

**Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М.,  
Левіч С. В.**

**БУДОВА Й ФІЗИКО-ХІМІЧНІ  
ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ-ФЕРМЕНТІВ.  
КЛАСИФІКАЦІЯ Й НОМЕНКЛАТУРА  
ФЕРМЕНТІВ.**

**методичний посібник З ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА  
ХІМІЯ»ДЛЯ ВИКЛАДАЧІВ**

Запоріжжя, 2016

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

**Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М.,  
Левіч С. В.**

**БУДОВА Й ФІЗИКО-ХІМІЧНІ  
ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ-ФЕРМЕНТІВ.  
КЛАСИФІКАЦІЯ Й НОМЕНКЛАТУРА  
ФЕРМЕНТІВ**

**методичний посібник з ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА  
ХІМІЯ» ДЛЯ ВИКЛАДАЧІВ**

Запоріжжя, 2016

**УДК 577.112.8(075)**

**ББК 28.072 я 73**

**П 82**

Рекомендовано Центральною методичною радою ЗДМУ в якості методичного посібника з дисципліни «Біологічна хімія» для викладачів.

**Автори:**

Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М., Левіч С. В.

**Рецензенти:**

**Прийменко Б. О.** д.фарм.н., професор, професор кафедри органічної хімії Запорізького державного медичного університету;

**Приходько О. Б.** д.біол.н., доцент, завідувач кафедри медбіології, паразитології та генетики Запорізького державного медичного університету

**Будова й фізико-хімічні властивості білків-ферментів. Класифікація й номенклатура ферментів :** методичний посібник для викладачів / Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М., Левіч С. В., Запоріжжя, 2016.- 50 с.

Методичний посібник складений у відповідності до програми з біологічної хімії для проведення занять зі студентами вищих медичних навчальних закладів III-IV рівней акредитації для спеціальності 7.12020101 «Фармація», що затверджена наказом МОН.

Методичний посібник рекомендований для використання при проведенні занять з дисципліни «Біологічна хімія».

**УДК 577.112.8(075)**

**ББК 28.072 я 73**

Запорізький державний медичний університет  
Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М., Левіч С. В., 2015.

## ЗМІСТ

1	АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ.....	5
2	НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ ЗАНЯТТЯ.....	6
3	ВИХОВНІ ЦІЛІ.....	7
4	БАЗОВИЙ РІВЕНЬ ПІДГОТОВКИ. МІЖПРЕДМЕТНА ІНТЕГРАЦІЯ.....	8
5	ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ.....	9
6	ПЛАН І ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА ЗАНЯТТЯ.....	10
7	АЛГОРИТМ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ.....	12
8	КОНТРОЛЬ ЗАКЛЮЧНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ З ТЕМИ.....	15
9	ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....	17
10	ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1» .....	20
11	ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ.....	25
	ФЕРМЕНТИ: БУДОВА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, КЛАСИФІКАЦІЯ, МЕХАНІЗМ ДІЇ.....	25
	Визначення поняття «ферменти».....	25
	Хімічна природа ферментів.....	26
	Подібність і відмінність між ферментами та небілковими каталізаторами.....	29
	Специфічні властивості ферментів.....	30
	Номенклатура та класифікація.....	31
	ПИТАННЯ ДЛЯ САМОПІДГОТОВКИ СТУДЕНТІВ	46
	РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	47

## **1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ**

Ферменти як біокаталізатори, які містяться в усіх тканинах, клітинах і біологічних рідинах, забезпечують перебіг хімічних реакцій у живих організмах. Їм також належить провідна роль і в метаболізмі ліків. Сучасна біохімія характеризується широким застосуванням методів визначення активності ферментів в біологічних рідинах і тканинах. Необхідність використання ферментів в біотехнологіях для створення лікарських препаратів, а також використання деяких з них в якості лікарських засобів вимагає ретельного вивчення даної теми фахівцями у галузі фармації.

## 2. НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ ЗАНЯТТЯ №4

Вивчити особливості структури простих і складних ферментів; вміти визначати клас ферменту за типом хімічної реакції; вивчити на прикладі амілази слини особливості специфічності дії ферментів, зміни активності ферменту під дією рН і температури навколишнього середовища.

Необхідно знати:

1. Функцію білків-ферментів в організмі. Відмінність дії ферментів від дії небілкових каталізаторів.
2. Структуру простих і складних ферментів. Поняття про апофермент, кофактор, кофермент і простетичну групу. Вітамінні кофактори. Особливості структури активного центру простих і складних ферментів.
3. Загальні властивості ферментів: специфічність дії; вплив рН і температури середовища на активність ферментів.
4. Ізоферменти: особливості структури, локалізації синтезу в організмі людини (на прикладі ізоферментів лактатдегідрогенази).
5. Класифікацію і номенклатура ферментів. Характеристика типів хімічних реакцій, які лежать в основі класифікації ферментів.

Необхідно вміти:

1. Проводити реакції на вивчення специфічності дії амілази слини.
2. Проводити реакції на вивчення термолабільності амілази слини.
3. Досліджувати активність амілази слини при різних значеннях рН середовища.

### **3. ВИХОВНІ ЦІЛІ**

Ознайомитися з функціями білків-ферментів в організмі, структурою простих і складних ферментів, участю ферментів в механізмах каталізу, ізоферментами, сучасними положеннями про механізм дії ферментів, загальними властивостями ферментів, класифікацією та номенклатурою ферментів.

**4.    БАЗОВИЙ РІВЕНЬ ПІДГОТОВКИ. МІЖПРЕДМЕТНА  
ІНТЕГРАЦІЯ**

<b>Дисципліни</b>	<b>Отримані навички</b>
<b>Попередні:</b> Органічна хімія	Класифікація органічних сполук. Поняття функціональні групи, ізомерія, основні принципи каталізу, ковалентний та кислотно-лужний каталіз.
Неорганічна хімія	Типи хімічної реакції. Поняття каталізатори, каталіз.
Нормальна фізіологія	Поняття про травну, метаболічну, захисну та інші функції ферментів.
Фізична та колоїдна хімія	Поняття про структуру фермента та термодинамічні характеристики
<b>Наступні</b> Лабораторна діагностика, Фармакотерапія, Клінічна фармакологія	Ферментативні реакції в організмі та умови їх перебігу. Функції ферментів в організмі.



## 5. ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ

1. Визначення поняття «ферменти». Функція білків-ферментів в організмі. Відмінність дії ферментів від дії небілкових каталізаторів.

2. Структура простих і складних ферментів. Поняття про апофермент, кофактор, кофермент і простетичну групу. Вітамінні кофактори. Особливості структури активного центру простих і складних ферментів.

3. Ізоферменти: особливості структури, локалізації синтезу в організмі людини (на прикладі ізоферментів лактатдегідрогенази).

4. Сучасні положення про механізм дії ферментів: поняття про енергію активації ферментативної реакції; утворення фермент-субстратного комплексу та механізми отримання продуктів ферментативної реакції (ковалентний та кислотно-лужний каталіз).

Значення робіт Е. Фішера і Д. Кошленда.

5. Загальні властивості ферментів: специфічність дії; вплив рН і температури середовища на активність ферментів.

6. Класифікації ферментів. Номенклатура ферментів. Класифікація ферментів в залежності від типу каталізуємої реакції.

## 6. ПЛАН І ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА ЗАНЯТТЯ

Етапи	Час у хв	Навчальні матеріали		Місце проведення
		Засоби навчання	Обладнання	
1. Організаційний момент	5	Перевірити присутніх, провести співбесіду щодо організації навчальної роботи на кафедрі (структуру занять, правила поведінки, порядок відробок заборгованостей, порядок проведення підсумкових занять тощо), провести екскурсію по кафедрі.		Навчальна кімната
2. Співбесіда з питань про структуру, властивості, класифікацію ферментів	15	Провести пояснення важливих термінів: фермент, кофактор, кофермент, активний центр		Навчальна кімната
Фізіологічна перерва	10			
<p>Поділити навчальну групу на 3 бригади: №№ 1, 2, 3. Зміст практичної роботи для кожної бригади:</p> <p>№1: Вивчення специфічності дії амілази слини (одна робота).</p> <p>№2: Вивчення термолабільності амілази слини (одна робота).</p> <p>№3: Вивчення активності амілази слини при різних значеннях рН середовища активності (одна робота).</p>				
3. Початок роботи студентів згідно тем лабораторних робіт	15	Протоколи для лабораторних робіт	Обладнання та реагенти до лабораторних робіт, протоколи для лабораторних робіт	Навчальна кімната
4. Проведення письмової контрольної роботи	20	Початок часу інкубації є початком письмової роботи.	Картки з завданнями, зошити для контрольних робіт	Навчальна кімната
5. Продовження виконання практичної частини заняття	10	Студенти мають час закінчити проведення експериментів.	Протоколи для лабораторних робіт	Навчальна кімната
6. Оформлення результатів лабораторних робіт	10 хв		Підручник, Практикуми	Кімната для навчання

<p>7.                    Заключна співбесіда           згідно результатів усіх типів робот студентів на протязі заняття</p>	<p>15 хв</p>	<p>Перевірка та підпис протоколів лабораторних робіт,                   аналіз успішності студентів           на занятті, інформування студентів про тему наступного заняття, видання завдань для           самостійної роботи</p>	<p>Список літератури у допомогу для ліквідації недоліків у вивчанні теми</p>	<p>Кімната для навчання</p>
---	------------------	--	--	---------------------------------

7.

## АЛГОРИТМ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ

### Робота № 1. Специфічність дії амілази слини

*Принцип методу.* Ферменти специфічні як стосовно типу реакцій, які каталізують, так і стосовно субстратів, на які вони діють. Амілаза слини, маючи відносну групову специфічність, розщеплює  $\alpha$ -1,4-глікозидні зв'язки в полісахаридах і не діє на дисахариди.

На підставі результатів реакції Троммера, яка підтверджує наявність альдегідної групи, можна зробити висновок про гідроліз крохмалю, що відбувся і призвів до утворення глюкози, та відсутність реакції із сахарозою.

*Обладнання та реактиви:* термостат, пробірки, піпетки, штатив, розчин слини, 1 % розчин крохмалю, 1 % розчин сахарози.

*Хід роботи.* В 2 пробірки наливають по 5 крапель слини, розведеної в 5 разів. В першу пробірку додають 10 крапель 1 % розчину крохмалю, в другу – 10 крапель 1 % розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять у термостат при 38 °С на 10 хвилин. Після цього з вмістом пробірок проводять реакцію Троммера.

#### Реакція Троммера:

*Обладнання та реактиви:* пробірки, піпетки, тримач для пробірок, штатив, газовий пальник, 10 % розчину NaOH, 5 % розчину CuSO<sub>4</sub>.

*Хід роботи.* У кожен пробірку вносять по 5 крапель 10 % розчину NaOH та по 3 краплі 5 % розчину CuSO<sub>4</sub>. Збовтують вміст пробірок (утворюється яскраво-синій прозорий розчин). Обережно нагрівають пробірки і кип'ятять 1 хвилину.

*Очікуваний результат:* поява червоного забарвлення вказує на наявність глюкози (продукту гідролізу крохмалю) в пробі.

### Робота № 2. Термолабільність амілази слини.

*Принцип методу.* Про вплив температури на активність амілази слини судять за розщепленням цим ферментом крохмалю до глюкози в різних температурних умовах (100 °С та 38°С). Ступінь розщеплення крохмалю амілазою визначають йодною пробою, а утворення продукту реакції – пробою Троммера.

*Обладнання та реактиви:* термостат, штатив, мірна центрифужна пробірка, хімічні пробірки, газовий пальник, 1 % розчин крохмалю.

*Хід роботи.* У чисту мірну центрифужну пробірку збирають 1-2 мл слини і готують розведення слини в п'ять разів (додаючи до слини дистильовану воду). Відбирають 3 мл розведеної слини в звичайну хімічну пробірку і кип'ятять 5 хвилин на відкритому полум'ї пальника, після чого її охолоджують.

Потім беруть 3 пробірки, у кожену з яких наливають по 10 крапель 1 % розчину крохмалю. Далі в першу пробірку додають 10 крапель розведеної в 5 разів не кип'яченої слини, в другу 10 крапель кип'яченої слини, в третю – 10 крапель води як контроль. Всі пробірки ставлять у термостат на 10 хвилин при 38 °С. Потім вміст кожної пробірки ділять на 2 частини (знадобиться ще 3) й проводять якісну реакцію на крохмаль (йодна проба) і на глюкозу (проба Троммера).

**а) Реакція на крохмаль (йодна проба):**

*Обладнання та реактиви:* хімічні пробірки, 1% розчин йоду в калію йодиді.

*Хід роботи.* В усі три пробірки наливають по 1 краплі 1% розчину йоду в калію йодиді.

*Очікуваний результат:* в присутності крохмалю з'являється синє забарвлення.

**б) Реакція Троммера (див. роботу № 1)**

### **Робота № 3. Дослідження активності амілази слини при різних значеннях рН середовища**

*Принцип методу.* Про вплив рН середовища на активність амілази слини судять за розщепленням цим ферментом крохмалю при різних значеннях рН. Ступінь розщеплення крохмалю визначається йодною пробою.

*Обладнання та реактиви:* термостат, мірний циліндр, хімічні пробірки, штатив, фосфатний буфер з різним значенням рН (6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0), 0,5 % розчин крохмалю, розчин йоду.

*Хід роботи.* Слину розводять в 100 разів. Беруть 6 пробірок і в кожену з них наливають по 2 мл фосфатного буферу з різним значенням рН: 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0. Потім доливають по 1 мл 0,5 % розчину крохмалю і по 1 мл розведеної слини. Перемішують вміст пробірок і ставлять їх у термостат при 38 °С на 10 хвилин. Потім в усі пробірки доливають по 1 краплі розчину йоду, перемішують, спостерігають забарвлення та відзначають оптимум рН.

*Очікуваний результат:* оптимум рН відповідає забарвленню негативної йодної проби.

## 8. КОНТРОЛЬ ЗАКЛЮЧНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ З ТЕМИ

### Вариант 1

1. Амилаза слюны разрушает  $\alpha$ -1,4-гликозидную связь в структуре любого полисахарида. Определите тип специфичности данного фермента, объясните Ваш выбор ответа.
2. Реакция Троммера используется при проведении метода определения специфичности действия амилазы слюны. Объясните принцип данной реакции и необходимость ее использования в выше указанном методе.

### Вариант 2

1. Оптимум рН для действия пепсина желудочного сока находится в интервале 1,5-2,5. Нарисуйте графическую зависимость влияния рН среды на активность данного фермента.
2. Какой цвет имеет йодная проба на крахмал в экспериментальной пробирке, содержащей раствор крахмала и прокипяченную слюну? Дайте обоснование Вашего ответа.

### Вариант 3

1. Амилаза слюны наиболее активно разрушает полисахариды при рН в диапазоне 6,8-7,6. Нарисуйте графическую зависимость влияния рН среды на активность данного фермента.
2. Какой цвет имеет реакция Троммера в пробирке, которая содержала разведенную слюну, раствор крахмала, и прошла десятиминутную инкубацию в термостате при 38° С? Дайте объяснение ответа.

### Вариант 4

1. Фермент содержит в своей структуре 4 полипептидные цепи и кофермент НАД<sup>+</sup>. Какой тип реакции возможен под действием данного фермента? Назовите класс данного фермента согласно выбранному типу реакции.
2. Принцип качественной реакции на крахмал, ее использование в методике изучения термолабильности амилазы слюны.

### Вариант 5

1. АТФ может быть использована для фосфорилирования субстрата в качестве донора фосфатной группы (а), либо как источник энергии в

реакции образования новой связи между структурными фрагментами двух веществ (б). Назовите класс ферментов для случаев (а,б) соответственно.

2. Изложите принцип качественной реакции на глюкозу (проба Троммера) и ее использование в методике изучения специфичности действия амилазы слюны.



## 9. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

здатна виконати функцію субстра-ту для ферментів організму

людини:

- A. Глюкоза
- B. Вища жирна кислота
- C. Нітратна кислота
- D. Оцтова кислота в активній формі
- E. Глікоген

**2. Укажіть субстрат, руйнування якого здійснює клас ферментів**

**– гідролази:**

- A. Вищі жирні кислоти
- B. Білки
- C. Глюкоза
- D. Піровиноградна кислота
- E. Вуглекислий газ

**3. Укажіть субстрат для амілази слини:**

- A. Білок
- B. Крохмаль
- C. Сахароза
- D. Глюкоза
- E. Амінокислота

**4. Виберіть небілкову частину ферментів, яка використовується**

**для утворення активних форм ацилів різних кислот:**

- A. КоQ
- B. HSKoA
- C. ТПФ
- D. НАДФ
- E. ФМН

**5. Ферменти класу ліаз здатні каталізувати тип реакції:**

- A. Гідроліз

- В. Окислення
- С. Відновлення
- Д. Трансамінування
- Е. Декарбоксілювання

**6. Укажіть клас ферментів, який здійснює процес фосфорилювання субстратів:**

- А. Трансферази
- В. Оксидоредуктази
- С. Ізомерази
- Д. Ліази
- Е. Лігази

**7. Фермент уреаза здатний руйнувати тільки структуру сечовини. Укажіть його тип специфічності:**

- А. Стереохімічний
- В. Абсолютний
- С. Абсолютний груповий
- Д. Відносний груповий
- Е. Класичний

**8. D-оксидаза аланіну здатна дезамінувати тільки D-аланін, але не руйнує структуру L-аланіну. Укажіть тип специфічності цього ферменту:**

- А. Стереохімічний
- В. Абсолютний
- С. Абсолютний груповий
- Д. Відносний груповий
- Е. Класичний

**9. Укажіть ознаку, яка покладена в основу класифікації ферментів:**

- А. Зворотність реакції
- В. Хімічна структура ферменту

- C. Тип специфічності ферменту
- D. Тип реакції, яка каталізується
- E. Хімічна структура субстрату

**10. Дайте повну назву складному ферменту, у якому поліпептидні ланцюги приєднуються до небілкової частини:**

- A. Простетична група
- B. Кофактор
- C. Кофермент
- D. Апофермент
- E. Холофермент

**10. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО  
ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»**

**1. Амілолітичні ферменти каталізують гідроліз полісахаридів і олігосахаридів. На який хімічний зв'язок вони діють:**

- A. \* Глікозидний
- B. Водневий
- C. Пептидний
- D. Амідний
- E. Фосфодієфірний

**2. Ліполітичні ферменти ШКТ каталізують гідроліз ліпідів. Вкажіть хімічний зв'язок, який вони розщеплюють:**

- A. \* Складноефірний
- B. Пептидний
- C. Глікозидний
- D. Водневий
- E. Амідний

**3. Фермент здійснює перенос структурного фрагменту від одного субстрату до іншого. Назвіть клас цього фермента.**

- A. \*Трансферази
- B. Ізомерази
- C. Оксидоредуктази
- D. Лігази
- E. Гідролази

**4. Гідролітичне руйнування сполук здійснює клас ферментів – гідролази. Які сполуки гідролізуються протеазами?**

- A. Білки
- B. Вищі жирні кислоти

- C. Глюкоза
- D. Піровиноградна кислота
- E. Вуглекислий газ

**5. Фермент уреаза здатний руйнувати тільки структуру сечовини.**

**Укажіть його тип специфічності.**

- A. Абсолютний
- B. Стереохімічний
- C. Абсолютний груповий
- D. Відносний груповий
- E. Відносний

E. М'язах

**6. Речовини в травній системі зазнають певних змін. Ферменти якого класу головним чином здійснюють ентеральні перетворення?**

- A. \*Гідролази
- B. Оксидоредуктази
- C. Трансферази
- D. Ліази
- E. Лігази

**7. Дегідрогенази – це ферменти, які відщеплюють атоми водню від субстрату. До якого класу ферментів відноситься лактатдегідрогеназа:**

- A. \*Оксидоредуктаз
- B. Трансфераз
- C. Гідролаз
- D. Ізомераз
- E. Ліаз

**8. Ферменти широко застосовуються в фармації в якості фармацевтичних препаратів. Яка основна відмінність ферментів від небіологічних каталізаторів?**

- A. Мала універсальність
- B. Висока гомогенність
- C. \*Висока специфічність дії та селективність
- D. Висока універсальність
- E. Висока дисперсність

**9. Надходження поживних речовин у бактеріальну клітину здійснюється за допомогою різних механізмів. Одним з них є полегшена дифузія, яка здійснюється особливими мембранними білками-переносниками. Як вони називаються?**

- A. Лігази
- B. Ізомерази
- C. \*Пермеази
- D. Ліази
- E. Оксиредуктази

**10. Ферменти (біологічні каталізатори) використовуються як фармакологічні препарати. Який механізм дії ферментів в біохімічних реакціях?**

- A. \*Знижують енергію активації
- B. Змінюють константу швидкості реакції
- C. Змінюють порядок реакції
- D. Інгібують реакцію
- E. Підвищують енергію активації

**11. Патогенним мікроорганізмам властива наявність ферментів агресії, які визначають їх вірулентність. Виберіть серед перерахованих ферменти агресії:**

- A. Лиаза
- B. Карбогидраза
- C. Гиалуронидаза\*
- D. Оксидаза
- E. Трансфераза

**12. Інфікування лікарських рослин мікроорганізмами виключає їх подальше використання фармацевтичною промисловістю. Інвазивні властивості фітопатогенних мікроорганізмів обумовлені такими ферментами:**

- A. Гідролази\*
- B. Ліази
- C. Трансферази
- D. Ізомерази
- E. Оксидоредуктази

**13. Відомо, що анаеробні мікроорганізми гинуть у присутності кисню через згубну дію перекису водню. Це пов'язано з відсутністю продукції анаеробами ферменту:**

- A. Протеази
- B. Каталази
- C. Редуктази
- D. Лактази
- E. Полімерази

**14. Для отримання з підшлункової залози тварин ферменту амілази в чистому вигляді застосовують метод афінної хроматографії з закріпленням на носії лігандом. Яку речовину використовують як ліганд?**

- A. Крохмаль
- B. Глюкозу
- C. Сахарозу
- D. Целюлозу
- E. Лактоз



## 11. ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ ЗАНЯТТЯ «Ферменти: будова, фізико-хімічні властивості, класифікація та механізм дії»

**Визначення поняття «ферменти».** Основу життєдіяльності живих організмів становлять хімічні процеси. Вони відбуваються з величезною швидкістю під дією ферментів – біологічних каталізаторів білкової природи, які синтезуються в процесі життєдіяльності всіх живих організмів і забезпечують синтез, розпад і взаємоперетворення різноманітних органічних сполук. Термін "ферменти" ("fermentum" (лат.) – закваска, дріжджі, та "fermentatio" – бродіння) або "ензими" (enzyme (грец.) – у дріжджах, у заквасці) був запропонований на початку XVIII ст. голандським вченим Ван Гельмонтом під час вивчення процесу спиртового бродіння. У кінці XVII ст. дослідженнями Р. Реомюра та Л. Спаланцані щодо впливу шлункового соку хижих птахів на м'ясо було показано, що розчинення м'яса – це хімічний, а не механічний процес, а в 1836 році Т. Шванн виявив у вмісті шлункового соку фермент пепсин, який перетравлював білки м'яса. Російський вчений К. С. Кірхгоф вперше показав участь хімічних речовин (ферментів) солоду у перетворенні крохмалю на цукор. Російський фізіолог І. П. Павлов вважав ферменти «збудниками всіх хімічних перетворень». На початку XX ст. він вперше довів, що ферменти можуть існувати в організмі в неактивній формі – і дослідив перетворення проферменту трипсиногену на фермент трипсин за участі ентерокинази. Новий етап у розвитку вчення про ферменти наступив у 1926 р., коли американський біохімік Дж. Самнер отримав з насіння конвалії кристалічний препарат фермента уреазы. У 1930 р. Д. Нортроп виділив кристалічний пепсин, а згодом трипсин і хімотрипсин. З цього періоду стало загальноприйнятим твердження, що ензими мають білкову природу. У кінці XIX ст. Е. Фішер, вивчаючи властивості ферментів, висунув положення, що

субстрат підходить до фермента як «ключ до замка», дослідження специфічності ферментів і сьогодні є важливим науковим завданням.

На початку ХХ століття з'явилися роботи, присвячені кінетиці ферментативних реакцій, згодом були сформульовані теорії механізму їх дії, регуляції ферментативної активності; все це дало поштовх для становлення «ензимології» як науки, її активний розвиток у тісному зв'язку з органічною, неорганічною та фізичною хіміями, фізіологією, токсикологією, мікробіологією, генетикою, фармакологією, ботанікою тощо відбувається й зараз. Завданнями ензимології є вивчення ролі ферментів у прискоренні хімічних реакцій, що відбуваються в організмі; дослідження їх структури, механізму дії, кінетичних характеристик і регуляції активності; виділення та очищення ферментів. На даний час за допомогою спеціальних хімічних методів для багатьох білків-ферментів з'ясована їх амінокислотна послідовність, охарактеризовано декілька тисяч ферментів, понад тисячу з них отримані в хімічно чистому вигляді.

Вивчення ферментів має величезне значення для будь-якої фундаментальної та прикладної галузі біології, хімічної, харчової та фармацевтичної індустрії, зайнятих приготуванням каталізаторів, антибіотиків, вітамінів, амінокислот, пептонів та інших біологічно активних речовин, які використовують у народному господарстві та медицині.

**Хімічна природа ферментів.** На сьогоднішній день встановлено, що ферменти – це речовини білкової природи. Підтвердженням цього є факт втрати ферментами бродіння своєї активності під час кип'ятіння, що було досліджено ще Л. Пастером. Кип'ятіння спричинює незворотну денатурацію білка-фермента, внаслідок чого останній втрачає здатність каталізувати хімічну реакцію. Як відомо, білки теж при кип'ятінні денатують і втрачають свої біологічні властивості. Дія на ферменти різних фізичних і хімічних чинників, таких як вплив УФ- і рентгенівського опромінення, ультразвуку, мінеральних кислот, лугів, алкалоїдних реактивів, солей тяжких

металів тощо теж спричинює денатурацію ферментів (так само як і білків) й втрату їх каталітичної активності. В основі денатурації лежить руйнування зв'язків, що стабілізують вищі структури фермента-білка (четвертинну, третинну, вторинну) і, як наслідок, випадання його в осад. Це свідчить про те, що просторова структура білка впливає на виявлення його ферментативної активності. Аналогічно до білків, ферменти під час гідролізу розпадаються на амінокислоти. Доказом білкової природи ферментів слугує виділення їх у чистому вигляді в формі кристалів білка. На сьогоднішній день отримано понад 1 000 кристалічних ферментів. Структура багатьох із них досліджена детально методами рентгеноструктурного аналізу, ядерного магнітного резонансу, електронного парамагнітного резонансу тощо.

У процесі каталізу беруть участь наступні функціональні групи ферментів: COOH-групи дикарбонових амінокислот, NH<sub>2</sub>-групи лізину, SH-групи цистеїну та дисульфідні цистину, OH-групи серину та треоніну, гуанідинові групи аргініну, імідазольні групи гістидину, тіоефірні групи метіоніну, фенольні групи тирозину, гідрофобні ланцюги аліфатичних амінокислот і ароматичне кільце фенілаланіну. Фізико-хімічні властивості вказаних амінокислотних залишків поліпептидного ланцюга фермента визначають контакт із відповідним субстратом та його перетворення. Гідрофобні радикали амінокислот мають спорідненість до неполярних ділянок субстрату. Полярні групи проявляють кислотні, або основні, або спряжені кислотно-основні (наприклад, гістидин) властивості. Зсув рН середовища викликає зміни їх кислотно-основних властивостей і сприяє контакту з різними групами субстрату.

Водні розчини ферментів є стійкими та гомогенними і можуть тривалий час зберігатися, не випадаючи в осад (не коагулювати), тобто мають властивості справжніх розчинів. Одночасно з тим, за рахунок високої молекулярної маси ферментів, їх розчинам притаманні властивості й колоїдних систем.

**Властивості ферментів.** Ферменти, як і білки, володіють низкою властивостей, характерних для високомолекулярних сполук: амфотерністю (можуть існувати в розчині в вигляді аніонів, катіонів, амніонів); електрофоретичною рухливістю (завдяки наявності позитивних і негативних зарядів) та втратою рухливості в електричному полі в ізоелектричній точці; вони не здатні до діалізу через напівпроникні мембрани, проте шляхом діалізу їх розчини можна звільнити від низькомолекулярних домішок. Як і білки, ферменти легко осаджуються з водних розчинів методами висолювання чи обережним додаванням ацетону, етанолу та інших речовин, не втрачаючи при цьому своїх каталітичних властивостей.

Заряд молекули ферменту залежить від вмісту в ньому кислих і основних амінокислот. У нативній молекулі ферменту заряди розміщені асиметрично на поверхні білка. Якщо в молекулі ферменту кислі амінокислоти переважають над основними, то його молекула буде мати негативний заряд (поліаніон). І, навпаки, якщо переважають основні амінокислоти, то вона заряджена позитивно, тобто веде себе як полікатіон. В ізоелектричному стані ферменти найменш стабільні і можуть випадати в осад.

Ферменти мають велику молекулярну масу, яка може сягати кількох мільйонів. Так, молекулярна маса пепсину становить 32 100 Да, лужної фосфатази – 80 000 Да, лактатдегідрогенази – 140 000 Да, каталази – 248 000 Да, уреазы – 480 000 Да, піруватдегідрогеназного комплексу – 4 500 000 Да.

Враховуючи білкову природу ферментів, слід зважати на їх стабільність, котра визначається низкою чинників. Так, оптимальною температурою для роботи з ферментами є температура тіла, а для препаративних цілей – використання температури, наближеної до 0 °С. Слід пам'ятати, що низка ферментів чутлива до зниження температури (мітохондріальний фермент АТФаза, який каталізує розпад АТФ, інактивується при 0 °С, тоді як при кімнатній температурі залишається

стабільним). Для більшості ферментів оптимальним рН середовища є 6,0 – 8,0 (хоча існують винятки). Із препаративною метою часто обезводнюють ферменти (видаляють воду) у вакуумі із замороженого розчину (ліофілізація). Осадження з розчину ферментів спиртом чи ацетоном теж здійснюють при низькій температурі, оскільки при кімнатній температурі ці процедури спричинюють втрату ферментативної активності. Для стабілізації ферментів часто користуються хелатоутворювальними агентами, наприклад, ЕДТА (етилендіамінтетраацетат), який може зв'язувати небажані домішки, які гальмують активність фермента. Однією з обов'язкових умов збереження стабільності фермента є його зберігання в висушеному або замороженому стані, велика кількість ферментів може зберігати свою стабільність у вигляді суспензії в концентрованих розчинах амонію сульфату.

**Подібність і відмінність між ферментами та небіологічними каталізаторами.** Ферменти та каталізатори небілкової природи підлягають загальним законам каталізу та мають низку спільних властивостей:

- прискорюють лише енергетично можливі реакції, тобто вони не змінюють константу рівноваги та величину вільної енергії;
- збільшують швидкість хімічної реакції шляхом зниження її енергії активації та, у такий спосіб, наближають реакцію до точки термодинамічної рівноваги;
- не впливають на напрям зворотної реакції, яка визначається співвідношенням концентрацій субстратів і кінцевих продуктів;
- не впливають на положення рівноваги зворотної реакції, а лише пришвидшують її досягнення;
- не входять до складу кінцевих продуктів реакції і виходять з реакції в незміненому вигляді, проте, у низці випадків можуть модифікуватися і навіть розпадатися під впливом кінцевих продуктів реакції (наприклад, цитохром Р-450);

- не витрачаються в процесі каталізу, вивільняючись, вони можуть знову реагувати з новими молекулами субстрату.

Однак, для ферментів характерні і **специфічні властивості**, які відрізняють їх від інших каталізаторів. Ці відмінності пов'язані з особливостями будови ферментів, які є складними білковими молекулами:

1. Ефективність ферментів вища, ніж небілкових каталізаторів: швидкість перебігу реакції за участю ферментів зростає в  $10^8 - 10^{20}$  разів (фермент уреаза прискорює гідроліз сечовини в  $10^{14}$  разів), вони діють у мізерних концентраціях (молекула реніну, який синтезується в шлунку теляти, звурджує за 10 хв при температурі  $37\text{ }^\circ\text{C}$   $10^6$  молекул казеїногену).

2. Ферменти мають високу специфічність дії, яка обумовлена унікальною структурою активного центра, а також конформаційною та електростатичною комплементарністю між молекулами субстрату та фермента. Кожний фермент каталітично прискорює, зазвичай, одну хімічну реакцію або ж групу реакцій одного типу. Висока специфічність дозволяє ферментам брати участь у регуляції обміну речовин і направляти його в певному напрямі.

3. Активність ферментів може суттєво змінюватися під впливом сполук, які прискорюють (активатори) та сповільнюють (інгібітори) швидкість каталізованої реакції, що дає можливість координувати метаболічні процеси, спрямовані на відтворення живої матерії, підтримання постійності гомеостазу та пристосування до умов середовища.

4. Термолабільність ферментів: ферменти каталізують хімічні реакції при невисокій температурі ( $37-40\text{ }^\circ\text{C}$ ); її зростання призводить до денатурації білкової молекули фермента та, відповідно, зниження швидкості реакції або повної її зупинки. При температурі  $100\text{ }^\circ\text{C}$  майже всі ферменти втрачають свою активність. Зниження температури нижче оптимальної тимчасово сповільнює активність фермента внаслідок зменшення швидкості дифузії молекул.

5. Залежність активності ферментів від рН середовища: ферменти зазвичай найактивніші в межах вузької концентрації іонів  $H^+$  (фізіологічне значення рН = 6,0 – 8,0). Виключення становлять пепсин (оптимум рН = 2,0) та аргіназа (оптимум рН = 10,0). Зміна рН середовища впливає на стан і ступінь іонізації кислотних і основних груп, які входять до складу фермента в цілому та його активного центра зокрема, що впливає на третинну структуру білка та формування активного фермент-субстратного комплексу.

6. У випадку, коли ферментативний процес являє собою низку послідовних реакцій (метаболичні шляхи) дія ферментів строго впорядкована: продукт однієї ферментативної реакції слугує субстратом для іншої. Їх активність змінюється в залежності від потреб організму в кінцевому продукті.

### **Номенклатура та класифікація ферментів**

Сучасна номенклатура та класифікація ферментів були розроблені Комісією з ферментів Міжнародної біохімічної спілки і затверджені на V Міжнародному біохімічному конгресі в 1961 році.

**Номенклатура ферментів.** У даний час використовують дві назви ферментів: систематичну та тривіальну (або робочу).

Систематична назва дається лише добре вивченим ферментам і складається з назви субстрату хімічної реакції, на яку діє фермент, назви типу хімічного перетворення та закінчення – аза. Наприклад, систематична назва ферменту лактатдегідрогенази записується таким чином: L-Лактат:НАД<sup>+</sup>-оксидоредуктаза, де L-Лактат – це субстрат, тип каталізованої реакції – окиснювально-відновна в присутності кофермента НАД<sup>+</sup>.

Іншим прикладом може служити фермент, який у гепатоцитах каталізує реакцію гідролітичного розщеплення глюкозо-6-фосфату на вільну глюкозу та фосфатну кислоту. Цей фермент має назву: глюкозо-6-фосфатфосфогідролаза. У цій назві відображено назву субстрату – глюкозо-

6-фосфат; назву продукту реакції – фосфатна кислота; тип реакції – гідроліз і додано закінчення - аза.

Тривіальна назва складається з назви субстрату, назви каталізованої реакції та закінчення – аза. Наприклад: лактат + дегідрогенізація + аза → лактатдегідрогеназа.

Збереглися й інші робочі назви ферментів. Вони не дають докладної характеристики їх дії, але введені давно і міцно вкоренилися, наприклад, пепсин, трипсин, хімотрипсин, уреаза тощо.

**Класифікація ферментів.** Основою для створення класифікації ферментів і їх позначення служать три принципи, а саме: хімічна природа фермента; хімічна природа субстрату та тип каталізованої реакції, який є специфічним для дії будь-якого ферменту. Отже, всі ферменти поділяють на 6 класів (табл. 1).

Таблиця 1. Характеристика класів ферментів

Номер класу	Назва класу	Тип каталізованої реакції	Приклади	Коферменти
1	Оксидо-редуктази	Окиснювально-відновні реакції різних типів	Лактатдегідрогеназа, цитохромоксидаза, алкогольдегідрогеназа	НАД <sup>+</sup> , НАДФ <sup>+</sup> , ФАД, ФМН, убіхінон, металопорфірини, глутатіон, ліпоева кислота
2	Трансферази	Перенесення різних хімічних груп (карбоксільних, метильних, аміно-, сульфогруп від одного субстрату до іншого)	Аспаратамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза	ПАЛФ, ПАМФ, КоА, УДФ, ЦДФ, ТГФК, метоксикобаламін
3	Гідролази	Гідроліз – розрив зв'язків у субстратах з приєднанням води	Кисла та лужна фосфатази, пепсин, трипсин, ліпаза	-
4	Ліази	Розщеплення зв'язків у субстратах негідролітичним шляхом, утворення подвійних зв'язків, приєднання хімічних груп при подвійних зв'язках	Дезаміази, дегідратази, альдолаза	ПАЛФ, КоА, ТДФ, Дезоксіденозилкобаламін
5	Ізомерази	Ізомерні перетворення в межах однієї молекули	Рацемаза, глюкозо-6-фосфатізомераза, фосфогліцератмутуаза	ПАЛФ, дезоксіденозилкобаламін, глутатіон
6	Лігази	Приєднання молекул одна до одної з вико ристанням енергії АТФ або інших	Аспарагінсинтетаза, глютамінсинтетаза, ацетил-КоА-	УДФ, ЦДФ, ТГФК, карбоксибіотин



	високоенергетичних сполук	карбоксилаза	
--	---------------------------	--------------	--

**Оксидоредуктази.** До класу оксидоредуктаз відносять ферменти, що каталізують окисно-відновні реакції. Систематична назва цього класу ферментів будується за формулою «донор:акцептор-оксидоредуктаза». За тривіальною номенклатурою оксидоредуктази, що відщеплюють атоми водню або електрони від субстрату окиснення і передають їх на будь-який акцептор, крім кисню або пероксиду водню, називаються дегідрогеназами. Субстратами оксидоредуктаз можуть бути спирти, кислоти, альдегіди, кетони,  $\text{NH}_2$ -,  $\text{NH}$ -,  $\text{SH}$ -групи, гем та його похідні тощо.

Розрізняють наступні основні оксидоредуктази: оксидази, які каталізують перенесення протонів (електронів) безпосередньо на молекулярний кисень; дегідрогенази – ті, що забезпечують відщеплення протонів; цитохроми, які каталізують перенесення тільки електронів. До цього класу відносять також пероксидази, які переносять атоми водню на пероксид водню; оксидоредуктази, яким властива відновна дія, називають редуцтазами.

**Трансферази.** До класу трансфераз належать ферменти, що каталізують реакції міжмолекулярного перенесення різних атомів, груп атомів і радикалів: ті, що переносять  $\text{CH}_3$ - групи, називають метилтрансферазами, переносники  $\text{NH}_2$ -груп отримали назву амінотрансфераз, розрізняють трансферази, що каталізують перенесення одновуглецевих, ацильних, глікозильних, альдегідних або кетонних, нуклеотидних залишків, азотистих груп, залишків фосфатної та сульфатної кислот тощо. До трансфераз належать також кінази, зокрема протеїнкінази – ферменти, що каталізують фосфорилювання субстратів та інших білків за рахунок фосфатного залишку АТФ. Систематичну назву формують за формулою «донор:акцептор–транспортована група-трансфераза».

Трансферази беруть участь у реакціях взаємоперетворень різних речовин, знешкодженні природних та чужорідних сполук. Деякі трансферази використовують у діагностиці захворювань, наприклад, аспартатамінотрансферазу – для діагностики інфаркту міокарда, а аланінамінотрансферазу – гострих гепатитів тощо.

**Гідролази.** До цього класу належить велика група ферментів, які каталізують розщеплення внутрішніх молекулярних зв'язків органічних речовин за участі молекули води. Це естерази – ферменти, що каталізують реакції гідролізу та синтезу складних ефірів; глікозидази, які пришвидшують розрив глікозидних зв'язків; фосфатази й пептидогідролази, які каталізують гідроліз фосфоангідридних і пептидних зв'язків; амідази, які пришвидшують розрив амідних зв'язків тощо. Систематичну назву складають за формулою «субстрат–гідролаза».

До гідролаз належать також ферменти травного тракту (ліпази, протеази, глікозидази тощо). Гідролази містяться у лізосомах та інших органоїдах клітин, сприяють розпаду біомакромолекул на прості речовини.

**Ліази.** До класу ліаз відносять ферменти, які каталізують розрив зв'язків C-O, C-C, C-N тощо, а також зворотні реакції відщеплення різних груп від субстратів негідролітичним шляхом. Ці реакції супроводжуються утворенням подвійного зв'язку або приєднанням додаткової групи до місця розриву подвійного зв'язку.

До цього класу відносять декарбоксилази (декарбоксилювання амінокислот та альфа-кетокислот); гідроліази, а за тривіальною номенклатурою – дегідратази (наприклад, карбангідраза розщеплює карбонатну кислоту на  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ ), альдолази – ферменти, що каталізують розрив гексозофосфатів на дві тріози (наприклад, фруктозо-1,6-дифосфат на гліцеральдегід-3-фосфат і діоксіацетонфосфат). Систематичну назву складають за формулою «субстрат–від'єднана чи приєднана група».

**Ізомерази.** До класу ізомераз відносять ферменти, які каталізують взаємне перетворення оптичних і геометричних ізомерів. Систематичну назву складають з урахуванням типу реакції: «субстрат-цис-транс-ізомераза». Якщо ізомеризація включає внутрішньомолекулярне перенесення групи, то фермент отримує назву «мутаза».

До цього ж класу відносять рацемази й епімерази, які діють на аміно- та оксикислоти, вуглеводи та їх похідні; внутрішньомолекулярні оксидоредуктази, які каталізують взаємоперетворення альдоз і кетоз; внутрішньомолекулярні трансферази, які переносять ацильні, фосфорильні та інші групи тощо.

Ізомерази відіграють важливу роль у відновленні біологічної активності молекул, у переключенні використання метаболітів на різних шляхах обміну.

**Лігази (синтетази).** До класу лігаз відносять ферменти, які каталізують синтез органічних речовин із двох вихідних молекул із використанням енергії розпаду АТФ (або ГТФ, УТФ). Дія цих ферментів спричинює утворення нових зв'язків. Систематичну назву складають за формулою «Х:У лігаза», де Х і У позначають вихідні речовини. Як приклад можна назвати L-глутамат: аміаклігазу (рекомендована скорочена назва «глутамінсинтетаза»), за участю якої із глутамінової кислоти й аміаку в присутності АТФ синтезується глутамін. Іншу назву – синтетази – ці ферменти отримали завдяки тому, що вони є каталізаторами біосинтетичних процесів. Прикладом можуть бути: аміноацил-тРНК-синтетаза (каталізує приєднання амінокислоти до молекули тРНК у процесі біосинтезу білків) та ацетил-КоА-синтетаза (каталізує конденсацію ацетатної кислоти і КоА), карбоксилази (каталізують зв'язування  $\text{CO}_2$  з кетокислотами).

**Шифр ферментів.** У 1972 році комісією з номенклатури біохімічних сполук Міжнародної спілки теоретичної та прикладної хімії були запропоновані «Правила номенклатури ферментів», згідно з якими кожен

фермент отримує спеціальну кодову назву (шифр). Шифр фермента складається з чотирьох розділених крапками чисел: перше число означає клас ферменту, друге і третє числа – підклас та підпідклас відповідно, а четверте число – порядковий номер фермента в його підпідкласі. Спочатку шифру будь-якого ферменту ставиться дві букви – КФ, що означає «класифікація ферментів». Для прикладу розглянемо гексокіназу, систематична назва якої АТФ:D-гексозо-6-фосфотрансфераза, шифр 2.7.1.1. Шифр означає, що зазначений фермент належить до другого класу ферментів – трансфераз, сьомого підкласу ферментів, які переносять залишки фосфату, до першого підпідкласу – акцептором фосфату є спирт, порядковий номер цього фермента в підпідкласі – 1.

### **Структурно-функціональна організація ферментів**

Оскільки ферменти – це речовини білкової природи, вони, так само як і білки, можуть бути як простими, так і складними (їх переважна більшість). Для ферментної активності білків важливе значення має збереження їх первинної, вторинної та третинної структур; регуляторним ферментам властива четвертинна структура. Більшість внутрішньоклітинних ферментів є олігомерами, які складаються з декількох протомерів, відносно міцно пов'язаних між собою. Так, глутаматдегідрогеназа (відщеплює два атоми водню від глутамінової кислоти з утворенням  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти), виділена з печінки бика, складається з 8 великих субодиниць, на які вона може дисоціювати.

*Ферменти-прості білки* являють собою поліпептидні ланцюги, які при гідролізі розпадаються до амінокислот, їх ще називають однокомпонентними. До них належать пепсин, трипсин, уреаза, рибонуклеаза тощо. *Ферменти-складні білки*, крім поліпептидних ланцюгів, містять небілкову частину, їх називають двокомпонентними. Білкову частину двокомпонентних ферментів називають *апоферментом* (забезпечує специфічність дії та відповідає за

вибір типу хімічного перетворення субстрату), а небілкову – *кофактором* (служить акцептором і донором хімічних груп, атомів і електронів у каталітичній ділянці активного центра фермента). Молекула складного фермента в цілому називається *холоферментом*. Зв'язок білкової частини ферменту з небілковою здійснюється за рахунок ковалентних і нековалентних зв'язків і може бути різної міцності. Якщо небілкова частина ферменту міцно пов'язана з білком і в циклі біохімічних реакцій не відділяється від нього, її прийнято називати *простетичною групою* (наприклад, ФАД, ФМН, біотин тощо). Небілкові компоненти, які слабо пов'язані з білком і легко дисоціюють з комплексу з ферментним білком, називають *коферментами* (наприклад, НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>). Коферменти можуть знаходитися у вільному стані й сполучатися з білковою частиною тільки в момент каталітичної реакції, їх можна розглядати в якості другого субстрату. Один і той самий кофермент може сполучатися з різними апоферментами і брати участь у різних хімічних перетвореннях субстрату (наприклад, піридоксальфосфат може брати участь у реакціях трансамінування чи декарбоксилування). Ферменти, які міцно пов'язані з іонами металів і не втрачають цього зв'язку за умов виділення та фракціонування ферменту, називаються *металоферментами*. У деяких випадках іони металів не входять до складу ферментів як інтегральні структурні компоненти, а виконують лише функцію їх активаторів (іони Ca<sup>2+</sup> служать активаторами протеїнкінази С, іони Cl<sup>-</sup> – α-амілази тощо).

**Класифікація коферментів.** Хімічна природа коферментів, їх функції в ферментативних реакціях дуже різноманітні. Вони беруть участь в акті каталізу, здійснюють контакт між ферментним білком і субстратом, стабілізують апофермент, який, в свою чергу, посилює каталітичний акт небілкової частини і, крім цього, визначає специфічність ферментів, оскільки одна і та ж за хімізмом небілкова частина може функціонувати в складі різних ферментів.

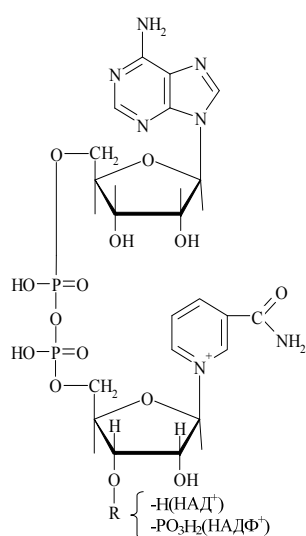
Традиційно до коферментів відносять похідні вітамінів (табл. 2).

Таблиця 2. Коферменти та відповідні їм вітаміни

Кофермент	Вітамін-попередник	Функція	Фермент
Піридоксаль-фосфат	B <sub>6</sub> (піридоксин)	Переамінування, декарбоксілювання, рацемізація	Трансамінази, декарбоксилази, рацемази
Тіамін-дифосфат	B <sub>1</sub> (тіамін)	Окисне декарбоксілювання α-кетокислот, перенесення альдегідних груп	Трансальдолаза, транскетолаза
Кофермент А	B <sub>3</sub> (пантотенова кислота)	Перенесення ацильних груп, аеробна деградація та синтез жирних кислот	Ацетилтрансферази, ацилтрансферази
Тетрагідро-фолієва кислота	Фолієва кислота	Перенесення C <sub>1</sub> -груп, біосинтез пуринових нуклеотидів	Формілтрансфераза, тимідилатсинтетаза
Біотин	H (біотин)	Реакції карбоксилювання за участі CO <sub>2</sub>	Карбоксилаза
НАД <sup>+</sup> , НАДФ <sup>+</sup>	PP (нікотинава к-та)	Зворотне перенесення H <sup>+</sup> та e <sup>-</sup>	Дегідрогенази (піридинзалежні)
ФМН, ФАД	B <sub>2</sub> (рибофлавін)	Перенесення H <sup>+</sup> та e <sup>-</sup>	Дегідрогенази (флавінзалежні)
Метилкобаламін, 5-дезоксадезилкобаламін	B <sub>12</sub> (ціанокобаламін)	Перенесення метильних груп, реакції трансметилування, ізомеризації	Метилмалоніл-КоА-мутаза
Ліпоєва кислота	N (ліпоєва к-та)	Перенесення ацетильних груп	Піруватдегідрогеназа, кетоглутаратдегідрогеназа

За типом каталізованої реакції коферменти поділяють на:

1. **Коферменти – переносники атомів водню та електронів** (НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФМН, ФАД, аскорбінова кислота, кофермент Q, глутатіон, гемінові коферменти (металопорфірини – цитохроми)).

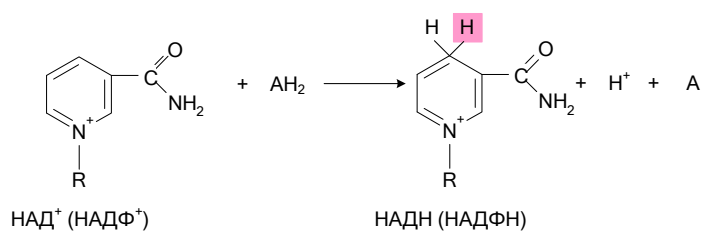


НАД<sup>+</sup> і НАДФ<sup>+</sup>

**Похідні вітаміну PP**

нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД<sup>+</sup>) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ<sup>+</sup>) – це окиснені форми коферментів, у яких позитивний заряд несе атом Нітрогену піридинового кільця нікотинаміду. Субстрат (А) втрачає два атоми Гідрогену (2 протони та 2 електрони), але на

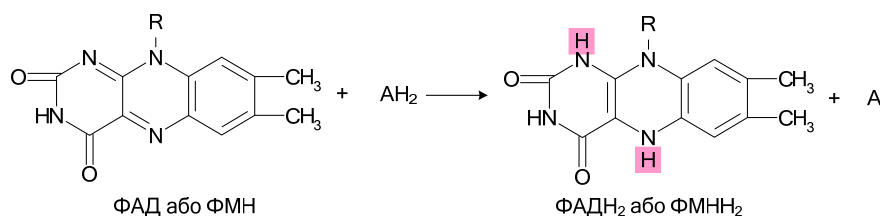
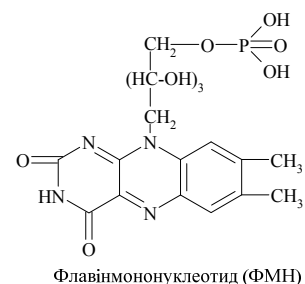
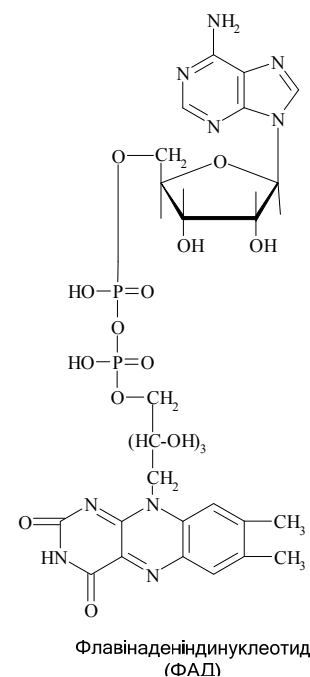
кофермент переноситься лише 2 електрони і 1 протон, другий протон переходить у середовище. У результаті відновлена форма коферменту втрачає позитивний заряд:



Нікотинаміддинуклеотиди входять до складу багатьох дегідрогеназ, необхідних для синтезу енергії в клітині: вони виступають акцепторами та проміжними переносниками атомів Гідрогену на початкових стадіях окиснення вуглеводів, жирних кислот, амінокислот, гліцерину, на стадії циклу Кребса і в термінальних стадіях дегідрування в дихальному та монооксигеназному ланцюгах; вони виступають алостеричними ефекторами ферментів енергетичного обміну. НАДФН<sub>2</sub> як донор атомів Гідрогену використовується в біосинтетичних відновних реакціях (синтез жирних кислот, холестерину, гормонів тощо).

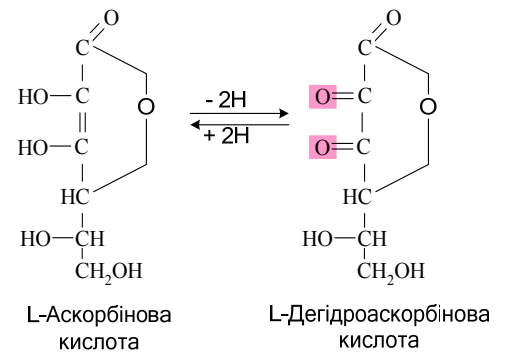
Похідні вітаміну В<sub>2</sub> – флавінмононуклеотид (ФМН) і флавінаденіндинуклеотид (ФАД) – коферменти, які входять до складу флавінових ферментів, що беруть участь у багатьох окиснювальних реакціях: перенесенні електронів і протонів у дихальному ланцюзі, окисненні пірувату, α-кетоглутарату, жирних кислот, біогенних амінів тощо.

Активною частиною флавінових коферментів є ізоалоксазинова циклічна система, вона може приєднувати два атоми водню (2 електрони та 2 протони).

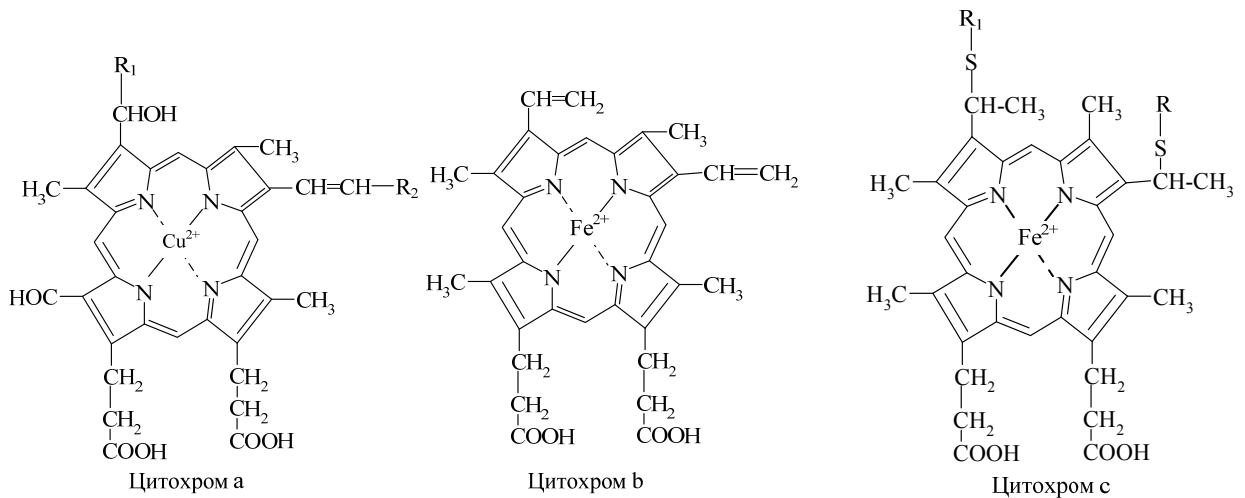


**Вітамін С** теж бере участь у окисно-відновних процесах. Він може існувати в двох формах – відновленій (аскорбінова кислота) та окисненій (дегідроаскорбінова кислота). Обидві форми легко переходять одна в одну і в якості коферментів гідроксилаз беруть участь в окисно-відновних реакціях.

Ця властивість обумовлює участь аскорбінової кислоти в обміні білків, вуглеводів, мінеральних речовин.



**Металопорфірини** за своєю структурою подібні або тотожні гему в гемоглобіні. Порфіринові коферменти входять до складу таких ферментів як цитохроми (а, b, с), пероксидаза, каталаза тощо.



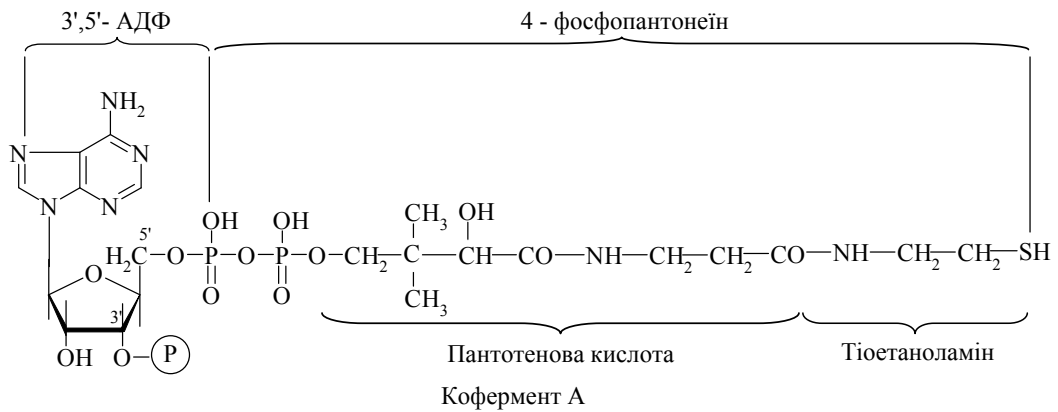
Вони містять іони металів (зокрема заліза, міді тощо), які здатні змінювати свою валентність (наприклад,  $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$ ) і, у такий спосіб, беруть участь у перенесенні електронів під час окисно-відновних процесів.

**2. Коферменти – переносники різних хімічних груп** (нуклеотидні – АТФ, АДФ, УТФ, УДФ, ЦТФ, ЦДФ, похідні вітамінів – піридоксальфосфат, піридоксамінфосфат, ліпоєва кислота, КоА, тетрагідрофолієва кислота). Реакції за участі нуклеотидних коферментів зводяться до перетворення



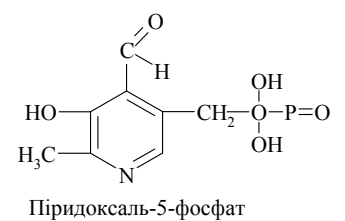
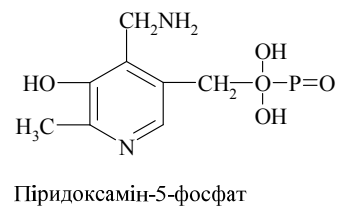
субстрату в молекулі коферменту (наприклад, перетворення УДФ-глюкози на УДФ-галактозу), вони можуть виступати донорами субстратів у реакціях перенесення тих чи інших груп (наприклад, УДФ-глюкоза є донором глюкози в процесі біосинтезу глікогену, ЦДФ-холін – донором холіну в біосинтезі холін фосфатидів тощо).

**Кофермент А (КоА)** утворюється з пантотенової кислоти (В<sub>3</sub>).

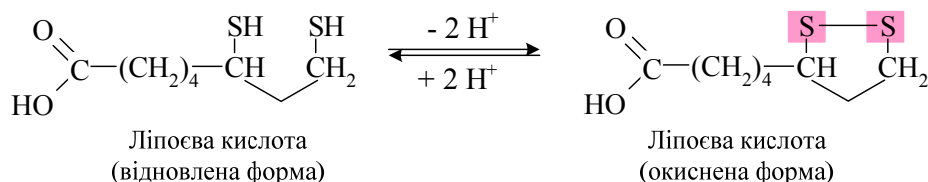


Його сульфгідрильна група може зазнавати ацилювання з перетворенням на ацил-КоА, або знаходитися в деацильованому стані (HS-КоА). Ці коферментні форми беруть участь у перенесенні ацильних радикалів у реакціях загального шляху катаболізму, активуванні жирних кислот, біосинтезі жирних кислот, холестерину, стероїдних гормонів, кетонових тіл, ацетилхоліну, знешкодженні чужорідних речовин у печінці.

**Похідні вітаміну В<sub>6</sub>** – піридоксаль-5-фосфат (ПАЛФ) і піридоксамін-5-фосфат (ПАМФ) відіграють ключову роль в обміні амінокислот: каталізують реакції трансамінування (перенесення аміногрупи з α-амінокислоти на α-кетокислоту) та декарбоксілювання (відщеплення карбоксильної групи у вигляді CO<sub>2</sub>) амінокислот, беруть участь у специфічних реакціях метаболізму окремих амінокислот (серину, треоніну, триптофану, сірковмісних амінокислот, а також у синтезі гему.



**Ліпоєва кислота**, завдяки своїй здатності легко переходити з окисненої у відновлену форми, проявляє властивості кофермента в складі оксидоредуктаз, її амід слугує простетичною групою складного піруват- і  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів, які беруть участь в окисненні піровиноградної та  $\alpha$ -кетоглутарової кислот.

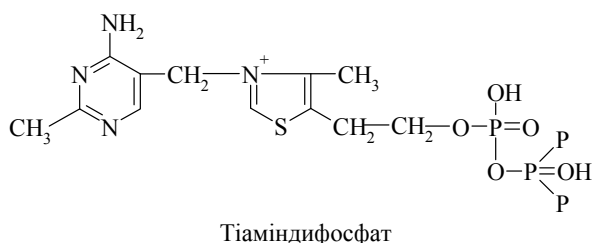


**Тетрагідрофолієва кислота** – відновлена форма фолієвої кислоти – переносить одну вуглецеві залишки (метильні (-CH<sub>3</sub>), оксиметильні (-CH<sub>2</sub>OH), формільні (-HCO тощо) на різні сполуки і бере в такий спосіб участь у синтезі азотистих основ нуклеїнових кислот, креатину, метіоніну, гліцину, серину.



**3. Коферменти синтезу, ізомеризації та розщеплення вуглець-вуглецевих зв'язків** (метилкобаламін, дезоксіденозилкобаламін, карбоксибіотин, тіаміндифосфат).

**Біотин** виконує коферментну функцію в якості N<sup>5</sup>-карбоксибіотину і входить до складу карбоксилаз: він бере участь в утворенні активної форми CO<sub>2</sub>, використовується в утворенні малоніл-КоА з ацетил-КоА, у синтезі пуринового кільця, у реакції карбоксилювання пірувату з утворенням оксалоацетату тощо.



Роль вітаміну **B<sub>1</sub>** визначається тим, що у формі кофактора тіаміндифосфату (ТДФ) він входить

до складу як мінімум трьох ферментів і ферментативних комплексів: у складі піруват- і  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів він бере участь в окиснювальному декарбоксилюванні пірувату та  $\alpha$ -кетоглутарату; у складі транскетолази він залучається у пентозофосфатний шлях перетворення вуглеводів. Цей кофермент необхідний для синтезу жирних кислот, холестерину, стероїдних гормонів, знешкодження токсичних речовин і ліків. Тіамінтрифосфат (ТТФ) у тканині мозку причетний до синаптичної передачі нервових імпульсів.

**Метилкобаламін** і дезоксіаденозилкобаламін – це коферментативні форми вітаміну  $B_{12}$ . Метилкобаламін тісно пов'язаний із фолієвою кислотою, оскільки входить до складу фермента, який переносить метильну групу 5-метилтетрагідрофолієвої кислоти на гомоцистеїн із утворенням метіоніну.

Разом із фолієвою кислотою він бере участь у синтезі креатину, азотистих основ, амінокислот, білків, нуклеїнових кислот тощо. Дезоксіаденозилкобаламін бере участь у завершальній стадії окиснення жирних кислот із непарною кількістю вуглецевих атомів, бічного ланцюга холестерину, тиміну, розгалужених амінокислот тощо.

**Функціонально активні ділянки ферментів.**

Біологічна функція як простих, так і складних ферментів обумовлена наявністю в них функціональних ділянок (рис. 1). Під час ферментативної реакції відбувається взаємодія фермента та субстрату (ліганда, який взаємодіє з

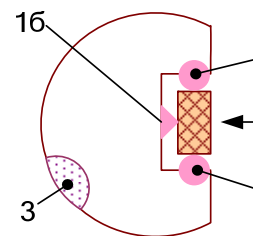
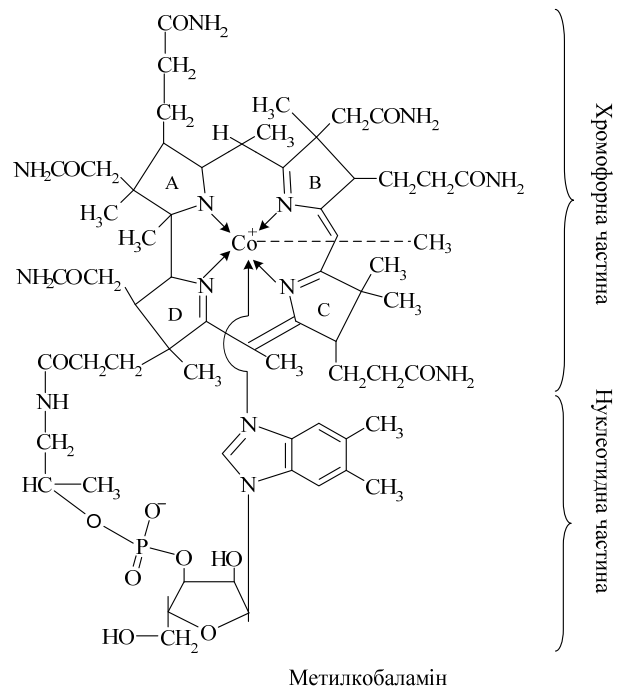


Рис. 1. Функціонально активні ділянки фермента: 1а – контактні ділянки, 1б – каталітична ділянка, 2 – субстрат, 3 – алостеричний центр

ферментом) з утворенням проміжних фермент-субстратних комплексів (ФСК). Ділянка молекули фермента, до якої приєднується субстрат, називається активним центром.

*Активний центр* простого фермента – це тривимірне утворення, здебільшого щілиноподібної форми, яке представлене сукупністю бічних радикалів амінокислотних залишків, що дуже часто знаходяться на певній відстані в лінійній послідовності поліпептидного ланцюга. Так, у молекулі лізоциму – ферменту, що забезпечує бактерицидні властивості слини, основні групи активного центра представлені амінокислотними залишками, які займають у поліпептидному ланцюзі 35, 52, 62, 63 і 101 положення. У складних ферментах активний центр може містити кофактор, а бічні радикали створюють умови для правильної конформації активного центра, орієнтації та перетворення субстрату. Проте, саме білок у складному ферменті організовує ефективне функціонування кофактора. Так, гем у комплексі з глобіном виявляє свою схильність до участі в окисновально-віновних перетвореннях; у складі каталази він забезпечує відновлення  $H_2O_2$ , тоді як у складі цитохрому гем виконує роль переносника електронів, змінюючи при цьому валентність заліза. У ферментах із четвертинною структурою кількість активних центрів, зазвичай, співпадає з числом субодиниць.

Оскільки субстрат сполучається з активним центром у кількох точках і це, своєю чергою, забезпечує високу вибірковість зв'язування (виявляється відповідність субстрату й активного центра) і орієнтацію субстрату, необхідного для каталізу, тому в активному центрі умовно виділяють *якірні (або контактні) ділянки*, які забезпечують вибір субстрату та його приєднання нековалентними зв'язками, а також *каталітичну ділянку*, яка забезпечує вибір шляху хімічного перетворення певного субстрату, тобто, бере безпосередню участь у синтезі або розриві зв'язків субстрату з утворенням продукту (рис. 1). Найчастіше до складу активних центрів

входять такі амінокислоти як сер, гіс, глу, асп, цис-SH, тир, три, ліз, гідрофобні ланцюги аліфатичних амінокислот і ароматичне кільце фенілаланіну.

Крім активного центра, у ферментах може знаходитися *алостеричний центр* (або центри) (грец. allos – інший і steros – просторовий, структурний) (рис. 1). Він просторово розділений з активним центром і являє собою ділянку молекули фермента, з якою зв'язуються так звані модулятори або алостеричні ефектори, які за своєю природою різняться з субстратами. Вони змінюють третинну, а іноді й четвертинну структуру молекули фермента, конформацію активного центра, спричинюючи в такий спосіб пришвидшення (активатори) або сповільнення (інгібітори) ферментативної реакції. Такими ефекторами можуть бути гормони та їх похідні, метаболіти, медіатори тощо.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОПІДГОТОВКИ СТУДЕНТІВ

1. Доведіть білкову природу ферментів, дайте їм характеристику як каталізаторам.
2. Охарактеризуйте функціонально активні ділянки ферментів (активний та алостеричний центри).
3. Дайте визначення коферментам, вкажіть їх класифікацію, наведіть приклади.
4. Назвіть класи ферментів і притаманні їм типи реакцій.
5. Що таке ізоферменти, наведіть приклади.
6. Наведіть приклади застосування ферментів у медицині.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

### Базова

1. Біохімія: підручник./ за загальною редакцією проф. Зайгайка А. Л. та проф. Александрової К. В. – Харків: Форт, 2014. – 728 с.
2. Губський Ю.І. Біологічна хімія. - Київ-Тернопіль: Укрмед- книга, 2000. - 508 с.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.-М.:Медицина, 1990. – 528 с.
4. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. - Екатеринбург:Урал. рабочий, 1994. - 384 с.
5. Губський Ю. І. Біоорганічна хімія. - Вінниця: НОВА КНИГА, 2004. - 464 с.
6. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник .-Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744 с.
7. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. Биохимия. К.: Выща шк. Изд-во при КГУ, 1988. - 432 с.
8. Николаев А.Я. Биологическая химия.- М.: Мед. информац. агентство, 1998. - 496 с.
9. Хмелевский Ю.В, Губский Ю.И., Зайцева С.Д. и др. Биологическая химия: Практикум. - К.: Вища шк., 1985. - 212 с.

### Допоміжна

1. Балаболкин М.И. Эндокринология. - М.: Универсум паблишинг, 1998. – 582 с.
2. Боєчко Л.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник. - К.: Вища шк., 1993. - 528 с.
3. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран: Учебн.пособие. М.: Высш. шк., 1986. - 112 с.

4. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3 т.- М.: Мир, 1985. - 1056 с.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т. - М.: Мир, 1993. - т.1 - 381 с.; т.2 - 414 с.
6. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. - М.: Медицина, 1985. - 432с.
7. Николс Д.Дж. Биоэнергетика. Введение в хемио-осмотическую теорию. – М.: Мир, 1985. - 190 с.
8. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. - М.: Мир, 1977. - 407 с.
9. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. - М.: Просвещение, 1987. - 815 с.
10. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. - М.: Медицина, 1973. - 288 с.
11. Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Высш. шк., 1984. - 336 с.
12. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564с.
13. Тюкавкина Н. А., Бауков Ю. И. Биоорганическая химия. – М.: Медицина, 1985. – 480с.
14. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. - М.: Мир, 1986. - 374 с.
15. Хухо Ф. Нейрохимия: основы и принципы.- М.: Мир, 1990. - 384 с.
16. Черних В. П., Зіменковський Б. С., Грищенко І. С. Органічна хімія: у 3 кн. – Харків: Основа, 1997. – Кн. 1. – 145 с.; Кн. 2. – 480 с.; Кн. 3. – 256 с.
17. Руководство к лабораторным занятиям по биоорганической химии. / Под ред. Н.А.Тюкавкиной. – М.: Медицина, 1985. – 256 с.
18. Halkerston I.D.K. Biochemistry: 2nd edition. The National medical series for independent study. - 1988. - 522 p.



19. Murray R.K, Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. . Harper`s Illustrated Biochemistry., LANGE medical books, 26-edition, India, 2006.- 868 p.
20. Stryer L. Biochemistry. - W.H.Freeman and Company. New York. - 1995. - 1064 p.

Рассмотрено и утверждено на заседании цикловой методической комиссии химических дисциплин Запорожского государственного медицинского университета (протокол № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2015 года)

Копирование и тиражирование только по письменному согласию ЗГМУ