

단백질의 작용 양상: 효소

6

BIO

STEM

강의내용

1. 효소란 무엇인가?
2. 효소의 분류
3. 효소의 명명법
4. 효소운동론
5. 알로스테릭 효소의 촉매반응
6. 효소 활성에 영향을 미치는 요인
7. 효소의 실생활에서의 활용
8. 효소의 저해제

1. 효소란 무엇인가?

- ① 단백질이다 .
- ② 촉매 (catalyst)다
- ③ 특이성을 가진 물질이다.

1. 효소란 무엇인가?

① 효소는 단백질이다.

- 비단백성분은 단백질의 활성부위에 결합되어 있다.
- 활성 부위란 기질과 반응하는 장소 (결합 부위)
- 비단백성분 = 보결분자단 (prosthetic group)
 - 보조효소 (coenzyme) - 비타민
 - 보조인자 (cofactor) – Fe, Zn, Cu
- Apoenzyme (결손효소) : 비단백성분이 없는 효소
- Holoenzyme (완전효소) = 결손효소 + 비단백성분

1. 효소란 무엇인가?

② 촉매 (catalyst): 생명체 내부의 화학반응을 매개하는 물질



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

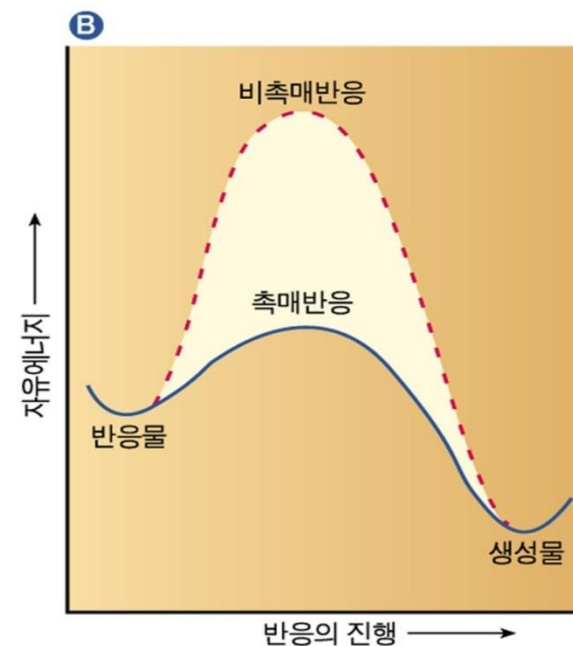
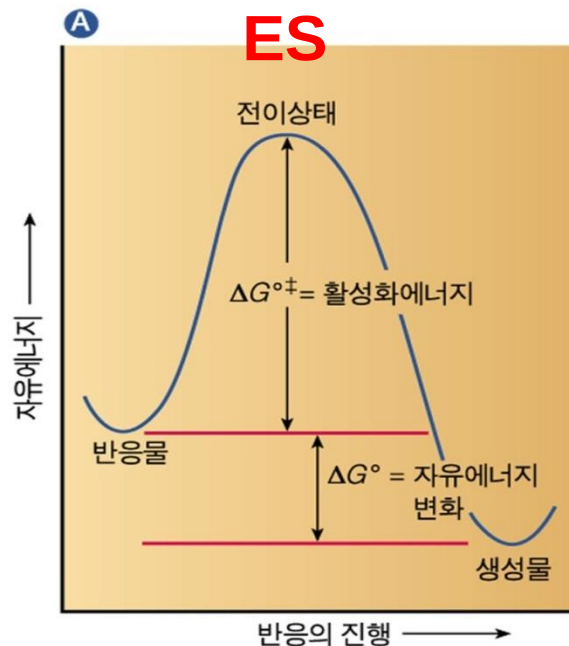
기질과 결합하여 효소-기질 복합체를 형성함으로써 반응의 활성화 에너지를 낮추어 반응이 일어나기 쉽게 한다

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



활성화 에너지와 전이상태

- 활성화 에너지란 반응물을 전이상태로 만드는데 필요한 에너지
- 전이상태란 반응물이 생성물로 전환되기 위해 모양을 바꾼 상태
- 활성화 에너지가 낮을수록 반응의 속도가 빨라진다.
- 표준 자유에너지 변화: 반응물 에너지와 생성물 에너지의 차이



효소는 활성화 에너지를 낮추어 반응속도를 촉진시킨다

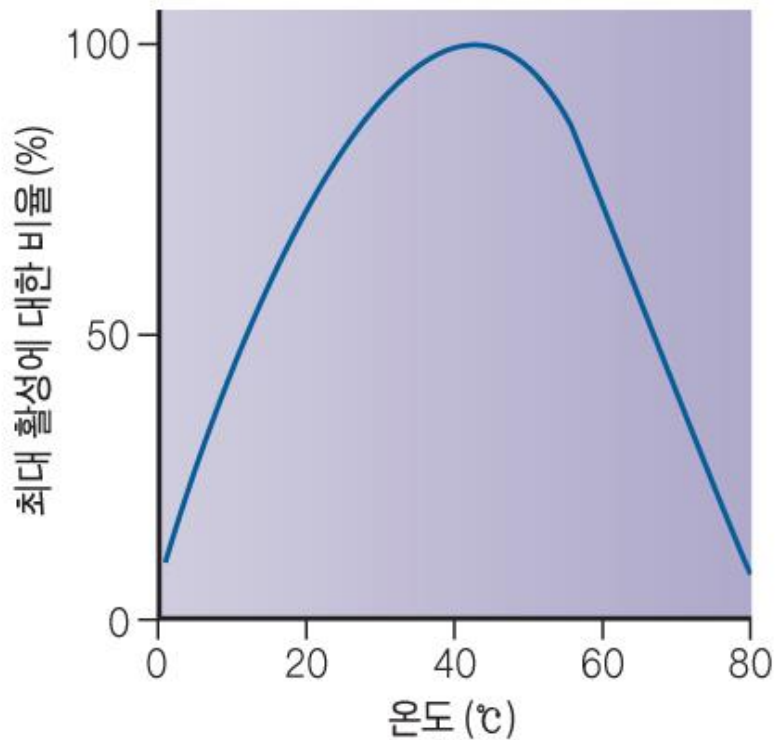


표 6.1 촉매에 의한 과산화수소 분해반응의 활성화 에너지 감소

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.

온도를 올리면 반응속도는 빨라진다



- 온도를 상승시키면 사용할 수 있는 에너지가 많아진다.
- 온도가 지나치게 높아지면 효소가 변성되어 반응속도가 느려진다.

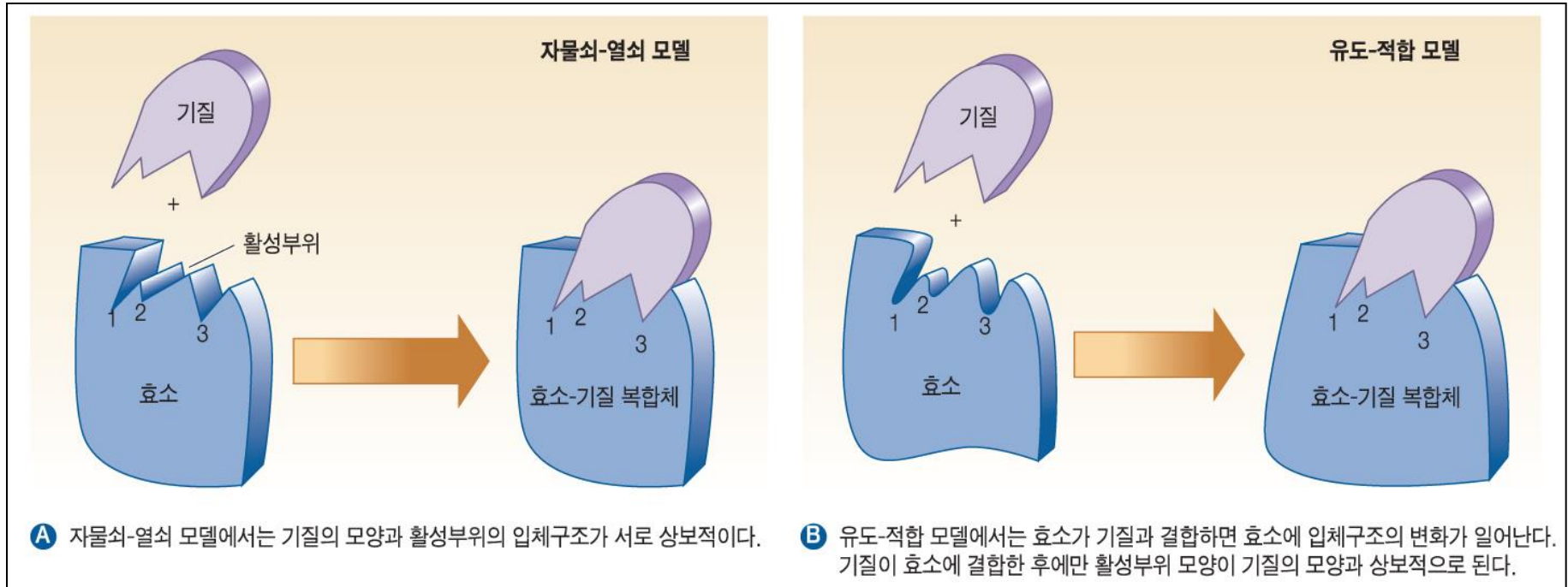
그림 6.2 효소 활성에 미치는 온도의 영향. 효소 반응의 활성을 온도에 따라 상대적으로 나타낸 것. 50°C 이상에서 활성이 감소되는 것은 열에 의한 변성 때문이다.

1. 효소란 무엇인가?

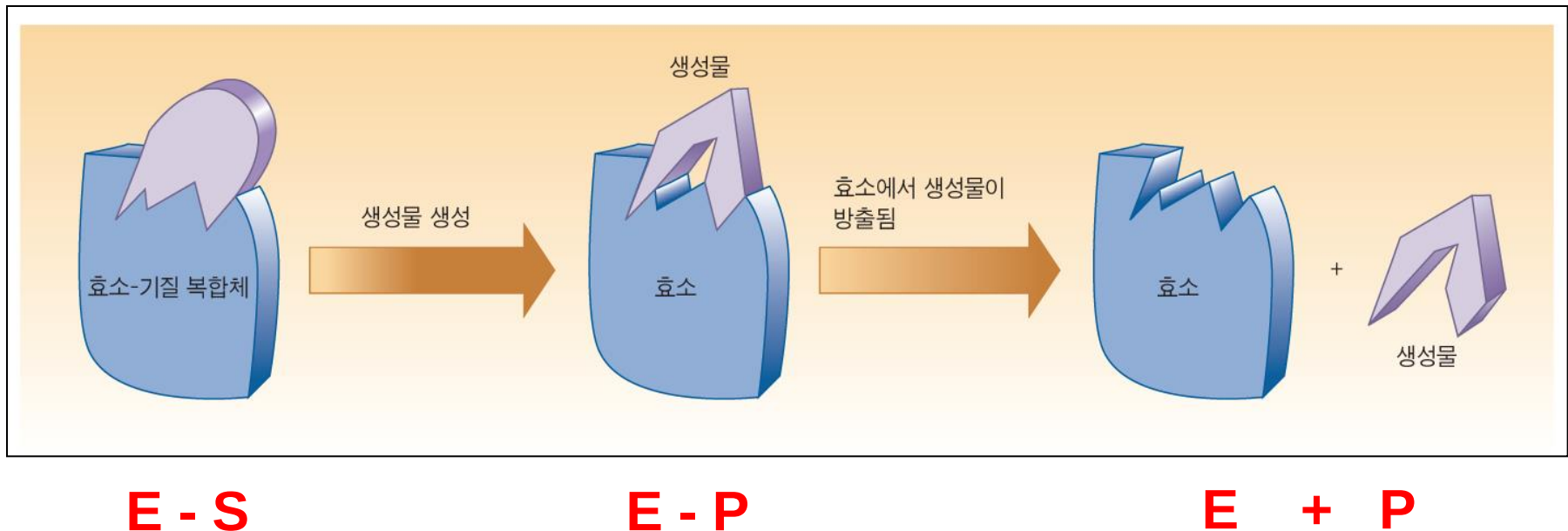
③ 특이성을 가진 물질이다.

- 기질특이성 : 효소가 특정한 기질하고만 결합하여 반응을 촉매하는 성질을 말한다
(예) 단백분해효소 - 트립신, 카이모트립신 등
- 효소에 기질이 결합하는 방법
 - ㉠ **자물쇠-열쇠 모델**: 효소의 결합부위와 기질의 모양이 매우 유사하여 자신의 활성 자리에 꼭 맞는 기질하고만 상호 작용한다.
 - ㉡ **유도 적합 모델**: 기질이 결합하여 효소의 입체구조를 변화시켜 상보적으로 꼭 들어맞는다.

그림 6.3 효소에 기질이 결합하는 것에 대한 두 가지 모델.



반응물과 생성물은 다른 물질이다.



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

2. 효소의 분류

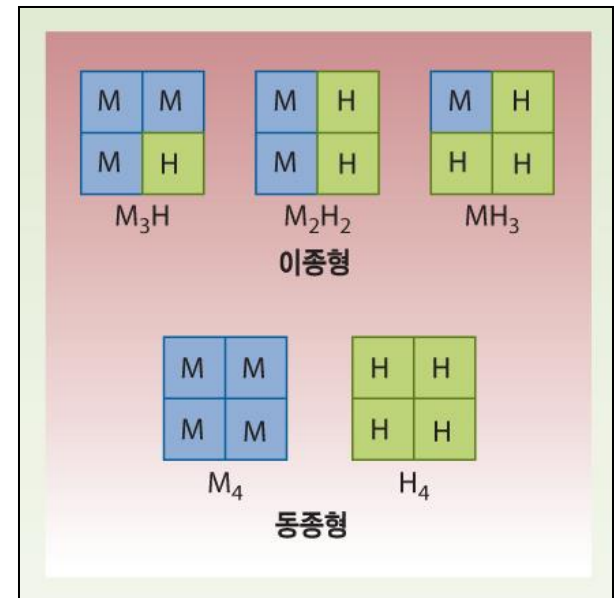
- ① 산화환원효소 (oxidoreductase)
- ② 전이효소 (transferase)
- ③ 가수분해효소 (hydrolase)
- ④ 분해 효소 (lyase)
- ⑤ 이성화효소 (isomerase)
- ⑥ 합성효소 (ligase)

① 산화환원효소 (oxidoreductase)

- 전자를 한 분자에서 옮기는 촉매역할을 하는 효소로서, 환원제는 전자공여자(전자주개)로 작용하고 산화제는 전자수여자(전자받개)로 작용한다.
- 이 그룹의 효소들은 대개 FAD^+ 또는 NAD^+ 를 보조인자 (Cofactor)로 사용한다.
- $\text{A}^- + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}^-$
- $\text{A}^- + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{A} + \text{NADH} + \text{H}^+$

Isozyme (동위효소)

- 같은 기능을 수행하나 조직에 따라 다른 형태로 존재하는 효소
예) 젖산 탈수소효소: 산화환원효소
(lactate dehydrogenase: LDH)
젖산 + NAD $\rightarrow$ 피루브산 + NADH
- 소단위체: M과 H이 4개 결합한 4차 구조
- 혈액 중에 증가하면 조직의 손상을 의미
 - H₄ $\uparrow$ 심장기능 이상
 - M₄ $\uparrow$ 근육기능 이상



질병의 표지효소 (marker enzyme)

② 전이효소 (transferase)

- 인산기와 같은 작용기를 한 분자(공여자)에서 다른 분자(수여자)로 옮기는 효소이다.
- $A-X + B \rightarrow A + B-X$
- 여기서 A는 공여자가 되고 B는 수여자가 된다.

③ 가수분해효소 (hydrolase)

- 화학 결합의 가수 분해를 촉매하는 효소이다.
- $A-B + H_2O \rightarrow A-OH + B-H$
- 기질+ase"로 명명되는 이름이 더 일반적으로 쓰인다

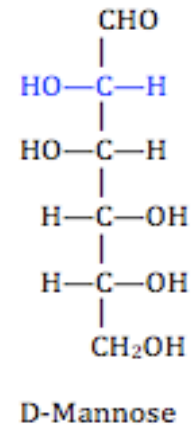
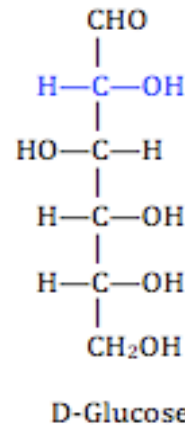
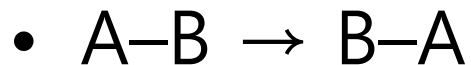
④ 분해 효소 (lyase)

- 가수분해반응이나 산화반응이 아닌 다른 방법으로 화학결합을 깨는 효소
- 이중결합을 만들거나 링 구조를 만드는 반응

예) $ATP \rightarrow cAMP + PPi$

⑤ 이성화효소 (isomerase)

- 이성체로 변화시키는 효소
 - 화학결합을 깨거나 새로 만들어 분자 내 원자를 재배치한다.
 - 입체적 변화를 촉매한다.



⑥ 합성효소 (ligase)

- 두 분자 간의 결합을 촉매하는 효소
- $A + B \rightarrow AB$
- $Ab + C \rightarrow A-C + b$
- $Ab + cD \rightarrow A-D + b + c$

3. 효소의 명명법

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

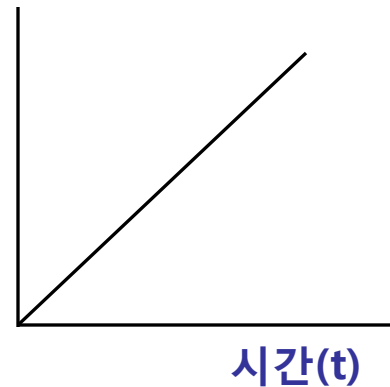
예) Glucose + ATP ----> Glucose-6-p + ADP

- ① trivial name: Hexokinase (육탄당 인산화효소)
- ② systematic name: ATP : glucose phosphotransferase
(2.7.1.1.)

4. 효소 반응속도론

- Rate of Reaction (반응속도)
 - 일정시간 동안에 일어나는 반응물의 농도변화
 - 일정시간 동안에 일어나는 생성물의 농도변화
- 반응속도 = $\Delta -[S] / \Delta t = \Delta [P] / \Delta t$
S: substrate (기질) P: Product (생성물)

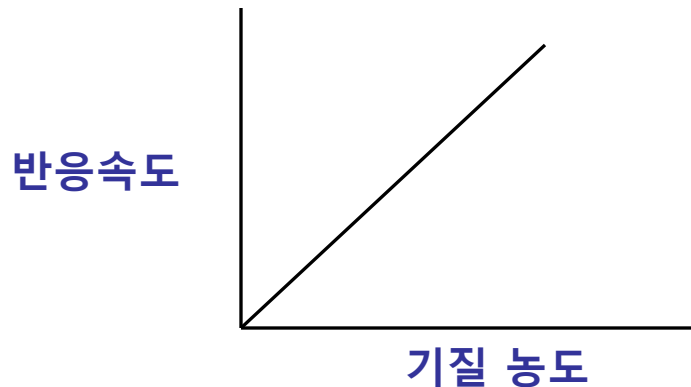
생성물의 농도



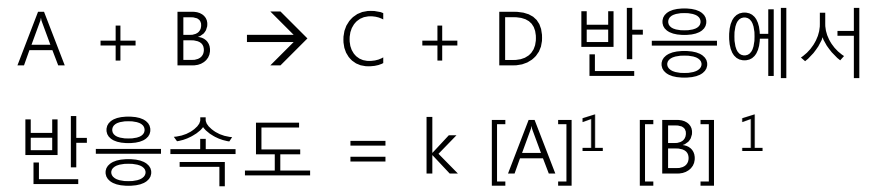
효소의 1차 반응

A → B가 되는 반응에서
반응속도 = $k [A]^1$ k:속도상수

즉 반응속도는 반응물 A의 농도에 비례한다
→ 1차 반응



효소의 2차 반응



반응속도는 A와 B 농도에 각각 비례적으로 빨라진다
→ 2차 반응

0차 반응

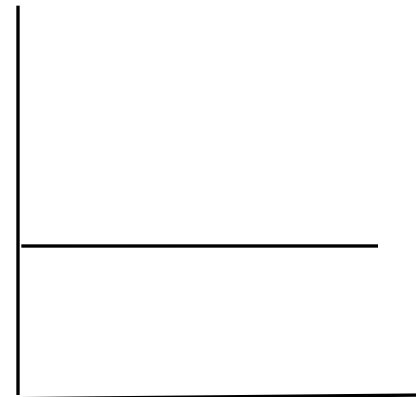
A → B가 되는 반응에서
반응속도 = $k [A]^0 = k$

즉, 반응속도는 A의 농도와 상관없다.

→ 기질의 농도에 상관없이 반응속도가 일정하다

→ 0차 반응

반응속도



기질 농도

Michaelis-Menten 의 효소반응 속도론



K_1

K_2

ES의 형성속도 = ES의 분해속도
(동적 평형상태: Steady state)

$$\text{형성속도} = \Delta [ES] / \Delta t = k_1 [E][S]$$

$$\text{분해속도} = -\Delta [ES] / \Delta t = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

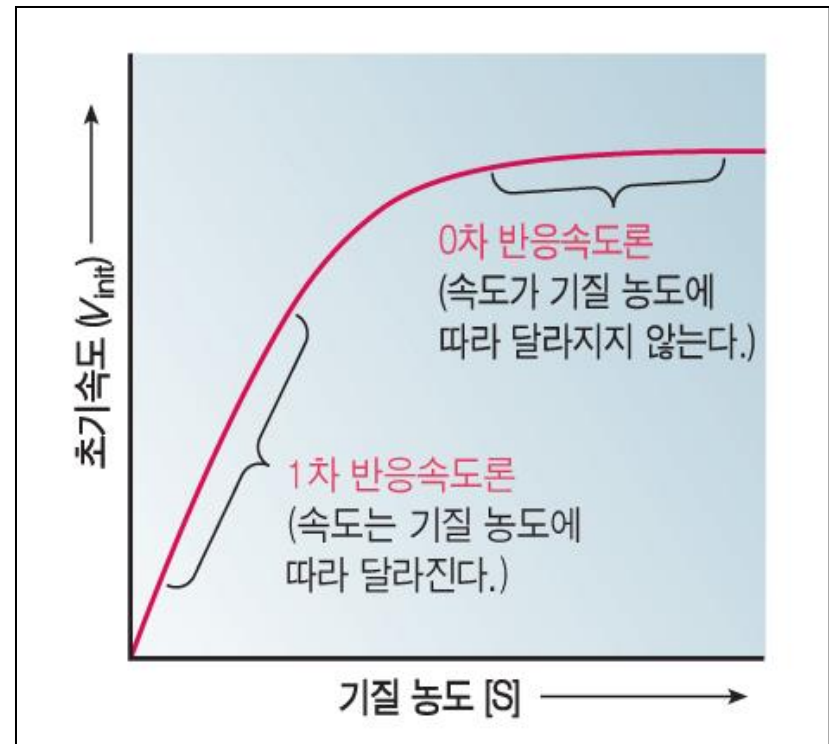
Michaelis-Menten 식

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

S : 기질 농도

K_m: 미케일리스상수

V_{max} : 효소반응의 최대속도



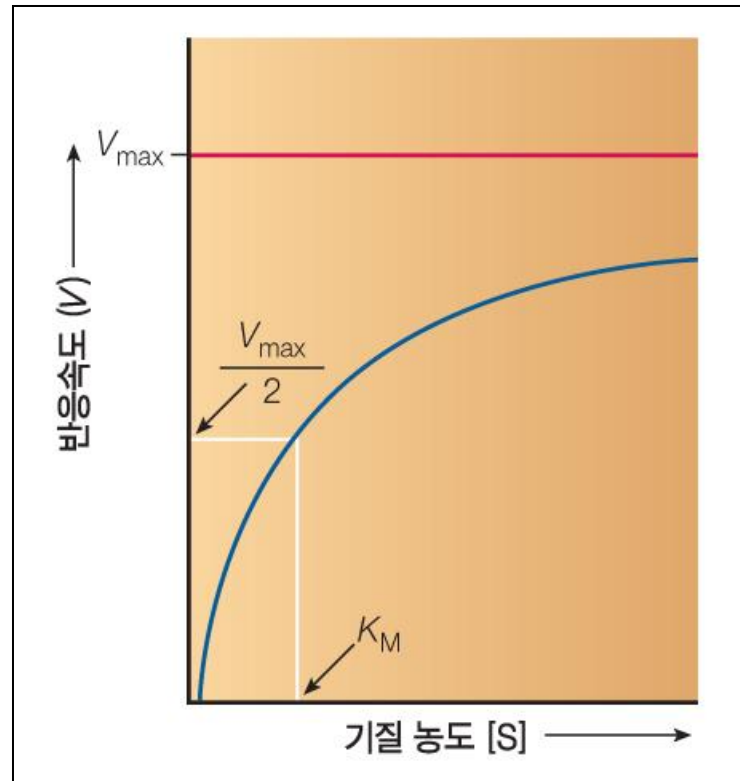
효소의 반응속도는 기질 농도에 따라 달라진다.

Michaelis-Menten 식

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

- | | |
|------------------------|--------------------------|
| 1) 기질농도가 K_m 보다 낮을 때 | $V = V_{\max} [S] / K_m$ |
| 2) 기질농도가 K_m 과 같을 때 | $V = V_{\max} / 2$ |
| 3) 기질농도가 K_m 보다 높을 때 | $V = V_{\max}$ |

Michaelis-Menten 식



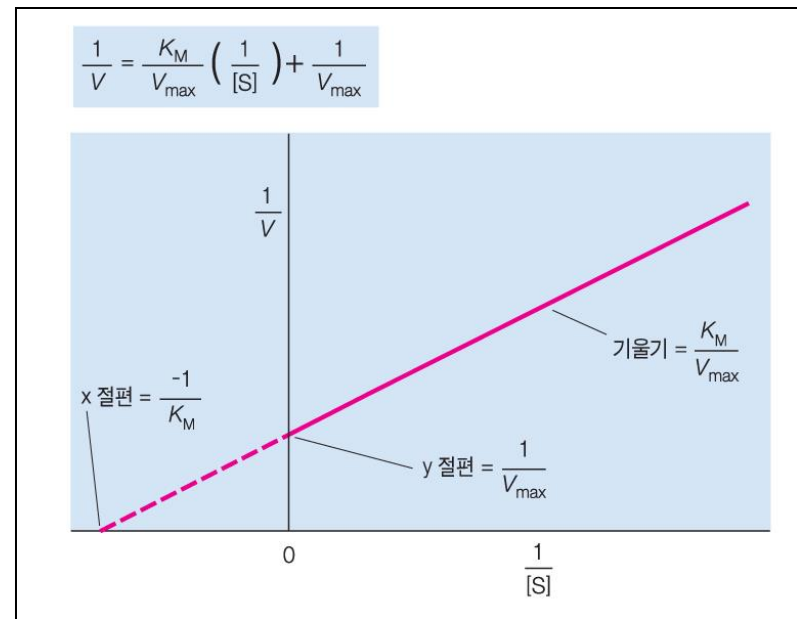
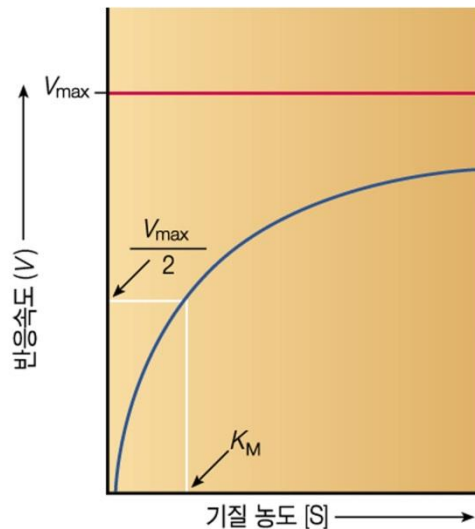
V_{max} : 최대속도

$V_{max}/2$: 최대속도의 50%

K_m 은 효소의 반응속도가 최대속도의 1/2이 될 때의 기질농도

Lineweaver-Burk Plot (L-B Plot)

- M-M 속도 식의 X,Y축 값을 역수로 만들어 만든 방정식
- Vmax와 Km 값을 쉽게 결정할 수 있다.



Lineweaver-Burk Plot (L-B Plot)

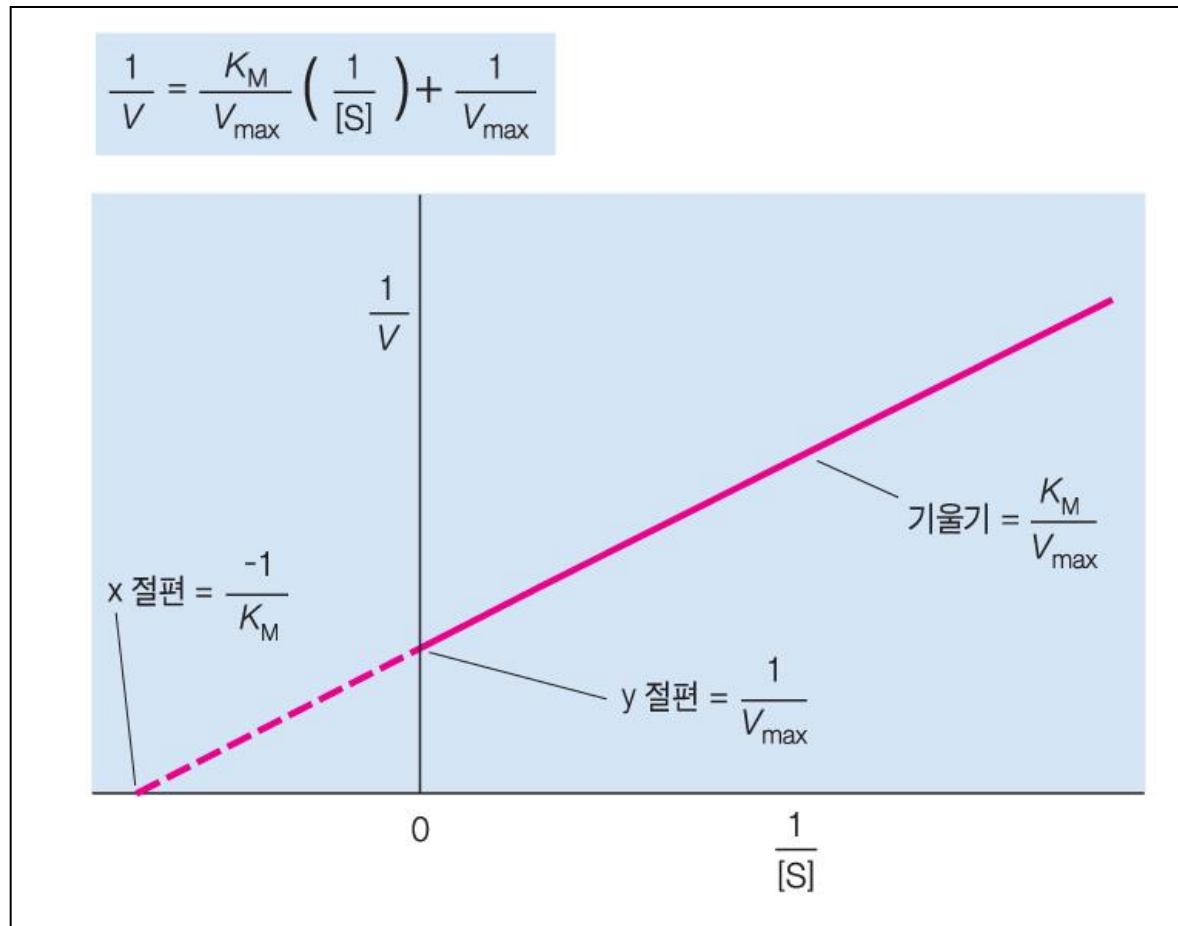
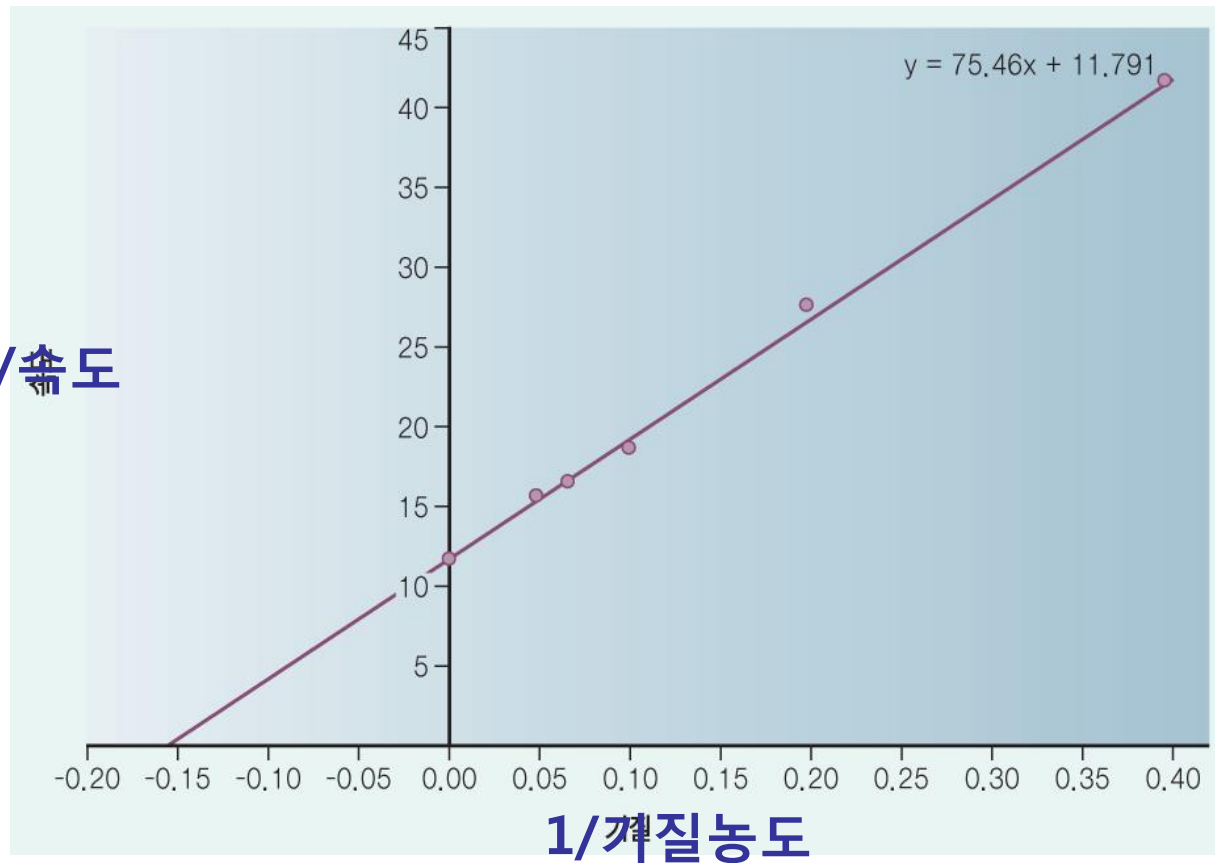


그림 6.8 효소 반응속도론의 라인위버-버크 이중역수 도표. 반응속도의 역수 $1/V$ 을 기질 농도의 역수 $1/[S]$ 에 대해 그래프로 나타냈다. 직선의 기울기는 $K_M/V_{\max}$ 이고 y 절편은 $1/V_{\max}$ 이다. x 절편은 $-1/K_M$ 이다.

Vmax와 Km 값 결정하기

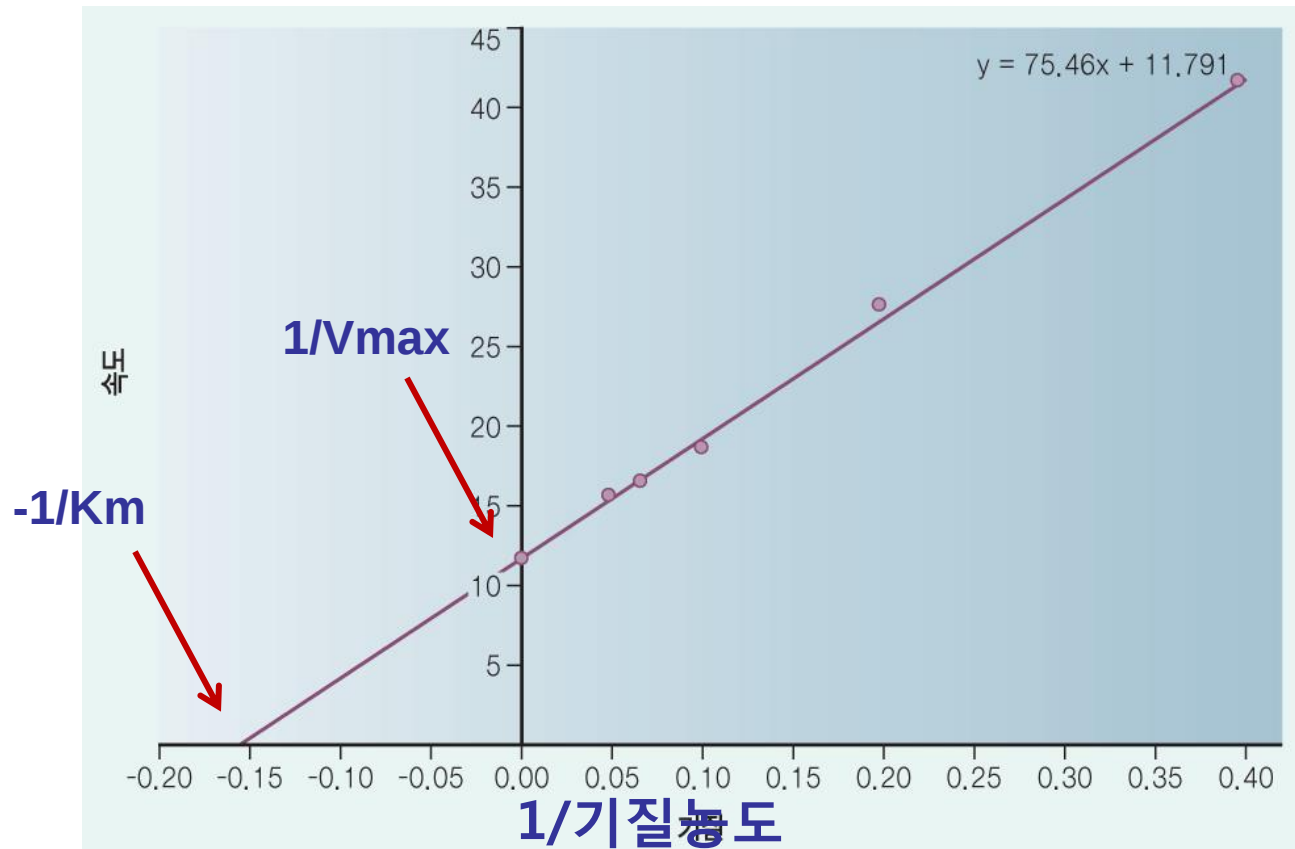
- ① 기질농도와 반응속도의 역수를 구한다
- ② LB plot을 그린다.

1/속도



Vmax와 Km 값 결정하기

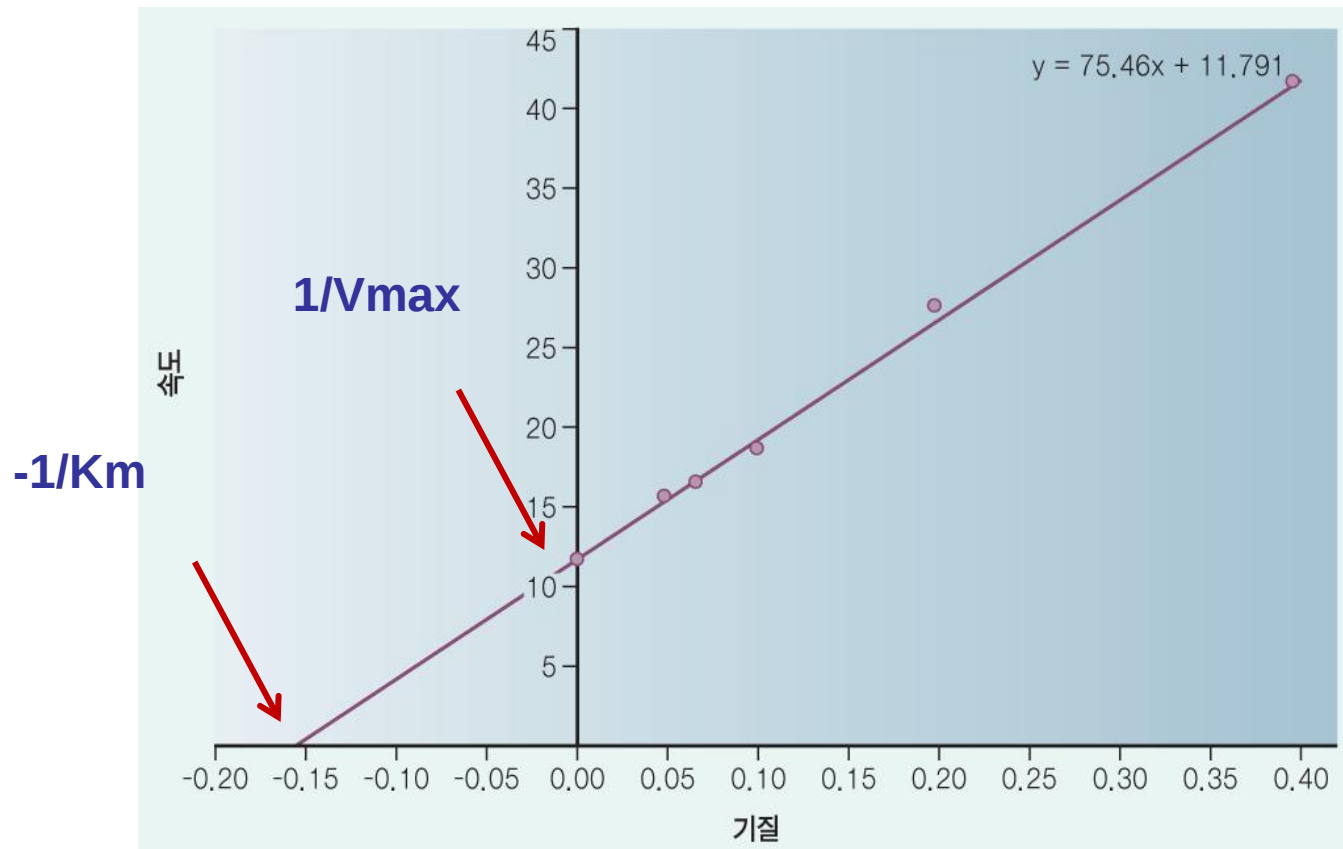
- ③ X절편과 Y 절편의 값을 구한다.
- ④ 이 값의 역수를 취하면 Km과 Vmax가 된다.



Vmax와 Km 값 결정하기

⑤ $-1/k_m = -0.155 \rightarrow K_m = 6.39\text{mM}$

⑥ $1/V_{\max} = 12 \rightarrow V_{\max} = 0.0847\text{mM/sec}$



Km의 의미

- Km은 최대속도의 50%가 되는 기질 농도
- Km은 효소 활성부위의 50%가 기질에 의해 결합될 때의 기질 농도
- Km은 기질이 효소에 결합하려는 성질이 강한 정도의 척도
- Km값이 작을수록 기질은 효소에 결합하려는 성질이 강하다.
- 기질이 효소에 대한 친화력이 크다.

표 6.2 대표적인 몇 가지 효소의 전환수와 K_M

효소	기능	k_{cat} = 전환수*	K_M^{**}
카탈레이스(Catalase)	H ₂ O ₂ 를 H ₂ O와 O ₂ 로 전환	4×10^7	25
탄산탈수효소 (Carbonic Anhydrase)	CO ₂ 의 수화	1×10^6	12
아세틸콜린에스터레이스 (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.

K_m 값은 기질에 대한 친화도를 나타낸다.
 K_m 값이 작을수록 결합하려는 성질이 강하다.
 즉, 낮은 농도에서도 효소와 결합한다. 친화력이 높다.
 따라서 라이소자임의 친화력이 카탈레이스보다 높다.

Vmax와 전환수

Vmax는 효소의 최대속도

Vmax는 효소가 기질로 포화되어 있을 때의 반응속도

Vmax는 효소가 기질과 100% 결합하고 있을 때의 반응속도

전환수는 효소가 기질로 포화되어 있을 때 (즉 Vmax 일 때) 1M의 효소가 1초 동안 생성물을 만드는 속도

$$\text{전환수} = V / E_{\text{total}}$$

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
아세틸콜린에스터레이스 (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.

전환수가 클수록 효소가 민첩함을 의미한다.
카탈레이스는 매우 민첩한 효소이다.
즉, 효율성이 좋은 효소이다.

전환수 계산하기

효소가 기질로 포화되어 있을 때
1M의 효소가 1초 동안 생성물을 만드는 속도

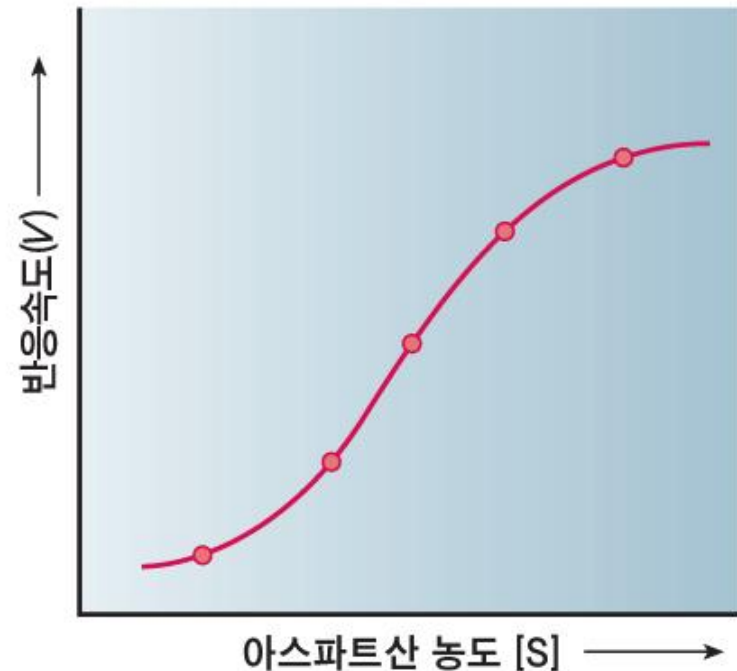
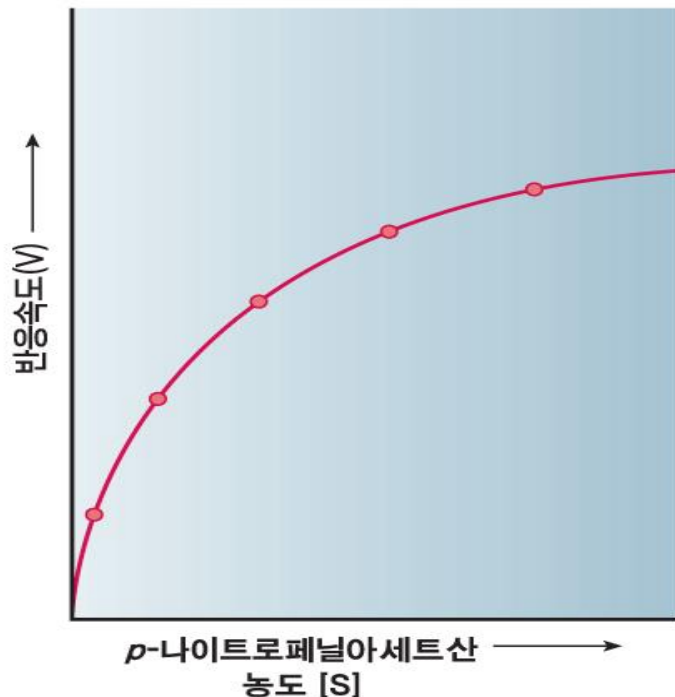
예) 효소의 농도 3×10^{-2} M 일 때 10 초 동안 만들어진
생성물은 3 M 이었다. 전환수를 계산하라.

1 M의 효소가 10초 동안 전환하는 생성물은
$$3 \text{ M} / 3 \times 10^{-2} \text{ M} = 100$$

1 M의 효소가 1초 동안 전환하는 생성물은 $100 / 10 = 10$

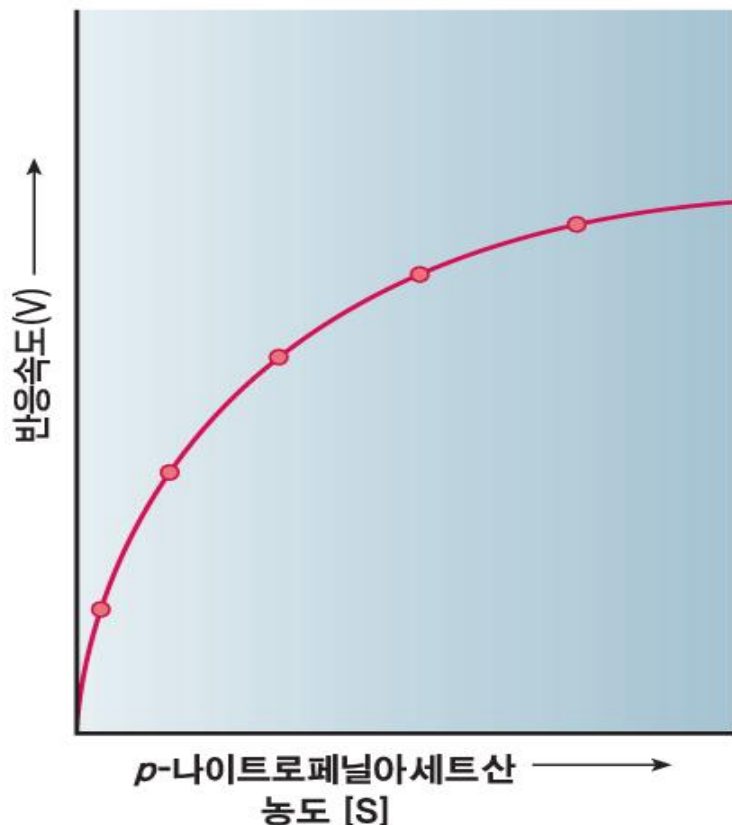
5. 효소 촉매반응: 쌍곡선 vs S형 곡선

차이점은 무엇일까?



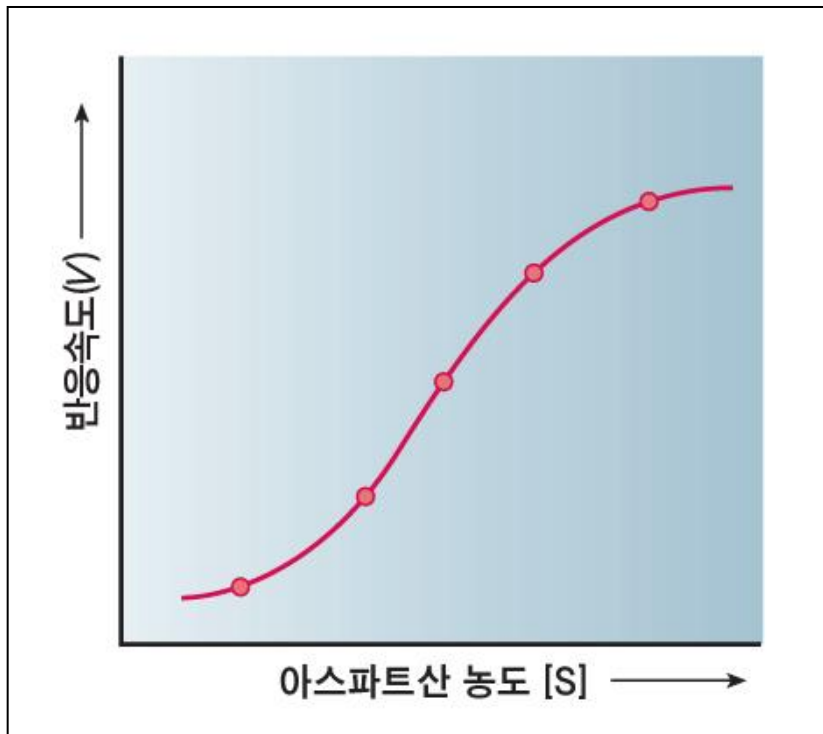
미오글로빈과 헤모글로빈의 차이점을 생각해보자.

효소 촉매반응: 쌍곡선



- 3차 구조를 갖는 효소는 쌍곡선의 반응 속도를 보인다.
- 미케일리스-맨텐 식을 따른다.
- 기질의 농도가 낮을 때 반응속도는 기질의 농도에 비례적으로 증가한다.

알로스테릭 효소의 촉매반응: S형 곡선



- 헤모글로빈의 산소 결합능 그래프와 비슷하다.
- 4차 구조 단백질의 협동적 특성을 나타낸다.
- 기질의 농도가 높을수록 반응속도가 빨라진다.
- 미케일리스-맨텐 식을 따르지 않는다.

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

6. 효소활성에 영향을 미치는 요인

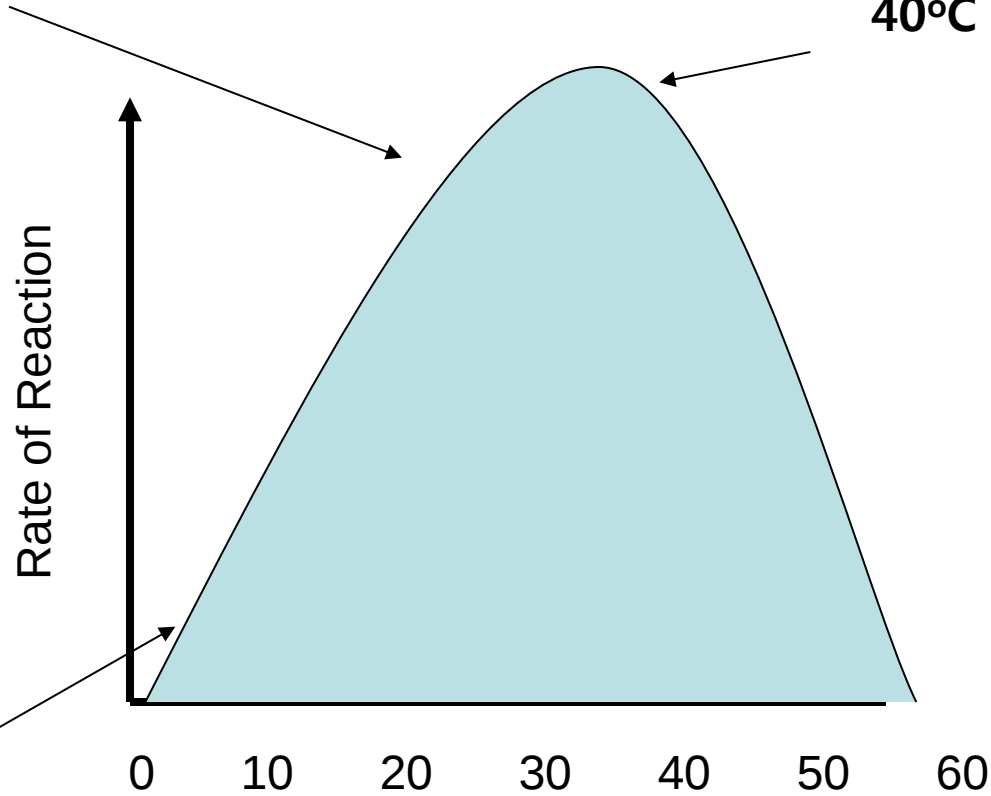
- ① 온도
- ② pH
- ③ 기질 농도
- ④ 효소 농도

① 온도

5- 40°C

Increase in Activity

40°C - 변성



<5°C - 불활성

② pH

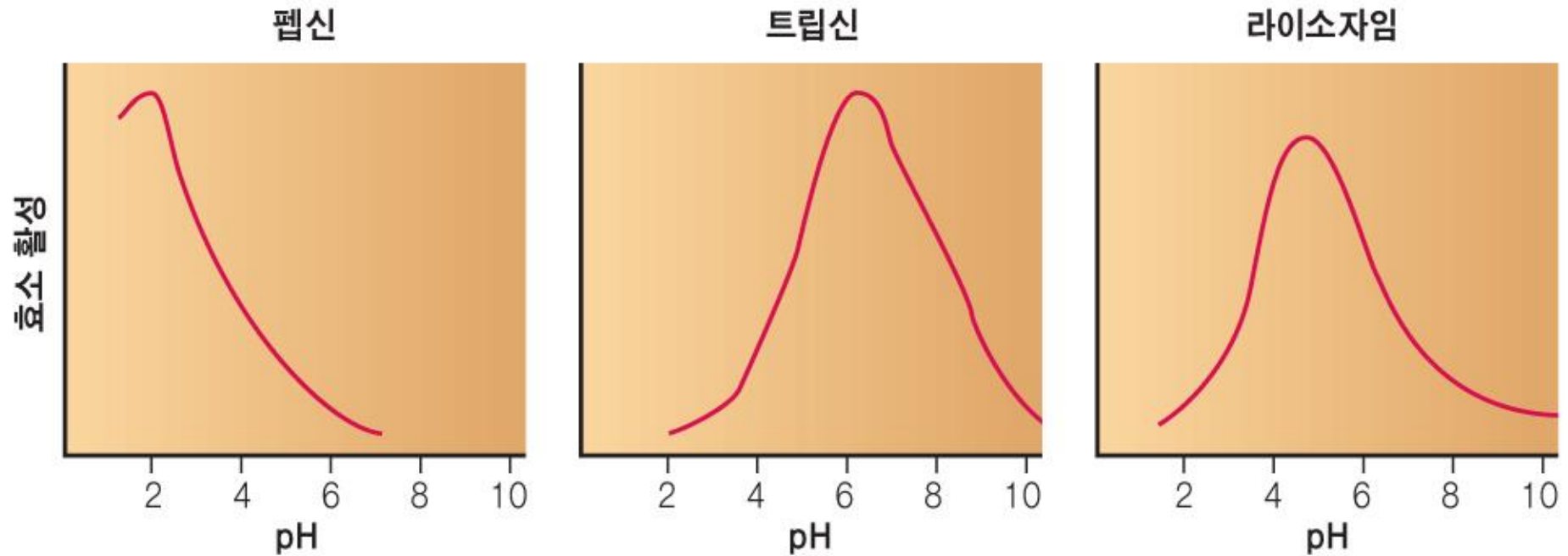
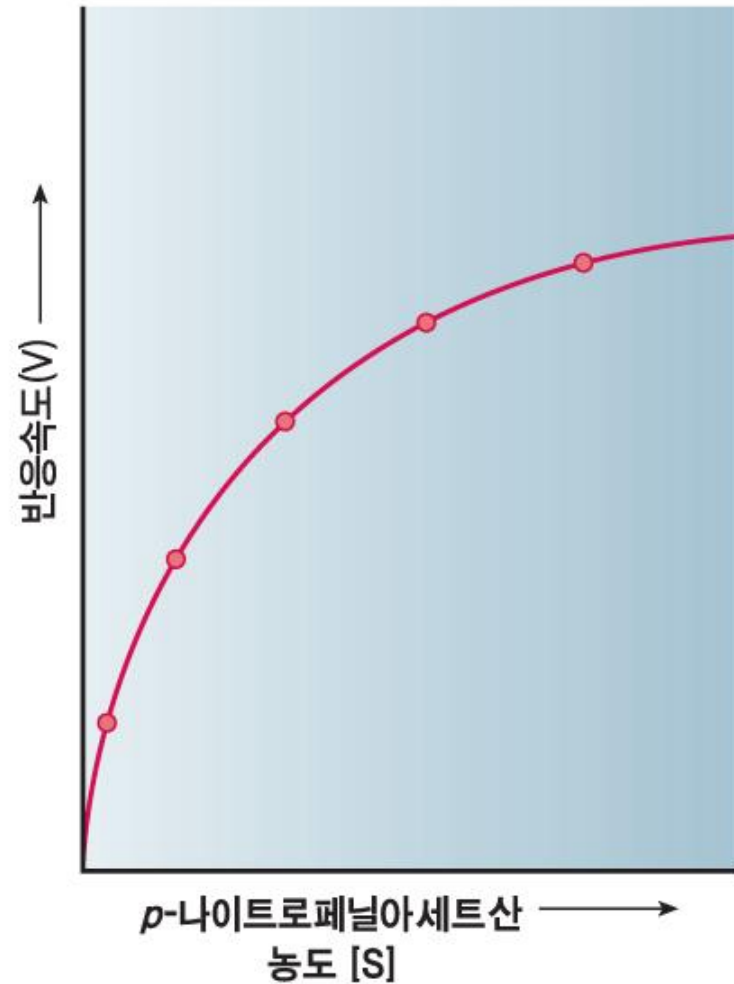
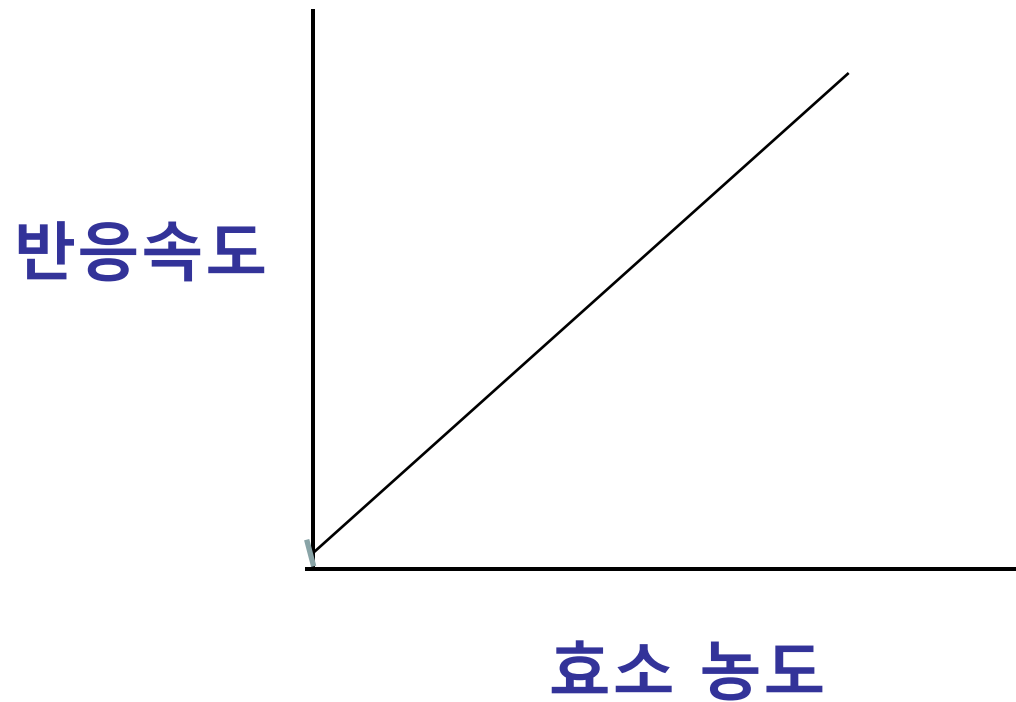


그림 2.14 pH 대 효소 활성. 펩신, 트립신, 라이소자임은 모두 pH 최적 곡선이 가파른 형태이다. 펩신은 위장에서 발견되는 소화효소에 대해 예상했듯이, 매우 산성인 조건하에서 최대 활성이 있다. 트립신은 pH 6 근방에서 가장 활성이 크며, 라이소자임은 pH 5 근방에서 최대 활성을 보인다.

③ 기질의 농도



④ 효소의 농도



7. 효소의 실생활에서의 활용

- 세제

- lipase: 기름 때
- protease: 혈액, 달걀



- 식품산업

- pectinase: Fruit juices:
- amylase: 식혜



8. 효소의 저해제

① 불가역적 저해제

효소에 공유결합으로 결합하거나 혹은 아주 단단하게 결합하여 해리하는 속도가 매우 느리다.

예) DIPF :chymotrypsin의 저해제

malathion (살충제):Acetylcholinesterase 저해제

② 가역적 저해제

가역적 저해제

① 경쟁적 저해제 (competitive)

기질의 모양과 유사하여 기질과 저해제가 효소의 활성 자리에 결합하기 위해 경쟁한다.

(예) Succinate -----> fumarate

succinate DH (저해제: malonate)

② 무경쟁적 저해제 (noncompetitive)

효소와 기질이 결합하는 자리가 다르다.

저해제는 효소, 혹은 효소복합체에 모두 결합한다.

③ 비경쟁적 저해제 (uncompetitive)

효소와 기질이 결합하는 자리가 다르다.

저해제는 ES복합체에만 결합한다.

Vmax 변화 없음
Km 증가

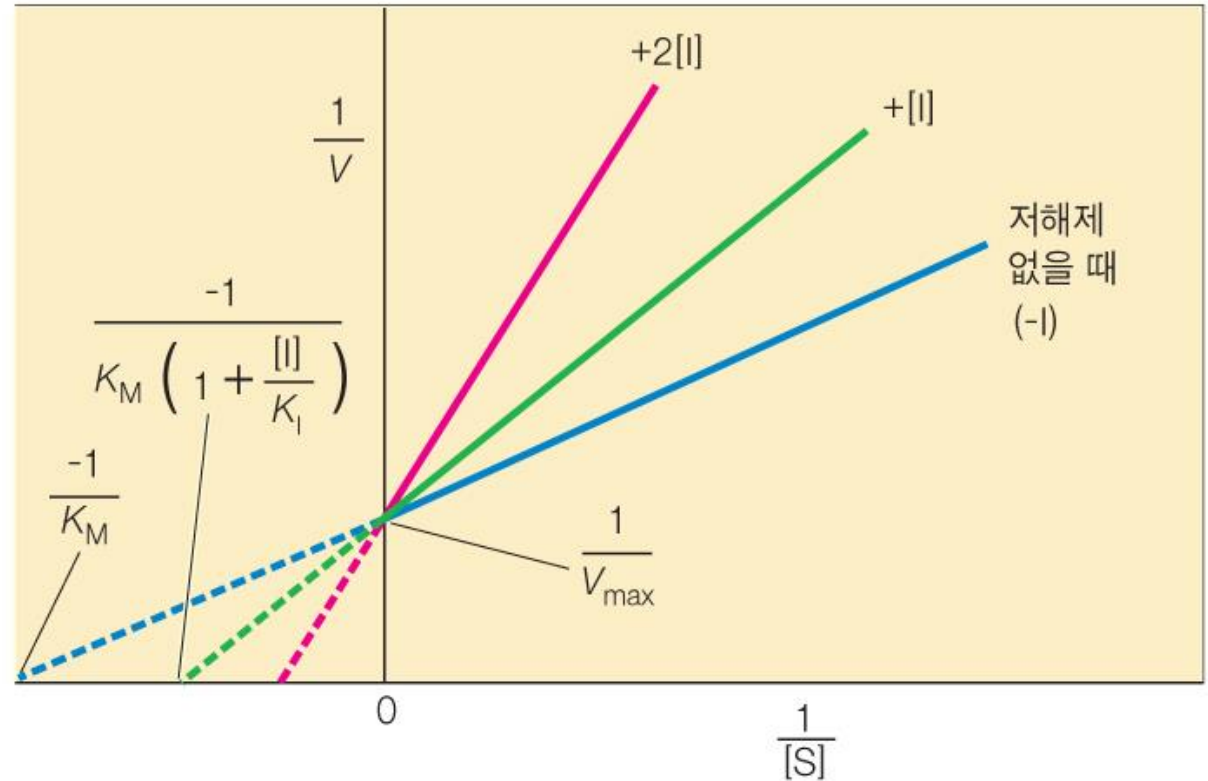
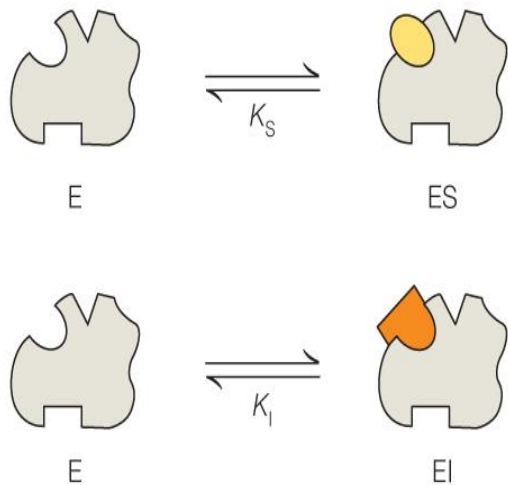


그림 6.11 경쟁적 저해에서 기질이나 저해제가 효소에 결합하는 것에 대한 두 가지 가능성. 어느 하나가 결합하면 다른 하나는 결합하지 못한다. (참조: Campbell/Ferrell, Biochemistry, 7E. © 2012 Cengage Learning.)

무경쟁적 저해작용

V_{max} 감소
 K_m 변화 없음

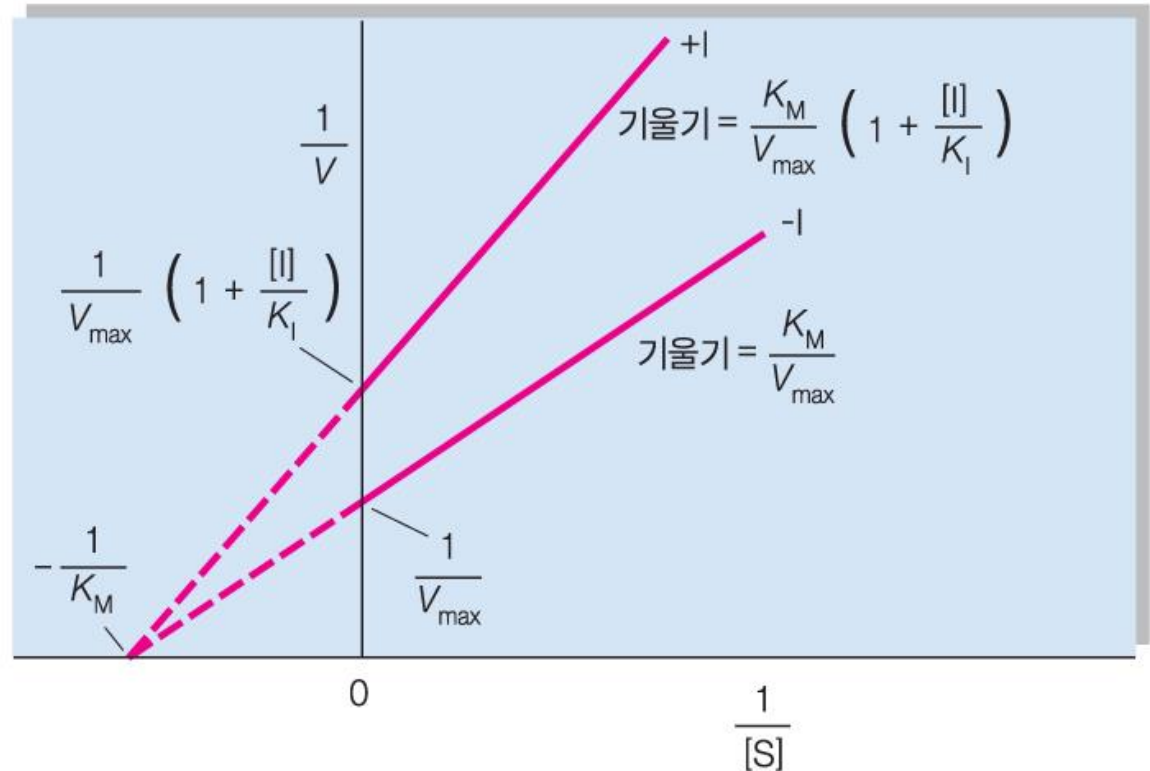
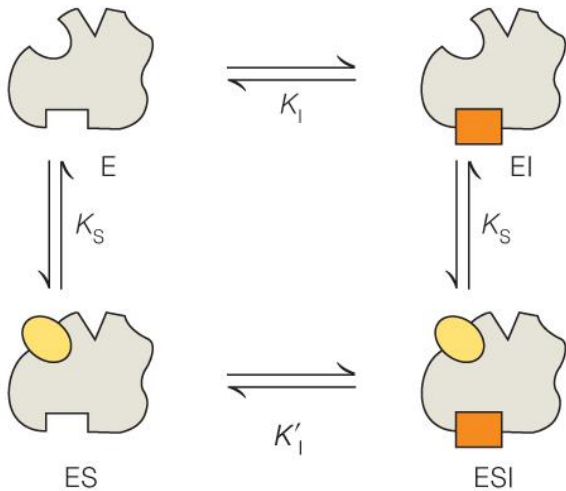
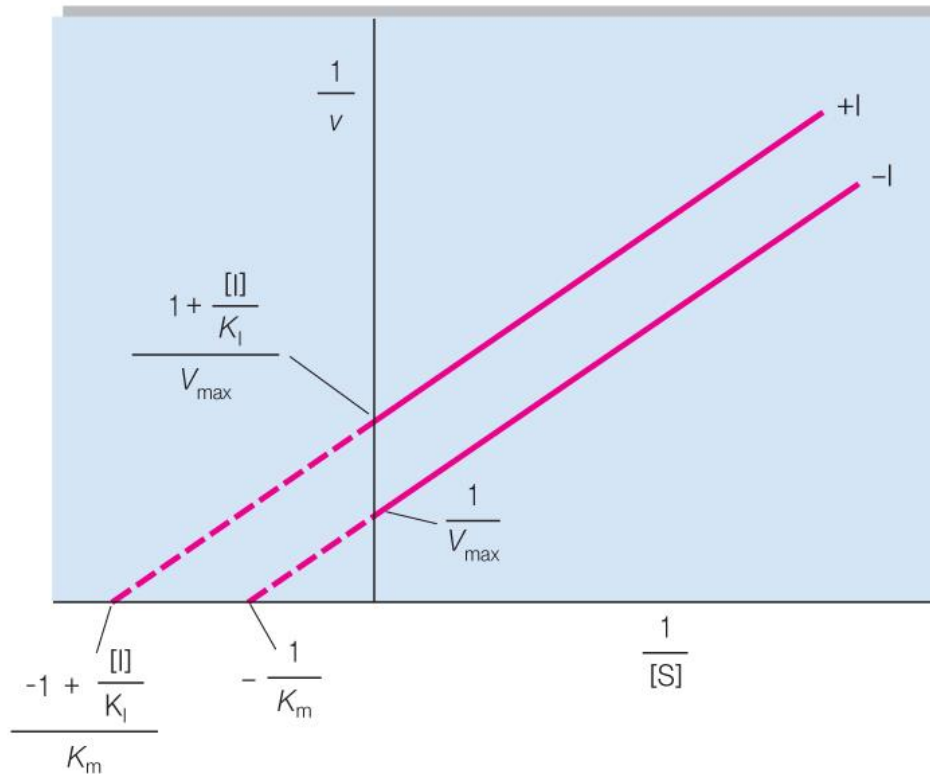


그림 6.13 무경쟁적 저해에서 기질과 저해제가 효소에 결합하는 것의 본질.

비경쟁적 저해작용

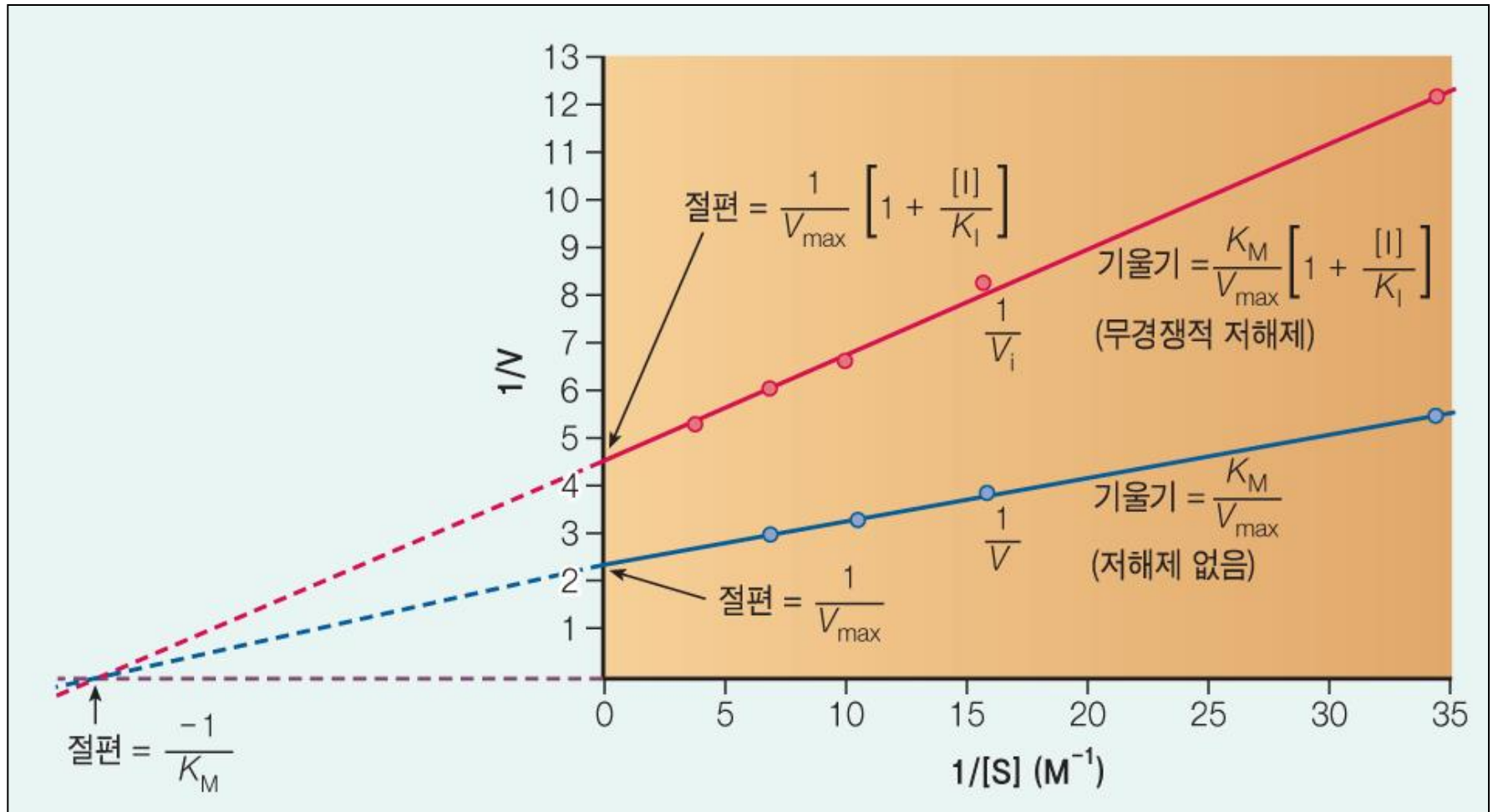


- ES복합체에만 결합한다.
- V_{max} 감소
- K_m 감소

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.)

문제 풀이: 효소 저해 유형 확인하기

LB plot에서 V_{max} 와 K_M 의 변화를 확인한다.



V_{max} 감소, K_M 변화 없음 $\rightarrow$ 경쟁적 저해제

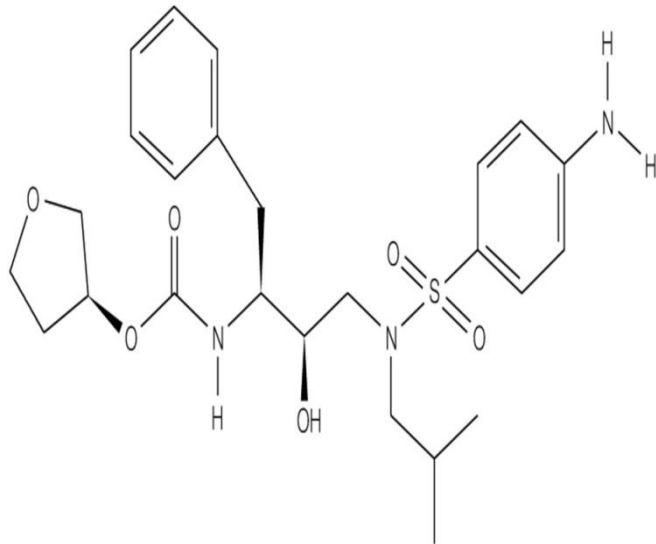
AIDS 치료제

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

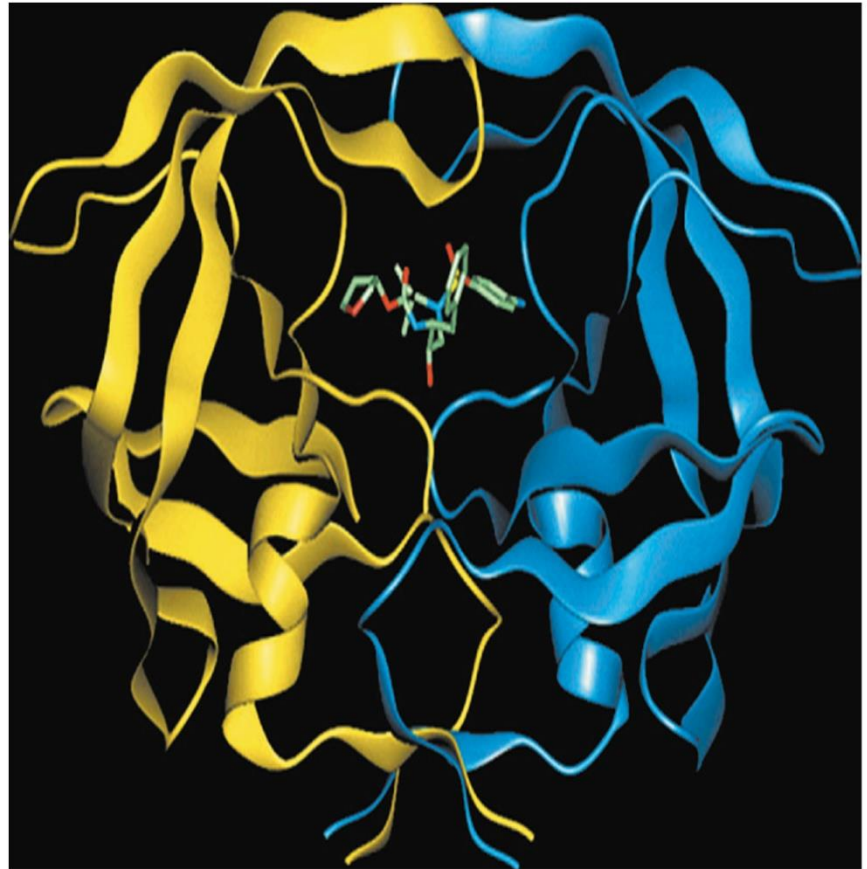
예) HIV protease-새로운 virus 생성에 필요함

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

AIDS 치료제



리프사이언스
Life Science Publishing Co.



리프사이언스
Life Science Publishing Co.

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