Akceptuję
W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej Polityce Prywatności

Obserwacje reakcji enzymatycznych



Enzymy są związkami wielkocząsteczkowymi. Grupę tych związków stanowią przede wszystkim białka, choć znane są też enzymy niebiałkowe. Katalizują

(przyspieszają) one specyficzne reakcje chemiczne poprzez obniżenie energii aktywacji. Niemal wszystkie reakcje chemiczne związane z funkcjonowaniem organizmów żywych wymagają udziału enzymów w celu osiągnięcia wystarczającej wydajności. Enzymy są wysoce specyficzne wobec substratów. W związku z tym dany enzym katalizuje zaledwie kilka reakcji spośród wielu możliwych dla danych substratów. Zatem enzymy kierują procesami metabolicznymi i biochemicznymi związanymi z funkcjonowaniem organizmów żywych.

Wprowadzenie

Pojęciem enzymów określana jest grupę naturalnych biokatalizatorów makromolekularnych. Prawie wszystkie enzymy są białkami, za wyjątkiem kilku znanych przypadków kwasów rybonukleinowych o własnościach katalitycznych [1]. W przeciwieństwie do wielu katalizatorów niebiałkowych enzymy cechuje specyficzność katalizowanych reakcji oraz duża selektywność reakcji. Związki te często wykazują dużą swoistość w stosunku do substratu. Ciekawostką jest fakt, że w przypadku substratów optycznie czynnych wiele z pośród enzymów jest aktywna wyłącznie w stosunku do jednego z enancjomerów.

Cząsteczki enzymów mogą mieć charakter czysto białkowy, jak na przykład trypsyna lub zawierać części niepeptydowe.

Zgodnie z przyjętą obecnie nomenklaturą, enzym jako całość nazywany jest holoenzymem, jego część białkową określa się mianem apoenzymu, zaś reszty niepeptydowe - grupami prostetycznymi lub koenzymami. Do najważniejszych koenzymów należą grupy hemowe, witaminy i ich pochodne, flawonoidy, fosforany nukleozydów oraz chinony. Aktywność wielu enzymów jest zależna od obecności jonów metali jak i niektórych anionów nieorganicznych.

Mechanizm działania enzymów

Mechanizm oddziaływania enzymu z substratem polega na tym, że w bezpośredni kontakt z substratem wchodzi nie całe białko enzymatyczne, lecz tylko pewne jego ugrupowanie aminokwasowe. Ugrupowanie to nazywane jest centrum aktywnym enzymu, przy czym każdy enzym ma przynajmniej jedno centrum aktywne. W centrum aktywnym, obok skierowanych do jego wnętrza reszt aminokwasowych, znajdują się związane kowalencyjnie lub koordynacyjnie grupy prostetyczne oraz ewentualne jony potrzebne do wystąpienia prawidłowej aktywności enzymatycznej. Aminokwasy tworzące centrum aktywne mają zwykle charakter polarny oraz posiadają aktywne chemicznie grupy funkcyjne, przez co są zdolne do oddziaływań kowalencyjnych, koordynacyjnych, jonowych i wodorowych zarówno z substratem jak i z koenzymem.

Centra katalityczne umiejscowione są na ogół w zagłębieniu cząsteczki, izolowanym od środowiska zewnętrznego. Specyficzność wiązania zależy od precyzyjnie określonego ułożenia atomów w miejscu aktywnym. Substrat musi mieć odpowiedni kształt aby dopasować się do miejsca aktywnego. Wiązana (dokująca) molekuła musi charakteryzować się, obok właściwego kształtu, właściwym rozkładem gęstości elektronowej, umożliwiającym wiązania z polarnymi grupami funkcyjnymi znajdującymi się w miejscu dokowania.

Miejsca aktywne wielu enzymów nie są strukturami sztywnym, a ich kształt ulega często zmianie po skompleksowaniu cząsteczki substratu. Wynika z tego fakt, iż komplementarny względem substratu kształt miejsca katalitycznego pojawić się może jedynie po związaniu substratu. Enzymy wykazujące takie właściwości cechuje często większa różnorodność katalizowanych reakcji.

Wiele reakcji w organizmach żywych katalizowanych jest przez enzymy o podobnym działaniu lecz

odmiennej strukturze. Mówimy wówczas o izoenzymach. Różnice takie są dostrzegalne przede wszystkim w materiale pochodzącym z tkanek różnych gatunków, jednakże często preparat enzymatyczny uzyskany z jednego organizmu jest niehomogeniczny i można go rozdzielić na białka o takiej samej aktywności biologicznej lecz odmiennej strukturze.

Nazewnictwo i rodzaje enzymów

Nazwy systematyczne enzymów składają się z dwóch części. Cześć pierwsza nazwy z końcówką „aza", informuje o typie katalizowanej reakcji. Natomiast druga część nazwy enzymu wskazuje na substrat (substraty), na który działa dany enzym [2]. W przypadku transferaz i oksydoreduktaz w nazwach uwzględnia się donor i akceptor. Przy transferazach jako przedrostek podaje się grupę przenoszoną. W grupie ligaz podaje się (w nawiasie) produkt powstały z rozpadu nukleotydu wysokoenergetycznego, wykorzystanego w reakcji. Nazwę substratu podaje się w dopełniaczu liczby pojedynczej, w przypadku gdy w reakcji biorą udział dwa substraty, ich nazwy podaje się w mianowniku liczby pojedynczej, rozdzielone dwukropkiem.

Jeżeli dany enzym katalizuje dwa następujące po sobie przekształcenia, nazwa drugiego powinna być ujęta w nawias i znajdować się jako trzeci człon nazwy.

Ponad to dla enzymów utworzono kod liczbowy służący do ich klasyfikacji. Każdemu enzymowi przyporządkowany jest czteroliczbowy ciąg. Pierwsza liczba określa przynależność enzymu do jednej z sześciu zasadniczych grup, mianowicie oksydoreduktazy (1), transferazy (2), hydrolazy (3), liazy (4), izomerazy (5) oraz ligazy (6). Kolejna liczba określa podklasę w danej grupie enzymów. Natomiast liczba trzecia oznacza przynależność danego enzymu do podpodklasy. Ostatnia czwarta liczba określa konkretny enzym.

Oksydoreduktazy są enzymami, które katalizują reakcje utleniania i redukcji, polegające na przenoszeniu elektronów i atomów wodoru lub przyłączaniu atomów tlenu do substratu. Gdy nazwa enzymu pochodzi od donora atomów wodoru mówimy o dehydrogenazach. Natomiast gdy nazwa enzymu pochodzi od akceptora atomów wodoru a donorem jest $NADH_2$ mówimy o reduktazach. Jeżeli jony wodorkowe przenoszone są z jednego układu nikotynoamidowego na drugi enzymy takie nazywamy transhydrogenazami. Jeśli akceptorem wodoru podczas utleniania substratu jest tlen, enzymy katalizujące tą reakcję nazywamy oksydazami, jeśli jest nim nadtlenek wodoru nazywane są peroksydazami. Przyłączanie tlenu do substratu umożliwiają oksygenazy. Jednoczesne przyłączenie tlenu do dwóch substratów umożliwiają hydroksylazy. Grupami prostetycznymi są najczęściej mono- lub dinukleotydy flawinowe, takie jak FAD, dinukleotydy nikotynoamidoadeninowe NAD, witamina B_2, hem, jony żelaza i cynku.

Transferazy, są to enzymy umożliwiające przenoszenie rodnika lub grupy z jednego związku na drugi albo wymianę rodnika lub grupy z atomem wodoru lub tlenu innego związku.

Hydrolazy katalizują rozbicie wiązań przy udziale wody. W zależności od charakteru

hydrolizowanych wiązań rozróżniamy hydrolazy działająca na wiązania estrowe (estrazy, lipazy, hydrolazy tioestrów), wiązania monoestrów fosforanowych (fosfatazy, nukleotydazy), działające na związki glikozydowe, peptydy (aminopeptydazy, karboksypeptydazy, dipeptydazy) i inne.

L**iazy** katalizują rozbicie różnych wiązań nie na drodze hydrolitycznej, przy czym z substratu, na który działa enzym uwalniane są związki małocząsteczkowe. Ze względu na rodzaj odszczepianych grup wyróżniamy między innymi dekarboksylazy (uwalniają CO_2), aldolazy (uwalniają małocząsteczkowe aldehydy), dehydratazy (uwalniają wodę), amoniakoliazy (uwalniają amoniak).

Izomerazyumożliwiają wewnątrzcząsteczkową izomeryzację substratu. Proces może obejmować zmianę konfiguracji przy węglu asymetrycznym (racemazy), przeniesienie atomu wodoru (izomerazy) lub grupy funkcyjnej (mutazy).

Ligazy są odpowiedzialne za syntezę (powstawanie nowych wiązań), związaną z pobraniem energii z fosforanów wysokoenergetycznych.

Szybkość reakcji enzymatycznej

Szybkość reakcji enzymatycznej nie jest funkcja prostoliniową, lecz graficznie przedstawia krzywą przypominającą hiperbolę [3]. Na szybkość reakcji enzymatycznej z jednej strony wpływają inhibitory, zaś z drugiej aktywatory. Inhibicja enzymów przez małe cząsteczki organiczne oraz jony ma zasadnicze znaczenia dla regulacji i kontroli procesów enzymatycznych w żywym organizmie. Inhibicja może być procesem odwracalnym, bądź nieodwracalnym. W inhibicji nieodwracalnej inhibitor łączy się kowalencyjnie z enzymem lub wiąże się z nim w sposób na tyle silny, że rozbicie kompleksu jest praktycznie niemożliwe. W przeciwieństwie do inhibicji nieodwracalnej, inhibicję odwracalną cechuje szybki rozpad kompleksu enzymu z inhibitorem.

Najprostszym typem odwracalnego hamowanie funkcji enzymu jest inhibicja kompetencyjna. W tym przypadku cząsteczka inhibitora wiąże się z enzymem w miejscu wiązania substratu, zmniejszając w ten sposób liczbę molekuł enzymu zdolnych do katalizowania reakcji, zmniejszając zatem szybkość katalizy. Inhibitory kompetencyjne są geometrycznie podobne do substratu. Inhibitory niekompetencyjne wiążą się z enzymem jednocześnie z wiązaniem substratu. Spowalniacz tego typy zmienia własności enzymu, uniemożliwiając tym samym katalizowanie przez niego reakcji.

Grupą enzymów charakteryzującą się odmiennymi właściwościami kinetycznymi oraz cechami procesów inhibicji i aktywacji są enzymy allosteryczne. W przypadku biokatalizatorów z tej grupy w każdej molekule występuje kilka miejsc wiązania substratu, przy czym związanie substratu w jednym z tych miejsc zmienia powinowactwo (zmniejsza lub zwiększa) pozostałych centrów aktywnych do kolejnych cząsteczek substratu. Takie wiązanie substratu nazywamy wiązaniem kooperatywnym. Aktywność enzymu allosterycznego zależy ponadto od obecności cząsteczek regulujących, wiążących się podobnie jak inhibitory niekompetencyjne, poza centrum katalitycznym lecz zmieniających własności katalityczne cząsteczki enzymu. Mogą one mieć zarówno wpływ aktywujący jak i dezaktywujący na biokatalizator.

Wpływ środowiska reakcji na aktywność enzymów

Maksymalna aktywność każdego enzymu zawiera się w charakterystycznym, dla niego przedziale wartości pH [4]. Ponieważ pH wpływa na ładunek cząsteczki enzymu jak i cząsteczki substratu, największą szybkość reakcji zaobserwować można przy stężeniu jonów wodorowych gwarantującym największą różnicę pomiędzy ładunkiem substratu i enzymu. Dodatkowo zmiany pH wpływają, na skutek jonizacji pewnych grup funkcyjnych białka, na zmianę struktury trzeciorzędowej, a zatem i geometrii, cząsteczki enzymu, co pociąga za sobą zmiany aktywności katalitycznej. Poszczególne enzymy różnią się pH optymalnym.

Podwyższenie reakcji o każde 100 st.C powoduje wzrost szybkości reakcji 2-3 krotnie [4].

W przypadku żywych organizmów prawo to dotyczy niewielkiego zakresu temperatur, w którym nie zachodzą zmiany strukturalne w białkach (do 45 st.C).

Podsumowanie

Zmiany aktywności enzymów we krwi, są często odzwierciedleniem zmian patologicznych zachodzących w narządach. Nowoczesna diagnostyka opiera się na założeniu, że uszkodzenie narządu pociąga za sobą uszkodzenie struktur komórkowych lub zmianę przepuszczalności błon komórkowych. Uszkodzenia błon powodują ucieczkę enzymów, zwiększając tym samym ich ilość w cieczach ustrojowych, mowa tu o krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym, moczu, sok żołądkowym czy dwunastniczym. Lokalizację, rozmiary i intensywności uszkodzenia, niewydolność narządu, można określić nie tylko w przypadku wzrostu, ale również zmniejszeniu aktywności niektórych enzymów w surowicy. Poza stanami patologicznymi, na aktywność danego enzymu może wpływać intensywność ich produkcji przez organizm, a także zmiany ilościowe ich aktywatorów.

Innym zastosowaniem enzymów jest przemysł, zwłaszcza chemiczny i spożywczym, głównie jako niezwykle specyficzne, bezpieczne w użyciu katalizatory. Jakkolwiek ich wadą jest wrażliwość na skrajne warunki, takie jak temperatura, czy pH, niestabilność w środowiskach innych niż wodne oraz stopniowa degradacja podczas użytkowania. Także wysoka specyficzność, istotna z punktu biologicznego, w przemyśle jest ograniczeniem ich uniwersalności. Dlatego też inżynieria białka jest dynamicznie rozwijającą się dziedziną nauki, zajmującą się badaniem i projektowaniem enzymów o nowych właściwościach lub poprawionej wydajności czy stabilności.

Enzymy są podstawą istnienia życia, jako że są niezbędne do zajścia niemalże każdej reakcji chemicznej z szybkością i wydajnością znacząco wysoką dla procesów biologicznych. Bez enzymów większość reakcji zachodziłaby zbyt wolno lub zbyt mało wydajnie, by miało to zauważalne w czasie znaczenie. Większość enzymów, poprzez swój udział w reakcjach katabolicznych i anabolicznych, definiuje metabolizm komórki czy organizmu. Enzymy metaboliczne działają zwykle w grupach (kompleksach), w szeregu sekwencyjnie następujących po sobie reakcji, określanych mianem szlaków metabolicznych. Szlaki te często wykorzystują wspólne produkty pośrednie reakcji, przebiegają równolegle, prowadzą do tego samego produktu lub od tego samego substratu w skomplikowanej sieci zależności reakcji enzymatycznych [5].

Enzymy biorą udział także w reakcjach niemetabolicznych. Enzymy są także ważnymi składnikami interakcji między organizmami czy komórkami. Leukocyty używają enzymów do zwalczania patogenów, z kolei bakterie patogenne używają ich podczas infekcji i do obrony przed elementami systemu immunologicznego. Także wirusy używają enzymów do swojej replikacji, a także podczas infekcji i opuszczania komórek gospodarza. Enzymy są także składnikami jadów i toksyn,

używanych i wytwarzanych przez wiele organizmów.

Na zakończenie warto wspomnieć, że enzymy pełnią także bardziej wyszukane funkcje, wszędzie tam, gdzie potrzebna jest wydajna, specyficzna kataliza chemiczna, jak na przykład bioluminescencja u świetlików.

Autor: Karolina Wójciuk

Literatura:

1. Lilley, D.M., 2005. Structure, folding and mechanisms of ribozymes. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 3(15), 313-23.

2. Kruger, K. and coworkers, 1982. Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena. *Cell.*, 1, 147-5.

3. Henri,V., 1902. Theorie generale de l'action de quelques diastases. *Compt. rend. hebd. Acad. Sci. Paris*. 135, 916-919.

4. Polanowski, A., 2005. Laboratorium z biochemii. Wrocław: Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Wrocławskiego.

5. Mayer, J., Thomas, D.W., 1967. Regulation of food intake and obesity. *Science*, 21, 156. 773.

http://laboratoria.net/artykul/20410.html
Informacje dnia: Jazda na rolkach - Czy jest dobrym sportem? Polimer o właściwościach przeciwgrzybiczych Stypendia ministra nauki dla niemal 400 studentów Skuteczniejsze leczenie chorych na nowotwory krwi Tylko 36% transgranicznych wód podziemnych ma ochronę Technologia ultradźwiękowa w diagnostyce chorób Jazda na rolkach - Czy jest dobrym sportem? Polimer o właściwościach przeciwgrzybiczych Stypendia ministra nauki dla niemal 400 studentów Skuteczniejsze leczenie chorych na nowotwory krwi Tylko 36% transgranicznych wód podziemnych ma ochronę Technologia ultradźwiękowa w diagnostyce chorób Jazda na rolkach - Czy jest dobrym sportem? Polimer o właściwościach przeciwgrzybiczych Stypendia ministra nauki dla niemal 400 studentów Skuteczniejsze leczenie chorych na nowotwory krwi Tylko 36% transgranicznych wód podziemnych ma ochronę Technologia ultradźwiękowa w diagnostyce chorób

Partnerzy