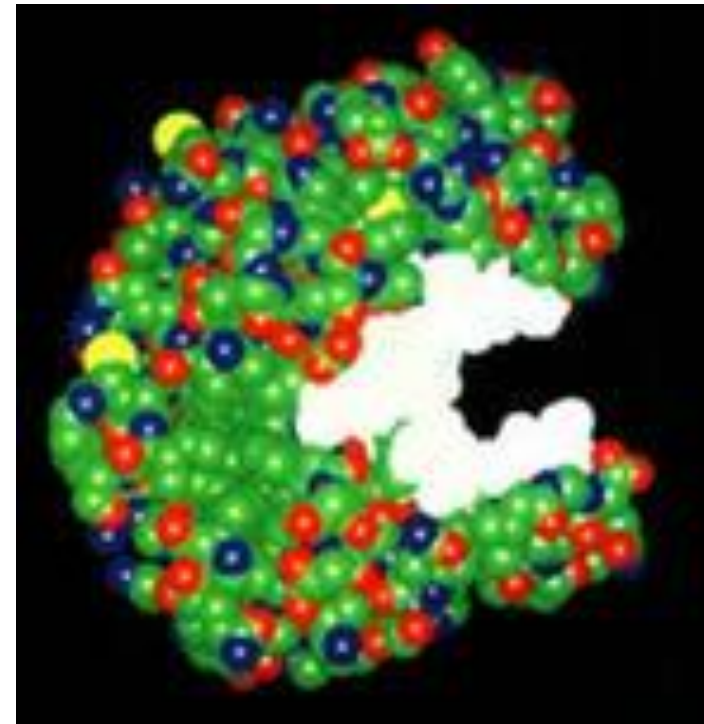




Ферменты: строение, свойства, функции

Ферменты – вещества белковой природы, способные ускорять химические реакции в живой клетке.



Общие свойства катализаторов

1. Катализаторы сами не вызывают химическую реакцию, а только ускоряют реакцию, которая протекает и без них.
2. Не влияют на энергетический итог реакции.
3. Не влияют на направленность обратимой реакции, которая определяется только соотношением концентраций исходных веществ (субстратов) и конечных продуктов
4. Не влияют на положение равновесия обратимой реакции, а только ускоряют его достижение.

Особенности ферментов как биологических катализаторов

1. Работают в мягких условиях
2. Высокая эффективность действия. Ферменты ускоряют реакцию в 10^8 - 10^{12} раз.
3. Высокая избирательность ферментов к субстратам (субстратная специфичность) и к типу катализируемой реакции (специфичность действия).
4. Высокая чувствительность ферментов к неспецифическим физико-химическим факторам среды - температуре, pH, ионной силе раствора и т.д.

Номенклатура ферментов

Систематическая номенклатура:

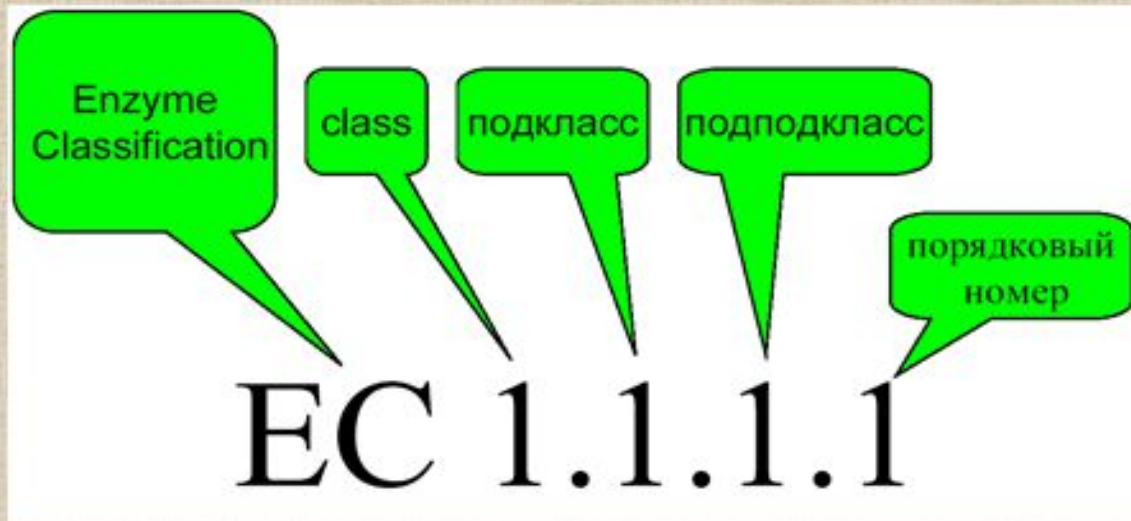
Название фермента является сложным и состоит из 4 частей:

1. Название субстрата, т. е. вещества на которое действует фермент
2. Название типа катализируемой реакции.
3. Название одного из продуктов реакции.
4. К названию фермента добавляется окончание –**аза**.

Глюкозо – 6 фосфатфосфогидролаза

- Субстрат – глюкозо - 6 – фосфат.
- Продукт реакции - фосфорная кислота.
- Тип реакции – гидролиз.
- Окончание – «аза».

Классификация энзимов – E.C. (Enzyme Classification)



Строение ферментов

Е имеют белковую природу



Коферменты :

- производные витаминов: NAD, FAD, FMN, ТПФ;
- нуклеотиды;
- гемы
- металлы (кофакторы); K^+ , Fe^{++} , Fe^{+++} , Cu^{++} , Co^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , Mg^{++} , Ca^{++} , and Mo^{+++} .

Функциональные центры:

Активный центр – зона молекулы фермента, которая специфически взаимодействует с субстратом.

Представлен функциональными группами нескольких остатков аминокислот, именно в нем происходит присоединение и химическое превращение субстрата.

Аллостерический центр или регуляторный – это зона фермента ответственная за присоединение активаторов и ингибиторов. Данный центр участвует в регуляции активности фермента.

Сложные ферменты состоят из
белковой и небелковой частей.

Белковая часть фермента называется -
апоферментом,
небелковая – **коферментом.**

Кофермент с апоферментом образуют
холофермент.

Небелковые компоненты принимают
непосредственное участие в
химических реакциях путем
взаимодействия с субстратом

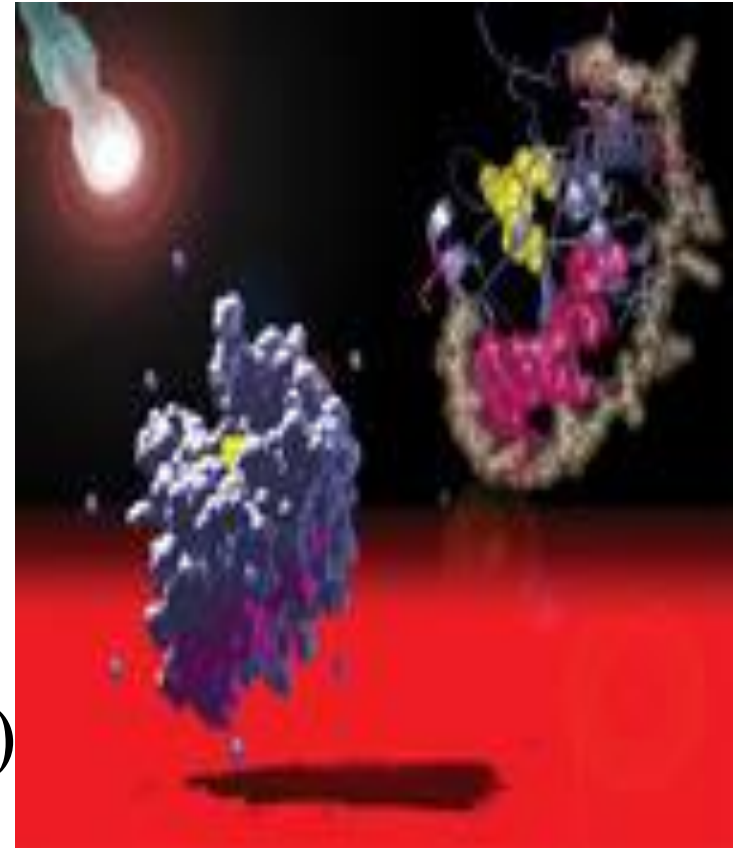
Коферменты:

- Нуклеозидтрифосфаты.
- Минеральные вещества (цинк, медь, магний).
- Активные формы ВИТАМИНОВ

(В₁ входит в состав фермента – декарбоксилаза,

В₂ – входит в дегидрогеназа,

В₆ – входит в трансферазы)



Функции коферментов:

- Участие в акте катализа;
- Осуществление контакта между ферментом и субстратом;
- Стабилизация апофермента

Специфичность действия ферментов:

Относительная специфичность наблюдается, когда фермент катализирует реакции одного типа с более чем одним структуроподобным субстратом.. Такие ферменты действуют на определенный тип химической связи, в данном случае на пептидную связь. Действие этих ферментов распространяется на большое число субстратов (пепсин расщепляет все белки с животного происхождения)

Абсолютная специфичность проявляется тогда, когда фермент действует лишь на одно-единственное вещество и катализирует лишь определенное превращение данного вещества. (сахараза расщепляет только сахарозу)

Обратимость действия:

Некоторые ферменты могут катализировать как прямую реакцию, так и обратную (ЛДГ).

Механизм ферментативного катализа:

Катализ – это процесс ускорения химической реакции под влиянием катализаторов, которые активно участвуют в ней, но к концу реакции остаются химически неизменными.

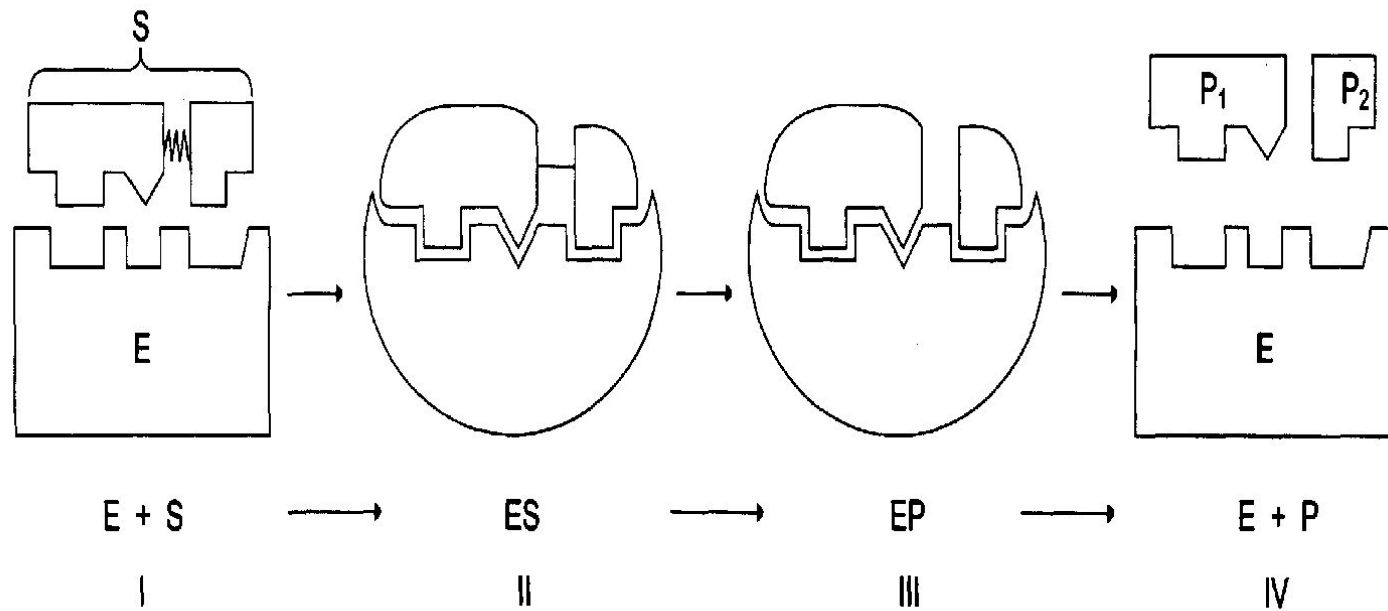
Катализатор ускоряет установление химического равновесия между исходными веществами и продуктами реакции.

Энергия, необходимая для начала химической реакции, называется **энергией активации**.



Фермент – это биокатализатор, который путем образования фермент – субстратного комплекса разбивает реакцию на отдельные этапы с более низкой энергией активации и тем самым резко повышает скорость реакции.

Механизм ферментативного катализа



Сближение и взаимная ориентация (индуцированное соответствие)

Образование ES комплекса

Образование EP комплекса

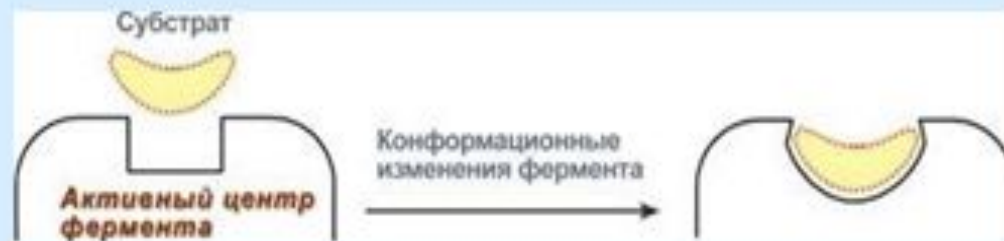
Выход продуктов из активного центра фер-та

Механизм ферментативного катализа

Теории взаимодействия S и АЦ фермента



- Э. Фишер: «ключ-замок»
- Д. Кошланд (1959): «теория вынужденного, индуцированного соответствия S и АЦ фермента», или теория «гибких, эластичных групп активного центра».



Кинетика ферментативных реакций

Кинетика изучает изменение скорости ферментативной реакции во времени в зависимости от ряда факторов:

- Концентрация фермента;
- Концентрация субстрата;
- Температура;
- рН среды;
- Активаторы;
- Ингибиторы;

Активность – это изменение концентрации субстрата под влиянием фермента в единицу времени.

Международная единица активности (МЕ или U) – количество фермента, катализирующие превращение 1 мкмоля субстрата за 1 мин.

В системе СИ используют «катал», который определяется как 1 моль/с.

Удельной активностью называется число единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка.

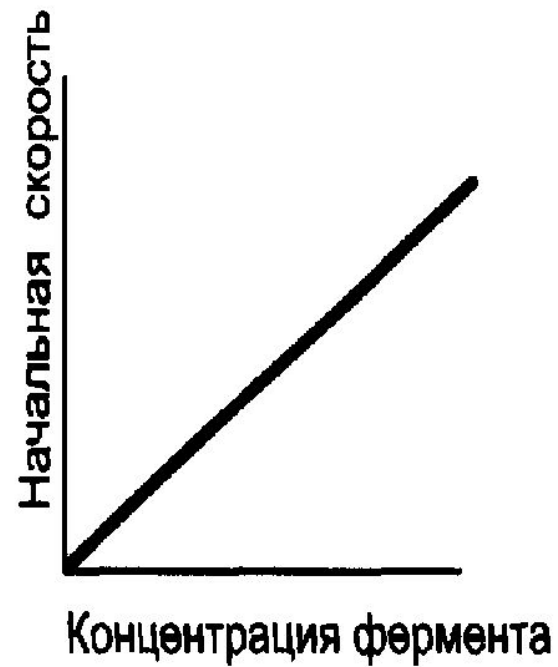
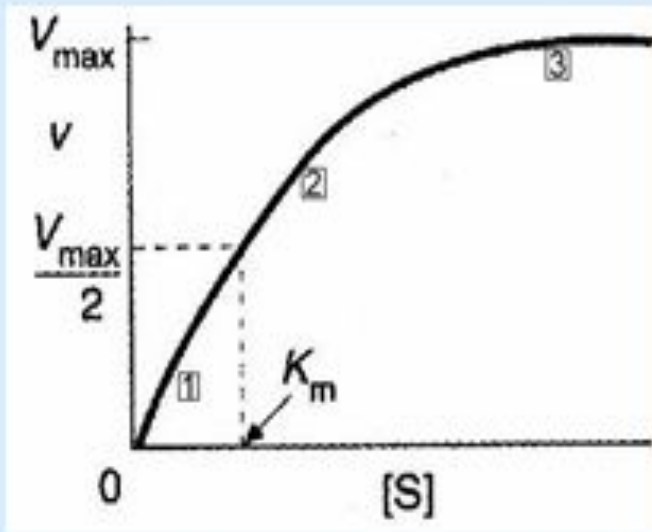


Рис. 2-16. Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от концентрации фермента.

Кинетика ферментативных реакций (Михаэлис, Ментен 1913 г.)

Зависимость V от $[S]$ – кинетика ферментативной реакции



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

Уравнение зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + K_m/S}$$

V - скорость реакции

V_{\max} - максимальная скорость

K_m - константа Михаэлиса

S - концентрация субстрата

$K_m = [S]$, если скорость реакции равна половине от максимальной скорости.

Кинетика ферментативных реакций

Модель Михаэлиса-Ментон

Уравнение Михаэлиса-Ментен

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

где v_0 начальная скорость при концентрации субстрата $[S]$, V_{\max} – максимальная скорость и K_M – константа Михаэлиса-Ментен для данного фермента, соответствующая определенному субстрату

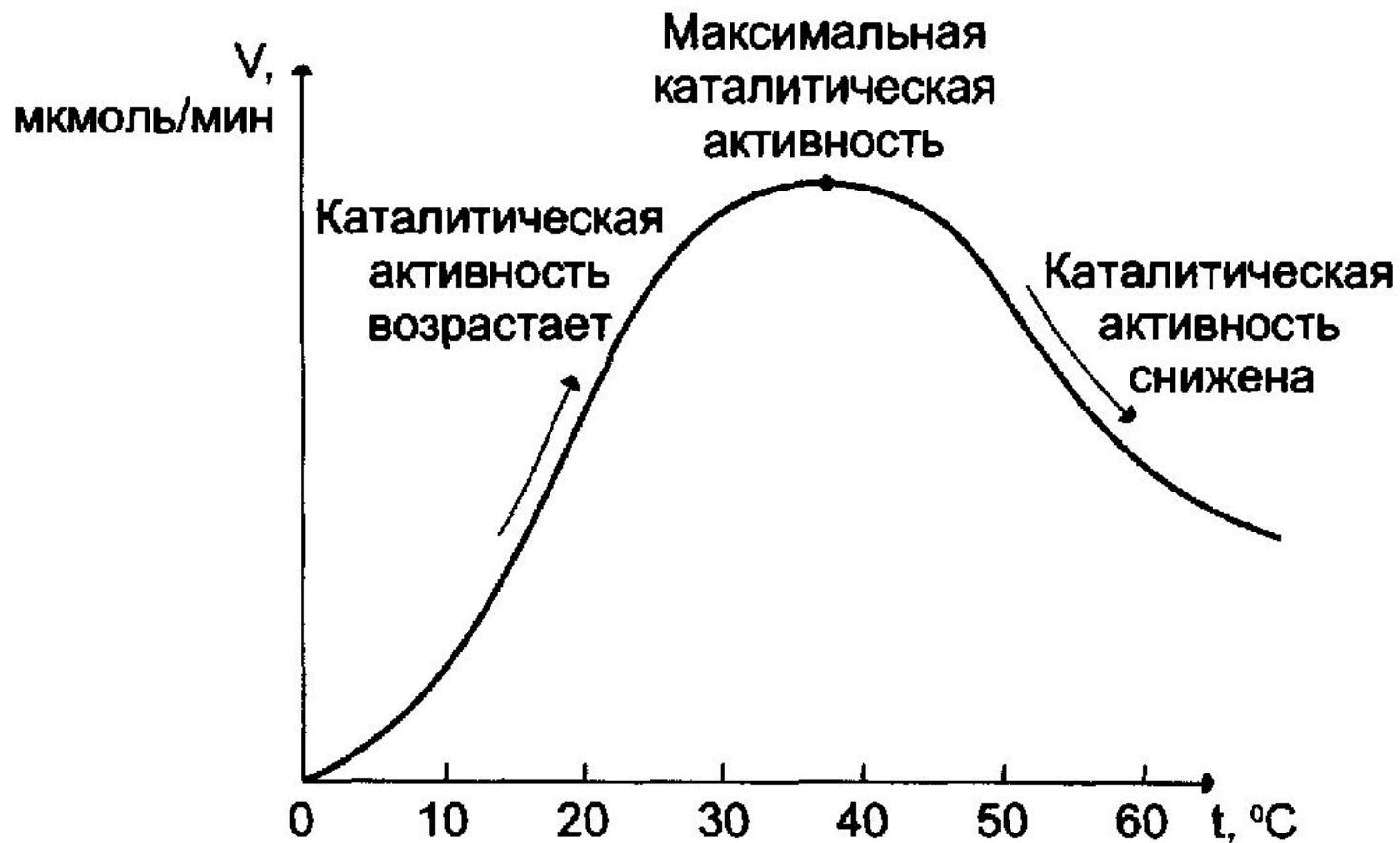
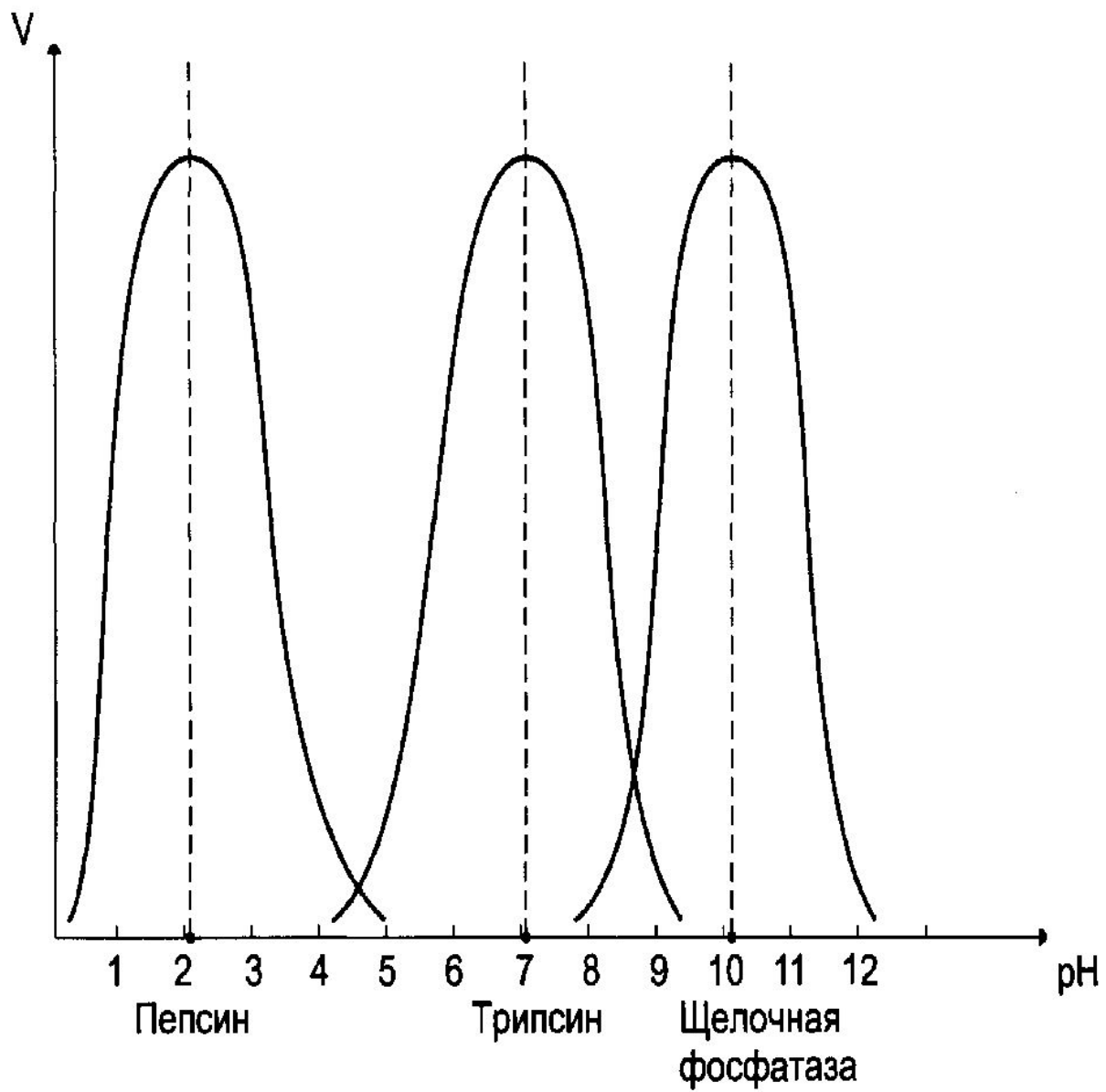


Рис. 2-17. Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры.



Фермент	Оптимальное значение рН
Пепсин	1,5–2
Пируват- карбоксилаза	4,8
Каталаза	6,8–7
Фумараза	6,5
Уреаза	6,8–7,2
Кабоксипептидаза	7,5
Трипсин	6,5–7,5
Аргиназа	9,5–9,9

Количество фермента можно определить по его активности

За единицу активности фермента принимается такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата (1 мкмоль = 10^{-6} моля) в 1 мин при 25°C в оптимальных условиях действия фермента.

Удельной активностью называется число единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка.

Молекулярная активность - количество молекул субстрата, которые превращаются одной молекулой фермента за 1 минуту при 30C и прочих оптимальных условиях.

Ингибирование ферментов

Разные химические агенты (метаболиты, аналоги субстратов, токсины, лекарственные средства, металлы) могут ингибировать активность ферментов

Ингибитор – связывается с ферментом и предупреждает формирование комплекса ES или его расщепление к $E + P$

Обратимые и необратимые ингибиторы

Обратимые, (образование ЭИ комплекса) быстро диссоциирует

Фермент угнетен только когда связан с ингибитором

ЭИ комплекс удерживается с помощью слабых нековалентных связей

Три типа обратимого ингибирования:
Конкурентное, Неконкурентное, Безконкурентное

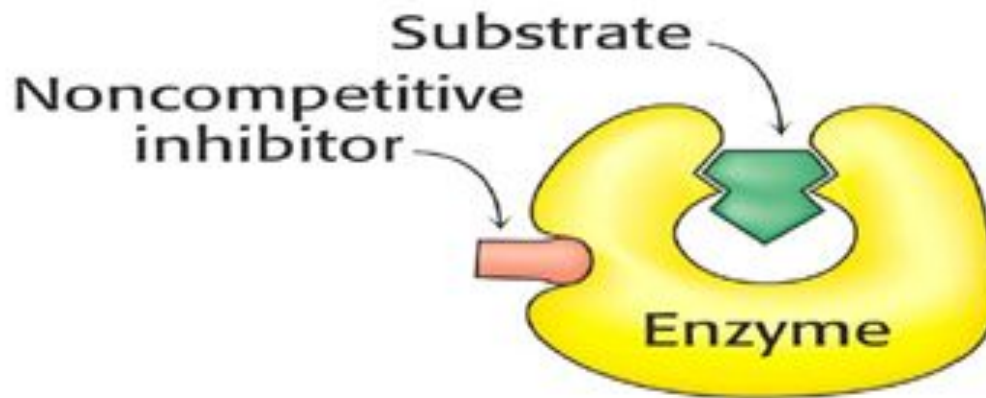
Обратимое ингибирование

Конкурентное

- Ингибитор за структурой похожий на субстрат, поэтому связывается с тем же активным центром
- Фермент не может распознать ингибитор и субстрат
- Присоединение ингибитора к активному центру предупреждает связывание субстрата
- Конкурентный ингибитор снижает скорость катализа уменьшая количество молекул фермента, связанных с субстратом
- Ингибитор может быть вытеснен из активного центра путем увеличения концентрации субстрата

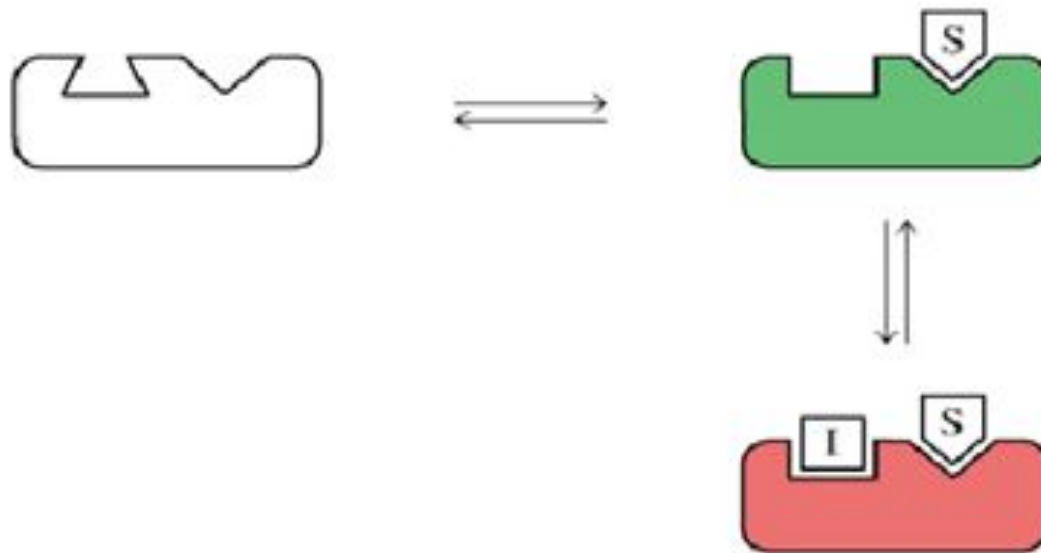
Неконкурентное торможение

- Ингибитор присоединяется не к активному центру, а к другому участку фермента
- Ингибитор и субстрат могут связываться с ферментом в одно и то же время
- Ингибитор может связываться как с ферментом (ЭИ), так и с фермент-субстратным комплексом (ЭСИ)
- Ингибитор не может быть вытеснен путем увеличения концентрации субстрата



Безконкурентное торможение

- Ингибитор присоединяется к ЭС но не к свободному Э
- Встречается только в мультисубстратных реакциях



Необратимое ингибирование

Очень медленная диссоциация ЭИ
комплекса

Связываются ковалентными связями с
ферментом

Необратимые ингибиторы

- *ингибиторы специфические к группам аминокислотных остатков*
- *аналоги субстратов*
- *суицидные ингибиторы*

Регуляция Активности Ферментов

Методы регуляции активности ферментов

- Закон действующих масс
- Аллостерическая регуляция
 - Обратимая ковалентная модификация
 - Компартаментализация
 - Протеолитическая активация

Аллостерические ферменты

Аллостерические ферменты имеют специальный регуляторный участок (**аллостерический центр**), который пространственно отдален от активного центра

Имеют четвертичную структуру.

Аллостерические модуляторы

- связываются **нековалентно** с аллостерическим центром
- регулируют активность фермента изменяя его конформацию

Регуляция активности ферментов путем ковалентной модификации

Ковалентное присоединение молекулы к аминокислотному остатку фермента может модифицировать активность последнего

Типы ковалентной модификации:

- фосфорилирование;
- ацетилирование;
- карбоксилирование и др.

Изоферменты

множественные формы фермента, которые отличаются аминокислотной последовательностью, но катализируют ту же реакцию

Изоферменты могут отличаться:

- *кинетикой,*
- *регуляторными свойствами,*
- *коэнзимом,*
- *распространением в клетках и тканях*

Изоферменты кодируются разными генами

Протеолитическая активация

- Много ферментов синтезируются как неактивные предшественники (зимогены) и активируются протеолитическим расщеплением

Примеры специфического протеолиза

- **Ферменты пищеварения**
 - синтезируются как зимогены в желудке и поджелудочной железе
- **Ферменты свертывания крови**
 - каскад протеолитической активации
- **Некоторые белковые гормоны**
 - проинсулин в инсулин путем удаления пептида