



**Medicinska**

---

**biohemija:**

Lekcija 5:

**Regulacija**

**aktivnosti enzima**

# Regulacija aktivnosti enzima

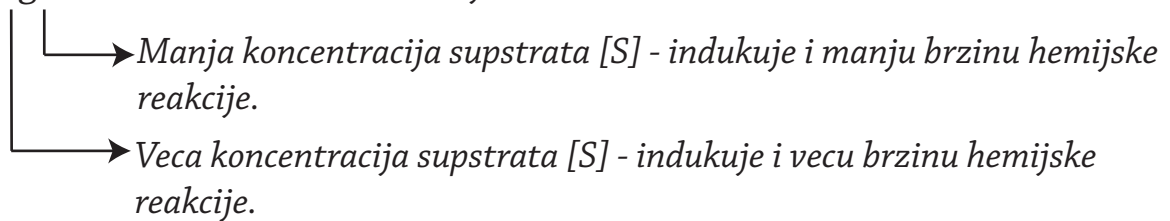
Postoji više mehanizama kojima se regulisu aktivnosti enzima:

- Regulacija koncentracije supstrata i proizvoda
- Posstranslaciona kovalentna modifikacija
- Alosterna modifikacija
- Regulacija sinteze i razgradnje enzima

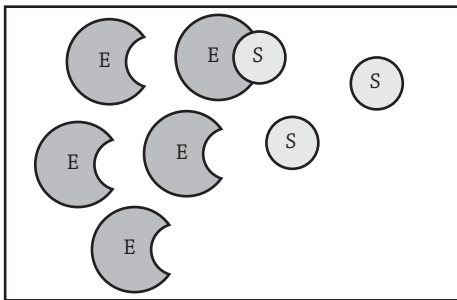
# Koncentracija supstrata i proizvoda

a) **Koncentracija supstrata** - direktno utice na brzinu enzimski katalisane reakcije.

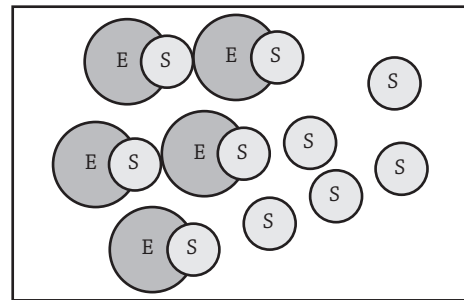
O tome i govori *Michaelis-Menten teorija*.



Ukoliko u nekoj enzimski katalisanoj reakciji konstantno povecavamo koncentraciju supstrata, povecavace se i brzina hemijske reakcije. Medjutim u jednom trenutku, pri izrazito *velikoj koncentraciji* supstrata, brzina hemijske reakcije ce prestati da raste. Tada povecavanje koncentracije supstrata *nece dovesti do rasta brzine*. Razlog ovoga je sto je u toku citave te reakcije koncentracija enzima uvek ista tj. uvek je isti broj cestica enzima. Kada koncentracija supstrata postane izrazito velika, aktivna mesta svih enzima su zauzeta i reakcija se ne moze vrsiti brze od toga. Kazemo da je reakcija postigla **maksimalnu brzinu ( $V_{max}$ )** i da je doslo do **zasicenja**. Ova pojava se naziva **kinetika zasicenja**.



*Koncentracija supstrata je manja i nisu sva aktivna mesta enzima zauzeta. Tako da povecanje koncentracije ce uzrokovati i povecanje brzine.*



*Koncentracija supstrata je izrazito velika i sva aktivna mesta enzima su zauzeta. Dalje povecanje koncentracije neće dovesti do porasta brzine reakcije.*

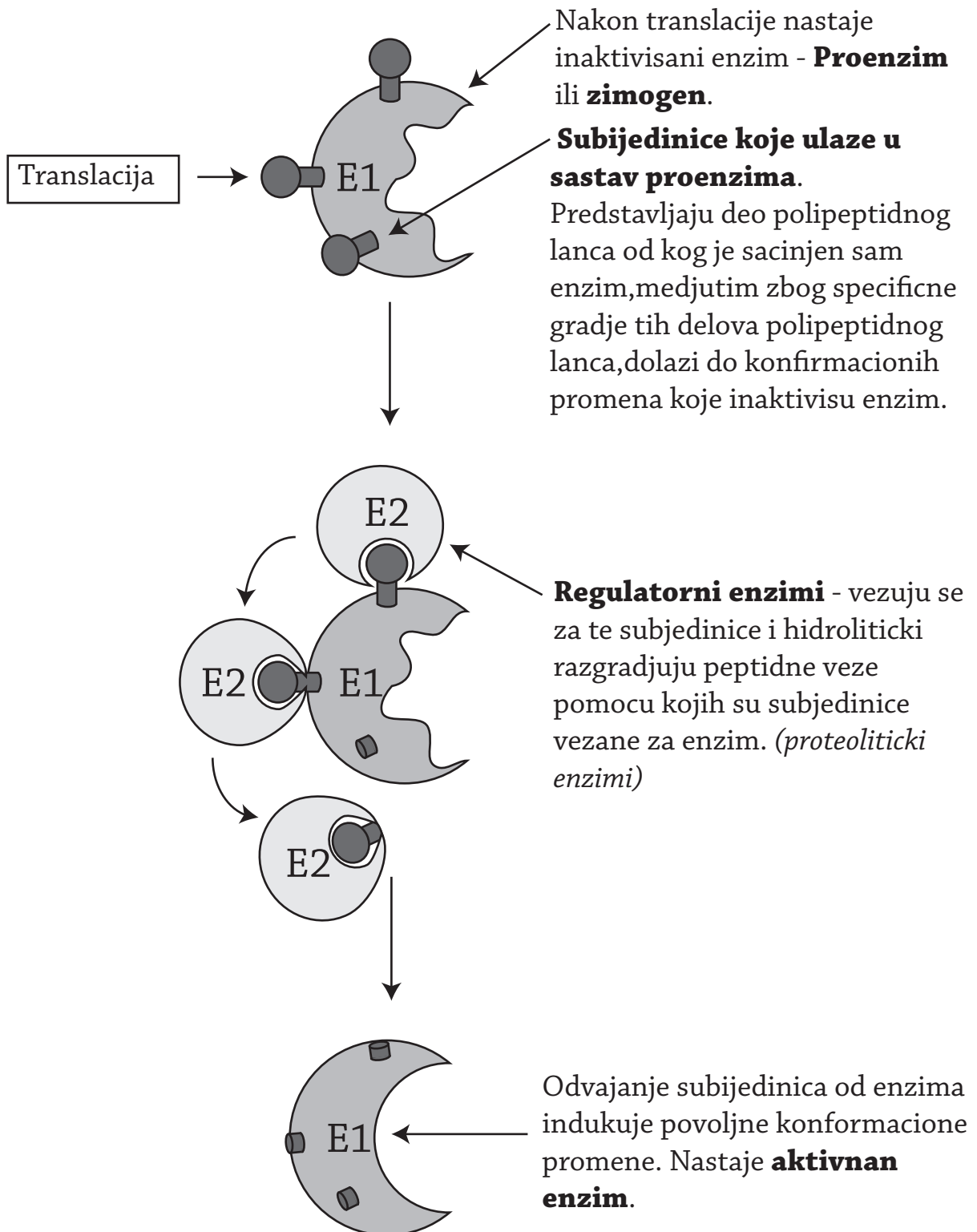
b) **Koncentracija proizvoda reakcije** - svi proizvodi reakcije su **reverzibilni inhibitori** i mogu biti *kompetitivni, nekompetitivni i akompetitivni inhibitori*.

Nagomilavanje proizvoda reakcije smanjuje aktivnost enzima sto je klucno u metabolickim procesima.

# Kovalentna modifikacija

Postoje dva tipa posttranslatorskih kovalentnih modifikacija:

→ **Ireverzibilna posttranslatorska modifikacija** - podrazumeva proteoliticko cepanje polipeptidnih lanaca sa neaktivnog enzima (*proenzim, zimogen*) i prelazak istog u aktivnu formu.



*ireverzibilna je reakcija,sto znaci da subjedinice ne mogu ponovo biti vezane za enzim.*

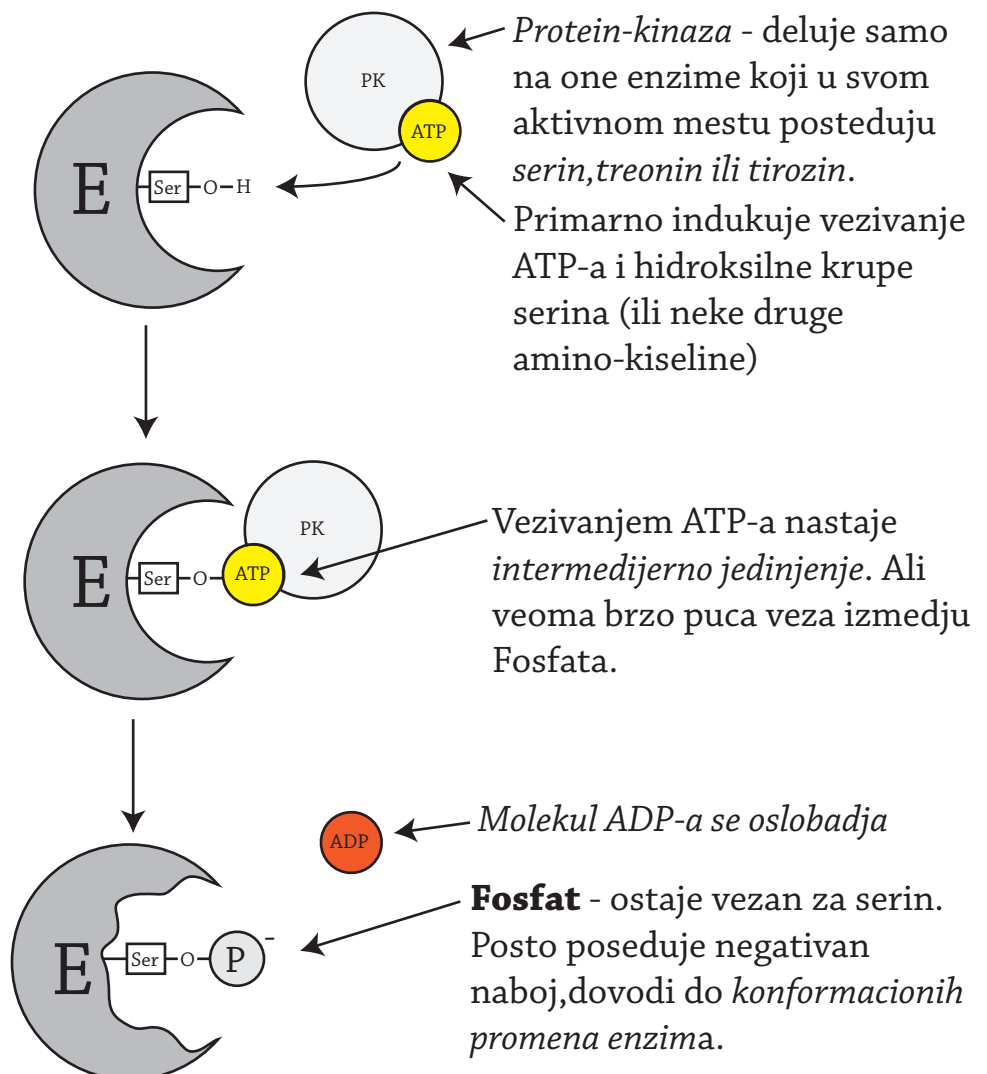
→ **Reverzibilne kovalentne modifikacije** - omogućavaju reverzibilnu promenu aktivnosti enzima.

- Fosforilacija/Defosforilacija
- Acilacija/Deacilacija
- Adenilacija/Deadenilacija
- Uridilacija/Deuridilacija
- Metilacija/Demetilacija

### Fosforilacija/Defosforilacija

→ **Protein-kinaze** - predstavljaju enzime koji vrse fosforilaciju. U protein kinaze spadaju:

- **Serin-treonin protein-kinaze**
- **Tirozin kinaza**



Te konformacione promene, u zavisnosti od vrste i gradje enzima, mogu biti pozitivnog (povecava aktivnost enzima) ili negativnog (smanjuje aktivnost enzima) karaktera.

→ **Protein-fosfataze** - vrse procese defosforilacije, i takodje u zavisnosti od vrste i gradje enzima mogu imati pozitivan i negativan efekat

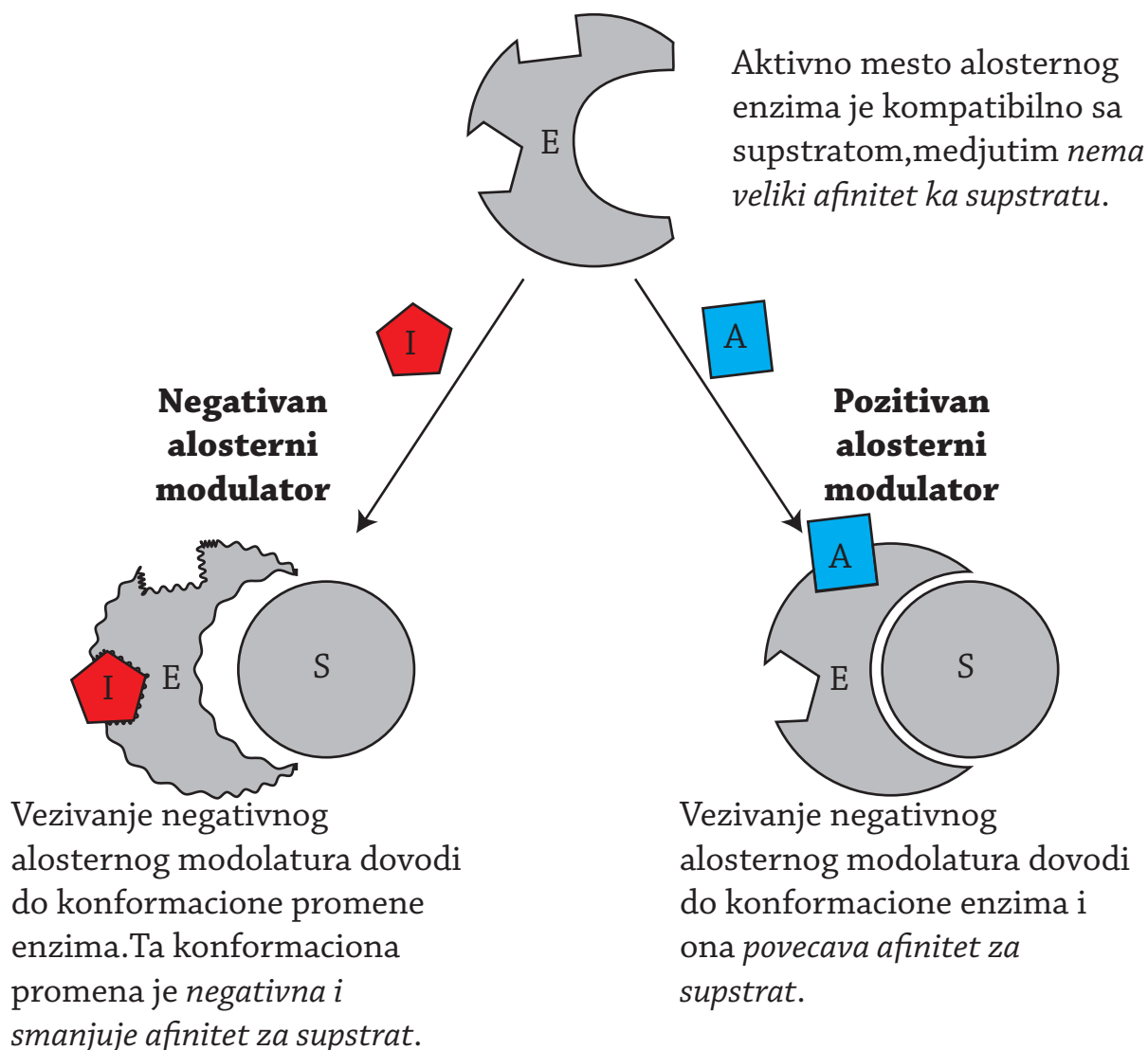
# Alosterna modifikacija

**Alosterni modulatori** - predstavljaju molekule (obicno male,redje velike) koji se vezuju za *mesto na enzimu razlicito od aktivnog mesta*. Vezivanjem *moduliraju* aktivnost enzima. Postoje dve vrste modulatora:

- **Pozitivni modulatori** - njihovim vezivanjem za enzim, *povecava se afinitet enzima ka supstratu*.
- **Negativni modulatori** - njihovim vezivanjem *smanjuje se afinitet enzima ka supstratu*.

**Alosterni enzimi** - predstavljaju enzime cija aktivnost zavisi od alosternih modulatora

- **Monomerni alosterni enzimi** - jednostavni enzimi koji poseduju samo jedan kataliticki centar. Poznata su samo dva ovakva enzima: *Ribonukleotid-difosfat reduktaza, Piruvat UDP-N-acetil glukozamin transferaza*.

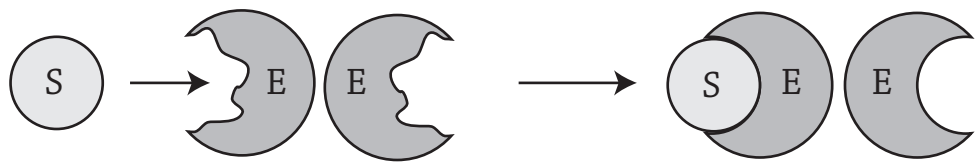


↳ **Polimerni alostrni enzimi** - predstavljaju alosterne enzime sastavljene iz više *katalitickih podjedinica*. Najveći broj alosternih enzima je polimerno. Svi polimerni alosterni enzimi se mogu javiti u bar dve konformacije:

- ↳ **T** (*tense*) **Napregnuta konformacija** - u ovoj konformaciji afinitet za supstrat je nizak.
- ↳ **R** (*relaxed*) **relaksirana konformacija** - afinitet za supstrat visok

**Kooperativnost** - predstavlja ključnu osobinu polimernih proteina. Vezivanje modulatora za jednu katalitičku subjedinicu će indukovati konformacione promene i na drugim katalitičkim subjedinicama tog enzima.

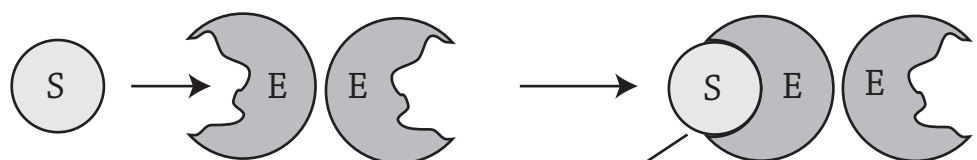
↳ **Uskladjeni model** - vezivanje modulatora za jednu katalitičku subjedinicu indukuje konformacione promene svih subjedinica istovremeno.



*Napregnuta konformacija (T)  
- jedna katalitička subjedinica  
vezuje supstrat.*

*Obe katalitičke  
subjedinice prelaze u  
relaksirano  
konformaciono stanje*

↳ **Sekvencijalni model** - promena konformacije iz T u R se vrši sekvencijalno kroz niz intermedijarnih konformacija.



*Napregnuta (T) konformacija*

*Katalitička subjedinica  
koja nije vezala supstrat  
ne prelazi odmah u R  
konformaciju, ali dolazi do  
konformacionih promena  
koje joj olaksavaju da  
lakše veže supstrat.*

*Vezivanje supstrata za drugu subjedinicu,  
u potpunosti je prevodi u R konformaciju.*

Polimerni alosterni enzimi mogu biti:

→ **Homotropni** - oni čije su katalitičke subjedinice sve iste, a molekuli supstrata su im u isto vreme i modulatori.

**Supstrat = Modulator**

-**Pozitivna kooperativnost** - vezivanje supstrata za jednu katalitičku subjedinicu olakšava vezivanje supstrata za druge katalitičke subjedinice.

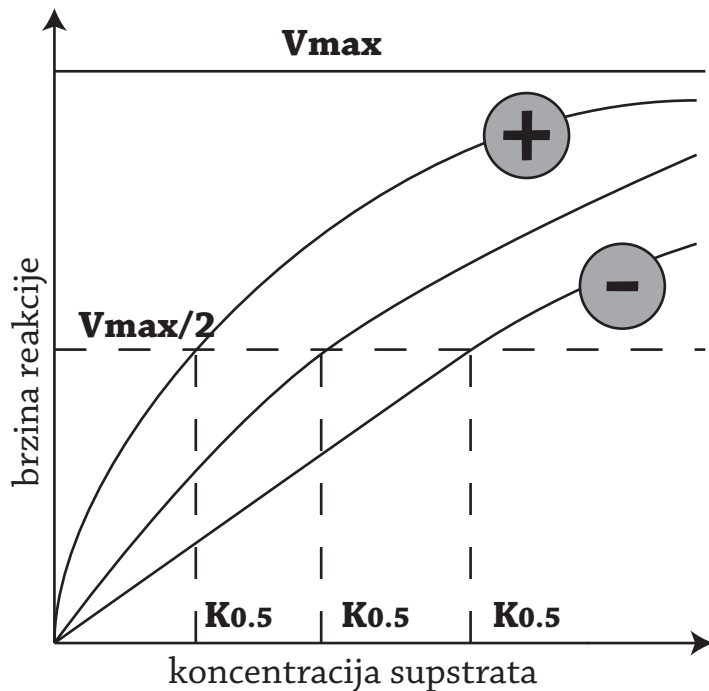
-**Negativna kooperativnost** - vezivanje supstrata za jednu katalitičku subjedinicu otežava vezivanje supstrata za druge katalitičke subjedinice.

→ **Heterotropni** - poseduju modulatore koji nisu supstrati i vezuju se za mesta različita od aktivnog mesta.

**Supstrat = ~~Modulator~~**



# Kinetika alosternih enzima

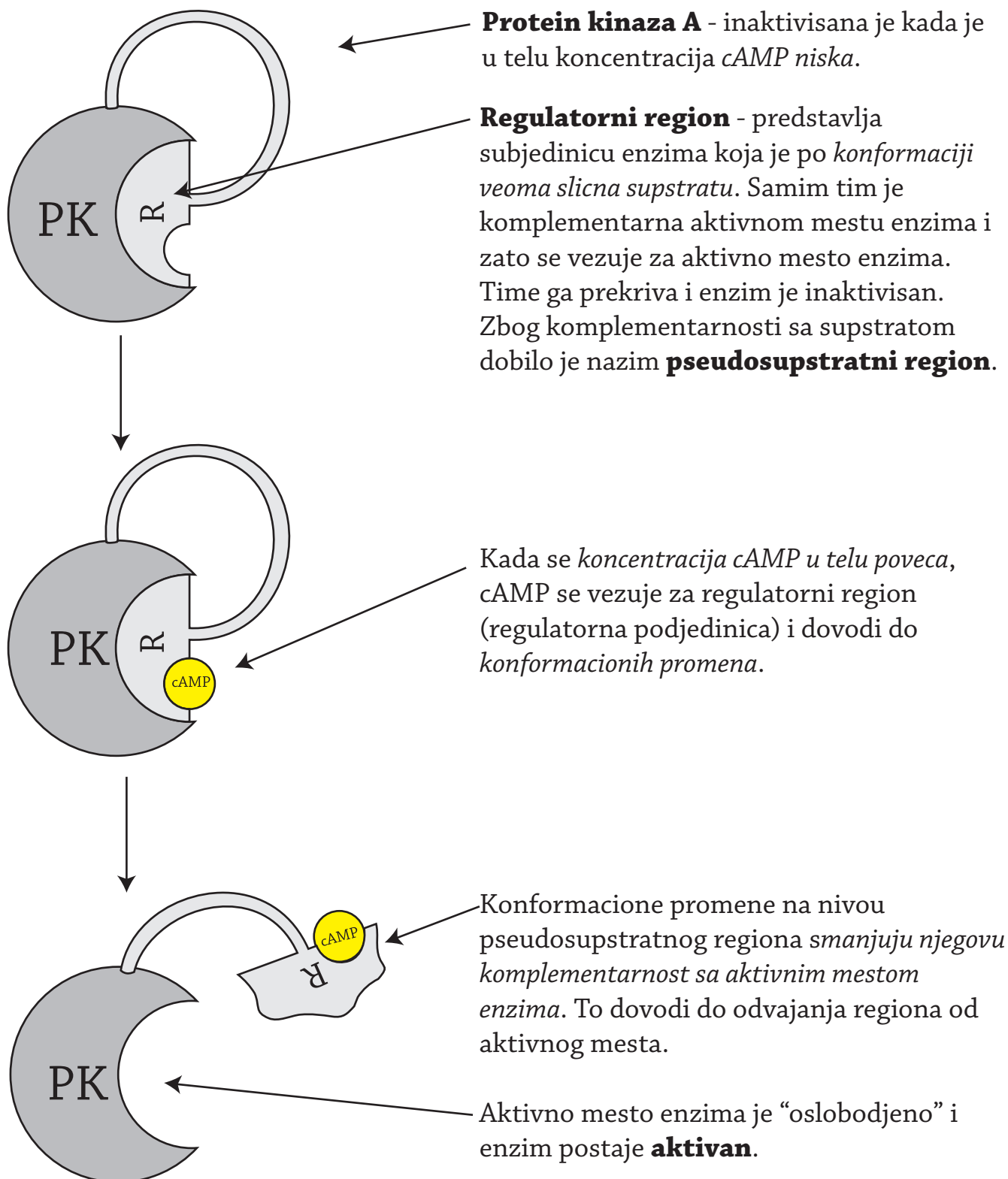


**K<sub>0.5</sub>** - predstavlja koncentraciju supstrata pri kojoj se reakcija katalisana alosternim enzimom odvija polovinom maksimalne brzine. Ne može se obeležavati kao  $K_m$  zato što alosterni enzimi ne podležu Michaelis-Mentenovoj teoriji. Kriva alosternih enzima je **sigmoidna**, dok je kriva enzima koji podleže Michaelis-Mentenu **hiperbolična**.

- +** **Pozitivan modulator** - zbog kooperativnosti između katalitičkih subjedinica, vezivanje pozitivnog modulatora za jednu subjedinicu dovodi do povećanja afiniteta prema supstratu svih subjedinica datog enzima. Povećanjem afiniteta ka supstratu *reakcija se brže odigrava*, samim tim se  *smanjuje K<sub>0.5</sub>*, tačnije smanjuje se koncentracija supstrata koja je potrebna da brzina hemijske reakcije bude polovina maksimalne brzine.
- **Negativan modulator** - *smanjuje afinitet prema supstratu*, kako jedne katalitičke subjedinice tako i drugih. Time raste K<sub>0.5</sub> tačnije potrebna je veća koncentracija supstrata da bi brzina reakcije bila polovina maksimalne.

# Protein kinaza A

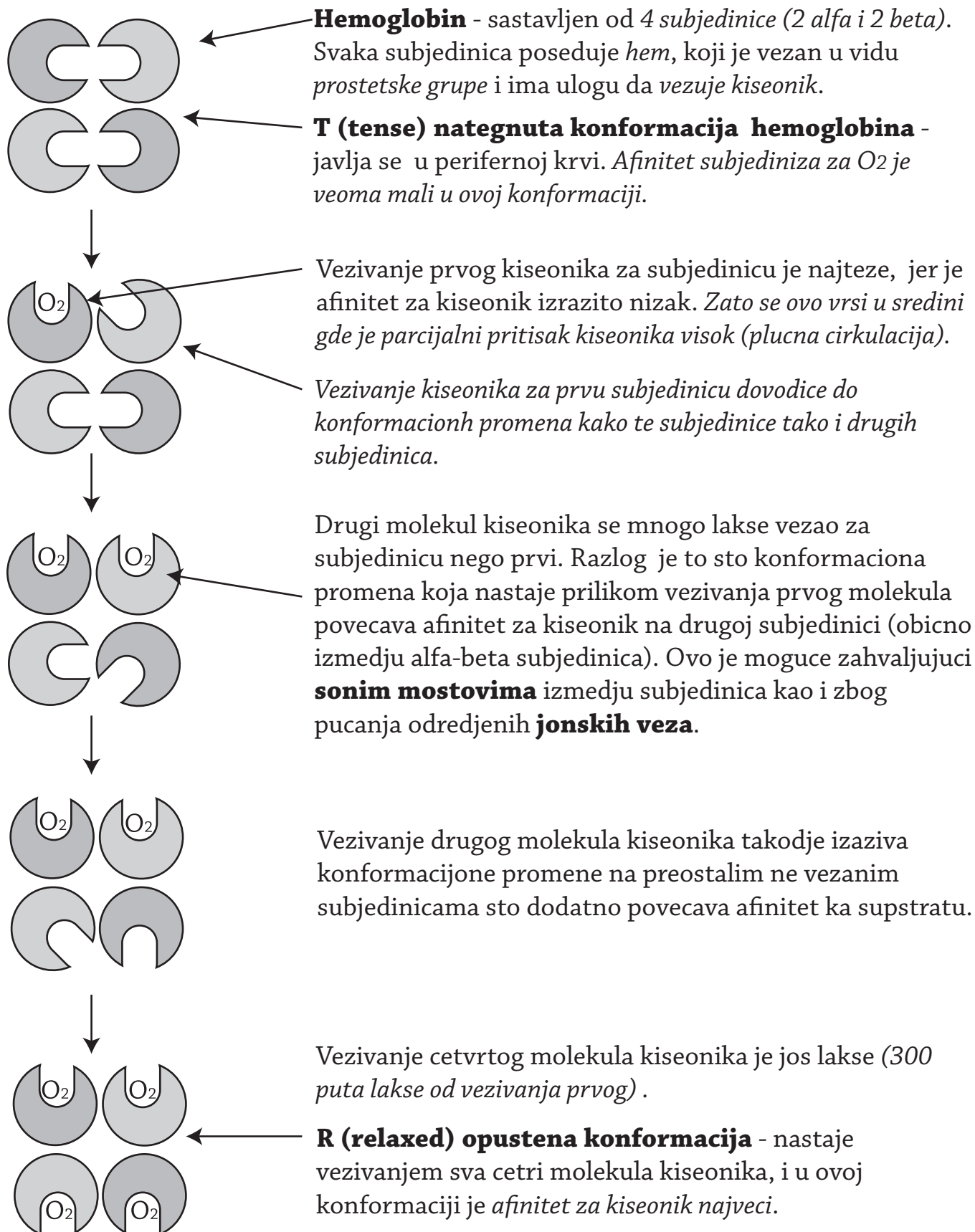
**Protein kinaza A** - tipican primer heterotropnog alosternog enzima ciji je alosterni modulator **ciklicni adenozin monofosfat (cAMP)**.



\*Smanjenje koncentracije *cAMP* ce indukovati odvajanje *cAMP*-a od pseudosupstratnog regiona, on ce svoju konformaciju vratiti u pocetno stanje. Ponovo ce biti komplementaran aktivnom mestu enzima, vezivace se za njega i inaktivisati enzim.

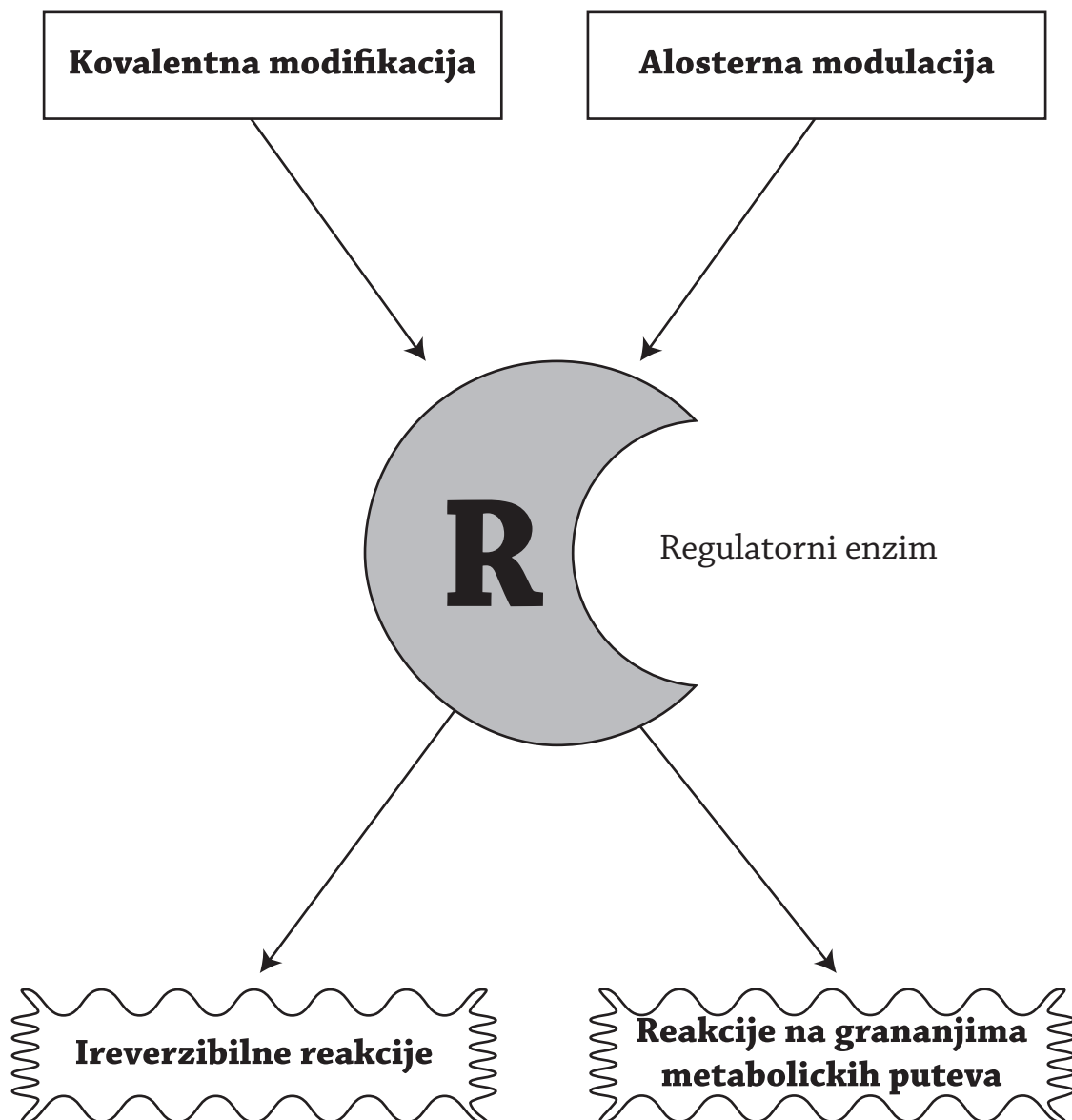
# Hemoglobin

**Hemoglobin** - tipican primer *homotropnog alosternog enzima*, kojem je supstrat (kiseonik) u isto vreme i alosterni modulator.



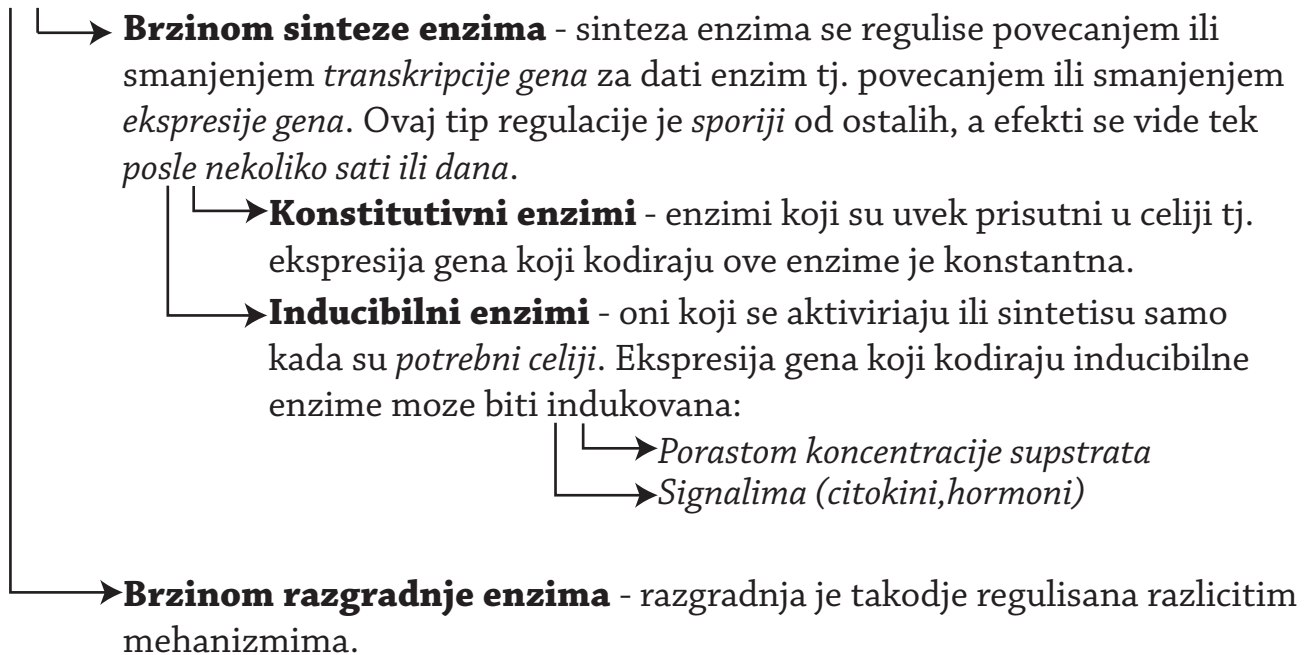
\*Ovo je primer sekvencijalnog modela kooperativnosti.

**Ključni (regulatorni) enzimi** - regulisu metaboličke puteve a njihova aktivnost je regulisana kovalentnom modifikacijom i alosternom modulacijom. Svojim reakcijama kontrolisu brzinu citavog metaboličkog puta.



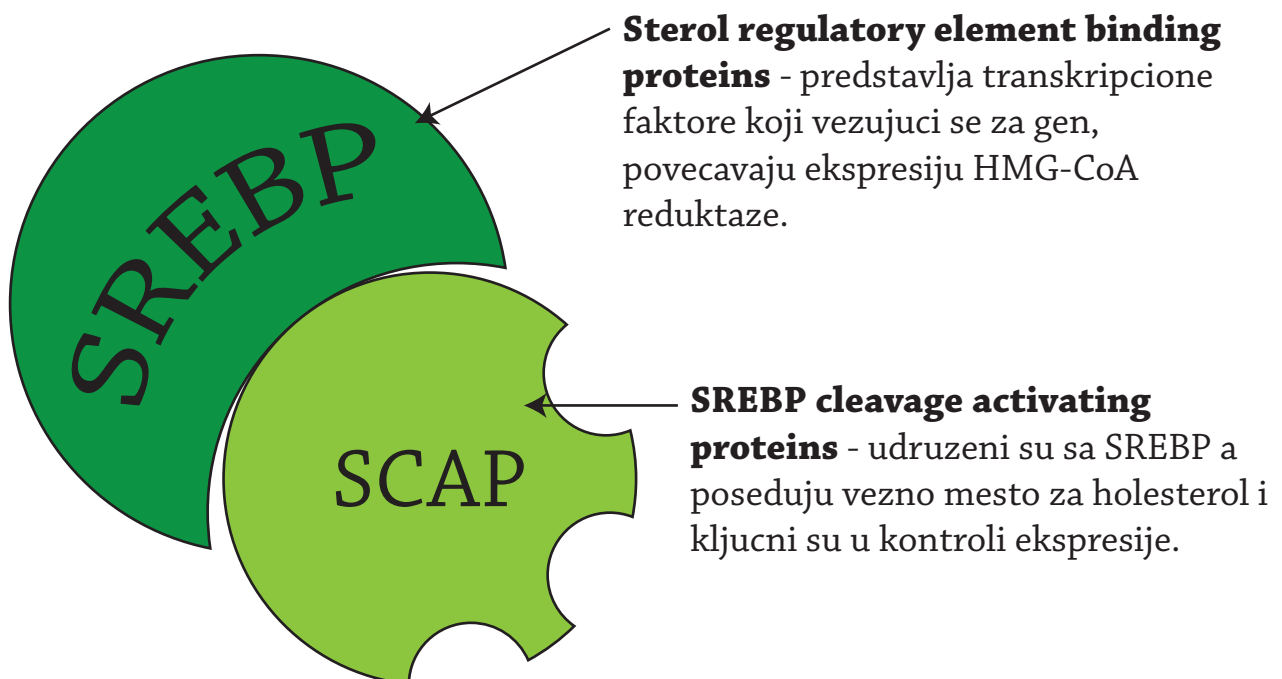
# Regulacija sinteze i razgradnje

Ukupna kolicina enzima u celiji regulisana je:

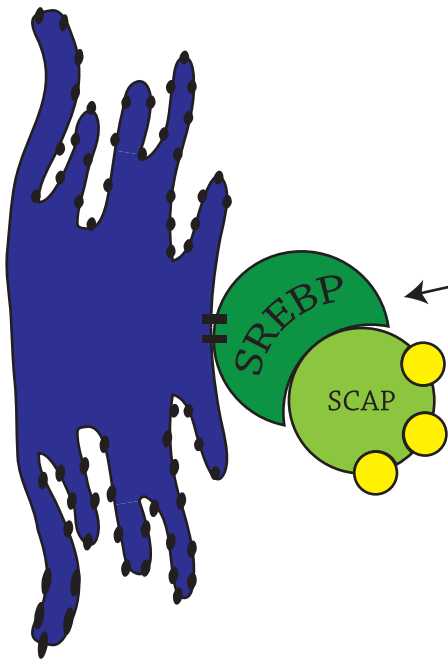


**HMG-CoA Reduktaza** - predstavlja kljucni enzim u procesu sinteze holesterola. Tako da regulacijom aktivnosti i kolicine ovog enzima regulise se i sinteza holesterola.

Obim sinteze ove reduktaze kontrolisan je pomocu transkripcionih faktora **SREBP** i **SCAP**:

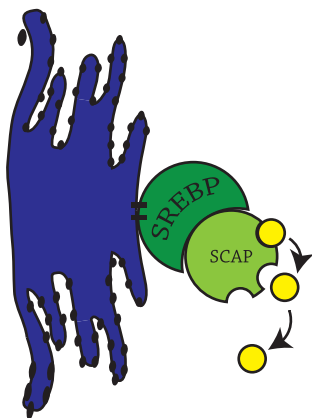


**a) Nivo holesterola u celiji visok:**

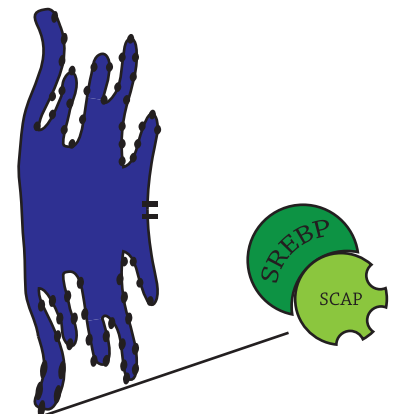


Posto je nivo holesterola u celiji visok, holesterol je vezan za SCAP. To održava citav kompleks u **inaktivnom stanju**. Ovakav kompleks je vezan za *granulisani endoplazmatski retikulum* i "miruje".

**b) Nivo holesterola u celiji nizak:**



Smanjena koncentracija holesterola u celiji indukuje *oslobadjanje holesterola sa veznih mesta na SCAP-u*.



Odvajanje holesterola na ovom kompleksu izaziva **konformacione promene** i *citav kompleks se odvaja od GER-a*.



Kompleks zatim intracelularnim transportom odlazi do **goldzijeveg aparata**. Tu biva *proteoliticki razgradjen*, a deo SREBP se odvaja i postaje **aktivan transkripcioni faktor**.



Aktivirani transkripcioni faktor odlazi u jedro i vezuje se za *gen koji kodira enzim HMG-CoA reduktazu*, povećava se koncentracija enzima u celiji a samim tim se podstice i povećana sinteza holesterola.

*\*Brzina razgradnje HGM-CoA takodje zavisi od koncentracije holesterola:*

