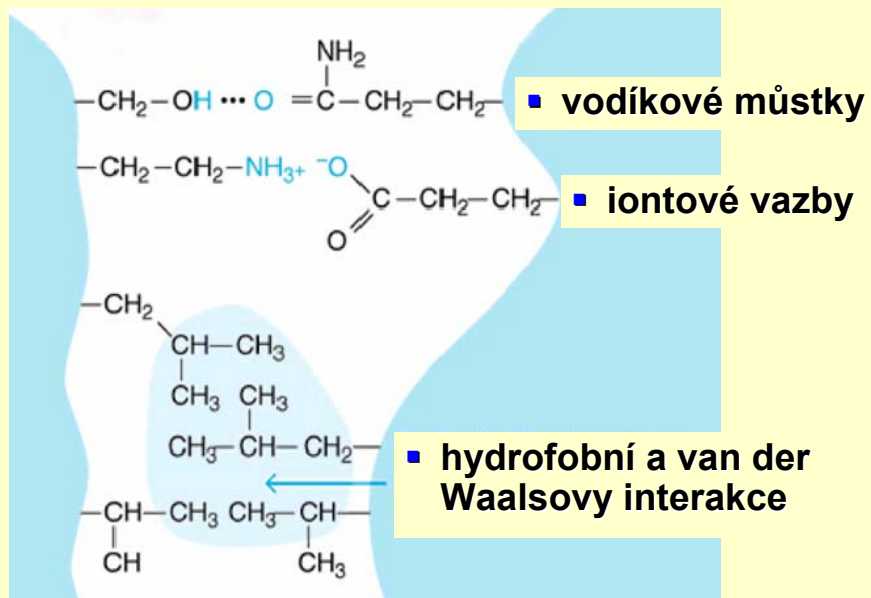
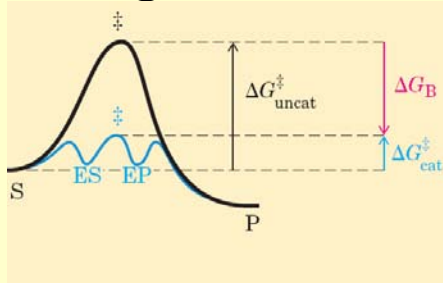


## Mechanismy enzymové katalysy. Základní principy, typické příklady.

### Zúčastněné typy interakcí

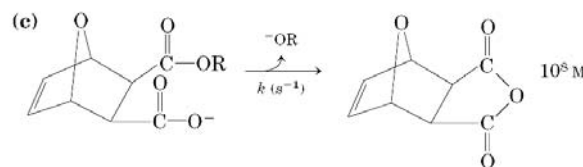
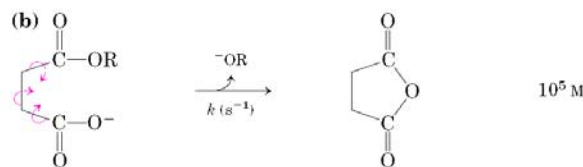
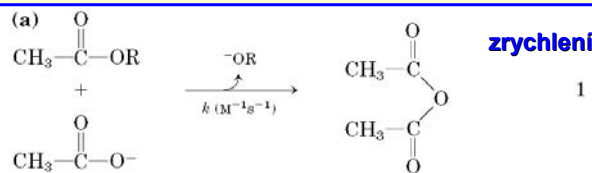


## Energetické hledisko



- 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

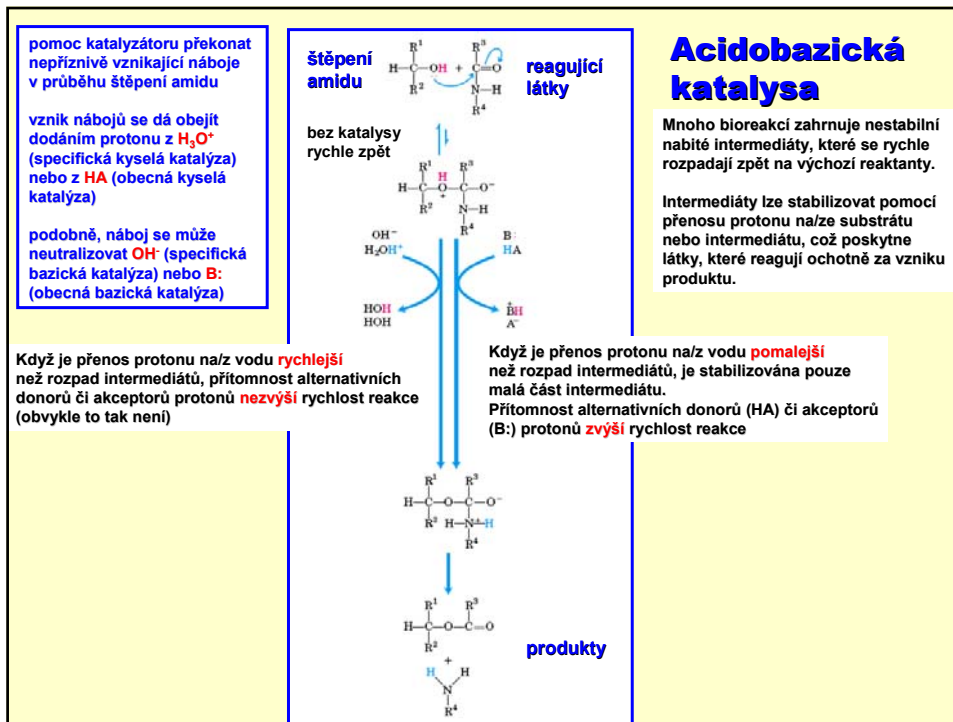
- reakce v rámci jediné molekuly, možnost volné rotace kolem tří vazeb

- 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

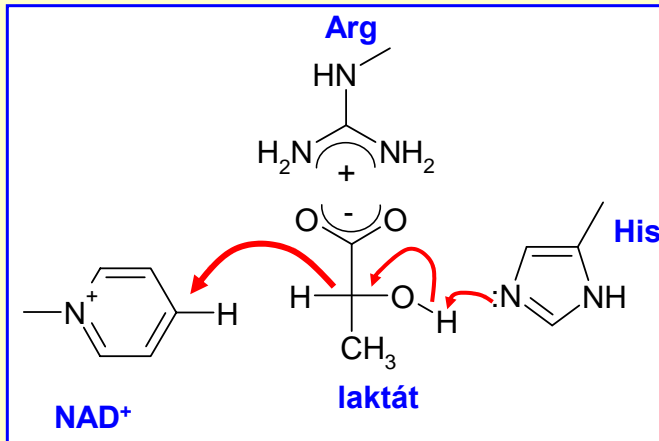


### Acidobazická katalýza

- aminokyselinové zbytky účastníci 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

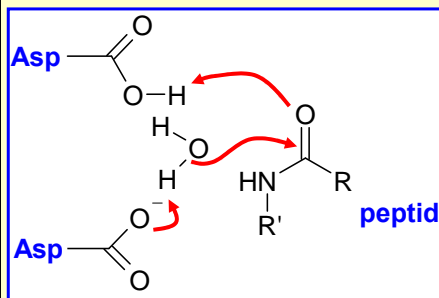
AA	Kyselá forma (H+ donor)	Zásaditá forma (H+ akceptor)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{H}{\underset{H}{N}}H$	$R-\ddot{N}H_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His	$R-C(=CH)-NH_2$	$R-C(=CH)-N^-$
Ser	$R-OH$	$R-O^-$
Tyr	$R-C_6H_4-OH$	$R-C_6H_4-O^-$

## Laktátdehydrogenasa

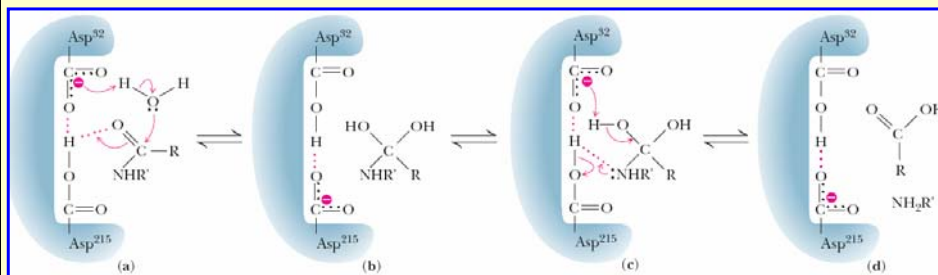


- AB katalýsa při redoxní reakci

## Pepsin (kyselé proteazy)

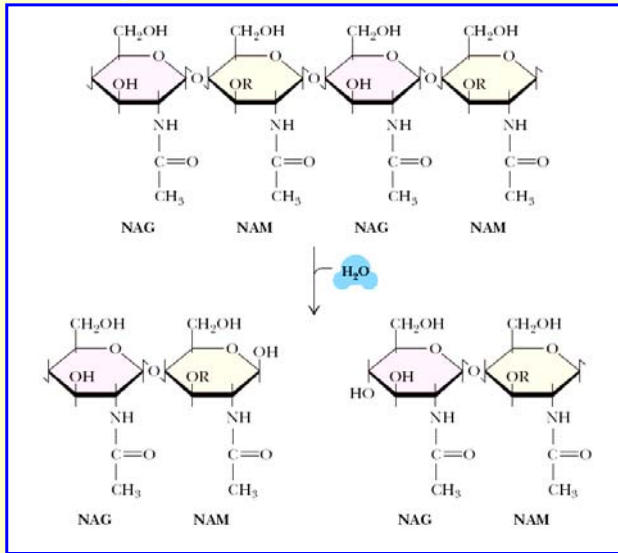


- ABK při hydrolyse



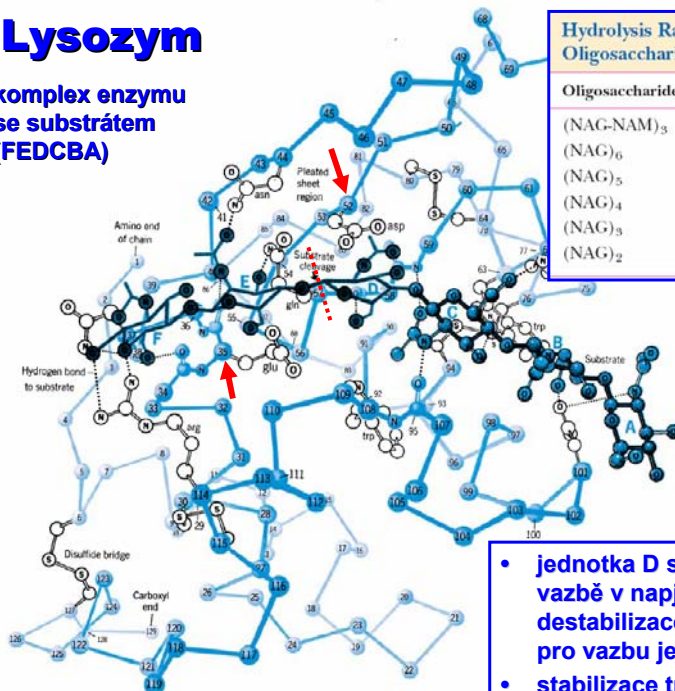
- hydrolysuje polysacharidové řetězce z bakteriálních stěn
- polysacharidy tvořeny z jednotek NAM a NAG (N-acetylmuramové kyseliny a N-acetylglukosaminu)
- hydrolysa glykosidické vazby mezi C1 NAM a C4 NAG

## Lysozym



## Lysozym

**komplex enzymu se substrátem (FEDCBA)**

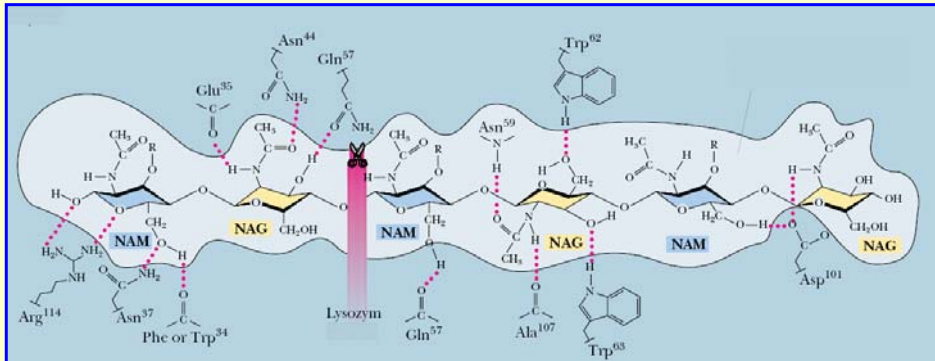


**Hydrolysis Rate Constants for Model Oligosaccharides with Lysozyme**

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

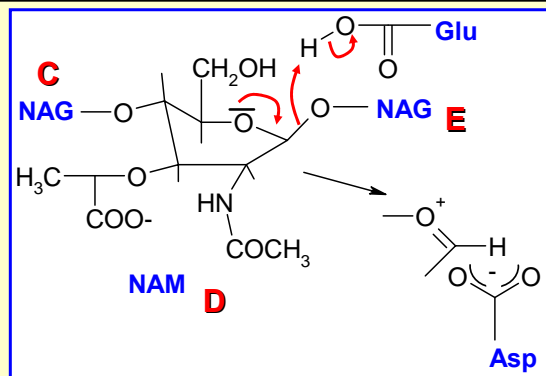
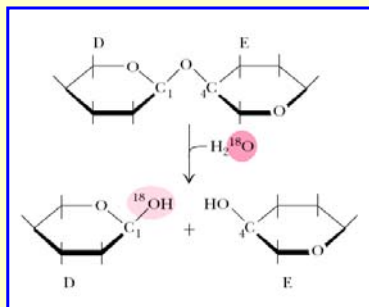
- jednotka D substrátu je při vazbě v napjaté konformaci - destabilizace, avšak celkově pro vazbu je  $\Delta G < 0$
- stabilizace tranzitního stavu

## Lysozym



- enzymová kapsa vázící hexamerní oligosacharidový úsek (FEDCBA)

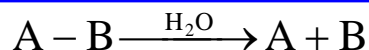
## Lysozym



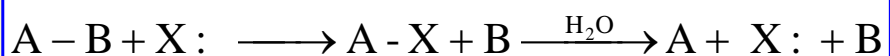
- štěpí se C<sub>1</sub>-O vazba kruhu D (prokázáno pomocí rad. značené vody)
- Glu<sup>35</sup> lokalizován v nepolární části bílkoviny, Asp<sup>52</sup> v polární
- Glu<sup>35</sup> funguje jako obecná kyselina
- Asp<sup>52</sup> stabilizuje karbonyový iont na D kruhu
- po rozštěpení vazby zbytek s E částí oddifunduje
- karbonyový iont reaguje s molekulou vody
- Glu<sup>35</sup> (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:

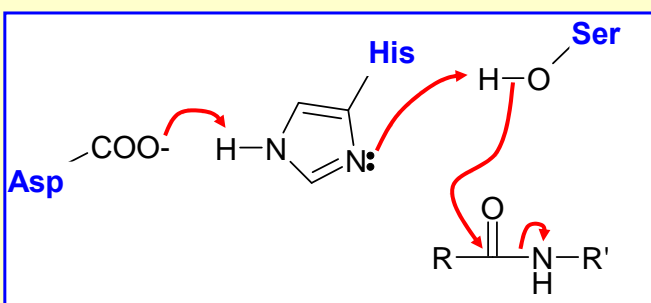


- při kovalentní katalýze (enzym s nukleofilní skup. X:)



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

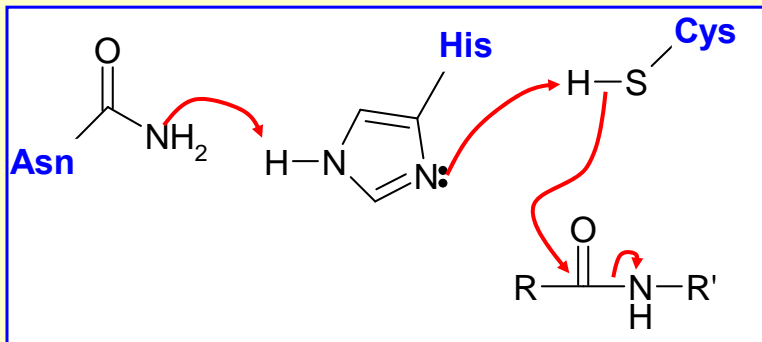
## Nukleofilní katalýza



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

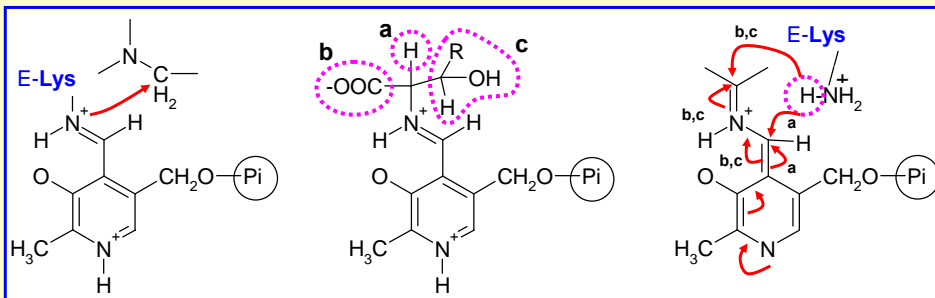


## Nukleofilní katalysa



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

## Elektrofilní katalysa



- enzymy s pyridoxalfosfátem
- a = transaminace, racemisace, dehydratace (odštěpení beta hydroxyly)
- 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

