

# Ферменты (Энзимы)

**Ферменты** (от лат. *fermentum* - закваска), или **энзимы** (от греч. *en* - внутри, *zym* - закваска) – биокатализаторы белковой природы.

Являясь веществами белковой природы, ферменты обладают всеми **свойствами белков**.

Используются живыми организмами для катализа многих тысяч взаимосвязанных химических реакций, включая синтез, распад и взаимопревращение веществ и др.

Наука о ферментах называется **энзимологией**.

## **Отличие ферментов от небиологических катализаторов**

- 1. Высокая эффективность действия (скорость ферментативных реакций в  $10^6$ - $10^{12}$  раз выше, чем соответствующих неферментативных реакций).**
- 2. Высокая специфичность действия (фермент катализирует превращение одного конкретного субстрата, либо схожей группы субстратов).**
- 3. Мягкие условия протекания ферментативных реакций ( $t \sim 37$  °С, нормальное атмосферное давление, рН, близкий к нейтральному).**
- 4. Способность к регуляции.**

**Подобно всем белкам ферменты избирательно присоединяют определенные вещества – лиганды .**

**Лиганд, присоединяющийся к ферменту и подвергающийся химическим превращениям, называется субстратом.**

**Вещества, образовавшиеся из субстрата под действием фермента называются продуктами реакции.**

## Активный центр фермента:

1. Участок молекулы фермента, сформированный на уровне третичной структуры, ответственный за связывание с субстратом **по принципу комплементарности** и участвующий в катализе.
2. Расположен в узком гидрофобном углублении (щели) поверхности молекулы фермента.
3. Активный центр фермента в отличие от активного центра белка имеет 2 участка:
  - 1) *Субстратсвязывающий участок (якорный);*
  - 2) *Каталитический участок.*
4. В активный центр фермента часто входит участок или домен для связывания кофактора.



**Кофактор**, в свою очередь, называться может **коферментом** (НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФМН, ФАД, биотин) или **простетической** группой (гем, ионы металлов Fe<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, олигосахариды).

Деление на коферменты и простетические группы не всегда однозначно:

- если связь кофактора с белком **прочная**, то в этом случае говорят о наличии **простетической группы**,
- если в качестве кофактора выступает **производное витамина** – то его называют **коферментом**, независимо от прочности связи.

Для осуществления катализа необходим полноценный комплекс апобелка и кофактора, по отдельности катализ они осуществить не могут.

Как многие белки, ферменты могут быть **мономерами**, т.е. состоять из одной субъединицы, и **полимерами**, состоящими из нескольких субъединиц.

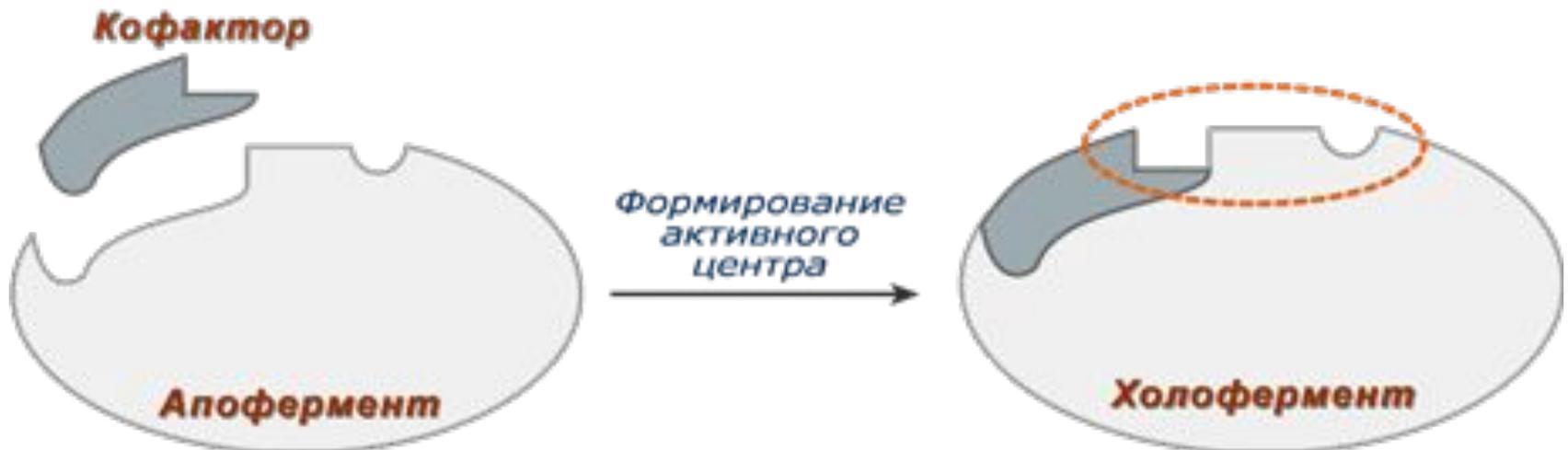
**Апоферменты** синтезируются в организме, **термолабильны** и определяют **специфичность** ферментов.

**Кофактор термостабилен**, не всегда может образоваться в организме и поэтому должен поступать с пищей. Многие коферменты являются производными **водорастворимых** **ВИТАМИНОВ**.

Кофактор входит в состав активного центра, участвует в связывании субстрата или в его превращении.



*Схема строения ферментов*



*Схема формирования сложного фермента*

# Механизм действия ферментов

В химическую реакцию могут вступить лишь те молекулы, которые имеют определенный запас энергии.

Уровень энергии молекул, необходимый для протекания данной химической реакции, называется **энергетическим барьером**.

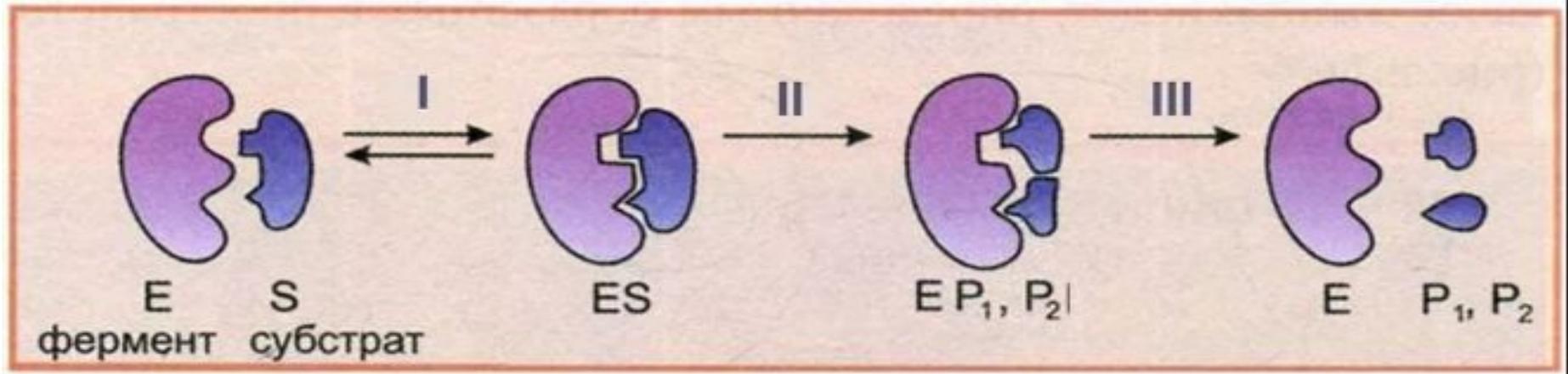
Та избыточная энергия, которая необходима для перевода всех молекул одного моля вещества в активированное состояние для достижения или превышения энергетического барьера при обычной температуре, называется **энергией активации**.

При участии фермента реакция идет в обход энергетического барьера. Это обусловлено тем, что в ходе реакции фермент вступает во взаимодействие с субстратом с образованием **фермент-субстратного комплекса** (промежуточное соединение).



При этом происходит изменение конформации субстрата, создается напряжение ковалентных связей, в результате чего энергии, необходимой для их разрыва, потребуется значительно меньше, т.е. реакция с высокой энергией активации заменяется реакцией с низкой её величиной (**снижается энергия активации**).

# Этапы ферментативного катализа



**I – образование фермент-субстратного комплекса:**

На этом этапе: а) субстрат приближается к активному центру фермента; б) происходит взаимное изменение конформации E и S, возникает строгая комплементарность между S и активным центром E (индуцированное соответствие).

**II. Дестабилизация связей в молекуле субстрата.**

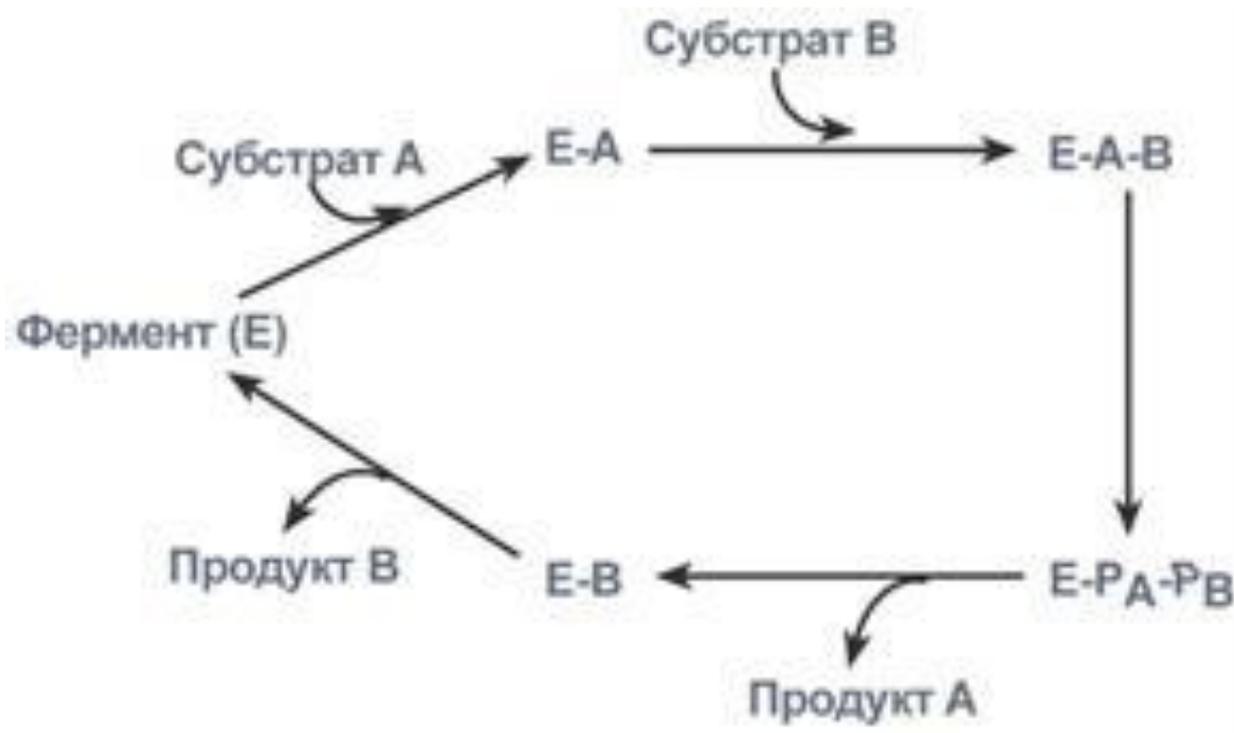
**III. Образование продуктов реакции и выход их из области активного центра фермента.**

# Типы ферментативных реакций

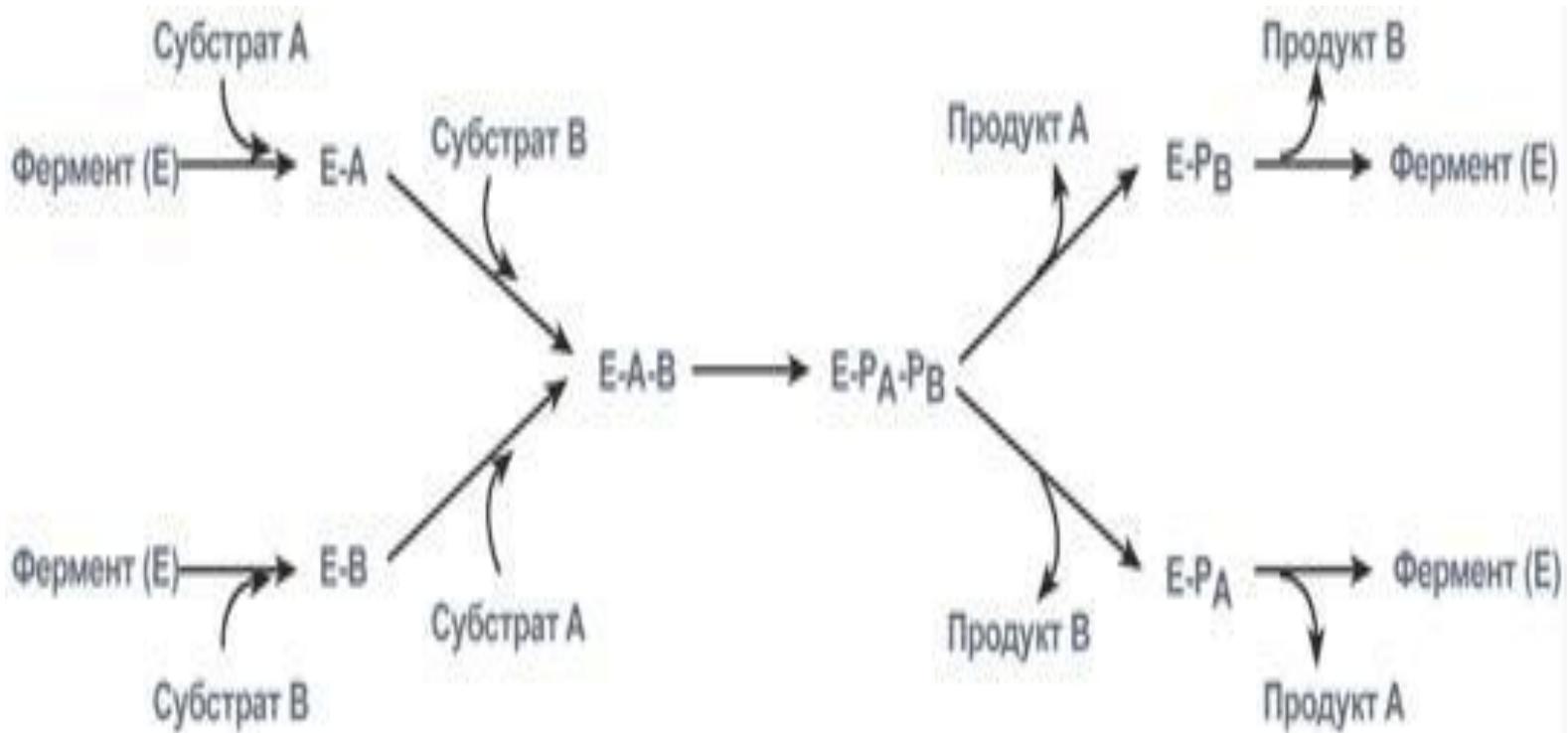
**1. Тип "пинг-понг"** – фермент сначала взаимодействует с субстратом А, отбирая у него какие либо химические группы и превращая в соответствующий продукт. Затем к ферменту присоединяется субстрат В, получающий эти химические группы. Примером являются реакции переноса аминогрупп от аминокислот на кетокислоты - **трансаминирование**.



**2. Тип последовательных реакций** – к ферменту последовательно присоединяются субстраты А и В, образуя **"тройной комплекс"**, после чего осуществляется катализ. Продукты реакции также последовательно отщепляются от фермента.



**3. Тип случайных взаимодействий –**  
субстраты А и В присоединяются к ферменту  
в любом порядке, **неупорядоченно**, и после  
катализа так же отщепляются.



•Активный центр фермента

Участок  
связывани  
я

Каталитический участок

обеспечивает субстратную  
специфичность  
(выбор субстрата)

химического превращения

Абсолютная специфичность

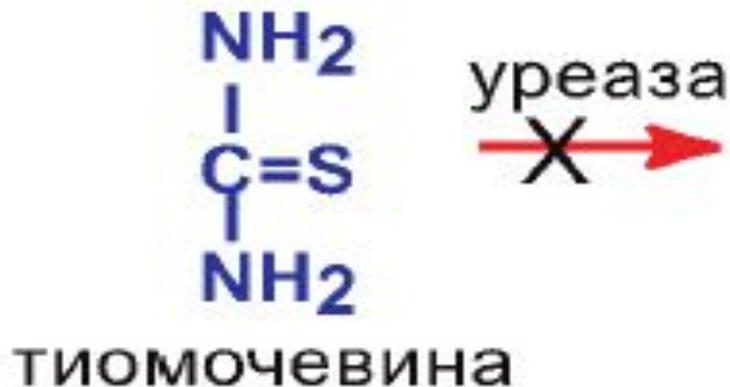
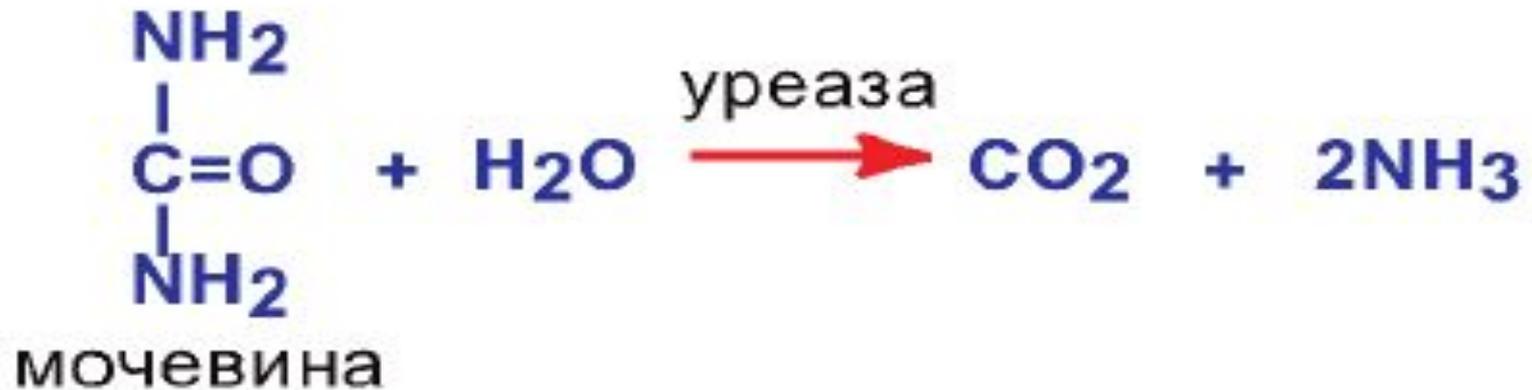
Групповая специфичность

Стереоспецифичность

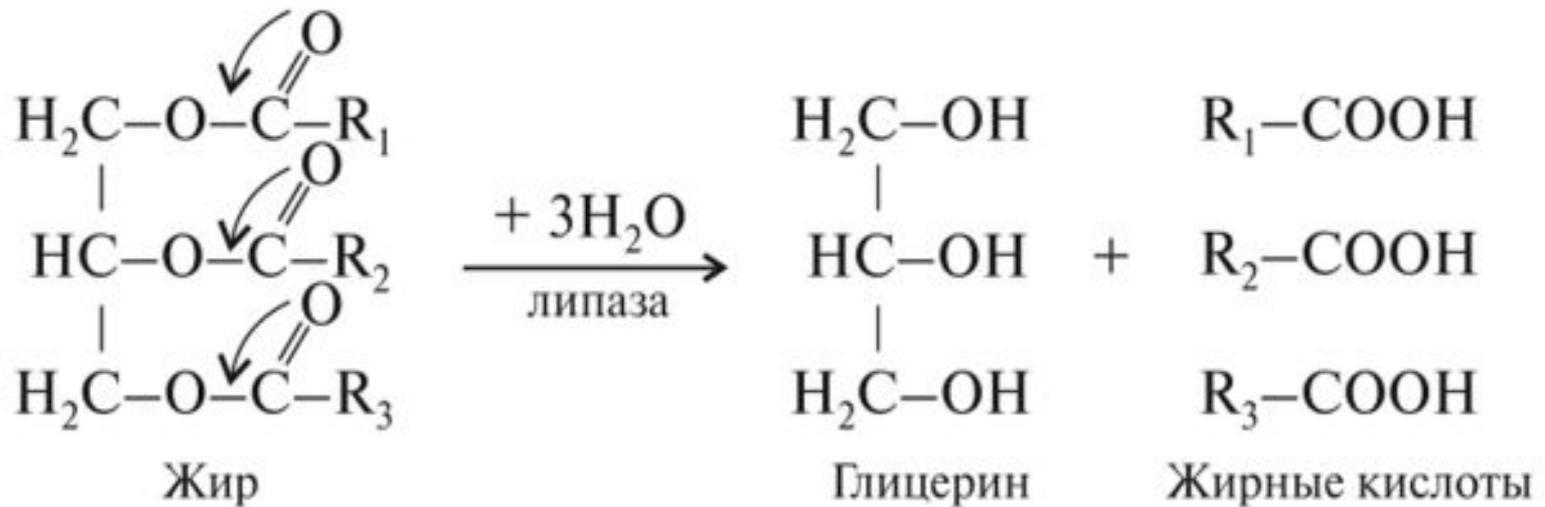
Специфичность пути  
превращения

**Абсолютная субстратная специфичность** – фермент катализирует превращение только одного конкретного субстрата.

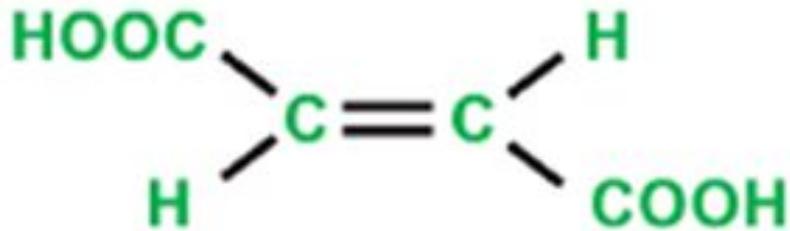
**Пример:**



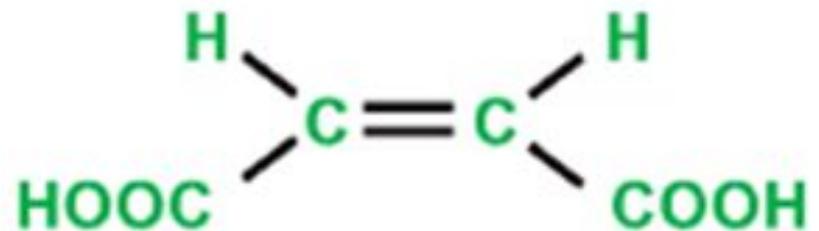
**Относительная (групповая) специфичность** – фермент катализирует однотипные превращения схожих по строению веществ. Например, липаза гидролизует жиры:



**Стереоспецифичность** – фермент катализирует превращение только одного из стереоизомеров для данного вещества. Например, фермент **фумараза** оказывает действие **только на фумарат**. Малейнат (цис-изомер фумарата) не является субстратом фумаразы.



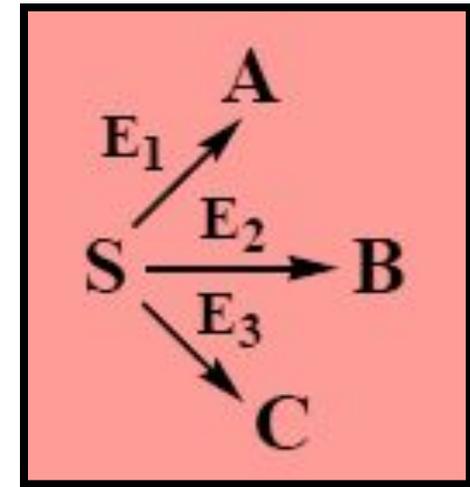
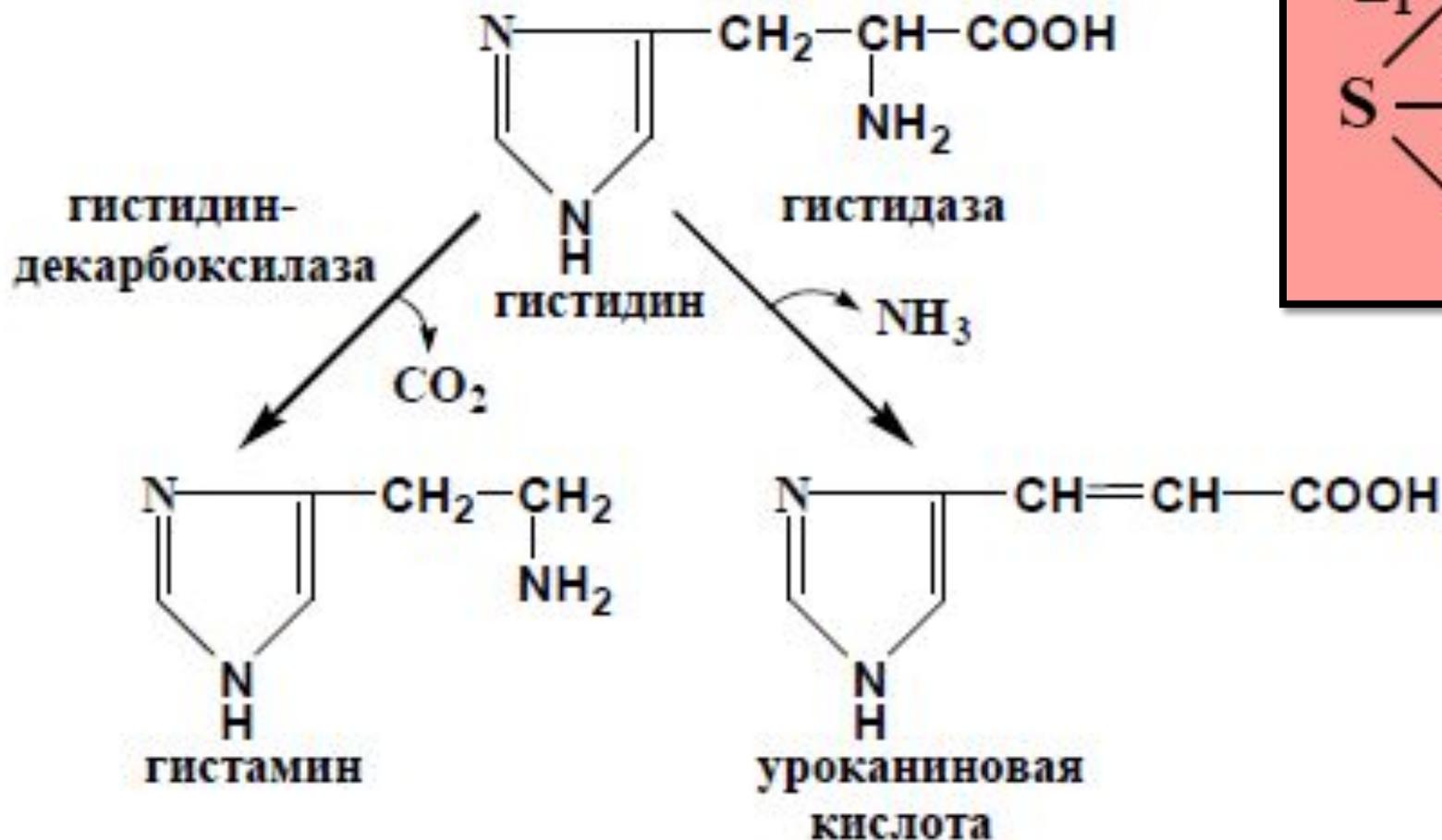
Фумарат  
«транс» - изомер



Малейнат  
«цис» - изомер

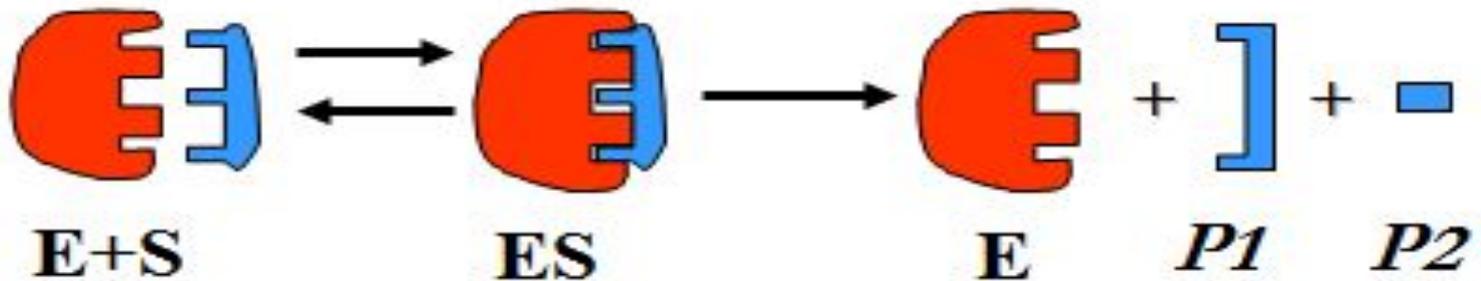
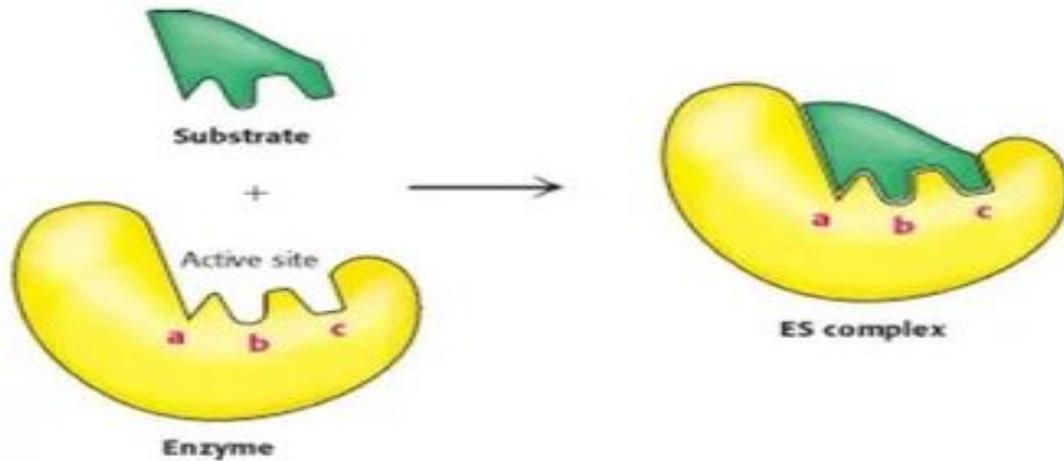
**Каталитическая специфичность** (специфичность пути превращения) – фермент катализирует только одно превращение субстрата из всех возможных:

**Пример:**



# Теории о специфичности действия ферментов

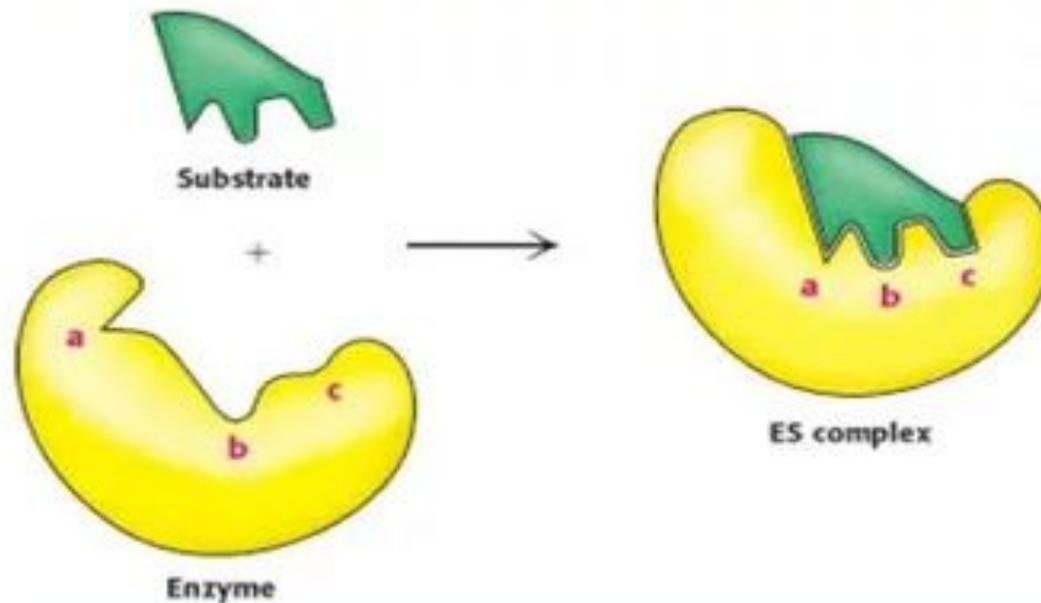
1. Теория Фишера (1890г., модель «ключ – замок», модель "жесткой матрицы») - активный центр фермента строго соответствует конфигурации субстрата и не изменяется при его присоединении. Эта модель хорошо объясняет абсолютную специфичность, но не групповую.



## 2. Теория Кошланда

(1958г., 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.

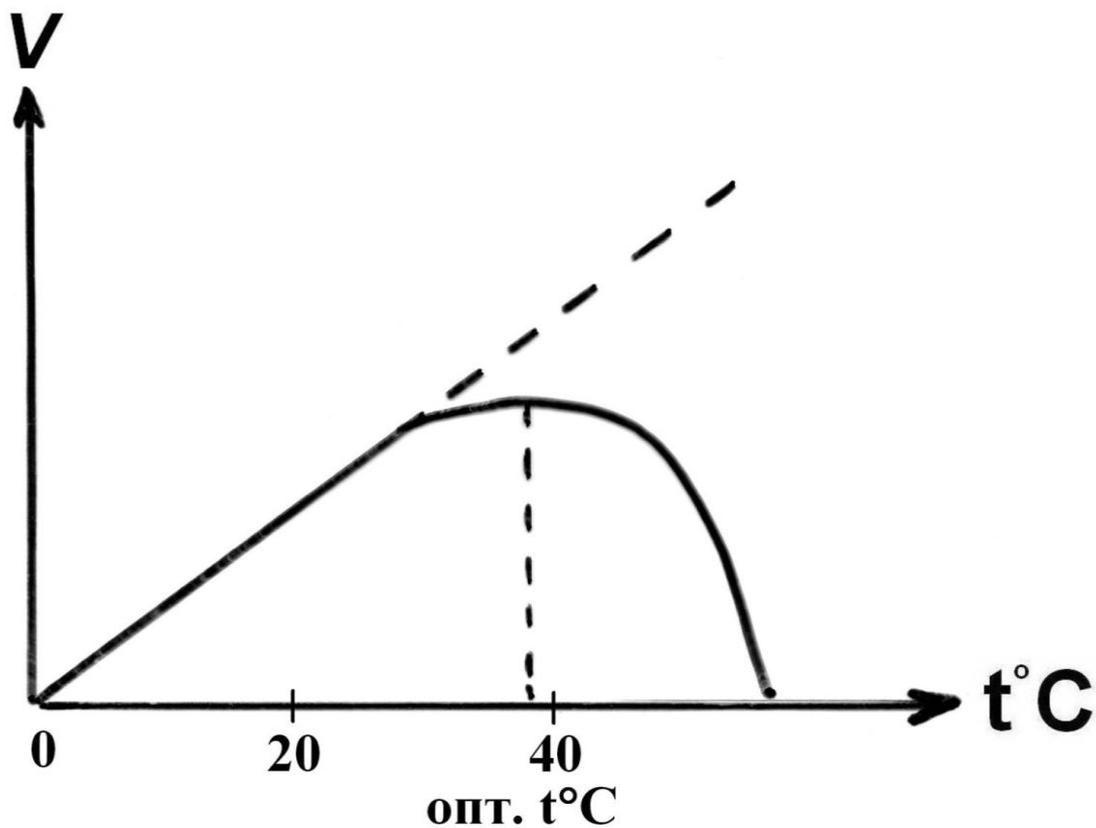
**Современные представления** - при взаимодействии фермента и субстрата **оба подвергаются модификации и подстраиваются друг под друга.**



# Кинетика ферментативных реакций

## *Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры среды*

Скорость химической реакции, катализируемая ферментами, имеет свой **температурный оптимум** (температура, при которой фермент обладает максимальной активностью), превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, возникающим из-за термической денатурации белковой молекулы: *изменяется конформация фермента и его активного центра; нарушается комплементарность активного центра и субстрата; снижается скорость ферментативной реакции.*

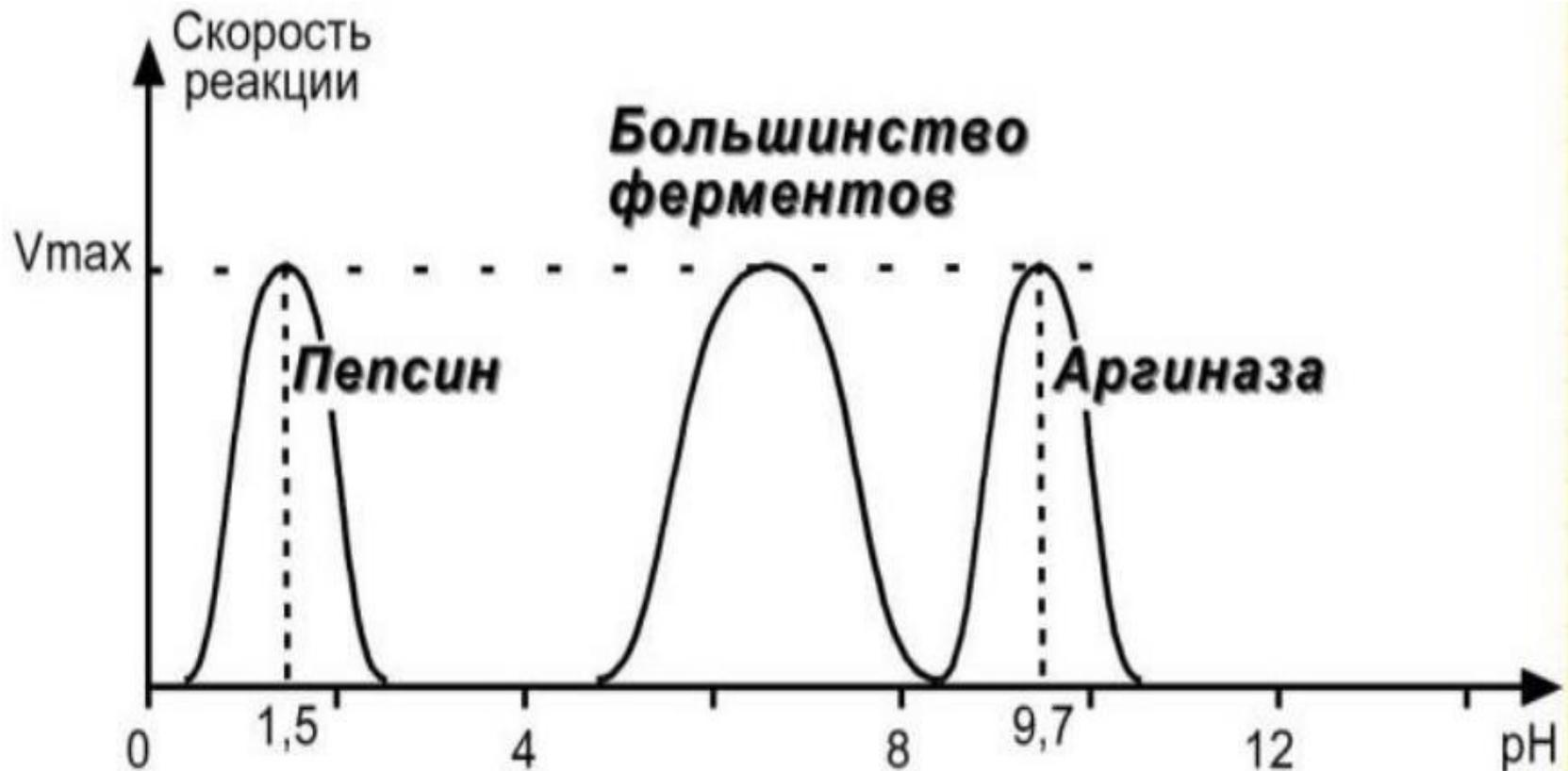


*График зависимости скорости реакции от температуры*

## *Зависимость скорости реакции от pH среды*

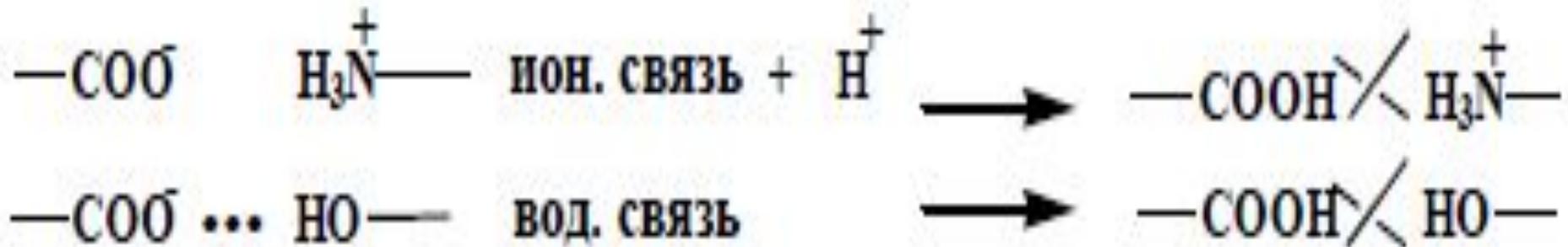
**Оптимум pH** – это такое значение pH, при котором фермент проявляет максимальную активность.

Для каждого фермента характерен довольно узкий интервал pH, при котором он активен.



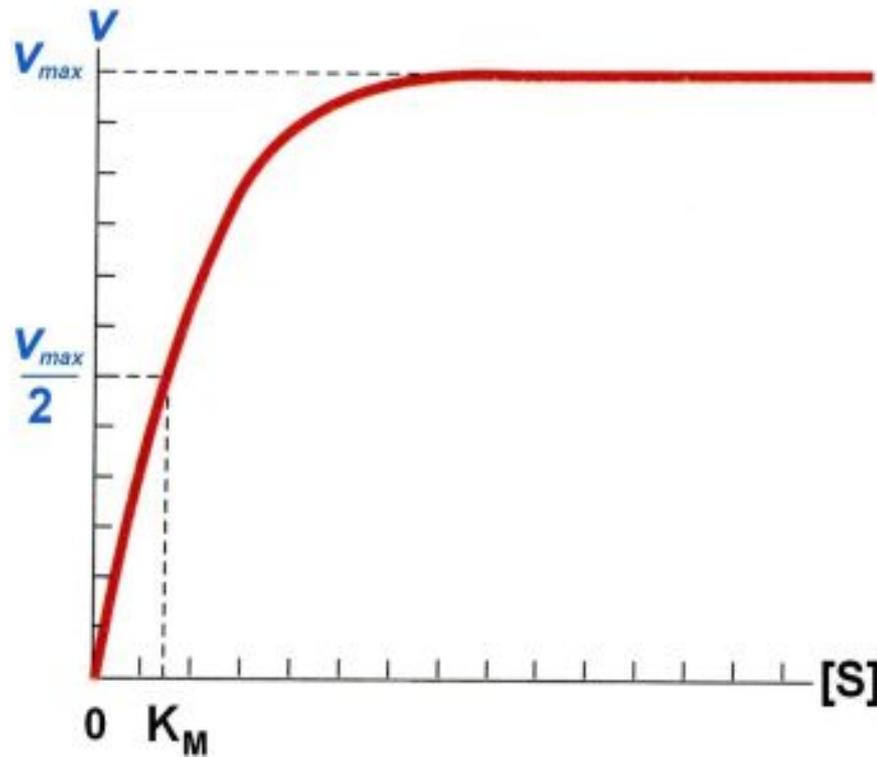
При изменении рН среды в сторону от оптимума активность фермента уменьшается, т.к. происходит изменение ионизации функциональных групп молекулы белка.

Например, при закислении среды происходит протонирование свободных аминогрупп ( $\text{NH}_3^+$ ), а при защелачивании происходит отщепление протона от карбоксильных групп ( $\text{COO}^-$ ). Это приводит к изменению конформации молекулы фермента и конформации активного центра; следовательно, нарушается присоединение субстрата, кофакторов и коферментов к активному центру.



## *Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата*

Если концентрацию ферментов оставить постоянной, изменяя только количество субстрата, то график скорости ферментативной реакции описывают гиперболой:



**$V_{max}$**  – это такая скорость ферментативной реакции, при которой достигается полное насыщение фермента субстратом, т.е. когда все активные центры фермента связаны с субстратом.

***КМ – константа Михаэлиса:***

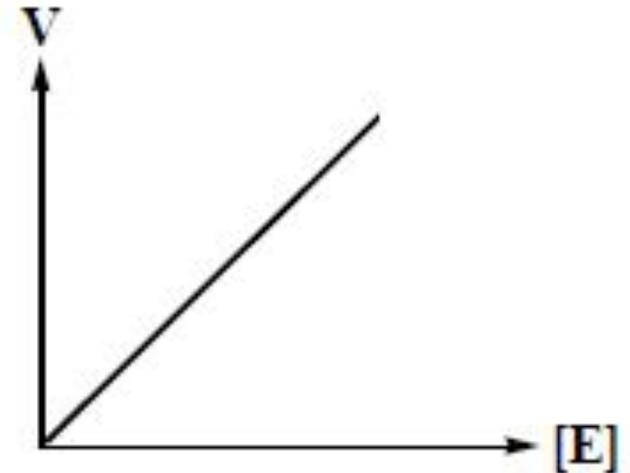
- численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции **равна  $\frac{1}{2} V_{max}$** .
- показывает **сродство E к S** и является величиной постоянной, не зависящей от концентрации фермента.

Чем меньше КМ, тем больше сродство фермента к данному субстрату и наоборот.

## *Зависимость скорости реакции от концентрации фермента*

**В условиях избытка субстрата скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна концентрации фермента.**

**Поскольку количества фермента не возможно измерить в абсолютных величинах (н., в граммах), на практике пользуются условными величинами, характеризующими активность фермента.**



*1 МЕ (международная единица активности) – это такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин или образование 1 мкмоль продукта за 1 мин при оптимальных условиях:*

$$1 \text{ МЕ} = \frac{1 \text{ мкмоль (S)}}{1 \text{ мин}} \text{ ИЛИ } \frac{1 \text{ мкмоль (P)}}{1 \text{ мин}}$$

Для того, чтобы оценить количество молекул фермента среди других белков данной ткани, определяют удельную активность.

Удельная активность – это отношение количества единиц активности фермента в образце ткани к массе белка (в мг) в этой ткани:

$$\frac{\text{количество превращенного субстрата, мкмоль}}{\text{навеска ткани, г} \cdot \text{время инкубации, мин}} = A_{\text{уд}}$$

По удельной активности часто судят об очистке E: чем меньше посторонних белков, тем выше  $A_{\text{уд}}$ .

В 1973 году была принята новая единица активности – катал (1 моль S/сек.)

# Классификация ферментов

В 1961 г в Москве V Международный биохимический союз принял современную классификацию ферментов.

В соответствии с этой классификацией все ферменты делятся:

- **на классы** – по типу катализируемой реакции,
- каждый класс подразделяется **на подклассы** – по природе атакуемой химической группы,
- подклассы делятся на **подподклассы** – по характеру атакуемой связи или по природе акцептора.

<b>Оксидоредуктазы</b>	→	Окислительно – восстановительные реакции всех типов
<b>Трансферазы</b>	→	Перенос отдельных атомов и групп атомов
<b>Гидролазы</b>	→	Гидролитическое расщепление химических связей
<b>Лиазы</b>	→	Негидролитическое расщепление двойных связей или их образование
<b>Изомеразы</b>	→	Взаимопревращения различных изомеров
<b>Лигазы</b>	→	Образование связей при взаимодействии двух или более соединений (с помощью энергии АТФ)

***Классификация ферментов***

# Шифр фермента

Каждому ферменту присвоен четырехзначный классификационный номер (шифр - КФ), включающий **класс, подкласс, подподкласс и порядковый номер в подподклассе.**

Примеры:

- **алкогольдегидрогеназа** имеет номер **КФ 1.1.1.1.** – это оксидоредуктаза, действует на ОН-группу донора с НАД в качестве акцептора с первым порядковым номером в своем подподклассе;
- **лактатдегидрогеназа** – **КФ 1.1.1.27**, действует на ОН-группу донора с НАД в качестве акцептора с порядковым номером **27** в своем подподклассе

## Название фермента

**Систематическое** – согласно современной классификации, применяемое для однозначной идентификации фермента.

**Рабочее** - добавляется окончание **"-аза"** **к названию субстрата**– уреазы, сахаразы, липазы, нуклеазы или **к названию химического превращения** определённого субстрата, например, лактатдегидрогеназы, аденилатциклазы, фосфоглюкомутазы, пируваткарбоксилазы.

**Тривиальное** – сложившиеся **исторически**, которые не дают представления ни о субстрате, ни о типе химического превращения, например, трипсин, пепсин, химозин, тромбин.

# 1. Оксидоредуктазы

Катализирует различные окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов (перенос электронов или атомов водорода с одного субстрата на другой).

Систематическое название составляют по формуле :

**«донор: акцептор-оксидоредуктаза»**

**Основные подклассы:**

- Дегидрогеназы
- Оксидазы
- Оксигеназы (гидроксилазы)

**Дегидрогеназы** – катализируют реакции присоединения или отщепления атомов водорода (дегидрирования).

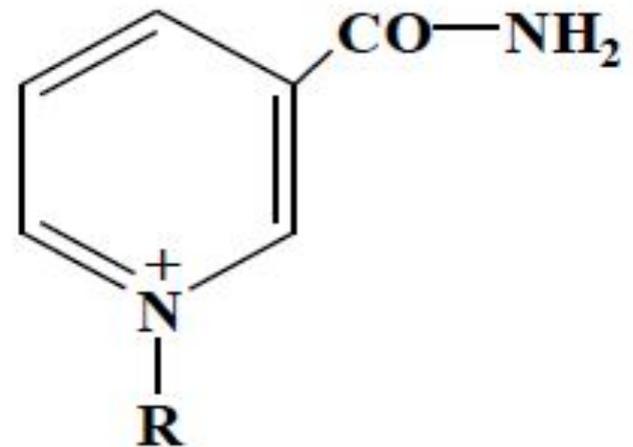
По типу кофермента различают:

- **НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>** – зависимые дегидрогеназы (предшественник: витамин РР);

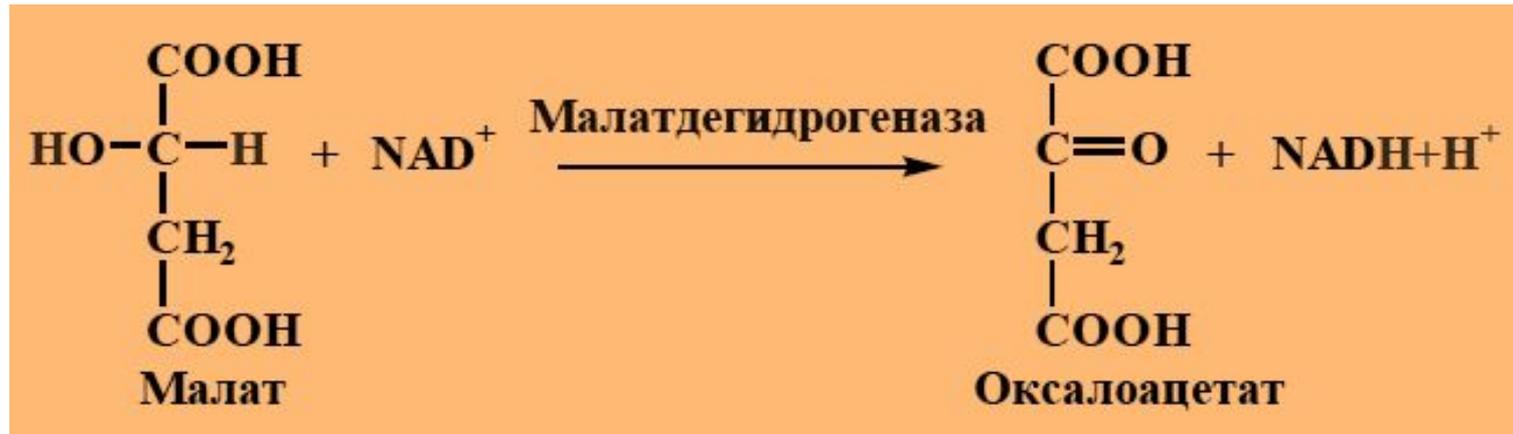
- **ФАД и ФМН** – зависимые дегидрогеназы (предшественник: витамин В<sub>2</sub>)

Коферменты **NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>, FAD и FMN** выполняют **роль акцепторов атомов водорода.**

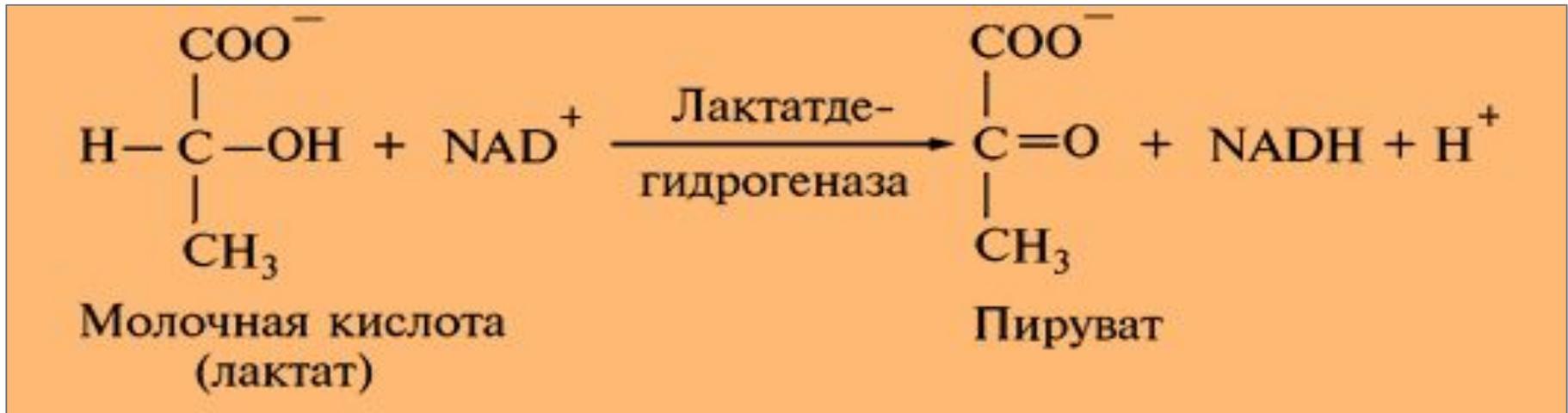
*Активная часть коферментов  
НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>:*



## Примеры реакций с участием НАД<sup>+</sup>

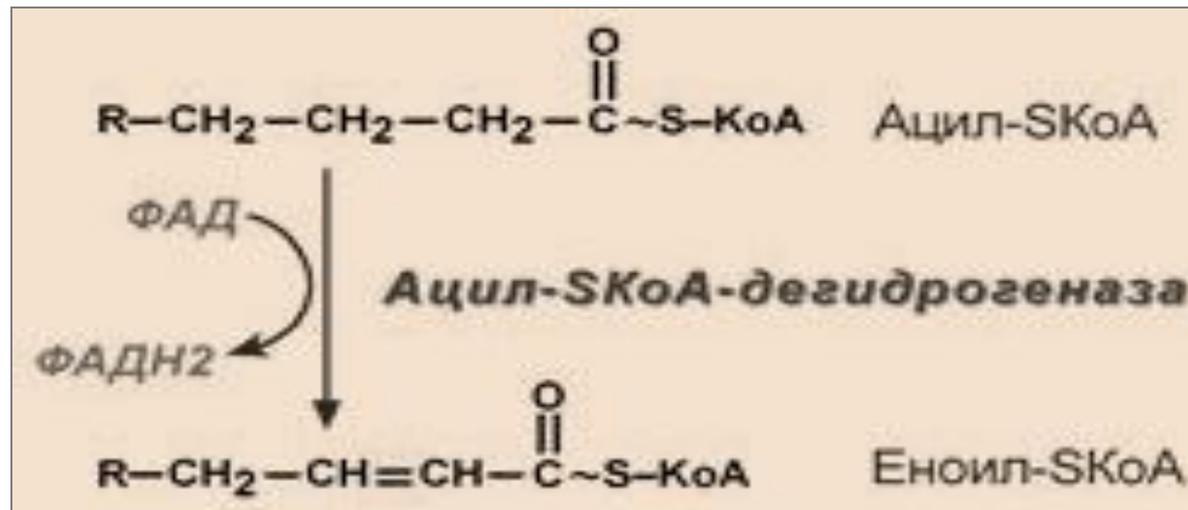
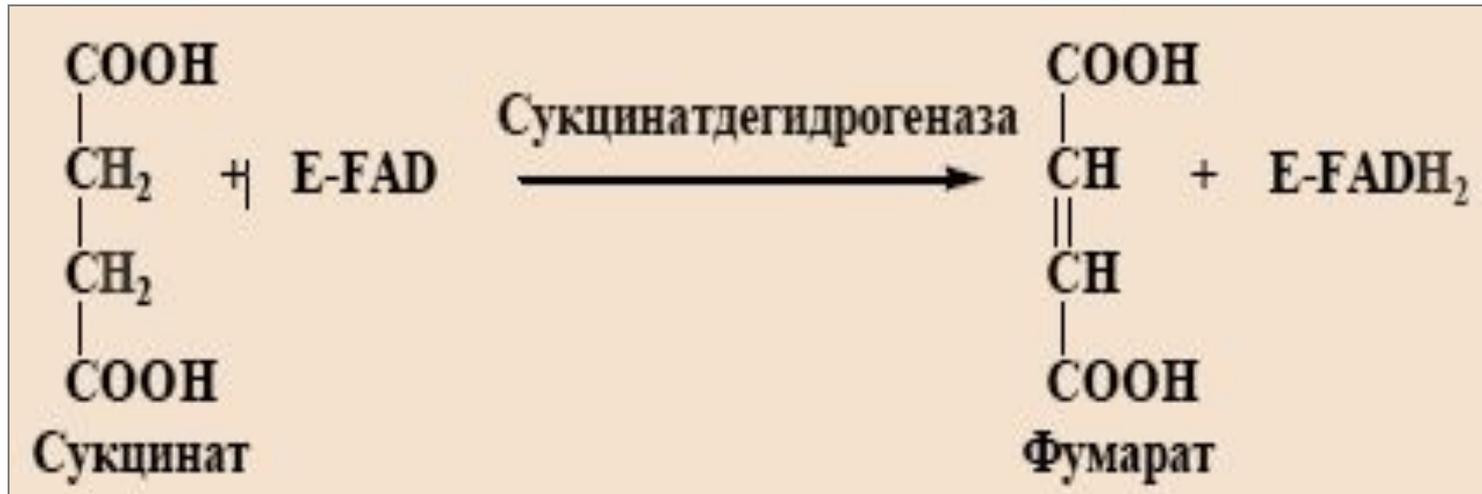


**Малат: НАД<sup>+</sup> - оксидоредуктаза**

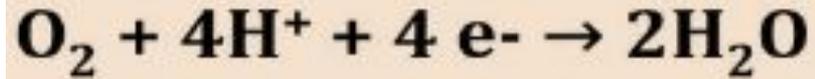


**Лактат: НАД<sup>+</sup> - оксидоредуктаза**

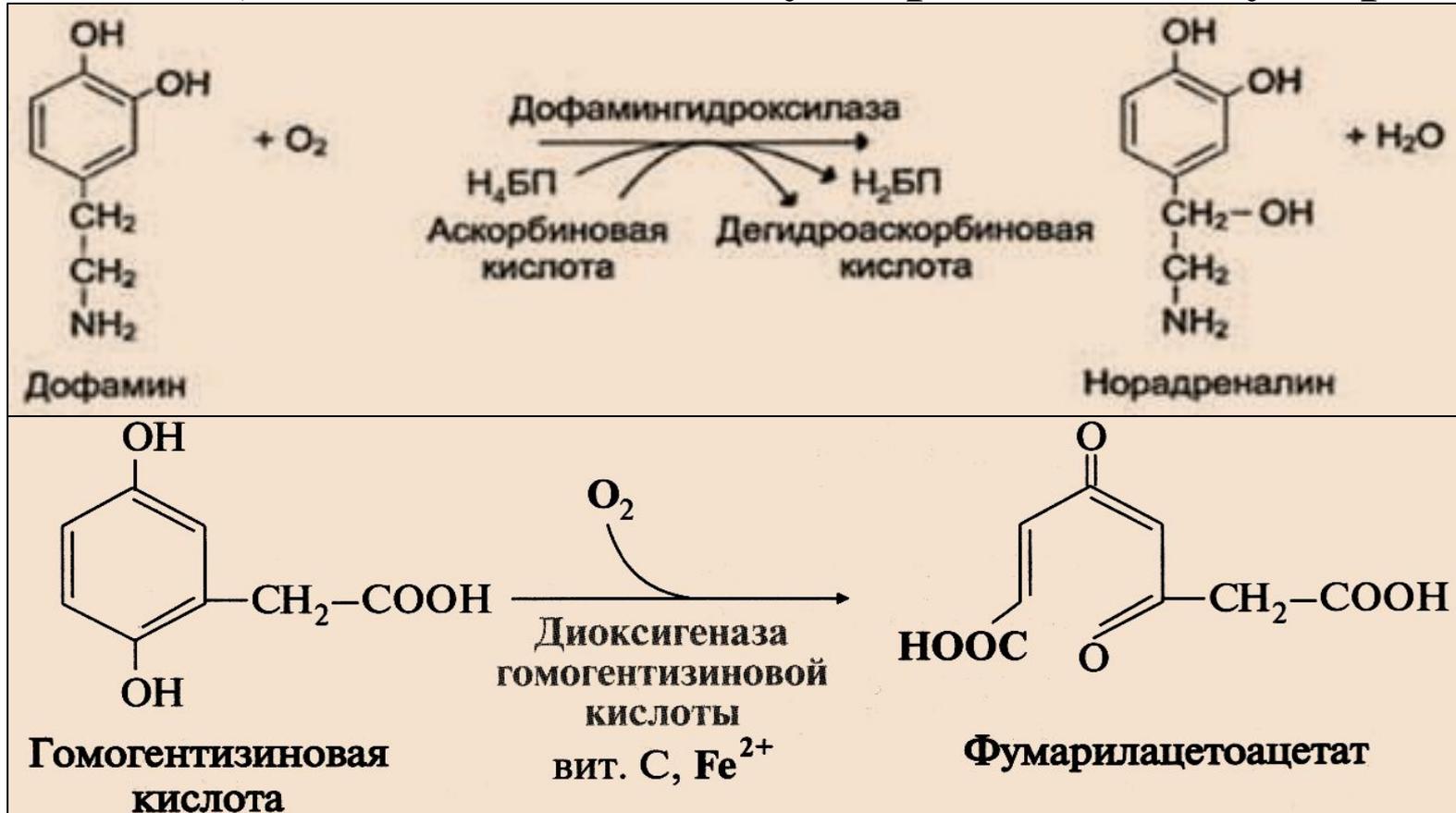
# Примеры реакций с участием ФАД:



**Оксидазы.** Акцептором электрона служит молекулярный кислород (н., цитохромоксидаза).



Оксигеназы - это ферменты, катализирующие активирование  $\text{O}_2$  и последующее включение 1 (монооксигеназы) или 2 (диоксигеназы) его атомов в молекулы различных субстратов



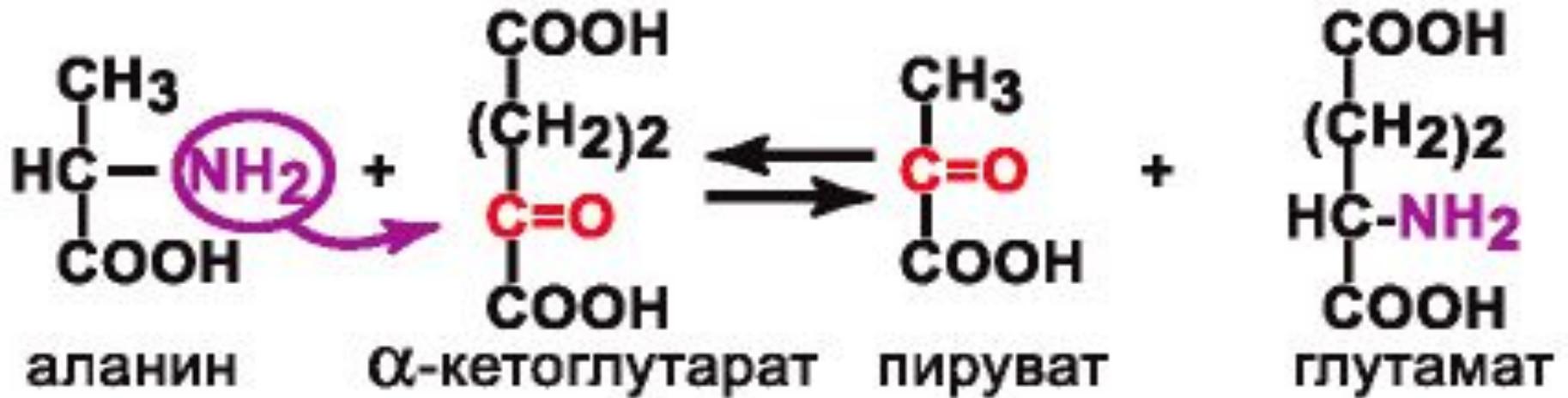
**2. Трансферазы.** Катализируют перенос функциональных групп от одного соединения к другому.

Подразделяют в зависимости от переносимой группы на аминотрансферазы, ацилтрансферазы, метилтрансферазы, гликозилтрансферазы, фосфотрансферазы (киназы).

Название этих ферментов составляют по формуле:

**донор: акцептор-транспортируемая группа – трансфераза**

**Аминотрансферазы** – катализируют перенос аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту. Пример:



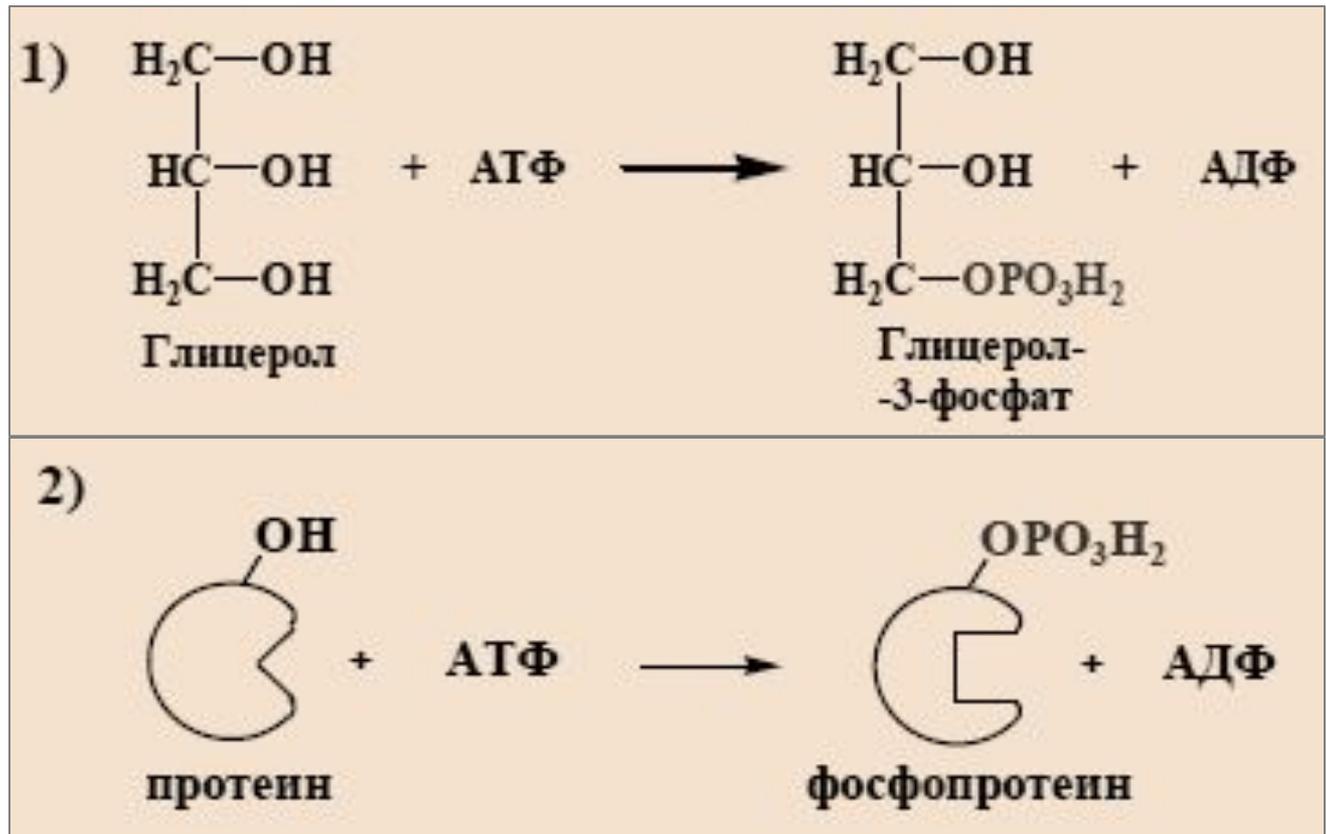
**Фермент – Аланин:α-кетоглутарат-аминотрансфераза**  
**Кофермент: Пиридоксальфосфат(витамин В<sub>6</sub>).**

## Фосфотрансферазы (киназы)

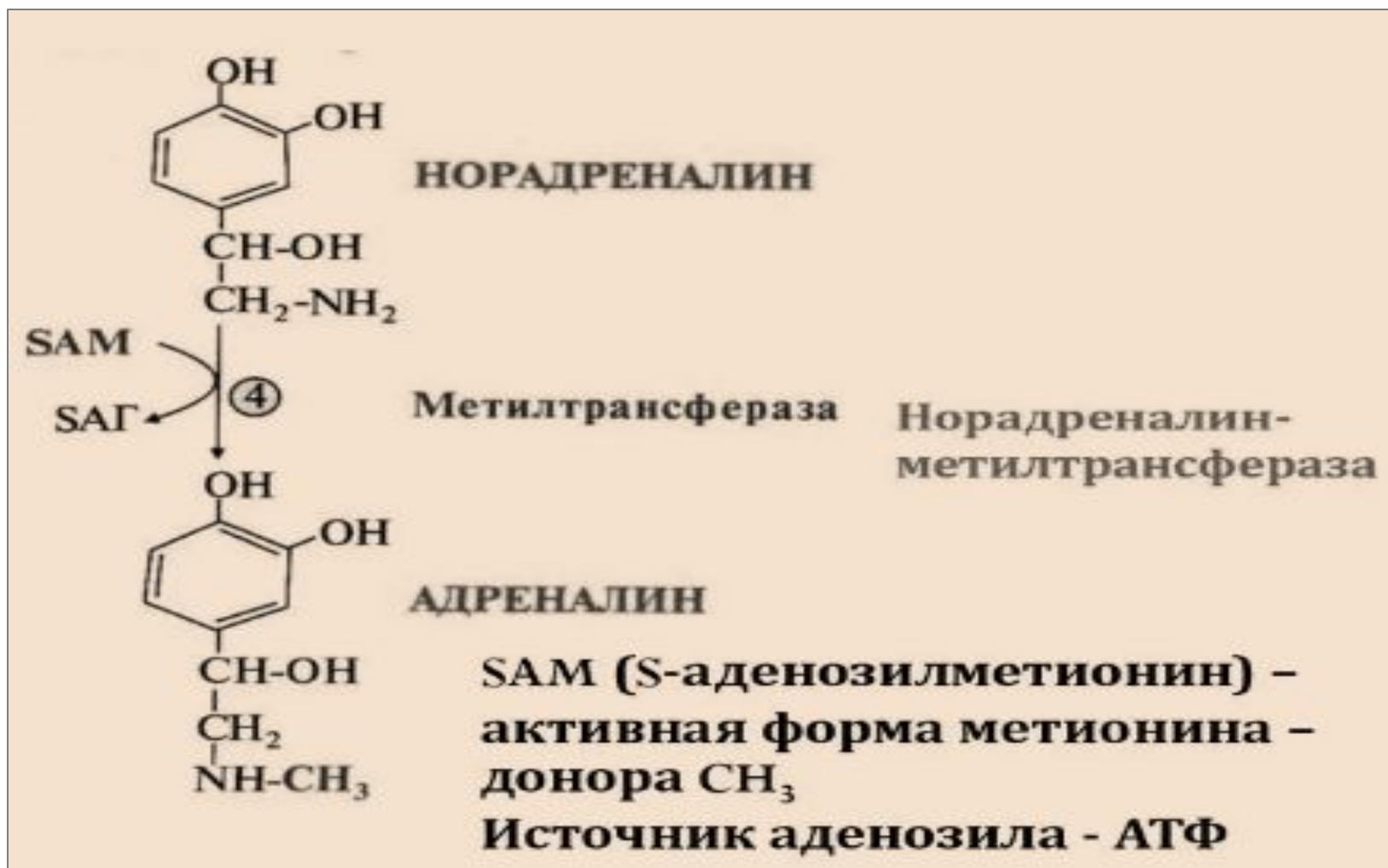
**Киназы** – катализируют перенос фосфатной группы, донором которой является АТФ (реже ГТФ).

Реакции, катализируемые киназами называются реакциями **фосфорилирования**.

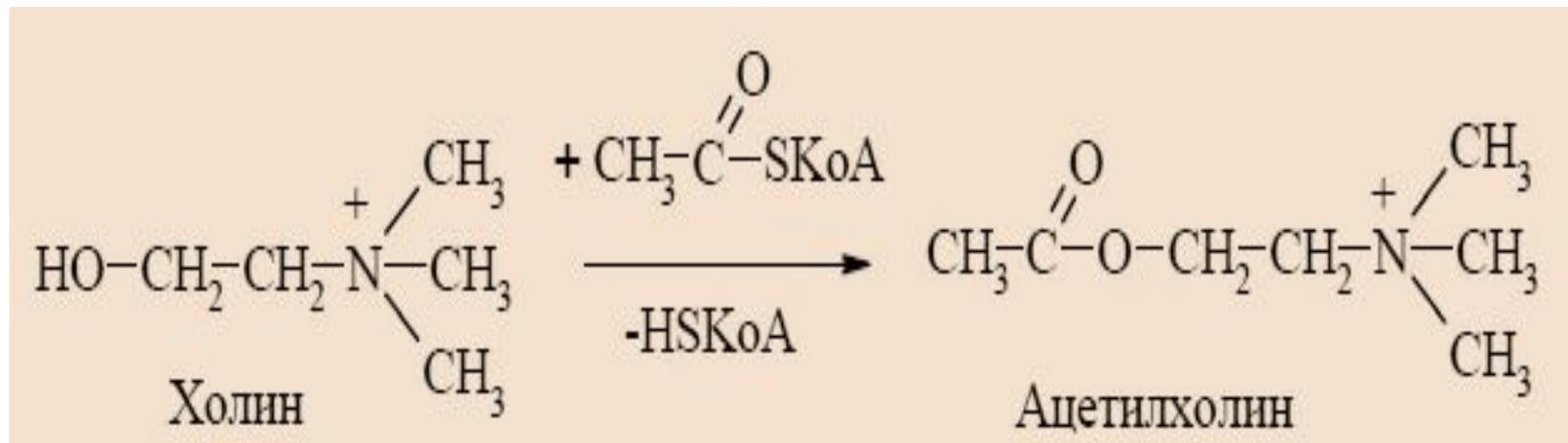
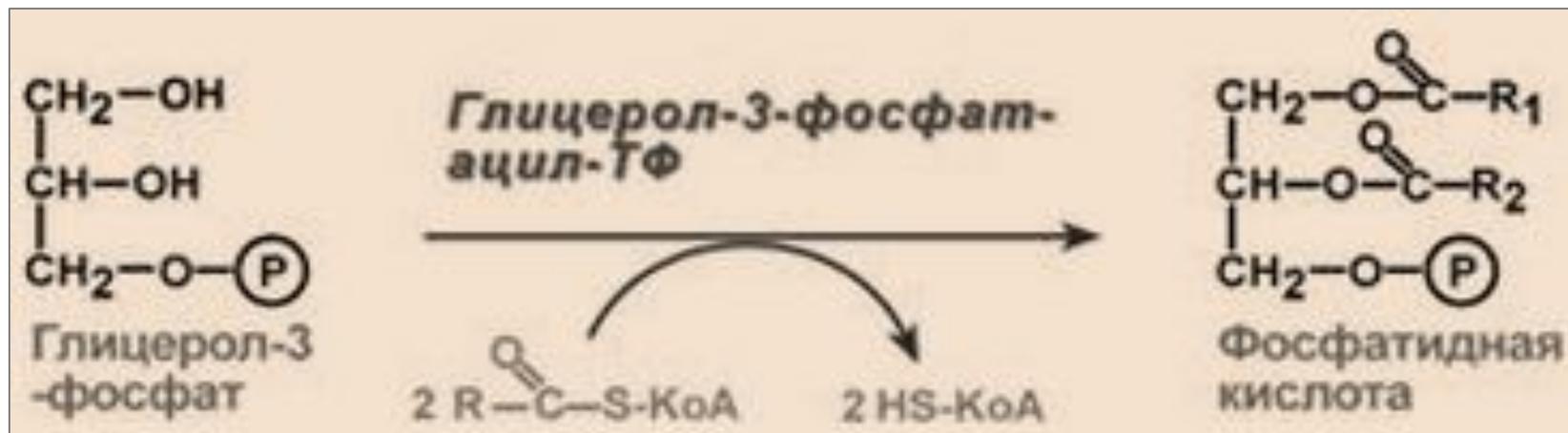
**Кофакторы:**  
ионы  $Mg^{2+}$   
и  $Mn^{2+}$ .



# Метилтрансферазы – перенос метильной группы.



**Ацилтрансферазы** – перенос ацильной группы.  
**Коферментную функцию у ацилтрансфераз**  
**выполняет КОЭНЗИМ А.**

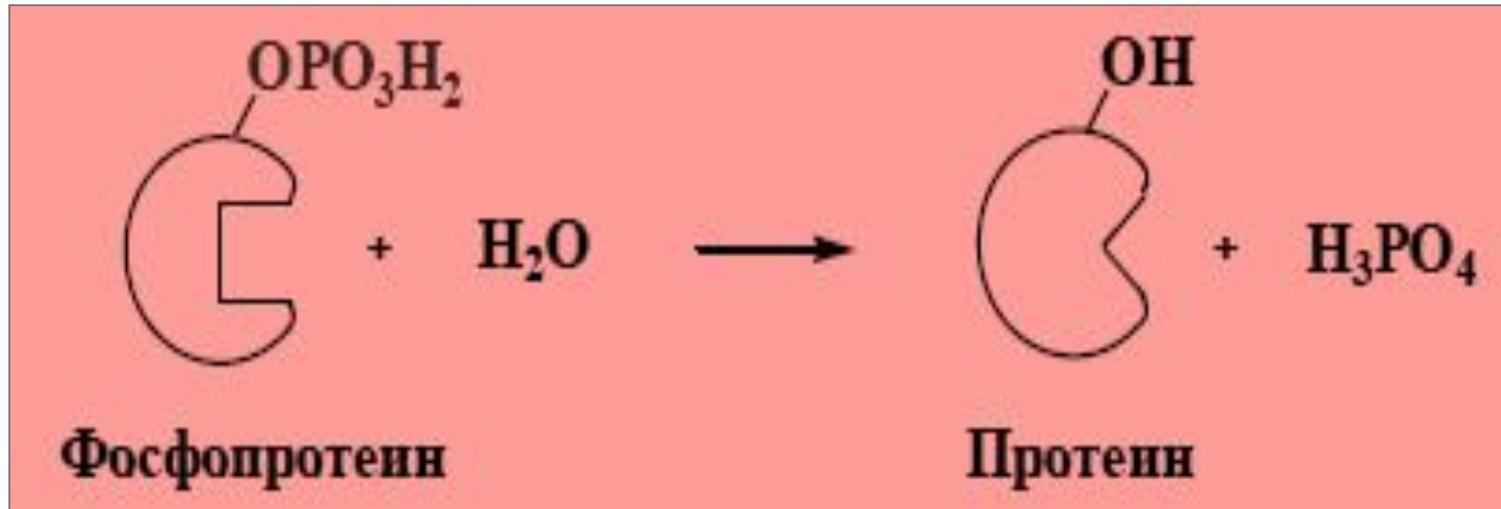


**Фермент: холинацетилтрансфераза**

**3. Гидролазы** – катализируют реакции разрыва связей в молекуле с участием воды, т.е. путем гидролиза.

**Примеры:**

**Фосфатазы** – катализируют гидролитическое отщепление фосфатной группы:



Реакции, которые катализируют фосфатазы, называются реакциями **дефосфорилирования**.



## 4. Лиазы

К лиазам относят ферменты, отщепляющие от субстратов **негидролитическим** **путем** определенную группу (при этом могут отщепляться  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{SH}_2$  и др.) или присоединяющие чаще всего молекулу воды по двойной связи.

Наименование ферментов составляют по формуле:

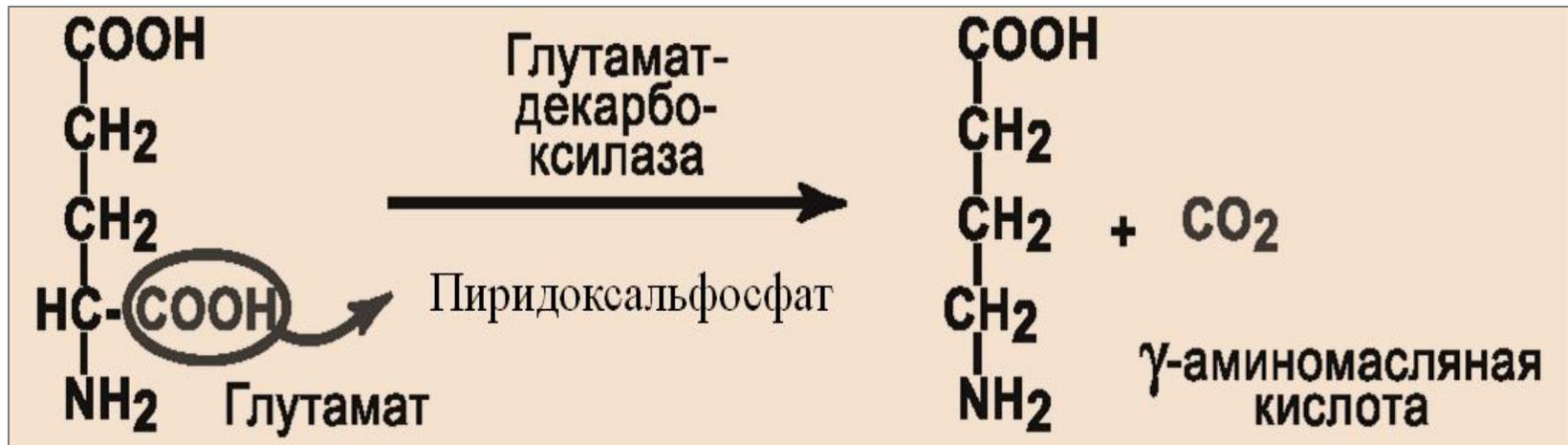
**«субстрат-отщепляемая  
или присоединяемая группировка».**

Существует 2 разновидности лиаз:

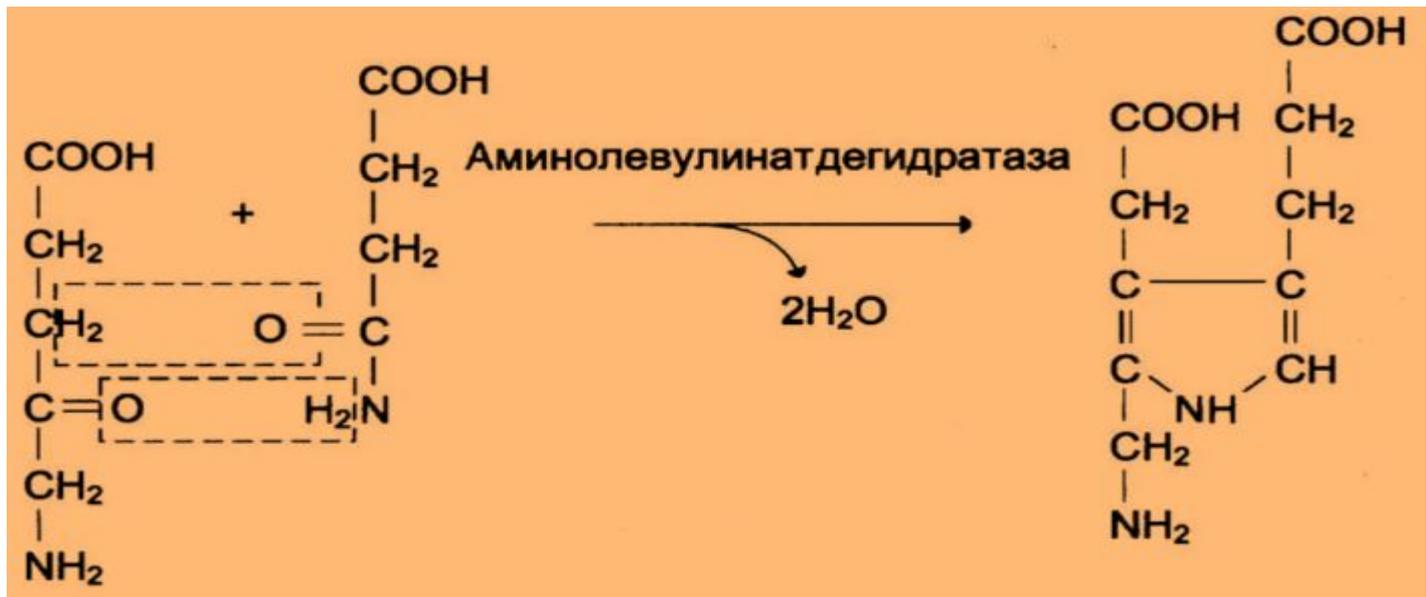
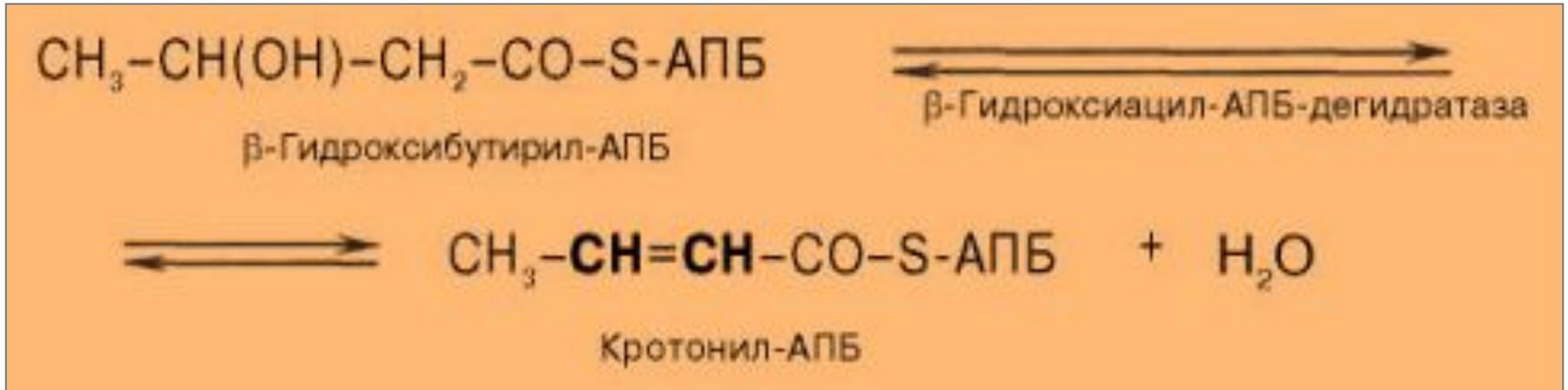
**1 разновидность:** лиазы, катализирующие реакции разрыва связей способом, отличным от гидролиза и окисления.

Для этой разновидности лиаз существуют подклассы:

**- декарбоксилазы** – катализируют реакции отщепления карбоксильной группы в виде  $\text{CO}_2$ :



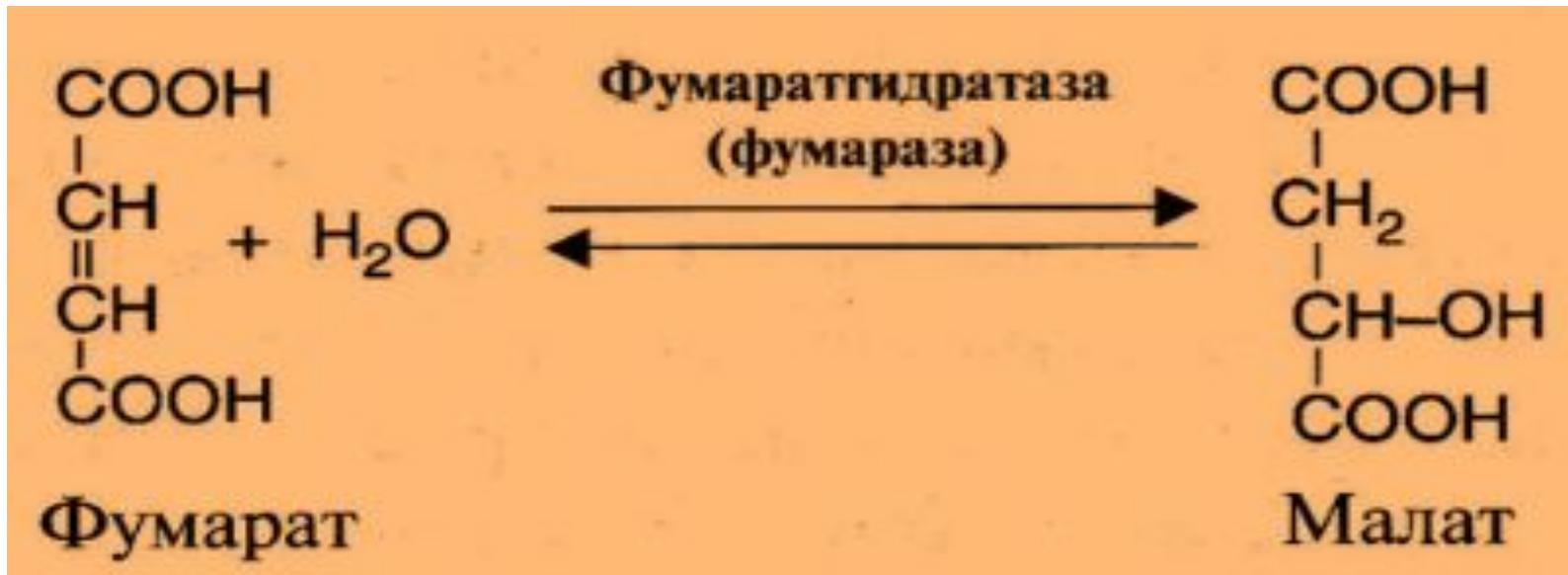
**- дегидратазы – катализируют реакции отщепления воды от молекулы с образованием двойной связи:**



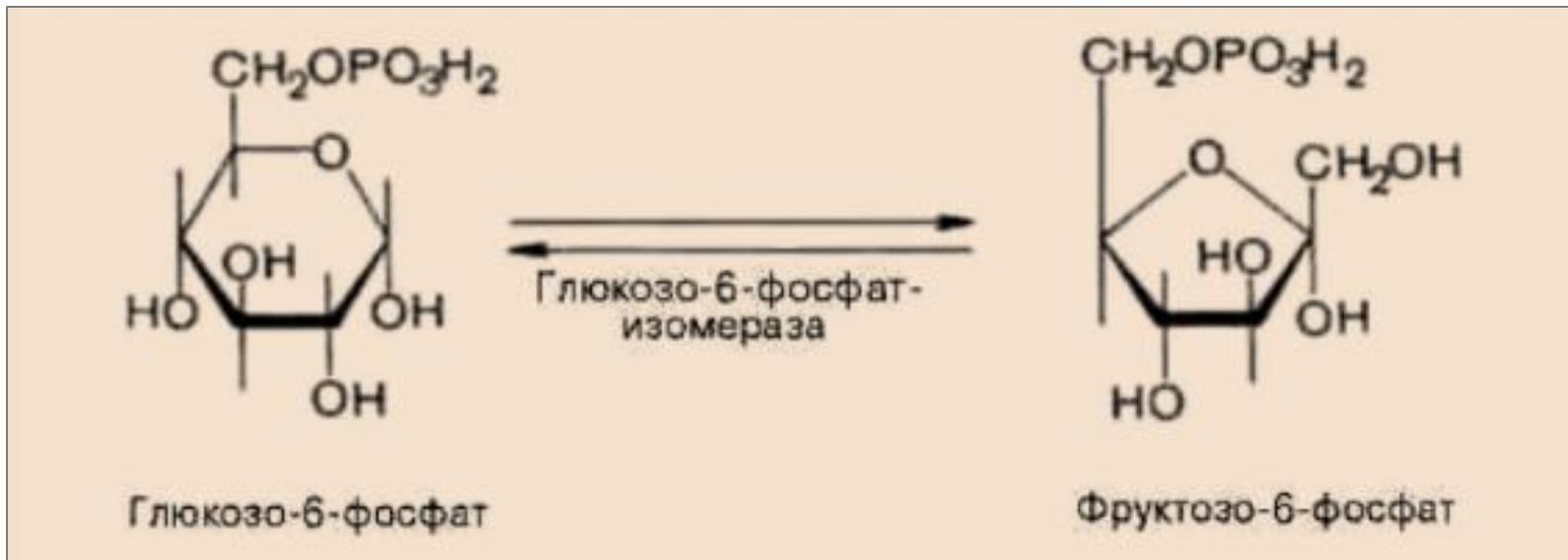
## 2 разновидность:

лиазы, катализирующие реакции **присоединения** молекул **по двойной связи**.

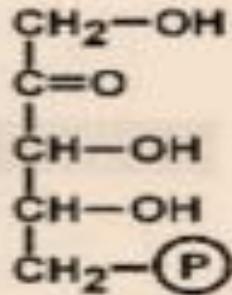
Подкласс: **гидратазы**– катализирующие реакции присоединения молекулы воды по двойной связи.



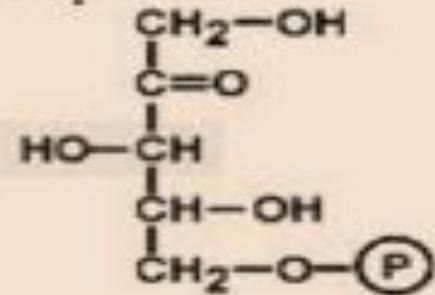
# 5. **Изомеразы** – катализируют взаимопревращение изомеров. Подклассы: **изомеразы, мутазы.**



### Рибулозофосфат 3-эпимераза

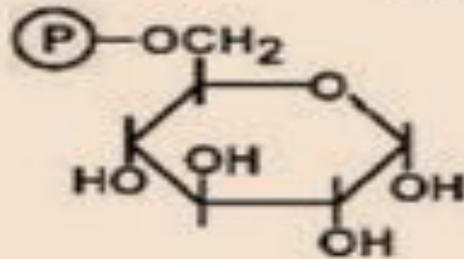


Рибулозо-5-фосфат

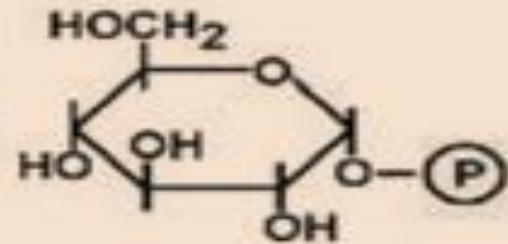


Ксилулозо-5-фосфат

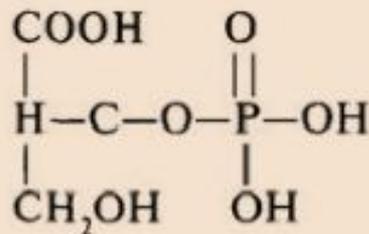
### Фосфоглюкомутаза



Глюкозо-6-фосфат

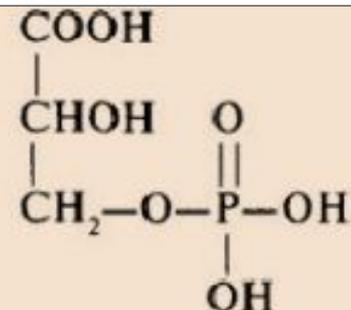
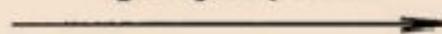


Глюкозо-1-фосфат



2-Фосфоглицериновая  
кислота

### Фосфоглицерат- фосфомутаза



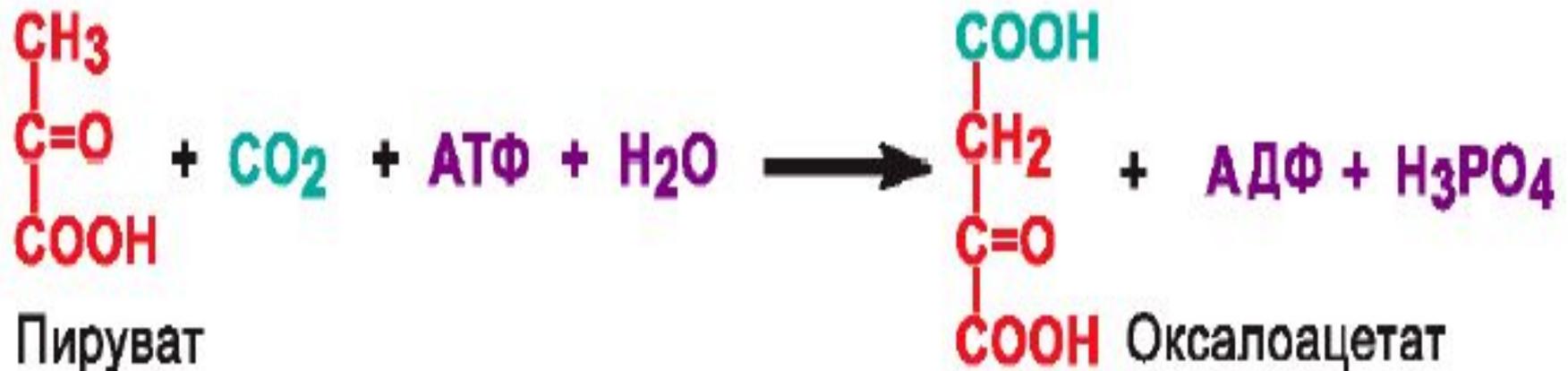
3-Фосфоглицериновая  
кислота

## 6. Лигазы

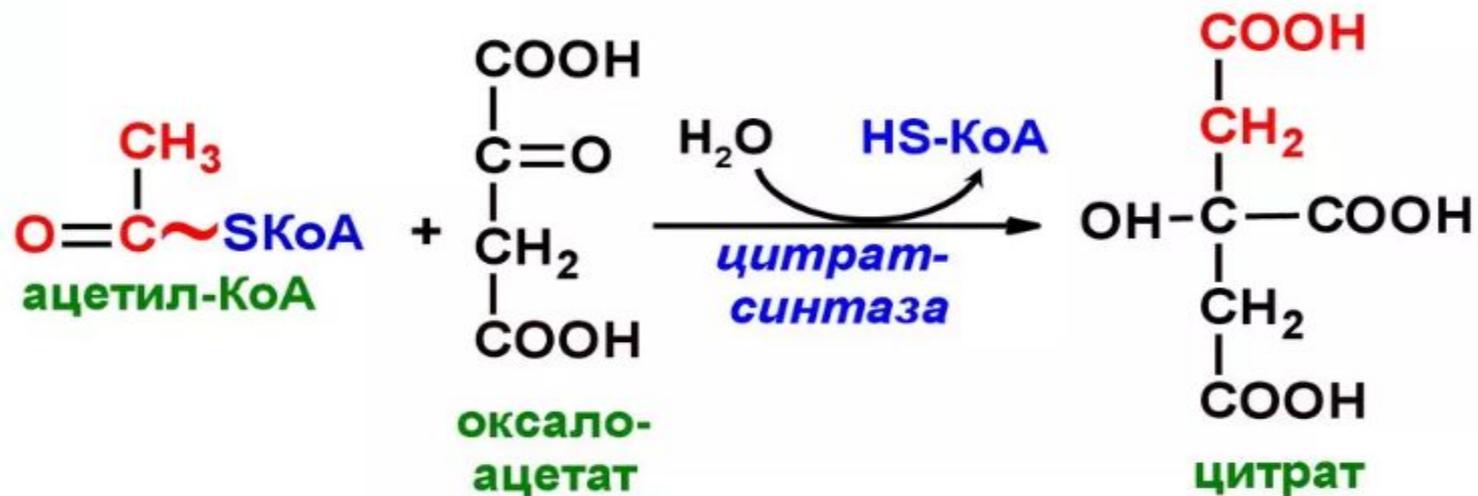
2 разновидности:

1 разновидность: **синтетазы**– катализируют реакции соединения 2-х молекул при **участии энергии АТФ** (реже ГТФ).

Подклассы: **карбоксилазы**– катализируют реакции присоединения карбоксильной группы к молекуле в виде  $\text{CO}_2$ . Кофермент: **биотин** (витамин H).



**2 разновидность: синтазы**– катализируют соединение молекул при участии **энергии макроэргических связей субстрата**.



Систематическое название образуется:

**Субстрат 1 : субстрат 2 – лигаза**