

Лекция №4

«Ферменты»

План лекции

1. Определение
2. Классификация
3. Строение и функции
4. Механизм действия
5. Свойства
6. Факторы, влияющие на активность
7. Единицы измерения активности

Ферменты (от лат. *fermentatio* – брожение) или **энзимы** (от греч. *en zyme* – в дрожжах) – это специфические белки глобулярной природы, которые присутствуют во всех живых организмах и играют роль биологических катализаторов.

Ферменты обычно белковые молекулы или молекулы РНК (рибозимы) или их комплексы, ускоряющие (катализирующие) химические реакции в живых системах. Реагенты в реакции, катализируемой ферментами, называются субстратами, а получающиеся вещества — продуктами.

Наука о ферментах – ЭНЗИМОЛОГИЯ.

Классификация ферментов по структуре:

1. **Простые** - состоят только из остатков аминокислот (гидролитические ферменты: пепсин, трипсин, лизоцим и т.д.)
2. **Сложные** (холоферменты) имеют в своем составе белковую часть, состоящую из аминокислот – **апофермент**, и небелковую часть – **кофактор**. Кофактор, в свою очередь, может называться **коферментом** или **простетической группой**.
Примером могут быть сукцинатдегидрогеназа (содержит ФАД) (в цикле трикарбоновых кислот), аминотрансферазы (содержат пиридоксальфосфат), **пероксидаза** (содержит гем).
Также кофактором может быть ионы : Ca²⁺ · Cu²⁺ · Fe²⁺,
Fe³⁺ · Mg²⁺ · Mn²⁺ · Mo · Ni²⁺ · Se · Zn²⁺

По типу катализируемых реакций

- 1. Оксидоредуктазы** – катализируют окислительно-восстановительные реакции, осуществляя перенос Н и О (Пример: каталаза, пероксидаза)
- 2. Трансферазы** – катализируют перенос группы атомов (метильной, фосфатной, аминной и т.д.) (Пример: АлАт, АсАт)
- 3. Гидролазы** - катализируют расщипление сложных веществ на простые в присутствии воды. (Пример: амилаза)
- 4. Лиазы** – катализируют обратимые реакции отщипления различных групп от субстратов негидролитическим путём (Пример: L-малат-гидролаза)
- 5. Изомеразы** - катализируют реакции внутримолекулярных перестроек, т.е. превращение одного изомера в другой (Пример: глюкозо-6-фосфатизомераза)
- 6. Лигаза (синтетаза)** катализируют реакции синтеза с использованием АТФ (Пример: глутамат-аммиак-лигаза)

Шифр ферментов

1.1.1.27 - ЛДГ

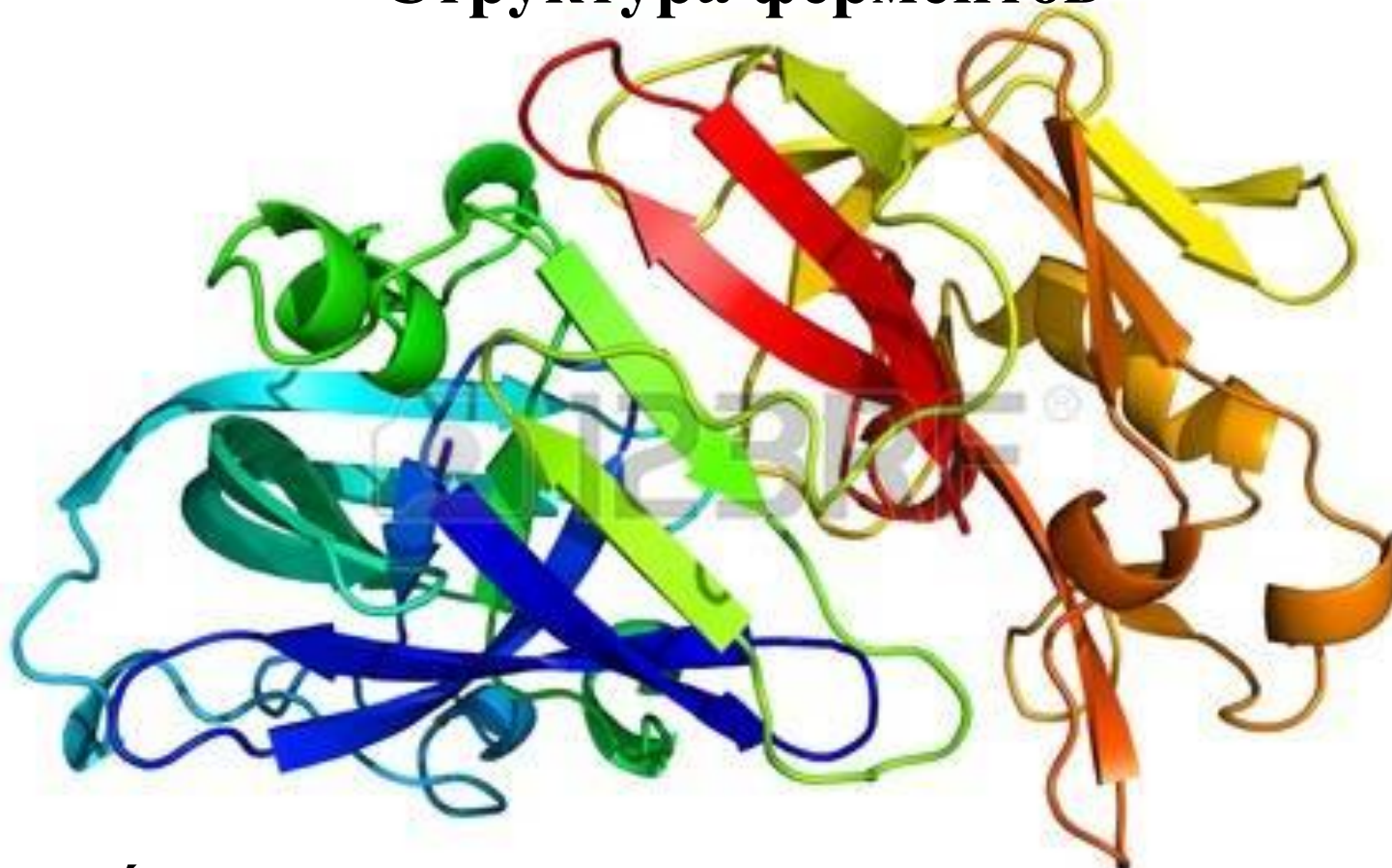
В каждом шифре 4 цифры:

- **1 - класс ферментов**
- **2 - подкласс** (указывает какая группировка является донором)
- **3 - подподкласс** (указывает какая группировка является акцептором)
- **4 - порядковый номер фермента в подподклассе.**

Таблица 4.1. Молекулярная масса ферментов

Фермент	Молекулярная масса	Фермент	Молекулярная масса
Рибонуклеаза	13700	Лактатдегидрогеназа	140000
Цитохром <i>c</i>	15000	Альдолаза	142000
Трипсин	23800	Каталаза	248000
Пепсин	32100	Глутаматдегидрогеназа	336000
Гексокиназа	45000	Уреаза	480000
Щелочная фосфатаза	80000	Пируватдегидрогеназа (комплекс)	4500000

Структура ферментов

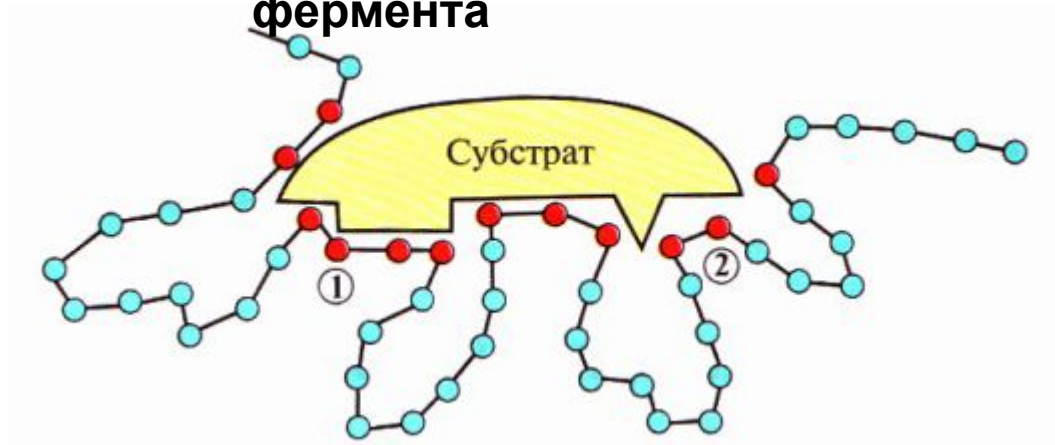


Пепси́н (др.-греч. *πέψις* — пищеварение) — протеолитический **фермент** класса гидролаз (КФ 3.4.23.1), вырабатываемый главными клетками слизистой оболочки желудка, осуществляет расщепление белков пищи до пептидов.

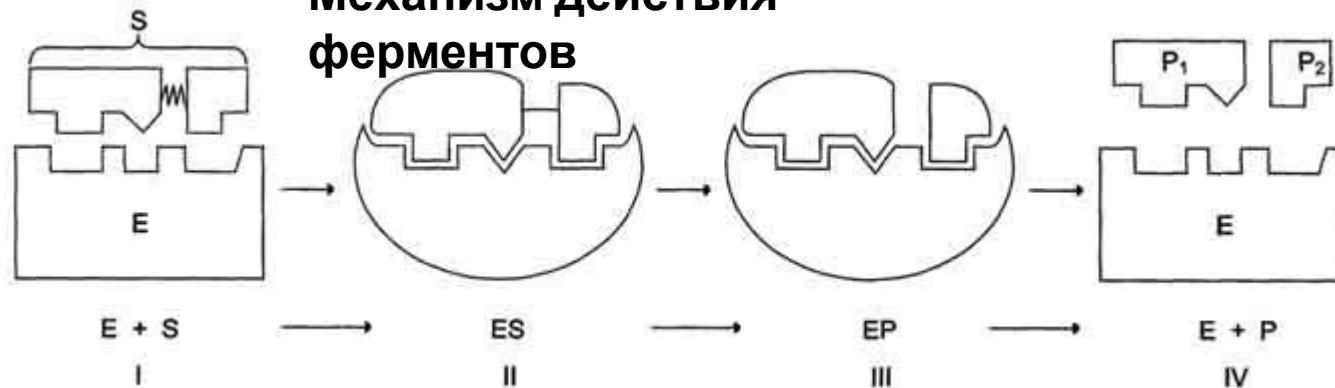
Пепсин



Активный центр фермента



Механизм действия ферментов



Этапы ферментативного катализа. I - этап сближения и ориентации субстрата относительно активного центра фермента; II - образование фермент-субстратного комплекса (ES) в результате индуцированного соответствия; III - деформация субстрата и образование нестабильного комплекса фермент-продукт (EP); IV- распад комплекса (EP) с высвобождением продуктов реакции из активного центра фермента и освобождением фермента.

Изменение свободной энергии в ходе химической реакции, некатализируемой и катализируемой ферментами.



Фермент понижает энергию активации E_a , т.е. снижает высоту энергетического барьера, в результате возрастает доля реакционно-способных молекул, следовательно, увеличивается скорость реакции.

Уравнение Михаэлиса — Ментен — основное уравнение ферментативной кинетики, описывает зависимость скорости реакции, катализируемой ферментом, от концентрации субстрата.

Для реакции:



Уравнение имеет вид:

$$v = \frac{V_m S}{S + K_M},$$

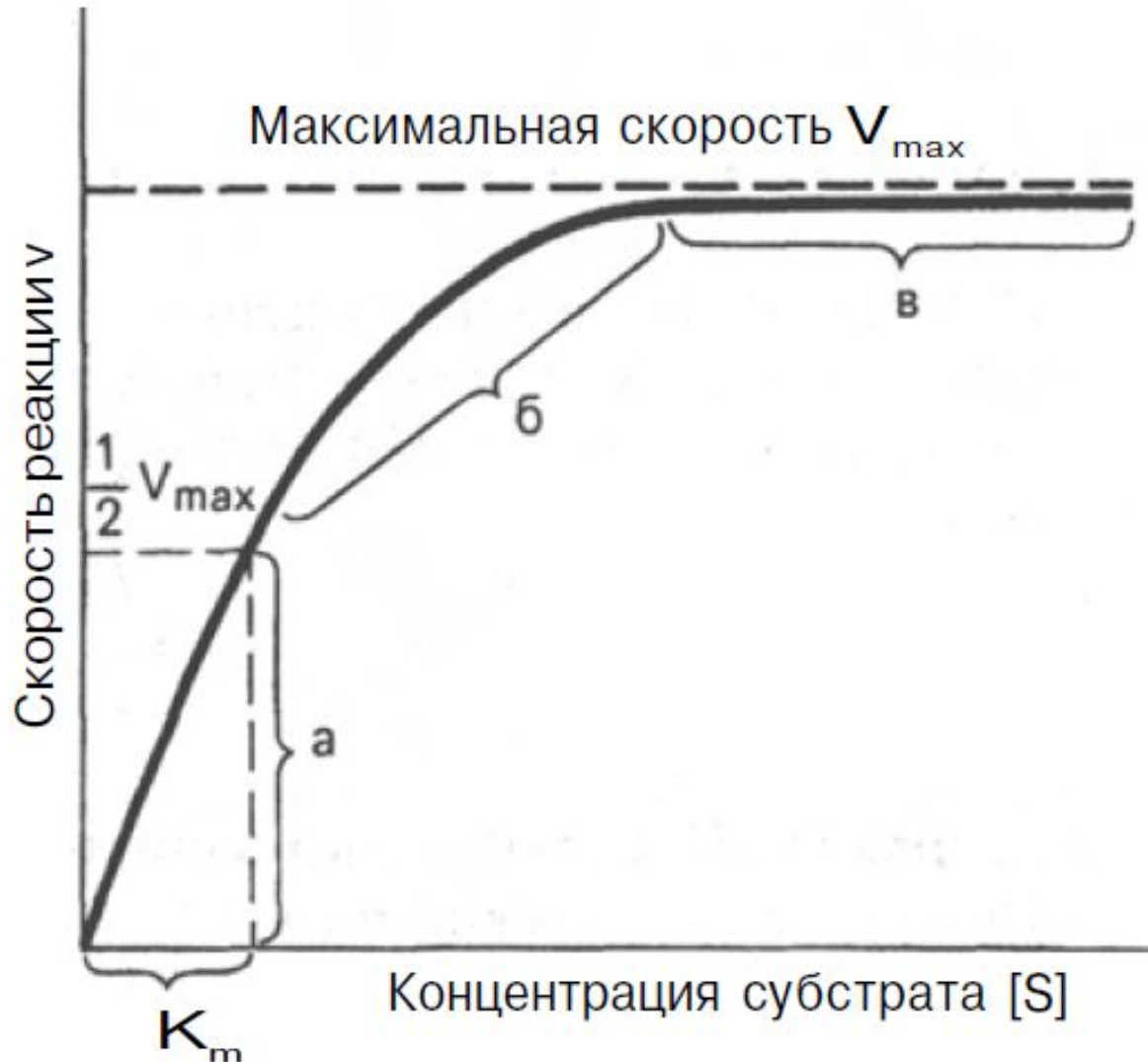
где

- V_m — максимальная скорость реакции, равная $k_{cat} E_0$;
- K_M — константа Михаэлиса. По определению, $K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$, где

k_{-1} есть константа скорости реакции распада фермент-субстратного комплекса на фермент и исходный субстрат, k_1 есть константа скорости реакции образования фермент-субстратного комплекса и k_2 есть константа скорости реакции распада фермент-субстратного комплекса на фермент и продукт (см. ниже вывод уравнения для скорости реакции).

S — концентрация субстрата

Кривая насыщения химической реакции



Иллюстрирующая соотношение между концентрацией субстрата $[S]$ и скоростью реакции V

Специфичность

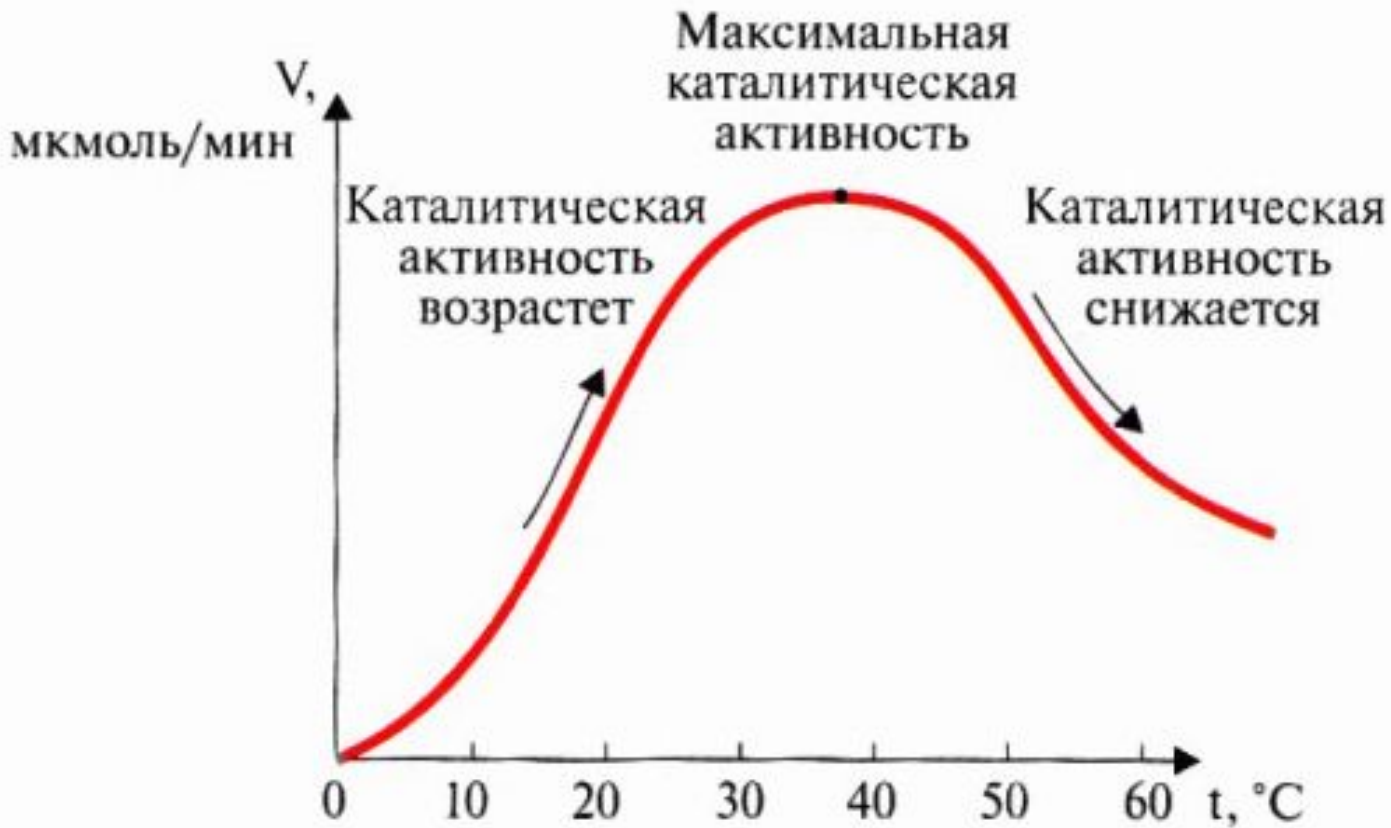
Ферменты проявляют высокую специфичность по отношению к своим субстратам (субстратная специфичность). Это достигается частичной комплементарностью формы, распределения зарядов и гидрофобных областей на молекуле субстрата и в центре связывания субстрата на ферменте. Ферменты обычно демонстрируют также высокий уровень стереоспецифичности (образуют в качестве продукта только один из возможных стереоизомеров или используют в качестве субстрата только один стереоизомер), региоселективности (образуют или разрывают химическую связь только в одном из возможных положений субстрата) и хемоселективности (катализируют только одну химическую реакцию из нескольких возможных для данных условий).

Виды:

-абсолютная

-относительная (групповая)

Термолабильность (Оптимальная температура для действия ферментов 37-40⁰С. При температуре 50⁰С фермент инактивируется из-за денатурации белковой структуры)

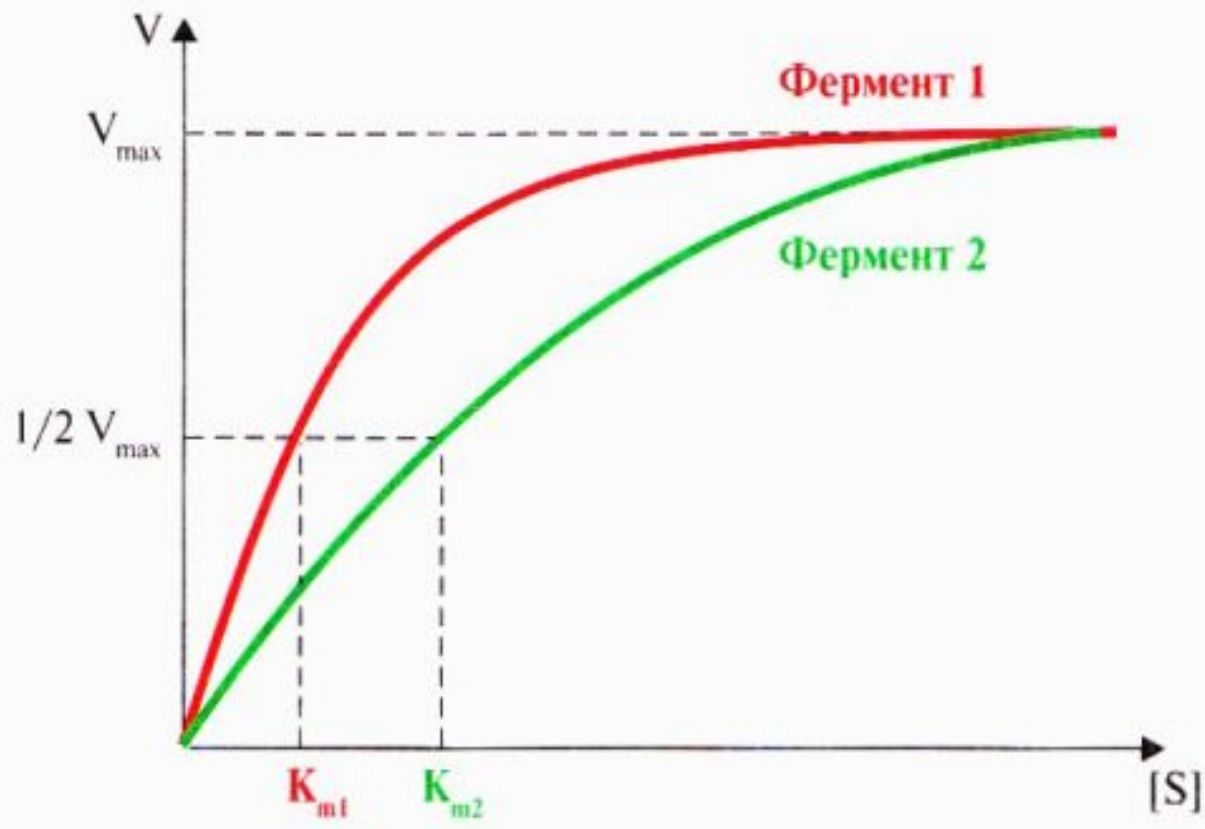


Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры

pH-лабильность (ферменты активны в узких пределах концентрации водородных ионов) Пример: оптимальное значение pH для действия пепсина 1,5-2,5; каталазы 6,8-7,0; трипсин а 7,5-8,5; амилазы 6,8-7,0)



Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от pH среды



Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации

Единицы измерения активности

реакции. Эти единицы активности используют в медицинской и фармацевтической практике для оценки активности ферментов:

$$1 \text{ ME} = \frac{1 \text{ мкмоль превращенного субстрата}}{1 \text{ мин}}$$

Для оценки количества молекул фермента среди других белков данной ткани определяют удельную активность (Уд.Ак.) фермента, численно равную количеству превращенного субстрата (в мкмольях) за единицу времени одним миллиграммом (мг) белка (фермента, выделенного из ткани):

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

По удельной активности судят о степени очистки фермента: чем меньше посторонних белков, тем выше удельная активность.

Оксидоредуктазы

- *Дегидрогеназы*
 - аэробные (глутамат ДГ),
 - анаэробные
- *Оксигеназы*
 - монооксигеназы
 - диоксигеназы
- *Редуктазы*

Коферменты:

НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, коэнзим Q, липоевая кислота, глутатион, гем.

Кофактор: витамин С

Трансферазы

Ферменты:

- *Аминотрансферазы*
- *Фосфотрансферазы*
- *Гликозилтрансферазы*

Коферменты: АТФ, ГТФ, УДФ, ЦДФ, тетрагидрофолиевая кислота, фосфопиридоксаль, SH-Коэнзим А, ФАФС.

2.6.2.1 - АЛТ

Подкласс говорит о группе, которую переносит фермент.

Если группа азотистая - 2.6., если аминокгруппа, то 2.6.2.

Гидролазы

Ферменты:

- *Пептидгидролазы:*

- аминопептидазы
- карбоксипептидаза
- дипептидазы
- пепсин
- трипсин
- химотрипсин

- *Гликозидазы*

Коферментов НЕТ.

Лиазы

Коферменты:

- Фосфопиридоксаль
- Тиаминпирофосфат

Если разрыв связи C-C, то 4.1.

C-O, то 4.2.

C-N, то 4.3.

C-S, то 4.4.

Изомеразы

Коферменты: кобамидные коферменты (витамин В₁₂)

Цис-трансизомеразы - 5.2.

Внутримолекулярные - 5.4.

Лигазы

Ферменты:

- Глутаминсинтетаза
- Пируваткарбоксилаза

Коферменты:

- биотин
- HS-КоА

Обязательный участник АТФ

Подкласс свидетельствует о связи, которая образуется,
подподкласс - уточняет тип связи.