

Aufbaukurs Bioinformatik

3. Tag: Enzyme

Mechanismen, Funktionen und Datenbanken

Ursula Kummer, Sven Sahle

Ulla Rost, Katja Wegner und Andreas Weidemann

Enzyme - Allgemein

- Sind biologische Katalysatoren
- Sind sehr grosse Proteine
- Ermöglichen, daß Reaktionen bei Bedingungen ablaufen, die der Körper tolerieren kann
- Können Millionen von Molekülen pro Sekunde prozessieren
- Können sehr spezifisch sein (bezüglich ihrer Substrate)

Enzyme - Nomenklatur

Die Nomenklatur ist relativ einfach (was nicht bedeutet, dass keine Zweideutigkeiten existieren!)

Der Name basiert auf:

- mit was es reagiert
- wie es reagiert
- plus Endung "-ase"

Beispiele:

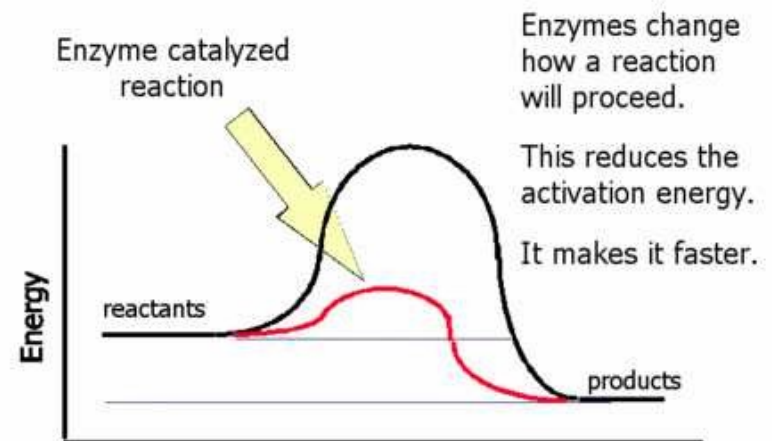
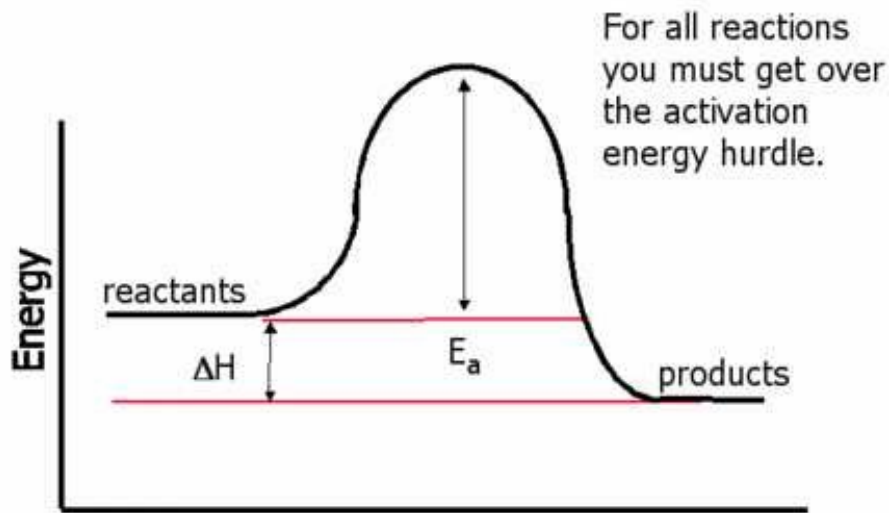
lactase

Enzym, dass mit Laktose reagiert

pyruvate decarboxylase

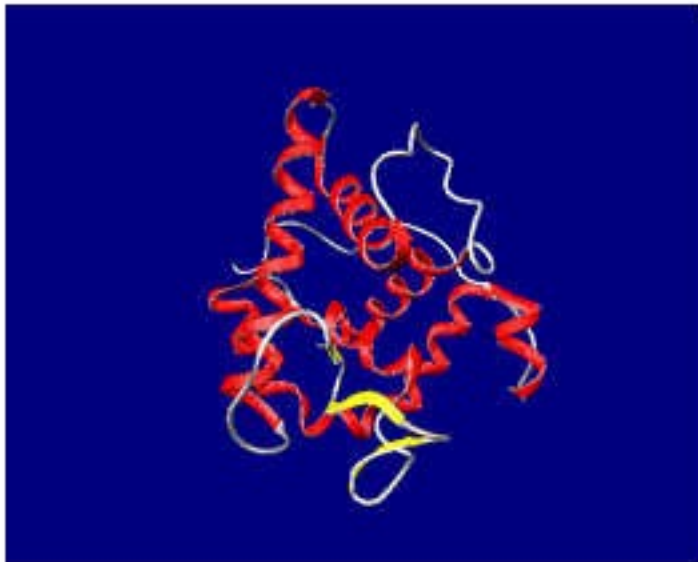
Enzym, daß Carboxyl von Pyruvat entfernt

Effekt von Enzymen auf die Aktivierungsenergie



Enzyme - das aktive Zentrum

Enzyme sind typischerweise riesige Proteine, aber nur ein kleiner Teil des Proteins ist an der Reaktion beteiligt



Modell von Lysozyme

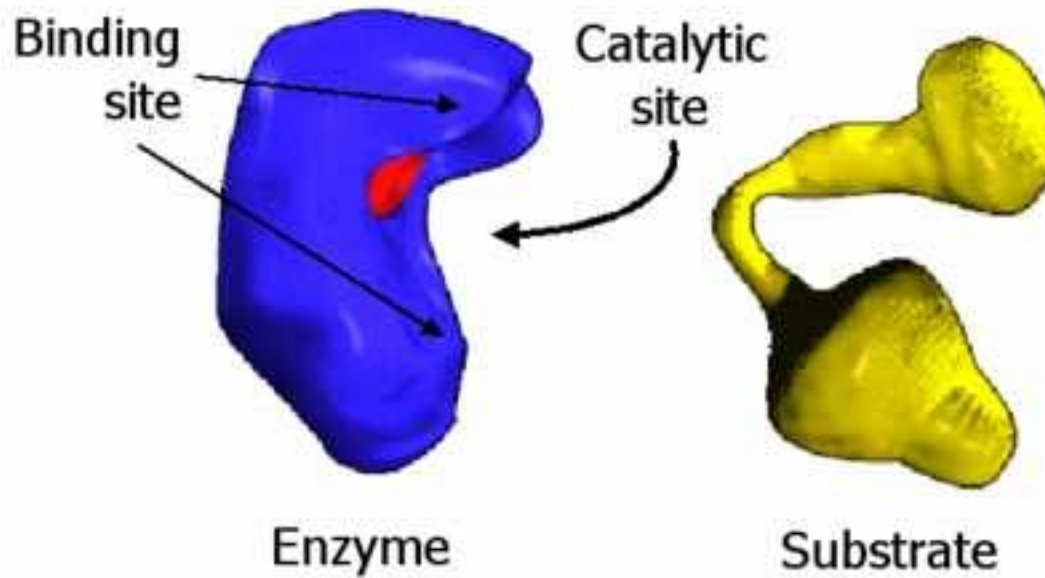
Das aktive Zentrum hat zwei wichtige Funktionen:
Katalytische Funktion
Bindungsfunktion

Die Schritte einer enzymatischen Reaktion

1. Enzym und Substrat(e) vereinigen sich zu einem Komplex
2. Der Komplex geht durch einen Übergangszustand, der weder Substrat noch Produkt ist
3. Ein Komplex von Enzym und Produkt entsteht
4. Enzym und Produkt trennen sich

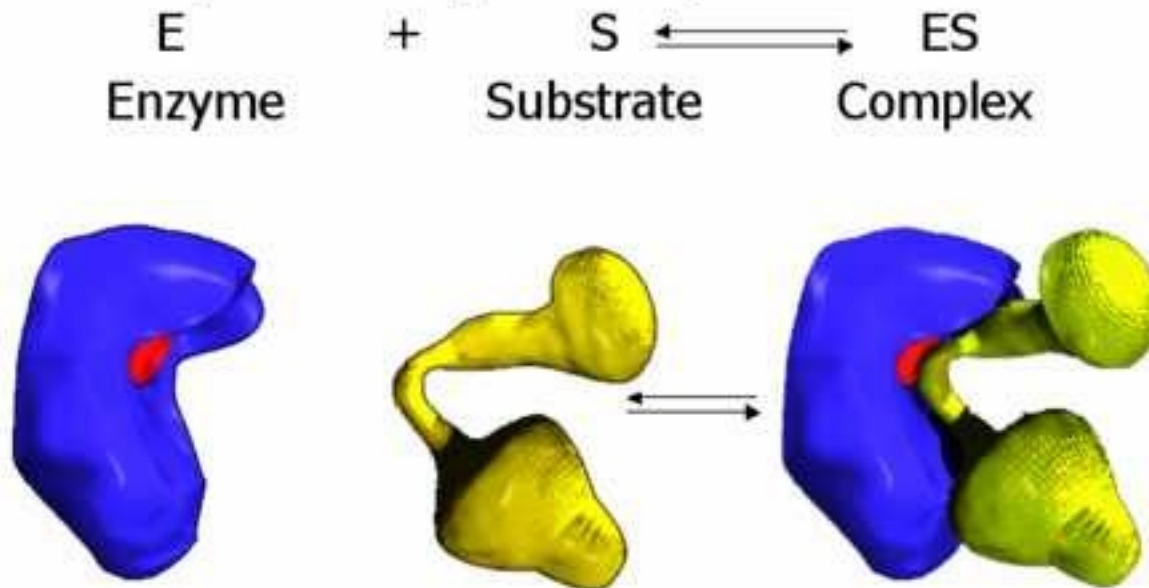
Alle diese Schritte sind reversibel!

Enzymatische Reaktionen schrittweise I



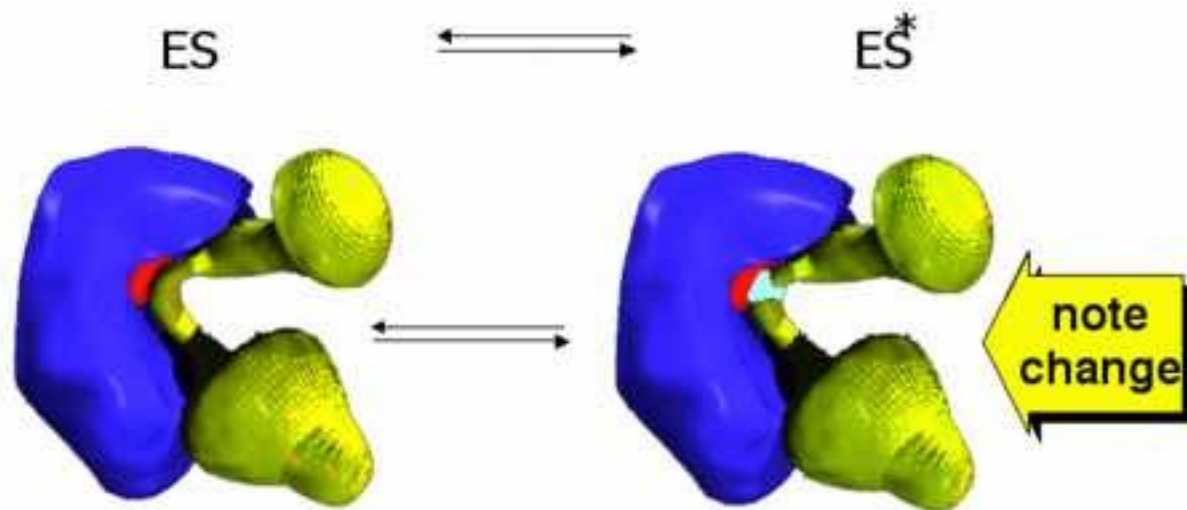
Enzymatische Reaktionen schrittweise II

Enzym und Substrat formen den Enzym-Substrat-Komplex



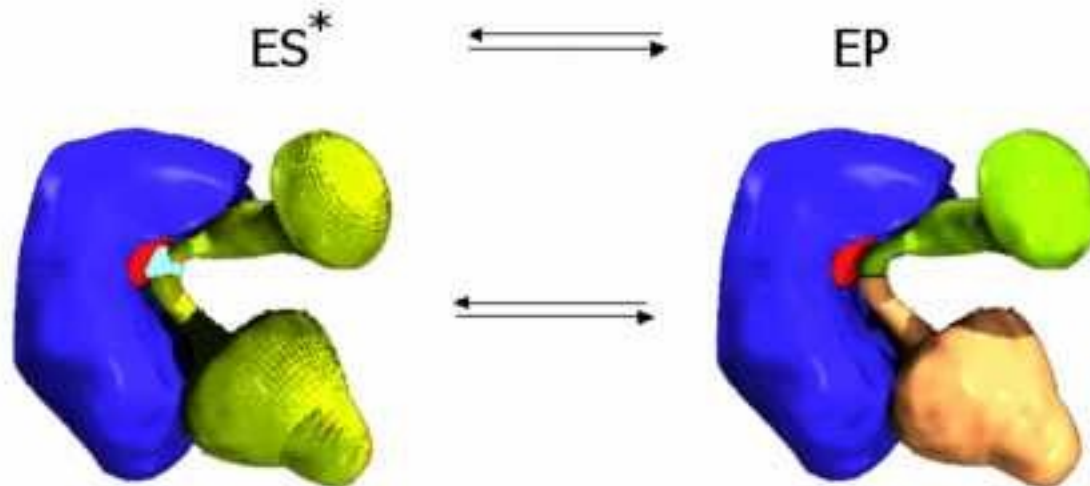
Enzymatische Reaktionen schrittweise III

Der Enzym-Substrat-Komplex bildet einen Übergangszustand



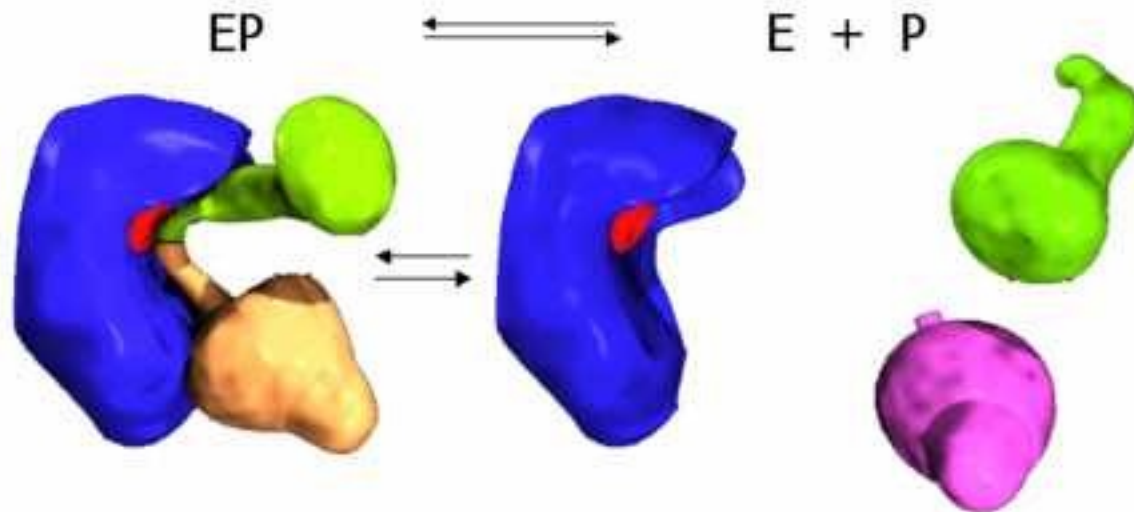
Enzymatische Reaktionen schrittweise IV

Der Enzym-Produkt-Komplex wird geformt



Enzymatische Reaktionen schrittweise V

Der Enzym-Produkt-Komplex zerfällt in das Produkt und das Enzym, das wieder für eine neue Reaktion zur Verfügung steht.



Kofaktoren

Einige Enzyme benötigen eine zweite Spezies, um die Katalyse durchzuführen

Apoenzym - Proteinteil des Enzyms (fast bereit zur Katalyse)

Kofaktor - Prosthetische Gruppe, die benötigt wird, um das Enzym zu aktivieren

Der Kofaktor kann entweder permanent binden oder reversibel (und verbraucht werden), Koenzym

Vitamine als Kofaktoren/Koenzyme

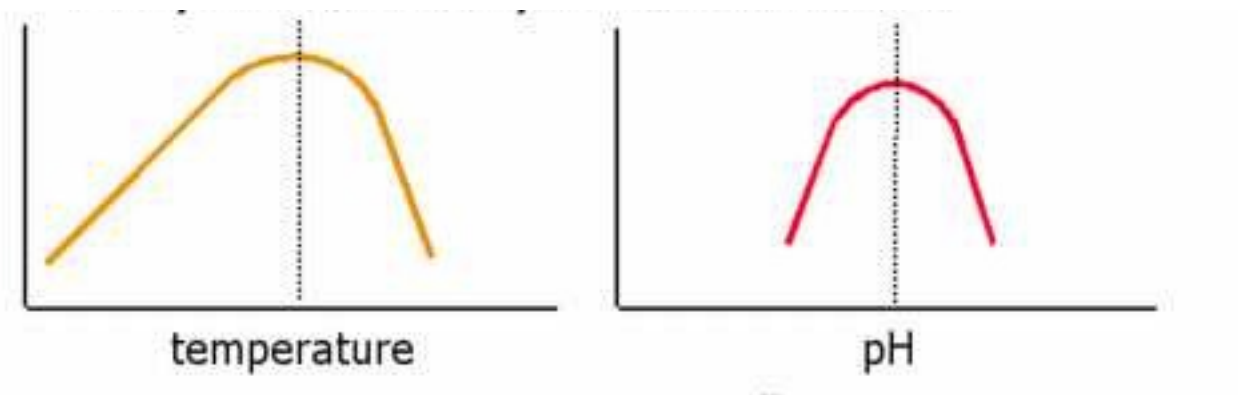
Vitamin	Kofaktor/Koenzym	Funktion
B ₁	thiamine pyrophosphate	decarboxylation
B ₂	flavin mononucleotide	carries hydrogen
folic acid	tetrahydrofolic acid	amino acid metabolism
biotin	biocytin	CO ₂ fixation
Pantothenic acid	Coenzyme A	acyl group carrier

Effekt von pH und Temperatur auf enzymatische Reaktionen

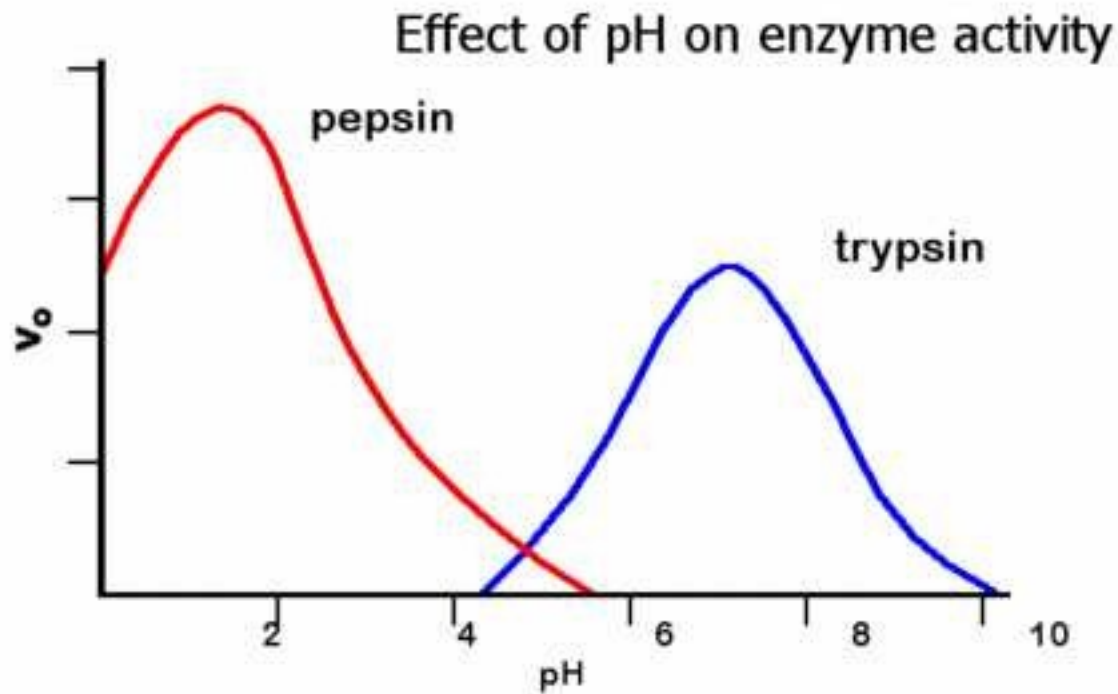
Enzyme haben einen optimalen pH und Temperatur für ihre Katalyse

Das Temperaturoptimum der meisten Enzyme liegt zwischen 25-40 Grad Celsius

Das pH-Optimum der meisten Enzyme liegt nahe pH 7



Einfluß pH - Beispiel I



Einfluß pH - Beispiel II

Enzyme	Source	Optimum pH
pepsin	gastric mucosa	1.5
sucrase	intestine	6.2
catalase	liver	7.3
arginase	beef liver	9.0
alkaline phosphatase	bone	9.5


Regulation der Enzymaktivität

- Anders als andere Katalysatoren werden Enzyme fast immer von anderen Zellbestandteilen reguliert
- Dabei gibt es sehr verschiedene Methoden, um diese Kontrolle auszuüben

Überlegen Sie, warum es extrem wichtig ist, diese Kontrollmechanismen zu haben!

Regulierung – Beispiel: Produktinhibition

Chemische Reaktionen sind immer reversibel!
Wenn die Produktkonzentration zunimmt, wird die Rückreaktion schneller!



Equilibrium shifts to left
if product starts to build up

Regulierung – Allosterie

Ähnlich zum Kofaktor/Koenzym-Konzept.
Ein Effektormolekül beeinflusst, wie das Enzym reagiert.

Positive allosterism - activates the enzyme.

Negative allosterism - deactivates the enzyme.



Weitere Methoden der Regulierung

Feedback-Inhibition

Hier wirkt das Produkt einer enzymatischen Reaktion oder einer ganzen Kette von Reaktionen als Effektor

Zymogene

Inaktive Formen von Enzymen

Die Zelle aktiviert diese, wenn Bedarf besteht (es wird meist ein Teil des Proteins entfernt)

Inhibitoren

Moleküle, die direkt das aktive Zentrum blockieren - reversibel oder irreversibel

Inhibitoren

Viele Substanzen können Enzyme inhibieren:

Substratanaloga, Toxine, Medikamente, Metallkomplexe

Reversible Inhibitoren binden mit schwachen, nicht-kovalenten Bindungen. Diese können leicht wieder aufgebrochen werden.

Irreversible Inhibitoren binden kovalent an das Enzym.

Kompetitive Inhibitoren

Ähneln dem Substrat und konkurrieren um dieselbe Bindungsstelle.

competitive inhibitor



normal substrate



Nicht-kompetitive Inhibitoren

Binden an eine andere Stelle.

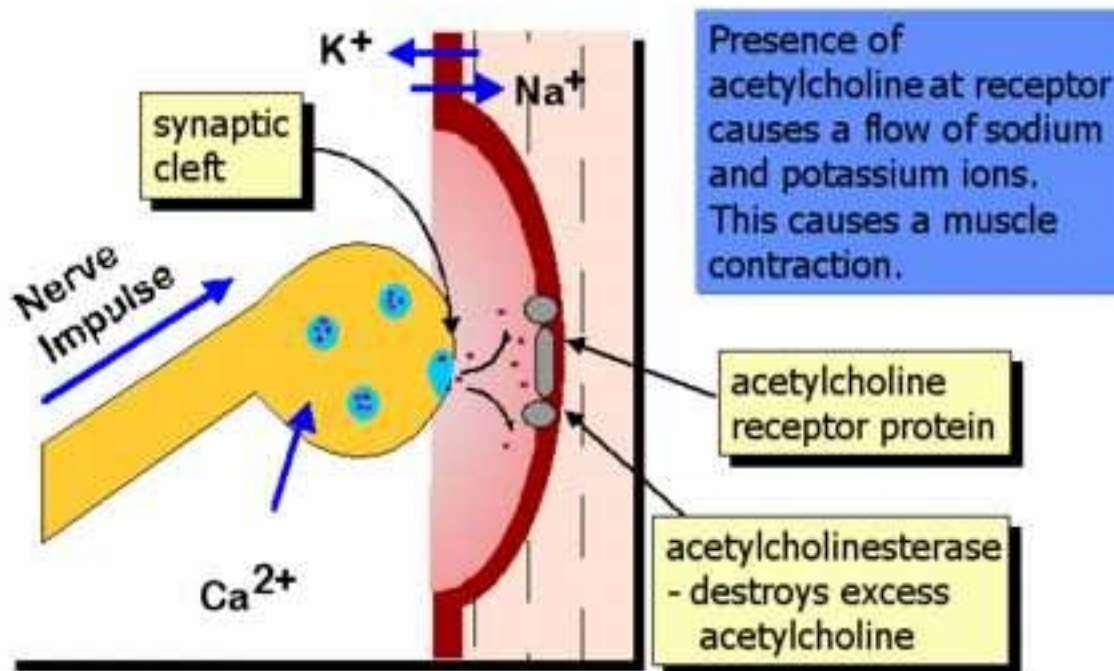


Beispiel: Acetylcholinesterase

Dieses Enzym wird gebraucht, um die richtige Weiterleitung von Nervensignale zwischen Nerv und Muskel zu gewährleisten

- Die Ankunft eines Nervensignals verursacht das Steigen des Calciumlevels
- Dies führt dazu, dass Vesikel mit Acetylcholin zum Nervenende wandern und freigesetzt werden
- Acetylcholin diffundiert über die Synapse und gibt das Signal an den Muskel weiter
- Acetylcholinesterase zerstört Acetylcholin, um das Signal zu stoppen.

Beispiel: Acetylcholinesterase



Beispiel: Acetylcholinesterase

Ohne dieses Enzym würde der Muskel weiter kontrahieren und Spasmen wären die Folge.

Inhibitoren von Acetylcholinesterase werden als Medikamente und Gifte verwendet:
Organofluorophosphate binden kovalent an das Enzym.

Defekte Enzyme und Krankheiten

Disease

Albinism

Galctosemia

Phenylketonuria
(PKU)

Tay-Sachs disease

Defective enzyme

tyrosinase

galactose 1-phosphate
uridyltransferase

phenylalanine hydroxylase

hexosaminidase A

Beispiel: Phenylketonurie

Genetischer Defekt im Enzym **Phenylalaninhydroxylase**

- Betrifft ca. 1 Baby pro 13000
- Kann zu schweren physischen und mentalen Problemen führen, wenn es nicht behandelt wird

Behandlung:

Phenylalanin in der Nahrung vermeiden, zumindest bis das 10. Lebensjahr erreicht ist (das Gehirn entwickelt ist).

Glykolyse: Phosphofruktokinase

Fructose-6-phosphate \longrightarrow Fructose-1,6-bisphosphate

- inhibiert von ATP
- aktiviert durch AMP
- inhibiert durch H^+
- inhibiert durch Citrat
- aktiviert durch Fructose-2,6-Bisphosphat



Datenbanken im Netz

<http://www.brenda-enzymes.info>

BRENDA
The Comprehensive Enzyme Information System

Release 2

SEARCH-Navigator

- close all
- open all
- Nomenclature
- Reaction & Specificity
- Functional Parameters
- Organism related Information
- Enzyme Structure
- Isolation & Preparation
- Stability
- Disease & References
- Application & Engineering

Quick search

Fulltext search

Advanced search

Substructure search

TaxTree Explorer

EC Explorer

Sequence Search

Genome Explorer

Ontology Explorer

Download

Discussion groups

EC-Number | Enzyme Name | Organism | Advanced Search | Full text

Search Display 10 entries

NEW: **BRENDA 7.1 release is online**

You have full access to BRENDA!

Nomenclature	Reaction & Specificity	Functional Parameters
Enzyme Names EC Number Common/ Recommended Name Systematic Name Synonyms CAS Registry Number	Pathway Catalysed Reaction Reaction Type Natural Substrates and Products Substrates and Products Substrates Natural Substrate Products Natural Product Inhibitors Cofactors Metals/Ions Activating Compounds Ligands	Km Value Ki Value pI Value Turnover Number Specific Activity pH Optimum pH Range Temperature Optimum Temperature Range
Isolation & Preparation		Organism-related information
Purification Cloned Renatured Crystallization		Organism Source Tissue Localization
Stability	Enzyme Structure	Disease & References
pH Stability Temperature Stability General Stability Organic Solvent Stability Oxidation Stability Storage Stability	Sequence/ SwissProt link 3D-Structure/ PDB link Molecular Weight Subunits Posttranslational Modification	Disease References
		Application & Engineering
		Engineering Application

Datenbanken im Netz

<http://www.genome.jp/ligand/>



KEGG LIGAND Database

Molecular building blocks of life in the chemical space

[KEGG2](#) [KID](#) [PATHWAY](#) [BRITE](#) [GENES](#) [SSDB](#) [LIGAND](#) [DRUG](#) [DBGET](#)

Chemical Substances and Reactions

KEGG LIGAND contains our knowledge on the universe of chemical substances and reactions that are relevant to life. It is a composite database currently consisting of COMPOUND, DRUG, GLYCAN, REACTION, RPAIR, and ENZYME databases. ENZYME is derived from the Enzyme Nomenclature, but the others are internally developed and maintained.

Database	Identifier	Content	Specialized entry point
LIGAND	COMPOUND	C number	Chemical compound structures
	DRUG	D number	Drug structures
	GLYCAN	G number	Glycan structures
	REACTION	R number	Biochemical reactions
	RPAIR	A number	Reactant pair alignments
	ENZYME	EC number	Enzyme nomenclature

Search for

bfind mode bget mode

LIGAND Relational Database

The primary database of KEGG LIGAND is a relational database with the [KegDraw](#) interface, which is used to generate the secondary (flat file) database for DBGET. A read-only copy of the relational database is also made publicly accessible.

Datenbanken im Netz

<http://www.enzyme-database.org/>

ExplorEnz - The Enzyme Database

Glutamine → Carbamoyl- P → Carbamoylaspartate → Dihydroorotate → Orotate → Orotidine- P → Uridine-5-P

Home Search Enzymes by Class New/Amended Enzymes Statistics Forms Change Log Information

Look up EC number: Go

The Enzyme Database

The Enzyme Database was developed at Trinity College Dublin in 2005 as a new way to access the data of the IUBMB Enzyme Nomenclature List. The data, which are stored in a MySQL database, preserve the formatting of chemical names according to IUPAC standards. A simple, easy to use, web-based query interface is provided ([Search](#)), along with an advanced search engine for more complex queries ([Advanced Search](#)).

Please use the [forms](#) provided to submit suggestions for new enzyme entries or to report errors in existing entries.

A download of the database as SQL is available via FTP from [here](#).

This work was funded primarily by Science Foundation Ireland (Grant no: SFI 02/IN.1/B043-Tipton). We are very grateful for this support.

Datenbanken im Netz

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed/>



The screenshot displays the PubMed website interface. At the top, the NCBI logo is on the left, and the PubMed logo with the text "A service of the National Library of Medicine and the National Institutes of Health" and "www.pubmed.gov" is on the right. Below the logos is a navigation bar with tabs for "All Databases", "PubMed", "Nucleotide", "Protein", "Genome", "Structure", and "OMIM". The "PubMed" tab is selected. Below the navigation bar is a search bar with the text "Search PubMed for" and buttons for "Go" and "Clear". Below the search bar are buttons for "Limits", "Preview/Index", "History", "Clipboard", and "Details". On the left side, there is a vertical menu with links for "About Entrez", "Text Version", "Entrez PubMed", "Overview", "Help | FAQ", "Tutorials", "New/Noteworthy", "E-Utilities", "PubMed Services", "Journals Database", "MeSH Database", "Single Citation Matcher", "Batch Citation Matcher", "Clinical Queries", "Special Queries", "LinkOut", "My NCBI", "Related Resources", "Order Documents", "NLM Mobile", "NLM Catalog", "NLM Gateway", "TOXNET", "Consumer Health", "Clinical Alerts", "ClinicalTrials.gov", and "PubMed Central". In the center of the page, there is a promotional box with a yellow border. It features the My NCBI logo and the text "Set up an automated PubMed update in less than 5 minutes." Below this text are three numbered steps: (1) Get a My NCBI account, (2) Save your search, and (3) Your PubMed updates can be e-mailed directly to you. Below the steps is a link to "My NCBI Help" and a paragraph of text: "Read the My NCBI Help material to explore other options, such as automated updates of other databases, setting search filters, and highlighting search terms." Below the promotional box is a paragraph of text: "PubMed is a service of the U.S. National Library of Medicine that includes over 17 million citations from MEDLINE and other life science journals for biomedical articles back to the 1950s. PubMed includes links to full text articles and other related resources."

NCBI

PubMed
www.pubmed.gov
A service of the National Library of Medicine
and the National Institutes of Health

All Databases PubMed Nucleotide Protein Genome Structure OMIM

Search PubMed for Go Clear

Limits Preview/Index History Clipboard Details

About Entrez
Text Version

Entrez PubMed
Overview
Help | FAQ
Tutorials
New/Noteworthy
E-Utilities

PubMed Services
Journals Database
MeSH Database
Single Citation Matcher
Batch Citation Matcher
Clinical Queries
Special Queries
LinkOut
My NCBI

Related Resources
Order Documents
NLM Mobile
NLM Catalog
NLM Gateway
TOXNET
Consumer Health
Clinical Alerts
ClinicalTrials.gov
PubMed Central

My NCBI Set up an automated PubMed update in less than 5 minutes.

(1) Get a [My NCBI account](#). (2) Save your search.
(3) Your PubMed updates can be e-mailed directly to you.

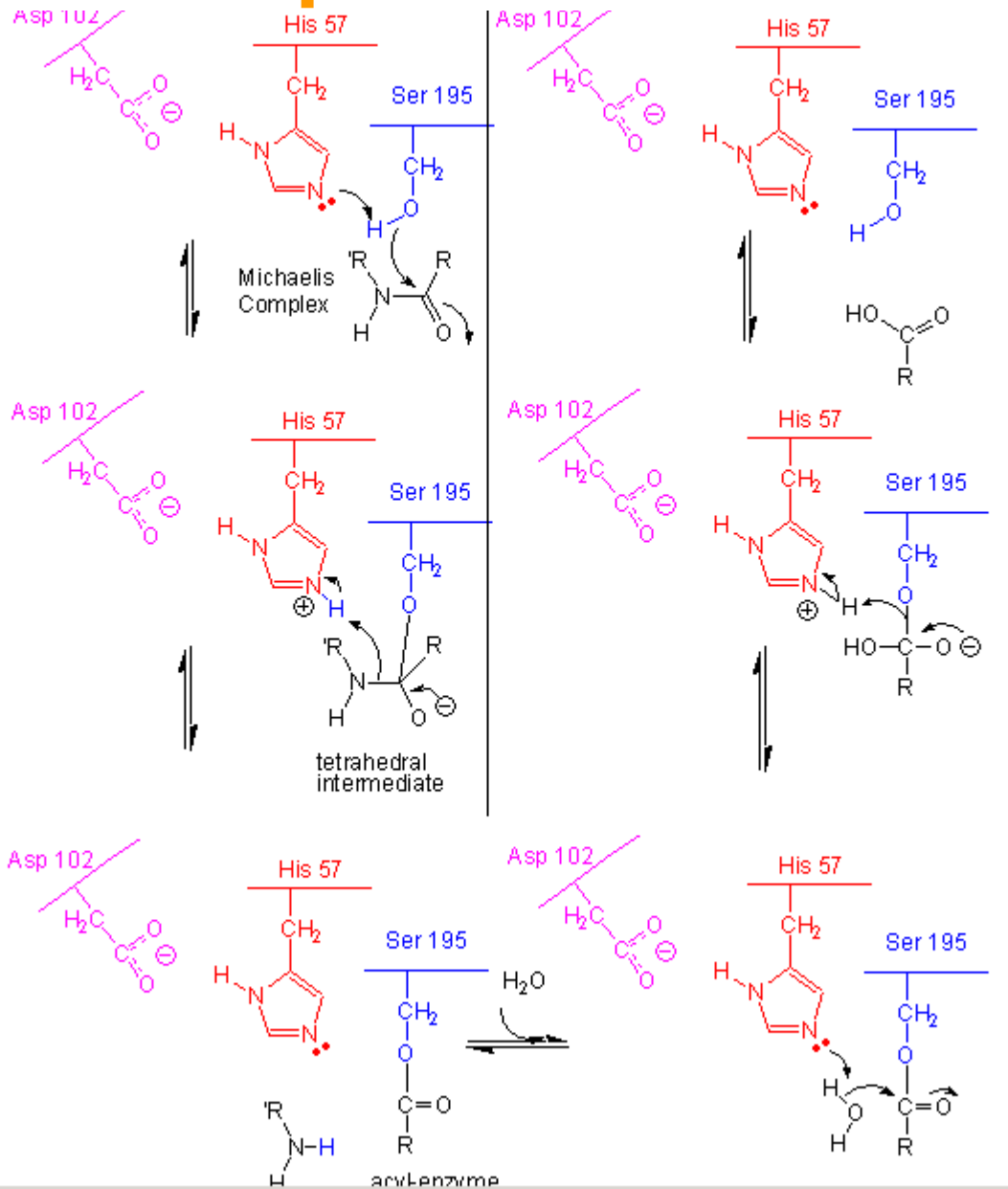
Read the [My NCBI Help](#) material to explore other options, such as automated updates of other databases, setting search filters, and highlighting search terms.

PubMed is a service of the [U.S. National Library of Medicine](#) that includes over 17 million citations from MEDLINE and other life science journals for biomedical articles back to the 1950s. PubMed includes links to full text articles and other related resources.

Benötigte Informationen

- Welche Reaktionen werden von den Enzymen katalysiert?
- Wie ist der Reaktionsmechanismus (grob) der einzelnen Reaktionen?
- Welche Inhibitoren/Aktivatoren gibt es?
- In welchem Konzentrationsbereich/Menge kommen die Enzyme in der entsprechenden Zelle vor?

Beispiel: Mechanismus



Serinproteasen

- His 57 (deprotoniert) agiert als Base and abstrahiert ein Proton von Ser 195, was dessen Nucleophilie erhöht und den Angriff auf das C des Amids oder Esters erleichtert -> Oxyanion. ASP 102 agiert elektrostatisch und stabilisiert die positive Ladung des His
- Das Oxyanion zerfällt und eine Doppelbindung wird gebildet mit dem Amin als abgehender Gruppe. Das protonierte His 57 agiert als Säure und übergibt ein Proton an das Amin.
- Der Mechanismus wiederholt sich, nur dass nun Wasser als Nucleophil agiert, welches das Acyl-Enzym-Intermediat angreift.
- Das Intermediat zerfällt wieder und entlässt das E-SerO-.

Beispiel: Inhibitor Aspirin

Prostaglandins - the action

E1, E2, F1 α , F2 α

Increase vascular permeability

Cause inflammation - Wheal and flare

Contract smooth muscle - uterus / git / bronchi

Increase hyperalgesia in sensory afferent nerve fibres

Reduce gastric acidity

D2

Increase hyperalgesia in sensory afferent nerve fibres

Inhibit platelet adhesion

Thromboxane

Increase vascular permeability

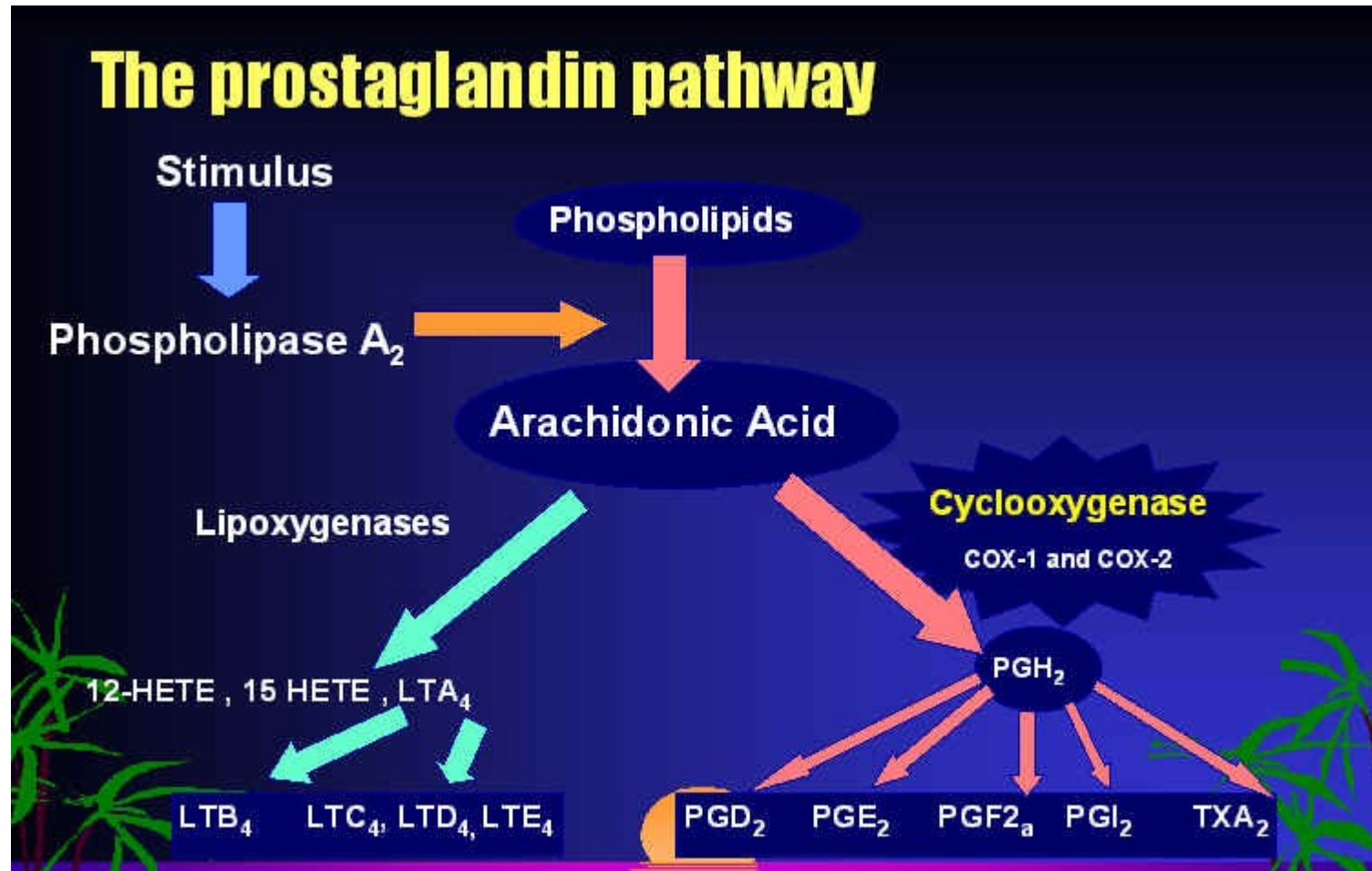
Aggregate platelets

Prostacycline

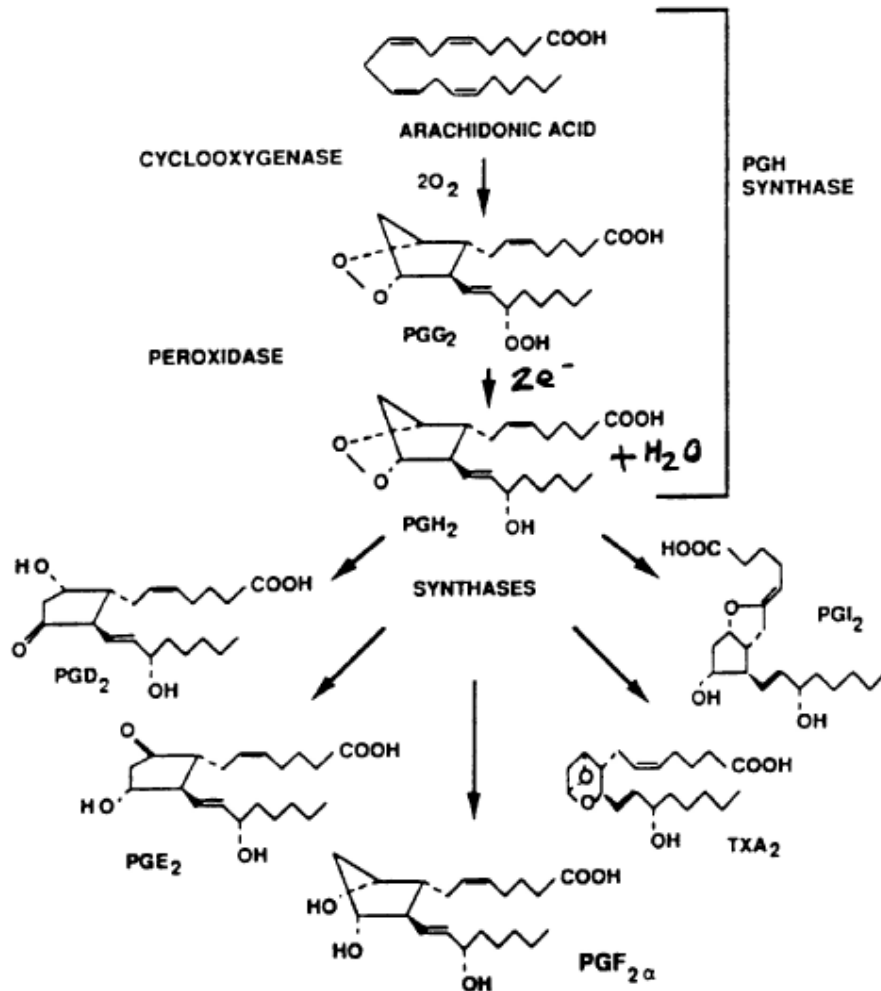
Decrease vascular tone

Reduce platelet adhesion

Beispiel: Inhibitor Aspirin



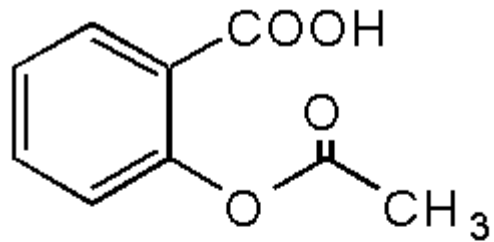
Beispiel: Inhibitor Aspirin



Prostaglandin synthase is a multifunctional enzyme

Its inhibitors are widely used: e.g. Ibuprofen, Aspirin

Beispiel: Inhibitor Aspirin



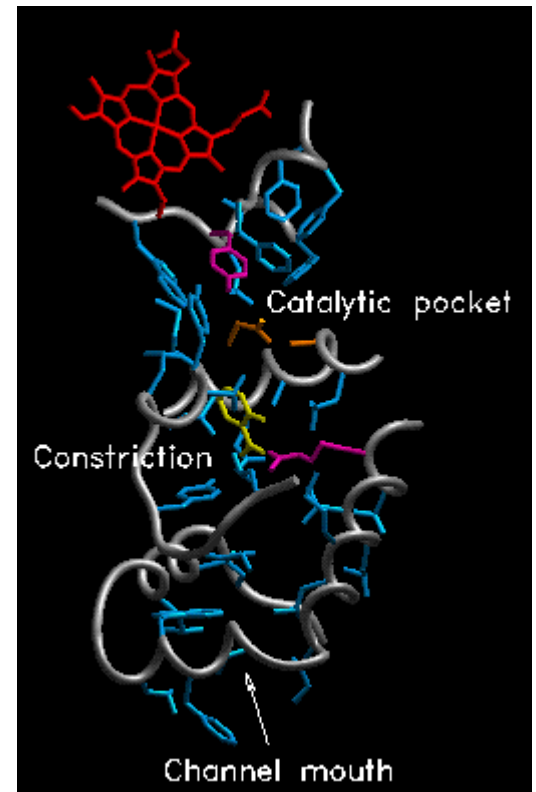
Aspirin

+ E-Ser-OH



Salicylate

E-Ser-O-CO-CH₃



Beispiel: Phenylketonurie

