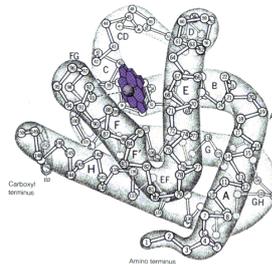


**BIOQUÍMICA**  
**1º ano de Medicina**  
**Ensino teórico**  
**2007/2008**



**11ª aula teórica**

**29 Outubro 2007**

**Organização de vias metabólicas.**

**Enzimas alostéricas – Enzimas de regulação.**

**Regulação e controlo da actividade enzimática:**

**Regulação feedback e feedforward**

**Modificação covalente reversível**

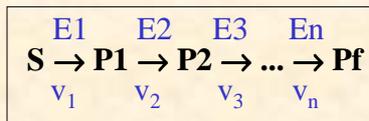
**Activação por clivagem proteolítica (caspases, coagulação)**

**Ciclos de substrato**

**Compartimentalização ('channeling')**

**Organização de vias metabólicas**

**Vias metabólicas:** concatenação de actividades enzimáticas que, pela sua inter-penetração, tornam difícil a definição de S e P final de uma via



**O estudo do metabolismo celular pressupõe estudar a dinâmica de formação de S em P, i.e. o fluxo metabólico da via**

**HOMEOSTASE:** a manutenção da viabilidade celular pressupõe que uma célula tenha a capacidade de manter um fluxo metabólico adaptado às suas necessidades em função do seu meio ambiente.

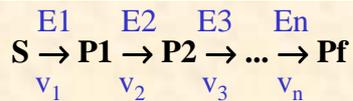
⇒ **Necessidade de 'sentir' o meio ambiente** (receptores e sistemas de transdução)

⇒ **Capacidade de regulação metabólica** ('steady-state' metabólico)

**Controlo metabólico:** capacidade de modificar actividades enzimáticas de modo a modificar o fluxo de uma via metabólica

## Identificação tradicional de enzimas 'reguladores' e de 'controlo'

Razão de acção de massas: a E com maior capacidade de regular o fluxo de uma via seria a que teria a velocidade mais baixa, *i.e.* maior razão  $[P] / [S]$

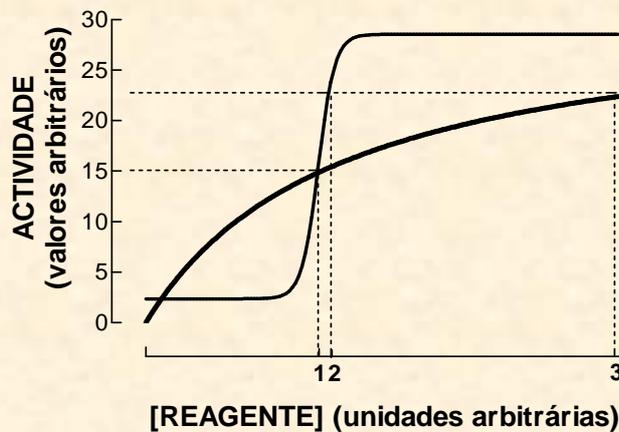


A fluxo é constante, todas as reacções têm de ocorrer à mesma velocidade !

Newsholme: a E reguladora será aquela que responde com maior amplitude a variações da  $[S]$  e cuja actividade possa ser controlada por outros factores que não a  $[S]$

Será que uma cinética 'Michaelina' satisfaz estes critérios ?

## Modificação da actividade enzimática - enzimas alostéricas



## Enzimas Alostéricas

### NÃO OBEDECEM À CINÉTICA DE MICHAELIS-MENTEN

1. A molécula de enzima é frequentemente formada por subunidades
2. A interação entre as subunidades torna a ligação E-S uma ligação cooperativa (homoalosteria)



A curva de saturação da enzima pelo substrato é uma **SIGMÓIDE**

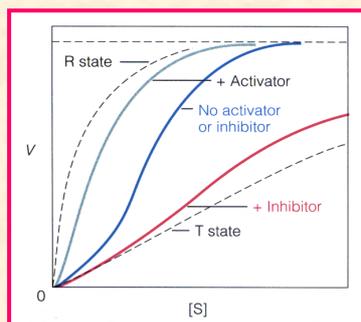
A ligação do substrato a um local activo afecta as propriedades de ligação do outro local activo na mesma molécula de enzima

3. A actividade de uma enzima alostérica pode ser modificada por moléculas reguladoras (heteroalosteria), que se ligam a locais diferentes dos locais catalíticos



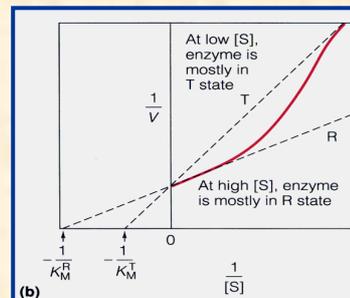
**Inibidores/Activadores alostéricos**

### Efeito da ligação de um substrato cooperativo na cinética enzimática



➡ Os inibidores alostéricos desviam para a forma **T**

➡ Os activadores alostéricos desviam para a forma **R**



## Interconversão entre forma inactiva (T) e activa (R) das enzimas alostéricas

Dois modelos explicam a interacção cooperativa (curva sigmóide):

- **Modelo simétrico** (Monod, Wyman e Changeux, 1965)

- Existe equilíbrio entre a conformação R e T na presença de S
- Todas as subunidades estão na mesma conformação (T ou R)



- **Modelo sequencial** (Koshland, Némethy e Filmer, 1966)

- Existe equilíbrio entre a conformação R e T na presença de S
- A transição de conformação T → R é induzida pela ligação de S
- A alteração da conformação T → R em diferentes subunidades da molécula de enzima é sequencial (espécies híbridas RT são proeminentes)
- As subunidades podem interagir mesmo que estejam em diferentes estádios conformacionais

(Baixa ligação) (Alta ligação)



## Regulação da actividade enzimática

'The evocation of a conformational change when a ligand binds reversibly to a protein underlies the whole of metabolic and physiological regulation' (Ottaway, 1988)

- Regulação por feedback
- Regulação por feedforward
- Modificação covalente reversível
- Activação por clivagem proteolítica (caspases, coagulação)
- Ciclos de substrato
- Compartimentalização ('channeling')

## Regulação feedback (inibição retroactiva)

Exemplo: Aspartato carbamoil transferase (ATCase) (síntese de pirimidinas)

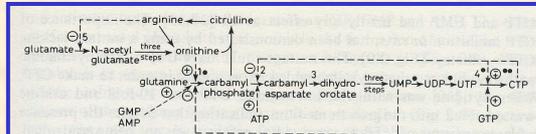
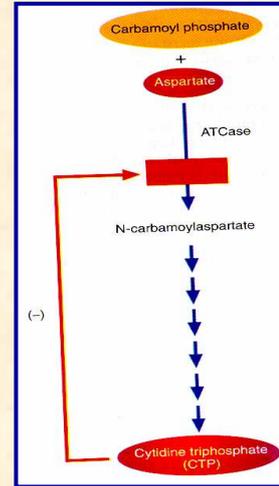
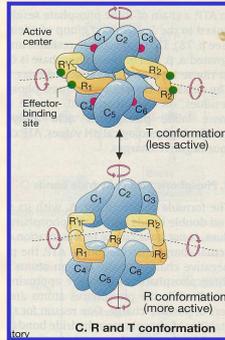
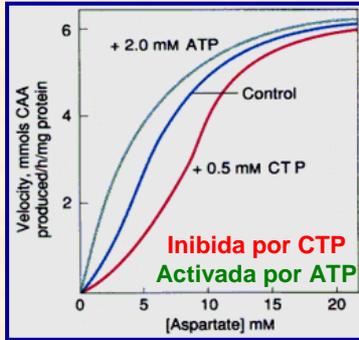
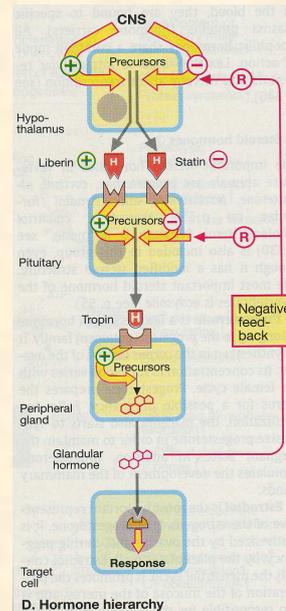
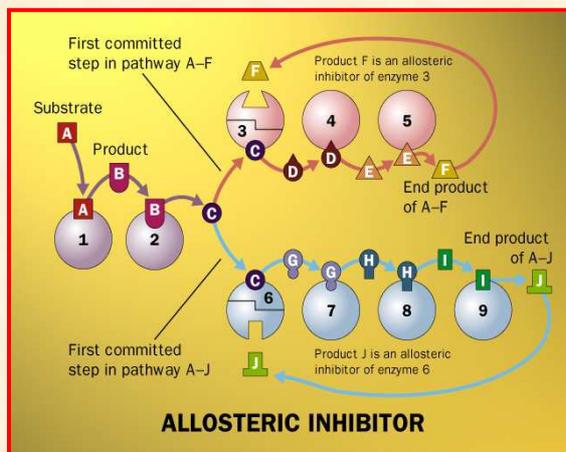


Fig. 2.9 Regulation of pyrimidine biosynthesis in *E. coli* (+), allosteric activator; (-), allosteric inhibitor; ●—reactions using ATP as a substrate; 1—carbamoyl phosphate synthetase; 2—aspartate transcarbamylase; 3—dihydroorotase; 4—CTP synthetase; 5—N-acetylglutamate synthetase. CTP can be either an activator or inhibitor of CTP synthetase (see text).

## ACTIVAÇÃO E INIBIÇÃO POR EFECTORES ALOSTÉRICOS

### Controlo por feedback



## ISOENZIMAS E REGULAÇÃO FEEDBACK

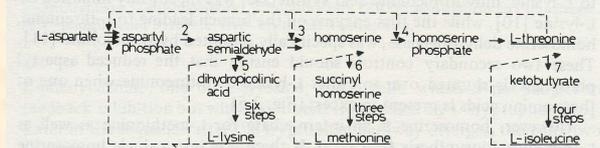
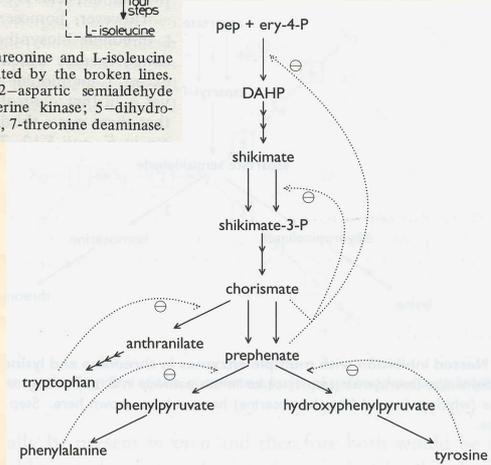
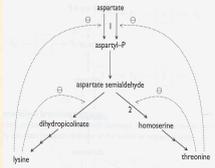
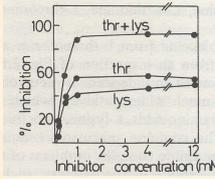
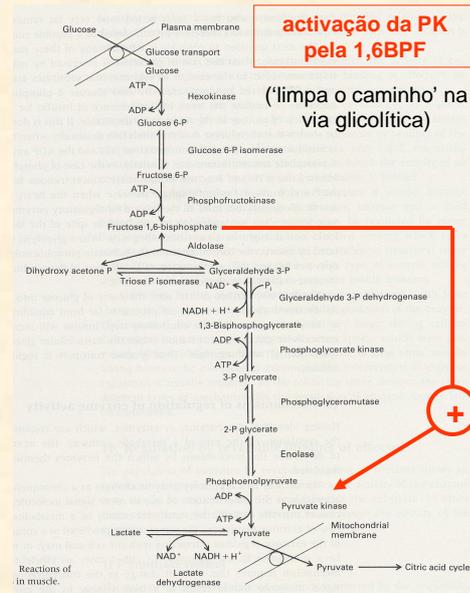


Fig. 2.5 The biosynthesis of L-lysine, L-methionine, L-threonine and L-isoleucine from L-aspartate. End product inhibitions are indicated by the broken lines. Multiple arrows denote isoenzymes. 1—aspartokinase; 2—aspartic semialdehyde dehydrogenase; 3—homoserine dehydrogenase; 4—homoserine kinase; 5—dihydro-picolinic acid synthetase; 6—succinyl homoserine synthetase; 7—threonine deaminase.



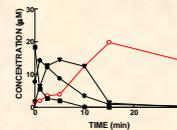
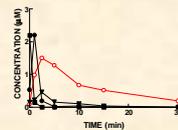
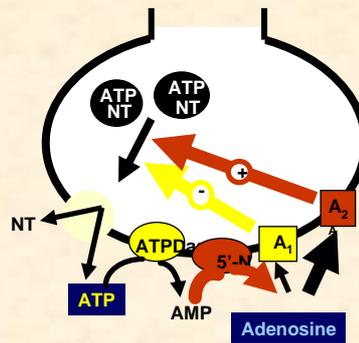
## REGULAÇÃO FEEDFORWARD



ativação da PK pela 1,6BPF

(‘limpa o caminho’ na via glicolítica)

Formating adenosine modulation in nerve terminals



## Regulação da actividade enzimática por modificação covalente

Algumas enzimas são reguladas por metilação, ADP-ribosilação, plmitoilação (ou acilação) mas a forma mais comum de regulação enzimática por modificação covalente reversível mais é por **fosforilação**

### 1. Enzimas do metabolismo dos carboidratos

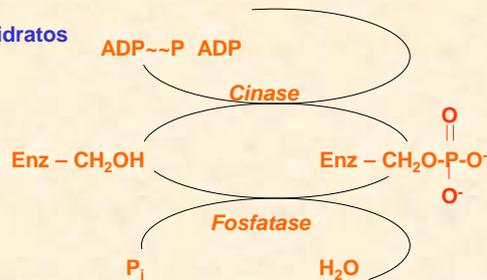
- Fosforilase do glicogénio
- Fosforilase cinase
- Glicogénio sintetase
- Fosfofrutocinase-2
- Piruvato cinase
- Piruvato desidrogenase

### 2. Enzimas do metabolismo lipídico

- Hidroximetilglutaril-CoA redutase
- Acetil-CoA carboxilase
- Triacilglicerol lipase

### 3. Enzimas do metabolismo dos aminoácidos

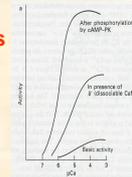
- Cetoácido desidrogenase
- Fenilalanina hidroxilase
- Tirosina hidroxilase



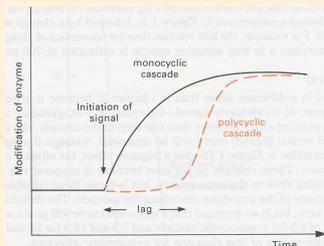
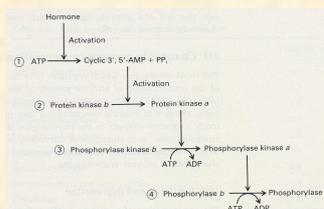
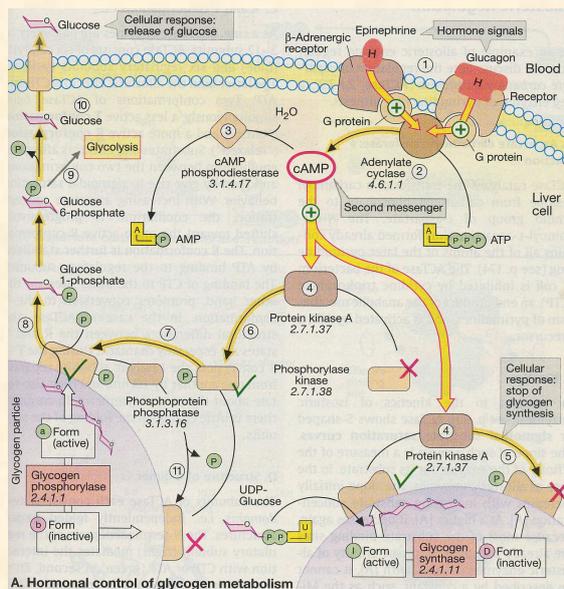
As 'fosforilações' não são todas equivalentes

Ser Thr Tyr  
sequências consensus

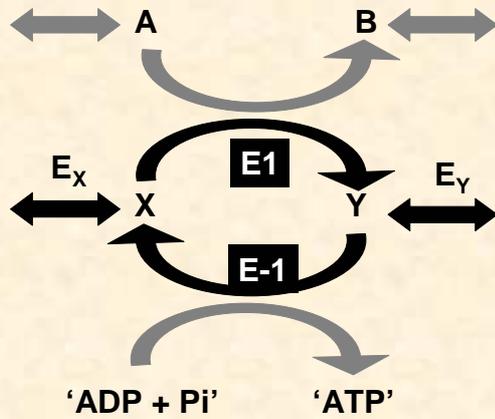
(e.g. fosforilase cinase)



## Regulação por modificação covalente reversível - AMPLIFICAÇÃO



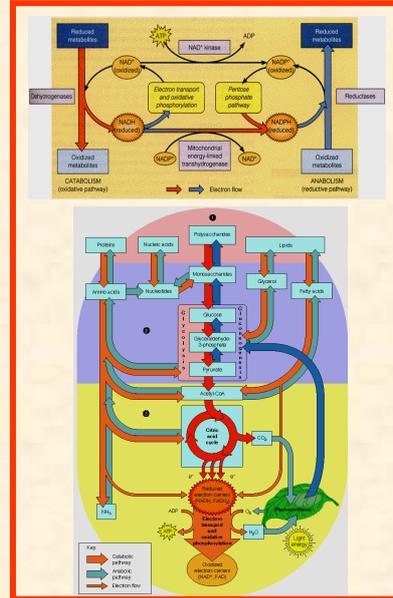
## CICLOS DE SUBSTRATO (ciclos fúteis)



**Vantagens:** permite levar o fluxo de uma via a zero ( $\Rightarrow$  máximo aumento percentual)

**Desvantagens:** consomem energia (ciclo fútil)

Quanto mais rápido o fluxo interno do ciclo mais célere a modificação de fluxo na via



## Regulação da actividade enzimática por activação proteolítica:

Algumas enzimas são reguladas por **Proteólise**

### 1. Enzimas digestivas

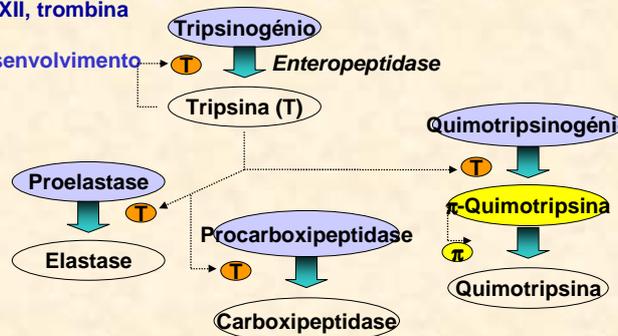
- Tripsina
- Quimotripsina
- Carboxipeptidase A e B
- Pepsina
- Fosfolipase

### 2. Enzimas da coagulação sanguínea

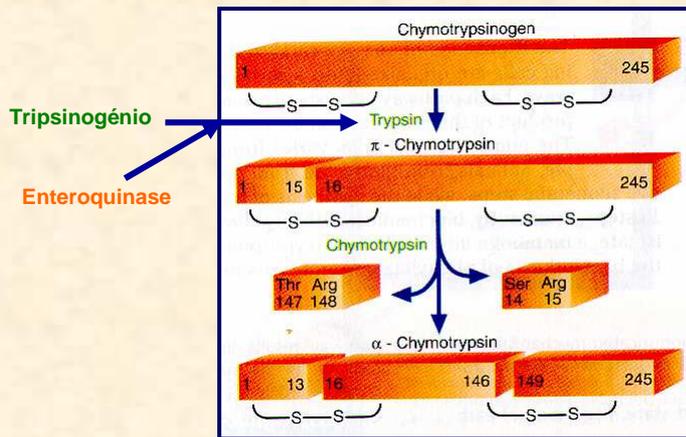
- Factores VII, IX, X, XI e XII, trombina

### 3. Enzimas envolvidas no desenvolvimento

- Colagenase



Muitas enzimas são sintetizadas sobre a forma de  
de  
pró-enzimas ou zimogénios



Tripsinogénio

Enteroquinase

Cascata da Coagulação Sanguínea

