

ТЕМА № 1



ФЕРМЕНТЫ. СТРОЕНИЕ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ. НОМЕНКЛАТУРА И КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Лекция для студентов специальности 020209.65 Микробиология
Лектор: Дроздова Е.А., к.б.н., доцент

ПЛАН ЛЕКЦИИ:

1. Ферменты, понятие, история открытия.
2. Отличие ферментов от катализаторов.
3. Свойства ферментов.
4. Виды ферментов.
5. Строение ферментов.
6. Механизм действия ферментов.
7. Номенклатура ферментов.
8. Классификация ферментов.

ФЕРМЕНТЫ

Все разнообразные и многочисленные **биохимические процессы**, протекающие в живом организме, совершаются **при участии ферментов**, вырабатываемых клетками организма.

Ферменты – это высокоспецифичный класс веществ белковой природы, используемый живыми организмами для осуществления множества **взаимопревращений**, связанных с его обменом веществ, **ростом, развитием**.

«fermentatio» – брожение
«fermentum» – закваска
«en zyme» – в дрожжах

все эти термины связаны с тем, что впервые сведения о ферментах были получены при изучении процессов брожения

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ

1814 г. – К. Кирхгоф установил, что превращения крахмала в сахар происходит под действием водных вытяжек из проростков ячменя.

1833 г. – А. Пайен и Ж. Персо выделили фермент амилазу.

1836 г. – Т. Шванн обнаружил и описал пепсин.

1836 г. – И. Пуркин и И. Паппенгейм охарактеризовали трипсин.

1897 г. – братья Г. и Э. Бухнеры выделили из дрожжей растворимый препарат (так называемой зимазу), вызывавший спиртовое брожение.

В кон. XIX в. Э. Фишер предложил первую теорию специфичности.

1913 г. – Л. Михаэлис сформулировал теорию кинетики ферментативных реакций.

1922 г. – установлена белковая природа ферментов.

1926 г. – очищен и выделен в виде белковых кристаллов фермент уреазы.

1926 г. – Дж. Самнер в кристаллическом виде получил уреазу.

1930 г. – Дж. Нортроп в кристаллическом виде получил пепсин.

1960 г. – У. Стейн и С. Муром установили первичную структуру рибонуклеазы А.

1969 г. – Р. Меррифилд осуществил химический синтез этого фермента.

1965 г. – Д. Филлипс установил третичную структуру для лизоцима.

2-ая пол. XX в. – открыта каталитическая активность у некоторых РНК.

К настоящему времени в кристаллическом виде получены сотни различных ферментов, расшифрованы их аминокислотные последовательности, изучается их роль в метаболических превращениях.

ОТЛИЧИЯ ФЕРМЕНТОВ ОТ КАТАЛИЗАТОРОВ

Ферменты отличаются от катализаторов по следующим признакам:

1. Высокая эффективность действия (константа равновесия не изменяется, смещается равновесие реакции быстрее в присутствии фермента).
2. Специфичность действия (лактаза).
3. Способность к регуляции (приспособление организма к изменяющимся условиям среды).
4. Ферментативный катализ – это серия элементарных превращений, организованных в пространстве и времени.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ:

1. Обладают белковой природой. Доказательства:
 - денатурация при кипячении;
 - при гидролизе распадаются на аминокислоты;
 - характерна биуретовая реакция.
2. Подчиняются всем законам катализа:
 - температура, при которой скорость ферментативной реакции максимальна: снижение температуры не ведет к полной денатурации фермента;
 - рН, при котором скорость ферментативной реакции максимальна (ферменты – амфотерные соединения);
 - величина ионной силы раствора (довольно широкие пределы);
 - концентрация реагирующих субстратов (субстрата): увеличение скорости ферментативной реакции при увеличении концентрации субстрата происходит до концентрации насыщения; дальнейшее увеличение приведет к торможению скорости ферментативной реакции (торможение субстратом).
3. На активность ферментов могут влиять химические вещества:
 - активаторы;
 - ингибиторы.
4. Обладают специфичностью

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ –

наиболее важное свойство ферментов, определяющее их биологическую значимость.

субстратная специфичность

групповая (относительная)

ферменты действуют на группы субстратов, имеющих общий тип строения

(алкогольдегидрогеназа) или на один тип связи (эстераза, большинство протеолитических ферментов).

абсолютная

ферменты действуют только на один субстрат (уреаза, аргеназа).

стереохимическая

фермент выбирает один из пространственных изомеров субстрата (α -мальтаза).

каталитическая специфичность (специфичность превращения субстрата)

фермент катализирует превращение присоединенного субстрата по одному из возможных путей его превращения (глюкозо-6-фосфат субстрат 4 различных ферментов: фосфоглюкомутазы, глюкозо-6-фосфатфосфатазы, фосфоглюкоизомеразы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы).

ВИДЫ ФЕРМЕНТОВ

В зависимости от строения:

1. Однокомпонентные, простые, протеины.
2. Двухкомпонентные, сложные, протеиды.

В зависимости от места работы:

1. Эндоферменты, внутриклеточные.
2. Экзоферменты, внеклеточные.

В зависимости от количества в клетке:

1. Конститутивные.
2. Индуцируемые (адаптивные).

СТРОЕНИЕ СЛОЖНЫХ ФЕРМЕНТОВ



Кофермент	Общая роль	Витамин предшественник
NAD^+ , NADP^+	Перенос водорода (электронов)	Никотиновая кислота – витамин РР
FAD	Перенос водорода (электронов)	Рибофлавин – витамин В12
Кофермент А	Активация и перенос ацильных групп	Пантотеновая кислота
Биотин	Связывание CO_2	Биотин
Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп	Перенос аминогрупп
Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос одноуглеродных фрагментов	Фолиевая кислота

ЦЕНТРЫ ФЕРМЕНТОВ

У ферментов можно выделить следующие центры:

1. Активный центр:

- каталитический (формируется в момент присоединения субстрата; включает один или более остатков аминокислот (серин, цистеин, гистидин, тирозин, лизин));
- субстратный (зона связывания с субстратом).

2. Аллостерический центр (при присоединении к нему определенного соединения изменяется конфигурация активного центра).

ЗНАЧИМОСТЬ УЧАСТКОВ АКТИВНОГО ЦЕНТРА

Активный центр фермента

```
graph TD; A[Активный центр фермента] --> B[Участок связывания]; A --> C[Каталитический участок]; B --> D[Обеспечивает субстратную специфичность (выбор субстрата)]; C --> E[Обеспечивает выбор пути химического превращения данного субстрата]; D --> F["- абсолютная субстратная специфичность<br>- групповая субстратная специфичность<br>- стереоспецифичность"]; E --> G[Специфичность пути превращения]
```

Участок связывания

Обеспечивает субстратную специфичность (выбор субстрата)

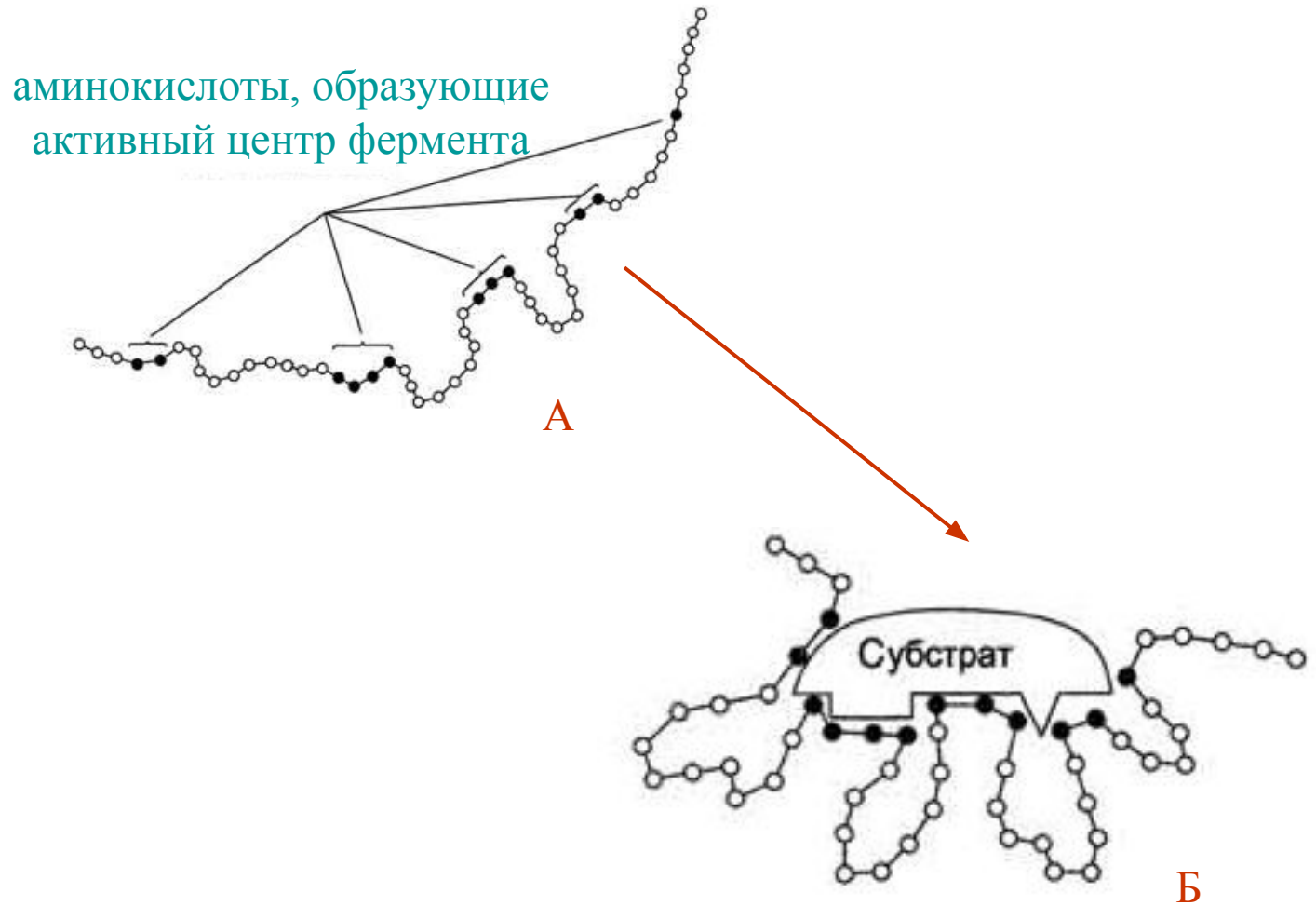
- абсолютная субстратная специфичность
- групповая субстратная специфичность
- стереоспецифичность

Каталитический участок

Обеспечивает выбор пути химического превращения данного субстрата

Специфичность пути превращения

АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ПРОСТОГО ФЕРМЕНТА

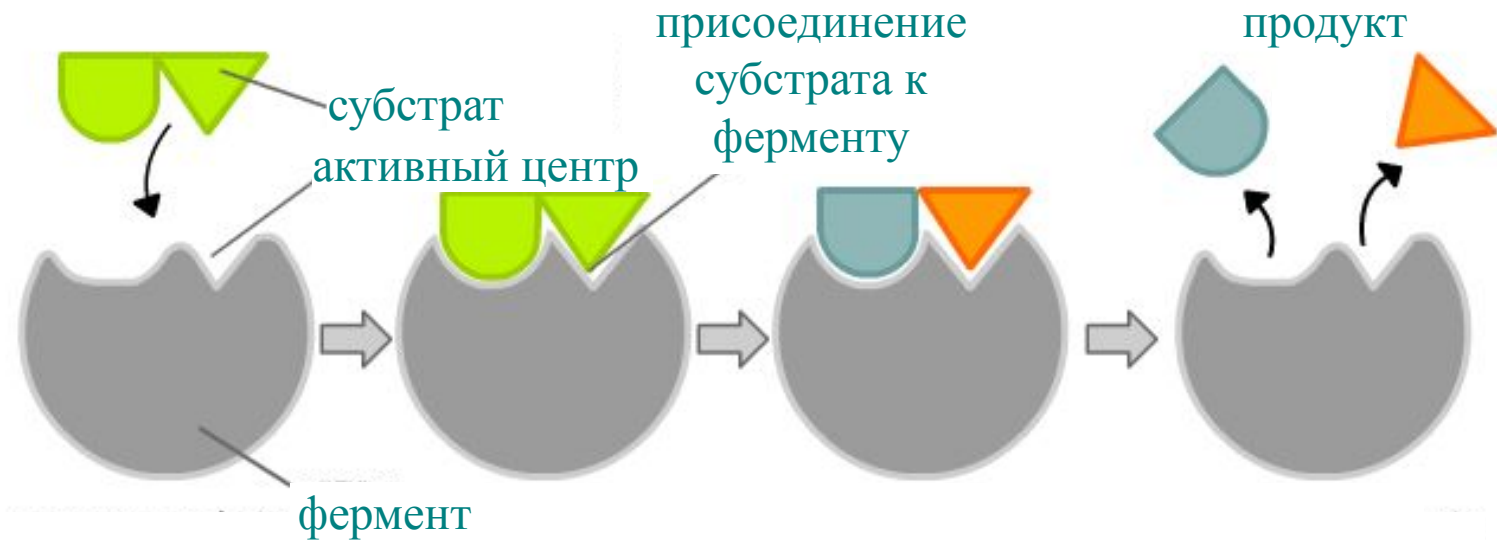


А – положение аминокислотных остатков, формирующих активный центр фермента, в первичной структуре белка;

Б – присоединение субстрата к ферменту в третичной структуре в активном центре.

ТЕОРИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА С СУБСТРАТОМ

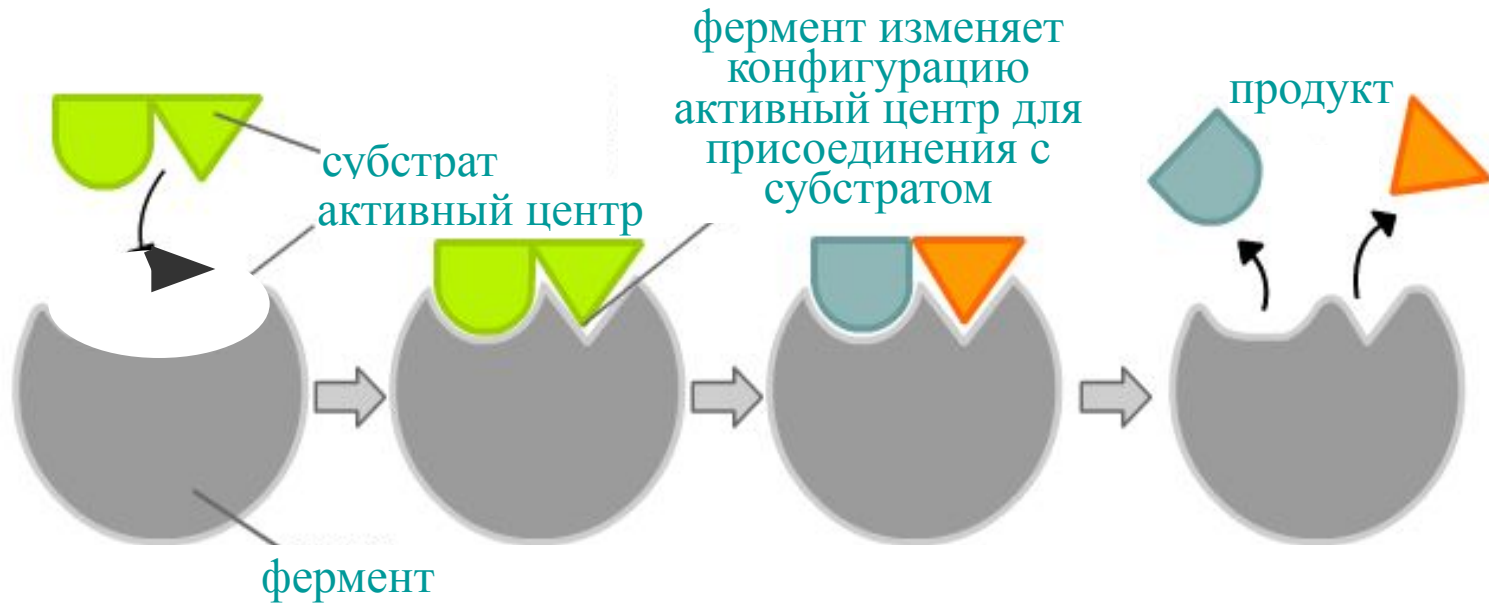
Теория Э.Фишера, 1894 г. – «КЛЮЧ-ЗАМОК»



Специфичность действия фермента определяется строгим соответствием геометрической структуры субстрата и активного центра фермента

ТЕОРИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА С СУБСТРАТОМ

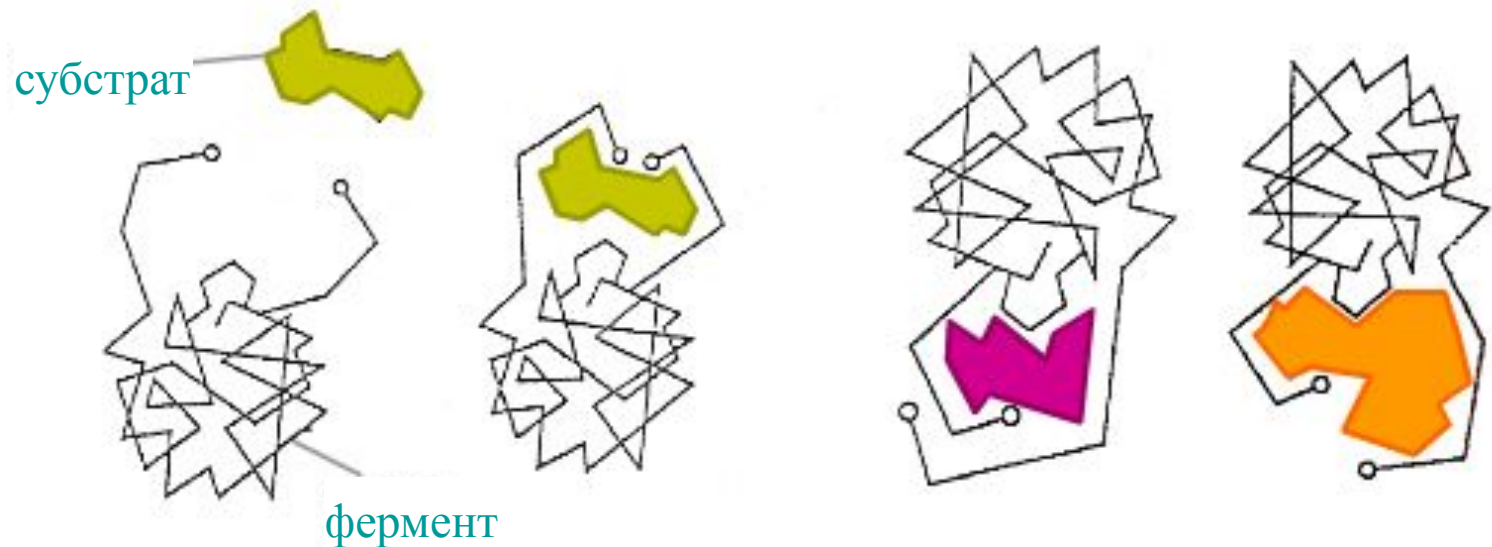
Теория Д.Кошланда, 1950 г. – индуцированного соответствия субстрата и фермента, «рука-перчатка»



В субстрате деформируются некоторые валентные связи и он подготавливается к дальнейшему каталитическому видоизменению, а в молекуле фермента происходят конформационные перестройки. Гипотеза Кошланда, основанная на допущении гибкости активного центра фермента, удовлетворительно объясняла активирование и ингибирование действия ферментов и регуляцию их активности при воздействии различных факторов

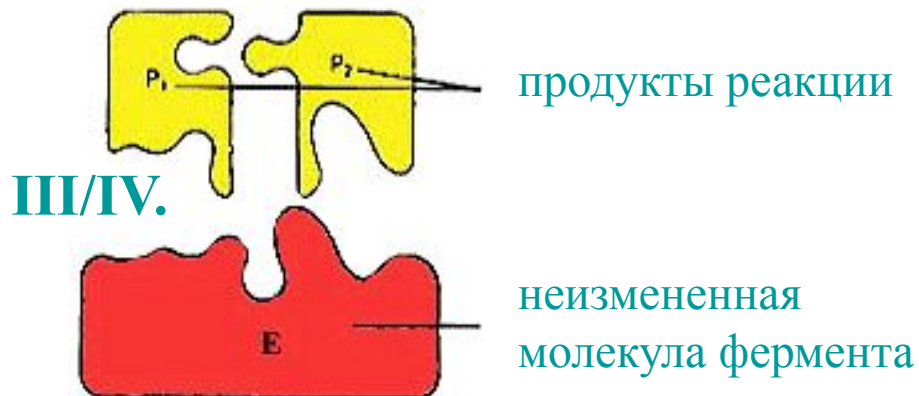
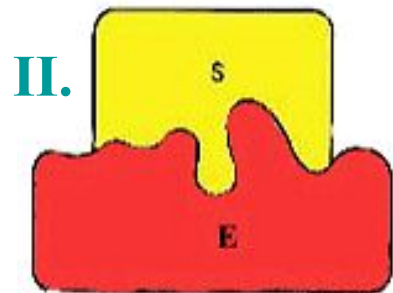
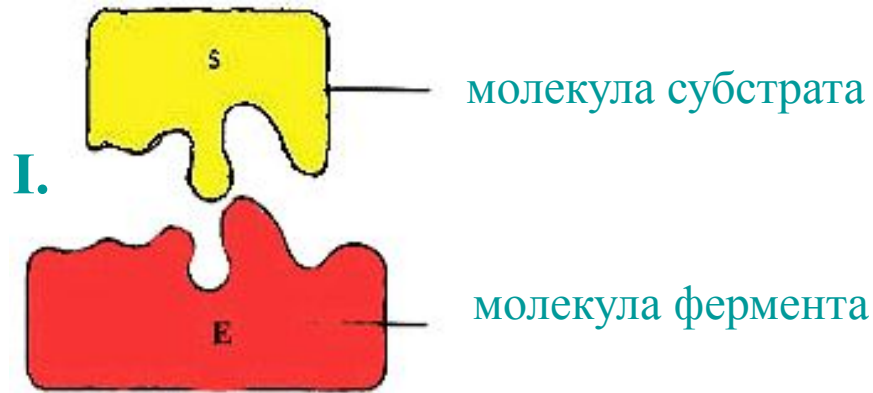
ТЕОРИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА С СУБСТРАТОМ

Теория топохимического соответствия



Сохраняя основные положения гипотезы взаимоиндуцированной настройки субстрата и фермента, она фиксирует внимание на том, что специфичность действия ферментов объясняется в первую очередь узнаванием той части субстрата, которая не изменяется при катализе. Между этой частью субстрата и субстратным центром фермента возникают многочисленные гидрофобные взаимодействия и водородные связи.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ



E – фермент (*enzyme*),
 S – субстрат (*substrat*),
 P – продукт (*product*).

НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

Исторически многим ферментам присваивались тривиальные названия, часто не связанные с типом катализируемой реакции (пепсин - греч. *pepsis* - пищеварение).

Для преодоления возникших трудностей в 1961 г. на Международном конгрессе биохимиков были разработаны принципы классификации и номенклатуры ферментов:

- все ферменты в зависимости от типа катализируемой реакции делят на 6 классов;
- каждый класс делится на подклассы, в соответствии с природой функциональных групп субстратов, подвергающихся химический превращению;
- подклассы, в свою очередь, делятся на подподклассы в зависимости от типа участвующего в превращении фермента;
- каждому ферменту присваивается классификационный номер из 4 цифр, обозначающих класс, подкласс, подподкласс и номер самого фермента.

Например, α -химотрипсин имеет номер 3.4.21.1.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

I. Оксидоредуктазы

II. Трансферазы

III. Гидролазы

IV. Лиазы

V. Лигазы

VI. Изомеразы