

Ферменты (энзимы)

Химические процессы живых организмов в подавляющем большинстве случаев проходят как ферментативные. **Ферменты** – это биологические катализаторы, по химическому строению представляющие собой глобулярные белки.

Ферменты делятся на шесть классов:

1. Оксидоредуктазы (отвечают за окислительно-восстановительные реакции),
2. Трансферазы (перенос функциональных групп),
3. Гидролазы (гидролиз),
4. Лиазы (расщепление C-C связей, отщепление групп с образованием двойной связи, присоединение по двойной связи),
5. Изомеразы (реакции изомеризации)
6. Лигаза (синтетаза) – синтез с использованием энергии АТФ.

Класс фермента характеризует тип катализируемой им реакции.

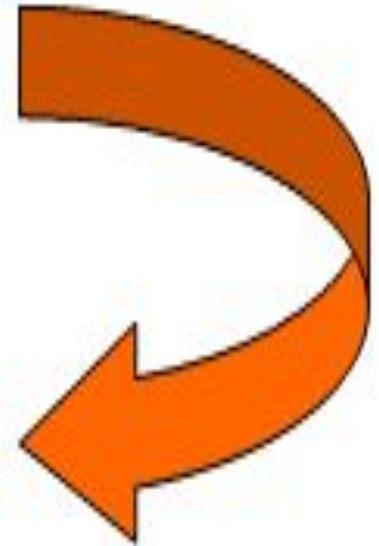
Классы ферментов делятся на подклассы, которые определяют природу субстрата или тип функциональной группы, подвергающейся превращению.

Подклассы делятся на подподклассы.

СОСТАВ СЛОЖНОГО ФЕРМЕНТА

ХОЛОФЕРМЕНТ
(Сложный фермент)

АПОФЕРМЕНТ + **КОФЕРМЕНТ**
(Белковая часть) (Небелковая часть)



СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТА



Особенности ферментов как катализаторов

1. Они намного **более активны**, обычно ферментативные реакции проходят в тысячи раз быстрее, чем аналогичные химические каталитические превращения.
2. **Ферменты селективны**, причем селективность может быть нескольких уровней. Есть ферменты, которые катализируют **только определенный тип реакций**, например, гидролиз пептидных связей. Есть более разборчивые, катализирующие реакцию **только одного определенного соединения**, например, гидролиз пептидной связи только между одной определенной парой аминокислотных остатков. Наконец, если субстрат имеет несколько пространственных изомеров, ряд ферментов катализирует реакцию **только одного определенного пространственного изомера**. Например, фермент ускоряет реакцию *цис*-изомера и не активирует *транс*-изомер, или, что бывает чаще, катализирует превращение одного энантиомера и не действует на другой.
3. Ферменты сохраняют свою активность только в узком диапазоне температур и pH среды. Потеря ферментативной активности (**денатурация**) происходит при нарушении третичной структуры белка, при этом первичная и даже вторичная структуры остаются неизменными.

Особенности ферментов как катализаторов

1. Ферменты, так же как и химические катализаторы неорганической природы, катализируют только энергетически выгодные реакции.
2. Ферменты не изменяют направление реакции и не расходуются в ее процессе.
3. Скорости биохимических реакций с участием ферментов на много порядков выше, чем в случае неорганических катализаторов.
4. Ферменты не инициируют химические реакции. Они лишь изменяют скорость протекания реакций.

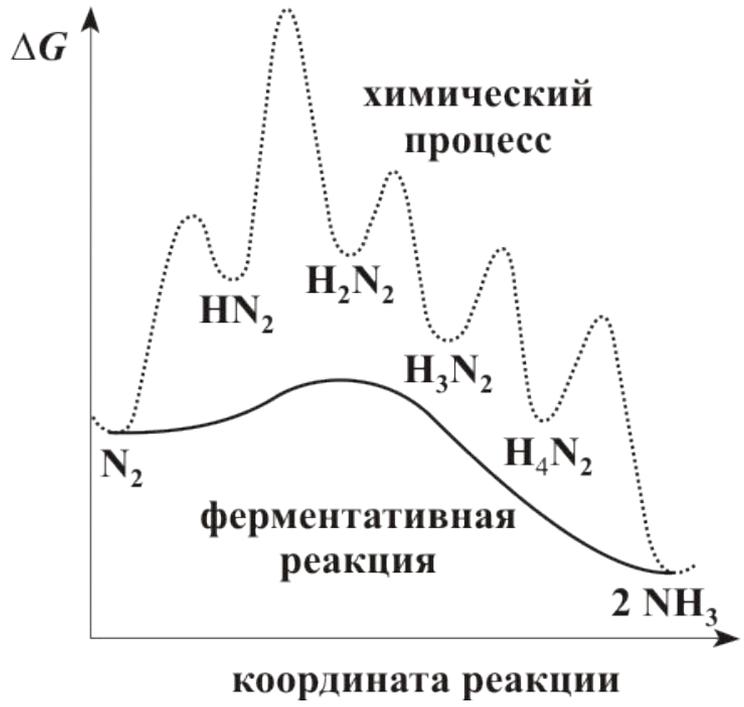
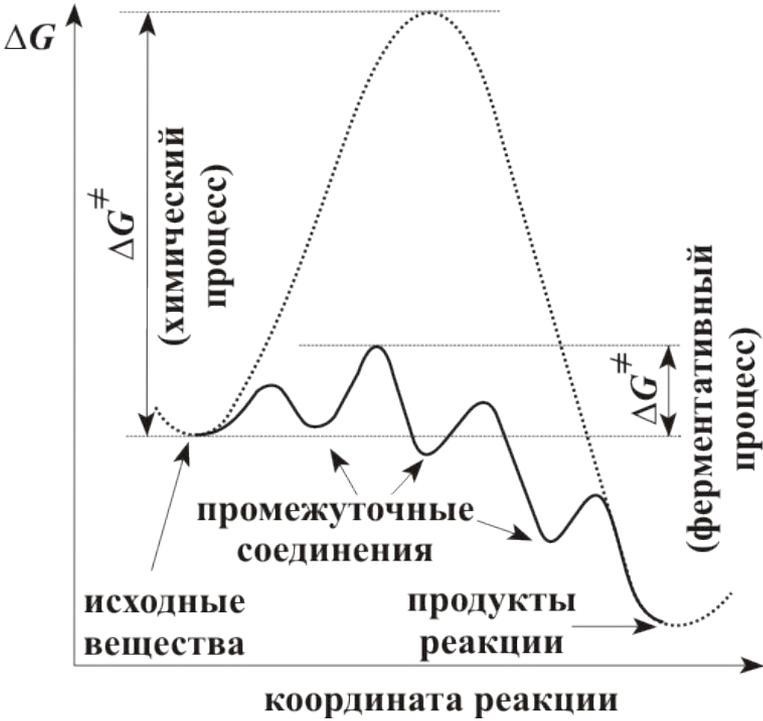
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

- Как обычные глобулярные белки, ферменты характеризуются первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурами. Четвертичная структура у ферментов встречается чаще, чем у обычных белков.
- В составе фермента есть активный центр, в котором можно выделить центр связывания субстрата и каталитический центр, а также регуляторный (аллостерический) центр.

Каталитическая активность ферментов

Существуют два основных варианта реализации каталитической активности ферментов:

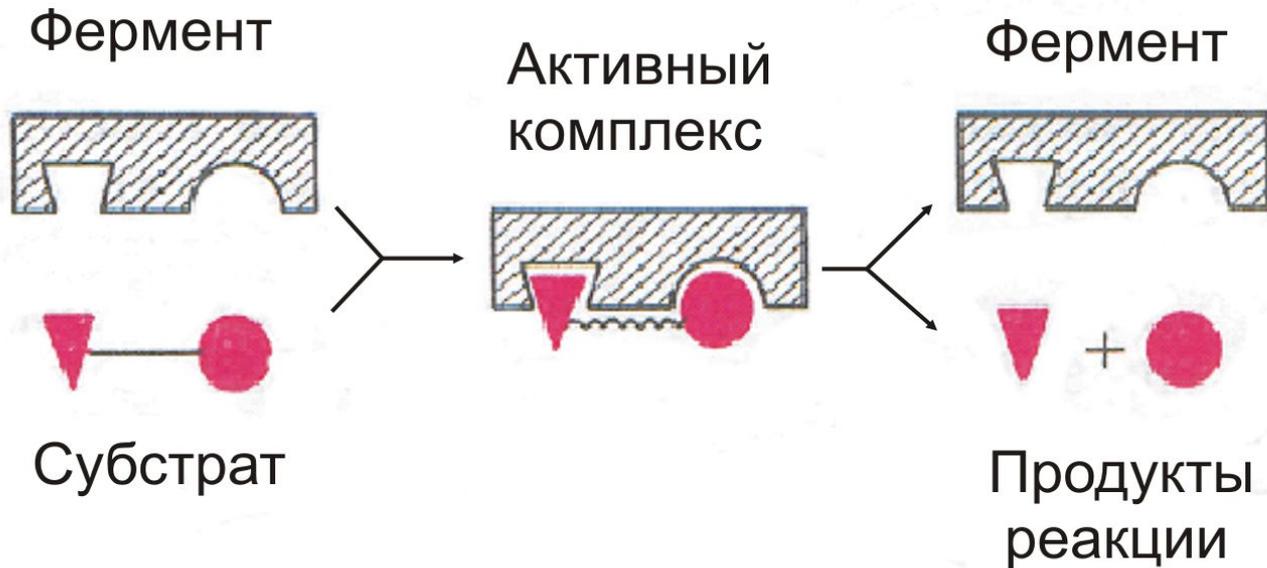
1. По первому - одностадийная химическая реакция, протекающая с высокой энергией активации, заменяется серией ферментативных, каждая из которых не требует больших энергетических затрат.
2. По второму варианту, типичному для окислительно-восстановительных реакций, фермент серию последовательных одноэлектронных реакций заменяет многоэлектронным процессом. При этом минуются промежуточные нестабильные соединения.



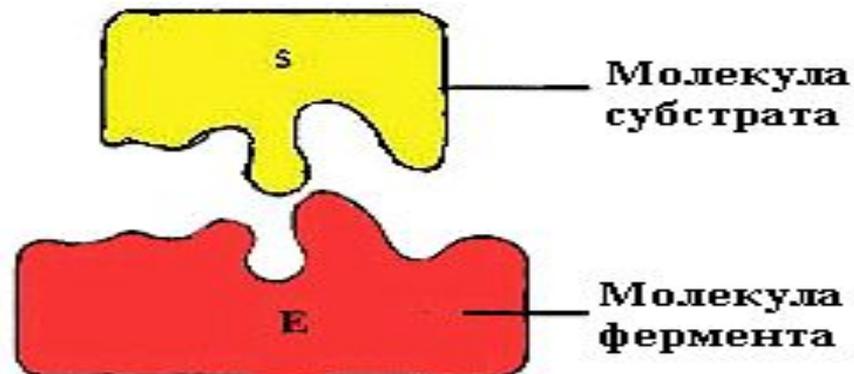
Механизм действия ферментов

включает в себя три основные стадии:

- присоединение субстрата к макромолекуле фермента,
- непосредственно ферментативную реакцию,
- отделение продуктов превращения субстрата от фермента:



ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЕРМЕНТА С СУБСТРАТОМ

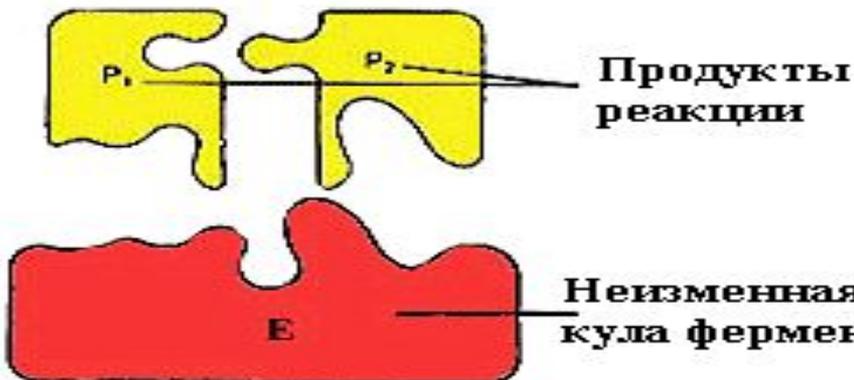


I. Активация фермента

II. Узнавание ферментом своего субстрата



III. Образование неактивного фермент-субстратного комплекса с помощью слабых водородных связей между субстратом и аминокислотами контактных участков

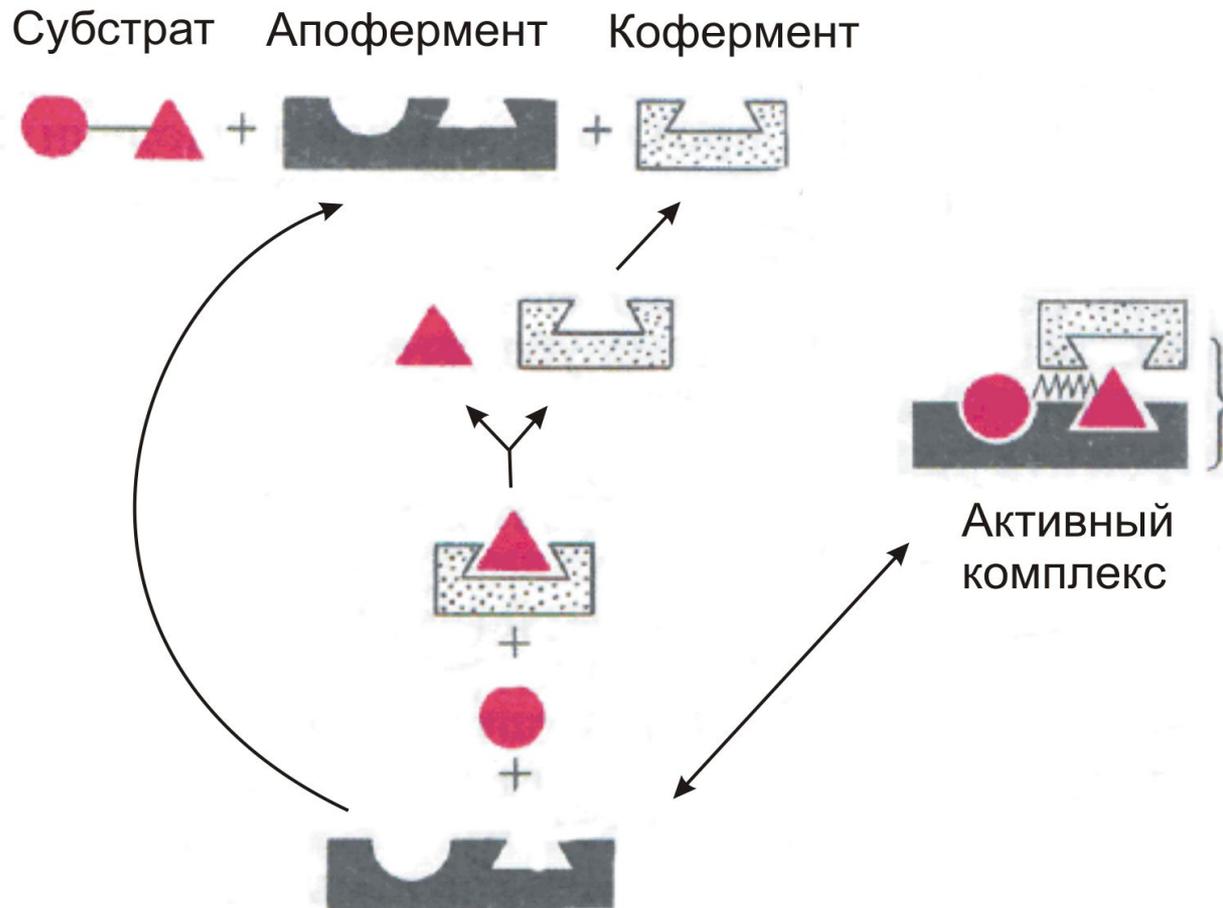


IV. Образование активного фермент-субстратного комплекса за счет каталитического участка

V. Образование продуктов реакции.

Механизм действия ферментов

Если фермент в активном центре содержит *кофермент* (сложные ферменты), то предполагается образование тройного комплекса:



Механизм действия ферментов

Коферменты обладают способностью диссоциировать от *апофермента*, а *простетическая группа* прочно связана с белковой частью фермента.

Соединение белковой и небелковой части сложных ферментов происходит при помощи водородных, гидрофобных или ионных связей. Реже встречается ковалентное связывание белкового компонента с простетической группой фермента.

Оксидоредуктазы

Известно около 500 оксидоредуктаз, которые делятся на 17 подклассов.

Эти ферменты, как правило, катализируют реакции окисления (C - гидроксильная группа, окисления гидроксильной группы в карбонильную, а затем в карбоксильную группу)

Поскольку при окислении количество атомов водорода в субстрате уменьшается, их часто называют *дегидрогеназами*:

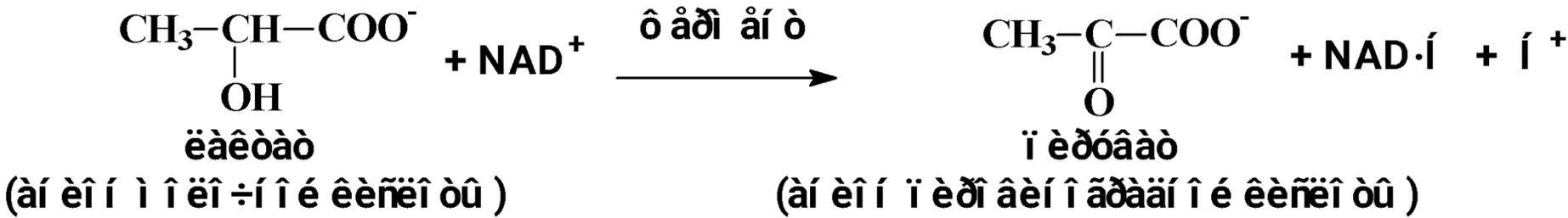
- *оксидаза*, если в качестве окислителя выступает молекулярный кислород;

- *оксигеназа*, если этот кислород входит в состав продукта реакции.

Реакции восстановления субстрата встречаются редко. Тогда оксидоредуктазы называют просто *редуктазами*.

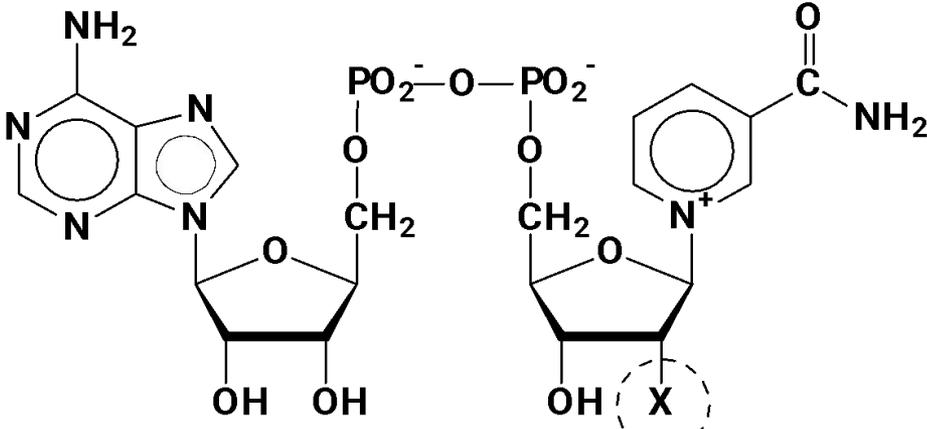
Систематическое название оксидоредуктазы включает названия восстановителя, окислителя и класса ферментов.

Оксидоредуктазы

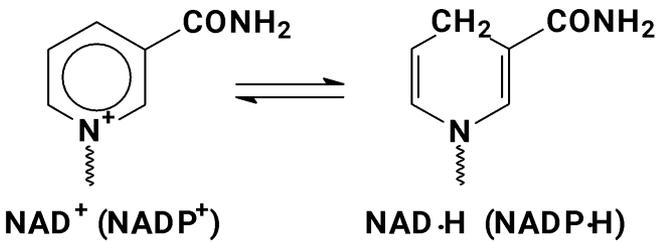


L-лактат:НАД⁺-оксидоредуктаза или лактат дегидрогеназа

биохимически важные реакции окисления идут с участием никотинамид-аденин-динуклеотида NAD⁺ или его фосфорилированной формы – никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфата NADP⁺. NAD⁺ восстанавливаются по пиридиновому кольцу с образованием NAD·H (NADP·H), которые в биологически важных реакциях вновь окисляются:



$\text{NAD}^+ \text{ (X = OH)}$
 $\text{NADP}^+ \text{ (X = O-PO}_3\text{H}^-)$



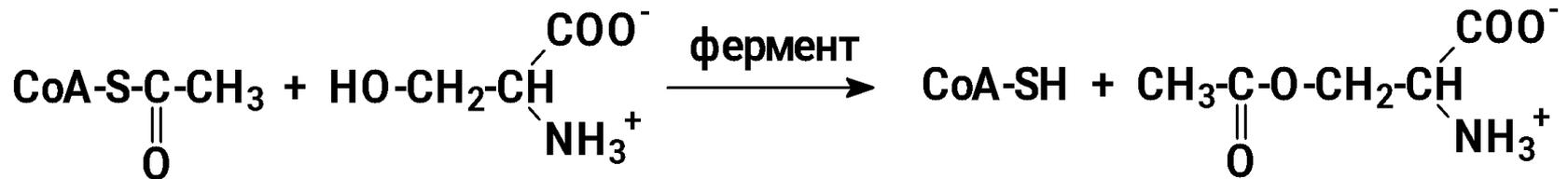
Трансферазы (более 450 ферментов)

Имеется 7 подклассов в зависимости от типа переносимой группы (аминотрансферазы, метилтрансферазы, ацилтрансферазы и др.)

Реакцию переноса группы схематично можно записать как:



Систематическое название фермента включает название донора, акцептора, переносимой группы и класс, в данном случае АВ:С В-трансфераза.



ацетилКоА

серин

КоА

О-ацетилсерин

Фермент, катализирующий эту реакцию - ацетилКоА:серин ацетилтрансфераза или серин ацетилтрансфераза.

Гидролазы и лиазы

Катализируют реакции гидролиза – разрыва связей с присоединением воды. Известно более 460 гидролаз, которые делятся на 7 подклассов в зависимости от природы гидролизуемых связей и соединений.

Так, эфиры фосфорной кислоты гидролизуются фосфатазами, нуклеиновые кислоты – нуклеазами. Катализаторы гидролиза внутренних связей белков и полипептидов называют протеазами, N-концевых аминокислот – аминопептидазами, C-концевых – карбоксипептидазами.

В основном гидролазы – это пищеварительные ферменты и ферменты лизосом. Пищеварительные ферменты обеспечивают гидролиз биополимеров (полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот) с образованием мономерных блоков, которые далее используются организмом для синтеза собственных полимеров. Ферменты лизосом предназначены для разложения чужеродных соединений, оказавшихся в клетках.

Известно около 250 лиаз, которые делятся на подклассы по типу разрываемых связей: C-C-, C-O-, C-N-, C-S-, и P-O-лиазы. Многочисленная группа C-C-лиаз катализирует отщепление от субстратов карбоксильных групп: они называются декарбоксилазами.

Лиазы, изомеразы и лигазы

Насчитывается ≈ 80 изомераз, катализирующих цис-транс-превращения у двойных связей субстрата, взаимопревращения альдегидов и кетонов, внутримолекулярный перенос фрагментов молекулы. Особо следует отметить обращение конфигурации при асимметрическом атоме углерода. А) Если он один в молекуле субстрата, то изомераза катализирует превращение одного энантиомера в другой. В результате образуется смесь равных количеств энантиомеров – рацемат. Такие ферменты называют рацемазами.

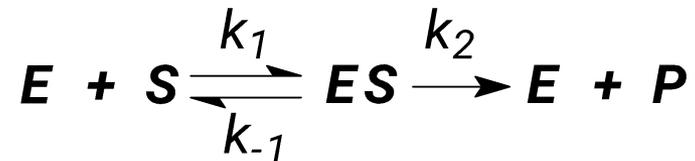
Б) Если асимметрических атомов несколько, то образуется более термодинамически стабильный диастереомер, а ферменты называют эпимеразами.

Лигазы катализируют объединение двух молекул в одну. Известно ≈ 80 ферментов этого типа. Образование новой связи в реакциях присоединения и конденсации требует энергетических затрат, которые восполняются **гуанозинтрифосфатом** или **аденозинтрифосфатом**. Богатые энергией трифосфаты подвергаются гидролизу и обеспечивают энергией реагирующую систему.

Количественные характеристики каталитической активности ферментов

Первые представления были заложены Л. Михаэлисом и М. Ментен в 1913 г.

Простейший ферментативный процесс можно представить схемой:



E – фермент (энзим); S – субстрат; ES – фермент-субстратный комплекс; P – продукт реакции; k_1 , k_{-1} и k_2 – константы скоростей отдельных стадий.

$$[E]_0 = [E] + [ES] \quad r = k_2[ES] \quad r_{max} = k_2[E]_0$$

Количественные характеристики каталитической активности ферментов

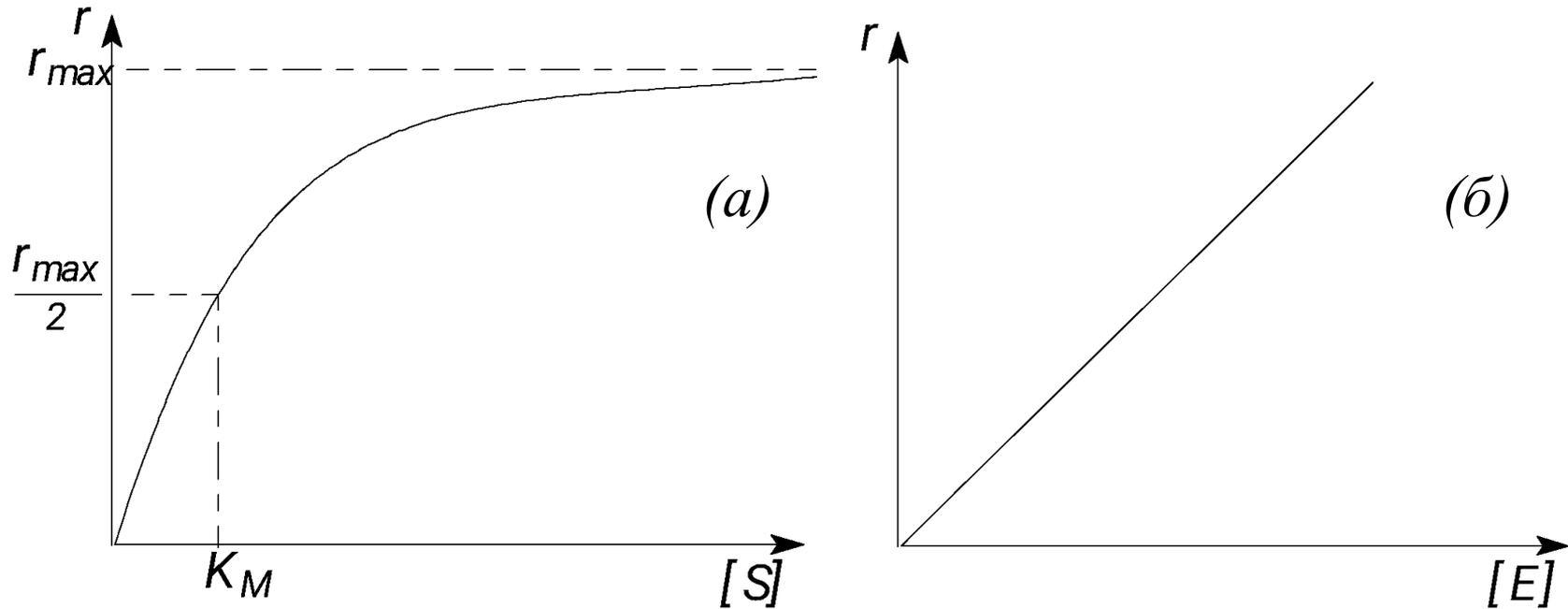


График зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата имеет гиперболический вид – это так называемая *кривая Михаэлиса (а)*.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента имеет линейный вид (б).

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Ферменты – это высокомолекулярные вещества с массой 10^4 – 10^6 Да. Это катализаторы с регулируемой активностью в отличие от небиологических катализаторов, что позволяет контролировать скорость ферментативной реакции.

Международная единица активности фермента (МЕ) - такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин. Для характеристики активности фермента используют также величину **катал (кат)**.

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль субстрата} \cdot \text{с}^{-1}$$

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Используют также а) *удельную активность* ферментов, которая определяется, как отношение числа единиц фермента в образце к массе образца.

б) *молярную активность*, которая указывает, сколько молекул субстрата превращается одной молекулой фермента за 1 мин.

Фермент	Молярная активность, мин ⁻¹	Фермент	Молярная активность, мин ⁻¹
Карбоангидраза	$36 \cdot 10^6$	Фумараза	$1,2 \cdot 10^5$
Каталаза	$1,2 \cdot 10^6$	Фосфоглюкомутаза	$1,24 \cdot 10^3$
β-Амилаза	$1,1 \cdot 10^6$	Сукцинатдегидрогеназа	$1,15 \cdot 10^3$

ИЗОФЕРМЕНТЫ

ВСЕГДА БЕЛКИ С
ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СТРУКТУРОЙ

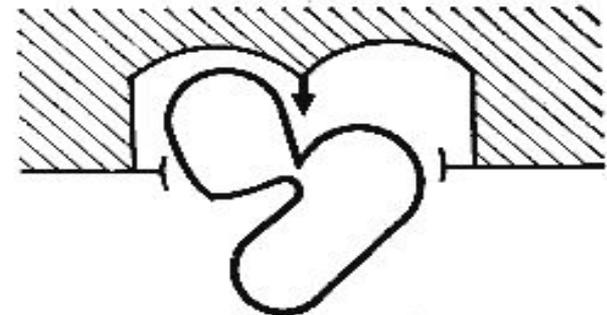
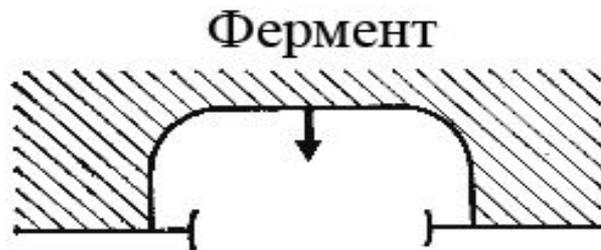
ОБЩИЕ
СВОЙСТВА

КАТАЛИЗИРУЮТ
ОДНУ И ТУ ЖЕ
РЕАКЦИЮ

РАЗЛИЧИЯ

1. РАЗНАЯ ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА
2. РАЗНЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА (ИЭТ, ЭФ ПОДВИЖНОСТЬ, K_M , ОПТИМУМ pH И ДР.)
3. РАЗНАЯ ТКАНЕВАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФЕРМЕНТА С КОНКУРЕНТНЫМ ИНГИБИТОРОМ



Продукты реакции
не образуются

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ (активация и ингибирование) ФЕРМЕНТОВ

Активация ферментов – это увеличение скорости биохимической реакции в результате действия модификатора (**активатора**). Модификаторами могут быть: коферменты, ионы металлов и субстраты.

Ингибирование ферментов может быть обратимым или необратимым

При *необратимом ингибировании* **ингибитор** прочно связывается с *активным* или *аллостерическим* центрами фермента, что приводит к необратимым изменениям активности фермента.

При *обратимом ингибировании* комплекс фермент-обратимый ингибитор нестабилен, вследствие чего быстро диссоциирует, при этом активность фермента восстанавливается.