

ТЕМА: **ФЕРМЕНТЫ**

Лекция № 6 для студентов 2 курса, обучающихся
по специальности 31.05.01-Лечебное дело

к.б.н., доцент Тепляшина Елена Анатольевна

ПЛАН ЛЕКЦИИ

- 1. Определение. Структура ферментов.
- 2. Изоферменты. Значение в медицине.
- 3. Классификация ферментов.
- 4. Свойства ферментов (зависимость скорости реакции от температуры, от pH, концентрации фермента, концентрации субстрата).
- 5. Специфичность ферментов. Механизмы специфичности.
- 6. Механизмы регуляции активности ферментов в клетке.
- 7. Ингибирование. Виды. Значение.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

- **Ферменты** – это вещества белковой природы, действующие как специфические высокоэффективные катализаторы химических реакций, протекающих в живых организмах.

ЭНЗИМОЛОГИЯ

- Наука о ферментах – **ЭНЗИМОЛОГИЯ** рассматривает болезни как результат нарушения структуры и функции ферментов.
- **ЭНЗИМОПАТИИ** делят на **врожденные** и **приобретенные**.

ФЕРМЕНТЫ ИМЕЮТ БЕЛКОВУЮ ПРИРОДУ

Все ферменты являются белками и обладают свойствами белков.

Классификация ферментов



ПРОСТЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Состоят только из аминокислот, например **пепсин**, **трипсин**, **лизоцим**



СЛОЖНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

(холоферменты) имеют в своем составе белковую часть, состоящую из аминокислот - **апофермент**, и небелковую часть – **кофактор**, например, **сукцинатдегидрогеназа** (содержит ФАД), **аминотрансферазы** (содержат пиридоксальфосфат).

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

В составе фермента выделяют области, выполняющие различную функцию:

1. Активный центр – комбинация аминокислотных остатков (обычно 12-16), обеспечивающая непосредственное связывание с молекулой субстрата и осуществляющая катализ.

В активном центре выделяют два участка:

якорный (контактный, связывающий) – отвечает за связывание и ориентацию субстрата в активном центре;

каталитический – непосредственно отвечает за осуществление реакции.

2. Аллостерический центр – центр регуляции активности фермента, который пространственно отделен от активного центра и имеется не у всех ферментов.



ИЗОФЕРМЕНТЫ

Изоферменты — это молекулярные формы одного и того же фермента, возникающие в результате генетических различий в первичной структуре фермента. Изоферменты отличаются по молекулярной массе, аминокислотному составу, электрофоретической подвижности, термостабильности, оптимумом pH, субстратной специфичностью.

Например, фермент **креатинкиназа** представлен **тремя изомерными формами**, составленными из двух типов субъединиц **М** и **В**.

Креатинкиназа-1 состоит из субъединиц типа **В** и локализуется в головном мозге;

креатинкиназа-2 по одной **М** и **В** субъединице, активна в миокарде;

креатинкиназа-3 содержит две **М**-субъединицы, специфична для скелетной мышце.



КК-1



КК-2



КК-3

МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ

- В мультиферментном комплексе несколько ферментов связаны между собой в единый комплекс и осуществляют ряд последовательных реакций, в которых продукт реакции непосредственно передается на следующий фермент и является только его субстратом.
- **Например,** пируватдегидрогеназный комплекс (пируватдегидрогеназа), превращающий пируват в ацетил-СоА.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

- Выделяют 6 классов ферментов:
- I – **ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ** – катализируют окислительно-восстановительные реакции, лежащие в основе биологического окисления. **Коферментами** этого класса являются **НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, убихинон, глутатион, липоевая кислота.**
- II – **ТРАНСФЕРАЗЫ** – катализируют реакции переноса различных групп от одного субстрата (донор) к другому (акцептор), участвуют в реакциях взаимопревращения различных веществ, обезвреживания природных и чужеродных соединений. **Коферментами** являются **пиридоксальфосфат, коэнзим А, тетрагидрофолиевая кислота, метилкобаламин.**
- III – **ГИДРОЛАЗЫ** – катализируют разрыв внутримолекулярных связей в субстрате (за исключением С-С связей) путем присоединения H_2O . **Коферменты отсутствуют.**

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

- **IV – ЛИАЗЫ** – катализируют разрыв C-O, C-C, C-N и других связей, а также обратимые реакции отщепления различных групп негидролитическим путем. Эти реакции сопровождаются образованием двойной связи или присоединением групп к месту двойной связи. **Коферментами** служат пиридоксальфосфат, тиаминдифосфат, участвует магний, кобальт.
- **V – ИЗОМЕРАЗЫ** – катализируют изомерные превращения в пределах одной молекулы. К их **коферментам** относятся пиридоксальфосфат, дезоксиаденозилкобаламин, глутатион, фосфаты моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат) и др.
- **VI – ЛИГАЗЫ** – (синтетазы) – катализируют присоединение друг к другу двух молекул с использованием энергии высокоэнергетических связей АТФ (или других макроэргов). Они содержат **нуклеотидные (УТФ), биотиновые (витамин Н), фолиевые коферменты.**

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

- Каждому ферменту присвоен четырехзначный классификационный номер, включающий класс, подкласс, подподкласс и порядковый номер в подподклассе.
- Например, **лактатдегидрогеназа** имеет номер КФ1.1.1.1. – это оксидоредуктаза, действует на ОН-группу донора с НАД в качестве акцептора с первым порядковым номером в своем подподклассе.



ФЕРМЕНТЫ ВОСТРЕБОВАНЫ В МЕДИЦИНЕ

- **ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА** – это исследование активности ферментов плазмы крови, мочи, слюны с целью диагностики тех или иных заболеваний.
- **ЭНЗИМОТЕРАПИЯ** – использование ферментов в качестве лекарственных средств (например, комплексы ферментов фестал, панзинорм, мезим форте, энзистал).
- **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ И ПРОМЫШЛЕННОСТИ** – специфичность ферментов к определенным субстратам в лабораторной диагностике (например, иммуноферментные методы, основанные на образовании тройного комплекса антиген-антитело).
- **ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ ФЕРМЕНТОВ** – широко применяются **ингибиторы протеаз** (контрикал, гордокс) при панкреатитах – состояниях, когда происходит активирование пищеварительных ферментов в протоках и клетках поджелудочной железы.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ КАТАЛИЗ ИМЕЕТ СВОИ ОСОБЕННОСТИ

- В ферментативной реакции можно выделить следующие этапы:
- **1.** Присоединение субстрата (S) к ферменту (E) с образованием фермент-субстратного комплекса (E-S).
- **2.** Преобразование фермент-субстратного комплекса в один или несколько переходных комплексов (E-X) за одну или несколько стадий.
- **3.** Превращение переходного комплекса в комплекс фермент-продукт (E-P).
- **4.** Отделение конечных продуктов от фермента.



СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

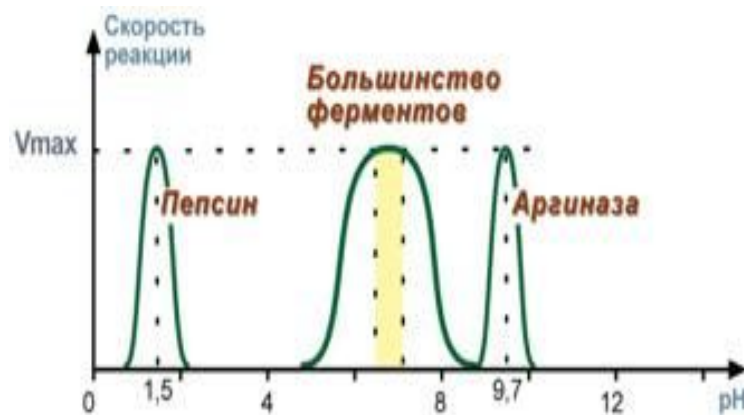
ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

- При понижении температуры активность ферментов понижается, но не исчезает совсем.



ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ ОТ pH

- Для каждого фермента существует определенный узкий интервал pH среды, который является оптимальным для проявления его высшей активности.



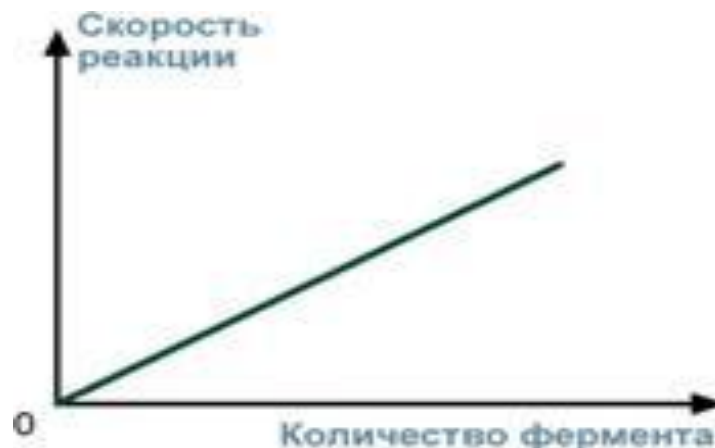
ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ СУБСТРАТА

- При увеличении концентрации субстрата скорость реакции сначала возрастает соответственно присоединению к реакции новых молекул фермента, затем наблюдается эффект насыщения, когда все молекулы фермента взаимодействуют с молекулами субстрата.



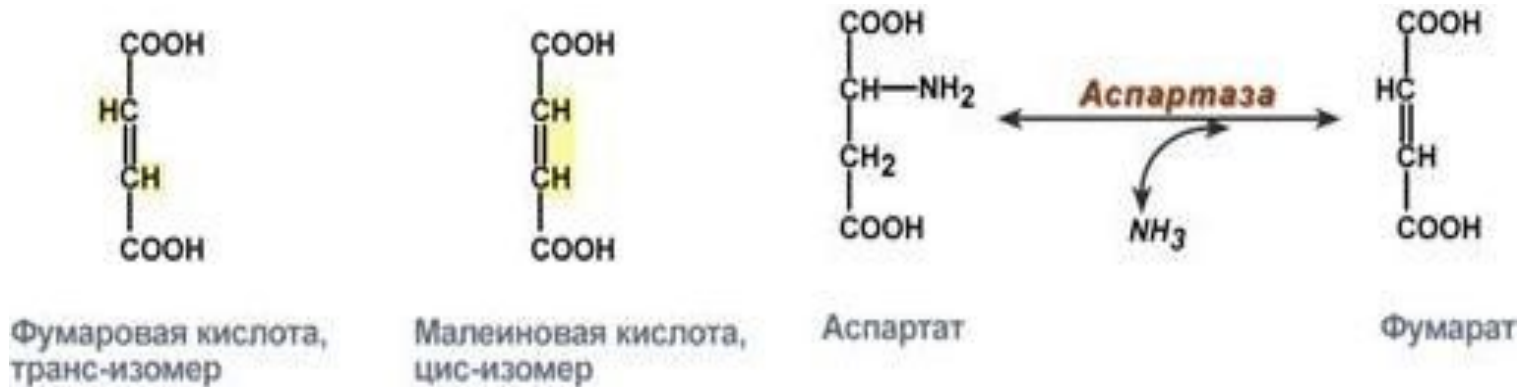
ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ФЕРМЕНТА

- При увеличении количества молекул фермента скорость реакции возрастает непрерывно и прямо пропорционально количеству фермента, т.к. большее количество молекул фермента производит большее число молекул продукта.



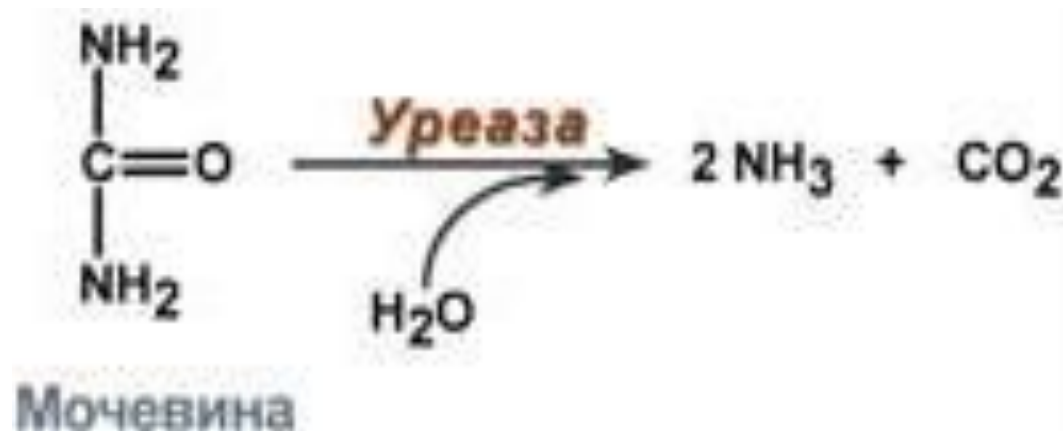
ФЕРМЕНТЫ ПРОЯВЛЯЮТ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

- **Специфичность**, т.е. высокая избирательность действия ферментов, основана на комплементарности структуры субстрата и активного центра фермента.
- **1. Стереоспецифичность** – катализ одного из стереоизомеров.
- Например, специфичность к L- или D-аминокислотам, специфичность к цис- и транс- изомерам.



Стереоспецифичность аспартазы к транс-изомеру субстрата

- **2. Абсолютная специфичность** – фермент производит катализ только одного вещества. Например, расщепление мочевины уреазой.

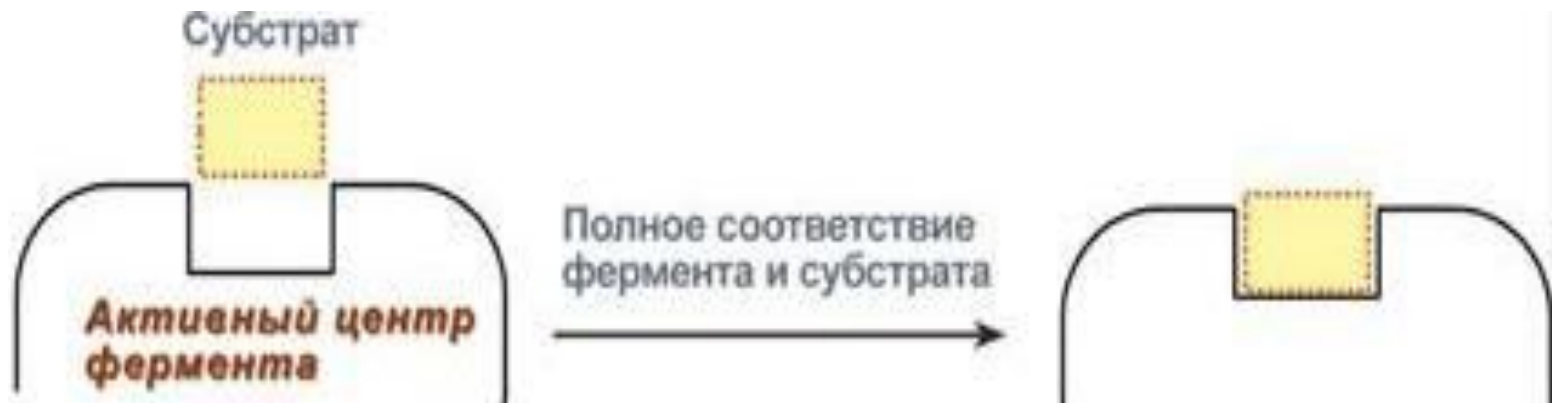


Реакция расщепления мочевины

- **3. Групповая специфичность** — катализ субстратов с общими структурными особенностями, т.е. при наличии определенной связи или химической группы (например, пепсин катализирует разрыв пептидной связи, образованной аминокеттогруппами ароматических аминокислот).
- **4. Относительная групповая специфичность** — превращение субстратов с некоторыми общими признаками (например, цитохром P₄₅₀ окисляет гидрофобные вещества, которых насчитывается около 7000).

МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧНОСТИ

- 1. **Теория Фишера** (модель «жесткой матрицы» «ключ-замок» – активный центр фермента строго соответствует конфигурации субстрата и не изменяется при его присоединении. Эта модель объясняет абсолютную специфичность.



Схематичное представление теории Кошланда

МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧНОСТИ (II)

- **2. Теория Кошланда** – модель («модель индуцированного соответствия», «рука-перчатка») – подразумевает гибкость активного центра. Присоединение субстрата к якорному участку фермента вызывает изменение конфигурации каталитического центра таким образом, чтобы его форма соответствовала форме субстрата.



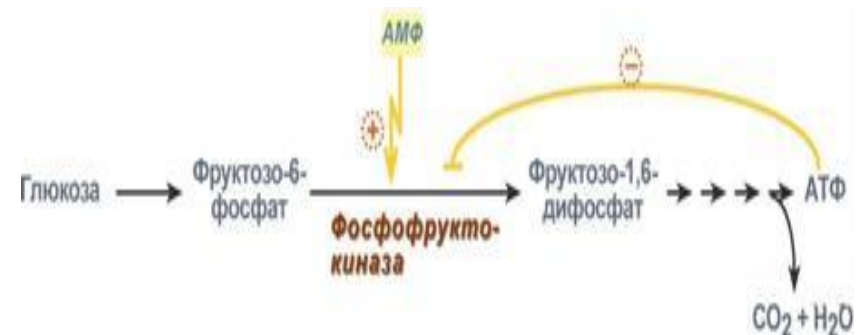
Схематичное представление теории Кошланда

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКЕ (I)

- **1. ДОСТУПНОСТЬ СУБСТРАТА ИЛИ КОФЕРМЕНТА.** При постоянной температуре скорость химической реакции пропорциональна произведению концентрации реагирующих веществ.
- **2. КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИЯ** – это локализация ферментов и их субстратов в одном компартменте – в эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, лизосомах.
- **3. ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ФЕРМЕНТА** – может происходить в результате увеличения или снижения его синтеза. Изменение скорости синтеза фермента обычно зависит от количества определенных гормонов или субстрата реакции.

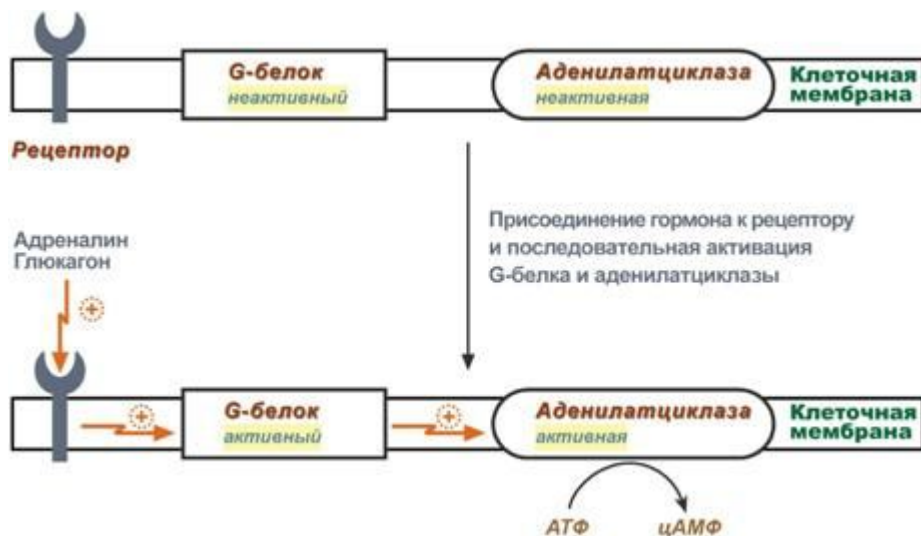
МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКЕ (II)

- **4. ОГРАНИЧЕННЫЙ (ЧАСТИЧНЫЙ) ПРОТЕОЛИЗ ПРОФЕРМЕНТОВ** – синтез ферментов происходит в виде более крупного предшественника и при поступлении в нужное место этот фермент активируется через отщепление от него одного или нескольких пептидных фрагментов.
- **5. Аллостерическая регуляция** – аллостерические ферменты построены из двух и более субъединиц; одни субъединицы содержат каталитический центр, другие имеют аллостерический центр и являются регуляторными. Присоединение эффектора к аллостерической (регуляторной) единице изменяет конформацию белка и соответственно активность каталитической субъединицы.



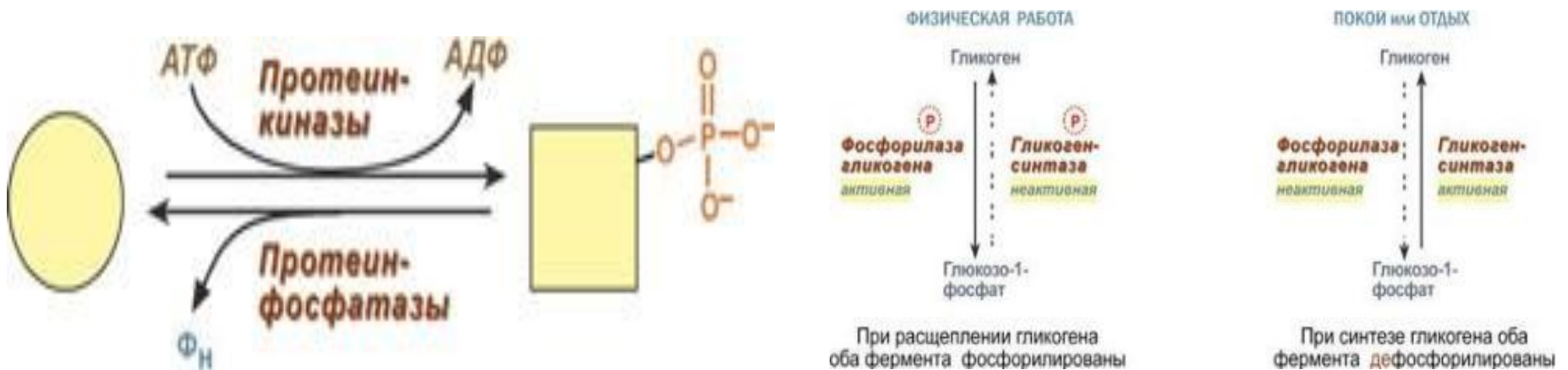
МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКЕ (III)

- **6. БЕЛОК-БЕЛКОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ** – в качестве регулятора выступают не метаболиты биохимических процессов, а специфические белки. Например, регуляция активности протеинкиназы А.



МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКЕ (IV)

- 7. **КОВАЛЕНТНАЯ (ХИМИЧЕСКАЯ) МОДИФИКАЦИЯ** заключается в обратимом присоединении или отщеплении определенной группы, благодаря чему изменяется активность фермента. Чаще всего такой группой является фосфорная кислота, реже метильные группы. Ферменты могут находиться в фосфорилированном, так и в дефосфорилированном состоянии.

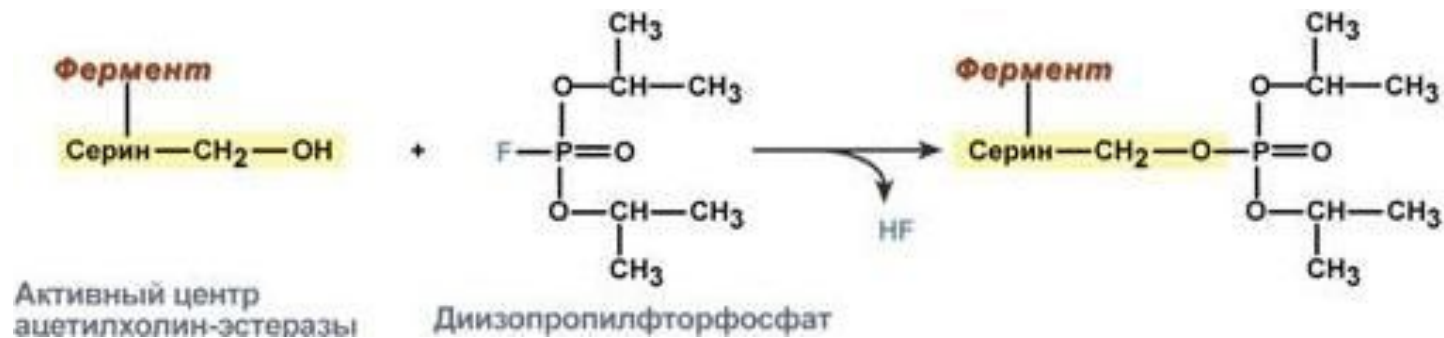


ЛЕКАРСТВА ПОДАВЛЯЮТ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

- Подавление активности ферментов называют **ингибированием**. **Ингибитором** называется вещество, вызывающее специфическое снижение активности фермента.
- **Ингибирование бывает двух видов:**
- по прочности связывания фермента с ингибитором ингибирование бывает **обратимым** и **необратимым**.
- по отношению ингибитора к активному центру фермента ингибирование делят на **конкурентное** и **неконкурентное**.

НЕОБРАТИМОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- При необратимом ингибировании происходит связывание или разрушение функциональных групп фермента, необходимых для проявления его активности.



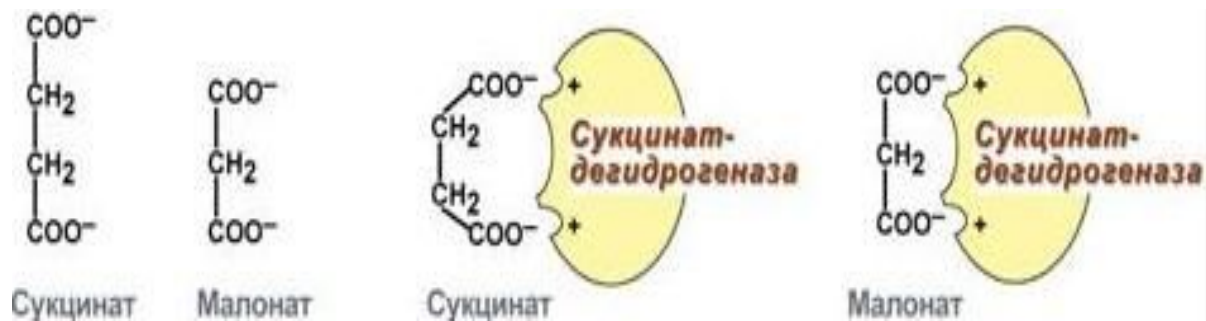
Механизм необратимого ингибирования ацетилхолинэстеразы

ОБРАТИМОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- При обратимом ингибировании происходит непрочное связывание ингибитора с функциональными группами фермента, вследствие чего активность фермента постепенно восстанавливается.

КОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- При таком виде ингибирования ингибитор по своей структуре похож на субстрат фермента. Поэтому он соперничает с субстратом за активный центр. Что приводит к уменьшению связывания субстрата с ферментом и нарушению катализа.



Конкурентное ингибирование сукцинатдегидрогеназы

НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- Данный вид ингибирования связан с присоединением ингибитора не в активном центре, а в другом месте молекулы. Это может быть аллостерическое ингибирование, когда активность фермента снижается естественными модуляторами, или связывание с ферментом каких-либо токсинов.
- **Например**, синильная кислота (цианиды) связывается с гемовым железом ферментов дыхательной цепи и блокирует клеточное дыхание.

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ !