

## Лекція 10-11

### Тема: Біохімія ферментів

#### План

1. Ферменти – біологічні каталізатори.
2. Механізм дії ферментів.
3. Властивості ферментів.
4. Активатори та інгібітори ферментів.
5. Будова ферментів.
6. Класифікація ферментів.
7. Локалізація ферментів, їх значення в обміні речовин організму.
8. Кількісний зв'язок між концентрацією субстрату та швидкістю ферментативної реакції. Константа Міхаеліса-Ментена.

#### 1. Ферменти – біологічні каталізатори

**Ферменти** – біологічні каталізатори, білкової природи, які приймають активну участь при обміні речовин в живих організмах, володіють дуже високою каталітичною активністю, прискорюють протікання біохімічних реакцій в млн. та млрд. разів. Властиві всі властивості білкових молекул.

#### 2. Механізм дії ферментів

При наявності ферментів відбувається зниження енергетичного бар'єру.

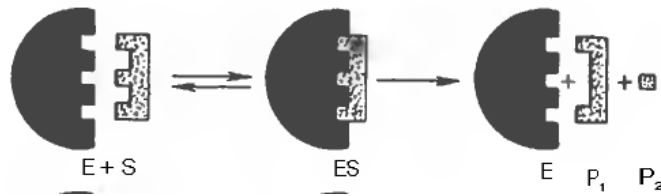
Молекули ферментів мають **активний центр** – область молекули, в яких проходить зв'язування та перетворення.

Активний центр є сполученням амінокислотних залишків, які вступають в контакт з молекулою субстрату (найбільш часто зустрічаються наступні амінокислоти: аргінін, гістидин, серін, триптофан, ці амінокислотні залишки можуть знаходитися в різних місцях поліпептидного ланцюга).

Активний центр функціонально неоднорідний, в ньому виділяють декілька зон.

Ті угруповання активного центру, яке контактує з фрагментом субстрату, який підлягає перетворенню, тобто приймають участь в синтезі або розщепленні зв'язку субстрату – **каталітична зона**; угруповання, які контактують з фрагментом субстрату, який не підлягає перетворенню, та закріплює його в активному центрі – **зона зв'язування**.

В реакції взаємодії ферменту з субстратом на першій стадії утворюється фермент субстратний комплекс, на другій – активація комплексу, на третій – виділення ферменту та утворення нового продукту реакції.



де: E – фермент; S – субстрат; ES – комплекс фермент – субстрат; ES\* – активований комплекс; P<sub>1</sub> та P<sub>2</sub> – продукти реакції

Утворення фермент-субстратного комплексу призводить до перерозподілу енергії, знижується міцність зв'язків та реакція відбувається значно швидше.

Для оцінки діяльності ферменту приймають такі величини:

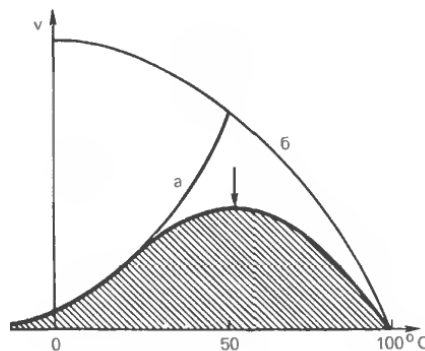
1) **молекулярна активність** – число молекул субстрату, яке змінюється протягом 1 хв. на 1 г ферменту при стандартних умовах – при оптимальному поглинанні ферменту субстратом в умовах температурного та рН оптимуму.

2) **умовна одиниця** – за яку приймають таку кількість фермента, яка каталізує перетворення 1 мкмоля субстрату в 1 хвилину при стандартних умовах.

Ферменти можуть каталізувати як пряму так і зворотню реакцію.

### 3. Властивості ферментів

1) **термолабільність ферменту:** при підвищенні температури на 10 °С швидкість збільшується в 1,5-3 рази.



На рисунку: а – підвищення швидкості реакції як функція температури; б – зниження швидкості реакції як функція денатурації білка; стрілка показує оптимальну температуру (30-37 °С) та максимальну швидкість

Температурний оптимум активної більшості ферментів живих організмів близький до температури організму і лежить в межах 37-40 °С.

При температурі близько 60-70 °С більшість ферментів втрачають свою активність, так як при такій температурі майже всі білки знаходяться під дією незворотної денатурації.

При зниженні температури швидкість ферментативної реакції знижується, хоча при 0 °С ферменти не зупиняють свою діяльність.

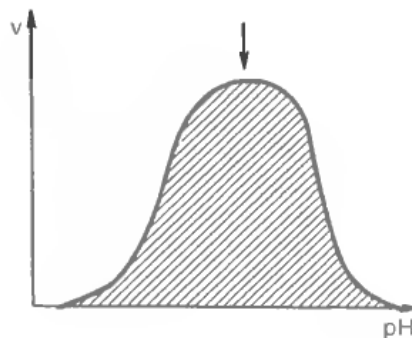
**Термолабільність** – це чутливість ферментів до високої температури, що обумовлена їх білковою природою.

**Наприклад**, міокіназа – фермент м'язової тканини – зберігає свою каталітичну активність навіть при 100 °С.

2) **оптимум дії**: мають усі ферменти при своєму визначеному значенні рН.

Каталітична активність залежить від концентрації іонів водню. В залежності від цієї концентрації вони будуть мати різну кількість позитивних та негативних заряджених груп.

Для багатьох ферментів характерно, що їх активність визначається в ізоелектричній крапці.



На рисунку: стрілка вказує на максимальну швидкість та оптимум дії рН (для більшості ферментів рН = 7).

Кожний фермент має свій оптимум рН при якому активність цього ферменту максимальна (пепсин рН = 2, трипсин, хімотрипсин, карбоксипептидаза рН > 7)

3) **специфічність** – фермент повинен підходити до субстрату, як «ключ до замка».

Фермент каталізує лише свою реакцію та свій субстрат.

**Абсолютна специфічність** – фермент каталізує тільки одну речовину.

**Відносна специфічність** – фермент каталізує перетворення невеликої групи речовин, близьких за своїми властивостями.

**Стерична специфічність** – фермент розрізняють стереоізомери та каналізують перетворення тільки одного з них.

#### 4. Активатори та інгібітори ферментів

Багато ферментів потребують різних речовин, які підвищують або знижують їх каталітичну активність. Такі речовини, які підвищують

каталітичну активність ферменту називають **активаторами**, ними є катіони металів (натрію, калію, кальцію, магнію, кобальту, нікелю) та деякі аніони.

Речовини, які знижують активність ферменту називають **інгібіторами** – речовини, які блокують активний центр молекули ферменту – катіони важких металів.

## 5. Будова ферментів

Білки поділяються на **2 групи**:

- 1) **протеїни** (входять тільки  $\alpha$ -амінокислоти);
- 2) **протеїди** (входять  $\alpha$ -амінокислоти та речовини небілкової природи).

Білкова частина двохкомпонентних ферментів називається **апоферментом**, а молекула ферменту в цілому – **холоферментом**.

Небілкова частина, легко дисоціює з комплексу з ферментативним білком називається **коферментом**. Він діє як акцептор (або донори) атомів або функціональних груп, які відокремлюються від субстрату, можуть бути термостабільна органічна сполука або атом металу.

Відомі ферменти, які безпосередньо приймають участь в реакціях, як переносники груп, і коферменти активатори, які безпосередньо діють на фермент і переводять його у активний стан (катіони металів).

Якщо небілкова частина ферменту міцно зв'язана з білком та в циклі біохімічних реакцій не відщеплюється від нього – **протетична група**. Небілкові компоненти прийнято називати **кофактором**.

**Функціями коферментів та протетичних груп є:**

- 1) участь в акті каталізу;
- 2) здійснення контакту між ферментативним білком та субстратом;
- 3) стабілізація апоферменту.

**Кофермент біологічного окиснення**, який переносить катіони водню  $H^+$  та електрони –  $НАД^+$  (нікотинамідаденіндинуклеотид),  $НАДФ^+$  (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат) – кофермент рибофлавін фосфат, похідні вітамінів РР та  $B_2$ .

**Ізоферменти** – ферменти, які мають однаків тип функціональної активності, каталізують одну і ту ж реакцію, але відрізняються білковою компонентою (наприклад, гексокіназа, лактатдегідрогеназа).

**Алостеричні ферменти** – це ферменти, які наряду з активним центром, який реагує з субстратом, мають специфічну ділянку, яка взаємодіє з іншою речовиною.

## 6. Класифікація ферментів

Назва ферментів утворюються від назви реакції, яку вони каталізують, від назви основних субстратів реакції, або сполучають один чи два додаткових закінчення – аза (наприклад, дегідрогеназа).

Всі ферменти поділяють на 6 груп:

### 1. Оксиредуктази, які каталізують окисно-відновні реакції.

1.1 **дегідрогенази** – ферменти, які переносять водень з одного субстрату на інший.

1.2 **оксидази** – ферменти, які переносять водень з субстрату, який окислюється на кисень.

2. **Трансферази** – ферменти, які прискорюють перенос атомів або груп атомів, радикалів з одного субстрату на інший.

2.1 **метилтрансферази** – ферменти, які переносять метильну групу з одного субстрату на інший.

2.2 **ацетилтрансферази** – ферменти, які переносять кислотні залишки з одного субстрату на інший.

2.3 **аміотрансферази** – ферменти, які переносять аміногрупу з амінокислоти на кетокислоту.

2.4 **фосфотрансферази** – ферменти, які переносять залишки фосфорної кислоти з одного субстрату на інший.

2.5 **сульфідтрансферази** – ферменти, які переносять залишки сульфогрупи (оксалат кофермент трансфераза).

2.6 **амідинтрансферази** – ферменти, які переносять залишки амідинової групи з одного субстрату на інший.

3. **Гідролази** – ферменти, які каталізують при участі води розщеплення складних органічних сполук (білків, жирів, ліпоїдів, полісахаридів) по ефірному або пептидному зв'язку.

3.1 **естерази** – ферменти, які каталізують гідроліз складних ефірів.

3.2 **гідролази** – ферменти, які каталізують відщеплення ортофосфорної кислоти від різних сполук (нуклеїнових кислот, нуклеотидів, фосфорних ефірів, вуглеводів).

3.3 **глюкозίδαзи** – ферменти, які приймають участь в гідролізі глюкозидів.

3.4 **пептидази** – ферменти, які каталізують розщеплення білків, дипептидів, що містять подвійний зв'язок.

3.5 **амідази** – ферменти, які каталізують відщеплення аміно – групи за допомогою води у амідів, нуклеотидів та інших сполук.

3.6 **поліфосфатази** – ферменти, які гідролізують фосфоангідридні зв'язки.

4. **Ліази** – ферменти, які відщеплюють від субстрату не гідролітичним шляхом ту чи іншу групу, або розривають С – С зв’язок.

5. **Ізомерази** – ферменти, які каналізують реакції внутрішньо молекулярного переміщення різних груп (наприклад, глюкозофосфат ізомераза перетворює глюкозу-6-фосфат в фруктозу-6-фосфат).

6. **Лігази (синтетази)** – ферменти, які каналізують реакції біосинтезу за рахунок енергії АТФ або інших нуклеозидтрифосфатів.

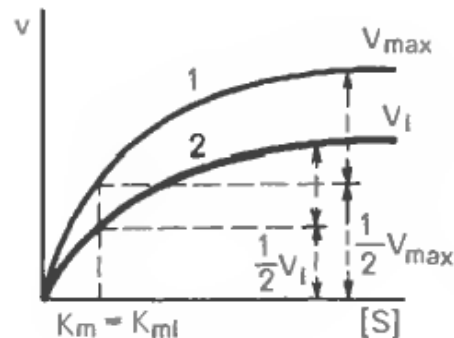
## 7. Локалізація ферментів, їх значення в обміні речовин організму

Всі ферментативні процеси організовані на мембранних структурах.

Характерним є організація ферментів у виді цілих систем – мультиензимні комплекси. Завдяки їм реакції в живих організмах йдуть з великою швидкістю, та розпад і синтез йдуть з утворенням енергії.

Ферменти, які відповідають за свою ділянку в обміні речовин локалізовані в різних субклітинних органоїдах.

## 8. Кількісний зв’язок між концентрацією субстрату та швидкістю ферментативної реакції. Константа Міхаеліса – Ментена



На цьому рисунку показана крива, яка характеризує залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату.

З неї видно, що крива тільки наближається до максимальної швидкості реакції, але ніколи її не досягає.

Важко визначити точно при якій концентрації субстрату встановлюється максимальна швидкість.

Ця крива представляє собою гіперболу і має однакову форму для більшості ферментів, біохіміки Міхаелес та Ментен визначили константу, яка позначається в теперішній час  $K_m$  – константа Міхаелеса-Ментена. За нею визначають точне співвідношення між концентрацією субстрату та швидкістю реакції, яку каталізує фермент.

$K_m$  можна визначити, як концентрацію специфічного субстрату, при якій даний фермент забезпечує швидкість реакції рівну  $\frac{1}{2}$  максимальній швидкості.

$$V_0 = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

де:  $v$  – початкова швидкість при концентрації  $[S]$ ;

$v_{\max}$  – максимальна швидкість;

$K_M$  – константа Міхаелеса-Ментена

Це рівняння лягло в основу для аналізу кінетики всіх ферментативних реакцій.