

Enzymy

(katalýza biochemických reakcí)

Enzymy (fermenty)

- Biokatalyzátory chemických reakcí (**globulární proteiny**)
- Ve velmi malých množstvích specificky **urychlují průběh** chemických reakcí tak, že snižují jejich aktivační energii
- **Neovlivňují rovnovážnou konstantu (K) rce**
- Základem enzymů jsou molekuly proteinů
- Adsorpce látek na enzym je velmi specifická
- Látka se na povrchu enzymu orientuje tak, aby mohla proběhnout enzymatická reakce

***Ne všechny enzymy jsou jednoduché proteiny ***

Koenzym – neproteinová organická součást enzymu

Apoenzym – proteinová část enzymu

Proenzym (zymogen) – prekurzor enzymu (např. trypsinogen)

Mechanismus působení

- S výchozí látkou (substrátem) tvoří enzym labilní meziprodukt, který se posléze samovolně rozpadá na produkt reakce a regenerovaný katalyzátor
Na vytvoření meziproduktu **substrát-katalyzátor** je zapotřebí podstatně méně energie, než na průběh nekatalyzované reakce
- Katalyzátory snižují aktivační energii chemických reakcí
- Katalytickou činnost enzymů umožňuje adsorpce molekul z roztoku na jejich povrch
- **Aktivita enzymu** – schopnost enzymu urychlit průběh určité reakce, tj. přeměňovat substrát na produkt v závislosti na čase

Enzymatická reakce probíhá v několika stupních:

1. Tvorba komplexu enzym-substrát: $E + S \rightleftharpoons ES$
2. Aktivace komplexu ES: $ES \rightleftharpoons ES^*$
3. Chemická přeměna substrátu, přičemž vzniká komplex enzym-produkt: $ES^* \rightleftharpoons EP$
4. Oddělení enzymu od reakčního produktu: $EP \rightleftharpoons E + P$

Aktivní (katalytické) centrum enzymu

- Skupina atomů na povrchu molekuly enzymu, na které se váže substrát
- Nejčastěji několik zbytků aminokyselin s reaktivními skupinami ve vedlejších řetězcích
- Vytváří prostorové a vazebné podmínky pro navázání substrátu a jeho aktivaci pro určitou reakci
- Vazba aktivního centra na substrát je **vysoce specifická**
- U mnoha enzymů nestačí samotné aktivní centrum pro vazbu substrátu → substrát se váže i **prostřednictvím koenzymu**, který zde hraje roli aktivátora
- **Aktivátor** – je látka, která jakýmkoliv způsobem zvyšuje katalytickou schopnost enzymu
- **Isoenzymy (isozymy)** – různé formy určitého enzymu, lišící se primární strukturou, ale katalyzující stejnou reakci

Specificita enzymů

- **Specificita účinku** – enzym katalyzuje pouze jednu z několika termodynamicky možných přeměn substrátu
- S.Ú. určuje především koenzym
- **Substrátová specificita** – schopnost určitého enzymu katalyzovat přeměnu pouze určitého substrátu
- S.S. určuje apoenzym (aktivní centrum)
- S.S. může být úzká (enzym má pouze jeden substrát) nebo široká (enzym katalyzuje přeměnu několika chemicky příbuzných substrátů)

Činitelé ovlivňující aktivitu enzymů

- Fyzikálněchemické podmínky reakčního prostředí ve kterém enzymatické reakce probíhají (**T**, **pH**, **I**, **C_M** subst.)
- **Teplota**
 - při jejím **zvyšování** se obecně zvyšuje rychlost enzymové reakce
 - současně se ale zvyšuje rychlost degradace enzymu
 - při **snižování** teploty se zvyšuje viskozita prostředí → zhoršená difúze substrátu k enzymu
 - optimální teplota většiny enz. rcí je 22 – 45 C
- **pH**
 - optimum pH znamená takovou koncentraci H_3O^+ iontů, která je optimální pro vznik vazby mezi enzymem a substrátem, protože při něm jsou funkční skupiny aktivního centra, příp. substrátu, v nejvhodnějším disociačním stavu pro vazbu

Inhibitory enzymů

- Látky, které snižují nebo úplně zastavují rychlost enzymatické reakce (enzymové jedy)
- Jsou to sloučeniny, které reagují s některou důležitou složkou **prostetické skupiny** (H_2S , HCN s Cu či Fe v prostetické skupině oxidáz) nebo **proteinové části** enzymu
- **Inhibice reverzibilní** – inhibitor lze z enzymu odstranit (např. dialýzou) a aktivita enzymu se obnoví
- **Inhibice ireverzibilní** – aktivitu enzymu nelze žádným zásahem obnovit
- **Kompetitivní inhibice** – enzym není absolutně specifický pouze pro substrát, ale reaguje i s inhibitorem (kompetice)
- **Nekompetitivní inhibice** – závisí pouze na koncentraci inhibitoru (čím je vyšší, tím je inhibice větší)
- **Akompetitivní inhibice** – inhibitor se navazuje na komplex enzym-substrát, nikoli na samotný enzym

● **Alosterická inhibice** – spočívá ve vzniku vazby mezi inhibitorem (alosterický efektor) a tzv. alosterickým centrem, které není totožné s aktivním (katalytickým) centrem

- vazbou alosterického efektoru dojde ke vzniku konformačních změn v povrchové struktuře enzymu, který ztrácí schopnost vázat substrát

Enzymy v živé buňce

- Většina enzymů je v buňce vázána na buněčné struktury (lysosomy, mitochondrie, ribosomy, membrány,...)
- Enzymy jsou v buňce umístěny tak, že umožňují vznik **metabolických drah** (enzym **a** zpracovává produkt enzymu **b**)
- Regulace aktivity enzymů podle aktuálních fyziologických potřeb buňky probíhá nejčastěji mechanismem: prezymogen → zymogen → aktivní enzym
- **Potenciální soubor enzymů** – všechny enzymy, které je buňka schopna produkovat (pro každou buňku typický)
- Aktuální soubor enzymů – enzymy, které buňka za daných podmínek vlastní (závisí na vlivech okolního prostředí)
- **Konstitutivní enzymy** – buňka tvoří za všech podmínek, pro život buňky nezbytné
- **Induktivní enzymy** – buňka tvoří jako odpověď na stimulaci z vnějšího prostředí (obvyčně specifický substrát), nejsou pro život buňky nezbytné

● **Enzymová indukce**

➤ je základní adaptační mechanismus, který umožňuje buňce regulovat svůj metabolismus

- z fyziologických stimulů mají na enzymovou indukci největší vliv **hormony**

➤ **Př.: Farmaka** – dokáží indukovat zvýšení tvorby specifických enzymů účastnících se na detoxikaci organismu (např. indukce oxigenáz jaterními buňkami)

● **Regulovatelnost funkce enzymů:**

➤ Na úrovni genomu (indukce, represe)

➤ Na úrovni enzymu (allosterický efekt, kovalentně)

➤ Proteolyticky (prekurzory - zymogeny)

Enzymy jako makromolekuly

- Enzymy **musí** být makromolekuly – biokatakalytickou fci **nemohou** vykonávat nízkomolekulární látky z důvodů vlastností, které musí biokatalyzátory splňovat:
 - 1) Shromažďují substráty a nutí je navázat se ve vhodné prostorové orientaci na aktivní místo
 - 2) Vlastní kyselé i zásadité skupiny, které umožňují přenos H^+ protonu do substrátu
 - 3) Některé enzymové skupiny (nukleofilní) mohou vytvářet kovalentní vazby se substrátem → vznikají reaktivnější struktury
 - 4) Enzymy dokáží indukovat zkroucení nebo napnutí molekuly substrátu, čímž se v ní změní vazebné síly mezi jednotlivými atomy

- Všechny tyto vlastnosti vyplývají z trojrozměrné struktury aktivního místa, v kterém se vyskytuje několik specifických aminokyselinových jednotek
- Jejich poloha musí být přesná, správně orientovaná, dostatečně pevná, ale zároveň musí dovolovat určité přesně definované konformační změny po vazbě substrátu
- Každý enzym vytváří pro substráty určité mikroprostředí, v kterém se mohou uskutečňovat jejich přeměny
- **Nebílkovinné složky enzymů:**
 - **Dvojmocné kationty:** Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+}
 - **Koenzymy** (vztah k vitaminům) – připojeny nekovalentně
 - **Prostetická skupina** (hem) – vázána kovalentně
 - **Nezbytné pro mechanismus účinku některých enzymů**

Klasifikace enzymů

1) Oxidoreduktázy

- Katalyzují různé redoxní rce nejčastěji s využitím koenzymů jako např. NADH, NADPH, FADH₂ nebo hemu
- Triviální názvy v této třídě: dehydrogenázy, oxidázy, cytochromy, peroxidáza, kataláza

2) Transferázy

- Katalyzují přenos skupin: amino-, metyl-, acyl-, glykosyl-, fosforyl-,
- Kinázy katalyzují přenos fosfátové skupiny z ATP nebo jiných nukleosidtrifosfátů
- Triviální názvy v této třídě: aminotransferázy (transaminázy), acyltransferázy, fosfotransferázy

3) Hydrolázy

- Katalyzují štěpení vazeb mezi atomem uhlíku a jinými atomy prostřednictvím spotřebované molekuly H_2O
- Obvyklé triviální názvy: **esterázy, peptidázy, amylázy, fosfatázy, lipázy, proteázy (pepsin, trypsin, chymotripsin)**

4) Lyázy

- Katalyzují, adiční rci na dvojně vazbě nebo eliminační rci mezi 2 atomy C za vzniku dvojně vazby
- Příklady: **karbonátdehydratáza (karboanhydráza), aldoláza, citrátlyáza, dekarboxylázy**

5) Izomerázy

- Katalyzují racemizaci optických izomerů nebo vytvoření polohových izomerů: **epimerázy, racemázy, mutázy**

6) Ligázy

- Katalyzují tvorbu vazeb mezi uhlíkem a jinými atomy spojenou se štěpením ATP (spřažení exergonické a endergonické rce): **karboxylázy, syntetázy (glutaminsyntetáza)**

Koenzymy

- Názvy koenzym (kofaktor) a prostetická skupina se používají k označení výpomocných nízkomolekulárních látek, které **podmiňují** katalytické působení enzymu
- Prostetická skupina – váže se kovalentně na enzym
- Koenzym - váže se nekovalentně na enzym
- Mnohé z koenzymů jsou v podstatě vitaminy (buď čistě nebo jako součást koenzymu)
- Víceré koenzymy obsahují kyselinu fosforečnou, často spolu s monosacharidem (ribóza) a některou zásadou, takže tvoří nukleotidy

PŘEHLED KOENZYMŮ

| Vitamin | koenzym | funkce |
|-------------------------------------|-----------------------|--|
| oxidoreduktas (přenos elektronů, H) | | |
| Niacin (P-P) (B ₃) | NAD, NADP | přenos 2 e ⁻ + H ⁺ |
| B ₂ (riboflavin) | FAD, FMN | přenos 2 H |
| přenosu skupin | | |
| B ₁ (thiamin) | thiamindifosfát (TDP) | oxidační dekarboxylace |
| B ₆ (pyridoxin) | pyridoxalfosfát | transaminace |
| H (biotin) | biotinový koenzym | karboxylace |
| kys. listová (folacin) | THF (obsahuje PABA) | přenos 1 C zbytku |
| B ₁₂ | kobamid | přenos 1 C zbytku |
| pantothenát (B ₅) | koenzym A (CoA) | přenos acylu |

● **Nikotinamidové nukleotidy (NAD, NADP)**

- (amid kyselina nikotinové + riboza + 2 (3) fosfáty + adenin)
- Nejdůležitější přenašeče vodíku při biologické oxidaci

● **Flavinové nukleotidy (FMN, FAD)**

- (riboflavin-5-fosfát)
- Účastní se přenosu vodíku a elektronů (oxidačně-redukční rce)

● **Ubichinon (koenzym Q)**

- (p-chinonové jádro → **REDUKCE** → p-difenolové jádro)
- Účastní se oxidačně-redukčních rcí ve všech živých organismů

● **Deriváty porfyriu**

- Spolu se železem → prostetické skupiny enzymů
- Zajišťují přenos elektronů ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$)

● **Adenozinfosfáty**

- Základní donory a akceptory H_3PO_4 ve všech živých systémech
- Molekuly ATP mohou přenášet různé části a aktivovat tak příslušné sloučeniny pro potřebné rce:
- Cyklický AMP (cAMP) jako tzv. druhý posel přenáší dovnitř buňky signály hormonů

● **Koenzym A**

- Účinná složka transacyláz přenášejících zbytky karboxylových kyselin (acetylkoenzym A – přenos acetylových skupin)

● **Koenzym F (formylační)**

- Účinná složka enzymů přenášejících jednouhlíkové zbytky
- Biosyntéza purinových a pyrimidinových zásad a aminokys

● **Thiaminpyrofosfát**

- Koenzym lyáz při dekarboxylačních a karboxylačních rcích (tzv. kokarboxyláza)
- Přenos aktivního acetaldehydu a aktivního glykolaldehydu

● **Pyridoxal-5-fosfát**

- Koenzym transamináz přenášejících aminoskupinu mezi aminokyselinami a ketokyselinami
- Koenzym (lyáz) dekarboxyláz aminokyselin

● **Biocytin**

- Prostetická skupina enzymů katalyzujících přenos CO_2 (karboxylační procesy)

● **Koenzym B12 (5- deoxyadenozylkobalamin)**

- Jako součást komplexu enzymů katalyzuje 1→2 přesun atomu H (spojeno s 2→1 přesunem jiné skupiny)

● **Metylkobalamin**

➤ Koenzym přenášející metylovou skupinu z kyseliny tetrahydrofolové na některé akceptorové molekuly

● **Kyselina askorbová** – hydroxylace prolinu na hydroxiprolin

● **UDP-glukóza** – biosyntéza sacharózy

● **CTP** – biosyntéza fosfolipidů

● **Glukóza-1,6-bisfosfát** – koenzym fosfoglukomutázy

● **Kyselina 2,3-bisfosfo-D-glycerová** – koenzym fosfoglyceromutázy