

# ENZÝMY

Existencia života je založená na obrovskom množstve biochemických reakcií. Tieto reakcie prebiehajú v prostredí s pomerne nízkou koncentráciou reaktantov, pri nízkych teplotách, za normálneho tlaku a za zhruba neutrálneho pH, to znamená, že bez prítomnosti enzýmov, by vôbec nemohli prebiehať. Enzýmy sa teda označujú ako **biokatalyzátory**.

## Enzýmy majú tieto vlastnosti:

- znižujú hodnotu aktivačnej energie, čím urýchľujú priebeh chemickej reakcie,
- zúčastňujú sa chemickej reakcie, ale po jej skončení zostávajú v nezmenenom stave,
- sú špecifické pre daný typ reakcie,
- pôsobia len v mieste aktívneho centra (nie celým povrchom),
- chemickú reakciu nielen urýchľujú, ale aj regulujú.

## ZLOŽENIE ENZÝMOV

Enzýmy sú **proteíny** a môžu byť **jednoduché**, alebo môžu obsahovať ešte aj **nebielkovinová časť**. **Bielkovinová časť** nazývame **apoenzým** a **nebielkovinová časť** je **kofaktor**.

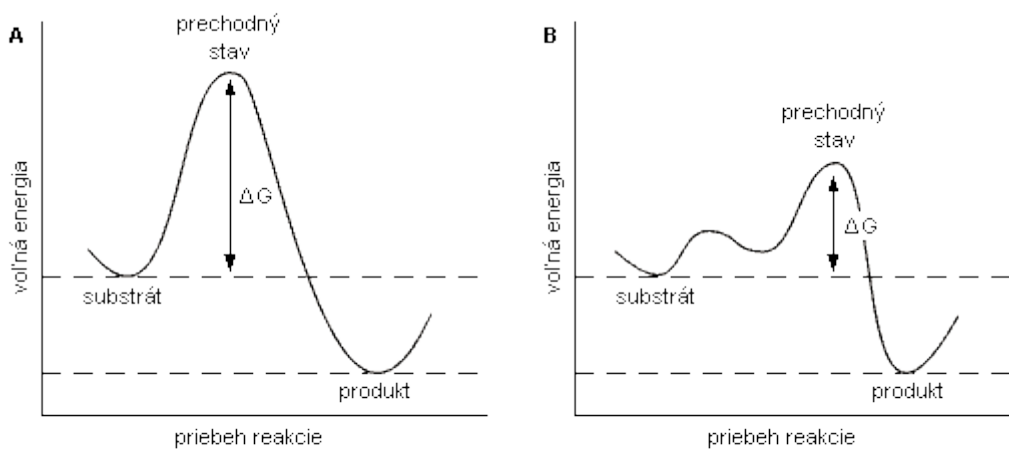
**Kofaktorom** môžu byť niektoré katióny kovov, napr.  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , alebo organické molekuly nazývané **koenzýmy**, napr. NAD. **Koenzýmom často bývajú vitamíny**. Niektoré koenzýmy sú s molekulou daného enzýmu spojené iba prechodne a pôsobia na seba len slabými medzimolekulovými silami, príp. stačí ak sú spolu s enzýmom prítomné v danom reakčnom prostredí. Iné koenzýmy, ktoré sú s apoenzýmom po celý čas viazané pevnou kovalentnou väzbou, označujeme ako **prostetická skupina** (napr. hem v hemoglobíne).

Tab. Zloženie enzýmov		
bielkovinová časť	nebielkovinová časť	
apoenzým	<b>kofaktor</b>	anorganická molekula ( $Zn^{2+}$ , $Mg^{2+}$ )
	<b>koenzým</b>	organická molekula (NAD)
	<b>prostetická skupina</b>	kovalentne viazaná s apoenzýmom (hem)

## MECHANIZMUS PÔSOBENIA ENZÝMU

Priebeh reakcie bez prítomnosti enzýmu vyžaduje veľkú spotrebu energie. Bunka si takéto výdavky nemôže dovoliť, tak siahla po enzýmoch, ktoré výrazne túto aktivačnú energiu ( $\Delta G$ ) znižujú.

Pri biokatalyzovanej reakcii reaguje **enzým (E)** so **substrátom (S)** a vytvorí sa **komplex enzým-substrát (ES)**. Po jeho aktivácii ( $ES^*$ ) sa tento komplex zmení na **komplex enzým-produkt (EP)** a až na konci reakcie sa z enzýmu uvoľní **produkt (P)**.



Obr. Priebeh chemickej reakcie bez katalýzy (A)  
a tá istá reakcia katalyzovaná enzýmom (B)

So substrátom nereaguje enzým celým svojím povrchom, substrát sa viaže len na určité miesto povrchu, označované ako **aktívne centrum**. Je to miesto, kde sú vytvorené **vhodné väzbové a priestorové podmienky na naviazanie substrátu**. Molekula substrátu sa viaže na aktívne miesto enzýmu tak, že jej **určité charakteristické skupiny sú komplementárne so štruktúrou aktívneho centra**.

## RÝCHLOSŤ ENZÝMOVEJ REAKCIE

Pre väčšinu faktorov ovplyvňujúcich rýchlosť enzýmovej reakcie platia určité optimálne hodnoty (podmienky), za ktorých prebieha reakcia najrýchlejšie.

**Faktory, ktoré ovplyvňujú rýchlosť enzýmovej reakcie, sú:**

- koncentrácia substrátu
- koncentrácia enzýmu
- teplota prostredia

- pH prostredia
- vplyv aktivátorov
- vplyv inhibítorov

## KONCENTRÁCIA SUBSTRÁTU

Pre **rýchlosť enzýmovej reakcie** platia tie isté **kinetické zákony** ako pre rýchlosť akejkoľvek inej reakcie. V prípade, že je **koncentrácia enzýmu konštantná**, **rýchlosť enzýmovej reakcie bude priamo úmerná koncentrácii substrátu**. Táto závislosť je lineárna až dovtedy, kým nebude obsadená väčšina aktívnych miest enzýmu, teda kým koncentrácia substrátu nedosiahne **saturačný bod**. Ďalšie zvyšovanie koncentrácie substrátu už rýchlosť reakcie neovplyvní, pretože enzým už ďalšie aktívne miesto nemá.

## KONCENTRÁCIA ENZÝMU

Pri výraznom **nadbytku substrátu** bude rýchlosť enzýmovej reakcie **lineárna v závislosti od zvyšovania koncentrácie enzýmu**. **Lineárne narastanie reakčnej rýchlosti** bude však platiť iba na **začiatku reakcie**. Ak koncentrácia substrátu v reakčnej zmesi klesne, dochádza k vytváraniu **rovnovážneho stavu**.

## TEPLOTA PROSTREDIA

**Zvyšovanie teploty** vedie **spočiatku k urýchleniu enzýmovej reakcie**, pretože molekuly substrátu majú väčšiu energiu, a tým aj väčšiu pohyblivosť, čím sa zvyšuje pravdepodobnosť zrážky substrátu s enzýmom. **Enzýmy sú však bielkoviny**, ktoré sa príliš **vysokým teplom denaturujú**. To znamená, že zahrievaním reakčnej zmesi spočiatku rýchlosť enzýmovej reakcie stúpa, ale **po dosiahnutí určitého kritického bodu** (väčšina bielkovín sa denaturuje pri teplote 40°C až 60°C) **rýchlosť reakcie výrazne klesne a napokon sa zastaví v dôsledku úplnej denaturácie enzýmu**.

Vplyv teploty je jedným z typických faktorov, ktorým sa líšia od seba anorganické katalyzátory a biokatalyzátory - enzýmy. Pre anorganické katalyzátory všeobecne platí, že so zvyšovaním teploty rastie priamo úmerne rýchlosť chemickej reakcie, zatiaľ čo pre enzýmy to tak nie je.

## PH PROSTREDIA

Pre väčšinu enzýmov je **optimálna hodnota pH prostredia od 6,0 do 8,0**. Extrémne hodnoty pH (veľmi kyslé a veľmi zásadité prostredie) vedie takisto k **denaturácii enzýmu**, ako pôsobenie vysokých teplôt. Mechanizmus ovplyvňovania rýchlosti enzýmovej reakcie v závislosti od pH prostredia je asi takýto:

Aktívne miesto enzýmu ako aj komplementárna časť substrátu k aktívnemu centru obsahujú určité charakteristické skupiny, ktorých stupeň disociácie (napr. COOH na COO<sup>-</sup> a pod.) závisí práve od pH prostredia. Zmenou pH sa teda mení tento stupeň, čo výrazne ovplyvňuje schopnosť naviazania substrátu na enzým, príp. sa môže meniť aj samotná konformácia enzýmu.

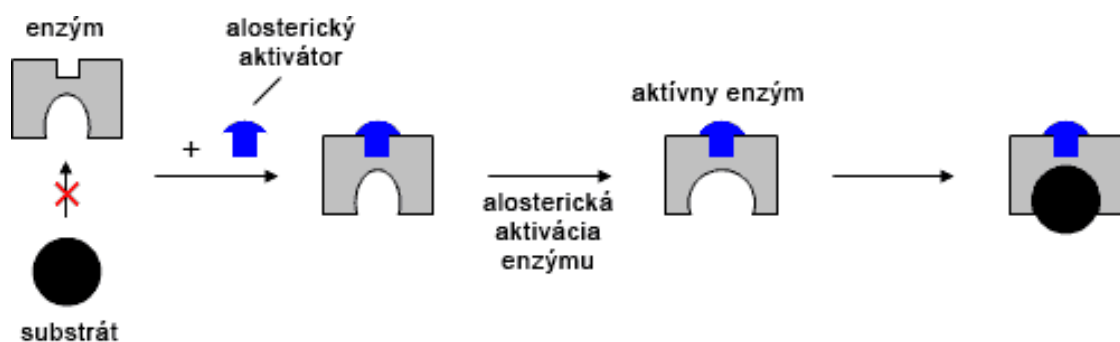
## VPLYV AKTIVÁTOROV

**Aktivácia**, teda zvýšenie činnosti enzýmu, prebieha viacerými spôsobmi. Premenu **neaktívnej formy enzýmu**, tzv. **proenzýmu**, **odštiepením časti molekuly proenzýmu**.

Zvyčajne sa jedná o odštiepenie časti polypeptidového reťazca s nízkou molekulovou hmotnosťou, čím sa uvoľní prístup substrátu k aktívnemu miestu enzýmu.

Enzým môžeme aktivovať aj jeho **chemickou modifikáciou** (napr. fosforylovaním) alebo **pôsobením katiónov kovu** (napr. Zn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>). Enzým s kovom môže **vytvoriť komplex**, alebo sa len **zúčastňuje reakcie enzýmu**, alebo sa môže **naviazať na substrát**.

**Alosterická aktivácia** enzýmu značí, že **aktivátor sa naviaže na enzým mimo aktívneho centra** (na alosterické miesto), čím sa **nepriamo vytvoria vhodné podmienky na naviazanie substrátu na aktívne miesto enzýmu**.



Obr. Schéma alosterickej aktivácie enzýmu

## VPLYV INHIBÍTOROV

**Inhibítory enzýmov** sú látky, ktoré **znižujú rýchlosť enzýmovej reakcie**, alebo ju úplne **zastavujú**. Inhibícia **môže byť vratná**, keď **po odstránení inhibítora enzým obnoví svoju aktivitu**, alebo **nevratná**, keď **inhibitor spôsobí trvalú zmenu enzýmu a jeho aktivitu nemožno obnoviť**.

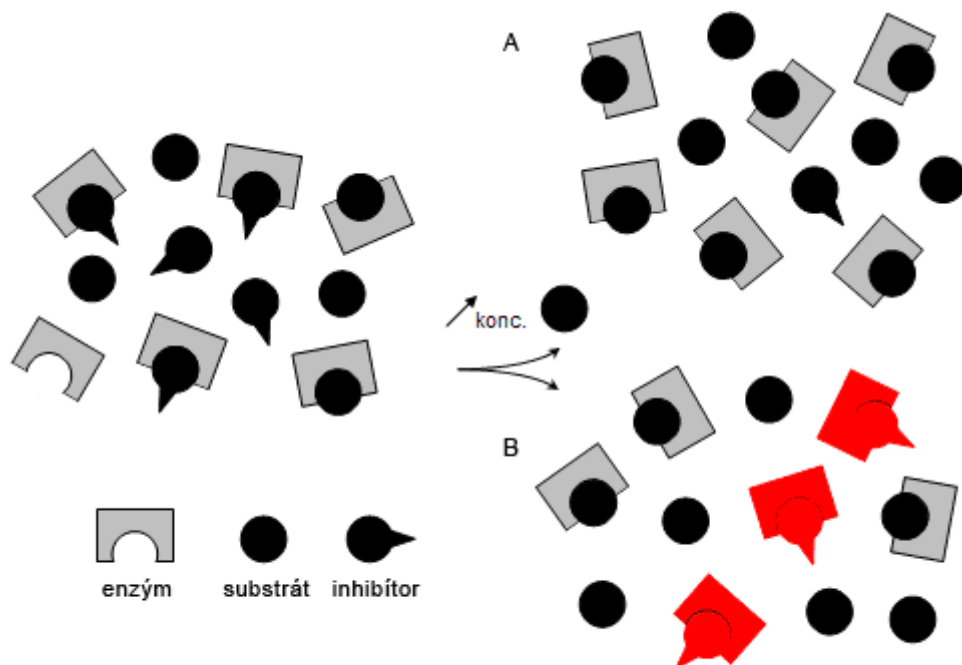
**Poznáme niekoľko typov inhibície:**

a. **kompetitívna (konkurenčná) inhibícia**

**Kompetitívna inhibícia** znamená toľko, že **inhibitor a substrát si navzájom konkurujú o naviazanie sa na aktívne centrum enzýmu**. Enzým je pritom úplne špecifický pre obidve tieto látky, čiže inhibitor a substrát musia mať podobnú štruktúru. Tento typ inhibície je **vratný**, pretože nadbytkom substrátu inhibíciu odstránime.

b. **nekompetitívna inhibícia**

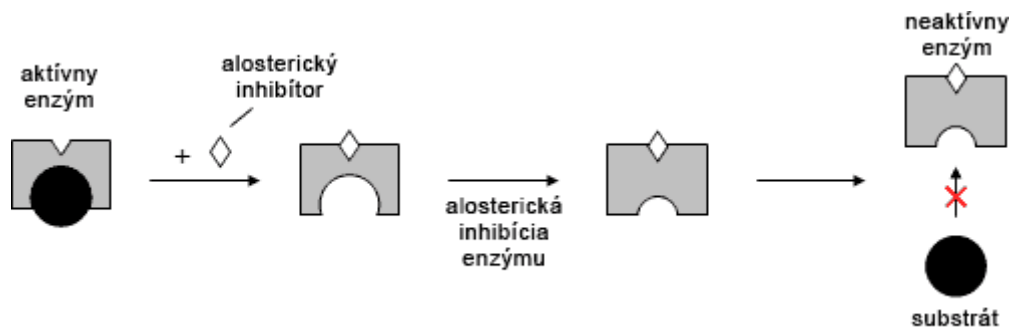
**Nekompetitívna inhibícia** sa nedá odstrániť nadbytkom substrátu. Inhibitor sa **naviaže na aktívne centrum enzýmu** a vytvorí **neaktívny komplex enzým-inhibitor**.



Obr. Efekt zvýšenia koncentrácie substrátu pri (A) kompetitívnej a (B) nekompetitívnej enzýmovej inhibícii

### c. alosterická inhibícia

**Alosterická inhibícia** je v princípe zhodná s alosterickou aktiváciou. **Inhibítor sa naviaže na alosterické centrum** (mimo aktívneho centra) enzýmu, pričom **spôsobí zmenu konformácie povrchovej štruktúry enzýmu** a tým aj zmenu **aktívneho centra**. Takto zmenený enzým nemôže ďalej viazať substrát.



Obr. Schéma alosterickej inhibície enzýmu

### $\alpha$ – amyláza (ptyalín)

Tento enzým **účinkuje** pomerne **krátky čas**, aktivuje sa pri **znížení pH**, po premiešaní potravy so žalúdočnou šťavou. **Štiepi škrob** na jednoduchšie cukry. Amyláza patrí medzi **hydrolázy**.

### Pepsín

Najvýznamnejší enzým **žalúdočnej šťavy**. Je **proteolytický enzým – proteoáza**. Je produkovaný bunkami žalúdočnej sliznice v podobe **pepsinogénu**. **Vplyvom HCl** sa neaktívny **pepsinogén mení na aktívny pepsín**. Jeho úlohou je **hydrolýza peptidovej väzby bielkovín** a uvoľnenie nízkomolekulového peptidu. Optimálne pH pre jeho činnosť je 1,8 – 3,5 pH

### Trypsín

Je produkovaný **podžalúdkovou žľazou** vo forme **neaktívneho trypsinogénu**, z ktorého vzniká **aktívny trypsin účinkom** enzýmu črevnej šťavy, **enterokinázy**, za alkalickéj reakcie. Podmienkou štiepacieho účinku trypsinu je prítomnosť zásaditých aminokyselín arginínu a lyzímu v susedstve štiepenej peptidickej väzby.

## KLASIFIKÁCIA ENZÝMOV

Základným kritériom klasifikácie enzýmov je **typ reakcie**, ktorú daný enzým katalyzuje. Na označenie enzýmov používame **triviálne alebo systémové názvoslovie**.

**Triviálny názov** sa zvyčajne zvorí z **názvu substrátu**, ktorý do reakcie vstupuje a prípony -**áza** (napr. enzým maltáza katalyzuje hydrolýzu disacharidu maltózy na dve molekuly glukózy).

**Systémový názov enzýmu** je zložený z názvu **typu reakcie**, ktorú katalyzuje a prípony -**áza**. Podľa tohto kritéria zaraďujeme biokatalyzátory do šiestich hlavných tried:

<b>Klasifikácia enzýmov</b>			
<b>skupina enzýmov</b>	<b>pôsobenie</b>	<b>chemická rovnica</b>	<b>príklad</b>
<b>oxidoreduktázy</b>	prenos elektrónov a protónov H <sup>+</sup> pri redoxných reakciách	$A_{red} + B_{ox} \leftrightarrow A_{ox} + B_{red}$	etanol $\leftrightarrow$ acetaldehyd
<b>transferázy</b>	prenos charakteristickej skupiny medzi dvoma substrátmi	$A-B + C \leftrightarrow A + B-C$	ATP + glukóza $\leftrightarrow$ glukóza-6-fosfát
<b>hydrolázy</b>	štiepenie substrátov	$A-B + H_2O \leftrightarrow A-H + B-OH$	triacylglycerol $\leftrightarrow$ glycerol + mastné kys.
<b>lyázy (syntázy)</b>	nehydrolytické štiepenie väzieb	$A + B \leftrightarrow A-B$	dekarboxylácia aminokyselín
<b>izomerázy</b>	vzájomné premeny izomérov	$A \leftrightarrow IzoA$	glukóza-6-fosfát $\leftrightarrow$ fruktóza-6-fosfát
<b>ligázy (syntetázy)</b>	syntéza dvoch substrátov v prítomnosti ATP	$A + B + ATP \leftrightarrow A-B + ADP + P_{anorg}$	

<b>Skupina enzýmov</b>	<b>Príklad enzýmu</b>	<b>Koenzým danej skupiny enzýmov</b>
<b>Oxidoreduktázy</b>	Oxidázy, peroxidázy, dehydrogenázy	NAD <sup>+</sup> (nikotínamidadenín dinukleotid), NADP <sup>+</sup> (nikotínamidadenín dinukleotidfosfát), FMN (flavínmononukleotid), FAD (flavínadenín dinukleotid)
<b>Transferázy</b>	Karboxyltransferázy, metyltransferázy, aminotransferázy	Koenzýmom je ATP (adenozíntrifosfát) Koenzým A
<b>Hydrolázy</b>	Glykozidázy, peptidázy, lipázy, proteázy	Ich súčasťou nie sú koenzýmy, ale často kovové ióny
<b>Lyázy</b>	Dekarboxylázy	Obsahujú často koenzýmy transferáz
<b>Ligázy (syntetázy)</b>	Acetyl – CoA - syntetáza	Obsahujú často koenzýmy transferáz
<b>Izomerázy</b>	Cis-trans-izomerázy	Väčšinou neobsahujú koenzýmy

