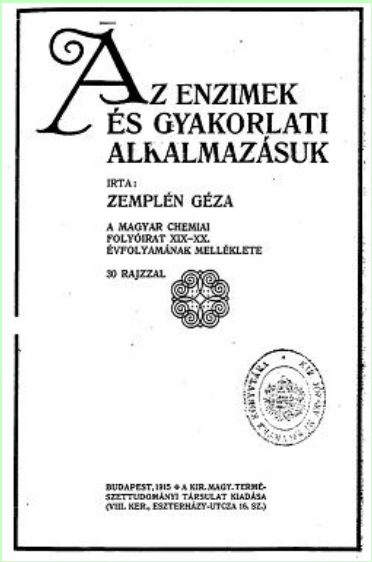
ENZIMMÉRNÖKI ALAPISMERETEK

Enzimek


AZ ENZIMEK ÉS GYAKORLATI ALKALMAZÁSUK

IRTA:
ZEMPLÉN GÉZA

A MAGYAR CHEMIAI FOLYÓIRAT XIX–XX. ÉVFOLYAMÁNAK MELLÉKLETE

30 RAJZZAL

BUDAPEST, 1915 ❖ A KIR. MAGY. TERMÉSZETTUDOMÁNYI TÁRSULAT KIADÁSA (VIII. KER., ESZTERHÁZY-UTCZA 16. SZ.)

Kevés fejezete van a chemiának, amely a legutolsó néhány év alatt olyan nagyot haladt volna, mint éppen az enzimeké. Éppen ezért a vegyész léptennyomon 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

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

3

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

4

Biokatalízis és RNS

Az élet kialakulásánál: nukleinsav világ

A katalizátorok is RNS-ből álltak (nem kell transzláció)

→ 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

5

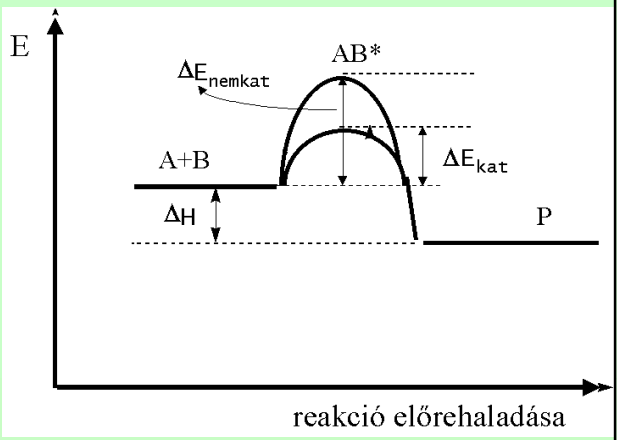
A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

1930-as évek: Eyring :

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

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

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



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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

Egyszerű és enzimes katalízis összehasonlítása

Reakció	**Katalizátor**	**Aktiválási energia** kJ/mol	**k_{rel}** 25 °C
$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$	- I^{-1} kataláz	75 56,5 26,8	1 $2{,}1.10^3$ $3{,}5.10^8$
Kazein $+nH_2O \rightarrow$ (n+1)peptid	H^+ tripszin	86 50	1 $2{,}1.10^6$
Szacharóz$+H_2O \rightarrow$ glükóz+fruktóz	H^+ invertáz	107 46	1 $5{,}6.10^{10}$
Linolénsav $+ O_2 \rightarrow$ linolénsavperoxid	- Cu^{2+} lipoxigenáz	150-270 30-50 16,7	1 $\sim 10^2$ $\sim 10^7$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Enzimes reakciók

A reakció általános leírása: kialakul egy átmenti komplex:

$$E + S \leftrightarrow [ES] \rightarrow E + P$$

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)

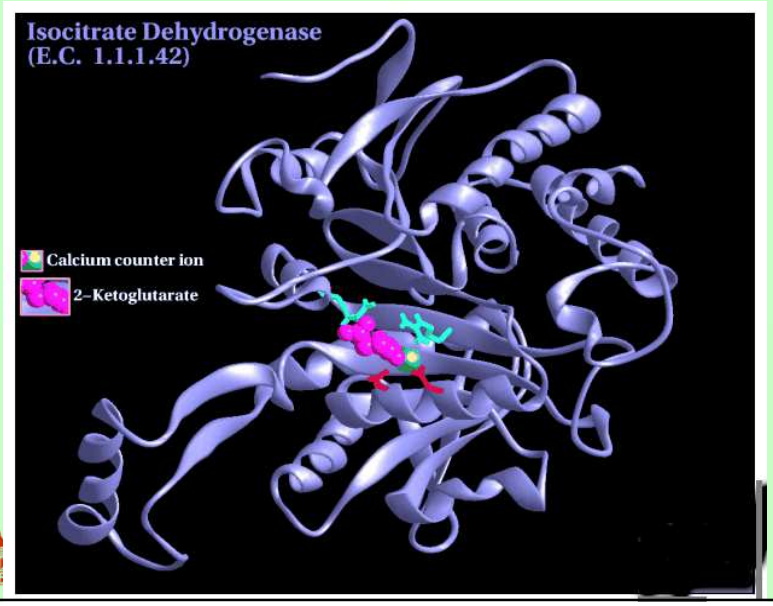
Az enzimmolekulán további kötőhelyek is létezhetnek (aktivátor-, inhibitor-, koszubsztrátkötő helyek).

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:

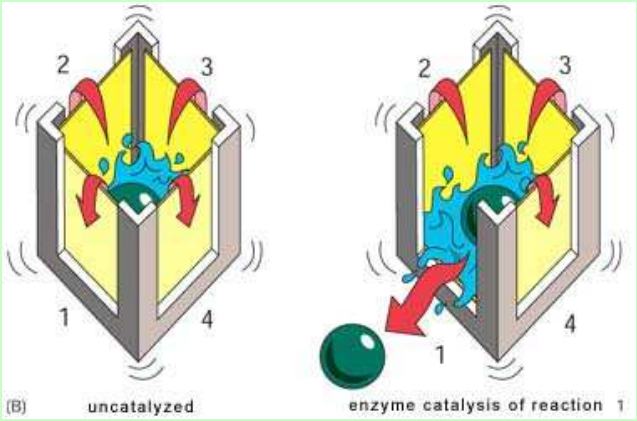
1. sav-bázis (modern elmélete: Linus Pauling 1946)
2. kovalens katalízis (Haldane 1930)
3. fém ion katalízis

10

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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.



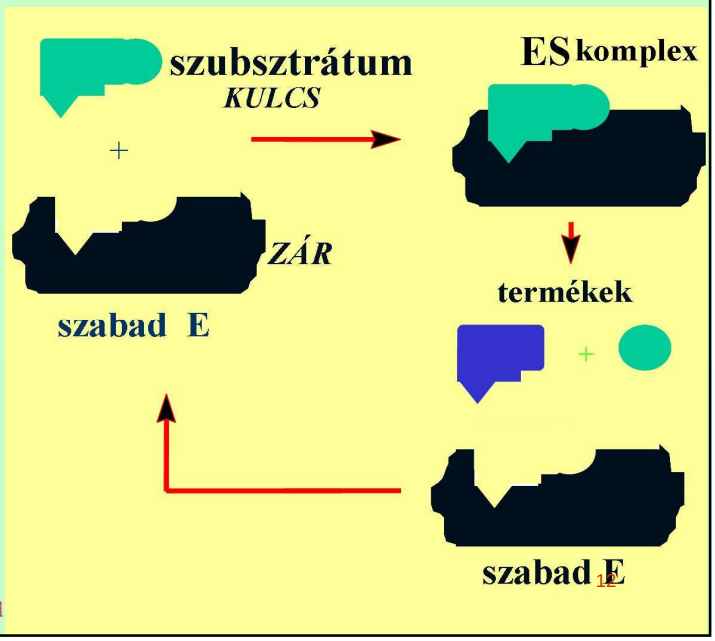
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

Hermann Emil Fischer (1852-1919, a 2. Nobel díjas)
Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.

Sima enzimes reakció



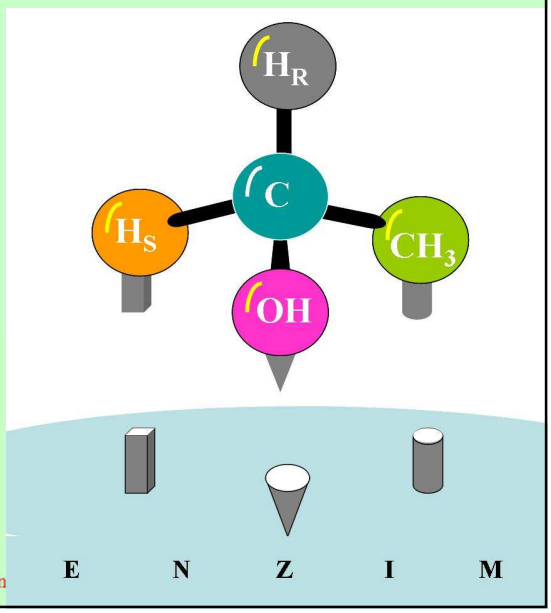
BME Al

12

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.

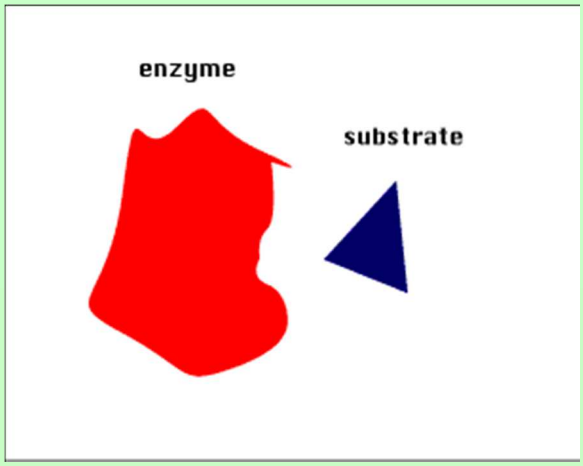
Csak az egyik optikai izomer kapcsolódik – ez az enzimek sztereospecifitásának az alapja.



BME Alkalmazott Biotechn

Enzim-szubsztrát kötődés: indukált illeszkedés

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

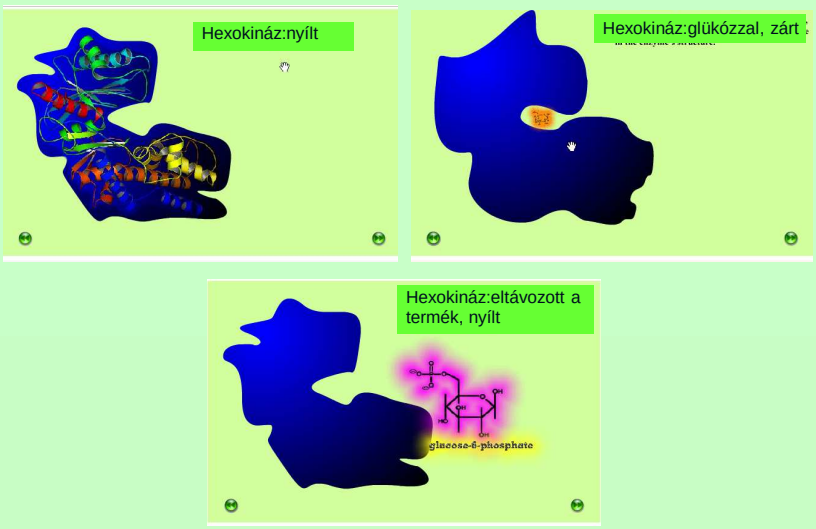


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Indukált illeszkedés: hexokináz

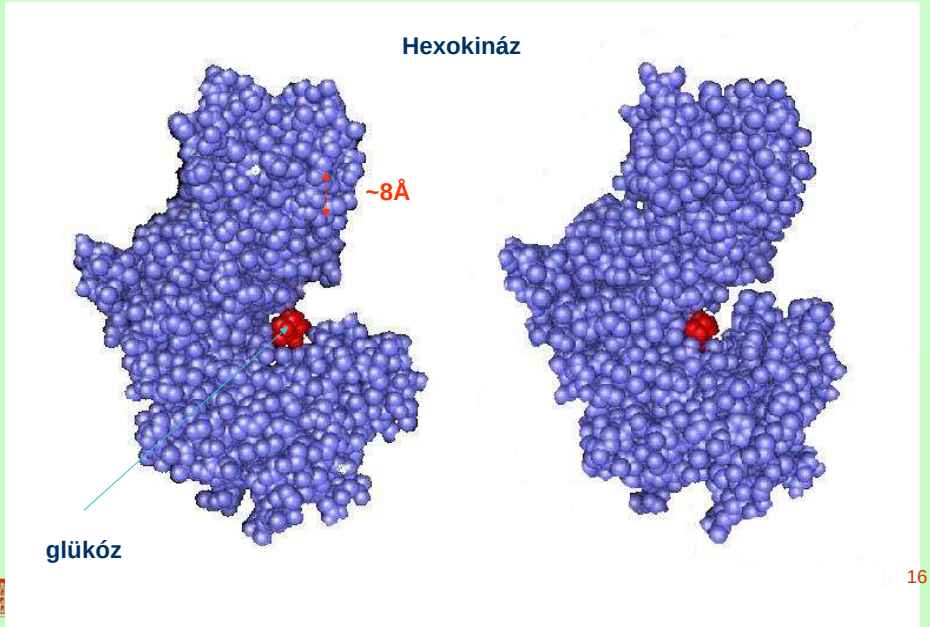
A hexokináz „ráharap” a szubsztrátra.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

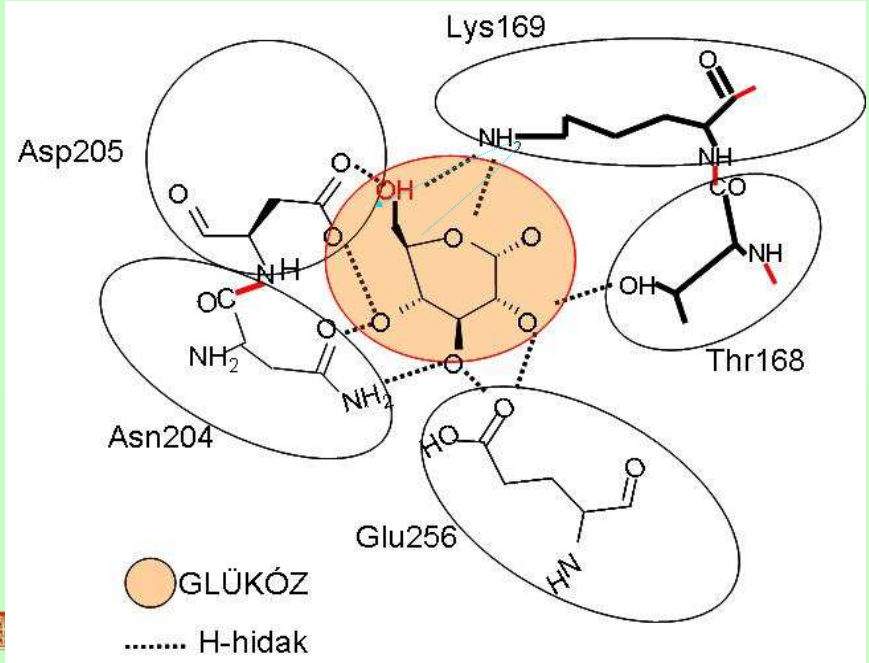
15

Indukált illeszkedés: hexokináz



16

Indukált illeszkedés: hexokináz

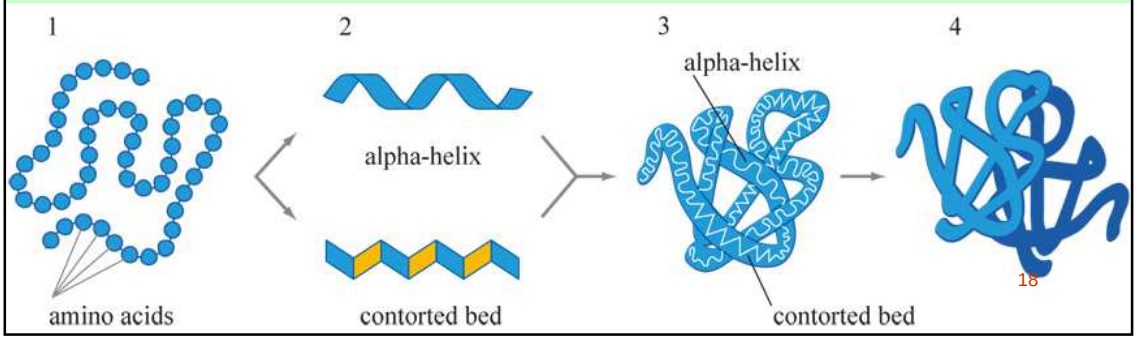


17

Hogyan alakul ki az aktív felület?

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

- apolárisak (alkil csoportok)
- polárisak (-OH, -SH csoport)
- ionosak (-NH_2, -COOH csoportok)



18

Reaktív oldalláncok

Savas: -COOH: Asp, Glu Bázikus: -NH_2: Lys, Arg
Láncvégi szabad –COOH és -NH_2
savamid: -CO-NH_2: Asn, Gln

Poláris: -OH: Ser, Thr -SH: Cys, -S-CH_3: Met

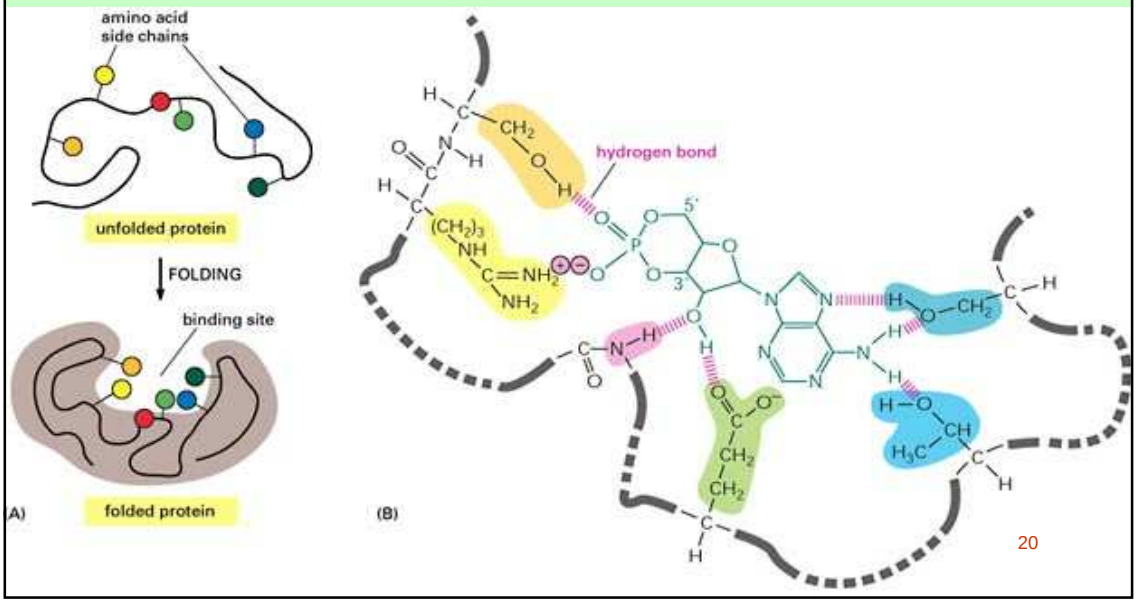
Imidazol: His Guanidin: Arg

H-hidak: C=O …… H-O- C=O …… H-NH-

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

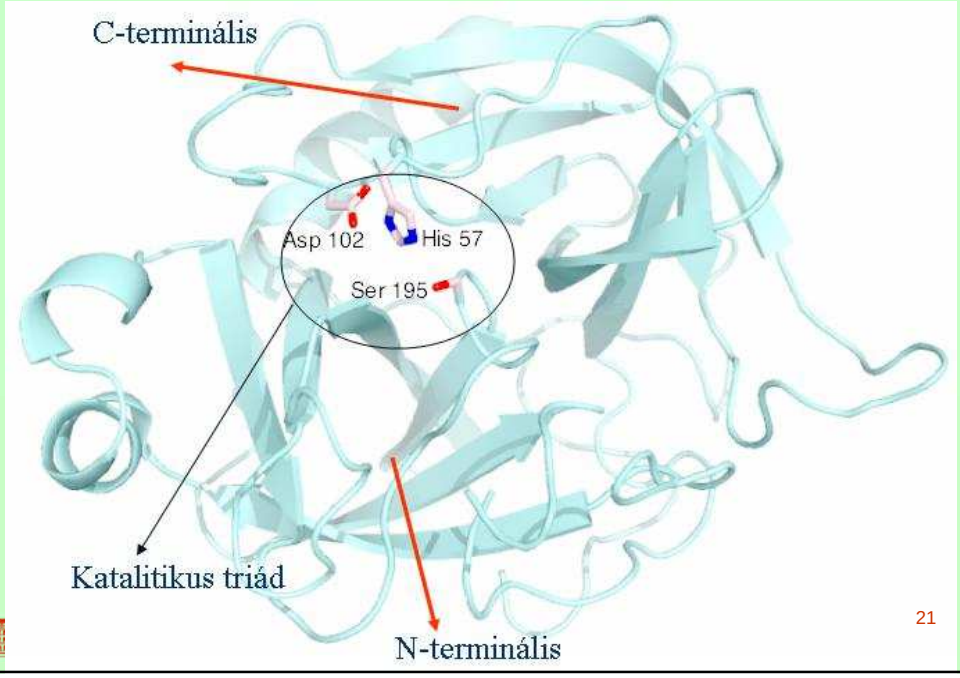
19

Aktív centrum kialakulása



20

Aktív centrum: kimotripszin



21

Reakciómechanizmus: kimotripszin

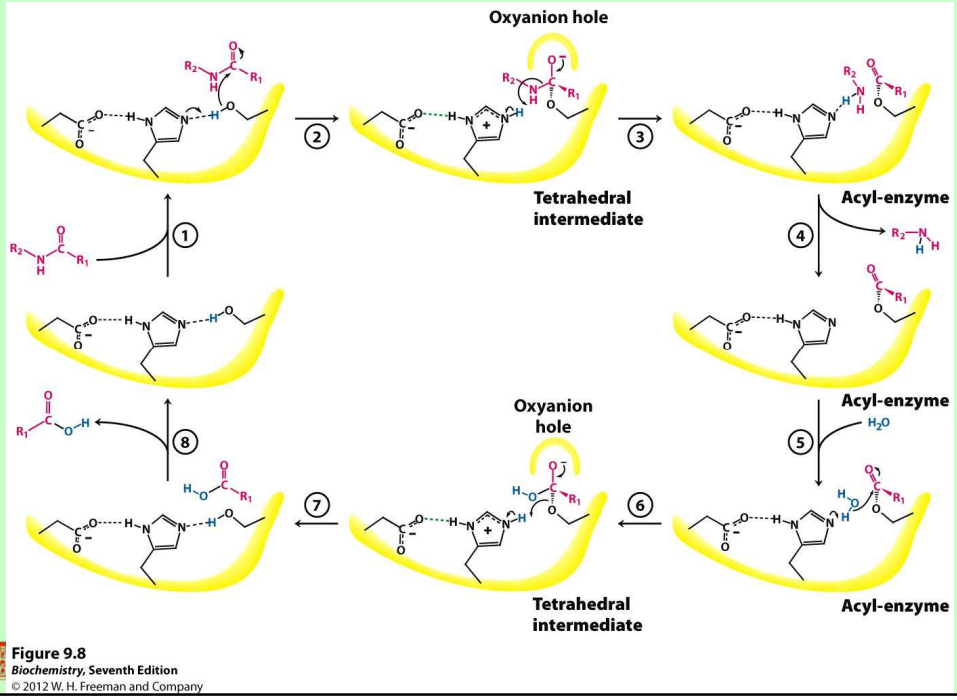


Figure 9.8
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

Az enzimek tulajdonságai

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

Minden enzimes 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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

Az enzimes katalízis előnyei

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

Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)

Nagyobb specifitás(ok), mint a kémiában

Regulálhatóság

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

További reakciópartnerek

HOLOENZIM

APOENZIM + **KOFAKTOR**

Inaktív fehérje

FÉMION

Mg, Ca, Zn,
Fe, Cu, Mo

KOENZIM

Prosztetikus csoport
stabil kovalens kötés.
FAD(H_2), Hem,
Piridoxal-P(B_6)

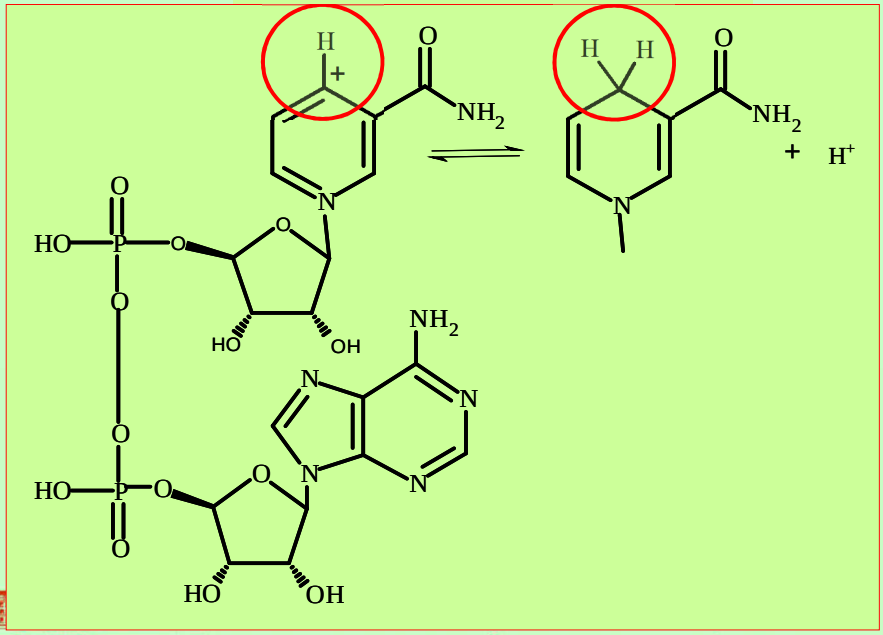
Koszubsztrát
Sztöchiometrikusan
fogy, regenerálni kell
NAD(H), ATP

25

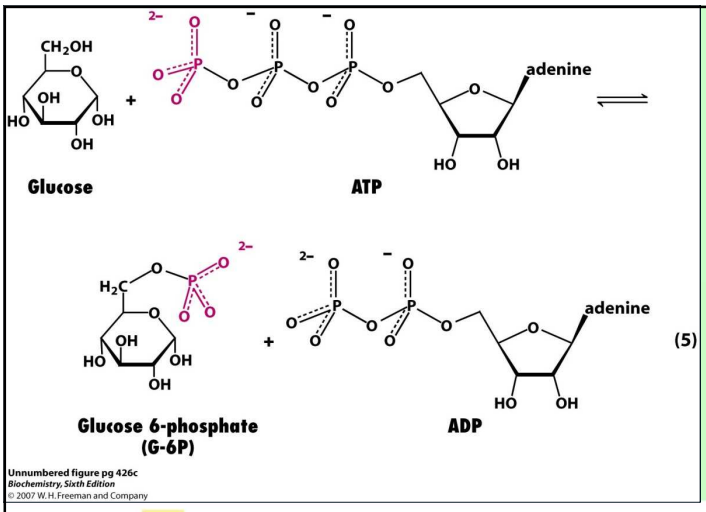
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Egy kis biokémia: koenzimek

Oxidált NAD^+ **Redukált NADH**

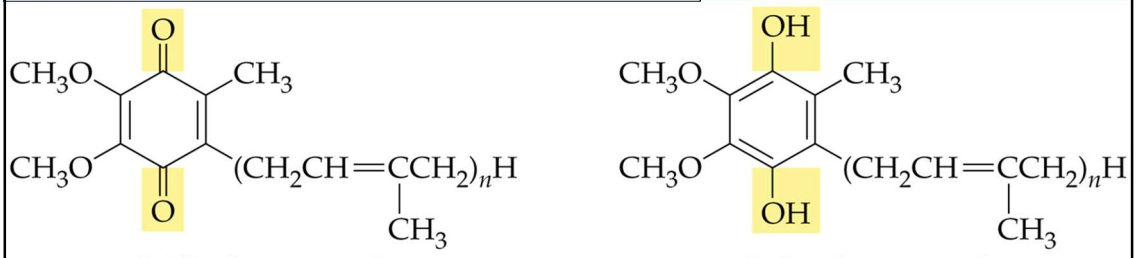


26



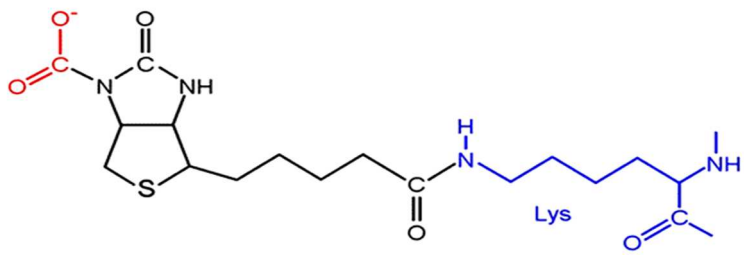
Koszubsztrátok:

ATP, koenzim Q

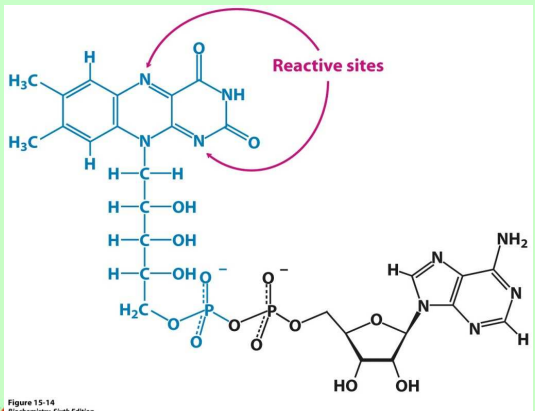


Copyright © 2007 Pearson Prentice Hall, Inc.

27



prosztetikus csoportok:
BIOTIN:
Karboxilcsoport átvivő



FAD: hidrogénátvivő prosztetikus csoport

28

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Enzimek elnevezése

1. Szubsztrát szerint: urea + víz $\rightleftharpoons$ $CO_2 + 2NH_3$

ureáz

S-név + áz

2. Szubsztrát és reakció után: EtOH → AcO → AcOH

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

29

Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD^+)	CH_3CH_2OH (Ethanol) —NAD^+ / $NADH + H^+$→ $CH_3-C(=O)-H$ (Acetaldehyde)
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	D-Glucose —ATP / ADP→ D-Glucose-6-phosphate
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	C-terminus of polypeptide —H_2O→ Shortened polypeptide + C-terminal residue
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	Pyruvate + H^+ → CO_2 + Acetaldehyde
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (*cis–trans* isomerization)	Maleate ⇌ Fumarate
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	Pyruvate + CO_2 —ATP / ADP + P_i→ Oxaloacetate

30

Enzim nevezéktan

katalógusszám

koszubsztrát

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

a reakció mibenléte

szubsztrát

a támadás helye az 1 C-atomon van

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

31

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.

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

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