

# Тема: ФЕРМЕНТИ



# План



- 1. Історія вчення про ферменти.
- 2. Хімічна природа ферментів.
- 3. Фізико-хімічна характеристика ферментів.
- 4. Механізм дії ферментів.
- 5. Класифікація ферментів.

# *1. Історія вчення про ферменти.*



- Розділ біохімії який вивчає ферменти називається ензимологією. Ензими-ферменти. Розвиток вчення про ферменти можна умовно розбити на кілька етапів.

# Етапи розвитку вчення про ферменти

---

1. Перший етап охоплює період до XVII ст. і характеризується використанням ферментів у практичній діяльності людини (випікання хліба, приготування вина).
2. Другий етап включає період з XVII ст. до середини XIX ст. і пов'язаний з іменем Я.Б. Ван-Гельмонта, який вивчав бродіння цукристих речовин. Він і ввів у науку термін фермент

**Третій етап** починається з другої половини ХІХ ст. і триває до 30-х років ХХ ст.. Пастер розділив усі ферменти на організовані і неорганізовані.

**Організовані** - діють на субстрати при наявності живих клітин (наприклад ферменти дріжджів, що викликають спиртове бродіння).

**Неорганізовані** - ферменти, які виявляли свою дію поза клітинами, що їх утворили (наприклад, пепсин у порожнині шлунка).

□ Наприкінці ХІХ ст. виникла необхідність у систематизації їх назв. Е.Дюкло запропонував при найменуванні ферментів до кореня слова, що означає субстрат, прибавляти суфікс -аза (наприклад, субстрат сахароза, фермент - сахараза ). Г. Бертран у 1897р встановив наявність у молекулах багатьох ферментів речовини, здатної до діалізу-коферменту , або коензиму. Л. Михаеліс і М. Ментен у 1913 р. створюють основи сучасної кінетики ферментативного каталізу. Р. Вільштеттер встановлює одно - та двокомпонентні ферменти. Дж. Самнер у 1926 р. виділяє перший фермент у кристалічному вигляді – уреазу. З цього часу **ІV етап** вивчає структуру молекул коферментів та їх сполуки з білковими носіями.

□ 1955 р. С. Очао здійснив синтез РНК під впливом ферменту полінуклеотидфосфорилази.

□ 1958 р. А. Корнберг виділив полімеразу, під впливом якої синтезується ДНК.

□ 1976 р. Х.Г. Корана синтезує ген із 196 нуклеотидів.

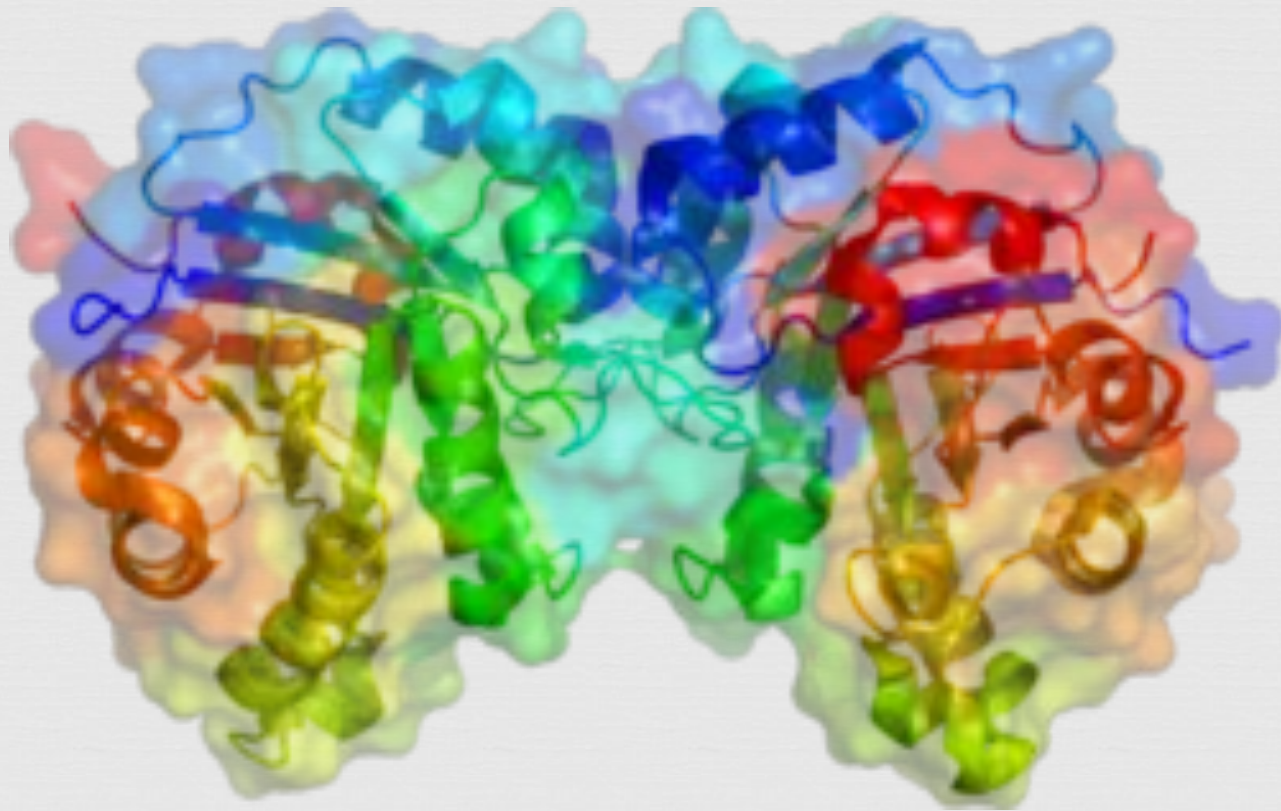
## 2. Хімічна природа ферментів.



- **Ферменти** – це біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються в живих клітинах і мають властивість прискорювати хімічні реакції обміну речовин.

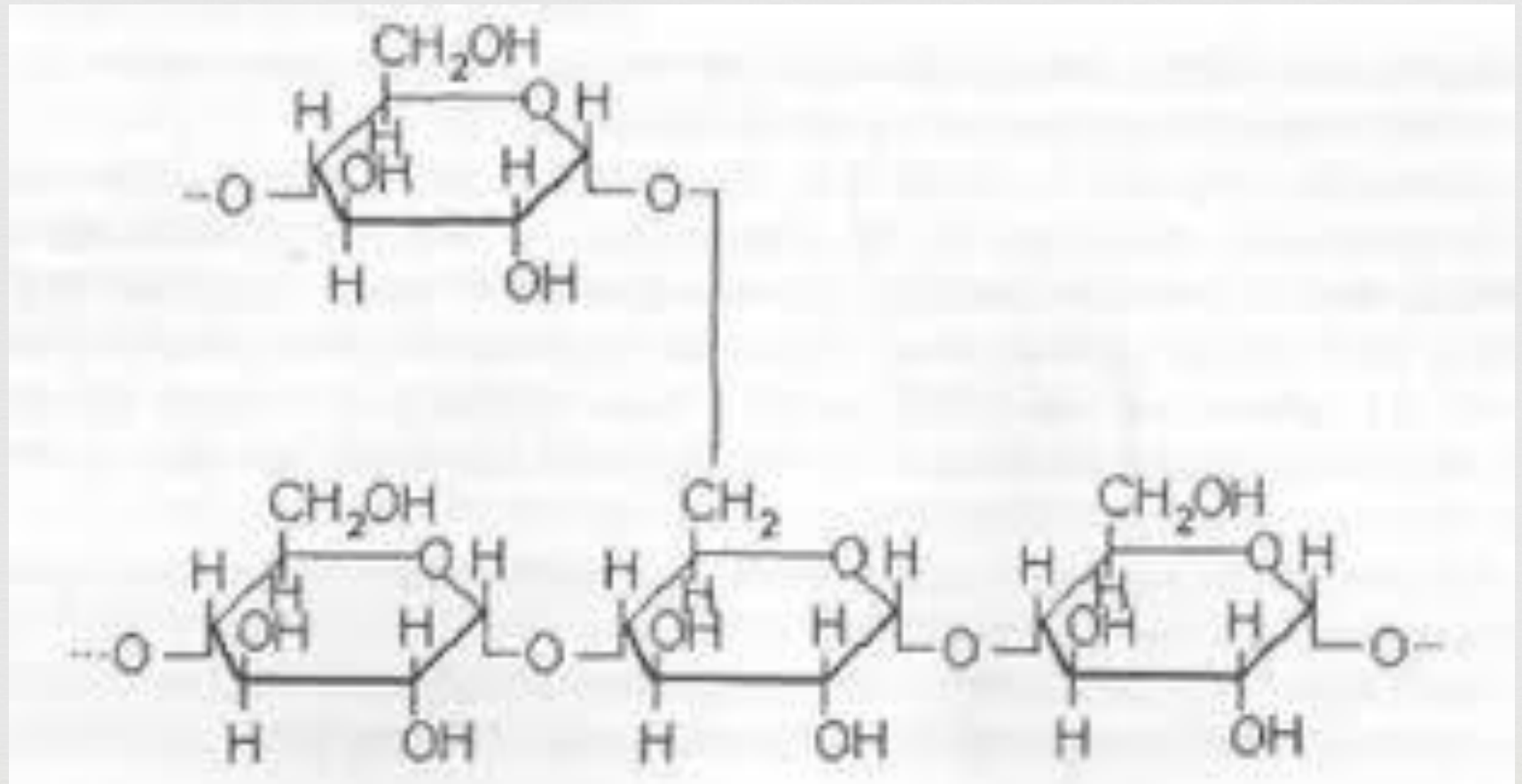
# Просторова структура тріозфосфат-ізомерази

---





# Схема будови молекули амілози



## 2. Хімічна природа ферментів.



- **Ферменти** – це прості і складні білки, так як вони проявляють властивості білків. Для них характерна просторова будова. Третинна та четвертинна структури визначають характер його функції.

## 2.Хімічна природа ферментів.

- **Каталітичний центр** - це динамічне утворення, яке являє собою різні групування, які зумовлюють акт каталізу ( фермент реакції ).
- **Контактна площа** – це місце, яке відповідає за приєднання субстрату.
- **Периферичні частини ферменту** – приймають участь у підтримуванні і формуванні активного центру. Визначають внутрішньоклітинну локалізацію ферменту і його взаємовідносини з іншими органοїдами клітини.
- **Алостеричний центр** - ділянка ферменту, яка зв'язує низькомолекулярні метаболіти, при цьому змінює третинну структуру і інгібірує його активність.

**Метаболіти** – ефектори

## 2.Хімічна природа ферментів.



- **Прості ферменти** по хімічним властивостям відносяться до альбумінів: пептин, естераза, уріаза та інші.
- До **складних ферментів** відносяться складні білки, які складаються з 2-х частин: перша – білкова частина, яка називається **апофермент**, і друга – небілкова частина, яка називається **кофактор**

Кофактор складає 1% від загальної ваги ферменту. За типом зв'язку кофактора з апоферментом їх умовно ділять на **3 види**:



- 1). Якщо зв'язок з апоферментом не дуже міцний і утворюється в момент каталітичного акту, тоді у цьому випадку кофактор називається **коферментом**.
- 2). Якщо зв'язок постійний і міцний, то кофактор називається **простетична група**.
- 3). Якщо кофактор активує фермент, але сам не приймає участь у акті каталізу, то він називається **активатором**.

# Функції кофактора.



- - Формування активного центру.
- - Здійснення контакту між ферментом та субстратом.
- - Переніс атомних груп ( атомів, протонів, електронів ) в ході каталітичного процесу.
- - Зв'язуючи функції між різнорідними ферментами, забезпечує згоду дій.

# Біосинтез ферментів.

Протікає в організмі постійно за схемою:

[ ДНК → РНК ] → [ РНК → рибосома ] → [ біосинтез ферментативного білка ]  
транскрипція            трансляція  
→ [ формування активного ферменту ].

Інтенсивно створює ферменти у період росту тварин. Значна кількість ферментів синтезується у слинних, підшлункових, кишечних залозах. Порушення кількості та якості складу ферменту приводить до патології. Для кожного виду тканини існує певний фермент, який визначається видом, статтю та віком тварини. У ядрі клітини зосереджені ферменти, які приймають участь у обміні нуклеїнових кислот у ядерній мембрані ферменти які приймають участь у транспортуванні окремих сполук і енергії у мітохондріях елементи клітинного дихання.

### 3. Фізико-хімічна характеристика ферментів.



- 1). **Термолабільність** – це вплив температури, висока температура знижає активність ферменту, ферменти денатурують і втрачають активність. Низькі температури уповільнюють активність ферментів, але при підвищенні температури до нормального стану (  $t = 37^{\circ}\text{C}$  ) вони повністю відновлюються.



### 3. Фізико-хімічна характеристика ферментів.

- 2). **Вплив рН** – оптимум ферментів, таке значення рН при якому проявляється найбільша активність:

рН трипсин = 8 – 9

рН уріаза = 7,2 – 8

рН аліаза = 7,2 – 8

рН амілаза = 6,9 – 7

рН каталаза = 7

рН пепсин = 1,5 – 2,5

Якщо зміниться рН, то зміниться фермент і його дія. Групи активного центру ферменту іонізовані. Ступінь їх іонізації залежить від рН, зміна рН змінює іонізацію, окрім того рН впливає на ступінь іонізації субстрату і ферменту субстратного комплексу.

### 3. Фізико-хімічна характеристика

□ 3). **Специфічність ферментів** – визначається набором структур, які можуть перетворюватися під дією ферменту. Специфічність дії ферментів пояснюється збігом просторових конфігурацій активного центру ферменту і субстрату, їх хімічним спорідненням, що призводить до створення фермент - субстратного комплексу або забезпечення каталітичного процесу. **Специфічність буває:** групова, індивідуальна, стереохімічна.

а). **Групова** полягає в дії ферменту на групу речовин з розривом певних хімічних зв'язків ( пепсин, хемопсин, розрив пептидного зв'язку).

б). **Індивідуальна** забезпечує дію ферменту на індивідуальному рівні ( наприклад, уріаза діє на мочевину, розщеплює її до  $\text{NH}_3$  і  $\text{CO}_2$  ).

в). **Сtereохімічна** полягає в дії на один з просторих ізомерів, перетворює з одного виду в інший вид ізомеру.

## 4. Механізм дії ферментів.



**Активатори** – це речовини які підвищують активність ферментів

Бувають: специфічні, неспецифічні.

- **Специфічні** – це ферментні білки, дія яких полягає в відщеплюванні від проферменту інгібіруючих пептидів, при цьому відривається активний центр і формується молекула ферменту.
- **Неспецифічні** – це неорганічні іони  $K$ ,  $Ca$ ,  $Mg$ ,  $Co$ ,  $Cl_2$ .

**Інгібітори** – це речовини які сповільнюють дію ферментів

**Паралізатори** – це речовини які блокують дію ферментів.

## 4. Механізм дії ферментів.

---

□ Існує 2 види інгібування:

1). **конкурентне** – це коли інгібітор взаємодіє з поверхнею ферменту подібно субстрату і займає його місце. Переводить фермент в неактивний стан.

2). **неконкурентне** – це коли інгібітор приєднується до ферментсубстратного комплексу і не дозволяє перетворенню в кінцеві продукти реакції і визволенню ферменту.

# *Властивості ферментів і обратимість дії ферментів.*



- Ферменти – як каталізатори каталізують прямі і обратимі реакції. Наприклад, пепсин при рН = 1,5-2,5 розщеплює пептидні зв'язки, а при рН = 5-6 він сприяє синтезу білків з амінокислот. Ця властивість дозволяє організму економно використовувати пластичні та енергетичні матеріали. А клітини і тканини одержують біологічно активні речовини у певні періоди існування і функціонування.

# Кінетика і механізм дії ферментів



- Ферментативна реакція підкоряється закону дії мас. Підвищується швидкість реакції, відбувається у наслідок зміни активації молекул субстрату. Енергія активації характеризується енергетичним бар'єром, який необхідно перебороти молекулам, щоб здійснити хімічну взаємодію. Задача ферментів знизити енергетичний бар'єр, тобто зменшити енергію активації.

- 1. Теорія ферментативного каталізу була розроблена Михаелісом-Ментеном. Між субстратом і ферментом виникає зв'язок, в результаті чого виникає фермент-субстратний комплекс, в якому компоненти пов'язані між собою ковалентним, іонним, водневим і др. зв'язками.
- 2. Субстрат під впливом приєднаного ферменту активізується і стає доступним для відповідних реакцій каталізу.
- 3. Відбувається каталіз і формується нестабільний перехідний комплекс.
- 4. Вивільняється молекула ферменту і створюються продукти реакції.

Щоб відбувся механізм дії ферменту температура, рН, споріднення до електрону, наявність активаторів і інгібіторів, специфічні.

# Неактивний комплекс.



Субстрат має свій енергетичний бар'єр.  
Задача ферменту знизити енергетичний бар'єр.

Активний комплекс – макроергичним сполукам ( вільна енергія ).

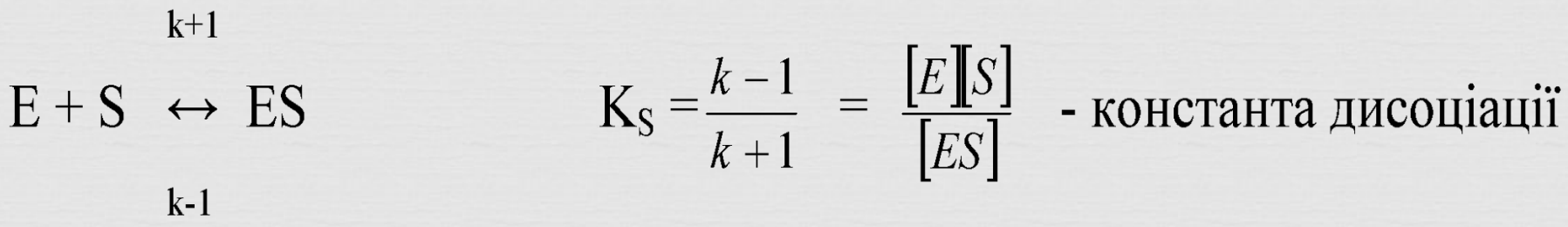


## □ Кінетика ферментативної реакції.

Кожна хімічна реакція відбувається з певною швидкістю.

□ Ферментативна кінетика – розділ хімічної кінетики, який вивчає залежність швидкостей ферментативних реакцій від хімічної природи реагуючих речовин та умов їх взаємодії і концентрації компонентів, рН, складу середовища, температури, дії активаторів або інгібіторів.

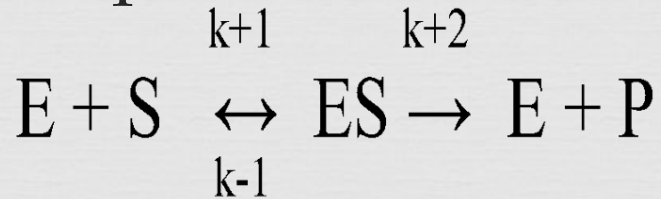
□ Розрізняють кілька типів ферментативних реакцій: **необоротні** реакції з одним субстратом, **необоротні** реакції з двома субстратами і т.д., оборотні реакції з одним субстратом.



При однакових вихідних концентраціях ферменту і субстрату концентрація комплексу [ ES ]

$$[ ES ] = \frac{[E][S]}{K_s} \text{ вивчає ступінь спорідненості ферменту і субстрату.}$$

- У другій фазі ферментативного каталізу фермент-субстратний комплекс розпадається на фермент E і продукт реакції P .



- Для повної характеристики ферментативного процесу використовують константу Міхаеліса  $K_m$

$$K_m = \frac{k-1+k+1}{k+1}$$

# Швидкість ферментативних реакцій виражають у **каталах** ( кат. ).

- Швидкість ферментативної реакції визначається умовами її перебігу  $V = k + 2 [ E ]$ , якщо недостатньо насичений фермент субстратом  $V = k + 2 [ ES ]$ , то  $V = k+2$ , якщо  $[ S ] \gg [ E ]$ , то

$$[ ES ] = \frac{k + 1[S][E]_0}{k - 1 + k + 2 + k + 1[S]}$$

# Застосовуючи константу Михаеліса

---

$$[\mathbf{ES}] = \frac{[S][E]_0}{[S] + k_m}$$

тоді

$$\mathbf{V} = \frac{k + 2[E_0][S]}{k_m + [S]}$$

Коли  $[S] \gg k_m$ , то  $V = \frac{k + 2[E_0][S]}{k_m + [S]} \approx V_{\max}$ ,

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{k_m + [S]}$$

# 5. Класифікація ферментів.



- За основу взятий принцип класифікації ферментів за типом хімічної реакції, які вони каталізують.

# *Усі відомі ферменти поділяються на 6 класів:*

---

- 1 - оксидоредуктази
- 2 - трансферази
- 3 - гідролази
- 4 - ліази
- 5 - ізомерази
- 6 - лігази ( синтетази )

- Кожний **клас** поділяється на **підкласи**, які діляться на **підпідкласи**, що складаються з **окремих представників**. Єдина система класифікації ферментів основана на чотиризначному десятковому кодi, згідно з яким класом, підкласом, підпідкласом та індивідуальним ферментам присвоюють номери ( цифри ).
- У наш час користуються двома номенклатурами – **тривіальною ( робочою )** та **систематичною**.



- 1. **Оксидоредуктази** - це ферменти які прискорюють окисно-відновні процеси. До них належать пероксидази, оксидази, каталази.
  
- 2. **Трансферази** – прискорюють реакції перенесення окремих атомних груп з одного виду молекул на інші. Під впливом фосфотрансфераз переносить залишки фосфорної кислоти від аденозінфосфату на глюкозу або фруктозу. Належить : аміотрансферази; трансферази, що переносять одновуглецеві залишки та інші.

- 3. **Гідролази** – каталізують розщеплення з участю води, внутрішньомолекулярні зв'язки в білках, вуглеводах, жирах на прості сполуки. Таке розщеплення називається **гідролізом**. Представники гідролази, що діють на складноєфірні зв'язки на гідролізні сполуки, **пептид – гідролази**.
  
- 4. **Ліази** – ферменти, які прискорюють реакції негідролітичного відщеплення від субстрату і приєднання певних груп атомів з утворенням подвійних зв'язків.

- 5. **Ізомераз**и – каталізують ізомерацію молекул різних органічних сполук, що відіграють важливу роль у обміні речовин.
- 6. **Ліази** – ферменти, які каталізують з'єднання двох молекул, що супроводжуються розщепленням пірофосератного зв'язку в АТФ ( глутамінсинтеаза, карбосилоза ).