

C5720 Biochemie

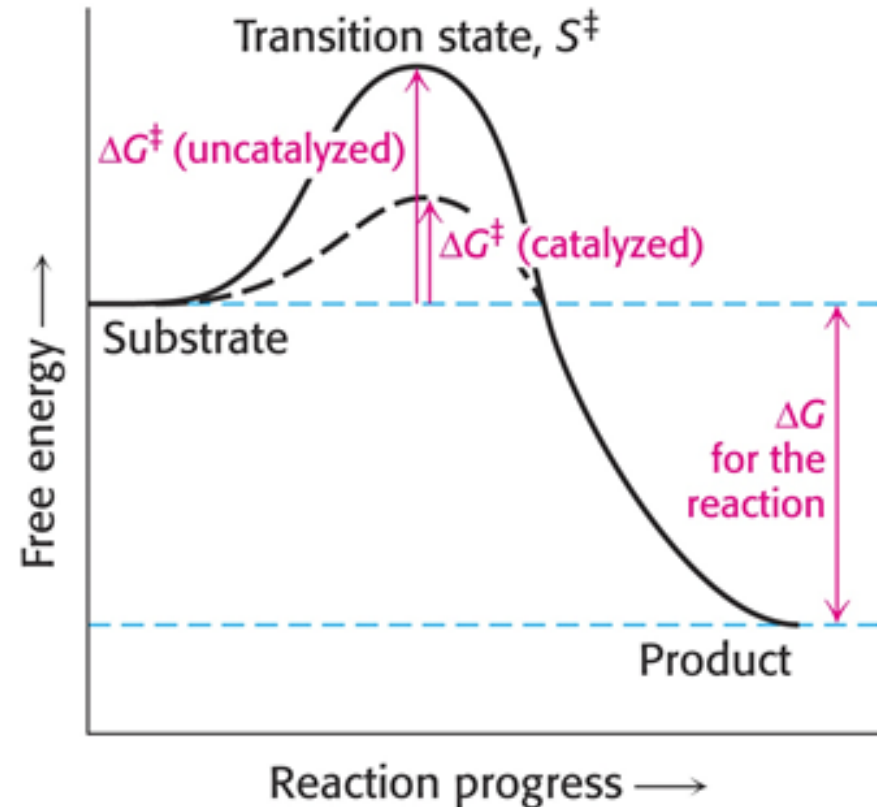
11-Enzymy

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



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 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	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000 years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000 years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3 years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7 weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9 days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4 hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5 seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

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

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

Historie poznávání enzymů

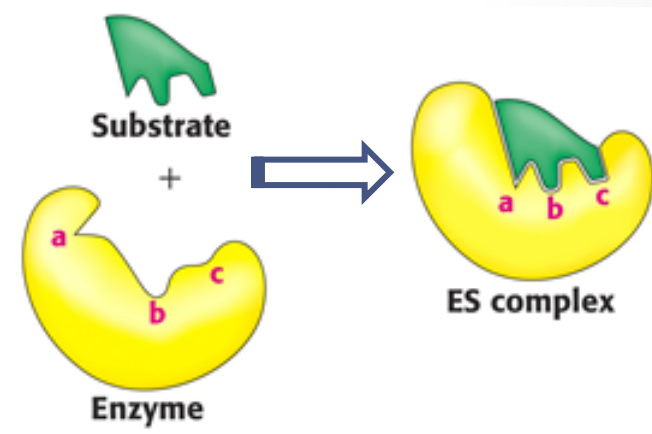
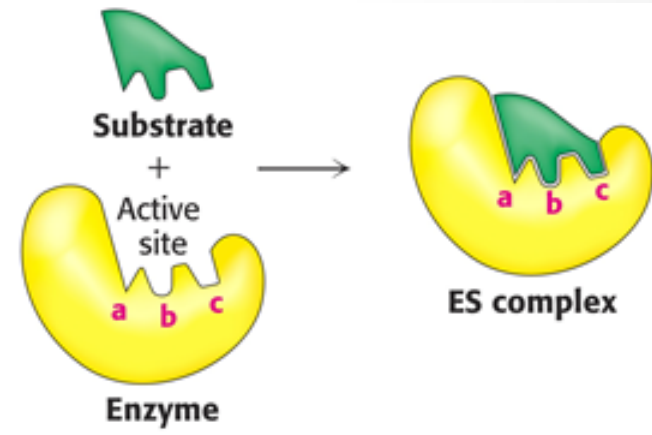
- Pasteur 1860 – fermentace je katalyzovány látkami, tuto schopnost však nelze oddělit od živých buněk, které jsou vybaveny tzv. životní silou *vis vitalis*
- Liebig – fermenty jsou schopny katalyzovat tyto reakce i mimo živou buňku – spor s Pasteurem
- Kühn 1878 – „enzym“ εν ζυμε – v kvasnicích
- Büchnerovi 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 specifická

- Model zámku a klíče
- Indukovaného přizpůsobení, postupné změny konformace
 - Různé mechanismy
 - Řazená vazba substrátů (uspořádaný mechanismus)
- např. vazba NAD na LDH změni konformaci řetězce, vytvoří se smyčka (kapsa pro vazbu laktátu)
- Různá přísnost – volnost
 - Absolutní, skupinová
 - Afinity – K_m
 - Část molekuly – galaktosidasa, peptidasy
 - Stereoselektivita – substrát i produkt



Širší uplatnění – biorekognice

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⁺-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 1.1.1.1
- EC 1 – oxidoreduktasy
- EC 1.1. – skupina CHOH
- EC 1.1.1. – kofaktor NAD
- EC 1.1.1.1 – 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 vázaná
 - **koenzym** – disociuje z dané enzymové bílkoviny a může se regenerovat v jiné enzymové reakci – též druhý substrát
- **Jednoduchý enzym** – vratná změna reaktivních skupin aminoacylů