

ФЕРМЕНТЫ



Общие свойства ферментов и неорганических катализаторов:

- ✓ Катализируют только термодинамически возможные реакции.
- ✓ Не расходуются в процессе реакции.
- ✓ Не меняют положение равновесия обратимых реакций, способствуют достижению положения равновесия.
- ✓ Снижают энергию активации.

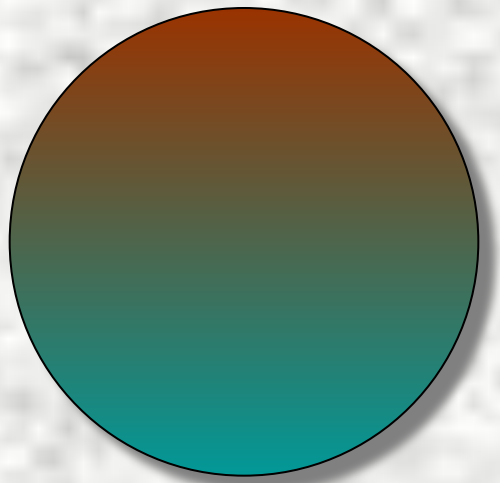
Отличия ферментов от неорганических катализаторов

Свойства	Ферменты	Неорганические катализаторы
Химическая природа	Белки	Металлы и их оксиды
Условия действия	Мягкие ($t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$; рН 7,4; давление 1 атм)	Жесткие ($t^{\circ}>100^{\circ}\text{C}$; кислая или щелочная среда)
Эффективность	Высокая	Низкая
Специфичность	Абсолютная или относительная	Нет специфичности



Виды ферментов

Белковая часть-
АПОФЕРМЕНТ



П Р О С Т Ы Е

**СОСТОЯТ ТОЛЬКО
ИЗ АМИНОКИСЛОТ**

Небелковая
часть-

КОФАКТОР
органический или
неорганический



С Л О Ж Н Ы Е

**В СОСТАВ ФЕРМЕНТА ВХОДИТ
ДОБАВОЧНАЯ ГРУППА
НЕБЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ**

Виды кофакторов



делятся по прочности связи с апоферментом

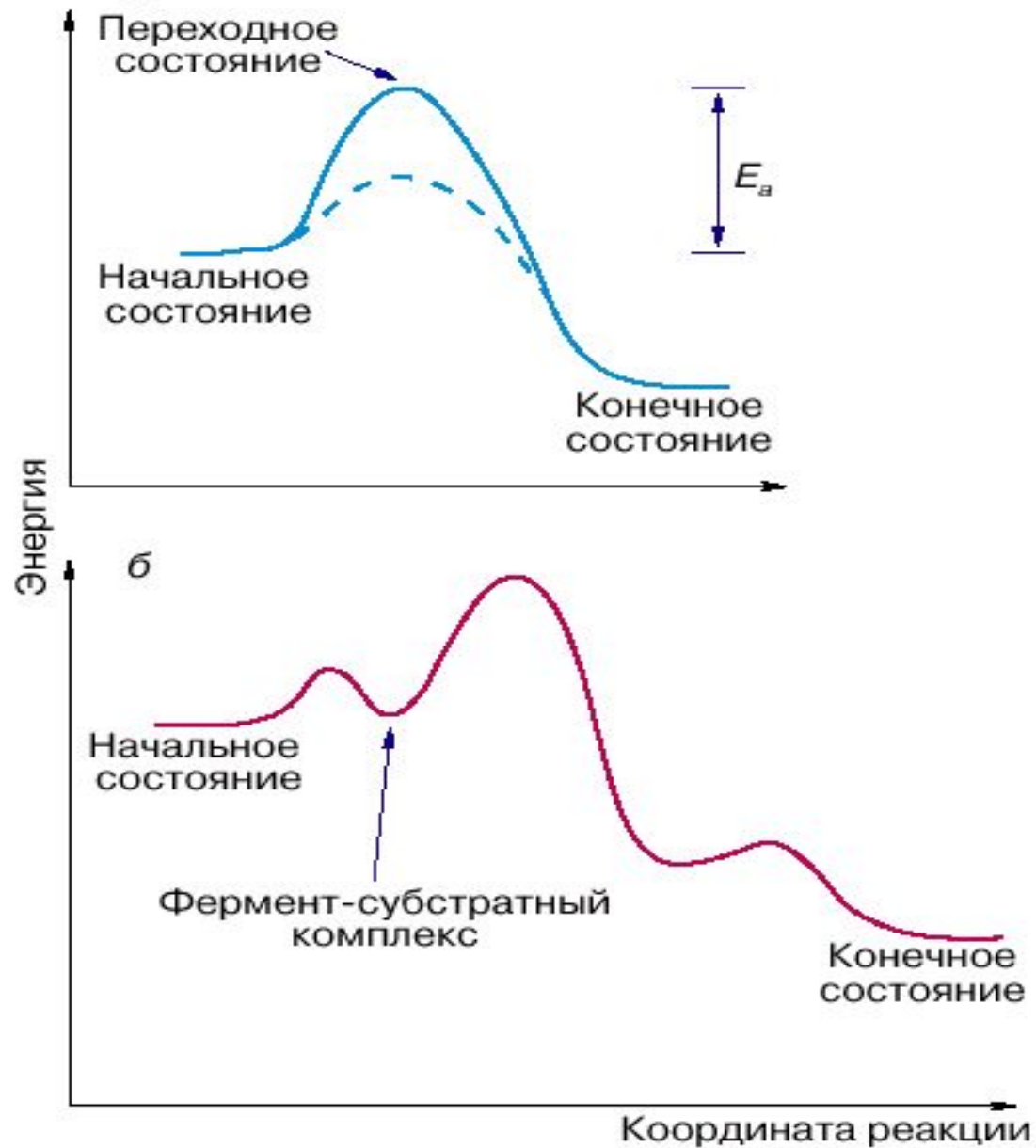
Непрочно связаны с апоферментом

Прочно (ковалентно) связаны с апоферментом

Активный центр фермента

- ✓ **Активный центр** – это участок фермента, в котором происходит специфическое связывание субстрата и его превращение в продукт;
- ✓ У **простых** ферментов активный центр состоит из аминокислот;
- ✓ У **сложных** ферментов, кроме аминокислот, в состав активного центра входит **кофактор**.

Механизм действия ферментов



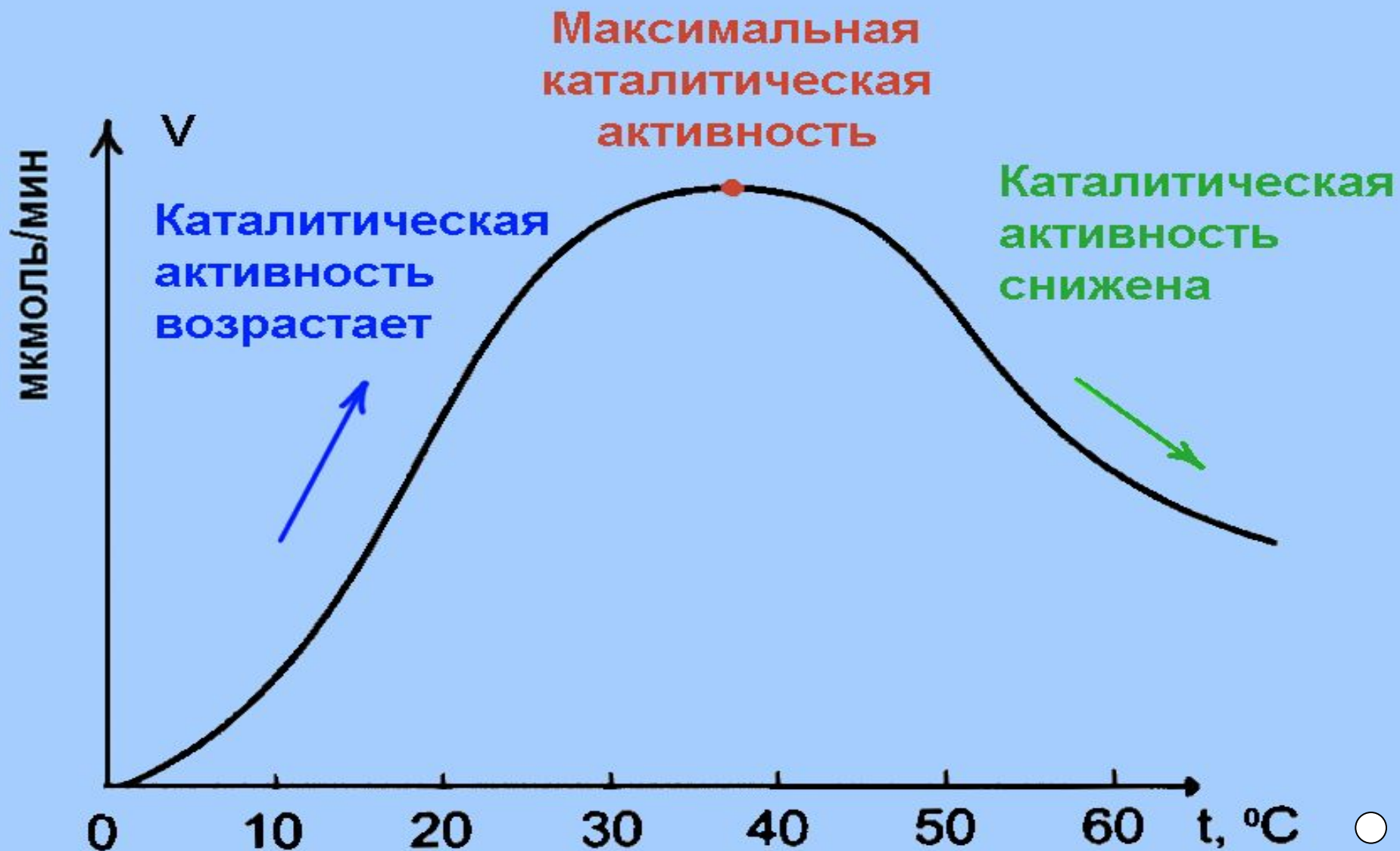
Факторы, влияющие на каталитическую эффективность ферментов

- Сближение и ориентация реакционного центра субстрата под каталитическую группу фермента.

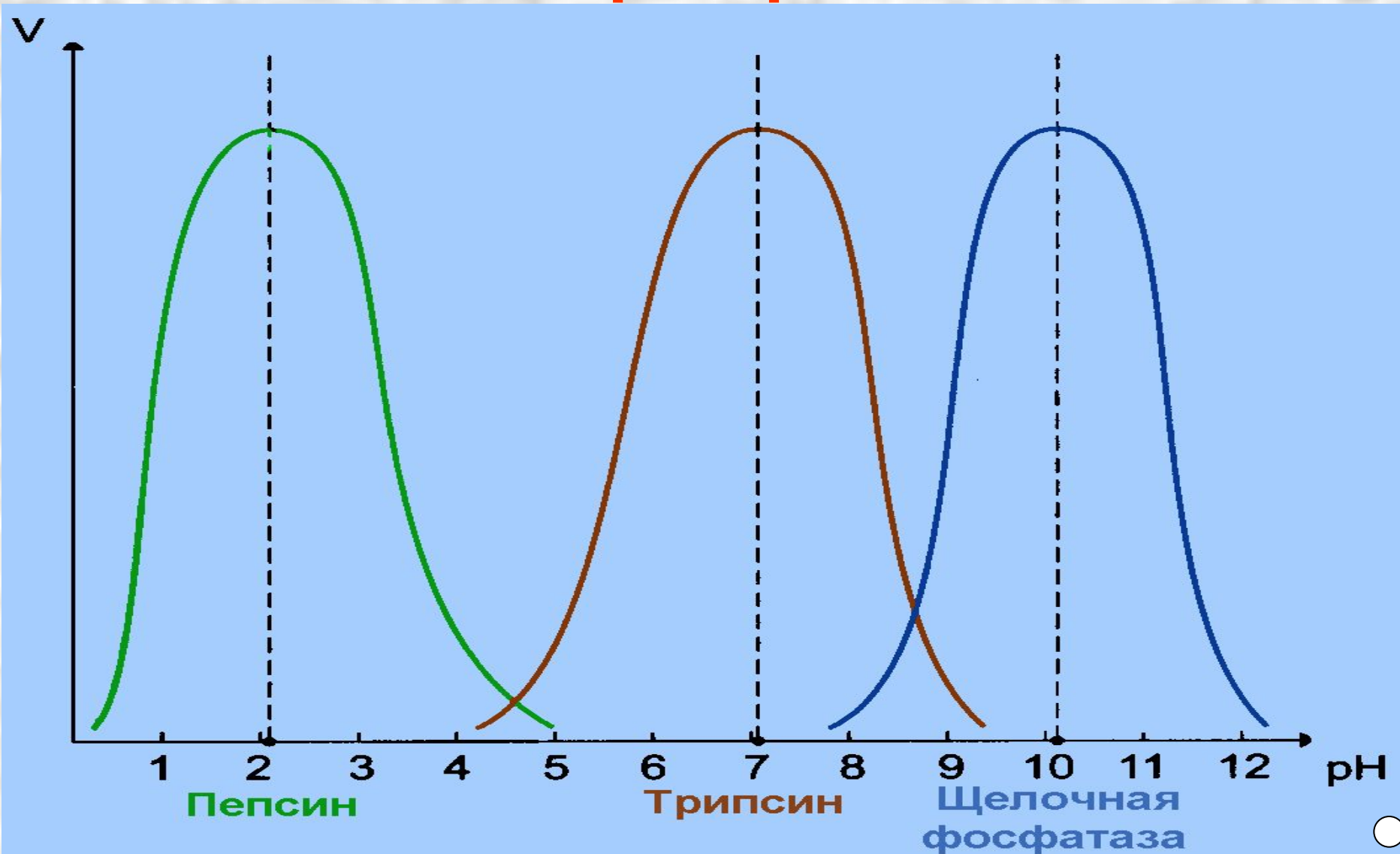
Факторы, влияющие на каталитическую эффективность ферментов

- Напряжение и деформация, как субстрата, так и фермента, приводящие к увеличению энергии фермент-субстратного комплекса, что делает невыгодным его существование.
- Кислотно-основной катализ.
- Ковалентный катализ.

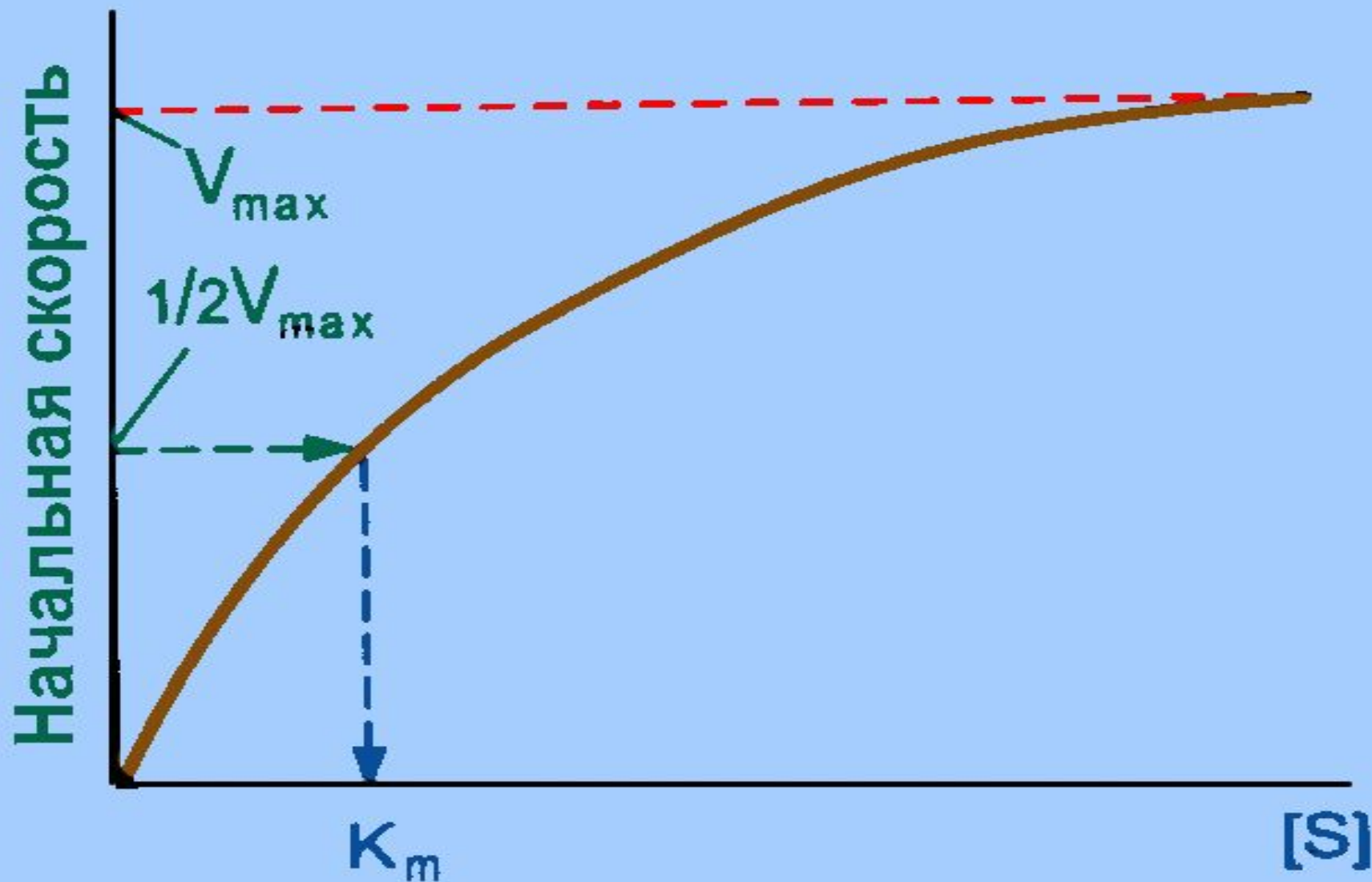
Зависимость активности фермента от температуры



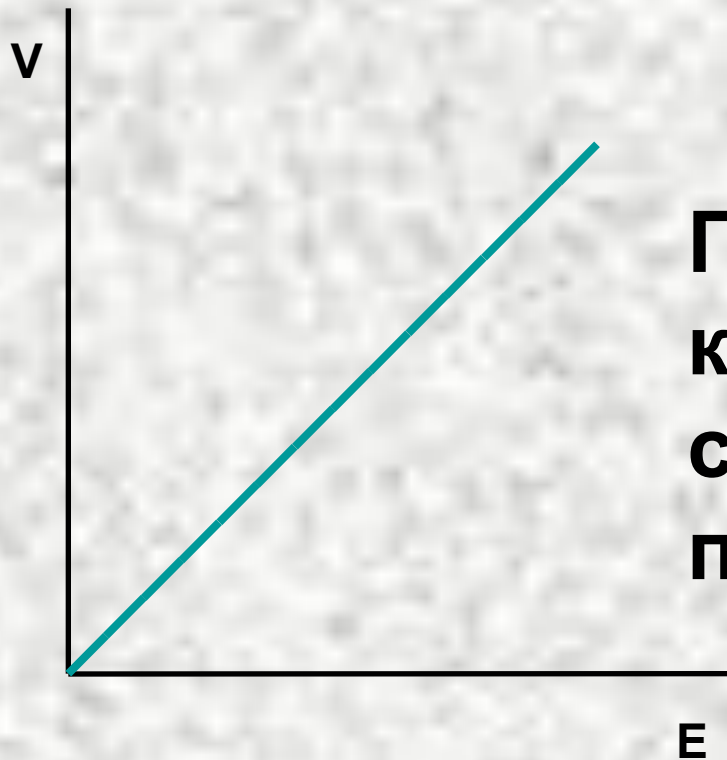
Зависимость активности фермента от pH среды



Зависимость скорости реакции (V) от концентрации субстрата (S)



Зависимость скорости реакции V от концентрации фермента E



**При насыщающих
концентрациях
субстрата зависимость
прямая**

Определение активности фермента

Активность ферментов определяют:

- **по скорости убывания субстрата**
- **по скорости накопления продукта**

Определение активности фермента

Единица активности любого фермента (МЕ) = такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль вещества в 1 минуту.

1 *катал* (*кат*) соответствует такому количеству фермента, которое превращает 1 моль субстрата в 1 с.

$$1 \text{ кат} = 6 \times 10^7 \text{ МЕ}$$

ИЗОФЕРМЕНТЫ

Изоферменты - это разновидности ферментов, катализирующие одну реакцию, но отличающиеся по своему составу и физико-химическим свойствам.

Изоферменты имеются у ферментов с четвертичной структурой.

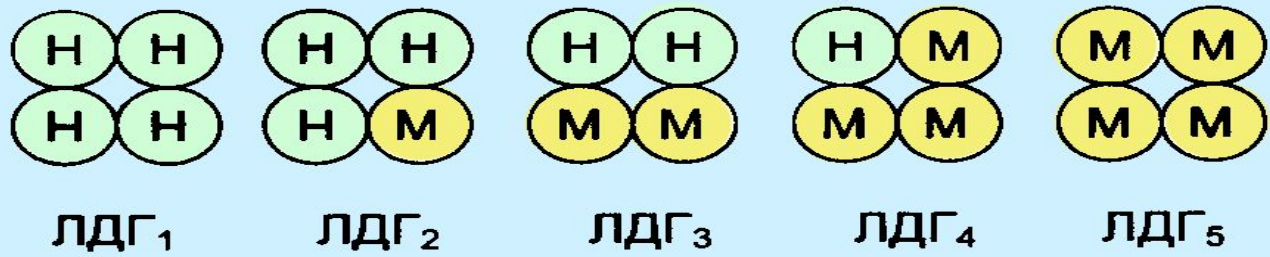


Изоферменты различаются

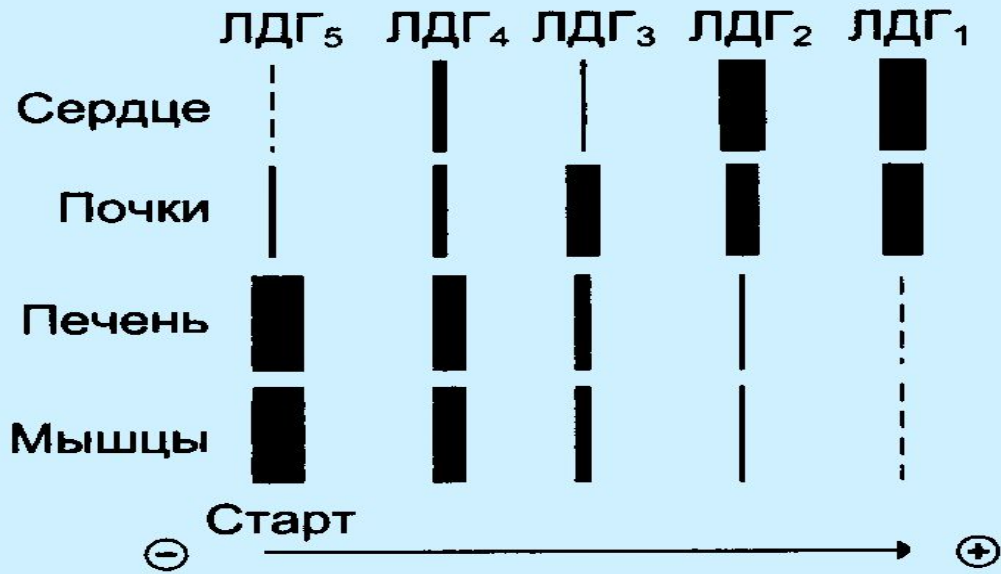
1. По кинетическим параметрам ($V_{\text{макс}}$ и K_m).
2. Тканевой локализации.
3. Электрофоретической подвижности.
4. Чувствительности к регуляторам и т.д.

Определение в сыворотке крови активности определенных изоферментов используется для диагностики.

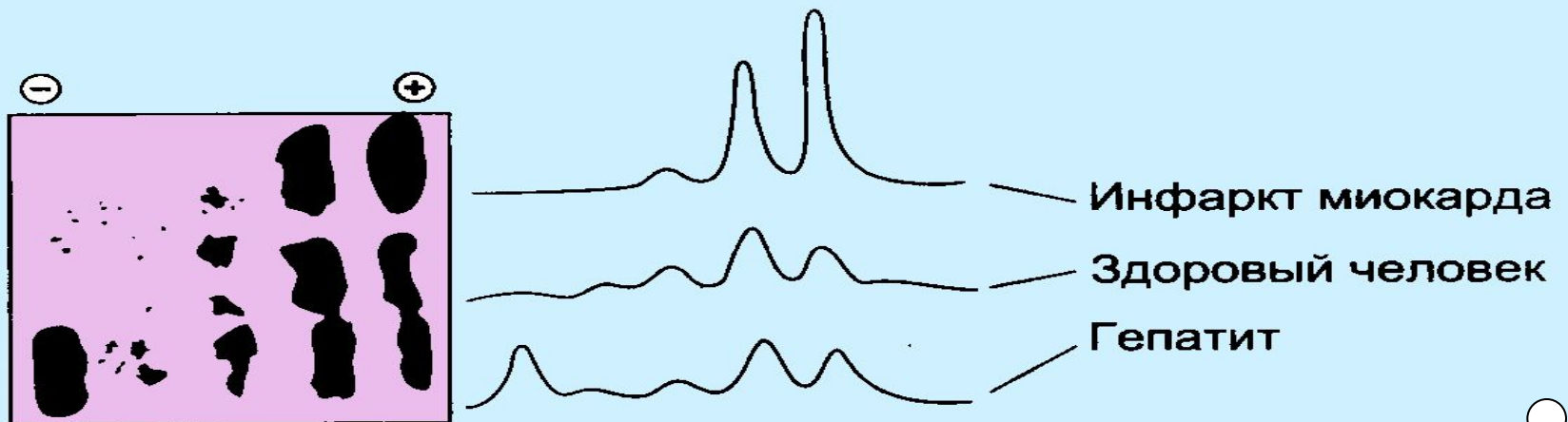
A



B



B



Аллостерический механизм регуляции

Регулятор действует на **аллостерический центр**.

Аллостерический центр – это участок фермента, пространственно не совпадающий с активным центром. Присоединение регулятора к аллостерическому центру приводит к изменению конформации фермента, а, следовательно, и активного центра.

Аллостерическими регуляторами являются метаболиты, макроэрги, коферменты, катионы металлов, цАМФ, субстраты.



Химическая или ковалентная модификация

Изменение химической структуры фермента путем присоединения или отщепления за счет ковалентных связей каких-либо химических групп в любом месте фермента.

Химическое изменение фермента вызывает изменение конформации, а, следовательно, активности.



Химическая или ковалентная модификация

Может осуществляться путем:

- фосфорилирования - дефосфорилирования;**
- метилирования - деметилирования;**
- аденилирования – деаденилирования.**

Ограниченный протеолиз

Это процесс отщепления какой-либо части фермента в виде олиго- или полипептида. В результате формируется активный центр

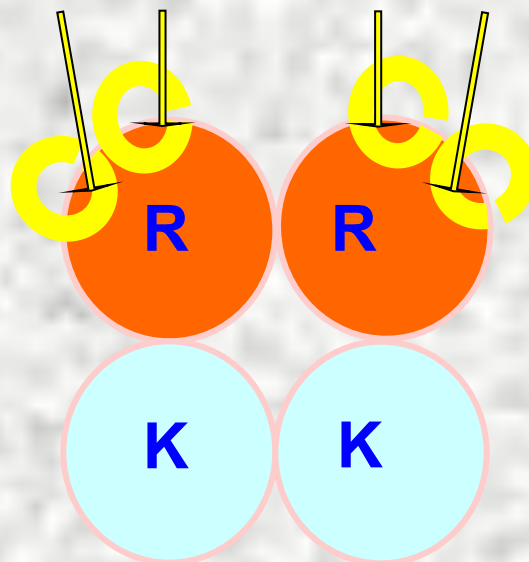


Взаимодействие «белок-белок»

(на примере протеинкиназы)

Аллостерические центры

цАМФ
цАМФ
цАМФ
цАМФ



Активная протеинкиназа

ИНГИБИРОВАНИЕ

Необратимое

Ингибиторы прочно связываются с ферментом

Ингибиторы не имеют физиологического значения (являются ферментными ядами)

Обратимое

Ингибиторы непрочно связываются с ферментом

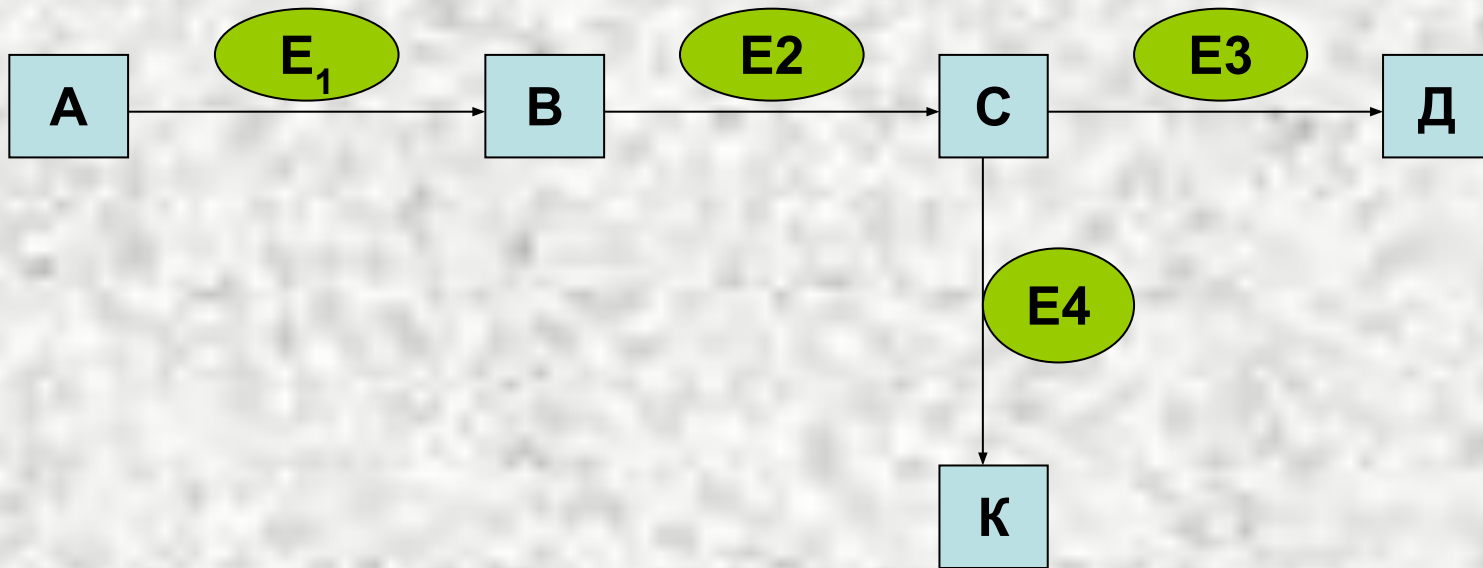
Конкурентное

- 1. Ингибитор похож на субстрат по форме*
- 2. Конкурирует с субстратом за активный центр*

Неконкурентное

- 1. Не является структурным аналогом субстрата*
- 2. Не присоединяется к активному центру*
- 3. Действует на аллостерический центр или как химический модификатор*

Регуляция ферментативных цепей



Сопряжение ферментов:

- 1) содружественное (E₁, E₂, E₃ и E₁, E₂, E₄);
- 2) конкурентное (E₃ и E₄)

***Ключевыми ферментами
являются:***

- а) фермент, стоящий в начале цепи;
- б) лимитирующий фермент (имеет наименьшую скорость в цепи);
- в) ферменты, стоящие на развилке цепи.

Классификация ферментов

1. **Оксидоредуктазы** – катализируют окислительно-восстановительные реакции.
2. **Трансферазы** – катализируют реакции переноса химических групп.
3. **Гидролазы** – катализируют расщепление связей с присоединением воды по месту разрыва.
4. **Лиазы** – катализируют расщепление связей без помощи воды с образованием или расщеплением двойных связей.
5. **Изомеразы** – катализируют изомерные превращения.
6. **Лигазы** – катализируют реакции синтеза с затратой энергии.



Значение ферментов в медицине

Энзимо-патология

Изучает значение нарушений активности ферментов в развитии заболеваний.

Энзимо-диагностика

1. Определение ферментов в сыворотке крови и моче
2. Использование ферментов для определения концентрации глюкозы, холестерина, мочевины и др.



Энзимотерапия.

Использование ферментов в качестве лекарств:

- при нарушении пищеварения (*фестал, энзистал, креон, мезим-форте и другие*);
- для очистки гнойных ран (*трипсин, химотрипсин*);
- для лечения вирусных заболеваний (*рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза для лечения аденовирусных конъюнктивитов, герпетических кератитов*);
- для лечения тромбозов и тромбоземболий (*фибринолизин, стрептолиаза, стрептодеказа, урокиназа*);
- для рассасывания контрактур рубцов после операций и ожогов.



Энзимодиагностика

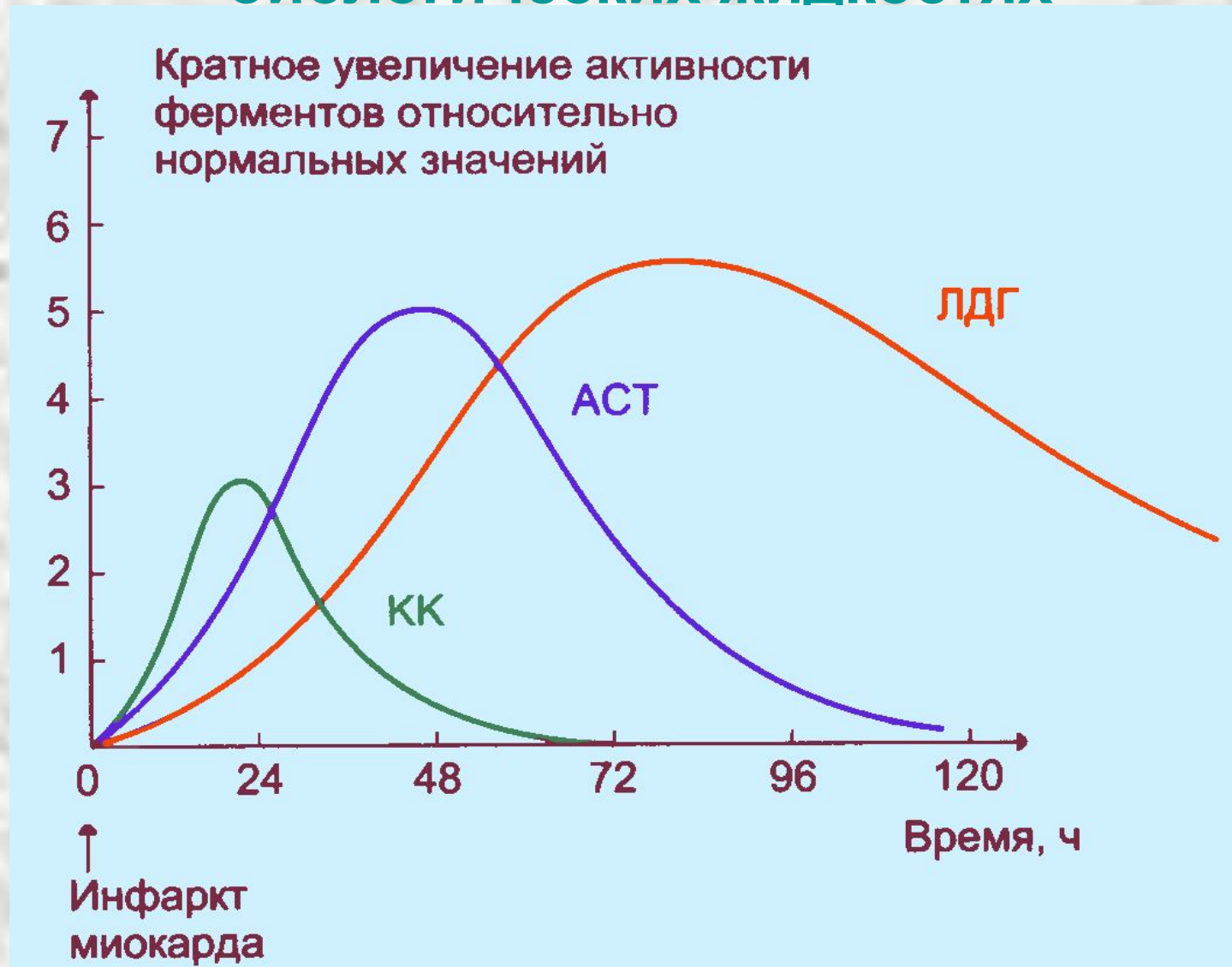
1. Применение ферментов для определения различных веществ в биологических жидкостях.

- глюкозооксидазу используют для определения глюкозы в крови и моче;
- уреазу - для определения мочевины в крови и моче;
- различные дегидрогеназы - для определения соответствующих субстратов (пирувата, лактата, этанола и других).



Энзимодиагностика

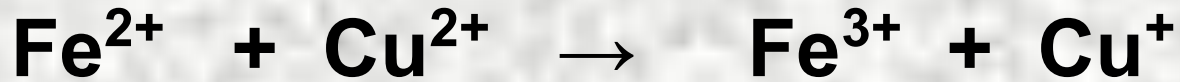
2. Определение активности ферментов в биологических жидкостях



Общие сведения

- **Окисление** - это отщепление от вещества электронов; *восстановление* - это присоединение электронов.
- **Метаболизм** - это обмен веществ. Он имеет две стороны: катаболизм и анаболизм.
- **Катаболизм** - это расщепление сложных органических веществ до более простых.
- **Анаболизм** - это синтез сложных веществ из простых веществ с использованием энергии.
- **Биологическое окисление** – это все окислительно-восстановительные реакции, происходящие в организме.

Способы передачи электронов



- Прямой перенос электронов:
- Перенос электронов в составе гидридиона (НАД⁺ - и НАДФ⁺ - зависимые дегидрогеназы)
- Перенос электронов в составе атомов водорода:
 $\text{SH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{S} + \text{BH}_2$ (флавинзависимые дегидрогеназы)
- Перенос путем прямого взаимодействия органического восстановителя с кислородом, приводящий к образованию продукта, в котором содержится ковалентно связанный кислород:
 $\text{R-CH}_3 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CH}_2\text{OH}$

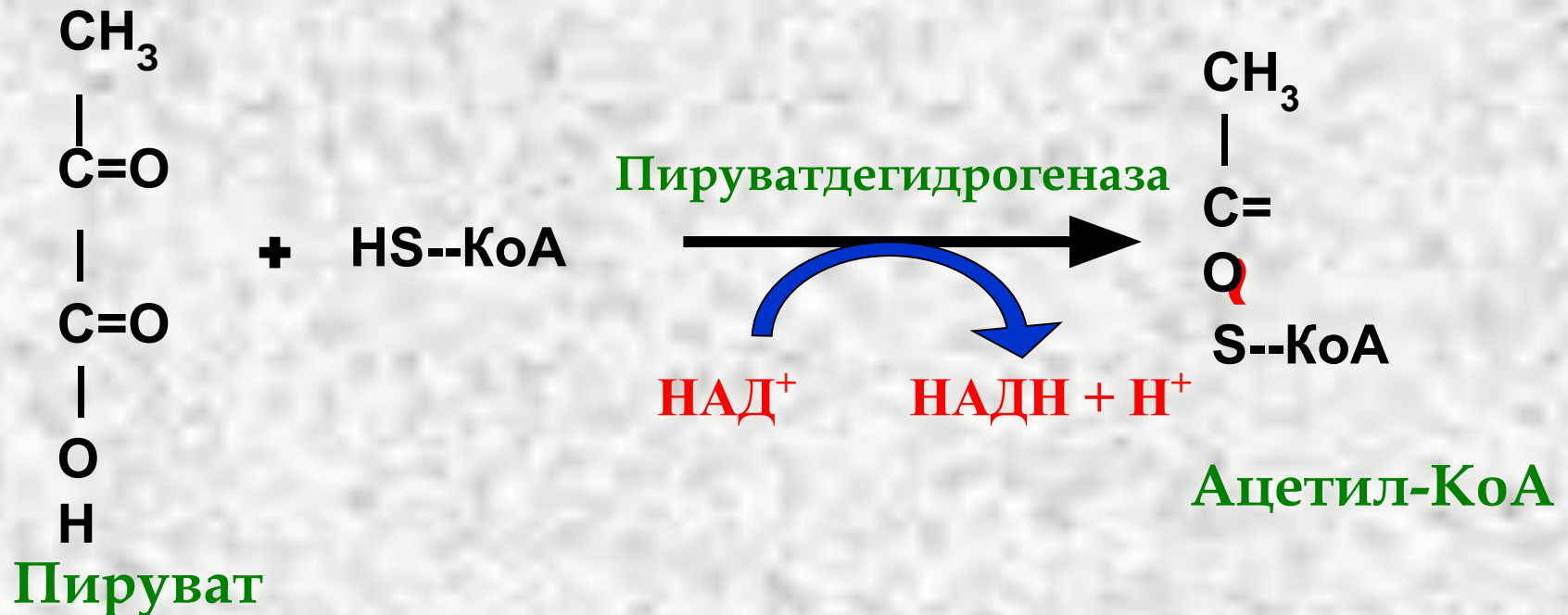
Отличия биологического окисления от окисления в неживой природе

- Процесс передачи водорода на кислород происходит поэтапно, через промежуточные акцепторы.
- Большая часть энергии запасается в виде АТФ (энергии химических связей).
- Все реакции протекают в мягких условиях и катализируются ферментами.
- Активность ферментов регулируется.

Этапы катаболизма (схема)

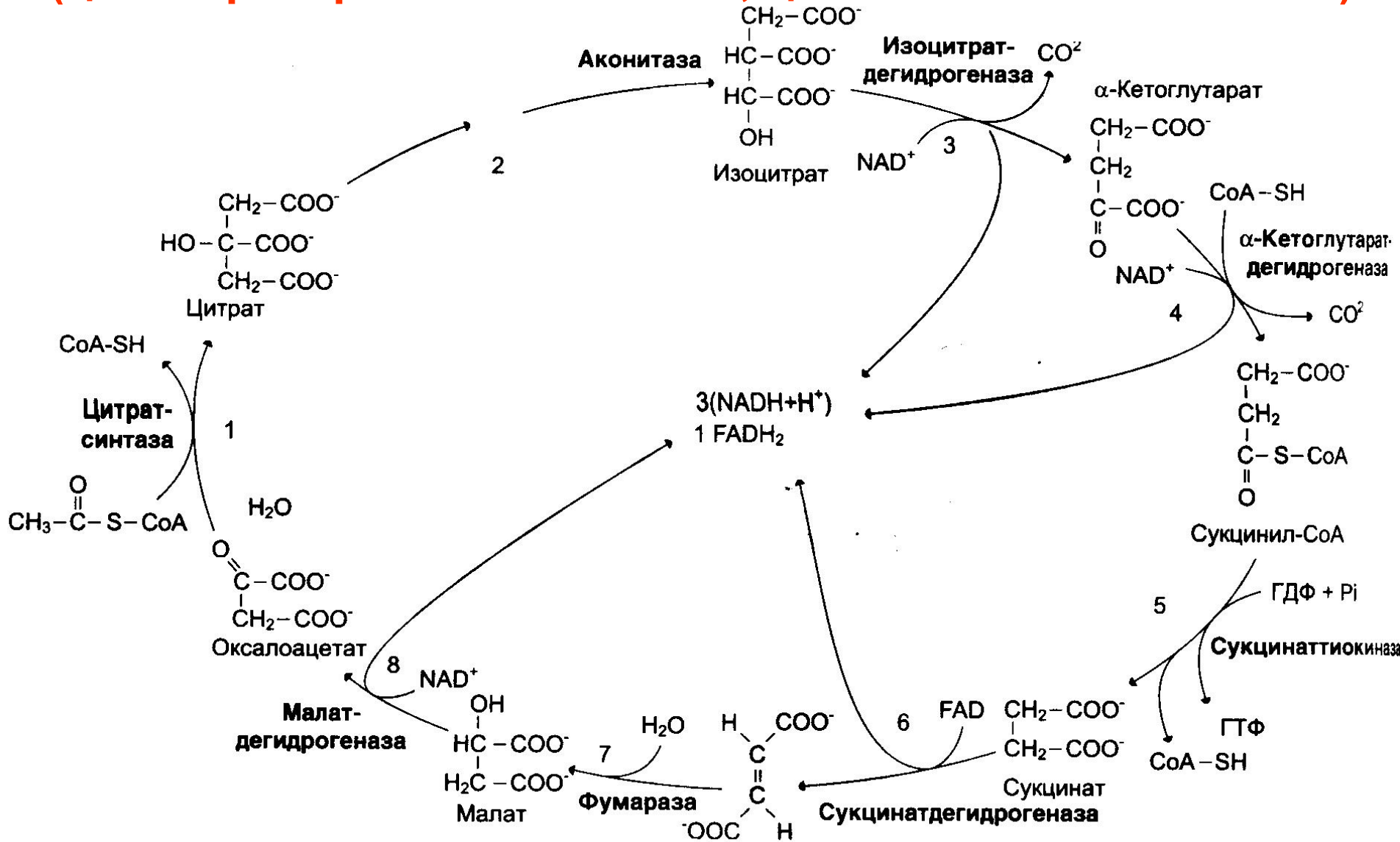


Окислительное декарбоксилирование пирувата

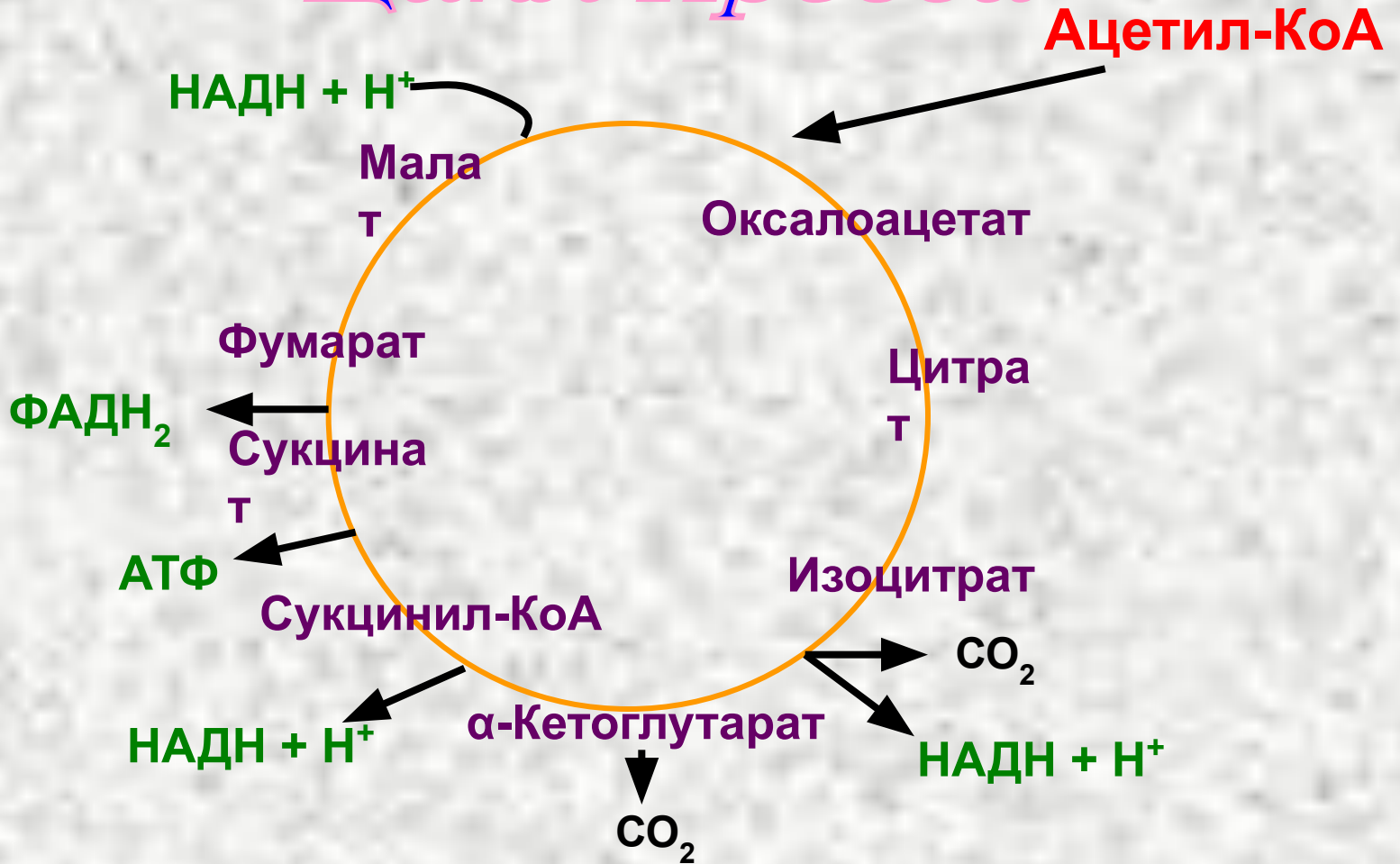


Цикл Кребса

(цикл трикарбоновых кислот, цикл лимонной кислоты)



Цикл Кребса



Регуляция цикла Кребса

Ключевые ферменты	Активаторы	Ингибиторы
1. Цитратсинтаза	Оксалоацетат, ацетил-КоА.	АТФ, НАДН, сукцинил-КоА, длинноцепочные ацилы-КоА.
2. Исоцитратдегидрогеназа (ИЦДГ)	АДФ, Ca^{2+}, цАМФ.	НАДН, НАДФН, АТФ.
3. 2-оксоглутаратдегидрогеназа	Ca^{2+}, цАМФ.	Сукцинил-КоА.

Регуляция цикла Кребса

Регуляция гормонами

*Активируют цикл Кребса:
инсулин, катехоламины, глюкагон,
йодтиронины.*

Значение цикла Кребса

1. Катаболическое и энергетическое

- **Общий заключительный этап распада всех классов органических соединений**
- **Образование АТФ (субстратное фосфорилирование)**
- **Главный поставщик протонов для дыхательной цепи**

2. Анаболическое или биосинтетическое

Значение цикла Кребса

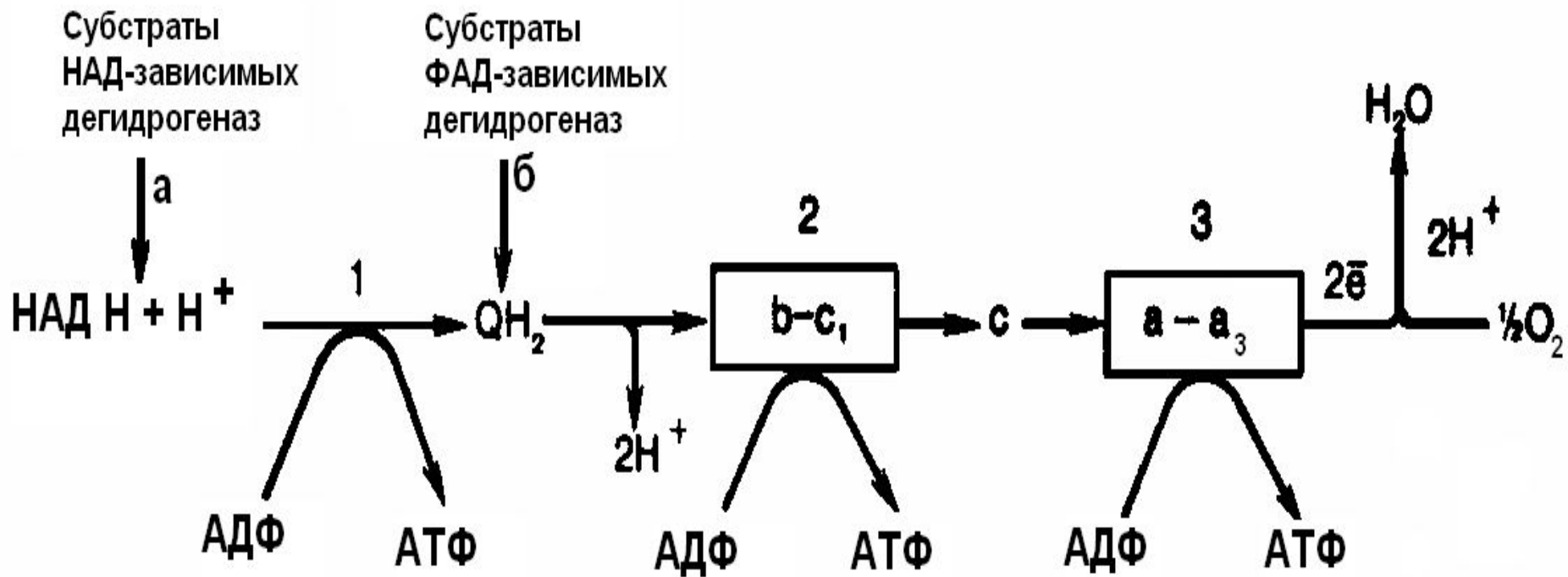
3. Регуляторное (метаболиты - цитрат и АТФ - регуляторы других процессов: активируют синтез жирных кислот и ингибируют гликолиз).

Дыхательная цепь

Дыхательная цепь (цепь переноса электронов) - это цепь сопряженных окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых водород, отщепленный от субстратов, переносится на кислород с образованием воды и выделением энергии.

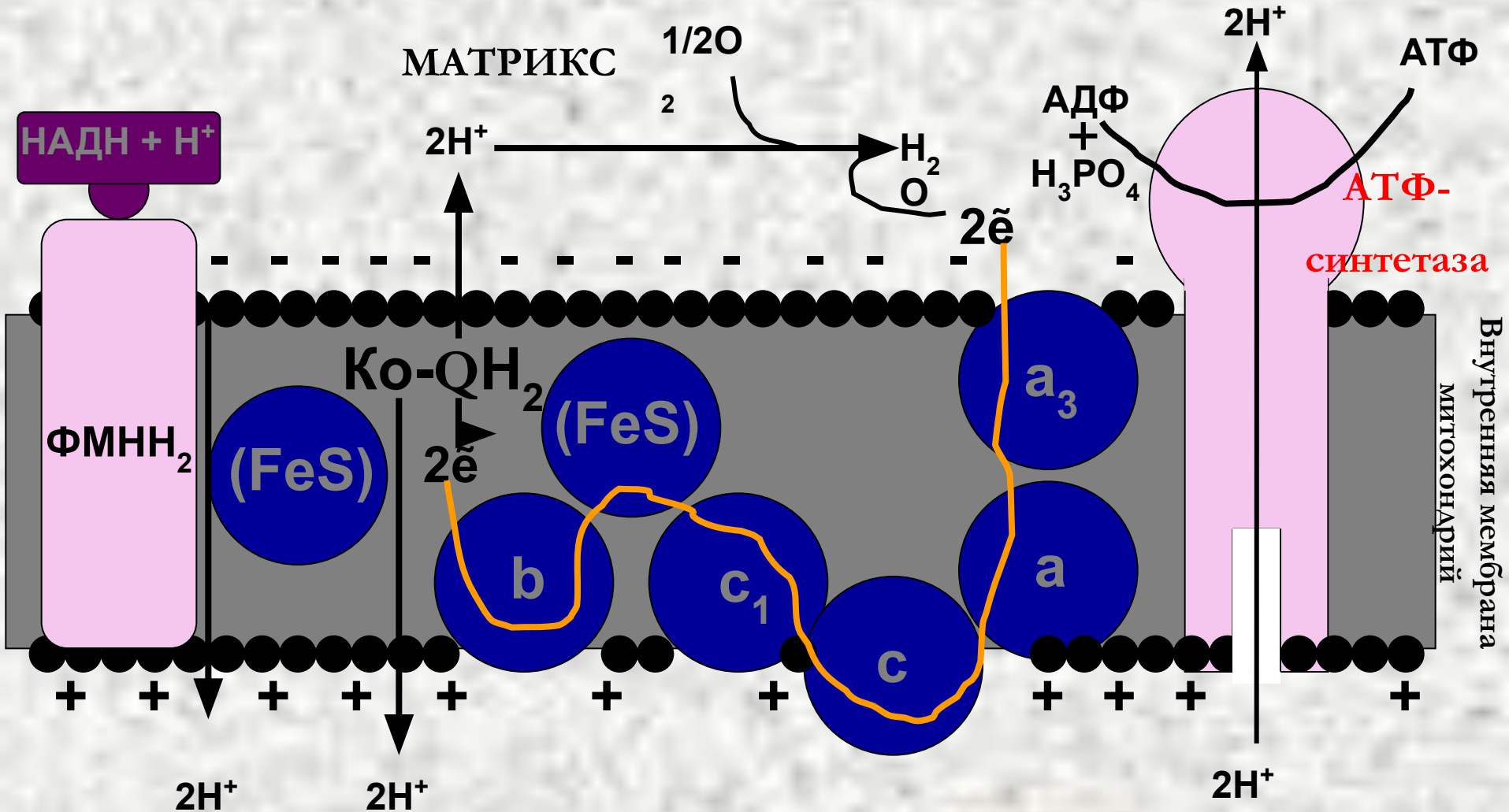
Назначение дыхательной цепи - генерирование энергии.

Схема дыхательной цепи



Организация компонентов дыхательной цепи митохондрий

Фосфорилирование



Ферментные комплексы дыхательной цепи

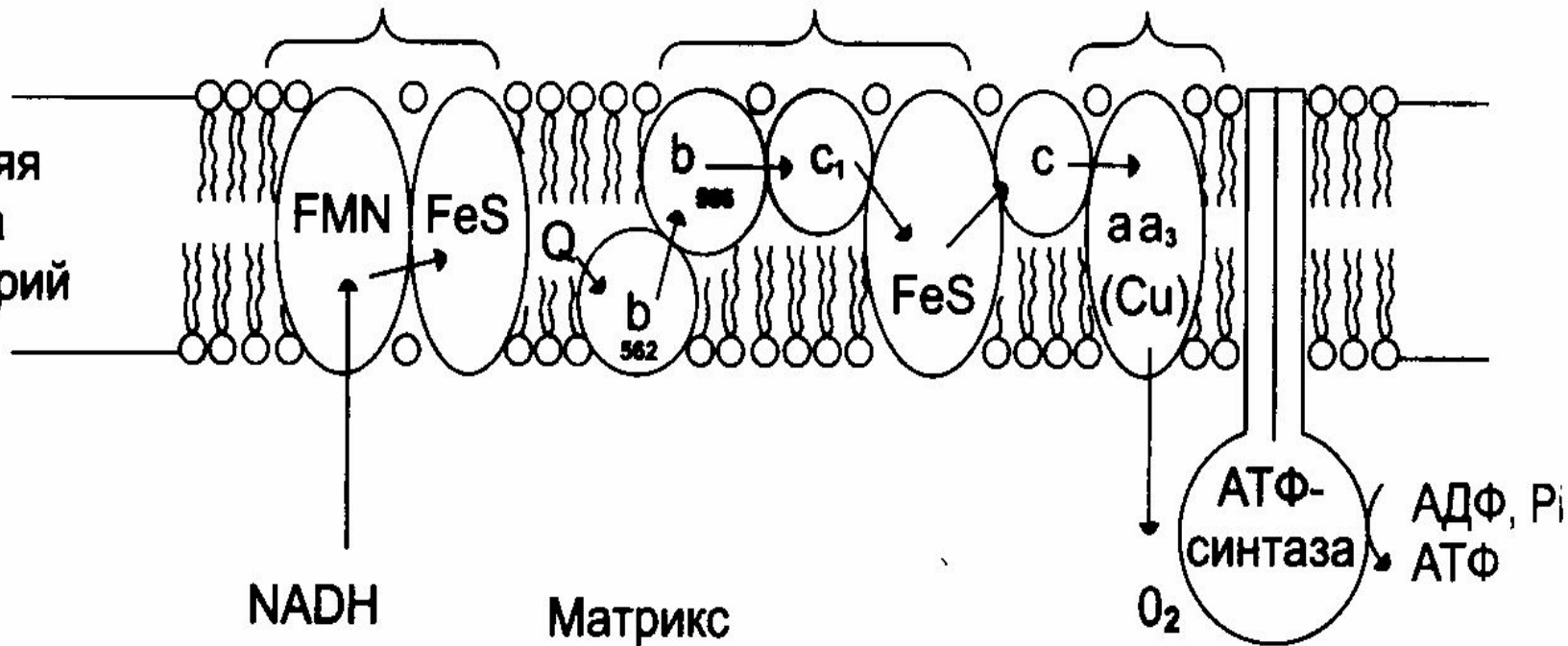
Межмембранное
пространство

Внутренняя
мембрана
митохондрий

Комплекс I

Комплекс III

Комплекс IV



NADH

Матрикс

O_2

Комплекс V

АТФ-
синтаза

АДФ, P_i
АТФ

Пункты сопряжения окисления и фосфорилирования

Синтез АТФ, сопряженный с переносом электронов по дыхательной цепи, называется окислительным фосфорилированием.

Участки дыхательной цепи, где есть такой синтез, называют пунктами сопряжения окисления с фосфорилированием.

Пункты сопряжения окисления и фосфорилирования

1. между НАДН и КоQ,
2. на участке цитохромов $b - c_1$,
3. на участке цитохромов $a - a_3$.

Таким образом, окисление 1 молекулы НАДН приводит к синтезу 3 молекул АТФ, окисление 1 молекулы ФАДН₂ - к образованию 2 молекул АТФ.

Сопряжение и разобщение в дыхательной цепи

Сопряжение в дыхательной цепи - это такое состояние, когда окисление (перенос электронов) сопровождается фосфорилированием, то есть синтезом АТФ.

Разобщение - это такое состояние дыхательной цепи, когда окисление идет, а фосфорилирование не происходит. В этом случае вся или какая-то часть образующейся энергии выделяется в виде тепла.

Сопряжение и разобщение в дыхательной

Разобщители:

- **2,4-динитрофенол**
- **яды промышленного производства**
- **токсины**
- **ионофоры**
- **жирные кислоты (естественные разобщители)**
- **набухание митохондрий**

Разобщители повышают скорость переноса электронов по дыхательной цепи и выводят ее из под контроля АТФ.

Регуляция дыхательной цепи

- 1. АДФ** стимулирует работу дыхательной цепи. Это явление называется *дыхательным контролем*.
- 2. АТФ** тормозит работу дыхательной цепи и потребление кислорода.
- 3. Адреналин и глюкагон** активируют работу дыхательной цепи.

Блокаторы дыхательной цепи

- 1. Ротенон** блокирует дыхательную цепь на участке НАДН – КоQ.
- 2. Амитал, антимицин** - на участке между цитохромами b и c_1 .
- 3. Цианиды, сероводород и окись углерода** блокируют цитохромоксидазу, при этом вся дыхательная цепь не работает.

Нефосфорилирующее (свободное) окисление

Это окисление без образования АТФ.

Ферменты свободного окисления:

- оксидазы,
- оксигеназы,
- некоторые дегидрогеназы.

Значение свободного окисления:

- **терморегуляция;**
- **образование биологически важных соединений** (катехоламинов, стероидных гормонов, коллагена, активного витамина Д и т.д);
- **обезвреживание ксенобиотиков** (ядов, токсинов, лекарств, веществ бытовой химии).

Тканевые и возрастные особенности окислительных процессов

Анаэробные ткани получают энергию без кислорода.

Анаэробные ткани:

Скелетные мышцы, эритроциты, периферические нервы, мозговое вещество почек, кость, хрящ, соединительная ткань.

Тканевые и возрастные особенности окислительных процессов

Аэробные ткани получают энергию с использованием кислорода и полностью зависят от кровотока.

Аэробные ткани:

Головной мозг, сетчатка глаза, сердце, кора почек, печень, слизистая тонкого кишечника.

Потребление кислорода, а значит, и интенсивность окислительных процессов с возрастом падают.