

ЕНЗИМИ

АДАПТИРАНО СПОРЕД

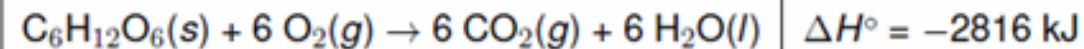
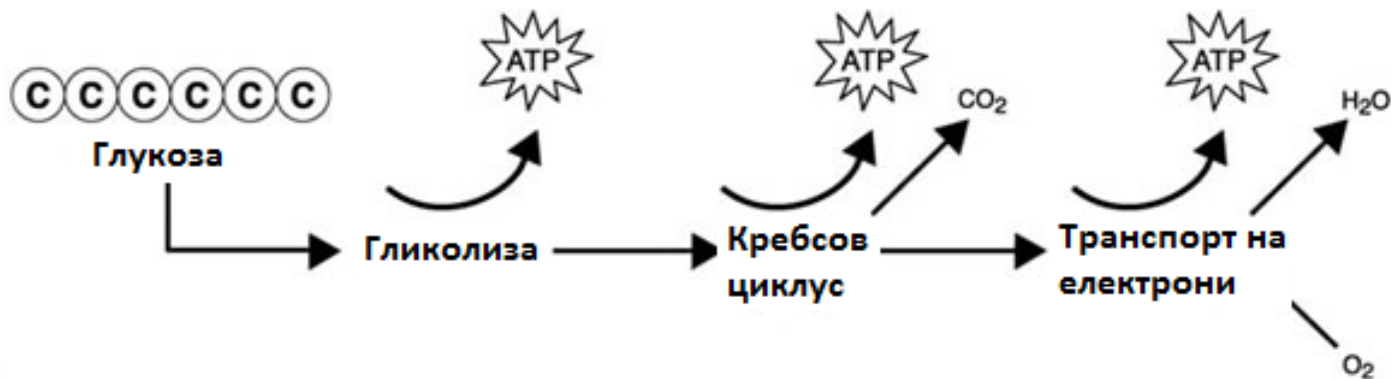
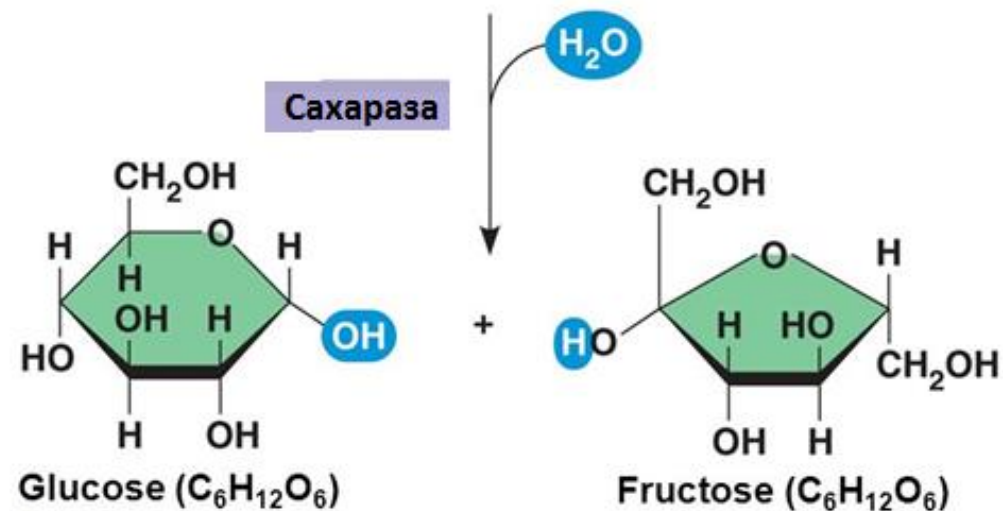
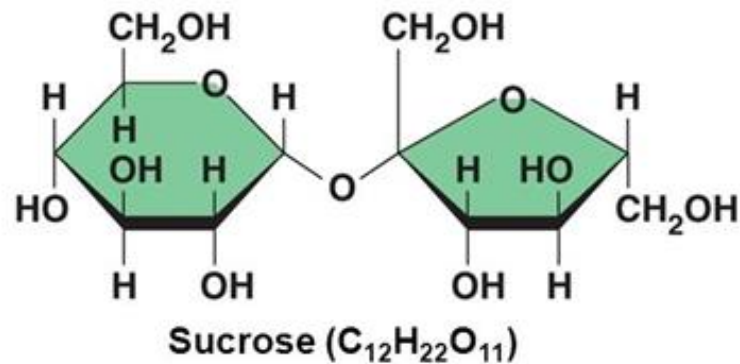
ЛЕНИНЏЕР ПРИНЦИПИ НА БИОХЕМИЈАТА , ДЕЈВИД НЕЛСОН, МАЈЛК КОКС

доц. д-р Наташа Ристовска, Институт за хемија, ПМФ-Скопје

- ▶ Како нашиот организам ја користи енергијата што ја дава шеќерот (слатки и пијалоци) за неколку секунди?
- ▶ Зошто шеќерот во сад со години не се менува?



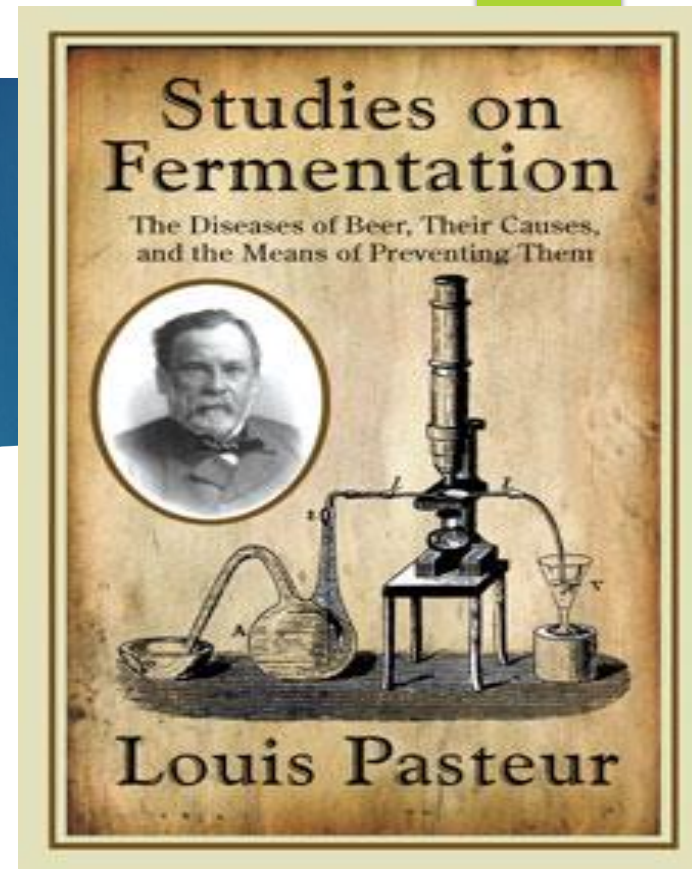
- ▶ При ензимски катализирана реакција на хидролиза на шеќерот (сахароза) се добиваат глюкоза и фруктоза.
- ▶ Метаболичките процеси на разложување на глюкозата до CO_2 и H_2O се ензимски катализирани реакции, при што се ослободува енергија.



ИЗУЧУВАЊЕ НА ЕНЗИМИ

Малку историја за ензимите

- ▶ Доцни 1700-ти и 1800-ти, познати се
 - ▶ дигестијата на месо од желудочните секрети (пепсин)
 - ▶ претворбата на скроб во сахароза со плунка (амилаза),
- ▶ Не биле познати механизмите според кои се одвиваат овие трансформации.
- ▶ 1850: Луј Пастер – ферментација на шеќер до алкохол е потпомогната со “ферменти”.



Ензимите дејствуваат надвор од живата клетка

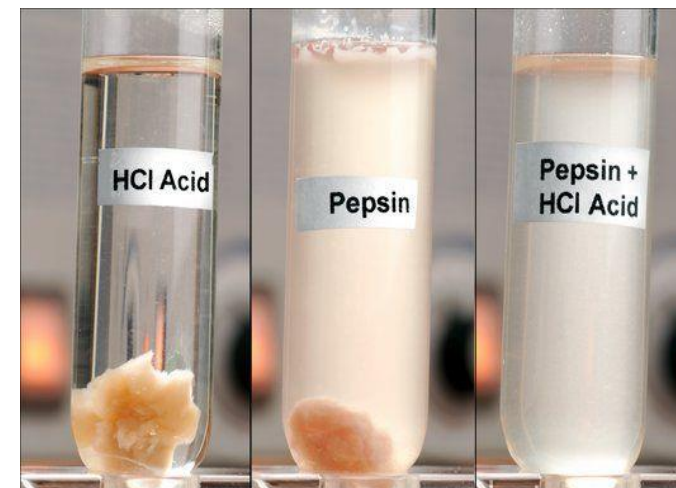


- ▶ 1870: Едвард Бухнер – шеќерите може да бидат ферментирани од екстракти на квасец, во отсуство на живи клетки.
- ▶ **Научен пристап:** изолираните ферменти може да дејствуваат надвор од клетките – (1907) Нобелова награда по хемија.
- ▶ Фредерик В. Куне – молекулите откриени од Бухнер ги именува како ензими (ένζυμον – во квасец)



Структура и дејство на ензими

- ▶ 1926: Џејмс Самнер – изолирање и кристализација на уреаза.
- ▶ 1930-ти: Џон Нортроп, Мозес Книц – изолација и кристализација на дигестивни ензими: пепсин, трипсин...
- ▶ Изучувања на структурата : протеинска природа на ензимите.
- ▶ Изучувања на дејството: Џ.Б.С.Халдан дал сугестија дека за катализата се важни водородните врски меѓу ензимот и неговот супстрат.



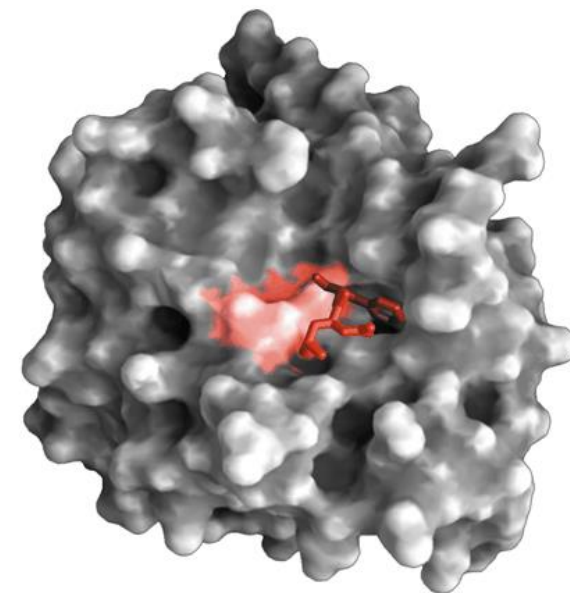
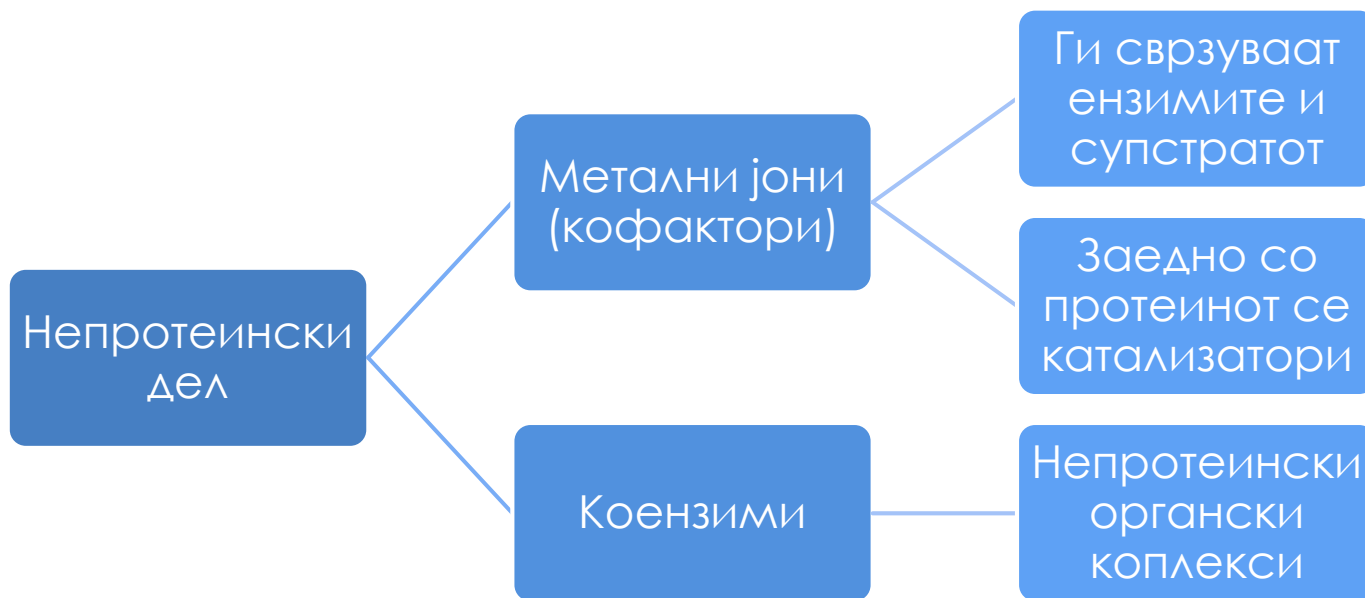
Градба и својства на ензимите

Протеинска природа на ензимите

- ▶ Речиси сите ензими се протеини, со исклучок на мала група комплекси на RNA (пр. рибозими – непротеински супстанции со каталитичка активност).
- ▶ Нивната **Mr** е 12 000 до 1 милион Da.
- ▶ Најчесто се вбројуваат во групата на **глобуларни протеини**.
- ▶ Каталитичката активност зависи од севкупноста на нивната **нативна конформација**.
- ▶ При денатурација на ензимот или негова дисоцијација до одделните субединици, каталитичката активност на ензимот е изгубена.

Класификација на ензимите според составот

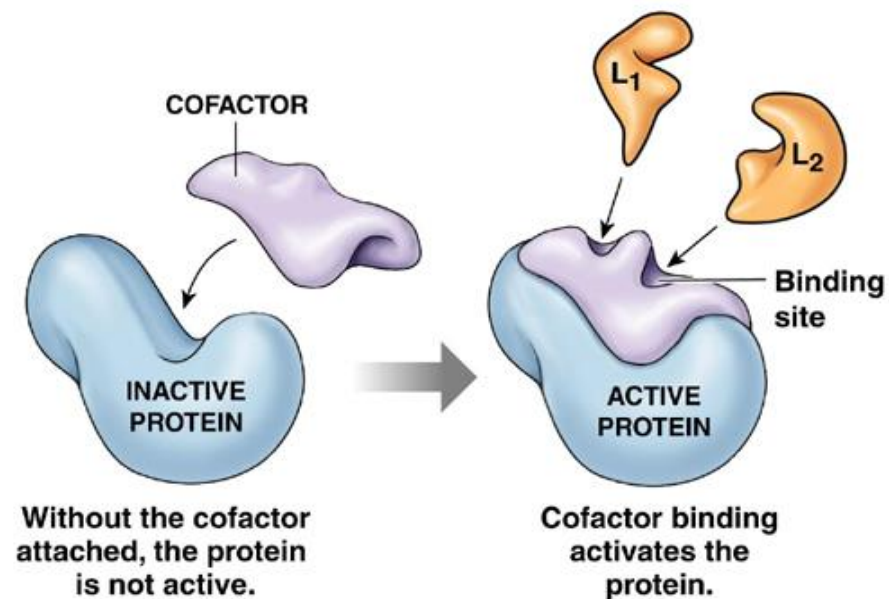
- ▶ **Еднокомпонентни ензими**: изградени само од протеински дел.
- ▶ **Двокомпонентни ензими**: изградени од протеински и непротеински дел (**коензим** – лесно дисоцира и/или **простетична група (кофактор)** – цврсто сврзана за протеинскиот дел).



Двокомпонентен ензим

Неоргански јони - кофактори на ензимите

Ions	Enzymes
Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

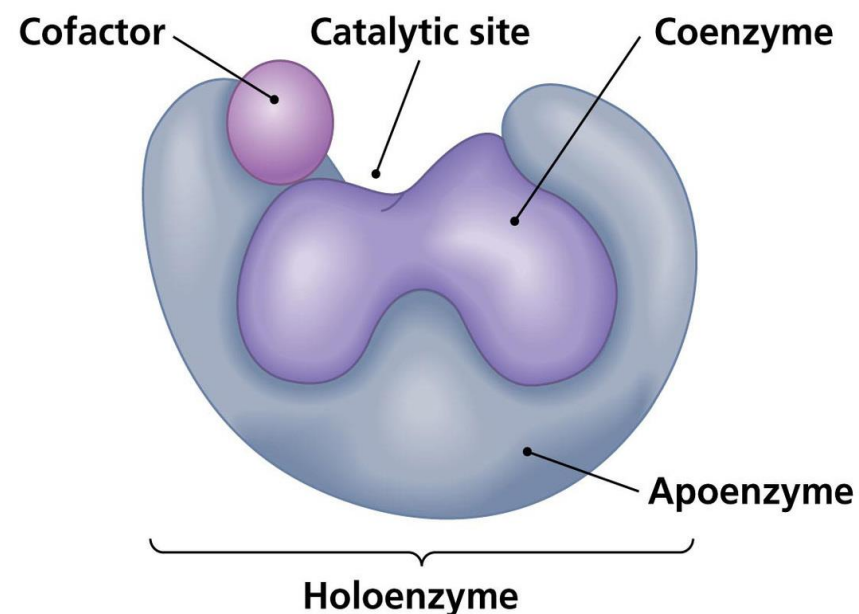


Коензими - носачи на специфични атоми или функционални групи

Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biocytin	CO ₂	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B ₁₂)	H atoms and alkyl groups	Vitamin B ₁₂
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion (:H ⁻)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B ₆)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B ₁)

Градба на ензимите

- ▶ Коензимот и металниот јон (кофактор) го претставуваат непотеинскиот дел од ензимот.
- ▶ Потеинскиот дел на овој ензим се нарекува **апоензим** (апопротеин).
- ▶ Двокомпонентниот ензим е **холоензим**.



Својства на ензимите

- ▶ Апоензимот кај сложените ензими ги има истите особини како и протеините.
- ▶ Се денатурира под дејство на висока температура (термолабилен) и при екстремни вредности на pH.
- ▶ Неговите водни раствори се исолуваат со неутрални неоргански соли.
- ▶ Таложат со соли на тешки метали.
- ▶ Протеинскиот дел од ензимот има голема молекулска маса и неможе да дијализира, т.е не може да премине преку полупропуслива мембрана.
- ▶ Коензимот се одликува со релативно помала молекулска маса, е термостабилен и може да дијализира.

Номенклатура и класификација на ензимите

Номенклатура на ензимите

Тривијални имиња на ензимите:

- ▶ **Според улогата** во организмот
 - ▶ Пепсин – дигестија
 - ▶ Лизозим – лиза (раскинување на бактериските сидови)
- ▶ Според **изворот на наоѓање**
 - ▶ Трипсин (истрашен, добиен од ткиво при третман со глицерол)

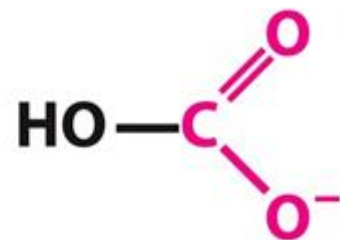
Рационални имиња на ензимите со додавање на наставката **–аза** кон:

- ▶ Латинското **име за супстратот** врз којшто дејствува ензимот
 - ▶ Уреаза – катализира хидролиза на уреа
 - ▶ Амилаза – катализира хидролиза на скроб (лат. amylum)

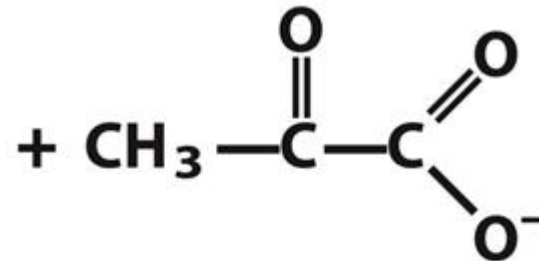
► **Име на катализираната реакција:**

- **Хидролази** - ензимите коишто ја катализираат реакцијата на хидролиза на естерите или на некои други супстрати.
 - **Декарбоксилази** - ензими кои ја катализираат декарбоксилацијата.
 - **Дехидрогенази** – ензими кои ги катализираат реакциите на дехидрогенација на супстратите.
- **Истовремено се именуваат** супстратот и реакцијата што ензимот ја катализира:
- пируват карбоксилаза; сукцинат дехидрогеназа, малат оксидоредуктаза...
 - DNA-полимераза – полимеризација на нуклеотиди до DNA.
- Од името на реакцијата којашто ја катализира ензимот се одзема наставката -ација и се заменува со нова наставка -аза.
- Името на супстратот на којшто дејствува ензимот и името на катализираната реакција се пишуваат одделно како два различни зборови.

бикарбонат



пируват

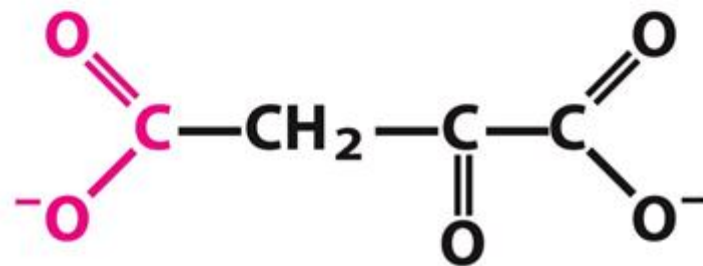


пируват
карбоксилаза

ATP

biotin

ADP + P_i



оксалоацетат

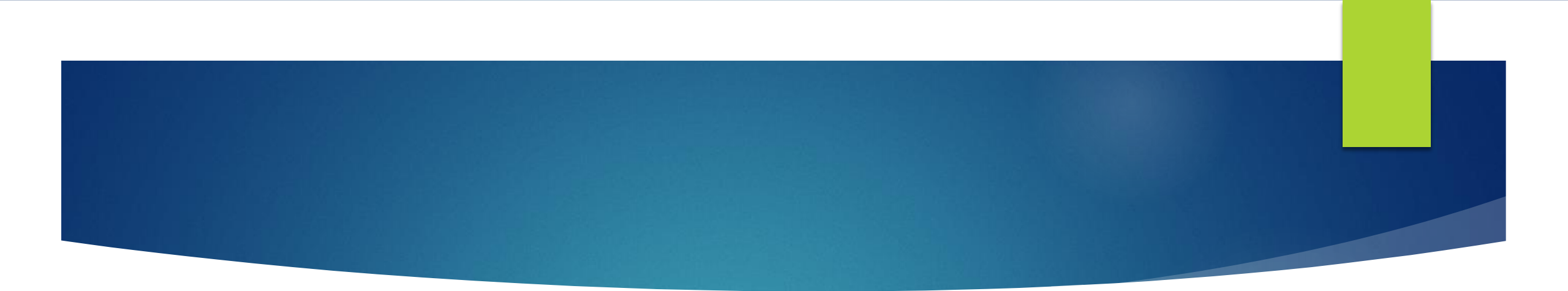
Системска номенклатура на ензимите

- ▶ Системска номенклатура и класификација на ензимите изработена 1961 година од Комисијата за ензими при Меѓународниот сојуз за биохемија (IUB).
- ▶ Оваа номенклатура и класификација била дополнета во 1972 година.
- ▶ Ензимите се класифицирани според типот на реакцијата што ја катализираат, а се однесува најчесто на трансфер на електрони, атоми или функционални групи.

Class no.	Class name	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Cleavage of C—C, C—O, C—N, or other bonds by elimination, leaving double bonds or rings, or addition of groups to double bonds
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to cleavage of ATP or similar cofactor

Класи на ензими

1. **Оксидоредуктази** – ги катализираат оксидационо-редукционите реакции.
 - ▶ Пр.: анаеробни и аеробни **дехидрогенази** и др.
2. **Трансферази** – го катализираат пренесувањето на разни атомски групи од еден на друг супстрат, или пренесувањето на атомски групи во истата молекула на супстратот.
 - ▶ Пр.: **трансаминази** (го катализираат пренесувањето на $-NH_2$ групи), **трансфосфатази** (го катализираат пренесувањето на фосфатни групи) и др.
3. **Хидролази** – ја катализираат реакцијата на разложување на супстратите со учество на вода.
 - ▶ Пр.: **естерази** (го катализираат хидролитичкото разложување на естерите) во кои се вбројуваат липази, фосфатази и др. **пептидази** (пепсин, трипсин).



4. **Лиази** – го катализираат раскинувањето на единечни врски во супстратите. Оваа реакција се одвива без присуство на вода.

► Пр.: **дехидратази, декарбоксилази** и др.

5. **Изомерази** – ги катализираат интрамолекулските претворби во супстратите.

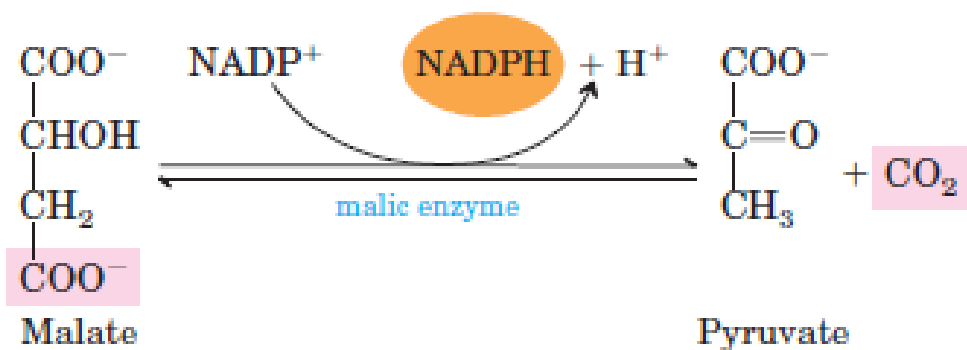
► Пр.: **рацемази, епимерази, цис-транс изомерази** и др.

6. **Лигази** – ги катализираат процесите на синтеза на посложени супстанции од попусти, при што како донор на енергија служи АТР.

► Пр.: различни **синтетази, карбоксилази** и други ензими.

Класификација на ензими

- **Класите** се делат на **подкласи** и **подподкласи**, во зависност од тоа кои групи или хемиски врски се вклучени во катализираната реакција.
- На крај, во оваа поделба секој ензим во подподкласата има **реден број**.
- Секој ензим е означен со четирицифрена шифра т.е. **код**. - **класификационен број Е.С.**
- Пр. Е.С. 1.1.1.37 – малат дехидрогеназа



E.C. 1.1.1.37

- Класа 1 – оксидоредуктаза
- Подкласа 1 – дејствува на –CH-OH групи
- Подподкласа 1 – акцептори на H се коензимите NAD⁺ и NADP⁺
- Реден број 37 – малатот е дозор на H (супстрат)

► ЕС 2. Трансферази

ЕС 2.1 Пренесуваат групи со еден јаглерод

ЕС 2.2 Пренесуваат алдехидна или кето група

ЕС 2.3 Ацилтрансферази

ЕС 2.4 Гликозилтрансферази

ЕС 2.5 Пренесуваат алкил или арил групи, освен метил групи

ЕС 2.6 Пренесуваат нитро групи

ЕС 2.7 Пренесуваат групи што содржат фосфор

ЕС 2.8 Пренесуваат групи што содржат сулфур

ЕС 2.9 Пренесуваат група што содржат селен

ЕС 2.9.1 Селенотрансферази

ЕС 2.9.1.1 L-серил-tRNA^{sec}
селентрансфераза

► ЕС 3. Хидролази

► ЕС 3.1 Хидролази кои дејствуваат на естерска врска

ЕС 3.1.3 фосфор моноестер хидролаза

ЕС 3.1.3.1 алкална фосфатаза

ЕС 3.1.3.2 ацид фосфатаза

ЕС 3.1.3.3 фосфосерин фосфатаза

ЕС 3.1.3.4 фосфатидат фосфатаза

ЕС 3.1.3.5 5'-нуклеотидаза

ЕС 3.1.3.6 3'-нуклеотидаза

ЕС 3.1.3.7 3'(2'),5'-бифосфат нуклеотидаза

ЕС 3.1.3.8 3-фитаза

ЕС 3.1.3.9 глюкоза-6-фосфатаза

ЕС 3.1.3.10 глюкоза-1-фосфатаза

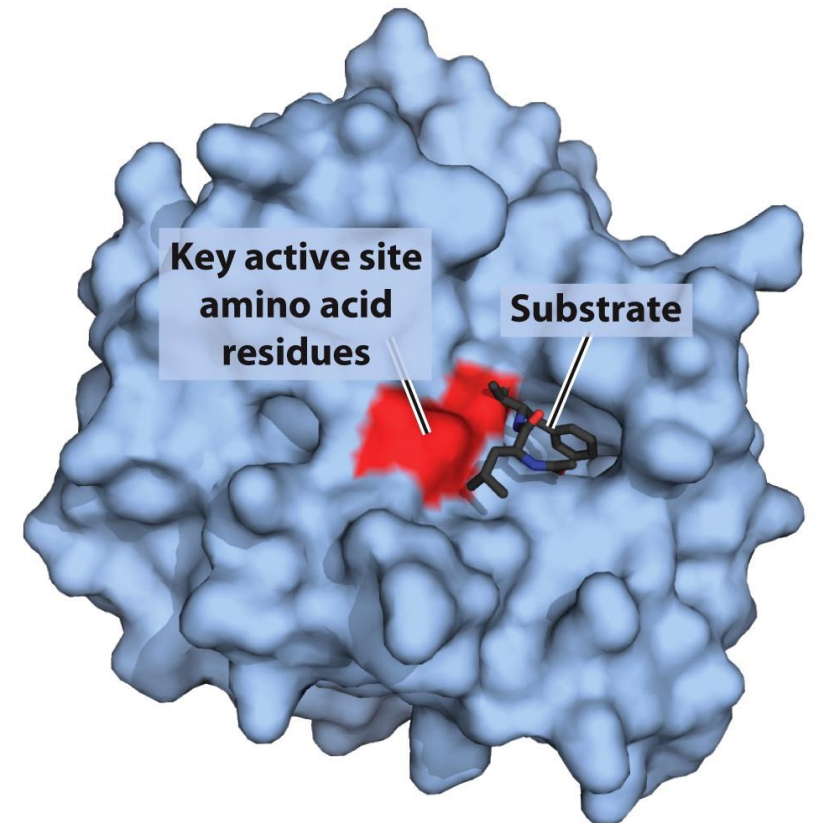
ЕС 3.1.3.11 фруктоза-бисфосфатаза

Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD^+)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{H}$ Ethanol Acetaldehyde
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	$\text{D-Glucose} \xrightarrow{\text{ATP} \rightarrow \text{ADP}} \text{D-Glucose-6-phosphate}$ D-Glucose D-Glucose-6-phosphate
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{C-terminus of polypeptide} \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}} \text{Shortened polypeptide} + \text{C-terminal residue}$ C-terminus of polypeptide Shortened polypeptide C-terminal residue
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{Acetaldehyde}$ Pyruvate Acetaldehyde
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (<i>cis-trans</i> isomerization)	$\text{Maleate} \rightleftharpoons \text{Fumarate}$ Maleate Fumarate
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i} \text{Oxaloacetate}$ Pyruvate Oxaloacetate

Како функционираат ензимите

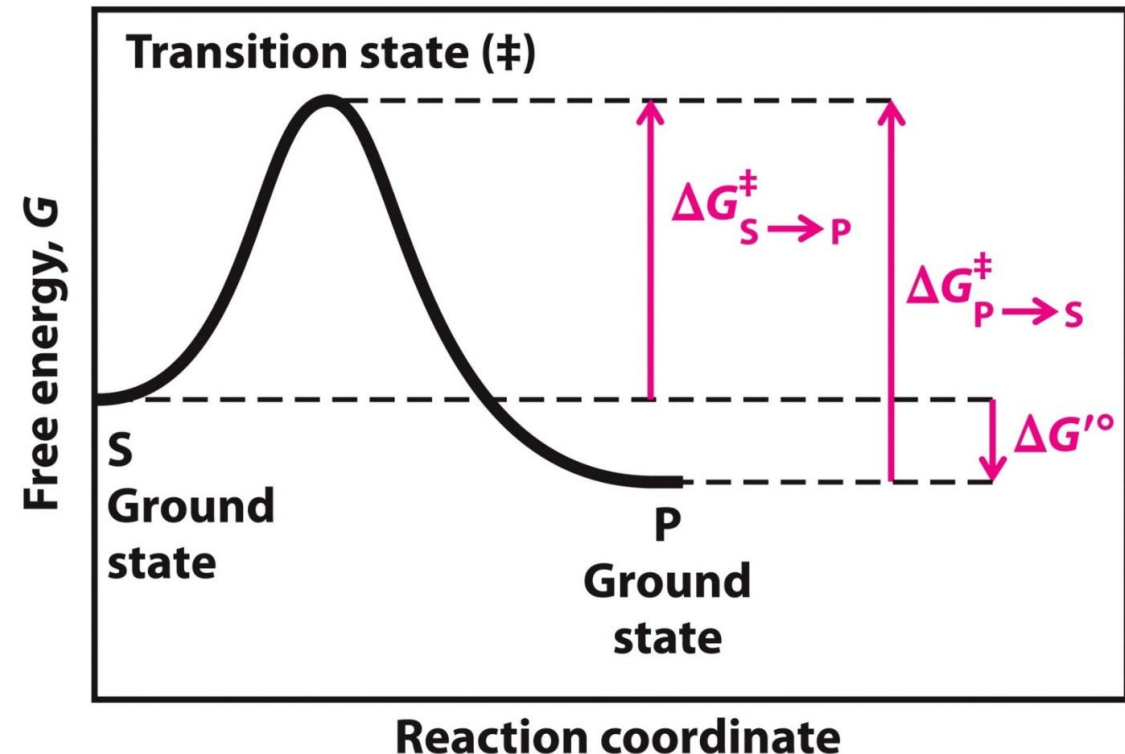
Активен центар на ензимот

- ▶ Ензимски катализираната реакција се одвива **во џебот (процеп)** на ензимот – **активен центар**.
- ▶ Молекулата сврзана во активниот центар врз која дејствува ензимот е наречена **супстрат**.
- ▶ Супстратот е сврзан за активниот центар на ензимот преку страничните групи на аминокиселинските остатоци.
- ▶ Чарлс Адолф Вурц (1870): **ензимо-супстратен комплекс**

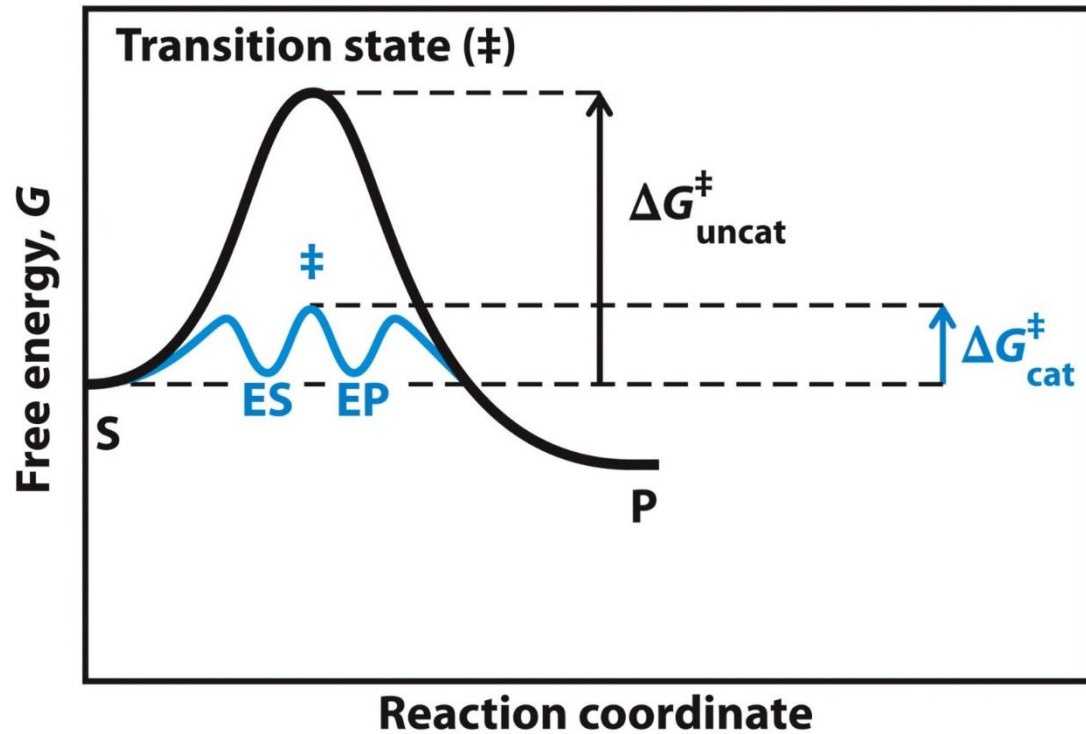


Брзина на некатализирана реакција

- ▶ Реакцијата $S \rightleftharpoons P$ може да се опише со **реакциониот координатен дијаграм**.
- ▶ Почетната точка за директна или повратна реакција е наречена **основна состојба**.
- ▶ **Биохемиска стандардна промена на слободната енергија $\Delta G'^{\circ}$** - промена на слободната енергија при 298 K, 101325 Pa и pH = 7.
- ▶ **Брзината на реакцијата зависи од енергијата на активација:** повисоката енергија на активација значи побавна реакција.



Брзина на ензимски катализирана реакција



- ▶ Ензимите ги забрзуваат реакциите кои во некатализирани биолошки услови се бавни.
- ▶ Енергијата на активација е пониска кога ензимот ја катализира реакцијата.
- ▶ **Реакциони интермедиери** (ES и EP)
$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P$$
- ▶ Вкупната брзина на низа реакции е определена од степенот со највисока енергија на активација – **лимитирачки чекор**.

Термодинамичка дефиниција на рамнотежата

- ▶ Ензимите влијаат врз брзината на реакцијата, а не на рамнотежата.
- ▶ Рамнотежата дадена со $S \rightleftharpoons P$ се опишува со **Константа на рамнотежа K'_{eq}**

$$K'_{eq} = [P]/[S]$$

- ▶ Рамнотежата на реакцијата е поврзана со **промената на слободната енергија**.
- ▶ Термодинамичката зависност меѓу K'_{eq} и $\Delta G'^0$ е дадена со:

$$\Delta G'^0 = -2,303 RT \ln K'_{eq}$$

Каде, R е гасна константа 8,315 J/mol.K, T е апсолутна температура 298°K (25°C).

TABLE 6–4 Relationship between K'_{eq} and $\Delta G'^{\circ}$

K'_{eq}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)
10^{-6}	34.2
10^{-5}	28.5
10^{-4}	22.8
10^{-3}	17.1
10^{-2}	11.4
10^{-1}	5.7
1	0.0
10^1	–5.7
10^2	–11.4
10^3	–17.1

Note: The relationship is calculated from $\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq}$ (Eqn 6–3).

- ▶ Големата негативна вредност на $\Delta G'^{\circ}$ укажува дека постои **поволна рамнотежа** за одвивање на реакцијата, во која односот меѓу продуктите и супстратот е многу поголем од 1/1.
- ▶ Не значи дека реакцијата ќе се одвива со забележителна брзина.

Термодинамичка дефиниција на брзината

- ▶ **Брзината на реакцијата** е определена со концентрацијата на реактантот (супстратот) и **константата на брзина на реакцијата k** .
- ▶ За $S \rightarrow P$, брзината претставува количество на S што ќе реагира за единица време, изразено:

$$V = k[S]$$

- ▶ Брзината на реакцијата и енергијата на активација, според теоријата за преодна состојба се поврзани со изразот:

$$k = \frac{kT}{h} e^{\frac{-\Delta G'^0}{RT}}$$

Каде k е Болцманова, h Планкова константа.

- ▶ Меѓу константата на брзина на реакцијата и енергијата на активација постои обратнопропорционална и експоненцијална зависност.
- ▶ **Помала енергија на активација, поголема брзина на реакцијата.**

Каталитичка сила на ензимите

TABLE 6–5 Some Rate Enhancements
Produced by Enzymes

Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

- ▶ Брзината на една хемиска реакција катализирана од ензимите е многу поголема (за неколку реда на величина) од онаа катализирана со неорганските катализатори.
- ▶ **Каталитичка сила** - Ензимите ги забрзуваат хемиските реакции за 5 до 17 реда на величина.

Специфичност на ензимите

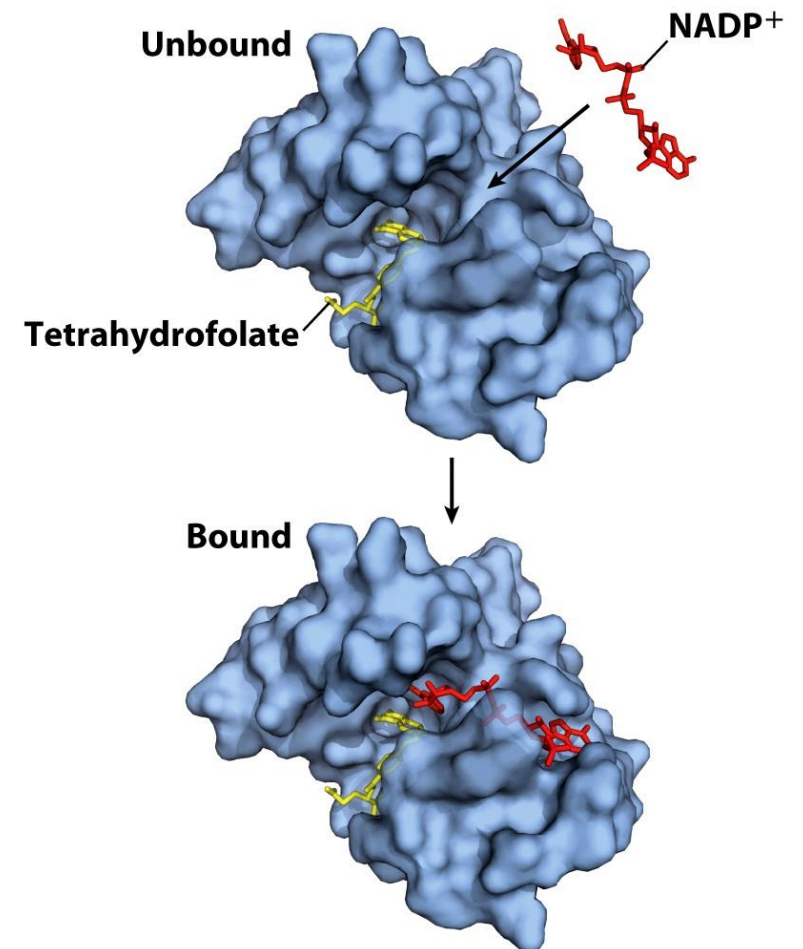
- ▶ Ензимите дејствуваат во водни раствори, при умерена температура и pH.
- ▶ Ензимите се **специфични кон супстратот**, ги разликуваат супстратите дури и кога имаат слична структура.
- ▶ Ензимите се **специфични кон видот на реакцијата**.
- ▶ Како?

Како функционираат ензимите

1. Во текот на ензимски катализираната реакција доаѓа до **преуредување на ковалентните врски**.
 - ▶ Ковалентните интеракции (преодни и краткотрајни) меѓу ензимот и супстратот во активниот центар, ја намалуваат енергијата на активација и забрзуваат реакцијата.
2. Меѓу супстратот и ензимот **се образуваат слаби нековалентни интеракции** (јонски и хидрофобни интеракции, водородни врски и сл).
 - ▶ Образувањето на секоја слаба интеракција во комплексот ES е проследено со ослободување на мало количество слободна енергија.
 - ▶ Енергијата која се добива од ензим-супстратниот комплекс се нарекува **сврзувачка енергија ΔG_b**

Модели за објаснување на ензимското дејство

- ▶ Како ензимот ја користи сврзувачката енергија за намалување на енергијата на активација на ензимот?
- ▶ **Модел клуч-брава:** Емил Фишер (1894) – **ензимите се структурно комплементарни на нивните супстрати.** Модерна претстава за ензимска катализа – Михаел Полани (1921), Халдан (1930), Линус Полинг (1946)
 - ▶ Пр. дихидрофолат редуктаза и неговиот супстрат NADP^+
- ▶ **Модел на индуцирано прилагодување:** Даниел Кошланд (1958) – во тек на реакцијата **ензимот ја менува и прилагодува својата конформација кон супстратот.**

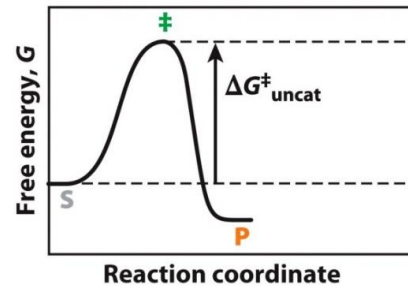
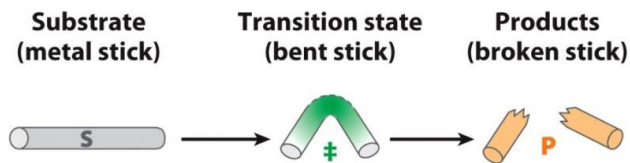


Модел на индуцирано прилагодување

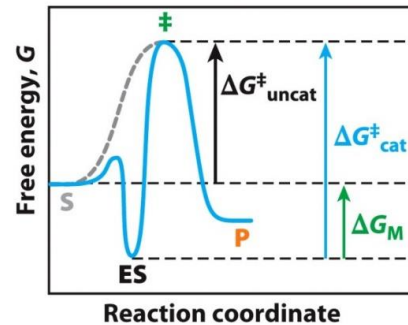
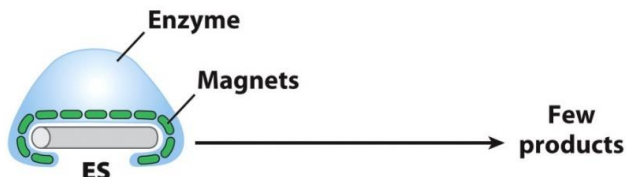
- ▶ Сврзувањето на супстратот со ензимот индуцира промена на конформацијата на ензимот.
- ▶ Промена на конформацијата може да биде:
 - ▶ На мал дел од ензимот близу до активниот центар.
 - ▶ На сите домени, како резултат на мрежа од спрегнати движења низ целиот ензим.
- ▶ Индуцираното прилагодување овозможува:
 - ▶ **Специфичните функционални групи** на ензимот да се доведат во правилна положба да ја катализираат реакцијата.
 - ▶ Да се образуваат дополнителни слаби врски во преодната состојба.

Преодна состојба

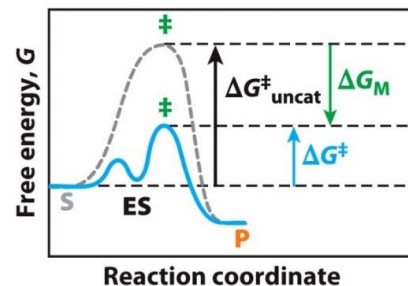
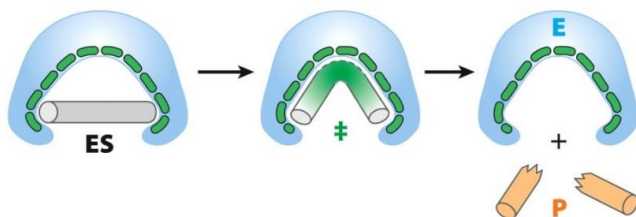
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate

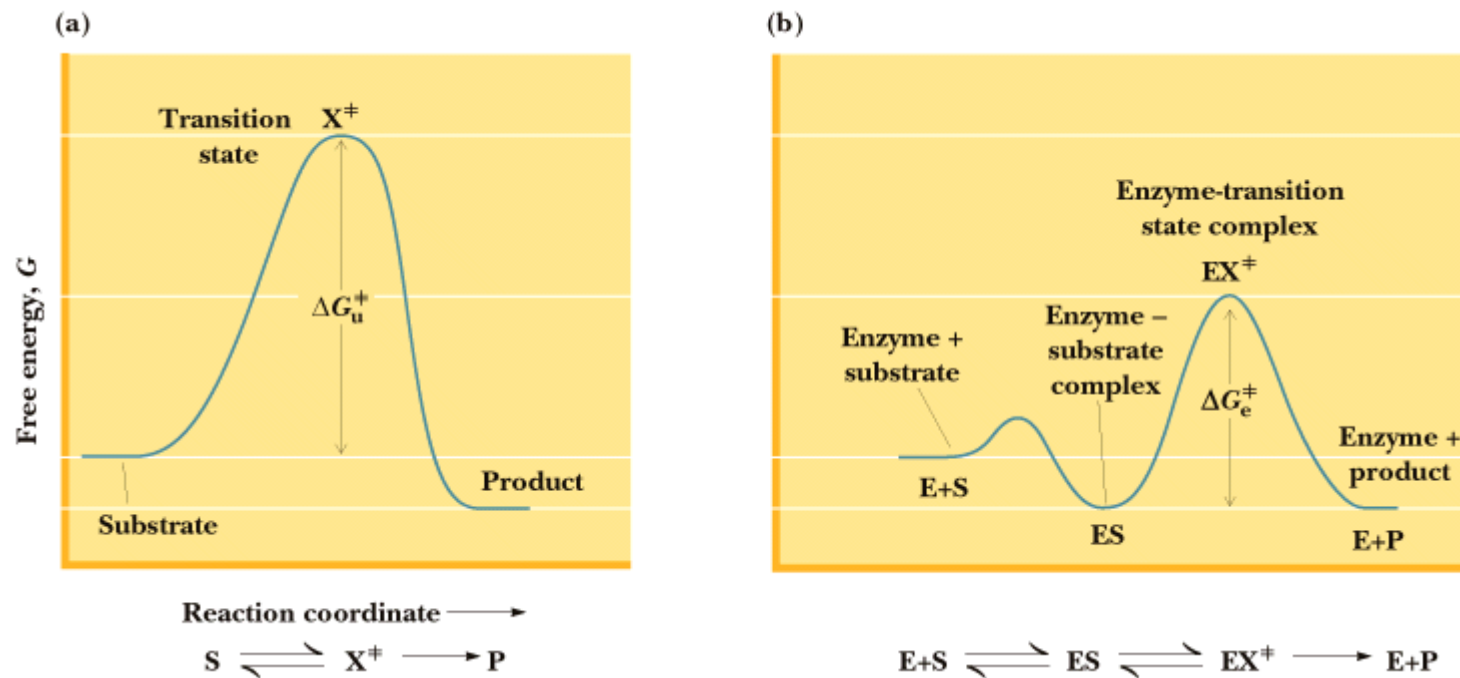


(c) Enzyme complementary to transition state



- ▶ Супстрат – метална прачка
- ▶ Продукт – скршени делови од прачката
- ▶ Преодна состојба – свиткана прачка
- ▶ Ензим (стаказа) – магнет
- ▶ **Пример b**, намалена ефикасност на ензимот, побивање на хипотезата клуч-брава.
- ▶ **Пример c** - Енергијата на активација е помала во услови на комплементарност на ензимот со преодната состојба, одошто при комплементарност на ензимот со супстратот (клуч-брава) – поддршка на хипотезата за индуцирано прилагодување.

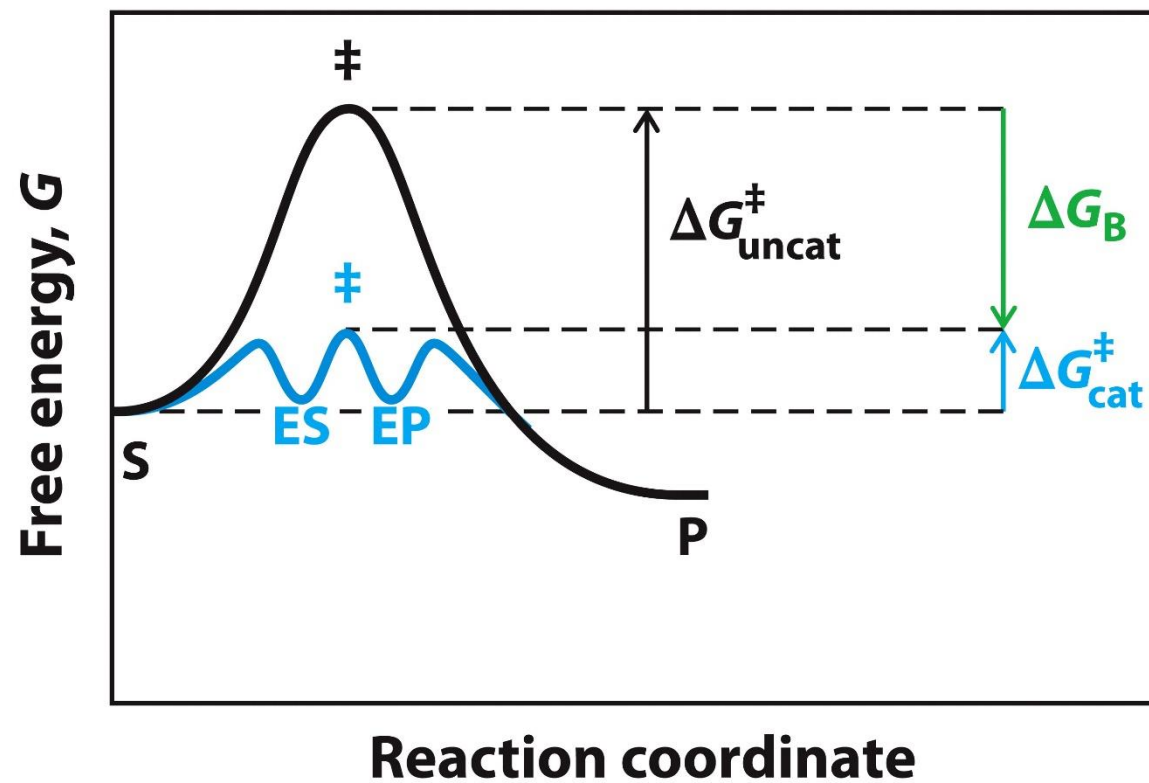
Стабилизирање на преодната состојба



- Ензимот покажува каталитичко дејство и ја забрзува реакцијата само доколку $\Delta G_e^\ddagger < \Delta G_u^\ddagger$, односно енергетската бариера меѓу ES и $EX^\ddagger$ (EP) комплексите е помала од енергетската бариера меѓу S и $X^\ddagger$ во некатализираната реакција.
- **Последица:** Ензимот ја стабилизира преодната состојба $EX^\ddagger$ повеќе одошто го стабилизира ES комплексот, односно ензимите се поцврсто сврзани во структурата на преодната состојба одошто за супстратот (или продуктот).

Брзината на реакција се однесува на преодната состојба

- ▶ Заклучок: Ензимот мора да биде комплементарен со преодната состојба на реакцијата за да ја катализира истата.
- ▶ Најголем удел во катализата имаат **слабите сврзувачки интеракции меѓу ензимот и супстратот во преодната состојба.**



Сврзувачка енергија

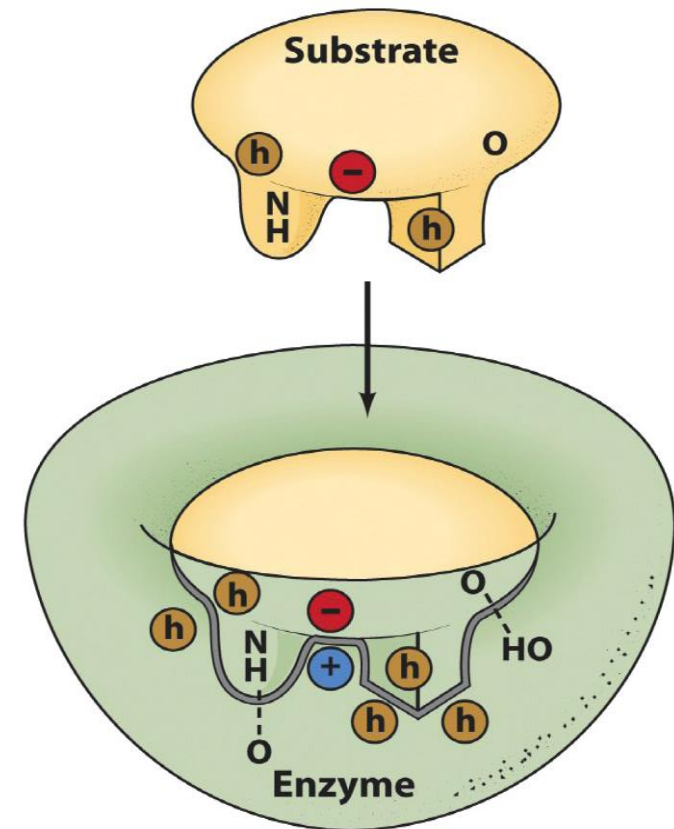
- ▶ Сврзувачка енергија ΔG_B претставува ослободеното количество слободна енергија при образувањето на слабите интеракции во комплексот ES (види претходен слајд).

$$\Delta G_B = \Delta G_{\ddagger}^{\text{некатализирана}} - \Delta G_{\ddagger}^{\text{катализирана}}$$

- ▶ Само од една слаба интеракција во активниот центар меѓу E и S се ослободува енергија од 4 до 30 kJ/mol.
- ▶ Вкупната енергија добиена од голем број такви интеракции во (ES) е доволна за намалување на енергијата на активација за 60 до 100 kJ/mol.
- ▶ Колку сврзувачката енергија придонесува за специфичноста на ензимското дејство и забрзувањето на ензимската реакција?

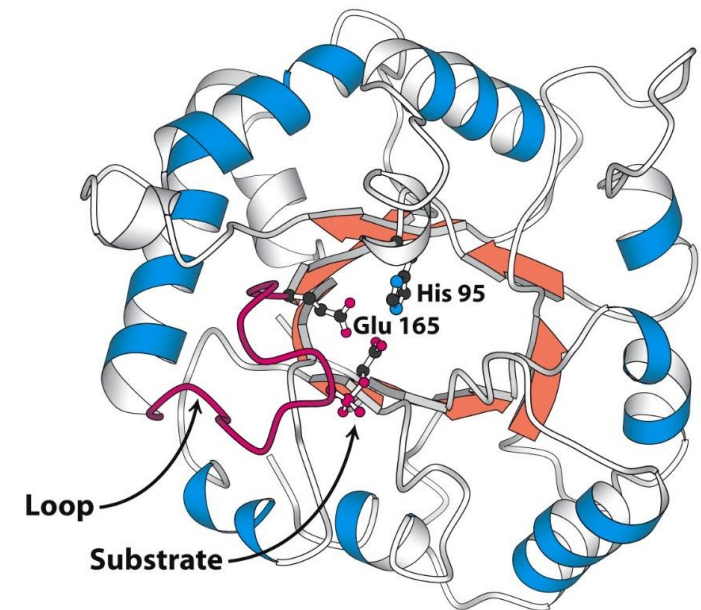
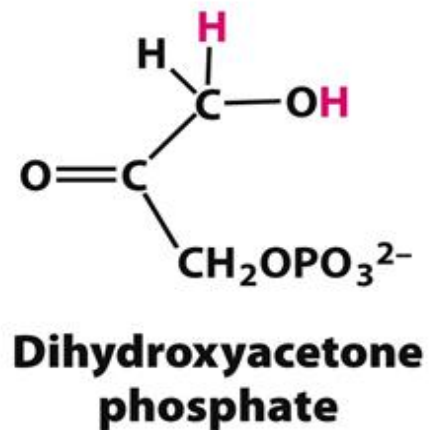
Сврзувачката енергија придонесува за реакциона специфичност на ензимите

- Специфичност – способност на ензимот да ги разликува молекулите супстрат од конкурентските молекули.
- Ензимот мора да има **доволен број на функционални групи** за формирање на нековалентни интеракции со супстратот.
- Функционалните групи мора да бидат **поставени во соодветна положба** (се оптимизира сврзувачката енергија на преодната состојба).
- Групите кои заемнодејствуваат треба **да го ориентираат супстратот кон активниот центар** (во шуплината на ензимот).
- Зошто ензимите претставуваат големи молекули?



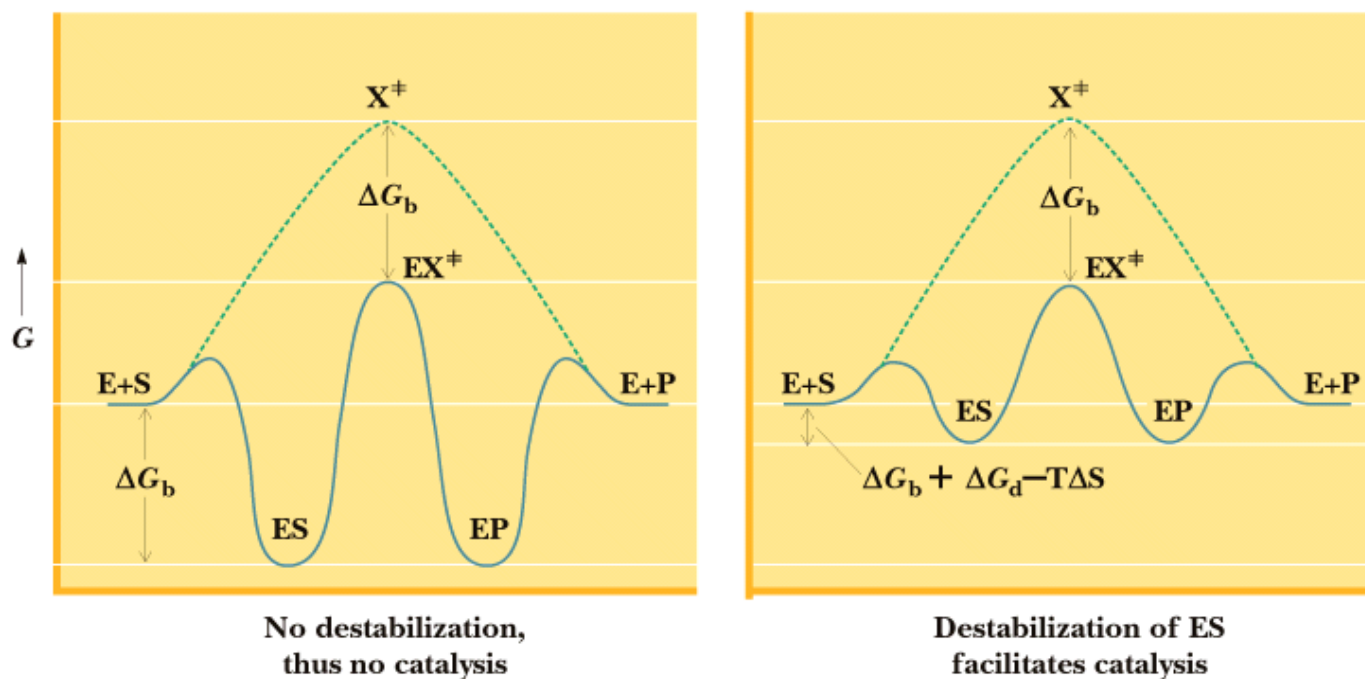


**Triose phosphate
isomerase**

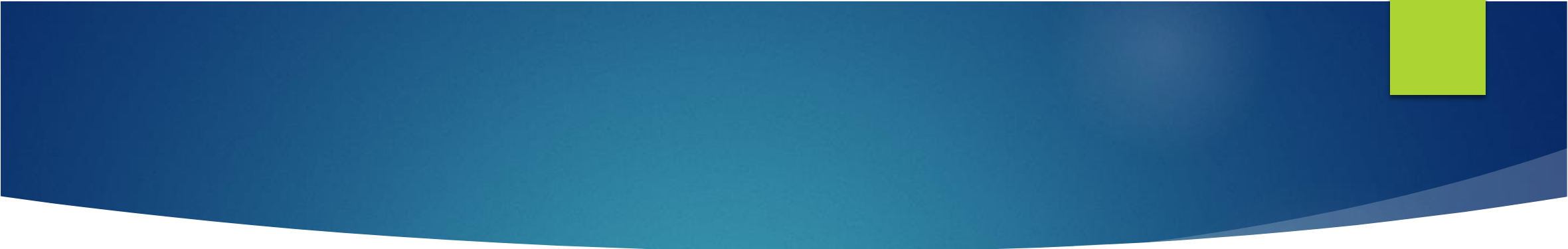


- Пр. Супстратот има хидроксилна група во специфична положба која гради водородна врска со специфичен Glu остаток на ензимот.
- Нивното заемно дејство овозможува ориентирање на супстратот кон активниот центар, каде се одвива реакцијата на изомеризација.

Сврзувачката енергија придонесува за забрзување на реакцијата



- Сите фактори кои го стабилизираат образувањето на преодниот комплекс $EX^\ddagger$, односно влијаат на намалување на енергетската бариера меѓу ES и $EX^\ddagger$, ја забрзуваат реакцијата.
- За дадена енергија на $EX^\ddagger$, зголемувањето на енергијата на ES ја забрзува реакцијата.

- 
- ▶ Сврзувачката енергија може да се користи за совладување на сите фактори кои имаат удел во $\Delta G^\ddagger$ (бариерата на реакцијата), така што:
 1. Ја намалува ентропијата на молекулите од растворот
 2. Го дестабилизира ES со
 - ▶ Десолватација на супстратот
 - ▶ Деформација, промена на електронската конфигурација на супстратот
 - ▶ Образување на конформациона состојба на ензимот со соодветната ориентација на функционалните групи кои учествуваат во катализата (види: специфичност на ензимското дејство)