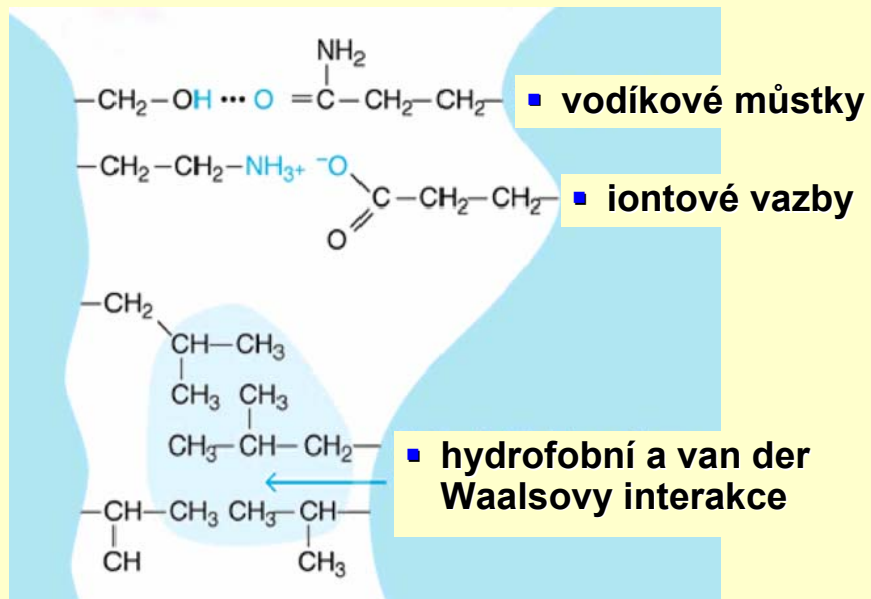
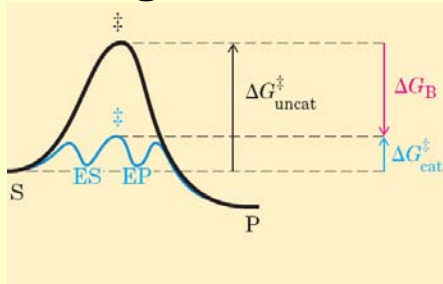


Mechanismy enzymové katalysy. Základní principy, typické příklady.

Zúčastněné typy interakcí

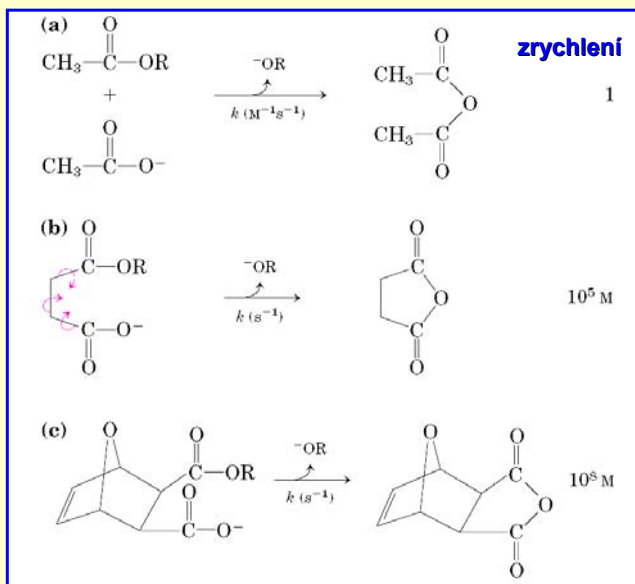


Energetické hledisko



- zrychlení 1-substrátové reakce 10x vyžaduje za podmínek v buňce snížení o 5,7 kJ/mol, přitom energie uvolněná vznikem slabé interakce poskytne 4 až 30 kJ/mol, což při mnoha slabých interakcích dělá 60 až 100 kJ/mol

- koncepčně jasné pojmy katalysa a specifita se experimentálně těžce odlišují - obě se uplatňují při účinku enzymu
- specifita je daná vznikem mnoha slabých interakcí mezi molekulou enzymu a substrátu - optimální jsou v tranzitním stavu
- při katalyse se může paralelně uplatnit několik možných mechanismů (těžce se odlišují experimentálně)
- faktory přispívající k energii přechodového stavu:
 - 1) snížení entropie - omezená volnost pohybu dvou molekul v roztoku

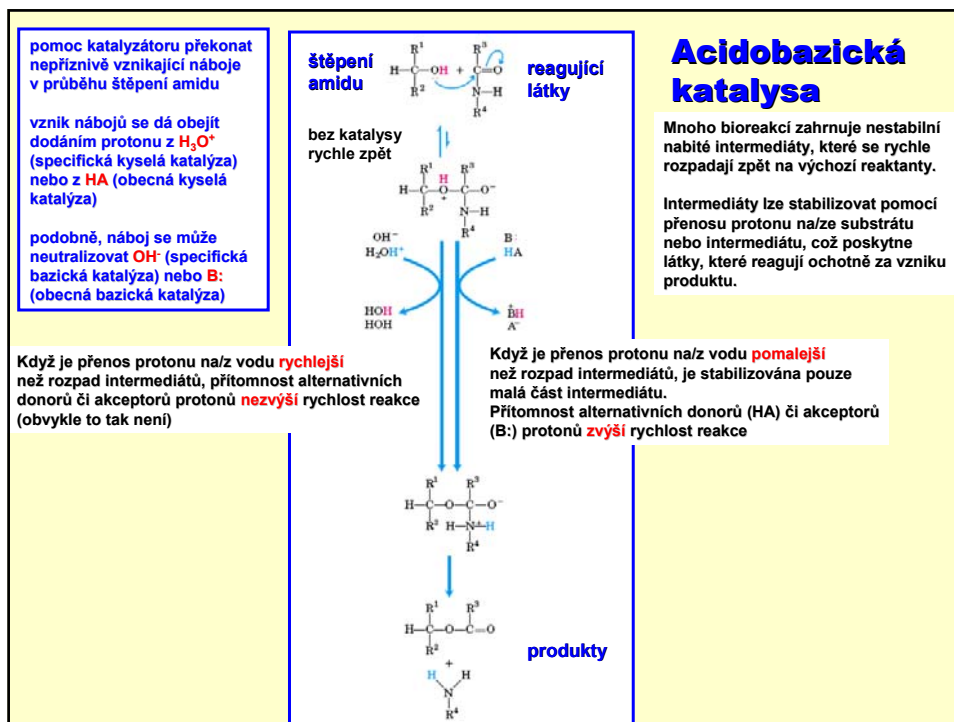


- bez příspěvku entropie
- reakce v rámci jediné molekuly, možnost volné rotace kolem tří vazeb
- další omezení volnosti pohybu

- faktory přispívající k energii přechodového stavu:
 - 2) solvatační obal molekul vody, který obklopuje a stabilizuje biomolekuly ve vodném prostředí
 - vazba substrátu v aktivním místě vede k jeho desolvataci a náhradě vodíkových vazeb s původní vodou interakcí s enzymem
 - 3) distorse či deformace substrátu probíhající v mnoha reakcích
 - 4) potřeba vhodné orientace u katalytických skupin enzymu
 - tyto bariery pomáhá snižovat vazebná energie
- enzym také částečně mění konformaci při vazbě se substrátem - "induced fit", Koshland, 1958
 - to umožní vznik slabých vazebných interakcí se substrátem
 - enzym získá novou katalyticky aktivní konformaci

Katalytické skupiny enzymu

- po vazbě substrátu se uplatní funkční katalytické skupiny pomáhající štěpení a vzniku vazeb různými mechanismy:
 - acido-bazická katalýza
 - kovalentní katalýza
 - katalýza s pomocí kovového iontu
- zahrnují kovalentní interakci

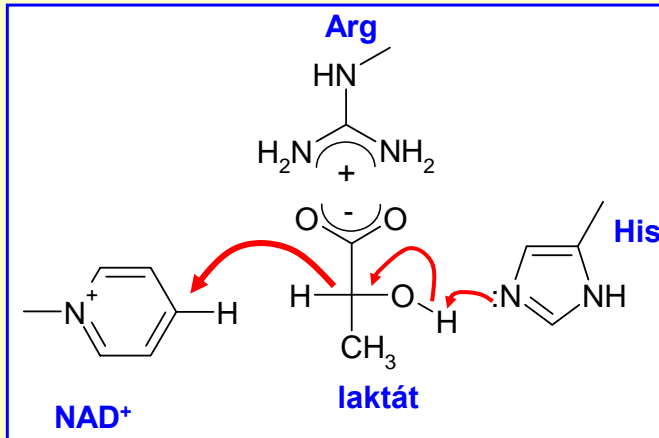


Acidobazická katalýza

- aminokyselinové zbytky účastní se acidobazické katalýzy v aktivních místech enzymů
- přesné prostorové umístění v aktivním místě umožňuje efektivní přenosy protonů
- zvýšení reakční rychlosti 100 až 10^5 -krát
- nejběžnější případ u biochemických reakcí

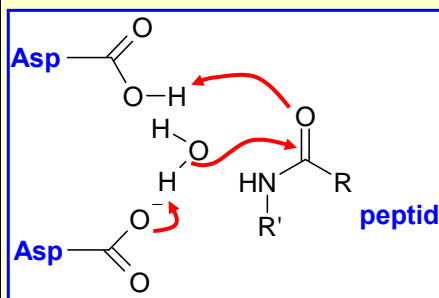
AA	Kyselá forma (H+ donor)	Zásaditá forma (H+ akceptor)
Glu, Asp	$\text{R}-\text{COOH}$	$\text{R}-\text{COO}^-$
Lys, Arg	$\text{R}-\text{NH}_3^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$
Cys	$\text{R}-\text{SH}$	$\text{R}-\text{S}^-$
His		
Ser	$\text{R}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{O}^-$
Tyr		

Laktátdehydrogenasa

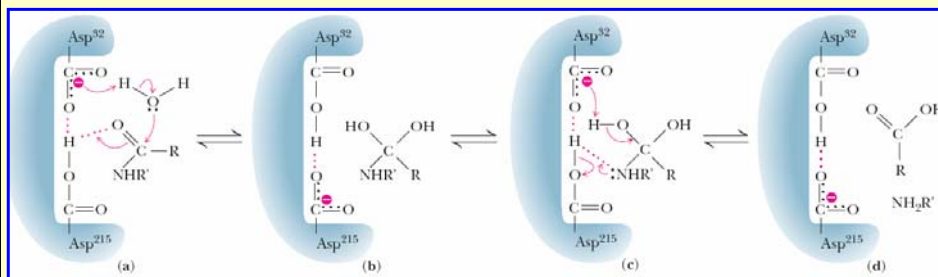


- AB katalysa při redoxní reakci

Pepsin (kyselé proteasy)

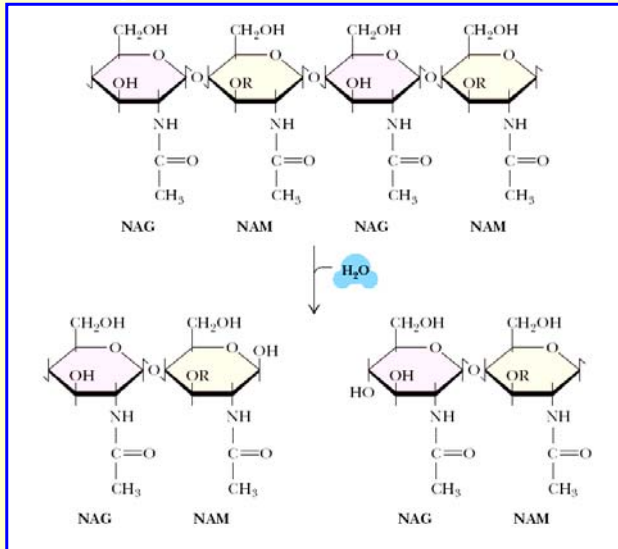


- ABK při hydrolyse



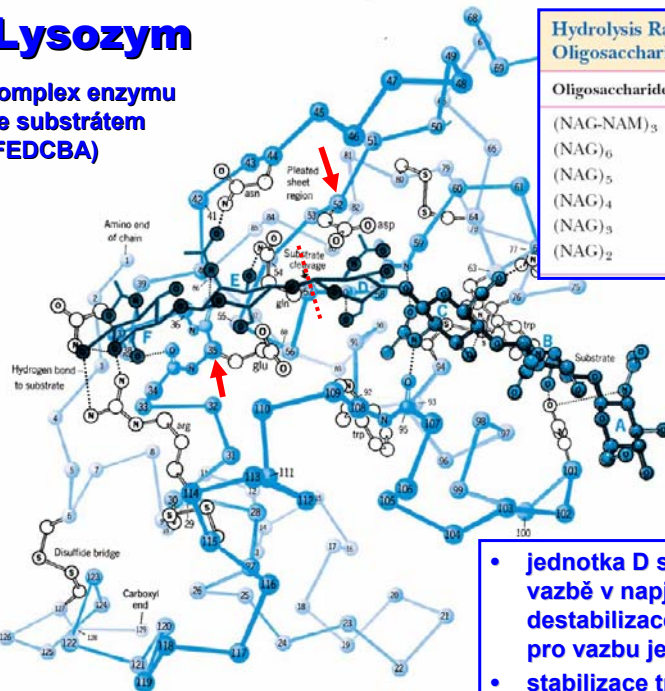
- hydrolysuje polysacharidové řetězce z bakteriálních stěn
- polysacharidy tvořeny z jednotek NAM a NAG (N-acetylmuramové kyseliny a N-acetylglukosaminu)
- hydrolysa glykosidické vazby mezi C1 NAM a C4 NAG

Lysozym



Lysozym

**komplex enzymu
se substrátem
(FEDCBA)**

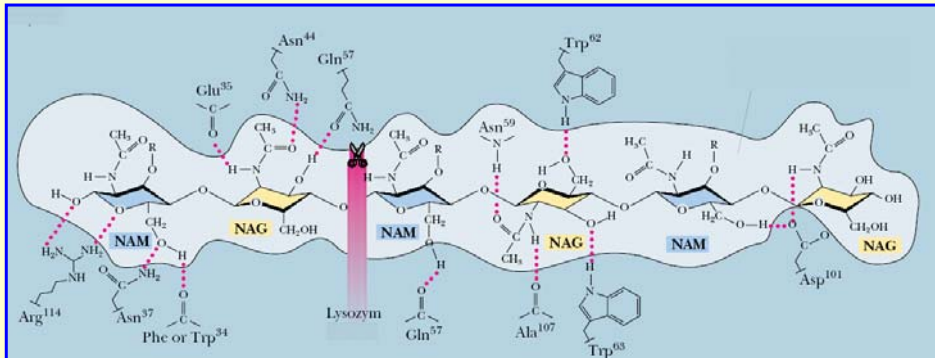


Hydrolysis Rate Constants for Model Oligosaccharides with Lysozyme

Oligosaccharide	Rate Constant, $k_{cat}(s^{-1})$
(NAG-NAM) ₃	0.5
(NAG) ₆	0.25
(NAG) ₅	0.033
(NAG) ₄	7×10^{-5}
(NAG) ₃	8×10^{-6}
(NAG) ₂	2.5×10^{-8}

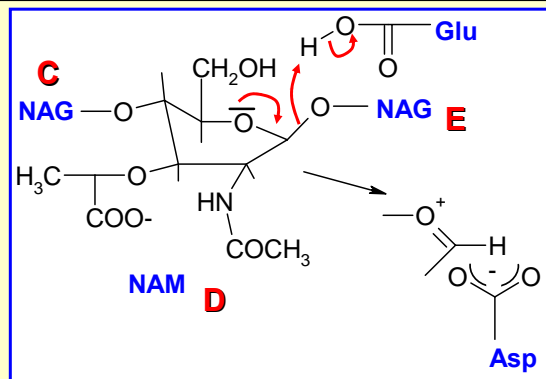
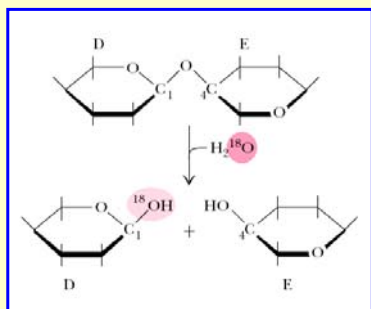
- jednotka D substrátu je při vazbě v napjaté konformaci - destabilizace, avšak celkově pro vazbu je $\Delta G < 0$
- stabilizace tranzitního stavu

Lysozym



- enzymová kapsa vážící hexamerní oligosacharidový úsek (FEDCBA)

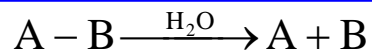
Lysozym



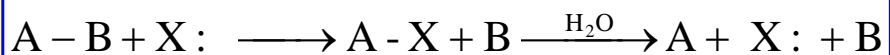
- štěpí se C₁-O vazba kruhu D (prokázáno pomocí rad. značené vody)
- Glu³⁵ lokalizován v nepolární části bílkoviny, Asp⁵² v polární
- Glu³⁵ funguje jako obecná kyselina
- Asp⁵² stabilizuje karboniový iont na D kruhu
- po rozštěpení vazby zbytek s E částí oddifunduje
- karboniový iont reaguje s molekulou vody
- Glu³⁵ (ionizovaný) nyní funguje jako obecná báze přijímající proton

Kovalentní katalýza

- vzniká dočasná kovalentní vazba mezi enzymem a substrátem
- příklad - hydrolyza vazby mezi skupinami A a B:

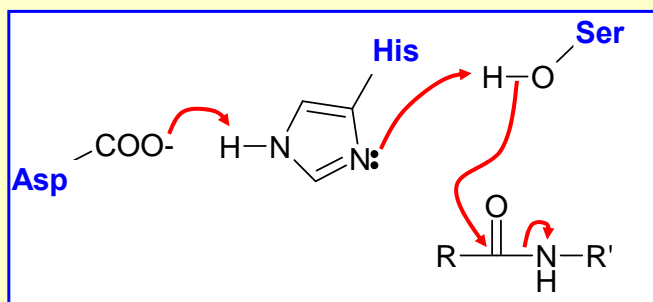


- při kovalentní katalýze (enzym s nukleofilní skup. X:)



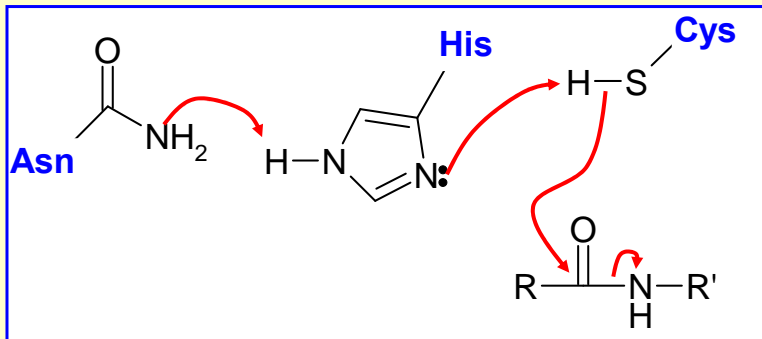
- oba nové reakční kroky musí mít nižší aktivační energii a být rychlejší než nekatalyzovaná reakce
- mohou se účastnit postranní skupiny aminokyselin i mnoha koenzymů

Nukleofilní katalýza



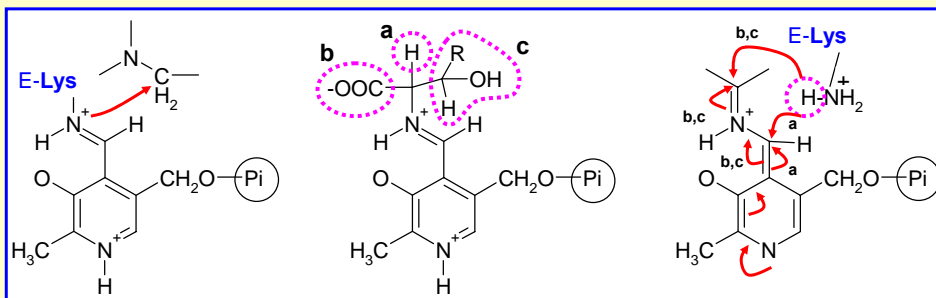
- typické pro **serinové proteasy** (trypsin, chymotrypsin, elastasa)
- Nu atak na uhlík v karbonylové skupině

Nukleofilní katalýza



- typické pro **thiolové proteasy** (papain, ficin, bromelain)
- Nu atak na uhlík v karbonylové skupině

Elektrofilní katalýza



- enzymy s pyridoxalfosfátem
- a = transaminace, racemisace, dehydratace (odštěpení beta hydroxylu)
- b = dekarboxylace
- c = transhydroxylace (např. serin přejde na glycin a získá se -CH-OH zbytek)

Katalysa pomocí iontů kovů

- kovy, buď pevně vázané k enzymu, nebo zachycené z roztoku spolu se substrátem, se účastní katalysy různými způsoby:
 - iontové interakce mezi kovem a substrátem pomáhají ke správné orientaci
 - stabilizují tranzitní stavy nesoucí náboj
 - zprostředkovávají redoxní reakce reverzibilními změnami svého oxidačního stavu
- cca 30% enzymů pro aktivitu vyžaduje nějaký atom kovu

Kombinace dílčích mechanismů

- většina enzymů používá kombinaci několika katalytických strategií pro zvýšení reakční rychlosti
- chymotrypsin - napřed obecná acidobazická katalysa následovaná kovalentní katalysou

