

9 Enzyme

- Übersicht:
- 9.1 Biokatalysatoren: Aufbau und Wirkungsweise
 - 9.2 Enzymhemmung
 - 9.3 Arten von Enzymen
 - 9.4 Drei wichtige Coenzyme
 - 9.5 Ein Einblick in die Enzymkinetik

„Die chemischen Reaktionen im Organismus müssen sehr schnell ablaufen und trotz aller verwirrenden Vielfalt nahtlos ineinandergreifen. Denn das störungsfreie Funktionieren des Lebensprozesses beruht nicht auf dieser oder jener bestimmten Reaktion, sondern auf der Gesamtheit all dieser Vorgänge. Hinzu kommt noch, dass diese Reaktionen alle unter den denkbar einfachsten Bedingungen vor sich gehen müssen – ohne hohe Temperaturen, hohe Drücke, aggressive Substanzen usw. Über diese Reaktionen muss es eine strenge, zugleich aber flexible Kontrolle geben, die es ermöglicht, sie ständig den wechselnden Bedingungen des Umfelds und den wechselnden Bedürfnissen des Organismus anzupassen. Würde auch nur eine dieser vielen tausend Reaktionen ausfallen oder zu langsam oder zu schnell ablaufen, so käme dadurch der gesamte Organismus in Unordnung. Die verantwortlichen Steuerelemente dieses Funktionszusammenhangs sind die Enzyme.“ (Isaac Asimov)

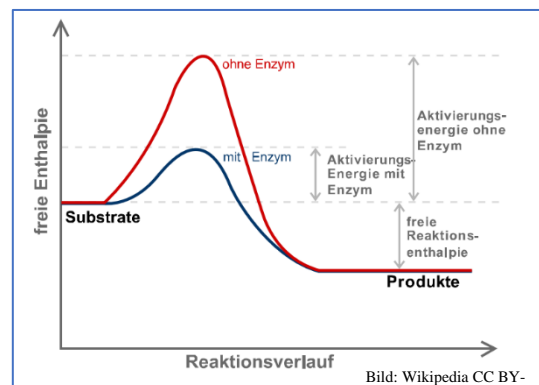
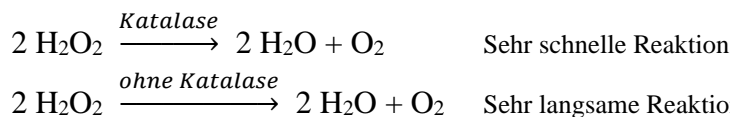
9.1 Biokatalysatoren: Aufbau und Wirkungsweise

Biokatalysatoren

Die biologisch außerordentlich wichtigen *Enzyme*, früher auch *Fermente* genannt, wirken als *Biokatalysatoren*, ohne sie wäre ein Stoffwechsel nicht möglich.

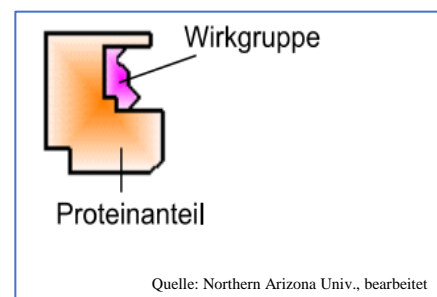
Zur Erinnerung: Bei der *Katalyse* wird eine chemische Reaktion dadurch beschleunigt oder überhaupt erst möglich gemacht, dass ein zusätzlicher Stoff, eben der *Katalysator*, anwesend ist, der aber an der Reaktion selbst *nicht* beteiligt ist. Die Wirkung des Katalysators besteht in der Herabsetzung der Aktivierungsenergie einer Reaktion.

Ein Beispiel ist die Wirkungsweise des Enzyms Katalase, das die Umsetzung von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff katalysiert, indem es (siehe Abbildung) die Aktivierungsenergie herabsetzt:



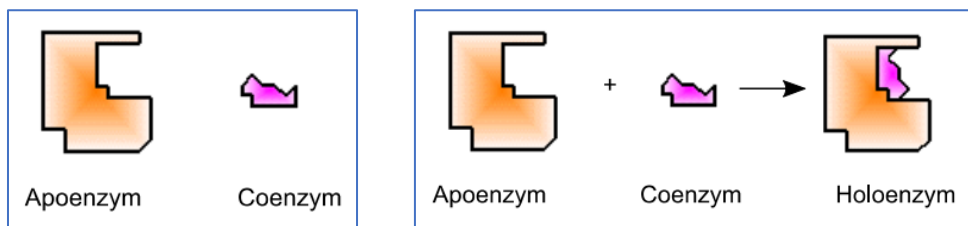
Apoenzym und Coenzym

Die meisten Enzyme bestehen aus einem *Proteinanteil* und der *prosthetischen Gruppe*, auch *Wirkgruppe* genannt. Den Proteinanteil nennt man *Apoenzym*, die Wirkgruppe heißt auch *Coenzym* oder *Cofaktor*. Dieser Cofaktor kann z. B. ein Vitamin sein oder ein Vitamin enthalten; man findet aber auch manchmal Metall-Ionen wie Kupfer oder Molybdän. Manche Coenzyme lösen sich zeitweise vom Apoenzym, um ihre Wirkung zu entfalten.



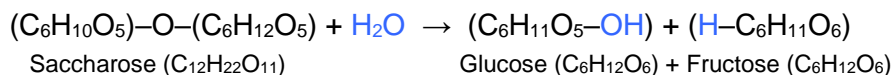
Die bei einer enzymkatalysierten Reaktion umgesetzte Substanz, der Ausgangsstoff, heißt *Substrat*. Im Beispiel der Katalase (s. o.) ist Wasserstoffperoxid das Substrat.

Für sich allein sind weder Apoenzym noch Coenzym dazu in der Lage, Substrat umzusetzen. Erst in ihrer Gesamtheit als *Holoenzym* wirken sie katalytisch.



Substratspezifität und Wirkungsspezifität

Enzyme sind *substratspezifisch* und *wirkungsspezifisch*. Unter *Substratspezifität* versteht man den Sachverhalt, dass ein bestimmtes Enzym *nur ein ganz bestimmtes Substrat* umsetzt, d. h. jedes Enzym ist einzigartig in seiner Spezifität. *Wirkungsspezifität* bedeutet, dass ein Enzym von vielen möglichen Reaktionen *nur eine einzige* katalysiert. Dies sei am Beispiel der Saccharase erläutert: Ein Saccharose-Molekül besteht aus einem Molekül Glukose und einem Molekül Fruktose. Das Enzym *Saccharase* (auch *Invertase* oder *Sucrase* genannt) tut nichts anderes, als ein Molekül Saccharose hydrolytisch in seine beiden Bestandteile zu zerlegen.



Saccharase verarbeitet Saccharose und *nur* Saccharose, und es kann mit ihr *nichts anderes* tun, als die zwischen den beiden Teilen bestehende Brücke unter Wasseraufnahme aufzulösen, zu *hydrolysieren*. Es arbeitet also *substratspezifisch* (es setzt *ausschließlich* Saccharose um) und *wirkungsspezifisch* (es wirkt *ausschließlich* hydrolysierend).

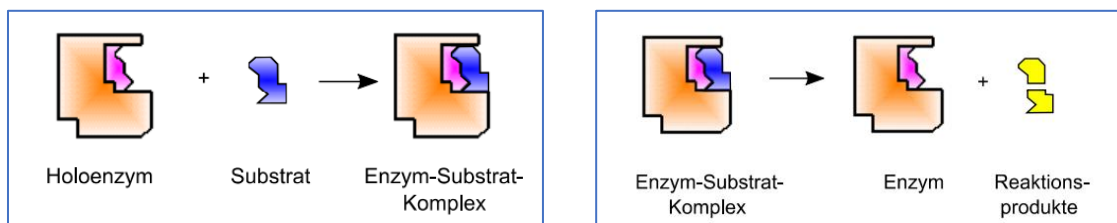
Bestimmend für die Substratspezifität (und häufig auch für die Wirkungsspezifität) ist das Apoenzym, denn dieses hat eine typische Primärstruktur (Aminosäuresequenz) und deshalb auch eine einzigartige, dem Substrat komplementäre, dreidimensionale Struktur.

Nach der Nomenklatur enden die Enzymnamen alle auf der Endung *-ase*. Einige wichtige Enzyme haben ihren ursprünglichen Namen beibehalten, z. B. Pepsin, Trypsin und Chymotrypsin.

Wirkungsweise und Enzymaktivität

Ein Enzym vermindert die zur Umsetzung des Substrats notwendige Aktivierungsenergie. Dazu muss es mit dem Substrat in Kontakt kommen. Es bildet sich dann sofort ein reaktionsfähiger, kurzlebiger *Enzym-Substrat-Komplex (ES)*. Die Position im Enzym, an der sich das Substrat anlagert, nennt man *aktives* oder *katalytisches Zentrum*.

Das durch die katalytische Wirkung des Enzyms zerlegte Substrat verlässt sofort das Holoenzym, das dann das nächste Substratmolekül „bearbeiten“ kann.



Zur Beschreibung der enzymatischen Vorgänge hat sich eine Formelschema-Darstellung etabliert. In der linken Abbildung ist die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes (ES) aus dem Enzym und dem Substrat dargestellt, das zugehörige Formelschema ist $\text{E} + \text{S} \rightleftharpoons \text{ES}$. (Zwischen E, S einerseits und ES andererseits stellt sich ein Gleichgewicht ein, daher der Doppelpfeil.) Zur rechten Abbildung gehört das Schema $\text{ES} \rightarrow \text{E} + \text{P}$ (mit P als Reaktionsprodukt). Zusammen lassen sich diese Vorgänge in dem Schema $\text{E} + \text{S} \rightleftharpoons \text{ES} \rightarrow \text{E} + \text{P}$ darstellen.

Die *Enzymaktivität* gibt an, welche Anzahl an Substratmolekülen durch das aktive Zentrum des Enzyms pro Minute bzw. Sekunde umgesetzt wird. Sie wird in den Einheiten *Unit* (U) bzw. *Katal* (kat) ausgedrückt. 1 U ist diejenige Menge Enzym, die unter gegebenen Bedingungen ein μmol Substrat pro Minute umsetzt: $1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol}/\text{min}$. 1 kat ist diejenige Menge Enzym, die unter gegebenen Bedingungen ein Mol Substrat pro Sekunde umsetzt: $1 \text{ kat} = 1 \text{ mol}/\text{s}$. Eines der schnellsten Enzyme ist die Carboanhydrase, ein einzelnes Molekül davon hydratisiert pro Sekunde 10^5 Moleküle CO_2 zu H_2CO_3 .

pH, Temperatur und Aktivatoren

Damit die im Organismus aktiven Enzyme ihre maximale Aktivität entfalten können, müssen bestimmte Reaktionsparameter eingehalten werden. Dies sind

- der pH-Wert
- die Temperatur
- die Gegenwart von Aktivatoren
- die Substratkonzentration
- die Produktkonzentration.

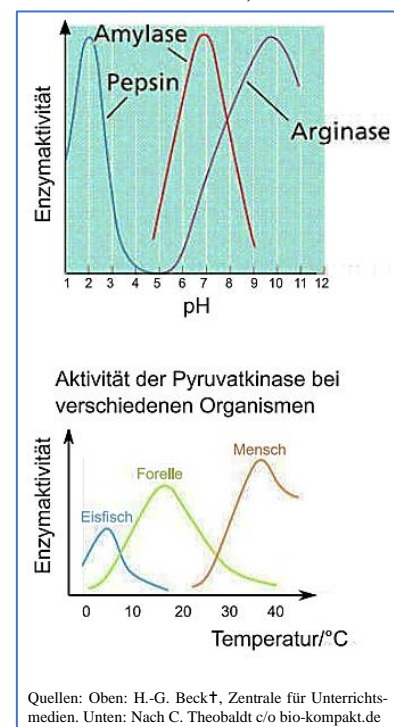
Bei bestimmten pH-Werten erreichen enzymatische Reaktionen ihre höchste Aktivität. Beispielsweise arbeitet die Amylase in der Mundhöhle am besten bei pH 7, das im Dünndarm aktive Trypsin hat sein Optimum bei pH 8–8,5. Im Allgemeinen kann man erwarten, dass starke Säuren und Basen zum Ausfall des Enzyms führen. Allerdings gibt es Ausnahmen: Das Pepsin, ein Verdauungsenzym im Magensaft, hat sein Optimum um pH 2 und Arginase (ein Enzym des Harnstoffwechsels) wirkt im stark basischen Milieu, um pH 10.

Entsprechendes gilt für die Temperatur. Nur bei der Körpertemperatur des jeweiligen Organismus arbeiten die Enzyme optimal. Beim Menschen liegt das Optimum in einem engen Bereich um 37°C , bei mehr als 40°C ist mit einer zunehmenden Enzym-Inaktivierung zu rechnen, die aber auch davon abhängt, wie lange der Körper einer solchen Temperatur ausgesetzt ist.

In anderen Organismen kommen jedoch Enzyme vor, die sehr hitzestabil sind: In thermophilen Bakterien sind Enzyme noch bei Temperaturen über 100°C stabil; in der Tiefsee kommen in der Nähe hydrothermaler Quellen Archaeen vor, die sich noch bei 121°C vermehren.

Die Aktivität von Enzymen ist oft auf die Anwesenheit von *Aktivatoren* angewiesen. Fehlen diese, ist die Enzymaktivität ganz oder teilweise blockiert. Es handelt sich meist um kleine Moleküle oder Ionen. Beispielsweise kann der Prozess der Blutgerinnung nur ablaufen, wenn Ca^{2+} -Ionen zugegen sind. Mg^{2+} -Ionen sind für die Muskelkontraktionen erforderlich, ohne Magnesium-Ionen könnte z. B. der Herzmuskel nicht arbeiten. Amylasen benötigen Cl^- -Ionen als Aktivatoren.

Fernerhin gibt es optimale Werte bezüglich der Konzentration des Substrats und der Konzentration der Produkte (siehe Abschnitt 2, Enzymhemmungen).



9.2 Enzymhemmungen

Sogenannte *Hemmstoffe* oder *Inhibitoren* vermögen die Enzyme in ihrer Aktivität zu hemmen, wodurch die Reaktionsgeschwindigkeit herabgesetzt wird. Es kann sich dabei um kleine organische Moleküle oder auch um anorganische Ionen (z. B. Cu^{2+} , CN^-) handeln.

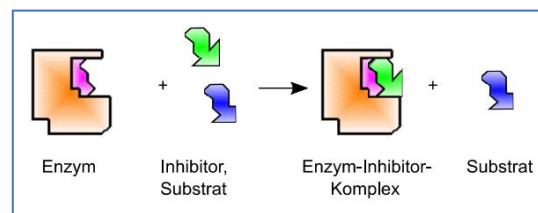
Grundsätzlich unterscheidet man zwischen *reversibler* und *irreversibler* Hemmung. Irreversibel sind Hemmungen, bei denen der Inhibitor am Enzym kovalent gebunden bleibt. Das Enzym ist gewissermaßen „vergiftet“ – es kann nicht mehr katalytisch wirken und muss vom Organismus erst neu synthetisiert werden. Bei der reversiblen Hemmung hingegen kommt es zur schnellen Dissoziation des Enzym-Inhibitor-Komplexes, da der Inhibitor nur schwach gebunden ist.

Von den verschiedenen Möglichkeiten, ein Enzym zu hemmen, seien hier vier vorgestellt:

- die kompetitive Hemmung
- die nichtkompetitive Hemmung
- die unkompetitive Hemmung
- die allosterische Hemmung.

Kompetitive Hemmung (Verdrängungshemmung)

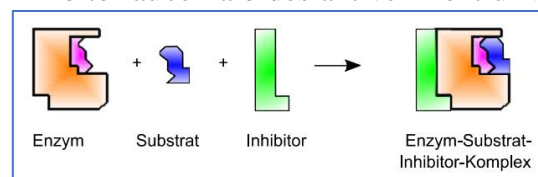
Bei der *kompetitiven Hemmung* (*competitor*, Mitbewerber) ähnelt der Inhibitor dem Substrat und ist genau wie dieses dazu in der Lage, sich an das aktive Zentrum des Enzyms zu binden. Es bildet sich dabei ein *Enzym-Inhibitor-Komplex* aus, das Enzym steht für die Katalyse des eigentlichen Substrats also nicht mehr zur Verfügung. Insgesamt stehen damit weniger Enzymmoleküle zur Verfügung und die Katalysegeschwindigkeit wird herabgesetzt. Durch eine erhöhte Substratkonzentration kann die kompetitive Hemmung teilweise aufgehoben werden.



Mit der oben eingeführten Formelschema kann man den Vorgang als $\text{E} + \text{S} + \text{I} \rightarrow \text{EI} + \text{S}$ beschreiben.

Nichtkompetitive Hemmung

Bei der *nichtkompetitiven Hemmung* lagert sich der Inhibitor außerhalb des aktiven Zentrums an, daher wird die Substratbindung nicht beeinträchtigt. Es kann sich also ein Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex bilden, jedoch ist in diesem die Konformation des Enzyms so verändert, dass es inaktiviert wird, d. h. das Substrat wird am aktiven Zentrum nicht mehr umgesetzt.



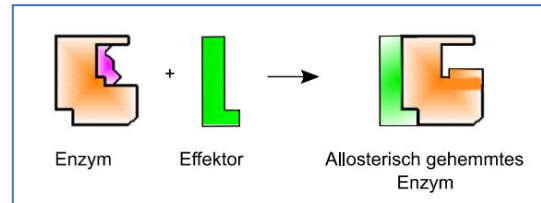
Unkompetitive Hemmung

Selten begegnet man der *unkompetitiven Hemmung*. Bei ihr kommt es nicht zur Konkurrenz mit dem Substrat um das aktive Zentrum, sondern der Inhibitor reagiert mit dem bereits gebildeten Enzym-Substrat-Komplex: $\text{S} + \text{E} + \text{I} \rightarrow \text{EIS}$. Der EIS-Komplex ist nicht dazu in der Lage, das Produkt P abzuspalten.

Diese Art der Hemmung nimmt mit steigender Substratmenge zu; im Übrigen ist sie reversibel.

Allosterische Hemmung

Bei der *allosterischen Hemmung*, einer Form der nichtkompetitiven Hemmung, besetzt der Inhibitor, der in diesem Zusammenhang auch *allosterischer Effektor* heißt, nicht das aktive Zentrum, sondern eine andere Stelle des Enzyms, das *allosterische Zentrum*. Gleichwohl wird dadurch das aktive Zentrum in seiner Struktur verändert, es kommt zur Konformationsänderung des Apoenzyms. In der Folge kann das Substrat schlechter oder gar nicht mehr an das aktive Zentrum binden. Die allosterische Hemmung lässt sich nur durch die Entfernung des Effektors rückgängig machen. Mögliche Effektoren sind Zwischenprodukte des Stoffwechsels, Hormone oder anorganische Ionen.



Die Enzymaktivität muss durch allosterische Effekte nicht zwangsläufig gehemmt werden, ebenso ist der umgekehrte Fall, die *allosterische Aktivierung* möglich. Ein Beispiel dafür findet man beim Hämoglobin: Nach Aufnahme eines Sauerstoffmoleküls wird das aktive Zentrum so verändert, dass die Aufnahme weiterer Sauerstoffmoleküle beträchtlich erleichtert wird.

9.3 Arten von Enzymen

Entsprechend der katalysierten Reaktion werden die Enzyme nach IUPAC¹ und IUBMB² in sieben EC-Klassen³ eingeteilt:

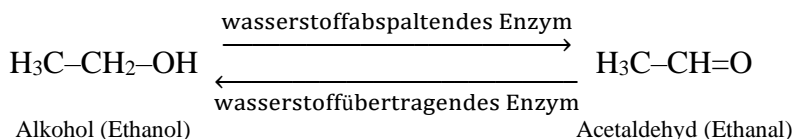
- EC 1: Oxidoreduktasen
- EC 2: Transferasen
- EC 3: Hydrolasen
- EC 4: Lyasen
- EC 5: Isomerasen
- EC 6: Ligasen
- EC 7: Translokasen

Aus der großen Menge der Enzyme können an dieser Stelle nur wenige exemplarisch und in aller Kürze beschrieben werden.

EC 1: Oxidoreduktasen

Diese Enzyme katalysieren Oxidations- und Reduktionsprozesse. Zu ihnen gehören die Hydrogenasen und Dehydrogenasen, die Oxidasen und Oxygenasen und die Hydroxylasen.

Als Beispiel sei hier die Alkoholdehydrogenase (ADH) angeführt, ein Enzym, das sowohl wasserstoffabspaltend als auch wasserstoffübertragend wirken kann:



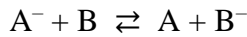
Dargestellt ist hier zum einen der Abbau von Alkohol zu Acetaldehyd im menschlichen Körper (Reaktion von links nach rechts) und zum anderen der letzten Schritt der alkoholischen Gärung durch Hefe (Reaktion von rechts nach links).

Allgemein lässt sich die Reaktion so darstellen:

¹ International Union of Pure and Applied Chemistry

² International Union of Biochemistry and Molecular Biology

³ Enzyme Commission numbers

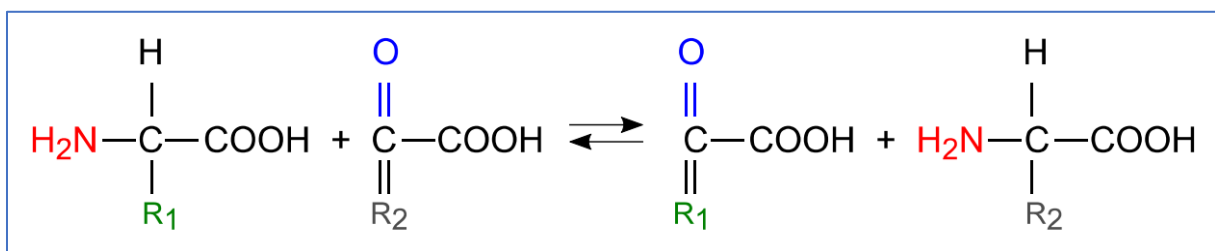


Wir kommen später auf die wasserstoffübertragenden Enzyme zurück.

Industriell aus Mikroorganismen hergestellte Oxidoreduktasen finden v. a. in der medizinischen Diagnostik Verwendung, da sie bestimmte Stoffwechselprodukte im Blut oder in den Haaren deponieren.

EC 2: Transferasen

Transferasen katalysieren die Übertragung funktioneller Gruppen von einem Substrat auf ein anderes. So wirken sie z. B. beim Glycogenabbau mit, indem sie Glucosebausteine von einem Teil des Moleküls auf einen anderen übertragen; Transaminasen übertragen Aminogruppen vom Aminosäuren auf Ketosäuren (siehe Abbildung); Transmethylasen (Methyltransferasen) katalysieren den Transfer von Methylgruppen.

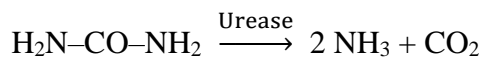


EC 3: Hydrolasen

Hydrolasen katalysieren die hydrolytische Spaltung und enthalten u. a. die

- Peptidasen (spalten Proteine oder Peptide, indem sie die Hydrolyse der Peptidbindungen katalysieren)
- Phosphatasen (spalten durch Hydrolyse von Polyphosphaten Phosphorsäure ab)
- Esterasen (hydrolytische Spaltung von Estern in Alkohol und Säure)
- Lipasen (fettspaltende Esterasen)
- Lysozym (Muramidase) (spaltet bakterielle Zellwände)
- Nukleasen (bauen Nukleinsäuren ab)

Ebenfalls zu den Hydrolasen zählt die *Urease*, die Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid spaltet:



Die *Phosphatasen* unterteilt man nach ihrem pH-Optimum in saure und alkalische Phosphatasen. Eine alkalische Phosphatase kommt z. B. in der Leber vor, wo sie in den Zellmembranen lokalisiert ist. Bei bestimmten Lebererkrankungen werden sie ins Blut abgegeben und können dort diagnostisch nachgewiesen werden.

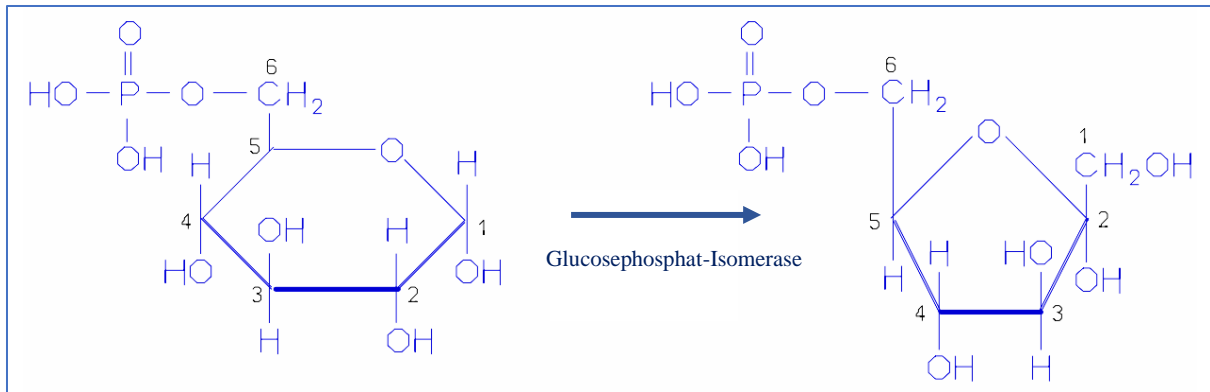
Ein Beispiel für saure Phosphatasen findet man in der Prostata, dort in den Lysosomen lokalisiert. Auch ihr Nachweis im Blut dient diagnostischen Zwecken.

EC 4: Lyasen

Sie katalysieren die Spaltung von Molekülen durch die Spaltung von C-C-, C-O- oder C-N-Bindungen in einer Eliminierungsreaktion (Umkehrung einer Additionsreaktion). Man begegnet ihnen in vielen bekannten biochemischen Reaktionen, so z. B. als Aldolase in der Glycolyse oder als Fumarase im Citratzyklus.

EC 5: Isomerasen

Isomerasen katalysieren die Umwandlung von chemischen Isomeren. Ein Beispiel ist der Übergang von Glucose-6-Phosphat zu Fructose-6-Phosphat; das „zuständige“ Enzym heißt Glucosephosphat-Isomerase.



EC 6: Ligasen

Sie heißen auch Synthetasen und katalysieren Additionsreaktionen, z. B. durch die Bildung von C–O-, C–N- oder C–C-Bindungen. Die dafür nötige Energie gewinnen sie aus energiereichen Verbindungen wie z. B. ATP.

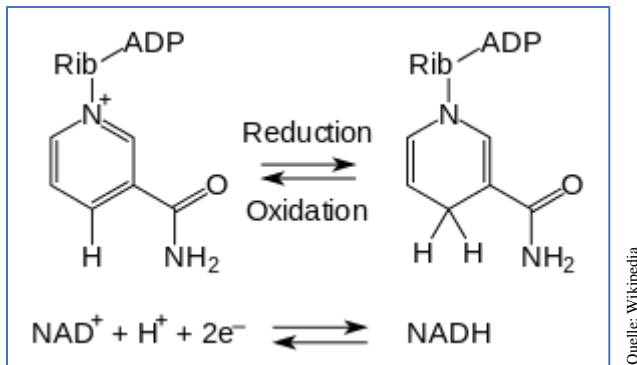
EC 7: Translokasen

Translokasen katalysieren den Transport von Stoffen durch Membranen. Als Beispiel sei der Eintritt von ADP in und von ATP aus den Mitochondrien genannt, der ohne das Enzym ATP-ADP-Translokase nicht möglich wäre.

9.4 Einige wichtige Coenzyme

Der Abbau der Glucose erfolgt in einer Reihe chemischer Reaktionen, die jeweils von einem spezifischen Enzym katalysiert werden. Ein Teil dieser Reaktionen sind Redoxvorgänge. So werden z. B. in manchen Schritten aus den Glucoseabbauprodukten Elektronen entnommen, um sie an anderer Stelle der Atmungskette wieder abzugeben (daher auch die Bezeichnung Elektronentransportkette).

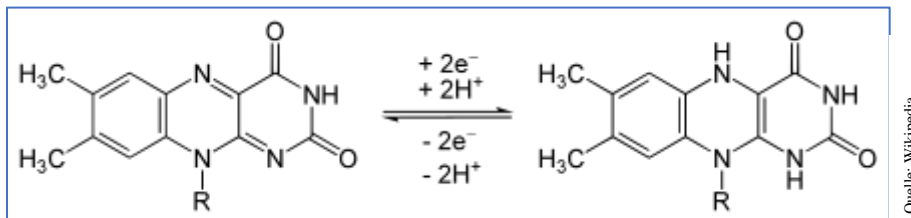
Aufgenommen werden die Elektronen von sog. Elektronenüberträgern, die zugleich Wasserstoffüberträger sind. Einer der wichtigsten ist das Coenzym Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, **NAD⁺**. Die Übertragung eines Elektrons erfolgt gemeinsam mit einem Proton, beim **NAD⁺** geht eines der Protonen in Lösung, das andere und die beiden Elektronen überführen das **NAD⁺** in seine reduzierte Form **NADH**.



In Kurzform lässt sich die wasserstoffübertragende Reaktion von NAD^+ auch so dargestellt werden:



Ein anderer bedeutender Elektronenüberträger (und damit Wasserstoffüberträger) ist das Coenzym Flavin-Adenin-Dinucleotid, **FAD**. Sein reaktiver Teil ist die aus drei Ringen bestehende Isoalloxazinstruktur. Die Aufnahme von zwei Elektronen und zwei Protonen überführt FAD in seine reduzierte Form **FADH₂**.



Ein weiteres Coenzym von zentraler Bedeutung ist das Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat, kurz **NADP⁺**; seine reduzierte bzw. protonierte Form ist das **NADPH**. In pflanzlichen Zellen spielt es eine bedeutende Rolle bei den Reaktionen der Photosynthese. In tierischen Zellen wirkt NADP^+ u. a. bei der Fettsäuresynthese als Wasserstoffdonor und als Oxidationspartner für Glutathion.

Coenzym A (CoA) bindet und überträgt Acylreste ($\text{R}-\text{C}=\text{O}$) spielt eine wichtige Rolle im Fettsäurestoffwechsel.

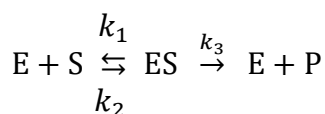
9.5 Ein Einblick in die Enzymkinetik

Die (vereinfachte) Grundgleichung einer enzymatischen Reaktion lautet:



E: Enzym, S: Substrat, P: Produkt, ES: Enzym-Substrat-Komplex

Berücksichtigt man die Geschwindigkeiten⁴ der einzelnen Reaktionen, sieht die Grundgleichung folgendermaßen aus⁵



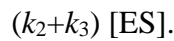
⁴ Die Reaktionsgeschwindigkeit gibt an, wie schnell sich die Konzentration einer Substanz ändert. Sie wird häufig durch eine Konstante (Geschwindigkeitskonstante) angegeben: $\frac{d}{dt} [\text{X}] = k$.

⁵ Die Konzentration einer Substanz wird durch eckige Klammern angegeben, z. B. bedeutet [S] die Konzentration des Substrats.

Die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes ist gegeben durch



sein Zerfall durch



Wir gehen von einem Fließgleichgewicht (*steady state*) aus, d. h. [ES] ist konstant, daher ist

$$k_1 [E] [S] = (k_2+k_3) [ES]$$

oder

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2+k_3}{k_1}$$

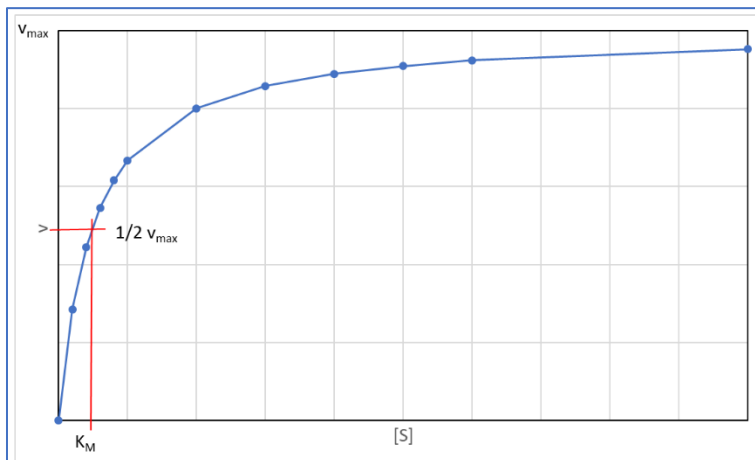
Die drei Konstanten werden zu einer Konstante zusammengefasst, zur Michaelis-Konstante K_M , so dass

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = K_M$$

Mit der Reaktionsgeschwindigkeit v und der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit v_{max} ⁶ steht K_M über die Substratkonzentration [S] in folgender Beziehung:

$$v = v_{max} \frac{[S]}{[S]+K_M}$$

Setzt man diese Beziehung in eine Graphik um, erhält man etwa folgendes Bild, das die Reaktionsgeschwindigkeit v in Abhängigkeit von der Substratkonzentration [S] zeigt:



Bei v_{max} sind alle aktiven Zentren voll besetzt. Wie aus der Abbildung ersichtlich, gibt die Michaelis-Konstante K_M die Substratkonzentration an, bei der die Hälfte der aktiven Zentren besetzt ist. Sowohl K_M als auch v_{max} lassen sich experimentell durch eine Variation der Substratkonzentration bestimmen.

⁶ Bei v_{max} sind alle aktiven Zentren voll besetzt.