

Ферменти

Перелік скорочених позначень

Фермент (ензим)	Ф (E)	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. **Е** 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 Е

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

Каталітична активність - більшість ER є високоефективними - протікають у 10^8-10^{14} 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 впливають 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°C**
тиск - **1 атмосфера**
рН - **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

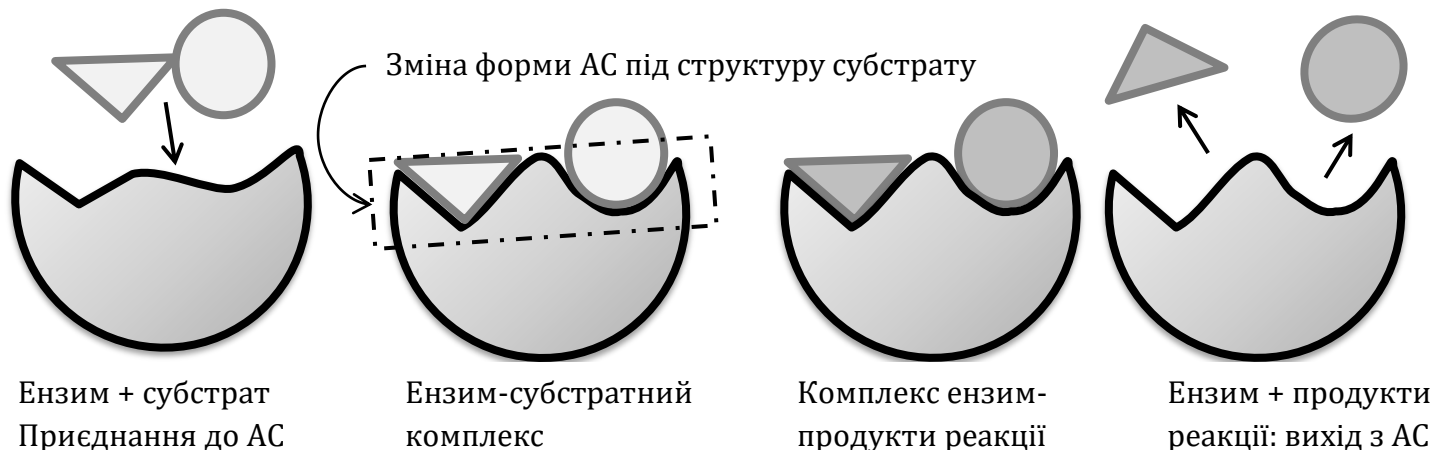
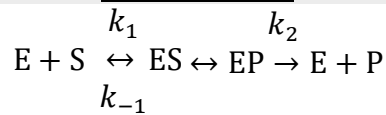


Рисунок 1. Схематичне зображення етапів зміни конформації ферменту під час ферментативної реакції
Етапу ER:

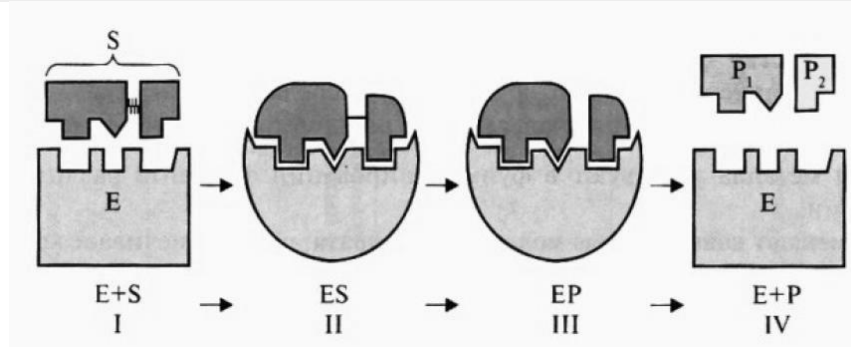


Рисунок 2. Схематичне зображення основних етапів ферментативної реакції

- I. Зближення та орієнтування субстрату в активному центрі фермента
- II. Утворення фермент-субстратного комплексу
- III. Утворення нестійкого комплексу фермент-продукт (EP)
- IV. Вивільнення продуктів реакції з АС

Зниження енергії активації ER

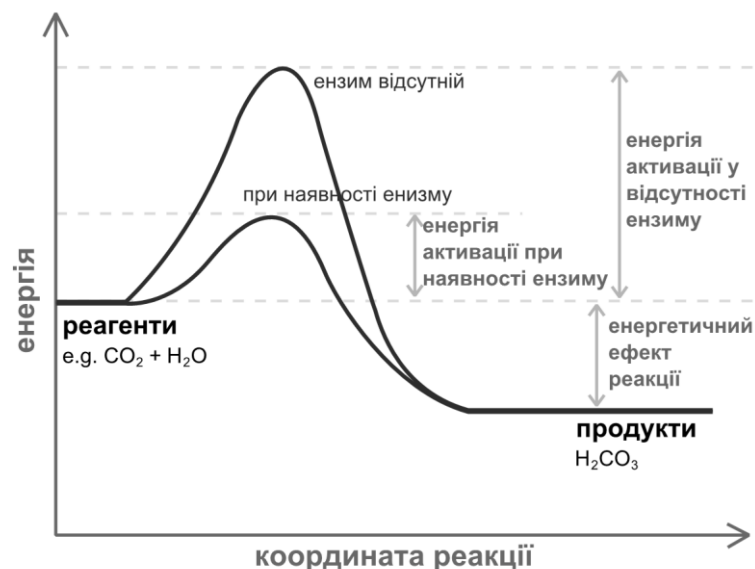


Рисунок 3. Енергетична діаграма ферментативної та неферментативної реакції

Кофактори: коферменти та йони металів

Йони металів

приймають участь у:

- зміні конформації S - забезпечення комплементарної взаємодії з АС

Приклад: Mg^{2+} -АТР комплекс

- створенні нативної конформації АС

Приклад: Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mo^{2+} сприяють приєднанню кофермента

- стабілізація конформації білкової частини Е

Приклад: Zn^{2+} для стабілізації IV-ої структури алкогольдегідрогенази

- безпосередня участь у ER

Приклад: Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} - в електрофільному каталізі

Приклад: йони зі змінною валентністю можуть приймати участь у переносі електронів –

приклад – гемвісні білки: $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+} + e^-$

Коферменти

>> найчастіше похідні вітамінів

Безпосередньо приймають участь у ER (знаходяться у АС).

Кофермент приєднується:

або лише у момент реакції,

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

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

Апофермент – білкова частина Е, що не має каталітичної активності.

Холофермент – білок+кофермент – має ферментативну активність.

Класифікація

Назва

1) Назва S + суфікс "аза"

Приклад: уреаза, сахараза, ліпаза

2) Назва ER + суфікс "аза"

Приклад: лактатдегідрогеназа, аденілатциклаза, фосфоглюкомутаза

3) Тривіальна

Приклад: 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	оксидоредуктаза
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: H_1 та $e_2^- - S$

Акцептор: 1 - може бути кофермент.

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

Приклад: мальтодегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа

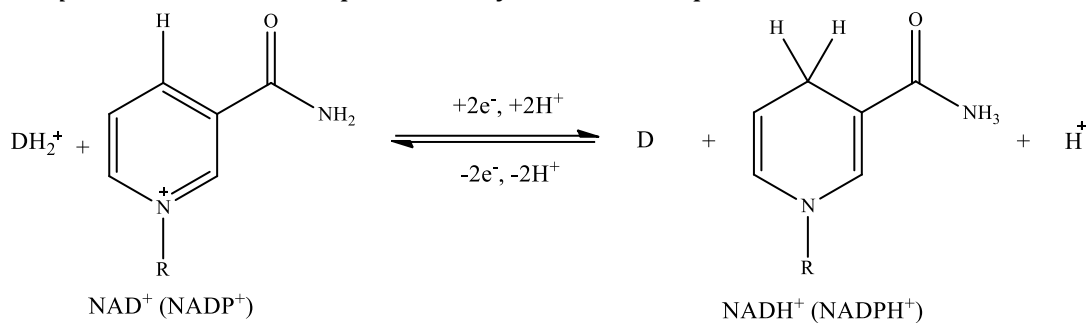


Рисунок 5. Нікотинамідні коферменти (похідні нікотинової кислоти, нікотинамідну – вітамін PP, вітамін В3).

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

D – донор протонів (субстрат S)

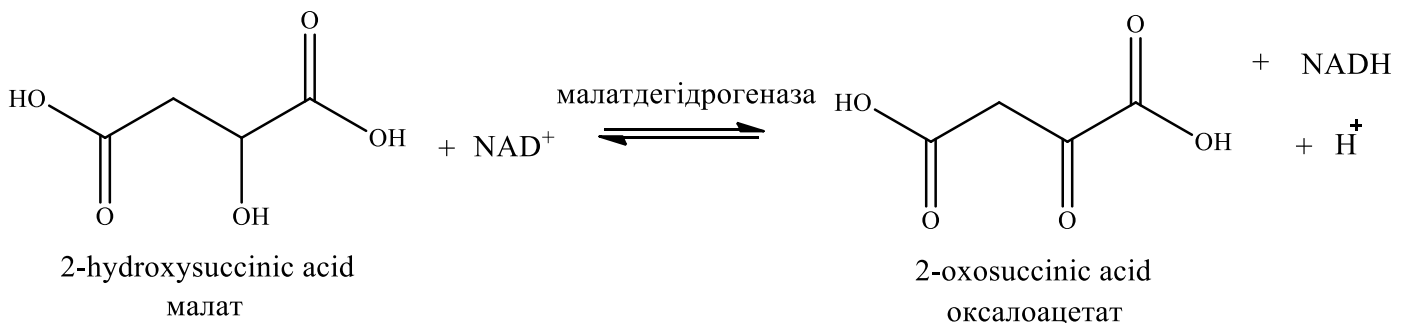


Рисунок 4. ER на прикладі малатдегідрогенази

б Оксидази

Каталіз реакції окиснення за участю молекулярного кисню

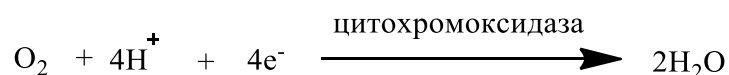


Рисунок 6. Приклад реакції, яка каталізується ферментом підкласу оксидаз

в Оксигенази (гідроксилази)

Включення атома кисню ($O=O$) у структуру S

Донор: молекулярний кисень O_2

Акцептор: перший O – в структуру S з утворенням -ОН
другий O – утворення H_2O

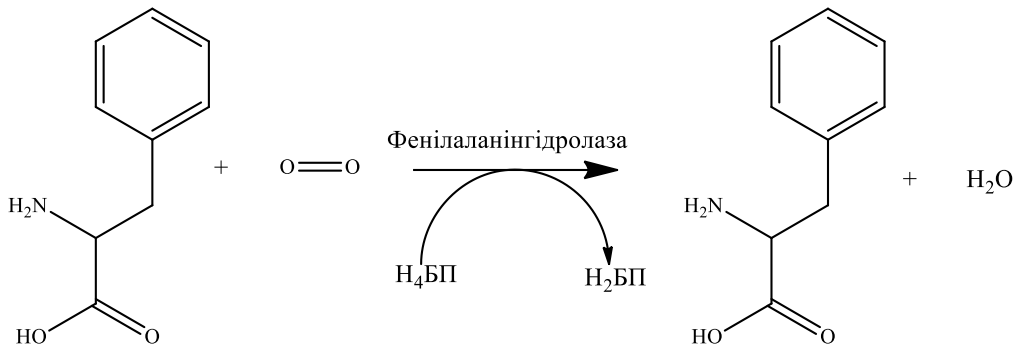


Рисунок 7. ER гідроксилювання фенілаланіну (коферменти: тетрагідробіоптерин (H₄БП) та дигідробіоптерин (H₂БП))

2 Трансферази

ER переносу функціональних груп

а аміотрансферази

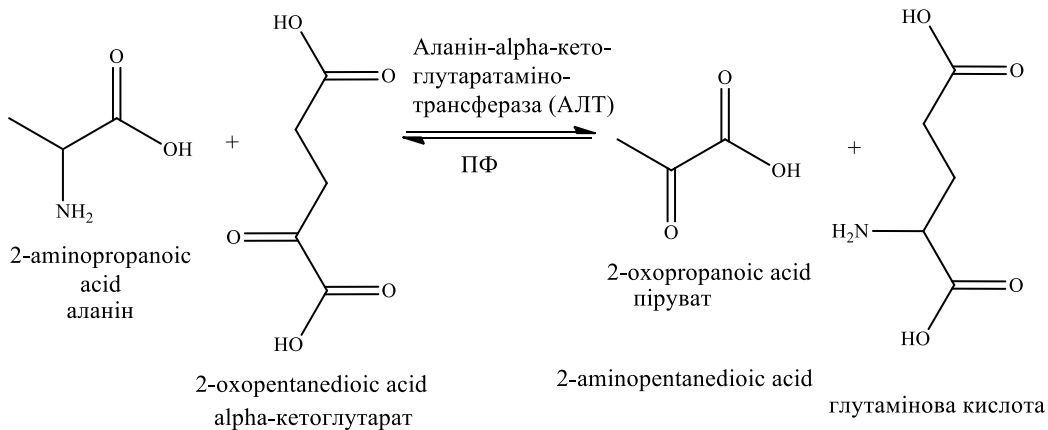


Рисунок 8. Реакція, яка каталізується АЛТ, відноситься до класу трансфераз → аміотрансфераз (ПФ – кофермент піридоксальфосфат)

б ацилтрансферази

в метилтрансферази

г гликозилтрансферази

д кинази (фосотрансферази)

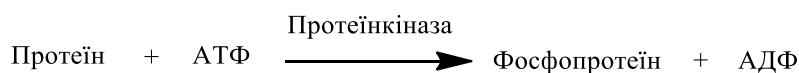


Рисунок 9. Реакція, яка каталізується протеїнкіназою → класу трансфераз → фосфотрансферази

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

Приклад: протеази, амілази, глікозидази, нуклеази, естерази та інші

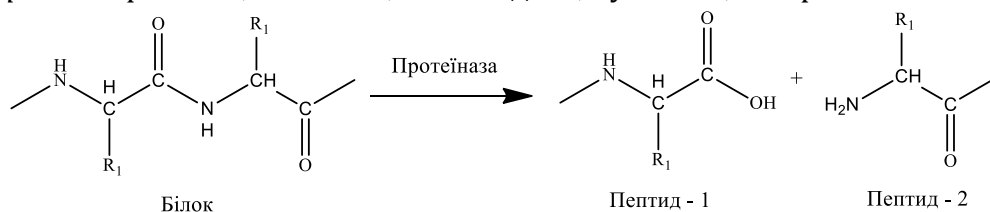


Рисунок 10. Реакція, яка каталізується протеїназою → гідролази

4 Ліази (синтази)

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

Приклад: CO₂, H₂O, NH₂, SH₂ та інші.

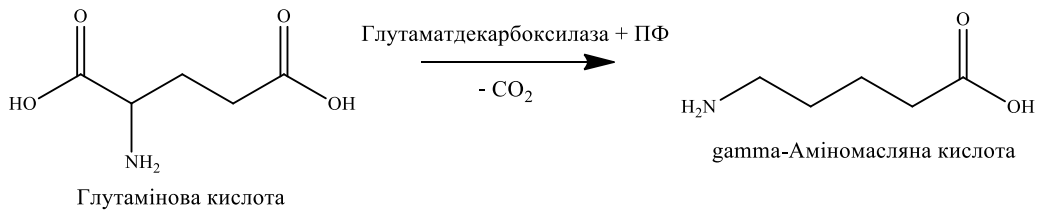


Рисунок 11. Реакція декарбоксилування (ПФ - кофермент піридоксальфталат)

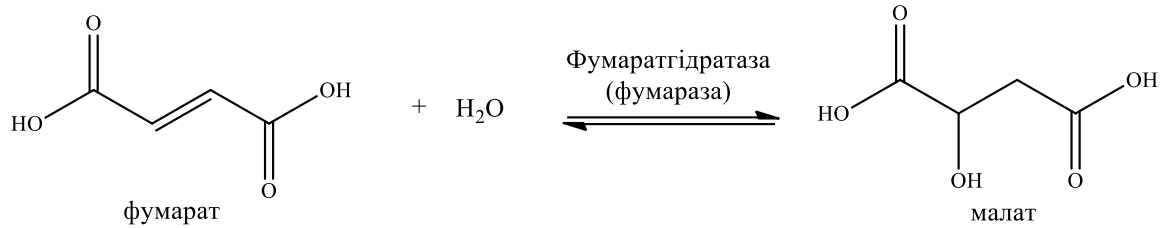


Рисунок 12. Реакція приєднання молекули води до фумарату

5 Ізомерози

Внутрішньомолекулярні реакції трансформації

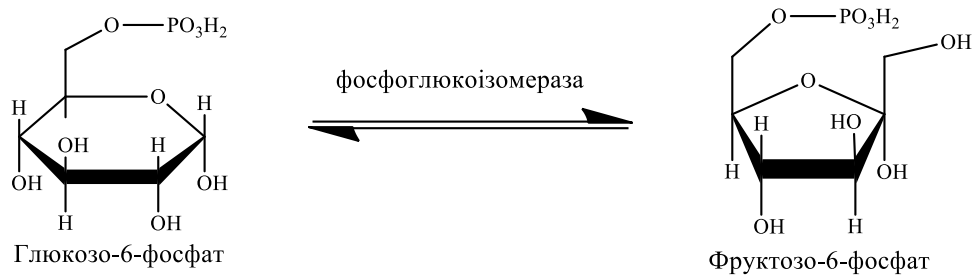


Рисунок 13. Реакція, яка каталізується ферментом фосфоглюкоізомеразою

6 Лігази (синтетази)

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

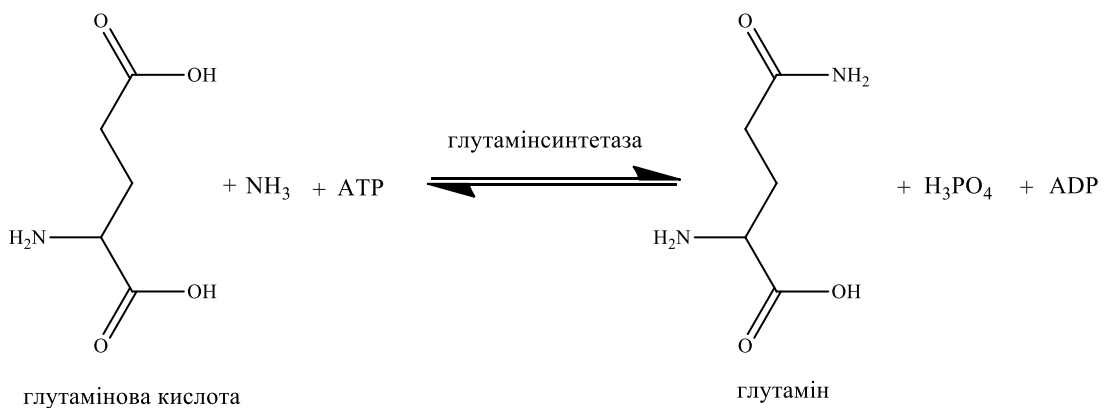


Рисунок 14. Реакція, яка каталізується ферментом глютамінсинтетазою

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:

ME (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. $\text{Пит.ак.} = n(S) / t \cdot m(E)$

Вплив факторів на кінетику процесу

Підвищення температури (T°)

До певної міри зі збільшенням T° збільшується швидкість ER

Оптимум для більшості $T^\circ = 37-38^\circ\text{C}$



Рисунок 15. Залежність швидкості ферментативної реакції V від температури

pH

Вплив через іонізацію функціональних груп амінокислотних залишків E та S.

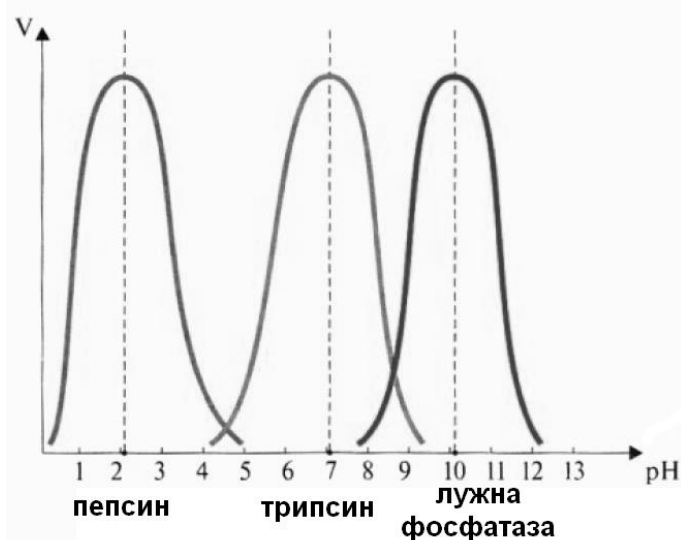


Рисунок 16. Залежність швидкості ферментативної реакції V від pH середовища

Концентрація E та S

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

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

Для постійної концентрації E графік залежності швидкості ER виглядає так:

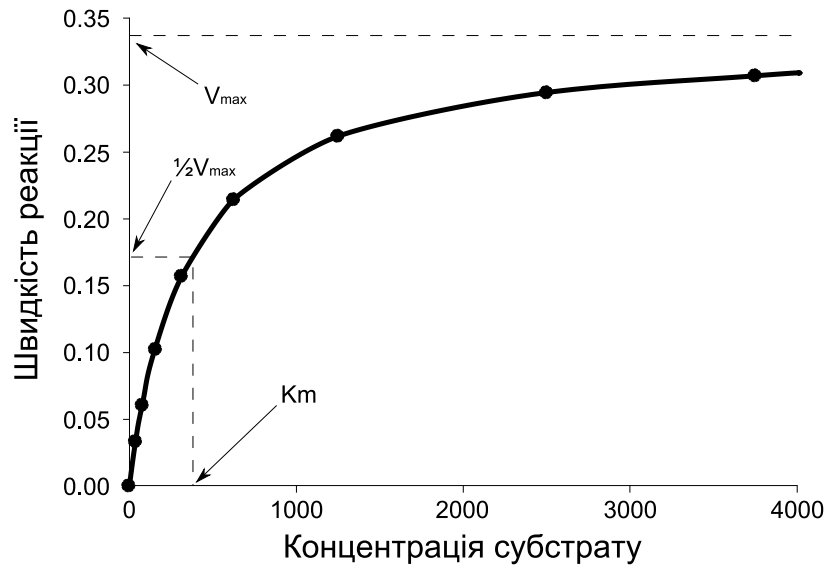


Рисунок 17. Графік залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату

V_{max} - максимальна швидкість реакції за даної температури при даній концентрації ферменту та оптимальних умовах проведення реакції.