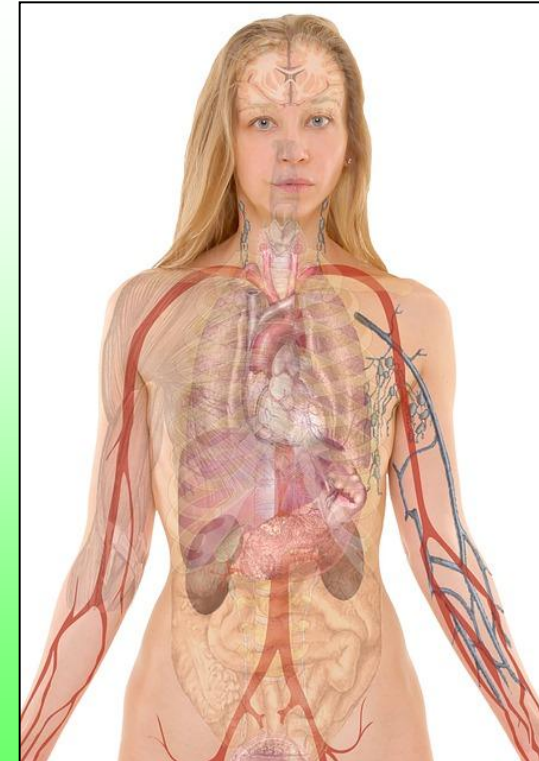
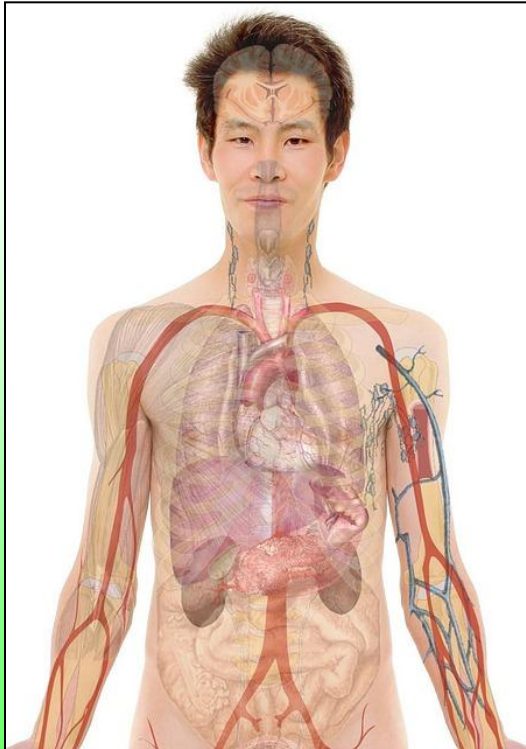


Enzyme (Teil 2)

Enzymatische Reaktion, Thermodynamik & Enzyme im Detail

Mag. Gerald Trutschl



1. Enzym Reaktion im Detail
2. Thermodynamische Reaktion
3. Katalysemechanismen
4. Michaelis-Menten-Konstante
5. Regulierung enzym. Reaktionen
6. Inhibitoren

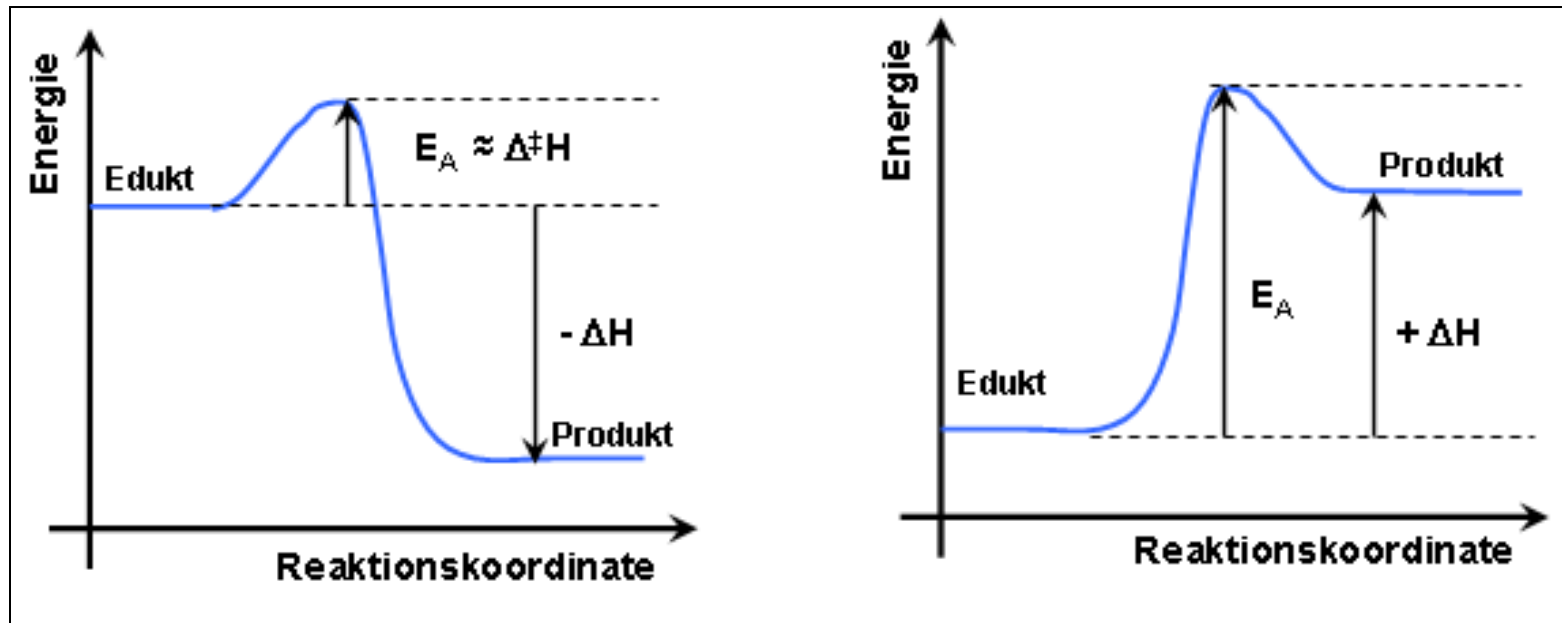


1. Thermodynamik der Enzymreaktion

└ Exotherme Endotherme

Enzyme sind Biokatalysatoren und verringern die Aktivierungsenergie und beschleunigen die Reaktion.

➤ Exotherme & endotherme Reaktionen



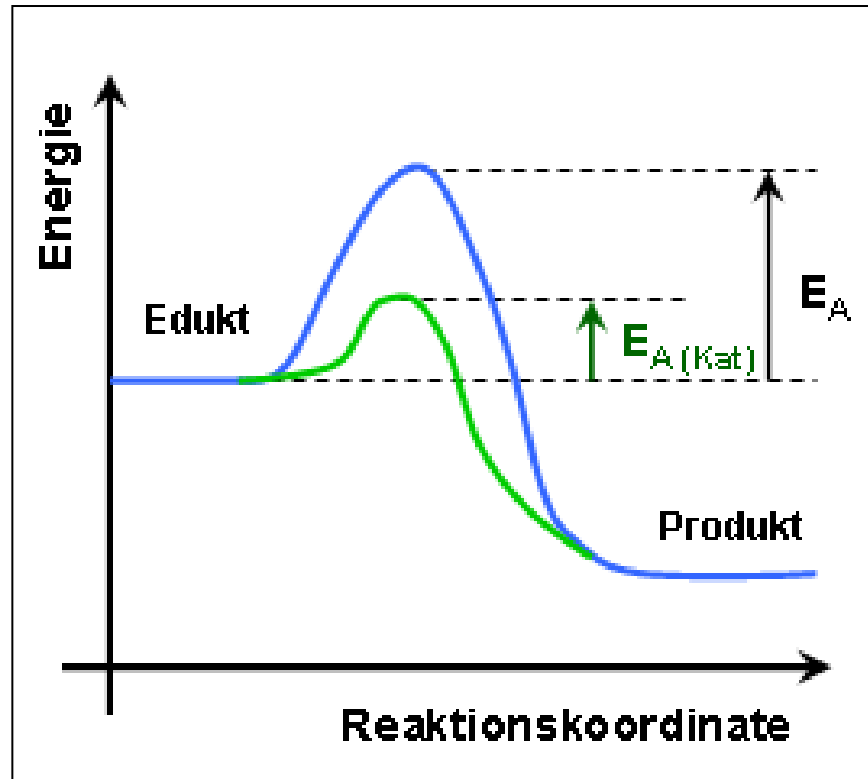
1. Thermodynamik der Enzymreaktion

└ Exotherme Endotherme



forstschule.at

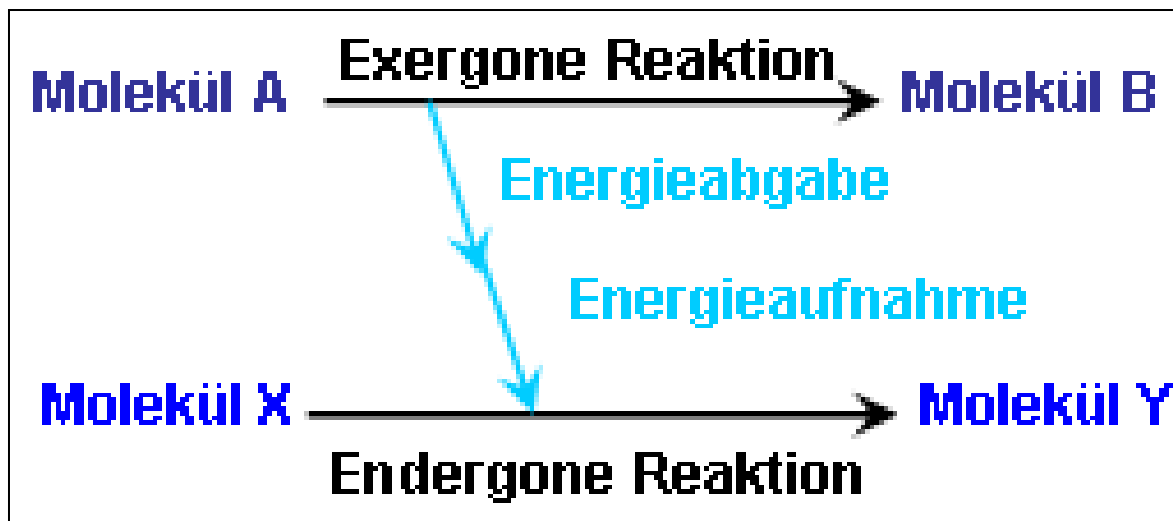
Verlauf einer exothermen Reaktion **mit** und **ohne** Katalysator.



1. Thermodynamik der Enzymreaktion

└ energetische Kopplung

Viele Enzymreaktionen verlaufen endergon (nicht freiwillig). Die benötigte Energie kommt dazu aus einer gekoppelten Reaktion die exergon (freiwillig) verläuft. Man spricht von einer energetischer Kopplung.



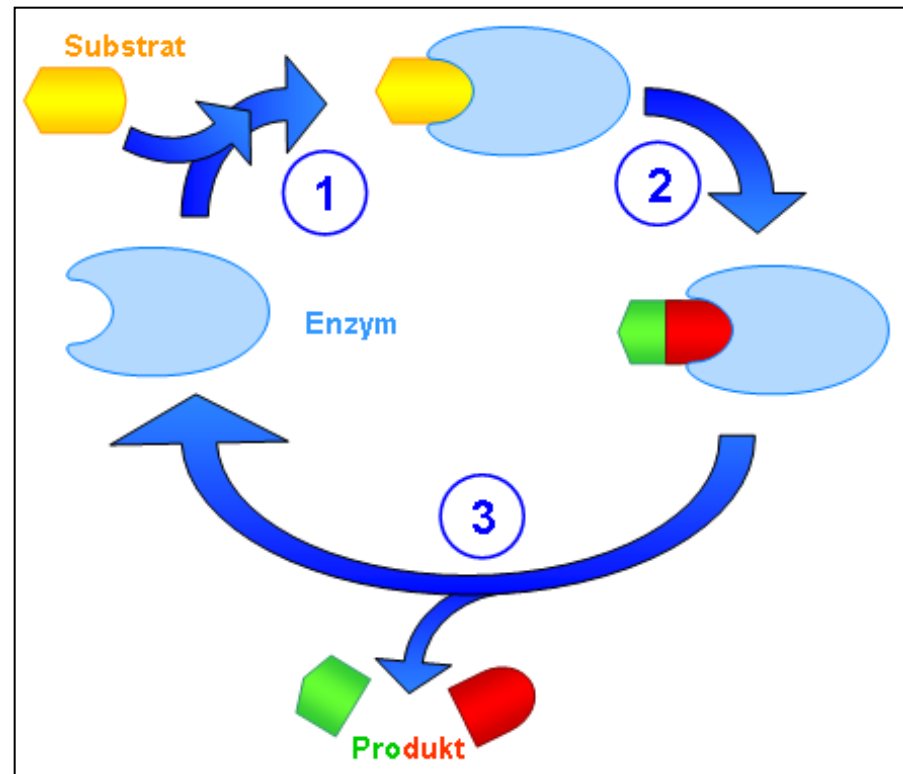
2. Enzymreaktion im Detail

└ Enzym und Substrat

Enzymatische Reaktion

Schematischen Ablauf:

- In Schritt (1) bindet das Substrat im aktiven Zentrum des Enzyms. Dabei bildet sich ein Enzymsubstratkomplex aus, wobei das Substrat katalytisch in das Produkt (2) überführt wird.
- (3) Danach steht das Enzym für eine weitere Substrat-Umsetzung wieder bereit

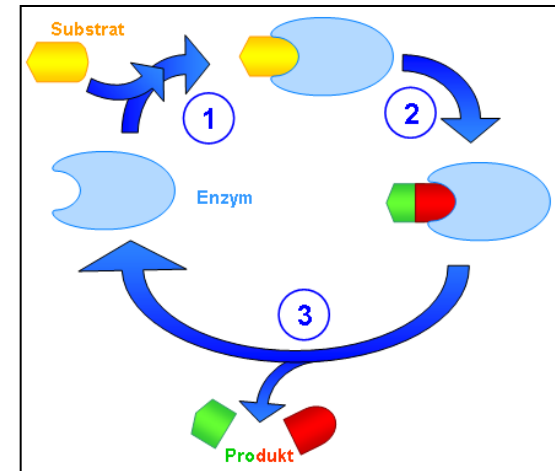


2. Enzymreaktion im Detail

└ Enzym und Substrat

Enzymatische Reaktion

Für die vorherige Abbildung und den Reaktionsverlauf kann man nun folgende chem. Reaktion aufstellen. Der Zerfall des Enzym Substrat (ES) Komplexes ist der langsamste Schritt während der Reaktion.

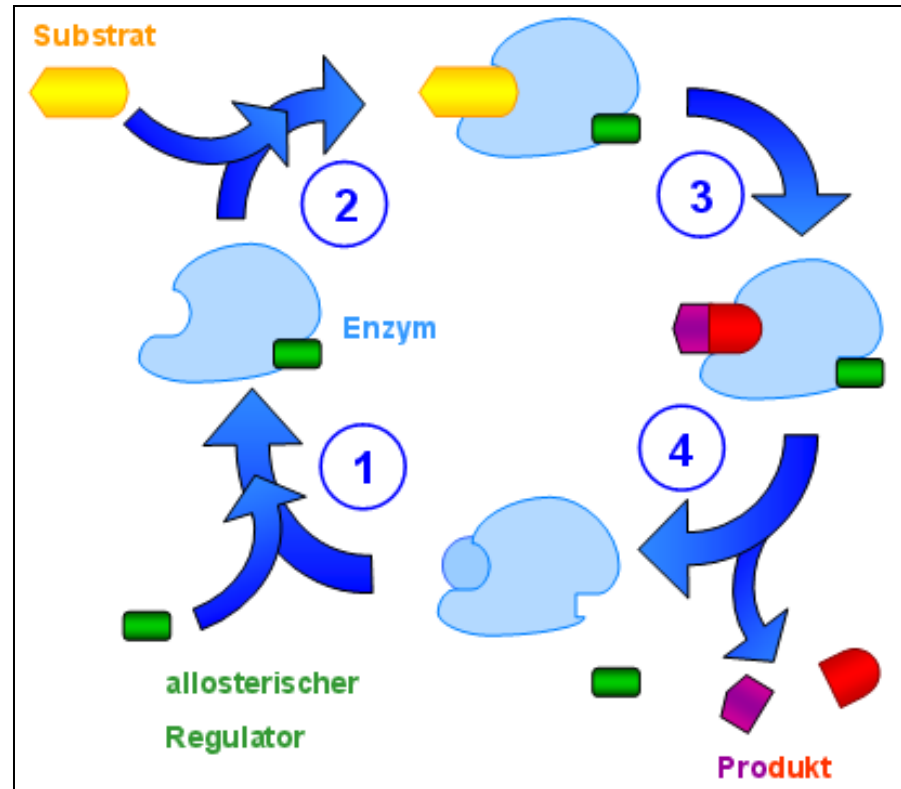


2. Enzymreaktion im Detail

└ Enzym/Substrat (Aktivität)

Enzymaktivierung über allosterisches Zentrum

Erst durch Bindung des Regulators im allosterischen Zentrum kann das aktive Zentrum ein Substrat aufnehmen.
(nicht alle Enzyme besitzen allosterische Zentren)



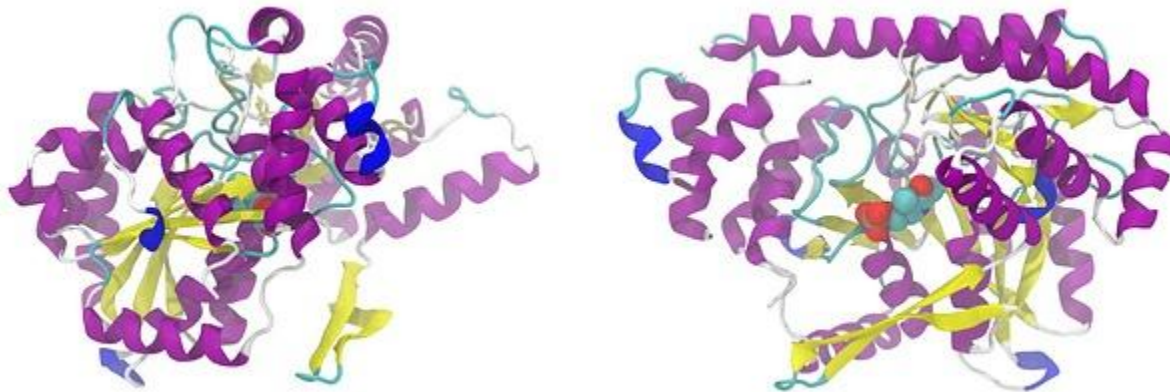
3. Katalysemechanismen

└ Arten

Katalysemechanismen:

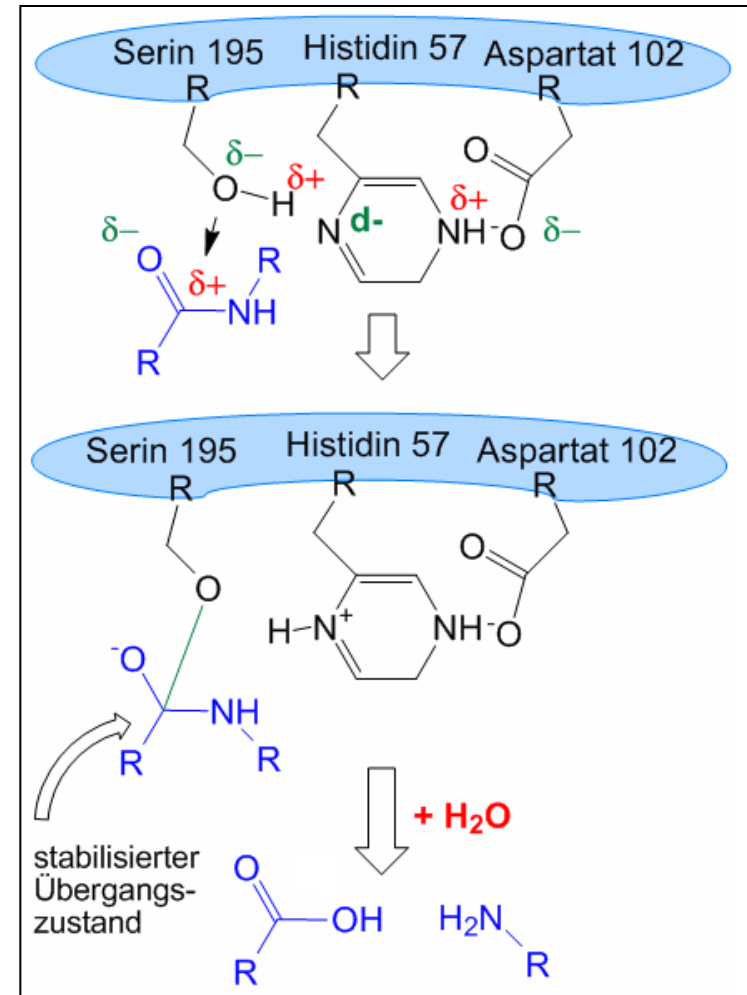
Bei Enzymreaktionen unterscheidet man zw. 4 verschiedene Arten der Katalyse.

- Kovalente Katalyse
- Säure Basen Katalyse
- Metallionenkatalyse
- Katalyse durch räumliche Annäherung



Kovalente Katalyse:

- Im aktiven Zentrum oft nucleophile Gruppen
- Dadurch können temporäre Atombindungen ausgeprägt werden die die Bindung im Substrat schwächen.
- Beispiel: **Chymotrypsin** (Endopeptidase), spaltet Peptide mit aromatischen Seitenketten
Im aktiven Zentrum sitzen Histidin, Aspartat und Serin. (siehe Abb.)



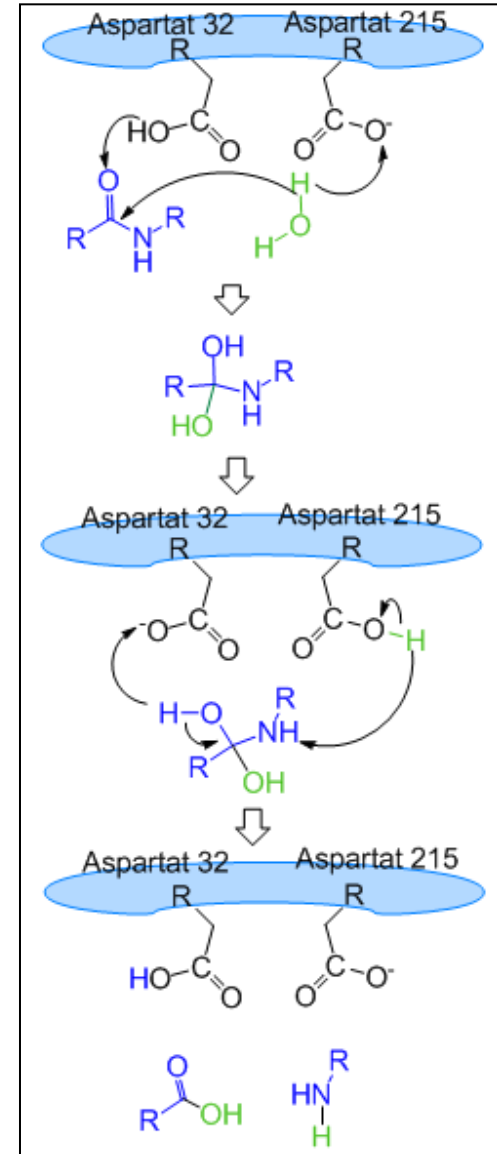
3. Katalysemechanismen

└ Säure Basen Katalyse



Säure Basen Katalyse:

- Im aktiven Zentrum: Protonendonatoren oder Akzeptoren
(erleichtert nucleophile Reaktionen)
- Instabiles Intermediat entsteht und zerfällt.
- Beispiel: **Pepsin**
2 Aspartatreste fungieren einerseits als Donator bzw. Akzeptor.

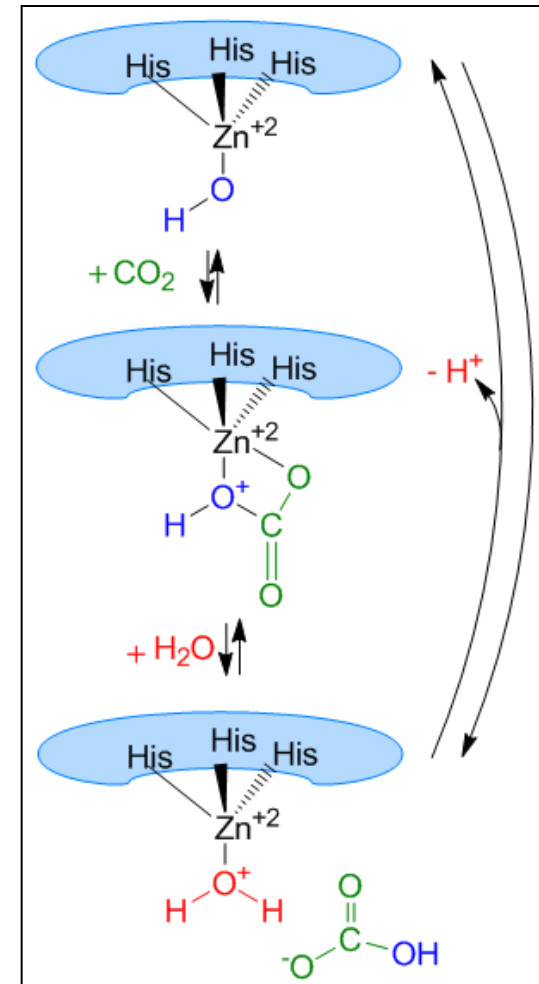


3. Katalysemechanismen

└ Metallionen Katalyse

Metallionen-Katalyse:

- Im aktiven Zentrum: Metallionen
- 30% aller Katalysemechanismen basieren darauf
- Aufgabe d. Metallionen bezüglich Substrat:
 - Redoxreaktionen
 - Konformationsänderung (Instabilität)
 - elektrostatische Stabilisierung
- Beispiel: **Carboanhydrase** (Siehe Abb.)



3. Katalysemechanismen

└ Katalyse d. räuml Annäherung



forstschule.at

Katalyse durch räumliche Annäherung:

- Sehr oft müssen bei einer enzymatischen Reaktion zwei Substrate zu einem Produktmolekül reagieren.
- Im aktiven Zentrum können beide Edukte binden und werden durch das Enzym angenähert, sodass verschiedene Edukt-Edukt-Wechselwirkungen entstehen, die entscheidend die Aktivierungsenergie herabsetzen.

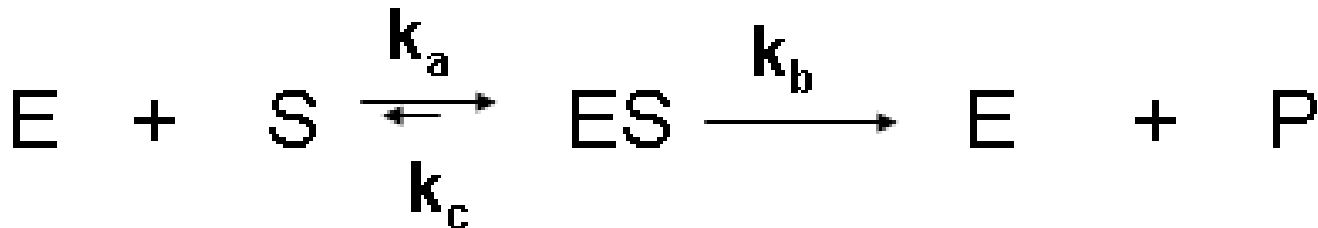
4. Michaelis - Menten Konstante

└ Allgemeines



Die Enzymreaktion kann man in 2 Reaktionen gliedern:

1. Enzymsubstratkomplexbildung (verläuft schnell)
2. Zerfall zu Enzym und Produkt (verläuft langsamer)



4. Michaelis - Menten Konstante

└ Reaktionsgeschwindigkeit

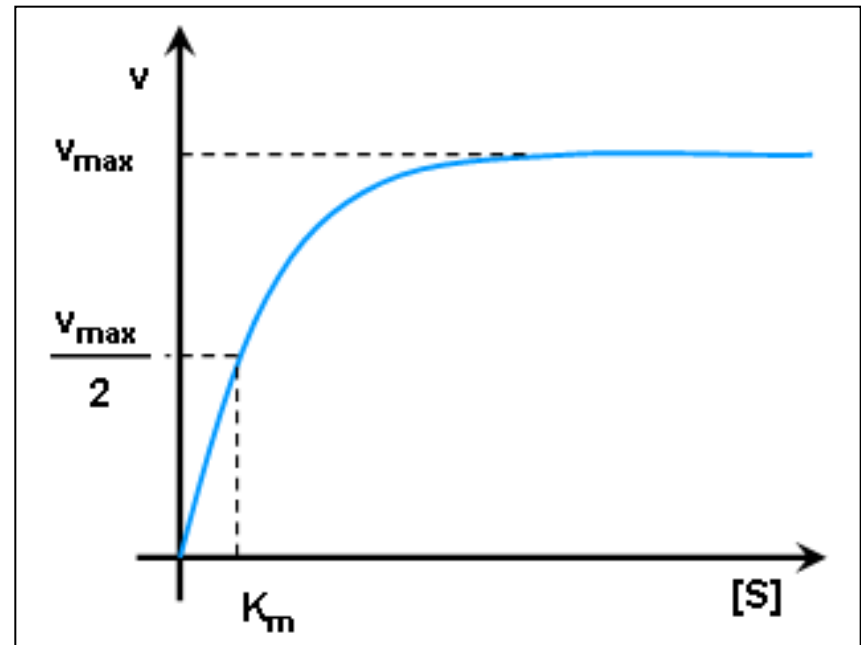
Durch die unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten und aufstellen einer Gleichung erhält man ein Diagramm, dass die Enzymreaktionsgeschwindigkeit zeigt. Markant ist dabei die sogenannte:

Michaelis Menten Konstante K_m

Diagramm:

x-Achse: Substratkonzentration

y-Achse: Reaktionsgeschwindigkeit



4. Michaelis - Menten Konstante

└ Reaktionsgeschwindigkeit und Wechselzahl



- Die **Michaelis-Menten-Konstante** ist eine Substratkonzentration, bei der die halbmaximale Geschwindigkeit erreicht wird.
- Ist jene Substratkonzentration, bei der die halbmaximale Sättigung des Enzyms vorliegt.
- Eine schwache Affinität des Substrat gegenüber einem Enzyms zeigt sich in einem hohen K_m Wert
- ein niedriger K_m -Wert entspricht einer hohen Affinität.

Die **Wechselzahl (k_{cat})** stellt die Umsetzungen (Moleküle Substrat) pro Zeiteinheit von einem Enzym dar. Sie entspricht dem Verhältnis aus v_{max} zur totalen Enzymkonzentration:

Die Carboanhydrase mit 600.000 Umsetzungen pro Sekunde stellt die höchst gemessene Wechselzahl unter Enzymen dar.

4. Michaelis - Menten Konstante └ Beeinflussungen



- Bei einer enzymatischen Reaktion können Temperatur, Substrat- und Enzymkonzentration geändert werden.
- Eine Erhöhung der Substratkonzentration, bei gleich bleibender Enzymkonzentration, bewirkt ein annäherndes Erreichen der Maximalgeschwindigkeit, da das Enzym komplett mit Substrat gesättigt ist.
- Bei der Erhöhung der Enzymkonzentration kann mehr Substrat umgesetzt werden, es erhöht aber nicht die Reaktionsgeschwindigkeit.
- Generell wird bei chemischen Reaktionen durch Temperaturerhöhung die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht. Enzyme haben allerdings ein Temperaturoptimum. Zu hohe Temperaturen können zur Denaturierung des Biokatalysators führen und somit zur Funktionsuntüchtigkeit.

4. Michaelis - Menten Konstante

└ Aktivität der Enzyme



Einheiten

- Die Aktivität von Enzymen wird in Katal oder in IU (international Units) angegeben (Units gebräuchliche)
- Ein Unit entspricht jener Menge an Enzym das in einer Minute 1 μmol Substrat umzusetzen vermag. Dies entspricht in einer Minute $6,022 \cdot 10^{17}$ Substratmolekülen.
- Die Einheit von Katal entspricht Mol pro Sekunde. Typische Enzymaktivitäten liegen daher im nano-Katalbereich.

Regulation der Enzyme

- Allosterische Regulation
- Regulation durch kovalente Modifikation
- Proteolytische Spaltung

5. Regulierung enzym. Reaktionen

└ Allosterische Regulierung



Allosterische Regulation:

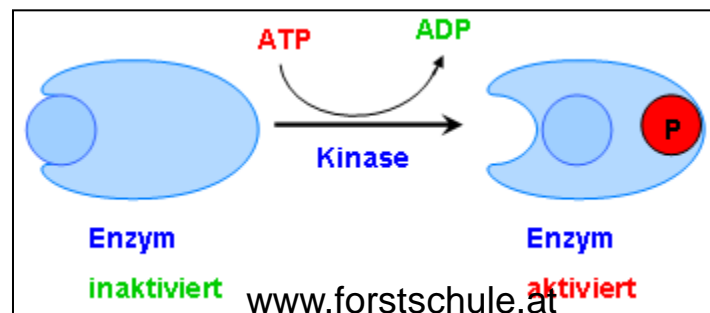
- Enzyme ändern Struktur im aktiven Zentrum sofern im allosterischen Zentrum ein Regulator andockt.
- Feedbackregulation: Ein Produkt am Ende einer metabolischen Reaktion (z.B. Glycolyse) reguliert ein Enzym als Regulator am Anfang des Prozesses.
- Homotrope Reg.: wenn ein enzymatisches Reaktionsprodukt ein Enzym allosterisch beeinflusst
- Heterotrope Reg.: wird durch einen anderen Stoff ausgelöst.

5. Regulierung enzym. Reaktionen

└ kov. Modifikation

Regulation durch kovalente Modifikation:

- Enzyme können durch Acylierung oder Phosphorylierung aktiviert oder deaktiviert werden.
- reversibler Prozess
- Durch die negative Phosphatgruppe wird somit das Enzym in eine spezielle Faltung gebracht weshalb es aktiviert oder deaktiviert wird. Bsp.: Phosphatase



5. Regulierung enzym. Reaktionen

└ proteolytische Spaltung



Regulation durch proteolytische Spaltung:

- Enzyymbildung: Proteinbiosynthese , Ribosomen (Cytosol)
- Viele Enzyme dürfen aber an Ihrem Ort an dem sie synthetisiert worden sind, noch keine Aktivität aufweisen. (z.B. Pepsin)
- Es wird daher eine inaktive Vorstufe des Enzyms gebildet, ein sogenanntes Zymogen. (Das Zymogen von Pepsin ist das Pepsinogen.)
- Dieses wird erst zum aktiven Enzym, wenn ein Teil der Polypeptidkette abgespalten wird. Erst dadurch kann eine räumliche Faltung des Enzyms stattfinden, sodass sich ein aktives Zentrum ausbilden kann.
- proteolytische Spaltung ist nicht reversibel!

6. Inhibitoren

└ Grundsätzliches



Inhibitoren:

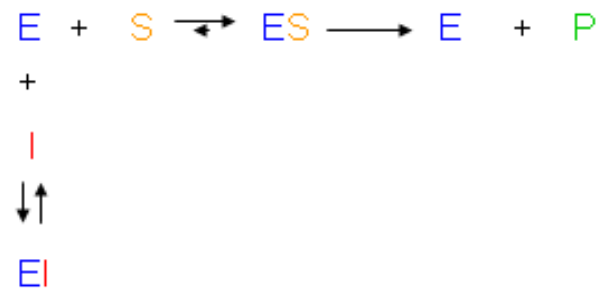
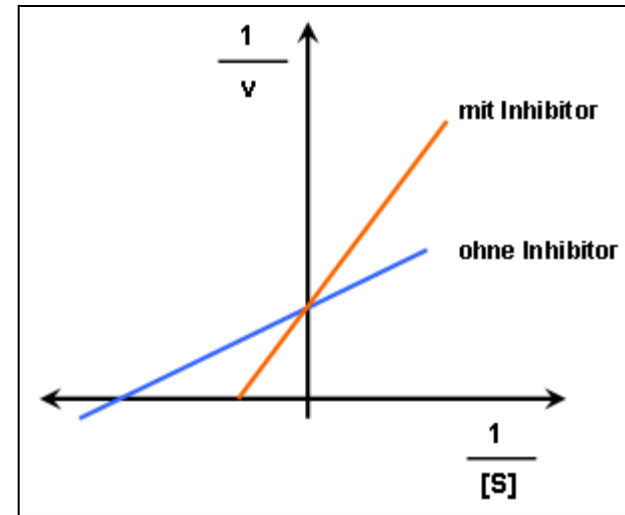
- Sind Stoffe die, wie der Name schon sagt ein Enzym in seiner Aktivität inhibieren (blockieren).
- Generell unterscheidet man Inhibitoren, demnach ob sie reversibel oder irreversibel sind.
- Irreversible Inhibitoren binden oft im aktiven Zentrum des Enzyms kovalent u. verursachen dauerhafte Reduktion d. Aktivität, od. eine komplette Inaktivität.
- Bei den reversiblen Inhibitoren unterscheidet man drei unterschiedliche Typen.
 - kompetitive Hemmung
 - nichtkompetitive Hemmung und
 - unkompetitive Hemmung

6. Inhibitoren

└ reversible Inhibitoren

Kompetitive Hemmung:

- Inhibitor bindet im aktiven Zentrum
- Konkurrenzreaktion: zw. Substrat und Inhibitor
- v_{\max} bleibt unbeeinflusst
- K_m steigt



6. Inhibitoren

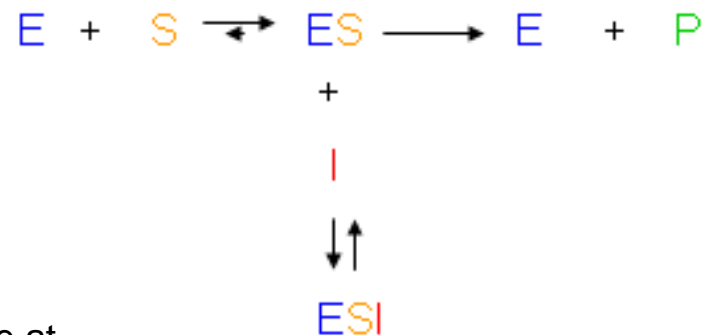
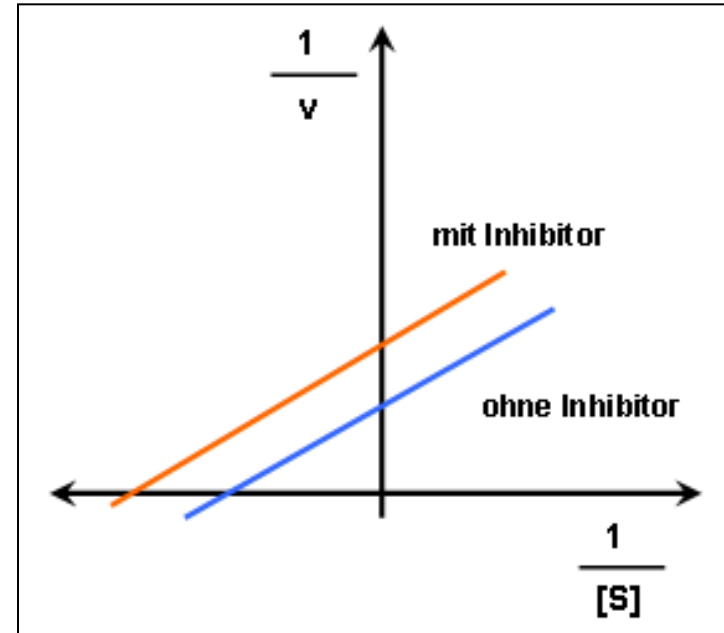
└ reversible Inhibitoren

Unkompetitive Hemmung:

➤ Inhibitor bindet nicht im aktiven Zentrum, sondern bindet nur am Enzym-Substrat-Komplex.

➤ V_{\max} sinkt

➤ K_m sinkt



6. Inhibitoren

└ reversible Inhibitoren



Unkompetitive Hemmung:

➤ Inhibitor bindet im aktiven Zentrum, und am Enzym-Substrat-Komplex.

➤ V_{\max} sinkt

➤ K_m bleibt gleich

