

Ферменты

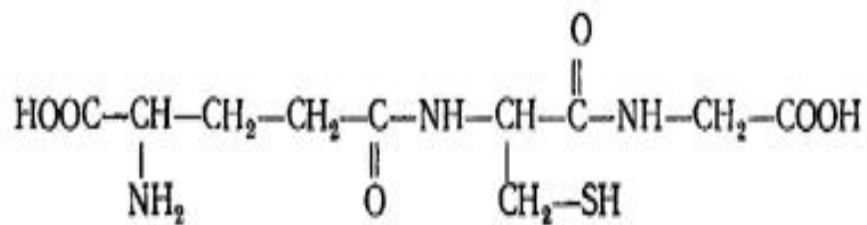
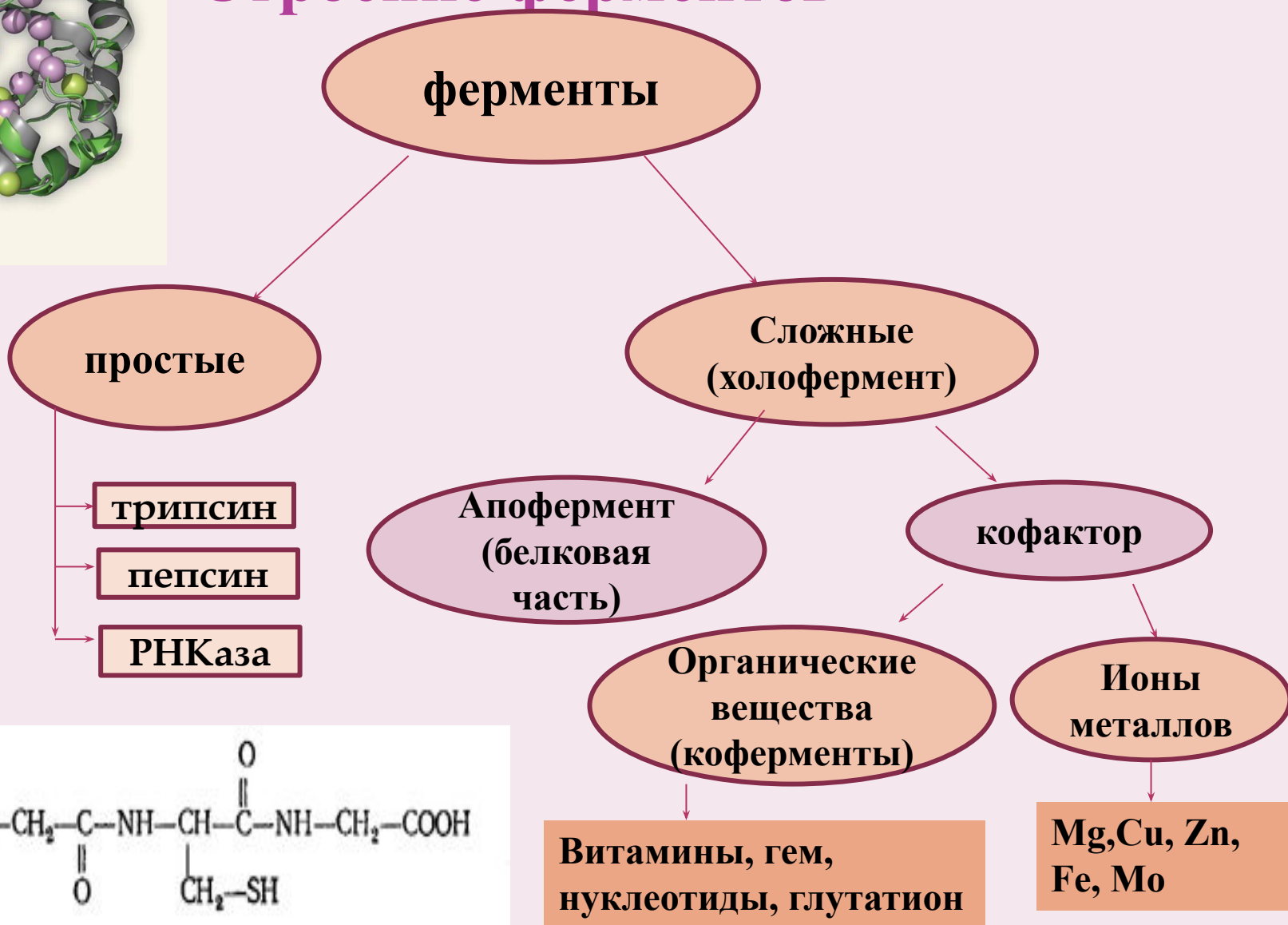
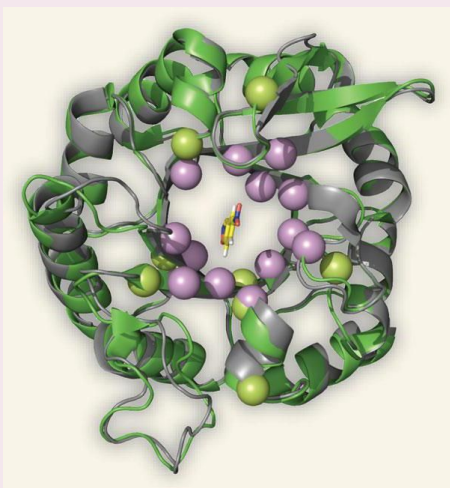
Высокоактивные, высокоселективные (высокоспецифичные) биологические катализаторы преимущественно белковой природы.

Биологическая роль - ускорение биохимических реакций в организме



параметр	Небиологический катализатор (металлы, кислоты Льюиса и т.д.)	фермент
Молекулярная масса	низкая	10 000- 5-6 млн. Да
концентрация	Концентрированные растворы	Разбавленные растворы
Действие на обратимость	Только в одну сторону	Как прямую, так и обратную реакцию
специфичность	Катализируют несколько различных реакций	Катализируют только одну реакцию или тип реакций
температура	Высокие, более 100 °С	Температура тела, 37-40 °С
рН	Сильно кислая, сильно щелочная	Физиологическое значение рН 6-8 (исключение пепсин, аргиназа)
давление	Повышенное, несколько атмосфер	нормальное
Скорость реакции	Ускоряют в 10^2 - 10^3	Ускоряют в 10^6 - 10^9 раз

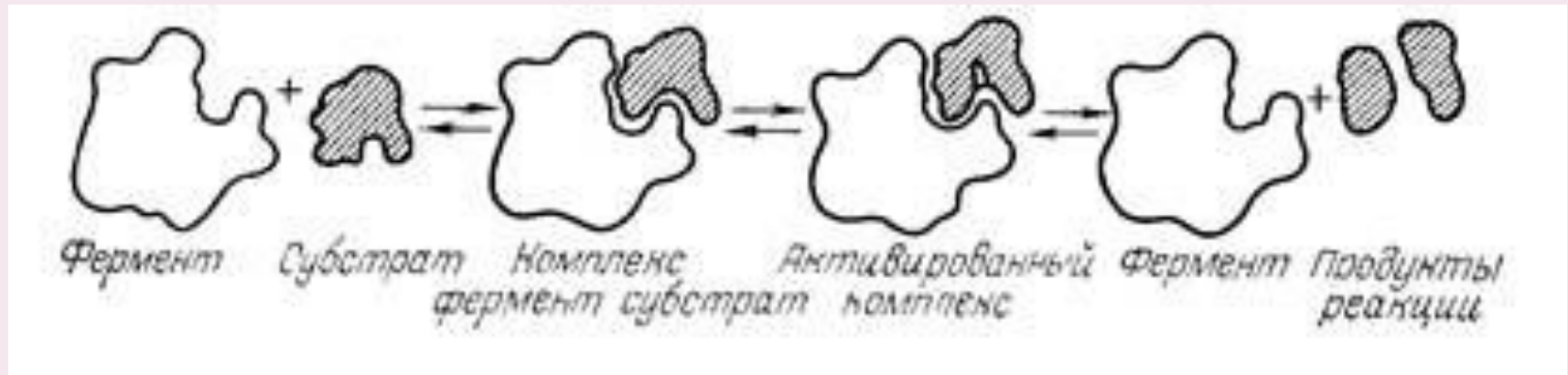
Строение ферментов



Строение фермента



Механизм действия ферментов

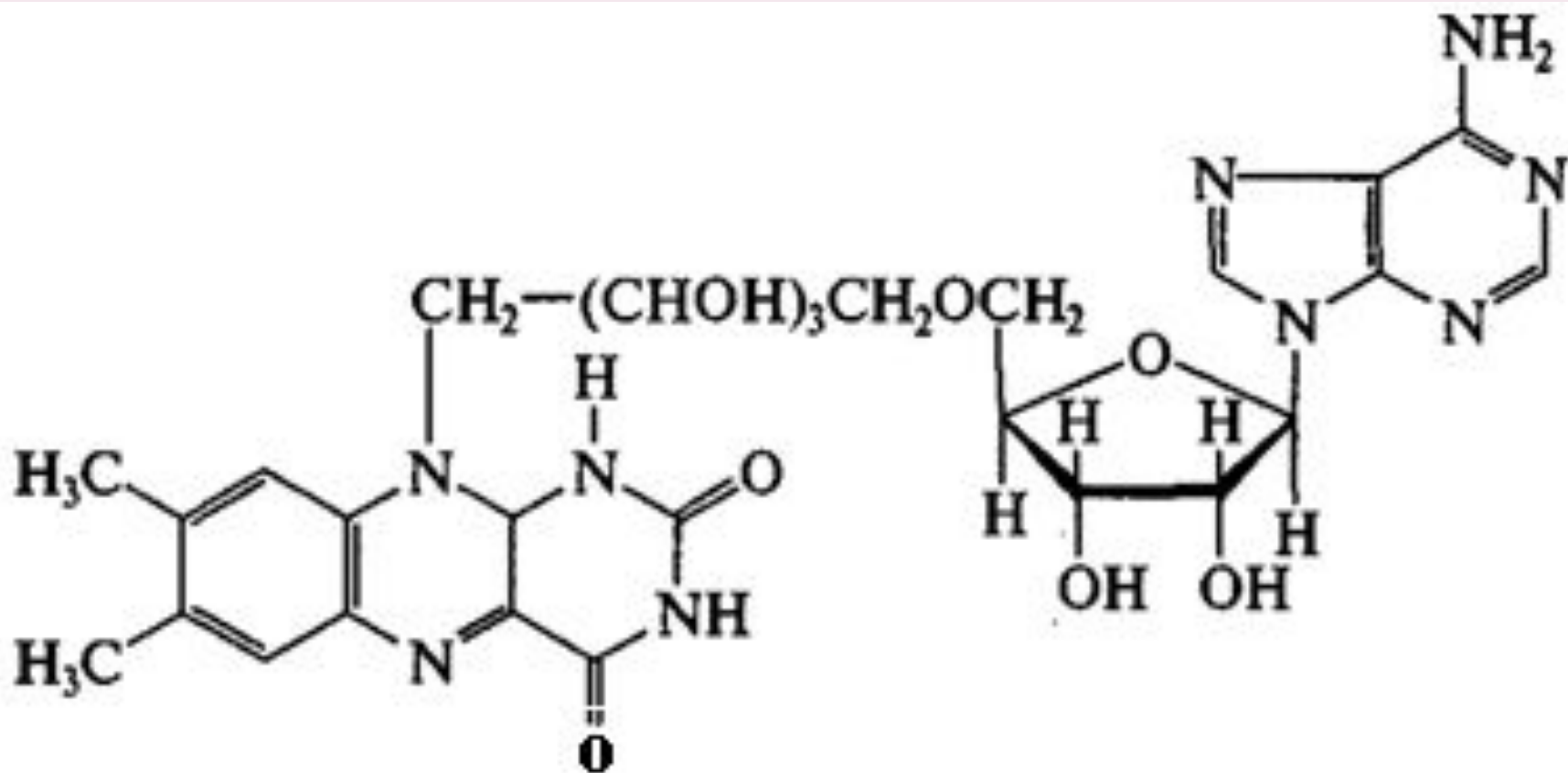


1. Образование фермент-субстратного комплекса по принципу комплементарности (теория Фишера «ключ-замок»).
2. Дестабилизация связей в молекуле субстрата.
3. Образование продуктов реакции, выход продуктов реакции из области активного центра фермента.

Классификация ферментов

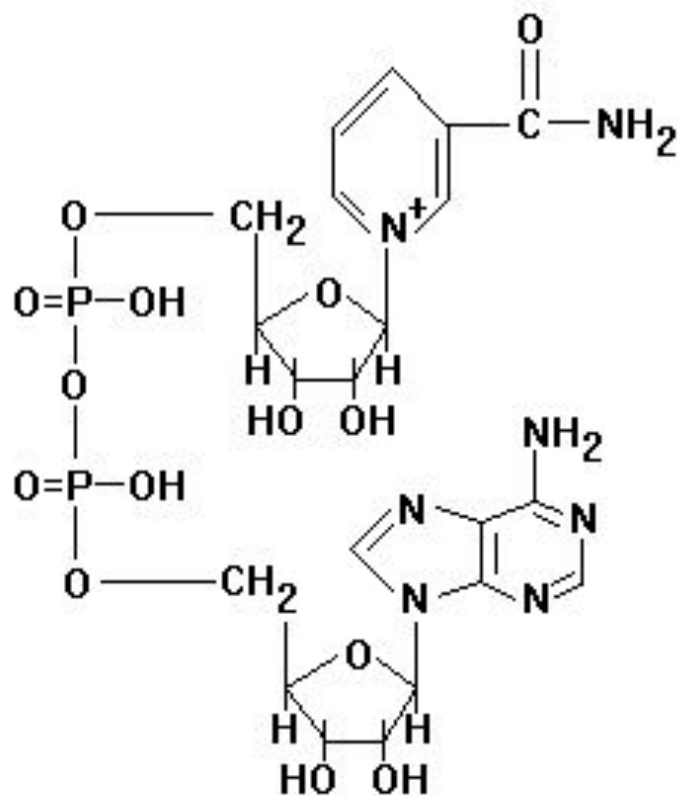
1. По химическому строению - Простые и сложные
2. По специфичности – субстратная и специфичность действия (6 классов)
 - абсолютной специфичности
 - групповой специфичности
 - относительной специфичности
 - стереохимической специфичности
3. По месту синтеза – ферменты поджелудочной железы, ферменты слюны, ферменты кишечного сока, ферменты желудочного сока и т.д.
4. По типу катализируемой реакции
 - 1 класс – оксидоредуктазы (дегидрогеназы – перенос атомов водорода; оксидазы – окисление кислорода, оксигеназы – внедрение атомов кислорода в органические вещества (монооксигеназы, диоксигеназы)
 - 2 класс – трансферазы -перенос групп атомов между разными молекулами;
 - 3 класс – лигазы (синтетазы)реакции с использованием АТФ;
 - 4 класс – гидролазы распад ковалентной связи под действием воды (гидролиз)
 - 5 класс – изомеразы образование изомеров одного и того же вещества
 - 6 класс- лиазы разрыв ковалентных связей без участия воды, присоединение к двойным связям воды, аммиака

Кофермент ФАД

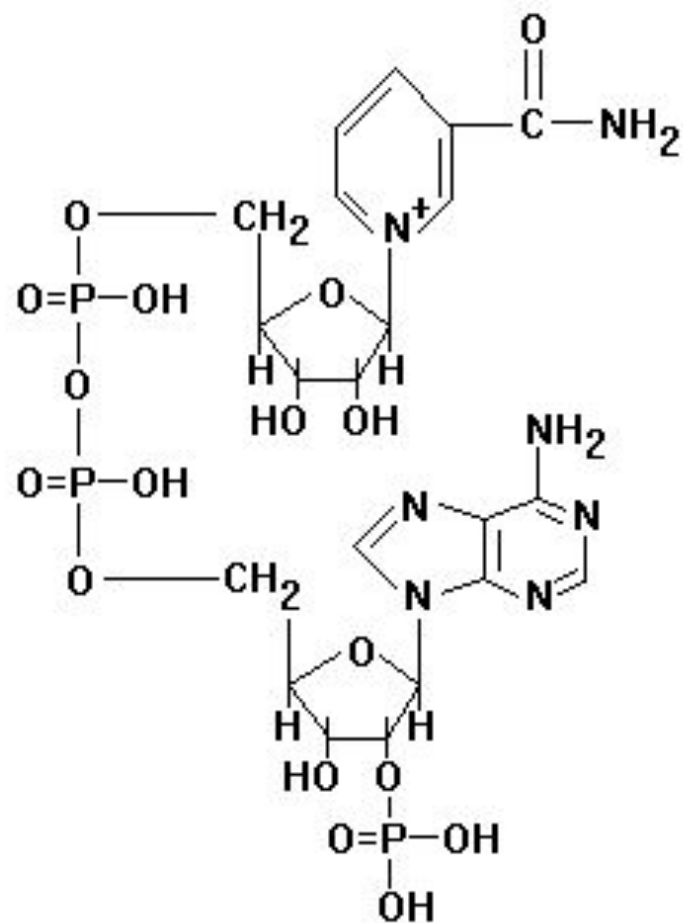


Флавинадениндинуклеотид

Кофермент НАД⁺



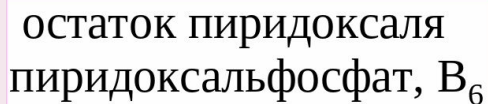
Никотинамидадениндинуклеотид
(НАД)



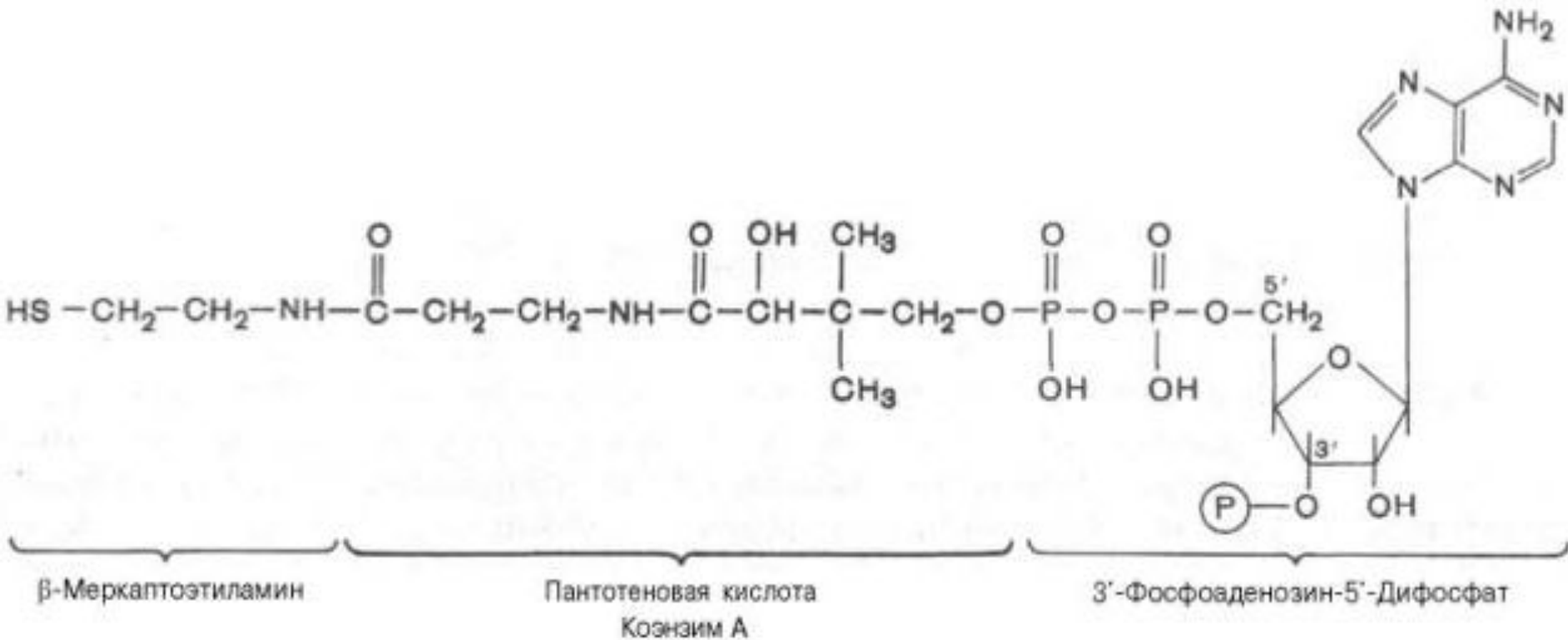
Никотинамидадениндинуклеотидфосфат
(НАДФ)

Cc1nc(N)nc(CCN(C)C(=O)SC(=O)CCOP(=O)(O)OP(=O)(O)O)c1

Тиаминпирофосфат (тиаминдифосфат)



Кофермент А



Свойства ферментов

1. Как и белки имеют первичную, вторичную, третичную, четвертичную структуру, изоэлектрическую точку, способность к денатурации.
2. Специфичность (избирательность, селективность) действия, субстратная специфичность (относительная, абсолютная, стереоспецифичность)
3. Термолабильность – ферменты активны при температурах 35-45 °С. Выше-наступает денатурация, при низких температурах активность снижается до нулевой.
4. В обратимых реакциях катализаторы ускоряют как прямую, так и обратную реакцию в одинаковой степени.
5. Катализаторы сами не вызывают химическую реакцию, а только ускоряют реакцию, которая протекает и без них.
6. Влияние pH – ферменты активны при определенных значениях pH (пепсин – pH=1-2,5 , амилаза поджелудочной железы- pH=7,3-7,8 и т.д.)

Активность ферментов

Активность ферментов – это наличие и количество ферментов в крови и биологических жидкостях (энзимодиагностика).

1 международная единица (МЕ) активности – это количество фермента, которое катализирует превращение в продукт (Р) одного микромоля субстрата (S) или образование 1 микромоля продукта Р за одну минуту.

$$1\text{МЕ} = 1 \text{ мкмоль S (P) / мин.}$$

Катал - это количество фермента, которое катализирует превращение в продукт (Р) одного моля субстрата (S) или образование 1 моля продукта Р за одну секунду.

$$1 \text{ кат (kat)} = 1 \text{ моль S (P) / с.}$$

$$1\text{МЕ} = 17 \text{ нанокатал} = 17 \cdot 10^9 \text{ катал}$$

$$1 \text{ нкат (нанокатал)} = 10^9 \text{ кат}$$

Молярная активность («число оборотов») - количество молекул субстрата, превращенного в продукт реакции одной молекулой фермента за одну минуту.

Способы эндогенной активации ферментов

Обратимая регуляция

Необратимая регуляция

Необратимая регуляция

1. **Частичный протеолиз проферментов** (предшественников ферментов) – отщепление пептидного фрагмента от белковой молекулы.

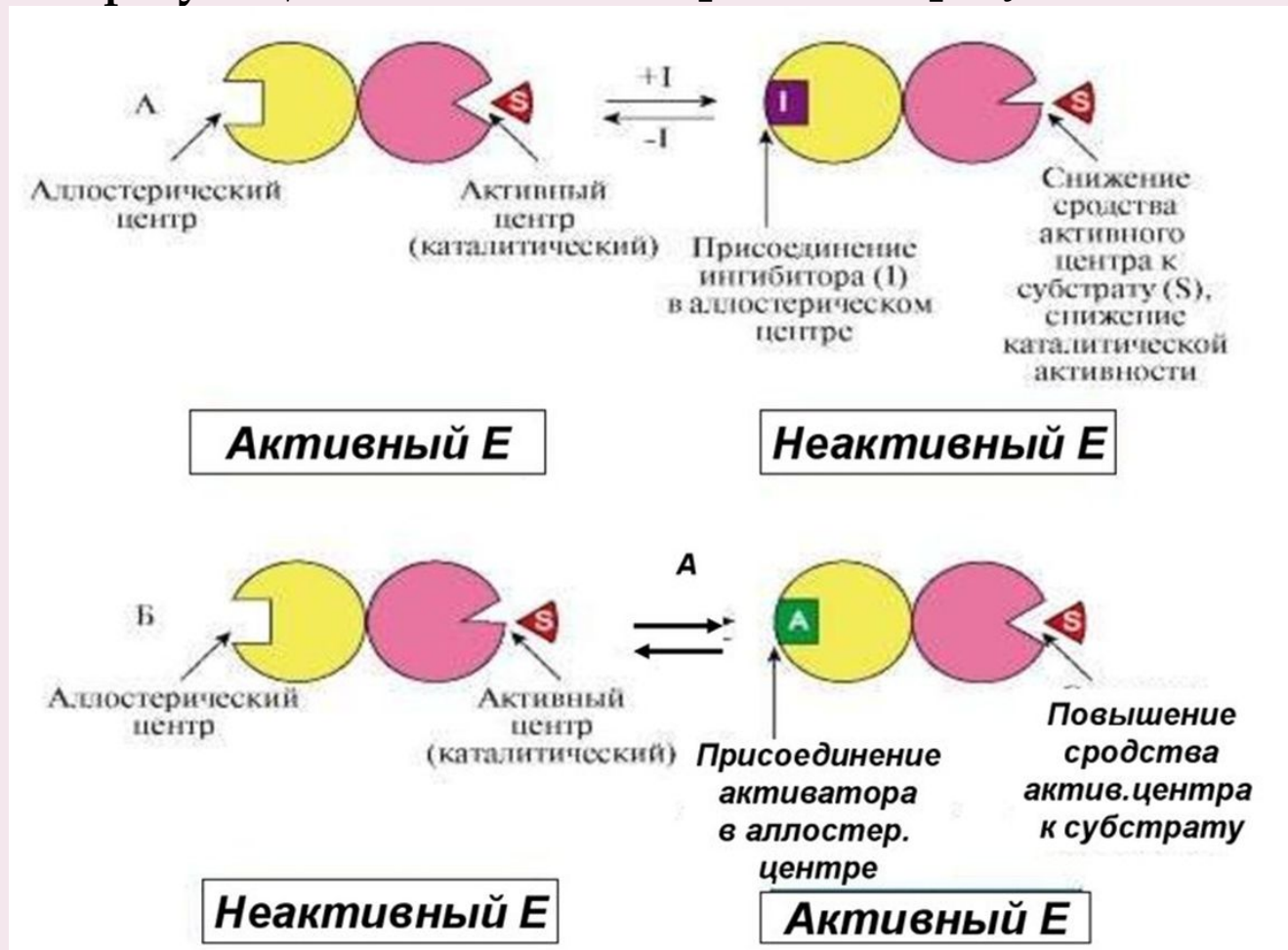
Пример: пепсиноген (М.М.= 40 кДа) отщепляет с N-конца молекулы 42 аминокислоты и переходит в активный пепсин.

Обратимая регуляция

1. **Взаимодействие белок-белок.** Белок-активатор повышает активность фермента, белок-ингибитор понижает активность фермента (гирудин пиявок, антитромбин понижают активность тромбина).

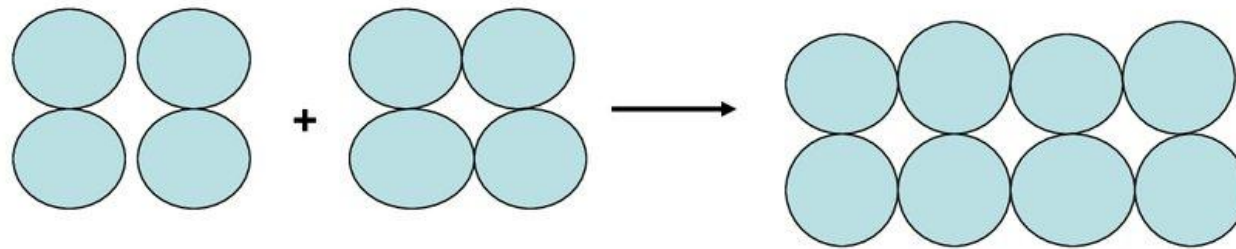
2. **Фосфорилирование-дефосфорилирование ферментов** (ковалентная модификация)





Характерна для олигомерных ферментов, у которых в субъединицах имеется другой, аллостерический центр связывания лиганда- регулятора. Эти регуляторы могут быть активаторами или ингибиторами.

4. Регуляция активности путем ассоциации – диссоциации олигомерных белков.



E неактивный

E активный

Пример – ацетилКоА-карбоксилаза (Синтез ВЖК)

изоферменты

Изоферменты -множественные формы одного фермента, отличающиеся физико-химическими свойствами, катализирующие одну и ту же реакцию, но в разных органах и тканях.

Пример. Лактатдегидрогеназа. Катализирует реакцию превращения молочной кислоты (лактат) в пировиноградную (пируват).



Состоит из 4 субъединиц –

Н-сердечная форма, М- мышечная форма. Образует 5 изоферментов.



Креатинкиназа -2
субъединицы-
мышечная и бульбарная



Ингибирование ферментов

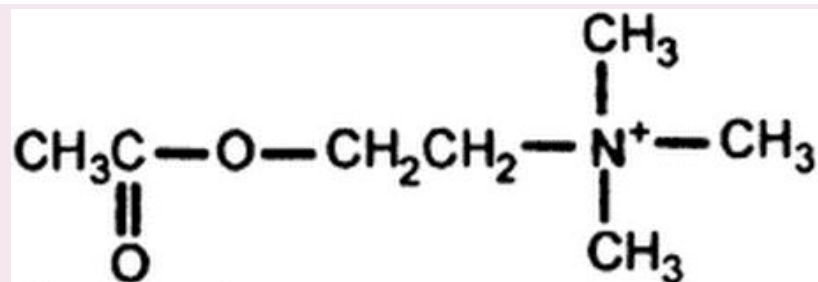
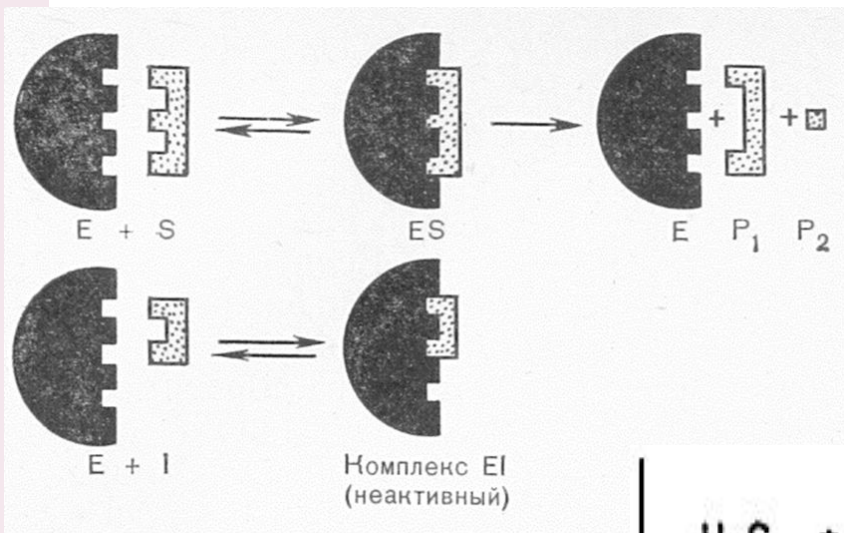
Обратимое
(нековалентное
связывание)

Необратимое
(ковалентное
связывание)

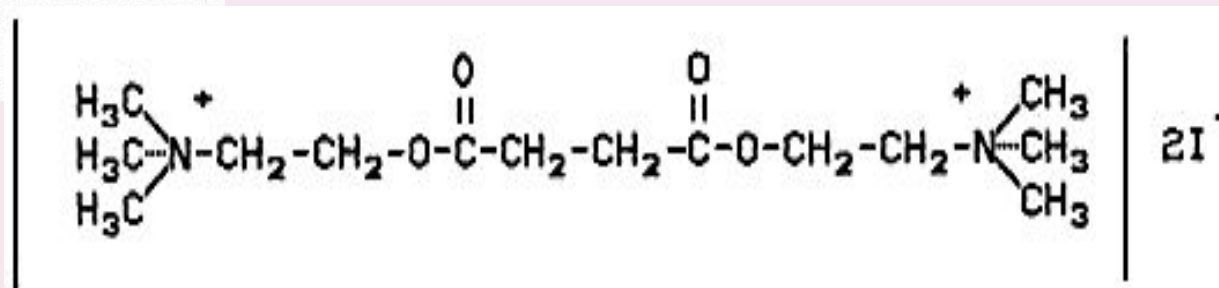
конкурентное неконкурентное



Конкурентное ингибирование



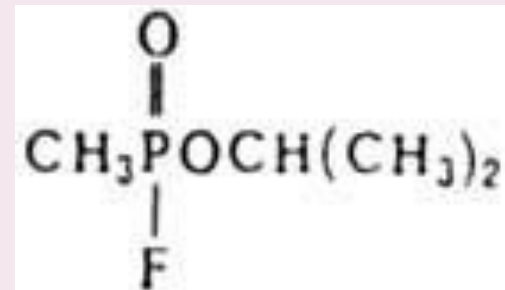
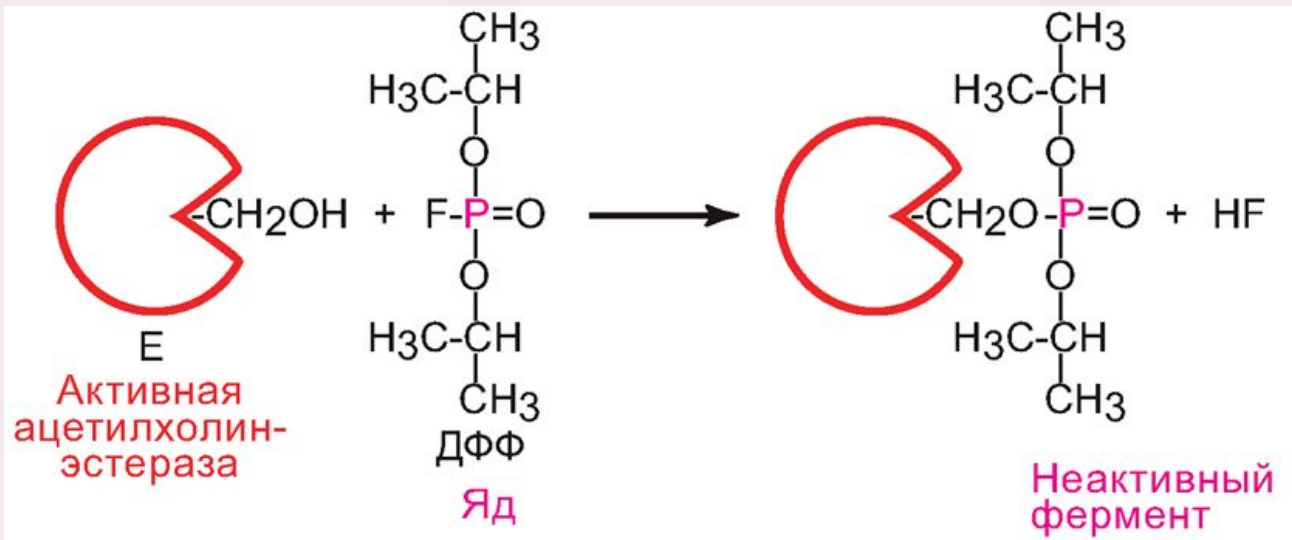
ацетилхолин



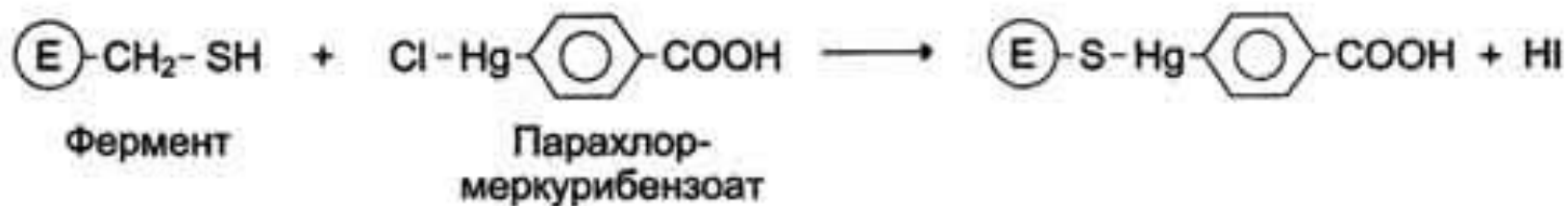
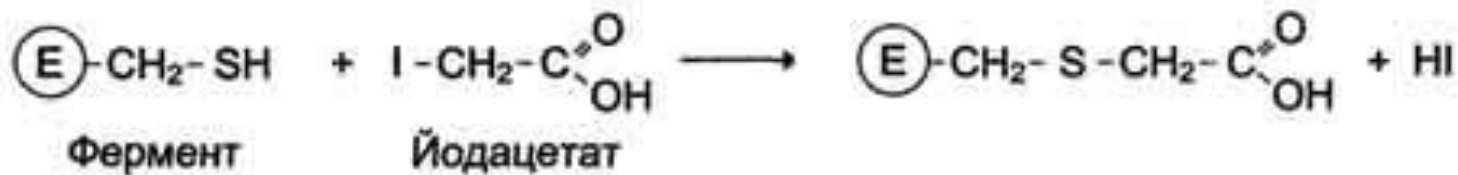
ДИТИЛИН

Неконкурентное ингибирование

Диизопропилфторфосфат –ДФФ, газ зарин



Фторангидрид метил- фосфоновой кислоты, зарин



Иммобилизованные ферменты

Иммобилизованными называются ферменты, искусственно связанные с нерастворимым носителем, с полным или частичным ограничением свободы движения белковых молекул, но сохраняющие свои каталитические свойства.

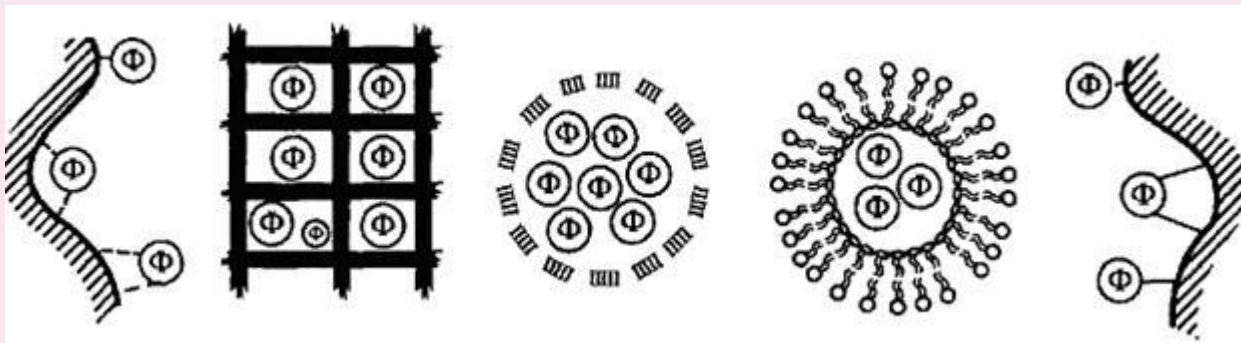
Преимущества иммобилизованных ферментов:

1. Легко отделяются от реакционной среды, что дает возможность остановить реакцию в любой момент, использовать фермент повторно, а также получать чистый от фермента продукт.
2. Могут использоваться многократно.
3. Стабильнее и долговечнее свободных энзимов.

Способы иммобилизации

физические

химические



а

б

в

г

д

Физические методы иммобилизации: а – адсорбция; б – включение в гель; в – инкапсулирование; г – включение в липосомы;

Химические методы иммобилизации: д – ковалентные связывание

ферментопатии



Ферментопатия или энзимопатия (fermentopathia; фермент + греч. pathos страдание, болезнь) - общее название болезней или патологических состояний, развивающихся вследствие отсутствия или нарушения активности каких-либо ферментов (ЭНЗИМОВ).