

# **Структурная организация ферментов**

В настоящее время получены неопровержимые экспериментальные доказательства **белковой природы ферментов.**

*Исключение* – рибозимы - молекулы ряда предшественников РНК обладают ферментативной активностью и катализируют самосплайсинг, т. е. отщепление интронных нетранслируемых последовательностей от предшественника РНК.

Ферменты, как и все белки, обладают рядом свойств, характерных для высокомолекулярных соединений: - -- амфотерностью,  
- электрофоретической подвижностью  
- неспособностью к диализу через полупроницаемые мембраны.

Подобно белкам, ферменты имеют большую молекулярную массу: от десятков тысяч до нескольких миллионов дальтон.

Им присущи все особенности структурной организации белковых молекул (первичный, вторичный, третичный и четвертичный уровни организации).

В природе существуют как простые, так и сложные ферменты.

**Простые** представлены полипептидными цепями и при гидролизе распадаются исключительно на аминокислоты.

Таковыми ферментами являются гидролитические ферменты, в частности пепсин, трипсин, уреаза, лизоцим, рибонуклеаза, фосфатаза и др.

Большинство природных ферментов относится к классу ***сложных белков***, содержащих помимо полипептидных цепей какой-либо небелковый компонент (**кофактор**), присутствие которого является абсолютно необходимым для каталитической активности.

Кофакторы могут иметь различную химическую природу и различаться по прочности связи с полипептидной цепью.

Если константа диссоциации сложного фермента настолько мала, что в растворе все полипептидные цепи оказываются связанными со своими кофакторами и не разделяются при выделении и очистке, то такой фермент получает название **холофермента**, а кофактор – название **простетической группы**, рассматривающейся как интегральная часть молекулы фермента (например, FAD, FMN, биотин, липоевая кислота). Полипептидную часть фермента принято называть **апоферментом**.

Если же дополнительная группа легко отделяется от апофермента при диализе, в этом случае она называется **коферментом** (например,  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ). Кроме этого, роль кофактора могут выполнять металлы:  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и др.



## Кофакторы

### Коферменты

*витамины:* NAD, NADP (B3) ▪ Кофермент А ▪ Тетрагидрофолат (B9), Витамин К

*невитамины:* Кофактор F430, АТР, СТР, S-Аденозилметионин, Глутатион, ▪ Убихинон (Кофермент Q).

### Органические простетические группы

*витамины:* Тиаминпирофосфат (B1), FMN, FAD (B2), Пиридоксальфосфат (B6), Биотин (H, B7), Метилкобаламин, Кобамамид)

*невитамины:* Гем, Липоат, Хинон пиррохинолина

### Металлы

$\text{Ca}^{2+}$  ▪  $\text{Cu}^{2+}$  ▪  $\text{Fe}^{2+}$ ,  
 $\text{Fe}^{3+}$  ▪  $\text{Mg}^{2+}$  ▪  $\text{Mn}^{2+}$  ▪ Mo ▪  $\text{Ni}^{2+}$  ▪ Se ▪  $\text{Zn}^{2+}$

Более 25% всех ферментов для проявления полной каталитической активности нуждается в ионах металлов. Роль металлов в ферментативном катализе разнообразна.

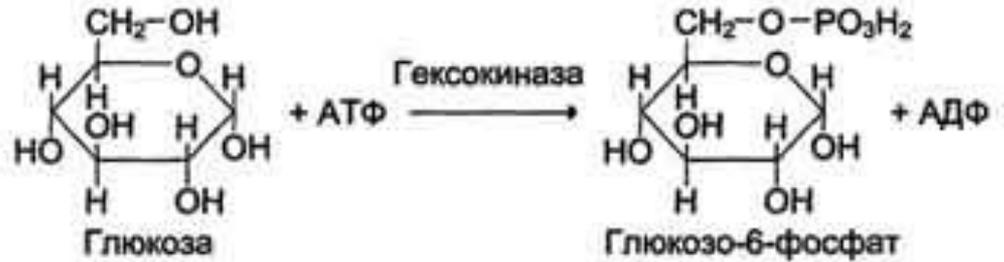
1. Ионы металла выполняют функцию стабилизаторов молекулы субстрата, активного центра фермента и конформации белковой молекулы фермента, а именно третичной и четвертичной структур.

а) Ионы металлов– стабилизаторы молекулы субстрата

Для некоторых ферментов субстратом служит комплекс превращаемого вещества с ионом металла. Например, для большинства киназ в качестве одного из субстратов выступает не молекула АТФ, а комплекс  $Mg^{2+}$ -АТФ. В этом случае ион  $Mg^{2+}$  не взаимодействует непосредственно с ферментом, а участвует в стабилизации молекулы АТФ и нейтрализации отрицательного заряда субстрата, что упрощает его присоединение к активному центру фермента.

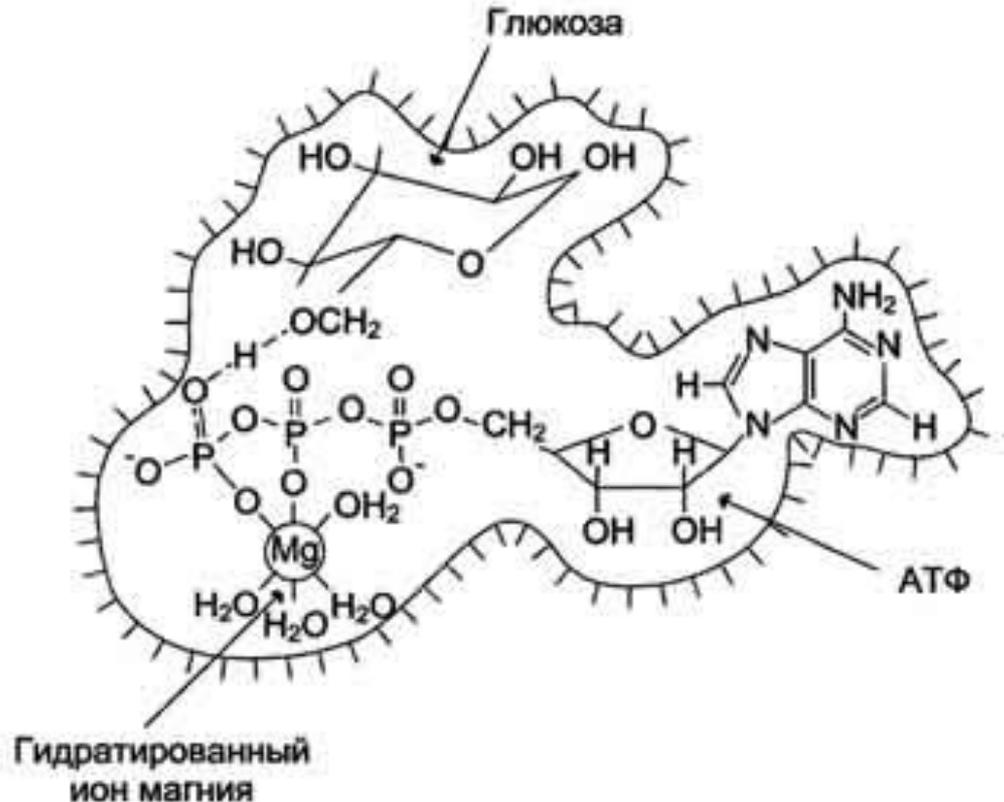
Схематично роль кофактора при взаимодействии фермента и субстрата можно представить как комплекс **E-S-Me**, где E - фермент, S - субстрат, Me - ион металла.

# Пример - расположение субстратов в активном центре гексокиназы.



В активном центре гексокиназы есть участки связывания для молекулы глюкозы и комплекса  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ. В результате ферментативной реакции происходит перенос концевой,  $\gamma$ -фосфатного остатка молекулы АТФ на глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата.

Ион  $\text{Mg}^{2+}$  участвует в присоединении и «правильной» ориентации молекулы АТФ в активном центре фермента, ослабляя фосфоэфирную связь и облегчая перенос фосфата на глюкозу.



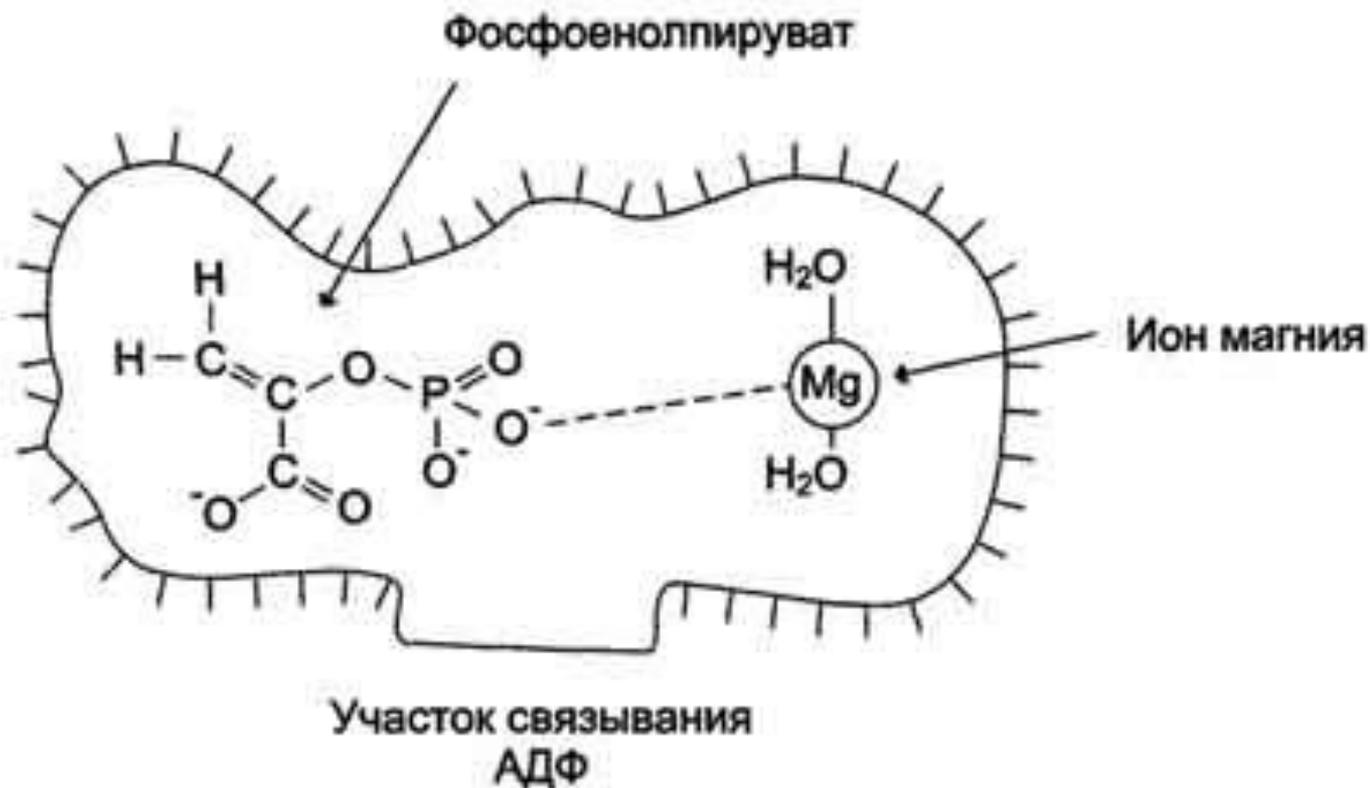
## б) Ионы металла - стабилизаторы активного центра фермента

В некоторых случаях ионы металла служат «мостиком» между ферментом и субстратом. Они выполняют функцию стабилизаторов активного центра, упрощая присоединение к нему субстрата и протекание химической реакции.

В ряде случаев ион металла может способствовать присоединению кофермента. Перечисленные выше функции выполняют такие металлы, как  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$ .

В отсутствие металла эти ферменты активностью не обладают. Такие ферменты получили название **«металлоэнзимы»**.





Активный центр пируваткиназы имеет участки связывания для фосфоенолпировата и АДФ. Mg<sup>2+</sup> участвует в стабилизации активного центра, что облегчает присоединение фосфоенолпировата. В ходе ферментативной реакции образуется пируват и АТФ.

## в) Ионы металлов – роль в стабилизации третичной и четвертичной структуры фермента

Такие ферменты в отсутствие ионов металлов способны к химическому катализу («металлоэнзимные комплексы»), однако они нестабильны.

Их активность снижается и даже полностью исчезает при небольших изменениях pH, температуры и других незначительных изменениях параметров внешнего окружения.

Таким образом, ионы металлов выполняют функцию стабилизаторов оптимальной конформации белковой молекулы.

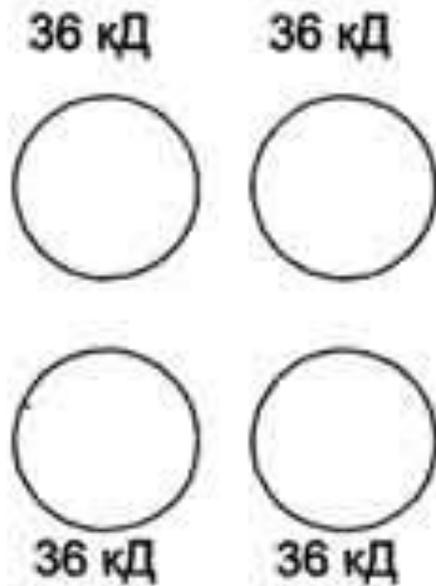
Иногда в стабилизации вторичной и третичной структуры принимают участие ионы щёлочноземельных металлов.

Так, для поддержания третичной конформации пируваткиназы необходимы ионы  $K^+$ .

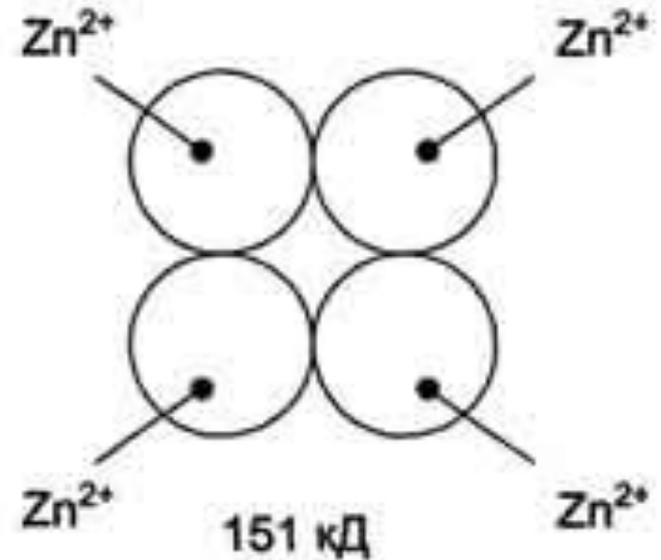
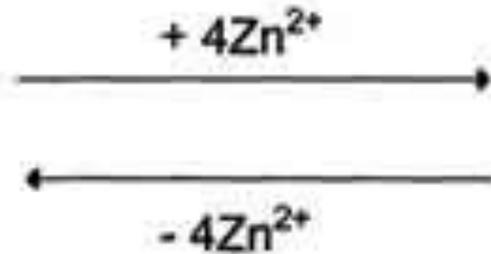
Для стабилизации четвертичной структуры алкогольдегидрогеназы, катализирующей реакцию окисления этанола, необходимы ионы цинка.

Алкогольдегидрогеназа состоит из 4 субъединиц с молекулярной массой 151 кДа.

В состав фермента входят 4 атома  $Zn^{2+}$ . Удаление  $Zn^{2+}$  приводит к потере активности фермента за счёт диссоциации на 4 неактивные субъединицы с молекулярной массой 36 кДа



Фермент не активен



Алкогольдегидрогеназа  
Фермент активен

Роль ионов цинка в стабилизации четвертичной структуры  
алкогольдегидрогеназы

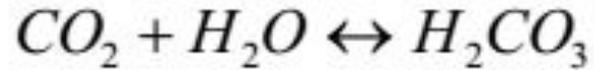
2. Ионы металлов могут принимать непосредственное участие в акте катализа.

а) Участие в электрофильном катализе

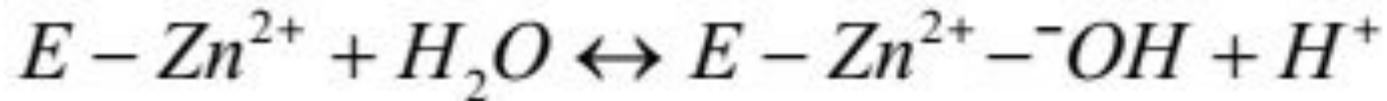
Наиболее часто эту функцию выполняют ионы металлов с переменной валентностью, имеющие свободную d-орбиталь и выступающие в качестве электрофилов. Это в первую очередь такие металлы, как  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ .

Ионы щёлочноземельных металлов (такие как  $Na^{+}$  и  $K^{+}$ ), не обладают этим свойством.

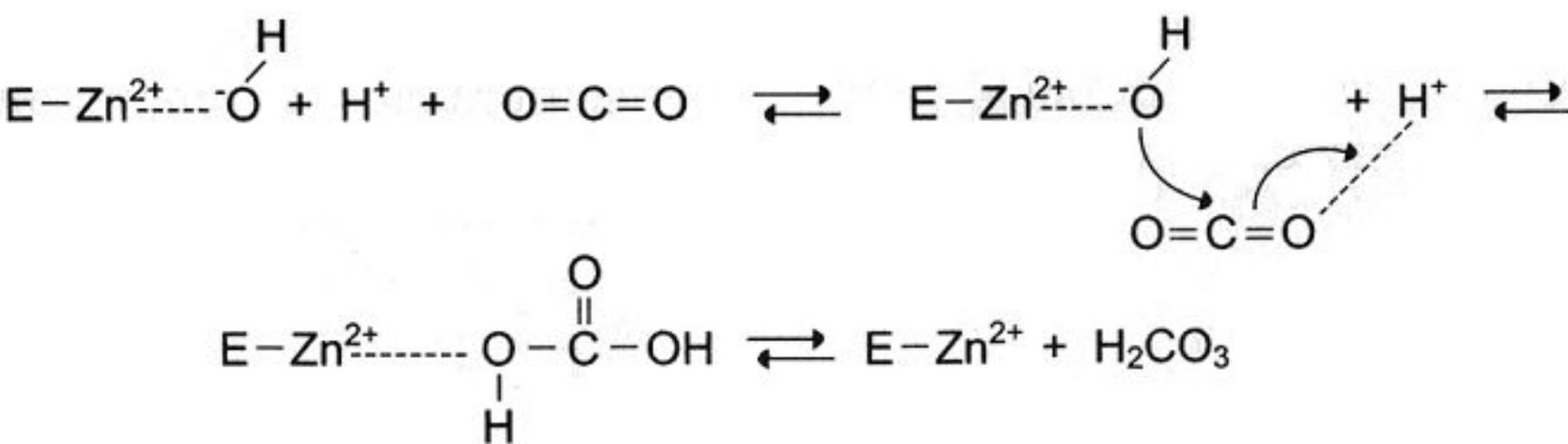
Пример, карбоангидраза – цинксодержащий фермент, катализирующий реакцию образования угольной кислоты:



Ион  $Zn^{2+}$  в результате электрофильной атаки участвует в образовании  $H^+$  и  $OH^-$  ионов из молекулы воды:



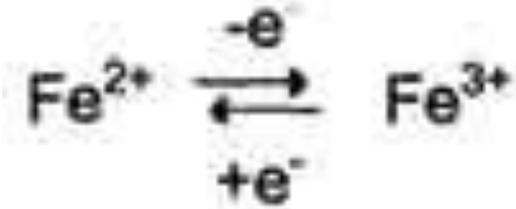
Протон и гидроксильная группа последовательно присоединяются к диоксиду углерода с образованием угольной кислоты:



## б) Участие в окислительно-восстановительных реакциях

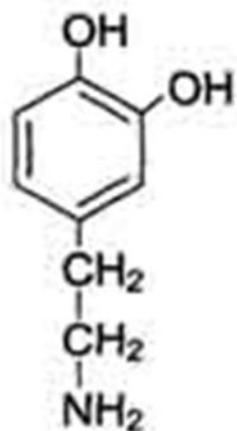
Ионы металлов с переменной валентностью могут также участвовать в переносе электронов.

Например, в цитохромах (гемсодержащих белках) ион железа способен присоединять и отдавать один электрон:

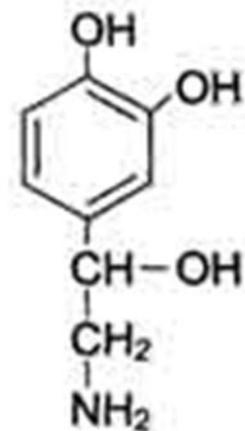
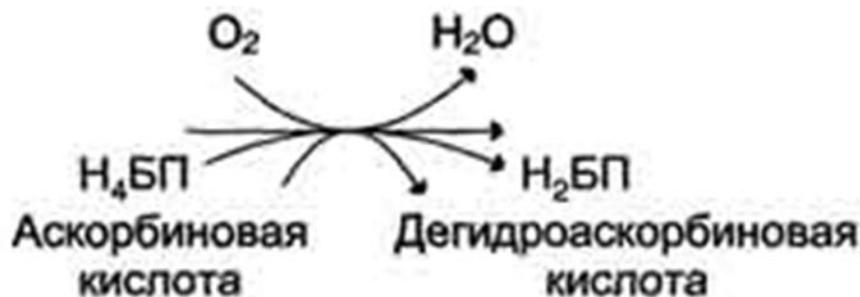


Благодаря этому свойству цитохромы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях.

Другой пример участия ионов металлов в окислительно-восстановительных реакциях - работа фермента дофамингидроксилазы, катализирующего реакцию образования норадреналина при участии витамина С



Дофамин



Норадреналин

За окислительно-восстановительные свойства у дофамингидроксилазы отвечает ион меди.

Фермент, содержащий ион  $\text{Cu}^{2+}$ , не вступает в реакцию с молекулой кислорода. При восстановлении  $\text{Cu}^{2+}$  до  $\text{Cu}^{+}$  с помощью аскорбиновой кислоты образуется ион меди, способный взаимодействовать с кислородом с образованием перекисного соединения. Далее гидроксильная группа переносится на молекулу дофамина с образованием норадреналина.



### 3. Роль металлов в регуляции активности ферментов

Иногда ионы металлов выступают в роли регуляторных молекул.

Например, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  служат активаторами фермента протеинкиназы C, катализирующей реакции фосфорилирования белков.

Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  также изменяют активность ряда кальций-кальмодулинзависимых ферментов.