


ENZIMMÉRNÖKI ALAPISMERETEK




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

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: $\epsilon\nu\zeta\upsilon\mu\eta$ = élesztőben

1897 Buchner: megállapítja, hogy az élesztőben erjesztő enzimek vannak



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



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

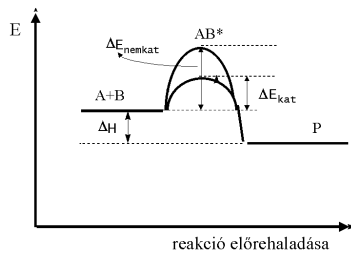


A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

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.



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	$2,1 \cdot 10^3$
Kazein + nH ₂ O → (n+1)peptid	kataláz	26,8	$3,5 \cdot 10^8$
	tripszín	86	1
Szacharóz + H ₂ O → glükóz + fruktóz	H ⁺	50	$2,1 \cdot 10^6$
	invertáz	107	1
Linolénsav + O ₂ → linolénsavperoxid	-	46	$5,6 \cdot 10^{10}$
	Cu ²⁺	150-270	1
	lipoxigenáz	30-50	$\sim 10^2$
		16,7	$\sim 10^7$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Enzim 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).

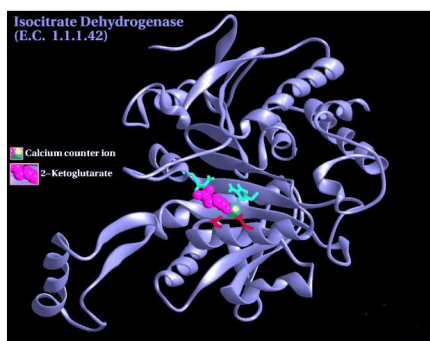


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Aktív centrum

Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a protein molekulán



9

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

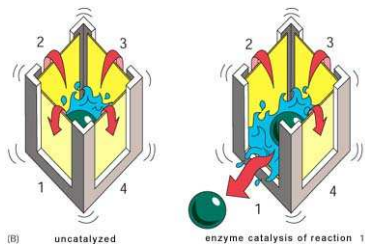


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

Enzimes reakciók

A sejtben a sok szerves vegyület nagyon sokféle módon reagálhatna egymással – de ezek a reakciók nagyon lassan mennek végbe az aktiválási energiagátak miatt. Az enzimek megnyitnak egy bizonyos reakcióutat.



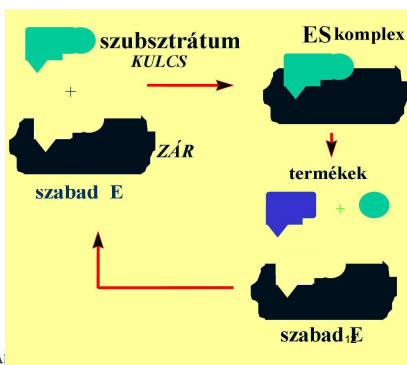
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

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

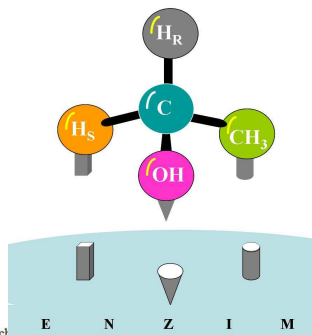


BME A

Enzim-szubsztrát kötődés: orientációs effektus

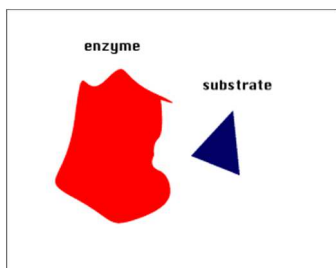
Hárompontos illeszkedés „three-point attachment”: a szubsztrát molekula több funkciós csoportja is kötést alakít ki az enzim felszínével, így pontosan pozícionálódik – nincs forgás.

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



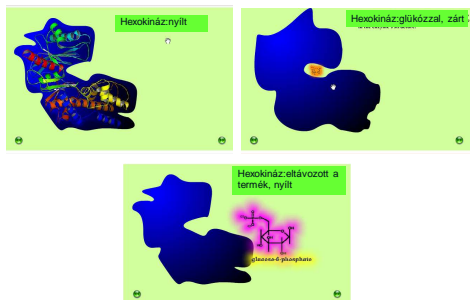
Enzim-szubsztrát kötődés: indukált illeszkedés

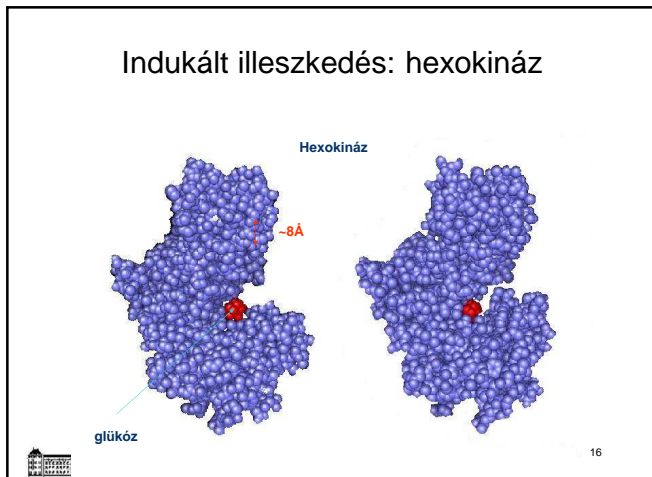
http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced_fit/index.html

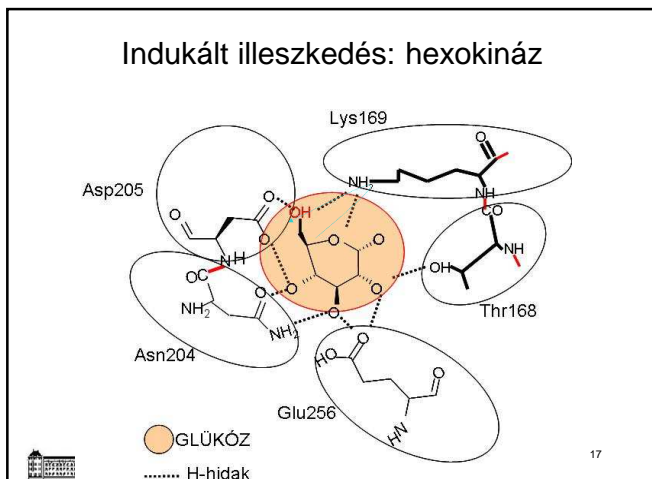


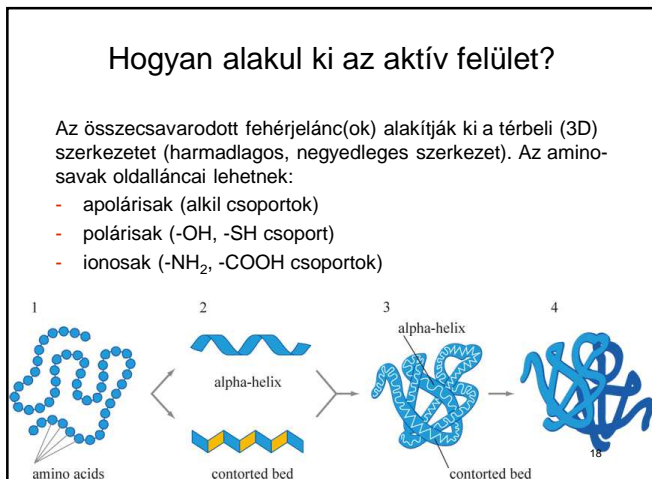
Indukált illeszkedés: hexokináz

A hexokináz „ráharap” a szubsztrátra.









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

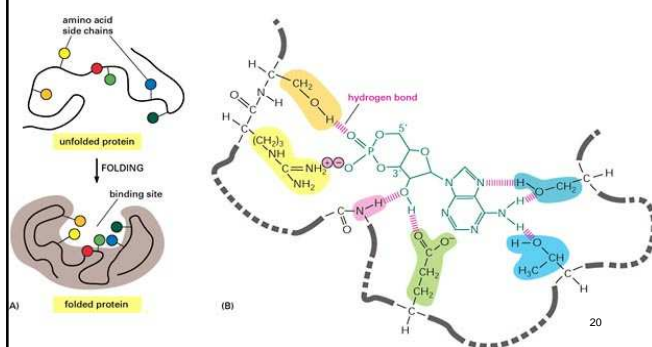
H-hidak: C=O H-O- C=O H-NH-



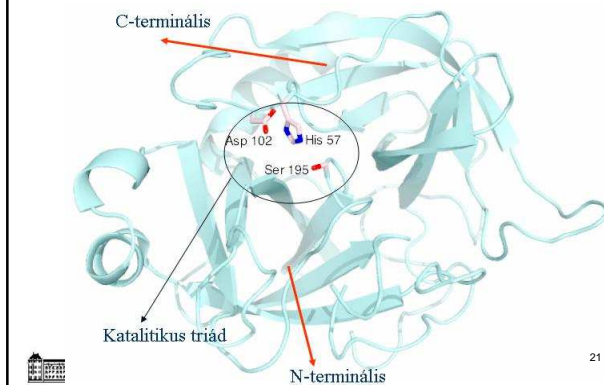
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

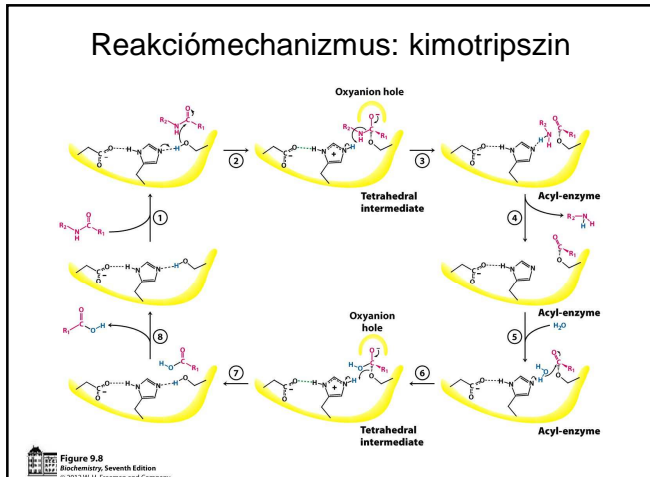
Aktív centrum kialakulása



Aktív centrum: kimotripszin



21



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

23

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az enzim katalízis előnyei

Nagyobb reakciósebesség: akár 10^6 - 10^{12} x gyorsabb

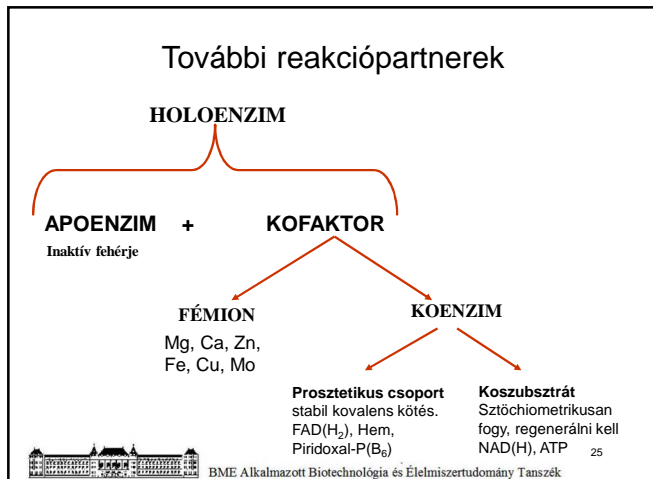
Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)

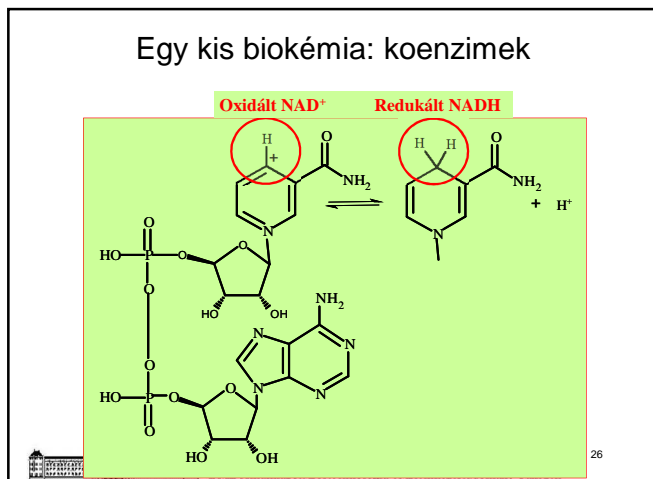
Nagyobb specifitás(ok), mint a kémiában

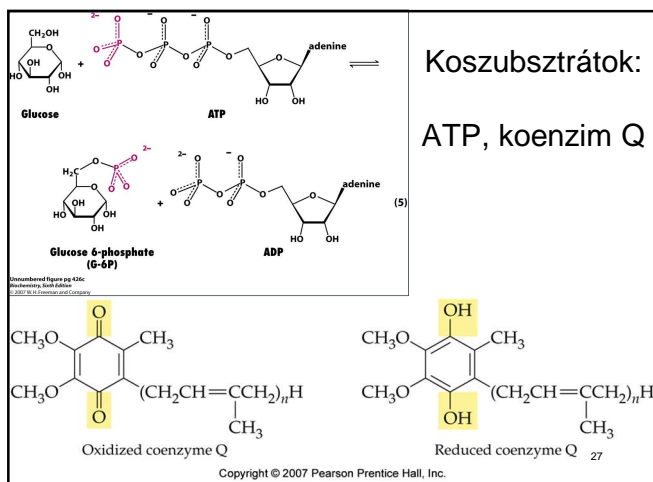
Regulálhatóság

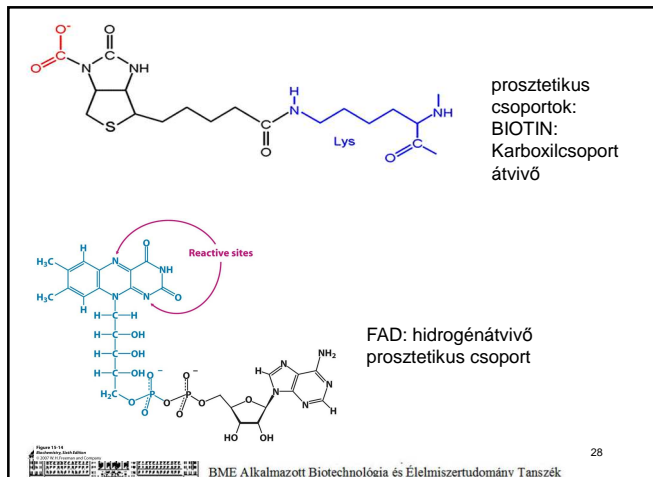
24

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék









Enzimek elnevezése

- Szubsztrát szerint: $\text{urea} + \text{víz} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$
 ureáz S-név + áz
- Szubsztrát és reakció után: $\text{EtOH} \rightarrow \text{AcO} \rightarrow \text{AcOH}$
 alkohol-dehidrogenáz (S-név)+reakciónév+ áz
- Triviális nevek:
 pepszin, tripszin, rennin - mind fehérjebontók + -in
- IUB, IUPAC, IUBMB 1964,1972,1978 Enzyme Commission
 szisztematikus névadás

29
 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD ⁺)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$ Ethanol → Acetaldehyde
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{ATP} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6\text{P} + \text{ADP}$ D-Glucose → D-Glucose-6-phosphate
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{---NH---CH(R)---CO---NH---CH(R')---COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{---NH---CH(R)---COO}^- + \text{H}_2\text{N---CH(R')---COO}^-$ C-terminus of polypeptide → Shortened polypeptide + C-terminal residue
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{---COO---C(=O)---CH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H---C(=O)---CH}_3$ Pyruvate → Acetaldehyde
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)	$\text{---COO---C(=O)---CH}_3 + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{---COO---C(=O)---CH}_2\text{---C(=O)COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ Pyruvate → Oxaloacetate

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

31

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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-phosphoglucose 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.

32

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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

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

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

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

33

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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
