

Enzýmy - kinetika

4.11.2015

Vplyv reakčných podmienok na rýchlosť reakcie (reakčná kinetika)

Rýchlosť reakcie závisí od:

- A) množstva enzýmu
- B) koncentrácie substrátov
- C) fyzikálno-chemických vlastností prostredia
- D) prítomnosti efektorov (aktivátorov a inhibítorgov)



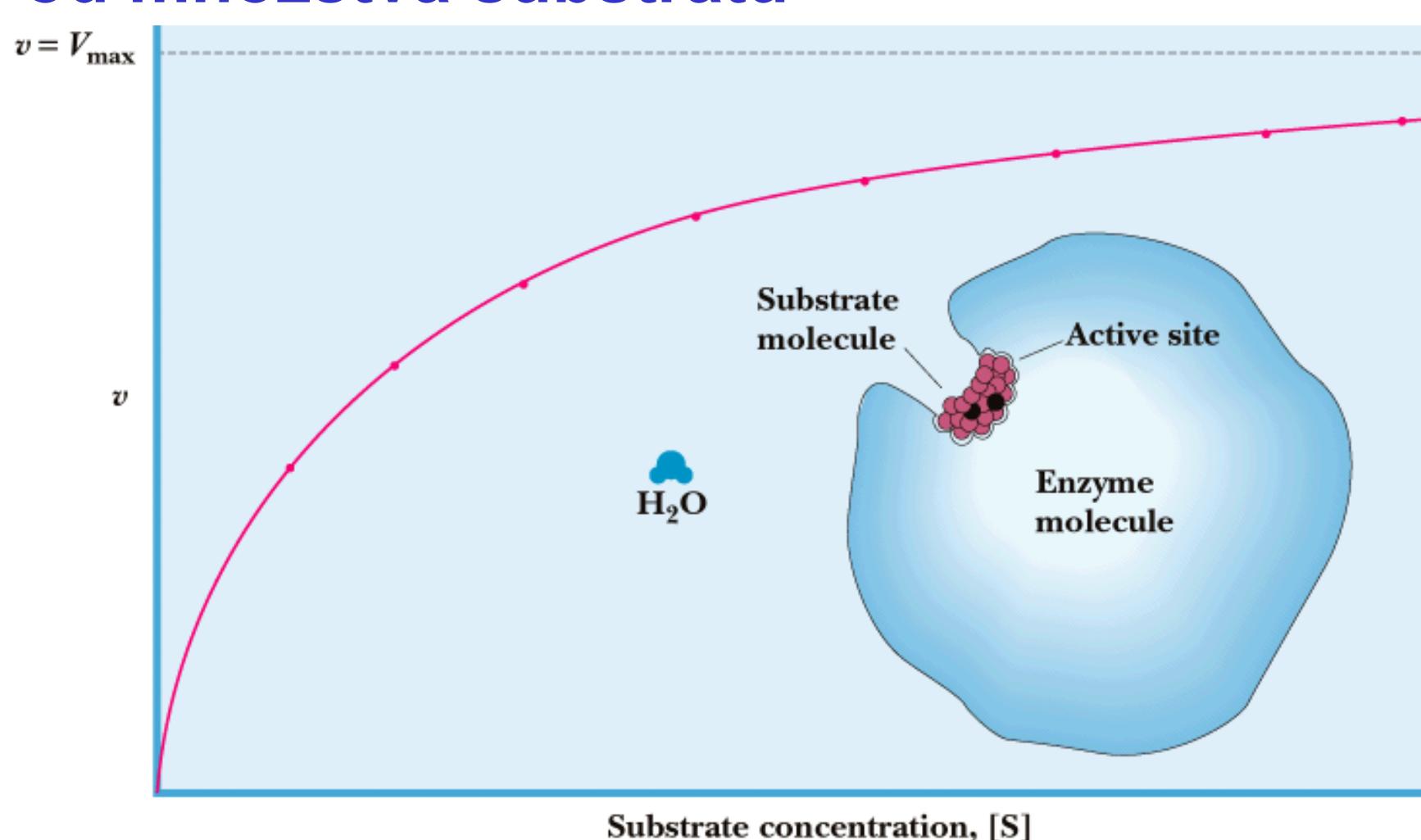
Leonor Michaelis
1875–1949

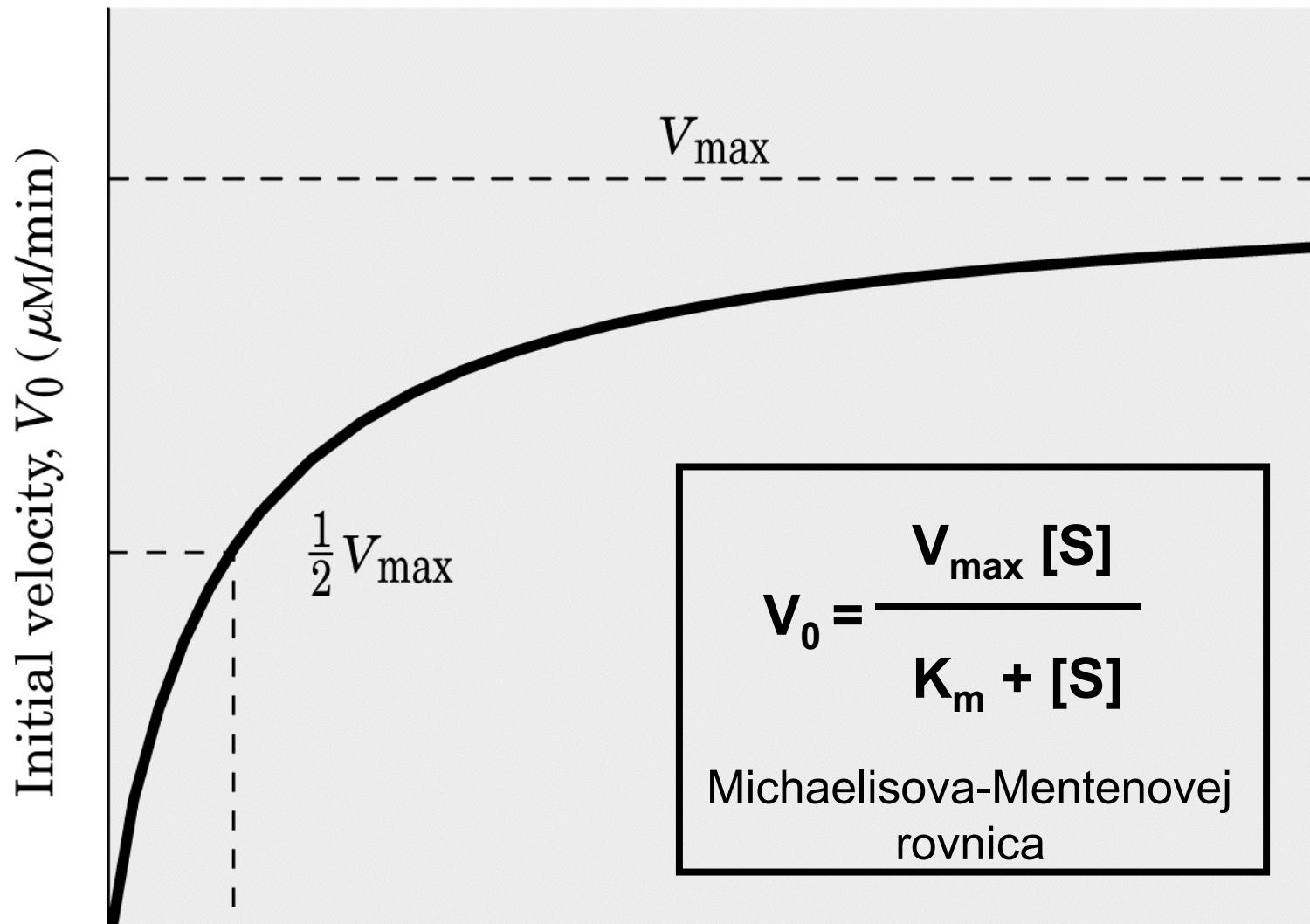
Unnumbered 6 p203
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company



Maud Menten
1879–1960

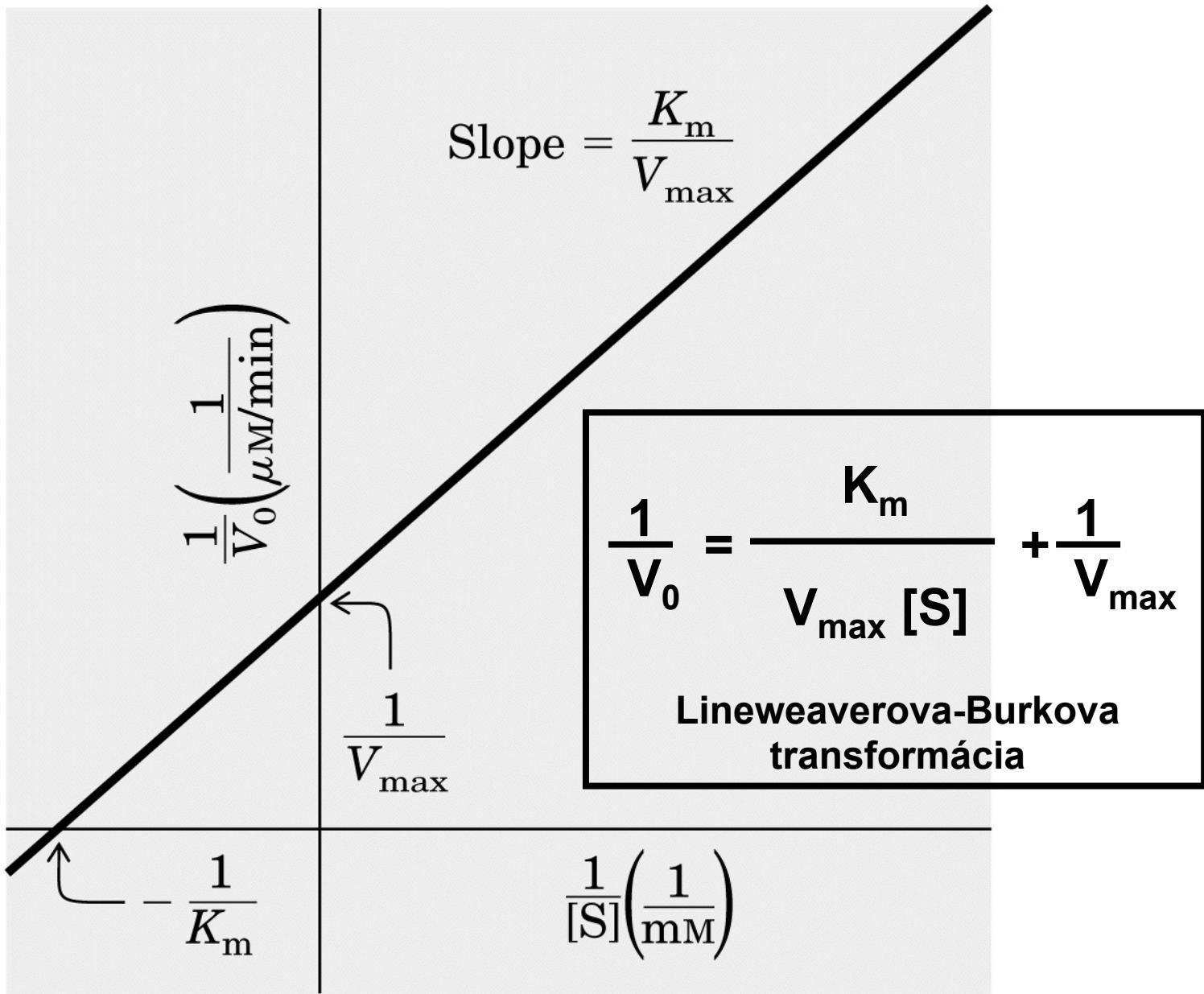
B) Závislosť rýchlosťi enzymovej reakcie od množstva substrátu





$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Michaelisova-Mentenovej
rovnica



Čo to je K_m ?

- K_m predstavuje koncentráciu substrátu, pri ktorej sa V_0 rovná polovičnej hodnote V_{max}
- Dá sa experimentálne stanoviť a závisí od prostredia – pH, teploty, prítomnosti efektorov
- Charakterizuje katalytické vlastnosti enzymu vzhľadom k príslušnému substrátu
- Čím je hodnota K_m nižšia, tým je afinita enzymu k danému substrátu vyššia

TABLE 6–6 **K_m for Some Enzymes and Substrates**

Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Table 6-6*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*

© 2008 W.H. Freeman and Company

Jednotka enzýmovej aktivity – katal

Definícia (SI):

- 1 katal je také množstvo enzýmu, ktoré katalyzuje premenu 1 molu substrátu za 1 sekundu

$$\text{Špecifická aktivita} = \frac{\text{počet katalov}}{\text{kg bielkoviny}}$$

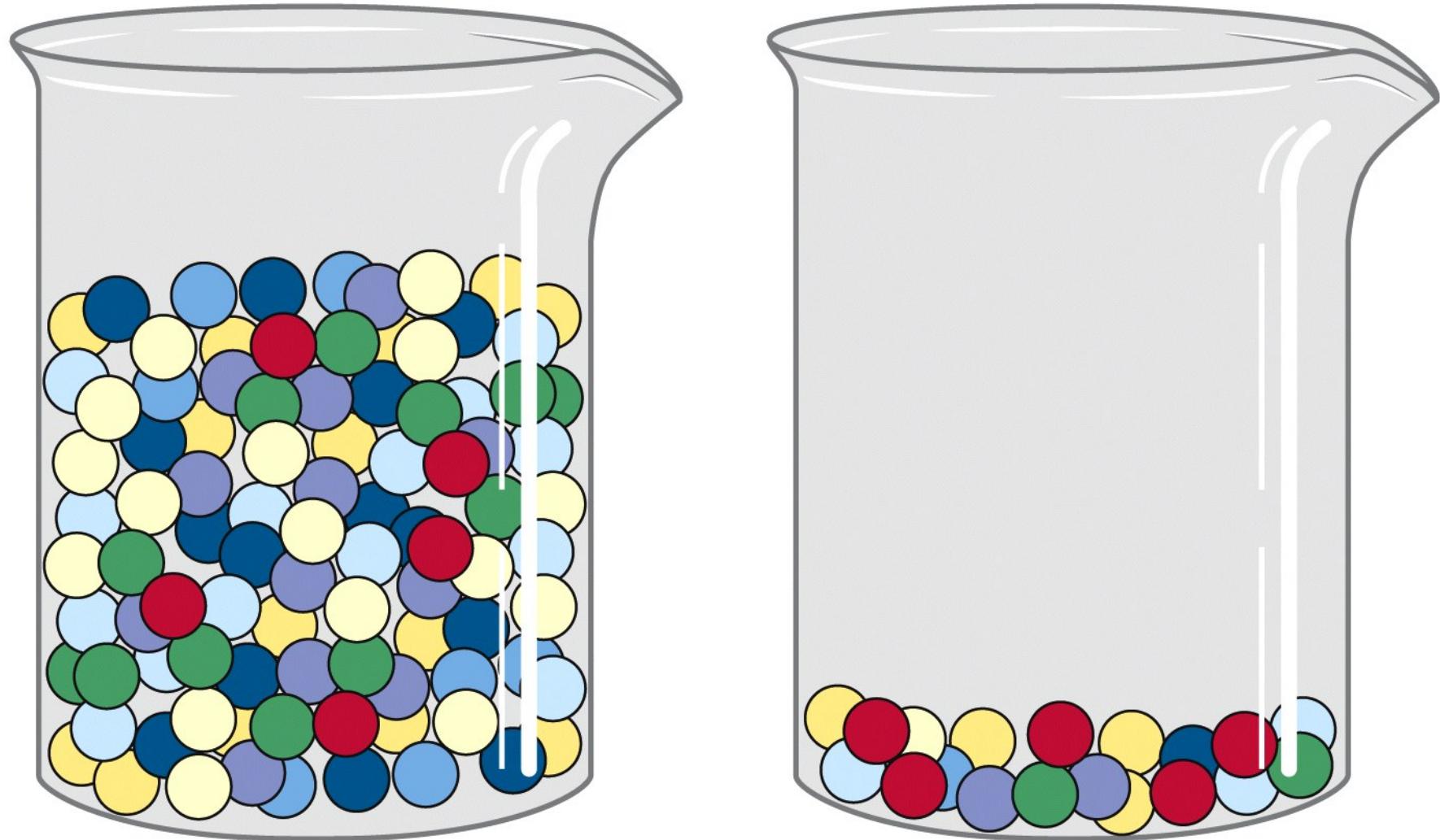
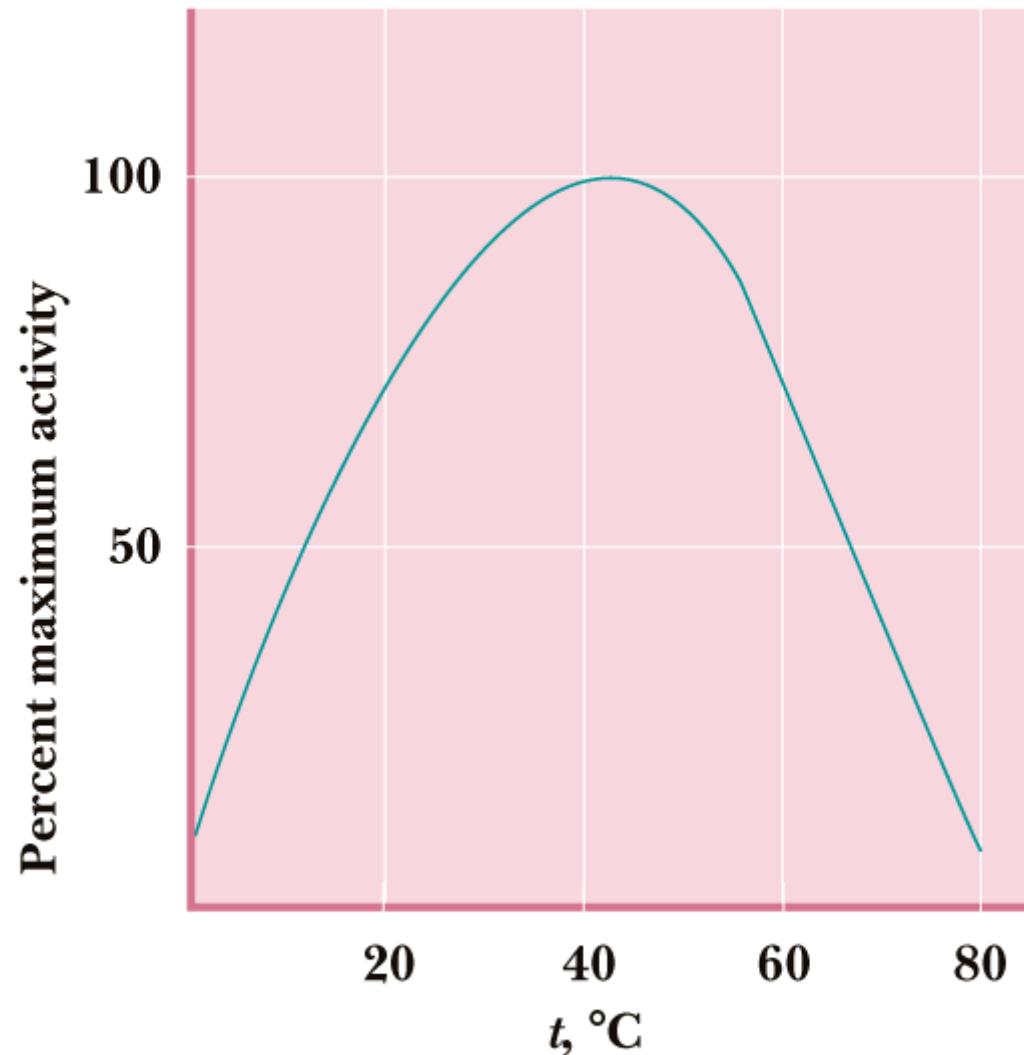


Figure 3-22
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

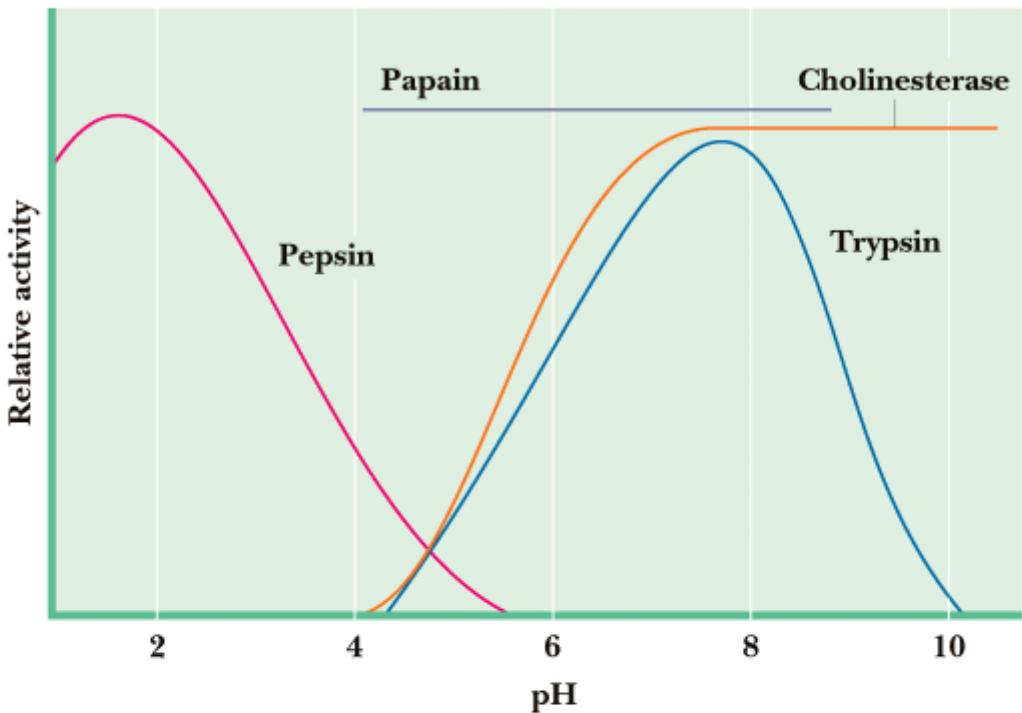
C) Závislosť rýchlosťi enzýmovej reakcie od fyzikálno-chemických vlastností prostredia

Vplyv teploty



C) Závislosť rýchlosťi enzýmovej reakcie od fyzikálno-chemických vlastností prostredia

Vplyv pH



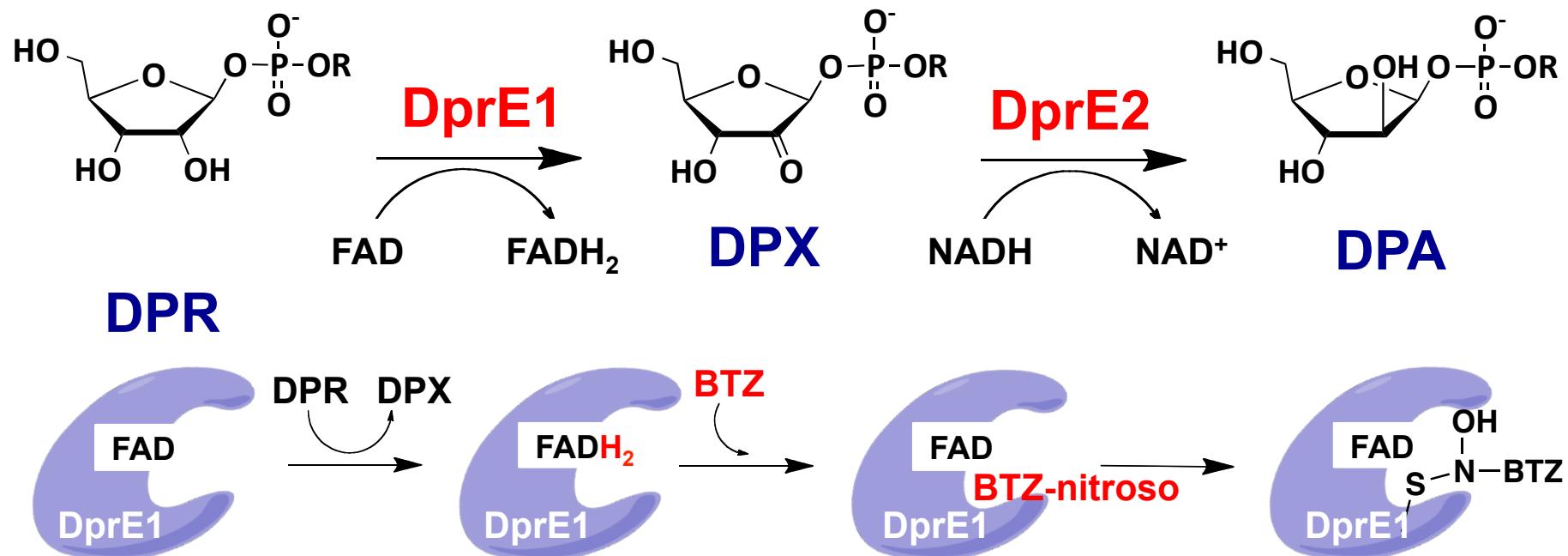
Optimum pH of Some Enzymes

Enzyme	Optimum pH
Pepsin	1.5
Catalase	7.6
Trypsin	7.7
Fumarase	7.8
Ribonuclease	7.8
Arginase	9.7

D) Závislosť rýchlosťi enzýmovej reakcie od prítomnosti aktivátorov a inhibítordov

Vplyv inhibítordov:

- **Ireverzibilné inhibítory** – viažu sa s enzymom pevne, často kovalentne



Benzothiazinones Are Suicide Inhibitors of Mycobacterial Decaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-Oxidase DprE1

Claudia Trefzer,^{†,‡,§,▽} Henrieta Škovierová,^{†,§,▽} Silvia Buroni,^{†,||} Adela Bobovská,^{†,§} Simone Nenci,^{†,||} Elisabetta Molteni,^{†,||} Florence Pojer,^{†,⊥} Maria R. Pasca,^{†,||} Vadim Makarov,^{†,♯} Stewart T. Cole,^{†,⊥} Giovanna Riccardi,^{†,||} Katarína Mikušová,^{*,†,§} and Kai Johnsson^{*,†,‡}

[†]More Medicines for Tuberculosis (MM4TB) Consortium

[‡]Institute of Chemical Sciences and Engineering, NCCR Chemical Biology, École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland

[§]Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia

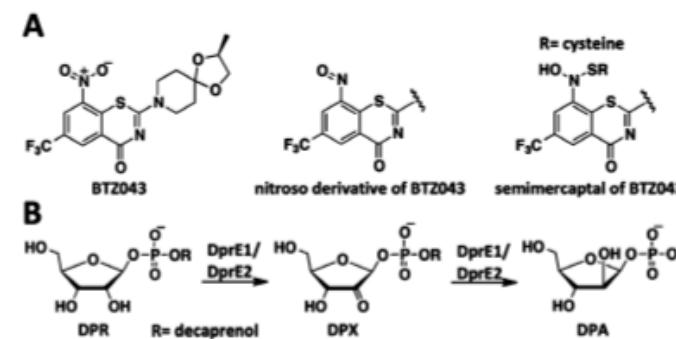
¹¹Department of Genetics and Microbiology, University of Pavia, Pavia, Italy.

¹Global Health Institute, EPFL, Lausanne, Switzerland

[#]Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

S Supporting Information

ABSTRACT: Benzothiazinones (BTZs) are antituberculosis drug candidates with nanomolar bactericidal activity against tubercle bacilli. Here we demonstrate that BTZs are suicide substrates of the FAD-dependent decaprenyl-phosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-oxidase DprE1, an enzyme involved in cell-wall biogenesis. BTZs are reduced by DprE1 to an electrophile, which then reacts in a near-quantitative manner with an active-site cysteine of DprE1, thus providing a rationale for the extraordinary potency of BTZs. Mutant DprE1 enzymes from BTZ-resistant strains reduce BTZs to inert metabolites while avoiding covalent



D) Závislosť rýchlosťi enzýmovej reakcie od prítomnosti aktivátorov a inhibítarov

Vplyv inhibítarov:

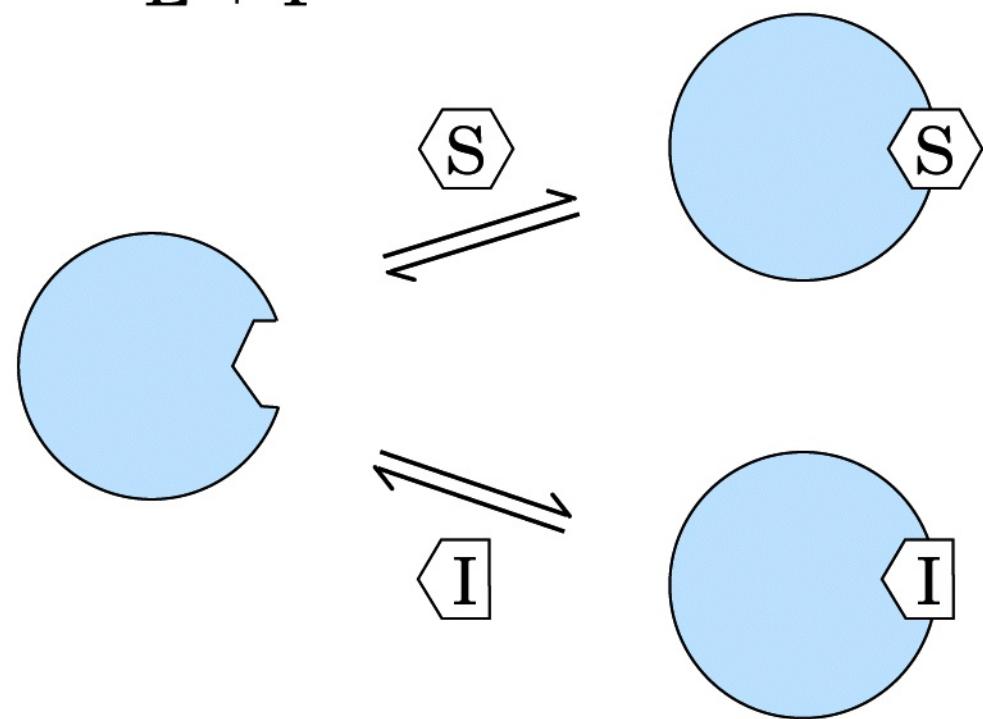
- **Ireverzibilné inhibitory** – viažu sa s enzymom pevne, často kovalentne
- **Reverzibilné inhibitory** – interagujú s enzymom prostredníctvom nekovalentných interakcií
 - Kompetitívne
 - Nekompetitívne



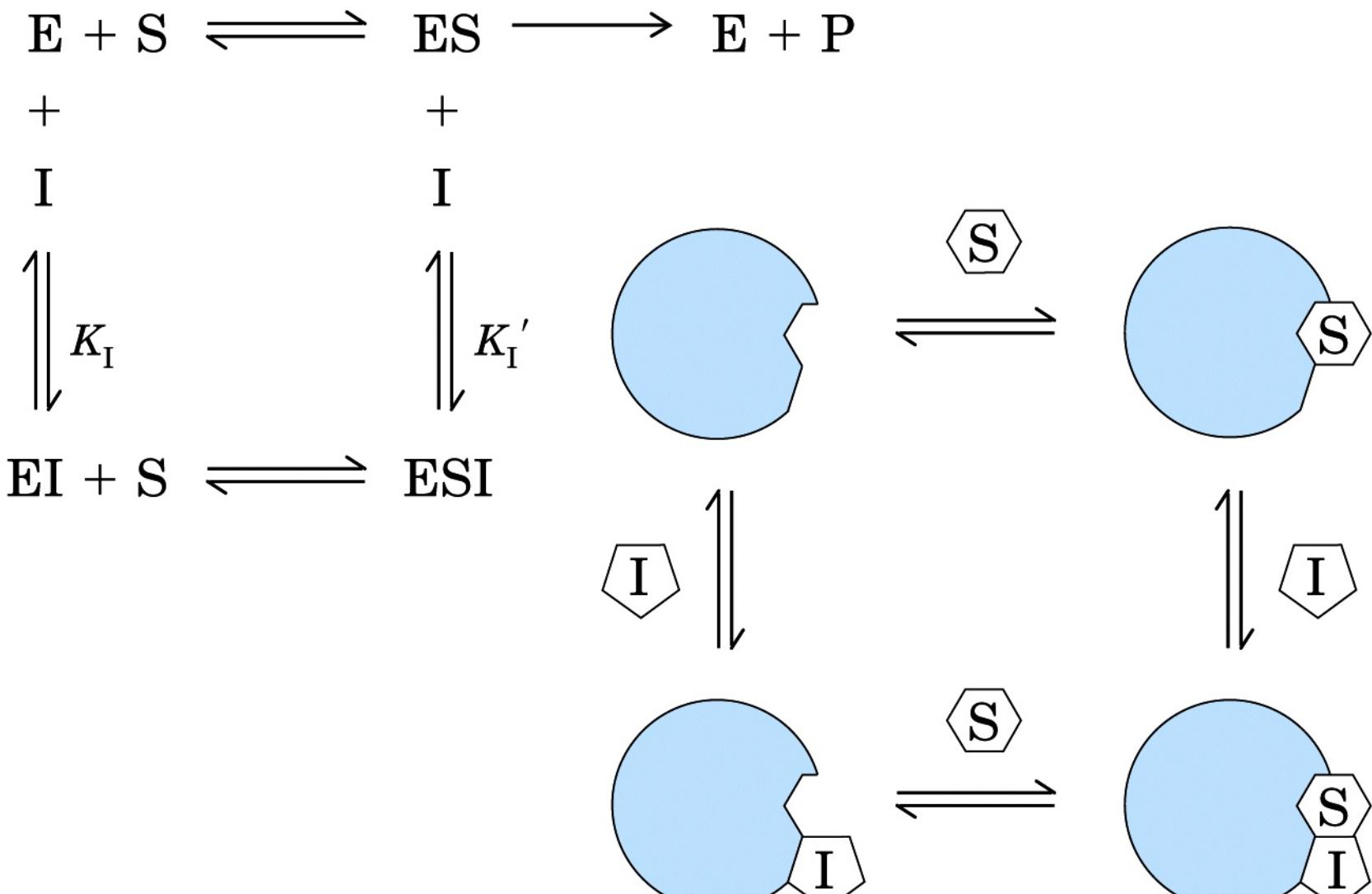
+
I

$$\begin{array}{c} 1 \\ \parallel \\ K_I \end{array}$$

EI



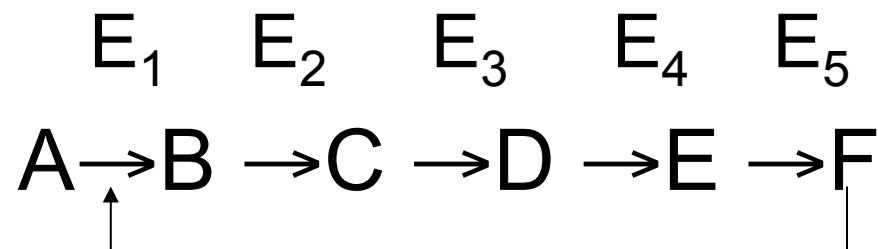
Kompetitívna inhibícia



Nekompetitívna inhibícia

Regulácia aktivity enzymov

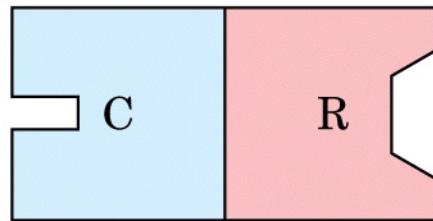
- Mechanizmus spätej väzby



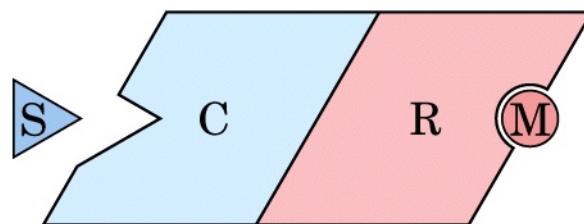
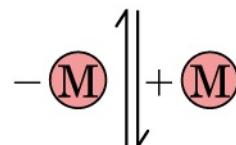
- Alosterická modifikácia
- Kovalentná modifikácia
- Proteolytické štiepenie

Alosterická modifikácia

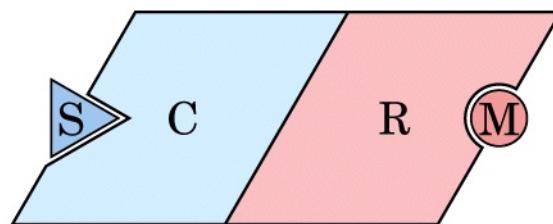
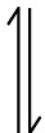
 substrát
 + modulátor



Menej aktívny enzym



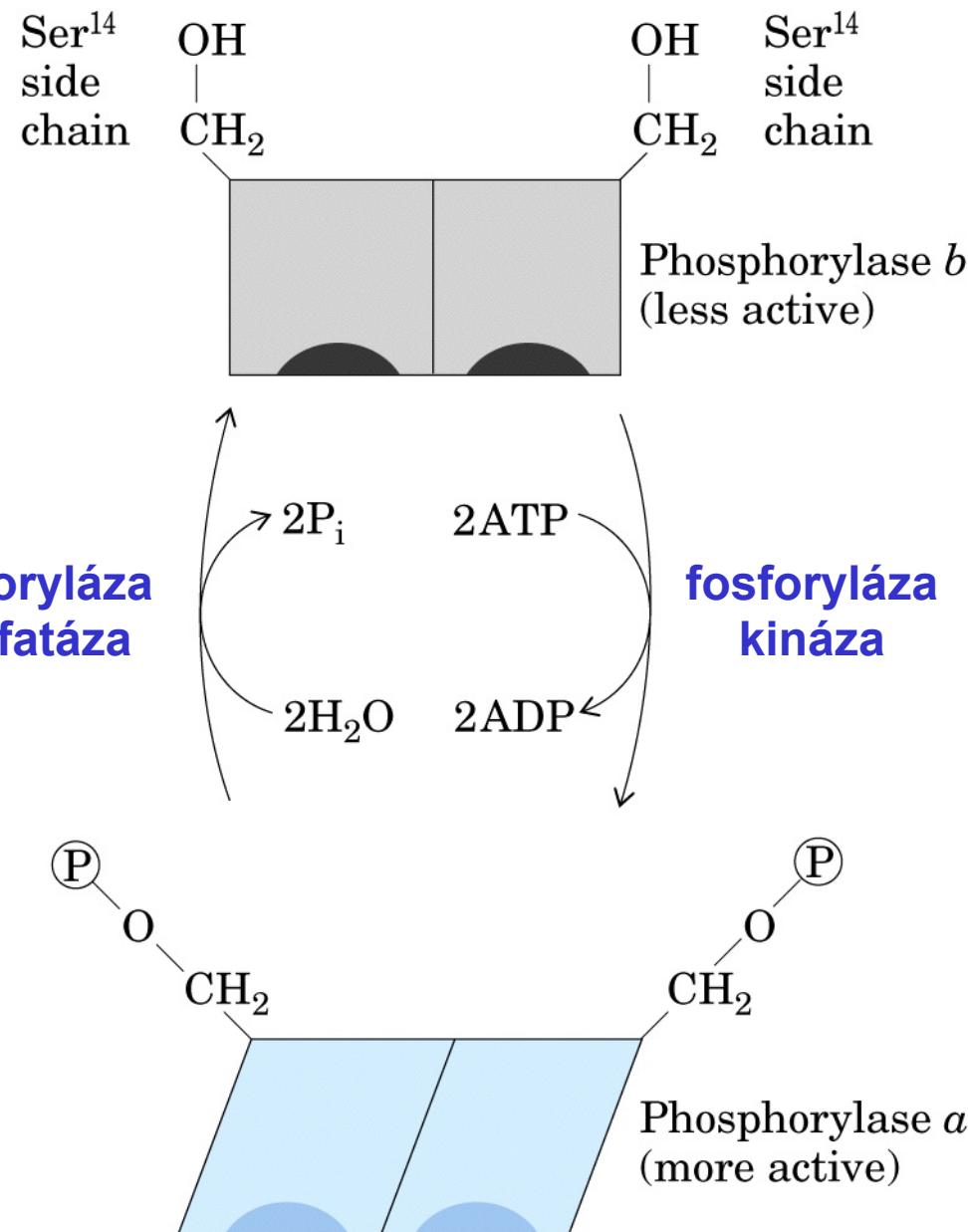
Aktívnejší enzym



Aktívny komplex
enzým-substrát

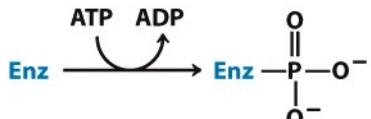
Kovalentná modifikácia

- fosforylácia
- adenylácia
- uridylácia
- ADP-ribozylácia
- metylácia

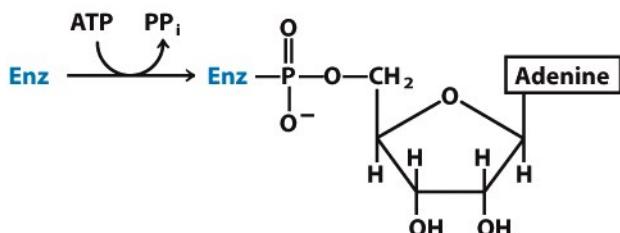


Covalent modification (target residues)

Phosphorylation (Tyr, Ser, Thr, His)



Adenylylation (Tyr)



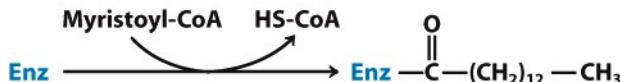
Acetylation

(Lys, α -amino (amino terminus))

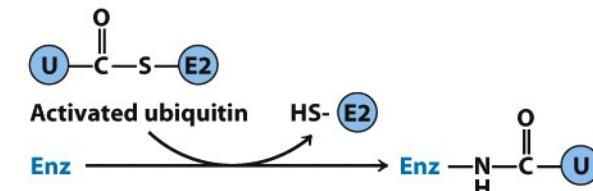


Myristoylation

(α -amino (amino terminus))

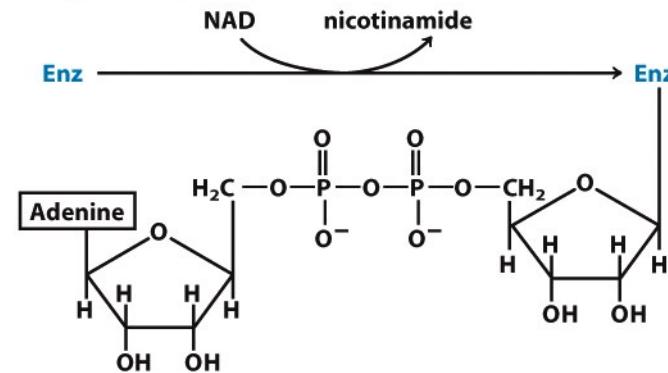


Ubiquitination (Lys)



ADP-ribosylation

(Arg, Gln, Cys, diphthamide—a modified His)



Methylation

(Glu)

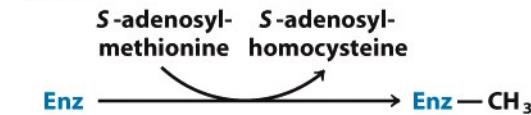
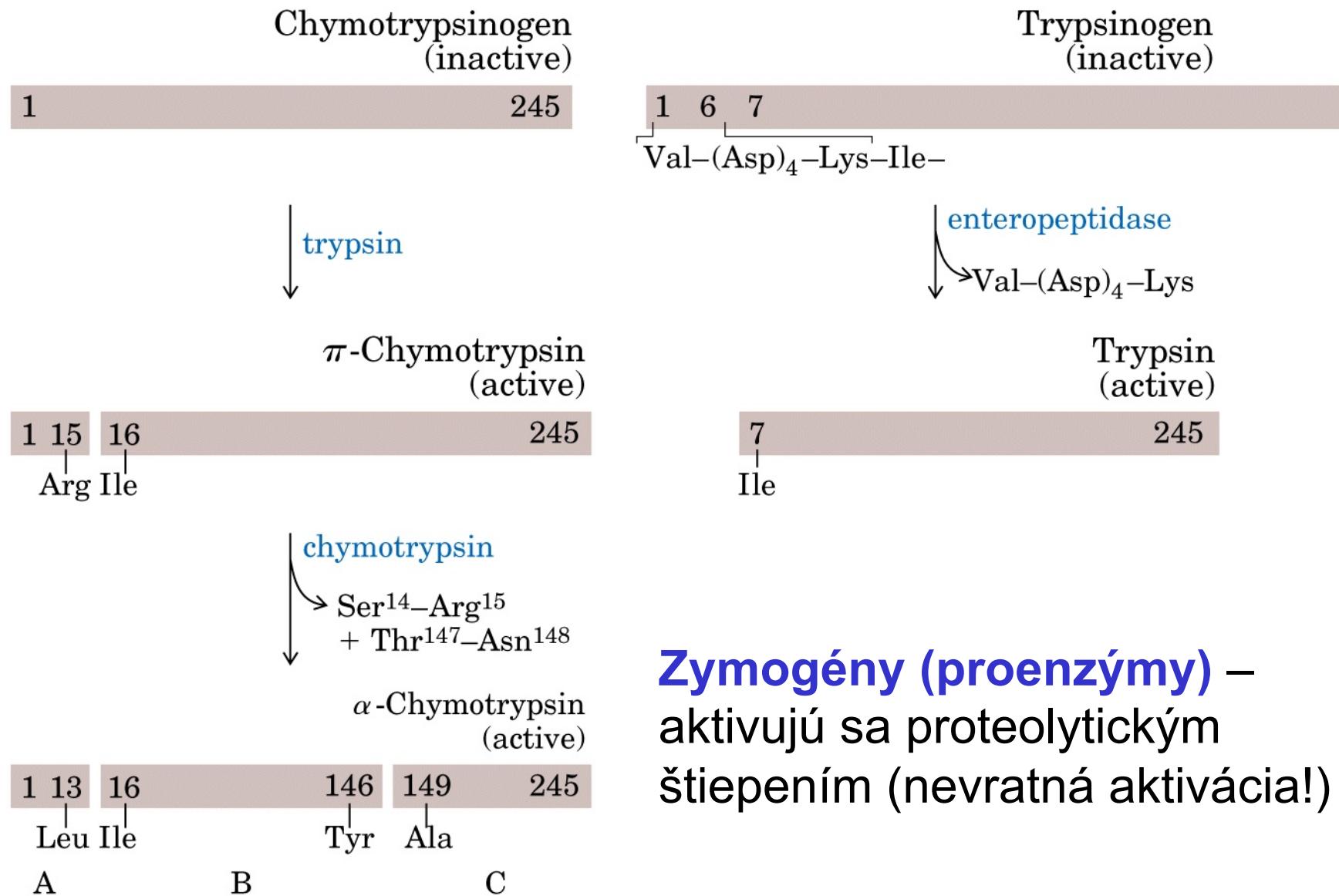


Figure 6-35

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

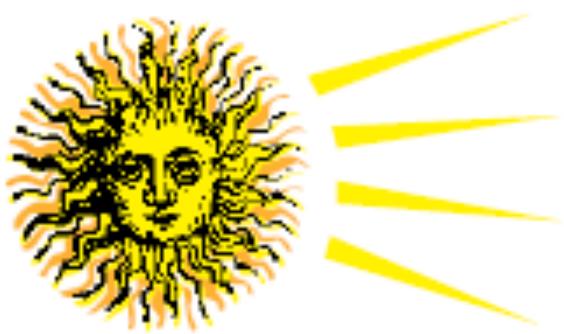


Úvod do štúdia metabolizmu

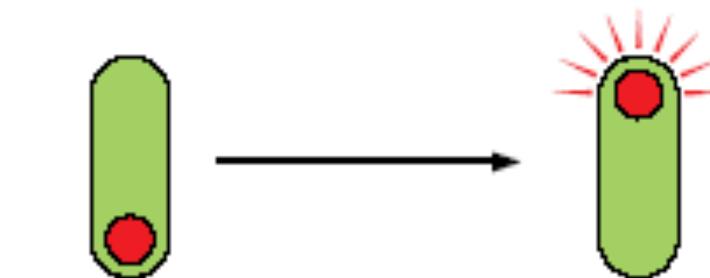
Termodynamické zákony

- **1. Zákon termodynamický:**

Celkové množstvo energie vo vesmíre je konštantné, menia sa len formy energie.



slnčné svetlo



**molekula
chlorofylu**

**excitovaná
molekula chlorofylu**

elektromagnetická (svetelná) energia → energia chemickej väzby

Termodynamické zákony

- **1. Zákon termodynamický:**

Celkové množstvo energie vo vesmíre je konštantné, menia sa len formy energie.

- **2. Zákon termodynamický:**

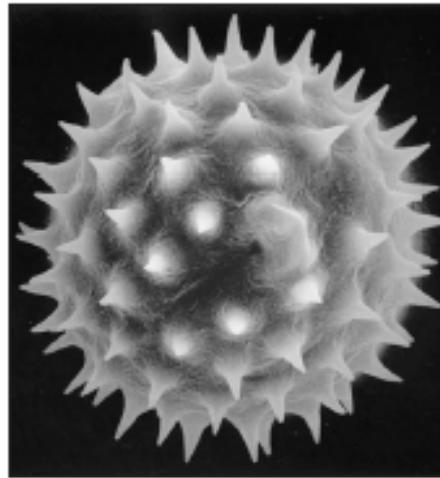
Spontánny tok energie smeruje od energie vysokej kvality k menej kvalitným formám alebo

Vo všetkých spontánnych procesoch entropia vzrastá

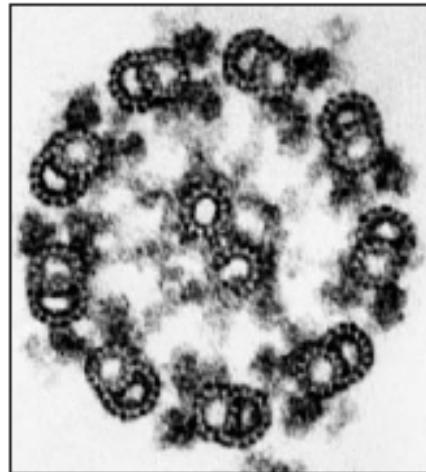
„spontánna reakcia“ v čase



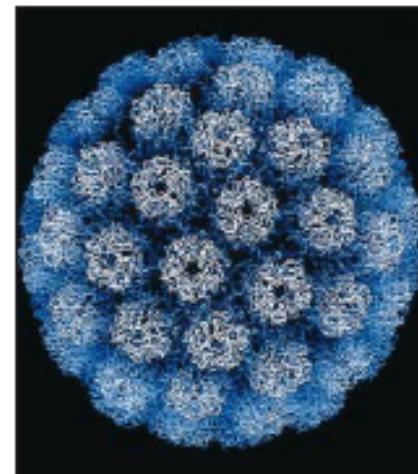
**organizovaná snaha
vyžadujúca dodanie energie**



Povrchové kontúry
peľového zrnka



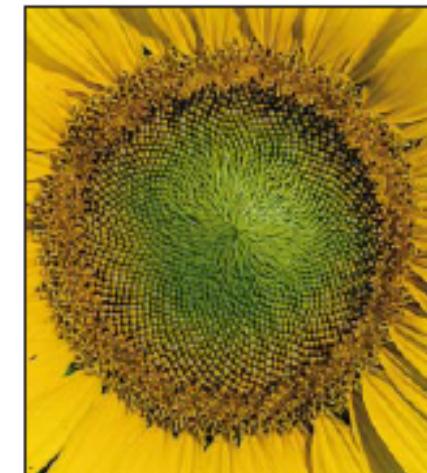
Mikrotubuly – priečny rez
chvostíkom spermie



Proteíny v plášti vírusu

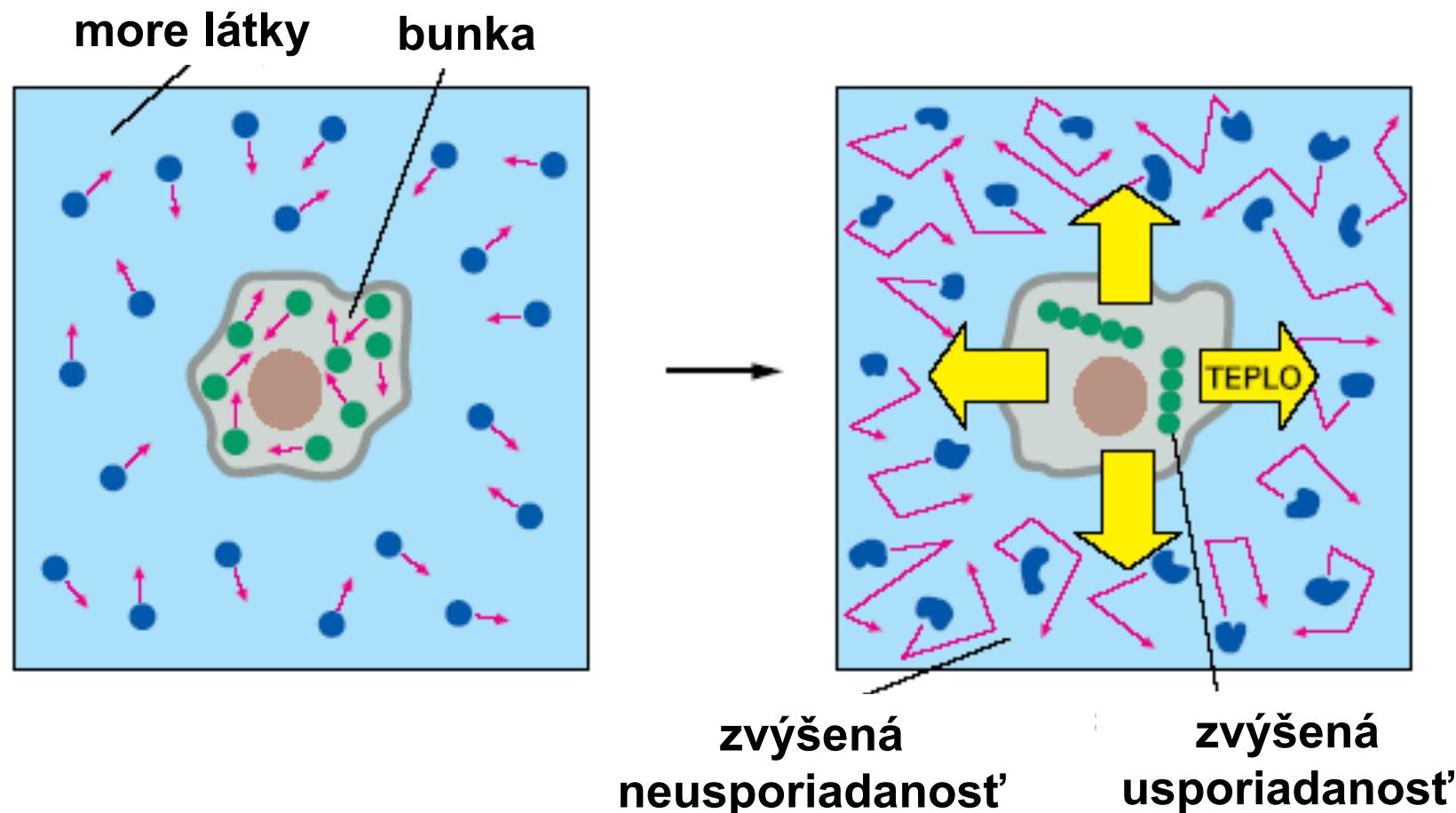


Motýlie krídlo



Kvet slnečnice

Jednoduchá termodynamická analýza živej bunky



Zdroje energie v živých organizmoch

- A) **Svetelná energia** – fototrofy
(rastliny, niektoré baktérie)
- B) **Chemická energia** – chemotrofy
(živočíchy, nefotosyntetizujúce organizmy)

Chemická energia, entalpia (H) – energia chemickej väzby

Voľná (Gibbsova) energia (G) – tá časť energie uložená v štruktúre molekúl, ktorá sa môže premeniť na užitočnú prácu

- $\Delta G < 0$ exergonická reakcia (energia sa uvoľní)
- $\Delta G > 0$ endergonická reakcia (energia sa spotrebuje)
- $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$
 - $\Delta H < 0$ exotermická reakcia
 - $\Delta H > 0$ endotermická reakcia
 - » $\Delta S > 0$ zvýšila sa entropia
 - » $\Delta S < 0$ znížila sa entropia

$\Delta G < 0$ podmienka samovoľnosti reakcie

$$\bullet \Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

$$\bullet \Delta H \approx 0$$

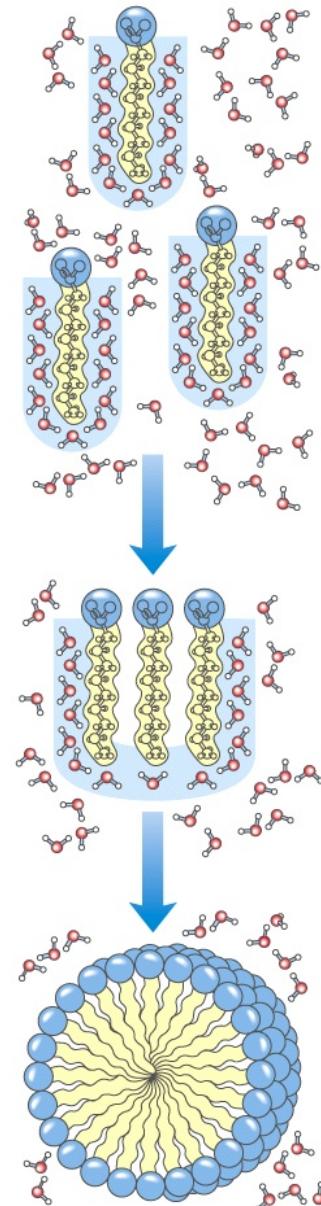
$$\bullet \Delta S > 0$$



$$\Delta G < 0$$

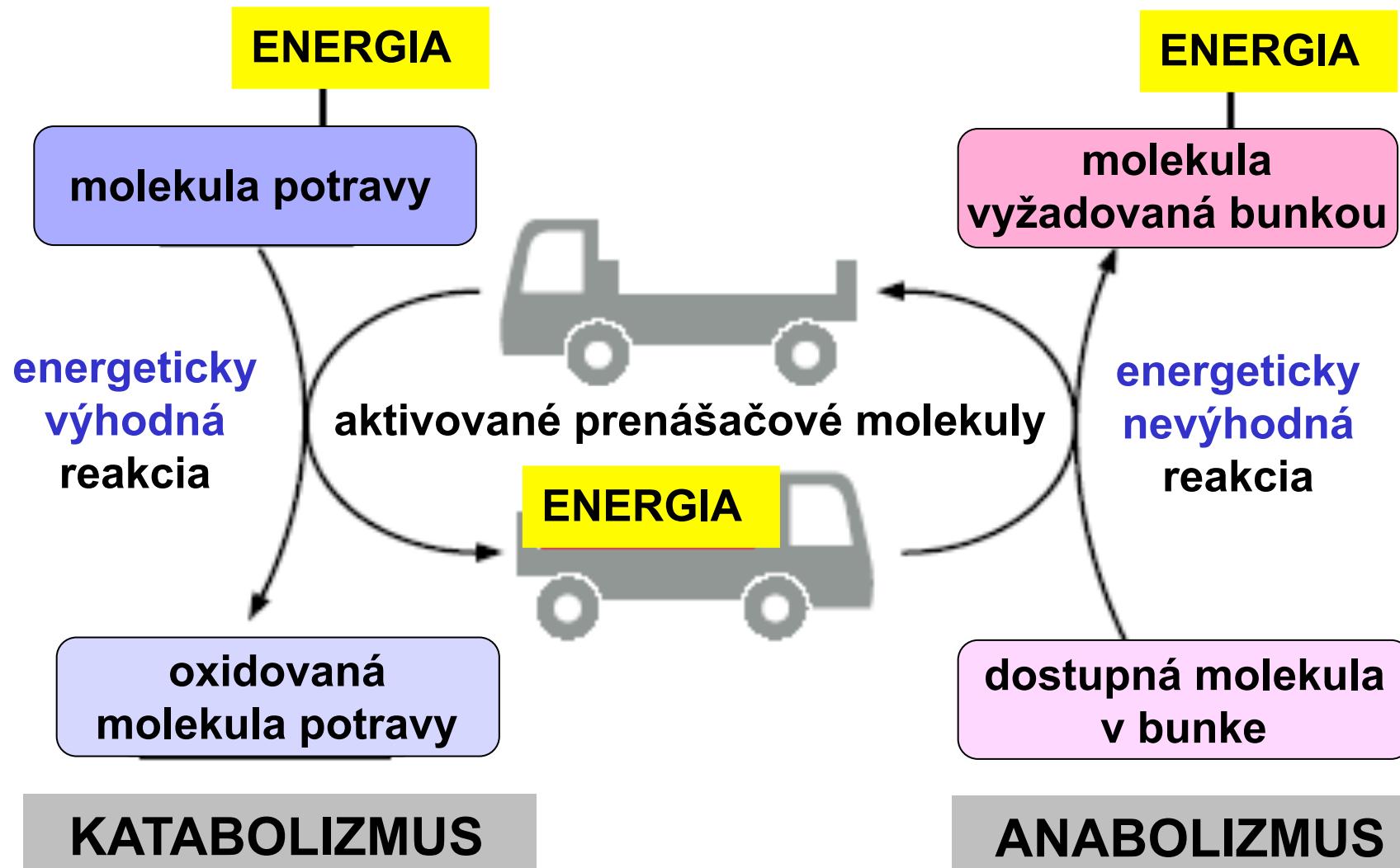


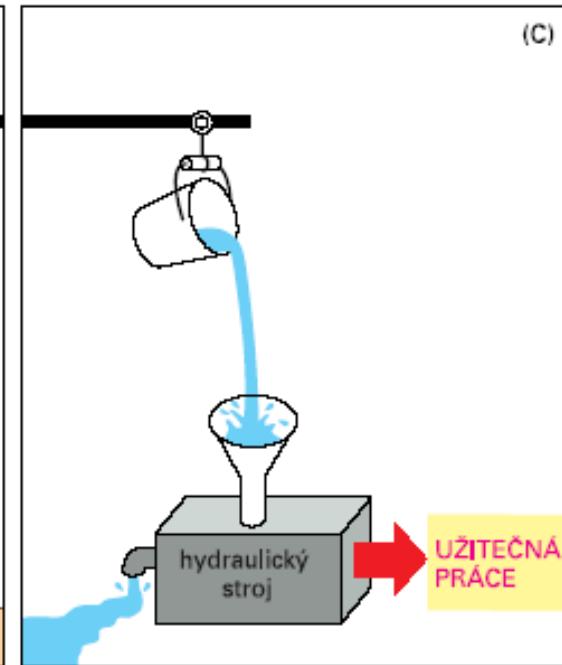
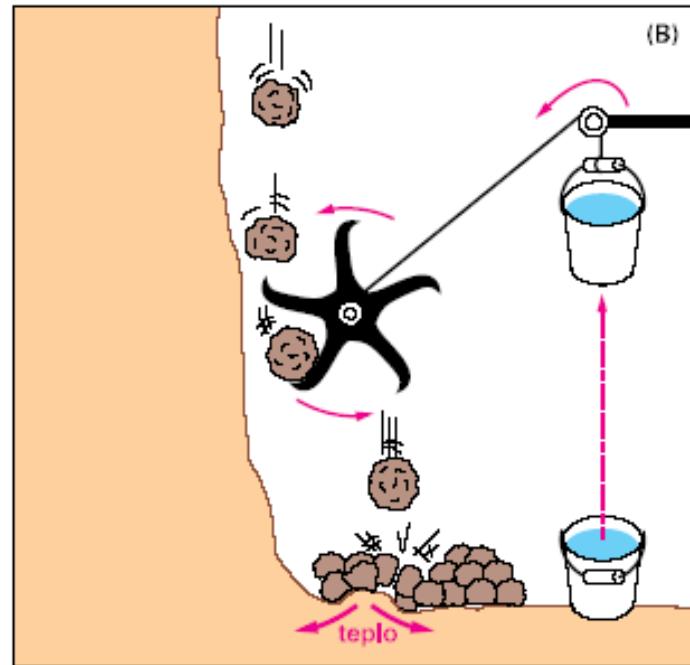
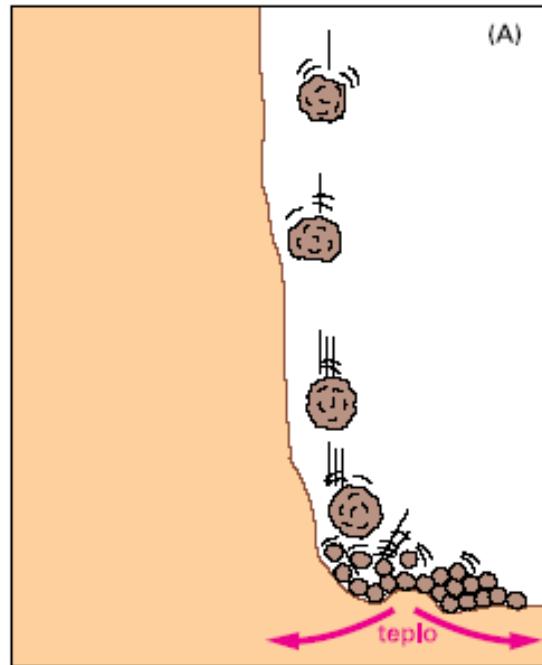
samovol'ný dej



(b)

Priebeh endergonických reakcií sa dá zabezpečiť spriahnutím s exergonickými reakciami prostredníctvom aktivovaných **prenášačov energie**.





Kinetická energia sa premieňa len na teplo

Časť kinetickej energie sa využíva na zdvívania vedra s vodou a len menšia časť sa premieňa na teplo

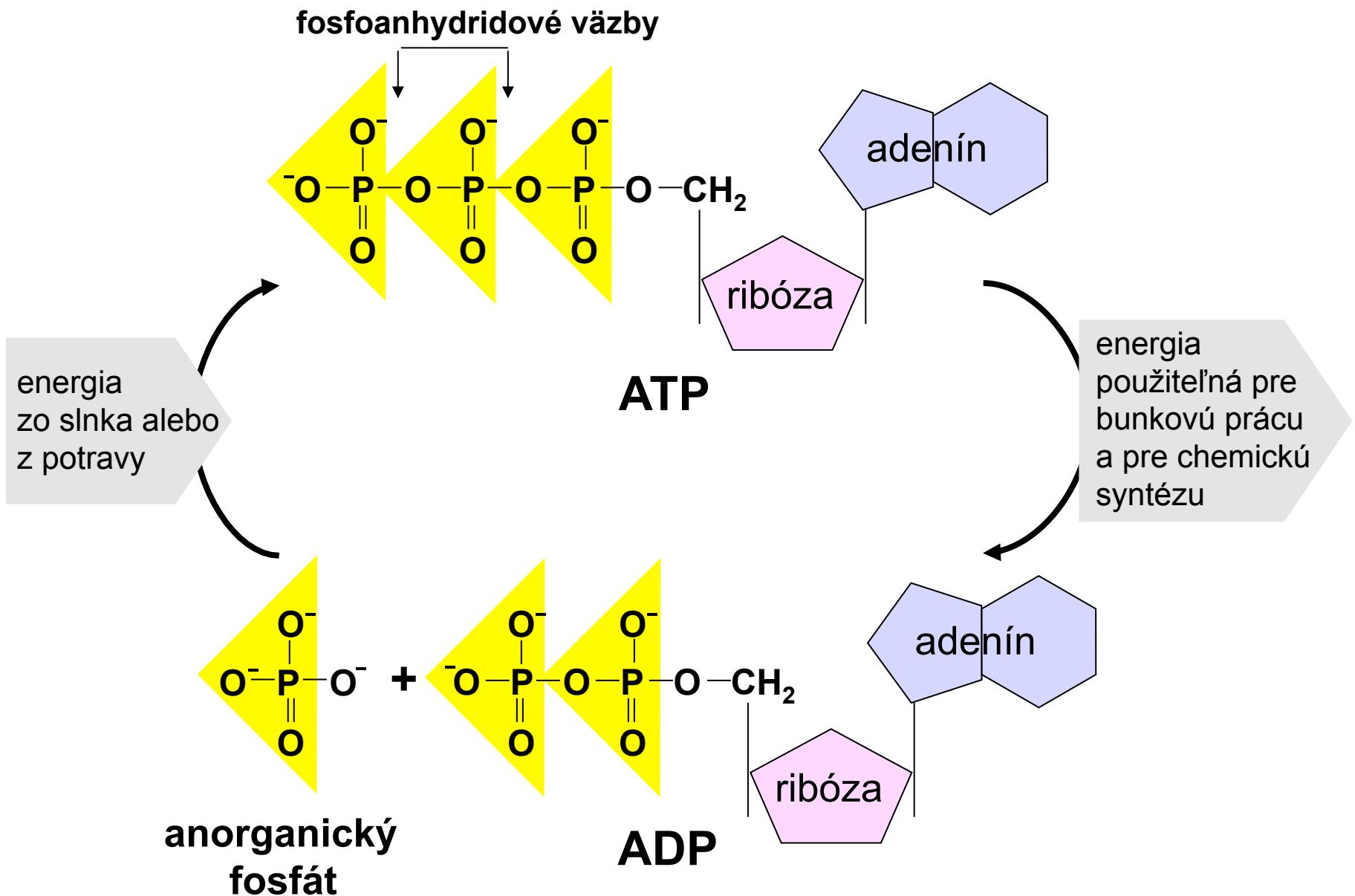
Potenciálna energia uložená vo zdvihnutom vedre sa môže premeniť na kinetickú a poháňať rôzne stroje založené na využití hydraulického tlaku

Prenášače energie sú schopné:

- Pri procesoch uvoľňujúcich **energiu zachytiť** a vo svojej štruktúre **uložiť** časť tejto energie
- Pri svojom rozpade opäť **uvolniť** energiu zachytenú vo svojej štruktúre a **odovzdať** ju v endergonickom deji

Univerzálny prenášač energie v biologických systémoch:

ATP (adenozíntrifosfát)



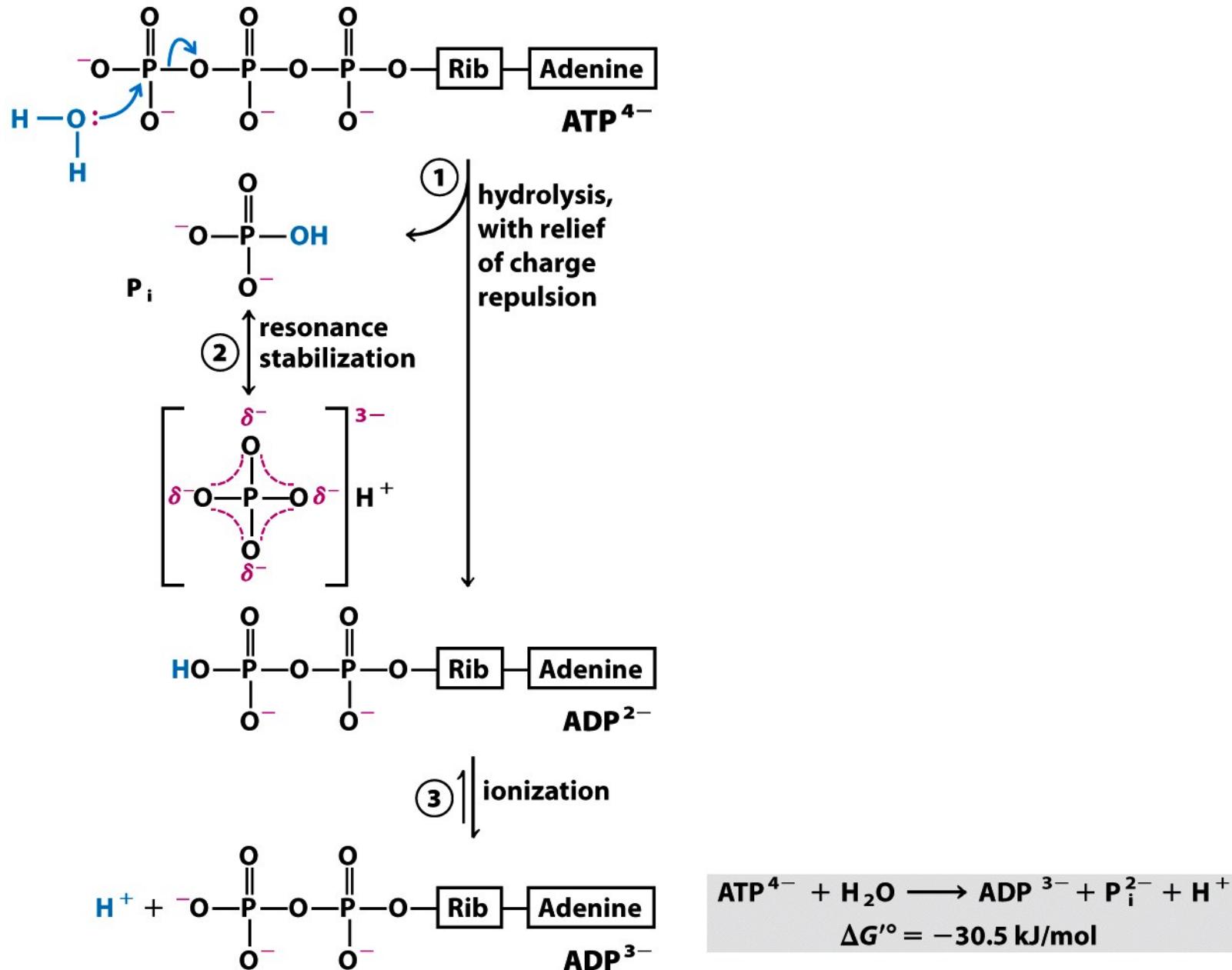
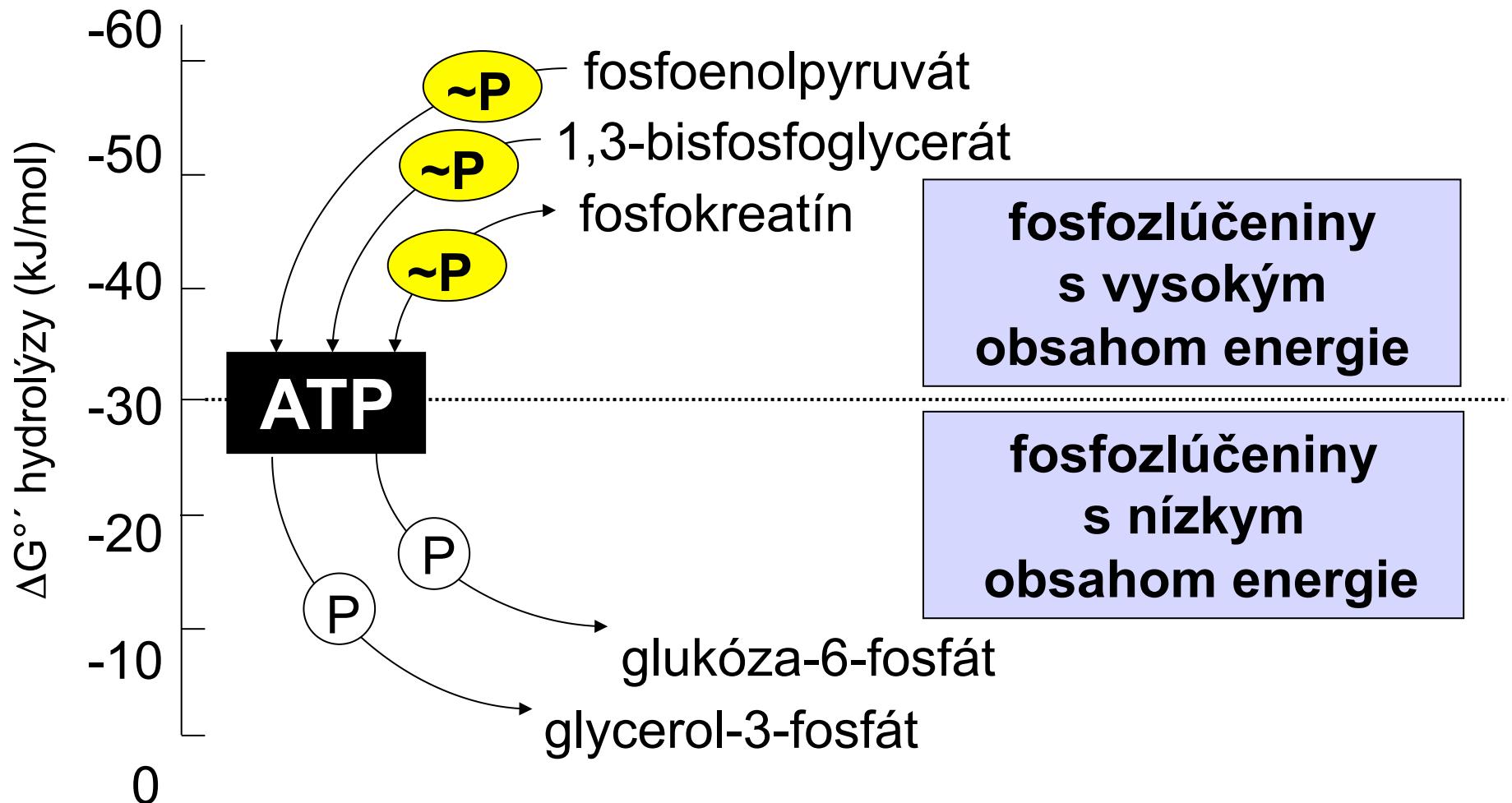
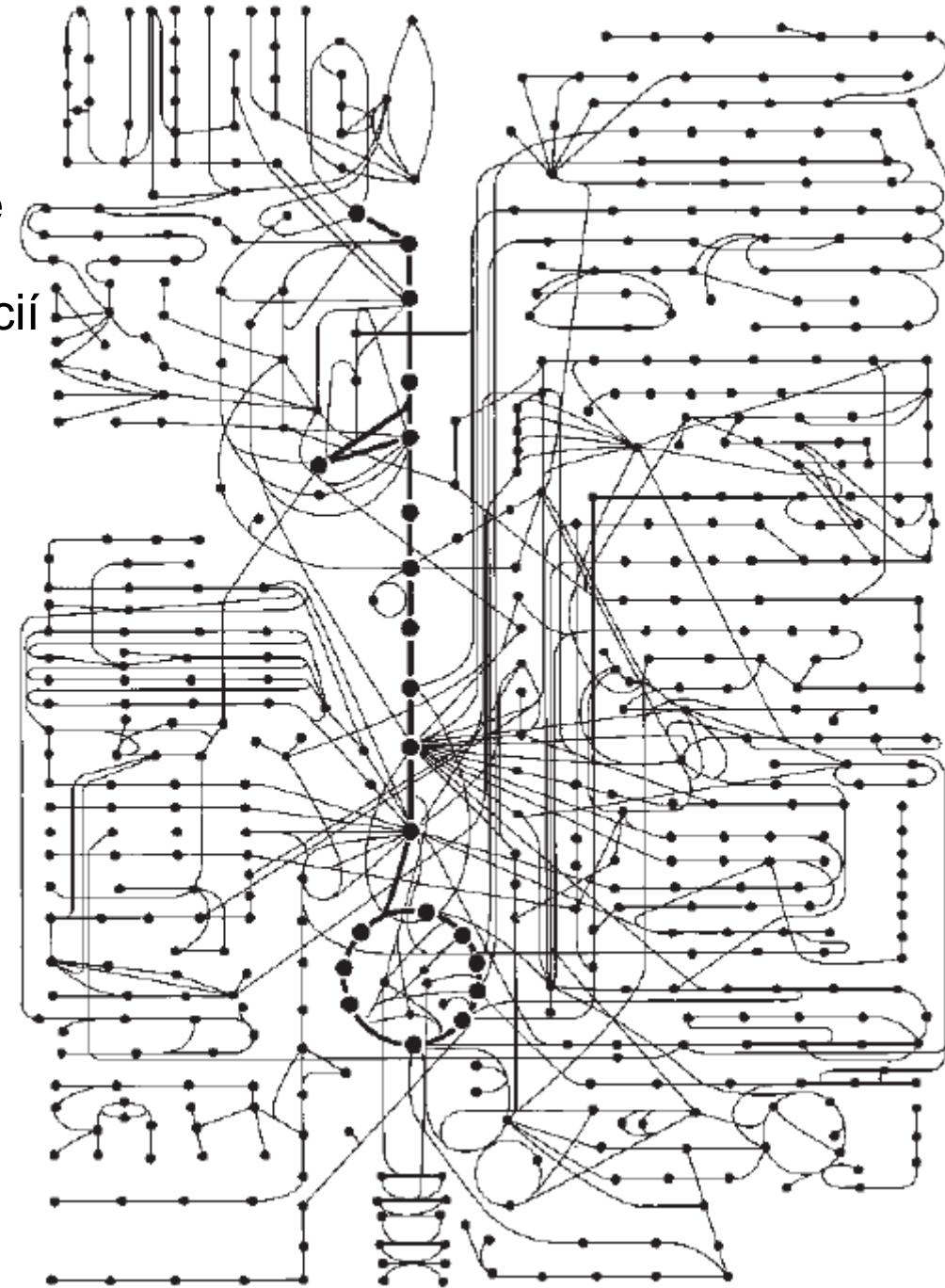


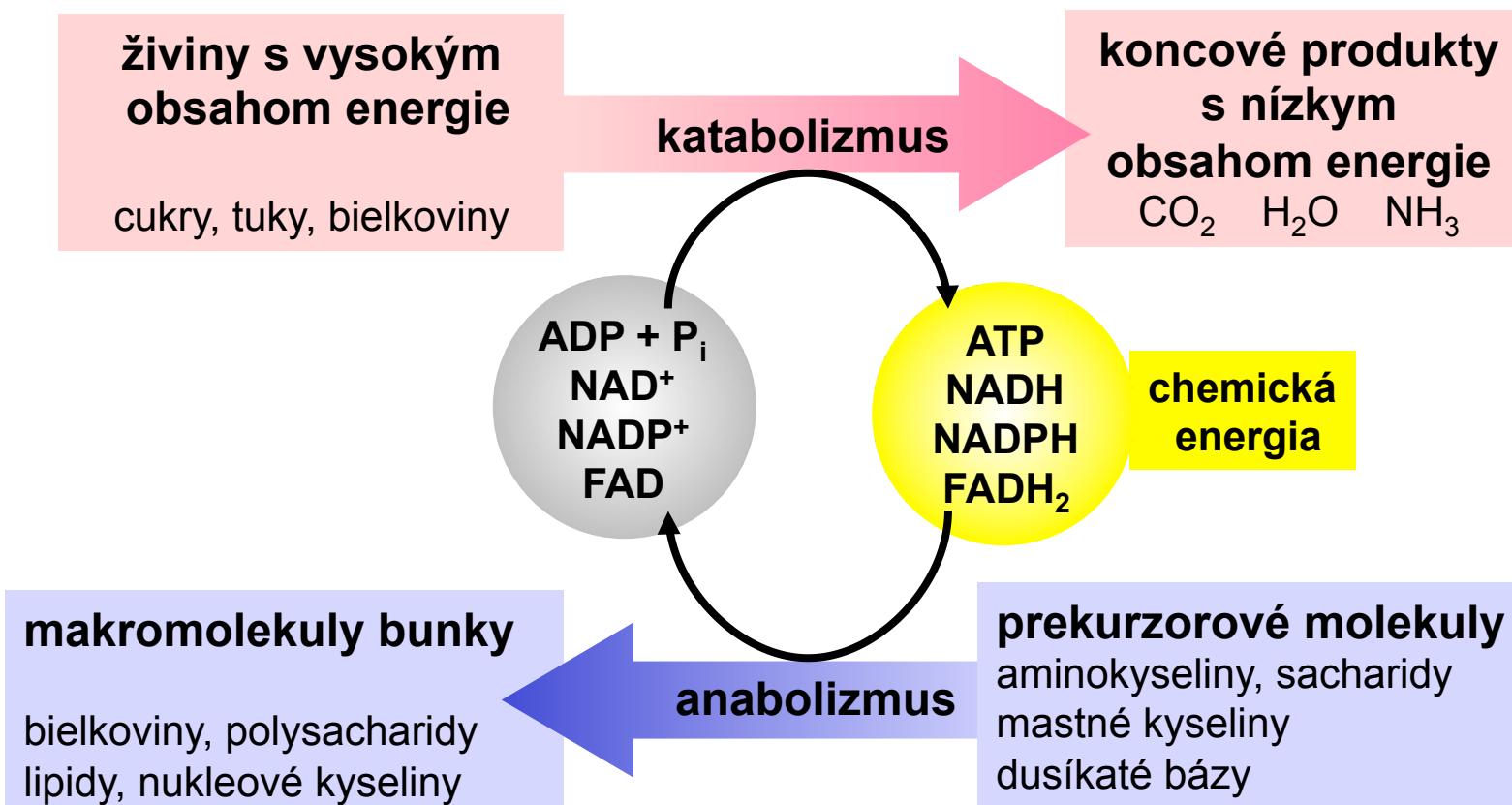
Figure 13-11
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

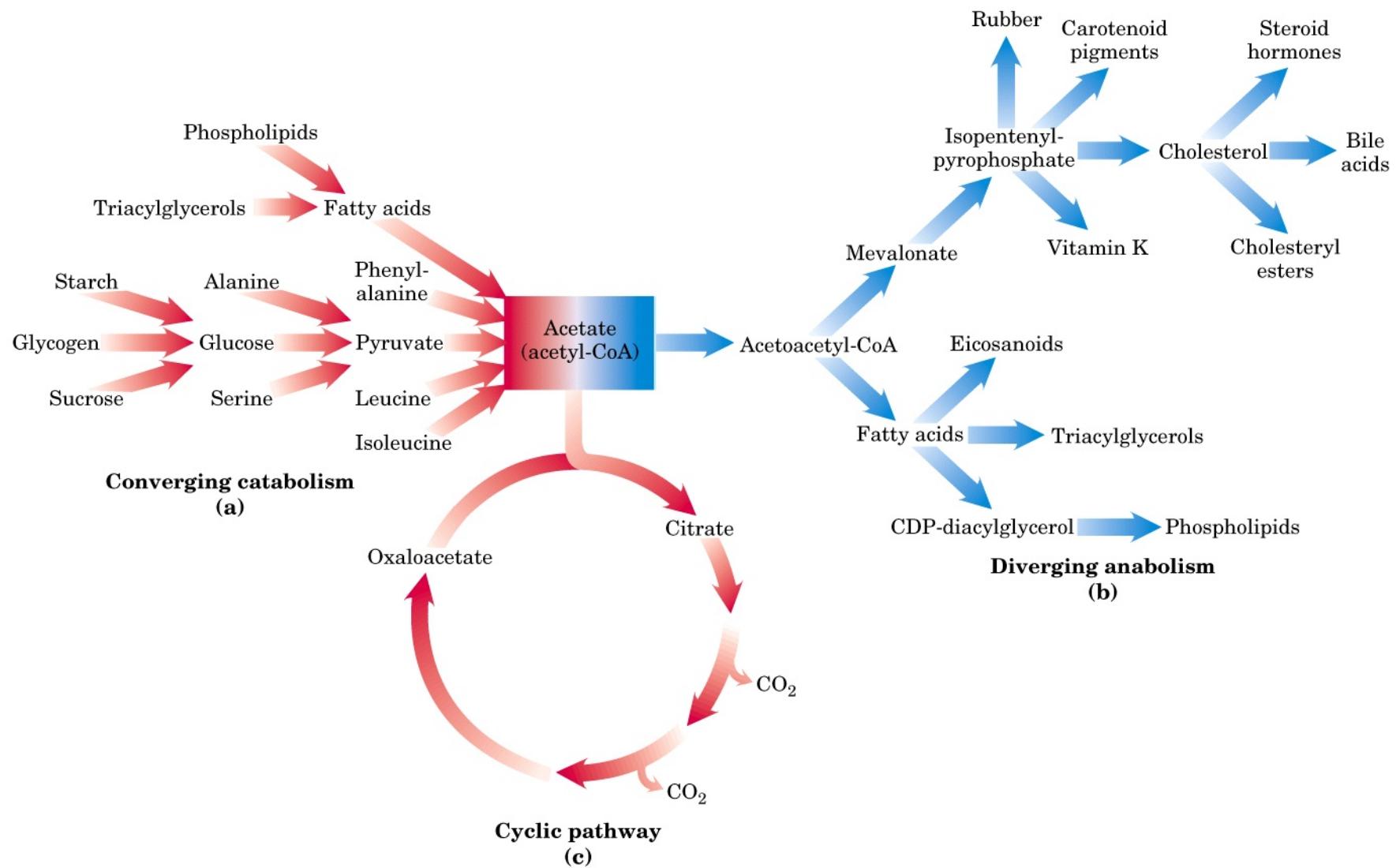


- **Metabolizmus** – súbor chemických transformácií v bunke alebo v organizme, ktoré sa uskutočňujú prostredníctvom enzymovo-katalyzovaných reakcií organizovaných do **metabolických dráh**
 - Energetická aj stavebná funkcia
- **Metabolity**-medziprodukty metabolických dráh
- **Metabolické dráhy**
 - Katabolické
 - Anabolické



Energetické vztahy medzi katabolickými a anabolickými dráhami

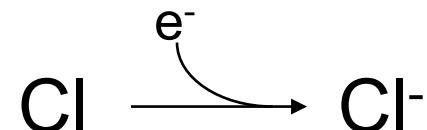
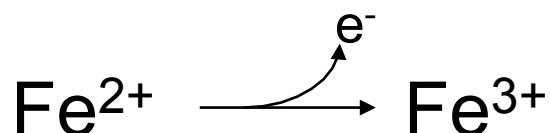


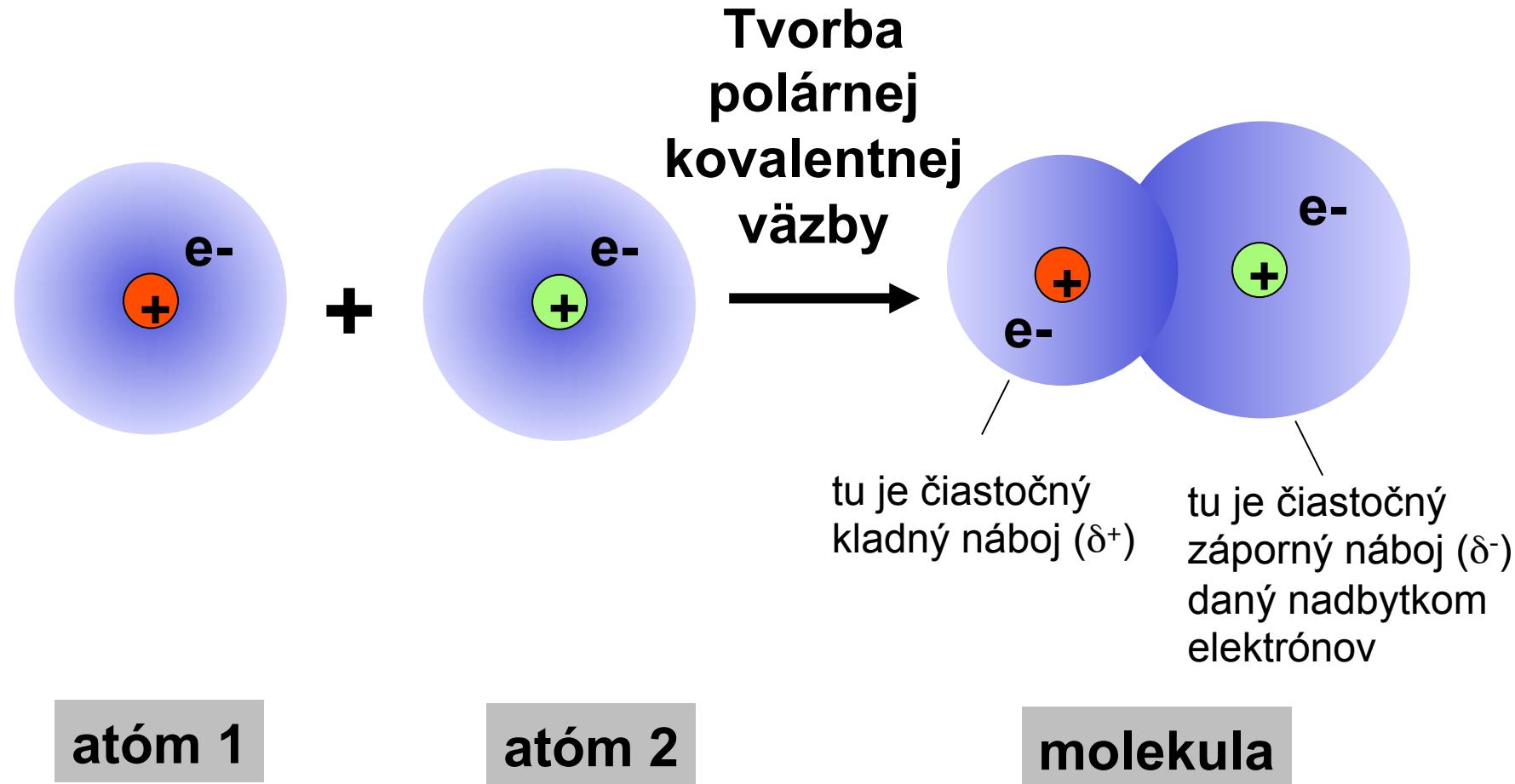


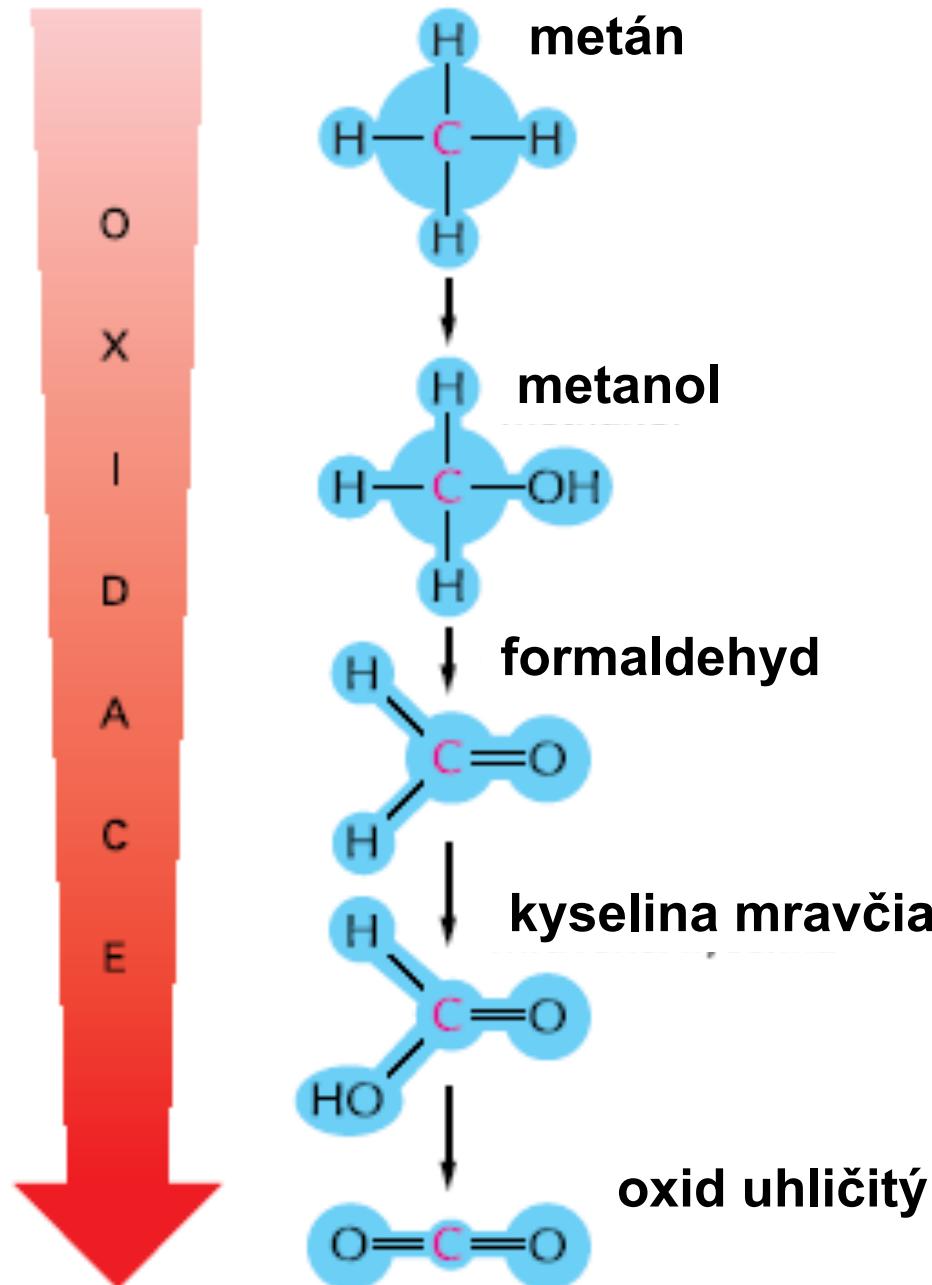
Bunky získavajú energiu oxidáciou organických molekúl

- Oxidácia je strata elektrónov
- Redukcia je prijímanie elektrónov

OIL RIG
(oxidation is loss) (reduction is gain)







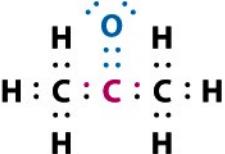
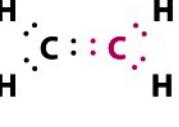
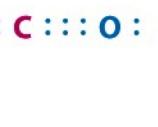
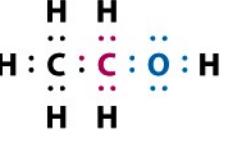
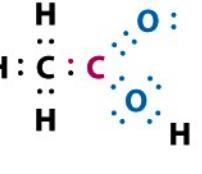
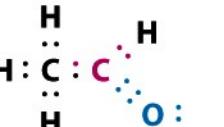
Methane		8	Acetone (ketone)		2
Ethane (alkane)		7	Formic acid (carboxylic acid)		2
Ethene (alkene)		6	Carbon monoxide		2
Ethanol (alcohol)		5	Acetic acid (carboxylic acid)		1
Acetylene (alkyne)		5	Carbon dioxide		0
Formaldehyde		4			
Acetaldehyde (aldehyde)		3			

Figure 13-22

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Stupeň 1

lipidy

↓
mastné kyseliny
a glycerol

sacharidy

↓
glukóza a iné
monosacharidy

bielkoviny

↓
aminokyseliny

Stupeň 2

β-oxidácia
mastných kyselín

glykolýza

rozklad
aminokyselín

Stupeň 3

acetyl-CoA

citrátový
cyklus

NH₄⁺

CO₂

FADH₂

NADH

Stupeň 4

ATP

ADP + P_i → O₂ → H₂O