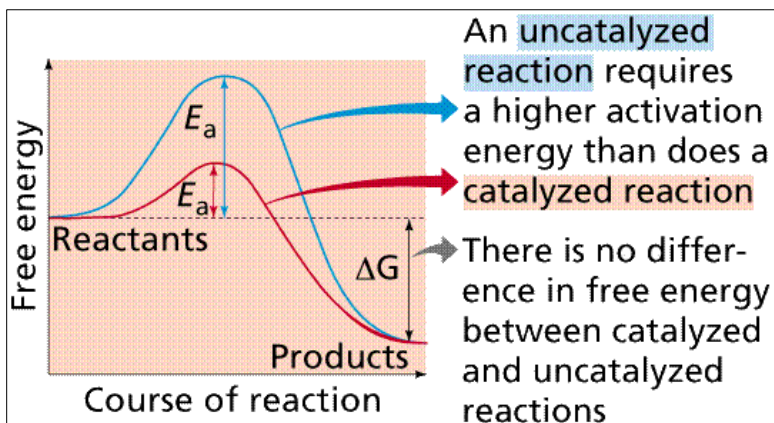


Encimi

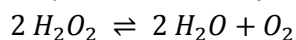
Encimi so biološki katalizatorji, ki pospešijo hitrost kemijskih reakcij v bioloških sistemih. Delujejo tako, da znižajo aktivacijsko energijo za pretvorbo reaktantov (ponavadi jih imenujemo **substrati**) v produkte. **Aktivacijska energija** je energija, ki jo morajo imeti molekule reaktantov, da se lahko pretvorijo v produkte.



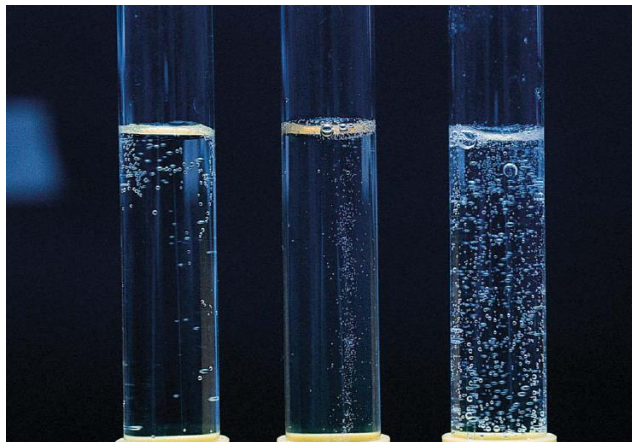
<http://www2.estrellamountain.edu/faculty/farabee/biobk/biobookenzym.html>

Encimi - katalaza

Katalaza je encim, ki ga najdemo v skoraj vseh organizmih, ki živijo v prisotnosti kisika. Vsebuje **hem** kot prostetično skupino. Katalizira reakcijo:



3 % raztopina H_2O_2 . Mehurčki, ki jih vidimo v raztopini so mehurčki nastajajočega O_2 .



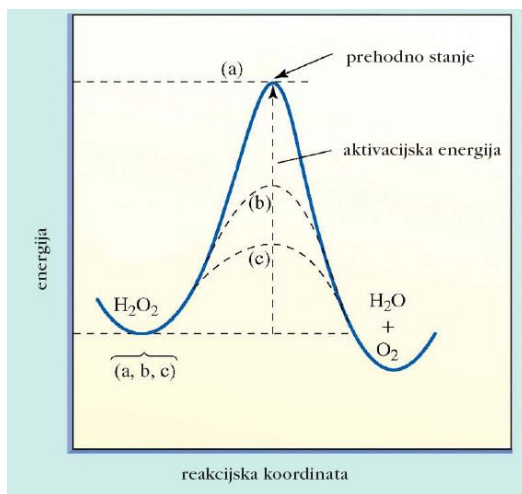
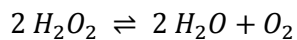
a.) brez dodatkov

b.) + Fe^{3+} sol

c.) + katalaza

Encimi - katalaza

Katalaza je encim, ki ga najdemo v skoraj vseh organizmih, ki živijo v prisotnosti kisika. Vsebuje **hem** kot prostetično skupino. Katalizira reakcijo:



Prehodno stanje je kratko živeča visoko energijska, nestabilna oblika, ki se lahko pretvori v produkte ali pa nazaj v reaktante.

Encimi - lastnosti

Lastnosti encima kot katalizatorja:

1. Poveča hitrost reakcije tako, da zniža aktivacijsko energijo
2. Med reakcijo se ne porabi in se trajno ne spremeni.
3. Ne vpliva na ravnotežje reakcije, ampak le na hitrost, s katero dosežemo ravnotežje.
4. Z reaktanti običajno tvori začasni kompleks in tako stabilizira prehodno stanje.

Encimi - lastnosti

Nekateri encimi za svoje delovanje potrebujejo še neproteinsko komponento – **kofaktor**.

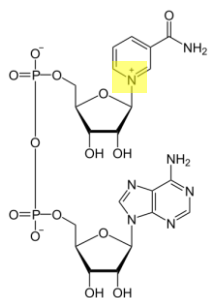
Kofaktorji so lahko:

- **kovinski ioni**
- **koencimi** – šibko oz. prehodno vezane organske molekule
- **prostetične skupine** – tesno oz. stalno vezane organske molekule (npr. hem)

V primerih encimov, ki za svoje delovanje potrebujejo kofaktorje, encim z vezanim kofaktorjem imenujemo **holoencim**, proteinsko komponento brez kofaktorja pa imenujemo **apocim**.

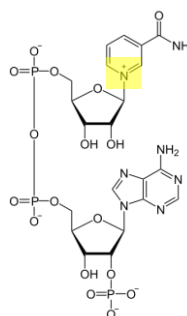
Koencimi

Večino koencimov ljudje sintetiziramo iz prekurzorjev, ki jih moramo zaužiti s hrano – **vitaminov**. Nekaj primerov pogostejših koencimov ter njihovih prekurzorjev:



NAD⁺

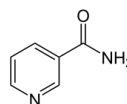
(nikotinamid adenine dinukleotid)



NADP⁺

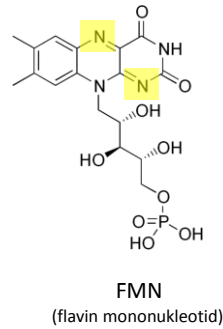
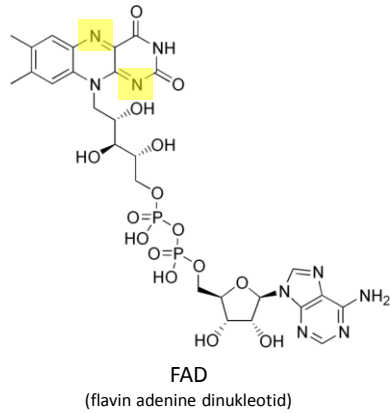
(nikotinamid adenine dinukleotid fosfat)

Sodelujeta v redoks reakcijah – NAD⁺ pretežno v katabolnih, NADP⁺ pretežno v anabolnih. Sintetizirata se iz **niacina** (nikotinamid).

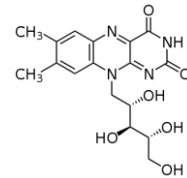


Koencimi

Večino koencimov ljudje sintetiziramo iz prekurzorjev, ki jih moramo zaužiti s hrano – **vitaminov**. Nekaj primerov pogostejših koencimov ter njihovih prekurzorjev:

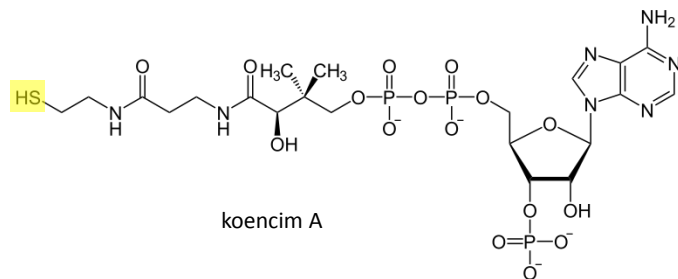


Sodelujeta v reakcijah oksidacije. Sintetizirata se iz **riboflavina** (vitamin B₂).

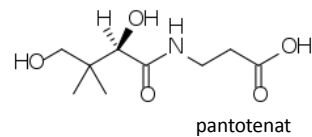


Koencimi

Večino koencimov ljudje sintetiziramo iz prekurzorjev, ki jih moramo zaužiti s hrano – **vitaminov**. Nekaj primerov pogostejših koencimov ter njihovih prekurzorjev:

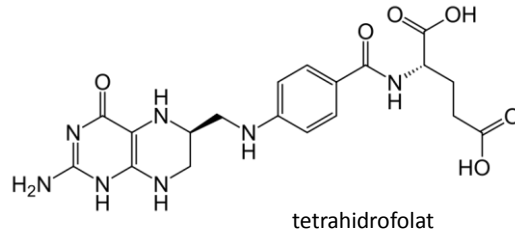


Deluje kot prenašalec vmesnih produktov v razgradnji maščobnih kislin in glukoze. Za njegovo biosintezo je potreben pantotenat (vitamin B₅).

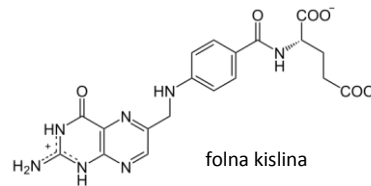


Koencimi

Večino koencimov ljudje sintetiziramo iz prekurzorjev, ki jih moramo zaužiti s hrano – **vitaminov**. Nekaj primerov pogostejših koencimov ter njihovih prekurzorjev:

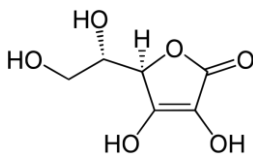


Sodeluje pri reakcijah prenosa metilnih skupin – pomemben zlasti pri sintezi DNA in RNA ter v mehanizmih preprečevanja poškodb DNA. Sintetizira se iz **folne kisline**. Zadosten vnos folne kisline je zlasti pomemben pri nosečnicah. Zaviralci biosinteze tetrahidrofolata (metotreksat) se uporabljajo za zdravljenje raka ter za sprožanje splava pri nosečnicah (npr. pri izvenmaternični nosečnosti).



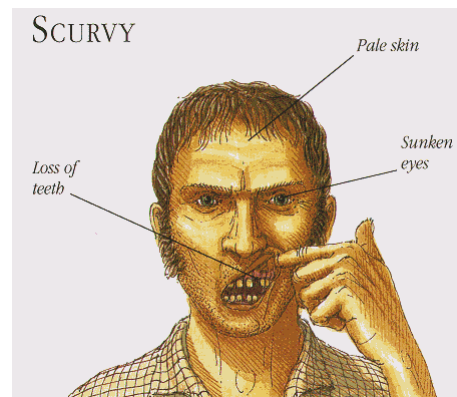
Koencimi

Večino koencimov ljudje sintetiziramo iz prekurzorjev, ki jih moramo zaužiti s hrano – **vitaminov**. Nekaj primerov pogostejših koencimov ter njihovih prekurzorjev:



L-askorbinska kislina (vitamin C)

L-askorbinska kislina je pomemben antioksidant in koencim v reakcijah hidroksilacije prolina in lizina v kolagenu. Njeno pomanjkanje povzroča skorbut.



Encimi – poimenovanje

Encime običajno imenujemo na osnovi substrata (reaktanta) reakcije, kateremu pripnemo končnico *-aza*.

tirozinaza –oksidacija tirozina

celulaza – hidroliza celuloze

nitrogenaza – fiksacija dušika (pretvorbo N_2 v NH_3)

Komisija za encime (EC) pri IUBMB teži k sistematičnem poimenovanju encimov, tako da bi vsak encim poimenovali glede na reakcijo, ki jo katalizira. Kljub temu so v uporabi še mnoga stara trivialna imena, zlasti v primerih ko je težko definirati substrate in/ali produkte reakcije ali pa so sistematična poimenovanja „nerodna“. Nekaj pogostih trivialnih imen:

katalaza – razgradnja peroksida

tripsin – hidroliza proteinov (peptidaza oz. proteaza)

pepsin – peptidaza iz želodca

katepsin – peptidaza iz lizosoma

Encimi - klasifikacija

EC komisija vsak encim klasificira na osnovi kemijske reakcije, ki jo katalizira. Klasifikacija poteka na štirih nivojih (oblika zapisa 1.1.1.1), od katerih vsak naslednji bolj natančno opiše katalizirano reakcijo.

Primer z wikipedije:

Every enzyme code consists of the letters "EC" followed by four numbers separated by periods. Those numbers represent a progressively finer classification of the enzyme.

For example, the [tripeptide aminopeptidases](#) have the code "EC 3.4.11.4", whose components indicate the following groups of enzymes:

- EC 3 enzymes are [hydrolases](#) (enzymes that use [water](#) to break up some other molecule)
- EC 3.4 are hydrolases that act on [peptide bonds](#)
- EC 3.4.11 are those hydrolases that cleave off the amino-terminal [amino acid](#) from a [polypeptide](#)
- EC 3.4.11.4 are those that cleave off the amino-terminal end from a [tripeptide](#)

Encimi – razredi encimov

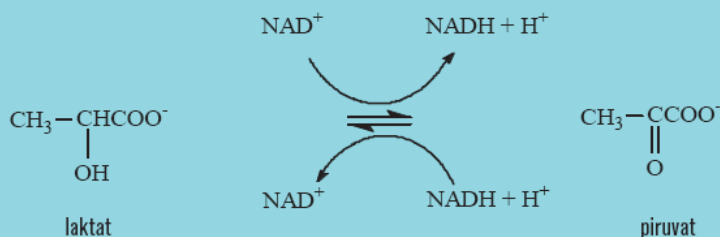
Poznamo šest razredov encimskih reakcij:

klasifikacijsko število	razred encimov	vrsta reakcije, ki jo katalizirajo
1	oksidoreduktaze	prenos elektronov, navadno v obliki hidridnih ionov ali vodikovih atomov
2	transferaze	prenos funkcionalnih skupin z ene molekule na drugo
3	hidrolaze	razcep vezi s hidrolizo
4	liaze	nastanek dvojnih vezi z odvzgom skupin ali adicija skupin na dvojne vezi
5	izomeraze	pretvorba enega izomera v drugega s prenosom skupin znotraj molekule
6	ligaze	z razgradnjo ATP sklopljena tvorba vezi C-C, C-S, C-O in C-N

Encimi – oksidoreduktaze

laktat dehidrogenaza

oksidoreduktaza



trivialno ime: laktat-dehidrogenaza

sistematično ime: L-laktat: NAD^+ -oksidoreduktaza

klasifikacijska številka: 1.1.2.3

Encimi – transferaze

DNA polimeraza



$[dNMP]_n$ = DNA z n nukleotidi

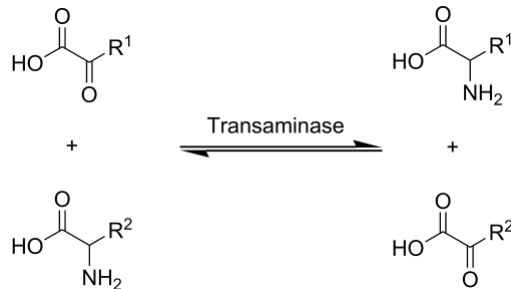
$[dNMP]_{n+1}$ = DNA z $n+1$ nukleotidi

PP_i = pirofosfat

trivialno ime: DNA-polimeraza

sistematično ime: deoksinukleozidtrifosfat: DNA-deoksinukleotidiltransferaza, ki jo usmerja DNA
klasifikacijska številka: 2.7.7.7

transaminaza

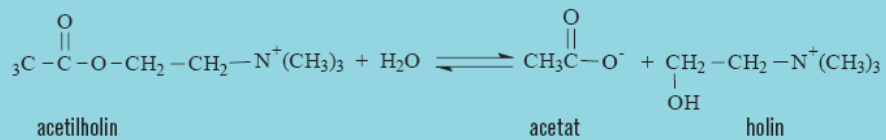


<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Transaminierung.svg>

Encimi – hidrolaze

acetilholinesteraza

hidrolaza



trivialno ime: acetilholinesteraza

sistematično ime: acetilholin-acetilhidrolaza

klasifikacijska številka: 3.1.1.7

Encimi – liaze

karbonska anhidraza

liaza



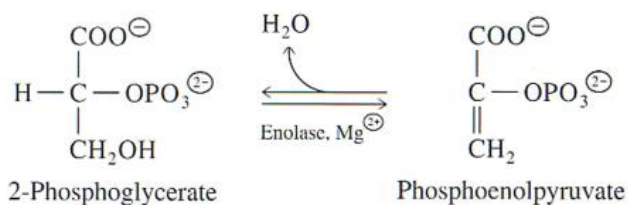
ogljikova kislina

trivialno ime: karboanhidraza

sistematično ime: karbonat-hidroliaza

klasifikacijska številka: 4.2.1.1

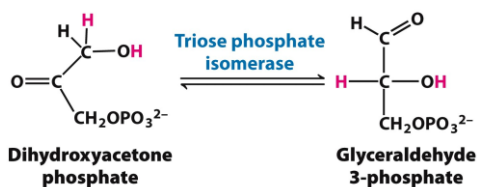
enolaza



web.campbell.edu

Encimi – izomeraze

triozafosfat izomeraza



Unnumbered 16 p458c
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

trivialno ime: triozafofat-izomeraza

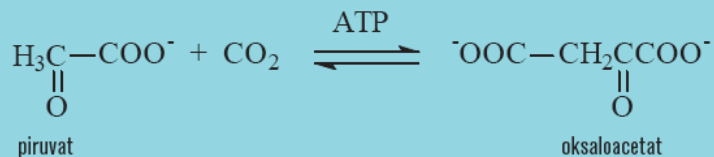
sistematično ime: D-gliceraldehid-3-fosfat-ketoizomeraza

klasifikacijska številka: 5.3.1.1

Encimi – ligaze

piruvat karboksilaza

ligaza



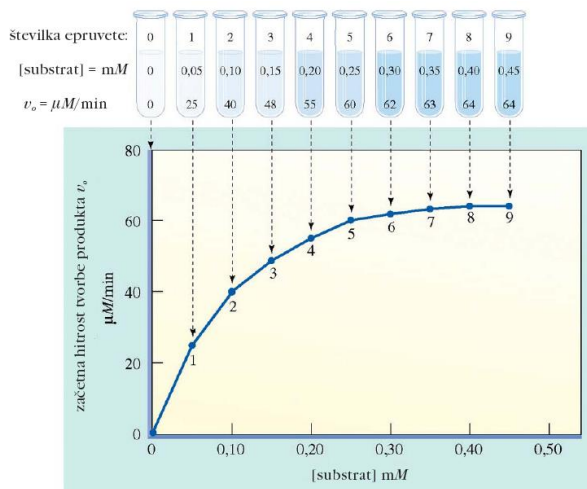
trivialno ime: piruvat-karboksilaza

sistematično ime: piruvat: CO₂-ligaza (ob sproščanju ADP)

klasifikacijska številka: 6.4.1.1

Kinetične lastnosti encimov

Encimi imajo v primerjavi z nebiološkimi katalizatorji nekatere posebne kinetične lastnosti. Najenostavneje njihove kinetične lastnosti zasledujemo v sistemu, kjer uporabimo koncentracije encimov, ki so bistveno nižje od koncentracij substratov. Pod temi pogoji izmerimo začetno hitrost reakcije v_0 , ki je enaka hitrosti razgradnje substratov oz. nastajanja produktov.



Hitrost reakcije se z naraščanjem koncentracije substrata približuje asimptoti. Pride do nasičenja encima s substratom.

Kinetične lastnosti encimov

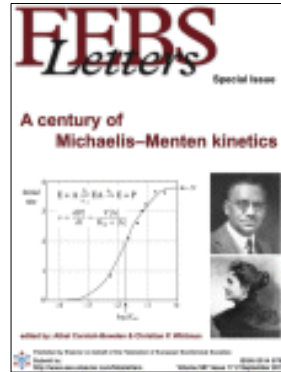
Najenostavnejši sistem encimsko kataliziranih reakcij lahko opišemo z **Michaelis-Mentenovo enačbo**.



Leonor Michaelis
(1875-1949)



Maud Menten
(1879-1960)



Michaelis-Mentenova enačba

Najenostavnejši sistem encimsko kataliziranih reakcij lahko opišemo z Michaelis-Mentenovo enačbo. Reakcijsko shemo za ta sistem zapišemo v obliki:



ES ... kompleks encim-substrat

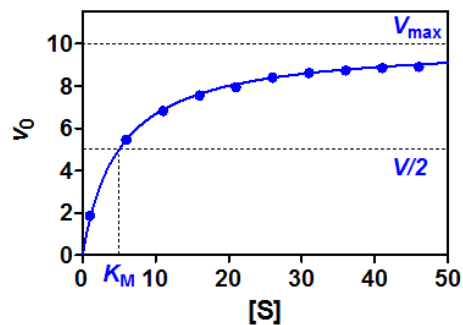
Začetno hitrost reakcije opišemo z enačbo:

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

Kjer je V_{max} mejna hitrost, K_M pa Michaelisova konstanta.

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

K_M nam pove **afiniteto** encima za substrat.



Michaelis-Mentenova enačba

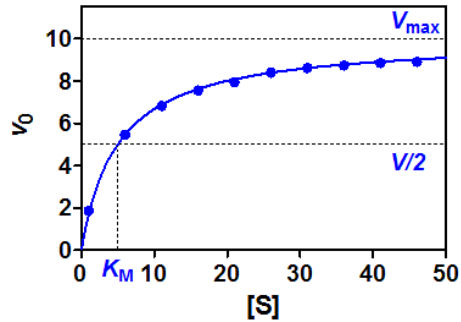
$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$



$$[S] \ll K_M \Rightarrow v_0 = \frac{V_{max}}{K_M} [S]$$

$$[S] = K_M \Rightarrow v_0 = \frac{V_{max}[S]}{2[S]} = \frac{V_{max}}{2}$$

$$[S] \gg K_M \Rightarrow v_0 = \frac{V_{max}[S]}{[S]} = V_{max}$$



Iz vrednosti V_{max} lahko določimo še vrednost pretvorbena štrevila k_3 po formuli:

$$V_{max} = k_3[E]_T$$

kjer je $[E]_T$ celokupna koncentracija encima v reakcijski zmesi.

Primeri vrednosti K_M za različne encime in njihove substrate

encim	substrat	K_M (mM)
katalaza	H_2O_2	0,001
heksokinaza (iz možganov)	ATP	0,4
	D-glukoza	0,05
	D-fruktoza	1,5
karboanhidraza	HCO_3^-	9
kimotripsin	gliciltirozinilglicin	108
	N-benzoiltirozinamid	2,5
β -galaktozidaza	laktoza	4,0
penicilinaza	benzilpenicilin	0,050
piruvat-karboksilaza	ATP	0,060
	piruvat	0,40
	HCO_3^-	1,0
ribuloza-1,5-bisfosfat-karboksilaza (rubisco)	ribuloza-1,5-bisfosfat	0,028
	CO_2	0,009
ribuloza-1,5-bisfosfat-oksigenaza (rubisco)	ribuloza-1,5-bisfosfat	0,028
	CO_2	0,535

Primeri vrednosti k_3 za različne encime in njihove substrate

encim	substrat	k_3 [s^{-1}]
katalaza	H_2O_2	40 000 000
karboanhidraza	HCO_3^-	400 000
acetilholin-esteraza	acetilholin	25 000
penicilinaza	benzilpenicilin	2000
laktat-dehidrogenaza	laktat	1000
kimotripsin	gliciltiroznilglicin	100
DNA-polimeraza	DNA	15
ribuloza-1,5-bisfosfat-karboksilaza	ribuloza-1,5-bisfosfat + CO_2	3,3
ribuloza-1,5-bisfosfat-oksigenaza	ribuloza-1,5-bisfosfat + O_2	2,4

Konstanta specifičnosti

Če poznamo vrednosti K_M in k_3 za par encim-substrat lahko izračunamo t.i. konstanto specifičnosti, ki velja kot merilo za celokupno učinkovitost encimske katalize.

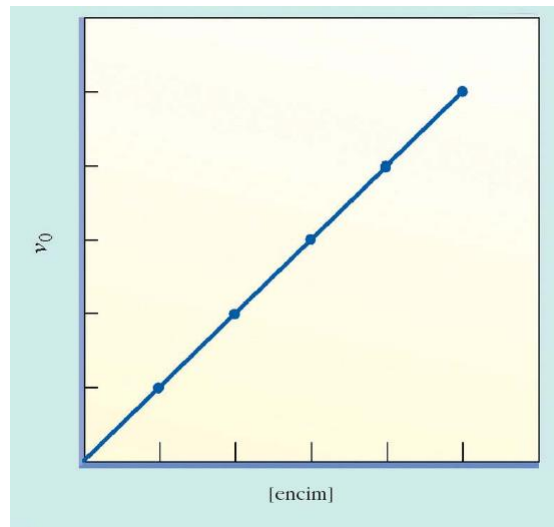
$$\text{konstanta specifičnosti} = \frac{k_3}{K_M} \quad (M^{-1}s^{-1})$$

Če bi vsak trk encima in substrata privedel do pretvorbe substrata v produkt, bi bila hitrost reakcije omejena le s hitrostjo difuzije molekul v raztopini, ki je za take molekule v območju med 10^8 in $10^9 M^{-1} s^{-1}$. Vrednosti k_3/K_M za nekatere encime se približajo tem vrednostim. Imenujemo jih *popolni encimi*.

encim	substrat	k_3 (s^{-1})	K_M (M)	k_3/K_M ($M^{-1} s^{-1}$)
acetilholinesteraza	acetilholin	$1,4 \times 10^4$	9×10^{-5}	$1,6 \times 10^8$
katalaza	H_2O_2	1×10^7	$2,5 \times 10^{-2}$	4×10^8
fumaraza	fumarat	8×10^2	5×10^{-6}	$1,6 \times 10^8$
karboanhidraza	CO_2	1×10^6	$1,2 \times 10^{-2}$	$8,3 \times 10^7$

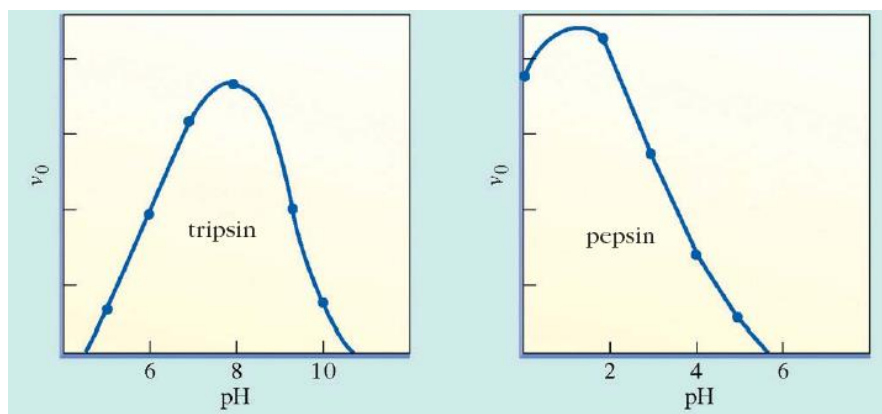
Značilnosti encimskih reakcij

Odvisnost hitrosti reakcije od koncentracije encima



Značilnosti encimskih reakcij

Odvisnost hitrosti reakcije od pH



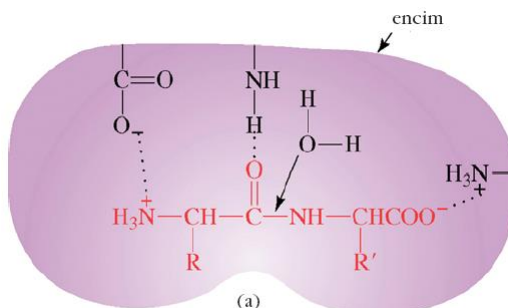
Tripsin – v dvanajstniku
Pepsin – v želodcu

Delovanje encimov – aktivno mesto

Kataliza kemijske reakcije poteka v mestu encima, ki mu rečemo **aktivno mesto** in ima naslednje lastnosti:

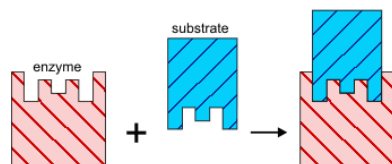
1. Je **specifično** – prepozna le nekatere molekule – substrate. Specifičnost je lahko **absolutna** – prepozna le točno določen substrat, ali **skupinska** – prepozna le substrate določenega tipa (npr. peptide, alkohole, itd.)
2. Aktivno mesto predstavlja malo področje v okviru celotne strukture proteina.
3. Substratne molekule se v aktivno mesto vežejo s šibkimi nekovalentnimi reverzibilnimi interakcijami.

Shematski primer vezave dipeptida v aktivno mesto encima preko šibkih interakcij (prikazanih s prekinjenimi črtami). Molekula vode deluje kot nukleofil, ki hidrolizira peptidno vez.



Delovanje encimov – vezava substrata v aktivno mesto

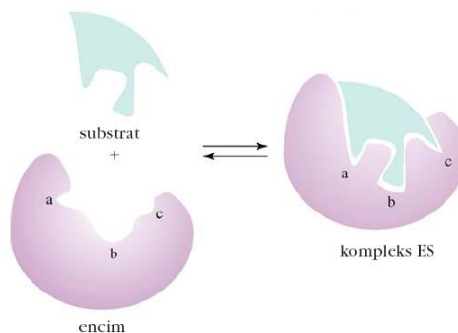
Model ključa in ključavnice



[http://www.rsc.org/Education/Teachers/ Resources/cfb/images/07aa.gif](http://www.rsc.org/Education/Teachers/Resources/cfb/images/07aa.gif)

Aktivno mesto je že samo po sebi komplementarno strukturi substrata.

Model inducirane prilagoditve

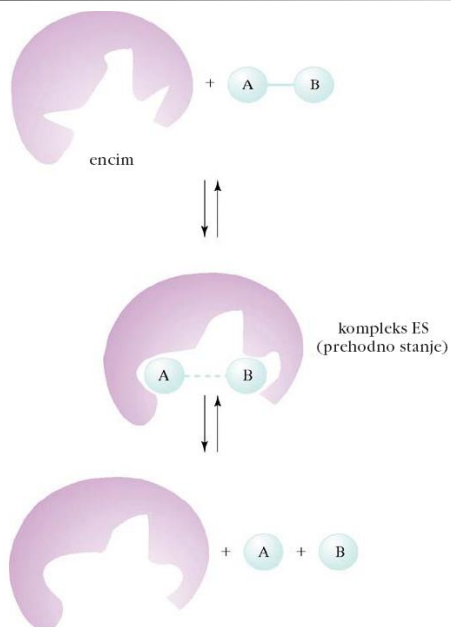


Aktivno mesto se prilagodi obliki substrata.

Delovanje encimov – vezava substrata v aktivno mesto

Model analoga prehodnega stanja

Predpostavlja da substrat ob vezavi v aktivno mesto preide v strukturo prehodnega stanja, ki se stabilizira preko interakcij z encimom.



Delovanje encimov – mehanizmi encimske katalize

- 1. Kislinsko-bazna hidroliza** – ostanki v aktivnem mestu delujejo kot kisline oz. baze pri prenosu protonov.
- 2. Kataliza s kovinskim ionom:**
 - pomaga pravilno orientirati substrat
 - polarizira vez, kjer bo potekla reakcija ali stabilizira negativni naboj intermedjata
 - sodeluje pri prenosu elektronov
- 1. Kovalentna kataliza** – nukleofilna skupina na encimu s substratom tvori kovalentno povezan intermediat.

Inhibicija encimov

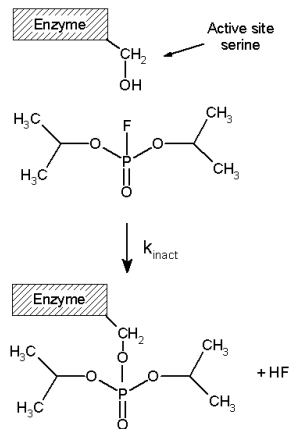
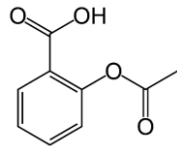
Inhibitorji so molekule, ki se vežejo na encim in s tem zavrejo njegovo delovanje.

V osnovi inhibitorje razdelimo na **ireverzibilne** in **reverzibilne**.

Ireverzibilni inhibitorji (inaktivatorji) tvorijo kovalentno ali zelo močno nekovalentno vez z encimom in ga s tem trajno onesposobijo.

Primer: diisopropil fluorofosfat je živčni strup, ki deluje kot ireverzibilni inhibitor encima acetilholinesteraza (desno).

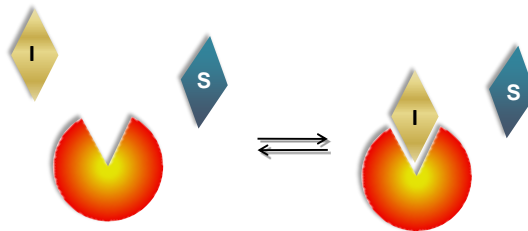
Aspirin (acetilsalicilna kislina, spodaj) deluje kot ireverzibilni inhibitor encima ciklooksigenaza.



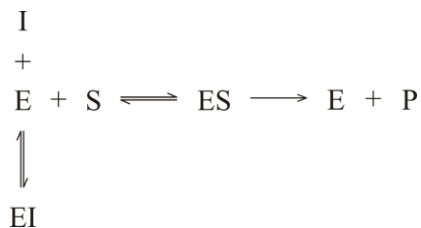
Reverzibilni inhibitorji

Reverzibilni inhibitorji se vežejo na encim, a lahko od njega tudi oddisociirajo.

Najpogostejša vrsta inhibitorjev v naravi so **kompetitivni inhibitorji**, ki se vežejo v aktivno mesto encima in s tem preprečijo vezavo substrata.



Reakcijska shema:

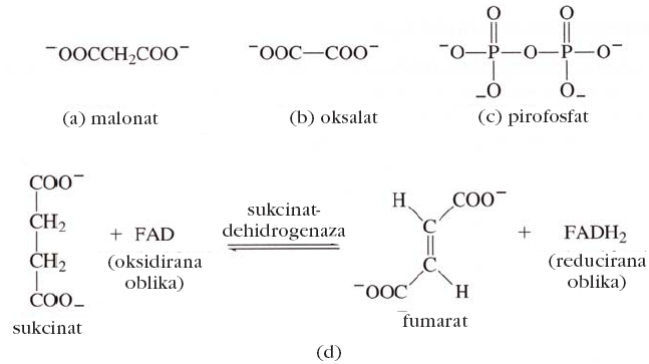


Reverzibilni inhibitorji

Reverzibilni inhibitorji se vežejo na encim, a lahko od njega tudi oddisociirajo.

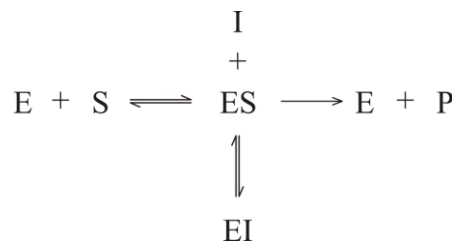
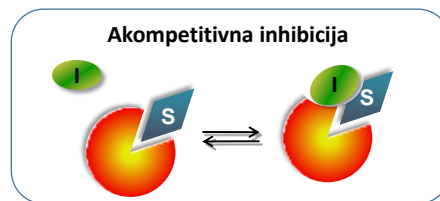
Najpogostejša vrsta inhibitorjev v naravi so **kompetitivni inhibitorji**, ki se vežejo v aktivno mesto encima in s tem preprečijo vezavo substrata.

Primer: sukcinat dehidrogenazo inhibirajo analogi substrata malonat, oksalat in pirofosfat.



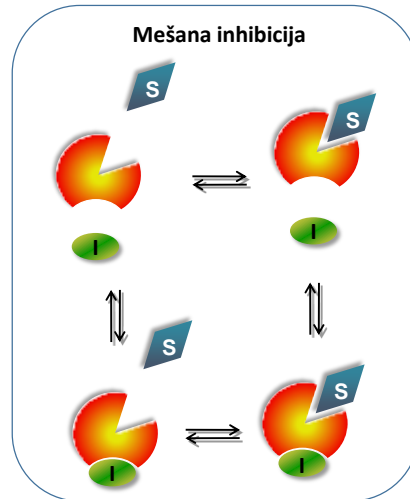
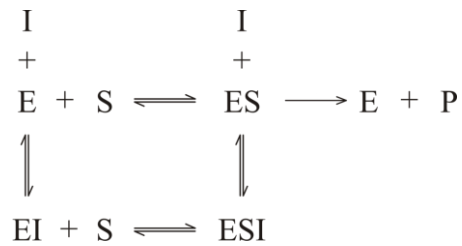
Reverzibilni inhibitorji

V učbenikih obstajata še dve vrsti mehanizmov inhibicije, ki pa sta v naravi zelo redki.



Reverzibilni inhibitorji

V učbenikih obstajata še dve vrsti mehanizmov inhibicije, ki pa sta v naravi zelo redki.



Reverzibilni inhibitorji

Je pa v naravi pogosta oblika regulacije t.i. delna inhibicija. Delni inhibitorji zmanjšajo hitrost delovanja encima, ne da bi ga popolnoma inhibirali.

