



Outras Metaloenzimas

*Dr. Tiago P. Camargo*

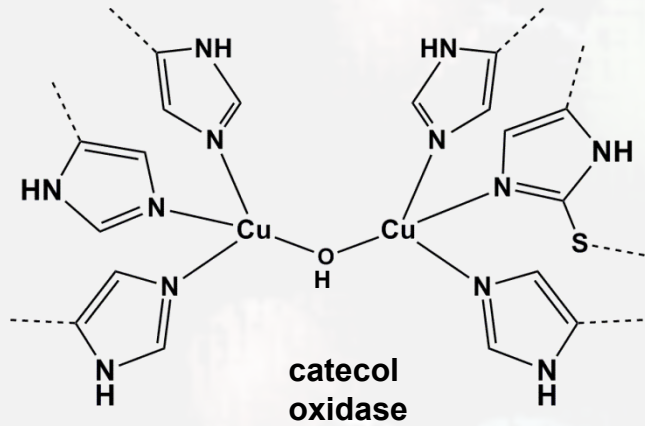
## Enzimas

As enzimas são classificadas segundo o tipo de reação que catalisam (IUBMB).

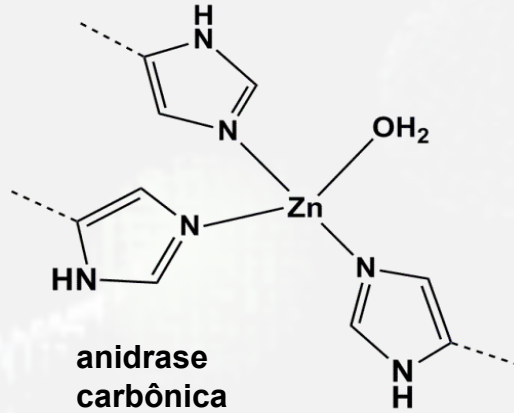
Enzimas	Reações que catalisam
Oxirredutases	Reações de transferência de elétrons;
Transferases	Reações de transferências de grupos aldeídicos, cetônicos, acila, fosforila etc.;
Hidrolases	Reações de hidrólise;
Liasas	Adição ou remoção de grupos a duplas ligações;
Isomerasas	Reações de transferência de grupos dentro de moléculas produzindo formas isoméricas;
Ligasas	Reação de formação de ligações C-C, C-S, C-O e C-N por reações de condensação acopladas a clivagem de ATP.

# Metaloenzimas

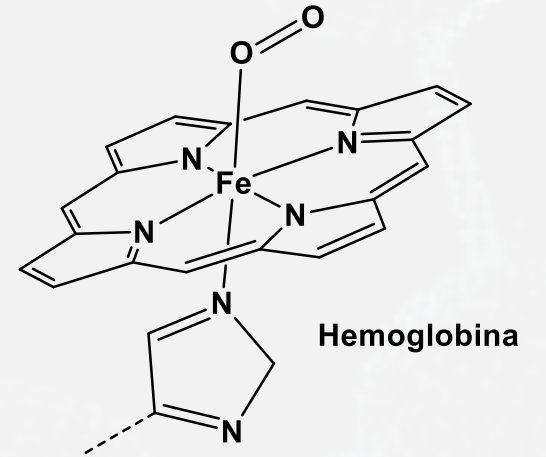
## Transferência de Elétrons



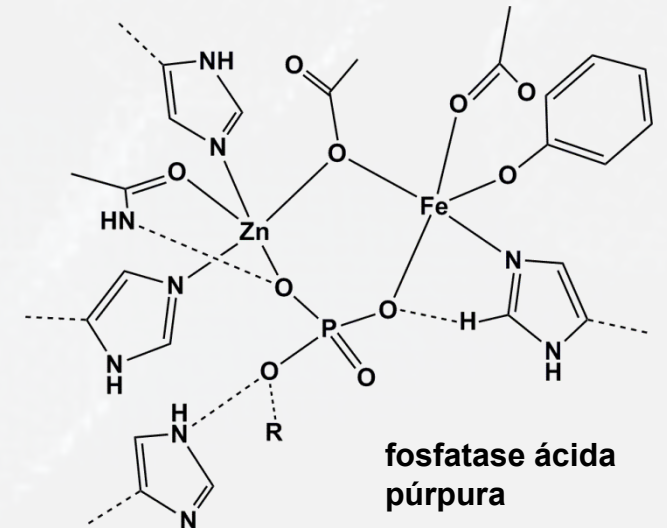
## Formação de nucleófilo (catálise ácido-base)



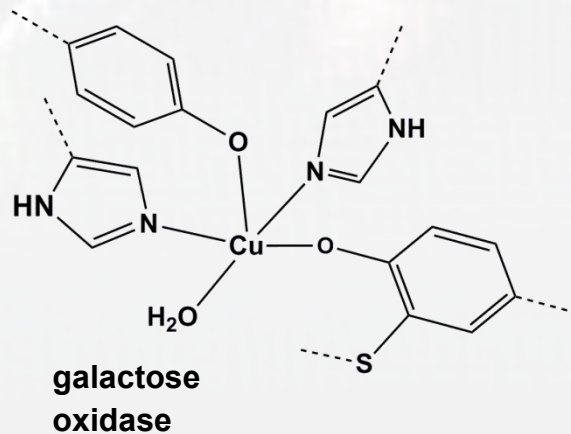
## Transporte de oxigênio



## Formação de nucleófilo, estabilização do substrato e produto (hidrólise)



## Estabilização de radical (oxirredução)



## Liases

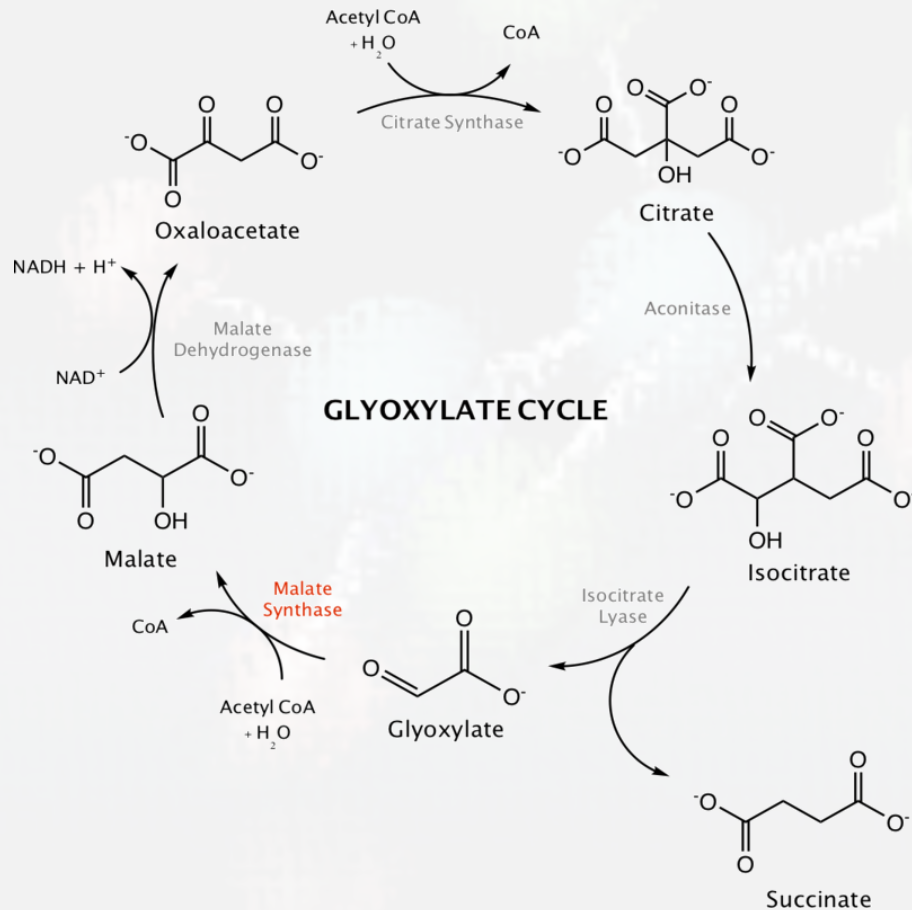
Em bioquímica, uma liase é uma enzima que catalisa a quebra (uma reação de "eliminação") de várias ligações químicas por outros meios que não a hidrólise (uma reação de "substituição") e a oxidação, geralmente formando uma nova ligação dupla ou uma nova estrutura de anel.

As liases podem ser divididas em 7 subclasses:

- Clivam ligações C-C;
- Clivam ligações C-O;
- Clivam ligações C-N;
- Clivam ligações C-S;
- Clivam ligações C-Halógenos;
- Clivam ligações P-O;
- Outras (Ferroquelatase)

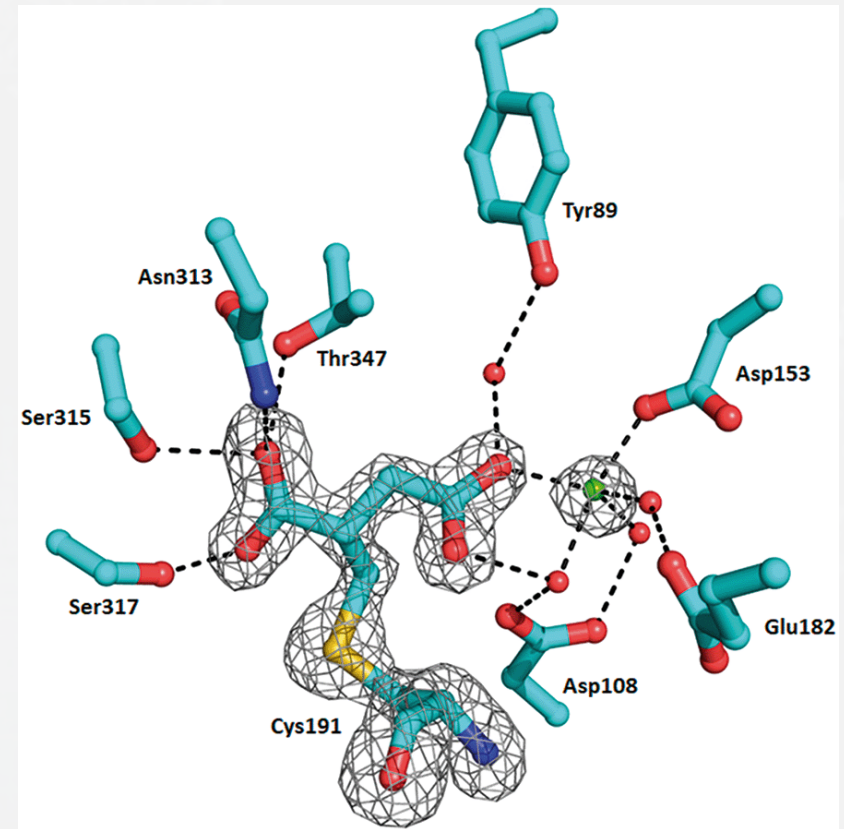
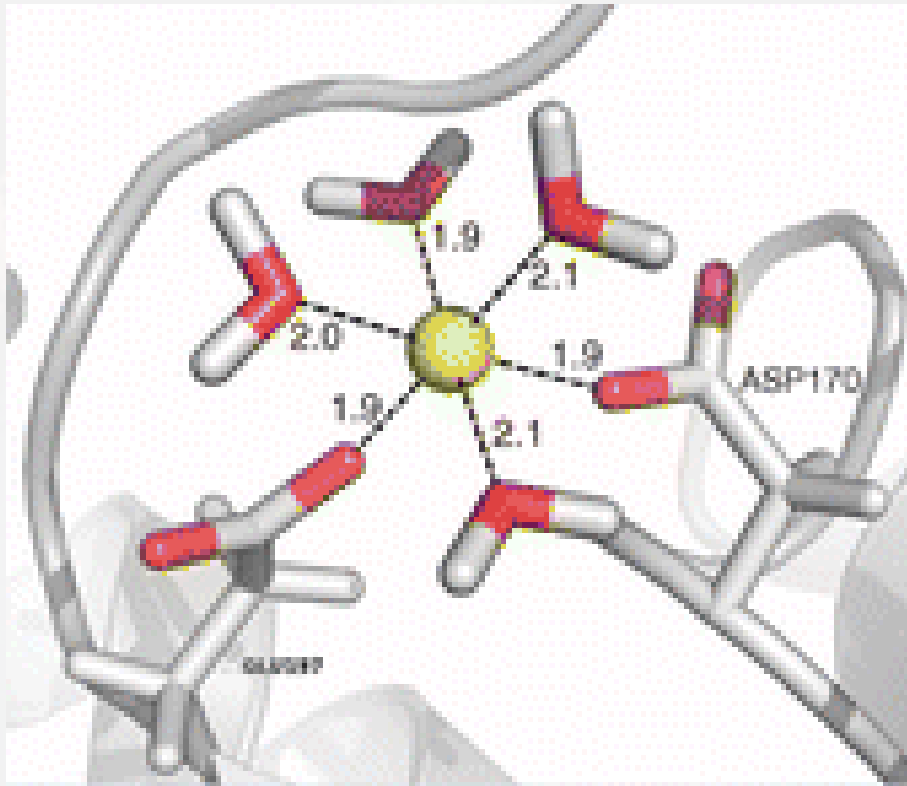
## Liases

A isocitrato liase, ou ICL, é uma enzima do ciclo do glioxilato que catalisa a clivagem do isocitrato em succinato e glioxilato. Junto com a malato sintase, ele ignora as duas etapas de descarboxilação do ciclo do ácido tricarboxílico e é usado por bactérias, fungos e plantas.



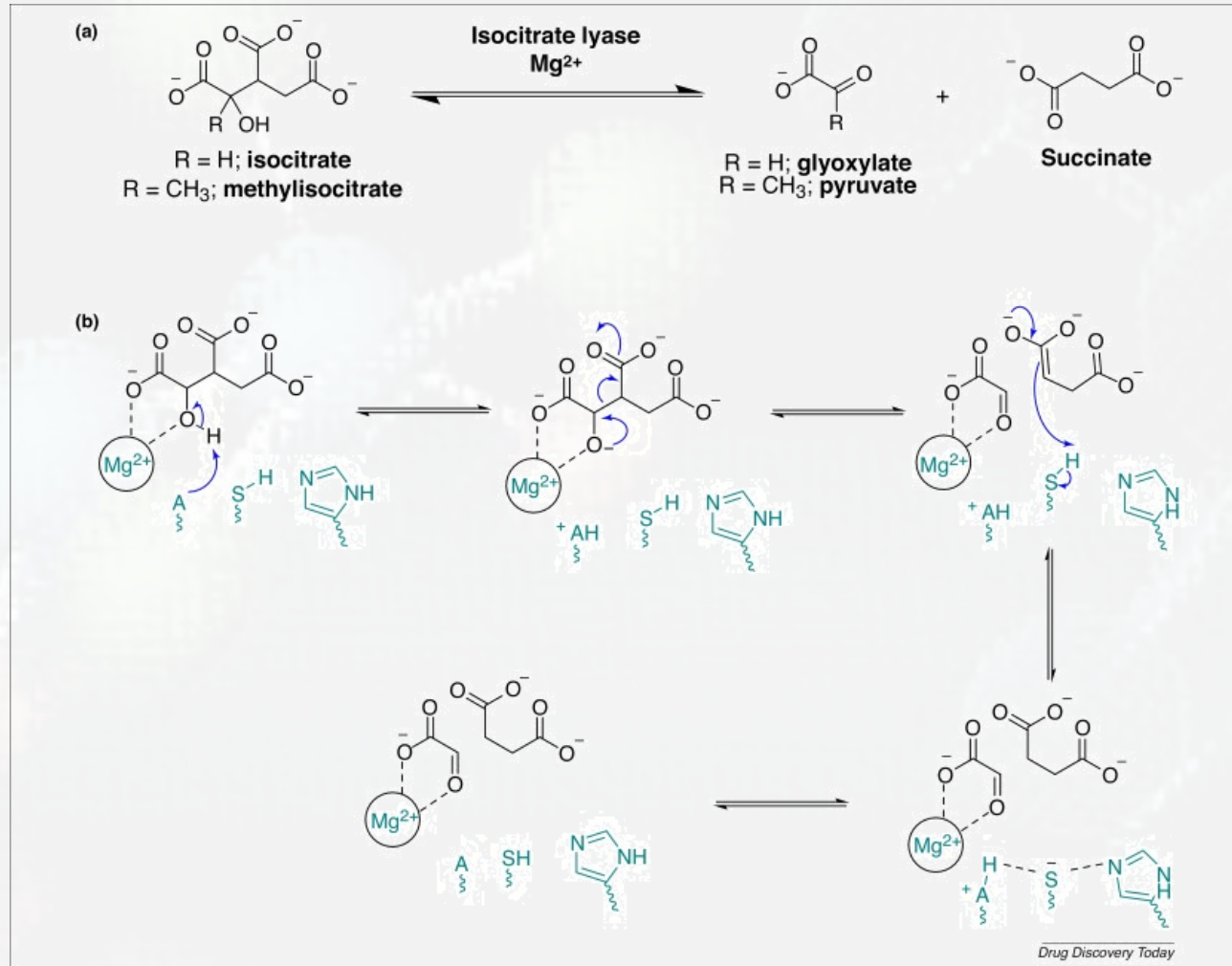
## Liases

Várias ICL tiveram sua estrutura resolvida. Ela é composta por quatro cadeias idênticas e requer um  $Mg^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$  e um tiol para sua atividade. Em *Escherichia coli*, acredita-se que Lys-193, Lys-194, Cys-195, His-197 e His-356 sejam resíduos catalíticos, enquanto His-184 esteja envolvido na montagem da enzima tetramérica.



# Liases

Durante a catálise, o isocitrato é desprotonado e uma clivagem do aldol resulta na liberação de succinato e glioxilato. Este mecanismo de reação funciona de forma muito semelhante ao da aldolase na glicólise, onde uma ligação carbono-carbono é clivada e um aldeído é liberado.



## *Transferases*

Uma transferase é qualquer enzimas que determinam a transferência de grupos funcionais específicos (metil, glicosil) de uma molécula (doador) para outra (aceitador). Eles estão envolvidos em centenas de caminhos bioquímicos diferentes em toda a biologia e são essenciais para alguns dos processos mais importantes da vida.

Mecanicamente, uma enzima que catalisa o seguinte tipo de reação seria uma transferase:





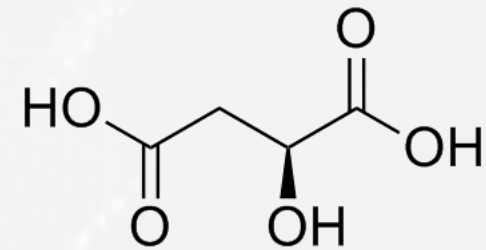
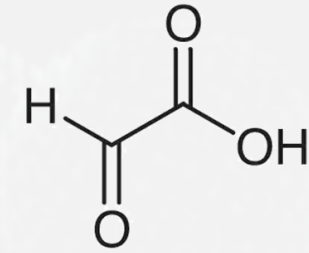
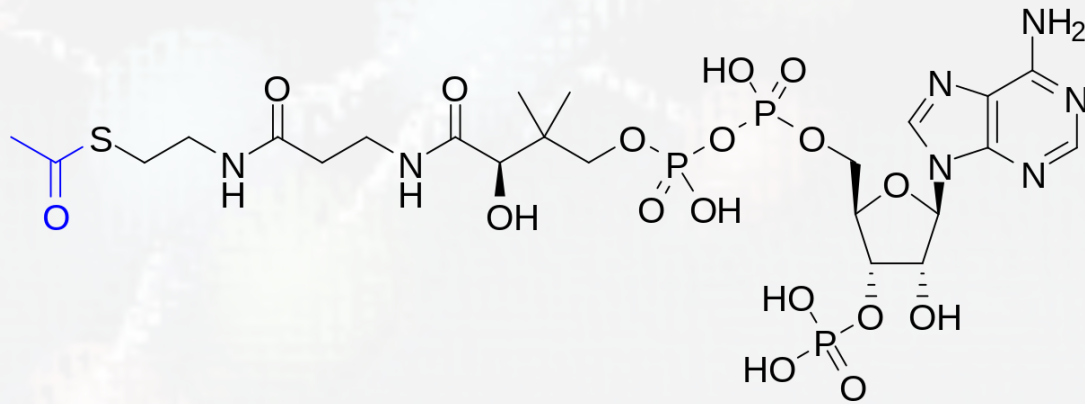
## Transferases

Descritas principalmente com base no tipo de grupo bioquímico transferido, as transferases podem ser divididas em dez categorias. O hidrogênio não é considerado um grupo funcional quando se trata de alvos de transferase; em vez disso, a transferência de hidrogênio está incluída em oxidorreduções, devido a considerações de transferência de elétrons.

Examples	Group(s) transferred
methyltransferase and formyltransferase	single-carbon groups
transketolase and transaldolase	aldehyde or ketone groups
acyltransferase	acyl groups or groups that become alkyl groups during transfer
glycosyltransferase, hexosyltransferase, and pentosyltransferase	glycosyl groups, as well as hexoses and pentoses
riboflavin synthase and chlorophyll synthase	alkyl or aryl groups, other than methyl groups
transaminase, and oximinotransferase	nitrogenous groups
phosphotransferase, polymerase, and kinase	phosphorus-containing groups; subclasses are based on the acceptor (e.g. alcohol, carboxyl, etc.)
sulfurtransferase and sulfotransferase	sulfur-containing groups
selenotransferase	selenium-containing groups
molybdenumtransferase and tungstenttransferase	molybdenum or tungsten

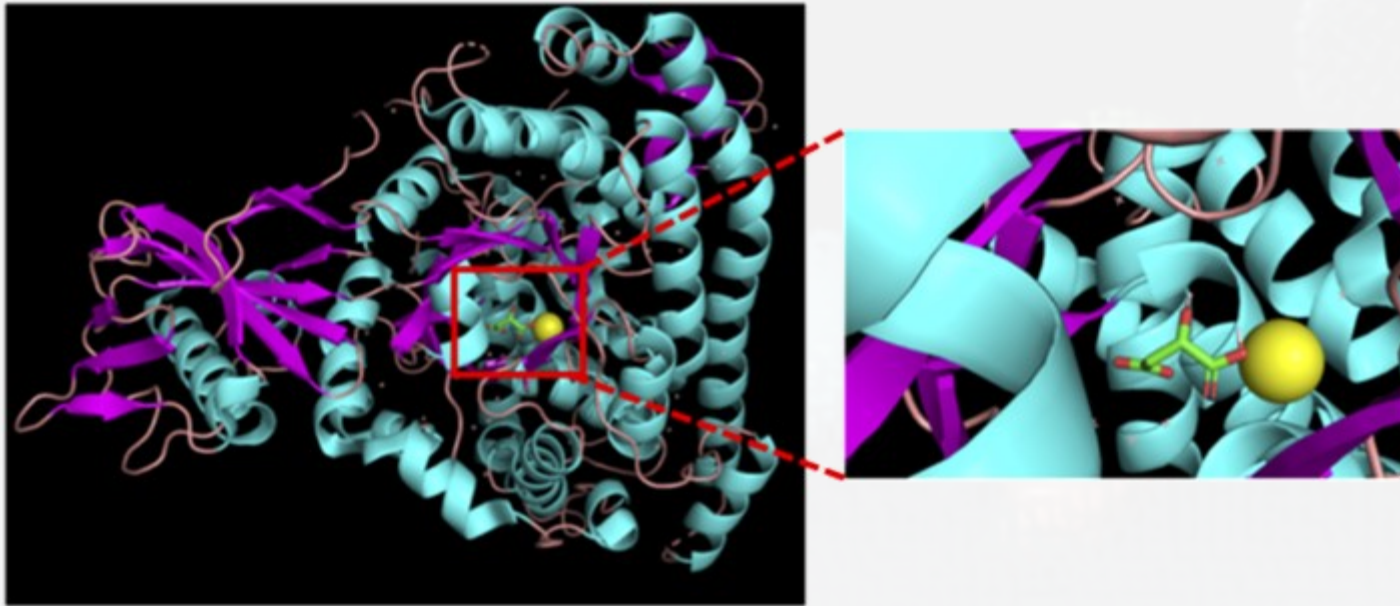
## Transferases

Em enzimologia, uma malato sintase é uma enzima que catalisa a reação química:



## Transferases

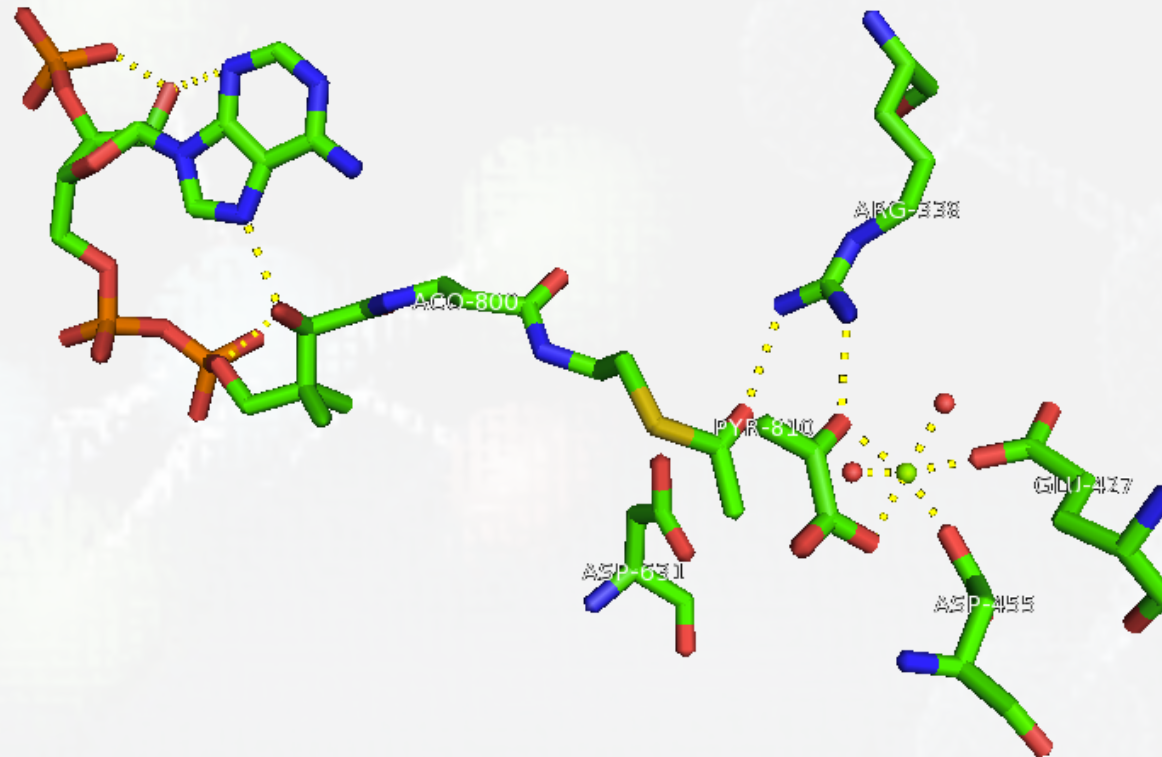
As malato sintases se enquadram em duas famílias principais, isoformas A e G. A isoforma G é monomérica com um tamanho de cerca de 80 kD e encontrada exclusivamente em bactérias. A isoforma A tem cerca de 65 kD por subunidade e pode formar homomultímeros em eucariotos



Um íon magnésio coordena-se com glioxilato, ácido glutâmico-427, ácido aspártico-455 e duas moléculas de água. Os aminoácidos que interagem com a acetil CoA após a ligação são altamente conservados.

## Transferases

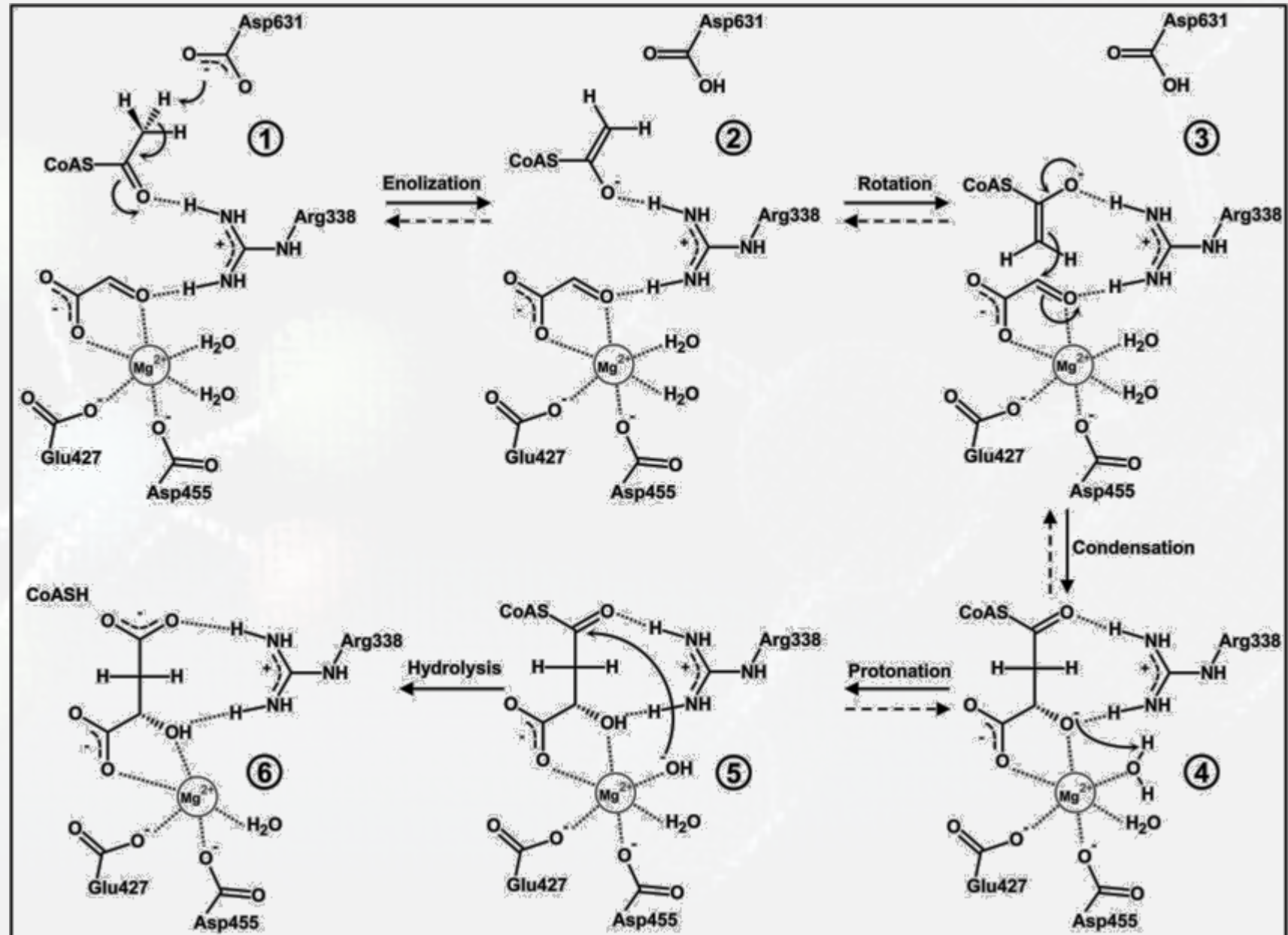
As malato sintases se enquadram em duas famílias principais, isoformas A e G. A isoforma G é monomérica com um tamanho de cerca de 80 kD e encontrada exclusivamente em bactérias. A isoforma A tem cerca de 65 kD por subunidade e pode formar homomultímeros em eucariotos



Um íon magnésio coordena-se com glioxilato, ácido glutâmico-427, ácido aspártico-455 e duas moléculas de água. Os aminoácidos que interagem com a acetil CoA após a ligação são altamente conservados.

## Transferases

Inicialmente, o aspartato 631 atua como uma base catalítica, abstraindo um próton do carbono alfa da acetil-CoA e criando um enolato que é estabilizado pela arginina 338. Esta é considerada a etapa determinante da taxa do mecanismo. Então, o enolato recém-formado atua como um nucleófilo que ataca o aldeído do glioxilato, transmitindo uma carga negativa ao oxigênio que é estabilizado pela arginina 338 e o cátion magnésio. Este intermediário malyl-CoA então sofre hidrólise na porção acil-CoA, gerando um ânion carboxilato. A enzima finalmente libera malato e coenzima A.



## Ligases

Em bioquímica, uma ligase é uma enzima que pode catalisar a união de duas moléculas grandes, formando uma nova ligação química, geralmente acompanhada de hidrólise de um pequeno grupo químico pendente em uma das moléculas maiores ou a enzima que catalisa a ligação de dois compostos, por exemplo, enzimas que catalisam a união de C-O, C-S, C-N, etc. Em geral, uma ligase catalisa a seguinte reação:



Os nomes comuns de ligases geralmente incluem a palavra "ligase", como DNA ligase, uma enzima comumente usada em laboratórios de biologia molecular para unir fragmentos de DNA. Outros nomes comuns para ligases incluem a palavra "sintase", porque são usadas para sintetizar novas moléculas.

## Ligases

Em bioquímica, uma ligase é uma enzima que pode catalisar a união de duas moléculas grandes, formando uma nova ligação química, geralmente acompanhada de hidrólise de um pequeno grupo químico pendente em uma das moléculas maiores ou a enzima que catalisa a ligação de dois compostos, por exemplo, enzimas que catalisam a união de C-O, C-S, C-N, etc. Em geral, uma ligase catalisa a seguinte reação:



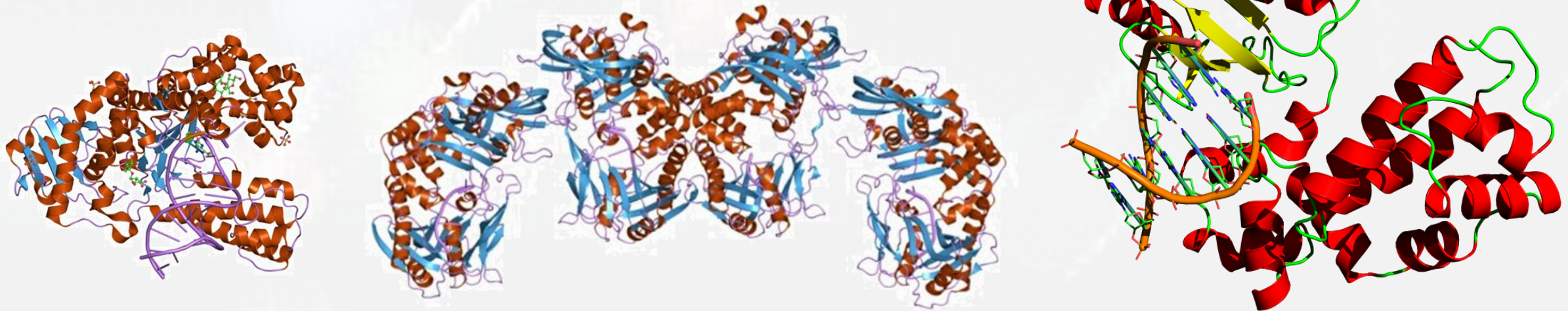
As lyases podem ser divididas em 6 subclasses:

- Formam ligações C-C;
- Formam ligações C-O;
- Formam ligações C-N;
- Formam ligações C-S;
- Formam ligações P-O (ésteres de fosfato);
- Formam ligações M-N (Quelatasas);

## Ligases

Uma DNA polimerase é um membro de uma família de enzimas que catalisam a síntese de moléculas de DNA a partir de trifosfatos de nucleosídeo, os precursores moleculares do DNA. Essas enzimas são essenciais para a replicação do DNA e geralmente trabalham em grupos para criar dois duplexes de DNA idênticos a partir de um único duplex de DNA original. Durante este processo, a DNA polimerase "lê" as fitas existentes de DNA para criar duas novas fitas que combinem com as existentes.

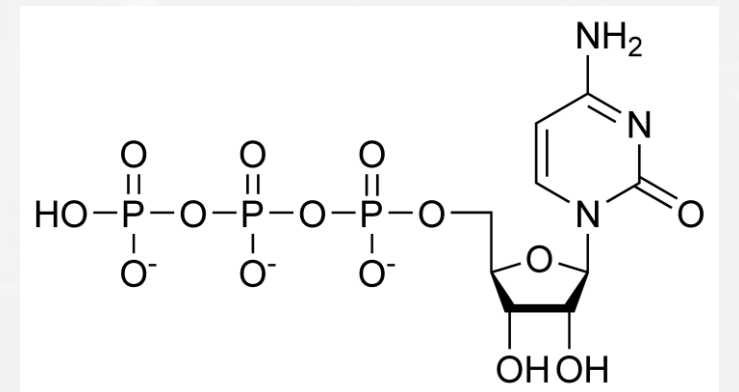
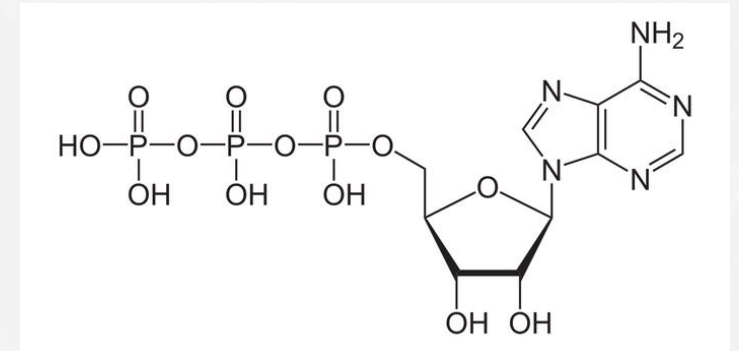
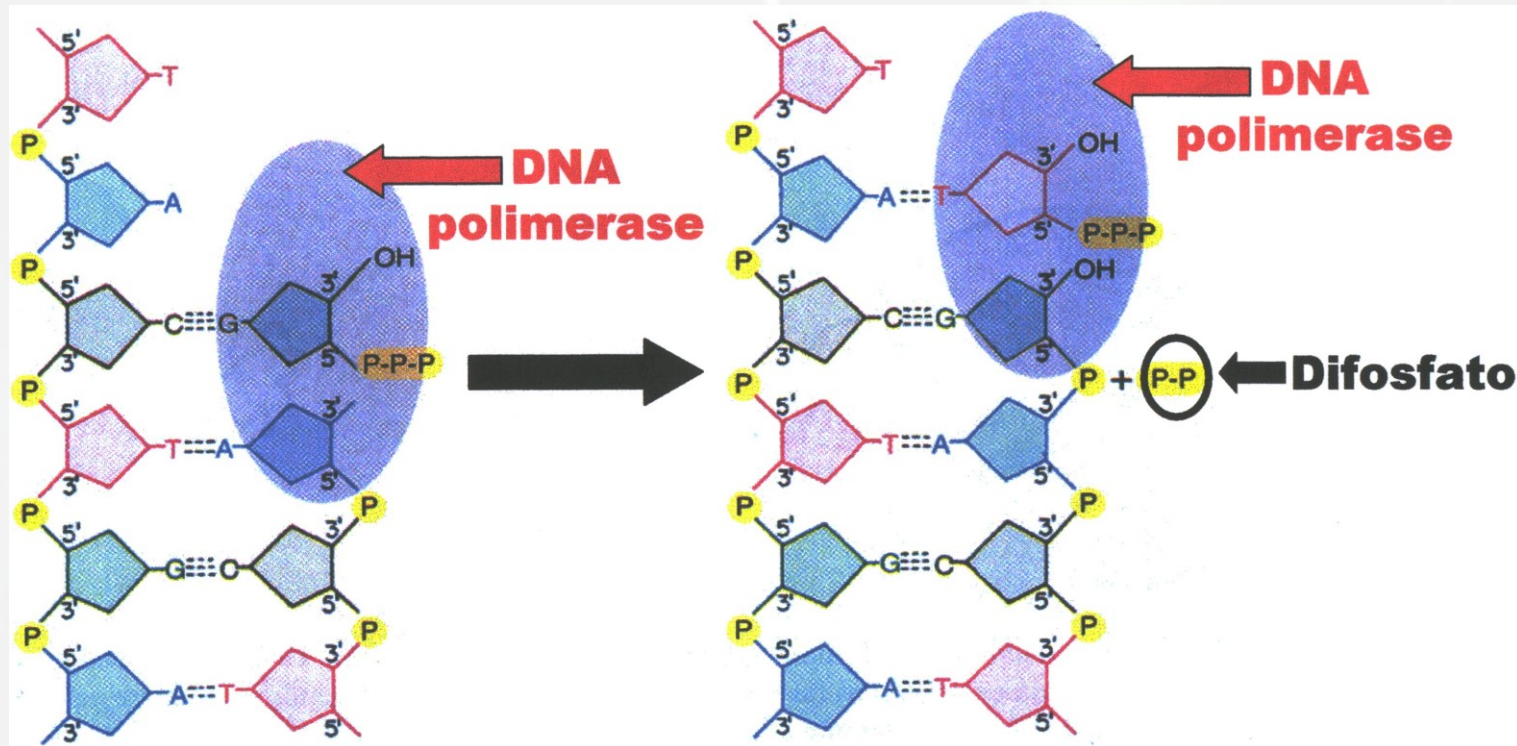
Com base na homologia de sequência, as DNA polimerases podem ser subdivididas em sete famílias diferentes: A, B, C, D, X, Y e RT.





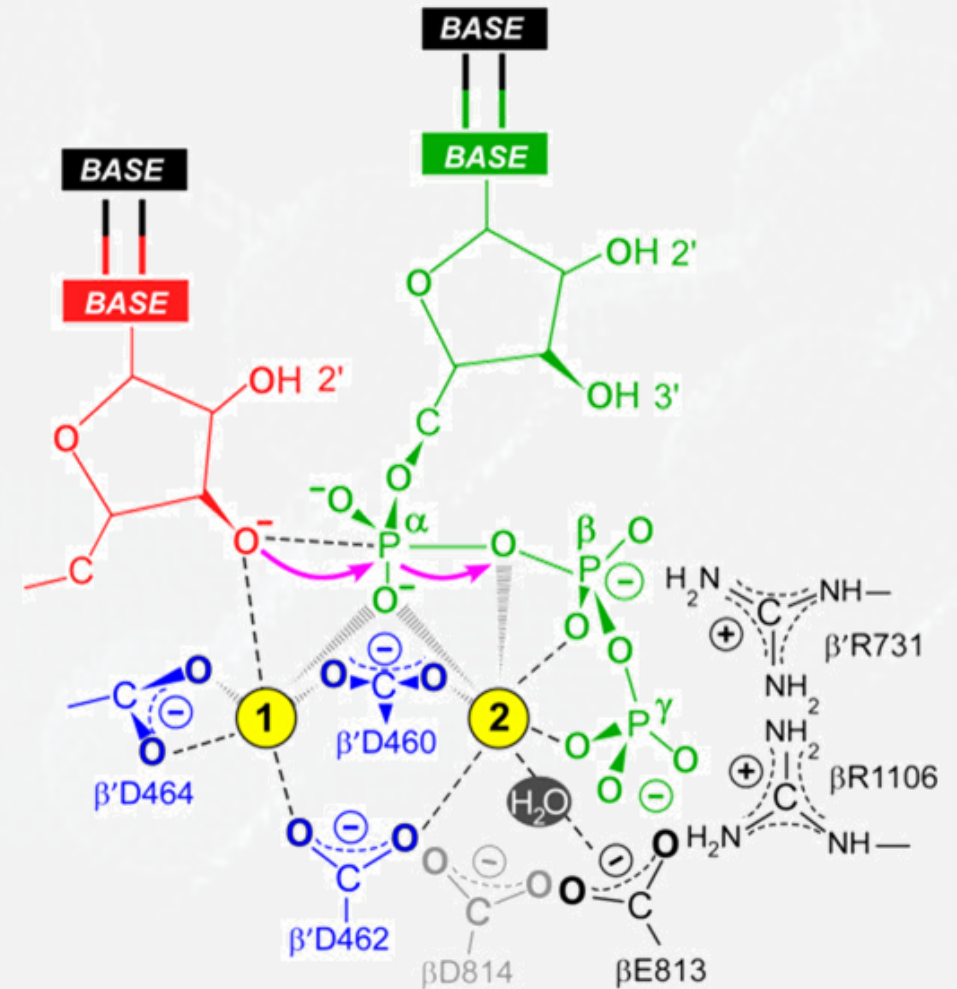
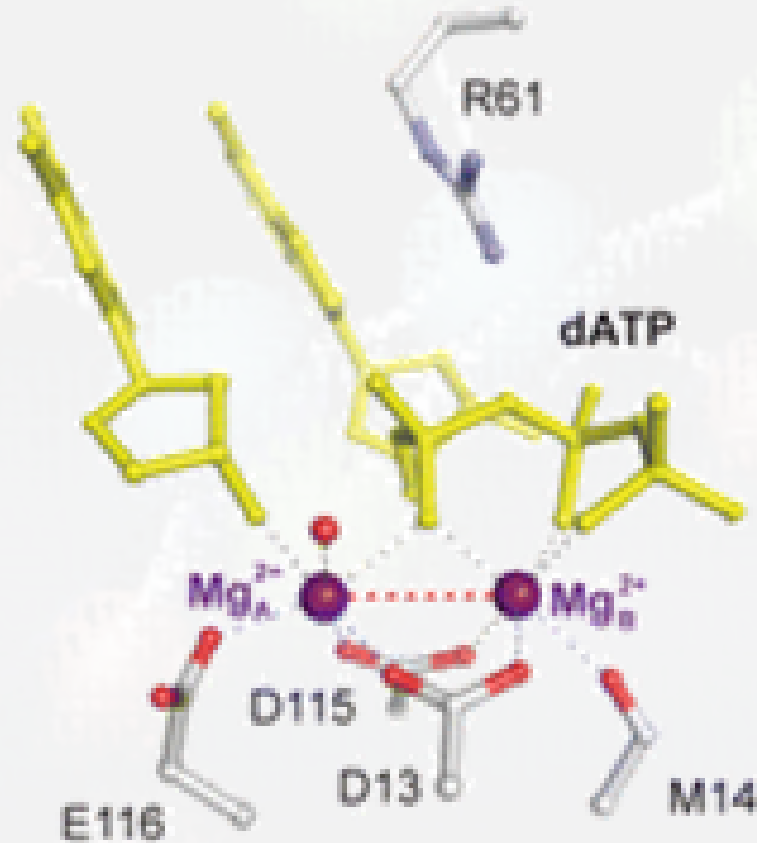
## Ligases

A principal função da DNA polimerase é sintetizar DNA a partir de desoxirribonucleotídeos, os blocos de construção do DNA. As cópias de DNA são criadas pelo emparelhamento de nucleotídeos a bases presentes em cada fita da molécula de DNA original. Esse emparelhamento sempre ocorre em combinações específicas, com citosina junto com guanina e timina com adenina, formando dois pares separados, respectivamente. Em contraste, as RNA polimerases sintetizam RNA a partir de ribonucleotídeos de RNA ou DNA.



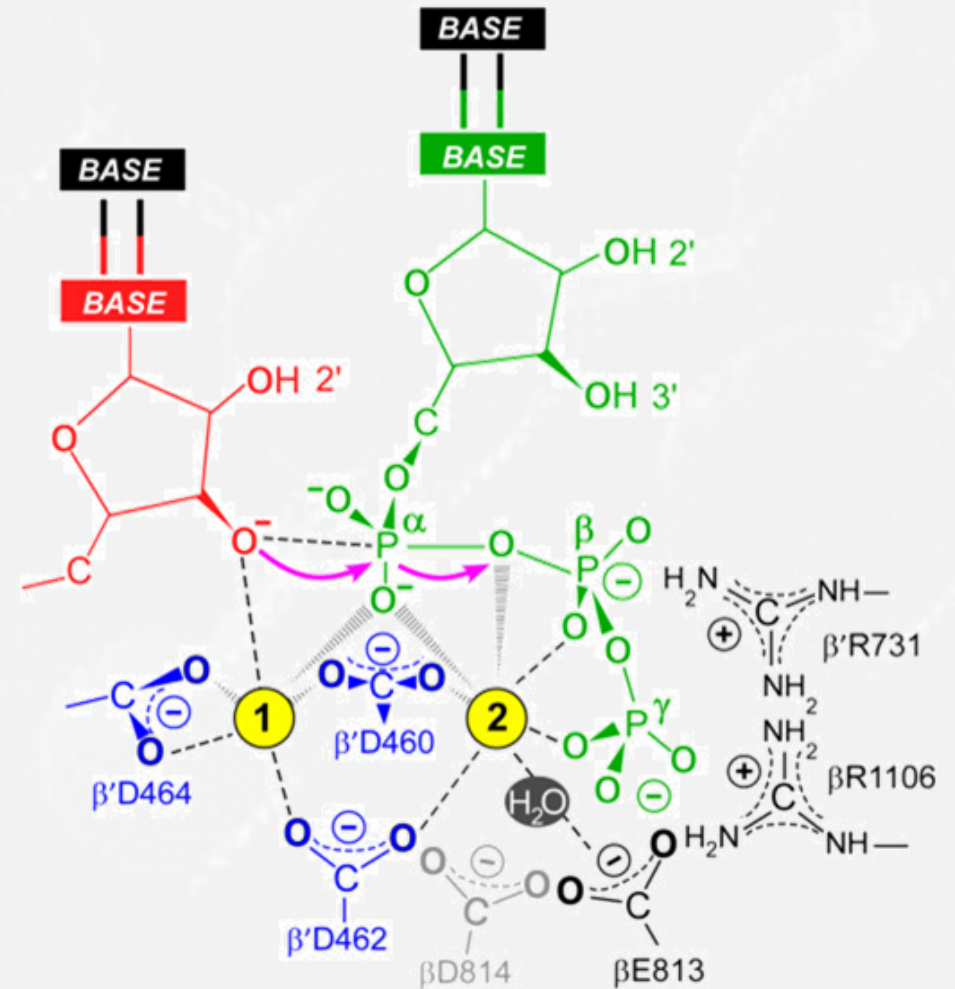
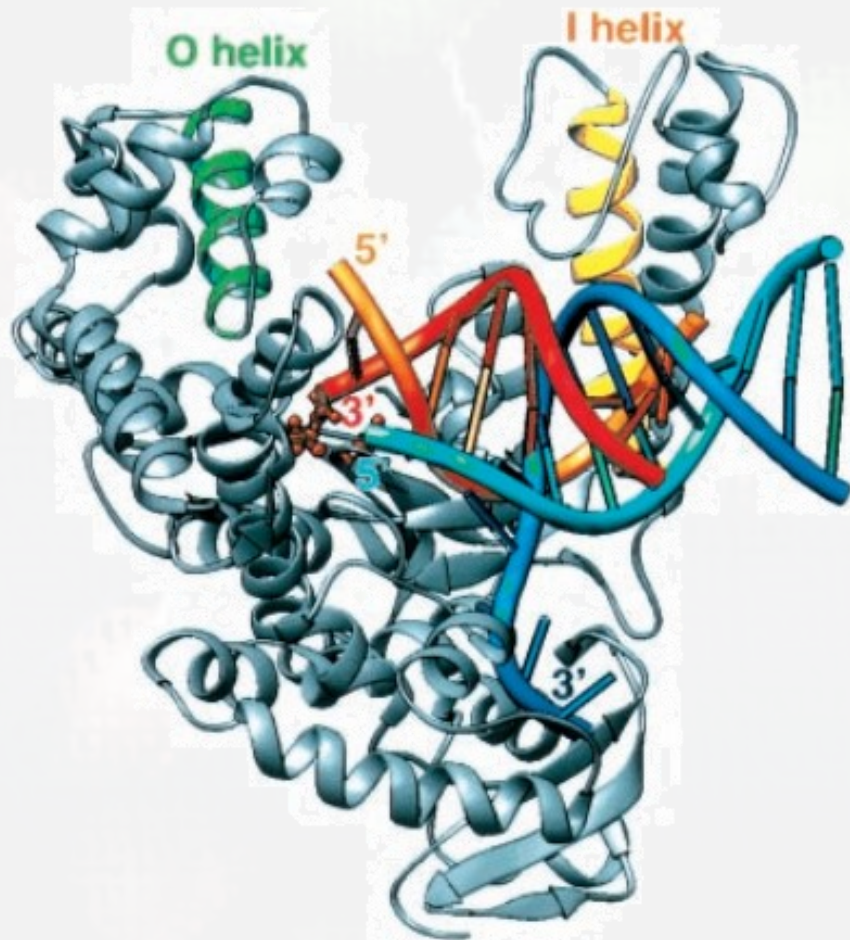
## Ligases

Estudos estruturais, bem como comparações de sequências entre polimerases, sugerem fortemente a hipótese de que a reação de transferência de fosforila de todas as polimerases é catalisada por um mecanismo de íon de dois metais originalmente proposto por analogia ao mecanismo de íon de dois metais bem estudado na reação de 3'-exonuclease.



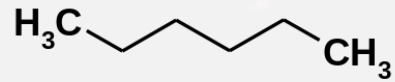
## Ligases

Estudos estruturais, bem como comparações de sequências entre polimerases, sugerem fortemente a hipótese de que a reação de transferência de fosforila de todas as polimerases é catalisada por um mecanismo de íon de dois metais originalmente proposto por analogia ao mecanismo de íon de dois metais bem estudado na reação de 3'-exonuclease.

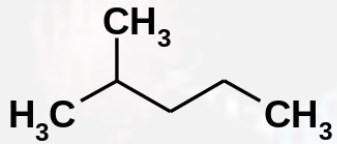


## Isomerases

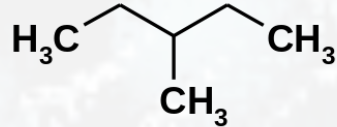
As isomerases são uma classe geral de enzimas que convertem uma molécula de um isômero para outro. As isomerases facilitam os rearranjos intramoleculares nos quais as ligações são quebradas e formadas.



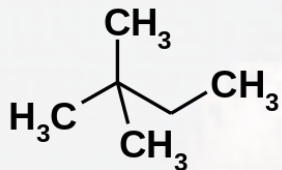
(1)



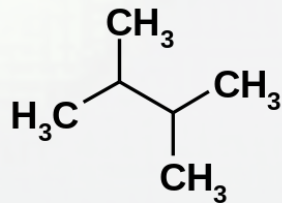
(2)



(3)



(4)



(5)

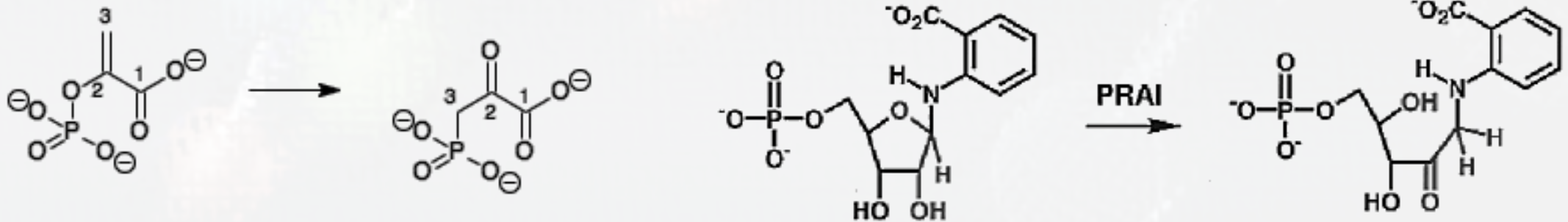
Existe apenas um substrato produzindo um produto. Este produto tem a mesma fórmula molecular do substrato, mas difere em conectividade de ligação ou arranjo espacial. As isomerases catalisam reações em muitos processos biológicos, como na glicólise e no metabolismo de carboidratos.

## Isomerases

As isomerases são ainda classificadas em seis subclasses:

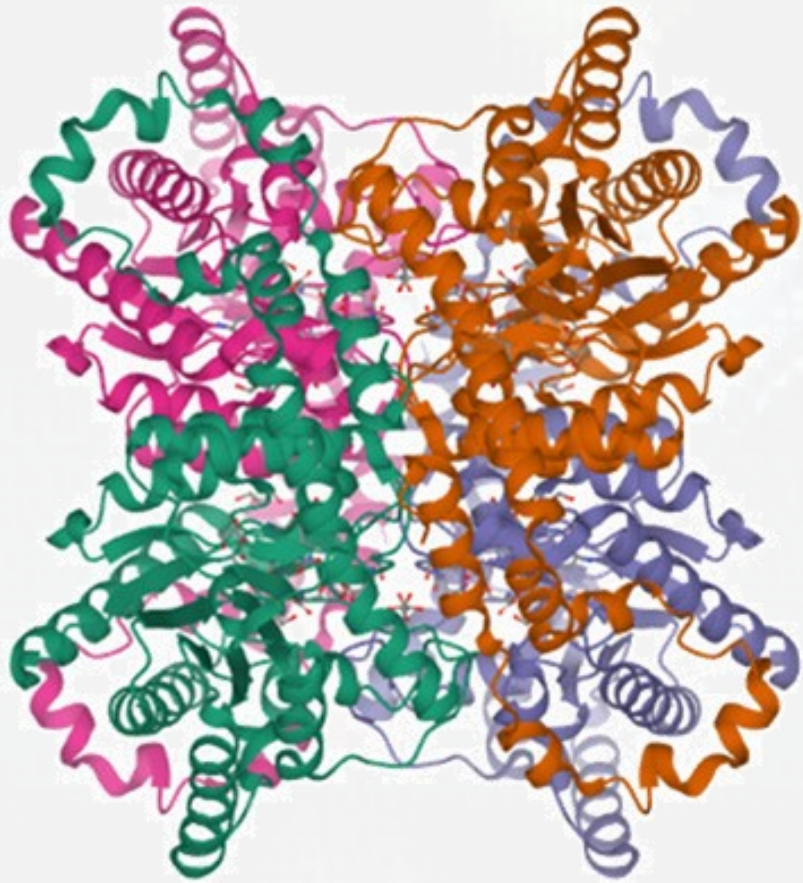
As lyases podem ser divididas em 5 subclasses:

- Racemases, epimerases;
- Isomerases cis-trans;
- Oxidorredutases intramoleculares;
- Transferases intramoleculares;
- Liases intramoleculares;

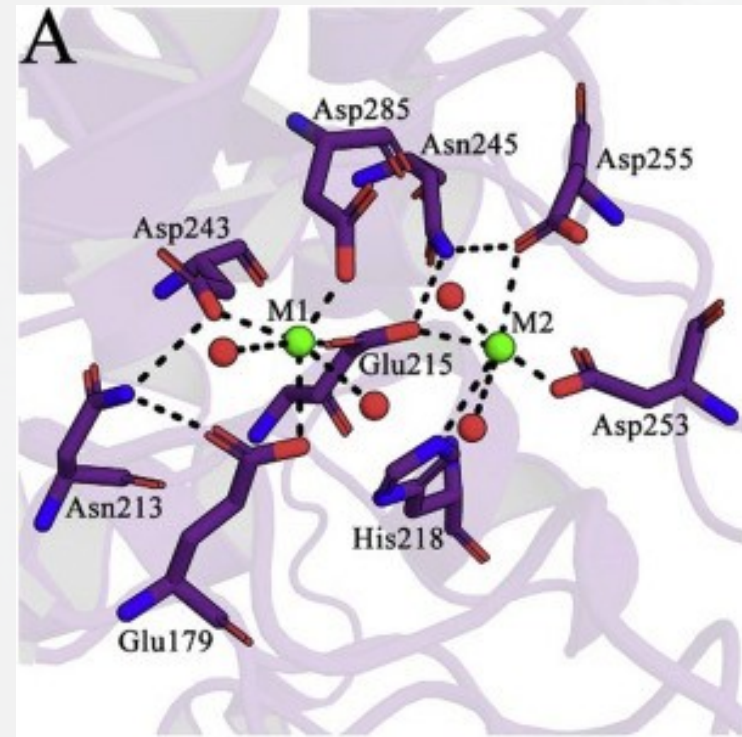


## Isomerases

A xilose isomerase é uma enzima que catalisa a interconversão de D-xilose e D-xilulose. Esta enzima pertence à família das isomerases, especificamente aquelas oxidorredutases intramoleculares que interconvertem aldoses e cetoses.

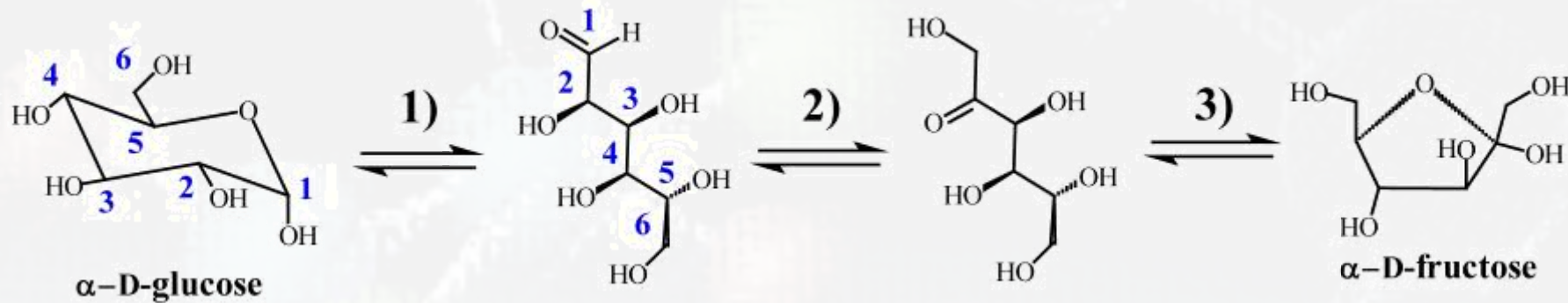


As xilose-isomerases também são comumente chamadas de frutose-isomerases devido à sua capacidade de interconverter glicose e frutose.



## Isomerases

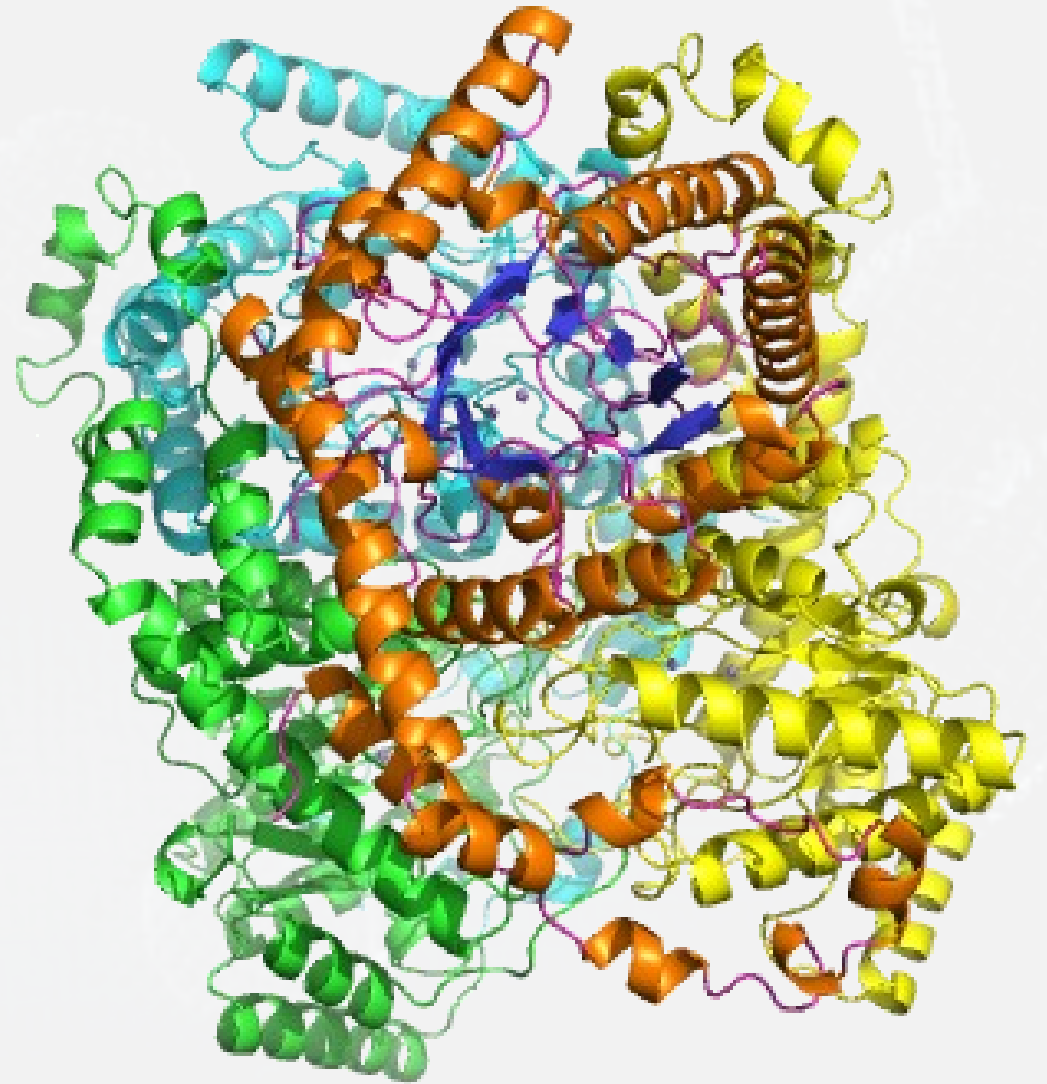
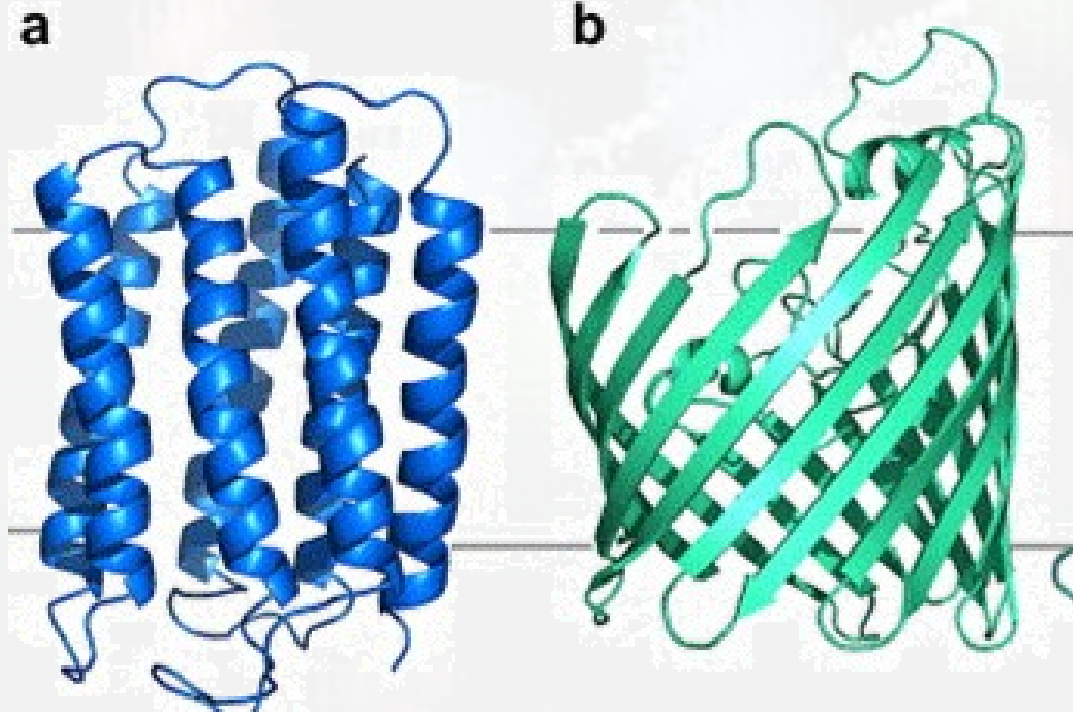
Esta enzima participa das interconversões de pentose e glucuronato e do metabolismo da frutose e manose. Os açúcares mais biodisponíveis de acordo com a Sociedade Internacional de Açúcares Raros são: glicose, galactose, manose, frutose, xilose, ribose e L-arabinose. Vinte hexoses e nove pentoses, incluindo xilulose, foram consideradas "açúcares raros". Portanto, a D-xilose isomerase é usada para produzir esses açúcares raros que têm aplicações muito importantes na biologia, apesar de sua baixa abundância.



A xilose isomerase pode ser isolada do vinho de arroz chinês vermelho, que contém a bactéria *Lactobacillus xylosus*. A cepa de *L. lactis* é estável na faixa de pH de 6,5 a 11,0, e a enzima *L. brevis*, mostra atividade na faixa de pH de 5,7–7,0. Testes térmicos também foram realizados por Kei Y. e Noritaka T. e a xilose isomerase foi considerada termicamente estável a cerca de 60 graus Celsius.

## Isomerases

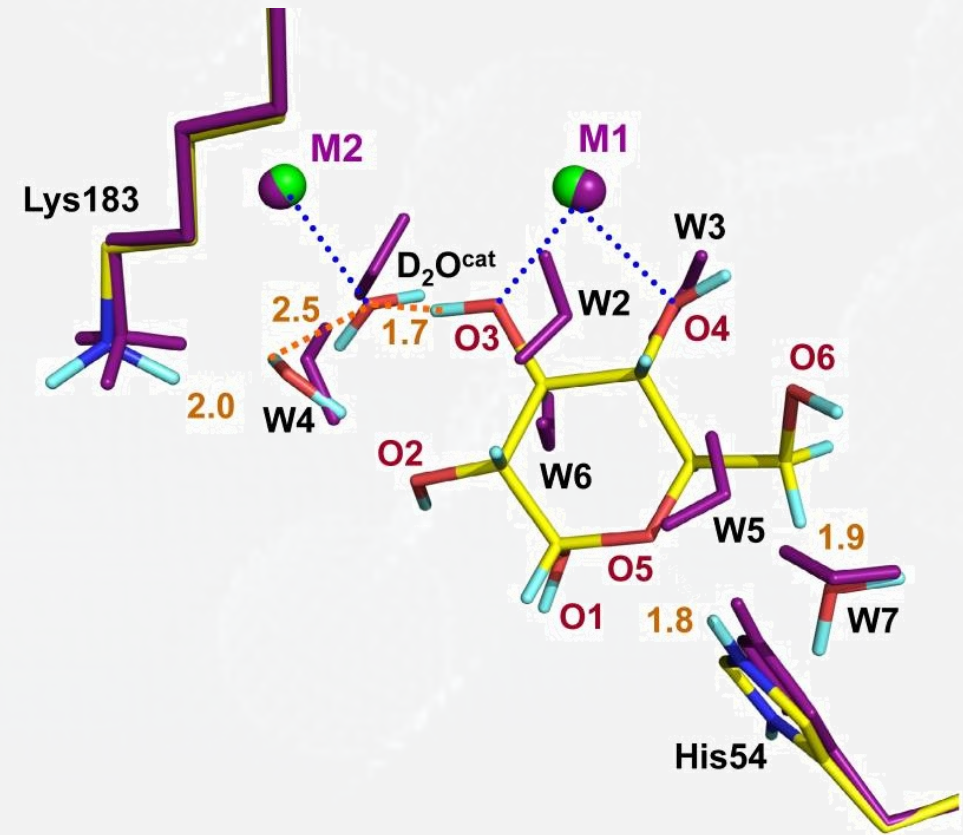
A xilose isomerase tem uma estrutura baseada em oito barris alfa/beta que criam um sítio ativo contendo dois íons de  $Mg^{2+}$ . As enzimas xilose isomerase exibem uma dobra em barril TIM com o sítio ativo no centro do barril e uma estrutura quaternária tetramérica.





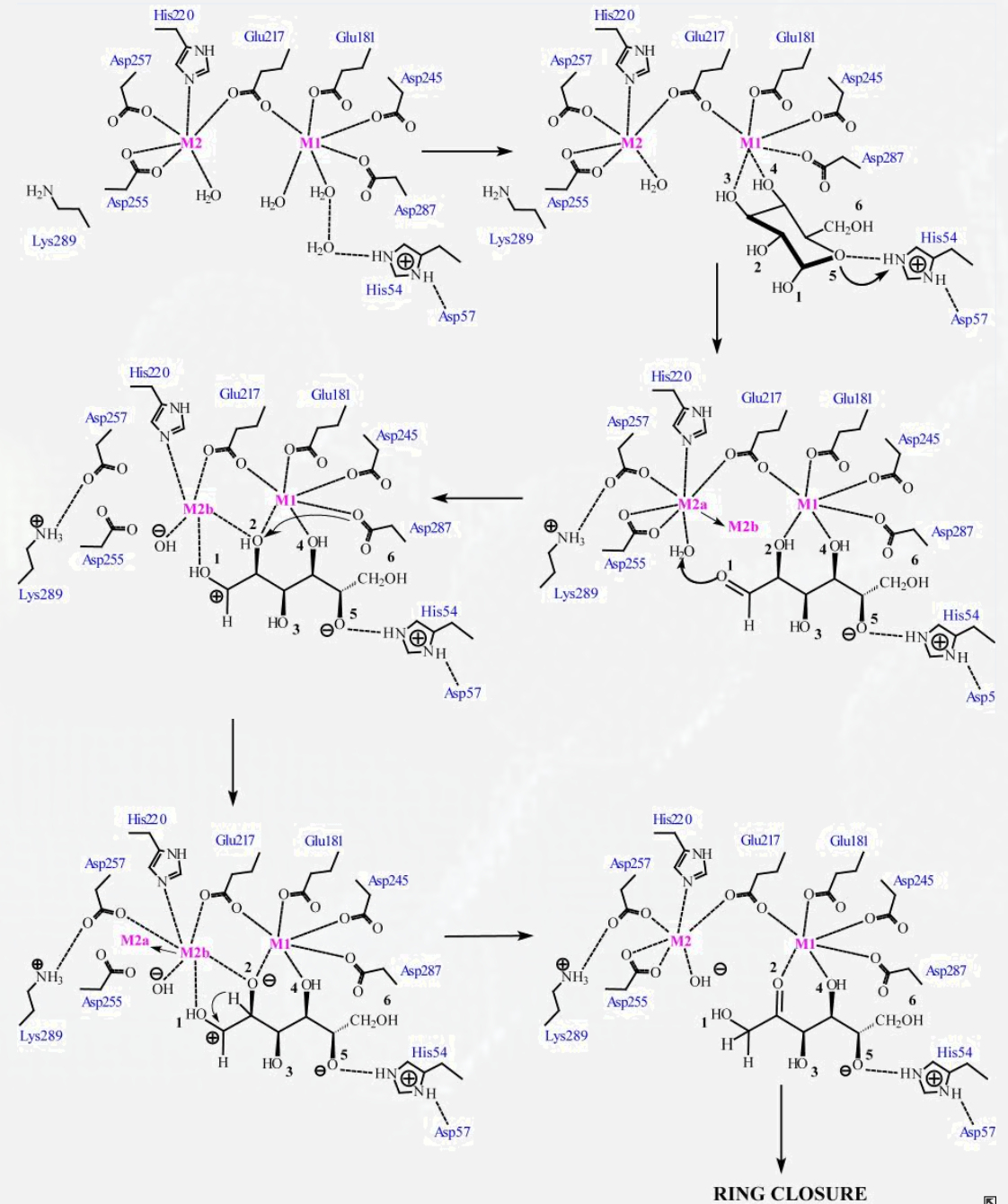
## Isomerases

O magnésio é encontrado em dois sítios de ligação de metal no sítio ativo, ligando-se diretamente às moléculas de água e também aos resíduos do sítio ativo. M1 se liga a Glu181, Glu217, Asp245, Asp287 e duas moléculas de água (W2 e W3); M2 liga Glu217 (compartilhado com M1), H220, Asp255 (bidentado), Asp257 e a água catalítica, D<sub>2</sub>O<sub>cat</sub>. Verificou-se que M2 tem uma geometria de coordenação octaédrica mais distorcido do que M1.



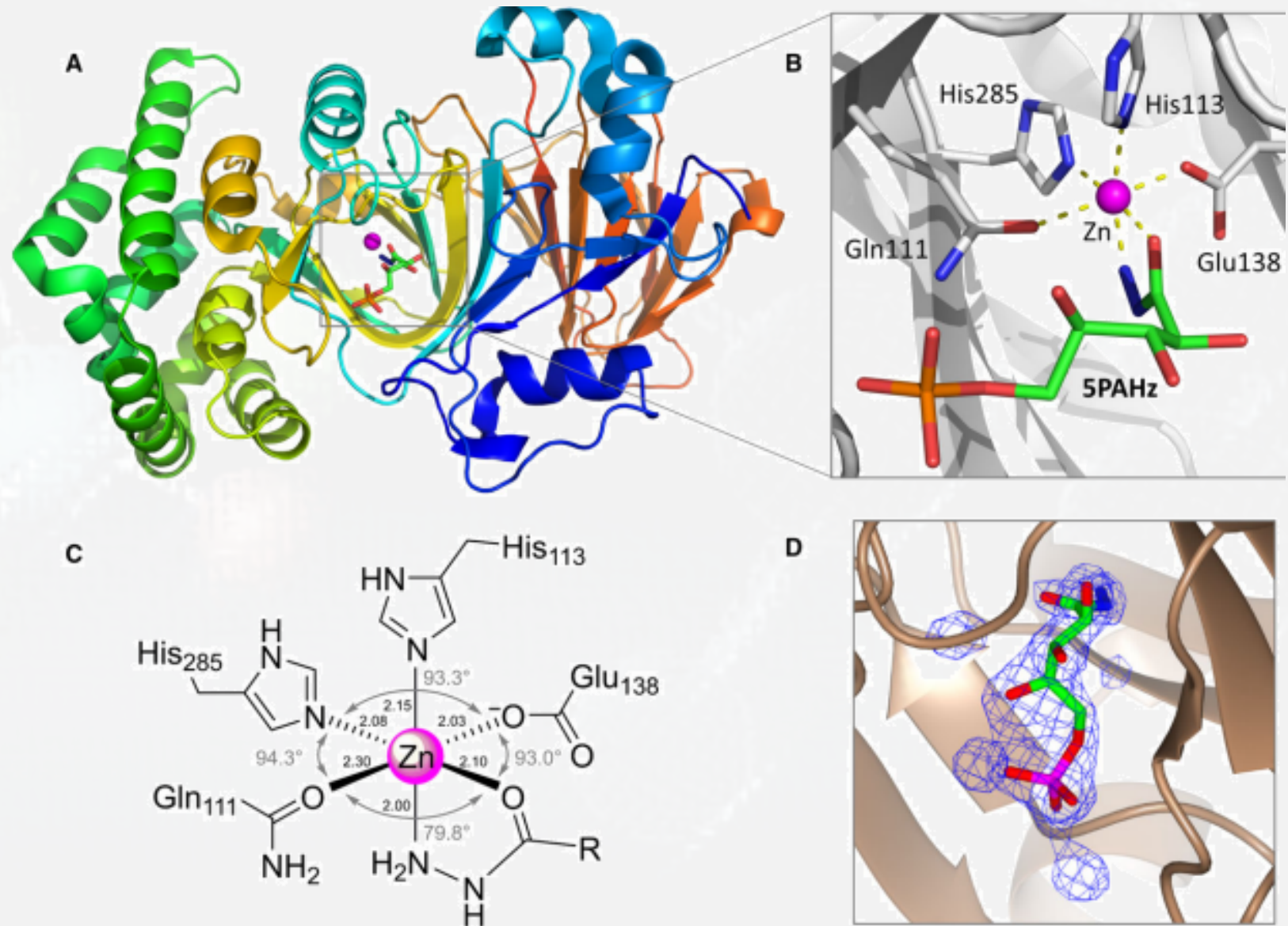
# Isomerases

Mecanismo: O substrato se liga ao metal ocorrendo a abertura da cadeia. O metal 1 se liga ao O2 e O4 e, uma vez ligado, o metal 2 se liga ao O1 e ao O2 no estado de transição, e essas interações junto com um resíduo de lisina ajudam a catalisar o deslocamento do hidreto necessário para a isomerização. O estado de transição consiste em um íon de carbono de alta energia que é estabilizado por meio de todas as interações do metal com o substrato de açúcar



# Isomerases

Fosfomanose isomerases são aldose-cetose isomerases dependentes de metal que catalisam a isomerização reversível de D-manose 6-fosfato e D-frutose 6-fosfato em células procarióticas e eucarióticas



## Isomerases

Fosfomanose isomerases são aldose-cetose isomerases dependentes de metal que catalisam a isomerização reversível de D-manose 6-fosfato e D-frutose 6-fosfato em células procarióticas e eucarióticas

