

snímek 1

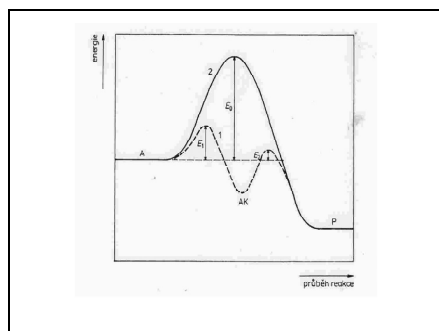
ENZYMOLOGIE

Katalýza - Berzelius 1838

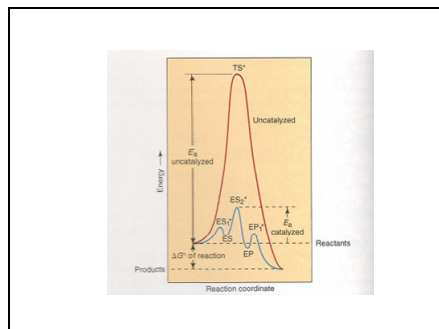
katalyzátor

- látky urychlující chemické reakce
- nemění rovnováhu chemických reakcí
- snižují aktivační energii

snímek 2



snímek 3



snímek 4

Požadavky na biokatalyzátory :

- A. Reakce musí probíhat cíleně.
- B. Musí probíhat specificky
- C. Jejich aktivita musí být přesně regulovaná

snímek 5

Biokatalyzátory

- Globulární bílkoviny – enzymy
- RNA - ribozymy

snímek 6

Historie poznání enzymů

- 1878 - KUHNEN - ENZYM - *En Zyme* - v kvasnicích
- 1860 - PASTEUR - *vis vitalis* - životní síla v kvasinkách
 - LIEBIG - *fermenty* - chemické látky
- 1897 - BUCHNER - extrakt kvasinek katalyzuje kvašení
- 1926 - SUMNER - bílkovinná povaha enzymů - ureasa

snímek 7

Enzymologie :

- studium struktury enzymů
- studium kinetiky enzymových reakcí
- studium reakčních mechanismů
- studium forem a lokalizace enzymů
- studium vztahu enzymů k patologii organismů
- praktické využití enzymů
- příprava a studium umělých enzymů

snímek 8

Názvoslovi

1. triviální - *trypsin, pepsin, ptyalin*
2. název substrátu + asa - *lipasa, amylasa*
reakce + asa - *oxidasa, hydrolasa*
3. substrát + reakce - *alkoholdehydrogenasa*
substrát₁ + substrát₂ + reakce - *alkohol: NAD-oxidoreduktasa*

snímek 9

Enzymová nomenklatura

IUB 1961 - nejnovější 1984

1. OXIDOREDUKTASY - oxi-da-ně red-uk-če-ní reakce
- *alkoholdehydrogenasa*
2. TRANSFERASY - pře-nos skupin
- *aspartaminotransferasa*
3. HYDROLASY - hydrolytické ště-pení (+ H₂O)
- *proteasy*

snímek 10

4. LYASY	- nehydrolytické štěpení (bez H ₂ O) - <i>karbonátanhydrasa</i>
5. IZOMERASY	- přesuny atomů a skupin - <i>glukosofosfátizomerasa</i>
6. LIGASY	- vznik vazby za současného rozkladu ATP - <i>asparaginsynthetasa</i>

snímek 11

1. Oxidoreduktázy	$A_{ox} + B_{ox} \rightleftharpoons A_{red} + B_{red}$
2. Transferázy	$A + B + C \rightleftharpoons A-C + B$
3. Hydrolázy	$A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$
4. Lyázy	$\begin{matrix} X & Y \\ & \\ A & -B \end{matrix} \rightleftharpoons A + B + X-Y$
5. Izomerázy	$\begin{matrix} X & Y \\ & \\ A & -B \end{matrix} \rightleftharpoons \begin{matrix} Y & X \\ & \\ A & -B \end{matrix}$
6. Ligázy	$A + B + ATP \rightleftharpoons A-B + ADP + P$

snímek 12

Oxidoreductase

$$\begin{array}{ccc}
 \begin{matrix} CH_3-CHCOO^- \\ | \\ OH \\ \text{Lactate} \end{matrix} & \begin{matrix} NAD^+ & NADH + H^+ \\ \swarrow & \searrow \\ NADH + H^+ & NAD^+ \end{matrix} & \begin{matrix} CH_3C(=O)COO^- \\ | \\ B \\ \text{Pyruvate} \end{matrix}
 \end{array}$$

Common name: Lactate dehydrogenase
 Official name: L-Lactate:NAD⁺ oxidoreductase
 Official number: 1.1.2.3

Transferase

$$(dNMP)_n + dNTP \rightleftharpoons (dNMP)_{n+1} + PP_i$$

(dNMP)_n = DNA with n nucleotides
 (dNMP)_{n+1} = DNA with n + 1 nucleotides
 PP_i = Pyrophosphate
 Common name: DNA polymerase
 Official name: Deoxynucleoside triphosphate:DNA deoxynucleosyltransferase (DNA directed)
 Official Number: 2.7.7.7

snímek 16

Vyjadřování aktivit enzymů :

- smluvené jednotky
- IU - International Unit - mezinárodní jednotka (IUB 1961)
 - počet mikromolů přeměněného substrátu za minutu
- kat - katal (IUB 1971)
 - počet molů přeměněného substrátu za sekundu

Specifická aktivita - aktivita vztahovaná na mg bílkoviny

Číslo přeměny - počet molů substrátu přeměněných molem enzymu za jednu sekundu

snímek 17

STRUKTURA ENZYMŮ

ENZYMY / jednoduché
\ složité

KOFAKTOR + APOENZYM → Holoenzym

ORGANICKÁ LÁTKA / prostetická skupina - kovalentní vazba
\ koenzym - disociabilní

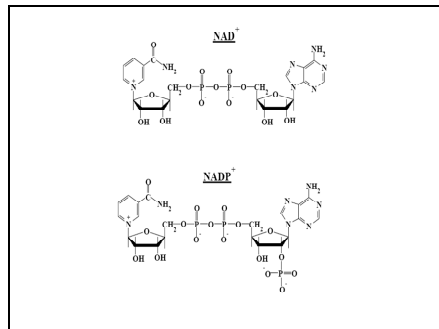
snímek 18

Kofaktor - kovový ion nebo organická látka

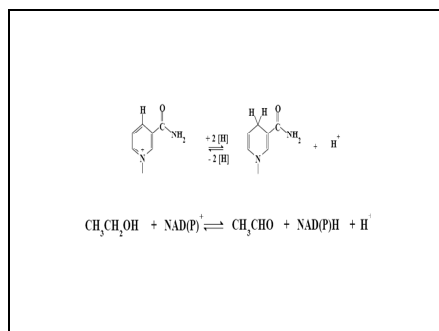
METALOENZYMY

kovový ion	enzym
Zn ²⁺	alkoholdehydrogenasa alkalická fosfatasa karbonátanhydrasa
Mg ²⁺	fosfolhydrolasy fosfotransferasy
Mn ²⁺	arginasa
Fe ²⁺ , Fe ³⁺	cytochromy peroxidasa katalasa
Cu ²⁺ , Cu ⁺	tyrosinasa diaminoxidasa

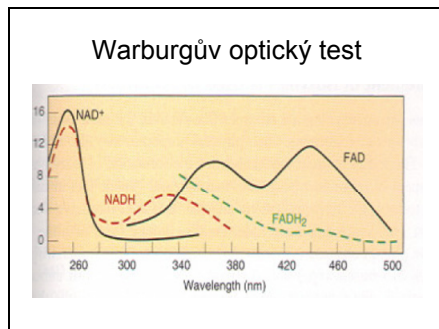
snímek 22



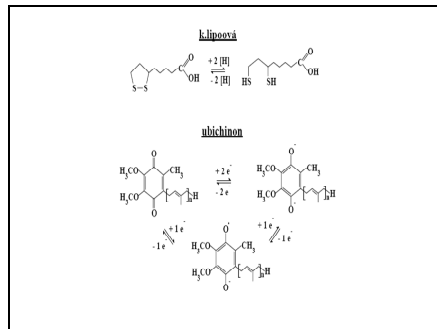
snímek 23



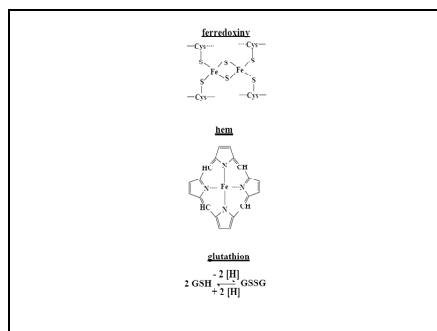
snímek 24



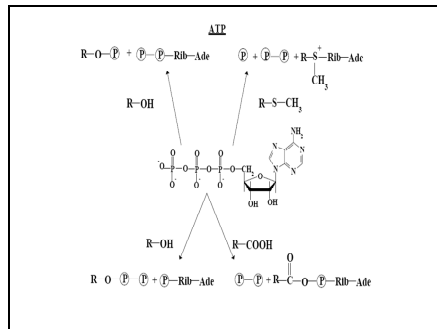
snímek 28



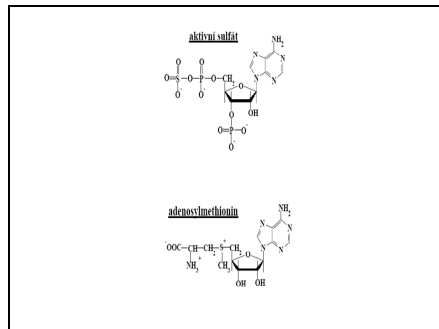
snímek 29



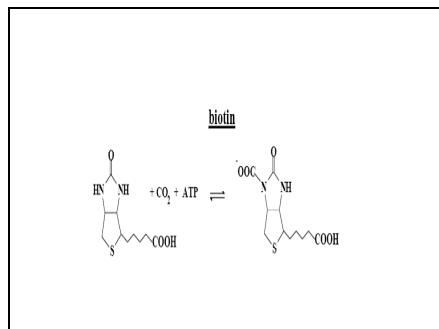
snímek 30



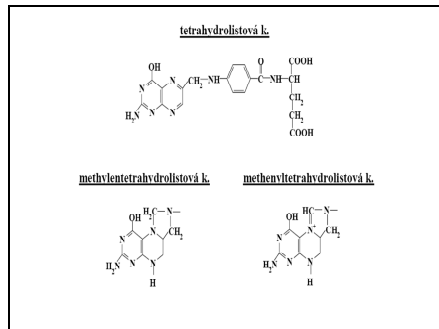
snímek 31



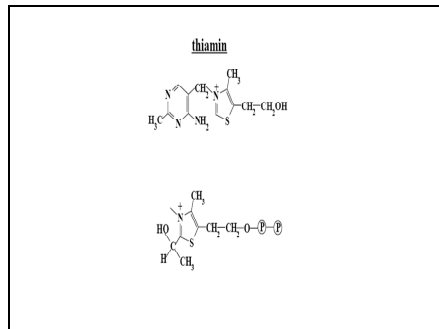
snímek 32



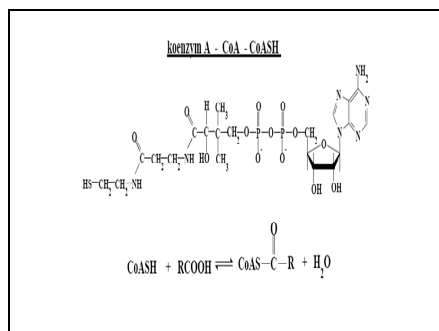
snímek 33



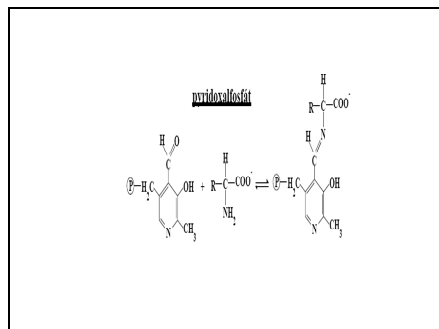
snímek 34



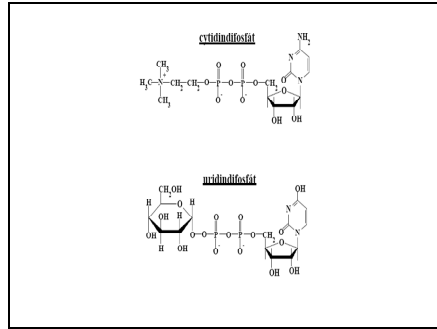
snímek 35



snímek 36



snímek 37



snímek 38

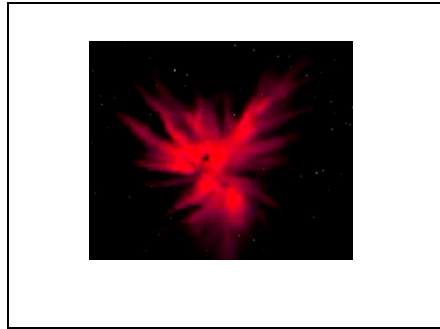
Lvasy a ligasy - bez kofaktoru nebo již popsáným kofaktorem TPP
Hydrolasy - bez kofaktoru
Izomerasy - většinou bez kofaktoru nebo kobalamin,

snímek 39

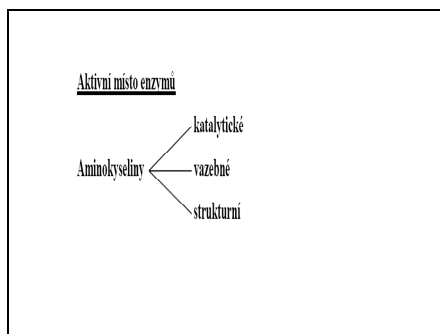
Enzymové bílkoviny

- monomerní
- oligomerní
- multienzymové komplexy

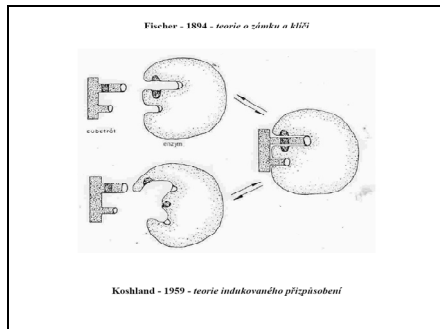
snímek 40



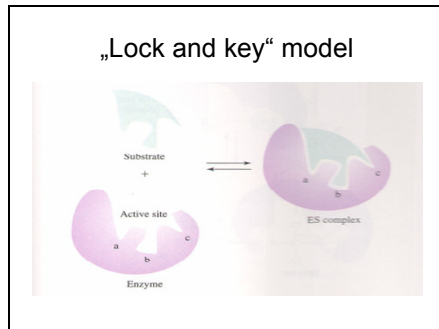
snímek 41



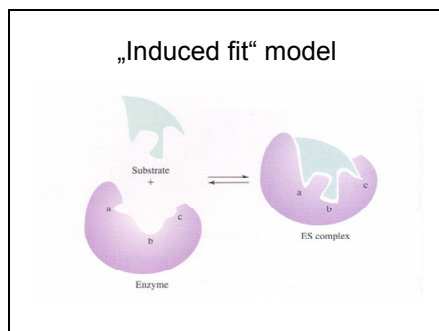
snímek 42



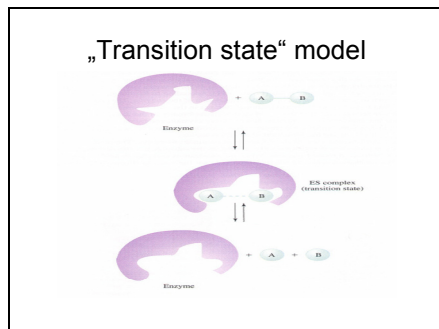
snímek 43



snímek 44



snímek 45



snímek 46

Aktivní místo

- Efekt přiblížení – překryv orbitalů
- Specifické mikroprostředí – pH, I, hydrofobita atd
- Dehydratace
- Koncentrační efekt - 10^5
- Vhodná orientace

snímek 47

Aktivační energie

↓

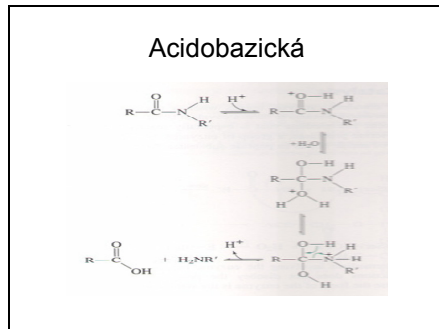
Uvolněna při vazbě substrátu na enzym

snímek 48

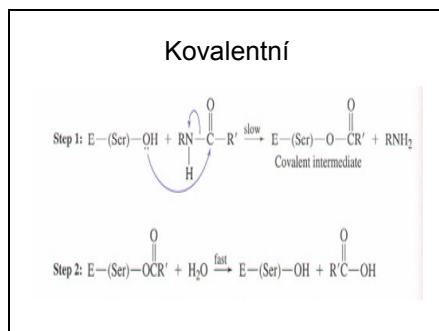
Mechanismus katalýzy

- Acidobazická
- Kovalentní
- Kovovými ionty
- Elektrostatická interakce
- Proximitní a orientační
- Přednostní vazbu přechodného komplexu

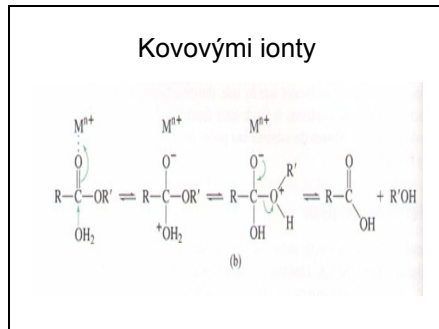
snímek 49



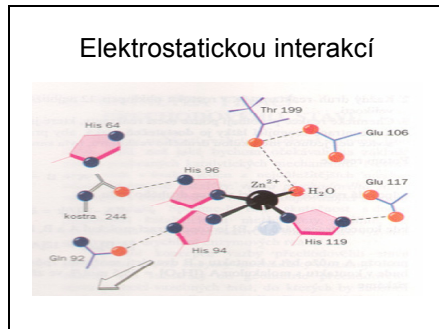
snímek 50



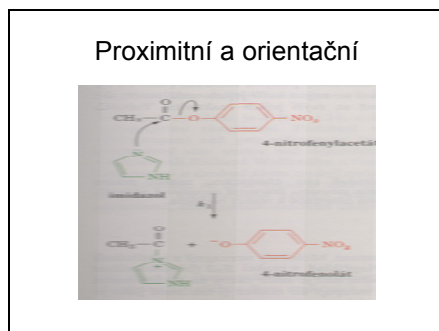
snímek 51



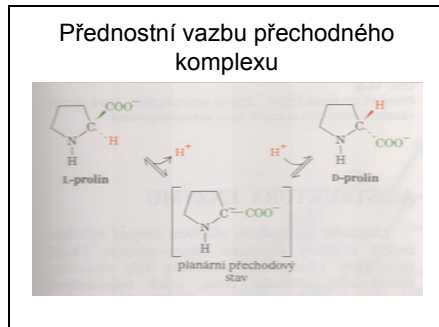
snímek 52



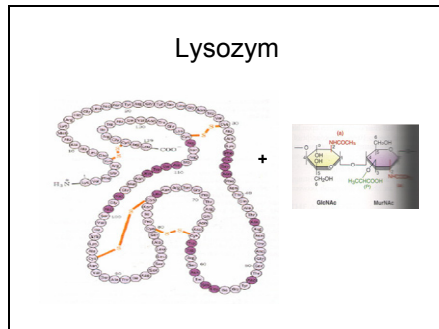
snímek 53



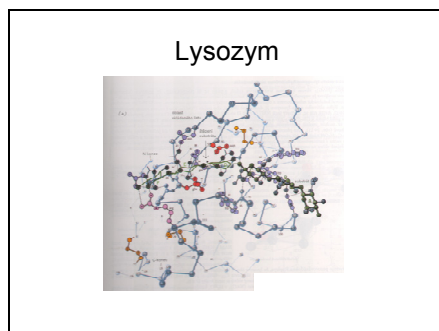
snímek 54



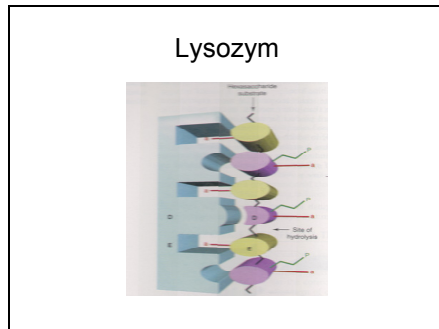
snímek 55



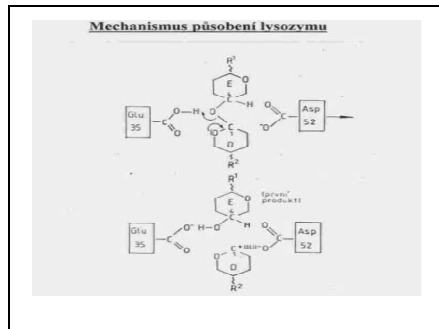
snímek 56



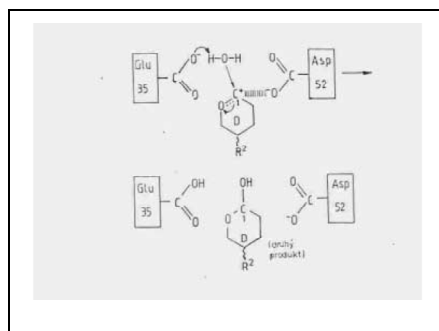
snímek 57



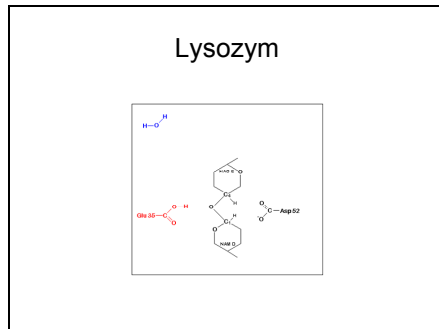
snímek 58



snímek 59



snímek 60



snímek 61

• Fosfotriosomerasa



snímek 62

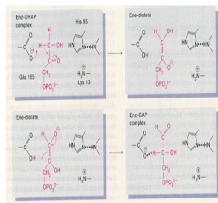
• Fosfotriosomerasa

- Glu165
- His95
- Lys13



snímek 63

• Mechanismus působení PTI



snímek 64

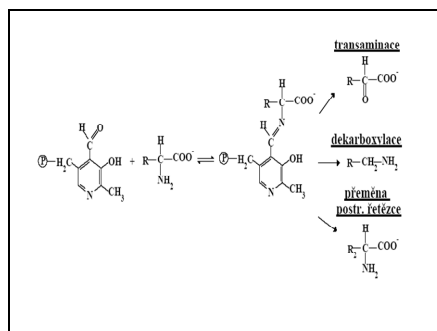
Specifita enzymové reakce

specifita reakční - účinku - jaká reakce proběhne

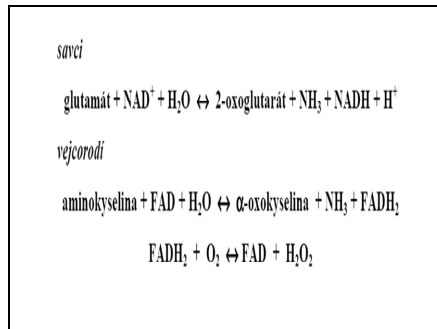
specifita substrátová - absolutní

- skupinová
- stereospecifita

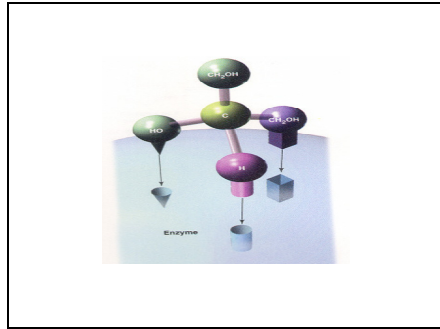
snímek 65



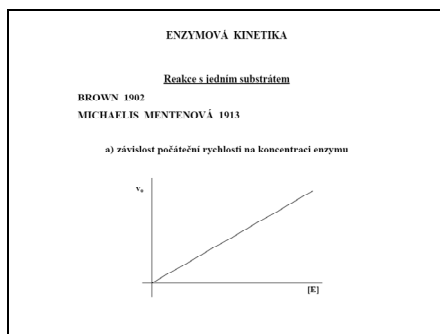
snímek 66



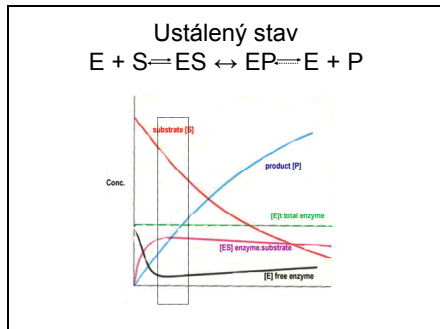
snímek 67



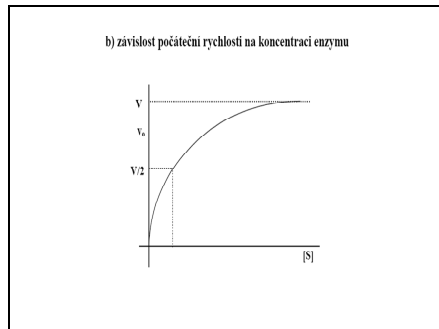
snímek 68



snímek 69



snímek 70



snímek 71

Rovnice Michaelis-Mentenové

$$v = \frac{V \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

v - počáteční reakční rychlost
 V - maximální (limitní) reakční rychlost
 Km - Michaelisova konstanta

snímek 72

$$v = \frac{V \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

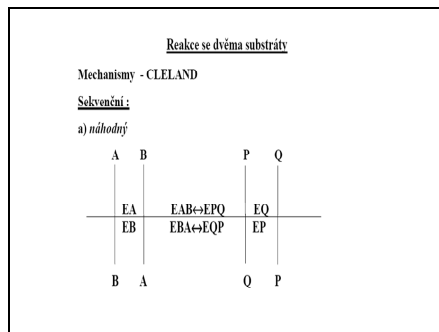
$[S] \gg K_m \quad v = \frac{V \cdot [S]}{[S]} = V$

$[S] \ll K_m \quad v = \frac{V \cdot [S]}{K_m} = \text{konst.} \cdot [S]$

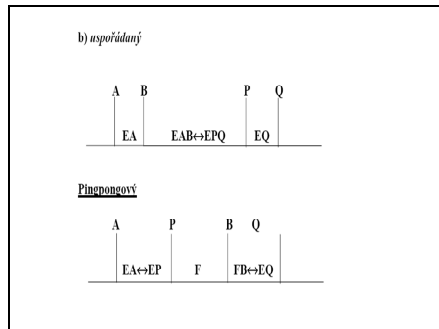
snímek 76

Enzyme	Substrate	k_3 (per second)
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	25,000
Penicillinase	Benzylpenicillin	2,000
Lactate dehydrogenase	Lactate	1,000
Chymotrypsin	Glycylthrosylglycine	100
DNA polymerase	DNA	15
Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase	Ribulose 1,5-bisphosphate + CO_2	3.3
Ribulose 1,5-bisphosphate oxygenase	Ribulose 1,5-bisphosphate + O_2	2.4

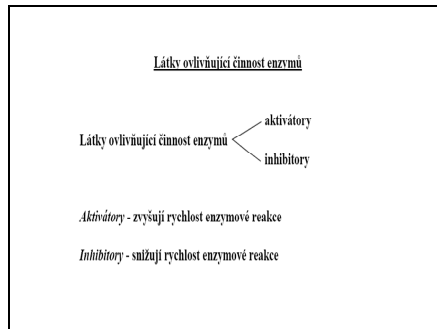
snímek 77



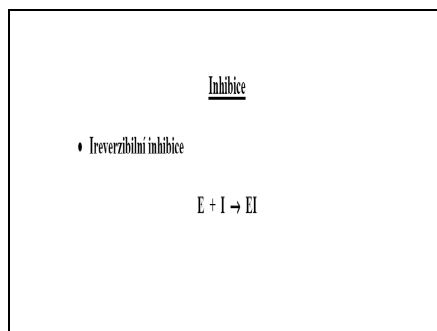
snímek 78



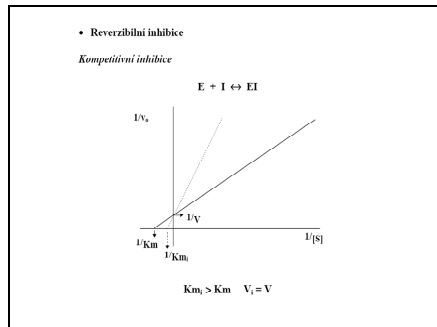
snímek 79



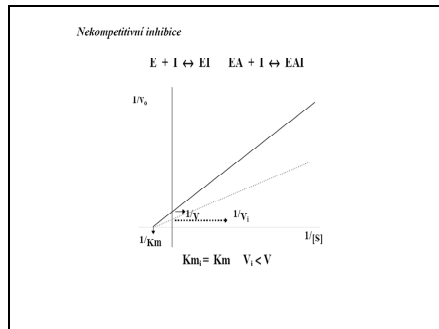
snímek 80



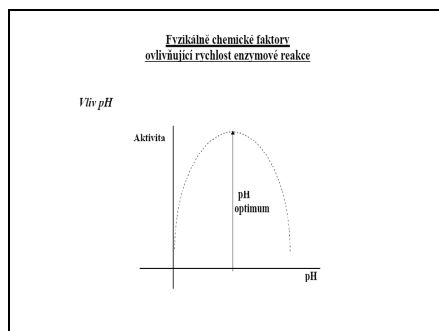
snímek 81



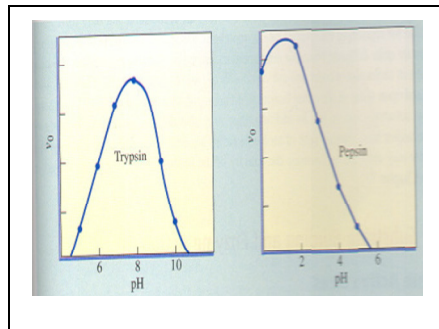
snímek 82



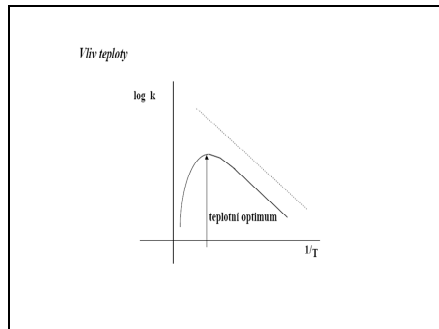
snímek 83



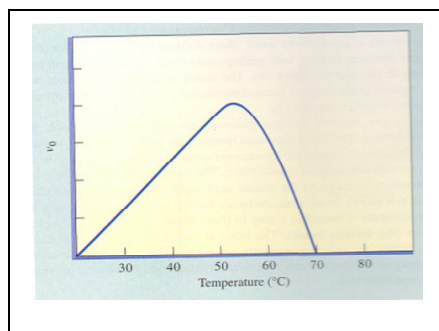
snímek 84



snímek 85



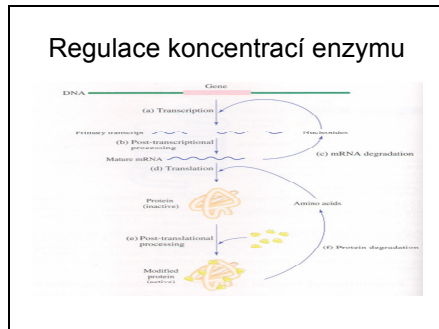
snímek 86



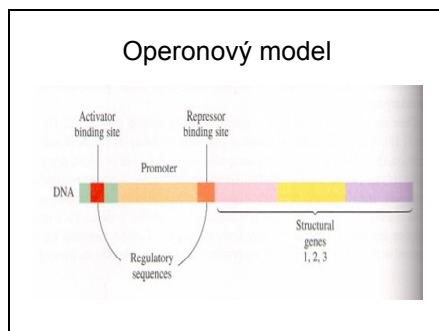
snímek 87

- Regulace činnosti enzymu
- Regulace koncentrace enzymu
 - Allosterická regulace MONOD 1963
 - Regulace zpětnou vazbou
 - Regulace kovalentní modifikací
 - Kompartmentace

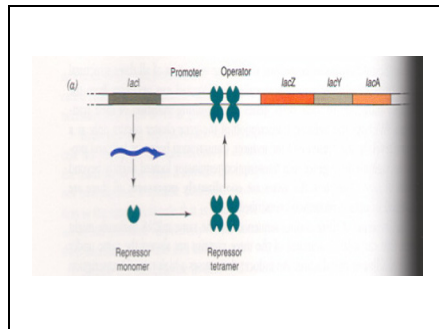
snímek 88



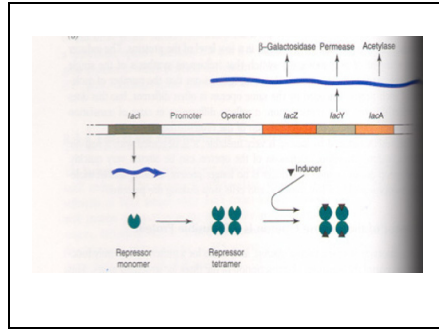
snímek 89



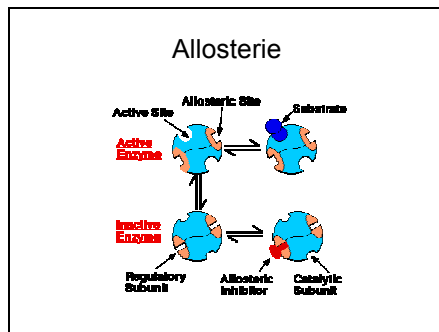
snímek 90



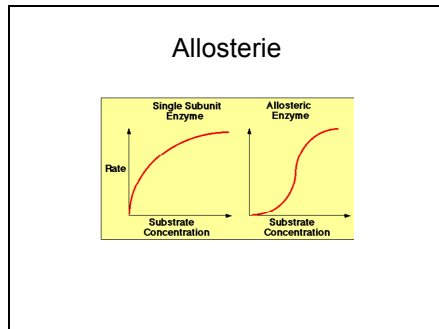
snímek 91



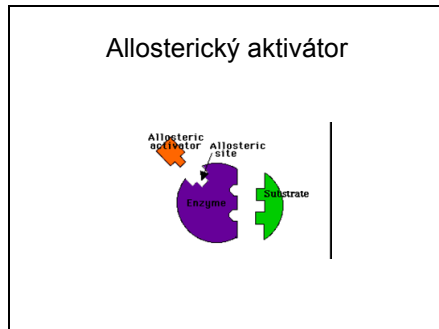
snímek 92



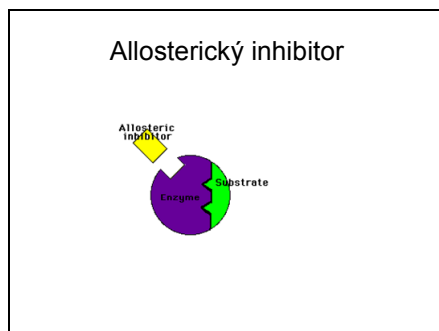
snímek 93



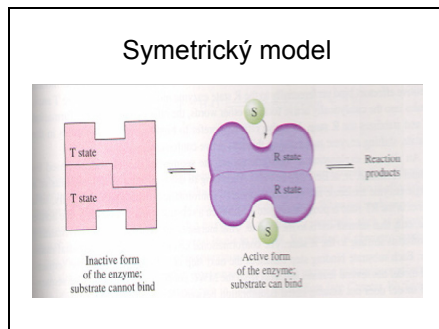
snímek 94



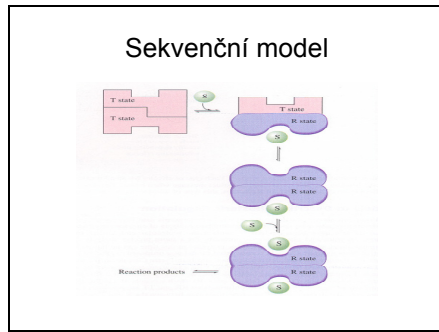
snímek 95



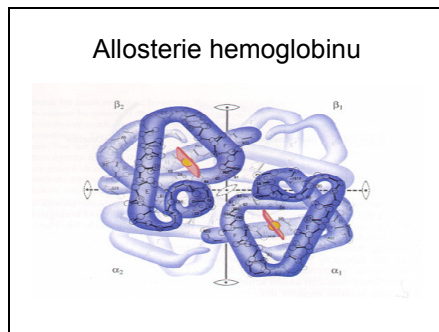
snímek 96



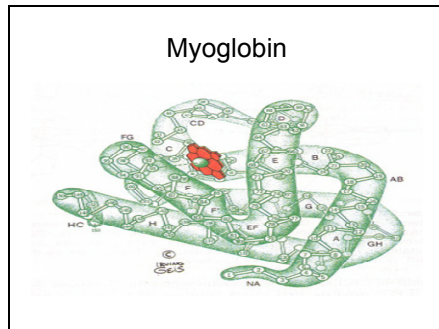
snímek 97



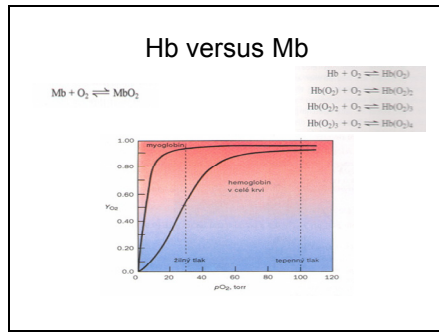
snímek 98



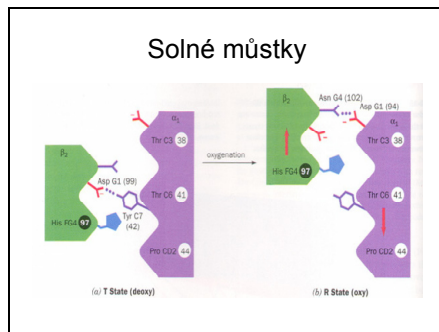
snímek 99



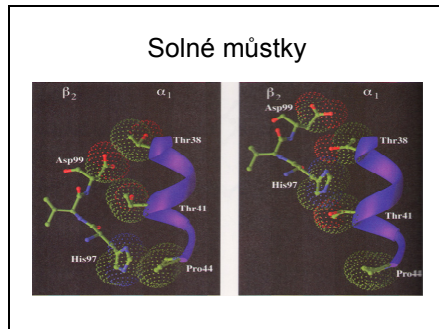
snímek 103



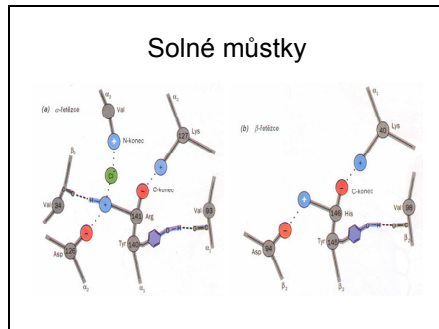
snímek 104



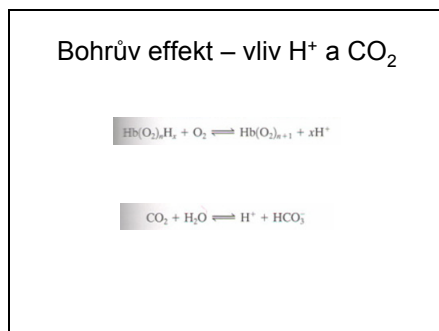
snímek 105



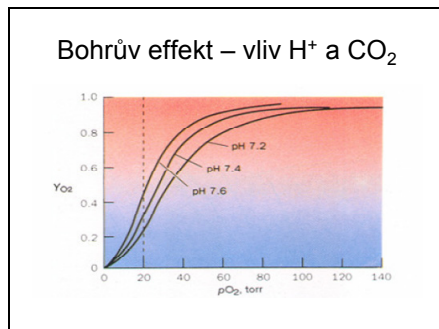
snímek 106



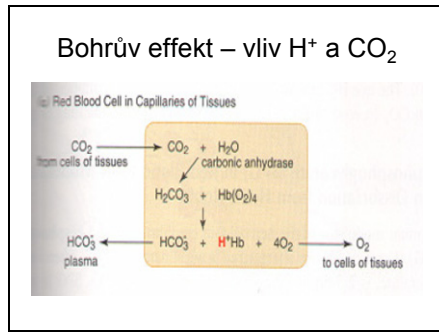
snímek 107



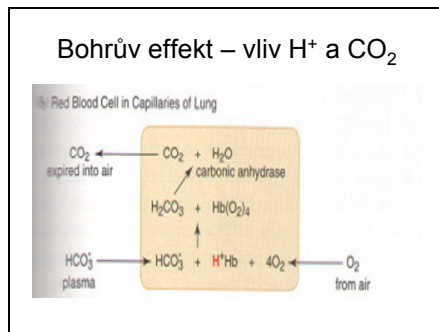
snímek 108



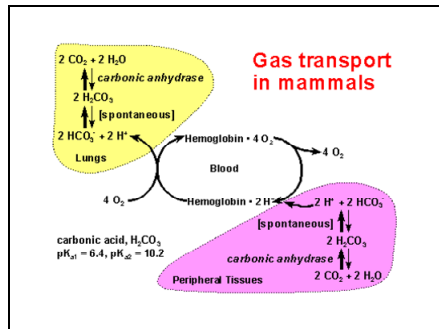
snímek 109



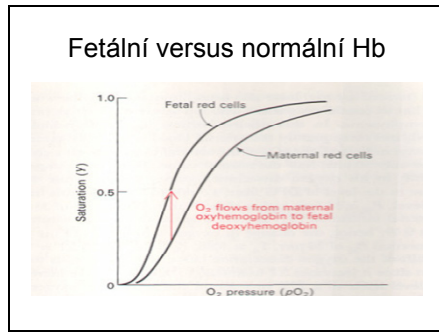
snímek 110



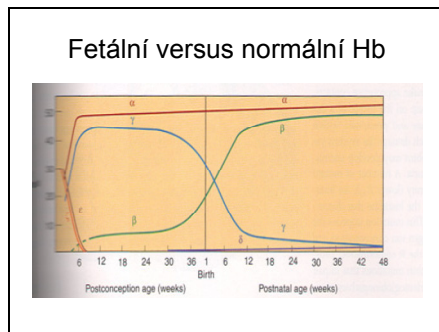
snímek 111



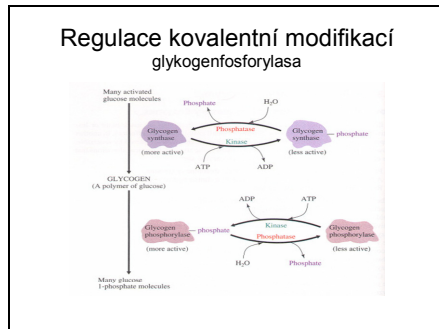
snímek 115



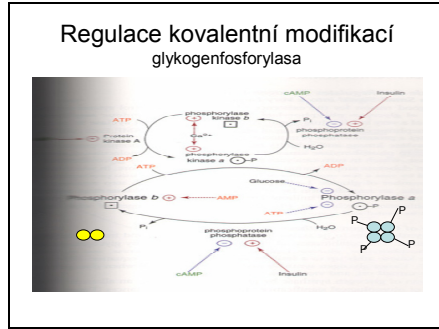
snímek 116



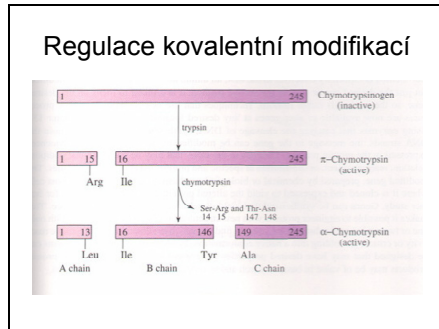
snímek 117



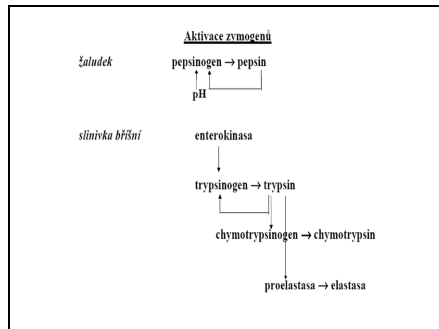
snímek 118



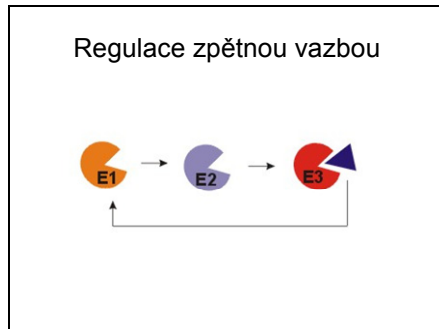
snímek 119



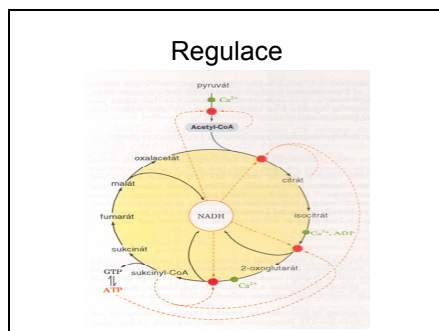
snímek 120



snímek 121



snímek 122



snímek 123

- Využití enzymů
- bioanalytická chemie
 - stanovení substrátů
 - stanovení inhibitorů
 - nepřímé stanovení
 - lékařství
 - průmyslové využití
 - průmyslové využití
 - prací prostředky
 - krmivářství
 - potravinářství
 - farmacie
 - enzymová katalýza v organické chemie

snímek 124

Umělé enzymy

- Synzymy
- Abzymy

snímek 125

Abzymy

(a) Transition state analog

(b) Substrate-(R) isomer

(c) Substrate-(S) isomer

snímek 126

Ribozymy – katalytická RNA
1989 Nobelova cena

- Altman (Yale University) ribonukleasa P
- Cech (University of Colorado) mRNA
