

ENZIMMÉRŐKI ALAPISMERETEK



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A fehérjék speciális csoportjai és biológiai funkcióik


- Regulátor fehérjék
- Transzport fehérjék
- Védőfehérjék
- Toxinok
- Tartalék fehérjék
- Kontraktil fehérjék
- Szerkezeti fehérjék

ENZIMEK → REAKCIÓ KATALÍZIS




BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Enzimek



Kevés fejezete van a chemiának, amely a legutolsó néhány év alatt olyan nagyot haladt volna, mint éppen az enzimeké. Éppen ezért a vegyész léptenyomon érzi, hogy megismerésük és a velük való bánásmód manapság már nélkülözhetetlen”

Zemplén Géza, 1915
 Az enzimek és gyakorlati alkalmazásuk.
 A kir. Magyar Term. Tud. Társulat kiadása 349. oldal




BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Biokatalízis és RNS

Az élet kialakulásánál: nukleinsav világ
 A katalizátorok is RNS-ből álltak (nem kell transláció)
 → RIBOZIMEK

Az evolúcióban fokozatosan átalakult fehérje enzimekké.
 Maradtak: ATP, NAD⁺, CoA, (koenzimek)

tRNS
 cukrok UDP templátja
 RNaseP: RNS része: 377 bp ~125 kD
 a fehérje része: 119 AS ~14 kD



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Enzimek


1833: Payen és Persoz: csírázó árpa szerepe a keményítő hidrolízisben - dextrinek, cukrok
 Memoir sur la diastase, les principaux produits de ses reactions, et leurs applications aux art industrielles. *Annales de Chimie et de Physique*, 1833. 2me Serie 53, 73-92

1835: Berzelius – diasztáz hidrolízis KATALÍZIS

1853-1857: N-tartalmú szerves (szervezetlen) anyag, illetve élő szervezet (alacsonyrendű növény vagy „infusorium” (pl. alkoholos fermentáció)

1858 Traube feltételezi, hogy a fermentációt fermentumok végzik (Pasteur hatása)

De: első vállalat - 1874 - Chr. Hansen's Laboratory: rennin
 1878 Kühne: **ενζυμη** = élesztőben
 1897 Buchner: megállapítja, hogy az élesztőben erjesztő enzimek vannak



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

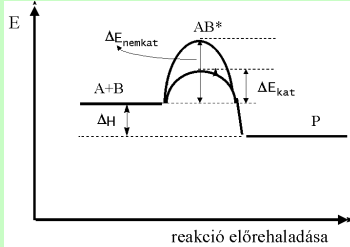
A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

1930-as évek: Eyring :


A reakció során létrejön egy magasabb energiájú átmeneti állapot - aktiválási energia kell:

$$k_r = \frac{kT}{h} e^{-\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \cdot e^{-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}} \approx \text{konst} \cdot e^{-\frac{\Delta E^\ddagger}{RT}}$$

T - abszolút hőmérséklet (Kelvin fok)
 k - Boltzmann állandó (1,37.10⁻²³ J/°K)
 h - Planck állandó (6,62.10⁻³⁴ Js)



Ezt csökkenti a katalizátorok - a katalizált reakció sebessége nagyobb, de az egyensúlyt nem befolyásolja.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Egyszerű és enzim katalízis összehasonlítása

Reakció	Katalizátor	Aktiválási energia kJ/mol	k_{rel} 25 °C
$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$	-	75	1
	I^-	56,5	$2,1 \cdot 10^3$
	kataláz	26,8	$3,5 \cdot 10^8$
Kazein + $nH_2O \rightarrow (n+1)$ peptid	H^+	86	1
	tripszin	50	$2,1 \cdot 10^6$
Szacharóz + $H_2O \rightarrow$ glükóz + fruktóz	H^+	107	1
	invertáz	46	$5,6 \cdot 10^{10}$
Linolénsav + $O_2 \rightarrow$ linolénsavperoxid	-	150-270	1
	Cu^{2+}	30-50	$\sim 10^2$
	lipoxigenáz	16,7	$\sim 10^7$



Enzim-szubsztrát kötődés

Szubsztrát kötőhely: zsák, zseb - csak egy kis felület a protein molekulán!

A két molekula felülete közötti kölcsönhatások:

ionpár, hidrogén híd, van der Waals (hidrofób) = másodlagos kölcsönhatások

Az enzimkatalízis általános esetei:

1. sav-bázis (modern elmélete: Linus Pauling 1946)
2. kovalens katalízis (Haldane 1930)
3. fém ion katalízis



Enzimes reakciók

A reakció általános leírása: kialakul egy átmenti komplex:



Szubsztrát (S): a reakcióban átalakuló molekula.

Termék (P): a reakcióban keletkező molekula.

Kötőhely: az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik.

Aktív hely/aktív centrum: az átalakításért felelős régió.

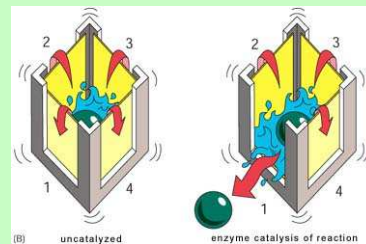
(A kettő nem feltétlenül azonos)

Az enzim molekulán további kötőhelyek is létezhetnek (aktivátor-, inhibitor-, koszubsztrátkötő helyek).



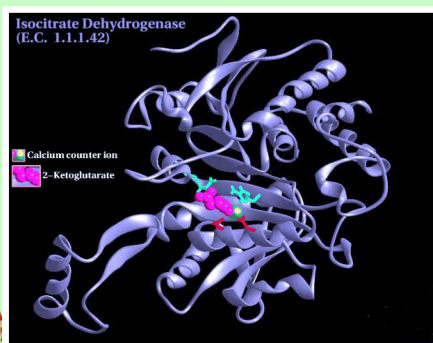
Enzimes reakciók

A sejten belül a sok szerves vegyület nagyon sokféle módon reagálhat egymással – de ezek a reakciók nagyon lassan mennek végbe az aktiválási energiájuk miatt. Az enzimek megnyitnak egy bizonyos reakcióutat.



Aktív centrum

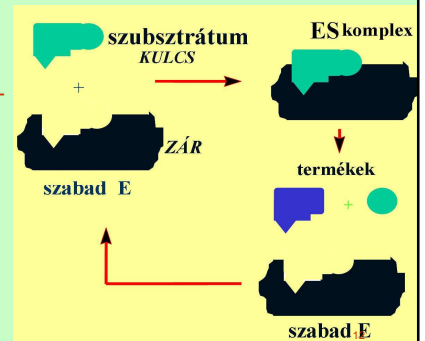
Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a protein molekulán



Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

Hermann Emil Fischer (1852-1919, a 2. Nobel díjas)

Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.



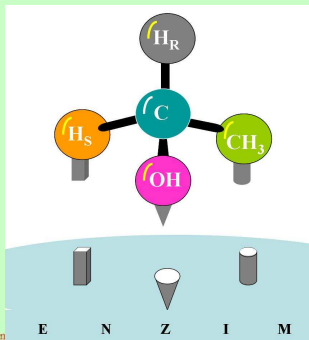
Sima enzim reakció



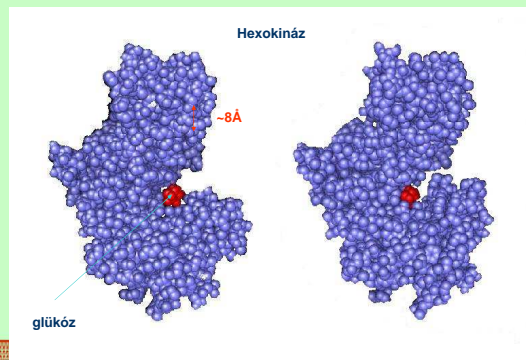
Enzim-szubsztrát kötődés: orientációs effektus

Hárompontos illeszkedés „three-point attachment”: a szubsztrát molekula több funkciós csoportja is kötést alakít ki az enzim felszínével, így pontosan pozícionálódik – nincs forgás.

Csak az egyik optikai izomer kapcsolódik – ez az enzimek sztereospecifitásának az alapja.

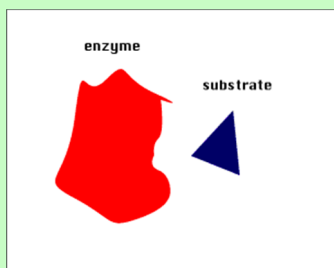


Indukált illeszkedés: hexokináz

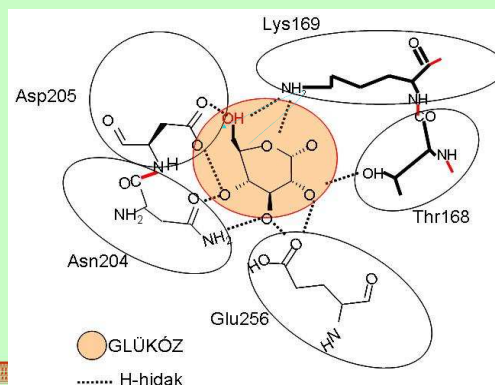


Enzim-szubsztrát kötődés: indukált illeszkedés

http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced_fit/index.html

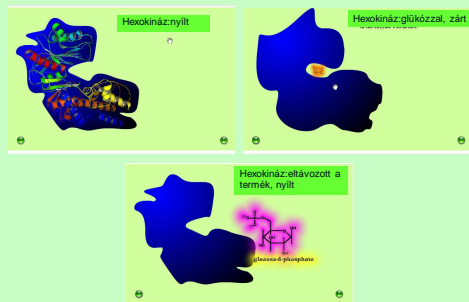


Indukált illeszkedés: hexokináz



Indukált illeszkedés: hexokináz

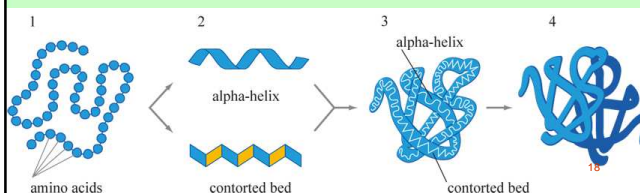
A hexokináz „ráharap” a szubsztrátra.



Hogyan alakul ki az aktív felület?

Az összecsavarodott fehérjelánc(ok) alakítják ki a térbeli (3D) szerkezetet (harmadlagos, negyedleges szerkezet). Az aminosavak oldalláncai lehetnek:

- apolárisak (alkil csoportok)
- polárisak (-OH, -SH csoport)
- ionosak (-NH₂, -COOH csoportok)



Reaktív oldalláncok

Savas: -COOH: Asp, Glu Bázikus: -NH₂: Lys, Arg
 Láncvégi szabad -COOH és -NH₂
 savamid: -CO-NH₂: Asn, Gln

Poláris: -OH: Ser, Thr -SH: Cys, -S-CH₃: Met

Imidazol: His Guanidin: Arg

H-hidak: C=O H-O- C=O H-NH-



Reakciómechanizmus: kimotripszin

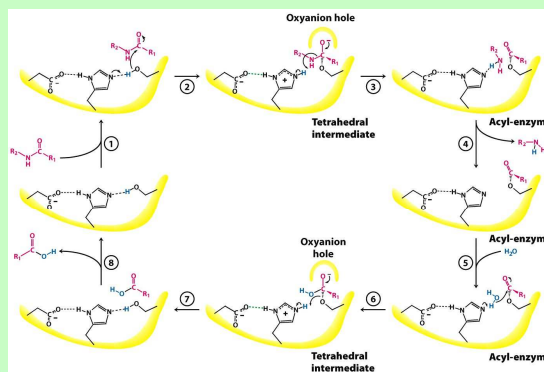
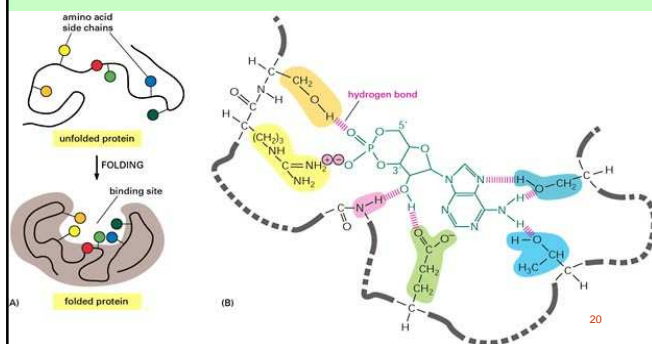


Figure 9.8
 Biochemistry, Seventh Edition
 © 2012 W. H. Freeman and Company

Aktív centrum kialakulása



Az enzimek tulajdonságai

Csak termodinamikailag lehetséges reakciókat gyorsítanak,
 $\Delta G < 0$

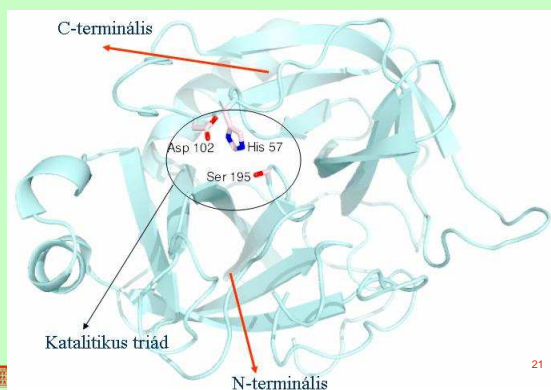
Minden enzim reakció reverzibilis, egyensúlyra vezet
 de: az egyensúly eltolható, pl. a termék elvételével

A fehérjék denaturálhatóak: t, pH, ionerősség (kisózás), oldószerek

Specifikusak: szubsztrát-specifitás
 csoport-specifitás
 sztereo-specifitás
 régió-specifitás
 reakció-specifitás



Aktív centrum: kimotripszin



Az enzim katalízis előnyei

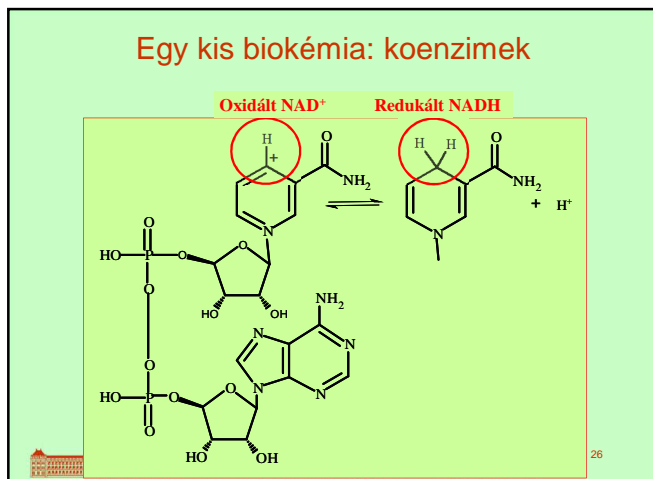
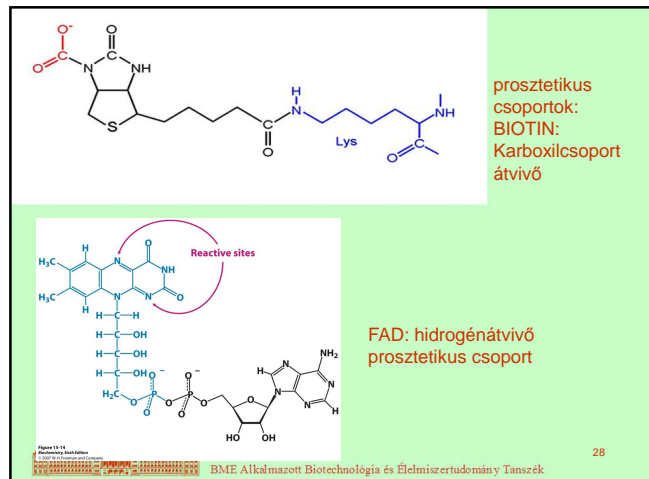
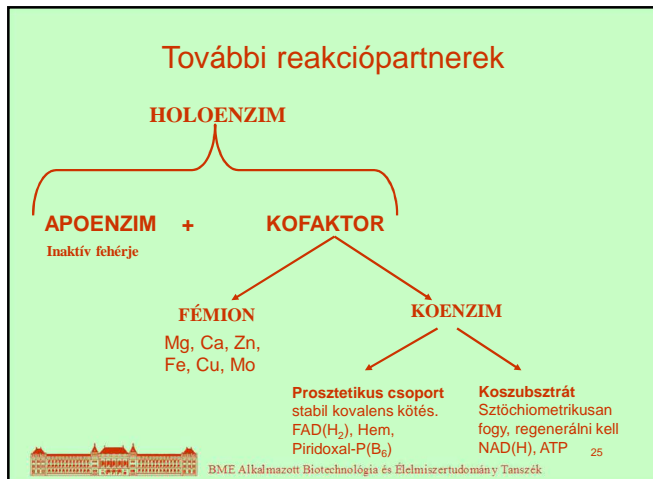
Nagyobb reakciósebesség: akár 10⁶-10¹² x gyorsabb

Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)

Nagyobb specifitás(ok), mint a kémiában

Regulálhatóság





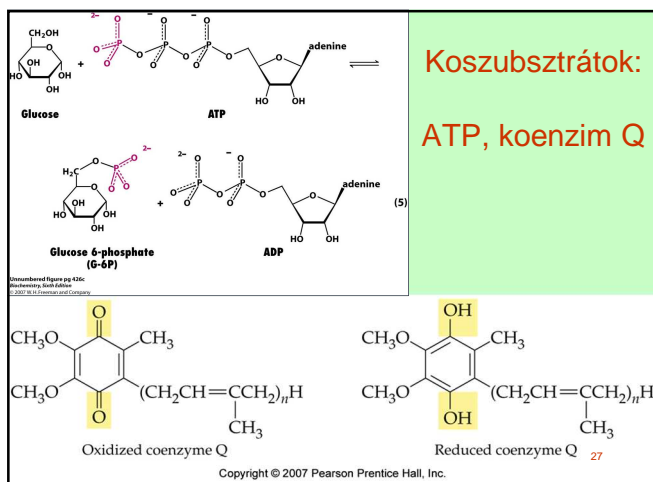
- ### Enzimek elnevezése
1. Szubsztrát szerint: $\text{urea} + \text{víz} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$

\downarrow
ureáz

S-név +áz
 2. Szubsztrát és reakció után: $\text{EtOH} \rightarrow \text{AcO} \rightarrow \text{AcOH}$

\downarrow
alkohol-dehidrogenáz

(S-név)+reakciónév+áz
 3. Triviális nevek:
pepszin, tripszin, rennin - mind fehérjebontók + -in
 4. IUB, IUPAC, IUBMB 1964,1972,1978 Enzyme Commission szisztematikus névadás
- BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD ⁺)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	$\text{C-Glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{C-Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{C-terminal of polypeptide} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Shortened polypeptide} + \text{C-terminal residue}$
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Acetaldehyde} + \text{CO}_2$
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (cis-trans isomerization)	$\text{Maleate} \rightleftharpoons \text{Fumarate}$
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{Oxaloacetate} + \text{ADP} + \text{P}_i$

Enzim nevezéktan

katalógusszám koszubsztrát

E.C.1.1.1.49. D-glucose-6P: NADP 1-oxydoreductase

szubsztrát a reakció mibenléte

a támadás helye az 1 C-atomon van

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 31

Enzim adatbázisok

<http://www.expasy.org/enzyme>

BRENDA - Comprehensive Enzyme Information system
EMP - Enzymes and Metabolic Pathways database
KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
MetaCyc - Metabolic Encyclopedia of enzymes and metabolic pathways

IUBMB Enzyme Nomenclature
BioCarta - Pathways of Life

következik: ENZIMKINETIKA

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 34

IUBMB Enzyme Nomenclature

EC 1.1.1.49
Accepted name: glucose-6-phosphate dehydrogenase
Reaction: D-glucose 6-phosphate + NADP⁺ = D-glucono-1,5-lactone 6-phosphate + NADPH + H⁺
For diagram of reaction [click here](#).

Other name(s):
NADP-glucose-6-phosphate dehydrogenase; Zwischenferment; D-glucose 6-phosphate dehydrogenase;
glucose 6-phosphate dehydrogenase (NADP); NADP-dependent glucose 6-phosphate dehydrogenase;
6-phosphoglucoase dehydrogenase; Entner-Doudoroff enzyme; glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase;
G6PDH; GPD

Systematic name: D-glucose-6-phosphate:NADP⁺ 1-oxidoreductase
Comments: Also acts slowly on β-D-glucose and other sugars. Certain preparations reduce NAD⁺ as well as NADP⁺.

Links to other databases: [BRENDA](#), [EXPASY](#), [GTD](#), [KEGG](#), [ERGO](#), [PDB](#), CAS registry number: 9001-40-5

References:
1. Engel, H.J., Domschke, W., Alberti, M. and Domagk, G.F.: Protein structure and enzymatic activity. II. Purification and properties of a crystalline glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Candida utilis*. *Biochim. Biophys. Acta* 191 (1969) 509-516. [PMID: [5363983](#)]
2. Glaser, L. and Brown, D.H. Purification and properties of D-glucose-6-phosphate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 216 (1955) 67-79.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 32

Alkoholdehidrogenáz: → **EC 1.1.1.1 Alcohol:NAD⁺ Oxidoreductase**

Alkohol + NAD⁺ ↔ aldehid v. keton + NADH + H⁺

Hexokináz: → **EC 2.7.1.1. ATP:D-hexose 6-phosphotransferase**

ATP + D-hexóz ↔ ADP + D-Hexóz-6-Foszfát

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 33