformacional



Boehr & Wright

SCIENCE VOL 320 13 JUNE 2008 1429-1430

<http://www.sciencemag.org/content/320/5882/1429.full>



Bioinformática I

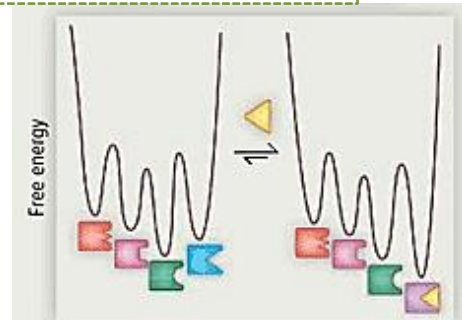
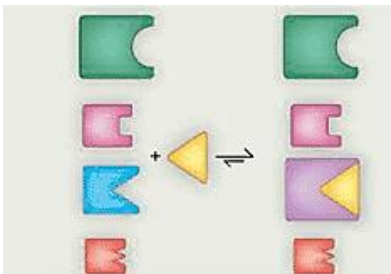
Julio Zukerman
Ignez Caracelli

61

Mecanismo de Seleção Conformacional

1. há uma a população de conformações que pode interagir com o ligante.
2. diferentes conformações da proteína estão equilíbrio dinâmico.
3. o ligante pode escolher uma conformação da proteína para interagir.
4. ligantes diferentes podem interagir com diferentes conformações

Seleção Conformacional O. F. Lange *et al.*, *Science* 320, 1471 (2008).



Boehr & Wright

SCIENCE VOL 320 13 JUNE 2008 1429-1430

<http://www.sciencemag.org/content/320/5882/1429.full>



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

62

Especificidade do Substrato

Forças não-covalentes:

Forças de van der Waals

Interações eletrostáticas

Ligações de Hidrogênio

+

Efeitos hidrofóbicos/hidrofílicos?



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

63

Estereoespecificidade e Especificidade Geométrica

- Enzimas altamente específicas ao se ligar a substratos quirais e na catálise das suas reações;
- Quiralidade inerente das proteínas (L-aminoácidos) formam centros ativos assimétricos;
- Logo, substrato com quiralidade errada não consegue se encaixar no sítio ativo da enzima;
- **Forma e quiralidade**



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

64

Inibidor

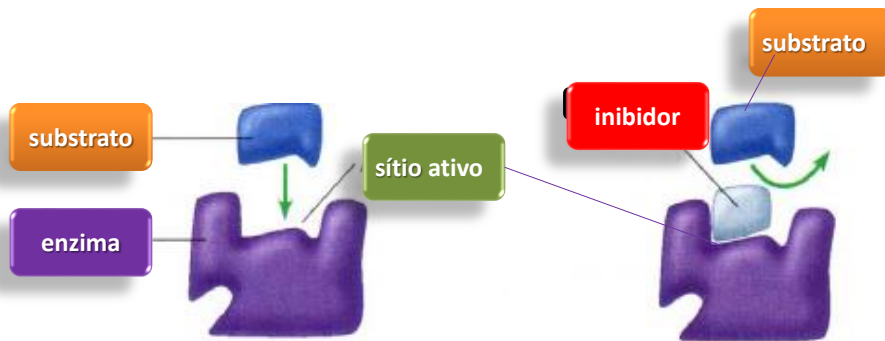
- ➡ molécula que bloqueia a ação da enzima
- ➡ a inibição pode ser **reversível** ou **irreversível**
 - ➡ **reversível**: interações fracas
 - ➡ **irreversível**: interações covalentes

Inibidor

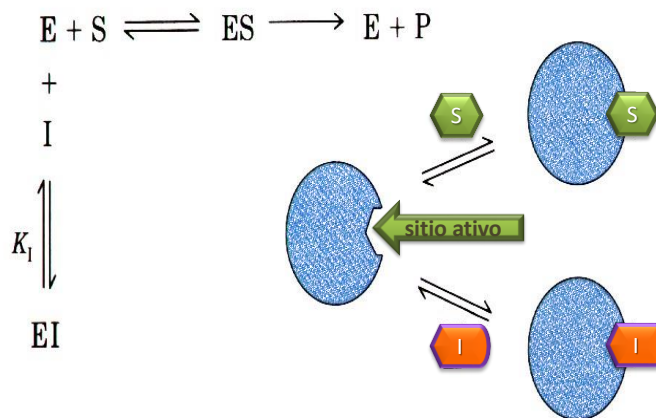
- ➡ os inibidores podem ser competitivos ou não-competitivos

Inibidor Competitivo

→ Tem semelhança com o substrato e compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima

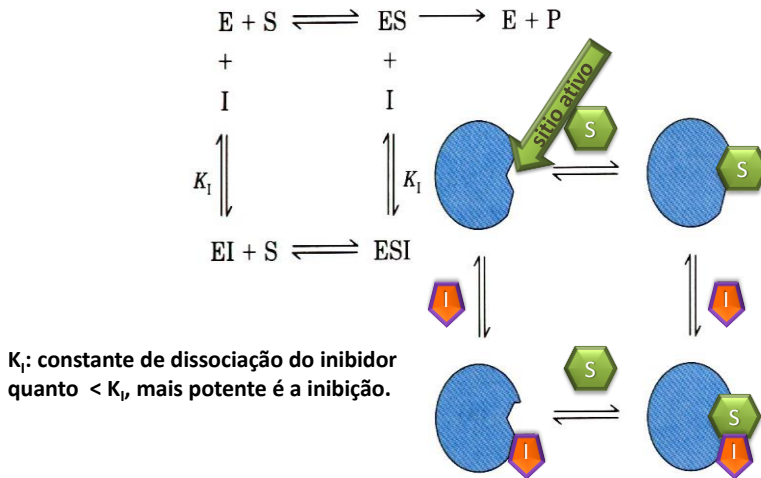


Inibidor Competitivo



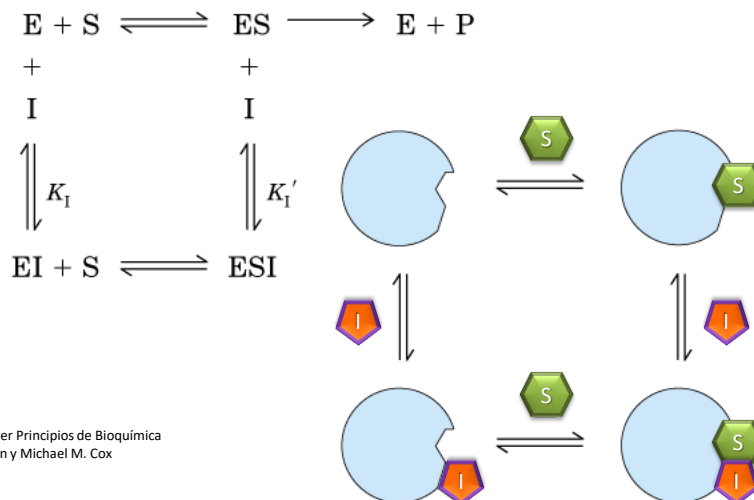
Inibidor não-competitivo ou misto

Inibidor não-competitivo se liga reversivelmente, aleatória e independentemente em um sítio que lhe é próprio.



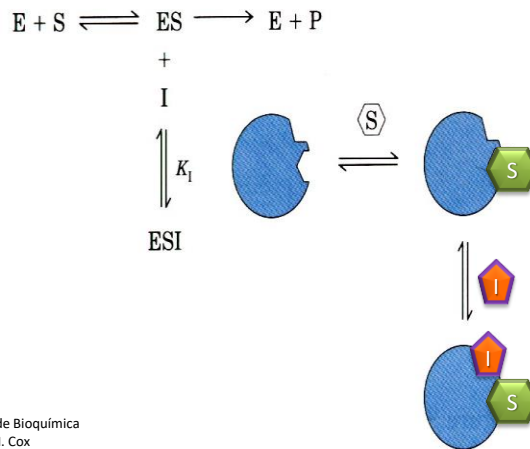
Inibidor misto

O inibidor pode se ligar tanto à enzima como ao complexo enzima-substrato.



Inibidor incompetitivo

Inibidor incompetitivo se liga ao complexo ES reversivelmente, em um sítio próprio.



Cap8 - Lehninger Principios de Bioquímica
David L. Nelson y Michael M. Cox

Regulação Enzimática

Duas Maneiras de ocorrer:

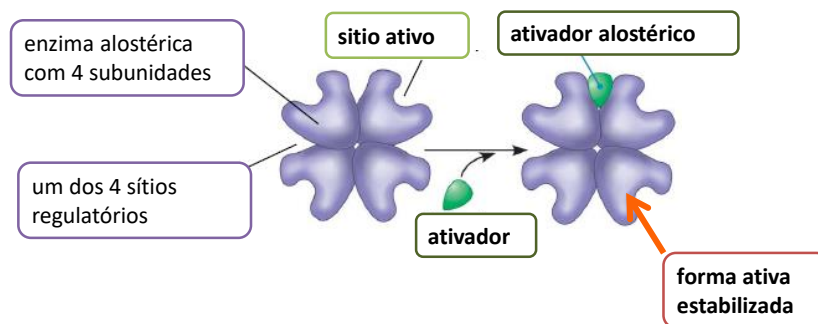
- ➡ **Controle da viabilidade enzimática** : a quantidade de enzimas em uma célula da reação de síntese e de degradação.
- ➡ **Controle da atividade enzimática** : atividade catalítica da enzima pode ser diretamente regulada por meio de alterações estruturais e conformacionais, ex: alosteria

Controle Alostérico

- ➔ termo usado para descrever a situação em que a função da proteína em um sítio é afetada pela ligação de uma molécula regulatória em outro sítio.
- ➔ a regulação alostérica pode inibir ou ativar a atividade de uma enzima alterando sua forma para a forma ativa ou inativa.



Controle Alostérico

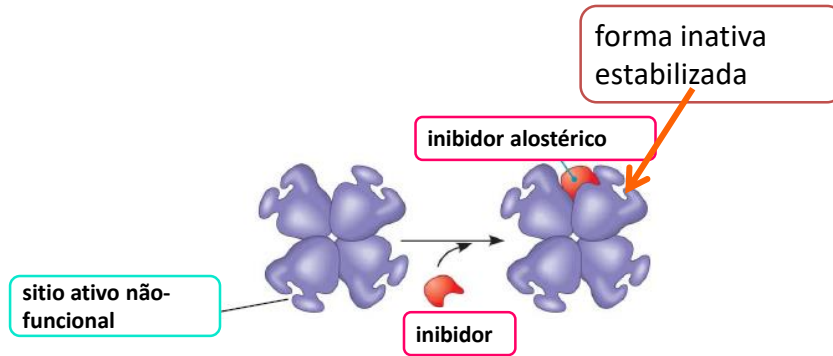


a ligação do **ativador alostérico** estabiliza a forma ativa da enzima



Controle Alostérico

a ligação do **inibidor alostérico** estabiliza a forma inativa da enzima

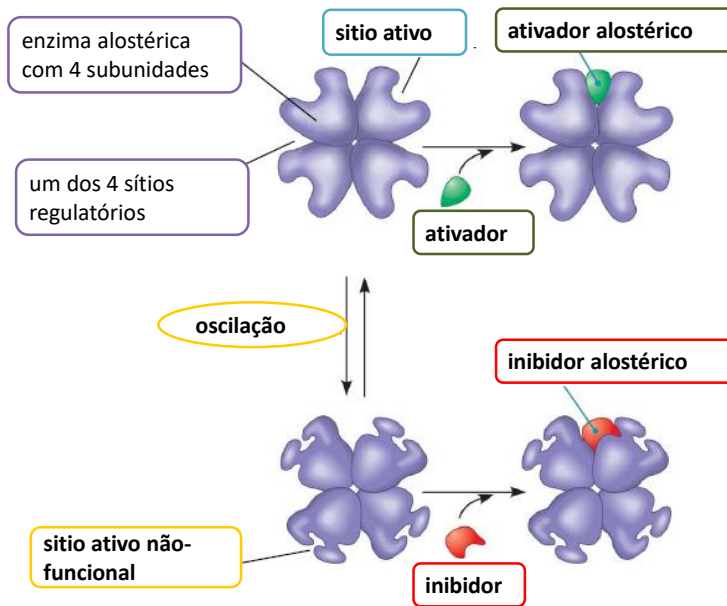


Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

75

Controle Alostérico



Bioinformática I

Julio Zukerman
Ignez Caracelli

76