7장 효소: 작용 기전

- 효소의 구조와 종료
- 효소의 촉매작용
- 효소의 검출
- 심근경색

생의학적 중요성

- 효소는 생명을 유지하게 해주는 다양한 화학반응을 촉매
- 특정 효소의 활성을 측정 → 질병의 진단 및 예후를 파악
- 효소의 기질특이성, 입체특이성 이용하여 다양하게 응용 가능

효소는 효과적이고 높은 특이성을 가지는 촉매들이다

- 효소(enzyme): 하나 또는 그 이상의 화합물들을 하나 또는 그 이상의 화합물로 전환시키는 과정을 촉매하는 물질
  - 기질(substrate): 효소와 반응하는 물질
  - 산물(product): 반응으로 만들어진 물질
- 반응속도를 증가, 반응에 참여하지만 소비되지 않음
- 기질특이성: 효소는 특정 기질에만 반응
- 입체특이성: 효소는 특정 입체구조에만 반응
- 전효소 = 주효소 + 조효소(보조단, 보조인자, 보조효소)



효소는 반응 종류에 따라서 분류된다

종류	기능
산화 환원 효소 oxidoreductase	산화 환원 반응에서 H, O 또는 전자를 다른 분자에 전달한다.
전이 효소 transferase	특정 기질에서 작용기를 떼어 다른 분자에 전달한다.
가수 분해 효소 hydrolase	물 분자를 첨가하여 기질을 분해한다.
제거 부가 효소 lyase	기질로부터 작용기를 제거하여 이중 결합을 형성하거나, 반대로 이중 결합에 작용기를 첨가해 단일 결합을 형성한다.
이성질화 효소 isomerase	기질을 이루는 원자의 위치를 변화시켜 분자 구조와 성질이 다른 이성질체로 전환한다.
연결 효소 ligase	에너지를 사용하여 두 기질 분자를 연결한다.

보조단, 보조인자 및 보조효소는 촉매작용에서 중요한 역할을 수행한다

많은 효소들은 기질 결합이나 촉매작용에 직접적으로 참여하는 작은 비단백질 분자나 금속이온을 포함

- 보조단(prosthetic group): 공유결합 또는 비공유결합을 통하여 강하고 안정적으로 단백질 구조내 삽입형태로 존재

  예) 금속효소, FAD(플라빈 아데닌 다이뉴클레오타이드), 바이오틴

- 보조인자(cofactor): 효소와 기질에 가역적으로 결합

  예) 금속-활성효소

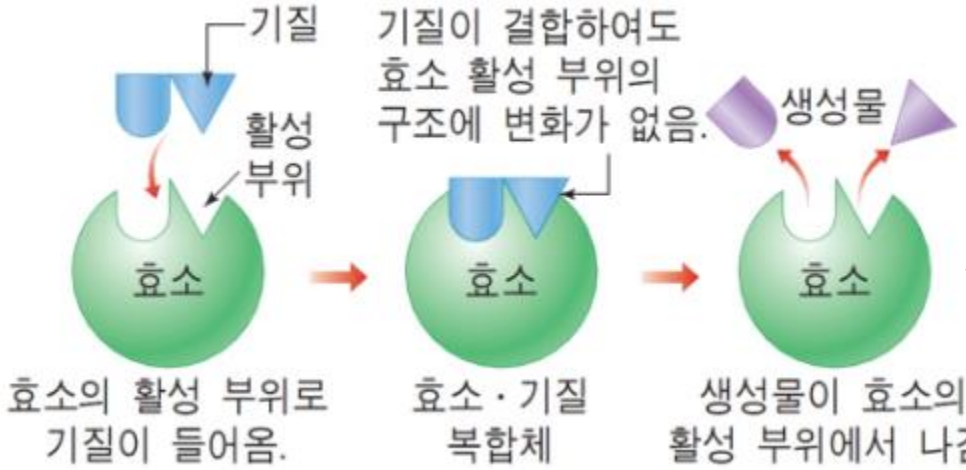
- 보조효소(coenzyme): 작용기의 전달인자로, 기질통로

  예) CoA(보조효소 A)

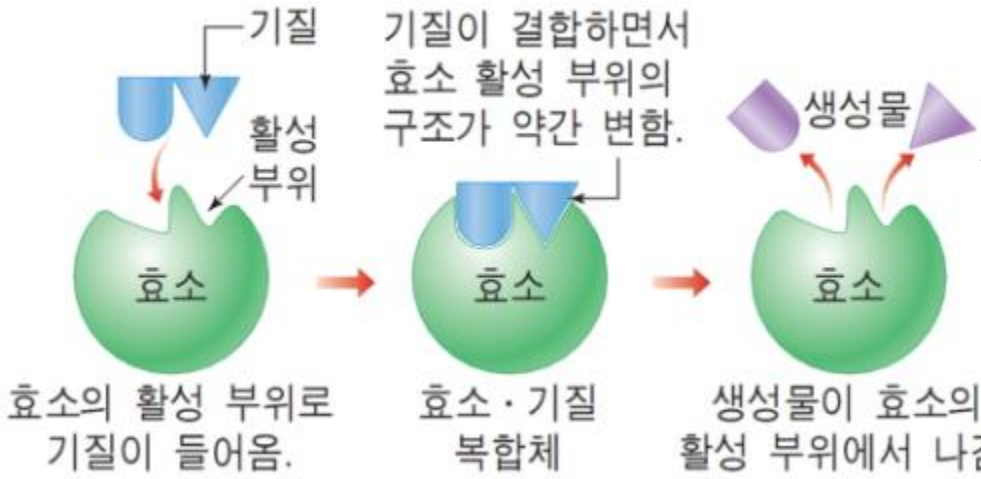
많은 보조효소, 보조인자 및 보조단 작용기는 비타민 B의 유도체이다

- 아미노산 곁가지에 존재하는 제한된 수의 작용기로는 한계가 있는 반응을 확장
- 비타민 B는 많은 보조효소를 구성
- 니코틴아마이드: 산화환원 보조효소 NAD, NADP를 구성
- 라이보플라빈: 산화환원 보조효소 FMN, FAD를 구성
- 판토텐산: 보조효소 A를 구성
- 타이아민: 파이로인산 부착형태로 탈카복실화에 참여
- 폴산(엽산), 코바마이드: 단일탄소대사에 보조효소

효소 촉매작용은 활성자리에서 일어난다



열쇠-자물쇠설: 기질과 효소의 활성부위가 원래부터 완전한 상보적 구조로 되어있음, 특정 기질만 인식, 많은 효소가 필요



유도 적합설: 기질과 효소의 활성부위가 처음부터 완벽하게 들어맞는 구조는 아니지만, 기질이 결합할 때 구조가 변함

효소는 촉매작용을 활발하게 만드는 다양한 기전을 채용하고 있다

화학 반응속도를 극적으로 높이기 위해 4가지 기전을 조합

- 근접도에 의한 촉매: 분자들이 반응하기 위해서는 서로간 결합을 형성할 수 있을 정도로 가까워져야 한다
- 산-염기 촉매: 어떤 효소는 양성자 농도나 특이적인 산/염기 농도의 변화에 민감하다
- 장력에 의한 촉매: 전이상태 중간체는 장력을 증가시키거나 결합을 약화시켜 분해를 촉진한다
- 공유결합 촉매: 효소의 화학적 구조를 변형시켜 활성화 에너지가 낮은 (더 빠른) 반응 경로를 도입한다.

촉매작용을 하는 잔기들은 고도로 보존되어 있다

- 기질은 달라도 공통형태의 반응을 촉매들이 많음
- 하나의 조상으로부터 나눠진 단백질을 서로에 대해 상동적
  - 카이모트립신: 소수성 아미노산의 카복실 말단 펩타이드 절단
  - 트립신: 염기성 아미노산의 카복실 말단 펩타이드 절단
- 동일한 위치에 특이한 아미노산의 존재로 공통조상 확인
- 보존된 아미노산 잔기

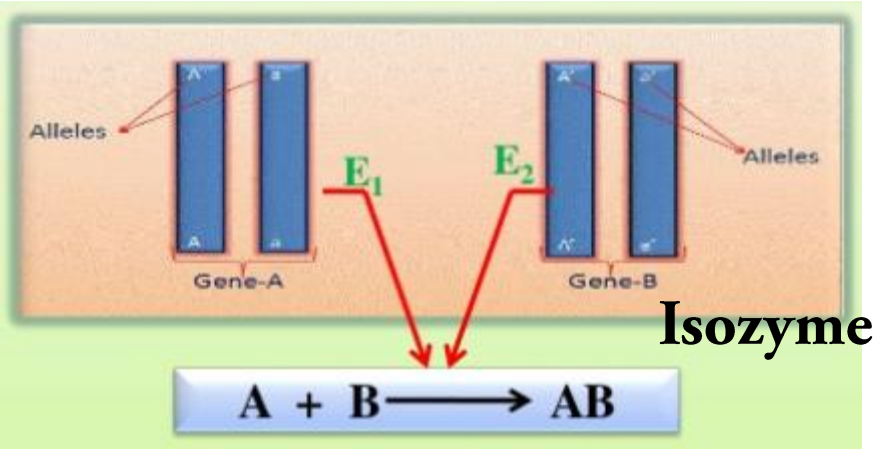
Enzyme	Sequence Around Serine Ⓢ														Sequence Around Histidine Ⓗ											
Trypsin	D	S	C	Q	D	G	Ⓢ	G	G	P	V	V	C	S	G	K	V	V	S	A	A	Ⓗ	C	Y	K	S	G
Chymotrypsin A	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	K	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	G	G	V	T	T
Chymotrypsin B	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	Q	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	C	G	V	T	T
Thrombin	D	A	C	E	G	D	Ⓢ	G	G	P	F	V	M	K	S	P	V	L	T	A	A	Ⓗ	C	L	L	Y	P

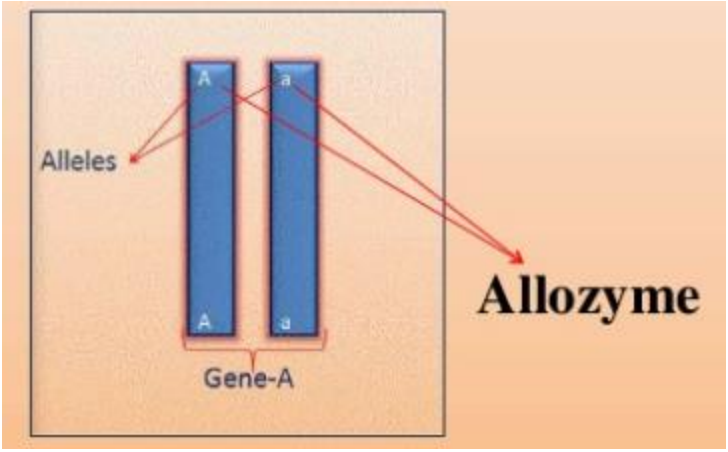
Note: Regions shown are those on either side of the catalytic site seryl Ⓢ and histidyl Ⓗ residues.

동종효소들은 동일한 반응을 촉매하는 독특한 효소형태이다

- 동질효소(isoenzyme, isozyme): 아미노산 서열(1차구조)은 다르지만 같은 반응을 촉매하는 효소 (같은 기질 특이성)
- 대부분 다른 유전자에서 유래

- 동종효소(alloenzyme, allozyme): 동일한 유전자의 다른 대립유전자로 생성되는 효소

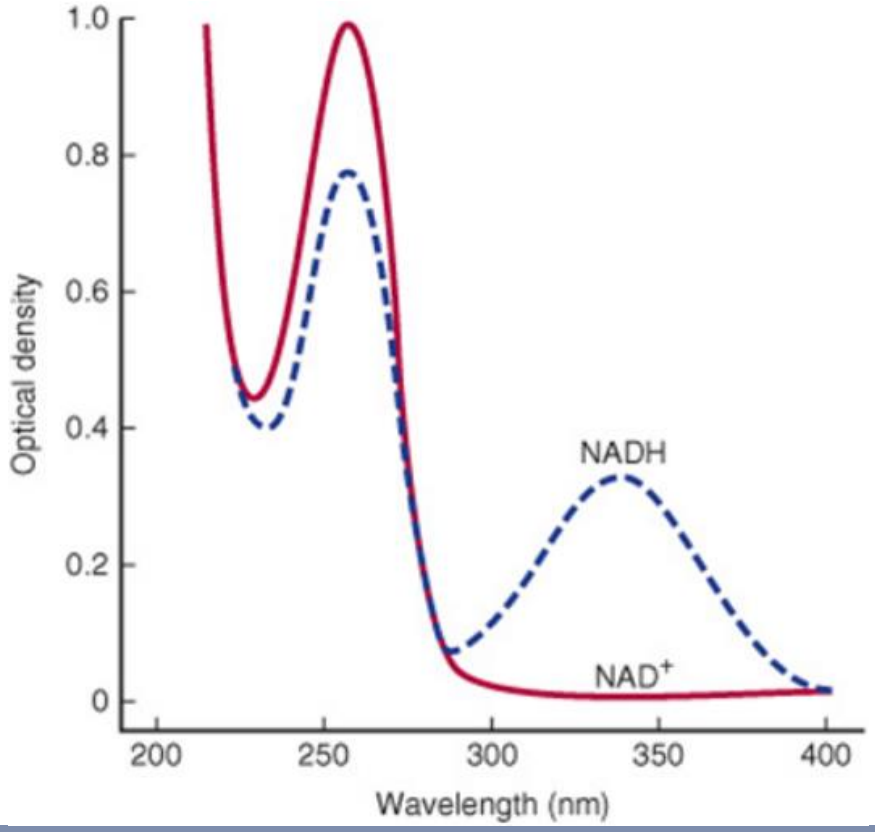




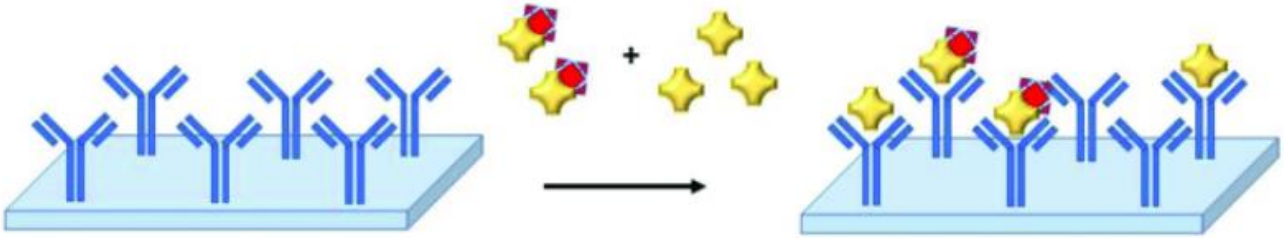
효소의 촉매활성은 효소를 검출하는 데 활용된다

- 효소 자체의 농도는 매우 낮아 검출이 어려움
- 효소의 기질특이성을 이용하여 효소의 존재유무를 파악

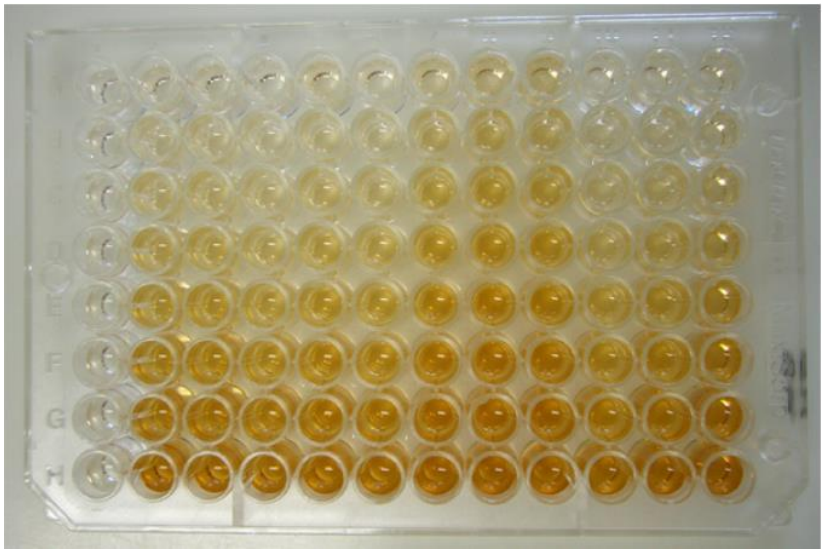
- 환원형인 NADH, NADPH:
  340nm 파장 흡수
- 산화형인 NAD^+, $NADP^+$
  340nm 흡수 X

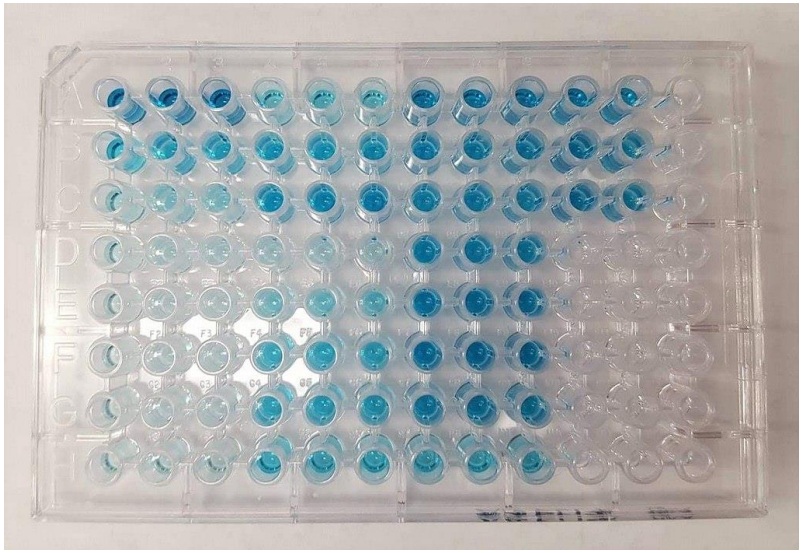


효소-결합 면역측정법 (ELISA)



- 리포터 효소와 연결된 항체를 사용하여, 특정 항원과 반응하면 변색하거나 형광을 발하는 것을 이용한 검출 방법
- Direct ELISA, Indirect Elisa, Sandwich ELISA 등





임상 진단에 사용되는 주요 혈청 효소들

- 혈장내 효소의 측정은 질병의 진행을 진단하는 데에 중요
- 손상된 특정 조직/세포에서 유리된 효소를 측정
- 효소를 정량적으로 측정하면, 진단, 예후, 치료 등에 도움

혈청 효소	주요 진단 활용	혈청 효소	주요 진단 활용
아스파트산 아미노트랜스퍼레이스 (AST, SGOT)	심근경색	γ-글루타밀 트랜스퍼레이스 (γGTP)	다양한 간질환들
알라닌 아미노트랜스퍼레이스 (ALT, SGPT)	바이러스성 간염	젖산 탈수소효소 동종효소 5 (LDH5)	간 질환
아밀레이스	급성 췌장염	라이페이스	급성 췌장염
세룰로플라스민	간렌즈핵 변성 윌슨병	산성 포스파테이스 (ACP)	전립선의 전이성 암
크레아틴 카이네이스 (Creatine kinase, CK)	근육질환 및 심근경색	알칼라인 포스파테이스 (ALP)	다양한 뼈질환들 폐쇄성 간질환들

심근경색의 진단에 효소가 도움이 된다

심근경색(myocardial infarction, MI): 심장 근육에 피를 공급하는 관상동맥이 막혀서 심장 근육이 죽어가는 질환 (심장 마비)

- 진단과 적절한 초기 치료를 결정하기 위해 수 시간 내에 효소 측정이 필요 (12시간 이내)
- 초기) 아스파트산 아미노트랜스퍼레이스 (AST), 알라닌 아미노트랜스퍼레이스(ALT), 젖산 탈수소효소 (LDH)

  AST와 ALT: 혈장에서 천천히 나타남, 심근에 특이적 X

  LDH: 천천히 유리되지만, 사차구조로 조직 특이적

  HHHH (I_1), HHHM(I_2), HHMM(I_3),
  HMMM (I_4), MMMM(I_5) → I_1이 심장조직에서 관찰

심근경색의 진단에 효소가 도움이 된다

- 중기) 크레아틴 카이네이스 (CK) 이용

  세가지 동종효소: CK-MM(골격근), CK-BB(뇌)

  CK-MB(심장 및 골격근)

  심근경색 발병 후 4-6시간 이내 검출가능,

  24시간 후 최고치, 48시간 후에 평상수치로 돌아옴

- 현재) 트로포닌: 골격근, 심근의 근육수축에 관여

  심근의 손상에 민감하고 특이적인 지표

  심근경색 후 2-6시간부터 증가, 4-10일간 높게 유지

요약

- 효소는 매우 효과적이고 극단적인 특이 촉매
- 보조단, 보조인자, 보조효소는 촉매작용에서 중요한 역할
- 효소의 촉매활성으로 효소를 검출하고 분석
- 혈장효소에 대한 분석법은 심근경색, 급성 췌장염, 다양한 뼈와 간 질환의 진단과 예후 판정에 중요

8장 효소: 반응속도론

- 효소 반응속도론
- 반응속도와 효소 활성에 영향을 주는 요소들
- 미하엘리스-멘텐식
- 억제제

생의학적 중요성

효소 반응속도론(enzyme kinetics): 효소-촉매 반응의 속도를 정량적으로 결정하는 학문

- 반응속도에 미치는 인자들을 연구
- 효소들이 반응하는 단계의 수와 순서를 규명
- 비교 약물역동학

  효소 활성에는 산소 농도, pH, 독소, 약물 등 다양한 생리적 스트레스들이 영향을 미침

  약물을 처리하여 효소를 선택적으로 억제/활성 등을 통해 치료 물질을 찾음 → 약물 개발

화학반응은 평형 반응식을 통하여 표현된다

화학 평형반응식 $A + B \rightleftarrows P + Q$

평형상수 K

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]}$$

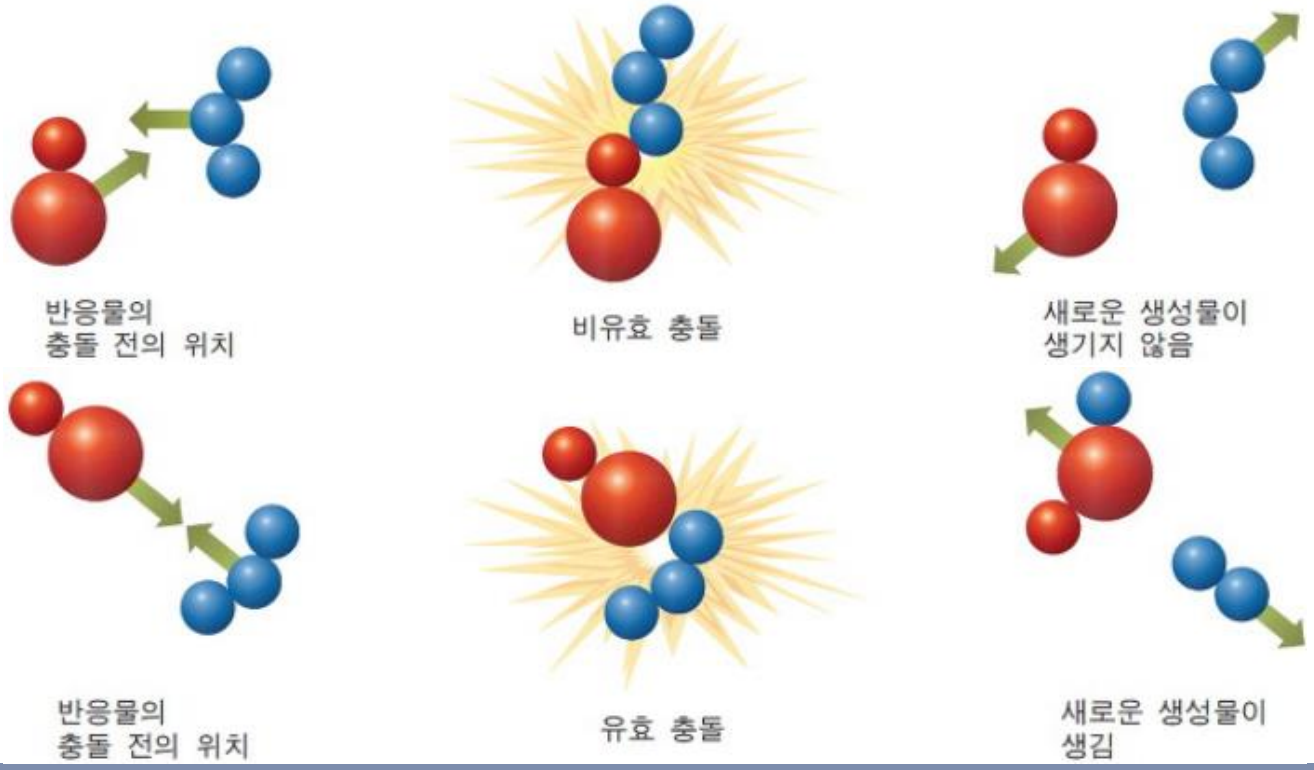
반응속도상수 k

$$\text{Rate}_1 = k_1[A]^n[B]^m$$

수많은 인자들이 반응속도에 영향을 미친다

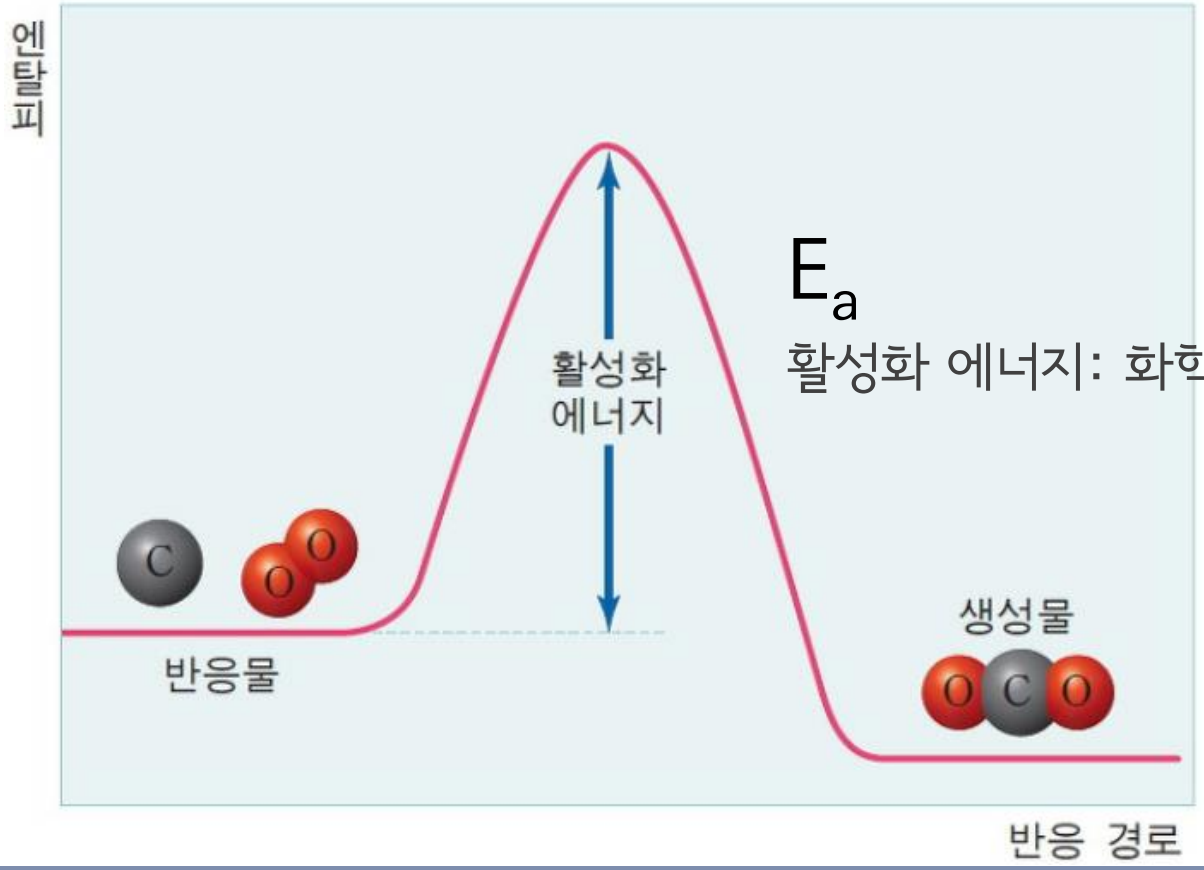
충돌 모형

- 분자가 충돌해야 화학반응이 일어남
- 충돌 방향이 화학 반응을 일으키기에 적합한 방향이어야 함



수많은 인자들이 반응속도에 영향을 미친다

- 반응물 입자들이 충분히 빠른 소도로 충돌해야 함
- 충돌에너지는 반응물의 화학결합을 끊는데 사용



E_a

활성화 에너지: 화학 반응에 필요한 문턱 에너지

수많은 인자들이 반응속도에 영향을 미친다

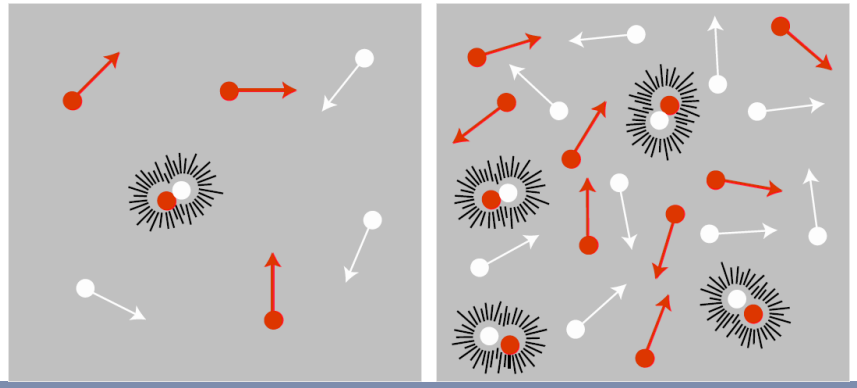
반응물의 성질: 반응물의 화학적 성질이 다르면 속도 역시 다름

- 분자 자체의 반응성이 다르기 때문

$2NO + O_2 \longrightarrow 2NO_2$: 실온에서 빠른 반응

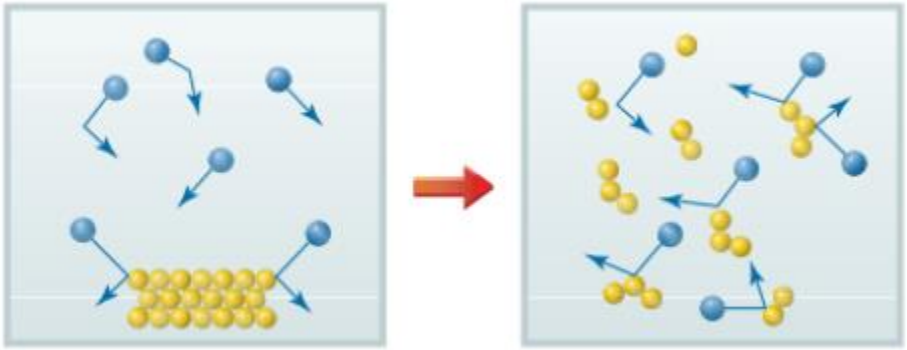
$2CO + O_2 \longrightarrow 2CO_2$: 실온에서 매우 느린 반응

반응물의 농도: 반응물의 농도를 증가시키면 충돌횟수가 증가하며 반응속도가 증가

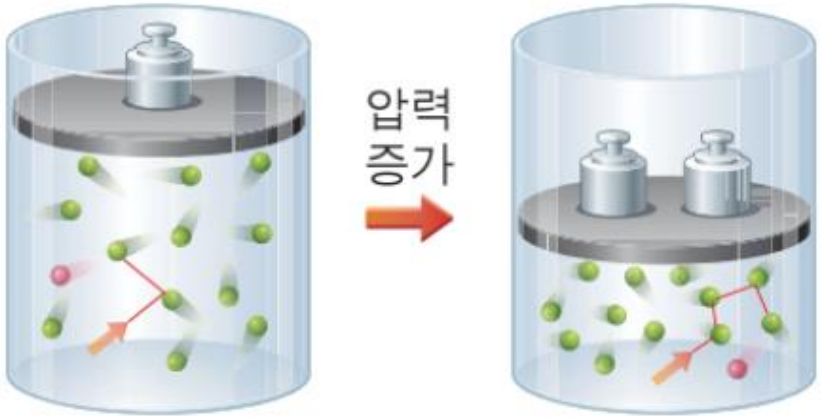


수많은 인자들이 반응속도에 영향을 미친다

표면적: 고체 물질의 표면적이 증가할수록 노출되는 입자수가 증가하여, 충돌 수가 증가하며 반응속도가 증가



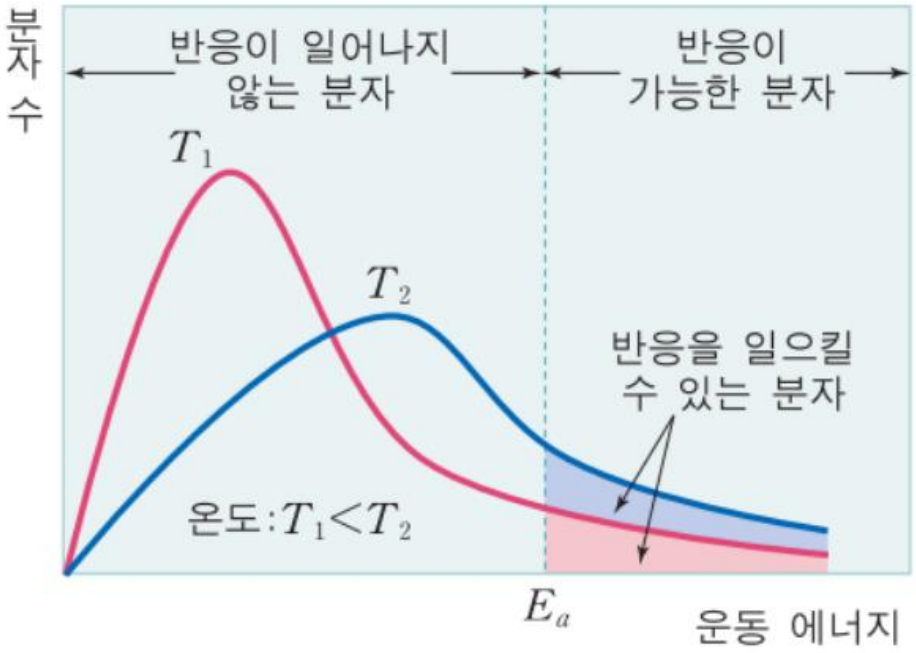
압력: 기체 물질은 압력이 커질수록 단위 부피당 분자수가 증가하여, 충돌수가 증가하며 반응속도가 증가



수많은 인자들이 반응속도에 영향을 미친다

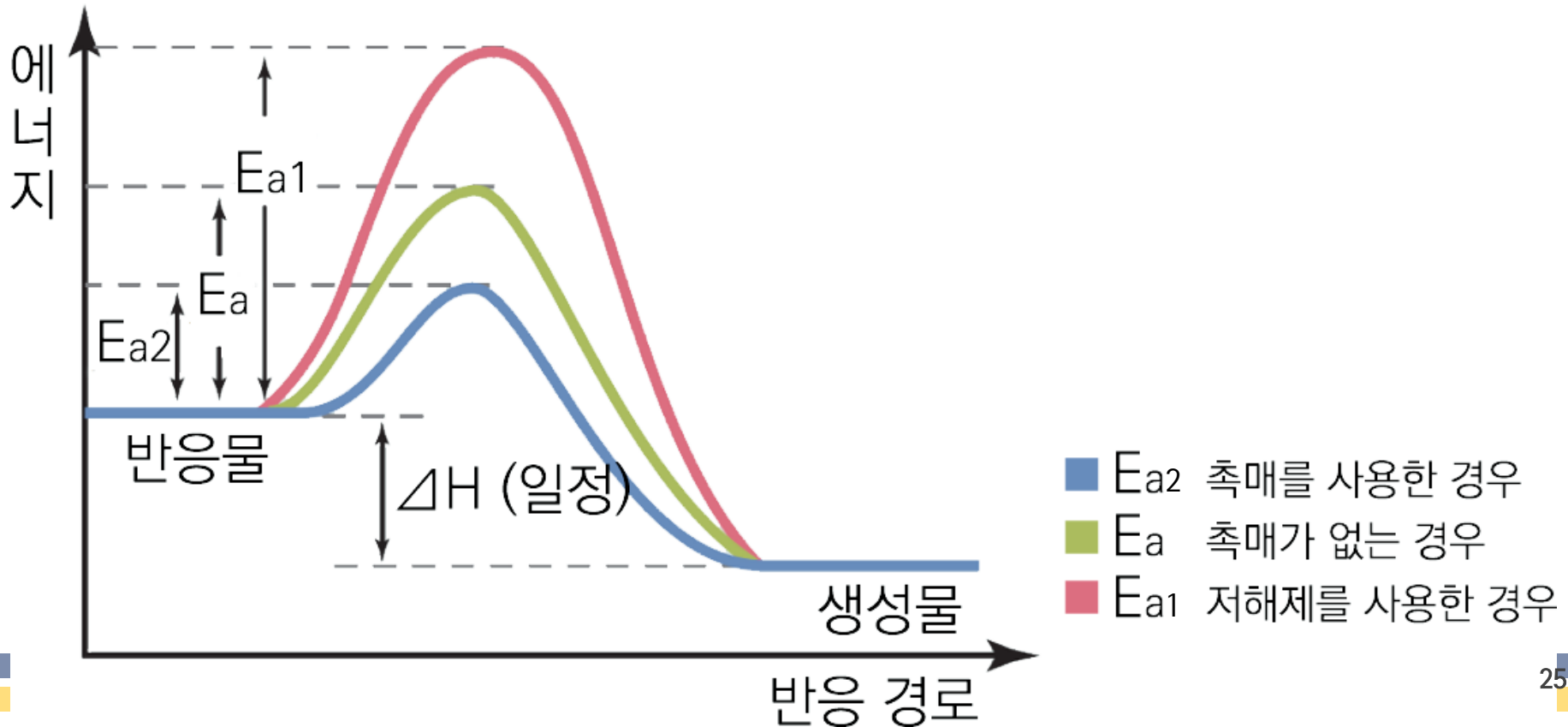
반응온도

- 반응물의 온도를 높이면 입자들의 운동에너지가 증가하여 충돌 횟수가 증가
- 활성화에너지를 극복할 수 있는 충분한 에너지를 가지는 입자 수 또한 증가



반응 속도는 활성화 에너지에 의하여 결정된다

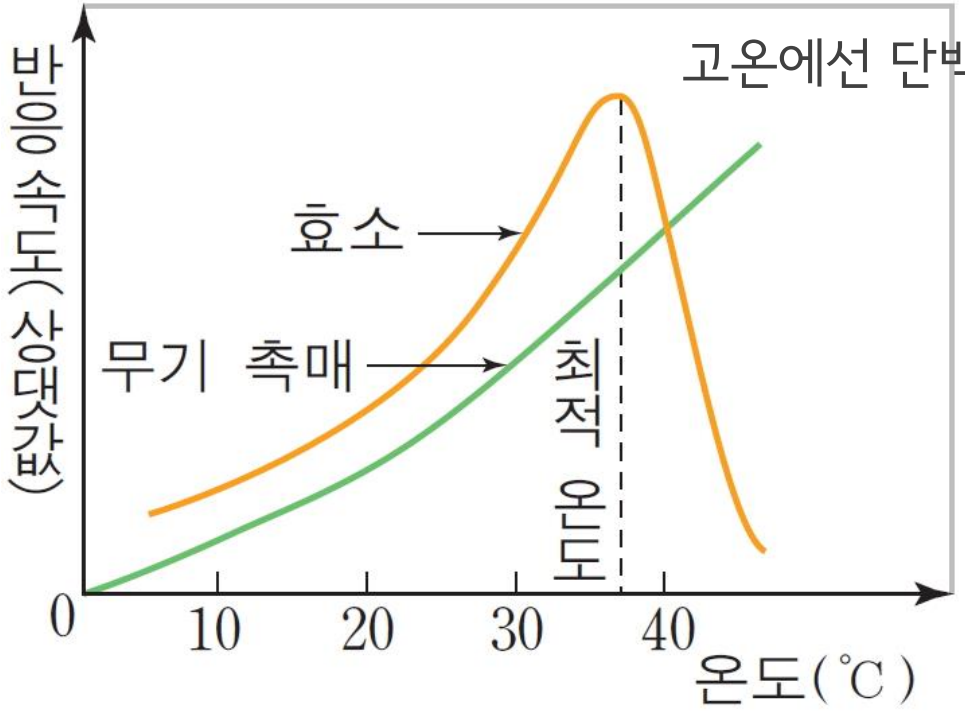
- 촉매는 반응을 위한 활성화 에너지를 낮춤
- 새로운 반응의 경로로 화학 반응이 진행
- 유효 충돌 수를 증가시켜 반응 속도를 증가시킴



효소-촉매 반응의 속도에 영향을 주는 다양한 요소들

온도: 온도 ↑ → 반응물과 충돌 빈도와 운동에너지 ↑

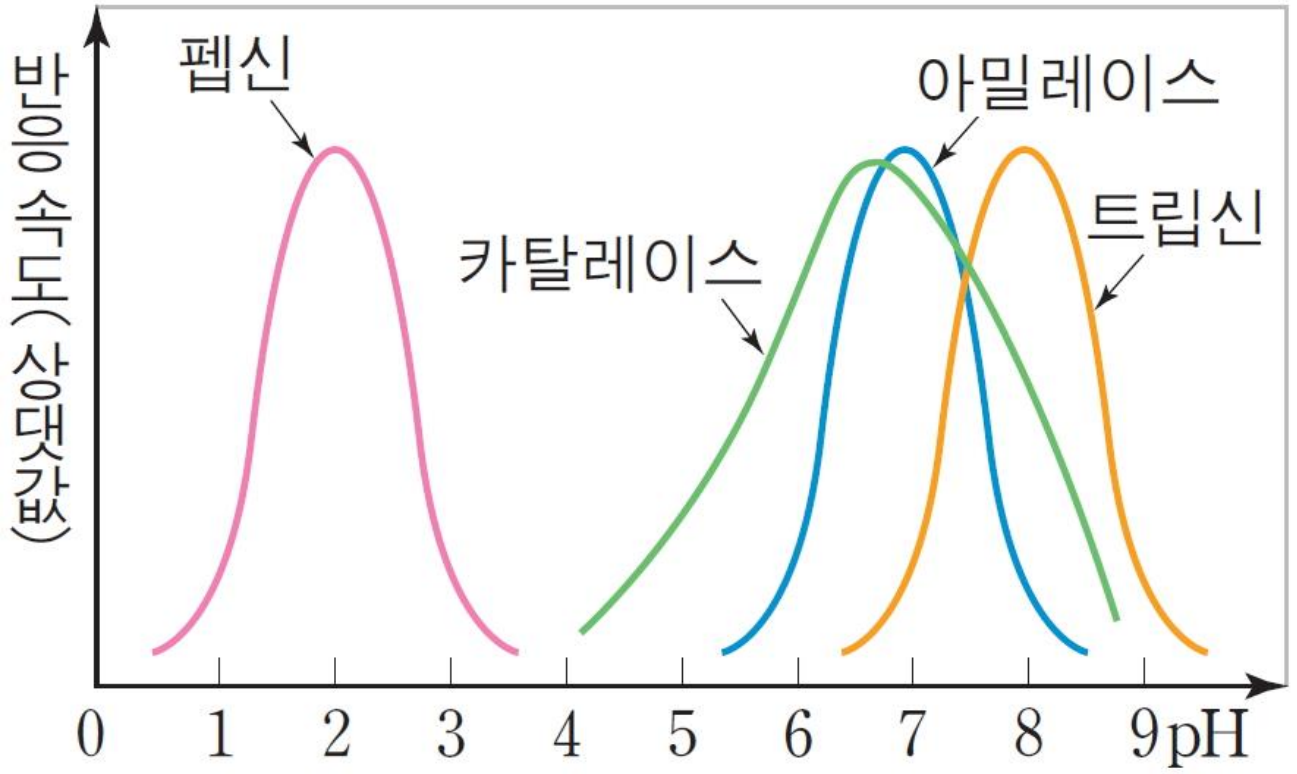
- 온도 계수 (Q_{10}): 온도가 10℃ 상승할 때 반응 속도의 증가를 표현하는 상수
- 일반적으로 10℃ 상승 시 반응 속도 2배 증가 ($Q_{10} = 2$)



효소-촉매 반응의 속도에 영향을 주는 다양한 요소들

수소 이온 농도 (pH)

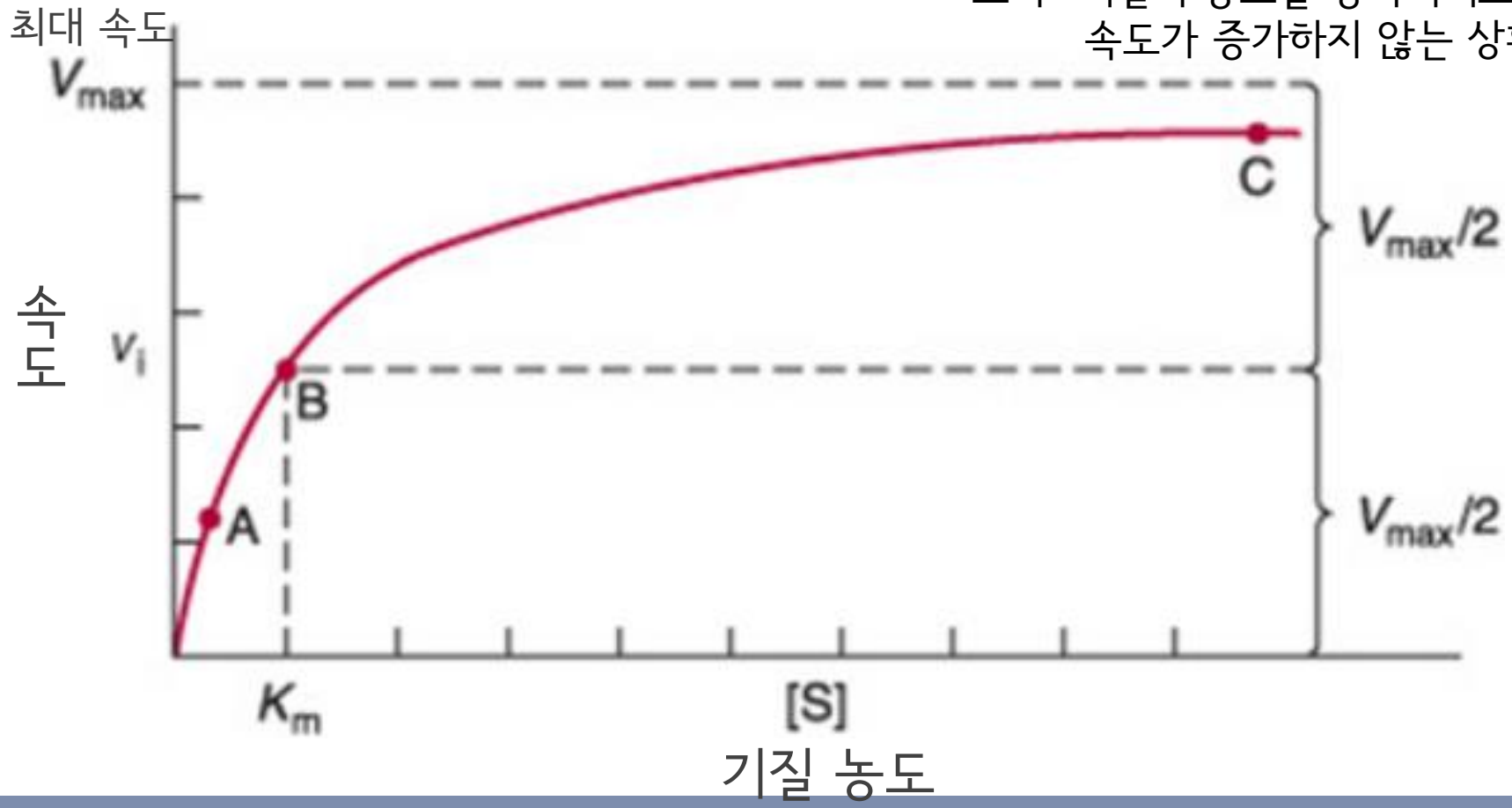
- 대부분의 효소는 pH에 따라 전하량이 달라짐
- 반응하기 위한 최적의 pH(= 적절한 양성자화)가 필요



기질 농도는 반응속도에 영향을 미친다

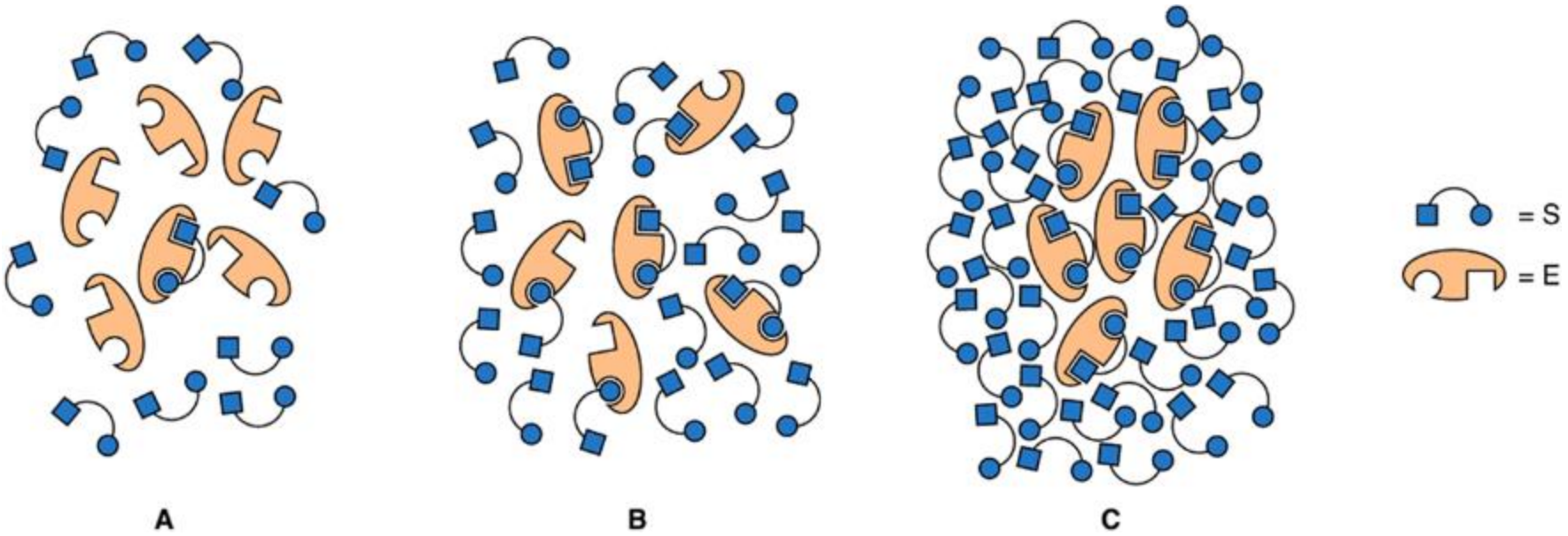
- 효소-촉매 반응의 측정은 초기 반응속도를 측정

포화: 기질의 농도를 증가시켜도
속도가 증가하지 않는 상황



기질 농도는 반응속도에 영향을 미친다

- 반응 속도는 효소-기질 복합체(E-S 복합체)를 형성하는 것을 의미



미하엘리스-멘텐식과 라인웨버-버크 도표

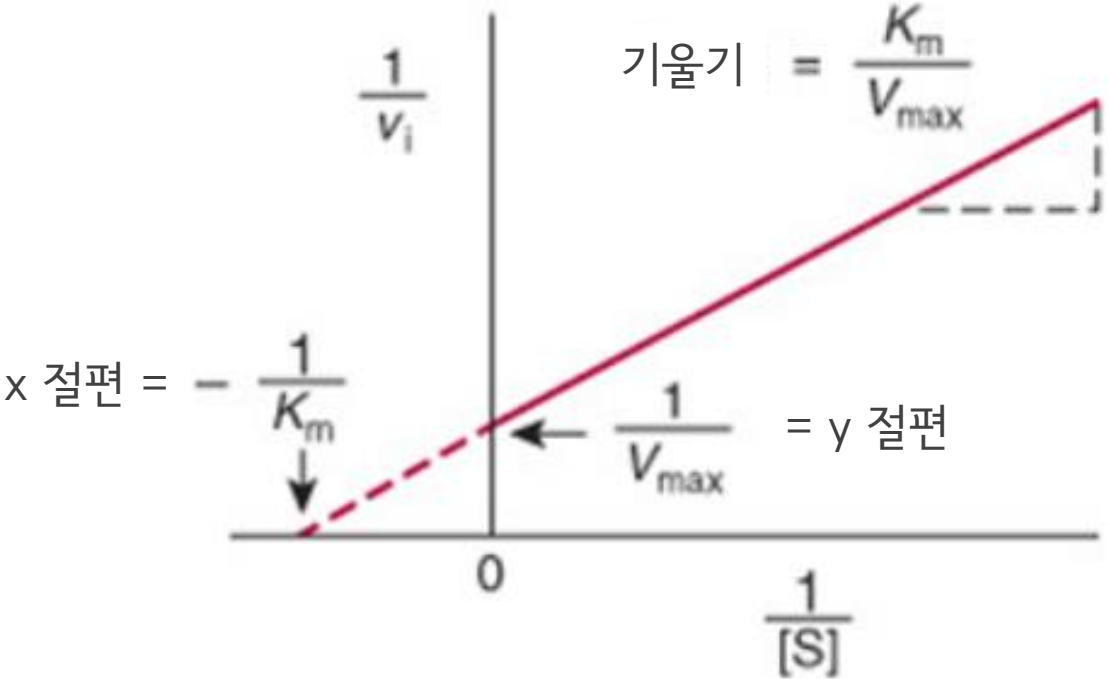
- 초기 반응속도(v_i)와 기질 농도[S] 사이의 관계

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

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{[S]}{V_{max}[S]}$$

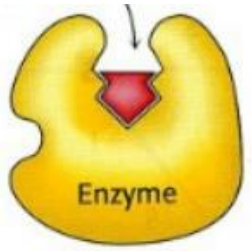
$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

y = ax + b
일차 함수

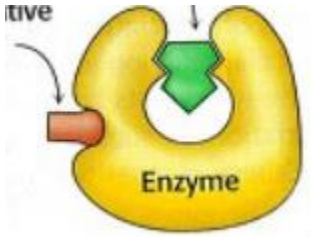


반응속도론 분석은 경쟁억제와 비경쟁 억제를 구분한다

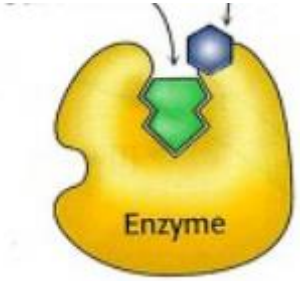
경쟁적 억제제(competitive inhibitor)
- 기질과 비슷한 구조를 지닌 저해제가 활성부위를 두고 경쟁
- 기질 농도를 증가시켜 저해제 영향을 극복
- 효소-기질 복합체가 형성되지 않음



비경쟁적 억제제(noncompetitive inhibitor)
- 활성부위가 아닌 다른부위에 결합하여 효소 억제
- 효소-기질 복합체 형성에는 문제 없음



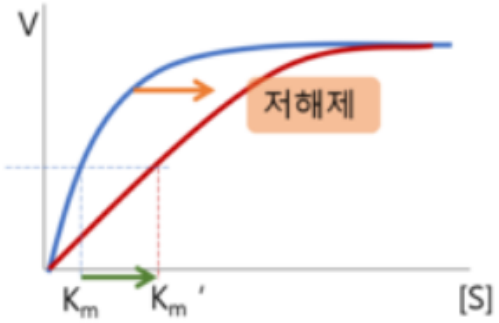
불경쟁적 억제제(uncompetitive inhibitor)
- 효소-기질 복합체에 결합하여 반응을 억제

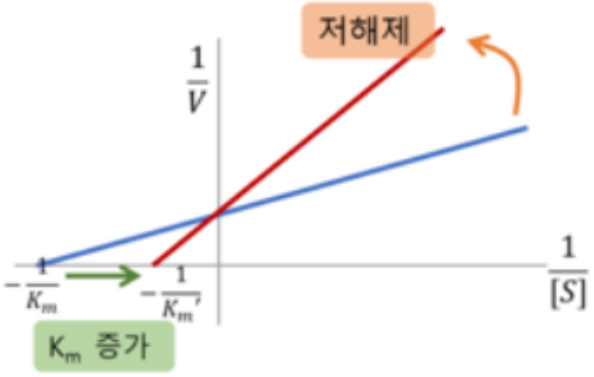


반응속도론 분석은 경쟁억제와 비경쟁 억제를 구분한다

경쟁적 억제

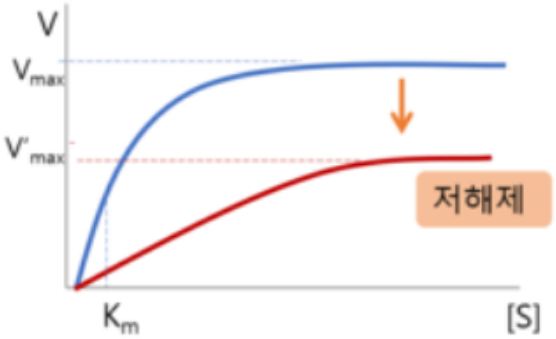
K_m 증가, k_{cat} 일정, $\frac{k_{cat}}{K_m}$ 감소

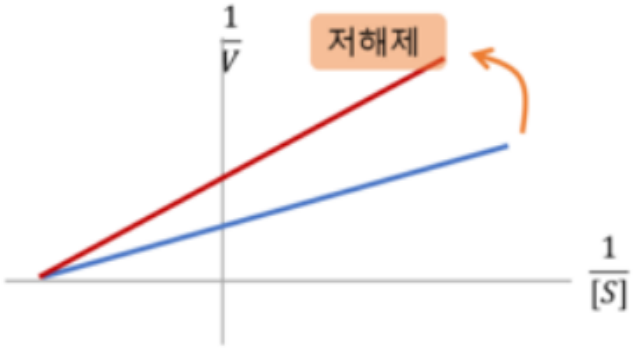




비경쟁적 억제

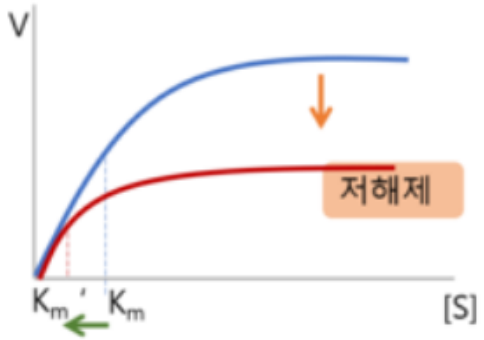
K_m 일정, k_{cat} 감소, $\frac{k_{cat}}{K_m}$ 감소

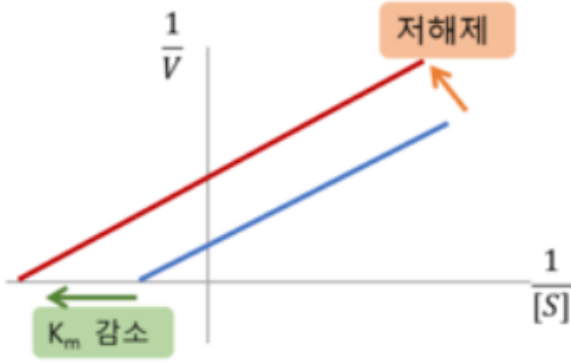




불경쟁적 억제

K_m 감소, k_{cat} 감소





IC_{50}

- IC_{50} (inhibitory concentration): 활성도가 50% 억제되는 농도

- CC_{50} (cytotoxic concentration): 50% 정도가 세포 독성 반응을 나타내는 농도
- EC_{50} (effective concentration): 효과가 50%만 나타나는 농도
- LD_{50} (lethal does): 대상 중 50%가 사망하는 농도

효소 반응속도론, 기전과 억제방식에 대한 지식은 약물개발을 도와준다

약리학의 목표

- 공격해오는 병원체의 발생, 침윤성, 성장에 손상을 주거나 파괴하는 것
- 내인성 방어 기전을 자극하는 것
- 숙주의 정상적인 세포 기능은 최소한으로 방해하면서 유전적, 환경적 및 생물학적인 자극에 의해 촉발되는 이상한 분자 과정을 멈추거나 방해

- 많은 약물을 효소 억제제로 작용
- 효소 반응속도론은 적절한 조건을 결정하는데 도움

요약

- 효소 반응속도론 연구는 기질을 산물로 변환시키는 효소의 개별단계를 밝히는 것, 효소-촉매 반응의 속도에 영향을 주는 인자에 대한 연구
- 반응속도에 영향을 주는 요소는 다양하며, 촉매는 활성화 에너지를 낮추어 반응속도를 조절
- 미하엘리스-멘텐식의 방정식은 초기 반응속도와 기질 농도 사이의 관계를 설명하며, 라인웨버-버크 도표는 효소 억제제들의 반응속도론 기전을 설명하는데 사용
- 경쟁, 비경쟁 및 불경쟁 억제제들이 있으며, IC_{50}을 이용하여 50% 억제를 일으키는 억제제의 농도를 표현