

# Specifičnost enzymových reakcí

## Představení kapitoly

V této kapitole se seznámíme s tím, jak enzymy fungují, co je odlišuje od jiných katalyzátorů a proč jsou pro život nezbytné. Nejprve vysvětlíme, proč některé reakce probíhají pomalu a jak enzymy snižují aktivační energii. Následně si ukážeme, jak fyzikálně-chemické podmínky prostředí (pH, teplota, iontová síla, redoxní stav) a přítomnost inhibitorů či aktivátorů ovlivňují jejich aktivitu. V závěru kapitoly se zaměříme na enzymovou specifitu, tedy schopnost enzymů rozpoznávat jen určité substráty nebo reakce, a ukážeme si, proč má tato vlastnost zásadní biologický i farmakologický význam.

## Obsah

|     |                                                          |   |
|-----|----------------------------------------------------------|---|
| 1   | Úvod do tématu.....                                      | 1 |
| 1.1 | Proč některé reakce běží pomalu — aktivační energie..... | 1 |
| 2   | Enzymy — co je odlišuje od jiných katalyzátorů.....      | 2 |
| 2.1 | Vliv pH .....                                            | 2 |
| 2.2 | Vliv teploty .....                                       | 3 |
| 2.3 | Iontová síla, pufr a redoxní podmínky .....              | 3 |
| 2.4 | Inhibitory a aktivátory.....                             | 4 |
| 3   | Enzymová specifita.....                                  | 4 |

## 1 Úvod do tématu

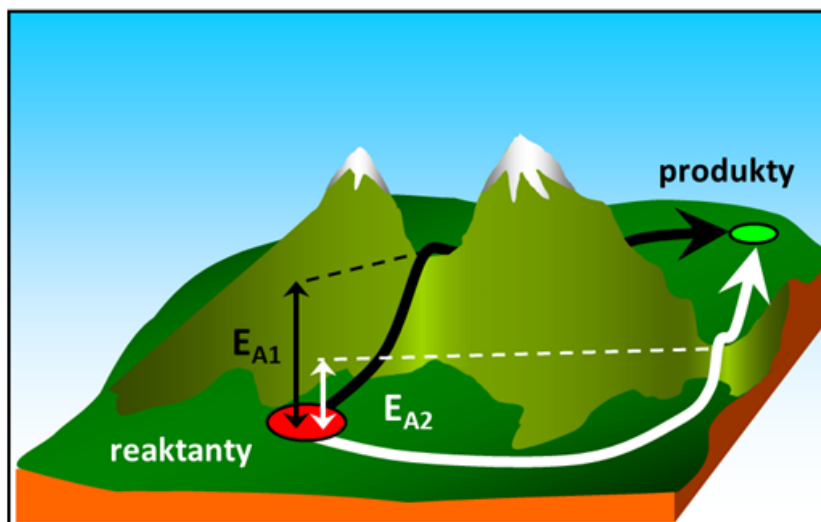
Kolem sebe pozorujeme celou řadu chemických reakcí — některé z nich jsou nepřehlédnutelné, například hoření dřeva, což je v podstatě oxidace celulózy, při které se uvolňuje teplo a světlo. Jiné jsou skryté, například našem těle probíhají každou sekundu miliardy chemických přeměn. Možná jste si někdy kladli otázku, proč tyto reakce probíhají bezpečně a souběžně, aniž by si navzájem „překážely“? Jednou z klíčových odpovědí jsou enzymy — biologické katalyzátory, které koordinují a urychlují konkrétní reakce v buňce.

Enzymy jsou pro hladký průběh reakcí nezbytné. Některé reakce, i když jsou termodynamicky přípustné, by totiž za fyziologických podmínek vůbec neproběhly (mají příliš vysokou aktivační energii). A jiné probíhají mnohem pomaleji, než je pro život potřebné. Enzymy tyto reakce umožní a zajišťují tak, že metabolické dráhy fungují plynule.

### 1.1 Proč některé reakce běží pomalu — aktivační energie

Enzymatické reakce probíhá tak, že vzniká přechodný komplex enzymu a substrátu. Substrát (S) se naváže do aktivního místa enzymu (E) → vznikne komplex ES. V komplexu proběhne chemická přeměna → vznikne produkt (P). Produkt se uvolní, enzym zůstane neporušený a je připraven zpracovat další substrát. První krok (vazba substrátu) bývá často krokem rychlým a vratným; druhý krok (tvorba produktu a jeho uvolnění) je často pomalejší a určuje celkovou rychlost procesu.

Aby se substráty přeměnily na produkty, musí systém překonat tzv. aktivační energii: představte si ji jako kopec, přes který musí reakce „přeskočit“. Vyšší aktivační energie znamená, že molekuly nemají dostatek energie ke vstupu do přechodného stavu, a proto je reakce pomalá nebo vůbec neprobíhá. Příkladem je zapálení celulózy: plamen poskytne počáteční energii, která umožní zahájení hoření. Katalyzátory, mezi něž patří i enzymy, snižují aktivační energii tím, že nabízejí alternativní reakční mechanismus. Katalyzátor se při tom sám při reakci nespotřebuje.



## 2 Enzymy — co je odlišuje od jiných katalyzátorů

Enzymy jsou **bílkoviny** (někdy RNA – tzv. ribozymy) se **specifickým tvarem aktivního místa**. Ve srovnání s jednoduchými anorganickými katalyzátory mají několik charakteristických vlastností:

- **Citlivost na podmínky** — pH, teplota, iontová síla a přítomnost kofaktorů ovlivňují jejich aktivitu.
- **Vysoká specifita** — obvykle katalyzují jen jeden typ reakce nebo působí na velmi omezenou skupinu substrátů.

Enzymová aktivita je silně závislá na fyzikálně-chemických podmínkách okolního prostředí. Mezi nejvýznamnější faktory patří pH, teplota, iontová síla a složení prostředí, redoxní podmínky a přítomnost inhibitorů či aktivátorů. V následujících odstavcích popisujeme jednotlivé vlivy a jejich důsledky pro laboratorní stanovení i biologickou funkci enzymů.

### 2.1 Vliv pH

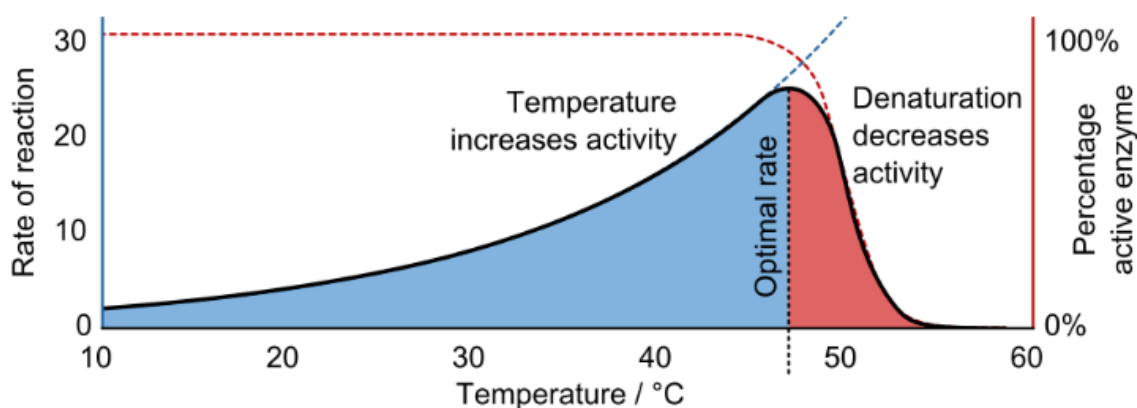
Hodnota pH prostředí výrazně ovlivňuje **konformaci enzymu**. O této problematice se dozvíte více v kapitole o proteinech. I mírné posuny pH mohou změnit ionizaci postranních řetězců aminokyselin, a tím ovlivnit schopnost enzymu substrát rozpoznat, navázat a přeměnit. Současně se mění i ionizace samotného substrátu, což může rovněž oslabit interakci enzym-substrát. Extrémní pH (silně kyselé nebo silně zásadité) obvykle vede k denaturaci bílkovinné struktury a ke ztrátě katalytické aktivity.

Pro většinu enzymů se udává pH-optimum přibližně v rozmezí pH 5–8, nicméně existují významné výjimky odpovídající jejich fyziologickému umístění. Například pepsin má optimum při pH 1,5–2,5 (žaludek), zatímco některé střevní enzymy dosahují maxima v neutrálně až mírně zásaditém prostředí. Alkalická fosfatáza pracuje nejlépe při pH 9,5–9,7; naopak kyselá fosfatáza vykazuje aktivitu při kyselém pH.

Různé enzymy se mohou někdy jmenovat podobně (např. více forem fosfatáz), protože katalyzují stejný typ reakce nebo pracují se stejnou funkční skupinou, liší se však lokalizací v organismu, optimálními podmínkami, strukturou nebo regulací. Tyto formy enzymů umožňují organismu vykonávat obdobné chemické úkony v různých buněčných nebo orgánových prostředích.

## 2.2 Vliv teploty

**Teplota ovlivňuje rychlost molekulárních srážek a též stabilitu bílkovinné struktury enzymu.** S rostoucí teplotou obvykle roste rychlost reakce až do určitého teplotního optima, které u většiny savčích enzymů leží mezi 35–45 °C. Při vyšších teplotách dochází k postupné termální denaturaci enzymu a rychlost reakce klesá. Při velmi nízkých teplotách (blízko 0 °C) jsou reakce velmi pomalé; pro dlouhodobé uchování biologického materiálu se proto používá hluboké zmrazení (např. –20 °C nebo nižší), kdy enzymatické reakce prakticky ustávají.



(Zdroj: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d5/Q10\\_graph\\_c.svg/langcs-960px-Q10\\_graph\\_c.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d5/Q10_graph_c.svg/langcs-960px-Q10_graph_c.svg.png))

## 2.3 Iontová síla, pufr a redoxní podmínky

Iontová síla mění **elektrostatické interakce** mezi enzymem a substrátem i v rámci samotné bílkovinné molekuly, což může ovlivnit vazbu i konformaci enzymu. Při laboratorních studiích enzymů proto do reakčních směsí vždy přidáváme pufr, který udržuje stabilní pH a tím i konstantní podmínky pro měření rychlosti. Typ pufru a jeho koncentrace určují schopnost udržet požadované pH.

Dále je třeba brát v úvahu redoxní podmínky: u enzymů, které obsahují disulfidové vazby nebo redoxní kofaktory, může změna oxidačně-redukčního stavu vést ke ztrátě aktivity nebo k přechodu mezi aktivní a neaktivní formou.

Jedním z příkladů kofaktorů je NADH – běžný koenzym dehydrogenáz. Funguje jako donor elektronů (a protonů) — při redukčních krocích se oxiduje na  $\text{NAD}^+$ , při oxidačních je naopak redukován na NADH. V praktických enzymatických testech (např. měření aktivity laktátdehydrogenázy) se změna koncentrace NADH přímo sleduje spektrofotometricky, protože NADH silně absorbuje při 340 nm, zatímco  $\text{NAD}^+$  nikoliv. V průběhu reakce tedy koncentrace NADH klesá (pokud je spotřebováván jako substrát) nebo stoupá (pokud je tvořen jako produkt), a tento pokles/růst odráží rychlost katalyzované reakce.

## 2.4 Inhibitory a aktivátory

**Inhibitory a aktivátory enzymů** zásadně ovlivňují rychlost a průběh enzymatických reakcí tím, že mění vazbu substrátu na enzym nebo ovlivňují katalytickou aktivitu aktivního místa.

- **Kompetitivní inhibitory** soutěží se substrátem o aktivní místo enzymu. Lze je „překonat“ zvýšením koncentrace substrátu – proto se u nich zvyšuje  $K_m$  (je třeba více substrátu k dosažení poloviny  $V_{max}$ ), ale maximální rychlost reakce ( $V_{max}$ ) zůstává nezměněná.
- **Nekompetitivní inhibitory** se vážou mimo aktivní místo (např. na alosterické místo) a mění tvar enzymu tak, že snižují jeho maximální aktivitu. V tomto případě  $K_m$  zůstává stejné, ale  $V_{max}$  se snižuje. Typickým příkladem je kyanid, který inhibuje cytochrom c oxidázu v dýchacím řetězci.
- **Aktivátory enzymů** působí opačně – usnadňují vazbu substrátu nebo stabilizují aktivní konformaci enzymu. **Kofaktory** (např. ionty kovů jako  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  nebo organické koenzymy jako  $\text{NAD}^+$ , FAD) jsou nezbytné pro správnou funkci mnoha enzymů. **Alosterické aktivátory** se vážou mimo aktivní místo a zvyšují afinitu enzymu k substrátu, což urychluje reakci a zlepšuje regulaci metabolických drah.

Tyto mechanismy mají velký praktický význam – právě na principu inhibice nebo aktivace enzymů funguje většina farmak (např. inhibitory ACE u hypertenze, statiny u poruch metabolismu lipidů).

## 3 Enzymová specifita

**Enzymová specifita** znamená, že enzym působí pouze na určité substráty nebo katalyzuje jen omezený typ reakcí. Jinými slovy – enzym „rozpozná“ jen ty molekuly, které odpovídají tvaru a chemickým vlastnostem jeho aktivního místa. Aktivní místo je tvořeno postranními řetězci aminokyselin, a substrát tak musí nejen prostorově zapadnout, ale také vhodně chemicky interagovat.

Podle rozsahu rozlišujeme několik druhů specifity:

- **Absolutní specifita** – enzym působí jen na jeden přesně daný substrát (např. ureáza štěpí pouze močovinu).
- **Skupinová specifita** – enzym rozpoznává určitou funkční skupinu přítomnou na různých molekulách (např. alkoholdehydrogenáza na  $-\text{OH}$  skupinu).
- **Vazebná specifita** – enzym je zaměřen na určitou chemickou vazbu, např. esterovou nebo amidovou.
- **Stereospecifita** – enzym rozlišuje mezi prostorovými izomery a působí pouze na jeden z nich (např. L-aminokyseliny vs. D-aminokyseliny).

K vysvětlení mechanismu rozpoznání substrátu slouží dva modely. **Model „zámek a klíč“** popisuje situaci, kdy substrát přesně zapadá do aktivního místa. **Model „induced fit“ (indukované přizpůsobení)** ukazuje, že enzym se po navázání substrátu částečně přizpůsobí jeho tvaru a tím stabilizuje komplex.

Specifická má zásadní biologický význam: zajišťuje přesnost metabolických drah, zabraňuje nežádoucím reakcím a umožňuje jemnou regulaci metabolismu. Z farmakologického pohledu je pak enzymová specifická klíčová při návrhu léčiv – cílem je vyvinout selektivní inhibitory nebo aktivátory, které ovlivní pouze cílový enzym, a tím minimalizují nežádoucí účinky.

---

## Souhrn

Enzymy jsou biologické katalyzátory, které urychlují reakce snížením aktivační energie a tím zajišťují plynulý chod metabolismu. Jejich aktivita závisí na podmínkách prostředí – pH, teplotě, iontové síle, pufru či redoxním stavu – a může být ovlivněna inhibitory nebo aktivátory. Inhibitory zpomalují nebo blokují činnost enzymů, zatímco aktivátory, často ve formě kofaktorů, jejich účinek podporují. Klíčovou vlastností enzymů je specifická: každý enzym rozpoznává jen určité substráty nebo reakce, což zajišťuje přesnost metabolických drah. Specifická má i zásadní klinický význam, protože umožňuje cílený návrh léčiv a selektivních inhibitorů.

## Kontrolní otázky

1. Co je aktivační energie a jakou roli při ní hrají enzymy?
2. Čím se enzymy liší od běžných (anorganických) katalyzátorů?
3. Jak pH prostředí ovlivňuje činnost enzymů? Uveďte příklady enzymů s odlišným pH optimem.
4. Jaký význam má iontová síla a pufr při studiu enzymových reakcí?
5. Vysvětlete, jak funguje kompetitivní a nekompetitivní inhibice a jak se liší jejich vliv na  $K_m$  a  $V_{max}$ .
6. Jakým způsobem mohou kofaktory nebo alosterické aktivátory ovlivnit enzymovou reakci?
7. Co znamená enzymová specifická a jaké typy specifickosti rozlišujeme?