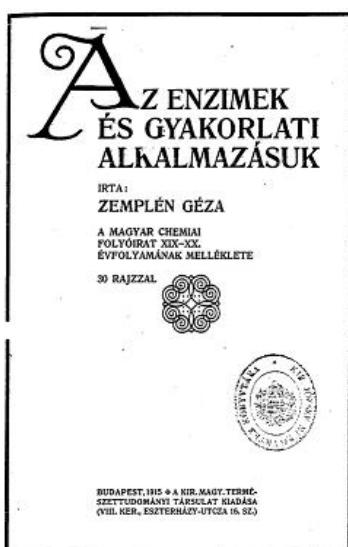


# ENZIMMÉRNÖKI ALAPISMERETEK



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## Enzimek



Kevés fejezete van a kemiának, amely a legutolsó néhány év alatt olyan nagyot haladt volna, mint éppen az enzimeké. Éppen ezért a vegyész léptenyomon érzi, hogy megismerésük és a velük való bánásmód manapság már nélkülözhetetlen”

Zemplén Géza, 1915

Az enzimek és gyakorlati alkalmazásuk.

A kir. Magyar Term. Tud. Társulat kiadása 349. oldal



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

## Enzimek

1833: Payen és Persoz: csírázó árpa szerepe a keményítő hidrolízisben - dextrinek, cukrok

Memoir sur la diastase, les principaux produits de ses reactions, et leurs applications aux art industrielles, *Annales de Chimie et de Physique*, 1833, 2me Serie 53, 73-92

1835: Berzelius – diasztáz hidrolízis KATALÍZIS

1853-1857: N-tartalmú szerves (szervezetlen) anyag, illetve élő szervezet (alacsonyrendű növény vagy „infusorium” (pl. alkoholos fermentáció)

1858 Traube feltételezi, hogy a fermentációt fermentumok végzik (Pasteur hatása)

De: első vállalat - 1874 - Chr. Hansen's Laboratory: rennin

1878 Kühne:  $\epsilon \nu \zeta \upsilon \mu \eta$  = élesztőben

1897 Buchner: megállapítja, hogy az élesztőben erjesztő enzimek vannak



## A fehérjék speciális csoportjai és biológiai funkcióik

- Regulátor fehérjék
- Transzport fehérjék
- Védőfehérjék
- Toxinok
- Tartalék fehérjék
- Kontraktil fehérjék
- Szerkezeti fehérjék

**ENZIMEK → REAKCIÓ KATALÍZIS**



## Biokatalízis és RNS

Az élet kialakulásánál: nukleinsav világ

A katalizátorok is RNS-ből álltak (nem kell transzláció)

→ RIBOZIMEK

Az evolúcióban fokozatosan átalakult fehérje enzimekké.

Maradtak: ATP, NAD<sup>+</sup>, CoA, (koenzimek)

tRNS

cukrok UDP templátja

RNaseP: RNS része: 377 bp ~125 kD

a fehérje része: 119 AS ~14 kD



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

1930-as évek: Eyring :

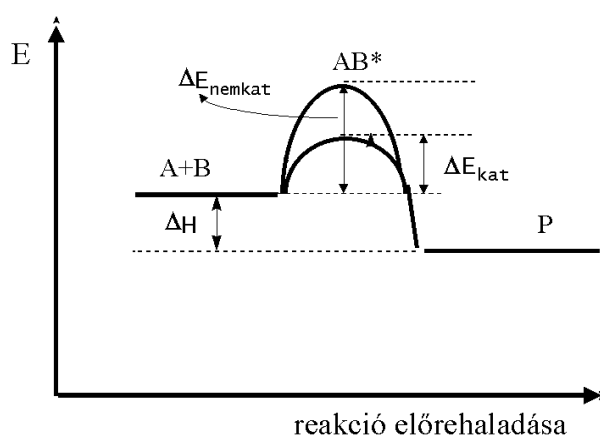
A reakció során létrejön egy magasabb energiájú átmeneti állapot - aktiválási energia kell:

$$k_r = \frac{kT}{h} e^{\frac{\Delta S^*}{R}} \cdot e^{-\frac{\Delta H^*}{RT}} \approx \text{konst} \cdot e^{-\frac{\Delta E^*}{RT}}$$

T - abszolút hőmérséklet (Kelvin fok)

k - Boltzmann állandó (1,37.10<sup>-23</sup> J°K)

h - Planck állandó (6,62.10<sup>-34</sup> Js)



Ezt csökkentik a katalizátorok - a katalizált reakció sebessége nagyobb, de az egyensúlyt nem befolyásolja.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

## Egyszerű és enzimes katalízis összehasonlítása

Reakció	Katalizátor	Aktiválási energia kJ/mol	$k_{rel}$ 25 °C
$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$	-	75	1
	$I^-$	56,5	$2,1 \cdot 10^3$
	kataláz	26,8	$3,5 \cdot 10^8$
Kazein + $nH_2O$ $\rightarrow (n+1)$ peptid	$H^+$	86	1
	tripszin	50	$2,1 \cdot 10^6$
Szacharóz + $H_2O \rightarrow$ glükóz + fruktóz	$H^+$	107	1
	invertáz	46	$5,6 \cdot 10^{10}$
Linolénsav + $O_2 \rightarrow$ linolénsavperoxid	-	150-270	1
	$Cu^{2+}$	30-50	$\sim 10^2$
	lipoxigenáz	16,7	$\sim 10^7$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

## Enzimes reakciók

A reakció általános leírása: kialakul egy átmenti komplex:



**Szubsztrát (S):** a reakcióban átalakuló molekula.

**Termék (P):** a reakcióban keletkező molekula.

**Kötőhely:** az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik.

**Aktív hely/aktív centrum:** az átalakításért felelős régió.

(A kettő nem feltétlenül azonos)

Az enzim molekulán további kötőhelyek is létezhetnek (aktivátor-, inhibitor-, koszubsztrátkötő helyek).

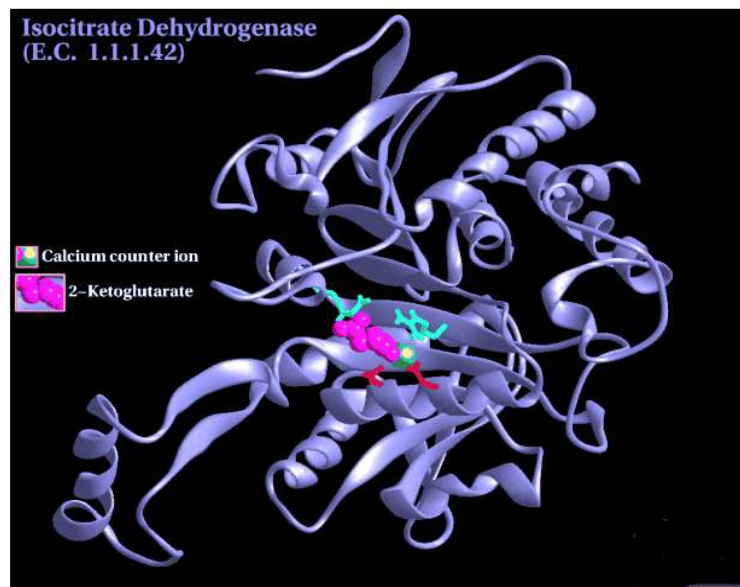


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

## Aktív centrum

Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a protein molekulán



9

## Enzim-szubsztrát kötődés

Szubsztrát kötőhely: zsák, zseb - csak egy kis felület a protein molekulán!

A két molekula felülete közötti kölcsönhatások:

ionpár, hidrogén híd, van der Waals (hidrofób) = másodlagos kölcsönhatások

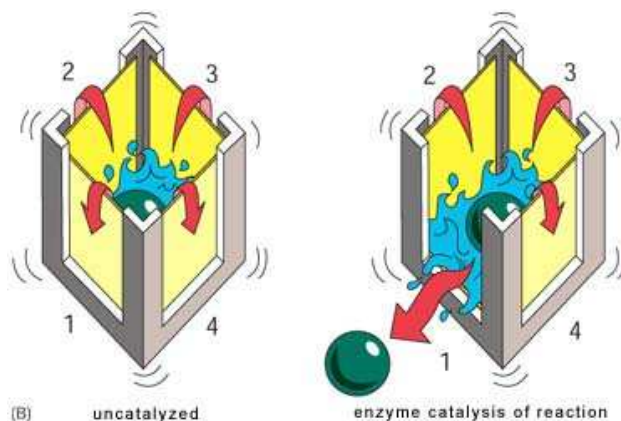
Az enzimkatalízis általános esetei:

1. sav-bázis (modern elmélete: Linus Pauling 1946)
2. kovalens katalízis (Haldane 1930)
3. fém ion katalízis



## Enzimes reakciók

A sejtben a sok szerves vegyület nagyon sokféle módon reagálhatna egymással – de ezek a reakciók nagyon lassan mennek végbe az aktiválási energiagátak miatt. Az enzimek megnyitnak egy bizonyos reakcióutat.



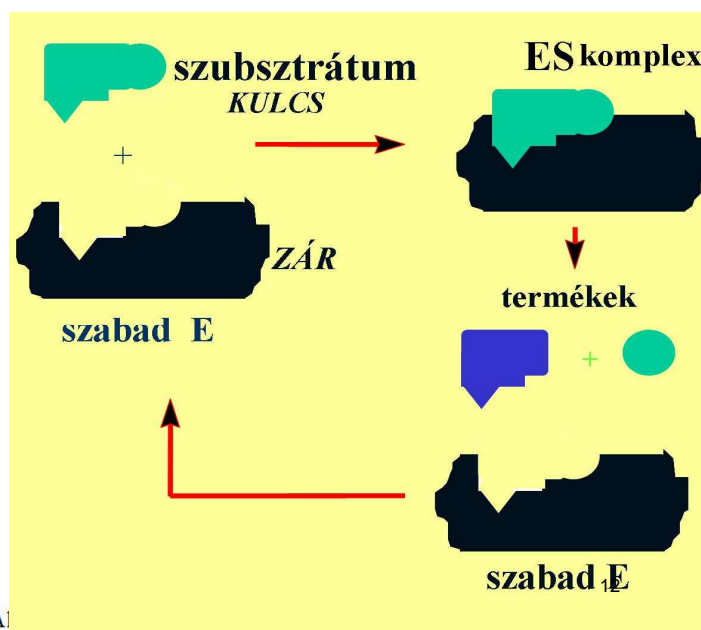
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

## Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

Hermann Emil Fischer  
 (1852-1919, a 2. Nobel díjas)  
 Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.

Sima  
 enzim  
 reakció

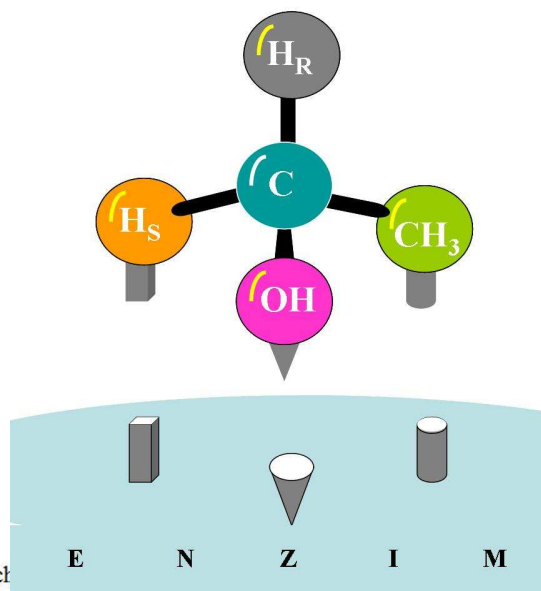


BME A

## Enzim-szubsztrát kötődés: orientációs effektus

Hárompontos illeszkedés „three-point attachment”: a szubsztrát molekula több funkciós csoportja is kötést alakít ki az enzim felszínével, így pontosan pozícionálódik – nincs forgás.

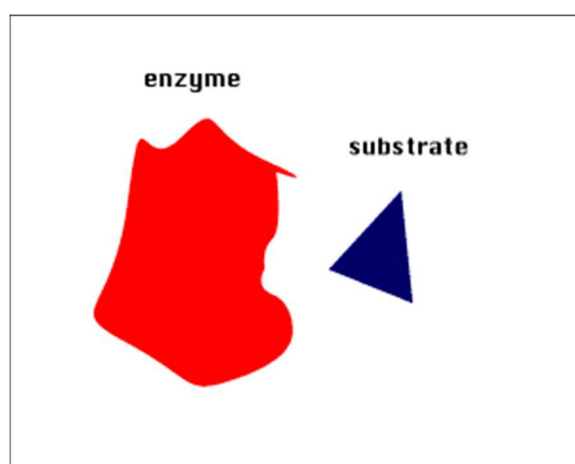
**Csak az egyik optikai izomer kapcsolódik – ez az enzimek sztereospecifitásának az alapja.**



BME Alkalmazott Biotech

## Enzim-szubsztrát kötődés: indukált illeszkedés

[http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced\\_fit/index.html](http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced_fit/index.html)

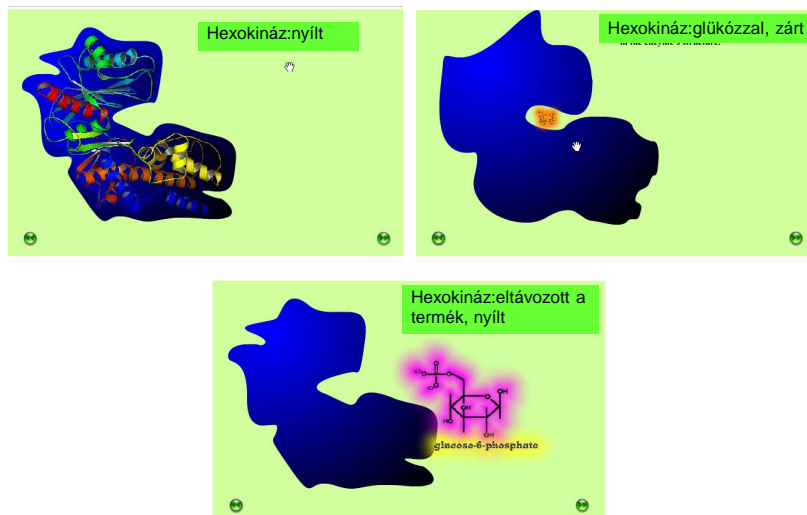


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

## Indukált illeszkedés: hexokináz

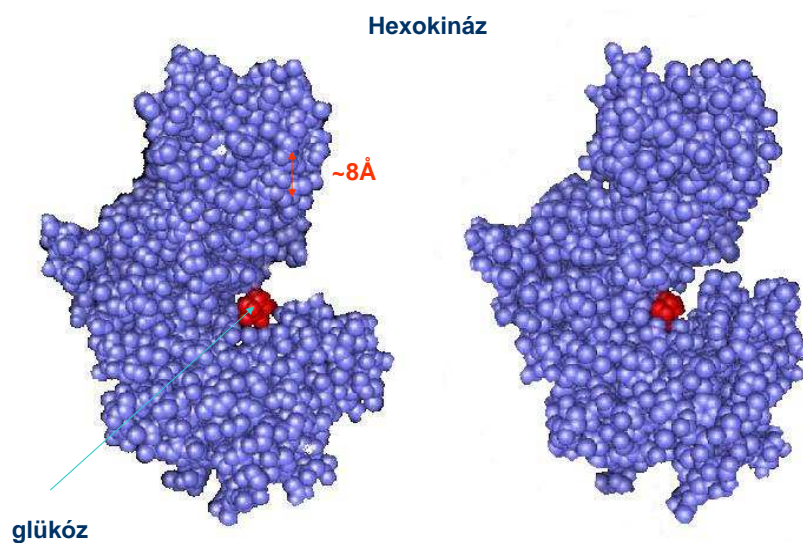
A hexokináz „ráharap” a szubsztrátra.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

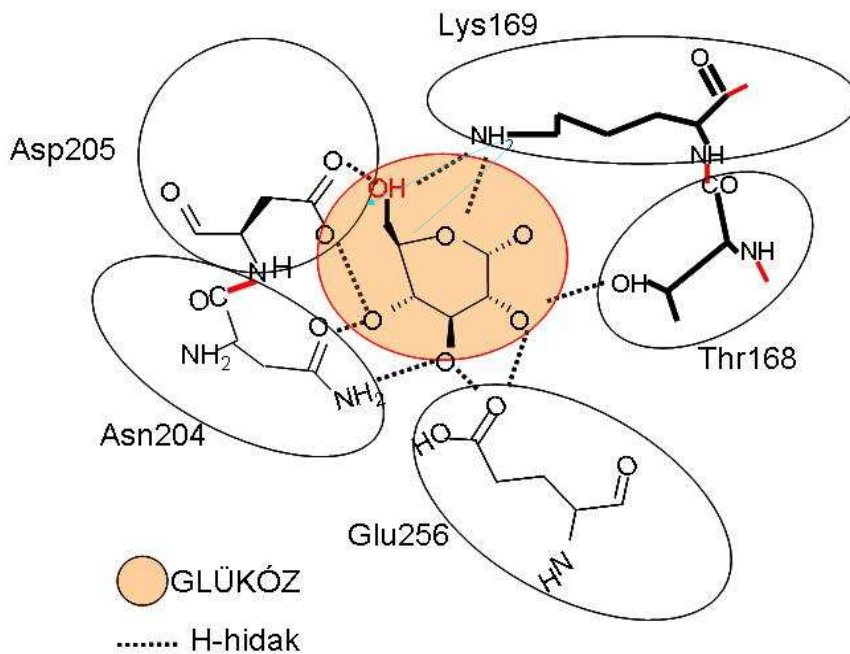
## Indukált illeszkedés: hexokináz



16



## Indukált illeszkedés: hexokináz

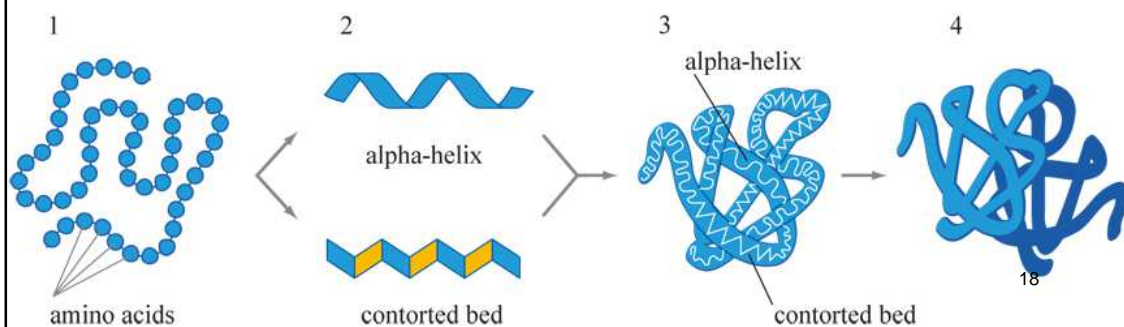


17

## Hogyan alakul ki az aktív felület?

Az összecsvarendett fehérjelánc(ok) alakítják ki a térbeli (3D) szerkezetet (harmadlagos, negyedleges szerkezet). Az aminosavak oldalláncai lehetnek:

- apolárisak (alkil csoportok)
- polárisak (-OH, -SH csoport)
- ionosak (-NH<sub>2</sub>, -COOH csoportok)



## Reaktív oldalláncok

Savas: -COOH: Asp, Glu      Bázikus: -NH<sub>2</sub>: Lys, Arg  
Láncvégi szabad -COOH és -NH<sub>2</sub>  
savamid: -CO-NH<sub>2</sub>: Asn, Gln

Poláris: -OH: Ser, Thr      -SH: Cys,      -S-CH<sub>3</sub>: Met

Imidazol: His      Guanidin: Arg

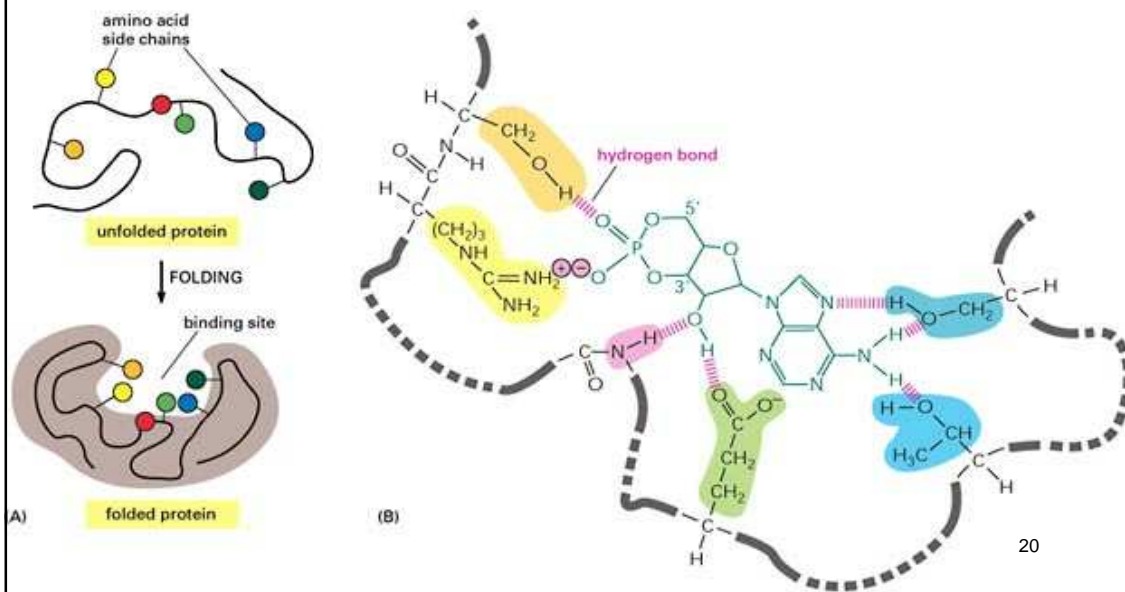
H-hidak: C=O ..... H-O-      C=O ..... H-NH-



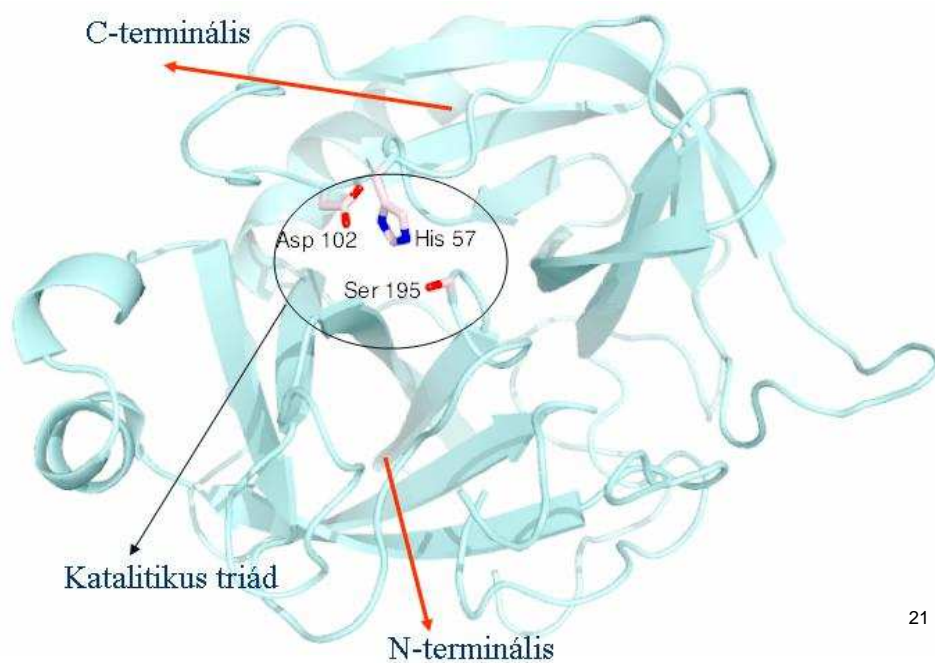
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

## Aktív centrum kialakulása



## Aktív centrum: kimotripszin



21

## Reakciómechanizmus: kimotripszin

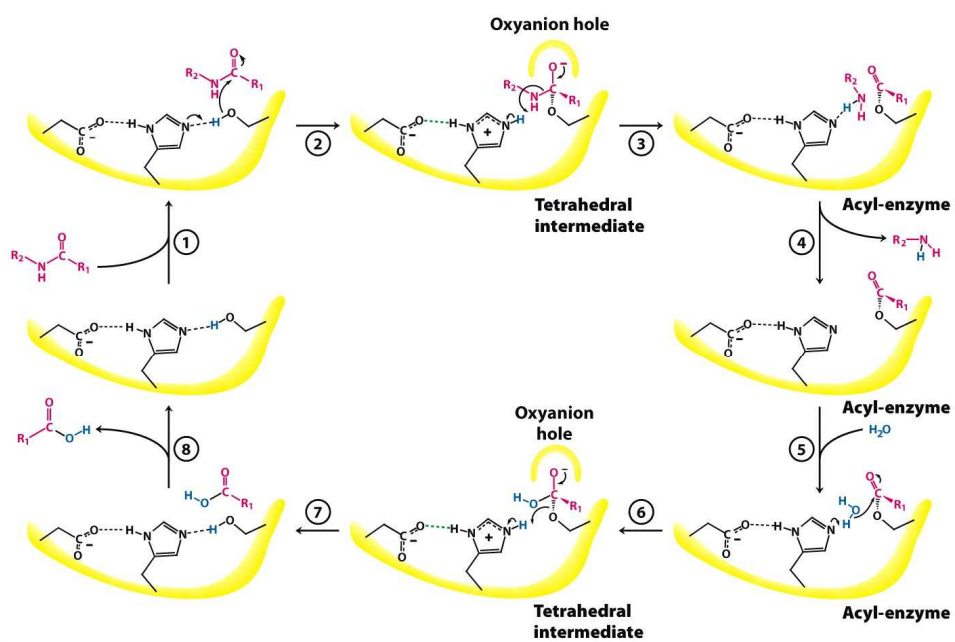


Figure 9.8  
 Biochemistry, Seventh Edition  
 © 2012 W. H. Freeman and Company

## Az enzimek tulajdonságai

Csak termodinamikailag lehetséges reakciókat gyorsítanak,  
 $\Delta G < 0$

Minden enzim reakció reverzibilis, egyensúlyra vezet  
de: az egyensúly eltolható, pl. a termék elvételével

A fehérjék denaturálhatóak:  $t$ , pH, ionerősség (kisózás), oldó-  
szerek

Specifikusak: szubsztrát-specifitás  
csoport-specifitás  
sztereo-specifitás  
régió-specifitás  
reakció-specifitás



## Az enzim katalízis előnyei

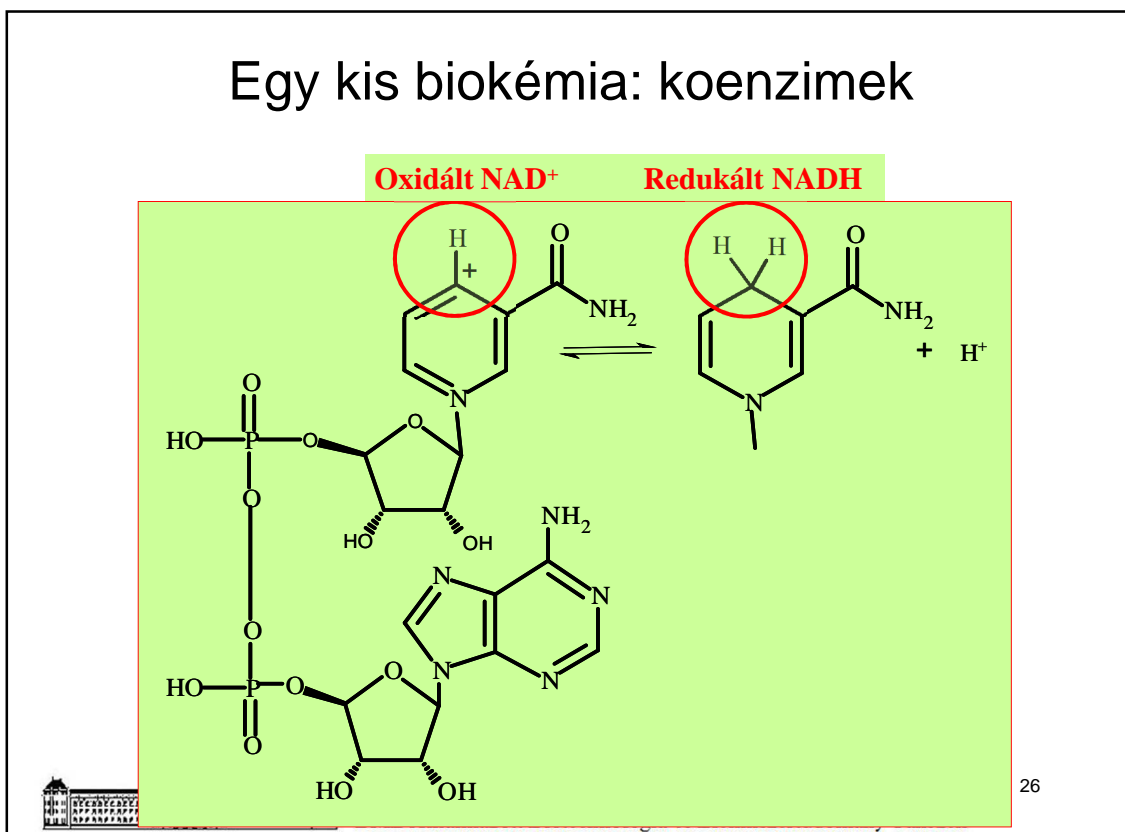
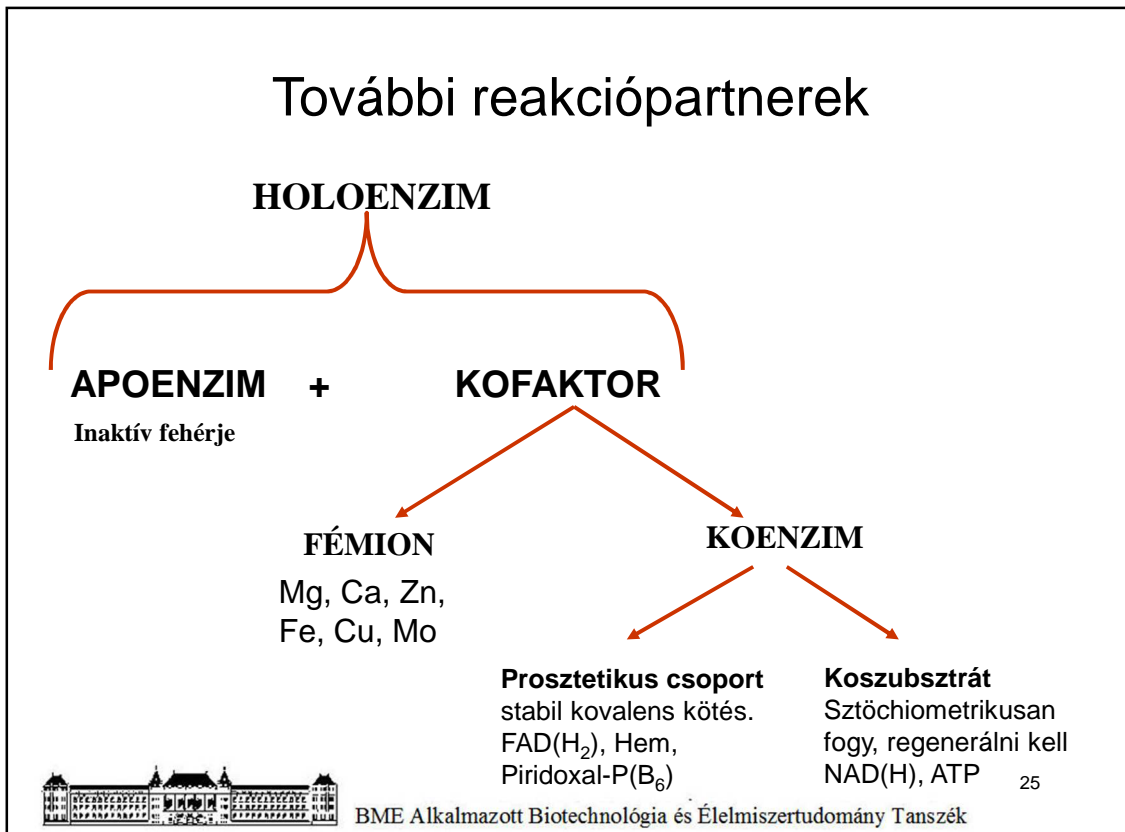
Nagyobb reakciósebesség: akár  $10^6$ - $10^{12}$  x gyorsabb

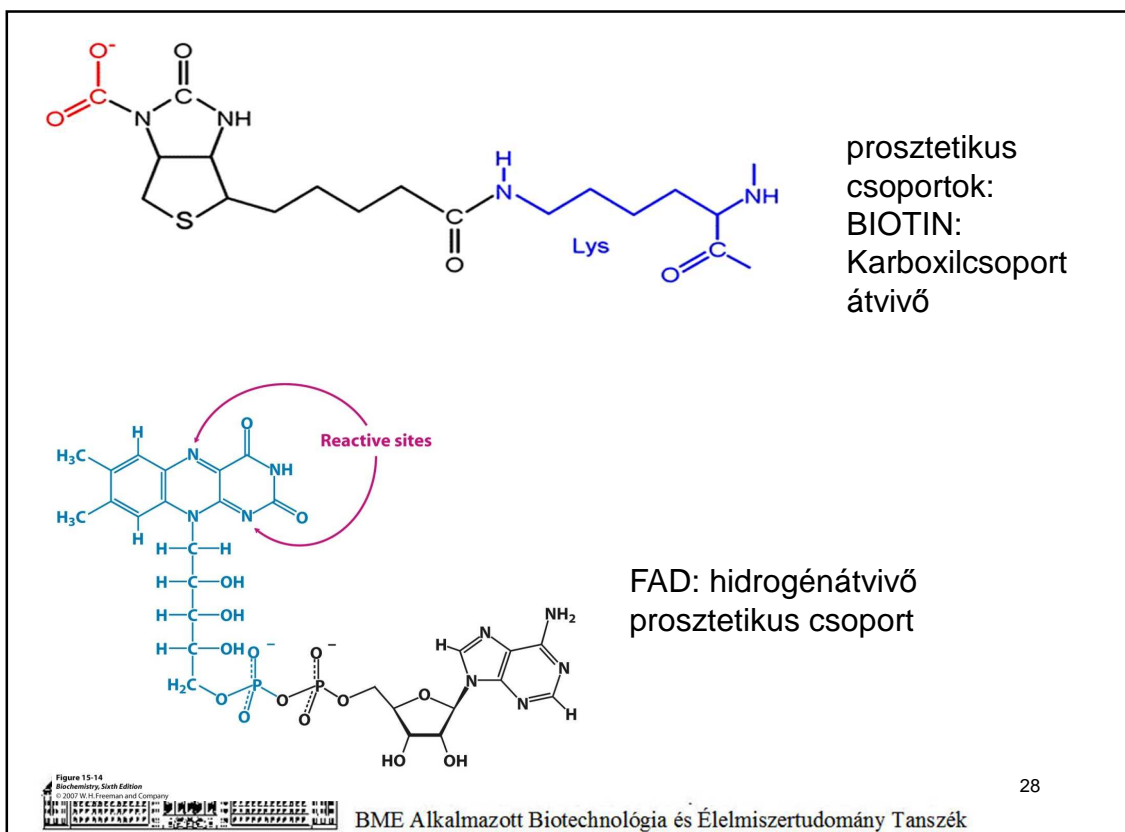
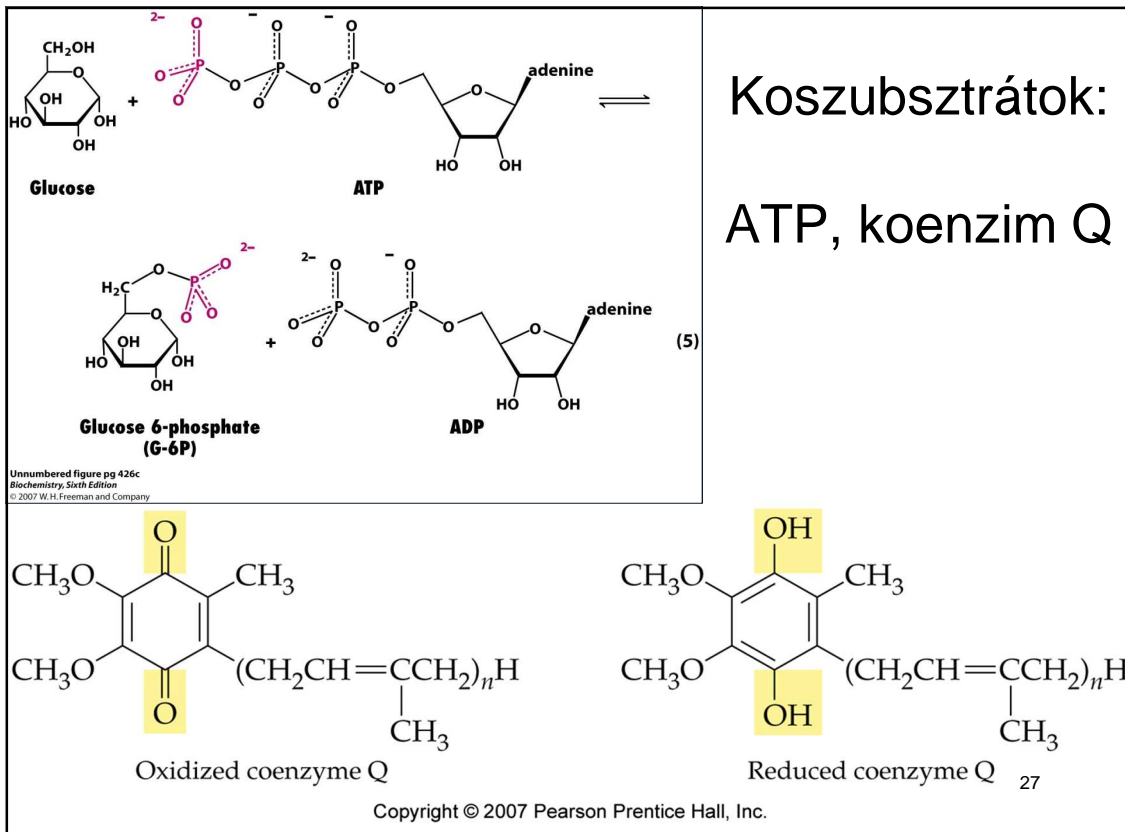
Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)

Nagyobb specifitás(ok), mint a kémiában

Regulálhatóság







## Enzimek elnevezése

1. Szubsztrát szerint:  $\text{urea} + \text{víz} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$   
 ureáz S-név + áz
2. Szubsztrát és reakció után:  $\text{EtOH} \longrightarrow \text{AcO} \longrightarrow \text{AcOH}$   
 alkohol-dehidrogenáz (S-név)+reakciónév+ áz
3. Triviális nevek:  
 pepszin, tripszin, rennin - mind fehérjebontók + -in
4. IUB, IUPAC, IUBMB 1964, 1972, 1978 Enzyme Commission  
 szisztematikus névadás



Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD <sup>+</sup> )	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{H} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p style="text-align: center;">Ethanol <span style="margin-left: 150px;">Acetaldehyde</span></p>
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	<p style="text-align: center;">D-Glucose <span style="margin-left: 100px;">D-Glucose-6-phosphate</span></p>
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{---N(CH}_2\text{)}_{n-1}\text{---C(=O)---N(CH}_2\text{)}_n\text{---COO}^- + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{---N(CH}_2\text{)}_{n-1}\text{---COO}^- + \text{H}_3\text{N}^+\text{---(CH}_2\text{)}_n\text{---COO}^-$ <p style="text-align: center;">C-terminus of polypeptide <span style="margin-left: 50px;">Shortened polypeptide</span> <span style="margin-left: 50px;">C-terminal residue</span></p>
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{---COO---C(=O)---CH}_3 + \text{H}^+ \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H---C(=O)---CH}_3$ <p style="text-align: center;">Pyruvate <span style="margin-left: 100px;">Acetaldehyde</span></p>
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (cis-trans isomerization)	<p style="text-align: center;">Maleate <span style="margin-left: 100px;">Fumarate</span></p>
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{---COO---C(=O)---CH}_3 + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP}} \text{---COO---C(=O)---CH}_2\text{---C(=O)COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ <p style="text-align: center;">Pyruvate <span style="margin-left: 150px;">Oxaloacetate</span></p>





Alkoholdehidrogenáz: → **EC 1.1.1.1 Alcohol:NAD<sup>+</sup> Oxidoreductase**



Hexokináz: → **EC 2.7.1.1. ATP:D-hexose 6-phosphotransferase**



## Enzim adatbázisok

<http://www.expasy.org/enzyme>

- [BRENDA](#) - Comprehensive Enzyme Information system
- [EMP](#) - Enzymes and Metabolic Pathways database
- [KEGG](#) - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
- [MetaCyc](#) - Metabolic Encyclopedia of enzymes and metabolic pathways
- [IUBMB Enzyme Nomenclature](#)
- [BioCarta](#) - Pathways of Life

**következik: ENZIMKINETIKA**

