

Aplikovaná enzymologie

Petr Skládal

skladal@chemi.muni.cz, tel. 5 4949 7010



<http://biosensor.chemi.muni.cz/edu>

Enzymy

- Existují dvě základní podmínky pro existenci života:
- schopnost samostané replikace
- schopnost efektivní a selektivní katalýzy chemických reakcí

- Druhou podmínku uskutečňují ve všech přirozených živých organizmech [enzymy](#)

Sylabus

1. Úvodní informace o enzymech. Základní pojmy. Enzymová aktivita.
2. Metody měření aktivity enzymů - optické a elektrochemické, vhodné substráty. Příklady stanovení nejdůležitějších enzymů.
3. Isolace enzymů, purifikační postupy, chromatografie. Komerční zdroje enzymů. Studium struktury enzymů.
4. Mechanismy enzymové katalýsy. Základní principy, typické příklady.
5. Kinetika reakce enzymu se substrátem, parametry v_{\max} (v_{lim}) a K_m a metody jejich stanovení. Software pro enzymovou kinetiku, ukázky použití.
6. Vícesubstrátové reakce, klasifikace, rozlišení mechanismů. Inhibitory, typy, rozlišení, kinetické studium.
7. Vliv faktorů prostředí (pH, teplota, iontová síla a viskozita) na rychlost enzymové reakce. Kooperativní jevy při působení enzymů.
8. Bioanalytické použití enzymů. Enzymová stanovení v klinické oblasti.
9. Enzymové biosensory, měřicí systémy, příklady použití.
10. Imobilizace enzymů, enzymové reaktory. Zachycení uvnitř polymerů, kovalentní vazba na nosiče a povrch sensorů.
11. Enzymy v imunochemických technikách, ELISA. Enzymové značky a metody přípravy enzymových konjugátů.
12. Průmyslové použití enzymů. Informace o enzymech na internetu.

Z historie...

- první fyziologové postulovali „životní sílu“ vysvětlující chemické reakce v buňkách
- poč. 17. století – poznána schopnost biochemických látek provádět chemické reakce i mimo živý organismus, procesy jako alkoholické kvašení a trávení připsány neznámým substancím – fermentům
- 1752 – **Reamur** demonstroval rozpouštěcí účinky ptačích trávicích šťáv, 1783 – **Spallanzani** tyto studie rozšířil na další organismy včetně člověka
- 1836 – **Schwann** isoloval pepsin z žaludeční šťávy

Princip katalýzy

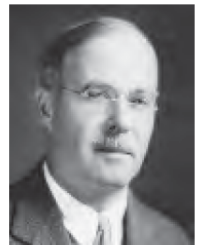
- 1833 – izolována amylasa působící rozklad škrobu
- 1836 – **Berzelius** vyvinul koncept katalýzy studováním vlivu kyselin a bází na hydrolýzu škrobu, dále také účinku kovů na rozklad peroxidu vodíku, (řec. **katalysis** – rozpouštět), v živých organismech probíhají tisíce katalytických reakcí
- přijímání této teorie pozvolné, 1850 - komplikace – **Pasteur** objevil kvasinky jako příčinu kvašení (**vitalismus**)
- 1897 – **Buchner** rozdrtil kvasinky pískem a prokázal, že filtrát také dokáže zkvasit cukr, což vedlo k obecnému přijetí existence enzymů v metabolismu
- **enzym** – z řeč., „v kvasnicích“ – zavedl **Kühne**, profesor fyziologie v Heidelbergu



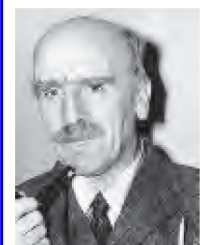
Eduard Buchner,
1860–1917

Enzymy jsou proteiny...

- 1926 – **J. Sumner** izoloval a krystalizoval ureasu – zjistil, že se jedná o bílkovinu a postuloval, že všechny enzymy jsou bílkovinami (x ribozymy, taky abzymy)
- potvrzeno o pár let později – **J. Northrop** a **M. Kunitz** krystalizovali pepsin a trypsin, a také to byly bílkoviny
- **J.B.S. Haldane** – navrhnul, že slabé vazebné interakce mezi enzymem a jeho substrátem mohou katalyzovat probíhající reakci
- 1963 - primární struktura ribonukleasy
- 1965 - rentgenostrukturní analýza lysozymu
- dnes? bioinformatika, proteinové inženýrství...



James Sumner,
1887–1955

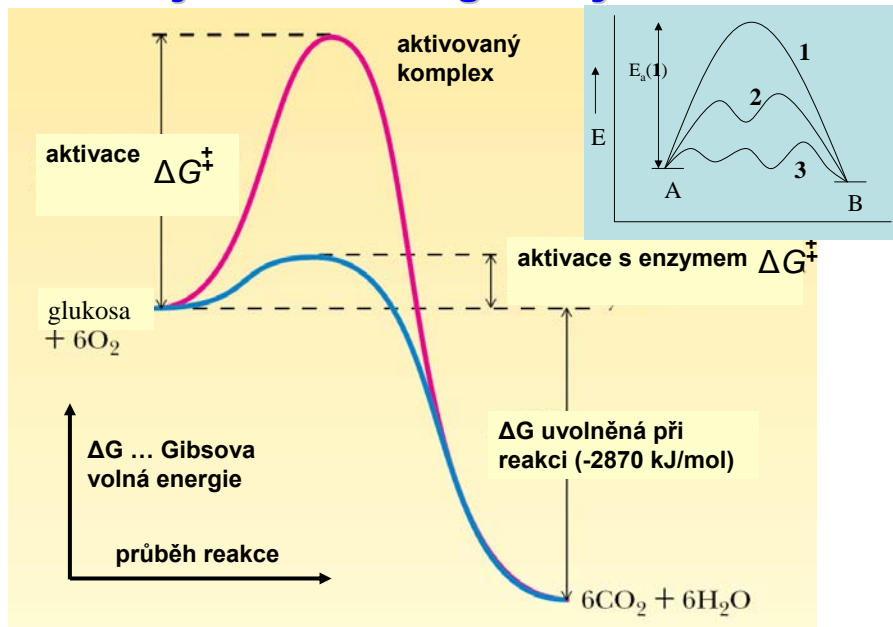


J. B. S. Haldane,
1892–1964

Enzymy

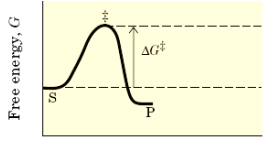
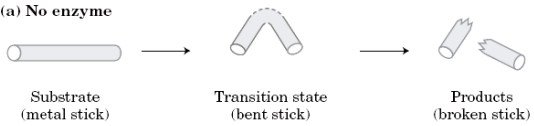
- bílkoviny velké 10 až 100 kDa (typicky), fungují jako biokatalyzátory
 - každá metabolická reakce má svůj enzym...
- jednoduché (polypeptidový řetězec)
- složené (**holoenzymy**) z **apoenzymu** (bílkovina) a **kofaktoru**
- **kofaktor** – ion kovu, nebo koenzym, nepeptidová složka
- **koenzym** – prosthetická skupina nebo kosubstrát

Biokatalýza – oxidace glukosy

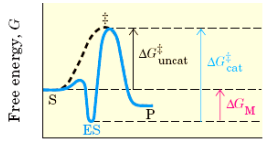
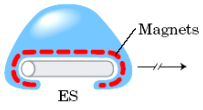


„Stickase“

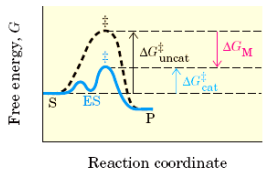
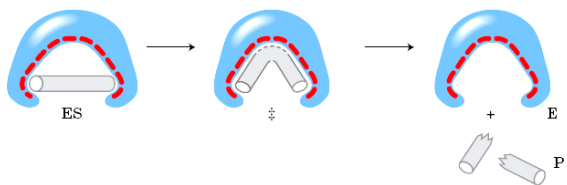
(a) No enzyme



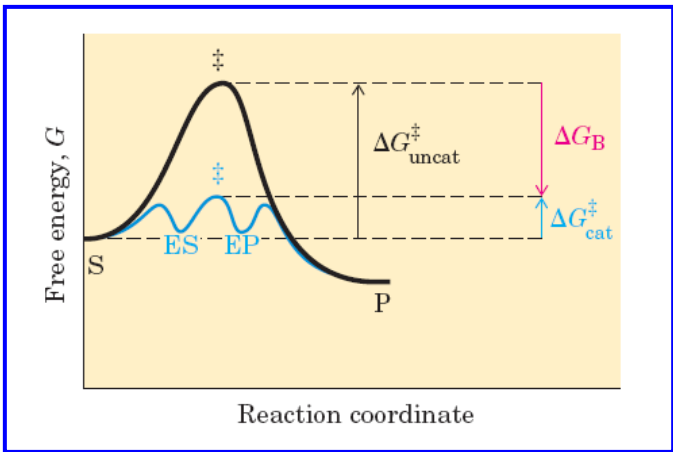
(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state



„Stickase“ - změna volné energie



Katalytická účinnost (rozklad H_2O_2)

Katalyzátor	Rychlost reakce ($\text{mol l}^{-1} \text{s}^{-1}$)	E_a (kJ mol^{-1})
žádný	10^{-8}	71
bromovodík	10^{-4}	50
$\text{Fe}(\text{OH})_2$ - triethylentetraamin	10^3	29
katalasa	10^7	8,4

srovnání rychlosti rozkladu peroxidu vodíku, $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

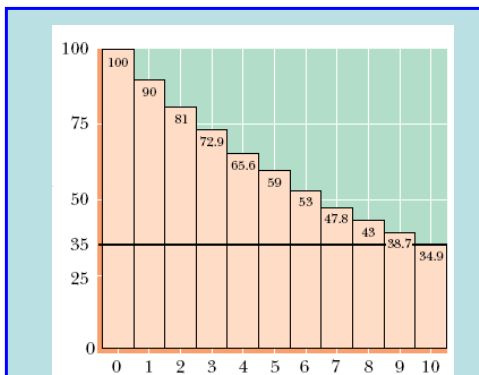
Faktory:

proximita a orientace aktivního místa a substrátu
elektrostatické efekty
entropické faktory
konformační změny

Specifita

- dvojí charakter:
 - z hlediska látek, se kterými enzym reaguje (nazývají se substráty)
 - z hlediska reakce, kterou enzym katalyzuje
- žádný ze substrátů přitom nereaguje postranními neproduktivními reakcemi
- vznikají pouze specifické produkty
- molekulární rozpoznávání na bázi strukturní komplementarity
- aktivní místo – část molekuly enzymu, kam se váže substrát a probíhá tam katalytická reakce
- vazebné místo a katalytické místo (aktivní centrum)

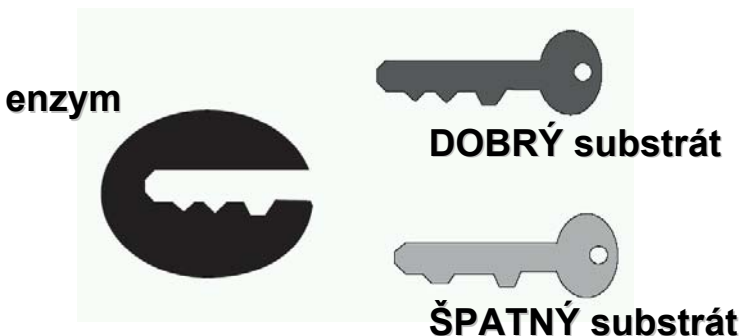
Kdyby nebyla specifita ...



Kdyby nebyla specifita a reakční účinnost by byla pouze(!) 90%, tak na konci metabolické dráhy z 10 kroků by se nahromadilo spousta „zbytečných“ látek ...

1. „Key and lock“ (E. Fischer, 1894)

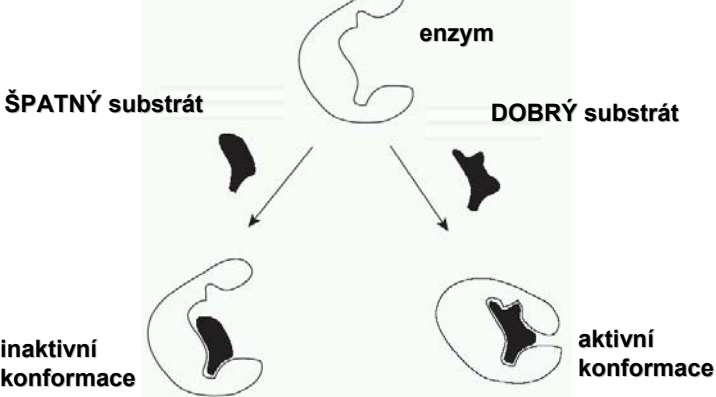
- princip „zámku a klíče“



- substrát musí dobře pasovat do aktivního místa – správná velikost a tvar, lokalizace náboje, vodíkových vazeb, hydrofobních míst
- tvoří je katalytické a vazebné skupiny

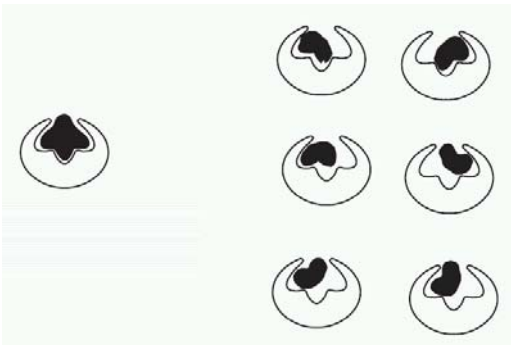
2. „Induced fit“ (D. Koshland, 1958)

indukované přizpůsobení



- struktura enzymu je různá podle toho, zda je navázán substrát
- navázání substrátu mění konformaci a dochází k vhodné orientaci pomocných skupin urychlujících probíhající reakci
- špatné substráty nejsou schopny vyvolat konformační změnu enzymu a ten zůstává v inaktivní konformaci

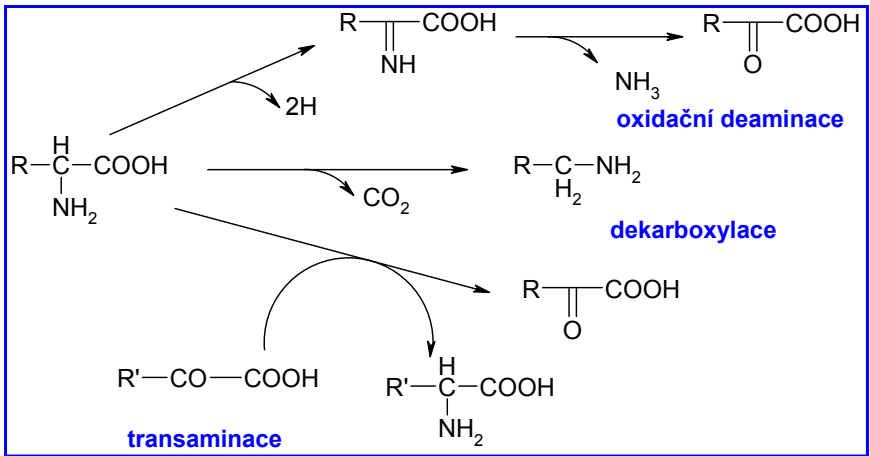
3. Neproductivní vazba



- špatné substráty se mohou vázat mnoha různými způsoby, avšak nedojde ke správné orientaci enzymu a reakce se tedy neurychlí
- dobrý substrát se váže pouze správným způsobem
- na rozdíl od předchozího modelu není vyžadována konformační změna enzymu

Specifita účinku

- substrát může být různými enzymy přeměněn na různé produkty



Regulovatelnost aktivity

- aktuální koncentrace enzymu
- změny katalytické schopnosti
 - okolní prostředí – pH, iontová síla, typ pufru
 - vazba modifikátorů (aktivátory, inhibitory)
 - kovalentní modifikace (P_i , AMP, ...)
 - rozštěpení polypeptidového řetězce (konverse zymogenu na enzym)

Mnohočetné formy enzymů

- katalyzují stejnou reakci a vyskytují se v jednom biologickém druhu
- **isoenzymy** (geneticky fixované změny v primární struktuře)
 - geneticky nezávislé proteiny (různá lokalizace v buňce)
 - heteropolymery (hybridy) víc jak 2 polypept. řetězce (např. laktátdehydrogenasa, H_4 , H_3M , H_2M_2 , HM_3 , M_4)
 - genetické varianty (alelozymy) – rasy, geografie,...
- konjugované enzymy (glykoproteiny)
- homopolymery (různý stupeň polymerace)
- konformery (alosterické modifikace)

Systematika enzymů

- klasifikace a pojmenovávání enzymů vychází z reakce, kterou katalyzují
- rozdělení dle typu katalyzované reakce, ta je spolu s názvem substrátu základem pro vytvoření názvu enzymu
- každý název jen pro jeden jedinečný enzym
- mezinárodně upravuje IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN), <http://www.chem.qmw.ac.uk/iupac/jcfn/>

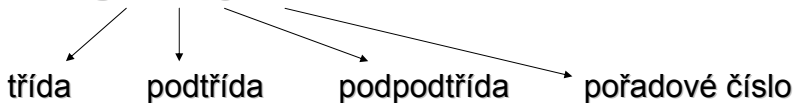
Názvosloví enzymů

- **systemové** (vědecké)
- **doporučené** (praktické, pracovní)

každý enzym má přidělen jednoznačný číselný kód, který ho zařazuje v rámci systému

Enzyme Commission

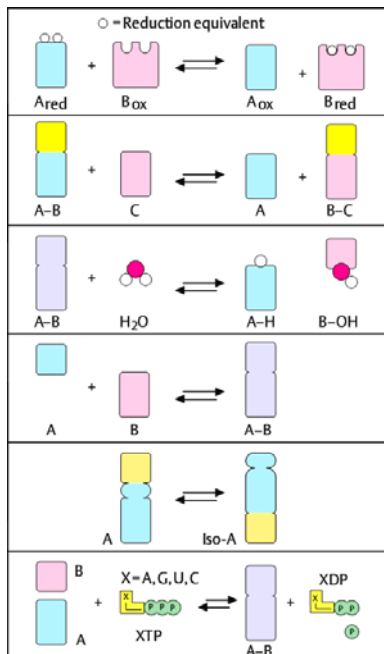
EC 1.1.3.4



β -D-glukosa:O₂-oxidoreduktasa glukosaoxidasa

Třídy enzymů

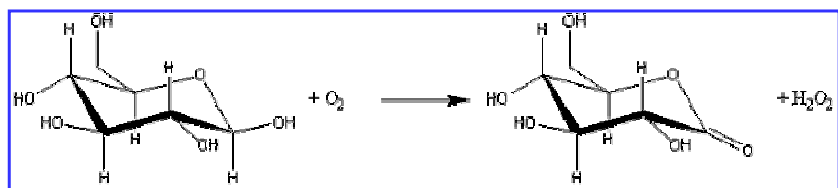
1. oxidoreduktasy
2. transferasy
3. hydrolasy
4. lyasy
5. isomerasy
6. ligasy



1. Oxidoreduktasy



- **katalyzují oxidoredukční reakce, tj. přenos redukčních ekvivalentů (H, e⁻) z donorové molekuly (oxiduje se) na akceptorovou (redukuje se)**
- **tvorba názvu:**
- **S** donor:akceptor-oxidoreduktasa
např. **alkohol:NAD⁺-oxidoreduktasa**
- **D** upřesňující klíčová slova:
dehydrogenasa reduktasa alkoholdehydrogenasa oxidasa (když je akceptorem kyslík) **glukosaoxidasa peroxidasa** (akceptor je H₂O₂)
katalasa (přijatý triviální název)
dioxygenasa (nebo **monooxygenasa**) - když se při reakci molekula kyslíku O₂ (nebo jeden atom O) přímo včlení do oxidované molekuly donoru



- **$\beta\text{-D-glukosa:kyslík-1-oxidoreduktasa}$ glukosaoxidasa**



- **ethanol:NAD⁺-oxidoreduktasa** alkoholdehydrogenasa



- **H₂O₂:H₂O₂-oxidoreduktasa** katalasa



- **donor:H₂O₂-oxidoreduktasa** peroxidasa

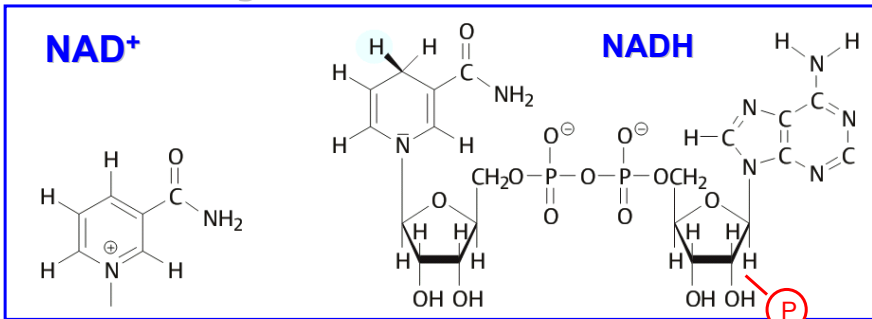
Princip číslování

- **podtřída** - číslo určuje skupinu donoru, co podléhá oxidaci, např:
 - EC 1.1. enz. působící na CH-OH skupinu
 - EC 1.2. na aldehydovou nebo oxoskupinu
 - EC 1.3. na -CH=CH- skupinuatd. až EC 1.21. (plus EC 1.97., jiné)
- **podpodtřída** - jaký druh akceptoru se účastní, např. 1 NAD(P)+, 2 cytochrom, 3 kyslík, ...
- nakonec **pořadové číslo** konkrétního enzymu v rámci podpodtřídy

Ukázka části systému

- EC 1 Oxidoreductases
- EC 1.1 Acting on the CH-OH group of donors
 - EC 1.1.1 With NAD or NADP as acceptor
 - EC 1.1.2 With a cytochrome as acceptor
 - EC 1.1.3 With oxygen as acceptor
 - EC 1.1.4 With a disulfide as acceptor
 - EC 1.1.5 With a quinone or similar compound as acceptor
 - EC 1.1.99 With other acceptors
- EC 1.2 Acting on the aldehyde or oxo group of donors
 - EC 1.2.1 With NAD or NADP as acceptor
 - EC 1.2.2 With a cytochrome as acceptor
 - EC 1.2.3 With oxygen as acceptor
 - EC 1.2.4 With a disulfide as acceptor
 - EC 1.2.7 With an iron-sulfur protein as acceptor
 - EC 1.2.99 With other acceptors
- EC 1.3 Acting on the CH-CH group of donors
- netřeba si pamatovat, je na internetu:
<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>

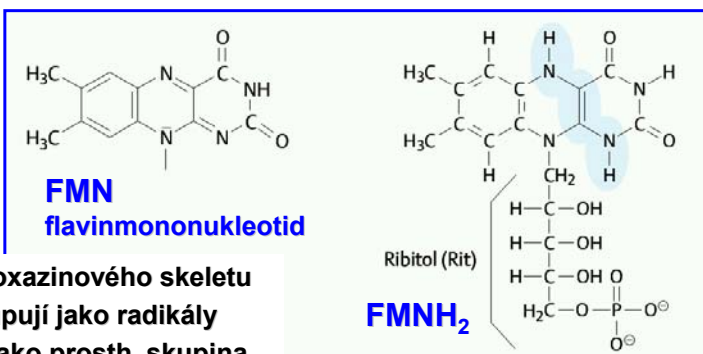
Kofaktory oxidoreduktas



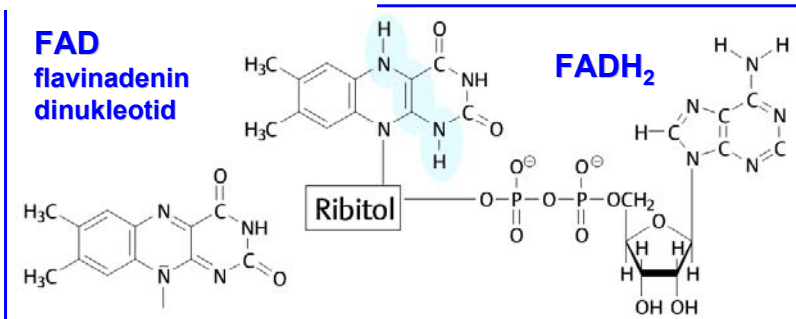
NADPH

- typický pro dehydrogenasy (NAD⁺-dependentní)
- přenáší H⁻; reakce je stereospecifická (A a B atomy H)
- vždy funguje v rozpuštěném stavu, není pevnou součástí enzymu
- NADH obvykle přenáší redukční ekvivalenty z katabolických drah do respiračního řetězce
- NADPH je zase nejdůležitější pro syntetické procesy

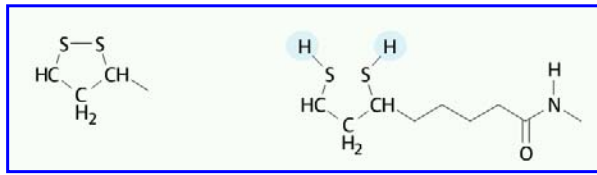
Flaviny



- na bázi isoalloxazinového skeletu
- v reakci vystupují jako radikály
- vždy vázány jako prosth. skupina



Lipoamid



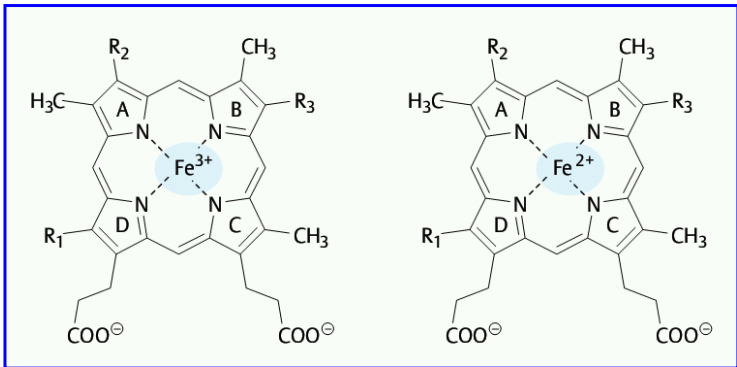
- kys. lipoová vázaná na zbytek lyzinu
- oxidační dekarboxylace

Fe - S klastry

- ionty železa koordinované cysteinovými zbytky a anorganickou sírou
- $[\text{Fe}_2\text{S}_2]$, $[\text{Fe}_3\text{S}_4]$, $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$
- stabilní uvnitř bílkovin
- výskyt zejména ve složkách dýchacího řetězce
- vyskytují se i v lyasách (akonitasa)

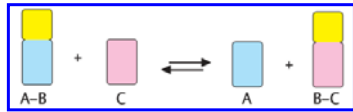


Hemy



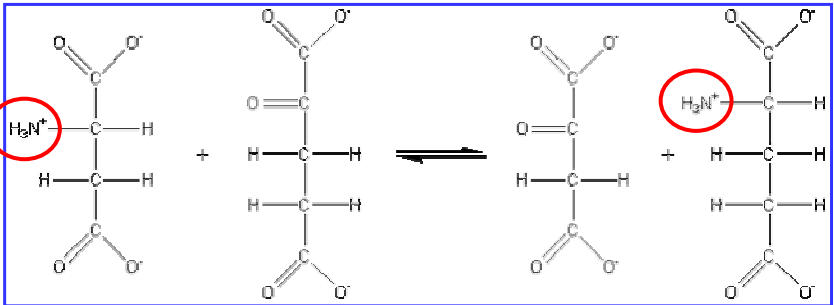
- výskyt v respiračním řetězci, ve fotosyntéze, u monooxygenas a peroxidas
- redoxní proteiny s hemem se nazývají cytochromy
- hemy typu a - b - c se liší substituenty R_1 , R_2 a R_3
- hem b - hemoglobin, myoglobin (nemění se redoxní stav!)
- hemy a - cytochrom c oxidasa
- hem c - cytochrom c

2. Transferasy



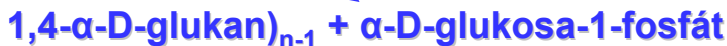
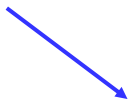
- **katalyzují přenos skupiny z molekuly donoru na akceptor:**

$$D-Z + A \rightleftharpoons D + A-Z$$
- **S** donor:akceptor-skupina**transferasa**
 např. *L-alanin:2-oxoglutarát-aminotransferasa*
ATP:pyruvát-2-O-fosfotransferasa
- **D** akceptor-skupina**transferasa**
 donor-skupina**transferasa**
 např. *alaninaminotransferasa*
- třídění: **podtřída** - číslo určuje přenášenou skupinu (EC 2.1. jednouhlíkatý zbytek, EC 2.2. aldehyd či oxoskupina, EC 2.3. acylskupina, ...);
podpodtřída - další upřesnění skupiny (EC 2.1.1 methyltransferasy, EC 2.1.2. hydroxymethyl a formyltransferasy)
- pozn: aminotransferasa = **transaminasa**



L-aspartát + 2-oxoglutarát \rightleftharpoons oxaloacetát + L-glutamát

- **L-aspartát:2-oxoglutarát-aminotransferasa**
- **aspartátaminotransferasa**
- **glutamát-oxaloacetát transaminasa GOT**



- **1,4- α -D-glukan:fosfát- α -D-glukosyltransferasa** fosforylaza

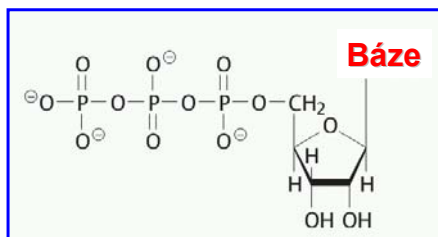


- **ATP:D-hexosa-6-fosfotransferasa** hexokinasa

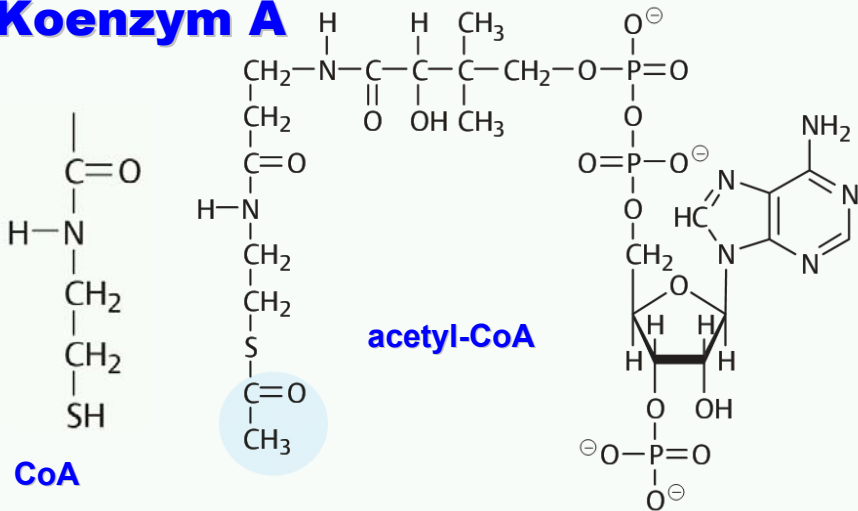
Kofaktory transferas

Nukleosid fosfáty

- přenášené skupiny: fosfát P_i , B-Rib, B-Rib- P_i , B-Rib- P_iP_i
- výskyt ve fosfotransferasách, nukleotidyltransferasách, také ale v některých ligasách (tř. 6)
- nefungují pouze jako prekursori tvorby nukleových kyselin, ale mají často i funkci koenzymu
- v rámci energetického spojení (energetic coupling) umožňují průběh endogenních reakcí - metabolity jsou více reaktivní ve fosforylovaném stavu
- spojení s nukleosid difosfáty (hlavně UDP a CDP) se uplatňuje při vzniku polysacharidů a lipidů



Koenzym A

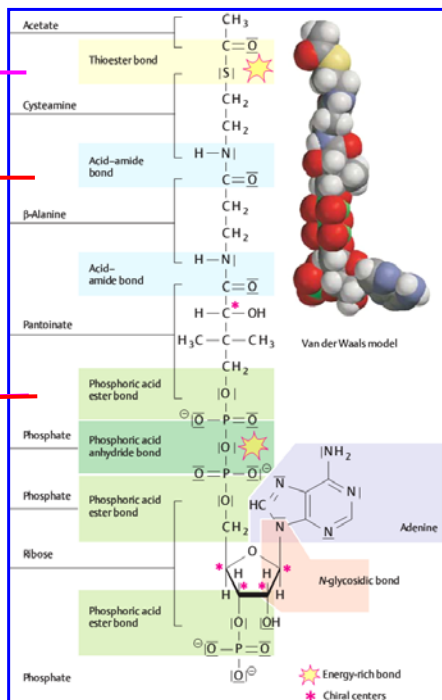


acetyl-CoA

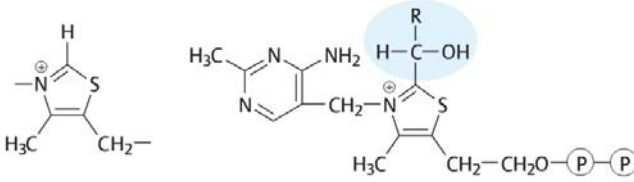
- přenašeč acylových skupin, reakce thiolové skupiny s karboxylovou skupinou poskytne thioester - např. acetyl-CoA (acetyl-S-CoA) - aktivované formy karboxykyselin
- endergonická reakce - nutno spojit s dalším exergonickým krokem

CoA

- složky molekuly CoA
- **pantethin** spojený s 3'-fosfo-ADP
 - pantethin je složen z pantoové kyseliny, β-alaninu a cysteaminu (dva biogenní aminy vznikající dekarboxylací Asp a Cys)
- pantoinát a β-alanin se nazývají **pantothénová kyselina** (charakter vitamínu)

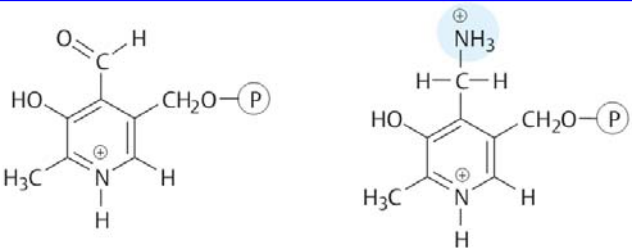


Thiamindifosfát TPP



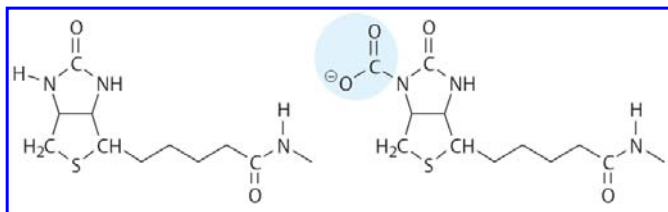
- obsahuje thiazolový aromatický cyklus
- je u enzymů přenášejících zbytky aldehydů či ketonů
- přenáší je ve formě hydroxyalkylových skupin - **transketolasové** reakce (přenosy zbytků sacharidů)
- hydroxyalkylové zbytky také vznikají **dekarboxylací oxokyselin** - uvolní se jako aldehydy
- také při **dehydrogenaci oxokyselin**

Pyridoxalfosfát PLP



- metabolismus aminokyselin - přenos aminoskupiny
- reakce transaminas - pyridoxaminfosfát (vpravo) přejde zpět reakcí s vhodnou 2-oxokyselinou
- aldehydová forma (vlevo) obvykle není volná, ale vázána s lyzinem jako aldimin (Schiffova báze -C=N-)
- také u mnoha lyas - dekarboxylace a dehydrogenace

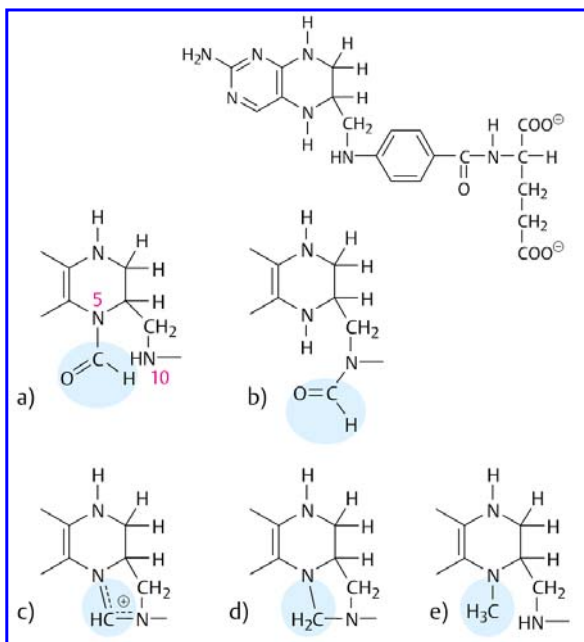
Biotin



- přenos CO_2 - karboxylasy
- vázán na enzym přes amidovou vazbu se zbytkem lyzinu
- v přítomnosti ATP reaguje s hydrogenuhličitánem HCO_3^- na N-karboxybiotin - aktivovaná forma oxidu uhlíčitého přenášená na jiné molekuly
 - vznik oxaloacetátu z pyruvátu
 - vznik malonyl-CoA z acetyl-CoA

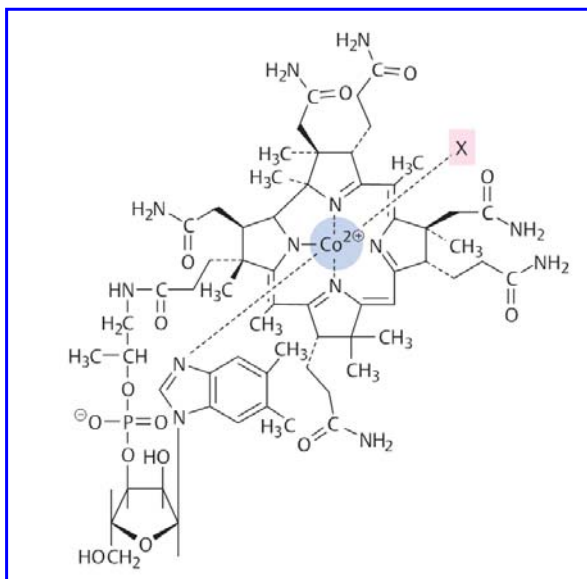
Tetrahydrofolát THF

- přenos C_1 skupin (jednouhlíkaté zbytky v různém oxidačním stupni)
 - a) N^5 -formyl
 - b) N^{10} -formyl
 - c) N^5N^{10} -methenyl
 - d) N^5N^{10} -methylen
 - e) N^5 -methyl
- účast v syntetických reakcích
 - purinové nukleotidy, dTMP - proto cílem cytostatik

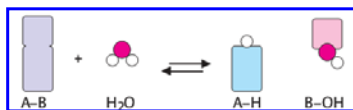


Kobalaminy

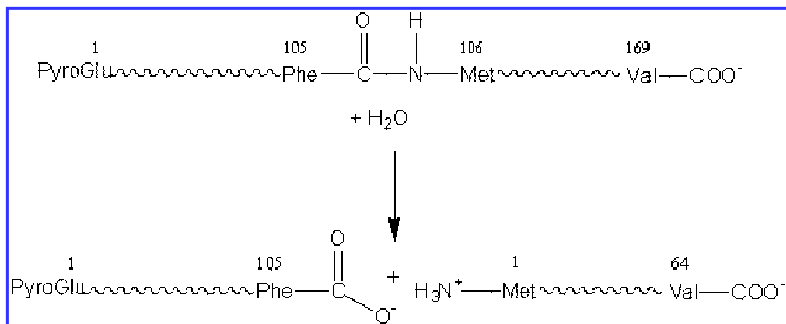
- X = adenosyl- (koenzym B₁₂)
... mutasy
- X = methyl- ...
methyltransferasy
- jinak
- vystupuje také u řady isomeras (mutas) - radikálové přesmyky - homolytické štěpení vazby mezi kovem a adenosylovou skupinou
 - methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA



3. Hydrolasy



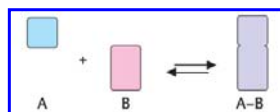
- hydrolytické štěpení vazeb C-O, C-N, C-C aj., často účinkují na různé kondenzované látky - estery, peptidy, proteiny,...
- S substrát**hydrolasa**
substrát-skupina**hydrolasa** (při vyhraněné specificitě)
např. **fosfatidylcholin-cholinofosfohydrolasa**
1,4- α -D-glukan-glukanohydrolasa (amylasa)
- D substrát**asa** (zkrácená verze) lysozym
např. **cholinesterasa** **proteinasa**
- třídění: **podtřída** - druh štěpené vazby (EC 3.1. ester, EC 3.2. glykosyl, ...); **podpodtřída** - povaha substrátu (EC 3.1.1. karboxylesterhydrolasa, EC 3.1.2. thiolesterhydrolasa)
- pozn: formálně lze tyto enzymy považovat za „transferasy na molekulu vody“, mají ale vlastní třídu



κ -kasein + H₂O ----> *para*- κ -kasein + kaseinový makropeptid

- **chymosin** (ev. jinak renin, proteinasa)

4. Lyasy



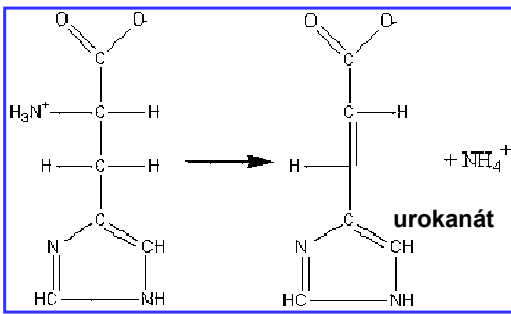
- **odštěpování menších skupin ze substrátu eliminačním způsobem** (tj. vznikne dvojná vazba, nebo cyklus), nebo naopak adice skupin na dvojně vazby

- **S** substrát-skupin**alýasa** např. *L-histidin-NH₃-lyasa*
threo-D-isocitrát-glyoxylátlyasa

- **D** substrát**dekarboxylasa** }
substrát**aldolasa** } **eliminace** - CO₂
substrát**dehydratasa** } - aldehyd
 } - voda
substrát**synthasa** }
substrát**karboxylasa** } **adice** + něco
substrát**hydratasa** } + CO₂
 } + voda
substrát**cyklasa** } **vznik cyklu**

např. *fosfoenolpyruvátkarboxylasa* *adenylátcyklasa*
karbonátdehydratasa

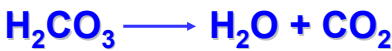
- **třídění:** **podtřída** - jaká vazba je štěpená (EC 4.1. C=C lyasy, EC 4.2. C=O lyasy, ...); **podpodtřída** - další informace o eliminované skupině (EC 4.1.1. CO₂, EC 4.1.2. H₂O)



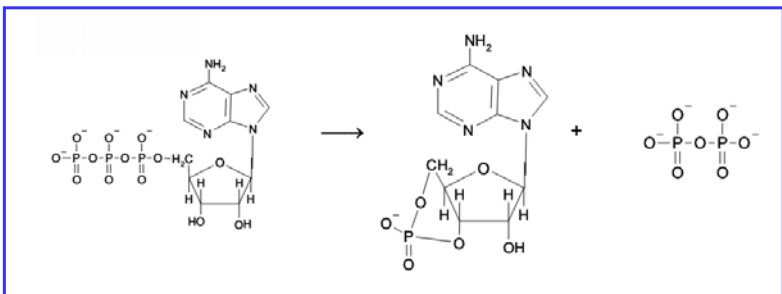
- **L-histidin-amoniaklyasa**
- **histidineaminasa**



- **pyruvát-karboxylyasa** pyruvátdekarboxylasa

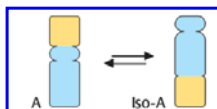


- **karbonát-hydrolyasa** karbonátanhydrasa, karbonátdehydratasa



- **ATP-pyrofosfátlyasa (cyklizující)** adenylátcyklasa

5. Isomerasy



- intramolekulové strukturální či geometrické (konfigurační) změny molekuly substrátu
- S/D substrátisomerasa (obecný tvar)

substrát-cis-trans-isomerasa

substrát-tautomerasa

substrát-cykloisomerasa

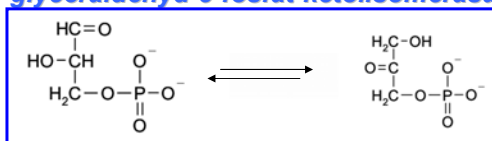
substrát-mutasa

substrát-racemasa

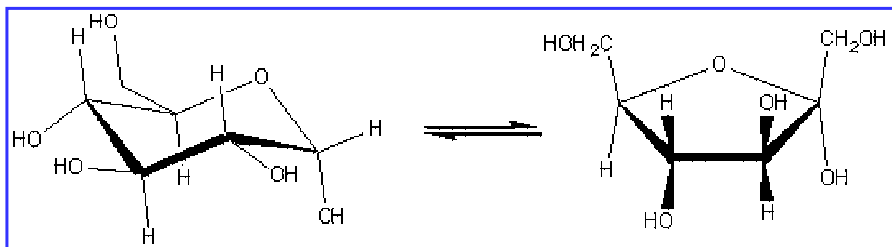
substrát-epimerasa

} geometrické změny

např. alanin-racemasa aldosa-1-epimerasa
D-glyceraldehyd-3-fosfát-ketolisomerasa

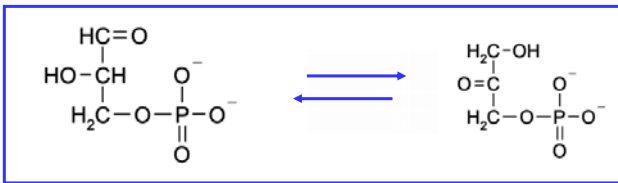


- třídění: podtřída - druh isomerace (EC 5.1. racemasy, epimerasy, EC 5.2. cis-trans isomerasy, EC 5.3. intramolekulové oxidoreduktasy, EC 5.4. intramolekulové transferasy, EC 5.5. intramolekulové lyasy);
podpodtřída - druh substrátu



α -D-glukopyranosa \rightleftharpoons α -D-fruktufuranosa

- D-xylosa-ketolisomerasa xylosaisomerasa, glukosaisomerasa



D-glyceraldehyd-3-fosfát \rightleftharpoons dihydroxyacetonfosfát

- **D-glyceraldehyd-3-fosfátketolisomerasa** triosafosfátisomerasa

3-fosfo-D-glycerát \rightleftharpoons 2-fosfo-D-glycerát

- **D-fosfoglycerát-2,3-fosfomutasa** fosfoglycerátmutasa

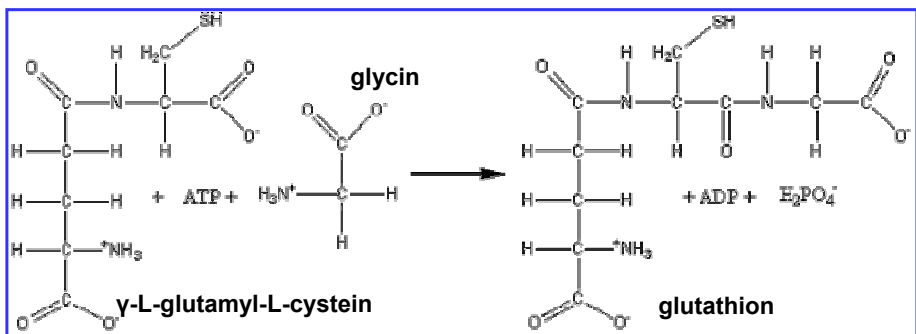
6. Ligasy



- *synthesa složitějších molekul z jednodušších látek, spojená se štěpením ATP nebo jiné energeticky bohaté sloučeniny*



- **S** substrát1:substrát2-ligasa (tvořící ADP)
např. *sukcinát:CoA-ligasa* (tvořící GDP)
acetyl-CoA:CO₂-ligasa (tvořící ADP)
L-tyrosin:t-RN^{tyr}-ligasa (tvořící AMP)
- třídění: **podtřída** - druh tvořené vazby (EC 6.1. C-O, 6.2. C-S, 6.3 C-N, 6.4 C-C, 6.5 estery kys. fosforečné - ligasy, ...)



- γ -L-glutamyl-L-cystein:glycine-ligasa (tvořící ADP)
- **X** glutathionsynthetasa – nepoužívat, ale poznat...

Názvosloví - další pravidla

- pomocná upřesnění se uvádí za vlastním názvem enzymu v závorce
např. ... (tvořící ADP), ... (dekarboxylující), ... (dimerizující), ... (decyklizující)
- pokud enzym katalysuje dvě následné reakce, pro zařazení je určující ta první
- v názvech lze používat běžné zkratky (ATP, NAD^+ , CoA, ...)
- alternativní substráty se uvádí v závorce

Enzymová aktivita a

- míra množství enzymu, určuje se měřením katalytické aktivity enzymu, tj. měřením rychlosti reakce, kterou enzym katalyzuje:

$$a = -\frac{dn_S}{dt} = \frac{dn_P}{dt} \approx \frac{\Delta n}{\Delta t}$$

- změna látkového množství substrátu (úbytek - proto s minusem) nebo produktu za čas

Jednotky enzymové aktivity

- **1 IU** (international unit) - množství enzymu, co katalyzuje přeměnu 1 μ molu substrátu za 1 minutu při 30 °C a optimálních podmínek (zastaralá, ale stále užívaná)
- **1 kat** (katal, dle SI) - množství enzymu, co za daných podmínek přemění 1 mol substrátu na produkty za 1 sekundu
- **přepočty** (lze odvodit z definic!)
 - 1 kat = 1 mol/s = $6 \cdot 10^7$ IU
 - 1 IU = 1 μ mol/min = 16,6 nkat

Specifická a molekulární aktivita

- **specifická aktivita** - aktivita vztažená na hmotnost bílkoviny enzymového preparátu

$$a_{sp} = \frac{a}{m_{enz}}$$

[např. nkat/mg]

- **molekulární aktivita** (číslo přeměny, kolik molekul substrátu přemění 1 molekula enzymu za 1 sekundu)

$$a_m = \frac{a}{n_{enz}}$$

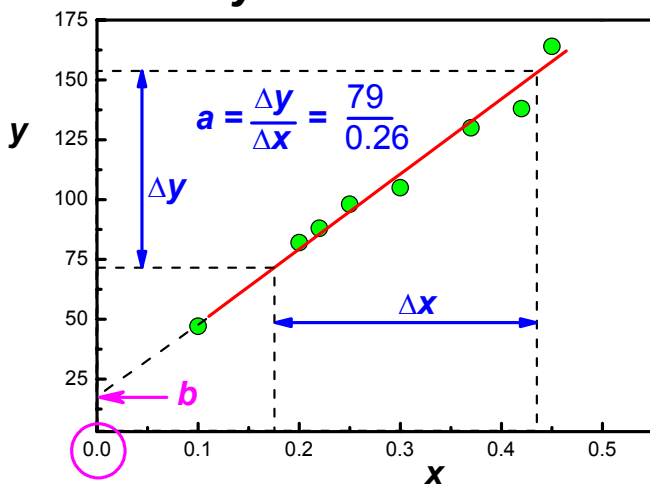
[s⁻¹]

Co si zopakovat... **Matematika**

- úprava algebraických výrazů
- převádění z jedné strany rovnice na druhou
- přímá úměra („trojčlenka“)
- řešení soustavy dvou rovnic o dvou neznámých
- rovnice přímky
- metoda nejmenších čtverců (lin. regrese)
- (derivace, integrace)

Rovnice přímky

$$y = ax + b$$



a ... směrnice

b ... úsek (absolutní člen)

určení parametrů:

lineární regrese

Fyzika

- základní jednotky SI
- předpony
 - m mili 10^{-3} , μ mikro 10^{-6} , n nano 10^{-9}
 - k kilo 10^3 , M mega 10^6
- hustota vody je 1, tj.
 - 1 ml odpovídá 1 g
 - 1 μ l odpovídá 1 mg
- každý výsledek má vždy tvar čísla s uvedenou jednotkou

Chemie

- vzorce základních biochemických sloučenin (organické kyseliny, aminokyseliny, cukry, ...)
- hmotnost m [g], molekulová hmotnost M [g/mol]
- látkové množství n [mol], $n = m/M$
- objem V [$\text{dm}^3 \approx \text{l}$, $\text{cm}^3 \approx \text{ml}$, $\text{mm}^3 \approx \mu\text{l}$]
- molární koncentrace c [mol/l], $c = n/V$
- ředění roztoků, $c_0 V_0 = c(V_0 + \Delta V)$
- fotometrie Lambert-Beer $A = \epsilon c l$
- kinetické rychlostní (k) a rovnovážné (K) konstanty, $\text{p}K = -\log K$
- molární objem plynu $V_m = 22,4 \text{ dm}^3/\text{mol}$
- absolutní teplota $T = 273,15 + t$

příklady do cvičení na příště...

- cílem je rozšířit a upevnit znalosti zejména v oblasti enzymologických výpočtů
- sylabus i studijní materiály (zadání i řešení příkladů) jsou k dispozici na internetu:

<http://biosensor.chemi.muni.cz/edu/enzymol>