Enzimi

Prof. dr. sc. Silvana Raić-Malić

Enzimi

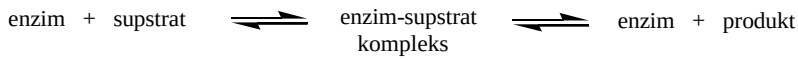
- Reakcije koje se odvijaju u stanicama provode se pomoću bioloških katalizatora – enzima
- Brzina reakcija kataliziranih enzimima povećavaju se za faktor 10^6-10^{12}
- Enzimi imaju svojstvo visoke specifičnosti za supstrate i produkte, specifičnost je znatno veća od kemijskih katalizatora
- Do danas je poznato više od 3700 funkcionalno različitih enzima
- Tradicionalno su dobivali imena prema znanstvenicima koji su ih otkrivali
- Podijela u šest funkcionalnih skupina prema IUB-u (*International Union of Biochemists*) - svaki enzim dobio odgovarajući broj i ime

Glavne skupine enzima

br.	**Podjela**	**Biokemijska svojstva**
1.	Oksidoreduktaze	Oksidacija i redukcija supstrata: prijenos atoma vodika sa supstrata kofaktoru ili kisiku, adicija vodika na supstrat
2.	Transferaze	Prijenos funkcionalne skupine između molekula donora i akceptora. Kinaze su specifične transferaze koje reguliraju metabolizam prenošenjem fosfata iz ATP-a na druge molekule
3.	Hidrolaze	Ireverzibilna hidroliza supstrata: glikozidne, peptidne ili esterske veze
4.	Liaze	Reakcije eliminacije i adicije vode, amonijaka ili ugljičnog dioksida na dvostruku vezu, uklanjanje navedenih molekula i nastajanje dvostruke veze
5.	Izomeraze	Uzrokuju različite vrste izomerizacije: konverzija L- i D-izomera, reakcije mutaze (pomaci kemijskih skupina) i dr.
6.	Ligaze	Kataliziraju reakcije u kojima se dvije skupine udružuju pomoću energije iz ATP-a

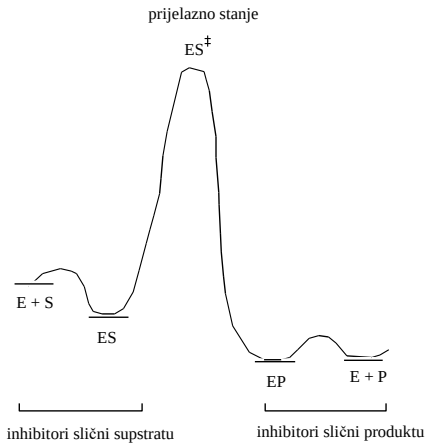
Enzimi

- Hipoteza ključ-brava - Emil Fischer (1894.)
- Stvaranje kompleksa enzim-supstrat → konformacijske promjene enzima omogućuju vezivanje enzima za supstrat → teorija induciranog prijanjanja
- Nastali produkt reakcije je različite strukture od supstrata



Energetski profil reakcije katalizirane enzimom (enzim E, supstrat S, produkt P)

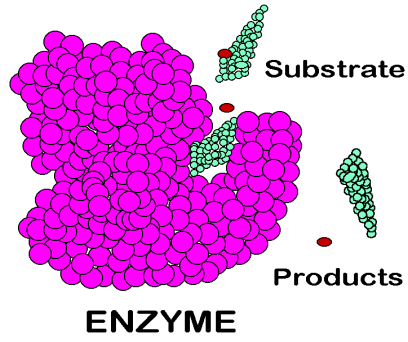
$$E + S \overset{Ks}{\longleftrightarrow} ES \overset{kcat}{\longrightarrow} [ES^{\ddagger}] \rightarrow EP \overset{Kp}{\longleftrightarrow} E + P$$



Enzimi

- Gotovo svi enzimi su proteinske strukture
- Reakcija supstrata i enzima odvija se na aktivnom mjestu – vezivanje supstrata i enzima pomoću van der Waalsovih, elektrostatskih sila, H-veza i hidrofobnih interakcija
- Mala udubina (džep) na površini enzima iz koje strše aminokiselinski ogranci na koje se veže molekula supstrata
- Dakle, da bi molekula supstrata pristajala u aktivno mjesto enzima supstrat mora imati odgovarajuću strukturu i sadržavati odgovarajuće funkcionalne skupine

Vezivanje supstrata za aktivno mjesto enzima



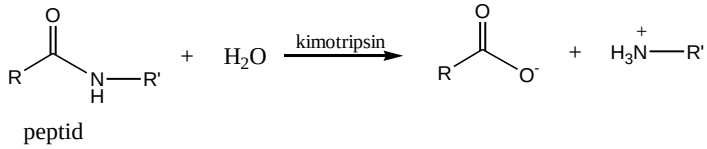
- Reakcije katalizirane enzimom su *stereospecifične* reakcije (specifičnost proizlazi iz načina na koji se supstrat veže za enzim)
- α-glikozidaza omogućit će vezivanje samo α-izomera glikozida

Enzimi

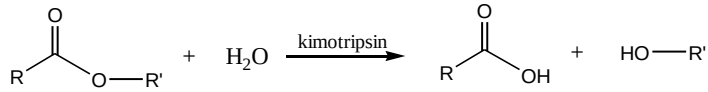
- Enzimi koji metaboliziraju šećer vežu se samo za D-izomer šećera
- Enzimi koji sintetiziraju većinu proteina vežu samo L-aminokiseline
- Enzimi imaju različitu *geometrijsku specifičnost* određenu kemijskim skupinama supstrata
- Neki enzimi prihvatit će samo jedan spoj kao supstrat, dok će drugi prihvatiti više spojeva sa sličnim skupinama
- Karboksipeptidaza A hidrolizira C-kraj peptida
- Iznimke su peptidi s krajnjim AK: arginin, lizin i prolin, i peptidi čija je predzadnja AK prolin

Enzimi

- Kimotripsin – enzim razgradnje, katalizira hidrolizu peptidnih veza, također katalizira hidrolizu estera



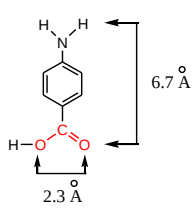
peptid



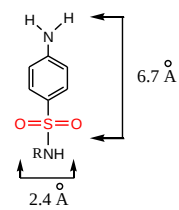
ester

Enzimi

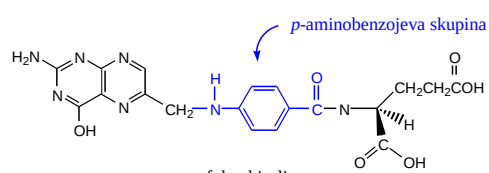
- Inhibitor enzima smanjuje (inhibira) aktivnost enzima
- Kompetitivni inhibitor – spoj koji se natječe sa supstratom za aktivno mjesto enzima
- Sulfanilamid (agens protiv streptococca) je kompetitivni inhibitor bakterijskog enzima koji ugrađuje *p*-aminobenzojevu kiselinu u folnu kiselinu → mikroorganizmi ne mogu sintetizirati dovoljno folne kiseline u prisutnosti sulfanilamida → umiranje mikroorganizama



p-aminobenzojeva kiselina



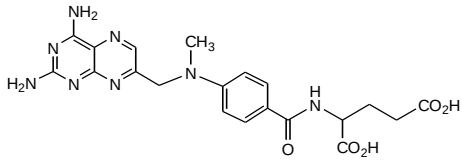
sulfanilamid



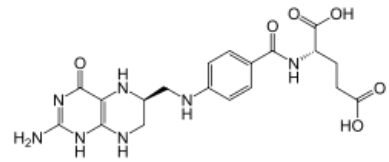
folna kiselina

Enzimi

- Na čovjeka ne utječe sulfanilamid jer folnu kiselinu (vitamin) dobivamo iz hrane, ne sintetiziramo je iz *p*-aminobenzojeve kiseline
- **Metotreksat** djeluje također kao inhibitor dihidrofolat-reduktaze i primjenjuje se u liječenju psorijaze, kao i nekih zloćudnih oboljenja
- Sprečavanje sinteze tetrahidrofolata u bolesnom tkivu zaustavlja dijeljenje (rast) stanica i smanjuje sintezu purina



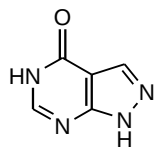
metotreksat



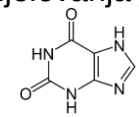
tetrahidrofolna kiselina

Enzimi

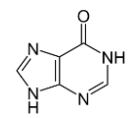
- **Alopurinol** se koristi u liječenju artritisa, bubrežnih kamenaca i oboljenja uzrokovanih povećanom koncentracijom mokraćne kiseline u krvi
- Alopurinol inhibira *ksantin-oksidazu* koja regulira sintezu ureata iz ksantina
- Inhibicijom tog enzima s pomoću alopurinola zaustavlja se kaskada procesa koji vode do sinteze ksantina iz gvanina i hipoksantina - posljedica tog djelovanja je brzo lučenje ksantina iz organizma



alopurinol



ksantin



hipoksantin

Enzimi

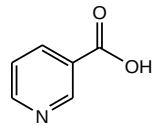
- Neki enzimi zahtijevaju kofaktor (metalni ion), atom Zn je kofaktor enzima ugljikove anhidraze
- Neki enzimi zahtijevaju prisutnost koenzima (NAD^+) → prevođenje NAD^+ u NADH u enzimskoj reakciji

Najčešće prisutni koenzimi

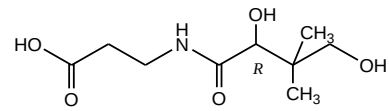
Koenzimi	**Djelovanje**	**Vitamini**	**Oboljenja**
nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD)	prijenos vodika	nikotinamid (niacin, B3)	elagra
tiamin-pirofosfat	dekarboksilacija	tiamin (B1)	beriberi
flavin-mononukleotid	prijenos vodika	riboflavin (B2)	lezija kože
flavin-adenin-dinukleotid (FAD)	prijenos vodika	riboflavin (B2)	lezija kože
piridoksal-fosfat (B6)	prijenos amino skupine piridoksina	piridoksin (B6)	neurološka oboljenja
askorbinska kiselina	hidroksiliranje	vitamin C	skorbut
kobalamin	metiliranje	vitamin B12	perniciozna (smrtonosna) anemija
tetrahidrofolna kiselina (FH4)	prijenos ugljika	folna kiselina (B9)	megaloblastična anemija

Enzimi

- Kod nekih je enzima kofaktor kovalentno vezan za enzim = prostetička skupina
- Mnogi vitamini topljivi u vodi su prekursori koenzima:
  - Niacin (nikotinska kiselina, vitamin B3) je prekursor za NAD^+,
  - Pantotenska kiselina (vitamin B5) je prekursor za koenzim A



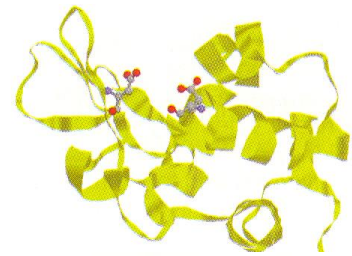
niacin

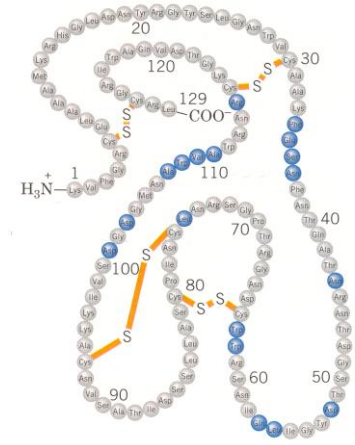


pantotenska kiselina

Lizozim

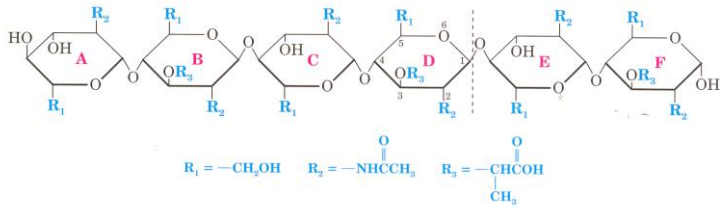
- Izgrađen od 129 AK
- Tri dijela lanca: između 5-15, 24-34, 88-96 AK imaju α-heliks strukturu
- Između 41-45, 50-54 je β-naborana ploča
- AK koje su uključene u vezivanju supstrata označene su plavom bojom
- A. Fleming 1922.
- Trodimenzionalna struktura enzima





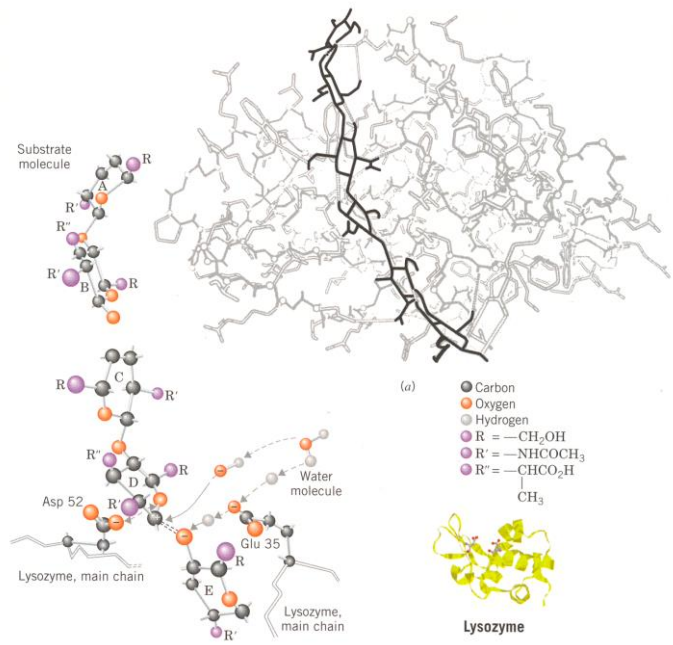
Lizozim

- Supstrat lizozima je polisaharid s amino skupinama koji izgrađuje stanične stijenke bakterija



- Heksasaharid:
  - Prsteni A, C i E predstavljaju N-acetilglukozaminsku jedinicu
  - Prsteni B, D i F predstavljaju N-acetilmuraminsku kiselinu
- Lizozim uzrokuje cijepanje glikozidne veze između prstenova D i E

Trodimenzionalna struktura lizozima



Lizozim

- Aktivno mjesto lizozima – oligosaharid se pomoću H-veza povezuje s aktivnim mjestom, odvijaju se dvije konformacijske promjene
  - zatvaranje džepa
  - izvijanje prstena D, prsten E podložan hidrolizi

- COOH skupina u Glu donira proton atomu kisika između prstena D i E
- Protoniranje uzrokuje cijepanje glikozidne veze, nastajanje karbokationa C1 u prstenu D koji je stabiliziran neg. nab. COOH skupine u Asp
- OH^- iz molekule vode reagira s karbokationom, a proton H^+ s Glu

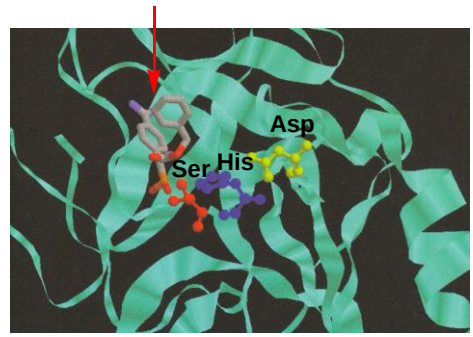
Serin-proteaze

- Kimotripsin, tripsin i elastin su probavni enzimi koje izlučuje pankreas → kataliziraju hidrolizu peptidnih veza
- Enzimi su dobili naziv serin-proteaze jer mehanizam njihove proteolitičke aktivnosti uključuje serinski ostatak koji je ključan za aktivnost
- Mehanizam djelovanja kimotripsina
- Prekursor kimotripsina je kimotripsinogen koji sadrži 245 AK → cijepanje prekursora

Serin-proteaze

- Kimotripsin – His 57-Asp 102-Ser 195 – katalitička triada aktivnog mjesta enzima, u blizini hidrofobno mjesto vezivanja za nepolarne pobočne lance Phe, Tyr i Trp

fosfonatni inhibitor vezan u aktivnom mjestu



Serin-proteaze

- Vezivanje supstrata na enzim → napad Ser na acilni C-atom peptidne veze
- Ser postaje nukleofilniji prijenosom protona na atom dušika imidazolnog prstena u His 57 imidazolijev ion je stabiliziran karboksilatnim ionom Asp
- Nukleofilni napad Ser → acetilirani Ser i N-terminalni dio pocijepanog polipeptida

