

Enzimi

Literatura:

Bilo koji od predloženih (ili drugih) udžbenika iz
biohemije

Odeljak o enzimima u okviru Uputstava za vežbe

Sadržaj predavanja

Efikasnost i specifičnost enzima (na primerima)

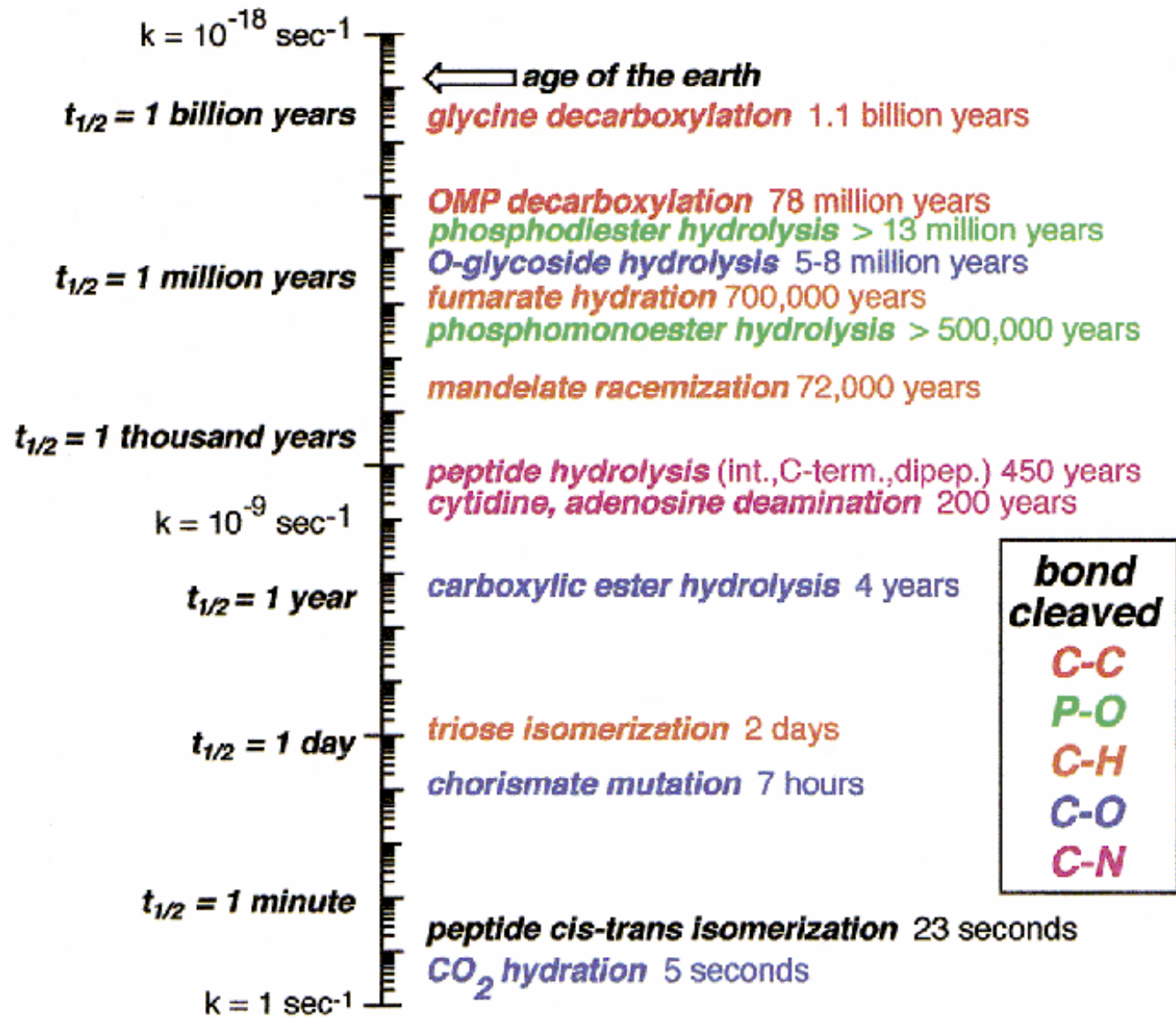
Kako enzimi povećavaju brzinu hemijske reakcije?

- Teorija prelaznog stanja
- Enzimi smanjuju energiju aktivacije stabilizacijom prelaznog stanja; Primer: himotripsin

Michaelis-Menten kinetika

Regulatorni enzimi

Primeri za efikasnost i specifičnost enzima



	Primeri za efikasnost enzima			
Enzim	Poluvreme reakcije bez enzima	Konstanta brzine nekatalizovane reakcije k_{nk}	Konstanta brzine katalizovane reakcije k_{kat}	Povećanje brzine k_{kat} / k_{nk}
Orotidin monofosfat dekarboksilaza	78.000.000 godina	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Adenozin monofosfat nukleozidaza	69.000 godina	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Karboksipeptidaza A	7.3 godina	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Triozo fosfat izomeraza	1.9 dana	4.3×10^{-6}	4,300	1×10^9
Karboanhidraza	5 sekundi	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

Internacionalna klasifikacija enzima

Klasa	Tip katalizovane reakcije
1. Oksidoreduktaze	oksido-redukcije
2. Transferaze	prenos grupa
3. Hidrolaze	hidroliza
4. Liaze	adicija na dvostruku vezu ili nastajanje dvostruke veze uz uklanjanje grupa
5. Izomeraze	izomerizacija
6. Ligaze	nastajanje C-C, C-S, C-O i C-N veza u reakcijama kondenzacije uz učešće ATP

KOENZIMI

Tiamin pirofosfat
Flavin adenin nukleotid (FAD)
Nikotinamid adenin dinukleotid (NAD)
Piridoksal fosfat
Koenzim A
Biotin

Piruvat dehidrogenaza
Monoamino oksidaza
Laktat dehidrogenaza
Glikogen fosforilaza
Acetil CoA karboksilaza
Piruvat karboksilaza

Kofaktori:
joni
metala

Fe^{2+} ili Fe^{3+}
 Cu^{2+}
 Zn^{2+}
 Mg^{2+}
 Ni^{2+}
 Mn^{2+}
 K^{+}
Se
Mo

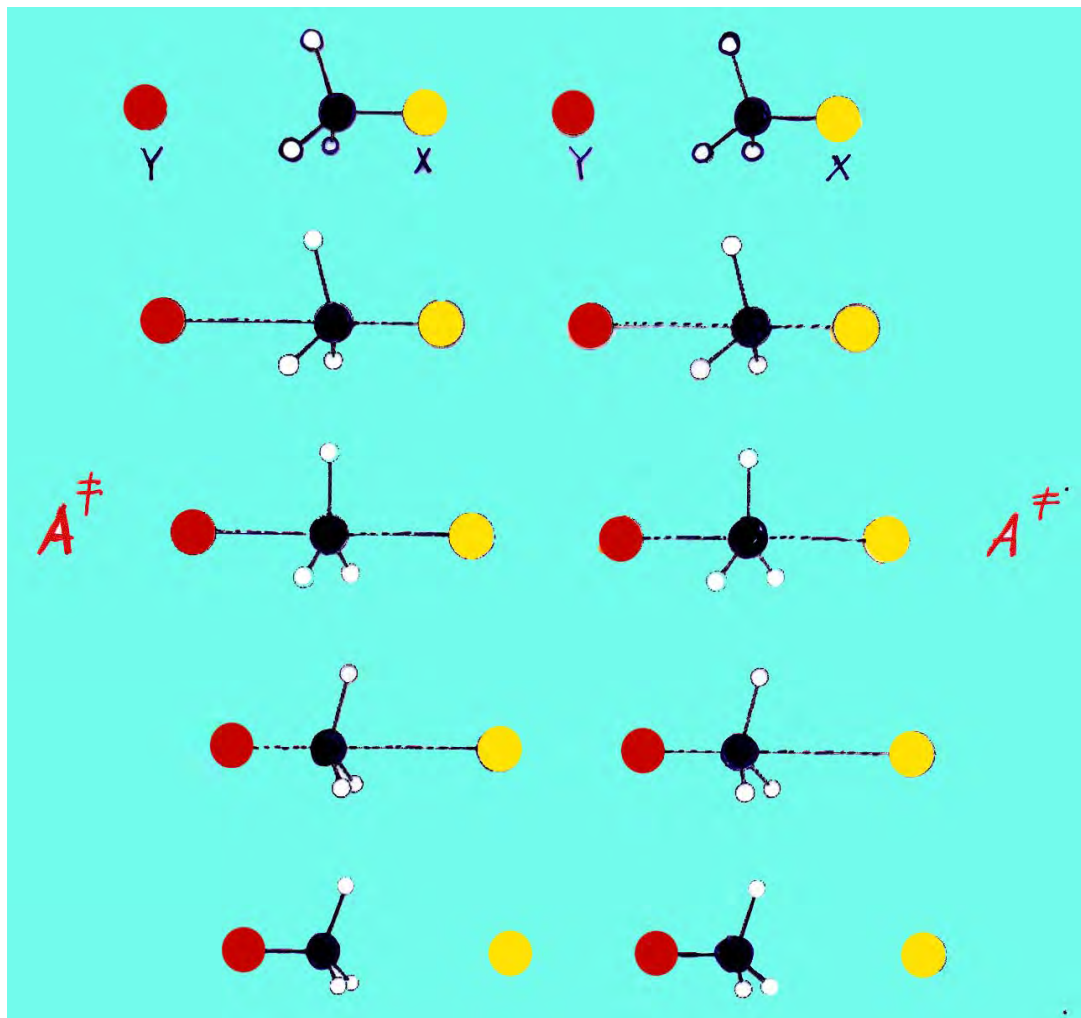
Katalaza, peroksidaza
Citohrom oksidaza
Alkohol dehidrogenaza
Heksokinaza
Ureaza
Superoksid dismutaza
Piruvat kinaza
Glutation peroksidaza
Nitratt reduktaza

Kako enzimi povećavaju brzinu reakcije?

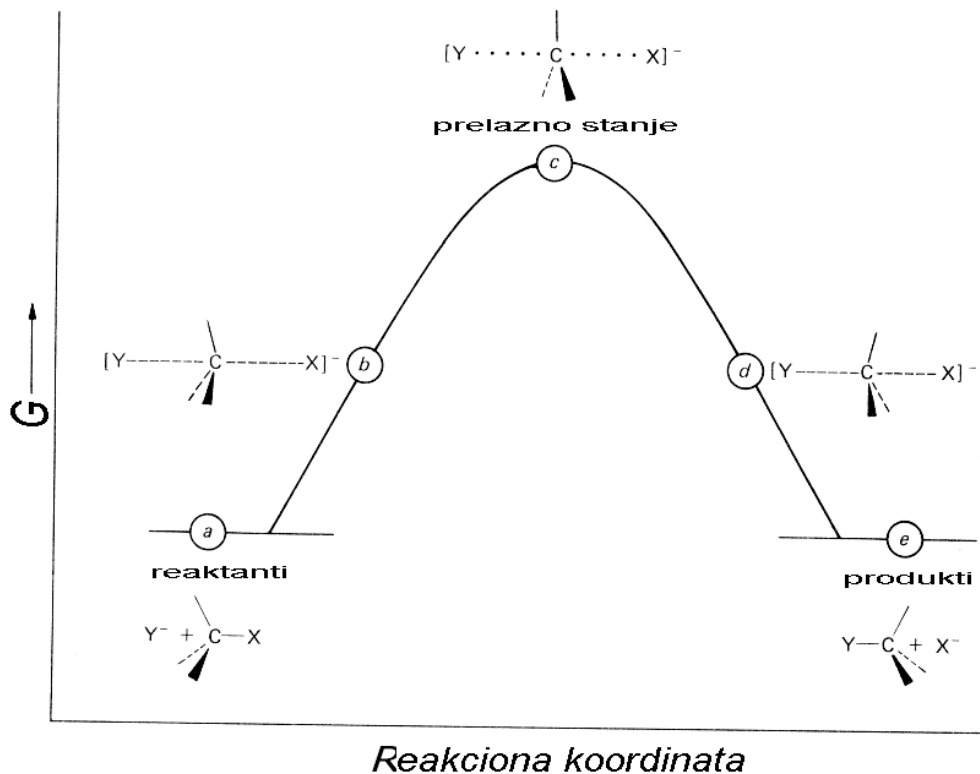
“I think that enzymes are molecules that are complementary in structure to the activated complexes of the reactions that they catalyzed, that is, the molecular configuration is intermediate between the reacting substances and the products of the reaction”

Linus Pauling, 1948

Prelazno stanje



Teorija prelaznog stanja



$$K^\# = \frac{[Y \cdots C \cdots X]}{[Y][\text{-C-X}]}$$

Energija aktivacije:

$$\Delta G^\# = -RT \ln K^\#$$

$$\Delta G^\# = \Delta H^\# - T\Delta S^\#$$

$$\Delta G^\# > 0$$

Zašto??

Energija aktivacije i konstanta brzine

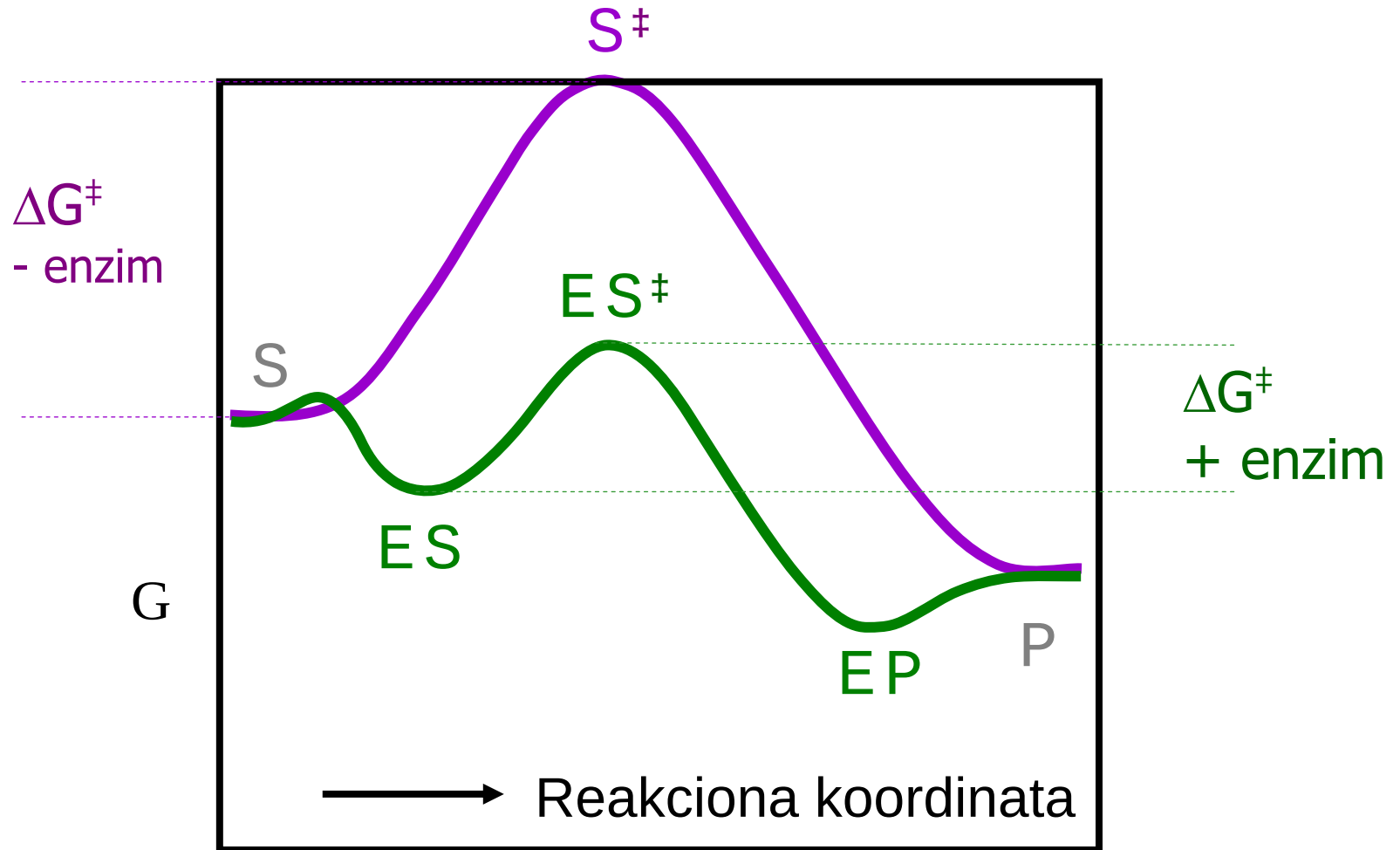
$$k = \frac{RT}{Nh} \cdot e^{-\Delta G^\# / RT}$$

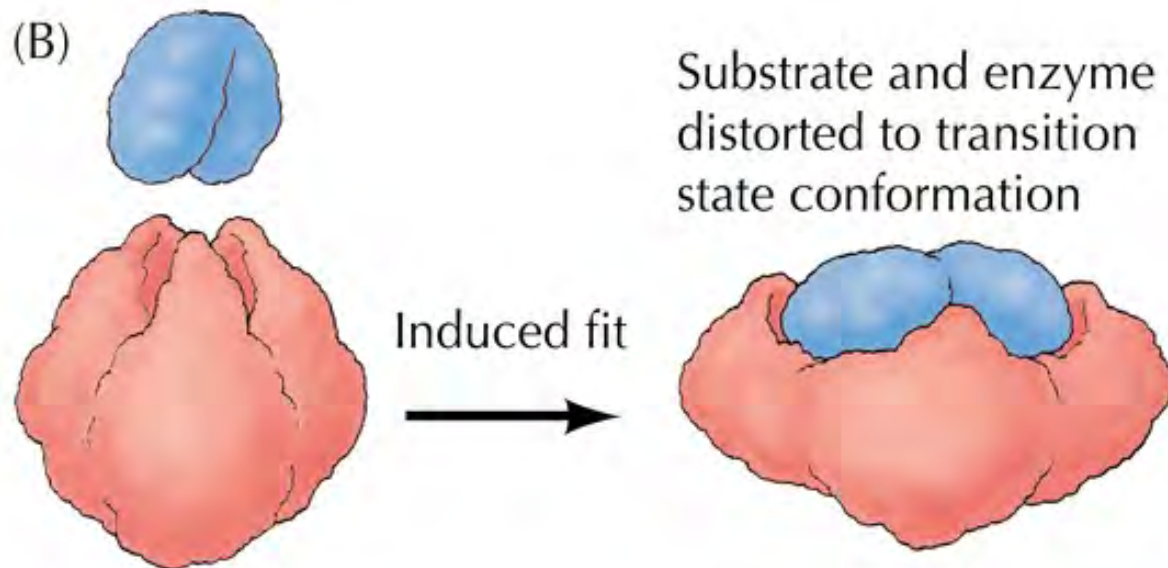
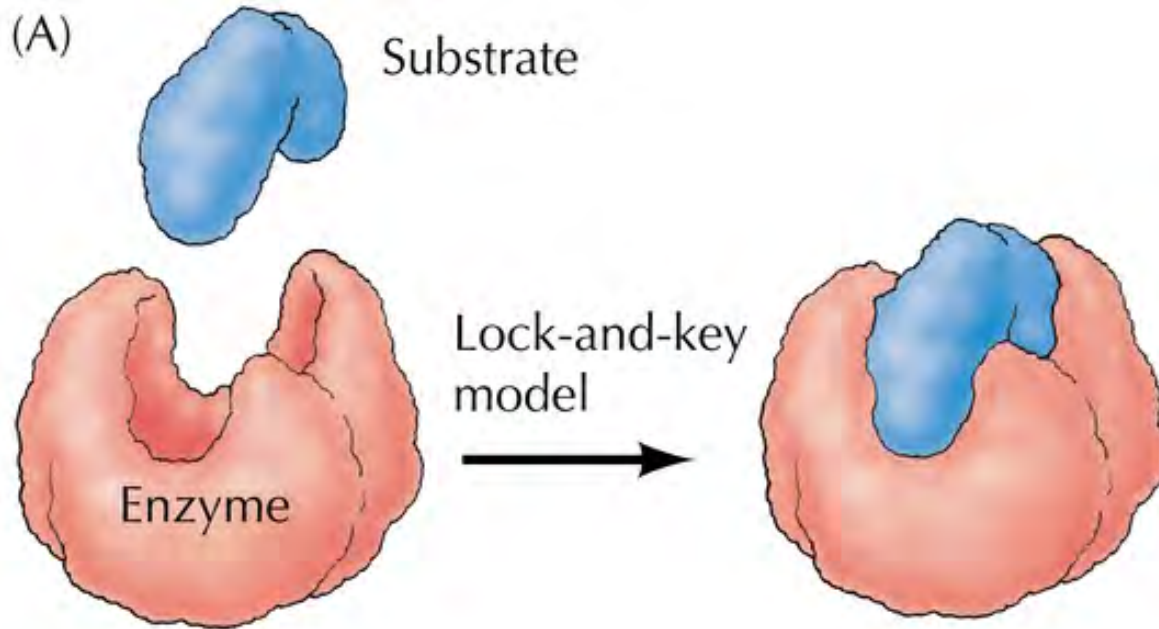
Arrheniusova jednačina

Odnos između energije aktivacije i konstante brzine

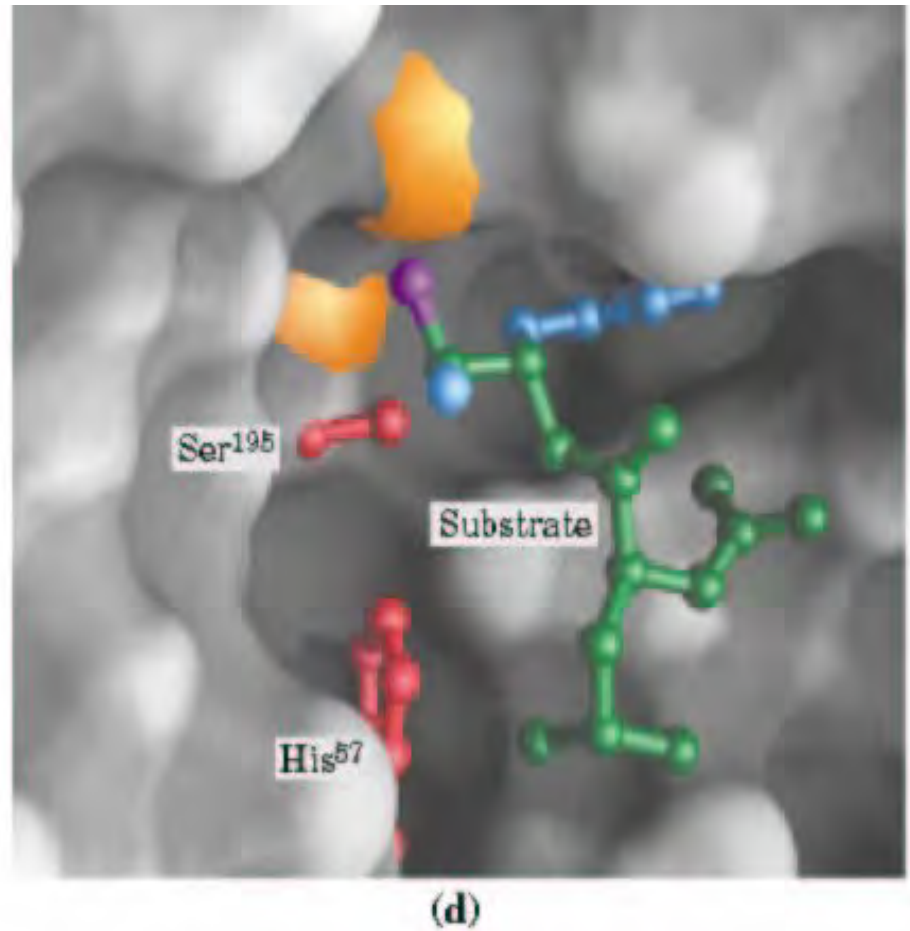
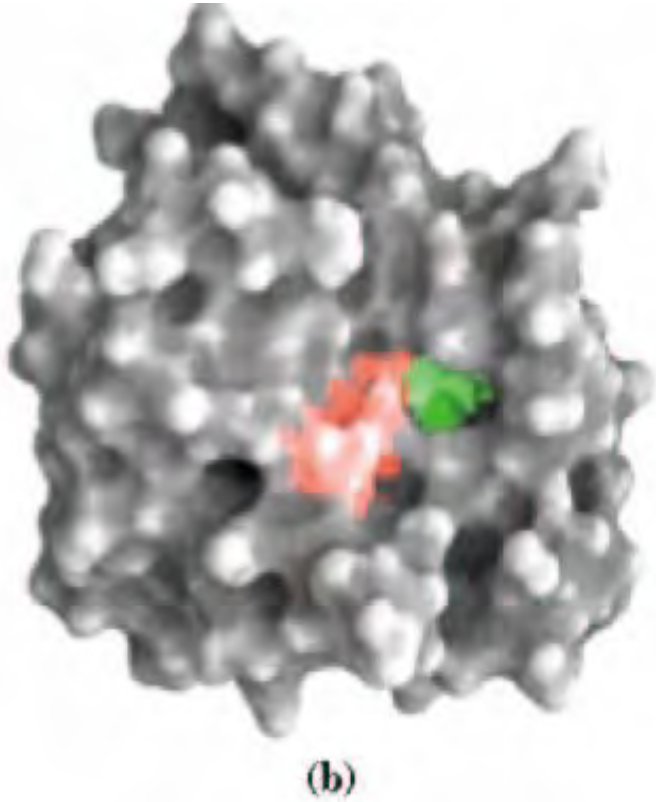
$\Delta G^\#$ (kJ/mol)	100	60	40	20
k (mol ⁻¹ t ⁻¹)	3.2x10 ⁻⁶	6.4	2.9x10 ⁵	1.33x10 ⁹

Enzim smanjuje energiju aktivacije stabilizacijom prelaznog stanja!



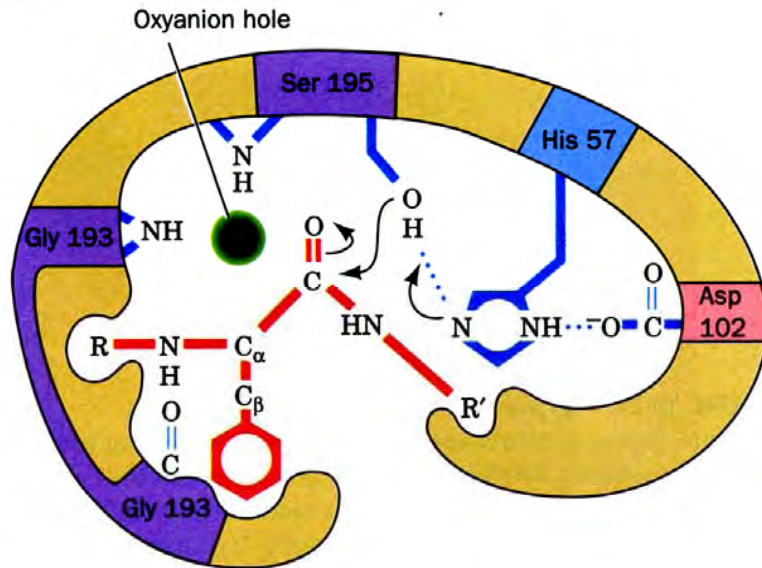


Primer: himotripsin (serin proteaza)

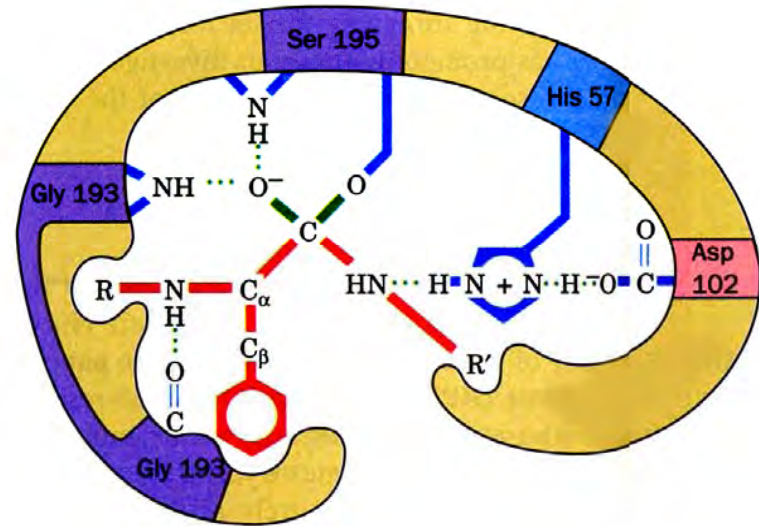


Stabilizacija prelaznog stanja kod serin proteaza

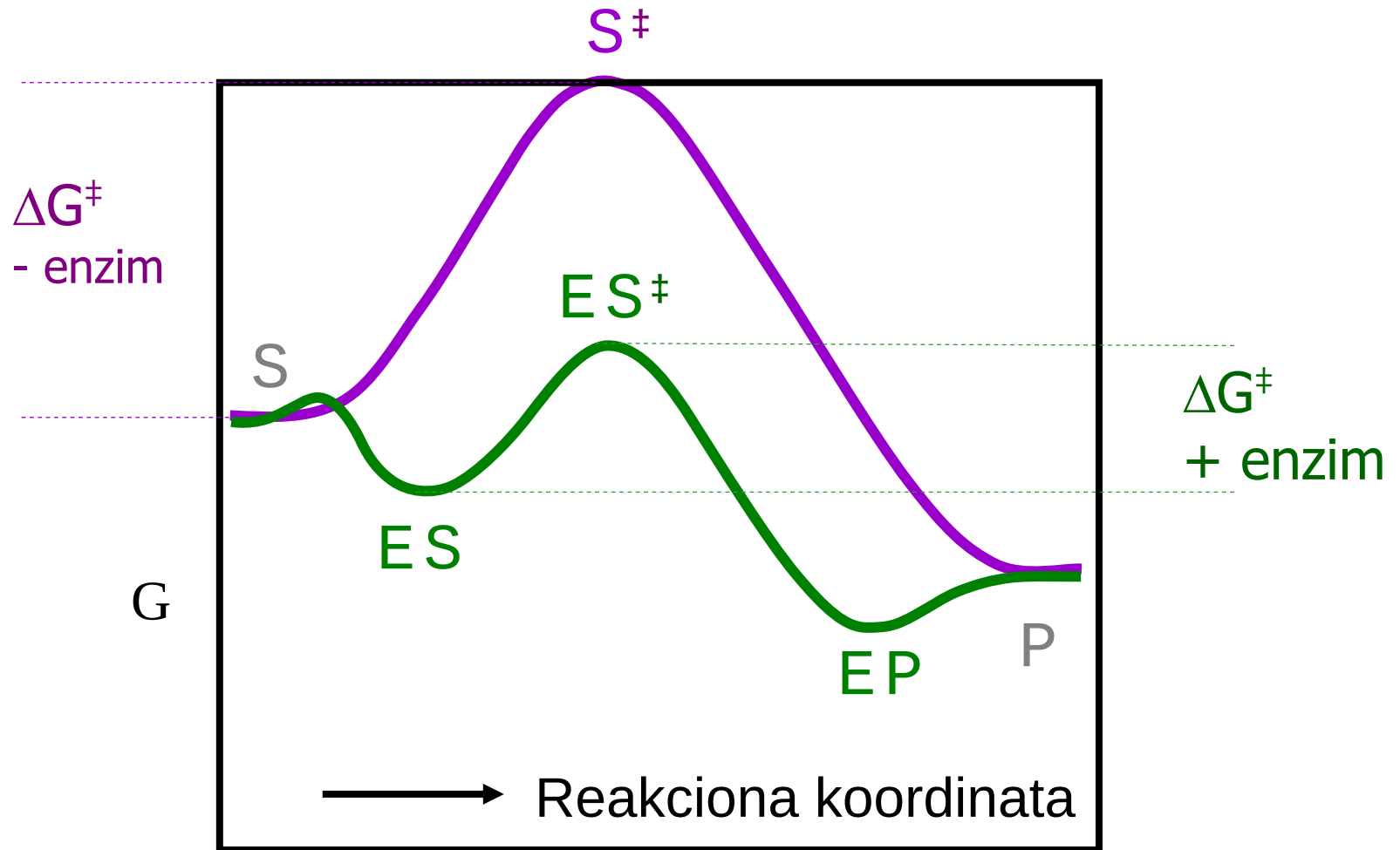
(a)



(b)



Enzim smanjuje energiju aktivacije stabilizacijom prelaznog stanja!

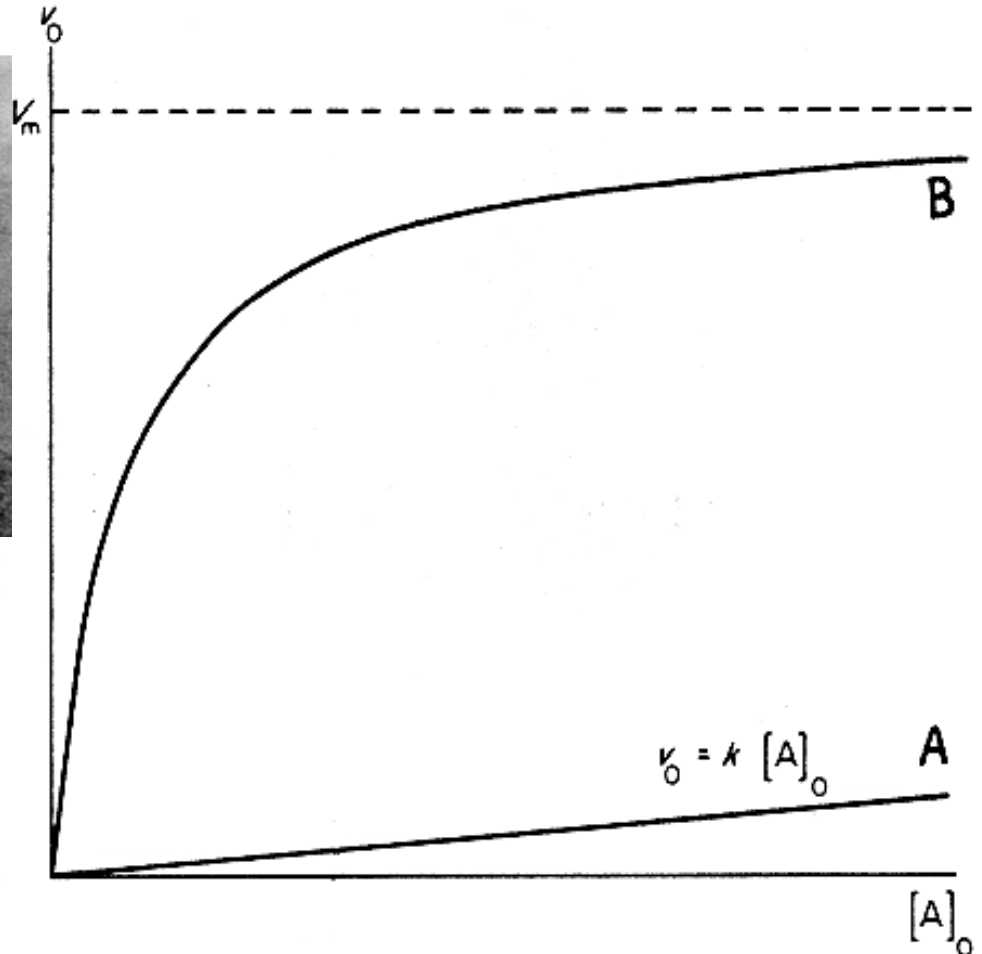


Zavisnost brzine enzimom katalizovane reakcije od koncentracije supstrata

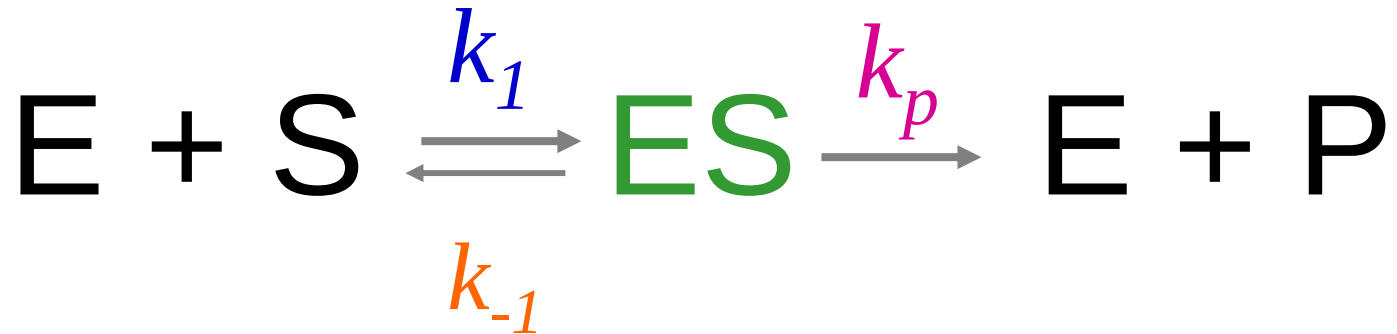
Michaelis-Menten kinetika



Leonor Michaelis & Maud Menten,
Biochem. Z. **49** (1913) 333



Michaelis-Menten kinetika



ES *kompleks enzim-supstrat*

k_1 *konstanta brzine nastajanja ES kompleksa*

k_{-1} *konstanta brzine disocijacije ES kompleksa*

k_p *konstanta brzine nastanka proizvoda*

Brzina nastajanja ES = $k_1[E][S]$

Brzina razgradnje ES = $k_{-1}[ES] + k_p[ES] = (k_{-1} + k_p)[ES]$

Postojano stanje "steady state" :

Brzina nastajanja = Brzina razgradnje $d[ES]/dt = 0$

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_p)[ES]$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_p}{k_1} \quad \therefore \quad [ES] = \frac{[S]}{K_m} [E]$$

$$v = k_p \cdot [ES]$$

$$[S] \gg [E]$$

$$v = k_p \cdot [E_t] = V_m = V$$

MM jednačina

$$v = \frac{V_m [S]}{K_m + [S]}$$

$$[S] \ll [E]$$

$$v = k_p/K_m [S][E]$$

k_p/K_m : konstanta
specifičnosti

Grafički oblik MM jednačine

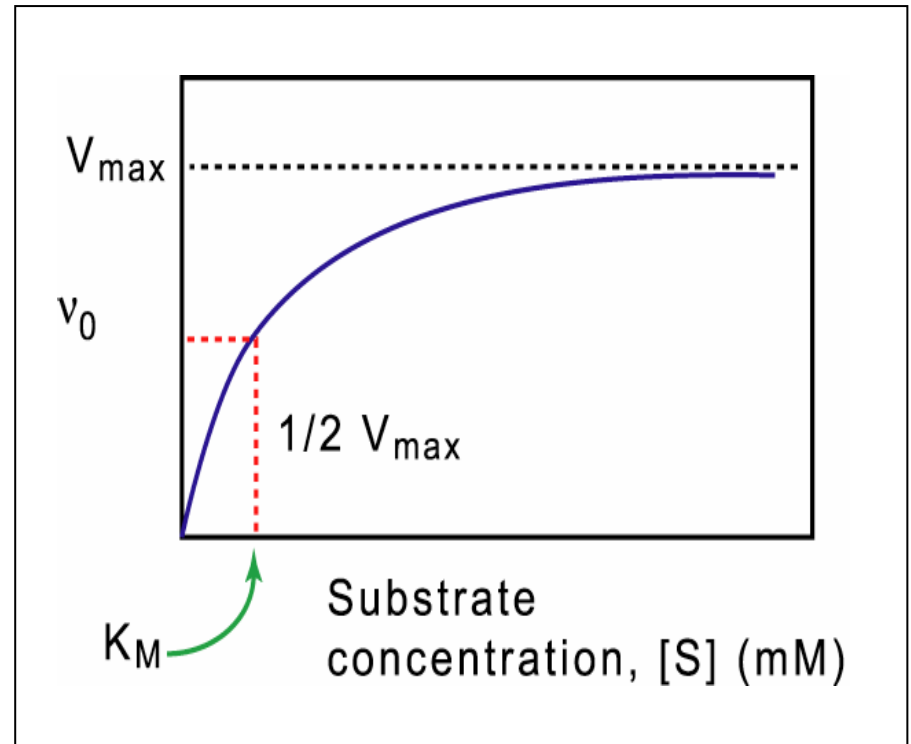
Kako se dobija K_M ?

$$v_0 = \frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max}[S]}{K_M + [S]}$$

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

rearranging gives

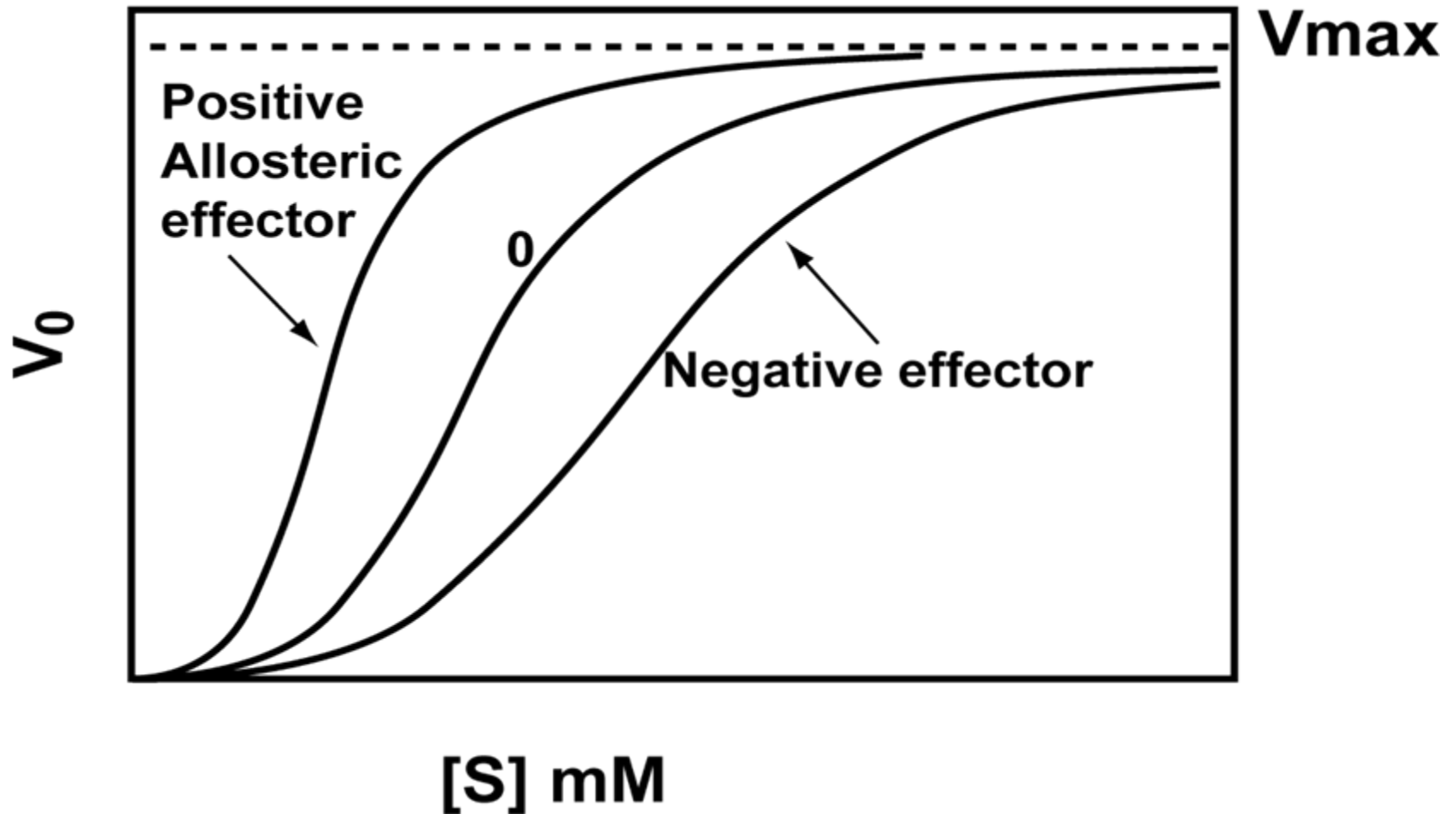
$$K_M = [S]$$



Za šta se koristi K_M ?

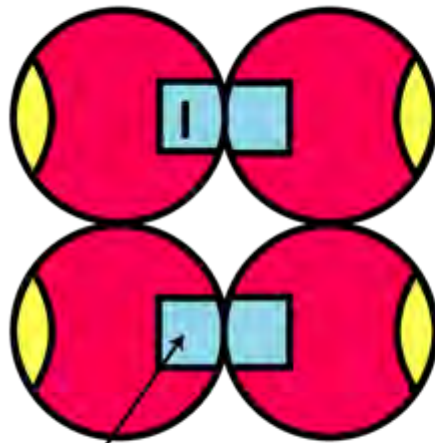
- K_M približno odgovara koncentraciji supstrata u ćeliji.
 - K_M služi za poređenje enzima sa istom funkcijom u raznim organima i organizmima.
- Visoka vrednost za K_M *in vitro* ukazuje na prisustvo aktivatora *in vivo*!

Regulatorni enzimi (alosterni enzimi)

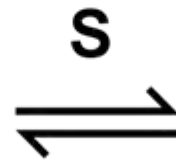


Simetrični MWC model

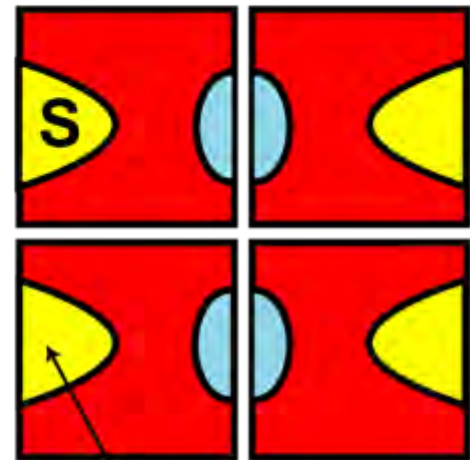
Inactive (T-State)



Allosteric Inhibitor
Binding site



Active (R-State)



Substrate Binding
Site

- uprošćen prikaz!

Alosterni enzimi: “feed-back” inhibicija

- “Feed-back” inhibicija je opšta osobina kompleksnih biosintetičkih puteva:
- sprečava akumulaciju neželjenih intermedijera i omogućuje regulaciju sinteze (koncentracije) važnih metabolita.
- Proizvod i supstrat se vezuju za različita mesta na molekulu enzima!!!

