

# ENZYMY V ŽIVÉ BUŇCE

- ❖ Většina enzymů se v buňkách vyskytuje **vázaná na buněčné struktury**.
  - hydrolytické enzymy **lysosomy**
  - enzymy energetického metabolismu **mitochondrie**
  - + membrány dalších organel
- ❖ Určité enzymy jsou umístěny v blízkosti sebe a jeden enzym může bezprostředně působit na produkt druhého enzymu.
- ❖ Takto vznikají celé cykly enzymatických reakcí **metabolické dráhy** (např. glykolýza, cyklus trikarboxylových kyselin, pentózový cyklus...).

❖ Z chemické podstaty enzymů (proteolytické, hydrolytické, aj.) vyplývá, že se musí vyskytovat **v inaktivovaných formách**, anebo musí být od svých substrátů izolovány membránami, které umožňují **pouze jejich omezený kontakt**.

➤ zymogeny (proenzymy), které se na aktivní formu štěpí pomocí specifických proteolytických enzymů (limitovaná proteolýza).

❖ Systém **PREZYMOGEN** **ZYMOGEN** **AKTIVNÍ FORMA**, pomocí limitované proteolýzy, představuje účinný **mechanismus regulace aktivity enzymů**, dle aktuálních fyziologických potřeb buňky a celého organismu.

# ENZYMOVÉ VYBAVENÍ BUNĚK

## POTENCIÁLNÍ SOUBOR ENZYMŮ

- všechny enzymy, které je buňka schopná produkovat
- pro každou buňku je stálý a typický
- využívá se pro typizaci biologického druhu mikroorganismů

## AKTUÁLNÍ SOUBOR ENZYMŮ

- enzymy, kterými buňka disponuje v určitých konkrétních podmínkách
- je proměnlivý a určovaný vlivy vnějšího prostředí

## KONSTITUTIVNÍ ENZYMY

- jsou tvořeny za všech podmínek, za kterých je buňka schopná růst, bez ohledu na složení růstového média
- musí se v buňce vyskytovat vždy ■■■■■ buňka bez nich nemůže existovat

## INDUKTIVNÍ (ADAPTIVNÍ) ENZYMY

- syntetizují se jako výsledek stimulace určitým faktorem vnějšího prostředí (zpravidla specifický substrát)
- pro buňku nejsou nevyhnutně nutné

# KOENZYMY

- ❖ (kofaktor) je nízkomolekulární **neproteinová struktura** připojená k proteinovému řetězci enzymu.
- ❖ Koenzymy mají důležitou roli v **přenosu atomů vodíku, elektronů nebo skupin atomů** v průběhu enzymově katalyzované reakce.
- ❖ Podle způsobu vazby k bílkovinné části enzymu rozlišujeme:
  - **disociovatelné koenzymy**
  - **prosthetické skupiny**

## Disociovatelné koenzymy

- ❖ Jsou udržované v kontaktu s enzymem **nekovalentní interakcí**.
- ❖ Mohou se snadno oddělit od molekuly původního enzymu a navázat se i na jiný.
- ❖ Patří sem např. **NAD<sup>+</sup>** nebo **NADP<sup>+</sup>**.

## Prostetické skupiny

- ❖ Jsou struktury pevně vázané k enzymu převážně **kovalentními vazbami**.
- ❖ Charakter této vazby dělá z prostetické skupiny stabilní součást enzymu.
- ❖ Patří sem např. **FMN, FAD a kyselina lipoová**.

- ❖ Řada koenzymů jsou **vitaminy** (nebo vitamin tvoří část molekuly koenzymu).
- ❖ Některé koenzymy jsou tvořené nukleotidem (fosfát+ribóza+dusíkatá báze).
- ❖ Koenzymy rozdělujeme nejčastěji **podle typů reakcí, na jejichž katalýze se podílejí:**



Koenzymy oxidoreduktáz	Funkce - tyto koenzymy se podílejí na přenosu atomu vodíku nebo elektronů
<a href="#">NAD<sup>+</sup></a>	přenos redukčních ekvivalentů (hydridových iontů: 2 e <sup>-</sup> , 1 H <sup>+</sup> ) z katabolických dějů do dýchacího řetězce
<a href="#">NADPH</a>	redukční činidlo biosyntetických procesů, vzniká především v pentózovém cyklu
<a href="#">FMN</a>	přenos redukčních ekvivalentů (2 e <sup>-</sup> , 2 H <sup>+</sup> ) pomocí dusíkových atomů
<a href="#">FAD</a>	přenos redukčních ekvivalentů (2 e <sup>-</sup> , 2 H <sup>+</sup> ) pomocí dusíkových atomů
<a href="#">Koenzym Q (ubichinon)</a>	součást mitochondriálního dýchacího řetězce
<a href="#">Kyselina lipoová</a>	vázána amidovou vazbou na postranní řetězec lysinu (označuje se pak jako liponamid), obsahuje intramolekulární disulfidovou vazbu, která působí oxidoredukčně a při redukci přechází na dithiol
<a href="#">Hem</a>	přenáší jen elektrony, např. mitochondriální cytochromy dýchacího řetězce, cytochrom P450
<a href="#">Glutathion</a>	antioxidant v erythrocytech, obsahuje redoxně aktivní intramolekulární disulfidovou vazbu – obdobně jako kyselina lipoová
<a href="#">Kyselina L-askorbová</a>	koenzym monoxygenáz a dioxygenáz, podíl na hydroxylaci prolinových a lysinových zbytků při syntéze kolagenu, syntéze katecholaminů a žlučových kyselin
<a href="#">Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>, THB)</a>	koenzym účastnící se hydroxylace tyrosinu, fenylalaninu, tryptofanu atd.

<b>Koenzymy transferáz</b>	<b>Funkce - tyto koenzymy umožňují přenos skupin</b>
<b>Nukleosidtrifosfáty: ATP, GTP, UTP, CTP</b>	<b>přenášejí většinou zbytek kyseliny fosforečné, součástí kináz</b>
<b>Koenzym A</b>	<b>obsahuje -SH skupinu, na kterou může thioesterovou vazbou navázat zbytek karboxylové kyseliny, např. acetylkoenzym A</b>
<b>Tetrahydrofolát (THF)</b>	<b>přenáší jednouhlíkaté zbytky (methyl, formyl, methylen)</b>
<b>Pyridoxalfosfát (PLP)</b>	<b>koenzym důležitý pro metabolismus AMK (transaminace, dekarboxylace)</b>
<b>Fosfoadenosinfosfosulfát (PAPS)</b>	<b>přenáší sulfát</b>
<b>S-adenosylmethionin (SAM)</b>	<b>přenáší methyl např. při přeměně noradrenalinu na adrenalin nebo při syntéze kreatinu, metylace DNA</b>
<b>Kobalaminy</b>	<b>koenzymy methyltransferáz – např. metylace homocysteinu na methionin</b>

## Koenzymy karboxylačních a dekarboxylačních reakcí

### Funkce – karboxylace / dekarboxylace

**Pyridoxalfosfát (PLP)**

koenzym důležitý pro metabolismus AMK (transaminace, dekarboxylace)

**Kyselina lipoová**

vázána amidovou vazbou na postranní řetězec lysinu příslušného apoenzymu → liponamid, který se účastní oxidativní dekarboxylace 2-oxokyselin

**Thiamindifosfát (TPP)**

koenzym oxidativní dekarboxylace 2-oxokyselin a transketolasy

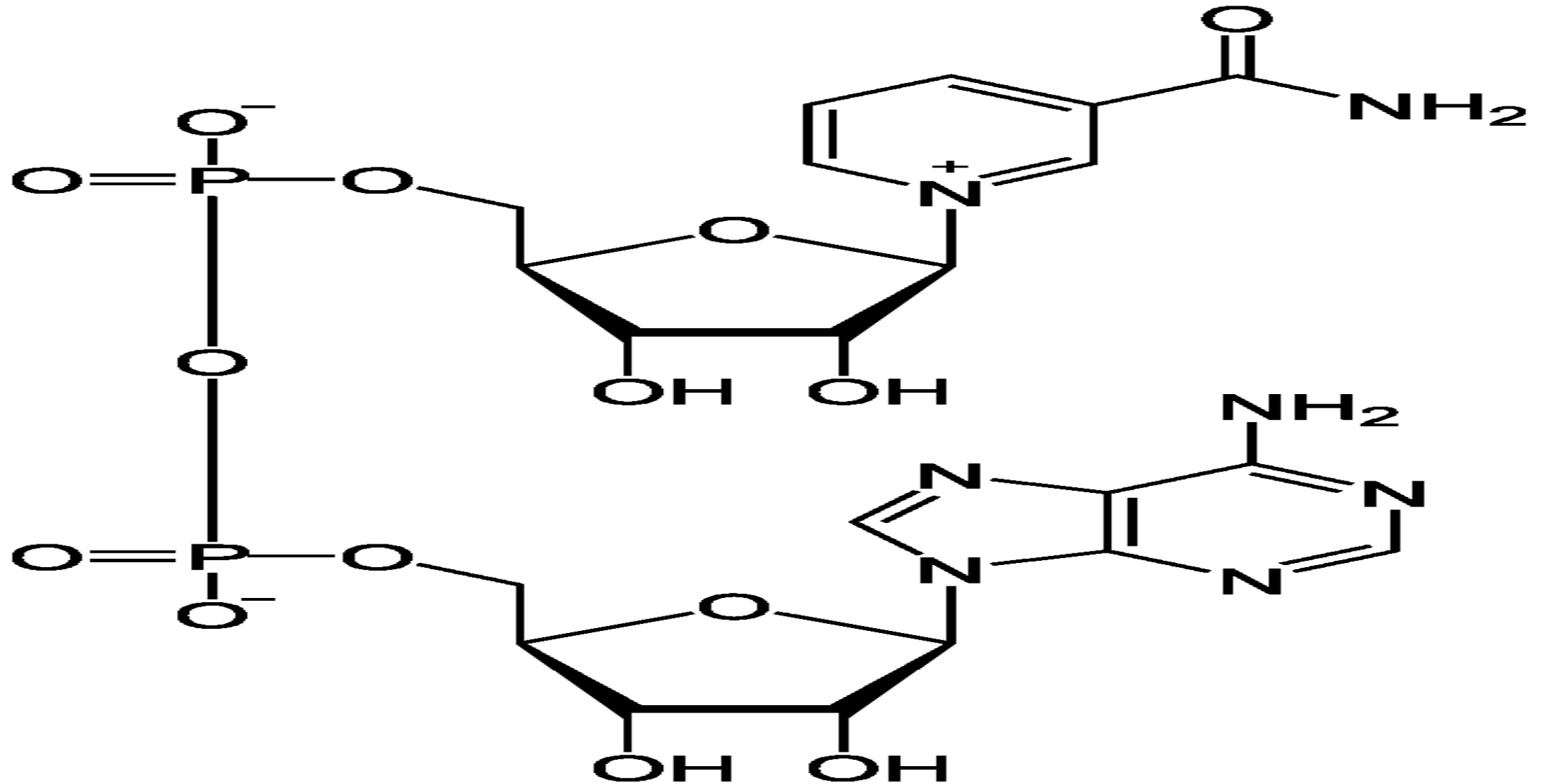
**Biotin**

koenzym všech karboxyláz, reaguje s bikarbonátem ( $\text{HCO}_3^-$ ) na karboxybiotin, který přenáší  $\text{CO}_2$  na jiné molekuly a vytváří tak v nich karboxylové skupiny ( $\text{COOH}$ ) – příkladem může být syntéza malonyl-CoA z acetyl-CoA nebo oxalacetátu z pyruvátu

## Nikotinamidové nukleotidy

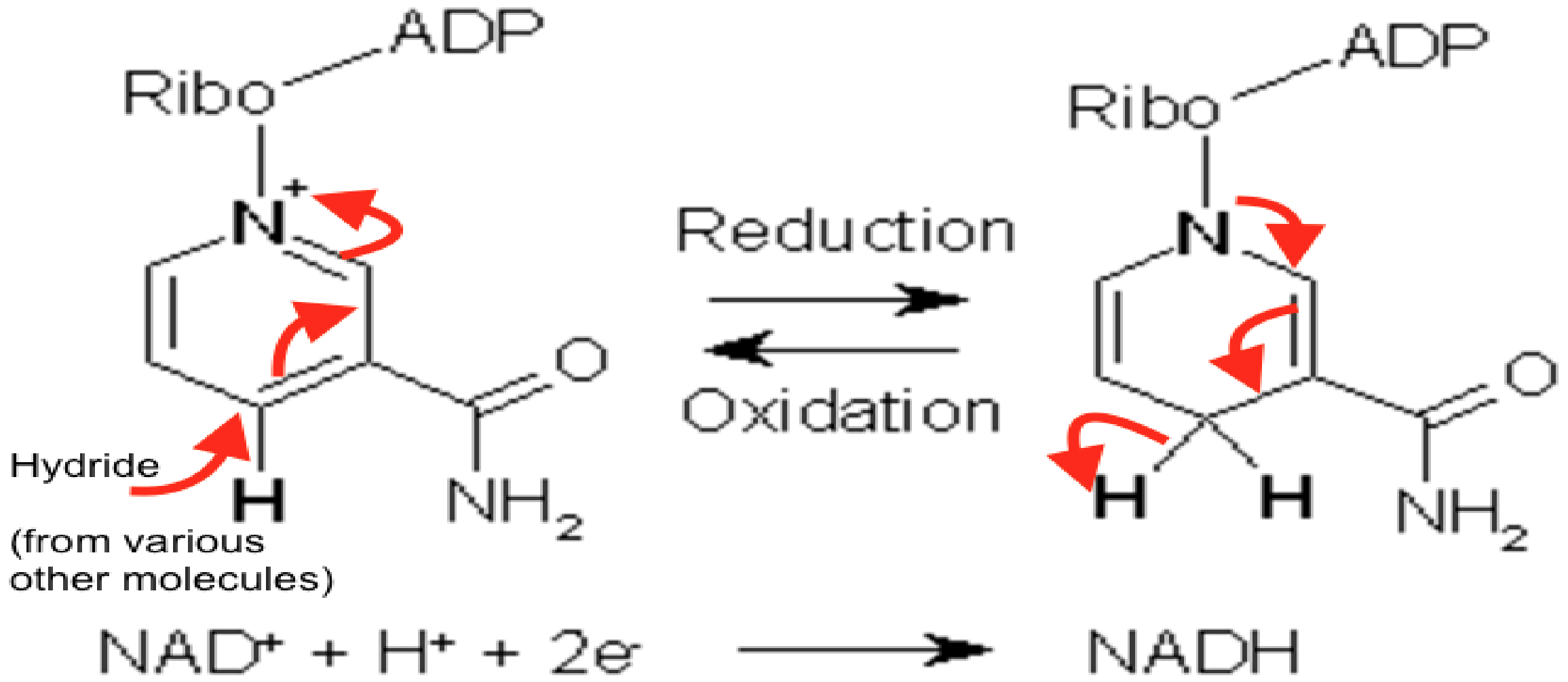
- ❖ Obsahují ve své molekule **amid kyseliny nikotinové (nikotinamid), ribózu, dva nebo tři fosfáty a adenin.**
- ❖ Jsou to **nejdůležitější přenašeče vodíku** v systému buněčného dýchání (biologické oxidace).
- ❖ Vyskytují se v každé živé buňce.
- ❖ Zúčastňují se např. **aerobní fosforylace, glykolýzy, přeměny kyseliny pyrohroznové, fotosyntézy apod.**

# NIKOTINAMIDADENINDINUKLEOTID



- ❖ Mechanismus působení nikotinamidových nukleotidů se zakládá na **vazbě vodíku ze substrátu na pyridinové jádro**, přičemž vzniká redukovaná forma.
- ❖ Vytvořením redukované formy (**NADH+H<sup>+</sup>**) **zaniká aromatický charakter pyridinového kruhu**, čímž se změní jeho absorpce světla v UV oblasti.
- ❖ Této vlastnosti se využívá v laboratořích **k velmi citlivému odlišení NAD<sup>+</sup> od NADH+H<sup>+</sup>** a tedy i všech enzymových reakcí, kterých se tyto koenzymy účastní.

# OXIDACE / REDUKCE $\text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$

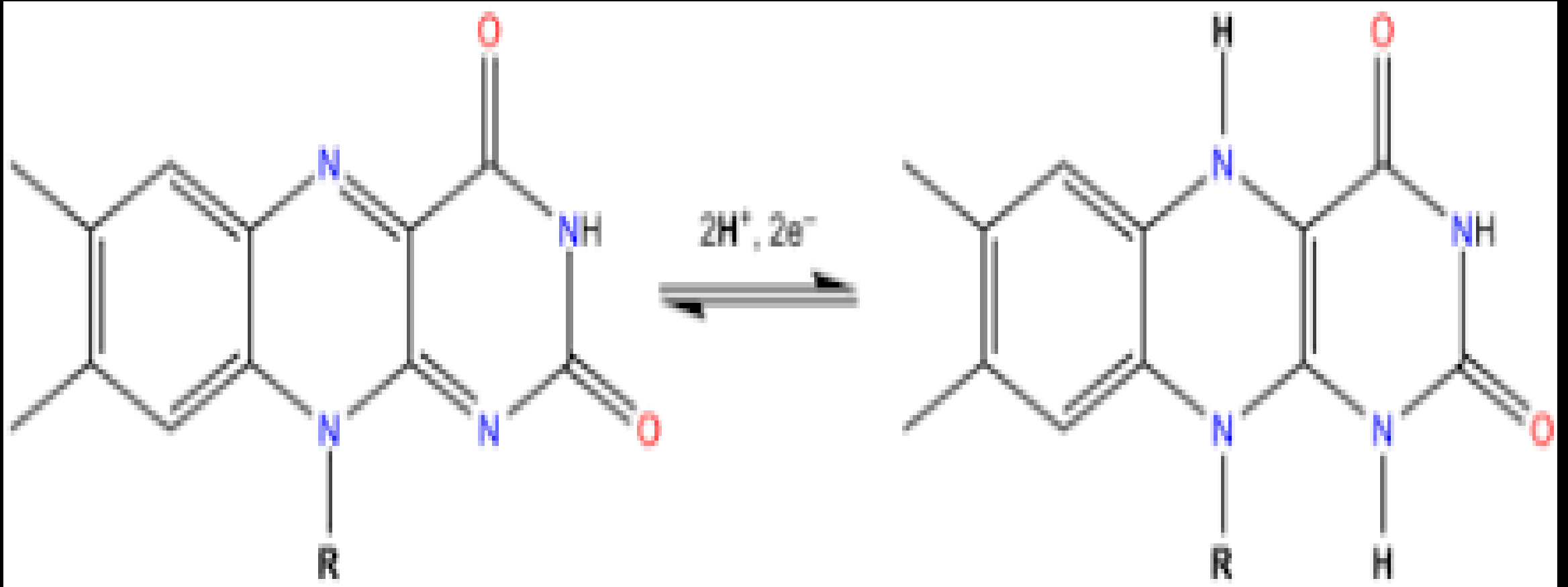


## Flavinové nukleotidy

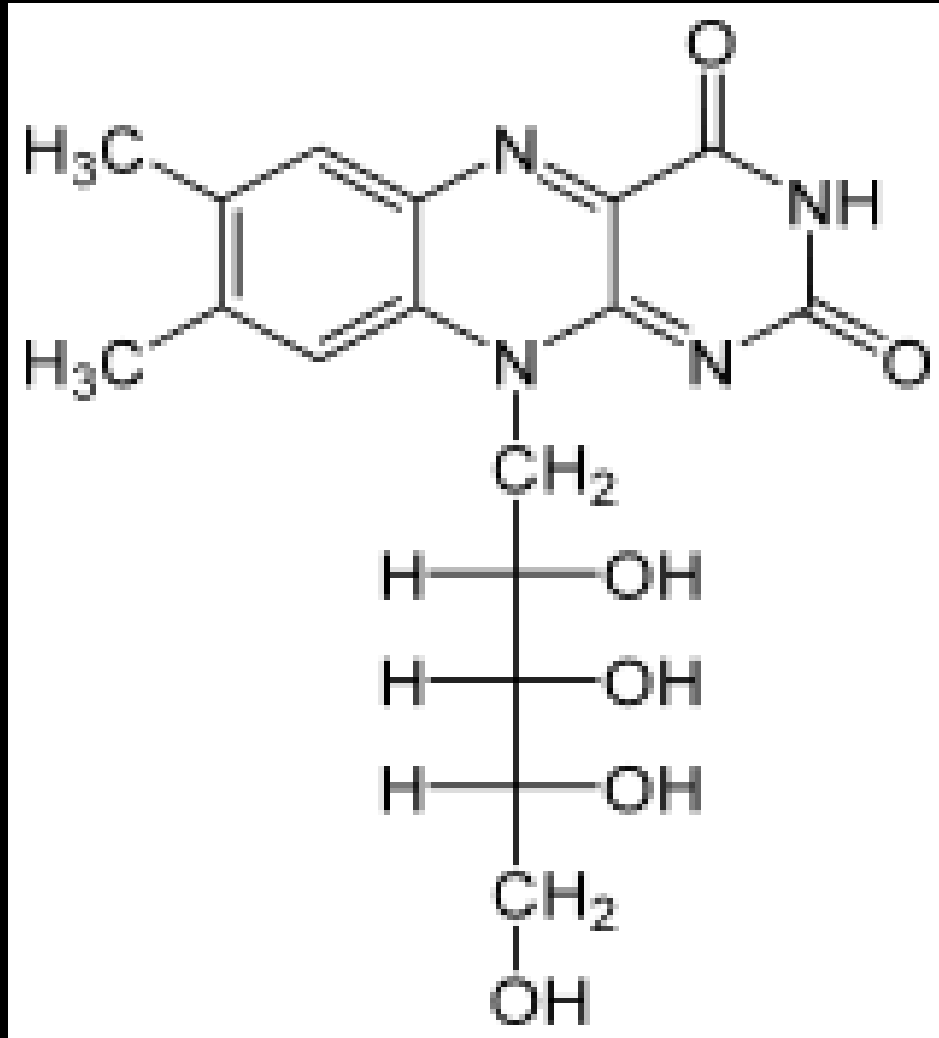
- ❖ tvoří koenzymy žlutých enzymů (**flavoproteinů**), které se účastní **přenosu vodíku a elektronů (oxidačně-redukční reakce)**
- ❖ Obsahují riboflavin ve formě riboflavin-5'-fosfátu (**flavinmononucleotid FMN**) nebo ve formě **flavinadenindinukleotidu FAD**.
- ❖ Pro **přenos vodíku** je u flavinových nukleotidů důležité **izoaloxazinové jádro**.
- ❖ Vodík se zde váže na **N<sup>1</sup> a N<sup>10</sup>** tohoto jádra.



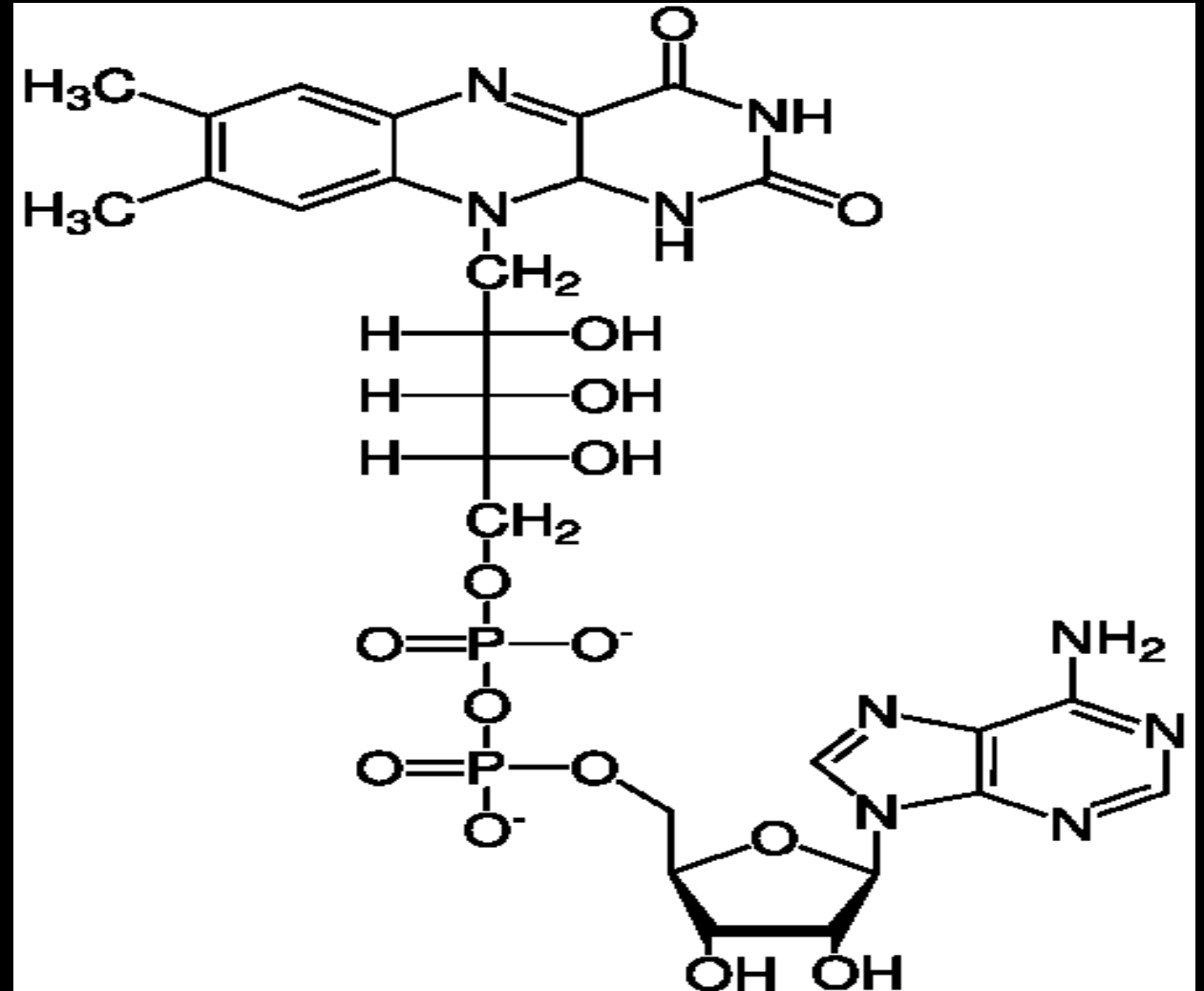
# OXIDACE / REDUKCE FAD $\leftrightarrow$ FADH<sub>2</sub>



# FLAVINMONONUKLEOTID (FMN)



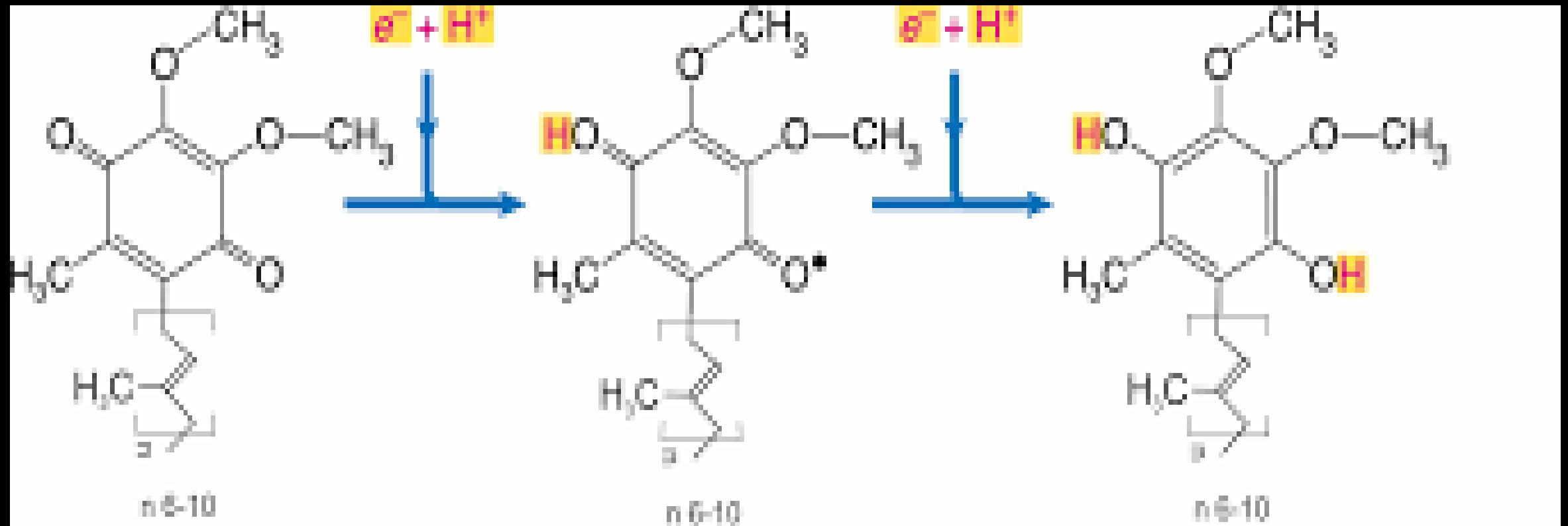
# FLAVINADENINDINUKLEOTID (FAD)



## Ubichinon (koenzym Q)

- ❖ Účastní se **oxidačně-redukčních reakcí** ve všech formách živé hmoty, ale mechanismus jeho působení není přesně znám.
- ❖ Účinnou složkou molekuly koenzymu Q je **p-chinonové jádro**, které se **vazbou vodíku ze substrátu** (redukcí) mění na **p-difenolové jádro**.
- ❖ Navíc toto jádro obsahuje navázaný vedlejší řetězec izoprenového charakteru, který se u různých organismů liší počtem uhlíkových atomů.

# OXIDACE / REDUKCE UBICHINONU



ubichinon

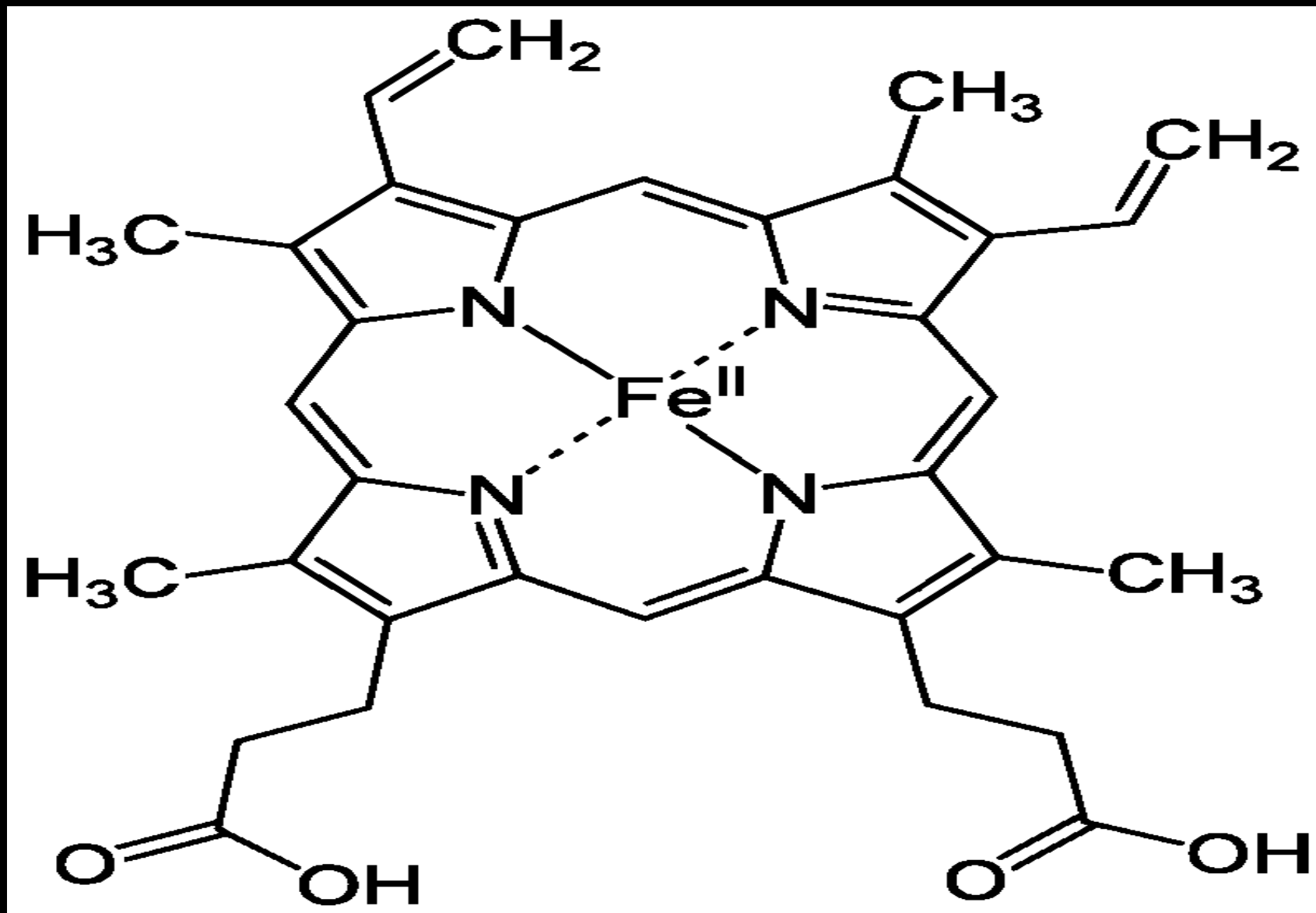
ubisemichinon  
(volný radikál)

ubichinol

## Deriváty porfyrinu

- ❖ Tvoří spolu se železem prosthetické skupiny vícero enzymů, které se účastní na **přenosu elektronů (zejména cytochromový systém)**.
- ❖ Taková prosthetická skupina se nazývá **hem**.
- ❖ Účinné enzymy se vyskytují v oxidované formě (obsahují trojmocné železo –  $\text{Fe}^{3+}$ ), která se po přijetí elektronu od vhodného donoru (obvykle flavoproteinu) mění na redukovanou formu (obsahující dvoumocné –  $\text{Fe}^{2+}$ ).

# STRUKTURA MOLEKULY HEMU b



# Adenosinfosfáty

- ❖ Jsou základními **donory a akceptory fosfátových zbytků** ( $\text{HPO}_3^-$ ) ve všech živých systémech.
  - adenosinmonofosfát AMP
  - adenosindifosfát ADP
  - adenosintrifosfát ATP
- ❖ Molekula **ATP** se skládá **z adeninu, ribózy a třech fosfátových zbytků**, z nichž **dva jsou vázány makroergickou vazbou**.
- ❖ Význam ATP spočívá v tom, že z jeho molekuly se mohou přenášet rozličné části a **aktivovat tak molekuly substrátu** pro vstup do potřebných reakcí.

# STRUKTURA ADENOSINFOSFÁTŮ (AMP, ADP, ATP)

