Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

BIOCHEMIA

Kierunek: Technologia Żywności
i Żywienie Człowieka

semestr III

Wykład 3
Enzymy

WNoŻiR

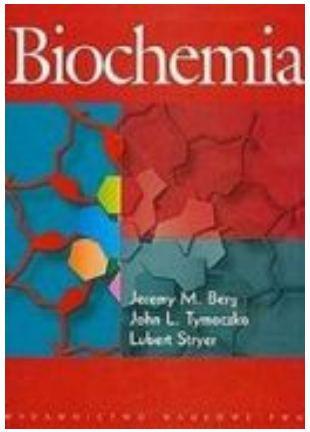
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I RYBACTWA
CENTRUM BIOIMMOBILIZACJI I INNOWACYJNYCH
MATERIAŁÓW OPAKOWANIOWYCH

CBIIMO

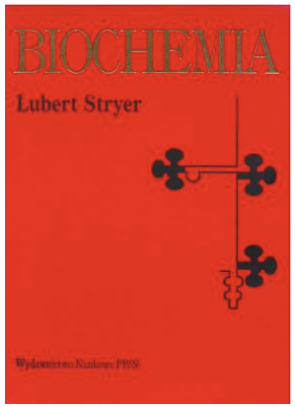
Zakres materiału ENZYMY

ENZYMY:

8. Enzymy:: podstawowe pojęcia i kinetyka
9. Strategie katalityczne
10. Strategie regulacyjne:: enzymy i hemoglobina



Biochemia, Autor: Jeremy Berg, Lubert Stryer, John L. Tymoczko, PWN Warszawa 2005



Biochemia, Autor: Lubert Stryer, PWN Warszawa 1999

8. Enzymy: podstawowe pojecia i kinetyka
9. Strategie katalityczne
10. Strategie regulacyjne

Historia odkrycia

- Na przełomie XVIII i XIX wieku obserwowano już **trawienie *in vitro*** mięsa przez **wydzieliny żołądka** oraz **rozkład skrobi do cukrów prostych** przez **ekstrakty roślinne** lub **ślinę**;

- W XIX wieku, podczas studiów nad fermentacją cukrów do alkoholu przeprowadzaną przez drożdże, **Louis Pasteur** doszedł do wniosku, że reakcja ta jest ściśle powiązana z procesami życiowymi w drożdżach, którą nazwał "**fermentem**". Podejrzewano, że może być ona aktywna tylko w żywych organizmach ("nie ma fermentacji bez życia").

- W 1878 roku niemiecki fizjolog Wilhelm Kühne, by opisać te procesy, ukuł termin **enzym**, który pochodzi z greckiego ενζυμον i oznacza "**w zaczynie**". Później **słowo enzym** było używane w odniesieniu do **substancji nieożywionych**, jak chociażby pepsyna, a słowo **ferment** w odniesieniu do **aktywności chemicznej wykazywanej przez organizmy żywe.**

- W roku 1897 **Eduard Buchner** (zdj.) na Uniwersytecie Humboldta w Berlinie stwierdził, że fermentacja cukrów za pomocą ekstraktów drożdżowych przy nieobecności żywych komórekw jest możliwa. Odkryty enzym przeprowadzający fermentację sacharozy nazwał zymazą. W 1907 roku Eduard Buchner otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii "za swoje **badania biochemiczne i odkrycie fermentacji bez udziału komórek**".

- Zgodnie z nazwą pierwszego enzymu, obecna nomenklatura ich nazewnictwa, przewiduje **tworzenie nazwy od reakcji.** Zazwyczaj dodaje się przyrostek ***-aza*** do nazwy substratu przetwarzanego w reakcji (np. **laktaza** to enzym przetwarzający laktozę).

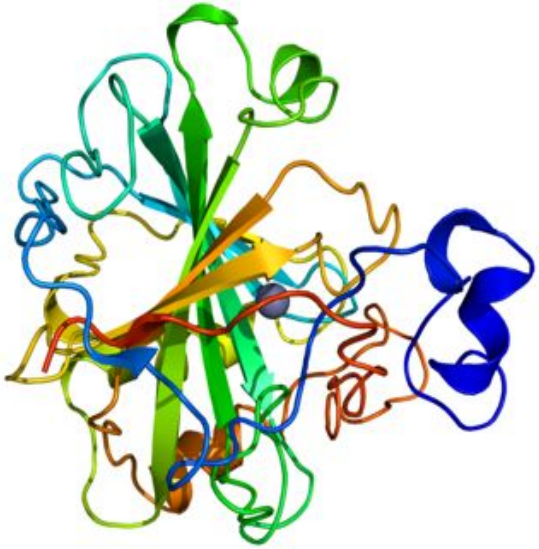
Enzymy mają dużą siłę katalityczną

1. Enzymy przyspieszają reakcje chemiczne co najmniej milion razy.
2. Przy braku enzymów większość reakcji w układach biologicznych zachodzi tak *wolno, że są one niezauważalne*.

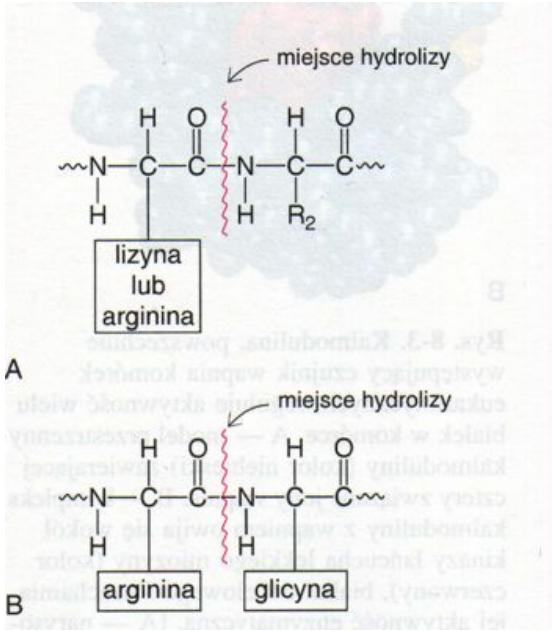
Nawet tak mało skomplikowana reakcja, jaką jest ***uwodnienie dwutlenku węgla****, jest katalizowana enzymatycznie. Przy braku katalizatora przeniesienie CO_2 z tkanek do krwi, a następnie do powietrza wypełniającego pęcherzyki płucne, byłoby niepełne.* ***Anhydraza węglanowa****, enzym katalizujący tę reakcję, jest jednym z najszybszych znanych enzymów. Każda cząsteczka enzymu może uwodnić 10^5 cząsteczek CO_2 w czasie jednej sekundy. Reakcja katalizowana w obecności anhydrazy zachodzi 10^7 razy szybciej, niż reakcja przy braku tego katalizatora.*

Anhydraza węglanowa (EC 4.2.1.1, dehydrataza węglanowa) – enzym o masie cząsteczkowej 28 000-30 000 Da, występujący w erytrocytach ssaków, katalizuje odwracalną reakcję powstawania jonu wodorowęglanowego HCO_3^- z wody i dwutlenku węgla.

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Carbonic anhydrase}} HCO_3^- + H^+$$



Model struktury **anhydrazy węglanowej**. Jon cynku, będący jej grupą prostetyczną, pokazany jako szara kulka w środku centrum aktywnego



Porównanie specyficzności:
A — trypsyny i B — trombiny. Trypsyna rozszczepia wiązanie peptydowe po karboksylowej stronie reszt argininy i lizyny. Trombina rozszczepia wiązanie Arg-Gly tylko w niektórych sekwencjach

Struktura polimerazy DNA wraz z substratem w postaci matrycy DNA

Enzymy działają bardzo specyficznie

1. **Enzymy charakteryzuje duża specyficzność**, zarówno pod względem katalizowanej reakcji chemicznej, jak i wyboru związków biorących w niej udział, czyli *substratów.*
2. **Jeden enzym** katalizuje na ogół **pojedynczą reakcję** chemiczną lub zestaw ściśle pokrewnych reakcji.
3. W odróżnieniu od reakcji niekatalizowanych, w reakcjach katalizowanych przez enzymy **rzadko występują reakcje uboczne**, prowadzące do nieekonomicznego tworzenia zbędnych produktów.
4. **Specyficzność enzymu** wobec substratu jest zwykle bardzo znaczna, a czasami praktycznie absolutna.
5. Enzymy różnią się znacznie stopniem specyficzności wobec substratu. Np. **polimeraza DNA jest niezwykle precyzyjna** w odczytywaniu instrukcji zakodowanych w matrycy. Fałszywe wprowadzenie nukleotydu do nowo syntetyzowanej nici DNA zachodzi rzadziej niż raz na milion razy, ponieważ polimeraza DNA powtórnie odczytuje rosnący produkt i poprawia swoje własne błędy

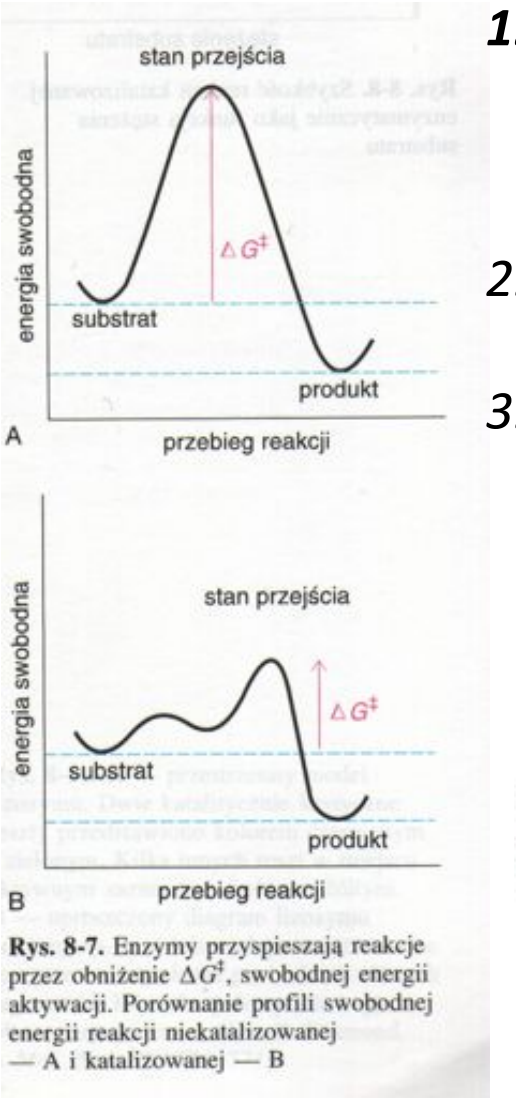
Zastosowanie enzymów – technologia żywności cz. I

Zastosowanie	Używane enzymy	Cel
Przemysł piekarniczy Łańcuchy skrobi są rozkładane na krótsze cukry przez alfa-amylazę 	Grzybowe alfa-amylazy	Katalityczne przyspieszenie rozkładu skrobi z mąki na krótsze cukry. Te z kolei są wykorzystywane przez drożdże piekarnicze zawarte w cieście, wskutek czego produkowany jest dwutlenek węgla, spulchniający ciasto. Używane w produkcji pieczywa białego, bułek itp.
	Proteazy	Producenci ciastek używają ich do obniżenia poziomu białka w mące.
Jedzenie dla niemowląt	Trypsyna	Do wstępnego nadtrawiania jedzenia.
Browarnictwo, gorzelnictwo i przemysł winiarski Kiełkujący jęczmień używany do produkcji słodu 	Enzymy jęczmienne uwalniane są podczas przyrządzania zacieru przy produkcji piwa.	Rokładają one skrobię i białka, uwalniając cukry proste i aminokwasy, służące następnie drożdżom w fermentacji.
	Przemysłowo produkowane enzymy jęczmienne i drożdżowe	Używane jako substytuty naturalnych
	Amylazy, glukanazy, proteazy	Rozkładają polisacharydy i białka zawarte w słodzie czy zacierze.
	Betaglukozydaza	Poprawia proces filtrowania.
	Amyloglukozydaza	Produkacja trunków niskokalorycznych.
	Proteazy	Usuwają zmętnienia produktu.

Zastosowanie enzymów – technologia żywności cz. II

Zastosowanie	Używane enzymy	Cel
Soki owocowe	Celulazy, pektynazy	Klarują soki (rozkład celulozy i pektyn).
Mleczarstwo	Podpuszczka, izolowana z żołądków młodych przeżuwaczy (cielęta, owce).	Produkcja serów, używane do hydrolizy białek.
	Enzymy pochodzenia mikrobiologicznego	Zastępują te pochodzenia zwierzęcego.
Ser typu Roquefort	Lipazy	Stosowane w produkcji sera Roquefort by usprawnić ich dojrzewanie.
	Laktazy	Rozkład laktozy do glukozy i galaktozy.
Zmiękczacze mięsa	Papaina	Rozmiękczanie mięsa przy gotowaniu.

Enzymy przyspieszają reakcję przez stabilizację stanu przejściowego



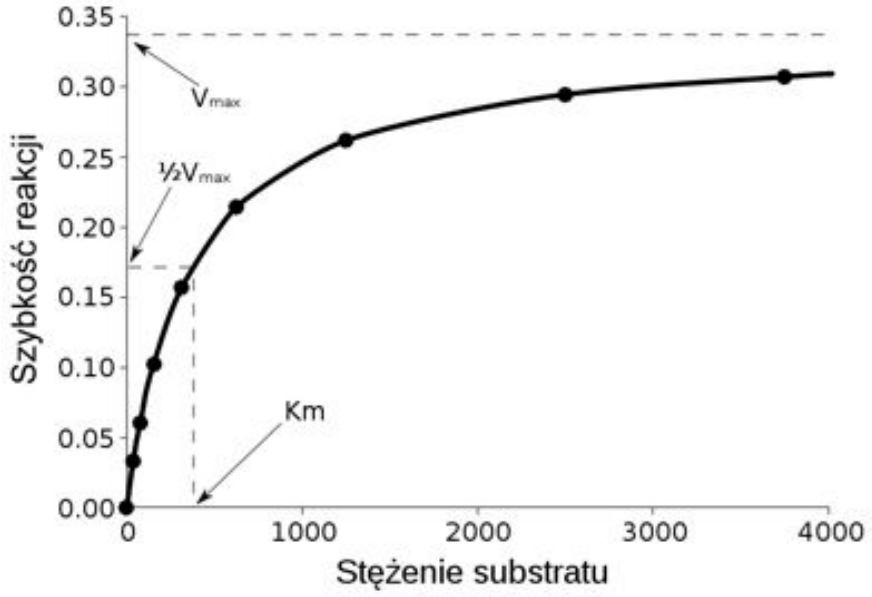
Rys. 8-7. Enzymy przyspieszają reakcje przez obniżenie $\Delta G^{\ddagger}$, swobodnej energii aktywacji. Porównanie profili swobodnej energii reakcji niekatalizowanej — A i katalizowanej — B

1. ***Enzymy przyspieszają reakcje przez obniżenie bariery aktywacji,*** $\Delta G^{\ddagger}$. Połączenie substratu z enzymem stwarza nową drogę reakcji, w której energia stanu przejściowego jest niższa, aniżeli w reakcji zachodzącej przy braku enzymu.
2. *Istotą katalizy jest* ***specyficzne wiązanie stanu przejściowego****.*
3. *Co więcej* enzym nie przesuwa **stanu równowagi**, tylko **przyspiesza jego osiągnięcie**.

Zmiany energii w czasie reakcji. By przeprowadzić substraty (S) w stan przejściowy (S^*) potrzeba dużej energii do pokonania progu aktywacji. Składniki reakcji w stanie przejściowym są konwertowane następnie w produkty końcowe (P). Enzym obniża energię aktywacji reakcji poprzez utworzenie alternatywnej ścieżki reakcji ze stanem pośrednim (ES^*) o mniejszej energii oraz stabilizują go poprzez jego specyficzne wiązanie. Zmniejszenie energii aktywacji zwiększa szybkość reakcji.

Pierwszym etapem katalizy enzymatycznej jest utworzenie kompleksu enzym-substrat

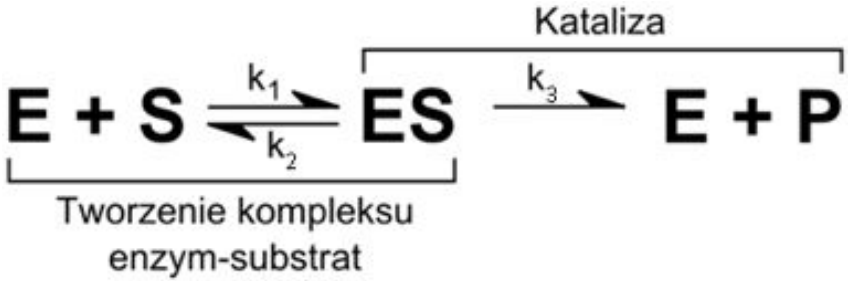
1. Substrat ulega silnie selektywnemu związaniu w korzystnej orientacji przestrzennej w **kompleksach *enzym-substrat (ES)*** w specyficznym regionie enzymu, który nazywa się *miejscem aktywnym.*
2. Katalityczna specyficzność enzymów zależy głównie od **specyficzności procesu wiązania substratu**. V ten sposób może przebiegać również kontrola aktywności enzymatycznej.
3. Przy stałym stężeniu enzymu szybkość reakcji zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia substratu aż do osiągnięcia maksymalnej szybkości reakcji.
4. W roku 1913 Leonor Michaelis podał interpretację ***maksymalnej szybkości reakcji katalizowanej enzymatycznie,*** zakładając istnienie kompleksu ES. Przy odpowiednio dużych stężeniach substratu wszystkie miejsca katalityczne zostają obsadzone i dlatego szybkość reakcji osiąga swoje maksimum.



Krzywa wysycenia dla reakcji enzymatycznej ukazująca zależność szybkości reakcji (*V*) od stężenia substratu ([S])

Model Michaelisa-Menten opisuje właściwości kinetyczne wielu enzymów

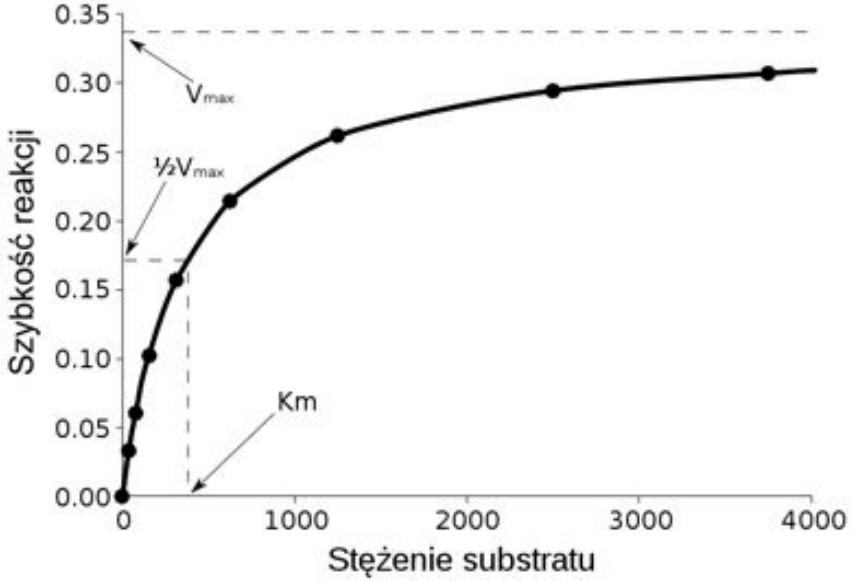
1. Dla wielu enzymów szybkość katalizy *V* zmienia się ze stężeniem substratu [S]. *V* jest definiowane jako liczba moli produktu utworzonego w czasie 1 sekundy.
2. Przy stałym stężeniu enzymu, V prawie liniowo zależy od [S], kiedy [S] jest małe. Przy dużych [S], V jest prawie niezależne od [S],
3. W 1913 roku Leonor Michaelis i Maud Menten zaproponowali prosty model, odpowiadający takiej charakterystyce kinetycznej. Podstawową cechą tego modelu jest założenie, że **kompleks ES jest koniecznym etapem pośrednim procesu katalitycznego**. Najprostszy model, który odpowiada właściwościom kinetycznym wielu enzymów, wygląda następująco



Mechanizm katalizowanej reakcji z udziałem jednego substratu. **E** – enzym, **S** – substrat, **P** – produkt, $\mathbf{k_1}$ i $\mathbf{k_3}$ – stałe szybkości reakcji przebiegających w prawą stronę, $\mathbf{k_2}$ – stała szybkości reakcji zachodzącej w lewą stronę.

Enzym E łączy się z substratem S tworząc **kompleks ES**; reakcję charakteryzuje stała szybkości k_1. Istnieją dwie możliwe drogi rozpadu kompleksu ES. Może on dysocjować do E i S ze stałą szybkości k_2 lub może się przekształcać, tworząc produkt P ze stałą szybkości k_2. Zakłada się, że produkt reakcji nie może ulec powrotnemu przekształceniu w wyjściowy substrat, warunek, który jest spełniany w początkowym etapie reakcji, zanim stężenie produktu stanie się znaczące.

Równanie Michaelisa-Mentena



$$V = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Równaniem Michaelisa-Menten:
gdzie: V – szybkość początkowa,
S – stężenie substratu,
K_m – stała Michaelisa-Menten.

1. Przy niewielkich stężeniach substratu, kiedy [S] jest znacznie mniejsze niż K_M, V= [S] V_{max}/ K_M ; oznacza to, że szybkość reakcji jest wprost proporcjonalna do stężenia substratu.
2. Przy dużych stężeniach substratu, kiedy [S] jest dużo większe od K_M, V = V_{max}, co oznacza, że szybkość jest maksymalna i niezależna od stężenia substratu.
3. Znaczenie K_M wynika z równania przedstawionego wyżej. Kiedy [S] = K_M, wtedy V = V_{max}/ 2. Stąd K_m *jest równe takiemu stężeniu substratu, dla którego szybkość reakcji osiąga połowę swojej wartości maksymalnej.*
4. *Inaczej mówiąc K_M jest to* takie stężenie substratu, w którym połowa miejsc aktywnych jest obsadzona.
5. **Liczba obrotów enzymu** oznacza **liczbę cząsteczek substratu przekształconych w produkt reakcji na jednostkę czasu**, w warunkach **pełnego wysycenia enzymu substratem**.

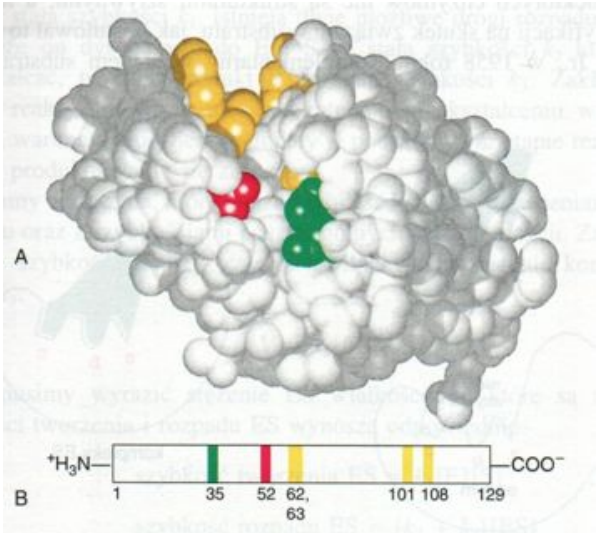
Miejsca aktywne enzymów mają pewne cechy wspólne

Miejsce aktywne enzymu to obszar, który wiąże **substraty** (i grupę prostetyczną - jeżeli taka występuje) oraz dostarcza **reszt aminokwasowych**, biorących bezpośredni udział w tworzeniu i zrywaniu wiązań.

Te reszty nazywa się *grupami katalitycznymi* enzymu.

Uogólnienia dotyczące miejsc aktywnych:

- *Miejsce aktywne zajmuje **stosunkowo małą część całkowitej objętości cząsteczki enzymu.*** Większość reszt aminokwasów enzymu nie nawiązuje kontaktu z cząsteczką substratu
- Miejsce aktywne jest **układem przestrzennym** złożonym z grup chemicznych leżących w różnych pozycjach liniowej sekwencji aminokwasów
- W *połączeniach substratów z enzymami biorą udział stosunkowo słabe siły wiązania (**wiązania wodorowe**).*

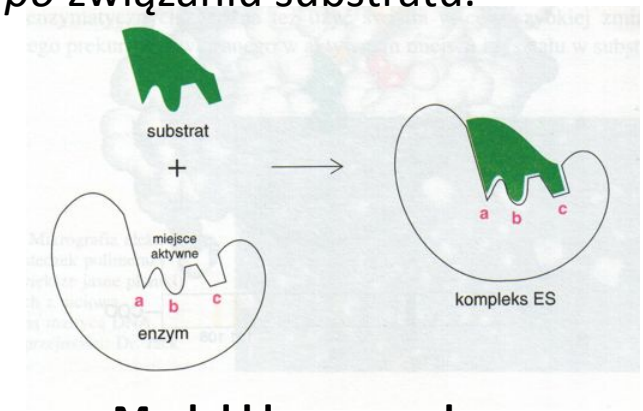


A — przestrzenny model lizozymu. Dwie katalitycznie krytyczne reszty przedstawiono kolorem czerwonym i zielonym. Kilka innych reszt w miejscu aktywnym zaznaczono kolorem żółtym.

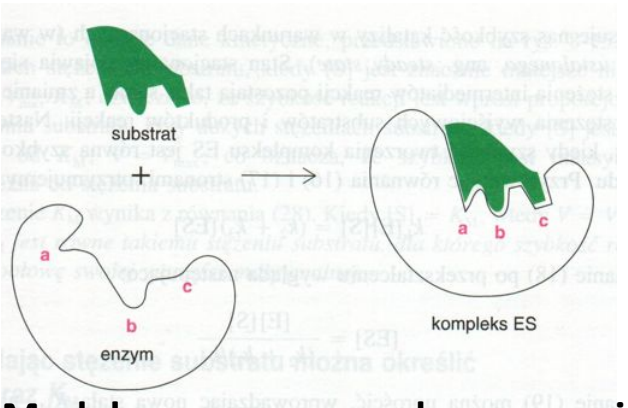
B — uproszczony diagram lizozymu pokazujący, że miejsce aktywne utworzone jest przez reszty, które pochodzą z różnych segmentów łańcucha polipeptydowego.

Miejsca aktywne enzymów mają pewne cechy wspólne

1. ***Miejsca aktywne są zagłębieniami lub szczelinami,*** niedostępnych zazwyczaj dla cząsteczek wody, jeśli nie bierze ona udziału w reakcji. Jednakże szczelina może zawierać również reszty polarne (wyjątek spośród innych biologicznie aktywnych układów), które w generalnie hydrofobowym mikrośrodowisku szczeliny uzyskuje specjalne właściwości niezbędne dla katalizy.
2. ***Specyficzność wiązania zalety od precyzyjnie określonego ułożenia atomów w miejscu aktywnym.*** Substrat musi mieć odpowiedni kształt, by mógł pasować do miejsca aktywnego. Porównanie przez Emila Fischera z 1890 roku układu enzym-substrat do klucza i zamka okazało się w pełni prawidłowe i owocne przy interpretacji stereospecyficzności katalizy enzymatycznej.
3. Proces dynamicznego rozpoznania **nazwano *wymuszonym dopasowaniem***. Miejsca aktywne niektórych enzymów nie są strukturami sztywnymi, a ich kształt ulega modyfikacji na skutek związania substratu (Daniel E. Koshland, Jr., w 1958 roku) Komplementarny względem substratu kształtmiejsca aktywnego pojawia się dopiero *po* związaniu substratu.



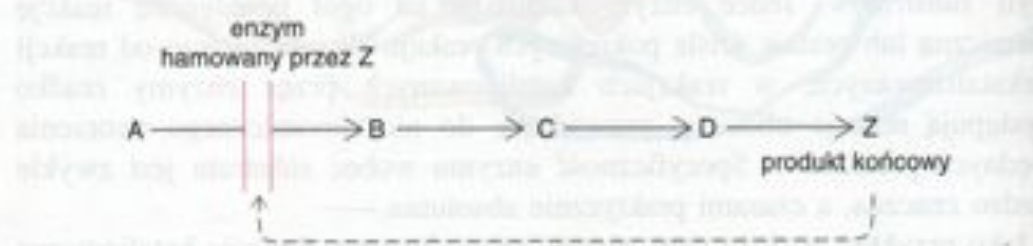
Model klucz-zamek



Model wymuszonego dopasowania

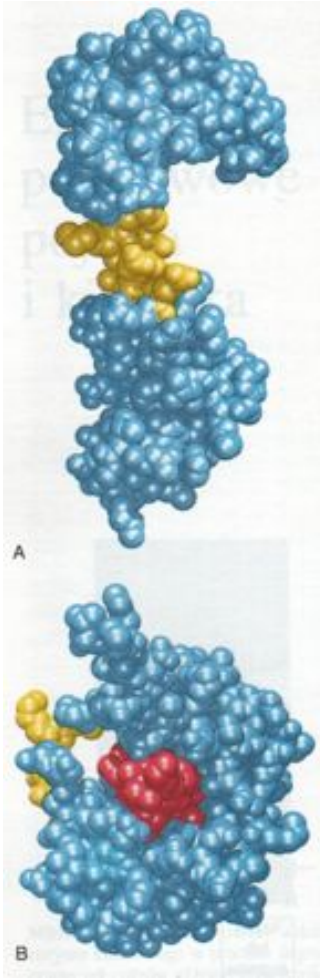
Aktywność wielu enzymów podlega regulacji

- **Regulacja poprzez produkt:** Enzym katalizujący pierwszy etap szlaku biosyntetycznego jest zazwyczaj hamowany produktem końcowym tego szlaku. Przykładem takiego mechanizmu kontroli, nazwanego hamowaniem przez sprzężenie zwrotne, jest **biosynteza izoleucyny u bakterii.**



Rys. 8-2. Sprzężenie zwrotne: inhibicja pierwszego enzymu w szlaku metabolicznym przez odwracalne wiązanie produktu końcowego

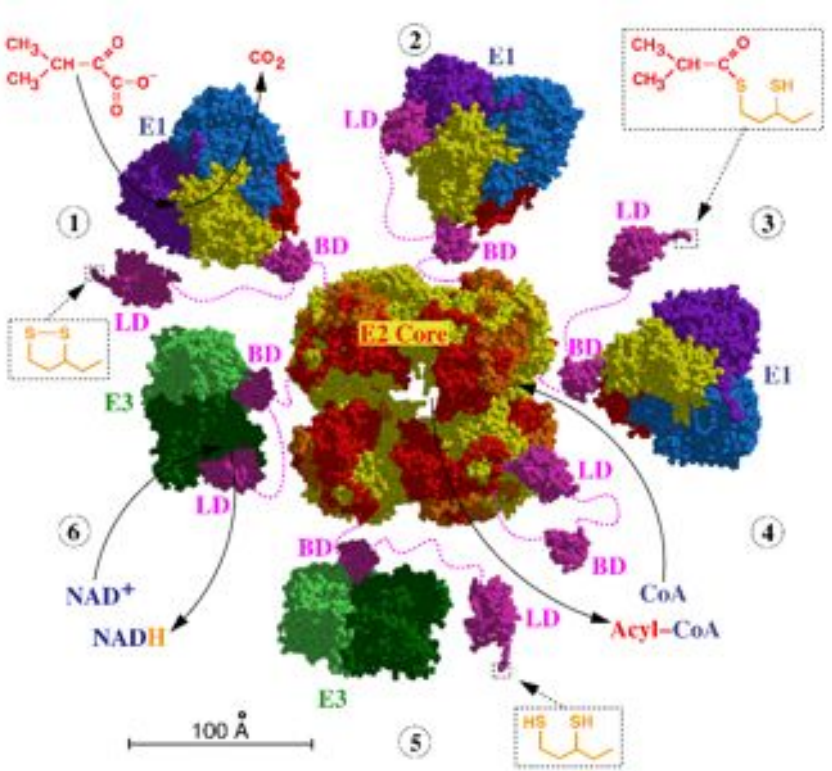
- **Białka regulacyjne:** Enzymy są również kontrolowane przez *białka regulacyjne,* które mogą działać stymulująco lub hamująco.
- **Modyfikacja kowalencyjna.** Wiele enzymów kontrolowanych jest przez *odwracalne dołączenie grup fosforanowych* do specyficznych reszt seryny i treoniny *(fosforylacja).*
- Pewne enzymy syntetyzowane są w postaci **nieaktywnych prekursorów**, które zostają aktywowane w czasie i miejscu fizjologicznie właściwym. Przykładem tego typu kontroli, zwanej ***aktywacją proteolityczną,*** są enzymy trawienne



Kalmodulina, powszechnie występujący czujnik wapnia komórek eukariotycznych, reguluje aktywność wielu białek w komórce. A — model przestrzenny kalmoduliny (kolor niebieski) zawierającej cztery związane jony wapnia. B — kompleks kalmoduliny z wapniem owija się wokół **kinazy** łańcucha lekkiego miozyny (kolor czerwony), białka docelowego i uruchamia jej aktywność enzymatyczną

Perfekcja kinetyczna

1. **Szybkość katalityczna** ograniczona jest wyłącznie szybkością, z jaką **enzymy te spotykają się ze swymi substratami** w roztworze.
2. Dalszy **wzrost szybkości katalitycznej** można uzyskać tylko przez **skrócenie czasu potrzebnego do dyfuzji**.
3. W tym kierunku działa **zorganizowanie enzymów w kompleksy**, w których **produkt wytwarzany przez jeden enzym jest szybko odnajdywany przez enzym następny**. W ten sposób produkty są jakby prowadzone kanałami z jednego enzymu do następnego, tak jak w przemysłowej linii produkcyjnej.
4. Ograniczenie narzucone przez szybkość dyfuzji w roztworze można pokonać przez **ograniczenie swobody substratów i produktów w zamkniętej przestrzeni kompleksu wieloenzymowego**.



Struktura kompleksu enzymatycznego 2-oksy dehydrogenazy kwasów.

Kofaktory, grupy prostetyczne i koenzymy

1. Wiele enzymów potrzebuje dodatkowych składników do uaktywnienia czy osiągnięcia pełnej aktywności. Niebiałkowe, dodatkowe składniki enzymów, nazywane są **kofaktorami**.
2. Enzym bez swojego kofaktora, czyli sam jego białkowy składnik, to **apoenzym**, natomiast wraz z kofaktorem, katalitycznie aktywny enzym nazywany jest holoenzymem (sam termin enzym domyślnie oznacza właśnie jego kompletną, aktywną cząsteczkę, czyli holoenzym).
3. Kofaktory można podzielić na dwie szerokie grupy:

   a) **grupami prostetycznymi** (metaloenzymami);

   b) **koenzymy**

3a. Pierwszą z nich stanowią **grupy prostetyczne**, czyli kofaktory silnie, często kowalencyjnie, związane przez enzym przez cały czas jego istnienia. Zwykle są to cząsteczki nieorganiczne i jony metali (np. centra żelazowo-siarkowe, jony cynku – Zn^{2+}), ale także małe cząsteczki organiczne (np. flawiny i hem).

3b. **Koenzymy** to małe, niebiałkowe cząsteczki organiczne, wiążące się z enzymami tylko na czas reakcji, i przenoszące grupy chemiczne pomiędzy poszczególnymi reakcjami. Koenzymy mogą być traktowane jako kosubstraty, ponieważ są wiązane i uwalniane z enzymów jak substraty i produkty oraz biorą bezpośredni udział w reakcji.

Koenzymy

1. **Koenzymy** są małymi cząsteczkami organicznymi transportującymi grupy chemiczne pomiędzy różnymi reakcjami (substratami).
2. **Koenzymy nikotynamidowe**, NAD+ lub NADP+, uczestniczą w transporcie elektronów i protonów,.
3. Grupy acetylowe przenoszone są przez **koenzym A**.
4. Grupy: formylowe, metylowe lub metylenowe przenoszone są z udziałem **kwasu foliowego**.
5. Grupa metylowa może też być przenoszona przez **S-adenozylometioninę**.
6. Niektóre z koenzymów, takich jak: **ryboflawina, tiamina i kwas foliowy**, są **witaminami**.
7. Ponieważ koenzymy podlegają zmianom chemicznym w wyniku działania enzymów, można je postrzegać jako specjalną klasę substratów (kosubstratów), czy też substratów wtórnych, wspólnych dla wielu różnych enzymów.
8. **Stężenie koenzymów** wewnątrz komórki jest utrzymywane na **stałym poziomie** dzięki ich ciągłej regeneracji na różnych szlakach biochemicznych. np. NADPH jest regenerowany na szlaku pentozofosforanowym.

Nazewnictwo enzymów

Komitet Nazewnictwa (ang. Nomenclature Committee) **Międzynarodowej Unii Biochemii i Biologii Molekularnej** (ang. International Union of Biochemistry and Molecular Biology) w latach 1956-1972 opracował dla enzymów nomenklaturę naukową **– numer EC**.

Każdy enzym jest opisany przez ciąg czterech segmentów cyfr, oddzielonych od siebie kropką, poprzedzonych literami "EC" (Enzyme Commission lub Enzyme Catalogue): EC x.xx.xx.xx.

Pierwsza cyfra dzieli enzymy, według **mechanizmu reakcji przez nie katalizowanych**, na sześć głównych klas:

EC 1 oksydoreduktazy: katalizują reakcje utleniania i redukcji,

EC 2 transferazy: przenoszą grupy funkcyjne,

EC 3 hydrolazy: katalizują hydrolizę różnych wiązań,

EC 4 liazy: rozcinają różne wiązania na drodze innej niż hydroliza czy utlenianie,

EC 5 izomerazy: katalizują zmiany izomeracyjne cząsteczek,

EC 6 ligazy: łączą cząsteczki wiązaniami kowalencyjnymi.

Następne liczby numeru EC oddzielone kropkami klasyfikują dany enzym odpowiednio do **podklasy i podpodklasy**, natomiast ostatnia liczba określa miejsce enzymu w podpodklasie.

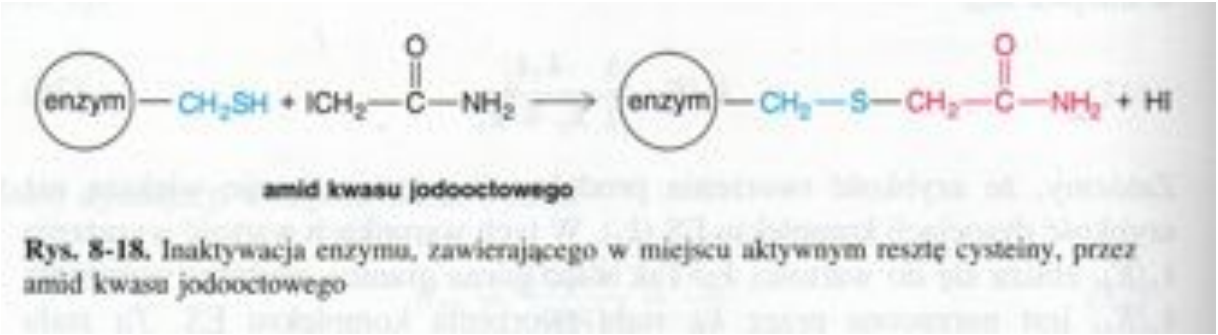
W nazewnictwie enzymów zaleca się stosowanie numeru EC, jednak dopuszcza się stosowanie nazw zwyczajowych z przyrostkiem **-aza**, gdzie pierwszy człon określa reakcję, a drugi jej substrat.

Inhibicja enzymów

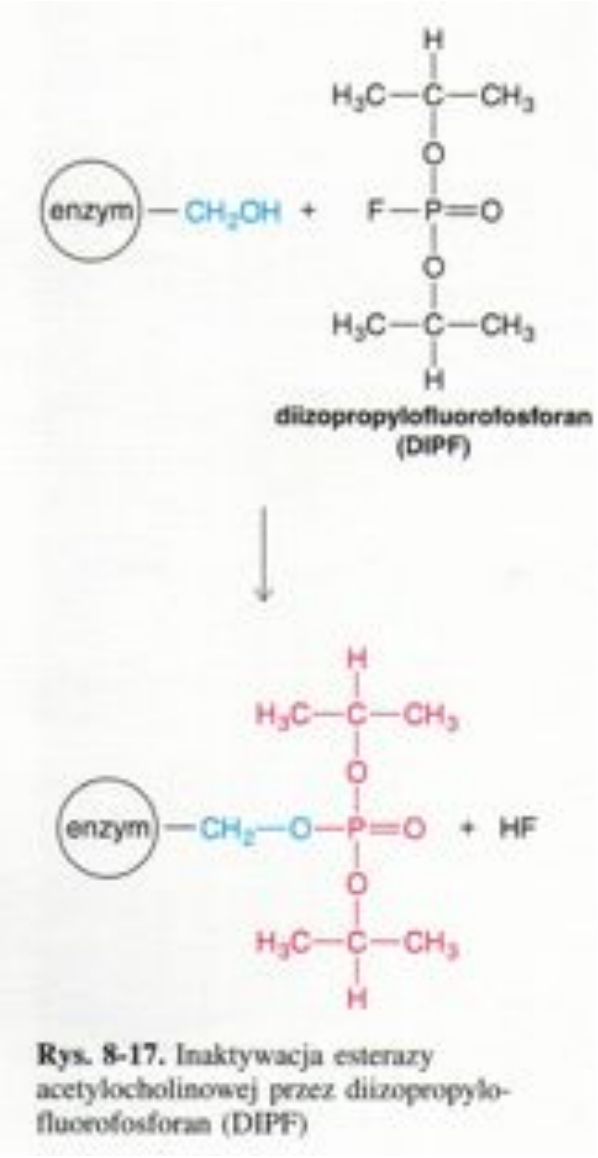
1. Enzymy mogą ulegać **inhibicji przez specyficzne cząsteczki.**
2. Inhibicja enzymu może być procesem **odwracalnym** lub **nieodwracalnym**.
3. W ***inhibicji nieodwracalnej*** inhibitor łączy się kowalencyjnie z enzymem lub wiąże się z nim tak silnie, że jego dysocjacja jest bardzo powolna.
4. Przykłady inhibicji nieodwracalnej:

   A) działanie gazów paraliżujących układ nerwowy polega na **zatruciu acetylocholinoesterazy**, enzymu pełniącego ważną rolę w przekazywaniu impulsów nerwowych,

   B) diizopropylofluorofosforan (DIPF), amid kwasu jodooctowego, nieodwracalnie hamują aktywność katalityczną pewnych enzymów



Rys. 8-18. Inaktywacja enzymu, zawierającego w miejscu aktywnym resztę cysteiny, przez amid kwasu jodooctowego



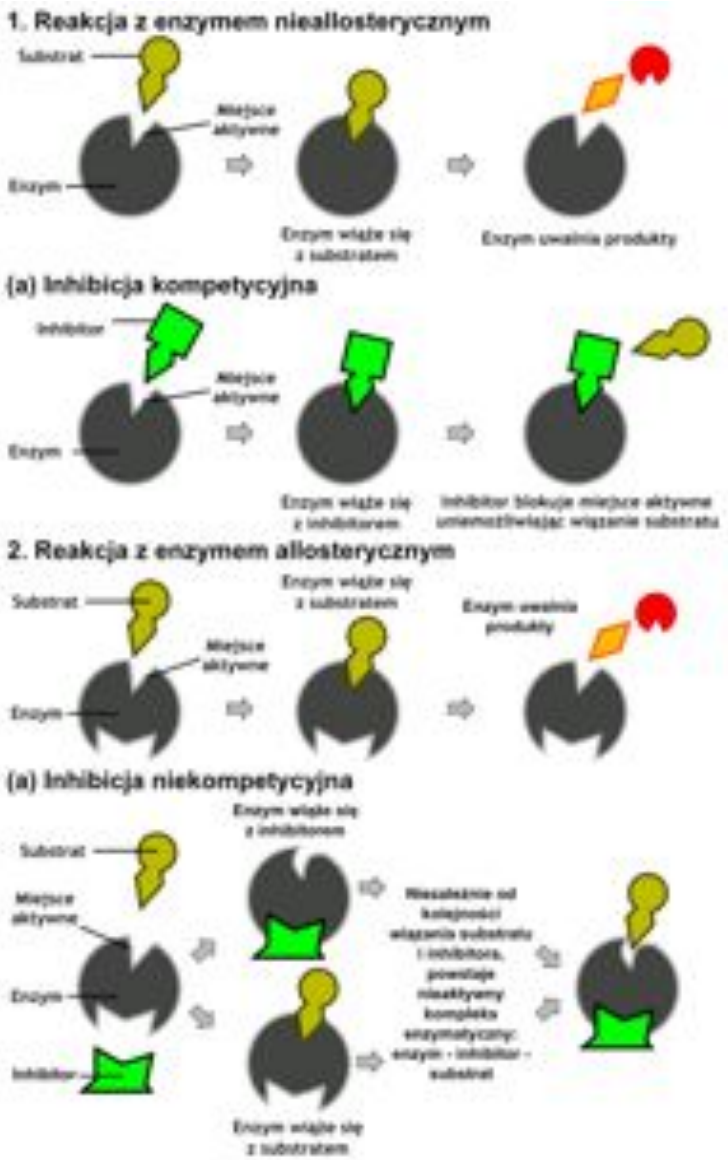
Rys. 8-17. Inaktywacja esterazy acetylocholinowej przez diizopropylofluorofosforan (DIPF)

Inhibicja enzymów

Inhibicja odwracalna charakteryzuje się szybką dysocjacją kompleksu enzym-inhibitor.

1. ***Inhibicja kompetycyjna***, w której enzym może wiązać substrat (tworząc kompleks ES) lub inhibitor (EI), ale nie oba na raz (ESI). Inhibitor kompetycyjny jest podobny do substratu i wiąże się w miejscu aktywnym enzymu, zapobiegając wiązaniu substratu z tym miejscem. *Inhibitor kompetycyjny zmniejsza szybkość katalizy przez zmniejszanie liczby cząsteczek enzymu wiążących substrat.*

2. ***Inhibicja niekompetycyjna (enzym allosteryczny)***, jest także odwracalna, inhibitor i substrat mogą się jednocześnie wiązać z cząsteczką enzymu. Oznacza to, że ich miejsca wiązania nie zachodzą na siebie. Działanie inhibitora niekompetycyjnego polega na zmniejszeniu liczby obrotów enzymu, nie zaś na zmniejszeniu liczby cząsteczek enzymu wiążących substrat. Inhibicji niekompetycyjnej, w odróżnieniu od kompetycyjnej, nie można przezwyciężyć przez zwiększenie stężenia substratu.



Inhibitor kompetycyjny wiąże się odwracalnie z miejscem aktywnym enzymu, zapobiegając wiązaniu substratu. Dzięki rywalizacji substratu i inhibitora o miejsce aktywne, możliwa jest kontrola prędkości zachodzącej reakcji. W inhibicji niekompetycyjnej inhibitor nie konkuruje z substratem o miejsce aktywne lecz wiąże się w innym miejscu, doprowadzając do powstania nieaktywnego kompleksu

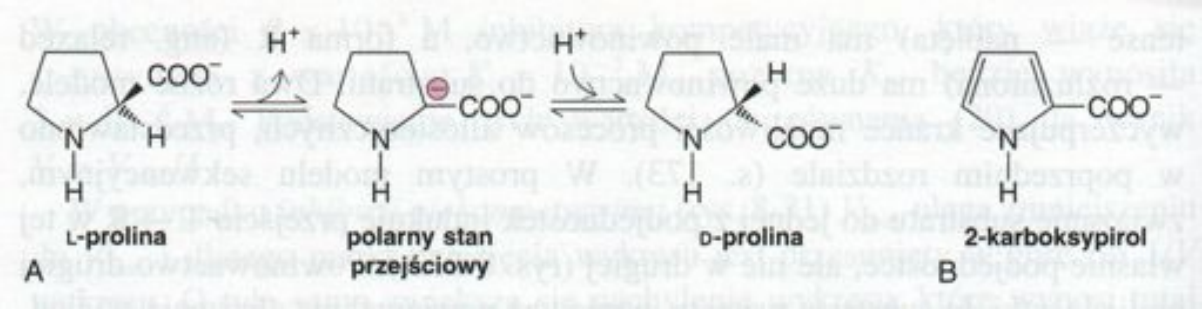
Enzymy allosteryczne działają niezgodnie z kinetyką Michaelisa-Menten

1. *W przypadku enzymów allosterycznych*, wykres zależności szybkości reakcji *V* od stężenia substratu [S] często przybiera **kształt sigmoidalny,** w odróżnieniu od kształtu hiperbolicznego, przewi-dzianego równaniem Michaelisa-Menten.
2. W **enzymach allosterycznych** związanie substratu do jednego miejsca aktywnego może zmienić właściwości drugiego miejsca aktywnego tej samej cząsteczki enzymu.
3. Rezultatem takiego oddziaływania między podjednostkami enzymu jest **kooperatywność wiązania cząsteczek substratu**, która prowadzi do **sigmoidalnego** kształtu wykresu zależności *V* od [S].

Sigmoidalna zależność szybkości reakcji od stężenia substratu, obserwowana dla enzymu allosterycznego

Analogi stanu przejściowego są silnymi inhibitorami enzymów

1. Linus Pauling zaproponował w 1946 roku, że **związek** przypominający **stan przejściowy katalizowanej reakcji** powinien być efektywnym **inhibitorem enzymu**.
2. Takie związki naśladujące określono później jako ***analogi stanu przejściowego.*** Pouczającym przykładem jest hamowanie **racemazy prolinowej**. *Racemizacja proliny zachodzi poprzez stan przejściowy, w którym* ***tetraedralny atom węgla α przez utratę protonu stał się trygonalny***. W formie trygonalnej wszystkie trzy wiązania leżą w tej samej płaszczyźnie; Cα niesie również ujemny ładunek netto. Ten symetryczny karboanion może zostać ponownie uprotonowany po jednej stronie, dając L izomer, lub po obu stronach, dając D izomer.
3. Poparciem dla tej koncepcji jest stwierdzenie, że 2-karboksypirol wiąże się z racemazą 160 razy silniej niż prolina. *Atom węgla α tego inhibitora jest trygonalny, tak jak atom węgla α stanu przejściowego.* Należy się spodziewać, że analog, który miałby również ujemny ładunek na Cα, wiązałby się jeszcze silniej. Ogólnie, drogą syntezy związków, które przypominają bardziej stan przejściowy niż sam substrat, można otrzymać silne i specyficzne inhibitory enzymów.

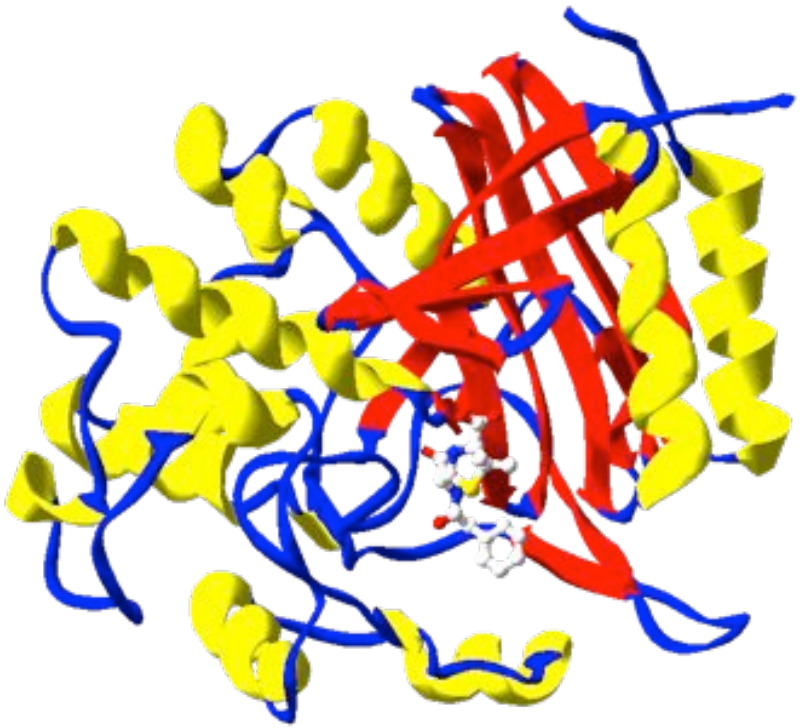


A — izomeryzacja L-proliny do r>-proliny prowadzona przez racemazę proliny, enzym bakteryjny, przechodzi przez etap planarnego stanu przejściowego, w którym węgiel *a* jest trygonalny, a nie tetragonalny. B — 2-karboksypirol jest analogiem stanu przejściowego, ponieważ ma geometrię planarną

Analogi stanu przejściowego

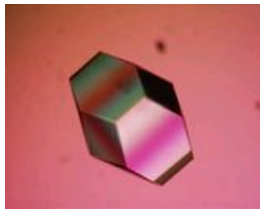
Znaczenie analogów stanu przejściowego :

1) pozwalają one na wgląd w mechanizmy katalityczne,
2) mogą służyć jako silne i specyficzne inhibitory enzymów,
3) mogą być użyte jako immunogeny do wytwarzania wielu nowych katalizatorów



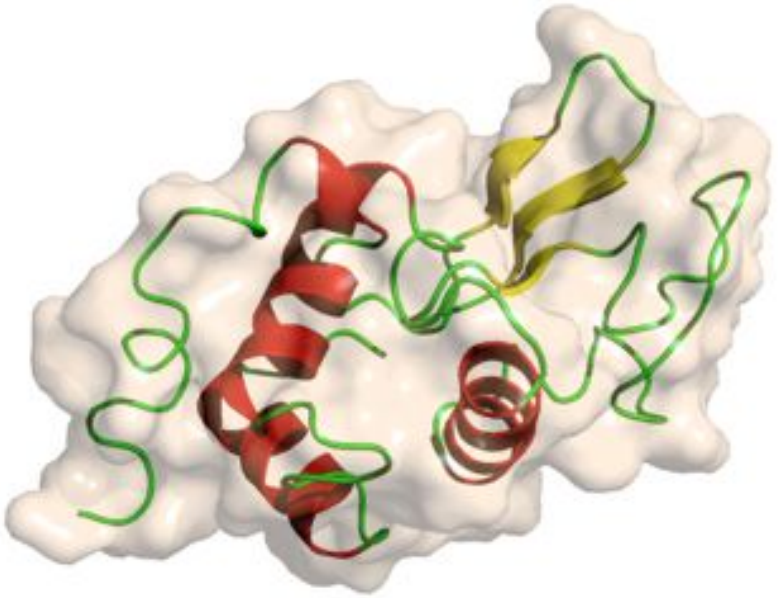
Działanie penicyliny:

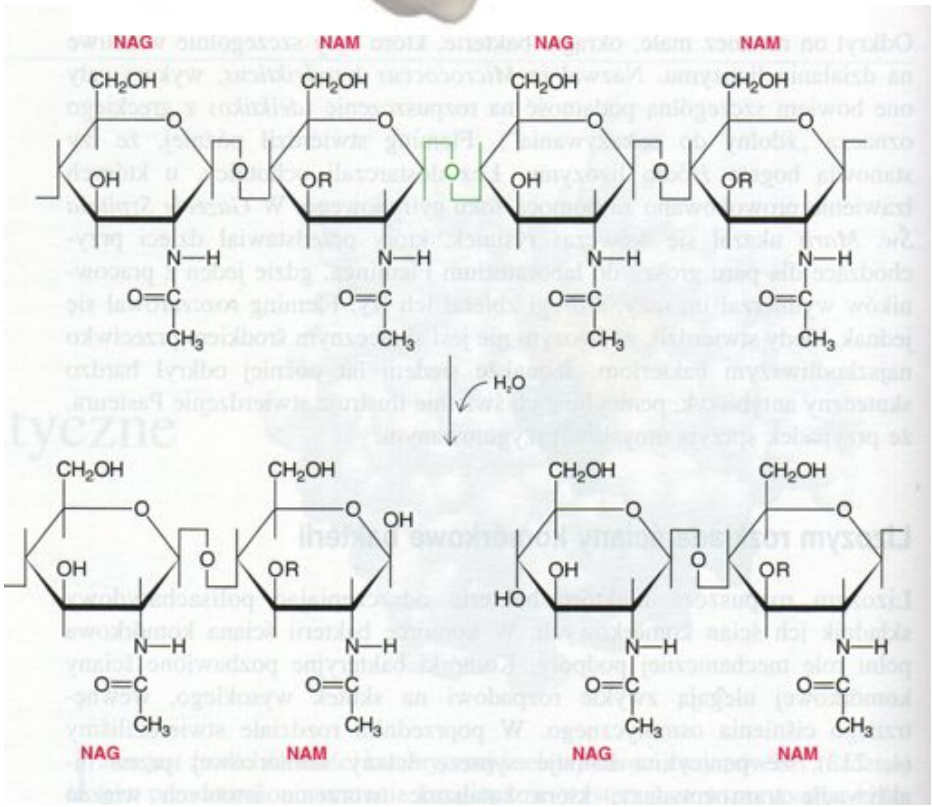
Transpeptydaza wraz z przyłączoną penicyliną. *Penicylina jest analogiem stanu przejściowego transpeptydazy, która powoduje inaktywację enzymy, w rezultacie zahamowanie syntezy ściany komórkowej bakterii.*



Lizozym

1. **Lizozym** odkrył Aleksander Fleming w 1922 roku.
2. Rozpuszcza on niektóre **bakterie odszczepiając polisacharydowy** składnik ich ścian komórkowych.
3. Polisacharyd ściany komórkowej składa się z dwóch rodzajów cukrów: N-*acetyloglukozoaminy (NAG*) i *kwasu* N - *acetylomuraminowe go (NAM), które są połączone wiązaniami* ***β-glikozydowymi.***
4. *Lizozym (glikozydaza) hydrolizuje wiązanie glikozydowe między węglem C-l NAM i C-4 NAG*

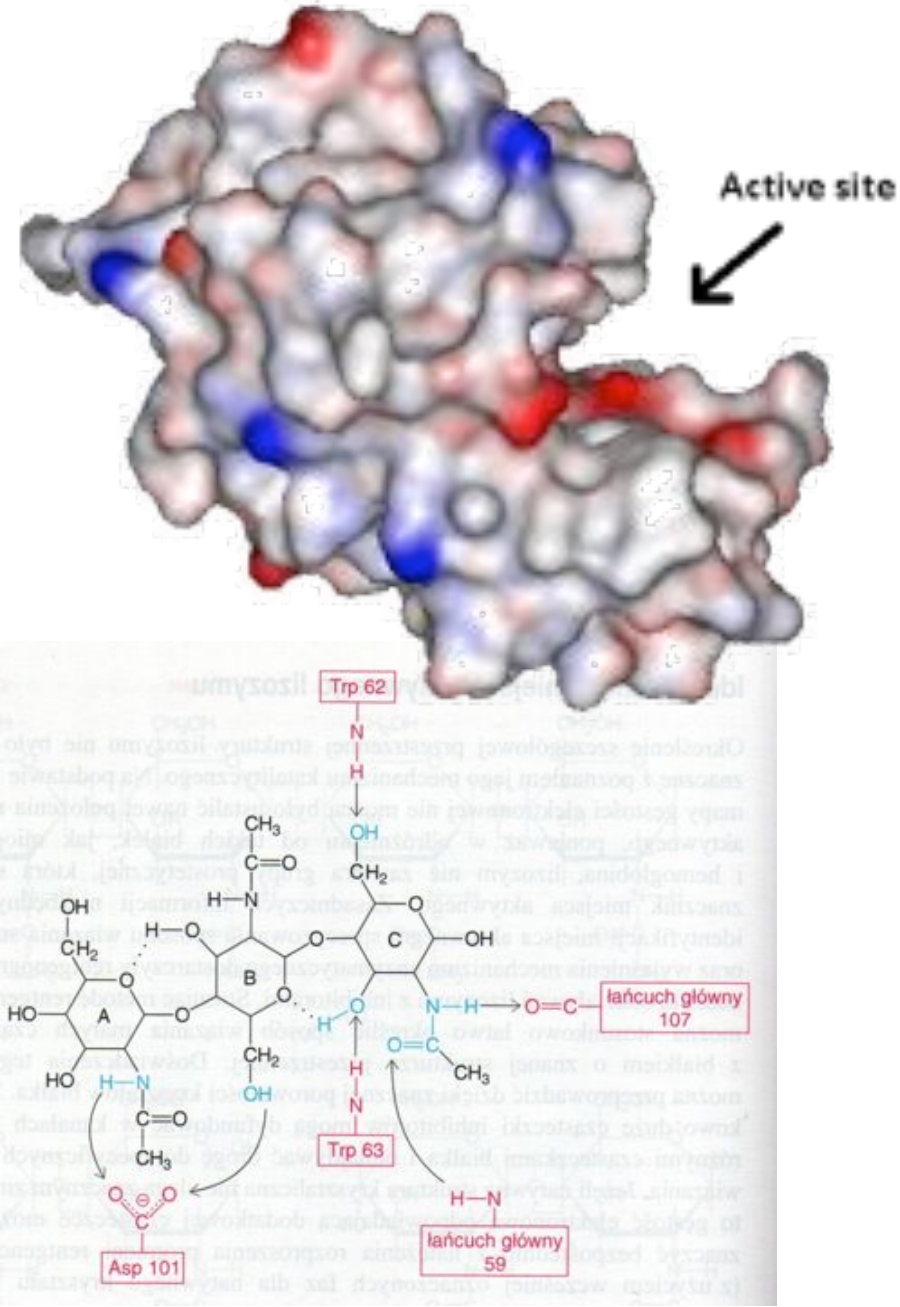




Lizozym hydrolizuje wiązania glikozydowe (kolor zielony) między NAM i NAG (R oznacza resztę kwasu mlekowego należącą do NAM)

Lizozym

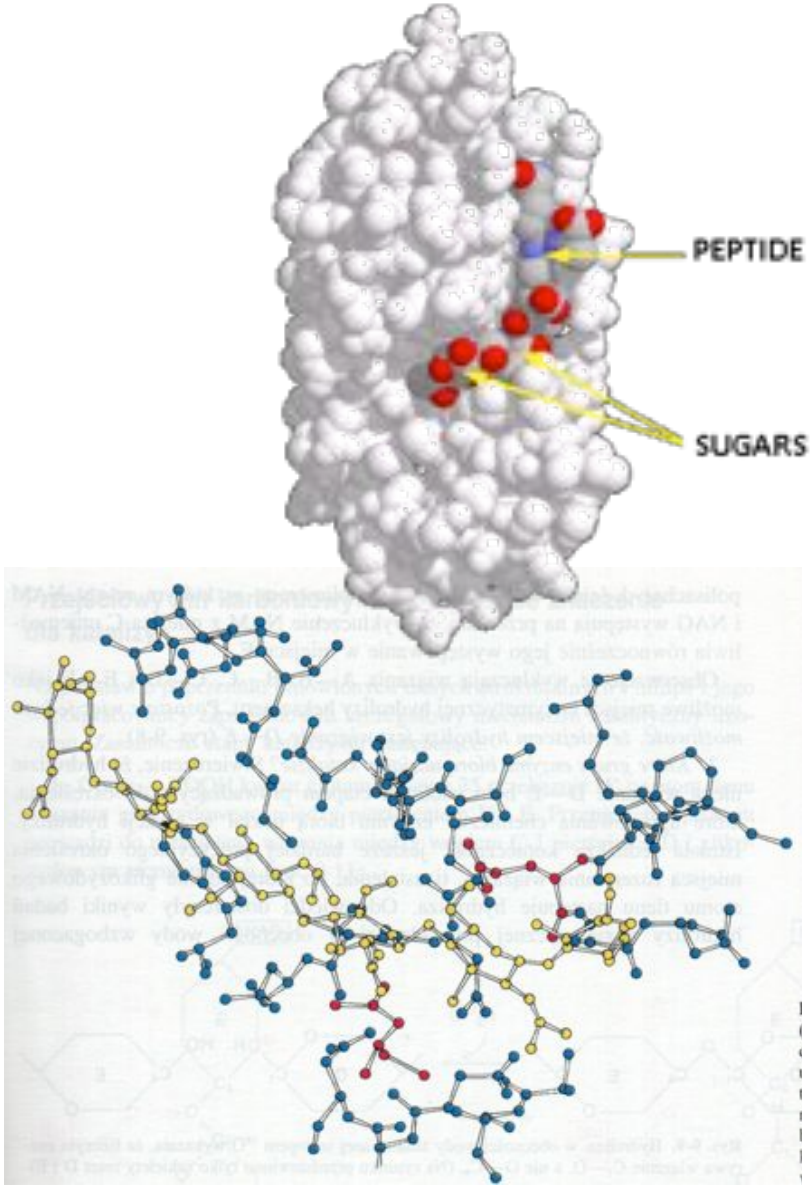
1. Lizozym jest stosunkowo **małym enzymem** (14,6 kDa).
2. Wyizolowany z **białka kurzego**, które stanowi bogate źródło lizozymu, jest **pojedynczym łańcuchem polipeptydowym**, zbudowanym ze **129 aminokwasów**.
3. W cząsteczce tego wysoce stabilnego białka występują **cztery wiązania poprzeczne w postaci mostków dwusiarczkowych** oraz posiada bardzo złożony **sposób pofłdowania**.
4. **Wnętrze lizozymu**, tak jak w przypadku mioglobiny i hemoglobiny, jest **niemal całkowicie niepolame**. Podobnie jak u większości białek, **oddziaływania hydrofobowe odgrywają ważną rolę w procesie fałdowania lizozymu**.



Wiązania wodorowe między tri-NAG i lizozy- mem. Uczestniczące w wiązaniach wodorowych grupy należące do tri-NAG — kolor niebieski, a do lizozymu - czerwony. Wiązania wodorowe zaznaczono strzałkami

Miejsce aktywne lizozymu

1. Wiele zasadniczych informacji na temat miejsca aktywnego można otrzymać z **badań struktury kompleksu enzymu z inhibitorem kompetycyjnym.**
2. **Szybkość hydrolizy oligomerów N-acetyloglukozoaminy** wzrasta gwałtownie **przy wzroście ilości reszt z czterech do pięciu**, tj. przy przejściu z NAG_4 do NAG_5 i dalej od NAG_5 do NAG_6, natomiast nie ulega zmianie przy dalszym wzroście ilości reszt do ośmiu.
3. Pozostaje to w zgodzie z wynikami badań rentgenograficznych, które wykazały, że w **bruździe miejsca aktywnego może zmieścić się tylko sześć reszt cukru**.
4. Dodatkowo przy wykorzystaniu znacznika izotopowego w postaci izotopu ^{18}O pozwoliło ustalić, w którym miejsc zostaje **rozerwane wiązanie glikozydow**e występujące w substracie złożonym **z sześciu reszt cukrowych** (między 4 i 5 resztą heksanu).



Sposób wiązania heksa-NAG (kolor żółty) z lizozymem. Położenie grup cukrowych A, B i C (lewa część rysunku) ustalono na podstawie obserwacji kompleksu tri-NAG-lizozym, natomiast usytuowanie reszt D. E i F wywnioskowano na podstawie badań modelowych. Dwie reszty oznaczone kolorem czerwonym biorą bezpośredni udział w katalizie

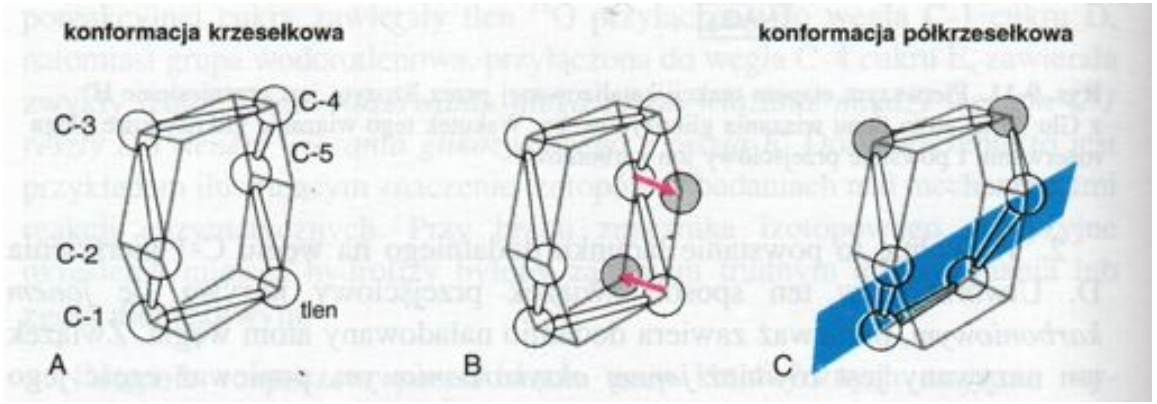
Podstawowymi elementami przedstawionego schematu katalizy

Ogólna kataliza kwasowa. Proton zostaje przeniesiony z niezjonizowanego kwasu glutaminowego 35, który zajmuje optymalne położenie w odległości 3 A od glikozydowego atomu tlenu. Określenie *„ogólna kwasowa”* wskazuje, że źródłem przenoszonego protonu jest grupa donorowa, a nie wolne protony.

Czynniki sprzyjające powstaniu przejściowego jonu karboniowego. Reakcję enzymatyczną w dużym stopniu ułatwiają dwa czynniki, od-powiedzialne za stabilizację przejściowego jonu karboniowego:

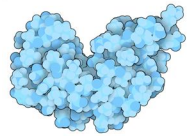
a) czynnik *elektrostatyczny* — obecność ujemnie naładowanej grupy w odległości 3 A od przejściowego jonu karboniowego. Kwas asparaginowy, który zawiera ujemnie naładowaną grupę karboksylową, stabilizuje elektro-statycznie ładunek dodatni węgla C-l w pierścieniu D,

b) czynnik *geometryczny* — zmieniona konformacja pierścienia D. Heksa-NAG pasuje do miejsca aktywnego w bruździe tylko wtedy, gdy reszta cukru D zamiast zwykłej konformacji „krzesełkowej” przyjmie konformację „półkrzesełkową”. To przekształcenie konformacji ma decydujące znaczenie dla katalizy, ponieważ układ przestrzenny konfor-macji półkrzesełkowej w znacznym stopniu przyczynia się do powstania jonu karboniowego. Układ przestrzenny atomów węgla 1, 2 i 5 oraz atomu tlenu należącego do pierścienia w konformacji półkrzesełkowej umożliwia dzięki rezonansowi rozłożenie dodatniego ładunku między atomem węgla C-l i znajdującym się w pierścieniu atomem tlenu.

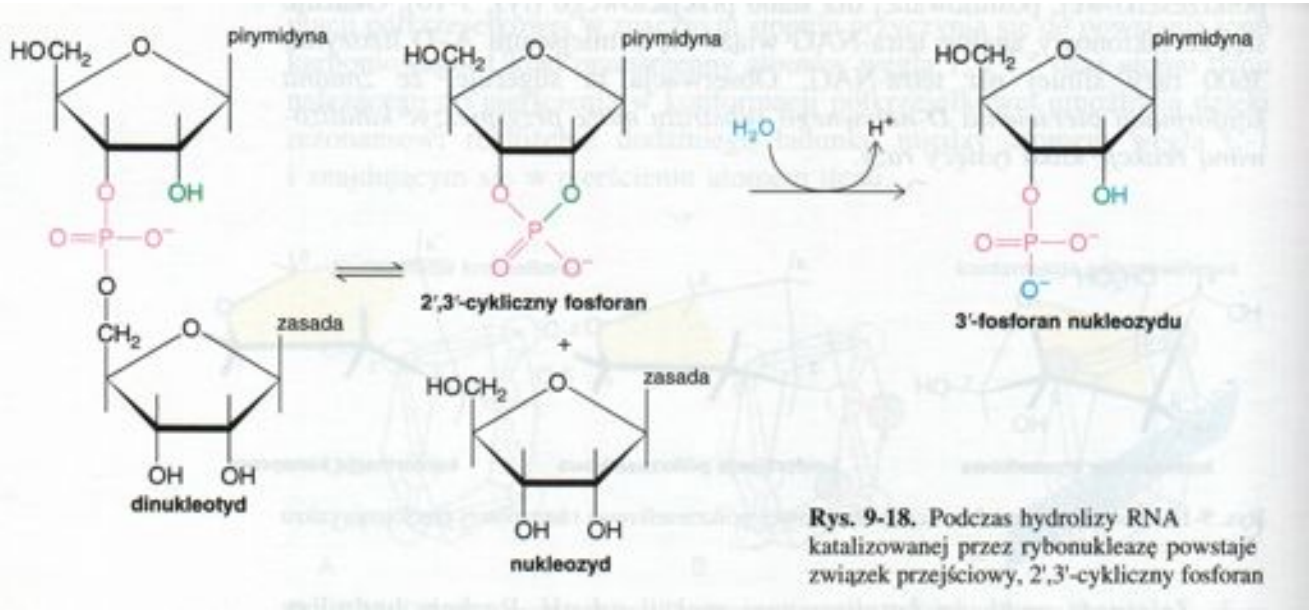


Odkształcenie pierścienia D substratu lizozymu do formy półkrzesełkowej: A — reszta cukrowa w normalnej formie krzesełkowej. B — podczas wiązania z lizozymem atom tlenu i węgiel C-5 reszty cukrowej D przemieszczają się w ten sposób, że atomy węgla C-1. C-2. C-5 i tlenu znajdują się w jednej płaszczyźnie, zaznaczonej na rysunku C kolorem niebieskim.

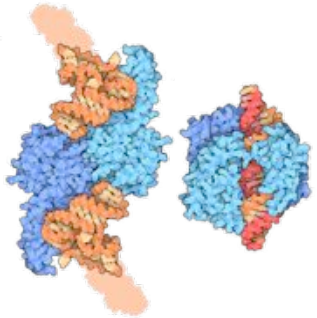
Rybonukleaza



1. **Rybonukleaza** katalizuje **hydrolizę wiązań fosfodiestrowych w łańcuchu RNA**. Miejscem hydrolizy są wiązania między atomem fosforu i atomem tlenu 5'. W wyniku rozerwania tego wiązania na końcu 5' powstaje wolna grupa OH, a na końcu 3' — wolna grupa fosforanowa.
2. Związkiem pośrednim powstającym w procesie hydrolizy, katalizowanym przez rybonukleazę, podobnie jak w przypadku hydrolitycznego działania zasady przy braku enzymu, jest *związek przejściowy,* ***2',3'-cykliczny fosforan,***
3. Tworzenie przejściowego cyklicznego fosforanu jest **reakcją odwracalną**, natomiast jego hydroliza jest całkowicie **nieodwracalna**. Histydyna 12 i 119 sąsiadują ze sobą działają jako donory i akceptory protonów umożliwiając powstanie i hydrolizę cyklicznego związku przejściowego.



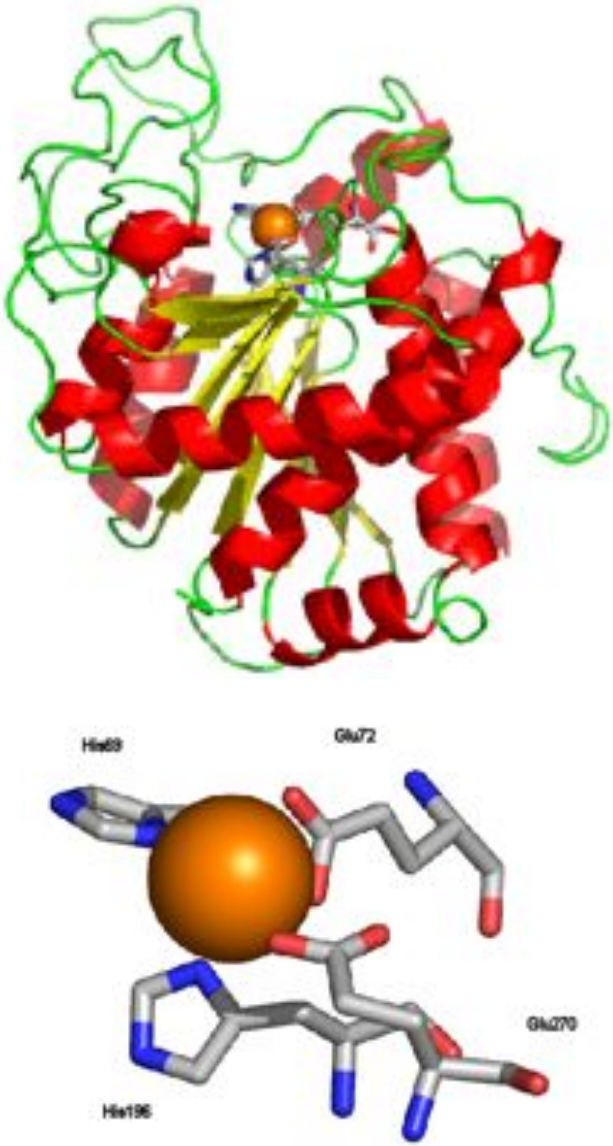
Rys. 9-18. Podczas hydrolizy RNA katalizowanej przez rybonukleazę powstaje związek przejściowy, 2',3'-cykliczny fosforan



Struktura przestrzenna kompleksu rybonukleazy z analogiem substratu. Fosfonowy analog UpC oznaczono kolorem pomarańczowym. Oznaczone kolorami łańcuchy boczne należą do: histydyny 12 (zielony), histydyny 119 (niebieski) i lizyny 41 (różowy).

Karboksypeptydaza A: enzym proteolityczny z jonem Zn

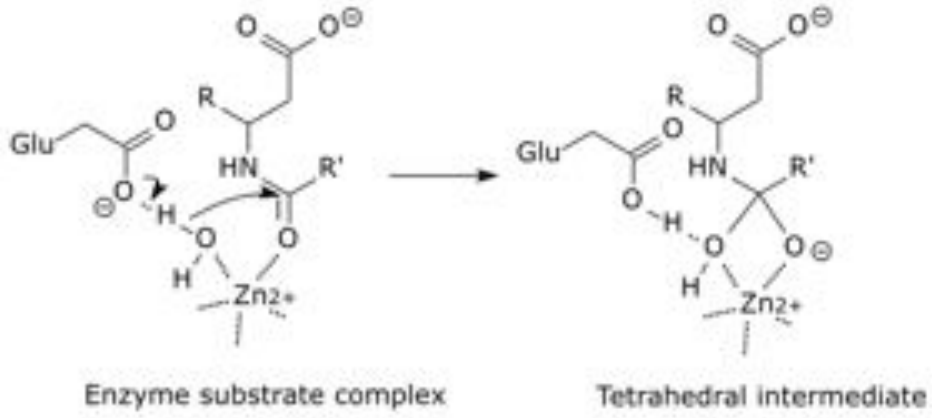
1. **Karboksypeptydaza A** to enzymem trawiennym, który hydrolizuje wiązanie peptydowe sąsiadujące z końcową grupą karboksylową łańcucha polipeptydowego.
2. Reakcja hydrolizy zachodzi najłatwiej, gdy **reszta aminokwasowa przy końcu C jest silnie hydrofobowa** i ma aromatyczny lub rozbudowany alifatyczny łańcuch boczny
3. Enzym ten jest **pojedynczym łańcuchem polipeptydowym** zbudowanym z **307 reszt aminokwasowych.** Cząsteczka karboksypeptydazy A ma zwartą strukturę i kształt zbliżony do elipsy. Udział helisy α w strukturze enzymu wynosi 38%, a struktury β — 17%.
4. Z cząsteczką enzymu **silnie wiąże się jon cynku**, który ma kluczowe znaczenie dla aktywności enzymu. Jon cynku znajduje się w zagłębieniu, blisko powierzchni cząsteczki, gdzie tworzy wiązanie koordynacyjne z dwoma łańcuchami bocznymi histydyny i jednym łańcuchem glutaminianu oraz z cząsteczką wody.

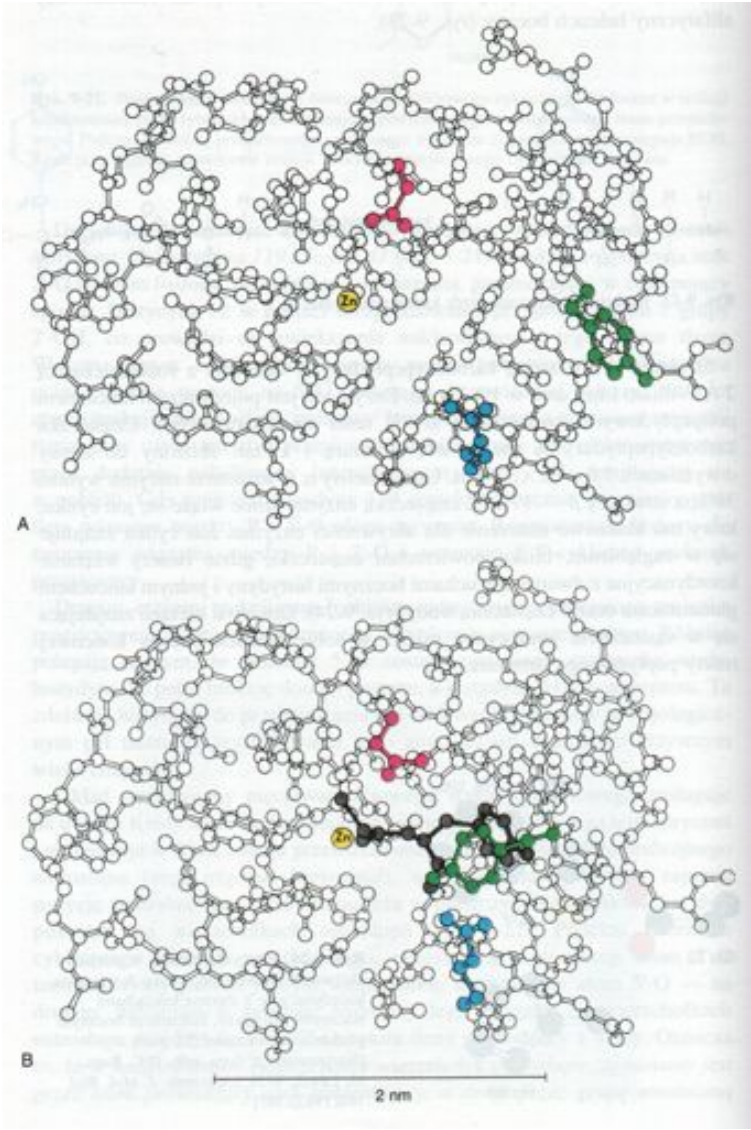


Jon cynku tworzy w miejscu aktywnym karboksypeptydazy A wiązania koordynacyjne z dwoma łańcuchami bocznymi histydyny, łańcuchem bocznym glutaminianu i cząsteczką wody

Dwa aspekty katalitycznego mechanizmu **karboksypeptydazy A** zasługują na szczególną uwagę:

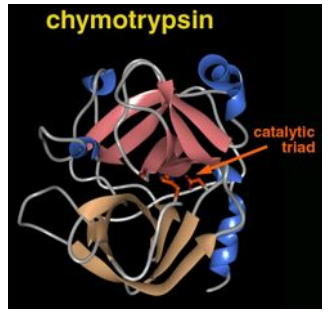
1) ***Indukowane dopasowanie.*** Wiązaniu substratu towarzyszą liczne zmiany w strukturze enzymu.
2) ***Aktywacja wody.*** Jon cynku, znajdujący się w miejscu aktywnym, znacznie zwiększa reaktywność związanej cząsteczki wody.
3) Aktywacja wody możliwa jest dzięki obecności związanego jonu cynku, współdziałającego z sąsiadującą grupą karboksylową glutaminianu 270. W istocie, ***połączenie H_20 z jonem cynku powoduje, ze nabiera ona właściwości grupy OH^-***





Wiązanie substratu wywołuje zmiany struktury karboksypeptydazy A.
A — enzym bez substratu (Arg 145 — kolor niebieski, Glu 270 — czerwony, Tyr 248 — zielony, a Zn^{2+} — żółty). B — kompleks enzymu z substratem (substrat, glicylo- tyrozyna — kolor szary).

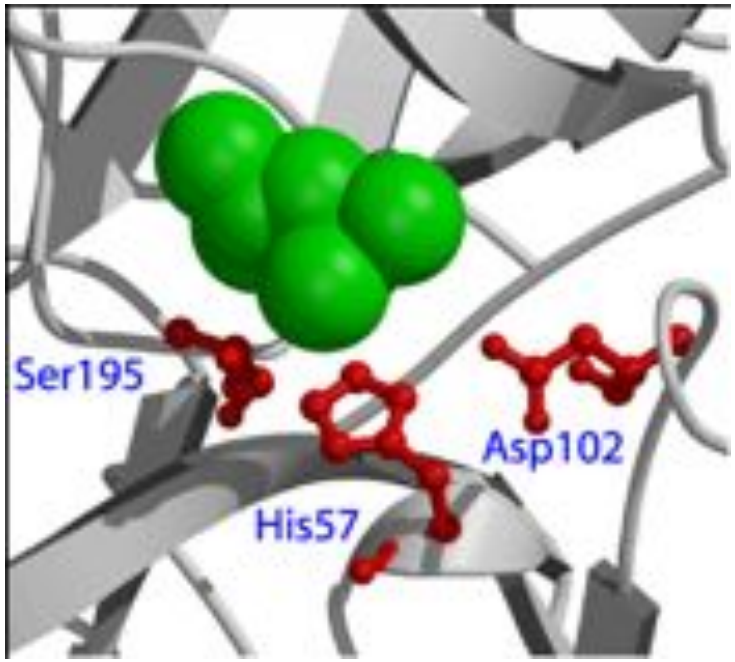
Chymotrypsyna - proteaza serynowa



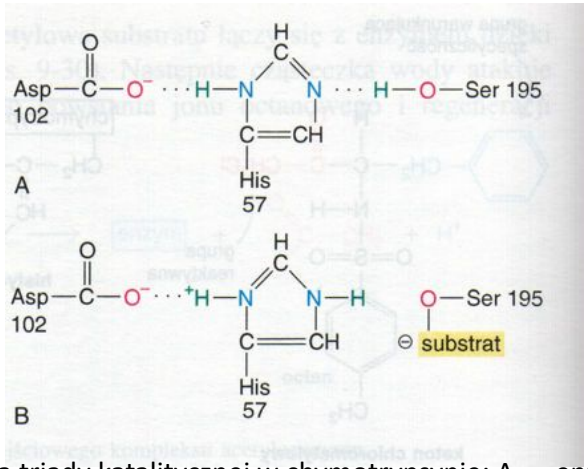
1. Biologiczna funkcja **chymotrypsyny** polega na prowadzeniu **hydrolizy białek** w jelicie cienkim.
2. Chymotrypsyna zalicza się do grupy **proteaz serynowych**.
3. Enzym ten działa wybiórczo na wiązania peptydowe po *karboksylowej stronie aromatycznych łańcuchów bocznych* **tyrozyny, tryptofanu i fenyloalaniny** oraz dużych *reszt hydrofobowych, takich jak metionina..*
4. Chymotrypsyna składa się z **trzech łańcuchów polipeptydowych** połączonych dwoma międzyłańcuchowymi wiązaniami dwusiarczkowymi. Masa cząsteczkowa tego enzymu wynosi **25 kDa**.
5. Chymotrypsyna syntetyzowana jest w formie pojedynczego łańcucha polipeptydowego, który stanowi nieaktywny prekursor nazywany ***chymotrypsynogenem***.
6. Wszystkie naładowane grupy, z wyjątkiem trzech, które pełnią decydującą rolę w katalizie, znajdują się na powierzchni cząsteczki enzymu.

Chymotrypsyna - aktywność

1. Aktywność katalityczna **chymotrypsyny** zależy od niezwykłych właściwości **seryny 195.**
2. W **warunkach fizjologicznych grupa —CH_2OH** jest na ogół **niereaktywna**. Z seryną 195 sąsiaduje histydyna 57. Tuż obok histydyny 57 znajduje się, leżąca wewnątrz cząsteczki białka, grupa karboksylowa asparaginianu. Te **trzy reszty aminokwasowe** tworzą ***katalityczną triadę.***
3. W **nieobecności substratu**, **histydyna 57** występuje w **postaci nieuprotonowanej**. Jednakże przyłącza ona proton pochodzący z grupy OH seryny 195, gdy atom tlenu tej grupy prowadzi atak nukleofilowy na cząsteczkę substratu.
4. Rola grupy **COO^- asparaginianu 102** polega na **stabilizowaniu** powstającej w stanie przejściowym **dodatnio naładowanej formy histydyny 57**. Ponadto asparaginian 102 zapewnia odpowiednią **orientację i formę tautomeryczną cząsteczki histydyny 57**, dzięki czemu może ona przyłączyć proton pochodzący z seryny 195. **Głęboka szczelina** odpowiedzialna jest za **specyficzność chymotrypsyny** wobec aromatycznych i innych **rozbudowanych, hydrofobowych łańcuchów bocznych.**



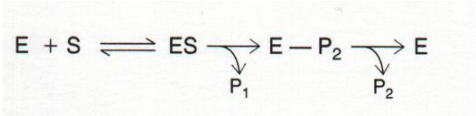
Konformacja triady katalitycznej seryna-histydyna-asparaginian w cząsteczce chymotrypsyny.

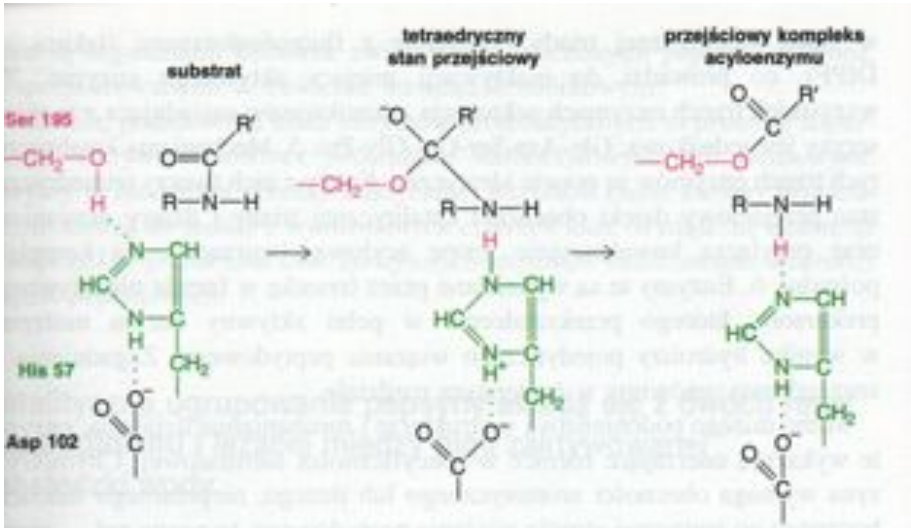


Rola triady katalitycznej w chymotrypsynie: A — enzym bez substratu. B — po podaniu substratu dochodzi do przeniesienia protonu z seryny 195 na histydynę 57. Dodatnio naładowany pierścień imidazolowy jest stabilizowany dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym z ujemnie naładowanym asparaginiancm 102

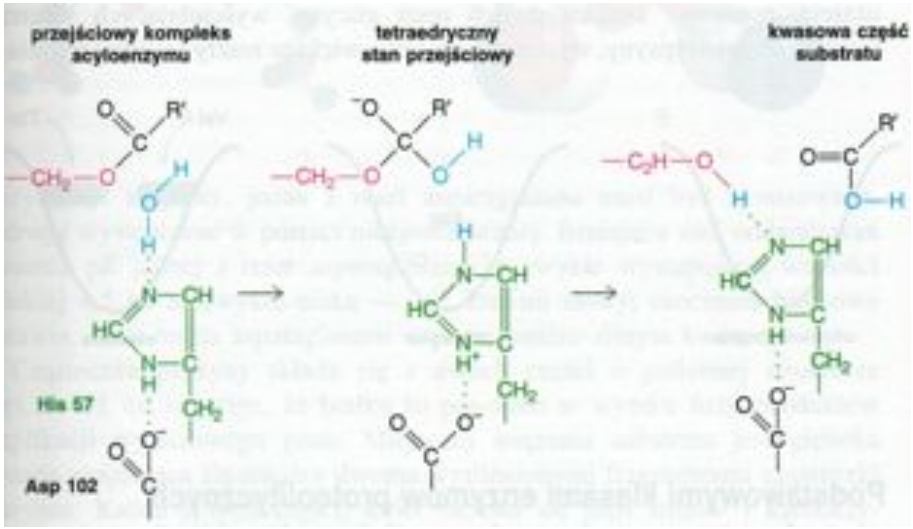
1. W mechanizmie katalizy *reszty* ***histydyny 57 i seryny 195*** *biorą bezpośredni udział w* ***hydrolizie wiązania peptydowego substratu****.*
2. ***Przejściowy tetraedryczny związek pośredni*** powstaje z planarnego ugrupowania peptydowego dzięki **wiązaniom wodorowym** między ujemnie naładowanym atomem tlenu grupy karbonylowej (nazywanym *oksyanionem)* i dwoma grupami NH głównego łańcucha polipeptydowego.
3. Miejsce to nazywane jest ***dziurą oksyanionu*** (ang. *oxyanion hole).*
4. *Kataliza przy* ***zastosowaniu chymotrypsyny*** *przebiga w dwóch etapach:*

1) etap **acylacji**
2) etap **deacylacji**





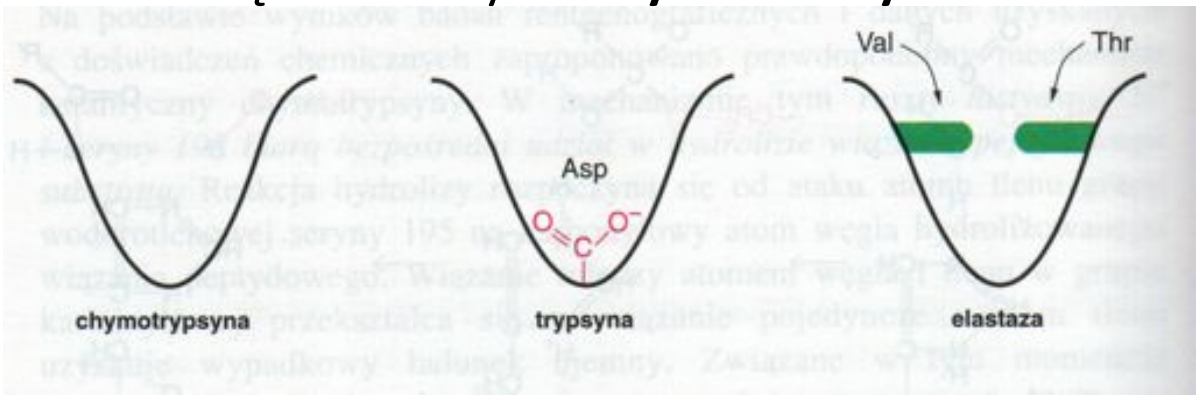
Pierwszy etap hydrolizy peptydu przez chymotrypsynę: *acylacja.* Powstaje tetraedryczny stan przejściowy, w którym następuje hydroliza wiązania peptydowego. Po odłączeniu aminowej części substratu powstaje przejściowy kompleks acylo- enzymu



Drugi etap hydrolizy peptydu przez chymotrypsynę: *deacylacja.* Przejściowy kompleks acyloenzymu ulega hydrolizie pod wpływem wody. Zauważmy, że deacylacja jest zasadniczo odwróceniem acylacji z podstawieniem cząsteczki wody w miejsce aminowej części substratu

Trypsyna i Elastaza

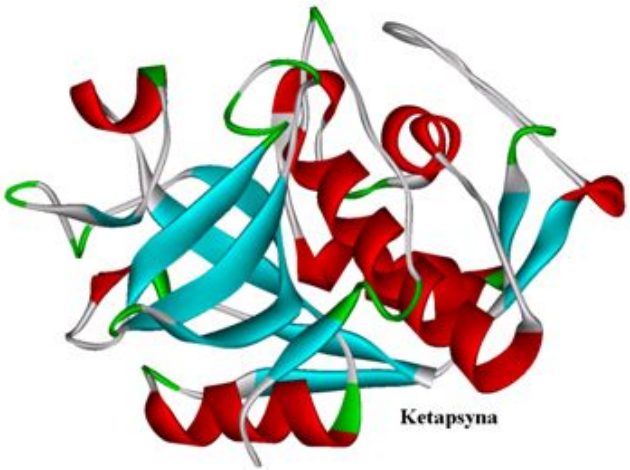
1. Mimo dużego podobieństwa do **chymotrypsyny** w strukturze i mechanizmie działania, **trypsyna i elastaza** wykazują uderzające **różnice w specyficzności substratowe**j.
2. Różnice w **specyficzności substratowej** tych enzymów wynikają z bardzo **niewielkich zmian strukturalnych w miejscu wiązania.**
3. **Elastaza** działa na wiązania peptydowe w sąsiedztwie mniejszych, pozbawionych ładunku **łańcuchów bocznych**.
4. W **trypsynie** jedna reszta aminokwasowa wchodząca w skład tej kieszeni jest inna niż w chymotrypsynie; miejsce **seryny** zajmuje **asparaginian**.
   W **niepolamej kieszeni trypsyny** aminokwas ten może tworzyć silne wiązanie elektrostatyczne z dodatnio naładowanymi łańcuchami bocznymi **lizyny i argininy** cząsteczki substratu.
5. W **elastazie** kieszeń przestrzenna w ogóle nie istnieje, ponieważ **zamiast dwóch reszt glicyny**, wyścielających wnętrze kieszeni chymotrypsyny, występują znacznie większe reszty **waliny i treoniny**.

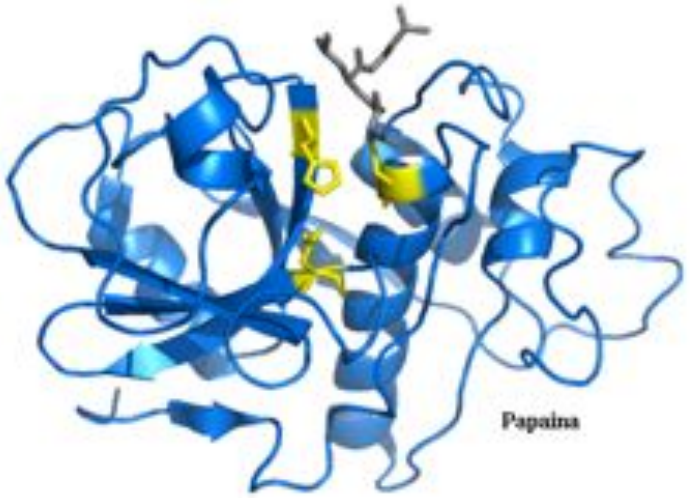


Znacznie uproszczony schemat przedstawiający część miejsca wiązania substratu w chymotrypsynie. trypsynie i elastazie

Proteazy tiolowe

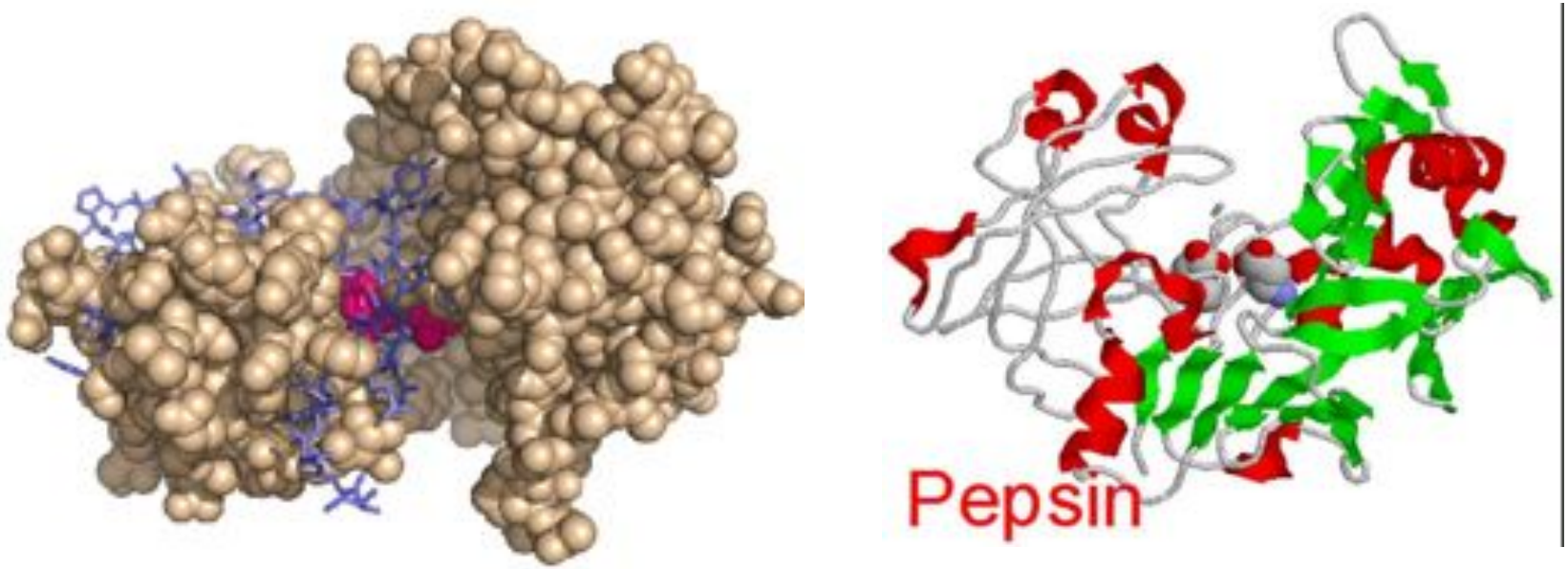
1. W miejscu aktywnym **papainy** znajduje się reszta **cysteiny** stanowiąca odpowiednik **seryny** 195 w miejscu aktywnym **chymotrypsyny**.
2. W jej sąsiedztwie położony jest łańcuch boczny **histydyny** ułatwiający przebieg katalizowanej przez papainę hydrolizy, w trakcie której powstaje **związek pośredni** w postaci **estru tiolowego**.
3. **Papaina** jest szeroko stosowana do **zmiękczania mięsa**.
4. Proteaza tiolowa — **katepsyna B** katalizuje **rozpad białka w lizosomach**, które są organellami komórek zwierzęcych, otoczonymi pojedynczą błoną, wyspecjalizowanymi w **trawieniu wewnątrzkomórkowym**.


Ketapsyna


Papaina

Proteazy aspartylowe - pepsyna

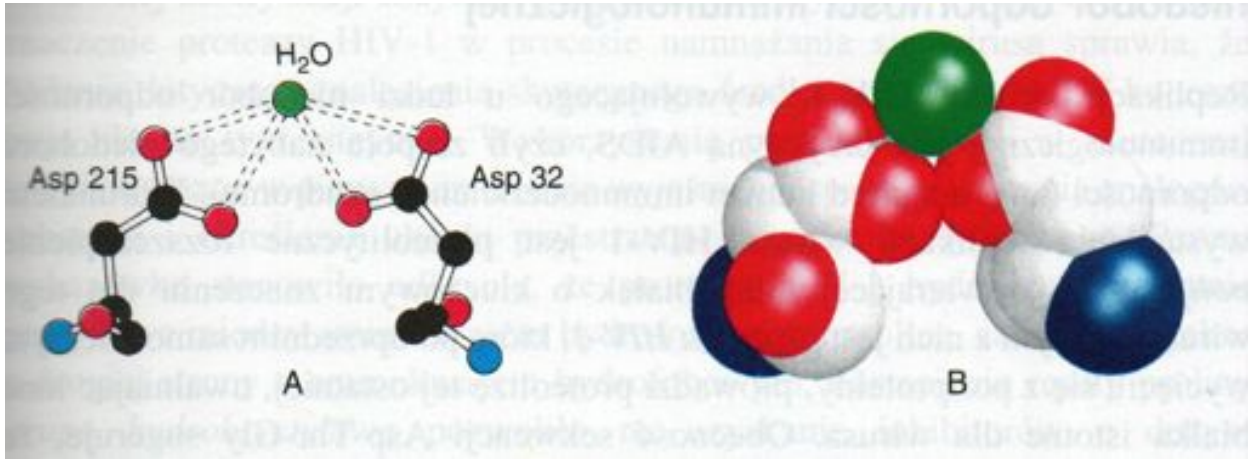
1. Najlepiej poznanym przedstawicielem klasy **proteaz aspartylowych** jest ***pepsyna,*** jeden z podstawowych enzymów proteolitycznych soku żołądkowego.
2. Pepsyna jest **pojedynczym łańcuchem peptydowym** o masie cząsteczkowej 35 kDa i pH optymalnym dla katalizowanej reakcji między 2 i 3.
3. Miejsce aktywne enzymu zawiera **dwie reszty asparaginianu** leżące po dwóch stronach cząsteczki wody. Aby enzym był aktywny, jedna z reszt asparaginianu musi być zjonizowana, a druga występować w postaci niezjonizowanej. Istniejąca sieć oddziaływań zmienia p*K* jednej z reszt asparaginianu ze zwykle występującej wartości bliskiej 4,5 na **niezwykle niską — 1,2**. Innymi słowy, otoczenie białkowe sprawia, że ta reszta asparaginianu staje się bardzo silnym kwasem.



Proteazy aspartylowe - pepsyna

Rola reszt asparaginianu w prowadzonej przez pepsynę katalizie hydrolizy jest dwojakiego rodzaju:

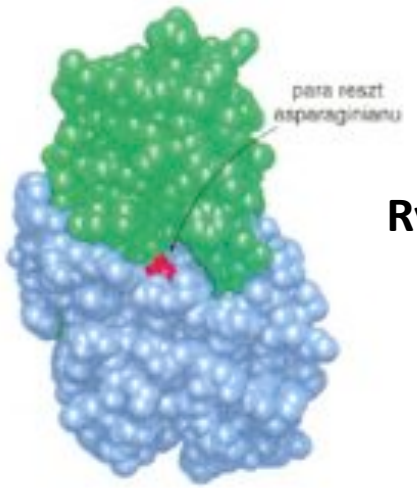
1) aktywują znajdującą się między nimi cząsteczkę wody,
2) działają jako akceptory i donory protonów.



Cząsteczka wody w miejscu aktywnym papainy jest aktywowana przez parę reszt asparaginianu.
A — model kulkowy.
B — model przestrzenny.
Atom tlenu zaktywowanej cząsteczki wody - kolor zielony

Proteaza aspartylowa - znaczenie dla replikacji wirusa HIV

1. Do klasy **proteaz aspartylowych** należy także **proteaza HIV-I**, która ma decydujące znaczenie dla replikacji wirusa wywołującego AIDS.
2. Ten wirusowy **enzym proteolityczny** jest dimerem zbudowanym z **dwóch identycznych podjednostek**, z których każda zawiera jedna z **dwóch kluczowych reszt asparaginianu**.
3. Poznanie struktury przestrzennej i mechanizmu katalitycznego proteaz aspartylowych stworzyło możliwość zaprojektowania **analogów stanu przejściowego**, specyficznie **hamujacych proteaze HIV-I**, które mogą mieć zasadnicze znaczenie dla **skutecznej terapii AIDS**.
4. Zastąpienie reszty **proliny grupą hydroksyetylową** pozwoliło na uzyskanie **inhibitorów** o dużym powinowactwie, stanowiących równocześnie **analogi tetraedrycznego stanu przejściowego**.

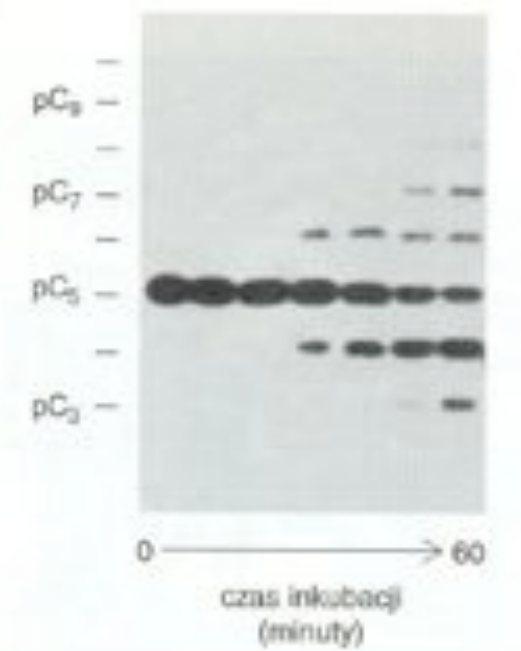


Rys. Proteaza HIV-I

Rys. Oddzialywanie inhibitora proteazy HIV -1 z para krytycznych reszt asparaginianu w miejscu aktywnym.

Cząsteczki RNA mogą być skutecznymi enzymami

1. W latach osiemdziesiątych odkryto **katalityczne cząsteczki RNA**.
2. Cząsteczka RNA pochodząca z **intronu**, który samodzielnie wycina się z RNA orzęska (pierwotniak), jest równocześnie **rybonukleazą i polimerazą RNA**.
3. Wykazuje wysoki stopień **specyficzności substratowej**, kinetykę Michaelisa-Menten i podatność na inhibicję kompetycyjną. Prawdopodobnie, w procesie ewolucji, przed pojawieniem się enzymów białkowych istniały katalizatory zbudowane z RNA.



Rys. Hydroliza i wydłużanie cząsteczki pentarybonukleotydu cytydylowego (Cs) katalizowane przez L19 RNA. Stosunek molowy substratu do enzymu wynosi 6.

Regulacja aktywności enzymów

1. **Aktywność wielu enzymów** jest regulowana przez:
   a) oddziaływania allosteryczne,
   b) wiązanie białek stymulacyjnych i hamujących,
   c) odwracalna modyfikację kowalencyjną,
   d) aktywacje proteolityczną.

1a. Kontrola allosteryczna.
Regulacja allosteryczna aktywności enzymów prowadzona jest przez małe cząsteczki.
Karbamoilotransferaza asparaginianowa z *Escherichia coli* katalizuje pierwszy etap drogi **biosyntezy nukleotydów pirymidynowych**, jest hamowany na zasadzie sprzężenia zwrotnego przez jej końcowy produkt, **trifosforan cytydyny**.

Rys. Mikrografia elektronowa **karbamoilotransferazy asparaginianowej**.

Regulacja aktywności enzymów

1b. Stymulacja i hamowanie przez białka regulacyjne. Podobnie jak male cząsteczki, białka stymulacyjne i hamujące regulują aktywnosc enzymów.

Kalmodulina, białko wrażliwe na wewnątrzkomórkowe stężenie Ca^{2+}, aktywuje liczne białka w odpowiedzi na wzrost poziomu jonów wapnia w komórce. Kalmodulina przyłącza cztery jony wapnia powodując zarazem zmianę swojej konformacji, w wyniku czego powstaje kompleks, który aktywuje i stymuluje działanie wielu enzymów:

- **kinazy II**, która fosforyluje wiele różnych białek,
- **pomp błonowo-jonowych**,
- **dehydrogenaza chinianowa**

Czynnik przeciwhemofilowy, białko zwiekszajace aktywność proteazy serynowej, zasadniczo przyspiesza proces krzępnięcia krwi.

Kinaza białkowa A, jest kontrolowana przez podjednostki hamujące. **Cykliczny AMP**, pełniący funkcje wewnątrzkomórkowego przekaźnika w sygnalizacji hormonalnej, uwalnia podjednostki katalityczne i w ten sposób aktywuje kinazę białkową A.

Regulacja aktywności enzymów

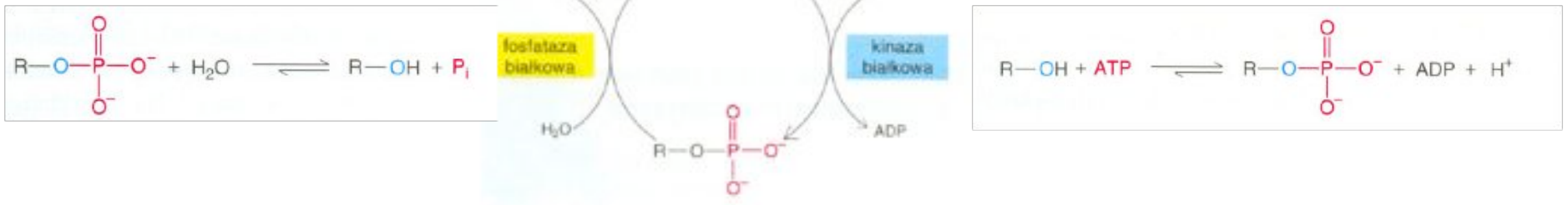
1c. **Odwracalna modyfikacja kowalencyjna.**

Kowalencyjne **przyłączenie grup fosforanowych** wyraźnie zmienia **właściwości katalityczne wielu enzymów.**

Fosforylacja specyficznej reszty **seryny** prowadzi do aktywacji **fosforylazy glikogenowej** (enzymu uwalniajacego reszty cukru z glikogenu - zapasowego zrółła energii). Donorem grupy fosforanowej w tego typu reakcjach, katalizowanych przez kinazy białkowe, jest ATP.

Usuniecie grup fosforanowych w drodze hydrolizy jest katalizowane przez **fosfatazy białkowe**.

Kinaza bialkowa A, powszechnie występujacy eukariotyczny enzymu, **reguluje różnorodne białka**. W odwracalnej kontroli aktywności bakteryjnych enzymów, na przykład syntetazy glutaminowej, może uczestniczyć także AMP, pochodzący z ATP.



Regulacja aktywności enzymów

1d**. Aktywacja proteolityczna.**

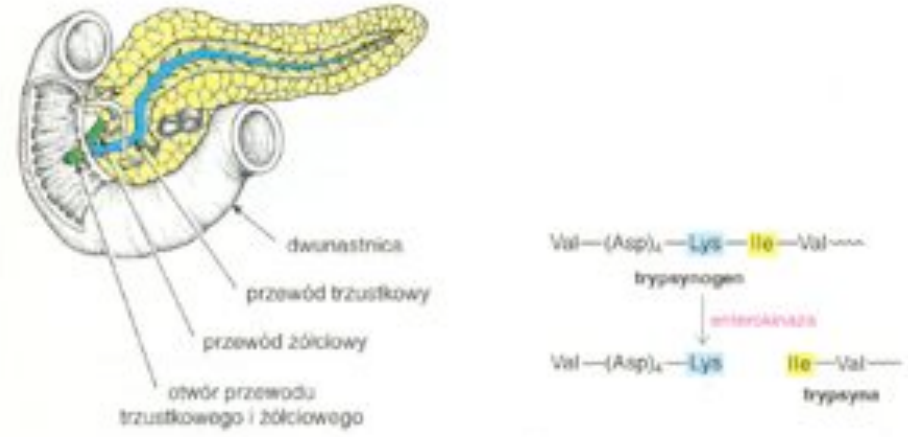
Aktywacja proteolityczna to nieodwracalne **przekształcenie enzymu nieaktywnego w aktywny**.

Wiele enzymów ulega aktywacji w wyniku hydrolizy kilku bądź nawet jednego wiązania peptydowego, występującego w **nieaktywnym prekursorze** nazywanym **zymogenem** lub **proenzymem**.

Taki mechanizm występuje w przypadku **enzymów trawiennych**, takich jak **chymotrypsyna, trypsyna i pepsyna**.

Krzepnięcie krwi zachodzi w kaskadowym procesie aktywacji **zymogenów**.

Zahamowanie aktywności enzymów trawiennych i uczestniczących w procesie **krzepnięcia krwi** następuje na skutek nieodwracalnego związania specyficznych **białek hamujących**, które stanowią dla tych enzymów pokusę nie do odparcia.



Rys. Enterokinaza aktywuje **trypsynogen** po jego wniknieciu do **dwunastnicy**

Wykład 4

Błony komórkowe