

Ферменты

Современная биология говорит на языке энзимологии.

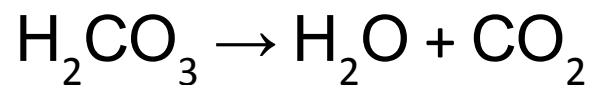
А. Е. Браунштейн



Ферменты (энзимы)

- специфические и высокоэффективные катализаторы химических реакций, протекающих в живой клетке
- **Энзимология**
 - один из главных разделов биохимии
 - изучает ферменты, их строение, свойства и механизм биологического действия

- Обмен веществ был бы невозможен без участия **биологических катализаторов – ферментов**
- Биокаталитически ускоряются самые различные превращения



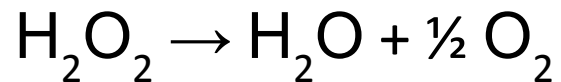
Фермент **карбангидраза**



Сходство и отличия ферментов и традиционных катализаторов

Катализаторы

- не создают реакции, а лишь **ускоряют достижение равновесия**
- ускоряют реакции за счет **снижения энергии активации**



- $E_a = 75,24$ кДж/моль (18 ккал/моль)
- **Мелкодисперсная Pt** ускоряет реакцию на 6 порядков; $E_a = 50,16$ кДж/моль (12 ккал/моль)
- **Каталаза** ускоряет реакцию на 12 порядков; $E_a = 23,408$ кДж/моль (5,6 ккал/моль)

Отличия ферментов и традиционных катализаторов

1. Большая эффективность

Отличия ферментов и традиционных катализаторов

2. Ферменты проявляют высокую каталитическую активность в **очень мягких условиях**
 - температура (?)
 - давление (?)
 - pH (?)
- Гидролиз белка
 - в присутствии кислот или щелочей при $T > 100^{\circ}\text{C}$ – **за несколько часов**
 - при участии специфических ферментов при $30\text{--}40^{\circ}\text{C}$ – **за десятки минут**

Отличия ферментов и традиционных катализаторов

3. **Высокая специфичность действия**
 - пределы ее у разных ферментов различны

Виды специфичности ферментов

- **Относительная (групповая)**
- Наибольшее значение – **тип химической связи** в молекуле субстрата
 - **Пепсин** расщепляет белки, но не углеводы и жиры (?)
 - **Липазы**: место действия – сложноэфирная связь

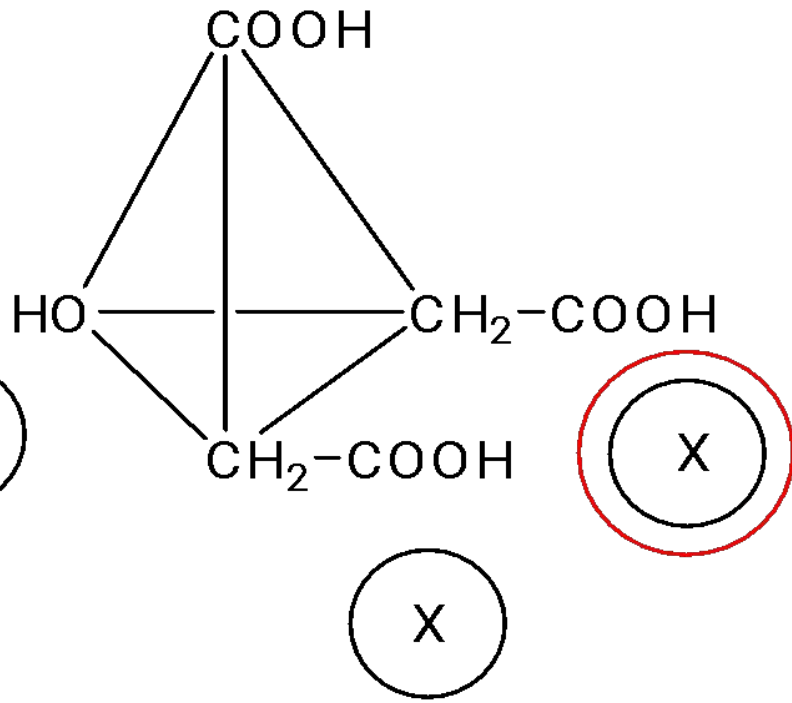
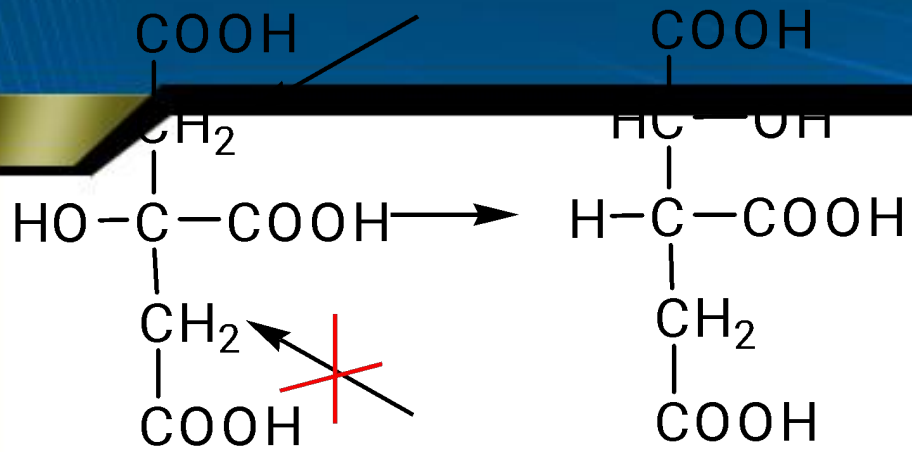
Виды специфичности ферментов

- **Абсолютная**
- Фермент катализирует превращение **одного-единственного субстрата**
 - **Аргиназа** ускоряет гидролиз аргинина
 - **Уреаза** – мочевины
 - **Сахараза** – сахарозы
 - и т. д.

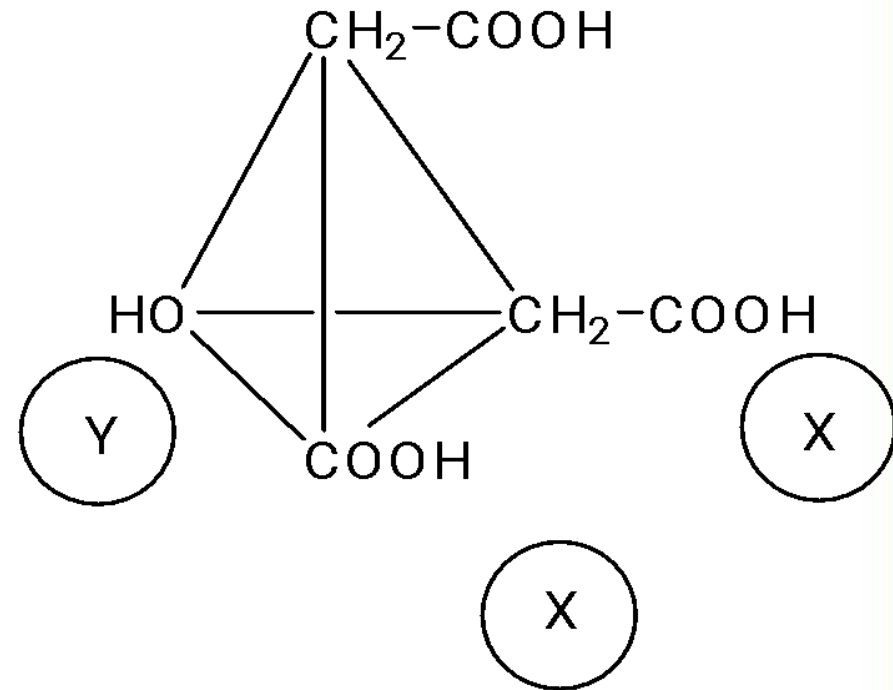
Виды специфичности ферментов

- **стереохимическая**
- обусловлена существованием
 - **оптически активных субстратов**
 - оксидазы L- и D-аминокислот
 - аспартатдекарбоксилаза (отщепление CO_2 от L-асп)
 - лактатдегидрогеназа (при восстановлении ПВК образуется только L-лактат)
 - **цис- и транс-изомеров**
 - Фумараза действует на фумаровую кислоту (транс-изомер), но не действует на малеиновую (цис-)
 - **симметричных субстратов**
 - Некоторые ферменты способны различать в симметричных молекулах группы, которые являются химически идентичными

Аконитатгидратаза



1



2

Отличия ферментов и традиционных катализаторов

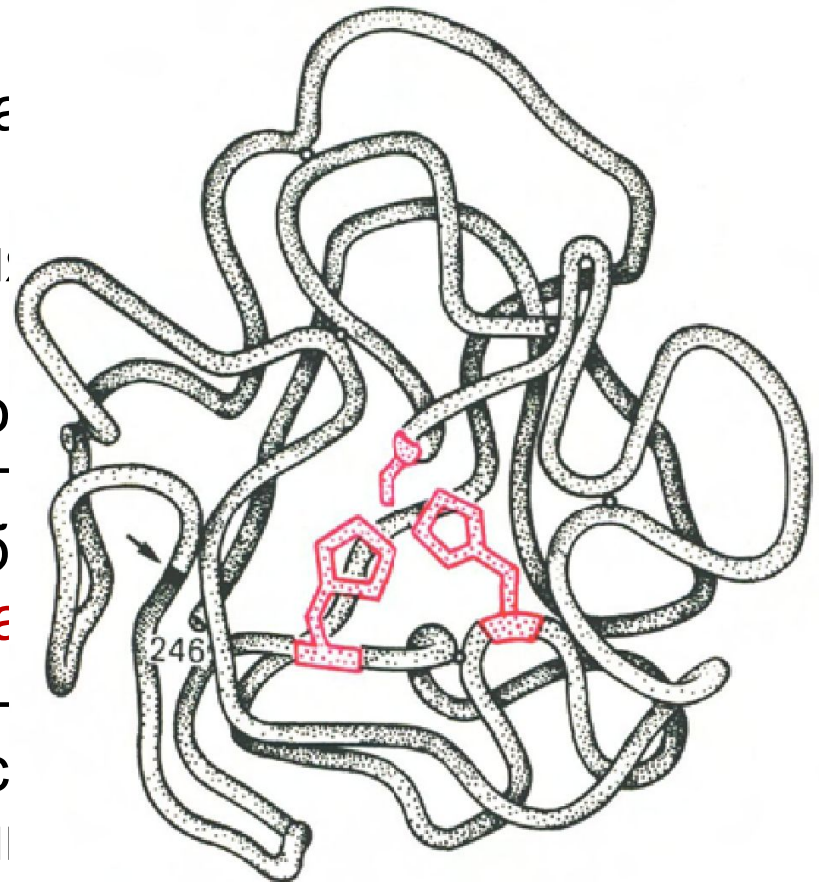
4. Отличия, связанные с **белковой природой ферментов** (термолабильность, зависимость активности от pH, наличие активаторов и ингибиторов и др.)
5. **Кооперативность** и жесткая **запрограммированность** этапов действия ферментов в пространстве и времени



Строение ферментов

Природа ферментативного катализа

- **Фермент (энзим)** – катализатор, ускоряющий только одну химическую реакцию
- Фермент – **белок**
 - Белки построены из 20 ϵ в длинные цепи
 - Белки – высокомолекул. 10000 и >
 - Одна из причин, по кото – длинная цепь (или цег должна свернуться с об кармана, называемого ϵ
 - Попадая в такой карма исключительной точнос функциональными групп




```
graph TD; A[Ферменты] --- B[Простые (однокомпонентные)]; A --- C[Сложные (двухкомпонентные)];
```

Ферменты

**Простые
(однокомпонентные)**

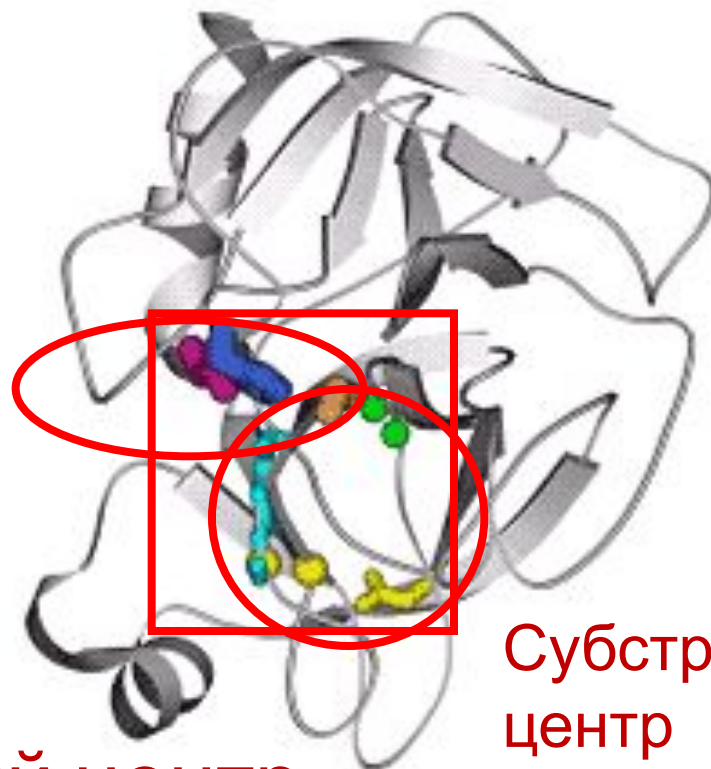
**Сложные
(двухкомпонентные)**

Однокомпонентные ферменты (ферменты-протеины)

- **Каталитический центр**
- **Субстратный центр**
 - Субстратный центр может совпадать (или перекрываться) с каталитическим
 - Каталитический центр может окончательно формироваться в момент присоединения субстрата
- **Активный центр фермента** – сочетание каталитического и субстратного
 - располагается на дне щели или впадины
- **Аллостерический центр**

- Трипсин

Каталитический
центр



Субстратный
центр

Активный центр

Двухкомпонентные ферменты (ферменты-протеиды)

1. Белковая часть – апофермент

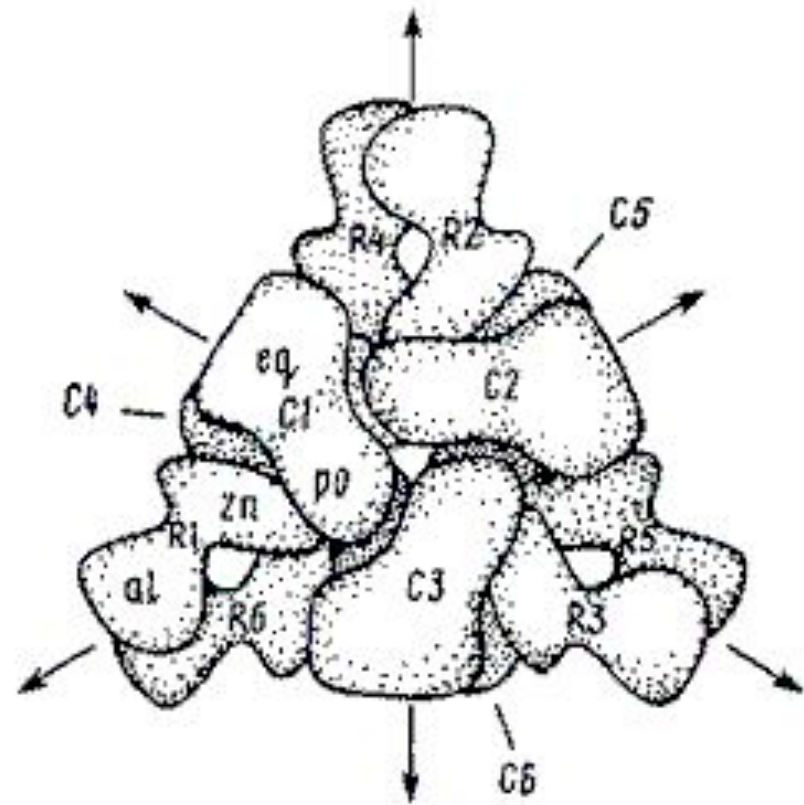


Природа коферментов (О. Г. Варбург, Р. Кун, П. Каррер)

1. Витамины (Е, К, Q, B₁, B₂, B₆, B₁₂, С, Н и др.)
2. Соединения, построенные с участием витаминов (коА, НАД, ФАД и др.)
3. HS-глутатион
4. Нуклеотиды и их производные (УМФ, ЦМФ)
5. Фосфорные эфиры моносахаридов (Г-1,6-дФ)
6. Ионы металлов (Fe²⁺, Cu²⁺ и др.)

Мультимеры

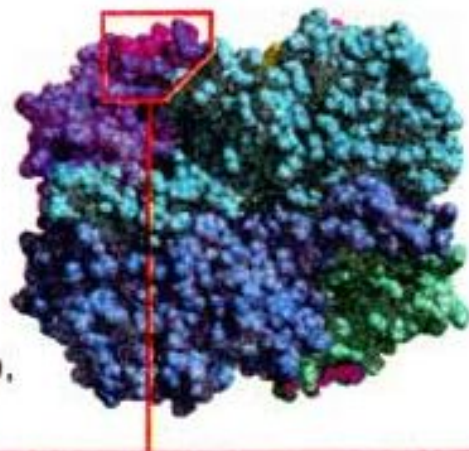
- построены из нескольких субъединиц – **протомеров**
– **каталаза** – 6 протомеров
- Максимальная каталитическая активность
- Наряду с **каталитически активными протомерами** в их составе могут быть **регуляторные субъединицы**



Четвертичная структура аспартаткарбамоил-трансферазы *E. coli*. C1-C6 - каталитические субъединицы, R1-R6 - димеры регуляторных субъединиц. Стрелками показаны оси симметрии

ИЗОЗИМЫ

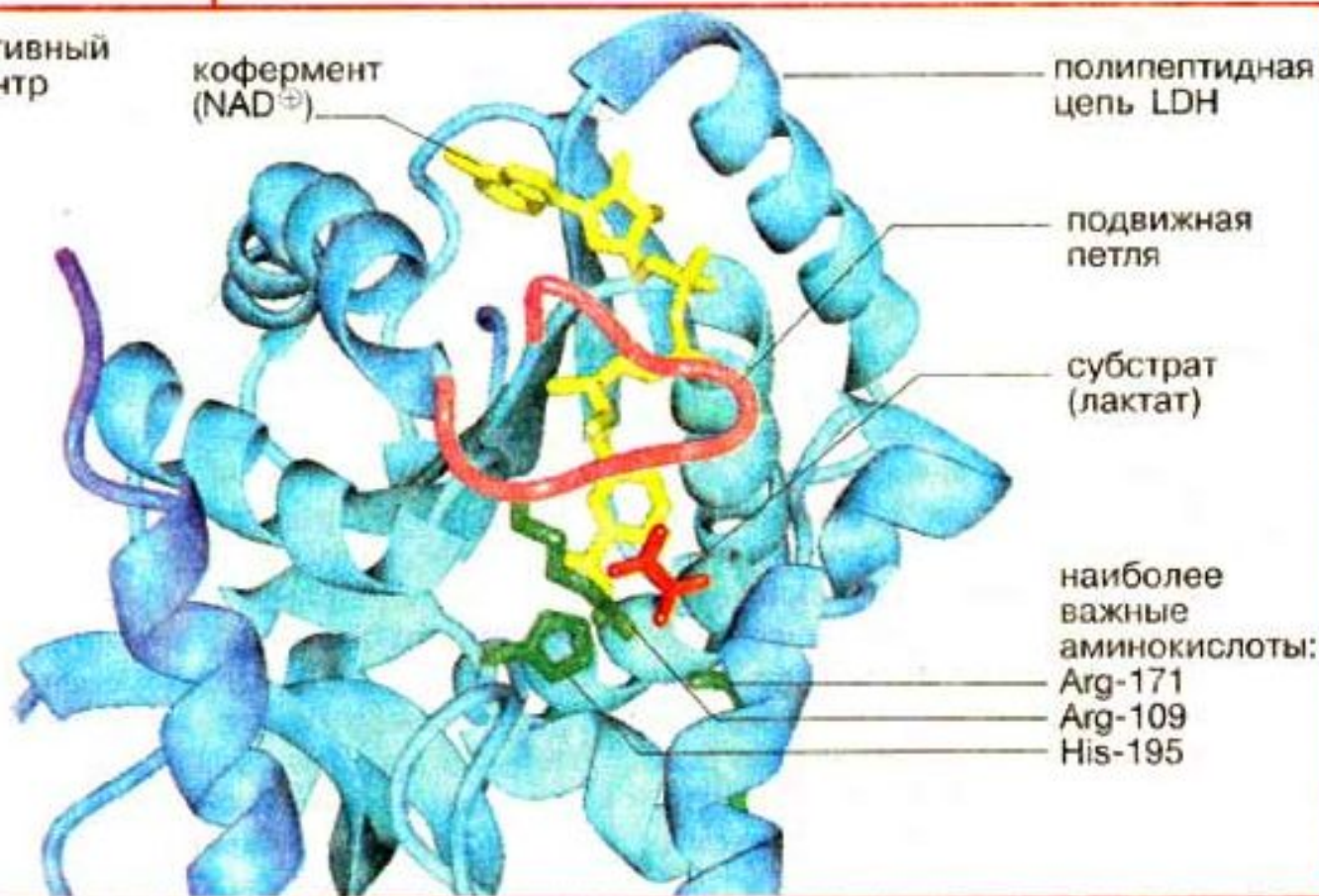
- лактатдегидрогеназа
 - НННН, НННМ, ННММ, НМММ, ММММ
 - Н – от англ. heart – сердце
 - М – от англ. muscle – мышца



1. Тетрамер,
144 кДа



2. Активный центр



А. Лактатдегидрогеназа: структура

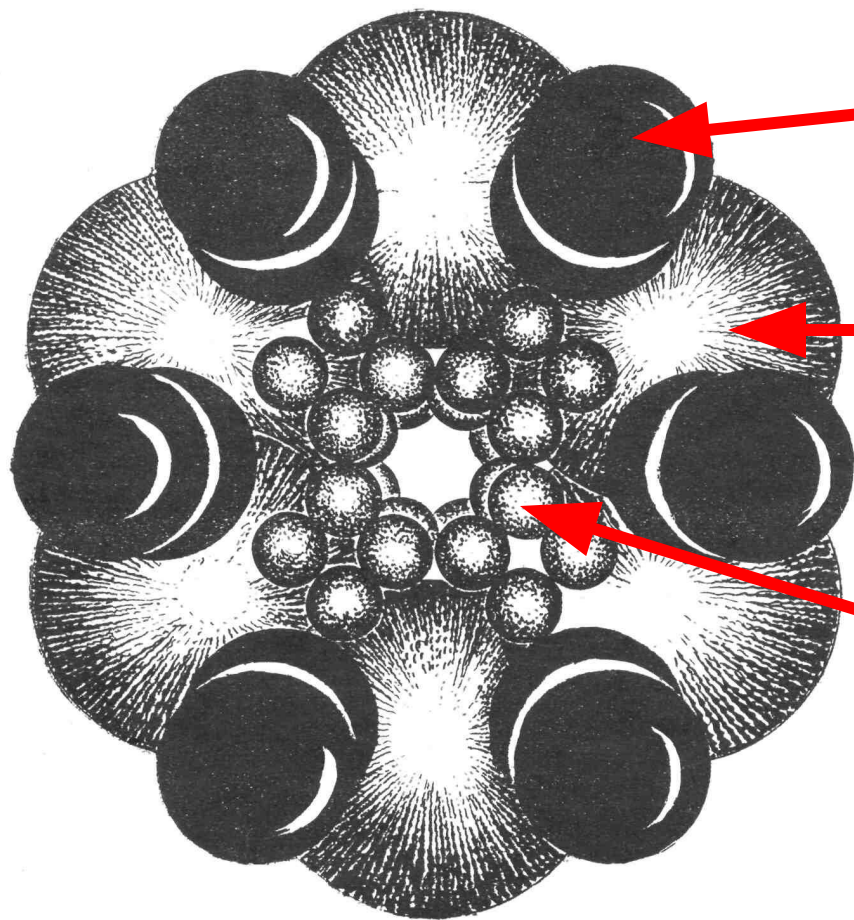
ИЗОЗИМЫ

- отличаются
 - по степени активности
 - по некоторым физическим свойствам
 - по локализации в органах и тканях и т. д.
- соотношение может меняться в зависимости
 - от возраста
 - от физиологического состояния и др.
- используются
 - для диагностики болезней в медицине
 - для прогнозирования продуктивности с/х животных
 - для подбора родительских пар при скрещивании и т. п.

Мультиэнзимы

- ферменты, способные одновременно ускорять несколько химических реакций и осуществлять сложные превращения субстрата
 - пируватдегидрогеназный комплекс

Модель пируватдегидрогеназного комплекса



12 димерных молекул
пируватдекарбоксилазы

6 димерных молекул
дигидролипоилдегидрогеназы

24 молекулы
липоат-ацетилтрансферазы

Метаболон

- мультиэнзимный комплекс, обслуживающий единый многоступенчатый процесс биохимических превращений
 - метаболоны гликолиза, цикла Кребса и т. д.

Полифункциональные ферменты

- состоят из одной полипептидной цепи, содержащей несколько доменов, каждый из которых характеризуется своей каталитической активностью

Ферменты и ферментные комплексы

Фермент	Структура	Ускоряет
«Обычный» фермент	Третичная	1 реакцию
Мультимер	Четвертичная	1 реакцию
Полифункциональный фермент	Третичная	Несколько реакций
Мультиэнзимный комплекс	Четвертичная	Несколько реакций

Физиологический смысл мультиэнзимных комплексов и полифункциональных ферментов

- **слаженность во времени и пространстве** действия ферментов или доменов (кооперативность)
- **повышение скорости** метаболических процессов
- возможность осуществления **эстафетной передачи промежуточных продуктов реакции** от одного компонента каталитической системы к другому без их высвобождения
- возможность создания в клетке **обособленных по функции отделов**
- возможность **управления метаболическими путями**



Кинетика ферментативных реакций (самостоятельно + лабораторные занятия)

Номенклатура и классификация ферментов



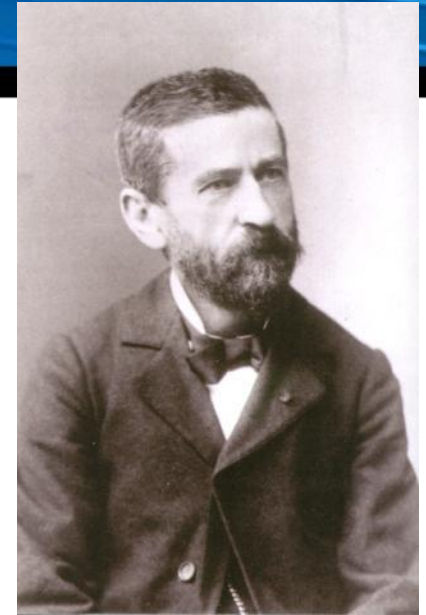
Номенклатура ферментов

1. Тривиальная номенклатура

- **пепсин** – от греч. *пепсис* – пищеварение
- **трипсин** – от греч. *трипсис* – разжижаю
- **папаин** – от названия дынного дерева *Carica papaja*
- **цитохромы** – от лат. *citos* – клетка и *chroma* – цвет

2. Рациональная номенклатура

- Название субстрата + окончание **–аза** (1883 г., П. Э. Дюкло)
- **амилаза** – от греч. *амилон* – крахмал
- **липаза** – от греч. *липос* – жир
- **протеаза** – фермент гидролиза протеинов
- **уреаза** – от греч. *уреа* – мочевины
- Используется для названий ферментов класса гидролаз



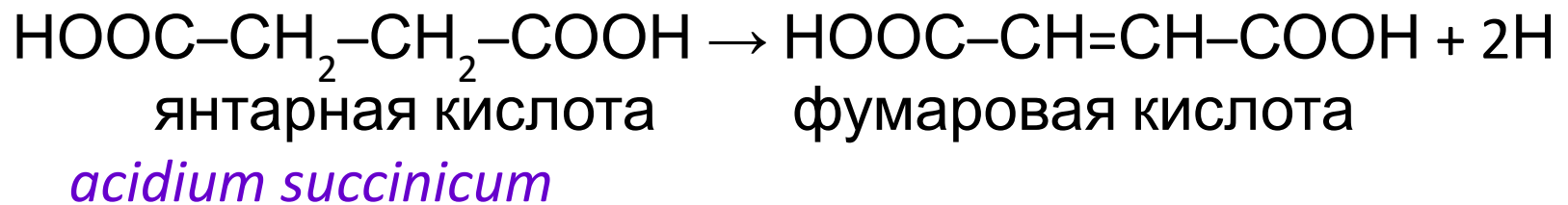
Пьер Эмиль
Дюкло
(1840 – 1904)

3. По названию простетической группы (кофермента)

- геминфермент (простетическая группа – гем)
- пиридоксальфермент (кофермент – пиридоксаль, витамин В₆)

4. По характеру субстрата и типу катализируемой реакции

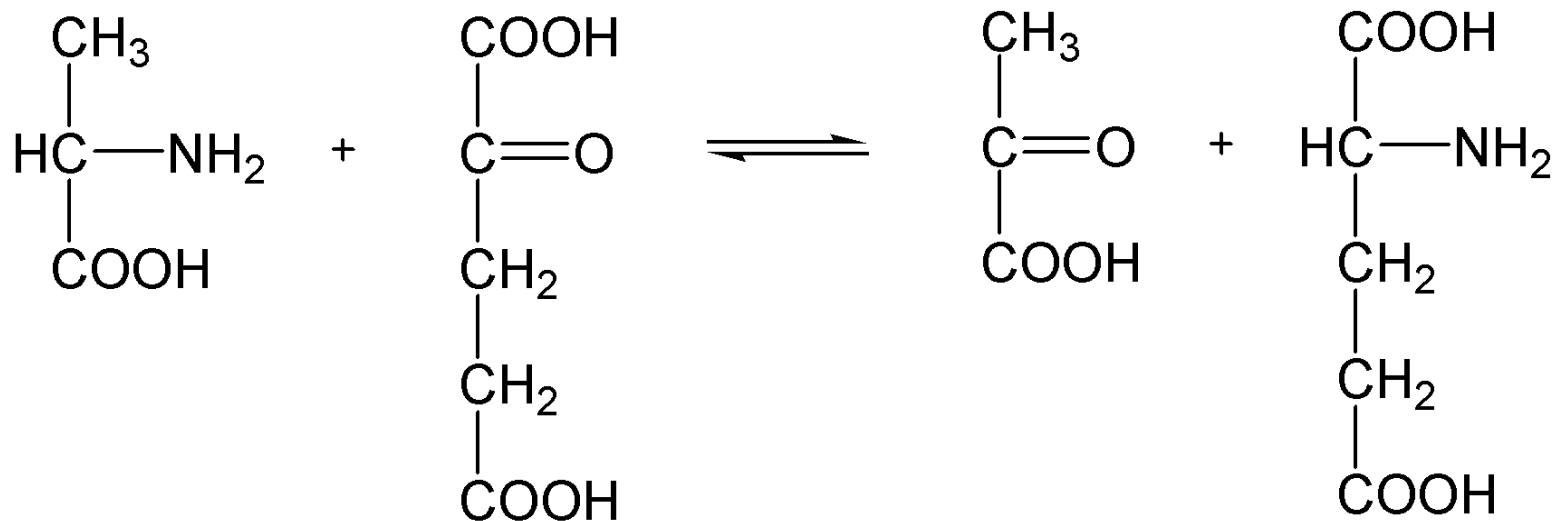
- Сукцинатдегидрогеназа



5. Международная (московская) номенклатура

- V Международный биохимический конгресс, 10–16 августа 1961 г., Москва
- **Химическое название субстрата + название той реакции, которая осуществляется ферментом**
- Если химическая реакция сопровождается переносом группировки атомов от субстрата к акцептору, название фермента включает также **химическое наименование акцептора**

- пиридоксальфермент, ускоряющий реакцию переаминирования между L-ала и α-кетоглутаровой кислотой



- L-аланин: 2-оксоглутаратаминотрансфераза

- Названия ферментов **выигрывают в точности**, **НО** в ряде случаев **гораздо сложнее тривиальных**
 - **уреаза** – **карбамид-амидогидролаза**
 - **трегалаза** – **трегалоза-1-глюкогидролаза**
- допускается сохранение **тривиальных названий**



Классификация ферментов



Список ферментов

- Международной комиссией был составлен детальный **список ферментов**, в котором на основании классификации каждому ферменту присвоен **шифр**, содержащий 4 числа, разделенных точками

1 ЧИСЛО

- **Класс**
 1. Оксидоредуктазы
 2. Трансферазы
 3. Гидролазы
 4. Лиазы
 5. Изомеразы
 6. Лигазаы (синтетазы)

2 ЧИСЛО

- **Подкласс**
- у **оксидоредуктаз** показывает природу той группы в молекуле донора, которая подвергается окислению (1 – $-\text{CH}-\text{OH}$; 2 – альдегидная или кетогруппа и т. д.)
- у **трансфераз** – природу транспортируемой группы
- у **гидролаз** – тип гидролизуемой связи
- у **лиаз** – тип связи, подвергающейся разрыву
- у **изомераз** – тип катализируемой реакции изомеризации
- у **лигаз** – тип вновь образуемой связи

3 ЧИСЛО

- **Подподкласс**
- у **оксидоредуктаз** – тип участвующего в реакции акцептора (1 – НАД или НАДФ; 2 – цитохром; 3 – O_2 и т. д.)
 - 1.2.3 – оксидоредуктаза, для которой донором атомов водорода служит альдегид, а акцептором – O_2
- у **трансфераз** – тип транспортируемой группы (метил или карбоксил и т. д.), тип акцептора (фосфотрансферазы)
- у **гидролаз** – уточняет тип гидролизуемой связи
- у **лиаз** – уточняет тип отщепляемой группы
- у **изомераз** – уточняет характер превращения субстрата

4 ЧИСЛО

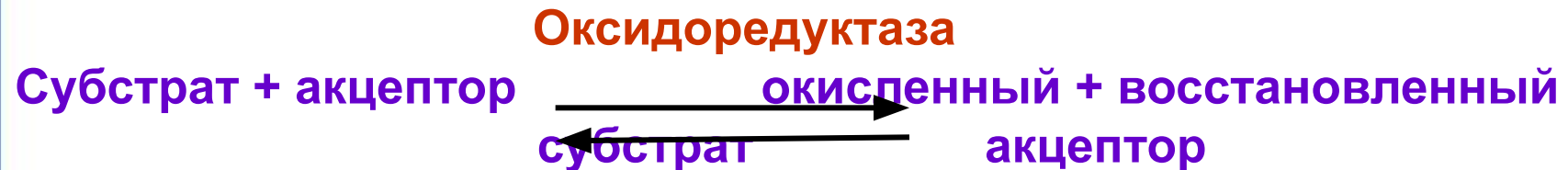
- **Порядковый номер**
- **Уреаза 3.5.1.5**
 - 3 – класс гидролаз
 - 5 – подкласс С–N-гидролаз
 - 1 – подподкласс С–N-гидролаз, ускоряющих гидролиз линейных амидов
- **Лактатдегидрогеназа 1.1.1.27**
 - 1 – класс оксидоредуктаз
 - 1 – подкласс оксидоредуктаз, действующих на СН–ОН- группы
 - 1 – подподкласс оксидоредуктаз, для которого акцептором атомов Н служит НАД



Оксидоредуктазы

I. Оксидоредуктазы

- ускоряют ОВР



- Окисление – процесс отнятия **атомов Н** или **электронов** от субстрата, а восстановление – присоединения **атомов Н** или **электронов** к акцептору

Особенности оксидоредуктаз

1. **Способность образовывать цепи**, в которых осуществляется многоступенчатый **перенос** атомов H или электронов от первичного субстрата к конечному акцептору (как правило, кислороду)

Особенности оксидоредуктаз

Оксидоредуктазы

Аэробные дегидрогеназы (оксидазы)

переносят атомы Н или электроны непосредственно на атомы О

Анаэробные дегидрогеназы (редуктазы)

переносят атомы Н и электроны от одного компонента окислительной цепи ферментов к другому

Особенности оксидоредуктаз

Оксидоредуктазы

Первичные дегидрогеназы

катализируют реакции отнятия атомов Н непосредственно от окисляемого вещества (первичного субстрата)

Вторичные дегидрогеназы

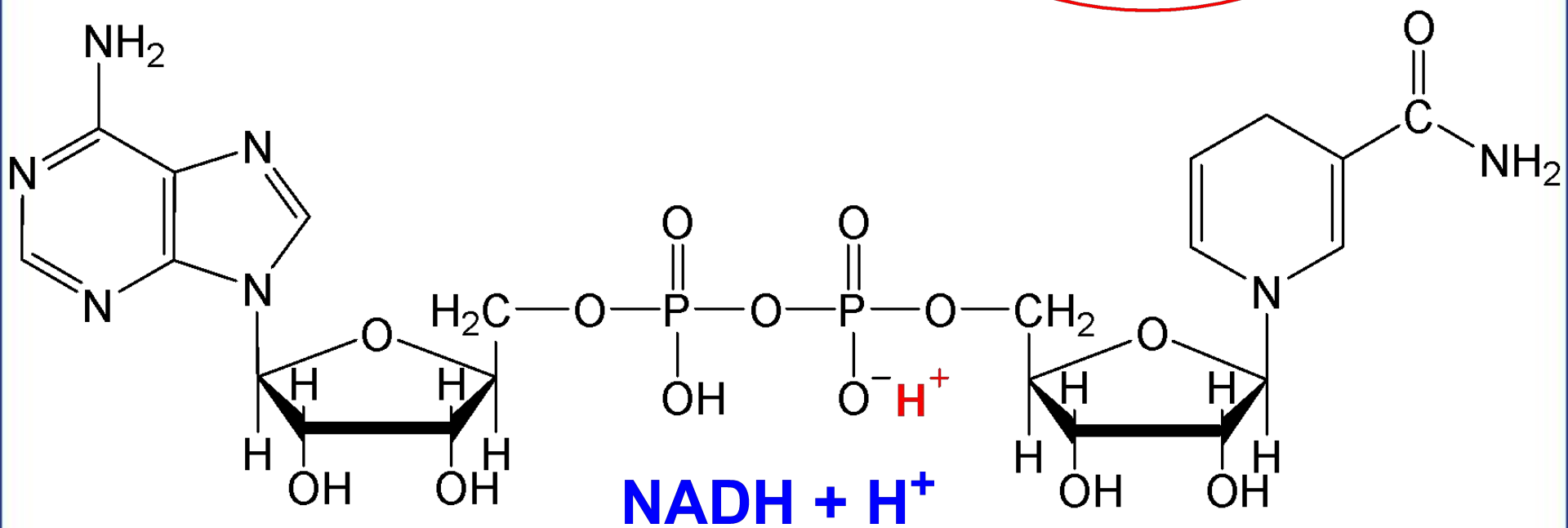
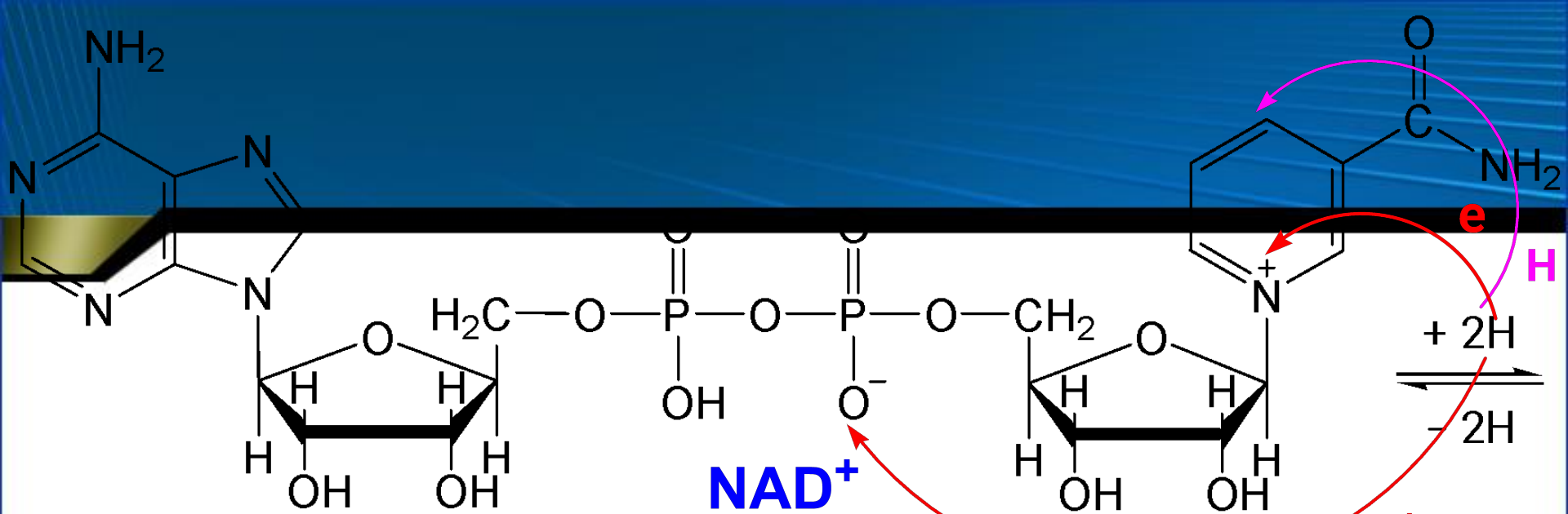
ускоряют отнятие атомов Н от вторичного субстрата

Особенности оксидоредуктаз

2. **Двухкомпонентные ферменты** с ограниченным набором коферментов, но способные ускорять большое число самых разнообразных ОВР, т. к. один и тот же кофермент может соединяться со многими апоферментами

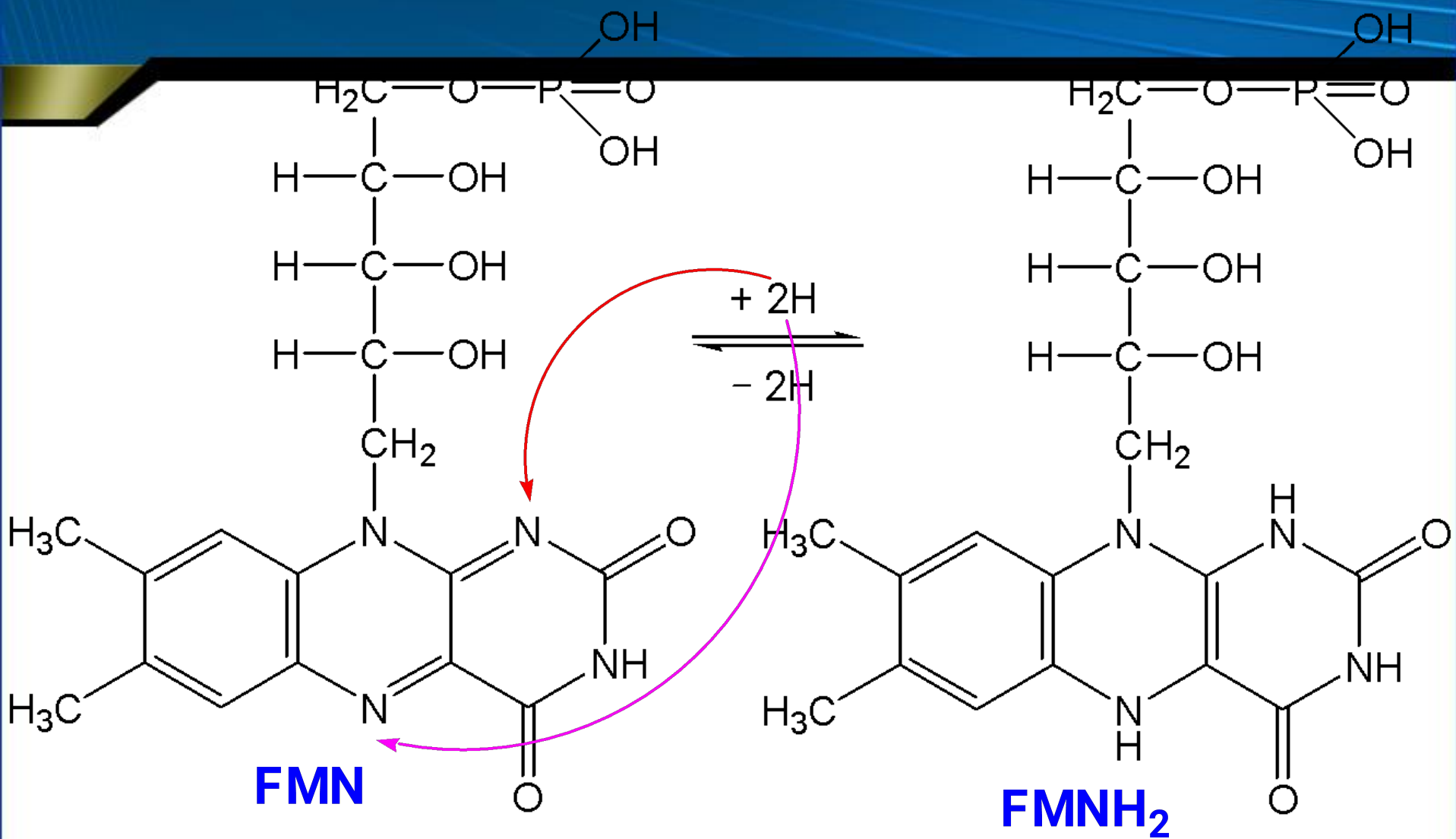
Особенности оксидоредуктаз

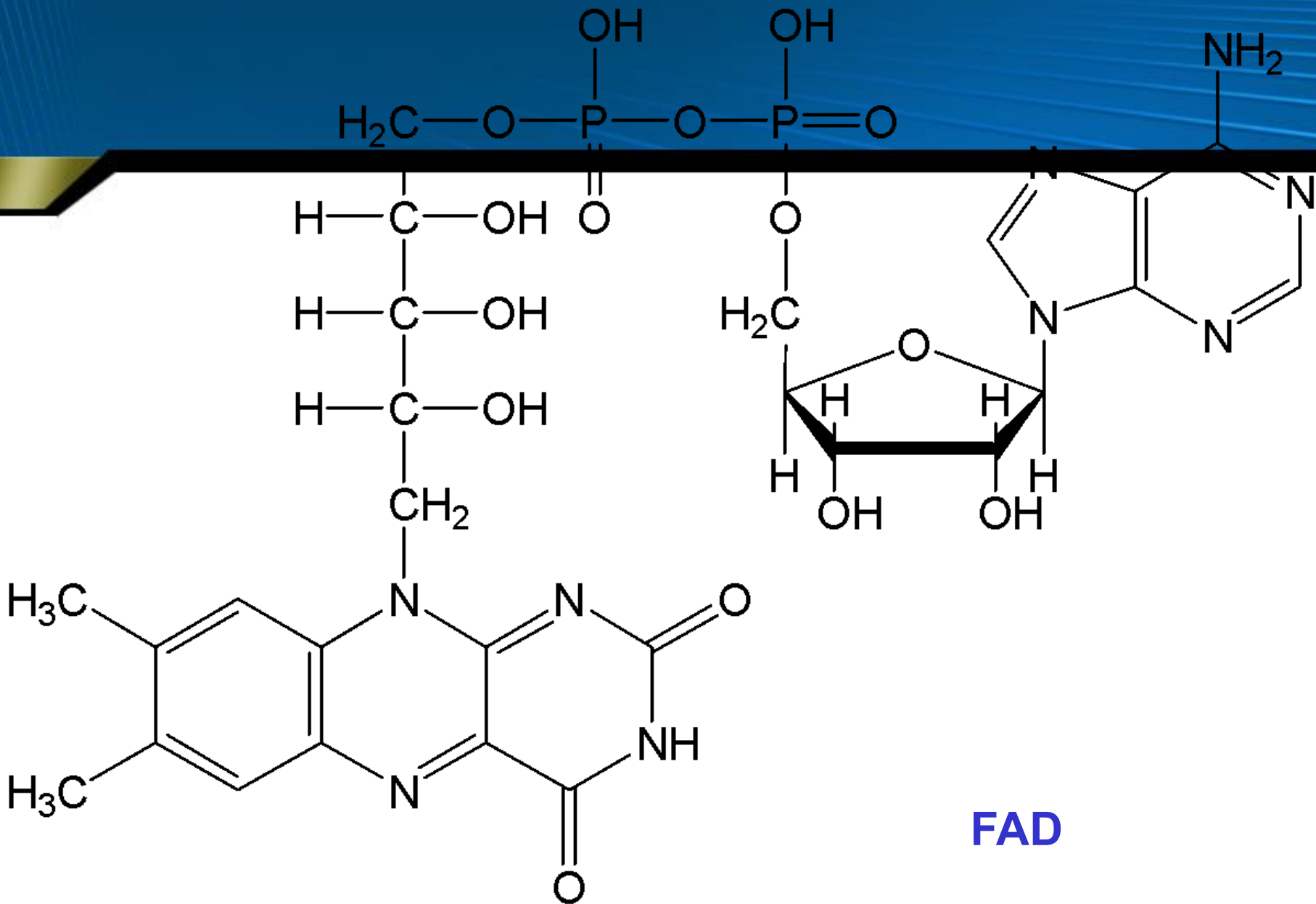
- Пиридинпротеины
- Аэробные дегидрогеназы
 - Пример – алкогольдегидрогеназа
- Коферменты
- никотинамидадениндинуклеотид (NAD^+ , НАД⁺)
- никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP^+ , НАДФ⁺)



Особенности оксидоредуктаз

- **Флавопротеины (ФП)**
- Партнеры восстановленных форм пиридинпротеинов в окислительно-восстановительной цепи
- В большинстве случаев – вторичные дегидрогеназы
- Коферменты
- **рибофлавинфосфат (флавинмоноклеотид, FMN, ФМН)**
- **флавинадениндинуклеотид (FAD, ФАД)**





FAD

Особенности оксидоредуктаз

- Другие коферменты оксидоредуктаз
- **хиноны** (убихинон – витамин Q)
- **железопорфирины** (цитохромы)

Особенности оксидоредуктаз

3. Ускоряют протекание реакций, связанных с высвобождением энергии (цитохромная система)

The background is a deep blue gradient with a pattern of thin, white, parallel lines that create a sense of depth and movement. A thick white horizontal bar spans the width of the image, with a gold-colored, folded-corner effect on its right side. The text is centered in the lower half of the image.

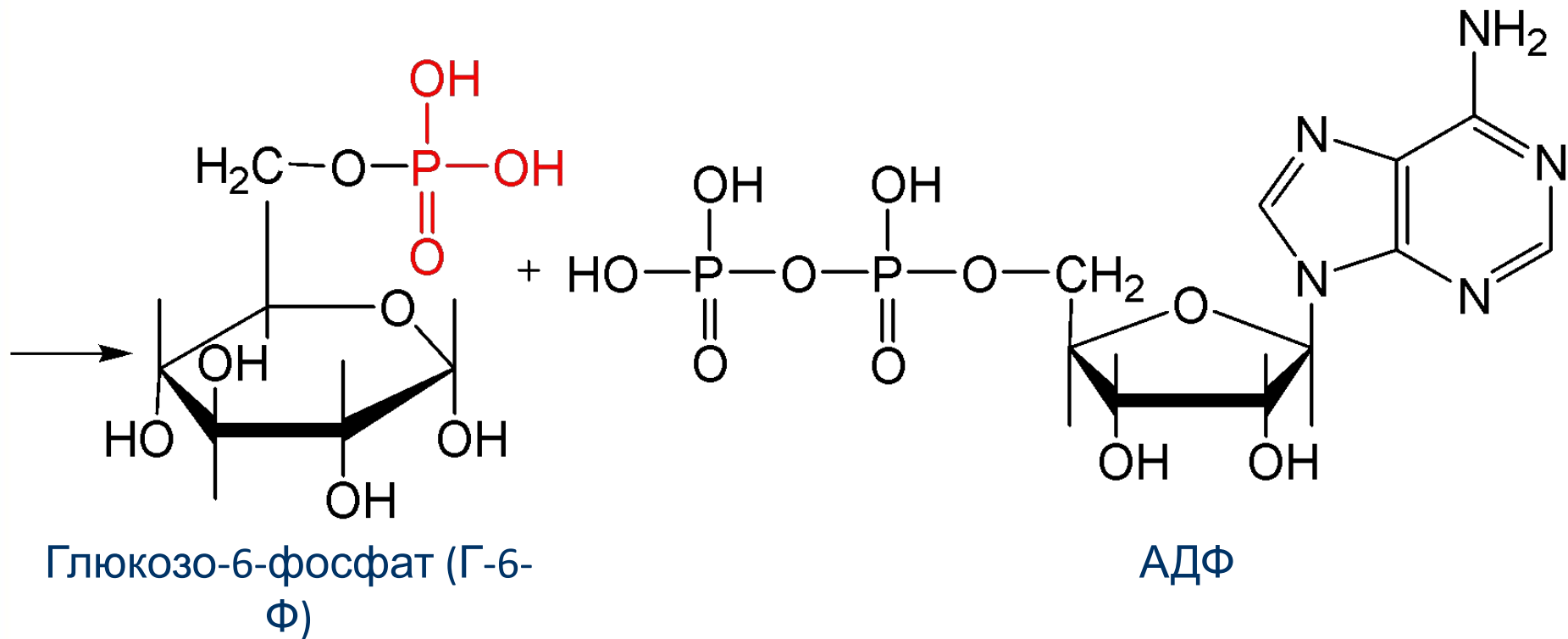
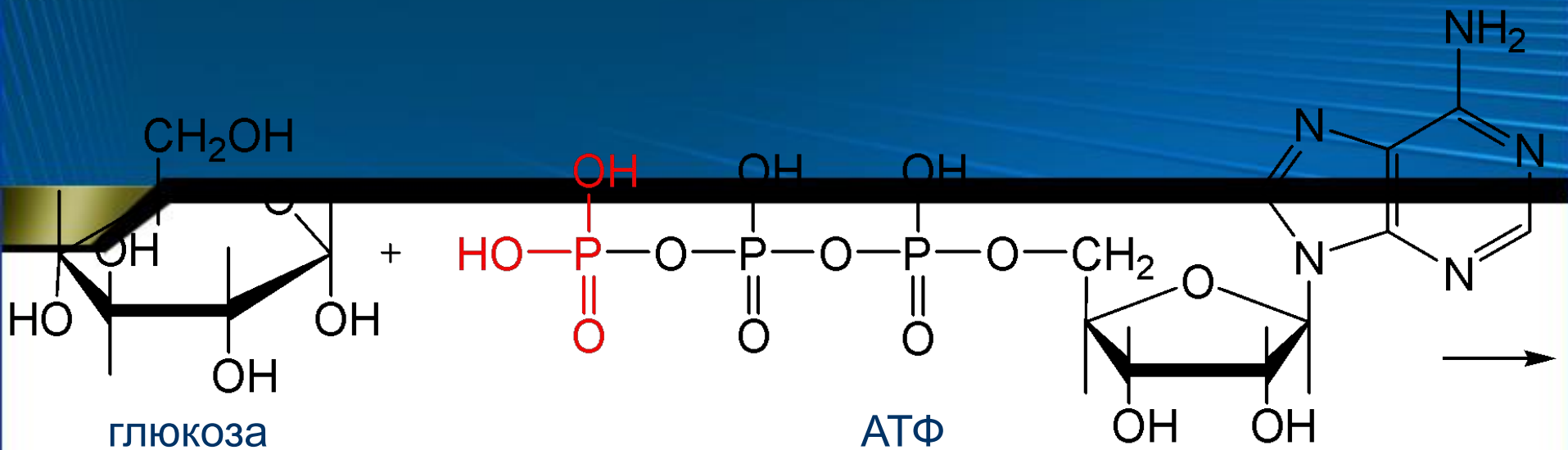
Трансферазы

II. Трансферазы

- ускоряют реакции **переноса функциональных групп и молекулярных остатков** от одного соединения к другому

Подклассы

1. Фосфотрансферазы (киназы) переносят фосфатные группы с участием АТФ
 - Гексокиназа (АТФ: D-глюкоза-6-фосфотрансфераза)

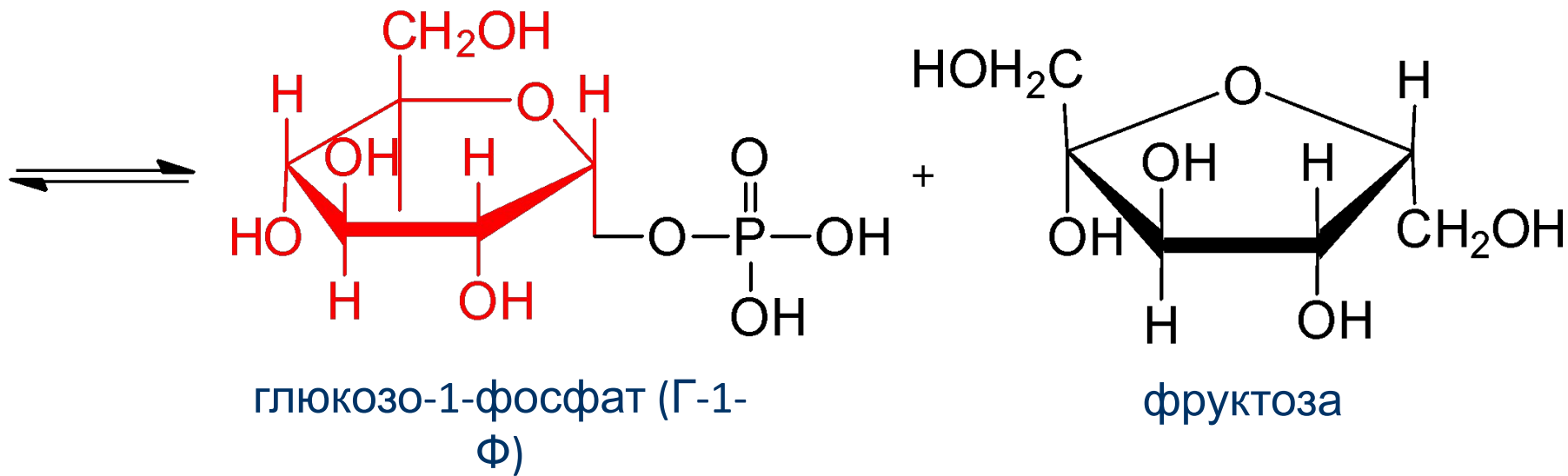
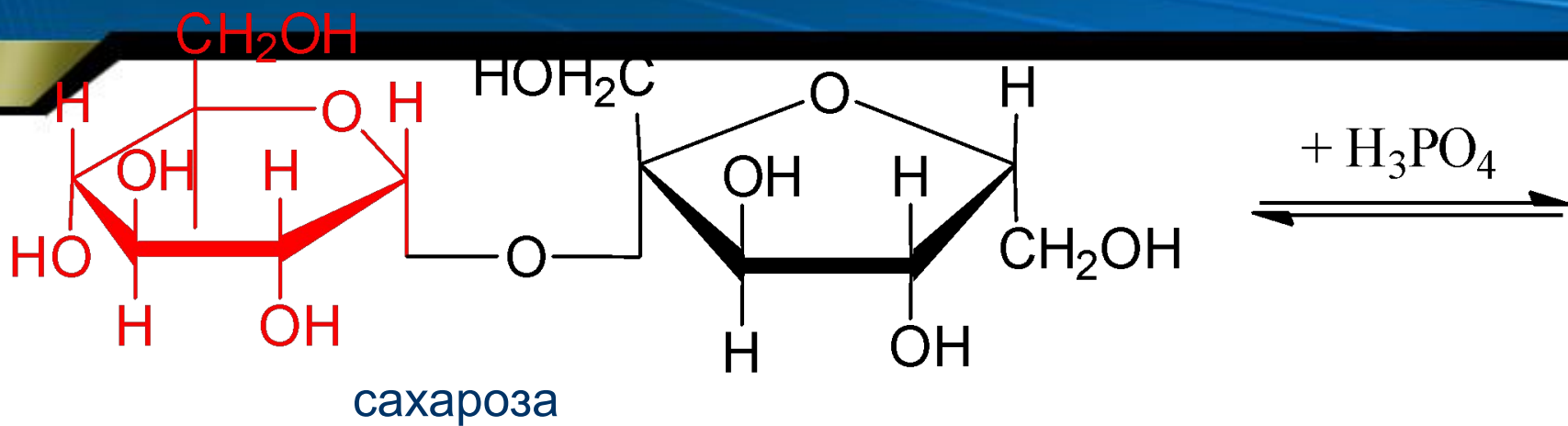


Подклассы

2. **Аминотрансферазы** (трансаминазы) ускоряют реакции переаминирования аминокислот с кетокислотами
 - Кофермент – **пиридоксальфосфат**

Подклассы

3. **Гликозилтрансферазы** ускоряют реакции переноса остатков сахаров на различные акцепторы
 - **фосфорилазы** катализируют реакции переноса гликозильных групп от фосфорных эфиров моносахаридов и реакции переноса этих групп на свободный фосфат
 - **Сахароза: ортофосфат- α -гликозилтрансфераза, или сахарозофосфорилаза**



Подклассы

4. **Ацилтрансферазы** ускоряют перенос ацильных групп на аминокислоты, амины, спирты и др.
 - Кофермент – **коэнзим А (КоА)**
 - **Холинацетилтрансфераза**
 - Играют важную роль в обмене липидов

Подклассы

- ферменты, ускоряющие перенос
- одноуглеродных фрагментов
 - Метилтрансферазы
 - Оксиметилтрансферазы
 - Формилтрансферазы и др.
- нуклеотидных остатков
 - Нуклеотидилтрансферазы



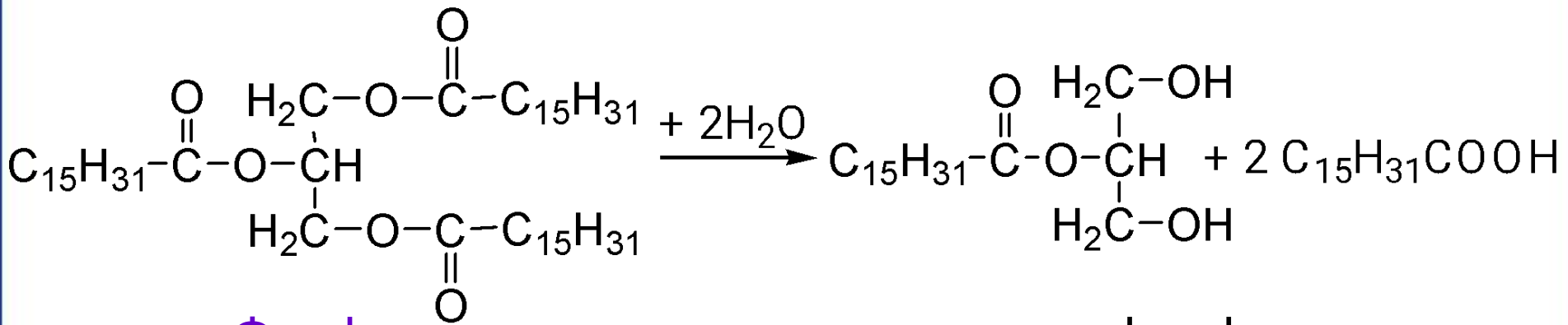
Гидролазы

III. Гидролазы

- ускоряют реакции гидролиза органических соединений
- Делятся на подклассы по характеру субстрата

Подклассы

1. **Эстеразы** ускоряют гидролиз сложных эфиров
 - **Липаза** ускоряет гидролиз α -сложноэфирных связей в молекулах триглицеридов (жиров)



- **Фосфатазы** катализируют гидролиз фосфорных эфиров:



- Фермент: **D-глюкозо-1-фосфат-фосфогидролаза** (глюкозо-1-фосфатаза)

Подклассы

2. **Гликозидазы** ускоряют гидролиз гликозидов

- Мальтаза
- Сахараза
- Амилаза

Подклассы

3. **Пептидазы (пептид-гидролазы)** ускоряют гидролиз пептидных связей в белках и пептидах
- **протеиназы (пептидил-пептидогидролазы)** ускоряют гидролиз внутренних пептидных связей в молекуле белка – **эндопептидазы**
 - **Выборочный (селективный) характер действия:**
 - **пепсин** – гидролиз пептидных связей, образованных **фен** и **лей**
 - **трипсин** – **арг** и **лиз**
 - **химотрипсин** – ароматическими аминокислотами
 - **папаин** – **арг**, **лиз** и **фен** и т. д.
 - **пептидазы (пептид-гидролазы)** обеспечивают отщепление концевых аминокислот – **экзопептидазы (амино- и карбоксипептидазы)**

Подклассы

4. **Амидазы** ускоряют гидролиз амидов кислот
 - **уреаза** (гидролиз мочевины до NH_3 и CO_2)
 - **аспарагиназа** и **глутаминаза** (гидролиз асн и глн)



Лиазы

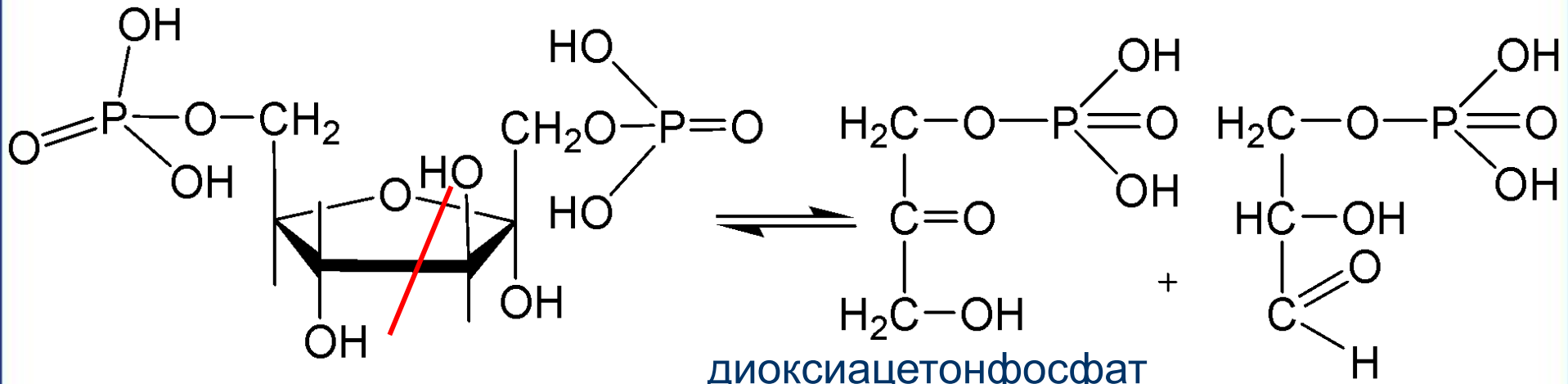
IV. Лиазы

- ускоряют реакции **негидролитического распада** органических соединений
- При этом замыкаются двойные связи и выделяются такие простейшие продукты, как CO_2 , H_2O , NH_3 и т. п.
- Некоторые из этих реакций обратимы, и соответствующие ферменты ускоряют реакции и распада, и синтеза

Подклассы

1. C–C-лиазы

- декарбоксилазы кетокислот (кофермент – витамин B₁)
- декарбоксилазы аминокислот (кофермент – витамин B₆)
- альдегид-лиазы
 - альдолаза (фруктозо-1,6-дифосфат-триозофосфатлиаза)



фруктозо-1,6-дифосфат
(Ф-1,6-ДФ)

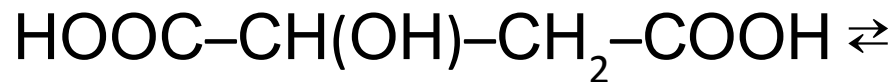
диоксиацетонфосфат
(ДАОФ)

3-фосфоглицериновый
альдегид
(3-ФГА)

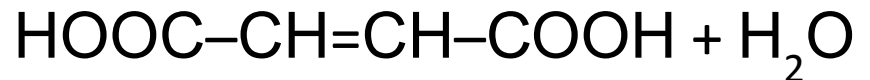
Подклассы

2. С–О-лиазы (гидратазы) ускоряют гидратацию и дегидратацию органических соединений

- Фумаратгидратаза



Яблочная кислота (малат)

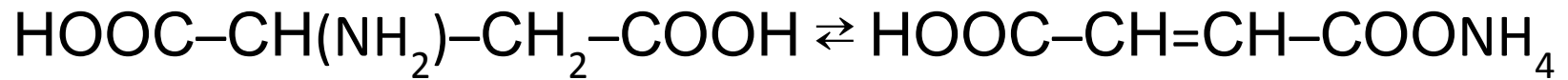


Фумаровая кислота
(фумарат)

Подклассы

3. C–N-лиазы

- аспартат-аммиак-лиаза ускоряет прямое дезаминирование асп



Аспарагиновая кислота
(асп)

Фумарат аммония



Изомеразы

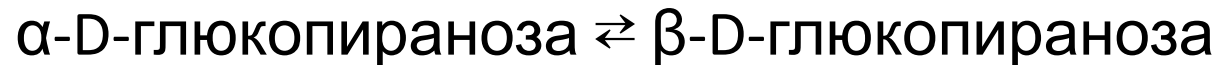
V. Изомеразы

- ускоряют **геометрические или структурные изменения** в пределах одной молекулы

Подклассы

1. Рацемазы и эпимеразы

- Мутаротаза



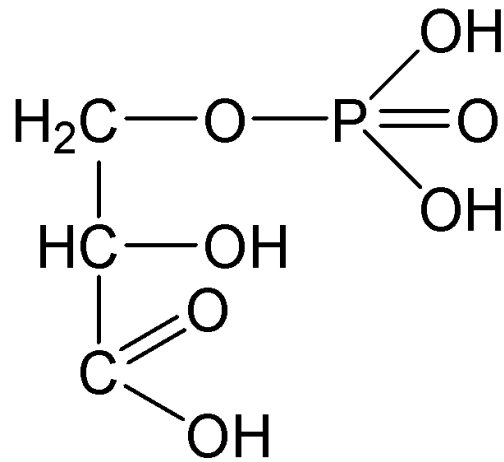
2. Цис-транс-изомеразы

- Ретинол-изомераза

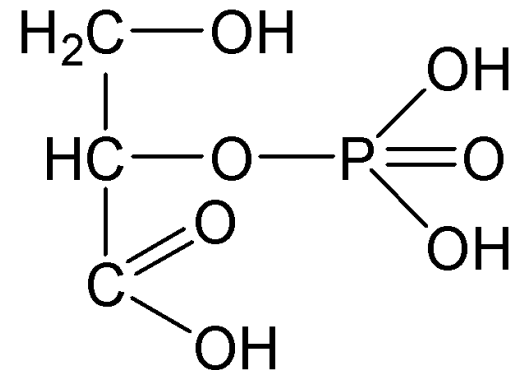
Подклассы

3. Внутримолекулярные трансферазы (мутазы)

- Фосфоглицерат-фосфомутаза



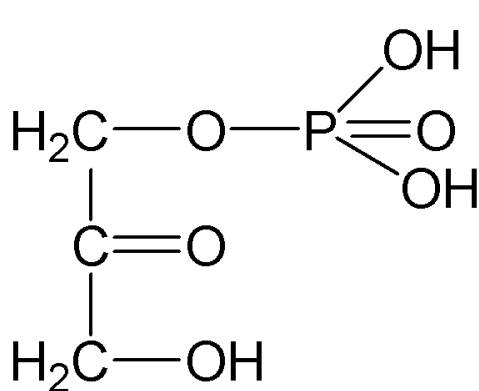
3-фосфоглицериновая
кислота (3-ФГК)



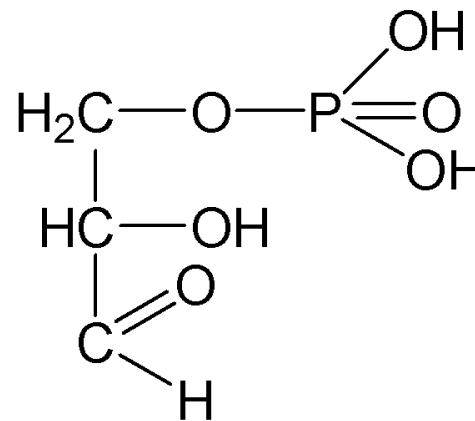
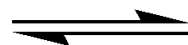
2-фосфоглицериновая
кислота (2-ФГК)

Подклассы

4. Внутримолекулярные оксидоредуктазы
- триозофосфатизомераза



Диоксиацетонфосфат
(ДОАФ)



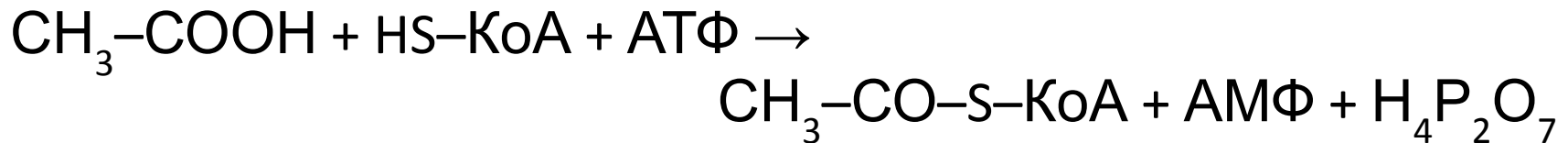
3-фосфоглицериновый
альдегид (3-ФГА)

The background is a deep blue gradient with a pattern of thin, white, parallel lines that create a sense of depth and perspective, radiating from the top-left and bottom-left corners. A thick, white horizontal bar spans across the middle of the image, ending in a gold-colored, folded-corner effect on the right side.

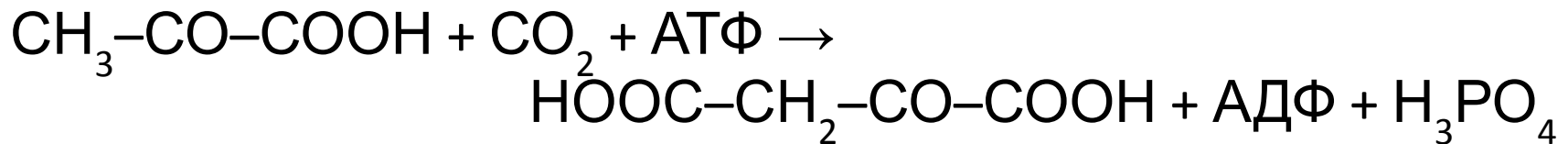
Лигазаы

VI. Лигазы

- Ускоряют **присоединение друг к другу двух молекул**
- Процесс сопряжен с разрывом макроэргической связи АТФ; энергия, освобождаемая при этом, используется для синтеза
- **аминоацил-т-РНК-синтетазы**
- **ацил-коэнзим А-синтетазы**



- **карбоксилазы (пируваткарбоксилаза)**



Самостоятельная работа

- Локализация ферментов в клетке
- Применение ферментов