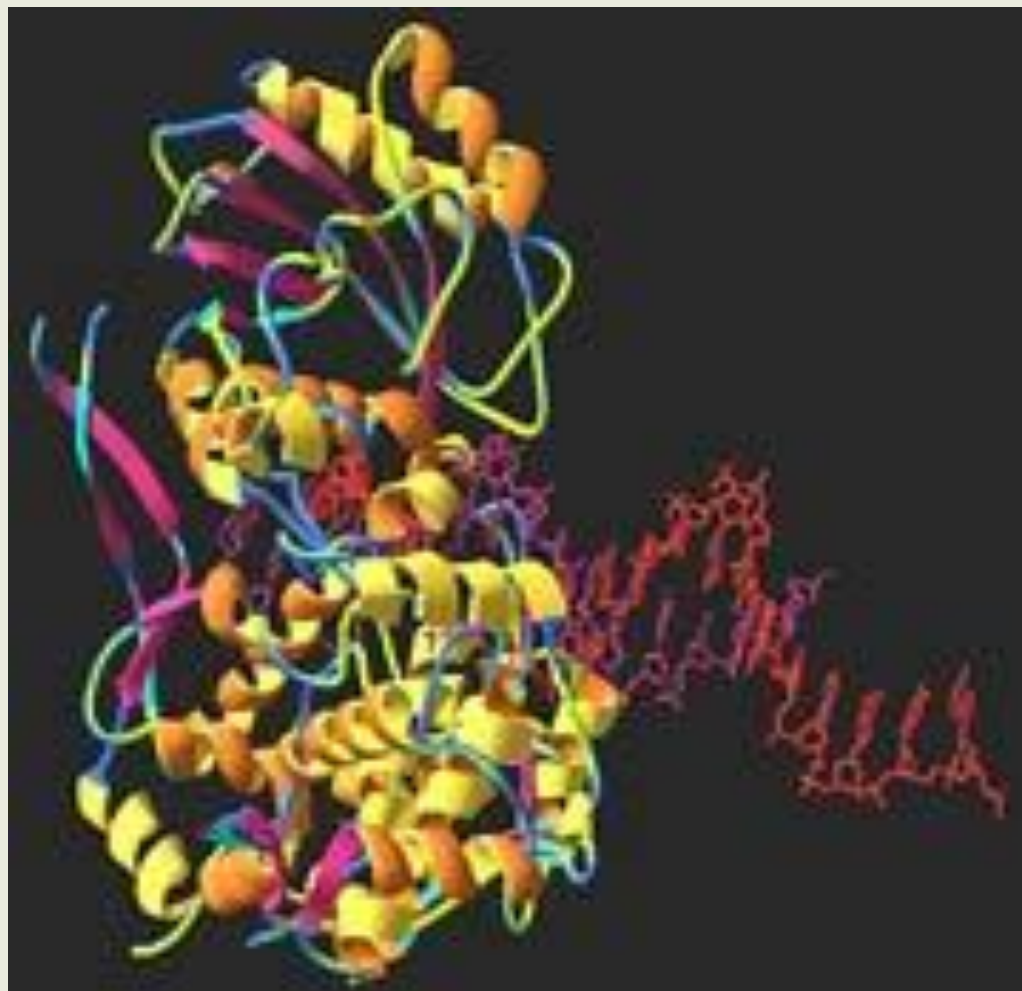


# ***Ферменты***



Усі без винятку хімічні процеси в клітині каталізуються спеціальними біологічними каталізаторами, що називаються ферментами або ензимами.

**Ферменти – біологічні каталізатори - це високоспецифічні білки або РНК, що синтезуються у живих клітинах і можуть значно прискорювати різні хімічні реакції без помітного використання них самих.**

“Ензим” (з грецької *en zyme* - в дріжджах)

## Загальні властивості каталізаторів:

1. Збільшують швидкість реакції
2. Знижують енергію активації
3. Після реакції виділяються в незмінному вигляді
4. Прискорюють тільки термодинамічно можливі реакції
5. Не змінюють напрямок реакції, прискорюючи як пряму, так і зворотню реакції

# Відмінності ферментів від небіологічних каталізаторів:

1. Висока ефективність. У присутності ферментів хімічні реакції протікають набагато швидше, ніж при небіологічному каталізі. У деяких випадках прискорення досягає  $10^8$  разів. Дуже наочною мірою активності ферментів є кількість обертів
2. Специфічність
3. Урегульованість дії
4. М'які умови протікання реакції
5. Майже 100%-вий вихід продуктів

# Структура ферментів

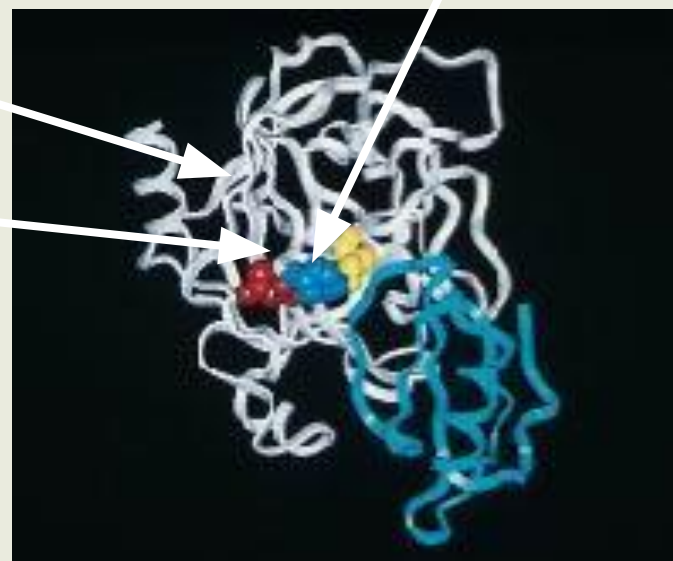
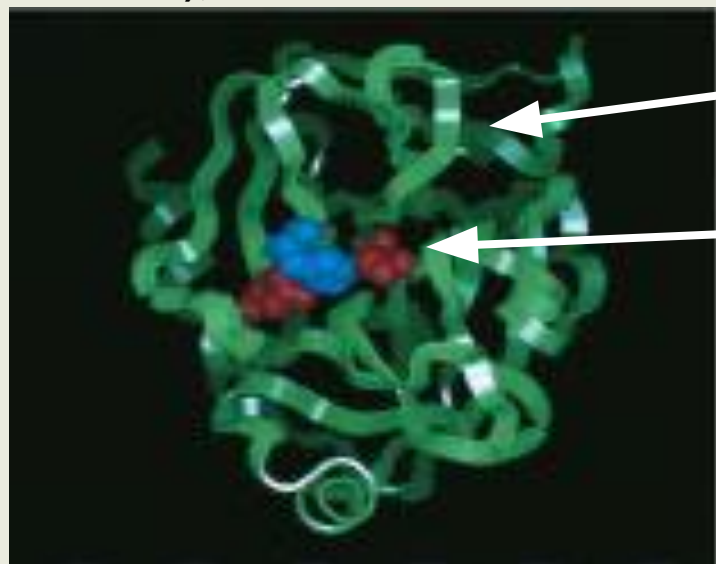
Ферменти є прості і складні.



**Кофермент**  
-(нековалентно зв'язаний);

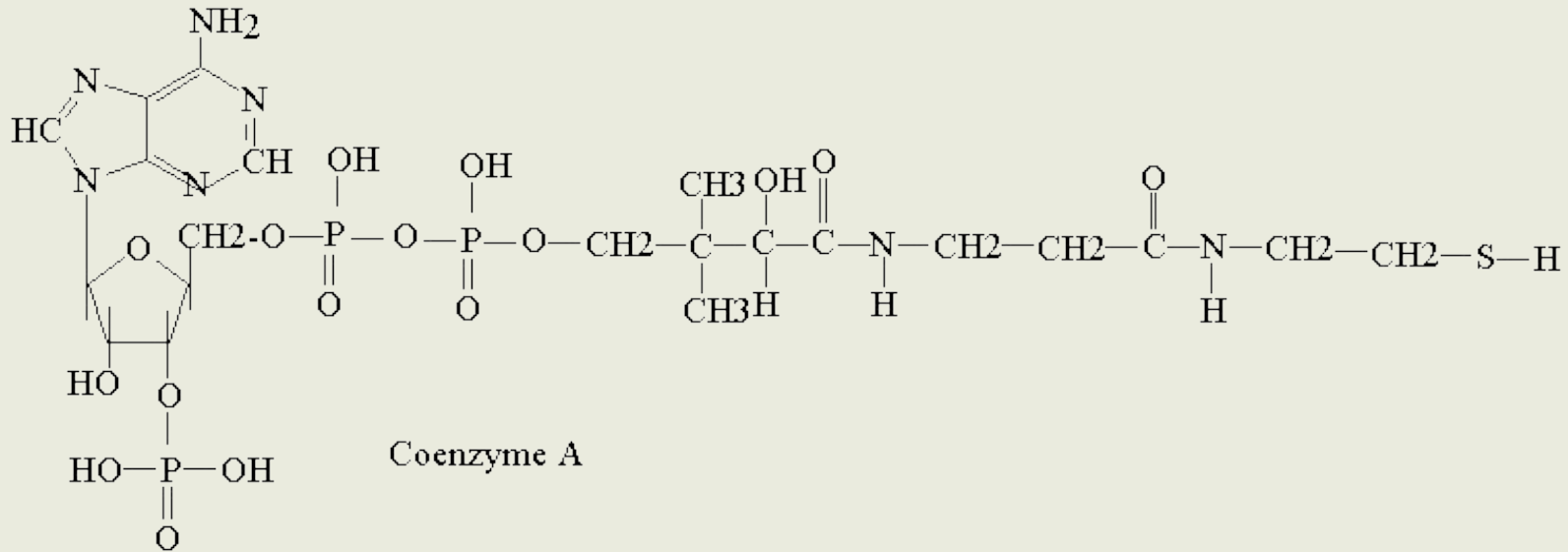
## Холофермент

Простетична група (ковалентно)

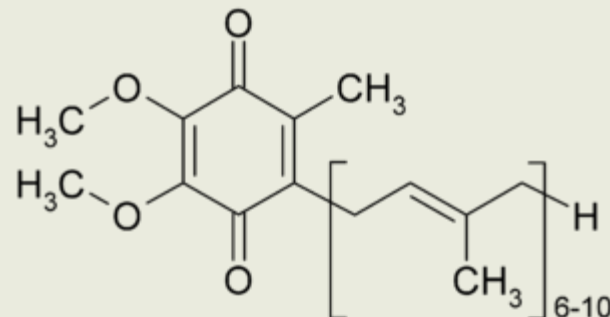


# Коферменти

**Кофермент А** (коензим А), Для його позначення використовується скорочена форма — КоА—SH, Коензим А складається із 3-фосфоаденозин-5-дифосфату і пантотеїну, який утворюється внаслідок з'єднання вітаміну пантотенової кислоти з меркаптоетиламіном.

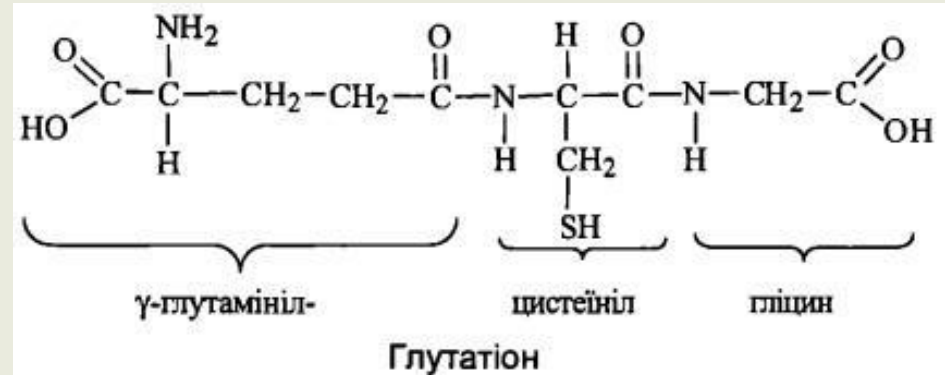


**У б і х і н о н и (кофермент Q)** — це група жиророзчинних речовин, які містяться в усіх клітинах організму. Вони мають таку будову;  $n = 4-12$ . В природі найпоширеніші Q<sub>6</sub>-Q<sub>10</sub>.

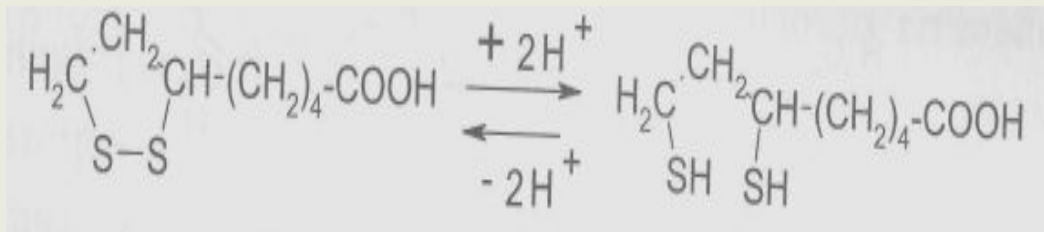


# Коферменти

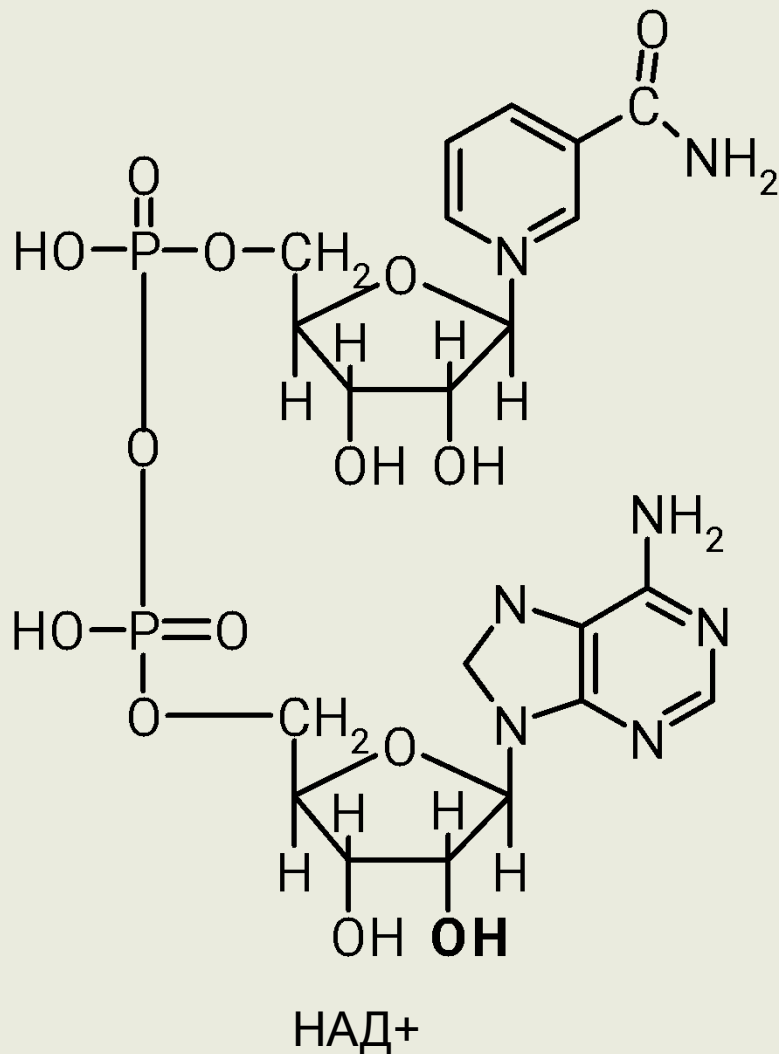
**Глутатіон**- це трипептид, в якому залишок глютамінової кислоти зв'язаний з залишком цистеїну за  $\gamma$ -COOH групою, що є надзвичайно рідкисним явищем.



У вигляді кофактора **вітамін N (ліпоева кислота)** входить до складу поліферментних комплексів, які каталізують окисне декарбоксилювання пірувату,  $\alpha$ -кетоглутарату та інших  $\alpha$ -кетокислот з утворенням генераторів водню для окисного фосфорилування. Незамінний фактор росту молочно-кислих бактерій:



# Структура коферментів похідних водорозчинних вітамінів – НАД<sup>+</sup>

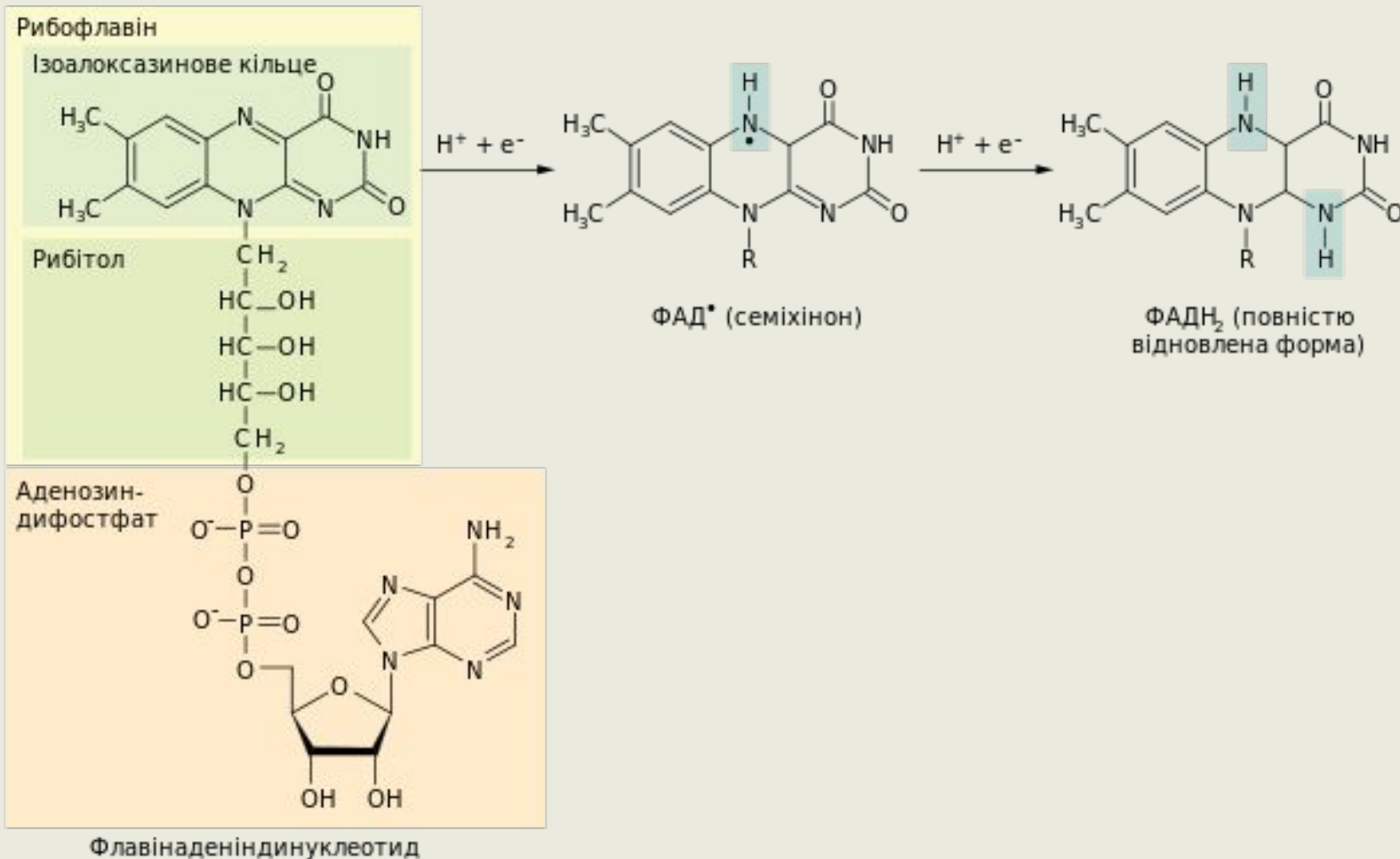


Нікотинамідні коферменти — це найбільш поширена і численна група коферментів. До складу нікотинамідних коферментів входить залишок аміду нікотинової кислоти (вітаміну РР). Основними представниками цієї групи коферментів є нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД<sup>+</sup>) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ<sup>+</sup>): який відрізняється від НАД<sup>+</sup> наявністю залишку фосфатної кислоти в положенні 2 залишку рибози в аденіловій частині молекули. Нікотинамідні коферменти входять до складу ферментів класу оксидоредуктаз. Ці ферменти беруть участь в окисленні субстратів (етанолу, молочної кислоти та ін.) і перенесенні протонів та електронів на інші ферменти або субстрати.



# Простетичні групи – ФМН, ФАД

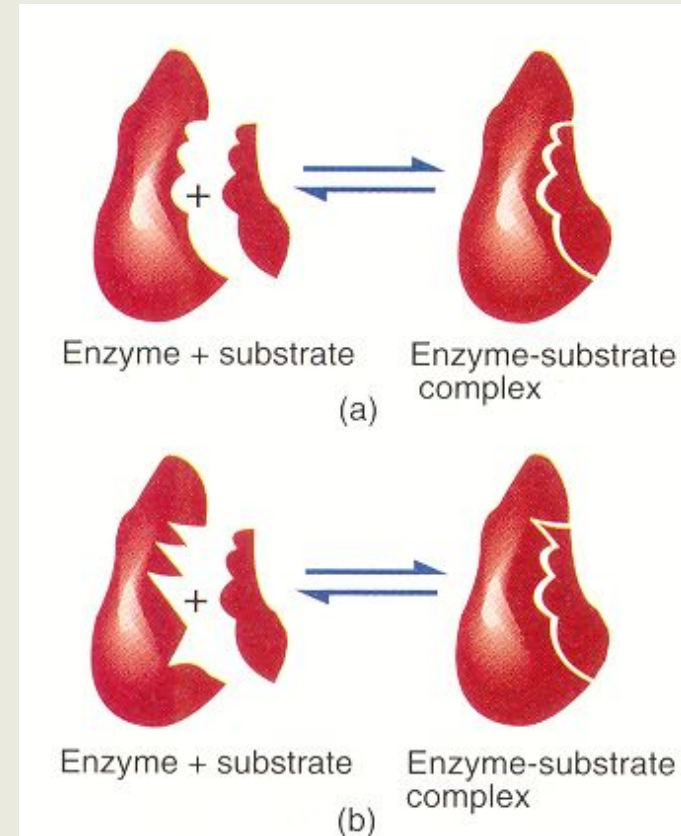
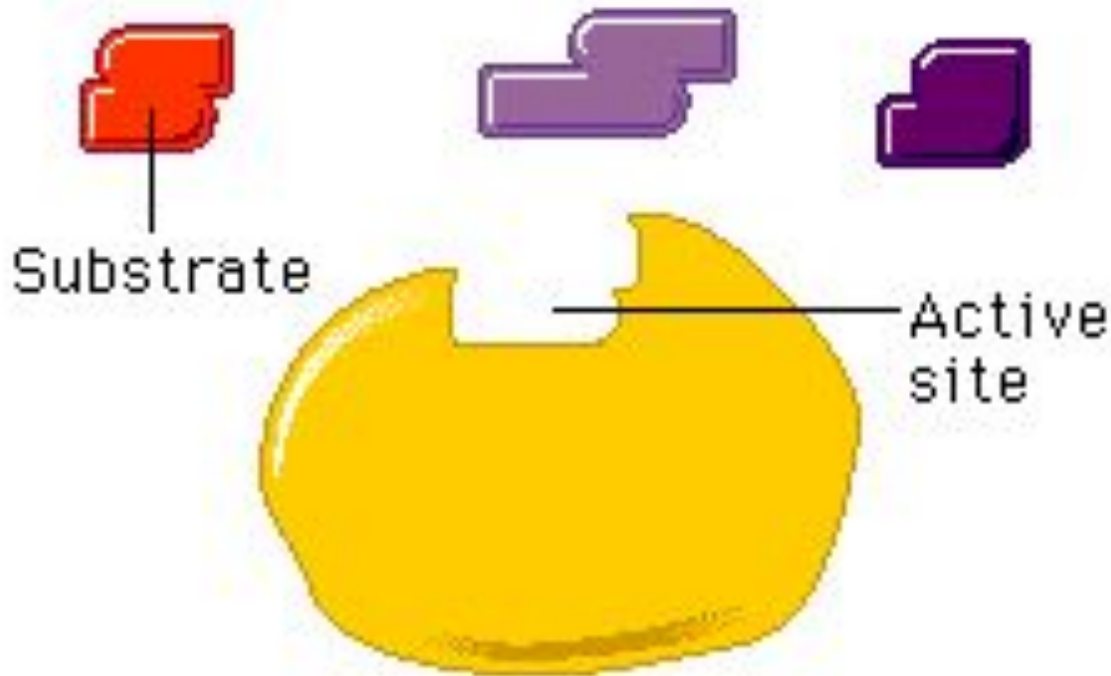
Ферменти, які містять флавінові простетичні групи беруть участь в окисно-відновних реакціях клітинного дихання, окисненні альдегідів, амінокислот, глюкози

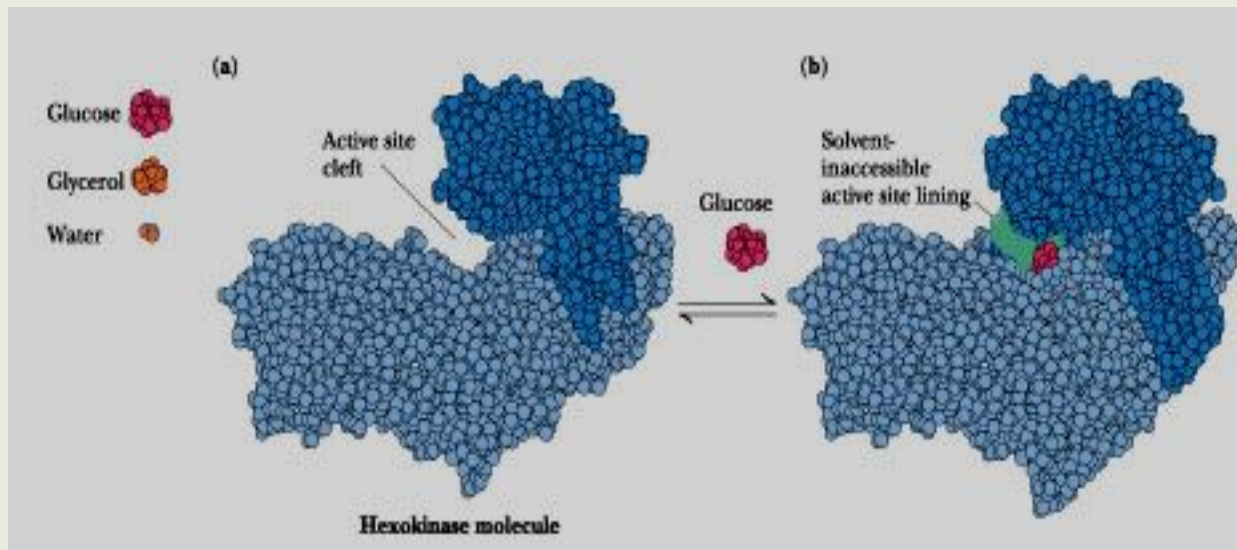


<b>Иони</b>	<b>Фермент</b>	<b>Простетична група Кофермент</b>	<b>Фермент</b>
$Fe^{2+}$ или $Fe^{3+}$	Цитохром оксидаза Каталаза Пероксидаза	Тіамінпірофосфат (ТПФ)	Піруват дегідрогеназа Суццинат дегідрогеназа Алкогольдегідрогеназа
$Cu^{2+}$	Цитохром оксидаза	Флавінаденін динуклеотид (ФАД)	Піруват дегідрогеназа Суццинатдегідрогеназа Алкогольдегідрогеназа
$Zn^{2+}$	ДНК полімераза Алкоголь- дегідрогеназа	Нікотинамід- аденіндинуклеотид (НАД <sup>+</sup> )	Піруватдегідрогеназа Суццинат дегідрогеназа Алкоголь дегідрогеназа
$Mg^{2+}$	Гексокиназа Глюкозо-6- фосфотаза	Коэнзим А (КоА)	Ацетил-КоА карбоксилаза

# Специфічність дії ферментів

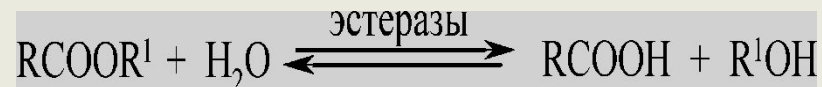
Кожен фермент каталізує певну хімічну реакцію або тип хімічної реакції. *Апофермент* зумовлює специфічність дії ферменту





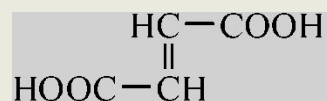
## Види специфічності:

**Відносна (каталізує групу подібних реакцій з певним типом зв'язку (естерази))**

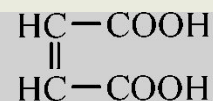


**Абсолютная (каталізує перетворення тільки одного субстрату)**

**Стереоспецифічність (каталізує перетворення певного оптичного ізомера, антипод не розщеплюється)**



Фумаровая кислота



Малеиновая кислота

# АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ

Активність фермента характеризується швидкістю хімічних реакцій, виражається в Каталах (кат): 1 кат — це кількість фермента, яка перетворює 1 моль субстрату за 1 с.

Мл-кат, мк-кат (одна мільйонна частка кат.)

## Принципи визначення активності ферментів

- за швидкістю перетворення субстрату;
- за швидкістю накопичення продуктів реакції.

**Молярна активність** - це число молей субстрату, яке перетворюється за 1 хвилину 1 молем ферменту.

**Молекулярна активність** (число обертів) – кількість молекул субстрату, яка перетворюється за одну хв. однією молекулою ферменту (або одним каталітичним центром).

**Питома активність** – кількість одиниць ферменту, яка припадає на 1 мг білка ферментного препарату. Відображає ступінь очистки фермента. Чим ретельніше очищений фермент, тим вища його питома активність. Одна молекула реніну, створює близько  $10^6$  молекул казеїногену молока за 10 хвилин при 37С;

Дуже наочною мірою активності ферментів є число обертів ферменту - число молекул субстрату, які перетворені за 1 хв.

Кількість обертів може відрізнятись в різних ферментів на кілька порядків (Табл.).

Фермент	кількість обертів за 1 хв при 37°С
Карбоангідраза	36 000 000
<i>b</i> -Амілаза	1 100 000
Фосфоглюкомута за	1 240

**Рекомендовано вимірювати активність фермента при температурі 25° С, оптимумі рН та концентрації субстрата, що перевищує концентрацію насичення.**

# В харчовій промисловості

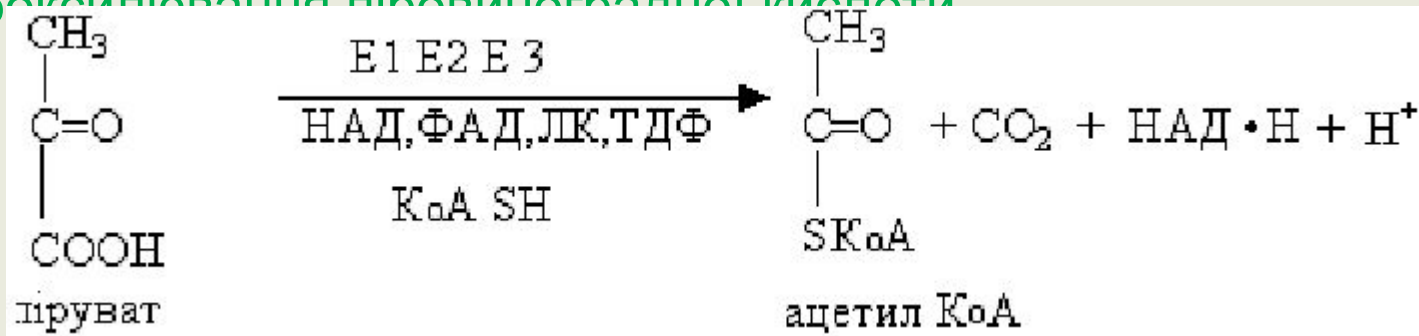
активність називають **здатністю**:

- ❑ **Мальтазна здатність (МЗ)** - це кількість ферменту, яка розщеплює 1 мг мальтози за 1 годину.
- ❑ **Амілазна здатність (АЗ)** - це кількість ферменту, яка розщеплює 1 г крохмалю до декстринів, які не забарвлюються йодом.
- ❑ **Інвертазна здатність** - це кількість ферменту, яка розкладає 1,25 г сахарози за 1 хвилину.
- ❑ **Протеолітична здатність (ПЗ)** - це кількість фермента, яка утворює 1 мг амінного нітрогену за 1 годину

# Мультиферменти

Це надмолекулярні комплекси з різних ферментів та коферментів просторово зближені та певним чином організовані, що каталізують послідовні етапи перетворення субстрату.

Прикладами дії мультиферментів є реакції окислювального декарбоксилювання пірвіноградної кислоти



Біологічне значення мультиферментів: скорочується відстань між реагуючими речовинами і зменшується тривалість (час) реакції

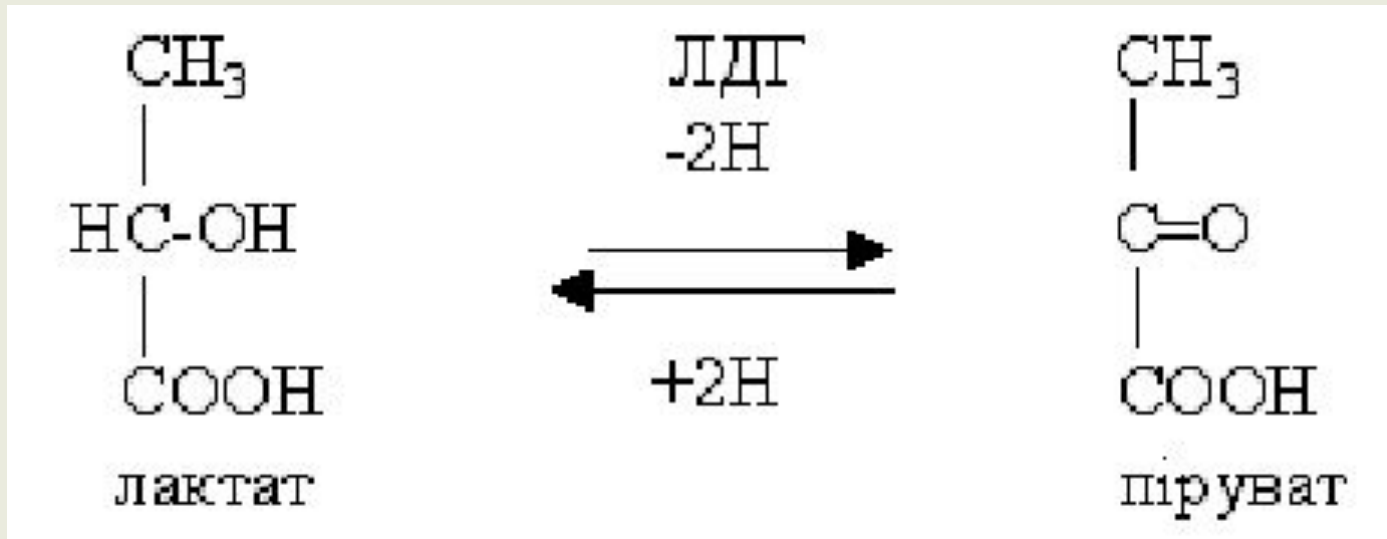


# Ізоферменти.

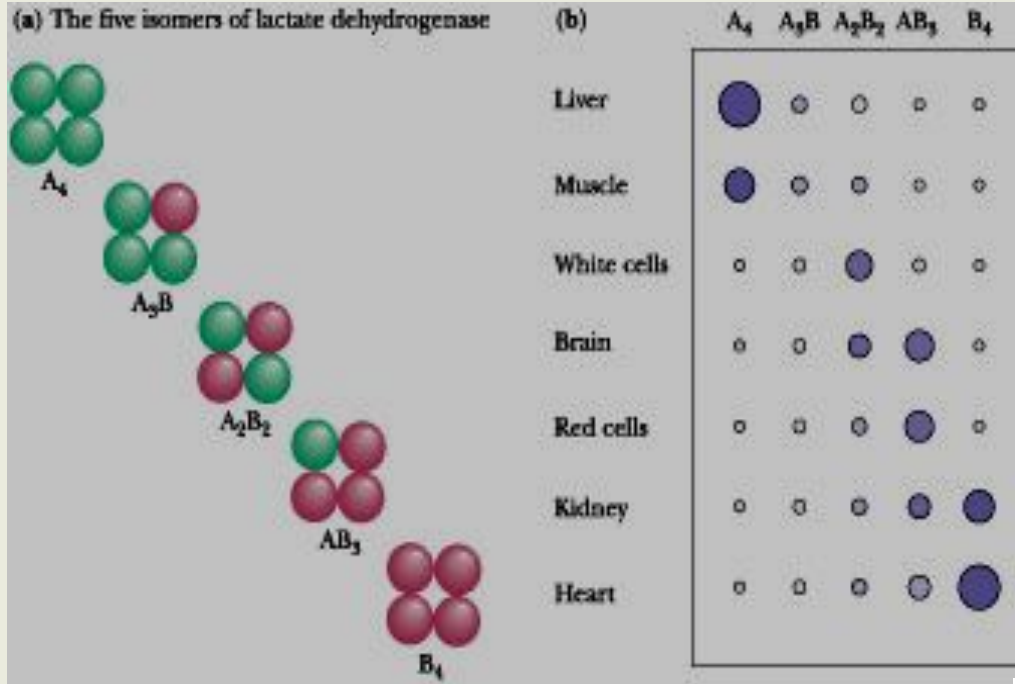
Майже всі ферменти існують в декількох формах.

**Ізоферменти** – це генетично детерміновані форми одного й того ж ферменту в одному організмі, які мають близьку субстратну специфічність. Тобто ізоферменти характеризуються генетично зумовленою різницею первинної будови та **четвертинною структурою організації**. Знаходяться в різних тканинах, каталізують одну й ту ж реакцію, але відрізняються один від одного фізичними та хімічними властивостями.

Лактатдегідрогеназа – 5 ізоформ, мають різну спорідненість до субстрату. ЛДГ<sub>1</sub>-ЛДГ<sub>5</sub>.



# Ізоферментні форми лактатдегідрогенази



Печінка  
 Скелетні м'язи  
 Лейкоцити  
 Мозг  
 Еритроцити  
 Почки  
 Серце

За зміною вмісту ізоферментів в сировотці крові можна судити як про місце патологічного процесу, так і про ступінь ураження органа або тканини.



# Механізм дії ферментів.

Причиною всіх цих унікальних властивостей ферментів є їхня просторова будова. Усі ферменти являють собою глобулярні білки, що набагато перевищують за розмірами субстрат. На поверхні ферменту сформувався активний центр, комплементарний субстратові.

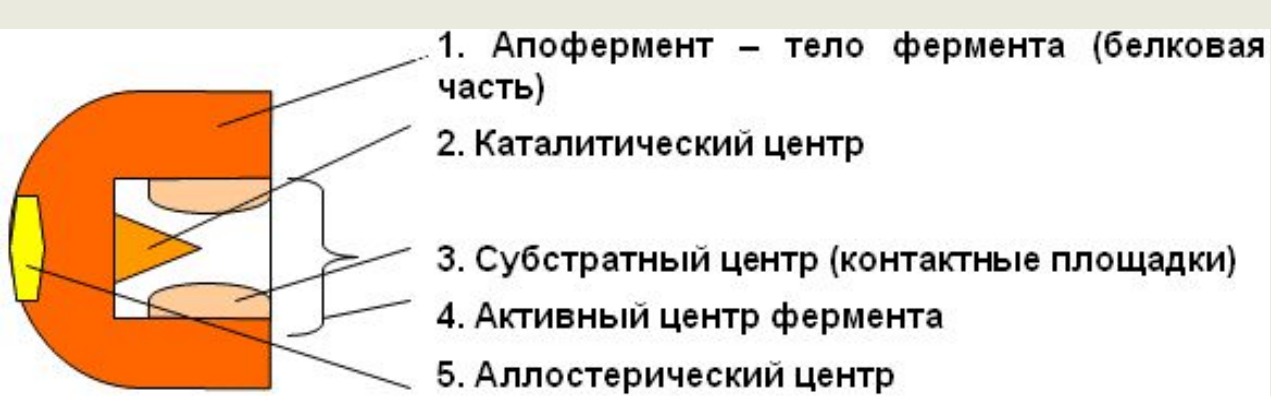
**Активний центр**- ділянка ферменту, з якою безпосередньо зв'язується субстрат та відбувається його перетворення. (у ферментів може бути декілька активних центрів 2, 4, 6, 8....)

Умовно активний центр можна розділити на дві частини - **єднальна (контактна, якірна) ділянка і каталітична**.

**Контактна ділянка** виконує функцію специфічного зв'язування субстрату і його оптимальної орієнтації.

**У каталітичному центрі** сконцентровані каталітичні групи, що безпосередньо вступають в хімічну взаємодію з субстратом. Активний центр складається з функціональних груп, які відповідно зорієнтовані у просторі. Активний центр більшості ферментів розміщений на поверхні глобул в їх заглибленнях. Тут має місце висока відповідність між субстратом і ферментом по типу замок-ключ.

Крім активного центру, у молекулі ферменту може бути **алостеричний центр** (алос-другий, стереос-просторовий)– це частина молекули ферменту, з якою зв'язуються так звані ефектори або модифікатори (низькомолекулярні сполуки, що не є субстратами). Які можуть змінювати третинну та четвертинну структуру молекули ферменту, що змінює конфігурацію активного центру – зниження чи підвищення каталітичної активності ферменту. *Ферменти, активність яких контролюється станом активного і алостеричного центрів називають алостеричними.*



Ферменти мають дуже високою специфічністю. **Фішер** (Fischer) в 1890 р. висловив припущення, що ця специфічність обумовлюється особливою формою молекули ферменту, яка точно відповідає формі молекули субстрату (або субстратів). Цю гіпотезу часто називають **гіпотезою «ключа і замка»**: Субстрат порівнюється в ній з «ключем», який точно підходить за формою до «замку», тобто до ферменту. Активний центр ферменту вступає в контакт з субстратом, і саме активний центр ферменту має особливу форму.

У 1959 р. Кошланд запропонував нову інтерпретацію гіпотези «ключа і замка», що отримала назву гіпотези **«індукованої відповідності»**. На основі даних, що дозволяють вважати ферменти і їх активні центри фізично більш гнучкими, ніж це здавалося спочатку, він зробив висновок, що субстрат, з'єднуючись з ферментом, викликає якісь зміни в структурі його активного центру.

Амінокислотні залишки, які складають активний центр ферменту, приймають певну форму, яка дає можливість ферменту найбільш ефективно виконувати свою функцію. Аналогією в цьому випадку може служити рукавичка, яка при надяганні на руку відповідним чином змінює свою форму. **“руки та рукавички”**.

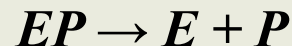
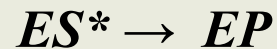
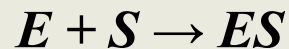
# *Стадії ферментативного каталізу*

Взаємодія ферменту з субстратом відбувається за законом комплементарності конфігурації активних центрів, конформації та зарядів.

**В процесі взаємодії виділяють 5 етапів:**

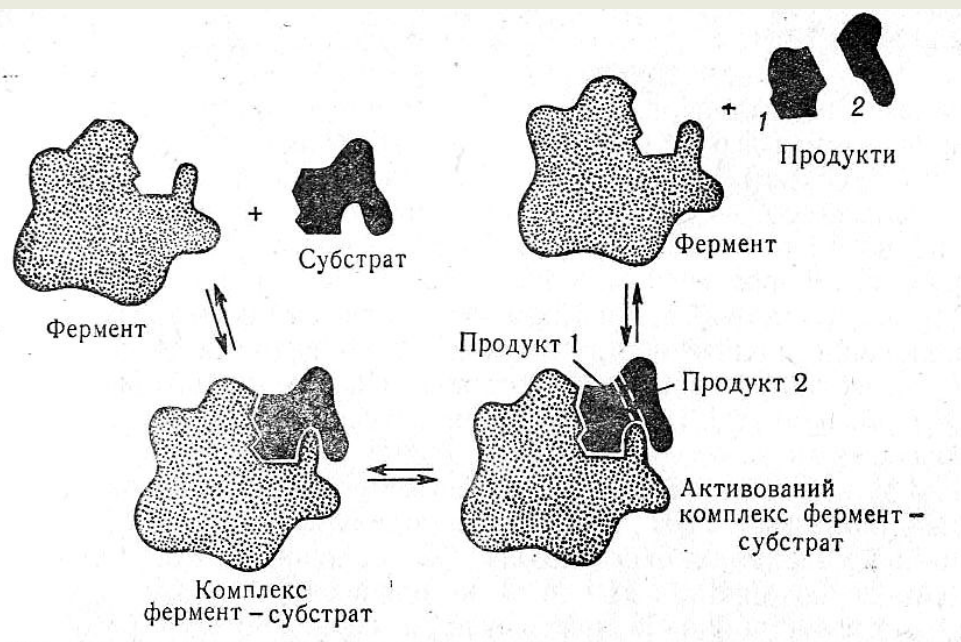
- **Приєднання ферменту до  $S$  з утворенням ферментсубстратного комплексу;**
- **Квантово – механічні зміни, що приводять до послаблення зв'язків;**
- **Розрив, або утворення зв'язків;**
- **Зміна конфігурації субстрату, він не відповідає активному центру фермента;**
- **Вивільнення продуктів реакції від ферменту.**

*Стадії ферментативного каталізу*



*$E$  – фермент,  $S$  – субстрат,  $ES$  – фермент-субстратний комплекс,  $EP$  – комплекс фермент-продукт*

# Стадії ферментативного каталізу



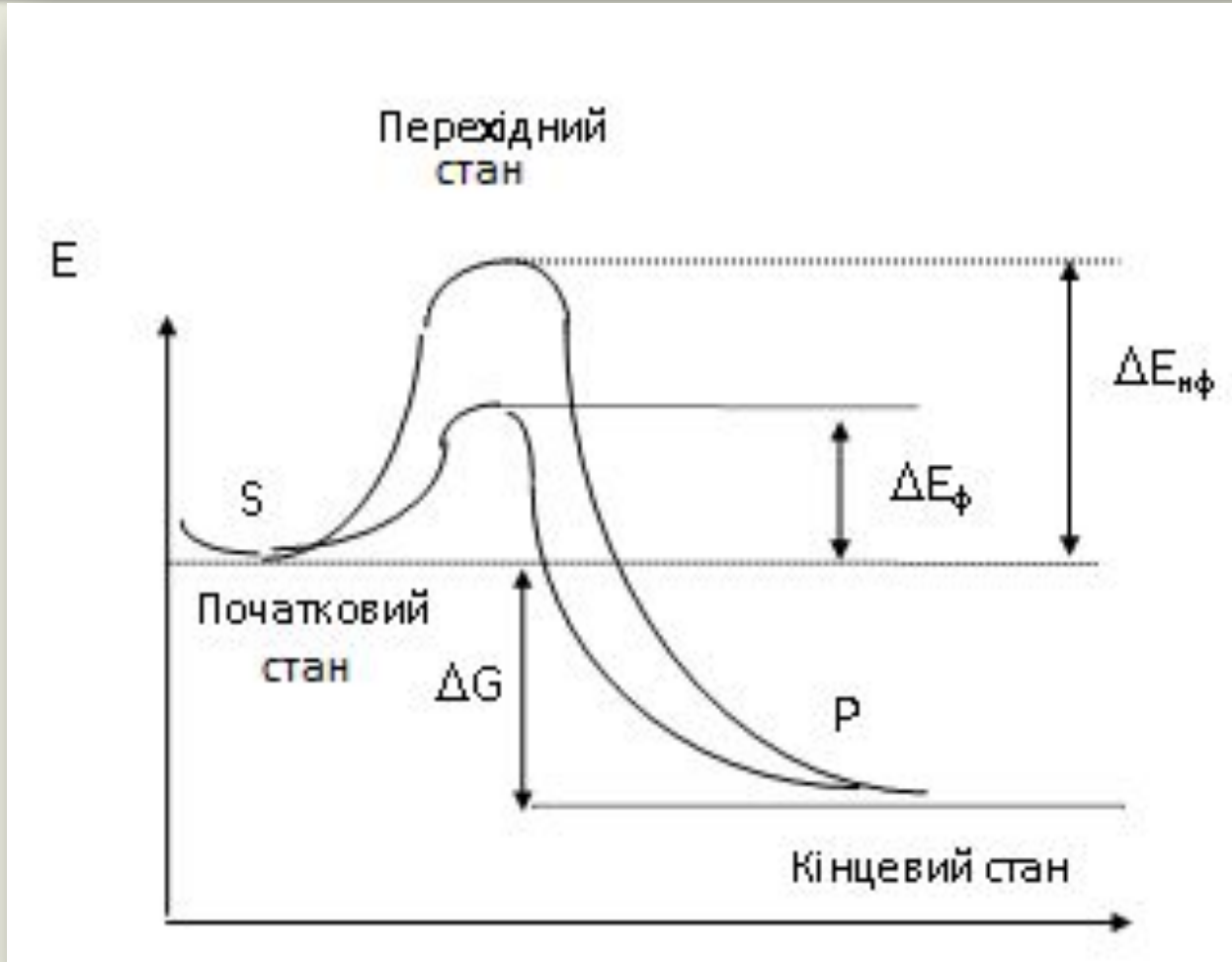
## Поняття про “енергію активації” та “енергетичний бар’єр”

Ферменти прискорюють хімічну реакцію за рахунок зниження енергії активації.

**Енергія активації** – це енергія для переведення всіх молекул в активований стан.

**Енергетичний бар’єр** – енергія, яку необхідно подолати молекулам, щоб вступити в хімічну взаємодію. Фермент знижує енергетичний бар’єр. Величина енергії активації дорівнює величині енергетичного бар’єру.

# ТЕОРІЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛІЗУ



S - початковий субстрат; P - продукт;  $\Delta E_{нф}$  - енергія активації неферментативної реакції;  
 $\Delta E_{ф}$  - енергія активації ферментативної реакції;  $\Delta G$  - стандартна зміна вільної енергії.

# ЕФЕКТОРИ

**Інгібітори** – (білкові осаджувачі —  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , танін, концентровані кислоти, солі важких металів та ін.).

**Активатори** – бувають органічної та неорганічної природи.

## **Органічної природи:**

- жовчні кислоти (активують підшлункову ліпазу в кишечнику);
- ентерокіназа (активує трипсиноген до трипсину).
  
- глутатіон, цистеїн, вітамін С підвищують активність оскидоредуктаз.

## **Неорганічної природи:**

- $\text{HCl}$  активує пепсиноген;
- катіони 1 та 2-х валентних металів ( $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ ,  $\text{Mg}$ ,  $\text{Mn}$ ,  $\text{Zn}$ );
- аніони  $\text{Cl}^-$

## **Роль металів:**

- сприяють утворенню фермент-субстратного комплексу;
- є донорами та акцепторами електронів;
- беруть участь в утворенні активного центру ферментів ( $\text{Zn} \rightarrow$  в карбоангідразі,  $\text{Fe} \rightarrow$  у цитохромах);
- виступають в ролі алостеричних регуляторів.



# Види інгібування

Інгібування буває оборотним і необоротним.

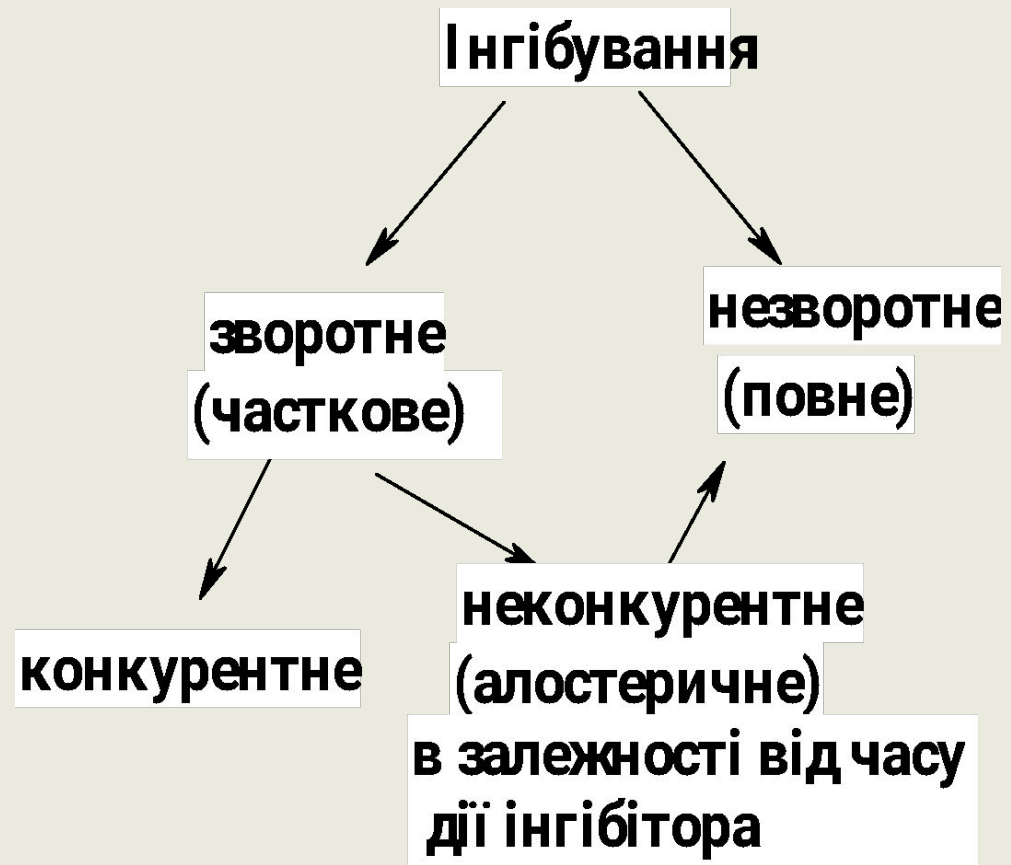
**Оборотне** – це коли інгібітор утворює з ферментом слабкий комплекс.

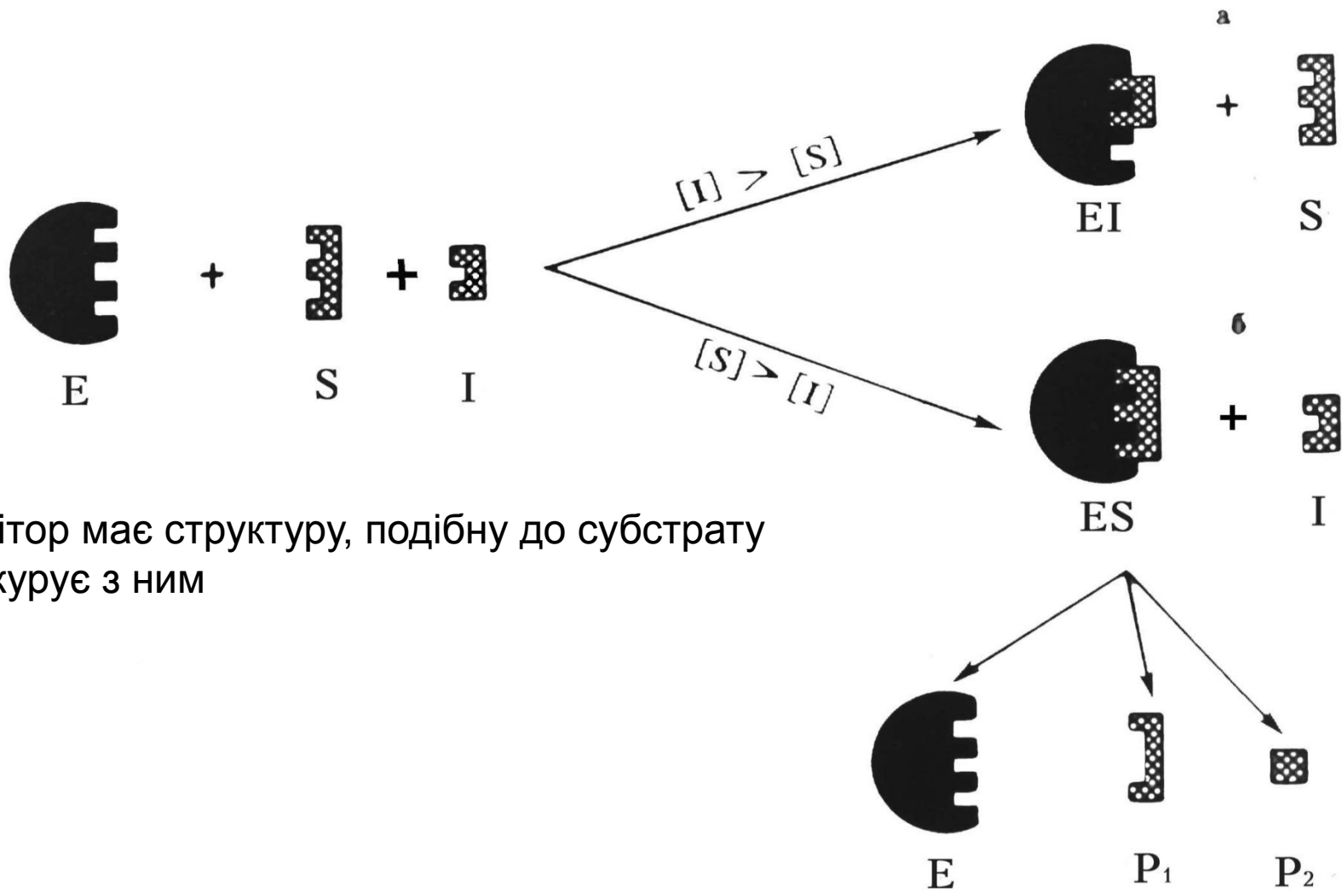
**Необоротне** – інгібітор міцно зв'язаний з ферментом (малі концентрації іонів важких металів (ртуть, срібло, миш'як), йод, оцтова кислота).

**Оборотне інгібування** поділяють ще (за спорідненістю до субстрату) – конкурентне, неконкурентне.

**Конкурентне** – це коли інгібітор має структуру подібну до структури субстрату,

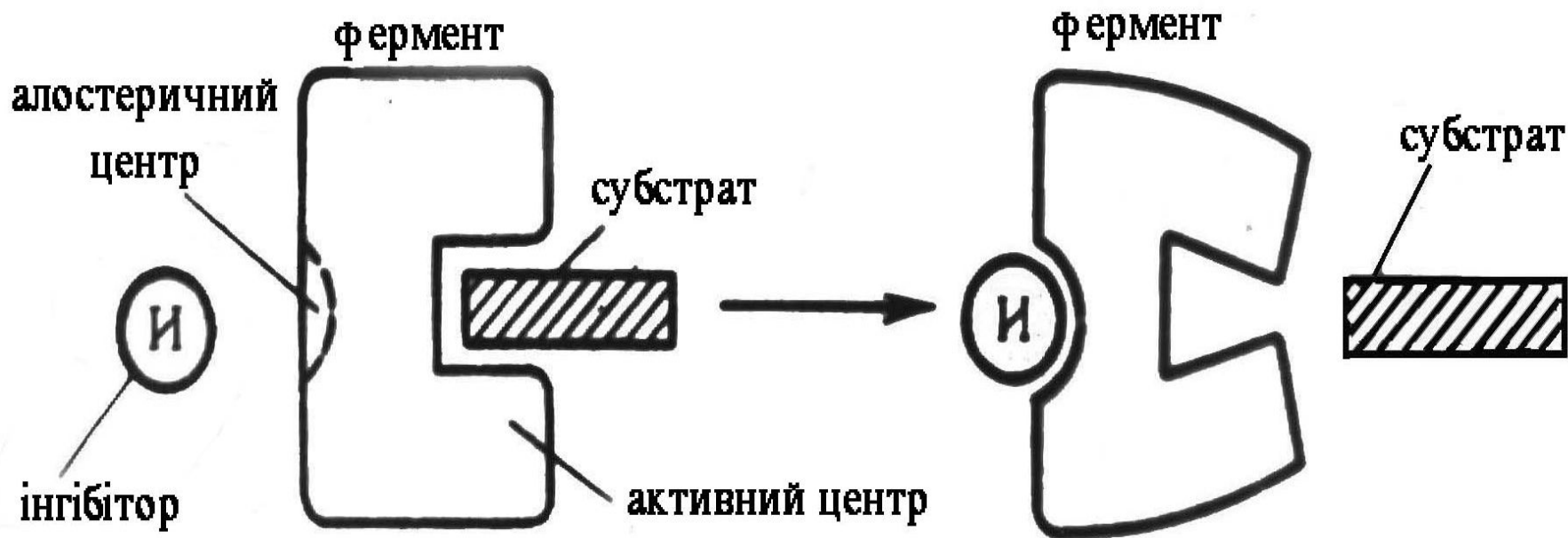
**Неконкурентне або алостеричне** – це коли інгібітор взаємодіє з **алостеричним центром**, змінює





Інгібітор має структуру, подібну до субстрату і конкурує з ним

Особливості конкурентного інгібування



Схематичне зображення неконкуруючого (алостеричного) гальмування активних ферментів

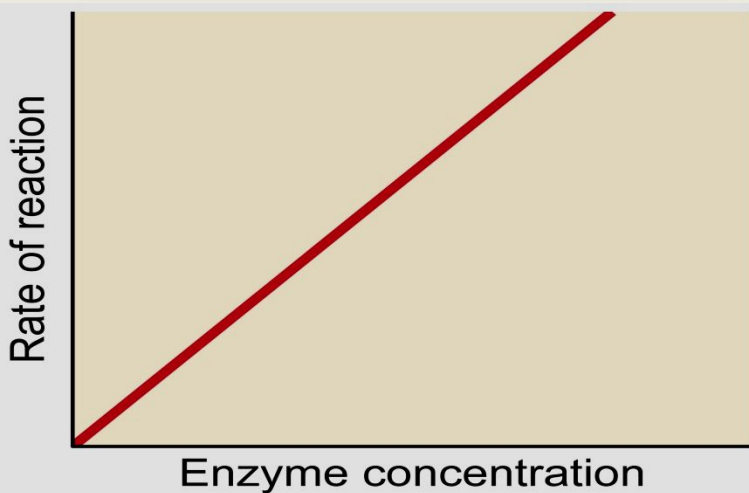
# Кінетика ферментативних реакцій

Розділ ензимології, який вивчає швидкість ферментативних реакцій та їх залежність від дії різних факторів називається **ферментативна кінетика**

До числа головних факторів, які впливають на швидкість ферментативних реакцій, належать: концентрація ферменту, концентрація субстрату, присутність активаторів або інгібіторів, **pH**, температура.

**Вплив концентрації ферменту і субстрату на початкову швидкість реакції**

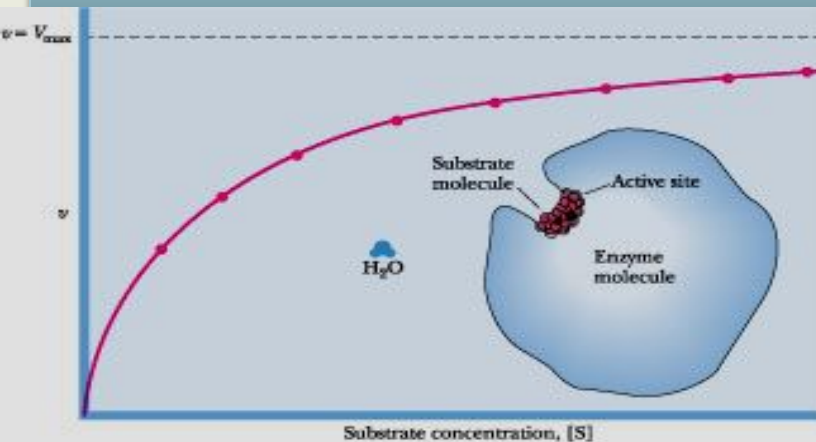
## Концентрація ферменту



У переважній більшості випадків швидкість ферментативної реакції прямо пропорційна концентрації ферменту -  $[E]$  і носить лінійний характер:  $V = K \cdot [E]$

# Фактори, що впливають на активність ферментів

## Концентрація субстрату



За дуже низьких концентрацій субстрату швидкість реакції є дуже малою, але поступово зростає в міру підвищення концентрації субстрату. При подальшому підвищенні концентрації субстрату швидкість зростає все повільніше. Нарешті, надійде момент, коли будь-яке збільшення концентрації субстрату викликати неможливо мале прискорення реакції. І як би не збільшувалась концентрація субстрату, швидкість реакції може лише наблизитися до плато, проте ніколи його не досягне.

Міхаеліс та Ментен розробили загальну **теорію ферментативної кінетики**, яка відображає кількісне співвідношення між концентрацією субстрату та швидкістю ферментативної реакції:

$$V = V_{\max} [S] / (K_s + [S]),$$

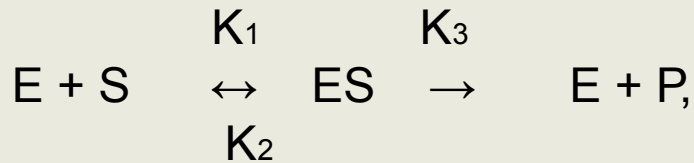
де V - швидкість реакції при даній концентрації субстрату [S],

V<sub>max</sub> - максимальна швидкість реакції при повному насиченні ферменту субстратом;

K<sub>s</sub> - константа дисоціації фермент-субстратного комплексу, моль/л. K<sub>s</sub> = k<sub>2</sub> / k<sub>1</sub> константа

З рівняння Міхаеліса–Ментен витікає, що:

- за високої концентрації субстрату та низькому значенні  $K_s$  швидкість реакції є максимальною, тобто  $V=V_{\max}$ ?
- при низькій концентрації субстрату, навпаки, швидкість реакції виявляється пропорційною концентрації субстрату в кожний даний момент.

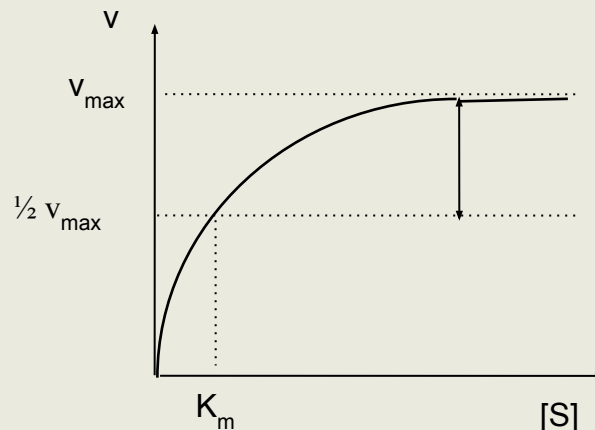


Рівняння **Міхаеліса - Ментен** в його класичному вигляді не враховує впливу на швидкість ферментативного процесу продуктів реакції, тому **Бріггс та Холдейн** вдосконалили це рівняння:

$$V=V_{\max}[S] / (K_m + [S]),$$

$$K_m = (K_1 + K_2) / K_1, \text{ або } K_m = K_s + K_2 / K_1$$

**константа Міхаеліса** – це така концентрація субстрату, за якої швидкість даної ферментативної реакції відповідає половині максимальної



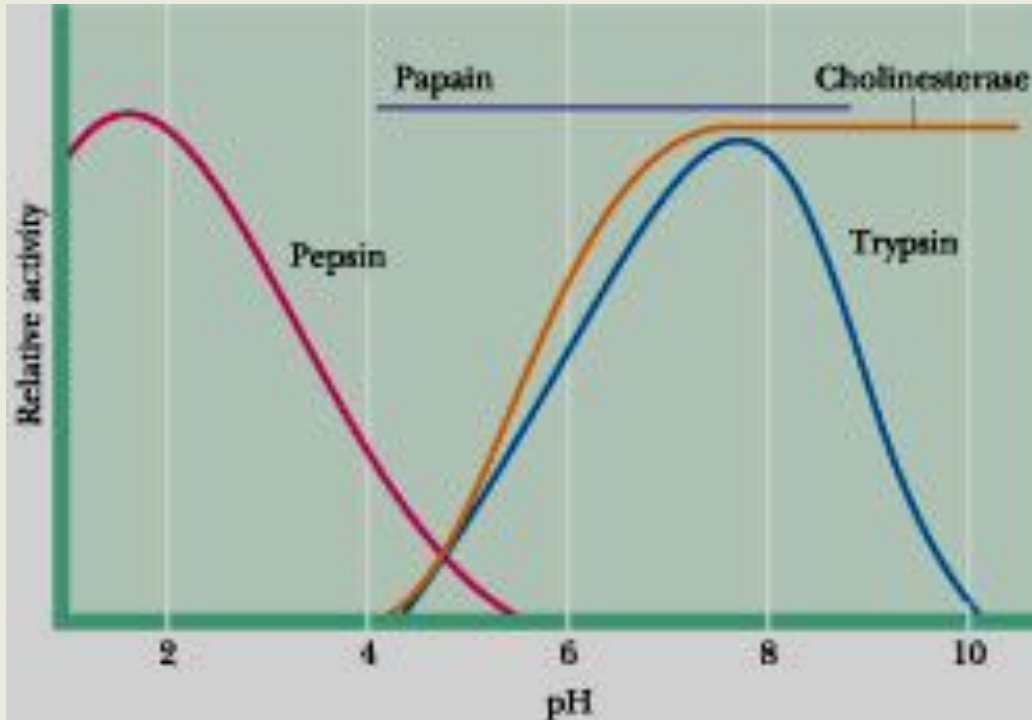
# pH

**Залежність ферментативної активності від pH середовища.**

Більшість ферментів найактивніші в діапазоні pH 6-8.

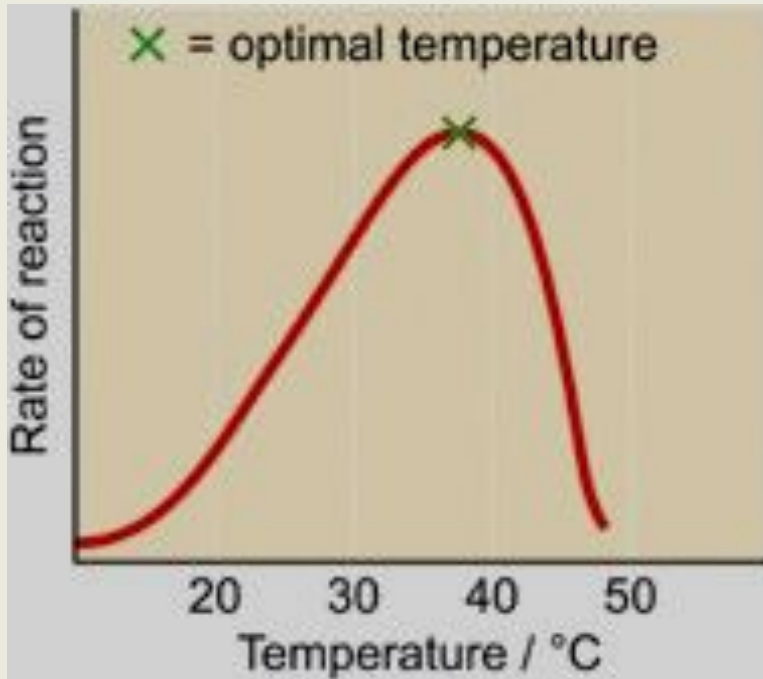
Екстремальні значення мають пепсин (pH 1,5-2), аргіназа (pH 9,5- 10).

Дзвоноподібна форма кривої. pH-залежність визначається іонізацією груп активного центру.



Optimum pH of Some Enzymes	
Enzyme	Optimum pH
Pepsin	1.5
Catalase	7.6
Trypsin	7.7
Fumarase	7.8
Ribonuclease	7.8
Arginase	9.7

# Температура



Підвищення температури на 10 °C прискорює швидкість хімічних реакцій приблизно в 2 рази. Але ферменти є білками і підвищення їх каталітичної активності відбувається до того часу, поки не почнеться денатурація білка. Денатурація ферменту викликає руйнування його просторової структури.

**Термолабільність** – відповідно до своєї білкової природи ферменти є термочутливими.

Оптимум 37-45°C.

При 0°C та нижче активність повністю втрачається, але структура фермента не руйнується і при підвищенні температури ферменти повністю відновлюють свою активність



# Номенклатура ферментів

В 1961 році на V Міжнародному біохімічному конгресі в Москві була розроблена сучасна класифікація та номенклатура ферментів.

## Способи номенклатури:

-Тривіальна назва (пепсин, трипсин и т.д.)

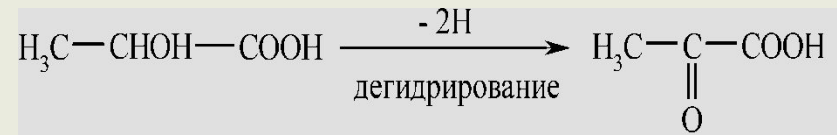
-Робоча назва:

**Назва субстрату+ тип реакції + аза**

Лактатдегідрогеназа

-Систематична назва:

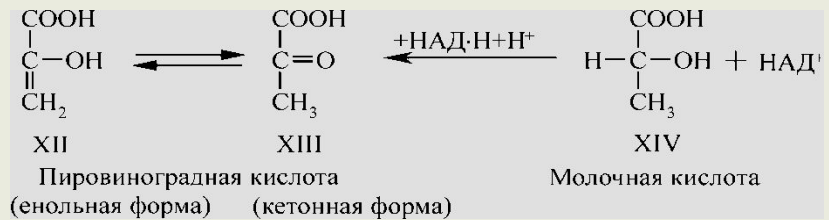
**Субстрат1:субстрат2-клас ферменту**



Молочная кислота

Пировиноградная кислота

L-лактат:НАД-оксидоредуктаза



Лецитин-холестерин:ацилтрансфераза

Код ферменту

Клас. Підклас. Підпідклас.

Індивідуальний номер

1.1.1.27

Підпідкласи – уточнюють, яка речовина є другим субстратом (якщо субстратів 2), або до якої групи речовин відноситься субстрат (якщо субстрат один).

# *Класифікація ферментів*

**1. Оксидоредуктази.** Окислювально-відновні процеси в клітині можуть здійснюватися трьома шляхами: переносом іона водню, приєднанням кисню і перенесенням електронів.

**2. Трансферази**

**3. Гідролази**

**4. Ліази**

**5. Ізомерази**

**6. Лігази**

## **1 КЛАС**

**Оксидоредуктази** каталізують окисно-відновні процеси - (*дегідрогенази, оксигенази, оксидази, пероксидази, гідроксилази, та ін.*) 22 підкласи в залежності від будови субстратів, на які вони діють.

Небілковою частиною дегідрогеназ є у більшості випадків динуклеотиди.

Дегідрогенази грають важливу роль в таких процесах, як фотосинтез, бродіння і дихання.

Залежно від виду динуклеотиду дегідрогенази поділяються на піридинові та флавінові.

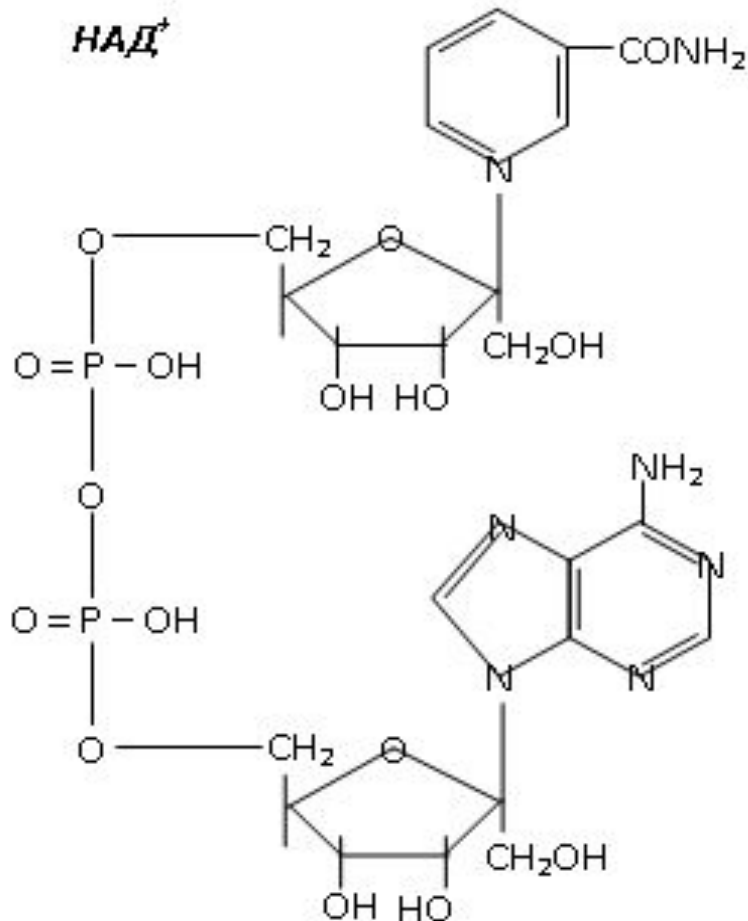
# Згідно з міжнародною класифікацією оксидоредуктаз

## виділяють 22 підкласи:

- КФ 1.1 — ферменти, що взаємодіють з СН—ОН—групою донорів;
- КФ 1.2 — ферменти, що взаємодіють з альдегідною або кето-групою донорів;
- КФ 1.3 — ферменти, що взаємодіють з СН<sub>2</sub>—СН<sub>2</sub>—групою донорів;
- КФ 1.4 — ферменти, що взаємодіють з СН—NH<sub>2</sub> групою донорів;
- КФ 1.5 — ферменти, що взаємодіють з СН—NH групою донорів;
- КФ 1.6 — ферменти, що взаємодіють з НАД · Н або НАДФ · Н;
- КФ 1.7 — ферменти, що взаємодіють з іншими азотвмісними сполуками в якості донорів;
- КФ 1.8 — ферменти, що взаємодіють з сірковмісною групою донорів;
- КФ 1.9 — ферменти, що взаємодіють з гемовою групою донорів;
- КФ 1.10 — ферменти, що взаємодіють з дифенолами та спорідненими сполуками в якості донорів;
- КФ 1.11 — ферменти, що взаємодіють з пероксидом в якості акцептора (пероксидази);
- КФ 1.12 — ферменти, що взаємодіють з воднем в якості донорів;
- КФ 1.13 — ферменти, що взаємодіють з одиночними кисневмісними донорами (оксигенази);
- КФ 1.14 — ферменти, що взаємодіють з парними кисневмісними донорами;
- КФ 1.15 — ферменти, що взаємодіють з супероксид-радикалами в якості акцепторів;
- КФ 1.16 — ферменти, що окислюють іони металів;
- КФ 1.17 — ферменти, що взаємодіють з СН або СН<sub>2</sub> групами;
- КФ 1.18 — ферменти, що взаємодіють з заліzosірчаними білками в якості донорів;
- КФ 1.19 — ферменти, що взаємодіють з відновленим флаводоксином в якості донора;
- КФ 1.20 — ферменти, що взаємодіють з фосфором або миш'яком в якості донора;
- КФ 1.21 — ферменти, що взаємодіють з молекулами виду Х—Н и Y—Н з утворенням зв'язку Х—Y;

# 1.1.1 Піридинові дегідрогенази

Небілковою частиною є нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД) або нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ).



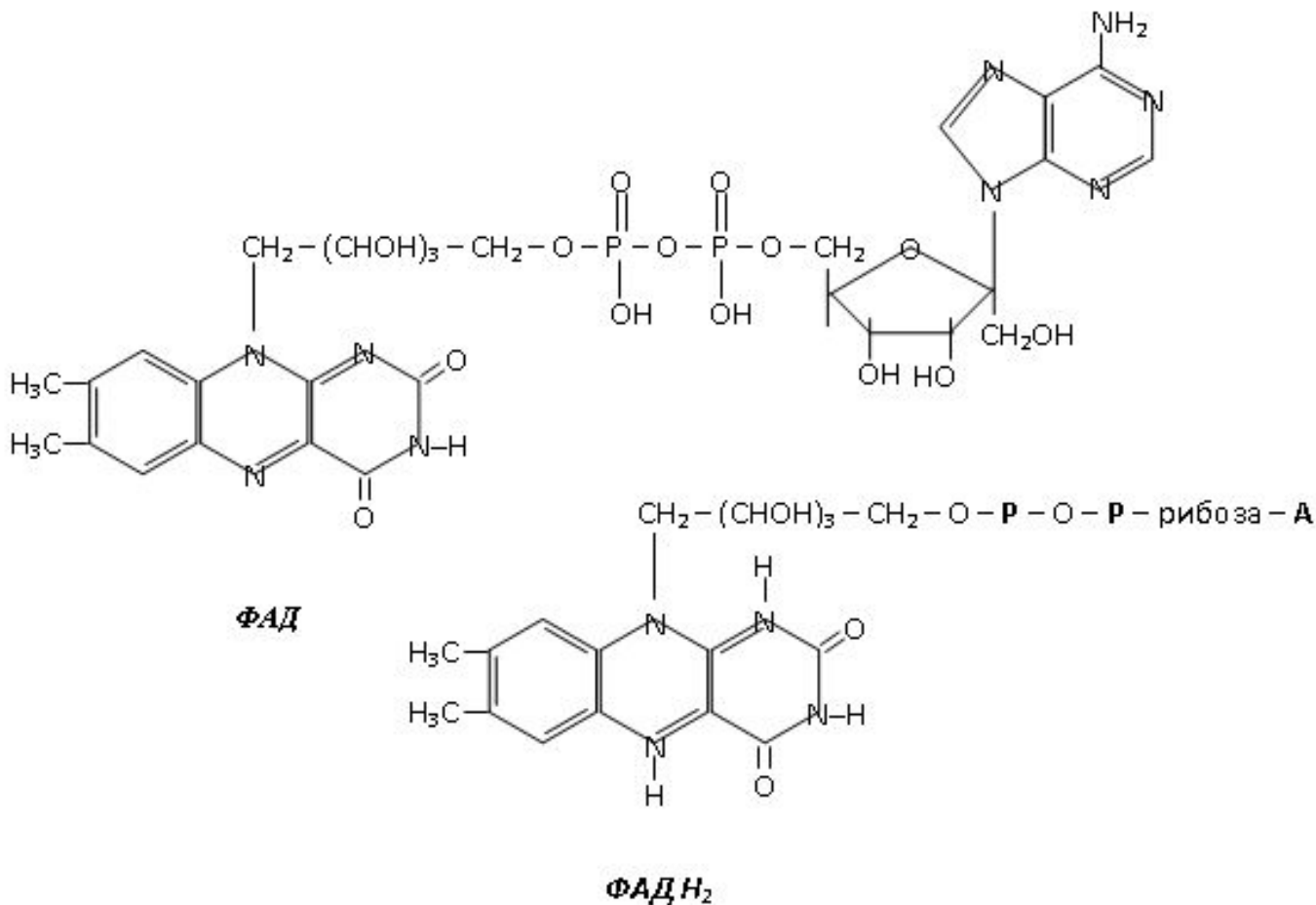
Реакції що відбуваються за участі піридинзалежних дегідрогеназ:



Піридинові дегідрогенази, активною групою яких є НАД беруть участь у спиртовому бродінні (алкогольдегідрогеназа), молочнокислому бродінні (лактатдегідрогеназа).

## 1.1.2 ФЛАВІНОВІ ДЕГІДРОГЕНАЗИ

Небілковою частиною є флавінмононуклеотид (ФМН) або флавінаденіндинуклеотид (ФАД). Флавінові дегідрогенази містять похідні вітаміну В<sub>2</sub>.

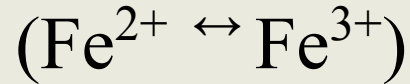


Важливе значення мають **ферменти в діагностиці** різних захворювань. Зміна їх активності в крові порівняно з нормою є важливим показником патологічних змін в організмі.

**Наприклад:** підвищення активності креатинкінази та лактатдегідрогенази у перші часи захворювання на інфаркт, коли ще ЕКГ не помічає ніяких змін, вже свідчить про початок хвороби.

**1.2 Оксигенази** - ферменти, за допомогою яких відбувається пряме приєднання одного або двох атомів кисню до органічного субстрату. В цих реакціях кисень відновлюється до води ( $\text{H}_2\text{O}$ ) або пероксиду водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

**Цитохроми** (система, яка складається з ряду гемвмісних білків (гемопротеїнів). Здійснюють перенесення електронів



*цитохром b* → *цитохром c* → *цитохром a* → *цитохром a<sub>3</sub>*

цитохроми b, c, переносники електронів, a, a<sub>3</sub> (цитохромоксидаза) термінальний дихальний фермент, безпосередньо взаємодіє з киснем.

**1.3 Оксидази** – коли акцептором водню служить  $O_2$  повітря.

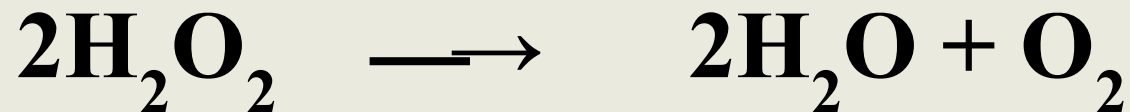
*Ліпоксигеназа (ліпоксидаза)* широко розповсюджена у рослинах, каталізує окислення киснем повітря деяких ненасичених ВЖК та утворених ними ефірів. Присутні в насінні рослин ліпоксигенази обумовлюють згіркнення борошна та круп.



**1.4 Гідрогенази** – ферменти, що каталізують оборотне окислення водню за участю ферредоксину, НАД<sup>+</sup> або цитохрому a<sub>3</sub>.

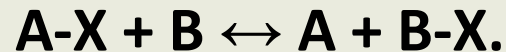
**Пероксидаза** – фермент, що каталізує окиснення органічних сполук пероксидом водню.

**Каталаза** – фермент, під дією якого відбувається розклад пероксиду водню на воду і молекулярний кисень:



## 2 клас

**Трансферази:** каталізують перенесення хімічних групи атомів, від яких і беруть назву (метил-, сульфо-, аміно-, фосфо-, ацилтрансферази та ін.).



X -донор групи атомів, а молекула B — акцептор групи.

**Номенклатура** назви ферментів утворюються за схемою:

«донор: акцептор + група + трансфераза». Або ж використовуються загальніші назви, коли в назву ферменту включається ім'я або донора, або акцептора

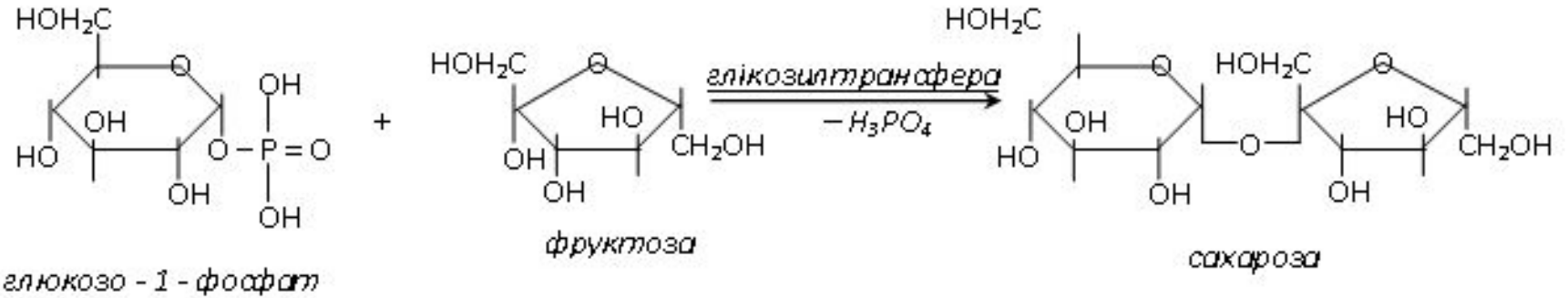
**аспартатамінотрансфераза** каталізує перенесення аміногрупи з молекули аспарагінової кислоти,

**катехол-О-метилтрансфераза** здійснює перенесення метильної групи.

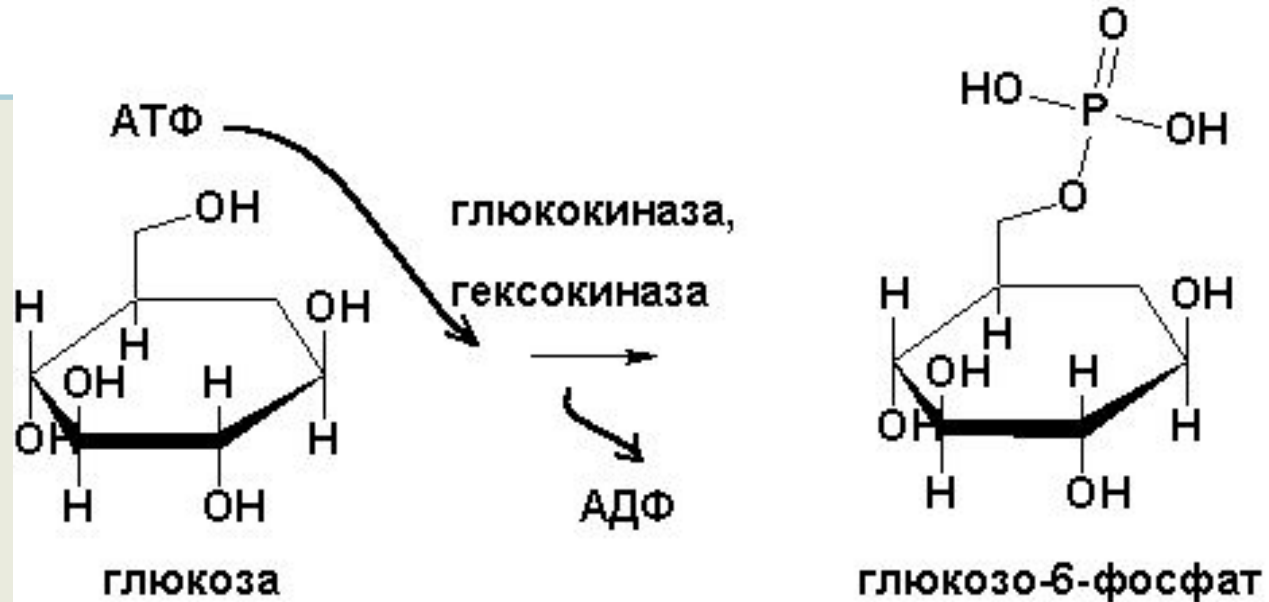
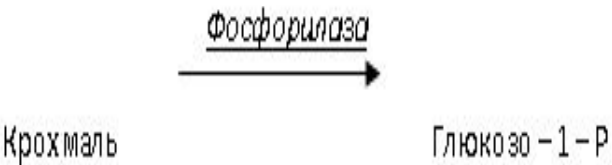
**амінотрансферази (6 підгрупа)** часто називають **трансаміази**.

Ферменти **7 підгрупи** трансфераз, що переносять залишок фосфатної кислоти, використовуючи в якості донора фосфатної групи молекули АТФ, часто називають також **кіназами**;

# Глікозилтрансферази каталізують перенесення залишків вуглеводів



До цього підкласу належать ферменти фосфорилази, які каталізують перетворення крохмалю чи глікогену у глюкозо-1-фосфат за участю фосфатної кислоти, тобто перенесення глікозильного залишку на фосфатну кислоту.



**Ацилтрансферази** беруть участь в перенесенні залишків органічних кислот, головним чином залишку оцтової кислоти - ацетилу ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ).

**Метилтрансферази** – каталізують перенесення метильних груп. Це має велике значення в процесі синтезу холіну, що є складовою частиною лецитинів. Холін регулює жировий обмін у тваринному організмі.

**Амінотрасферази** – каталізують реакції переамінування (перенесення аміногрупи з амінокислоти на кетокислоту). Амінотрансферази містять як кофермент вітамін  $\text{B}_6$ .

# 3 клас Гідролази-

## каталізують гідролітичні реакції.

Підрозділяється на 13 підкласів в залежності від типу зв'язку, що гідролізується.

**КФ 3.1 складноефірний зв'язок** (естерази: нуклеаза, фосфодіестераза, ліпаза, фосфатаза)

**КФ 3.2 цукри** (глікозидази: амілаза, гіалуронідаза, лізоцим та ін.)

**КФ 3.3 простий ефірний зв'язок**

**КФ 3.4 пептидний зв'язок** (протеази: трипсин, хімотрипсин, еластаза, тромбін, ренін та ін.)

**КФ 3.5 непептидний вуглець-азотний зв'язок**

**КФ 3.6 ангідриди кислот** (ангідридгідролаза (геліказа, ГТФаза))

**КФ 3.7 вуглець-вуглецевий зв'язок (C-C)**

**КФ 3.8 галогенний зв'язок**

**КФ 3.9 нітроген-фосфатний зв'язок (P-N)**

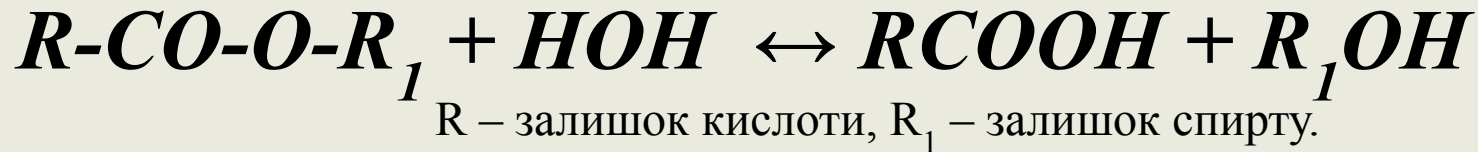
**КФ 3.10 нітроген-сірчаний зв'язок (S-N)**

**КФ 3.11 вуглецево-фосфатний зв'язок (C-P)**

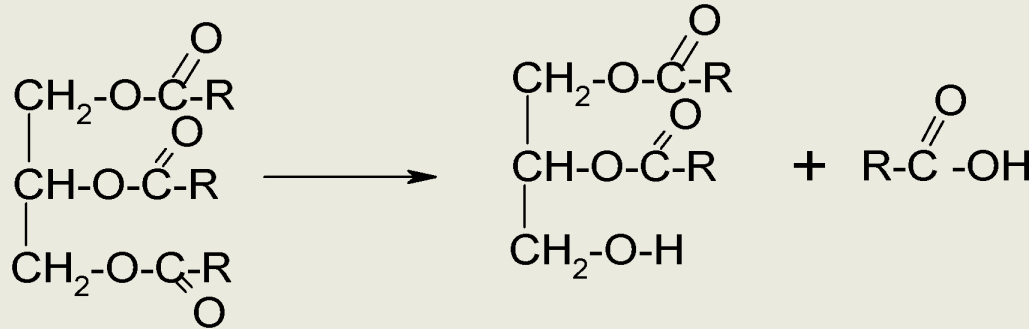
**КФ 3.12 дисульфідний зв'язок (S-S)**    **КФ 3.13 сірчано-вуглецевий зв'язок (C-S)**

Найбільше значення мають естерази, глікозидази, пептидгідролази, амідази:

**3.1. Естерази** здійснюють гідроліз та синтез складних ефірів.



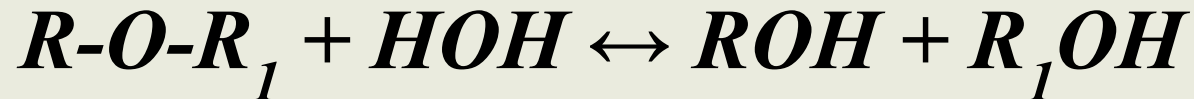
**Ліпази** гідролізують триацилгліцероли (жири) до спирту та ВЖК.



**Фосфатази** — каталізують гідроліз складних ефірів фосфатної кислоти в живих організмах. Функція фосфатаз — підтримка рівню фосфату, необхідного для різних біохімічних процесів.

## 3.2. Глікозидази

**Глікозидази (карбогідрази)** розщеплюють глікозидні зв'язки, здійснюючи гідроліз вуглеводів та інших глікозидів.



R – залишок вуглеводу, R<sub>1</sub> – залишок вуглеводу або речовини не вуглеводної природи (аглікон).

Поділяються на *олігази*, що гідролізують олігосахариди та *поліази*, що гідролізують полісахариди.

## 2 а Олігази

*$\alpha$ -глюкозидаза (мальтаза)* розщеплює  $\alpha$ -глюкозидний зв'язок в дисахаридах мальтозі та сахарозі:



*$\beta$ -галактозидаза (лактаза)* каталізує гідролітичне розщеплення  $\beta$ -галактозидного зв'язку в лактозі: При виготовленні продуктів з молока (морозиво тощо)



*$\beta$ -фруктозидаза (сахараза, інвертаза)* розщеплює  $\beta$ -фруктозидний зв'язок в сахарозі та рафінозі: Препарат інвертази (інвертин) застосовують в кондитерській промисловості.





*$\beta$ -глюкозидаза (целобіаза)* розщеплює  $\beta$ -глюкозидні зв'язки в ди- та полісахаридах, а також в  $\beta$ -глюкозидах, наприклад, в целобіозі:

*$\alpha$ -галактозидаза (мелібіаза)* розщеплює  $\alpha$ -галактозидний зв'язок в мелібіозі (D-Гал- $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -D-Глю) та рафінозі.

Цей фермент має важливе промислове значення. Спиртове виробництво, що використовує меласу, несе суттєві збитки із-за того, що рафіноза, що міститься в цій сировині, не зброджується повністю дріжджами. Дріжджі містять  $\beta$ -фруктозидазу і не виробляють  $\alpha$ -галактозидазу.

Внаслідок цього вони відщеплюють від рафінози лише фруктозу. Частина молекули, що залишилася (мелібіоза) не гідролізується і не піддається подальшому перетворенню на спирт.



Олігази, окрім гідролазної активності, як правило, мають також **глікозилтрансферазну** дію і прискорюють процеси перенесення глікозильних залишків на ті або інші субстрати.

## 2 б Поліази

- амілази - група ферментів, що гідролізують крохмаль. Встановлена наявність трьох амілаз.

Фермент  $\alpha$ -амілаза (тваринна амілаза, декстриногенамілаза), в організмі тварин її міститься більше, ніж у рослинах. Ферменти  $\alpha$ -амілази гідролізують розщеплення лише  $\alpha$ -1–4-глюкозидні зв'язки всередині молекулі високополімеризованого субстрату (вивільняє глюкозу в  $\alpha$ -мутамерній формі).  $\alpha$ -амілаза чутлива до рН середовища, при рН 3,3 вона інактивується.

$\beta$ -амілаза (рослинна амілаза, сахарогенамілаза) міститься головним чином в рослинах (зерні пшениці, жита, ячменю, соєвих бобах. Ферменти  $\beta$ -амілази гідролізують розщеплення передостаннього  $\alpha$ -1–4-глюкозидного зв'язку з нередукуючого кінця лінійної ділянки амілози та амілопектину.  $\beta$ -амілаза чутлива до температури.

## 3.4. Пептидгідролази

**Пептидгідролази (протеази)** - це ферменти, які гідролізують пептиди і білки, розщеплюючи в них пептидні зв'язки. Вони поділяються на дві групи: пептидази і протеїнази.

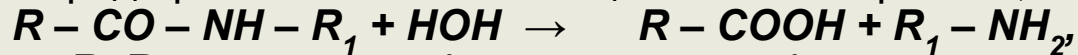
**Пептидази** здійснюють гідроліз кінцевих пептидних зв'язків в білках і пептидах.

**Протеїнази** гідролізують поліпептиди, розщеплюючи в них глибинні пептидні зв'язки.

Таким чином, гідроліз білка здійснюється при спільній дії протеїназ і пептидаз.

Проміжними продуктами гідролізу є різні пептиди, а кінцевими - вільні амінокислоти.

Серед протеїназ важливе місце займають трипсин, пепсин і папаїн.



де R, R<sub>1</sub> - залишки амінокислот, пептидів.

### 3.1. Протеїнази.

- **пепсин** - гідролізує переважно пептидні зв'язки, що утворені аміногрупою тирозину та фенілаланіну (ароматичних).
- **трипсин** - розщеплює пептидні зв'язки, утворені карбоксильною групою лізину та аргініну.
- **ренін** - розщеплює пептидні зв'язки між фенілаланіном та метіоніном в казеїні.
- **хімотрипсин** - розщеплює пептидні зв'язки, утворені карбоксильною групою тирозину та фенілаланіну
- **папаїн** - рослинний протеолітичний фермент. Отримують у вигляді сухого порошку з соку плодів динного дерева (папаї)



*амінопептидази* – розщепляють пептидний зв'язок, що знаходиться поряд із вільною аміногрупою. Для дії амінопептидаз необхідна наявність в молекулі субстрату вільної  $\alpha$ -аміногрупи.

*карбоксипептидази* – розщепляють пептидний зв'язок, що знаходиться поряд із вільною карбоксильною групою

*дипептидази* – каталізують гідролітичне розщеплення дипептидів на вільні амінокислоти.

## 3.5. Амідази

*Амідази* – каталізують гідроліз амідів (уреаза, аргіназа, аспарагіназа, глютаміназа).

уреаза – розщеплює сечовину на амоніак та діоксид вуглецю;

аспарагіназа – каталізує гідролітичне розщеплення аспарагіну на аспарагінову кислоту та амоніак;

глютаміназа – каталізує гідролітичне розщеплення глютаміну на глютамінову кислоту та амоніак;

аргіназа – каталізує гідролітичне розщеплення L-аргініну на орнітин та сечовину.

## 4 клас ЛІАЗИ

**Ліази** каталізують реакції негідролітичного розщеплення без участі води. (декарбоксилази, альдолази, тощо.)

Розчеплюють C-C ; C-O ; C-N; тощо, В загальному вигляді назви ферментів отримуються за схемою «**субстрат + ліаза**».

В назві фермента присутні слова "**декарбоксилаза**" та "**альдолаза**" або "**ліаза**" (пируватдекарбоксилаза, оксалат-декарбоксилаза, оксалоацетатдекарбоксилаза, та ін.), а для ферментів, що каталізують реакції відщеплення води від субстрату, - "дегідратаза" (карбонатдегідратаза, цитрат-дегідратаза, сериндегідратаза та ін.).

**Згідно з міжнародною класифікацією ферментів ліази віднесені до класу (КФ 4). Клас, в свою чергу, підрозділяється на 7 підкласів:**

**КФ 4.1 – включає ферменти, що розщиплюють вуглець-вуглецеві зв'язки, наприклад, декарбоксилази (карбоксиліази);**

**КФ 4.2 – ферменти, що розщиплюють вуглець-кисневі зв'язки, наприклад, дегідратази;**

**КФ 4.3 – ферменти, що розщиплюють вуглець-азотні зв'язки (амідинліази);**

**КФ 4.4 – ферменти, що розщиплюють вуглець-сірчисті зв'язки;**

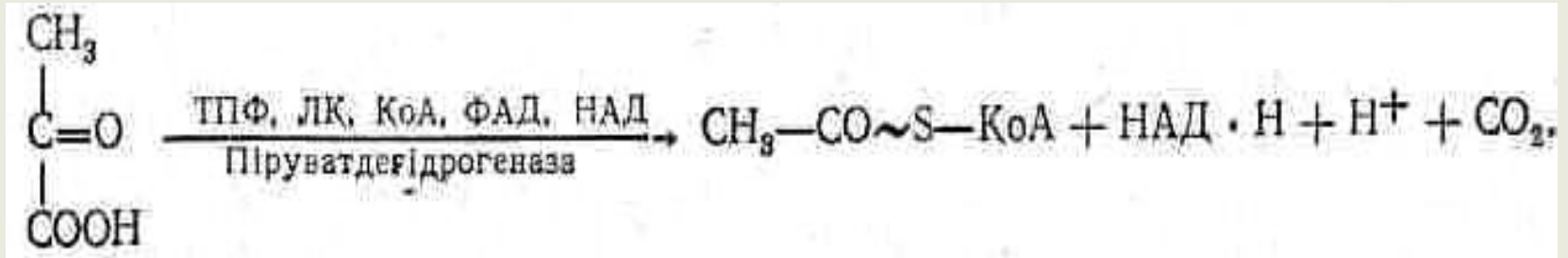
**КФ 4.5 – включає ферменти, що розщиплюють зв'язки вуглець-галоген, наприклад, ДДТ-дегідрохлориназа;**

**КФ 4.6 – ферменти, що розщиплюють фосфоро-кисневі зв'язки, наприклад, аденілатциклаза;**

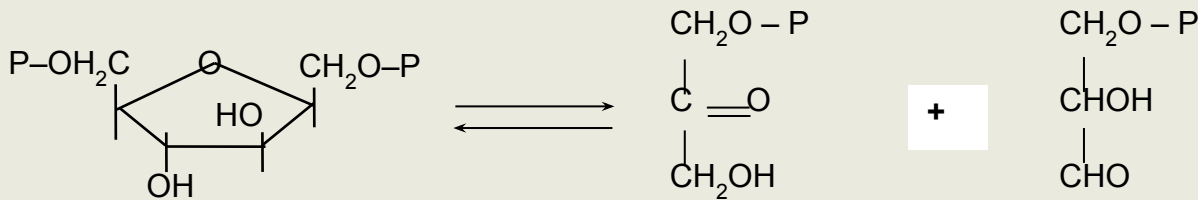
**КФ 4.99 – включає інші ліази.**

# ЛІАЗИ Приклади:

## піруватдекарбоксилаза



## альдолаза

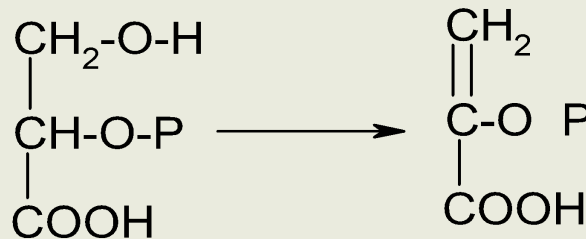


фруктозо-1,6-дифосфат

фосфодіоксіацетон

3-фосфогліцириновий альдегід

## енолаза



2-Фосфогліциринова кислота

Фосфоенол ПВК



# 5 клас

**Ізомерази** — ферменти, що каталізують структурні або просторові зміни в молекулі субстрату.

КФ 5.1 ферменти, що каталізують рацемізацію (**рацемази**) та епімеризацію (**епімерази**)

КФ 5.2 ферменти, що каталізують геометричну ізомеризацію (**цис-транс ізомерази**)

КФ 5.3 **внутрішньомолекулярні оксидоредуктази**

КФ 5.4 включає трансферази (**мутази**) каталізують перенесення певних груп з одного місця в інше.

КФ 5.5 включає **внутрішньомолекулярні ліази**

КФ 5.6 включає інші ізомерази, в тому числі, **топоізомерази**

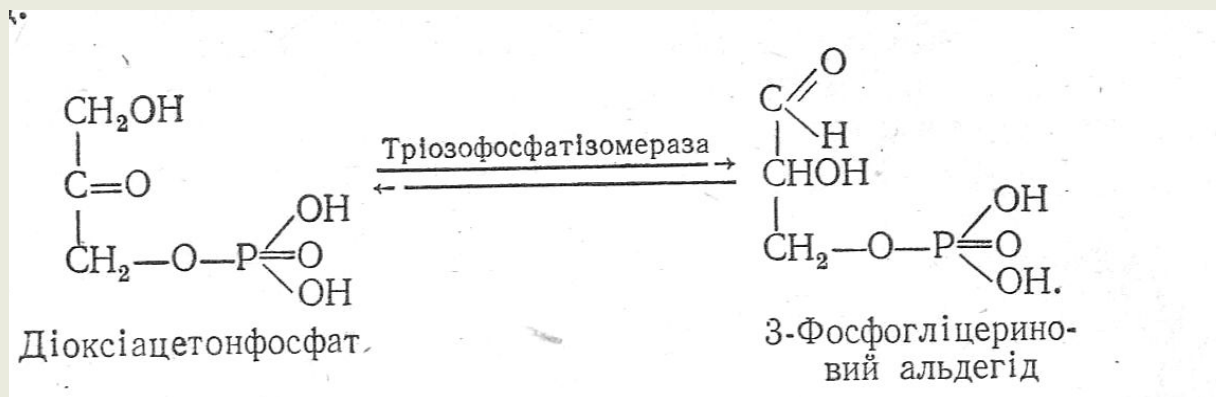
**5.1. Рацемази** – наприклад бактеріальна рацемаза перетворює L-амінокислоти на D-амінокислоти. (аланінрацемаза, метіонінрацемаза, гідроксипролінрацемаза, лактатрацемаза та ін.)

**Епімерази** – діють на субстрати з декількома асиметричними атомами. .

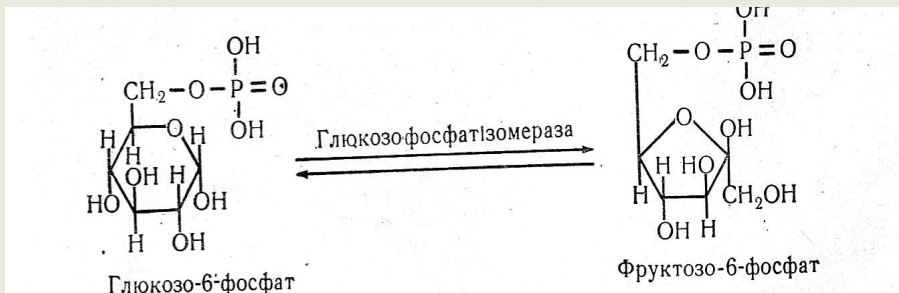
Широко розповсюджені в природі та відіграють важливу роль у взаємоперетвореннях вуглеводів (напр., галактози та глюкози). пара діастереомерів, які різняться конфігурацією лише одного із хіральних центрів молекули при наявності в ній двох або більшого числа хіральних центрів.

**альдозо-1-епімераза**–(мутаротаза) перетворює  $\alpha$ -D глюкозу в  $\beta$ -D глюкозу. (альдозо-1-епімераза, рибулозофосфат-4-епімераза, УДФ-глюкуронат-4-епімераза та ін.)

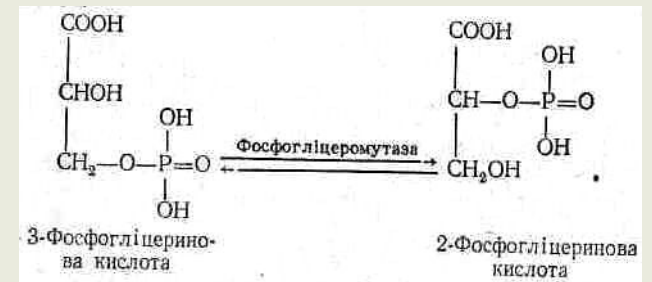
**5.3. Тріозофосфатізомераза КФ 5.3.1.1** — **фермент**, що **каталізує** оборотне взаємне перетворення *3-фосфогліцеринового альдегіду* в *фосфодіоксіацетон* в гліколізі та у процесі бродіння



глюкозофосфат-ізомераза каталізує взаємне перетворення глюкопіранозо-6-фосфату та фруктофуранозо-6-фосфату. (рибозофосфатізомераза, ксилосоізомераза, глюкозамінфосфат-ізомераза, еноіл-КоАізомераза та ін.),

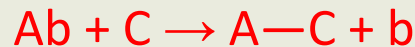


5.4. Фосфогліцератмутаза перетворює 2-фосфогліцерат в 3-фосфогліцерат і навпаки (метиласпартатмутаза, фосфоглюкомутаза та ін.).



## 6 клас

**Лігази** (від лат. *ligāre* — «зшивати», «зв'язувати») — клас ферментів (КФ 6), здатних каталізувати взаємодію двох молекул з утворенням нового хімічного зв'язку (лігування). При цьому відбувається відщеплення (гідроліз) невеликої хімічної групи від однієї з молекул.



Або



Зазвичай назви лігаз включаються в себе слово «лігаза» (наприклад, ДНК-лігаза) або слово «синтетаза» (наприклад, аміноацил-тРНК-синтетаза).

Через те, що деякі лігази додають вуглекислоту до молекули, вони мають назву карбоксилаз.

**У класифікації міжнародної комісії з ферментів, лігази класифікуються як КФ 6 та поділяються на 6 підгруп:**

**КФ 6.1 лігази, що утворюють зв'язки С-О**

**КФ 6.2 лігази, що формують зв'язки С-S**

**КФ 6.3 лігази, що утворюють зв'язки С-N (включаючи аргінінсукцинат-синтетазу)**

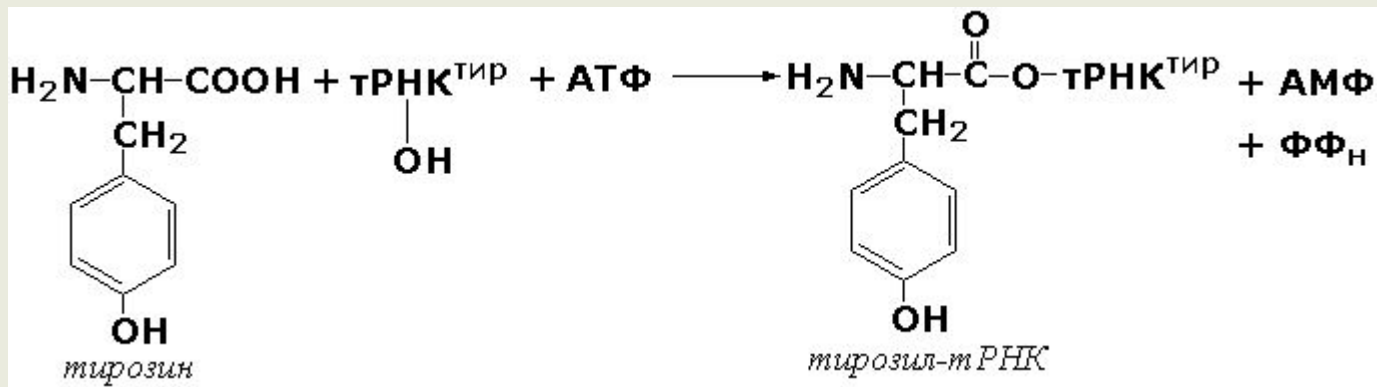
**КФ 6.4 лігази, що формують зв'язки С-С**

**КФ 6.5 лігази, що утворюють фосфодіестерні зв'язки**

**КФ 6.6 лігази, що формують зв'язки нітроген-метал**

**6.1. Лігази, що утворюють С–О-зв’язок – ферменти, що каталізують активацію та приєднання залишків амінокислот до т-РНК (відіграють віжливу роль у біосинтезі білка).**

**- аміноацил-тРНК-синтетаза (АРСаза)**

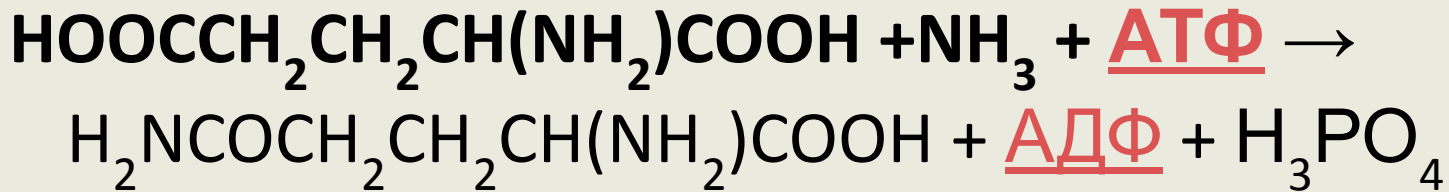


**ОН група рибози в 2' або 3' положенні**

# Лігази

6.3. Лігази, що утворюють С–N-зв'язок.

глутамінсинтетаза – каталізує реакцію синтезу глутаміну з глутамінової кислоти та амоніаку.



аспарагінсинтетаза – каталізує реакцію синтезу аспарагіну з аспарагінової кислоти та аміаку.

Ферменти, які використовуються в промисловості отримують з сировини тваринного, рослинного або мікробного походження.

Різні способи виробництва можуть розрізнятися в деталях, проте усі вони включають стадії

***□екстракції,***

***□концентрації,***

***□очищення,***

***□стабілізації***

***□стандартизації.***



# Застосування в промисловості

## Хлібопекарська промисловість

*Памілази*

*Протеази*

*Пліпоксидази*

**Для відновлення смакових якостей і запаху**

**У виробництві кондитерських виробів**

## Молочна промисловість

*Пренін-* використовують для згурджування молока, отримують казеїн

*Плактазу-* при заморожуванні молочних концентратів

*Глюкозооксидаза* переносить електрони на  $O_2$  або метали.

Для видалення глюкози або кисню. Використ в біосенсорах в глюкометрах для вимірювання рівня глюкози в крові зокрема у хворих на діабет.

**Целюлазу, пектиназу і нарингіназу** (виробництво цитрусових соків, прибирає гіркий смак) застосовують в різних процесах при переробці фруктів, для руйнування фруктової пульпи і освітлення соків, вин, спиртових напоїв

**Протеолітичні ферменти** - при виробництві м'ясних продуктів для надання м'ясу ніжніших смакових якостей.

Пивоварна промисловість (папаїн регулює якість піни)

Пральні порошки з ферментними добавками

**Ферменти застосовують:**

□ **в текстильній промисловості** вилучення вовни з обривків овечих шкур

□ **шкіряній** для дублення шкур, відокремлення волосся від шкіри без ушкоджень кожного компонента

□ Отримання білкових гідролізатів для виробництва кормів

□ **поліпшення процесів травлення у тварин** (добавляють в корм для полегшення засвоєння кормів).

# Фармацевтична промисловість

▣ **Панкреатин (ренін, пепсин, трипсин, амілаза і ліпаза)** - для лікування диспепсії та шлунково-кишкових розладів.

▣ **Хімотрипсин** - при запальних процесах, для прискорення загоєння хронічних виразок, а також при флебітах.

▣ **Лізоцим, дезоксирибонуклеаза**- як антибактеріальний та антивірусний засіб.

▣ **Стрептокіназа і стрептодеказа** - для прискорення розсмоктування тромбів і фибринозних або гнійних утворень.

▣ **Папаїн** - в косметології як засіб, що очищає шкіру.

▣ **Аспарагіназа, глутаміназа** - лікування деяких форм лейкозу (для пухлин аспарагін та глутамін є незамінними а.к.)

▣ **Гіалуронідаза** - для розсмоктування рубців

▣ **Інгібітори протеїназ** - гострий панкреатит, артрит, алергічні захворювання



# ІМОБІЛІЗОВАНІ ФЕРМЕНТИ

Ферменти, що закріплені на полімерному носію. Фізична або хімічна мобілізація.

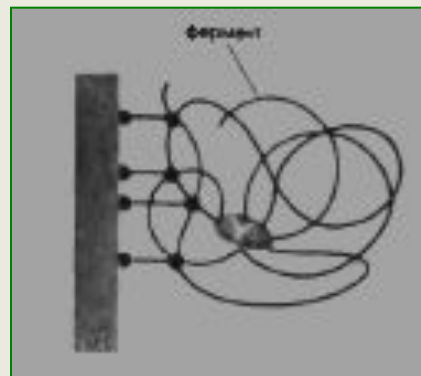
Переваги:

1. Підвищення стабільності фермента та ефективності його використання
2. Багаторазове використання
3. Цілеспрямована зміна властивостей
4. Полегшення регуляції.

5. Можливість використовувати безперервні процеси

6. Зникла проблема відділення продукту реакції від ферменту

Імобілізовані ферменти знаходять широке застосування в аналітичній практиці та біохімічній технології.



- ❖ Ананьев Г.Б. Ферментные препараты в производстве спирта / Г.Б. Ананьев // Пиво и напитки. – 2000.- № 2. – С.56.
- ❖ Бентли И. Ферменты в пивоварении /И. Бентли // Продукты и ингредиенты.- 2006. - № 9. – С.24-26.
- ❖ Білько М. Використання ферментних препаратів / М. Білько, В. Гержикова // Харч. і перероб. пром-сть.- 2006. - № 3. – С.14-15.
- ❖ Грачева И.М. Технология ферментных препаратов: Учеб. / И.М. Грачева, А.Ю. Кривова.-3-е изд. перераб. и доп. –М.: Елеватор, 2000.- 512с.
- ❖ Исследование биохимических особенностей получения и сбраживания спиртового сусла с использованием ферментных препаратов / Е.А. Цед, С.В. Волкова, Л.М. Королева, А.А. Кузьмина // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий. – 2007. – № 4. – С.27-29.
- ❖ Исследования концентрированных ферментных препаратов в спиртовой промышленности / Н.В. Цурикова, Н.Я. Васильева, К.В. Кобелев, А.Ю. Плохов // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий.- 2001. - № 2. – С.24-25.
- ❖ Калунянц К.А. Микробные ферментные препараты: Технология и оборудование / К.А. Калунянц, Л.И. Голгер. – М.: Пищевая промышленность, 1979.-304с.
- ❖ Камышова Н.В. Новые ферментные препараты для производства сусла и пива / Н.В. Камышова, Е.А. Чернова // Пиво и напитки.- 1996. - № 2. - С.10.
- ❖ Кретович В.Л. Ферментные препараты в пищевой промышленности / В.Л. Кретович.-Под ред. В.Л. Кретовича, В.Л. Яковенко.-М.:Пищевая промышленность, 1975.-535с.
- ❖ Миронюк С. Ферментні препарати: економічна доцільність, ефективність / С. Миронюк // Харч. і перероб. пром-сть. – 2004. - № 6.- С.30-31.
- ❖ Никулышина Л.Г. Ферментные препараты концерна Genencor на службе у пивоваров / Л.Г. Никулышина // Пиво и напитки. – 2000. - № 1.-С.16.
- ❖ Плохов А.Ю. Ферментные препараты «Эрбле Гайзенхай. Технологии напитков» / А.Ю. Плохов, Ю.В. Сахаров // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий. – 2001. - № 4. – С.30-31.
- ❖ Получение комплексного ферментного препарата термостабильной α-милазы и протеазы / Е.В. Костылева, Н.В. Сурикова, Л.И. Нефедова, Л.В. Римарева // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий. – 2003. - № 2. - С.18-20.
- ❖ Римарева Л.В. Использование протеолитического ферментного препарата из *Aspergillus oryzae* в спиртовом брожении / Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий.- 2005. - № 4. - С.12-14.
- ❖ Солярек Л. Эволюция ферментных препаратов «Новозаймс» для производства спирта / Л. Солярек, П. Назарова, Р. Чечнев // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий.- 2003. - № 2. – С.23-25.
- ❖ Тиченко М. Ферментні препарати /М. Тиченко, С.Циганков, А. Новак //Харч. і перероб. пром-сть. – 2004. - № 4. – С.29-30.
- ❖ Фурсова Т.И. Комплексное влияние ферментных препаратов на степень деструкции полисахаридов зерна кукурузы / Т.И. Фурсова, О.С. Коренева, С.В. Востриков // Пр-во спирта и ликероводоч. изделий.- 2007. - № 4. – С.36-38.