

Enzymologie

Enzymy a jejich základní vlastnosti

Koenzymy

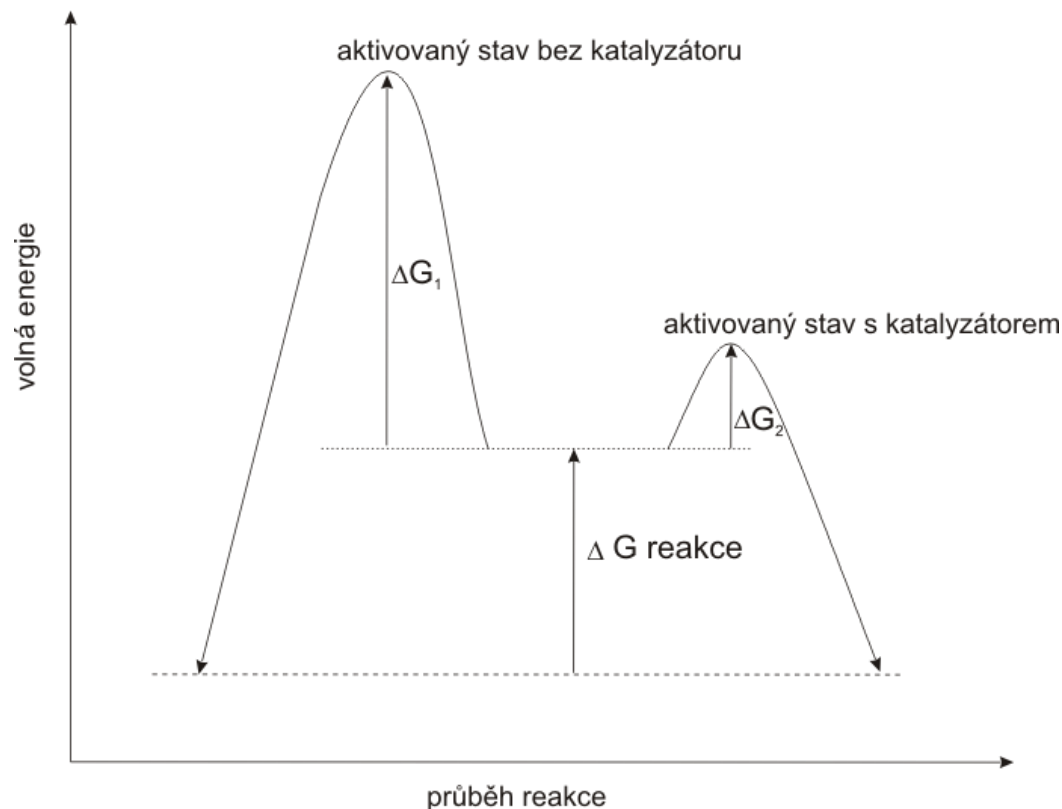
Enzymová kinetika

Aktivační energie

Překonání repulsních sil

- dostatečné přiblížení reaktantů
- nutná dostatečná kinetická energie
- $T, p - v$ živých systémech omezeno

substrát	katalyzátor	E_a (kJ/mol)
H_2O_2	žádný	75.4
H_2O_2	jodid	54.4
H_2O_2	kol. platina	48.6
H_2O_2	kataláza	23.0

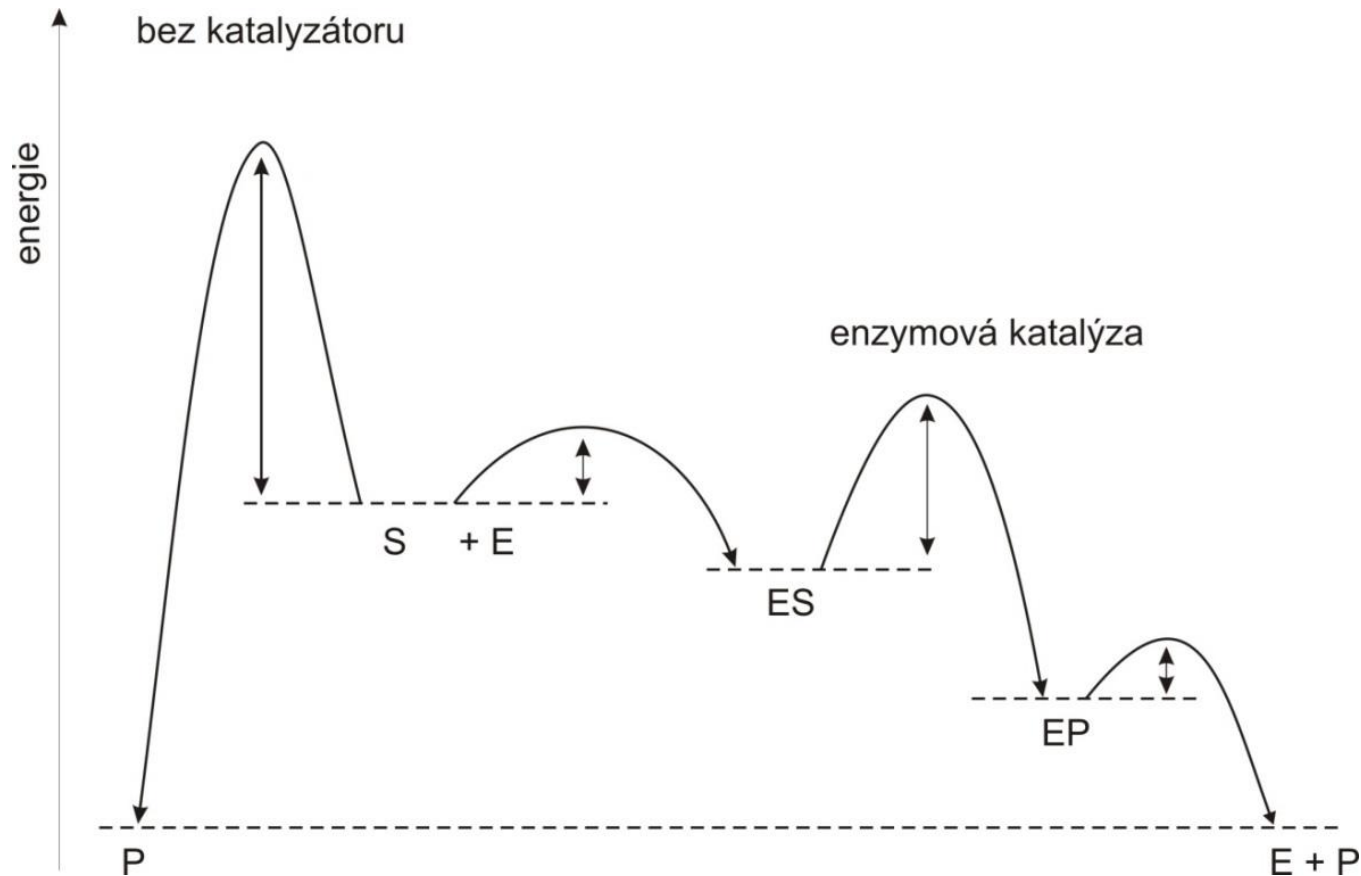


Katalyzátor (Berzelius 1835)

- Látka urychlující chemickou reakci
- Snižuje aktivační energii
- Nemění rovnováhu chemických reakcí (zvyšuje rychlost reakce oběma směry)

Enzym = biokatalyzátor

Enzymy jsou **proteiny**, které katalyzují chemické reakce v živých buňkách



Rozložení aktivační energie do několika kroků (suma stejná jako bez katalyzátoru)
Reakce spěje do rovnovážného stavu (ne pouze produkt)

Katalyzátory – obecné vlastnosti

Chemické katalyzátory

- látky urychlující chemické reakce
- nemění přitom rovnováhy chemických reakcí
- snižují aktivační energii
- „nemění“ se při reakci

Biokatalyzátory - navíc speciální požadavky

- katalyzované reakce probíhají cíleně podle přesného genetického plánu
- průběh reakcí musí být specifický
- rychlost reakce, kterou katalyzují, musí být přesně regulována podle potřeb organismu

Proto se biokatalyzátory liší od běžných chemických katalyzátorů:

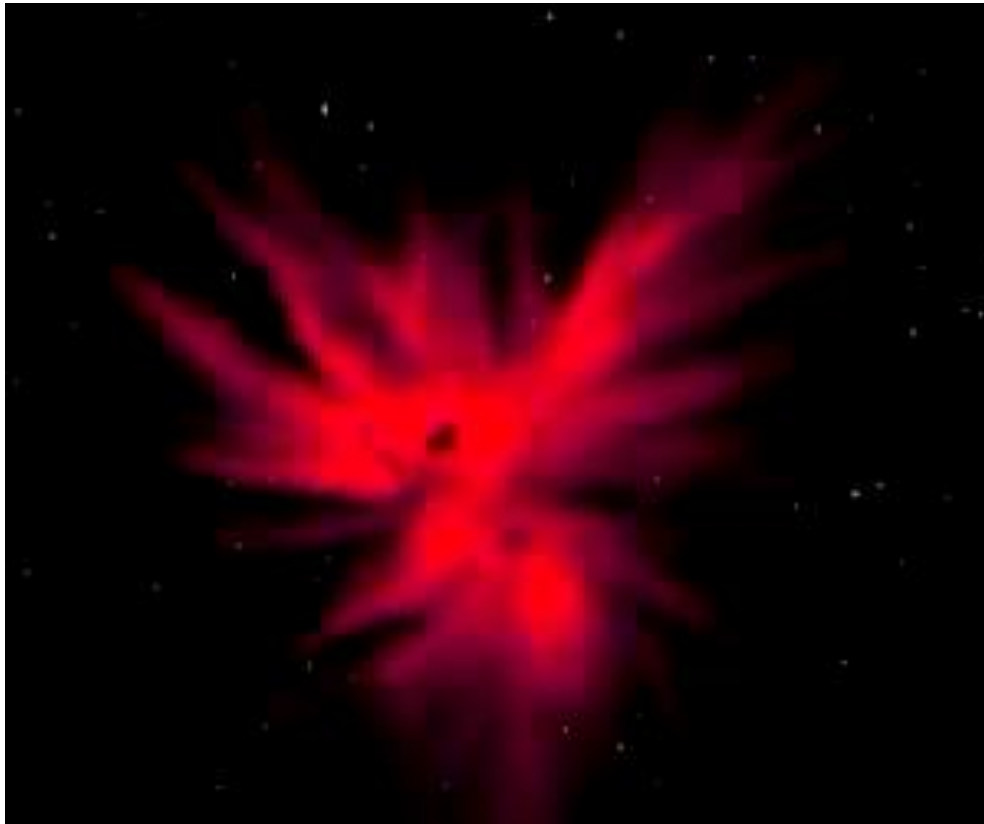
Schopností regulace

Vyšší specifitou

Vyšší reakční rychlostí

Mírnějšími podmínkami reakce - T, pH, tlak

substrát $\xrightarrow{\text{enzym}}$ produkt



Historie

Berzelius 1835 rozklad škrobu sladem

Pasteur 1860 - fermentace cukru na ethanol, fermentace je katalyzována látkami „fermenty“, 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 Pasteurem

Kühn 1878 - „enzym“ εν ζυμε - v kvasnicích

Büchner 1897 - tyto reakce je schopen katalyzovat i samotný extrakt kvasinek (extrahoval směs enzymů z kvasničných buněk)

Sumner 1926 - bílkovinná povaha enzymů - ureasa (izolace + krystal)

Názvosloví a klasifikace enzymů

Triviální - nejstarší objevené enzymy

- 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 - podle katalyzované reakce
- Regulérní
 - Substráty:produkty-reakce, typické pro jednotlivé třídy
 - L-Glu:NAD⁺-oxidoreduktasa (deaminující)
- Zjednodušené
 - Substrát + reakce + asa
 - glukosa-6-fosfátdehydrogenasa

Mezinárodní klasifikace enzymů

1961 EC (Enzyme Commission) rozdělení do šesti tříd

1. Oxidoreduktasy - enzymy biologické oxidace a redukce

Např. alkohol:NAD-oxidoreduktasa (alkoholdehydrogenasa) EC 1.1.1.1

EC 1 - oxidoreduktasy

EC 1.1. - skupina CHOH

EC 1.1.1. - kofaktor NAD

EC 1.1.1.1 - číslo uvnitř skupiny

2. Transferasy - enzymy přenášející skupiny (alaninaminotransferasa)

3. Hydrolasy - enzymy katalyzující hydrolytická štěpení (ureasa)

4. Lyasy - enzymy katalyzující eliminační reakce (karbonátanhydrasa)

5. Isomerasy - enzymy katalyzující přeskupení uvnitř molekul (glukosa-6-fosfátisomerasa)

6. Ligasy - enzymy katalyzující tvorbu vazby za štěpení ATP (glutaminsyntetasa)

struktura enzymů

(holo)enzym = kofaktor + apoenzym

Enzym se skládá z bílkovinné složky - **apoenzymu** a nízkomolekulární neaminokyselinové struktury - **kofaktoru**.

Apoenzymy - **globulární proteiny**

Vyjimka - RNA - ribozymy

Několik speciálních reakcí

Syntéza peptidové vazby

Zbytek „RNA světa“

struktura enzymů

jednoduché enzymy - složené pouze z proteinu

globulárních protein

enzymy monomerní - tvořené jedinou podjednotkou

dimerní, tetramerní ... oligomerní - tvořené z více podjednotek

složené enzymy - obsahují navíc nebílkovinou složku

kovový ion - metaloenzymy (Zn^{2+} - alkoholdehydrogenasa, Cu^{2+} - diaminoxidasa)

organická skupina či sloučenina

Pevně (většinou kovalentně) vázaná - **prostetická skupina**

Volně vázaná - **koenzym** - běžně disociuje

Různý způsob regenerace :

jednoduchý enzym - vratná změna reaktivních skupin aminoacylů

prostetická skupina - na těžce enzymové bílkovině, je pevně vázaná

koenzym - disociuje z dané enzymové bílkoviny a může se regenerovat v jiné

enzymové reakci - též druhý substrát

odstranění kofaktoru - ztráta aktivity

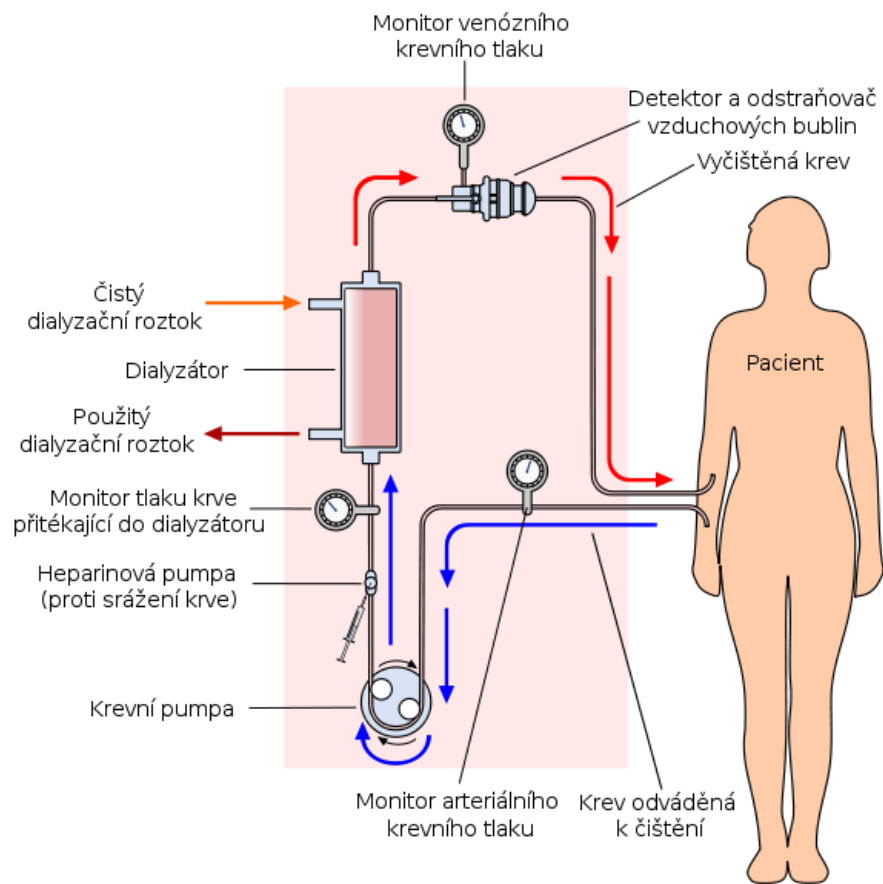
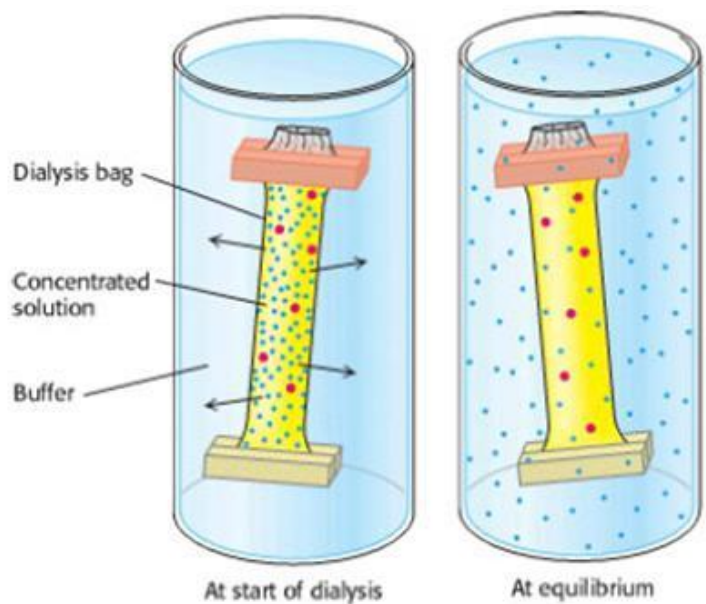
koenzym x prostetická skupina - **dialýza**

Oddělení vysokomolekulární látky od nízkomolekulární bez ztráty aktivity

- GPC (Gelová permeační chromatografie)
- dialýza

GE Healthcare
Life Sciences

dialýza



Vlastnosti enzymů

Substrátová specifita

absolutní

- nepůsobí ani na velmi podobný substrát
- ureasa

skupinově specifická

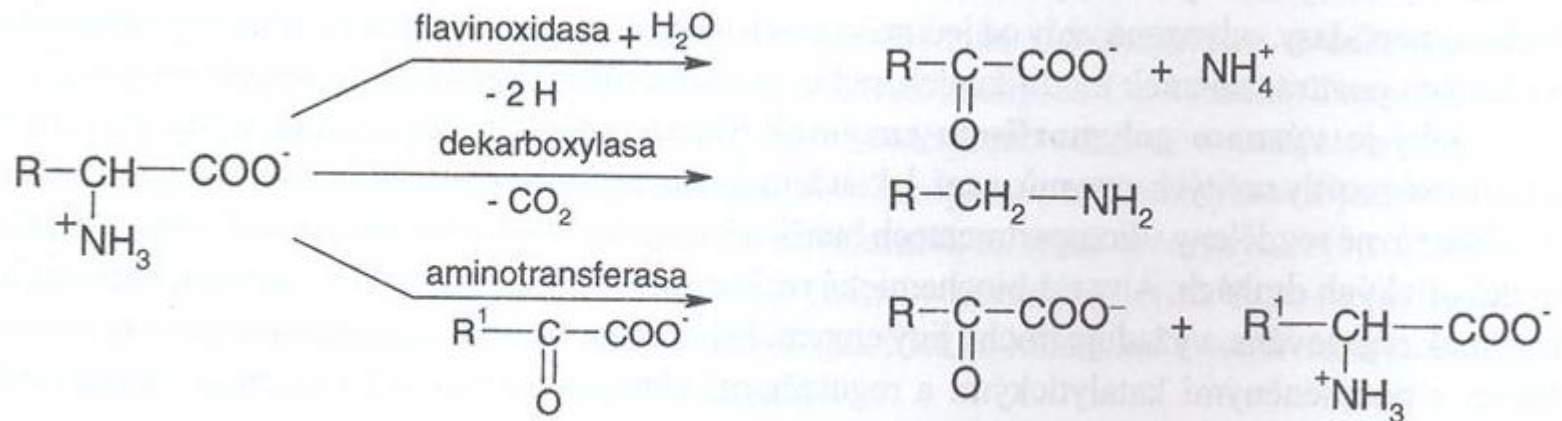
- alkoholdehydrogenasa
- proteiny
 - trypsin (karboxyl argininu nebo lysinu)
 - chymotrypsin (karboxyl tyrosinu, tryptofanu, fenylalaninu nebo leucinu)

Všechny enzymy dokážou rozlišit enantiomery substrátu

Vlastnosti enzymů

Specifita účinku

enzym katalyzuje pouze jednu z možných přeměn substrátu

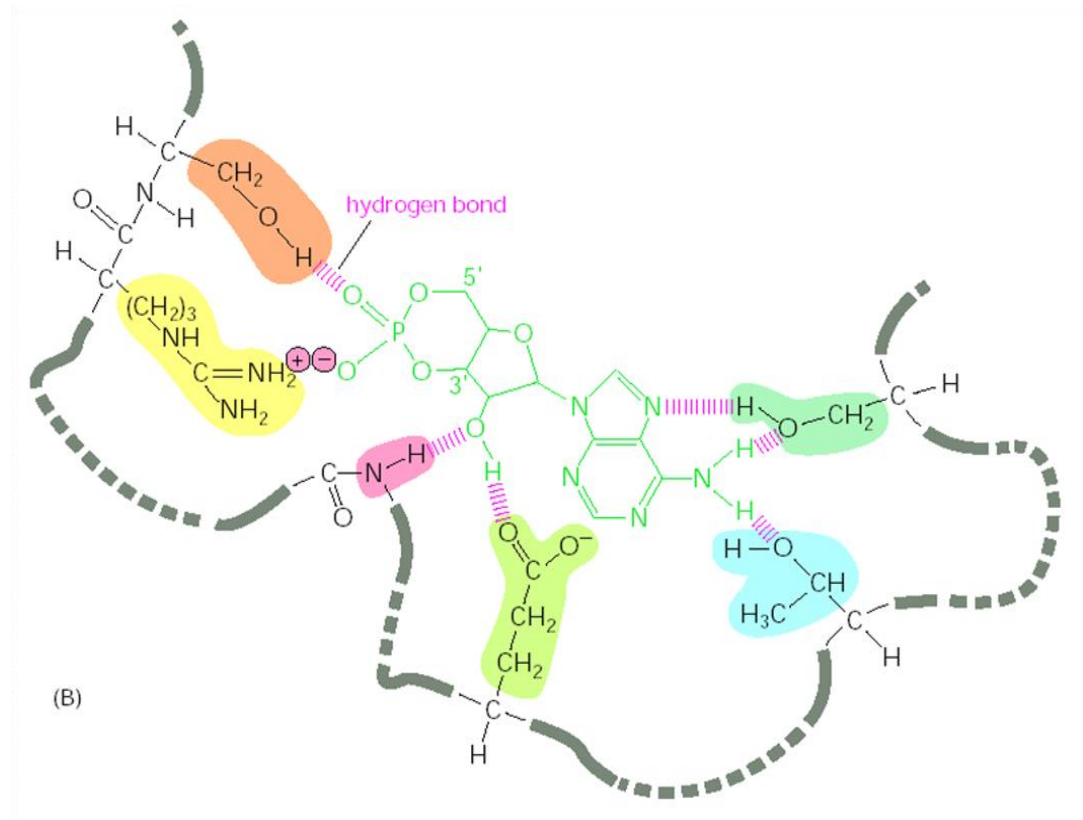


Vlastnosti enzymů

Aktivní místo enzymů

interakcí enzym - substrát se deformuje i substrát

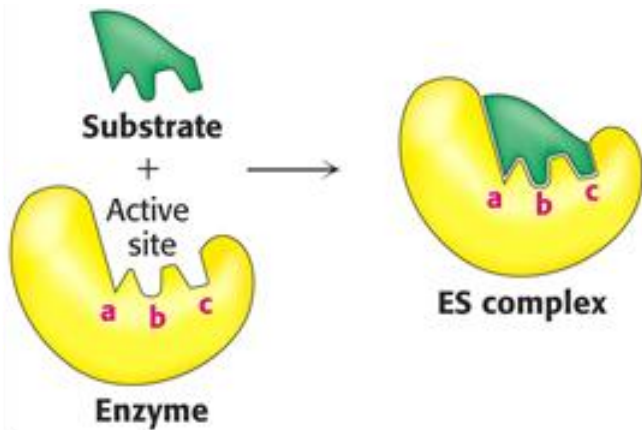
- zvýšení rychlosti reakce
- správná prostorová orientace



Vlastnosti enzymů

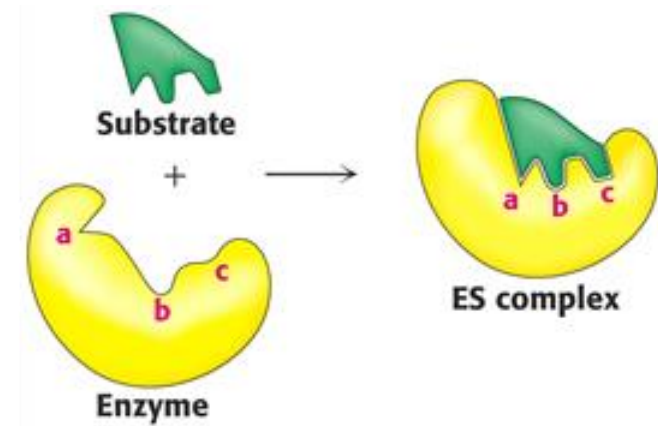
Aktivní místo enzymů

Model zámku a klíče



Fischer 1894

Model indukovaného přizpůsobení



Koshland 1959

vazbou substrátu se mění konformace
schopnost vyvolávat změnu konformace
- afinita, K_m

řazená vazba substrátů

Uspořádaný x neuspořádaný mechanismus