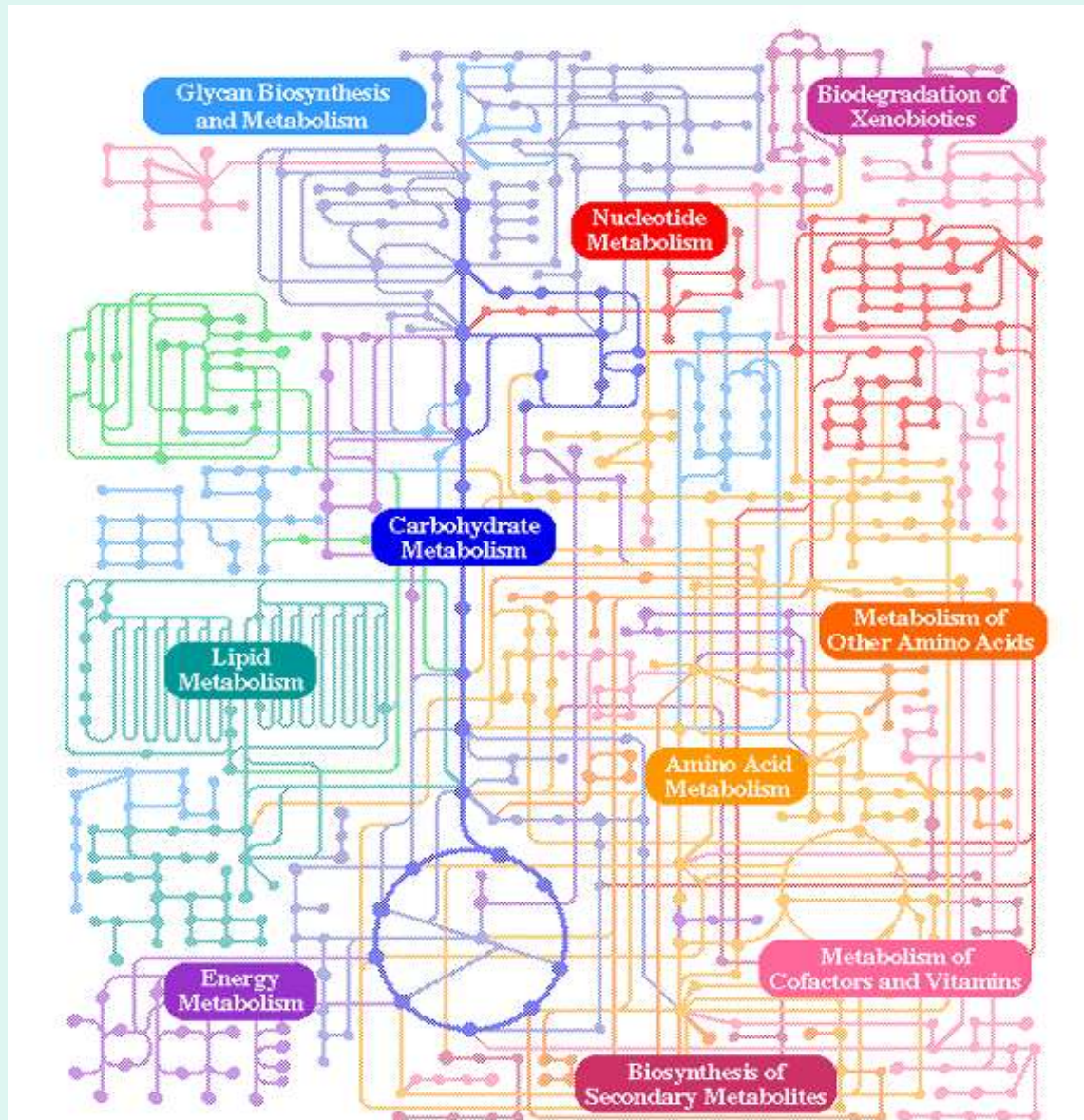


Encimi

- Encimi so katalizatorji biokemijskih reakcij v živih organizmih
- pospešujejo (katalizirajo) kemijske reakcije v živih organizmih-
pospeševanje do 10^6 - $10^{16}x$
- Encimi delujejo:
 - v notranjosti celice
 - ali zunaj celice (v prebavnem traktu: amilaze, lipaze..)
- uravnavajo tisoče reakcij, ki omogočajo
 - razgradnja hranilnih molekul
 - transformacija energije
 - sinteze makromolekul,
 - transmembranski transport, gibanje ...
- pomembni v diagnostiki in različnih industrijskih panogah

Reakcije vseh metaboličnih poti katalizirajo encimi



Zakaj potrebujemo encime?

Razmere v organizmu so regulirane in blage (reakcije tečejo počasi, zato so potrebni katalizatorji)

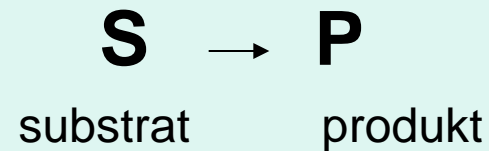
VPLIVI NA HITROST REAKCIJ IN RAZMERE V ORGANIZMU

Na hitrost reakcije vpliva: Razmere v organizmu so regulirane

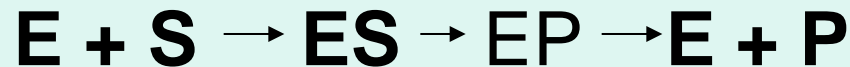
- koncentracija substrata
 - pH
 - ionska jakost
 - temperatura
- koncentracije reaktantov so stacionarne
 - pH je nastavljen in se ne spreminja veliko (pufri !)
 - ionska moč je stalno skoraj enaka (v krvi npr. okrog 0,2 M)
 - temperatura se malo spreminja

Kako encimi delujejo?

nekatalizirana kemijska reakcija



encimsko katalizirana kemijska reakcija



E – encim

S – substrat, P – produkt

ES – kompleks encim-substrat

EP – kompleks encim-produkt -

ENCIMI- specifičnost

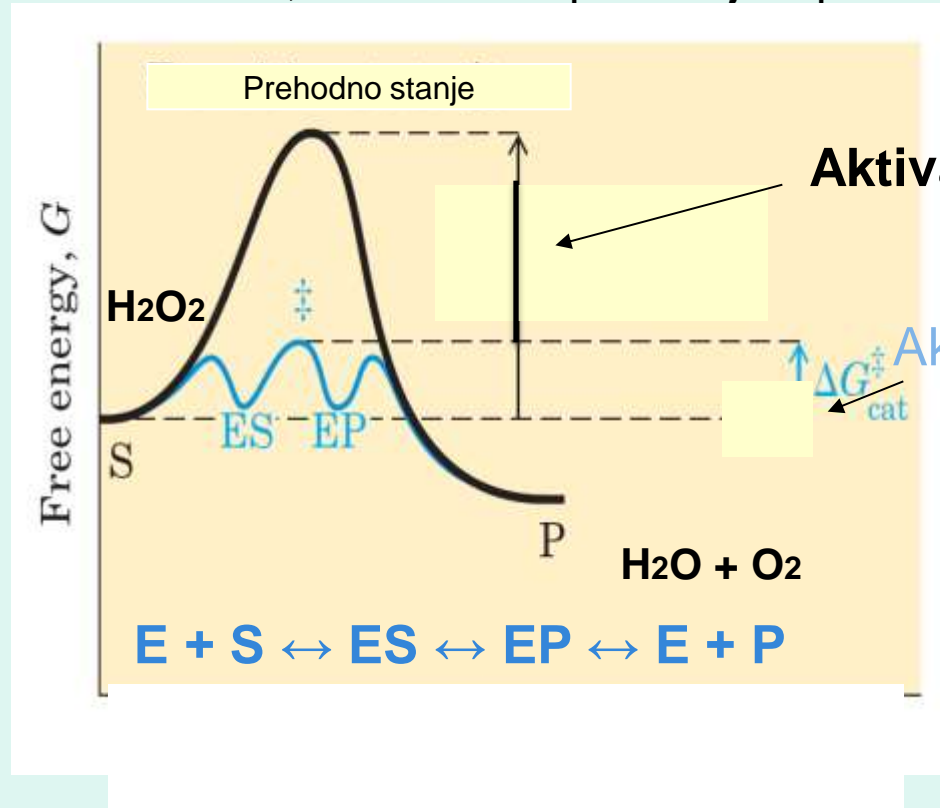
- snov s katero reagira encim, se imenuje substrat
- so lahko **specifični** → delujejo samo na določen substrat
- so lahko **nespecifični** → delujejo na določeno funkcionalno skupino večih substratov

Mehanizmi encimske katalize

Energijski diagram za reakcijo razgradnje H_2O_2

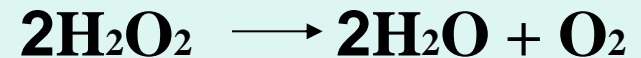
Molekule morajo doseči višji energetski nivo, ki ustreza aktivacijski energiji.

Aktivacijska energija je tista količina energije, ki jo morajo imeti molekule reaktantov, da se lahko pretvorijo v produkte.



Aktivacijska energija brez katalizatorja

Aktivacijska energija s katalizatorjem



Encimi **zmanjšajo aktivacijsko energijo** za potek reakcije, zato reakcija poteka **hitreje in pri nižji temperaturi**.

Primerjava nekatalizirane in katalizirane reakcije

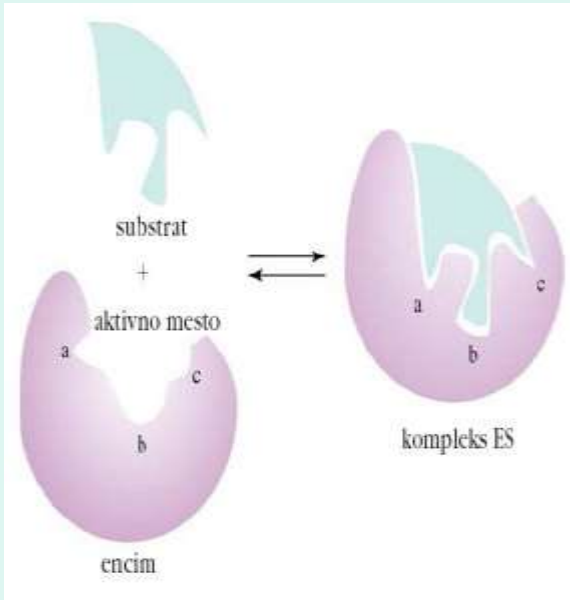
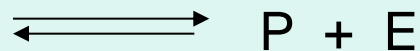
- Nekatalizirana reakcija
 - **S** → **P**
 - ravnotežje
 - **večja** aktivacijska energija
 - **manjša** reakcijska hitrost
 - reakcijski mehanizem preko prehodnega stanja
- Katalizirana z encimom
 - **E + S** → **ES** → **EP** → **E + P**
 - ravnotežje
 - **manjša** aktivacijska energija
 - **večja** reakcijska hitrost
 - reakcijski mehanizem preko drugih prehodnih stanj

Katalizatorji pospešijo hitrost reakcije (znižajo aktivacijsko energijo), ne spremenijo pa ravnotežja reakcije!

Encimska kataliza

Encimska kataliza se prične z vezavo molekule substrata na **aktivno mesto** v encimu

Substrat se veže z šibkimi interakcijami
(**hidrofobne, ionske in vodikove vezi**)



- oblika aktivnega mesta je skoraj zrcalna slika substrata

-encimi kažejo dve vrsti specifičnosti:

absolutno- delujejo samo na določen substrat

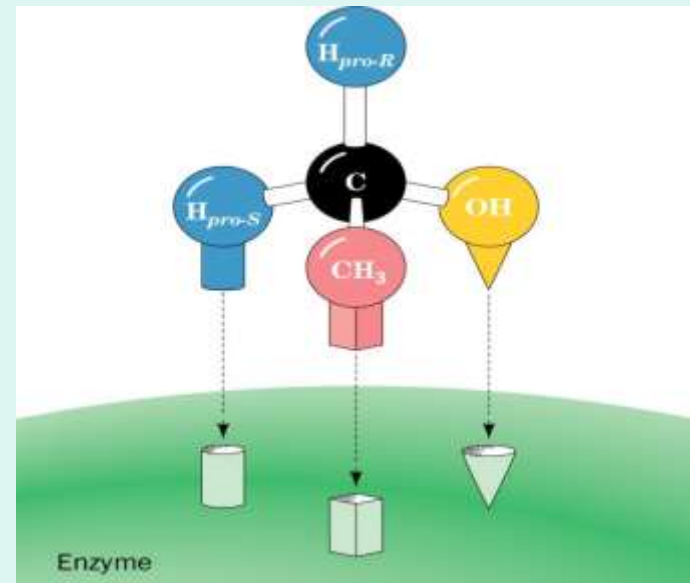
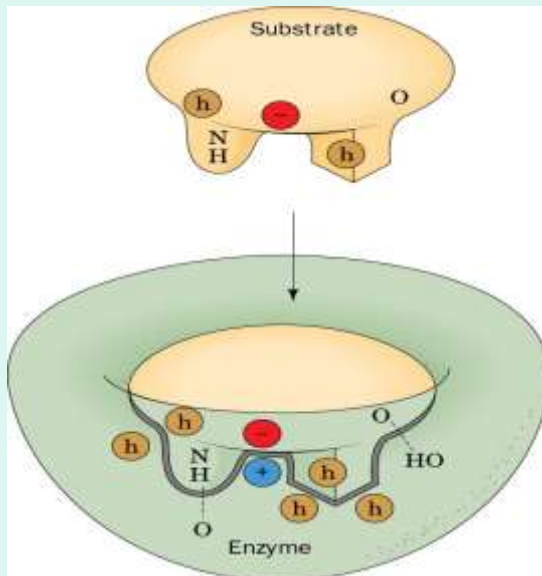
skupinsko- delujejo na določeno funkcionalno skupino večih substratov

Specifičnost-skupine na encimu Ustrezajo skupinam na substratu

-encimi kažejo dve vrsti specifičnosti:

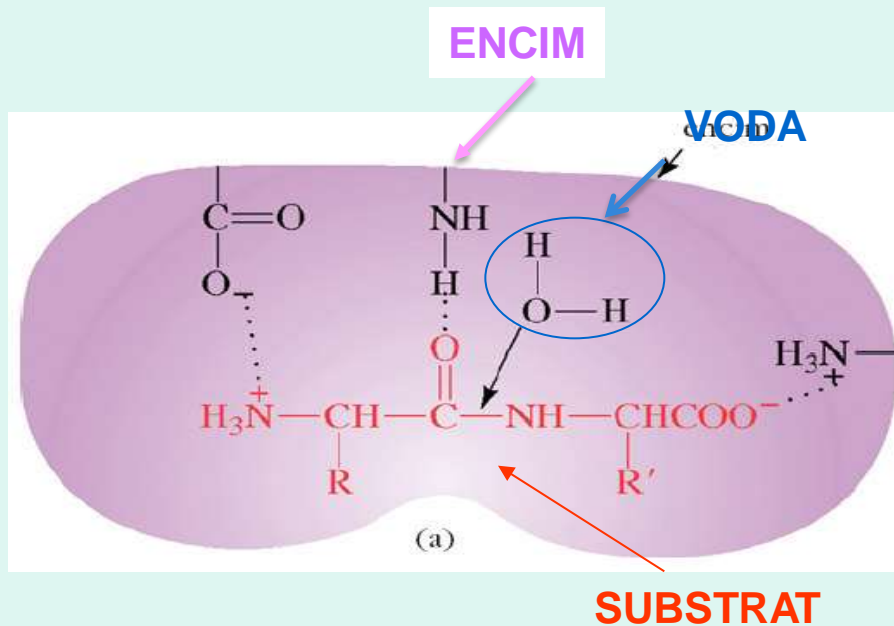
absolutno- delujejo samo na določen substrat

skupinsko- delujejo na določeno funkcionalno skupino večih substratov

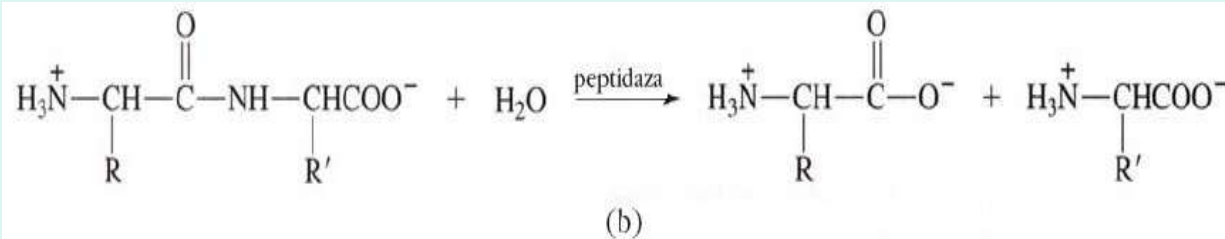


Razgradnja (hidroliza) peptida z encimom peptidazo

Vezava dipeptidne molekule (substrata) na aktivno mesto peptidaze z šibkimi interakcijami, (vodikove in ionske vezi) mu vsili novo konformacijo v kateri je peptidna vez že 'natrgana' (prehodno stanje!)



Aktivacijska energija se zniža zaradi sproščene energije ob nastanku šibkih interakcij med encimom in substratom



AKTIVNO MESTO ENCIMA

Aktivno mesto encima je:

- področje za vezavo substrata, tukaj steče razgradnja S v P
- oblika je skoraj zrcalna slika substrata
- specifično za substrat (absolutna ali skupinska)
- relativno majhna, 3D regija v encimu
- encimska molekula ima majhno število aktivnih mest
- substrat se na začetku veže v aktivno mesto s šibkimi, nekovalentnimi reverzibilnimi vezmi (hidrofobne, ionske in vodikove)

KATALITIČNE LASNOSTI ENCIMOV (POVZETEK)

1. Zvišujejo hitrost reakcije z zniževanjem E_a
2. V reakciji se ne porabljajo in/ali spreminjajo
3. Ne vplivajo na ravnotežje reakcije
4. Navadno delujejo tako, da tvorijo prehodni kompleks z reaktantom in stabilizirajo prehodno stanje

ZGRADBA ENCIMOV

- M = 12.000 –1.000.000 Da
- globularni proteini:
- aktivni samo v nativni konformaciji, 3D struktura (primarna, sekundarna, terciarna, kvartarna)
- enostavni in sestavljeni:



-proteinski del → katalitska funkcija

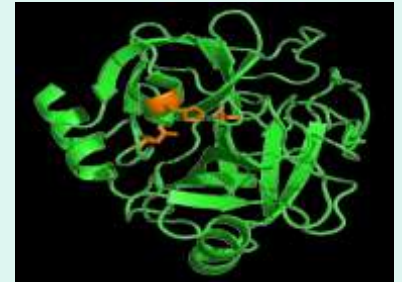
sestavljeni:

-proteinski del + kofaktorji (ioni) → katalitska funkcija

-proteinski del + koencimi (kompleksne organske molekule)

koencim : prost ni vezan na encim

kovalentno vezan (prostetična skupina)



Kovinski ioni – kofaktorji encimov

TABLE 6–1 Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

Vloga je pravilno usmerjanje substrata na aktivno mesto

S = substrat **K = koencim**

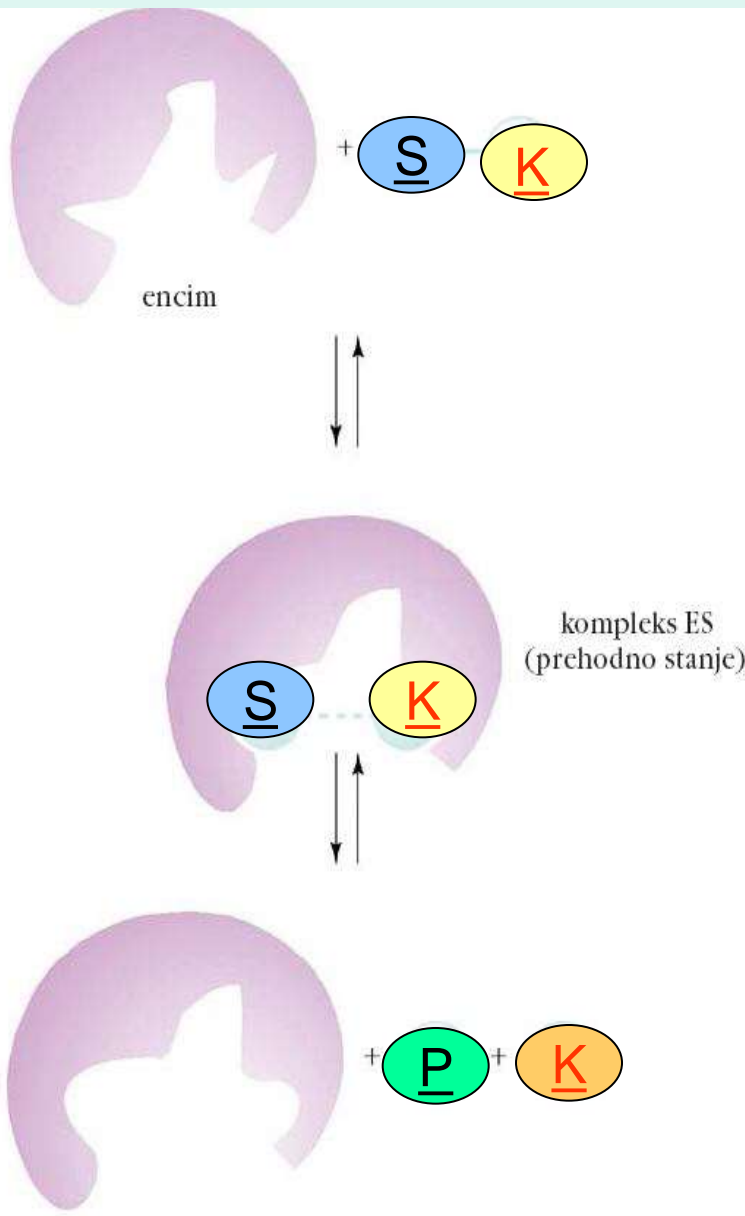
Številni encimi pa za svoje delovanje potrebujejo še koencim

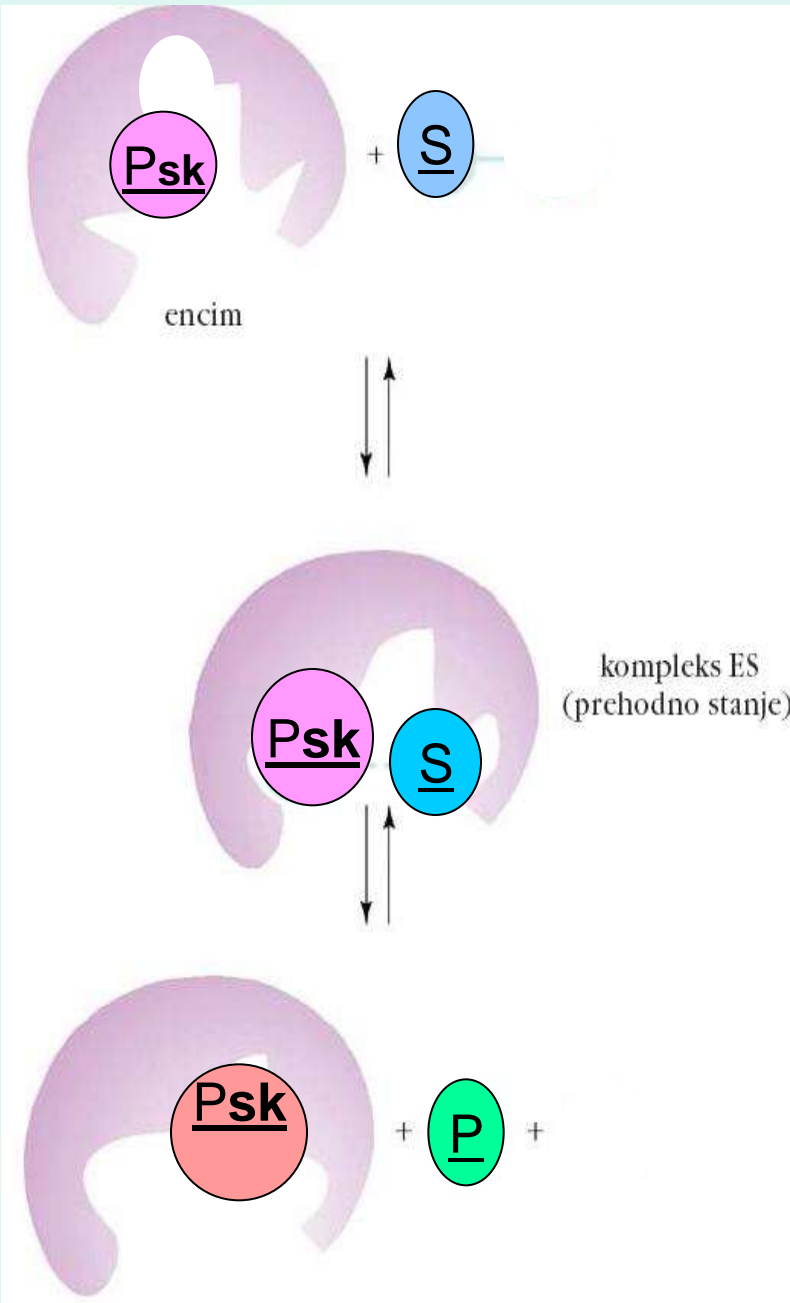
-KOENCIM je organska molekula, ki v aktivno mesto pride skupaj s substratom. In med vsemi tremi partnerji nastane kompleks ESK.

-vezi se med njimi prerazporedijo in iz reakcije izidejo encim, produkt in nekoliko spremenjen koencim.

-ta se lahko regenerira v povratni reakciji

-številni koencimi so po zgradbi nukleotidi.





PROSTETIČNA SKUPINA :

je organska molekula, ki je stalno navzoča (kovalentno povezana) v aktivnem mestu encima.

Po prihodu substrata nastane kompleks ES-Psk,

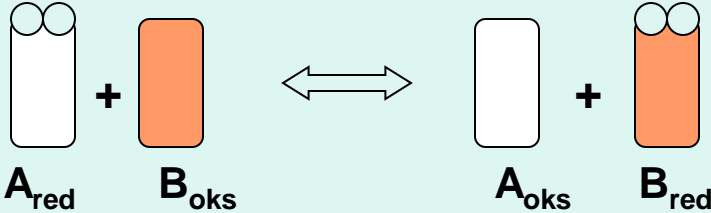
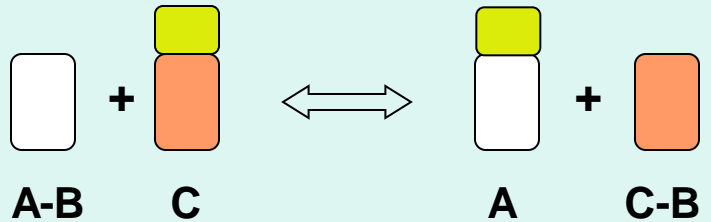
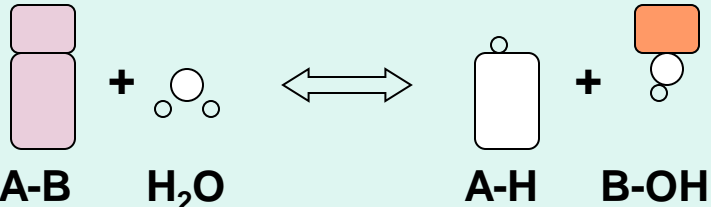
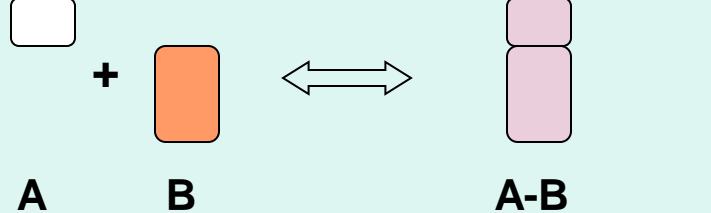
-vezi se prerazporedijo in iz reakcije izidejo produkt in encim z nekoliko spremenjeno prostetično skupino.

tudi nekatere prostetične skupine so po zgradbi nukleotidi.

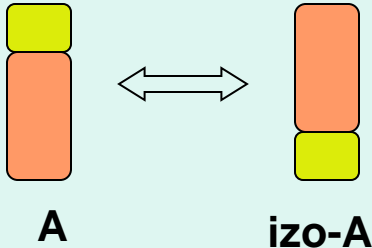
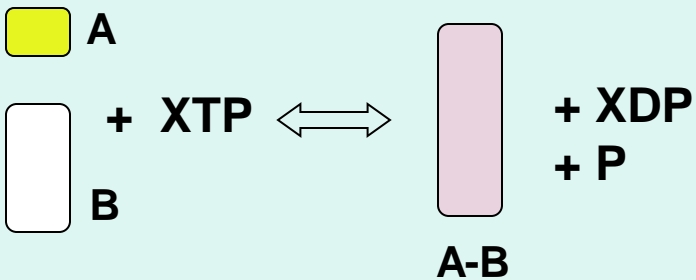
Mednarodna klasifikacija encimov (6 razredov)

1. **oksidoreduktaze** – prenos elektronov in tudi (tudi kot hidridni ion H⁻ in H atom)
2. **transferaze** – prenos skupin z ene na drugo molekulo
3. **hidrolaze** – razcep vezi s hidrolizo prenos skupin na H₂O
4. **liaze** – adicija na dvojno vez/nastanek dvojne vezi
5. **izomeraze** – prenos skupin znotraj molekule → druga izomerna oblika
6. **ligaze** – nastanek kovalentnih vezi C-C, C-S, C-O in C-N (kondenzacijske reakcije ob porabi energije ATP)

Klasifikacija encimov

razred	vrsta reakcije	pomembni podrazredi
1. oksidoreduktaze	 <p style="text-align: center;"> $A_{\text{red}} + B_{\text{oks}} \rightleftharpoons A_{\text{oks}} + B_{\text{red}}$ </p>	dehidrogenaze oksidaze peroksidaze oksigenaze (monooksigenaze, dioksidaze)
2. transferaze	 <p style="text-align: center;"> $A-B + C \rightleftharpoons A + C-B$ </p>	C ₁ -transferaze glikozil-transferaze amino-transferaze fosfo-transferaze (kinaze)
3. hidrolaze	 <p style="text-align: center;"> $A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$ </p>	esteraze (fosfataze) glikozidaze peptidaze amidaze
4. liaze (sintaze)	 <p style="text-align: center;"> $A + B \rightleftharpoons A-B$ </p>	C-C liaze C-O liaze C-N liaze C-S liaze

Klasifikacija encimov (nadaljevanje)

razred	vrsta reakcije	pomembni podrazredi
5. izomeraze		epimeraze <i>cis-trans</i> izomeraze intramolekularene transferaze
6. ligaze (sintetaze) poraba energije!!		C-C ligaze C-O ligaze C-N ligaze C-S ligaze

Inhibicija encimov

V celicah so tudi kemične snovi (produkti reakcij, toksini, zdravila ...) ki zmanjšujejo (inhibirajo) encimsko aktivnost,

Reverzibilni in ireverzibilni inhibitorji

-**ireverzibilna inhibicija**: inhibitor se **kovalentno** veže na encin, kemično ga spremeni, encim je trajno okvarjen!

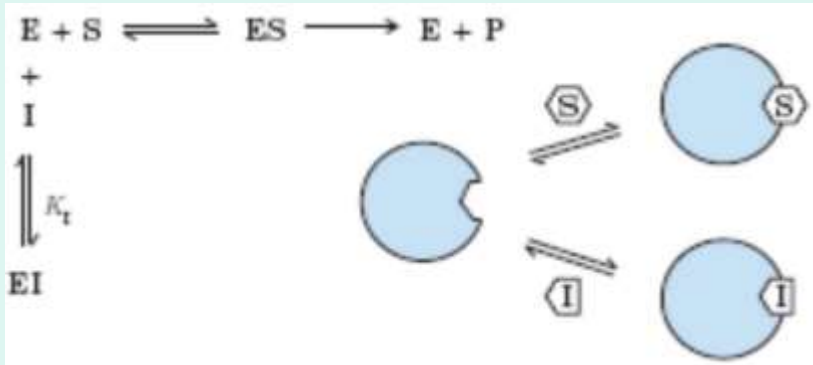
primeri -aspirin inaktivira prostaglandin, zaustavi sintezo prostaglandinov ki sodelujejo pri pojavu bolečine
-živčni bojni strupi, nekateri pesticidi- acetil holinesterazo- živčni prenašalec acetilholin)

reverzibilna inhibicija- inhibitor se veže **z šibkimi nekovalevnimi** vezmi

- kompetitivna
- nekompetitivna
- mešana (npr. nekompetitivna)

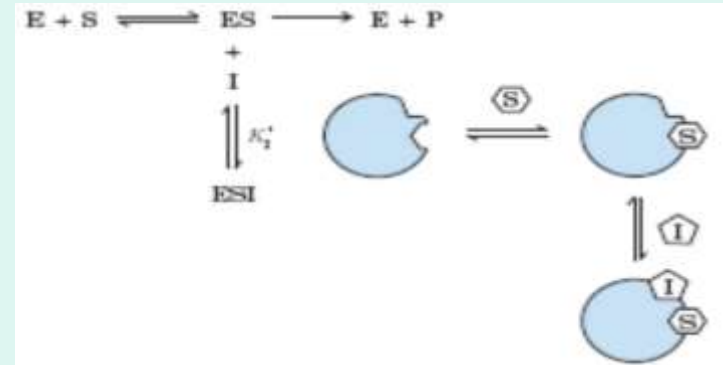
Vrste reverzibilne inhibicije

Kompetitivna inhibicija



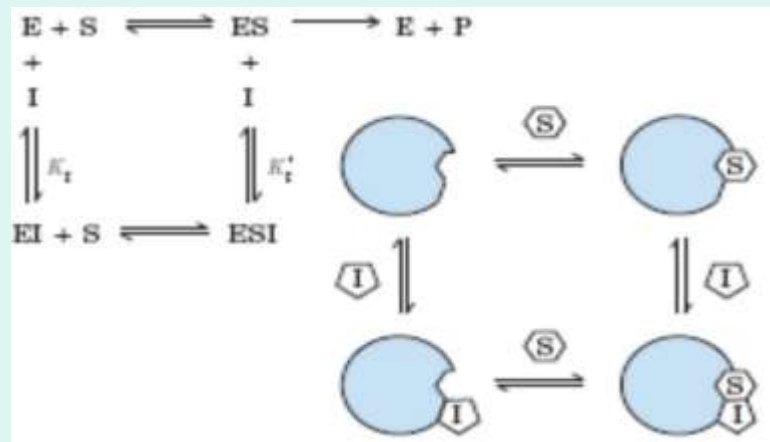
S in **I** sta si podobna in se vežeta na encim na isto mesto, a nikoli sočasno!

Nekompetitivna inhibicija



S in **I** se lahko hkrati vežeta na molekulo encima

Mešana inhibicija



URAVNAVANJE ENCIMSKE AKTIVNOSTI

- Inhibicija je uravnavana na genski ravni z regulacijo sinteze inhibitorjev v celici.
- -Prekomerno ali nezadostno delovanje encimov povzroča bolezni.
- Aktivnosti proteinaz, morajo biti strogo uravnavane, drugače razpad celic.
- Znanih je vrsta naravnih inhibitorjev proteinaz, ki so proteini in se zelo trdno in specifično vežejo na izbrani encim –preprečijo njegovo delovanje.
- PRIMER: Tobačni dim **inhibira aktivnost antitripsina** , ki zato ne deluje - **ne zavira tripsina** v pljučih. Prevelika aktivnost tripsina v pljučih uničuje pljučno tkivo.
Posledica: kronični bronhitis in enfizem pri kadilcih.

ENCIMI V KLINIČNI PRAKSI

- **encimi kot diagnostični indikatorji**
 - zmanjšana aktivnost holinesteraz pri zastrupitvi (pesticidi, bojni strupi)
 - ala-transaminaza in asp-transaminaza – razpad jeter (ciroza, rak...)
 - alkalna fosfataza v krvi – kostne in jetrne bolezni!
 - kislja fosfataza v krvi – rak prostate
 - specifični srčni encimi (LDH, CPK, AST) – infarkt
 - lipaza in amilaza - pankreatitis
- **encimi kot 'razgrajevalci' krvnih strdkov in antitumorski dejavniki**
 - streptokinaza, aktivator plazminogena razgradnja strdkov v krvi
- **dodajanje encimov** (posebno prebavnih) zaradi pomanjkanja ali genske napake

Delovanje encimov - povzetek

- Encimi so zelo zmogljivi katalizatorji. Reakcije pospešijo med 100 – 1000 x
- Znižajo aktivacijsko energijsko in s tem pospešijo reakcijo
- Glavni delež energije za pospešitev reakcije izhaja iz vzpostavitve šibkih vezi (vodikove, hidrofobne,elektrostatske) med substratom in encimom.
- Navadno delujejo tako, da tvorijo prehodni kompleks ES
- Šibke interakcije stabilizirajo prehodno stanje ES
- V reakciji se ne porabljajo in/ali spreminjajo
- Ne vplivajo na ravnotežje reakcije

KOENCIMI

- so snovi, ki sodelujejo v encimsko kataliziranih reakcijah skupaj z encimi
- številni koencimi in prostetične skupine so **po zgradbi nukleotidi**
- lahko izhajajo iz vodotopnih vitaminov (koencimske oblike vitaminov)
- mehanizem delovanja:
 - prosti**; mobilni prenašalci e-ali funkcionalnih skupin
 - vezani**; kovalentno v zgradbo encima prostetična skupina sprejemajo in oddajajo e-ali skupine
- nujni, vendar se kemijsko ne spremenijo

KOENCIMI IN VITAMINI

- Mnogi vitamini so koencimi ali sestavni deli koencimov (prekursorji) □

- Vitamine in koencime delimo na:

- "topne v vodi"

- "topne v maščobah"

- Vitamini topni v maščobah (lipofilni):

A, D, E, K

Vitamini topni v vodi (hidrofilni):

B, C

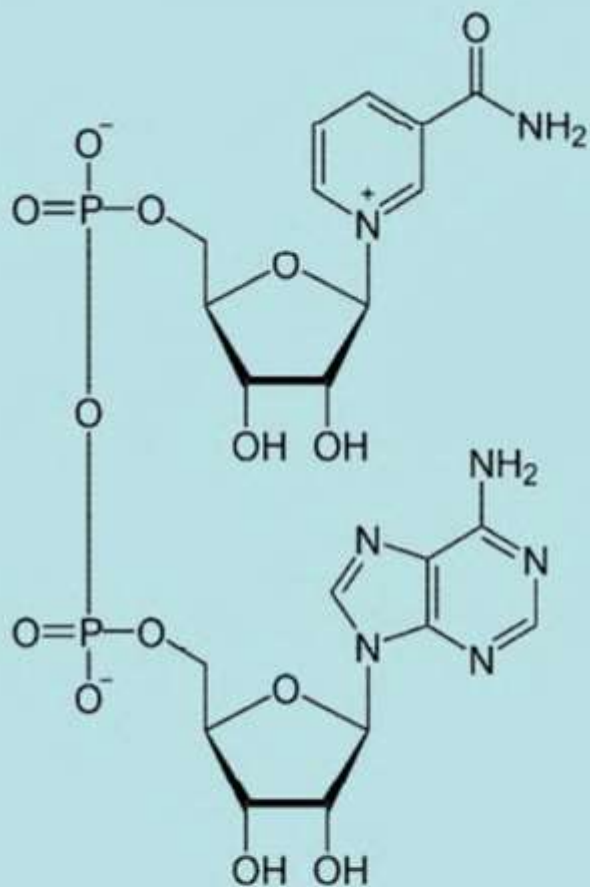
Koencimi in prostetične skupine encimov

PREKURZOR (VITAMIN)	SKUPINA PRENOSA	KOENCIM ALI PROSTETIČNA SKUPINA
tiamin (vitamin B1)	aldehidna skupina	tiamin pirofosfat
riboflavin (vitamin B2)	elektroni in protoni	FMN, FAD
nikotinska kislina (niacin)	hidridni ion (H ⁻)	NAD
pantotenska kislina	acilne skupine	koencim A
piridoksin (vitamin B6)	amino skupine	piridoksal fosfat
vitamin B12	H-atomi in alkilne skupine	(ciano)kobalamin
biotin	CO ₂ (-COOH)	biocitin
folna kislina	skupine z enim C-atomom	tetrahidrofolna kislina
lipojska kislina	elektroni in acilne skupine	lipojska

KOENCIMI OKSIDO-REDUKTAZ

- NAD⁺ (nikotinamid adenin dinukleotid)
- NADP⁺(nikotinamid adenin dinukleotid fosfat)
- FAD (flavin adenin dinukleotid)
- FMN (flavin mononukleotid)-lipoat
- vitamin C (askorbat)
- CoQ (koencim Q, ubikinon), itd.

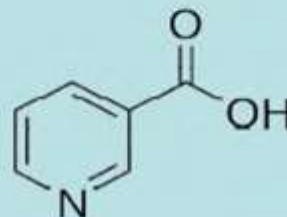
Vitamini kot koencimi– NAD, NADP



NAD⁺, nikotinamid adenin dinukleotid

Dva nukleotida sta povezana s svojima fosfatnima skupinama. Vitaminski (reakcijsko aktivni) del je nikotinamid, adenil pa služi prepoznavanju in sidranju koencima v aktivno mesto encimov.

Glavna vloga NAD⁺ v metabolizmu je prenos elektronov iz ene molekule na drugo. Reakcijo katalizirajo encimi, imenovani oksidoreduktaze.



Vitamin B₃ (niacin, nikotinska kislina)

Pomanjkanje: bolezen pelagra – zaradi kemijske obdelave (rafiniranja) žitnih, predvsem koruznih zrn.

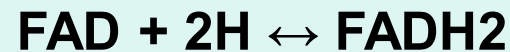
Simptomi: dermatitis, duševne motnje (demencija), diareja ... smrt.

Zdravilo: nikotinamid

Vitamin B2 predhodnik prostetične skupine – FMN, FAD

FAD, flavin adenin dinukleotid, **je prostetična skupina** nekaterih oksidoreduktaz.

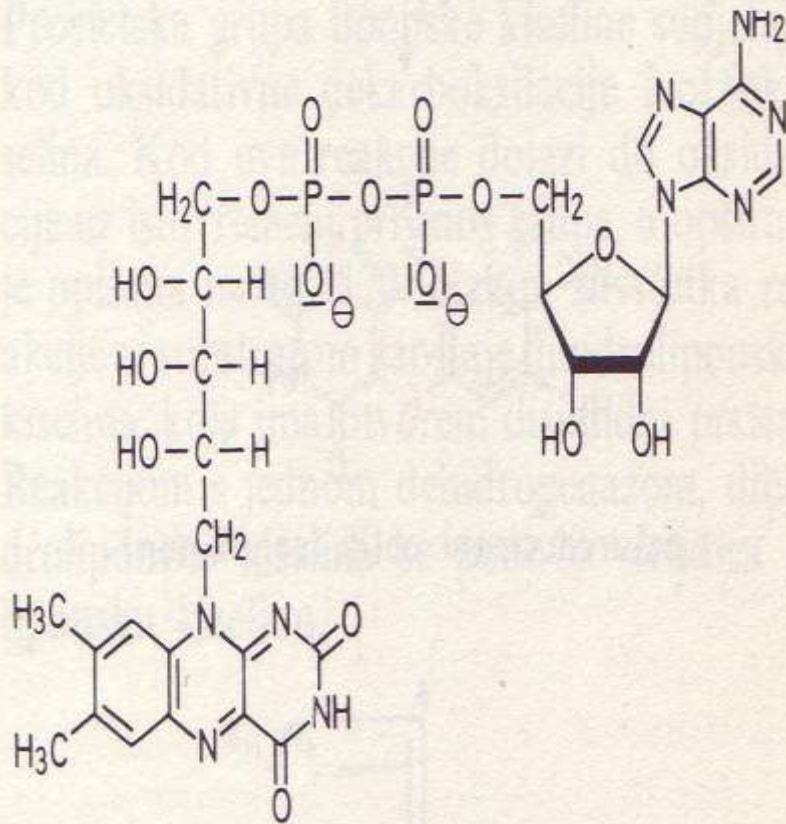
tudi tukaj sta dva nukleotida povezana preko svojih fosfatnih skupin. Reakcijsko aktivni del(vitamin) je riboflavin.



Vitamin B2 (riboflavin)

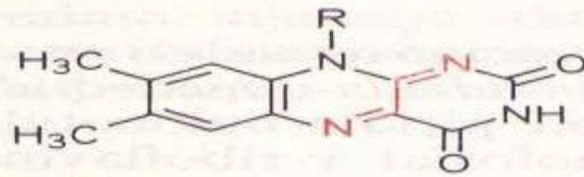
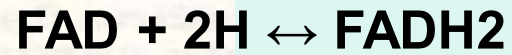
Pomanjkanje: nezadostna prehrana (mlečni proizvodi, jajca, zelenjava, drobovina, paradižnik ...).

Simptomi: zaostajanje v rasti, vnetja ustne votline, oči, genitalnega trakta.

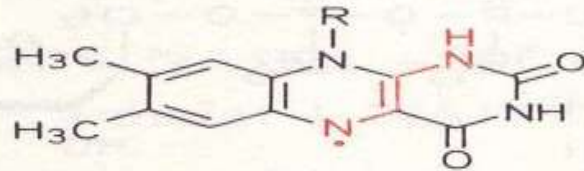
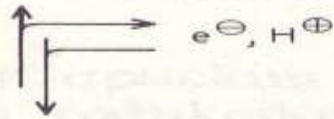


flavin-adenin-dinukleotid
FAD

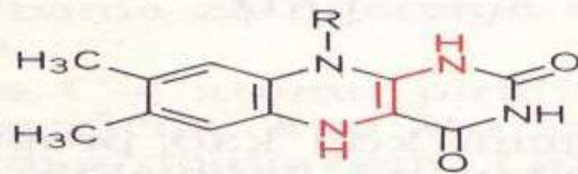
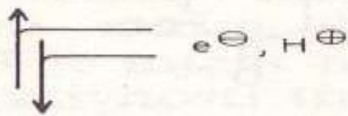
FAD prenaša dva elektrona in dva protona in je trdno vezana na encime



oksidirani oblik (kinon)



polureducirani oblik (semikininon)



reducirani oblik (hidrokinon)

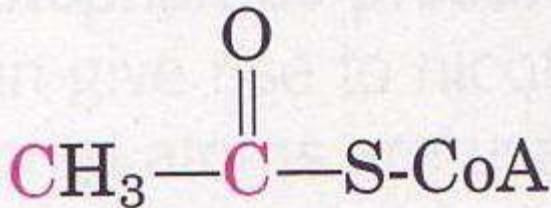
FAD lahko prenaša dva redukcijska ekvivalenta, v obliki atomov vodika.

VITAMIN PANTOTENSKA KISLINA JE PREDHODNIK KOENCIMA A

Koencim A ima pomembno vlogo v
-sintezi in oksidaciji maščobnih kislin
-oksidaciji piruvata v krebsovem ciklu.

Je prenašalec acilnih ostankov organskih
(ogljikovih) kislin.

Acetil-koencim A: med ostankom
ocetne kisline (acetilom) in koencimom
A je "energijsko bogata vez": Ob porabi
ATP je encimsko nastal acetil-koencim
A.



**Vitamin pantotenska
kislina**

Pomanjkanje: je redko

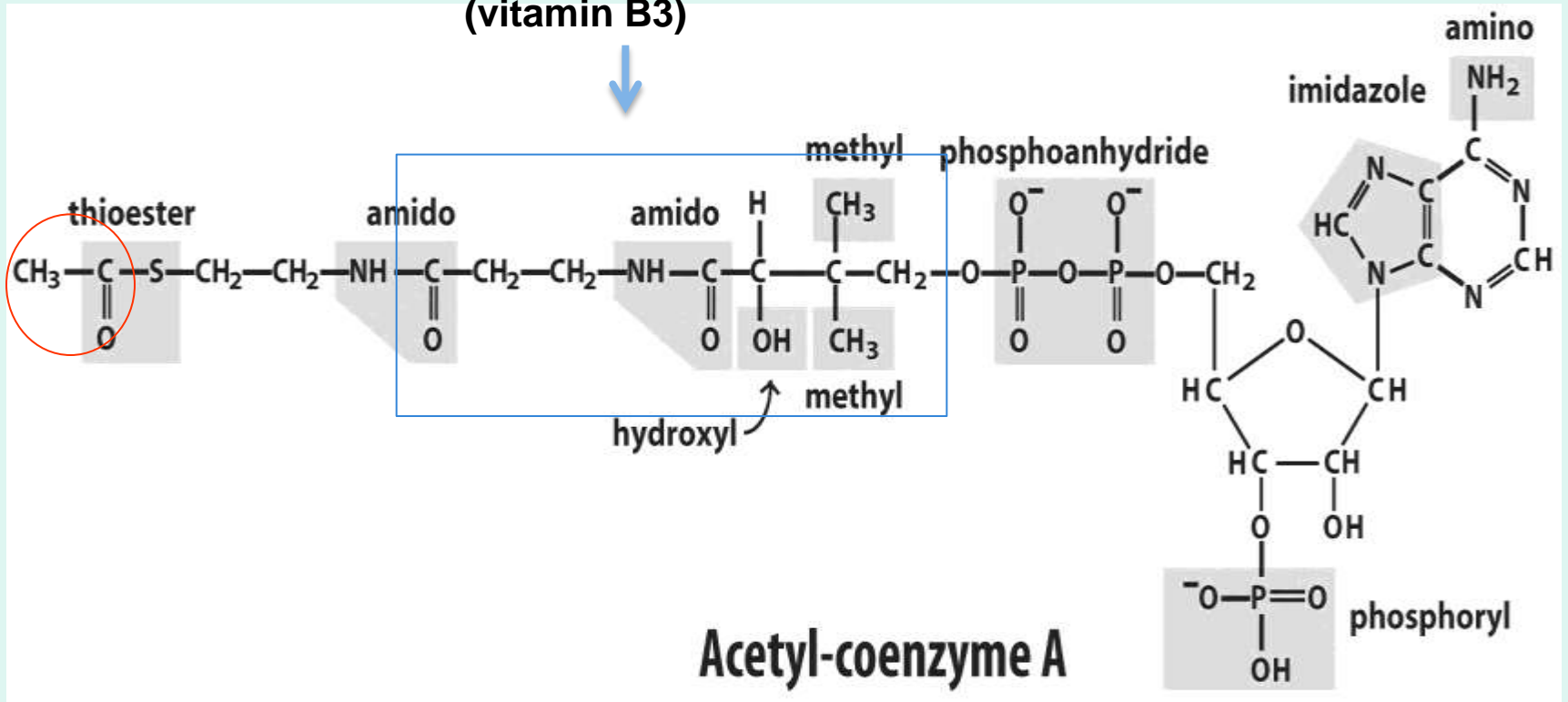
Simptomi: podobni kot
pri pomanjkanju
vitaminov B (nevrološke
motnje, vnetja, utrujenost,
apatija, dermatitis ...).

Zdravilo: izboljšanje
prehrane (zelena
zelenjava).

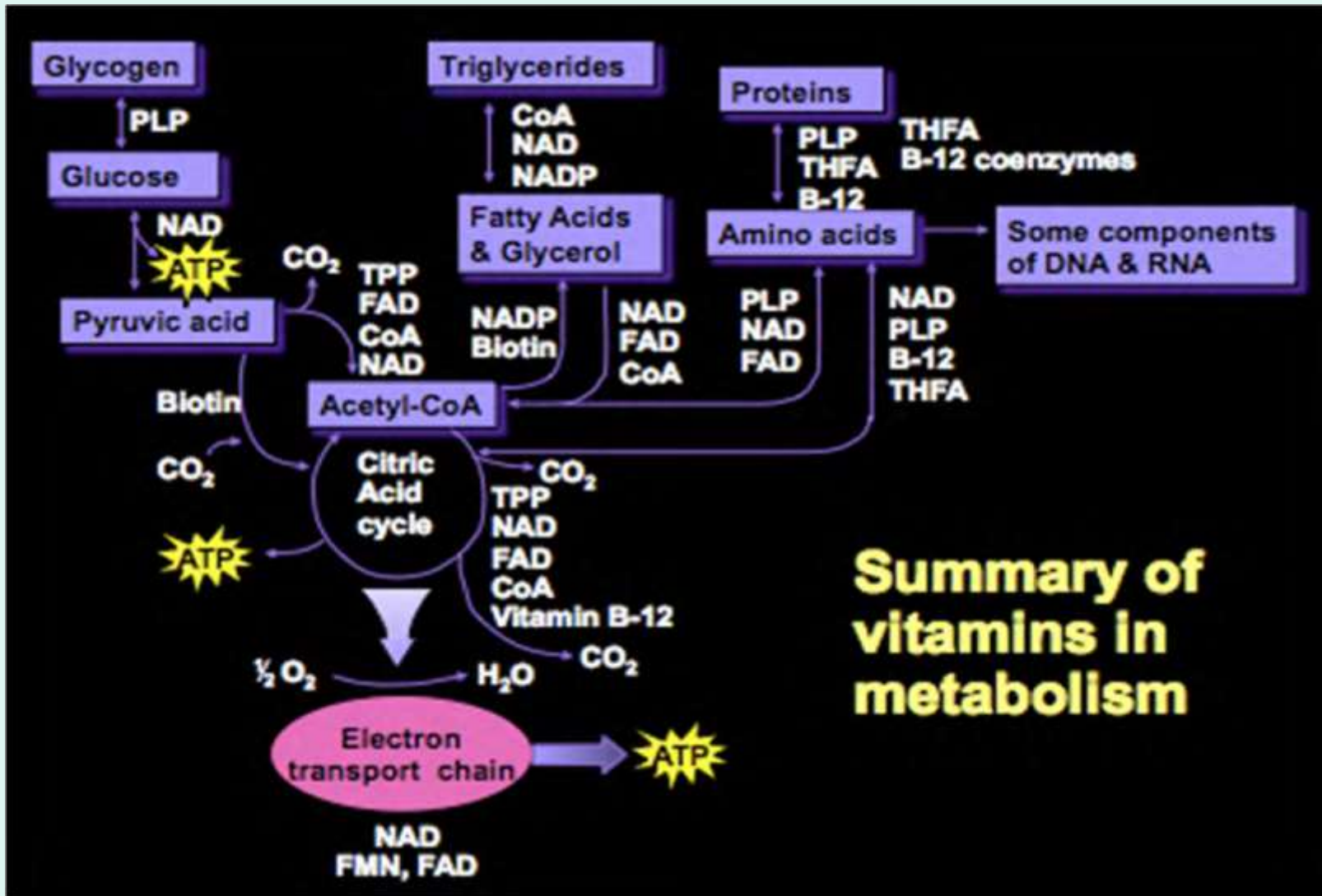
KOENCIMI –PRENAŠALCI ACILNIH SKUPIN: KOENCIM A

Panteinskaskupina
(vitamin B3)

Adenozin



KOENCIMSKE OBLIKE VITAMINOV SO ESENCIALNE KOMPONENTE PRESNOVE



Lipidotopni vitamini

Vitamin A splošno ime : retinol

biološka vloga : absorpcija svetlobe (rodopsin), pomemben za kožo, lase, rast in razvoj kosti

viri: maslo, mastni siri, mastne ribe

Vitamin D kalciferol (D2 in D3)

nastane iz holesterola s pomočjo UV-svetlobe

biološka vloga: regulacija metabolizma kalcija in fosforja za normalno rast kosti viri : ribe meso jajca

Vitamin E alfa-tokoferol

biološka vloga: antioksidant preprečuje oksidativno poškodbo celičnih membran. Viri: rastlinske maščobe in oreščki

Vitamin K je nujno potreben za strjevanje krvi,. Viri živila rastlinskega izvora, zelena zelenjava

• Povzetek

- večino vitaminov moramo dobiti s hrano;
- vodotopni vitamini so prekurzorji koencimov (razen vitamina C)
- koencimi prenašajo elektrone (tudi protone) in različne skupine
- razmeroma majhno število vitaminov omogoča potek velikega števila nujno potrebnih encimskih reakcij!
- hipovitaminoze povzročajo sistemske bolezni, ki se navadno najprej pokažejo na koži in živčevju
- večina teh bolezni se popravi, če dodajamo vitamin