

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⁺** nebo **NADP⁺**.

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
NAD⁺	přenos redukčních ekvivalentů (hydridových iontů: 2 e ⁻ , 1 H ⁺) z katabolických dějů do dýchacího řetězce
NADPH	redukční činidlo biosyntetických procesů, vzniká především v pentózovém cyklu
FMN	přenos redukčních ekvivalentů (2 e ⁻ , 2 H ⁺) pomocí dusíkových atomů
FAD	přenos redukčních ekvivalentů (2 e ⁻ , 2 H ⁺) pomocí dusíkových atomů
Koenzym Q (ubichinon)	součást mitochondriálního dýchacího řetězce
Kyselina lipoová	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
Hem	přenáší jen elektrony, např. mitochondriální cytochromy dýchacího řetězce, cytochrom P450
Glutathion	antioxidant v erytrocytech, obsahuje redoxně aktivní intramolekulární disulfidovou vazbu – obdobně jako kyselina lipoová
Kyselina L-askorbová	koenzym monoxygenáz a dioxygenáz, podíl na hydroxylaci prolinových a lysinových zbytků při syntéze kolagenu, syntéze katecholaminů a žlučových kyselin
Tetrahydrobiopterin (BH₄, THB)	koenzym účastnící se hydroxylace tyrosinu, fenylalaninu, tryptofanu atd.

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

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

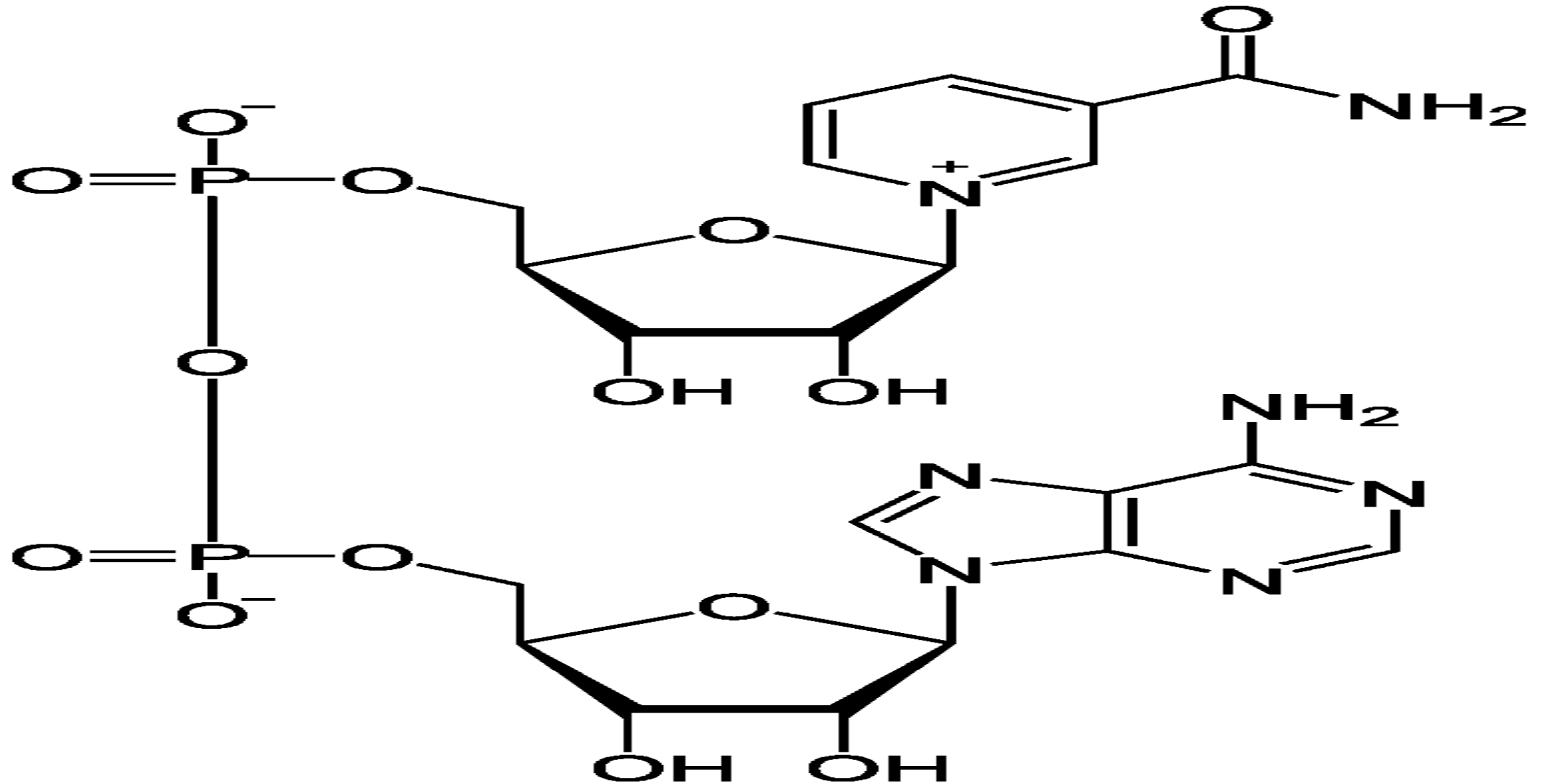
Biotin

koenzym všech karboxyláz, reaguje s bikarbonátem (HCO_3^-) na karboxybiotin, který přenáší CO_2 na jiné molekuly a vytváří tak v nich karboxylové skupiny (COOH) – příkladem může být syntéza malonyl-CoA z acetyl-CoA nebo oxalacetátu z pyruvátu

Nikotinamidové nukleotidy

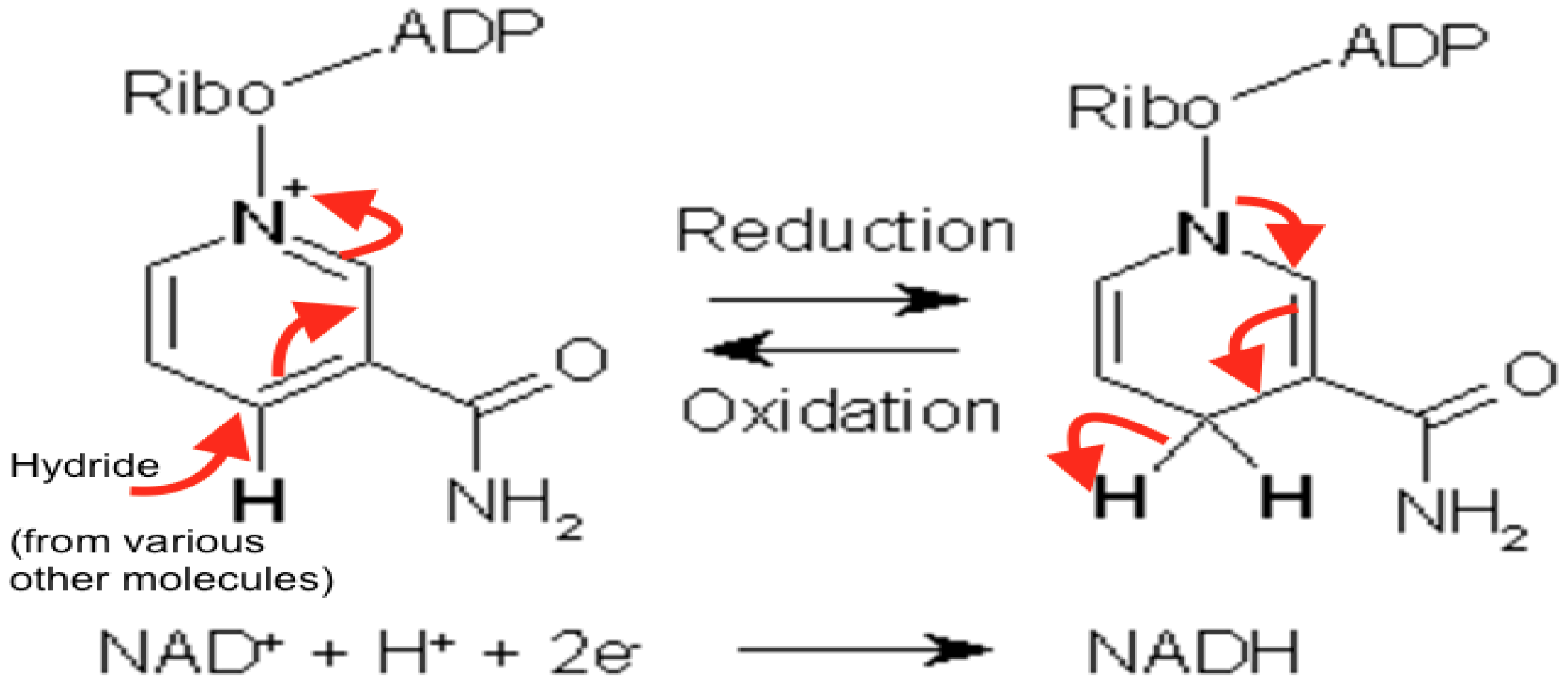
- ❖ Obsahují ve své molekule **amid kyseliny nikotinové (nikotinamid), ribózu, dva nebo tři fosfáty a adenin.**
- ❖ Jsou to **nejdůležitější přenašeče vodíku** v systému buněčného dýchání (biologické oxidace).
- ❖ Vyskytují se v každé živé buňce.
- ❖ Zúčastňují se např. **aerobní fosforylace, glykolýzy, 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⁺**) **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⁺ od NADH+H⁺** a tedy i všech enzymových reakcí, kterých se tyto koenzymy účastní.

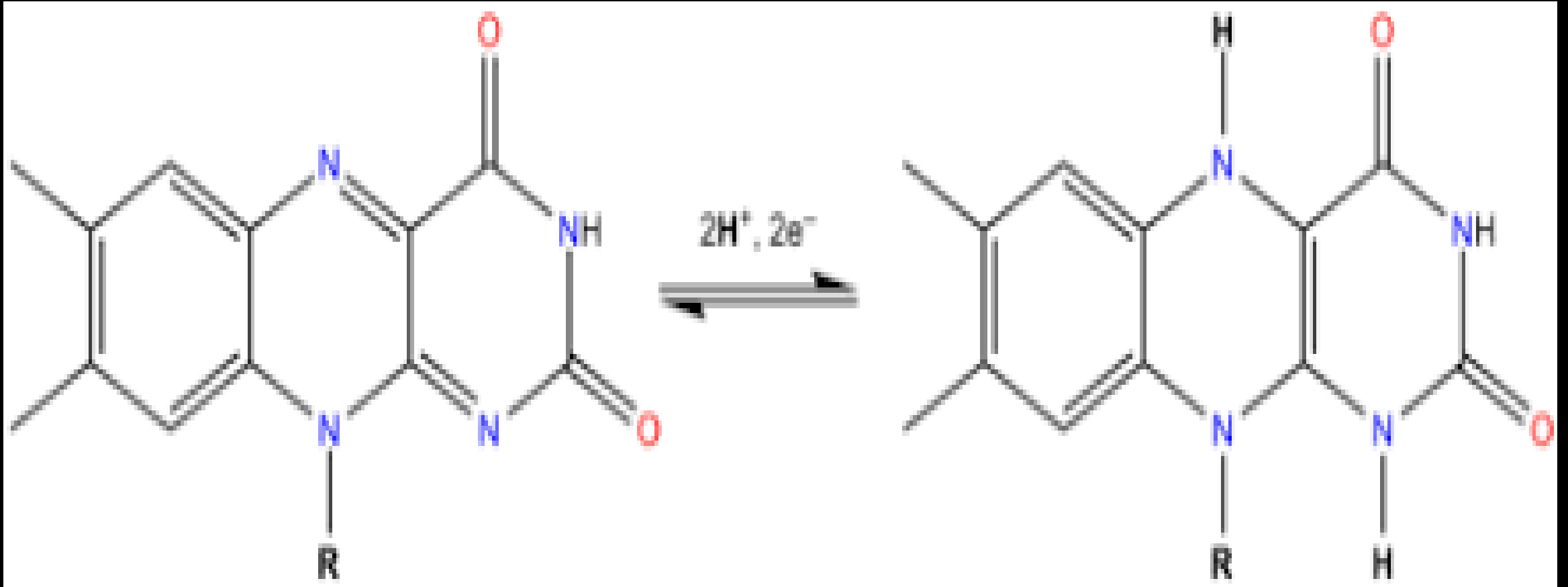
OXIDACE / REDUKCE $\text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$



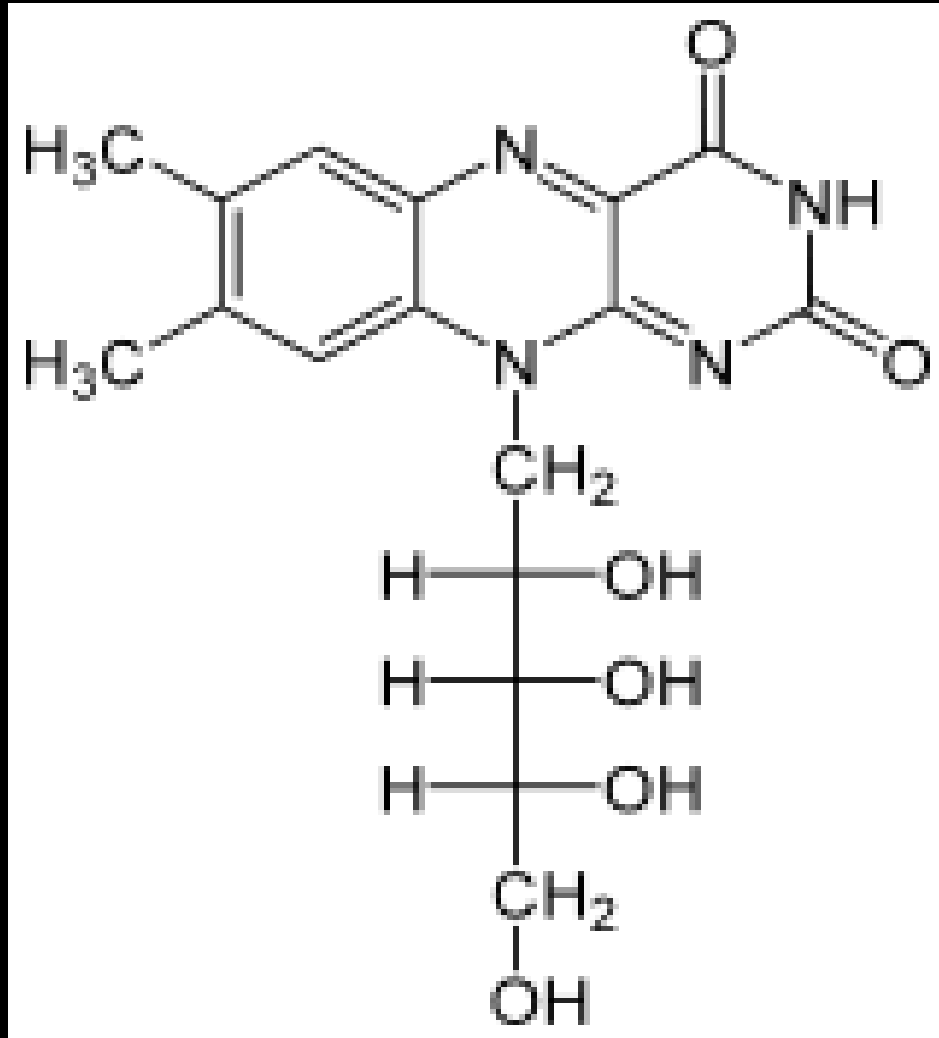
Flavinové nukleotidy

- ❖ 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 **N¹ a N¹⁰** tohoto jádra.

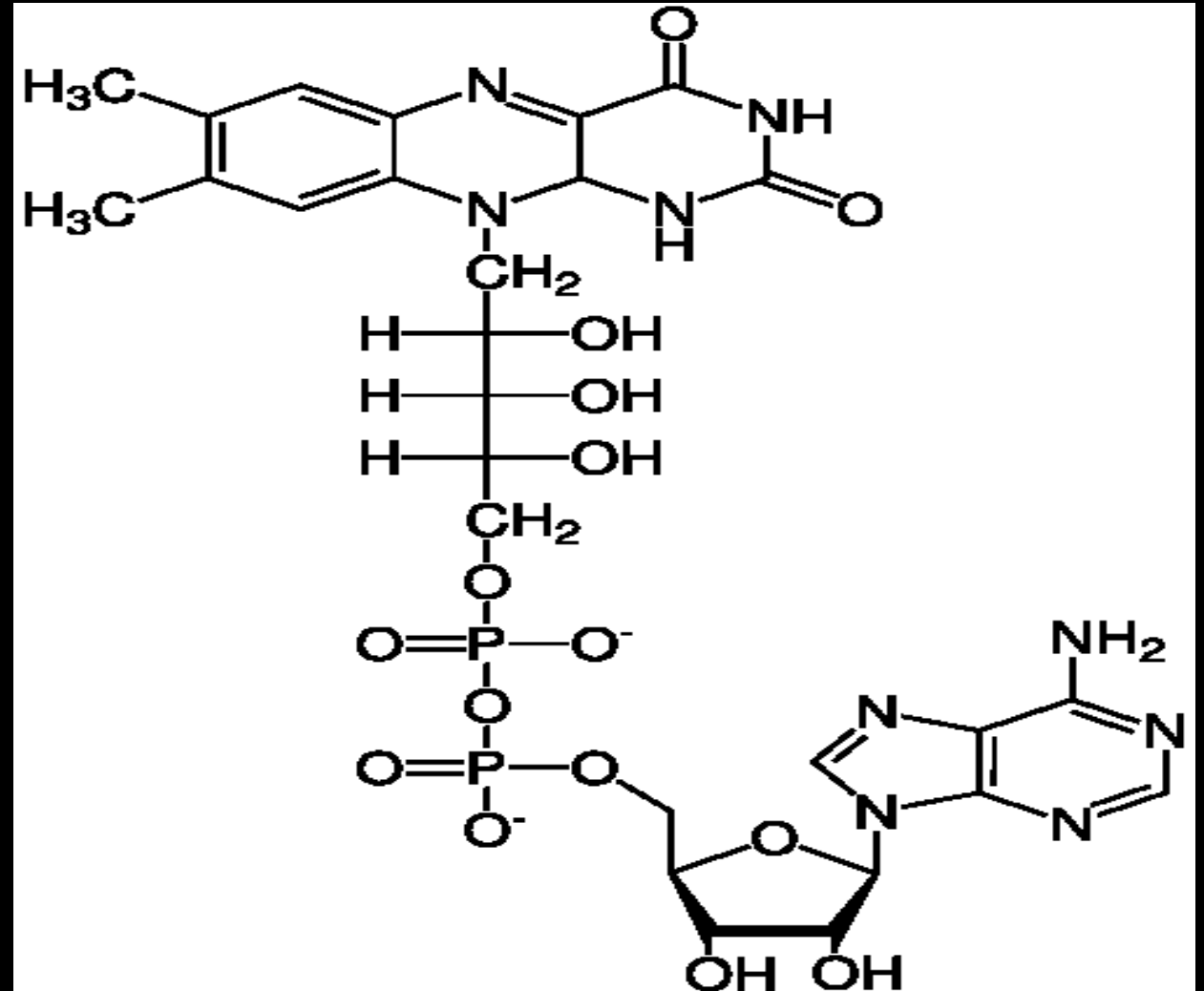
OXIDACE / REDUKCE FAD \leftrightarrow FADH₂



FLAVINMONONUKLEOTID (FMN)



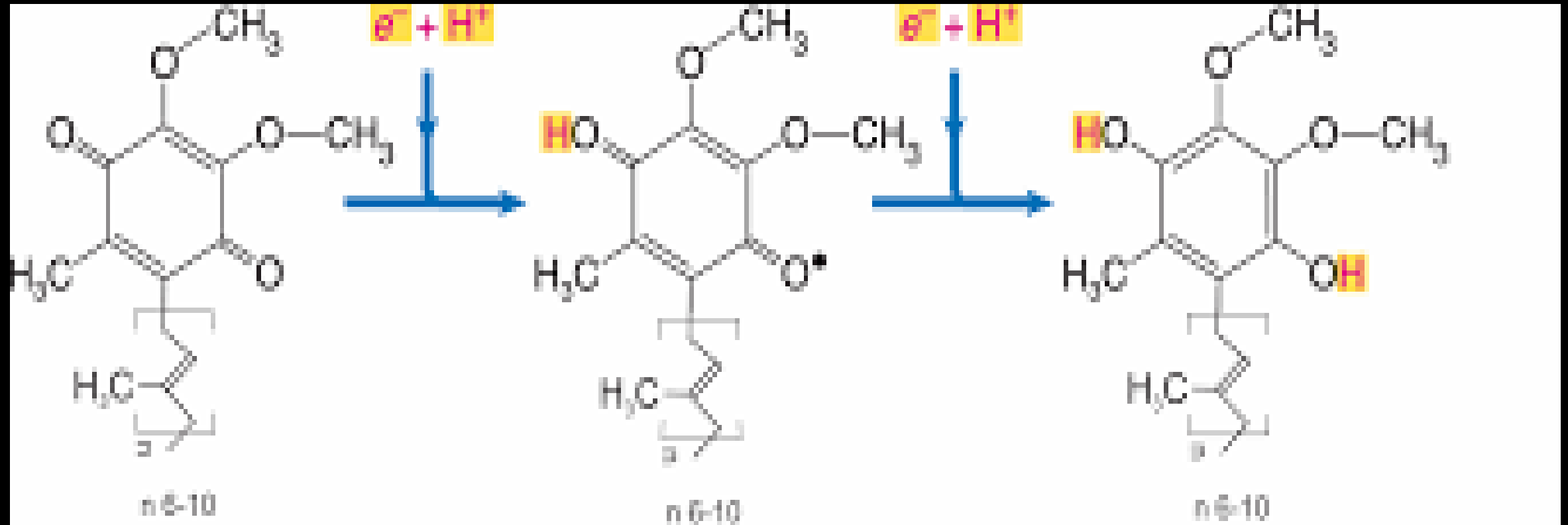
FLAVINADENINDINUKLEOTID (FAD)



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

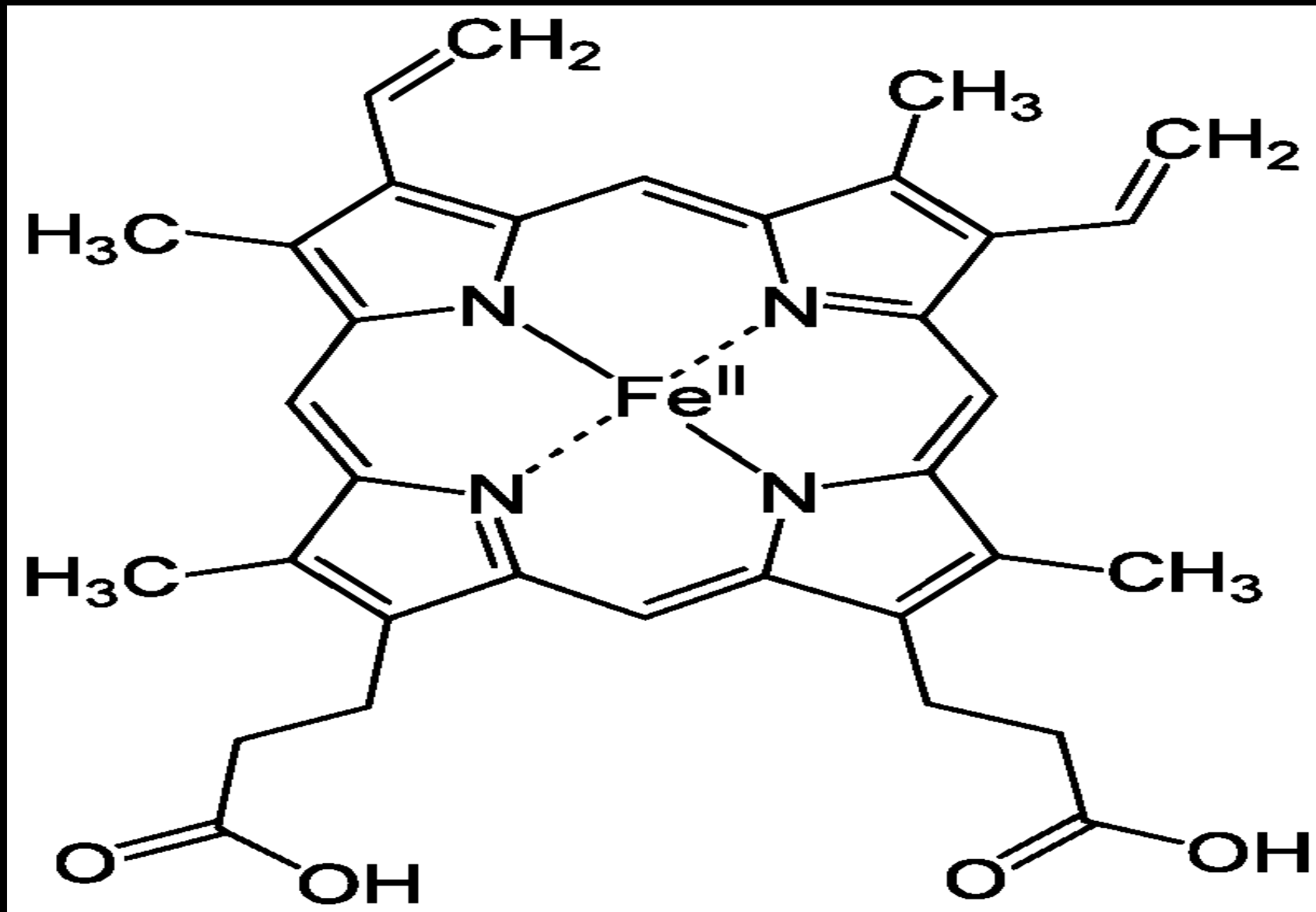
ubisemichinon
(volný radikál)

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 – Fe^{3+}), která se po přijetí elektronu od vhodného donoru (obvykle flavoproteinu) mění na redukovanou formu (obsahující dvoumocné – Fe^{2+}).

STRUKTURA MOLEKULY HEMU b



Adenosinfosfáty

- ❖ Jsou základními **donory a akceptory fosfátových zbytků** (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)

