

Тема: Ферментативний каталіз.

У живому організмі виконується велика кількість хімічних реакцій. Збільшити швидкість хімічних реакцій можна не тільки збільшенням температури і тиску, але і за допомогою ферментів-каталізаторів. Реакції, що каталізують ферментами, протікають з швидкостями в $10^8 - 10^{20}$ разів більшими, ніж відповідні реакції, що не каталізуються. Інша особливість ферментів полягає в їх специфічності дії, тобто дії тільки на один тип субстрату.

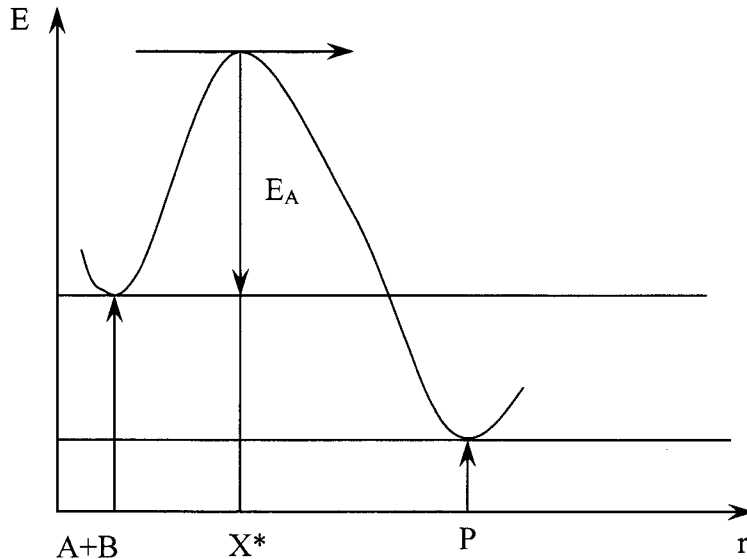
Характеристики ферментів як каталізаторів:

1. Каталізують термодинамічно і кінетично можливі реакції.
2. Не змінюють напрям реакції.
3. Не змінюють рівновагу оборотної реакції, а лише прискорюють її настання.
4. Не витрачаються в процесі реакції.
5. Вища швидкість в порівнянні з небіологічними реакціями.
6. Висока специфічність.
7. М'які умови функціонування.
8. Регулюються.
9. Прямо пропорційна залежність активності від кількості субстрату.

Залежно від числа частинок речовини (молекул, атомів), що одночасно беруть участь в реакції розрізняють реакції: мономолекулярні, бімолекулярні і тримолекулярні. У живих системах найбільш поширені моно- та бімолекулярні реакції.

В основному функція ферментів полягає в зниженні енергетичних бар'єрів хімічної реакції.

Енергетичний профіль реакції.



E_A – енергія активації;

X^* - активований комплекс;

P – концентрація продукту.

Уявімо просту хімічну реакцію $A + B \rightarrow P$. Швидкість реакції

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k \cdot [A][B], \text{ де } k - \text{константа швидкості реакції.}$$

На підставі експериментальних даних Вант-Гофф і Ареніус знайшли емпіричну залежність:

$$k = A \cdot e^{\frac{E_a}{RT}} \text{ (рівняння Ареніуса), де}$$

E_a – енергія активації;

A – передекспоненціальний множник, який є частотою зіткнень реагуючих молекул;

$e^{-E_a/RT}$ – експоненціальний множник, або множник Больцмана, який визначає частку молекул, що мають енергію активації вище E_a і що ефективно беруть участь.

Чинники, що впливають на каталітичну активність ферментів.

1. **Зближення та орієнтація субстрату** по відношенню до каталітичної групи. Зв'язок, що атакується ферментом, виявляється

розташованим близько не тільки до каталітичної групи, але і правильно орієнтований по відношенню до неї.

2. Напруга і деформація: індукована відповідність. З одного боку субстрат змінює конформацію ферменту, з іншого боку субстрат сам деформується. Отже, невеликі зміни третинної або четвертинної структури можуть грати роль механічного важеля для молекули субстрату.

3. Кислотно-основний каталіз. Групи специфічних амінокислотних залишків є донорами (акцепторами) протонів (узагальнені кислоти або основи). Ці групи – сильні каталізатори органічних реакцій, що протікають у водних системах.

4. Ковалентний каталіз – утворення нестабільного ковалентно зв'язаного фермент-субстратного комплексу. У роботі активного центру велика роль слабких взаємодій. Відомо, що у воді сила слабких взаємодій знижується в 80 разів, тому в активному центрі відсутня вода. Активний центр представлений, головним чином, гідрофобними групами.

Каталітичні групи активного центру вільного ферменту не знаходяться в тій орієнтації, в якій вони здійснюють ефективний каталіз. Після зв'язання ферменту з субстратом відбуваються конформаційні зміни в активному центрі і каталітичні групи займають необхідну для каталізу орієнтацію.

Теорія Кошланда заснована на динамічній відповідності ферменту та субстрату. Отже не тільки фермент впливає на структуру субстрату, але і сам субстрат змінює конформацію ферменту.

В даний час методом рентгеноструктурного аналізу показано, що є декілька типів конформаційних перебудов, що викликаються скріпленням субстрату: невеликі локальні конформаційні зміни і великомасштабні конформаційні перебудови.

Перебудови першого типу зачіпають тільки область активного центру. Для таких конформацій характерні локальні зсуви не більше 1,5 нм (карбоксилпептидаза 1,2 нм).

Великомасштабні зміни супроводжуються зсувом структур і блоків у ферменті більше 1,5 нм. Така перебудова пов'язана з відносним рухом структурних доменів.

Методом молекулярно-динамічної моделі показано, що ферменти є тремтячою самоналагоджувальною структурою. Розрахунки показують, що в розчині при кімнатній температурі випадкові броунівські рухи доменів забезпечують молекулу ферменту енергією для того, щоб могли пройти спонтанні перепади між відкритою і закритою системою протягом 10^{-9} с. Таким чином динаміка білкової структури грає вирішальну роль у ферментативному каталізі. Невеликі високочастотні флуктуації білкової структури грають велику роль в узгоджених переміщеннях доменів.

Фішер вважав, що механізм взаємодії субстрату і ферменту полягає в жорсткій підгонці субстрату до активного центру ферменту за типом «ключ-замок».