

### Лекція 3. Механізм прискорення реакцій ферментами

Питання для розгляду

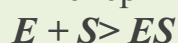
- 1) Енергія активації. Перехідний стан.
- 2) Принципи каталізу. Типи ензиматичного каталізу
- 3) Кислотно-основний каталіз
- 4) Електростатичний каталіз
- 5) Каталіз іонами металів (електрофільний) каталіз
- 6) Ковалентний каталіз (нуклеофільний каталіз)

Хімічна реакція має певний "енергетичний бар'єр" і може відбутися тільки в тому випадку, якщо реагенти (реагують молекули) володіють запасом енергії, достатнім для досягнення ними вершини цього бар'єру і переходу в проміжний стан, зване активованим комплексом або перехідним станом. У перехідному стані можливе одночасне утворення нових і розрив старих хімічних зв'язків. Активація молекул може відбуватися при підвищенні температури, в результаті поглинання ними променистої енергії, при зіткненні з іншими возбужденими молекулами або атомами, що передають їм частину своєї енергії. Кількість енергії, необхідної для досягнення при даній температурі усіма молекулами одного молю речовини перехідного стану, відповідаючого вершині енергетичного бар'єру, називається енергією активації. Інакше, енергія активації являє собою "енергетичний бар'єр", який потрібно подолати для того, щоб відбулася реакція.

У присутності каталізатора знижується енергія активації. Причому фермент знижує енергію активації значно сильніше, ніж неорганічний каталізатор.

Відповідно до сучасних уявлень при взаємодії ферменту з субстратом умовно можна виділити 3 стадії :

1 стадія характеризується дифузією субстрату до ферменту та їх стерическими взаємодіями з утворенням фермент-субстратного комплексу. Ця стадія нетривала. Її швидкість залежить від концентрації субстрату і швидкості дифузії його до активного центру ферменту. На цій стадії практично не відбувається зниження енергії активації.



На другій стадії відбувається перетворення E-S комплексу в один, або кілька активованих комплексів.



Ця стадія є найбільш тривалою за часом. При цьому відбувається розрив зв'язків в молекулі субстрату, утворення нових зв'язків, тобто утворюються продукти реакції. Енергія активації знижується значно. На третій стадії відбувається звільнення продуктів реакції від ферменту і надходження їх у навколишнє середовище.



У самій загальній формі можна сказати, що молекула субстрату, після зв'язування з активним центром ферменту, поляризується, електрони в ній перерозподіляються, розташування електричних зарядів змінюється, зв'язки деформуються і все це призводить до підвищення її активності.

Таким чином, прискорення хімічної реакції ферментами відбувається за рахунок істотного зниження енергії активації реагуючих речовин.

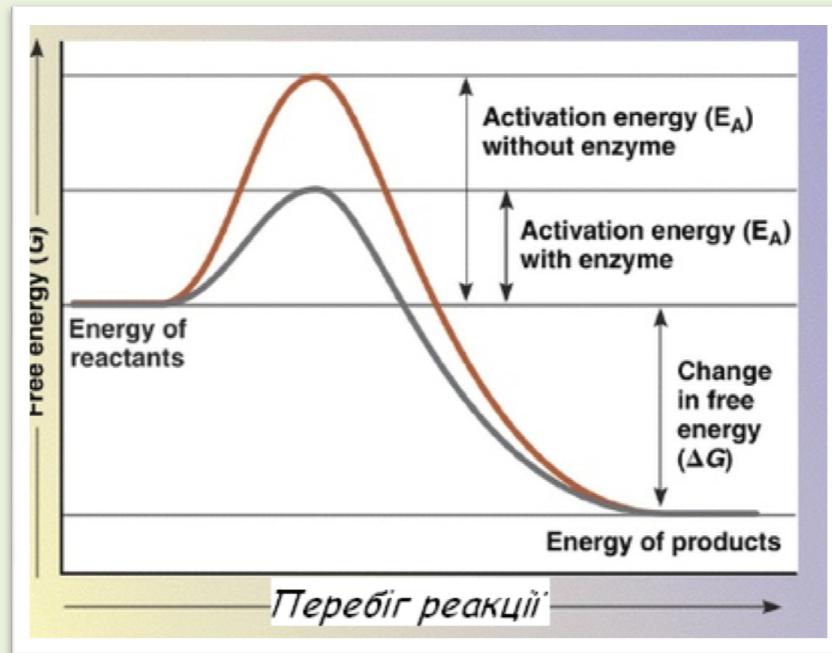


Рис. 1 – Ферменти знижують енергетичний бар'єр реакції

Ряд молекулярних ефектів дозволяють знижувати енергію активації.

### Молекулярні ефекти, що знижують енергію активації ферментами

#### 1. Ефект концентрації.

Молекули субстрату концентруються в області активного центру ферменту.

2. Ефект зближення і орієнтації. Це характерна властивість ферментів, яка дозволяє прискорити перетворення субстрату і підвищення швидкості реакції в 1000 і 10000 разів. Контактні ділянки активного центру ферменту пов'язують специфічно молекули субстрату, зближують їх і забезпечують взаємну орієнтацію так; щоб це було вигідно для дії каталітичних груп ферменту. Таке впорядковане розташування субстрату призводить до зниження енергії активації



Рис. 2 – Схематичне зображення процесів зближення і орієнтації при взаємодії молекули субстрату S з каталітичною групою в активному центрі ферменту E

Фермент здатний зв'язувати молекулу субстрату таким чином, що атакують ферментом зв'язок виявляється не тільки розташованим в безпосередній близькості від каталітичної групи, а й правильно орієнтованим по відношенню до неї. У результаті ймовірність того, що комплекс ES досягне перехідного стану сильно збільшується.

3. *Напруга і деформація: індукована відповідність.* Приєднання субстрату може викликати конформаційні зміни у молекулі фермента, які призводять до напруги структури активного центру, а також кілька деформують пов'язаний субстрат, полегшуючи тим самим досягнення комплексом ES перехідного стану. При цьому виникає так зване індукована відповідність ферменту субстрату.

4. *Кислотно - основний каталіз.* В активному центрі ферменту містяться групи кислотного та основного типу. Групи кислотного типу отщеплюють  $H^+$  і мають негативний заряд. Групи основного типу приєднують  $H^+$  і мають позитивний заряд. Крім основних груп; позитивний заряд несуть іони металів. Після зв'язування субстрату з активним центром ферменту; молекули субстрату перебудовуються; тому що вони піддаються дії каталітичних груп активного центру : одні групи приєднують  $H^+$ ; інші його отщеплюють. Це призводить до прискорення утворення продукту реакції; тобто сприяє зниженню енергії активації.

В активному центрі ферменту можуть перебувати групи специфічні амінокислотні залишки, які є хорошими донорами або акцепторами протонів (рис. 3). Такі кислотні або основні групи загального типу являють собою потужні каталізатори багатьох органічних реакцій, що протікають у водних системах.

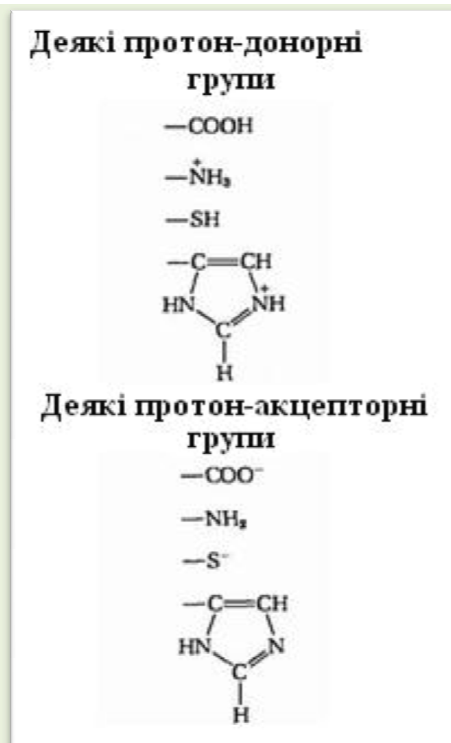


Рис. 3. – Багато органічних реакцій прискорюються донорами або акцепторами протонів, тобто узагальненими кислотами або основами. Активні центри ряду ферментів містять функціональні групи амінокислотних

5. *Ковалентний каталіз.* Спостерігається у ферментів; які утворюють ковалентні зв'язки між каталітичними групами активного центру і субстрату. В результаті формується проміжний фермент-субстратної комплекс; який нестійкий; легко розпадається; продукти реакції швидко звільняються.

6. *Ефект індукованої відповідності.* Він пояснює специфічність дії ферментів. З цього приводу є 2 точки зору :

А ) Гіпотеза Фішера (рис.4)

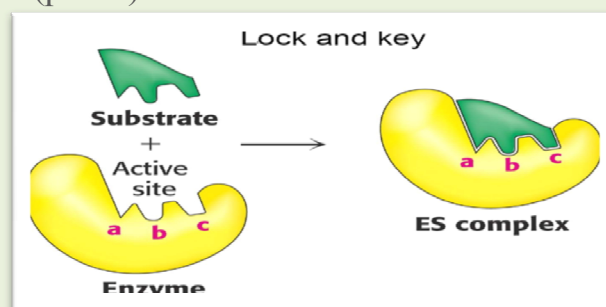


Рис.4 – Схема фермент-субстратної взаємодії за Фішером.

Згідно їй є строга стерична відповідність субстрату і активного центру ферменту. За Фішером фермент – це жорстка структура; а субстрат є ніби зліпком його активного центру. Якщо субстрат підходить до активного центру ферменту як ключ до замка; то реакція можлива. Але ця теорія не могла пояснити групову специфічність ферменту.

Б). Теорія індукованої відповідності Кошленда доповнила теорію Фішера. Згідно їй молекула ферменту – це не жорстка, а гнучка структура. Після

зв'язування ферменту з субстратом, змінюється конформація активного центру ферменту і всієї молекули субстрату.

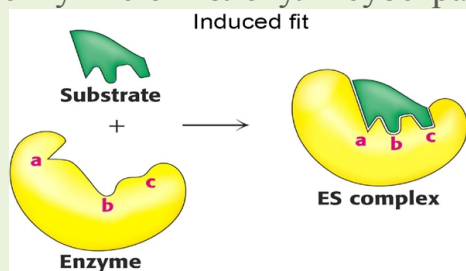


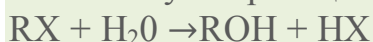
Рис.5 – Схема фермент-субстратної взаємодії за Кошлендом.

Таким чином, невеликі зміни третинної або четвертинної структури відносно великої молекули ферменту можуть грати роль механічного важеля для молекули субстрату. Можливо, що саме з цієї причини ферменти представляють собою білки і, отже, за своїми розмірами значно перевершують молекули більшості субстратів.

залишків, які беруть участь у каталітичних процесах як донорів або акцепторів протонів. Тут показані деякі з цих груп. HS-група належить цистеїну, імідазольна група – гістидину.

**Ковалентний каталіз.** Деякі ферменти реагують зі своїми субстратами, утворюючи дуже нестабільні, ковалентно пов'язані фермент-субстратні комплекси, з яких в ході подальшої реакції утворюються продукти реакції, причому значно швидше, ніж у випадку некаталізуємих реакцій.

Некаталізуєма реакція



Каталізуєма реакція

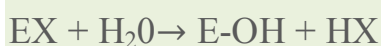
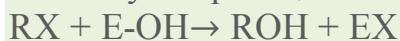


Рис. 6 – Одна з моделей ковалентного каталізу. У деяких ферментативних реакціях фермент заміщує функціональну групу R в субстраті RX, в результаті чого утворюється ковалентний комплекс EX. Він нестабільний і гідролізується значно швидше, ніж RX. До ферментів, що здійснюють ковалентний каталіз, відноситься хімотрипсин.

Перераховані вище чотири фактори, очевидно, вносять різний внесок у прискорення хімічних реакцій ферментами різних типів, проте ні для одного ферменту поки не відомо точного механізму, що забезпечує прискорення тієї чи іншої специфічної для нього реакції.