

# Faktory ovlivňující enzymovou aktivitu

## Koncentrace substrátu

Zkoumání enzymové kinetiky jednosubstrátových reakcí se věnovali Leonor **Michaelis** a Maud Leonora **Mentenová**. V této kapitole se uplatňují zákony obecné kinetiky.

 Podrobnější informace naleznete na stránce *Kinetika*.

U katalyzovaných jednosubstrátových reakcí předpokládáme, že probíhají ve dvou krocích:



kde  $k_{cat}$  je rychlostní konstanta katalyzované reakce. Nazývá se také **číslo přeměny** (*turnover number*) a udává počet molekul substrátu přeměněných jednou molekulou enzymu za jednotku času (nejčastěji za jednu sekundu). Její hodnoty se pohybují od  $4 \cdot 10^7$  (pro katalázu) do 0,5 (pro lysozym).

## Maximální rychlost katalyzované reakce

Je možné ji vyjádřit jako:

$$v_{max} = k_{cat} \cdot [E]_t \quad (2)$$

kde  $[E]_t$  je celková koncentrace enzymu.

## Rovnice Michaelise a Mentenové

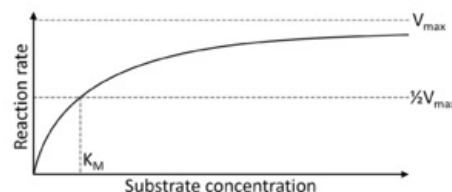
Rovnice popisuje, jak počáteční rychlost  $v_0$  závisí na rychlostní konstantě  $k_{cat}$  a také na tom, kde se rovnováha ES nachází:

$$v_0 = \frac{\Delta[P]}{\Delta t} = \frac{k_{cat} \cdot [E]_t \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad (3)$$

Předpokládáme přitom, že **množství enzymu se nemění** (a jeho koncentrace je výrazně nižší než koncentrace substrátu) a také přítomnost jistého pseudo-ustáleného stavu, při kterém se koncentrace komplexu ES mění mnohem pomaleji než koncentrace S a P.

Dosažením rovnice (2) můžeme rovnici (3) přepsat do tvaru:

$$v_0 = \frac{v_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad (4)$$



Graf kinetiky podle Michaelise a Mentenové

**$K_M$  (Michaelisova konstanta)** je experimentálně definována jako taková **koncentrace substrátu, při které se rychlost průběhu enzymaticky katalyzované reakce rovná polovině maximální rychlosti** (vyjadřuje tedy afinitu substrátu a enzymu). Čím je hodnota  $K_M$  nižší, tím je afinita vyšší (stačí totiž nižší  $[S]$ , aby se enzym z poloviny nasýtil).

$$\underline{K_M = [S] :}$$
$$v = \frac{v_{max}}{2}$$

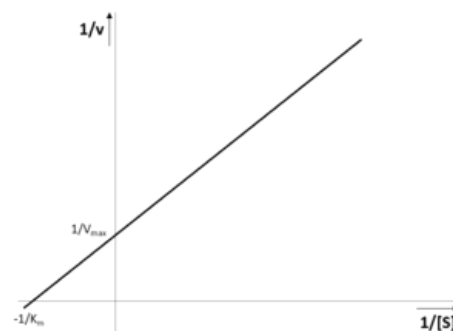
Z grafu vyplývá, že závislost rychlosti enzymově katalyzované reakce na koncentraci substrátu má tvar **hyperboly**. Jestliže je koncentrace substrátu malá, křivka změny rychlosti přibližně odpovídá **kinetice 1. řádu** (lineární nárůst). Tento téměř lineární nárůst ale nemůže pokračovat donekonečna kvůli omezenému množství vazebných míst na molekulách enzymu. Při dostatečně vysoké koncentraci substrátu po nasycení vazebných míst všech dostupných molekul enzymů je tak dosaženo **maximální rychlosti** ( $v_{max}$ ). Rychlost se dále nezvyšuje a zůstává přibližně konstantní. Tato část křivky odpovídá **kinetice 0. řádu** (bez závislosti na koncentraci).

$K_M$  lze následně stanovit graficky z hyperboly, ale v praxi se toto stanovení moc často nepoužívá. Přesnější je stanovení s použitím převrácených hodnot  $1/v$  a  $1/[S]$  – tzv. dvojité reciproké vynesení dle Lineweavera a Burka. Z rovnice (4) pak dostáváme:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M + [S]}{v_{max} \cdot [S]} \quad (5)$$

Rovnici také můžeme zapsat v tvaru odpovídajícím rovnici přímky  $y = a \cdot x + b$ :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max} \cdot [S]} + \frac{1}{v_{max}} \quad (6)$$

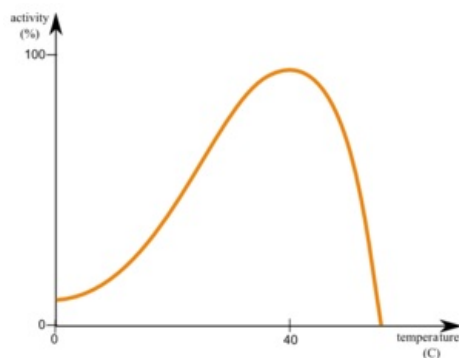


Závislost  $1/v$  na  $1/S$  podle Lineweavera a Burka

## Teplota

Enzymy mohou být kvůli své proteinové povaze vlivem vysoké teploty **denaturovány** (nastávají konformační změny, s následným zničením aktivního místa). Obvykle k tomu dochází při teplotách kolem 55–60 °C. Rychlost postupně klesá, až se průběh příslušné reakce úplně **zastaví**.

Také nízké teploty snižují aktivitu enzymů a tím i rychlost jimi katalyzovaných reakcí. Enzym má maximální aktivitu při teplotě označované jako **teplotní optimum** (u většiny lidských enzymů se jedná o teplotu kolem 37 °C).



## pH (koncentrace $H^+$ )

Podobně jako na změny teploty jsou enzymy citlivé i na výkyvy pH. Extrémní hodnoty (nízké i vysoké) mohou opět vyvolat **denaturaci** molekuly enzymu. Koncentrace  $H^+$  má také významný vliv na ionizaci kyselých a bazických skupin nejen molekuly enzymu, ale i molekuly substrátu. Analogicky jako u teploty se považuje za **pH optimum** taková hodnota pH, při které má enzym maximální aktivitu.

