

A.Ə.Quliyev, S.N.Öməröva

ENZİMOLOGİYANIN ƏSASLARI

Dərslik

*Azərbaycan Respublikası Təhsil
Nazirinin 07.12.2009-cu il tarixli
1351 sayılı əmri ilə (Protokol № 21)
dərslik kimi təsdiq edilmişdir.*

Bakı – 2010

Redaktor: **İ.V.Əzizov**
AMEA-nın müxbir üzvü,
Biologiya elmləri doktoru, professor

Rəy verənlər: **N.A.Qasimov**
BDU-nun Bitki fiziologiyası kafedrasının
müdiri, Əməkdar Elm Xadimi,
Biologiya elmləri doktoru, professor

X.Q.Qənbərov
BDU-nun Mikrobiologiya kafedrasının
professoru, Biologiya elmləri doktoru

R.Ə.Həsənov
AMEA-nın Botanika İnstitutunun
Biofizika Laboratoriyasının müdiri,
Biologiya elmləri doktoru

A.M.Əfəndiyev
ATU-nun Biokimya kafedrasının müdiri,
Biologiya elmləri doktoru

A.Ə.Quliyev, S.N.Ömərova

Enzimologiyanın əsasları, Bakı-2010, 279 səh.

Oxucuların diqqətinə təqdim olunan bu dərslik BDU-da 20 ildən çox tədris olunan Enzimologiya fənninin mühazirələri əsasında tərtib olunub. Kitab müvafiq tədris proqramı əsasında yazılıb və Enzimologiya kursunu tam əhatə edir. Dərslikdə fermentlərin kimyəvi təbiəti, funksional xüsusiyyətləri, təsnifatı, fermentativ reaksiyaların kinetikasi, orqanizmdə tənzimlənməsi, hüceyrədə lokallaşması və tətbiqi sahələri haqda məlumat verilir. Dərslik X Fəsildən ibarətdir. Mütəlliflər çalışmışlar ki, dərslikdə təqdim olunan materialda müasir məlumatlar da öz əksini tapsın.

Kitab enzimologiyadan azərbaycan dilində nəşr olunmuş ilk dərslikdir. Dərslik biologiya, tibb, pedaqoji və kənd təsərrüfatı ixtisasları üzrə təhsil alan tələbə, magistrant və aspirantlar, həmçinin biokimya və fiziologiya sahəsində çalışan tədqiqatçılar üçün nəzərdə tutulub.

GİRİŞ

Hər bir canlı hüceyrədə sintez olunan və müxtəlif kimyəvi birləşmələrin çevrilmələrini sürətləndirmək qabiliyyətinə malik olan zülal təbiətli bioloji katalizatorları *fermentlər* (və ya *enzimlər*) adlandırırlar. İrsi məlumatın reallaşdırılması, bioenergetika, biomolekulların sintezi və parçalanması kimi həyat fəalliyətinin mühüm prosesləri məhz fermentlərin iştirakı ilə həyata keçirilir.

Fermentlər bir sıra xüsusiyyətlərinə görə qeyri-üzvi katalizatorlardan fərqlənilir. İlk öncə onu qeyd etmək lazımdır ki, fermentlər həddindən artıq effektiv təsirə malikdirlər və mülayim temperatur (bədən temperaturu), normal təzyiq və neytrala yaxın mühitdə yüksək katalitik fəallıqla xarakterizə olunurlar. Məsələn, zülalın amin turşularadək hidrolizi qeyri-üzvi katalizatorların iştirakı ilə (güclü turşular və ya qələvilərin iştirakı ilə) getdikdə, proses 100°C temperaturunda onlarla saat ərzində baş verir. Xüsusi fermentlərin iştirakı ilə həmin proses 30-40°C temperaturunda bir neçə dəqiqə ərzində başa çatır. Dəmir ionları sərbəst halda H₂O₂-nin parçalanmasını kataliz edirlər. Lakin katalaza fermentinin tərkibinə daxil olan həmin Fe atomları 10 mlrd dəfə daha effektiv təsirə malikdirlər, və fermentin tərkibindəki dəmirin cəmi 1 mq-ı reaksiyada iştirak edən qeyri-üzvi dəmir ionlarının 10 tonunu əvəz edir. Növbəti misal isə, ureaza fermentinə aiddir. Ureazanın 1 molekulu 1 saniyə ərzində 30 000-ə qədər sidik cövhəri molekulunu parçalamaq qabiliyyətinə malikdir. Katalizatorsuz, bu parçalanma təxminən 30 mln il ərzində başa çata bilərdi.

Fermentləri qeyri-üzvi katalizatorlardan fərqləndirən ikinci xüsusiyyət odur ki, fermentlər üçün təsirin yüksək spesifikliyi xarakterikdir. Hər bir ferment yalnız bir reaksiyanı və ya reaksiyalar qrupunu kataliz etmək qabiliyyətinə malikdir. Qeyri-üzvi katalizatorlar üçün belə spesifiklik səciyyəvi deyildir.

Fermentlərin mühüm xassələrindən biri də odur ki, onların hüceyrədəki fəallığı həm gen səviyyəsində, həm də metabolizm səviyyəsində müəyyən kiçikmolekullu birləşmələr vasitəsilə tənzimləyə bilər.

Və, nəyahət, fermentlər termolabillik, fermentativ fəallığın mühitin pH-ından asılılığı kimi xassələrinə görə də qeyri-üzvi katalizatorlardan fərqlənirlər.

Fermentlərin quruluşu, təsnifatı və xassələrindən bəhs edən elm sahəsi *enzimologiya və ya fermentologiya* adlanır. Artıq enzimologiya fiziki-kimyəvi biologiyanın mühüm qollarından biri kimi çıxış edir ki, bu da fermentlərin praktiki əhəmiyyətinin getdikcə daha da artması ilə əlaqədardır.

Belə ki, sənayenin şərəbçilik, pivəbişirmə, spirt istehsalı, çörək bişirmə, pendir istehsalı, üzvi turşuların, çayın, amin turşuların, vitaminlərin və antibiotiklərin istehsalı kimi çoxsaylı sahələrində müxtəlif fermentativ proseslər tətbiq olunur.

Tibbdə və kənd təsərrüfatında istifadə olunan müxtəlif fizioloji fəal maddələr, məsələn dərman preparatları, bitkilərin boy stimulyatorları və s. maddələr mübadiləsinin bu və ya digər tərəfinə, digər sözlə müəyyən fermentativ prosesə təsir etməklə, onu stimullaşdırır və ya inhibirləşdirirlər. Məhz bu səbəbdən fermentlərin təsirinin qanunauyğunluqlarının, eləcə də fermentlərə müxtəlif aktivator və inhibitorların təsirinin öyrənilməsi sənayenin müxtəlif sahələri üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir. Bu da, öz növbəsində fermentlərə olan elmi marağın daha da artmasına səbəb olur. Hal-hazırda fermentlərin tədqiqatı ilə məşğul olan elmi-tədqiqat mərkəzləri fəaliyyət göstərirlər. Fermentlərin praktiki tətbiqi ilə əlaqədar olaraq, ferment preparatlarının sənayesi adlanan yeni istehsalat sahəsi inkişaf etməkdədir. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, ferment preparatlarının sənayesinin inkişafı bütövlüklə nəzəri enzimologiyanın nailiyyətlərindən asılıdır.

Enzimologiyanın əsas problemlərindən biri müxtəlif bioloji obyektlərdən fəal ferment preparatlarının alınması üsullarının təkmilləşdirilməsidir. Bu problemin həlli sayəsində müxtəlif mənbələrdən alınmış fermentlərin quruluşunu öyrənmək və

müqayisə etmək mümkündür. Bundan başqa, enzimologiya fermentlərin təsir mexanizmini, fermentativ reaksiyaların sürətini və ona təsir edən amilləri də öyrənir. Ən çətin və maraqlı məqamlardan biri də, canlı hüceyrədə fermentlərin sintez olunması və onların fəallığının tənzimlənməsidir.

Beləliklə, fermentlərin tədqiqi biologiyanın istər fundamental, istərsə də tətbiqi sahələri, eləcə də katalizatorların, antibiotiklərin, vitaminlərin və xalq təsərrüfatı və tibbdə istifadə olunan digər bioloji fəal maddələrin istehsalı ilə məşğul olan kimyəvi, qida və farmasevtik sənayenin əksər praktiki sahələri üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir (şək. 1).



Şəkil 1. Fermentlərin və enzimologiyanın biologiyada və tibbdə əhəmiyyəti.

Farmakologiyada əksər dərman preparatlarının təsiri onların fermentlərlə qarşılıqlı əlaqəsinə əsaslanır. Ümumi və molekulyar enzimologiyanın nailiyyətləri bu elmin yeni şaxəsi olan tibbi enzimologiyanın inkişafına təkan verir. Qidalanma haqqında elm həzm sisteminin fermentləri təsiri ilə qida maddələrinin mərhələli parçalanmasına dair dəqiq biliklərə əsaslanır. İnsanın irsi patologiyaları ilə bağlı olan çoxsaylı problemləri məhz spesi-

fik fermentlərin sintezinin pozulması və ya ümumiyyətlə sintez olunmaması ilə əlaqədardır. Hüceyrələrin böyüməsi və inkişafı, differensiasiyası, fizioloji funksiyaları (hərəkəti, maddələrin nəqli, həyacanlanma və tormozlanma prosesləri və s.) biokatalizatorların fəaliyyəti ilə müəyyən olunur.

Beləliklə, akademik A.E.Braunşteyn qeyd etdiyi kimi, nəinki müasir biologiya, hətta tibb də “enzimologiya dilində” danışır.

FƏSİL I. ENZİMOLOGİYANIN İNKİŞAF TARİXİ

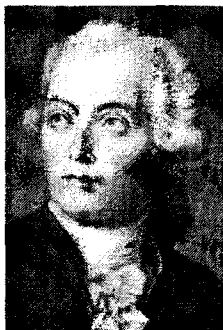
İnsanlar hələ ta qədimdən öz təsərrüfat fəaliyyətində müxtəlif fermentativ proseslərlə qarşılaşırlar, onlardan öz tələbatlarının ödənilməsi üçün istifadə etməyə çalışırdılar. Spirt və süd turşu qıçqırmasının həyata keçirilməsi, pendirin hazırlanmasında qurşaqdan istifadə, nişasta tərkibli xammalı şəkərə çevirmək məqsədilə mayanın, ağız suyunun və kif göbələklərinin, çörək istehsalında mayanın təbii qədim zamanlardan insanlarda fermentativ proseslər haqqında təsəvvürlərin olmasını göstərir.

Fermentativ proseslər haqqında ilk təcrübi məlumat XVIII əsrin ikinci yarısında Fransız və İtalyan təbiətşünasları R.A.Reomür və L.Spallansani tərəfindən quşların mədəsində ətin həzmi prosesinin öyrənilməsinə həsr olunmuş təcrübələrdə əldə edilmişdir. Bu tədqiqatçılar hind xoruzlarına və yırtıcı quşlara nazik metaldan hazırlanmış zəncirə bağlanmış ət parçalarını verirdilər və bir neçə saatdan sonra həmin zənciri quşun dimdiyindən çıxartdıqda ətin quşun çinədanında fəaliyyət göstərən həzm şirəsinin təsiri ilə tamamilə həll olunduğunu müşahidə edirdilər. Bu müşahidələr L.Spallansanini həzm şirələrinin kimyəvi tərkibinin öyrənilməsi istiqamətində təcrübələrin aparılmasına sövq etmişdir.

Lakin mürəkkəb fermentativ prosesin ilk dəqiq kimyəvi tədqiqi 1789-cu ildə müasir kimyanın banisi sayılan A.L.Lavuazye tərəfindən həyata keçirilmişdir. O, vəsfi kimyəvi analiz üsullarını təbii edərək, ilk dəfə olaraq spirtli qıçqırmanın məhsullarının balansını göstərmişdir.

1814-cü ildə Peterburq Elmlər Akademiyasının həqiqi üzvü K.S.Kirxhof cüçərmiş arpa toxumlarından alınmış ekstrakt da nişastanın şəkərə çevrilməsinə səbəb olan fəal maddənin mövcudluğunu göstərmişdir. Bununla belə, ilk dəfə olaraq, Kirxhof amilaza fermentinin məhlulunu əldə etmişdir və Kirxhofun bu kəşfi enzimologiyanın yaranma tarixi hesab oluna bilər. 1830-cu ildə fransız kimyaçısı P.J.Robike göstərmişdir ki, acı badam meyvələrində amiqdalin qlikozidinin hidrolizinə səbəb olan ağ

rəngli həll olan maddə mövcuddur. Bu birləşmə sonradan emulsin adlandırılmışdır.



Antuan Loran Lavuazye
(1743-1794)

Enzimologiyanın inkişaf tarixinin əsas mərhələlərinin biri də fransız kimyaçıların A.Payena və J.B.Personun işləri ilə əlaqədardır. Onlar 1833-cü ildə Kirxhof tərəfindən təsvir olunmuş fəal maddənin toz şəklində alınmasının mümkünlüyünü sübut edən təcrübələrin nəticələrini dərc etmişlər. Onlar bu maddəni diastaza adlandırmışlar. Beləliklə, Payena və Personun işləri nəticəsində məlum oldu ki, fermentləri yalnız məhlullar şəklində deyil, eləcə də quru həll olan preparatlar şəklində də əldə etmək olar. 1835-ci ildə Fore qara xardalın tərkibindəki sinqrin qlikozidinin hidrolizini kataliz edən sinqrinaza fermentinin təsirini təsvir etmişdir; 1836-cı ildə Şvann pepsin fermentini təsvir etmişdir; 1846-cı ildə Dübranfo mayalarda invertaza fermentini, 1856-cı ildə isə, J.Korvizar tripsini kəşf etmişdirlər. XIX əsrin ortalarında artıq fermentlərin yayılması və xassələri haqqında xeyli material toplanmışdır.

Fermentlərin təbiəti haqqında təsəvvürlərin yaranmasında zülalların və fermentlərin öyrənilməsinə mühüm yer ayıran məşhur alman kimyaçısı Y.Libixin fəaliyyəti böyük rol oynadı. Libix, fermentlərin təbiəti və qızcırmanın mahiyyəti barəsində mövcud olan məlumatları ümumiləşdirib, belə bir fikir irəli sürmüşdür ki, qızcırma prosesi, maya diastazası və ya badam

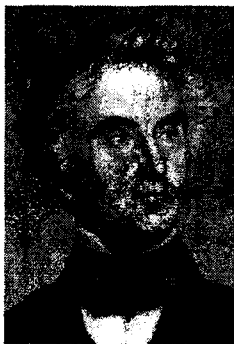
emulsininə bənzər, həll olan fermentlər vasitəsilə həyata keçirilən kimyəvi prosesdir. Lakin 1856-cı ildə müasir mikrobiologiya elminin banisi olan L.Pasterin qıvcırmanın təbiətinin öyrənilməsinə həsr olunmuş işləri başlanmışdır. Öz təcrübələrində Paster göstərmişdir ki, qıvcırma yalnız canlı orqanizmlər tərəfindən həyata keçirilə bilər. Libix, Bertlo və Bernar kimi alimlərin sübutları Pasterin təcrübələrinin sarsılmaz məntiqində şübhə yarada bilməmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, Paster özü də spirtli qıvcırmanı həyata keçirə bilən hüceyrəsiz maya şirəsini almaq üçün bir neçə dəfə cəhd etmişdir. Bu məqsədlə, o, maya hüceyrələrini yüksək təzyiq altında qumla əzirdi. Lakin, onun təcrübələri, bu istiqamətdə işləyən digər alimlərin təcrübələri kimi, uğursuzluqla nəticələnmişdir.

L.Pasterin tədqiqatlarının nəticəsində fermentlər iki qrupa bölündü – (1) ekstraktlar və hüceyrəsiz ferment preparatlar şəklində alınan həll olan fermentlər və (2) müxtəlif növ qıvcırmalara səbəb olan canlı mikroorqanizmlərin tərkibindəki fermentlər. Birincilər, “qeyri-mütəşəkkil”, ikincilər isə, “mütəşəkkil” fermentlər adlandırılmışlar. Ferment terminin bu cür ikili başa düşülməsi elmdə qarışıqlığa səbəb olurdu ki, 1878-ci ildə V.Küne “qeyri-mütəşəkkil” fermentləri enzimlər adlandırmaq təklifini irəli sürmüşdür.

Libix və Pasterin qıvcırmanın təbiəti haqqında mübahisəsi 1897-ci ildə alman alimi E.Buxnerin təcrübələri nəticəsində öz həllini tapmışdır. O, maya hüceyrələrini torpaqla əzib çox yüksək təzyiq altında sıxmaqla spirtli qıvcırmaya səbəb olan hüceyrəsiz maya şirəsini almışdır. Beləliklə, qıvcırma prosesi maya şirəsinin tərkibindəki həll olan fermentlər vasitəsilə həyata keçirilmişdir. Bu kəşf sayəsində maya şirəsinin katalitik sistemi və onun tərkibinə daxil olan ayrı-ayrı fermentlər ətraflı öyrənilmişdir.

Mürəkkəb fizioloji proses hesab olunan spirtli qıvcırmanın həll olan fermentlərin təsirinin nəticəsi olduğunu və canlı hüceyrələrin iştirakı olmadan da baş verdiyini sübut edən Buxnerin kəşfi çox mühüm prinsiplial əhəmiyyətə malik idi.

Qıçırma prosesinin təbiəti haqqında mübahisə və Buxnerin kəşfi fermentativ proseslərin intensiv tədqiq olunmasını stimullaşdırdılar, və bunun nəticəsi kimi XX əsrin əvvəlində artıq xeyli miqdarda ferment aşkar olunmuşdur.



İoqann Yustus fon Libix
(1803-1873)

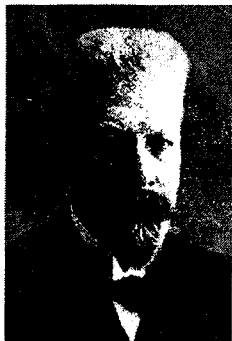


Lui Paster
(1822-1895)

Pasterin şagirdi olan Düklo fermentlərin adlandırılması məqsədilə onun təsir etdiyi substratın adına “aza” şəkilçisini əlavə etmək təklifini irəli sürmüşdür. Bu təklif qəbul olunmuşdur və hal-hazıradək fermentlərin adlandırılmasında bu prinsipdən istifadə olunur. Lakin, qeyd etmək lazımdır ki, bəzi fermentlər üçün bu qaydaya tabe olmayan trivial adlar da saxlanılmışdır (məs., pepsin, tripsin, ximotripsin, papain və s.).

Enzimologiyanın inkişafında mühüm mərhələlərdən biri də alman kimyaçısı E.Fişerin adı ilə bağlıdır. O, XX əsrin əvvəllərində fermentlərin təsirinin spesifikliyinə dair müasir təsəvvürləri əsaslandırmışdır və ferment-substrat qarşılıqlı əlaqəsini “açarın qıfılı” uyğunluğu ilə müqayisə etmişdir. Proteolitik fermentlər üzrə aparılan tədqiqatlarla məşğul olmuş biokimyəçilər və enzimoloqlar – E.Abderqalden və M.Berqmann, müasir biokimyanın və enzimologiyanın korifeylərindən biri olan O.Varburq və digərləri öz elmi fəaliyyətlərini E.Fişerin laboratoriyasında başlamışlar.

XX əsrin əvvəllərində fermentlərin təsir kinetikasının əsasları qoyulmuşdur. 1902-ci ildə ingilis kimyaçısı A.Broun belə bir fikir irəli sürmüşdür ki, fermentin müvafiq substrata təsir etməsi üçün, o, substratla aralıq ferment-substrat kompleksini əmələ gətirməlidir. Eyni zamanda və Broundan asılı olmayaraq bu fikir fransız alimi Anri tərəfindən söylənilmişdir. 1913-cü ildə L.Mixaelis və M.Menten bu fikri təsdiq edərək fermentativ katalizin müasir kinetikasına başlanğıc vermişlər.



Eduard Buxner
(1860-1917)



Emil Herman Fişer
(1852-1919)

Birinci dünya müharibəsindən sonra böyük alman kimyaçısı və biokimyəçisi R.Vilştetter şagirdləri ilə birlikdə fermentlərin yüksək dərəcədə təmiz halda alınması və onların kimyəvi təbiətinin öyrənilməsi məqsədilə aparılan elmi işlərə başlanğıc vermişlər. Bu zaman ferment preparatlarının təmizlənməsinin əsas üsulu – fermentləri məhluldan müxtəlif adsorbentlər, xüsusilə də alüminium hidroksid $Al(OH)_3$ vasitəsilə adsorbsiyası idi. 1862-ci ildə böyük rus biokimyəçisi A.Y.Danilevskiy ilk dəfə olaraq bu üsul vasitəsilə pankreatik amilazanı tripsindən ayırmışdır. Vilştetterin əməkdaşları ilə apardığı işlər fermentlərin təmizlənməsi, onların vəsfi təyini üsullarının inkişafında, ayrı-ayrı fermentlərin xarakteristikasında və onların spesifikliyinə öyrənilməsində böyük rol oynamışdır. Lakin, Vilştetter qarşısına qoyduğu əsas məqsəd - fermentlərin kimyəvi təbiətinin aydınlaş-

dırılmasına nail ola bilmədi. 1926-cı ildə Vilştetter elə bir nəticəyə gəldi ki, fermentlər nə zülallara, nə karbohidratlara, nə də üzvi birləşmələrin məlum olan hər hansı digər sinfinə aid deyillər və üzvi birləşmələrin xüsusi sinfini təşkil edirlər.



Mod Menten
(1879-1960)



Leonor Mixaelis
(1875-1949)

Həmin ildə cavan amerikan biokimyəçisi C.Samner ureaza fermentini bitki toxumlarından zülal kristalları şəklində alınmasına nail olmuşdur. O zamanki Vilştetterin böyük nüfuzu sayəsində, Samnerin işi, nəinki diqqəti cəlb edə bilmədi, hətta müəllifi təcrübələri kifayət qədər təmiz şəraitdə aparmadığında taqsırlandırmışlar. Lakin artıq 1930-cu ildə digər amerikalı alim D.Nortrop zülal kristalları şəklində pepsin, 1931-ci ildə isə, D.Nortrop və M.Kunits kristallik tripsini əldə etmişlər. Beləliklə Samnerin və Nortropun əməkdaşları ilə apardıqları işlər müasir enzimologiyanın inkişafında yeni mərhələ idi. Onlar, yüksək dərəcədə təmiz kristallik preparatların alınma yolunu müəyyən etdilər və bununla da fermentlərin zülal təbiətini sübut etdilər.

Yüksək dərəcədə təmiz ferment preparatlarının alınmasının yeni üsullarının tətbiqi sayəsində əksər fermentlərin ikikomponentli olduğu və zülal hissədən və prostetik qrupdan təşkil olunduğuna dair Vilştetterin fərziyyəsi sübut olunmuşdur. Eyni zamanda müəyyən olunmuşdur ki, prostetik qrup qismində bəzi vitaminlərin törəmələri çıxış edir. Beləliklə, əksər vitaminlərin

katalik rolu izah olunmuşdur. Bu sahədə 30-cu illərdə Eyles və Varburq məktəbi tərəfindən aparılan işlər xüsusi diqqətə layiqdir ki, onlar bəzi oksidləşdirici-reduksiyaedici fermentlərin tərkib hissəsi qismində nikotinamidnukleotidlərin və riboflavinin iştirak etdiyini göstərmişlər.

Fermentlərin preparativ kimyasının sonrakı inkişafı fermentlərin fəaliyyətində pantoten, fol və lipoy turşularının, biotinin, tiaminin və piridoksinin törəmələrinin iştirakını müəyyən etməyə imkan verdi. 1945-ci ildə F.A.Lipman fosfat rabitələrini kimyəvi enerjinin digər formalarına çevrilməsini təmin koenzim A-nı kəşf edib, və 1953-cü ildə “koenzim A-nın kəşfi və metabolizmin aralıq mərhələlərində onun rolunun aydınlaşdırılmasına” görə, o, fiziologiya və tibb sahəsində Nobel mükafatına layiq görülmüşdür. Fermentlərin ayrılması və təmizlənməsinin yeni üsullarının tətbiqi sayəsində müəyyən olunmuşdur ki, çoxsaylı fermentlərin tərkibində onların fəaliyyətində mühüm rol oynayan metal ionları mövcuddur.



Ceyms Betçeller Samner
(1887-1955)



Con Xovard Nortrop
(1891-1987)

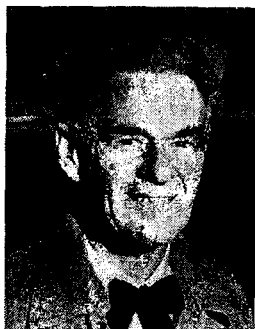
Müxtəlif nukleotidlərin katalitik funksiyalarının aydınlaşdırılması biokimyanın və enzimologiyanın inkişafında böyük rola malik idi. Adenozintrifosfatın, müxtəlif fermentativ reaksiyalarda fosfat qrupların donoru və hüceyrənin həyat fəaliyyətində istifadə olunan enerjinin akkumulyasiyası baş verdiyi əsas birləşmə qismində rolu müəyyən edilmişdir. L.Lelyuarın işləri sayəsində

məlum olmuşdur ki, müxtəlif karbohidratların və lipidlərin çevrilmələrini və sintezini kataliz edən ferment sistemlərin komponentləri qismində nukleotiddifosfatlar çıxış edir. Beləliklə, mineral maddələr, nukleotidlər və nuklein turşularının mübadiləsi və fermentlərin katalitik funksiyaları arasında sıx əlaqənin olması müəyyən olunmuşdur.

İkinci dünya müharibəsindən sonrakı vaxt ərzində fermentlərin quruluşunun tədqiqində və hüceyrədə onların biosintezinin molekulyar mexanizmlərinin aydınlaşdırılmasında böyük nailiyyətlər əldə olunmuşdur.

Zülalların amin turşu ardıcılığının müəyyən olunması üsullarını işləyib hazırlamış və bu üsullar vasitəsilə insulinin quruluşunu müəyyən etmiş ingilis kimyaçısı F.Sengerin klassik tədqiqatları zülallar kimyasının inkişafına və bəzi fermentlərin quruluşunun müəyyən olunmasına səbəb olmuşdur. Bu üsulların tətbiqi sayəsində çoxsaylı zülalların, o cümlədən bir sıra fermentlərin, eləcə də bəzi sitoxromların zülal komponentlərinin birincili quruluşunun təyini mümkün oldu. Zülalların və fermentlərin fəza quruluşlarının öyrənilməsində rentgenstruktur analizinin rolu da böyükdür. Zülalların molekulyar quruluşuna dair məlumatlar əsasında 1969-cu ildə ilk dəfə olaraq ribonukleaza fermentinin kimyəvi sintezi aparılmışdır. Bu da öz növbəsində, kimyəvi sənaye üçün yüksək effektivli katalizatorların sintez olunması perspektivini açdı.

Nəhayət, nuklein turşularının fermentativ sintezinin molekulyar mexanizminin və zülalların biosintezini prosesində bu molekulların mühüm rolunun öyrənilməsində də böyük nailiyyətlər əldə olunmuşdur. Belə ki, M.V.Qrünberq-Manaqo və S.Oçoa ribonuklein turşusunun və onun müxtəlif analoqlarının sintezini kataliz edən polinukleotidfosforilaza fermentini, A.Kornberq əməkdaşları ilə isə, DNT və molekul çəkisi $6 \cdot 10^6$ Da-a bərabər olan DNT-yə bənzər polimerlərin sintezini kataliz edən DNT-polimeraza fermentini kəşf etmişlər. Bu kəşflər tədqiqatların yeni istiqamətdə aparılmasına təkan verdi ki, nəticədə ribonuklein turşularının sintezini kataliz edən fermentlər qrupu aşkar olunmuşdur.



Lipman Fris Albert
(1899-1986)



Kornberq Artur
(1918-2007)

Hüceyrəsiz ferment sistemlərində zülal sintezi prosesinin öyrənilməsi zamanı müəyyən tərkibli sintetik polinukleotidlərin tətbiqi nuklein turşularının bu prosesdə rolunu dəqiqləşdirməyə və nuklein turşu tərkibi və sintez olunan zülalın tərkibi arasında sıx əlaqənin mövcudluğunu sübut etməyə imkan verdi. Bu işə, XX əsrdə təbiətşünaslıq sahəsində əldə olunan ən böyük nailiyyətlərdən biridir.

Bir sıra tədqiqatçıların, o, cümlədən də F.Sengerin, işləri sayəsində DNT-də nukleotidlər ardıcılığının tam öyrənilməsinə imkan verən üsullar hazırlanmışdır. Nəticədə müxtəlif zülalların biosintezini müəyyən edən genlərin təbiəti aydınlaşdırılmışdır. Bundan başqa, bəzi genləri süni olaraq sintez etmək mümkün oldu ki, onları bakterial hüceyrəyə yeritdikdə insulin və ya interferon kimi çox dəyərli zülal təbiətli preparatları böyük miqdarda almaq imkanını əldə etmək olar. Bu və digər işlər “gen mühəndisliyi” adlanan və əsas vəzifəsi genlərin bir orqanizmdən digərinə “köçürülməsindən” ibarət olan yeni elmi istiqamətin inkişafına gətirib çıxartdı.

Son illər ərzində tətbiqi enzimologiya çox sürətlə inkişaf edir. Hal-hazırda fermentlər sənayenin müxtəlif sahələrində, kənd təsərrüfatında, tibbdə olduqca geniş tətbiq olunurlar.

Enzimologiya elminin gələcəyinə gəldikdə isə, bu sahədə aparılan tədqiqatlar, əsasən, aşağıda qeyd olunan istiqamətlərdə həyata keçiriləcəkdir:

1. klassik üzvi kimya və kvant mexanikası qanunlarına müvafiq olaraq, fermentlərin təsirinin molekulyar mexanizminin daha dərin öyrənilməsi və bunun əsasında fermentativ kataliz nəzəriyyəsinin işlənilməsi;
2. canlı sistemlərin daha yüksək quruluş səviyyələrində (molekulüstü, hüceyrəvi) fermentlərin öyrənilməsi. Qeyd etmək lazımdır ki, burada əsas diqqət ayrı-ayrı fermentlərin öyrənilməsinə deyil, mürəkkəb ferment komplekslərinin öyrənilməsinə veriləcəkdir;
3. fermentlərin biosintezi və onların fəallığının tənzimlənməsi mexanizmlərinin öyrənilməsi məqsədilə aparılan tədqiqatlar davam etdiriləcəkdir;
4. nativ fermentlərə oxşar olaraq yüksək spesifikliyə və katalitik fəallığa malik olan, lakin müəyyən maneə törədən antigen xassəsindən məhrum olan sinzimplər adlanan süni kiçikmolekullu fermentlərin yaradılması sahəsində tədqiqatlar inkişaf edəcəkdir;
5. mühəndis enzimologiya (zülal mühəndisliyi) sahəsində tədqiqatlar aparılacaq, fermentlərin, anticisimlərin və reseptorların xassələrini özündə birləşdirən "hibrid" katalizatorların yaradılması, eləcə də qiymətli maddələrin istehsalını təmin edən ayrı-ayrı fermentlərin və poliferment komplekslərin iştirakı ilə biotexnoloji reaktorların yaradılması həyata keçiriləcəkdir;
6. tibbi enzimologiya sahəsində insan orqanizmində fermentlərin sintezinin və fəallığının tənzimlənməsinin pozulması sayəsində baş verən irsi və somatik xəstəliklərin molekulyar mexanizmlərinin aydınlaşdırılması məqsədi ilə aparılan tədqiqatlar davam etdiriləcəkdir.

FƏSİL II. FERMENTLƏRİN AYRILMASI VƏ TƏMİZLƏNMƏSİ ÜSULLARI

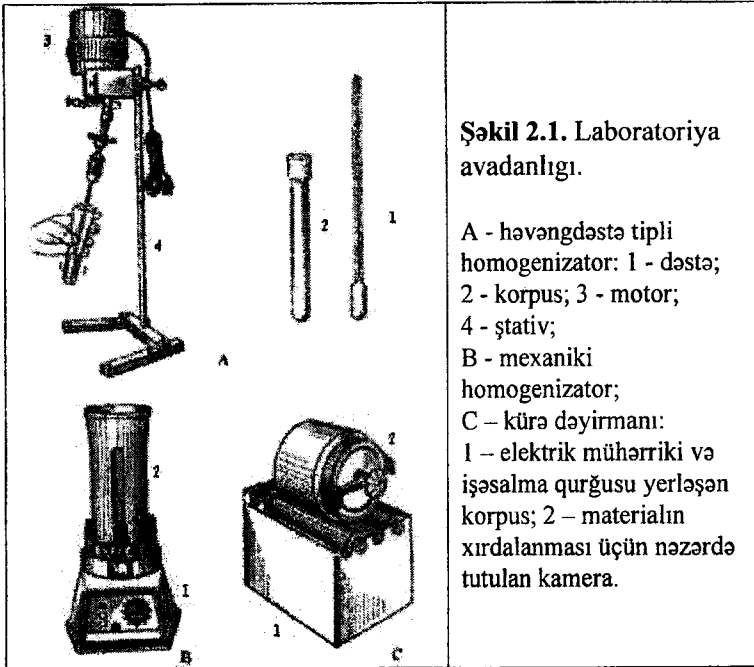
Fermentlərin fiziki-kimyəvi və bioloji xassələrinin, eləcə də onların kimyəvi tərkibinin və quruluşunun tədqiqi məqsədilə fermentlər təbii mənbələrdən kimyəvi təmiz, homogen halda alınmalıdır. Fermentlərin alınması üçün aşağıdakı ardıcılıqla əməliyyatlar aparılmalıdır:

1. bioloji materialın əzilməsi (homogenləşdirilmə);
2. hüceyrənin müvafiq orqanoidinin ayrılması (sentrifugalama);
3. zülalların həll olan vəziyyətə keçirilməsi (ekstraktlaşdırılma);
4. tədqiq olunan fermentin digər fermentlər qarışığından ayrılması (fermentin təmizlənməsi).

Fermentləri bioloji obyektlərdən (heyvanların orqanları və toxumaları, mikroorqanizmlər, bitkilər) ayırmaq məqsədilə tədqiq olunan material homogen hala gədər əzilir, yəni hüceyrə quruluşunu dağıdaraq bioloji materialı dezinteqrasiyaya məruz qoyurlar. Bu əməliyyat *homogenləşdirilmə* adlanır və Uorriinq tipli bıcaq homogenizatoru və ya Potter-Elvegeymin həvəngdəstə tipli homogenizatoru vasitəsilə həyata keçirilir. Bəzi heyvan və bitki obyektlərindən bir sıra fermentləri ayırmaq məqsədilə val və ya (fırlanan silindr) və ya kürə dəyirmanlardan istifadə olunur (şək.2.1).

Bundan başqa, toxumaların dezinteqrasiyası (əzilməsi) məqsədilə ultrasəs, press-usullardan (dondurulmuş materialın yüksək təzyiq altında polad presin dəşiklərindən keçirilməsi) və "azot bombası" üsulundan (bu üsulun mahiyyəti ondan ibarətdir ki, hüceyrələri, xüsusilə də mikrob hüceyrələrini, əvvəlcə yüksək təzyiq altında azotla doydururlar, sonra isə təzyiqi kəskin azaldırlar, bu zaman ayrılan azot qazı hüceyrələrin "partlamasına" səbəb olur) istifadə edirlər. Qeyd etmək lazımdır ki, bioloji materialın ultrasəs vasitəsilə əzilməsi (dezinteqrasiyası) ultrasəs dezinteqratoru adlanan xüsusi avadanlıqla həyata keçirilir. Bu üsul hal-

hazırda geniş tətbiq olunur, xüsusilə də bakterial hüceyrələrin əzilməsi məqsədilə. Lakin bu halda elə bir iş rejimi seçilməlidir ki, fermentlərin inaktivləşməsi baş verməsin.

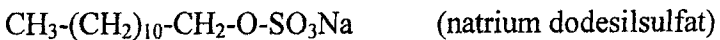


Toxumaların əzilməsi nəticəsində alınan eynicinsli qarışıq **homogenat** adlanır. Homogenat differensial sentrifüqalaşdırma-ya, yəni tədricən artan müxtəlif sürətlərdə aparılan sentrifüqalanmaya məruz qalır. Belə ki, misal üçün, sentrafüqalanma 1 500 g sürətində başlayır. Bu sürətdə çökən hissəciklərin ayrılmasından sonra sentrifüqalama 20 000 g, sonra 40 000 g və s. sürətlərdə aparılır. 1 500 g-də xloroplastlar, 20 000 g-də mitoxondrilər (yəni hüceyrənin oksidləşdirici-reduksiyaedici fermentlərin yerləşdiyi hissəciklər) çökür. Daha yüksək sürətlərdə (40 000 g və artıq) homogenatda olan nisbətən kiçik hissəciklər çökür. Hüceyrənin ayrı-ayrı orqanoidlərinin (mitoxondrilər, nüvə və s.) tamlığını pozmamaq məqsədilə, homogenatın alınması və onun sonrakı differensial sentrafüqalanması zamanı 5-8% saxaroza əlavə olunur.

Fermentlərin bioloji obyektlərdən ayrılmasının növbəti mərhələsi, artıq yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, **ekstraktlaşdırılmadır**. Toxumaların tərkibindəki əksər zülallar, o cümlədən də fermentlər, 8-10 %-li duz məhlullarında yaxşı həll olurlar. Fermentlərin ekstraktlaşdırılması məqsədilə pH-ın müəyyən qiymətinə malik olan müxtəlif bufer məhlullarından, üzvi həlledicilərdən, eləcə də qeyri-ion detergentlərdən, yəni zülal və peptid molekulları arasında, zülal molekulları arasında mövcud olan hidrofob qarşılıqlı əlaqələri dağıdan maddələrdən istifadə olunur.

Ekstraktlaşdırma zamanı mühitin pH-ı zülalların həll olma qabiliyyətinə əhəmiyyətli dərəcədə təsir edir, və, bu səbəbdən, fermentlərin ekstraktlaşdırılması zamanı onların həll olmasını və stabilliyini təmin edən müəyyən pH qiymətinə malik olan fosfat, sitrat, borat və s. bufer məhlullarından istifadə edirlər. Tris-bufer sistemləri daha geniş istifadə olunurlar. Bu sistemlər 0,2M tris-(oksimetil)-aminometan $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ (qısa olaraq "tris") məhlulunun və 0,1M xlorid turşusu məhlulunun müxtəlif nisbətli qarışığıdır.

Fermentlər mitoxondrilərin və digər subhüceyrəvi strukturların biomembranları ilə birləşmiş ola bilərlər. Bu səbəbdən homogenatdan subhüceyrəvi strukturların bu və ya digər fraksiyasını ayırdıqdan sonra, onların tərkibindəki membranla birləşmiş fermentləri məhlula keçirmək lazımdır. Bu məqsədlə zülal-lipid komplekslərinin parçalanmasına və zülal-zülal rabitələrinin qırılmasına səbəb olan yüksək səthi fəallığa malik olan **detergent** adlanan aktiv birləşmələrdən istifadə olunur. Bunlara misal olaraq, triton X-100, natrium dodesilsulfat və natrium dezoksixolat kimi detergentləri göstərmək olar.



Qeyd etmək lazımdır ki, detergentlər zülal-zülal rabitələrini qıraraq fermentlərin dördüncülü (oligo)mer quruluşunu pozurlar.

Subhüceyrəvi strukturlarla birləşmiş olan fermentlərin ayrılmasının digər üsulu differensial sentrifuqalaşdırma nəticəsində alınmış tədqiq olunan subhüceyrəvi fraksiyanın ardıcıl olaraq bir neçə dəfə təkrarlanan **dondurulması və əridilməsindən** ibarətdir. Dondurulma nəticəsində hüceyrənin tərkibində mövcud olan su molekulları buz kristallarına çevrilirlər və hüceyrə qılafının tədricən dağıdılmasına səbəb olurlar.

Bir sıra fermentlərin ayrılması məqsədilə **aseton tozlarından** istifadə olunur. Bu üsulun prinsipi ondan ibarətdir ki, bioloji material, məsələn mədəaltı vəzinin toxuması və ya cücərmiş toxum, əzilərkən bir neçə dəfə soyuq asetonla işlənir. Bu zaman bir sıra yağabənzər maddələr, bəzi qətranlar, rəngləyici maddələr və s. kənarlaşdırılır. Qurudulduqdan sonra eynicinsli toz alınır. Bu tozu (“aseton tozunu”) bufer məhlulu və ya digər həlledici ilə ekstraksiya (həll) edirlər, və fermentlər qarışıqından ibarət olan ekstraktı alırlar. Lakin bu üsul bütün fermentlərin ayrılması üçün tətbiq oluna bilməz, çünki, onlardan bəziləri asetonun təsiri altında inaktivləşir.

Beləliklə, yuxarıda qeyd olunan üsullar vasitəsilə fermentlər qarışıqının ekstraktını almaq mümkündür. İndi isə bu qarışıqdan bizi maraqlandıran fermentin ayrılması (təmizlənməsi) üsullarına diqqət yetirək.

XIX əsrin əvvəllərində A.Payeno və J.Perso səməni ekstraktından amilaza fermentini ayırmaq məqsədilə zülalların **spirtlə çökdürülməsi** üsulunu istifadə etmişlər. Bu məqsədlə asetonun da istifadə etmək olar. Bu üsul geniş yayılıb və müasir elmdə kif göbələklərindən ferment preparatlarının alınması məqsədilə istifadə olunur. Məs., bəzi yapon firmaları göbələk amilazası preparatlarını aşağıda qeyd olunan yolla alırlar. *Aspergillus oryzae* göbələyi müəyyən tərkibli qida mühitində becərilir. Sonra göbələk miselisi mühitdən ayrılır, əzilir və ekstraksiya olunur, alınmış ekstraktan isə müəyyən qatılıqlı spirt vasitəsilə ferment preparatı çökdürülür. Aydınır ki, bu zaman amilaza ilə yanaşı, bir sıra digər fermentlər və zülallar da çökmüş olur.

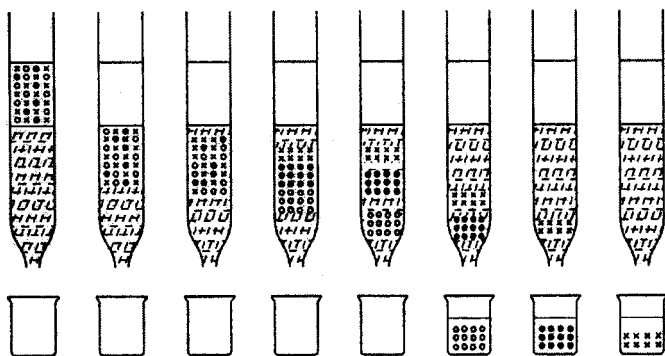
Bu üsulun mühüm çatışmazlığı ondan ibarətdir ki, əksər fermentlər spirtin və ya asetonun təsiri altında denaturasiyaya məruz qalaraq, öz fəallıqlarını itirirlər. Fermentlərin denaturasiyasının və inaktivləşməsinin qarşısının alınması üçün, bu əməliyyat həlledicinin su ilə qarışığının dondurulma temperaturuna yaxın olan aşağı temperatur şəraitində aparılmalıdır.

Üzvi həlledicilərlə çökdürülmə üsulundan başqa, fermentlərin ayrılması üçün ***duzlaşdırılma*** (duzlarla çökdürülmə) üsulundan da istifadə edirlər. Bu, çox geniş yayılmış üsuldur və onun vasitəsilə elmi tədqiqatlarda yüksək fəallığa malik ferment preparatlarını alırlar. Bu məqsədlə, adətən, tədqiq olunan məhlulə ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) duzunu tədricən yüksələn qatılıqda əlavə edirlər. Əvvəla fermentlər məhlulunu ammonium sulfatla 20%-ə qədər doydururlar. Nəticədə fermentlərin və zülalların bir hissəsi çökür, çöküntü sentrifüqasiya yolu ilə ayrılır və müvafiq fermentativ fəallığın mövcudluğu yoxlanılır. Sonra məhlul ammonium sulfatla 40%-ə qədər doydurulur, əmələ gələn çöküntü ayrılır və onun fermentativ fəallığı tədqiq olunur. Sentrifüqasiyadan sonra qalmış məhlul 60%-ə qədər $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -la doydurulur və yenə də əmələ gələn zülal çöküntüsü ayrılır. Beləliklə, bir sıra zülal fraksiyaları alınır, və onlar bu və digər fermentin mövcudluğuna yoxlanılırlar.

Fermentlərin ayrılması və təmizlənməsi üsullarından biri onların məhlullardan ***seçici adsorbsiyasıdır***. Bu üsul ilk dəfə Danilevskiy tərəfindən tətbiq olunmuşdur. Üsulun əsasını məhluldakı fermentin müəyyən adsorbentlə, məs., alüminium hidroksidlə adsorbsiya olunması təşkil edir. Seçici adsorbsiya sənayedə göbələk və bakteriya amilazasının ayrılması və təmizlənməsi məqsədilə tətbiq olunur. Bu zaman adsorbent qismində, məs. amilaza fermenti üçün spesifik adsorbent sayılan nişastadan istifadə olunur.

Fermentlərin ayrılması və təmizlənməsi məqsədilə enzimologiyada sütunlarda (kolonkalarda) aparılan seçici adsorbsiyanın müxtəlif növləri çox geniş yayılıb. Bu cür sütunları müxtəlif adsorbentlərlə doldururlar.

Əgər şüşə borucuğunu bu və ya digər adsorbentlə, məs., hidroksilapatit geli ilə doldursaq və bu borucuqdan tədqiq olunan məhlulu buraxsaq, məhlulda mövcud olan müxtəlif fermentlər sütunun müxtəlif qatlarında adsorbsiya olunacaqlar (şək. 2.2). Sonra sütunu müvafiq məhlul vasitəsilə yumaqla ardıcıl olaraq fermentləri adsorbentdən yuyub-çıxarmaq mümkün olur. Bu zaman ayrı-ayrı fraksiyalar kollektor vasitəsilə yığılır və nəticədə məhluldakı zülallar, o cümlədən də fermentlər, bir-birindən ayrılır.



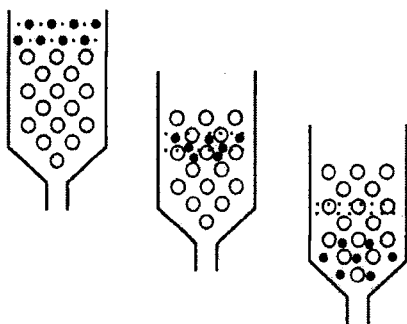
Şəkil 2.2. Üç fermentdən ibarət qarışıqın adsorbsiya sütununda ayrılmasının sxemi

Oxşar fiziki-kimyəvi xassələrə malik olan fermentlərin ayrılması üçün sütunlarda aparılan ion mübadiləedici xromatoqrafiya üsulunu tətbiq etmək daha məqsədəuyğundur. Sütunlar müxtəlif ion mübadiləedici qətranlarla və sellülozanın karboksime-tillsellüloza və dietilaminoetillsellüloza kimi törəmələri ilə doldurulur.

Fermentlərin ayrılması və təmizlənməsi üsullarından biri də **gel-filtrasiya** üsuludur. Bu üsul çox geniş yayılmış üsullar sırasına daxildir. Gel-filtrasiya da sütunlarda aparılır və bunun üçün sefadeks adlanan preparatlardan geniş istifadə olunur. Sefadekslər dekstranın törəmələridirlər. Məlum olduğu kimi,

dekstran saxaroza məhlullarında inkişaf edən *Leyconostoc* cinsinin mikroorqanizmlərinin müxtəlif növləri tərəfindən sintez olunan yüksəkmolekullu polisaxariddir. Dekstran molekulu 1-6-rabitələri ilə birləşmiş qlükoza qalıqlarından ibarət zəncirlərdən təşkil olunub. Dekstranın molekulyar kütləsi milyon və daha artıq ola bilər. Dekstranın kimyəvi işlənməsi nəticəsində onun molekulunda köndələn rabitələrin şaxələnmiş şəbəkəsi yaranır və maddə suda həll olmaq qabiliyyətini itirir, lakin o, suda asanlıqla şişir.

Fermentlərin və zülalların sefadexslər vasitəsilə ayrılması (təmizlənməsi) aşağıda təsvir etdiyimiz kimi gedir. Əvvəla, xromatografik sütun su molekulları ilə əhatə olunmuş sefadexsin məsaməli hissəcikləri ilə doldurulur və hər hansı bir bufer məhlulu ilə tarazlaşdırılır. Əgər bu sütuna müxtəlif molekul çəkisinə malik iki maddədən, məs., zülal və duzdan, ibarət qarışığı əlavə etsək, onda kiçik molekullu maddə sefadexs gelinin məsamələrindən yavaş-yavaş diffuziya edəcək, yüksək molekullu birləşmə isə, bizim halda zülal, sefadexs hissəciklərinin arası ilə daha tez keçərək təmiz halda alınacaq (şək. 2.3)

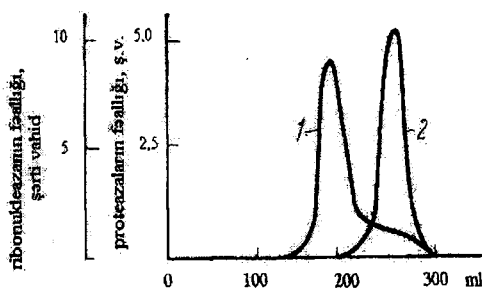


Şəkil 2.3. Sefadexslə doldurulmuş sütunda maddələrin ayrılması

Əgər bufer məhlulu ilə sütunun yuyulmasını davam etdirsək, bu halda kiçik molekullu birləşmə də sütundan yuyulub çıxarıla bilər. Zülalların sefadexslər üzərində ayrılması bəzən “molekulyar ələk” prinsipi üzrə ayrılma da adlanır.

İsveç firması "Pharmasiya" hissəciklərin ölçülərinə və köndələn rabitələrin sayına görə bir-birindən fərqlənən sefadekslər istehsal edir. G-10, G-25, G-50, G-75, G-100, G-200 və digər markalı sefadekslər istehsal olunur. Onlar ayırıcı qabiliyyətlərinə görə bir-birindən fərqlənirlər. Belə ki, G-75 sefadeks ilə doldurulmuş sütunda molekul çəkisi 3-70 min Da, G-100 sefadeksi vasitəsilə 4-150 min Da, G-200 ilə 5-800 min Da hüdudunda olan zülalları ayırmaq mümkündür.

Sefadekslər vasitəsilə həm dializi əvəz edib, ferment məhlullarını müxtəlif duzlardan təmizləmək, həm də müxtəlif zülalları bir-birindən ayırmaq olar. Belə ki, sefadeks G-75 ilə doldurulmuş sütunda mədəaltı vəzin ekstraktından alınmış ribonuklein turşularının parçalanmasını kataliz edən ribonukleaza və zülalları parçalayan proteazaların bir-birindən ayrılması ilə aparılan tədqiqatların nəticələri şəkil 2.4-də göstərilib. Fermentlərin ayrılması məqsədilə sefadekslərlə yanaşı sefaroza, sefakril, ultra-gel, biogel adlanan "molekulyar ələklərdən" geniş istifadə olunur.



Hal-hazırda fermentlərin ayrılması və təmizlənməsi məqsədilə elektroforez üsulu çox geniş tətbiq olunur. Elektroforez, bufer məhlulu ilə doydurulmuş poliakrilamid, aqaroz, nişasta və s. gəllərdə aparılır. Bu üsulda gəllərdən istifadə olunmasının üstünlüyü ondan ibarətdir ki, onlar bir tərəfdən konveksiyanın qarşısını alırlar, digər tərəfdən isə zülalların yalnız yüklərinə görə deyil, eləcə də molekulyar kütlələrinə görə ayrılmasına imkan verirlər.

Gel üzərində zülalların aşkarlanması üçün gelləri sirkə və ya üçxlor sirkə turşuları ilə fiksasiya edirlər və kumassi, amidoqara və ya digər zülal rəngləyiciləri ilə rəngləyirlər. Bundan başqa, gəldə fermentlərin identifikasiyası müvafiq fermentativ reaksiyanın məhsulunu xüsusi reaktiv vasitəsilə rəngləməklə aparıla bilər. Nəticədə zimogrammalar alınır. Xüsusi optik avadanlıq vasitəsilə elektorforezin nəticələri qrafik (əyrilər) şəklində yazıla bilər. Bu cür qrafik elektroforeqrama adlanır. Elektroforeqrama üzərində olan əyrilərin sayına görə məhlulda mövcud olan zülalların sayı haqda məlumat əldə etmək olar.

Fermentlərin alınması və təmizlənməsi məqsədilə geniş istifadə olunan üsullardan biri də ***affin xromatoqrafiyasıdır***. Bu zaman fermentlərin ayrılması yalnız müəyyən fermenti seçici olaraq adsorbsiya etmək qabiliyyətinə malik daşıyıcı ilə doldurulmuş sütunlarda aparılır. Fermentlərin *affin xromatoqrafiyasının* yüksək effektivliyini göstərmək üçün misal olaraq, L-asparaginaza (FT 3.5.1.1) fermentinin təmizlənməsinə diqqət yetirək. Müəyyən olunub ki, bu ferment bəzi şislərə qarşı effektiv vasitə kimi istifadə oluna bilər və bu səbəbdən onun tədqiqi böyük əhəmiyyət kəsb edir. Bu fermentin *E.coli* hüceyrələrindən adi yolla alınması bir sıra mərhələlərdən ibarətdir (istilik denaturasiyası, üzvi həlledicilərlə çökdürülmə, gel-filtrasiya, sütunlarda aparılan xromatoqrafiya) və nəticədə nisbətən aşağı fəallıqlı preparatlar alınır. *E.coli* ekstraktının ϵ -aminokaproil-D-asparaginoqaroza ilə doldurulmuş sütunda *affin xromatoqrafiyası* nəticəsində alınan ferment preparatının fəallığı adi yolla alınmış ferment preparatına nisbətən 25-30 dəfə daha yüksək fəallığa malik olur, yəni *affin xromatoqrafiyası* vasitəsilə daha yüksək dərəcədə təmizlənmiş L-asparaginaza ferment preparatının alınması mümkündür.

Proteolitik fermentlərin *affin xromatoqrafiyası* zamanı fermentlərin təbii inhibitorlarından geniş istifadə olunur. Bu inhibitorlar fermentlərə qarşı yüksək oxşarlıqla və spesifikliklə xarakterizə olunurlar ki, bunun da sayəsində orqan və toxuma

ekstraktlarından və ya mikroorqanizmlərin kultural mayesindən fermentləri, immobilizə olunmuş inhibitorlar vastəsilə, çoxsaylı aralıq mərhələləri aşaraq birbaşa ayırmaq olar. Nəticədə, tədqiq olunan obyektə çox az miqdarda mövcud olan fermentləri 80-90%-li çıxış ilə təmiz halda almağa nail olmaq mümkündür. Fermentlərin və digər zülalların affın xromatoqrafiyası biokimyəvi və kimyəvi texnologiyaların təkmilləşməsinə və biokimyəvi analizin yeni avtomatlaşdırılmış üsullarının yaradılmasına gətirib çıxara bilər.

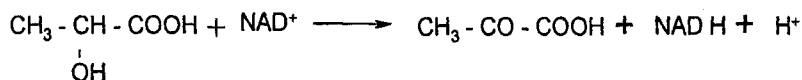
Fermentlərin ayrılması və təmizlənməsi mütləq aşağı temperatur şəraitində aparılmalıdır. Adi otaq temperaturu şəraitində əksər fermentlər denaturasiyaya məruz qalaraq qismən və ya tam olaraq fəallıqlarını itirmiş olurlar, və bu səbəbdən fermentlərlə aparılan iş xüsusi avadanlıqla təchiz olunmuş soyuq otaqlarda aparılmalıdır.

Hər hansı təmiz ferment preparatını aldıqda bəzi hallarda onu kristal vəziyyətdə ayırmaq daha məqsədəuyğundur. Hal-hazırda fermentlərin böyük bir hissəsi zülal kristalları şəklində alınıb. Təmiz ferment preparatı müəyyən vaxt ərzində məhlul şəklində saxlanıla bilər. Lakin onu aşağı temperatur şəraitində və ya donmuş vəziyyətdə saxlamaq lazımdır və hətta bu halda da bəzi fermentlərin fəallığı yalnız qısa müddət ərzində saxlanılır. Təmiz ferment preparatını denaturasiyadan qorumaq və fəallığın azalmasının qarşısını almaq məqsədilə, onu ammonium sulfatın doymuş məhlulunda və qliserində aşağı temperatur şəraitində saxlamaq lazımdır.

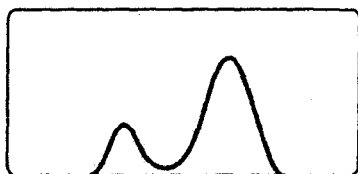
Fermentin təmizlənmiş məhlulu və ya kristal ferment preparatı həmçinin qurudulub saxlanıla bilər. Bu məqsədlə müxtəlif üsullardan istifadə olunur. Bəzi hallarda hər hansı su uducu maddənin, məs., P_2O_5 iştirakı ilə aparılan vakuum qurudulma üsulunun tətbiqi məqsədəuyğundur. Liofilləşdirmə yolu ilə qurudulma, yəni dondurulmuş vəziyyətdən qurudulma üsulu ən geniş yayılmış üsullardan biridir. Liofilləşdirmə yolu ilə qurudulma zamanı zülallar və fermentlərin əksəriyyəti öz xassələrini itirmirlər.

Ferment preparatını aldıqdan sonra onun *təmizlik dərəcəsi* yoxlanılmalıdır. Bu məqsədlə istifadə olunan üsullar fiziki və immunoloji olmaqla iki qrupa ayrılırlar. Fiziki üsullara aşağıdakılar aiddir: zonal elektroforez, elektrofokuslaşma, analitik sentrifüqələşdirmə və sütunlarda aparılan xromatoqrafiya.

Ferment preparatının təmizlik dərəcəsinə *elektroforetik üsulla* müəyyənləşdirmək olar. Məs., oksidləşdirici-reduksuya-edici fermentlər sinfinə aid olan laktatdehidrogenaza fermenti süd turşusunun piroüzüm turşusuna çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir:



Bu fermenti buzov ürəyindən kristal halda almaq mümkündür. Lakin bu kristallik preparat pH 5,5 və müəyyən ion qüvvəsi şəraitində sellüloza asetat və poliakrilamid gellər üzərində aparılan elektroforezə məruz qalsa, bu halda, şəkil 2.5-də göstərilən kimi, iki zirvənin əmələ gəlməsini müşahidə etmək olar. Beləliklə, preparatın kristal halda olmasına baxmayaraq, o, elektroforez nəticəsində iki əyri verir və, deməli, bu preparat təmiz deyildir.



Şəkil 2.5. Buzov ürəyindən alınmış kristallik laktatdehidrogenazanın elektroforeqramması

Bu üsul vasitəsilə hətta oxşar zülalları da bir-birindən ayırmaq mümkündür. Əgər alınmış ferment preparatı təmizdirsə, bu halda elektroforez nəticəsində gel üzərində spesifik rəngləyici ilə rənglənən bir nazik zolaq əmələ gəlməlidir.

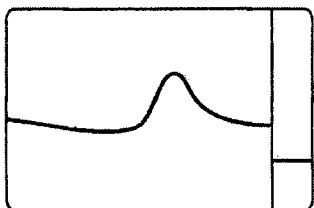
Svenson və Vestberq tərəfindən irəli sürülmüş üsul zülalların *izoelektrik fokuslaşması* adlanır. Bu üsul yüksək ayırıcı qabiliyyətə malikdir və öz izoelektrik nöqtələrinə görə bir-birindən fərqlənən zülalların ayrılması üçün istifadə olunur. Zülalların

fraksiyalara ayrılması sintetik amfolinlər, yəni polikarbon turşularının alifatik aminlər qarışığı ilə doldurulmuş sütunlarda aparılır. Qarışığın tərkibindəki ayrı-ayrı amfolinlərin amin və karboksil qruplarının ardıcılığı onun dissosiasiya xarakterini müəyyən edir. Elektrik cərəyanın təsiri altında amfolinlər sütunun uzunluğu boyunca müəyyən ardıcılıqla paylanırlar və pH-ın xətti qradiyentini yaradırlar. Digər sözlə, izoelektrik fokuslaşdırma gel boyunca pH-ın tədricən dəyişməsinə təmin edən xüsusi məhlulların iştirakı ilə gedən elektroforezdir. Sütuna əlavə olunan zülal molekulları onun elektrik sahəsinin təsiri nəticəsində anoda və ya katoda doğru hərəkət edirlər. Bu zaman onlar pH-ın müxtəlif qiymətləri ilə xarakterizə olunan sahələrdən keçirlər. Zülalın izoelektrik nöqtəsinin qiyməti pH-ın qiyməti ilə üst-üstə düşən sahədə zülal molekulunun yükü neytrallaşır və onun hərəkəti dayanır, yəni zülalın fokuslaşması baş verir. Sütunun müxtəlif zonalarında izoelektrik nöqtələrin müxtəlif qiymətinə malik olan zülallar fokuslaşır. Bu üsul vasitəsilə izoelektrik nöqtələri 0,02 pH-a qədər fərqlənən zülalları ayırmaq olar. “LKB” İsveç firması zülalların izoelektrik fokuslaşmasının aparılmasını təmin edən xüsusi avadanlıq istehsal edir.

Zülal və ferment preparatlarının təmizlik dərəcəsinin müəyyənləşdirilməsi üsullarından biri də onların **ultrasentrifuqada** tədqiq olunmasıdır. Ultrasentrifuqanın iş prinsipi ondan ibarətdir ki, tədqiq olunan zülal məhlulu 500 000g və daha yüksək sürətlərin təsirinə məruz qalır. Bu zaman əvvəlcə nisbətən ağır, sonra isə nisbətən yüngül hissəciklər çökür. Beləliklə, ultrasentrifuqalaşdırılma vasitəsilə öz molekulyar kütlələrinə görə fərqlənən zülalları bir-birindən ayırmaq mümkündür. Analitik sentrifüqa xüsusi optiki qurğu ilə təchiz olunub ki, bu qurğu vasitəsilə ultrasentrifuqalaşdırmanın nəticələri ayrılar şəklinde yazılır.

Əgər alınmış ferment preparatı təmizdirsə, yəni məhulda yeganə zülal molekulu varsa, onda ultrasentrifuqalaşmanın nəticələri bir simmetrik əyri ilə ifadə olunacaq (şək. 2.6). Əgər diaq-

rammada bir neçə əyri və ya bir ədəd qeyri-simmetrik əyri alınırsa, bu o deməkdir ki, zülal preparatı təmiz deyil və ən azı iki zülalın qarışığından ibarətdir.



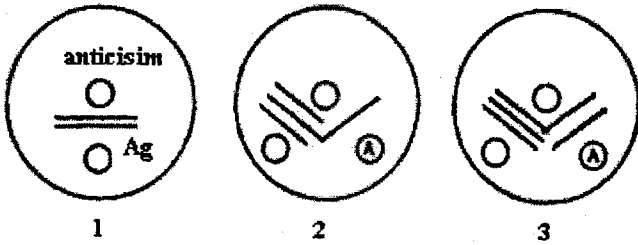
Şəkil 2.6. *Bacillus subtilis* hüceyrələrindən alınmış α -amilazanın ultrasentrifuqa diaqramması

Ultrasentrifugaləşdırma üsulundan həm zülal preparatlarının təmizlik dərəcəsini, həm də zülalların molekulyar kütləsinin təyini məqsədilə istifadə olunur.

Nəhayət, yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, ferment preparatının eynicinsliliyinin təyini üsullarından biri də sütunlarda aparılan *xromatoqrafiya*dır. Belə ki, trikalsiumfosfat və hidrokasilapatit gelləri ilə, həmçinin KM-sellüloza və DEAE-sellüloza ilə doldurulmuş sütunlarda aparılan xromatoqrafiyanı bunlara misal kimi göstərmək olar.

İmmunoloji üsullar vasitəsilə zülallar qarışığının analizini aparmaq, müxtəlif mənşəli iki zülalın identikliyinə sübut etmək və zülal preparatının təmizliyini yoxlamaq mümkündür. Bu məqsədlə aşağıdakı iki usuldan geniş istifadə olunur.

İkiqat diffuziya üsulu (Uden-Ouxterloni üsulu). Petri nimçəsini aqar geli ilə doldururlar. Geldə iki ədəd dairə kəsib, onlardan birini tədqiq olunan preparatla, digərini isə, immunlaşdırılmış heyvanın zərdabı ilə doldururlar. Tədqiq olunan preparatın tərkibindəki zülal və zərdabın tərkibindəki anticisimlər aqarda diffuziya edirlər. Onların rastlaşdığı yerdə ağ çöküntü əmələ gəlir. Əgər tədqiq olunan preparat bir neçə zülal molekulundan ibarətdirsə, onda onların diffuziya sürətləri fərqlənəcək. Bu halda iki və daha çox çöküntü zolaqları alınacaq (şək. 2.7). Beləliklə preparatdakı zülalların sayını müəyyən etmək mümkündür.

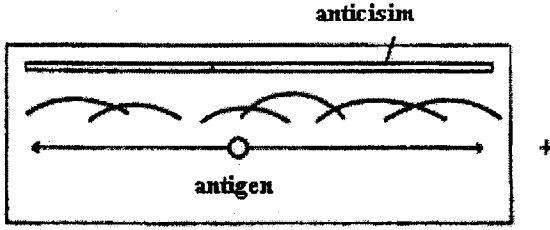


Şəkil 2.7. Ouxterloni üsulu.

1- Antigen (Ag) yeridildiği heyvandan alınmış zərdab mərkəzi oyuğa yerləşdirilir, kənardakı oyuğa isə antigen əlavə olunur. Geldə diffuziya baş verir. Əgər diffuziya nəticəsində iki presipitasiya zolağı yaranarsa, deməli antigen müxtəlif sürətlərlə diffuziya edən iki zülaldən ibarətdir. 2 və 3 – mürəkkəb qarışığın tərkibində A zülalının olub-olmamasının yoxlanması məqsədilə aparılır. 2-ci təcrübədən aydın olur ki, A zülalı fərdi zülaldır və o, qarışığın tərkibində mövcuddur, çünki əmələ gəlmiş presipitasiya xətti zülallar qarışığının presipitasiya xətlərindən birinin davamıdır. 3-cü təcrübənin nəticələrinə görə isə, A zülalı iki zülaldan ibarət olan qarışıqdır, və bu zülallardan heç biri qarışığın tərkibində mövcud deyil, çünki presipitasiya xətlərinin heç biri davam olunmur. Presipitasiya xətləri ya kəsişir, ya da bir-birinə çatmırlar.

İmmunoloji üsullardan ikincisi - *immnoelektroforezdir*.

Bu üsul Qrabar və Vilyams tərəfindən irəli sürülmüşdür. Əgər məhlul zülallar qarışığından ibarətdirsə, bu halda diffuziya üsulu ilə ayrılma nəticəsində alınan presipitasiya zolaqlarının (çöküntü zolaqlarının) sayı o dərəcədə çox olur ki, alınan nəticələr qarmaqarışıq olur. Bu halda, əvvəlcə aqar qatı ilə örtülmüş şüşə lövhə-cik üzərində elektrik cərəyanının təsiri altında məhluldakı zülalları fraksiyalaşdırmaq məqsəduyğundur. Cərəyanın təsiri altında zülallar mərkəzdəki dairəvi deşikdən hər iki tərəf istiqamətində hərəkət edib, şüşə boyunca paylanırlar. Anticisimlər uzunsov kiçik qanova yerləşdirilir və birinci üsulda olduğu kimi diffuziya fenomeni baş verir, nəticədə bir neçə qövs əmələ gəlir. Qövslərin sayı zülalların sayına müvafiqdir (şək. 2.8). Bu üsul həm analiz, həm də preparatın təmizlik dərəcəsini müəyyən etmək üçün müvəffəqiyyətlə tətbiq oluna bilər.



Şəkil 2.8. İmmunoelektroforez.

Elektrik cərəyanının təsiri ilə mərkəzi oyuqdan antijenlər lövhəciyin uzunluğu boyunca paylanırlar. Antigenin yükünə uyğun olaraq, o müəyyən sahəyə çətdirilir və buradan hər tərəfə diffuziya etməyə başlayır. Uzunsov oyuğa isə anticardimlər yerləşdirilir. Presipitasiya xətləri antijen və anticardimlərin qarşılıqlı diffuziyası sayəsində əmələ gəlirlər.

Beləliklə, biz bioloji obyektlərdən ferment preparatlarının ayrılması və təmizlənməsinin əsas yollarını, eləcə də, ferment preparatının əldə olunmasından sonra, həmin preparatın nə dərəcədə təmiz olduğunun yoxlanılması, yəni onun təmizlik kriterilərinin müəyyənləşdirilməsi üsullarını müzakirə etdik.

FƏSİL III. FERMENTLƏRİN KİMYƏVİ TƏBİƏTİ

Hal-hazırda təcrübi yolla sübut olunub ki, fermentlər zülal təbiətli maddələrdir. Lakin, ribozim adlanan və özü-özünə splaysingi (autosplaysingi), yəni RNT-sələfdən intron ardıcılıqlarının kəsilməsini kataliz edən bəzi RNT-sələflərin fermentativ fəallığa malik olması bu qanundan yeganə istisna təşkil edir.

Artıq qeyd etdiyimiz kimi, 1926-cı ildə R.Vilşetter belə bir fikir irəli sürmüşdür ki, fermentlər üzvi birləşmələrin məlum olan sinflərinin heç birinə aid deyillər və ayrıca bir sinif təşkil edirlər. Maraqlıdır ki, hətta bu yaxınlarda da fermentlərin kimyəvi təbiəti ətrafında mübahisələr aparılırdı. Bu mübahisələrə səbəb fermentativ fəallığa malik olan, lakin keyfiyyət rəngli reaksiyalar vasitəsilə aşkarlanmayan zülal məhlulların alınması olmuşdur. Bu fakt onunla izah olunur ki, fermentin qatılığı, hətta yüksək xüsusi fəallıq şəraitində, o dərəcədə az ola bilər ki, onun zülalların keyfiyyət reaksiyaları vasitəsilə təyini mümkünsüz olsun.

L.Paster müəyyən etmişdir ki, qıvcırma prosesində iştirak edən fermentlər qaynadıldıqda inaktivləşir (fəallıqlarını itirirlər), bu da öz növbəsində fermentlərin zülal təbiətli olduqlarını sübut edən bir fakt idi. Qaynatma zamanı zülal təbiətli fermentin geridönməyən denaturasiyası baş verir və bunun nəticəsində ferment kimyəvi reaksiyanı kataliz etmək qabiliyyətini itirir. Zülallar da qaynatma zamanı denaturasiyaya uğrayırlar və öz bioloji xassələrini (antigen, hormonal, katalitik) itirmiş olurlar. Bundan başqa, fermentlər də, zülallar kimi müxtəlif fiziki və kimyəvi amillərin (UB və rentgen şüalanma, ultrasəs, mineral turşularla, qələvilərlə, alkaloid reaktivlərlə, ağır metalların duzları ilə çökdürülmə və s.) təsiri nəticəsində denaturasiyaya məruz qalırlar.

Fermentlərin zülal təbiətli maddələr qrupuna aid olmasının sübutlarından biri də, hidroliz nəticəsində onların amin turşulara qədər parçalanmasıdır. Lakin qeyd etmək lazımdır ki, bəzi fermentlər zülali hissədən savayı, qeyri-zülal təbiətli komponentə malikdirlər ki, bu fermentləri mürəkkəb zülallara aid etmək olar.

Fermentlərin zülal təbiətini sübut edən maraqlı müşahidələr İ.P.Pavlovun laboratoriyasının əməkdaşları tərəfindən aparılmışdır. Mədə şirəsinin həzm etmək qabiliyyətini tədqiq edərkən, onlar bu qabiliyyət və şirədə zülalın miqdarı arasında düz mütənasibliyin mövcudluğunu aşkar etmişlər. Bununla əlaqədar olaraq, tədqiqatçılar belə bir nəticəyə gəldilər ki, mədə şirəsinin tərkibindəki pepsin – zülaldır.

Fermentlərin zülal təbiətli olmasının əsaslı sübutu onların təmiz halda alınması və zülal kristalları formasında ayrılmasıdır. Hal-hazırda 1000-dən artıq kristallik ferment ayrılmışdır. Zülal kimyası və molekulyar fizika (rentgen-struktur analizi, nüvə-mağnit rezonansı (NMR), elektron paramağnit rezonansı (EPR) və s.) üsulları vasitəsilə əksər fermentlərin quruluşu ətraflı öyrənilmişdir.

Fermentlər də, zülallar kimi, yüksək molekullu birləşmələr üçün səciyyəvi olan bir sıra xassələrə malikdirlər. Bunlar aşağıdakılardır: amfoterlik (məhlullarda anionlar, kationlar və amfionlar şəklində ola bilərlər); onlar müsbət və ya mənfi yük daşıyırlar və bu səbəbdən elektroforetik hərəkətliliyə malikdirlər, izoelektrik nöqtədə isə, cərəyan sahəsində hərəkətlilik qabiliyyətini itirirlər; fermentlər yarımqeçirici membrandan dializ etmək qabiliyyətinə malik deyillər. Ferment məhlulunu dializ vasitəsilə kiçikmolekullu birləşmələrdən təmizləmək mümkündür. Bundan başqa, həm fermentləri, həm də zülalları aşağı temperatur şəraitində aparılan duzlaşdırma üsulu ilə və ya aseton, etanol kimi hələdicilərin ehtiyatla əlavə olunması ilə məhlullardan ayırmaq mümkündür.

Fermentlər də, zülallar kimi yüksək molekul kütləsinə malikdirlər, onların molekul çəkiləri on minlərlə Da-dan bir neçə milyon Da-na qədər ola bilər (cədv. 3.1).

Fermentlər yüksək spesifikliyə malikdirlər ki, bu da onların zülal təbiətli olduqlarını sübut edir, çünki zülallar immunoloji cəhətdən yüksək dərəcəli spesifikliklə xarakterizə olunurlar. Və, nəhayət, fermentlərin zülal təbiətini birbaşa sübut edən fakt ribonukleaza fermentinin 1969-cu ildə Merrifild laboratoriya-

sında (Nyu-York) sintezi oldu. Maraqlıdır ki, süni yolla sintez olunmuş ferment öz kimyəvi, katalitik və immunoloji xassələrinə görə təbii ribonukleazadan fərqlənmirdi.

Cədvəl 3.1

Bəzi fermentlərin molekul çəkirləri

Ferment	Molekul kütləsi, Da	Ferment	Molekul kütləsi, Da
Ribonukleaza	13 700	Laktatdehidrogenaza	140 000
Sitoxrom c	15 000	Aldolaza	142 000
Tripsin	23 800	Katalaza	248 000
Pepsin	32 000	Qlutamatdehidrogenaza	336 000
Heksokinaza	45 000	Ureaza	480 000
Qələvi fosfataza	80 000	Piruvatdehidrogenaza kompleksi	4 500 000

3.1. Fermentlərin quruluşu haqda müasir təsəvvürlər

Fermentlərin quruluşuna gəldikdə isə, təbiətdə mövcud olan fermentlər sadə və mürəkkəb olmaqla iki qrupa ayrılırlar. Sadə fermentlər yalnız polipeptid zəncirlərdən ibarətdirlər və hidroliz zamanı yalnız amin turşularına parçalanırlar. Sadə fermentlərə hidrolitik fermentlər, xüsusilə pepsin, tripsin, papain, ureaza, lizosim, ribonukleaza, fosfataza və s. aiddirlər. Bu fermentlər zülalların quruluş prinsipləri əsasında təşkil olunublar. Yəni fermentlər zülal təbiətli olduqları səbəbdən, onlar üçün də birincili, ikincili, üçüncü və dördüncü quruluşların mövcudluğu xarakterikdir. Bu quruluşların tərfi və prinsipləri zülallarda olduğu kimidir.

Təbii fermentlərin əksəriyyəti polipeptid zəncirlə yanaşı hər hansı qeyri-zülal təbiətli komponentə malik olan mürəkkəb fermentlər qrupunu təşkil edirlər. İki-komponentli fermentin zülal hissəsi *apof ferment* adlanır. Fermentin fəaliyyəti üçün zəruri olan qeyri-zülali hissə isə, *kofaktor* adlanır. Kofaktor qismində müxtə-

lif təbiətli birləşmələr çıxış edə bilər. Apofermentlə nisbətən möhkəm birləşmiş kofaktora **“prostetik qrup”** terminini tətbiq edirlər. Disosiasiya zamanı asanlıqla ayrılan qeyri-zülali hissə **“kof ferment”** termini ilə ifadə olunur. Fərz olunur ki, prostetik qrup və polipeptid zəncir arasında kovalent rabitələr mövcuddur. Məsələn, asetilkoenzim-A-karboksilaza fermentinin tərkibindəki kofaktor – biotin – apofermentlə amid rabitəsi vasitəsilə kovalent olaraq birləşir. Digər tərəfdən kofaktor və polipeptid zəncir arasında mövcud olan kimyəvi rabitələr nisbətən zəif ola bilər (məs., hidrogen rabitələri, elektrostatik qarşılıqlı əlaqə və s.). Bu halda fermentlərin ayrılması zamanı ferment molekulu tamamilə dissosiasiya olunur, və qeyri-zülali hissədən ayrılmış apoferment fermentativ fəallıqdan məhrum olur. Bu halda qeyri-zülali hissə kof ferment adlanır. Lakin qeyd etmək lazımdır ki, kofaktorların prostetik qrup və kof ferment olmaqla iki qrupa bölünməsi əsassızdır və şərti xarakter daşıyır, çünki eyni birləşmə bir fermentin tərkibində olduqca möhkəm birləşmiş ola bilər, digərindən isə, asanlıqla ayrılabilir.

Əksər ikivalentli metal ionlarının (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+}) da kofaktor qismində çıxış etdiklərinə baxmayaraq, onları nə kof ferment, nə də prostetik qruplara aid etmirlər. Lakin bəzi hallarda metal ionları zülal molekulu ilə möhkəm birləşmiş olurlar və prostetik qrup funksiyasını yerinə yetirirlər. Məs., askorbin turşusunun dezoksiaskorbin turşusuna qədər oksidləşməsini kataliz edən təmiz fermentin tərkibində hər mola 8 atom mis mövcuddur, və bu metal ionları zülal komponentlə o dərəcədə möhkəm birləşmiş olurlar ki, onları fermentdən nə dializ, nə də ionmübadiləedici vasitəsilə ayırmaq mümkün deyil. Bundan başqa, elektron paramaqnit rezonansı üsulu vasitəsilə mis atomlarının elektronlar daşınmasında iştirakı göstərilmişdir.

Kofaktorların kimyəvi təbiətinin öyrənilməsi sayəsində məlum olmuşdur ki, onların əksəriyyəti vitaminlər və ya vitaminlərin törəmələridirlər. Məs., B_1 vitaminin (tiaminin) pirofosfat efiri - əsas kof fermentlərdən biridir, B_2 (riboflavin) və PP (nikotinamid) vitamini bir sıra oksidləşdirici-reduksiyaedici fermentlə-

rin tərkibinə daxildirlər. B₆ (piridoksin) vitamininin törəmələri amin turşularının müxtəlif çevrilmələrini kataliz edən fermentlərin tərkibinə daxildirlər. Pantoten turşusu, fol turşusu, biotin və B₁₂ vitamininin (siankobalaminin) törəmələri də fermentlərin fəaliyyəti üçün mühüm rol oynayırlar.

Vitaminlərə aid olmayan bir sıra bioloji aktiv maddələr, məs., HS-qlütation, ATP, lipoy turşusu, nukleozidlərin törəmələri (uridinofosfat, sitidinofosfat, fosfoadenozinofosulfat), porfirin-tərkibli maddələr və s., fermentativ reaksiyalarda kofaktor funksiyasını yerinə yetirirlər. Bura, aminoasil-nRNT-sintetaza fermentinin tərkibində mövcud olan və amin turşularının ribosomlara daşınmasında fəal iştirak edən nRNT-lər aid oluna bilər.

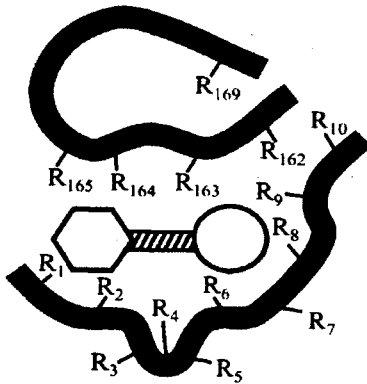
İkikomponentli fermentlərin bir xüsusiyyətini qeyd etmək lazımdır. Nə kofaktor, nə də apoferment ayrı-ayrılıqda katalitik fəallığa malik deyillər, yalnız onların birləşməsi nəticəsində əmələ gələn və xoloferment adlanan kompleks katalitik fəallığa malik olur və kimyəvi reaksiyanın sürətli gedişini təmin edir. Qeyd etmək lazımdır ki, apoferment və kofaktorun birləşməsi xaotik deyil, onların quruluş proqramına müvafiq olaraq baş verir.

Ferment molekulunun tərkibində substratla əlaqəyə girmək və onun kimyəvi çevrilmələrini kataliz etmək qabiliyyətinə malik olan fəal mərkəz mövcuddur. Fəal mərkəz haqda daha ətraflı məlumat bu Fəsilin növbəti bəndində verilir. Bundan başqa, bir sıra fermentlər üçün allosterik mərkəzin mövcudluğu da xarakterikdir. Allosterik mərkəzlə, fermentin fəallığını dəyişdirə bilən kiçikmolekullu birləşmələr (allosterik effektorlar və ya modifikatorlar) qarşılıqlı əlaqəyə girir və fermenti ya aktivləşdirir, ya da inhibirləşdirirlər. Allosterik mərkəzlərə malik olan fermentləri allosterik fermentlər adlandırırlar (Fəsillər VI və IX).

3.2. Fermentlərin fəal mərkəzi

Fermentlərlə kataliz olunan kimyəvi reaksiyaların mexanizmini öyrəndikdə, bizi sadəcə reaksiyanın aralıq və son məhsul-

ların müəyyən olunması və reaksiyanın ayrı-ayrı mərhələlərinin aydınlaşdırılması deyil, eləcə də fermentin təsirinin spesifikliyini və yüksək katalitik fəallığını təmin edən və onun tərkibinə daxil olan funksional qrupların təbiəti də maraqlandırır. Fermentativ reaksiyalarda iştirak edən substrat molekullarının, adətən, ferment molekuluna nisbətən xeyli kiçik ölçülü olduqlarını nəzərə alsaq, belə bir fərziyyə irəli sürmək olar ki, ferment-substrat kompleksləri əmələ gəldikdə substrat molekulu ilə birbaşa kontakta polipeptid zəncirinin məhdud bir hissəsi girir. Bu da, fermentin “fəal mərkəzi” haqda təsəvvürlərin yaranmasına gətirib çıxardı. Fermentin fəal mərkəzi anlayışı altında ferment molekulunun substratla birbaşa qarşılıqlı əlaqə yaradan, katalizdə birbaşa iştirak edən və ferment molekulunun tərkibinə daxil olan amin turşuların unikal ardıcılığı başa düşülür (şək. 3.1).



Şəkil 3.1. Fermentin fəal mərkəzi

Tünd zolaqlar – fermentin polipeptid zənciri; R – amin turşu qalıqları və onların sıra nömrələri (N-ucdan başlayaraq)

Fəal mərkəzdə, substratla birbaşa kimyəvi qarşılıqlı təsirdə olan *katalitik mərkəz* və fermentin substrata oxşarlığını təmin edən və ferment-substrat kompleksinin formalaşmasında iştirak edən *kontakt (lövbər) meydança* və ya *birləşdirici mərkəz* ayırd olunur. Substrat molekulu da, öz növbəsində, müxtəlif funksional sahələrə malikdir. Məsələn, esteraza və ya proteinazaların substratları ferment tərəfindən hücumə məruz qalan bir spesifik rabitəyə (və ya atomlar qrupuna) və seçici olaraq fermentlə birləşən bir və ya bir neçə sahəyə malikdirlər. Belə ki, eksperimental yolla sübut olunub ki, tripsin tipli serin proteazala-

rın fəal mərkəzinin katalitik sahəsinə serin, histidin və asparagin turşuları daxildir (şək. 3.2).

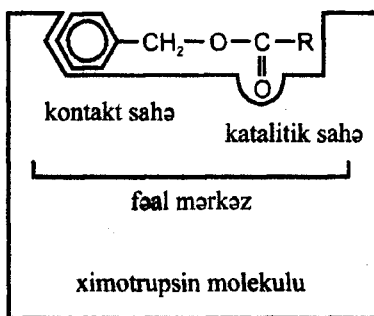


Şəkil 3.2. Tripsin tipli serin proteazalarda fəal mərkəzin yerləşməsi.

Katalitik sahənin amin turşuları: Ser195 (narıncı), His57 (göy) və Asp102 (moruq rəngli);

Substrat-birləşdirici sahə: oksigen dəliyi əmələ gətirən NH-qruplar – yaşıl rənglə, qeyri-spesifik substrat-birləşdirici meydana – mavi rənglə, spesifik substrat-birləşdirici cibi əmələ gətirən qruplar – sarı rənglə göstərilib.

Sxematik olaraq ximotripsinin fəal mərkəzinin katalitik və kontakt sahələrinin substratla qarşılıqlı təsiri şəkil 3.3-də göstərilib.



Şəkil 3.3. Ximotripsin molekulunun fəal mərkəzində substrat molekulunun yerləşməsi sxemi.

Fəal mərkəzin kimyəvi təbiətinin və funksional qruplarının ehtimal olunan topoqrafiyasının müəyyənləşdirilməsi birinci dərəcəli problemlərdəndir. Bu problemin həlli üçün fəal mərkəzə daxil olan amin turşuların təbiəti, onların ardıcılığı və fəal mərkəzdə qarşılıqlı yerləşməsi aydınlaşdırılmalıdır. Amin turşuların identifikasiyası məqsədilə fermentlərin spesifik inhibitorlarının (adətən, substratabənzər birləşmələrin və ya kof fermentlərin

analoqlarının) tətbiqi, kimyəvi modifikasiya ilə müşayiət olunan qismi hidroliz üsullarından və s. kimi bir neçə üsuldən istifadə olunur.

Müəyyən olunub ki, təsir növünə görə oxşar olan, lakin spesifikliyi ilə fərqlənən fermentlərdə funksional nöqteyi nəzərdən fəal hidrosil qrupunu daşıyan serin qalıqı ətrafında oxşar amin turşu ardıcılığı mövcuddur (cədv. 3.2). Məhz serinin OH-qrupunun kataliz üçün böyük əhəmiyyət daşdığı təcrübi yolla təsdiq olunub. Belə ki, həmin hidrosil qrupunun kimyəvi bloklaşdırılması və ya ümumiyyətlə kənarlaşdırılması nəticəsində esterazalar öz fermentativ fəallıqlarından məhrum olurdular.

Fərz olunur ki, fermentin fəal mərkəzi ferment zülalının ribosomlar üzərində sintezinin ilk mərhələlərində əmələ gəlir və polipeptid zəncirin xətti quruluşu müəyyən konfigurasiyaya malik üçölçülü quruluşa çevrildiyi anda formalaşır.

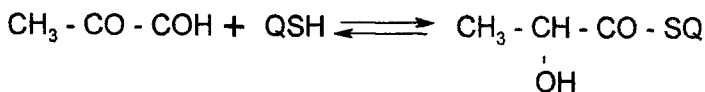
Cədvəl 3.2

Bir sıra esteraza və proteinazaların molekullarında serin ətrafında yerləşən amin turşu qalıqlarının ardıcılığı

<i>Ferment</i>	<i>Serin ətrafında yerləşən amin turşu qalıqlarının ardıcılığı</i>
Ximotripsin	Gly-Asp-Ser-Gly-Gly
Tripsin	Gly-Asp-Ser-Gly-Pro-Val
Trombin	Asp-Ser-Gly
Elastaza	Gly-Glu-Ser-Ala
Asetilxolinesteraza	Glu-Ser-Ala
Qaraciyərin aliesterazası	Gly-Glu-Ser-Ala-Gly-Gly
Qələvi fosfataza (<i>E.coli</i>)	Tre-Asp-Ser-Ala-Ser-Ala
Subtilizin (<i>B.subtilis</i>)	Gly-Tre-Ser-Met-Ala
Proteaza (<i>Aspergillus orizae</i>)	Tre-Ser-Met-Ala
Fosfoqlükomitaza	Tre-Ala-Ser-His-Asp
Fosforilaza	Gly-Ile-Ser-Val-Arg

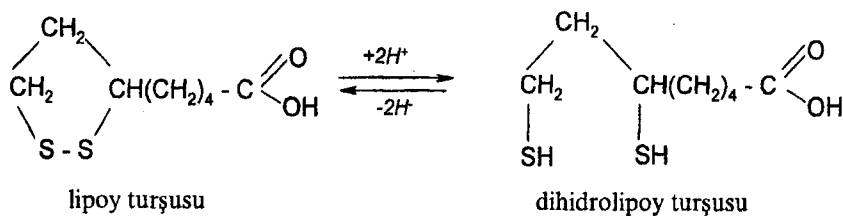
Əmələ gəlmiş zülal funksional (xüsusilə də, katalitik) məlumatın daşıyıcısı rolunda çıxış edir. Zülalın denaturasiyasına,

Adətən, reduksiya olunmuş qlütation QSH kimi işarə olunur. Reduksiya olunmuş qlütation asanlıqla oksidləşərək QS-SQ formaya keçir və bununla canlı hüceyrədə baş verən oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarında böyük rol oynayır. Bir sıra fermentativ reaksiyalarda qlütation spesifik koenzim qisminə çıxış edir. Belə ki, məsələn, metilqliksil aldehidinin süd turşusuna çevrilməsi zamanı hidrogen atomlarının molekul daxili daşınması reaksiyasını kataliz edən qlioksilaza I fermentinin koenzimi funksiyasını məhz qlütation molekulu yerinə yetirir:



Reduksiya olunmuş qlütation *sis*- və *trans*-izomerlərin (məs., malein turşusunun törəmələrinin fumar turşusunun törəmələrinə çevrilməsi), eləcə də fenilpiroüzüm turşusunun ketoformasının yenol formaya çevrilməsi kimi izomerləşmə reaksiyalarını kataliz edən bəzi fermentlərin tərkibində koenzim funksiyasını yerinə yetirir.

Lipoy turşusu. Lipoy turşusu mikroorqanizmlərin boy amilidir. O, mayalarda, mikroorqanizmlərdə, bitki və heyvan hüceyrələrində mövcuddur və aşağıda göstərilmiş quruluşa malikdir:

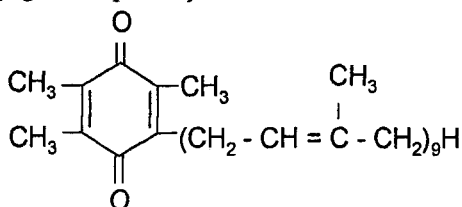


Beləliklə, lipoy turşusu disulfid (-S-S-) rabitəsinə malikdir ki, bu rabitə asanlıqla qırılır və sulfhidril SH-qruplarını əmələ gətirir. Bu xassə sayəsində lipoy turşusunun oksidləşməsi və reduksiyası asanlıqla baş verir və bu da onun koferment funksiyasını təmin edir.

Beləliklə, ubixinonların tərkibində bir-birinə qarşı para vəziyyətində yerləşən iki ədəd xinoid qrupu mövcuddur. Bundan başqa, ubixinonların tərkibinə ikiqat rabitə və metil qrupunu daşıyan (-CH₂-CH=C(CH₃)-CH₂-) qalığı daxildir. Bu qalıq *n* dəfə təkrarlana bilər ("n" 4-dən 12-yədək bərabər ola bilər). Məhz bu səbəbdən ubixinonlar qrupunun müəyyən nümayəndələri ubixinon 6 və ya koenzim Q₆, ubixinon 10 və ya koenzim Q₁₀ və s. kimi işarə olunur. Beləliklə Q hərfinin yanındakı rəqəm yan zəncirdə qalığın neçə dəfə təkrarlandığını göstərir.

Bəzi bitki yarpaqlarının xloroplastlarından "koenzim Q₂₅₄" adlanan ubixinon ayrılmışdır. 254 nm dalğa uzunluğunda maksimum udma qabiliyyətinə malik olduğuna görə, o, bu adı almışdır. Sonradan bu koenzim plastidlərin, xüsusilə də xloroplastların, tərkibində tapıldığına görə *plastoxinon* adını almışdır.

Öz quruluşuna görə plastoxinon digər koenzim Q-lərdən fərqlənir və aşağıdakı quruluşa malikdir:



Beləliklə, o, koenzim Q₉-dan, altıüzvlü halqanın tərkibində metoksil qalıqların əvəzinə metil qalıqlarının yerləşməsinə görə fərqlənir.

Vaxtla keçmişdə V.İ.Palladin tənəffüs prosesində müxtəlif xinonların mühüm rol oynadığını qeyd etmişdir. Hal-hazırda sübut olunub ki, heyvan və bitki orqanizmlərində, eləcə də mikro-orqanizmlərdə, ubixinonlar tənəffüsün son mərhələlərində baş verən və suyun əmələ gəlməsi ilə nəticələnən elektron daşınması prosesində iştirak edirlər. Müəyyən olunub ki, fotosintez prosesi də plastoxinonların iştirakı ilə baş verir. Beləliklə, ubixinonların kəşfi və onların canlı orqanizmdə baş verən oksidləşmə-reduksiyaetmə proseslərdə mühüm rolunun aydınlaşdırılması sayəsində V.İ.Palladinin fikri təcrübi olaraq sübut olunmuşdur.

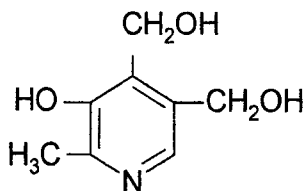
Heterotsiklik birləşmələr

Bildiyimiz kimi, kimyəvi nöqteyi nəzərdən heterotsiklik birləşmələrə tsiklik quruluşa malik olan, lakin tsiklik həlqənin əmələ gəlməsində karbon atomları ilə yanaşı, digər, məsələn azot atomlarının iştirak etdiyi birləşmələr aid olunur.

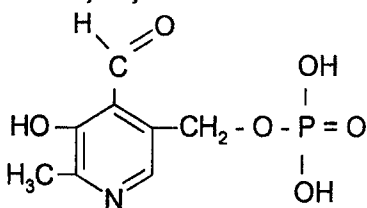
Bu baxımdan kofermentlərin bu qrupunun nümayəndələri də, öz növbəsində, bir neçə vitaminin törəmələri ilə təmsil olunurlar.

Piridoksinin törəmələri. Bir sıra reaksiyalar piridoksinin (B₆ vitamini) törəmələri olan kofermentlərə malik olan fermentlər tərəfindən kataliz olunur.

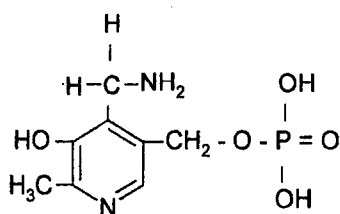
Piridoksin aşağıdakı quruluşa malikdir:



B₆ vitamini müxtəlif törəmələr şəklində müxtəlif fermentlərin tərkibinə daxil olur. Koferment funksiyasını daşıyan piridoksinin törəmələri qismində piridoksalfosfat və piridoksaminfosfat çıxış edə bilər:



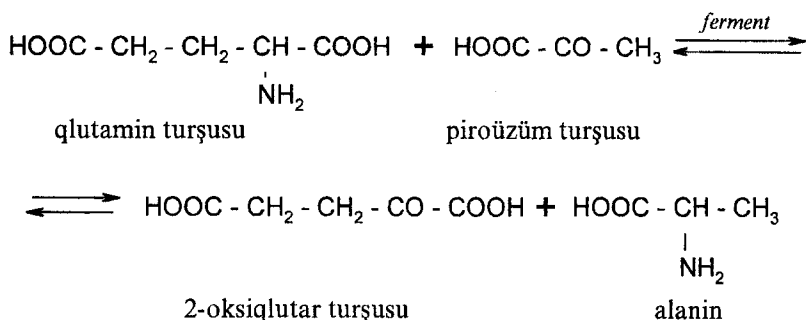
piridoksalfosfat



piridoksaminfosfat

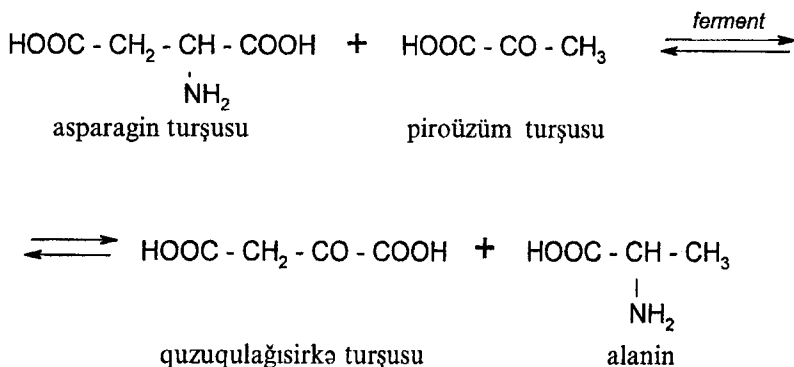
Kofermentlər qismində piridoksalfosfat və piridoksaminfosfat çıxış etdiyi fermentativ reaksiyaların əksəriyyəti amin turşularının müxtəlif çevrilmələri ilə əlaqədar olan reaksiyalardır.

İkincisi, qlutamin və piroüzüm turşuları arasında baş verən reaksiyadır:



Bu reaksiya nəticəsində qlutamin turşusu α -ketoqlutar turşusuna, piroüzüm turşusu isə, α -alaninə çevrilir.

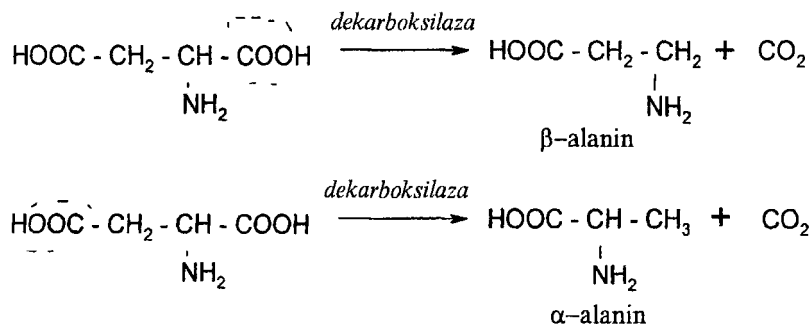
Və nəhayət, üçüncü reaksiya asparagin və piroüzüm turşuları arasındakı reaksiyadır. Bu reaksiya nəticəsində asparagin turşusundan ona müvafiq olan ketoturşu, yəni quzuqulağısirkə turşusu, piroüzüm turşusundan isə, ona müvafiq olan amin turşusu, yəni α -alanin əmələ gəlir.



Lakin, müasir tədqiqat üsullarının tətbiqi sayəsində müəyyən olunub ki, canlı hüceyrədə yuxarıda qeyd olunan üç reaksiyadan başqa, çoxsaylı müxtəlif fermentativ yenidən aminləşmə reaksiyaları baş verir.

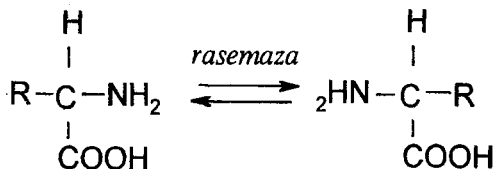
Maddələr mübadiləsində amin turşularının dekarboksilazaları adlanan fosfopiridoksal fermentlər də böyük rol oynayırlar. Bu fermentlər amin turşulardan karbon qazının ayrılmasını kataliz edirlər. Misal kimi, qlutamatdekarboksilaza fermentini göstərmək olar.

Amin turşuların dekarboksilazalarına asparagin turşusunun dekarboksilazaları və ya aspartatdekarboksilazalar da aiddir. Bu fermentlərin təsiri nəticəsində ya α -alanin, ya da β -alanin əmələ gələ bilər:



Bu reaksiyalar müxtəlif fermentlərin iştirakı ilə gedir və qeyd etmək lazımdır ki, hər iki ferment fosfopiridoksal fermentlərə aiddir. Beləliklə, bu fermentlərin eyni koenzimə malik olmalarına baxmayaraq, onlar başqa-başqa karboksil qruplara təsir etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Eyni zamanda, onu da qeyd etmək lazımdır ki, heç də bütün amin turşularının dekarboksilazaları fosfopiridoksal qrupuna malik deyillər. Belə ki, mikroorqanizmlərdən ayrılmış histidindekarboksilaza piridoksalfosfat qrupuna malik deyil.

Koenzim qismində piridoksalfosfata malik olan fermentlərin üçüncü qrupunu amin turşularının rasemazaları təşkil edir. Bu fermentlər amin turşusunun bir optik izomerinin digərinə çevrilməsini kataliz edirlər. Ümumilikdə bu fermentlərlə kataliz olunan reaksiyaları aşağıdakı kimi təsvir etmək olar:

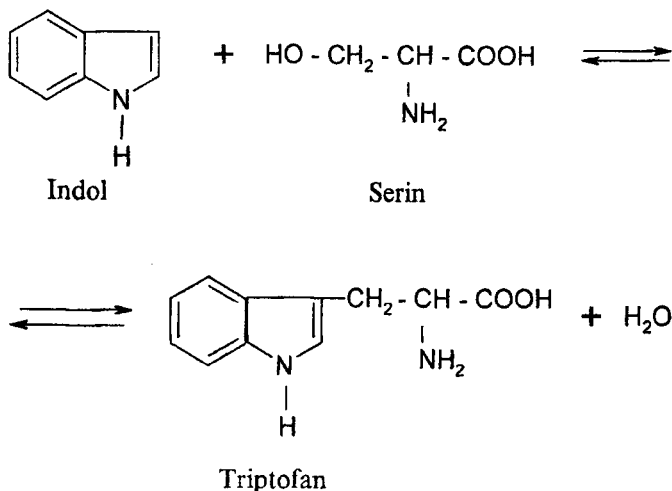


L-amin turşusu

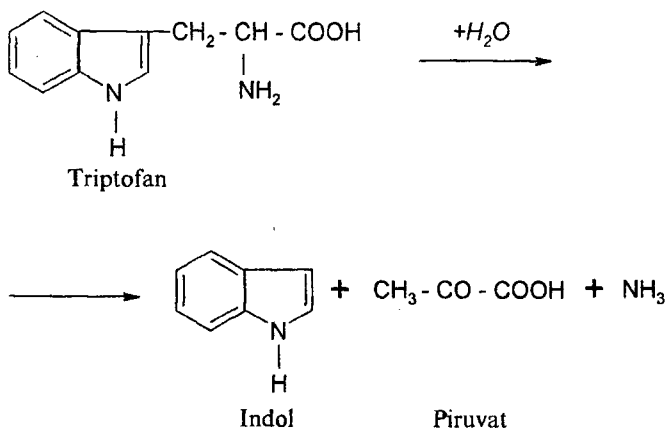
D-amin turşusu

Misal kimi L-alaninin onun qeyri-təbii izomeri və bəzi bakteriyaların qılaflarının tərkibinə daxil olan D-alaninə çevrilməsini kataliz edən alanin rasemazanı göstərmək olar.

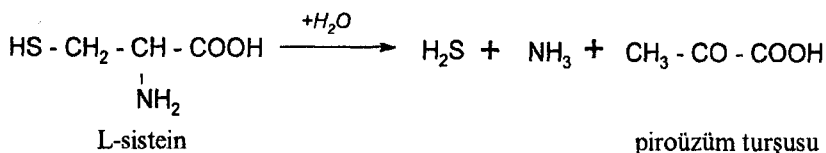
Triptofan amin turşusunun çevrilmələrini kataliz edən fosfopiridoksal fermentlər maddələr mübadiləsində xüsusi rol oynayırlar. Triptofan fosfopiridoksal ferment olan triptofansintazanın təsiri ilə sintez oluna bilər. Bu ferment serini indola birləşdirməklə triptofanın sintezini təmin edir:



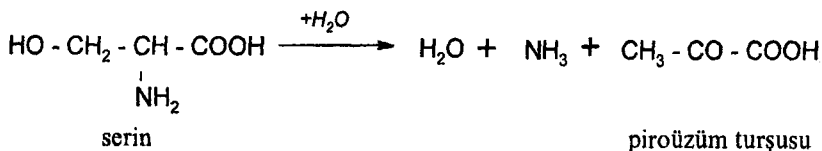
Digər fosfopiridoksal tərkibli triptofanaza adlanan ferment isə, triptofanı aminsizləşdirərək indola, piroüzüm turşusuna və ammoniyaya qədər parçalayır:



Fosfopiridoksal fermentlər həmçinin kükürlü amin turşularının, məs., sisteynin çevrilmələrini də kataliz edirlər. Bu fermentlərə bəzi süd turşu bakteriyalarının tərkibində rast gəlinən sistationin- γ -liaza fermenti aiddir. Bu ferment sisteyn amin turşusunun suyun iştirakı ilə sulfidə, ammonyaka və piroüzüm turşusuna qədər parçalanmasını kataliz edir:



Bəzi oksiaminturşulara təsir edən fermentlərin tərkibində də fosfopiridoksal qrupu mövcuddur. Məsələn, aşağıdakı reaksiyanı kataliz edən serindehidrataza fermentini göstərmək olar:



Analoji olaraq, treoninin parçalanmasını kataliz edən treonindehidrataza fermenti də fosfopiridoksal fermentlər sırasına daxildir.

Fosfopiridoksal fermentlərə SH-qrupların daşınmasını kataliz edən fermentlərin kiçik bir qrupu da daxildir.

Beləliklə, biz amin turşularının müxtəlif çevrilmələrini kataliz edən fosfopiridoksal fermentlərlə tanış olduq.

Yuxarıda qeyd olunanlardan bir neçə nəticə çıxartmaq olar. Birincisi ondan ibarətdir ki, fosfopiridoksal fermentlərin spesifikliyi onların zülal hissəsi ilə müəyyənləşir. Fosfopiridoksal fermentlərin koenzim hissəsi eynidir, lakin bu qeyri-zülali hissə müxtəlif zülallarla birləşərək müxtəlif reaksiyaların gedişini təmin edir.

İkinci nəticə ondan ibarətdir ki, zülal kofermentlə birləşərək kofermentin katalitik fəallığını bir neçə dəfə (hətta yüz minlərlə dəfə) artırır. E.Snell göstərmişdir ki, piridoksal, amin qrupunun hər hansı amin turşusundan ketoturşuya daşınması reaksiyalarında katalizator rolunu oynaya bilər. Lakin, bu reaksiyalar uzunmüddətli qaynatma şəraitində getməlidir. Əgər reaksiya fosfopiridoksalın iştirakı ilə gedirsə, onda amin qrupunun daşınması sürətlənir. Reaksiyada fosfopiridoksal fermentin, yəni aminotransferazanın iştirakı nəticəsində fosfopiridoksal qrupunun katalitik təsiri bir neçə dəfə artır.

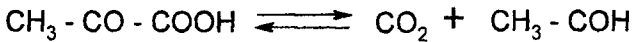
Və nəhayət, üçüncü nəticə ondan ibarətdir ki, orqanizmdə, canlı hüceyrədə baş verən bütün reaksiyalar bir-biriləri ilə sıx əlaqədə olur. Məlumdur ki, B₆ vitaminin çatışmazlığı zülalların və amin turşuların mübadiləsinin pozulmasına səbəb olur. Eyni zamanda, yuxarıda qeyd olunanlardan məlum olur ki, fosfopiridoksal amin turşularının müxtəlif çevrilmələrində iştirak edir. Deməli, orqanizmdə B₆ vitaminin çatışmazlığı hansısa bir prosesin gedişini deyil, müxtəlif fermentativ çevrilmələrin pozulmasına gətirib çıxarır. Nəticədə zülal mübadiləsinin ciddi pozulması və orqanizmin məhvi baş verir.

B₁ vitamininin törəmələri. Məlum olduğu kimi, tiamin və ya B₁ vitamini, elə bir qida amilidir ki, onun qidada çatışmazlığı

periferik sinir sisteminin zədələnməsi və ətrafların iflici ilə nəticələnən polinevrit (beri-beri) xəstəliyinin yaranmasına səbəb olur.

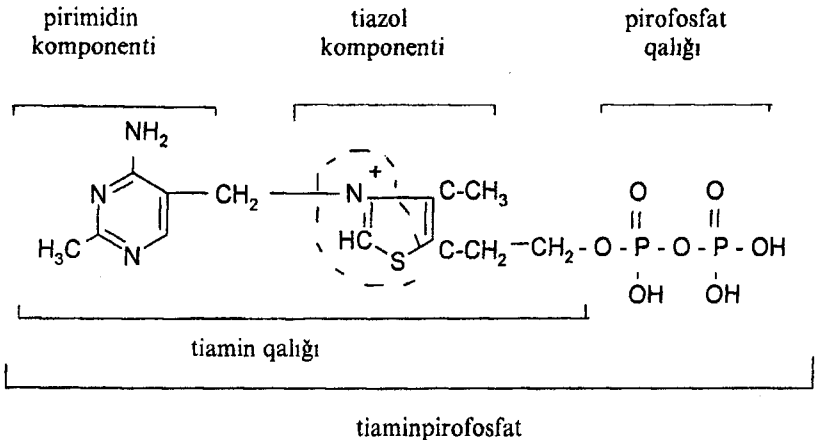
Bu xəstəlik artıq çoxdan Cənub-Şərq Asiya ölkələrində yayılmışdır. O, əsasən təmizlənmiş düyü ilə qidalanma nəticəsində meydana çıxır (düyünün təmizlənməsi zamanı onun tərkibindəki B₁ vitamininin 95%-i itirilir). Bu düyü ilə qidalanma nəticəsində orqanizmdə piruvatdekarboksilaza kimi bir neçə vacib ferment sintez oluna bilmir.

Fəal piruvatdekarboksilaza maya hüceyrələrinin tərkibində mövcuddur ki, qıvcırma prosesi zamanı ayrılan karbon qazının əksər hissəsi onun təsiri sayəsində əmələ gəlir.



Bitkilərin tərkibində də yüksək fəallığa malik olan piruvatdekarboksilaza fermenti vardır.

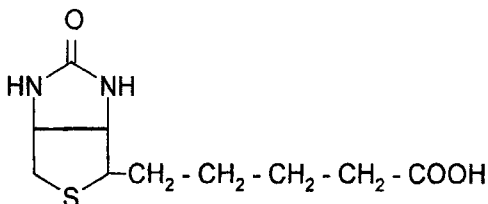
Qeyd etmək lazımdır ki, dekarboksilləşmə prosesində B₁ vitaminin özü deyil, onun pirofosfat efiri, yəni tiaminpirofosfat (TPF) iştirak edir ki, onun quruluşunu aşağıdakı kimi təsvir etmək olar:



Bu prosesdə TPF-in iştirakının mexanizmi tiaminin tiazol komponentinin qırıq xətlərlə əhatə olunmuş hisəsi ilə əlaqədardır.

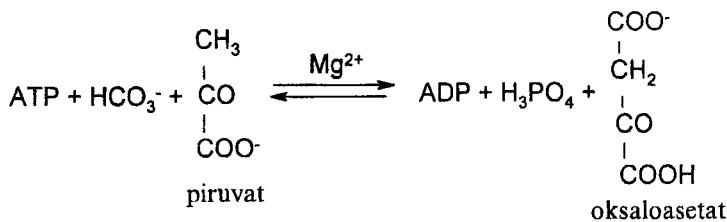
Ümumiyyətlə, tiaminin bir neçə törəməsi koferment funksiyasını yerinə yetirə bilər. Bunlara, tiaminmonofosfat (TMF), tiamindifosfat (və ya tiaminpirofosfat, TPF) və tiamintrifosfat (TTF) aiddir. Lakin bu kofermentlər arasında ən fəal TPF-dir.

Biotinin koferment funksiyaları. Bir sıra fermentlərin tərkibində koferment qisminə biotin fəaliyyət göstərir. Məlumdur ki, maddələr mübadiləsinin normal getməsi üçün biotinin cüzi miqdarı kifayət edir. O, yalnız insan və heyvan orqanizminin maddələr mübadiləsində deyil, eləcə də mikroorqanizmlərin, xüsusilə də maya hüceyrələrinin mübadiləsində də mühüm rol oynayır. O, maya hüceyrələrinin böyüməsi və inkişafı üçün cüzi miqdarda zəruri olan "bios" adlanan kompleksin tərkibinə daxildir. Biotin aşağıdakı quruluşa malikdir:

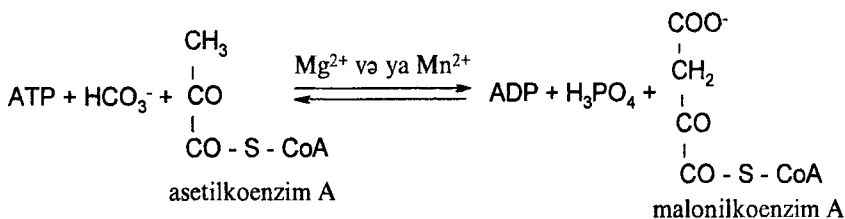


Biotinin yüksək fizioloji fəallığa malik olduğuna baxmayaraq, uzun müddət ərzində onun maddələr mübadiləsində rolu aydınlaşdırılmamışdır. Alman biokimyəçisi F.Linen əməkdaşları ilə göstərmişlər ki, biotin karbon qazının daşınması ilə müşayiət olunan reaksiyaları, yəni karboksilləşmə və dekarboksilləşmə reaksiyalarını kataliz edən bir sıra fermentlərin əvəz olunmaz kofermentidir.

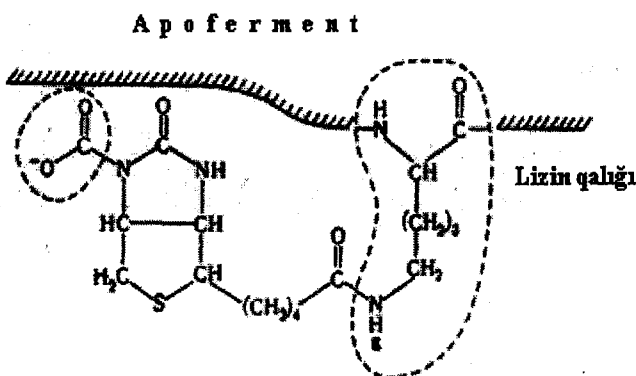
Biotin tərkibli fermentlərlə kataliz olunan reaksiyalara oksaloasetatın əmələ gəlməsi ilə nəticələnən piruvatın karboksilləşməsi reaksiyasını misal göstərmək olar. Bu reaksiya piruvat-karboksilaza fermenti ilə kataliz olunur və aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



Asetil-CoA-karboksilaza fermenti də biotin tərkibli fermentlərə aiddir. Bu ferment ATP-in iştirakı ilə asetil-CoA və karbon turşusundan malonil-CoA-nın sintezini kataliz edir:



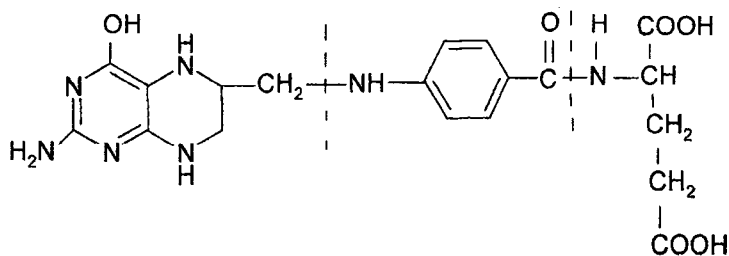
Bu reaksiya maddələr mübadiləsində böyük rol oynayır və yağ turşularının sintezi prosesinin mütləq mərhələsidir. Biotin ferment molekulunun zülal hissəsi ilə apofermentin tərkibindəki lizinin ε-amin qrupu vasitəsilə birləşir. CO₂-ə geldikdə isə, o, biotin molekulunun tərkibindəki azot atomlarının biri ilə birləşmiş olur. CO₂ ilə birləşmiş biotin tərkibli fermentin quruluşu şəkil 3.4-də göstərilib.



Şəkil 3.4. Apoferment – biotin – CO₂ kompleksinin sxematik quruluşu.

Qeyd edək ki, toyuq yumurtası ağının tərkibində karbohidrat qalığı ilə birləşmiş vəziyyətdə olan və avidin (latınca, *avis* – quş) adlanan zülal (mukoproteid) mövcuddur. Müəyyən olunub ki, kofermentləri biotin olan bütün mürəkkəb fermentlərin spesifik və güclü inhibitoru məhz avidindir. Avidin kristal şəklində alınmış və quruluşu müəyyənləşdirilmişdir. O, biotin-tərkibli fermentlərlə kataliz olunan reaksiyaların öyrənilməsi məqsədilə inhibitor qismində istifadə olunur.

Fol turşusunun törəmələri. “Fol turşusu” adı latın sözü *folium*, yəni “yarpaq” sözündən başlanğıc götürür. Orqanizmdə fol turşusu müxtəlif homoloqlar şəklində mövcuddur ki, fol turşusu qrupunun vitaminlərinin ən vacib nümayəndəsi tetrahidrofol turşusudur (THF). Tetrahidrofol turşusu aşağıdakı quruluşa malikdir:



aminooximetilpterin
qalığı

n-aminobenzoy
turşusunun qalığı

qlütamin turşusunun
qalığı

Tetrahidrofol turşusunun quruluşuna diqqət yetirsək görürük ki, bu birləşmə qlütamin turşusunun, *p*-aminobenzoy turşusunun və aminooximetilpterinin qalığından ibarətdir.

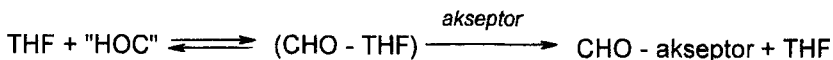
Qeyd etmək lazımdır ki, tetrahidrofol turşusunun komponentlərinin birində, yəni aminooximetilpterin qalığının tərkibindəki oksiqrupu aminoqrupla əvəz etsək, diaminometilpterin alınacaq. Bu maddə, tetrahidrofol turşusunun və THF turşusu tərkibli fermentlərin təsirini inhibirləşdirən güclü antivitaminidir. Adətən, bu maddəni sadəcə olaraq aminopterin adlandırırlar. O, fol turşusunun mübadiləsinin öyrənilməsi və tetrahidrofol turşusu

tərkibli fermentlərin təsirinə zəiflədilməsi məqsədilə antivitamin qismində istifadə olunur.

THF turşusu tərkibli fermentlər birkarbonlu qalıqların fəallaşdırılması və daşınması reaksiyalarını kataliz edir. Bura, formil qalığının (-CHO), oksimetil qalığının (-CH₂OH) və metil qalığının (-CH₃) fəallaşdırılması və daşınması reaksiyaları aiddir.

Beləliklə, kofermenti THF turşusu olan fermentlər müxtəlif reaksiyaları kataliz edirlər, və bu fermentlər pteroproteidlər qrupunu əmələ gətirirlər.

Pteroproteidlərlə kataliz olunan reaksiyaların birinci növü aşağıdakı kimi təsvir oluna bilər:



burada "HOC"- formil qalığıdır.

Gördüyümüz kimi, bu reaksiya iki mərhələdən ibarətdir. Birinci mərhələdə THF turşusu (əlbəttə zülalla birləşmiş halda, lakin "zülal" sözü bu və digər sxemlərdə qeyd olunmayacaq) qarışıq aldehydinin qalığı ilə birləşir və CHO – THF kompleksini əmələ gətirir. İkinci mərhələdə reaksiyaya hər hansı bir akseptor, yəni bu formil qalığını özünə birləşdirən maddə, daxil olur, CHO – akseptor kompleksi əmələ gəlir və tetrahidrofol turşusunun ilkin quruluşu bərpa olunur.

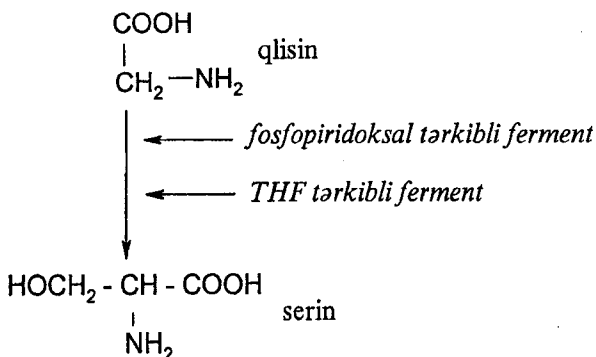
Bu reaksiyalara misal olaraq, purin əsaslarının (adeninin, quaninin və s.) sintezi və parçalanması reaksiyalarını göstərmək olar. Purin əsasları xüsusi əhəmiyyətə malikdirlər, çünki onlar nuklein turşuların və bir sıra kofermentlərin tərkibinə daxildirlər.

Reaksiyaların ikinci növünü aşağıdakı kimi göstərmək olar:



burada "CH₂OH" – oksimetil qalığıdır.

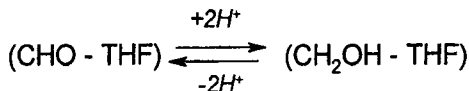
Bu reaksiyalar oksimetilləşmə və transoksimetilləşmə reaksiyaları adlanırlar, və bu növ reaksiyalar da iki mərhələdə gedirlər. Birinci mərhələdə oksimetil qrupunun əmələ gəlməsi və onun zülalla birləşmiş tetrahidrofol turşusuna birləşməsi baş verir. İkinci mərhələdə oksimetil qrupunun akseptora daşınması baş verir. Bu cür reaksiyalara qlisinin serinə çevrilməsi zamanı rast gəlmək olar.



Serinin əmələ gəlməsi üçün qlisinin tərkibindəki hidrogenlərdən biri oksimetil CH_2OH qrupu ilə əvəz olunmalıdır ki, həmin oksimetil qrupunun əmələ gəlməsi, fəallaşdırılması və akseptora daşınması koferment qismində tetrahidrofol turşusuna malik olan mürəkkəb fermentlərlə həyata keçirilir.

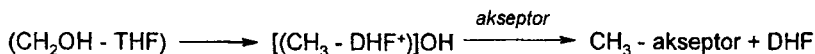
Lakin, qeyd edək ki, qlisinin serinə çevrilməsinin ən birinci mərhələsində (oksimetil qrupunun əmələ gəlməsindən əvvəlki reaksiyada) fosfopiridoksal ferment də iştirak edir. Deməli, qlisinin serinə çevrilməsi çox mürəkkəb bir prosesdir və bu prosesdə həm fosfopiridoksal, həm də tetrahidrofol turşusu tərkibli fermentlərin iştirakı tələb olunur.

Pteroproteidlərlə kataliz olunan reaksiyaların üçüncü növü aşağıdakı kimidir:



Beləliklə, bu zaman formil və oksimetil qalıqlarının qarşılıqlı çevrilməsi müşahidə olunur.

Nəhayət, pteroproteidlərlə kataliz olunan reaksiyaların dördüncü növü metil qrupun əmələ gəlməsi və daşınmasından ibarətdir:



burada DHF – dihidrofol turşusudur.

Bu reaksiya zamanı dihidrofol turşusu ilə birləşmiş metil qrupu əmələ gəlir və sonradan, o, hər hansı bir akseptora ötürülür, dihidrofol turşusu isə, azad olunur.

Bu növ reaksiyalar vasitəsilə müxtəlif birləşmələrin, məs., nikotinin və digər alkaloidlərin sintezi baş verir ki, onlar böyük əhəmiyyətə malikdirlər.

Beləliklə, pteroproteid fermentlər müxtəlif birkarbonlu qalıqların fəallaşdırılması və daşınması reaksiyalarını kataliz edirlər. Burada da aydın görünür ki, fermentin spesifikliyini məhz kofermentlə birləşmiş zülal müəyyən edir.

Qeyd edək ki, xinoproteinlər adlanan bəzi fermentlər koferment qismində pirrolo-xinolin-xinon molekuluna malikdirlər. Xinoproteinlər bəzi bakterilərdə dehidrogenləşmə (molekuldan hidrogenin qoparılması) reaksiyalarını kataliz edirlər.

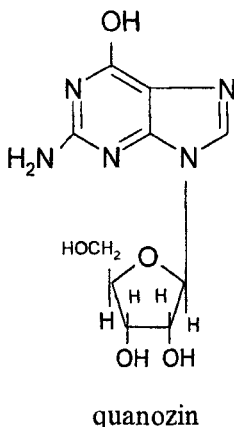
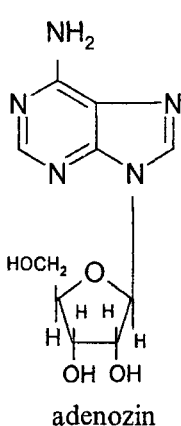
Nukleotid təbiətli kofermentlər

Azot əsasın şəkər və fosfat turşusu qalığı ilə birləşməsinə nukleotid deyilir. Adətən, bu azot əsasları purin və ya pirimidin sırasına aid olunurlar. Azot əsasları pentoza, yəni riboza və ya dezoksiriboza qalığı ilə birləşmiş olurlar. Nukleotidlərin quruluşunun ümumi sxemi belədir: azot əsası – pentoza – fosfat qalığı.

Əgər nukleotiddən onun tərkibindəki fosfat turşusunun qalığını ayırısaq, onda azot əsasın pentoza ilə birləşməsinə alacaq, və bu birləşmə nukleozid adlanacaq. Nukleozidin quruluşunun sxemi belədir: azot əsası – pentoza.

Nukleozid və nukleotid tərkibli kofermentlərin tərkibinə, yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, purin əsasları – adenin və quanin – və pirimidin əsasları – sitozin, urasil və timin daxildir. Qısa olaraq, onları A, G, C, U və T kimi işarə etmək olar. Purin və ya pirimidin azot əsasları riboza və ya dezoksiriboza ilə birləşərək müxtəlif nukleozidləri əmələ gətirirlər.

İlk öncə adenzin nukleozidinin quruluşuna diqqət yetirək. Onun molekulu adenin qalığında və ribofuranozadan ibarətdir. Adenin 9-cü vəziyyətində yerləşən azot atomu ribofuranozanın qlikozid hidrksili ilə (yəni, 1-ci vəziyyətdəki hidrksillə) birləşmişdir.

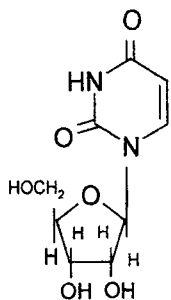


Analoji olaraq, quanozin nukleozidi quaninin və riboza molekulunun törəməsidir.

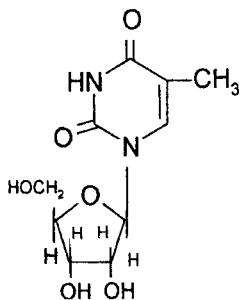
Sitidin nukleozidi sitozinlə ribozanın törəməsidir. Bu birləşmənin əmələ gəlməsində sitozinin 3-cü vəziyyətində yerləşən azot atomu və ribofuranozanın qlikozid hidrksili iştirak edir.

Analoji olaraq, uridin nukleozidi urasil azot əsasının 3-cü vəziyyətindəki azot atomunun ribofuranozanın qlikozid hidrksili ilə birləşməsi sayəsində əmələ gəlir.

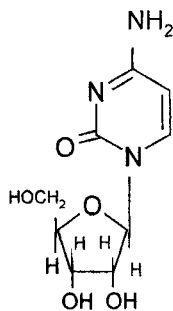
Və nəhayət, timidin nukleozidini qeyd etmək lazımdır ki, o, timin qalığının dezoksiribofuranoza qalığı ilə birləşməsi nəticəsində yaranır.



uridin



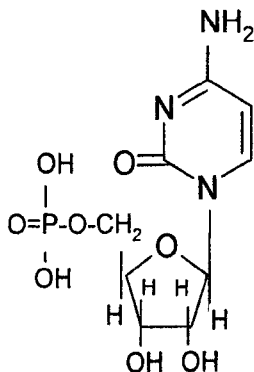
timidin



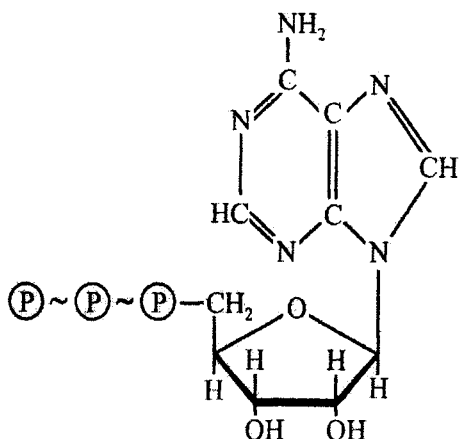
sitidin

Bu nukleozidlər fosfat turşusu qalığı ilə birləşərək nukleotidlər əmələ gətirirlər və məhz nukleotidlər şəklində koferment funksiyalarını yerinə yetirirlər və nuklein turşularının tərkibinə daxil olurlar. Qeyd etmək lazımdır ki, fosfat turşusunun qalığı pentozanın müxtəlif hidrosil qrupları ilə birləşə bilər.

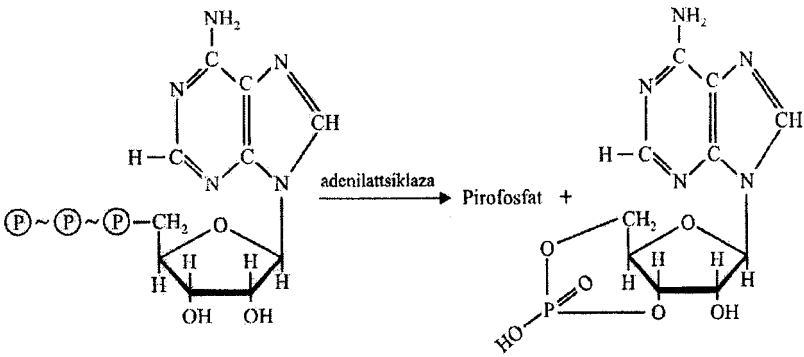
Belə ki, adenzin bir ortofosfat turşusu qalığı ilə birləşərək adenzinmonofosfat (AMP) nukleotidini əmələ gətirir. Ortofosfat turşusunun qalığı ribozanın müxtəlif hidrosilləri, yəni 2-ci, 3-cü və ya 5-ci hidrosilləri ilə birləşə bilər. Bu zaman su molekulu ayrılır və AMP əmələ gəlir. Əgər ortofosfat turşusu adenzin molekulu ilə ribozanın 5-ci karbon atomunda yerləşmiş hidrosil qrupu vasitəsilə birləşirsə, bu birləşmə adenzin-5'-monofosfat adlanır və aşağıdakı quruluşa malikdir:



Adenozinmonofosfat bir molekul fosfat turşusu qalığını birləşdirərək adenzindifosfata (ADP) çevrilir, ortofosfat turşusunun üçüncü qalığı birləşsə, bu halda adenozintrifosfat molekulu (ATP) əmələ gəlir. Bu birləşmə yüksək energetik rabitələrə malikdir. AMP-in tərkibində bu cür rabitələr mövcud deyil. Ribozanın 5-ci karbon atomundakı rabitə sadədir və onun enerji ehtiyatı təxminən 8-12 kC/mol-a bərabərdir. Fosfat turşusunun ikinci və üçüncü qalıqları yüksək energetik rabitə vasitəsilə birləşirlər və onların hər birinin enerji ehtiyatı 31,8 kC/mol-a bərabərdir. Yüksək energetik rabitə ~ işarəsi ilə göstərilir. Ortofosfat turşusunun qalığı (-H₂PO₃) dairəyə alınmış P hərfi ilə işarə oluna bilər. Bu halda ATP molekulunun quruluşunu aşağıdakı kimi göstərmək olar:



Beləliklə, ADP və ATP yüksək energetik birləşmələrdirlər və maddələr mübadiləsində böyük rol oynayırlar. Bu birləşmələr canlı hüceyrənin yanacağı qismində çıxış edirlər. Bundan başqa, adenozintrifosfat adenilattsiklaza adlanan xüsusi fermentin təsiri nəticəsində tsiklik adenozinmonofosfata çevrilir. Tsiklik AMP isə, fermentativ proseslərin tənzimlənməsində və zülalların sintezində mühüm rol oynayır. Bu çevrilmə aşağıdakı kimi gedir:



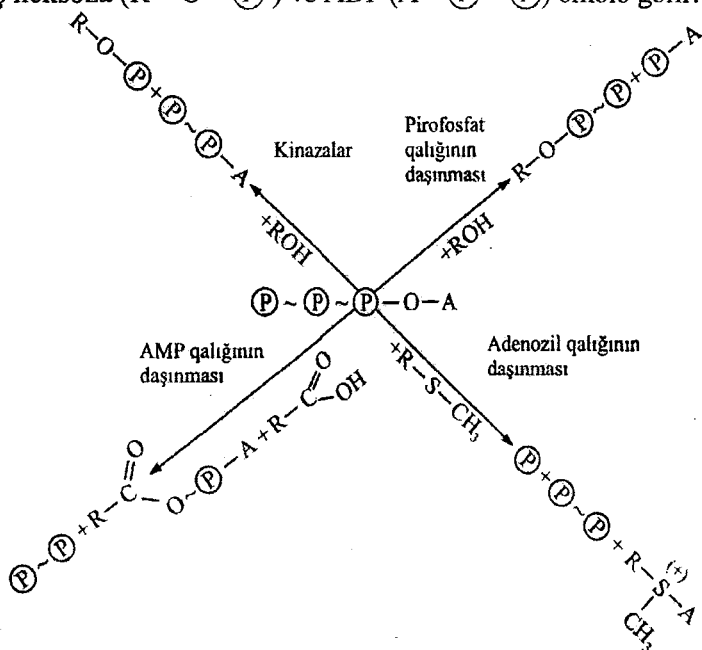
Analoji olaraq, qvanozin-5'-monofosfat (GMP), sitidin-5'-monofosfat (CMP), uridin-5'-monofosfat (UMP) və timidin-5'-monofosfat (TMP) kimi yüksək energetik rabitəyə malik olmayan nukleotidlər mövcuddur. Bu monofosfatlara bir molekul orto-fosfat turşusunun birləşməsi nəticəsində onlar bir makroergik (yüksək enerjili) rabitəyə malik olan müvafiq difosfatlara çevrilirlər. Difosfatlar, öz növbəsində, fosfat turşusunun bir qalığını da birləşdirərək iki makroergik rabitəyə malik olan müvafiq trifosfatlara çevrilirlər.

Ən mühüm nukleotidlərin və onların fosfat törəmələrinin tam və qısdılmış adları aşağıdakı kimidir:

Adenozinmonofosfat (adenilat)	AMP	Sitidindifosfat	CDP
Adenozindifosfat	ADP	Sitidintrifosfat	CTP
Adenozintrifosfat	ATP	Uridinmonofosfat (uridilat)	UMP
Qvanozinmonofosfat (qvanilat)	GMP	Uridindifosfat	UDP
Qvanozindifosfat	GDP	Uridintrifosfat	UTP
Qvanozintrifosfat	GTP	Timidinmonofosfat (timidilat)	TMP
Sitidinmonofosfat (sitidilat)	CMP	Timidindifosfat	TDP
		Timidintrifosfat	TTP

İndi isə, tərkibinə ADP və ATP daxil olan ferment sistemlərinə diqqət yetirək. Koferment qismində ATP-ə malik olan fermentlər müxtəlif reaksiyaları kataliz edirlər (şək. 3.5).

Sxemin ortasında adenozintrifosfatın sadələşdirilmiş formulu göstərilmişdir. Oxların üzərində prosesin adı və reaksiyada iştirak edən birləşmənin adı, eləcə də reaksiyanın məhsulları göstərilib. Bu reaksiyaları daha ətraflı müzakirə edək. İlk öncə, müxtəlif kinazlarla kataliz olunan reaksiyaları qeyd etmək lazımdır. Məsələn, heksokinaza fermenti ATP molekulundan sonuncu fosfat qrupunu heksozaya ötürür. Fosfat turşusunun qalığı heksozanın hidroksil qrupuna birləşir və nəticədə fosforlaşmış heksoza ($R - O - (P)$) və ADP ($A - (P) \sim (P)$) əmələ gəlir.

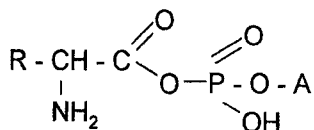


Şəkil 3.5. ATP-in müxtəlif fermentativ reaksiyalarda iştirakını əks etdirən sxem.

Reaksiyaların ikinci növü – pirofosfat qalıqının daşınmasıdır. Sxemdən görüldüyü kimi, bu fermentlərin iştirakı ilə şəkər molekuluna pirofosfat qalığı birləşir və nəticədə $R - O - (P) \sim (P)$

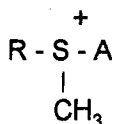
tipli birləşmə və AMP (Ⓟ - A) əmələ gəlir. Beləliklə, bu cür daşınma nəticəsində pirofosfat qalığının bütün enerji ehtiyatı şəkər molekuluna köçürülür.

Koferment qismində ATP-ə malik olan mürəkkəb fermentlər tərəfindən kataliz olunan reaksiyaların üçüncü növü adenozinmonofosfat qalığının hər hansı bir turşu molekuluna, xüsusilə də amin turşusu molekuluna daşınmasından ibarətdir. Zülalın biosintezi zamanı amin turşularının fəallaşdırılması prosesinin əsasında məhz bu reaksiya durur. Adenozinmonofosfat qalığının daşınması hesabına aminoasiladenilat əmələ gəlir və amin turşusu fəallaşır:



Aminoasiladenilatın tərkibində bir yüksək enerjili rabitə mövcuddur, digər yüksək enerjili rabitə isə, pirofosfat şəklində ayrılır. Fəallaşmış amin turşusu zülal biosintezi prosesinə daxil ola bilər.

ATP tərkibli fermentlər vasitəsilə kataliz olunan reaksiyaların dördüncü növü adenozil qalığının daşınması reaksiyalarıdır. Xüsusi fermentin təsiri altında metionin tipli birləşmə (R - S - CH₃) adenozin qalığını birləşdirir və aşağıdakı quruluşda birləşmə əmələ gəlir:

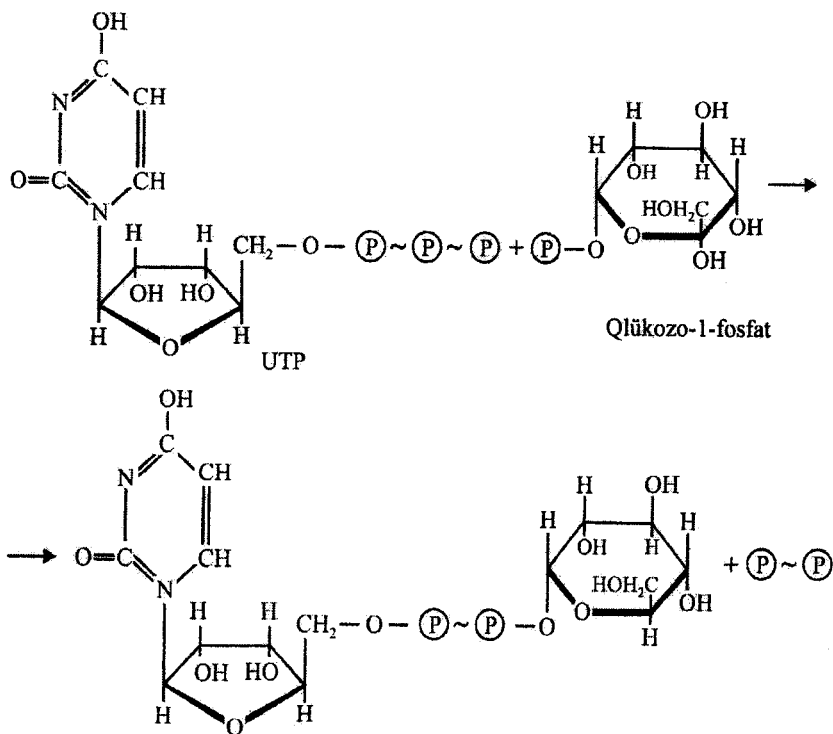


Bundan başqa, reaksiya nəticəsində ortofosfat turşusu və pirofosfat ayrılır. Bu reaksiyalar metil qruplarının fəallaşdırılması və daşınmasında mühüm rol oynayırlar. Məlumdur ki, maddələr mübadiləsində metil qruplarının vacib mənbəyi metionindir, lakin metil qruplarının hər hansı bir birləşməyə daşınması üçün onlar fəallaşmalıdırlar. Onların fəallaşması məhz ATP tərkibli fermentlər vasitəsilə həyata keçirilir. Bu zaman adenozil qalığı metioninə

bənzər maddəyə birləşir. Yüksək enerjili rabitələrdən birinin enerjisi hesabına metil qalığı fəallaşır və metilləşməyə məruz qaldığı digər birləşməyə ötürülə bilər.

Beləliklə, kofermenti ATP olan fermentlərin rolu müxtəlif birləşmələrin yüksək enerjili rabitələr hesabına fəallaşmasından ibarətdir.

UMP, UDP və onların müxtəlif törəmələrinə malik olan fermentlər də maddələr mübadiləsində xüsusi yer tuturlar. Uridin fermentlərin rolu şəkər və şəkər törəmələrinin qalıqlarının daşınması və çevrilməsi reaksiyalarını kataliz etməkdən ibarətdir. Daha mühüm əhəmiyyət kəsb edən və geniş yayılmış reaksiya – qlikozil (qlükoza) qalıqların daşınmasıdır:

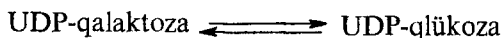


Göründüyü kimi, iki ədəd yüksək enerjili rabitəyə malik olan və fermentin tərkibinə daxil olan UTP molekulu fosforlaşmış

qlükoza, yəni qlükozo-1-fosfatla reaksiyaya girir. Reaksiya nəticəsində pirofosfat ayrılır və uridindifosfatqlükoza (qısa olaraq UDPQ) adlanan birləşmə əmələ gəlir.

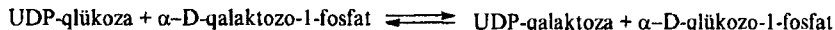
UDPQ qlükoza qalığının daşınması ilə müşayiət olunan karbohidratların müxtəlif sintezi reaksiyalarını kataliz edən əksər fermentlərin kofermentidir.

Bu fermentlərlə kataliz olunan reaksiyalara misal olaraq aşağıdakı tənliyə müvafiq gedən qalaktozanın qlükozaya çevrilməsi reaksiyasını göstərmək olar:



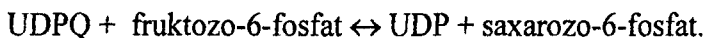
Bu reaksiya UDP-qlükozo-4-epimeraza fermenti ilə kataliz olunur. Qeyd etmək lazımdır ki, bu fermentin katalitik fəallığı üçün NAD^+ mövcudluğu vacibdir.

UDP-qlükoza aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq qalaktozo-1-fosfatın qlükozo-1-fosfata çevrilməsini kataliz edən heksozo-1-fosfat-uridililtransferaza fermentinin koenzimidir:

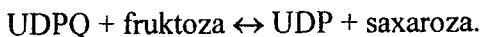


UDPQ iştirak etdiyi fermentativ reaksiyaların ikinci qrupu saxarozanın sintezi reaksiyalarıdır. Əvvəllər belə hesab edirdilər ki, canlı hüceyrədə saxarozanın sintezi invertaza fermentinin iştirakı ilə həyata keçirilir, digər sözlə, saxarozanın sintezi və parçalanması eyni fermentlə kataliz olunur. Lakin, hal-hazırda məlumdur ki, saxarozanın hidrolizi β -fruktofuranozidaza (invertaza) fermentinin iştirakı ilə gedir, sintezi isə, qlikozil qalığının uridindifosfatqlükoza molekulundan müvafiq akseptora daşınması yolu ilə gedir. Bu reaksiyada akseptor funksiyasını iki birləşmə yerinə yetirə bilər.

1. Akseptor qismində fruktozo-6-fosfat çıxış edə bilər. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir:

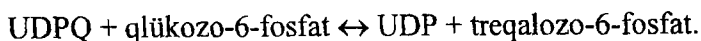


2. Akseptor qismində fruktoza da çıxış edə bilər. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir:



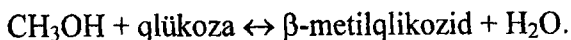
Birinci reaksiya saxarozanın sintezi üçün xüsusi əhəmiyyət kəsb edir.

UDPQ tərkibli fermentlər həmçinin treqalozanın sintezini də kataliz edirlər:



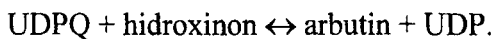
UDPQ tərkibli fermentlərin kataliz etdiyi fermentativ reaksiyaların üçüncü növü müxtəlif qlikozidlərin sintezidir.

Hələ XX əsrin əvvəllərində fransız biokimyəçisi Burklo göstərmişdir ki, qlikozidlərin şəkərə və aqlikon komponentə parçalanmasını kataliz edən qlikozidazalar müxtəlif qlikozidlərin sintezi reaksiyalarını da kataliz edə bilirlər. O, qlükoza məhlulu və metil spirti mühitində β -qlikozidaza fermenti üzərində tədqiqatlar aparırdı və müəyyən etmişdir ki, bu ferment hətta qatı metil spirti mühitində də öz fəallığını itirmir və β -metilqlikozidin hidrolizini kataliz edir. Bu zaman aşağıdakı reaksiya baş verir:



Reaksiya geri dönən reaksiyadır, sadəcə olaraq, metil spirti mühitində, o, metilqlikozidin sintezi istiqamətində, su mühitində isə, qlikozidin hidrolizi istiqamətində gedir. Bu üsul vasitəsilə Burklo qlikozidləri kiloqramlarla almağa nail olmuşdur. Burklo qlikozidlərin fermentativ sintezinə həsr olunmuş tədqiqatlarında fermentlərin təsirinin dönər olduğunu isbat etmişdir ki, bu da böyük prinsipial əhəmiyyət kəsb edir. Burklonun işlərindən sonra canlı hüceyrədə qlikozidlərin sintezinin məhz bu yolla getdiyi haqqında təsəvvürlər yarandı. Fərz edirdilər ki, hüceyrədə müəyyən "quru" sahələr mövcuddur ki, burada həmin sintetik

reaksiyalar gedir. Lakin XX əsrin ikinci yarısında göstərilmişdir ki, qlikozidin sintezi qlikozil qalığının hər hansı bir spirt molekuluna UDPQ tərkibli ferment vasitəsilə daşınması nəticəsində baş verə bilər. Belə ki, aşağıdakı tənlik üzrə gedən reaksiyanın mövcudluğu müəyyən edilmişdir:



Lakin qlikozidlərin sintezinin birinci və ya ikinci yolla gedişini müəyyən edən amillər hələ də məlum deyil.

UDPQ-tərkibli fermentlə kataliz olunan reaksiyaların növbəti beşinci növü – sellülozanın bakteriyalarda baş verən sintezidir. Sellülozanın biosintezi problemi artıq uzun illərdi ki, özünə tədqiqatçıların diqqətini cəlb edir. Belə ki, sellülozanın hidrolizini kataliz edən sellülaza fermenti ayrılmışdır, lakin bu fermentin təsiri ilə sellülozanın sintezini həyata keçirmək cəhdləri uğursuz idi. UDPQ-nin fəal qlükoza mənbəyi olduğunu nəzərə alaraq, *Acetobacter xulinum* növünə məxsus sirkə turşu bakteriyaların hüceyrəsiz ekstraktlarında sellülozanın fermentativ sintezini həyata keçirmək mümkün olmuşdur. Bu bakteriyalar, çaxırda inkişaf edərək, təmiz bakterial sellülozadan ibarət qatı selikli kütlə əmələ gətirirlər.

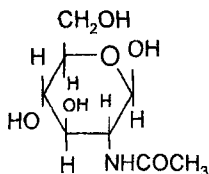
Göstərilmişdir ki, sellülozanın fermentativ sintezi aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



Beləliklə, göründüyü kimi, bu reaksiya üçün sellülozanın hidroliz məhsulları olan və sellodekstrinlər adlanan molekulların mövcudluğu zəruridir. Bu molekullara qlükozanın qalıqları ardıcıl olaraq birləşirlər və sellüloza zəncirinin sintezi baş verir.

Beləliklə, UDPQ tərkibli fermentlər vasitəsilə kataliz olunan reaksiyalar müxtəlifdirlər, lakin onlar üçün ümumi olan bir xüsusiyyət - bu reaksiyaların gedişinin qlikozil qalıqlarının fəallaşdırılması və daşınması ilə əlaqəli olmasıdır.

Xitin molekulunun sintezi də UDP törəməsinə malik olan fermentin iştirakı ilə həyata keçirilir. Məlumdur ki, xitin – həşəratların xarici örtüklərinin, papaqlı və kif göbələklərinin, maya hüceyrələrinin və yaşıl yosunların tərkibinə daxil olan biopolimerdir. Xitin – N-asetilqlükozaminin polimeridir:



N-asetilqlükozamin

O, UDP-lə reaksiyaya girərək, UDPQ birləşməsinə analogi olan uridinofosfat-N-asetilqlükozamin birləşməsinə əmələ gətirir. Fəallaşmış N-asetilqlükozamin qalığı müvafiq sələf molekuluna daşınaraq xitin sintezini təmin edir.

Koferment qismində uridinofosfata malik olan fermentlərlə kataliz olunan reaksiyaların növbəti növü – qlükuron turşusunun daşınması reaksiyalarıdır. Məlum olduğu kimi, qlükuron turşusu qlükozanın 6-cı karbon atomu COOH qrupuna qədər oksidləşmiş törəməsidir. UDP-qlükuron turşusu kompleksi qlükuron turşusunun fəallaşmış formasıdır və məhz bu fəallaşma baş verdikdən sonra qlükuron turşusunun qalığı biosintez reaksiyalarında iştirak etmək qabiliyyətini qazanır.

Məhz bu yolla poliuronidlər, yəni uron turşularının qalıqlarından təşkil olunmuş birləşmələr sintez olunur. Analogi olaraq, qalaktozanın oksidləşməsi reaksiyasının məhsulu olan qalakturon turşusu da poliuronidlərin biosintezində iştirak edə bilər.

Poliuronidlər adətən qlükuron və ya qalakturon turşularının qalıqlarından ibarət yüksək molekullu birləşmələrdilər. Onlar təbiətdə geniş yayılmışlar və bitkilərin hüceyrə divarında toplanan bir sıra maddələrin tərkibinə daxil olurlar.

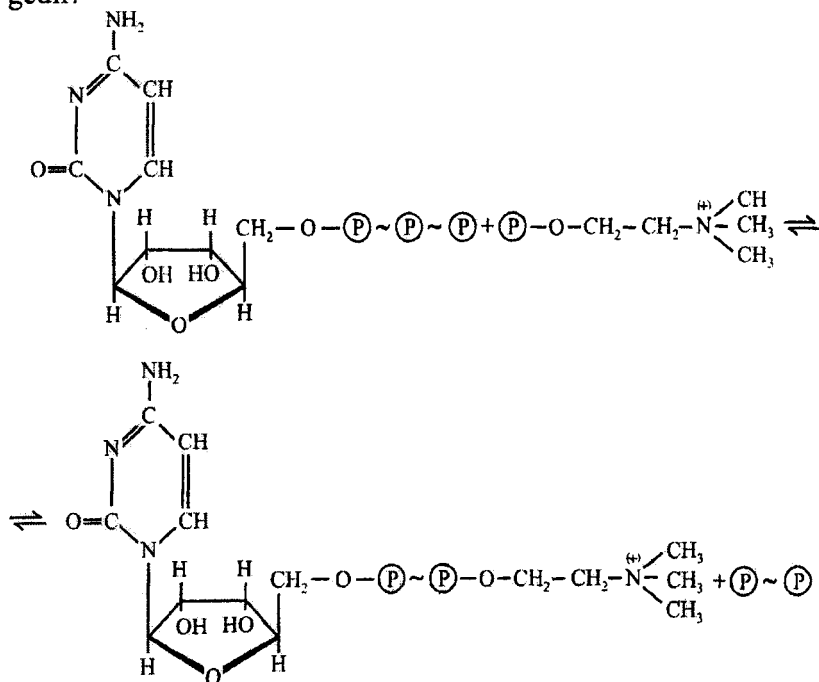
UDP-qlükoza və UDP-qalaktozadan başqa, koferment qismində eləcə də quanozindifosfatşəkərlər də (məs., quanozindi-

fosfatmannoza və quanozindifosfatqlükoza) çıxış edirlər. Quanozindifosfatmannoza molekulunun quruluşu aşağıdakı kimi təsvir oluna bilər:



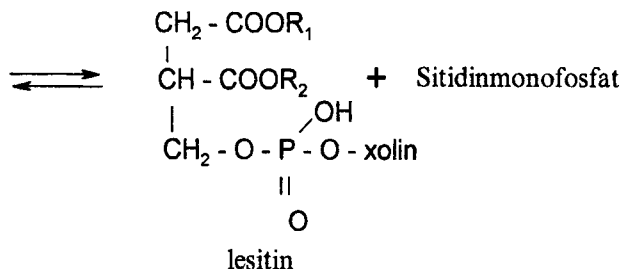
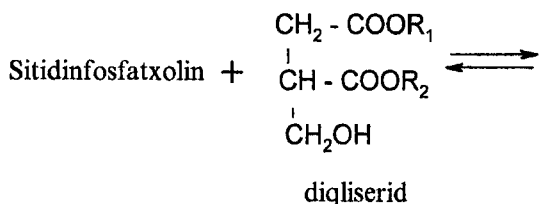
Göründüyü kimi, bu birləşmənin tərkibində makroergik rabitə mövcuddur. O, mannan tipli polisaxaridlərə mannoza qalığını daşıyan bəzi maya fermentlərinin tərkibinə daxildir. Bu fermentlər daha yüksək molekululu mannanları əmələ gətirməklə nisbətən kiçik molekul kütləsinə malik polisaxarid molekullarına birləşərək fəal mannoza mənbəyi rolunu oynayır. Mannanların bu yolla sintezi həmçinin bitkilər üçün də xasdır.

İndi isə, sitidin tərkibli kofermentlərə diqqət yetirək. Sitidin fosfolipidlərin, məs. leşinin, sintezində mühüm rol oynayırlar. Bu sintezdə sitidintrifosfat iştirak edir. Sitidintrifosfat fosforilxolinlə birləşmə əmələ gətirir və bu reaksiya aşağıdakı kimi gedir:



Tənlikdən görüldüyü kimi, bu reaksiya nəticəsində sitidinofosfatxolin və pirofosfat əmələ gəlir.

Sitidinofosfatxolin xolinin fəallaşdırılmış formasıdır ki, o, sonra müvafiq fermentin iştirakı ilə diqliserid molekuluna daşınır və lesitin molekulunu əmələ gətirir. Lesitin sitidinofosfatxolinin iştirakı ilə gedən biosintezi aşağıdakı kimi baş verir:



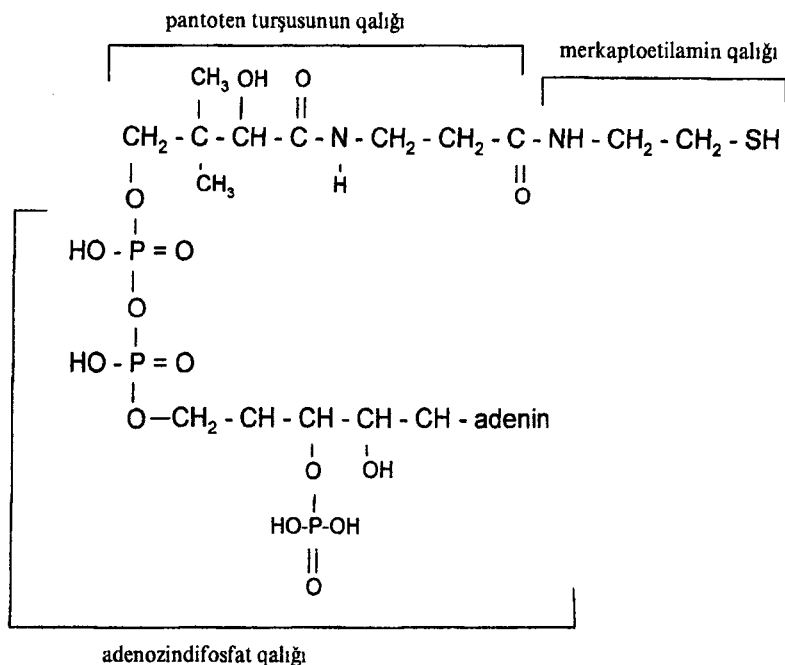
Sitidinofosfat, xolindən savayı digər azot əsası – kolaminlə də birləşmə əmələ gətirə bilər. Bu zaman lesitin deyil, kefalın adlanan fosfolipid sintez olunur.

Beləliklə, biz nuklein turşularının tərkibinə daxil olan nukleotidlərin koferment funksiyalarını müzakirə etdik. Qeyd etmək lazımdır ki, karbohidratların sintezi və çevrilmələrində iştirak edən müxtəlif fermentlərin kofermenti qismində fosforlaşmış nukleozidlərin rolu L.Lelyuar və əməkdaşları tərəfindən aparılan tədqiqatlar sayəsində müəyyən olunmuşdur. Nuklein turşuları nukleotid təbiətli müxtəlif vacib kofermentlərin mənbəyi olduğundan nuklein turşuların mübadiləsi fermentlərin biosintezi prosesləri ilə sıx əlaqədardır.

Koenzim A. Maddələr mübadiləsində əvəz olunmaz rolunu oynayan və quruluşunun əsasında nukleotid duran koenzimlərdən biri də koenzim A-dır (qısa olaraq, CoA).

“Koenzim A” adı bu kofermentin ilk dəfə asetil radikallarını (- CH₃CO) fəallaşdıran və daşıyan fermentlərin tərkibində tapıldığı üçün meydana çıxmışdır. Sonradan məlum oldu ki, CoA yalnız asetil qalıqlarının deyil, eləcə də müxtəlif digər turşu qalıqlarının da (asillərin) fəallaşdırılması və daşınmasını təmin edir.

Koenzim A-nın quruluşu F.Lipman və F.Linen tərəfindən kəşf edilmişdir. Koenzim A molekulu aşağıdakı quruluşa malikdir. Formuldan görüldüyü kimi, koenzim A-nın quruluşunun əsasında pantoten turşusunun qalığı ilə birləşmiş adenoindifosfat durur. Koenzim A-nın tərkibinə daxil olan pantoten turşusunun suda həll olan vitaminlərə aid olduğunu nəzərə alsaq, pantoten turşusunun maddələr mübadiləsində koenzim A-nın sintezi üçün zəruri olan bir maddə kimi rolunu aydın aşkar görünür.

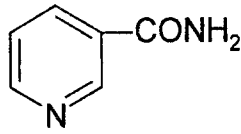


Koferment A maddələr mübadiləsində mühüm rol oynayır. Karbohidratların və qliserinin karbon atomlarının 2/3 hissəsi maddələr mübadiləsi zamanı asetilkoenzim A-ya çevrilir. Yağ turşularının bütün karbon atomları və amin turşularının karbon atomlarının 50%-i CoA-nın iştirakı ilə baş verən müxtəlif çevrilmələrə məruz qalırlar.

Koferment A-nın asil qalıqlarını birləşdirən aktiv qrupu merkaptoetilaminin SH-qrupudur. Buradakı hidrogen atomu hər hansı bir asil qalığı, məs., sirkə turşusu qalığı ilə əvəz olunur və yüksək enerjili tioefir rabitəsi ($-S\sim OCCH_3$) əmələ gəlir. Bu birləşmə "asetilkoenzim A" adlanır. Koenzim A-ya tioefir rabitəsi vasitəsilə digər asillər də, məs., suksinil və ya palmitoil, birləşə bilirlər. Nəticədə, müvafiq olaraq, suksinil-CoA və palmitoil Co-A əmələ gəlir.

Nikotinamidnukleotid (piridin) kofermentləri. Nikotinamidin müxtəlif törəmələri ilə təmsil olunmuş kofermentlər maddələr mübadiləsində xüsusi rol oynayırlar, çünki onlar hidrogen atomlarının daşınmasında iştirak edən dehidrogenazaların tərkib hissələridirlər. Bu kofermentlər 1904-cü ildə ingilis biokimyəçiləri A.Qarden və V.Yanq tərəfindən spirtli qıçqırma prosesinin öyrənilməsi nəticəsində kəşf olunmuşlar. Onlar aşkar etmişlər ki, maya hüceyrələrindən alınmış şirə dializə uğradıldıqda, o, iki hissəyə, yəni dializ torbasında qalan zülal hissəyə və yarımkəçirici membrandan keçmək qabiliyyətinə malik olan dializedən hissəyə ayrılır. Bu dializedən hissə hüceyrəsiz mühitdə gedən qıçqırma prosesini xeyli fəallaşdırır. Bu səbəbdən Qarden və Yang bu dializedən hissəni "kozimaza" adlandırdılar (qıçqırma prosesini həyata keçirən hüceyrəsiz şirə bütövlükdə "zimaza" adlanırdı). Sonradan bu koferment "koenzim I" (CoI) adını aldı və bir neçə ildən sonra O.Varburq koenzim I-ya difosfopiridin-nukleotid (DPN) adını verdi. Bundan başqa, Varburq analoji olan digər kofaktoru da kəşf etdi və onu trifosfopiridinnukleotid (TPN) və ya koenzim II (CoII) adlandırdı.

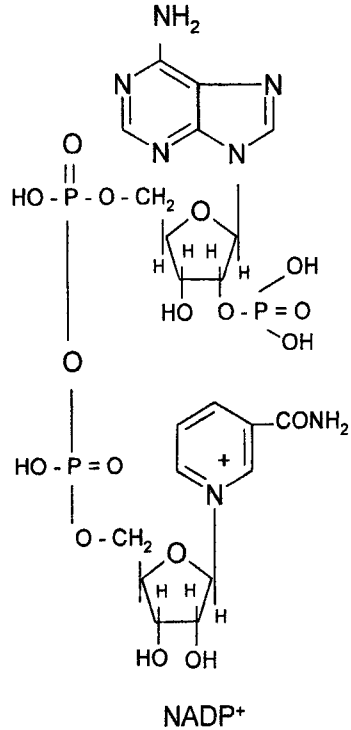
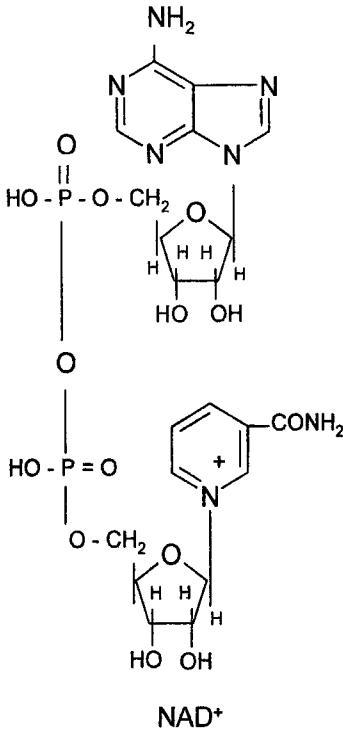
Bu birləşmələr nikotin turşusunun amidinin törəmələridirlər:



nikotin turşusunun
amidi

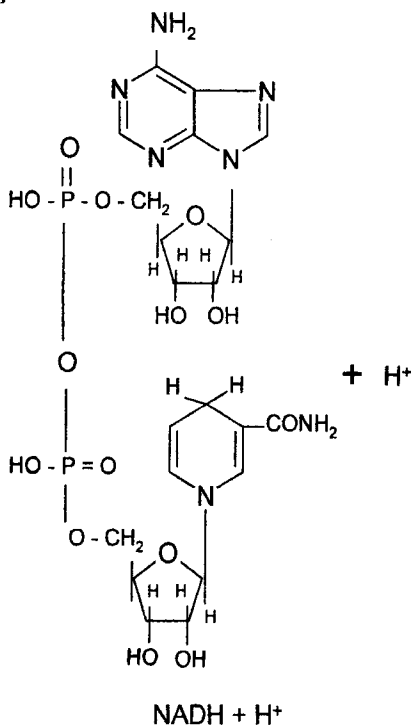
Uzunmüddətli tədqiqatlar nəticəsində difosfopiridinnukleo-
tidin (nikotinamidadenindinukleotidin) quruluşu aydınlaşdırılıb.

Əgər adenin qalığı ilə birləşmiş ribozanın ikinci karbon
atomuna ortofosfat turşusunun qalığını birləşdirsək, bu halda
trifosfopiridinnukleotid (TPN) və yaxud hal-hazırda nikotin-
amidadenindinukleotidfosfat adlanan birləşmə əmələ gəlir.

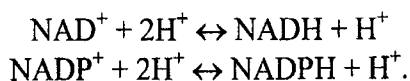


Difosfopiridinnukleotid faktiki olaraq dinukleotiddir. Onun tərkibinə daxil olan nukleotidlərdən biri adenzinmonofosfatdır. İkinci nukleotid qismində isə, nikotin turşusunun amidinin riboza və fosfat turşusunun qalığı ilə birləşməsi çıxış edir. Nikotin turşusunun amidi molekulu dördvalentli müsbət yüklənmiş azot atomuna malikdir və bu səbəbdən əsasi xassə daşıyır. Fermentlərin təsnifatı və adlandırılması üzrə beynəlxalq komissiya DPN kofermentinə nikotinamidadeninukleotid (NAD^+) adını tövsiyyə etdi, çünki bu ad birləşmənin kimyəvi təbiətini dəqiq əks etdirir. Bu tövsiyyələr əsasında hal-hazırda TPN nukleotidi nikotinamidadeninukleotidfosfat (NADP^+) adlanır.

NAD^+ və NADP^+ hidrogen atomlarının hər hansı oksidləşən substratdan (etil spirti, süd turşusu və s.) ayrılmasını kataliz edən ilkin (birincili) dehidrogenazaların kofermentləridirlər. NAD^+ -in reduksiyası nəticəsində onun quruluşunda müvafiq dəyişikliklər baş verir:



NAD⁺ və NADH-ın formullarının müqayisəsindən görünür ki, reduksiya nəticəsində müsbət yüklü azot atomunun valentliyi və piridin tsiklində ikiqat rabitələrin yerləşməsi dəyişir. Bundan başqa, bu azota nisbətən para vəziyyətdə yerləşən karbon atomuna hidrogen atomu birləşir və məhlula keçən H⁺ ionu əmələ gəlir. Beləliklə, nikotinamidnukleotid koenzimlərin oksidləşmiş formaları kationlar formasında olur, onların reduksiyası zamanı isə aşağıdakı reaksiyalar baş verir:

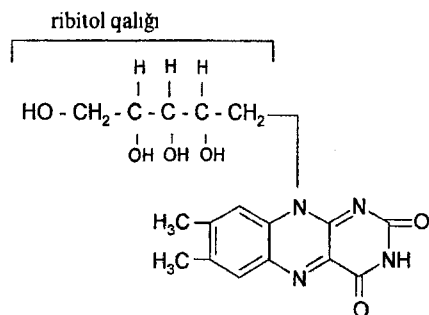


Piridin kofermentlərin vacib xassələrindən biri onların oksidləşmiş və reduksiya olunmuş formaları üçün fərqli olan spektral xarakteristikalarıdır. Piridin kofermentlərin bu xassəsi və onların 340 nm dalğa uzunluğunda işıq şüasının udma qabiliyyəti sayəsində bu kofermentlərin vəsfi analizi və piridin kofermentlərini daşıyan dehidrogenazaların fəallığının təyini mümkündür.

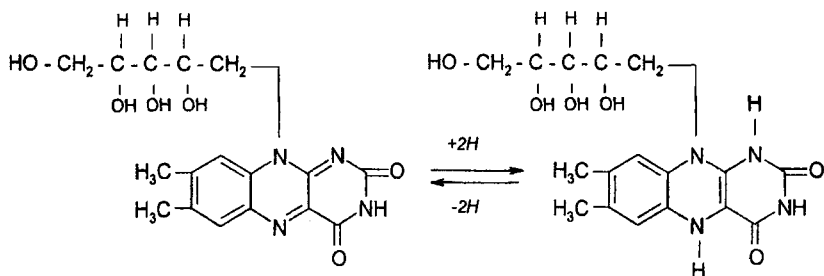
Qeyd etdiyimiz ilkin dehidrogenazaların tərkibindəki zülal molekulu həmin fermentin spesifikliyini müəyyən edir. Zülal və koferment arasında əmələ gələn rabitə labildir, dializ zamanı asanlıqla parçalanır, lakin eyni zamanda bu rabitə asanlıqla da bərpa oluna bilər.

Piridin dehidrogenazalarının reduksiya olunmuş formaları hidrogen atomunu, adətən, flavin dehidrogenazalar və ya flavoproteidlər adlanan böyük bir fermentlər qrupunun nümayəndələrinə ötürürlər.

Flavin kofermentlər. Flavin kofermentlər B₂ vitaminin (riboflavinin) törəmələridirlər. Riboflavinin molekulu beşkarbonlu siprt ribitolun və flavinin qalıqlarından təşkil olunub. Flavin üç ədəd altıkarbonlu tsikllərdən ibarətdir; onlardan ikisi heterotsikllərdirlər. Flavin asanlıqla oksidləşir və reduksiya olunur; onun oksidləşmiş forması sarı rəngli birləşmədir (*flavus* "sarı" deməkdir). Riboflavin aşağıdakı quruluşa malikdir:

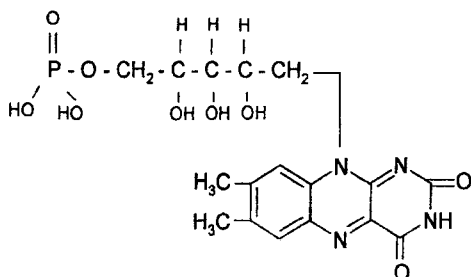


Riboflavinin oksidləşməsi və reduksiyası aşağıdakı sxemdə göstərilib:



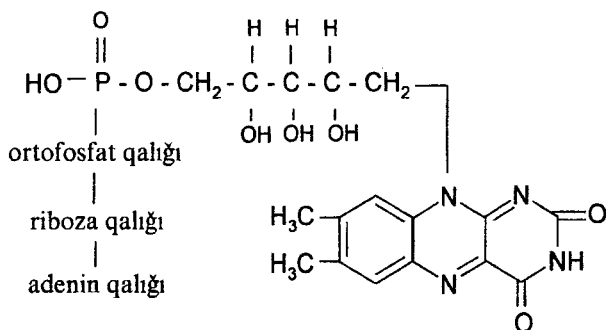
Canlı hüceyrədə riboflavin flavoproteidlərin tərkibinə daxil olan və flavinadenin dinukleotid (FAD) və flavinmononukleotid (FMN) adı altında məlum olan kofermentlər şəklində mövcuddur.

Flavinmononukleotidin quruluşunu aşağıdakı kimi göstərmək olar:



Beləliklə, o, fosfat turşusunun qalığının birləşdiyi ribit qalığından və azot əsası – flavindən təşkil olunub. Qeyd etmək lazımdır ki, tərkibində riboza qalığı əvəzinə ribit spirtinin olması səbəbindən bu birləşməni nukleotid adlandırmaq düzgün olmazdı. Lakin, buna baxmayaraq, “favinmononukleotid ” adı artıq geniş yayılmış bir addır.

Flavoproteidlərin digər nümayəndəsi olan flavinadenin-dinukleotid (FAD) aşağıdakı quruluşa malikdir:

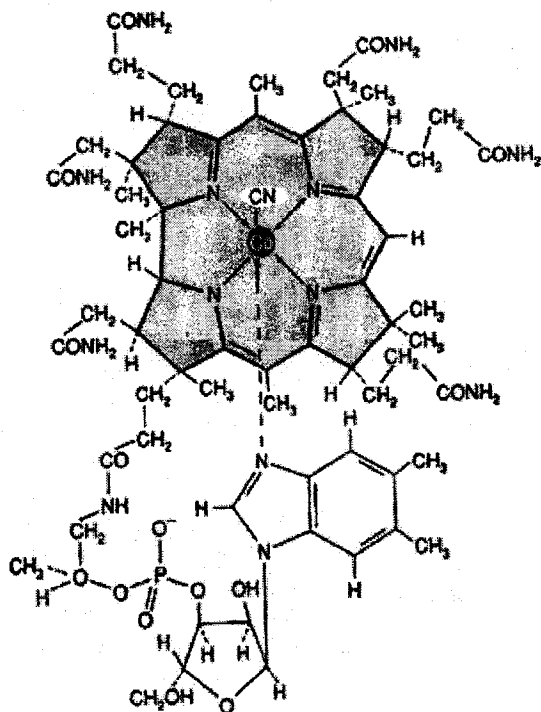


Formuldan görüldüyü kimi, FAD iki nukleotid qalığından təşkil olunub. Onlardan biri flavin, ribit və fosfat turşusu qalıqlarından, ikincisi isə, adenin, riboza və fosfat turşusu qalıqlarından ibarətdir. Qeyd etmək lazımdır ki, əgər piridin dehidrogenazaların kofermenti (NAD^+ və ya NADP^+) dializ zamanı çox asanlıqla zülal molekulundan ayrılırsa, flavin kofermentləri zülalla daha möhkəm birləşmiş olduqları üçün, onların ayrılması daha çətinliklə baş verir. Flavın kofermentini zülal hissədən ayırmaq üçün flavoproteidə turşu ilə təsir edirlər.

Kobamid kofermentlər. Kofermentləri B_{12} vitaminnin törəmələri olan bütün fermentlərə kobamid fermentlər deyilir.

Kobamid fermentlərin tərkibinə daxil olan kofermentlərin əsasını bir-biri ilə birləşmiş dörd pirrol qalıqlarının törəmələrindən ibarət olan korrin tsikli təşkil edir. Bu tsiklin mərkəzində kobalt durur. Bu kofermentin quruluşu şəkil 3.6-da göstərilib.

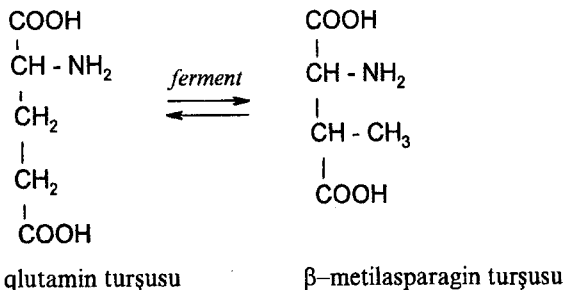
Məlumdur ki, B₁₂ vitaminnin tərkibində - CN qalığı mövcuddur və məhz bu səbəbdən B₁₂ vitamini sianokobalamin adını daşıyır. Lakin, kobamid fermentlərin koenzimləri sian qalığından məhrumdurlar, onun əvəzində isə, adenin nukleozidi durur.



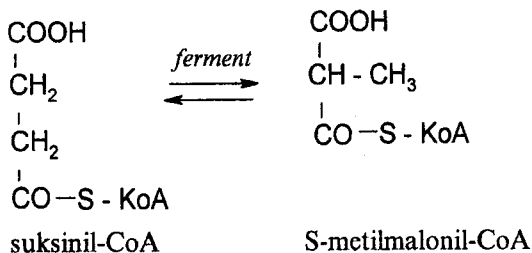
Şəkil 3.6. B₁₂ vitamininin quruluşu.

Kobamid kofermentlər və fermentlər B₁₂ vitaminini sintez etmək qabiliyyətinə malik olan bir sıra mikroorqanizmlərin, qara ciyər hüceyrələrinin, molekulyar azotun fiksasiyası baş verdiyi qızılağacın və paxlalıların kök şişlərinin tərkibinə daxil olur.

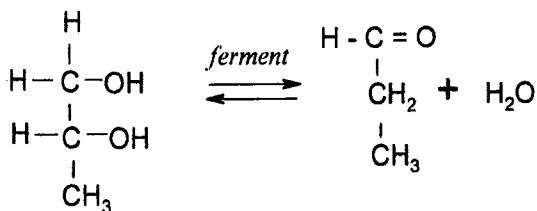
Kobamid fermentlər əsasən aşağıda qeyd olunan üç tip reaksiyanı kataliz etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Birincisi – qlütamin turşusunun izomerləşməsi və onun izomeri olan β-metil-asparagin turşusuna çevrilməsi reaksiyasıdır. Bu geri-dönən reaksiya aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



Reaksiyaların ikinci növü – suksinilkoenzim A-nın S-metilmalonilkoenzim A-ya, yəni kəhraba turşusunun törəməsinin malon turşusunun metilləşmiş törəməsinə çevrilməsidir. Reaksiya aşağıdakı tənlik üzrə gedir:



Və, nəhayət, kobamid fermentlər vasitəsilə həyata keçirilən reaksiyaların üçüncü növü –diolun (iki spirt qrupuna malik olan birləşmənin) dezoksialdehidə çevrilməsidir:

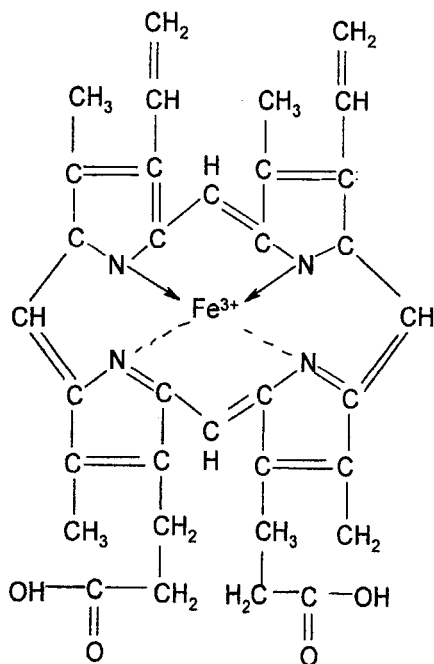


Beləliklə, nukleotid təbiətli əsas kofermentlərin quruluşunu və biokimyəvi reaksiyalarda rolunu müzakirə etdik.

Dəmirporfirin tərkibli kof fermentlər. Dəmir tərkibli fermentlərə misal olaraq peroksidaza və katalaza fermentlərini göstərmək olar. Bu fermentlərin tərkibindəki dəmir atomu, hemoqləbində olduğu kimi, porfirin tsikli ilə birləşmiş olur və protohematin IX əmələ gətirir.

Qeyd etmək lazımdır ki, katalaza və peroksidazanın tərkibindəki protohematin IX eyni quruluşa malikdir. Bu fermentlər, onların funksiyalarını müəyyən edən zülal hissələri ilə bir-birindən fərqlənirlər. Burada da, fermentin spesifikliyi eyni kof fermentlə birləşmiş zülal müəyyən edir.

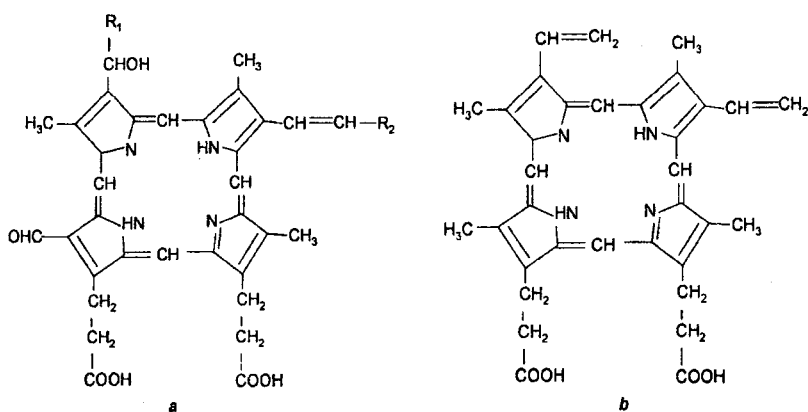
Protohematin IX aşağıdakı quruluşa malikdir:

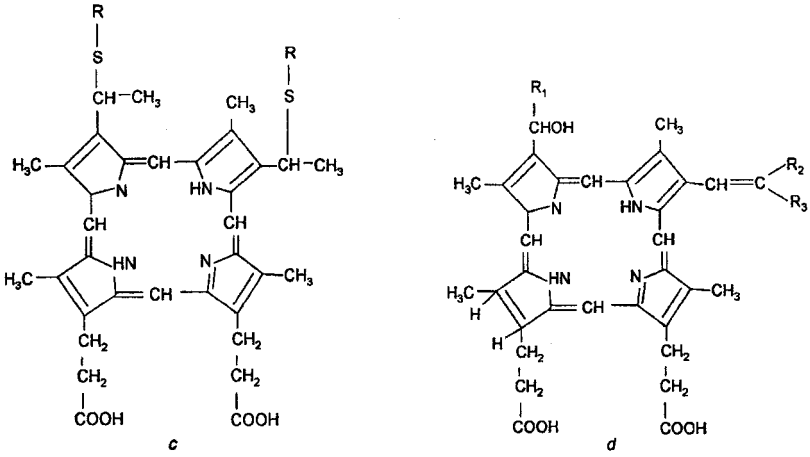


Dəmir, dəmirporfirin kompleksi şəklində həmçinin hüceyrədə oksidləşmə proseslərində iştirak edən və sitoxrom sistemi adı altında tanınan ferment sisteminin müxtəlif komponentlərinin tərkibinə daxildir. Sitoxromlar D.Keylin tərəfindən kəşf olunmuş-

dur və sonralar isə, obliqat anaerob bakteriyalar istisna olmaqla, bütün orqanizmlərdə aşkar edilmişdir. Lakin son illərdə aparılan tədqiqatlar nəticəsində göstərilmişdir ki, bəzi obliqat anaerob bakteriyalar da sitoxrom sisteminə malikdirlər. Sitoxrom sistemi müxtəlif sitoxromlardan və molekulyar oksigeni aktivləşdirən və onun köməyi ilə reduksiya olunmuş sitoxromu oksidləşdirən sitoxromoksidaza fermentindən təşkil olunub. Hal-hazırda, öz udma spektrlərinə, molekulyar oksigenə qarşı oxşarlığına və hemin kimyəvi təbiətinə görə bir-birindən fərqlənən bir sıra sitoxromlar məlumdur. Onlar, “*a sitoxromu*”, “*b sitoxromu*”, “*c və c₁ sitoxromları*”, “*f₁ sitoxromu*”, “*b₆, b₃, b₇, a₃ sitoxromları*” və s. kimi adı altında məlumdurlar. Sitoxromların nomenklaturasına aydınlıq gətirmək məqsədilə fermentlərin təsnifatı və nomenklaturası üzrə Beynəlxalq komissiya bütün məlum olan sitoxromları hemin təbiətindən asılı olaraq dörd qrupa bölünməsinə təklif etdi.

Bu qruplar aşağıdakılardır: dəmirformilporfirin daşıyan *a* sitoxromları, dəmirprotoporfirin daşıyan *b* sitoxromları, zülal və porfirin arasında kovalent rabitələrin olması ilə xarakterizə olunan və əvəz olunmuş dəmirmezoporfirin daşıyan *c* sitoxromları və dəmirhidroporfirin daşıyan *d* sitoxromları. Bu sitoxromların tərkibinə daxil olan porfirinlərin quruluşu şəkil 3.7-də göstərilib.

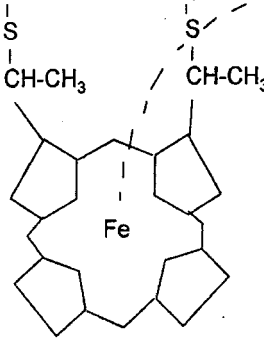




Şəkil 3.7. *a, b, c, d* sitoxromlarının porfirinləri (porfirin halqalarında Fe atomları göstərilməyib)

Sitoxromların zülal komponentləri kiçikmolekullu zülallarla təmsil olunmuşdur. Hem və zülal arasındakı əlaqə zülalın tərkibindəki iki sistein qalığının kükürdü hesabına əmələ gələn kovalent rabitə, eləcə də, xüsusilə *c* sitoxromları üçün xarakterik olan, dəmir atomu və histidin qalığı arasında əlavə rabitə vasitəsilə əmələ gələ bilər (şək. 3.8).

--- Phe - Lys - Thr - Arg - Cys - Glu - Leu - Cys - His - Thr - Val - Glu ---

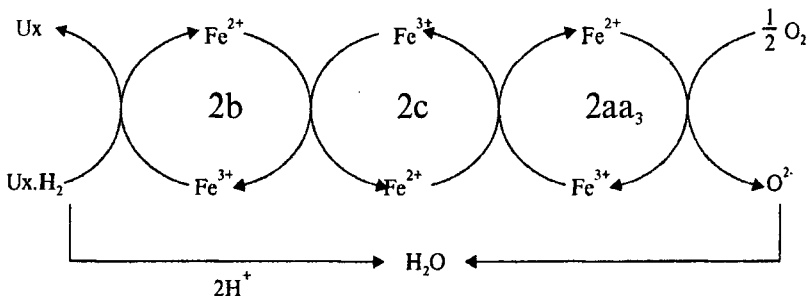


Şəkil 3.8. Maya hüceyrələrindən alınmış *c* sitoxromunda hemin polipeptidə birləşməsi.

Bir sıra sitoxromlar üçün zülal komponentinin birincili quruluşu tamamilə müəyyən olunub. Sitoxromların əksəriyyəti kristal halda alınıb.

Canlı hüceyrədə sitoxromların rolu, dehidrogenazalar tərəfindən oksidləşən substratdan alınmış və flavin dehidrogenazaların dihidroformasında mövcud olan hidrogen atomlarını qəbul etməkdən ibarətdir. Nəticədə, bu hidrogen atomları H^+ ionlarına çevrilirlər, sitoxrom isə oksidləşmiş formadan reduksiya olunmuş formaya çevrilir. Bu proses onun tərkibindəki üçvalentli dəmirin ikivalentli dəmirə çevrilməsi ilə müşayiət olunur. Sonradan, hidrogen atomundan alınmış elektron oksigenə ötürülür, nəticədə oksigen ionlaşmış hidrogen atomları ilə qarşılıqlı əlaqəyə girmək qabiliyyətini qazanır və su molekulu sintez olunur.

Artıq qeyd etdiyimiz kimi, reduksiya olunmuş sitoxromların oksidləşməsi hemoproteid təbiətli sitoxromoksidaza fermenti ilə həyata keçirilir (a_3 sitoxromu). Sitoxromoksidaza sinil turşusu və karbon dioksiddə inhibirləşir. Bu inhibitorlar fermentin tərkibindəki dəmirə birləşərək, onları katalitik fəallıqdan məhrum edirlər. Nəticədə etibarilə, əksər hüceyrələrin tənəffüs prosesi 80-90% zəifləyir. Karbon dioksid sitoxromoksidazanı yalnız qaranlıqda inhibirləşdirə bilər. Bu onunla izah olunur ki, karbon dioksid və dəmir arasında yaranan birləşmə işıqda asanlıqla parçalanır. Sitoxrom sisteminin hüceyrə tənəffüsündəki rolu şəkil 3.9-da aydın görünür.



Şəkil 3.9. Sitoxrom sisteminin sxemi.

Tənəffüs prosesi zamanı hidrogen atomlarının elektronlarının daşınmasında ardıcıl olaraq *b* sitoxromu, *c*₁ sitoxromu, *c* sitoxromu, *a* sitoxromu və, nəhayət, *a*₃ sitoxromu (sitoxromoksidaza) iştirak edir.

Flavin fermentləri və sitoxrom sistemi arasında qeyri-hemin təbiətli dəmir-tərkibli ubixinonlar və zülalların vasitəsilə baş verən oksidləşmə-reduksiya reaksiyaları baş verir. Elektronların daşınmasının son mərhələsində, yəni *a* və *a*₃ sitoxromların iştirakı ilə gedən mərhələdə mis ionları da iştirak edir.

Atmosfer molekulyar azotu mənimsəmək qabiliyyətinə malik paxlalıların kök yumrularında leqoqlobin adlanan (*Leguminosea* paxlalıların hemoqlobini) hemoproteid mövcuddur. O, molekulyar azotun fiksasiyası prosesində mühüm rol oynayır. Paxlalıların kök yumrularında leqoqlobinin miqdarı, adətən, quru kütlənin 4% təşkil edir. Elektroforez vasitəsilə müəyyən olunub ki, leqoqlobin nisbətən sürətli və nisbətən zəif hərəkət edən iki komponentdən ibarətdir.

Sürətlə hərəkət edən komponentin molekul kütləsi 16 000 Da-na bərabərdir, onun tərkibindəki dəmirin miqdarı isə, 0,34% təşkil edir; nisbətən zəif sürətlə hərəkət edən komponentin molekul kütləsi 15 400 Da-na bərabərdir, tərkibindəki dəmirin miqdarı isə, 0,29% təşkil edir. Leqoqlobinin bu komponentləri, bir tərəfdən, öz amin turşu tərkibinə görə bəzi heyvanların hemoqlobininə oxşarırlar, digər tərəfdən isə, onlar amin turşu tərkibinə görə bir-birindən bir qədər fərqlənirlər.

Molekulyar azotun paxlalılarla fiksasiyası prosesində leqoqlobin ikili rol oynayır. İlk öncə, oksigenlə yüksək oxşarlığa malik olaraq, o, oksigen təchizatçısı qismində çıxış edir və bununla belə bakteriyaların tənəffüsünü və azotun fiksasiyası prosesinin həyata keçirilməsi üçün tələb olunan ATP-in sintezini təmin edir. Bununla yanaşı, leqoqlobin oksigeni yüksək sürətlə özünə birləşdirərək, molekulyar azotun amonyaka çevrilməsini kataliz edən nitrogenaza ferment kompleksini oksigenin inaktiv-

leşdirici təsirindən qoruyur. Qeyd etmək lazımdır ki, leqoqlobin yalnız paxlalıların kök yumrularında deyil, eləcə də atmosfer azotu birləşdirmək qabiliyyətinə malik olan digər bitkilərin kök yumrularında da az miqdarda rast gəlinir.

XX əsrin 80-ci illərində metanın biosintezində iştirak edən bəzi bakteriyaların tərkibində bir sıra yeni kofaktor və kofermentlər aşkar olunmuşdur. Onlardan bəzilərinin tərkibinə nikel daxildir.

3.4. Metalloenzimlər

Fermentlərin katalitik fəallığının təmin olunmasında kofermentlərlə yanaşı dəmir, mis, manqan, maqnezium, kalium, sink və molibden kimi metallar da böyük rol oynayırlar. Müəyyən olunmuşdur ki, fermentlərin 25%-indən çoxu ya möhkəm birləşmiş metal ionlarına malikdir, ya da yalnız mühitdə metal ionları olduğu halda fəal olurlar. Metal ionlarının funksiyalarını öyrənmək məqsədilə rentgen kristalloqrafiya, nüvə maqnit rezonansı (NMR) və elektron paramaqnit rezonansı (EPR) üsullarından istifadə olunur.

Bu və ya digər metal ionunun fermentin fəallığının təmin olunmasında rolu fizioloji təcrübələrin nəticəsində müəyyən oluna bilər. Göstərilmişdir ki, qidada molibden və dəmirin çatışmazlığı şəraitində siçovulların qaraciyərində ksantinoksidazanın fəallığının kəskin azalması müşahidə olunur, bu elementlərin qidaya əlavə olunması isə, fermentin normal fəallığının bərpa olunması ilə müşayiət olunur. Qida mühitində molibdenin çatışmazlığı *Neurospora crassa* kif göbələyində nitratreduktaza fermentinin fəallığının kəskin dərəcədə azalması ilə müşayiət olunur.

Lakin, qeyd etmək lazımdır ki, belə fizioloji təcrübələrin nəticələri ferment molekulunun fəaliyyətində və quruluşunda bu və ya digər metall ionunun iştirakını dolayısı yolla əks etdirir; məsələnin tam həlli üçün fermentin yüksək dərəcədə təmiz

preparatını tədqiq etmək lazımdır. Həqiqətən də, ksantinoksidaza və nitratreduktazanın yüksək dərəcədə təmiz preparatlarının tədqiqi göstərdi ki, ksantioksidazanın tərkibində möhkəm birləşmiş molibden və dəmir, nitratreduktazanın tərkibində isə, molibden mövcuddur.

Təmiz ferment preparatlarının bu və ya digər metall ionunun mövcudluğuna yoxlanılması aşağıdakı yollarla aparıla bilər:

1. Təmiz ferment preparatını aldıqdan sonra, analiz yolu ilə, onun tərkibində metal ionunun mövcudluğunu müəyyən etmək.
2. Metalın dializ zamanı ayrılıb-ayrılmadığını müəyyən etmək.
3. Ferment molekuluna metalı birləşdirmək qabiliyyətinə malik olan spesifik reaktivlərin təsirini tədqiq etmək.

Cədvəl 3.3-də metalların bəzi fermentativ reaksiyalarda iştirakını əks etdirən misallar və metalla ferment arasında yaranan əlaqənin möhkəmlik dərəcəsi göstərilib.

Cədvəl 3.3-dən görüldüyü kimi, metallarla fəallaşan, lakin metal ionu olmadan da fəaliyyət göstərmək qabiliyyətinə malik fermentlər – leysinaminopeptidaza və enolaza fermentləridir.

İkinci qrupu yalnız metall ionunun iştirakı ilə fəaliyyət göstərən metalloenzimlər təşkil edir. Bu qrupa dissosiasiyaya məruz qalan, yəni metal ionu asanlıqla ayrılan metalloenzimlər və dissosiasiya etməyən metalloenzimlər daxildir. Birincilərə, tərkibinə dəmirporfirin kompleksi daxil olan peroksidaza və katalaza, eləcə də nitratreduktaza fermentlərini aid etmək olar. Həmçinin, bu qrupa nişastanın hidrolizini kataliz edən kalsium tərkibli α -amilaza da aiddir.

Kalsium müxtəlif fermentativ proseslərin tənzimlənməsində mühüm rol oynayır. O, adətən, orqanizmdə 148 amin turşu qalıqından ibarət kalmomodulin adlanan spesifik zülalla birləşmiş olur.

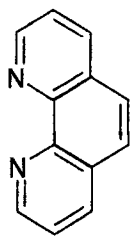
Bəzi fermentlərin fəaliyyətində metalların iştirakı

Qrupun adı	Fermentlərin adı	Metal	Reaksiyalar
I. Metallarla fəallaşdırılan (metallar olmadan da fəaliyyət göstərə bilirlər)	Leysinaminopeptidaza	Zn	Peptid rabitələrin hidrolizi
	Enolaza	Mg, Zn, Fe və ya Mn	D-2-fosfoqliserin turşusunun fosfoenolpiroüzüm turşusuna qədər dehidrogenləşməsi
II. Metalloenzimlər (metallar olmadan fəaliyyət göstərmirlər)	Nitratreduktaza	Mo	HNO ₃ -ün HNO ₂ -ə qədər reduksiya olunması
	Nitrogenaza	Mo, Fe	N ₂ -nin NH ₃ -ə qədər reduksiya olunması
	Peroksidaza	Fe	Müxtəlif birləşmələrin H ₂ O ₂ -nin iştirakı ilə oksidləşməsi (hidrogen peroksidin reduksiyası)
a) dissosiasiya edənlər	α-amilaza	Ca	Niştanın hidrolizi (qlikozid rabitələrin parçalanması)
b) dissosiasiya etməyənlər	Alkoqoldehidrogenaza	Zn	Spirtlərin aldehidlərə qədər oksidləşməsi və, əksinə, spirtlərin aldehidlərə qədər reduksiyası
1) metalla reaksiyaya girən spesifik reaktivlə inhibirləşdirilən	Ksantinoksidaza	Fe, Mo	Aldehidlərin, hipoksantin və digər purinlərin oksidləşməsi, nitratların reduksiyası
2) metalla reaksiyaya girən spesifik reaktivlə inhibirləşməyən	Suksinatdehidrogenaza	Fe	Kəhraba turşusunun fumar turşusuna qədər oksidləşməsi

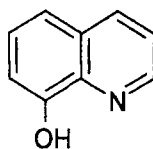
Qeyd etdiyimiz kimi, dissosiasiya etməyən metalloenzimlər də mövcuddur ki, onlar, öz növbəsində, iki qrupa bölünür. Birinci qrupa metalla reaksiyaya girmək qabiliyyətinə malik olan spesifik reaktivlə inhibirləşdirən fermentlərdirlər. Bunlara misal olaraq, sink tərkibli alkoqoldehidrogenaza fermentini göstərmək olar. İkinci qrupa isə, metalla reaksiyaya girən spesifik reaktivlə inhibirləşməyən fermentlər daxildir. Bunlara, öz fəaliyyəti üçün dəmir ionunun mövcudluğunu tələb edən suksinatdehidrogenaza və dəmir və molibden atomlarına malik olan ksantioksidaza fermentləri aiddirlər.

Qeyd etmək lazımdır ki, cədvəl 3.3-də təqdim olunan təsnifat artıq dərəcədə şərti xarakter daşıyır, çünki spesifik reaktivlərlə inhibirləşdirilən və inhibirləşməyən, dissosiasiya edən və dissosiasiya etməyən metalloenzimlər arasında tədrici keçidlər mövcuddur.

Fermentlərin tərkibindəki metalları birləşdirmək məqsədilə müxtəlif reaktivlərdən istifadə olunur. Bu cür inhibitorların tipik nümayəndəsi – metalları möhkəm birləşdirərək, onlarla davamlı xelatlar əmələ gətirən 1,10-fenantrolin və 8-oksixinolin



1, 10-fenantrolin



8-oksixinolin

Fermentin tərkibindəki mis birləşdirmək məqsədilə dietilditiokarbamat birləşməsindən geniş istifadə olunur. Mis və dəmir tərkibli fermentlərin geniş istifadə olunan inhibitorları qismində sinil turşusunu və onun duzlarını qeyd etmək olar. Lakin sinil turşusu və ya dietilditiokarbamat haqqında danışdıqda yadda saxlamaq lazımdır ki, onlar mis və dəmir tərkibli fermentlərin

spesifik inhibitorları qismində çıxış edə bilməzlər, çünki müəyyən olunmuşdur ki, bu birləşmələr tərkibində metal ionu olmayan bəzi fermentlərin fəallığını da inhibirləşdirirlər.

Bəzi bakteriyalarda, ali bitkilərin xloroplastlarında, fotosintezədi bakteriyalarda və heyvanlarda qeyri-hemin dəmirproteidlər adlanan elektron daşıyıcıları aşkar olunub; bu zülalların bir qisminə ferredoksinlər terminini də tətbiq etmək olar. Bu fermentlərin tərkibindəki dəmir qeyri-hemin formada mövcuddur. Onların əksəriyyəti həddindən artıq aşağı (hidrogen elektrodunun potensialına yaxınlaşan) oksidləşmə-reduksiyaetmə potensialına malikdirlər.

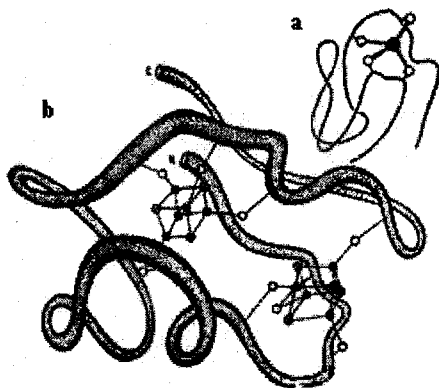
Clostridium pasteurianum azotfiksasiyaedici anaerob bakteriyaların ferredoksini 6 000 Da-a yaxın molekul çəkiyə malikdir və 54 amin turşu qalığından, o cümlədən 8 sistein qalığından, təşkil olunmuşdur. Bu ferredoksin molekulunun tərkibində sulfid kükürdün atomları ilə birləşmiş 8 dəmir atomu mövcuddur.

Clostridium pasteurianum bakterisində rubredoksin adlanan qeyri-hemin dəmir proteidi aşkar olunmuşdur. Bu maddənin molekul çəkisi 6 000 Da-na bərabərdir, lakin həmin mikroorqanizmin tərkibindəki ferredoksinə fərqli olaraq hər molekulu yalnız bir qeyri-hemin dəmir atomuna malikdir. Oksidləşmiş vəziyyətdə qırmızı rəngli, reduksiya olunmuş vəziyyətdə isə, rəngsiz olur. Xloroplastlarda yerləşən ferredoksinin molekul çəkisi 13 000 Da-na bərabərdir və onun hər molekulunda iki atom dəmir mövcuddur.

Qeyri-hemin təbiətli dəmirproteidlər dəmirin və sulfid kükürdün miqdarından asılı olaraq dörd qrupa bölünürlər:

1. $1\text{Fe} - \text{OS}^*$ - bakterial rubredoksinlər (S^* - sulfid təbiətli kükürd);
2. $2\text{Fe} - 2\text{S}^*$ - bitki, bakterial və heyvan mənşəli ferredoksinlər;
3. $4\text{Fe} - 4\text{S}^* - E'_0 = -0,35 \text{ V}$ -a bərabər fotosintetik və $E'_0 = -0,4 \text{ V}$ -a bərabər olan qeyri-fotosintetik bakterial zülallar.
4. $8\text{Fe} - 8\text{S}^*$ - bakterial ferredoksinlər.

Şəkil 3.10-da qeyri-hemin təbiətli iki dəmirproteidın quruluş sxemi göstərib.



Şək. 3.10. *Clostridium pasteurianum* bakterisinin rubredoksinin (a) və *Peptococcus aerogenes* bakterisinin ferredoksininin (b) quruluşu. Qara dairə - dəmir atomu; ağ dairə - polipeptid zəncirindəki kükürd atomu; * işarə - sulfid təbiətli kükürd.

Qeyri-hemin təbiətli dəmirproteidlər molekulyar azotun fiksasiyası və fotosintez prosesləri zamanı baş verən elektron daşınmasında böyük rol oynayırlar. *Clostridium pasteurianum* bakterisindən və *Chromatium* fotosintetik bakteridən ferredoksinin iştirakı ilə piroüzüm turşusunun reduksiyaedici sintezini kataliz edən ferment sistemi ayrılıb və qismən təmizlənilib. Bu ferment sistemi aşağıdakı tənliyə müvafiq gedən reaksiyanı kataliz edir:



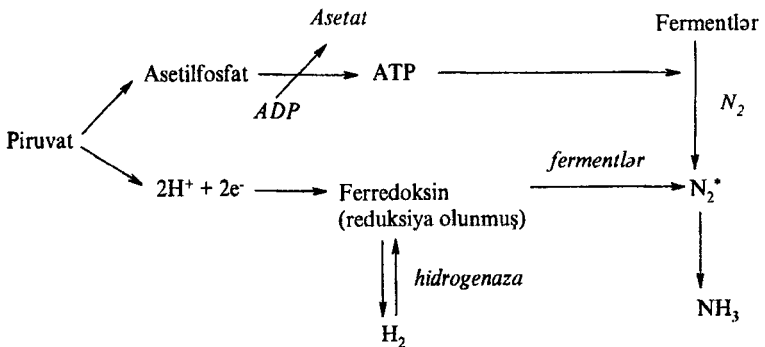
Analoji olaraq, *Chlorobitum thiosulfatophilum* bakterisindən alınmış ferredoksinin iştirakı ilə kəhrəba turşusunun karboksilləşməsi yolu ilə α -ketoqlutar turşusunun sintezi baş verir. Proses aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



Beləliklə, ferredoksin molekulyar azotun fiksasiyası prosesində böyük rol oynayan piroüzüm və α -ketoqlutar turşularının sintezində iştirak edir.

Molekulyar azotun torpaq mikroorqanizmləri tərəfindən fiksasiyası nəticəsində ilk əmələ gələn məhsulun ammonyak olduğunu fərz edən S.N.Vinoqradskinin fikri təcrübi yolla sübut olunub. Ammonyakın molekulyar azotdan əmələ gəlməsi prosesində ferredoksinin rolu böyükdür. Bu proses ATP-nin və reduksiya olunmuş ferredoksinin iştirakını tələb edir. Piroüzüm turşusu (və ola bilsin ki, digər ketoturşular da) bu prosesdə ikili rola malikdir. Bir tərəfdən, ATP-in sintezi üçün məhz piroüzüm turşusundan istifadə olunur, digər tərəfdən isə, - piroüzüm turşusu ferredoksinin reduksiyası üçün zəruri olan elektronlar mənbəyidir. Ferredoksin həm də molekulyar hidrogenlə hidrogenaza fermentinin kataliz etdiyi reaksiya nəticəsində reduksiya oluna bilər.

Clostridium pasteurianum bakterisində baş verən molekulyar azotun fiksasiyası prosesində ferredoksinin güman olunduğu rolu aşağıdakı sxemdə təsvir olunub (şək. 3.11):

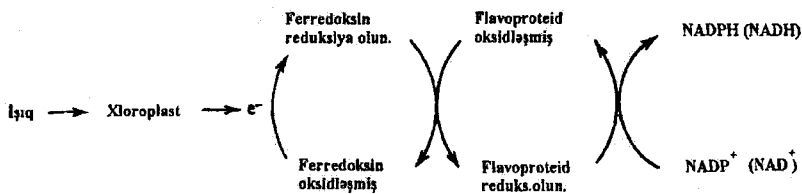


Şəkil 3.11. *Clostridium pasteurianum* bakterisində baş verən azot fiksasiyası prosesində ferredoksinin iştirakı.

Lakin qeyd etmək lazımdır ki, ferredoksin azotu fiksasiya etmək qabiliyyətinə malik olmayan bakterilərdə də, məsələn *Clostridium* cinsinin digər nümayəndələrində və bəzi mikrokoklarda da mövcuddur.

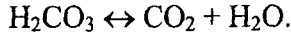
Ferredoksinin fotosintez prosesindəki rolu ondan ibarətdir ki, o, xlorofillin iştirakı ilə fotoreduksiya məruz qalır. Reduksiya olunmuş ferredoksin flavoproteid təbiətli xüsusi fermentin təsiri nəticəsində yenidən oksidləşir və yenə də fotoreduksiya da iştirak edə bilər. Flavoproteidin reduksiya olunmuş forması isə, NAD^+ və ya $NADP^+$ ilə qarşılıqlı təsirə girərək, onları $NADH$ və ya $NADPH$ -a qədər reduksiya edir. Beləliklə, fotosintez prosesində ferredoksinin, flavoproteidin və piridin kofermentlərinin qarşılıqlı əlaqələri şəkil 3.12-də göstərilirdiyi kimi təsvir oluna bilər.

Bir sıra fermentlərin tərkibinə mis daxildir. O, məsələn, polifennolların oksidləşməsini təmin edən *o*-difeno-loksidaza fermentinin tərkibinə daxildir. C vitaminini oksidləşdirən askorbatoxidaza fermentinin tərkibində də mis vardır. Həqiqi metalloenzimlər qrupuna diaminləri atmosfer oksigeni vasitəsilə müvafiq aminoaldehydlərə, ammoniyaya və hidrogen peroksidinə qədər oksidləşdirən mis tərkibli diaminoksidaza fermenti daxildir.



Şəkil 3.12. Fotosintez prosesində ferredoksinin , flavoproteidin və piridin kofermentlərinin qarşılıqlı əlaqələri.

Sinkproteidlərin geniş öyrənilmiş nümayəndələrindən biri karbonat-dehidratazadır (karboanhidraza). Bu ferment karbonat turşusunun CO_2 və suya qədər parçalanmasını kataliz edir:

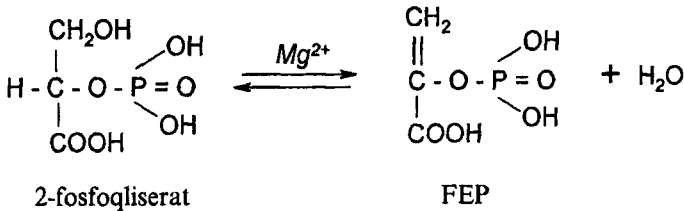


Karbonat-dehidrataza (karboanhidraza) heyvan və bitki aləmində geniş yayılmış fermentlərdən biridir.

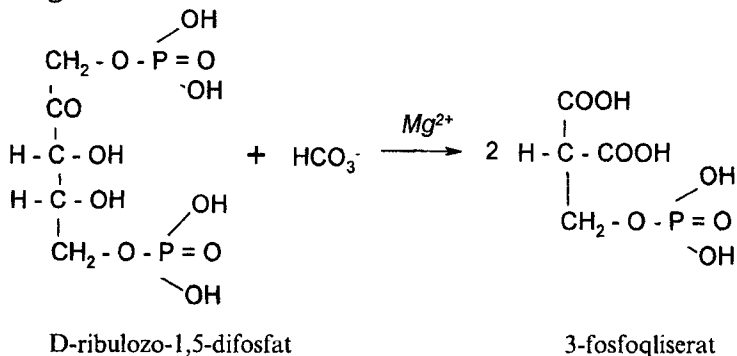
Dissosiasiyaya məruz qalmayan alkoqoldehidrogenaza fermentinin tərkibində də sink atomu mövcuddur.

Polipeptid zəncirinin son karboksil qrupu ilə qonşuluqda yerləşən peptid rabitəsini spesifik olaraq parçalayan karboksipeptidaza A fermenti də sink tərkibli metalloenzimlərə aiddir. Bu ferment həm peptidaza fəallığına, həm də, digər proteolitik fermentlər kimi, esteraza fəallığına malikdir, yəni həm peptid, həm də mürəkkəb efir rabitələrini parçalamaq qabiliyyətindədir. Əgər karboksipeptidaza fermentində sink atomunu kobalt və ya kadmium atomu ilə əvəz etsək, bu halda fermentin spesifikliyində müəyyən dəyişikliklər baş verəcək. Sinki Co^{2+} ionları ilə əvəz etsək, peptidaza fəallığının kəskin artması, esteraza fəallığının isə, azalması müşahidə olunacaq; sinkin Cd^{2+} ilə əvəz olunması isə, esteraza fəallığının əhəmiyyətli dərəcədə artması, peptidaza fəallığının yox olması ilə nəticələnir. Beləliklə, karboksipeptidaza A misalında metal ionunun nəinki fermentin fəallığına, eləcə də onun spesifikliyinə təsir etmək qabiliyyətinə şahid olduq.

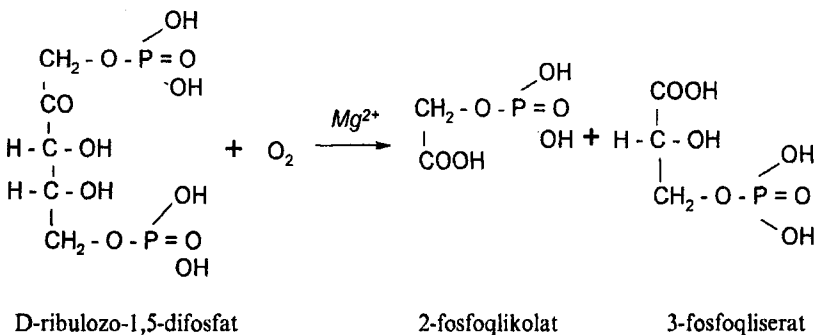
Çoxsaylı fermentlər üçün zəruri olan kofaktor rolunu maqnezium ionları oynayır. Mg^{2+} -asılı fermentlər qrupuna enolaza (əvvəllər fosfopiruvatdehidrataza adlandırılırdı) və ribulozodifosfatkarboksilaza fermentləri aiddirlər. Enolaza tənəffüs, qıvcırma və qlikoliz proseslərində iştirak edir və D-2-fosfoqliseratın fosfoenolpiruvata (FEP) çevrilməsini kataliz edir:



Ribulozodifosfatkarboksilaza fermenti fotosintez prosesində böyük rol oynayır və karbon qazının D-ribulozo-1,5-difosfata birləşdirilməsini kataliz edir; nəticədə iki molekul 3-fosfoqliserat əmələ gəlir:



Bu ferment həmçinin ribulozodifosfatın atmosfer oksigenin təsiri ilə 2- fosfoqlikolata və 3-fosfoqliserata parçalanmasını kataliz edir:



Bununla əlaqədar olaraq fermentə ribulozodifosfat-karboksilaza-oksigenaza adı verilmişdir (FT 4.1.1.39).

Maqnezium həmçinin fosfat turşusunun qalıqlarının ATP-nin iştirakı ilə daşınması reaksiyalarını kataliz edən bir sıra ferment sistemləri üçün vacib kofaktor qismində çıxış edir.

Maraqlıdır ki, fermentativ fəallığa malik olmayan bəzi zülallar, onlara metal ionları və ya onların kompleksləri birləş-

dikdə fəallaşırlar. Belə ki, balina mioqlobini molekuluna elektronların daşınmasının katalizatoru olan rutenium metalının ammonyakla kompleksinin 3 molekulunun birləşdirilməsi nəticəsində əmələ gələn yarımsintetik ferment askorbin turşusunu ruteniumlu kompleksə nisbətən 200 dəfə daha fəal oksidləşdirir. Bu yarımsintetik fermentin aktivliyi təbii askorbatoksidaza fermentin aktivliyi ilə eyni olur.

Metalın fermentlə birləşməsinin möhkəmliyi metalın təbiətindən və onun birləşdiyi funksional qrupların təbiətindən asılıdır. Fermentlərin tərkibinə daxil olan metallar apofermentin və koenzimin S, N, və O- tərkibli müxtəlif funksional qrupları ilə kompleks birləşmələr əmələ gətirirlər. Məsələn, peroksidaza və katalazanın, eləcə də sitoxromların prostetik qrupu qismində çıxış edən hemin tərkibinə daxil olan dəmir atomu hemin tərkibindəki azot atomları ilə kovalent və koordinasiya rabitələrlə, apofermentin tərkibinə daxil olan isə histidinin imidazol qrupu və lizinin ϵ -aminoqrupu ilə koordinasiya rabitələr vasitəsilə birləşir (şək.3.13).

Karboksipeptidaza A-nın tərkibinə daxil olan sink atomu N-sonluqda yerləşən asparaginin sərbəst amin qrupu ilə və apofermentin sulfhidril qrupları ilə koordinasiya rabitələr vasitəsilə birləşir. Mis-tərkibli proteidlərdə, məsələn askorbatoksidazada, mis atomu apofermentin tərkibindəki kükürd və azot atomları ilə koordinasiya rabitələrlə birləşir. Metalların birləşməsində, çox güman ki, fermentin karboksil qrupları da mühüm rol oynayır (şək. 3.13).

Fermentin funksiyalarını yerinə yetirilməsində metalın rolu aşağıdakı mexanizmlər üzrə həyata keçirilir.

Birincisi, ferment, metal və substrat arasında üçlük kompleksinin əmələ gəlməsi ilə əlaqədar olan bir mexanizmdir. Əgər fermentin katalitik mərkəzini Enz, metal ionunu M, substrat isə S ilə işarə etsək, onda əmələ gəlməsi mümkün olan kompleksləri aşağıdakı kimi təsvir etmək olar:

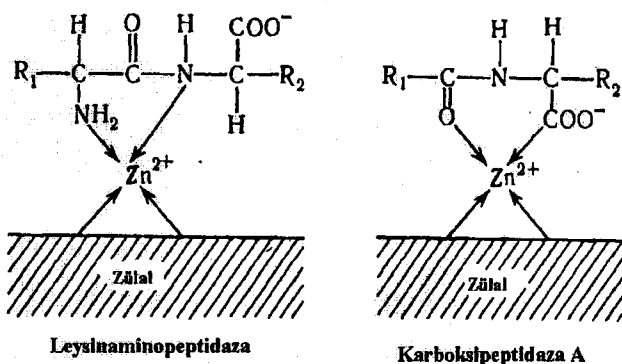
Enz - S - M
körpücüklü
substratla kompleks

M - Enz - S
körpücüklü
fermentlə kompleks

Enz - M - S
körpücüklü metalla
sada kompleks

Enz $\left\{ \begin{array}{l} M \\ | \\ S \end{array} \right.$
körpücüklü metalla
tsiklik kompleks

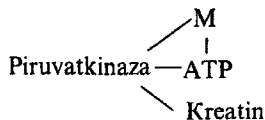
Körpücüklü substratla komplekslərinin əmələ gəlməsi fermentlərin nukleozidtrifosfatlarla qarşılıqlı təsiri zamanı müşahidə olunur. Güman olunur ki, bu, metalın koordinasiya təsiri sahəsindən H_2O -nun çıxarılması və həmin yerin ATP ilə tutulması ilə əlaqədardır. Sonra fermentlə substrat birləşir və üçlük kompleks əmələ gəlir. Fərz olunur ki, fosfotransferaza reaksiyalarında metal ionları fosfor atomlarını aktivləşdirirlər və sərt polifosfat-adenin kompleksinin müvafiq konformasiyasının əmələ gəlməsinə səbəb olurlar.



Şəkil 3.13. Metalların substratın fermentə birləşməsində rolu.

Körpücüklü fermentlə olan komplekslərdə metal, çox güman ki, fəal konformasiyanı təmin etməklə struktur funksiyasını yerinə yetirir (məsələn, qlutaminsintaza), və ya digər subst-

ratla körpücük əmələ gətirir (məsələn, piruvatkinazada olduğu kimi). Piruvatkinazada metal ionu həm struktur funksiyanı daşıyır, həm də substratlardan biri olan ATP-ni saxlayaraq, onu aktivləşdirir:



Və, nəhayət, körpüçüklü metalla olan kompleksləri müzakirə edək. Birincili quruluşun analizi və kristalloqrafik məlumatlara əsasən müəyyən olunmuşdur ki, çoxsaylı zülalların fəal mərkəzlərində metal histidin qalığı vasitəsilə birləşmiş olur. Bu hal, xüsusilə karboksipeptidaza A, c sitoxromu, rubredoksin və s. fermentlər üçün xarakterikdir. Enz-M binar komplekslərinin əmələ gəlməsinin limitləşdirici mərhələsi metal ionunun koordinasiya sahəsindən suyun sıxışdırılıb çıxarılmasıdır. Əksər peptidazaların metal ionları vasitəsilə aktivləşməsi prosesi bir neçə saat ərzində, yəni zəif sürətlə gedən bir prosesdir. Bu zaman, çox güman ki, Enz-M binar kompleksində konformasiya dəyişiklikləri baş verir və nəticədə fəal konformasiya yaranır.

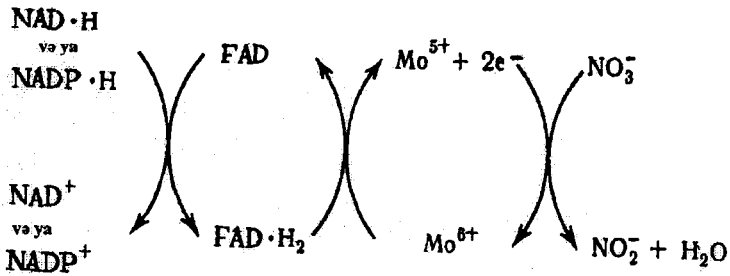
Metallarla aktivləşən fermentlər üçün bütün dörd sxem üzrə komplekslər əmələ gələ bilər. Həqiqi metalloenzimlər üçün Enz – S – M kompleksinin əmələ gəlməsi mümkün deyil, çünki onlar təmizləndikdə belə Enz–M şəklində olurlar.

Ümumiyyətlə, metalloenzimlər üçün xarakterik olan üç ümumi qaydanı qeyd etmək olar:

1. Kinazaların əksəriyyəti (hamısı yox) körpüçüklü substratla Enz–nukleozid–M tipli kompleks əmələ gətirirlər.
2. Substrat qismində piruvatdan və ya fosfoenolpiruvatdan istifadə edən fosfotransferazalar, fosfoenolpiruvatın iştirakı ilə gedən reaksiyaları kataliz edən digər fermentlər, eləcə də karboksilazalar metal körpücüyü ilə komplekslər əmələ gətirirlər.

3. Hər bir ferment bir substratla bir cür körpüçüklü kompleks, digər substratla isə, digər cür körpüçüklü kompleks əmələ gətirə bilər.

İkincisi, metalın rolu ondan ibarət ola bilər ki, o, özü reaksiyada iştirak etmək qabiliyyətinə malik olsun. Bu, məsələn oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyaları, yəni elektronların daşınması ilə müşayiət olunan reaksiyalar üçün xarakterikdir. Məsələn kimi nitratreduktazanı göstərmək olar. Bu fermentin tərkibinə daxil olan molibden özü nitratla, sonra isə flavin təbiətli fermentlə reaksiyaya girir.



Şəkil. 3.14. Molibdenin nitratreduktaza fermentinin fəaliyyətində rolu.

Üçüncüsü, metal apofermentin ikincili, üçüncü və dördüncü quruluşlarının saxlanılmasını təmin edə bilər. Məsələn kimi, amilazanı göstərmək olar. α -amilazanın bütün növləri (pankreatik, kif, bakterial, ağız suyu amilazaları) kalsium atomlarına malikdirlər ki, bu metal fermentin zülal molekulunun ikincili və üçüncü quruluşların təmin edir.

Və, nəhayət, metalların mümkün olan dördüncü növ təsiri ondan ibarətdir ki, onlar apofermentin kofermentlə birləşməsinə təmin edirlər. Məsələn, alkoqoldehidrogenaza fermentinin tərkibinə daxil olan sink atomları apofermentin kofermentlə birləşməsində iştirak edirlər.

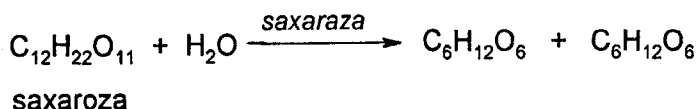
Sonda qeyd etmək lazımdır ki, bitki və heyvan orqanizmlərində baş verən maddələr mübadiləsində mikroelementlərin rolu məhz ondan ibarətdir ki, onlar çoxsaylı fermentlərin quruluşunun təmin olunmasında və onların normal fəaliyyətində əvəz olunmazdırlar.

Bütün bunlar bir də onu sübut edir ki, maddələr mübadiləsinin müxtəlif tərəfləri bir-biriləri ilə sıx əlaqədardırlar və orqanizmdə hər hansı bir metalın çatışmazlığı və ya onun mübadiləsinin pozulması dərhal bu və ya digər fermentin təsirində özünü büruzə verir və xəstəliyin əmələ gəlməsinə səbəb olur.

FƏSİL IV. FERMENTATİV FƏALLIĞIN TƏYİNİ ÜSULLARI. FERMENTLƏRİN VAHİDLƏRİ

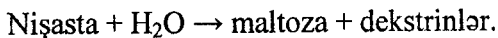
Fermentin mövcudluğunu onun kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinə, yəni reaksiya məhsullarının toplanması və ya reaksiya substratının sərf olunması sürətlərinə əsasən müəyyən etmək olar. Bu məqsədlə kimyəvi, polyarimetrik, qazometrik, xromatoqrafik, viskozimetrik, spektroskopik kimi müxtəlif üsullardan istifadə olunur.

Fermentativ fəallığın *kimyəvi üsullar* vasitəsilə təyini bu və ya digər qrupların, eləcə də fermentin təsiri nəticəsində məhlulda əmələ gələn və ya sərf olunan maddələrin miqdarca təyininə əsaslanır. Məsələn, β -fruktofuranozidaza (saxaraza və ya invertaza) fermentinə diqqət yetirək. Bu ferment saxarozanı bir molekul qlükoza və bir molekul fruktozaya parçalayır:



Məlumdur ki, saxarozanın hər iki qlikozid hidrksili birləşmiş vəziyyətdə olduğu üçün, o, felling məhlulunu reduksiya etmək qabiliyyətindən məhrumdur. Saxarozanın hidrolizi nəticəsində qlikozid hidrksillər arasındakı rabitə qırılır, və əmələ gəlmiş qlükoza və fruktozanın sərbəst karbinol qrupları hesabına felling məhlulu reduksiya olunur. Beləliklə, reaksiya getdikcə, yəni saxarozaya monosaxaridlərə parçalandıqca, felling məhlulunun reduksiya olunma dərəcəsi də artır və bunun sayəsində biz fermentin təsirinin nə qədər effektivli olması haqda məlumat əldə edə bilirik.

Felling məhlulunun reduksiya olunmasına əsaslanan bu üsul eyni zamanda β -amilazanın fəallığının təyini məqsədilə də tətbiq oluna bilər. β -amilaza aşağıdakı reaksiyanı kataliz edir:

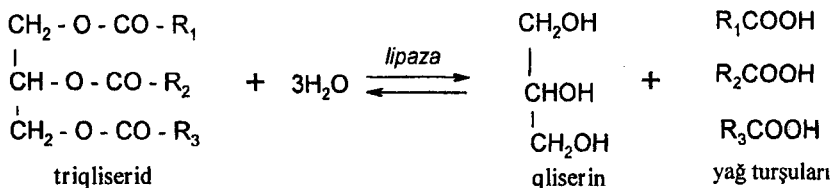


Maltozanın tərkibində bir sərbəst karbonil qrupu var ki, onun sayəsində, o, felling məhlulunu reduksiya edir. Beləliklə, amilazanın fəallığı maltozanın felling məhlulu vasitəsilə təyini yolu ilə qeydə alınır.

Proteolitik, yəni zülal və peptidlərin parçalanmasını kataliz edən fermentlərin fəallığının təyini məqsədilə də müxtəlif kimyəvi üsullardan istifadə olunur. Məsələn, dipeptidin dipeptidaza fermenti ilə hidrolizi nəticəsində iki molekul amin turşusu əmələ gəlir. Bu zaman peptid ($-\text{CO}-\text{NH}-$) rabitəsi su molekulunu özünə birləşdirərək parçalanır və sərbəst amin və karboksil qrupları əmələ gəlir. Bu səbəbdən dipeptidazanın təsirinə qeydə alınması üçün sərbəst karboksil və ya amin qruplarının təyini mümkün edən istənilən üsuldən istifadə etmək olar. Adətən azad olmuş amin qruplarını Syorensenə görə formol titrləmə ilə təyin edirlər. Formol titrləmə zamanı tərkibində reaksiya məhsulları olan məhlul formalinlə işlənir. Formalin sərbəst amin qruplarını birləşdirir və bu zaman karboksil qrupları azad olunur ki, onları da qələvi ilə titrləmək olar. Beləliklə, azad olunmuş karboksil qruplarının miqdarını təyin etməklə və müvafiq hesablama aparmaqla tədqiq olunan məhlulda sərbəst amin qruplarının miqdarını təyin etmək mümkündür.

Proteolitik fermentlərin fəallığının təyininin digər üsulu Vılşetter üsuludur. Bu üsulun mahiyyəti ondadır ki, reaksiya getdiyi məhlulun üzərinə müəyyən qatılıqlı spirt əlavə olunur. Tədqiq olunan məhlulda amin qruplarının dissosiasiyasının qarşısı alınır, azad olunmuş karboksil qrupları isə qələvi ilə titrlənir.

Yağın parçalanması reaksiyasına diqqət yetirək. Məlumdur ki, yağlar lipazlar adlanan fermentlərin təsiri ilə parçalanırlar və bu reaksiya aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



burada R_1 , R_2 və R_3 – müxtəlif yağ turşuların qalıqlarıdır.

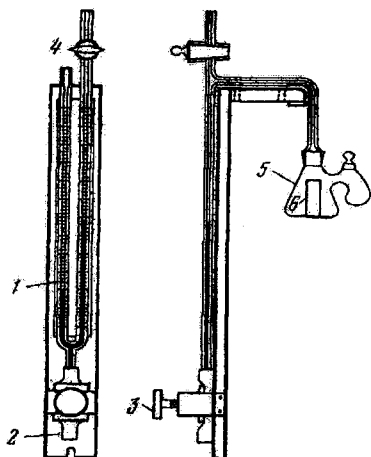
Əgər lipaza ilə kataliz olunan reaksiya tam olaraq, yəni üç su molekulunun birləşməsi ilə baş versə, bu halda qliserin və üç molekul yağ turşusu əmələ gələcək. Bu reaksiyanın gedişini əmələ gələn sərbəst yağ turşuların miqdarına əsasən qeydə almaq olar. Bu məqsədlə müəyyən qatılıqlı qələvi ilə titrləmə aparılır.

Bəzi fermentlərin fəallığı *polyarimetrik üsul* vasitəsilə təyin olunur. Bu üsul, məsələn, β -fruktofuranozidaza fermentinin fəallığını təyin etmək məqsədilə istifadə oluna bilər. Polyarimetriyanın tətbiqi fermentativ reaksiyanın gedişi boyunca məhlulun xüsusi fırlanma dərəcəsinin dəyişməsinin təyininə əsaslanır. Qlükozanın xüsusi fırlanma dərəcəsi $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 52,5^\circ$ -ə bərabərdir. Saxaroza məhlulu daha yüksək sağa fırlanma dərəcəsi ilə xarakterizə olunur ($+66,5^\circ$), saxarozanın hidrolizi zamanı əmələ gələn fruktoza isə güclü sol fırlanma dərəcəsinə ($-92,4^\circ$) malikdir. Beləliklə, əgər biz polyarimetrixin borucuğuna saxaroza və β -fruktofuranozidaza fermentindən ibarət məhlulu yerləşdirsək, burada aşağıdakı hadisə müşahidə olunacaq. Saxaroza məhlulu sağ fırlanma ilə xarakterizə olunur, lakin reaksiya getdikcə və fruktoza əmələ gəldikcə məhlulun sağ fırlanma dərəcəsi tədricən azalacaq və, nəhayət, sol fırlanma ilə əvəz olunacaq.

Fermentlərin fəallığını təyin edən üsulların böyük bir qrupu *qazometrik* üsula, yəni əmələ gələn qazın miqdarca təyininə əsaslanır. Belə ki, zülal və peptidlərin fermentativ parçalanması zamanı azad olunan amin qruplarının təyini məqsədilə Van-Slaykın qazometrik üsulundan istifadə edirlər. Üsulun mahiyyəti ondan ibarətdir ki, tədqiq olunan məhlul nitrit turşusu

ilə işlənir. Nitrit turşusu sərbəst amin qrupları ilə miqdarca reaksiyaya girir və bu zaman qazşəkilli molekulyar azot ayrılır. Bu azot qazını yığıb, xüsusi manometrik borucuqda onun miqdarını təyin edirlər və sərbəst amin qrupların miqdarını hesablayırlar.

Qazometrik üsullar arasında O.Varburq tərəfindən təklif olunmuş üsul daha təkmildir. Bu üsulda Varburq cihazından istifadə olunur (şək.4.1). Cihazın əsas hissəsini dərəcələrə bölünmüş manometrik borucuq təşkil edir (1). Bu borucuq iki qoldan ibarətdir və yüngül rəngli məhlulla doldurulub. Manometrik borucuğun aşağı hissəsinə sıxacla sıxılmış və tıxacla bağlanmış kauçuk borucuq (2) bərkidilib. Bu borucuq da rəngli maye ilə doldurulub. Sıxacın vintini (3) fırlatmaqla manometrik borucuğun hər iki qolundakı mayenin səviyyəsini tənzimləmək olar. Manometrin bir qolu fermentativ reaksiya gedən şüşə qabla (5) birləşir. Adətən Varburq cihazının şüşə qabının ortasında şüşə stəkan lehimlənir, qab özü isə, böyük həcmli su hamamına yerləşdirilir və bunun sayəsində temperatur müəyyən səviyyədə saxlanılır. Cihaz motorla təmin olunub ki, reaksiya getdiyi qab çalxalansın və reaksiyon qarışıq daima qarışdırılsın.



Şəkil 4.1. Varburq cihazının sxematik quruluşu.

- 1 – manometrik borucuq; 2 – kauçuk borucuq; 3 – vint;
- 4 – kran; 5 – təcrübə qabı; 6 – mərkəzi stəkan

Fərz edək ki, biz Varburq cihazı vasitəsilə piruvatdekarboksilaza fermenti ilə kataliz olunan reaksiyanı tədqiq etməliyik. Reaksiya aşağıdakı tənlik üzrə gedir:

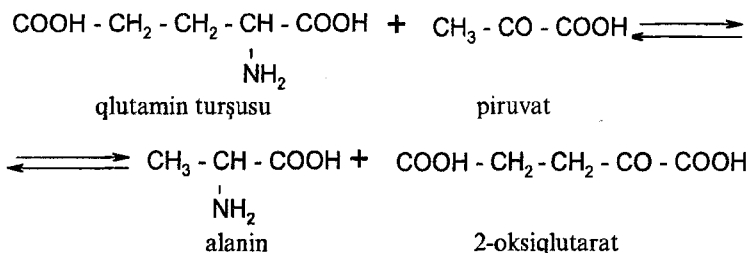


Bunun üçün biz əvvəlcə kran vasitəsilə (4) manometrin hər iki qolundakı mayenin səviyyəsini bərabərləşdiririk. Sonra Varburq qabına piroüzüm turşusu və ferment qarışığını əlavə edirik. Qab manometrə birləşdirilir, hamama yerləşdirilir və hərəkətə gətirilir. Piroüzüm turşusunun parçalanması zamanı CO_2 ayrılacaq və artıq təzyiq yaranacaq. Nəticədə manometrin sağ qolunda mayenin səviyyəsi aşağı düşəcək, sol qolunda isə, əksinə, qalxacaq. Beləliklə, qazın miqdarını ölçməklə, biz piruvatdekarboksilazanın təsirinin effektivliyi haqda məlumat əldə edə bilərik. Əgər fermentativ reaksiya oksigenin udulması və ona ekvivalent miqdarda CO_2 -nin ayrılması ilə müşayiət olunursa, bu halda Varburq qabının mərkəzi stəkanına güclü qələvi ilə isladılmış filtr kağızı yerləşdirilir ki, o da ayrılan karbon qazının udulmasını təmin edir. Nəticədə sistemdəki təzyiq azalacaq və manometrin sağ qolunda mayenin səviyyəsi artacaq.

Beləliklə, Varburq cihazı vasitəsilə istənilən toxumanın, kif göbələyinin və ya bakterial suspenziyanın tənəffüs intensivliyini, eləcə də qazın ayrılması və ya udulması ilə müşayiət olunan istənilən fermentativ reaksiyanı miqdarca tədqiq etmək mümkündür.

Fermentlərin təsirini öyrənmək məqsədilə *xromatoqrafik* üsullardan da, xüsusilə kağız üzərində xromatoqrafiyadan geniş istifadə olunur.

Fərz edək ki, biz piroüzüm və qlütamin turşuları arasında gedən fermentativ reaksiyanı xromatoqrafik üsulla tədqiq etmək niyyətindəyik. Bu reaksiya alaninaminotransferaza fermentinin təsiri ilə həyata keçirilir və reaksiya zamanı ferment amin qrupunu qlütamin turşusundan piroüzüm turşusuna daşıyır:



Reaksiya nəticəsində α -alanin və α -ketoqlutar turşusu əmələ gəlir. Təcrübə zamanı piroüzüm və qlutamin turşularının qarışığını hazırlayıb və ferment preparatını əlavə edirik, müəyyən zaman keçdikdən sonra xromatoqrafiya vasitəsilə əmələ gələn α -alaninin və ya sərf olunan qlutamin turşusunun miqdarını təyin edirik.

Beləliklə, xromatoqrafiya vasitəsilə müəyyən zaman ərzində əmələ gələn alaninin və həmin vaxt ərzində sərf olunan qlutamin turşusunun miqdarını, yəni reaksiyanın sürətini təyin etmək olar.

Biokimya və enzimologiyada amin turşuların miqdarca analizi məqsədilə *avtomatik cihazdan* geniş istifadə olunur. S.Mur və U.Steyn tərəfindən hazırlanmış bu cihaz tədqiq olunan məhlulun amin turşu tərkibini miqdarca yüksək dəqiqliklə təyin etmək və bununla belə əmələ gələn amin turşularının miqdarına əsasən müəyyən fermentin fəallığını təyin etmək imkanını verir. Müasir avtomatik amin turşu analizatorları vasitəsilə 1-2 saat ərzində tam analizi aparmaq olar.

Fermentativ fəallığın təyini üsullarının növbəti qrupu *məhlulun özlülüyünün dəyişməsinə* əsaslanır. Bu üsullar əsasən zülalların parçalanmasında iştirak edən, yəni proteinazaların, eləcə də pektin maddələrini parçalayan pektolitik fermentlərin fəallığını təyin etmək məqsədilə tətbiq olunurlar.

Hər hansı bir zülalın kifayət qədər özlülüyü olan məhlulu hazırlanır. Bu məhlul Ostvald viskozimetrinə yerləşdirilir. Viskozimetr isə, öz növbəsində, müəyyən temperatura çatdırılmış su termostatına yerləşdirilir, zülal məhlulunun ilkin özlülüyü təyin

olunur və hər 3-5 dəqiqədən bir məhlulun özlülüyü ölçülür. Fermentin fəallığı nə qədər yüksək olsa, məhluldakı zülal bir o qədər də tez parçalanacaq və məhlulun özlülüyü azalacaq.

Bu üsul sadədir, rahatdır və zülalın fermentativ hidrolizinin ilkin mərhələlərini qeydə almaq imkanını verir.

Fermentativ fəallığın təyini məqsədilə geniş istifadə olunan üsulların növbəti qrupu *spektrofotometrik* üsullardır. Fermentativ reaksiyaların substratları və ya məhsulları adətən spektrin gözə görünən və ya ultrabənövşəyi sahələrində işığı udma qabiliyyətinə malikdirlər. Molekulda ikiqat rabitənin və ya həlqəşəkilli quruluşun olması onun udma spektrinə təsir edir. Adətən reaksiyanın substratlarının və məhsullarının udma spektrləri fərqlənir və bunun da sayəsində müəyyən fermentativ reaksiyanın miqdarca səciyyələndirilməsi mümkün olur. Spektrofotometrik üsulun tətbiqi spektrofotometrin yaradılması ilə əlaqədardır. Spektrofotometr - müxtəlif dalğa uzunluğunda müəyyən maddə məhlulu ilə işığın udmasını tədqiq etmək imkanını verən cihazdır. Bu cihaz oksidləşdirici-reduksiyaedici fermentlərin öyrənilməsi məqsədilə daha geniş istifadə olunur.

Məsələn, bir sıra dehidrogenazaların tərkibinə NAD^+ və ya NADP^+ daxildir. Varburq müəyyən etmişdir ki, bu kofermentlərin oksidləşmiş (NAD^+ və NADP^+) və reduksiya olunmuş (NADH və NADPH) formaları öz spektrlərinə, xüsusilə də 340 nm dalğa uzunluğunda udma qabiliyyətlərinə görə bir-birindən kəskin dərəcədə fərqlənirlər. Belə ki, 340 nm dalğa uzunluğunda NAD^+ işığı udmur, onun reduksiya olunmuş forması NADH isə, yüksək udma qabiliyyəti ilə xarakterizə olunur. Bu dalğa uzunluğunda udmanın dəyişməsi əsasında biz bu və ya digər dehidrogenazanın nə dərəcədə intensiv işləməsi haqda məlumat əldə edə bilərik və, deməli, reaksiyanın sürətini ölçə bilərik. Dəqiqliyi və az vaxt tələb etdiyi sayəsində spektrofotometrik üsullar enzimologiyada geniş tətbiq olunurlar.

İstənilən ferment preparatı öz fermentativ fəallığına görə səciyyələndirilməlidir. Bu və ya digər ferment preparatının fermentativ fəallığını təyin etmək üçün bu preparatla vahid zaman

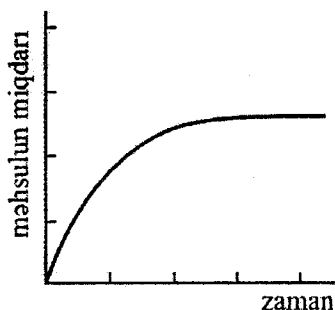
ərzində çevrilən substratın miqdarını qeydə alıb, onun ferment preparatının müəyyən miqdarına nisbətini tapmaq lazımdır. Belə ki, α -amilazanın fəallığını təyin etmək üçün 1 milliqramm ferment preparatı ilə 1 dəqiqə ərzində parçalanmış nişastanın miqdarını müəyyən etmək lazımdır. Beynəlxalq Biokimyəvi İttifaqın fermentlər üzrə komissiyası *fermentin standart vahidi* anlayışını irəli sürmüşdür. Fermentin standart vahidi U (ing. *unit*) hərfi ilə işarə olunur.

Fermentin standart vahidi – müəyyən şəraitdə 1 dəqiqə ərzində 1 mikromol (1mkmol) substratın çevrilməsini kataliz edən fermentin miqdarıdır. Fermentin standart vahidlərini 25°C temperatur, fermentin optimal pH qiyməti və substratın optimal qatılığı şəraitində təyin etmək məqsəduyğundur.

Standart vahidi təyin etmək üçün fermentativ reaksiyanın sürətini bilmək vacibdir. Fermentativ reaksiyanın gedişi, adətən, şəkil 4.2-də göstərilmiş qrafiklə ifadə oluna bilər. Reaksiyanın əvvəlində əyri kəskin olaraq yuxarı qalxır, sonra isə onun yoxuşu zəifləyir və nəhayət, əyri demək olar ki, abssis oxuna paralel olaraq gedir. Reaksiya sürətinin bu cür azalmasının səbəbi kimi aşağıdakıları qeyd etmək olar. Birincisi, əmələ gələn reaksiya məhsullarının təsiri, çünki fermentativ reaksiyaların əksəriyyəti geri-dönən reaksiyalardır, reaksiyanın sürəti isə, reaksiyaya girən maddələrin qatılığının hasilinə bərabərdir. İkinci səbəb - ilkin substartın reaksiya zamanı sərf olunması nəticəsində onun qatılığının doydurucu qatılıq qiymətindən aşağı düşməsidir. Üçüncü səbəb kimi fermentin reaksiya zamanı qismən parçalanmasını qeyd etmək olar. Və, nəhayət, fermentativ reaksiyanın sürətinin azalması, hətta reaksiya geri-dönməyən olduğu halda da, reaksiya məhsullarının spesisfik tormozlayıcı təsiri səbəbindən baş verə bilər.

Məhz bu səbəbdən dəqiqlik nöqtəyi nəzərindən fermentativ reaksiyanın sürətini, reaksiyanın ilkin mərhələsində, yəni yuxarıda qeyd olunan 4 amilin təsiri minimum səviyyədə olduğu şəraitdə təyin edirlər. Bu mərhələdə substartın qatılığı artıqdır, reaksiya məhsullarının miqdarı isə hələ xeyli azdır və ferment

hələ parçalanmayıb. Adətən reaksiyanın sürəti çevrilmiş substratın miqdarı ilkin qatılığın 20%-indən çox olmadığı şəraitdə təyin olunur.



Şək. 4.2. Fermentativ reaksiyanın zamanda gedişini əks etdirən əyri.

Fermentin fəallığının rəsmi vahidi *kataldır* (kat). Katal 1 saniyə ərzində 1 mol substratı çevirən fermentin miqdarıdır. Lakin katal çox böyük qiymət olduğundan, fermentin fəallığı adətən mikrokatala ifadə olunur. Fermentin standart vahidi və katal arasındakı nisbət belədir:

$$1 \text{ U} = 16,67 \text{ nanokatal};$$

$$1 \text{ katal} = 6 \cdot 10^7 \text{ U}.$$

Əgər fermentativ reaksiyanın ilkin sürətini, və deməli fermentin fəallığını təyin etsək, bu halda biz fermentin və ya ferment preparatının xüsusi fəallığını da hesablaya bilərik. *Xüsusi fəallıq* ferment preparatının 1 milliqramı və ya zülalın 1 milliqramı nisbətində fəallıq vahidlərində ifadə olunur. Zülalın miqdarı ya Kyeldal (zülal azotun miqdarı müəyyən olunur və 6,25 əmsalına vurulur), ya da Louri (kolorimetrik) üsul vasitəsilə təyin olunur. Əgər məhlulumuz tamamilə şəffaf və rəngsizdirsə, onda Varburq və Xristianın spektrofotometrik üsulundan istifadə edilir. Varburq və Xristian üsuluna əsasən zülalın tərkibində olan aromatik amin turşuların maksimum udmasına uyğun olan 280 nm dalğa uzunluğunda işığın udulması ölçülür.

Nəhayət, fermentin *molekulyar fəallığı* anlayışına diqqət yetirək. Molekulyar fəallıq anlayışı altında substratın optimal qatılığı şəraitində 1 dəqiqə ərzində 1 ferment molekulu ilə çevrilən substrat molekullarının və ya qrup ekvivalentlərinin sayı başa düşülür. Fermentin molekulyar fəallığını təyin etmək üçün fermentin molekul çəkisini bilmək lazımdır.

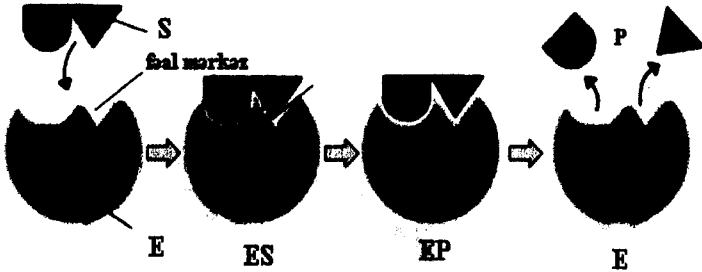
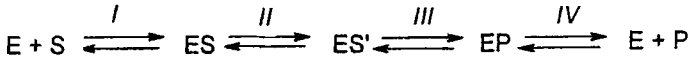
FƏSİL V. FERMENTLƏRİN TƏSİR MEXANİZMİ

Fermentlərin kimyəvi təbiəti haqqında biliklərin hələ kifayət qədər olmadığı dövrdə fermentlərin təsir mexanizmini izah edən fərziyyələr homogen katalizin kinetikasının tədqiqinə və model təcrübələrə əsaslanırdı. Kimyəvi reaksiyaların sürətinin artması ferment tərəfindən substratın fəallaşdırılması ilə və ya radikalların iştirakı ilə gedən reaksiyaların zəncirvari mexanizmi ilə izah edilirdi. Sonralar məlum oldu ki, zəncirvari reaksiyalar fermentlərin iştirakı olmadan da gedə bilirlər. Fermentlərin təsir mexanizmi haqqında elmi cəhətdən əsaslandırılmış fərziyyə 1903-cü ildə Henri, 1913-cü ildə isə V.Anri, L.Mixaelis və M.Menten tərəfindən irəli sürülmüşdür. Bu fərziyyənin düzgünlüyü fermentlərin kimyəvi təbiəti tam aydınlaşdırıldıqdan sonra isbat edilmişdir. Mixaelis-Menten fərziyyəsinə görə fermentativ kataliz zamanı ferment öz substratı ilə birləşərək davamsız ferment-substrat kompleksi əmələ gətirir ki, bu da reaksiya başa çatdıqda parçalanır, nəticədə sərbəst ferment və reaksiya məhsulu əmələ gəlir.

Ümumiyyətlə, fermentativ kataliz dörd mərhələdə baş verir (şək. 5.1):

1. ferment və substrat arasında ion, kovalent və digər rabitələrin iştirakı ilə dönər kompleksin əmələ gəlməsi;
2. substratın müəyyən dəyişikliyə uğraması və müvafiq reaksiya üçün fəallaşması;
3. kimyəvi reaksiyanın baş verməsi;
4. reaksiya məhsullarının ferment-məhsul kompleksindən dissosiasiya etməsi.

Fermenti E, substratı S, aktivləşmiş substratı S', reaksiya məhsulunu isə P ilə işarə etsək, onda fermentativ reaksiyanın mərhələlərinin ardıcılığı sxematik olaraq aşağıdakı kimi göstərilə bilər:

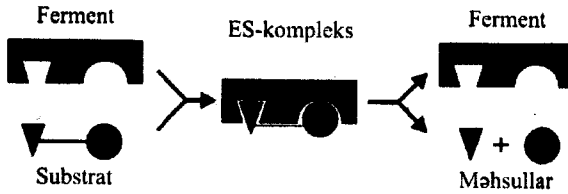


Şəkil 5.1. Fermentativ katalizin mərhələləri (D.Koşlandın “induksiya olunan uyğunlaşma” nəzəriyyəsinə əsasən). Burada E – ferment, S - substrat, ES – ferment-substrat kompleksi, EP – ferment-məhsul kompleksi, P – məhsuldur.

Beləliklə, fermentativ katalizin mexanizmi ferment-substrat komplekslərinin əmələ gəlməsinə əsaslanır. Lakin uzun müddət ərzində ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsini təcrübə yolla sübut etmək mümkün olmamışdır, çünki ferment substratla çox qısa zaman müddətində qarşılıqlı əlaqədə olur və bu kompleks həddindən artıq labildir, yəni davamsızdır.

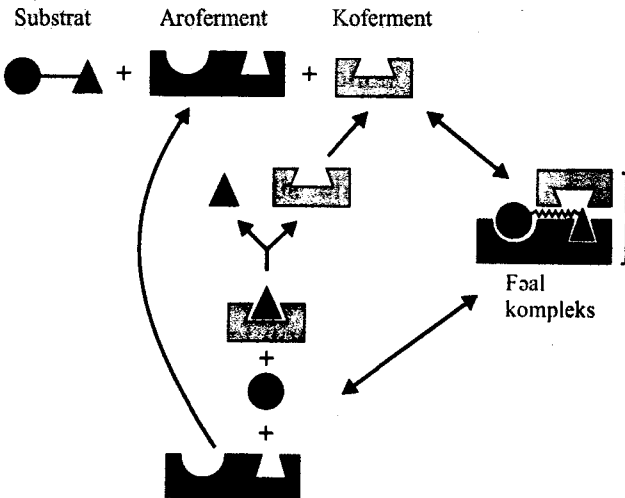
Bu cür kompleksin əmələ gəlməsi ilk dəfə olaraq ingilis biokimyəçisi D.Keylin və onun əməkdaşı T.Mann tərəfindən spektroskopiya üsulu vasitəsilə sübuta yetirilmişdir. Sonralar B.Çansın laboratoriyasında aparılan işlər sayəsində ferment-substrat kompleksinin tədqiqini təmin edən daha təkmilləşdirilmiş və həssas spektrofotometrik üsullar təklif olunmuş və bu üsulun tətbiqi sayəsində bir sıra fermentlərin ferment-substrat kompleksləri öyrənilmişdir. Hal-hazırda müasir eksperimental və riyazi üsulların tətbiqi sayəsində bir sıra fermentativ reaksiyaların kinetik və termodinamik göstəriciləri, xüsusilə də aralıq ES-komplekslərinin dissosiasiya sabitləri, bu komplekslərin əmələ gəlməsi və tarazlıq sabitləri müəyyən olunmuşdur.

Fermentlərin təsir mexanizmini izah edən ilk fərziyyələrdən biri 1890-cı ildə Emil Fişer tərəfindən irəli sürülmüşdür. “Açar-qıfıl” adlanan bu fərziyyəyə (şək. 5.2) əsasən ferment və substrat öz quruluşlarına görə bir-birinə yüksək dəqiqliklə uyğun gəlməlidirlər. Bu model fermentlərin yüksək spesifikliyini izah etsə də, keçid vəziyyətin praktikada müşahidə olunan stabilləşməsi faktını izah etmir.



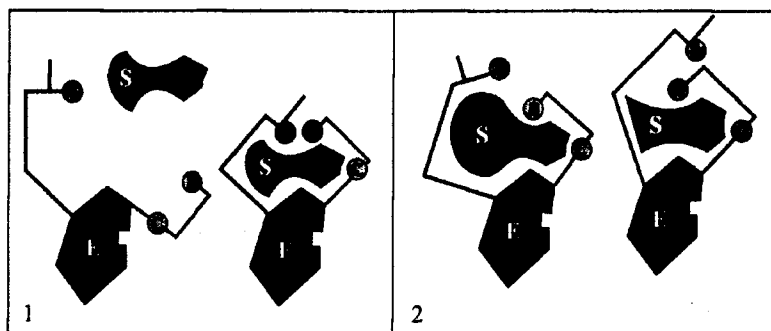
Şəkil 5.2. Aralıq ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsi (“açar-qıfıl” nəzəriyyəsinə əsasən).

Əgər ferment mürəkkəbdirsə, yəni fermentin fəal mərkəzini koferment təşkil edirsə, bu halda üçlük kompleks əmələ gələ bilər (şək. 5.3).



Şəkil 5.3. Substratın mürəkkəb fermentlə birləşməsi.

Fermentin katalitik fəallığı üçün α -spiralların möhkəm sahələrinin fermentin zülal hissəsinin dinamik olaraq dəyişikliyinə təmin edən elastik sahələrlə növbələnməsi böyük əhəmiyyət kəsb edir. Fermentativ katalizin bir sıra nəzəriyyələrində bu cür dinamik dəyişikliklərə böyük əhəmiyyət verilir. Belə ki, 1958-ci ildə D. Koşland “açar-qıfıl” nəzəriyyəsinin “induksiya olunmuş uyğunlaşma” adlı modifikasiyasını təklif edir. Bu nəzəriyyəyə əsasən, fermentlər sərt deyil, elastik molekulardırlar və fermentin fəal mərkəzi substratla birləşdikdən sonra öz konformasiyasını dəyişə bilər. Bu nəzəriyyə ferment molekulunun konformasiya dəyişikliklərinin substratla induksiya olunmasını sübut edən təcrübələrə əsaslanır. Digər sözlə, ferment yalnız substrat birləşdiyi anda qeyri-fəal R-formadan fəal (gərgin) T-formaya keçir (şək.5.4).



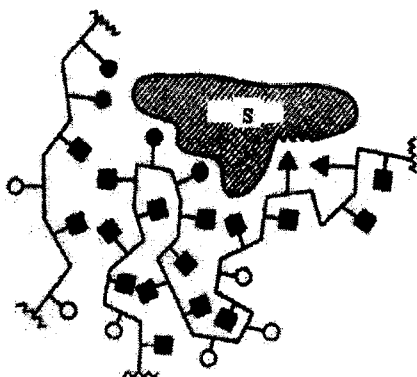
Şəkil 5.4. Fermentin fəal mərkəzinin strukturunun D.Koşlandın “induksiya olunan uyğunlaşma” nəzəriyyəsinə əsasən dəyişməsi. A, B, C – fəal mərkəzin funksional qrupları; 1 – fəal kompleks; 2 – qeyri-fəal kompleks.

Şəkildən göründüyü kimi, substratın fermentə birləşməsi fəal mərkəzin konformasiyasının müvafiq dəyişikliklərinə səbəb olur və ya fəal kompleks, ya da aralıq ES-kompleksində fəal mərkəzin funksional qruplarının fəzada yerləşməsinin pozulması nəticəsində yaranan qeyri-fəal kompleks əmələ gəlir. Bəzi hallarda substrat molekulu da, fermentin fəal mərkəzində birləşdik-

dən sonra öz konformasiyasını dəyişir. “Açar-qıfıl” nəzəriyyəsinədən fərqli olaraq, induksiya olunmuş uyğunlaşma modeli həm fermentlərin spesifikliyini, həm də keçid vəziyyətin stabilləşməsini izah edir.

Ferment və substrat arasında olan dəqiq uyğunluq, eləcə də bu uyğunluğun termodinamik və katalitik üstünlükləri katalitik proses üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir. “İnduksiya olunmuş uyğunluq” nəzəriyyəsi ferment və substrat arasında təkcə fəza və ya həndəsi komplementarlığın olmasını deyil, eləcə də fermentin fəal mərkəzinin və substratın əks yüklənmiş qruplarının cütləşməsi sayəsində yaranan elektrostatik uyğunluğun olmasını nəzərə alır. Yüksək dərəcəli uyğunluq substrat və ferment arasında effektiv kompleksin əmələ gəlməsini təmin edir.

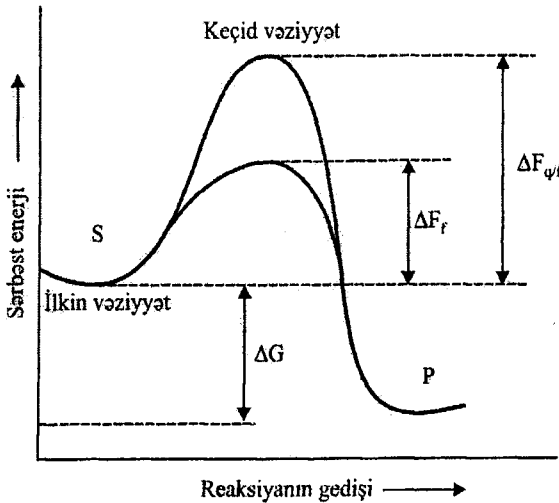
Ferment-substrat komplekslərinin əmələ gəlməsində hidrogen rabitələri, elektrostatik və hidrofob qarşılıqlı təsirlər, bəzi hallarda isə, kovalent və koordinasiya rabitələri iştirak edə bilər (şəkil.5.5). Fermentin fəal mərkəzinin lövbər sahəsi və substrat molekulu arasında yaranan rabitələrin təbiəti haqqında məlumatı EPR (elektron-paramaqnit rezonansı), NMR (nüvə maqnit rezonansı), UB- və İQ-spektroskopiya üsulları vasitəsilə əldə etmək olar.



Şəkil 5.5. Ferment və substrat arasında qeyri-kovalent rabitələrin yaranması sxemi.

Fermentlər də, digər katalizatorlar kimi, kimyəvi reaksiyaların gedişini termodinamik nöqtəyi nəzərindən aktivləşmə enerjisinin aşağı salmaqla təmin edirlər. Aktivləşmə enerjisi müəyyən

temperatur şəraitində bir mol maddənin bütün molekullarının fəallaşması üçün tələb olunan enerjidir. Digər sözlə, aktivləşmə enerjisi reaksiyanın işə salınması üçün lazım olan enerjidir. Ferment aktivləşmiş maddələrin sayını artırır və onlar daha aşağı energetik səviyyədə reaksiyaya girmək qabiliyyətini qazanırlar. Bununla belə ferment reaksiyanın aktivləşmə enerjisini aşağı salır (şək.5.6). Şəkildən görünür ki, fermentativ reaksiya daha aşağı aktivləşmə enerjisi ilə xarakterizə olunur. Qeyd etmək lazımdır ki, fermentlər reaksiyanın sürətinə təsir etməklə, düz və əks istiqamətlərdə gedən reaksiyalar arasındakı tarazlığı dəyişmirlər və reaksiyanın sərbəst enerjisinin qiymətinə təsir etmirlər. Onlar sadəcə kimyəvi reaksiyanın tarazlıq vəziyyətinə çatmasını sürətləndirirlər.



Şəkil 5.6. Fermentativ və qeyri-fermentativ kimyəvi reaksiyaların energetik mexanizmi.

S – substrat; P – məhsul; ΔE_{qf} – qeyri-fermentativ reaksiyanın aktivləşmə enerjisi; ΔE_f – fermentativ reaksiyanın aktivləşmə enerjisi; ΔG – sərbəst enerjinin standart dəyişməsi.

Misal qismində $AB \rightarrow A + B$ reaksiyasına diqqət yetirək. Əgər mühidə E fermenti varsa, bu halda aşağıdakı reaksiyalar

baş verəcək: $AB + E \rightarrow ABE$; $ABE \rightarrow BE + A$ və $BE \rightarrow E + B$. Beləliklə, biz eyni nəticəni əldə etmiş olduq, yəni fermentlə kataliz olunan reaksiya nəticəsində də A və B maddələri əmələ gəldi, lakin bu zaman reaksiyada iştirak edən ferment də dəyişilməz olaraq reaksiya nəticəsində sərbəstləşir. Bu aralıq reaksiyalar, ilkin cəm reaksiya ilə müqayisədə, daha aşağı aktivləşmə enerjisi ilə gedir. Deməli, ferment kimyəvi reaksiyanı aktivləşmə enerjisinin aşağı səviyyəsi ilə xarakterizə olunan dolaylı yolla aparır.

Fermentlərin təsiri altında reaksiyanın aktivləşmə enerjisinin azalmasını əks etdirən misallara diqqət yetirək. Məsələn, saxarozanın qlükoza və fruktozaya hidrolizi reaksiyası: katalizatorsuz bu reaksiyanın aktivləşmə enerjisi 134 kC/mol-a bərabərdir; katalizator qismində hidrogen ionları çıxış etdikdə reaksiyanın aktivləşmə enerjisi 104,7 kC/mol, β -fruktofuranozidaza (saxaraza) fermentinin iştirakı ilə isə 39,4 kC/mol təşkil edir. Deməli, β -fruktofuranozidaza fermentinin təsiri altında reaksiyanın aktivləşmə enerjisi, fermentsiz reaksiya ilə müqayisədə, demək olar ki, dörd dəfə azalır.

Hidrogen peroksidin su və oksigenə parçalanması reaksiyasına: $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$ diqqət yetirək. Katalizatorsuz bu reaksiyanın aktivləşmə enerjisi 75,3 kC/mol təşkil edir, katalizator qismində platin iştirak etdikdə - 49,0 kC/mol, katalaza fermentinin təsiri altında isə 5,4 – 7,1 kC/mol-a bərabər olur. Göründüyü kimi, katalizator reaksiyanın aktivləşmə enerjisini azaldır, həm də qeyri-üzvi katalizatorla müqayisədə ferment bu göstəricini əhəmiyyətli dərəcədə azaldır, bu isə fermentin yüksək effektivliyini bir də nümayiş etdirir.

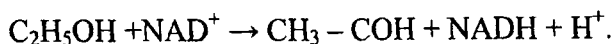
Fermentativ reaksiyaların molekulyar mexanizmlərinə gəldikdə isə, onlar fermentin fəal mərkəzinin funksional qruplarının substartın məhsula çevrilməsində rolu ilə müəyyən olunur. Fermentativ katalizin iki əsas mexanizmi mövcuddur: turş-əsassı kataliz və kovalent kataliz.

Turş-əsassı katalizin konsepsiyasına əsasən fermentativ fəallıq kimyəvi reaksiyada turş (proton donoru) və ya əsassı

(proton akseptoru) qrupların iştirakı ilə izah edilir. Turş-əsasi kataliz geniş yayılmış bir hadisədir. Fəal mərkəzə daxil olan amin turşu qalıqları həm turşuların, həm də əsasların xassələrini daşıyan funksional qruplara malikdirlər.

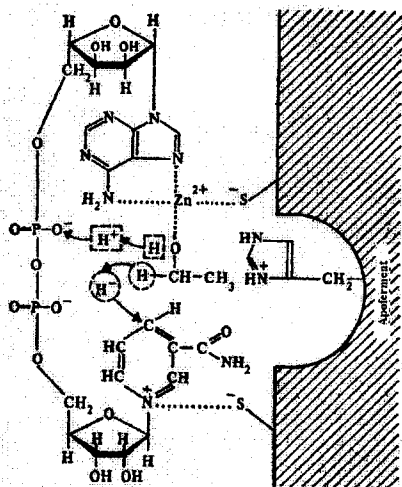
Turş-əsasi katalizdə iştirak edən amin turşularına, ilk öncə Sis, Tir, Ser, Liz, Asp və His aiddirlər. Bu amin turşuların radikalları protonlaşmış formada turşular (proton donorları), deprotonlaşmış formada isə əsaslar (proton akseptorları) qismində çıxış edirlər. Fəal mərkəzin funksional qruplarının bu xassəsi sayəsində bioloji katalizatorların unikallığı təmin olunur. Bioloji katalizatorlardan fərqli olaraq, qeyri-bioloji katalizatorlar ya turş, ya da əsasi xassələrə malik olurlar.

Kofaktor qismində Zn^{2+} ionları, koferment qismində isə NAD^+ molekulu istifadə olunan turş-əsasi katalizə misal olaraq, qaraciyərdə spirtin oksidləşməsini kataliz edən alkoqoldehidrogenaza fermentini göstərmək olar:

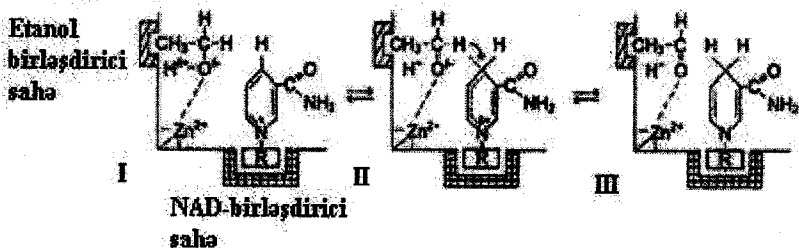


NAD^+ zülal molekulunun səthin ilə piridin kofermentin tsiklinin müsbət yüklənmiş azot atomu və apofermentin mənfi yüklənmiş kükürd (HS -qrupunun tərkibinə daxil olan), eləcə də kofermentin purin tsiklinin azot atomu və apofermentin kükürd atomu arasında Zn^{2+} vasitəsilə yaranan rabitələr hesabına birləşmiş olur (şək. 5.7). Spirt molekulu fermentin fəal mərkəzi ilə O və Zn^{2+} arasında yaranan koordinasion rabitə hesabına birləşir.

Etil spirti molekulu fəal mərkəzin və etil spirtinin metil qrupu arasında hidrofob əlaqəni təmin edən mərkəzə malikdir. Müsbət yüklənmiş sink atomu etanolun spirt qrupundan protonun ayrılmasını təmin edir və nəticədə mənfi yüklənmiş oksigen atomu əmələ gəlir. Mənfi yük oksigen atomu və qonşuluqda yerləşən hidrogen atomu arasında yenidən paylaşmış olur ki, sonuncu hidrid ionu şəklində NAD^+ kofermentin nikotinamidinin dördüncü karbon atomuna daşınır. Nəticədə reduksiya olunmuş $NADH$ və sirkə aldehidi əmələ gəlir (şək. 5.8).



Şəkil. 5.7. Alkoqoldehidrogenaza fermentinin fəal mərkəzinin sxematik quruluşu.

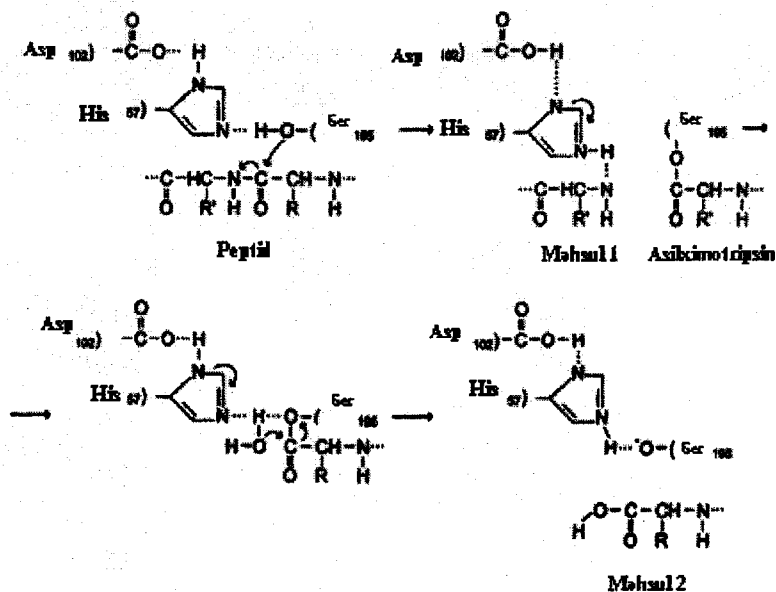


Şəkil 5.8. Qaraciyərin alkoqoldehidrogenazası misalında turş-əyasi katalizin mexanizmi.

Kovalent kataliz zamanı fermentin fəal mərkəzinin nukleofil (mənfi yüklənmiş) və ya elektrofil (müsbət yüklənmiş) qrupların substrat molekulları tərəfindən hücumə məruz qalırlar. Burada substrat və koferment və ya fermentin fəal mərkəzinə daxil olan amin turşusunun (bir qayda olaraq, tək amin turşusunun) funksional qrupu arasında kovalent rabitə formalaşır.

Tripsin, ximotripsin və trombin kimi serin proteazaların təsir mexanizmi məhz bu cürdür. Bu zaman fermentin tərkibinə daxil olan serin amin turşusu və substrat arasında kovalent rabitə yaranır. “Serin proteazalar” termini onunla əlaqədardır ki, serinin

amin turşu qalığı bütün bu fermentlərin fəal mərkəzlərinə daxildir və katalizdə birbaşa iştirak edir. Kovalent katalizin mexanizmini zülalların onikibarmaq bağırsağda həzmini təmin edən ximotripsinin misalında müzakirə edək. Ximotripsinin substratları qismində aromatik və tsiklik hidrofob radikallara malik (Fen, Tir, Tri) amin turşularını daşıyan peptidlər çıxış edir, bu isə ferment-substrat kompleksinin formalaşmasında hidrofob əlaqələrin iştirak etdiyini göstərir. Ximotripsinin kovalent katalizinin mexanizmi şəkil 5.9-da təsvir olunmuşdur.



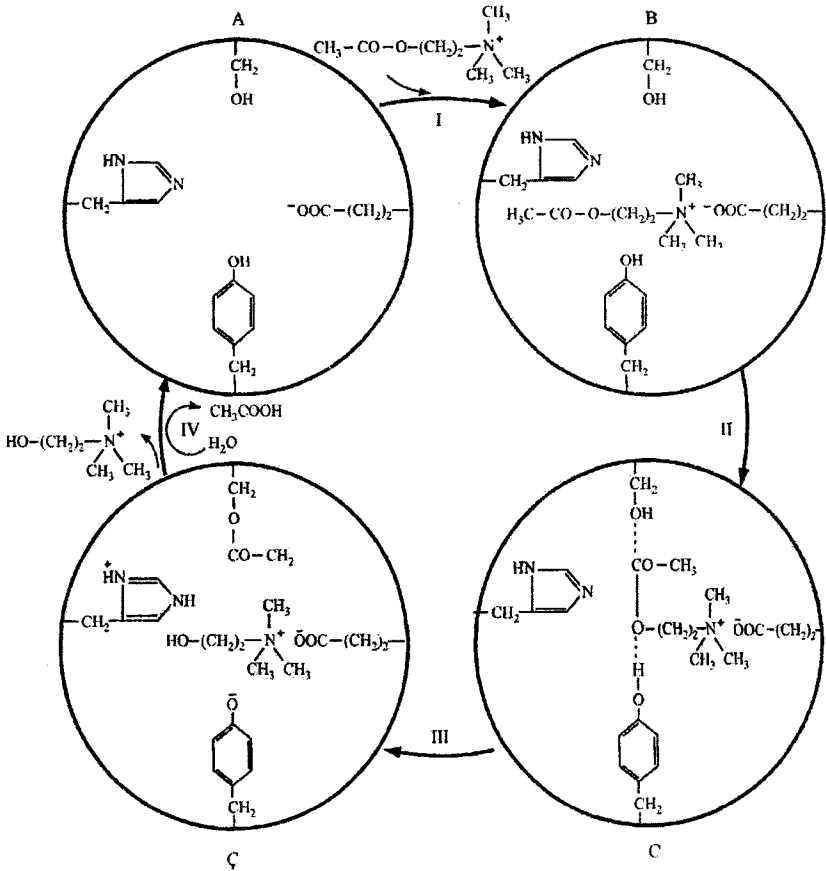
Şəkil 5.9. Ximotripsinin fəal mərkəzində kovalent katalizinin mexanizmi.

Asp₁₀₂, His₅₇ və Ser₁₉₅ katalizdə birbaşa iştirak edirlər. Substratın peptid əlaqəsinin nukleofil hücumu nəticəsində bu əlaqə parçalanır və kovalent modifikasiya olunmuş serin, yəni asilximotripsin əmələ gəlir. Digər peptid fraqmenti və ximotripsinin aktiv mərkəzinin His₅₇ arasındakı hidrogen rabitənin qırılması sayəsində, bu peptid fraqmenti sərbəstləşir. Zülalların peptid

rabitəsinin parçalanmasının sonuncu mərhələsində su molekulu-
nun iştirakı ilə ximotripsinin deasilləşməsi baş verir ki, nəticədə
hidroliz olunan zülalın ikinci fraqmenti də ayrılır və fermentin
ilkin quruluşu bərpa olunur.

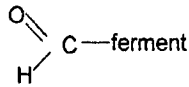
Fermentlərin təsir mexanizmini aydın göstərən misallardan biri də xolinesterazanın katalizi ilə baş verən asetilxolinin hidrolizidir (şək. 5.10). Asetilxolinesteraza hidrolazalar sinfinə aid olan və həm asetilxolinin, həm də xolinin digər efiirlərinin hidrolizini kataliz edən fermentdir. Fermentin fəal mərkəzini ən azı 4 amin turşu radikalı formalaşdırır ki, bunlara Qlu, Ser, His və Tir aiddirlər. Əvvəlcə ferment (asetilxolinesteraza) və substrat (asetilxolin) arasında ferment-substrat kompleksi yaranır. Bu kompleks qlutamin turşusu radikalının mənfə yüklənmiş COOH-qrupu və asetilxolinin müsbət yüklənmiş N atomu arasında elektrostatik qarşılıqlı əlaqə hesabına yaranır. Ferment-substrat kompleksi əmələ gəldikdən sonra asetilxolinesterazanın fəal mərkəzinin digər amin turşu radikalı da prosesə cəlb olunur. Bu zaman xolinin asetil radikalının polyarlaşmış CO-qrupu və serin qalığının OH-qrupu arasında rabitə qapanır. Növbəti mərhələdə asetilxolin molekulundakı mürəkkəb efir rabitəsinin tərkibinə daxil olan oksigen və tirozin radikalının OH-qrupu arasında hidrogen rabitəsi əmələ gəlir.

Nəticədə asetilxolin molekulundakı mürəkkəb efir rabitəsinin tərkibinə daxil olan oksigen atomu ilə CO-qrupu arasında əlaqə zəifləyir, histidin radikalının təsiri altında serin radikalı ilə asetil qrupu arasında rabitə möhkəmlənir və bu da asetilxolin molekulunda mürəkkəb efir rabitəsinin qırılması ilə müşayiət olunur. Xolin fermentin fəal mərkəzindən ayrılır, onun yerini isə su molekulu tutur. O, asetil qrupun karbonil oksigeni və tirozinin oksigeni ilə rabitə əmələ gətirir, protonların yenidən paylanması baş verir və nəticədə reaksiyanın ikinci məhsulu olan sirkə turşusu ayrılır, asetilxolinesterazanın fəal mərkəzi isə bərpa olunur.

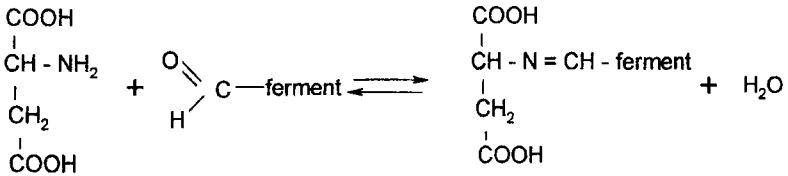


Şəkil 5.10. Asetilxolinin xolinesterazanın (XE) fəal mərkəzi ilə qarşılıqlı əlaqəsi (A – fermentin fəal mərkəzi; B – ES - kompleks; C – substratın aktivləşməsi; Ç – reaksiya məhsullarının fermentlə kompleksli).

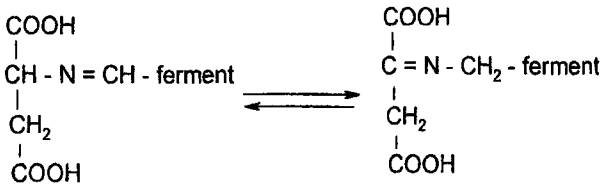
Kifayət qədər yaxşı öyrənmiş reaksiyalardan biri də yenidən aminləşmə reaksiyalarıdır. Bu reaksiya 1937-ci ildə A.E.Braunşteyn və M.H.Krisman tərəfindən aşkar olunmuşdur. Bildiyimiz kimi, yenidən aminləşmə reaksiyaları və prostetik qrup qismində piridoksalfosfat molekuluna malik olan və amino-transferazalar adlanan mürəkkəb fermentlərlə kataliz olunurlar. Fermentativ reaksiyanın mexanizmini izah edərkən, rahatlıq məqsədilə piridoksalfementi aşağıdakı kimi işarə edəcəyik:



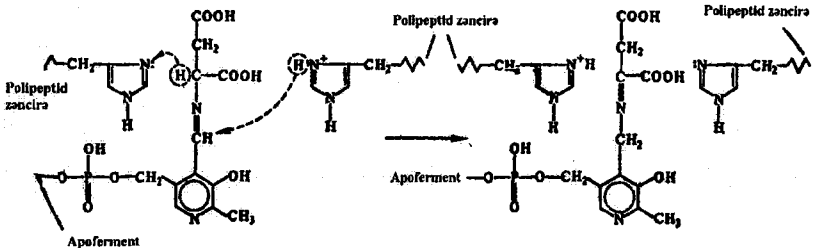
Fermentativ katalizin ilk mərhələsində fermentin prostetik qrupu yenidən aminləşmə reaksiyasına daxil olan amin turşu ilə qarşılıqlı əlaqəyə girir. Reaksiya, amin turşunun amin qrupu və piridiksalfosfatın aldehid qrupu üzrə gedir:



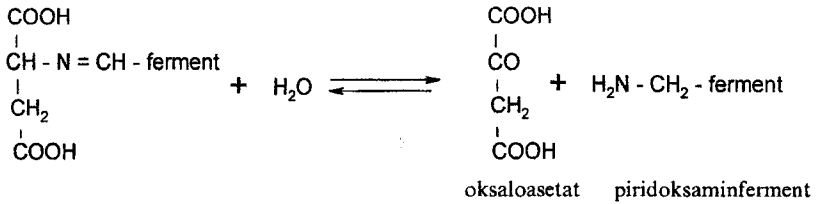
Katalizin ikinci mərhələsində substratın çevrilməsi baş verir. Bu zaman ES-kompleksində tautomer dəyişikliklər baş verir:



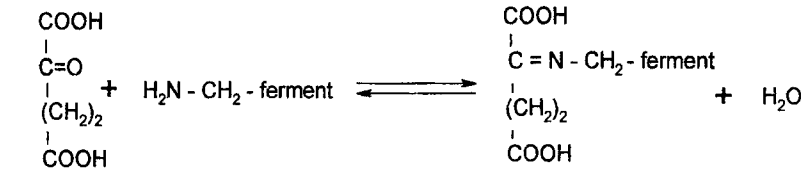
Bu mərhələdə baş verən tautomer yenidən qruplaşma fermentin katalitik mərkəzinə daxil olan histidin qalığının imidazol-tərkibli radikalının iştirakı ilə gedir:



Sonrakı hidroliz nəticəsində ketoturşu və piridoksamin şəklində olan ferment molekulu əmələ gəlir:

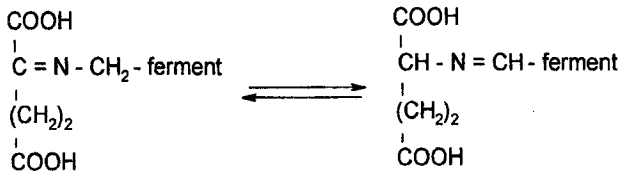


Növbəti mərhələdə piridoksaminferment və reaksiyaya daxil olan ketoturşu arasında ferment-substrat kompleksi yaranır:

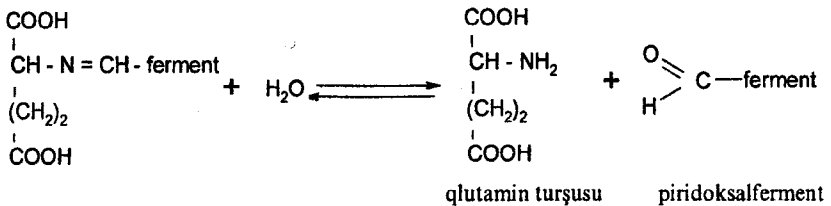


α -ketoqlutar turşusu

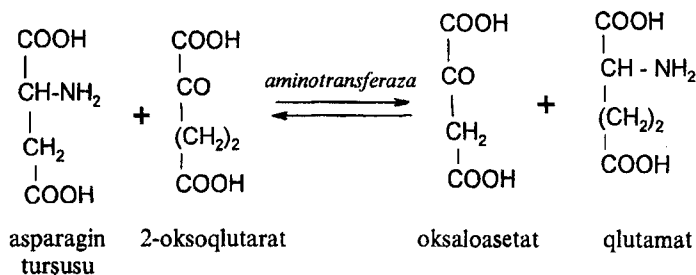
Bu ferment-substrat kompleksində də substrat tautomer yenidən qruplaşmağa məruz qalır:



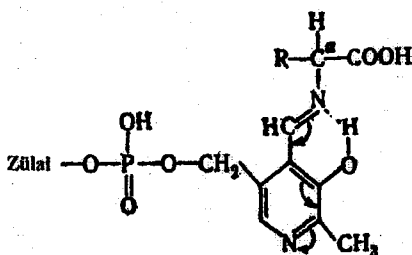
Yaranmış birləşmə hidrolizə məruz qalır və yeni amin turşu molekulu əmələ gəlir:



Beləliklə, mütləq olaraq ferment-substrat komplekslərinin əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan reaksiyalar seriyası nəticəsində asparagin turşusu oksaloasetata, α -ketoqlutarat isə qlutamin turşusuna çevrilir. Bu reaksiya bir tənliklə də ifadə oluna bilər:

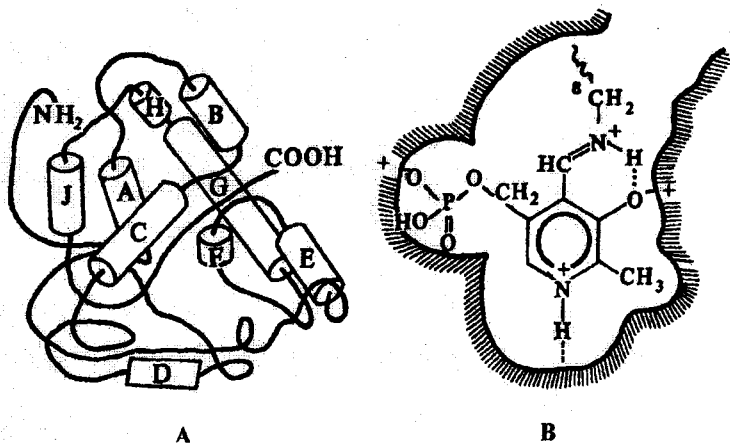


Ümumiyyətlə, piridoksal kofermentlərin iştirakı ilə gedən kataliz ferment-substrat kompleksində elektron sıxlığının dəyişməsi sayəsində baş verir:



Nəticədə amin turşu qalığının α -karbon atomundakı əvəzedicilərlə (azot, COOH-grupu və s.) olan rabitələr zəifləyir və müvafiq rabitələrin parçalanması asanlaşır. Aspartatamino-transferaza fermentinin molekulyar çəkisi 93 000 Da-na bərabərdir və, o, iki identik subvahiddən ibarətdir ki, subvahidlərin hər biri piridoksal fosfat molekulu ilə birləşmiş haldədir. Aspartatamino-transferaza fermentinin məhlulunu durulaşdırdıqda onun dimerləri katalitik fəal monomerlərə parçalanmış olur. A.E.Braunşteyn, Y.A.Ovçinnikov və B.K.Vaynşteynin əməkdaşları ilə apardıqları

tədqiqatlar sayəsində bu fermentin birincili və üçüncülü quruluşları, eləcə də onun fəal mərkəzinin quruluşu və fəaliyyəti hərtərəfli öyrənilmişdir (şək. 5.11).



Şəkil 5.11. Aspartataminotransferaza fermentinin üçüncülü quruluşunun mümkün olan variantı (A) və onun fəal mərkəzinin quruluşu (B).

Belə ki, donuzun ürəyindən ayrılmış aspartataminotransferaza fermentinin sitozol forması 412 amin turşu qalıqından ibarət olan polipeptid zəncirlə təmsil olunub. Onun əksər hissəsi α -spiral konformasiyasındadır, qlobulanın ayrıca sahəsində isə kofermentbirləşdirici domen yerləşir ki, burada fermentin fəal mərkəzi lokallaşır (şək. 5.11). Piridoksalfosfat apofermentlə zülalın lizin amin turşusunun ϵ -amin qrupu vasitəsilə birləşir. Məhz bu aldimin rabitə ilə amin turşunun amin qrupu birləşir və lizinin ϵ -amin qrupunu buradan sıxışdırıb çıxardır.

Aspartataminotransferaza iki subvahiddən təşkil olunduğu və piridoksalfosfatın iki qalığını daşdığını nəzərə alsaq aydın olar ki, yenidən aminləşmə reaksiyasında subvahidlər birgə fəaliyyət göstərirlər.

Əgər ferment bir deyil, bir neçə katalitik fəallığa malikdirsə, bu halda bu fəallıqların hər birində funksional qrupların müxtəlif kombinasiyaları iştirak edir. Fermentlərin təsir mexanizminin və fəal mərkəzlərin quruluşunun, eləcə də onların xassələrinin öyrənilməsi məqsədilə spesifik inhibitorların sintez edilməsi böyük əhəmiyyət kəsb edir. İnhibitorlar fəal mərkəzə qarşı yüksək oxşarlıqla xarakterizə olunmalıdırlar və spesifik olaraq bu fəal mərkəzin müvafiq sahələrinə birləşməlidirlər.

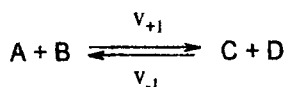
FƏSİL VI. FERMENTATİV REAKSİYALARIN KİNETİKASI

Məlumdur ki, kimyəvi kinetika kimyəvi reaksiyaların sürəti haqqında nəzəriyyədir. Fermentativ kinetika anlayışı altında fermentlə kataliz olunan reaksiyanın sürətinin reaksiyaya daxil olan maddələrin (substrat, ferment) kimyəvi təbiətindən və onların arasında qarşılıqlı əlaqənin baş verdiyi şəraitdən (qatılığı, temperatur, mühitin pH-ı, aktivatorların və ya inhibitorların mövcudluğu və s.) asılılığı başa düşülür.

Fermentativ reaksiyaların sürəti bir çox amillərdən asılıdır. Fermentativ reaksiyanın ilkin sürətini müəyyən edən əsas amillər sırasına aşağıdakılar aiddir:

1. reaksiyaya daxil olan maddələrin kimyəvi təbiəti;
2. fermentin qatılığı;
3. substratın qatılığı;
4. mühitin temperaturu;
5. mühitin pH-ı;
6. kofermentlərin qatılığı (mürəkkəb fermentlər üçün);
7. mühidə aktivatorlar və ya inhibitorların mövcudluğu və s.

Məlumdur ki, reaksiyaya daxil olan maddələrin qatılığı artdıqca kimyəvi reaksiyanın sürəti də artır. Fermentativ reaksiyalar da bu qanuna uyğunluğa tabedir. Məsələn,



reaksiyasında V_{+1} və V_{-1} – müvafiq olaraq, düzünə və əksinə reaksiyaların sürətidir. Bu halda biz aşağıdakı tənlikləri yazıb bilərik:

$$V_{+1} = \kappa_{+1}[A] \cdot [B], \quad V_{-1} = \kappa_{-1}[C] \cdot [D].$$

Beləliklə, V_{+1} A və B maddələrinin qatılığına, V_{-1} isə C və D maddələrinin qatılığına düz mütənəsbidir; κ_{+1} və κ_{-1} – reaksiyaya daxil olan maddələrin kimyəvi təbiətini xarakterizə edən

sabitlərdir. Kimyəvi tarazlıq vəziyyətində $V_{+1}=V_{-1}$ bərabər ola-
caq, bu isə:

$$\kappa_{+1}[A] \cdot [B] = \kappa_{-1}[C] \cdot [D]$$

deməkdir. Bu bərabərlik bu cür yazıla bilər:

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]}$$

$\frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]}$ nisbəti κ_{eq} , yəni həmin reaksiyanın tarazlıq
sabitinə bərabərdir (lat. *equilibrium* tarazlıq deməkdir). Digər
sözlə, $\kappa_{+1}/\kappa_{-1} = \kappa_{eq}$. Deməli, κ_{+1} və κ_{-1} nisbəti tarazlıq sabiti
adlanır. Tarazlıq vəziyyətində olan sistem aşağıda qeyd olunan
əlamətlərlə xarakterizə olunur:

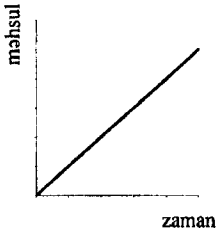
1. Sistemin tarazlıq sabiti düzünə və əksinə gedən reaksiya
sabitlərinin nisbətində bərabərdir.
2. Tarazlıq vəziyyətində düzünə və əksinə gedən reaksiya-
ların sürətləri (sabitləri deyil) bərabər olur.
3. Tarazlıq dinamik vəziyyətdir. Reaksiyaya daxil olan və
reaksiya nəticəsində əmələ gələn maddələrin cəm qatılıq-
larında dəyişikliklər baş verməsə də, onlar daima bir-
birilərinə çevrilirlər.

Fermentlərlə kataliz olunan kimyəvi proseslər adətən üç
növlü reaksiyalarla təmsil olunurlar: sıfır dərəcəli reaksiyalar, birin-
ci dərəcəli reaksiyalar, ikinci dərəcəli reaksiyalar.

Sıfır dərəcəli reaksiyalar zamanı reaksiya sabit sürətlə
gedir. Əgər reaksiya nəticəsində əmələ gələn məhsulun qatılığını
X ilə, zamanı isə t ilə işarə etsək, bu halda sıfır dərəcəli reaksiya-
nın sürətinin sabiti üçün belə bir tənlik yazıla bilər:

$$k_0 = dX/dt$$

Sıfır dərəcəli reaksiyaları xarakterizə edən qrafik şəkil
6.1-də göstərilib.



Şəkil 6.1. Sıfır dərəcəli reaksiyalarda məhsulun qatılığının zamandan asılılığını əks etdirən qrafik.

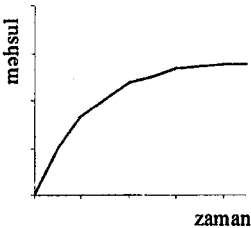
Birinci dərəcəli fermentativ reaksiyaların sürəti hər bir zaman anında mühitdə mövcud olan substratın qatılığına mütənasibdir:

$$dX/dt = \kappa \cdot (A-X),$$

burada: A – substratın ilkin qatılığı;

X – çevrilməyə məruz qalmış substratın qatılığı;

$(A - X)$ – reaksiya gedişi boyunca hər bir zaman anında substratın qatılığıdır. Birinci dərəcəli reaksiyanın gedişinin qrafiki təsviri şəkl. 6.2-də göstərilib.



Şəkil 6.2. Birinci dərəcəli reaksiyalarda məhsulun qatılığının zamandan asılılığını əks etdirən qrafik.

Əyridən görüldüyü kimi, reaksiyanın əvvəlində, çevrilmə o qədər də dərin olmadığı bir anda, reaksiya sıfır dərəcəli reaksiyaya uyğun olaraq gedir, yəni xətti xarakter daşıyır, sonradan isə reaksiyanın sürəti getdikcə azalmağa başlayır və, nəhayət, kinetik əyri abssis oxuna paralel bir xəttə yaxınlaşır.

Onu da qeyd etmək lazımdır ki, bu və ya digər fermentin kinetik xarakteristikaları reaksiyanın ilkin anında təyin olunmalıdır, çünki məhz bu anda məhsulun əmələ gəlməsi və inkubasiya

dövrü arasında düz mütənasiblik müşahidə olunur, yəni reaksiya sıfır dərəcəli reaksiya kimi gedir.

İkinci dərəcəli fermentativ reaksiyaların sürəti reaksiyaya daxil olan maddələrin qatılığının hasilinə mütənasibdir:

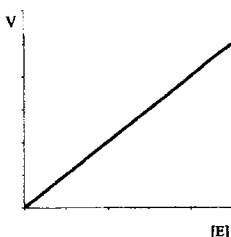
$$V = \kappa \cdot [A] \cdot [B].$$

İkinci dərəcəli reaksiyalara müxtəlif qrupların daşınması ilə müşayiət olunan, eləcə də oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyaları aid olunur. Fermentativ hidroliz reaksiyaları da ikinci dərəcəli reaksiyalara aid olunurlar, lakin onlar faktiki olaraq birinci dərəcəli reaksiyalara uyğun olaraq gedirlər, çünki hüceyrədə suyun qatılığı o qədər yüksək olur ki, onu reaksiya zamanı praktiki olaraq dəyişməyən sabit bir qiymət kimi qəbul etmək olar. Bu cür reaksiyalara həmçinin hidratlaşma reaksiyalarını aid etmək olar.

Bütün fermentativ reaksiyalar öz gedişatının ilkin mərhələsində (substratın artıq miqdarı və reaksiya nəticəsində əmələ gələn məhsullarının az miqdarı şəraitində) sıfır dərəcəli reaksiyalardır, və yalnız sonradan onlar birinci və ya ikinci dərəcəli reaksiyaların xarakterini qazanmış olurlar. Məhz bu səbəbdən, bu və ya digər ferment preparatının xüsusi fəallığını təyin etmək məqsədilə reaksiyanın ilkin mərhələsində (ilk saniyələr və ya dəqiqələr ərzində) əldə olunmuş rəqəmlərdən istifadə olunur.

6.1. Ferment və substratın qatılığının fermentativ reaksiyanın sürətinə təsiri

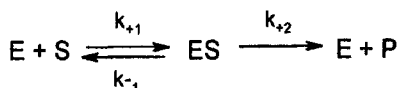
Müəyyən şəraitdə (substratın artıq qatılığı şəraitində) fermentativ reaksiyanın sürəti birbaşa fermentin qatılığından asılı olur və bu asılılıq xətti xarakter daşıyır. Fermentativ reaksiyanın başlanğıcında reaksiya məhsulu hələ praktiki olaraq əmələ gəlmədiyi səbəbindən, əks reaksiya baş vermir. Bundan başqa, reaksiyanın başlanğıc mərhələsində substratın qatılığı onun ilkin miqdarına bərabərdir. Deməli fermentativ reaksiyanın başlanğıc sürəti (V_0) fermentin qatılığına düz mütənasib olacaq (şəx. 6.3).



Şəkil 6.3. Reaksiya sürətinin fermentin qatılığından asılılığı.

Qeyd etmək lazımdır ki, bəzi hallarda xətti asılılıqdan kənara çıxmalar müşahidə olunur. Bu, inhibitorların və ya aktivatorların mövcud olub-olmamasından, substrat molekullarının ferment molekuluna doğru zəif sürətlə diffuziyasından asılı ola bilər və digər səbəblərlə əlaqədar ola bilər.

Fermentativ reaksiyanın sürətini müəyyən edən vacib amillərdən biri reaksiyaya daxil olan maddələrin, yəni substratların qatılığıdır. Hələ 1902-ci ildə V.Anri fərz etmişdir ki, fermentativ reaksiyanın mexanizmi fermentin substrat ilə kompleks əmələ gəlməsi ilə izah oluna bilər. Bu cür aralıq ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsi haqqında fərziyyə 1913-cü ildə L.Mixaelis və onun əməkdaşı M.Menten tərəfindən inkişaf etdirilmişdir. Onlar aşağıdakı tənliyə əsaslanırdılar:



Tənlikdən göründüyü kimi, ferment E substrat S ilə qarşılıqlı əlaqəyə girərək aralıq ES ferment-substrat kompleksini əmələ gətirir. Düzünə reaksiyanın sürətinin sabiti k_{+1} , əksinə reaksiyanın sürətinin sabiti isə k_{-1} -dir. Ferment-substrat kompleksi sonradan parçalanır və nəticədə ferment bərpa olunur və reaksiya məhsulu P əmələ gəlir. Bu sonuncu reaksiyanın sürətinin sabiti k_{+2} . Ferment-substrat kompleksinin sərbəst ferment və substrata dissosiasiya etməyini nəzərə alsaq, aşağıdakı tənliyi yaza bilərik:

$$k_s = k_{-1}/k_{+1},$$

yəni ES kompleksinin dissosiasiya sabiti əksinə və düzünə reaksiyaların sürətlərinin sabitlərinin nisbətinə bərabərdir.

Əgər ES kompleksinin dissosiasiya sabiti yüksəkdirsə, deməli k_{-1} yüksək, k_{+1} isə kiçik qiymətdir. Bu isə o deməkdir ki, kompleks reaksiyaya daxil olan maddələrə asanlıqla dissosiasiya edir, və reaksiya düz istiqamətdə olduqca zəif sürətlə gedir. Və əksinə, k_{+1} yüksək, k_{-1} isə kiçik bir qiymət olduğu halda k_s -in qiyməti də kiçik olacaq, və fermentativ reaksiya sürətlə gedəcək.

Kütlələrin təsiri qanununa əsasən biz aşağıdakı tənliyi yazı bilərik:

$$[S] \cdot ([E_0] - [ES]) = k_s \cdot [ES],$$

burada $[E_0]$ – fermentativ reaksiyanın əvvəlində fermentin qatılığıdır; $[ES]$ – ferment-substrat kompleksinin qatılığıdır; $([E_0] - [ES])$ ifadəsi reaksiyanın hər bir anında sərbəst fermentin qatılığını göstərir.

Tənlik bu cür yazıla bilər:

$$[ES] = [E_0] \frac{[S]}{k_s + [S]}.$$

ES kompleksinin qatılığı fermentin ümumi qatılığına bərabər, yəni $[ES]=[E_0]$ olduğu halda fermentativ reaksiyanın sürəti maksimal qiymətə çatacaq. Digər sözlə, ferment molekullarının hamısı substratla birləşdiyi və onunla doymuş olduğu bir halda reaksiyanın sürəti maksimal qiymətə çatacaq.

Beləliklə, aşağıdakı asılılığı yazmaq olar:

$$V_0/V_{\max} = [ES]/[E_0]$$

Əvvəlki tənlikdən alırıq:

$$\frac{[ES]}{[E_0]} = \frac{[S]}{k_s + [S]}$$

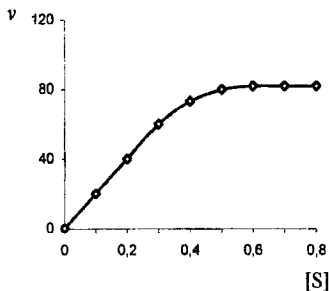
Beləliklə,

$$\frac{V_0}{V_{\max}} = \frac{[S]}{k_s + [S]},$$

və ya

$$V_0 = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{k_s + [S]}.$$

Bu, Mixaelis-Menten tənliyidir. Müəlliflər tərəfindən təsvir olunmuş substratın qatılığı və reaksiyanın sürəti arasındakı asılılıq şəkil 6.4-də göstərilib.



Şəkil 6.4. Mixaelis-Menten fermentativ kinetikasi.

Beləliklə, fermentativ reaksiyanın sürəti fermentin qatılığı, substratın qatılığı və hər ikisinin bir-birinə uyğunluğundan asılıdır. Fermentin sabit qatılığı şəraitində reaksiya sürətinin substratın qatılığında asılılığı hiperbola əyrisi şəklində göstərilə bilər. Ferment molekulları substratla doyduqda reaksiyanın sürəti maksimal qiymətə çatır, və sonra əyri abssis oxuna paralel gedir.

Mixaelis-Menten bu tənlik üzərində işləyərkən iki şərtə, yəni tez yaranan tarazlıq vəziyyəti və substratın artıq miqdarda mövcud olması şərtlərinə əsaslanırdılar. Sonradan göstərilmişdir ki, bu tənlik yalnız aşağıda qeyd olunan şərtlər yerinə yetirildikdə doğrudur:

1. Reaksiya zamanı yaranan ferment-substrat kompleksi kinetik cəhətdən davamlıdır.
2. Tənlikdə mövcud olan k_s sabiti ferment-substrat kompleksinin dissosiasiya sabitidir; bu isə yalnız $k_2 \ll k_{+1}$, k_{-1} halı üçün doğrudur.

3. Reaksiya zamanı substartın qatılığı dəyişmir, yəni $[S]=[S_0]$.
4. Reaksiya məhsulu fermentdən tez ayrılır, yəni reaksiya ikimərhələlidir.
5. Reaksiyanın ikinci mərhələsi geri-dönməzdir. Bu şərtin yerinə yetirilməsinin mümkünsüzlüyünü nəzərə alaraq, biz reaksiyanın yalnız ilkin sürəti haqda danışırıq.
6. Fermentin hər bir fəal mərkəzi ilə substratın yalnız bir molekulu birləşir.

Mixaelis-Menten tənliyi Laynuiver və Berk tərəfindən əks qiymətlər prinsipinə əsaslanaraq dəyişikliyə məruz qalmışdır. Bu prinsipə görə, əgər hər hansı bir qiymətlər arasında bərabərlik mövcuddursa, bu halda onların əks qiymətləri də bərabər olacaq, yəni Mixaelis-Menten tənliyi bu cür yazıla bilər:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{k_s + [S]}{V_{\max} \cdot [S]}$$

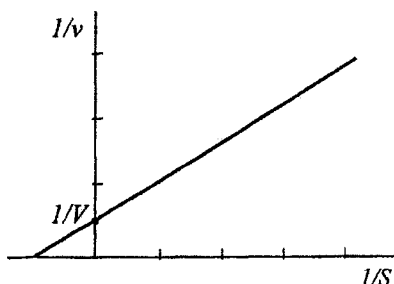
Buradan,

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

Bu tənliyi sadələşdirməklə, alırıq:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{k_s}{V_{\max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Bu tənlik Laynuiver-Berk tənliyi adlanır. Laynuiver-Berk tənliyinin qrafiki təsviri şəkil 6.5-də göstərilib.



Şəkil 6.5. Laynuiver-Berk qrafiki.

Mixaelis-Menten tənliyinin digər modifikasiyaları da mövcuddur. Belə ki, artıq yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi Mixaelis-Menten tənliyi bir qədər məhdud xarakterlidir, çünki o, reaksiyanın yalnız birinci mərhələsini nəzərə alır, reaksiyanın ikinci mərhələsi isə tənlikdə öz əksini tapmır. D.Holdeyn və D.Briqqs tənliyin daha təkmil formasını təklif etdilər:

$$V_0 = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{k_m + [S]},$$

burada k_m – Mixaelis sabitidir. Mixaelis-Mentenin klassik tənliyində k_s , yəni ferment-substrat kompleksinin dissosiasiya sabiti durur. K_s yalnız k_{+1} və k_{-1} sabitlərin qiymətləri vasitəsilə hesablanır, yəni reaksiyanın birinci mərhələsini nəzərə alır. K_m isə aşağıdakı kimi ifadə oluna bilər:

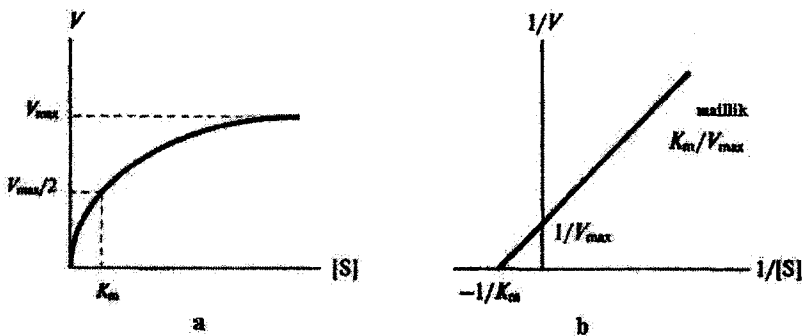
$$k_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}.$$

Göründüyü kimi, tənliyin sürətində ES kompleksinin həm sərbəst E və S, həm də reaksiya məhsulları istiqamətində parçalanması reaksiyalarının sabitləri, məxrəcində isə ES kompleksinin əmələ gəlməsi reaksiyasının sabiti durur. Deməli, k_m istənilən halda k_s -in qiymətindən yüksək olacaq. Mixaelis sabiti mol/litr-lə ifadə olunur. $V_0 = V_{\max}$ olduğu halda $[S] = k_m$ olacaq. Beləliklə, qiymətçə Mixaelis sabiti fermentativ reaksiyanın sürəti maksimal sürətin (V_{\max}) yarısına bərabər olan halda substratın qatılığına bərabərdir.

Mixaelis sabiti enzimologiyada böyük əhəmiyyət kəsb edir və hər bir fermentin vacib xarakteristikalarından biridir, onun qiyməti əsasında fermentin substrata oxşarlığı haqda məlumat əldə etmək olar. Qeyd etmək lazımdır fermentin həqiqi oxşarlığı haqda məlumat sadəcə olaraq K_s qiymətinə görə də alınabilir, lakin K_s -in təcrübi yolla təyini, K_m qiymətinin təyininə nisbətən xeyli çətindir. Əgər K_m -in qiyməti yüksəkdirsə, bu halda ES kompleksi asanlıqla sərbəst E və S molekullarına dissosiasiya edir və reaksiya zəif sürətlə gedir. K_m aşağı qiymətlərə malik

olduğu halda (k_{+1} qiyməti yüksəkdir), reaksiya yüksək sürətlə gedəcək. Bir substratın iştirakı ilə gedən əksər fermentativ reaksiyalar üçün K_m $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l-ə bərabərdir. Müəyyən ferment və substrat cütünü üçün xarici mühitin müəyyən parametrləri şəraitində (pH, t və s.) K_m və V_{max} qiymətləri sabit olaraq qalırlar. Nisbi spesifikliyə malik olan fermentlər, yəni bir neçə substrata təsir etmək qabiliyyətinə malik olan fermentlər təsir etdikləri hər bir substrat üçün K_m -in müəyyən qiyməti ilə xarakterizə olunurlar.

Mixaelis sabiti həm Mixaelis-Menten, həm də Laynuiver-Berk qrafiki vasitəsilə göstərilə bilər (şək. 6.6).



Şəkil 6.6. Mixaelis sabitinə qrafiki göstərilməsi. a – Mixaelis-Menten qrafiki vasitəsilə; b – Laynuiver-Berk qrafiki vasitəsilə.

Reaksiya sürətinin substrat qatılığından hiperbolik asılılığından, yəni Mixaelis-Menten qrafiki vasitəsilə K_m -in qiymətinin dəqiq təyini mümkün deyil, çünki V_{max} dəqiqliklə təyin oluna bilməyən asimptotik qiymətdir. Mixaelis sabitinə qiyməti Laynuiver-Berk qrafiki vasitəsilə daha dəqiq tapıla bilər.

Bu halda $1/V$ -nin $1/[S]$ -dən asılılığının qrafiki mailliyi K_m/V_{max} bərabər olan xətlə təsvir olunur. Bu xətt ordinat oxu ilə kəsişdiyi nöqtədə $1/V_{max}$ -a bərabər, abssis oxu ilə kəsişdiyi nöqtədə $-1/K_m$ -ə bərabər olan kəsik əmələ gətirir. Abssis oxundakı kəsiyi ölçməklə K_m -in qiyməti təyin olunur. Qeyd

etmək lazımdır ki, Mixaelis sabiti olduqca qısa müddət ərzində təyin olunmalıdır və bu məqsədlə kifayət qədər təmizlənmiş ferment preparatından istifadə olunmalıdır, çünki preparatın tərkibində mövcud olan qarışıqlar K_m -in qiymətinə əhəmiyyətli dərəcədə təsir edə bilərlər.

Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı tənliyi üzərində işləyərkən L.Mixaelis və M.Menten fermentativ reaksiyanın sadələşdirilmiş sxeminə əsaslanırdılar. Lakin fermentativ reaksiyaların əksəriyyəti birsustratlı deyil. Bundan başqa, reaksiya zamanı bir deyil, bir neçə ferment-substrat kompleksi əmələ gələ bilər, ferment-substrat-məhsul kompleksi (ESP) əmələ gələ bilər. Əlavə komplekslərin əmələ gəlməsi Mixaelis-Menten tənliyinin ümumi formasını dəyişmir, lakin K_m və V_{max} daha çox sayda sürət sabitlərindən təşkil olunacaq. İkisustratlı reaksiyaların sürət tənliyi də Mixaelis-Menten tənliyinə oxşardır, çünki bu halda da reaksiyalar ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunurlar, sadəcə olaraq reaksiyaya daxil olan hər bir substrat K_m -in özünəməxsus qiyməti ilə xarakterizə olunur.

Mixaelis-Menten tənliyinin digər modifikasiyaları da mövcuddur. Xüsusi ədəbiyyatlarda təsvir olunan Edi-Xofsti, Eyzental, Korniş-Bouden, Miqel Merino və digər tədqiqatçıların təklif etdiyi qrafik üsullar da enzimologiyada istifadə olunur.

6.2. Fermentlərin biokatalizator xassələri: termolabillik, fermentativ fəallığın pH-dan asılılığı, spesifiklik

Bildiyimiz kimi, qeyri-üzvi katalizatorlar üçün xarakterik olan kriterilər fermentlərə də tətbiq oluna bilər. Belə ki, həm qeyri-üzvi, həm də bioloji katalizatorlar reaksiya nəticəsində sərf olunurlar və reaksiyanı sonunda dəyişilməz olaraq sərbəstləşirlər və yenə də substrat molekulları ilə qarşılıqlı əlaqəyə girə bilərlər. Lakin müstəsna hal kimi qeyd etmək lazımdır ki, bəzi fermentlər Mixaelisin nəzəriyyəsinə zidd olaraq, kimyəvi reaksi-

yanın sonunda modifikasiyaya məruz qalırlar və hətta parçalana bilirlər. Fermentlər cüzi qatılıqda təsir etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Məs, buzovun mədəsinin selikli qişasında fəaliyyət göstərən rennin fermentinin bir molekulu 10 dəqiqə ərzində 37°C şəraitində kazeinogenin təxminən 10^6 molekulunu parçalayır. İstər kimyəvi, istərsə də bioloji katalizatorlar tarazlıq sabitinin, həm də sərbəst enerjinin dəyişməsinin (ΔG) qiymətinə təsir etmirlər. Katalizatorlar sadəcə olaraq reaksiyanın sürətini artırır-lar və sistemin termodinamik tarazlığa çatmasını sürətləndirirlər.

Lakin, fermentlərin zülal təbiəti ilə əlaqədar olaraq, bu katalizatorlar üçün bir neçə fərqləndirici xüsusiyyət xarakterikdir: termolabillik, fermentin fəallığının pH-dan asılılığı, spesifiklik, fermentin fəallığının aktivatorların və inhibitorların təsiri altında dəyişməsi. Fermentləri biokatalizatorlar kimi səciyyələndirən bu xassələr eyni zamanda fermentativ reaksiyanın sürətinə təsir edən amillər sırasına daxildirlər.

Fermentlərin termolabilliyi

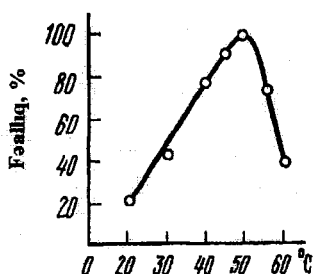
Kimyəvi reaksiyaların sürəti temperaturdan asılı olduğu kimi, fermentlərlə kataliz olunan reaksiyaların sürəti də temperatur dəyişikliklərinə qarşı həssas olur. Temperatur artdıqca kimyəvi reaksiyanın sürəti də artır. Temperatur artdıqca molekulların hərəkəti sürətlənir, bu isə reaksiyaya daxil olan maddələrin qarşılıqlı təsirinin ehtimalını artırır. Bundan başqa, temperatur reaksiyaya daxil olan maddələrin enerjisini artırır, və ya başqa sözlə desək, reaksiyanın aktivləşmə enerjisini aşağı salır, bu da, öz növbəsində reaksiyanın daha sürətlə getməsinə səbəb olur.

Lakin fermentlərlə kataliz olunan kimyəvi reaksiyaların temperaturdan asılılığının mühüm bir xüsusiyyəti var ki, o da fermentlərin kimyəvi təbiəti ilə əlaqədardır. Belə ki, fermentativ reaksiyaların sürəti temperatur artdıqca artır, lakin bu artım temperaturun müəyyən bir qiymətindəkə baş verir. Temperaturu artırmaqda davam etsək, fermentlər zülal təbiətli birləşmələr olduqları səbəbindən, denaturasiyaya məruz qalacaqlar, bu isə

fermentin effektivliyini və, deməli, fermentativ reaksiyanın sürətinin aşağı düşməsinə səbəb olacaq.

Buğda toxumlarından alınmış qlütamatdehidrogenaza fermentinin fəallığına temperaturun təsirini xarakterizə edən əyri şəkil 6.7-də göstərilmiş qrafiklə ifadə oluna bilər.

Belə ki, temperatur 40-50°C-yə qədər artdıqca fermentativ reaksiyanın sürəti də kimyəvi kinetika nəzəriyyəsinə əsasən artır, lakin burada, kimyəvi reaksiyalar üçün xarakterik olan Vant-Hoff qanunauyğunluğu (temperaturun hər 10°C-yə artımı kimyəvi reaksiyanın sürətinin 2-4 dəfə artmasına səbəb olur) müşahidə olunmur. Bu da, əsasən, temperaturun təsiri altında ferment molekulunda baş verən konformasion dəyişikliklərin sayının tədricən artması ilə əlaqədardır. Temperatur 50°C-dən yuxarı olduğu halda fermentin istilik denaturasiyası səbəbindən fermentativ reaksiyanın sürəti kəskin dərəcədə azalır və, nəhayət, ferment tamamilə inaktivləşir. Hal-hazırda pepsin, tripsin və bir sıra digər fermentlər üçün fermentin inaktivləşməsi sürəti və zülalın denaturasiyası dərəcəsi arasında düz mütənəsiblik aşkar olunub. Qrafikdən görüldüyü kimi, 50°C-də ferment maksimal fəallıqla xarakterizə olunur. Fermentin maksimal katalitik fəallıqla fəaliyyət göstərdiyi temperatur *fermentin temperatur optimumu* adlanır.



Şəkil 6.7. Buğda toxumlarından alınmış qlütamatdehidrogenaza fermentinin fəallığına temperaturun təsiri.

Bu cür asılılıq bütün fermentlər üçün xarakterikdir, lakin fermentlərin temperatur optimumları fərqlənə bilər. İnsan orqanizmində fəaliyyət göstərən əksər fermentlərin optimal tempe-

raturu 37-38°C təşkil edir. Ümumiyyətlə heyvan mənşəli fermentlərin temperatur optimumu 40-50°C, bitki mənşəli fermentlərininki isə - 50-60°C intervalında yerləşir. Lakin bəzi istisnalar da mövcuddur. Belə ki, papainin (zülalların hidrolizini sürətləndirən bitki mənşəli ferment) temperatur optimumu təxminən 80°C təşkil edir. Əzələ toxumasının fermenti olan miokinaza 100°C-yə qədər qızdırmaya davam gətirir. Yerin altından çıxan qaynar sular da yaşayan mikroorqanizmlərdən ayrılmış *Taq*-polimeraza fermenti temperatur 95°C-dək artırıldıqda belə inaktivləşmir. Bu ferment xəstəliklərin polimeraz zəncirvari reaksiya (PZR) vasitəsilə molekulyar diaqnostikası məqsədilə tibbdə istifadə olunur.

Aşağı temperaturlarda (0°C və aşağı) fermentlər, biq qayda olaraq, parçalanmırlar, lakin onların fəallığı demək olar ki, sifra bərabər olur. Eyni zamanda, katalaza fermentinin optimal temperaturu 0 - 10°C diapazonunda yerləşir, daha yüksək temperaturlarda isə ferment sürətlə oksidləşir və inaktivləşir.

Temperaturun fermentativ reaksiyanın sürətinə təsiri bir sıra səbəblərlə izah oluna bilər. Temperatur amili aşağıdakılara təsir edir:

1. ferment molekulunun özünə təsir edir, yəni onun denaturasiyasının sürətinə;
2. ES kompleksinin sərbəst ferment və reaksiya məhsuluna parçalanmasının sürətinə, yəni k_{+2} sürət sabitinin qiymətinə;
3. fermentin substrata oxşarlığına, yəni k_{+1} və k_{-1} sabitlərinin qiymətinə;
4. reaksiya komponentlərinin ionlaşma istiliyinə və, deməli, fermentin, substratın, aralıq məhsulların və reaksiyanın son məhsullarının ionlaşma dərəcəsinə;
5. ikikomponentli fermentlər halında, apoferment-koferment birləşməsinin əmələ gəlməsinə;
6. əgər fermentin fəaliyyəti üçün bu və ya digər kofaktorlar və ya aktivatorlar tələb olunursa, bu halda həmin birləşmələr və ferment arasında əlaqənin yaranmasına;

7. əgər fermentativ reaksiya hər hansı inhibitorun təsiri altında tormozlanırsa, bu halda fermentin həmin inhibitorla birləşməsinin əmələ gəlməsinə.

Deməli, temperaturun ferment molekuluna təsiri çoxtərəfli və mürəkkəb olduğuna baxmayaraq, bu təsir təcrübi yolla asanlıqla öyrənilə bilər. Adətən, fermentin termolabilliyini öyrənmək məqsədilə bir neçə sınaq şüşəsinə ferment məhlulunu əlavə edib, onları müxtəlif temperaturlarda (20, 30, 40, 50°C və s.) müəyyən vaxt ərzində saxlayırlar. İnkubasiya vaxtı başa çatdıqdan sonra sınaq şüşələri soyudulur, və onların hər birinə fermentin substratı əlavə olunur və eyni temperatur şəraitində reaksiya aparılır. Beləliklə, müxtəlif temperaturlarda saxlanılmış fermentin katalitik fəallığı müqayisə olunur.

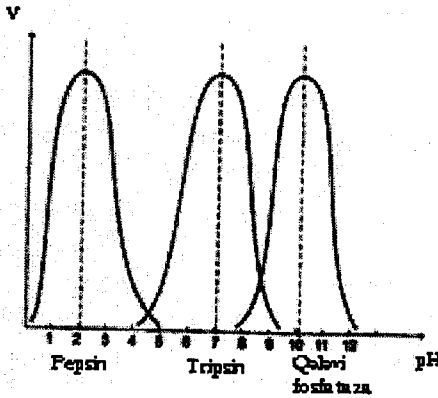
Fermentin termolabilliyi müəyyən şəraitdə (pH-ın müəyyən qiyməti, mühitin müəyyən duz tərkibi şəraitində) təyin olunmalıdır. Məsələn burasındadır ki, eyni ferment pH-ın bir qiymətində daha termostabil, digər pH-da isə temperaturun təsirinə daha həssas ola bilər. Məsələn, turş mühitdə pepsin temperatura qarşı daha termostabil olur, qələvi mühitdə isə qızdırıldıqda sürətlə inaktivləşir. Fermentin termolabilliyinə həmçinin substratın mövcudluğu da əhəmiyyətli dərəcədə təsir edir. Müvafiq koferment və substratlar çoxsaylı fermentləri, məsələn D-amin turşuların oksidazasını, qlutamatdehidrogenazanı, laktatdehidrogenazanı, bakterial və göbələk mənşəli α -amilazaları denaturasiya və inaktivləşmədən qoruyurlar. Substratın qoruyucu təsiri, çox güman ki, onunla əlaqədardır ki, substrat fermentlə birləşərək ES kompleksini əmələ gətirir və bununla da onun ikincili və üçüncülü quruluşlarını qoruyur və əlverişsiz şəraitə, o cümlədən temperatura qarşı davamlılığını artırır.

Fermentin fəallığına mühitin pH-ının təsiri

Fermentlərin fəallığına və, deməli, fermentativ reaksiyanın sürətinə əhəmiyyətli dərəcədə təsir edən növbəti amil – mühitin pH-ı və ya hidrogen ionlarının qatılığıdır. Bu asılılıq ilk

dəfə olaraq XX əsrin əvvəlində məşhur daniya biokimyəçisi Syorensen tərəfindən göstərilmişdir.

Fermentlər adətən hidrogen ionlarının qatılıqlarının kiçik bir diapazonunda daha fəal olurlar. Fermentin fəallığının mühitin pH-dan asılılığını, biz şəkil 6.8-də göstərilmiş əyri vasitəsilə qrafiki olaraq ifadə edə bilərik. Qrafikdən də görüldüyü kimi, pH-ın müəyyən nöqtəsində ferment maksimal fəallığa malik olur; bu nöqtə fermentin təsiri üçün *optimum pH nöqtəsi* adlanır. pH-ın optimal qiymətindən fərqli olan şəraitdə fermentativ fəallıq azalır.



Şəkil 6.8. Fermentativ reaksiyanın sürətinin mühitin pH-ından asılılığı.

Hər bir ferment üçün pH-ın müəyyən optimal qiyməti xarakterikdir (cədv.6.1). Turş şəraitdə fəaliyyət göstərən fermentlər (məs., mədənin pepsini və ya lizosomal fermentlər) həmin fermentin turş mühidə fəaliyyət göstərməsini təmin edən konformasiyanı təkamülcə qazanıblar. Lakin insan orqanizmində fəaliyyət göstərən fermentlərin əksər hissəsinin pH optimumları pH-ın fizioloji, neytrala yaxın qiymətlərinə uyğun olan sahədə yerləşirlər. Digər tərəfdən, cədvəldən görüldüyü kimi, arginazanın pH optimumu güclü qələvi mühidə yerləşir. Lakin qaraciyər hüceyrələri üçün bu cür mühit xarakterik deyil, deməli *in vivo*-da, çox güman ki, arginaza fermenti onun üçün optimal sayılan pH şəraitində fəaliyyət göstərmir.

Bəzi fermentlərin pH optimumları

Ferment	pH optimumları
Pepsin	1,5-2
Piruvatkarboksilaza	4,8
Katalaza	6,8-7
Fumaraza	6,5
Ureaza	6,8-7,2
Karboksipeptidaza	7,5
Tripsin	6,5-7,5
Arginaza	9,5-9,9

pH-in fermentin fəallığına təsiri aşağıda qeyd olunanlarla izah oluna bilər:

1. Ferment zülal molekulu ilə təmsil olunduğundan, onun tərkibində müxtəlif ionlaşdırıcı qruplar mövcuddur. pH-in fermentin fəallığına təsiri zülalın tərkibindəki amin turşularının funksional qruplarının ionlaşdırılması ilə əlaqədardır. pH-in qiyməti optimal qiymətdən fərqləndiyi halda, həmin funksional qrupların ionlaşması da dəyişir. Məs., mühit turşuluşduqca sərbəst amin qruplarının protonlaşması (NH_3^+), qələviləşdikcə isə karboksil qruplarından protonun ayrılması (COO^-) baş verir. Bu isə, ferment molekulunun, o cümlədən aktiv mərkəzin konformasiyasını dəyişir, nəticədə substartın, kofaktorların və kofermentlərin aktiv mərkəzə birləşməsi prosesi pozulmuş olur.
2. Əgər substart molekulu yük daşıyarsa, bu halda mühitin pH-ı substratın ionlaşma dərəcəsinə və fəzada təşkilinə təsir edəcək, bu isə, öz növbəsində, substratın aktiv mərkəzə oxşarlığında özünü büruzə verəcək.
3. Ferment-substrat və ferment-məhsul komplekslərinin çevrilməsi yalnız onların müəyyən dərəcədə ionlaşması şəraitində baş verə biləcək.
4. Bəzi fermentativ reaksiyalarda hidrogen və ya hidroksil ionları birbaşa reaksiyada iştirak edə bilər. Bu, xüsusilə, oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalar zamanı müşahidə olunur.

5. Mühitin pH-ı fermentin stabilliyinə təsir göstərir. pH-ın optimal qiymətindən xeyli fərqlənən bir mühitdə hətta zülal molekulunun denaturasiyası və fermentativ fəallığın tamamilə yox olması müşahidə oluna bilər.

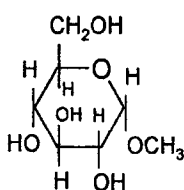
Müəyyən ferment üçün pH-ın optimal qiymətini təyin etdikdə, reaksiya mühitinin tərkibinə və bu məqsədlə istifadə olunan bufer qarışığına xüsusi diqqət yetirmək lazımdır. pH-ı xarakterizə edən əyriilər müxtəlif bufer məhlullarında müxtəlif ola bilər.

Onu da qeyd etmək lazımdır ki, eyni fermentlərlə kataliz olunan fermentativ reaksiya, reaksiyanın düz və əksinə istiqamətlərindən asılı olaraq, fərqli pH optimumları ilə xarakterizə oluna bilər. Belə ki, *Bacillus subtilis* bakterilərindən ayrılmış laktatdehidrogenaza laktatın parşalanması reaksiyası üçün 7,2, əksinə gedən, yəni piruvatın laktata qədər reduksiyası reaksiyası üçün 6,0 pH optimumu ilə xarakterizə olunur.

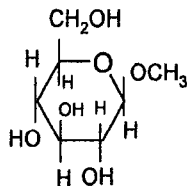
Fermentlərin spesifikliyi

Fermentləri qeyri-üzvi katalizatorlardan fərqləndirən xüsusiyyətlərdən biri də onların spesifikliyidir. Fermentlərin yüksək spesifikliyi canlı materiyanın ən mühüm xüsusiyyətlərindən biridir. Fermentativ katalizin spesifikliyi sayəsində ayrı-ayrı fermentativ reaksiyaların nizamlı olaraq həyata keçirilməsi və sıx qarşılıqlı əlaqəsi mümkündür.

Bu xassə hələ XIX əsrin sonlarında aşkar edilmişdir. Məlum olmuşdur ki, α - və β -metilqlikozidlər efir rabitəsi üzrə iki, tamamilə fərqli fermentin təsiri vasitəsilə parşalanır:



α -metilqlikozid



β -metilqlikozid

Beləliklə, fermentlərin substrat molekulunda cüzi fərqi ayırmaq qabiliyyəti aşkar olundu. Fermentlərin təsir mexanizmini müzakirə edərək biz fermentlərin təsir mexanizmini izah edən fərziyyələrə diqqət yetirmişdik. Belə ki, 1890-cı ildə Emil Fişer tərəfindən irəli sürülmüş “açar və qıfıl” nəzəriyyəsində ferment spesifikliyinin fəal mərkəzə dəqiq uyğun gələn substratın həndəsi quruluşu ilə müəyyən olduğu nəzərdə tutulurdu. XX əsrin 50-ci illərində bu təsəvvürlər D.Koşlandın substrat və fermentin “induksiya olunmuş uyğunlaşma” fərziyyəsi ilə əvəz olundu. Koşlanda görə substratın və fəal mərkəzin quruluşu, onların qarşılıqlı təsiri zamanı formalaşır. Bu zaman substratın quruluşunda bəzi əlaqələr deformasiyaya uğrayır və o, kataliz prosesini həyata keçirməyə hazırlanır. Ferment molekulunda isə konformasiya dəyişiklikləri baş verir. Bu fərziyyə fermentin fəallaşması, müxtəlif təsirlərdən inhibirləşməsi və tənzimlənməsinin mexanizmini qismən izah etsə də, hal-hazırda digər – topokimyəvi uyğunluq nəzəriyyəsi ilə sıxışdırılır. Koşlandın fərziyyəsinin əsas müddəalarını qəbul etməklə yanaşı, buraya fermentin substratı çevirmə prosesində onun dəyişməyən hissəsinin tanınması fikri əlavə olunur. Substratın bu hissəsi və fermentin substrat mərkəzi arasında çoxlu nöqtələrdə hidrofob qarşılıqlı təsir və hidrogen rabitələri əmələ gəlir.

Fermentin spesifikliyi, şübhəsiz ki, ilk növbədə fermentin substrat mərkəzi və substrat molekulunun konfigurasiyalarının uyğun gəlməsi ilə izah oluna bilər. Tam uyğunluq halında ES kompleksi yaranır və yalnız bundan sonra kataliz mümkün olur.

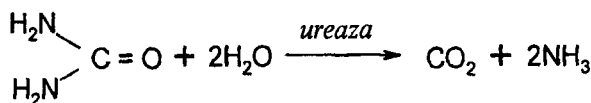
Müxtəlif fermentlər spesifiklik dərəcəsinə görə bir-birilərdən xeyli fərqlənirlər. Spesifikliyin iki əsas növü ayırd olunur: **substrat spesifikliyi** və **təsir spesifikliyi**.

Substrat spesifikliyi fermentin yalnız müəyyən bir substratın və ya quruluşca oxşar olan substratlar qrupunun çevrilməsini kataliz etmək xüsusiyyətidir. Bu xüsusiyyət fəal mərkəzin kontakt sahəsinin quruluşu ilə müəyyən olunur. Substrat spesifikliyin 3 növü ayırd olunur:

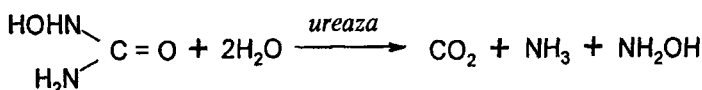
1. Mütləq spesifikliik;
2. Qrup spesifikliyi (nisbi spesifikliik);
3. Stereospesifikliik.

Təsir spesifikliyi – fermentin kimyəvi reaksiyaların yalnız bir tipini kataliz etmək qabiliyyətidir. Spesifikliyin bu növü digər sözlə reaksiyaların müəyyən tipinə görə spesifikliik də adlanır. Fermentlərin məhz bu spesifikliyi əsasında bütün fermentlər siniflərə ayrılır.

Mütləq spesifikliik – fermentin yalnız müəyyən bir substratın çevrilməsini kataliz etmək qabiliyyətidir. Substratın quruluşunda baş verən hər hansı dəyişikliklər (modifikasiyalar) onu ferment üçün əlçatmaz edir. Yüksək dərəcədə, praktiki olaraq mütləq spesifikliiklə xarakterizə olunan fermentlərə misal kimi orqanizmdə arginin amin turşusunun çevrilməsini kataliz edən arginazanı, sidik cövhərini parçalayan ureazanı və bir sıra digər fermentləri göstərmək olar. Ureaza sidik cövhərini karbon qazı və amonyaka qədər hidrolizini kataliz edir:



Lakin nisbətən son zamanlarda aşkar olunmuşdur ki, bəzi mənbələrdən alınmış ureaza fermenti yüksək dərəcəli spesifikliiyə malik olmaqla, sidik cövhəri ilə yanaşı oksisidik cövhərini də hidrolizə uğratmaq qabiliyyətinə malikdir:



Onu da qeyd etmək lazımdır ki, oksisidik cövhərinin ureaza ilə hidrolizinin ilkin sürəti, sidik cövhərinin hidroliz sürətindən 120 dəfə aşağıdır. Yüksək spesifikliyi sayəsində ureaza sidik cövhərinin miqdarca təyin olunması məqsədilə istifadə olunur.

Yüksək dərəcəli spesifikliklə xarakterizə olunan fermentlər sırasına həmçinin qlükozooksidaza və piruvatdekarboksilaza fermentləri də aiddirlər.

Qlükozooksidaza spesifik olaraq β -D-qlükozanı qlükon turşusunadək oksidləşdirən flavoproteiddir. Müəyyən olunub ki, qlükozooksidazanın yüksək dərəcəli spesifikliyinə baxmayaraq, o cuzi sürətlə olsa da, lakin digər birləşmələri də oksidləşdirə bilir (cədv. 6.2.).

Cədvəl 6.2

Müxtəlif substratların qlükozooksidaza fermentinin təsiri ilə oksidləşməsinin nisbi sürətləri

Substrat	Oksidləşmənin nisbi sürəti, %	Substrat	Oksidləşmənin nisbi sürəti, %
β -D-qlükoza	100,00	α -D-qlükoza	0,64
2-dezoksi-D-qlükoza	25,00	Maltoza	0,19
D-mannoza	0,98	D-qalaktoza	0,14

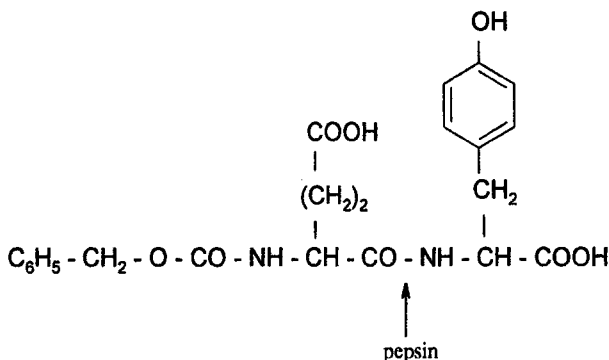
L-arabinoza, D-riboza, D-fruktoza və s. kimi şəkərləri isə ferment ümumiyyətlə oksidləşdirmir.

Piruvatdekarboksilaza fermenti piroüzüm turşusunun sirkə aldehidinin və karbon qazının əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan dekarboksilləşməsinə kataliz edir. Bu ferment üçün də yüksək dərəcəli spesifiklik xarakterikdir. Lakin, aşkar olunub ki, piruvatdekarboksilaza bir qədər daha uzun karbon zəncirinə malik bəzi digər α -ketoturşuların dekarboksilləşməsinə də səbəb ola bilər. Karbon zənciri uzandıqca dekarboksilləşmənin sürəti aşağı düşür.

Beləliklə, ureaza, qlükozooksidaza və piruvatdekarboksilaza fermentlərinin misalında görünür ki, ferment müxtəlif birləşmələrin daxilində mövcud olan eyni qruplara təsir etməklə yanaşı, substrat molekulunun ümumi quruluşuna da müəyyən tələblər irəli sürür.

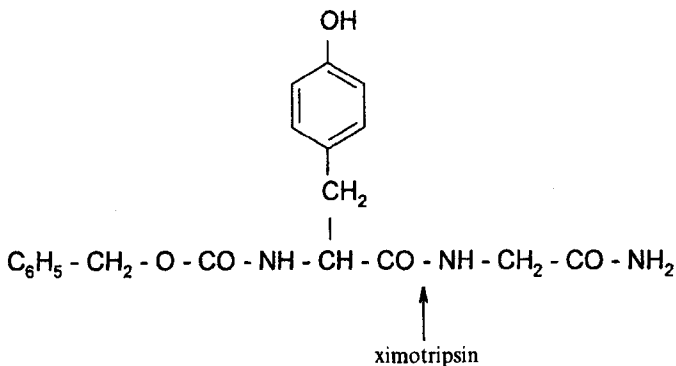
Qrup spesifikliyi ilə xarakterizə olunan fermentlər substrat molekulunda müəyyən atom qruplarının mövcudluğunu tələb edirlər. Spesifikliyin bu növünə klassik misal kimi proteolitik

fermentlərin spesifikliyini göstərə bilərik. Çoxsaylı təcrübi materiallar əsasında müəyyən olunmuşdur ki, hər bir proteolitik ferment substratın quruluşuna və fermentin təsir etdiyi rəbitənin ətrafındakı qruplara müəyyən tələblər irəli sürür. Məs., pepsin praktiki olaraq eyni sürətlə həm bitki, həm də heyvan mənşəli müxtəlif zülalların hidrolizini təmin edir, karbohidratlar, yağlar kimi isə digər maddələrə təsir etmək qabiliyyətindən məhrumdur. Pepsinin qrup spesifikliyi bununla məhdudlaşmır. O, istənilən peptid rəbitəsini deyil, yalnız tirozinin və ya fenilalaninin amin qrupunun iştirakı ilə yaranmış peptid rəbitələrini seçici olaraq parçalayır. Pepsin üçün xarakterik spesifik sintetik substrat qismində karbobenzoksi-L-qlutamin-L-tirozin çıxış edə bilər:



Pepsinin təsirinə məruz qalan peptid rəbitəsi yaxınlığında sərbəst amin qrupunun mövcudluğu substratı pepsinin təsirinə qarşı daha davamlı edir. Və, əksinə, karboksil qrupunun mövcudluğu hidrolizi sürətləndirir.

Proteolitik fermentlərin digər nümayəndəsi olan və öz fəaliyyətini bağırsaqda yerinə yetirən ximotripsin də, pepsin kimi, peptid rəbitələrinin hidrolizini kataliz edir, lakin pepsindən fərqli olaraq, o, aromatik amin turşularının karboksil qruplarının iştirakı ilə əmələ gələn peptid rəbitələrini tanıyır və parçalayır. Ximotripsin üçün xarakterik olan sintetik substrat rolunu karbobenzoksi-L-tirozinqlisinamid oynaya bilər:



Hidrolizə məruz qalan rabitə yaxınlığında sərbəst karboksil qrupunun mövcudluğu (məs, karbobenzoksi-L-tirozinqlisində olduğu kimi) substratın ximotripsinə qarşı davamlılığını, sərbəst amin qrupu isə, əksinə, substratın ximotripsinə qarşı həssaslığını artırır.

Bağırsaqda fəaliyyət göstərən tripsin adlı digər proteolitik ferment isə, arginin və ya lizin amin turşularının karboksil qruplarının iştirakı ilə ələmə gələn peptid rabitələri seçici olaraq parçalayır. Substrat molekulunda sərbəst amin qrupunun mövcud olması (məs., lizinin ε-aminoqrupu və ya arginin δ-quanidin qrupu) tripsinin effektiv təsirini təmin edən mütləq şərtlərdən biridir.

Bitki mənşəli proteolitik ferment papain üçün, heyvan mənşəli proteolitik fermentlərlə müqayisədə, nisbətən daha zəif ifadə olunmuş qrup spesifikliyi xarakterikdir. Məhz bu səbəbdən, papain zülal molekulundakı daha çox sayda peptid rabitələrini hidroliz etmək qabiliyyətinə malik olur, və nəticədə zülal molekulu daha kiçik fraqmentlərə parçalanır. Bundan başqa, papain heyvan mənşəli digər fermentlərin təsirinə qarşı davamlı olan bəzi digər substratları da parçalamaq qabiliyyətindədir.

Bəzi hüceyrədaxili fermentlər üçün də qrup (nisbi) spesifikliyi xarakterikdir. Məs., ATP-in iştirakı ilə, demək olar ki, bütün heksozaların fosforlaşmasını kataliz edən heksokinaza belə

fermentlərə misal ola bilər. Lakin, heksokinazanın bu xüsusiyyətinə baxmayaraq, hüceyrədə hər bir heksozaya qarşı spesifik olan və onun fosforlaşmasını kataliz edən fermentlər də mövcuddur.

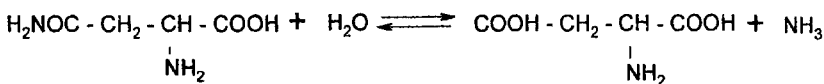
Təcrübi yolla spesifikliyin bir növünün də, yəni **stereo-kimyəvi spesifikliyin** mövcudluğu sübut olunmuşdur. Stereospesifik fermentlər eyni maddənin yalnız bir optiki izomerinə təsir edirlər. Məlum olduğu kimi, müxtəlif birləşmələrin D- və L-formaları bir-birilərindən assimetrik karbon atomu ətrafında qrupların fəzada yerləşməsi ilə fərqlənirlər.

Hələ Lui Paster öz tədqiqatları ilə göstərmişdir ki, üzvi birləşmələrin, xüsusilə də çaxır turşusunun, D- və L-formaları bir-birindən kristalların formasına görə fərqlənirlər. Bundan başqa, bu iki stereoizomer mikroorqanizmlər tərəfindən müxtəlif cür mənimsənilir. Belə ki, o, *Penicillium* göbələyini D- və L-çaxır turşuları mühitində becərərək, müəyyən etmişdir ki, L-çaxır turşusu, onun D-izomerindən fərqli olaraq, kif göbələyi tərəfindən asanlıqla mənimsənilir. Paster belə bir nəticəyə gəlmişdir ki, canlı hüceyrə müxtəlif üzvi birləşmələrin D- və L-formalarına müxtəlif münasibət göstərir və canlı protoplazma, ölü protoplazmadan məhz onunla fərqlənir ki, o, ətraf mühitdən seçici olaraq L-stereoizomerləri mənimsəyərək, üzvi birləşmələrin D-formalarından ümumiyyətlə istifadə etmir.

Onu da qeyd etmək lazımdır ki, stereoizomerlər orqanizmə fizioloji təsirlərinə və öz xassələrinə görə də bir-birilərindən fərqlənirlər. Məs., L-asparagin dadsız olduğu halda, onun qeyri-təbii stereoizomeri - D-asparagin şirin dadı məxsusdur.

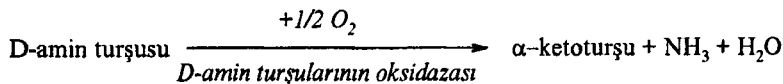
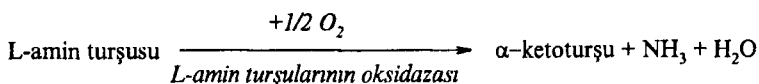
Stereoizomerlərin müxtəlif formaları – L- və D-, α - və β -, *cis*- və *trans*-izomerləri mövcuddur.

Məsələn, qlutamatdehidrogenaza L-qlutamin turşusunun aminsizləşməsini kataliz edir, lakin D-qlutamin turşusuna təsir etmir. Beləliklə, qlutamatdehidrogenaza L-qlutamin turşusuna qarşı mütləq stereospesifikliklə xarakterizə olunur. Və ya, asparaginin hidrolitik parçalanması nəticəsində asparagin turşusu və ammoniyak əmələ gəlir:



Tənlikdən göründüyü kimi, reaksiya zamanı amid qrupunun hidrolitik parçalanması baş verir. Reaksiya asparaginaza fermenti ilə kataliz olunur. Asparaginaza seçici olaraq asparaginin yalnız təbii izomerinin, yəni L-asparaginin çevrilməsini kataliz edir, D-asparaginə isə təsir etmir. Əgər L-asparagin və asparaginaza qarışığına D-asparagin əlavə olunsa, bu zaman D-asparagin asparaginazanın rəqabətli mexanizmlə inhibirləşdirəcək. Bu o deməkdir ki, D-asparaginin asparaginazanın fəal mərkəzi ilə birləşməsinə baxmayaraq, ferment bu maddənin hidrolizini həyata keçirə bilmir. Ümumiyyətlə bir sıra fermentlər üçün bu hadisə müşahidə olunur.

Lakin onu da qeyd etmək lazımdır ki, stereokimyəvi spesifikasiyaya dedikdə mütləq spesifikasiyi nəzərdə tutmaq doğru deyil. Belə ki, L-amin turşuların oksidazası bütün amin turşularını oksidləşdirmək qabiliyyətindədir, yəni bu baxımdan o, nisbi spesifikasiyaya xarakterizə olunur. Lakin, ferment yalnız L-sıranın amin turşularına təsir edir, bu isə həmin fermentin stereospesifikliyinə göstəricisidir.

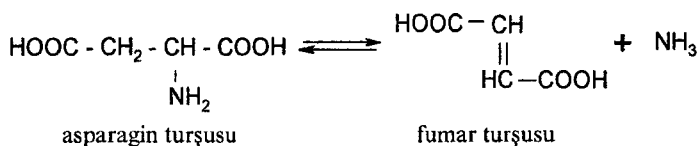


Digər sözlə, təbii zülalların tərkibində yalnız L-amin turşularına rast gəlinməsinə baxmayaraq, L- və D-amin turşularının oksidazaları məlumdur ki, bunların da hər biri amin turşuların yalnız müvafiq izomerinə təsir göstərir.

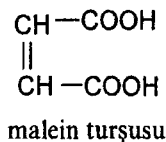
Fermentlərin stereospesifikliyinə nümayiş etdirən misallardan biri də, artıq yuxarıda qeyd olunduğu α - və β -metilqlizoidlə-

rinin müxtəlif fermentlərlə hidrolizidir. α -qlikozidlərə təsir edən fermentləri α -qlikozidazalar, β -qlikozidləri hidrolizə uğradan fermentləri isə β -qlikozidazalar adlandırırlar.

İndi isə, *sis*- və *trans*-izomerlərin çevrilməsini kataliz edən fermentlərə diqqət yetirək. *Sis-trans*-izomerlər bir-birilərindən iki karbon atomu arasında yerləşən ikiqat rabitəyə nisbətən radikal-ların yerləşməsinə görə fərqlənilirlər. Spesifikliyin bu növünə misal olaraq, L-aspartat-ammonyak-liaza (aspartaza) fermentini göstərmək olar. Bu ferment asparagin turşusundan qeyri-hidroli-tik yolla ammonyakin ayrılmasını kataliz edir və nəticədə aspara-gin turşusunu fumar turşusuna çevirir:



Göründüyü kimi, fumar turşusu molekulundakı karboksil qruplar ikiqat rabitəyə nisbətən müxtəlif tərəflərdə yerləşmiş olur, yəni fumar turşusu *trans*-izomerdir. Fumar turşusunun *sis*-izomeri malein turşusudur ki, burada karboksil qrupları ikiqat rabitəyə nisbətən *sis*-vəziyyətdə yerləşmiş olurlar:



Aspartaza yalnız fumar turşusuna təsir etmək qabiliyyətindədir. Təbiətdə rast gəlinməyən malein turşusunun çevrilməsini isə ümumiyyətlə kataliz etmir.

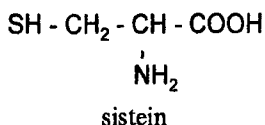
Beləliklə, fermentlərin yüksək spesifikliyi sayəsində hüceyrə fəzasında mövcud olan külli miqdarda reaksiyalar arasında yalnız müəyyən reaksiyaların sürətlə gedişi təmin olunur, və bu da maddələr mübadiləsinin intensivliyinin tənzimlənməsində öz əksini tapır.

6.3. Fermentativ reaksiyaların aktivatorları və inhibitorları

Fermentativ reaksiyanın sürəti, yəni fermentin fəallığı, həmçinin mühitdə *aktivatorlar* və *inhibitorların* mövcudluğu ilə müəyyən olunur. Aktivatorlar reaksiyanın sürətini artırır, inhibitorlar isə, əksinə, tormozlayır.

Aktivatorlar və inhibitorlar haqda ilk məlumatlar hələ XIX əsrdə Danilevskiy və əməkdaşları tərəfindən verilmişdir. Fermentin fəallığına təsir edən birləşmələrin kimyəvi təbiəti müxtəlif ola bilər. Belə ki, xlorid turşusu pepsin fermentinin aktivatoru, öd turşuları pankreatik lipazanın aktivatoru qismində çıxış edir. Bəzi toxuma oksidoreduktazaları, papain adlı bitki proteinazası və s. fermentlər sərbəst SH-grupuna malik birləşmələrlə (qlütation, sistein) aktivləşirlər, bəzi fermentlərin fəallığı C vitamininin təsiri ilə artır.

Sərbəst SH-grupuna malik sistein və qlütation da fermentlərin aktivatorları ola bilər:



Onların aktivləşdirici təsiri onunla əlaqədardır ki, bu birləşmələr fermentin disulfid (–S–S–) rabitələrini reduksiya edərək, onları fermentin katalitik fəallığını təmin edən SH-gruplara çevirirlər.

Aktivatorların bir qrupunu fermentin fəal mərkəzinə təsir edən birləşmələr təşkil edir. Bunlara fermentlərin kofaktorları və substratları aid olunur. Kofaktorlar, yəni metal ionları və kofementlər, mürəkkəb fermentlərin quruluş elementləri olmaqla yanaşı, fermentlərin aktivatorları rolunu da oynayır. Məs., Na^+K^+ -ATPazasının işi üçün aktivatorlar qismində Mg^{2+} , Na^+ və K^+ ionları tələb olunur. Aktivator rolunu, adətən, ikivalentli, bəzi hallarda birvalentli ionlar oynayır. Müəyyən olunub ki, məlum olan fermentlərin təxminən $\frac{1}{4}$ hissəsi öz katalitik fəallığı üçün

metal ionlarının mövcudluğunu tələb edir. Fermentlərin bir qismi metalsız ümumiyyətlə aktiv deyil.

Metallar vasitəsilə fermentlərin aktivləşməsi müxtəlif mexanizmlərlə gedə bilər:

1. Bəzi hallarda onlar fermentin prostetik qrupu funksiyasını yerinə yetirilə, və ya elektronların donoru ya da akseptoru rolunu oynayırlar, və, nəhayət, elektrofil və ya nukleofillər qismində çıxış edərək reaktiv qrupların lazımı istiqamətdə səmtiləşməsini təmin edirlər.
2. Metal ionları xüsusi "körpücük" əmələ gətirərək, substratın fəal mərkəzə birləşməsi və ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsini təmin edirlər. Məs., Mg^{2+} ionları üzvi birləşmələrin monofosfor efirlərinin mənfi yüklənmiş fosfat qrupu vasitəsilə həmin efirlərin hidrolizini kataliz edən fosfatazaların fəal mərkəzinə birləşməsini təmin edirlər.
3. Bir sıra hallarda metal fermentlə deyil, substratla birləşir və ferment üçün həqiqi substrat rolunu oynayan metal-substrat kompleksini əmələ gətirir. Məs., Mg^{2+} ionları kreatinfosfokinazı məhz bu yolla aktivləşdirirlər. Onlar fermentin həqiqi substratını, yəni ATP-in magnezium duzunu əmələ gətirirlər.
4. Təcrübi yolla təsdiq olunmuşdur ki, metallar fəal mərkəzin və bütün ferment molekulunun üçüncülü quruluşunun formalaşmasında və stabilləşməsində birbaşa iştirak edirlər. Məs., ağız suyunun amilazasına Ca^{2+} ionlarının təsiri məhz bu mexanizm üzrə baş verir.

Bundan başqa, qeyd etmək lazımdır ki, metallar allosterik modulyatorlar qismində də çıxış edə bilərlər. Metal, fermentin allosterik mərkəzi ilə qarşılıqlı əlaqəyə girərək fermentin və fəal ferment-substrat kompleksinin daha əlverişli fəza konfigurasiyasının əmələ gəlməsini təmin edir.

Aktivatorların digər qrupu fermentativ reaksiyanın sürətləndirilməsinə, ferment molekulunun fəal mərkəzinə birbaşa təsir etməyərək, səbəb olurlar. Bu cür modifikasiyanın da bir neçə yolu mövcuddur:

1. proferment və ya zimogen adlanan qeyri-fəal sələfin aktivləşməsi;
2. ferment molekuluna hər hansı modifikasiyaedici qrupun birləşməsi;
3. zülal-fəal ferment kompleksinin dissosiasiyası.

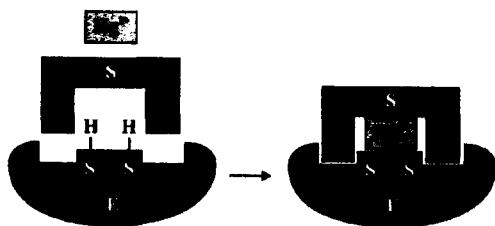
Fermentlərin aktivatorları ilə yanaşı, onların təsirini tormozlayan inhibitorlar da mövcuddur. Müxtəlif inhibitorların tətbiqi enzimologiyada böyük əhəmiyyəti var. İnhibitorlardan ilk öncə fermentlərin funksional qruplarının öyrənilməsi və identifikasiyası, eləcə də ES-kompleksinin əmələ gəlməsi zamanı yaranan kimyəvi rabitələrin təbiətinin aydınlaşdırılması məqsədilə istifadə olunur. İkincisi, eyni adı daşıyan, lakin müxtəlif mənbələrdən alınmış fermentlərin oxşar və fərqli cəhətlərinin aşkar edilməsi məqsədilə inhibitorlardan istifadə olunur. Bundan başqa, dərmanların, zəhərlərin, antibiotiklərin, boy stimulyatorlarının və s. fizioloji aktiv maddələrin təsir mexanizminin aydınlaşdırılması üçün də inhibitorların tətbiqi çox vacibdir. Əksər hallarda bu və ya digər fizioloji aktiv birləşmələrin təsiri müəyyən fermentativ reaksiyanın stimullaşdırılması və ya inhibirləşməsinə əsaslanır.

İnhibitorun fermentlə birləşmə möhkəmliyinə görə inhibirləşmənin iki növü ayırd olunur: *geri-dönən* və *dönməyən*.

Geri-dönməyən inhibirləşmə zamanı inhibitor və ferment molekulaları arasında stabil kovalent rabitələrin əmələ gəlməsi müşahidə olunur. Adətən, modifikasiyaya məhz fermentin fəal mərkəzi məruz qalır. Nəticə etibarilə, ferment öz katalitik funksiyasını yerinə yetirə bilmir.

Geri-dönməyən inhibitorlara ağır metal ionları, məs. cıvə (Hg^{2+}), gümüş (Ag^+) və arsen (As^{3+}) inoları aid olunur. Onların kiçik qatılıqları belə fəal mərkəzin sulfhidril qruplarını blokladır və substrat artıq kimyəvi dəyişikliklərə məruz qala bilmir (şək. 6.9). Reaktivatorların təsiri ilə fermentlərin funksiyası bərpa oluna bilər. Yüksək qatılıqda ağır metal ionları fermentin zülal

molekulunun denaturasiyasına səbəb olurlar, yəni fermenti tamamilə inaktivləşdirirlər.

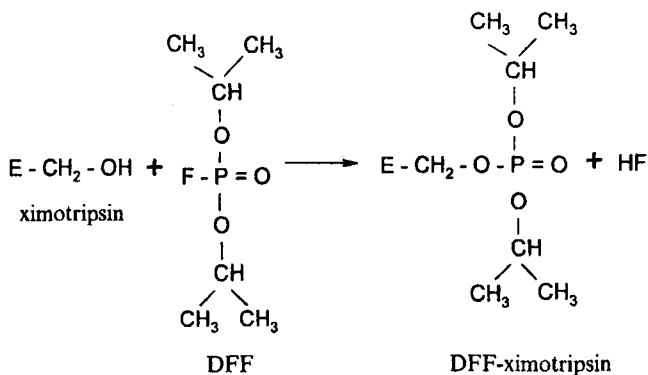


Şəkil 6.9. Civə ionlarının geri-dönməz inhibitorlar qismində təsiri mexanizmi.

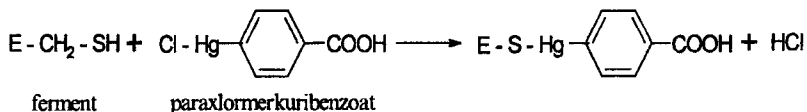
Geri-dönməyən inhibitorlar spesifik və qeyri-spesifik olmaqla, 2 qrupa bölünür. Ümumiyyətlə bu cür inhibitorların tətbiqi fermentlərin təsir mexanizminin aydınlaşdırılması nöqtəyi nəzərdən böyük maraq kəsb edir. Bu məqsədlə fermentin fəal mərkəzinin müəyyən qruplarını bloklaşdıran maddələrdən istifadə olunur. Belə inhibitorları spesifik inhibitorlar adlandırırlar. Bir sıra birləşmələr müəyyən kimyəvi qruplarla asanlıqla reaksiyaya daxil olurlar və əgər həmin bu qruplar birbaşa katalizdə iştirak edirlərsə, bu halda fermentin tamamilə inaktivləşməsi baş verir.

Belə ki, kataliz prosesində serinin qruplarının rolu flüor-fosfatlar, məs. diizopropilflüorofosfatın tətbiqi ilə öyrənilir. Maraqlıdır ki, fermentin zülal molekulunun tərkibinə bir neçə serin qalığının daxil olmasına baxmayaraq, diizopropilflüorofosfat (DFF) spesifik olaraq fermentin fəal mərkəzində yerləşən serin amin turşusu qalıqlarından yalnız biri ilə reaksiyaya girir. DFF ilə reaksiyaya girən serin qalığı identik və ya artıq dərəcədə oxşar amin turşu qalıqları ilə əhatə olunub. Bu serin amin turşusunun, serinin digər qalıqları ilə müqayisədə, daha yüksək fəallığa malik olması həmçinin fəal mərkəzə daxil olan digər amin turşu qalıqları ilə müəyyən olunur.

Beləliklə, DFF “serin” fermentlərinin aktiv mərkəzinə daxil olan və katalizdə mərkəzi rol oynayan serin molekulunun hidroksil (-OH) qrupu ilə kovalent əlaqə yaratdığı üçün, o, “serin” fermentlərinin spesifik inhibitoru qismində çıxış edir:

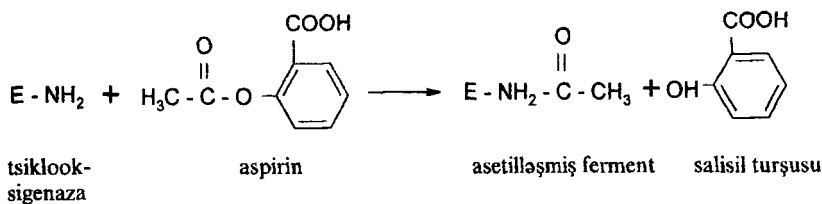


Yod asetat, *p*-xlormerkuribenzoat kimi birləşmələr zülalların tərkibinə daxil olan sistein amin turşusunun SH-qrupları ilə reaksiyaya girir:



Bu inhibitorlar qeyri-spesifik inhibitorlara aid olunur, çünki onlar zülalların istənilən SH-qrupları ilə reaksiyaya girə bilirlər. Əgər SH-qruplar bilavasitə katalizdə iştirak edirlərsə, bu halda həmin inhibitor vasitəsilə fermentin SH-qrupunun katalizdə rolunu aşkar etmək mümkündür.

Bir sıra dərman preparatlarının, məs., geniş istifadə olunan aspirinin təsir mexanizmi fermentlərin dönməz inhibirləşməsinə əsaslanır. İltihabaqarşı qeyri-steroid təbiətli aspirin preparatının farmakoloji təsiri araxidon turşusundan prostaqlandinlərin əmələ gəlməsi reaksiyasını kataliz edən tsiklooksigenaza fermentinin inhibirləşməsinə əsaslanır. Kimyəvi reaksiya nəticəsində aspirinin asetil qalığı tsiklooksigenazanın subvahidlərindən birinin sərbəst kənar NH₂-qrupuna birləşmiş olur:

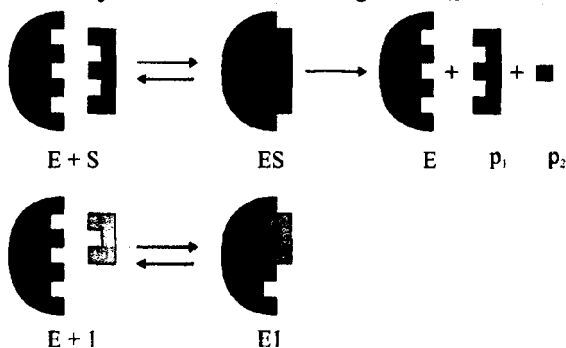


Nəticə etibarilə prostaqlandinlərin mübadiləsinin geniş spektrli bioloji funksiyaları daşıyan, o cümlədən iltihab mediatorları rolunu oynayan məhsullarının əmələ gəlməsi azalır.

Dönən inhibitorlar fermentlə zəif kovalent rabitələr vasitəsilə birləşirlər və müəyyən şəraitdə asanlıqla fermentdən ayrılırlar.

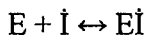
Təsir mexanizminə görə inhibitorlar **rəqabətli** və **qeyri-rəqabətli** ola bilər.

Rəqabətli inhibitorlar fermentativ reaksiyanın sürətini fermentin fəal mərkəzinə birləşməklə və ES-kompleksinin əmələ gəlməsinin qarşısını almaqla tormozlayan inhibitorlara deyilir. Inhibirləşmənin bu növü inhibitor quruluşca substratın analoqu olduğu halda müşahidə olunur. Bu zaman substrat və inhibitor molekulları arasında fermentin fəal mərkəzi ilə birləşmək uğrunda rəqabət gedir və nəticədə fermentlə ikisindən biri, ya substrat ya da inhibitor birləşmiş olur, və müvafiq olaraq ya ES ya da EI kompleksləri əmələ gəlir. Ferment-inhibitor (EI) kompleksi yarandıqda reaksiya məhsulları əmələ gəlmir (şək. 6.10).

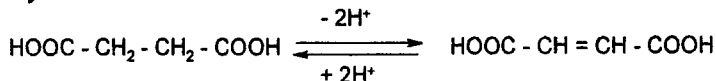


Şəkil 6.10. Rəqabətli inhibitorun təsirinin sxemi.

Rəqəbətli inhibirləşmə aşağıdakı tənliklərlə ifadə oluna bilər:



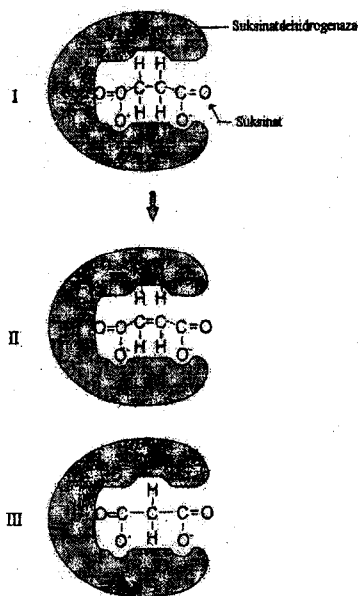
Rəqəbətli inhibirləşmənin klassik misalı suksinatdehidrogenaza fermentinin malon turşusu ilə inhibirləşməsidir. Bu ferment kəhraba turşusundan (suksinatdan) iki hidrogen atomunu ayıraraq, onun fumar turşusuna çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir:



kəhraba turşusu

fumar turşusu

Malon turşusu suksinatın struktur analoqudur və suksinatdehidrogenazanın fəal mərkəzi ilə birləşmək qabiliyyətinə malikdir. Bu zaman ferment-inhibitor kompleksi əmələ gəlir, və hidrogen atomunun ayrılması qeyri-mümkün olduğundan, reaksiya tormozlanır (şək. 6.11).



Şəkil 6.11.

Suksinatdehidrogenaza fermentinin malon turşusu ilə rəqəbətli inhibirləşməsi.

I – suksinatın fermentin fəal mərkəzi ilə birləşməsi;

II – fermentativ reaksiya zamanı suksinatdan iki hidrogen atomunun ayrılması və FAD kofermentinə birləşməsi. Nəticədə, suksinatdehidrogenazanın fəal mərkəzindən ayrılan fumar turşusu əmələ gəlir;

III – suksinatın struktur analoqu olan malon turşusunun suksinatdehidrogenazanın fəal mərkəzi ilə birləşməsi. Nəticədə reaksiya tormozlanır.

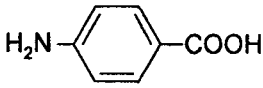
Rəqabətli inhibitorlar fermentin substrata qarşı olan oxşarlığını aşağı salır və K_m -in qiymətinin artmasına səbəb olurlar. Bu, o deməkdir ki, rəqabətli inhibitorun mövcudluğu şəraitində reaksiyanın maksimal sürətin $\frac{1}{2}$ -ə çatması üçün substratın daha yüksək qatılığı tələb olunur. Substratın inhibitora olan nisbəti artdıqca inhibirləşmə dərəcəsi aşağı düşür. Substratın xeyli yüksək qatılıqları şəraitində inhibirləşmə tamamilə aradan qaldırılır, çünki bu halda demək olar ki, bütün ferment molekullarının fəal mərkəzləri substratla kompleksə daxil olurlar.

Rəqabətli inhibirləşmə tibbi təcrübədə geniş istifadə olunur. Məs., dördüncülü ammonium duzları asetilxolinin sirkə turşusu və xolinə hidrolizini kataliz edən asetilxolinesterazanı rəqabətli mexanizmlə inhibirləşdirirlər. Məlum olduğu kimi, asetilxolinesteraza fermenti ilə kataliz olunan hidroliz reaksiyası sinir impulslarının ötürülməsinin biokimyəvi mexanizminin əsasında durur. Mühitə inhibitorlar əlavə olunduqda asetilxolinesterazanın fəallığı aşağı düşür, asetilxolinin qatılığı, müvafiq olaraq, artmış olur, nəticədə sinir impulslarının ötürülməsi güclənir. Xolinesteraza fermentinin inhibitorlarından əzələ distrofiyasının müalicəsi məqsədilə istifadə olunur.

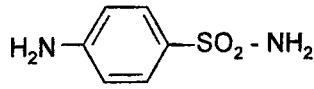
Rəqabətli mexanizmlə təsir edən inhibitorlar qismində tibbdə antimetabolitlər adlanan maddələrdən də istifadə olunur. Bu birləşmələr təbii substratların struktur analoqları olaraq, bir tərəfdən fermentlərin rəqabətli inhibirləşməsinə səbəb olurlar, digər tərəfdən isə həmin fermentlər tərəfindən psevdosubstratlar qismində istifadə oluna bilirlər, bu isə anomal məhsulların sintezinə gətirib çıxarır. Anomal məhsullar funksional fəallığa malik olmadıqları səbəbindən, müəyyən metabolik yolların sürətinin azalması müşahidə olunur. Dərman preparatları qismində aşağıdakı antimetabolitlər: infeksiyon xəstəliklərin müalicəsində istifadə olunan sulfanilamid preparatları, onkoloji xəstəliklərin müalicəsi məqsədilə istifadə olunan nukleotidlərin analoqları tibbdə geniş tətbiq olunur.

Belə ki, məlum olduğu kimi, bakterial fermentlərin tərkib komponenti olan fol turşusunun sintezi üçün bakterial hüceyrələr

paraaminobenzoy turşusundan istifadə edirlər. Sulfanilamid həmin paraaminobenzoy turşusunun struktur analoqudur:



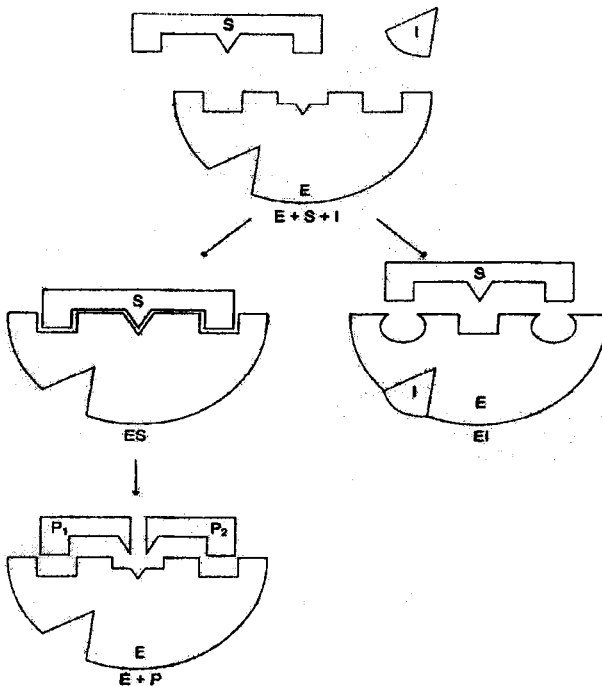
p-aminobenzoat



sulfanilamid

Bu struktur oxşarlıq sayəsində sulfanilamid müvafiq fermenti inhibirləşdirir və bakteriyaların böyüməsini tormozlayır.

Qeyri-rəqabətli inhibitorlar substratla struktur oxşarlığa malik deyillər və fermentin fəal mərkəzi ilə deyil, onun hər hansı digər bir sahəsi ilə birləşmiş olurlar (şək. 6.12).



Şəkil 6.12. Fermentin qeyri-rəqabətli inhibirləşməsinin sxemi.

Qeyri-rəqabətli inhibitorlar həm sərbəst fermentlə, həm də ferment-substrat kompleksi ilə birləşmək qabiliyyətinə malikdirlər. Bu zaman sonrakı çevrilmələrə məruz qalmayan qeyri-fəal kompleks əmələ gəlir. Inhibitorun birləşməsi ferment molekulunun konformasiyasının dəyişməsinə səbəb olur və nəticə etibarilə substratın fəal mərkəzlə qarşılıqlı təsiri pozulur və fermentativ reaksiyanın sürəti aşağı düşür. Qeyri-rəqabətli inhibitor fermentin Mixaelis sabitinin qiymətinə təsir etmir, o sadəcə olaraq reaksiyanın maksimal sürətini aşağı salır. İnhibirləşmə dərəcəsi, adətən, inhibitorun fermentə təsir müddəti ilə müəyyən olunur. Bu inhibirləşmə zamanı bəzi hallarda stabil kovalent rabitələr yaranır ki, bu da fermentin tamamilə inhibirləşməsinə səbəb olur, yəni inhibirləşmə geri-dönməyən mexanizmlə baş verir. Qeyri-rəqabətli inhibitorlara misal olaraq sinil turşusunu göstərə bilərik. Sinil turşusu oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarında elektronların daşınmasında iştirak edən dəmir-tərkibli fermentlərlə dönməz olaraq birləşir və onları inhibirləşdirir. Sinil turşusu həmçinin tərkibində mis ionlarını daşıyan fermentləri, məs. *o*-difenoloksidaza (polifenoloksidaza) fermentini də inhibirləşdirir. Bu birləşmənin inhibirləşdirici təsiri onunla izah olunur ki, sinil turşusu fermentin tərkibinə daxil olan metal ionu ilə möhkəm birləşmə əmələ gətirir.

Rəqabətli və qeyri-rəqabətli inhibitorların fermentlərə təsiri Laynuiver-Berk tənliyi vasitəsilə riyazi olaraq bu cür ifadə oluna bilər:

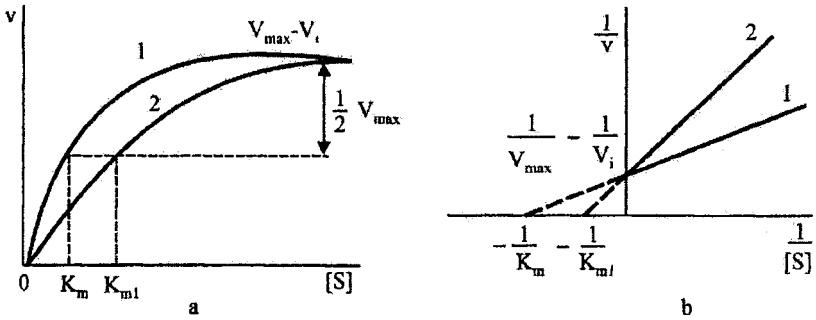
Inhibitorsuz mühitdə:
$$\frac{1}{v} = \frac{k_m}{V} \times \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V}$$

Rəqabətli inhibirləşmə zamanı:
$$\frac{1}{v_i} = \frac{1}{V} \cdot \left(k_m + \frac{k_m \cdot [I]}{k_i} \right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Qeyri-rəqabətli inhibirləşmə zamanı:

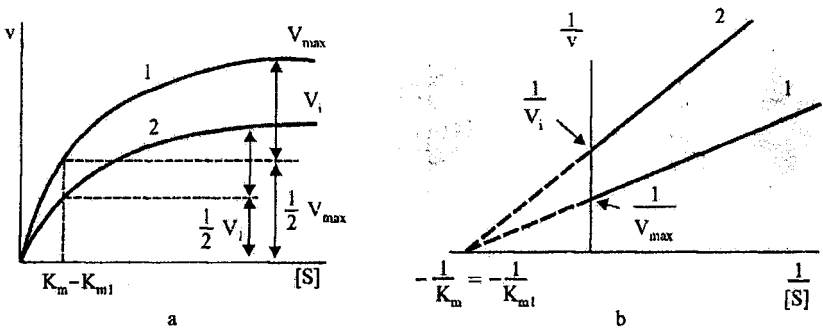
$$\frac{1}{v_i} = \left(1 + \frac{[I]}{k_i} \right) \cdot \left(\frac{1}{V} + \frac{k_m}{V} \cdot \frac{1}{[S]} \right)$$

Rəqabətli və qeyri-rəqabətli inhibitorların fermentlərə təsiri Mixaelis-Menten və Laynuiver-Berk qrafikləri vasitəsilə göstərilə bilər (şək. 6.13, 6.14).



Şəkil 6.13. Fermentativ reaksiyanın sürətinin substratın qatılığından rəqabətli inhibirləşmə zamanı asılılığı.

a – Mixaelis-Menten qrafikinə əsasən; b – Laynuiver-Berk üsulu ilə; K_m və K_{mi} – müvafiq olaraq, inhibitoruz və inhibitorlu mühitdə Mixaelis sabiti.



Şəkil 6.14. Fermentativ reaksiyanın sürətinin substratın qatılığından qeyri-rəqabətli inhibirləşmə zamanı asılılığı.

a – Mixaelis-Menten qrafikinə əsasən; b – Laynuiver-Berk üsulu ilə; K_m və K_{mi} – müvafiq olaraq, inhibitoruz və inhibitorlu mühitdə Mixaelis sabiti.

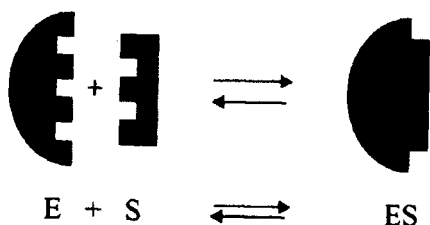
Qrafiklərdən də göründüyü kimi, qeyri-rəqabətli inhibirləşmə zamanı inhibitor fermentativ reaksiyanın maksimal sürətini aşağı salır. Əgər bu zaman K_m -in qiyməti dəyişmirsə, bu halda

yalnız qeyri-rəqabətli inhibirləşmə haqda söhbət gedir. Lakin əksər hallarda inhibirləşmənin qarışıq növü müşahidə olunur (bəzən inhibirləşmənin bu növü qismən qeyri-rəqabətli adlanır). Bu zaman V_{\max} qiymətinin aşağı düşməsi ilə yanaşı, K_m qiymətinin artması da müşahidə olunur.

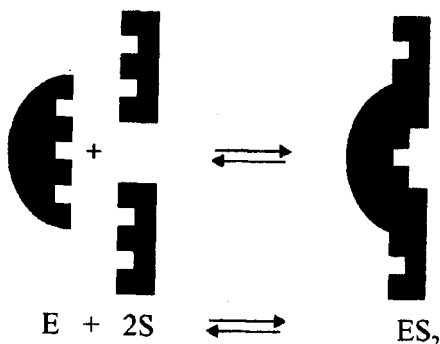
Bundan başqa, təsir mexanizminə görə *rəqabətsiz*, *substrat* və *allosterik inhibitorlar* da mövcuddur.

Fermentativ reaksiyanın sürətinin inhibitorun yalnız və yalnız ES kompleksinə birləşməsi nəticəsində tormozlanmasına *rəqabətsiz inhibirləşmə* deyilir. Rəqabətsiz inhibitor sərbəst fermentlə birləşmir, hətta inhibitor substratın fermentlə birləşməsinə asanlaşdırır, sonra isə yaranmış ES kompleksinə özü birləşərək, reaksiyanı inhibirləşdirir. Bu, inhibirləşmənin nadir növüdür.

Fermentativ reaksiya sürətinin substratın artıq miqdarı ilə tormozlanmasına *substrat inhibirləşmə* deyilir. Bu zaman fermentin fəal mərkəzi ilə substratın bir deyil, iki molekulu birləşmiş olur və katalitik çevrilmələrə məruz qalmayan ES_2 kompleksi əmələ gəlir (şək. 6.15).



Şəkil 6.15. Substrat inhibirləşmənin sxemi.



ES-kompleksi – məhsuldar, ES_2 isə - qeyri-məhsuldar kompleksdir.

Substrat tormazlanma substratın qatılığının azaldılması yolu ilə aradan qaldırıla bilər.

Allosterik tənzimlənmə dördüncülü quruluşa və allosterik effektorları birləşdirən tənzimləyici mərkəzlərə malik olan fermentlərin yalnız müəyyən bir qrupu üçün xarakterikdir. Bir sıra multiferment sistemlərdə birinci (tənzimləyici) ferment həmin multiferment sistemin son məhsulu ilə inhibirləşir. Bu son məhsulun qatılığı normadan artıq olduğu halda, o, birinci (tənzimləyici) fermentin spesifik inhibitoru rolunu oynamağa başlayır. Nəticədə bütün sistemin fəaliyyəti zəifləyir. Bu cür tənzimlənmə **əks əlaqə mexanizmi üzrə inhibirləşmə** və ya **retro-inhibirləşmə** adlanır. Əks əlaqə mexanizmi üzrə inhibirləşmə allosterik tənzimlənmənin məlum olan növlərindən biridir.

“Allosterik” termini yunan “*allo*”, yəni “digər”, və “*stereos*”, yəni “sahə” sözlərindən əmələ gəlir.

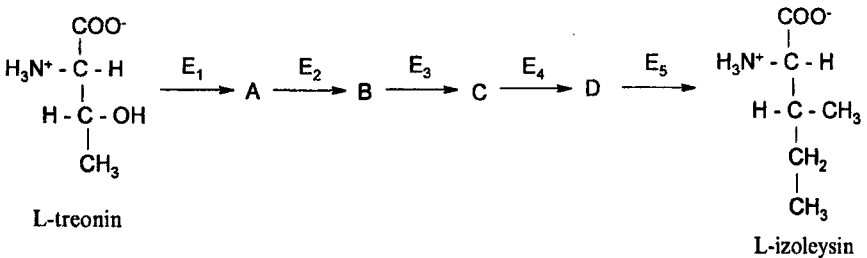
Allosterik fermentlərin molekulları digər fermentlərə nisbətən, adətən, daha iri və mürəkkəb quruluşlu olurlar, bir neçə subvahiddən təşkil olunurlar. Allosterik fermentlər, bütün fermentlərdə olduğu kimi fəal mərkəzə malikdirlər, lakin bu fermentlərin ən azı bir tənzimləyici və ya allosterik mərkəzi var ki, bura fermentin fəallığını tənzimləyən və **allosterik effektor** və ya **modulyator** adlanan metabolit birləşir. Allosterik mərkəz öz effektoruna qarşı spesifikdir. Mənfi effektorlar və ya allosterik inhibitorlar substratın aktiv mərkəzdə çevrilməsini tormozlayırlar, müsbət allosterik effektorlar və ya allosterik aktivatorlar isə, fermentativ reaksiyanı sürətləndirirlər. Allosterik inhibitor qismində, adətən, fermentativ reaksiyalar zəncirinin son məhsulu çıxış edir, aktivator rolunu isə son məhsul deyil, hər hansı bir digər metabolit oynayır. Belə aktivləşdirici metabolit qismində substrat molekulu çıxış edə bilər. Bu cür (yəni effektoru və substratı eyni birləşmə ilə təmsil olunan) allosterik fermentləri **homotrop** fermentlər adlandırırlar ki, onlar da substratı birləşdir-mək qabiliyyətinə malik olan iki və daha artıq mərkəzə malikdirlər. Tənzimləyici metabolit ferment molekulunun müəyyən mərkəzi ilə birləşərək, onun konformasiyasını dəyişir və nəticə

etibarlı fermentin aktivləşməsinə və ya inhibirləşməsinə səbəb olur.

Əgər fermentin allosterik effektoru öz kimyəvi quruluşuna görə fermentin substratından fərqlənirsə, bu halda fermentləri **heterotrop** fermentlər adlandırırlar.

Bəzi fermentlər bir neçə effektorun təsirinə məruz qala bilirlər. Bu halda ferment molekulu üzərində hər bir effektor üçün spesifik allosterik mərkəz mövcud olur.

Retro-inhibirləşmə ilk dəfə olaraq *E.coli* hüceyrələrində izoleysin və STF-in sintezinin tədqiqi zamanı müşahidə olunmuşdur. Allosterik tənzimlənməyə klassik misal olaraq, L-treoninin L-izoleysinə çevrilməsini kataliz edən və 5 ardıcıl fermentativ reaksiyadan təşkil olunmuş bakterial ferment sistemini göstərmək olar (şək. 6.16).



Şəkil 6.16. *E.coli* hüceyrələrində L-treoninin L-izoleysinə çevrilməsinin sxemi.

Bu prosesin ilk mərhələsini kataliz edən ferment – treonindehidrataza – fermentativ reaksiyalar zəncirinin son məhsulu olan izoleysinlə allosterik olaraq inhibirləşir. Bu reaksiyalar zəncirinin aralıq məhsullarından heç biri treonindehidrataza fermentini inhibirləşdirmək qabiliyyətinə malik deyil. Eyni zamanda, izoleysin yalnız birinci fermentin inhibitoru qismində çıxış edir, fermentativ prosesin digər fermentlərinə isə təsir etmir.

FƏSİL VII. FERMENTLƏRİN TƏSNİFATI VƏ NOMENKLATURASI

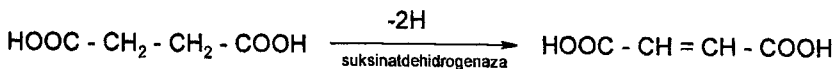
Enzimologiyanın sürətli inkişafı və tədqiq olunmuş fermentlərin sayının xeyli artması ilə əlaqədar olaraq fermentlərin dəqiq identifikasiyasını mümkün edən təsnifatı və nomenklaturası sisteminin işlənilib hazırlanması zəruriliyi yaranmışdır. Əvvəllər fermentləri təsadüfi əlamətlərə (trivial nomenklatura), təsir etdikləri substratın adına (rasional nomenklatura), fermentin kimyəvi quruluşuna və, nəhayət, reaksiyanın və substratın xarakterinə əsasən adlandırdılar. İstifadə olunan nomenklaturaların bir sıra mühüm çatışmayan cəhətləri var idi. Tədqiqatçılar yeni fermenti kəşf edərək, ona təsadüfi adlar verirdilər, bu isə elmə qarışıqlıq salırdı.

Trivial nomenklaturaya misal olaraq, pepsin (yun. *pepsis* – həzm), tripsin (yun. *tripsis* – durulaşdırıram, sıyıqlaşdırıram) və papain (ilk dəfə *Carica papaya* yemiş ağacından ayrılmışdır) fermentlərin adlarını göstərmək olar. Bu fermentlər proteolitik reaksiyaları, yəni zülalların hidrolizini kataliz edirlər. Hüceyrədə oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarını kataliz edən rəngli fermentlər qrupuna sitoxromlar (lat. *sitos* – hüceyrə, *chroma* – rəng) adı verilmişdir.

Rasional nomenklatura nisbətən daha geniş yayılmış nomenklaturadır. Bu nomenklaturaya əsasən fermentin adı substratın adına *aza* şəkilçisinin əlavə olunması ilə əmələ gəlir. Belə ki, nişastanı (yun. *amilon*) parçalayan fermentlərə amilazalar, yağları (yun. *lipos*) hidrolizə uğradan fermentlərə lipazalar, zülalları (proteinləri) – proteinazalar, sidik cövhərini (yun. *urea* – sidik cövhəri) hidrolizə uğradan fermentlərə ureaza adı verilmişdir.

Analitik kimya üsullarının tətbiqi sayəsində prostetik qrupların kimyəvi quruluşunun öyrənilməsində müəyyən nailiyyətlər əldə olunduqdan sonra, fermentlərin yeni nomenklaturası meydana çıxdı. Onları prostetik qrupun təbiətinə görə adlandırmağa başladılar, məs. heminferment (prostetik qrup – hemdir), piridoksalferment (prostetik qrup – piridoksaldır) və s.

Sonradan fermentlərin adlarında həm substratın təbiəti, həm də kataliz olunan reaksiyanın növü öz əksini tapırdı. Məs., kəhraba turşusu molekulundan hidrogeni ayıran ferment suksinat-dehidrogenaza adlanır. Bu ad eyni zamanda həm substratın kimyəvi təbiətini, həm də reaksiya zamanı substratdan hidrogen atomlarının ayrılmasını göstərir:



1956-cı ildə yaradılan Fermentlər üzrə Beynəlxalq Komissiya 1961-ci ildə Beynəlxalq Biokimyəvi Birliyə fermentlərin təsnifatı və nomenklaturasının yeni sxemini təklif etmişdir, və bu təklif Birlik tərəfindən qəbul olunmuşdur. Qəbul olunmuş sistemin əsas məqamları aşağıdakılardır:

1. Reaksiyalar və onları kataliz edən fermentlər 6 sinfə ayrılır ki, bi sinflərin hər biri öz növbəsində bir neçə yarımsinfə (5-dən 20-ədək), yarımsiniflər isə qruplara bölünür. Bəzi hallarda yarımsiniflərin və qrupların təsviri zamanı “digər” sözündən istifadə olunur (bax Əlavələr). Müvafiq bölmələr 99 rəqəmi ilə ifadə olunur, ondan əvvəldə qalan vakant rəqəmlər isə yeni bölmələr üçün nəzərdə tutulub.

Beləliklə, məlum olan fermentlər 6 sinifdə cəmləşdirilir:

1. Oksidoreduktazalar – adətən iki substratın iştirakı ilə gedən oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarını kataliz edirlər.

2. Transferazalar – funksional qrupların və molekul qalıqların daşınması reaksiyalarını kataliz edirlər.

3. Hidrolazalar – hidrolitik parçalanma reaksiyalarını kataliz edirlər.

4. Liyazalar – substratdan qeyri-hidrolitik yolla atom qruplarının ikiqat rabitələrin əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan ayrılması reaksiyalarını kataliz edirlər (və ya ikiqat rabitələrə atom qruplarının birləşməsini kataliz edirlər).

5. İzomerazalar – bir molekul daxilində fəza və ya struktur dəyişikliklərin baş verməsi reaksiyalarını kataliz edirlər.

6. Liqazalar (sintetazalar) – enerji ilə zəngin olan rabitələrin parçalanması ilə müşayiət olunan sintetik reaksiyaları kataliz edirlər.

II. Fermentin adı iki hissədən ibarətdir: birinci hissə - substratın (və ya substratların) adını əks etdirir; ikinci hissə kataliz olunan reaksiyanın tipini əks etdirir və *aza* şəkilçisi ilə bitir.

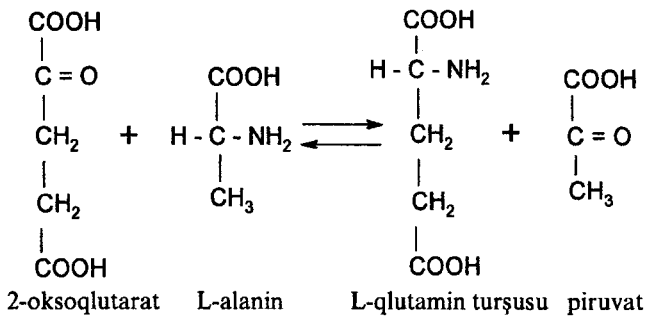
III. Əlavə məlumat. Əgər bu məlumata ehtiyac varsa, o, mötərizədə göstərilir. Məsələn,



reaksiyasını kataliz edən fermentin adı elmi nomenklaturaya əsasən L-malat:NAD⁺ oksidoreduktaza (dekarboksilləşdirici) olacaq. Yəni fermentin təsiri altında eyni zamanda həm oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyası, həm də substratın dekarboksilləşməsi baş verir.

IV. Hər bir fermentə fermentlərin təsnifatına (FT) əsasən 4 rəqəmli şifr verilib. Birinci rəqəm fermentin hansı sinfə mənsub olduğunu göstərir. Fermentlərin şifrinin ikinci rəqəmi fermentin müəyyən sinfin hansı yarımşifinə aid olduğunu göstərir. Fermentin şifrinin üçüncü rəqəmi fermentin aid olduğu qrupu göstərir. Və, nəhayət, fermentin şifrinin dördüncü rəqəmi həmin fermentin qrupdakı sıra nömrəsini göstərir. Beləliklə, məsələn heksokinaza fermentinin şifri FT 2.7.1.1-dir. Şifr birinci rəqəmi – 2 – onu göstərir ki, bu ferment 2-ci sinfə (yəni transferazalar sinfinə) daxildir, üçüncü rəqəm – 7 – fermentin transferazalar sinfinin 7-ci yarımşifinə (yəni fosfat qalığı daşıyan transferazalara) mənsub olduğunu, üçüncü rəqəm – 1 – həmin yarımşifin 1-ci qrupuna aid olduğunu göstərir. Sonuncu 1 rəqəmi isə, bu fermentin qrupdakı sıra nömrəsini göstərir.

Məs., L-alanin və α-ketoqlutarat turşusu arasında transaminləşmə reaksiyasını kataliz edən piridoksalferment elmi nomenklaturaya əsasən L-alanin: 2-oksoqlutarat-aminotransferaza adlanır:



Fermentin adında eyni zamanda üç xüsusiyyət öz əksini tapır: 1. substrat qisminə L-alanin çıxış edir; 2. akseptor qisminə 2-oksoqlutarat turşusu çıxış edir; 3. reaksiya zamanı substratdan akseptora amin qrupu daşınır.

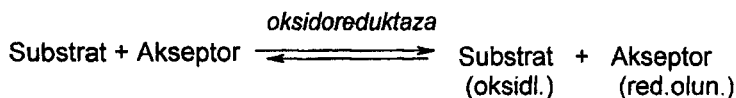
Təbii ki, elmi nomenklatura öz dəqiqliyinə görə, digər nomenklaturalara nisbətən, xeyli üstündür, lakin bəzi hallarda köhnə trivial adlara nisbətən daha mürəkkəb olur. Belə ki, sidik cövhərinin karbon dioksidi və ammoniyaka qədər parçalanmasını kataliz edən ureaza (trivial adı) fermenti elmi nomenklaturaya əsasən karbamid-amidohidrolaza adlanır. Və ya treqalozanın hidrolizini kataliz edən treqalaza fermentinin elmi adı treqaloza-1-qlükohidrolazadır.

Yeni elmi (sistemik) adların mürəkkəbliyini nəzərə alaraq, Kommissiya bu adlarla yanaşı fermentlərin trivial adlarının saxlanılmasını da təklif etdi. Bəzi hallarda "Tövsiyyə olunan adlar" rubrikası altında verilən trivial adlardan geniş istifadə olunur.

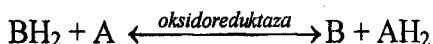
7.1. Oksidoreduktazalar

Bu sinfə aid olan fermentlər oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarını kataliz edirlər. Oksidləşməyə məruz qalan substart hidrogen donoru qisminə çıxış edir. Fermentlərə sistemik adlar "donor:akseptor oksidoreduktaza" prinsipi ilə verilir. Bu fermentlər bioloji oksidləşmə və reduksiyaetmə reaksiyalarında və, deməli, tənəffüs və qıcırma proseslərində iştirak edirlər.

Təsir etdikləri birləşmələrin təbiətindən asılı olaraq, oksidoreduktazaların 20 yarım sinfi mövcuddur ki, onlar da öz növbəsində qruplara bölünürlər. Oksidoreduktazaların iştirakı ilə gedən reaksiyaları sxematik olaraq belə göstərmək olar:



Oksidləşmə H atomlarının (elektronların) substratdan ayrılması, reduksiya olunma isə H atomlarının (elektronların) akseptora birləşməsi deməkdir. Əgər akseptoru A, substratı isə B hərfi ilə işarə etsək, bu halda oksidoreduktazaların iştirakı ilə gedən oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyasının tənliyi bu cür yazıla bilər:

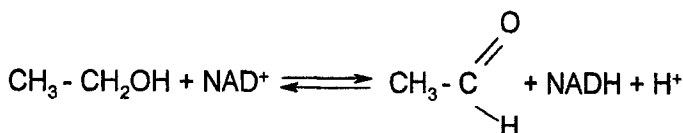


Oksidoreduktazalar bir sıra xarakterik xüsusiyyətlərə malikdirlər. Birincisi, oksidoreduktazalar canlı hüceyrədə sistemlər əmələ gətirirlər, və bu sistemlərdə hidrogen atomlarının və ya elektronların ilkin substratdan sonuncu akseptoradək çoxmərhələli ötürülməsi baş verir. İkinci xüsusiyyət ondan ibarətdir ki, məhdud sayda kofermentlərə malik ikikomponentli fermentlər olduğuna baxmayaraq, oksidoreduktazalar çoxsaylı müxtəlif oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyalarını kataliz etmək qabiliyyətinə sahibdirlər. Bu onunla əlaqədardır ki, eyni koferment müxtəlif apofermentlərlə birləşərək, hər dəfə bu və ya digər substrata və ya akseptora qarşı spesifik olan oksidoreduktaza əmələ gətirir. Və, nəhayət, oksidoreduktazaların üçüncü xüsusiyyəti odur ki, onlar, bir qayda olaraq, enerjinin ayrılması ilə müşayiət olunan kimyəvi reaksiyaları kataliz edirlər.

Hidrogen atomlarını və ya elektronları oksidləşmə zəncirinin bir komponentindən digərinə (oksigendən fərqli bir akseptora) ötürən oksidoreduktazalar anaerob dehidrogenazalar, birbaşa oksigen atomlarına ötürən oksidoreduktazalar isə aerob dehidrogenazalar və ya oksidazalar adlanırlar.

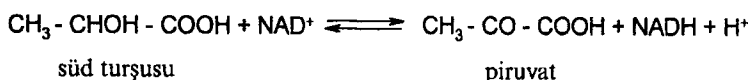
Hal-hazırda məlum olan oksidoreduktazaların yarısından çoxu koferment qisminə NAD^+ daşıyır. Bu və ya digər spesifik zülalla birləşərək, NAD^+ spesifik ikikomponentli ferment əmələ gətirir. NAD^+ daşıyan fermentlərə piridinproteidlər deyilir. Piridinproteidlər (PP) anaerob dehidrogenazalara aiddirlər, yəni bu fermentlər substratdan ayrılan hidrogen atomları və elektronları oksigenə deyil, oksidləşmə zəncirində qonşuluqda yerləşən fermentə ötürürlər.

Piridinproteidlərə misal olaraq alkoqoldehidrogenaza (sistemik adı – alkoqol: NAD^+ oksidoreduktaza, FT 1.1.1.1) fermentini göstərmək olar. Bu ferment etil spirtini oksidləşdirir və reaksiya nəticəsində sirkə aldehidini əmələ gəlir:



Bu reaksiya spirtli qızcırma prosesində böyük rol oynayır.

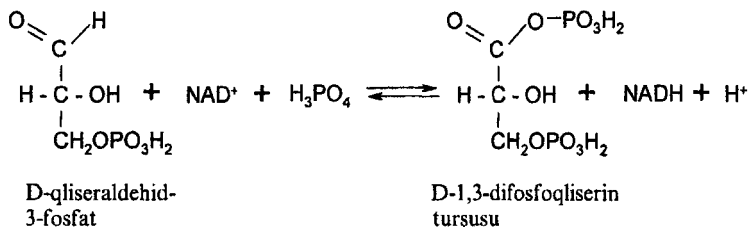
NAD -daşıyan digər fermentin trivial adı laktatdehidrogenaza, sistemik adı isə L-laktat : NAD^+ oksidoreduktazadır (FT 1.1.1.27). Bu fermentlə kataliz olunan reaksiyanın tənliyi bu cür yazıla bilər:



Laktatdehidrogenaza fermenti süd-turşulu qızcırma prosesində böyük rol oynayır. Süd turşusunun əmələ gəlməsi həmçinin oksigen çatışmazlığı şəraitində cücərən toxumlarda və saxlanılan kartof yumrularında baş verir.

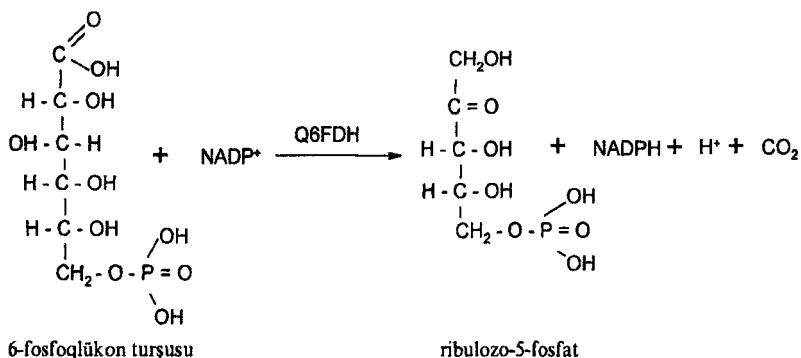
NAD -tərkibli dehidrogenazaların nümayəndələrindən biri də qliseraldehidfosfatdehidrogenazadır (sistemik adı – D-qliseraldehid-3-fosfat: NAD^+ oksidoreduktaza (fosforlaşdırıcı), FT 1.2.1.12). Bu fermentin katalizi ilə gedən oksidləşmə-reduksiyaetmə reaksiyası fosfat turşusu qalığının substrata birləşməsi ilə müşayiət olunur.

Reaksiya aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:

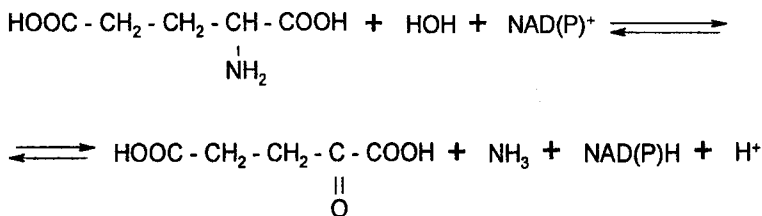


Piridinfermentlər koferment qismində NAD^+ -dan başqa nikotinamidadenindinukleotidfosfatdan (NADP^+) da istifadə edə bilirlər. NADP^+ spesifik zülallarla birləşərək piridinproteidlərin böyük bir qrupunu əmələ gətirir. NADP^+ -in iştirakı ilə baş verən oksidləşmə NAD^+ -ın iştirakı ilə gedən prosesin mexanizmi ilə analogidir.

NADP -tərkibli dehidrogenazalara qlükozo-6-fosfatdehidrogenaza (Q6FDH) (FT 1.1.1.49) fermentini misal göstərmək olar. Bu ferment pentozofosfat yolunun əsas fermentlərindən biridir, və hüceyrədə reduksiya olunmuş qlütationun normal səviyyəsini, yağ turşularının və izoprenoidlərin sintezini təmin edir. İnsanda Q6FDH fermentinin fəallığının irsi çatışmazlığı hemolitik qeyri-sferositar anemiyaya səbəb olur. Bu fermentlə kataliz olunan reaksiyanı aşağıdakı kimi təsvir etmək olar:

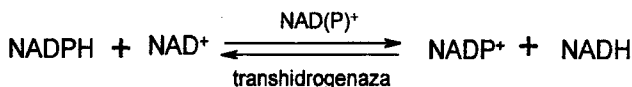


Bəzi fermentlər hidrogen atomlarının akseptoru, yəni koferment qismində həm NAD^+ , həm də NADP^+ -dən istifadə edirlər. Bunlara misal olaraq qlutamatdehidrogenazı (sistematik adı – L-qlutamat: NAD(P)^+ oksidoreduktaza (dezaminləşdirici), FT 1.4.1.3) göstərmək olar. Fermentin substratı – L-qlutamatdır, reaksiya məhsulu isə α -ketoqlutar turşusudur. Reaksiya aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq gedir:



Bu reaksiya böyük fizioloji mahiyyət daşıyır. Məhz bu reaksiya sayəsində mikroorqanizmlər və bitkilərdə amonyakın mənimsənilməsi baş verir.

NADH və NADP^+ , eləcə də NADPH və NAD^+ arasında hidrogen atomları və elektronlar mübadiləsi gedə bilər, və bu proses spesifik transhidrogenaza fermenti ilə kataliz olunur:

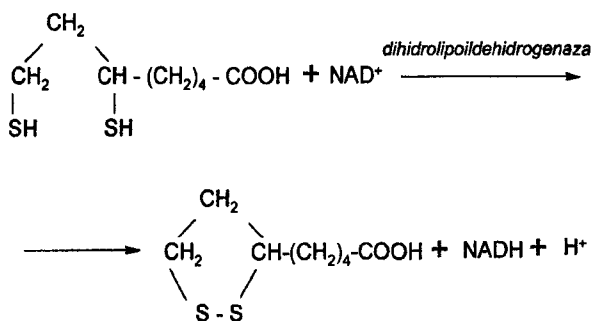


Oksidləşmə-reduksiyaetmə zəncirində reduksiya olunmuş piridinproteidlərin partnyoru qismində, bir qayda olaraq, flavoproteidlər (FP) çıxış edirlər. Beləliklə, əksər hallarda FP-lər ikincili dehidrogenazalara aid olunurlar, lakin bəzi flavoproteidlər, xüsusilə də FAD-tərkibli fermentlər, hidrogen atomlarını birbaşa substratdan ayırmaq qabiliyyətinə malikdirlər, yəni ilkin (birincili) dehidrogenazalar kimi fəaliyyət göstərirlər. Flavoproteidlərin tərkibində B_2 vitamininin törəmələri olan FMN və ya FAD kofermentləri mövcuddur.

Flavin fermentlər qrupuna daxil olan fermentlərdən biri nitratoreduktazadır (sistematik adı – NAD(P)H : nitratoksidoreduktaza, FT 1.6.6.2). Bu ferment nitrat turşusunun reduksiyasını

kataliz edir. Nitratreduktazanın normal fəaliyyəti üçün molibden tələb olunur. Ümumiyyətlə, müəyyən olunub ki, digər flavoproteidlərin fəaliyyəti də metal ionlarının olub-olmamasından asılıdır, lakin bu və ya digər flavoproteid üçün tələb olunan metal ionunun təbiəti həm fermentin təbiətindən, həm də fermentin alınma mənbəyindən asılıdır. Nitratreduktazanın substratı NADH və ya NADPH-dır. Reaksiya nəticəsində NAD^+ və ya NADP^+ əmələ gəlir. Fermentin kofermenti FAD və ya FMN molekuludur.

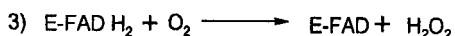
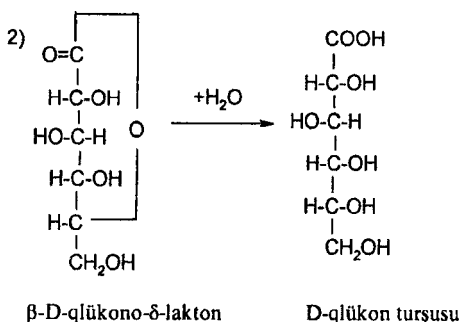
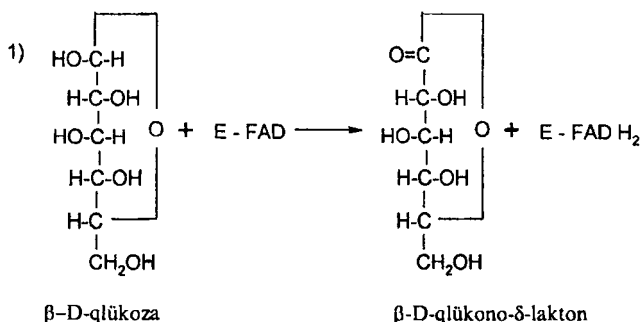
Flavindehidrogenazalara aid olan digər bir ferment dihidrolipoildehidrogenazadır ki, bu FAD-tərkibli ferment piruvatı asetil-CoA-ya qədər oksidləşdirən piruvatdehidrogenaza kompleksinə daxildir. Molekul çəkisi bir neçə milyon dalton olan bu kompleks 3 fermentdən təşkil olunub və onlardan biri də dihidrolipoildehidrogenazadır. Piroüzüm turşusunun oksidləşməsi mərhələli bir prosesdir və hər bir mərhələ piruvatdehidrogenaza kompleksinə daxil olan spesifik bir fermentlə kataliz olunur. Reaksiya nəticəsində kompleksi təşkil edən fermentlərin tərkibinə daxil olan lipoy turşusu reduksiya olunur. Bu reduksiya olunmuş lipoy turşusunun ilkin quruluşunun bərpa olunması məhz dihidrolipoildehidrogenaza fermentinin katalizi ilə baş verir. Bu fermentin kofermenti FAD-dır. FAD vasitəsilə ferment dihidrolipoy turşusundan alınan hidrogen atomlarını NAD^+ -a ötürür:



Oksidoreduktazaların kofermentləri qismində həmçinin xironlar da çıxış edə bilər. Ubixinon-daşıyan fermentlər H atomları və elektronların daşınmasını təmin edən oksidoreduktazalar ansamblının mühüm bir komponentidirlər.

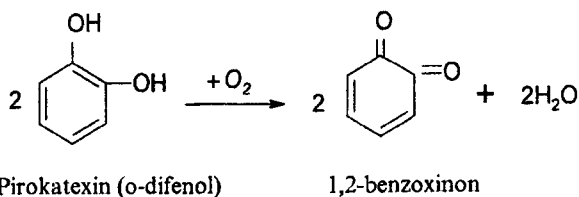
Müzakirə etdiyimiz oksidoreduktazalar anaerob dehidrogenazalara aid olunurlar, və bu fermentlər tənəffüs prosesinin ilkin mərhələsini, yəni hidrogen atomlarının oksidləşməyə məruz qalan substratdan ayrılmasını kataliz edirlər. Yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, anaerob dehidrogenazalarla yanaşı, oksidoreduktazalara aerob dehidrogenazalar və ya oksidazalar da aid olunur.

Trivial adı qlükozooksidaza, sistematik adı isə β -D-qlükoza: oksigen 1 – oksidoreduktaza (FT 1.1.3.4) olan fermentə diqqət yetirək. FAD-tərkibli olan bu ferment substratdan hidrogen atomlarını alaraq, onları birbaşa oksigen molekuluna ötürmək qabiliyyətinə malikdir. Qlükozooksidaza artıq dərəcədə spesifik bir fermentdir. Belə ki, o, yalnız β -D-qlükozanın və bəzi hallarda 2-dezoksi-D-qlükozanın oksidləşdirməsini kataliz edir, digər şəkərlərə isə praktiki olaraq təsir etmir. Fermentlə kataliz olunan reaksiyanı belə təsvir etmək olar:



Göründüyü kimi, reaksiyanın ilk mərhələsində β -D-qlükoza molekulundan iki hidrogen atomu ayrılaraq qlükozooksidazanın tərkibinə daxil olan FAD-la birləşir, nəticədə β -D-qlükoza β -D-qlükono- δ -laktonadək oksidləşir, ferment isə reduksiya olunur. β -D-qlükono- δ -lakton spontan olaraq D-qlükon turşusuna çevrilir. Reduksiya olunmuş ferment isə substratdan alınmış hidrogen atomlarını oksigenə ötürərək, özünün ilkin quruluşunu bərpa edir. Reaksiya nəticəsində əmələ gəlmiş hidrogen peroksidi canlı hüceyrələr üçün toksiki olduğu səbəbindən dərhal katalaza fermentinin təsirinə məruz qalaraq oksigenə və suya parçalanır.

Praktiki əhəmiyyət daşıyan oksidazalar sırasına *o*-difenolksidaza fermenti (FT 1.10.3.1) də aiddir. Fermenti həm də polifenolksidaza da adlandırırlar. Polifenolksidaza *o*-difenolları, polifenolları, aşılavıcı maddələri və monofenolları, xüsusilə də tirozinin oksidləşməsini kataliz etməyə qadirdir. Reaksiya pirokatexin misalında aşağıdakı tənliklə təsvir oluna bilər:

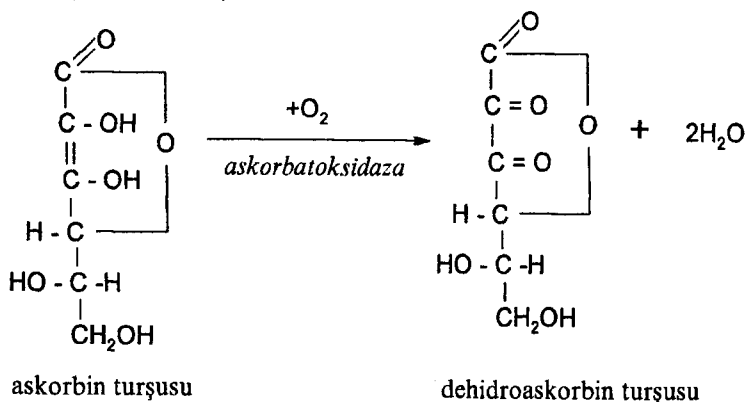


Polifenolksidaza mis-tərkibli fermentlərə aiddir. O, molekulyar oksigen hesabına ortodifenolların oksidləşməsini kataliz edir, melaninin əmələ gəlməsində iştirak edir.

Bu fermentin təsirini bəzi hallarda hətta gözlə görmək olar. Belə ki, alma meyvəsini və ya kartof yumrusunu ortadan yarsaq, yarığın səthi tündləşir, bu isə məhz *o*-difenolksidaza fermentinin təsiri ilə əlaqədardır. Bu baxımdan qida sənayesində, məsələn kartof və ya almaların qurudulması zamanı polifenolksidaza fermenti mənfi rol oynayır, çünki, o, kəsiklərin tündləşməsinə səbəb olaraq, onları xoşagəlməz görünüşlü edir. Buna görə də belə hallarda polifenolksidazanın inhibirləşdirmək gərəkdir.

Lakin bəzi proseslərdə *o*-difenoloksidaza, əksinə, müsbət mahiyyət daşıyır. Məsələn, qara çayın istehsalı zamanı onun təsiri ilə çay yarpaqlarının tərkibindəki aşılıyıcı maddələr oksidləşir. Reaksiya nəticəsində əmələ gələn xinonlar yenə də oksidləşərək və polimerləşərək qara çayın rəngini müəyyən edən tünd rəngli birləşmələrə çevrilirlər.

Oksidazalara aid olan fermentlərdən birinə də diqqət yetirək. Bu, askorbin turşusunu, yəni C vitaminini, dehidroaskorbin turşusunadakı oksidləşməsini kataliz edən askorbatoksidazadır (FT 1.10.3.3):



Askorbatoksidaza da, *o*-difenoloksidaza kimi, mis-tərkibli fermentlərə aiddir və müxtəlif qida məhsulların, məsələn kartof yumrularının, alma meyvələrinin, müxtəlif tərəvəzlərin qurudulması zamanı xoşagəlməz təsirə malikdir. Bu fermentin təsiri nəticəsində məhsulda C vitamininin miqdarı azalır, bu isə hazır quru məhsulun qida dəyərinin azalmasına gətirib çıxarır. Bu səbəbdən tərəvəz və meyvələrin qurudulması zamanı polifenoloksidaza ilə yanaşı, askorbatoksidaza fermentinin fəallığını da inhibirləşdirmək lazımdır.

Hüceyrədə baş verən oksidləşmə-reduksiyaetmə prosesinin daha mürəkkəb və geniş yayılmış variantı substratdan ayrılmış hidrogen atomlarının sitoxrom sistemi vasitəsilə oksidləşmə-

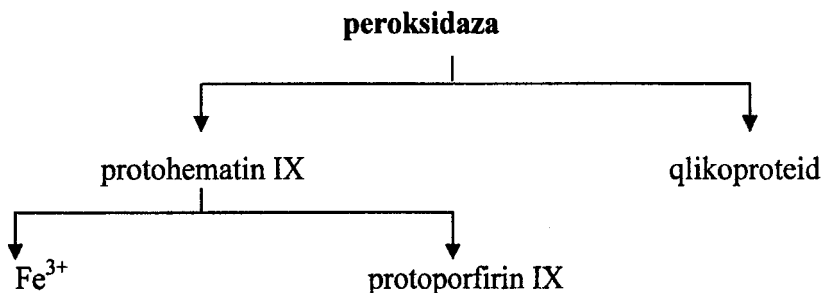
sidir. Sitoxrom sistemi prostetik qrup qismində dəmirporfirinləri daşıyan bir neçə oksidoreduktazadan təşkil olunub (bax Fəsil III).

Oksidoreduktazalar sinfinə həmçinin katalaza və peroksidaza kimi fermentlər də aiddirlər. Katalaza (FT 1.11.1.6) təbiətdə ən geniş yayılmış fermentlərdən biridir, ona heyvan, bitki orqanizmlərində və bütün aerob bakteriyalarında rast gəlinir. Bu ferment nəinki hidrogen peroksidini suya və molekulyar oksigenə parçalanmasını, eləcə də, lakin bir qədər zəif dərəcədə, müxtəlif spirtlərin və digər maddələrin peroksidlər vasitəsilə oksidləşməsini kataliz edir. Katalaza xromoproteidlərə aid edilir, onun zülal hissəsi, adətən, eyni quruluşlu dörd subvahiddən təşkil olunur, qeyri-zülali hissəsi isə həmlə təmsil olunub. Bəzi bakteriyalar, məsələn süd-turşu bakteriyaları bu fermentdən məhrumdur. Bu onunla əlaqədardır ki, həmin bakterilər fermentin hem təbiətli prostetik qrupunu sintez etmək qabiliyyətinə malik deyillər. Bir sıra süd turşusu bakteriyalarında hem qrupuna malik olmayan və psevdokatalaza adlanan ferment aşkar olunub. Psevdokatalaza 6 subvahiddən və 1 manqan atomundan təşkil olunub.

Katalaza toxumalarda, xüsusilə də qaraciyərdə, geniş yayılmış fermentlərdəndir. Bu ferment hüceyrənin müdafiə sistemini təşkil edən fermentlərə aiddir və birincili antioksidant funksiyasını yerinə yetirir, yəni fəal oksigen radikallarının detoksifikasiyasını kataliz edən əsas fermentlərdən biridir.

Peroksidaza (FT 1.11.1.7) fenollar, aminlər, bəzi heterotsiklik birləşmələr kimi müxtəlif üzvi maddələrin hidrogen peroksidi vasitəsilə oksidləşməsini kataliz edir. Peroksidaza heyvan, ali və ibtidai bitkilər və bəzi bakteriyalar üçün xarakterikdir.

Hal-hazırda kristallik peroksidaza fermenti müxtəlif mənbələrdən, məsələn leykositlərdən, süddən, qıtıgotundan, müxtəlif heyvan toxumalarından ayrılır. Qıtıgotu bitkisindən alınmış peroksidaza daha yaxşı öyrənilmişdir. O, protohematin IX və karbohidratla birləşmiş zülaldan təşkil olunub. Sxematik olaraq qıtıgotu peroksidazasının tərkibi bu cür təsvir oluna bilər:



Bitki hüceyrələrində peroksidazaya malik və antimikrob müdafiə funksiyasını daşıyan xüsusi orqanoidlər mövcuddur. Peroksidaza həmçinin liqнинin sintezi və parçalanmasında iştirak edir. Tibbdə kəskin, xroniki bakterial və virus (o cümlədən QİÇS), infeksiyon, allergik, autoimmun, endokrinoloji xəstəliklərin, eləcə də immunoloji analiz üsulu ilə bədxassəli şişlərin diaqnostikasında peroksidazadan geniş istifadə olunur.

7.2. Transferazalar

Transferazalar müxtəlif atom qruplarının bir molekuldan digərinə daşınmasını kataliz edən fermentlərdirlər. Kataliz zamanı daşınan qrupun təbiətindən asılı olaraq, bu sinif 8 yarımsinfə bölünür (bax Əlavələr).

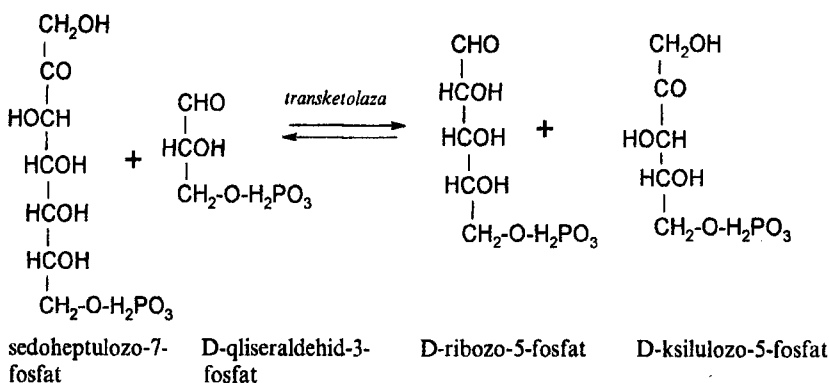
Qeyd etmək lazımdır ki, transferazalar, bir qayda olaraq, mürəkkəb fermentlərdir və onlar müxtəlif yarımsiniflərə aid olaraq fermentlər müxtəlif təbiətli kofermentlərə malikdirlər. Məs., aminotransferazaların kofermenti qismində piridoksalfofat çıxış edir. Birkarbonlu qalıqların qlisinə daşınmasını kataliz edən transferazalar pteroproteidlərdirlər, şəkər qalıqlarını daşıyan fermentlərin kofermenti qismində isə nukleotidlər çıxış edir. Beləliklə, transferazaların tərkibinə daxil olan kofermentin təbiətindən asılı olaraq, reaksiya zamanı müxtəlif təbiətli qruplar daşınır.

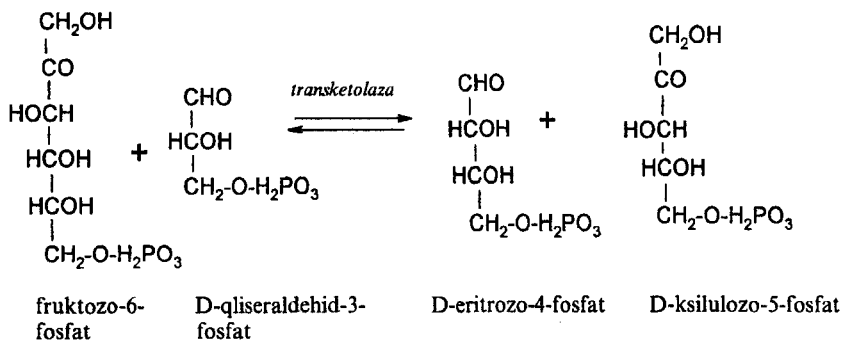
Transferazaların birinci yarımsinfi birkarbonlu qrupların daşınmasını kataliz edən fermentlərdirlər. Bunlara bioloji metil-

ləşməni təmin edən metiltransferazalar aiddir. Bu fermentlər üçün metil qrupunun donoru qismində S-adenozilmetionin çıxış edir.

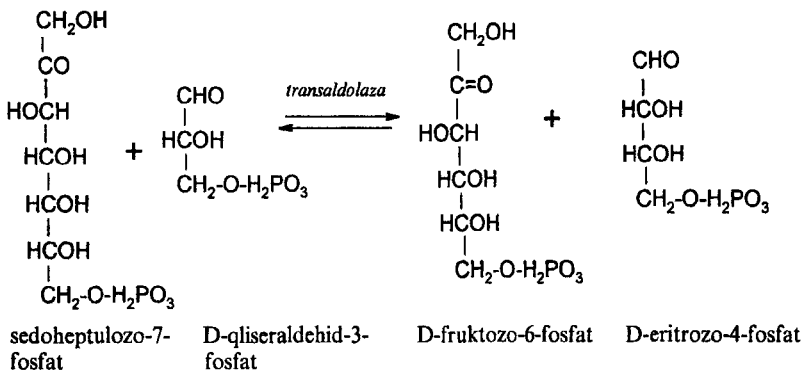
Fermentlərin kimyəvi təbiətini müzakirə edərkən, biz artıq qeyd etmişdik ki, - CH₃, - CH₂OH, - CHO və ya - CH-NH kimi birkarbonlu qrupların daşınmasında kofermenti tetrahidrofolatla təmsil olunmuş fermentlər iştirak edir. Bu qrupların daşınmasını kataliz edən fermentlər purinlərin və digər birləşmələrin biosintezində mühüm rol oynayırlar.

Transferazaların ikinci yarımında aldehid və keton qruplarını daşıyan fermentlər cəmlənmişdir. Bu fermentlərə misal olaraq transaldolaza və transketolaza fermentlərini göstərmək olar. Maya hüceyrələrində və yaşıl bitkilərdə xüsusi fəallığa malik transketolaza qlikol aldehidinin daşınmasını, transaldolaza isə dihidroasetonun daşınmasını kataliz edirlər. Transaldolazadan fərqli olaraq, transketolaza, kofermenti tiaminpirofosfatla təmsil olunmuş mürəkkəb fermentdir. Bu fermentlər həm fotosintez prosesində, həm də pentozofosfatların mübadiləsində mühüm rol oynayırlar. Transketolaza fermenti ilə kataliz olunan reaksiyalara aşağıdakıları misal göstərmək olar (trivial və sistemik adları müqayisəsi məqsədilə: birinci reaksiyanı kataliz edən fermentin trivial adı transketolaza olduğu halda, onun sistemik adı sedoheptulozo-7-fosfat: D-qliseraldehid-3-fosfat qlikolaldehid-transferazadır):



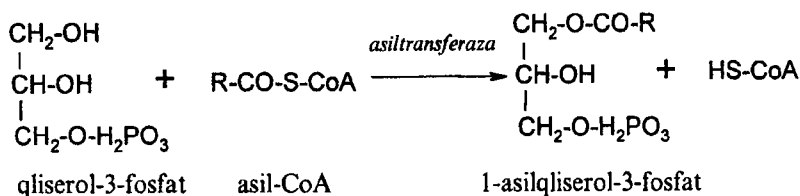


Transaldolaza fermenti isə, dihidroksiaseton qrupunun sedoheptulozo-7-fosfatdan qliseraldehid-3-fosfat molekuluna daşınmasını kataliz edir:

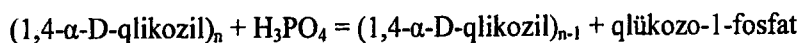


Transferazalar sinfinin növbəti yarımsinfi asiltransferazalardır. Bu fermentlərin, demək olar ki hamısı koenzim A-nın (CoA) iştirakı ilə asil qrupların daşınmasını kataliz edirlər. Burada enerji ilə zəngin (makroergik) rabitələr əmələ gəlir, yəni turşunun karboksil qrupu SH-CoA ilə birləşərək tiol efirini əmələ gətirir və bu rabitənin hidrolizi nəticəsində ayrılan enerji ATP molekulunun bir makroergik rabitəsinin sintezi üçün kifayətdir. Asiltransferazalar maddələr mübadiləsinin müxtəlif proseslərində, xüsusilə də yağların mübadiləsində mühüm rol oynayırlar. Məs., bildiyimiz kimi, triqliseridlərin biosintezi bir neçə mərhə-

lədə gedir, və bu proses nəticəsində asiltransferazaların iştirakı ilə qliserol-3-fosfat molekuluna asil-CoA törəmələrindən asil qalıqlarının daşınması baş verir. Bu prosesin ilk mərhələsini belə təsvir etmək olar:



Qlikoziltransferazalar şəkər qalıqlarının müxtəlif akseptorlara, xüsusilə də digər şəkər molekulunun OH-qrupuna, sərbəst fosfat qrupuna və ya heterotsiklin tərkibinə daxil olan azot atomuna daşınması reaksiyalarını kataliz edir. Fermentlərin bu yarımşifinə misal olaraq fosforilazaları göstərmək. Fosforilazalar qlikozil qrupların müxtəlif qlikozidlər və qeyri-üzvi fosfat arasında daşınması reaksiyalarını kataliz edirlər:



Heyvan toxumalarının fosforilazası əsasən biodeqradativ, yəni şəkərlərin parçalanmasında iştirak edən ferment olduğu halda, bitkilərin müvafiq fermenti nişastanın həm parçalanması, həm də sintezini kataliz edir.

Müəyyən olunub ki, əzələ toxumasının fosforilazası iki formada: fosforlaşmış fəal fosforilaza *a* və defosforlaşmış qeyri-fəal fosforilaza *b* formalarında mövcuddur. Bu fermentin fəallığının tənzimlənməsi Fermentlərin fəallığının tənzimlənməsi fəslində daha geniş şəkildə müzakirə olunur.

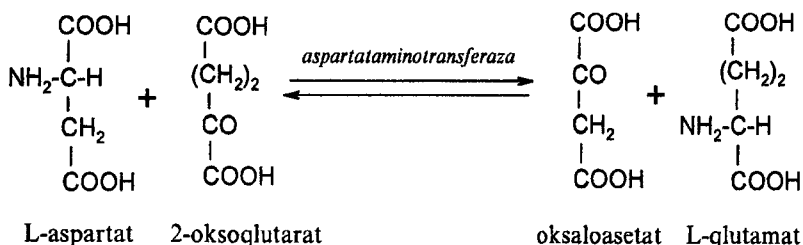
Fermentlərin bu yarımşifinə aid olan digər ferment saxarozosintazadır ki, bu ferment qlikozil radikalları mənbəyi qismində nukleozidfosfat törəmələrindən istifadə edir.



Alkiltransferazalar fermentlərin heterogen yarımşiniflərindən biridir. Bu fermentlər müxtəlif sintetik proseslərdə, məsələn izoprenoidlərin, o cümlədən steroidlərin, terpenoidlərin, karotinooidlərin, ubixinonların və s. biosintezində, tiaminin, riboflavinin və digər birləşmələrin sintezində iştirak edirlər.

Transferazalar sinfinin vacib nümayəndələrindən biri də transaminazalardır (aminotransferazalar). Transaminazalar amin turşuların metabolizmində mühüm rol oynayan fermentlərdirlər. Bu fermentlərin iştirakı ilə gedən reaksiyalarda NH_2 -qrupu ilə birgə elektron cütünün və protonun amindən oksobirləşməyə daşınması baş verir. Formal olaraq, bu reaksiyalar akseptorun (oksturşunun) reduksiyaedici aminləşməsi və donorun (amin turşusunun) oksidləşdirici dezaminləşməsi kimi təsvir oluna bilər. Digər sözlə, adı çəkilən fermentləri oksidoreduktazalar sinfinə aid etmək olardı. Lakin bu fermentlərin transferazalar sinfinə aid edilməsinin əsasında yenidən aminləşmə reaksiyalarının mexanizmi durur.

Aminotransferazaları xarakterizə edən əlamətlərdən biri də odur ki, onlar ikikomponentli fermentlər olmaqla, bütün nümayəndələrin qeyri-zülali hissəsi piridoksalfosfatla təmsil olunmuşdur. Bu fermentlərin təsir mexanizmi Fəsil V-də aspartataminotransferaza (sistematik adı – L-aspartat:2-oksoqlutarat aminotransferaza, FT 2.6.1.1) fermentinin kataliz etdiyi reaksiya misalında ətraflı müzakirə olunur:

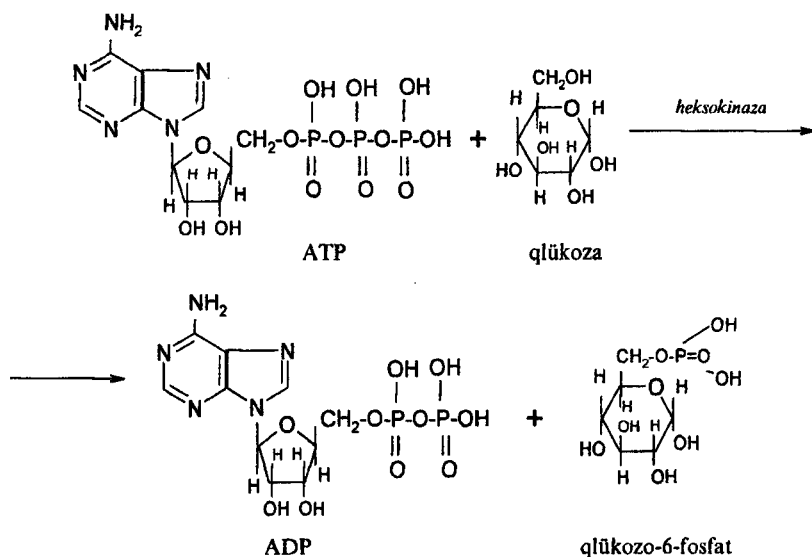


Transaminazalar tibbdə mühüm diaqnostik əhəmiyyətə malikdirlər. Onların qandakı fəallığı orqanizmin vəziyyəti və müxtəlif orqanların (qaraciyər, ürək, əzələ) hüceyrələrinin zədə-

lənməsi ilə əlaqədardır, və diaqnostikada bu fermentlərin fəallığı-
nın təyin olunmasından geniş istifadə olunur.

Transferazalar sinfinin növbəti yarım sinfində fosfor-
tərkibli qrupları daşıyan fermentlər cəmlənir. Bu reaksiyalar
maddələr mübadiləsində xüsusi əhəmiyyət daşıyırlar, çünki
fosfotransferazaların təsiri altında bir sıra üzvi maddələrin daha
yüksək kimyəvi fəallığa malik və daha asanlıqla mübadilə proses-
lərinə qatılan fosfor efriləri əmələ gəlir. Fosfat qrupları spirt,
karboksil, azot-tərkibli, fosfor-tərkibli və digər qruplara daşına
bilər ki, bunun da əsasında fosfotransferazalar bir neçə qrupa
bölünürlər.

Fosfat qrupunun donoru qismində isə, bir qayda olaraq
ATP çıxış edir, lakin digər mənbələrdən də istifadə oluna bilər.
Bu fermentlərə misal olaraq, qlükoza, mannoza və fruktozanın 6-
cı karbon atomunun fosforlaşmasını kataliz edən heksokinaza
(sistemik adı – ATP: D-heksoza 6-fosfotransferaza, FT 2.7.1.1)
fermentini göstərmək olar:



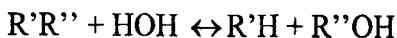
Adətən qlükozanın orqanizmdə çevrilmələri məhz bu
reaksiya ilə başlanır.

Fosfotransferazaların maddələr mübadiləsində böyük rola malik olan digər bir qrupunu da qeyd etmək lazımdır. Bunlar proteinkinazalardır (sistemik adı – ATP: protein fosfotransferaza, FT 2.7.1.37) Proteinkinazalar fosfat qrupunun ATF-dən zülal molekullarına daşınmasını kataliz edirlər. Fosfat qalıqı adətən zülalın tərkibindəki serin, treonin, tirozin, lizin və histidin amin turşuları qalıqlarına ötürülür və nəticə etibarilə zülalların bioloji fəallığı kəskin dərəcədə dəyişir. Bu proses fermentlərin fəallığının tənzimlənməsi yollarından birini təşkil edir (bax Fəsil IX).

Transferazaların sonuncu yarımşifini kükürd-tərkibli qrupların daşınmasını kataliz edən fermentlər təşkil edir. Bunlara sulfid-, sulfo- və CoA-transferazalar aid olunur. Belə ki, 2.8.1.1 şifirli ferment tərkibinə daxil olan disulfid qrupunun iştirakı ilə kükürd atomunun tiosulfatdan sianid molekuluna daşınmasını kataliz edir. 2.8.2 yarımqrupuna daxil olan sulfotransferazalara isə, bir sıra üzvi sulfatların əmələ gəlməsi reaksiyalarını kataliz edən fermentlər daxildir. CoA-transferazalara gəldikdə isə, bu fermentlər, asiltransferazalarda olduğu kimi, koenzim A-nın asil törəmələrinə təsir edirlər, lakin asiltransferazalardan fərqli olaraq asil qrupunu deyil, koenzim A-nı daşıyırlar.

7.3. Hidrolazalar

Hidrolazalar hidroliz reaksiyalarını, yəni suyun iştirakı ilə nisbətən mürəkkəb maddələrin daha sadə quruluşlu maddələrə dək parçalanmasını (bəzi hallarda hətta mürəkkəb birləşmələrin sintezini) kataliz edirlər. Təsir etdikləri rabitənin təbiətindən asılı olaraq, bu sinfin fermentləri 11 yarımşifə bölünür (bax Əlavələr). Hidrolazaların təsirini sxematik olaraq belə təsvir etmək olar:

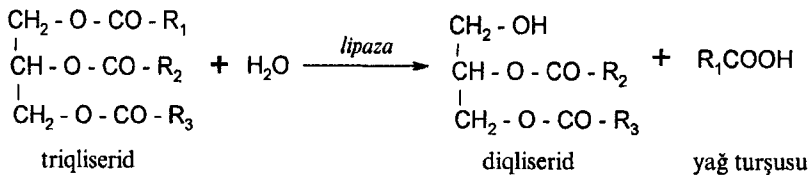


Bu şifə aid olan fermentlərin əksəriyyəti sənaye əhəmiyyət daşıyır. Bundan başqa həzm fermentlərinin əksər hissəsi məhz bu sinifdə cəmlənib.

Böyük əhəmiyyətə malik bəzi hidrolazaları müzakirə edək.

Hidrolazaların birinci yarımşifinə mürəkkəb efir rabitələrin hidrolizini həyata keçirən və esterazalar adlanan fermentlər aiddirlər. Esterazalar spirtlərin üzvi və qeyri-üzvi turşularla əmələ gətirdikləri mürəkkəb efir rabitələrini parçalayırlar. Bununla əlaqədar olaraq, esterazalar da öz növbəsində bir neçə qrupa bölünürlər ki, onlardan karbon turşuları efirlərinin hidrolazalarını və fosfatazaları qeyd etmək olar.

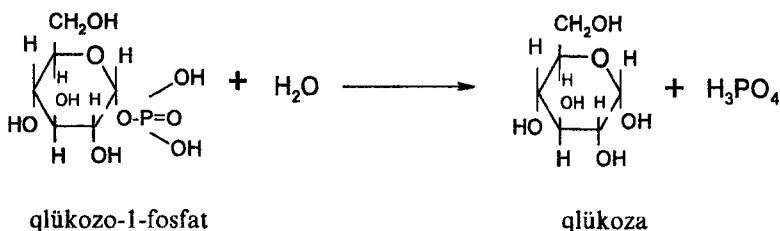
Karbon turşuları efirlərinin hidrolazalarına misal olaraq triasilqliserol-lipaza və ya sadəcə lipaza (FT 3.1.1.3) adlanan fermenti göstərmək olar. Lipaza triqliseridlərin (yağların) hidrolizini təmin edən fermentdir:



Lipaza təbiətdə geniş yayılmış fermentlər sırasına daxildir. Ona bitkilərdə, heyvan toxumalarında, mikroorqanizmlərdə rast gəlinir. Mədəaltı vəzin lipazası qida ilə orqanizmə daxil olan yağların hidrolizini kataliz edir, bitkilərin, xüsusilə də taxılların tərkibində fəaliyyət göstərən lipaza isə taxıl məhsulunun saxlanması zamanı onun keyfiyyətini aşağı salır. Əvvəlcə lipaza taxılın tərkibindəki yağı qliserin və yağ turşularına parçalanmasını kataliz edir. Sonra isə bu prosesə lipoksigenaza fermenti qoşularaq, sərbəst yağ turşularını hidridperoksidlərə qədər oksidləşdirir ki, bunlarda öz növbəsində yağları xoşagəlməz qoxu və dada malik aldehid və ketonlaradək oksidləşdirir. Nəticədə taxıl məhsulu acı dad qazanır. Bunun qarşısı lipaza və lipoksigenaza fermentlərinin inhibirləşdirilməsi ilə alınır.

Fosfatazalar fosfor efirlərinin hidrolizini kataliz edən fermentlərdirlər. Fosfat turşusunun şəkərlərlə əmələ gətirdiyi mürəkkəb efirləri parçalayan fosfatazalara daha çox rast gəlinir.

Məsələn, qlükozo-1-fosfataza (sistematik adı – D-qlükozo-1-fosfat-fosfohidrolaza) aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq qlükozanın fosfor efirini hidrolizə uğradır:



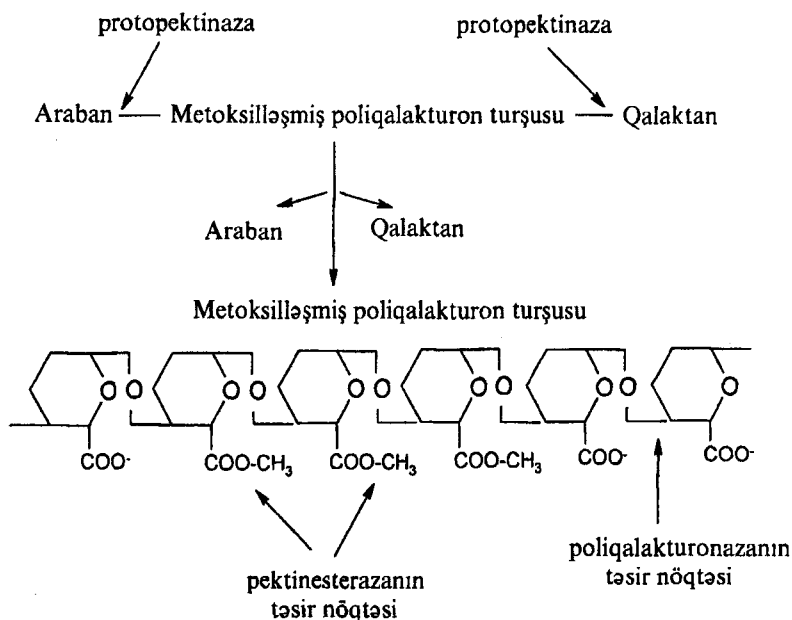
Fosfatazalar geniş substrat spesifikliyi ilə xarakterizə olunurlar.

Fosfatazalar arasında proteinfosfatazalar xüsusi əhəmiyyət daşıyır. Məhz bu fermentlər proteinkinazalara əks reaksiyanı, yəni zülallardan fosfat qalığının ayrılması reaksiyasını kataliz edərək, onların bioloji, xüsusilə də fermentativ fəallıqlarının tənzimlənməsində iştirak edirlər.

Qlikozidlərin hidrolizini həyata keçirən hidrolazalar qlikozidazalar adlanırlar. Qlikozidazalar üçün stereospesiflik xarakterikdir, yəni onlar spesifik olaraq ya α -, ya da β -izomerə təsir edə bilirlər və bununla da əlaqədar olaraq α - və β -qlikozidazalara bölünürlər. Adətən qlikozidazaların substratı qismində oliqo- və polisaxaridlər çıxış edir.

Polisaxaridlərin hidrolizini kataliz edən fermentlər sırasına pektolitik fermentlər aiddirlər. Bu fermentlər gilə-meyvə şirələrinin çıxışının artırılmasını və şəffaflığını təmin etməklə böyük praktiki əhəmiyyət daşıyırlar. Pektolitik fermentlər sırasına bir neçə fermenti aid etmək olar ki, onlar ardıcıl olaraq pektin maddələrinin hidrolizini kataliz edirlər. Belə ki, bildiyimiz kimi pektin maddələri adətən protopektin adlanan mürəkkəb bir kompleks şəkildə mövcud olurlar. Bu kompleks aşağıdakı quruluşa malikdir: araban–metoksilləşmiş poliqlakturon turşusu–qalaktan. Araban arabinozadan, qalaktan isə qlaktozadan təşkil olunmuş polisaxariddir. Protopektinaza fermentinin təsiri ilə

protopektindən araban və qalaktan ayrılır. Nəticədə həll olan pektin adlanan metoksilləşmiş poliqlalakturon turşusu əmələ gəlir. Həll olan pektin sonradan pektinesteraza (pektaza) fermentinin təsirinə məruz qalır. Pektaza metil spirti və poliqlalakturon turşusu arasında mövcud olan efir rabitələrini parçalayır. Poliqlalakturonaza və ya pektinaza adlanan digər ferment isə, həll olan pektinin poliqlalakturon turşusundan təşkil olunmuş karbon zəncirinə təsir etməklə, onu parçalayır. Beləliklə, pektolitik fermentlərin təsirini sxematik olaraq bu cür təsvir etmək olar:



Adından və təsir etdiyi rabitənin təbiətindən görüldüyü kimi, pektolitik fermentlər arasında yalnız pektinesteraza, yəni pektaza hidrolazaların birinci yarımşifinə aiddir, digərləri isə qlikozidazalara aid olunur.

Qlikozidlərin hidrolizini kataliz edən və təbiətdə geniş yayılmış fermentlərə misal olaraq həmçinin nişastanın hidrolizini həyata keçirən amilazaları da göstəmək olar. Amilazaların 3 növü

– α -amilaza, β -amilaza və ekzo-1,4- α -D-qlükozidaza növləri mövcuddur. Bütün bu amilazalar nişastanı (və qlikogeni) hidroliz edirlər, lakin hər bir ferment üçün nişasta molekulu üzərində spesifik təsir nöqtəsi mövcuddur.

α -Amilaza (FT 3.2.1.1) amiloza, amilopektin və qlikogenin tərkibindəki daxili qlikozid rabitələrini hidroliz etməklə, onları çoxlu miqdarda dekstrinlərə, eləcə də az miqdarda maltoza və qlükozayadək parçalayır. Digər sözlə, α -amilaza endoamilazadır. Müxtəlif mənbələrdən alınmış α -amilazaların tərkibində fermentin ikincili və üçüncülü quruluşunu stabilləşdirən və beləliklə də katalitik fəallığını təmin edən və bununla yanaşı onu proteolitik fermentlərin təsirindən qoruyan kalsium atomu mövcuddur.

β -Amilaza (FT 3.2.1.2) amiloza, amilopektin və qlikogen molekullarının qeyri-reduksiyaedici ucundan maltoza qalıqlarını ayırır. Reaksiya nəticəsində həmçini az miqdarda dekstrinlər də əmələ gəlirlər. Bu fermenti fərqləndirən cəhət odur ki, nişasta molekulunun α -D-qlükoza qalıqlarından təşkil olunduğuna baxmayaraq, nişastanın β -amilazanın təsiri ilə hidrolizi nəticəsində maltozanın β izomeri əmələ gəlir.

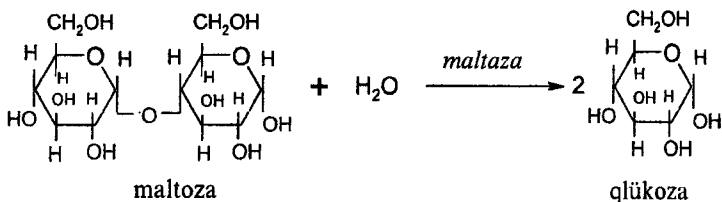
Ekzo-1,4- α -D-qlükozidaza və ya qlükoamilaza (FT 3.2.1.3) isə nişastanın qeyri-reduksiyaedici ucundan qlükoza qalıqlarını ayırır. Bu fermentin təsiri altında nişasta əsasən qlükozaya və az miqdarda dekstrinlərəadək parçalanır.

Lakin bu amilazaların heç biri amilopektin və qlikogen molekullarının tərkibindəki α -1,6-qlikozid rabitələrini parçalamaq qabiliyyətinə malik deyillər. Bu funksiyanı amilo-1,6- α -D-qlükozidaza fermenti həyata keçirir.

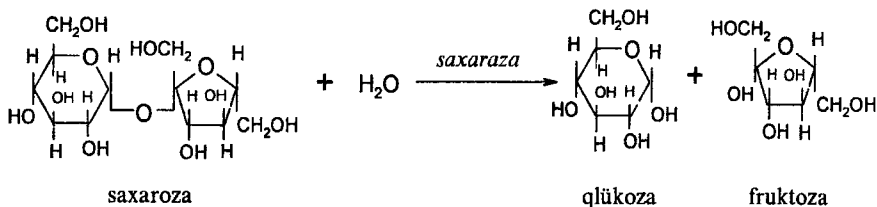
Digər polisaxaridlərin hidrolizi də müvafiq fermentlərin təsiri altında baş verir. Məsələn, sellülozanın hidrolizi sellüloza fermentinin (FT 3.2.1.4) təsiri ilə gedir. Nəticədə sellobioza disaxaridi və qlükoza molekulları əmələ gəlir.

Oliqosaxaridlərə təsir edən qlikozidazalara misal olaraq maltaza (α -qlikozidaza) və saxarazanı (β -qlikozidaza) göstərmək olar.

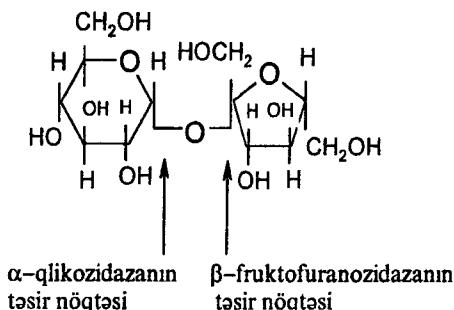
Maltoza, bildiyimiz kimi α -qlükoza molekulunun iki qalığından təşkil olunub, və bu səbəbdən onun hidrolizi α -qlükozidazalara aid olunan maltaza (FT 3.2.1.20) fermenti ilə həyata keçirilir:



Saxaraza və ya invertaza və ya β -fruktofuranozidaza (FT 3.2.1.26) isə saxarozanın qlükoza və fruktozaya hidrolizini kataliz edir:



Saxaraza β -qlükozid rabitəsinə təsir etdiyi üçün α , β -qlükozidazalara aid olunur. Lakin saxaraza α -qlükozidazanın təsiri ilə də hidroliz oluna bilər, sadəcə olaraq bu fermentin təsir nöqtəsi fərqlənir:

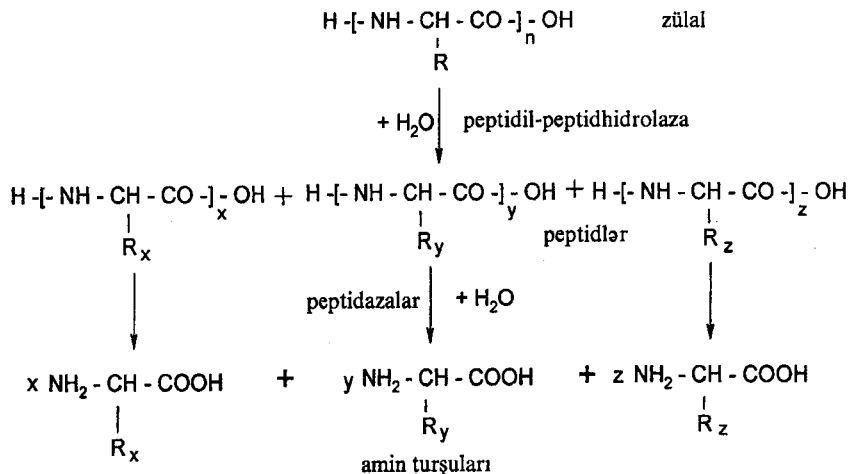


Hidrolazalar sinfinə həmçinin peptid və zülalların hidrolizini kataliz edən proteolitik fermentlər də aiddir. Proteolitik fermentlər həm nəzəri enzimologiya, həm də praktiki tətbiq nöqtəyi nəzərdən böyük əhəmiyyətə malikdirlər. Fermentlərin müasir təsnifatı və nomenklaturasına əsasən proteolitik fermentlər peptid-hidrolazalar yarım sinfinə aid olunur. Peptid-hidrolazaların təsir nöqtələri fərqlənir, və bunula əlaqədar olaraq onları şərti olaraq endopeptidazalara və ekzopeptidazalara ayırırlar. Ekzopeptidazalardan fərqli olaraq, endopeptidazalar polipeptid zəncirinin kənarlarında yerləşən peptid rabitələri ilə yanaşı zülal molekulunun daxilində mövcud olan peptid rabitələrini də parçalamaq qabiliyyətinə malikdirlər. Endopeptidazaları peptidil-peptidhidrolazalar, ekzopeptidazaları isə peptidazalar da adlandırılır. Ekzopeptidazalara aminopeptidazalar, karboksipeptidazalar, dipeptidazalar aid edilir, endopeptidazalara misal olaraq isə pepsin, tripsin, ximotripsin, papain və bir sıra digər fermentləri göstərmək olar.

Proteolitik fermentlərin təsiri ilə zülallar mərhələli olaraq amin turşularadək hidroliz olunurlar. Birinci mərhələdə peptidil-peptidhidrolazaların təsiri altında məhdud sayda peptid rabitələri hidroliz olunur və zülal molekulu peptidlərə qədər parçalanır, ikinci mərhələdə isə peptidazaların təsiri ilə peptidlər sərbəst amin turşularınadək parçalanırlar (şək. 7.1).

İndi isə böyük praktiki əhəmiyyətə malik olan endopeptidazalara (peptidil-peptidhidrolazalara) diqqət yetirək. Bunlara misal olaraq pepsini, ximozini, tripsini, ximotripsini, subtilizini, papaini, fisini, katepsinləri, kollagenazanı və s. fermentləri göstərmək olar. Proteolitik fermentlərin əksər hissəsi qeyri-fəal sələf, yəni zimogenlər və ya profermentlər şəklində sintez olunurlar. Məs., pepsin qeyri-fəal pepsinogen, tripsin – tripsinogen, trombin – protrombin şəklində sintez olunurlar. Profermentin (zimogenin) fəal fermentə çevrilməsi qismi proteoliz yolu ilə həyata keçirilir, yəni zimogenlər, fəal ferment molekuluna nisbətən, daha uzun polipeptid zəncirinə malikdirlər və fəal fermentə çevrilmək üçün zimogendən bir neçə amin turşu qalığından ibarət peptid ayrılma-

lıdır. Nəticədə fermentin ikincili və üçüncülü quruluşlarında müvafiq dəyişikliklər baş verir və fermentin fəal mərkəzi formalaşır (bax Fəsil IX).



Şəkil 7.1. Zülalların proteolitik fermentlərin təsiri ilə parçalanmasının sxemi.

Proteinazaları, fəal mərkəzin quruluşundan asılı olaraq üç qrupa bölmək olar: 1. aktivatorların mövcudluğunu tələb etməyən fermentlər (məs., tripsin, ximotropsin, pepsin); 2. sistein, qlütatyon, askorbin turşusu və sianid kimi birləşmələrlə aktivləşən fermentlər (məs., papain, fisin, bəzi katepsinlər); 3. metalloenzimlər – bu fermentlərin fəallığı Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} və s. kimi metal ionlarının mövcudluğu şəraitində daha yüksək olur (kollagenaza, mikrob mənşəli proteinaza - termolizin və s.).

Birinci qrupa aid olan fermentlər də, öz növbəsində iki yarımqrupa bölünə bilər. Birinci yarımqrupa turş mühitdə təsir edən fermentlər (pepsin, ximozin) cəmlənir. Bu fermentlərin fəal mərkəzlərinin quruluşu nisbətən az öyrənilib. Məlumdur ki, pepsinin fəal mərkəzinə iki asparagin turşusu daxildir. İkinci yarımqrupa isə, pH optimumları qələvi mühitdə yerləşən fermentlər

(tripsin, ximotripsin, trombin, elasataza, subtilizin) aiddirlər. Bu fermentlər serin proteinazalar adlanırlar, çünki onların katalitik funksiyası fəal mərkəzə daxil olan serin və histidin amin turşu qalıqları ilə təmin olunur.

Endopeptidazaların ikinci qrupuna gəldikdə isə, burada görüldüyü kimi SH-birləşmələrlə aktivləşən fermentlər cəmlənir. Eyni zamanda bu fermentlər SH-qrupunu oksidləşdirən birləşmələrin (J_2 , H_2O_2) təsiri altında ingibirləşirlər. Deməli bu fermentlərin fermentativ fəallığı SH-qrupları ilə təmin olunur və onların fəal mərkəzinə sistein amin turşusu daxildir. Məhz bu səbəbdən onları tiol (sistein) proteinazalar adlandırırlar. Lakin bəzi bitki mənşəli fermentlər (məs., araxin, solanain və d.) bu aktivatorlara qarşı həssas deyillər.

Proteolitik fermentlərin böyük bir qrupu metallarla aktivləşən fermentlərdirlər. Onların fəallığı metalı özünə birləşdirən birləşmələrin təsiri altında ingibirləşir.

Proteinazaların əhəmiyyətli xüsusiyyətlərindən biri onların zülal molekulundakı peptid rabitələrini seçici olaraq hidrolizə uğratmaq qabiliyyətidir. Belə ki, pepsin seçici olaraq fenilalanin və leysin, tripsin – arginin və lizin, ximotripsin – aromatik amin turşuları, papain – arginin, lizin və fenilalanin amin turşuların iştirakı ilə yaranan peptid rabitələrini parçalayırlar. Nəticə etibarilə hər bir fərdi zülal müəyyən proteinazanın (endopeptidazanın) təsiri ilə həmişə müəyyən sayda peptidlərə qədər parçalanır.

Ekzopeptidazalar isə, artıq qeyd etdiyimiz kimi, polipeptid zəncirinin yalnız kənarlarında yerləşən peptid rabitələrinə təsir etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Bildiyimiz kimi, polipeptid zəncirinin bir ucu N-sonluq, digəri isə C-sonluq adlanır, və deməli, amin turşularını polipeptid zəncirinin N-sonluq tərəfindən ayıran fermentlər aminopeptidazalar, C-sonluq tərəfindən ayıran fermentlər isə karboksipeptidazalar adlandırılır. Həqiqətən də, aminopeptidazaları (və ya digər sözlə α -aminoasilpeptid-hidrolazalar) fərqləndirən xüsusiyyət odur ki, onlar substrat molekulunda sərbəst α -amin qrupunun olmasını tələb edirlər. Aminopeptidaza-

ların bir neçə nümayəndəsi var. Məsələn, aminopeptidazalar arasında daha geniş yayılmış və sitozolda fəaliyyət göstərən fermentin digər adı leysinaminopeptidazadır (FT 3.4.11.1). Bu fermentin geniş təsir spektri var, o N-kənar amin turşularına malik olan müxtəlif peptid və amidlərin hidrolizini kataliz edir, lakin buna baxmayaraq, o, adından da göründüyü kimi, leysin birləşmələrini daha yüksək sürətlə hidrolizə uğradır. Aminopeptidazaların digər nümayəndəsi tripeptid-aminopeptidazadır (FT 3.4.11.4). Bu ferment yalnız neytral amin turşulardan təşkil olunmuş tripeptidlərə təsir etməklə, sərbəst NH_2 -qrupunun yaxınlığında yerləşən peptid rabitəsini parçalayır və nəticədə amin turşu və dipeptid əmələ gəlir. Maraqlıdır ki, ferment nə di, nə də tetrapeptidlərə təsir etmir. Ferment üçün spesifik substrat qismində triqlisin çıxış edir.

Karboksipeptidazalar substrat molekulunda sərbəst karboksil qrupunun olmasını tələb edirlər. Karboksipeptidazaların iki tipi mövcuddur: serin karboksipeptidazalar (FT 3.4.16) və metal-karboksipeptidazalar (3.4.17).

Serin karboksipeptidazalara, məsələn karboksipeptidaza Y aiddir. Bu ferment kininazalara, yəni bradikin tərkibindəki peptid rabitələri parçalamaqla, onu qeyri-fəal məhsullara çevirən fermentlər qrupuna aiddir.

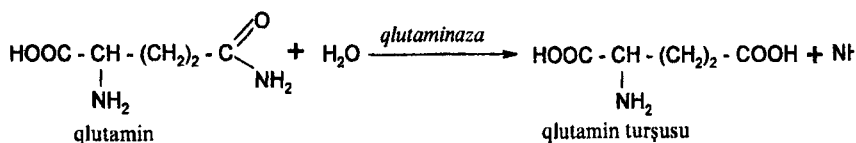
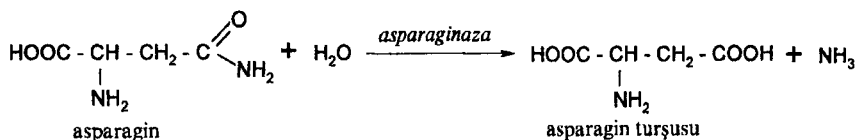
Metal-karboksipeptidazalara misal olaraq karboksipeptidaza A-nı (FT 3.4.17.1) və karboksipeptidaza B-ni (FT 3.4.17.2) göstərmək olar. Bu fermentlər mədəaltı vəzidə qeyri-fəal sələf, yəni müvafiq olaraq, prokarboksipeptidaza A və prokarboksipeptidaza B şəklində sintez olunurlar və tripsinin təsiri ilə fəal ferment formasına çevrilirlər. Hər iki ferment həm peptid, həm də zülalların hidrolizini kataliz edir. Karboksipeptidaza A əsasi amin turşuları və ya prolindən təşkil olunmuş kənar amin turşularına təsir etməyən Zn-tərkiibli metaloenzimdir. Karboksipeptidaza B isə spesifik olaraq C-kənar qalıq qismində arginin və ya lizin amin turşularına malik peptid rabitələrini parçalayır.

Ekzopeptidazalara həmçinin dipeptidləri hidrolizə uğradan dipeptidazalar da (FT 3.4.13) aid edilirlər. Müxtəlif obyektlərdən yüksək spesifikli dipeptidazalar ayrılmışdır.

Amidazalar turşu amidlərini hidrolizə uğradan hidrolazalardırlar. Bunlardan ureaza, asparaginaza və qlutaminaza kimi fermentləri qeyd etmək olar. Ureaza (sistemik adı - karbamid-amidohidrolaza, FT 3.5.1.5) kristallik vəziyyətdə alınmış ilk zülal-fermentlərdən biridir. Bu ferment sidik cövhərinin amonyak və karbon qazınadək parçalanmasını kataliz edir:

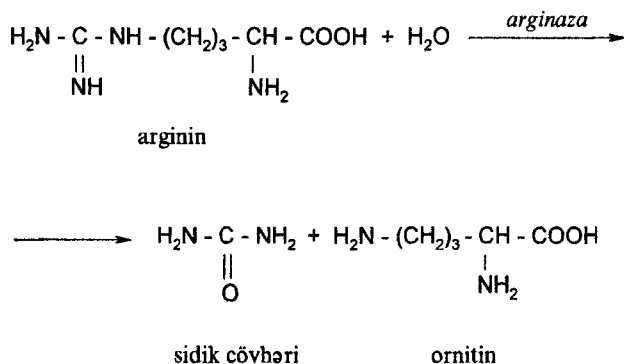


Asparaginaza (sistemik adı - L-asparagin-amidohidrolaza, FT 3.5.1.1) və qlutaminaza (sistemik adı - L-qlutamin-amidohidrolaza, FT 3.5.1.38) fermentləri, müvafiq olaraq asparagin və qlutamin turşularının amidlərini hidrolizə uğradırlar:



Peptid rabitələrindən fərqli olan C-N-rabitələrinə təsir edən fermentlərə amidazalardan başqa, xətti amidinlərdə C-N-rabitələrini hidrolizə uğradan fermentlər də aiddir. Bunlara misal olaraq arginaza fermentini göstərmək olar. Arginaza (sistemik adı - L-arginin-ureohidrolaza, FT 3.5.3.1) arginin amin turşusu-

nun ornitin və sidik cövhərinə parçalanması reaksiyasını kataliz edir:



Arginaza ilə kataliz olunan bu reaksiya azot tərkibli maddələrin parçalanmasının son məhsullarından biri olan sidik cövhərinin orqanizmdə biosintezinin son mərhələsidir.

Hidrolazaların 6-cı yarımşifinə aid olan pirofosfatazalar da böyük rola malik olan fermentlərə aid edilirlər. Bir neçə istisnaları nəzərə almasaq, ümumiyyətlə, bu fermentlər turşu anhidridlərini hidroliz etməklə, pirofosfat rabitələrin parçalanmasını kataliz edirlər. Pirofosfatazaları və fosfatazaları fərqləndirən əlamət odur ki, birincilər esterazalara aid edilə bilməzlər. Bu qrupa nukleotidlərə təsir edən bir sıra mühüm fermentlər daxildir. Misal olaraq əzələ təqəllüsündə məlum rola malik olan miozini (FT 3.6.1.3) göstərmək olar.

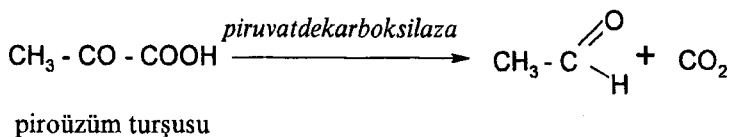
7.4. Liazalar

Liazarlar substratdan, ikiqat rabitənin əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan, qeyri-hidrolitik yolla müəyyən atom qruplarının ayrılması reaksiyalarını (bəzi hallarda isə atom qruplarının ikiqat rabitələrə birləşdirilməsi reaksiyalarını) kataliz edən fermentlərdirlər. Adətən birinci halda bir, ikinci halda isə iki substrat iştirak edir. Bu fermentlərlə kataliz olunan reaksiyaların əksər hissəsi biosintezdə böyük rola malikdirlər. Əgər məhz sintetik reaksiya

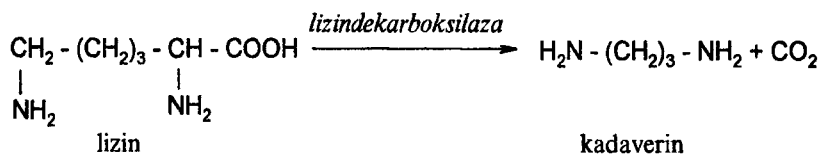
bioloji əhəmiyyət daşıyırsa, bu halda müvafiq fermentə sintaza adı verilir.

Liazalar, təsir etdikləri rabitələrin növündən asılı olaraq, yeddi yarımsinfə bölünürlər: C-C-, C-O-, C-N-, C-S-liazalar və s.

C-C-liazalara dekarboksilazaları, aldehid-liazaları və ketoturşuların liazalarını misal göstərmək olar. Məsələn, piruvat-dekarboksilaza (sistemik adı – 2-oksopropion turşusunun-karboksiliazası, FT 4.1.1.1) piroüzüm turşusunun sirkə aldehidinə çevrilməsi reaksiyasını kataliz etməklə maya hüceyrələrində baş verən maddələr mübadiləsində, xüsusilə də karbohidratların mübadiləsində böyük rol oynayan ikikomponentli fermentdir (fermentin prostetik qrupu qismində tiaminpirofosfat çıxış edir):



Dekarboksilazaların substratı qismində həm ketoturşular, həm də amin turşuları çıxış edə bilər. Məs., lizindekarboksilaza (sistemik adı – L-lizin-karboksilaza):

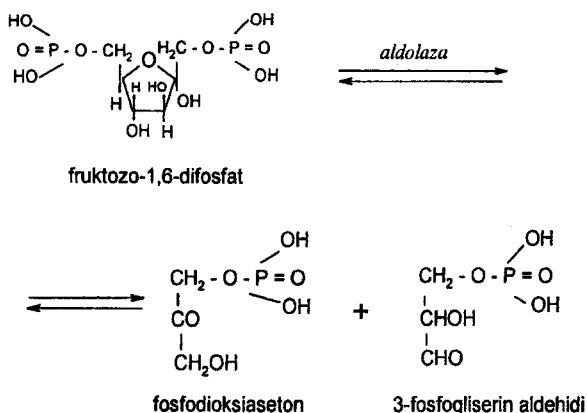


Ketoturşuların dekarboksilazalarından fərqli olaraq, amin turşuların dekarboksilazalarının prostetik qrupu B₆ vitamininin törəmələri ilə təmsil olunub.

Amin turşularının dekarboksilazaları, adətən, bakterial mənşəli olurlar; onlar bakterial infeksiyalar və çürümə proseslərində böyük rol oynayırlar. Bu fermentlər üçün yüksək spesifiklik xarakterikdir və məhz bu xüsusiyyəti sayəsində amin turşuların mikromiqdarlarının müəyyən olunması məqsədilə onlardan istifadə olunur. Dekarboksilazaların az miqdarına heyvan toxumala-

rında da rast gəlinir ki, onlar burada bəzi amin turşuların mübadiləsində iştirak edirlər.

Aldehid-liazalar əsasən aldolazalar adı altında tanınırlar. Aldehid-liazaların xarakterik nümayəndəsi fruktozo-1,6-difosfatın fosfotriozalaradək parçalanmasının geri-dönən reaksiyasını kataliz edən aldolazadır (sistematik adı – D-fruktozo-1,6-bisfosfat D-qliseraldehid-3-fosfat-liaza, FT 4.1.2.13):

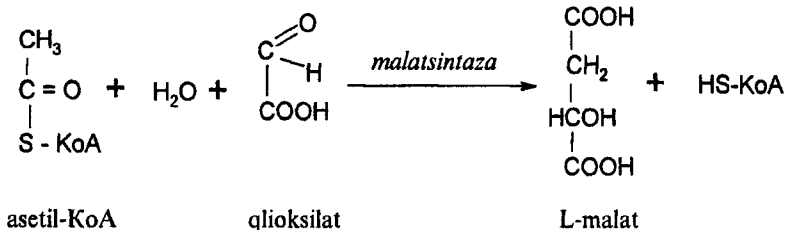
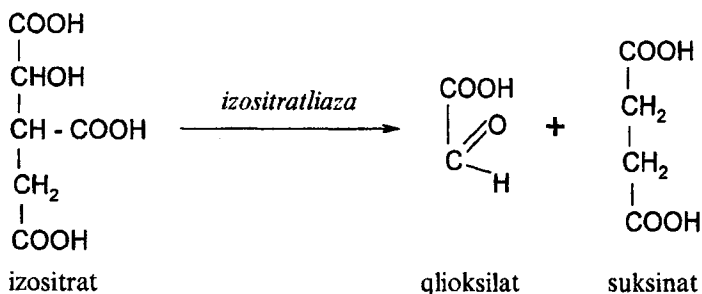


Bu ferment karbohidratların çevrilməsi və qıçırma prosesində birinci dərəcəli rol oynayır, çünki fosfat turşusunun iki qalığını simmetrik olaraq özünə birləşdirdikdən sonra labil vəziyyətə keçən fruktoza fruktozobisfosfat-aldolaza fermentinin təsiri ilə asanlıqla ortadan parçalanır və iki fosfotriozaya molekulunu əmələ gətirir ki, onlar da, öz növbələrində, sonrakı çevrilmələrə məruz qalaraq süd turşusunu əmələ gətirirlər (qlikoliz prosesi). Bununla yanaşı fruktozobisfosfat-aldolaza sintetik proseslərdə də iştirak edir. Belə ki, o, fotosintezin qaranlıq mərhələsində baş verən fruktozodifosfatın sintezi reaksiyasını kataliz edir.

Müxtəlif mənbələrdən alınmış fruktozobisfosfat-aldolazalar iki qrupa bölünə bilər: metalları özünə birləşdirən reaktivlərlə inhibirləşdirilən və metalları özünə birləşdirən reaktivlərlə inhibirləşdirilməyən aldolazalar. Birinci qrupa qaraciyər, maya

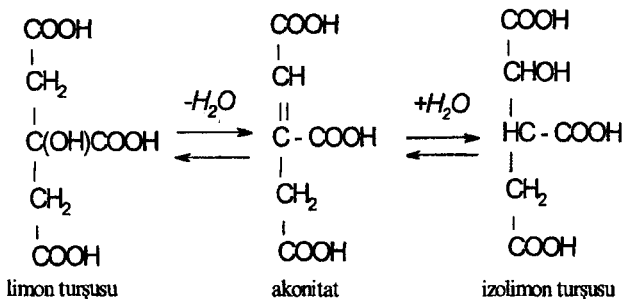
hüceyrələrindən və ali bitkilərdən alınmış fruktozobisfosfat-aldolazalar, ikinciyə isə əzələ mənşəli ferment aiddir.

Qeyd etdiyimiz kimi, C-C-liazalara həmçinin ketoturşuların liazaları da aid olunur. Bu qrupun fermentləri əsasən iki nisbətən daha kiçik ölçülü komponentdən di- və trikarbon turşularının sintezi reaksiyalarını kataliz edirlər. Onlardan bəziləri limon turşusu tsiklində və qliksilat tsiklində böyük rol oynayırlar. Belə ki, bildiyimiz kimi, qliksilat tsikli və limon turşusu tsikli birbirinə artıq dərəcədə bənzəyən metabolik yollardır, lakin qliksilat tsiklini limon turşusundan fərqləndirən iki spesifik reaksiya mövcuddur. Bu reaksiyalar, müvafiq olaraq, izositratliaza (FT 4.1.3.1) və malatsintaza (FT 4.1.3.2) fermentləri ilə kataliz olunurlar. Fermentlərin ikisi də liazalar sinfinə aiddirlər (yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, əgər liaza ilə kataliz olunan geridönən reaksiyanın sintetik istiqaməti daha böyük bioloji əhəmiyyət daşıyarsa, bu halda müvafiq liazaya sintaza adı verilir):

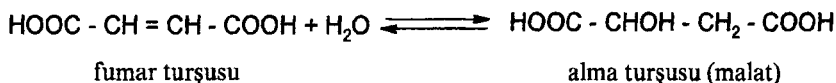


C-O-liazalara hidroliazalar, polisaxarid-liazalar və digər liazalar aid olunur. Hidroliazaların klassik nümayəndələri fuma-

rathidrataza və akonitathidratazadır. Hər iki ferment limon turşusu tsiklində fəaliyyət göstərir. Akonitathidrataza (FT 4.2.1.3) sitratın izositarta çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir. Bu reaksiya iki mərhələlidir. Əvvəlcə limon turşusu sis-akonitata, sonra isə izolimon turşusuna çevrilir:

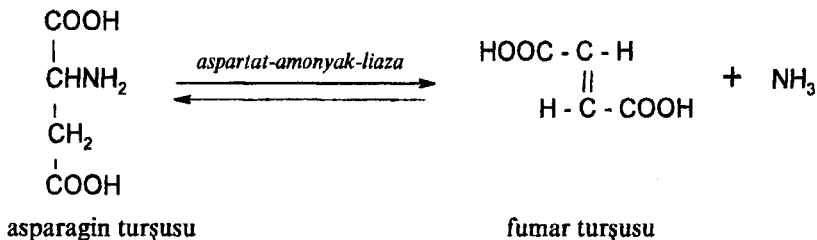


Fumarathidrataza (FT 4.2.1.2) fumar turşusunun hidratasiyası və alma turşusunun (malatın) əmələ gəlməsi reaksiyasını kataliz edir:



Kristallik fumarathidrataza fumar turşusu və L-malata qarşı yüksək spesifikliklə xarakterizə olunur və malein, D-malat, trans- və sis-akonitat, asparagin turşusu kimi digər quruluşca oxşar üzvi turşulara təsir etmir.

Aspartat-amonyak-liaza (FT 4.3.1.1) fermentini isə, C-N-liazalara misal göstərmək olar. Bu ferment tənliyi aşağıda göstərilmiş reaksiyanı kataliz edir:

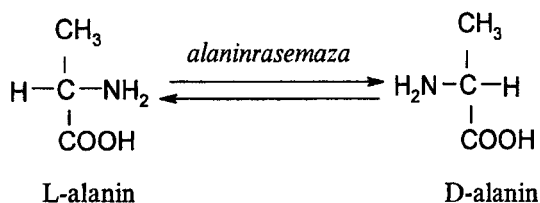


Bu ferment fakultativ anaerob bakteriyalar üçün daha xarakterikdir. Ona, həmçinin bəzi bitkilərdə də rast gəlinir.

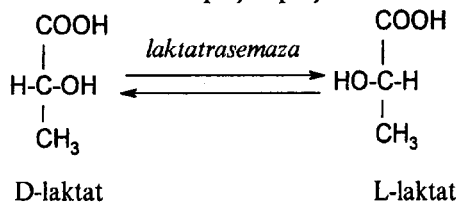
7.5. İzomerazalar

Bu sinfə aid olan fermentlər bir molekul daxilində hündəsi və ya quruluş dəyişikliklərin baş verdiyi reaksiyaları kataliz edirlər. İzomerazalar sinfi 6 yarım sinfə bölünür.

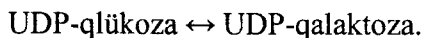
Birinci yarım sinfin fermentləri rasemazalar və epimerazalar adlanırlar. Bu fermentlər amin turşuların rasemizasiyasını və ya karbohidratların epimerləşməsini kataliz edirlər. Bunlara misal olaraq, alaninrasemazanı, laktatrasemazanı və UDPqlükoza-4-epimerazanı göstərmək olar. Alaninrasemaza (FT 5.1.1.1) L- və D-alaninin qarşılıqlı çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir:



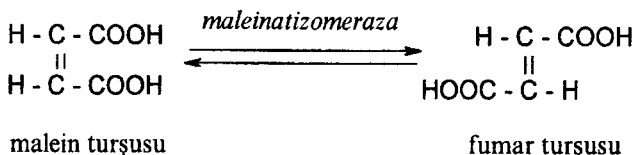
Laktatrasemaza (FT 5.1.2.1) fermentinin təsiri ilə süd turşusunun L- və D-formalarının qarşılıqlı çevrilməsi baş verir:



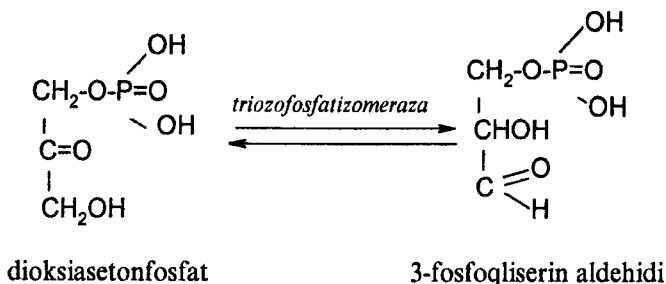
UDP-qlükoza-4-epimerazanın təsiri altında qalaktozanın qlükozaya çevrilməsi baş verir. Mikroorqanizmlərin qalaktozanı qıvcırtmaq qabiliyyəti məhz bu fermentin mövcud olub-olmaması ilə əlaqədardır:



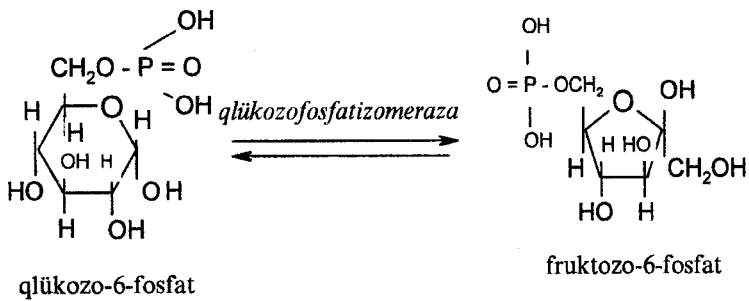
Izomerazalar sinfinin ikinci yarım sinfinə, yəni *sis-trans*-izomerazalara aid olan fermentlərin təsiri optik fəallığın dəyişilməsi ilə əlaqədar deyil, bu fermentlər ikiqat rabitə ətrafında həndəsi konfigurasiyanın dəyişilməsinə səbəb olurlar. Bu yarım sinfə maleinatizomeraza (FT 5.2.1.1) daxildir. Bu ferment fumar və malein turşularının qarşılıqlı çevrilməsini kataliz edir.



İzomerazaların üçüncü yarım sinfi, yəni molekul daxili oksidoreduktazalar molekulun bir hissəsini oksidləşdirməklə, onun digər hissəsini reduksiya edir. Reaksiya nəticəsində oksidləşmiş məhsul əmələ gəlmədiyi səbəbindən, onlar oksidoreduktazalara aid olunmur. Bu yarım sinfin nümayəndələri aldoza və ketozaların qarşılıqlı çevrilmələri reaksiyalarını kataliz edirlər. Məsələn, triozofosfatizomeraza (sistematik adı – D-qliseraldehid-3-fosfat ketol-izomeraza, FT 5.3.1.1) D-qliseraldehid-3-fosfatın və fosfodioksiasetonun qarşılıqlı çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir:

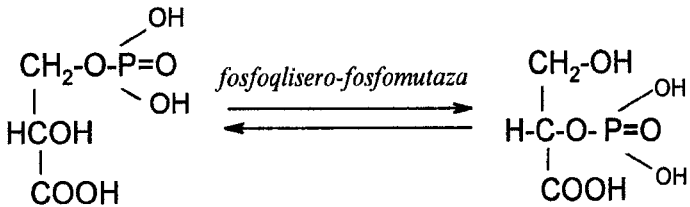


Bu yarım sinfə aid olan fermentlərə misal olaraq qlükozo-6-fosfatizomeraza (FT 5.3.1.9) fermentini də göstərmək olar:



Bu reaksiyalar karbohidratlar mübadiləsinin vacib reaksiyalarından biridir.

Molekul daxili transferazalar bir molekul daxilində atom qrupların daşınması reaksiyalarını kataliz edirlər. Bu yarımşinfə aid olan və daha yaxşı öyrənilmiş fermentlərdən fosfoqlisero-fosfomutaza (FT 5.4.2.1) fermentini qeyd etmək olar. Bu ferment karbohidratlar mübadiləsində iştirak etməklə, D-qliserin-3-fosfatın və D-qliserin-2-fosfatın qarşılıqlı çevrilmələri reaksiyasını kataliz edir.



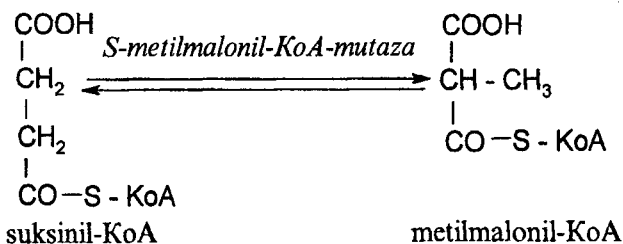
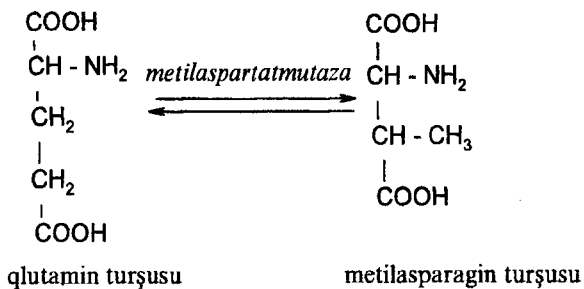
3-fosfoqliserin turşusu

2-fosfoqliserin turşusu

Reaksiya zamanı 2-ci vəziyyətdə fosfoefir rabitəsinin hidrolitik parçalanması, fosforlaşmış fermentin əmələ gəlməsi və nəhayət qliserinin 3-cü karbon atomu üzrə fosforlaşması baş verir (“pinq-ponq” mexanizmi üzrə).

Bundan başqa, izomerazaların dördüncü yarımşinfə metilaspirtatmutaza (FT 5.4.99.1) və S-metilmalonil-CoA-mutaza (FT 5.4.99.2) kimi kobamid fermentlər aiddirlər. Bu ferment-

lərlə kataliz olunan reaksiyalar zamanı amin qrupunun molekul daxili daşınması baş verir:



Molekul daxili liazalarla kataliz olunan reaksiyalarda molekulun bir hissəsindən müəyyən bir qrupun ayrılması və həmin molekulun digər hissəsinə kovalent olaraq birləşməsi baş verir. Məs., 3-karboksi-sis-mukonat-tsikloizomeraza 4-karboksi-mukonolaktonun 3-karboksi-sis-mukon turşusuna çevrilməsini kataliz edir.

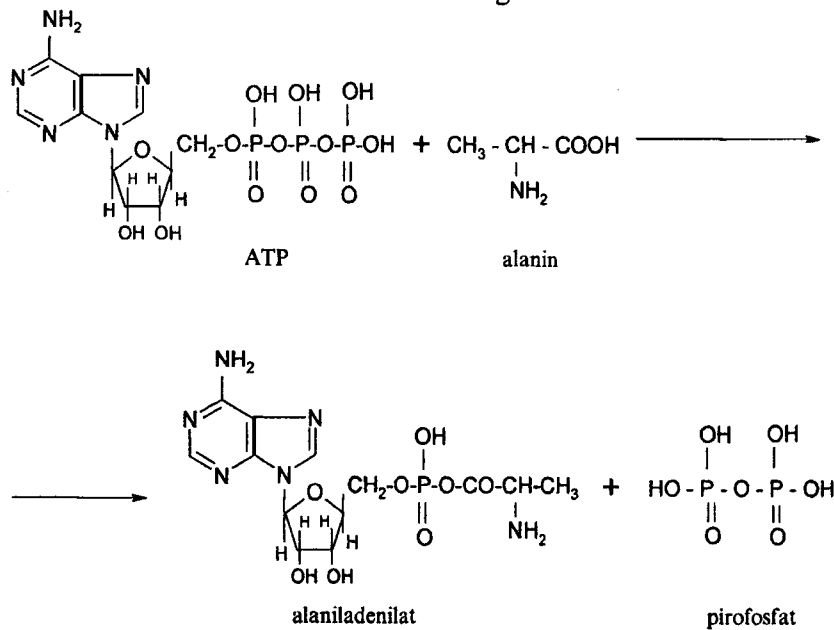
7.6. Liqazalar (sintetazalar)

Liqazaların əsas xüsusiyyəti biosintetik prosesin enerji mənbəyi qismində çıxış edən maddələrin parçalanması ilə müşayiət olunmasıdır. Enerji mənbəyi qismində əksər hallarda ATF-dən istifadə olunur. Liqazaların iştirakı ilə ATF molekulundan bir və ya iki fosfat qalığının ayrılması reaksiyaya daxil olan maddələrin aktivləşməsini təmin edən enerji ayrılır. Beləliklə, liqazalara iki molekulun bir-biri ilə birləşməsi və ATF və ya digər nukleo-

tidrifosfat molekulundakı fosfat rabitəsinin hidrolizi ilə müşayiət olunan reaksiyalrı kataliz edən fermentlər aid olunur.

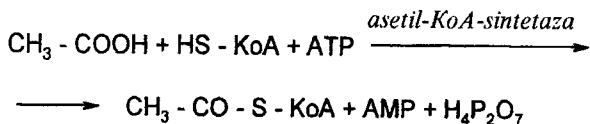
Sınıf 5 yarımşinfə bölünür: C-O-, C-S-, C-N-, C-C-liqazalar və fosfoefir rabitələrini əmələ gətirən liqazalar.

Birinci yarımşinfə bütün amin turşu-nRNT-liqazalar (və ya amin turşu-nRNT-sintetazalar) aiddirlər. Bu fermentlər zülalların biosintezində böyük rol oynayrlar, çünki məhz onların iştirakı ilə amin turşularının aktivləşməsi baş verir. Reaksiya nəticəsində aminoasiladenilatlar əmələ gəlir:



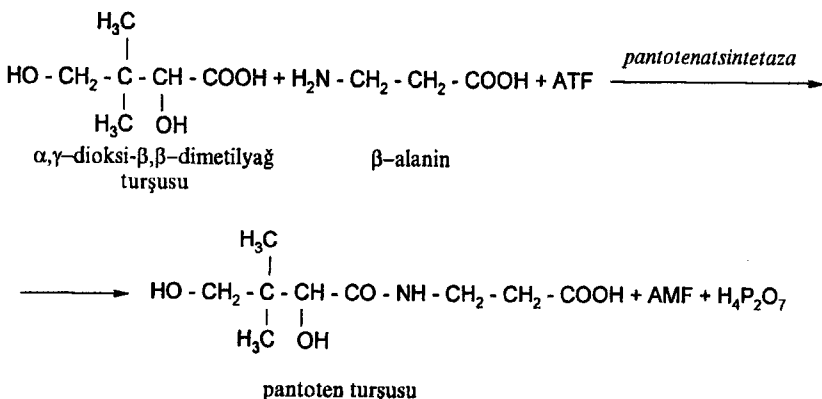
Aminoasiladenilatlardan amin turşu qalığı nRNT-yə ötürülür və polipeptidlərin biosintezində birbaşa istifadə olunan aminoasil-nRNT-lər əmələ gəlir.

Liqazaların ikinci yarımşinfə müxtəlif asillərin (turşu qalıqlarının) koenzim A-ya birləşməsi reaksiyalarını kataliz edirlər. Bu fermentləri asil-koenzim A-sintetazalar da adlandırır-lar. Məsələn, asetil-KoA-nın sirkə turşusu və koenzim A-dan sintezini kataliz edən asetil-koenzim A-sintetaza:

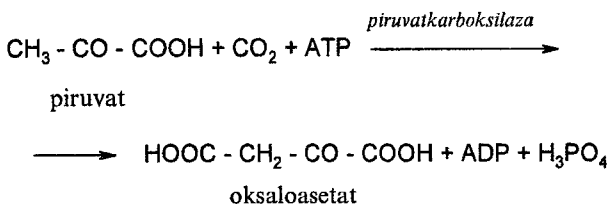


Asetil-KoA transasilləşmə reaksiyalarında iştirak edir və bu səbəbdən canlı hüceyrələrdə liqazalar və asiltransferazalar bir-biriləri ilə sıx əlaqədədə fəaliyyət göstərirlər.

Sinfin üçüncü yarım sinfi 5 qrupa bölünür. Bu yarım sinfə ATF-in iştirakı ilə müvafiq dikarbon amin turşularından asparaginin və qlutaminin biosintezini kataliz edən asparaginsintetaza (FT 6.3.1.1) və qlutaminsintetaza (6.3.1.2) aiddirlər. Bundan başqa, buraya α, γ -dioksi- β, β -dimetilyağ turşusu və β -alanindən pantoten turşusunun sintezini aşağıdakı tənliyə müvafiq olaraq kataliz edən pantotenatsintetaza fermenti də aiddir:

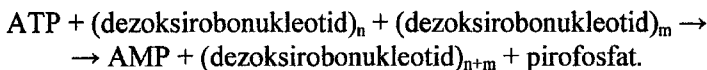


C-C-liqazalar yarım sinfinə ATF-in iştirakı ilə müxtəlif üzvi üzvi turşuların karboksilləşməsini kataliz edən 5 biotin-tərkibli karboksilaza fermenti daxildir. Məsələn, piruvatkarboksilaza (sistematik adı – piruvat: karbon dioksidi liqaza (ADF əmələ gətirən), FT 6.4.1.1) piroüzüm turşusu və karbon dioksiddən oksaloasetatın sintezini kataliz edir:



Bu reaksiya karbohidratlar və zülallar mübadiləsinin qarşılıqlı əlaqəsini və CO₂-nin mənimsənilməsini təmin etməklə maddələr mübadiləsində özünəməxsus rol oynayır.

Liqazaların sonuncu beşinci yarımşifinə nuklein turşularında fosfodiefir rabitələrinin bərpa olunmasını təmin edən iki ferment daxildir. Məsələn, polidezoksiribonukleotid-sintetaza (ATP) (FT 6.5.1.1) aşağıdakı sxem üzrə baş verən reaksiyanı kataliz edir:



FƏSİL VIII. FERMENTLƏRİN HÜCEYRƏDAXİLİ LOKALLAŞMASI. İZOFERMENTLƏR

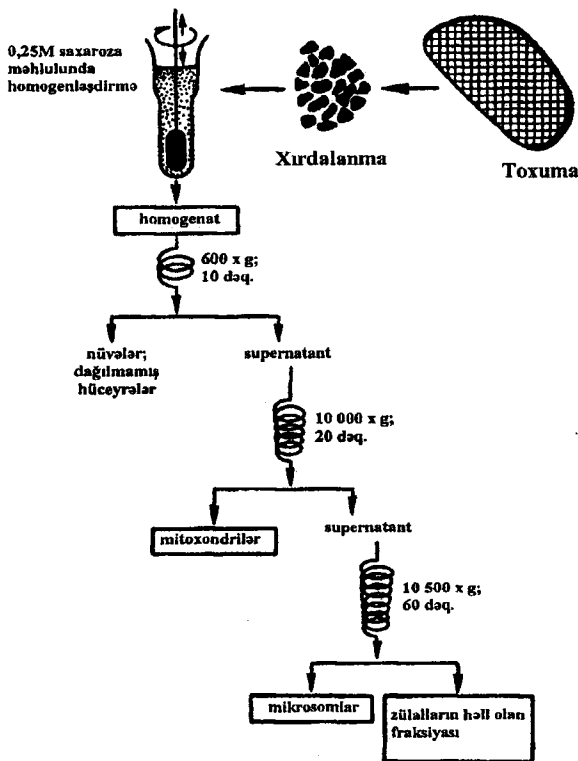
Fermentləri qeyri-bioloji katalizatorlardan fərqləndirən xüsusiyyətlərindən biri də odur ki, onlar üçün kooperativ xarakterli təsir səciyyəvidir. Fermentin tək bir molekulu səviyyəsində təsirin kooperativlik prinsipi substrat, katalitik və allosterik mərkəzlərin qarşılıqlı əlaqəsində öz əksini tapır. Lakin reaksiyaların kooperativliyi fermentlər ansamblı səviyyəsində daha böyük əhəmiyyət daşıyır. Məhz ferment sistemlərinin mövcudluğu sayəsində hüceyrədə üzvi molekulların sintezi və parçalanması kimi çoxmərhələli mürəkkəb proseslər kifayət qədər yüksək sürətlə həyata keçirilir. Hüceyrədə fəaliyyət göstərən ferment sistemləri multienzim komplekslər və ya daha mürəkkəb bloklar şəklində olurlar. Çoxmərhələli proseslərdə baş verən fermentativ kataliz aralıq məhsulların prosesdən çıxması şərti ilə baş verir, çünki buradakı aralıq məhsullar əmələ gələrək dərhal sonrakı çevrilmələrə məruz qalırlar.

Çoxmərhələli proseslərin bu xüsusiyyəti fermentlərin hüceyrədə xaotik deyil, müəyyən qanunauyğunluqla paylanması ilə əlaqədardır. Hüceyrə - mütəşəkkil bir sistemdir və onun ayrı-ayrı hissələrində müəyyən biokimyəvi proseslər həyata keçir. Başqa sözlə, bu və ya digər fermentlər, multienzim komplekslər və ya poliferment bloklar ayrı-ayrı subhüceyrəvi strukturlarda (hüceyrə kompartmentlərində) lokallaşır.

Fermentlərin hüceyrə strukturlarında (nüvə, mitoxondrilər, lizosomlar və s.) lokallaşmasının müəyyən olunması ilə əlaqədar olan məsələlər çox mühüm əhəmiyyət kəsb edir. Bu problem preparativ enzimologiya üçün daha aktualdır, çünki bu zaman tədqiqatçının qarşısında fermenti bioloji obyektədən ayırmaq və təmiz halda almaq məqsədi durur. Fermentin lokallaşmasının müəyyənləşdirilməsi sito- və histokimyəvi üsullarla nisbətən daha asan olur. Bu məqsədə nail olmaq üçün orqanın nazik kəsiklərini müvafiq substratlarla inkubasiya edirlər. İnkubasiyadan sonra

reaksiya məhsulunu müvafiq reaktivlərin əlavə edilməsi nəticəsində əmələ gələn spesifik rəngə əsasən müəyyən edirlər.

Preparativ enzimologiyada adətən toxuma homogenatlarının differensial sentrifüqalanması üsulundan istifadə olunur. Bu məqsədlə, əvvəlcə hüceyrə strukturu dağıdılır və alınmış homogenat 0-4°C temperaturunda differensial sentrifüqalanmaya məruz qalır. Homogenatların yüksəksürətli sentrifüqalarda differensial sentrifüqalanmasının təxmini sxemi şəkil 8.1.-də göstərilib.



Şəkil 8.1. Qaraciyər toxumasının homogenatının differensial sentrifüqalanması sxemi

Adətən, fermentlərin hüceyrədə paylanması homogenatların differensial sentrifüqalanması nəticəsində alınmış fərdi fraksi-

yalarda ayrı-ayrılıqda tədqiq olunur. Məsələn, məqsədə nail olmaq üçün əvvəlcə sentrifüqalanmanın aşağı sürətlərində alınan nüvələr fraksiyası, sentrifüqalanmanın orta sürətlərində alınan mitoxondrial fraksiya, yüksək sürətlərdə çökən mikrosomlar (və ya ribosomlar) fraksiyası və, nəhayət, sentrifüqalanmanın sonunda əmələ gələn çöküntüüstü məhlul (supernatant) müvafiq fermentin mövcud olub-olmamasının müəyyənləşdirilməsi məqsədilə təhlil olunur.

Onu da qeyd etmək lazımdır ki, mitoxondrilər fraksiyası homogen deyil, çünki bu fraksiyanın tərkibində həmçinin ölçülərinə görə mitoxondrilər və mikrosomlar arasında yerləşən lizosomlar da mövcud olur. Mikrosomal fraksiya da, öz növbəsində, heterogen bir fraksiyadır. Yəni bu fraksiya, əsasən, endoplazmatik şəbəkənin müxtəlifcinsli quruluşa malik elementlərindən təşkil olunmuşdur.

Sentrifüqalanma yolu ilə alınmış fraksiyaların təhlili nəticəsində müəyyən edilmişdir ki, nüvələrdə bir sıra zülalların sintezinin baş verməsinə baxmayaraq, qaraciyər və böyrəklərin nüvə fraksiyasında fermentlərin miqdarı o qədər də yüksək deyil. Nüvə üçün daha xarakterik fermentlər nukleotidiltransferazlardır ki, onların iştirakı ilə nuklein turşularının sintezi zamanı nukleotid qalıqların daşınması baş verir. Göstərilmişdir ki, qlikolizin, pentozofosfat yolunun fermentləri, amin turşuların aktivləşməsini kataliz edən fermentlər əsasən sitoplazmanın həll olan fraksiyasında lokallaşır. Karbohidratların dixotomik və apotomik parçalanmasını kataliz edən fermentlərin eyni hüceyrə kompartimentində, yəni sitoplazmanın həll olan fraksiyasında lokallaşması bu iki yolun qarşılıqlı əlaqəsini və tənzimlənməsini təmin edir. Sitoxromoksidaza və Krebs tsiklinin fermentləri isə, mitoxondrilərdə məskunlaşırlar. Hüceyrədə baş verən oksidləşdirici fosforlaşma və yağ turşularının parçalanması reaksiyalarını kataliz edən fermentlər də mitoxondrilərdə lokallaşır. Yağ turşuların biosintezində iştirak edən fermentlər isə, əksinə, sitoplazmanın həll olan fraksiyasında məskunlaşırlar. Hüceyrənin lizosomlar adlandırılan kompartimentində isə, müxtəlif hidrolitik fermentlər və

liazalar lokallaşır. Nisbətən kiçik diametrə malik olan bu strukturlarda müxtəlif üzvi birləşmələrin nisbətən sadə elementlərədək destruksiyası baş verir. Hüceyrənin ribosomal aparatı üçün amin turşuların böyüyən polipeptid zəncirə daşınmasını təmin edən, eləcə də zülalların biosintezində iştirak edən digər fermentlərin lokallaşması xarakterikdir.

Beləliklə, ferment sistemləri hüceyrənin bu və ya digər kompartmentində lokallaşmış olurlar ki, bu xüsusiyyət çoxmərhələli proseslərin yüksək effektivliklə getməsinə və tənzimlənməsinə təmin edir.

Müəyyən olunmuşdur ki, bəzi fermentlər eyni orqanizmdə, bəzi hallarda isə hətta eyni bir toxumada müxtəlif molekulyar formalar şəklində mövcud olurlar. Orqanizmin müəyyən bir fermentinin eyni reaksiyanı kataliz edən, lakin genetik amillərdən asılı olaraq öz fiziki, kimyəvi, immunokimyəvi xassələrinə görə bir-birindən fərqlənən bu cür çoxsaylı molekulyar formaları *izofermentlər* adlanırlar.

İzofermentlər və ya izozimlər termini yalnız genetik cəhətdən determinasiya olunmuş fermentlərin çoxsaylı molekulyar formaları üçün tətbiq oluna bilər. Digər sözlə, izofermentlər bir-birindən öz birincili quruluşlarına görə fərqlənməlidirlər. İzofermentlər bir-birilərindən elektroforez, ion mübadiləedici xromatoqrafiya, adsorbsiya, gel-filtrasiya, duzlarla fraksiyalaşdırılma və s. üsullar vasitəsilə ayrılabilir.

Ümumiyyətlə, fermentlərin çoxsaylı molekulyar formaları aşağıda qeyd edilən səbəblərdən yarana bilər:

1. genetik səbəblər;
2. post-translyasion səbəblər.

Genetik səbəblər, öz növbəsində, iki qrupa bölünə bilər: çoxsaylı allellərin mövcudluğu və çoxsaylı gen lokuslarının mövcudluğu.

Bir lokusun çoxsaylı allellərinin mövcudluğu o deməkdir ki, diploid orqanizmdə hər bir gen lokusunun dublikatı var. Əgər müəyyən gen lokusu fermentin hansısa subvahidini kodlaşdırırsa, bu halda homoziqot fərdlərdə həmin subvahidin yalnız bir növü

sintez olunacaq, heteroziqotlarda isə, iki müxtəlif tipli subvahidlər sintez olunmalıdır. Aydınır ki, ayrıca götürülmüş bir fərd üçün allellərin çoxluğu ferment formalarının geniş müxtəlifliyini təmin edə bilməz, çünki diploid lokusda allellərin sayı 2-dən artıq ola bilməz. Lakin, ümumi genofond miqyasında allellərin sayı kifayət qədər çoxlu ola bilər, və bu səbəbdən ayrı-ayrı fərdləri müqayisə edərək ferment subvahidlərinin yüksək dərəcədə variabelliyi (dəyişkənliyi) nəzərə çarpır.

Çoxsaylı gen lokusları sayəsində izofermentlərin əmələ gəlməsi isə belə izah oluna bilər. Əksər fermentlər bir deyil, bir neçə genlə kodlaşır, və bu halda hər bir lokus fermentin müəyyən bir subvahidini kodlaşdırır. Çoxsaylı gen lokusların mövcudluğu sayəsində toxumalararası və hətta bir toxumada, onun böyüməsi və inkişafı boyunca izoferment profilin dəyişməsi baş verir. Müxtəlif lokuslarla kodlaşdırılan subvahidlər, bir qayda olaraq, bir-birilərindən öz quruluşu və ölçülərinə görə xeyli fərqlənirlər, bu isə subvahidlərin ölçülərində də öz əksini tapır.

Fermentlərin genetik səbəblərlə əlaqədar olaraq əmələ gələn çoxsaylı molekulyar formaları *həqiqi izofermentlər* adlanırlar.

Orqanizmdə sintez olunan zülallar, karbohidrat qalığının birləşməsi sayəsində, qismi proteoliz və ya amin turşuların yan qruplarının kovalent modifikasiyası nəticəsində modifikasiyaya məruz qala bilərlər. Bu hadisə *post-translyasion modifikasiya* adlanır. Əgər zülalları təşkil edən subvahidlərin yalnız bir qismi post-translyasion modifikasiyaya məruz qalırsa, bu halda orqanizmdə eyni zamanda həm modifikasiya olunmuş, həm də modifikasiya olunmamış subvahidlərə rast gəlinəcək. Buna misal olaraq əzələ aldolazasını göstərmək olar. Ümumiyyətlə, onurğalı heyvanlarda aldolaza üç əsas gen lokusu ilə kodlaşır. Əzələdə yalnız A lokusunun aşkar olunduğuna baxmayaraq, bu toxumadan subvahidlərin iki növünü əldə etmək mümkündür. Bu subvahidlər A α və A β kimi işarə olunur. Sonradan məlum oldu ki, translyasiya məhsulu qismində məhz A α çıxış edir. Lakin, zəncirin COOH-ucu yaxınlığında yerləşən asparagin qalığının

aminsizləşməsi baş verir və nəticə etibarilə Aα subvahidi tədricən Aβ subvahidinə çevrilir.

Post-translyasion modifikasiya sayəsində yaranan ferment formaları, *ikincili və ya post-translyasion izofermentlər* adını daşıyırlar. Hətta bu cür fermentlər üçün izoferment anlayışının tətbiqi də düzgün deyil. Onları sadəcə olaraq *fermentlərin çoxsaylı molekulyar formaları adlandırırlar (FÇMF)*. Beləliklə, bütün izofermentlər FÇMF-lərə aid olunurlar, lakin FÇMF-lərin yalnız genetik nöqteyi nəzərdən determinasiya olunmuş formaları izofermentlər adlandırıla bilər.

Post-translyasion modifikasiya müəyyən bir toxumada digərinə nisbətən daha intensiv gedə bilər və bu halda FÇMF-lərin toxumaspesifik paylanması müşahidə olunur. Məsələn, piruvatkinazanın məməlilərin qaraciyərində və eritrositlərində fəaliyyət göstərən formaları bir-birindən bir qədər fərqlənirlər. Bütün toxumalarda L gen lokusunun məhsulu L' tipli subvahidlər əmələ gətirir, lakin qaraciyərdə bu subvahidlər proteolitik fermentlərin təsirinə məruz qalaraq parçalanırlar və L tipli subvahidlərə çevrilirlər. Eritrositlərdə isə, bu proses xeyli zəif sürətlə gedir.

İzofermentlər öz fiziki-kimyəvi xassələrinə görə bir-birindən fərqləndiyi səbəbdən, onları elektroforez, adsorbsiya, gel-filtrasiya, duzlarla fraksiyalaşdırılma və s. üsullar vasitəsilə təmiz halda almaq olar.

Bir qayda olaraq izofermentin adı müvafiq fermentin daha geniş istifadə olunduğu və qısa formada yazılmış adından və izofermentin elektroforeqrama üzərində sahəsini göstərən rəqəmdən təşkil olunur. Elektroforez üsulu vasitəsilə ayrıldıqda, elektroforeqrama üzərində fermentlərin fəallıq sahələri ərəb rəqəmləri ilə anod hərəkətliliyin azalması istiqamətində nömrələnir.

İzofermentlərin adlandırılmasında onların toxumada paylanması nəzərə alınır, çünki izofermentlərin ilk aşkar olunduğu fizioloji xassələrindən biri məhz onun hansı toxumada lokallaşmasıdır. Məsələn, əzələ tipli ferment və ya qaraciyər tipli və s. Lakin bu nomenklaturanın mühüm çatışmazlığı ondan ibarətdir

ki, izofermentlərin toxuma aidiyyatı mütləq deyil və fermentlərin toxumalarda paylanması toxuma inkişaf etdikcə dəyişə bilər.

İzoferment və onun genetik simvolunun bir-birinə uyğunlaşdırılması üçün Prakaş və əmək. tərəfindən təklif olunmuş nomenklaturadan istifadə etmək məqsədəuyğundur. Bu nomenklaturaya əsasən, müvafiq lokus fermentin qısa adı ilə işarə olunur. Bu zaman əgər izofermentin qısa adı bütövlükdə baş hərflərlə yazılırsa, müvafiq genin adında birinci hərif baş, digrələri isə sətir hərfləri olur. Məsələn, laktatdehidrogenaza fermentinin qısa adı LDH-dir, bu fermenti kodlaşdıran gen isə Ldh kimi işarə olunacaq, malatdehidrogenaza fermentinin qısa adı MDH, müvafiq gen isə Mdh kimi işarə olunur, qlükozo-6-fosfatdehidrogenaza fermenti qısa olaraq G-6-PD, müvafiq gen isə Gpd kimi işarə olunur. Əgər bir ferment iki və daha artıq sayda lokuslarla kodlaşdırsa, bu halda onlar ərəb rəqəmləri ilə nömrələnirlər, məsələn, Mdh-1, Mdh-2. Bəzi hallarda allel genlər müvafiq allozimlərin hərəkətliliyi ilə fərqlənirlər (fermentlərin allel variantları allozimlər adlanırlar). Məsələn, Mdh-2^{1,00} – hərəkətliyi 1 qəbul olunan allozimi kodlaşdıran gen; Mdh-2^{0,50} – hərəkətliyi kontrola nisbətən 2 dəfə aşağı olan allozimi kodlaşdıran gen.

Lakin yuxarıda qeyd olunan toxuma mənsubiyyətinə əsaslanan nomenklaturanın çatışmazlıqlarına baxmayaraq, bu nomenklatura geniş tətbiq olunur. Belə ki, laktatdehidrogenaza və onun subvahidləri M, L, K hərfləri ilə işarə oluna bilər ki, bunlar da ingilis sözləri olub *muscle* - əzələ, *liver* – qaraciyər, *kidney* – böyrək deməkdir.

Biokimyəvi nomenklaturaya dair komissiya fermentlərin çoxsaylı molekulyar formalarını 7 qrupa bölməklə, aşağıdakı təsnifatı təklif etmişdir:

1. Genetik cəhətdən bir-birindən asılı olmayan zülallar.
2. Qeyri-kovalent rabitələrlə birləşmiş 2 və daha artıq sayda polipeptid zəncirdən ibarət olan heteropolimerlər.
3. Allel genetik variantlar.
4. Digər qruplarla birləşmiş zülallar.
5. Bir polipeptid zəncirindən əmələ gəlmiş zülallar.

6. Yeganə subvahiddən ibarət olan polimerlər.

7. Müxtəlif konformasiyaya malik formalar.

1-ci, 2-ci və 3-cü qruplara aid olan fermentlər həqiqi izofermentlərdirlər, çünki onların sintezi DNT-nin müvafiq genləri ilə kodlaşır, 4-cü, 5-ci, 6-cı və 7-ci qruplara aid olan fermentləri isə izoferment adlandırmaq düzgün deyil, çünki bu qruplara aid olan fermentlər bir gen məhsulunun post-translyasion modifikasiyası nəticəsində əmələ gəlir.

Əgər ferment hüceyrənin bir neçə kompartmentində mövcuddursa, bu halda hüceyrənin ayrı-ayrı kompartmentində, adətən, fermentin müxtəlif izofermentləri lokallaşır. Belə ki, məməlilərdə malatdehidrogenaza, izositratdehidrogenaza (NADP^+), aspartataminotransferaza və peroksid-dismutaza fermentlərinin mitoxondrial və sitoplazmatik formaları müxtəlif genlərin məhsullarıdır. Bəzi hallarda bu genlər hətta müxtəlif xromosomlarda yerləşmiş olurlar. Sadalanan bütün izofermentlər öz fiziki-kimyəvi və katalitik xüsusiyyətlərinə görə bir-birilərdən fərqlənirlər, bu isə onları ayrı-ayrılıqda ayırmaq və tədqiq etmək imkanını verir. Qeyd etmək lazımdır ki, indiyədək tədqiq olunmuş bütün sistemlərdə fermentlərin həm mitoxondrial, həm də sitoplazmatik formaları nüvədə lokallaşan DNT ilə kodlaşır və sitoplazmada sintez olunurlar.

Mitoxondrilər və xloroplastlarda lokallaşan DNT-də isə, həmin orqanoidlərdə yerləşən izoferment molekulu tamamilə deyil, sadəcə olaraq həmin izofermentin məhdud sayda polipeptid zəncirləri haqda məlumat yazılıb. Bu polipeptid zəncirlər orqanoidin membranında yerləşən bir neçə subvahiddən təşkil olunmuş mürəkkəb fermentlərin tərkib hissəsidir. Məsələn olaraq, mitoxondrilərdə lokallaşan ATP-aza, sitoxrom-*c*-oksidaza və *b* sitoxromları sistemi, eləcə də xloroplastlarda fəaliyyət göstərən ribulozodifosfat-karboksilaza fermentini göstərmək olar. Bu fermentlərin hər birisi bir neçə polipeptid zəncirindən təşkil olunub ki, onlardan da bir qismi sitoplazmada, digər qismi isə müvafiq orqanoiddə sintez olunur.

İndi isə, bəzi fermentlərin izoferment yığımına diqqət yetirək. Çoxsaylı formaları gel-elektroforez üsulu ilə hərtərəfli öyrənilmiş fermentlərdən biri laktatdehidrogenazdır. Bu ferment piroüzüm turşusunun süd turşusuna çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir; reaksiya geri-dönəndir. Belə ki, laktatdehidrogenaza fermentinin izofermentləri iki növ subvahiddən təşkil olunmuşlar - əzələ tipli (M, ing. *muscle* sözündən) və ürək tipli (H, ing. *heart* sözündən). Izofermentlər tetramerdirlər, yəni izofermentin hər bir molekulu eyni və ya müxtəlif quruluşlu subvahiddən ibarətdir. Beləliklə, laktatdehidrogenazanın, M və H subvahidlərinin aşağıda qeyd edilən kombinasiyaları nəticəsində yaranan 5 izofermenti mövcuddur: HHHH, HHHM, HHMM, HMMM və MMMM və ya, müvafiq olaraq, H_4 , H_3M , H_2M_2 , HM_3 və M_4 . Bu izofermentlər laktatdehidrogenazanın LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ və LDH₅ formalarına uyğundur.

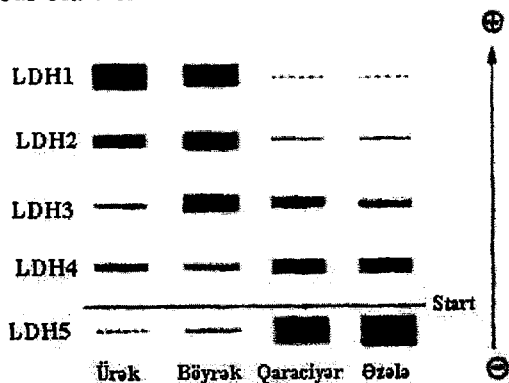
Laktatdehidrogenaza fermentini təşkil edən subvahidlər bir-birindən öz xassələrinə görə fərqlənilir. Belə ki, H tipli protomerlər (subvahidlər) mühitin pH 7,0-9,0-a bərabər olduğu halda daha yüksək mənfi yükə malik olurlar, nəinki M tipli protomerlər, və məhz bu səbəbdən H_4 izofermenti elektroforez zamanı elektrik sahədə müsbət elektroda (anoda) doğru, fermentin digər izofermentləri ilə müqayisədə, ən yüksək sürətlə hərəkət edəcək. M_4 izofermenti anoda doğru ən zəif sürətlə hərəkət edəcək, qalan izofermentlər isə aralıq vəziyyətlərdə lokallaşacaqlar. Izofermentlərin bu cür xüsusiyyəti sayəsində, onları bir-birindən elektroforez üsulu vasitəsilə ayırmaq və tədqiq etmək mümkündür.

LDH izofermentlərinin praktiki olaraq eyni fermentativ fəallığa malik olduqlarına baxmayaraq onlar, molekul çəkisi, elektroforetik hərəkətilik, aktivator və inhibitorlara qarşı münasibəti və s. xüsusiyyətlərə görə bir-birindən fərqlənilir.

Normada hər bir toxuma üçün LDH izoferment spektri xarakterikdir. Məsələn, ürək əzələsində H_4 izofermenti üstünlük təşkil etdiyi halda, skelet əzələləri və qaraciyərdə əsasən M_4 izofermentinə rast gəlinir (şək. 8.2.). LDH₂, LDH₃ və LDH₄

formaları isə müxtəlif toxumalarda mövcuddurlar. Qeyd etmək lazımdır ki, laktatdehidrogenazanın spermatositlər üçün xarak-terik olan xüsusi bir izofermenti də var ki, o da tetramer olaraq, subvahidlərin C hərfi ilə işarə olunan xüsusi bir növündən təşkil olunmuşdur. Bu izofermenti C₄ kimi göstərmək olar.

Bundan başqa, laktatdehidrogenaza fermentinin izoferment tərkibinin ontogenez zamanı dəyişməsi xarakterikdir, lakin bu dəyişmənin xarakteri heyvanın növündən asılı olaraq müxtəlif cür ola bilər.



Şəkil 8.2. LDH izofermentlərinin müxtəlif orqanlarda paylanması və nisbi miqdarı. "Start" xəttinə ekstraktlar əlavə olunur. Müvafiq şəraitdə LDH-nin 4 izofermenti anoda, biri isə (LDH₅) katoda doğru hərəkət edir.

Məməlilərin əksəriyyətində heksokinaza fermentinin 4 izofermenti məlumdur ki, onlar da elektroforez zamanı anoda doğru hərəkət sürətindən asılı olaraq I, II, III, IV kimi işarə olunurlar. IV kimi işarə olunan izoferment yalnız qaraciyər üçün xarakterikdir. Bu izoferment digər izofermentlərlə müqayisədə qlükoza üçün K_m-in daha yüksək qiyməti ilə xarakterizə olunur və qlükokinaza adını daşıyır. Digər üç izoferment, adətən, heksokinaza adı altında cəmlənir.

Tədqiqatlar nəticəsində müəyyən olunub ki, siçovul embrionunun qaraciyərində yalnız "heksokinaza" aşkar olunur və onun fəallığı yaş artdıqca praktiki olaraq dəyişmir. Embriyon qaraciyərində qlükokinaza fermenti ya demək olar ki yox dərəcəsindədir, ya da çox az miqdarda mövcuddur, lakin siçovul doğulduqdan 12 gün sonra qlükokinazanın miqdarı artmağa başlayır və 30-cu günə qlükokinazanın qaraciyərdə fəallığı "heksokinaza"

izofermentlərinin fəallığından 6 dəfə yüksək olur. Maraqlıdır ki, qaraciyərdə qlükokinaza fəallığının artması südlə qidalanmanın dayanması və qidalanma xarakterinin dəyişməsi ilə üst-üstə düşür.

Kreatinfosfokinaza (KFK) fermenti üçün də bir neçə izofermentin olması xarakterikdir. KFK enerji əmələ gətirmə reaksiyalarında iştirak edir və əsasən ürək və skelet əzələlərində, həmçinin beyin toxumasında rast gəlinir.

KFK iki növ subvahidin sintezini təmin edən iki gen lokusu ilə kodlaşan dimerdir. KFK-nın subvahidləri M (ing. *muscle*) və B (ing. *brain*) kimi işarə olunurlar. Bu subvahidlər MM, MB və BB tərkibli üç növ izoferment əmələ gətirirlər. Həm embrionun, həm də yaşlı heyvanların toxumalarının əksəriyyəti BB izofermentinə malik olurlar və bu səbəbdən BB izofermenti inkişaf biologiyası nöqtəyi nəzərindən böyük əhəmiyyət kəsb etmir. Lakin skelet və ürək əzələlərində KFK-nın izoferment spektri ontogenez zamanı xeyli dəyişir. Embrional inkişafın ilkin mərhələsində hər iki toxumada BB izofermenti üstünlük təşkil edir. Orqanizm inkişaf etdikcə BB izofermenti tədricən MB və MM izofermentləri ilə əvəz olunur. Yetkin fərdlərin skelet əzələlərində yalnız MM, ürək əzələsində isə həm MM, həm də MB izofermentləri mövcud olur.

Beləliklə, biz bəzi fermentlərin izoferment spektrinə diqqət yetirdik. İzofermentlərin toxumalarda qeyri-bərabər paylanması sayəsində qanda ayrı-ayrı izofermentlərin fəallığını müəyyən etmək yolu ilə zədələnən toxuma və ya orqan, eləcə də patoloji prosesin xarakteri barədə məlumat əldə etmək olar (Fəsil X).

FƏSİL IX. ORQANİZMDƏ FERMENTATİV FƏALLIĞIN TƏNZİMLƏNMƏSİ

Canlı orqanizmlərin unikal xüsusiyyətlərindən biri ondan ibarətdir ki, onlar həyat fəaliyyətinin əsasını təşkil edən müxtəlif katabolik və anabolik proseslər arasındakı balans müəyyən sabit səviyyədə saxlamaq qabiliyyətinə malikdirlər. Katabolik proseslər hüceyrəni ion tənzimlənmə, təqəllüs və biosintez kimi proseslər üçün zəruri olan yüksəkenerjili birləşmələrlə (ATP) təmin edirlər. Hüceyrə homeostazı effektiv və mürəkkəb tənzimlənmə sisteminin fəaliyyəti sayəsində təmin olunur ki, bu sistemin fəaliyyəti nəticəsində hər bir metabolik proses orqanizmin tələbatlarına uyğunlaşdırılır.

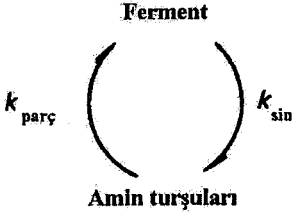
Hüceyrədə baş verən bütün reaksiyalar praktiki olaraq fermentlərlə kataliz olunduğu üçün, metabolizmin koordinasiyası metabolik yolları əmələ gətirən fermentativ reaksiyaların sürətinin tənzimlənməsi sayəsində həyata keçirilir. Hüceyrədə bioloji katalizin effektivliyi iki yolla tənzimləne bilər:

1. Fermentin *miqdarının dəyişilməsi* yolu ilə;
2. Fermentin *fəallığının tənzimlənməsi* yolu ilə.

Hüceyrədə fermentativ fəallığın fermentlin miqdarının dəyişilməsi yolu ilə tənzimlənməsi

Fermentin hüceyrədə miqdarı onun sintezi (K_{sin}) və parçalanması ($K_{\text{parç}}$) reaksiyalarının sürətlərinin nisbəti ilə müəyyənləşir. Müvafiq olaraq, fermentin miqdarı onun sintezinin sürətinin artması (K_{sin} artması), ya da parçalanma sürətinin azalması ($K_{\text{parç}}$ azalması) nəticəsində artır. Eyni qayda ilə, fermentin miqdarı onun K_{sin} azalması, ya da $K_{\text{parç}}$ artması yolu ilə azalır. İnsan hüceyrələrində həm K_{sin} , həm də $K_{\text{parç}}$ qiymətlərinin dəyişilməsi müşahidə olunur. Bütün canlı orqanizmlərdə fermentlərin (və digər zülalların) amin turşularından sintezi və fermentlərin (zülalların) amin turşularına qədər parçalanması

bir-birindən tamamilə fərqlənən fermentlər yığını ilə kataliz olunan müxtəlif proseslərdir. Bu şəraitdə fermentin sintezinin və onun parçalanmasının sürətləri bir-birindən asılı olmayaraq asanlıqla tənzimləyə bilərlər.



Şəkil 9.1. Fermentin miqdarı onun sintezi və parçalanması proseslərinin balansını ilə müəyyən olunur.

Hüceyrələr mühitdə kiçikmolekullu spesifik induktorların mövcudluğu şəraitində spesifik fermentləri sintez etmək qabiliyyətinə malikdirlər. Fermentlərin induksiyasını aşağıdakı misaldə göstərmək olar. Qlükoza mühitində becərilmiş *E.coli* hüceyrələri β -qalaktozidaza fermentindən məhrum olduqları səbəbindən laktozanı parçalaya bilmirlər. Əgər qida mühitində laktoza və ya digər β -qalaktozidlər əlavə olunsaydı, bu halda β -qalaktozidaza fermentinin sintezi induksiya olunur və hüceyrə kulturası laktozanı qlükoza və qalaktozaya hidroliz etmək qabiliyyətini qazanır.

Burada induktor (laktoza) eyni zamanda induksiya olunan fermentin (β -qalaktozidazanın) substratı qismində çıxış edir. İnduktorlar adətən induksiya etdikləri fermentlərin substratları qismində də çıxış edirlər, lakin induktorlar rolunda substrat özü deyil, ona oxşar olan birləşmələr də çıxış edə bilər. Və, əksinə, fermentin substratı onun induktoru olmaya bilər. Bəzi hallarda hansısa birləşmə müəyyən katabolik yolun eyni zamanda bir neçə fermentini induksiya edir. Bu halda deyirlər ki, katabolik fermentlər qrupunu kodlaşdıran struktur genlər operon təşkil edir və operonun genləri ilə kodlaşdırılan bütün fermentlər bir induktorla induksiya olunurlar (*koordinasiya olunmuş induksiya*). Bu və ya digər qidalı maddə vasitəsilə fermentlərin sintezini tənzimləmək qabiliyyəti bakteriyalara bu maddəni maksimal üstünlüklə istifadə etmək imkanını qazandırır; bununla yanaşı bakteriyalar "lazımsız" fermentləri sintez etmirlər.

Hüceyrədə az və ya çox miqdarda daima mövcud olan fermentlərə *konstitutiv* fermentlər deyilir. Onlardan fərqli olaraq, *adaptativ* (və ya *indusibel*) fermentlər yalnız mühitdə müvafiq substrat mövcud olduğu halda sintez olunurlar. Adaptativ fermentlərin sintezini nəzarət altında saxlayan genlər adətən repressiya olunmuş vəziyyətdə olurlar və yalnız induktorun təsiri ilə fəallaşır. Ferment bir ştam üçün konstitutiv, digəri üçün indusibel ola bilər, üçüncü də isə ümumiyyətlə olmaya bilər. Adətən induktor olmadığı şəraitdə də belə hüceyrələrdə müvafiq ferment, az miqdarda olsa da, mövcuddur. Buna fermentlərin *baza səviyyəsi* deyilir. Orqanizmin mühitə induktorun əlavə olunmasına cavab reaksiyası genetik olaraq müəyyənləşir. Müxtəlif ştamların induksiyası zamanı fermentin miqdarı 2 dəfədən min dəfələrədək arta bilər. Beləliklə, hüceyrədəki irsi genetik məlumat induktora qarşı cavab reaksiyanın xarakterini və dərəcəsini müəyyən edir. Deməli, “konstitutiv” və “indusibel” anlayışları şərti xarakter daşıyır: bu anlayışlar sadəcə olaraq mümkün olan reaksiyalar spektrinin həddlərini göstərir.

Eukariotlarda da fermentlərin induksiyası müşahidə olunur. Məməlilərdə induksiya olunan fermentlərə misal kimi triptofanpirrolaza, treonindehidrotaza, tirozinoksoqlutarattransaminaza, invertaza, ornitin tsiklinin fermentləri və P₄₅₀ göstərmək olar.

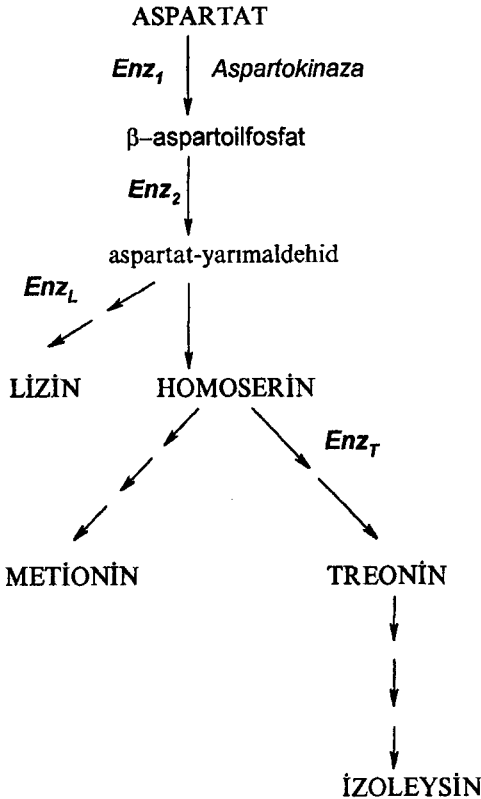
Müəyyən metaboliti sintez etmək qabiliyyətinə malik olan bakteriyalarda həmin metabolitin mühitdə olduğu şəraitdə *repressiya* baş verir və nəticədə onun sintezi dayanır. Bu halda kiçik molekul, məsələn, purin və ya amin turşusu korepressor rolunda çıxış edərək həmin korepressorun biosintezində iştirak edən fermentlərin sintezini blokladır. Məsələn, *Salmonella typhimurium* bakteriyaları becərilən mühitə histidinin əlavə olunduqda, histidinin biosintezində iştirak edən bütün fermentlərin biosintezini tormozlanır; mühitə leysin amin turşusu əlavə olunduqda, yalnız leysin biosintezində iştirak edən ilk üç fermentin sintezi repressiya olunur. Hər iki halda metabolitin biosintezinə cavabdeh olan fermentləri kodlaşdıran genlər operon təşkil edirlər: biosintezin son məhsulunun, yəni histidin və ya leysin

mühitə əlavə olunması *koordinasiya olunmuş repressiya* ilə nəticələnir. Koordinasiya olunmuş repressiya heç də bütün biosintetik yollar üçün xas deyil. Mühitədən korepressor yox olduqda ya da onun ehtiyatları tükəndikdə müvafiq fermentlərin biosintezi bərpa olunur. Bu hadisə *derepressiya* adlanır. Derepressiya koordinasiya olunmuş və koordinasiya olunmamış ola bilər.

Yuxarıda göstərilən misallar bakteriyalarda biosintetik reaksiyalar üçün xarakterik olan əks əlaqə prinsipi üzrə baş verən *son məhsulla repressiyaya* aiddirlər. Buna oxşar olan və *katabolit repressiya* adlanan hadisənin mahiyyəti ondadır ki, katabolik fermentativ reaksiyalar zəncirində əmələ gələn aralıq məhsullardan biri katabolik fermentlərin sintezini repressiya edir. Bu hadisə ilk dəfə olaraq tərkibində karbon mənbəyi qismində qlükoza yox, digər birləşmə (X) olan mühitdə becərilən *E.coli* kulturaları üzərində öyrənilmişdir. Qlükozanın mühitə əlavə olunması X-in katabolizmində iştirak edən fermentlərin sintezini repressiya edirdi. Bu hadisə əvvəlcə “qlükoza effekti” adını almışdır, lakin sonradan aşkar olunmuşdur ki, oksidləşməyə məruz qalan digər qida maddələri də oxşar effekt verirlər; bu səbəbdən “katabolik repressiya” termini irəli sürülmüşdür. Katabolik repressiya tsAMP-in iştirakı ilə həyata keçirilir.

Şaxələnən biosintetik proseslərdə, məsələn şaxələnmiş yan zəncirlərə malik olan amin turşularının və ya aspartat fəsiləsinin amin turşularının biosintezi zamanı, ilkin mərhələlərin fermentləri eyni zamanda bir neçə amin turşusunun biosintezində iştirak edirlər (şək.9.2). Bakteriyalar becədirilən mühitə lizin əlavə olunduqda yalnız lizinin biosintezində iştirak edən fermentlərin (Enz_L) repressiyası baş verir. Mühitə treoninin əlavə olunması isə, yalnız treoninin biosintezində iştirak edən fermentlərin (Enz_T) repressiyasına səbəb olur. Bu, son məhsulla sadə repressiya misalıdır. Enz_1 və Enz_2 (şək.9.2) eyni zamanda həm lizinin, həm də treoninin biosintezində iştirak edirlər. Əgər son məhsulların hər biri ayrı-ayrılıqda onların repressiyasına səbəb olsaydı, bu halda ikinci amin turşusunun çatışmazlığı müşahidə olunardı. Mühitə həm lizin, həm də treonin əlavə

olunduğu halda, Enz_1 və Enz_2 fermentlərdə artıq ehtiyac duyulmayacaq; və onların repressiyası bakteriyalar üçün əlverişli ola bilər, çünki bunun sayəsində qida maddələrinin səmərəli istifadəsi üçün şərait yaranacaq.



Şəkil 9.2. Aspartat fəsiləsinin amin turşularının sintezi.
 Enz_L və Enz_T – müvafiq olaraq lizinin və treoninin biosintezində iştirak edən fermentlər qruplarıdır. Oxların sayı mərhələlərin sayına uyğundur.

Biosintezin müxtəlif şaxələrinin sonunda əmələ gələn bütün son məhsulların mövcudluğu şəraitində multivalent repressiya müşahidə oluna bilər. Bu, yalnız o halda baş verir ki, müəyyən fermentlər yığılı vasitəsilə sintez olunan bütün son məhsul-

lar hüceyrədə artıq miqdarda toplansınlar. Deməli aspartokinaza fermentinin (Enz₁) tam repressiyası üçün təkcə lizin və treoninin deyil, eləcə də metionin və izoleysinin mövcudluğu tələb olunur.

Sürətlə böyüyən bakteriyalarda zülalların parçalanması saatda təxminən 2% təşkil edir. Bakteriyalar aclıq şəraitində və ya karbonun çatışmazlığı şəraitində becərildikdə bakterial zülalların parçalanması saatda 7-10% sürətlə gedir.

Fermentlərin sintezi və parçalanması proseslərinin cəmi *fermentlərin yeniləşməsi* adlanır. Fermentlərin yeniləşməsi həm bakteriyalarda, həm də məməlilərdə baş verir. Məməlilərin hüceyrələrində bu proses, bakteriyaların hüceyrələrinə nisbətən daha tez aşkar olunmuşdur. İnsan orqanizmində fermentlərin yeniləşməsi prosesini təsdiq edən faktlar yüz ildən artıqdır ki, xüsusi pəhriz saxlayan insanlar üzərində aparılan müşahidələr əsasında aşkar olunmuşdur. Lakin yalnız Şonxeymerin klassik işlərindən sonra dəqiq müəyyən edilmişdir ki, hüceyrə zülallarının yeniləşməsi ömür boyu davam edir. ¹⁵N-nişanlanmış amin turşuların müəyyən zülalə daxil olması və nişanın zülalın tərkibindən çıxması sürətlərini ölçməklə, Şonxeymer elə bir nəticəyə gəldi ki, zülallar insan orqanizmində “dinamik tarazlıq” vəziyyətində olurlar; sonradan bu təsəvvür orqanizmin digər komponentlərinə də, lipidlər və nuklein turşuları daxil olmaqla, yayılmışdır.

Bəs fermentlərin sintezi və parçalanmasının tənzimlənməsi necə həyata keçirilir? Zülalların biosintezinin əsas mərhələləri kifayət qədər yaxşı öyrənilib, fermentlərin parçalanması haqda isə, bunu demək olmaz. Fermentlərin parçalanması onların proteolitik fermentlərin təsiri altında hidrolizi nəticəsində baş verir, lakin bu proteolitik fəallığın tənzimlənməsi tam aydın deyil. Müəyyən olunub ki, tənzimlənmə ATP-in sərfi ilə müşayiət oluna bilər. Fermentin proteolizə qarşı həssaslığı onun konformasiyasından asılıdır. Substratların, kofermentlərin, metal ionlarının mövcud olması və ya olmaması zülalın konformasiyasına və onun proteolizə qarşı həssaslığına təsir edə bilər. Bu səbəbdən spesifik fermentlərin parçalanması sürəti hüceyrədə substratların, kofermentlərin və ionların qatılığından asılı ola bilər. Bu təsəvvürləri

arginaza və triptofanoksigenaza (triptofanpirrolaza) fermentlərinin misalında müzakirə etmək olar. Qaraciyərdə arginaza fermentinin miqdarının tənzimlənməsi ya K_{sin} , ya da $K_{parç}$ qiymətlərinin dəyişməsi yolu ilə həyata keçirilə bilər. Zülalla zənginləşdirilmiş pəhrizə keçid arginaza fermentinin miqdarının onun sintezi sürətinin artması sayəsində çoxalması ilə nəticələnir. Aclıq şəraitində saxlanılan heyvanların da qaraciyərində fermentin miqdarı yüksək olur. Lakin, bu, arginazanın parçalanma sürətinin azalması ilə əlaqədardır, çünki K_{sin} qiyməti sabit olaraq qalır. İndi isə, ikinci fermentə diqqət yetirək: məməlilərə qlükokortikoidlərin yeridilməsi, triptofanın inyeksiyası zamanı olduğu kimi, triptofanoksigenaza fermentinin miqdarının artmasına səbəb olur. Hormon fermentin sintezinin sürətini artırır, triptofan isə, K_{sin} qiymətinə təsir etmir, oksigenazanın proteolizə qarşı davamlılığını artıraraq, $K_{parç}$ qiymətini aşağı salır. Bu iki misalı bakteriyalarda fermentlərin unduksiyası ilə müqayisə edə bilərik. Zülalla zəngin pəhriz zamanı azotun yüksək sürətlə mənimsənilməsi arginaza fermentinin miqdarının artmasına səbəb ola bilər. Arginazanın sintezi sürətinin artması bakteriyalarda müşahidə olunan substratla induksiyanı xatırladır. Triptofanpirrolaza fermentinə gəldikdə isə, triptofan bakterial hüceyrələrdə induktor qismində çıxış edə bilər (K_{sin} qiymətini artırır), məməlilərin toxumalarında isə, o, yalnız fermentin parçalanması prosesinə təsir edir ($K_{parç}$ qiymətini azaldır).

Məməlilərin toxumalarında fermentlərin miqdarı müxtəlif fizioloji və hormonal amillərin təsiri altında, eləcə də pəhriz zamanı dəyişə bilər. Müxtəlif toxumalar və müxtəlif metabolik yollar üçün çoxsaylı misallar mövcuddur (cədv.9.1), lakin bu prosesin molekulyar mexanizmləri haqqında biliklərimiz səthi xarakter daşıyır.

Qlükokortikoidlər K_{sin} artırmaqla tirozin-transaminaza fermentinin qatılığını artırır. Bu misal üzərində ilk dəfə olaraq məməlilərin toxumalarında fermentlərin sintezinin hormonal tənzimlənməsi dəqiq olaraq göstərilmişdir.

Mühitin şəraitindən asılı olaraq siçovulların bəzi qaraciyər fermentlərinin sintez olunma sürətlərinin dəyişməsi

Ferment	Yarım-yeniləşmə dövrü $t_{1/2}$, saat	Xarici stimül	Sintezin sürətinin nisbi dəyişilməsi
<i>Amin turşuların metabolizmi</i>			
Arginaza	100-120	Aclıq, qlükokortikoidlər	+2
Serindehidrataza	20	Qlükaqon, amin turşuları	+100
Histidaza	60	Zülallarla zənginləşdirilmiş pəhrizə keçid	+20
<i>Karbohidratların mübadiləsi</i>			
Q6FDH	15	Qalxanabənzər vəzin hormonları; karbohidrat-zənginləşdirilmiş pəhrizə keçid	+10
D-Qliserofosfat-dehidrogenaza	100	Qalxanabənzər vəzin hormonları	+10
Fruktozo-1,6-fosfataza		Qlükoza	+10
<i>Lipidlərin mübadiləsi</i>			
Sitratliaza		Aclıqdan karbohidratlarla zənginləşdirilmiş, lipidlərin miqdarı isə az olan pəhrizə keçid	+30
Yağ turşuların sintazası		Aclıq	-10
<i>Purin və pirimidinlərin metabolizmi</i>			
Ksantinoksidaza		Zülallarla zənginləşdirilmiş pəhrizə keçid	-10
Aspartat-trans-karbamoilaza	60	1%-li orot turşusu	+2
Dihidroorotaza	12	1%-li orot turşusu	+3

İnsulin və qlükaqon, onların fizioloji təsirlərinin antaqonizminə baxmayaraq, hər ikisi də K_{sin} qiymətini 4-5 dəfə

qaldırırlar. Güman olunur ki, qlükaqonun təsiri tsAMP vasitəsilə həyata keçirilir.

Fermentin fəallığının onun sabit miqdarı şəraitində tənzimlənməsi

Fermentativ fəallığın fermentlərin sintezi səviyyəsində tənzimlənməsi kifayət qədər ləng gedir; bu prosesin reallaşması üçün ən azı bir neçə saat lazımdır. Birbaşa fermentlərə istiqamətlənmiş sürətli tənzimləyici mexanizmlər də mövcuddur.

Bu tənzimləyici mexanizmlər aşağıdakı kimi təsnifləşdirilə bilər:

1. Allosterik tənzimlənmə
2. Dissosiativ tənzimlənmə
3. Adsorbsion tənzimlənmə
4. Kovalent modifikasiya
5. Qismi proteoliz

Allosterik tənzimlənmə

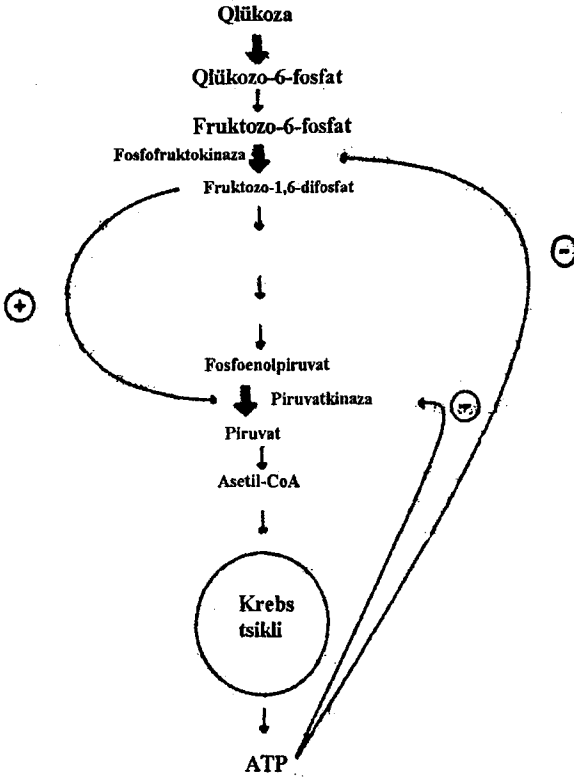
Metabolik yolların əsas mərhələlərini kataliz edən fermentlərin əksəriyyəti üçün müvafiq fermentativ reaksiyaların substratlarından kimyəvi quruluşlarına görə fərqlənən metabolitlərə qarşı həssaslığın olması xarakterikdir. Misal kimi ***biosintetik yolların birinci fermentinin həmin reaksiyalar zəncirinin son məhsulu ilə inhibirləşməsini*** göstərmək olar. Belə ki, STF biosintetik reaksiyalar zəncirinin birinci fermenti olan aspartatkarbamoiltransferazanın (ET 2.1.3.2) fəallığını seçici olaraq inhibirləşdirir. Bu ferment *E.coli* hüceyrələrində pirimidinin biosintezinin birinci mərhələsini, yəni STF və UTF-in 6-mərhələli sintezinin sələfi olan karbamoilaspartatın əmələ gəlməsini kataliz edir. STF aspartat-karbamoiltransferaza ilə birləşərək onu inhibirləşdirmək qabiliyyətinə malikdir. Beləliklə, əgər *E.coli* hüceyrələrində əmələ gələn STF sərf olunmursa, bu halda o, toplanaraq, öz biosintezinin birinci fermentini inhibirləşdirir və bununla belə həm özünün, həm də aralıq məhsulların toplanmasının qarşısını

alır. Bu cür tənzimlənmə *əks əlaqə mexanizmi üzrə tənzimlənmə* adlanır. Sonradan göstərilmişdir ki, bu cür tənzimlənmə canlı hüceyrələrdə geniş yayılıb və çoxsaylı fermentlər kiçikmolekullu birləşmələrin artıq miqdarları ilə tənzimlənilir. Məsələn, orqanizmdə sintez olunan sərbəst yağ turşuları qlükoneogenez, qlikoliz, Krebs tsikli, pentozofosfat şuntu kimi yağ turşularının biosintezində az və ya çox dərəcədə iştirak edən metabolik yolların müxtəlif mərhələlərini əks əlaqə mexanizmlə tənzimləyə bilər. Bu onu göstərir ki, tənzimləyici qismində metabolik yolun yalnız son məhsulu deyil, onun aralıq məhsulları da çıxış edə bilər, tənzimlənen fermentin isə həmin yolun birinci fermenti olması da heç də mütləq deyil. Bundan başqa tənzimlənmə mexanizmi təkcə inhibirləşdirilmə deyil, eləcə də aktivləşdirilmə yolu ilə gedə bilər.

Biodeqradativ yolların ilk mərhələlərini kataliz edən fermentlərin fəallığı hüceyrənin energetik vəziyyətinin indikatorları hesab olunan qeyri-üzvi fosfat, pirofosfat, adenin və ya digər purin nukleotidləri kimi maddələr vasitəsilə nəzarətdə saxlanıla bilər. Bu cür tənzimlənməyə misal kimi *E.coli* hüceyrələrində biodeqradativ treonindehidratazanın, *Enterobacter aerogenes* və *Bacterium cadaveris* hüceyrələrinin aspartaza fermentinin AMF-lə aktivləşməsini göstərmək olar. Eyni zamanda həm biosintetik, həm də biodeqradativ funksiyaları yerinə yetirən metabolik yollarda (amfibolik yollar) tənzimlənmənin hər iki növü mümkündür (son məhsulla inhibirləşmə və hüceyrənin energetik vəziyyətinin indikator-metabolitlər vasitəsilə tənzimlənmə).

Yalnız amfibolik yollar üçün xarakterik olan unikal tənzimlənmə növü kimi *sələflə aktivləşməni* qeyd etmək olar: reaksiyalar ardıcılığının birinci metaboliti sonuncu reaksiyanı kataliz edən fermenti aktivləşdirir. Bu cür tənzimlənmə, məsələn məməlilərin qlikogensintetazası üçün xarakterikdir. Bu ferment qlikogenin sələfi olan qlükozo-6-fosfatla aktivləşir. Mono, Şanjo və Jakob fermentativ reaksiyaların substratı və metabolitlərin kimyəvi quruluşlarını fərqləndirmək məqsədilə fermentə tənzimləyici təsir göstərən bu cür tənzimləyici-metabolitləri *allosterik*

effektorlar adlandırmağa qərara gəldilər. Allosterik effektorlar zülal molekulunun “allosterik mərkəzlər” adlanan xüsusi sahələri ilə birləşirlər, fermentin fəal və allosterik mərkəzləri arasında qarşılıqlı əlaqə isə zülal molekulunun konformasion dəyişiklikləri vasitəsilə təmin olunur. Fermentin fəallığının tənzimlənməsinin müzakirə olunan növü *allosterik tənzimlənmə*, bu cür tənzimlə-nən fermentlər isə, allosterik fermentlər adlanır.



Şəkil 9.3. Qlükozanın katabolizminin müsbət və mənfi tənzimlənməsinin sxemi.

Allosterik tənzimlənməyə bir misal olaraq, qlükozanın parçalanmasının ilk mərhələsi – qlikolizin tənzimlənməsi prinsipini göstərmək olar (şək. 9.3). Qlükozanın parçalanma məhsulla-

rından biri – ATP-dir. Hüceyrədə ATP-nin qatılığı artdıqda qlikolizin allosterik fermentlərinin – fosfofruktokinaza və piruvatkinazanın retro-inhibirləşməsi baş verir. Fruktozo-1,6-bisfosfatın qatılığı artdıqda isə piruvatkinazanın allosterik aktivləşməsi müşahidə olunur. Beləliklə, allosterik tənzimlənmə metabolizmdə böyük rola malikdir, çünki allosterik fermentlər hüceyrənin daxili mühitinin kiçik dəyişmələrinə qarşı belə dərhal cavab vermək qabiliyyətindədirlər. Allosterik tənzimlənmə aşağıdakı hallar üçün mühüm rol oynayır:

1. anabolik proseslərdə. Metabolik yolun son məhsulla inhibirləşməsi və ilk metabolitlərlə aktivləşməsi həmin birləşmələrin sintezinin tənzimlənməsini təmin edir;
2. katabolik proseslərdə. Hüceyrədə ATP toplandığı halda enerjinin sintezini təmin edən metabolik yolların inhibirləşməsi baş verir. Bu yolların substratlar isə, ehtiyat qida maddələrin sintezinə sərf olunurlar;
3. anabolik və katabolik yolların koordinasiyasında. ATP və ADP antaqonist təsirə malik olan allosterik effektorlardır;
4. paralel gedən və bir-biri ilə əlaqəli olan metabolik yolların (məsələn, nuklein turşuların sintezi üçün istifadə olunan purin və pirimidin nukleotidlərin sintezi) koordinasiyasında. Və, nəhayət, allosterik fermentlərin quruluşunun və fəaliyyətinin xüsusiyyətlərini aşağıdakı kimi göstərmək olar:

1. adətən, allosterik fermentlər bir neçə protomerdən təşkil olunmuş və domen quruluşu malik olan oliqomer zülallardır;
2. allosterik fermentlər fermentin fəal mərkəzindən kənarında yerləşən allosterik mərkəzə malikdirlər;
3. effektorlar allosterik fermentlə qeyri-kovalent olaraq allosterik (tənzimləyici) mərkəzlərdə birləşmiş olurlar;
4. allosterik mərkəzlər də, fəal mərkəz kimi, öz liqandlarına qarşı müxtəlif spesifikliklə xarakterizə olunurlar: spesifiklik mütləq və ya nisbi xarakterli ola bilər. Bəzi fermentlər bir neçə allosterik mərkəzə malik olur ki, onlardan bir

qismi aktivatorlara, digəri isə inhibitorlara qarşı spesifikliklə xarakterizə olunurlar;

5. allosterik mərkəzi daşıyan protomer tənzimləyici (reqlayator) protomer adlanır, kimyəvi reaksiya baş verdiyi fəal mərkəzə malik protomer isə katalitik protomer adlanır;
6. allosterik fermentlər kooperativlik xassəsinə malikdirlər, yəni allosterik effektorun allosterik mərkəzlə qarşılıqlı təsiri fermentin bütün subvahidlərinin konformasiyasının dəyişməsinə səbəb olur ki, bu da, öz növbəsində fəal mərkəzin konformasiyasının və fermentin substrata oxşarlığının dəyişməsinə gətirib çıxarır. Nəticədə fermentin katalitik fəallığı ya aşağı düşür, ya da, əksinə, daha da artır;
7. allosterik fermentlərin tənzimlənməsi geri-dönən bir prosesdir, yəni effektorun reqlayator subvahiddən ayrılması fermentin ilkin katalitik fəallığının bərpa olunması ilə müşayiət olunur;
8. allosterik fermentlər metabolik yolların mərkəzi reaksiyalarının kataliz edirlər.

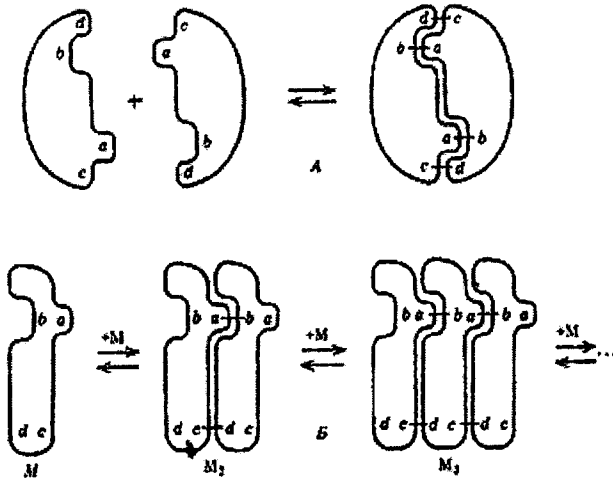
Dissosiativ tənzimlənmə

Hüceyrə metabolizminin çoxsaylı fermentləri oliqomer quruluşludurlar, yəni bir neçə subvahiddən təşkil olunublar. Subvahidlər arasındakı əlaqələr adətən qeyri-kovalent xarakter daşıyır və bunun sayəsində ferment oliqomeri ayrı-ayrı subvahidlərə dissosiasiya edə bilir. Bu subvahidlər öz katalitik xassələrinə görə oliqomer fermentdən əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənilər. Fermentin bu formaları arasındakı tarazlığa substratlar, kofermentlər və allosterik effektorlar vasitəsilə nəzarət olunur. Ferment oliqomerini təşkil edən subvahidlər arasındakı əlaqələrin möhkəmliyinə metabolitlərin bu cür təsiri tənzimlənmənin dissosiativ mexanizmini təsvir edir.

Subvahidlərdən təşkil olunmuş fermentlər müəyyən şəraitdə subvahidlərə parçalanmaq qabiliyyətinə malikdirlər. Bu proses geri-dönən xarakter daşıyır. Bəzi hallarda ferment assosiasiya

etmək meyilliyini göstərir və ilkin molekula nisbətən daha iri ölçülü assosiatları əmələ gətirir.

Dissosiasiya edən ferment sistemlərinin iki növünü müzakirə edək: 1 – zülal subvahidlərin assosiasiyası “qapalı” oliqomer strukturların əmələ gəlməsi ilə nəticələnir; 2 – ferment molekulların assosiasiyası ölçüləri məhdudlaşmamış assosiatların əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunur. *İzoloji assosiasiya* nəticəsində yalnız qapalı quruluşlar yaranır. *Heteroloji assosiasiya* isə ölçüsü məhdudlaşmamış assosiatların əmələ gəlməsi ilə nəticələnir (şək. 9.4).



Şəkil 9.4. İdentik monomerlərin assosiasiyası.

a – izoloji (subvahidlərin assosiasiyası); b – heteroloji (ferment molekullarının assosiasiyası); M - molekul.

Oliqomeri qapalı quruluşa malik olan dissosiasiya edən ferment sistemlərinə misal olaraq donuz ürəyindən alınmış NADP-asılı izositratdehidrogenazanı (molekul çəkisi 115 kDa-a bərabər olan monomer ↔ dimer tipli sistem) və dovşanın skelet əzələlərindən alınmış qlikogenfosforilaza b-ni (molekul çəkisi 194,8 kDa-a bərabər olan dimer ↔ tetramer tipli sistem) göstərmək olar. Məhdudlaşmamış ölçülərə malik assosiatların əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan assosiasiyaya misal olaraq

öküzün qaraciyərində fəaliyyət göstərən qlutamatdehidrogenazı göstərmək olar. "Monomer vahid" qismində çıxış edən ferment molekulunu $M \leftrightarrow M_2 \leftrightarrow M_3$ (M – ferment molekuludur) tarazlıq şəraitində molekul çəkisi 312 kDa bərabər olan heksamerdır. Bu cür assosiasiya lizosim üçün də müşahidə olunur (14,4 kDa).

Bir sıra fermentlər üçün assosiasiya prosesi daha mürəkkəb gədir. Məsələn, dovşanın skelet əzələlərində fəaliyyət göstərən qliseraldehidfosfatdehidrogenaza fermentinin tetramer molekulunu (144 kDa) dimerlərə, sonra isə monomerlərə dönər olaraq parçalanır, yəni oliqomer formalar arasındakı tarazlıq aşağıdakı kimi təsvir oluna bilər: monomer \leftrightarrow dimer \leftrightarrow tetramer.

Dissosiasiya edən ferment sistemlərinin katalitik fəallığının öyrənilməsi nəticəsində aşkar olunub ki, fermentin qatılığı dəyişdikdə xüsusi fermentativ fəallıq da ($v/[E]$) dəyişir. Bu onunla əlaqədardır ki, fermentin oliqomer formaları öz katalitik xüsusiyyətlərinə görə bir-birindən fərqlənirlər. Bir sıra dissosiasiya edən sistemlər üçün fermentin qatılığı artdıqca xüsusi fermentativ fəallıq da artır. Xüsusi fermentativ fəallığın fermentin qatılığından asılılığı ferment oliqomerinin onun dissosiasiya məhsullarına nisbətən daha yüksək katalitik fəallığa malik olmasını göstərir. Oliqomerin dissosiasiyası nəticəsində əmələ gələn subvahidlərin fermentativ fəallığa malik olmaması, çox güman ki, onunla əlaqədardır ki, aktiv mərkəz müxtəlif subvahidlərin tərkibinə daxil olan amin turşularının iştirakı ilə yaranır və subvahidlərin bir-biriləri ilə kontakta girdikləri sahədə yerləşir. Bu cür dissosiasiya edən ferment sistemlərinə misal kimi donuzun ürək əzələsində fəaliyyət göstərən NADP-asılı izositratdehidrogenazı göstərmək olar ki, bu ferment qeyfi-fəal monomer \leftrightarrow fəal dimer tipli sistem şəklində fəaliyyət göstərir.

Elə dissosiasiya edən ferment sistemləri də məlumdur ki, onların xüsusi fermentativ fəallığı fermentin qatılığı artdıqca azalır, çünki əmələ gələn assosiatların fəallığı ilkin ferment molekuluna nisbətən daha aşağı olur. Bu hal, məsələn, dovşanın skelet əzələlərindəki qlikogenfosforilaza *b*-də müşahidə olunur

ki, bu ferment üçün aktiv dimer \leftrightarrow qeyri-aktiv tetramer tipli sistem xarakterikdir. Fosforilazanın tetramer formasının katalitik fəallığa malik olmaması onunla izah olunur ki, tetramerdə fermentin aktiv mərkəzi yüksəkmolekullu substrat – qlikogen üçün sterik nöqtəyi nəzərdən əlçatılmaz olur.

Qarşılıqlı olaraq bir-birinə çevrilən oliqomer formalarla təmsil olunan bəzi fermentlər üçün xüsusi fermentativ fəallıq fermentin qatılığı artdıqca maksimumdan keçir. Bu hadisə, məsələn, insan erotrositlərində fəaliyyət göstərən 6-fosfofruktokinaza fermenti üçün müşahidə olunur. Bu halı izah etmək məqsədilə bir sıra modellər təklif olunub, onlara əsasən optimal ölçülü oliqomerlər maksimal katalitik fəallığa malikdirlər, onlardan kiçik və böyük ölçülü formalar isə fəallıqdan məhrum olurlar (və ya nisbətən aşağı fəallıqla təsir göstəririlər). Məsələn, insan eritrositlərində fəaliyyət göstərən 6-fosfofruktokinaza üçün elə bir model təklif olunub ki, ona əsasən fermentin molekul çəkisi 190 kDa-a bərabər olan dimer forması məhdudlaşdırılmamış ölçüdə assosiatlar əmələ gətirə bilər. Hesab olunur ki, dimer forma qeyri-fəaldır, onun assosiatları isə katalitik fəallığa malikdirlər, lakin assosiatların ölçüləri böyüdükcə onların fermentativ fəallığı aşağı düşür. Fermentlərin dissosiasiya-assosiasiya reaksiyalarının tipini müəyyənləşdirmək məqsədilə zülalların molekul çəkisinin təyininin fiziki üsullarından (sedimentasiya, işıqsəpələmə, eksklüzion xromatoqrafiya və s.) istifadə edirlər.

Fermentin oliqomer formaları arasında tarazlıq spesifik liqandlar (substrat, allosterik effektorlar) vasitəsilə nəzarətdə saxlanıla bilər. Bunun səbəblərindən biri ondadır ki, spesifik liqandların birləşməsi zülal molekulunun zülal-zülal qarşılıqlı əlaqələrə cavabdehlik daşıyan assosiasiya mərkəzlərinin konformasion dəyişikliklərinə gətirib çıxarır. Buna misal olaraq qlikogenfosforilaza *b* dimerlərinin aktivator qismində çıxış edən AMP-in təsiri nəticəsində tetramerlərə assosiasiyasını göstərmək olar.

Fermentin oliqomer formaları arasında yaranan tarazlığın spesifik liqandlara qarşı həssashlığının digər səbəbi ondadır ki, bəzi hallarda spesifik liqandların birləşdiyi mərkəzlər zülal-zülal

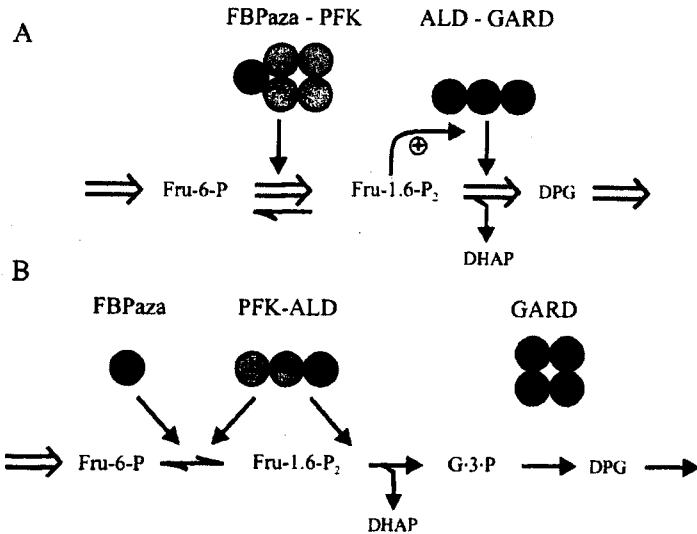
qarşılıqlı əlaqələrin yaranmasında iştirak edən sahələrdə yerləşirlər ki, həmin sahələr zülal assosiatlar əmələ gəldikdə sterik olaraq ekranlaşırlar (açılırlar). Bu cür hadisə qlikogenfosforilaza *b* üçün xasdır: qlikogenin birləşdirilməsində iştirak edən amin turşu qalıqları tetramerdə dimer-dimer qarşılıqlı əlaqələr yaradırlar. Nəticə etibarilə, tetramer qlikogeni birləşdirmək qabiliyyətindən məhrumdur. Mövcud olan dimer \leftrightarrow tetramer tarazlığı şəraitində qlikogen dissosiasiyaedici təsir göstərir.

Dissosiasiya edən ferment sistemlərin vacib xarakteristikası kimi oliqomer formalar arasında tarazlığın bərqərar olunması sürəti və fermentativ reaksiyanın sürəti arasındakı nisbəti göstərmək olar. Sürətlə assosiasiya edən ferment sistemləri üçün (yəni oliqomer formalar arasında tarazlığın bərqərar olunması sürəti fermentativ reaksiyanın sürətinə nisbətən daha yüksək olduğu sistemlər üçün) fermentativ reaksiyanın xüsusi fəallığı yalnız reaksiyon mühitdə fermentin son qatılığından asılıdır, fermentin ilkin məhluldakı qatılığından isə asılı deyil.

Öz fəaliyyəti zamanı fermentlər müəyyən aralıq məhsulun mikrokompartmentləşməsinə təmin edərək, dinamik qarşılıqlı əlaqəyə girmək qabiliyyətinə malikdirlər. Aralıq məhsul (intermediat) bir fermentin aktiv və ya allosterik mərkəzindən digər fermentin aktiv mərkəzinə ötürülə bilər. Qarşılıqlı əlaqənin bu cür mexanizmi NAD-asılı dehidrogenazalar üçün xarakterikdir. Qlikolizin, metabolitlərin dinamik mikrokompartmentləşməsinə əsaslanan, tənzimlənməsi sxemi təklif olunub.

Qlikolizin tənzimlənməsində qlikolitik intermedialardan biri olan – fruktozo-1,6-bisfosfat əsas rol oynayır. Fruktozo-1,6-bisfosfatın yüksək qatılıqları şəraitində (sxemin yuxarı hissəsi) fruktozobisfosfaldolaza qliseraldehidfosfatdehidrogenaza ilə kompleks əmələ gətirmək qabiliyyətini qazanır. Fərz olunur ki, aldolaza ilə kompleks əmələ gətirən dehidrogenaza dimer formada olur. 6-Fosfofruktokinaza bu şəraitdə əsasən, aldolaza ilə deyil, fruktozo-1,6-bisfosfataza ilə birləşmiş olacaq. Fermentlərin aqreqasiya olunmuş vəziyyəti qlikolizin yüksək sürətini təmin edir. Belə ki, aldolazanın qliseraldehidfosfatdehidrogenaza ilə

kompleksində qliseraldehid-3-fosfatın birbaşa qliseraldehidfosfatdehidrogenazanın aktiv mərkəzinə daşınması baş verir. Bunun sayəsində qliseraldehid-3-fosfatın qlikolizdən çıxışı və dehidrogenaza reaksiyası üçün əlverişsiz sayılan diol formaya keçməsinin qarşısı alınır. Beləliklə, fruktozo-1,6-bisfosfata aldolazanın qliseraldehidfosfatdehidrogenaza ilə kompleksinin təsiri nəticəsində difosfoqliserat və dioksiasetonfosfat əmələ gəlir.



Şəkil 9.5. Qlikolizin tənzimlənməsinin fermentlərin dinamik

komplekslərinin əmələ gəlməsini nəzərə alan modeli.

A və B – fruktozo-1,6-bisfosfatın (Fru-1,6-P₂) yüksək və aşağı səviyyələri. FBPaza – fruktozo-1,6-bisfosfataza; PFK – 6-fosfofruktokinaza; ALD – fruktozobisfosfataldolaza; GAPD – qliseraldehidfosfatdehidrogenaza; Fru-6-P – fruktozo-6-fosfat; G-3-P – D-qliseraldehid-3-fosfat; DHAP – dioksiasetonfosfat; GPD – 3-fosfo-D-qliseroilfosfat.

Fruktozo-1,6-bisfosfatın qatılığının azalması şəraitində (sxemin aşağı hissəsi) aldolaza 6-fosfofruktokinaza ilə kompleks əmələ gətirir, qliseraldehidfosfatdehidrogenaza isə əsasən qeyri-aktiv tetramer formada olur. Bu vəziyyətdə qlikolizin sürəti azalır.

Adsorbsion tənziqlənmə

Hüceyrə metabolitləri fermentlərin subhüceyrəvi quruluşları ilə qarşılıqlı əlaqəyə girmək qabiliyyətinə təsir edirlər. Əzələlərin struktur zülalları və hüceyrə orqanoidlərin membranları ilə adsorbsiya olunmuş fermentlər, məhlulda olan fermentlərdən fərqli olaraq mikroəhatəyə və dəyişilmiş katalitik xassələrə malik olurlar. Metabolitlərin nəzarəti altında fermentlərin subhüceyrəvi strukturlar üzərində adsorbsiyası (tənziqlənmənin adsorbsion mexanizmi) hüceyrənin tənziqləyici imkanlarını genişləndirir.

Fermentlərin hüceyrə membranları ilə, sitoskeletlə, əzələlərin struktur zülalları ilə geri dönərək birləşmək qabiliyyətini təsdiqləyən çoxsaylı məlumatlar mövcuddur. Bu hadisənin fizioloji mahiyyətini sübut edən bir neçə faktı qeyd edək:

- a) fermentlərin geri-dönən adsorbsiyası onların katalitik və tənziqləyici xassələrinin dəyişməsinə səbəb ola bilər və nəticə etibarilə fermentlərin fəallığının tənziqləyici amili qismində çıxış edə bilər;
- b) fermentlərin adsorbsiyası metabolitlərin fermentlər adsorbsiya olunduqları səthdə kompartmentləşməsinə təmin edə bilər;
- c) adsorbsiya olunmuş fermentlər nizamlı multiferment strukturları (metabolonları) əmələ gətirirlər ki, bunun nəticəsində metabolik proses vahid bir sistem kimi tənziqlənir;
- ç) membranların zülal məsamələrin üzərində adsorbsiya olunmuş fermentlər metabolitlərin membrandan fəal nəqlində iştirak edə bilərlər;
- e) adsorbsiya olunmuş fermentlər, sərbəst fermentlərə nisbətən daha stabildirlər və beləliklə adsorbsiya hüceyrədə fermentlərin parçalanmasının sürətini aşağı salan amil qismində çıxış edə bilər.

Fermentativ fəallığın adsorbsiya mexanizminin reallaşması haqda yalnız aşağıdakı şərtlər yerinə yetirildikdə danışmaq olar:

- 1) fermentin sərbəst və adsorbsiya olunmuş formaları arasında geri dönən tarazlığın mövcud olduğu zaman;

2) adsorbsiya zamanı fermentin katalitik xarakteristikalarının dəyişməsi;

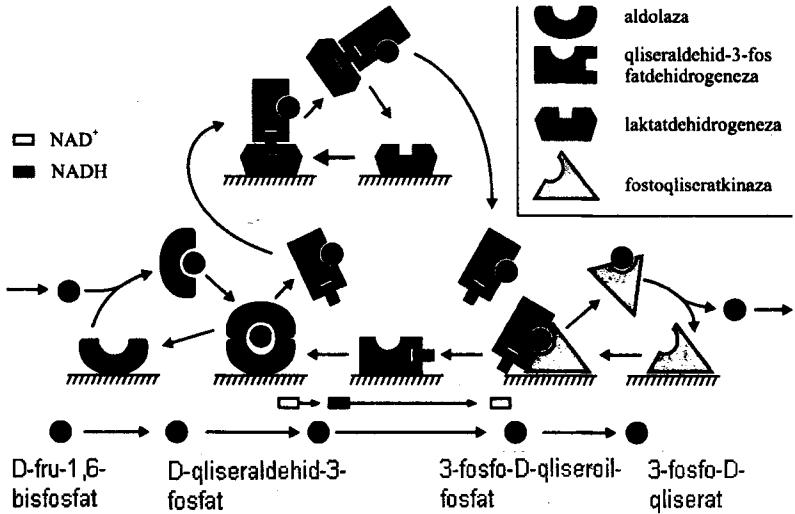
3) fermentin sərbəst və birləşmiş formaları arasında mövcud olan tarazlığın hüceyrə metabolitlərinə qarşı həssaslığı. Bu cür sistemə misal olaraq 6-fosfofruktokinazanı göstərmək olar. Fermentin adsorbsiya olunmuş vəziyyətə keçidi substrata, yəni fruktozo-6-fosfata görə kinetik kooperativliyin yox olması ilə müşayiət olunur. Eyni zamanda adsorbsiya olunmuş 6-fosfofruktokinaza ATP-in yüksək qatılıqları ilə ingibirləşməyə qarşı, sərbəst fermentlə müqayisədə, daha az həssaslıqla xarakterizə olunur.

Fermentin subhüceyrəvi strukturlar üzərində adsorbsiyası zamanı onun katalitik və tənzim olunma xassələrinin dəyişməsi fermentin sərbəst formasından adsorbsiya olunmuş vəziyyətə keçidini müşayiət edən zülal molekulyar konformasiyasının dəyişməsi, aktiv və ya allosterik mərkəzlərin sterik ekranlaşması, ferment molekulyarının mikroəhatəsinin dəyişməsi səbəbindən baş verə bilər.

Adsorbsiya olunmuş fermentlər metabolitlərin fermentlərin adsorbsiya olunduqları subhüceyrəvi strukturlar səthində kompartmentləşməsinə təmin edə bilərlər. A.Q.Ryazanova və A.S.Spirin 1988-ci ildə "səthə yarıq" modelini təklif ediblər. Bu model intermediatın bir fermentin aktiv mərkəzindən digərinin aktiv mərkəzinə birbaşa ötürülməsi mümkünlüyünü, fermentin subhüceyrəvi strukturlar üzərində geri-dönən adsorbsiyasının və müvafiq fermentlərin substrat və məhsullar tərəfindən desorbsiyasının mümkünlüyünü nəzərə alır.

İşləməyən fermentlər subhüceyrəvi strukturlarla asosiasiya olunurlar. İş zamanı fermentlər strukturların səthindən desorbsiyaya məruz qalırlar. Metaboliti saxlayan ferment onu metabolitik yolun səth üzərində adsorbsiya olunmuş növbəti fermentinə ötürür. Ötürülmə səth üzərində adsorbsiya olunmuş ferment-ferment kompleksində baş verir. Birinci ferment, intermediatdan azad olunaraq, səth üzərində adsorbsiya olunur, ikinci ferment

isə, məhsulla birgə azad olunur. Bu hadisələr qlikolizin növbəti fermentlərinin prosesə qoşulması zamanı təkrarlanır. Fermentlərin yarış mexanizmi ilə təsiri sayəsində metabolitik yolun intermediatlarının səthin yaxınlığında saxlanması təmin olunur.



Şəkil 9.6. Qlikolitik fermentlərin yarış modeli üzrə işləməsi.

Müəyyən fermentlər subhüceyrəvi strukturlarla özbaşına qarşılıqlı təsirə girməyən digər fermentlərin birləşməsi üçün şərait yaradır. Məsələn, fosfoqliseromutaza aktin-tropomiozin kompleksi ilə qarşılıqlı təsirə girə bilmir. Lakin laktatdehidrogenazanın adsorbsiyasından sonra fosfoqliseromutazanın birləşməsi mümkün olur. Bəzi müəlliflərin fikrincə adsorbsiya olunmuş fermentlərin qarşılıqlı təsiri sayəsində ümumi metabolitik yolların fermentlərini birləşdirən multiferment komplekslərinin əmələ gəlməsi mümkündür. Miofibrillərin aktin sapları üzərində qlikolitik fermentlər kompleksinin əmələ gəlməsi fərz olunur, digər müəlliflər isə qlikolitik fermentlərin eritrositlərin daxili səthində yığılması ehtimalını inkar etmirlər.

Hüceyrə strukturları üzərində bu cür multiferment komplekslər yığılı *metabolon* adlanır. Şrer 1985-ci ildə metabolonun

aşağıdakı tərifini irəli sürmüşdür: metabolitik yolun ardıcıl mərhələlərini kataliz edən fermentlərin hüceyrənin struktur elementləri ilə molekulüstü kompleksi metabolon adlanır. Məsələn, fərz olunur ki, eritrositlərdə qlikolitik fermentlər ansamblının yığılması membrandan anionların nəqlini təmin edən membranla bağlı olan inteqral qlikoprotein üzərində baş verir. Lövbər sahəcik rolunu zülal oynayır, çünki məhz zülal fruktozobisfosfatdolaza, qliseraldehidfosfatdehidrogenaza və 6-fosfofruktokinaza fermentlərini birləşdirmək qabiliyyətinə malikdir. Qlikolitik metabolonun hipotetik strukturu təklif olunub. Fərz olunur ki, qlikolitik metabolonun yığılmasının ilkin mərhələsi 6-fosfofruktokinaza fermentinin həmin inteqral zülalın üzərinə "oturulması"-dır. Qlikolitik metabolonun yığılmasında həmçinin eritrositlər membranının sitoskeleti də iştirak edir. Limon turşusu tsiklinin fermentlərini birləşdirən metabolonun hipotetik strukturu da təklif olunub. Metabolon mitoxondrilərin daxili səthində ayrı-ayrı fermentlərdən yığılır. Metabolonun yığılmasında α -ketoqlutaratdehidrogenaza kompleksinin membran üzərində adsorbsiyası mühüm rol oynayır. Lövbər sahəciyin tərkibinə mitoxondrilərin daxili membranının inteqral zülalı və limon turşusu tsiklinin fermentlərindən biri olan suksinatdehidrogenaza daxildir.

Hüceyrə membranları üzərində formalaşan metabolonlar membran səthinə perpendikulyar yerləşmiş və quruluşca nizamlanmış ansamblardır. Membranla bağlı periferik fermentlər metabolitlərin membrandan aktiv nəqlində iştirak edə bilirlər. Bu aktiv nəql fermentlə kataliz olunan fermentativ reaksiyanın enerjisi hesabına baş verir. Güman olunur ki, mitoxondrilərin xarici membranında yerləşmiş porin üzərində adsorbsiya olunmuş heksokinaza məhz bu cür fəaliyyət göstərir. Məlumdur ki, adsorbsiya olunmuş heksokinaza mitoxondrilərdə sintez olunmuş ATP-dən daha effektiv istifadə edir. Adenin nukleotidlərin porindən nəqlinin heksokinaza fermentinin təsiri ilə birgə baş verməsi də istisna olunmur.

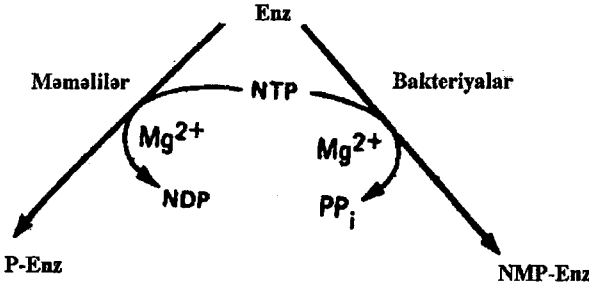
Fermentativ fəallığın allosterik, dissosiativ və adsorbsion mexanizmlərlə tənzimlənməsinin oxşarlığı ondadır ki, bu tənzimlənmə mexanizmlərinin hər biri üçün tənzimləyici metabolitin fermentin katalitik xassələrinə təsirinin birbaşa aktiv mərkəzə deyil, dolayı yolla (fermentin konformasiyasının, oliqomer və ya adsorbsiya olunmuş vəziyyətinin dəyişməsi yolu ilə) yerinə yetirilməsi xarakterikdir.

Allosterik, dissosiativ və adsorbsion ferment sistemləri kinetik anomaliyalarla (məs., fermentativ reaksiyanın sürətinin substratın və ya allosterik effektorun qatılığından S-şəkilli asılılığı) xarakterizə olunurlar ki, bu da həmin sistemlərlə tənzimləyici funksiyaların yerinə yetirilməsi nöqtəyi nəzərindən böyük əhəmiyyət kəsb edir. Allosterik, dissosiativ və adsorbsion ferment sistemlərinin fiziki-kimyəvi xassələrinin öyrənilməsi sistemlərin tənzimləyici imkanlarını miqdarca xarakteristikasını vermək və onları fermentin qarşılıqlı olaraq bir-birinə çevrilən formaları (konformasion vəziyyətinə görə fərqlənən, oliqomer, sərbəst və adsorbsiya olunmuş formaları) arasında tarazlıq sabiti, fermentin bir formasının digərinə keçidi prosesinin sürəti sabitləri və fermentin ayrı-ayrı formalarının katalitik parametrləri qismində çıxış edən parametrlər vasitəsilə təsvir etmək imkanını verir.

Beləliklə, fermentlərin fəallığının allosterik, dissosiativ və adsorbsion mexanizmlər vasitəsilə tənzimlənməsi metabolitik proseslərin fermentlər səviyyəsində tənzimlənməsini təmin edir. Molekulüstü strukturlar üçün yeni, iyerarxik cəhətdən daha yüksək tənzimlənmə mexanizmi yaranır. Biomakromolekullara və molekulüstü komplekslərə uyğun olan quruluş səviyyələrinin öyrənilməsinin mahiyyəti ondadır ki, bu komplekslər daha mürəkkəb funksiyaları yerinə yetirən və iyerarxik cəhətdən daha vacib tənzimləyici mexanizmlərin iştirakı ilə tənzimlənmən yüksək quruluş səviyyələrin (hüceyrə, toxuma, orqan, orqanlar sistemi, orqanizm) qurulmasında standart (nəql, ferment, təqəllüs, reseptor, enerjiverici) bloklar qismində çıxış edirlər.

Fermentlərin kovalent modifikasiyası

Bəzi hallarda ferment-zülalların bu və ya digər radikal-ların (fosfat, metil, asetil, adenil və s.) kovalent birləşməsi sayəsində quruluşların və fəallıqlarının kəskin dəyişilməsi baş verir. Fermentlərin katalitik fəallığının geri-dönən olaraq dəyişməsi əsasən ya fosfat qrupunun (məməlilərdə üstünlük təşkil edir) ya da nukleotid qalığının (bakterilərdə üstünlük təşkil edir) kovalent olaraq birləşməsi ilə müşayiət olunur. Fermentlərin fəallığının dəyişilməsi ilə müşayiət olunan kovalent modifikasiyaya məruz qalan fermentlər geri-dönən modifikasiya olunan fermentlər (GDMF) adlanırlar (şək. 9.7).



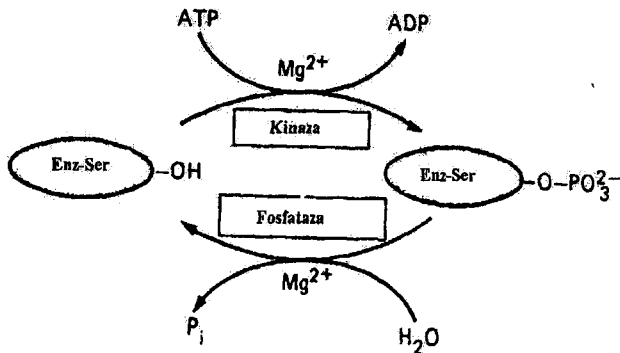
Şəkil 9.7. Fermentlərin fəallığının kovalent modifikasiya yolu ilə tənzimlənməsi (solda – fosforlaşma, sağda – nukleotidin birləşməsi; hər iki halda nukleozidtrifosfat rolunda (NTP) ATP çıxış edir).

GDMF-lər iki vəziyyətdə ola bilərlər ki, onlardan biri yüksək, digəri isə aşağı katalitik effektivliklə xarakterizə olunur. Hər bir müəyyən haldan asılı olaraq, ya fosfo-, ya da defosfoferment daha effektiv katalizator qismində çıxış edəcək.

Fosforlaşmaya gəldikdə, adətən fermentlərin tərkibindəki spesifik serin qalığı fosforlaşır və O-fosfoserin əmələ gəlir; bəzi hallarda tirozin amin turşusunun qalığı fosforlaşır və nəticədə O-fosfotirozin əmələ gəlir. GDMF tərkibində çoxlu sayda serin və ya tirozin amin turşularının mövcudluğuna baxmayaraq, fosforlaşma yüksək dərəcədə seçici olaraq gedir və qalıqların yalnız bir

neçəsi (1-3 ədəd) fosforlaşmaya məruz qalır. Güman olunur ki, bu sahələr katalitik mərkəzə daxil deyillər.

Fermentlərin fosforlaşması və defosforlaşması müvafiq olaraq proteinkinazalar və proteinfosfatazalarla kataliz olunur (şək.9.8).



Şəkil 9.8. Serin qalığının fosforlaşması/defosforlaşması yolu ilə fermentin fəallığını tənzimləyən kovalent modifikasiya.

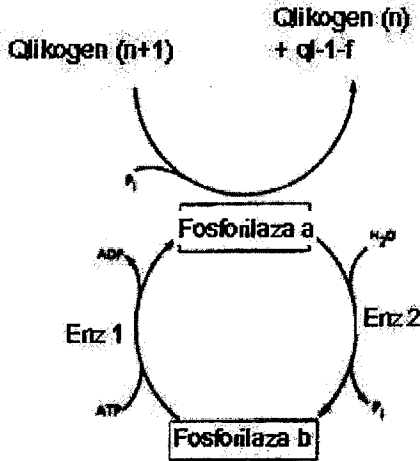
Bəzi hallarda fermentlərin modifikasiyasına səbəb olan fermentlərin özləri də geri-dönən modifikasiya olunan fermentlər qrupuna daxil olurlar (cədv. 9.2). Belə ki, modifikasiyaedici zülalların (proteinkinazaların) modifikasiyasını kataliz edən kinazalar və fosfatazalar məlumdur (proteinkinazaların kinazaları və fosfatazaları). Proteinkinazalar və proteinfosfatazaların fəallığı hormonal nəzarət altındadır və həmçinin sinir sistemi ilə tənzimlənir.

Fəallığı fosforlaşma-defosforlaşma yolu ilə tənzimlənən fermentlərə misal olaraq qlikogenoliz prosesinin tənzimləyici mərhələsini kataliz edən fosforilaza fermentini göstərmək olar. Qaraciyərdə bu ferment iki formada: fəal forma və ya fosforilaza *a* və qeyri-fəal forma – fosforilaza *b* formasında olur. Fosforilaza *b* fermenti müvafiq kinazanın təsiri ilə fosforlaşır, yəni onun tərkibindəki serin qalıqlarından birinin oksiqrupuna fosfat turşusunun qalığı birləşir və nəticədə fosforilaza *b* fəal formaya, yəni fosforilaza *a*-ya çevrilir. (şək. 9.9).

Məməlilərin orqanizmində fəaliyyət göstərən və katalitik fəallıqları fosforlaşma-defosforlaşma yolu ilə tənzimlənən bəzi fermentlər

Ferment	Fəallığı	
	aşağı	yüksək
Asetil-KoA-karboksilaza	EP	E
Qlikogensintaza	EP	E
Piruvatdehidrogenaza	EP	E
Qlikogenfosforilaza	E	EP
Sitratliaza	E	EP
Fosforilaza b-nin kinazası	E	EP

(E – defosforlaşmış ferment; EP – fosforlaşmış ferment)



Şəkil 9.9. Əzələ toxumasında fosforilaza fermentinin fəallığının tənzimlənməsi (n – qlükoza qalıqlarının sayı). Enz 1 – Fosforilaza a-nın kinazası; Enz 2 – Proteinfosfataza.

Qlikogenin metabolizmində iştirak edən digər ferment – qlikogensintaza da fosforlaşmış və fosforlaşmamış formalarda olur, lakin fosforilazadan fərqli olaraq qlikogensintazanın defosforlaşmış forması (qlikogensintaza a) fəaldır. Fermentin bu fəal

formasının yeddi serin qalığının fosforlaşması sayəsində, o, inaktivləşərək qlikogensintaza *b*-yə çevrilir.

Qeyd etdiyimiz kimi, fermentativ fəallığın modifikasiyası yalnız fosforlaşma-defosforlaşma yolu ilə deyil, eləcə də nukleotidlərin birləşməsi sayəsində də baş verə bilər. Belə ki, *E.coli* hüceyrələrində ATP-qlütaminsintetaza-adeniltransferaza fermenti ATP və Mg^{2+} ionlarının iştirakı ilə adenil turşusunun bir molekulunu birləşdirir və nəticədə fermentin bəzi katalitik xassələri dəyişir.

Modifikasiyaya uğramamış ferment qlisinlə ingibirləşir, ATP və STP ilə isə, demək olar ki, ingibirləşmir. Əksinə, adenil turşusunu birləşdirmiş ferment ATP, STP, histidin və triptofanla kəskin dərəcədə ingibirləşir, qlisinin ingibirləşdirici təsiri isə keyli azalır.

Qismən proteoliz yolu ilə tənzimlənmə

Bəzi fermentlər proferment və ya zimogen adlanan qeyri-fəal sələf qismində sintez olunurlar. Fermentativ fəallıq qeyri-aktiv profermentin katalitik aktiv formaya çevrilməsi yolu ilə də tənzimlənə bilər. Bunun üçün proferment konformasion dəyişikliklərlə müşayiət olunan qismi proteolizə məruz qalmalıdır; bu zaman fermentin katalitik mərkəzinin demaskalanması və ya formalaşması baş verir. Proteoliz adətən spesifik endo- və ya ekzopeptidazalar vasitəsilə həyata keçirilir. Profermentlər şəklində heyvan və bakterilərin əksər proteolitik fermentləri (həzm sisteminin fermentləri, qanın laxtalanması və fibrinolizində iştirak edən fermentlər), eləcə də fosfolipaza fermenti sintez olunur. Profermentlər şəklində sintez olunmanın bioloji mahiyyəti həmin fermentlərin biosintezi baş verdiyi toxuma və hüceyrələr daxilində fermentativ fəallığın özünü vaxtından tez bürüzə verməsinin qarşısını almaqdadır.

Həzm sisteminin kifayət dərəcədə yaxşı öyrənilmiş əsas proteolitik fermentlərindən biri pepsindir. Pepsin mədənin selikli qişasının hüceyrələri tərəfindən pepsinogen adlanan qeyri-fəal

proferment şəklində sintez olunur. Pepsinogenin (Mr 40400) fəal pepsinə (Mr 32700) çevrilməsi zamanı onun N-sonluq hissəsində inhibitor rolunda çıxış edən bir neçə amin turşu qalığı ayrılır (şək.9.10). Fəallaşma prosesi bir neçə mərhələdə gedir və mədə şirəsinin xlorid turşusu və pepsini ilə (autokataliz) kataliz olunur. Lakin bu prosesin dəqiq molekulyar mexanizmi indiyədək tam aydın deyil.



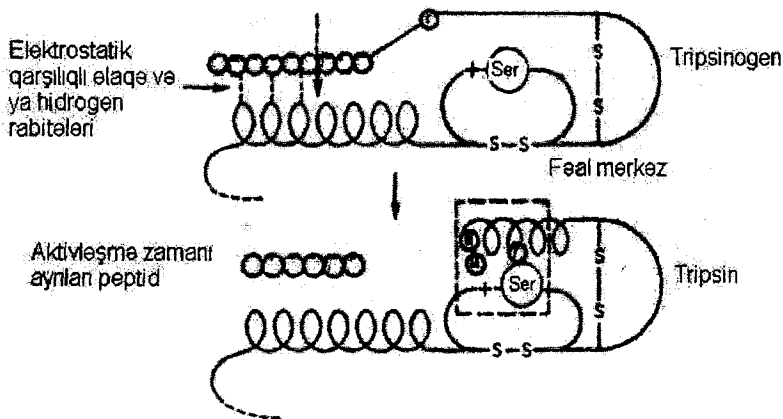
Şəkil 9.10. Pepsinogen və pepsin. Pepsinogen (aşağıda) pepsindən (yuxarıda) əlavə 44 amin turşu qalığının (yaşıl hissə) olması ilə fərqlənir.

Həzm sisteminin digər fermentləri olan tripsin, ximotripsin, elastaza, eləcə də ekzopeptidazalardan biri olan karboksipeptidaza mədə-altı vəzidə profermentlər şəklində sintez olunurlar və onların fəal fermentlərə çevrilməsi nazik bağırsaqda baş verir. Tripsinogenin tripsinə çevrilməsi prosesinin molekulyar mexanizmi tam aydınlaşdırılıb. *In vitro* şəraitdə bu prosesdə enteropeptidaza, tripsin, digər proteinazalar və Ca^{2+} ionları iştirak edir.

Kimyəvi nöqteyi nəzərdən tripsinogenin fəallaşması onun N-sonluq hissəsindən 6 amin turşu qalığının (Val-Asp-Asp-Asp-Asp-Liz) ayrılmasından və polipeptid zəncirinin qısalmasından ibarətdir (şək. 9.11).

Qeyd etmək lazımdır ki, bu heksapeptidin ayrılması böyük bioloji məna daşıyır. Belə ki, bu zaman fermentin fəal mərkəzi və tripsinin üçüncütlü quruluşu formalaşır. Tripsinin mədəaltı vəzi ilə qeyri-fəal proferment şəklində sintez olunması da, yuxarıda qeyd

olunduğu kimi, fizioloji mənə daşıyır, çünki əksər halda tripsin tək-cə vəzin öz hüceyrələrinə deyil, hətta bu vəzidə sintez olunan fermentlərə (amilaza, lipaza və s.) dağıdıcı proteolitik təsir göstərə bilər. Bundan başqa, mədəaltı vəz özünü əlavə bir mexanizmlə - pankreatik tripsinin spesifik zülal inhibitorunun sintezi ilə müdafiə edir. Bu inhibitor tripsin və ximotripsin fermentlərinin fəal mərkəzləri ilə möhkəm birləşmiş kiçikmolekullu peptiddir.



Şəkil 9.11. Tripsinogenin fəallaşması prosesi.

Ximotripsinə gəldikdə isə, bu ferment mədəaltı vəzidə iki sələf – ximotripsinogen A və ximotripsinogen B şəklində sintez olunur. Profermentlər bağırsaqda fəal tripsinin və ximotripsinin təsirinə məruz qalır və nəticədə α -, β - və π - kimi bir sıra ximotripsinlər sintez olunur. Ximotripsinogen A-nın amin turşu ardıcılığı tripsinin amin turşu ardıcılığı ilə xeyli oxşardır və, o, təxminən 246 amin turşu qalığından təşkil olunub. Ximotripsinogen A-nın tərkibində tripsinin təsiri ilə arginin və izoleysin amin turşuları arasındakı bir peptid rabitəsi parçalanır və nəticədə ən yüksək fermentativ fəallığa malik olan π -ximotripsini əmələ gəlir. Ser-Arg dipeptidinin ayrılması isə, δ -ximotripsinin əmələ gəlməsi ilə nəticələnir. Ximotripsinin iştirakı ilə baş verən autokatalitik

fəallaşma prosesi əvvəlcə qeyri-fəal aralıq neoximotripsinin əmələ gəlməsinə gətirib çıxarır ki, o isə, öz növbəsində, fəal tripsinin təsiri altında α -ximotripsinə çevrilir; α -ximotripsin həmçinin ximotripsinin təsiri altında δ -ximotripsindən əmələ gələ bilər. Beləliklə, ximotripsinin və tripsinin birgə təsiri nəticəsində ximotripsinogendən öz fermentativ fəallıqlarına və bəzi fiziki-kimyəvi xassələrinə görə bir-birilərindən fərqlənən müxtəlif ximotripsinlər əmələ gəlir.

Beləliklə, həzm sisteminin bəzi fermentləri misalında fermentlərin qismən proteoliz yolu ilə fəallaşmasının mexanizmini müzakirə etdik.

FƏSİL X. FERMENTLƏRİN TƏTBİQ SAHƏLƏRİ

Ferment preparatları biotexnologiyada, tibbdə, sənayenin müxtəlif sahələrində istifadə edilən vasitə və reaktivlər kimi getdikcə daha böyük əhəmiyyət kəsb etməyə başlayır. Bunlar, çörəkbişirmə, pivə istehsalı, meyvə şirələrinin istehsalı, spirt istehsalı, şarabçılıq, pendir istehsalı kimi ənənəvi biokimyəvi istehsalat prosesləri ilə yanaşı, həmçinin biotexnologiyanın və mikrobiologiyanın inkişafı nəticəsində yaranan bir sıra yeni sahələrdə tətbiq olunurlar. Ferment preparatları elmi tədqiqatlarda qlükoza, sidik cövhəri və s. kimi müxtəlif birləşmələrin miqdarca təyini məqsədilə reaktivlər qismində geniş istifadə olunurlar. Bundan başqa, ferment preparatları tibbdə də getdikcə geniş istifadə olunurlar.

Sənaye miqyasında ferment preparatları ilk dəfə olaraq 1884-cü ildə yapon alimi Dj. Takamine tərəfindən tətbiq olunmuşdur. O, *Aspergillus oryzae* göbələyindən alınmış amilazanı nişastanın şəkərə çevrilməsi məqsədilə istifadə etmişdir. Takaminenin işləri tətbiqi enzimologiyanın inkişafına böyük təkan verdi. Hal-hazırda Yaponiyada, ABŞ, İngiltərə, Almaniya və s. başqa ölkələrdə keyfiyyətli ferment preparatları istehsal olunur ki, bunlar tibbdə, elmi tədqiqatlarda, kənd təsərrüfatında və s. geniş tətbiq olunurlar.

Belə ki, fermentlərin müxtəlif sənaye sahələrində geniş tətbiqini əks etdirən bir neçə fakta diqqət yetirək.

Sənayedə geniş istifadə olunan fermentlərdən amilolitik fermentləri xüsusilə qeyd etmək olar. Məsələn: çörəkbişirmə sənayesində *Aspergillus* göbələklərindən əldə edilmiş və tərkibinə amilaza, proteinaza daxil olan preparatların 20-25 qramı 1 ton xəmirə vurulduqda, çörəyin keyfiyyəti yaxşılaşır, xəmirin yetişməsi 30% sürətlənir, şirin çörək məmulatları üçün sərf olunan şəkərlərə 2-qat qənaət edilir, çörəyin həcmi 20% artır və çörək yumşaq olur. α -amilazanın təsiri nəticəsində çörəyin ətri və dadı da xeyli yaxşılaşır. Çörəyin ətrinin yaxşılaşması onunla

əlaqədardır ki, xəmirə α -amilaza əlavə olunduqda melanoidinin əmələ gəlməsi prosesi xeyli sürətlənir, nəticədə çörəyin tərkibində onun ətrini müəyyən edən uçucu karbonil birləşmələrin miqdarı xeyli artmış olur.

Amilolitik fermentlər pivə və spirt sənayesində də geniş tətbiq olunurlar. Ferment preparatlarının pivə sənayesində tətbiqi hər dekalitrə 165 qram arpanın qənaət olunmasını təmin edir.

Amilolitik fermentlər kartof və buğda mənşəli nişasta xammalını şəkərə çevirmək məqsədilə spirt istehsalında geniş istifadə olunurlar. Əvvəllər nişastanı xlorid turşusunun təsiri altında turşu hidrolizi nəticəsində qlükoza əldə olunurdu. Bu proses yüksək temperatur və təzyiqli şəraitində aparılırdı və xlorid turşusunun təsirinə qarşı davamlı olan bahalı avadanlığın mövcudluğunu tələb edirdi. Nəticədə, əmələ gələn qlükozanın bir qismi parçalanırdı, digər hissəsi qlükozanın reversiyası məhsullarına (treqaloza və digər oliqosaxaridlərə) çevrilirdi, hidrolizat isə rənglənmiş olurdu və əlavə təmizlənməyə məruz qalmalı idi.

Lakin bu prosesin fermentativ yolla aparılması sayəsində bütün çatışmazlıqları aradan qaldırmaq mümkün idi. Bu məqsədlə amilaza mənbəyi qismində səməni unundan istifadə etməyə başladılar. Sonradan, səməni laboratoriya üsulu ilə yetişdirilmiş *Aspergillus ozyrae* kif göbələyi ilə əvəz olundu. Belə əvəzlənmə müvəffəqiyyətlə spirt zavodlarında həyata keçirilir. Spirt zavodlarında nişastanın qəndləşdirilməsi prosesində yalnız göbələk mənşəli amilazadan istifadə edirlər, bu halda taxıla xeyli qənaət olunur. Göbələk mənşəli amilazaların tətbiqi daha yüksək çıxışla daha təmiz qlükozanı əldə etmək imkanını verir. Bu halda qlükozanın çıxışı 96-97% təşkil edir və alınmış hidrolizat ya ümumiyyətlə şəffaf, ya da zəif rənglənmiş olur.

Fermentlərin tətbiqi nöqtəyi nəzərdən proteolitik fermentlər də xüsusi diqqətə layiqdirlər, çünki bu fermentlər sənayedə müxtəlif məqsədlərlə istifadə olunurlar. Belə ki, pendirin istehsalı zamanı südün kəsmikləşməsi məqsədilə buzov qursağı və ya ondan alınmış ferment preparatından istifadə olunur. Süd məhsulları sənayesində proteazaların istifadəsi pendirin yetişməsini iki dəfə sürətləndirir və onun maya dəyərini 10% aşağı salır.

Qursağ mənşəli proteazaları mikrob mənşəli fermentlərlə əvəz olunması cəhdləri edilmişdir, lakin burada hələ də bir sıra çatışmazlıqlar meydana çıxır. Belə ki, mikrob mənşəli proteazaların südü kifayət qədər yaxşı kəsmikləşdirmələrinə baxmayaraq, onlar hazır pendirə xoşagəlməz acı dad verirlər. Bu səbəbdən, pendir istehsalında tətbiq edilən mikrob mənşəli proteazaların təmizlənməsi və öyrənilməsinə dair işlər hələ də davam olunmalıdır.

Proteazalar, məsələn papain və pepsin, pivə istehsalında pivənin soyuqda saxlanılması zamanı zülal-tannin çöküntülərinin əmələ gəlməsi sayəsində onun bulanıq məhlula çevrilməsi ilə mübarizə məqsədilə istifadə olunurlar.

Proteolitik fermentlərdən həmçinin ətin yumşaldılması məqsədilə də istifadə edilir. Buxarda hazırlanmış ət, hətta uzunmüddətli emaldan sonra da, öz sərtliyini qoruyub saxlayır. Ətin yumşaq olmasına nail olmaq məqsədilə ətin yetişmə prosesini gözləmək lazımdır. Bu proses uzun müddət (10-14 gün, 0-2°C şəraitində) və iri ölçülü soyuducuların olmasını tələb edir. Hətta belə yetişmə prosesindən sonra da belə ətin yalnız 14-17% əla və 1-ci növ sayılır. Ətin yetişməsinə təmin edən əsas proseslərdən biri - ətin tərkibində olan proteolitik fermentlərin təsiri ilə zülalların qismən parçalanmasıdır. Bundan belə nəticəyə gəlmək olar ki, ətin yetişməsinə nail olmaq üçün proteolitik fermentlərdən istifadə etmək lazımdır. Hal-hazırda, papain və bakterial, göbələk və bitki mənşəli digər proteolitik fermentlər (fisin, bromelain) ətin işlənilməsi məqsədilə istifadə olunurlar. Nəticədə 1-ci növ ətin çıxışı 40%-ədək artmış olur.

Proteolitik fermentlər qida sənayesi ilə yanaşı, yüngül sənayenin müxtəlif sahələrində də geniş istifadə olunurlar. Belə ki, xəz və dəri istehsalında dərinin tüksüzləşdirilməsi və yumşaldılması məqsədilə streptomisetlərin hüceyrəxarici proteazaları olan protelin və protofradin fermentlərindən istifadə edirlər. Bu zaman müvafiq proseslərin həyata keçirilməsi üçün tələb olunan vaxt bir neçə dəfə azalır, xəzin və dərinin keyfiyyəti daha yüksək olur, bu sahədə əmək şəraiti isə yaxşılaşır.

Ümumiyyətlə, xəz və dəri istehsalında tripsin, pepsin, katepsin, kollagenaza və digər proteazalardan geniş istifadə olunur.

Toxuculuq sənayesində parçanı yapışqansızlaşdırmaq üçün bakterial mənşəli ferment preparatlarının tətbiqi prosesi 7-10 dəfə tezləşdirir.

Məişət kimyasında yuyucu tozların istehsalında da proteazaların ferment preparatları geniş tətbiq olunurlar. Bu məqsədlərlə istifadə olunan proteazalar müəyyən tələblərə cavab verməlidirlər. Onlar, pH 9-10 olan mühitdə stabil və fəal olmalıdırlar, və bu fermentlərin fəallığı metal ionlarının mövcudluğundan asılı olmamalıdır. Bu tələblərə *Bacillus subtilis* bakteriyaların bəzi ştamlarından alınmış və "subtilizin" adını almış proteazalar cavab verir. Bəzi bitki mənşəli proteazalar 90⁰ C temperaturadək öz aktivliklərini saxlamaqla, tozların yuyuculuq qabiliyyətini artırır. Tozlara qatılan digər fermentlər (α -amilaza, qlükooksidaza, lipoksidaza) yuyulan materialdan müxtəlif ləkələrin təmizlənməsi üçün tətbiq edilir. Bu fermentlərin bir qismi diş pastalarına əlavə olunur, və bunula da pastanın antimikrob xassələrinin artması, kariyesin qarşısının alınması və dişlərin keyfiyyətli təmizlənməsinə nail olunur. Sellüloza tullantılarından sellülin fermenti vasitəsilə qlükozanın iri miqyaslı istehsalı, balıq sənayesində proteoliz fermentlərin tətbiqinin geniş spektri olduğunu bir daha göstərir. Son illər təbabət sahəsində fermentlərin geniş tətbiqi buna misaldır. Mədə-bağırsaq xəstəliklərinin müalicəsində tətbiq olunan betasid, abomin, festal, panzinorm dərman preparatlarında pepsin, tripsin, ximotripsin, amilaza, zədələnmiş toxumalara dərman preparatlarının daxil olmasını asanlaşdıran lidaza, qan damarlarında trombları həll edən streptokinaza, urikinaza, yuxarı tənəffüs yolları xəstəliklərinin müalicəsində işlədilən dezoksiribonukleaza və ya streptodornaza; gözün buynuz qişasının müalicəsində, yaralarda iltihab prosesinin aradan qaldırılmasında, xərçəng xəstəliyinin bəzi növlərinin müalicəsində və s. məqsədlərlə fermentlərin tətbiqi getdikcə genişlənilir.

Son illər ərzində proteolitik fermentlərin tibbdə tətbiqinə dair müxtəlif tədqiqatlar aparılır. Belə ki, proteaza preparatlarından trombların sorulması, yaraların daha tez sağalması məqsədilə işlənilməsi, kataraktanın aradan qaldırılması.

Meyvə şirələrinin istehsalında pektolitik fermentlərin preparatlarının tətbiqi yaxşı nəticələr verir. Bu preparatlar meyvə şirələrinin çıxışını 8-15% artırır və onları daha da şəffaflaşdırır. Proteazalar, məsələn alma şirəsi halında, şirənin özlüyünü aşağı salaraq, şirələrin qatılaşdırılması zamanı həlməşiklərin əmələ gəlməsinin qarşısını alırlar.

Şirniyyat sənayesində β -fruktofuranozidaza fermentinin preparatlarından istifadə olunur. Məsələ burasındadır ki, saxaroza asanlıqla kristallaşır, bu isə konfet və pomadkaların (konfetlərin bir növü) istehsalında xoşagəlməz bir haldır. β -fruktofuranozidazanın təsiri altında saxaroza invert şəkərə çevrilir, və bununla da saxarozanın kristallaşmasının qarşısı alınır.

Yuxarıda müzakirə etdiyimiz fermentlərin praktiki olaraq hamısı hidrolitik fermentlər idilər. Hidrolazalarla yanaşı, oksidoreduktazalar sinfinin fermentləri də sənayedə geniş istifadə olunurlar.

Belə ki, alkoqoldehidrogenaza preparatlarından bəzi ölkələrdə avtomobil sürücülərinin qanında alkoqolun miqdarının müəyyən edilməsi məqsədilə istifadə olunur.

Son illər ərzində qlükozoksidaza fermenti də geniş tətbiq olunur. Yüksək spəsifikliyi sayəsində, qlükozoksidaza fermentinin preparatlarından qlükozanın miqdarca təyini məqsədilə istifadə etmək olar. Bu, xüsusilə klinikada sidik və qanda qlükozanın miqdarca təyini üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir.

Qlükozoksidazanın tətbiq sahələrindən biri də - saxlanılması qurudulmuş vəziyyətdə nəzərdə tutulmuş qida məhsullarından qlükozanın kənarlaşdırılmasıdır. Belə ki, yumurtalarda qlükozanın mövcudluğu ona gətirib çıxarır ki, yumurtalardan qurudulma yolu ilə yumurta tozunu aldıqda, saxlanılma zamanı yumurta tozunda xoşagəlməz dad və qoxuya malik maddələr əmələ gəlir. Bu, onunla əlaqədardır ki, yumurta tozunun qurudulması və

saxlanması zamanı yumurta tərkibindəki qlükoza, xüsusilə də yüksək temperatur şəraitində, amin turşuları və zülalların sərbəst amin qrupları ilə qarşılıqlı təsirə girir. Nəticədə yumurta tozu tündləşir və xoşagəlməz dada və qoxuya malik bir sıra maddə əmələ gəlir. Məhz bu səbəbdən, qurudulmadan əvvəl yumurta kütləsindən qlükozanı kənarlaşdırmaq məqsədəuyğundur, və buna nail olmaq üçün yumurta kütləsi qlükozooksidaza preparatı ilə işlənilməlidir. Nəticədə, daha keyfiyyətli yumurta tozu alınır.

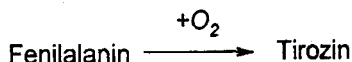
ABŞ-da qlükozooksidaza preparatları müxtəlif içkilərin və konservlərin içindən oksigenin çıxardılması məqsədilə istifadə edilir.

Qeyd etmək lazımdır ki, fermentlərin tədqiq olunmasının perspektiv istiqamətlərindən biri də tibbi enzimologiyadır ki, bu da fermentlər haqda ümumi bioloji təlimin məntiqi inkişafı nəticəsində yaranan bir sahədir. Hal-hazırda fermentlərin tibbdə tətbiqinin hədsiz imkanları şübhə doğurmur. Tibbi enzimologiyada üç əsas istiqamət mövcuddur: enzimopatologiya, enzimodiagnostika və enzimoterapiya. Bu problemlərə dair milli və beynəlxalq konfranslar, simpoziumlar və konqreslər keçirilir, illik toplular (Advances in Clinical Enzymology, Annual Reports in Medical Chemistry) dərc olunur. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, tibbi enzimologiyanın adı çəkilən istiqamətlərinin nəinki öz məqsədləri və konkret məsələləri var, hətta hər bir istiqamətin xüsusi metodologiyası mövcuddur.

Enzimopatologiyanın tədqiqat sahəsi, adında patologiya (xəstəliklərin inkişafının səbəbləri və mexanizmləri haqda təlim) sözünün olmasına baxmayaraq, tibbi enzimologiyanın bu istiqaməti əslində nəzəri, fundamental xarakterli təlimdir. Enzimopatologiya, fərdi fermentin və ya fermentlər qrupunun sintezinin və ya fəallığının tənzimlənməsi mexanziminin pozulması nəticəsində meydana çıxan patoloji proseslərin inkişafının molekulyar mexanizmlərini öyrənir. Fermentlər, bir tərəfdən, unikal katalitik funksiyaları yerinə yetirirlər, digər tərəfdən isə, yüksək dərəcədə ifadə olunmuş orqanotropluq və təsir spesifikliyi ilə xarakterizə olunurlar ki, bunun da sayəsində fermentlər patoloji prosesə

istiqlamətlənmiş təsir məqsədilə istifadə olunan zərif və seçici vasitə qismində çıxış edə bilərlər. Məlumdur ki, insanın iki mindən artıq irsi xəstəliklərindən yalnız 20-30 xəstəliyin yaranmasının molekulyar mexanizmi aydınlaşdırılmışdır. Adətən, xəstəliyin yaranması insan orqanizmində hansısa bir fermentin irsi olaraq çatışmazlığı və ya tamamilə sintez olunmaması ilə əlaqədardır.

Belə ki, fenilpiroüzüm oliqofreniya xəstəliyi qaraciyərdə spesifik fermentin sintezinin olmaması ilə əlaqədardır. Bu, irsi xəstəlik olmaqla, uşaqlıq dövründə uşağın məhv olmasına və ya əqli cəhətdən xeyli geri qalmasına səbəb olur. Xəstəliyin molekulyar defekti əvəz olunmayan amin turşusu olan fenilalaninin tirozinə aşağıdakı sxemə müvafiq olaraq çevrilməsinin bloklaşmasından ibarətdir:



Müəyyən olunmuşdur ki, adı çəkilən xəstəlik zamanı bu reaksiyanı kataliz edən fenilalanin-4-hidroksilaza, daha dəqiq desək, fenilalanin-4-monooksigenaza qaraciyər hüceyrələri tərəfindən sintez olunmur. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, normada fermentə yalnız qaraciyərdə rast gəlinir. Fenilalanin mübadiləsinin bu cür molekulyar pozulması ağır irsi xəstəlikdir ki, nəticədə orqanizmdə, xüsusilə də xəstə uşaqların qan zərdabında və beyin toxumasında fenilalaninin və onun əlavə mübadilə yolunun məhsullarının, məsələn fenilpiroüzüm turşusunun (bu da xəstəliyin adını müəyyən edir) artıq miqdarda toplanması müşahidə olunur.

Adətən, fenilpiroüzüm oliqofreniya xəstəliyinin diaqnozu uşaq bələkləri üzərində fenilalaninin və ya fenilpiroüzüm turşusunun kimyəvi yolla aşkarlanmasına əsaslanır. Xəstəliyin müalicəsi isə, əsasən uşağın qida rasionundan (o cümlədən, ana südündən) fenilalanin amin turşusunun istisna olunması yolu ilə həyata keçirilə bilər. Belə uşaq üçün tirozin əvəz olunmaz amin turşu statusunu qazanır.

Digər ağır irsi xəstəlik isə qalaktozemiya ki, bu zaman qaraciyər hüceyrələrində qalaktozanın qlükoza çevrilməsini kataliz edən fermentin sintezinin pozulması baş verir və nəticə etibarilə belə xəstələr süd şəkərini mənimsəmək qabiliyyətindən məhrum olurlar. Bu anomaliya nəticəsində toxumalarda çoxlu miqdarda qalaktoza toplanır, bu isə artıq uşaqlıq dövründə kataraktanın əmələ gəlməsinə, bəzi hallarda uşağın ölümünə səbəb olan qaraciyər və beyin toxumalarının zədələnməsinə gətirib çıxarır. Bu halda da müalicə qida rasionundan süd şəkərinin (laktatın) istisna olunması yolu ilə aparıla bilər.

İrsi xarakter daşıyan enzimopatologiyalarla yanaşı, qazanılmış enzimopatologiyalar da mövcuddur ki, bu xəstəliklər irsi amillərlə əlaqəli deyildir. Qazanılmış enzimopatologiyalara misal olaraq alimantar enzimopatologiyaları göstərmək olar. Alimantar enzimopatologiyalar mikroelement, zülal və ya vitamin çatışmazlığı (yəni hipo- və ya avitaminoz) zamanı, eləcə də ümumiyyətlə qida balansının pozulmaları nəticəsində meydana çıxır. Bildiyimiz kimi, vitaminlərin orqanizmdəki rolu əsasən mürəkkəb fermentlərin kofermentləri qismində çıxış etməkdən ibarətdir. Deməli, hər hansı bir hipo- və ya avitaminoz zamanı müəyyən fermentin və ya fermentlər qrupunun fəaliyyəti pozulmuş olur, bu da öz əksini ümumiyyətlə maddələr mübadiləsinin pozulmasında tapır.

Qazanılmış enzimopatologiyaların digər qrupunu isə toksik mənşəli enzimopatologiyalar təşkil edir. Bunlara misal olaraq fermentlərin fəallığına spesifik təsir göstərən toksiki maddələrlə zəhərlənmələri göstərmək olar. Digər sözlə, bu zaman fermentlərin müvafiq toksiki maddələrin təsiri altında inhibirləşməsi baş verir. Bu cür toksiki təsire malik olan birləşmələr sırasına sianid turşusu və onun duzları, arsen, cıvə duzları və s. daxildir. Məsələn, sianid turşusu və onun duzları sitoxromoksida fermentinin fəal mərkəzi ilə birləşərək, onu inhibirləşdirirlər. Sitoxromoksida-
zanın tənəffüs zəncirinin əsas fermentlərindən biri olduğu səbəbindən belə zəhərlənmə zamanı orqanizmdə tənəffüs prosesi pozulmuş olur və orqanizm məhv ola bilər. Arsen və cıvə

duzlarına gəldikdə isə, bunlar bəzi fermentlərin fəal mərkəzinə daxil olan SH-qrupları ilə birləşərək, onları inaktivləşdirirlər.

Beləliklə, enzimopatologiya fermentlərin həm irsi, həm də somatik xarakterli pozulmaları ilə əlaqədar olan xəstəlikləri öyrənir. Qeyd edək ki, enzimopatologiya xəstəliyin yaranma səbəblərinə deyil, əsasən onun molekulyar mexanizminə diqqət yetirir. Belə ki, elmi mərkəzlər və Elmi-tədqiqat institutları yaradılmışdır ki, onların əsas vəzifəsi bədxassəli böyümə, arterioskleroz və ya revmatoid artrit kimi xəstəliklərin molekulyar mexanizmlərinin aydınlaşdırılmasından ibarətdir.

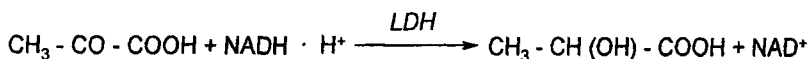
Tibbi enzimologiyanın ikinci istiqaməti olan enzimodiagnozika orqanizmin bioloji mayələrində (qan zərdabı, mədə və ya bağırsaq şirəsi, sidik, onurğa beyininin mayesi və s.) ferment və izofermentlərin fəallığının təyininə əsaslanan ferment testlərinin (sınaqların) işlənilməsi və hazırlanması ilə məşğuldur. Bu tədqiqatlar iki istiqamətdə: birincisi, müəyyən orqan, orqanlar qrupu və ya orqanizm üçün spesifik olan orqanotrop və ya toxumatrop fermentlərin axtarışı istiqamətində, ikincisi isə, biomühitlərdə fermentlərin fəallığının artıq ədəbiyyatda mövcud olan təyini metodikasının təkmilləşdirilməsi istiqamətində aparılır. Diaqnostik enzimologiya böyük nailiyyətlər əldə etmişdir, və həkimə həm xəstəliyin düzgün diaqnozunu qoyulması və xəstəliyin ağırlıq dərəcəsini müəyyən etmək, həm də aparılan müalicənin nə dərəcədə effektiv olduğunu müəyyən etmək imkanını verir. Hal-hazırda müxtəlif orqanların zədələnməsi zamanı bioloji mayələrdə aşkar edilən çoxsaylı fermentlər üçün miqdarı analiz üsulları işlənilib. Bu fermentlərin hər birisi üçün fəallığın kontrol qiymətləri (səviyyələri) və norma daxilində həm qanda, həm də orqanın özündə dəyişmə həddləri müəyyən olunmuşdur.

Misal olaraq aspartataminotransferaza və alaninaminotransferaza fermentlərinin fəallıqlarının təyininə diqqət yetirək. Bu iki transaminaza fermentinin qan zərdabında fəallığı normada 5-40 beynəlxalq vahid arasında dəyişə bilər. Ürək çatışmazlığı, ürəyin işemik xəstəliyi zamanı xəstənin qan zərdabında hər iki transaminazanın fəallığı müəyyən dərəcədə artmış olur, lakin

miokardın infarktı zamanı 20 dəqiqədən sonra bu fermentlərin qan zərdabındakı fəallığı kəskin artaraq, sağlam insanın qanı üçün xarakterik olan kontrol qiymətlərə nisbətən onlarla, hətta bir neçə yüz dəfə daha yüksək olur.

Qeyd etmək lazımdır ki, miokardın infarktı zamanı qanda təkcə transaminazların fəallığı deyil, eləcə də laktatdehidrogenaza və kreatinfosfokinaza fermentlərinin fəallığı da dəyişmiş olur. Bu fermentlərin aşkarlanmasına dair aparılan sınaqlar nekrotik ferment üsullarına aid edilir. Bu o deməkdir ki, koronar arteriyanın trombla tutulması nəticəsində ürək əzələsinin qidalanması pozulmuş sahədən qana müxtəlif parçalanma məhsulları, o cümlədən də ürək əzələsi üçün spesifik olan fermentlər keçmiş olur. Xəstə sağaldıqca, qan zərdabında adı çəkilən fermentlərin səviyyəsi artıq infarktdan 2-3 gün keçdikdən sonra normaya çatır. Bununla yanaşı, miokardın, adətən xəstəliyin ilk həftəsi ərzində baş verə bilən təkrar infarktı zamanı elektrokardiogramma, bir qayda olaraq, təkrar infarktı qeydə ala bilmir, ferment sınaqları isə, əksinə, qan zərdabında fermentlərin miqdarının təkrar kəskin artmasını göstərirlər.

Kliniki praktikada izofermentlərin təyini üsullarının tətbiq olunmasından sonra fermentlərin diaqnostik mahiyyəti daha da artdı. Belə ki, bir neçə ferment mövcuddur ki, onların izoferment spektrlərinin təyini, demək olar ki, dünyanın bütün kliniki laboratoriyalarında aparılır. Belə fermentlərə, məsələn yuxarıda qeyd etdiyimiz laktatdehidrogenaza (LDH) fermenti aiddir. LDH piroüzüm turşusunu süd turşusuna çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir:



LDH, ATP şəklində olan enerjinin əmələ gəlməsi sürətini müəyyənləşdirən karbohidratların anaerob mübadiləsinin əsas fermentlərindən biridir. LDH – praktiki olaraq bütün hüceyrələrdə sintez olunan geniş yayılmış fermentlərdəndir. İzofermentlər Fəslində qeyd etdiyimiz kimi laktatdehidrogenazanın 5 izofermenti mövcuddur: H_4 , H_3M_1 , H_2M_2 , H_1M_3 və M_4 ; bunlar,

müvafiq olaraq, LDH-nin 1-ci, 2-ci, 3-cü, 4-cü və 5-ci izofermentləri kimi də işarə olunurlar. Ürək əzələsinin zədələnməsi zamanı, məsələn miokardın infarktı zamanı, vacib amillərdən biri odur ki, qan zərdabında LDH-nin ümumi fəallığının artması onun 1-ci və 2-ci izoformalarının, yəni H₄ və H₃M₁ izofermentlərinin fəallığının artması səbəbindən baş verir, burada dəqiq diaqnozun qoyulması böyük əhəmiyyət kəsb edir. Digər tərəfdən, skelet əzələlərinin zədələnməsi, eləcə də qaraciyərin iltihabı (hepatitlər) və ya qaraciyər toxumasının virusla yoluxması zamanı, ya da əsasən qaraciyərin zədələnməsi ilə müşayiət olunan karbon-4-xlorid və ya digər toksiki maddələrlə zəhərlənmə zamanı toxumanın nekrozu baş verir və nəticədə qanın izoferment spektri dəyişir, yəni qanda LDH-nin 4-cü və 5-ci izofermentlərinin fəallığı kəskin dərəcədə artır, 1-ci və 2-ci izoformaların səviyyəsi isə dəyişilməz olaraq qalır. Bu nəticələr həkim-terapevt üçün çox əhəmiyyətlidir. Məhz xəstəliyin kliniki durumu, laborator müayinələrin, LDH-nin elektroforetik üsulla alınmış izoferment spektri əsasında həkim-terapevt xəstəyə dəqiq diaqnoz qoyub, onun müalicəsinə başlaya bilər.

Böyük diaqnostik mahiyyət daşıyan (xüsusilə də miokardın infarktı zamanı) ikinci ferment – kreatin və ATP-dən kreatinofosfatın biosintezini kataliz edən kreatinofosfokinaza (KFK) fermentidir. İzofermentlər fəslində qeyd etdiyimiz kimi, KFK-nın üç izofermenti mövcuddur: MM, BB və MB fraksiyaları. MM izofermenti əsasən skelet əzələləri, BB baş beyin, MB isə ürək əzələsi üçün xarakterikdir. Hüceyrələrin patoloji proses nəticəsində zədələnməsi zamanı, onların tərkibində mövcud olan KFK qana daxil olur və fermentin müvafiq izofermentlərini elektroforetik yolla aşkar etmək mümkündür. Kliniki praktikada bu ferment qan zərdabında əsasən miokardın infarktı, skelet əzələlərinin və ya mərkəzi sinir sisteminin xəstəliklərinin diaqnostikası məqsədilə təyin olunur. Belə ki, qan zərdabında KFK-nın fəallığının artması aşağıdakı xəstəliklər zamanı müşahidə olunur: miokardın infarktı, miokardit, revmakardit, beyində qan dövranının pozulması, skelet əzələlərinin zədələnməsi, əməliyyat zamanı,

ağır fiziki iş zamanı, hipotireoz, epilepsiya, baş travmaları, kəskin alkoqol intoksikasiyası, narkotik, sedativ və antibakterial preparatların əzələdaxili yeridilməsi zamanı.

Diaqnostik enzimologiya həmçinin böyrək, mədəaltı vəzi, mədə, bağırsaq və ağ ciyər xəstəliklərinin diaqnostikasında da böyük nailiyyətlər əldə edib. Belə ki, kliniki praktikada qan zərdabında yalnız böyrək və mədəaltı vəzidə aşkar olunmuş transamidinazaların, yalnız qaraciyər və dərinin epidermis hüceyrələrində aşkar olunmuş histidaza fermentinin təyini də böyük diaqnostik əhəmiyyətə malikdir.

Enzimoterapiyaya gəldikdə isə, tibbi enzimologiyanın bu istiqaməti də müvəffəqiyyətlə inkişaf edir. Artıq yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi, trombların sorulması, yaraların tezliklə sağalması, kataraktaların aradan qaldırılması məqsədilə proteolitik fermentlərdən geniş istifadə olur. Pepsin, tripsin, ximotripsin, lipaza və amilaza ferment preparatları şəklində (betasid, festal və s.) mədəbağırsaq traktının xəstəlikləri zamanı geniş istifadə olunur. Hialuron turşusunun depolimerləşməsini həyata çevirən və dərman preparatlarının zədələnmiş toxumaya daxil olmasını asanlaşdıran hialuronidaza ferment preparatından oynaqların, yaraların, qançırıqların və s. müalicəsi məqsədilə istifadə edirlər. Xərçəng xəstəliyinin bir sıra növlərinin böyüməsi üçün əvəz olunmaz amil qismində çıxış edən asparaginin dezamidləşməsini təmin edən asparaginaza fermentindən bəzi bədxassəli şişlərin müalicəsi məqsədilə istifadə edirlər. Aterosklerozun inkişafının zəiflətməsi məqsədilə elastaza fermentinin preparatları tətbiq olunur. Lizosim ferment preparatlarından konyuktivitlərin müalicəsində geniş istifadə edirlər. Lakin, bu misallarla fermentlərin terapiyada tətbiqi məhdudlaşmır. Enzimoterapiya inkişaf etdikcə, tibbdə müxtəlif xəstəliklərin müalicəsi məqsədilə ferment preparatlarının tətbiqi də genişlənir.

Və, nəhayət, onu da qeyd etmək lazımdır ki, son illər ərzində biotexnologiyanın əsasını təşkil edən sənaye enzimologiya intensiv olaraq inkişaf edir. Hər hansı bir üzvi və ya qeyri-üzvi polimer daşıyıcıya (matrisaya) kovalent birləşdirilmiş (“tikilmiş”)

ferment immobilizə edilmiş ferment adlanır. Fermentlərin immobilizasiyası enzimologiyanın aşağıda sadalanan bir sıra əsas məsələlərini həll etmək imkanını verir: fermentlərin yüksək spesifikliyinin təmin olunması və onların davamlılığının yüksəldilməsi, təkrar istifadəsinin təmin olunması və s. Immobilizə edilmiş fermentlərdən tibbdə, kənd təsərrüfatında, sənayenin müxtəlif sahələrində geniş istifadə olunur. Belə ki, irsi olaraq laktozanı mənimsəmək qabiliyyətindən məhrum olan uşaqların qida rasionundan laktatın xaric edilməsi məqsədilə süd, maqnit qarışdırıcıya birləşdirilmiş immobilizə edilmiş β -qalaktozidaza fermenti ilə işlənir. Bu cür işlənmədən sonra süd uzun müddət ərzində dondurulmuş vəziyyətdə saxlanıla bilər.

Bundan başqa, immobilizə edilmiş sellüloza fermenti vasitəsilə sellülozanı qlükozaya, sonra isə qida məhsulu olan nişastaya çevirmək mümkündür.

İmmobilizə edilmiş fermentlər vasitəsilə fasiləsiz olaraq alanin amin turşusunun alınması mümkündür. Bu məqsədlə elə bir model sistem yaradılıb ki, burada bir tərəfdən, reaksiyanın substratı olan laktat daima reaksiyon mühitə daxil olur, digər tərəfdən isə reaksiya nəticəsində reduksiya olunan kofermentin (NAD) regenerasiyası təmin olunur.

İmmobilizə edilmiş fermentlərdən bəşəriyyət üçün böyük əhəmiyyət kəsb edən proseslərin, məsələn fotosintezin modelləşdirilməsi məqsədilə istifadə olunması perspektivi heç şübhə doğurmur.

FERMENTLƏRİN SİYAHISI

1. OKSIDOREDUKTAZALAR

1.1. Donorların CH – OH – qruplarına təsir edirlər

- 1.1.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.1.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.1.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.1.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.2. Donorların aldehid və ya keton qruplarına təsir edirlər

- 1.2.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.2.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.2.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.2.4. Akseptor qismində disulfid qrupunu daşıyan birləşmə çıxış edir
- 1.2.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir
- 1.2.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.3. Donorların CH – CH – qruplarına təsir edirlər

- 1.3.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.3.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.3.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.3.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir
- 1.3.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.4. Donorların CH – CH – qruplarına təsir edirlər

- 1.4.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.4.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.4.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.4.4. Akseptor qismində disulfid qrupunu daşıyan birləşmə çıxış edir
- 1.4.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir
- 1.4.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.5. Donorların CH – NH – qruplarına təsir edirlər

- 1.5.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.5.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.5.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.6. NADH və ya NADPH-a təsir edirlər

- 1.6.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.6.4. Akseptor qismində disulfid qrupunu daşıyan birləşmə çıxış edir
- 1.6.5. Akseptor qismində xiron və ya ona oxşar birləşmə çıxış edir
- 1.6.6. Akseptor qismində azot-tərkibli qrup çıxış edir
- 1.6.7. Akseptor qismində dəmir-kükürd-proteid çıxış edir
- 1.6.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.7. Donorlar qismində digər azotистые birləşmələr çıxış edir

- 1.7.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.7.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.7.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir
- 1.7.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.8. Donorların kükürd-tərkibli qruplarına təsir edirlər

- 1.8.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.8.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.8.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.8.4. Akseptor qismində disulfid qrupunu daşıyan birləşmə çıxış edir
- 1.8.5. Akseptor qismində xiron və ya ona oxşar birləşmə çıxış edir
- 1.8.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir
- 1.8.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.9. Hem-donorların qruplarına təsir edirlər

- 1.9.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir
- 1.9.6. Akseptor qismində azot-tərkibli qrup çıxış edir
- 1.9.99. Digər akseptorlardan istifadə edirlər

1.10. Donorlar qismində difenollara və ya oxşar birləşmələrə təsir edirlər

- 1.10.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir
- 1.10.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.10.3. Akseptor qismində oksigen çıxış edir

1.11. Akseptor qismində hidrogen peroksidə təsir edirlər

1.12. Donor qismində hidrogenə təsir edirlər

- 1.12.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir

- 1.12.2. Akseptor qismində sitoxrom çıxış edir
- 1.12.7. Akseptor qismində dəmir-kükürdproteid çıxış edir

1.13. Tək donora təsir etməklə ona molekulyar oksigeni birləşdirirlər (oksigenazalar)

- 1.13.11. Oksigenin iki atomunu daxil edirlər
- 1.13.12. Oksigenin bir atomunu daxil edirlər (“daxili” monooksigenazalar və ya qarışıq funksiyalı “daxili” oksidazalar)
- 1.13.99 Müxtəlif (hələ öyrənilirlər)

1.14. donorlar cütünə təsir edirlər və molekulyar oksigenin daxil olmasını kataliz edirlər

- 1.14.11. Donorlardan biri 2-oksoqlutarat olan və hər iki donorun hər birinə bir oksigen atomunu daxil edən fermentlər
- 1.14.12. Donorlardan biri NADH və ya NADPH olan və oksigenin iki atomunu donorlardan birinin tərkibinə daxil edən fermentlər
- 1.14.13. Donorlardan biri NADH və ya NADPH olan və oksigenin bir atomunu donorlardan birinin tərkibinə daxil edən fermentlər
- 1.14.14. Donorlardan biri reduksiya olunmuş flavin və ya flavoproteid çıxış edən və oksigenin bir atomunu daxil edən fermentlər
- 1.14.15. Donorlardan biri reduksiya olunmuş dəmir-kükürdproteid çıxış edən və oksigenin bir atomunu daxil edən fermentlər
- 1.14.16. Donorlardan biri reduksiya olunmuş pteridin çıxış edən və oksigenin bir atomunu daxil edən fermentlər
- 1.14.99. Müxtəlif fermentlər (hələ öyrənilirlər)

1.15. Akseptor qismində peroksid radikallarına təsir edən fermentlər

1.16. Metal ionlarını oksidləşdirən fermentlər

- 1.16.3. Akseptor qismində oksigen iştirak edir

1.17. – CH₂-qruplara təsir edən fermentlər

- 1.17.1. Akseptor qismində NAD⁺ və ya NADP⁺ çıxış edir
- 1.17.4. Akseptor qismində disulfid qrupunu daşıyan birləşmə çıxış edir

1.18. Donor qismində reduksiya olunmuş ferredoksinə təsir edən fermentlər

1.18.1. Akseptor qismində NAD^+ və ya NADP^+ çıxış edir

1.18.2. Akseptor qismində N_2 çıxış edir

1.18.3. Akseptor qismində H^+ çıxış edir

1.19. Donor qismində reduksiya olunmuş flavodoksinə təsir edən fermentlər

1.19.2. Akseptor qismində N_2 çıxış edir

1.97. Digər oksidoreduktazalar

2. TRANSFERAZALAR

2.1. Birkarbonlu qalıqları daşıyan fermentlər

2.1.1. Metiltransferazalar

2.1.2. Hidroksimetil, formil və digər oxşar qalıqları daşıyan transferazalar

2.1.3. Karboksil- və karbamoiltransferazalar

2.1.4. Amidinotransferazalar

2.2. Aldehid və keton qalıqlarını daşıyan fermentlər

2.3. Asil qalıqlarını daşıyan fermentlər

2.3.1. Asiltransferazalar

2.3.2. Aminoasiltransferazalar

2.4. Qlikozil qalıqlarını daşıyan fermentlər

2.4.1. Heksoziltransferazalar

2.4.2. Pentoziltransferazalar

2.4.99. Digər qlikozil qruplarını daşıyan transferazalar

2.5. Alkil (metil qruplardan fərqlənən) və ya aril qruplarını daşıyan fermentlər

2.6. Azot-tərkibli qrupları daşıyan fermentlər

2.6.1. Aminotransferazalar

2.6.3. Oksiminotransferazalar

2.7. Fosfor-tərkibli qrupları daşıyan fermentlər

- 2.7.1. Akseptor qismində spirt qrupu çıxış edən fosfotransferazalar
- 2.7.2. Akseptor qismində karboksil qrupu çıxış edən fosfotransferazalar
- 2.7.3. Akseptor qismində azot tərkibli qrupdan istifadə edən fosfotransferazalar
- 2.7.4. Akseptor qismində fosfat qrupu çıxış edən fosfotransferazalar
- 2.7.5. Donorların regenerasiyası ilə təsir edən fosfotransferazalar
- 2.7.6. Difosfotransferazalar
- 2.7.7. Nukleotidiltransferazalar
- 2.7.8. Digər əvəz olunmuş fosfat qruplarının transferazaları
- 2.7.9. Cütləşmiş akseptorlarla fosfotransferazalar

2.8. Kükürd-tərkibli qrupları daşıyan fermentlər

- 2.8.1. Sulfidtransferazalar
- 2.8.2. Sulfotransferazalar
- 2.8.3. CoA-transferazalar

3. HİDROLAZALAR

3.1. Mürəkkəb efir rabitələrinə təsir edən fermentlər

- 3.1.1. Karbon turşularının efirlərinin hidrolazaları
- 3.1.2. Tiol efirlərin hidrolazaları
- 3.1.3. Fosfomonoefirlərin hidrolazaları
- 3.1.4. Fosfodiefirlərin hidrolazaları
- 3.1.5. Trifosfor turşularının monoefirlərinin hidrolazaları
- 3.1.6. Kükürd turşusunun efirlərinin hidrolazaları
- 3.1.7. Difosfomonoefirlərin hidrolazaları
- 3.1.11. 5'-fosfomonoefirləri əmələ gətirən ekzodezoksiribonukleazalar
- 3.1.13. 5'-fosfomonoefirləri əmələ gətirən ekzoribonukleazalar
- 3.1.14. Digər (5'-dən fərqli) fosfomonoefirləri əmələ gətirən ekzoribonukleazalar
- 3.1.15. Həm ribo-, həm də deziksiribonuklein turşularına təsir edən və 5'-fosfomonoefirləri əmələ gətirən ekzonukleazalar
- 3.1.16. Həm ribo-, həm də deziksiribonuklein turşularına təsir edən və digər fosfomonoefirləri 5' fosfoefirlərdən fərqli) əmələ gətirən ekzonukleazalar

- 3.1.21. 5'-fosfomonoeifirlərini əmələ gətirən endodezoksiribonukleazalar
- 3.1.22. Digər fosfomonoeifirlərini (5'-dən fərqli) əmələ gətirən endodezoksiribonukleazalar
- 3.1.23. Sayt-spesifik endodezoksiribonukleazalar; ardıcılığa görə spesifik olanlar
- 3.1.24. Sayt-spesifik endodezoksiribonukleazalar; ardıcılığa görə qeyri-spesifik olanlar
- 3.1.25. Sayt-spesifik endodezoksiribonukleazalar; dəyişilmiş əsaslara qarşı spesifik olanlar
- 3.1.26. 5'-fosfomonoeifirləri əmələ gətirən endoribonukleazalar
- 3.1.27. Digər fosfomonoeifirləri (5'-dən fərqli) əmələ gətirən endoribonukleazalar
- 3.1.30. Həm ribo-, həm də deziksiribonuklein turşularına təsir edən və 5'-fosfomonoeifirləri əmələ gətirən endonukleazalar
- 3.1.31. Həm ribo-, həm də deziksiribonuklein turşularına təsir edən və digər fosfomonoeifirləri 5'fosfoeifirlərdən fərqli) əmələ gətirən endonukleazalar

3.2. Qlikozil birləşmələrə təsir edən fermentlər

- 3.2.1. O-qlikozil birləşmələri hidroliz edən fermentlər
- 3.2.2. N-qlikozil birləşmələri hidroliz edən fermentlər
- 3.2.3. S-qlikozil birləşmələri hidroliz edən fermentlər

3.3. Sadə efir rabitələrinə təsir edən fermentlər

- 3.3.1. Tioeifirlərin hidrolazaları
- 3.3.2. Sadə eifirlərin hidrolazaları

3.4. Peptid rabitələrinə təsir edən fermentlər (peptid-hidrolazalar)

- 3.4.11. α -aminoasilpeptid-hidrolazalar
- 3.4.12. Peptidilamin turşuların hidrolazaları və ya asilamin turşuların hidrolazaları
- 3.4.13. Dipeptid-hidrolazalar
- 3.4.14. Dipeptidilpeptid-hidrolazalar
- 3.4.15. Peptidildipeptid-hidrolazalar
- 3.4.16. Serin karboksipeptidazalar
- 3.4.17. Metallokarboksipeptidazalar
- 3.4.21. Serin proteinazaları

- 3.4.22. Tiol priteinazaları
- 3.4.23. Turş proteinazalar
- 3.4.24. Metalloproteinazalar
- 3.4.99. Məlum olmayan kataliz mexanizmi ilə təsir edən proteinazalar

3.5. Peptid rabitələrdən fərqlənən C-N-rabitələrə təsir edən fermentlər

- 3.5.1. Xətti amidlərə təsir edən fermentlər
- 3.5.2. Tsiklik amidlərə təsir edən fermentlər
- 3.5.3. Xətti amidinlərə təsir edən fermentlər
- 3.5.4. Tsiklik amidinlərə təsir edən fermentlər
- 3.5.5. Nitrillərə təsir edən fermentlər
- 3.5.99. Digər birləşmələrə təsir edən fermentlər

3.6. Turşu anhidridlərinə təsir edən fermentlər

- 3.6.1. Fosforil tərkibli anhidridlərə təsir edən fermentlər
- 3.6.2. Sulfonil tərkibli anhidridlərə təsir edən fermentlər

3.7. C-C-rabitələrə təsir edən fermentlər

- 3.7.1. Ketobirləşmələrə təsir edən fermentlər

3.8. Halloid rabitələrə təsir edən fermentlər

- 3.8.1. C-halloid birləşmələrə təsir edən fermentlər
- 3.8.2. P-halloid birləşmələrə təsir edən fermentlər

3.9. P-N-rabitələrə təsir edən fermentlər

3.10. S-N-rabitələrə təsir edən fermentlər

3.11. C-P-rabitələrə təsir edən fermentlər

4. LİAZALAR

4.1. Karbon-karbon liazalar

- 4.1.1. Karboksi-liazalar
- 4.1.2. Aldehid-liazalar
- 4.1.3. Oksoturşuların liazalar
- 4.1.99. Digər karbon-karbon-liazalar

4.2. Karbon-oksigen-liazalar

4.2.1. Hidro-liazalar

4.2.2. Polisaxaridlərə təsir edən fermentlər

4.2.99. Digər karbon-oksigen-liazalar

4.3. Karbon-azot-liazalar

4.3.1. Ammonyak-liazalar

4.3.2. Amidin-liazalar

4.4. Karbon-kükürd-liazalar

4.5. Karbon-haloid-liazalar

4.6. Fosfor-oksigen-liazalar

4.99. Digər liazalar

5. İZOMERAZALAR

5.1. Rasemazalar və epimerazalar

5.1.1. Amin turşuları və onların törəmələrinə təsir edən fermentlər

5.1.2. Hidroksiturşular və onların törəmələrinə təsir edən fermentlər

5.1.3. Karbohidratlar və onların törəmələrinə təsir edən fermentlər

5.1.99. Digər birləşmələrə təsir edən fermentlər

5.2. Sis-trans-izomerazalar

5.3. Molekuldaxili oksidoreduktazalar

5.3.1. Aldoza və ketozaları qarşılıqlı çevrilmələrini kataliz edən fermentlər

5.3.2. Keton və yenol qruplarının qarşılıqlı çevrilmələrini kataliz edən fermentlər

5.3.3. C = C - rabitələrinin yerini dəyişən fermentlər

5.3.4 S = S – rabitələrinin yerini dəyişən fermentlər

5.3.99. Digər molekuldaxili oksidoreduktazalar

5.4. Molekuldaxili transferazalar

5.4.1. Asil qruplarını daşıyan fermentlər

5.4.2. Fosfo-efir qruplarını daşıyan fermentlər

5.4.3. Amin qruplarını daşıyan fermentlər

5.4.99. Digər qrupları daşıyan fermentlər

5.5. Molekuldaxili liazalar

5.99. Digər izomerazalar

6. LIQAZALAR (SİNTETAZALAR)

6.1. C-O-rabitələrini əmələ gətirən fermentlər

6.1.1. Aminoasil-nRNT və oxşar birləşmələri əmələ gətirən fermentlər

6.2. C-S-rabitələrini əmələ gətirən fermentlər

6.2.1. Turşu-tiol-liqazalar

6.3. C-N-rabitələrini əmələ gətirən fermentlər

6.3.1. Turşu-ammonyak (və ya amin) liqazalar (amid-sintetazalar)

6.3.2. Turşu-amin turşu liqazalar (peptid-sintetazalar)

6.3.3. Tsiklo-liqazalar

6.3.4. Digər C-N-liqazalar

6.3.5. Amido-N-donor qismində qlutamin çıxış etdiyi C-N-liqazalar

6.4. C-C-rabitələrini əmələ gətirən fermentlər

6.5. Fosfoefir rabitələrini əmələ gətirən fermentlər

ЭДЭВИЙҮҮГТ

1. Биохимия. Под ред. Северина Е.С. М., «ГЭОТАР-МЕД», 2004, 779 с.
2. Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология. М., Издательский центр «Академия», 2005, 472 с.
3. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. В 3-х томах. М., Москва, «Мир», 1982.
4. Иммуноферментный анализ. Под ред. Нго Т.Т., Ленхоффа Г. М., «Мир», 1988, 443 с.
5. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М., «Высшая школа», 1980, 271 с.
6. Кретович В.Л. Введение в энзимологию. М., «Наука», 1986, 330 с.
7. Мари Р. и др. Биохимия человека. В 2-х томах. М., «Мир», 1993.
8. Молекулярные основы действия ферментов. Под ред. С.Е.Северина, Г.А.Кочетова. М., «ГЭОТАР-МЕД», 1985, 194 с.
9. Плакунов В.К. Основы энзимологии. Серия: Учебник для XXI века, 2001, 129 с.
10. Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. М., «Мир», 1983, 121 с.
11. Nicholas Price. Lewes Stevens. Fundamentals of Enzymology. 2001. Third edition. Oxford University Press. 478 p.
12. Trevor Palmer. Enzymes: biochemistry, biotechnology and clinical chemistry. Science, 2001, 402 p.
13. David A. Cheresch, Sidney P. Colowick, Nathan Oram Kaplan, John Abelson, Melvin I. Simon. Methods in enzymology, Science, 2008, 356 p.

PREDMET GÖSTƏRİCİSİ

- Adenilattsiklaza 60
Adenozintrifosfataza (ATPaza) 153
ATP:D-heksoza 6-fosfotransferaza 185
Adsorbentlər 21
Adsorbsiya 21
Affin xromatoqrafiya 25
Aktivatorlar 127, 131, 140, 153
Aktivləşmə
- enerjisi 114,115
- fermentlərin 154
- fosforilazanın 235
- proteinkinazanın 244
- tripsinogenin 247, 248
- ximotropsinogenin 249
Alaninaminotransferaza 258
Alkoqoldehidrogenaza 87, 118, 172
Allosterik
- aktivatorlar 165
- fermentlər 36, 165, 230
- inhibitorlar 165
- mərkəz 36, 166, 209, 230
- tənzimlənmə 166, 228, 230
Amilazalar 189, 251
Amilolitik fermentlər 250, 251
Aminoasil-nRNT-sintetaza 36,
Aminopeptidazalar 192, 194
Aminotransferazalar 45, 121, 180, 184
- təsir mexanizmi 122
Aminsizləşmə 150, 214
Apoferment 53, 64, 95, 98, 117
Arginaza 142, 146, 196, 197
Asetil-CoA-karboksilaza 53
Asetil-CoA-sintetaza 206
Asetilxolinesteraza 39, 120, 160
Aseton tozları 20
Asil-CoA 183
Asiltransferazalar 182
Askorbatoksidaza 92, 95, 178
Aspartataminotransferaza 124, 184, 258
Aspartat-ammonyak-liaza 201
Aspartaza 152
Aspartokinaza 225
Assosiasiya 233
- heteroloji 233
- homoloji 233
- oliqomer fermentlərin 232
Avidin 54
Bios 52
Biotin 52
Dehidrogenazalar 72, 171
- piridin 75
- flavin 75
Dekarboksilazalar 47, 198
Detergentlər 19
Dezaminləşmə 184
Dəmirporfirin 80
Dəmirformilporfirin 81
Dəmirmezoporfirin 81
Dəmirprotoporfirin 81
Differensial sentrifüqalanma 18
Dipeptidazalar 192
Dipeptid-hidrolazalar
Duzlaşdırılma 21
Dissosiasiya 232

- Ekzopeptidazalar 192
 Endopeptidazalar 192, 194
 Enteropeptidaza 248
 Effektorlar 165, 231
 Epimerazalar 202
 Elektroforeqramma 27
 Elektroforez 27
 Esteraza 186
- 1,10-Fenantrolin 88
 Fermentativ reaksiyalar
 - birinci dərəcəli 129
 - ikinci dərəcəli 130
 - sıfır dərəcəli 128
 Fermentlər
 - adaptativ 222
 - allosterik 230
 - baza səviyyəsi 222
 - defosforlaşması 244
 - fosforlaşması 244
 - indusibel 222
 - konstitutiv 222
 - modifikasiya olunan 243
 - yeniləşməsi 225
 - təmizlik dərəcəsi 27
 - tənzimlənməsi 220
 Ferment-substrat kompleksi
 110
 Ferredoksin 89
 Fəallıq
 - xüsusi 108
 - molekulyar 109
 Fişer nəzəriyyəsi 112, 145
 Flavinadenindinukleotid 77
 Flavinmononukleotid 76
 Flavoproteidlər 76, 77
 Fosfopiridoksal 47
 Fosforilaza 183
 Fosfatazalar 187
 Fosfofruktokinaza 235
 Fosfoqliserofosfomutaza 204
 Fosfotransferazalar 185
 Fraksiyalaşdırılma 28
 β -Fruktofuranozidaza 100, 117, 191
 Fruktozobisfosfat-aldolaza 199
 Fumarat-hidrataza 201
- Gel-filtrasiya 22
- Heksokinaza 169, 242
 Hem 81
 Hematin 80
- Ximotripsin 118, 192, 194, 249
 Ximotripsinogen 249
 Ximozin 192
 Xolinesteraza 120, 121
 Xromatoqrafiya 25
- İkiqat diffuziya üsulu 29
 İmmunoelektroforez 31
 İnduksiya 221
 - β -qalaktozidazanın 221
 İnhibirləşmə 155, 159, 229
 - allosterik 165
 - qeyri-rəqabətli 158, 161
 - rəqabətli 158
 - rəqabətsiz 164
 - substrat 164
- İnduktor 221
 İnvertaza 65, 100, 191
 İzoelektrik fokuslaşma 27
 İzofermentlər 212
 - heksokinazanın 218
 - kreatinfosfokinazanın 219

- laktatdehidrogenazanın 215, 217
- piruvatkinazanın 214
- İzomerazalar 169, 202
- İzositratliaza 200
- Karboksipeptidazalar 192
- Katal 108
- Katalaza 80, 86, 94, 116, 140, 177
- Kinazalar 185
- Kofaktor 34, 40
- Koferment (koenzim) 35, 40
 - A 71
 - I 72
 - Q 42
 - alifatik 40
 - aromatik 42
 - heterotsiklik birləşmələr 44
 - kobamid 77
 - nukleotidlər 40, 57
- Kompartiment 216
- Koşland nəzəriyyəsi 113, 145
- Kovalent modifikasiya 228, 243
- Ksantinoksidaza 85, 227
- Qalaktozidaza 221, 262
- Qismi proteoliz 228, 246
- Qlikogenfosforilaza 233, 235
- Qlikozidazalar 188
- Qlikoziltransferazalar 183
- Qliseraldehidfosfatdehidrogenaza 234
- Qlükoamilaza 190
- Qlükozo-6-fosfatdehidrogenaza 173
- Qlutamatdehidrogenaza 174
- Qlutamatdekarboksilaza 47
- Qlütation 40
- Laktatdehidrogenaza 172, 217, 240, 259
- Leqoqlobin 84
- Leysinaminopeptidaza 86, 195
- Liazalar 197
- Lipazalar 101, 187
- Lipoksigenaza 187
- Lipoy turşusu 41
- Lizindekarboksilaza 198
- Lövbər sahə 37
- Malatdehidrogenaza 215
- Malatsintaza 200
- Maleinatizomeraza 203
- Maltaza 190
- Metabolon 241
- Metalloenzimlər 85
- Metal-karboksipeptidazalar 195
- Metilaspirtatmutaza 204
- S-Metilmalonil-CoA 204
- Mərkəz
 - fəal 36
 - allosterik 154, 165, 230
 - birləşdirici 37
 - katalitik 37, 95
- Mixaelis sabiti 135
- Molekuldaxili liazalar 205
 - oksidoreduktazalar 203
 - transferazalar 204
- Multiferment komplekslər 241
- Nikotinamidadenin nukleotid (NAD) 73, 172

Nikotinamidadenindinukleotid
osfat (NADP) 73, 173
Nitratreduktaza 85, 86, 174

Oksidazalar 171, 176

Oksidləşdirici

- aminsizləşmə 184
- dekarboksilləşmə 42

Oksidoreduktazalar 168, 170

8-Oksixinolin 88

Oksimetilləşmə 56

Papain 34, 140, 149

Pektaza 189

Pektinazalar 189

Pektinesteraza 189

Pepsin 34, 142, 148, 247

Pepsinogen 247

Peptid-hidrolazalar 192

Peptidil-peptidhidrolazalar 192

Peroksidaza 80, 86, 95, 179

Piridoksalfosfat 44

Piridoksaminfosfat 44

Piruvatdehidrogenaza 175

Piruvatdekarboksilaza 51, 198

Plastoxinon 43

Polifenoloksidaza 177

Poliqalakturonaza 189

Polyarimetriya 102

Proferment 246

Prostetik qrup 35

Proteinazalar 167, 193

Proteinfosfataza 244, 246

Proteinkinaza 186, 244

Proteolitik fermentlər 192

Protohematin 80

Protopektinaza 188

Pteroproteidlər 55

Rasemazalar 47, 202

Repressiya 222

- katabolit 223

- koordinasiya olunmuş

223

- son məhsulla 223

Rubredoksin 91

Saxaraza 100, 190

Saxarozosintaza 183

Sefadeks 22

Sellülaza 190

Serindehidrataza 50

Serin karboksipeptidaza 195

Serin proteinaza 194

Sintetazalar 205

Sis-trans-izomerazalar 203

Sitidin-tərkibli fermentlər 71

Sitoxromlar 80, 167

Sitoxromoksidaza 81, 83

Spesifiklik 138, 145

Stereospesifiklik 146, 150

Standart vahid 107

Subtilizin 253

Suksinatdehidrogenaza 88, 159,
167

Termolabillik 137

Tetrahidrofol turşusu 54

Tənzimlənmə 220

- adsorbsion 238, 242

- allosterik 228

- dissosiativ 202

- əks əlaqə mexanizmi üzrə
229

Tiaminpirofosfat 51

Tirozin-transaminaza 201

Transaminazalar 184
Transferazalar 180
Transketolaza 181
Treonindehidrataza 166, 229
Triozofosfatizomeraza 203
Tripsin 247
Tripsinogen 247
Triptofanoksigenaza 200
Triptofanpirrolaza 200
Triptofansintaza 48

Ubixinonlar 42
Uden-Ouxterloni üsulu 29
Ultrasentrifuqalanma 28
Ureaza 34, 143, 146
Uridindifosfatqlükoza (UDPQ)
65

Viskozimetriya 105

Yenidən aminləşmə 45, 121,
184
Yenolaza

Zimogenlər 246

MÜNDƏRİCAT

GİRİŞ	3
I. ENZİMOLOGİYANIN İNKİŞAF TARİXİ	7
II. FERMENTLƏRİN AYRILMASI VƏ TƏMİZLƏNMƏSİ ÜSULLARI	17
III. FERMENTLƏRİN KİMYƏVİ TƏBİƏTİ	32
3.1. Fermentlərin quruluşu haqda müasir təsəvvürlər	34
3.2. Fermentlərin fəal mərkəzi	36
3.3. Kofermentlər və digər kofaktorlar	40
3.4. Metalloenzimlər	85
IV. FERMENTATİV FƏALLIĞIN TƏYİNİ ÜSULLARI. FƏALLIQ VAHİDLƏRİ	100
V. FERMENTLƏRİN TƏSİR MEXANİZMİ	110
VI. FERMENTATİV REAKSİYALARIN KİNETİKASI	127
6.1. Substratın və fermentin qatılığının fermentativ reaksiyanın sürətinə təsiri	130
6.2. Fermentlərin biokatalizator xassələri: termolabillik, fermentativ fəallığın pH-dan asılılığı, spesifiklik	137
6.3. Fermentlərin aktivatorları və inhibitorları	153
VII. FERMENTLƏRİN TƏSNİFATI VƏ NOMENKLATURASI	167
7.1. Oksidoreduktazalar	170
7.2. Transferazalar	180
7.3. Hidrolazalar	186
7.4. Liazalar	197
7.5. İzomerazalar	202
7.6. Liqazalar (sintetazalar)	205

VIII. FERMENTLƏRİN HÜCEYRƏDAXİLİ LOKALLAŞMASI. İZOFERMENTLƏR	209
IX. ORQANİZMDƏ FERMENTLƏRİN FƏALLIĞININ TƏNZİMLƏNMƏSİ	220
X. FERMENTLƏRİN TƏTBİQ SAHƏLƏRİ	250
ƏLAVƏ	263
ƏDƏBİYYAT	272
PREDMET GÖSTƏRİCİSİ	273
MÜNDƏRİCAT	278

A.Ə.Quliyev, S.N.Öməröva

ENZİMOLOGİYANIN ƏSASLARI

Dərslik



Mətbəə müdiri:

Əvəz İdrisoğlu

Dizayner:

Vəfa Nağıyeva

Korrektor:

Dilbər Qələndərli

Texniki redaktor:

Şahin Abbasov

Operator:

Şahin Salmanov

Çapa imzalanıb 10.01.2010-cu il

Sayı 500. Həcmi 17,5 çap vərəqi.

Formatı 60x84¹/₁₆. Ofset çapı.

AzTU-nun mətbəəsi. H.Cavid pr.25.

Tel: (+012) 439-14-52

E.mail: aztmetbee@yahoo.com