# Ферменти

## Перелік скорочених позначень

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Фермент (ензим) | Ф (Е) | E (enzyme) |
| субстрат | С | S (substrate) |
| фермент-субстратний комплекс | ФС | ES (enzyme- substrate) |
| продукт ферментативної реакції | ПФР | P (product) |
| активний центр | АЦ | AS (active site) |
| ліганд | Л | L (ligand) |
| ферментативна реакція | ФР | ER (enzymatic reaction) |
| Метаболічний шлях | МШ | MF (metabolic fate) |

## Вступ

***Ферменти*** - це білкові каталізатори, які збільшують швидкість протікання біохімічних реакцій у живих клітинах. E мають:

* усі властивості, які характерні для білків;
* особливості будови, які забезпечують їхню біологічну активність;
* властивості небіологічних каталізаторів;
* ферментативні реакції можуть бути охарактеризовані загальними законами каталізу.

## Характерні особливості E

***Специфічність –*** наявність AC і, відповідно, можливість комплементарної взаємодії лише з певним лігандом - субстратом S.

***Каталітична активність –*** більшість ER є високоефективними – протікають у **108-1014** разів швидше, ніж без каталізатора.

Кожна молекула E здатна за **1 секунду** трансформувати **від** **100** **до** **1000** молекул S.

***Конформаційна лабільність –*** зміна просторового розміщення частин структури E, розрив/утворення нових слабких зв'язків у E під впливом взаємодії зі специфічними речовинами призводить до зміни каталітичної активності

## Метаболічні шляхи

Продукт однієї ER є субстратом для іншої ER. Майже для всіх MF є ключові (регуляторні) E, які вливають на інтенсивність утворення P, тобто активність яких може змінюватись у залежності від потреб клітини у кінцевому продукті реакцій даного MF.

## Оптимальні умови протікання ER

Для більшості тканин організму

 температура - **37-38°С**

 тиск - **1 атмосфера**

 pH - **6,7-7,7**

## Специфічність ферментів

***Субстратна специфічність (СС) –*** здатність E взаємодіяти лише з одним або декількома певними субстратами S

* + 1. ***абсолютна СС*** - тільки один можливий S
		2. ***групова СС*** - тільки невелика кількість (група) структурно схожих S
		3. ***стереоспецифічна СС*** - тільки один стереоізомер даного субстрату S

***каталітична специфічність (специфічність шляху перетворення субстрату) –*** можливість трансформації одного і того самого субстрату під дією декількох різних ферментів

## Механізм ER

$$E+S \begin{matrix}k\_{1}\\\leftrightarrow \\k\_{-1}\end{matrix}ES\begin{matrix}k\_{2}\\ \leftrightarrow EP\rightarrow E+P\\\end{matrix}$$

Ензим + субстрат

Приєднання до AC

Ензим-субстратний

комплекс

Комплекс ензим-

продукти реакції

Ензим + продукти

реакції: вихід з AC

Зміна форми AC під структуру субстрату

Рисунок . Схематичне зображення етапів зміни конформації ферменту під час ферментативної реакції

#### Етапи ER:

1. Зближення та орієнтування субстрату в активному центрі фермента

Рисунок . Схематичне зображення основних етапів ферментативної реакції

1. Утворення фермент-субстратного комплексу
2. Утворення нестійкого комплексу фермент-продукт (EP)
3. Вивільнення продуктів реакції з AC

#### Зниження енергії активації ER



Рисунок 3. Енергетична діаграма ферментативної і неферментативної реакції

## Кофактори: коферменти та йони металів

### Йони металів

*приймають участь у:*

- зміні конформації S - забезпечення комплементарної взаємодії з AC

 *Прилад:* Mg2+-ATP комплекс

- створенні нативної конформації AC

 *Прилад:* Mg2+, Mn2+, Zn2+, Co2+, Mo2+ сприяють приєднанню кофермента

- стабілізація конформації білкової частини E

 *Прилад:* Zn2+ для стабілізації IV-ої структури алкогольдегідрогенази

- безпосередня участь у ER

 *Прилад:* Zn2+, Fe2+, Mn2+, Cu2+ - в електрофільному каталізі

 *Прилад:* йони зі змінною валентністю можуть приймати участь у переносі електронів – приклад – гемвмісні білки: $Fe^{2+}\begin{matrix}-e^{-}\\\leftrightarrow \\+e^{-}\end{matrix}Fe^{3+}$

### Коферменти

*>> найчастіше похідні вітамінів*

Безпосередньо приймають участь у ER (знаходяться у AC).

Кофермент приєднується:

 або лише у момент реакції,

 або може бути зв'язаний з AC міцними ковалентними зв'язками – у такому разі кофермент називається ***простетичною групою***.

**Кофермент + Апофермент (неактивна форма) → Холофермент (активна форма)**

***Апофермент*** – білкова частина E, що не має каталітичної активності.

***Холофермент*** – білок+кофермент – має ферментативну активність.

## Класифікація

### Назва

1. Назва S + суфікс "аза"

*Прилад:* уреаза, сахараза, ліпаза

1. Назва ER + суфікс "аза"

*Прилад:* лактатдегідрогеназа, аденілатциклаза, фосфоглюкомутаза

1. Тривіальна

*Прилад:* трипсин, пепсин, ренін, тромбін

### Систематизація

*>> Міжнародний союз біохімії і молекулярної біології (IUBMB) у 1961 розробив номенклатуру*

6 основних класів - в залежності від типу ER. Підкласи та підпідкласи - в залежності від:

* трансформованої групи субстрату;
* донора та акцептора трансформованих груп атомів;
* наявності додаткових молекул.

#### Приклад назви: малатдегідрогеназа – L-малат: NAD-оксидоредуктаза

1.1.**1**.38 кодове число

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1  |  номер класу  |  окидоредуктаза |
| 1  |  тип реакції  |  окиснення гідроксильної групи |
| **1**  |  наявність коферменту  |  кофермент NAD+ |
| 38  |  порядковий номер ферменту у даній підгрупі |

#### Основні класи:

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

#### Детальніша класифікація

**1** **Оксидоредуктази**

 **а** Дегідрогенази

 Відщеплення водню (1) та електрону (2)

 ***Донор***: H1 та $e\_{2}^{-}$ - S

 ***Акцептор***: 1 - може бути кофермент.

 2 - може бути кофермент. *Приклад:* NAD+, NADP+, FAD, FMN

 *Прилад:* мальтодегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа



Рисунок . ER на прикладі малатдегідрогенази

Рисунок . Нікотинамідні коферменти (похідні нікотинової кислоти, нікотинаміду – вітамін PP, вітамін B3).

Клас ферментів, який використовує дані коферменти – оксидоредуктази → дегірогенази.

D – донор протонів (субстрат S)

**б** Оксидази

 Каталіз реакції окиснення за участю молекулярного кисню



Рисунок 6. Приклад реакції, яка каталізується ферментом підкласу оксидаз

 **в** Оксигенази (гідроксилази)

 Включення атома кисню (O=O) у структуру S

 ***Донор***: молекулярний кисень O2

 ***Акцептор***: перший O – в структуру S з утворенням -OH

 другий O - утворення H2O



Рисунок 7. ER гідроксилювання фенілаланіну (коферменти: тетрагідробіоптерин (H4БП) та дигідробіоптерин (H2БП))

 **2** **Трансферази**

 ER переносу функціональних груп

 **а** амінотрансферази



Рисунок 8. Реакція, яка каталізується АЛТ, відноситься до класу трансфераз → амінотрансфераз (ПФ – кофермент піридоксальфосфат)

 **б** ацилтрансферази

 **в** метилтрансферази

 **г** гликозилтрансферази

 **д** кинази (фосотрансферази)



Рисунок 9. Реакція, яка каталізується протеїнкіназою → клас трансфераз → фосфотрансферази

 **3** **Гідролази**

 ER гідролізу - розщеплення ковалентного зв'язку з приєднанням H2O у місці розриву. Поділ на підкласи в залежності від S, назва - від S та гідролізованого хімічного зв'язку

 *Прилад:* протеази, амілазии, глікозидази, нуклеази, естерази та інші



Рисунок 10. Реакция, яка каталізується протеїназою → гідролази

 **4** **Ліази (синтази)**

 ER відщеплення або приєднання негідролітичним шляхом певних груп до/від S

*Прилад:* CO2, H2O, NH2, SH2 та інші.



Рисунок 11. Реакція декарбоксилювання (ПФ - кофермент піридоксальфталат)



Рисунок 12. Реакція приєднання молекули води до фумарату

 **5** **Ізомерази**

 Внутрішньомолекулярні реакції трансформації



Рисунок 13. Реакція, яка каталізується ферментом фосфоглюкоізомеразою

 **6** **Лігази (синтетази)**

 ER ускладнення молекули S за рахунок взаємного приєднання двух молекул з утворенням ковалентного зв'язку. Використовується енергія АТФ (або інших макроергичних сполук)



Рисунок 14. Реакція, яка каталізується ферментом глутамінсинтетазою

## Основи кінетики ферментативного каталізу (КФК)

***КФК*** - розділ ензимології, що вивчає залежність швидкості ER від природи реагуючих речовин та умов оточуючого середовища.

***Швидкість ER*** - визначається зменшенням кількості молекул S та збільшенням кількості молекул продукту за одиницю часу. Є мірою каталітичної активності E - позначається як активність E.

### Умовні величини:

**МЕ** *(1 міжнародна одиниця активності)*

Така кількість E, яка каталізує перетворення 1 мкмоль S за 1 хвилину при оптимальних умовах

**Пит.ак.** *(питома активність)*

Кількість трансформованого субстрату у мікромолях за одиницю часу (у хвилинах) 1 мг ферменту. Пит.ак. = n(S) / t\*m(E)

### Вплив факторів на кінетику процесу

#### Підвищення температури (Т°)

До певної міри зі збільшенням Т° збільшується швидкість ER

Оптимум для більшості Т° = 37-38°С



Рисунок 15. Залежність швидкості ферментативної реакції V від температури

#### pH

Вплив через іонизацію функціональних груп амінокислотних залишків E та S.



Рисунок 16. Залежність швидкості ферментативної реакції V від pH середовища

#### Концентрація E та S

Основна кінетична характеристика ефективності E - **константа Міхаеліса-Ментена** (**Km**).

**Km** – чисельно дорівнює концентрації субстрату S, при якій досягається половина максимальної швидкості ER. Чим менше значення Km, тим більша спорідненість E до S.

Для постійної концентрації E графік залежності швидкості ER виглядає так:



Рисунок 17. Графік залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату

Vmax – максимальна швидкість реакції за даної температури при даній концентрації ферменту та оптимальних умовах проведення реакції.