

Enzymer 1

Martin Ott
martin.ott@gu.se



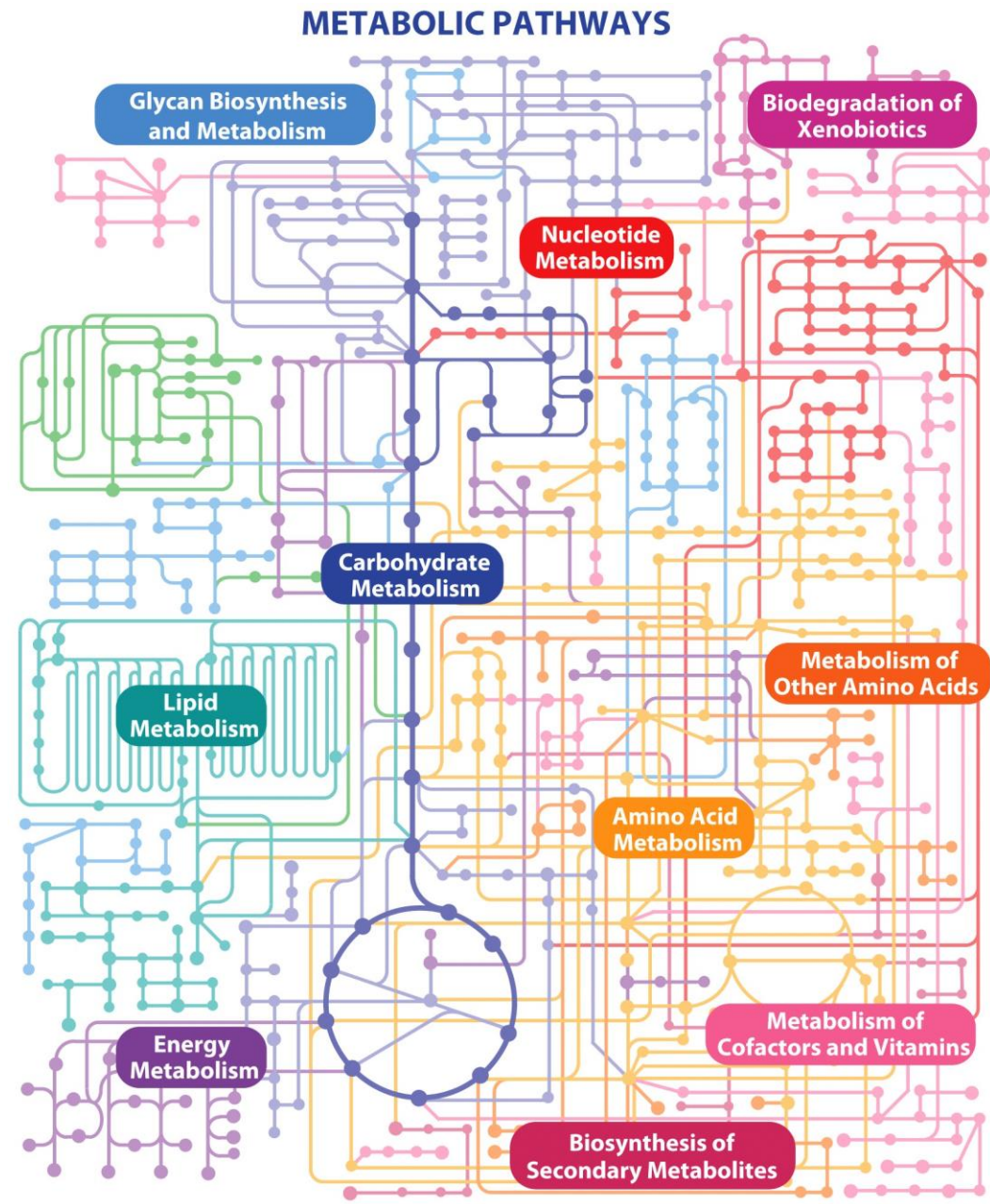
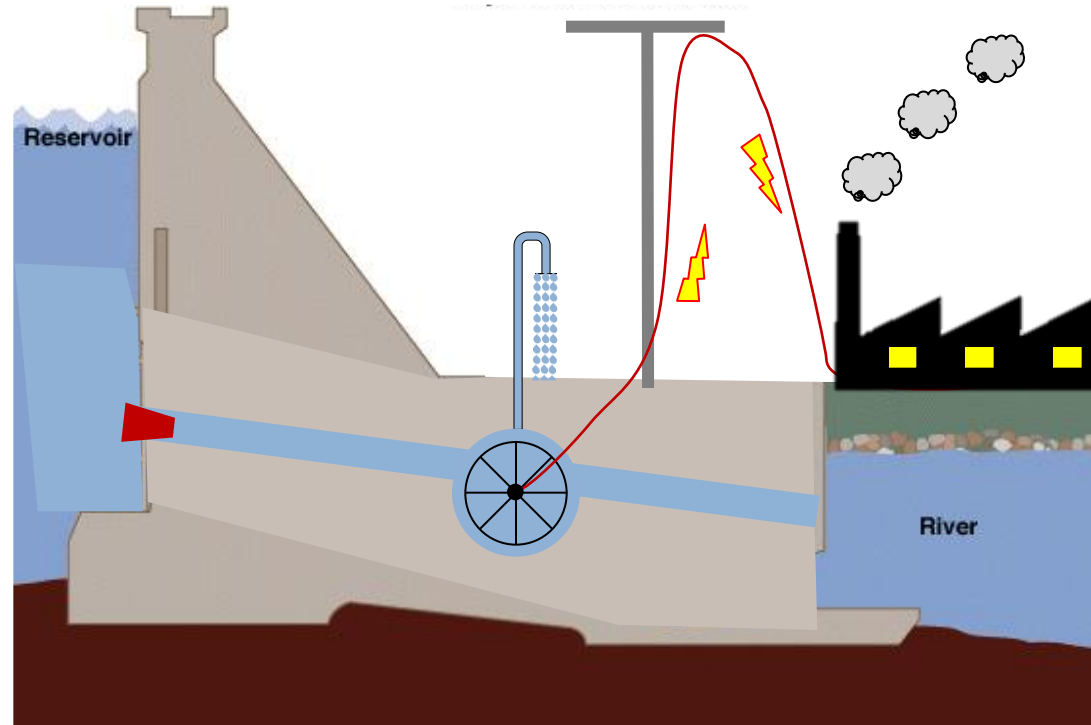


Figure 15-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Enzymernas roll i biologin



Möjliggör/påskyndar processer – om det finns energi som kan driva dem: **katalys**

Dirigerar processer så att cellen har nytta av dem: **specificitet**

Kan slås på och av: **reglerbarhet**

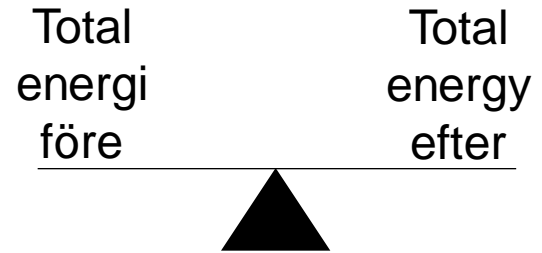
- Hur vet vi vilka reaktioner som kan ske?
- Hur bestämmer cellens enzymer vilka reaktioner som ska ske?
- Vad behöver enzymer för att fungera?
- Hur kan enzymer regleras?
- Hur fort kan ett enzym arbeta?
- Hur kan man hämma ett enzym? Och varför vill man göra det?

Termodynamikens första och andra lag

1. Energi omvandlas. Energi varken skapas eller förstörs.

(Universums totala energi är konstant)

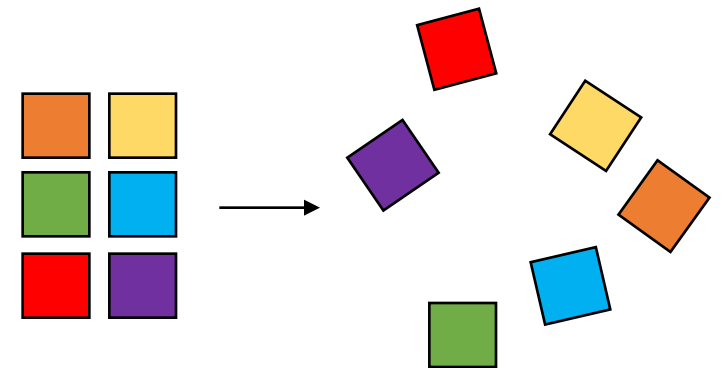
(Total energi i ett isolerat system bevaras)



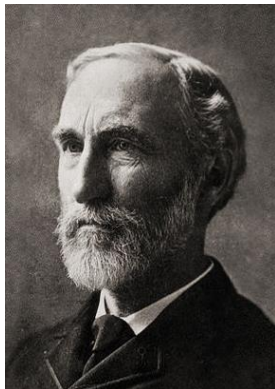
2. System tenderar att gå från ordnade till oordnade tillstånd.

Den totala entropin (system + omgivning) i universum ökar.

$$\Delta S_{total} \geq 0.$$



Fri energi: ett enkelt sätt att förutsäga en kemisk reaktion



JW Gibbs
som införde
begreppet fri
energi

Vid konstant temperatur och tryck kan entropilagen skrivas om så att bara systemets (och inte omgivningarnas) parametrar behövs.

Man definierar *fri energi* (**G**) för en reaktion så att

$$\Delta G = \Delta H_{\text{system}} - T\Delta S_{\text{system}}$$

ΔG beror på vilka ämnen som ingår i reaktionen och av deras resp. koncentrationer

Från entropilagen kan man härleda att *för varje spontan kemisk reaktion är $\Delta G < 0$*

$\Delta G < 0 \Rightarrow$ nettoreaktion: $A \rightarrow B$



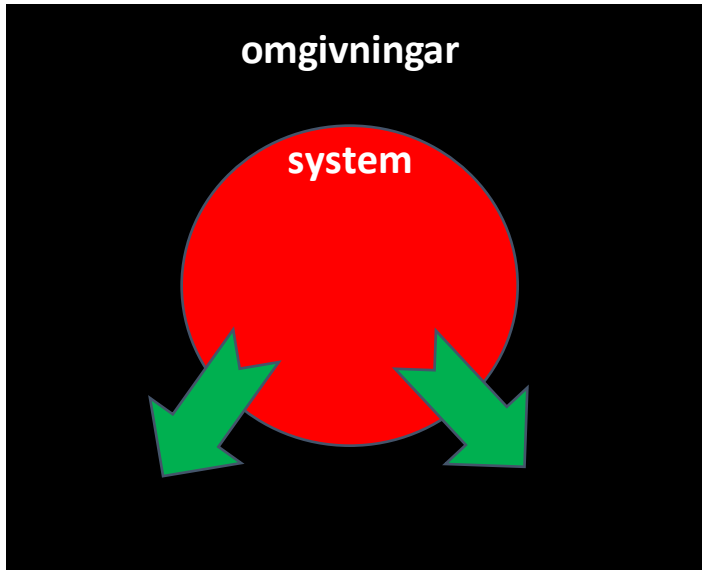
$\Delta G > 0 \Rightarrow$ nettoreaktion: $A \leftarrow B$



Vid jämvikt är $\Delta G = 0$



Gibbs fri energi ändringar, ΔG

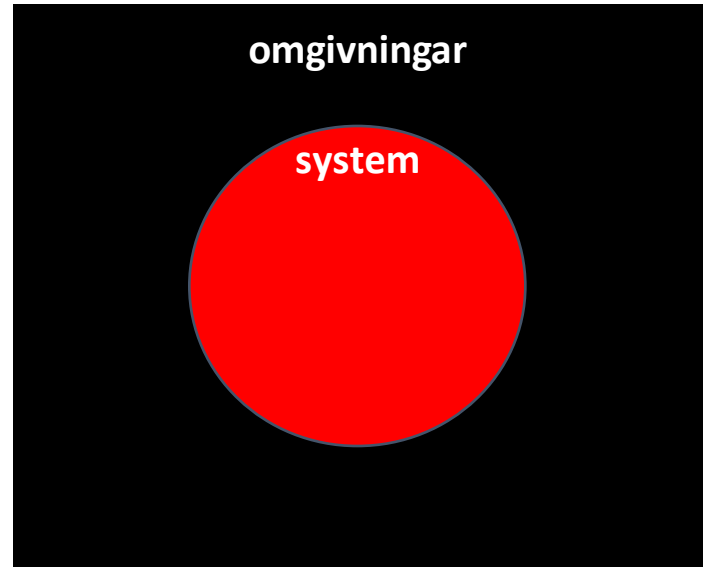


Exergonik reaktion

Systemet frisätter energi (värme)

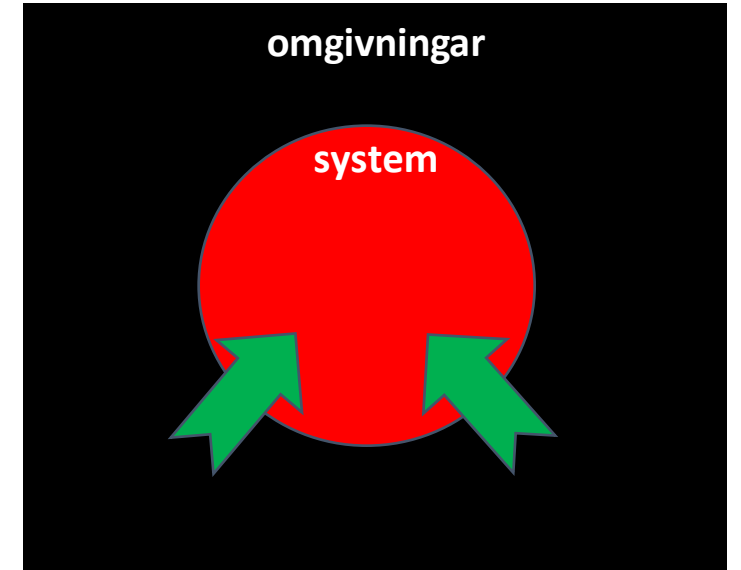
ΔG är negativ

ΔG ange vilket **max arbete** systemet kan göra



System är i
jämvikt

$\Delta G = 0$



Endergonik reaktion

Systemet absorbera energi (värme)

ΔG är positiv

ΔG ange den **minimala arbetet** som krävs

Samband mellan ΔG , ΔH och ΔS

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

ΔG (Gibb's fri energi ändring) \rightarrow kJ/mol

ΔH (Enthalpi ändring) \rightarrow kJ/mol

ΔS (Entropi ändring) \rightarrow kJ/mol x K

T (Temperatur i Kelvin)

Entalpi

Entalpi (H) är “energiinnehållet”. I en spontan reaktion reduceras systemets energiinnehåll. Till exempel, när en reaktion utvecklar värme förlorar systemet värme till omgivningarna:

$$\Delta H = (H_{\text{efter}} - H_{\text{före}}) < 0$$

Energiinnehållet beror på vilka bindningar (antal, art) som finns i molekylerna som ingår (reaktanter och produkter)

$$H = U + PV$$

Entalpi, H, är den värme som frigörs/absorberas under en kemisk reaktion

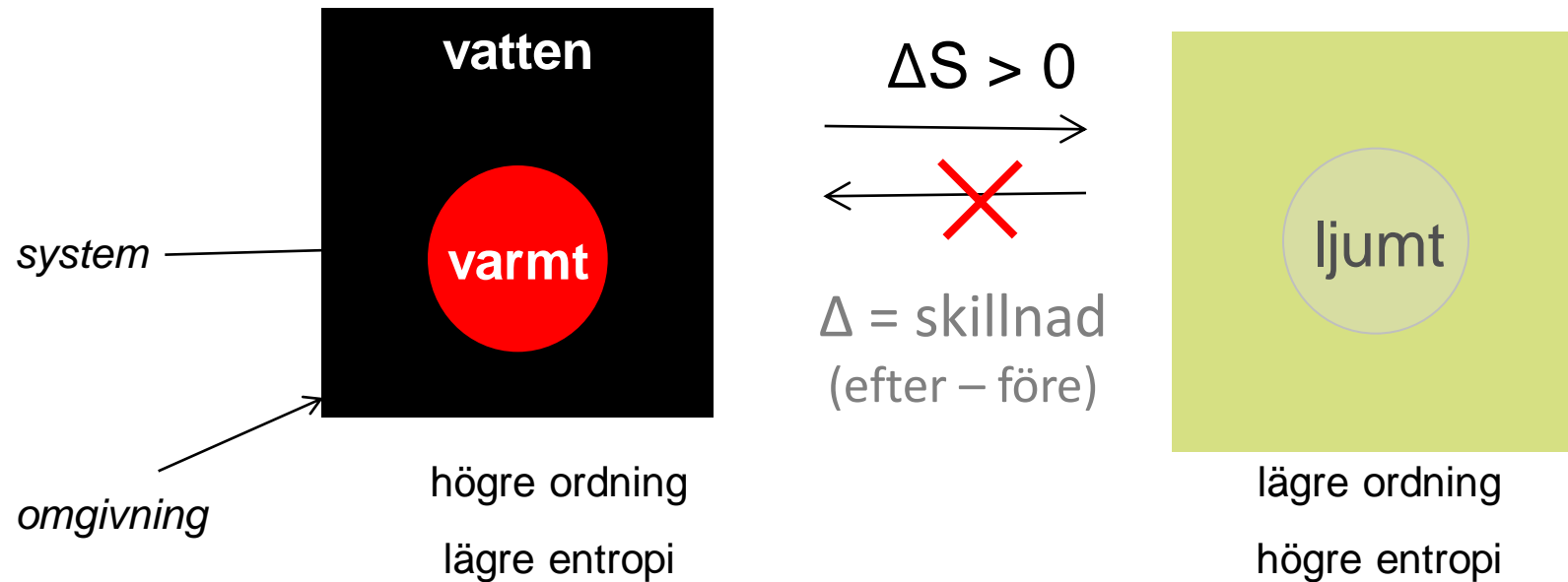
Intern energi, U, är summan av potentiell och kinetisk energi i ett system



I en spontan reaktion ökar alltid entropin

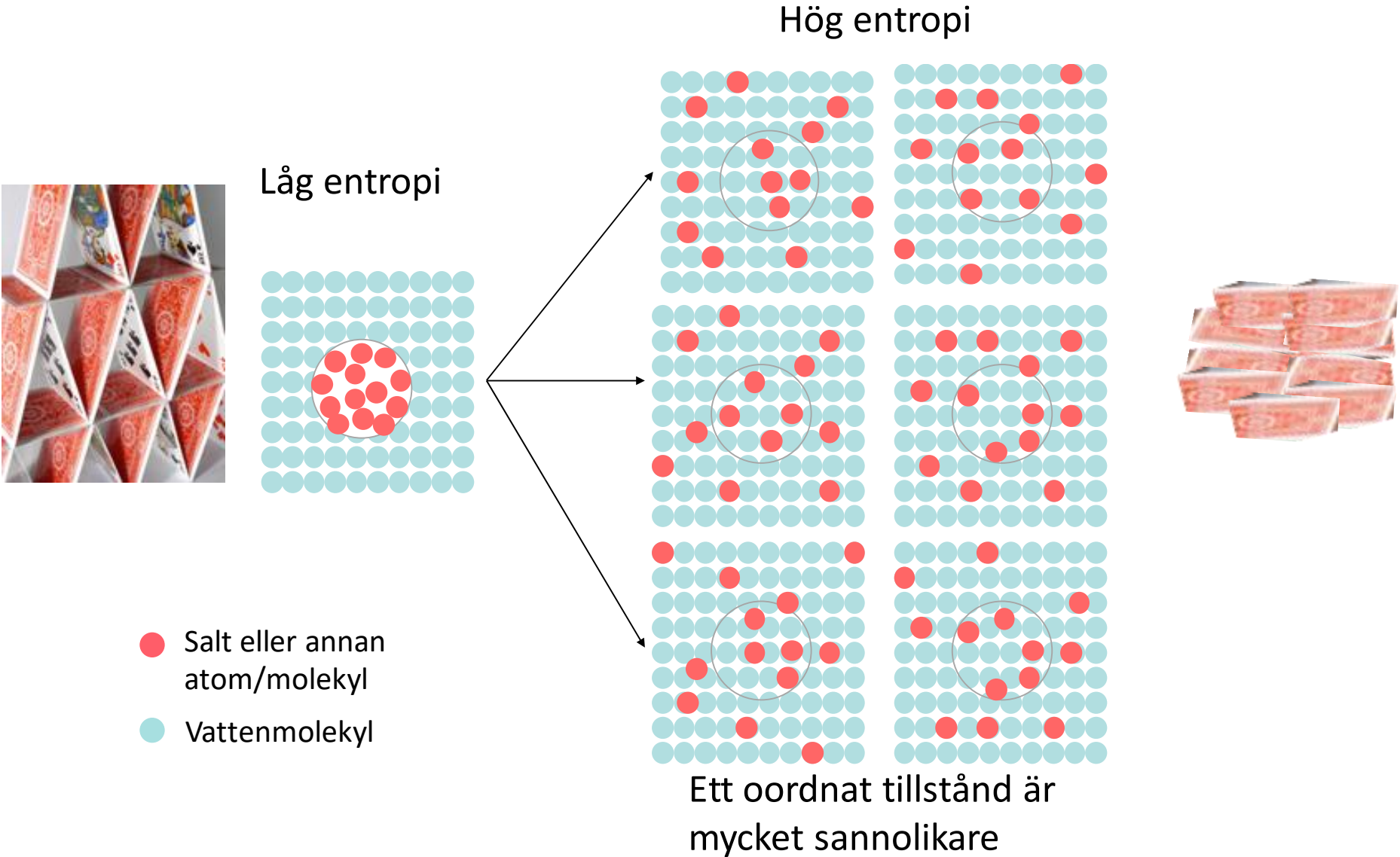
Entropi, S, är en storhet som mäter hur oordnat ett system är.
Termodynamikens andra lag säger att:

Den totala entropin (alltså summan av systemets och omgivningens entropi) **ökar alltid vid en spontan reaktion.**



Här **minskar** systemets entropi, men omgivningens entropi ökar **mer**

Därför ökar entropin: Det finns så många fler sätt att vara oordnad på



Ändring i Gibbs fri energi under standard förhållanden: ΔG^0

ΔG beror på

- vilka ämnen som reagerar
- ämnenas resp. koncentrationer

För jämförelse mellan reaktioners benägenhet att ske finns

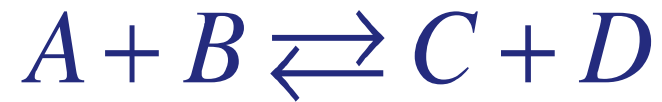
ΔG^0

dvs ΔG när alla ämnen i reaktionen har koncentrationen 1 M, temperaturen är 25 ° C (298 K) och trycket 1 atmosfär.

ΔG^0 är specifikt för en given reaktion.

Olika reaktioner har olika ΔG^0 .

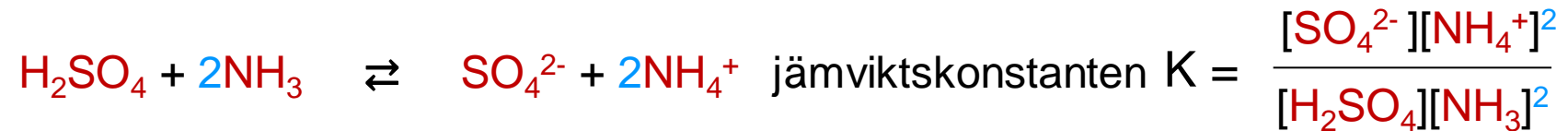
Jämviktskonstanten K för en enkel reaktion



$$\left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) = K_{\text{eq}}$$

Exempelvis har reaktionen

Svavelsyra + ammoniak \rightleftharpoons sulfat + ammonium



Exempel: ΔG för ATP hydrolysis



Hur stort är ΔG för ATP hydrolysis in humana röda blodkroppar, erythrocyter?

37°C, pH=7.0, [ATP] = 2.25 mM, [ADP] = 0.25 mM, [Pi] = 1.65 mM,
R(Gaskonstanten)= 8.315 J/(mol·K), $\Delta G^{0'} = -30.5$ kJ/mol

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right)$$

↑
free energy change at standard state

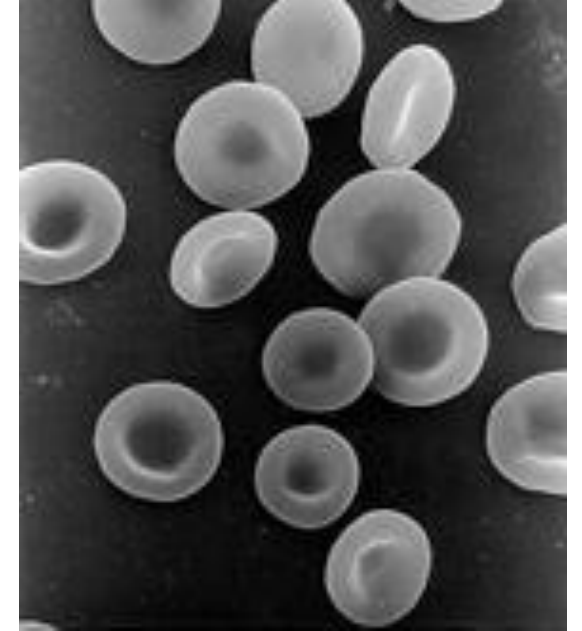
$$\Delta G = -30.5 \text{ kJ/mol} + [(8.315 \text{ J/(mol}\cdot\text{K)}) \times (310\text{K}) \times \ln \frac{(0.25 \times 10^{-3})(1.65 \times 10^{-3})}{(2.25 \times 10^{-3})}]$$

$$= -30.5 \text{ kJ/mol} + (2.58 \text{ kJ/mol}) \ln 1.8 \times 10^{-4}$$

$$= -30.5 \text{ kJ/mol} + (2.58 \text{ kJ/mol}) (-8.6)$$

$$= -30.5 \text{ kJ/mol} - 22 \text{ kJ/mol}$$

$$= -52 \text{ kJ/mol}$$



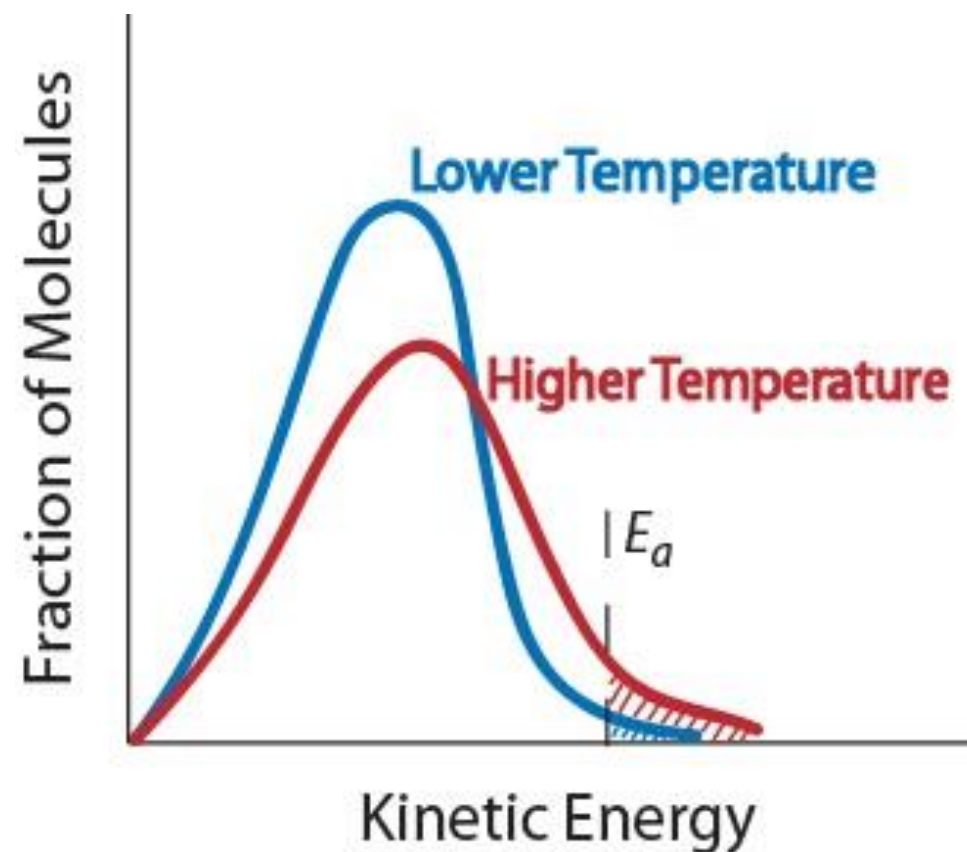
Vad bestämmer reaktionshastigheten?

Faktorer som påverkar är:

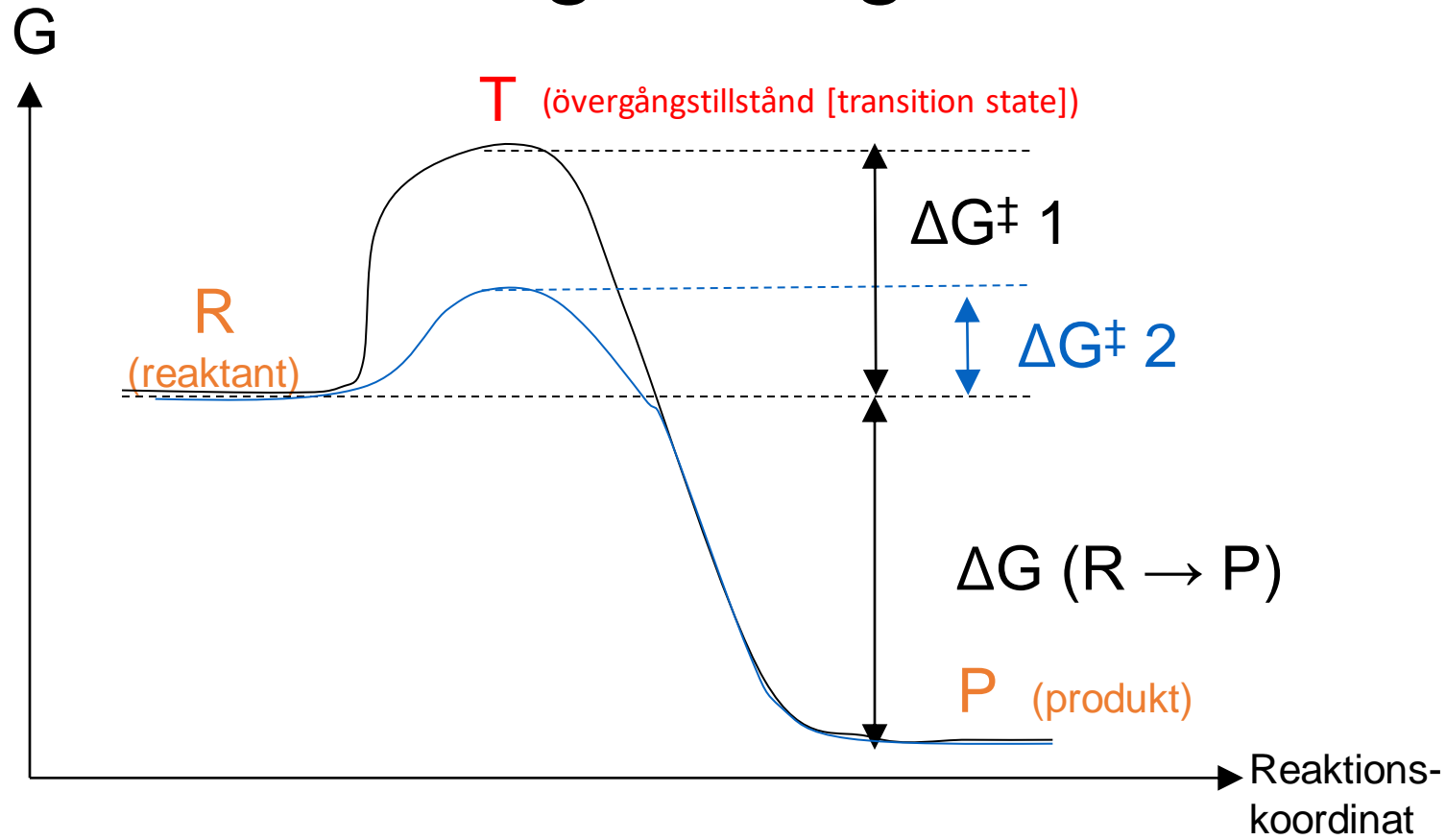
- Temperatur
- Tryck
- Reaktionens natur
- Koncentration av reaktanter
- ... lösningsmedel, elektromagnetisk strålning, katalysator, isotoper, ytarea, omrörning och diffusionsgräns.

Värme bestämmer reaktionshastigheten

En ökning av temperaturen ökar typiskt reaktionshastigheten. En ökning av temperaturen kommer att höja den genomsnittliga kinetiska energin för reaktantmolekylerna. Därför kommer en större andel molekyler att ha den minsta energi som krävs för en effektiv kollision.



Aktiveringsenergi

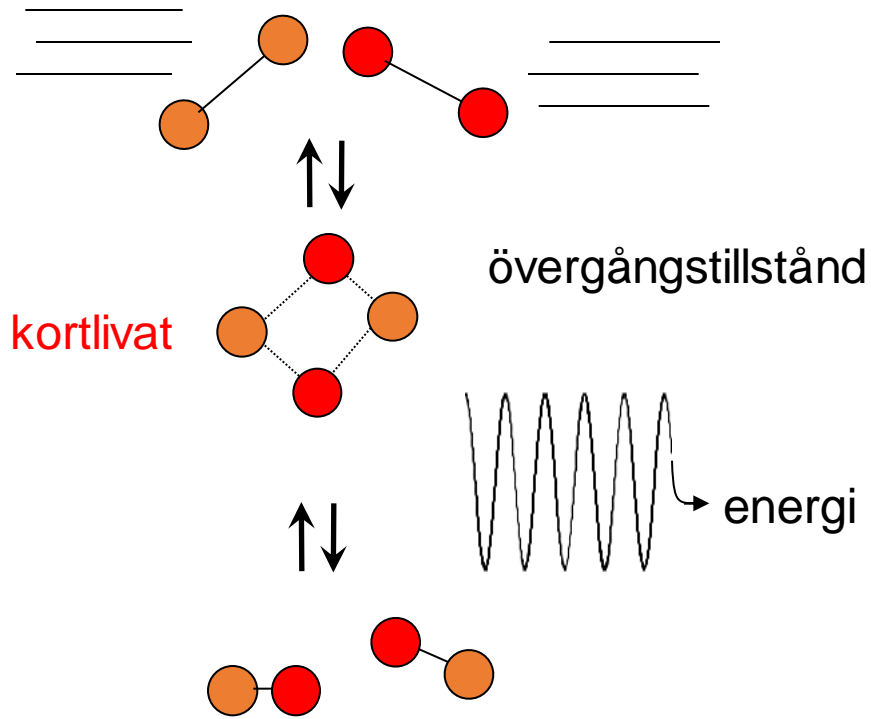


Aktiveringsenergin är skillnaden i fri energi mellan *övergångstillståndet*, det mellanprodukt som har högst fri energi under reaktionen, och reaktanterna (se fig).

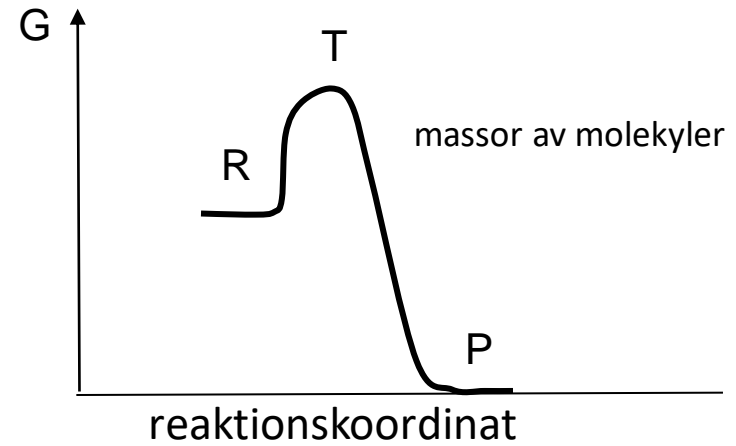
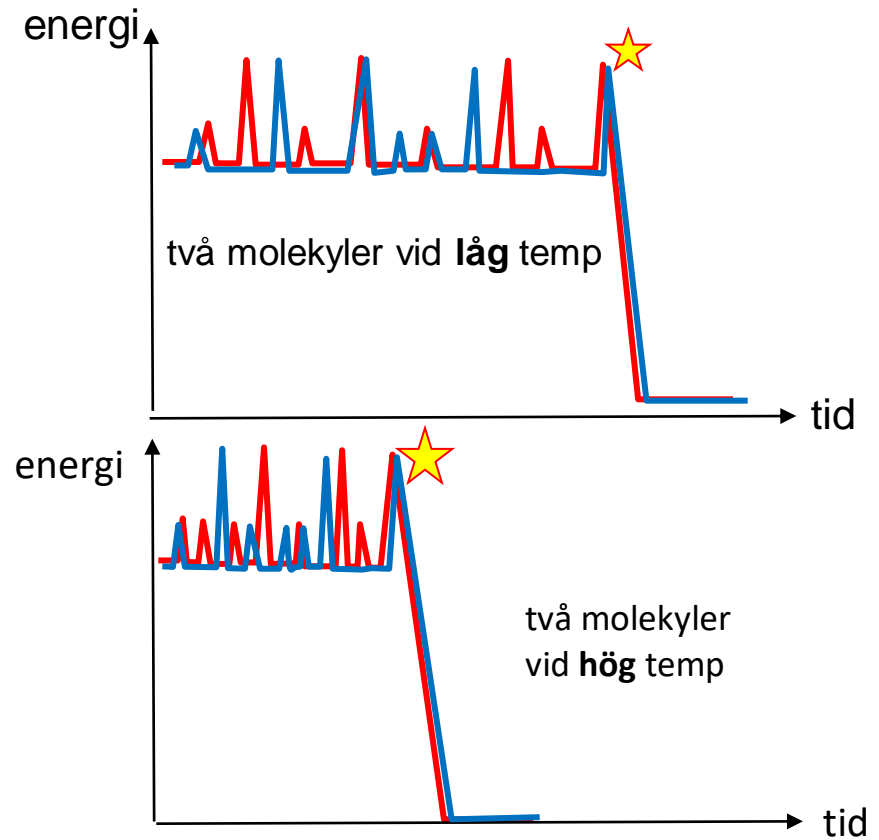
Aktiveringsenergin kan vara olika stor under olika betingelser, men ΔG för själva nettoreaktionen (reaktanter \rightarrow produkter) är alltid densamma.

Aktiveringsenergin kan sänkas med hjälp av en *katalysator*. Enzymer är katalysatorer.

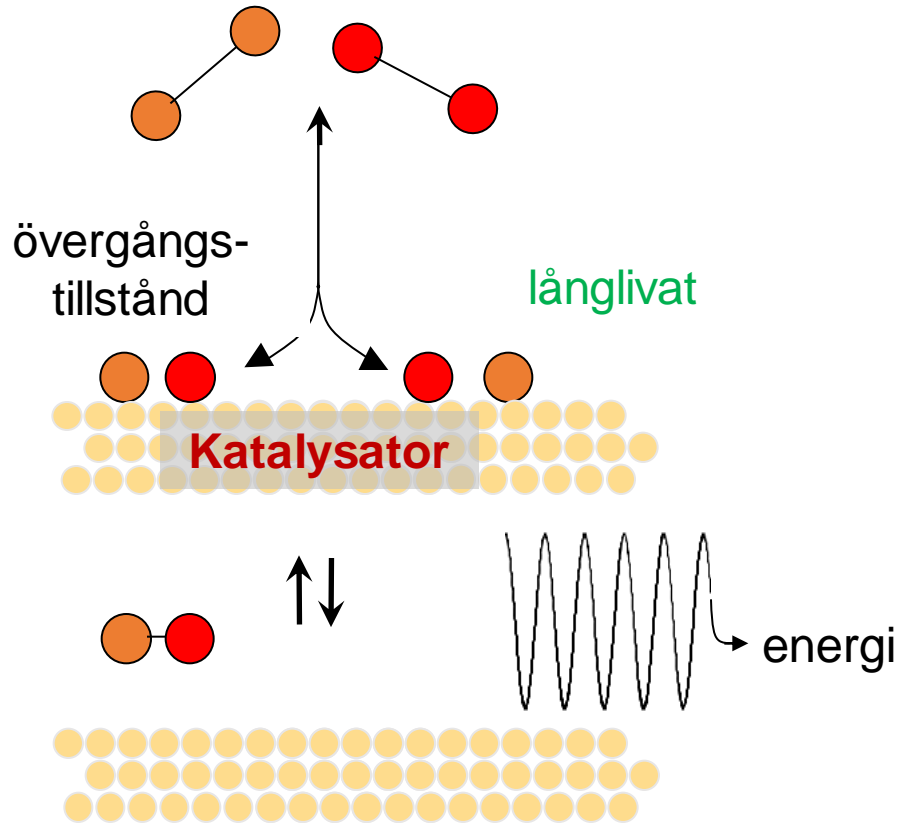
Okatalyserad reaktion kräver mer energi



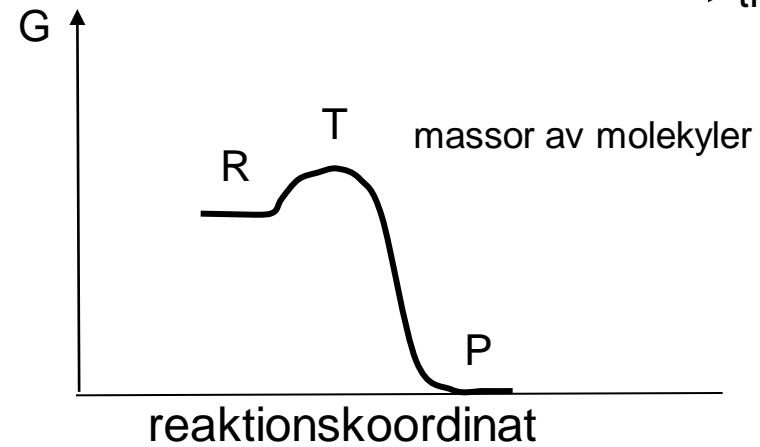
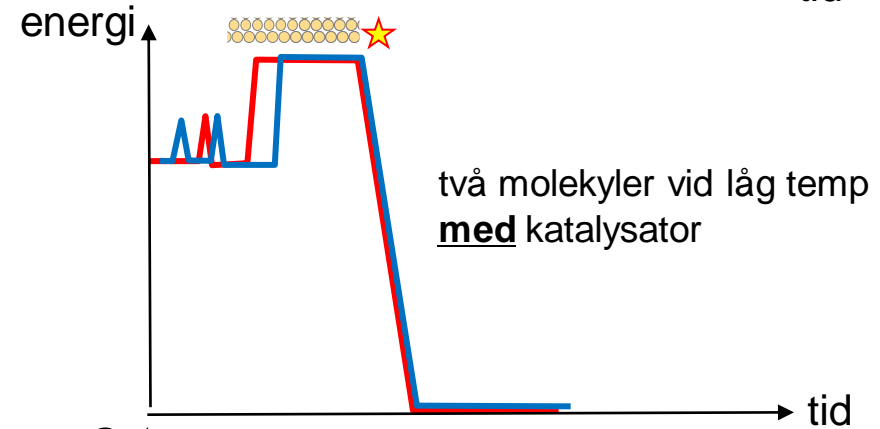
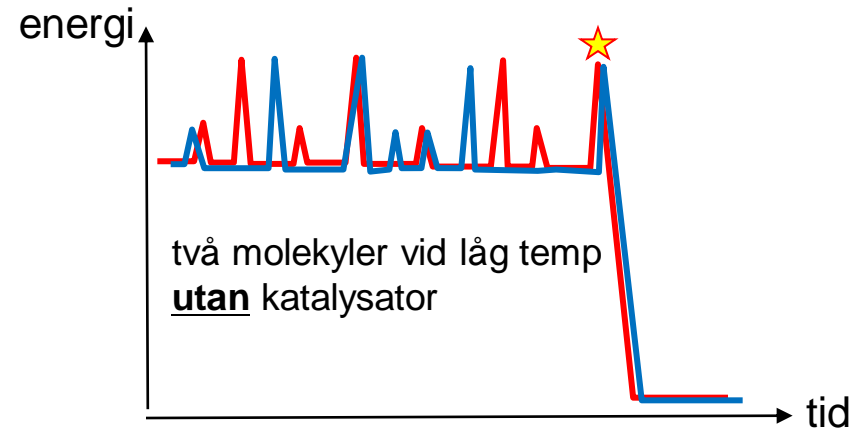
Okatalyserad reaktion
Kortlivat övergångstillstånd
Hög aktiveringsenergi



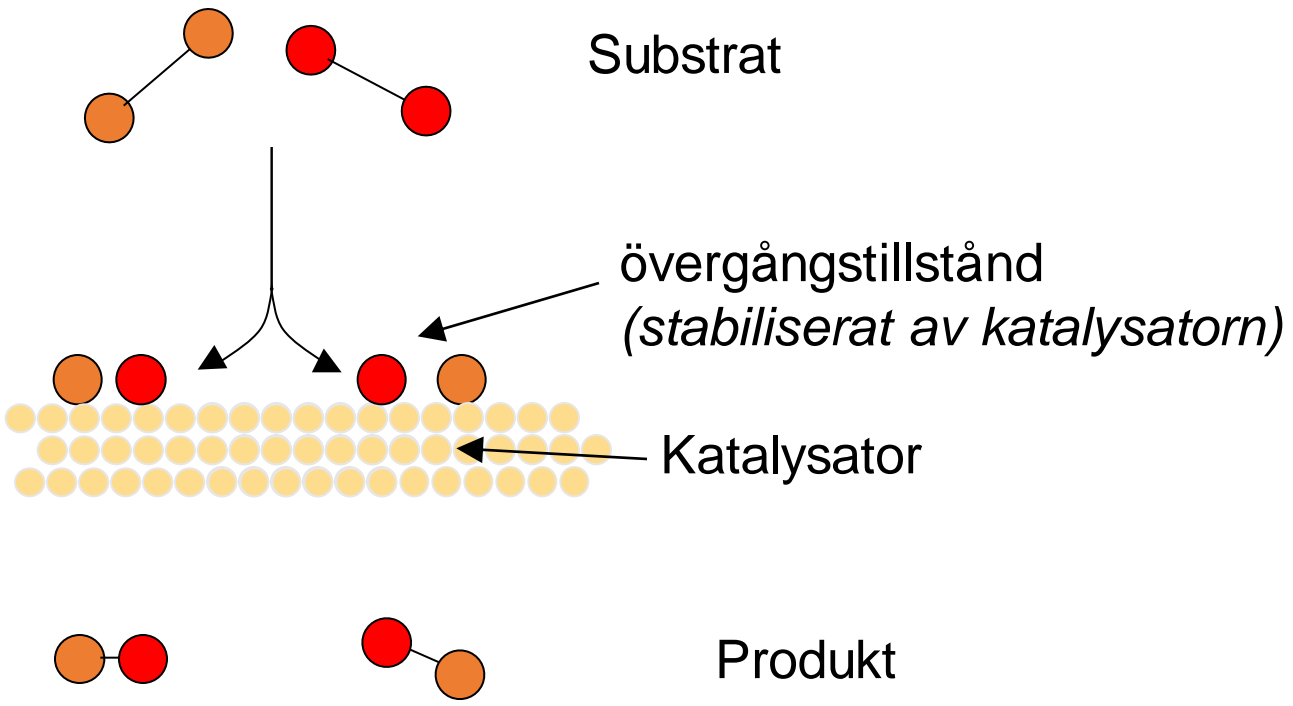
Katalysatorn stabiliserar övergångstillståndet



Katalyserad reaktion
Långlivat övergångstillstånd
Låg aktiveringsenergi

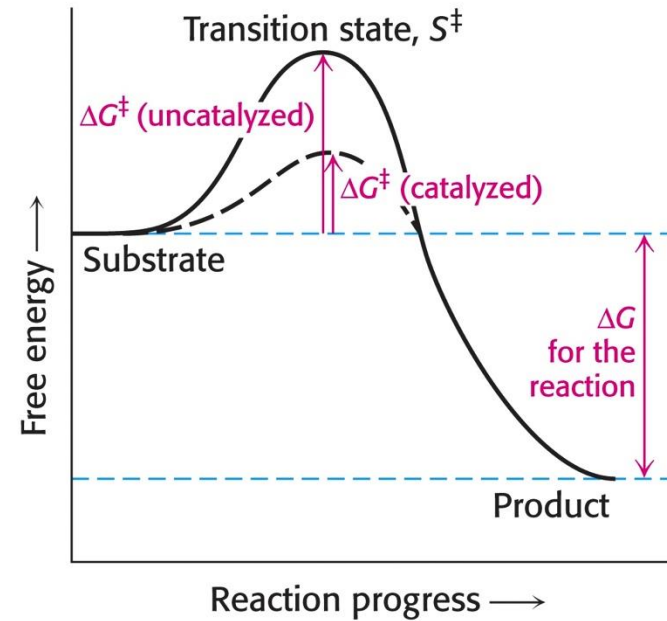


en gång till...

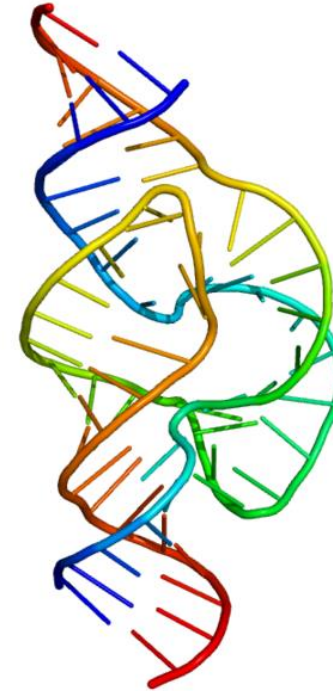
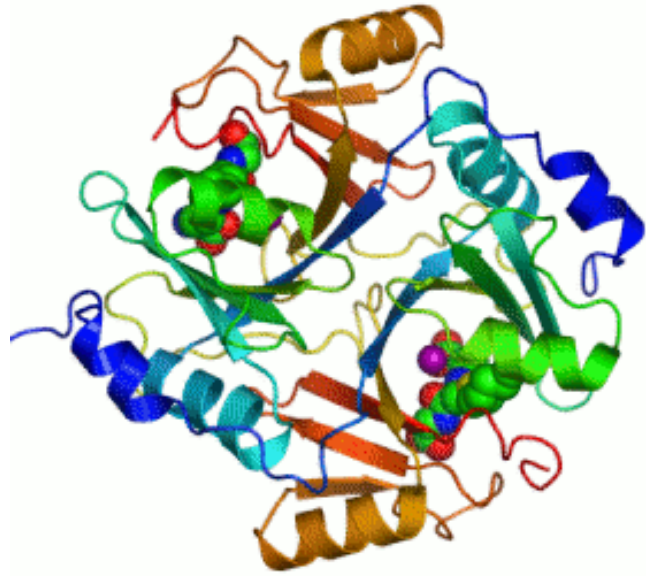


Katalysatorer

- sänker aktiveringsenergin
- stabiliserar övergångstillståndet
- påskyndar reaktionen
- förbrukas inte
- påverkar inte jämviktskonstanten



Enzymer



Enzymer är biologiska katalysatorer. De allra flesta är proteiner, men i ett fåtal mycket viktiga undantagsfall kan RNA katalysera biokemiska reaktioner. Det finns hypoteser om att de första enzymerna i evolutionen var RNA-molekyler.

No enzyme

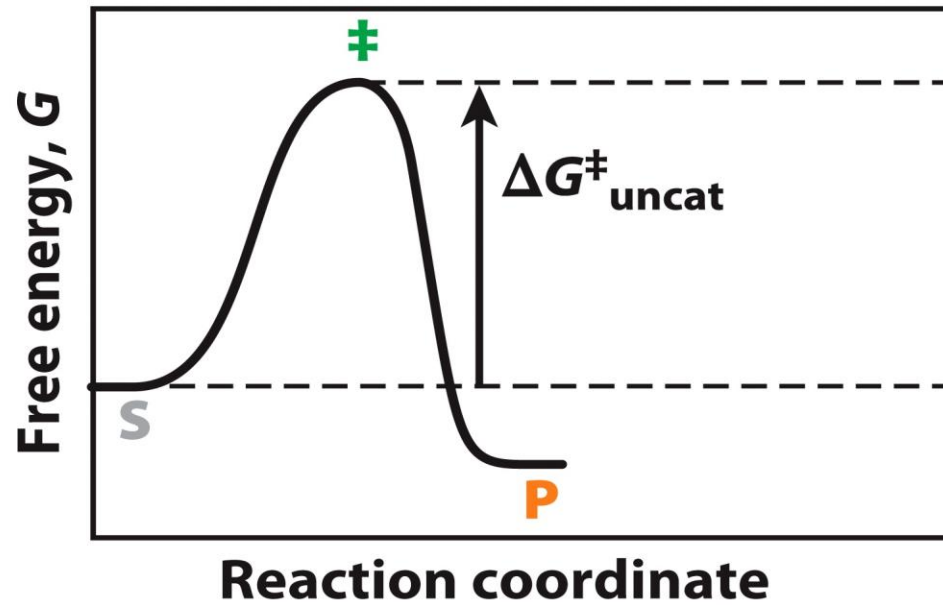
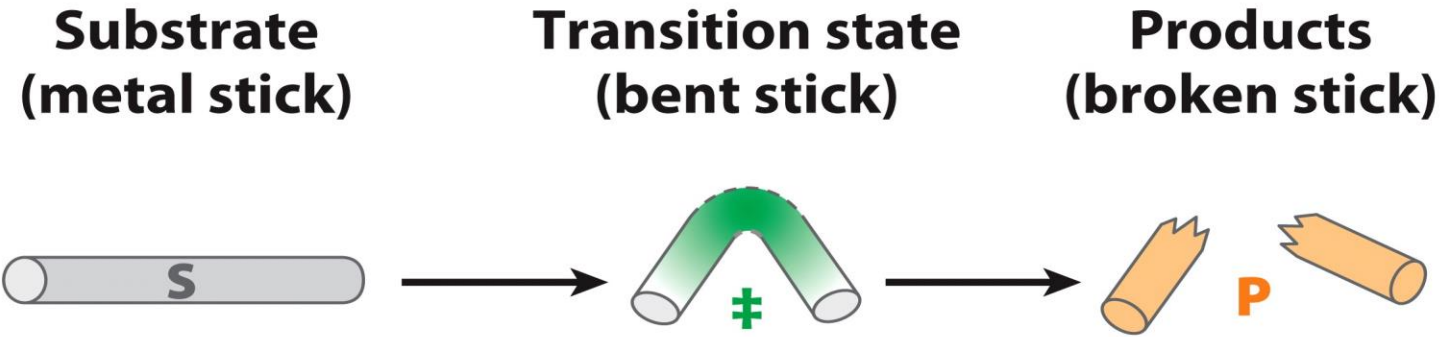


Figure 6-5a
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Enzyme complementary to substrate

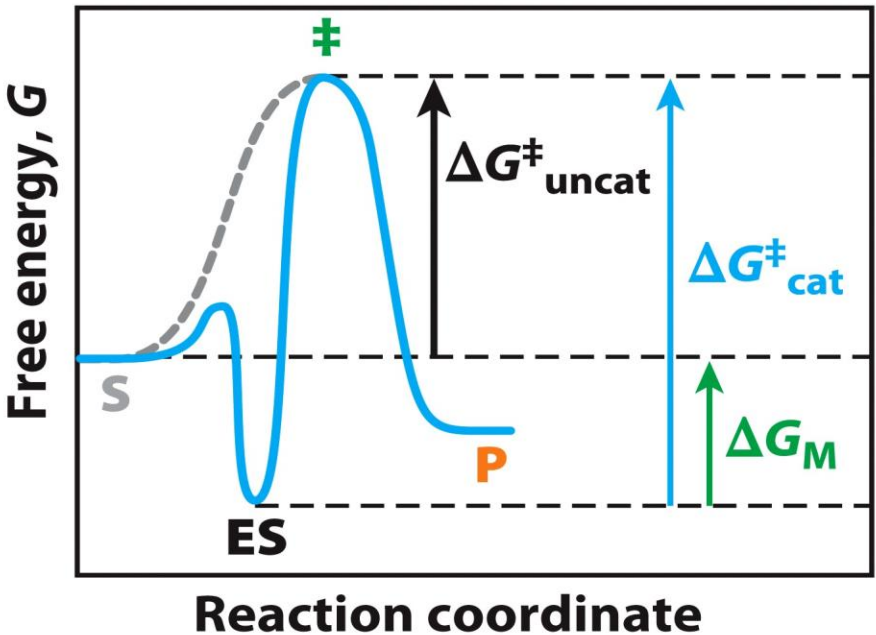


Figure 6-5b
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

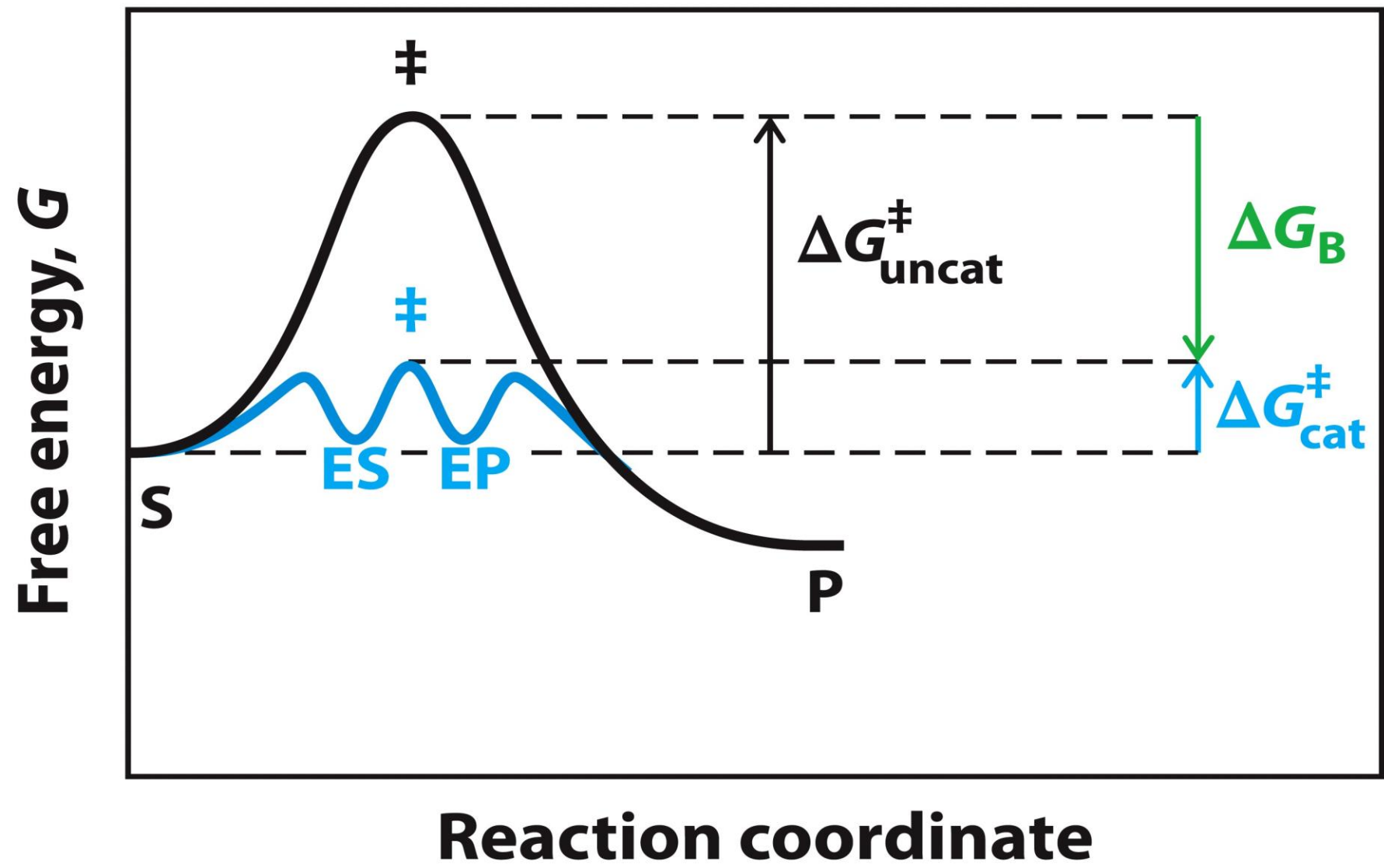


Figure 6-6
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

KATALYS - två grundprinciper

Reaktionsmekanistiskt sett kan enzymet:

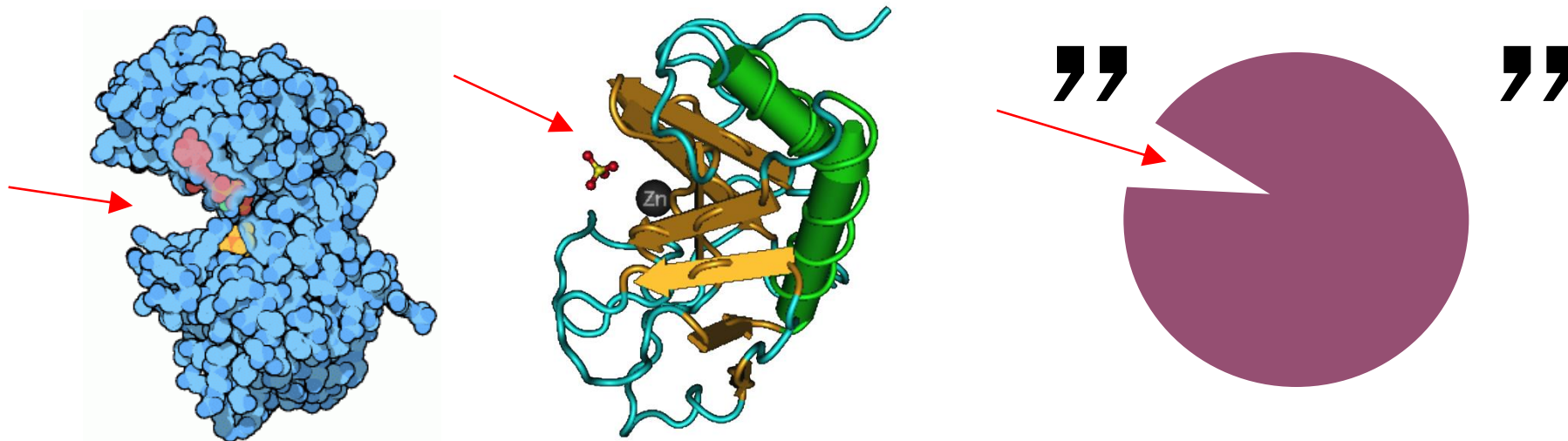
antingen

1. *stabilisera TS* på den “normala” reaktionsvägen oftast mha generella syror eller baser alternativt mha metalljoner

eller

2. *erbjuda en alternativ reaktionsväg* med lägre nivå på TS oftast någon form av kovalent katalys där substratet är kovalent bundet till enzymet (alt. en kofaktor) under delar av katalysen

Den katalytiska delen av ett typiskt enzym är mycket liten



Samtliga protein-enzym som studerats strukturellt har visat sig ha en liten (i förhållande till hela enzymet), väl avgränsad region som är ansvarig för katalysen, det aktiva centret (active site). Den befinner sig alltid i en trång inbuktning eller "klyfta" (catalytic cleft). Detta möjliggör:

- Snävt urval av substrat
- Unik kemisk miljö
- Uteslutning av "onödigt" vatten

Många icke-kovalenta bindningar mellan enzym och substrat skapar ett substratspecifikt "nyckelhål"

En central egenskap hos enzymer – och som skiljer dem från andra katalysatorer – är deras förmåga att "välja" substrat med mycket hög specificitet.

Strukturen hos det aktiva centret kan fungera som ett "nyckelhål" där bara rätt substrat bildar en mängd icke-kovalenta bindningar (som t ex vätebindningar) md enzymet.

"Nyckelhålet" kan också uppstå i ett dynamiskt samspel mellan enzymet och substratet (*induced fit*, nedan t h).

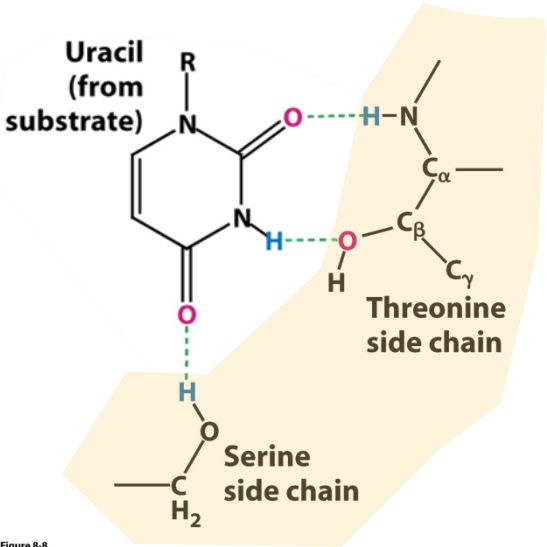


Figure 8-8 Biochemistry, Sixth Edition © 2007 W.H. Freeman and Company

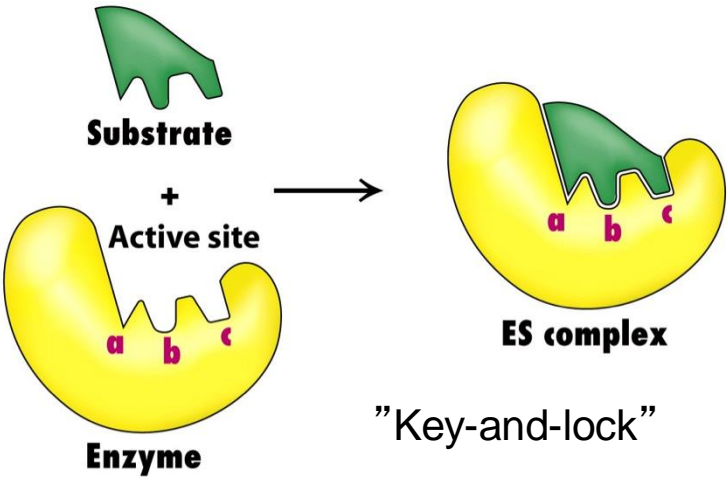


Figure 8-9 Biochemistry, Sixth Edition

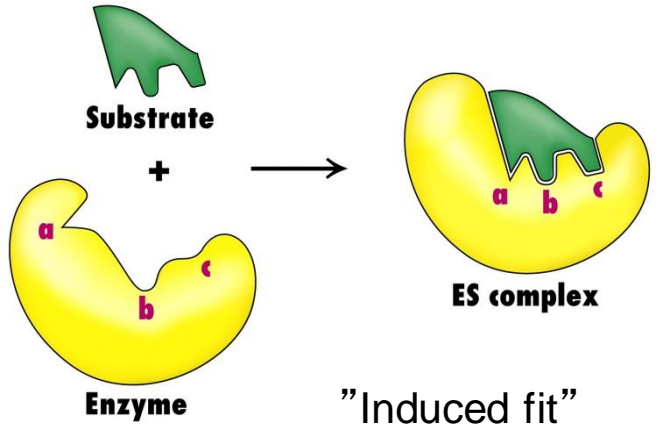
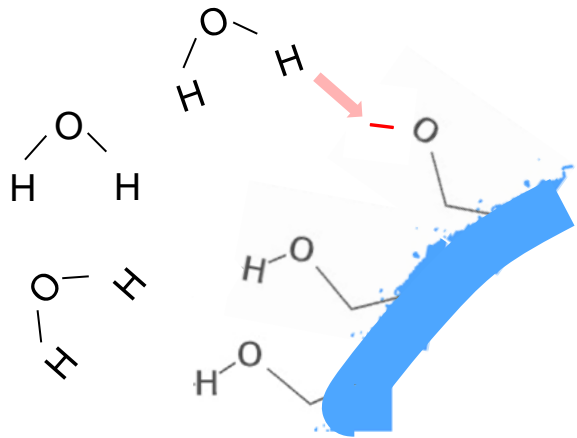


Figure 8-10 Biochemistry, Sixth Edition © 2007 W.H. Freeman and Company

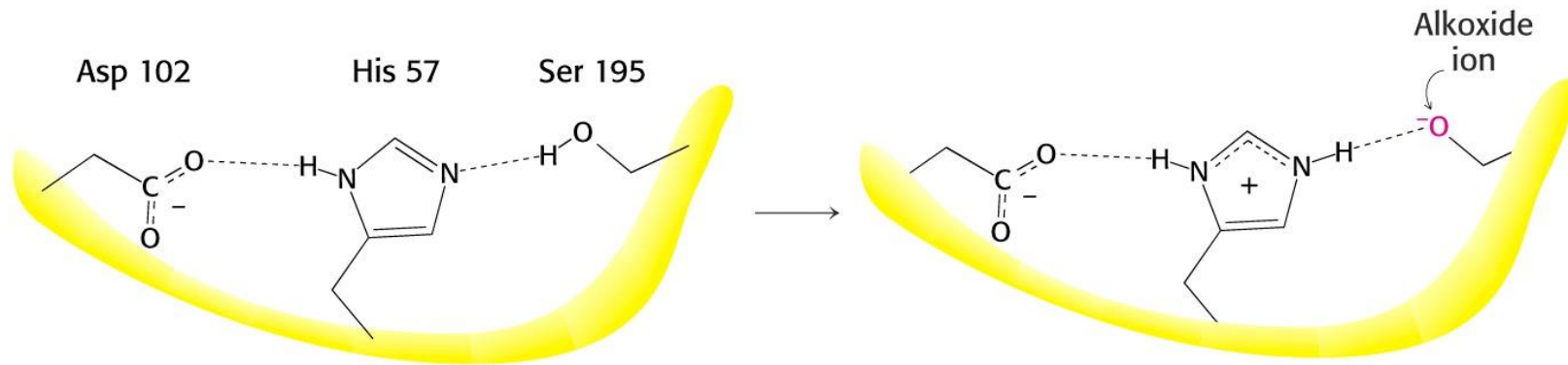
I en hydrofob och vattenfattig miljö får polära sidokedjor särskilda egenskaper



En serin-sidokedja kan bli deprotonerad, vilket gör den mycket reaktiv.

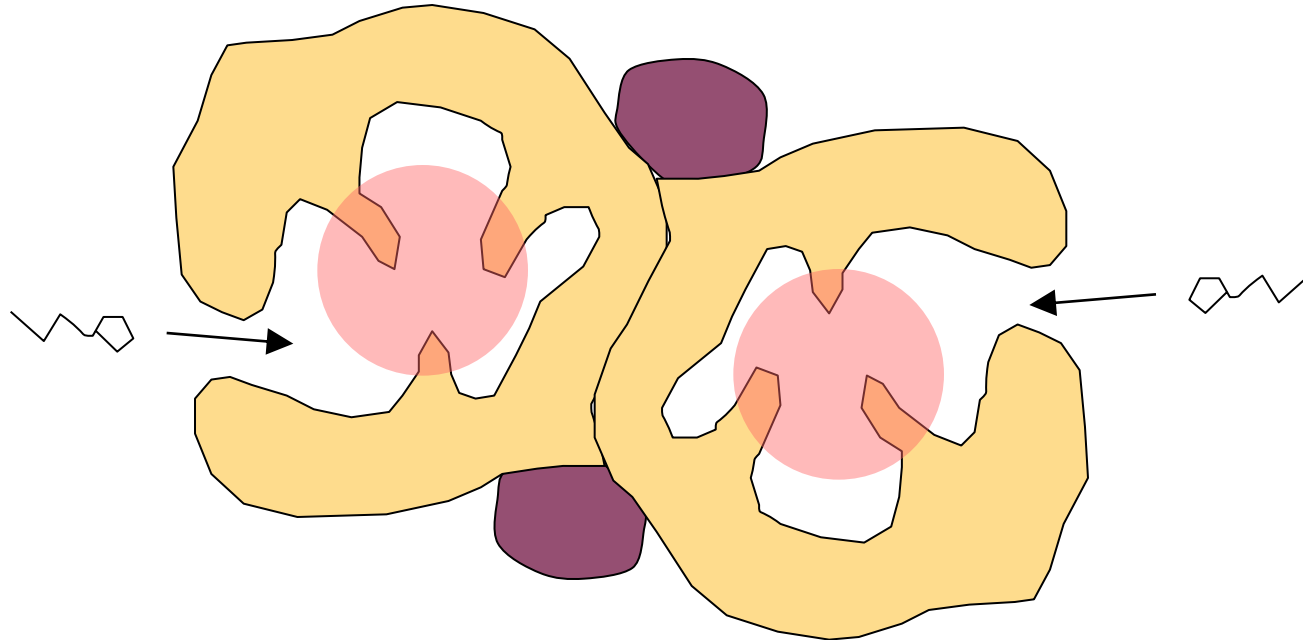
På ett proteins hydrofila yta kan serin interagera med många andra polära sidokedjor och med vattenmolekylerna i omgivningen. En deprotonerad serin-sidokedja blir därför mycket snabbt reprotonerad i denna miljö.

I en hydrofob och vattenfattig klyfta, som i ett enzyms aktiva centrum, kan deprotonerat serin ha en mycket längre livstid.



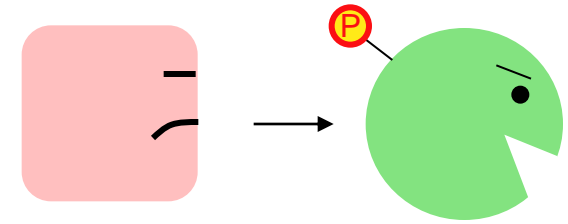
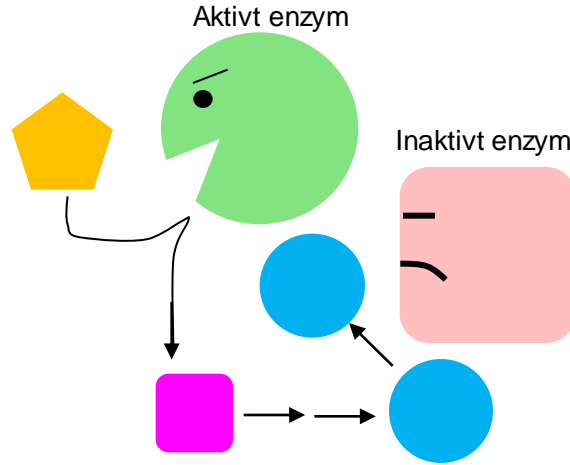
Varför är enzymer så stora?

- För att skapa (= omge) en katalytisk "klyfta"
- Det aktiva centret kan bestå av olika delar av polypeptidkedjan som ligger långt från varandra.
- Andra delar av enzymet kan vara involverade i oligomerisering, bindning av regulatoriska ämnen (allosteri) eller bildandet av en substrat-kanal



Reglering av enzymer: allosteri och kooperativitet

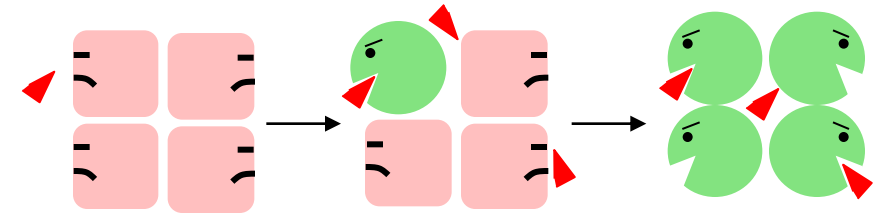
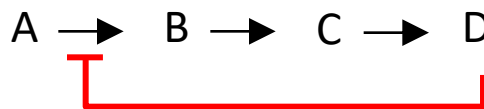
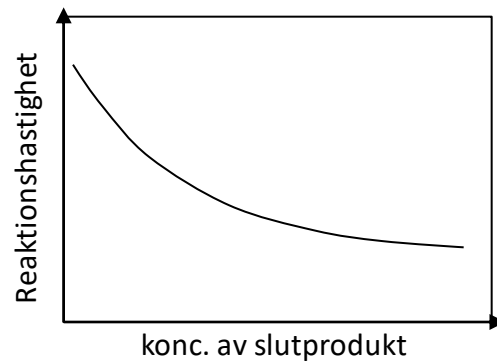
Allosteri: enzymet påverkas av något som sker med en annan del än det katalytiska centret



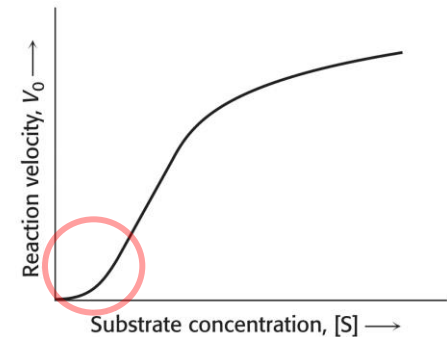
Alloster aktivering av enzym med fosforilyering
Katalyserad av kinas-enzym

Inaktivering av enzym med alloster inhibitor

(ofta slutprodukt i en reaktionskedja som enzymet startar = *feedbackinhibition*)



Kooperativitet: enzymaktiviteten ökar med högre substratkonzentration



Vissa enzymer kräver co-faktorer

co-faktor = nödvändigt "bihang" som ej är protein

apoenzym = proteindelen av enzymet

holoenzym = apoenzym + co-faktor

coenzym = co-faktor som är organisk molekyl

prostetisk grupp = co-enzym hårt bundet till apoenzym

TABLE 8.2 Enzyme cofactors

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'-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

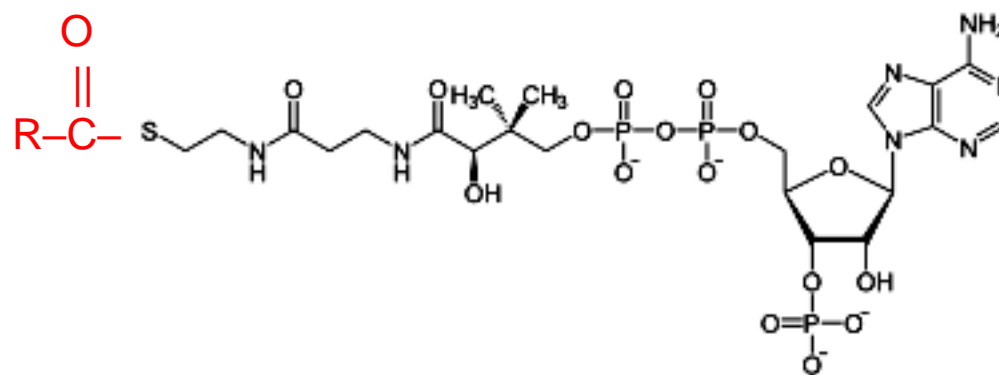
De flesta vattenlösliga vitaminer metaboliseras till co-enzym

TABLE 8.9 Water-Soluble Vitamins

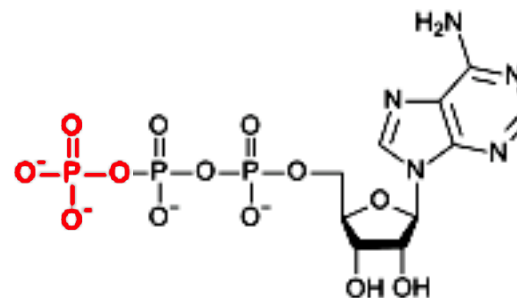
Vitamin	Coenzyme	Typical reaction type	Consequences of deficiency
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfer	Beriberi (weight loss, heart problems, neurological dysfunction)
Riboflavin (B ₂)	Flavin adenine dinucleotide (FAD)	Oxidation–reduction	Cheliosis and angular stomatitis (lesions of the mouth), dermatitis
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Group transfer to or from amino acids	Depression, confusion, convulsions
Nicotinic acid (niacin)	Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD ⁺)	Oxidation–reduction	Pellagra (dermatitis, depression, diarrhea)
Pantothenic acid	Coenzyme A	Acyl–group transfer	Hypertension
Biotin	Biotin–lysine complexes (biocytin)	ATP-dependent carboxylation and carboxyl–group transfer	Rash about the eyebrows, muscle pain, fatigue (rare)
Folic acid	Tetrahydrofolate	Transfer of one-carbon components; thymine synthesis	Anemia, neural-tube defects in development
B ₁₂	5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Transfer of methyl groups; intramolecular rearrangements	Anemia, pernicious anemia, methylmalonic acidosis
C (ascorbic acid)		Antioxidant	Scurvy (swollen and bleeding gums, subdermal hemorrhages)

Exempel på coenzym

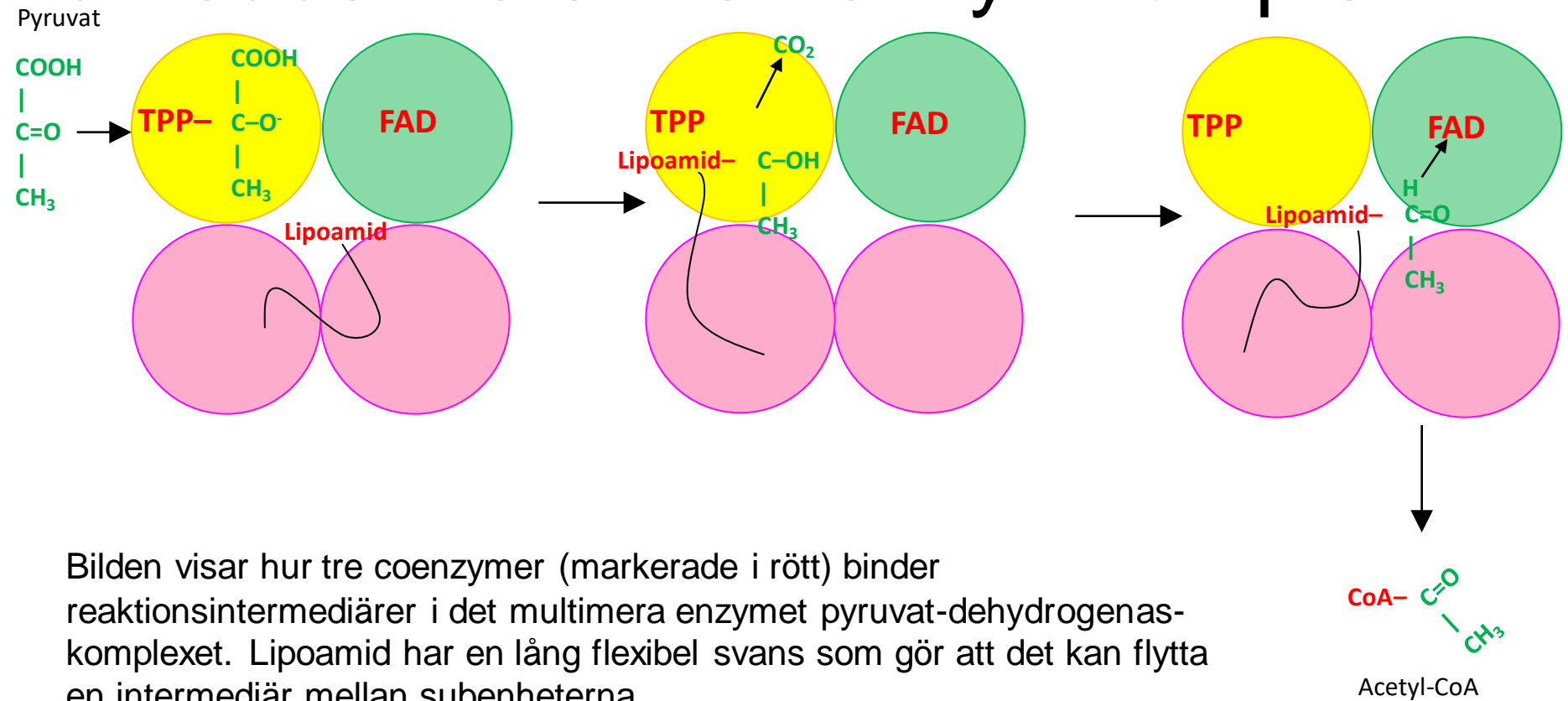
Coenzym A,
en "syra-hållare"
(acceptor/donator)



ATP, en fosfat/energi-
donator mm



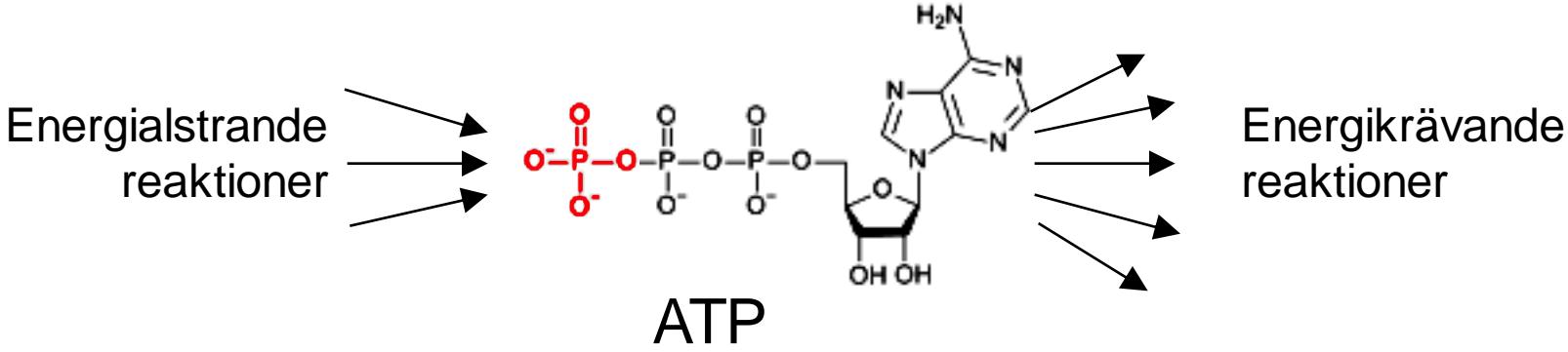
Coenzymmer kan flytta reaktions-intermediärer mellan subenheter i ett enzymkomplex



Bilden visar hur tre coenzymmer (markerade i rött) binder reaktionsintermediärer i det multimeriska enzymet pyruvat-dehydrogenas-komplexet. Lipoamid har en lång flexibel svans som gör att det kan flytta en intermediär mellan subenheterna.

Produkten, acetat, lämnar enzymen bunden till ytterligare ett coenzym, CoA.

ATP är en (nästan) universell energivaluta för enzymer

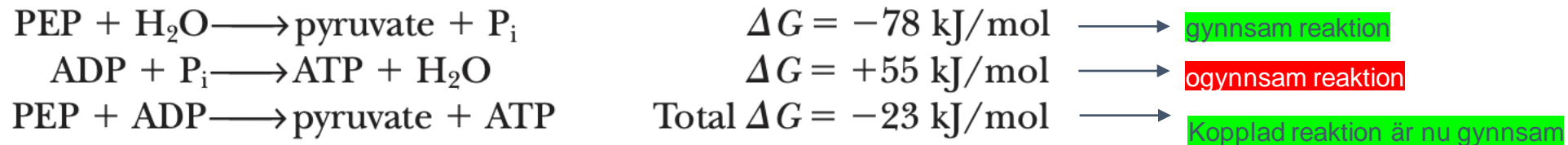


Koppling möjliggör ogynnsamma reaktion

- Alla biologiska reaktioner är inte spontana / termodynamiskt gynnsamma med negativt ΔG .
- För de reaktioner med positiv ΔG , koppling med mycket gynnsamma processer hjälper till att driva den termodynamiskt ogynnsamma reaktionen.

Exempel:

ATP syntes är kopplad till PEP spjälkning



- Även andra energikällor kan användas för liknande koppling, se senare föreläsningar

Sammanfattning

- Repetition entalpi, entropi och fri energi. Jämviktskonstanter och ΔG^0
- Enzymers struktur. Det aktiva centret
- Hur enzymer arbetar. Övergångstillståndet
- Co-faktorer och energetisk koppling