

Enzyme

- Kinetische Eigenschaften
- Enzymklassen
- Einheiten
- Enzyme in der medizinischen Diagnostik

Ein Teil der Folien wurde freundlicherweise von Dr. Stefan Mogk, IFIB, zur Verfügung gestellt

Enzyme sind Biokatalysatoren.

Meistens handelt es sich um **Proteine** (z.B. Enzyme des Stoffwechsels).

Im weitesten Sinne sind nahezu alle Nicht-Struktur-Proteine einer Zelle Enzyme (z.B. Chaperone), da sie einen biologischen Prozess beschleunigen, ohne selbst verändert zu werden.

Auch Ribonukleinsäuren können enzymatisch aktiv sein (**Ribozyme**), oft zusammen mit Proteinen als **Ribonucleoproteine**.

Katalysator

- Erhöht die **Reaktionsgeschwindigkeit**.
- Senkt die **Aktivierungsenergie**.
- Geht unverändert aus der Reaktion hervor (**wird nicht verbraucht**).
- Beschleunigt **Hin- und Rückreaktion**,
- d.h. Enzyme können das Gleichgewicht nicht verschieben.
- Ändert die **Kinetik**, nicht jedoch die **Thermodynamik** einer Reaktion.



Warum brauchen wir Enzyme (Katalysatoren) ?

... Weil die Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von der Temperatur ist und deshalb Aktivierungsenergie zugeführt werden muß. Viele Reaktionen in biologischen Systemen würden daher mit kaum messbarer Geschwindigkeit ablaufen

... Weil sie verschiedene Energieformen ineinander umwandeln können

Die Hauptsätze der Thermodynamik unterscheiden zwischen einem System und seiner Umgebung.

System: Materie innerhalb eines definierten Bereichs

Umgebung: Materie im übrigen Universum

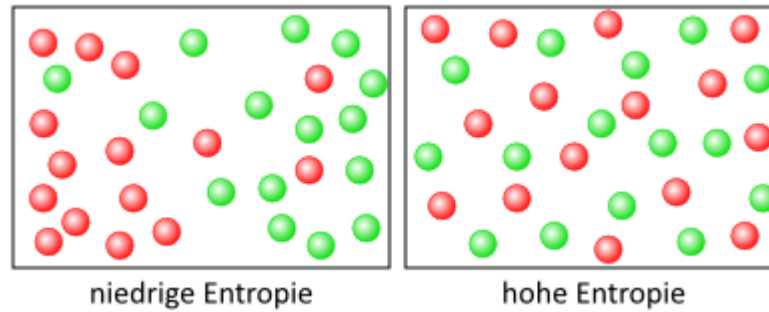
Man unterscheidet offene Systeme – Austausch von Teilchen und Energie (z.B. Zelle, Organismus) und geschlossene Systeme (Austausch von Energie , z.B. Druckkochtopf)

Erster Hauptsatz der Thermodynamik:

Die Gesamtenergie (Wärme + potentielle Energie) eines Systems und seiner Umgebung ist konstant.

Zweiter Hauptsatz der Thermodynamik:

Die Gesamtentropie eines Systems und seiner Umgebung nimmt bei spontan ablaufenden Reaktionen stets zu.



Entropie: Maß für die Unordnung eines Systems

Wichtigste Größe: (Gibbs'sche) Freie Energie = Freie Enthalpie

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

H = Enthalpie = Wärmegehalt des Systems

S = Entropie des Systems

T = Temperatur

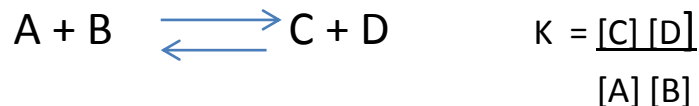
Die Änderung der Freien Energie liefert Informationen über die Spontaneität einer Reaktion, aber nicht über ihre Geschwindigkeit:

$\Delta G < 0$ spontane Reaktion, exotherm

$\Delta G = 0$ System im Gleichgewicht

$\Delta G > 0$ keine spontane Reaktion, endotherm

Die Freie Energie und die Gleichgewichtskonstante einer Reaktion sind durch eine einfache Beziehung miteinander verbunden:



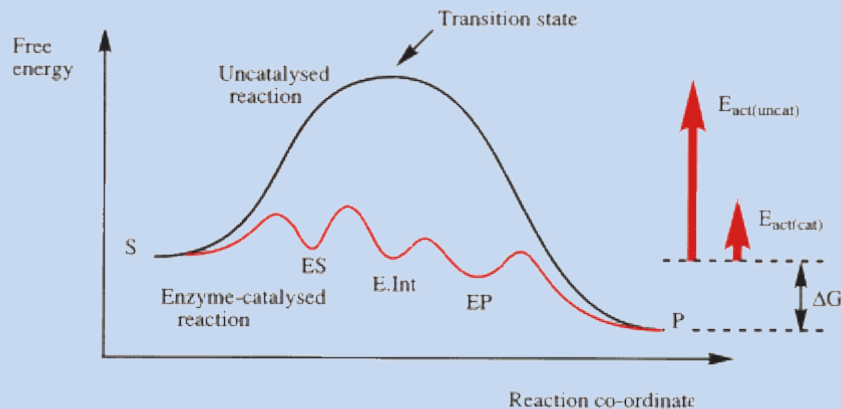
$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln K$$

ΔG° = Freie Standardenergie für Standardbedingungen: 1 M; 25 °C

bei pH 7 gilt:

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln K'$$

Wie funktioniert nun ein Enzym?



Enzyme...

...**stabilisieren den Übergangszustand** einer Reaktion.
...zerlegen eine Reaktion in mehrere **Teilreaktionen**.

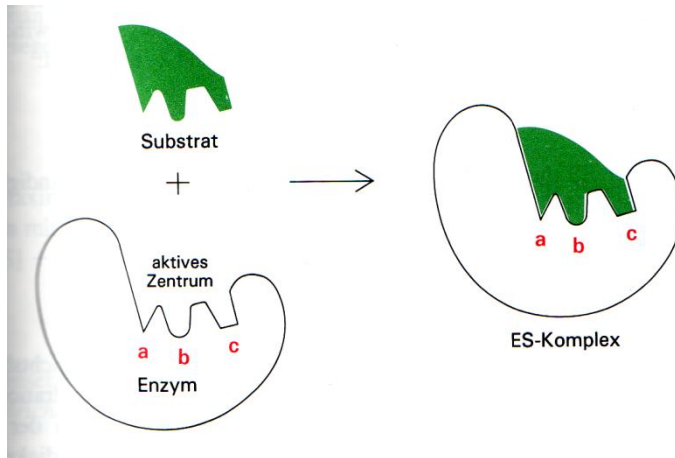
Dadurch wird die **Aktivierungsenergie** auf die einzelnen Zwischenschritte verteilt.

Die niedrigere Aktivierungsenergie kann auch bei **Körpertemperatur** erreicht werden.

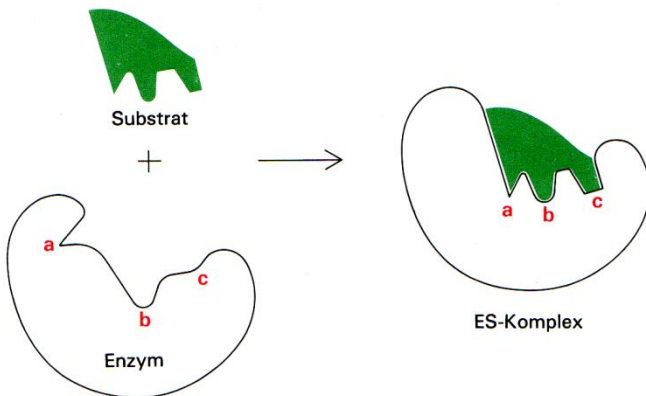
- Katalytisch wirksam ist das **aktive Zentrum** von Enzymen, das häufig in einer **Bindungstasche** lokalisiert ist.
- Das aktive Zentrum ist eine dreidimensionale Einheit, die von vielen Gruppen aus verschiedenen Abschnitten der linearen Sequenz gebildet wird.
- Die Bindungsspezifität (**Substratspezifität**) ist von der definierten Anordnung der Atome im aktiven Zentrum abhängig.

Bindungsspezifität:

1. Modell: **Schlüssel/Schloss-Prinzip** (Emil Fischer 1894)



2. Modell: **Induced fit** (E. Koshland 1958)



Strategien der Enzymkatalyse:

Räumliche Annäherung

Reaktionspartner werden extrem nah (und richtig orientiert) zusammen geführt, um eine Reaktion zu erleichtern.

Kovalente Katalyse

Besonders reaktive (z.B. nukleophile) Gruppen bringen das Substrat in einen instabilen Übergangszustand, der alleine kaum eintreten würde.

Multienzymkomplexe

z.B. Pyruvat-Dehydrogenase (3 Enzyme als Komplex zusammengebaut)

Cofaktoren

z.B. Vitamine

Enzyme kann man über ihre kinetischen Eigenschaften charakterisieren – Das Michaelis-Menten-Modell

Wie **Effektiv** arbeitet ein **Enzym**?

Michaelis-Menten-Kinetik



Leonor Michaelis
1875-1949

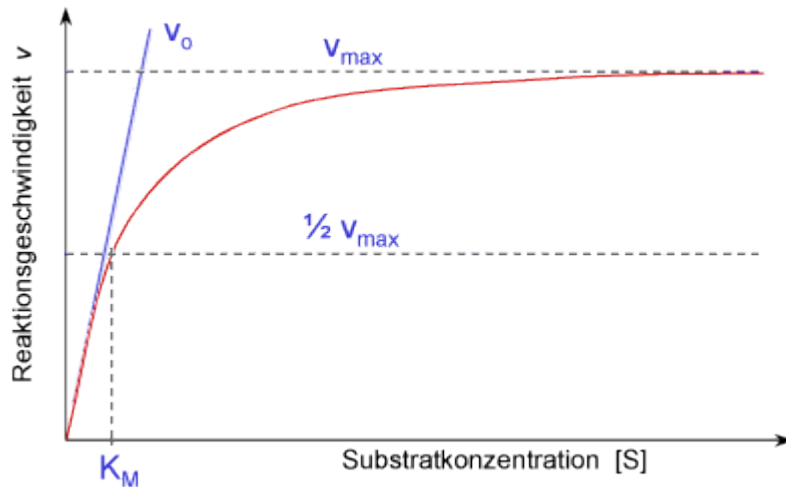


Maud Menten
1869-1960

Bei vielen Enzymen besteht zwischen der Katalysegeschwindigkeit und der Substratkonzentration folgender Zusammenhang:

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

Michaelis-Menten-Gleichung

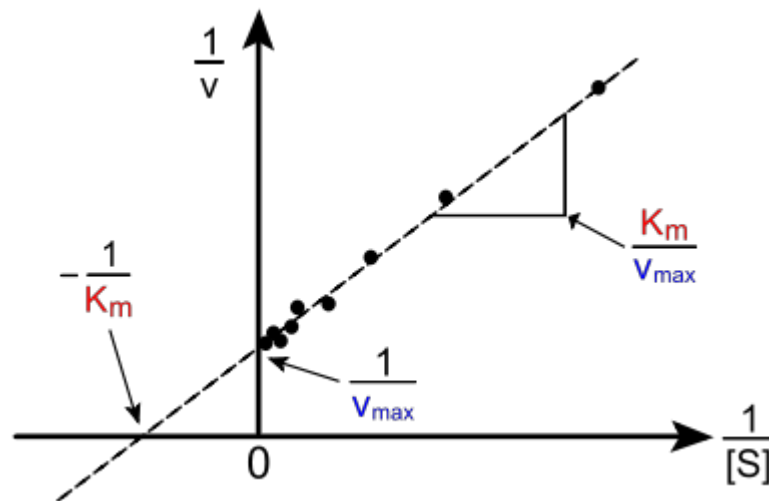


$V_{\max}$ = Maximalgeschwindigkeit

K_M = Michaelis-Konstante

Wichtige Kenngrößen für Enzyme !

Durch reziproken Auftrag kann man die Maximalgeschwindigkeit und die Michaelis-Konstante besser bestimmen:



Was bedeutet der K_M – Wert praktisch ?

Er ist ein Maß für die Affinität eines Enzyms zu seinem Substrat,
d.h.

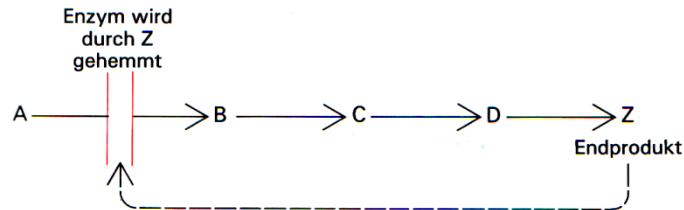
Kleiner K_M – Wert: hohe Affinität

Großer K_M –Wert: geringe Affinität

Er ist diejenige Substratkonzentration, bei der halbmaximale
Geschwindigkeit erreicht wird.

Enzyme können durch spezifische Moleküle gehemmt werden

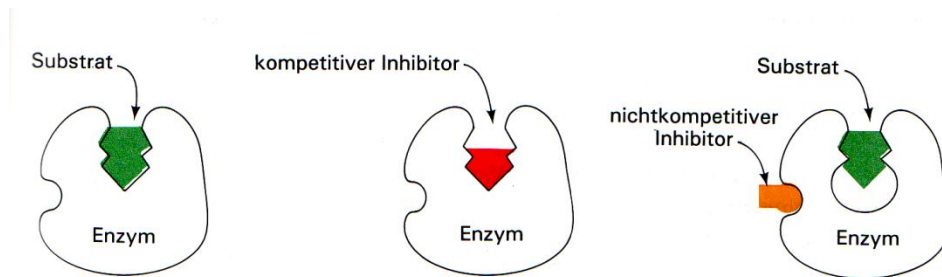
1. Regulation und Kontrolle der Aktivität



Feedback-Hemmung

2. Wirkung von Medikamenten und Giften (z.B. Penicillin, Cytostatica)

Hemmtypen: kompetitiv, nichtkompetitiv, allosterisch



Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **L**yasen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Otto Trifft Heute Lydia In Liverpool



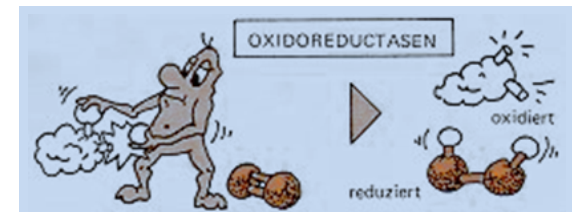
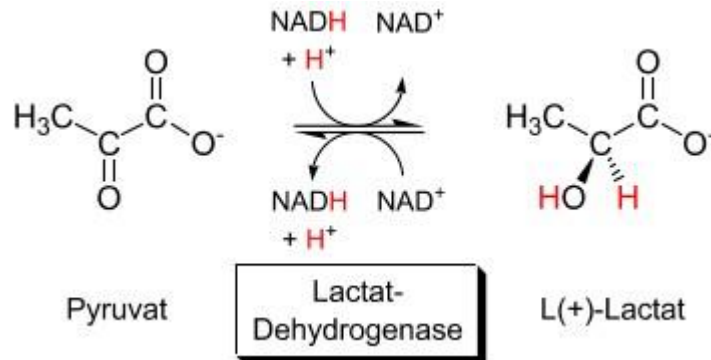
Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **L**yasen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Elektronentransfer

Laktatdehydrogenase

Beispiel: **L**aktatdehydrogenase



Oxidoreduktasen

Subklassen:

- Dehydrogenasen übertragen Elektronen im Verbund mit Protonen
- Oxygenasen oxidieren ihr Substrat durch Einbau von Sauerstoff
- Oxidasen freiwerdende Elektronen auf Sauerstoff → H₂O₂

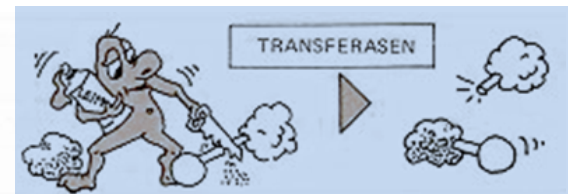
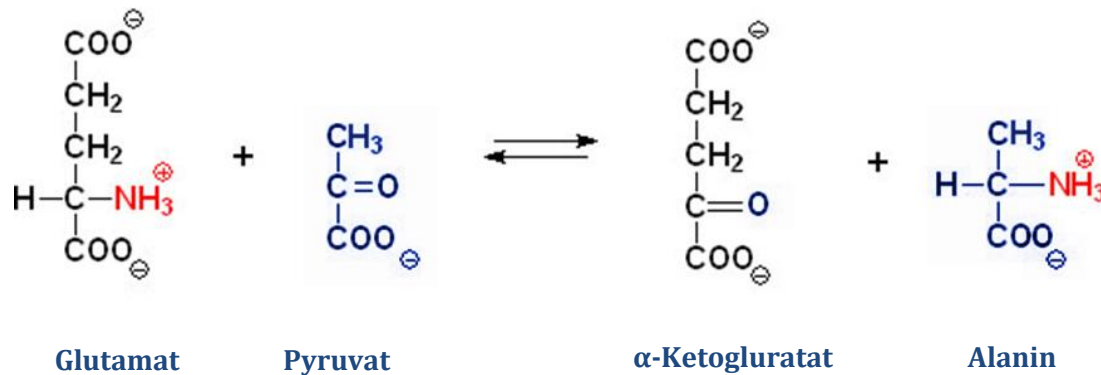
Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **L**yasen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Elektronentransfer
Transfer chemischer Gruppen

Laktatdehydrogenase
ALT (GPT)

Beispiel: **Alanin-Aminotransferase** (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)



Transferasen

Subklassen:

- Aminotransferasen übertragen Aminogruppen einer Aminosäure auf eine α -Ketosäure
- Kinasen übertragen Phosphatreste von ATP
- Acetyl- / Methyltransferasen

Einteilung in Enzymklassen:

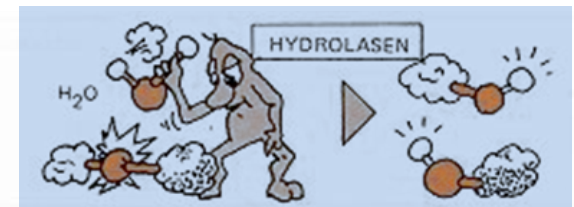
1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **L**yasen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Elektronentransfer
Transfer chemischer Gruppen
Hydrolyse

Laktatdehydrogenase
ALT (GPT)
Chymotrypsin

Beispiel: **Chymotrypsin**

Enzym aus dem Pankreas, hydrolytische Spaltung von
Peptidbindungen



Hydrolasen

Subklassen:

- Peptidasen/Proteasen
- Esterasen
- Glykosidasen
- Nukleasen
- ATPasen

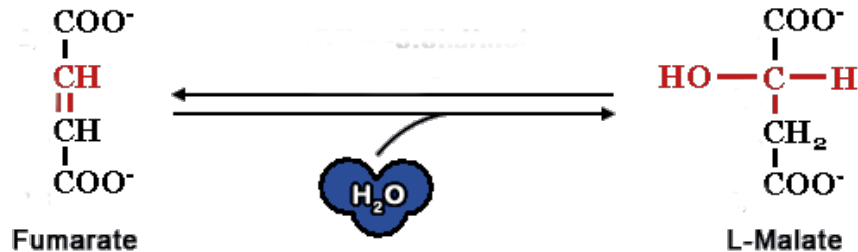
Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **Ly**asen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **Li**gasen / Synthetasen

Elektronentransfer
Transfer chemischer Gruppen
Hydrolyse
Hinzufügen / Abspalten von Gruppen an Doppelbindungen

Laktatdehydrogenase
ALT (GPT)
Chymotrypsin
Fumarase

Beispiel: **Fumarase**



Lyasen / Synthasen

Subklassen:

- Hydratasen und Dehydratasen
- Decarboxylasen

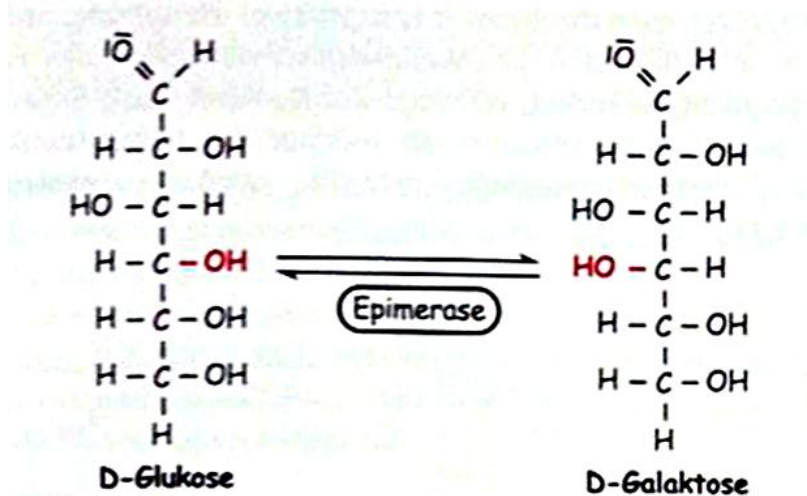
Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **L**yasen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Elektronentransfer
Transfer chemischer Gruppen
Hydrolyse
Hinzufügen / Abspalten von Gruppen an Doppelbindungen
Gruppentransfer innerhalb von Molekülen

Laktatdehydrogenase
ALT (GPT)
Chymotrypsin
Fumarase
Epimerase

Beispiel: **Epimerase**



Isomerasen

Subklassen:

- Epimerase
- Racemasen
- Isomerasen

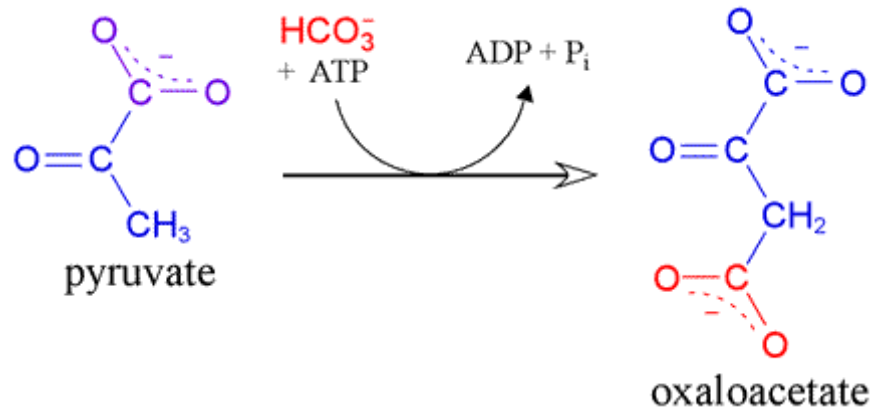
Einteilung in Enzymklassen:

1. **O**xidoreduktasen
2. **T**ransferasen
3. **H**ydrolasen
4. **Ly**asen / Synthasen
5. **I**somerasen
6. **L**igasen / Synthetasen

Elektronentransfer
Transfer chemischer Gruppen
Hydrolyse
Hinzufügen / Abspalten von Gruppen an Doppelbindungen
Gruppentransfer innerhalb von Molekülen
Bildung von C-C, C-O, C-S, C-N Bindungen (**ATP-Verbrauch**)

Laktatdehydrogenase
ALT (GPT)
Chymotrypsin
Fumarase
Epimerase
Pyruvatcarboxylase

Beispiel: **Pyruvatcarboxylase**



Ligasen / Synthetasen

Subklassen:

- Carboxylasen

Wie kann man Enzyme quantifizieren ?

Enzyme quantifiziert man über ihre **Aktivität** :

Die gebräuchliche Aktivitätseinheit ist die Unit (U bzw. mU) :

1 U ist diejenige Enzymmenge, die 1 μmol Substrat pro min unter Standardbedingungen umsetzt.

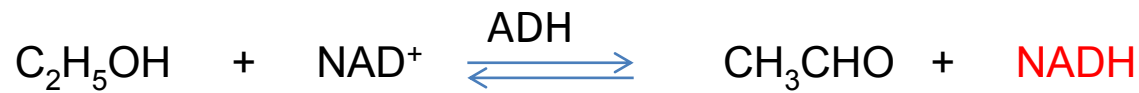
Man kann die Aktivität auf das Volumen beziehen , z.B. mU/ml oder auf die Proteinmenge, z.B. mU/mg Protein , dies ist die **spezifische Aktivität**.

Enzyme in der medizinischen Diagnostik - Aktivitätsbestimmung

Enzym		Organe
Alkalische Phosphatase	AP	Osteoblasten, Leber, Gallenwegsepithelien
alpha-Amylase		Pankreas, Speicheldrüsen
Creatinkinase mit Isoformen	CK	Herz- und Skelettmuskel
Glutamat-Dehydrogenase	GLDH	Leber (Mitochondrien)
Γ -Glutamyl-Transpeptidase	Γ -GT	Leber und Gallenwegsepithelien
Lactatdehydrogenase	LDH	Herzmuskel, Erythrozyt
Lipase		Pankreas
Saure Phosphatase		Prostata

Enzyme in der medizinischen Diagnostik - Substratbestimmung

Beispiel : Ethanolbestimmung (Alkoholtest)



Ethanol

Acetaldehyd

ADH = Alkoholdehydrogenase

Coenzym = NAD = **N**icotinamid**a**denin**d**inucleotid

