

Лекции: ЭНЗИМОЛОГИЯ

Дисциплина: биохимия (Б1.Б.15)

Специальность: педиатрия (31.05.02)

НГМУ, кафедра медицинской химии

Д.б.н., доцент Суменкова Дина Валерьевна

ЛЕКЦИЯ N° 2

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Актуальность темы

Номенклатура и классификация ферментов – «путеводитель» в мире ферментов, который по названию фермента позволяет определить тип катализируемой реакции и субстрат искомым ферментов, в том числе используемых в диагностике заболеваний

Пример: инфаркт миокарда

Значительно повышается активность

**аспартат- и аланинаминотрансфераз,
креатинкиназы, лактатдегидрогеназы**



Какие реакции в кардиомиоцитах катализируют данные ферменты? Ответ на вопрос – в названии ферментов!

План лекции

- ❑ Номенклатура ферментов
- ❑ Классы ферментов:
- ✓ характеристика структурных единиц классификатора (классов, подклассов)
- ✓ примеры ферментов

Цель

● Знать:

- принципы номенклатуры и классификации ферментов
- характеристику классов ферментов и основных подклассов
- примеры реакций, катализируемых ферментами разных классов

Знания номенклатуры и классификации ферментов необходимы для понимания сущности химических превращений, катализируемых основными ферментами организма детей и подростков, в том числе используемыми в диагностике заболеваний

Номенклатура IUBMB

Номенклатура международного союза биохимии и молекулярной биологии (1961 г)

Название фермента:

название субстрата (или субстратов) + тип реакции + аза

ПРИМЕР:

**алкоголь: NAD^+ оксидоредуктаза
(алкогольдегидрогеназа)**

Номенклатура ферментов: исключения из правила

❑ Исключение 1.

Тривиальные названия: пепсин, трипсин, ренин

❑ Исключение 2. Субстрат + аза

- Карбоксипептидаза
- Амилаза (amylum – крахмал)
- Липаза
- РНКаза
- Альдолаза
- Енолаза

Ферменты,
катализирующие
реакции расщепления
связей:
гидролазы,
лиазы (альдолаза, енолаза)

Номенклатура ферментов: исключения из правила

□ Исключение 3. **Продукт + синтаза**

- Метионин**синтаза**
- Тимидилат**синтаза**
- Цитрат**синтаза**
- Аминолевулинат**синтаза**

**Ферменты,
катализирующие
реакции переноса
группы атомов с одного
субстрата на другой
(трансферазы)**

Название метионинсинтазы по номенклатуре:

гомоцистеин метилтрансфер аза

Синтазы встречаются и среди ферментов других классов
(например, лиазы – уропорфириногенсинтаза)

Номенклатура ферментов: исключения из правила

❑ Исключение 4. **Продукт + синтетаза**

- Ацил-КоА синтетаза
- Глутамил синтетаза
- Аминоацил-тРНК синтетаза

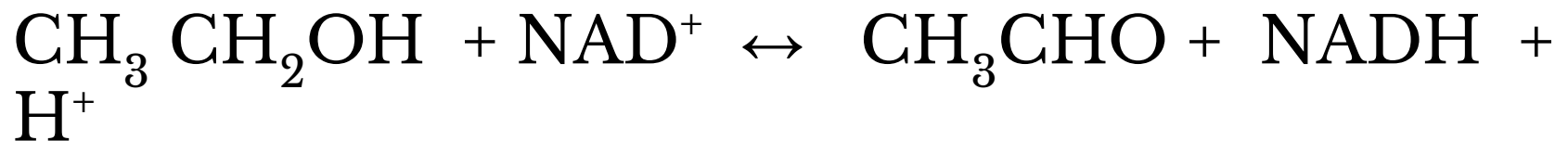
Ферменты,
катализирующие
реакции
образования
ковалентных
связей между
двумя
субстратами
(лигазы, или
синтетазы)

Классы ферментов

- Основа деления ферментов на классы:
тип катализируемой реакции (реакционная, или каталитическая специфичность)
- **6 КЛАССОВ ФЕРМЕНТОВ :**
 - ▣ 1. Оксидоредуктазы
 - ▣ 2. Трансферазы
 - ▣ 3. Гидролазы
 - ▣ 4. Лиазы
 - ▣ 5. Изомеразы
 - ▣ 6. Лигазаы
- Классы делят на подклассы, подподклассы
- Каждый фермент имеет кодовый номер

Что означает код фермента (КФ)?

- **КФ 1.1.1.1. Алкоголь: NAD⁺ оксидоредуктаза**
(алкогольдегидрогеназа)
 - 1 - Класс: оксидоредуктазы (реакции окисления-восстановления)
 - 1 - Подкласс: действующие на CH-OH группу доноров
 - 1 - Подподкласс: с NAD⁺ в качестве акцептора
 - 1 – Порядковый номер фермента в группе



Характеристика классов

ферментов

Что нужно знать?

- Тип катализируемой реакции
- Принцип деления на подклассы
- Кофакторы, коферменты (если есть)
- Как складывается название ферментов данного класса
- Пример фермента и реакции
- Роль названной реакции в обмене веществ

Класс 1. Оксидоредуктазы

- Тип реакций: окислительно-восстановительные (перенос электронов (и протонов водорода) с одного субстрата на другой)
- Подклассы и подподклассы характеризуют группу донора и вид акцептора



Оксидоредуктазы

□ Реакции с участием O_2 как окислителя

- O_2 – акцептор электронов и протонов (атома водорода), переносимых с окисляемого субстрата
- Оксидазы
- Аэробные дегидрогеназы
- O_2 – встраивается в субстрат, окисляя его (меняя степень окисления атома C)
- Оксигеназы: моно- и диоксигеназы

□ Реакции без участия O_2

- Роль акцептора выполняют другие вещества или коферменты NAD, NADP (производные вит. PP, или B_3), реже FAD, FMN (производные вит. B_2)
- Анаэробные дегидрогеназы

□ Реакции с участием H_2O_2 как окислителя

- Гидропероксидазы (H_2O_2 превращается в воду)

Группы оксидоредуктаз

Оксидоредуктазы можно разделить на группы вне структуры классификатора (то есть не на подклассы). В одной группе могут быть ферменты разных подклассов.

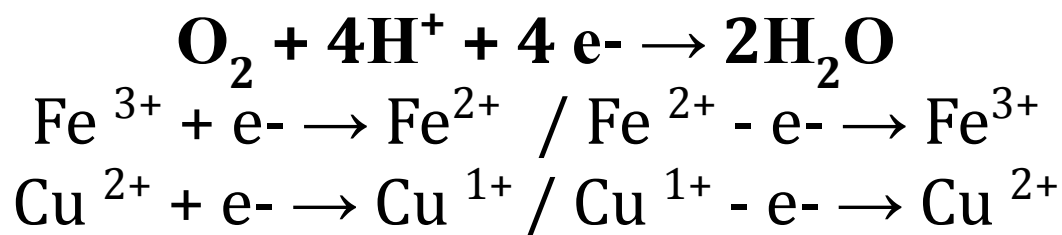
- **Оксидазы**
- **Аэробные дегидрогеназы**
- **Оксигеназы**
- **Анаэробные дегидрогеназы**
- **Гидропероксидазы**

Оксидоредуктазы: Оксидазы

- Тип реакций: перенос электронов и протонов водорода (дегидрирование) с одного субстрата на другой
- Акцептор водорода: кислород
- Продукт реакции: вода
- Кофакторы: медь, железо (в активном центре участвуют в переносе электронов)
- Название: **субстрат + оксидаза**

ПРИМЕР: цитохром-с оксидаза

Фермент процесса тканевого дыхания в митохондриях, где электроны, высвобождаемые из молекул различных субстратов при их полном окислении в клетке, переносятся на кислород с образованием метаболитической воды

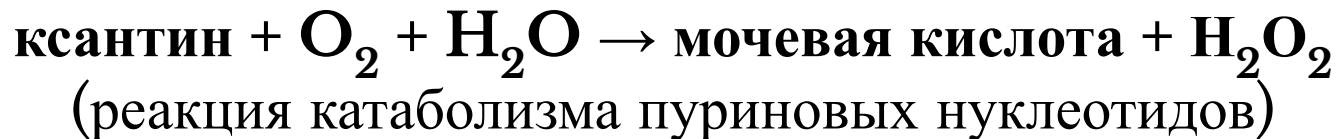


Оксидоредуктазы:

Аэробные дегидрогеназы

- Тип реакций: дегидрирование
- Акцептор водорода: кислород
- Продукт реакции: H_2O_2
- Кофермент (простетическая группа): FMN, FAD (производные вит. B_2 - рибофлавина)
- Кофакторы: ионы металлов
- Кофакторы и коферменты – посредники в переносе электронов и протонов. В структуре кофермента именно витамин принимает и передает электроны, являясь, таким образом, «рабочей частью» кофермента.
- Название: **субстрат + оксидаза**

ПРИМЕР: ксантиноксидаза (FAD , Mo^{2+} , Fe^{3+})



Оксидоредуктазы:

Анаэробные дегидрогеназы

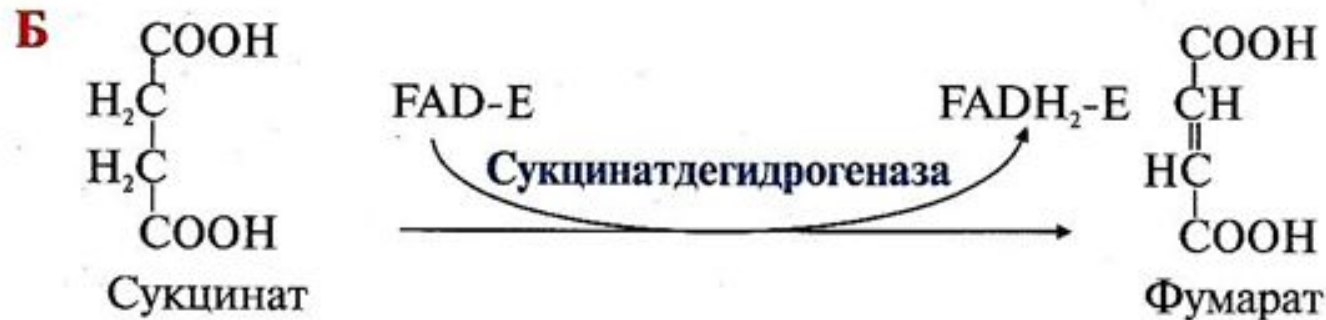
- Тип реакций: дегидрирование
- Акцептор водорода – коферменты:
- ✓ обычно NAD^+ , NADP^+ (производные вит. РР, или B_3 – никотиновой кислоты)
- ✓ реже FMN, FAD (производные вит. B_2 – рибофлавина)
- Образуются восстановленные формы коферментов – $\text{NADH} + \text{H}^+$, $\text{NADPH} + \text{H}^+$, FADH_2 , FMNH_2
- «Рабочей частью» коферментов, принимающей электроны и протоны, являются витамины
- Название: **субстрат + дегидрогеназа или редуктаза**

ПРИМЕР: алкогольдегидрогеназа, глутатионредуктаза

Название «субстрат+дегидрогеназа» подчеркивает важную роль процесса окисления субстрата

Название «субстрат+редуктаза» подчеркивает важную роль процесса восстановления субстрата

Оксидоредуктазы: Анаэробные дегидрогеназы



Ферменты цикла Кребса – метаболического процесса энергетического обмена

Оксидоредуктазы: Оксигеназы

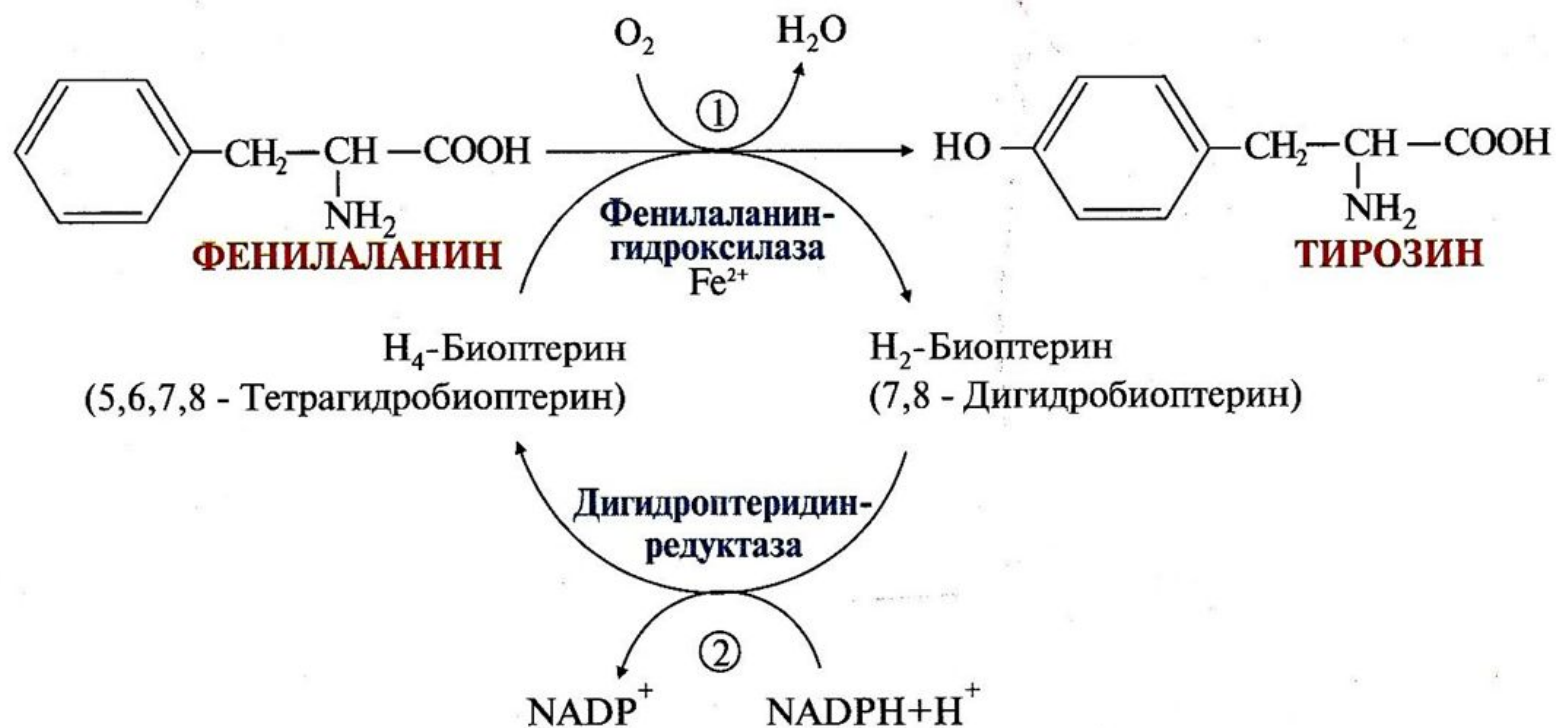
- Тип реакций: окисление субстрата путем включения кислорода в субстрат (диоксигеназы и монооксигеназы)
- Кофакторами могут быть железо или медь
- Коферментами могут быть $\text{NADPH} + \text{H}^+$, витамин С
- Монооксигеназы (или гидроксилазы) – включают в субстрат 1 атом кислорода с образованием в субстрате $-\text{OH}$, другой атом кислорода восстанавливается до воды с участием косубстрата как донора H_2 (обычно это $\text{NADPH} + \text{H}^+$)
- Название монооксигеназ: **субстрат + гидроксилаза или монооксигеназа**

ПРИМЕР: фенилаланингидроксилаза (реакция окисления фенилаланина с образованием тирозина)

- Название диоксигеназ: **диоксигеназа + субстрат**

ПРИМЕР: диоксигеназа гомогентизиновой кислоты (реакция катаболизма тирозина)

Оксидоредуктазы: Оксигеназы

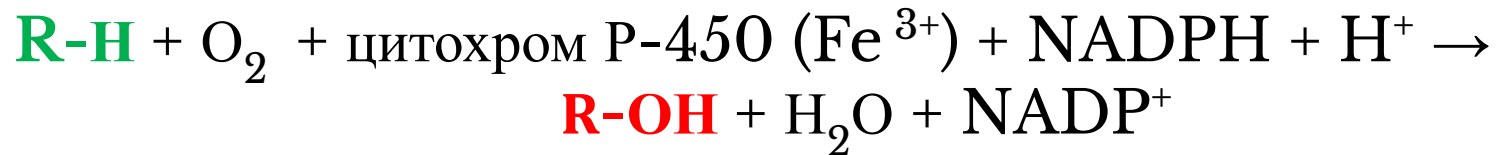


Роль монооксигеназных реакций

- Окисление фенилаланина с образованием тирозина, условно заменимой аминокислоты, необходимой для синтеза тиреоидных гормонов, катехоламинов, меланина.
- Окисление холестерина с образованием желчных кислот, необходимых для усвоения пищевого жира.
- Окисление холекальциферола (витамина D_3) с образованием кальцитриола — гормона, регулирующего обмен кальция и фосфора.
- Окисление прегненолона и прогестерона с образованием стероидных гормонов (кортизола, альдостерона, половых гормонов).
- Окисление ксенобиотиков, включая лекарственные препараты, в процессе их обезвреживания в печени.

Монооксигеназы как ферменты микросомальной системы гидроксилирования (МСГ)

цитохром Р-450-содержащие монооксигеназы микросом печени — ферменты метаболизма ксенобиотиков (например, лекарственных препаратов)

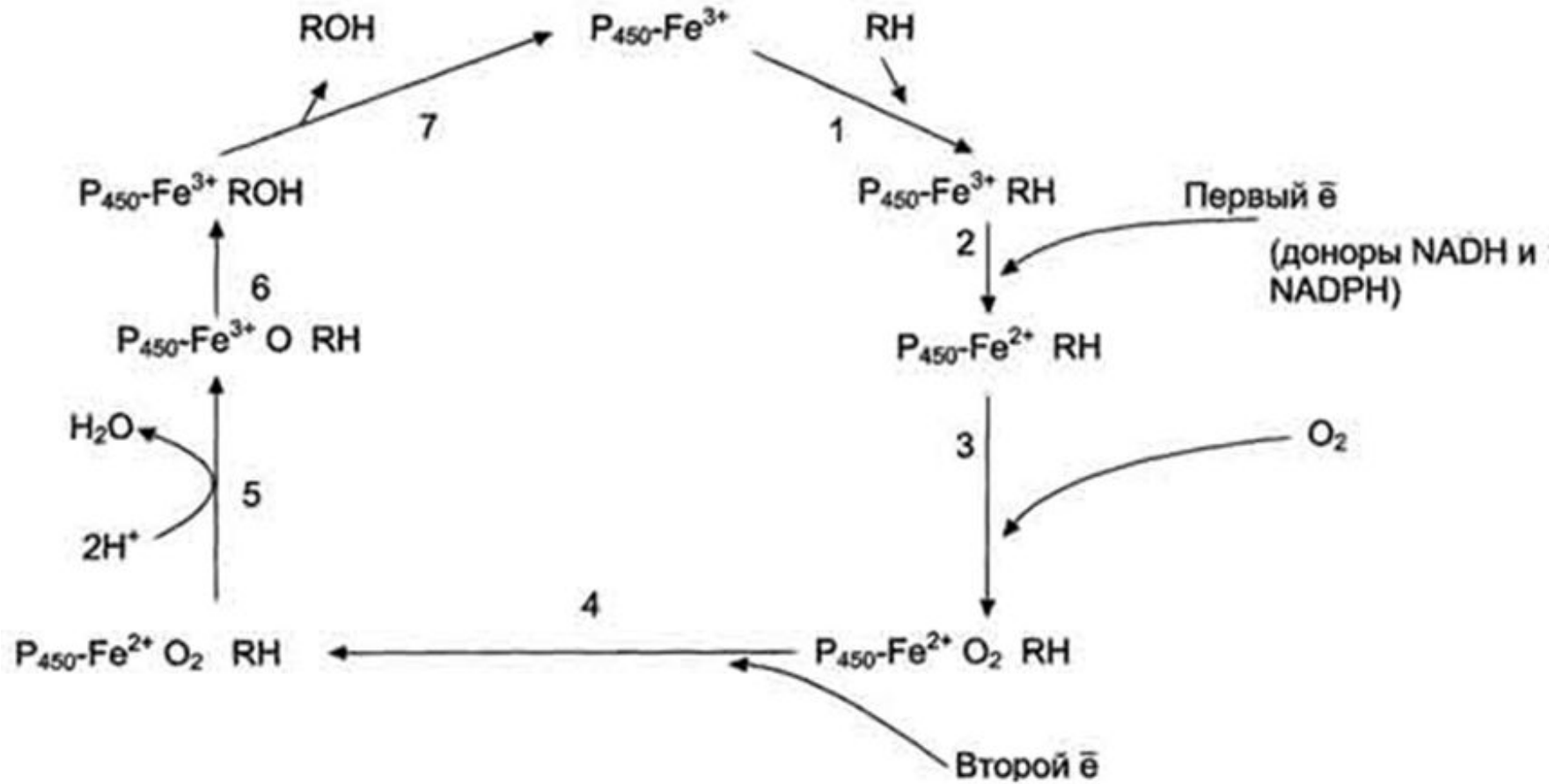


R-H — субстрат окисления (гидрофобный ксенобиотик)

R-OH — продукт микросомального окисления (гидрофильный за счет образования -ОН, что способствует его выведению из организма с мочой)

Железо в составе гема цитохрома Р-450 участвует в передаче электронов с $\text{NADPH} + \text{H}^+$ на атом кислорода с образованием H_2O .

Механизм работы электронтранспортной цепи МСГ

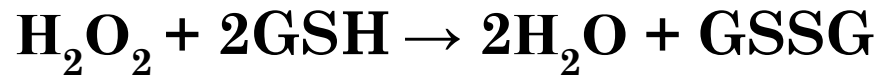


Механизм работы электронтранспортной цепи МСГ (см. схему слайда 22)

- (1) Связывание в активном центре цитохрома P_{450} вещества RH активирует восстановление железа в геме - присоединяется первый электрон (2). Изменение валентности железа увеличивает сродство комплекса $P_{450}-Fe^{2+}\cdot RH$ к молекуле кислорода (3). Появление в центре связывания цитохрома P_{450} молекулы O_2 ускоряет присоединение второго электрона и образование комплекса $P_{450}-Fe^{2+}O_2^{-}\cdot RH$ (4).
- На следующем этапе (5) Fe^{2+} окисляется, второй электрон присоединяется к молекуле кислорода $P_{450}-Fe^{3+}O_2^{2-}$. Восстановленный атом кислорода (O^{2-}) связывает 2 протона, и образуется 1 молекула воды. Второй атом кислорода идёт на построение OH -группы (6). Модифицированное вещество $R-OH$ отделяется от фермента (7).

Оксидоредуктазы: Гидропероксидазы

- Тип реакции: перенос электронов и протонов с окисляемого субстрата на H_2O_2 с образованием H_2O
- Кофакторы: железо, селен
- **Пример: глутатиопероксидаза (ГПО)**
 - Реакция необходима для восстановления (обезвреживания) сильного окислителя (H_2O_2), способного запускать процессы ПОЛ, окислительной модификации белков и нуклеиновых кислот в клетке
 - Кофермент-донор водорода: глутатион GSH (трипептид: γ -глутамил-цистеинил-глицин)
 - Кофактор: селен



GSH – восстановленный глутатион (SH - группы цистеина)

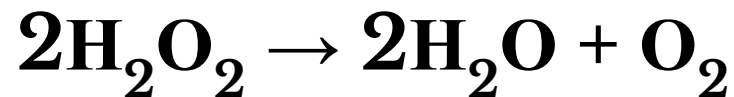
GSSG – окисленный глутатион

Восстановление глутатиона после реакции обеспечивает **глутатион редуктаза** (донор водорода – $\text{NADPH} + \text{H}^+$)

Оксидоредуктазы: Гидропероксидазы

● Пример: каталаза

- «Чемпион» в мире катализа (один из самых «быстрых» ферментов)
- Кофактор: гем (Fe^{3+})



Чем отличается «работа» каталазы и ГПО?

Оксидоредуктазы - антиоксиданты

- **Антиоксиданты** – ингибиторы процессов свободно-радикального окисления биомолекул (перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и нуклеиновых кислот) под действием активных метаболитов кислорода
- Активные метаболиты кислорода – окислители ($\text{HO}\bullet$, H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$)

- **Ферменты-антиоксиданты: каталаза, ГПО, СОД**

Супероксиддисмутаза (СОД)



- Реакция дисмутации супероксид-аниона довольно быстро протекает спонтанно, но супероксид ещё быстрее реагирует с NO , образуя пероксинитрит – сильнейший окислитель
- Супероксиддисмутаза обладает самой высокой скоростью катализа

Класс 2. Трансферазы

- Тип реакций: перенос групп атомов с одного субстрата на другой
- Подклассы характеризуют переносящую группу:
 - ▢ **Аминотрансферазы**
 - ▢ **Метилтрансферазы**
 - ▢ **Фосфотрансферазы (киназы)** и др.
- Название по номенклатуре:

Субстрат (с которого или на который идет перенос) + переносимая группа + аза

ПРИМЕРЫ:

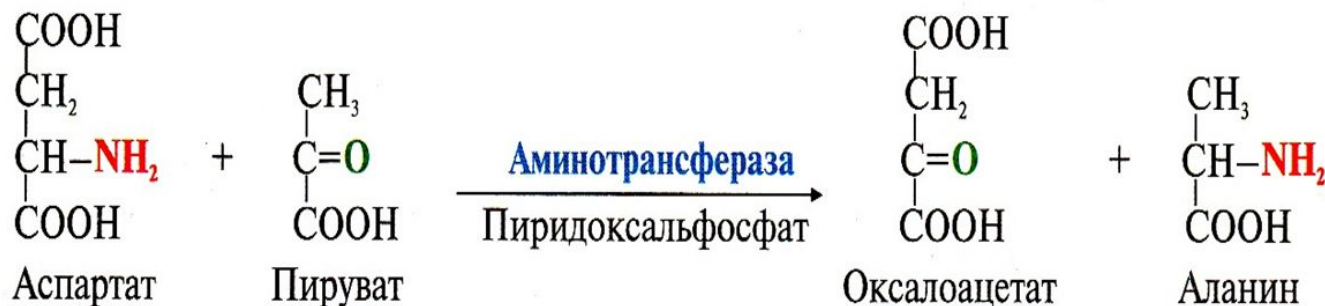
- **аланинаминотрансфераза** (перенос аминогруппы с аланина на кетокислоту)
- **норадреналинметилтрансфераза** (перенос метильной группы на норадреналин с активной формы метионина)
Два субстрата + переносимая группа + аза
- **лецитин: холестерол ацилтрансфераза** (перенос ацила — остатка жирной кислоты — с лецитина на холестерол в процессе его транспорта из крови в печень)
Субстрат (на который идет перенос) + киназа (перенос фосфатных групп с АТФ)
- **глюкокиназа** (перенос фосфата с АТФ на глюкозу)
Субстрат + фосфорилаза (перенос части субстрата на фосфорную кислоту)
- **гликогенфосфорилаза** (отщепление от гликогена остатка глюкозы с переносом на фосфорную кислоту)

Продукт + синтаза

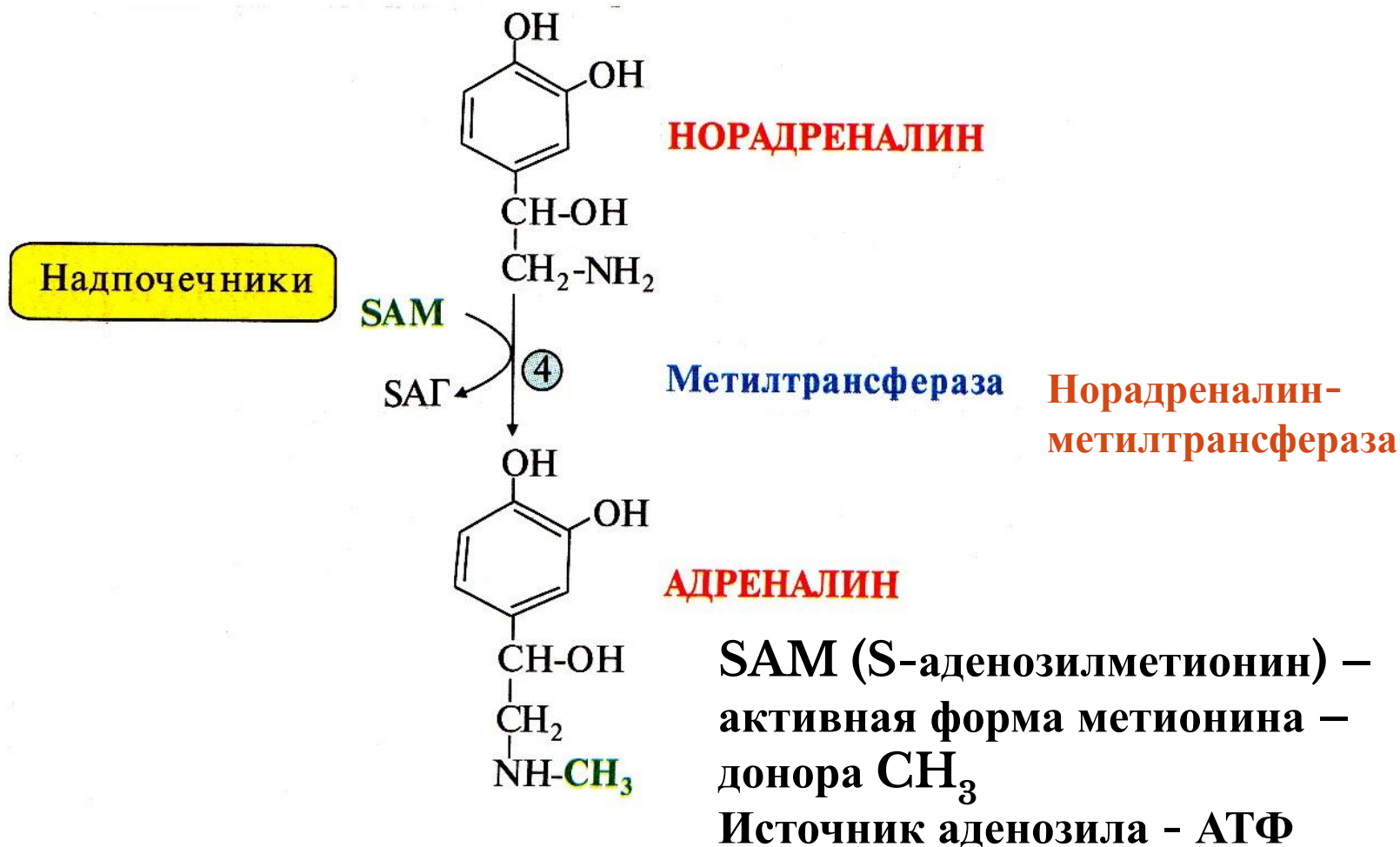
Примеры см. на слайде 8

Аминотрансферазы

- Перенос NH_2 -группы с аминокислоты на кетокислоту с образованием другой кетокислоты (из аминокислоты) и другой аминокислоты (из кетокислоты).
- Кофермент: пиридоксальфосфат (производное вит. B_6 , пиридоксина). Витамин принимает и передает аминогруппу.



Метилтрансферазы



Фосфотрансферазы (киназы)



Это реакция — «ловушка» глюкозы в клетке, т.к. глюкозо-6-фосфат не может выйти из клетки

Класс 3. Гидролазы

- Тип реакций: гидролиз (расщепление ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва)
- Подклассы характеризуют тип гидролизуемой связи:
 - **Пептидазы** (гидролиз пептидных связей)
 - ✓ Пример: пепсин (переваривание белков пищи)
 - **Гликозидазы** (гидролиз гликозидных связей)
 - Пример: амилаза (переваривание углеводов пищи)
 - **Гидролазы эфирных связей** и другие
 - ✓ Примеры: эстеразы, липазы (гидролазы эфирных связей, образованных карбоновыми кислотами), фосфатазы (гидролазы эфирных связей, образованных фосфорной кислотой)
- Название по номенклатуре:

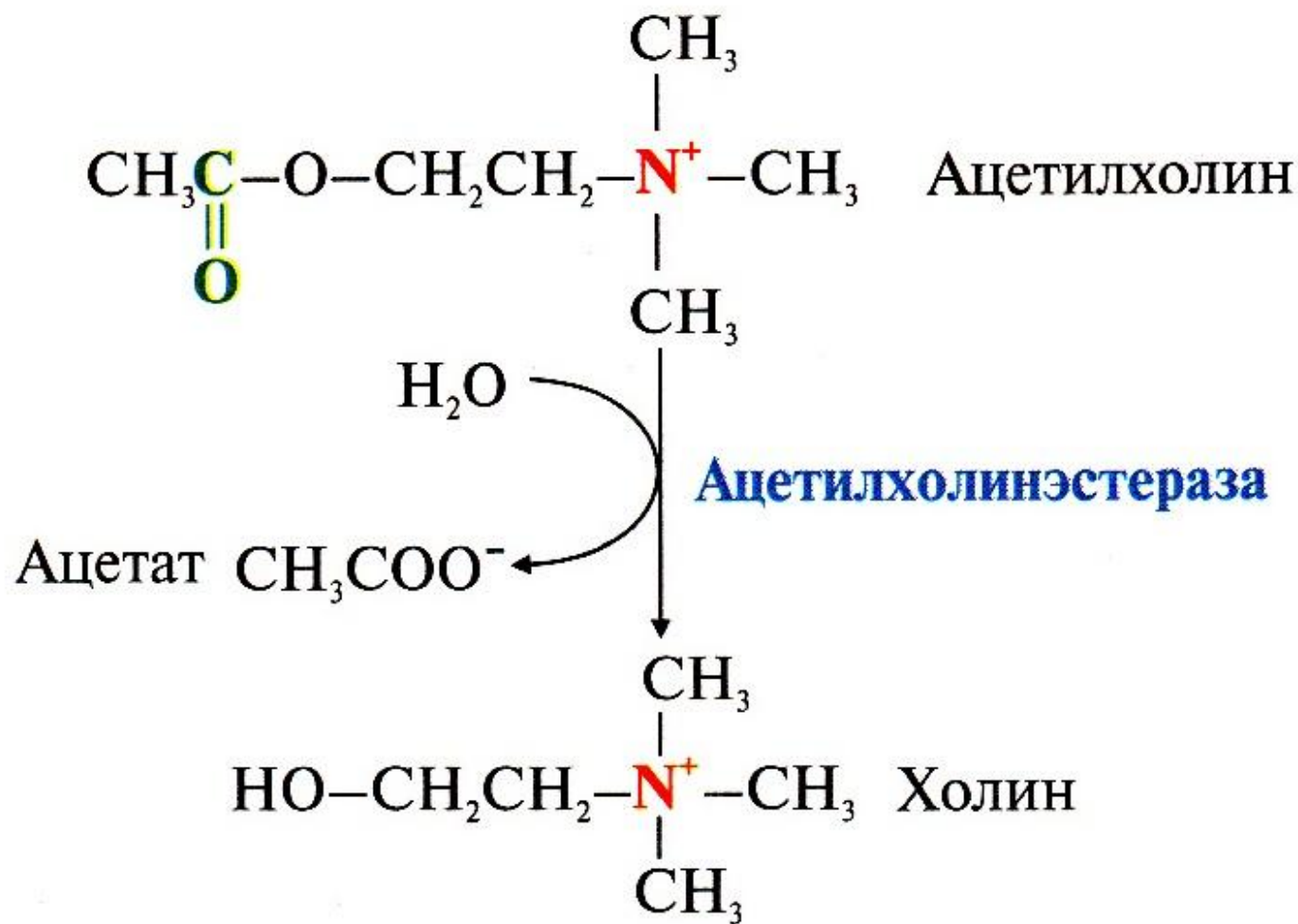
Субстрат + аза

Примеры см. на слайде 7

Субстрат + фосфатаза

- **фосфопротеинфосфатаза** (реакция регуляции активности ферментов путем их дефосфорилирования)

Гидролаза эфирных связей карбоновых кислот



Класс 4. Лиазы

- Катализируют два типа реакций:

Тип реакций 1: Расщепление связей негидролитическим путем и отщепление простых молекул (CO_2 , H_2O , NH_2 , SH_2).

- Подклассы характеризуют вид расщепляемой связи:

C-C, C-N, C-O, C-S, P-O лиазы

- Название по номенклатуре:

Субстрат + аза

Примеры см. на слайде 7

Субстрат + лиаза

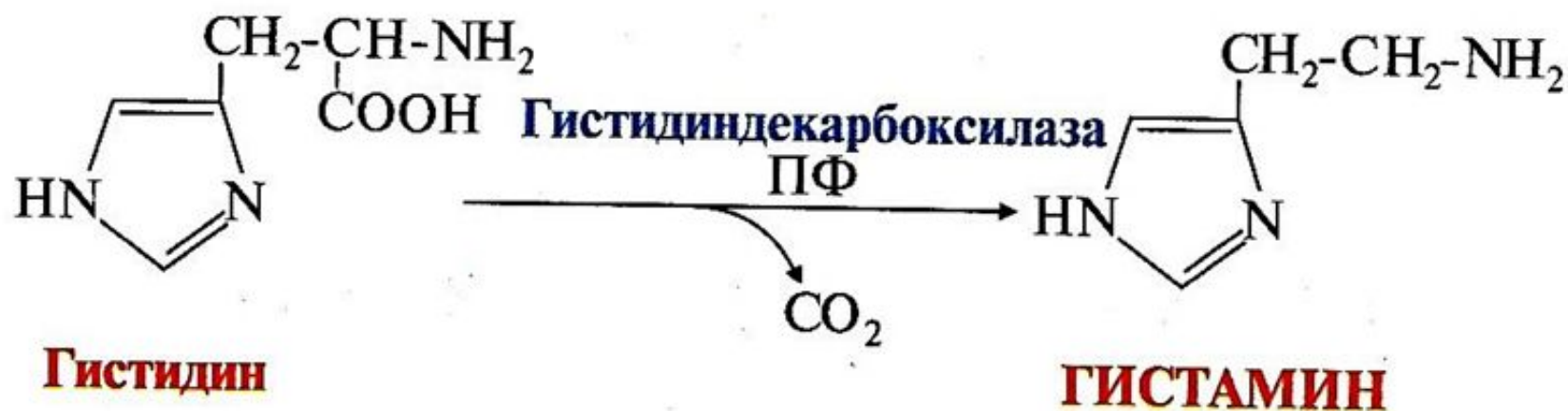
- **аргининосукцинатлиаза** (реакция в цикле обезвреживания аммиака)

Субстрат + декарбоксилаза

(C-C лиазы, расщепляющие связь $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ с отщеплением CO_2)

- **гистидиндекарбоксилаза**

Лиазы: декарбоксилазы

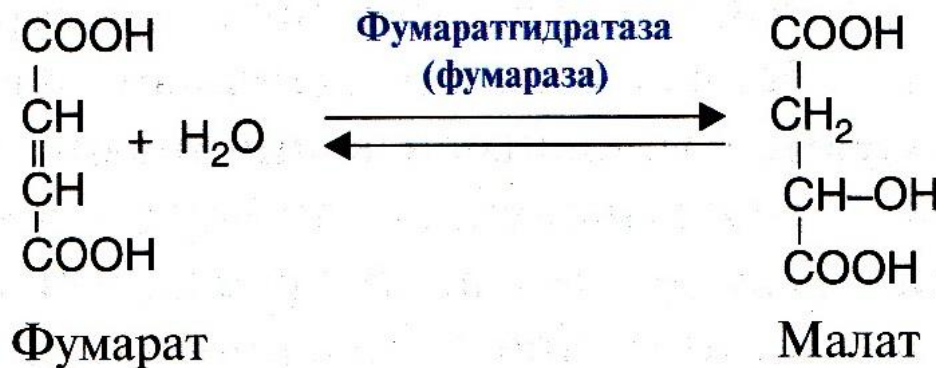


Декарбоксилазы аминокислот «работают» с коферментом – пиридоксальфосфатом (ПФ), производным вит. В₆, пиридоксина. При декарбоксилировании аминокислот образуются биогенные амины. Гистамин участвует в развитии воспалительной, аллергической реакций, «запускает» синтез соляной кислоты в желудке.

Лиазы

Тип реакций 2. Отщепление простых молекул с образованием двойной связи в продукте, в одном направлении, и присоединение простых молекул по двойной связи — в другом направлении.

Например, присоединяющие и отщепляющие воду — **гидратазы (дегидратазы)**

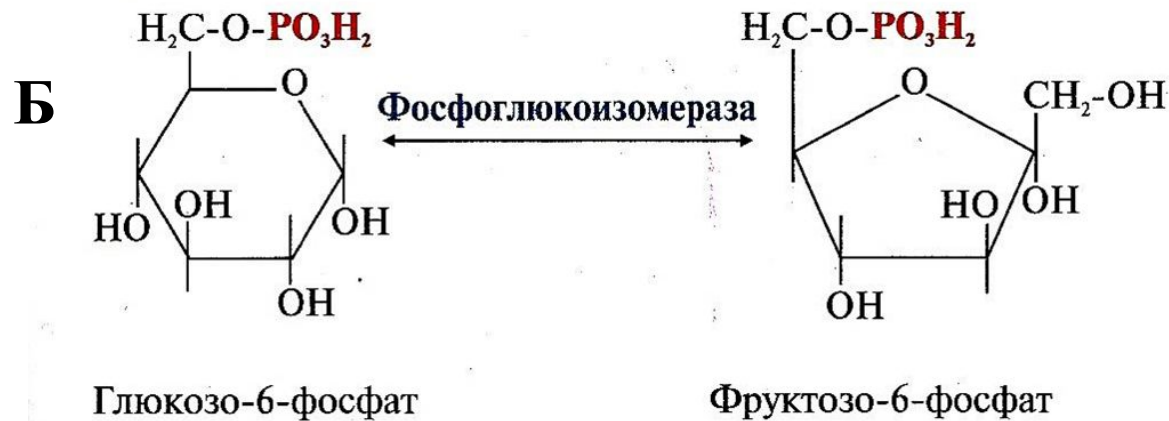
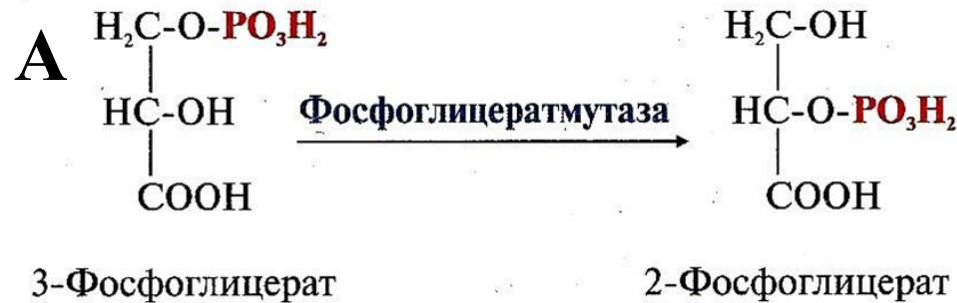


Реакция цикла Кребса в энергетическом обмене

Класс 5. Изомеразы

- Тип реакций: внутримолекулярные превращения (образование изомеров)
- Подклассы:
 - ▢ **рацемазы** (внутримолекулярные превращения субстратов, имеющих один хиральный атом углерода, например, взаимопревращения L и D –изомеров)
 - ▢ **эпимеразы** (внутримолекулярные превращения субстратов, имеющих несколько хиральных атомов углерода, например, превращение галактозы в глюкозу)
 - ▢ **цис-транс-изомеразы**
 - ▢ **Внутримолекулярные оксидоредуктазы** (окисление одной части молекулы с одновременным восстановлением другой)
 - Название: **субстрат + изомераза**
 - ▢ **Внутримолекулярные трансферазы (мутазаы)**
 - Название: **субстрат + мутаза**

Внутримолекулярная трансфераза (А) Внутримолекулярная оксидоредуктаза (Б)



Это реакции гликолиза — окисления глюкозы для синтеза АТФ

Класс 6. Лигаза (синтетазы)

- Тип реакций: соединение двух субстратов ковалентной связью (C-C, C-N, C-O, C-S) с образованием более сложного соединения (синтез нового вещества, в структуру которого входят оба субстрата)
- Подклассы характеризуют вид образуемой связи: C-C, C-N, C-O, C-S лигазы
- Реакции синтеза сопряжены с затратой энергии АТФ или ГТФ (макроэргические связи подвергаются гидролизу с освобождением энергии)

!!! Не путать с синтазами (это представители трансфераз и некоторых других классов)

С-С лигазы, образующие COOH



Название: **субстрат + карбоксилаза**

В реакции карбоксилирования участвует кофермент биотин, производное вит. Н, или В₇, биотина.

Это ключевая реакция в синтезе глюкозы, а также реакция-поставщик оксалоацетата для цикла Кребса – процесса энергетического обмена

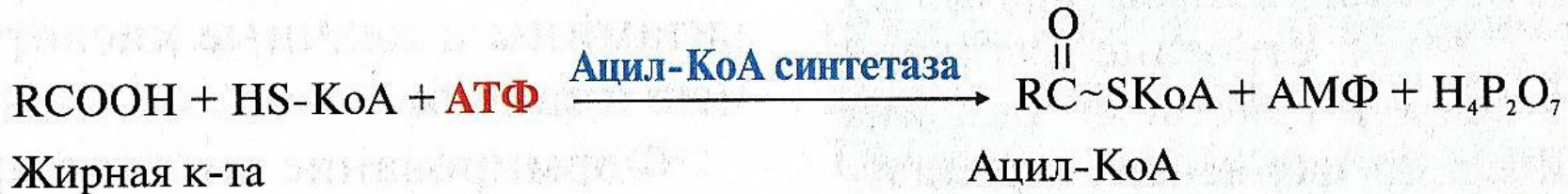
C-N лигазы



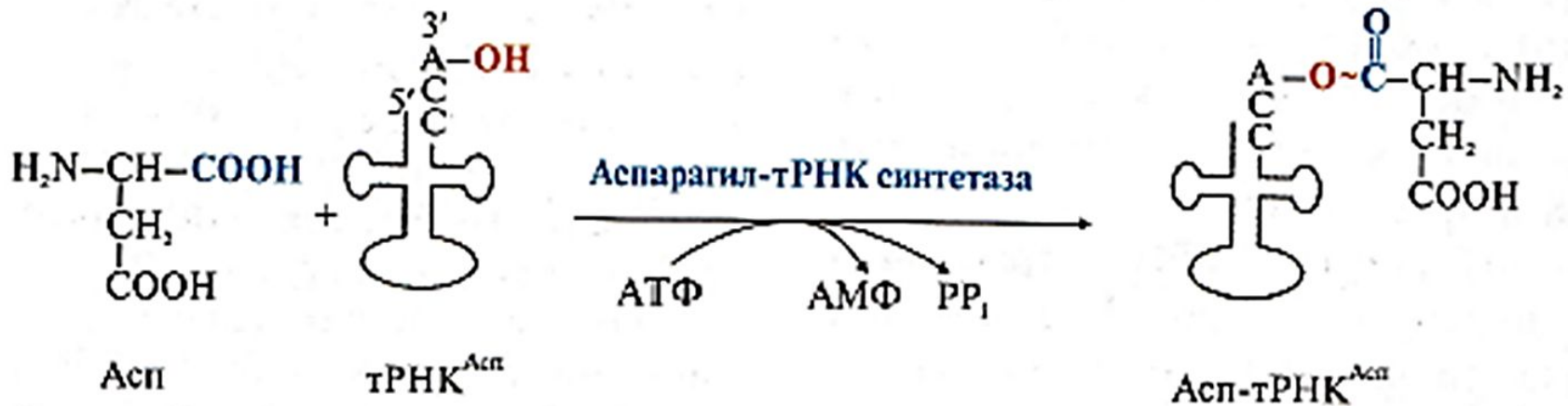
Название: **продукт + синтетаза**

Универсальная реакция обезвреживания аммиака

С-S и С-O лигазы



Реакция активации жирной кислоты



Реакция активации аминокислоты в момент трансляции

Задание для самостоятельной работы

1. Используя материал слайдов 22-25, учебник, интернет-ресурсы объясните роль реакций гидроксилирования и механизм работы электронтранспортной цепи митохондриального окисления ксенобиотиков в печени.
2. Используя знания из курса химии, интернет-ресурсы, слайды 26-28, объясните понятие «свободно-радикальное окисление», «перекисное окисление липидов», «активные метаболиты кислорода», «антиоксиданты». Назовите ферменты-антиоксиданты. Какие реакции они катализируют? К какому классу ферментов они относятся?

Задания для самоконтроля

- ❖ **Задание 1.** Определите класс ферментов, катализирующих реакции с общей формулой:
- $2\text{SH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{S} + 2\text{H}_2\text{O}$
 - $\text{SH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{S} + \text{H}_2\text{O}_2$ (с участием FAD)
 - $\text{SH}_2 + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{S} + \text{NADH} + \text{H}^+$
 - $\text{S-H} + \text{O}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{S-OH} + \text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+$
 - $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
 - $\text{S}_1 + \text{S}_2\text{-CH}_3 \rightarrow \text{S}_1\text{-CH}_3 + \text{S}_2$

Задания для самоконтроля (продолжение)

- $S + H_2O \rightarrow P_1 + P_2$
- $S \rightarrow P_1 + P_2$
- $S (-CH=CH-) + H_2O \rightarrow S (-CH_2-CH-OH)$
- $S \rightarrow P$ (изомер S)
- $S_1 + S_2 + ATP \rightarrow P (S_1S_2) + ADP + H_3PO_4$
- $S_1 + S_2 + ATP \rightarrow P (S_1S_2) + \mathbf{AMP} + H_4P_2O_7$

Задания для самоконтроля

❖ **Задание 2.** Сравните 2 реакции с участием АТФ. Назовите роль АТФ в каждом случае и класс ферментов:

- $S(OH) + ATP \rightarrow S(OPO_3H_2) + ADP$
- $S_1 + S_2 + ATP \rightarrow P(S_1S_2) + ADP + H_3PO_4$

Сравните 2 реакции с участием воды и назовите класс ферментов:

- $S + H_2O \rightarrow P_1 + P_2$
- $S(-CH=CH-) + H_2O \rightarrow S(-CH_2-CH-OH)$

Задания для самоконтроля

- ❖ **Задание 3.** Объясните разницу между названиями ферментов и назовите тип катализируемых реакций (класс ферментов):
 - 1) гидролаза, гидроксилаза, гидратаза
 - 2) киназа, фосфатаза
- ❖ **Задание 4.** По названию ферментов определите их класс (для оксидоредуктаз и их группу), назовите субстрат ферментов:
 - ✓ Лактатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, ксантиноксидаза, глутатионпероксидаза
 - ✓ Глюкокиназа, аланинаминотрансфераза
 - ✓ Глюкозо-6-фосфатаза, ацетилхолинэстераза, ТАГ-липаза
 - ✓ Гистидиндекарбоксилаза, сериндегидратаза, фумаратгидратаза
 - ✓ Фосфоглюкомутаза, фосфоглюкоизомераза
 - ✓ Пируваткарбоксилаза, глутаминсинтетаза
- ❖ **Задание 5.** Охарактеризуйте реакции, катализируемые ферментами энзимодиагностики инфаркта миокарда (см. слайд «Актуальность темы»). Назовите субстраты, продукты, класс.

Заключение

- В настоящее время число различных известных реакций, катализируемых ферментами, составляет около 2 тысяч и число их непрерывно возрастает. Для того, чтобы ориентироваться в этом множестве биохимических превращений Международный союз биохимии и молекулярной биологии создал классификацию и номенклатуру ферментов.
- В основу классификации ферментов положен тип катализируемой реакции.
- В основу номенклатуры — субстрат и тип реакции.

Литература

1. Биохимия: учебник для вузов / Е. С. Северин - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. -768 с.
2. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / ред. С. Е. Северин. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 624 с.
(С.73-76; С. 552 обезвреживание ксенобиотиков при участии монооксигеназ микросом печени)
3. Биологическая химия: учебник для студентов медицинских вузов / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2007. – 568 с.