

# C3181

# Biochemie I

03b-Enzymy

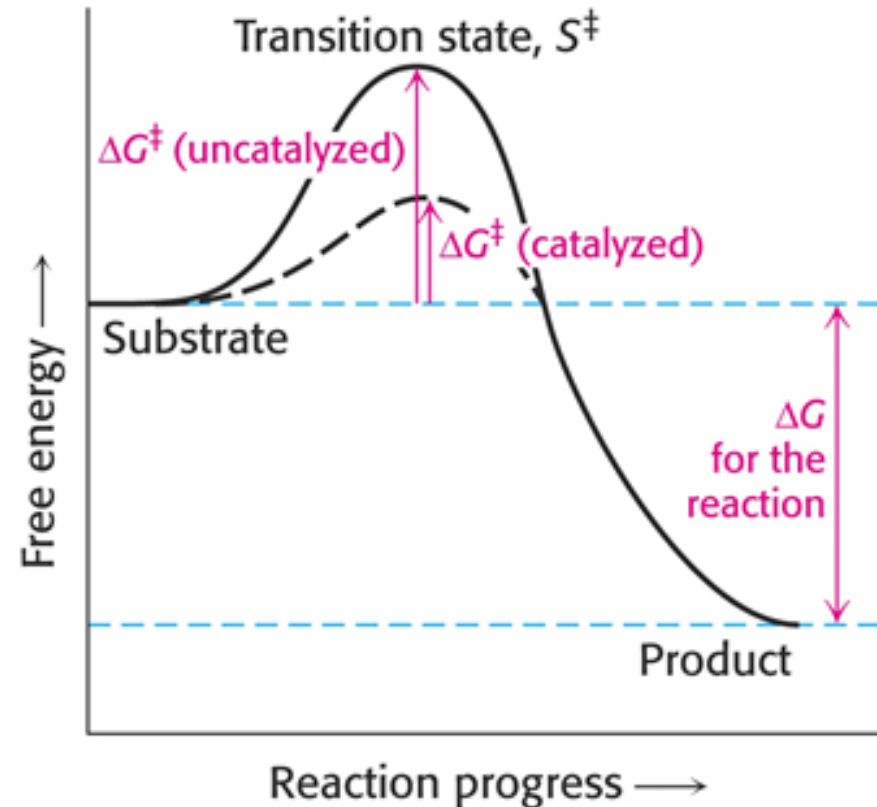
FRVŠ **1647/2012**

# Obsah

- . Reakční kinetika, enzymy jako biokatalyzátory. Aktivní místo, katalytické místo, kofaktory, koenzymy a prostetické skupiny, mechanismus působení (příklad serinových proteináz), rozdělení enzymů a jejich třídy. Praktické aspekty – klinické a technologické aplikace, termostabilní enzymy.

# Katalýza

- Aktivační energie
  - Překonání repulsních sil
  - Kinetická energie
  - T – v živých systémech omezeno
- Katalýza – Berzelius 1835
  - Usnadnění reakce
  - Snížení  $E_a$ , rozložení
  - Transitní stavy
- P



# Katalýza

- Chemické katalyzátory
  - Látky urychlující chemické reakce
  - nemění přítom rovnováhy chemických reakcí
  - snižují aktivační energii
  - „nemění“ se při reakci
- Biokatalyzátory – speciální požadavky
  - Katalyzované reakce probíhají cíleně podle přesného genetického plánu.
  - Průběh reakcí musí být specifický.
  - Jejich rychlost musí být přesně regulována podle potřeb organismu.

# Biokatalyzátory

- Proto se biokatalyzátory liší od běžných chemických katalyzátorů:
- 1) Vyšší reakční rychlostí
- 2) Mírnějšími podmínkami reakce – T, pH, tlak.
- 3) Vyšší specifitou.
- 4) Schopnosti regulace

# Biokatalyzátory

- Globulární bílkoviny – enzymy
  - Katalytická funkce bílkovin
  - Téměř všechny reakce
  
- RNA – ribozymy
  - Katalyticky účinné RNA - T. R. Cech a S. Altman, NC 1989
  - Několik speciálních reakcí
  - Syntéza peptidové vazby
  - Zbytek „RNA světa“

# Biokatalyzátory

- Příklady enzymů
  - porovnání rychlostních konstant spontánní a katalyzované reakce.
  - I tak snadno a rychle probíhající pochod jako je disociace  $\text{CO}_2$  je v organizmech katalyticky urychlena.

**TABLE 8.1** Rate enhancement by selected enzymes

Enzyme	Nonenzymatic half-life	Uncatalyzed rate ( $k_{\text{un}} \text{ s}^{-1}$ )	Catalyzed rate ( $k_{\text{cat}} \text{ s}^{-1}$ )	Rate enhancement ( $k_{\text{cat}}/k_{\text{un}}$ )
OMP decarboxylase	78,000,000 years	$2.8 \times 10^{-16}$	39	$1.4 \times 10^{17}$
Staphylococcal nuclease	130,000 years	$1.7 \times 10^{-13}$	95	$5.6 \times 10^{14}$
AMP nucleosidase	69,000 years	$1.0 \times 10^{-11}$	60	$6.0 \times 10^{12}$
Carboxypeptidase A	7.3 years	$3.0 \times 10^{-9}$	578	$1.9 \times 10^{11}$
Ketosteroid isomerase	7 weeks	$1.7 \times 10^{-7}$	66,000	$3.9 \times 10^{11}$
Triose phosphate isomerase	1.9 days	$4.3 \times 10^{-6}$	4,300	$1.0 \times 10^9$
Chorismate mutase	7.4 hours	$2.6 \times 10^{-5}$	50	$1.9 \times 10^6$
Carbonic anhydrase	5 seconds	$1.3 \times 10^{-1}$	$1 \times 10^6$	$7.7 \times 10^6$

Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

# Historie poznávání enzymů

- Paster 1860 – fermentace je katalyzovány látkami, tuto schopnost však nelze oddělit od živých buněk, které jsou vybaveny tzv. životní silou vis vitalis
- Liebig – fermenty jsou schopny katalyzovat tyto reakce i mimo živou buňku – spor s Pasterem
- Kühn 1878 – „enzym“ εν ζυμε – v kvasnicích
- Büchnerovi 1897 – tyto reakce je schopen katalyzovat i samotný extrakt kvasinek
- Sumner 1926 – bílkovinná povaha enzymů – ureasa

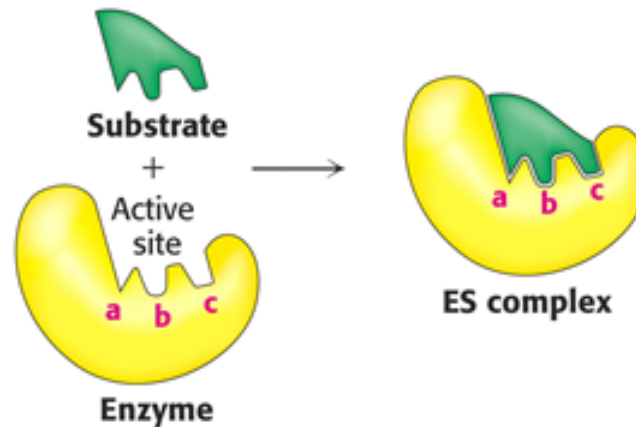


# Vlastnosti enzymů

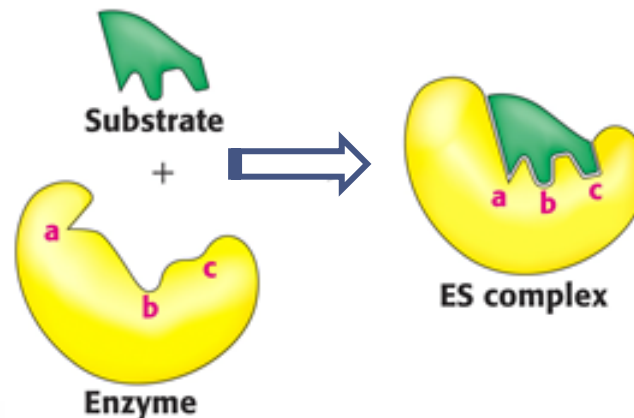
- Struktura
- Bílkovina mající schopnost vázat reaktanty (**substráty**) a přeměnit je na produkty
- K tomu dochází v tzv. aktivním místě (centru)
- Struktura aktivního centra umožňuje specifickou interakci a vazbu s omezeným výběrem substrátů
- K tomu má vhodný geometrický tvar a rozložení reaktivních skupin – chemické interakce – architektura
- Specificita enzymů – klíčová vlastnost
  - Substrátová
  - Reakční

# Substrátová specifita

- Model
- Zámku a klíče



- Indukovaného přizpůsobení, postupné změny konformace



# Názvosloví enzymů

- Triviální
  - názvy souvisely s místem výskytu nebo funkcí – ptyalin (sliny), trypsin, pepsin, starý žlutý enzym
- Jednoduché
  - Název substrátu nebo reakce + koncovka asa – amylasa, ureasa
- Systematické názvosloví
  - odráží reakční specifitu – základ systematického třídění
  - Regulérní
    - Substráty:produkty-reakce, typické pro jednotlivé třídy
    - L-Glu:NAD<sup>+</sup>-oxidoreduktasa (deaminující)
  - zjednodušené
    - Substrát + reakce + asa
    - glukosa-6-fosfátdehydrogenasa

# Třídění a klasifikace

- IUB – 1961
- 6 tříd podle typu katalyzované reakce
- **1.třída oxidoreduktasy** – oxidačně redukční reakce – nejpočetnější třída – laktátdehydrogenasa
- **2.třída transferasy** – přenos skupin
- aspartátaminotransferasa
- **3.třída hydrolázy** – hydrolyticky (za účast  $H_2O$ ) štěpí vazby – početná skupina – ureasa
- **4.třída lyasy** – nehydrolyticky (bez účast  $H_2O$ ) štěpí vazby, eliminace i adice – karbonátdehydratasa
- **5.třída izomerasy** – intramolekulární přesuny atomů či skupin – glukosa-6-fosfátizomerasa
- **6.třída ligasy** – vznik energeticky náročných vazeb nejčastěji za spotřeby ATP – asparaginsyntethasa

# Třídění a klasifikace

**TABLE 8.3** Six major classes of enzymes

Class	Type of reaction	Example	Chapter
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction	Lactate dehydrogenase	16
2. Transferases	Group transfer	Nucleoside monophosphate kinase (NMP kinase)	9
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)	Chymotrypsin	9
4. Lyases	Addition or removal of groups to form double bonds	Fumarase	18
5. Isomerases	Isomerization (intramolecular group transfer)	Triose phosphate isomerase	16
6. Ligases	Ligation of two substrates at the expense of ATP hydrolysis	Aminoacyl-tRNA synthetase	29

# Třídění a klasifikace

- <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/index.html>
- EC a.b.c.d
- Např. alkohol:NAD:oxidoreduktasa  
(alkoholdehydrogenasa) EC 1.1.1.27
- EC 1 – oxidoreduktasy
- EC 1.1. – skupina CHOH
- EC 1.1.1. – kofaktor NAD
- EC 1.1.1.27 – číslo uvnitř skupiny

# Struktura enzymů

- **Jednoduché enzymy** – složené pouze z proteinu
  - globulárních protein
  - enzymy monomerní, tvořené jedinou podjednotkou
  - oligomerní, tvořené z více podjednotek
- **Složené enzymy** – obsahují nebílkovinou složku – kofaktor + apoenzym (apoprotein)
  - Kovový ion – metaloenzymy ( $Zn^{2+}$  - alkoholdehydrogenasa,  $Cu^{2+}$  - diaminoxidasa)
  - Organická skupina či sloučenina
    - Pevně (většinou kovalentně) vázaná – **prostetická skupina** (širší význam) – odstranění – ztráta aktivity
    - Volně vázaná – **koenzym** – běžně disociuje

# Struktura enzymů

- Jak prostetická skupina, tak koenzym vstupují do enzymové reakce, liší se však způsobem regenerace :
- **prostetická skupina** – na téže enzymové bílkovině, je pevně vázána
- **koenzym** – disociuje z dané enzymové bílkoviny a může se regenerovat v jiné enzymové reakci – též druhý substrát
- **Jednoduchý enzym** – vratná změna reaktivních skupin aminoacylů