

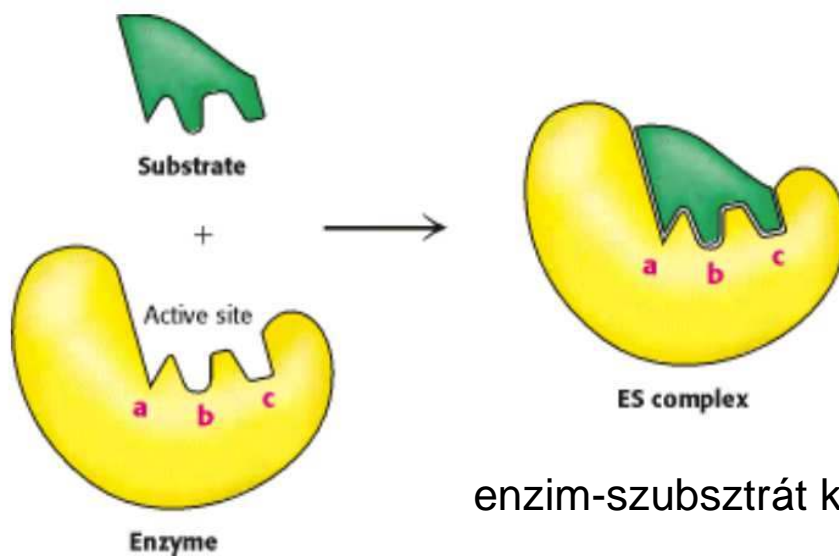
05.

Az enzimek működése, a Michaelis-Menten egyenlet

1

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Az enzimek pontos térbeli kapcsolatokat képesek kialakítani a szubsztráttal



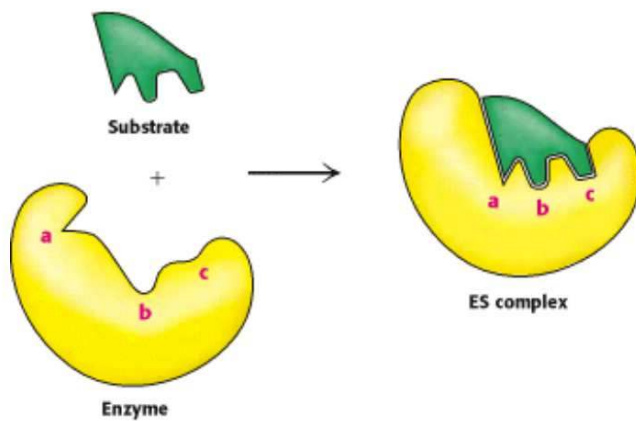
enzim-szubsztrát komplex

kulcs-zár (lock-key) illeszkedés

2

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Néha közben módosul az enzim és/vagy a szubsztrát térszerkezete

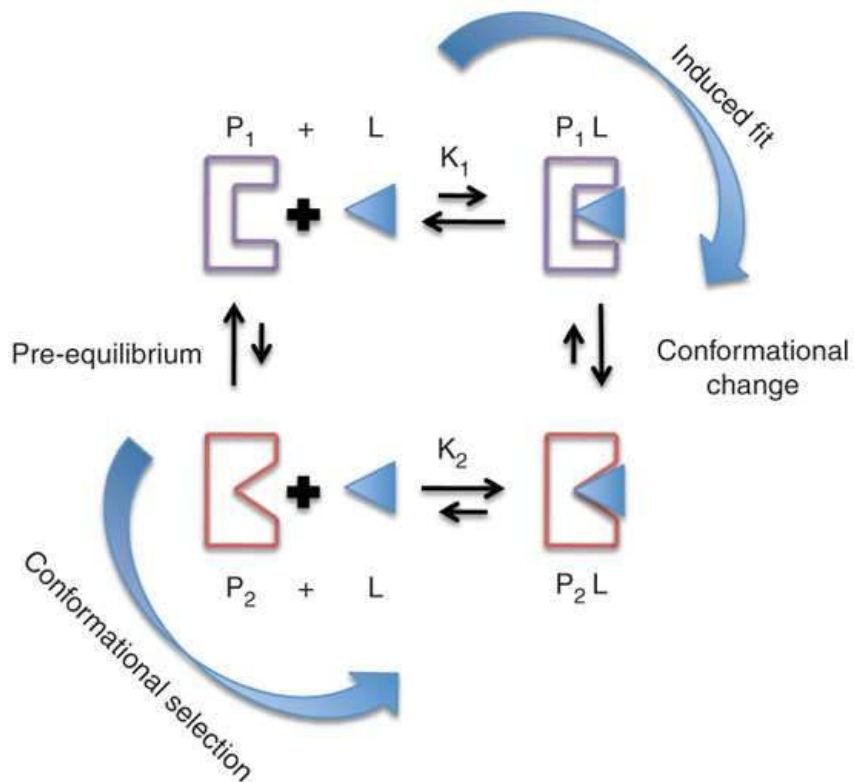


enzim-szubsztrát komplex

indukált illeszkedés
(induced fit)

3

Indukált illeszkedés versus konformációs szelekció



4

Enzimek működése

- apoenzim + kofaktor = holoenzim
- kofaktor lehet: fémion, vagy **koenzim**
- **prosztetikus csoport:** olyan koenzim, ami erősen (olykor kovalensen) van kötve az enzimhez, arról nem távozik el a reakció során
- gyengén kötött koenzimek: pl. ATP, NADH, CoA →
→ ezeket inkább ko-szubsztrátoknak is lehetne nevezni

5

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Enzimek, kofaktorok, elnevezés

Cofactor	Enzyme
Coenzyme	
Thiamine pyrophosphate	Pyruvate dehydrogenase
Flavin adenine nucleotide	Monoamine oxidase
Nicotinamide adenine dinucleotide	Lactate dehydrogenase
Pyridoxal phosphate	Glycogen phosphorylase
Coenzyme A (CoA)	Acetyl CoA carboxylase
Biotin	Pyruvate carboxylase
5 ^β -Deoxyadenosyl cobalamin	Methylmalonyl mutase
Tetrahydrofolate	Thymidylate synthase
Metal	
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase
Zn ²⁺	Carboxypeptidase
Mg ²⁺	<i>EcoRV</i>
Mg ²⁺	Hexokinase
Ni ²⁺	Urease
Mo	Nitrate reductase
Se	Glutathione peroxidase
Mn ²⁺	Superoxide dismutase
K ⁺	Propionyl CoA carboxylase

Elnevezés:

a katalizált reakció alapján !

Pl.

Milyen reakciót katalizál a laktát-dehidrogenáz ?

Egyenlet ?

6

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

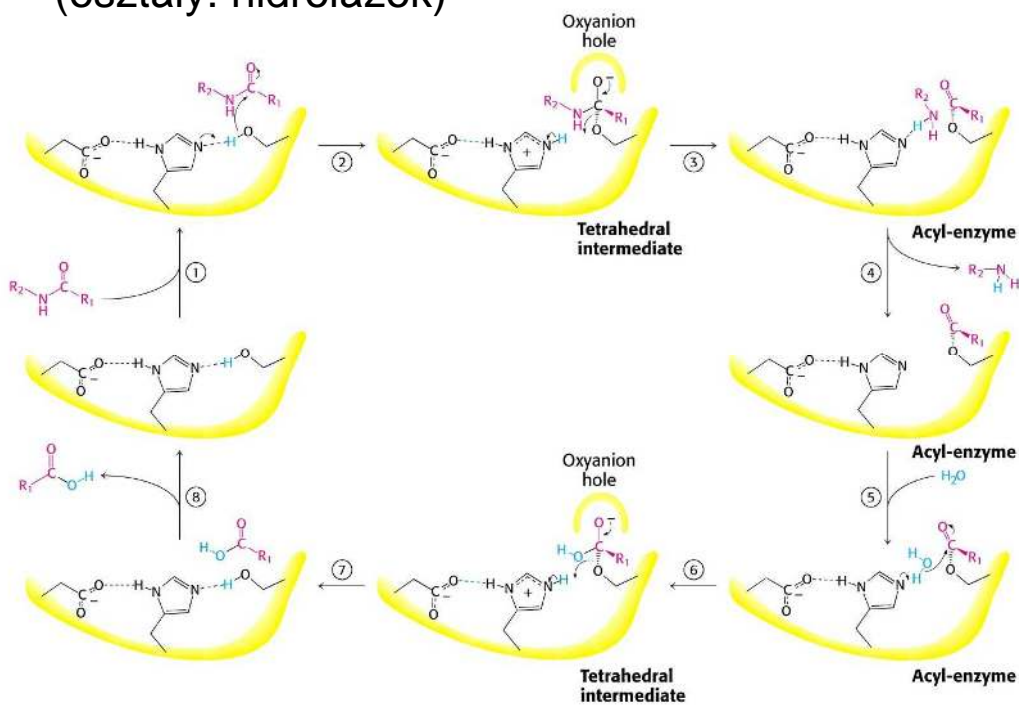
Table 8.3. Six major classes of enzymes

Class	Type of reaction	Example	Chapter
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction	Lactate dehydrogenase	16
2. Transferases	Group transfer	Nucleoside monophosphate kinase (NMP kinase)	9
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)	Chymotrypsin	9
4. Lyases	Addition or removal of groups to form double bonds	Fumarase	18
5. Isomerases	Isomerization (intramolecular group transfer)	Triose phosphate isomerase	16
6. Ligases	Ligation of two substrates at the expense of ATP hydrolysis	Aminoacyl-tRNA synthetase	29

7

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Enzimek működése – a szerinproteázok példája (osztály: hidrolázok)

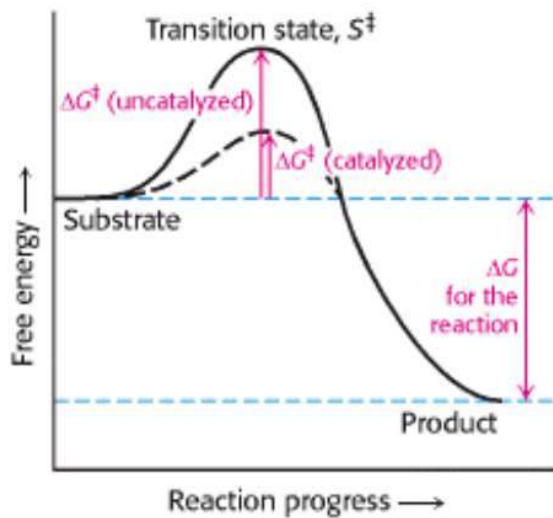


A katalízisben részvevő csoportok pontos térbeli elrendeződése biztosítja az enzim hatékony működését.

8

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Az enzim (katalizátor) csökkenti az aktivációs energiát.



ΔG^\ddagger : aktivációs energia

transition state: átmeneti állapot

a reaktánsok a maximális energiájú állapotban vannak

Hogyan változik a reakciósebesség és az egyensúly?

9

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Egy kis termodinamika

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

G: Gibbs-féle szabadenergia, vagy szabadentalpia

H: entalpia (ΔH = reakcióhő, ha nem történik térfogatváltozás)

S: entrópia

ΔG : szabadentalpia változás

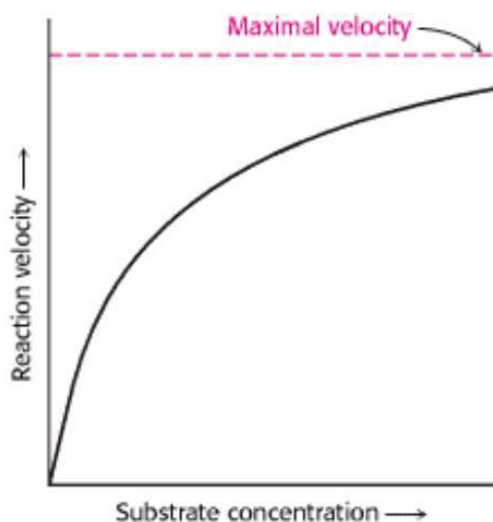
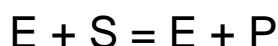
ΔG° : standard szabadentalpia változás ($[A]=[B]=[C]=[D]=1$ mol/L esetén)



Egyensúly esetén $\Delta G = 0 \rightarrow \Delta G^\circ = - R \cdot T \cdot \ln K$

10

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József



Reakciósebesség:

$$v = d[P]/dt = - d[S]/dt$$

a termék
koncentrációjának
változási gyorsasága

Megfigyelés: a szubsztrát koncentrációjának növelése, csak egy maximumig tudja növelni a reakciósebességet

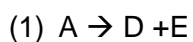
11

Egy kis reakciókinetika

Példa:

Legyen a reakció egyenlet: $A = B + C$

Mechanizmus, azaz az elemi lépések sorozata legyen a következő:



Definíció szerint az elemi lépésekre igaz, hogy

$$-d[A]/dt = +d[D]/dt = +d[E]/dt = k_1 \times [A] \quad (\text{negatív: fogy, pozitív: keletkezik})$$

$$-d[D]/dt = +d[B]/dt = k_2 \times [D] \times [E] \quad (\text{reakciósebesség: } V = d[B]/dt)$$

k_1 és k_2 : reakciósebességi állandók (más-más a mértékegységük !)

$k_1 \rightarrow s^{-1} \rightarrow$ elsőrendű reakció lépés

$k_2 \rightarrow \text{mol/liter}^{-1} \times s^{-1}$, azaz $M^{-1} s^{-1} \rightarrow$ másodrendű reakció lépés

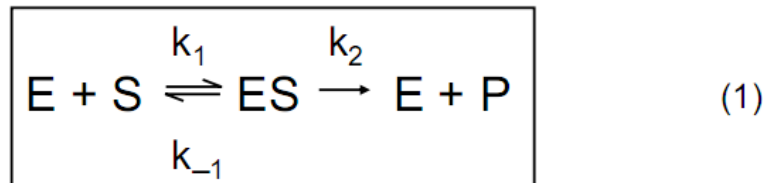
szögletes zárójel: a reaktánsok koncentrációja

12

Michaelis-Menten modell

Reakció egyenlet: $E + S = E + P$

(1) Mechanizmus:
(az elemi lépések!)



$$V = d[P]/dt = k_2[ES] \quad (2)$$

$$d[ES]/dt = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (3)$$

13

Michaelis-Menten modell

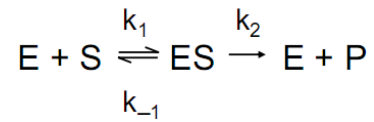
Steady-state (egyensúlyi állapoton alapuló) közelítés

$$d[ES]/dt = 0 \quad (4)$$

Ez a feltételezés a Michaelis-Menten modell alapja !

14

Michaelis-Menten modell



$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (5)$$

$$[E][S]/[ES] = (k_{-1} + k_2)/k_1 \quad (6)$$

$$K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1 \quad (7)$$

– K_M : Michaelis-konstans (dimenzió: koncentráció, M)

$$[ES] = [E][S]/K_M \quad (8) \quad [E] = [E]_T - [ES] \quad (9)$$

$$[ES] = [E]_T[S]/([S] + K_M) \quad (10)$$

($[E]_T$ és $[S]$ kísérletesen mérhető paraméterek)

4

15

Michaelis-Menten modell

$$V = d[P]/dt = k_2[ES] \quad (2)$$

$$[ES] = [E]_T[S]/([S] + K_M) \quad (10)$$

$$V_o = k_2 [E]_T[S]/([S] + K_M) \quad (12)$$

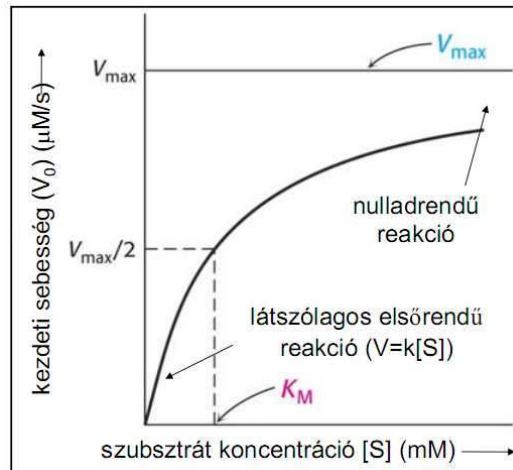
$$\text{Ha } [S] \gg K_m \rightarrow V_{\max} = k_2 [E]_T \quad (13)$$

16

Michaelis-Menten modell

M-M egyenlet:

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad (14)$$



17

Michaelis-Menten modell

$$V_0 = k_2 [E]_T [S] / ([S] + K_M) \quad (12)$$

Szélső esetek:

$$\text{Ha } [S] \gg K_M \rightarrow V_{\max} = k_2 [E]_T \quad (13)$$

$$\text{Ha } [S] \ll K_M \rightarrow V_0 = k_2 / K_M \cdot [E]_T \cdot [S]$$

Bonyolultabb mechanizmus. esetén: k_2 helyett k_{cat}

k_{cat}/K_M : katalitikus hatékonyság

18

Amit tudni illik

Az enzimek működése, a Michaelis-Menten egyenlet témakörből

Fogalmak:

enzim-szubsztrát komplex,
kulcs-zár, indukált illeszkedés, konformációs szelekció,
aktiválási energia,
holoenzim, apoenzim, koenzim,
elemi lépés, mechanizmus
egyensúlyi állapoton alapuló (steady-state) közelítés

Egyenletek:

A Michaelis-Menten egyenlet : $V_0 = V_{\max} \cdot [S] / (K_M + [S])$, $V_{\max} = k_2 \cdot [E]_T$
(Tudni: mit jelentenek a betűk !)

$$\Delta G^\circ = - R \cdot T \cdot \ln K$$

19

Kapcsolódó könyvfejezet:

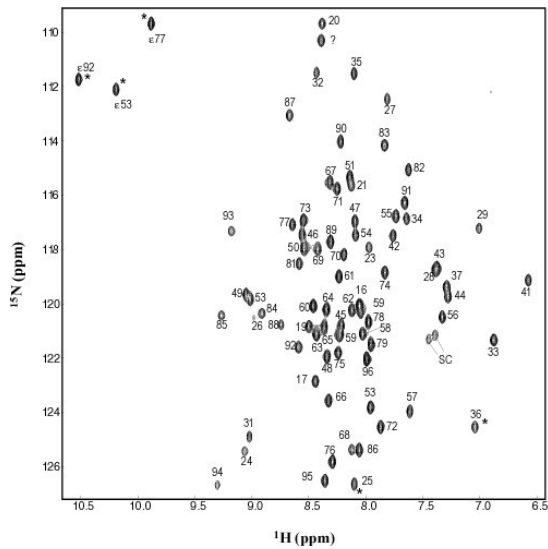
**J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer: Biochemistry 5th edition
W.H. Freeman and Co.**

8. Enzymes: Basic Concepts and Kinetics

20

Folyt. köv. ...

Fehérje vizsgálati módszerek:
kromatográfia, szekvenálás, szintézis, NMR, kristallográfia
stb.



21