

# ENZYME

Teil 1: Grundlagen und  
Substratbestimmungen

# Metastabiler Zustand

---

Beispiel:



- $K = \frac{[\text{Glc6P}] [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{Glc}] [\text{Pi}]} = 1.135 \times 10^{-3}$

⇒ Gleichgewicht stark auf Seite von Glc + Pi

- $\Delta G_o' = -4.02 \text{ kcal mol}^{-1}$  (Exergonische Reaktion)

⇒ Reaktion läuft freiwillig ab!

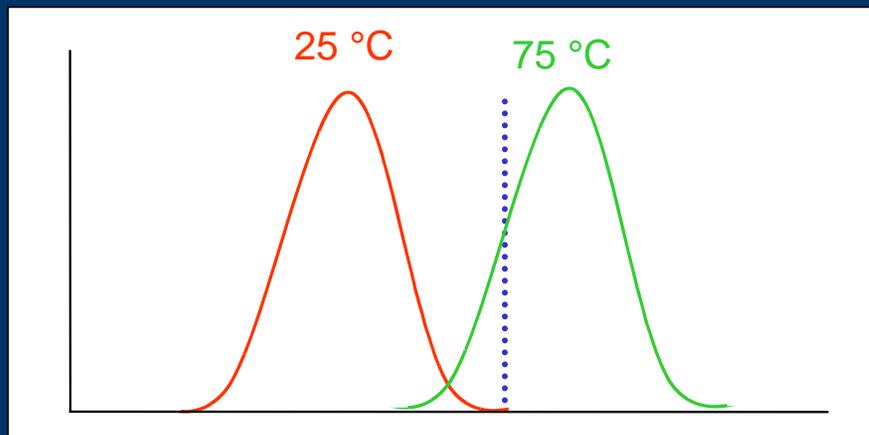
**ABER:** Beim Lösen von Glc6P in Wasser passiert aber scheinbar nichts!

# Vorraussetzungen für den Ablauf einer Reaktion

---

## Zusammenstoß der Moleküle:

- Räumlich richtig !
- Energiereich genug !



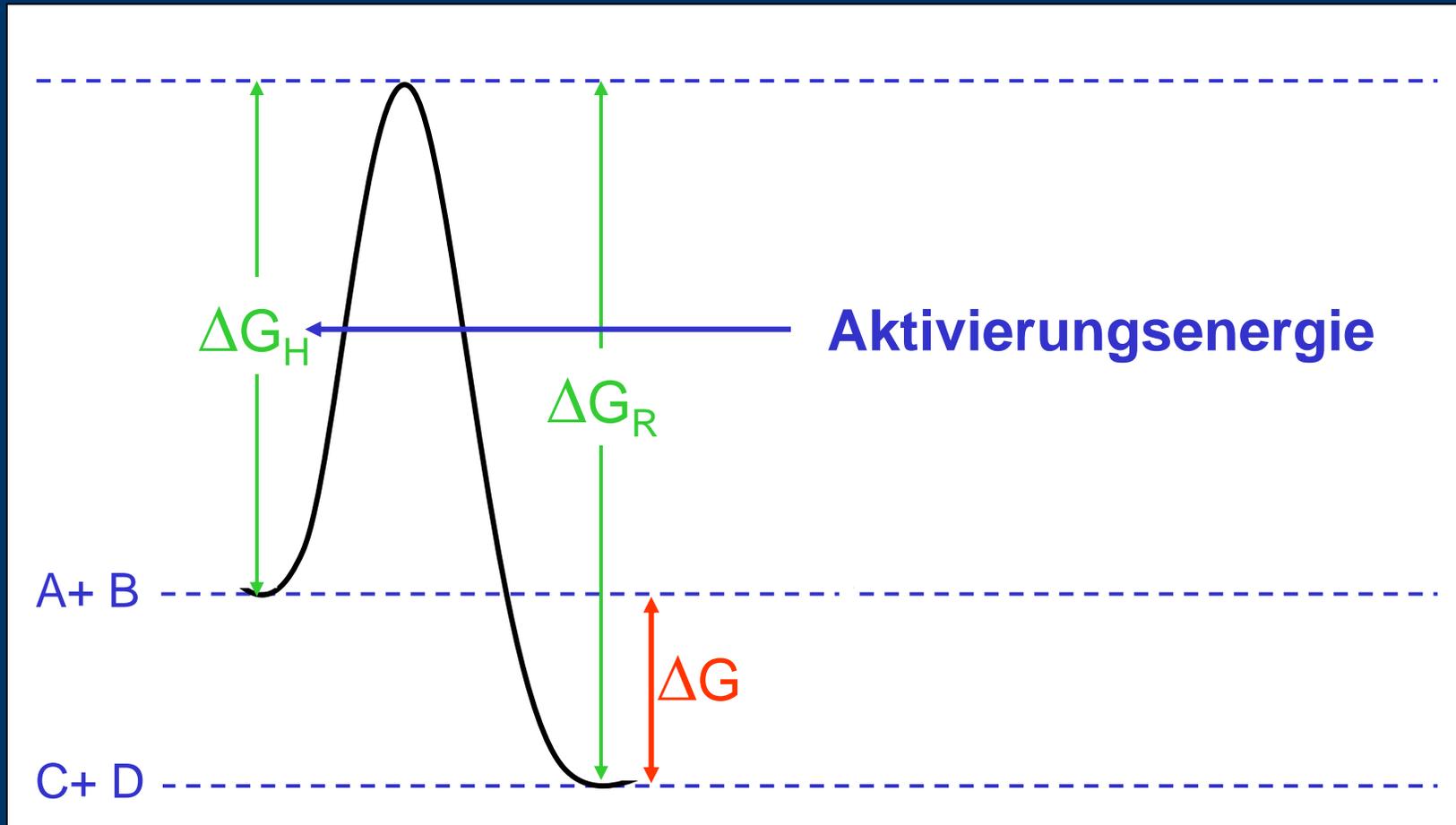
notwendige  
Energie



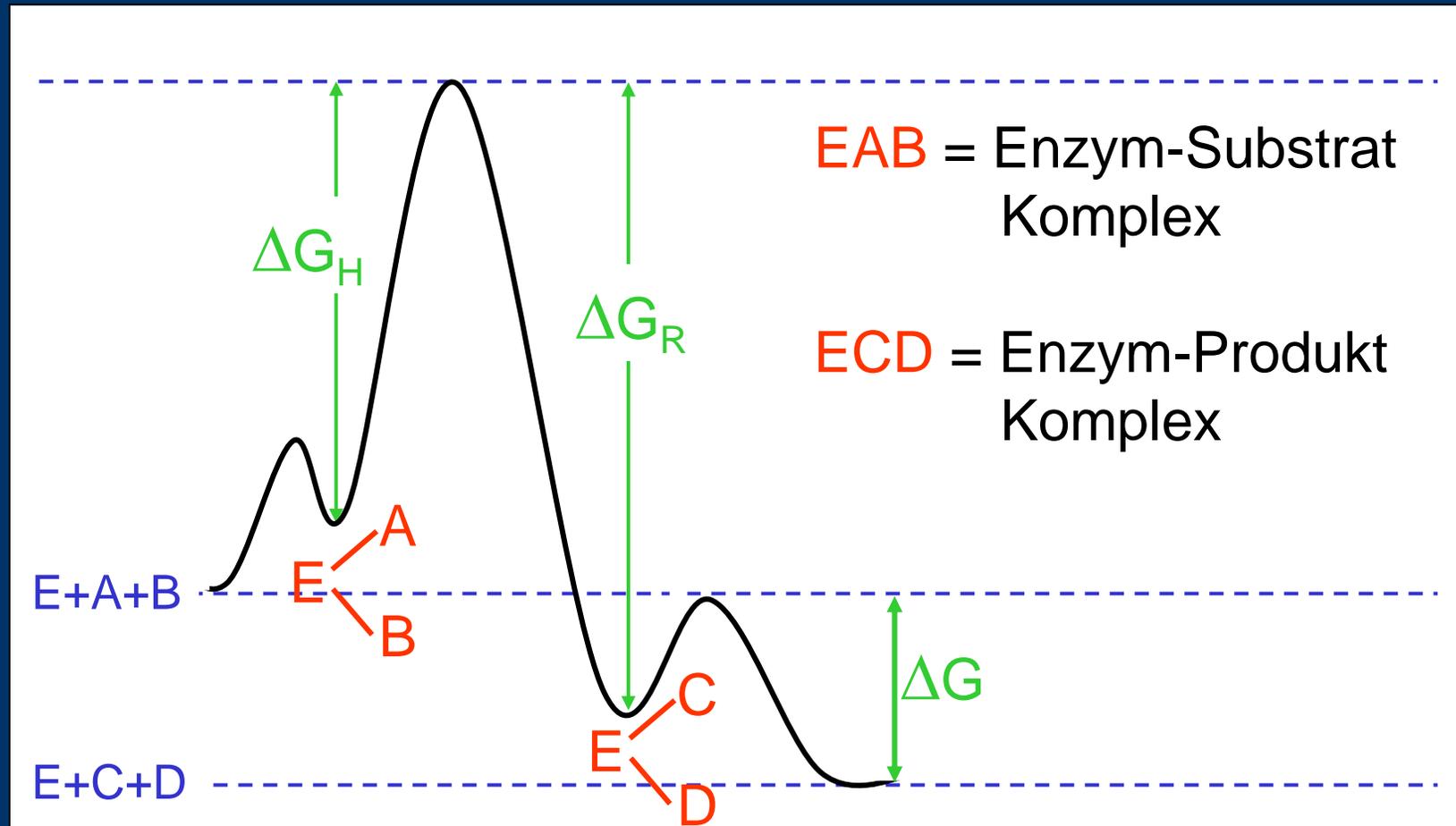
Energiezufuhr (Temperaturerhöhung) steigert die Reaktionsgeschwindigkeit !

**Aktivierungsenergie**  
die Energie, die man einem System zuführen muß, damit die Reaktion messbar schnell abläuft

# Energieprofil (unkatalysierte Reaktion)



# Energieprofil (enzymkatalysierte Reaktion)



# Enzymkatalysierte Reaktionen

---

benötigen geringere Aktivierungsenergie, weil:

- **Näherungseffekt**  
räumlich richtige Ausrichtung der Substrate durch Bindung an Enzym
- **Mikroeffekt**  
optimale Bedingungen für Reaktion am Enzym (pH, Solvatisierung, etc)
- **Konformationsstreckungseffekt**  
durch Substratbindung Gestaltänderung des Enzyms (Übergangszustand)

# Enzymkatalysierte Reaktionen

---

- **Gleichgewicht**

Ein Enzym verändert die Geschwindigkeit einer Reaktion in Richtung des Gleichgewichts.

**Das Gleichgewicht selbst kann aber nicht verändert werden!**

Wenn das Gleichgewicht einer Reaktion stark auf einer Seite liegt spricht man von einer **nicht umkehrbaren Reaktion**.

- **Hin- und Rückreaktion**

Ein Enzym kann eine Reaktion in beide Richtungen beschleunigen. Die Reaktion läuft aber immer in Richtung Gleichgewicht ab.

# Was sind Enzyme

---

Enzyme sind Biokatalysatoren, die die Aktivierungsenergie einer Reaktion herabsetzen können!

Unterschiede zu anderen Katalysatoren sind:

- **Spezifität**  
für die Substrate (Gruppen) und Reaktionen
- **Kapazität**  
sehr hohe Effizienz (Beschleunigung bis zu  $10^{14}$ -fach)
- **Regulation**  
Aktivität kann an Umweltbedingungen angepasst werden.

# Regulation von Enzymen

---

- **Proteinsynthese und Proteinabbau**

Neusynthese des gewünschten Enzyms;  
Aktivierung oder Deaktivierung von Genen

- **Konformationsänderung**

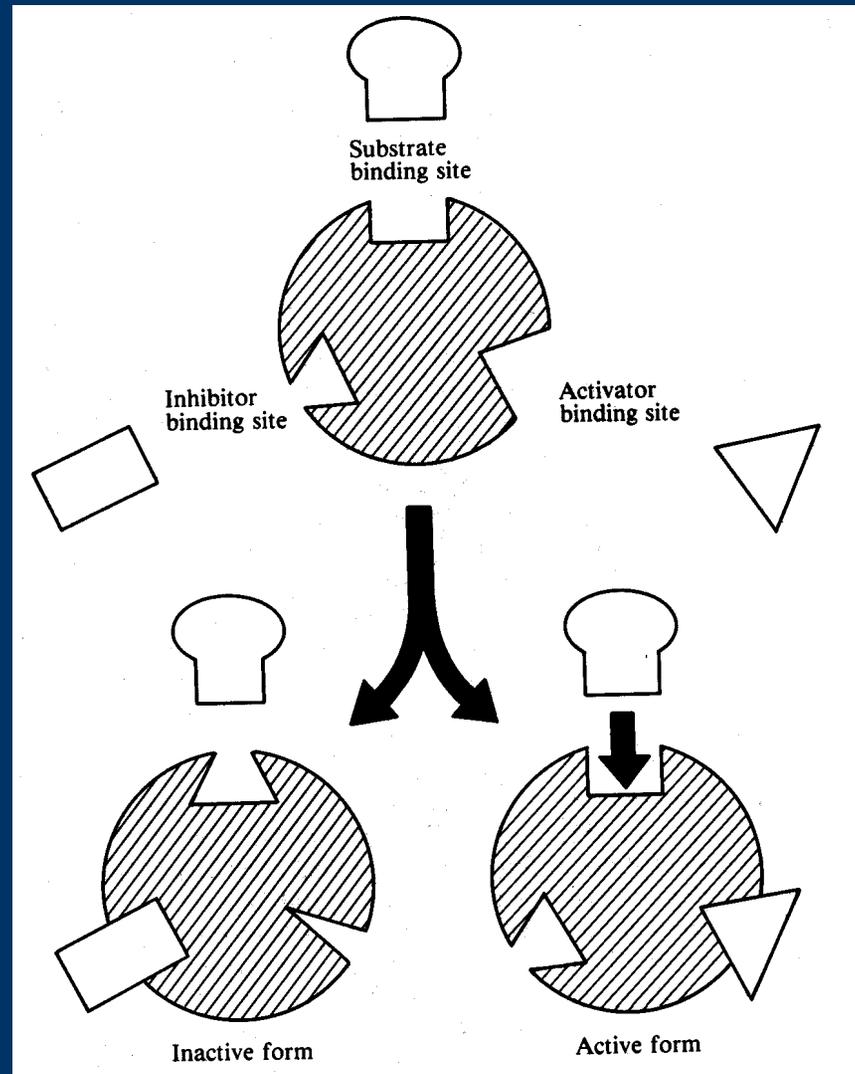
(a) *Allosterische Effekte*

Effektoren (Inhibitoren oder Aktivatoren) binden an regulatorisches Zentrum des Proteins

# Allosterische Effekte

Inhibitor

Enzym  
inaktiv



Aktivator

Enzym  
aktiv

# Regulation von Enzymen

---

- **Proteinsynthese und Proteinabbau**

Neusynthese des gewünschten Enzyms;  
Aktivierung oder Deaktivierung von Genen

- **Konformationsänderung**

(a) *Allosterische Effekte*

Effektoren (Inhibitoren oder Aktivatoren) binden an regulatorisches Zentrum des Proteins

(b) *Kompetitive Hemmung*

„Konkurrenz“ um das aktive Zentrum

- **Chemische Veränderung**

Phosphorylierungen (Protein-Kinasen) oder Dephosphorylierungen (Phosphatasen)

# Einteilung von Enzymen

---

## 1. Oxidoreduktasen

Transfer von H, O oder  $e^-$  von einem Substrat auf ein anderes

## 2. Transferasen

Transfer von chem. Gruppen zwischen Substraten

## 3. Hydrolasen

hydrolytischer Abbau

## 4. Lyasen

nicht-hydrolytische Spaltung von Bindungen

## 5. Isomerasen

Intramolekulare Umlagerungen

## 6. Ligasen

Knüpfung von kovalenten Bindungen unter ATP-Verbrauch

# Benennung von Enzymen

---

*Beispiel:*



*Bezeichnung*

Fructose 5-Dehydrogenase

Fructose:NADP 5-Oxidoreduktase

*Einteilung*

EC-Nummer, hier **EC 1.1.1.124**

(Oxidoreduktase, wirkt an CH-OH Donoren, NAD oder NADP als Akzeptor, Enzymnummer)

# Analytisches Arbeiten mit Enzymen

---

## 1. Enzymaktivitätsbestimmung

Bestimmung der Biologische Aktivität

⇒ Bestimmung der *Enzymaktivität*

Daneben kann auch der Proteingehalt bestimmt werden (z.B. mit Immunologischen Methoden)

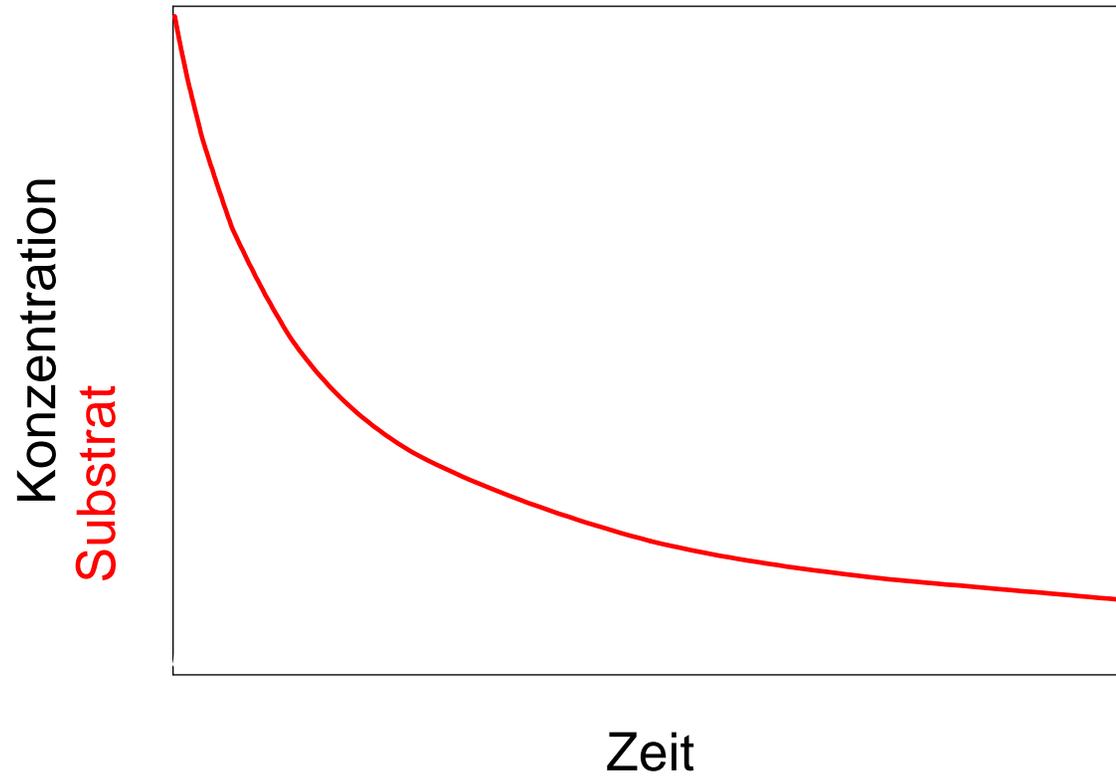
## 2. Substratbestimmung

Bestimmung eines Analyten (eines Substrates) mit Hilfe eines Enzyms

Das Enzym muß dazu aber käuflich erhältlich sein, oder selbst gereinigt werden.

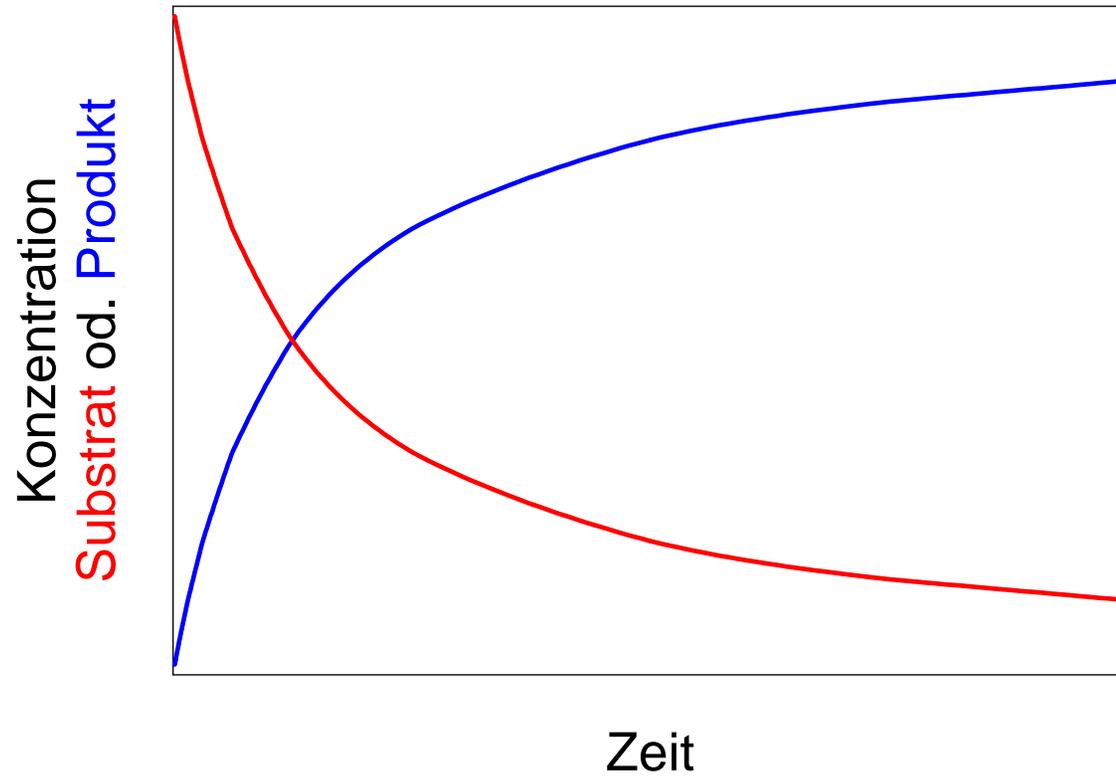
# Enzymreaktionen

---



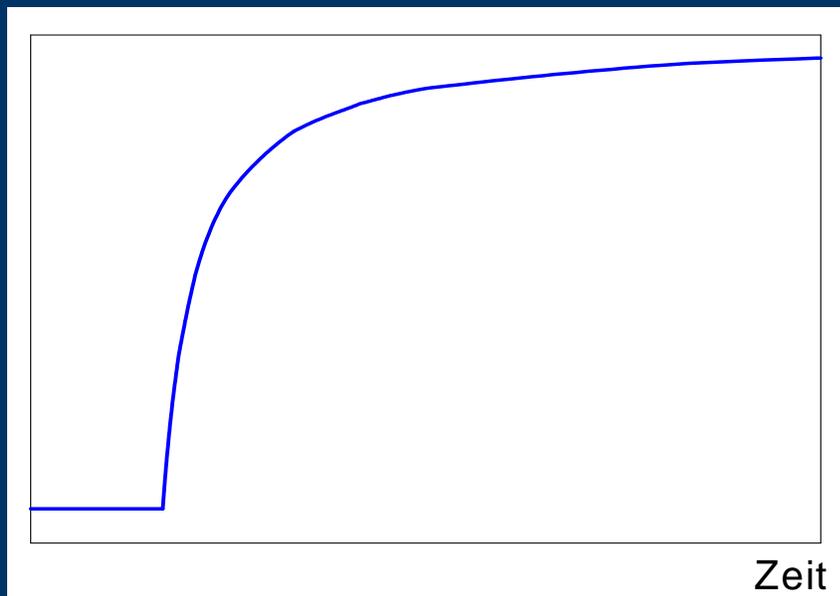
# Enzymreaktionen

---



# Allgemeine Überlegungen 1

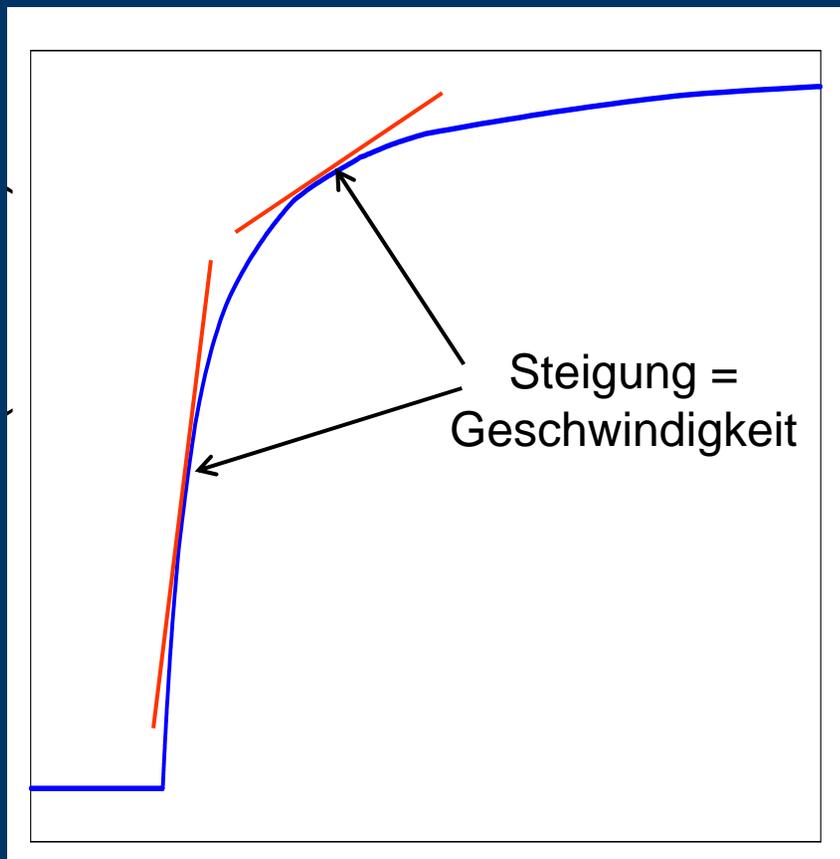
---



## *Vorraussetzungen*

- Gleichgewicht der Reaktion liegt auf Seite von C + D
- $[Cosubstrat] > [Probe]$   
sonst kann nicht alles an Probe verbraucht werden

# Allgemeine Überlegungen 2



## Regeln

- $v$  nimmt ab, wenn  $[c]$  kleiner wird.
- Wenn  $A+B$  mit  $C+D$  im Gleichgewicht, dann  $v = 0$  (kein Netto-Umsatz)
- Konzentration (Aktivität) des Enzyms ändert  $v$ , hat aber keinen Einfluß auf den Endpunkt ( $\Delta E$  bleibt gleich)

# ENZYME

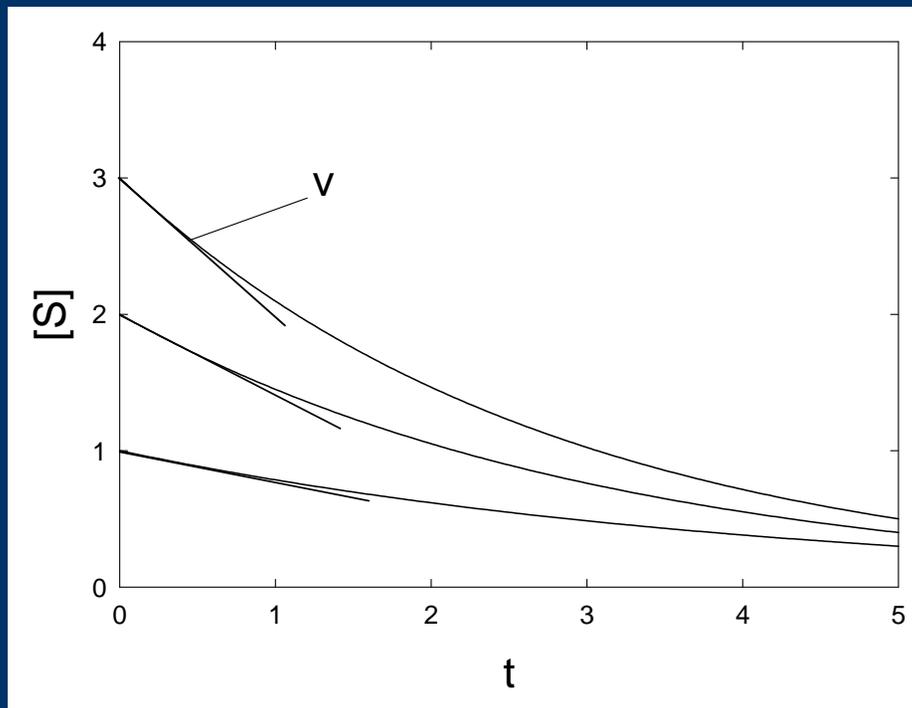
Teil 2: Enzymkinetik &  
Enzymaktivitätsbestimmungen

# Kinetik

## unkatalysierte Reaktion

Wenn  $[S] \gg [P]$   
 $(\Rightarrow) S \Rightarrow P (\Rightarrow)$

z.B. Hydrolyse von Saccharose in saurer Lösung



$$v = -\frac{d[S]}{dt} = k \times [S]$$

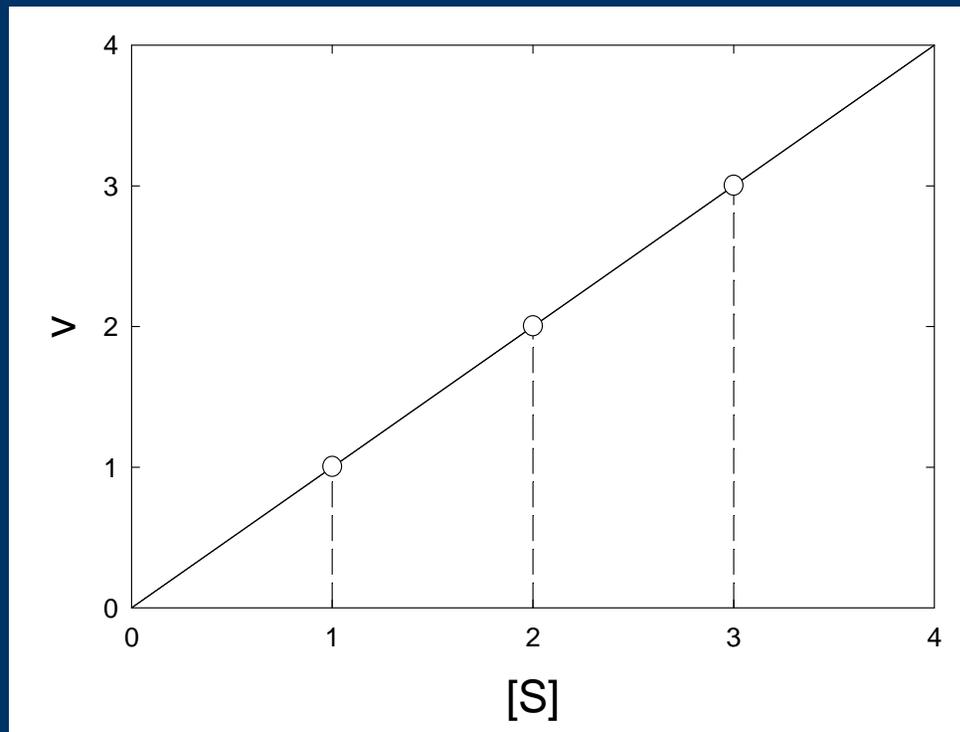
$k$ ... Geschwindigkeitskonstante

# Kinetik

## unkatalysierte Reaktion

Umformung der Grafik: Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion gegen die Substratkonzentration

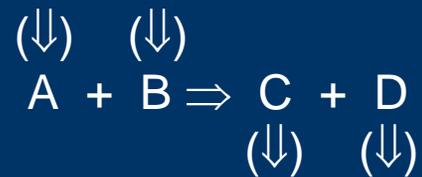
**linearer Zusammenhang !!**



# Kinetik

## unkatalysierte Reaktion

### bimolekulare Reaktion

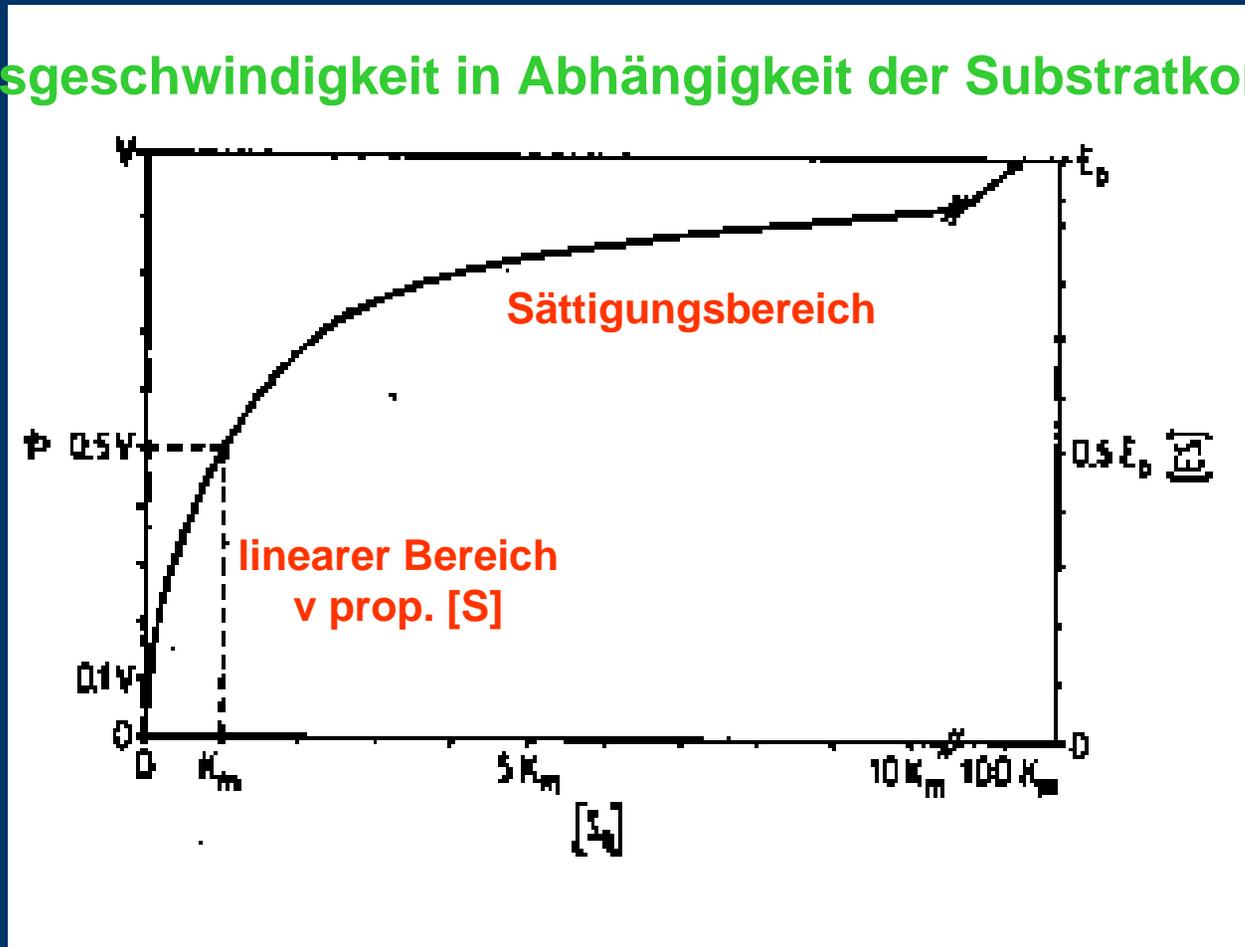


$$v = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k \times [A] [B]$$

# Enzymkinetik

## enzymkatalysierte Reaktion

Anfangsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Substratkonzentration



Ursache der Sättigungskinetik ??

# Ursachen der Sättigung bei enzymkatalysierten Reaktionen ??



Wenn  $[S] \gg [E]$  sind alle Enzymmoleküle mit Substrat besetzt und eine höhere Umsatzrate  $v$  ist nicht möglich

# SÄTTIGUNGSKINETIK #

# Michaelis-Menten-Gleichung

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$$

## Sonderfall 1 *Hohe Substratkonzentration*

$$[S] \gg K_M \Rightarrow K_M + [S] \sim [S]$$

die Gleichung geht über in  $v = v_{\max}$

**Sättigung** - v unabhängig von [S]

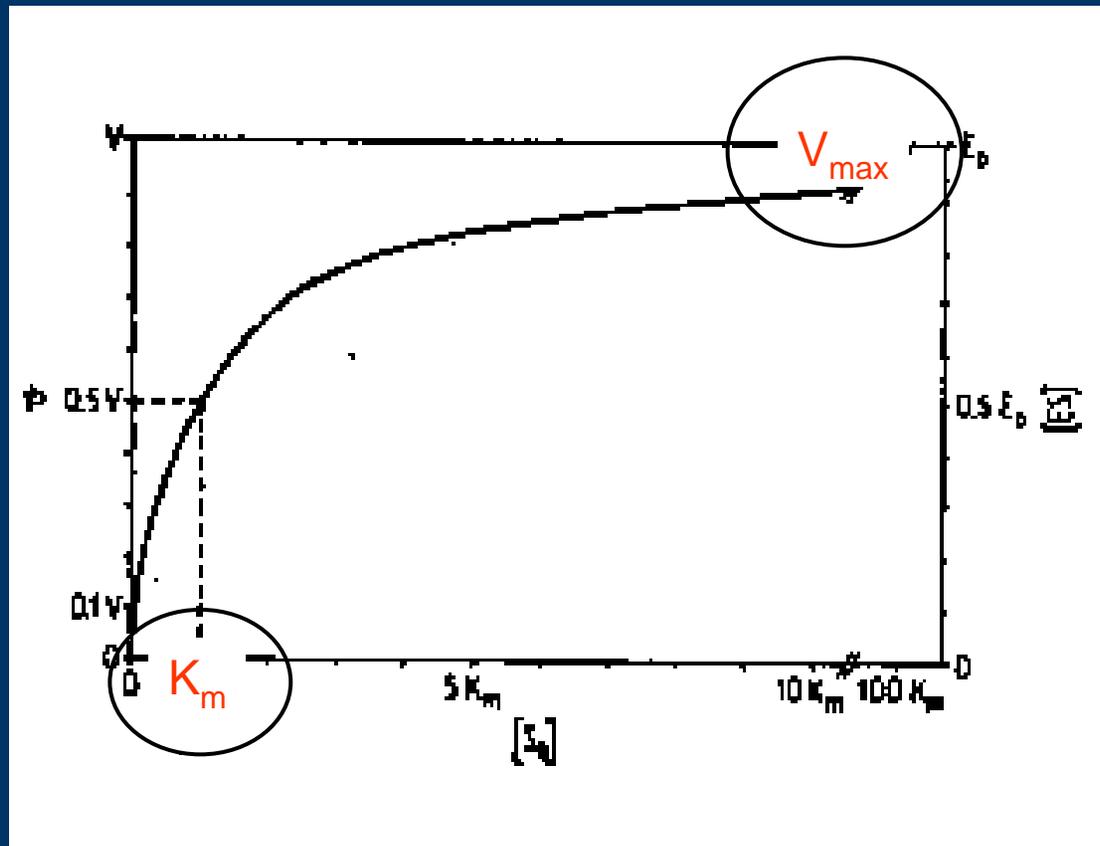
## Sonderfall 2 *Niedrige Substratkonzentration*

$$[S] \ll K_M \Rightarrow K_M + [S] \sim K_M$$

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{K_M} = \frac{v_{\max}}{K_M} \cdot [S]$$

**Linearität** - linearer Anstieg von v mit Zunahme von [S]

# Berechnung des $K_M$ -Wertes eines Enzyms



## Ermittlung des Zahlenwertes $K_M$

$$[S] = K_M$$

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{[S] + [S]} = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{2 [S]} = \frac{v_{\max}}{2}$$

bei  $v_{\max}/2$  ist die Substratkonzentration gleich  $K_M$

⇒ großer Zahlenwert für  $K_M$  heißt lockere Bindung von Substrat an das Enzym: **geringe Affinität**

⇒ kleiner Zahlenwert für  $K_M$  heißt feste Bindung von Substrat an das Enzym **hohe Affinität**

# Verhalten verschiedener Isoenzyme gleicher $v_{\max}$ bei verschiedenen Substrataffinitäten

