

효소(Enzyme)



산길을 넘어 이동한다는 것은 화학반응 과정을 설명하는 데 자주 사용하는 비유법이다. 촉매는 그 과정이 빨리 일어나게 만든다.

강의내용

- 효소란 무엇인가?
- 효소의 분류
- 효소의 특성 (활성부위)
- 효소운동론
- 효소의 방해제

효소란 무엇인가?

- ① 단백질이다 .
- ② 촉매 (catalyst)다
- ③ 특이성을 가진 물질이다.
- ④ 효소의 활성은 조정(regulate)된다.

효소란 무엇인가?

① 단백질이다.

비단백성분이 단백질의 **활성부위**에 결합되어 있다.

활성 부위란 기질과 반응하는 장소

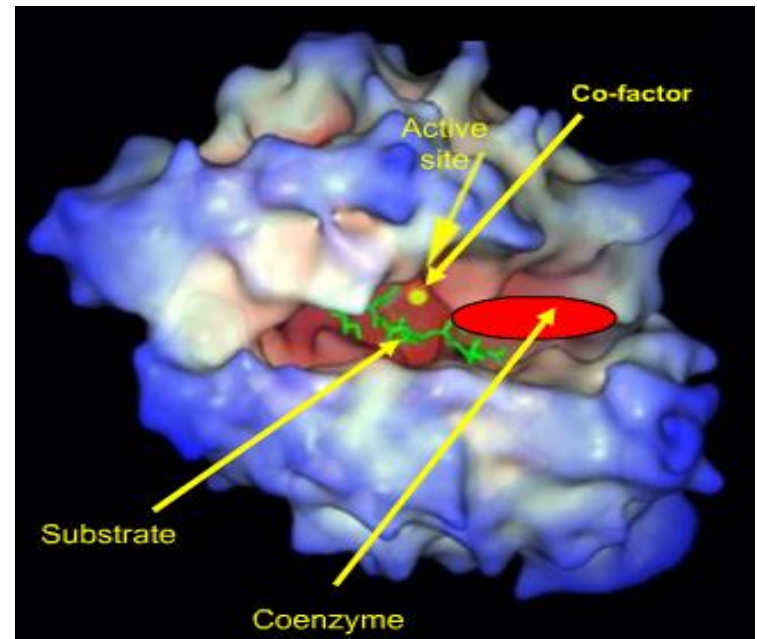
비단백성분 = 보결분자단 (prosthetic group)

보조효소 (coenzyme) - 비타민

보조인자 (cofactor) - Fe, Zn, Cu

Holoenzyme (완전효소)

Apoenzyme (결손효소)



효소란 무엇인가?

② 촉매 (catalyst): 생명체 내부의 화학 반응을 매개하는 물질



E (enzyme:효소)	S (substrate:기질)	P(product : 생성물)
---------------	------------------	------------------

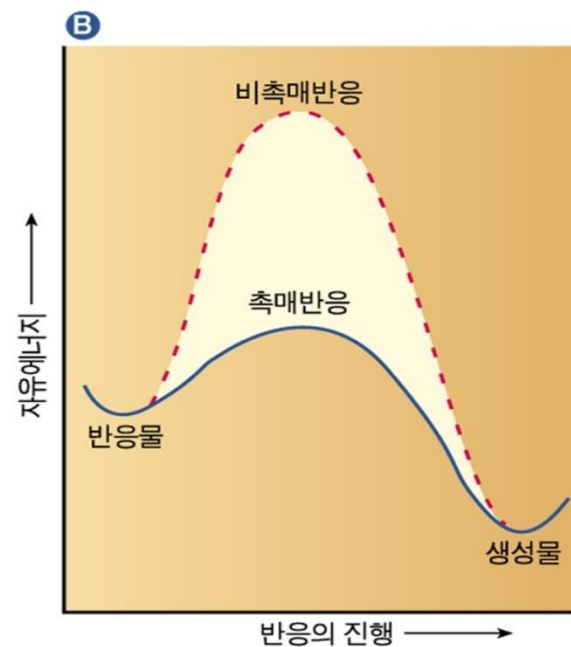
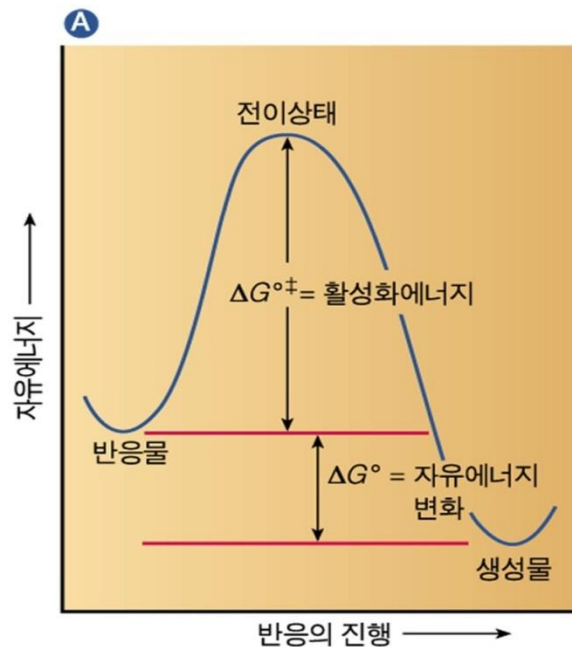
기질과 결합하여 효소-기질 복합체를 형성함으로써 반응의 **활성화 에너지**를 낮추어 반응이 일어나기 쉽게 한다

활성화에너지란 반응물을 **전이상태 (transition state)**로 만드는데 필요한 에너지

전이상태란 반응물이 생성물로 전환되기 위해 모양을 바꾼 상태

활성화에너지와 전이상태

- activation energy, the energy input required to initiate the reaction.
- 활성화 에너지가 낮을수록 반응의 속도가 빨라진다.



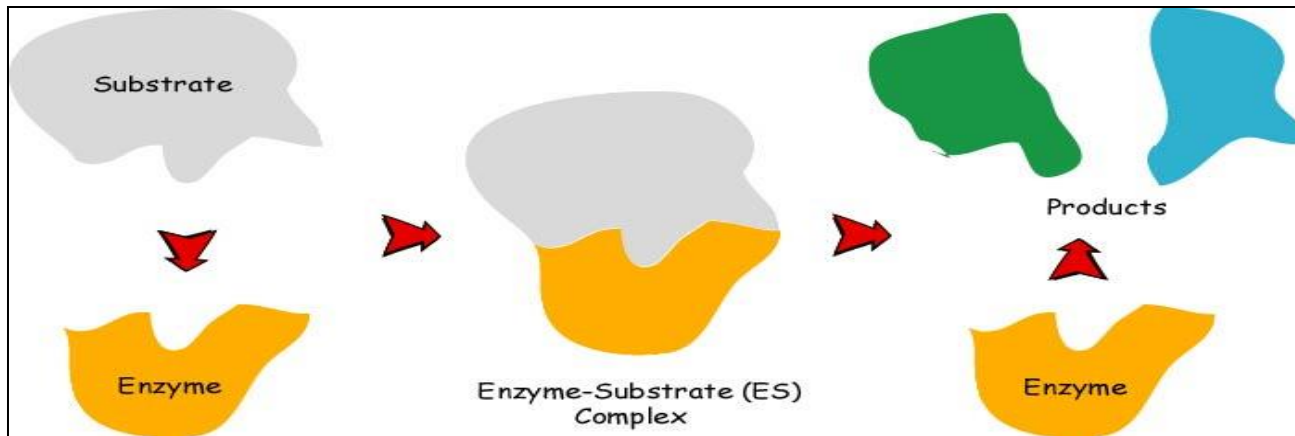
효소의 반응

enzyme + substrate $\longrightarrow$ enzyme-substrate complex

$E + S \longrightarrow ES$

enzyme-substrate complex $\longrightarrow$ enzyme + product

$ES \longrightarrow E + P$



Enzyme activity

How fast an enzyme is working

Enzyme activity (효소활성)

How fast an enzyme is working

Rate of Reaction (반응속도)

= Amount of substrate changed in a given period of time.

= Amount of product formed

효소는 활성화에너지를 낮추어 반응속도를 촉진시킨다

표 6.1 촉매에 의한 과산화수소 분해반응의 활성화에너지 감소

반응 조건	활성화 자유에너지		상대속도
	kJ mol^{-1}	kcal mol^{-1}	
촉매 없음	75.2	18.0	1
백금 표면	48.9	11.7	2.77×10^4
카탈레이스	23.0	5.5	6.51×10^8

상대속도는, 37℃에서 비촉매반응의 속도를 1이라 하고, 이에 대한 상대값을 임의의 단위로 나타냈다.

온도를 상승시키면 반응속도가 빨라진다

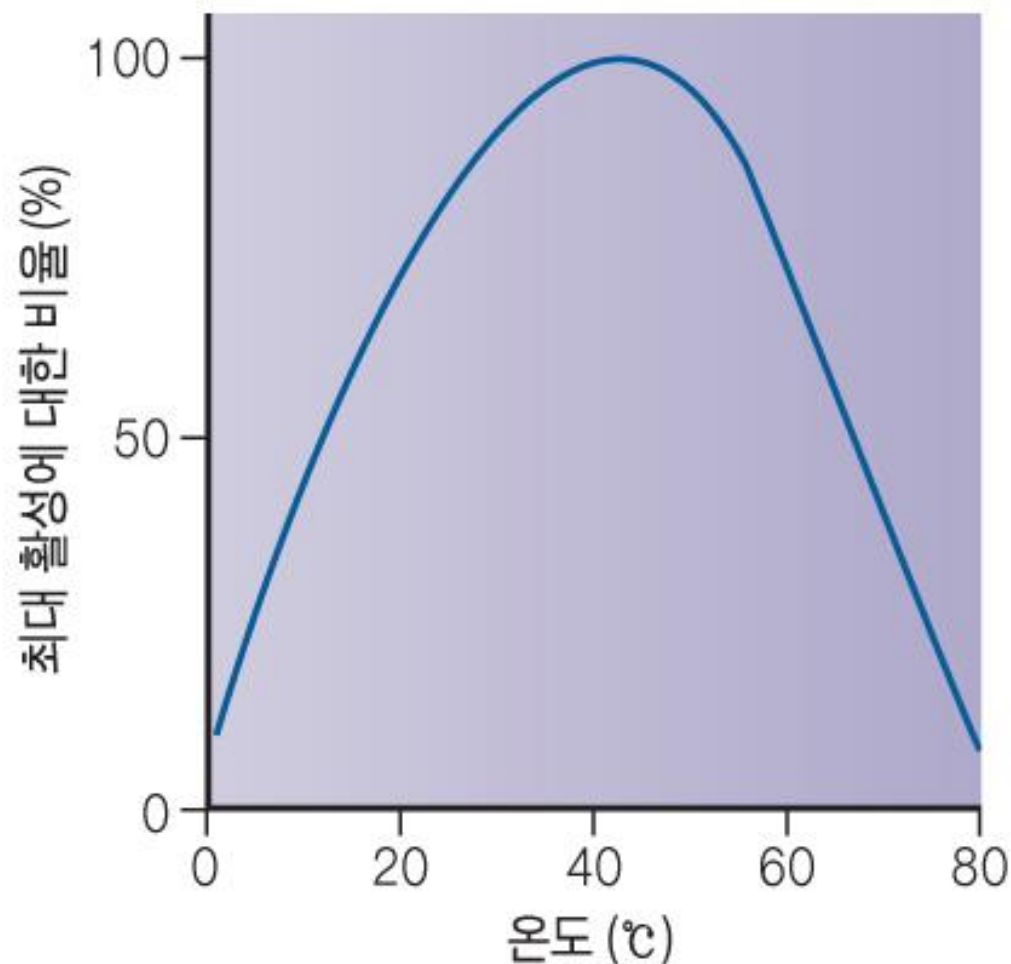


그림 6.2 효소 활성에 미치는 온도의 영향. 효소 반응의 활성을 온도에 따라 상대적으로 나타낸 것. 50°C 이상에서 활성이 감소되는 것은 열에 의한 변성 때문이다.

효소란 무엇인가?

③ 특이성을 가진 물질이다.

- 기질특이성 : 효소가 특정한 기질하고만 결합하여 반응을 촉매하는 성질을 말한다

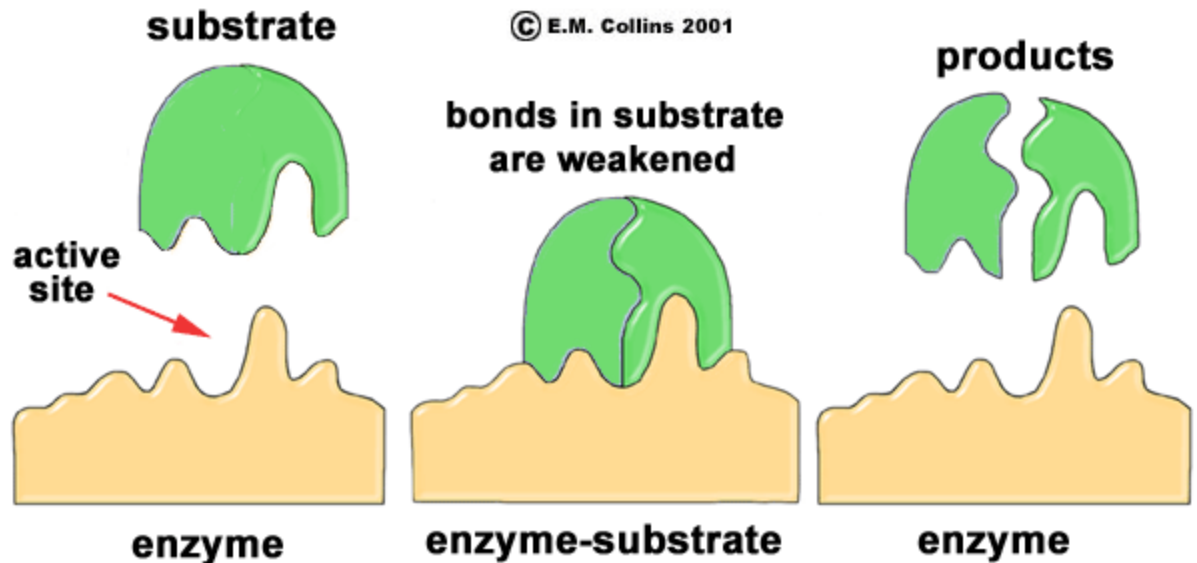
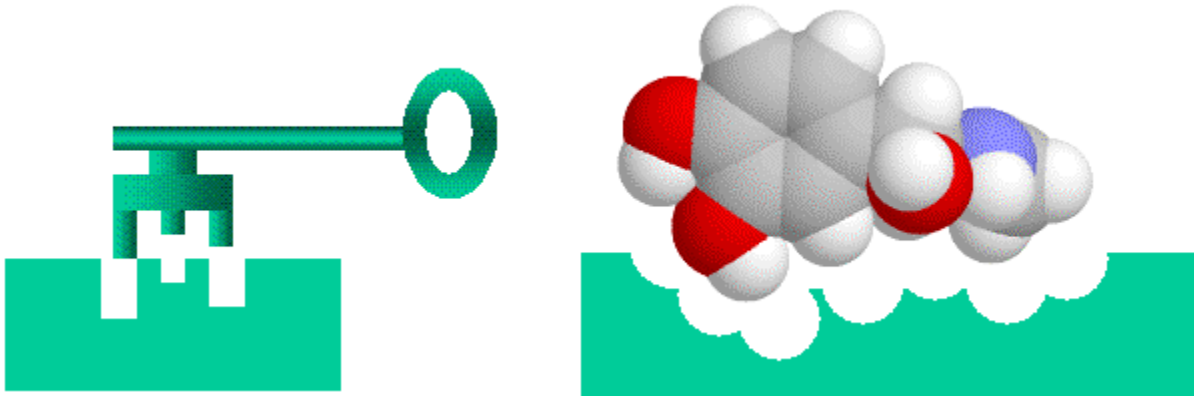
(예) 단백분해효소 - 트립신, 키모트립신 등

- 효소들은 각기 다른 형태의 활성 자리(active site)를 가지고 있다.

그러므로 효소는 자신의 활성 자리에 알맞게 결합하는 특정한 기질하고만 상호 작용할 수 있다.

- Lock-and-key model

Lock-and-key model



효소란 무엇인가?

④ 효소의 활성은 조정(regulate)된다.

효소의 분류

- ① 산화환원효소 (oxidoreductase)
- ② 전이효소 (transferase)
- ③ 가수분해효소 (hydrolase)
- ④ 분해 효소 (lyase)
- ⑤ 이성화효소 (isomerase)
- ⑥ 합성효소 (ligase)

효소의 명명법

- ① Trivial name ----- ~ ase (가수분해효소)
- ② Systematic name ---- 4 digits

예) Glucose + ATP -----> Glucose-6-p + ADP

(trivial name) Hexokinase

(systematic name) ATP:glucose phosphotransferase (2.7.1.1.)

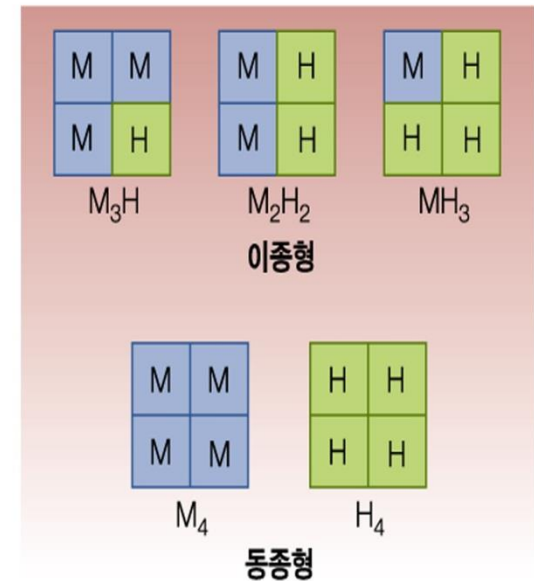
Isoenzyme(이성효소)

- 같은 기능을 수행하나 조직에 따라 다른 형태로 존재하는 효소

예) lactate dehydrogenase(LDH)

- 혈액 중에 증가하면 조직의 손상을 의미

- H_4 ↑ 심장기능 이상
- M_4 ↑ 근육기능 이상



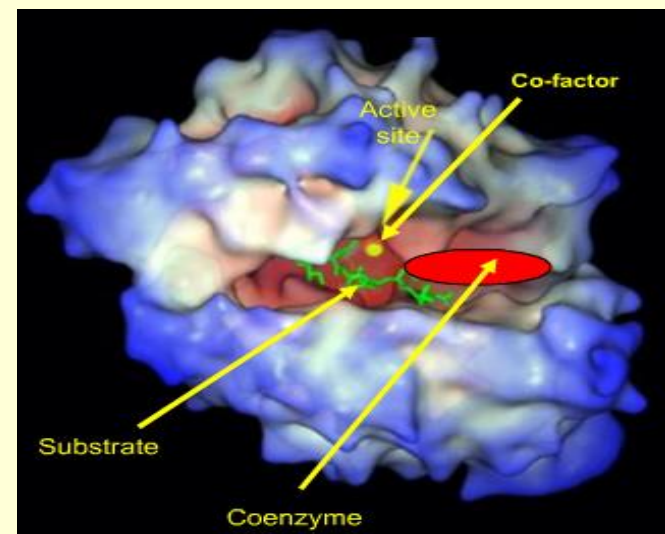
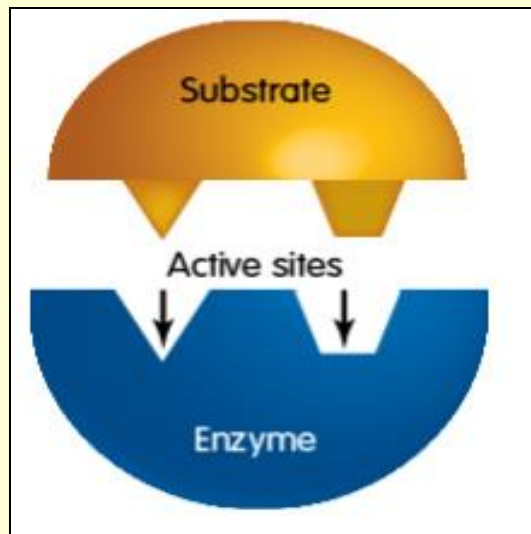
활성자리의 특성

① Binding site:

효소에서 기질을 결합하는 부위

② Catalytic site :

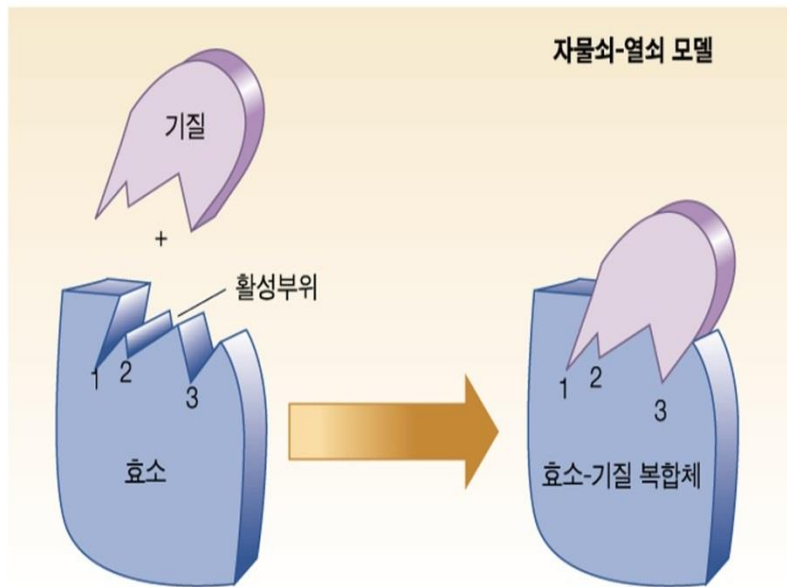
산-염기의 성질을 이용하여 기질을 촉매하는 부위



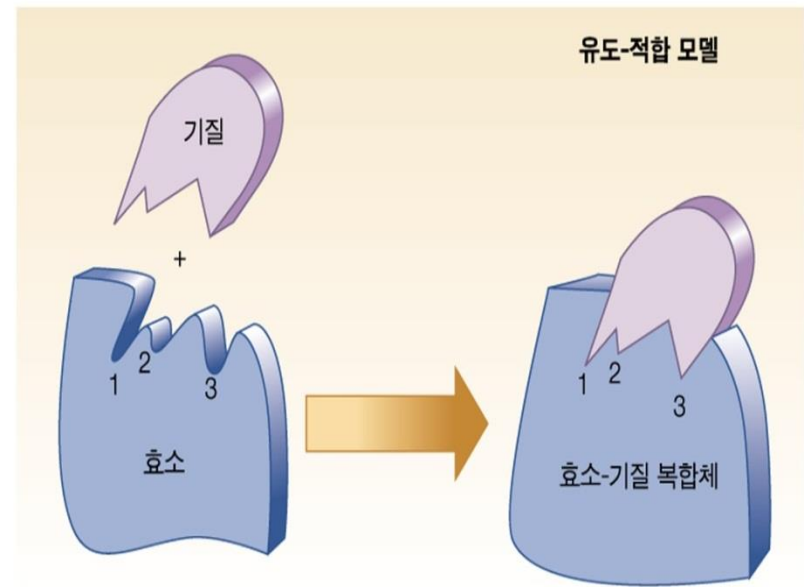
효소에 기질이 결합하는 것에 대한 두 가지 모델

Lock and key model :

Induced fit model :

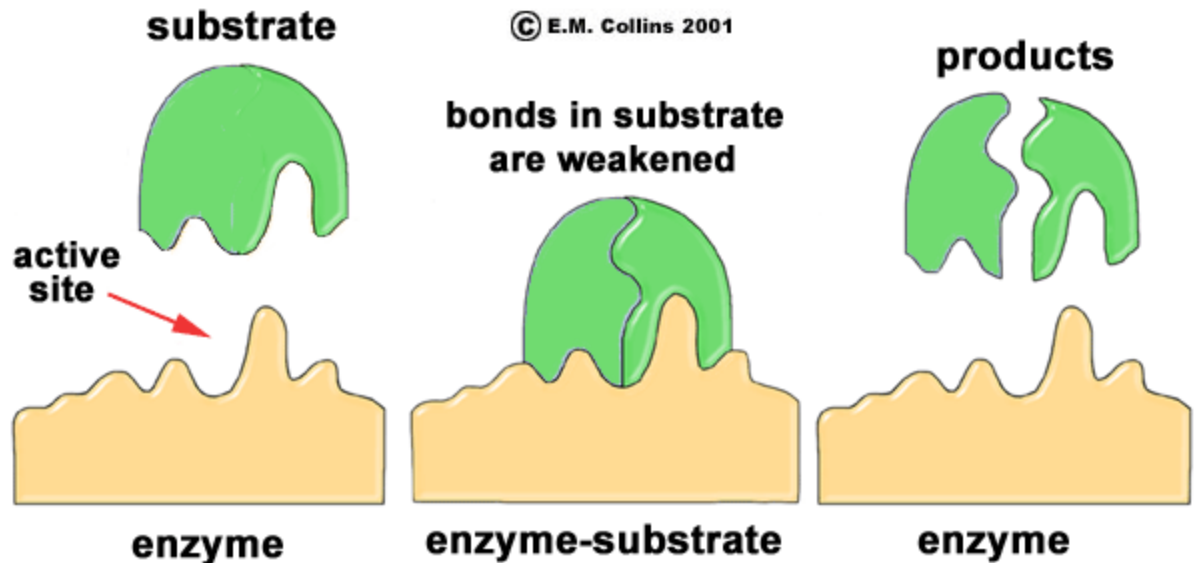
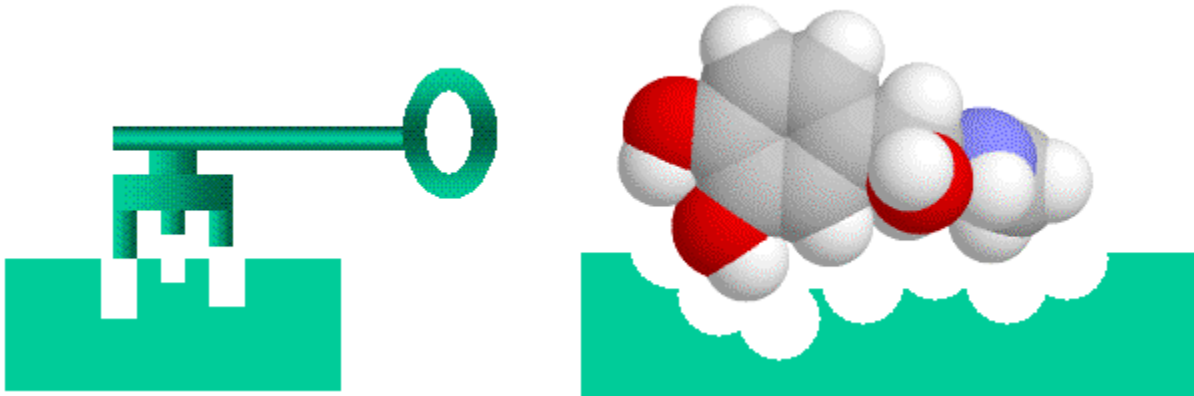


A 자물쇠-열쇠 모델에서는 기질의 모양과 활성부위의 입체구조가 서로 상보적이다.

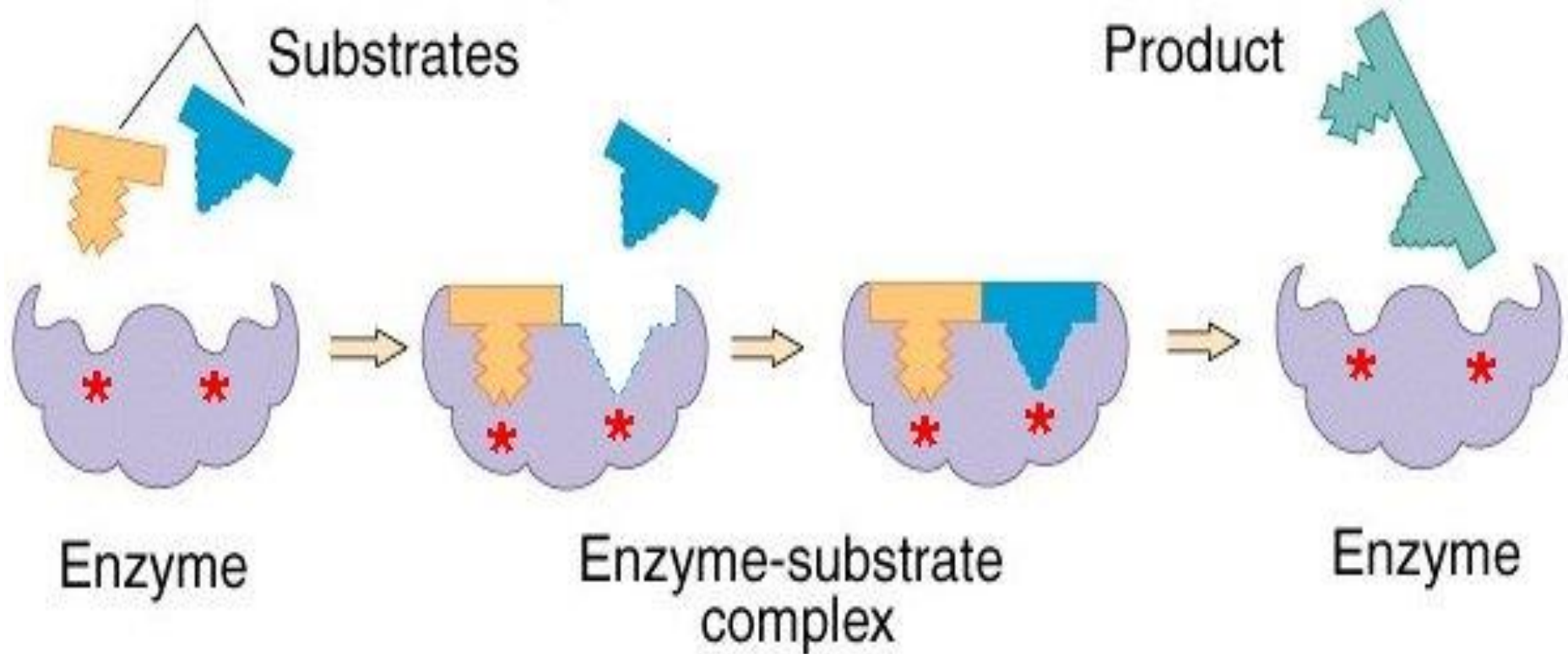


B 유도-적합 모델에서는 효소가 기질과 결합하면 효소에 입체구조의 변화가 일어난다. 기질이 효소에 결합한 후에만 활성부위 모양이 기질의 모양과 상보적으로 된다.

Lock-and-key model



Induced-fit model



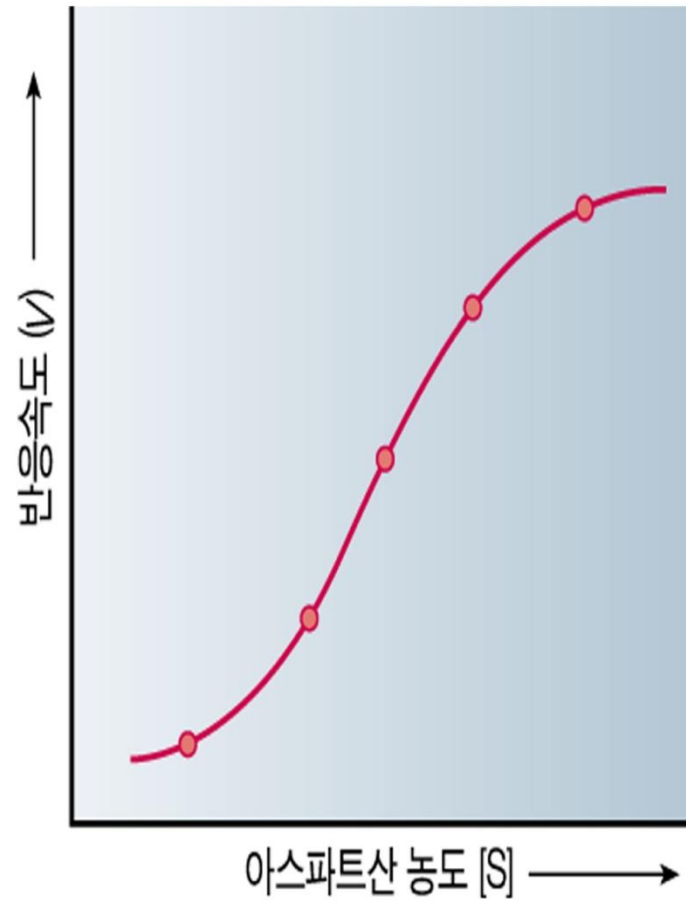
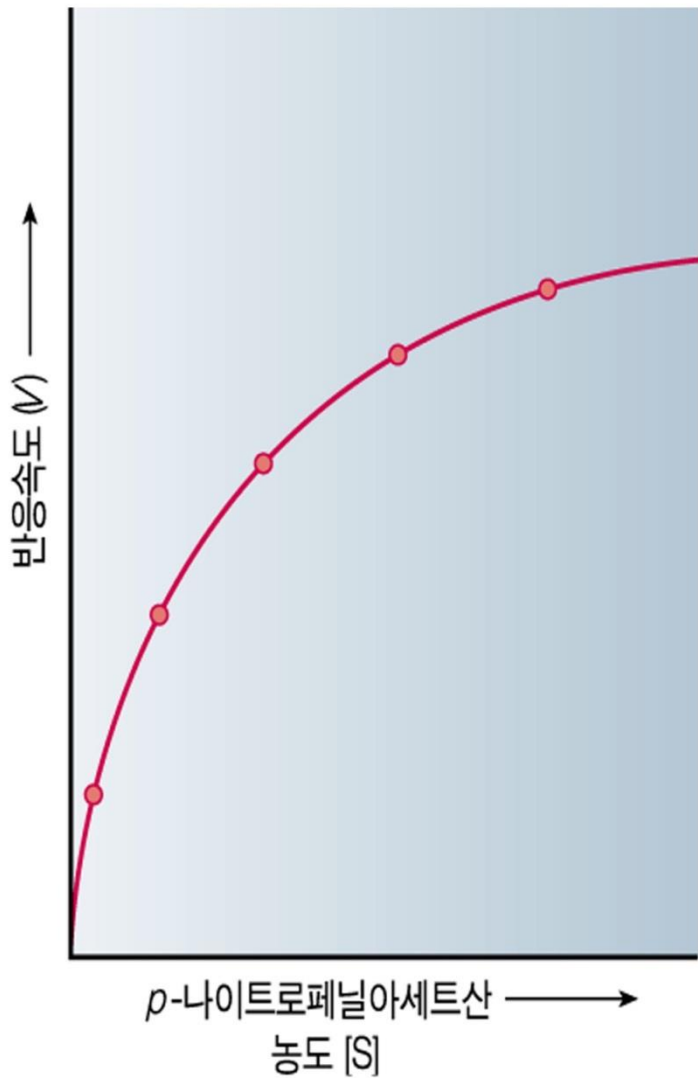
효소의 촉매 mechanism

(기질은 어떻게 효소에 결합하는가?)

- ① Approximation (접근)
- ② Orientation (방향잡기)
- ③ Strain and distortion (찌그러뜨리기)

효소촉매반응의 실례

- Chymotrypsin
- Aspartate transcarbamoylase



효소 운동론 (Kinetics)

① 속도상수--- 효소반응의 속도

Zero order--- 기질의 농도에 상관없는 속도

First order--- 기질의 농도에 의존적인 속도

② **Steady state** (정류상태)

rate of formation = rate of breakdown

Michaelis-Menten 속도식

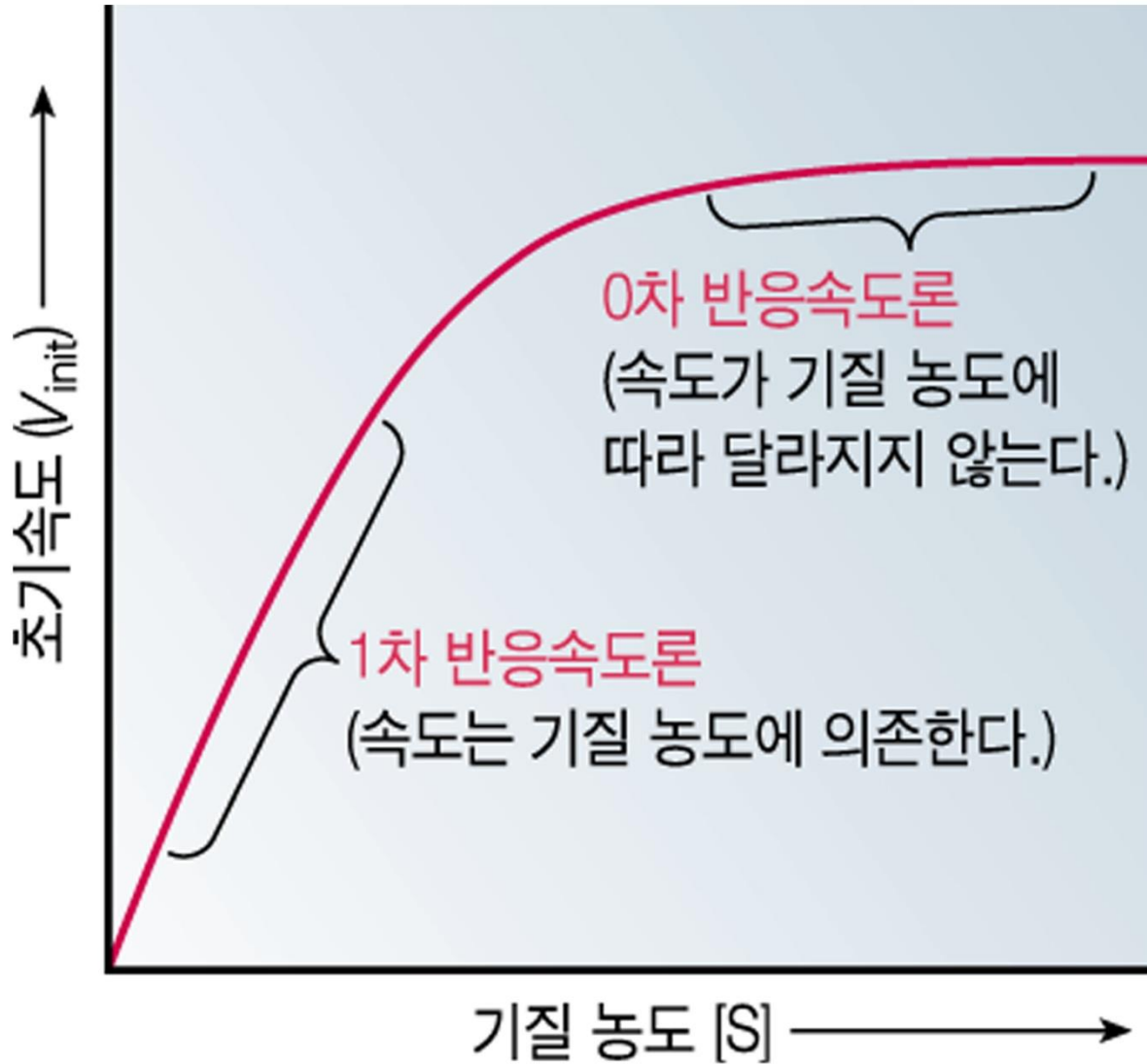


그림 6.8 효소 반응속도와 관찰된 반응속도론은 기질 농도에 따라 달라진다.

효소 운동론 (Kinetics)

③ Michaelis-Menten 속도식

④ K_m

효소의 반응속도가 최대속도의 1/2이 될 때의 기질 농도
존재하는 효소의 50%가 기질에 결합되어 있을 때의
기질 농도

⑤ V_{max} : 효소반응의 최대속도

Michaelis-Menten 속도식

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

When $S \ll K_m$, $V = V_{\max} [S] / K_m$

When $S = K_m$, $V = V_{\max} / 2$

When $S \gg K_m$, $V = V_{\max}$

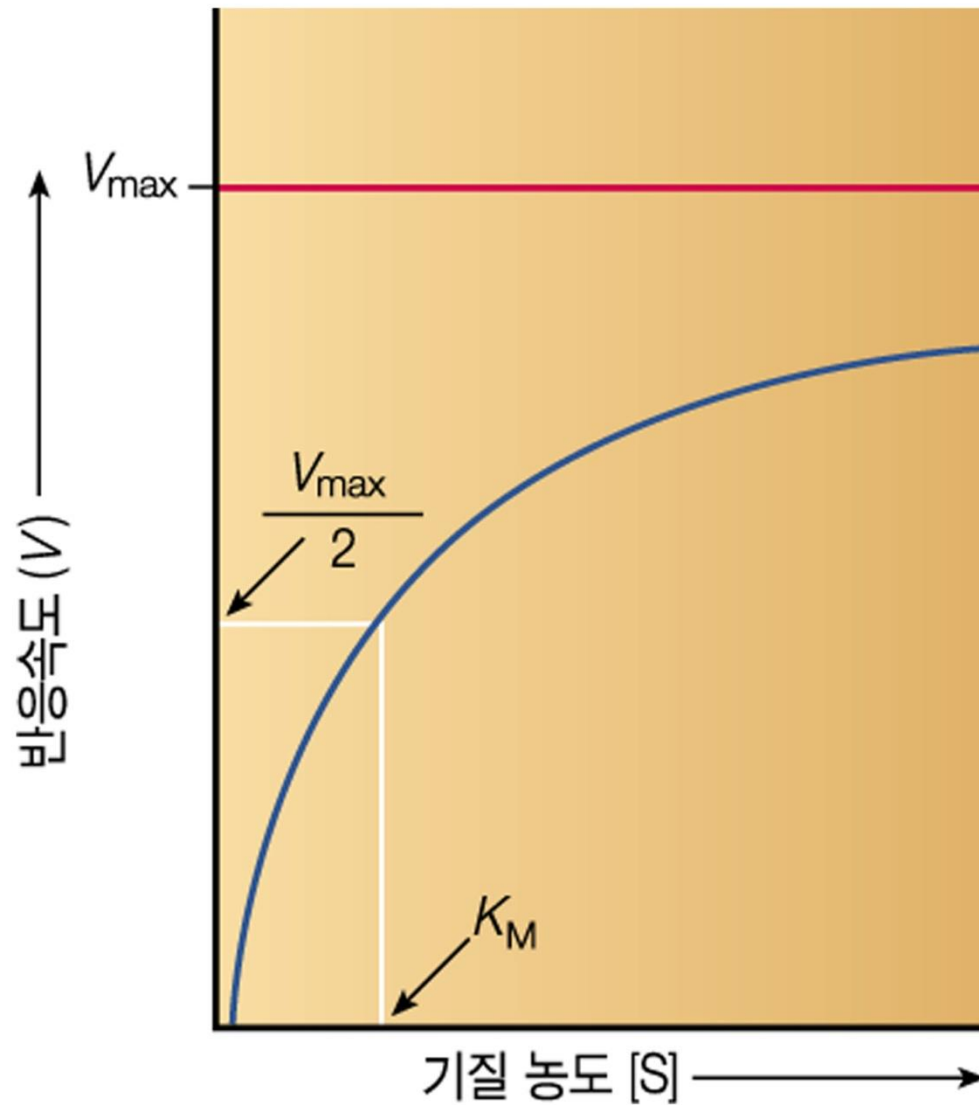


그림 6.9 기질 농도 $[S]$ 에 대한 반응속도 V 의 도표를 이용하여 그래프 상에서 $V_{\max}$ 와 K_M 결정하기.

효소 운동론 (Kinetics)

- ⑥ Turnover number (전환수) : k_{cat}
효소가 기질로 완전히 포화되어 있을 때
1 mole의 효소가 단위시간당
생성물로 전환하는 기질 분자의 수

효소 운동론 (Kinetics)

Lineweaver-Burk Plot (L-B Plot)

- M-M 속도식의 X, Y축 값을 역수로 만들어 만든 방정식
- V_{max} 와 K_m 값을 쉽게 결정할 수 있다.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{\max}}$$

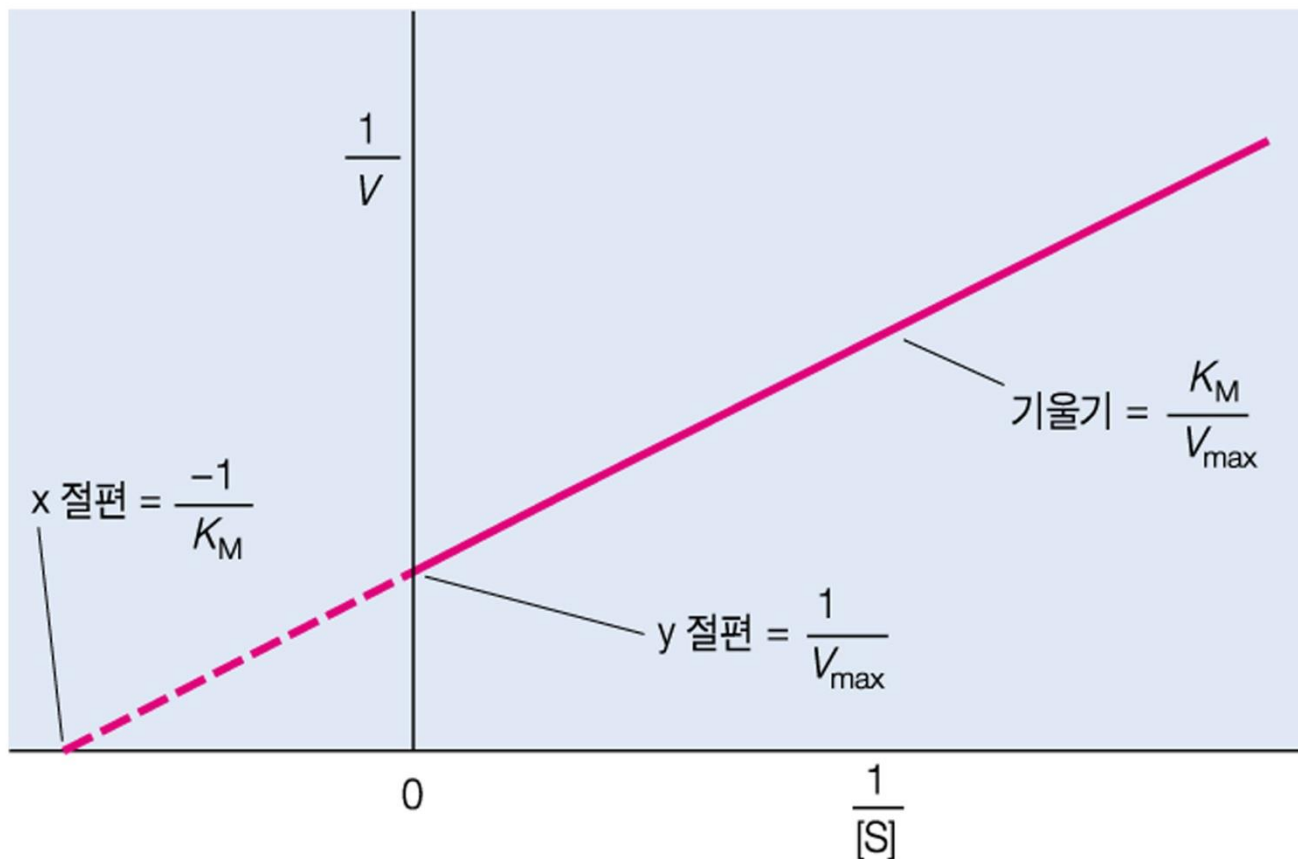
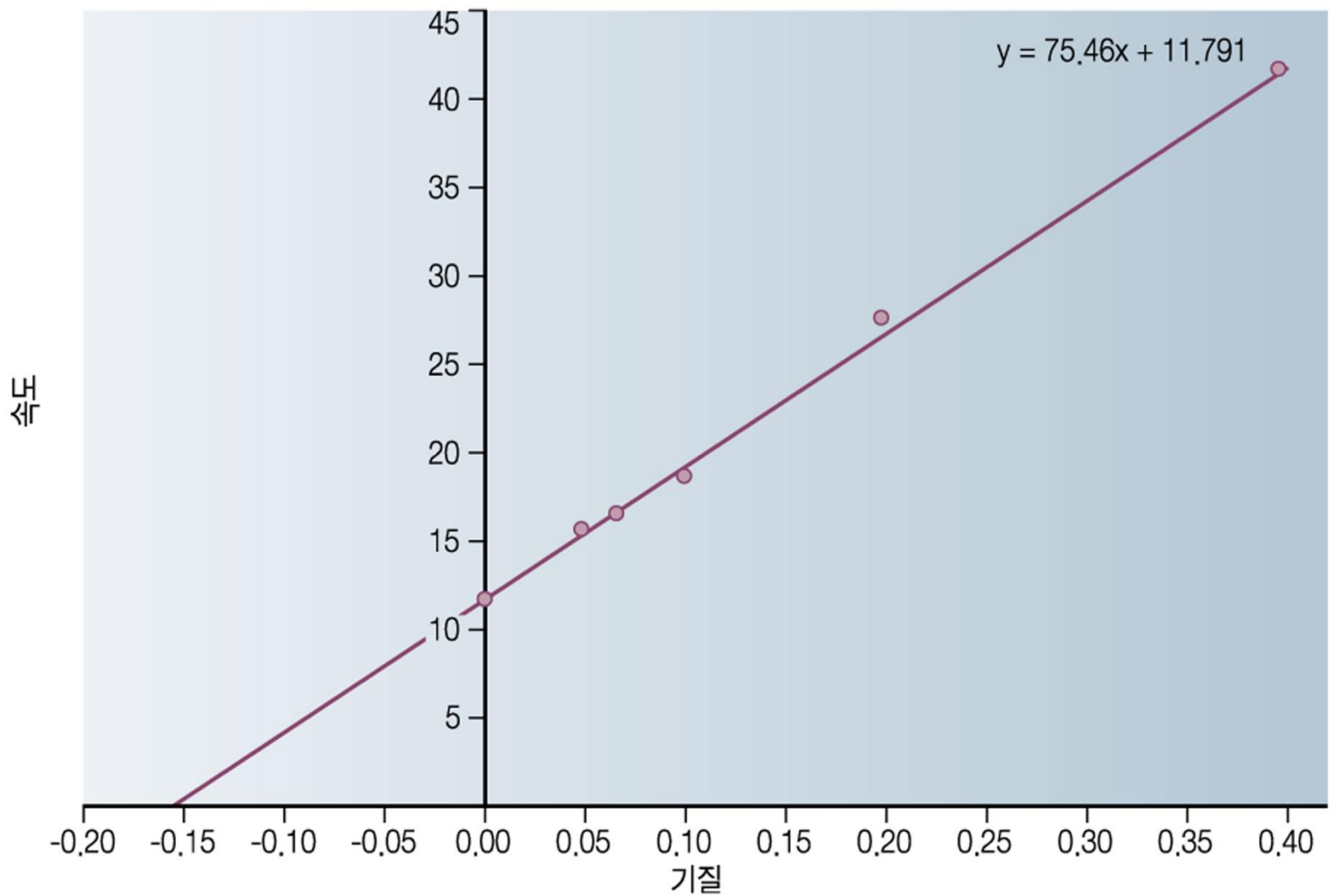


그림 6.10 효소 반응속도론의 **라인위버-버크 이중역수** 도표.



효소 운동론 (Kinetics)

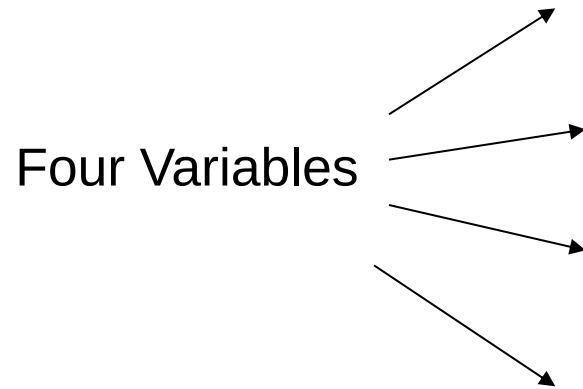
표 6.2 대표적인 몇 가지 효소의 전환수와 K_M

효소	기능	k_{cat} = 전환수*	K_M **
카탈레이스(catalase)	H_2O_2 를 H_2O 와 O_2 로 전환	4×10^7	25
탄산탈수효소(carbonic anhydrase)	CO_2 의 수화	1×10^6	12
아세틸콜린에스테레이스(acetylcholinesterase)	신경자극 전달의 중요한 물질인 아세틸콜린을 아세트산과 콜린으로부터 재생함	1.4×10^4	9.5×10^{-2}
카이모트립신(chymotrypsin)	단백질분해효소	1.9×10^2	6.6×10^{-1}
라이소자임(lysozyme)	세균 세포벽 다당류의 분해	0.5	6×10^{-3}

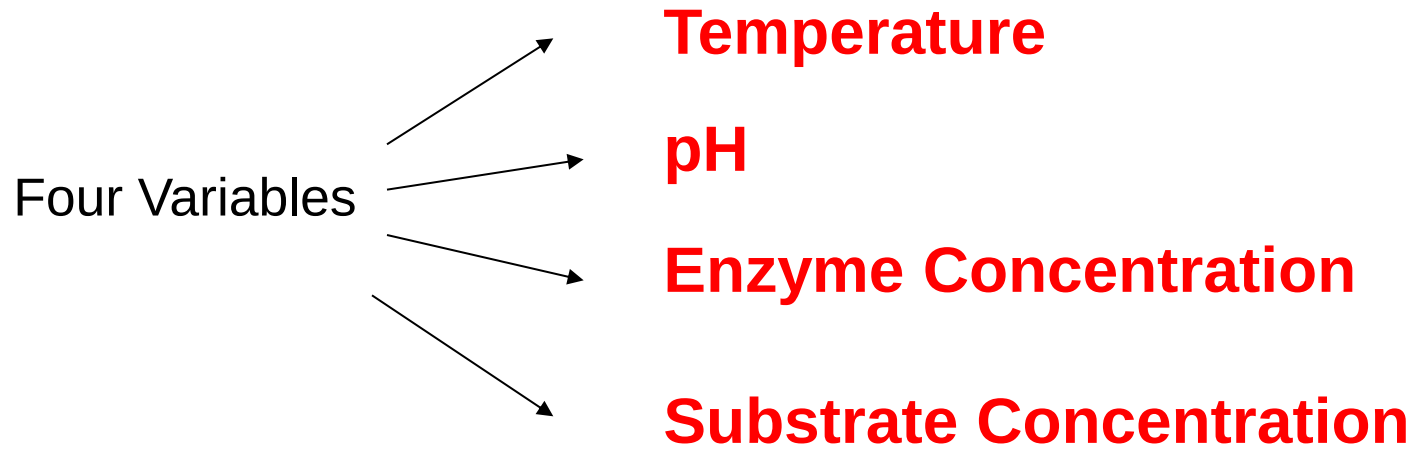
* 전환수의 정의는 1초당 그리고 효소 1몰당 생성물로 전환되는 기질의 몰수이며 단위는 초⁻¹(sec⁻¹)이다.

** K_M 의 단위는 밀리몰(mM)이다.

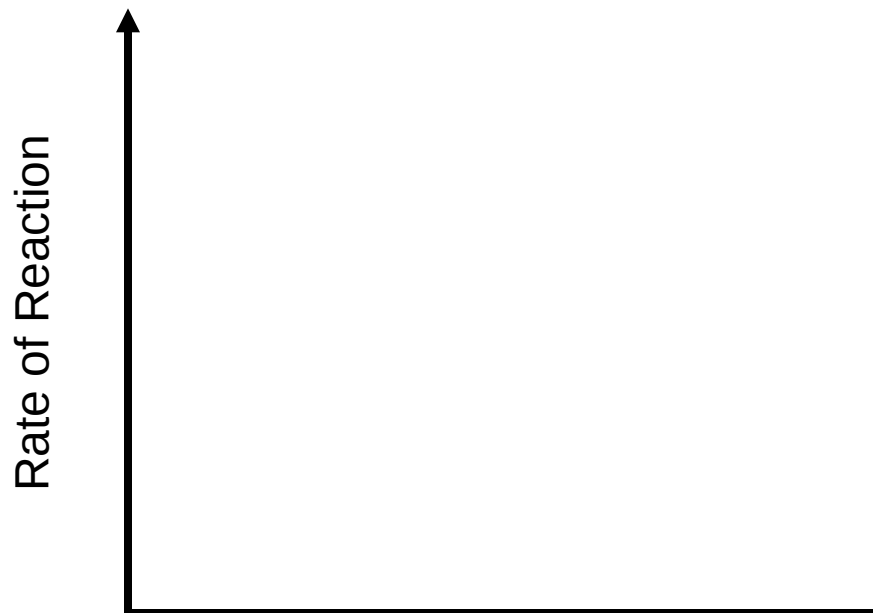
Enzyme activity



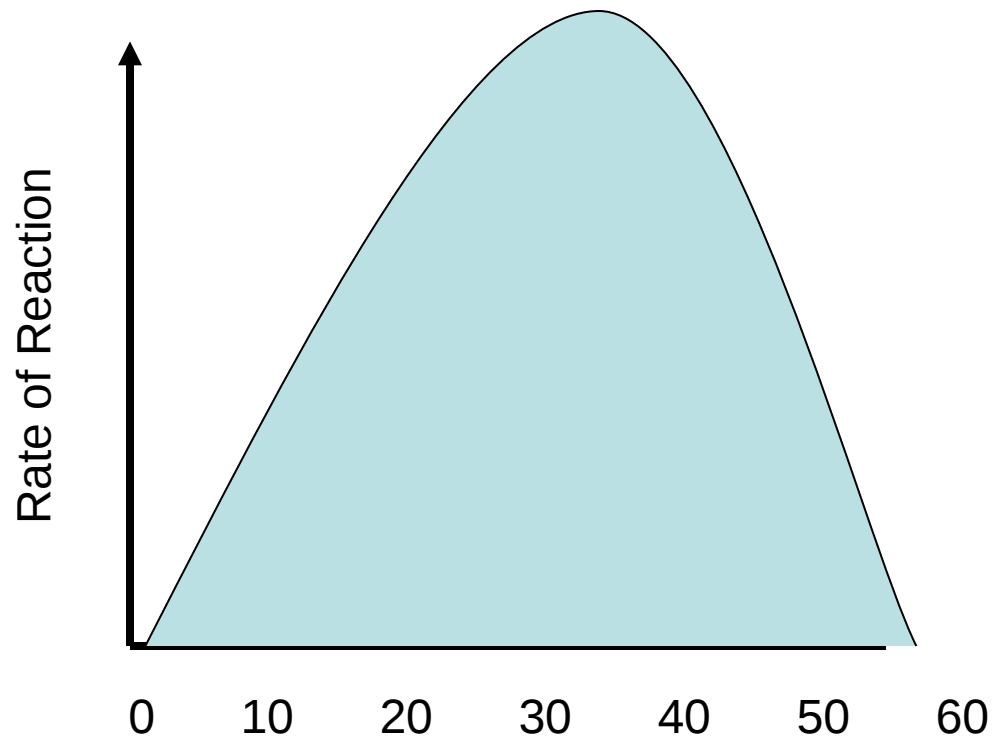
Enzyme activity 에 영향을 미치는 요인



Temperature



Temperature



Temperature

5- 40°C

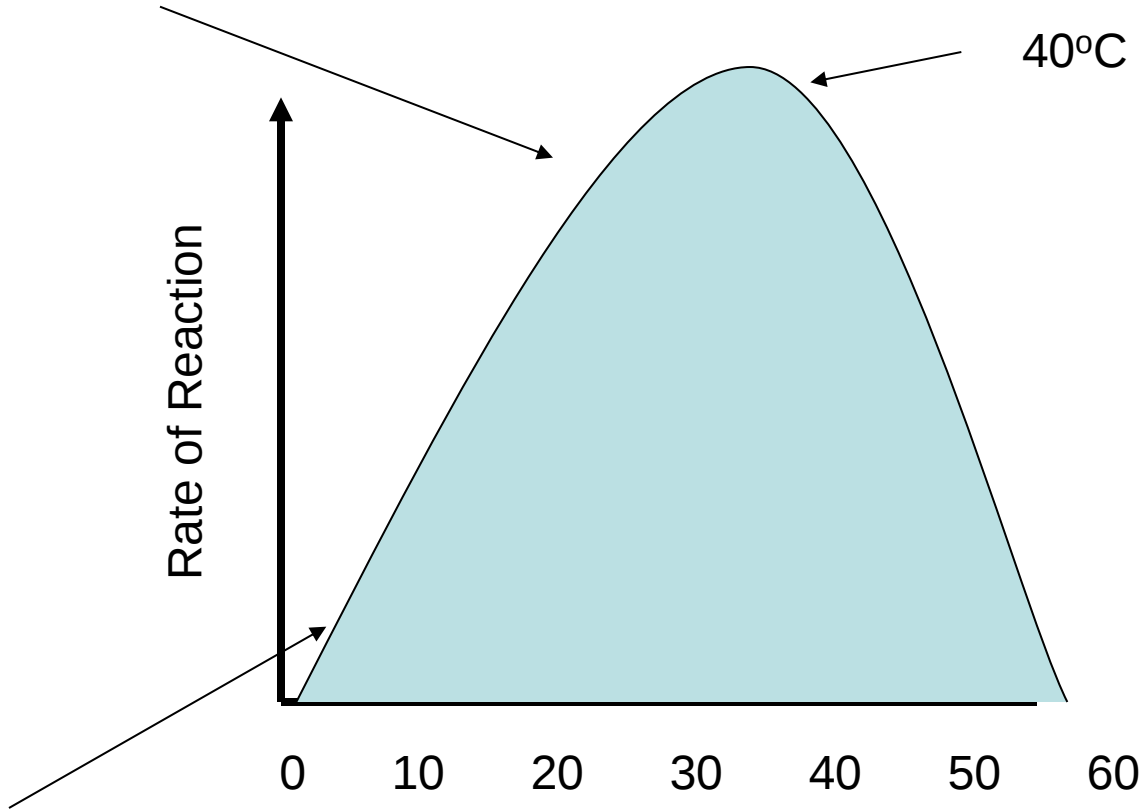
Increase in Activity

40°C - denatures

Rate of Reaction

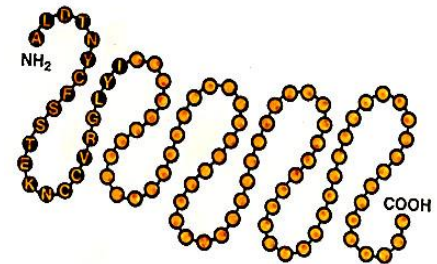
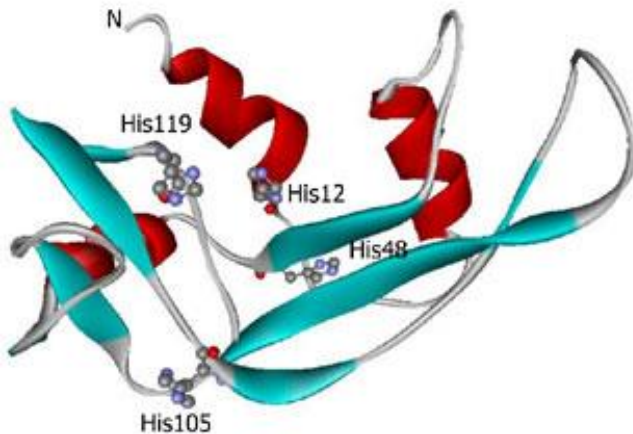
0 10 20 30 40 50 60

<5°C - inactive

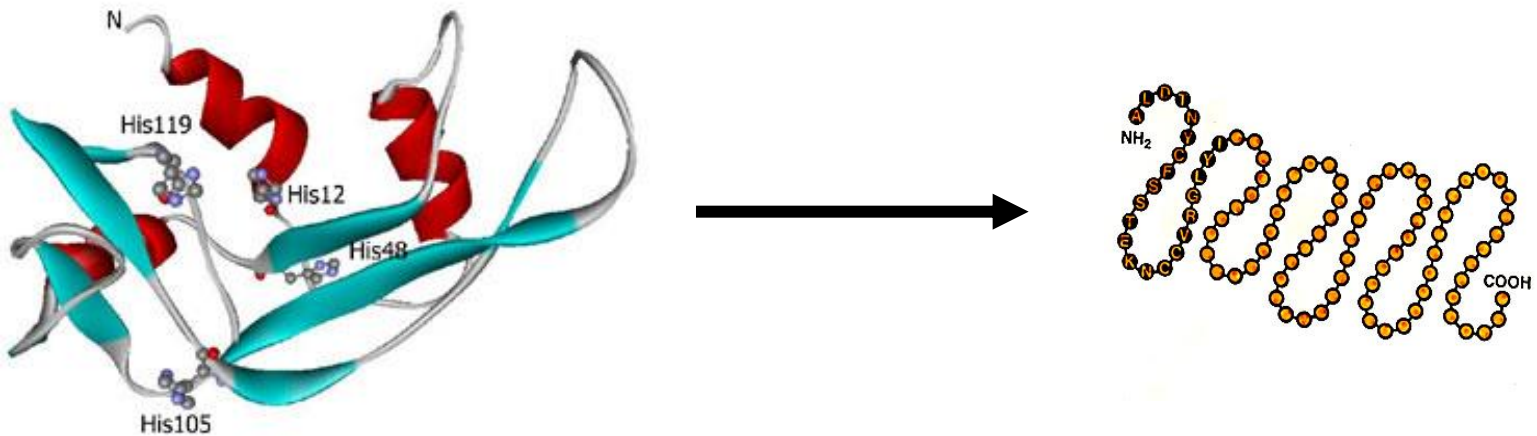


Effect of heat on enzyme activity

If you heat the protein above its optimal temperature
bonds break
meaning the protein loses its secondary and tertiary structure

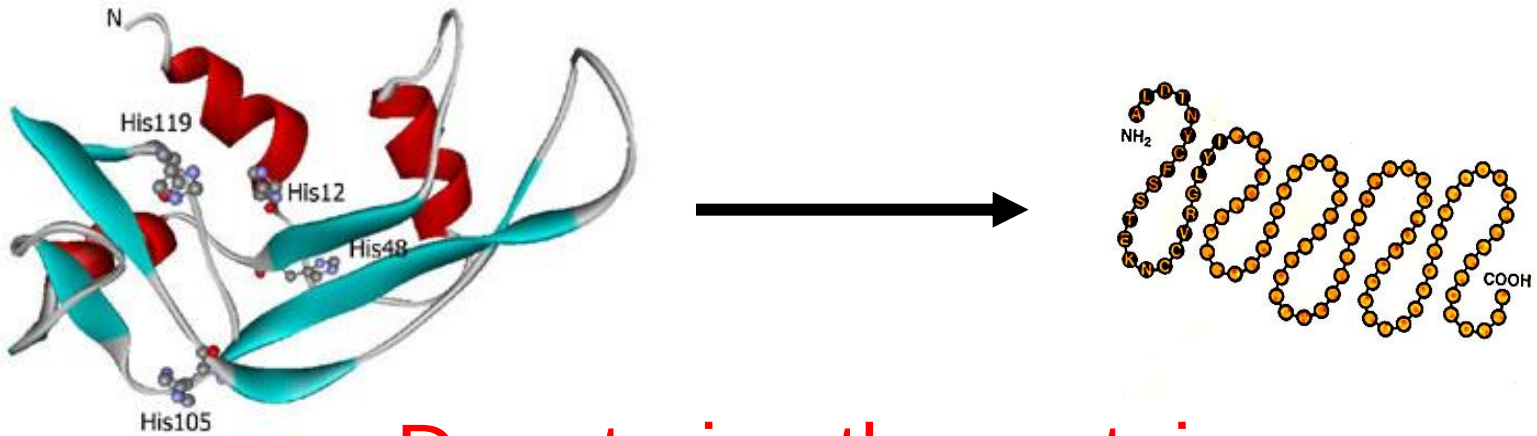


Effect of heat on enzyme activity



Denaturing the protein

Effect of heat on enzyme activity

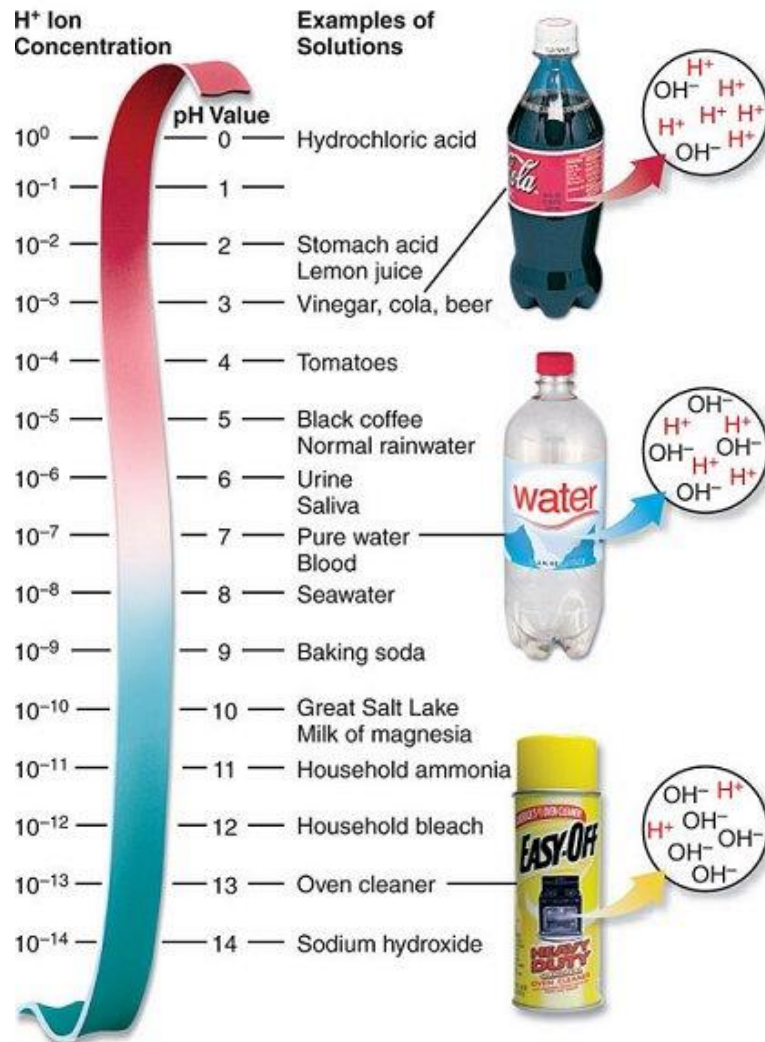


Denaturing the protein

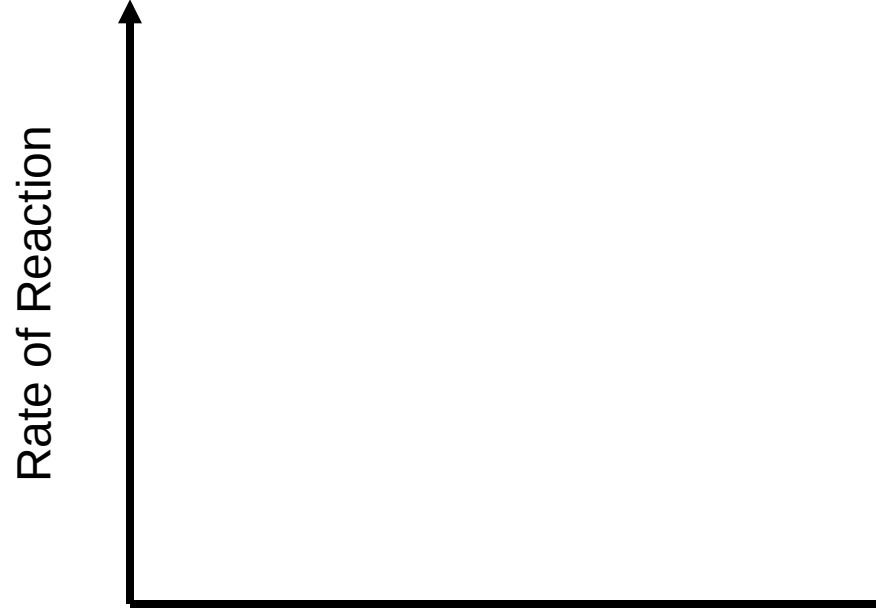
ACTIVE SITE CHANGES SHAPE
SO SUBSTRATE NO LONGER FITS

Even if temperature lowered – enzyme can't regain its correct shape

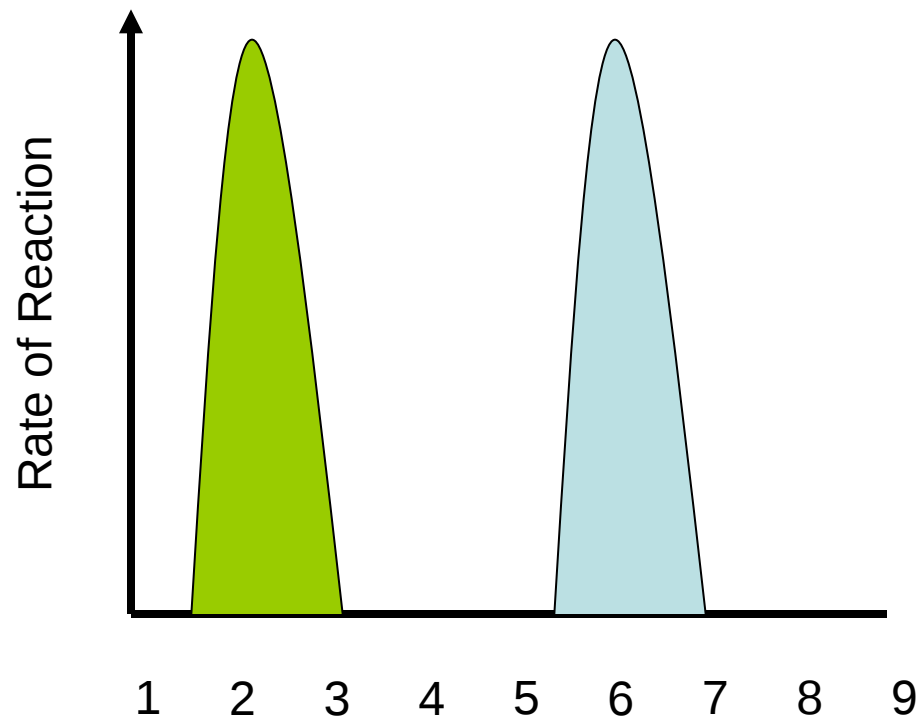
Ph scale



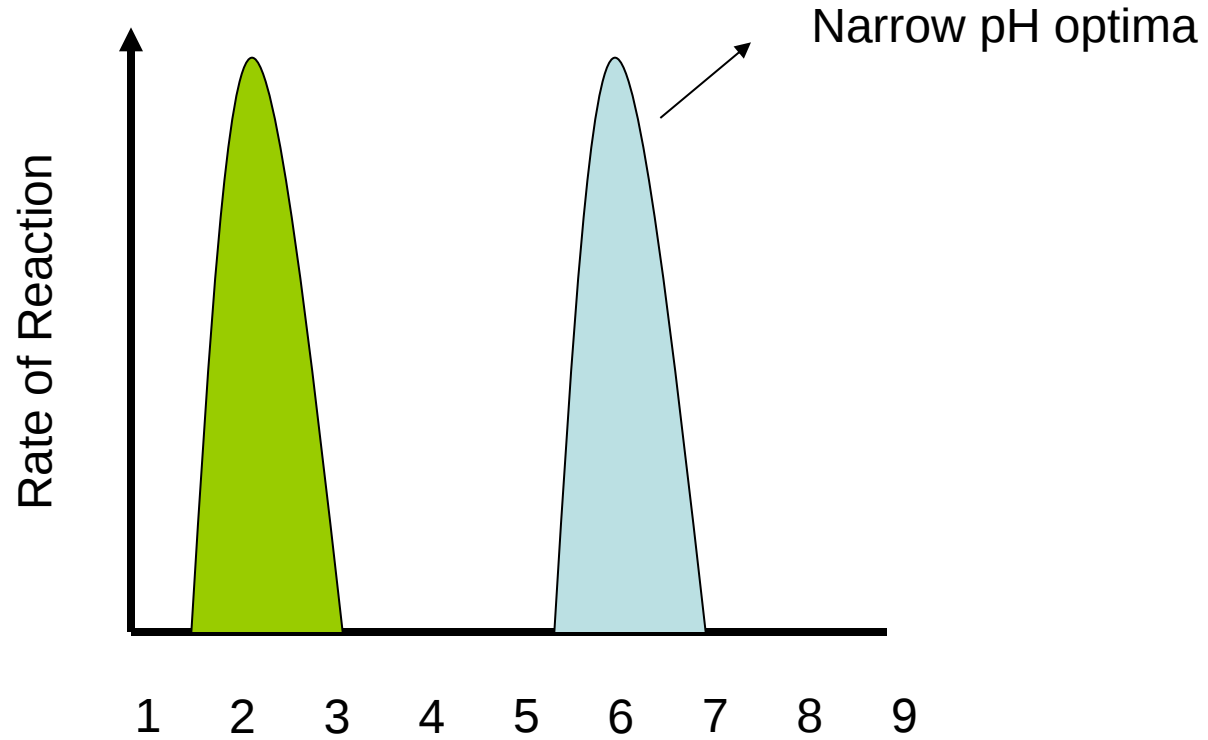
pH



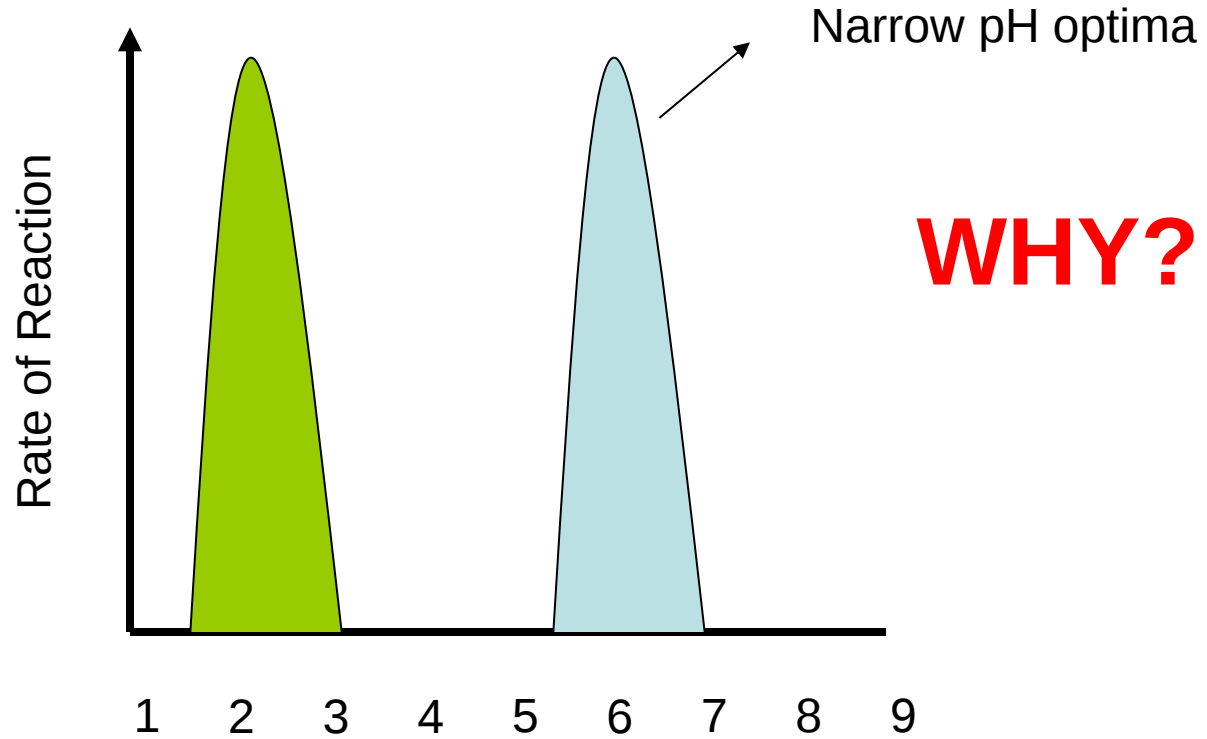
pH



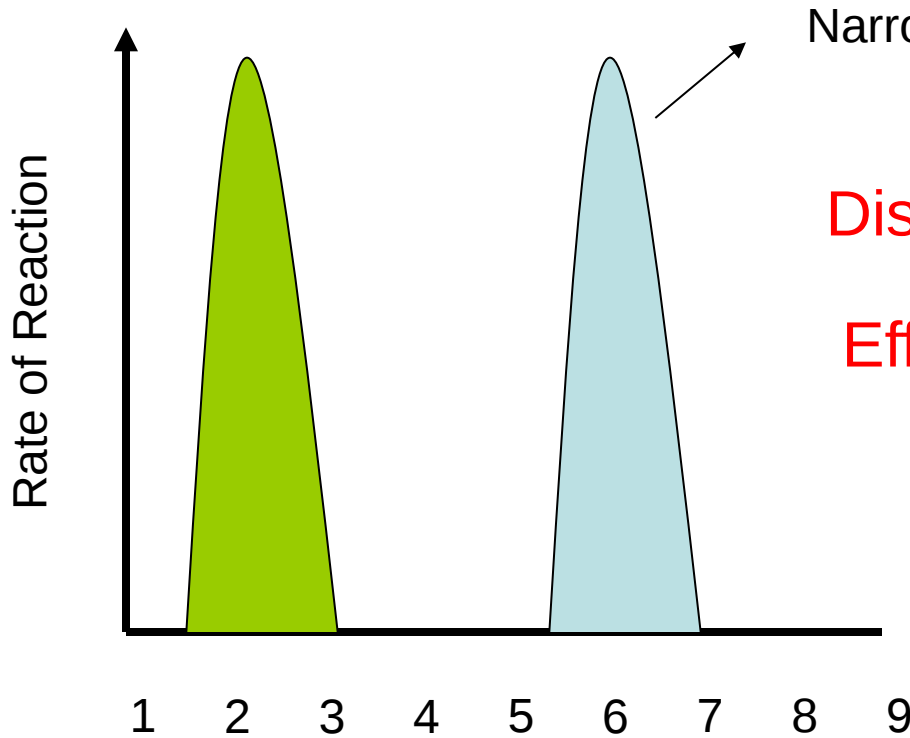
pH



pH



pH



Narrow pH optima

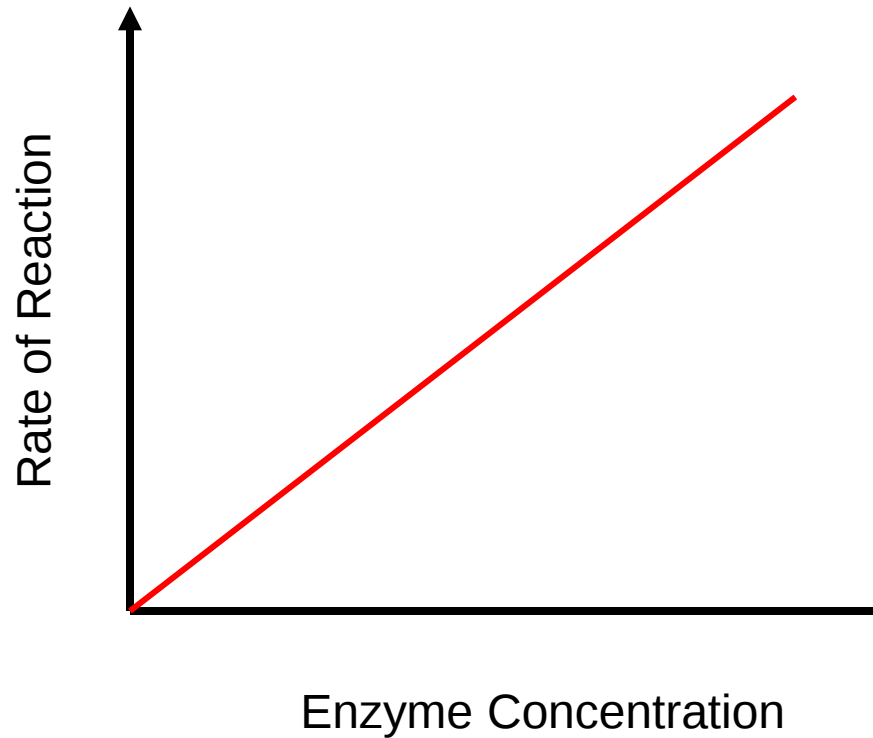
Disrupt Ionic bonds - Structure

Effect charged residues at active site

Enzyme Concentration



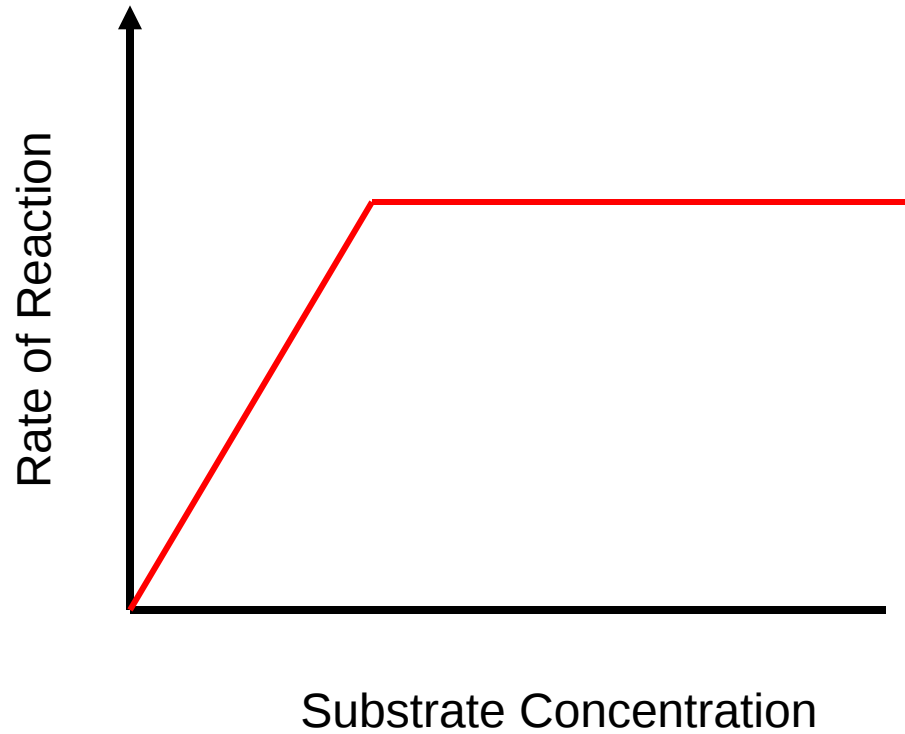
Enzyme Concentration



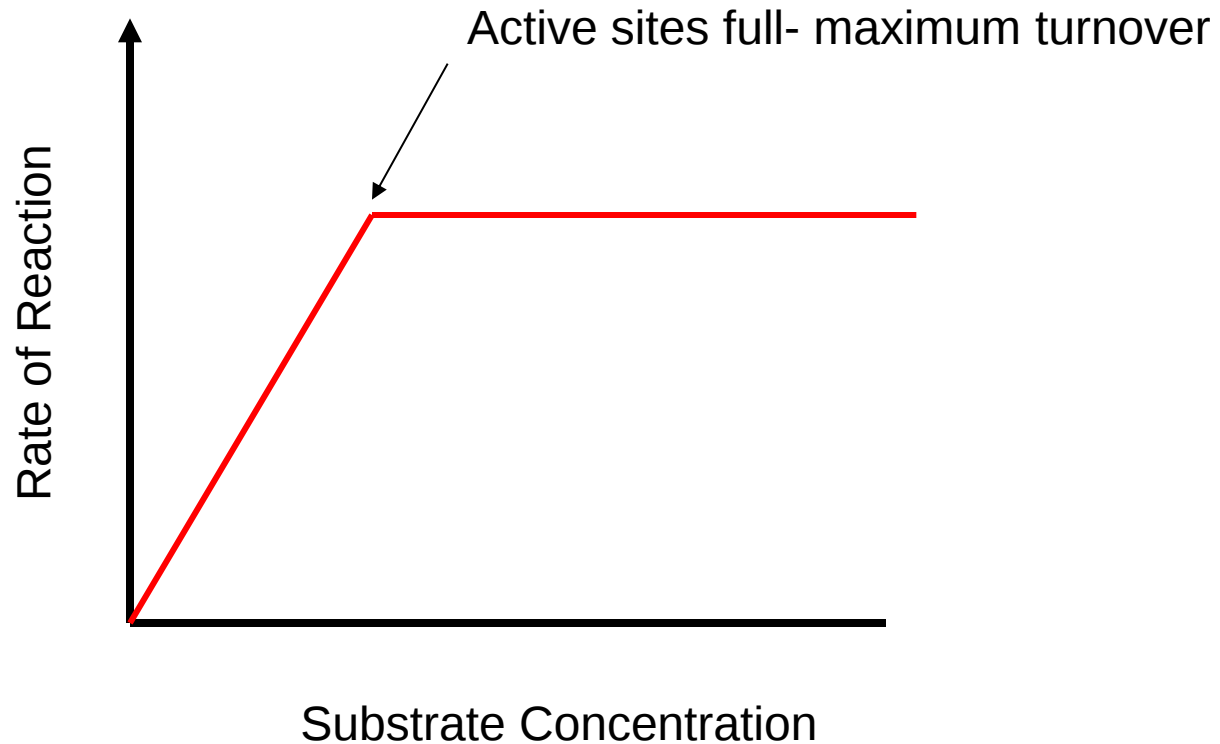
Substrate Concentration



Substrate Concentration



Substrate Concentration



효소의 실생활에서의 활용

- Washing powders
 - **lipase**: greasy stains
 - **protease**: eggs, blood
- Food industry 식혜
 - Fruit juices: using **pectinase**
 - 식혜: using **amylase**



효소의 방해제

① 불가역적 방해제

- 방해제는 효소에 공유결합으로 결합하거나 혹은 아주 단단하게 결합하여 해리하는 속도가 매우 느리다.
- 효소를 변화시키는 물질---> 영원히 효소의 활성을 지니지 못하게 한다.

예) DIPF :chymotrypsin의 방해제

malathion (살충제):Acetylcholinesterase 방해제

② 가역적 방해제

효소의 방해제

가역적 방해제

㉠ 경쟁적 방해제

기질의 모양과 비슷(구조적 유사성),
효소의 active site에 결합
상호 배제적

예) Succinate -----> fumarate
succinate DH (방해제:malonate)

㉡ 비경쟁적 방해제

방해제와 기질이 동시에 효소에 결합하여 방해
효소와 기질이 결합하는 자리가 다르다
효소의 전환수를 떨어뜨림

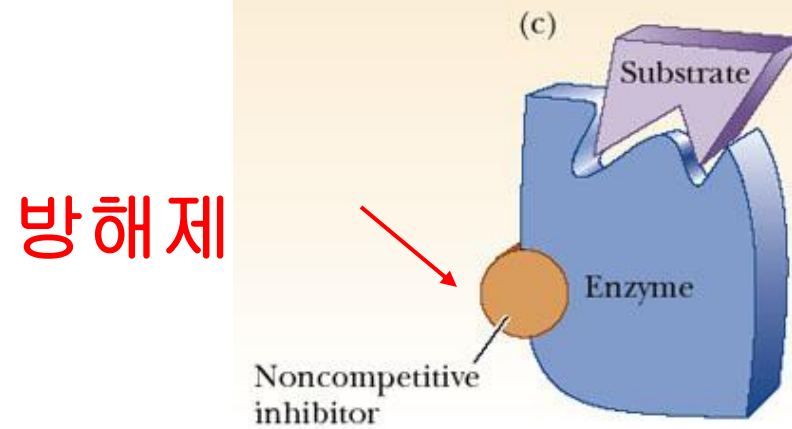
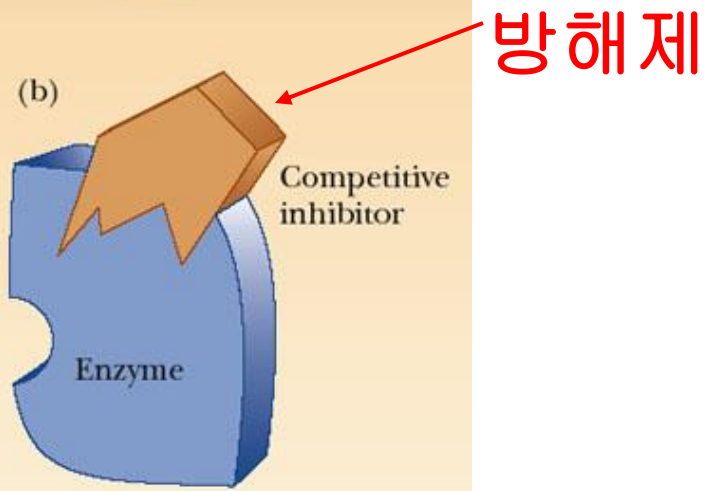
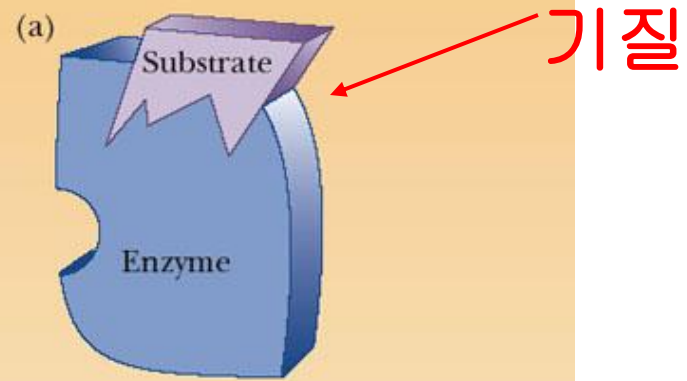


Fig. 6-11, p.146

경쟁적 방해제

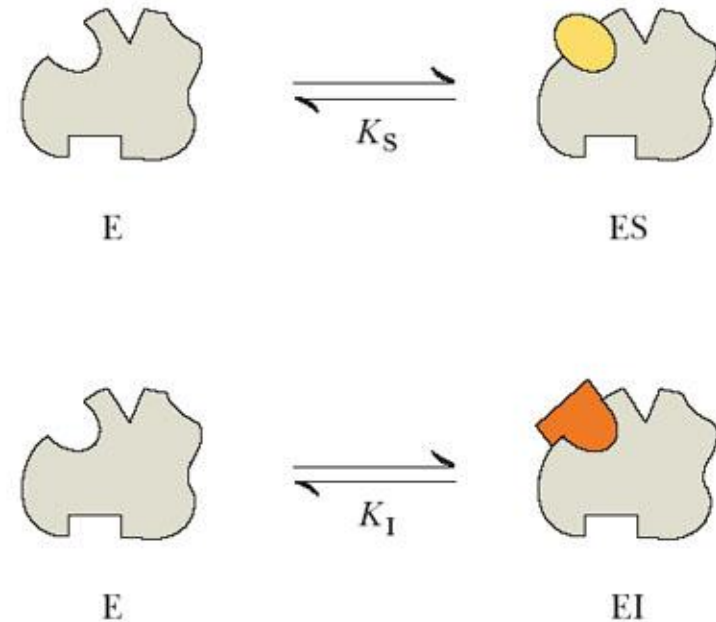
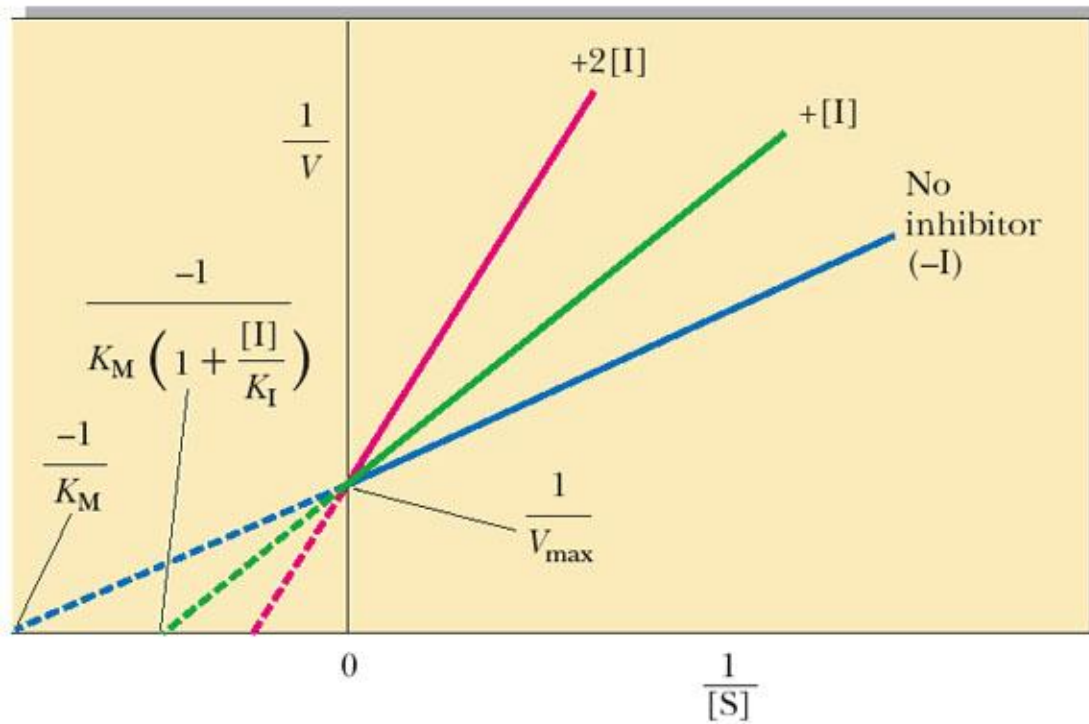
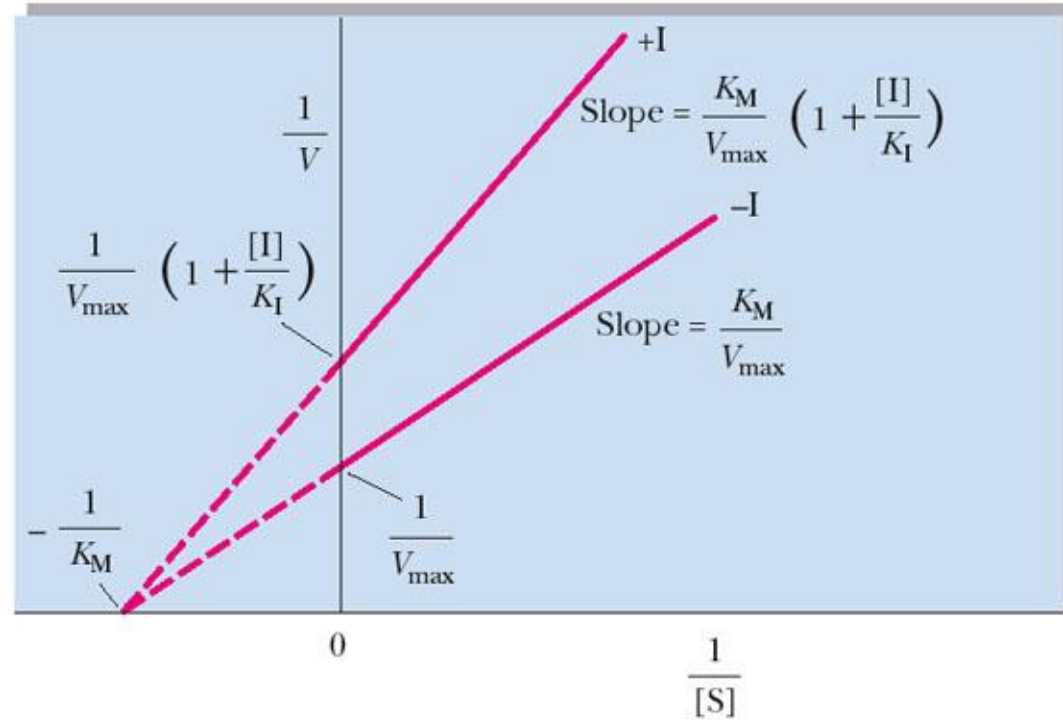
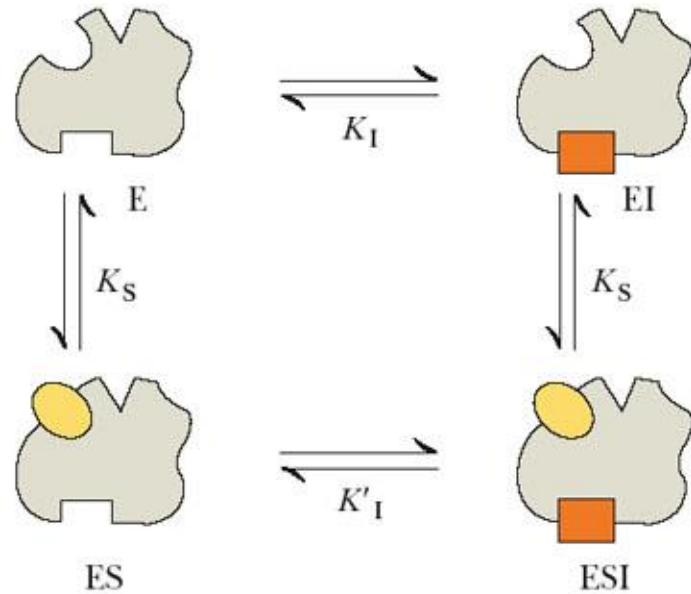
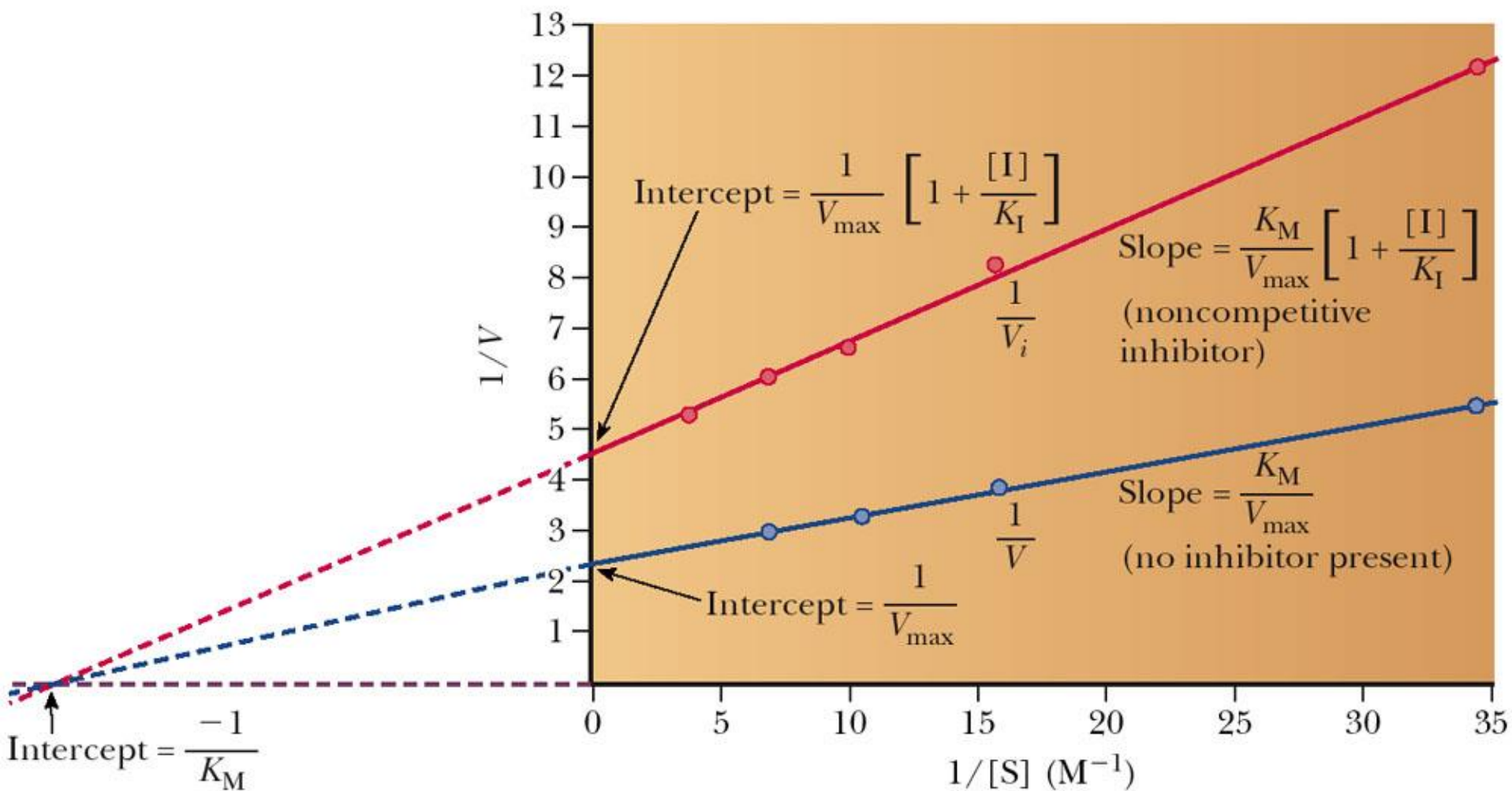


Fig. 6-12, p.148

비경쟁적 방해제



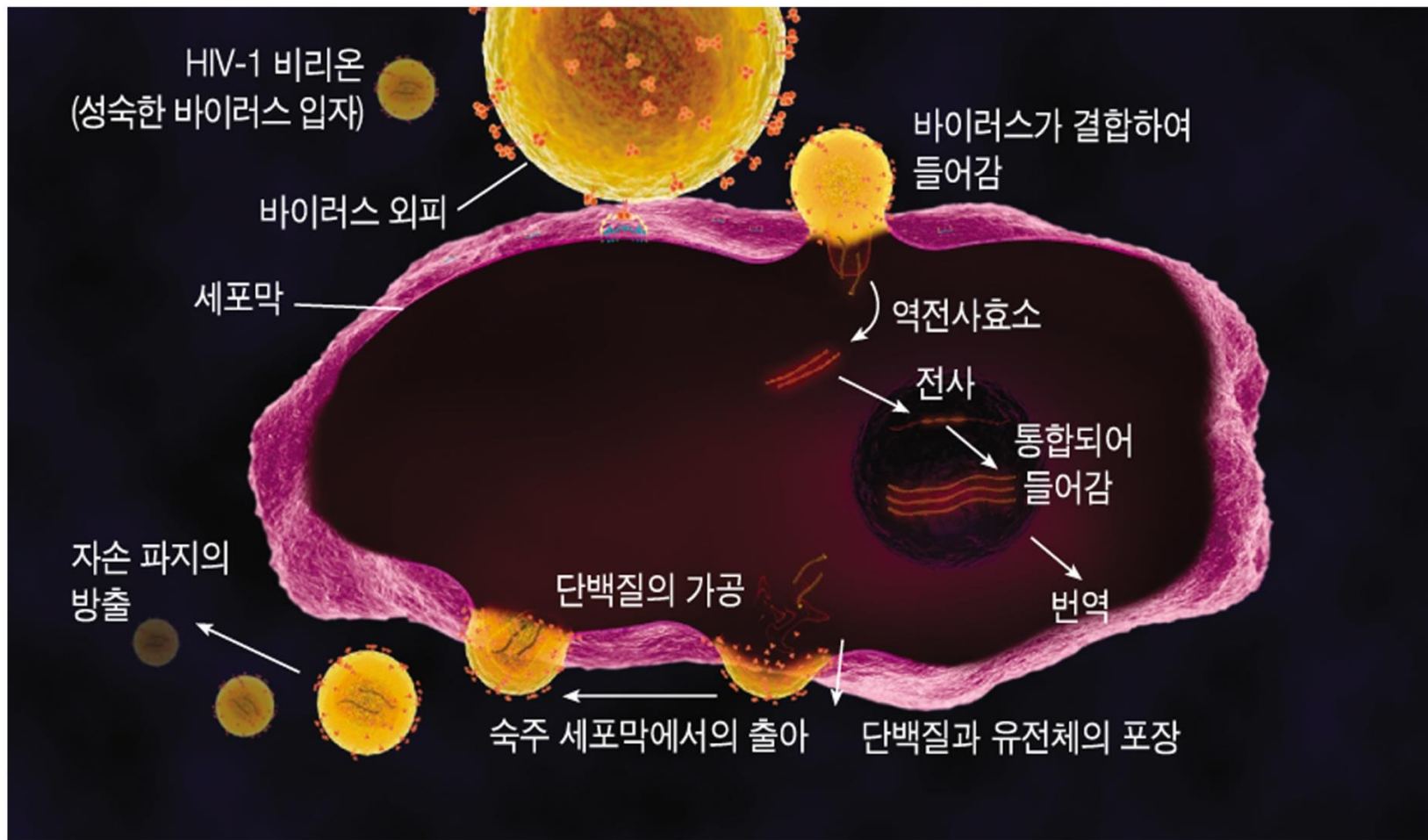


AIDS 치료제

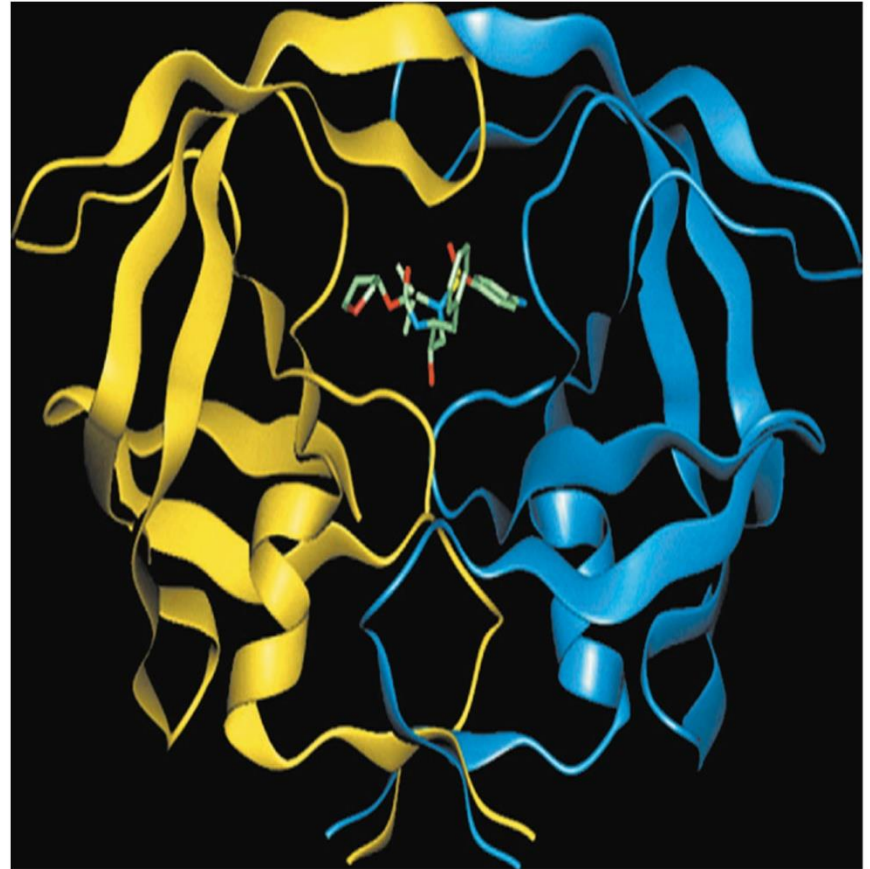
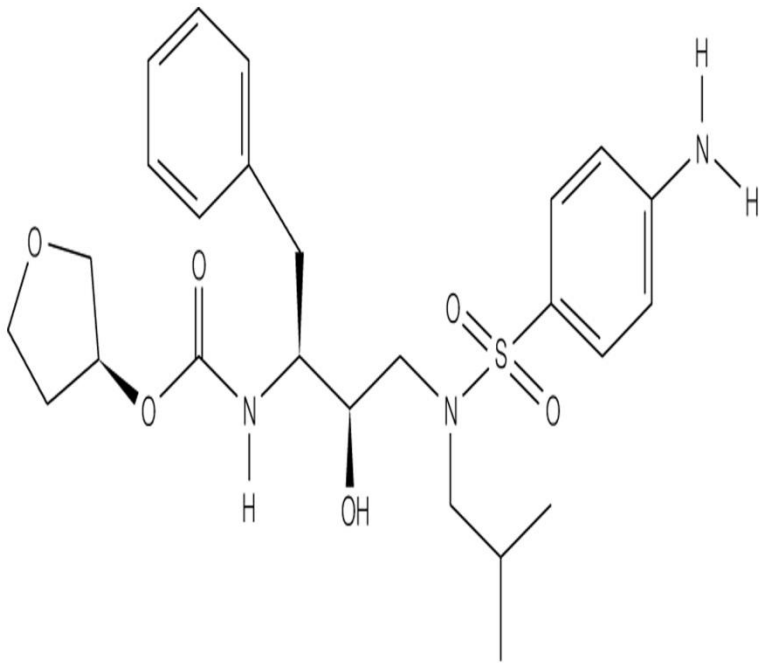
- AIDS를 유발하는 human immunodeficient virus(HIV)에만 있는 단백질을 방해하는 물질

예) HIV protease-새로운 virus 생성에 필요함

- HIV protease의 active site에 결합할 수 있는 물질을 고안하거나 합성하기 위해 노력 (경쟁적 방해제)
- Amprenavir(VX-478) by Vertex



세포가 HIV에 감염된 시기부터 세 가지 주요 효소들이 바이러스의 복제에 관여한다.

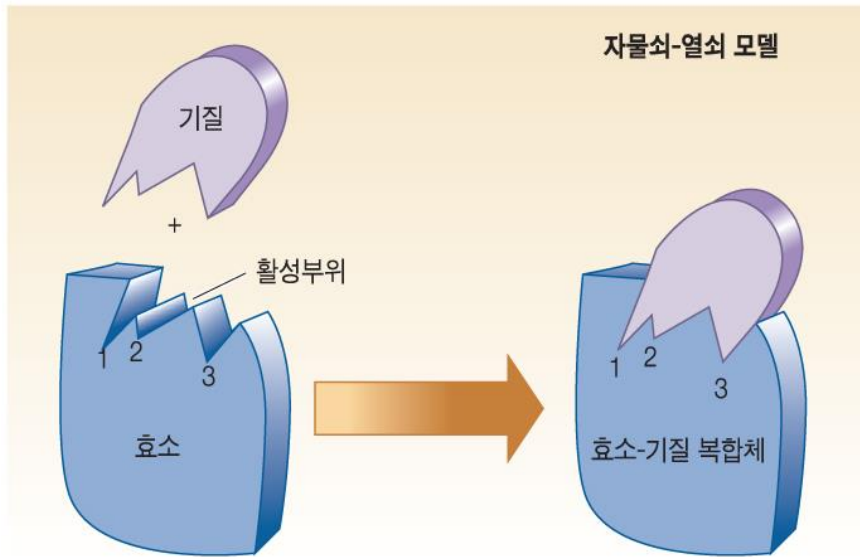


버텍스 제약회사(Vertex Pharmaceuticals, Inc.)에서 개발한 HIV 단백질분해효소 저해제인 아프레나비어(VX-478)와 활성부위에 결합한 모습.

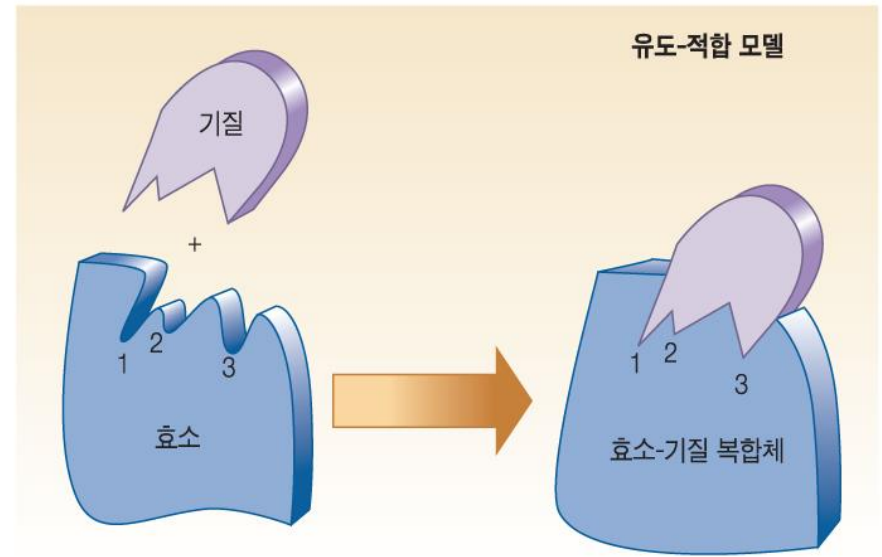
효소의 촉매 mechanism

(기질은 어떻게 효소에 결합하는가?)

- ① Approximation (접근)
 - ② Orientation (방향잡기)
 - ③ Strain and distortion
 - General acid–base catalysis
 - Covalent catalysis
 - Metal ion catalysis
- (1/3 이상의 효소가 금속 이온을 필요로 한다)



A 자물쇠-열쇠 모델에서는 기질의 모양과 활성부위의 입체구조가 서로 상보적이다.



B 유도-적합 모델에서는 효소가 기질과 결합하면 효소에 입체구조의 변화가 일어난다. 기질이 효소에 결합한 후에만 활성부위 모양이 기질의 모양과 상보적으로 된다.

그림 6.3 효소에 기질이 결합하는 것에 대한 두 가지 모델.

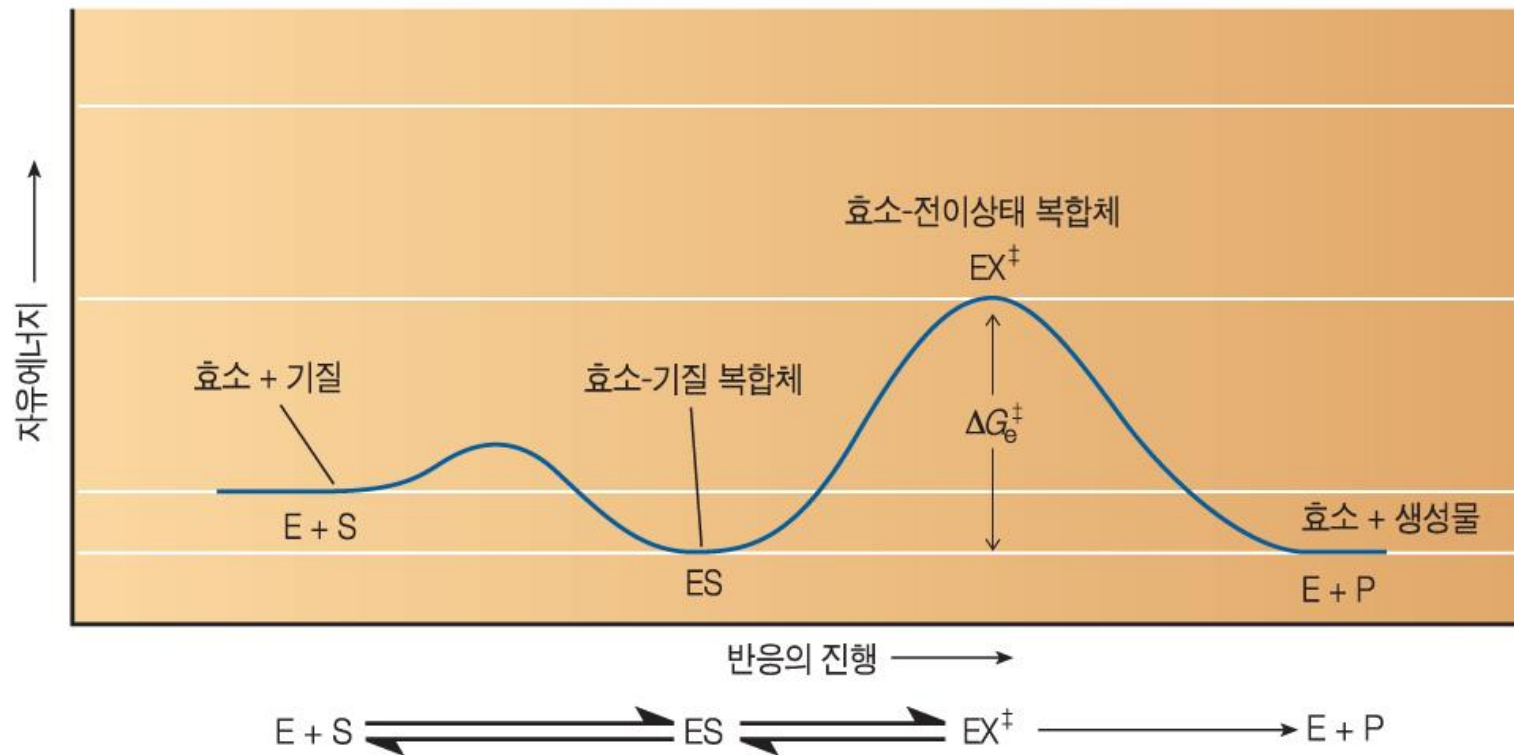
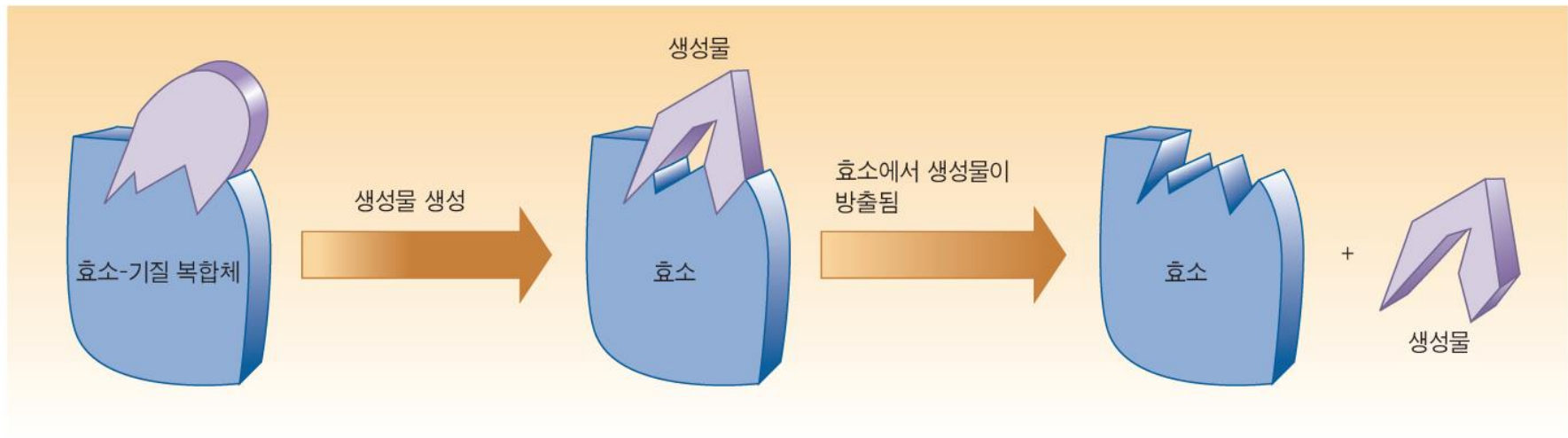


그림 6.4 기질이 효소와 강하게 결합하여 효소-기질 복합체를 이루는 반응의 활성화 자유에너지 도표.



▼ **그림 6.5** 효소에 결합되어 있는 기질에서 생성물이 생성되고 이어서 방출된다. (참조: GARRETT/GRISHAM, Biochemistry, 4E. © 2009 Cengage Learning.)

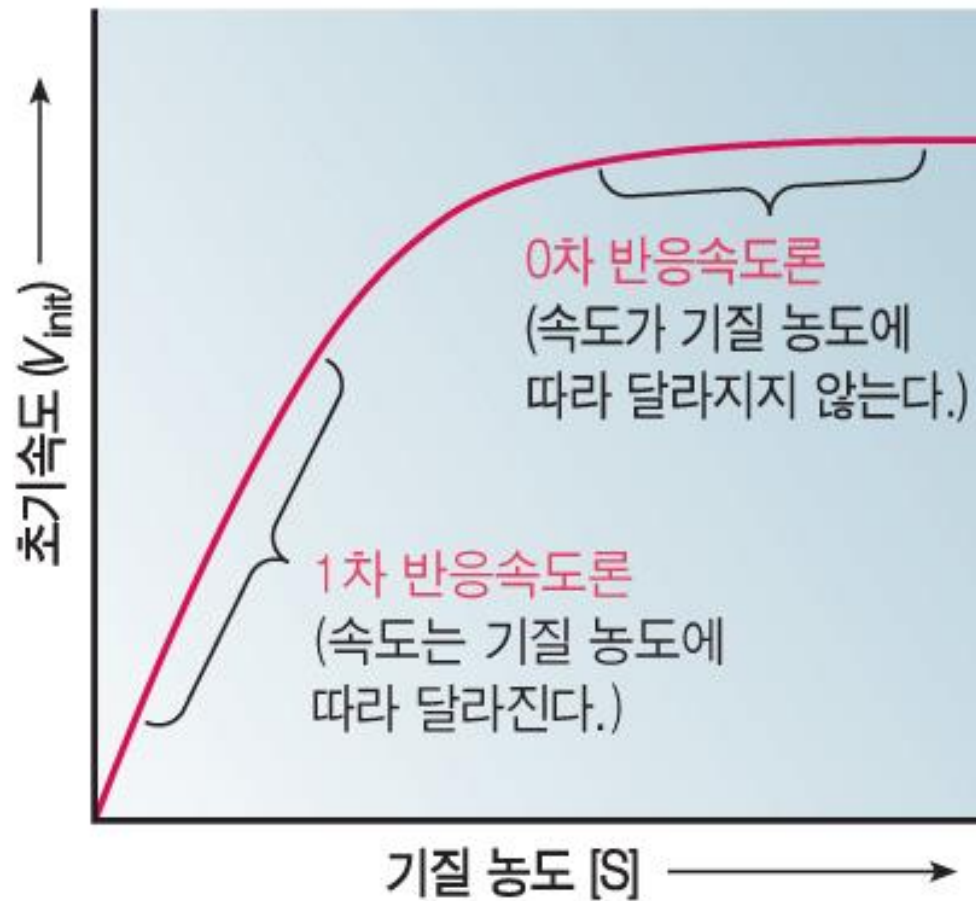


그림 6.6 효소 반응속도와 관찰된 반응속도론은 기질 농도에 따라 달라진다. 효소 농도 $[E]$ 는 일정하다.

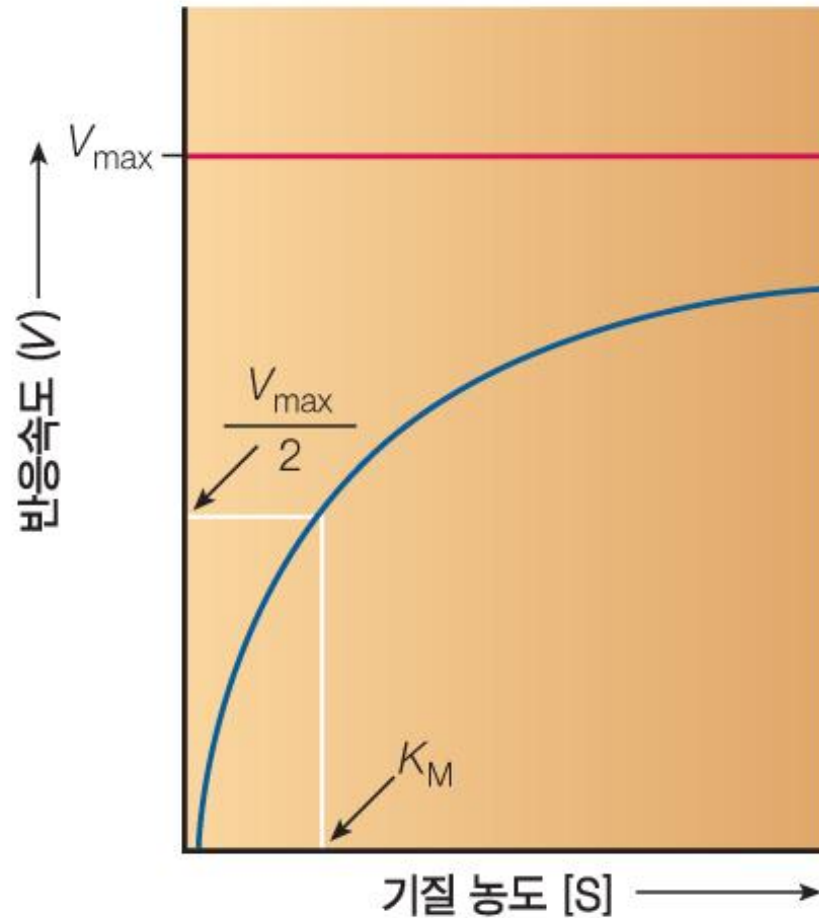


그림 6.7 기질 농도 $[S]$ 에 대한 반응속도 V 의 도표를 이용하여 그래프 상에서 $V_{\max}$ 와 K_M 결정하기. $V_{\max}$ 는 효소가 기질로 완전히 포화되었을 때 도달되는 일정한 속도인데, 이 값은 종종 이런 그래프로부터 산정해야 하는 값이다.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{\max}}$$

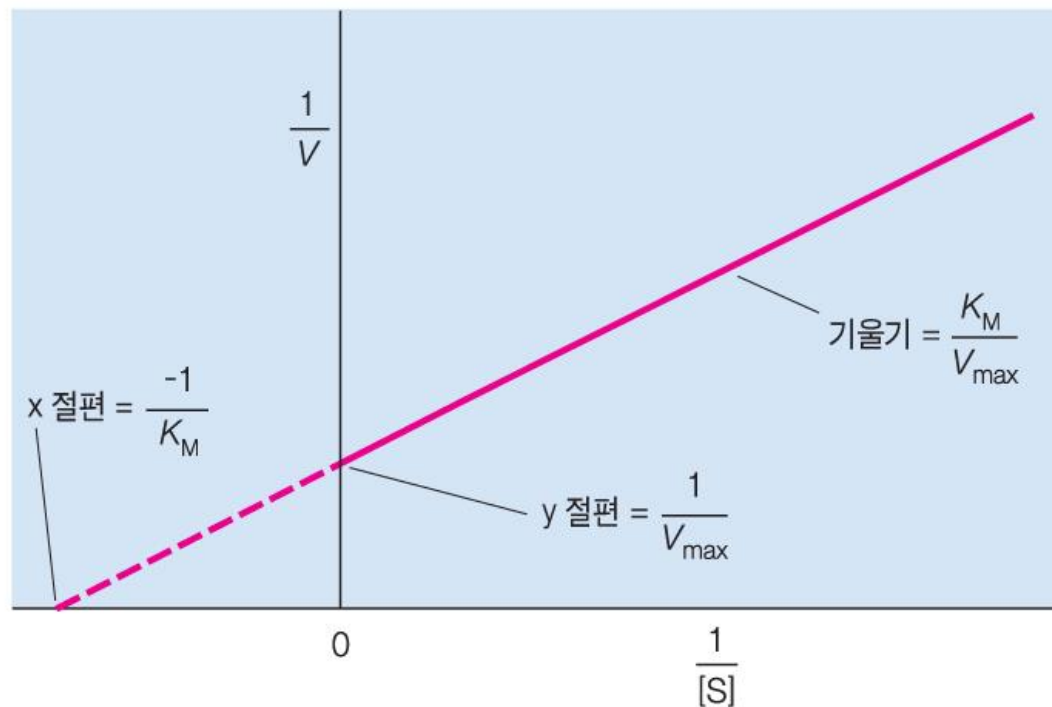


그림 6.8 효소 반응속도론의 라인위버-버크 이중역수 도표. 반응속도의 역수 $1/V$ 을 기질 농도의 역수 $1/[S]$ 에 대해 그래프로 나타냈다. 직선의 기울기는 $K_M/V_{\max}$ 이고 y 절편은 $1/V_{\max}$ 이다. x 절편은 $-1/K_M$ 이다.

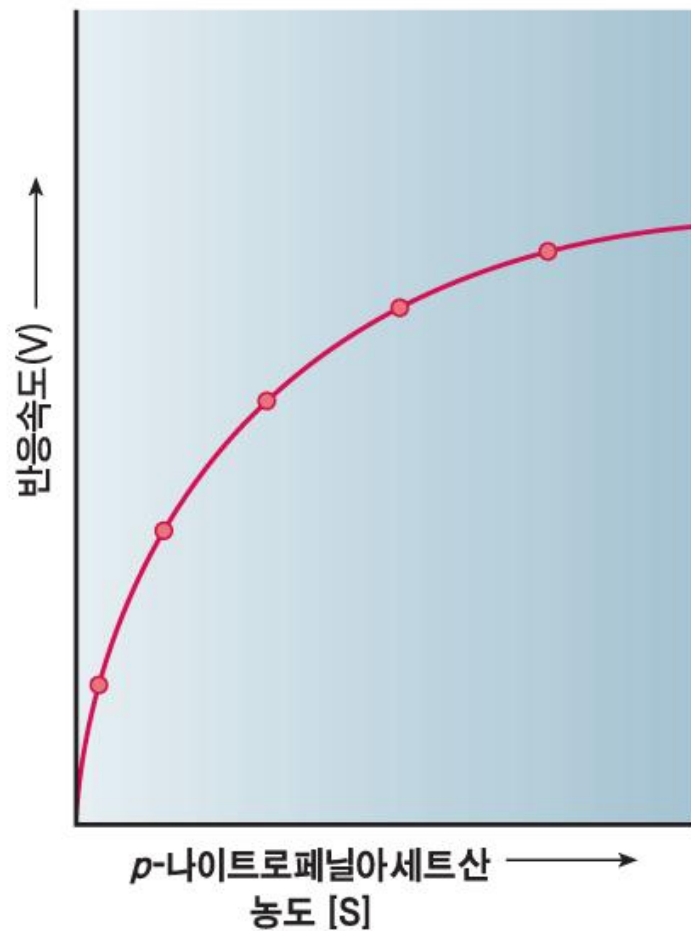


그림 6.9 카이모트립신에 의해 촉매되는 반응에서, 반응 속도 V 는 *p*-나이트로페닐아세트산의 농도 $[S]$ 에 따라 달라진다. 곡선의 모양은 쌍곡선이다.

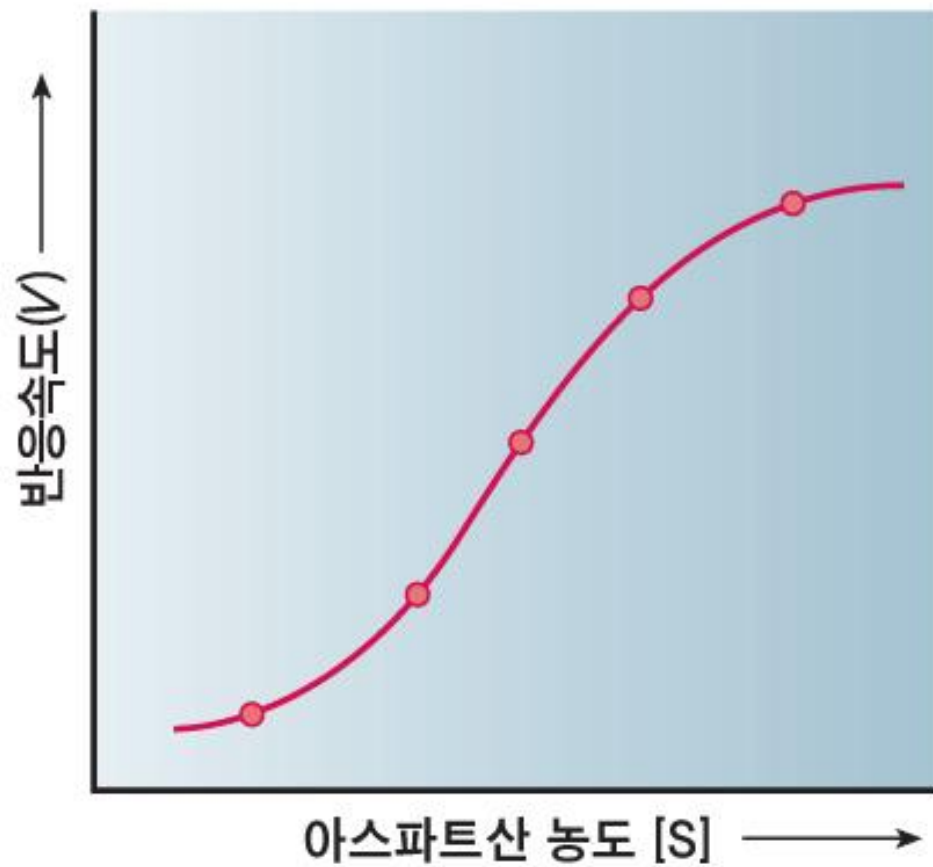


그림 6.10 아스파르트산 카바모일전이효소에 의해 촉매되는 반응에서, 반응속도 V 는 아스파르트산의 농도 $[S]$ 에 따라 달라진다. 곡선의 모양은 S자형이다.

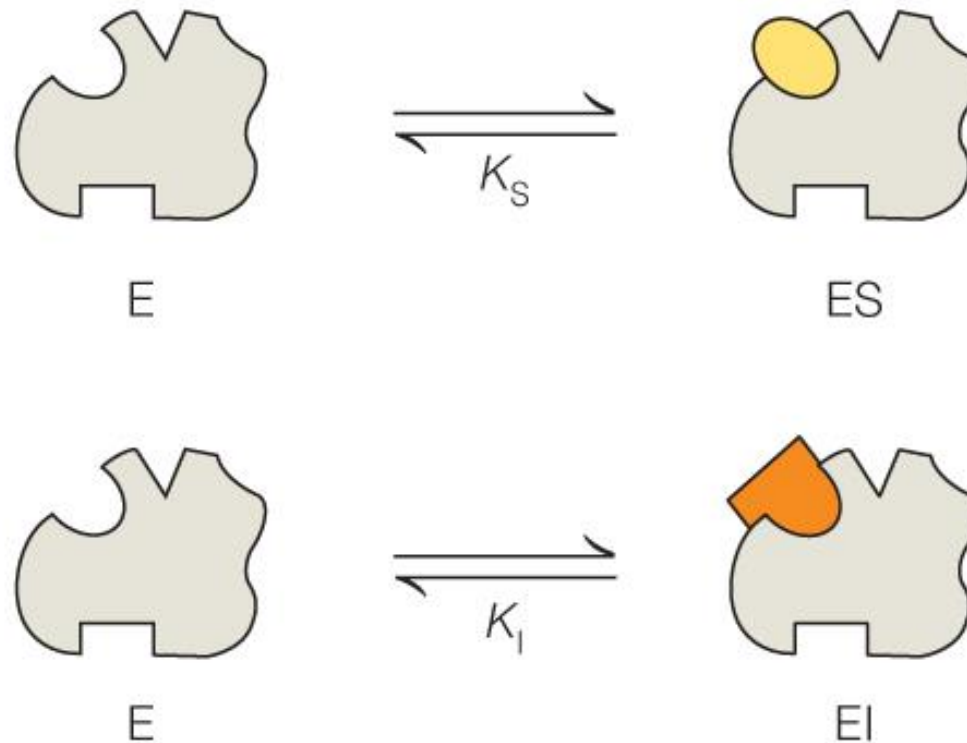


그림 6.11 경쟁적 저해에서 기질이나 저해제가 효소에 결합하는 것에 대한 두 가지 가능성. 어느 하나가 결합하면 다른 하나는 결합하지 못한다. (참조: Campbell/Ferrell, Biochemistry, 7E. © 2012 Cengage Learning.)

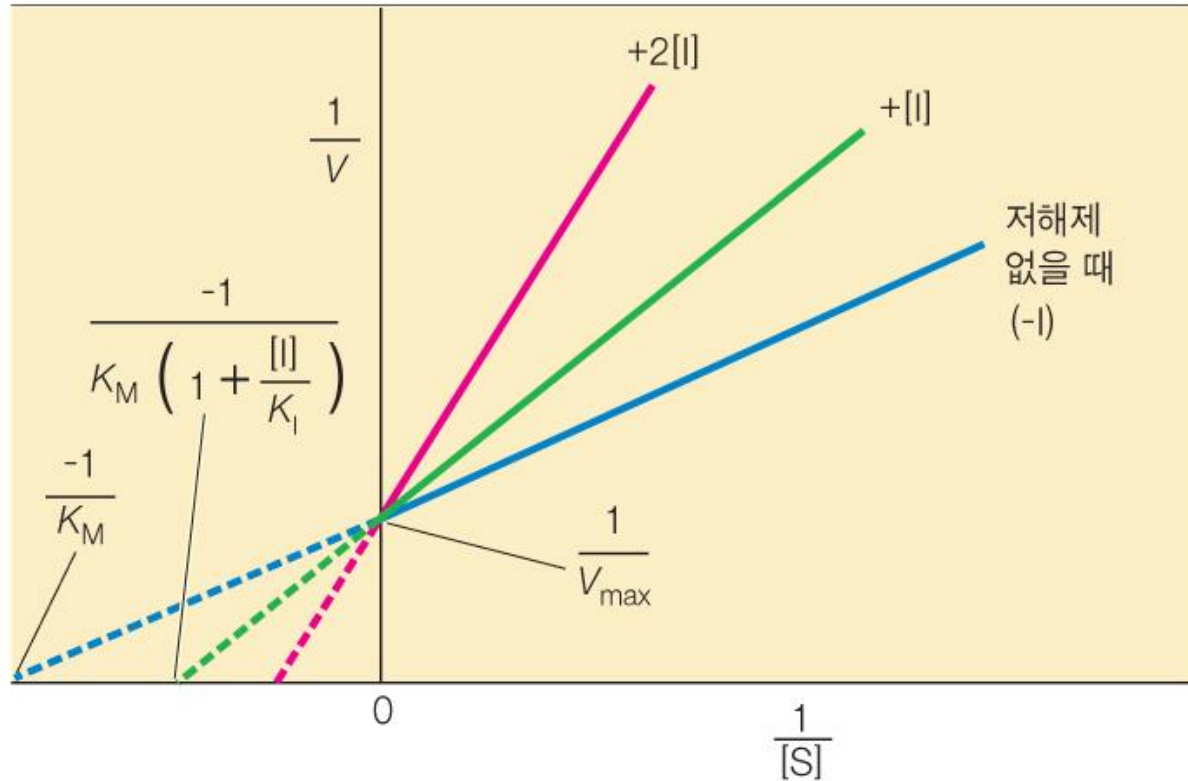


그림 6.12 경쟁적 저해에 대한 효소 반응속도론을 나타낸 라인위버-버크 이중역수 도표. (참조: Campbell/Ferrell, Biochemistry, 7E. © 2012 Cengage Learning.)

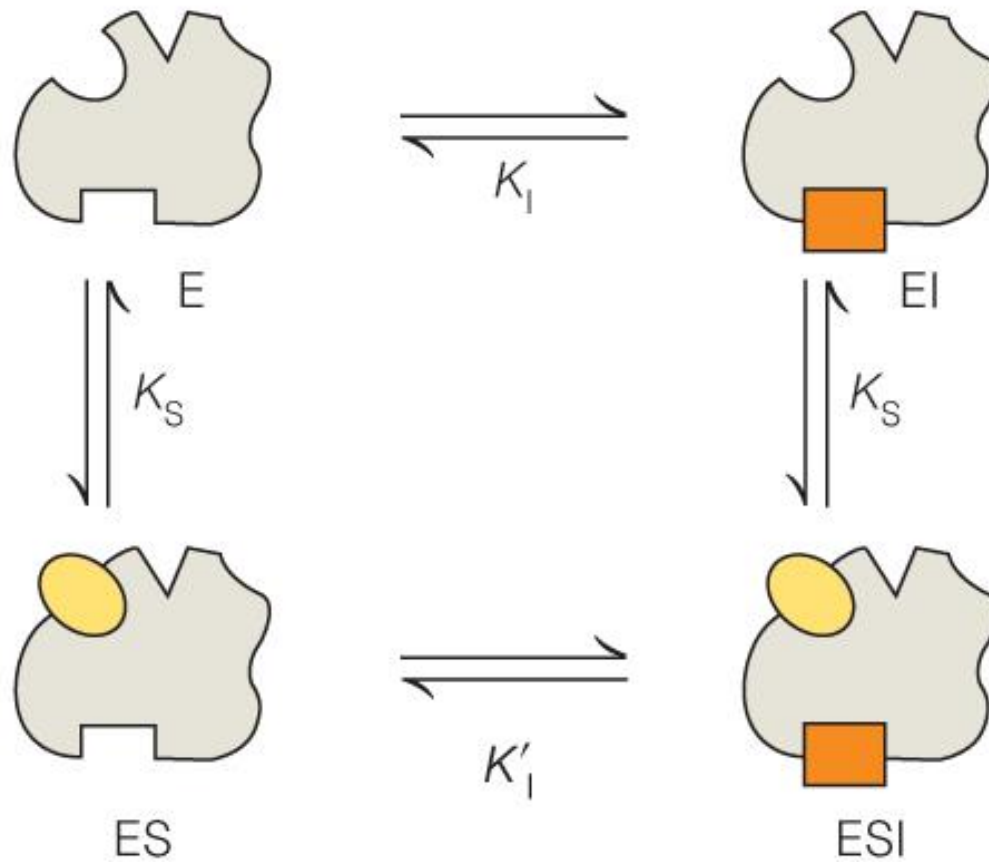


그림 6.13 무경쟁적 저해에서 기질과 저해제가 효소에 결합하는 것의 본질.

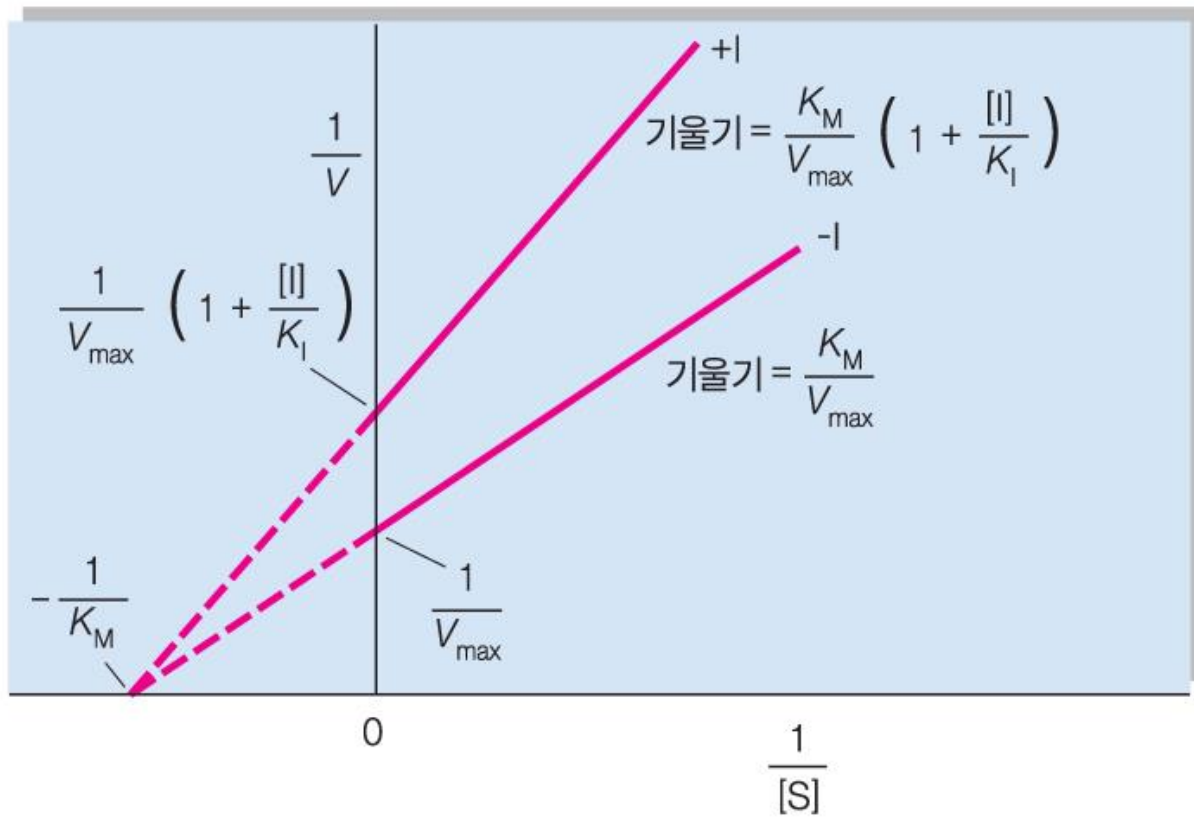


그림 6.14 무경쟁적 저해에 대한 효소 반응속도론을 나타낸 라인워버-버크 이중역수 도표.

$$K_i < K_i'$$

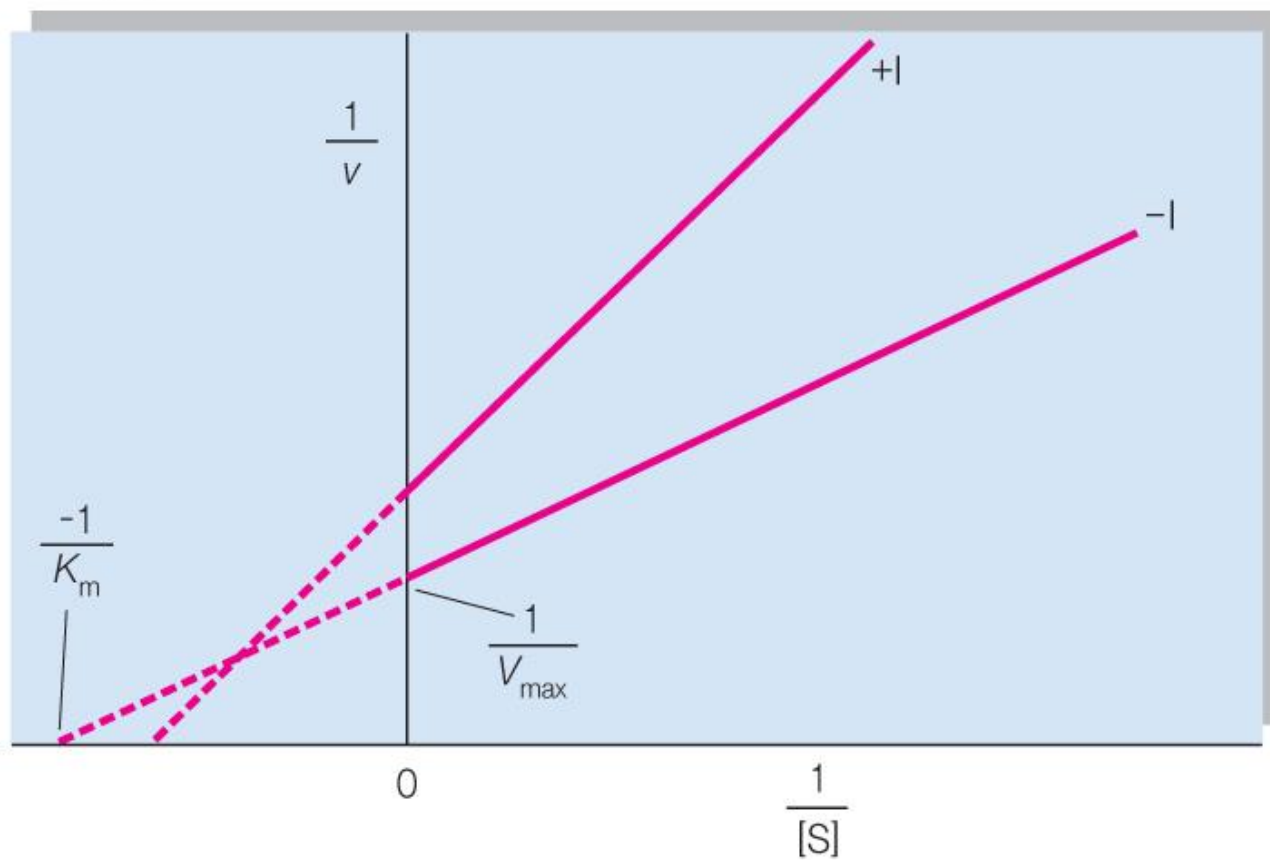


그림 6.15 혼합형 무경쟁적 저해에 대한 효소 반응속도론을 나타낸 라인위버-버크 이중역수 도표.

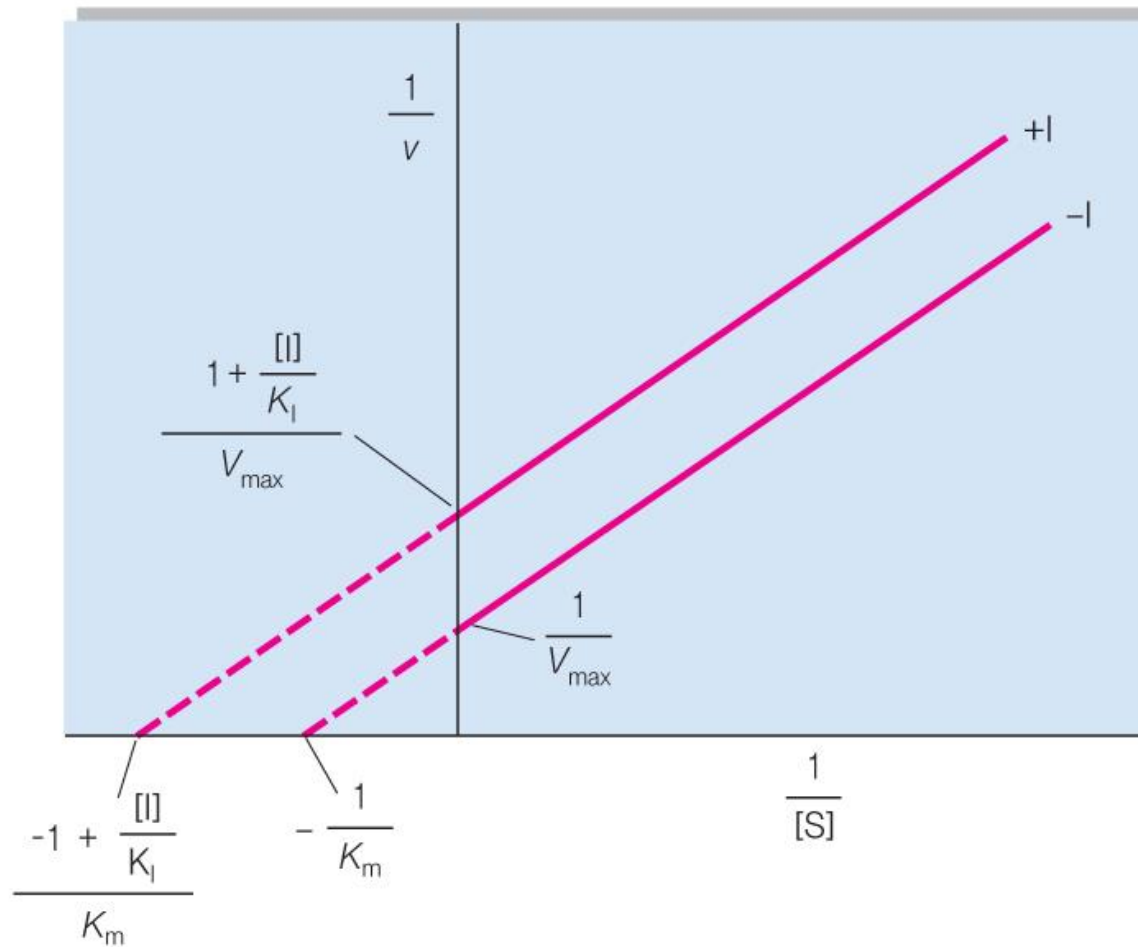
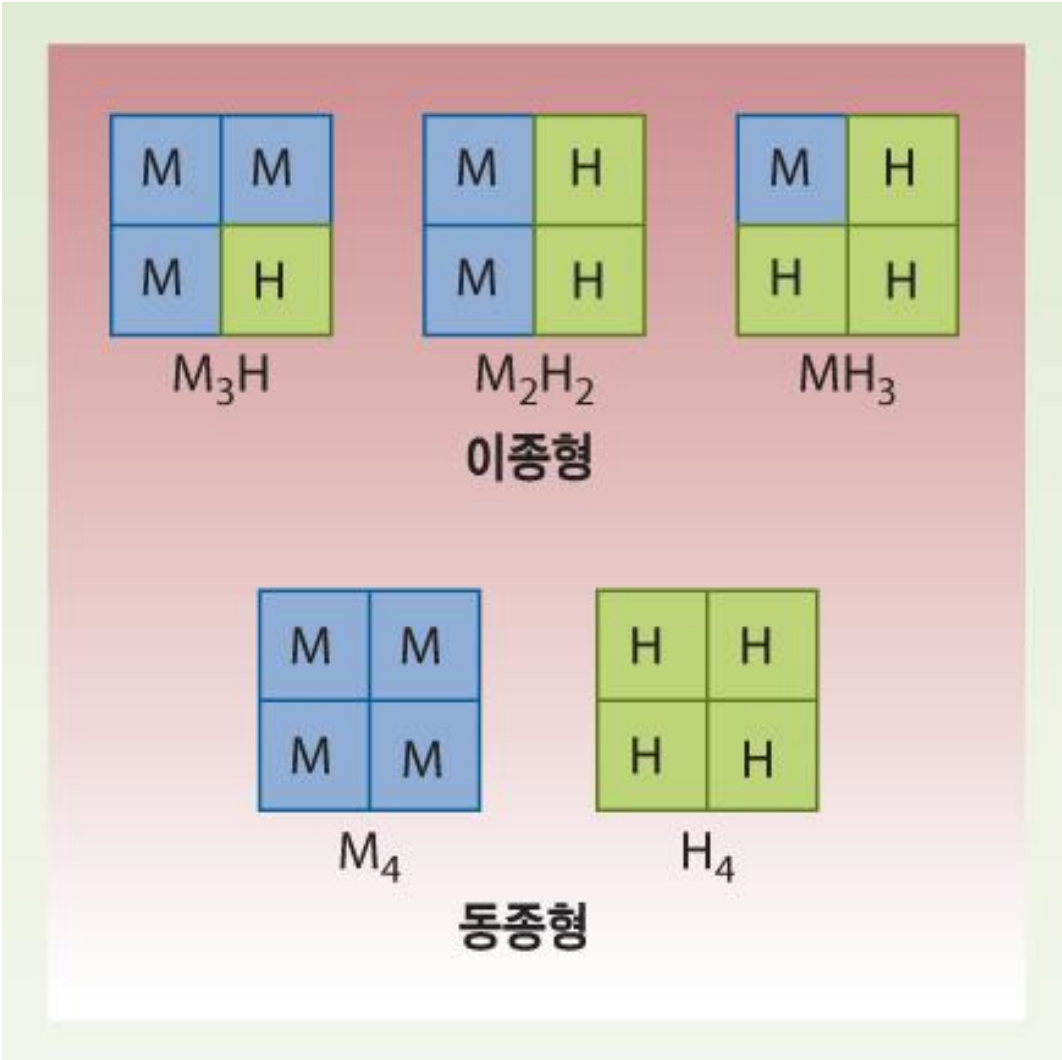
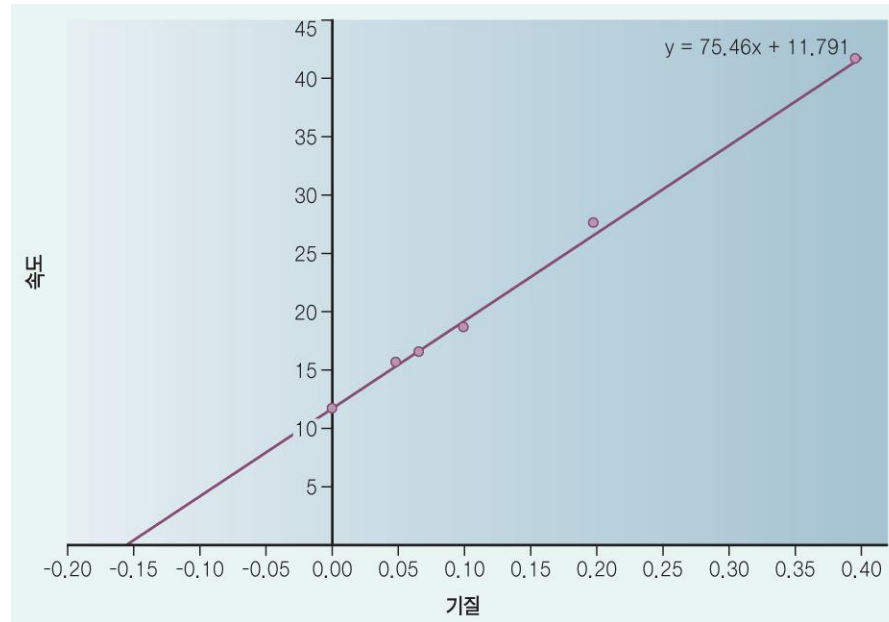
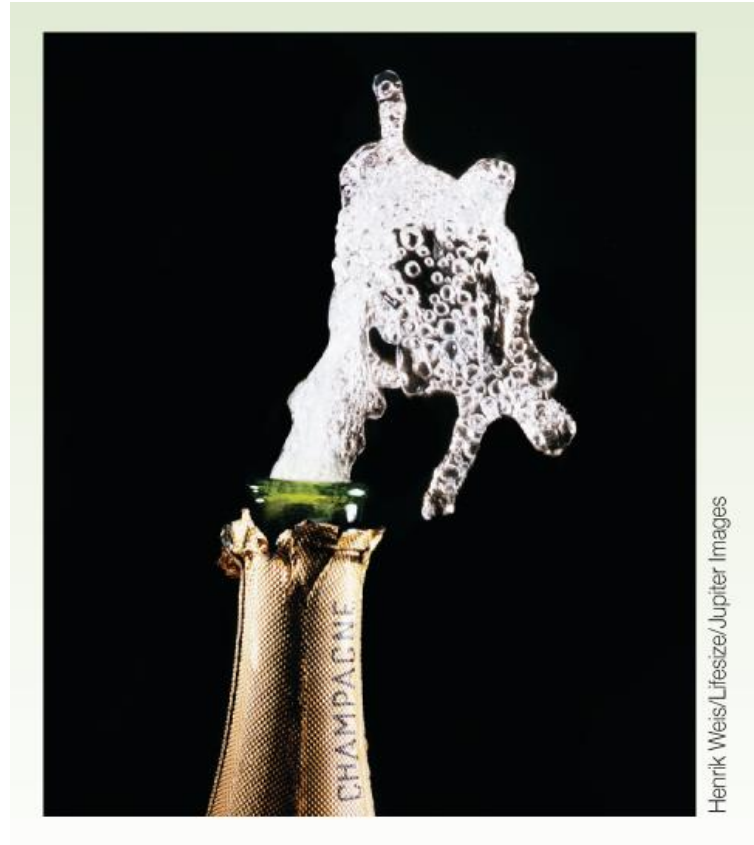


그림 6.16 비경쟁적 저해에 대한 효소 반응속도론을 나타낸 라인위버-버크 이중역수 도표. (참조: 다음 문헌의 그림 13.16 Campbell/Ferrell, Biochemistry, 4E. © 2009 Cengage Learning.)



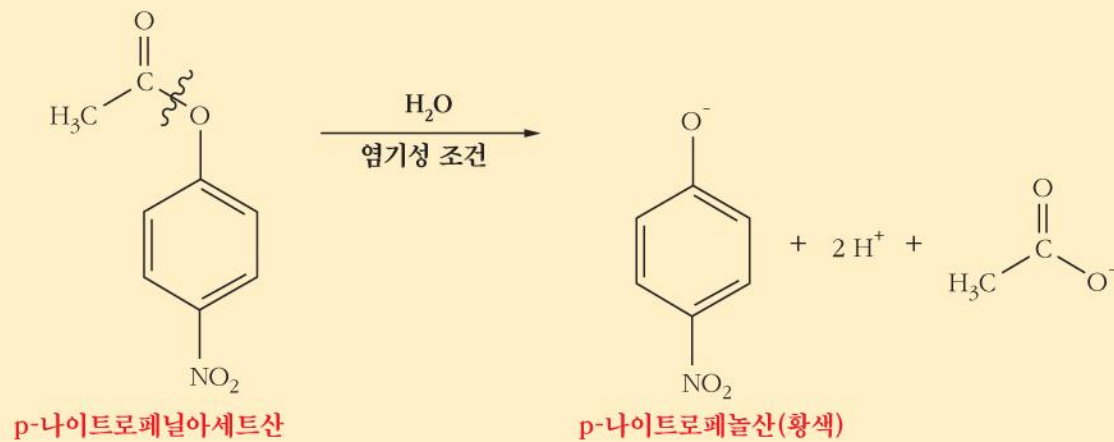
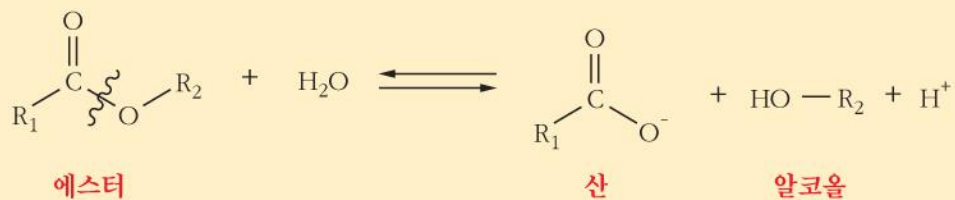
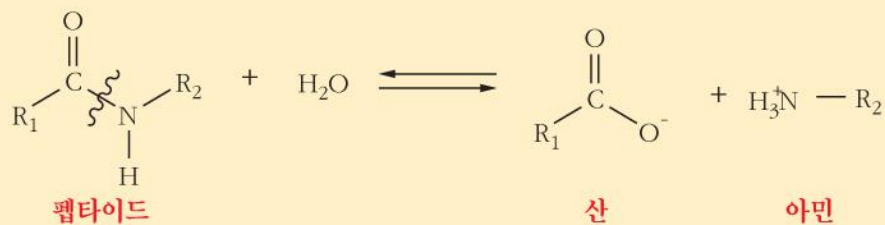
144 6장 단백질의 작용 양상: 효소

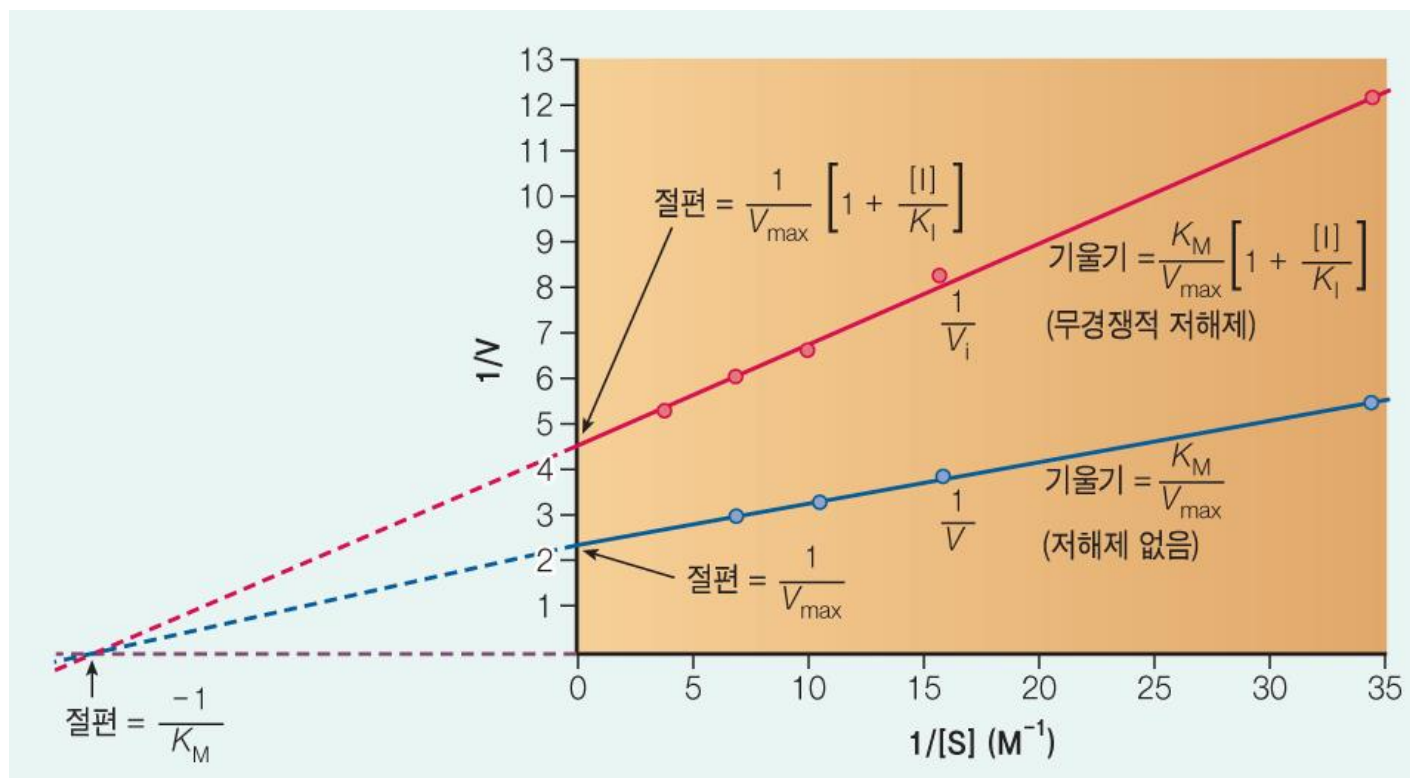




Henrik Weis/Lifesize/Jupiter Images

카이모트립신에 의한 촉매반응







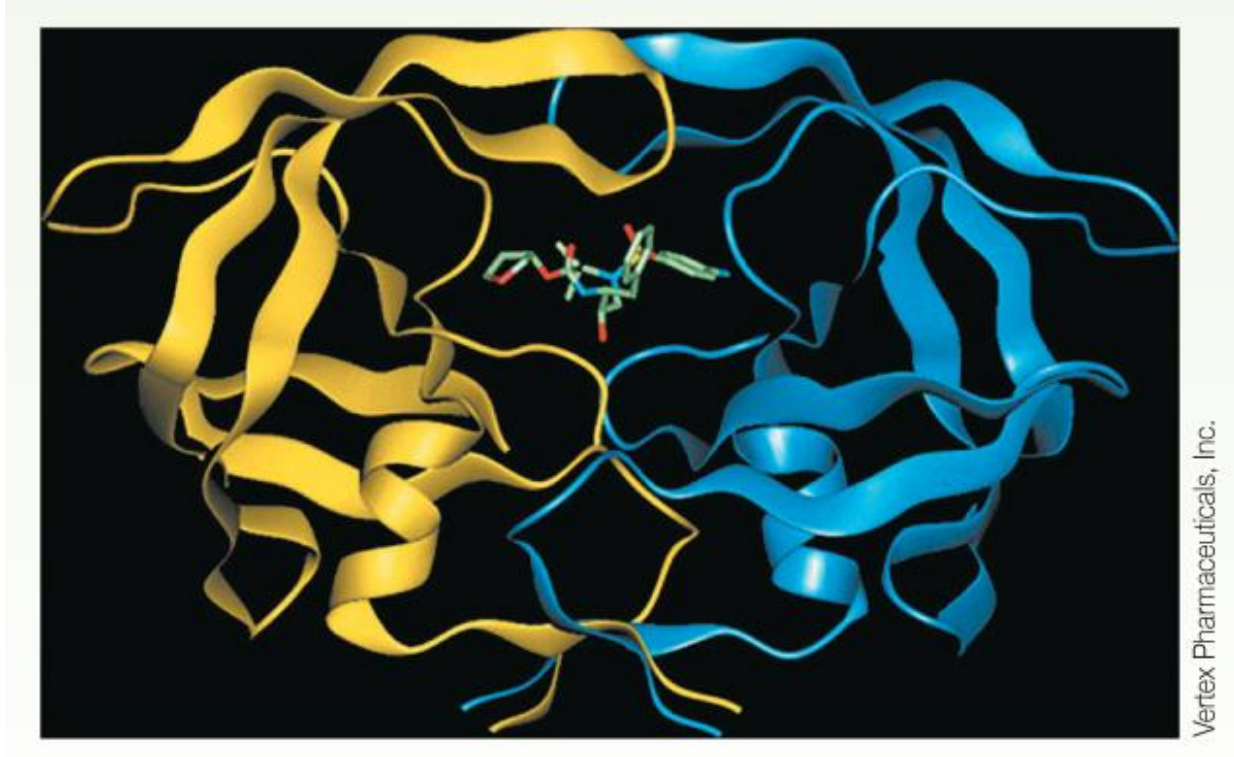


표 6.1 촉매에 의한 과산화수소 분해반응의 활성화 에너지 감소

반응조건	활성화 자유에너지		상대속도
	kJ mol^{-1}	kcal mol^{-1}	
촉매 없음	75.2	18.0	1
백금 표면	48.9	11.7	2.77×10^4
카탈레이스	23.0	5.5	6.51×10^8

상대속도는, 37°C에서 비촉매반응의 속도를 1이라 하고, 이에 대한 상대값을 임의의 단위로 나타냈다.

표 6.2 대표적인 몇 가지 효소의 전환수와 K_M

효소	기능	k_{cat} = 전환수*	K_M **
카탈레이스(Catalase)	H_2O_2 를 H_2O 와 O_2 로 전환	4×10^7	25
탄산탈수효소 (Carbonic Anhydrase)	CO_2 의 수화	1×10^6	12
아세틸콜린에스테레이스 (Acetylcholinesterase)	신경자극 전달의 중요한 물질인 아세틸콜린을 아세트산과 콜린으로 부터 재생함	1.4×10^4	9.5×10^{-2}
카이모트립신 (Chymotrypsin)	단백질분해효소	1.9×10^2	6.6×10^{-1}
라이소자임(Lysozyme)	세균 세포벽 다당류의 분해	0.5	6×10^{-3}

* 전환수의 정의는 1초당 그리고 효소 1몰당 생성물로 전환되는 기질의 몰수이며 단위는 초⁻¹(sec⁻¹)이다.

** K_M 의 단위는 밀리몰(mM)이다.