

ФЕРМЕНТИ

Це специфічні білки, що виконують в організмі функцію біологічних каталізаторів (Fermentum – закваска; enzyme – в дріжджах).

Розділ біохімії, що вивчає ферменти та ферментативні процеси, називається ензимологією.

Відмінність біологічних каталізаторів (ферментів) від мінеральних

- Надзвичайно висока ефективність дії (в дуже малих кількостях підсилюють швидкості біохімічних реакцій в сотні тисяч разів).
- Висока специфічність дії (як по відношенню до типу хімічної реакції, так і по відношенню до субстрату).
- Проявляють свою дію в «м'яких» умовах (температура 36-42°C, нормальний тиск, рН=7,0)
- Активність ферментів регулюється різними системами.

Будова ферментів

- 1) прості білки (однокомпонентні)
- 2) складні білки (двокомпонентні):

простий білок + простетична група
(апофермент) (кофермент)



холофермент

Молекулярна маса

РИБОНУКЛЕАЗА	13700
ТРИПСИН	23800
ГЕКСОКІНАЗА	45000
АЛЬДОЛАЗА	142000
УРЕАЗА	480000
ПІРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗА	4500000

Коферменти

1. Водорозчинні вітаміни – у вигляді фосфорних ефірів (ТДФ та ФП) або в складі нуклеотидів (ФМН, ФАД, НАД, НАДФ, HS-CoA)
2. Нуклеозид три- і дифосфати (АТФ, ТТФ, УТФ, ГТФ).
3. Метали (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mo^{2+}).
4. Пептидні коферменти (глутатіон).

<i>Вітамін</i>	<i>Кофермент</i>	<i>Ферменти</i>
B_1	ТПФ	Декарбоксилази α -кетокислот
B_2	ФАД, ФМН	Аеробні дегідрогенази
B_3	HS - КоА	Ацилтрансферази
B_5	НАД, НАДФ	Анаеробні дегідрогенази
B_6	ФП	Амінотрансферази
B_{12}		Метилтрансферази
H		Карбоксилази (лігази)

Центри ферментів

- це особливі ділянки ферментів, які формуються на рівні третинної і четвертинної структури та забезпечують каталітичну функцію ферментів

В структурі ферментів розрізняють наступні центри:

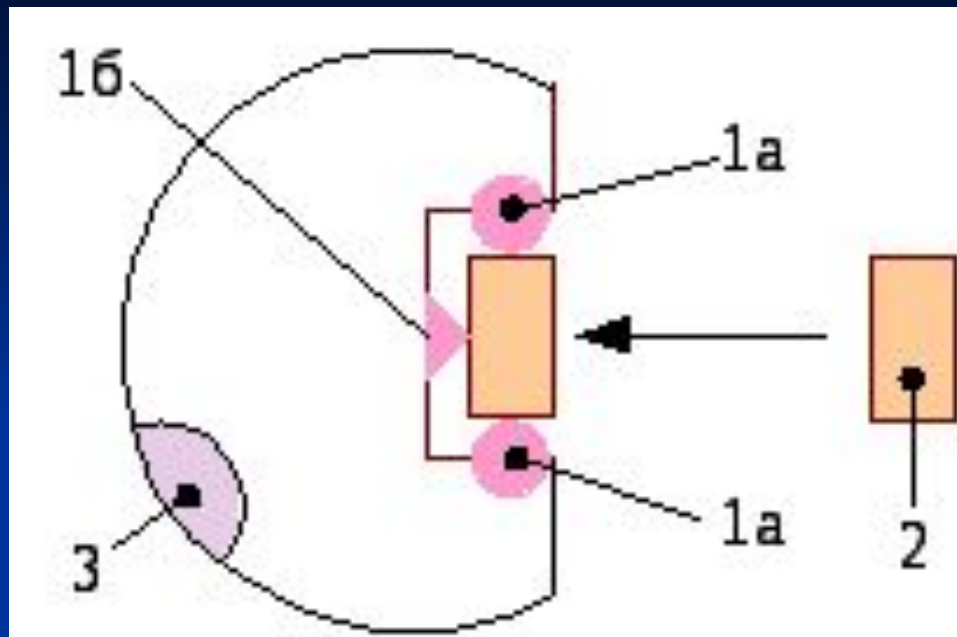
1. Активний центр, в ньому виділяють 2 ділянки, які теж іноді називають центрами:

а). ***Субстратний центр*** — це ділянка ферменту, за рахунок якого утворюється зв'язок між субстратом та ферментом і відбувається утворення нестійкого фермент-субстратного комплексу;

б). ***Каталітичний центр*** — це ділянка ферменту, яка відповідає за безпосереднє проведення реакції (часто співпадає з коферментом).

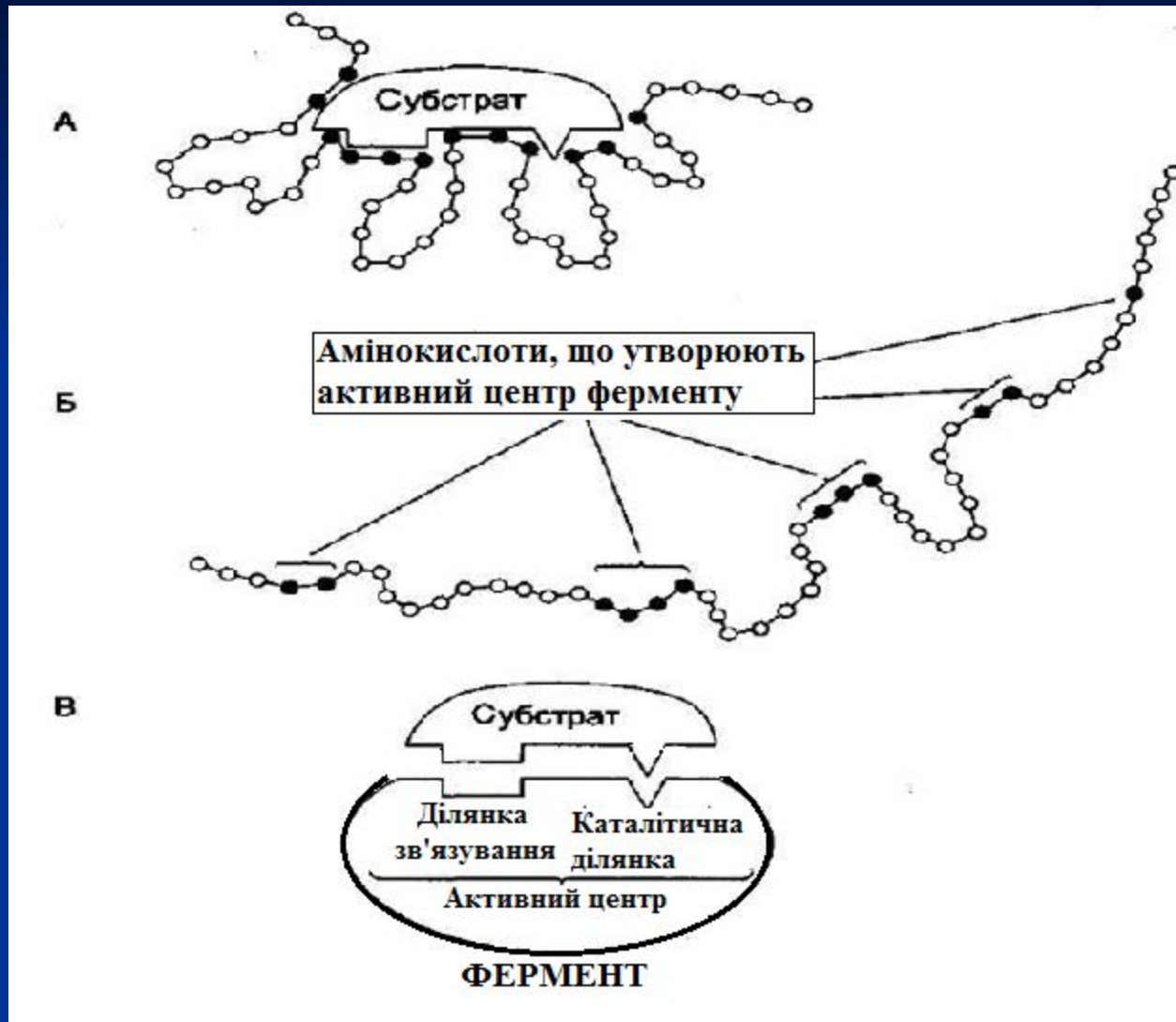
2. Регуляторний (алостеричний) центр – це ділянка ферменту, приєднання до якого різних речовин (модифікаторів) призводить до змін просторової структури активного центру, в результаті чого фермент змінює свою активність.

Модифікатори, що збільшують активність ферментів, називаються активаторами, а ті, що зменшують – інгібіторами.



- 1 – активний центр:
 - 1a – субстратний центр (контактні ділянки);
 - 1б – каталітичний центр;
- 2 – субстрат;
- 3 – алостеричний центр.

Будова активного центру ферменту



Амінокислоти, що найчастіше входять до структури центрів

Серин – OH

Треонін – OH

Тирозин – OH

Цистеїн – SH

Лізин – NH₂

Аргінін – HN – C² – NH₂

||
NH

Гістидин - імідазол

Загальні властивості ферментів

1. Термолабільність – це зміна активності ферментів при різних температурах: оптимальну активність вони проявляють при температурі тіла тварин.

При підвищенні температури їх активність збільшується, але на певний час, бо з подальшим підвищенням температури (80-100°C) вони припиняють свою дію необоротно (відбувається денатурація білкової частини).

При зниженні температури активність ферментів зменшується, а при 0°C і нижче (заморожування) їх активність рівна нулю, але ця дія обернена.

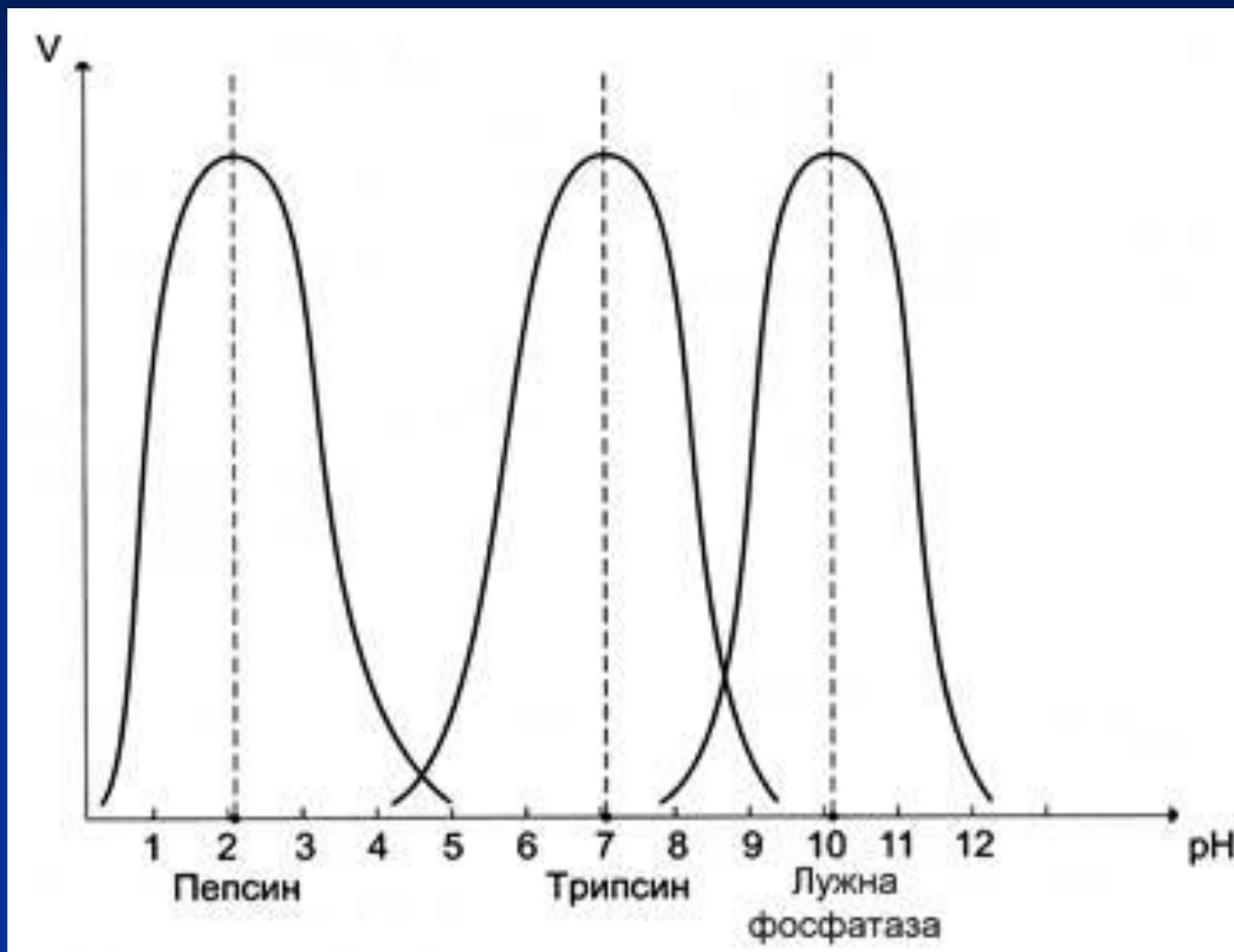
Залежність швидкості ферментативної реакції (V) від температури



2. Чутливість до рН середовища

Більшість ферментів організму мають оптимум рН, наближений до нейтрального, хоча для кожного ферменту для прояву максимальної його активності існує певне значення рН, так як при даних значеннях формується оптимальна конформація білка-фермента з максимальною активністю його центрів.

Залежність швидкості ферментативної реакції (V) від рН середовища



3. Специфічність дії – це вибірковість дії ферментів як по відношенню до субстрату реакції, так і по відношенню до типу хімічної реакції.

Розрізняють наступні рівні специфічності:

- **Абсолютна (індивідуальна)** – коли фермент діє тільки на один конкретний субстрат (наприклад, уреаза, яка каталізує гідроліз сечовини).
- **Відносна (групова)** – фермент діє на групу речовин, близьких за хімічною будовою (наприклад, пепсин діє на різні білки).
- **Оптична (стереоспецифічність)** – коли фермент діє не просто на одну речовину, а тільки на певний його оптичний ізомер (наприклад, ферменти амінокислот організму специфічні тільки по відношенню до L-ізомерів).

4. Зберігають активність в ізольованому вигляді, тому багато ферментів використовують як лікарські препарати.

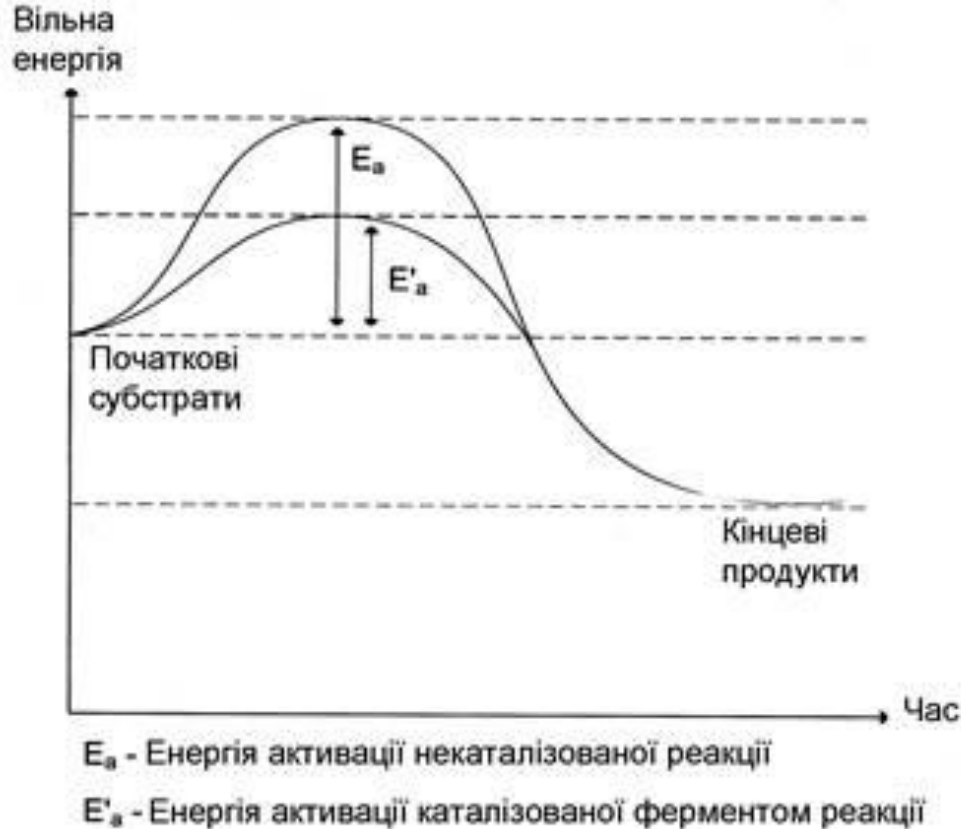
5. Чутливість до наявності в середовищі модифікаторів (активаторів та інгібіторів).

За рахунок їх дії регулюється активність ферменту, кооперативність, взаємозв'язок і запрограмованість їх дії.

Механізм дії ферментів. Енергетичні зміни ПРИ ХІМІЧНИХ РЕАКЦІЯХ.

Будь-які хімічні реакції перебігають згідно двох основних законів термодинаміки: закону збереження енергії та закону ентропії. Відповідно до цих законів, загальна енергія хімічної системи та її оточення залишається постійною, при цьому хімічна система прагне до зменшення впорядкованості (збільшення ентропії).

Зміна вільної енергії



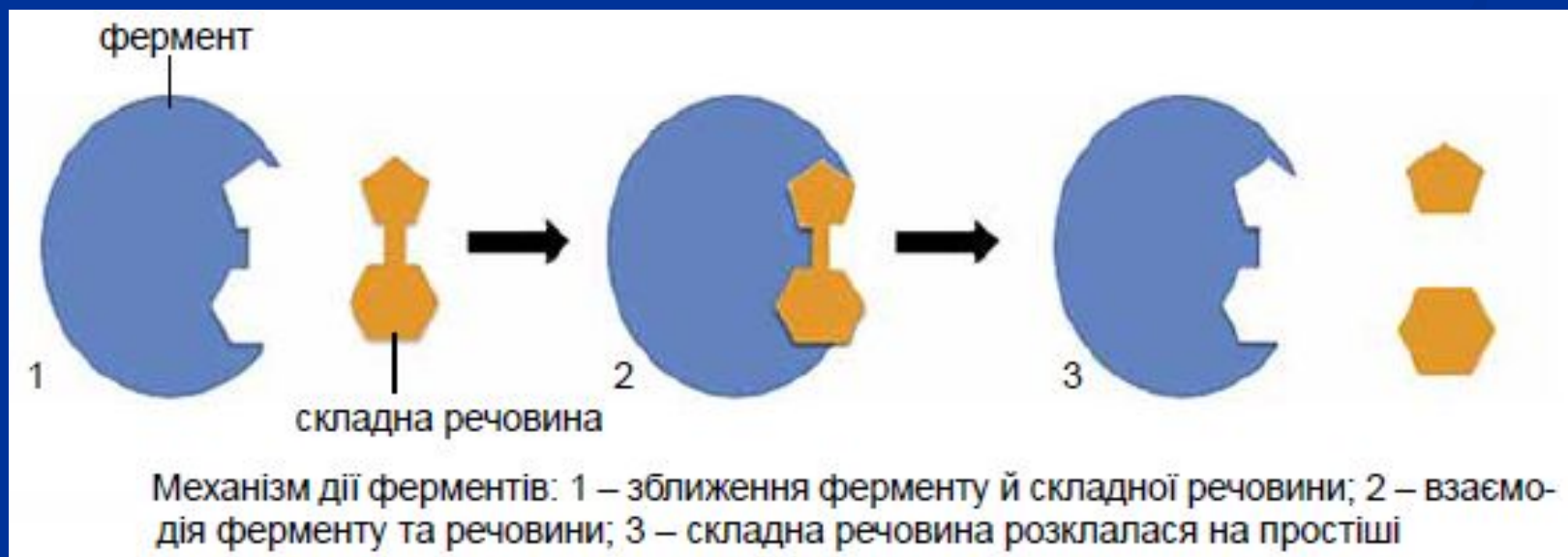
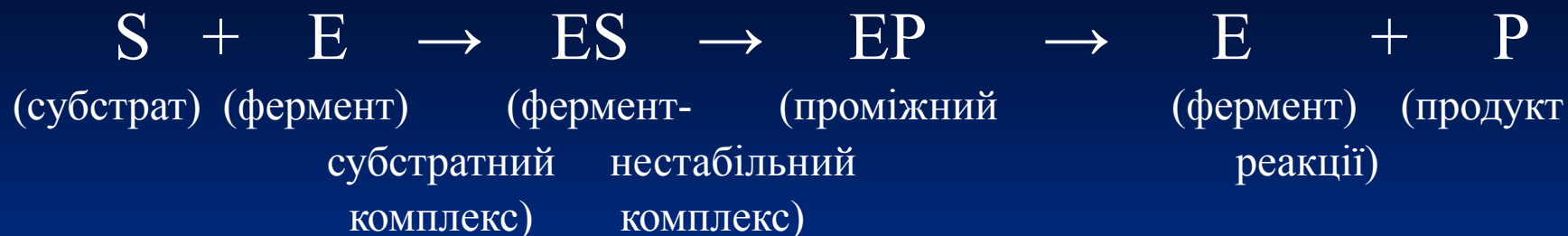
Фермент зменшує енергію активації E_a , тобто знижує висоту енергетичного бар'єру, в результаті чого збільшується частка реакційно-здатних молекул, а отже, підвищується швидкість реакції.

Зниження енергетичного бар'єру відбувається за рахунок:

1. Підвищення ймовірності зіткнення субстратів.
2. Чіткої орієнтації взаємодій молекул в активному центрі.
3. Максимального зближення субстратів.
4. Дії на певні атоми субстрату атомами активного центру.
5. Зміщення електронів і протонів, що підвищує реакційноздатність атомів.

Механізм ферментативного каталізу (теорія нестійких фермент-субстратних комплексів)

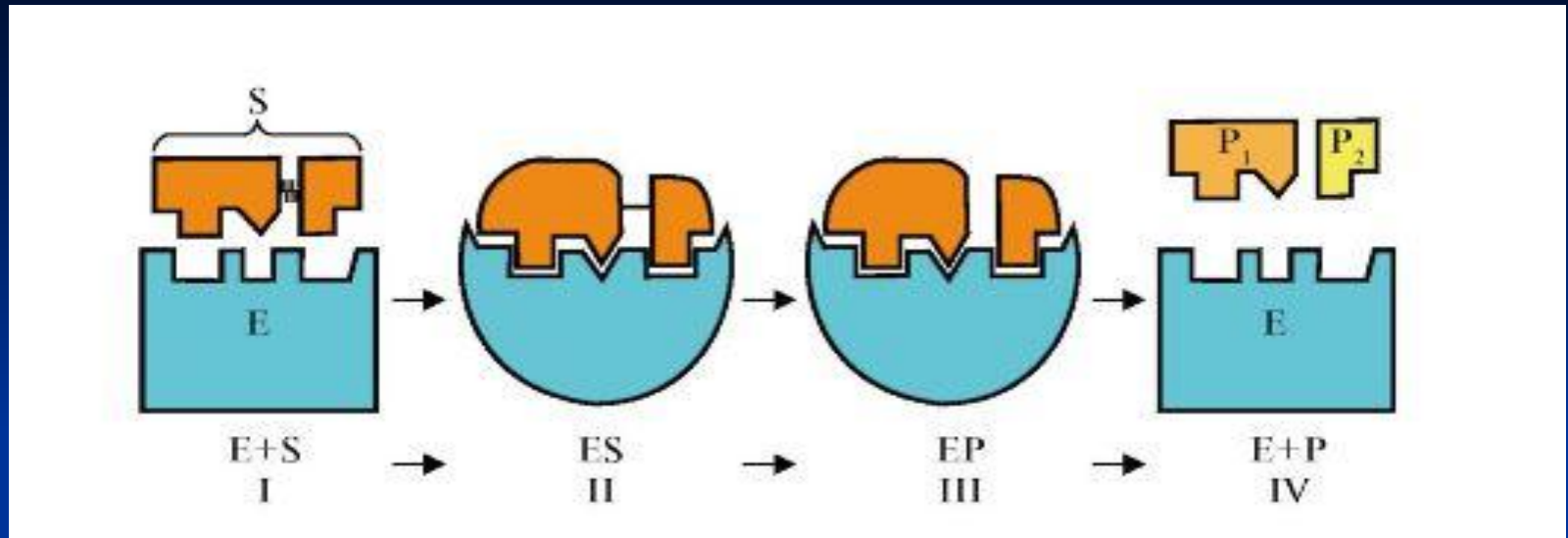
В механізмі ферментативного каталізу вирішальне значення має утворення нестійких проміжних сполук — фермент-субстратних комплексів — ES , що перетворюються в нестабільний перехідний комплекс — EP , який майже миттєво розпадається на вільний фермент і продукт реакції.



Ефект деформації

Активний центр ферменту також сприяє дестабілізації міжатомних зв'язків в молекулі субстрату, що полегшує перебіг хімічної реакції та утворення продуктів. Ця властивість активного центру називається ефектом деформації субстрату.

Етапи ферментативного каталізу



I - етап зближення та орієнтації субстрату відносно активного центру ферменту;

II - утворення фермент-субстратного комплексу (ES) в результаті індукованої відповідності;

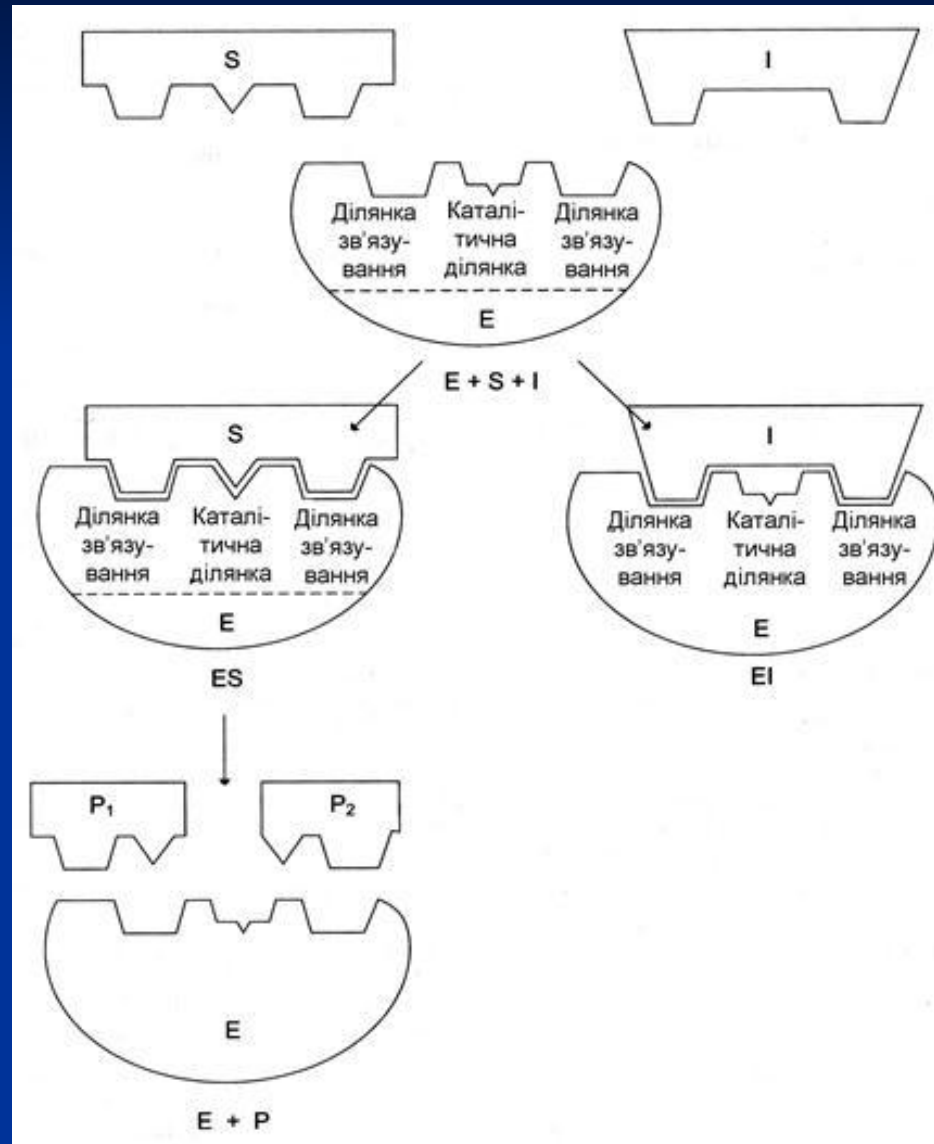
III - деформація субстрату і утворення нестабільного комплексу фермент-продукт (EP);

IV - розпад комплексу (EP) з вивільненням продуктів реакції з активного центру ферменту та звільненням ферменту.

Конкурентна і неконкурентна дія інгібіторів

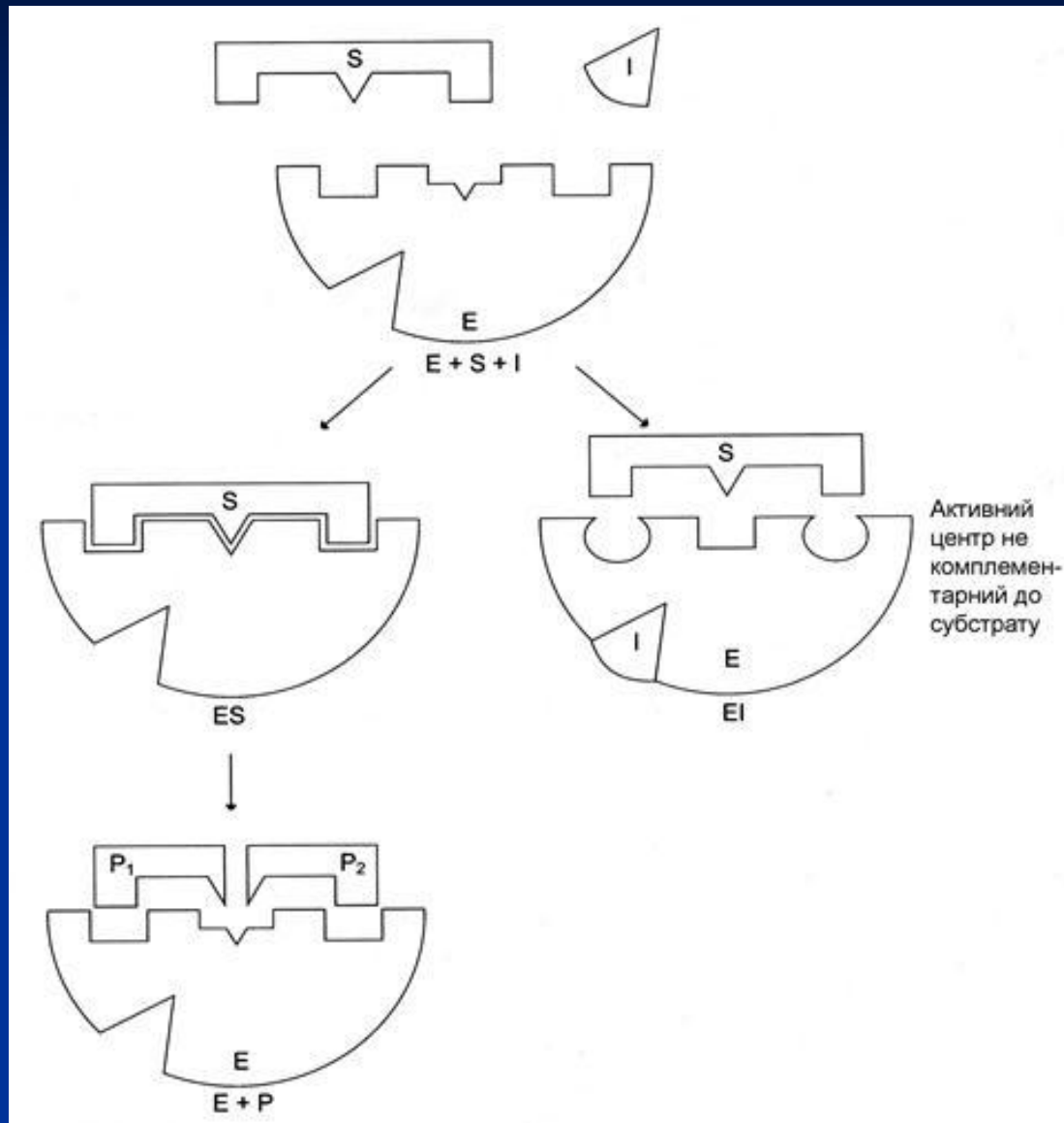
Конкурентна дія інгібітора буває в тому випадку, коли його хімічна будова подібна до будови субстрату і тому він здатний приєднатися до субстратного центру, конкуруючи з субстратом, що пригнічує активність ферменту.

Схема конкурентного інгібування активності ферменту



За неконкурентного інгібування інгібітор приєднується до алостеричного центру, в результаті чого змінюється конформація активного центру та його здатність з'єднуватися з субстратом. Ферментативна реакція при цьому пригнічується.

Схема неконкурентного інгібування активності ферменту

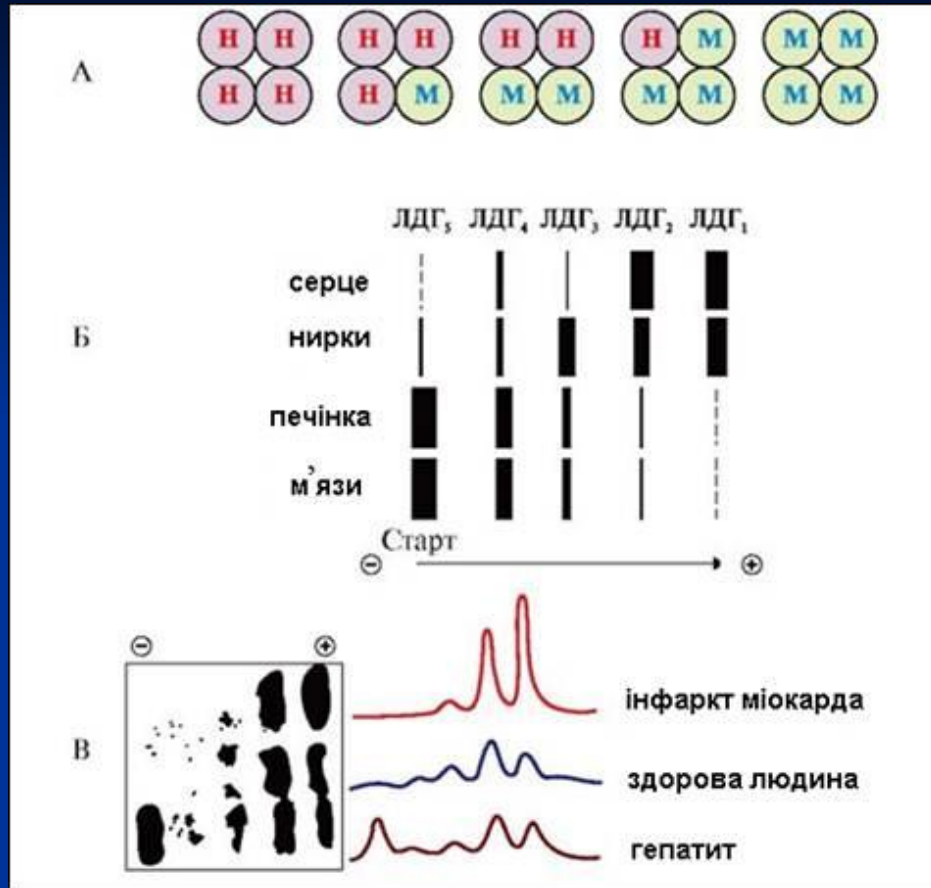


*Ферментні ансамблі або
мультиферменти* — комплекс
ферментів, які каталізують
послідовні реакції при
перетворенні однієї речовини.

ІЗОФЕРМЕНТИ

- Це множинні молекулярні форми, що мають єдину субстратну специфічність (фактично це один і той самий фермент), але відрізняються за фізико-хімічними та імунологічними властивостями.

Множинні ізоформи ЛДГ



А – будова різних ізоформ ЛДГ (субодиниці типу *H* і типу *M*);
Б – електрофореграма множинних форм ЛДГ;
В – вміст ізоформ ЛДГ в плазмі крові в нормі та при патології (електрофореграми – ліворуч та фотометричне сканування – праворуч).

Активність ферментів визначають опосередковано:

1. за кількістю продукту, що утворився (P),
2. за кількістю спожитого субстрату (S).

Міжнародна одиниця активності ферменту E – це така кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 мікромоля субстрату (S) на продукт реакції (P) за 1 хв. у стандартних (оптимальних) умовах з розрахунку на 1 г тканини.

Для оцінки кількості молекул ферменту серед інших білків досліджуваної тканини визначають *питому активність (пит. ак.) ферменту*, яка чисельно рівна кількості одиниць активності ферменту в зразку тканини, розділену на масу (мг) білка в цій тканині:

$$\text{Питома ак.} = \left| \frac{\text{Кількість перетвореного субстрату, мкмоль}}{\text{Час, хв} \cdot \text{Кількість білка, мг}} \right|$$

Каталітична ефективність

Кількість молекул субстрату, які перетворюються в продукт однією молекулою ферменту за 1 с, називають числом обертів ферменту, або молярною активністю.

Номенклатура ферментів

- Тривіальна (*пепсин, трипсин, хімотрипсин*);
- Назва субстрату (латинська або інша) + закінчення —**аза**: *амілаза (amilum – крохмаль)*;
- Тип реакції + закінчення —**аза**: *гідролази, оксидоредуктази, дегідрогенази*.

- Наукова назва: за допомогою цифр:
 - перша цифра — це номер класу;
 - друга цифра — це номер підкласу;
 - третя цифра — це номер підпідкласу;
 - четверта цифра — це номер ферменту за каталогом.

Аланінамінотрансфераза (АлАТ – 2.6.1.2.)

КЛАСИФІКАЦІЯ ФЕРМЕНТІВ

- Всі ферменти за механізмом дії розділені на 6 основних класів:

- | | |
|--------------------|--------------|
| 1. Оксидоредуктази | 4. Ліази |
| 2. Трансферази | 5. Ізомерази |
| 3. Гідролази | 6. Лігази |

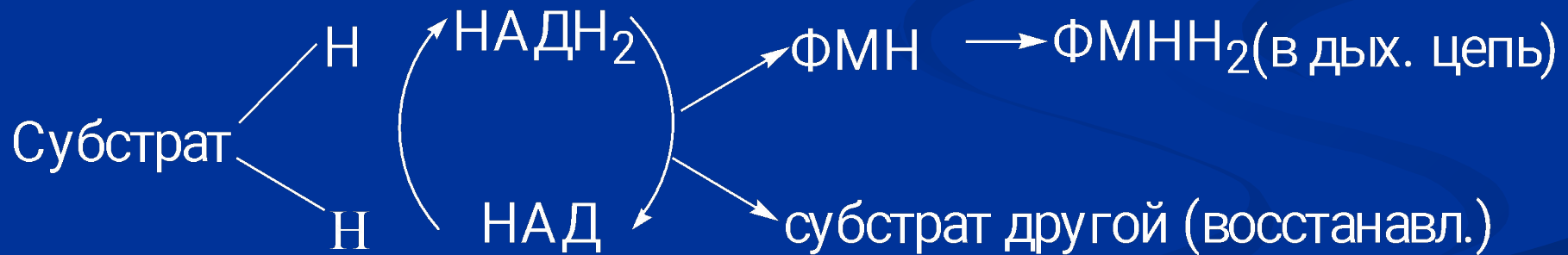
Оксидоредуктази

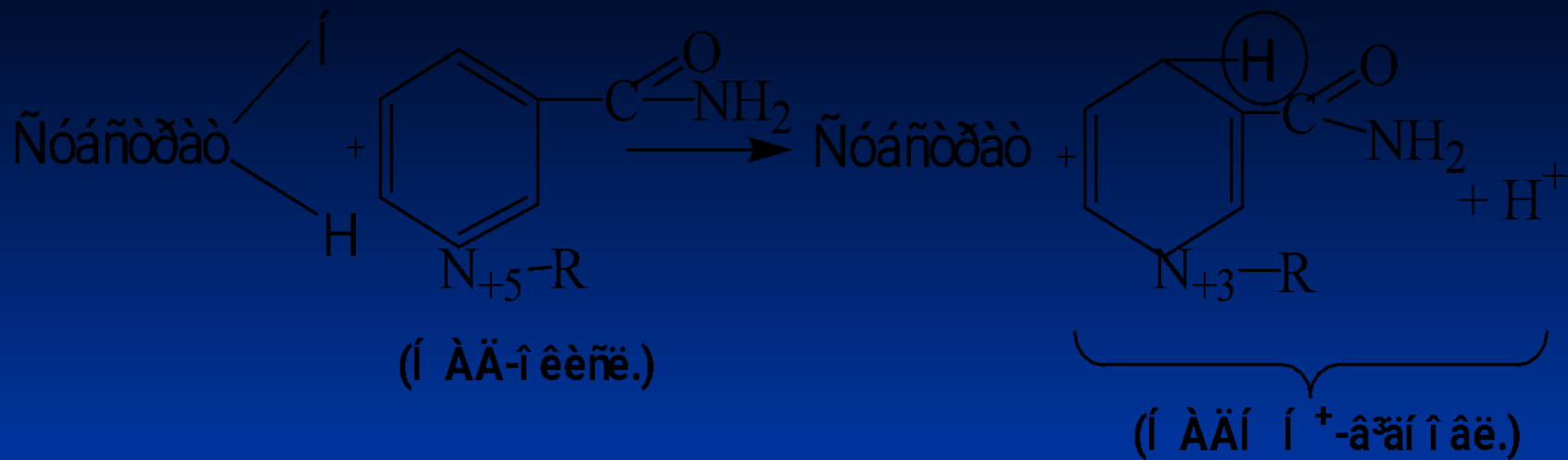
- Ферменти цього класу каталізують окисно-відновні реакції, які лежать в основі забезпечення тканин необхідною енергією.
- Оксидоредуктази ділять на основні чотири підкласи:

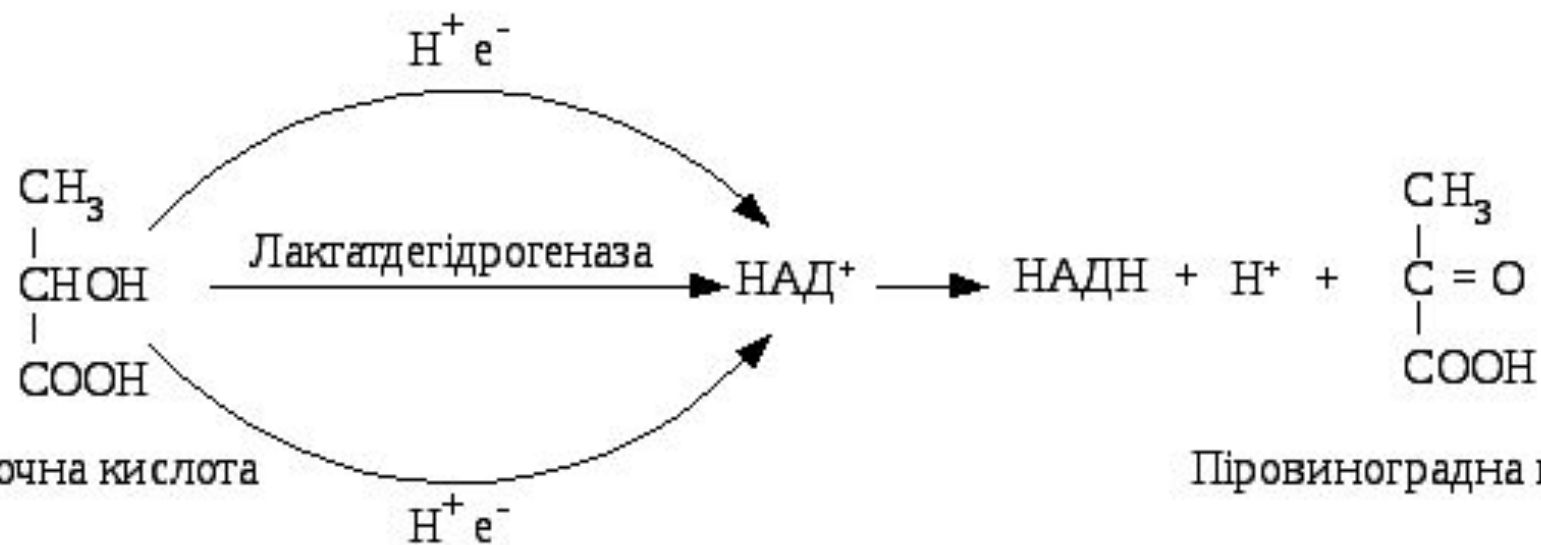
- Дегідрогенази:
 - а) піридинзалежні (анаеробні),
 - б) флавінзалежні (аеробні).
- Цитохроми:
 - а) сімейство а ($a_1, a_2, a_3, \dots$);
 - б) сімейство в ($b_1, b_2, b_3, \dots$);
 - в) сімейство с ($c_1, c_2, c_3, \dots$).
- Допоміжні оксидоредуктази.
- Додаткові оксидоредуктази.

Піридинзалежні дегідрогенази (двохкомпонентні)

- Специфічний білок (апофермент) + кофермент НАД або НАДФ.
- Механізм дії:





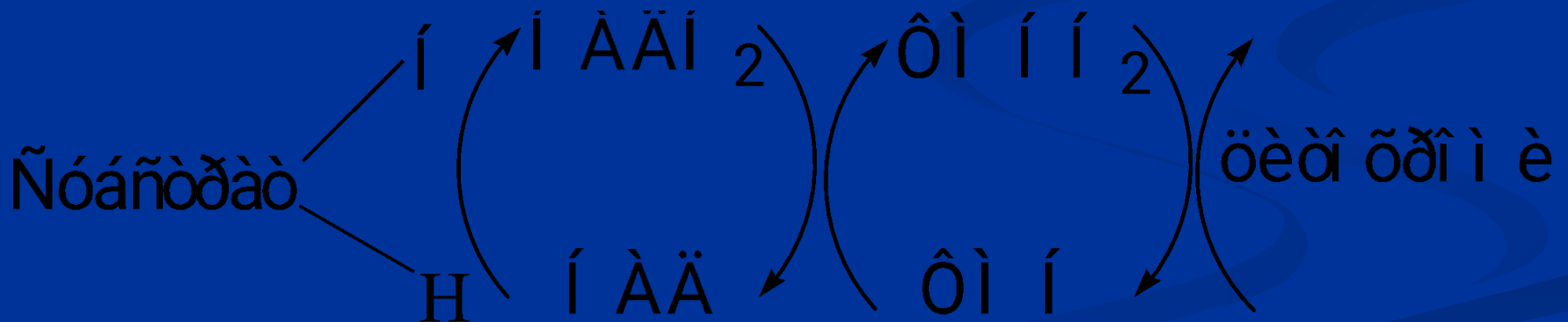


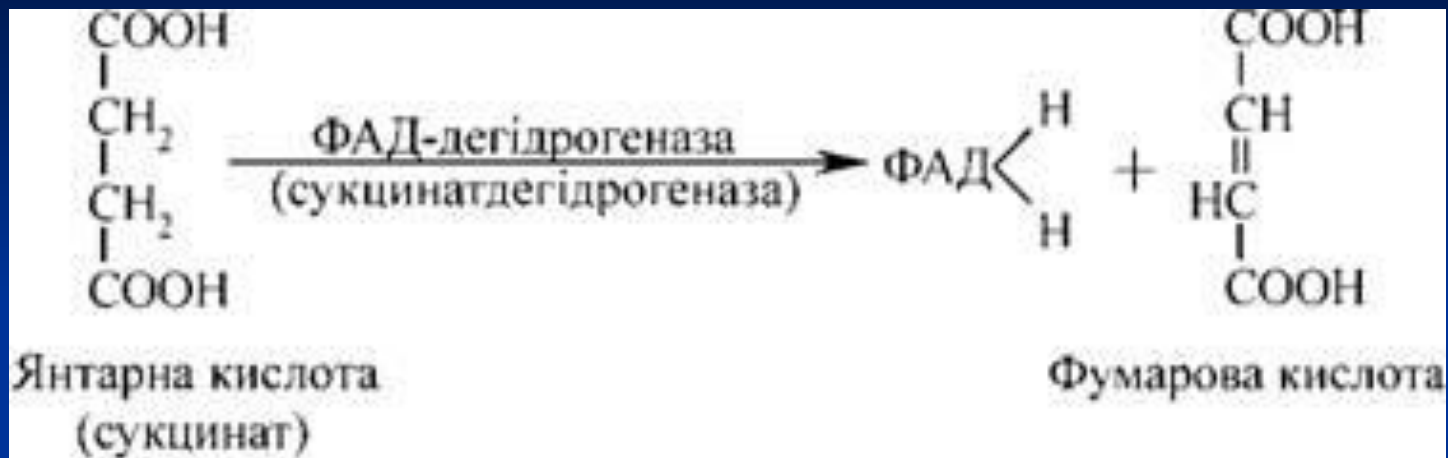
Молочна кислота

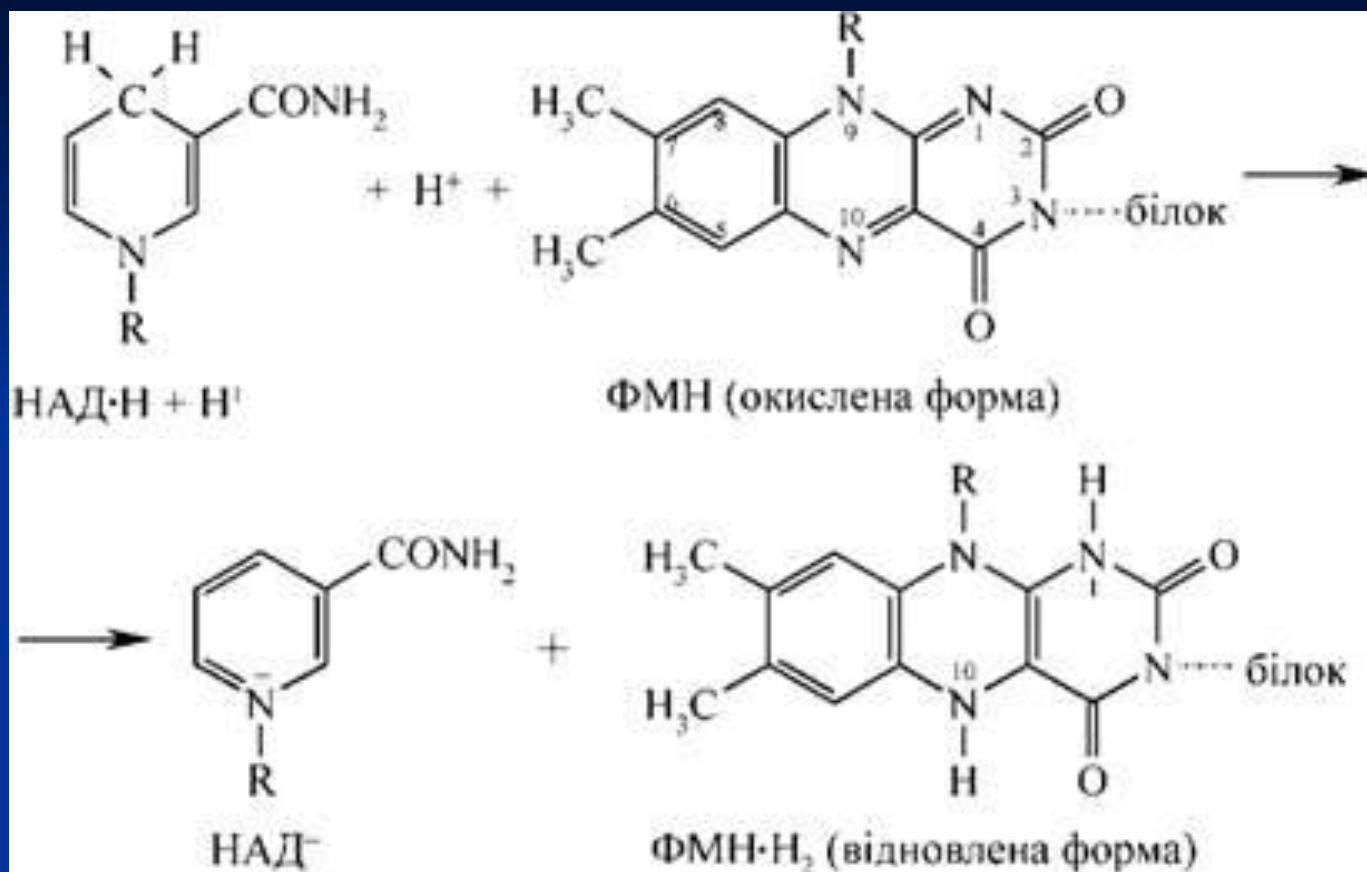
Піровиноградна кислота

Флавінзалежні дегідрогенази (ДВОХКОМПОНЕНТНІ)

- Специфічний білок (апофермент) + кофермент ФМН або ФАД.
- Механізм дії:





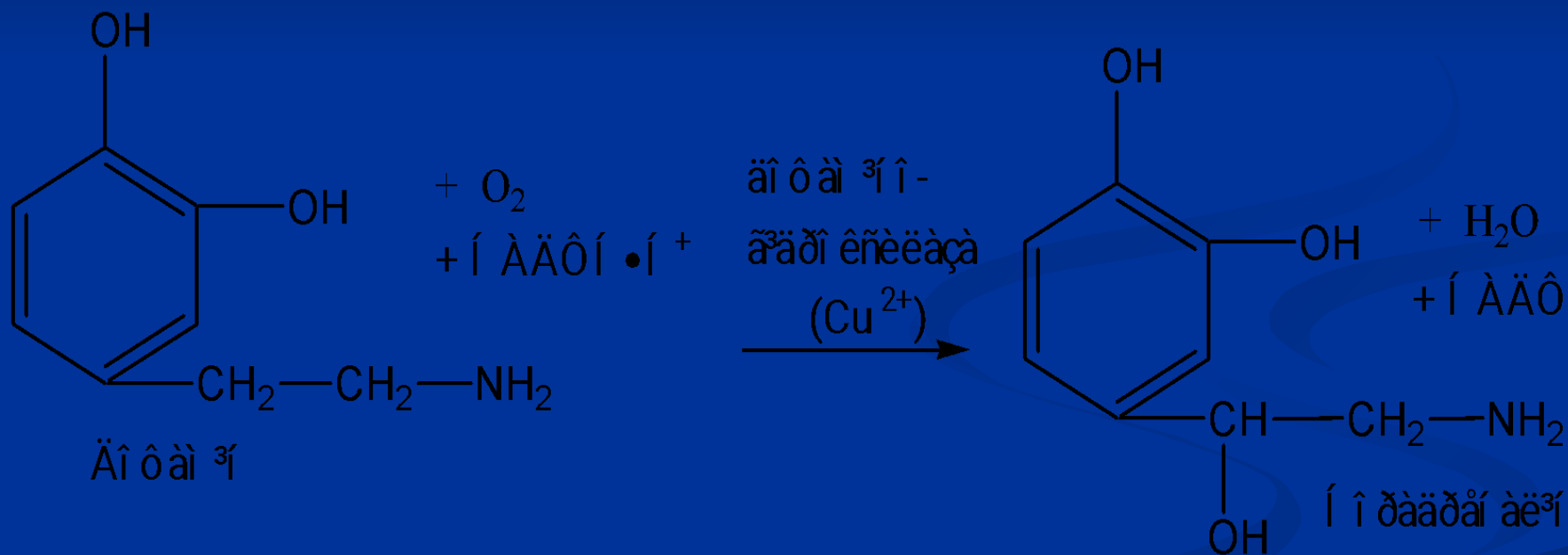


Цитохроми

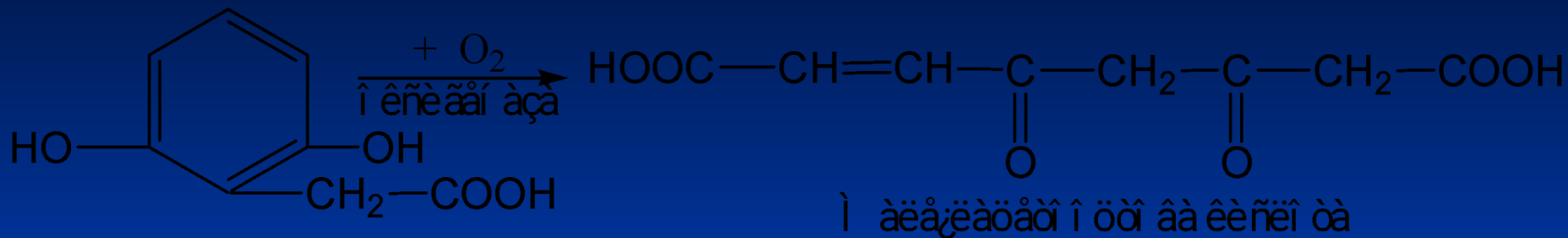
- За хімічною природою відносяться до хромопротеїнів (гемовмісних). Їх простетичною групою (коферментом) є гем, атом заліза якого здатний легко приєднувати (відновлюватися) і також легко віддавати (окиснюватися) електрони. В природі існує чотири сімейства цитохромів ***В***, ***С***, ***а***, які відрізняються між собою величиною електричного потенціалу, що збільшується в напрямку ***В*** — ***С*** — ***а*** — ***а₃***. В такому порядку електрони в ланцюзі цитохромів послідовно передаються від ***В*** до ***а₃***. Тому, *цитохроми ще називають проміжними переносниками електронів (між дегідрогеназами і Оксигеном).*

Додаткові оксидоредуктази – гідроксилази і оксигенази

■ Гідроксилази:



■ Оксигенази:



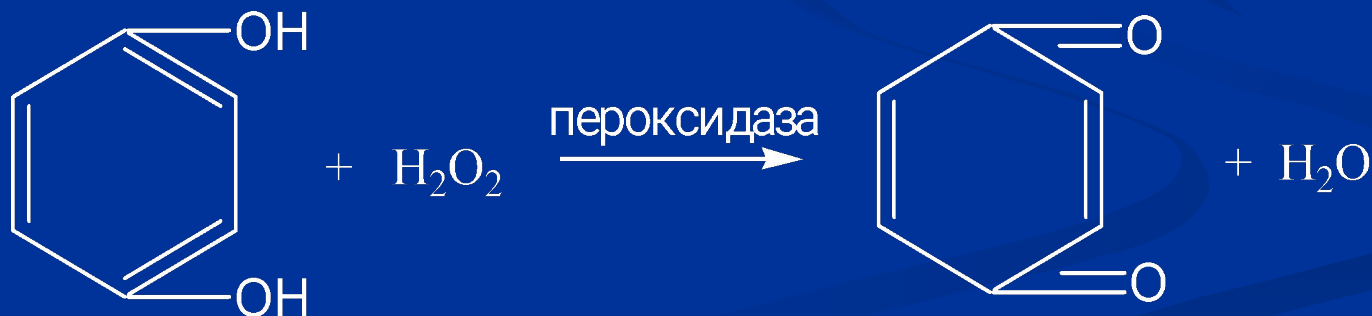
**Гомогентизинова
кислота**

Допоміжні оксидоредуктази

Каталаза:



Пероксидаза:

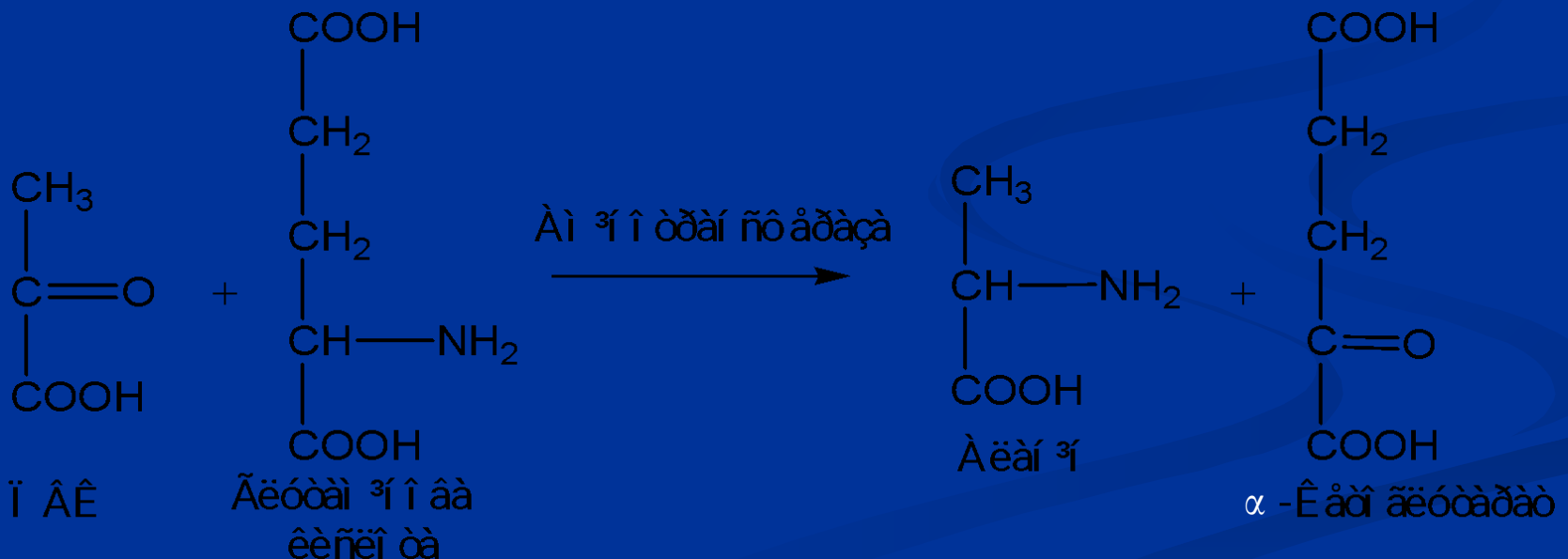


Трансферази

- Амінотрансферази (апофермент + ФП),
- Ацилтрансферази (апофермент + HS-КоА),
- Метилтрансферази (апофермент + B_{12}),
- Формілтрансферази (апофермент + B_c),
- Фосфотрансферази (апофермент + АТФ).

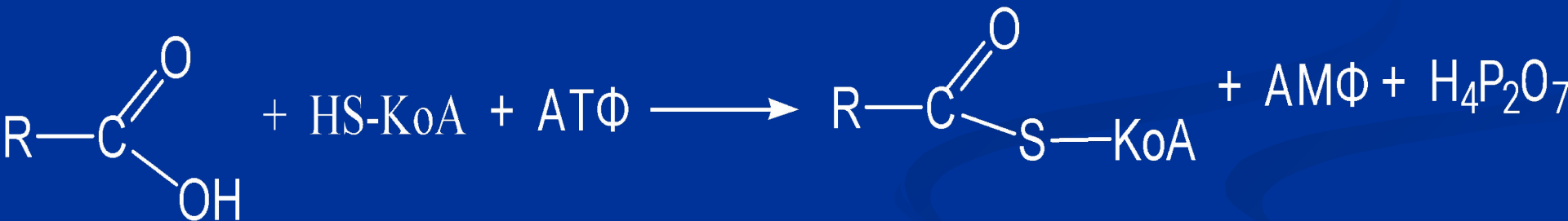
Амінотрансфери (двохкомпонентні)

- Склад: специфічний білок + фосфопіридоксаль (ФП), тобто фосфорильований вітамін В₆.



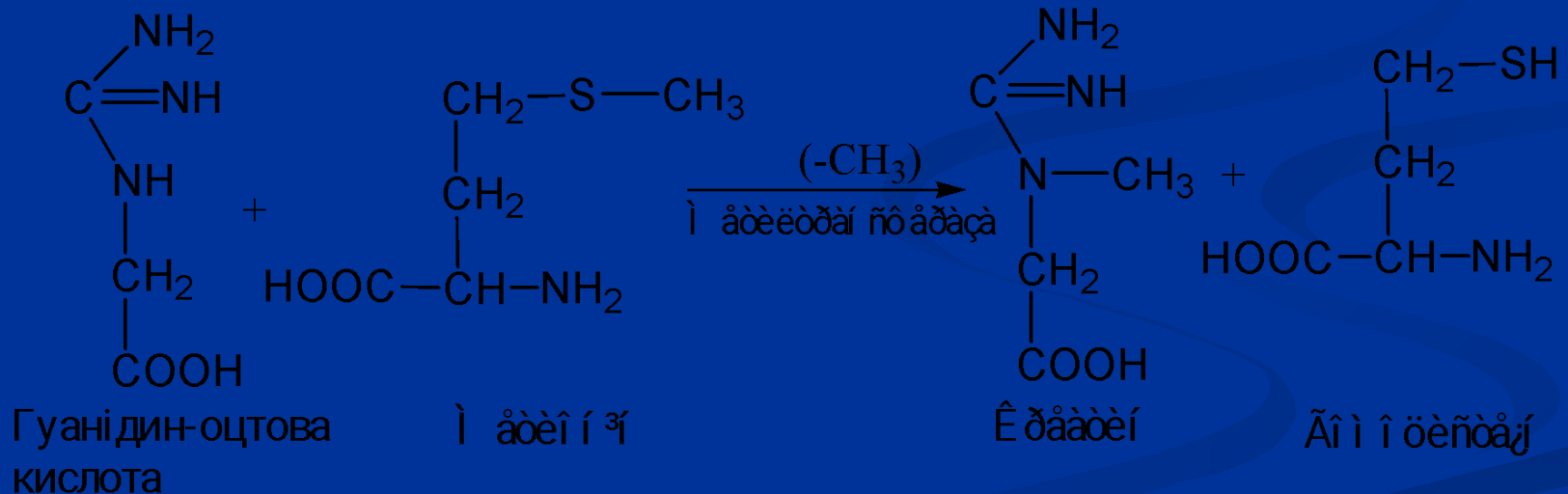
Ацилтрансферази (двохкомпонентні)

- Склад: специфічний білок (апофермент) + HS-коензимаА (містить вітамін В₃)



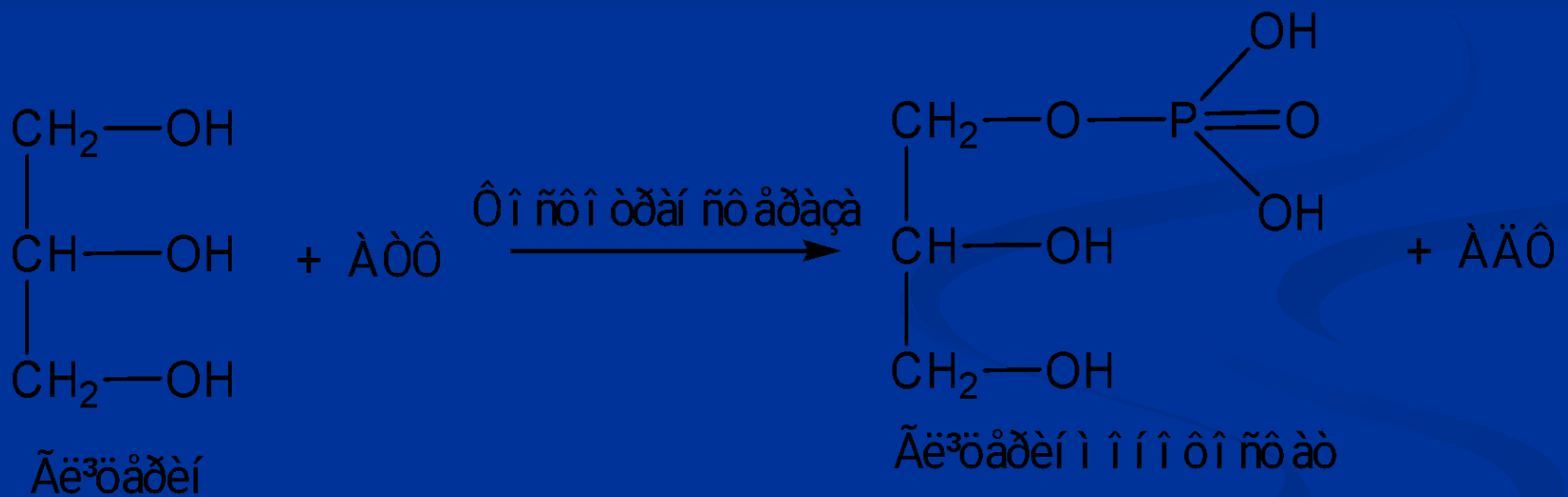
Метилтрансферази (двохкомпонентні)

- Склад: специфічний білок (апофермент) + вітамін B₁₂ та B_c



Фосфотрансфери (двохкомпонентні)

- Склад: специфічний білок (апофермент) + АТФ



Гідролази (однокомпонентні)

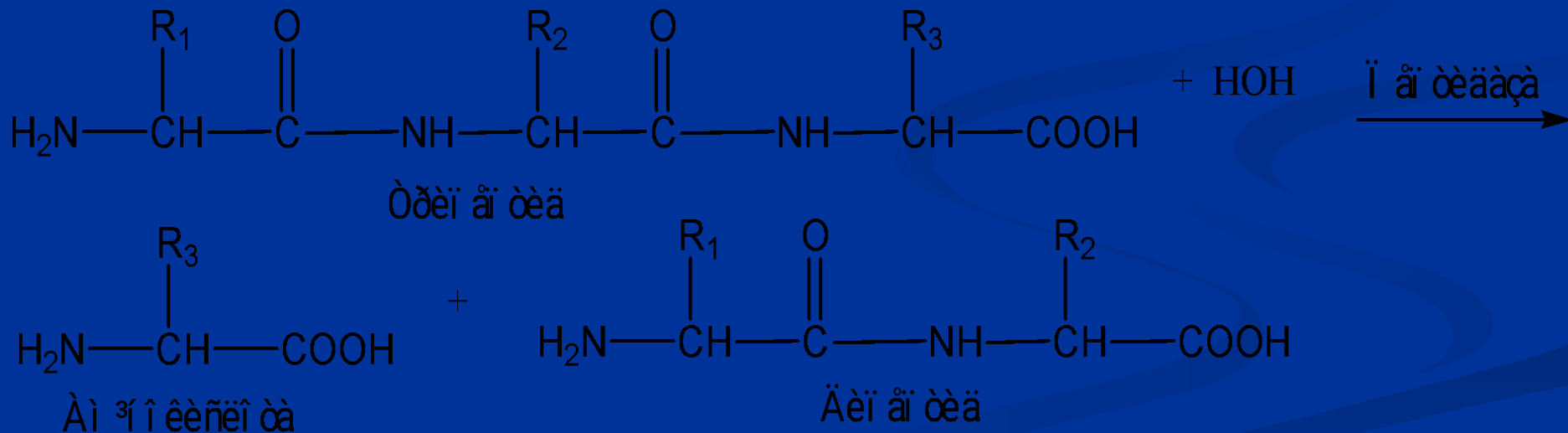
- Каталізують розрив хімічних зв'язків в молекулах складних речовин шляхом приєднання води. Найбільш часто гідролази зустрічаються в травних соках, а в клітинах вони сконцентровані в лізосомах.

Підкласи

- пептидази,
- глікозидази,
- естерази,
- тіолази,
- амідази та ін.

Пептидази

- Прискорюють гідроліз пептидних зв'язків в молекулах білків і поліпептидів:



Ендопептидази

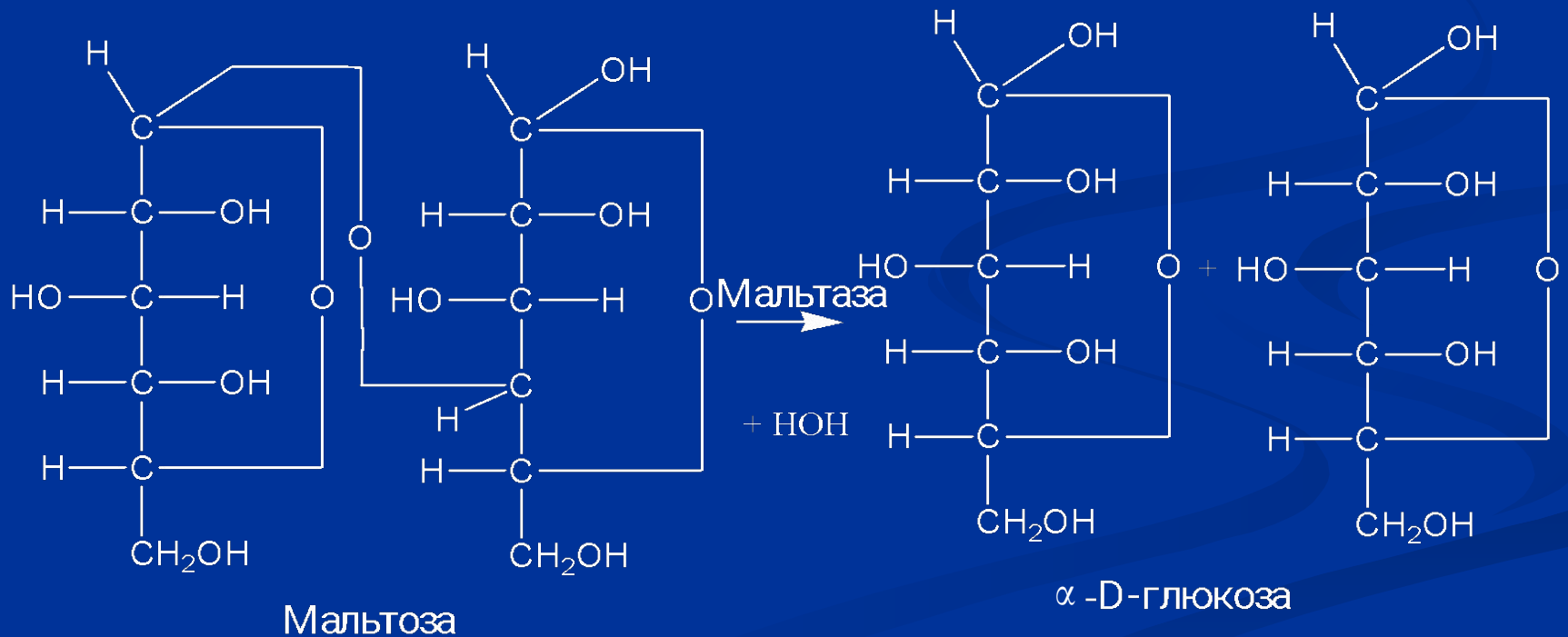
- Ендопептидази гідролізують пептидні зв'язки в середині поліпептидного ланцюга та розщеплюють її на декілька більш коротких ланцюгів. Прикладом таких пептидаз можуть бути *пепсин, трипсин, хімотрипсин*, які гідролізують молекули білків до поліпептидів та олігопептидів різної величини.

Екзопептидази

- При дії цих ферментів від поліпептидного ланцюга відщеплюються окремі амінокислоти, тобто екзопептидази гідролізують кінцеві пептидні зв'язки зі сторони вільної аміногрупи — амінопептидази, або зі сторони вільної карбоксильної групи — карбоксипептидази.

Глікозидази

- Пришвидшують гідроліз глікозидних зв'язків в молекулах складних вуглеводів:



Ê ðĩ òĩ àëü + Í Î Ï $\xrightarrow{\text{àì } ^3\text{èàçà}}$ Ä å ê ñ ò ð é í è + Í Î Ï $\xrightarrow{\text{àì } ^3\text{èàçà}}$
 Ì àëü òĩ çà + Í Î Ï $\xrightarrow{\text{ì } \text{àëüò } \text{àçà}}$ Ã ä þ ê î çà

Ñ à ò ã ð ò ï çà + Í Î Ï $\xrightarrow[\text{(} ^3\text{í } \text{ââðò } \text{àçà)]}{\text{naoãðàçà}}$ ã ä þ ê î çà + ô ð ó ê ò ï çà

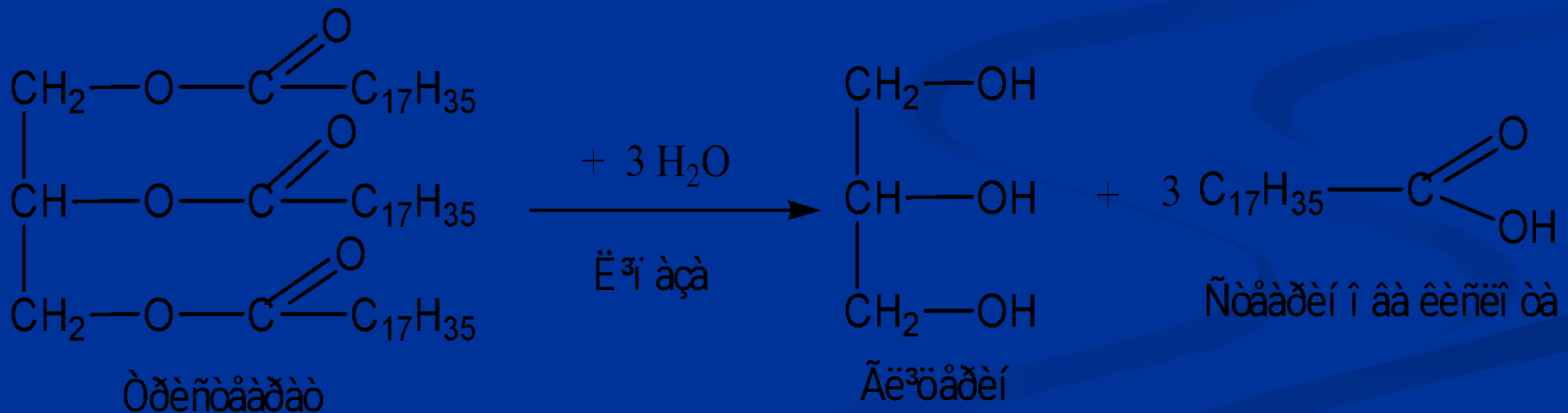
Ë à ê ò ï çà + Í Î Ï $\xrightarrow{\text{eaeo aça}}$ ã ä þ ê î çà + ã à ë à ê ò ï çà

Ê ë³ ò ê î â è í à (ö å þ ê î çà) + Í Î Ï $\xrightarrow{\text{oaep eaça}}$ ö å ê î á³ í çà + Í Î Ï
 $\xrightarrow{\text{ö å ê î } \text{á}^3\text{àçà}}$ ã ä þ ê î çà

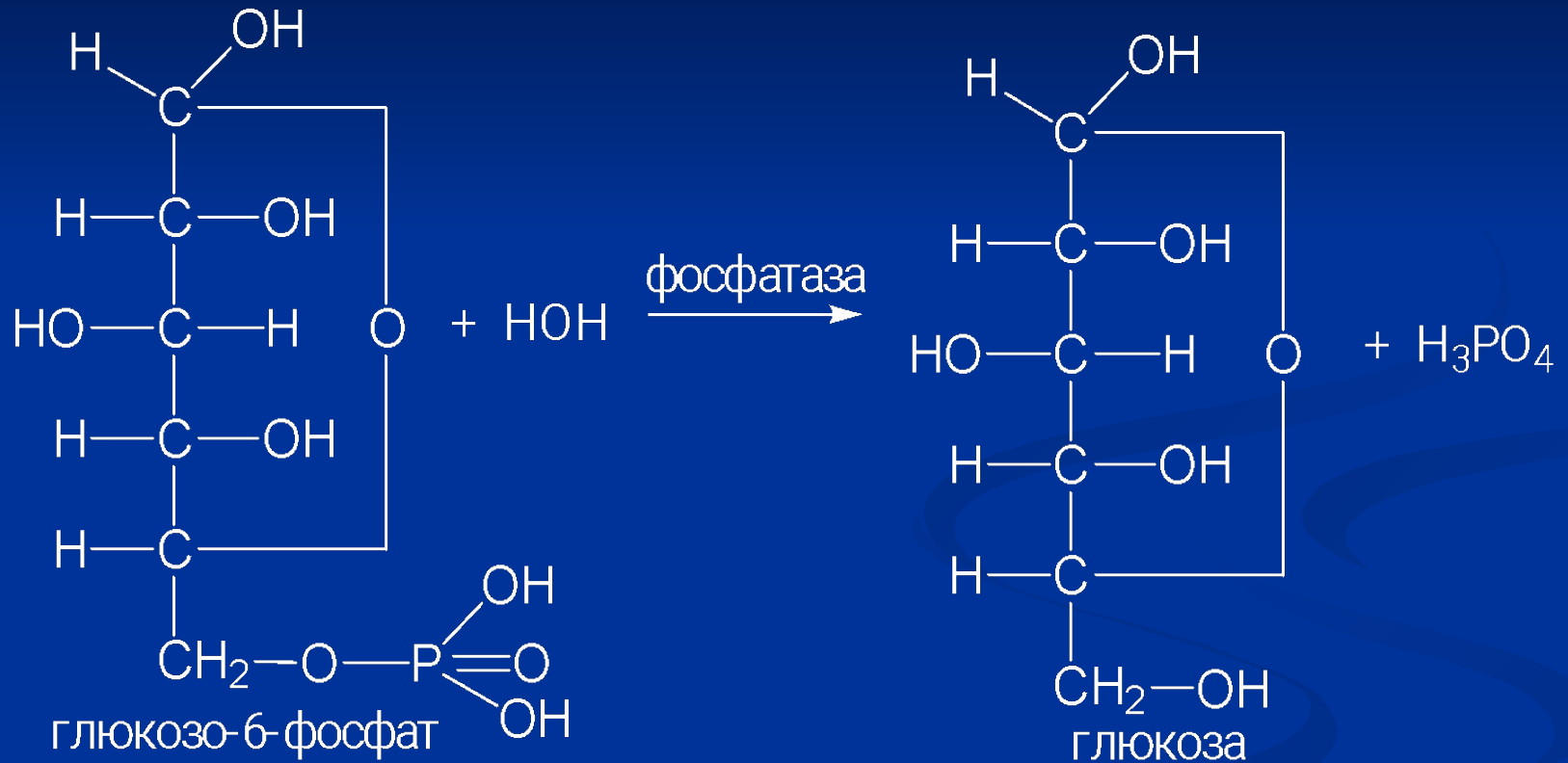
Естерази

■ Прискорюють гідроліз різних складних ефірів. Залежно від кислоти, що бере участь в утворенні складно-ефірного зв'язку, естерази ділять на підкласи: карбоестерази (ліпази), фосфоестерази (фосфатази), сульфоестерази та ін.

Карбоестерази:

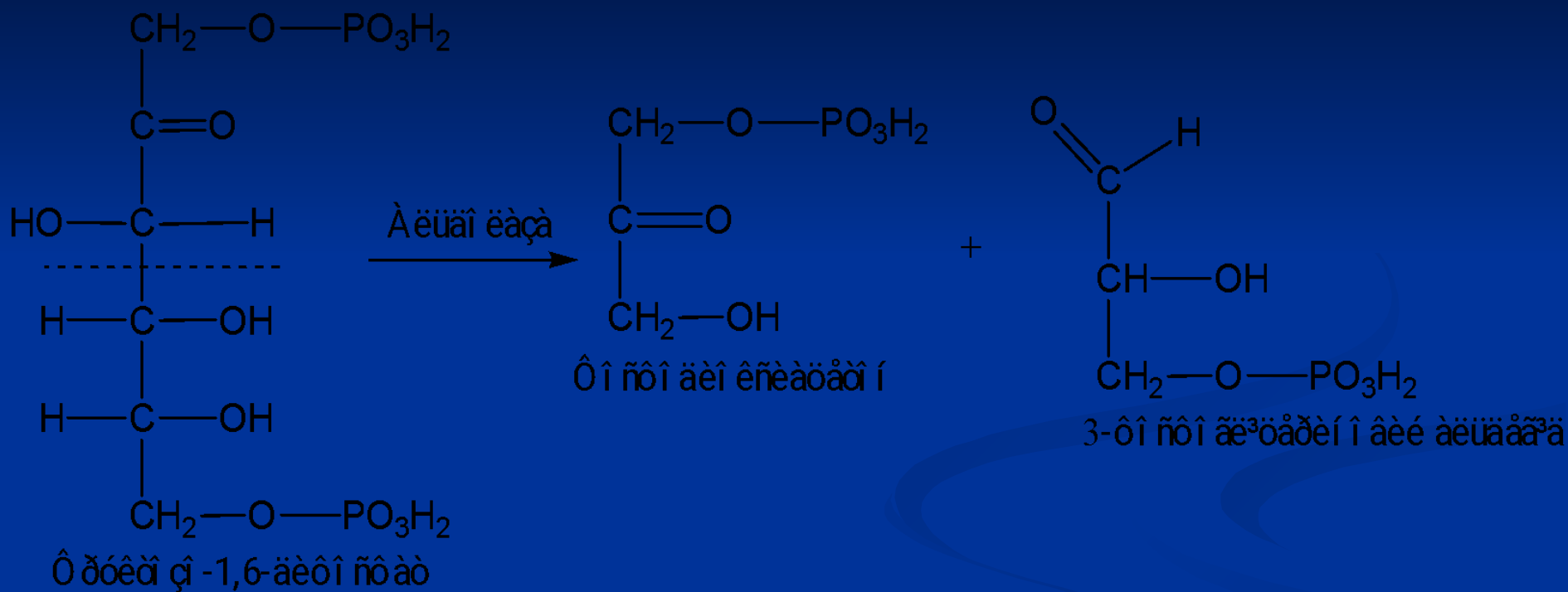


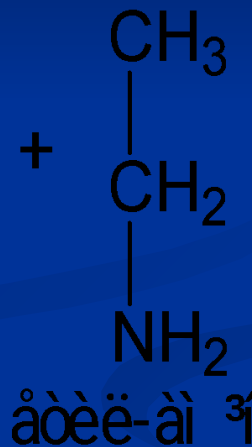
Фосфоэстерази



Ліази

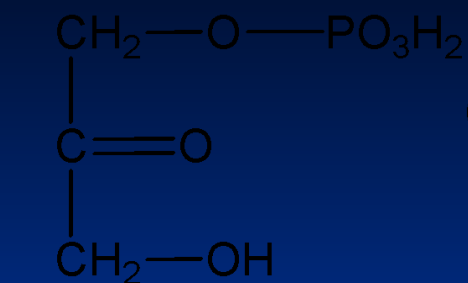
- Це ферменти, які можуть обернено приєднувати або відщепляти атомні групи по подвійним зв'язкам. По своїй будові вони є складними білками, в яких роль коферменту виконують вітаміни, наприклад B_1 або метали (Mg^{2+} , Mn^{2+}).



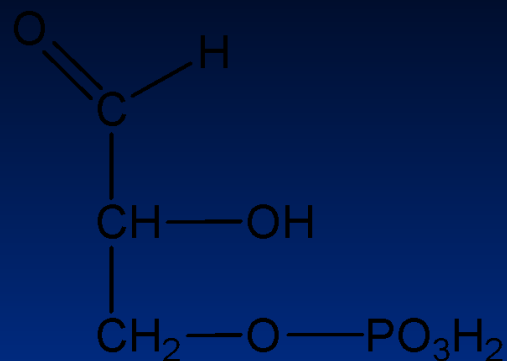


Ізомеразы

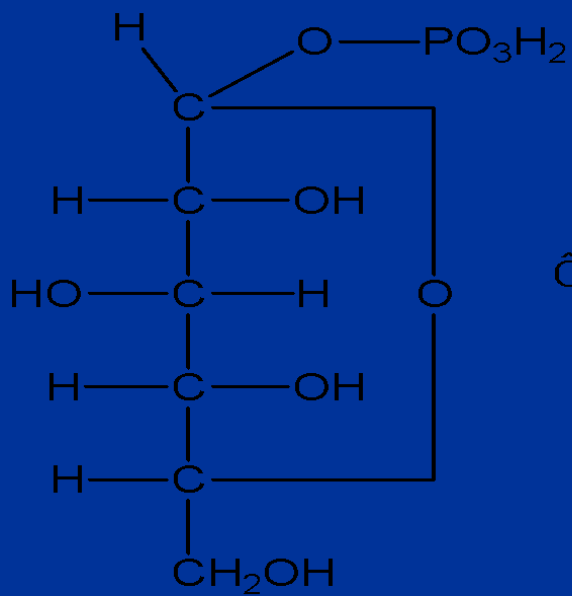
- Ферменти цього класу каталізують реакції ізомерних перебудов невеликих молекул, а також реакції перенесення окремих груп в межах даної молекули. Ізомеразы є складними ферментами.



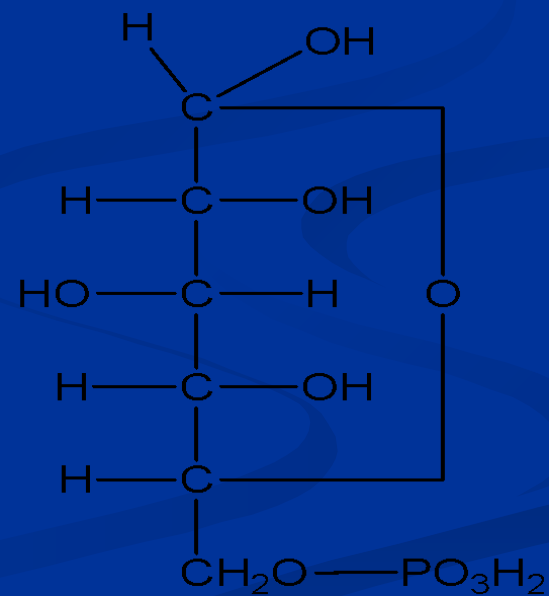
Ôi ñôî äèî êñèàöôî í



3-ôî ñôî äèî òðèî í äèé äèüäãä



Ãèp êî çî -1-ôî ñô àò



Ãèp êî çî -6-ôî ñô àò

Лігази (синтетази)

- Каталізують синтез органічних речовин з двох більш простих молекул. При цьому обов'язково використовується енергія АТФ або інших нуклеозидтрифосфатів.

