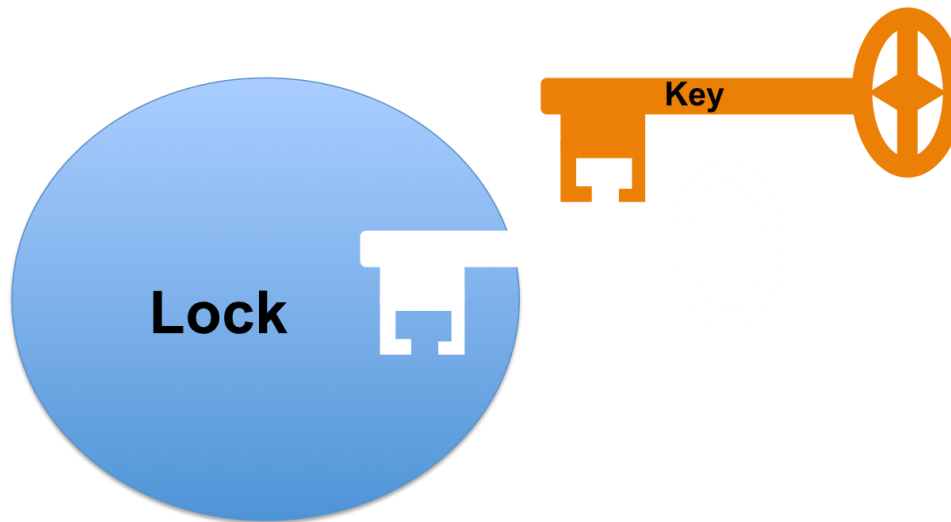


# Enzymy

---

3/12



# Enzymy

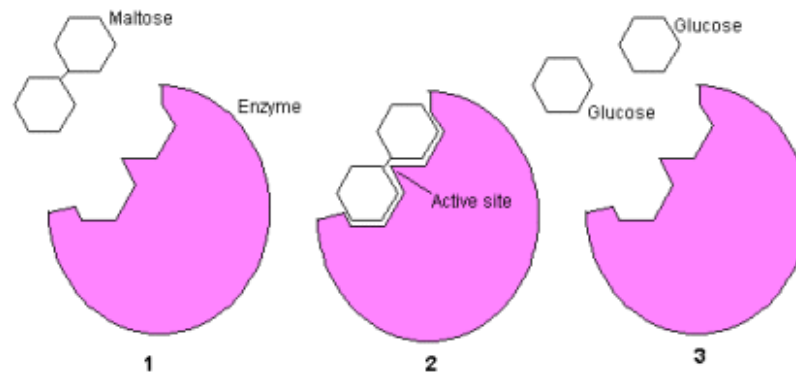
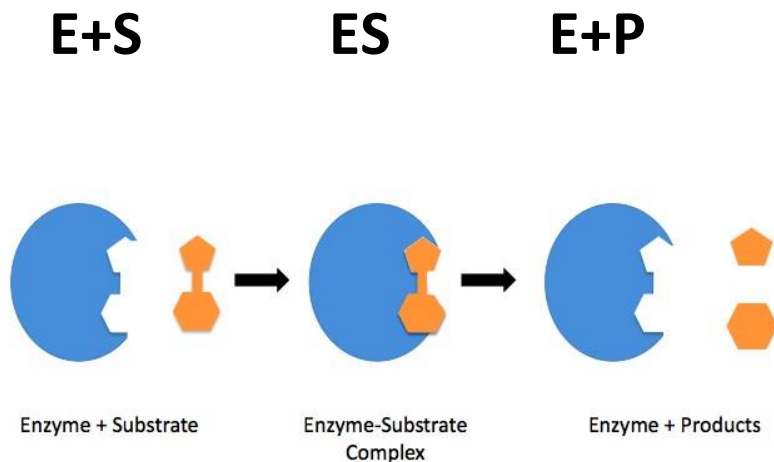
**Proteiny** (mohou být také RNA molekuly – např. ribosom), které slouží jako **biologické katalyzátory**

Substrát (**S**) - molekuly, které do reakce vstupují

Produkt (**P**) - molekuly, které vznikají katalyzovanou reakcí

Enzym (**E**)

Komplex enzymu se substrátem (**ES**)



# Na co slouží enzymy

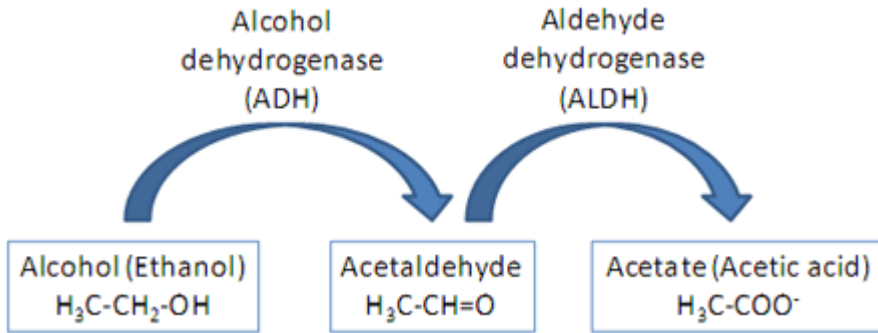
---

- vyšší reakční rychlost (6- 12 řádů)
- mírnější podmínky reakce (nižší teplota, atmosférický tlak, neutrální pH)
- vyšší specifita reakce (specifické produkty, „nejsou“ vedlejší produkty)
- schopnost regulace (allosterická regulace, kovalentní modifikace, variabilita)

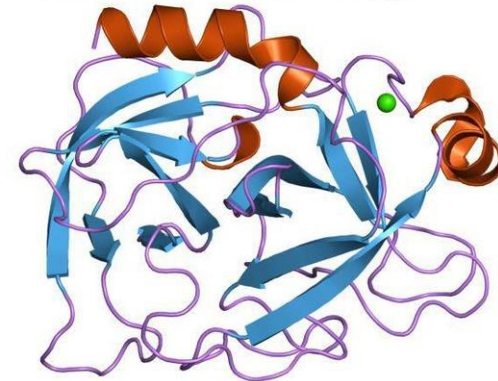
Mohou být:

- **homogenní** – reaktanty a katalyzátor jsou v systému přítomny ve stejné fázi
- **heterogenní** – nejčastěji je katalyzátor pevný a reaktanty jsou plynné

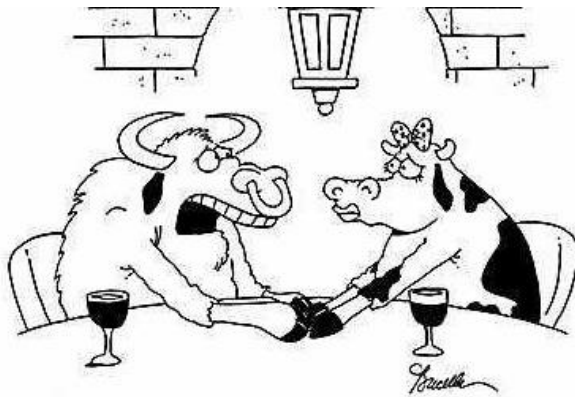
# Jaké známe enzymy



**Motherfucker must be trypsin**

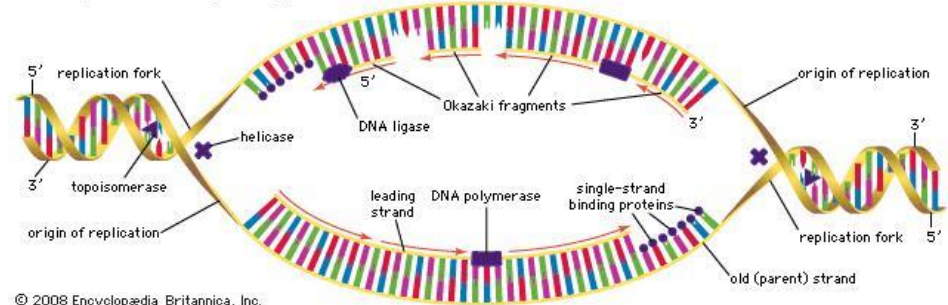


**if it thinks it can hydrolyse that protein.**



"It has nothing to do with you, Bessie. It's just that I'm lactose intolerant."

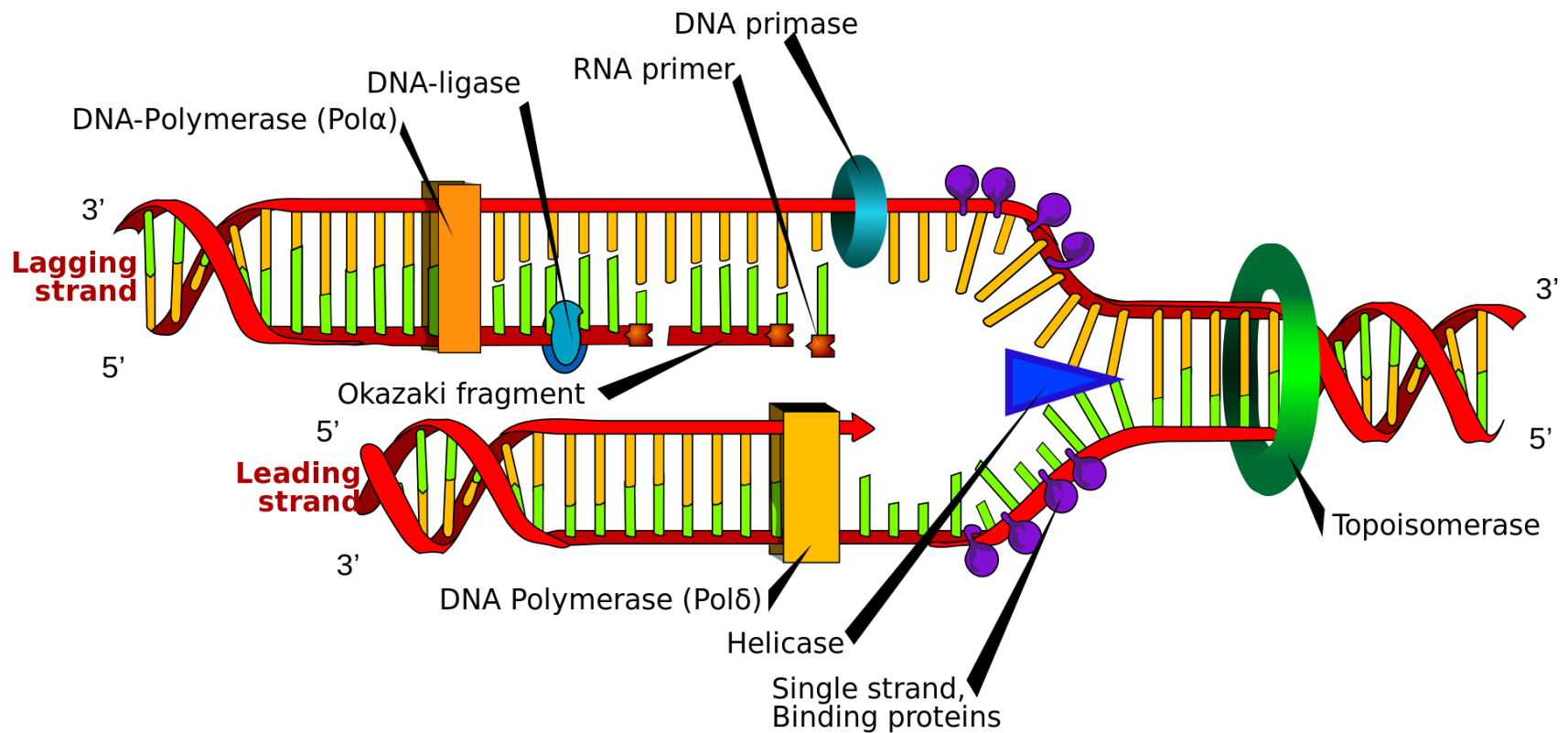
DNA replication in higher organisms



© 2008 Encyclopædia Britannica, Inc.

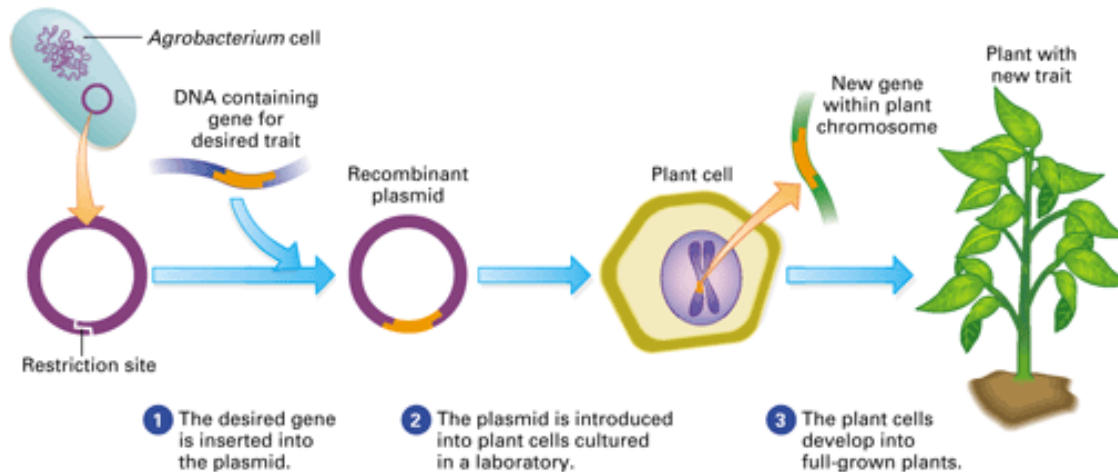
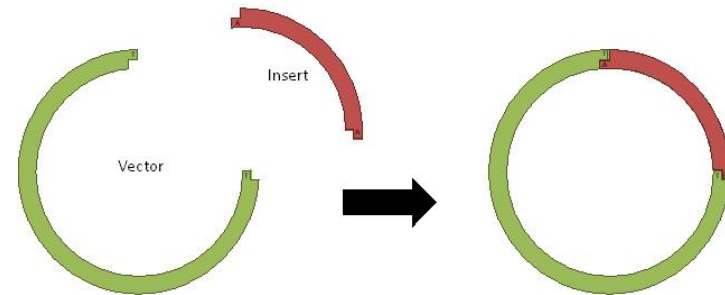
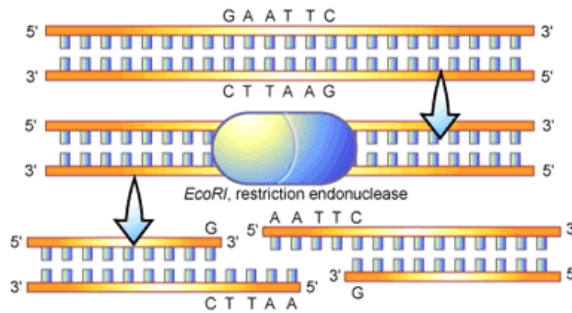
# Replikační enzymy

- podílejí sa na replikaci DNA



# Restrikční enzymy

- sekvenčně specifické endonukleázy, využití v genetickém inženýrství



# Enzym jako katalyzátor

## Katalyzátor

- zvyšuje efektivitu chemické reakce
- z reakce vystupuje nezměněn
- v průběhu reakce vytváří energeticky méně stabilní molekuly – meziprodukty

## Aktivační energie

- energie potřebná k průběhu reakce
- snížení aktivační energie umožňuje reakci za mírnějších podmínek (tzn. za nižší teploty, tlaku).

Enzymy snižují aktivační bariéru - díky vzniku meziproduktů

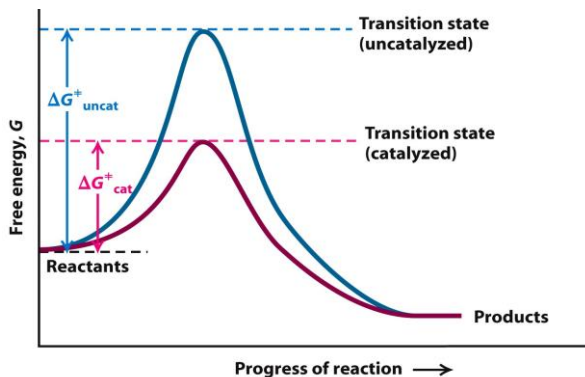
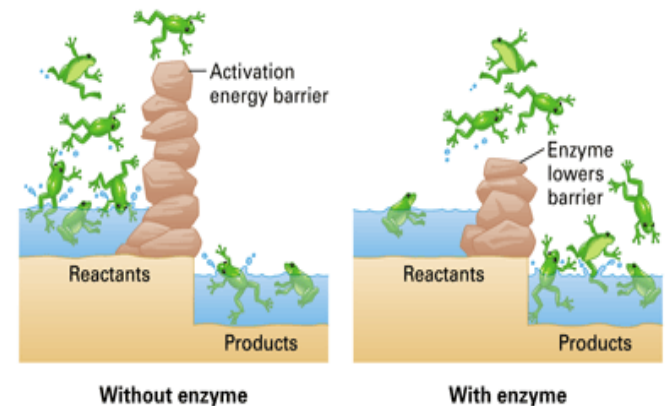
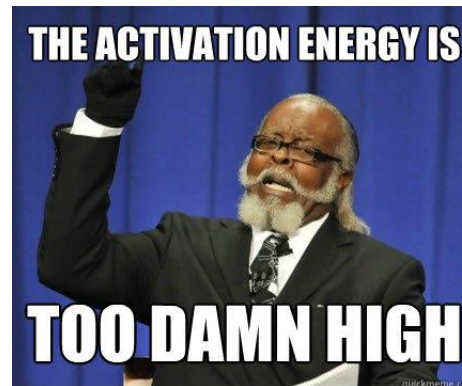
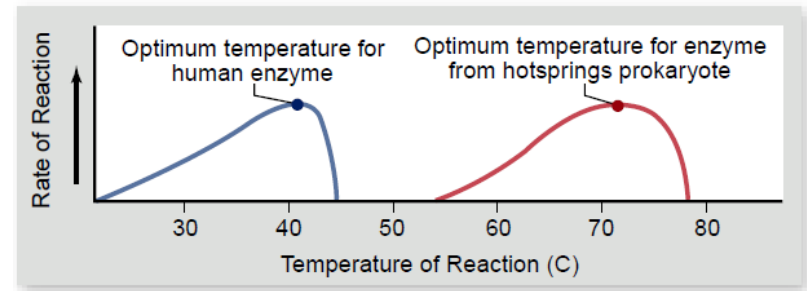


Figure 3-20  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

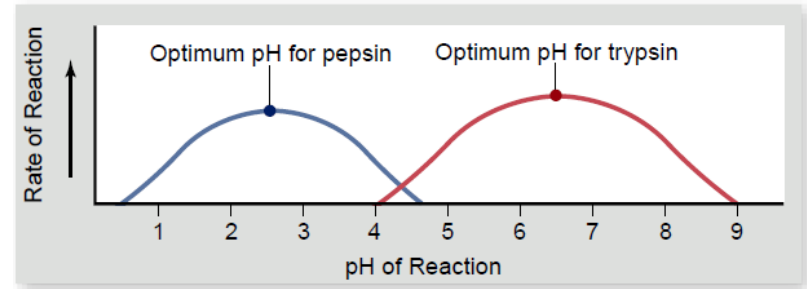


# Enzymy se od chemických katalyzátorů liší

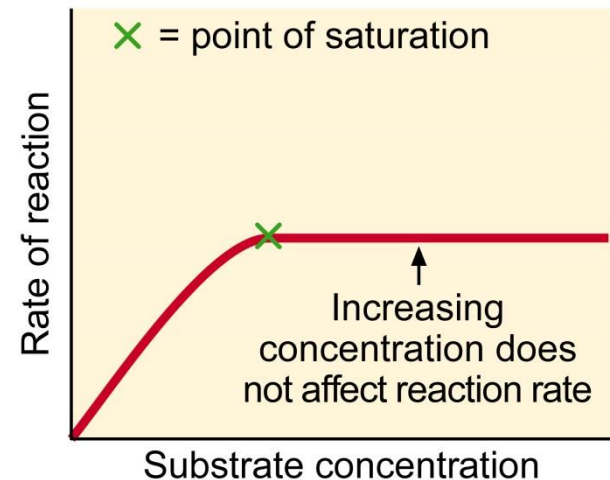
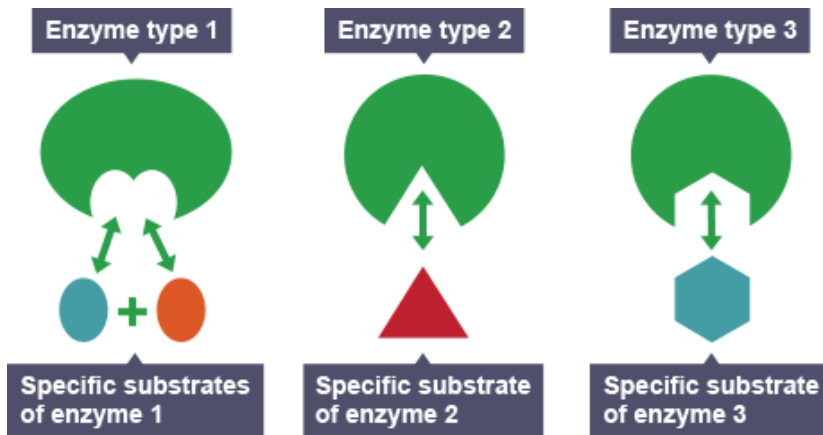
- **efektivita** (enzymatické reakce bývají mnohem účinnější než chemické)
- **podmínky** (pH, teplota)
- **vysoká specifita** (enzymy často rozeznávají pouze jednu specifickou molekulu)
- **nezávislost na množství produktu** (chemická katalýza je přímo závislá na množství substrátu)



a.



b.





# Struktura enzymů

- **proteiny**, které se mohou nacházet samostatně nebo v **proteinových komplexech**
- pro specifitu enzymové reakce je klíčová jeho 3D struktura
- správné uspořádání aminokyselin je důležité pro funkčnost tzv. **aktivního místa**

## Aktivní místo:

### Katalytické místo

- oblast skládající se z několika aminokyselin, ve které dochází ke katalytické reakci

### Vazebné místo

- funguje jako přistávací dráha pro substrát
- prostorově substrát polohuje do správné pozice nutné pro katalýzu
- reguluje enzymovou aktivitu změnami afinity a polohování substrátu do katalytického místa



## PROTEIN STRUCTURE

Scaffold to support and position active site

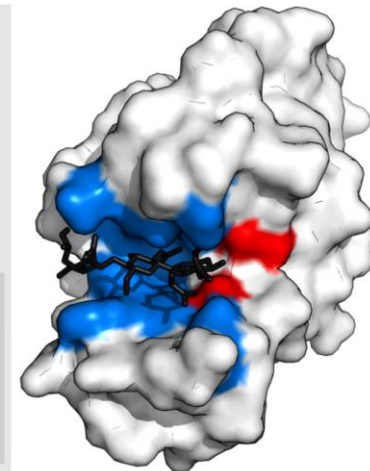
## ACTIVE SITE

### BINDING SITES

Bind and orient substrate(s)

### CATALYTIC SITE

Reduce chemical activation energy



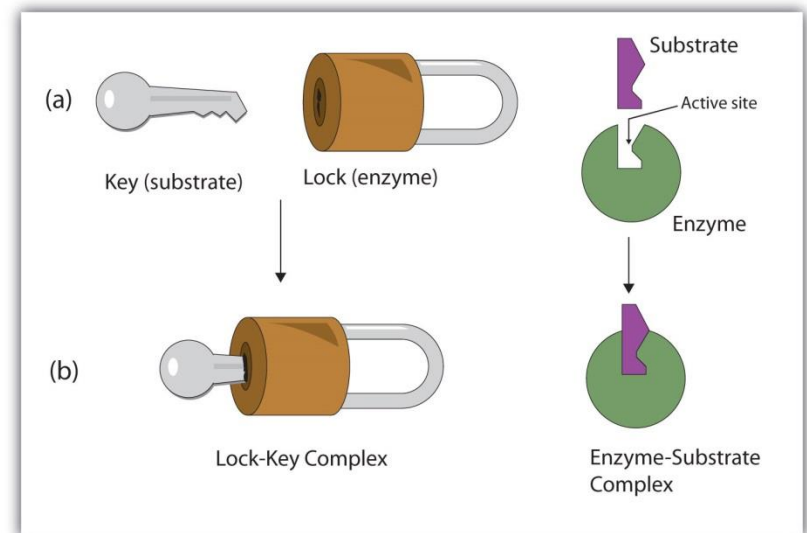
# Vazba substrátu

- **do aktivního místa** (zajišťuje vazebné místo)
- vazebné místo navíc zajišťuje **specifitu enzymu**

**Specificita** je zachována díky:

- **komplementárnímu tvaru vazebného místa a substrátu**
- **rozložení elektrochemického náboje**
- **hydrofobním nebo hydrofilním interakcím**

Substrát a enzym musí být k sobě geometricky komplementární (**model zámku a klíče**)



# Aktivní místo enzymu

## Katalytická reakce může probíhat

### a) stabilizací meziprojektu

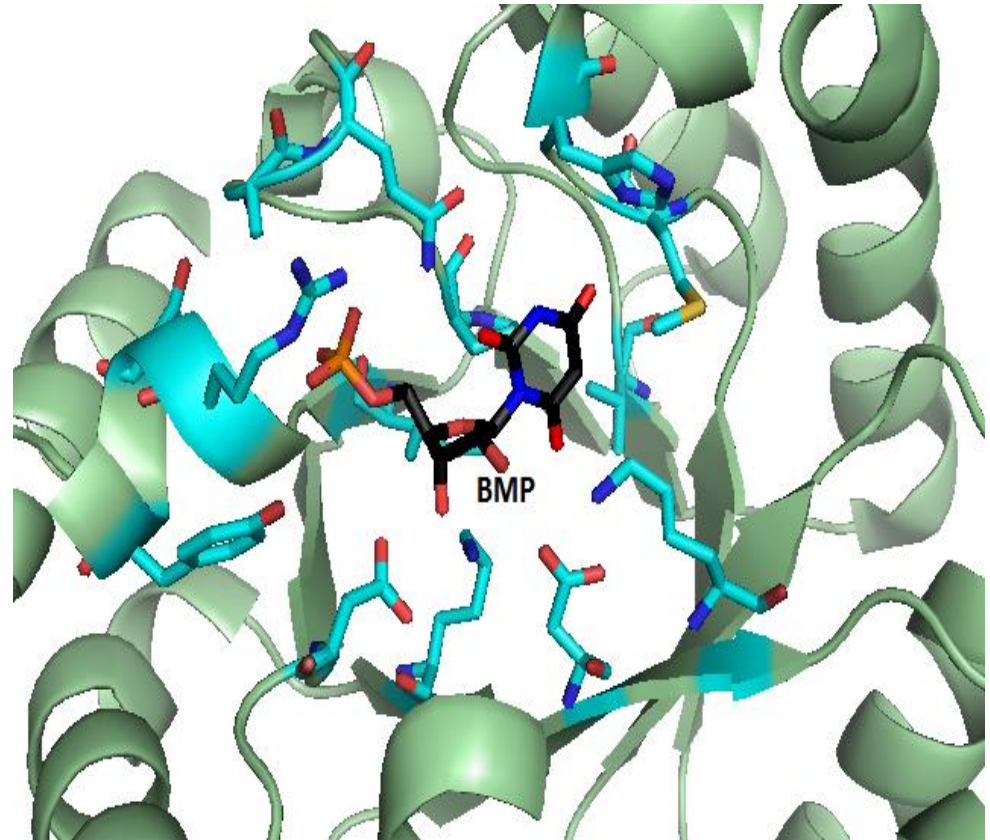
- v místě proteinu díky blízkým AMK zbytkům dochází k výměně náboje s meziprojektu (ve stejném prostředí by byl nestabilní)

### b) dočasnou interakcí se substrátem

- enzym se stane příjemcem aktivní skupiny, umožňující snadnější přesun na jiné místo substrátu nebo jiný substrát

### c) změna konformace molekuly

- změnou struktury molekuly dochází také ke snížení energie potřebné pro vznik produktu

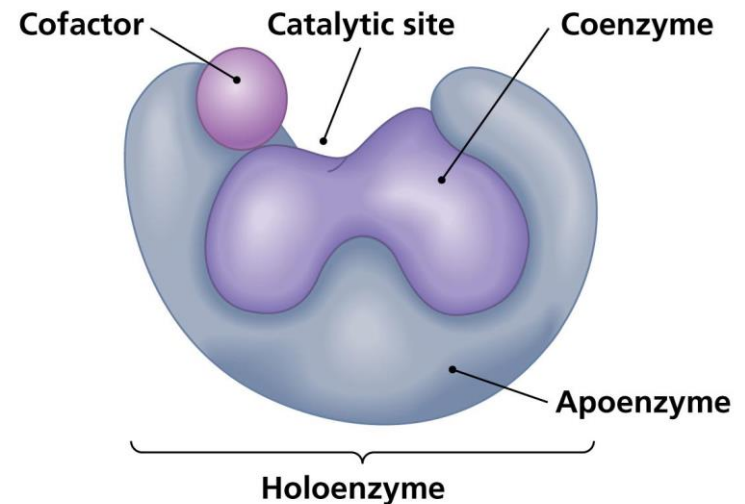
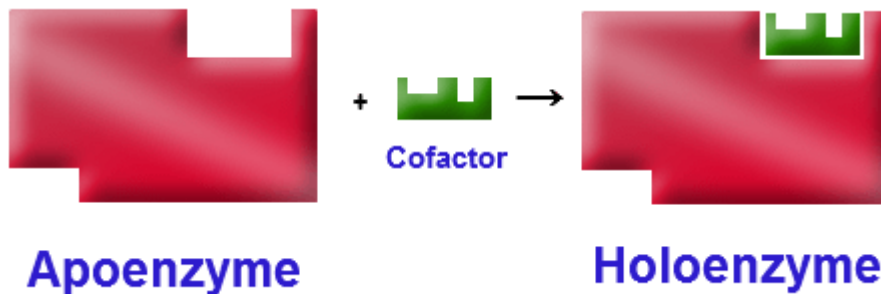


# Enzymy - kofaktory

- katalytické reakce se neúčastí jenom zbytky aminokyselin, ale i jiné molekuly – **kofaktory** (např. vitamíny rozpustné v tucích, např. B1, B2, B6, B12, C atd.)
- pokud je kofaktor vázán kovalentní vazbou k enzymu - **prostetická skupina**
- pokud je vazba v katalytickém místě méně pevná jako v případě iontů kovů nebo organických molekul jedná se o **koenzym**

**Holoenzym** - katalyticky aktivní dvojice kofaktoru a enzymu

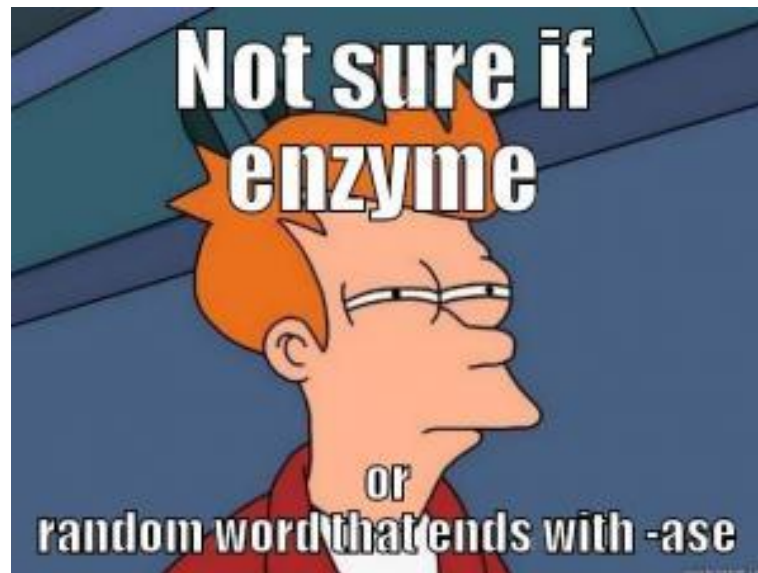
**Apoenzym** - enzym bez kofaktoru



# Nazvosloví enzymů

---

- enzymy mají svoje specifické názvosloví
- název enzymu se skládá buďto z označení substrátu nebo z označení substrátu + typ dané katalytické reakce
- příponou názvu je – **asa**
- např. proteinasa, alkoholdehydrogenasa, laktátdehydrogenasa



# Klasifikace enzymů

---

- podrobnější klasifikaci **IUBMB (INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY)**
- **oxidoreduktasy** (katalysují intermolekulární oxidačně-redukční reakce, např. ethanol + NAD<sup>+</sup> → acetaldehyd + NADH + H<sup>+</sup>)
- **transferasy** (přenos chemických skupin z molekuly donoru na akceptor, např. ATP + glukosa → glukosa-6-fosfát + ADP)
- **hydrolasy** (štěpení vazeb vodou, např. sacharosa + H<sub>2</sub>O → glukosa + fruktosa);
- **lyasy** (nejčastěji adice na dvojnou vazbu nebo eliminace za vzniku dvojné vazby, např. hydratace fumarátu v citrátovém cyklu -OOC-CH=CH-COO<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O → -OOC-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-COO<sup>-</sup>)
- **isomerasy** (isomerace, např. D-glukosa → D-fruktosa nebo L-alanin → D-alanin);
- **ligasy** (spojení dvou molekul, k němuž se dodává energii štěpením ATP nebo GTP, např. karboxylace pyruvátu na oxalacetát CH<sub>3</sub>-CO-COO<sup>-</sup> + CO<sub>2</sub> + ATP + H<sub>2</sub>O → -OOC-CH<sub>2</sub>-CO-COO<sup>-</sup> + ADP + Pi)

např. **EC 1.1.1.1** znamená

(EC) - Enzyme commission

(1, hlavní třída) - oxidoreduktázy (v reakci dochází k výměně elektronů)

(1, podtřída) - reakce probíhá na C-OH skupině

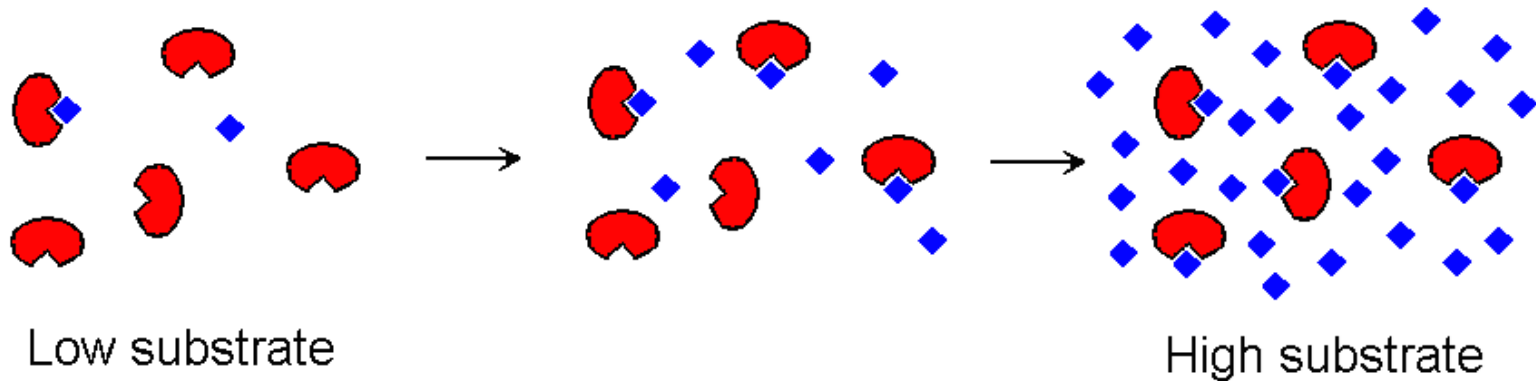
(1, podskupina) - kofaktor - zde NAD nebo NADP

(1, pořadové číslo) - určuje již konkrétní enzym - alkoholdehydrogenazu

# Kinetika enzymů

---

- studuje efektivitu a nevhodnější podmínky pro enzymatickou reakci
- rychlost enzymatické reakce definována **rychlostí jakou se substrát váže na enzym** a **rychlostí jakou dochází k tvorbě produktu**



## **nízká koncentraci substrátu vůči enzymu**

- reakce téměř přímo úměrná jeho koncentraci

## **vysoká koncentrace substrátu vůči enzymu**

- aktivní místa enzymu jsou zaplněny a nedochází k vazbě s přebytečným substrátem
- celková rychlost reakce závislá na tom, jak rychle dokáže enzym zpracovat substrát na produkt

# Kinetika enzymů - jednotky

---

Dříve se podle pravidel Mezinárodní biochemické unie (IUB) z r. 1961 užívalo pojmu **enzymová jednotka (U)** pro takové množství enzymu, které katalyzuje přeměnu **1 μmol substrátu za minutu za standardních podmínek**

Namísto toho byly zavedeny pojmy:

**enzymová aktivita** - rychlost přeměny substrátu

**specifická aktivita** - enzymová aktivita vztažená za specifických podmínek ke hmotnosti

**molová aktivita** - enzymová aktivita vztažená za specifických podmínek k množství enzymu  
vyjádřeno v molech

Převod dosavadních enzymových jednotek (U) na **kataly (kat)** se řídí vztahem:

$$1 \text{ U} = 1 \text{ μmol/min} = 1/60 \text{ μmol/s} = 1/60 \text{ μkat} = 16,67 \text{ nkat}$$

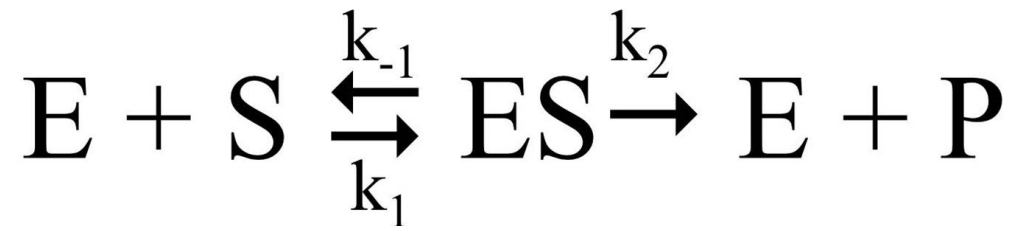
U nás byly zavedeny **kataly** do klinicko-biochemické laboratorní praxe povinně a výsledky laboratorních vyšetření jsou takto vyjadřovány v séru nejčastěji jako **μkat/l**.



# Enzymová kinetika

---

- studium enzymatických reakcí: efektivita a nejvhodnější podmínky
- základní enzymatická reakce se dá vyjádřit touto rovnicí:



$k_1$ ,  $k_2$  – rychlostní konstanty, popisují rychlost dané reakce

$k_{-1}$  – rychlostní konstanta rozpadu komplexu ES

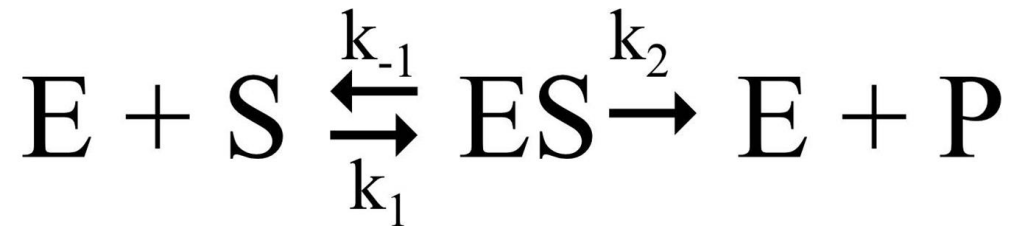
Rychlostní konstanta je rovna rychlosti reakce při jednotkových koncentracích látek

Za předpokladu, že žádný produkt neinteraguje zpětně s enzymem za vzniku ES, lze rychlost enzymatické reakce  $V$  ( $\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ) definovat jako:

$$V = k_2 [ES]$$

# Enzymová kinetika

---



Problém je, že ES je neměřitelný.

Rychlost reakce se proto definuje podle koncentraci látek o kterých víme jejich koncentraci.

Rozdělíme si vznik ES do dvou rovnic:

a) vzniku produktu:  $[ES] = k_1 [E] [S]$

b) rozpadu komplexu ES směrem k S nebo P:  $[ES] = (k_{-1} + k_2) [ES]$

Za předpokladu, že je v reakci enzym plně nasycen – tzn. koncentrace ES je stále stejná:

$$k_1 \cdot [E] \cdot [S] = (k_{-1} + k_2) \cdot [ES] \quad \text{a dále} \quad [ES] = \frac{[E][S]k_1}{k_{-1} + k_2}$$

# Kinetika enzymů – Michaelisova konstanta

Koncentrace substrátu mezi nesaturovaným a saturevaným stavem enzymu je definována pomocí **Michaelisovy konstanty**  $K_M$  - **konstanta poloviční saturace**

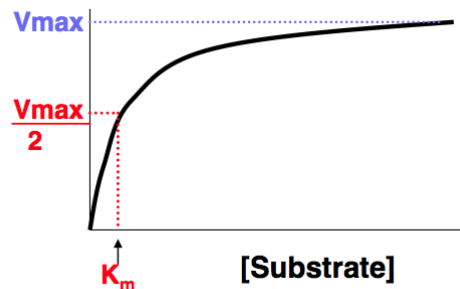
- rovná se koncentraci substrátu, při které došlo k polovičnímu nasycení enzymu substrátem
- reakční rychlost a je rovna polovině maximální rychlosti

Z rovnice enzymatické katalýzy lze  $K_M$  vyjádřit jako:



$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Po dosazení do předchozí rovnice dostáváme:



$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}$$

# Kinetika enzymů – odvození rovnic

---

Za předpokladu, že koncentrace E v reakci je mnohonásobně menší než S ( $[E] \ll [S]$ ), je  $[ES] + [S] \approx [S]$ .

Koncentrace volného enzymu lze definovat jako rozdíl celkového enzymu a ES:

$$[E] = [E_0] - [ES]$$

$$[ES] = \frac{([E_0] - [ES])[S]}{K_M}$$

Po dosazení do rovnice dostáváme:

$$[ES] = [E_0] \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

Po vyjádření [ES] dostáváme:

Víme už, že rychlost je definovaná jako:  $V = k_2 [ES]$

$$V = k_2 [E_0] \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

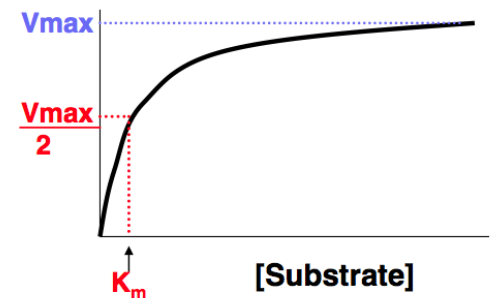
Po dosazení dostaneme:

# Kinetika enzymů – odvození rovnic

- experimentálně sledovat momentální rychlost enzymatické reakce je těžké
- proto se sleduje rychlost maximální **V<sub>max</sub>**
- **V<sub>max</sub>** je definována rychlostí enzymatické reakce při plné saturaci enzymu (po ní je rychlost stabilní, lze ji pozorovat). Této rychlosti dosáhneme při **[S] >>K<sub>M</sub>**. Pak **[S]/([S]+K<sub>M</sub>) ≈ 1**

$$V = k_2[E_o] \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad \text{předchozí rovnice:}$$

$$V_{\max} = k_2 [E_o]$$



Následně dostáváme finální rovnici, ve které lze rychlost enzymatické rovnice získat měřením pozorovatelných veličin: **rovnice Michaelis-Mentenové:**

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

# Rovnice Michaelis-Mentenové

---

- platí pro kinetiku enzymatické reakce s jedním substrátem (do katalytického místa vstupuje pouze jedna molekula, která interaguje s enzymem)

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

$v_0$  je počáteční rychlost enzymatické reakce

$V_{\max}$  je limitní hodnota rychlosti při plném nasycení enzymu substrátem

$[S]$  koncentrace substrátu

$K_M$  je Michaelisova konstanta

Pokud má enzym nízké  $K_M$ , znamená to, že může dosahovat maximální rychlosti při nízké koncentraci substrátu

Enzymy s  $K_M$  při  $10^{-8} - 10^{-10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  – prakticky každý kontakt se substrátem vede k přeměně na produkt.

# Rovnice Michaelis-Mentenové

---

Nezohledňuje další faktory, které v reakci mohou nastat:

- inhibice reakce produktem
- zvratná reakce v meziproduktem
- nepopisuje allosterické chování proteinů (tedy že konformační změna proteinu může ovlivnit enzymatickou aktivitu)
- kooperativní interakce

**Navíc je platná za předpokladu, kdy:**

- koncentrace ES se mění mnohem pomaleji než koncentrace P a S
- koncentrace enzymu se v čase nemění.

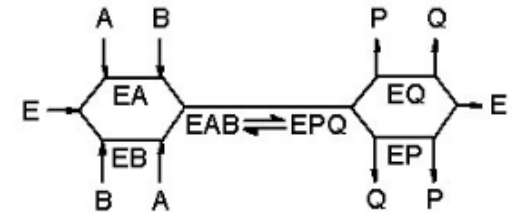


# Multisubstrátové enzymatické reakce

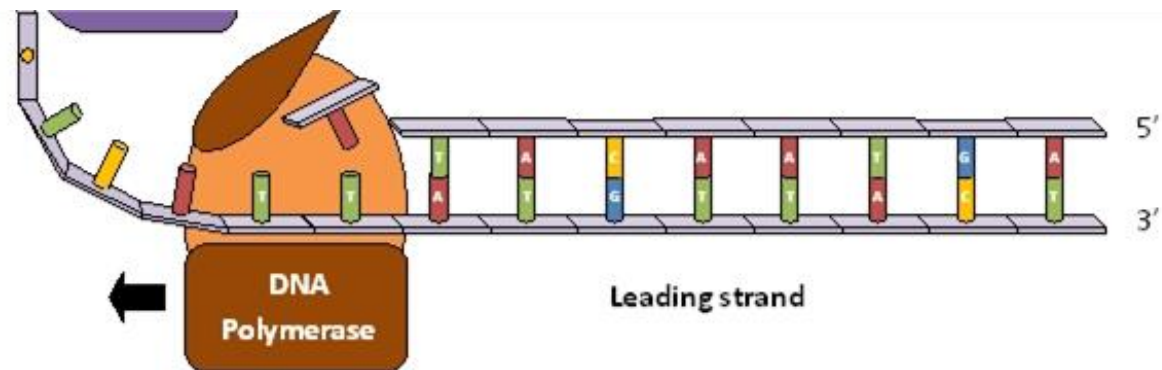
Kinetika v takových reakcích navíc sleduje v jakém pořadí dochází k vazbě S na E

## Bi-Bi reakce

- oba substráty se vážou na enzym v jednom okamžiku a vytváří ternární EAB komplex
- může probíhat náhodným mechanismem - nezáleží na pořadí ve kterém se substráty navážou



Bi-Bi mechanism využívá například DNA Polymeráza



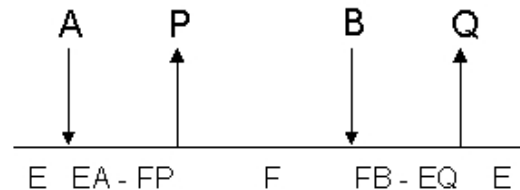


# Multisubstrátové enzymatické reakce

## Ping-Pong mechanismus enzymové reakce:

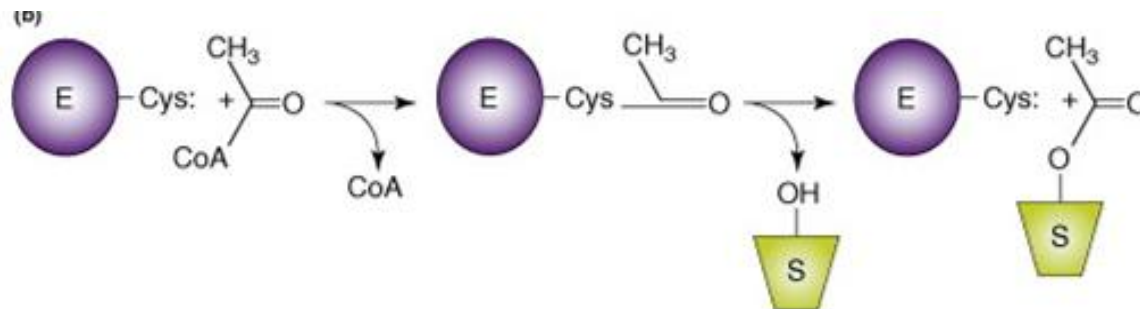
Enzym má dva stavy:

základní a intermediární (chemicky modifikován prvním substrátem)



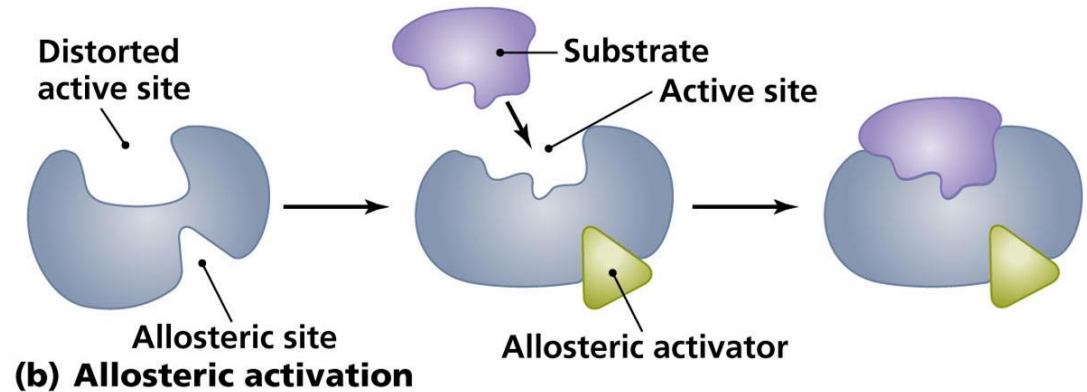
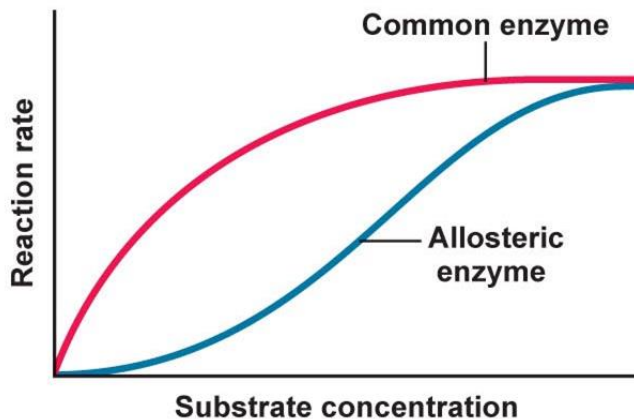
**A** - substrát umožňující přenos chemické skupina na enzym a po jejím vypuštění dochází k vazbě **B**, na který je chemické skupina z enzymu přenesena

Př. mohou být enzymy využívající kofaktory



# Kinetika allosterických enzymů

- allosterický – charakterizovaný odlišným prostorovým sterickým uspořádáním
- dochází ke kooperativní vazbě substrátu
- kinetika rozdílná oproti Michaelis-Mentenové
- struktura allosterických enzymů může být pozměněna vazbou allosterických efektorů do allosterického místa (allosterické místo se nachází mimo aktivního místa)
- efektory mohou změnit konformaci vazebného nebo aktivního místa enzymu vedoucí jak k aktivaci tak inhibici enzymatických procesů



# Inhibitory enzymů

**Inhibitory** - molekuly, které redukují nebo blokují enzymatickou aktivitu

**Aktivátory** - enzymatickou aktivitu zvyšují

## Irreverzibilní inhibitory

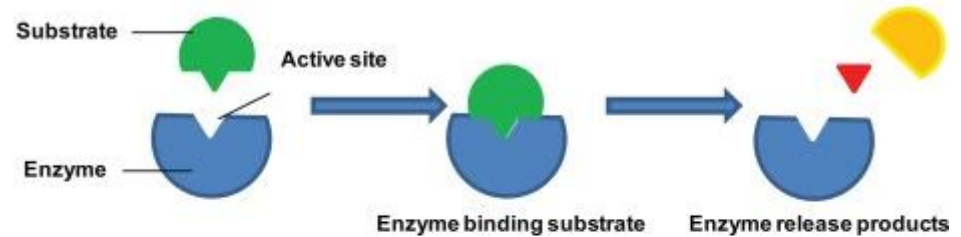
- vytváří kovalentní (pevnou) vazbu na inhibitor
- dochází k chemické modifikaci zbytků AMK potřebné pro enzymatickou aktivitu

## Reverzibilní inhibitory

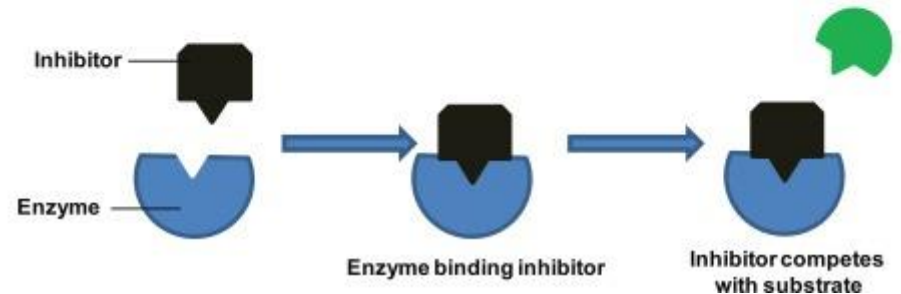
- vazba je nekovalentní (vodíkový můstek, hydrofobní interakce, iontová vazba)

V kinetice inhibiční reakce sledujeme primárně specifitu inhibitoru a také jeho účinnost.

(a) Reaction



(b) Inhibition



# Inhibice enzymů

## 1) kompetitivní inhibitory

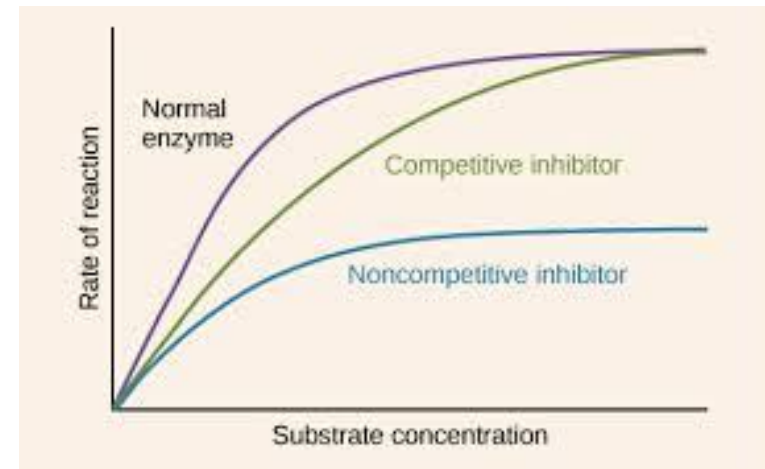
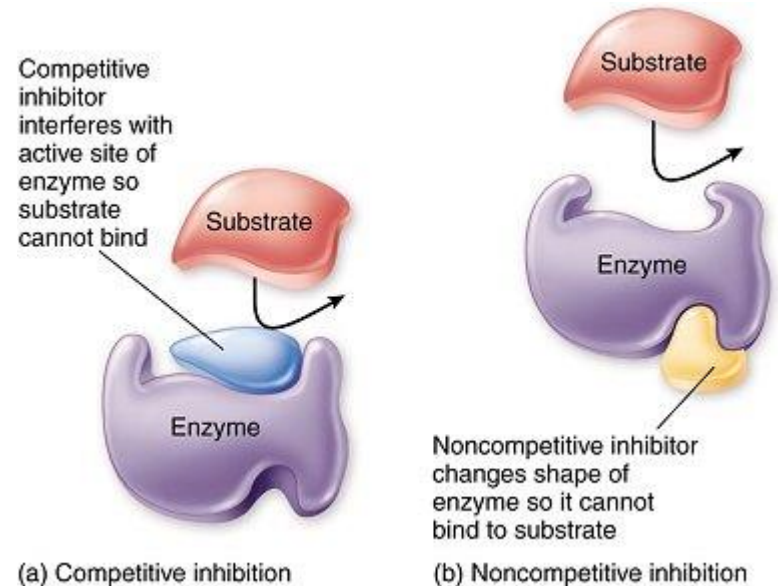
- strukturou podobné substrátu
- enzym nekatalyzuje přeměnu inhibitoru, inhibitor se pouze na enzym naváže
- váží se do vazebného místa substrátu
- **zvýšením koncentrace substrátu** lze inhibici potlačit
- $K_m$  se v přítomnosti inhibitoru zdánlivě zvyšuje
- $V_{max}$  se nemění

## 2) nekompetitivní inhibitory

- nebrání vazbě substrátu na enzym
- váží se mimo vazebné místo substrátu
- inhibici nelze potlačit zvýšením koncentrace substrátu, lze ji snížit pouze **odstraněním inhibitoru** dialýzou (inhibitor se neváže kovalentně)
- žádný z komplexů enzym-inhibitor (E-I ani E-I-S) není katalyticky aktivní ® snížení koncentrace aktivního enzymu \_ pokles  $V_{max}$
- $K_m$  se nemění

## 3) akompetitivní inhibitory

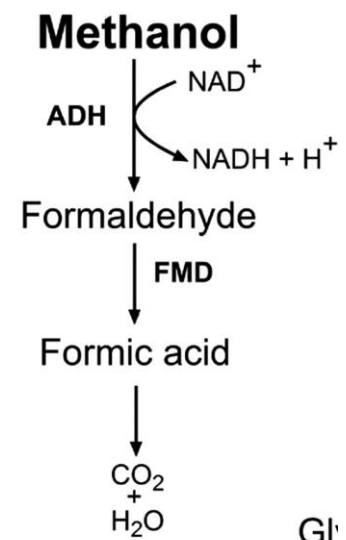
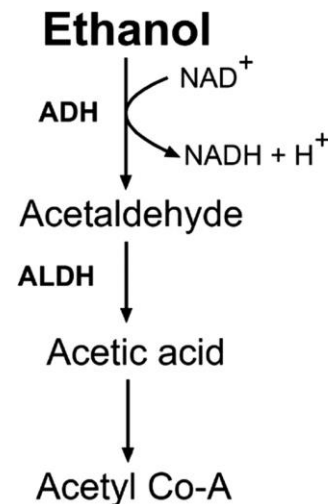
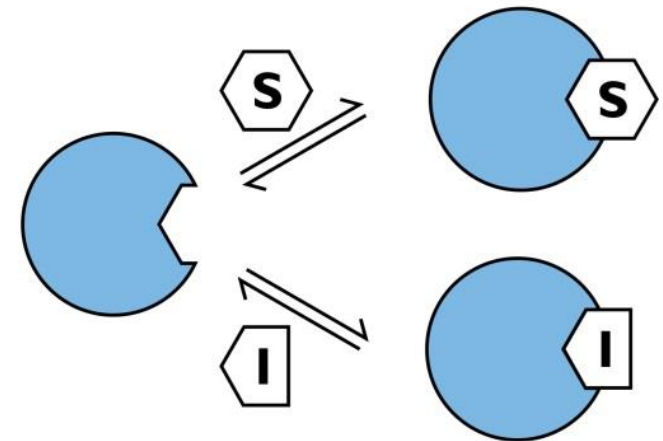
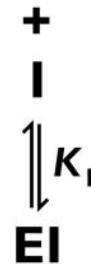
- váží se pouze na komplex enzym-substrát
- dochází ke zdánlivé změně  $K_m$  i  $V_{max}$



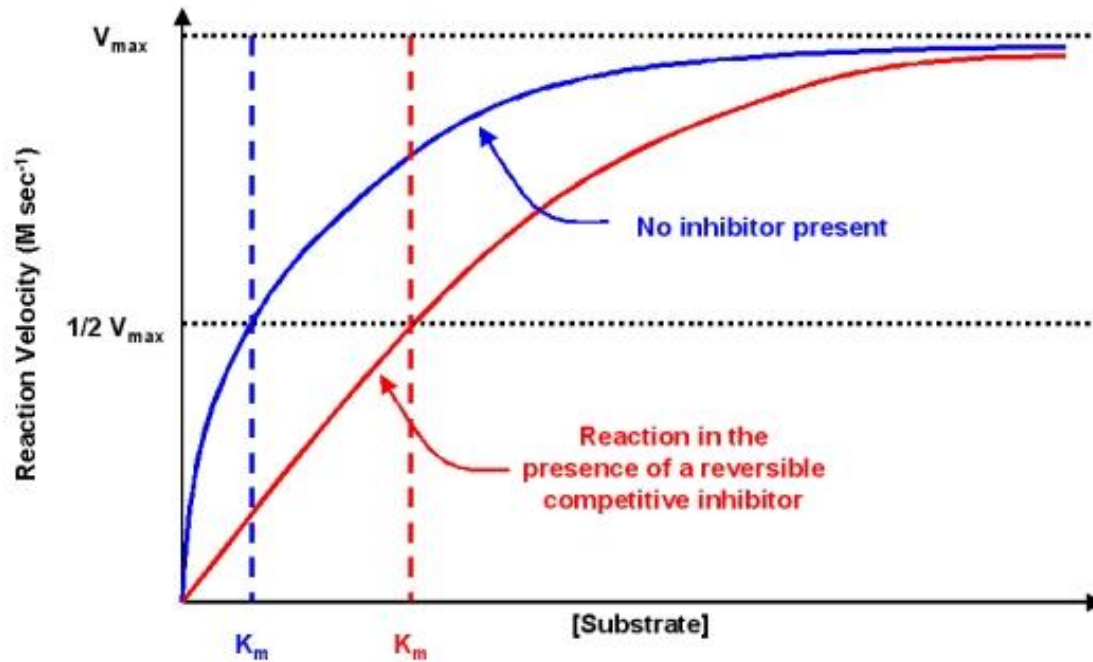
# Reverzibilní enzymové inhibice

## Kompetitivní reverzibilní inhibice

- **S** a **I** se mohou vázat na enzym ve stejném čase
- inhibitor je často strukturálně velmi podobný substrátu, ale nedochází u něj k enzymatické reakci
- **I** se tedy váže na vazebné (i aktivní) místo enzymu. O tyto místo **S** a **I** soupeří (kompetice)



GI:

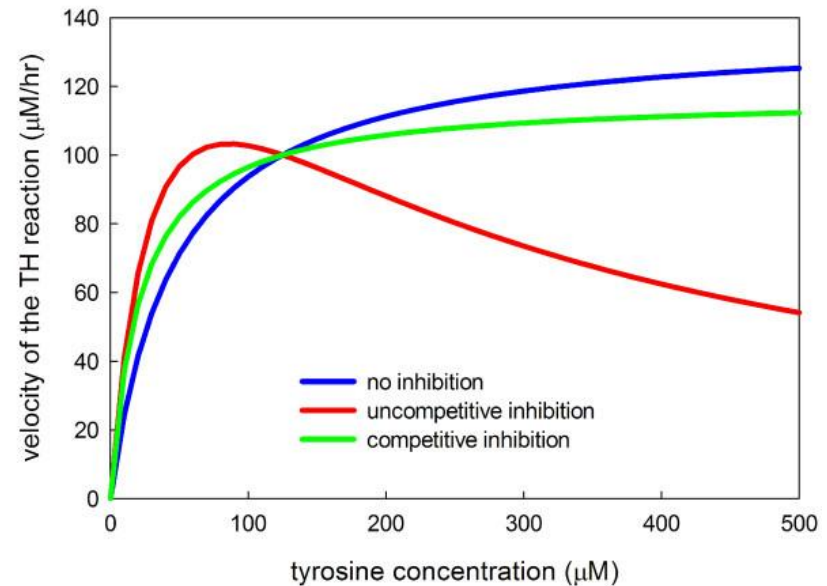
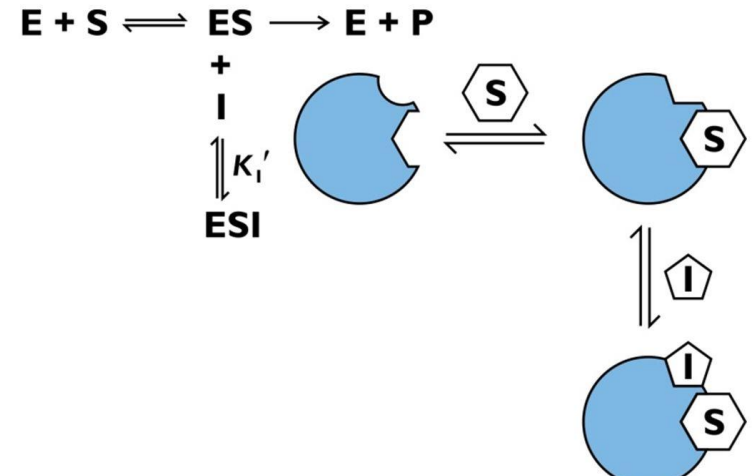


- pokud zvýšíme koncentraci S, bude docházet k častějším interakcím mezi E a S - inhibiční účinek bude potlačen
- dochází k zvýšení  $K_M$  (inhibitor obsazuje část molekul enzymu, pro vytvoření komplexu enzym-substrát je tedy k dispozici jen málo molekul volného enzymu – reakce je pomalá)
- $V_{\text{max}}$  se nemění

# Reverzibilní enzymové inhibice

## Akompetivní reverzibilní inhibice

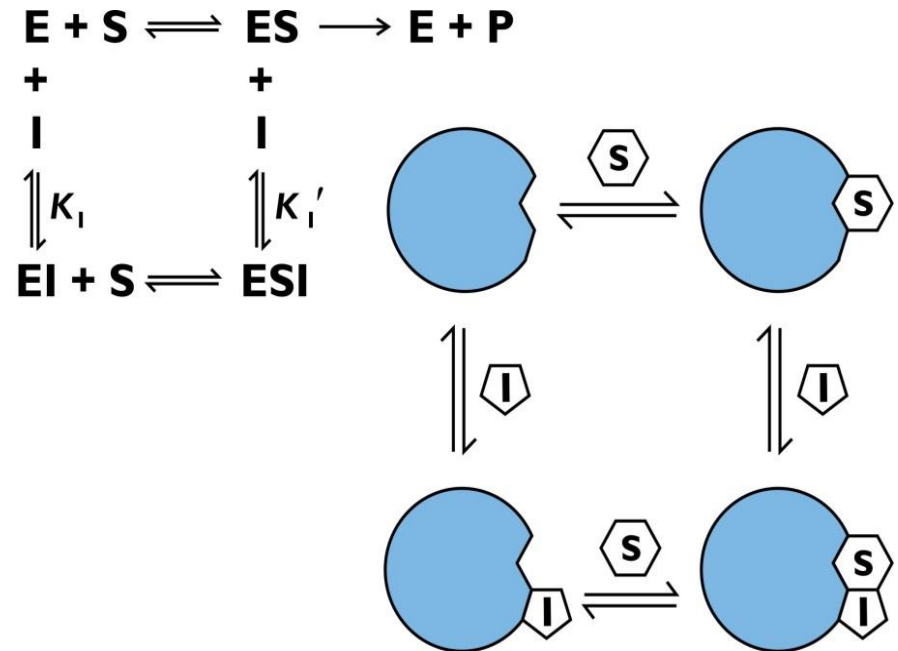
- inhibitor se může vázat na jiné místo enzymu (a to pouze v případě, kdy je substrát vázaný na enzym)
- po vazbě dochází k změně struktury enzymu vedoucí ke znemožnění enzymatické reakce
- inhibitor se váže pouze na ES
- pro inhibici tedy potřebuje přítomnost substrátu
- s rostoucí koncentrací substrátu vede k zvýšené inhibice enzymu
- dochází ke snížení  $V_{max}$ , tím se snižuje se také i  $K_M$ .



# Reverzibilní enzymové inhibice

## Smíšená reverzibilní inhibice

- inhibitor se váže na aktivní místo enzymu nezávisle na tom, zdali je aktivní místo prázdné nebo je S v komplexu s enzymem
- má větší afinitu k jednomu nebo druhému stav - mix kompetitivní a akompetitivní inhibice
- vazba inhibitoru ovlivňuje vazbu S (zvyšuje se  $K_M$ ) a zároveň snižuje počet aktivních molekul enzymu (snížení  $V_{max}$ )
- inhibiční efekt může být redukován, ale ne potlačen zvýšenou koncentrací S

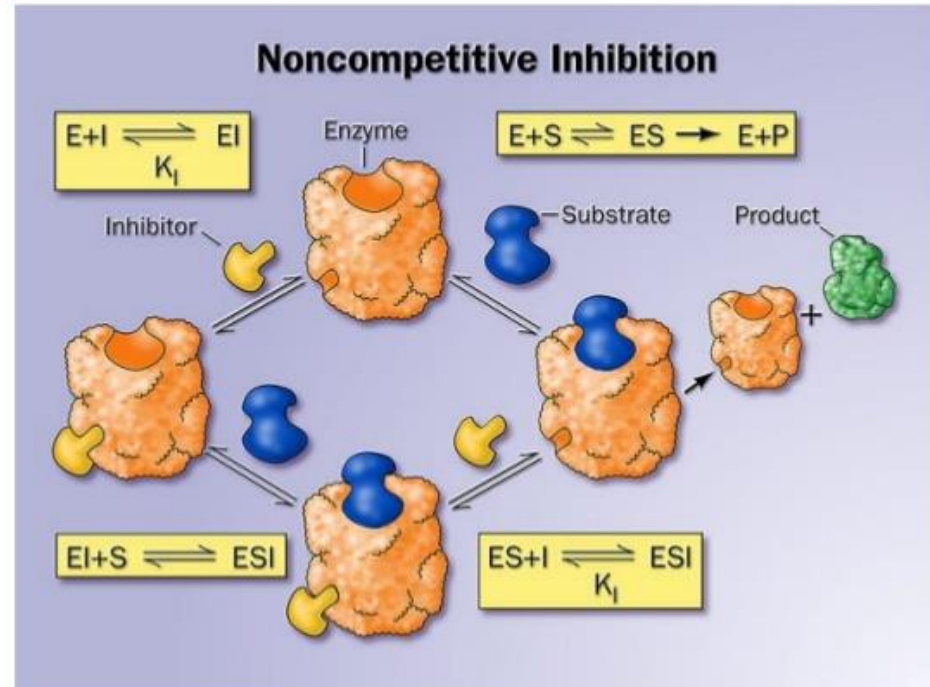


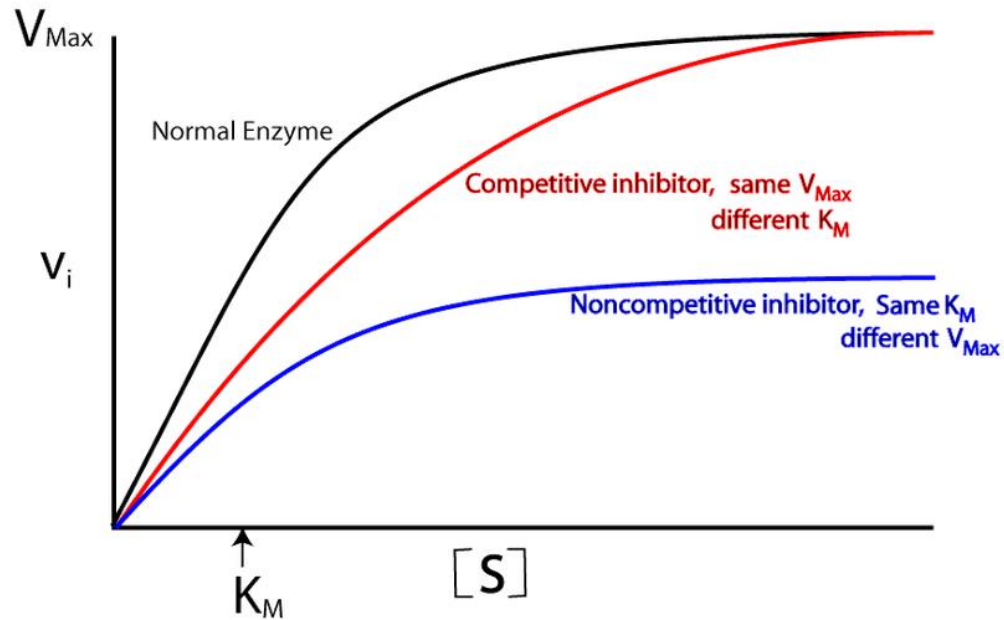


# Reverzibilní enzymové inhibice

## Nekompetitivní reverzibilní inhibice

- specifický případ smíšené enzymové inhibice
- inhibitor redukuje afinitu enzymu k substrátu, ale neovlivňuje jeho vazbu (S se tedy na enzym neváže)
- podobně jako u akompetitivní inhibice váže na jiné místo proteinu a vyvolává strukturální změny v aktivním místě enzymu.





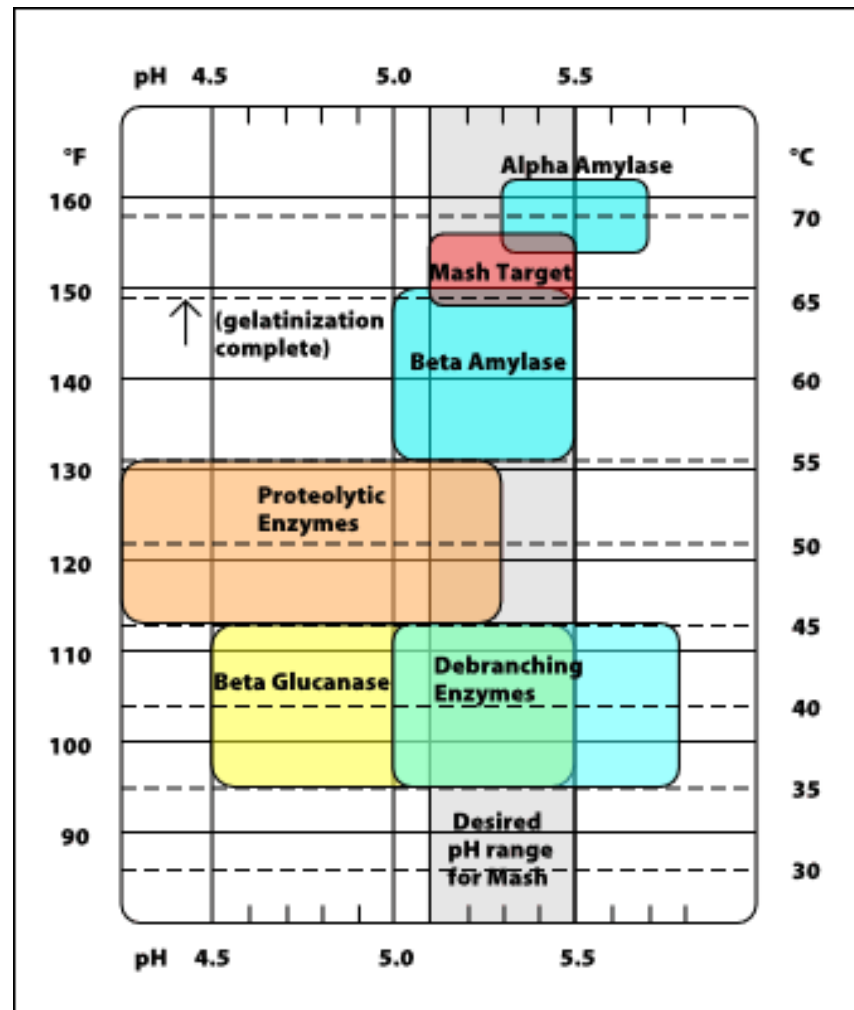
- inhibice je přímo závislá na koncentraci  $I$ , ne na koncentraci  $S$
- když dojde k inhibici 50% enzymu, tak jak při nízké i vysoké koncentraci substrátu
- $V_{max}$  klesá - aktivita enzymu už je redukována a vysoká koncentrace  $S$  na ni nemá efekt
- $K_M$  zůstává stejná (mechanismus enzymatické reakce je stejný, ale s omezeným množstvím aktivních enzymů)

<u>Types</u> <u>Reversible</u> <u>Inhibition</u>	<u>Characteristics of the Inhibition</u>	<u>Effects of <math>V_{max}</math></u>	<u>Effects on <math>K_m</math></u>
Competitive	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Binds to the <u>ACTIVE SITE</u></li> <li>• Shape of the inhibitor is similar to the shape of the active site</li> <li>• Increased substrate reverses inhibition</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>V_{max}</math> is the <u>SAME</u> in the presence of the inhibitor</li> <li>• Reversed by an increase in [substrate]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>INCREASES</u> the apparent <math>K_m</math> for the given substrate</li> <li>• More substrate is required to get half <math>V_{max}</math></li> </ul>
Non-Competitive	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Binds at <u>DIFFERENT SITES</u> on the enzyme NOT the active site</li> <li>• Binds to either free enzymes or enzyme-substrate complex</li> <li>• Inhibition is not reversed with substrate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>V_{max}</math> is apparently <u>DECREASES</u> in the presence of the inhibitor</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>K_m</math> is the <u>SAME</u> in the presences or absences of the inhibitor</li> </ul>
Uncompetitive	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>ONLY</u> binds to the <u>enzyme-substrate complex</u> away from the active site.</li> <li>• Not with free enzymes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>V_{max}</math> is apparently <u>DECREASE</u> to the <u>SAME</u> value as <math>K_m</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>K_m</math> is apparently <u>DECREASE</u> to the <u>SAME</u> value as <math>V_{max}</math></li> </ul>
Mixed Inhibition	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Binds at a <u>SEPARATE SITE</u> from the active site</li> <li>• Either free enzymes or enzyme-substrate complex</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>V_{max}</math> <u>ALWAYS</u> <u>DECREASES</u></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>K_m</math> <u>MAYBE</u> <u>increased OR</u> <u>decreased</u></li> </ul>

Type of inhibition	$V_{\max}^{\text{app}}$	$V_{\max}^{\text{app}} / K_{\text{M}}^{\text{app}}$	$K_{\text{M}}^{\text{app}}$
competitive	$V_{\max}$	$\frac{V_{\max} / K_{\text{M}}}{\left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{I}}}\right)}$	$K_{\text{M}} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{I}}}\right)$
mixed	$V_{\max} / \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{lu}}}\right)$	$\frac{V_{\max} / K_{\text{M}}}{\left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{I}}}\right)}$	$K_{\text{M}} \left\{ \frac{1 + ([\text{I}]/K_{\text{I}})}{1 + ([\text{I}]/K_{\text{lu}})} \right\}$
noncompetitive	$V_{\max} / \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{I}}}\right)$	$\frac{V_{\max} / K_{\text{M}}}{\left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{I}}}\right)}$	$K_{\text{M}}$
uncompetitive	$V_{\max} / \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{lu}}}\right)$	$V_{\max} / K_{\text{M}}$	$K_{\text{M}} / \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_{\text{lu}}}\right)$

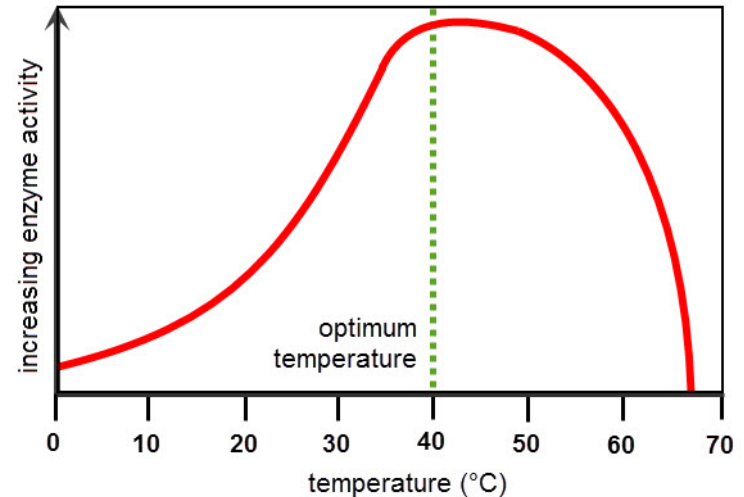
# Vliv teploty na enzymatickou reakci

- enzymy mohou být stabilní mezi teplotou 0 až 100°C
- termofilní bakterie mají např. velmi stabilní enzymy, které jsou aktivní i při 110°C
- v lidském těle jsou enzymy konstruovány na teplotu okolo 37°C
- aktivní pouze v malém teplotním intervalu
- teplota, při kterém je enzym nejvíce aktivní - **teplotní optimum**

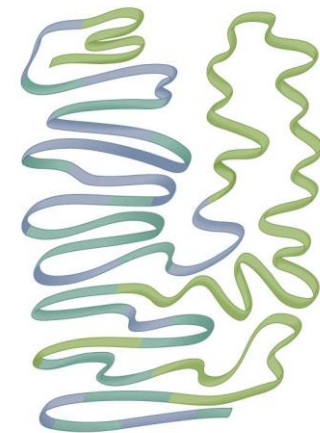


# Vliv teploty na enzymatickou reakci

- závislost reakce na teplotě je v oblasti teplotního optima definováno **Arheniovou rovnicí**
- s rostoucí teplotou získávají molekuly (S i E) větší kinetickou energii a narůstá pravděpodobnost ideální srážky mezi S a E
- při nízkých teplotách je sice enzym stabilní a není ovlivněna struktura proteinu, ale počet srážek je omezený
- při vyšších teplotách pak dochází k částečné nebo úplné denaturaci (rozpadu 3D struktury a tvorbě neuspořádaných proteinových klubek) a degradaci proteinu



Functional protein



Denatured protein

# Vliv pH na enzymatickou reakci

- pH optimum závisí na funkci a prostředí, ve kterém se protein vyskytuje
- záleží na AMK zbytcích v aktivním místě
- katalytická aktivita enzymů se odvíjí od toho zda jsou AMK ionizované
- vysoké a nízké pH denaturuje proteinovou strukturu



pH 7 – trypsin, enzymy v krvi  
pH 2 – pepsin  
pH 10 – arginasa

