

Cấu trúc phân tử enzyme

Bản chất hóa học của enzyme

Từ gần một thế kỷ trước đây, các nhà khoa học đã đổ xô vào việc xác định bản chất hóa học của enzyme. Cho đến nay, có thể nói rằng, ngoài nhóm nhỏ phân tử RNA có hoạt tính xúc tác, tuyệt đại đa số enzyme có bản chất là protein và sự thể hiện hoạt tính xúc tác phụ thuộc vào cấu trúc bậc 1, 2, 3 và 4 của phân tử protein và trạng thái tự nhiên của chúng. Thực tế là bản chất hóa học của enzyme chỉ được xác định đúng đắn từ sau khi kết tinh được enzyme.

Enzyme đầu tiên nhận được ở dạng tinh thể là urease của đậu tương (Sumner, 1926), tiếp theo là pepsin và trypsin (Northrop và Kunitz, 1930, 1931). Sau đó những tác giả khác cũng đã kết tinh được một số enzyme khác và có đủ bằng chứng xác nhận các tinh thể protein nhận được chính là các enzyme.

Cấu trúc phân tử enzyme

Bản chất hóa học của enzyme

Kết quả nghiên cứu tính chất hóa lý của enzyme đã cho thấy enzyme có tất cả các thuộc tính hóa học của các chất protein về hình dạng phân tử: đa số enzyme có dạng **hình cầu (dạng hạt)**. Tỷ lệ giữa trục dài và trục ngắn của phân tử vào khoảng 1 - 2 hoặc 4 - 6.

Về khối lượng phân tử: các enzyme có khối lượng phân tử lớn, thay đổi rất rộng từ **12000 dalton đến 1.000.000 dalton** hoặc lớn hơn.

Cấu trúc phân tử enzyme

Bản chất hóa học của enzyme

Do kích thước phân tử lớn, các enzyme không đi qua được màng bán thấm. Enzyme tan trong nước, khi tan tạo thành dung dịch keo; chúng cũng tan trong dung dịch muối loãng, glycerin và các dung môi hữu cơ có cực khác. Enzyme không bền và dễ dàng bị biến tính dưới tác dụng của nhiệt độ cao. Enzyme bị biến tính thì mất khả năng xúc tác. Mức độ giảm hoạt tính của enzyme tương ứng với mức độ biến tính của protein trong chế phẩm. Kiềm, acid mạnh, kim loại nặng cũng làm cho enzyme biến tính. Cũng như protein, enzyme cũng có tính chất lưỡng tính.

Cấu trúc phân tử enzyme

Thành phần cấu tạo của enzyme

Cũng như protein, enzyme có thể là **protein đơn giản** hoặc **protein phức tạp**. Trên cơ sở đó, người ta thường phân enzyme thành hai nhóm: enzyme một thành phần (enzyme một cấu tử) và enzyme hai thành phần (enzyme hai cấu tử). Trường hợp enzyme là một protein đơn giản gọi là enzyme một thành phần. Trường hợp enzyme là một protein phức tạp nghĩa là ngoài protein đơn giản còn có một nhóm ngoại nào đó không phải protein gọi là enzyme hai thành phần.

Cấu trúc phân tử enzyme

Thành phần cấu tạo của enzyme

Phần protein của enzyme hai thành phần được gọi là **apoprotein hay apoenzyme**, còn phần không phải protein gọi là nhóm ngoại hoặc **coenzyme**. Phần không phải protein thường là những chất hữu cơ đặc hiệu có thể gắn chặt vào phần protein hoặc có thể chỉ liên kết lỏng lẻo và có thể tách khỏi phần protein khi cho thẩm tích qua màng

Cấu trúc phân tử enzyme

Thành phần cấu tạo của enzyme

Coenzyme là phần không phải protein của enzyme trong trường hợp khi nó dễ tách khỏi phần apoenzyme khi cho thẩm tích qua màng bán thấm và có thể tồn tại độc lập. Phần không phải protein của enzyme được gọi là nhóm ngoại hay nhóm prosthetic, khi nó liên kết chặt chẽ với phần protein của enzyme bằng liên kết đồng hóa trị.

Một phức hợp hoàn chỉnh gồm cả apoenzyme và coenzyme được gọi là holoenzyme.

Một coenzyme khi kết hợp với các apoenzyme tạo thành các holoenzyme khác nhau xúc tác cho quá trình chuyển hóa các chất khác nhau nhưng giống nhau về kiểu phản ứng.

Cấu trúc phân tử enzyme

Thành phần cấu tạo của enzyme

Coenzyme trực tiếp tham gia phản ứng xúc tác, giữ vai trò quyết định kiểu phản ứng mà enzyme xúc tác và làm tăng độ bền của apoenzyme đối với các yếu tố gây biến tính.

Apoenzyme có tác dụng nâng cao hoạt tính xúc tác của coenzyme và quyết định tính đặc hiệu của enzyme..

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

Trong nhiều trường hợp, các chuỗi polypeptide có cấu trúc bậc ba có thể kết hợp với nhau tạo thành phân tử enzyme có cấu trúc bậc bốn. Như vậy cấu trúc bậc bốn là cách sắp xếp đặc trưng trong không gian của các chuỗi polypeptide riêng biệt trong phân tử enzyme. Đến nay người ta đã xác định rằng số lớn các enzyme trong tế bào đều có cấu trúc bậc bốn.

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

Các enzyme có cấu trúc bậc bốn là enzyme **oligomer** và **polymer** do nhiều đơn vị nhỏ cấu tạo nên, mỗi đơn vị nhỏ là do một chuỗi polypeptide. Các đơn vị nhỏ trong một phân tử enzyme có thể giống nhau, nhưng cũng có thể khác nhau về cấu tạo và chức năng, hoặc cũng có thể một số giống nhau, một số khác nhau. Những enzyme do nhiều đơn vị nhỏ cấu tạo nên còn được gọi là các enzyme polymer và các đơn vị nhỏ được gọi là protomer (các đơn vị nhỏ còn được gọi là các mảnh hoặc tiểu phần dưới đơn vị).

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

So với các enzyme monomer, các enzyme có cấu trúc bậc bốn có những điểm sai khác sau đây:

- Có trọng lượng phân tử tương đối lớn, vào khoảng hơn 100.000
- Phân tử thường chứa một vài trung tâm hoạt động, có khi có đến 3,4 trung tâm hoạt động.

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

So với các enzyme monomer, các enzyme có cấu trúc bậc bốn có những điểm sai khác sau đây:

- Khả năng tương tác của một trung tâm hoạt động với cơ chất sẽ phụ thuộc vào trạng thái chức năng của các trung tâm hoạt động khác.

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

- Là điều kiện cần thiết để xuất hiện tính chất allosteric của enzyme. Enzyme **allosteric** (enzyme dị lập thể, dị không gian) là enzyme mà chất trao đổi có thể làm ảnh hưởng (ức chế hoặc hoạt hóa) lên tác dụng của chúng. Hình như hiện tượng dị lập thể (allosteric) bắt đầu xảy ra trước hết ở các enzyme được xây dựng nên từ một số tiểu đơn vị vì hiệu ứng dị lập thể có ảnh hưởng đến độ bền của liên kết giữa các tiểu đơn vị này (xem thêm ở phần enzyme dị lập thể).

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

- Gồm các tiểu phần dưới đơn vị: Đa số các enzyme có cấu trúc bậc bốn chứa từ 2 - 4 protomer, một số enzyme khác chứa từ 6 - 8 protomer. Ví dụ enzyme catalase có trọng lượng phân tử 252.000, chứa 6 mảnh dưới đơn vị, mỗi mảnh có phân tử lượng là 42.000.

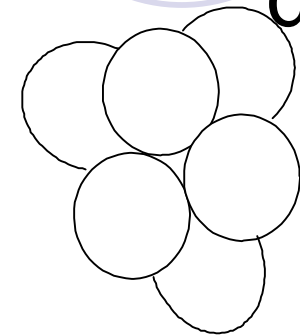
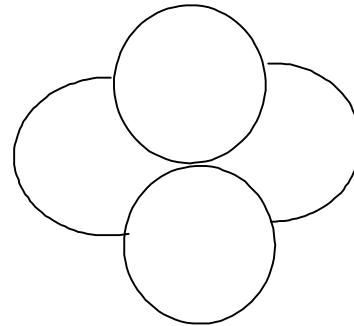
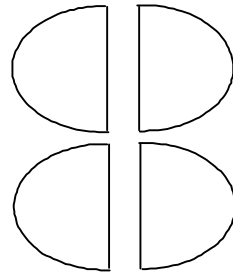
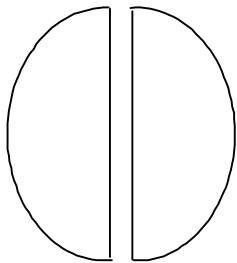
Một số enzyme chứa đến 12 protomer ví dụ như arginine carboxylase, oxaloacetate carboxylase.

Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

- Sự sắp xếp của các mảnh dưới đơn vị trong phân tử enzyme thường có tính chất đối xứng cao.

Có 4 kiểu chính, được biểu thị ở hình dưới đây.



Cấu trúc phân tử enzyme

Cấu trúc bậc 4 của enzyme

- Các tiểu phần tương tác với nhau bằng các **kiểu liên kết khác nhau**. Trong đa số trường hợp nhờ tương tác kỵ nước, liên kết hydrogen, một số trường hợp khác nhờ liên kết disulfide (ví dụ glucoseoxydase của *Asp.niger*) hoặc cầu polypeptide (ví dụ như ở enzyme leucin-s-RNA-synthetase). Cầu polypeptide này có vai trò quan trọng với tính đặc hiệu của enzyme, khi mất nó sẽ thay đổi tính chất phản ứng.

Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme

Toàn bộ cấu trúc không gian của phân tử enzyme có vai trò quan trọng đối với hoạt tính xúc tác của enzyme. Tuy nhiên, hoạt động của enzyme liên hệ trực tiếp với một phần xác định trong phân tử enzyme. Trung tâm hoạt động của enzyme là phần của phân tử enzyme trực tiếp kết hợp với cơ chất, tham gia trực tiếp trong việc tạo thành và chuyển hóa phức chất trung gian giữa enzyme và cơ chất để tạo thành sản phẩm phản ứng. Trung tâm hoạt động bao gồm nhiều nhóm chức năng khác nhau của amino acid, phân tử nước liên kết và nhiều khi có cả cofactor hữu cơ (coenzyme) và vô cơ.

Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme

Ở các enzyme một thành phần, trung tâm hoạt động thường bao gồm một tổ hợp các nhóm chức năng của amino acid không tham gia tạo thành trục chính của sợi polypeptide. Ví dụ nhóm - SH của cysteine - OH của serine, threonine và tyrosine, - NH₂ của lysine, -COOH của glutamic acid, aspartic, vòng imidazol của histidine, indol của tryptophan, nhóm guanidin của arginine.

Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme

Các nhóm này có thể ở xa nhau trong mạch polypeptide nhưng lại gần nhau trong không gian, được định hướng xác định trong không gian cách nhau những khoảng cách nhất định sao cho chúng có thể tương tác với nhau trong quá trình xúc tác.

Cấu trúc phân tử enzyme

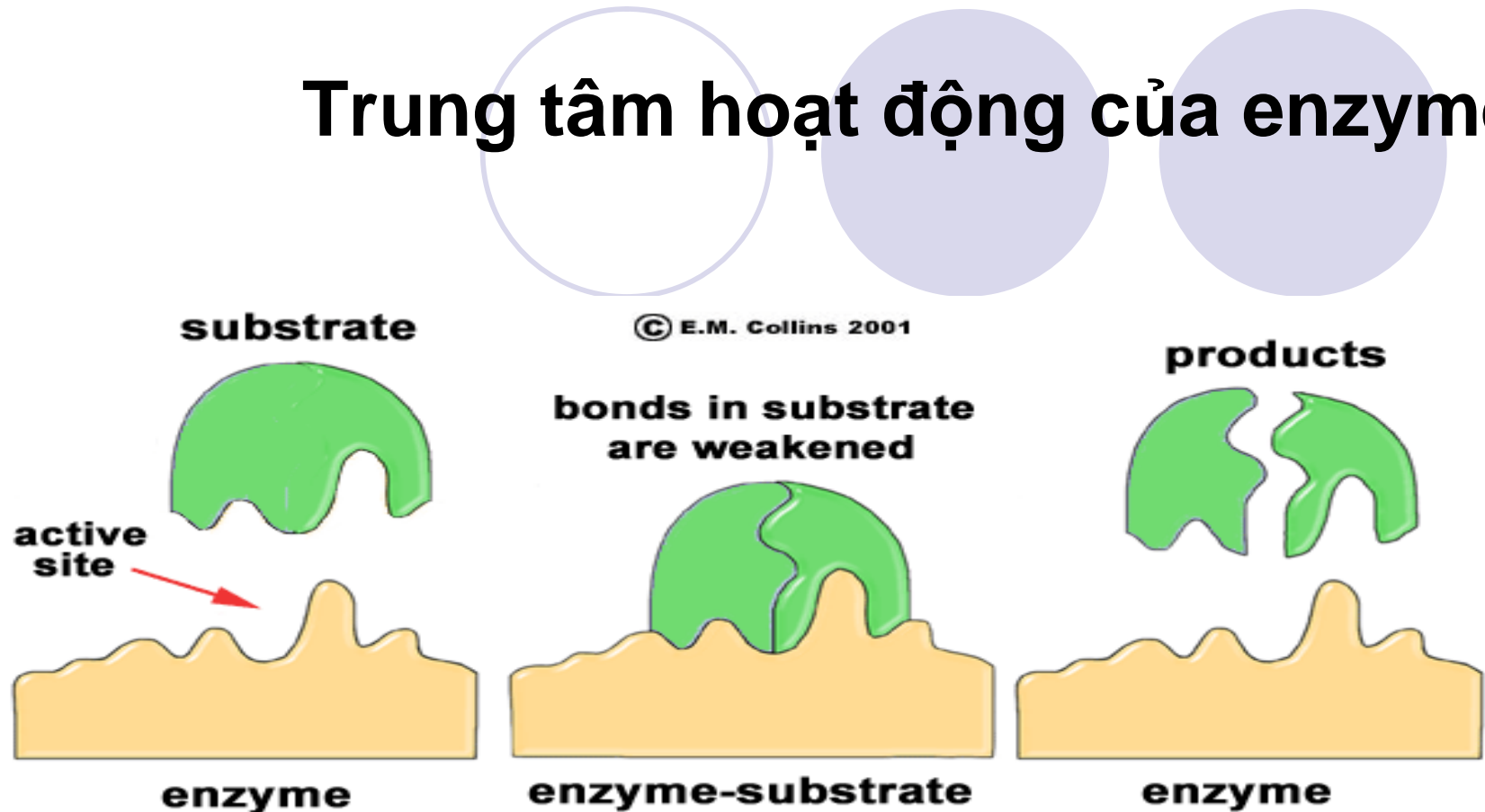
Trung tâm hoạt động của enzyme

Trung tâm hoạt động của các enzyme hai thành phần thường bao gồm nhóm ngoại (vitamin, ion kim loại ...) và các nhóm chức năng của các amino acid ở phần apoenzyme.

Theo quan niệm của Fisher thì trung tâm hoạt động của enzyme đã được hình thành sẵn với một cấu tạo nhất định chỉ cho phép cơ chất có cấu tạo tương ứng kết hợp vào. Do đó có thể ví sự tương ứng đó như “ổ khóa với chìa khóa”

Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme



Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme

Thuyết này tuy cũng giải thích được một số hiện tượng nhưng không giải thích thỏa đáng được nhiều kết quả thu được trong thực nghiệm. Vì vậy, Koshland đã đưa ra một giả thuyết khác hấp dẫn và tế nhị hơn. Theo thuyết này thì *đặc điểm của vùng trung tâm hoạt động là rất mềm dẻo và linh hoạt*, các nhóm chức năng của trung tâm hoạt động của enzyme tự do chưa ở tư thế sẵn sàng hoạt động, khi tiếp xúc với cơ chất, các nhóm chức năng ở trong phần trung tâm hoạt động của phân tử enzyme thay đổi vị trí trong không gian, tạo thành hình thể khớp với hình thể của cơ chất. Cũng vì vậy, người ta gọi mô hình này là mô hình “tiếp xúc cảm ứng” hoặc “khớp cảm ứng”.

Cấu trúc phân tử enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme

Giữa cơ chất và trung tâm hoạt động tạo thành nhiều tương tác yếu, do đó có thể dễ dàng bị cắt đứt trong quá trình phản ứng để giải phóng enzyme và sản phẩm phản ứng.

Cấu trúc phân tử enzyme

Các dạng phân tử của enzyme

Trong cấu trúc phân tử của enzyme, tính chất tinh vi và phức tạp không chỉ giới hạn ở phạm vi từng phân tử, từ thành phần cấu tạo và các bậc cấu trúc cho đến cấu tạo của trung tâm hoạt động cùng với vai trò của các nhóm chức năng mà còn thể hiện ở tính đa dạng của các phân tử enzyme. Tính đa dạng của nhiều enzyme khác nhau đã được phát hiện ở các cơ thể sống khác nhau từ người, động vật, thực vật đến vi sinh vật.

Những enzyme xúc tác cùng một phản ứng hóa học và có cùng tính đặc hiệu cơ chất nhưng có nguồn gốc khác nhau nên thể hiện nhiều tính chất khác nhau.

Vd: amylase của dịch nước bọt và dịch tụy của người thì giống nhau, nhưng chúng khác với amylase thu được từ tụy lợn về độ hòa tan, về pH thích hợp và một số tính chất khác.