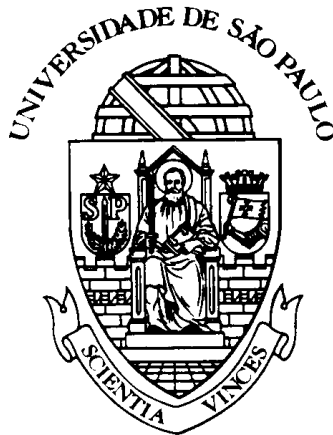


Mecanismos de catálise enzimática

Guilherme Menegon Arantes

garantes@iq.usp.br

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



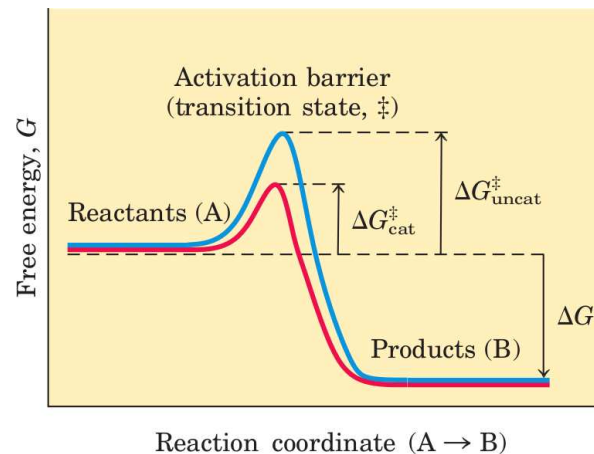
Resumo da aula de hoje

- Relembrando a equação de Michaelis-Menten
- Reação de referência em solução
- Mecanismos catalíticos:
 - Catálise covalente
 - Catálise ácido-base geral
 - Catálise eletrostática
 - Efeitos entrópicos e estéricos
- Ilustrar com dois mecanismos de reação:
 - Fosfatase de proteínas
 - Serina protease



Enzimas são catalisadores biológicos

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

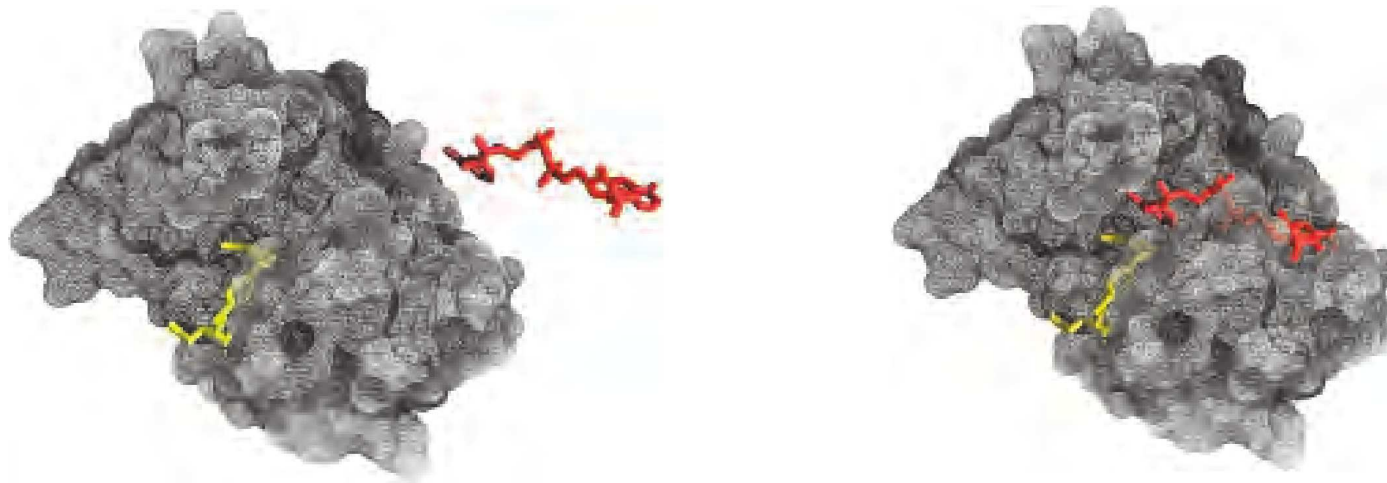


- Classificadas segundo a reação catalisada: oxidoreduções, hidrolases, ligases, isomerases, ...
- Acelerações enzimáticas por fatores de 10^5 a 10^{20} !



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

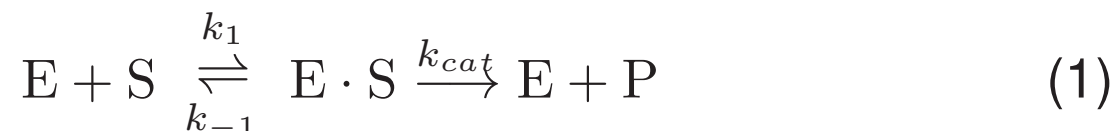


- Vejamos um exemplo de simulação.



Equação de Michaelis-Mentem

- Relembrando da aula passada:



$$K_S = \frac{[E][S]}{[E \cdot S]} = \frac{k_{-1}}{k_1} \quad (2)$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1} \quad (3)$$

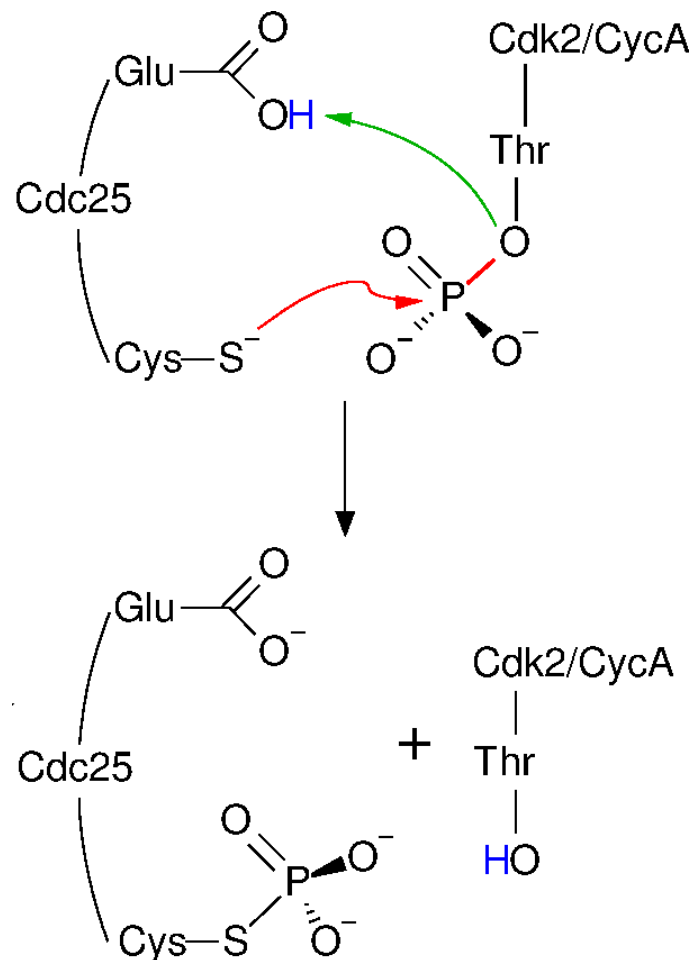
- Na maioria das enzimas $k_{-1} \gg k_{cat} \Leftrightarrow K_M \simeq K_S$
- Velocidade inicial de formação do produto, $v = k_{cat} [E \cdot S]$, pode ser escrita:

$$v = \frac{k_{cat} [E]_T [S]}{K_M + [S]} \quad (4)$$

onde definimos $[E]_T = [E] + [E \cdot S]$.



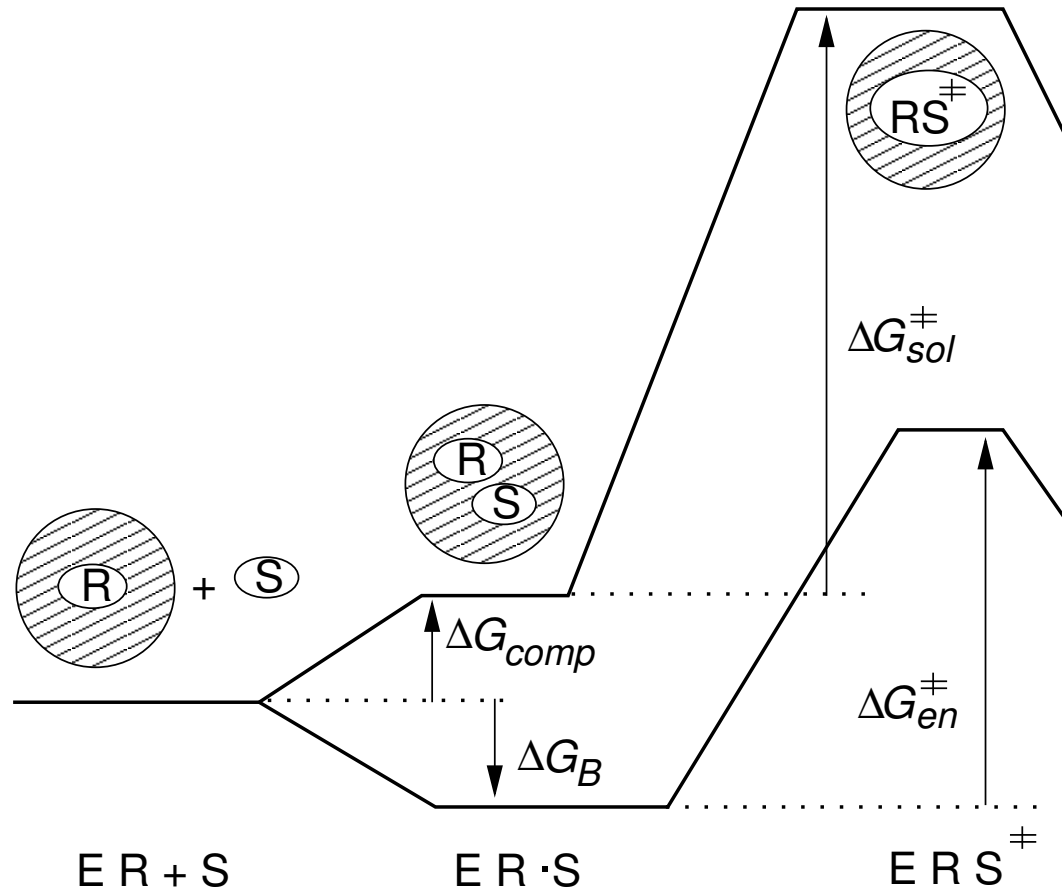
Exemplo: Fosfatase de proteínas



- Temos uma tiólise de éster de fosfato na 1^a etapa, e hidrólise de tio-fosfato na 2^a etapa



Reação de referência em solução



$$\Delta G_{sol}^{\ddagger} > \Delta G_{enz}^{\ddagger}$$



Como a enzima pode acelerar reações?



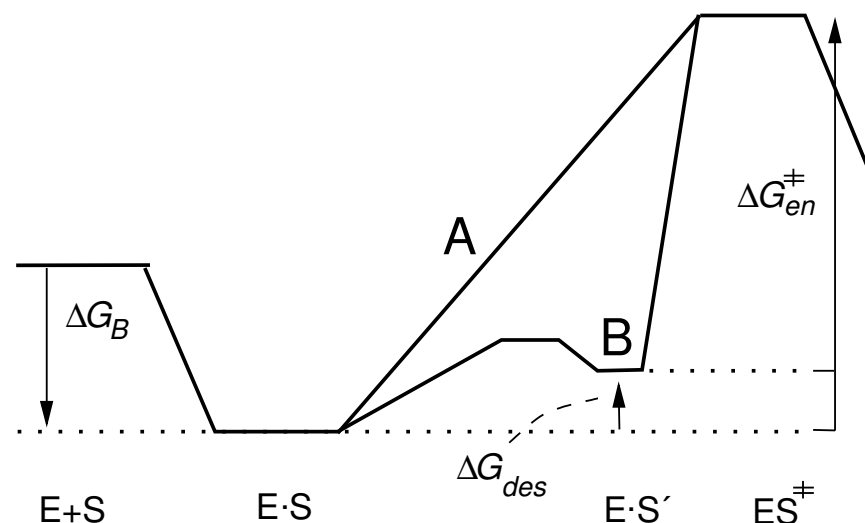
Como a enzima pode acelerar reações?

- Neste modelo, existem duas maneiras:
 - Diminuição de $K_S \rightarrow$ aumento da $[E \cdot S]$
Modifica a afinidade pelo substrato
 - Aumento de k_{cat} por estabilização na etapa química
- K_S : Encaminhamento do substrato. Enzima diminui volume livre por canais, mudanças estruturais ou interações eletrostáticas



Como a enzima pode acelerar reações?

- Mecanismos catalíticos para aumentar k_{cat} (ou diminuir ΔG_{enz}^\ddagger)
- Hipótese “chave-fechadura” (E. Fischer, 1894).
- “Chave” é o estado de transição (L. Pauling, 1930), ou seja, a enzima estabiliza o estado de transição
- Desestabilização do complexo de Michaelis (perfil B)

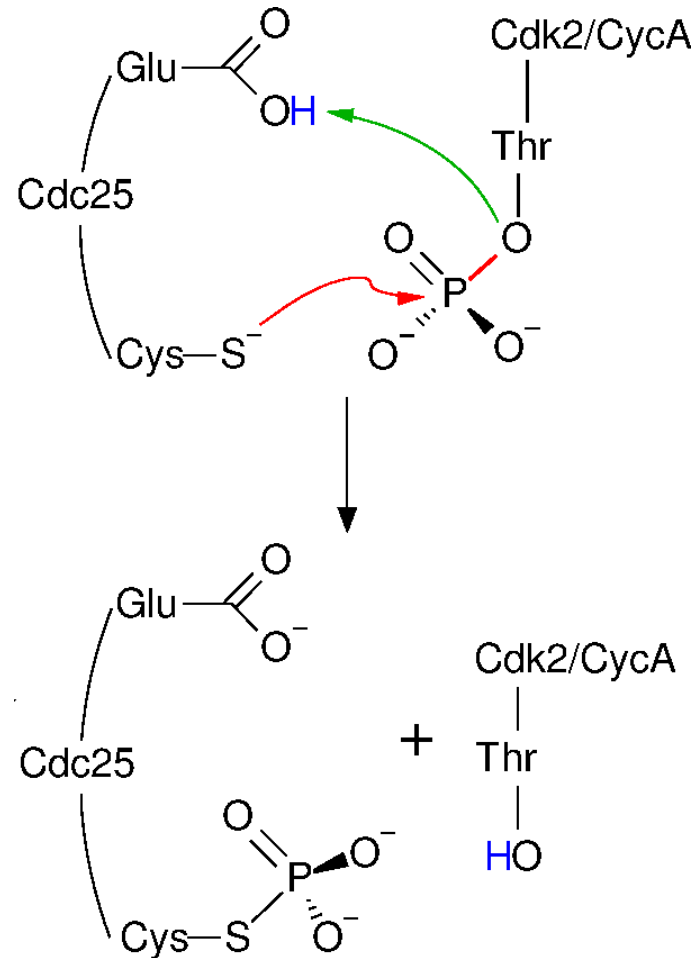


Catálise covalente

- Formação de um intermediário covalente E–S **estável**
- Condições:
 - Enzima é mais reativa frente ao substrato do que acceptor final
 - Intermediário é mais reativo que substrato
 - Intermediário tem maior energia livre do que produto final para não acumular
- Diversas enzimas: Proteases, estearases, descarboxilases, fosfatases, etc.
- Cerca de 5 a 10 kcal/mol para abaixamento de ΔG^\ddagger



Exemplo: Fosfatase de proteínas

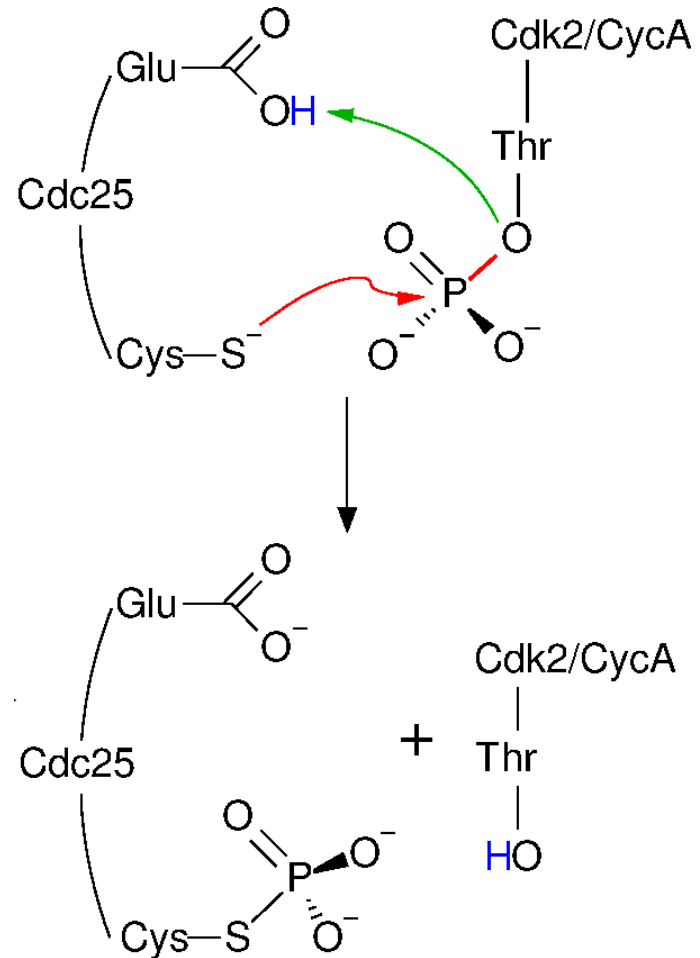


Catálise ácido-base geral

- Ácido (ou base) geral pode ser qualquer resíduo da proteína ou cofator que doa (ou recebe) H^+ (conceito de Brønsted)
- Presente na grande maioria das reações enzimáticas
- Contribue cerca de 5 kcal/mol para abaixamento de ΔG^\ddagger

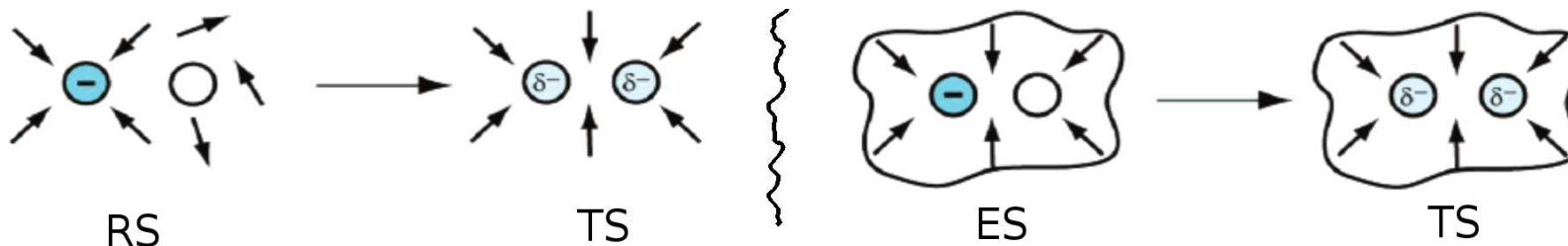


Exemplo: Fosfatase de proteínas



Catálise eletrostática

- Coordenação com metais e ligações de hidrogênio consideradas catálise eletrostática
- Cargas parciais e dipolos de resíduos proteicos interagem com substrato
- Contribue *em média* 17 kcal/mol para abaixamento de ΔG^\ddagger
- Principal mecanismo: **Enzimas provém um ambiente eletrostático pré-organizado (com baixa energia de re-organização) para solvatar o estado de transição**



Efeitos entrópicos

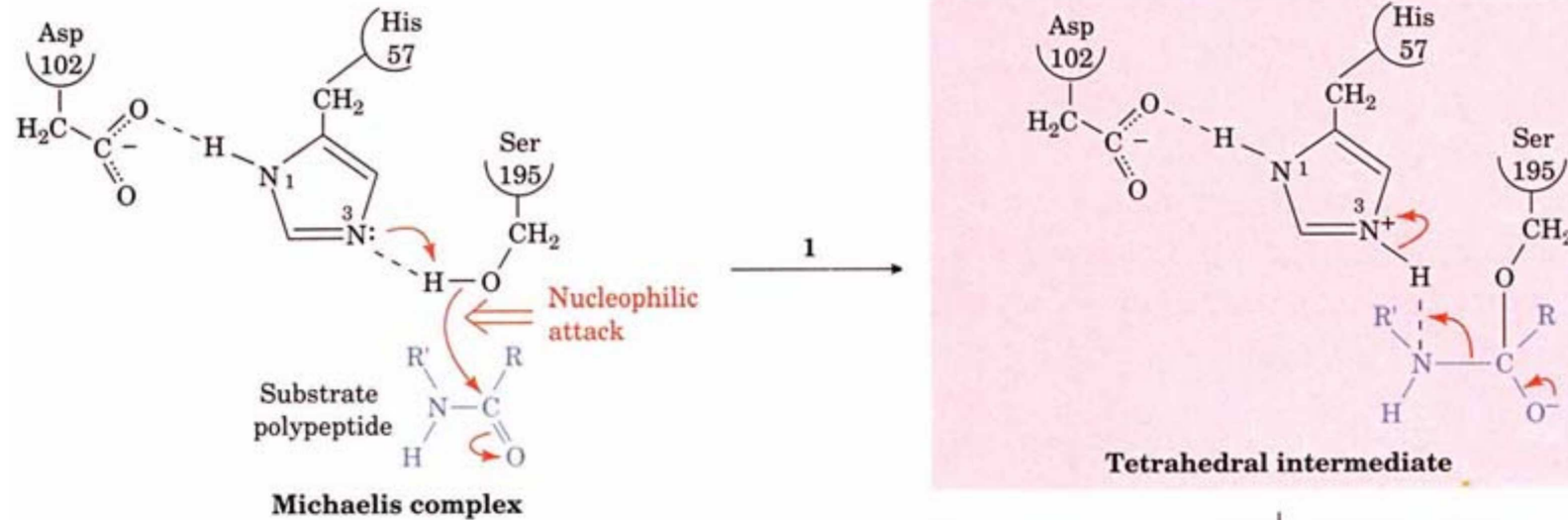
- Restrição da posição do substrato no sítio ativo
- Contribuição pequena (≤ 2 kcal/mol), pois restrição transformada em vibrações de baixa frequência

Efeitos estéricos

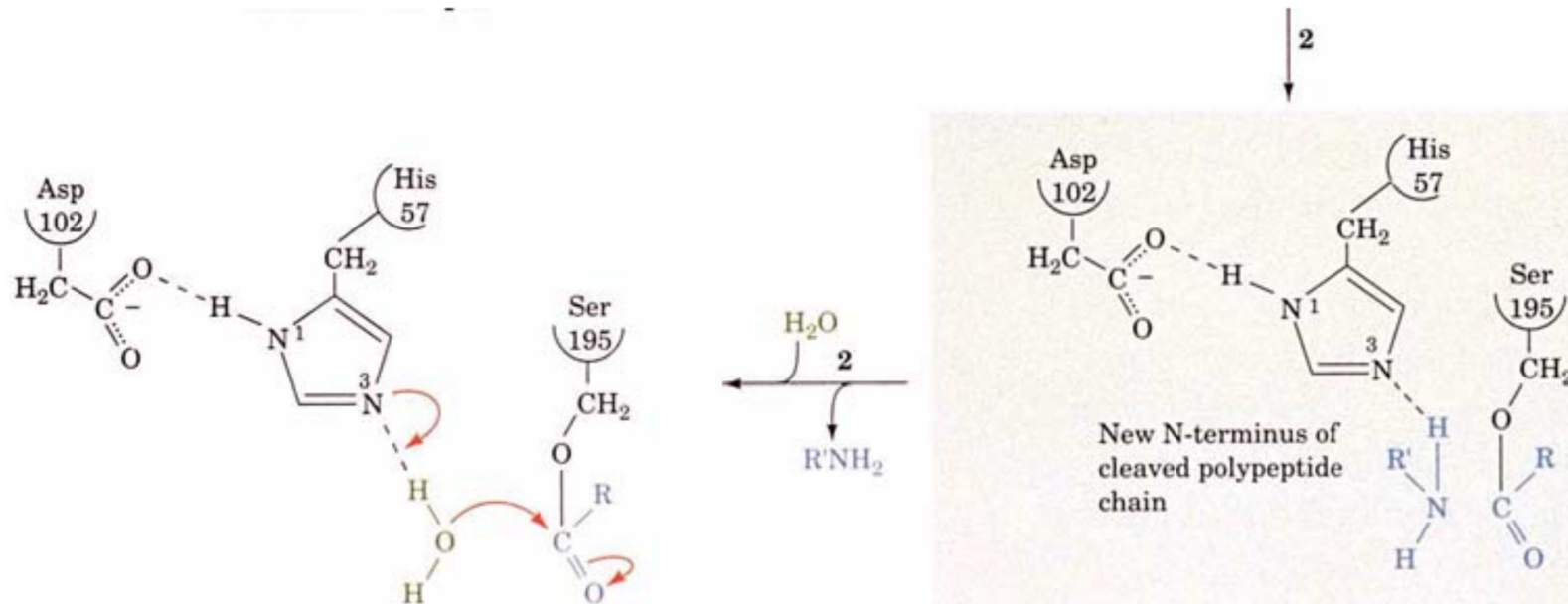
- Enzima poderia “forçar” estéricamente substrato numa determinada conformação reativa. Mas mudanças de geometria do substrato são pequenas (da ordem 1 Å) e enzimas são flexíveis.
- Contribuição energética também pequena



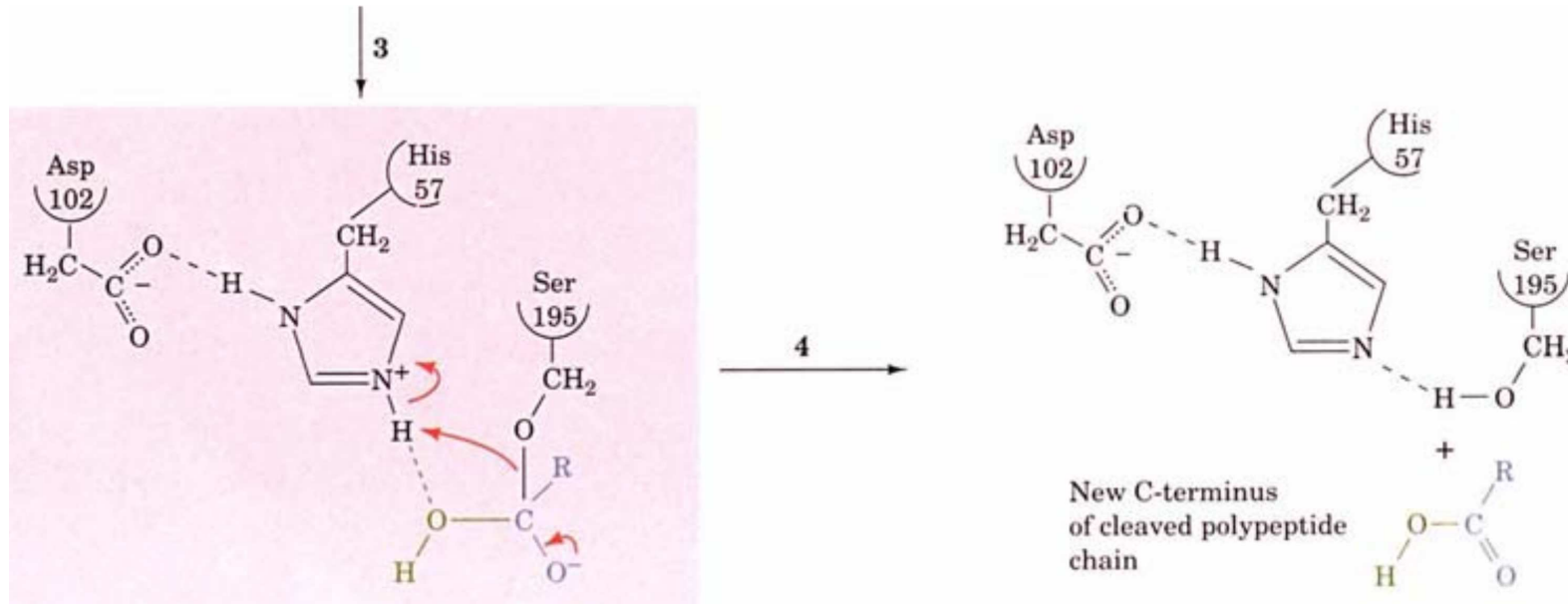
Mecanismo da Serina protease 1



Mecanismo da Serina protease 2



Mecanismo da Serina protease 3



Pontos chaves da aula de hoje

- Reações de referência são usadas para racionalizar interações e mecanismos de catálise
- Enzimas provém um **ambiente eletrostático pré-organizado** para solvatar e estabilizar o estado de transição
- Catálise covalente e ácido-base geral também contribuem. Efeitos entrópicos e estéricos são pouco importantes
- Cada enzima possui sua “receita” para catálise: Combinação das interações discutidas
- Fosfatase de proteínas usam carga positiva e redes de ligações de hidrogênio para estabilizar ânion
- Serina proteases usam tríade catalítica

