

# Cinética enzimática

*Guilherme Menegon Arantes*

*Instituto de Química*

*Universidade de São Paulo*

garantes@iq.usp.br

<http://gaznevada.iq.usp.br>



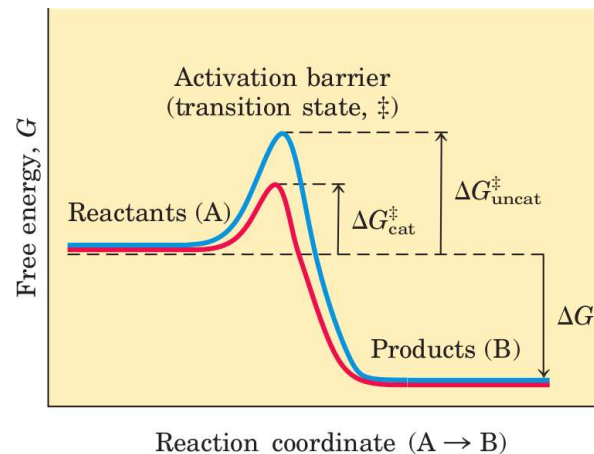
## Resumo da aula

- Enzimas são catalisadores biológicos
- Equação de Michaelis-Menten:
  - Derivação
  - Interpretações e medidas experimentais
- Eficiência e modulação da atividade enzimática
- Inibidores: Tipos e suas respectivas equações



## Enzimas são catalisadores biológicos

- Catalisam reações eficiente e seletivamente
- Proteínas (ou ribozimas). Algumas contém co-fatores, metais, etc.

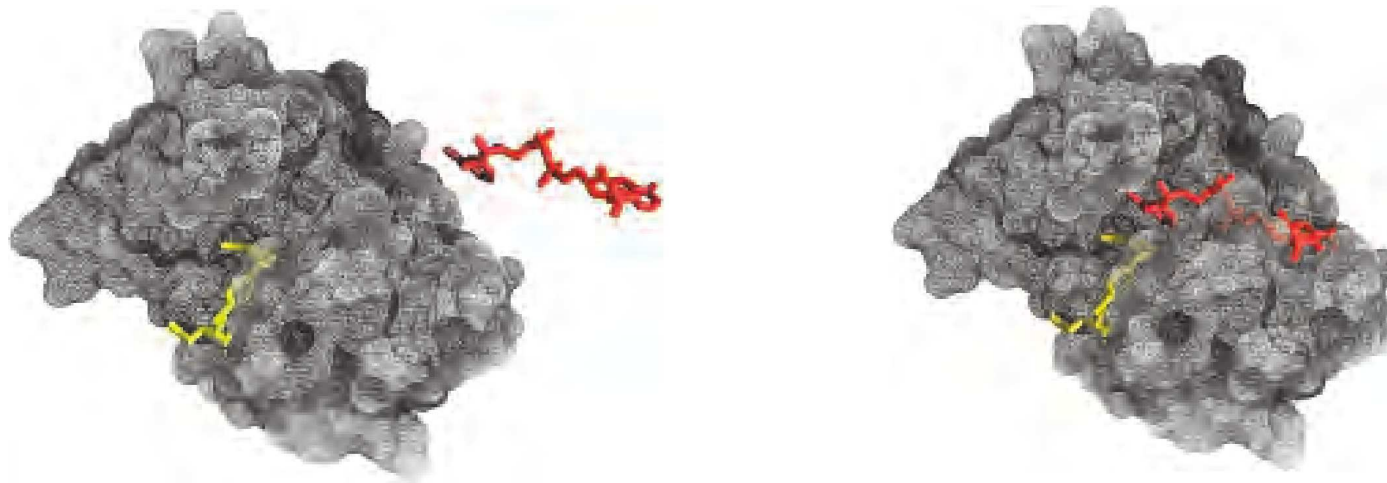


- Classificadas segundo a reação catalisada: oxidoreduções, hidrolases, ligases, isomerases, ...
- Acelerações enzimáticas por fatores de  $10^5$  a  $10^{20}$ !



## Complexo enzima-substrato (E·S)

- Também chamado de complexo de Michaelis(-Mentem)
- Primeiro passo antes de ocorrer catálise
- Forma-se por difusão e encontro entre enzima e substrato



- Vejamos um exemplo de simulação.



## Equação de Michaelis-Mentem



$$K_S = \frac{[E][S]}{[E \cdot S]} = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}$$

- Na maioria das enzimas  $k_{-1} \gg k_{cat} \Leftrightarrow K_M \simeq K_S$
- Como a velocidade inicial de formação do produto é  $V_0 = k_{cat} [E \cdot S]$ , a velocidade máxima é  $V_{max} = k_{cat} [E_T]$ , e  $[E]_T = [E] + [E \cdot S]$ , temos:

$$V_0 = \frac{k_{cat} [E]_T [S]}{K_M + [S]} = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

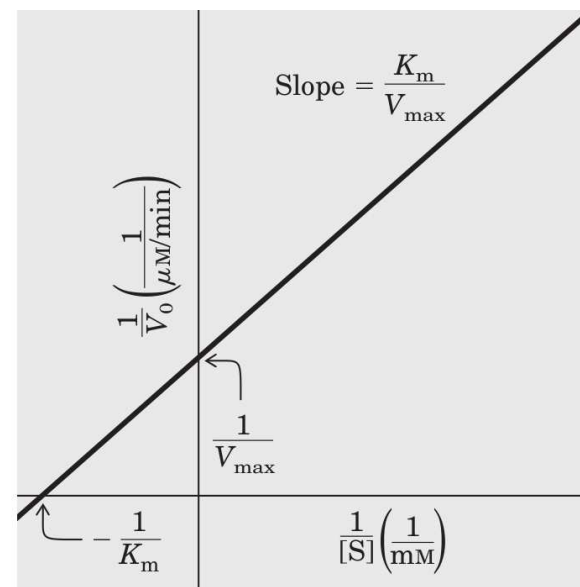
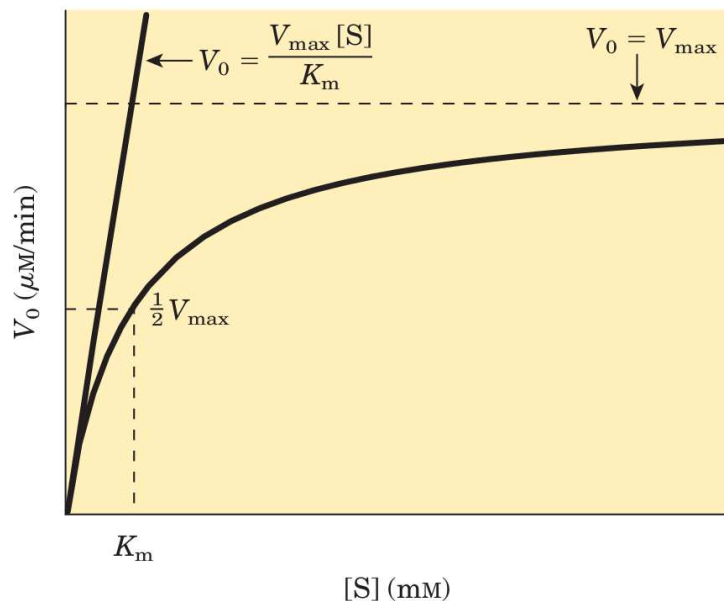
- Vamos mostrar a dedução desta equação



## Interpretando e visualizando os termos

- $[S]$ ,  $V_0$ ,  $V_{max}$  e  $K_M$  podem ser medidos facilmente
- Invertamos os dois lados  $\rightarrow$  Eq. Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



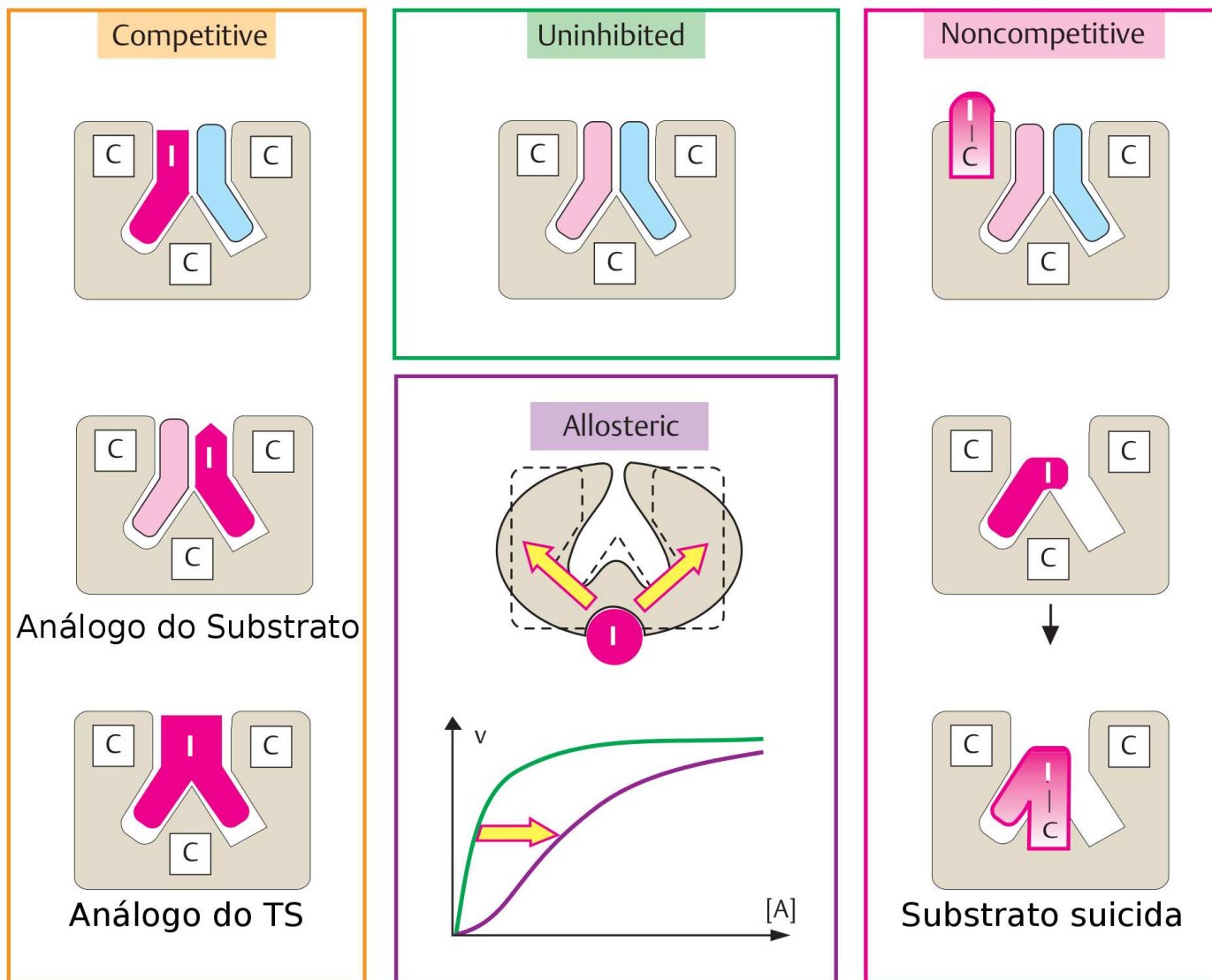
## Eficiência e modulação da atividade enzimática

Enzyme	Substrate	$k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$K_m$ (M)	$k_{\text{cat}}/K_m$ ( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	$1.4 \times 10^4$	$9 \times 10^{-5}$	$1.6 \times 10^8$
Carbonic anhydrase	$\text{CO}_2$	$1.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^{-2}$	$8.3 \times 10^7$
	$\text{HCO}_3^-$	$1.4 \times 10^5$	$2.6 \times 10^{-2}$	$1.5 \times 10^7$
Catalase	$\text{H}_2\text{O}_2$	$1.4 \times 10^7$	$1.1 \times 10^0$	$4 \times 10^7$
Crotonase	Crotonyl-CoA	$5.7 \times 10^3$	$2 \times 10^{-5}$	$2.8 \times 10^8$
Fumarase	Fumarate	$1.8 \times 10^2$	$5 \times 10^{-6}$	$1.6 \times 10^8$
	Malate	$1.9 \times 10^2$	$2.5 \times 10^{-5}$	$3.6 \times 10^7$
$\beta$ -Lactamase	Benzylpenicillin	$2.0 \times 10^3$	$2 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^8$

- Proteínas fosfatases (PTP) e oritidina decarboxilase são ainda mais eficientes, com acelerações de  $\sim 10^{20}$ !
- Enzimas são reguladas por modificações covalentes reversíveis, principalmente fosforilação em Ser, Thr e Tyr
- Pequenas moléculas efetoras (comportamento alostérico) e inibidores também modulam atividade



# Tipos de inibidores enzimáticos

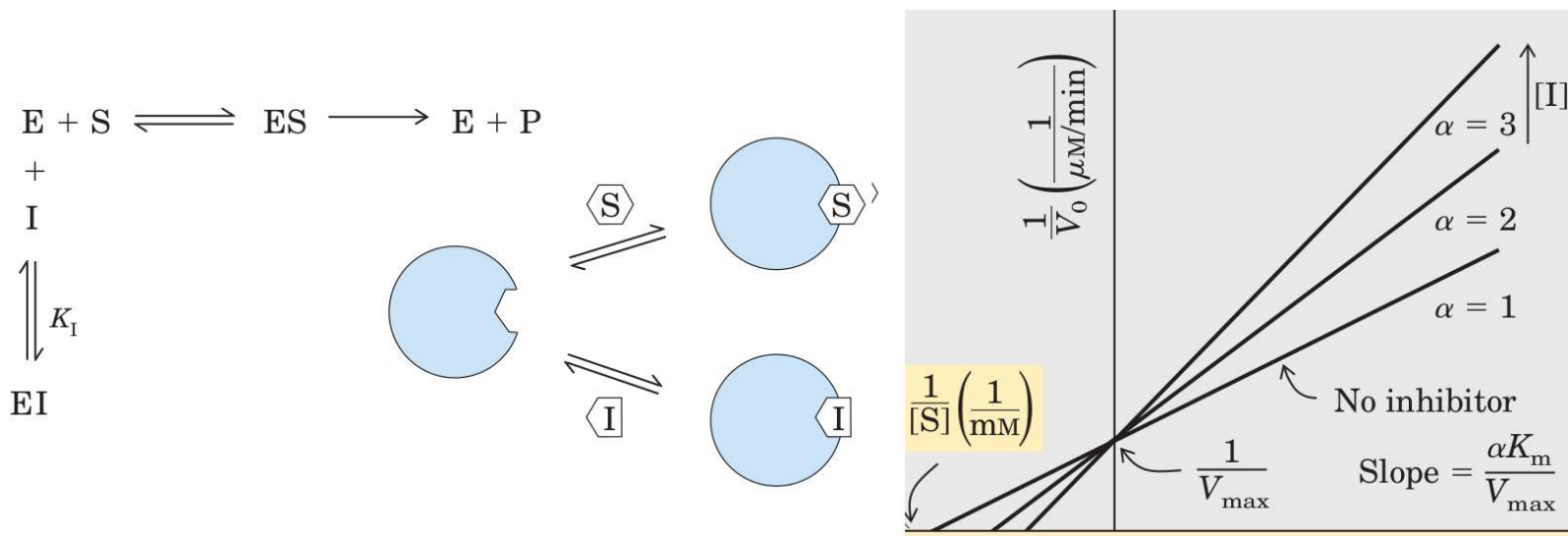




# Inibidores competitivos

- $V_{max} \rightarrow V_{max}$  e  $K_M \rightarrow \alpha K_M$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{\alpha K_M}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



## Inibidores (a)não-competitivos

- $V_{max} \rightarrow V_{max}/\alpha'$  e  $K_M \rightarrow K_M/\alpha'$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$

