

ФЕРМЕНТЫ - I

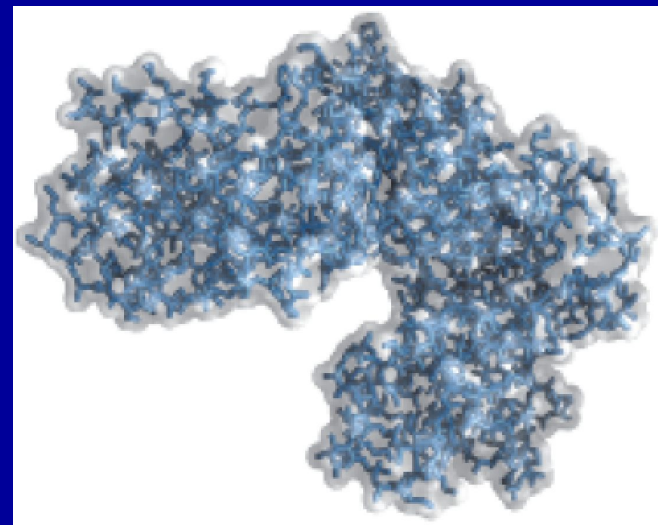
Наумов А.В.

«ЖИЗНЬ – сложная совокупность
химических реакций, катализируемых
специфическими ферментами»

И.П. Павлов

Ферменты – это специфические белки клеток, выполняющие роль биологических катализаторов.

За исключением рибозимов – молекул РНК, имеющих ферментативную активность – все ферменты по природе – белки.



История изучения ферментов

- В 1877 немецкий физиолог **Wilhelm Kühne (Кюне)** предложил термин «энзим».
- 50-е г 19 века **Луи Пастер** – ферменты дрожжей катализируют сбраживание сахара.
- 1897 **Бухнер** – сахар превращается в спирт экстрактом из дрожжевых клеток.
- Начало 20 века **Э. Фишер** – применение ферментов для синтеза химических соединений.
- 1913 **Михаэлис, Мэнтен** – кинетика ферм. реакций.
- 1926г **Дж. Самнер** – выделил уреазу (белок).
- 1930 г **Дж. Нортроп** – кристаллизовали пепсин и трипсин.

Химическая природа ферментов

- Ферментативная активность пропорциональна количеству белка.
- Обладают физико-химическими свойствами белков.
- Получены в виде кристаллов белка.
- Инактивируются при денатурации (кипячение).
- Обладают высокой специфичностью действия.
- При гидролизе распадаются до аминокислот.

Свойства ферментов

- **Не расходуются** в реакции.
- Проявляют эффект в **малых** концентрациях.
- **Не влияют** на величину **констант равновесия** реакции.
- Их действие подчиняется **закону действующих масс**.

Отличие от **неорганических** катализаторов

- ферменты **термолабильны**;
- активность зависит от **pH**;
- обладают **специфичностью** действия;
- скорость ферментативных реакций имеет определенные **кинетические закономерности**;
- активность зависит от действия регуляторов – **активаторов** и **ингибиторов**.
- некоторые ферменты при формировании третичной и четвертичной структур подвергаются **посттрансляционной модификации**;
- **размеры** молекулы фермента обычно значительно больше чем субстрата.

Механизм действия ферментов

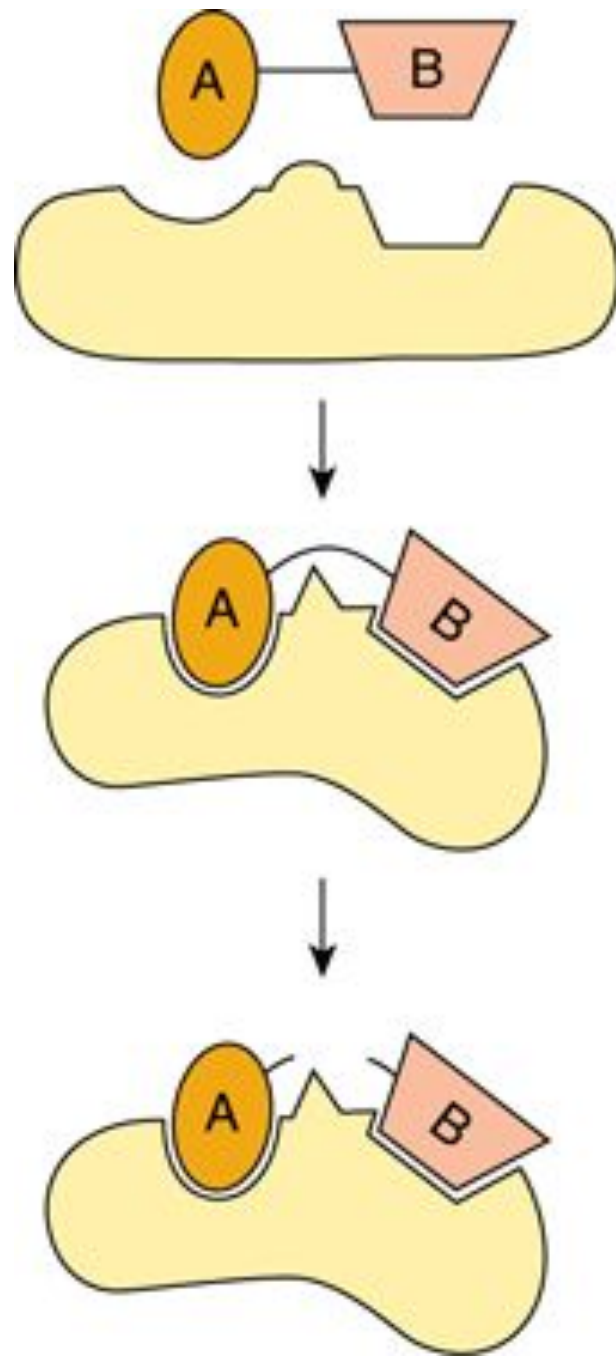


- **E** – фермент
- **S** - субстрат
- **[ES]** – фермент-субстратный комплекс
- **P** – продукт реакции.

Связи фермент-субстратного комплекса – ковалентные и нековалентные (ионные, водородные, гидрофобные).

Механизмы, облегчающие ферментативный катализ.

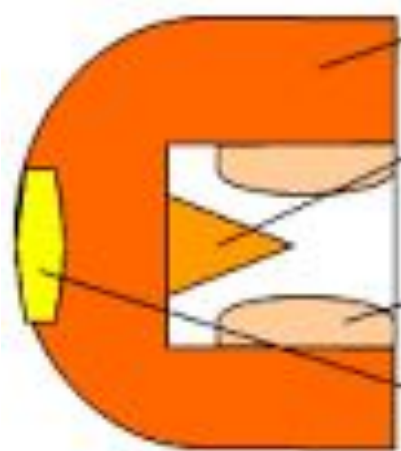
1. **Пространственный** (сближением).
2. **Кислотно-основной катализ** (семейство аспартатных протеаз – пепсин, лизосомальные катепсины, HIV).
3. **Катализ напряжением** (стадия промежуточного интермедианта) – литические реакции.
4. **Ковалентный катализ** (сериновые протеазы – химотрипсин, реакции трансаминирования – «пинг-понг»).



The background of the slide is a photograph of a sunset over a vast ocean. The sky is a deep blue with wispy white clouds. A bright sun is visible on the left side, creating a lens flare effect. A faint rainbow is visible in the sky, arching over the horizon. The water in the foreground is dark blue with gentle ripples.

Строение фермента

Строение фермента



1. Апофермент – тело фермента (белковая часть)

2. Каталитический центр

3. Субстратный центр (контактные площадки)

4. Активный центр фермента

5. Аллостерический центр

Активный центр фермента

- участок молекулы фермента, который специфически взаимодействует с субстратом.



В активном центре различают:
участок связывания;
каталитический участок.

Аллостерический центр

- участок молекулы фермента, с которым связываются **активаторы** или **ингибиторы**.

В результате происходят **конформационные изменения** в активном центре фермента, что приводит к повышению \uparrow или понижению \downarrow ферментативной активности.

Структура фермента

- Простые ферменты – состоят только из аминокислот.

Сложные ферменты – кроме белковой части содержит небелковый компонент (простетическую группу).

Простетическая группа

– небелковая часть, которая плотно и стабильно встраивается в белковую структуру фермента с помощью ковалентных и нековалентных связей.

✓ пиридоксальфосфат (**B₆**), флаavin мононуклеотид (ФМН), флаavin аденин динуклеотид (ФАД) (**B₂**), тиамин пирофосфат (**B₁**), биотин (**B₇**) и пр.

✓ ионы металлов: Co, Cu, Mg, Mn, и Zn - металлоферменты.

✓ могут входить: гем и железо-серные кластеры и пр.

Простетические группы — это подкласс **кофакторов**.

Кофакторы

– выполняют такую же функцию как и простетические группы, но находятся в **нестабильной, диссоциированной** форме по отношению к ферменту либо субстрату.

В отличие от стабильно связанных простетических групп, для протекания реакции **кофактор должен присутствовать в растворе, окружающем фермент.**

Ферменты, которым необходим ион металла в качестве кофактора носят название **ферменты, активируемые металлом.**

Коферменты

группа транспортных агентов (рециклические переносчики), которые переносят многие субстраты для ферментативных реакций в пределах клетки.

Коферменты отличаются от простетических групп тем, что связаны с ферментами **непостоянно**.

Выполняют две функции:

- 1) стабилизируют и **переносят протоны** в содержимом клетки (ФАД H_2 , НАД H_2);
- 2) распознают и **связывают** некоторые **химические группировки** необходимые для ферментов-мишеней:
 - *ацетат* (кофермент А),
 - *метильные группы* (фолаты (**B₉**),
 - *олигосахариды* (долихол).

Some enzymes or enzyme complexes require several cofactors. For example, the multienzyme complex pyruvate dehydrogenase[5] at the junction of glycolysis and the citric acid cycle requires five organic cofactors and one metal ion: loosely bound thiamine pyrophosphate (TPP), covalently bound lipoamide and flavin adenine dinucleotide (FAD), and the cosubstrates nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and coenzyme A (CoA), and a metal ion (Mg²⁺).

К коферментам относятся :

производные витаминов (группы В):

никотинамид (**B₃**) – компонент кофермента НАД и НАДФ;

рибофлавин (**B₂**) – коферментов ФМН и ФАД;

пантотеновая кислота (**B₅**) – кофермента А (CoA);

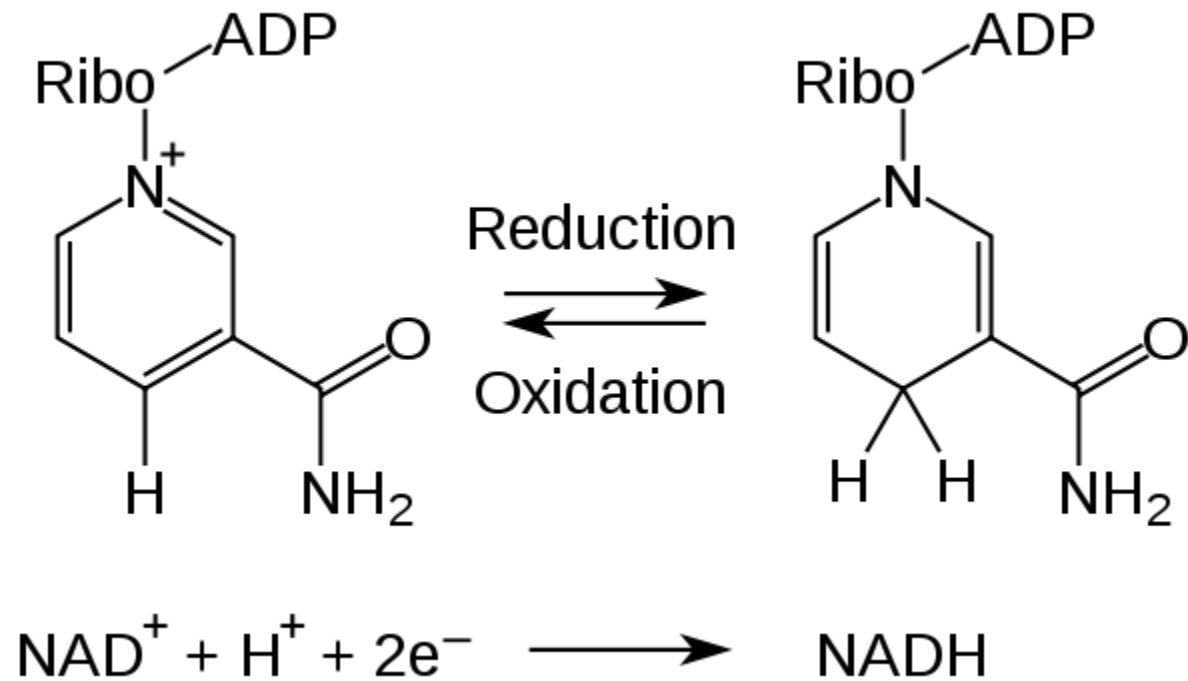
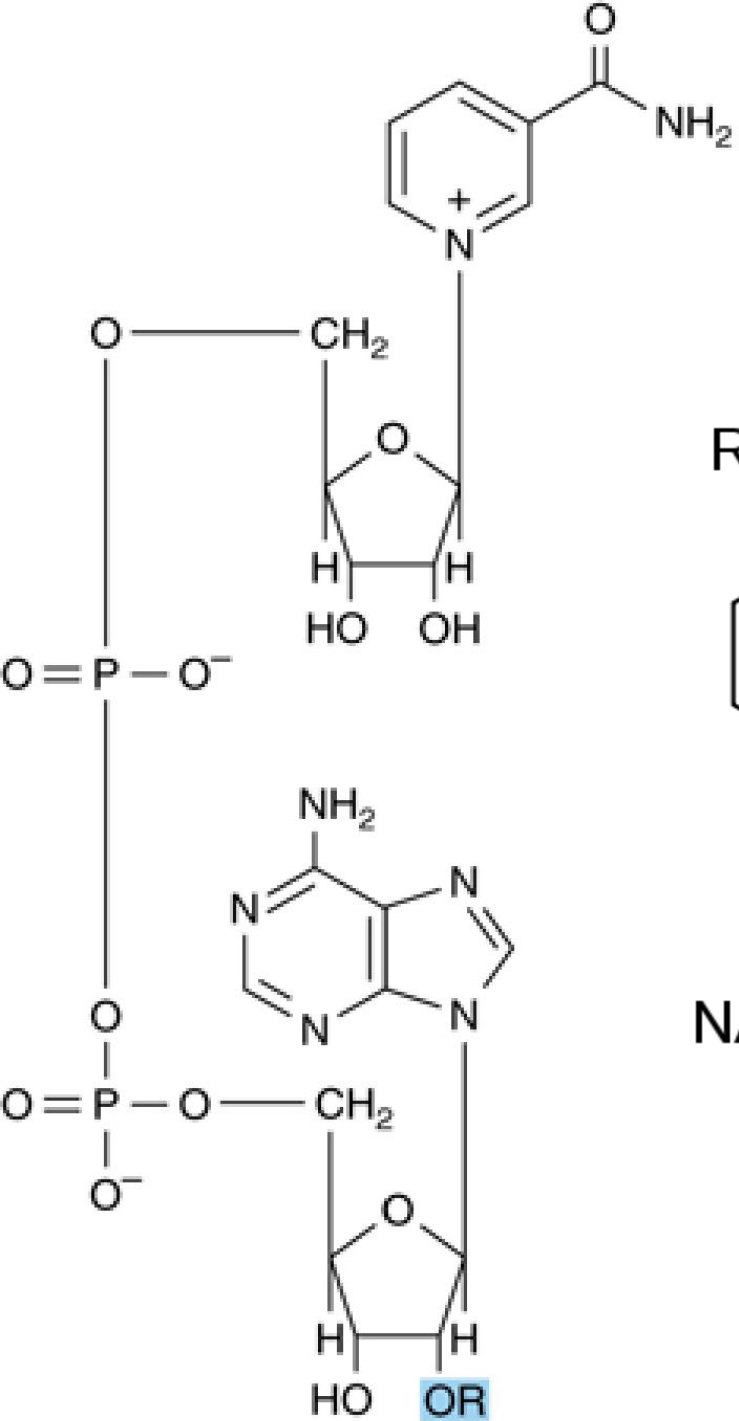
тиамин (**B₁**) в качестве ТПФ – кофермент

декарбоксилирования ПК, α-кетокислот;

фолиевая кислота (**B₉**) и кобаламин (**B₁₂**) – коферменты

одноуглеродного обмена.

- **нуклеотиды;**
- **убихинон или кофермент Q;**
- **фосфоаденозинфосфосульфат (ФАФС);**
- **глутатион (GSH),** участвующий в окислительно-восстановительных реакциях.



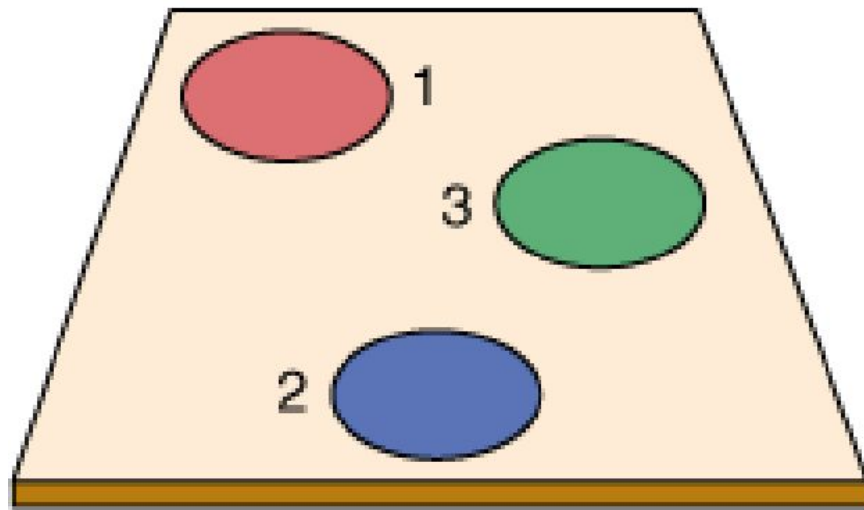
НАД

Гипотезы взаимодействия фермента с субстратом

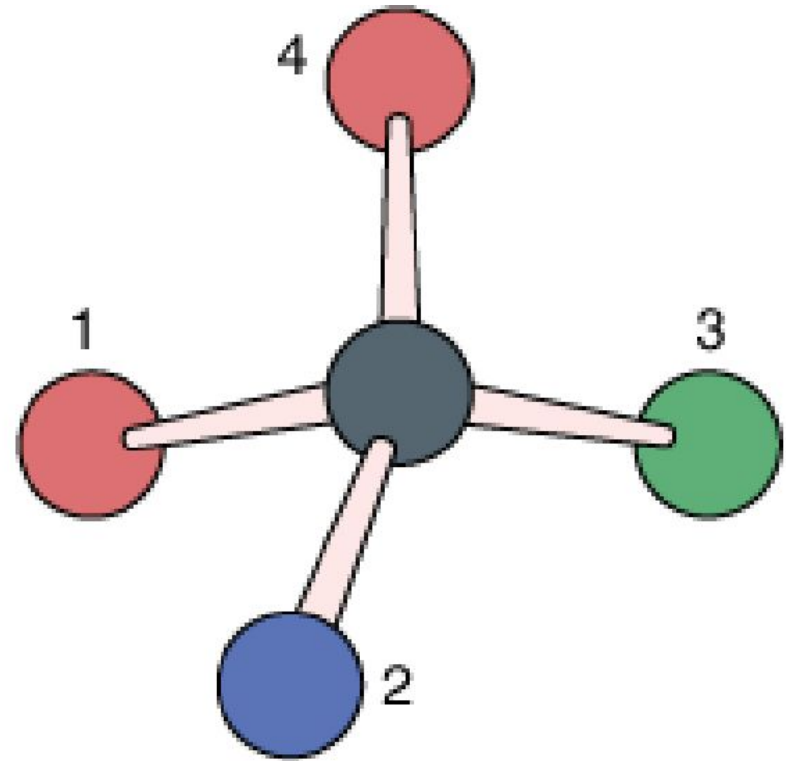
I. Теория Фишера – «ключ - замок»

- Строгое соответствие конформации субстрата и активного центра фермента.





Enzyme site

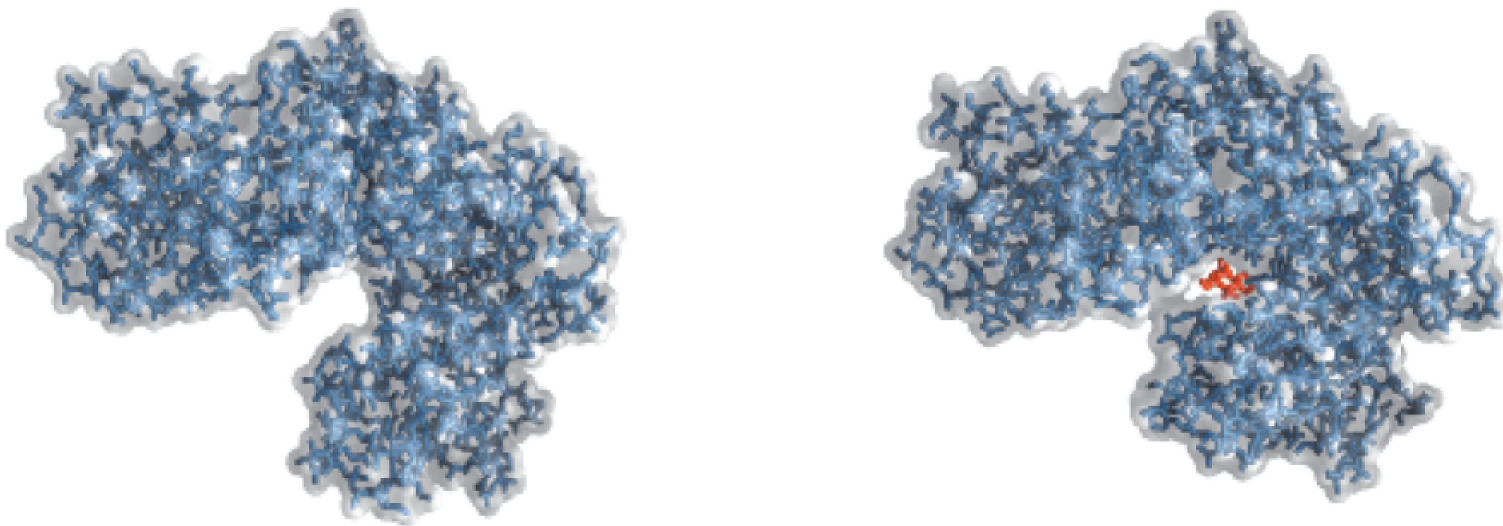


Substrate

Source: Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: *Harper's Illustrated Biochemistry, 29th Edition*: www.accessmedicine.com

- **II. Теория Кошленда** – «рука - перчатка»

Активный центр фермента может подстраиваться под форму субстрата.

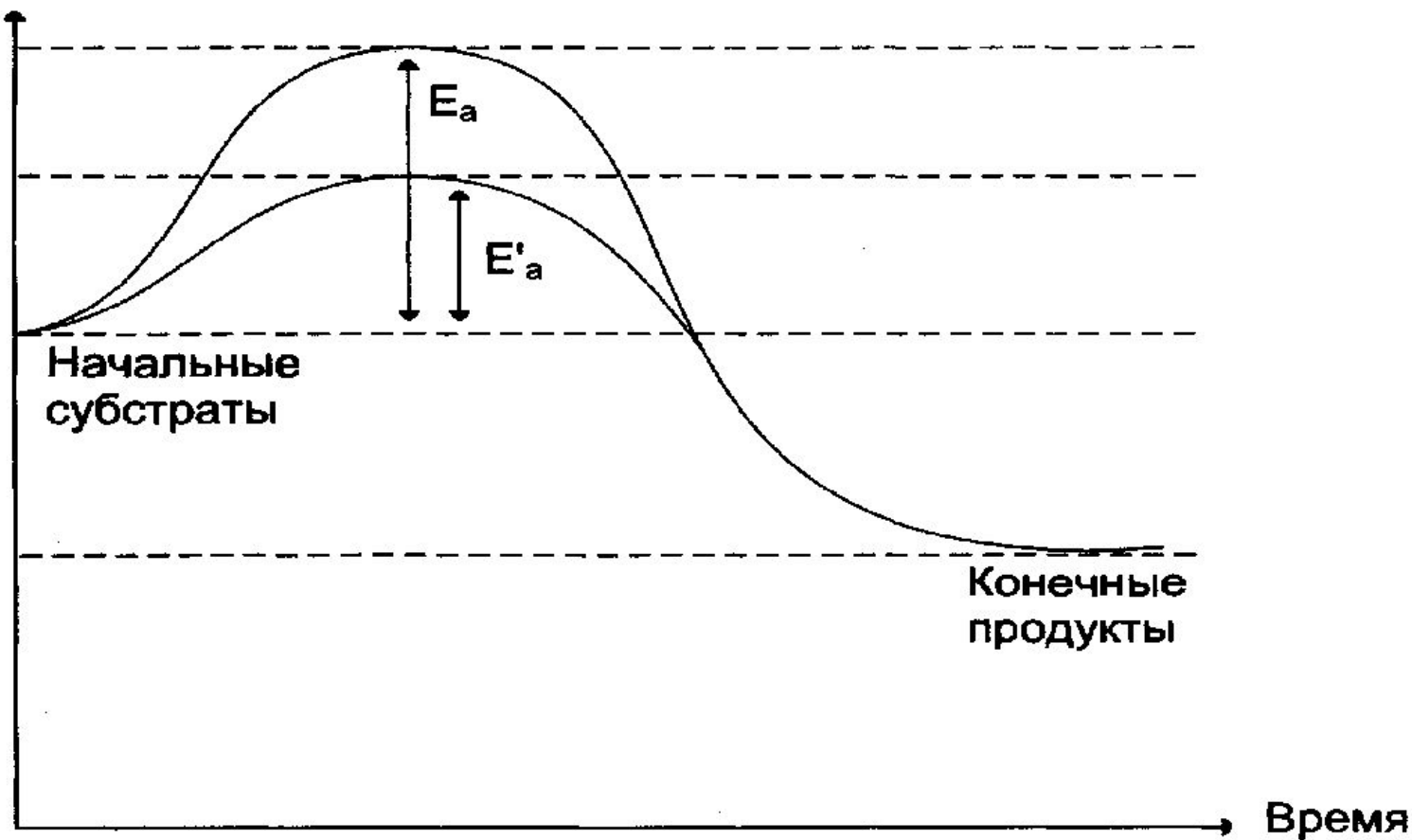


Механизм действия ферментов

Снижают **энергию активации** молекул субстрата.

Энергия активации – энергия, необходимая для перевода молекул 1 моля субстрата в активированное состояние.

Свободная энергия



E_a - энергия активации некатализируемой реакции

E'_a - энергия активации катализируемой ферментами реакции

Специфичность действия ферментов

- абсолютная (уреаза);
- относительная (липаза) ;
- относительная групповая (трипсин);
- стереохимическая (фумараза).

Классификация ферментов

1. **О**ксидоредуктазы;
2. **Т**рансферазы;
3. **Г**идролазы;
4. **Л**иазы;
5. **И**зомеразы;
6. **Л**игазаы (**с**интетазы).

Номенклатура ферментов

- Рабочее название.
- Систематическое название.
- Шифр фермента:
 - 1-ая цифра – класс фермента;
 - 2-ая – подкласс;
 - 3-я – под-подкласс;
 - 4-я – порядковый номер фермента в своем под-подклассе.

Гексокиназа

АТФ : D-гексоза 6 фосфотрансфераза

Гексоза 6 – фосфорилирование происходит по 6-му углеродному атому гексоз.

ЕС (КФ) 2.7.1.1.

Класс 2 – трансферазы

Подкласс 7 - перенос фосфатной группы

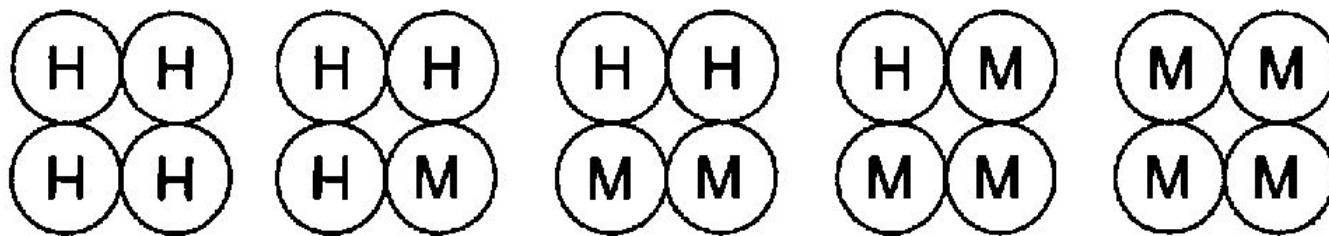
Под-подкласс 1 - акцептор фосфата спиртовая группа

ИЗОФЕРМЕНТЫ

Это множественные формы фермента, которые катализируют одну и ту же реакцию.

Могут отличаться:

- по структуре (первичной)**
- по кинетическим параметрам;**
- по физико-химическим свойствам.**



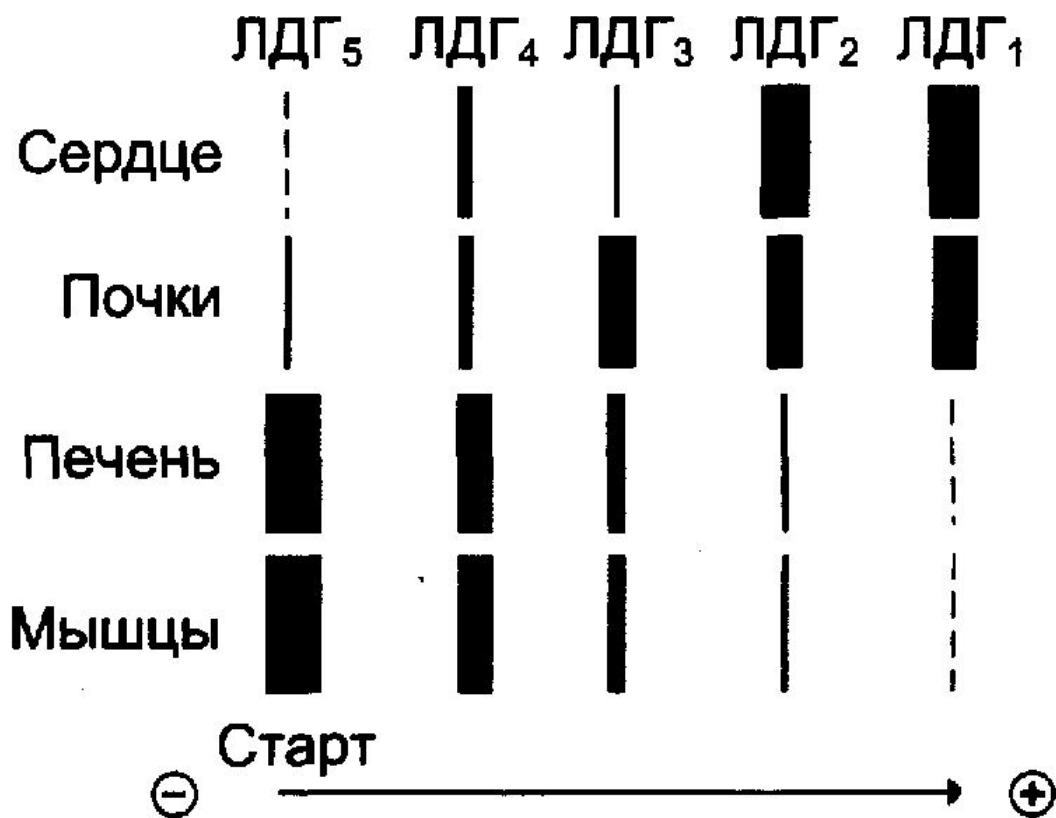
ЛДГ₁

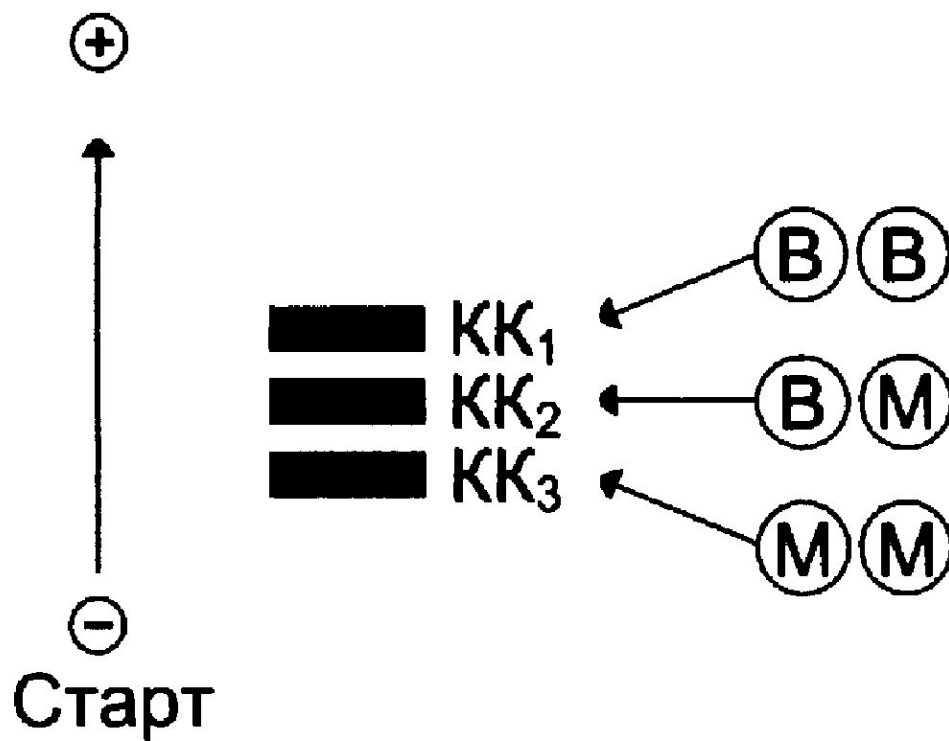
ЛДГ₂

ЛДГ₃

ЛДГ₄

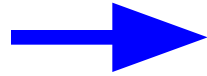
ЛДГ₅





Креатинкиназа

Глюкоза



Глюкозо-6-фосфат

гексокиназа
глюкокиназа

Определение активности изоферментов в сыворотке крови используют для дифференциальной диагностики патологий органов и тканей

Единицы измерения активности ферментов

◆ Катал - (моль/сек)

$$n \text{ катал} = \frac{\text{Количество превращённого субстрата (моль)}}{\text{Время (с)}}$$

◆ IU – международная единица (мкмоль / мин)

◆ Удельная активность

$$\text{Уд. ак.} = \frac{\text{Количество превращённого субстрата (мкмоль)}}{\text{Время (мин)} \times \text{количество белка (мг)}}$$



Спасибо за внимание

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ