

Enzyme als Biokatalysatoren

1 Enzymwirkung

Versuch:

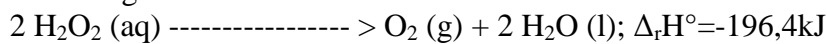
Wasserstoffperoxid wird bei RT mit a) Mn(IV)-oxid und b) Katalase versetzt.

Beobachtung:

a) Gasentwicklung → Glimmspanprobe positiv

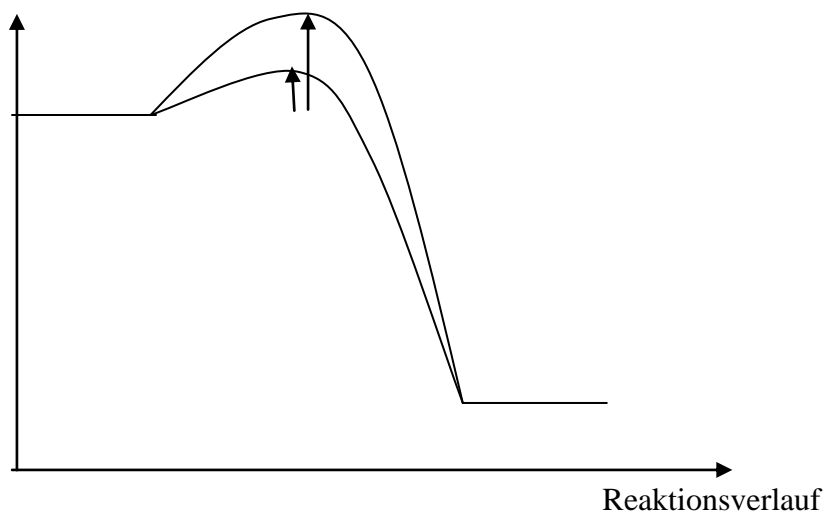
b) Gasentwicklung → Glimmspanprobe positiv

Erklärung:



Energiediagramm:

E/J



Enzyme sind Biokatalysatoren.

Katalysator: Stoff, der die Aktivierungsenergie einer Reaktion herabsetzt und dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit der Reaktion steigert, ohne dabei selbst verbraucht zu werden.

Substrat: Stoffe, die von Enzymen umgesetzt werden.

Alle Reaktionen in Lebewesen sind GG-Reaktionen, aber ein Katalysator ändert nicht die GG-Lage, weil die die E_A der Hin- und Rückreaktion herabgesetzt wird.

Problem: Wie sind Enzyme aufgebaut?

s. AA_Enzyme

2 Wirkungsweise von Enzymen

2.1 Substrat- und Wirkungsspezifität

Versuch: siehe Praktikum

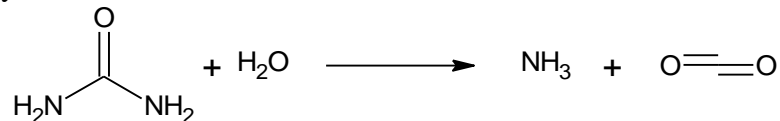
Beobachtung:

Rggl. A: Indikatorumschlag von farblos nach pink; Ammoniak-Geruch

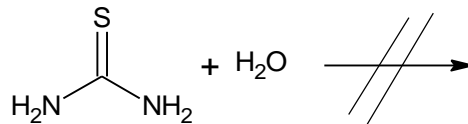
Rggl. B: keine Veränderung

Erklärung:

Rggl. A: Hydrolyse von Harnstoff durch Urease



Rggl. B:



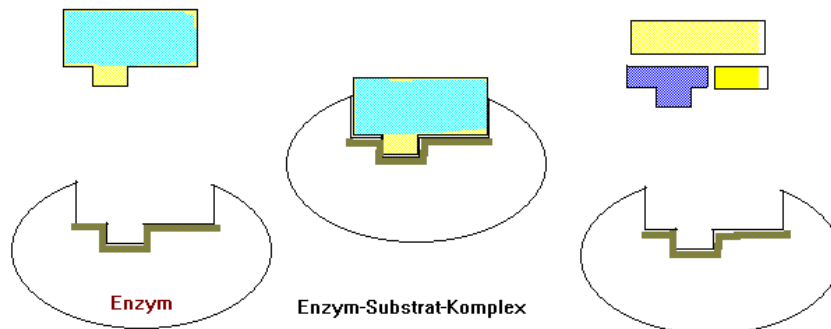
Enzyme sind **substratspezifisch**, d. h. ein Enzym kann nur ein ganz bestimmtes Substrat umsetzen (Schlüssel-Schloss-Prinzip).

Ursache:

Enzyme haben eine spezifische Region im Molekül, in die sich das Substrat-Molekül einlagern kann. Man bezeichnet diese Stelle des Enzym-Moleküls als **aktives Zentrum**.

Enzym + Substrat \leftrightarrow Enzym-Substrat-Komplex (kurzlebig)

Enzym-Substrat-Komplex \rightarrow Enzym + Produkt 1 + Produkt 2



Der Zerfall des ES-Komplexes ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, d. h. die langsamste Teilreaktion.

Nur wenige Enzyme setzen allerdings nur ein einziges Substrat um (absolute Spezifität, z.B. GOD, Urease). Vielfach sind Enzyme gruppenspezifisch, d. h. sie setzen Verbindungen mit gleicher funktioneller Gruppe um (z.B. Ester, ...).

Enzyme sind daneben auch **wirkungsspezifisch**, d.h. sie katalysieren nur eine ganz bestimmte Reaktion.

2.2 Temperaturabhängigkeit

Rggl. C: s. o.

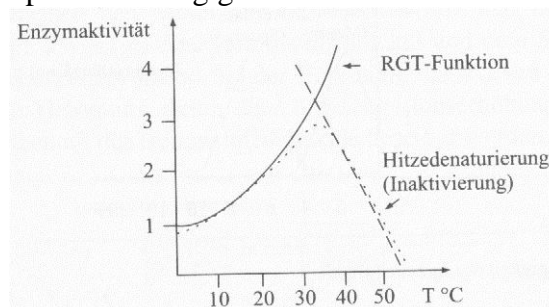
Ob die Harnstoff-Lösung gekocht wurde, hat keinen Einfluss auf die Wirkung der Urease, weil sich dadurch weder der räumliche Bau des Harnstoffs noch jener des Enzyms ändert

Rggl. D:

Keine Reaktion →

Enzyme haben einen Protein-Anteil im Molekül, der durch hohe Temperaturen seine Tertiärstruktur irreversibel verändert (Denaturierung!). Dadurch ändert sich auch der räumliche Bau des aktiven Zentrums und so ist das Molekül nicht mehr wirksam.

Die Enzymaktivität ist temperaturabhängig:



Beginn: RGT-Regel, d. h. Steigerung der Temp. um 10°C führt zu einer Verdopplung der RG, jedes Enzym hat ein Temperaturoptimum (T bei der die Enzymaktivität maximal ist)

Ab ca. 40°C überwiegt die Hitzenaturierung der Protein-Komponenten → Änderung der Tertiär-Struktur → Funktionsverlust

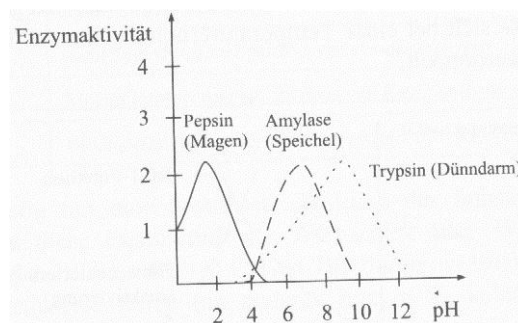
Ab ca. 55°C: vollständiger Funktionsverlust

Anwendung: Bioaktive Waschmittel mit z.B. fettabbauenden Enzymen können nur bis zu einer Waschlaugetemperatur von 60°C eingesetzt werden.

Ziel: Entwicklung hitzeresistenter Enzym für Waschvorgänge bis 90°C.

2.3 pH-Wert

Beispiel:



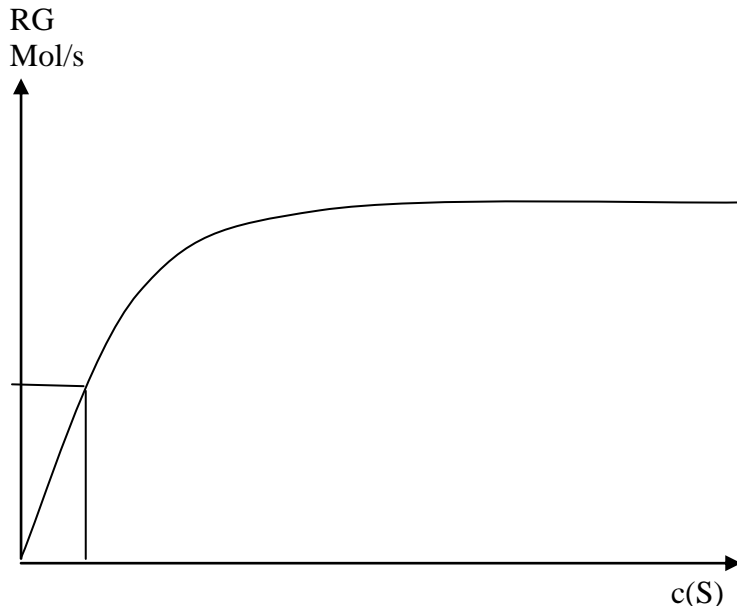
Da Enzym-Moleküle stets eine Protein-Komponente enthalten, wird ihre Tertiärstruktur von ionischen Wechselwirkungen stabilisiert. Anzahl und Art der vorhandenen geladenen Gruppen und somit die Enzymaktivität hängt dabei von pH-Wert ab.

Merke: Jedes Enzym, hat ein pH-Wert Optimum

2.4 Substratkonzentration

Je größer die Eduktkonzentration ist, desto schneller läuft die Reaktion ab, weil die RG größer wird.

Wird die gleiche Reaktion aber durch ein Enzym katalysiert ergibt sich folgendes Diagramm:



Die Reaktionsgeschwindigkeit erreicht bei einer bestimmten Substratkonzentration einen Maximalwert, der sich auch durch eine weitere Erhöhung der Substratkonzentration nicht weiter steigern lässt.

Ursache:

Wenn alle aktiven Zentren der Enzym-Moleküle besetzt sind, lässt sich die RG auch bei höherer Substratkonzentration nicht weiter steigern. Bei der Maximalgeschwindigkeit liegen alle Enzym-Moleküle als ESK vor, weil alle aktiven Zentren besetzt sind. Die Substratkonzentration hat keinen Einfluss auf die Maximalgeschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion.

Die Michaelis-Konstante K_M entspricht der Substratkonzentration [mol/L] bei der die RG die Hälfte ihres Maximalwertes erreicht. K_M ist für jedes Enzym eine Konstante und ist ein Maß für die Affinität des Enzyms zum Substrat.

Je größer K_M , desto höher ist die Affinität zum Substrat.

Aufgabe: Skizziere ein Diagramm, das die Abhängigkeit der RG einer enzymatisch katalysierten Reaktion von der Substratkonzentration zeigt für zwei unterschiedliche Enzymkonzentrationen!

3 Hemmung der Enzymaktivität

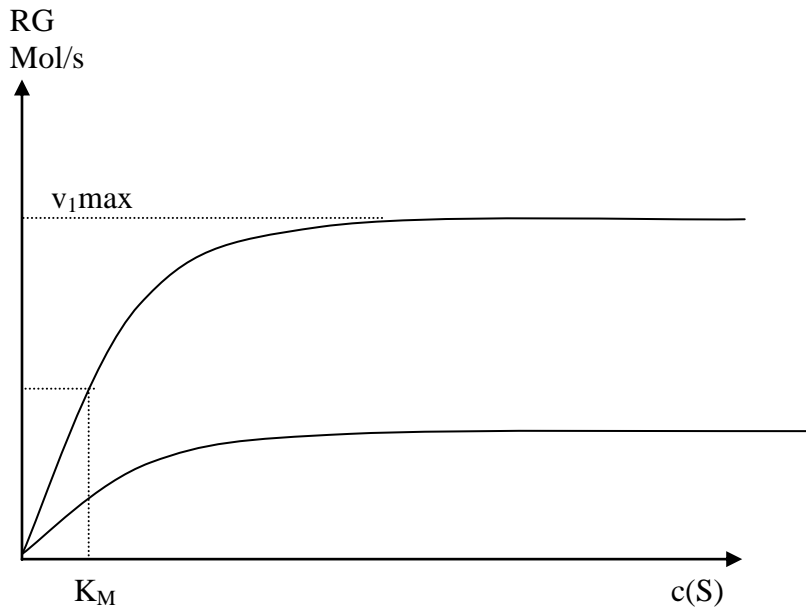
3.1 Substrathemmung

Bei extrem hohen Substrat-Konzentrationen behindern sich die Substratmoleküle gegenseitig bei der Bildung des ES-Komplexes und die RG sinkt etwas ab (=Substrathemmung)

3.2 Nichtkompetitive Hemmung

Durch Zugabe von best. Stoffen (z.B. Schwermetallsalze, best. Antibiotika, ...) wird die Enzymwirkung irreversibel herabgesetzt.

Schwermetall-Kationen (z.B. Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , ...) beeinflussen die Wirkung der Enzyme, da sie die Tertiärstruktur der Eiweisskomponente verändern. Dadurch verändert sich der räumliche Bau des akt. Zentrums und das Enzym kann keine Substratmoleküle mehr binden.
→ irreversible Denaturierung → in Lebewesen chronische Langzeitschäden



K_m bleibt gleich → gleiches Enzym

RG_{\max} sinkt, da einige E-Moleküle irreversibel zerstört wurden

3.3 Kompetitive Hemmung (=Verdrängungshemmung)

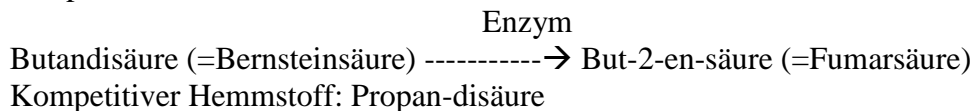
Da Enzyme meist nicht absolut spezifisch sind, können räumlich ähnlich gebaute Moleküle mit dem Substrat um das aktive Zentrum konkurrieren.

Definition:

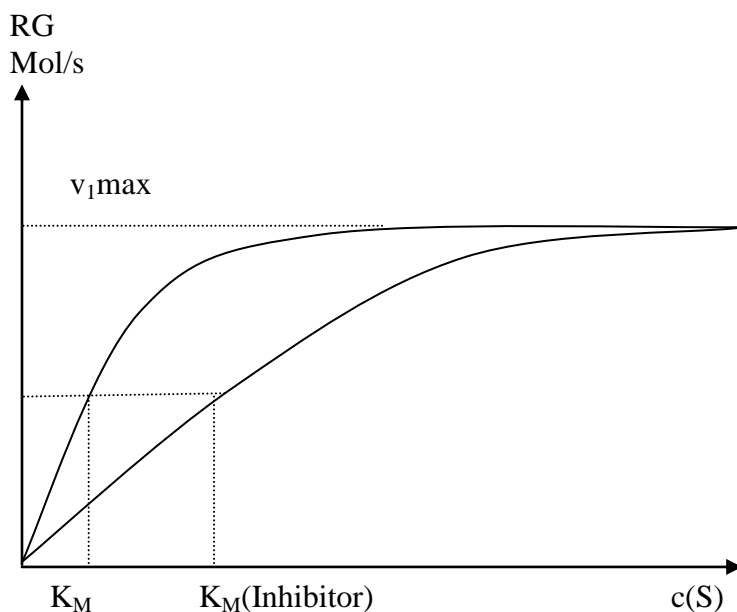
Räumlich ähnlich gebauter Hemmstoff (=Inhibitor) wird vom aktiven Zentrum des Enzyms gebunden aber nicht umgesetzt.

Absinken der RG, weil nicht alle E-Moleküle mit Substraten einen ESK bilden können.

Beispiel:



- Je größer die Inhibitorkonzentration ist, desto stärker wirkt sich die Hemmung aus.
- Die Hemmung ist reversibel.
- Höhere Substratkonzentrationen vermindern den Inhibitoreffekt.



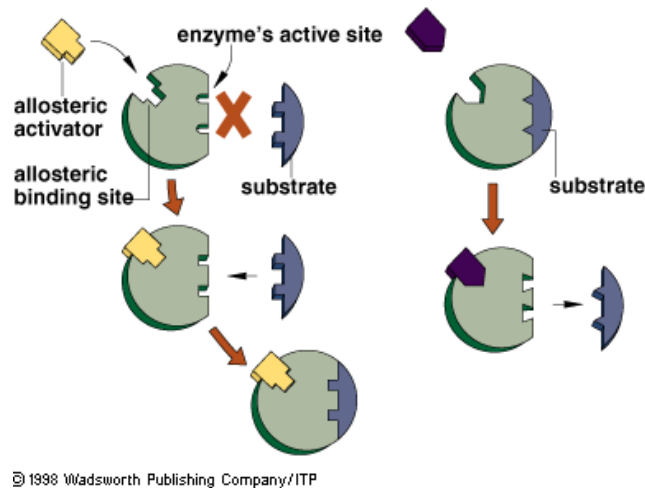
Merkmale:

- K_M wird größer, d.h. man braucht mehr Substratmoleküle, um die halbmaximale RG zu erreichen, weil ja der Inhibitor mit dem Substrat um das akt. Zentrum konkurriert
- RG_{max} ist gleich, da bei genügend hohen Substratkonzentrationen die Wahrscheinlichkeit klein ist, dass überhaupt ein Inhibitor-Molekül das akt. Zentrum erreicht.

Einsatzmöglichkeiten: s. Abi-Training S. 92 Sulfonamide

3.4 Allosterische Hemmung

Neben dem aktiven Zentrum haben bestimmte Enzym-Moleküle eine weitere Bindungsstelle, das allosterische Zentrum. Bindet der Hemmstoff an das allosterische Zentrum, verändert sich die Tertiärstruktur des aktiven Zentrums so, dass kein Substrat mehr binden und dementsprechend umgesetzt werden kann.

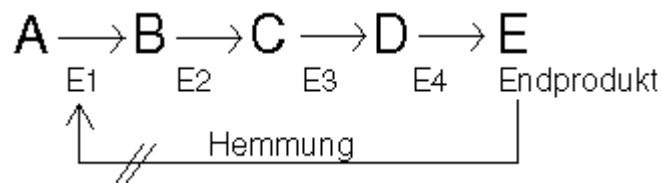


Wie lässt sich eine allosterische Hemmung erkennen?

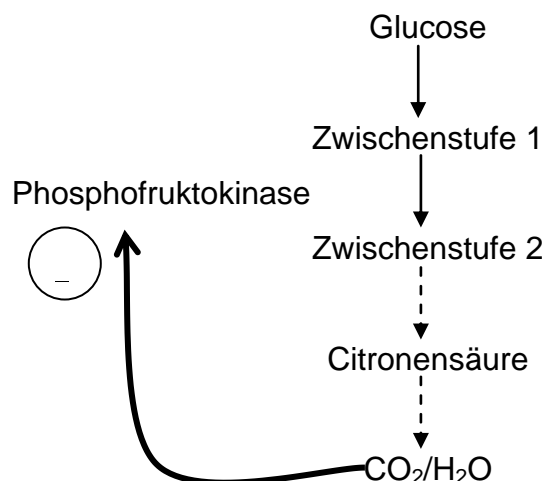
Da ein Teil oder alle Enzyme durch den allosterischen Hemmstoff außer Funktion gesetzt werden, entspricht der Kurvenverlauf für Enzymaktivität in Abhängigkeit von der Substratkonzentration jenem der nicht-kompetitiven Hemmung.

Unterschied: allosterische Hemmung ist reversibel

Bedeutung: Regulation des Stoffwechsels



Beispiel:



Häufig ist das Endprodukt einer langen Stoffwechselkette ein allosterischer Hemmstoff für ein Enzym am Beginn des Stoffwechselweges. Ist genügend Endprodukt vorhanden, so wird der Stoffwechselweg gehemmt und Material eingespart. Gleichzeitig wird aber auch das Endprodukt im Stoffwechsel verbraucht und die allosterische Hemmung wird wieder aufgehoben.

4 Verwendung

- Waschmittel (Abbau von Fettflecken)
- Lebensmittelproduktion

Versuch: Amylase

- Medizinische Analytik

Versuch:

Diabetes Test im Urin mit Glucose-Oxidase (GOD) und Peroxidase (POD)

