

# Modulace aktivity již existujícího enzymu

## Kovalentní modifikace molekuly enzymu

### Tvorba aktivních enzymů z neaktivních prekurzorů

Mnoho enzymů se tvoří v neaktivní formě (tzv. **proenzymy** či **zymogeny**). Částečnou proteolýzou enzymu se molekula mění na aktivní formu a díky ní se zvyšuje koncentrace aktivního enzymu. Vyřazení takto aktivovaných enzymů zařídí jejich proteolytické odbourání. Tento proces je typický například pro trávicí enzymy či pro některé faktory koagulační kaskády.

### Interkonverze enzymů

Interkonverze enzymů je rychlé přepínání aktivní a inaktivní formy molekuly enzymu pomocí jiného enzymu. Nejznámějším příkladem je reverzibilní ATP-dependentní fosforylace a defosforylace hydroxylových skupin aminokyselin serinu, threoninu či tyrosinu tvořících řetězce enzymu.

Některé enzymy se fosforylací **aktivují** (např. glykogenfosforyláza), jiné jsou fosforylací **inhibovány** (např. glykogensyntáza). Fosforylaci katalyzují enzymy patřící mezi **proteinkinázy** (fosfotransferázy), defosforylaci zajišťují **proteinfosfatázy**. Tento způsob regulace enzymové aktivity se uplatňuje hlavně při přenosu signálu z membránových receptorů do nitra buněk, například při odpovědi na hormonální signál (propojení mezi signálem přicházejícím k buňkám z vnějšku s následným ovlivněním dějů uvnitř nich).

## Zásahy, které ovlivňují enzymovou kinetiku

### Vliv koncentrace substrátů a produktů, hodnoty $K_M$ , pH, teploty atd.

#### ▪ Dostupnost substrátů

Koncentrace regulačních enzymů metabolických drah je v buňce velmi nízká. Stejně tak je koncentrace substrátů mnohem nižší než je hodnota Michaelisovy konstanty ( $K_M$  se shoduje s koncentrací substrátu, při níž rychlost enzymem katalyzované reakce dosahuje poloviny maximální rychlosti). I nepatrná změna koncentrace substrátu pak změní rychlost jeho přeměny.

*Změna koncentrace substrátu probíhá pomocí zvýšeného příjmu, syntézou nebo pomocí transportu substrátu na místo, kde jej metabolizujeme.*

#### ▪ Vliv Michaelisovy konstanty $K_M$

Enzymy mají určitou substrátovou specifitu. Přeměňuje-li enzym více různých substrátů, má ke každému substrátu různou afinitu. Pokud mohou stejný substrát přeměňovat např. dva různé enzymy, každý z nich má k danému substrátu jinou afinitu. Čím je afinita k substrátu vyšší ( $K_M$  pro dvojici enzym-substrát je tím nižší), tím stačí enzymu nižší koncentrace substrátu v okolí jeho aktivního centra, nezbytná k uskutečnění dané reakce.

#### ▪ Odstraňování produktů

Pokud je produkt reakce ihned využit, nehromadí se a reakce dále probíhá ve směru jeho další tvorby. Začne-li se nevyužitý produkt hromadit, často pak slouží jako inhibitor reakce nebo sledu reakcí vedoucích k jeho vzniku. Tomu v metabolismu zabrání následující mechanismy:

1. odebírání produktu jedné reakce reakcí následnou (princip metabolických drah),
2. využití produktu jedné metabolické dráhy v jiné metabolické dráze,
3. transport produktu do jiného buněčného kompartmentu.

Všechny tyto procesy urychlí průběh dané reakce.

#### ▪ Vliv pH

Změna pH může také ovlivnit aktivitu enzymu změnou disociace funkčních skupin v **aktivním centru** enzymu (elektrostatické interakce při vazbě substrátu) i v **celé molekule** enzymu (změna biologicky aktivní konformace enzymu v konformaci méně aktivní – např. přístup k aktivnímu centru).

### Vliv přítomnosti modulátorů aktivity (aktivátorů nebo inhibitorů)

Aktivitu regulačního enzymu může ovlivnit přímá vazba na nějaké látky (ligandu neboli efektoru či modulátoru) na jeho proteinovou molekulu. Pozitivní efektor slouží jako aktivátor enzymu, negativní efektor je naopak jeho inhibitorem.

- Nahromadění konečného produktu (či meziprojektu) dané metabolické dráhy často vede k inhibici regulačního enzymu dané dráhy, na něž se produkt váže – tzv. **regulace zpětnou vazbou**.
- (Mezi)produkt jedné metabolické dráhy může ovlivňovat (aktivovat nebo inhibovat) aktivitu regulačního enzymu jiné, nějakým způsobem související metabolické dráhy – tzv. **zkřížená regulace**.
- Meziprodukt metabolické dráhy může ovlivňovat aktivitu následného enzymu dané metabolické dráhy – tzv. **regulace krokem vpřed**.

 Podrobnější informace naleznete na stránce Enzymy (FBLT).

## Modulátory

**Modulátory** se mohou vázat na enzym buď přímo do aktivního centra (kompetitivní inhibice), nebo se vážou na jiné, tzv. **allosterické místo** (allosterická regulace). Přírodní modulátory aktivity se na enzym vážou nekovalentně, jen pomocí slabých nevazebných interakcí.

## Izosterická modulace enzymové aktivity

Izosterická modulace enzymové aktivity se týká **jednoduchých enzymů**, které vykazují hyperbolickou závislost mezi rychlostí reakce a koncentrací substrátu. Jejich aktivitu ovlivňují zejména změny v koncentraci substrátu, snížení nebo zvýšení syntézy enzymu. Dále aktivitu enzymů ovlivňují inhibitory, které se vážou přímo na aktivní centrum **namísto substrátu** (kompetitivní inhibice). Kompetitivním inhibitorem může být jeden z produktů metabolické dráhy (inhibice zpětnou vazbou).

## Allosterická regulace

Allosterická regulace se vyskytuje u **enzymů složených z více podjednotek** (většina regulačních enzymů metabolických drah). Tyto enzymy vykazují **sigmoidální závislost** rychlosti reakce na koncentraci substrátu. Allosterické modulátory aktivity se vážou mimo **aktivní centrum** na jiná místa molekuly enzymu. Vazbou modulátoru se mění konformace molekuly, což se může projevit **změnou afinity** enzymu k substrátu (tj. dochází ke snížení nebo zvýšení hodnoty  $K_M$ ).

Také se může snížit koncentrace aktivního enzymu (část molekul enzymu je inaktivováno), tím se pak vyvolá změna hodnoty maximální rychlosti enzymem katalyzované reakce. Vazbou aktivátoru se méně aktivní tzv. **T-forma enzymu** („tenzní“) mění na aktivnější **R-formu** („relaxovanou“). Vazba allosterických aktivátorů tak může zvýšit počet molekul enzymu v R-formě.

**Substráty a efekty** obecně pouze ovlivňují rovnováhu mezi konformacemi T a R – obě konformace existují vedle sebe v různých poměrech. Konečné množství aktivních forem enzymu záleží na celkovém účinku různých aktivátorů a inhibitorů vázajících se na enzym, tj. závisí na jejich **vzájemném poměru** v buňce. Při zvýšení  $K_M$  může být za fyziologických podmínek reakce úplně vyřazena, neboť fyziologická koncentrace substrátu leží v oblasti, kde je enzym prakticky neúčinný. Jde o velmi jemnou a plynulou regulaci reakční rychlosti na základě propojení různých metabolických drah.