



Кафедра біологічної хімії

Введення у біохімію.

Будова і фізико-хімічні властивості білків-ферментів. Класифікація і номенклатура ферментів. Механізм дії ферментів і кінетика ферментативних реакцій.

Регуляція активності ферментів. Медична ензимологія.

Біохімія* – наука, що займається вивченням різних молекул, хімічних реакцій і процесів, що протікають в живих клітинах і організмах.



***Термін «біохімія» - 1903 рік К. Нейберг**

Біохімія людини – розділ біохімії, який вивчає:

- 1. хімічний (молекулярний) склад тканин і органів людини;**
- 2. біохімічні реакції, що протікають в клітинах і міжклітинній речовині в процесі життєдіяльності (метаболізм) в нормі та патології (клінічна біохімія, патохімія) з метою метаботропних втручань і профілактики при ряді захворювань.**



Здорова людина.

Десятки тисяч **біохімічних** реакцій, які протікають за нормальними (фізіологічними) умовами

Хвора людина.

Усі захворювання викликаються 8 причинами і всі вони реалізуються через **біохімічні** процеси



**Фізичні
агенти**

**Хімічні
агенти**

**Біологічні
агенти**

**Дисбаланс
харчування**

**Генетичні
фактори**

**Іммунологічні
реакції**

**Ендокринний
дисбаланс**

Гіпоксія



Біомолекули – біоорганічні сполуки, що **входять до складу клітинних і позаклітинних структур** та вступають в процес обміну речовин

Ксенобіотики – будь-які речовини (сполуки), які в нормальних (фізіологічних) умовах **не є структурними компонентами клітин і позаклітинної речовини**, але можуть вступати в процес метаболізму, потрапляючи в організм людини зовні (**лікарські засоби**)



Обмін речовин (**метаболізм**) - сукупність процесів синтезу біомолекул (**анаболізм**) та їх розпаду (**катаболізм**), які пов'язані з поглинанням (**ендергонічні реакції**) або Вивільненням (**екзергоніетичні реакції**) енергії, тобто **обміном енергії**



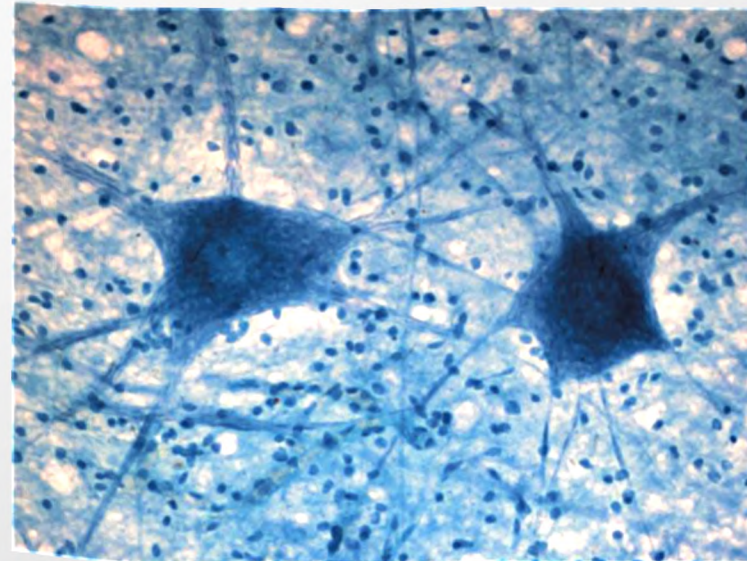
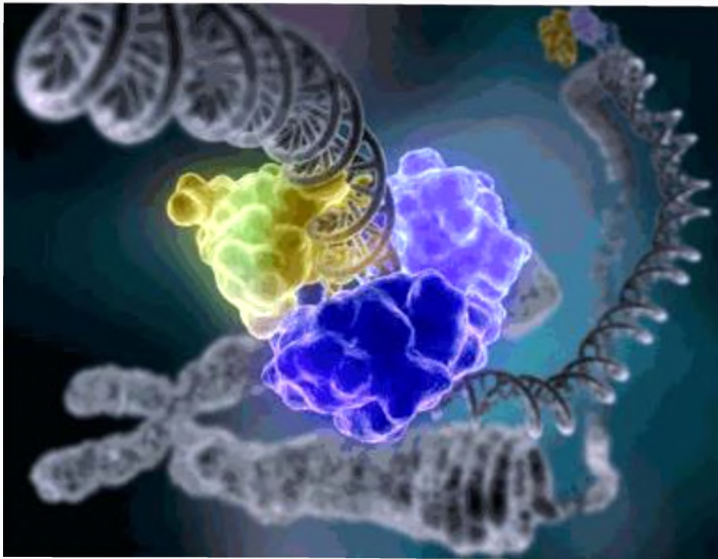
Компоненти біохімічної реакції:



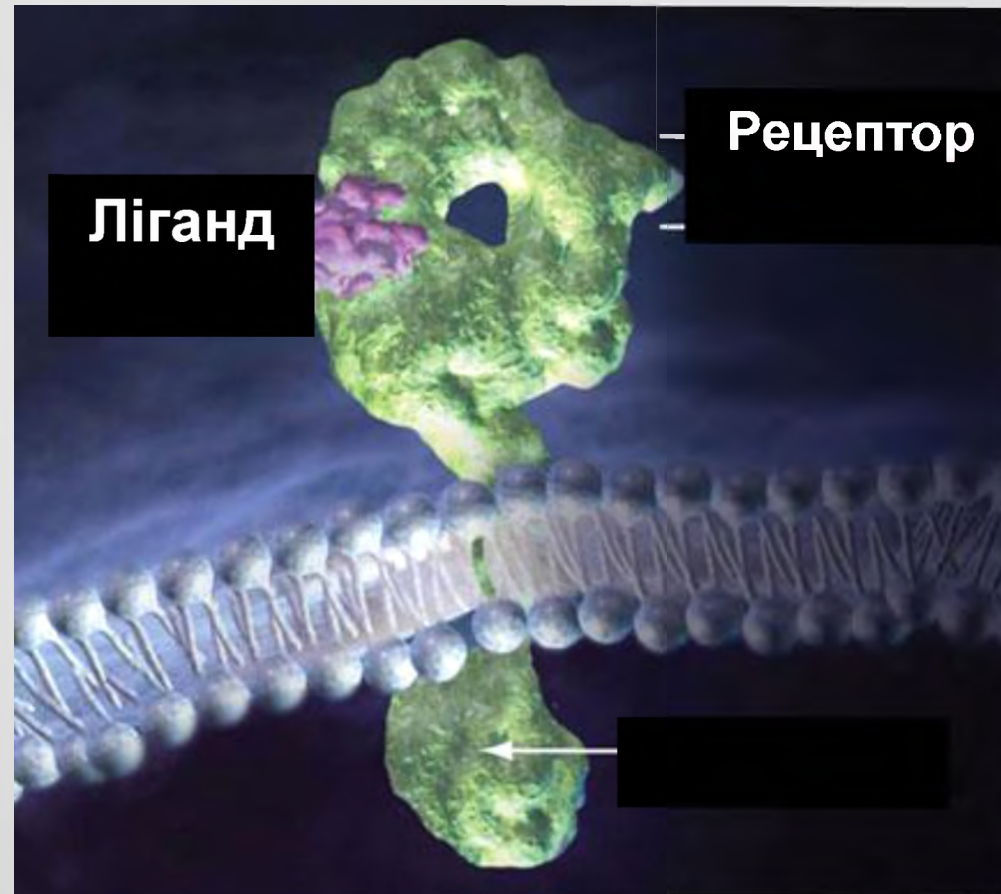
1. Субстрати (вихідні біомолекули), **S**;
2. Продукти реакції, **P**;
3. Проміжні продукти реакції (нестійкі), **P***;
4. Біологічні каталізатори білкової природи – ферменти, **E**.

Регуляція біохімічних реакцій здійснюється:

1. Впливом на ферменти (*ферментативні реакції*)
2. Впливом на середовище реакції (*для неферментативних процесів*)

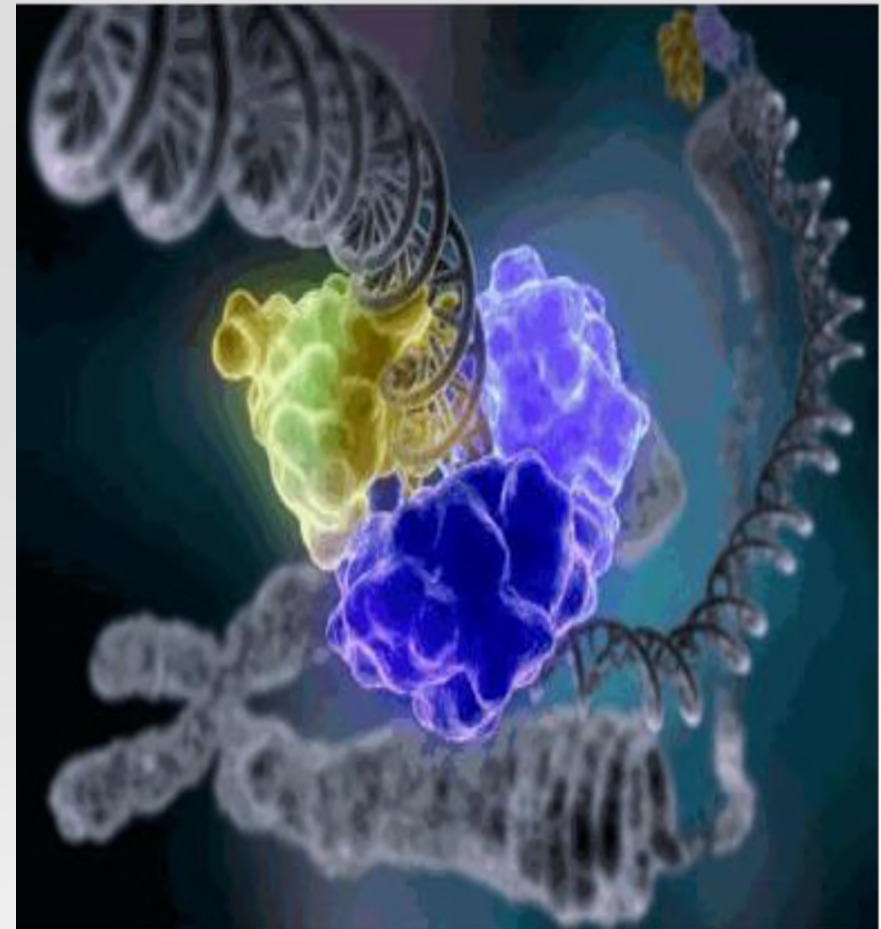


В основі будь-якого типу фізіологічної **регуляції** лежить **взаємодія** між **рецептором** (білкова молекула на поверхні клітини) та **лігандом** (як правило, низькомолекулярна сполука, біологічно активна речовина, метаболіт)



Фермент (від лат. *fermentatio* – бродіння) або **ензим** (грец. *en zyme* – в заквасці, в дріжджах) -

біологічний каталізатор білкової природи, який синтезується тільки в клітинах, забезпечує певну швидкість протікання біохімічної реакції, а також її спрямованість, що впорядковує процеси обміну конкретних субстратів.



Особливі властивості ферментів

1. Значно **збільшують** швидкість біохімічної реакції (**мають «сверхактивність»**)
2. Характеризуються **високою специфічністю** дії та селективністю (**вибірковістю**)
3. Виявляють властивості **білків**
4. Є **об'єктами регуляції**

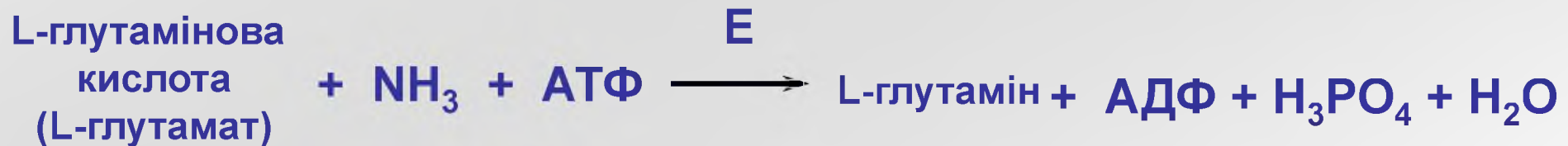
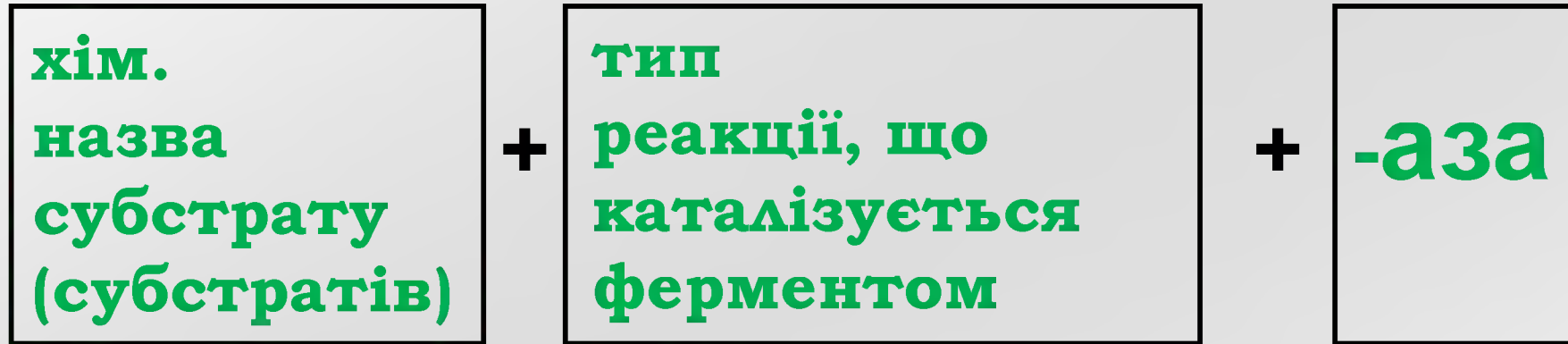
НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТІВ

1.Тривіальна:

- історично прийнята назва (пепсин, тромбін, папаїн та ін.)
- назва субстрату з додаванням закінчення **-аза** (амілаза від *amylum* - крохмаль, уреаза от *ureum* - сечовина)

НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТІВ

2. Систематична:



Назва фермента (Е)

Л – г л у т а м а т : а м і а к – л і г – а з а

субстрати

Тип реакції
(конденсація)

Класифікація ферментів

за типом реакції, що каталізується

№ класу	Клас	Підклас	Тип реакції, що каталізується
1	Оксидоредуктази <u>С.Н.</u> донор: акцептор + оксидоредуктаза	17 (в залежності від групи - донора H^+)	ОВР різних типів
2	Трансферази <u>С.Н.</u> донор: група, що транспортується + трансфераза	8 (в залежності від групи яку переносять)	Міжмолекулярний пере-ніс різних хімічних груп від донора до акцептора

Класифікація ферментів

за типом реакції, що каталізується

№ класу	Клас	Підклас	Тип реакції, що каталізується
3	Гідролази <u>с.н.</u> субстрат-гідролаза	11 (в залежності від виду зв'язку, що гідролізується)	Гідроліз різних зв'язків
4	Ліази <u>с.н.</u> субстрат-ліаза	7 (в залежності від типу зв'язку, який розщеплюється C-C, C-O, O-P та ін.)	Розщеплення ковалентних зв'язків негідро-літичним шляхом

Класифікація ферментів

за типом реакції, що каталізується

№ класу	Клас	Підклас	Тип реакції, що каталізується
5	Ізомерази <u>с.н.:</u> субстрат – тип ізомерії + ізомераза, (цис-трансізомер-аза, мутаза, рацемаза)	6 (в залежності від типу ізомеризації)	Внутрішньо-молекулярні перетворення (ізомеризація молекул)
6	Лігази (синтази, синтетази) <u>с.н.:</u> X: Y + лігаза, де X, Y – вихідні сполуки	5 (в залежності від типу утвореного зв'язку)	Синтез біомолекул за рахунок утворення нових зв'язків з використанням енергії АТФ

Oxidoreductases **1 Only** 

Transferases **2 the** 

Hydrolases **3 healthy** 

Lyases **4 lead** 

Isomerases **5 invigorating**

Ligases **6 lives!** 

Translocases **7 ?**

Ферменти:

1. **Однокомпонентні (апоферменти)** - складаються лише з простого білка (**гідролази**)
2. **Двокомпонентні або холоферменти** містять в складі:
 - **апофермент** - білкова частина,
 - **кофермент (коензим)** - небілкова частина, яка пов'язана з апоферментом **нековалентними** зв'язками) або
 - **простетичну групу** - небілкова частина, яка пов'язана з апоферментом **ковалентними** зв'язками

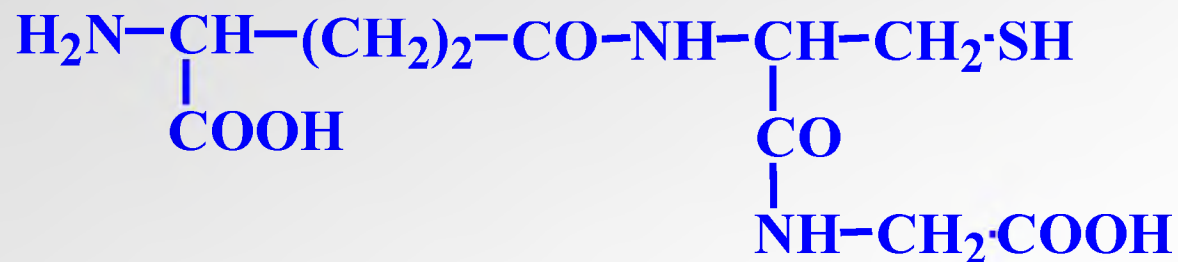
Функції коферментів та простетичних груп:

- 1. Участь в елементарному акті каталіза**
- 2. Здійснення контакту між ферментним білком і субстратом**
- 3. Стабілізація апофермента**

Класифікації коферментів і простетичних груп:

1. За хімічною структурою

- а) іони металів: Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mo^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{+} и др. (кофактори)
- б) комплекси порфіринов з іонами металів
- в) похідні вітамінів
- г) динуклеотиди: НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД
- д) пептиди: глутатіон



γ-глутаміл-цистеїніл-гліцин

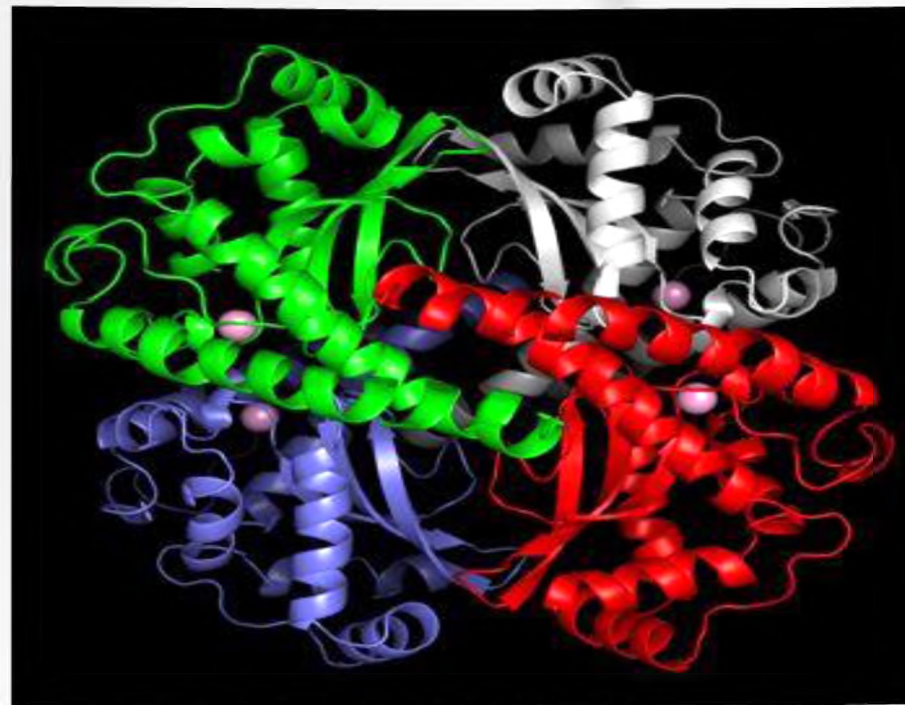
Класифікації коферментів і простетичних груп:

2. За типом реакції, що каталізується

- а) переносники атомів Н і електронів**
- б) переносники різних хімічних груп**
- в) кофактори синтезу, ізомеризації та розщеплення С-С зв'язків**

Олігомерні ферменти – складаються з декількох **субодиниць** (протомерів), об'єднаних в **четвертинну структуру**

(у кількості 2, 4, 6)
виконують як
каталітичні, так і
регуляторні функції



Супероксиддисмутаза
(СОД, 1.15.1.1)

Ізоферменти – група ферментів, які каталізують **одну й ту саму** біохімічну **реакцію**, але **відрізняються** за хімічною **структурою** (складом АК), **фізико-хімічними властивостями** (М, електрофоретична рухливість) й каталітичною **активністю**, а також мають **різну** **тканинну локалізацію** в організмі.

ЛДГ1 НННН	ЛДГ2 НННМ	ЛДГ3 ННММ	ЛДГ4 НМММ	ЛДГ5 ММММ
СЕРЦЕ	————	ЛЕГЕНІ	————	ПЕЧІНКА

Структурно-функціональна організація ферментів

1. Несуча частина– функціонально інертні ділянки поліпептидного ланцюга, які не беруть участі в каталізі і його регуляції, але об'єднують та впорядковують структуру фермента.

2.Активний центр – ділянка фермента, яка взаємодіє з субстратом при ферментативній реакції; складається з наступних компонентів:

а) якірна (контактна) ділянка – зв'язується з субстратом за рахунок залишків амінокислот

б) каталітична ділянка– приймає безпосередню участь у перетворенні субстрату

Сер, Гіс, Глу, Асп, Цис, Тир, Трп,
Ліз, Фен, Вал, Лей, Іле, Арг

Схематичне зображення фермента



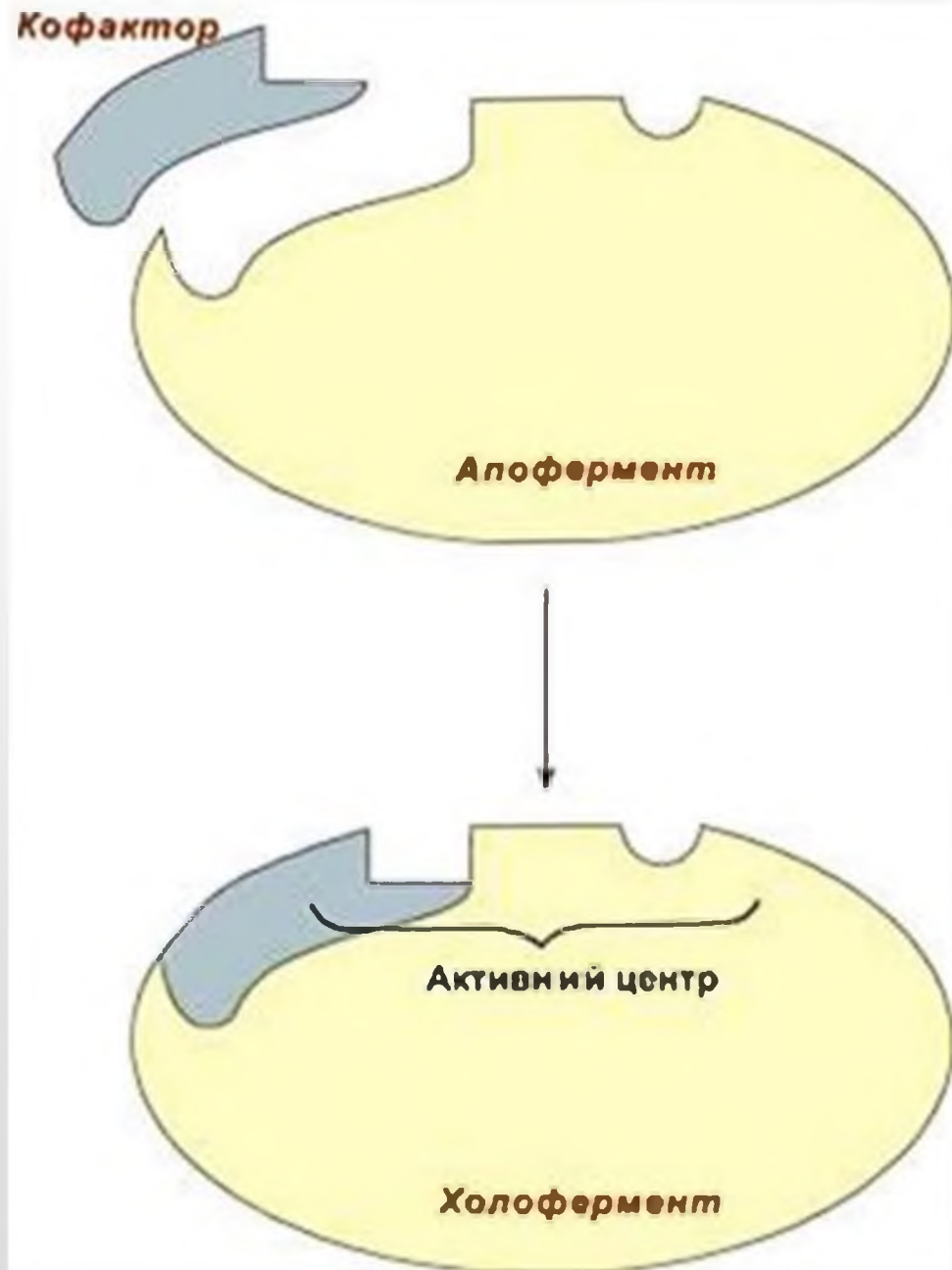


Схема формування складного фермента

У складних ферментів (холоферментів) в активному центрі обов'язково розташовані функціональні групи кофактора

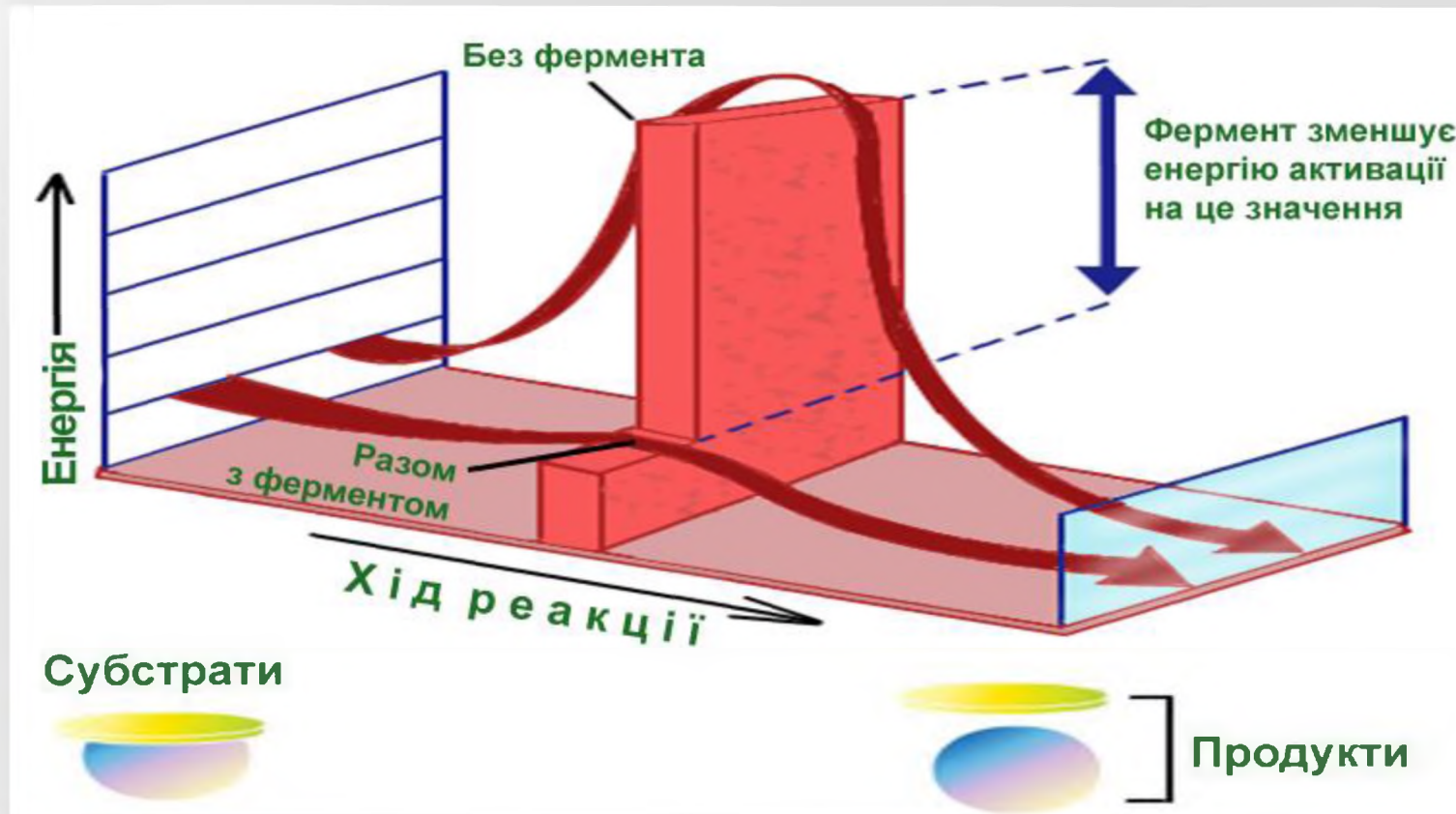
3.Алостеричний (регуляторний) центр – просторово віддалений від активного центру, бере участь у регуляції активності фермента за рахунок зміни конформації активного центра після зв'язування з регуляторними молекулами (активаторами та інгібіторами)

Один фермент може мати декілька алостеричних центрів.

Схематичне зображення алостеричного фермента



Еволюційне значення ферментативного каталізу полягає в **економії енергетичних витрат** (при здійсненні перетворення субстрату) за рахунок **зниження енергії активації** біохімічної реакції

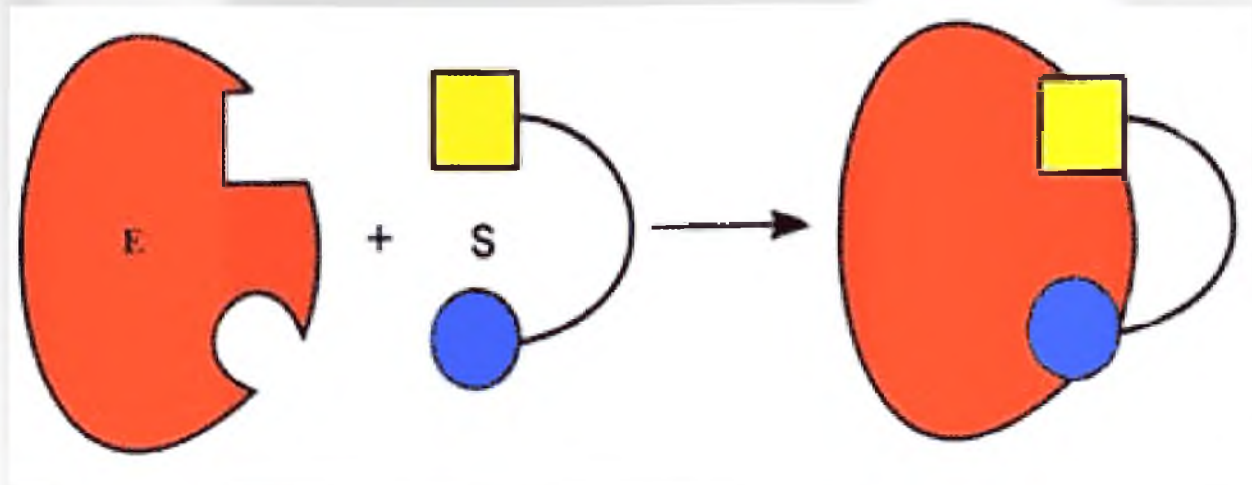


Стадії ферментативного каталіза

1 стадія

Дифузія субстрата до фермента та стеричне зв'язування його с активним центром

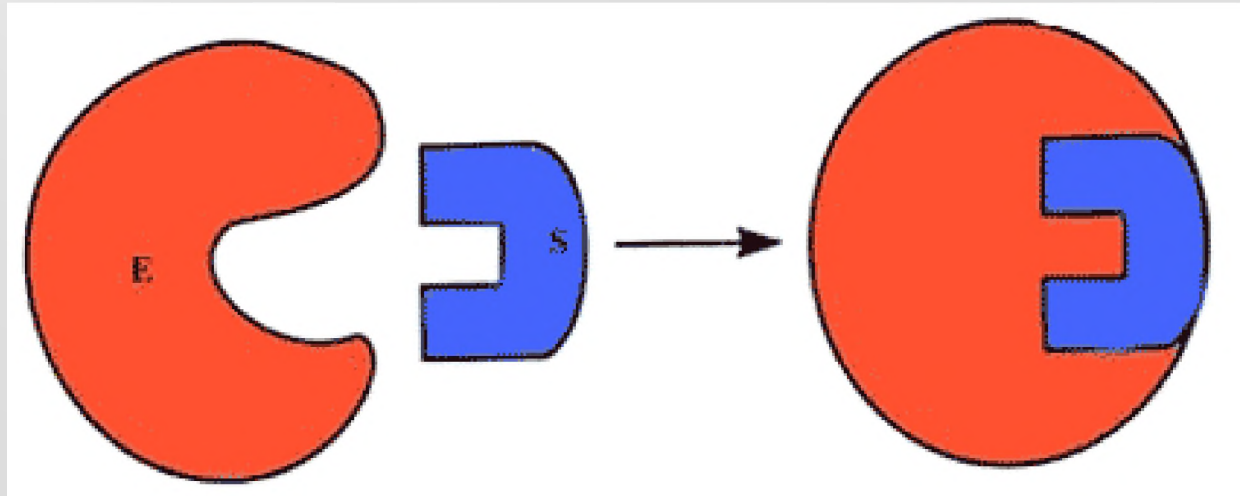
- «Ключ до замку» - теорія Е.Фішера про сувору специфічну відповідність у просторовій організації молекули субстрату і структури активного центру



Стадії ферментативного каталізу

1 стадія

- «Модель індукованої відповідності» Д.Кошланда: «... компліментарність між просторовими структурами субстрата і активного центру виникає тільки після їх взаємодії ...»



Результатом 1 стадії є утворення проміжного фермент-субстратного комплексу (ФСК)



Стадії ферментативного каталізу

2 стадія – утворення активованого фермент-субстратного комплексу:

➤ **активація субстрату:**

зближення і орієнтація молекул субстрату з функціональними групами активного центру (електростатична взаємодія, водневі зв'язи)

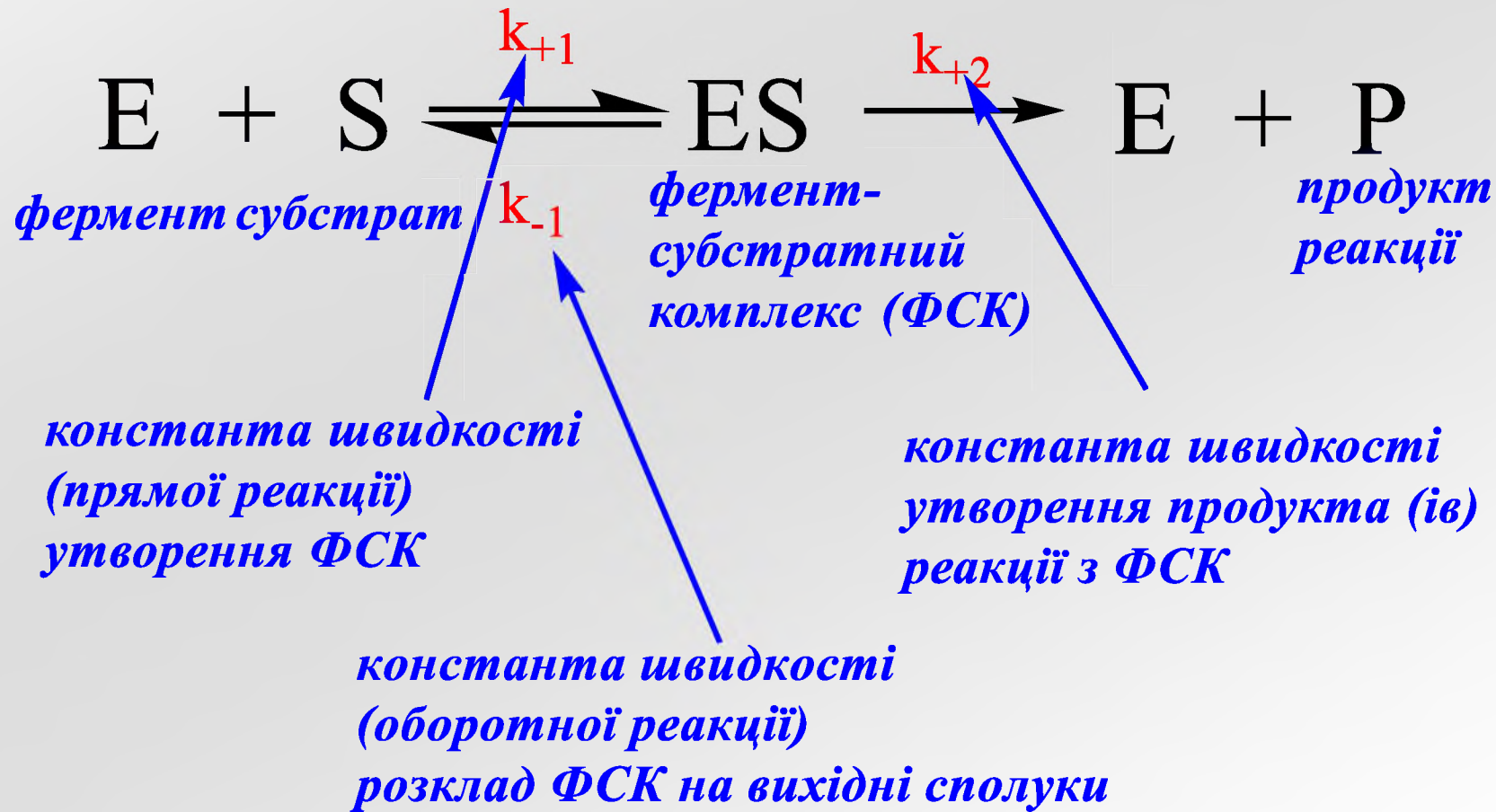
утворення активованого комплексу:

кисотно-основна взаємодія певних амінокислотних радикалів (кислоти і основи Бренстеда), нуклеофільна і електрофільна взаємодія (кислоти і основи Льюїса) - загальний кислотно-основний каталіз

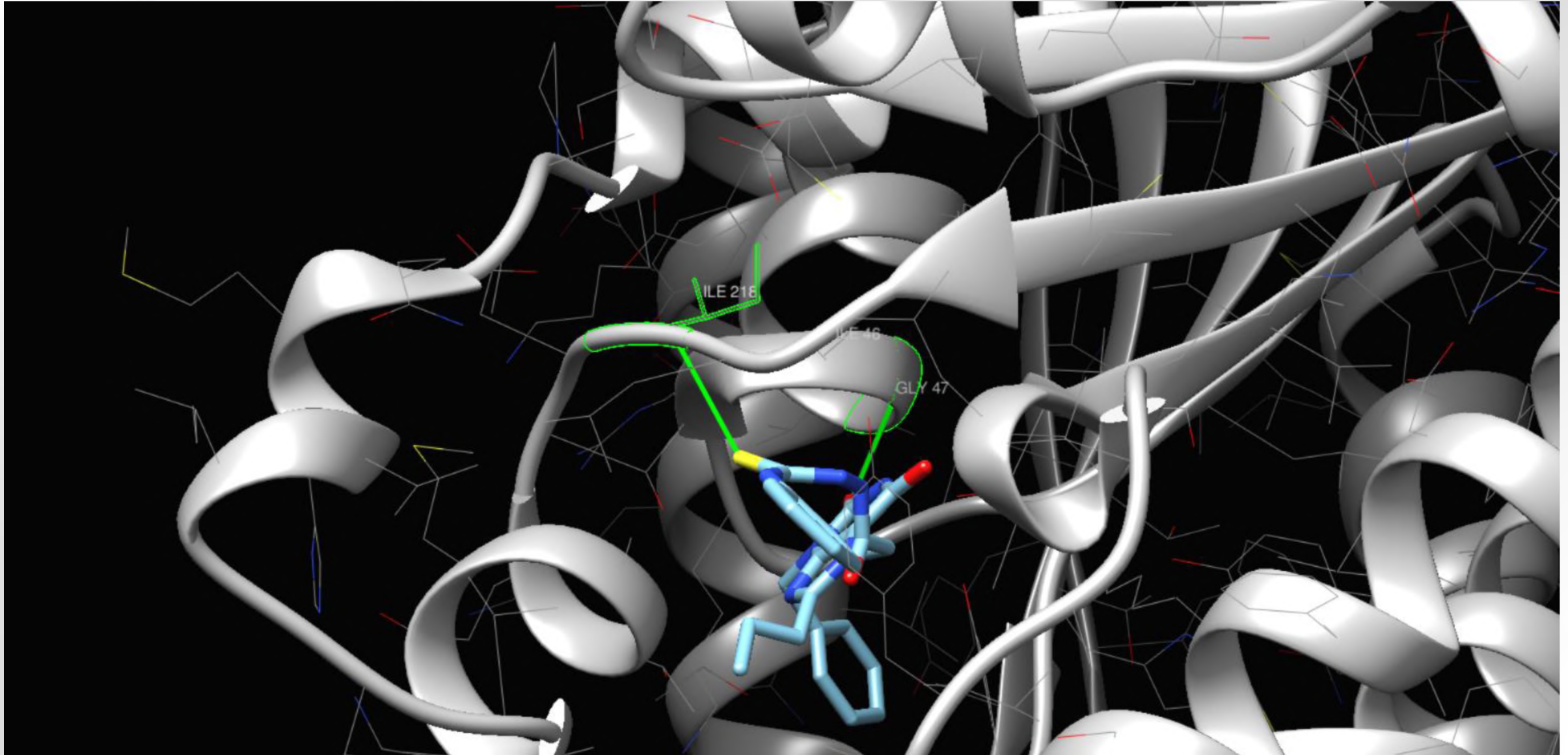
Стадії ферментативного каталізу

3 стадія - вихід (вивільнення) продуктів реакції з ферментного комплексу (за рахунок стеричної невідповідності між ними і активним центром)

Рівняння ферментативного каталізу:



Ензим – 11- β -HSD type1 (rcsb.org/structure/3qqr), ліганд-інгібітор -
фенілтіосемікарбазон 3-бензил-8-пропілксантиніл-7 етанової кислоти, метод –
EADock (swissdock.ch), візуалізація - UCSF Chimera (cgl.ucsf.edu/chimera/)



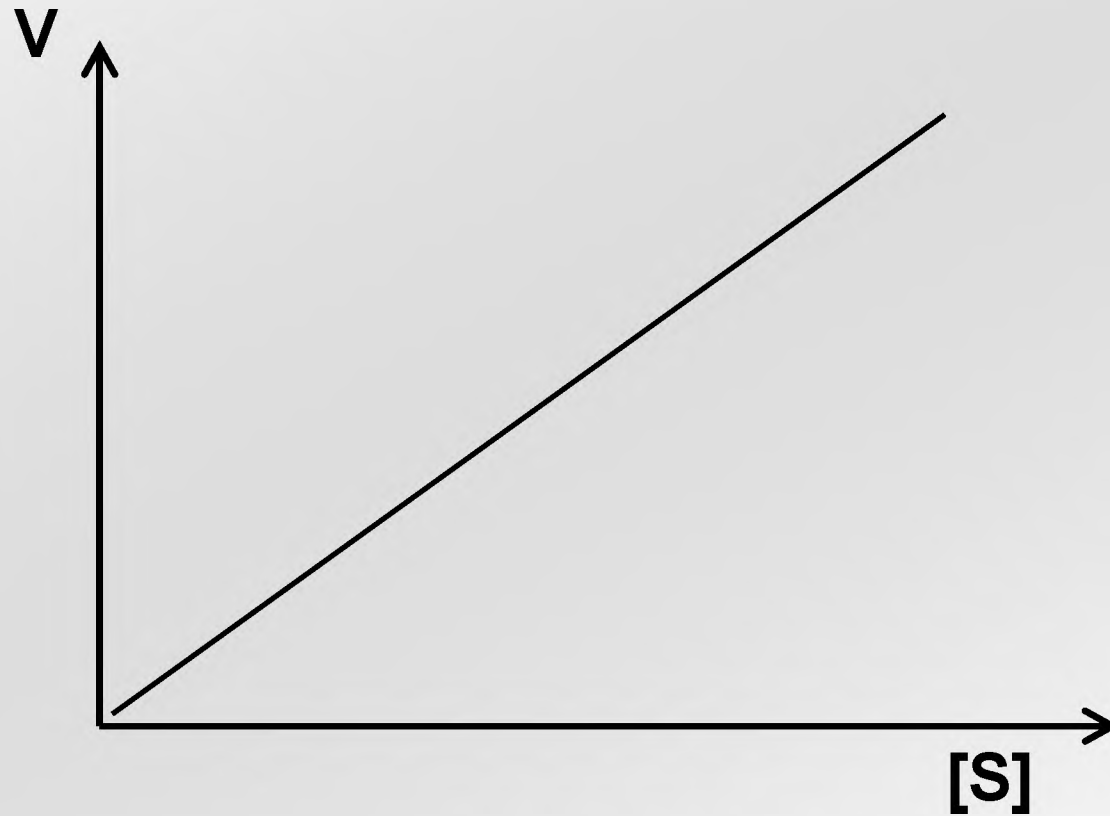
Константа, яка характеризує **спорідненість фермента до субстрату** і визначає активність даного фермента має назву **Константа Міхаеліса (K_M)**

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}, \text{ моль/л } S$$

Чим **активніше** фермент, тим **нижче** значення його **K_M**

Фактори, які впливають на швидкість ферментативної реакції:

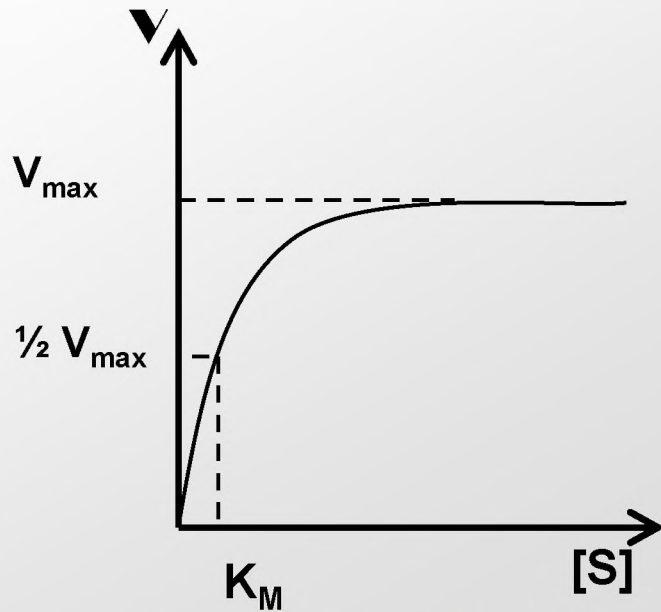
1. Концентрація фермента:



$$V = k \cdot [E]$$

При надлишку субстрату!!!

2. Концентрація субстрату:



Гіпербола Міхаеліса-Ментен



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

*Рівняння
Міхаеліса-Ментен
(Бріггса-Холдейна)*

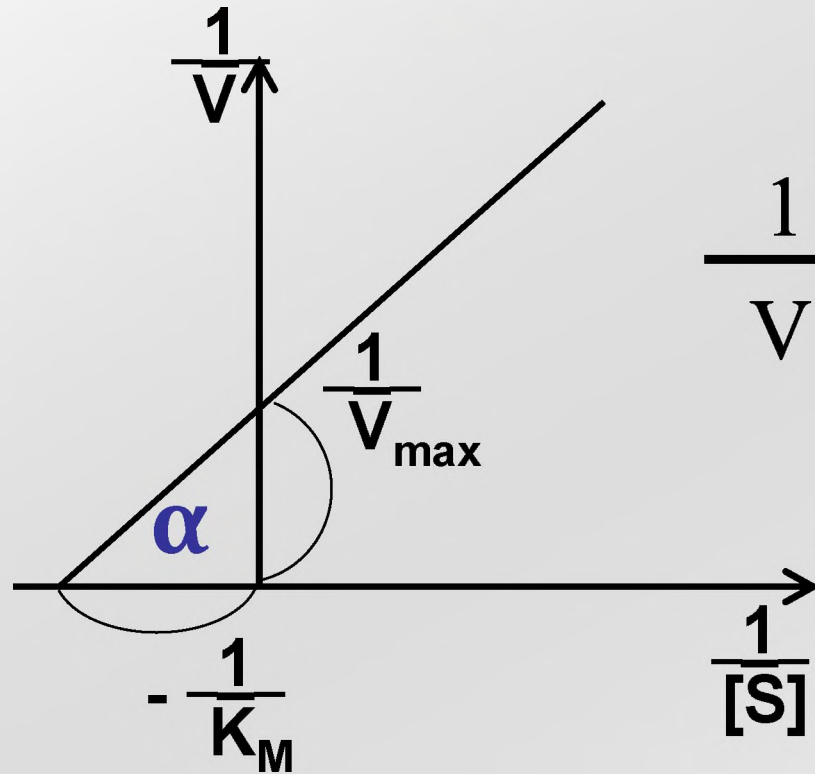
Якщо $[S] = K_M$, $V = \frac{V_{\max}}{2}$

Якщо $[S] \ll K_M$, $V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M}$

Якщо $[S] \gg K_M$, $V = V_{\max}$

Фактори, які впливають на швидкість ферментативної реакції:

Графік і рівняння Лайнуївера-Берка

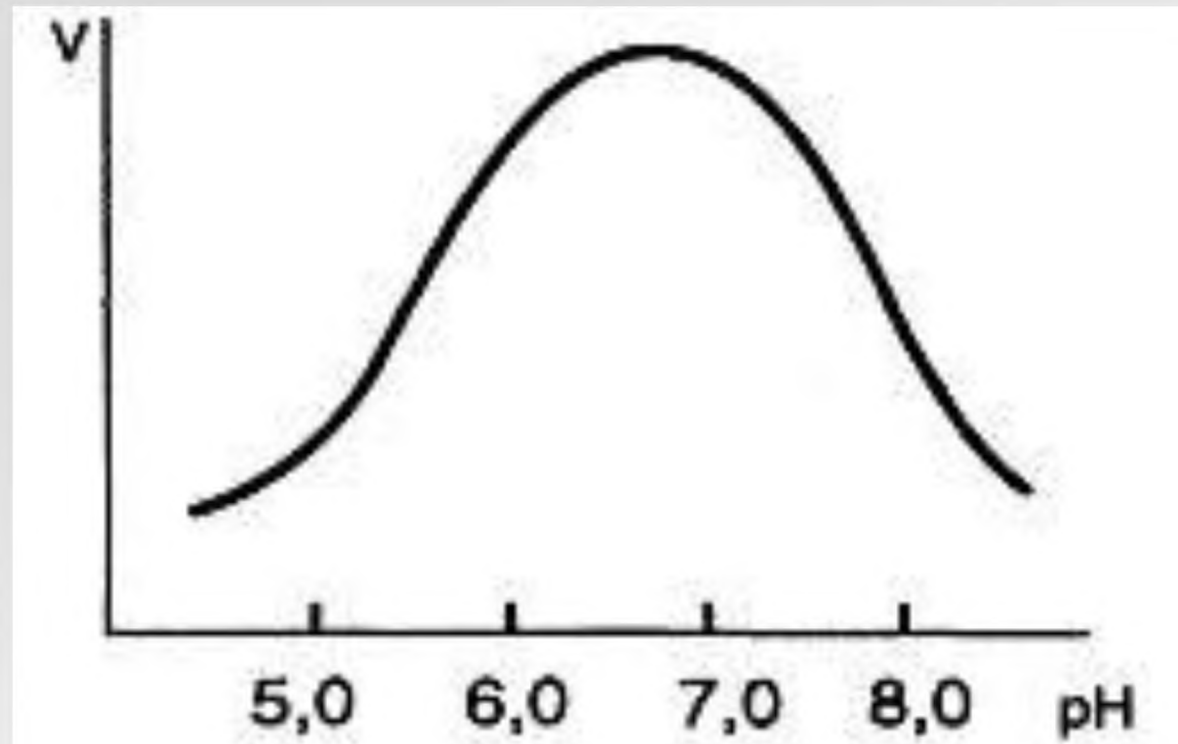


$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

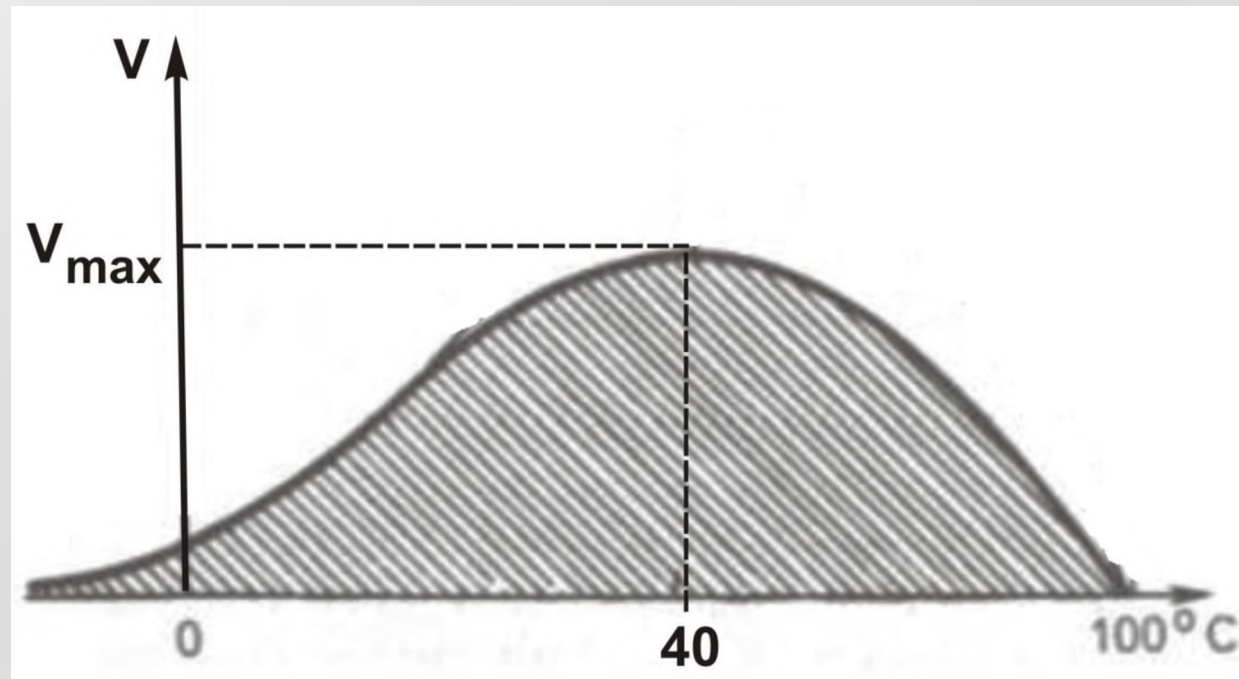
$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{K_M}{V_{\max}}$$

**3. Концентрація продуктів реакції
(ретроінгібування)**

4. *pH* Кожен фермент має свій *pH*-оптимум, тобто значення *pH* середовища, при якому каталітична активність максимальна (зазвичай в межах *pH* 5,0-8,5)



5. Температура. Збільшення температури до оптимальних значень (для більшості ферментів 37-40°C) збільшує V .



6. Наявність в реакційному середовищі **інгібіторів і активаторів ферментів**

Специфічність дії ферментів

1. Стереоспецифічність – каталіз лише одного з стереоізомерів;

2. Абсолютная специфічність – фермент каталізує перетворення одного субстрата з певною структурою

3. Групова специфічність – каталіз субстратів із загальними структурними особливостями, тобто при наявності певного зв'язку або хімічної групи.

4. Відносна групова специфічність – перетворення субстратів з деякими спільними ознаками.

Активність фермента розраховується за швидкістю накопичення продукту (або швидкості зменшення субстрату) в перерахунку на час та кількість матеріалу, що містить фермент.

$$\text{Активність фермента} = \frac{\text{Кількість отриманого продукту або субстрата, що зникнув}}{\text{Час роботи фермента} * \text{Маса або об'єм проби}}$$

Одиниці активності ферментів:

1. Абсолютна активність (чистого фермента)

а) стандартна одиниця активності фермента U.

$$1 \text{ U} = 1 \text{ мкмоль (продукта або субстрату) / хв}$$

б) катал (кат), система СІ

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль/с}$$

2.Питома активність фермента (практична медична ензимологія) - кількість одиниць фермента в 1 л біологічної рідини (кров, сеча тощо) в U/л або в 1 мг білка в ферментному препараті U/мг білка.

3.Молярна активність (число обертів) – число молекул субстрату, які перетворюються 1 молекулою фермента в секунду.

Регуляція активності ферменту забезпечується :

**1.Зміною каталітичної активності
ферменту (механізм «швидкого
реагування»):**

*а) аллостерична регуляція (активатори і
інгібітори ферментів)*

б) ковалентна модифікація

в) обмежений протеоліз

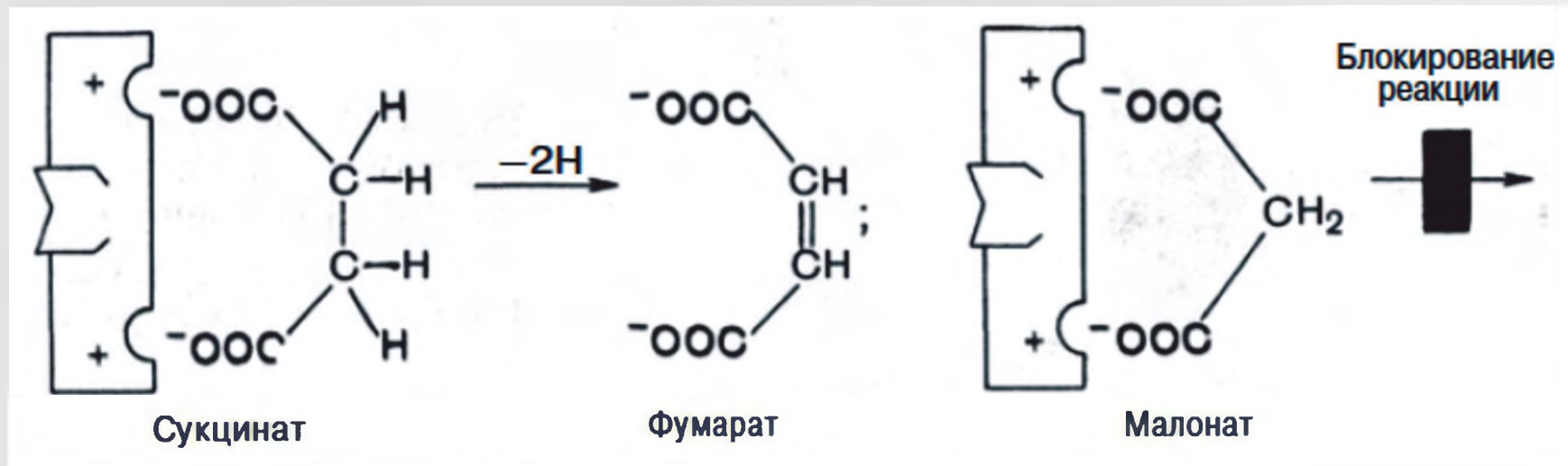
г) дія регуляторних білків

2. Зміною кількості ферментів

Інгібування ферментів:

1. Оборотно інгібування (інгібітори можуть змінювати K_M або V_{max} , а також і K_M , и V_{max}):

а) конкурентне (інгібітор за структурою схожий з субстратом і взаємодіє з активним центром фермента; K_M збільшується, V_{max} не змінюється)



Інгібування ферментів :

б) неконкурентне (інгібітор не схожий з субстратом, може не вступати у взаємодію з активним центром фермента, але інактивує фермент, знижує $V_{\max}$, не впливає на K_M)

Інгібування ферментів :

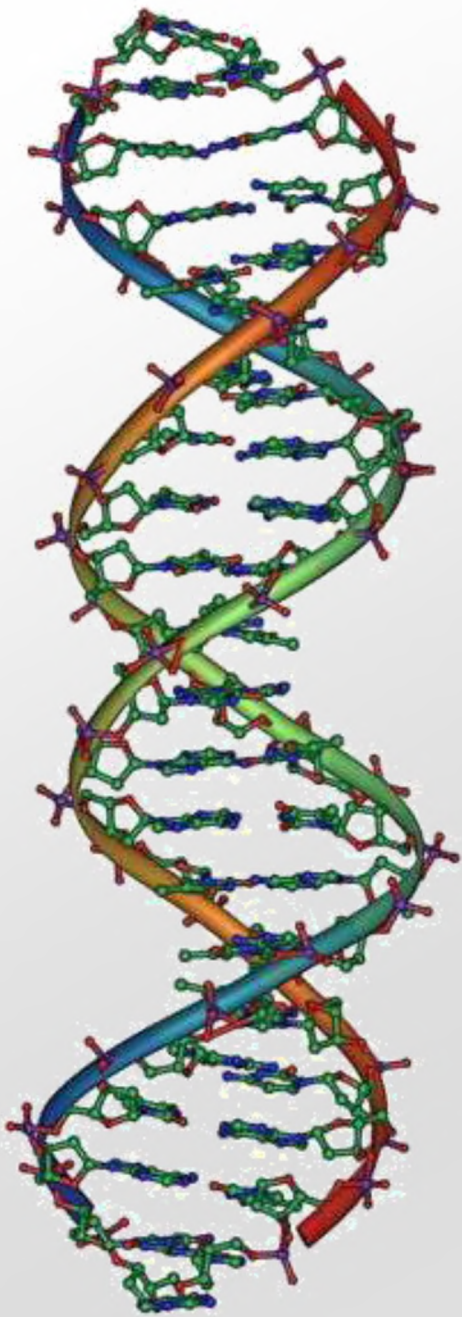
в) безконкурентне - інгібітор за структурою не схожий на субстрат і взаємодіє лише з ФСК, змінюються обидві величини: K_M і V_{max}

2. Необоротне – руйнування або необоротна модифікація функціональних груп ферментів клітинними отрутами

Напрямки медичної ензимології

- 1. Ензимопатології** – дослідження ферментативної активності в нормі і при патології (біохімічний діагноз).
- 2. Ензимодіагностика** – дослідження ферментів в біологічних середовищах з діагностичною метою.
- 3. Ензимотерапія** – використання ферментів і метаболітів в якості лікарських препаратів.





ДЯКУЮ ЗА УВАГУ !