

Лекція №8

ФЕРМЕНТИ - БІОЛОГІЧНІ КАТАЛІЗАТОРИ БІЛКОВОЇ ПРИРОДИ

План

1. Будова та властивості ферментів
2. Класифікація ферментів

Усі хімічні процеси, що відбуваються в живому організмі, прискорюються специфічними каталізаторами, які одержали назву *ферментів*, або *ензимів*.

З ферментами людина знайома дуже давно: зсідання молока при виготовленні сиру, хлібопечення, пивоварство, виноробство, виробництво спирту і цілий ряд технічних процесів базуються на дії ферментів.

Речовини, стійкі при звичайних умовах, в організмі під дією ферментів легко розщеплюються. Наприклад, вуглеводи, жири і білки за звичайних умов можуть знаходитися без помітних змін протягом тривалого часу. Для їх розщеплення поза організмом потрібна висока температура (кип'ятіння) і застосування сильних реагентів (концентровані мінеральні кислоти, луги). Процес розщеплення при цьому триває декілька діб, іноді навіть кілька тижнів. Потрапляючи в організм, ці речовини під впливом відповідних ферментів дуже швидко (протягом кількох годин) підлягають розщепленню з утворенням більш простих сполук.

За своєю природою всі ферменти - *білки*. Доказом білкової природи ферментів є ряд їх фізико-хімічних властивостей, характерних для білків. Ферменти так само, як і білки, у розчині знаходяться в колоїдному стані, є амфотерними електролітами. При додаванні нейтральних солей, особливо сульфату амонію, ферменти випадають в осад, тобто висолюються. Під впливом високої температури, сильних кислот і лугів, солей важких металів і інших чинників, що викликають денатурацію білків, ферменти денатурують і втрачають каталітичні властивості. Важливим доказом

білкової природи ферментів є розщеплення їх пепсином і трипсином - ферментами, що розщеплюють білки.

ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Ферменти - термолабільні сполуки. Це означає, що під дією високих температур вони денатурують. Спочатку при підвищенні температури активність їх різко знижується, потім зовсім припиняється. При 80°C ферменти руйнуються. Виняток становлять лише окремі ферменти, що витримують температуру 100°C і при цьому не руйнуються. За низьких температур (нижче 0°C) ферменти припиняють свою дію, але не руйнуються. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальною температурою дії є 37-40°C.

Таким чином, чутливість до температури - характерна властивість ферментів, що пояснюється їх білковою природою.

Кожний фермент проявляє свою максимальну дію при відповідній концентрації водневих іонів, тобто при певному значенні рН, яке одержало назву *рН-оптимуму*. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальне значення рН знаходиться в слабо-кислому або слабо-лужному середовищі. Проте відомі ферменти, що проявляють максимальну активність при рН=1,5-2,5 (наприклад, пепсин шлункового соку) і при рН=8,00 (наприклад, хімотрипсин дванадцятипалої кишки).

Зміна каталітичної активності ферменту за різних значень рН пояснюється в першу чергу зміною тієї просторової конфігурації, за якої проявляються його каталітичні властивості.

Однією з найважливіших особливостей, що відрізняє ферменти від інших каталізаторів, є висока *специфічність* їх дії. Вона полягає в тому, що кожний фермент діє на певну речовину (субстрат) або на декілька близьких за своєю хімічною структурою речовин. Залежно від того, може фермент каталізувати одну реакцію (діяти тільки на одну речовину) чи декілька (діяти на групу близьких за будовою речовин), розрізняють

абсолютну і відносну специфічність. Прикладом абсолютно специфічного ферменту може бути фермент уреаза, який розщеплює сечовину на вуглекислий газ і аміак. Навіть на таку близьку до сечовини речовину, як тіосечовина, уреаза вже не діє. Більшість ферментів має відносну специфічність. До таких ферментів належать естерази, які розщеплюють ефірні зв'язки, протеолітичні ферменти травного каналу, що розщеплюють пептидні зв'язки в білкових молекулах, ліпази та ін.

Серед ферментів є також і такі, що проявляють свою дію залежно від просторової конфігурації, тобто мають *просторову* специфічність. Так, ферменти, які окиснюють D-амінокислоти, не окиснюють їх L-форми. Слід підкреслити, що специфічність будь-якого ферменту завжди проявляється в чітко визначених умовах, зокрема, при певній концентрації іонів водню.

Ферменти прискорюють перебіг хімічних реакцій як убік розщеплення якоїсь речовини, так і вбік її синтезу, тобто діють в обох напрямках.

Крім температури і значення рН, на активність ферментів впливає ще цілий ряд чинників, серед яких велике значення має концентрація субстрату. За малих концентрацій субстрату реакція відбувається з малою швидкістю, з підвищенням концентрації швидкість реакції поступово зростає і за певних значень стає постійною. Відбувається процес так званого насичення ферменту субстратом. Подальше збільшення концентрації субстрату призводить до уповільнення реакції. Велике значення для швидкості реакції має і концентрація самого ферменту. За оптимальної концентрації речовини швидкість реакції прямо пропорційна концентрації ферменту в розчині.

На активність ферментів впливають хімічні сполуки, що знаходяться в реакційній системі. Одні з них підвищують активність ферментів і називаються *активаторами*. Ними можуть бути катіони металів і аніони кислот: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- і ін. Активаторами ферментів можуть бути також органічні речовини. Наприклад, ліпаза підшлункової залози,

яка розщеплює жири, активується жовчними кислотами. Відомі випадки, коли активність ферментів підвищується при додаванні до розчину невеликих кількостей білків, які самі по собі не мають властивостей ферментів.

Речовини, що знижують активність ферментів, називаються *інгібіторами*. Ними є, наприклад, катіони важких металів.

БУДОВА ФЕРМЕНТІВ

Ферменти як речовини білкової природи діляться на прості і складні, або, як їх ще називають, ферменти-протеїни і ферменти-протеїди.

Ферменти-протеїни складаються тільки з амінокислот. У більшості з них до складу молекули входить один поліпептидний ланцюг, який має характерну вторинну структуру у вигляді α - і β -спіралей (іноді вони мають третинну і четвертинну структури). За хімічними властивостями прості ферменти відносять до альбумінів, глобулінів та інших груп простих білків.

Ферменти-протеїди складаються з двох частин: термолабільної білкової і термостабільної небілкової. Білкова частина складного ферменту називається *апоферментом*, небілкова - *кофактором*. Комплекс кофактора з апоферментом називається *холоферментом*. Зв'язок між апоферментом і кофактором у молекулах складних ферментів неоднаковий. У багатьох випадках кофактори слабо зв'язані з апоферментом, з'єднуються з ним тільки під час ферментативної реакції і легко відокремлюються в процесі діалізу. У цьому разі кофактор називають *коферментом*. Деякі кофактори сполучені з апоферментом дуже міцним ковалентним зв'язком. Такий кофактор називають *простетичною групою*. Проте проводити чітку межу між коферментом і простетичною групою не можна, оскільки в складі одного ферменту-протеїду кофактор може бути міцно сполучений з апоферментом, у складі іншого - слабо. Тому такий розподіл є умовним.

Особливо слід підкреслити, що апофермент каталітично не активний,

кофактор має дуже слабку активність. Повноцінний фермент, або активний каталізатор, утворюється тільки як результат з'єднання коферменту з апоферментом. При цьому специфічні властивості ферменту і швидкість реакції обумовлюються тільки білковою частиною, а перетворення субстрату, перенесення атомів, електронів, різних функціональних груп здійснюються коферментом. Як правило, у ролі коферментів виступають вітаміни і їх похідні. Крім вітамінів, роль коферментів виконують також іони деяких металів (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} і ін.).

Функції коферментів різноманітні. Головною з них, як буде показано нижче, є формування так званого *активного центру* ферменту і здійснення контакту молекули ферменту з молекулою субстрату. Крім того, коферменти беруть участь у переносі електронів, протонів, атомів, амінних груп у процесі реакцій, а також виконують об'єднуючу функцію між окремими ферментами, забезпечуючи тим самим узгодженість їх дії.

Спеціалізовані центри ферментів. Молекули ферментів мають великі розміри (загалом більші, ніж субстрати) і складну просторову конфігурацію. У молекулі ферменту розрізняють три спеціалізованих центри: активний, субстратзв'язуючий і алостеричний. При цьому кожна частина молекули строго спеціалізована, тобто виконує певну роль.

Активний центр - це динамічне утворення. У простих ферментів він являє собою унікальне об'єднання залишків певних амінокислот, які розміщені в різних місцях поліпептидного ланцюга молекули білка. Такими залишками є радикали гістидину, серину, аргініну, триптофану, цистеїну, тирозину, аспарагінової і глутамінової кислот. У молекулах простих ферментів активний центр виникає в результаті того, що поліпептидний ланцюг молекули білка набуває такої конфігурації, за якої радикали зазначених вище амінокислот з'являються поруч. Утворюється своєрідна "кишеня", в якій відбуваються каталітичні перетворення субстрату. Такою конфігурацією, як правило, є третинна структура поліпептидного ланцюга. Таким чином, активний центр ферментів

протеїнів виникає в той момент, коли білкова молекула набуває характерної для неї третинної структури. Тому зміна цієї структури може викликати деформацію або руйнацію активного центру й ослаблення ферментативної активності.

У складних ферментів роль активного центру виконує його небілкова частина, тобто кофактор, а також прилягаючі до нього білкові функціональні групи: HS^- - цистеїну, OH^- - серину, COOH^- - аспарагінової і глютамінової кислот, імідазольне кільце гістидину й ін.

Активний центр, утворений радикалами зазначених амінокислот або кофактором, характеризується чіткою геометричною конфігурацією. У зв'язку з цим даний фермент може проявляти свою каталітичну дію на субстрат, який знаходиться в точній геометричній відповідності до структури активного центру, подібно до того як ключ підходить до замка.

Відповідністю будови активного центру ферменту і субстрату пояснюється висока специфічність ферментів. Тільки субстрат певної будови може увійти у тісний контакт з активним центром ферменту.

У молекулах ферментів розрізняють також спеціалізовані ділянки, які відповідальні за зв'язок зі субстратом. Їх називають ще субстратзв'язуючим (субстратним) центром, або "якірною" площадкою. Як встановлено на даний час, прикріплення субстрату до цієї ділянки в одних ферментів відбувається в результаті взаємодії субстрату з ϵ -аміногрупою амінокислоти лізину, в інших - із ділянкою вільної COOH -групи глютамінової кислоти і HS -групою цистеїну, які розташовані, як правило, у субстратному центрі молекули ферменту.

Установлювати чітку межу між активним і субстратним центром, проте, не можна, оскільки в природних ферментах субстратний центр може збігатися або перекриватися з активним. Уявлення про наявність у молекулах білків певних ділянок допомагає краще зрозуміти каталітичну функцію ферментів.

У молекулах ферментів є також ділянки, розташовані на деякій

відстані від активного і субстратного центрів. Їх називають *алостеричними, або регуляторній*, центрами. До цих центрів можуть приєднуватися різні речовини, викликаючи при цьому зміну просторової конфігурації молекули ферменту. Як наслідок, відбувається зміна конфігурації й активного центру, що супроводжується збільшенням або зменшенням каталітичної активності ферменту. Через алостеричний центр на активність ферменту можуть впливати різні регуляторні чинники, якими виступають продукти ферментативних реакцій, гормони і продукти їх обміну, медіатори нервової системи й ін. Регуляторні чинники, що підвищують активність ферментів, називають *алостеричними активаторами*, що знижують її — *алостеричними інгібіторами*.

На даний час виявлено десятки ферментів, що мають алостеричні центри. Такі ферменти називають алостеричними, або регуляторними, тобто ферментами активність яких регулюється. У поліферментних системах регуляторні ферменти, як правило, першими починають каталітичні перетворення субстрату і припиняють свою дію під впливом кінцевого продукту ферментативних реакцій. У цьому разі регульований вплив на активність алостеричного ферменту кінцевим продуктом називається *принципом зворотного зв'язку*. Цей принцип лежить в основі молекулярної саморегуляції більшості ферментативних процесів (біосинтезу білків, глікогену, окиснення вуглеводів і т.д.).

КЛАСИФІКАЦІЯ І НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТІВ

Висока специфічність дії ферментів зумовлює дуже велику їх кількість. Майже кожна реакція, що відбувається в живому організмі, здійснюється за участю специфічно пристосованого до неї ферменту або групи ферментів. На даний час відомо біля 2000 різних ферментів, і кількість їх продовжує збільшуватися.

Всі відомі реакції, що відбуваються в організмі, були поділені на шість основних типів. Відповідно до шести типів хімічних реакцій усі

відомі ферменти діляться на шість класів:

1. Оксидоредуктази - ферменти, що каталізують окисно-відновні реакції, тобто перенесення електронів і атомів водню від однієї речовини (донатора) до іншої (акцептора). У результаті реакцій, що каталізуються оксидоредуктазами, клітини одержують хімічну енергію.

Оксидоредуктази - це складні ферменти. Кофакторами в їх складі можуть бути нікотинамідні коферменти (НАД і НАДФ), флавіннуклеотиди (ФМН і ФАД), залізорпорфіринові комплекси (гем) і багато катіонів (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і ін.). Зазначені кофактори спроможні виконувати роль акцепторів електронів і атомів водню і передавати їх іншим речовинам.

2. Трансферази - клас ферментів, що каталізують транспорт різноманітних хімічних груп від однієї речовини (донатора) до іншого (акцептора).

3. Гідролази - ферменти, що каталізують реакції розщеплення речовин за участю води. Каталітична активність цих ферментів залежить від наявності в їх каталітичному центрі HS-груп. Гідролази дуже поширені в природі і беруть участь в обміні вуглеводів, жирів, білків та інших сполук.

4. Ліази - ферменти, що каталізують реакції негідролітичного відщеплення певних груп з утворенням подвійних зв'язків або приєднання групи в місці подвійного зв'язку. Ці реакції здійснюються без використання енергії макроергичних сполук. Ліази, як правило - складні ферменти, що містять як кофактори фосфорні ефіри водорозчинних вітамінів.

5. Ізомерази - ферменти, що каталізують реакції внутрішньомолекулярного переміщення різних груп або реакції утворення ізомерів. Типовим прикладом ферментів цього класу є тріозофосфатізомераза. Даний фермент зворотно перетворює 3-фосфогліцеринний альдегід у діоксіацетонфосфат.

6. Лігази (синтетази) - ферменти, за участю яких здійснюється

приєднання одна до одної двох молекул із використанням енергії АТФ і утворенням нових зв'язків. Лігази називають ще синтетазами, оскільки вони є каталізаторами синтетичних реакцій. Це складні ферменти. Кофактором багатьох із них є вітамін Н, або біотин.

Відповідно до нової номенклатури назви ферментів складаються з двох частин. Перша частина вказує на назву субстрату, друга - на природу хімічної реакції, яку здійснює фермент, із додаванням суфіксу *-аза*. Якщо фермент каталізує реакцію між двома субстратами, то в першій частині назви ферменту дають назви обох субстратів, розділених двома крапками, в другій — вказують тип хімічної реакції з додаванням суфіксу *-аза*.