

# 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.

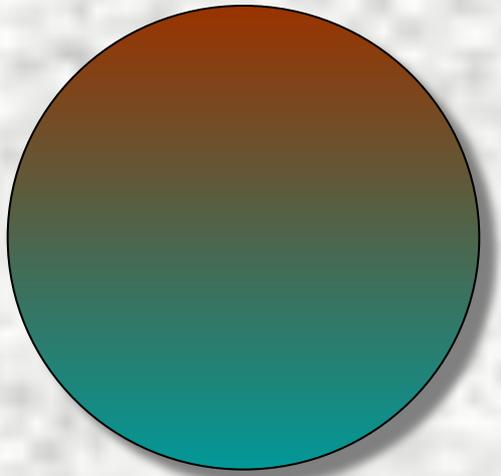
# Отличия ферментов от неорганических катализаторов

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**

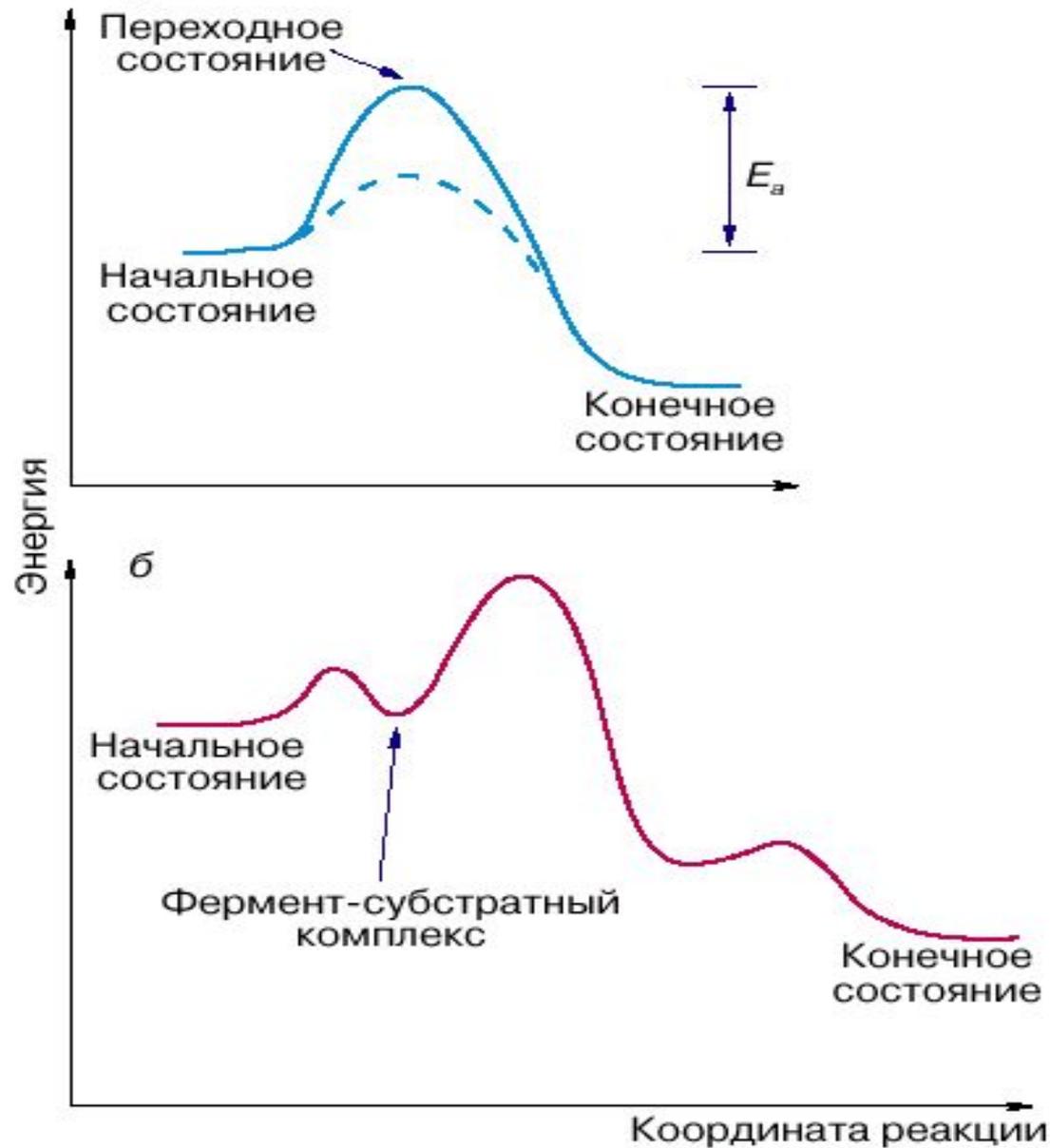
*Непрочно связаны с апоферментом*

*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



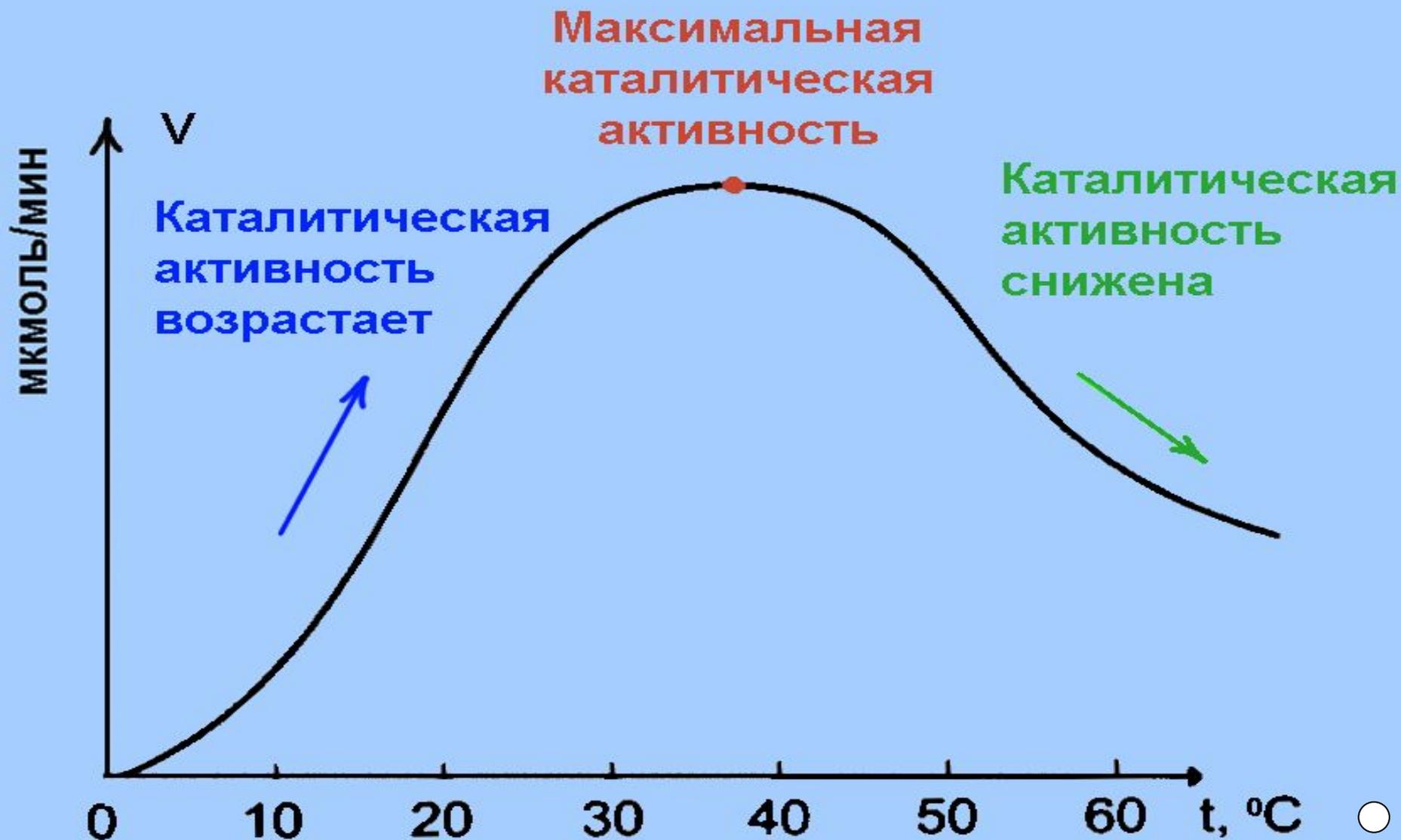
# Факторы, влияющие на каталитическую эффективность ферментов

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

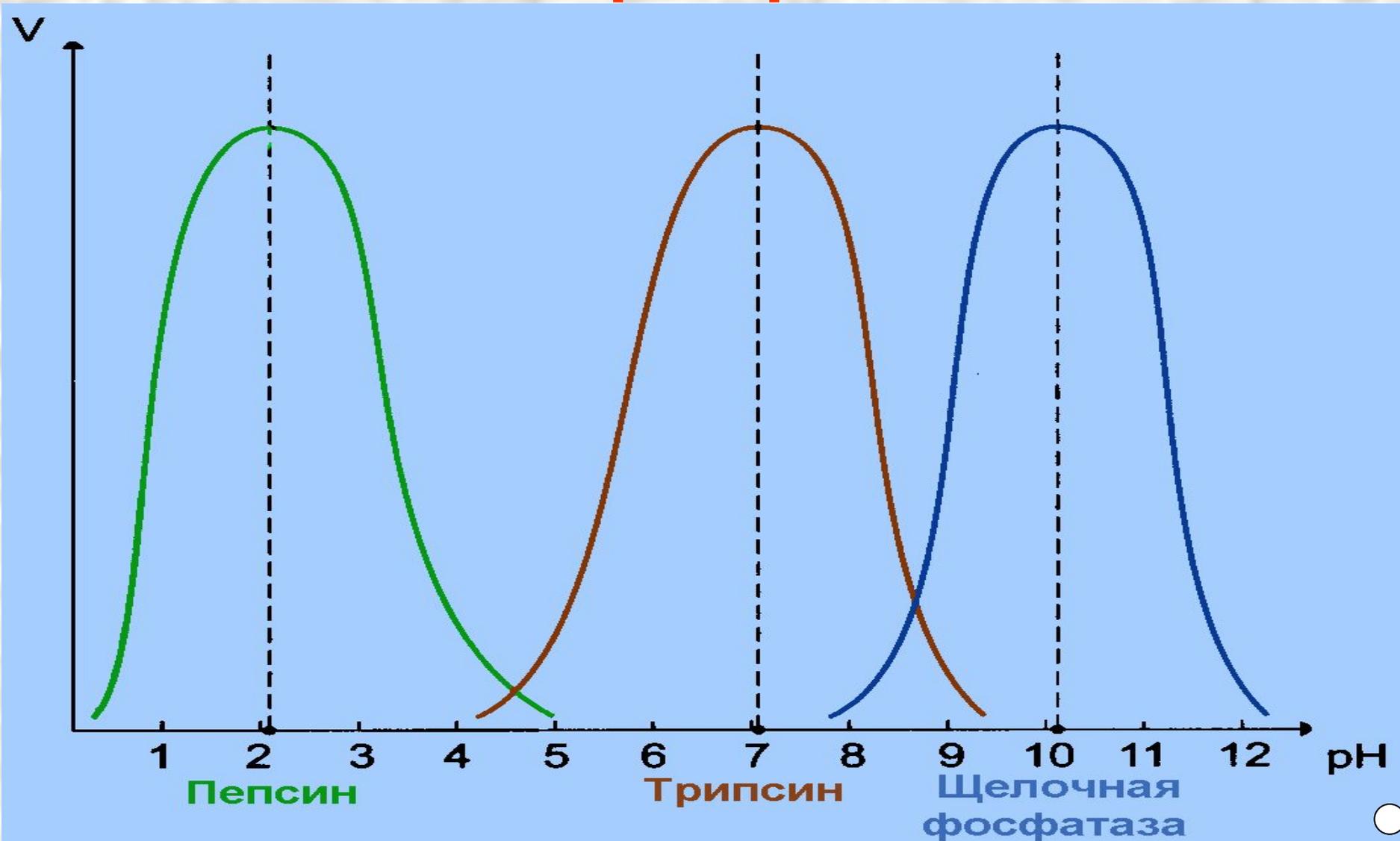
# Факторы, влияющие на каталитическую эффективность ферментов

- 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.

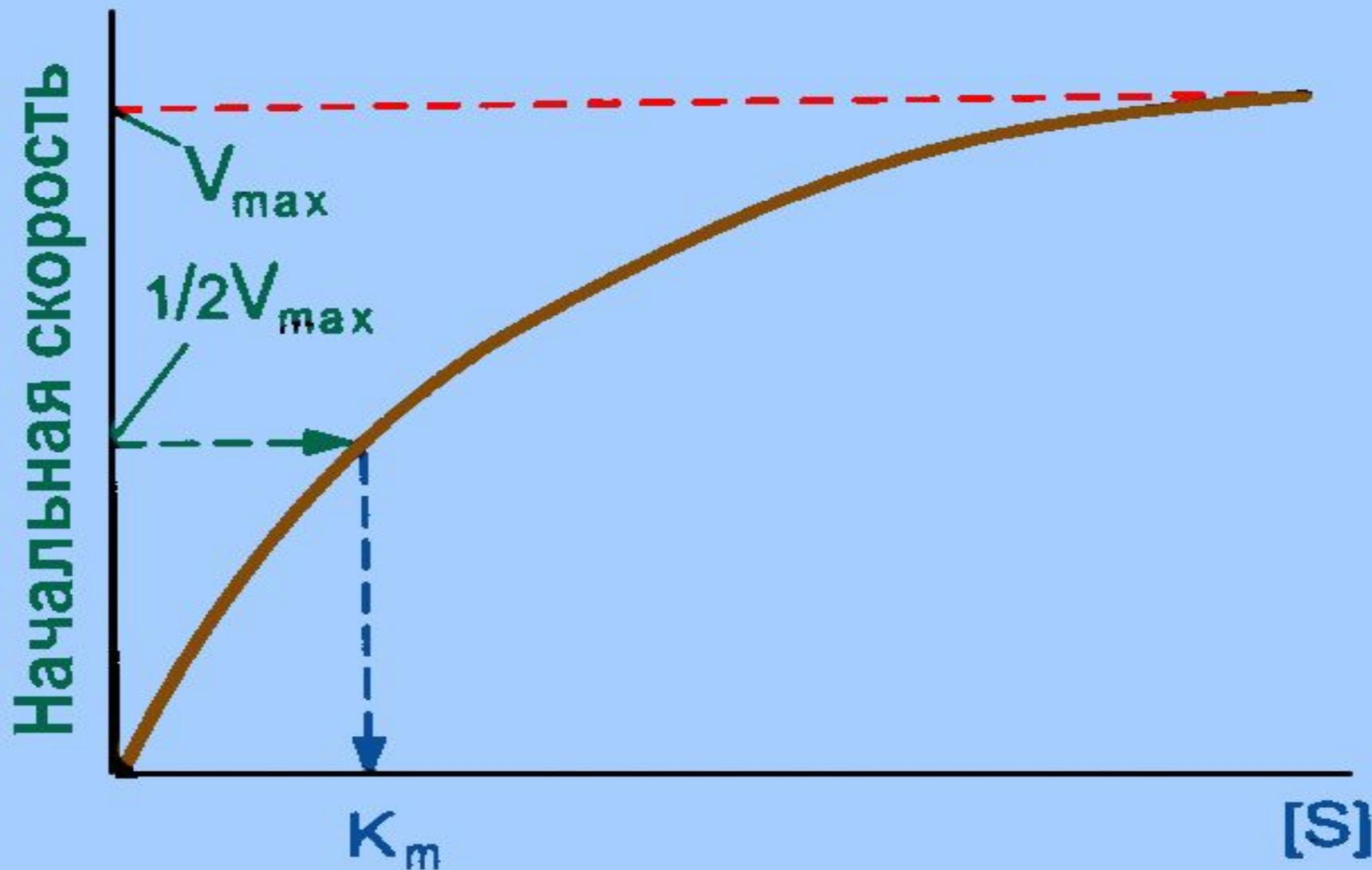
# Зависимость активности фермента от температуры



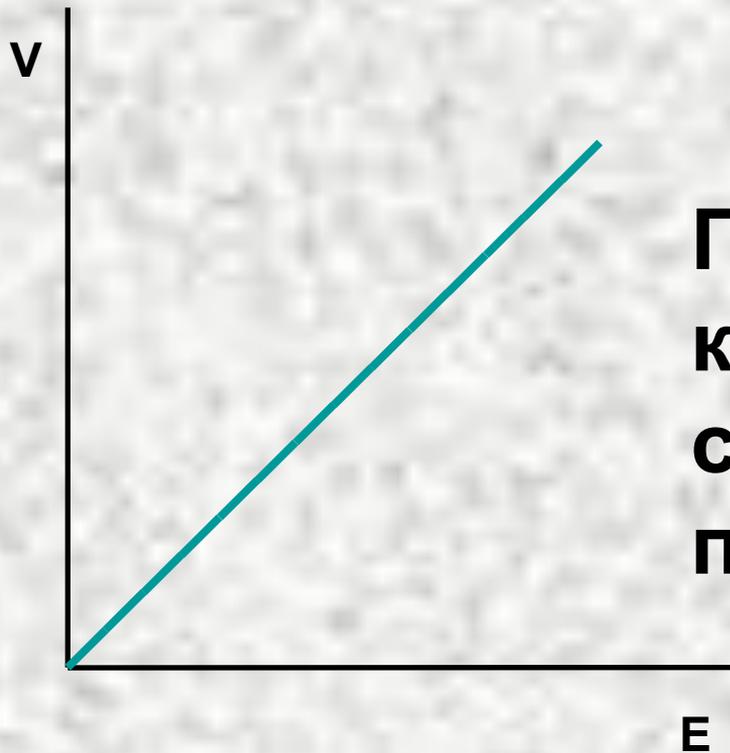
# Зависимость активности фермента от pH среды



# 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.*

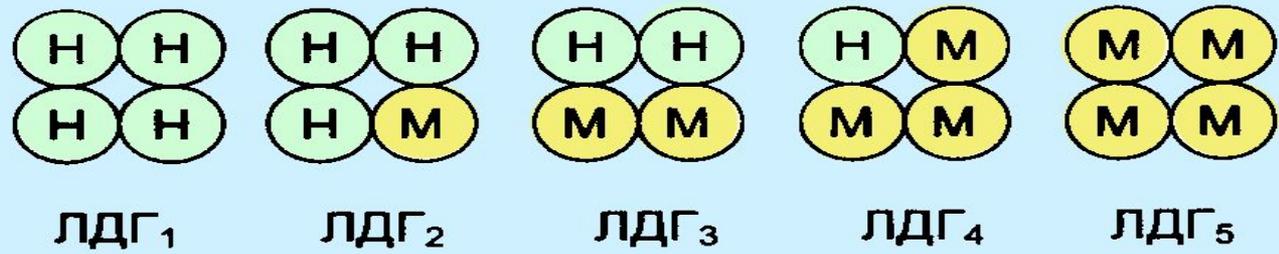


# *Изоферменты различаются*

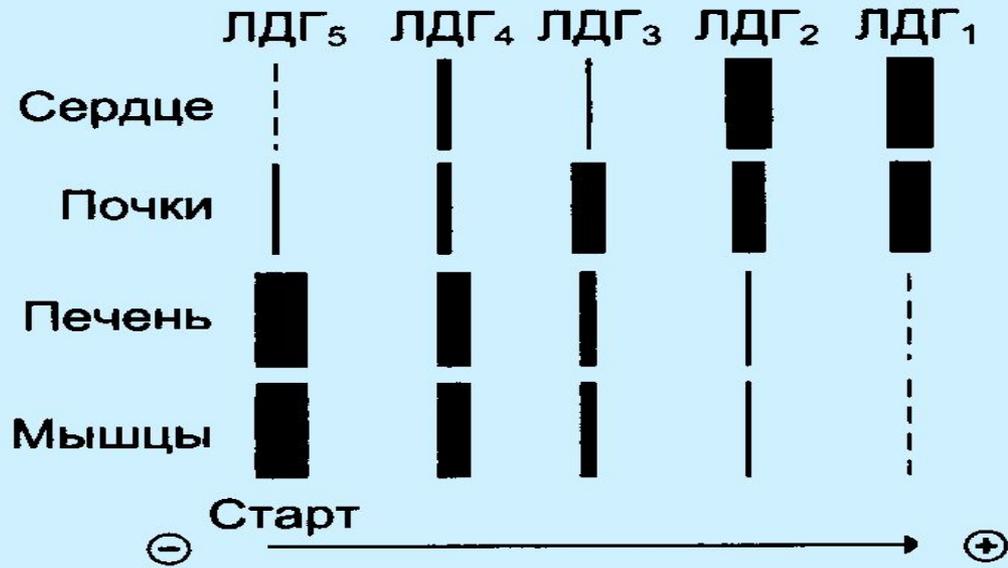
1. По кинетическим параметрам ( $V_{\text{макс}}$  и  $K_m$ ).
2. Тканевой локализации.
3. Электрофоретической подвижности.
4. Чувствительности к регуляторам и т.д.

*Определение в сыворотке крови активности определенных изоферментов используется для диагностики.*

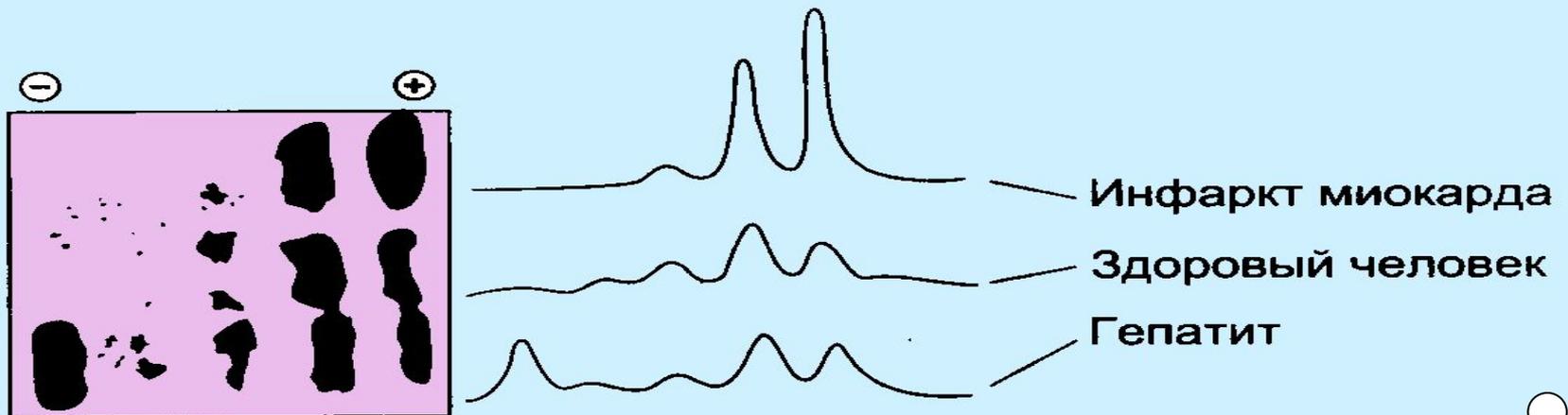
A



B



B



# Алlostерический механизм регуляции

Регулятор действует на **алlostерический центр**.

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

**Алlostерическими 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

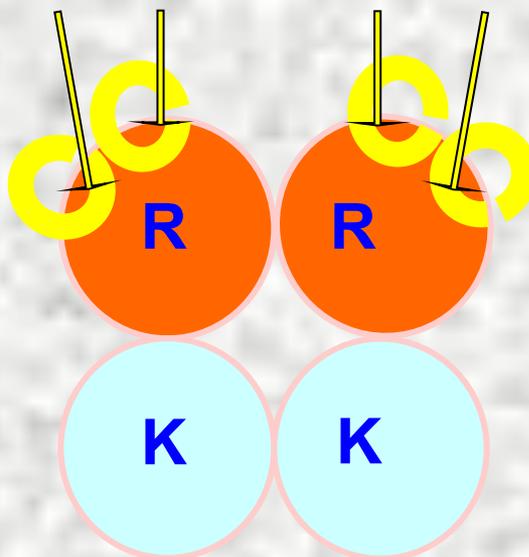


# Взаимодействие «белок-белок»

(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*

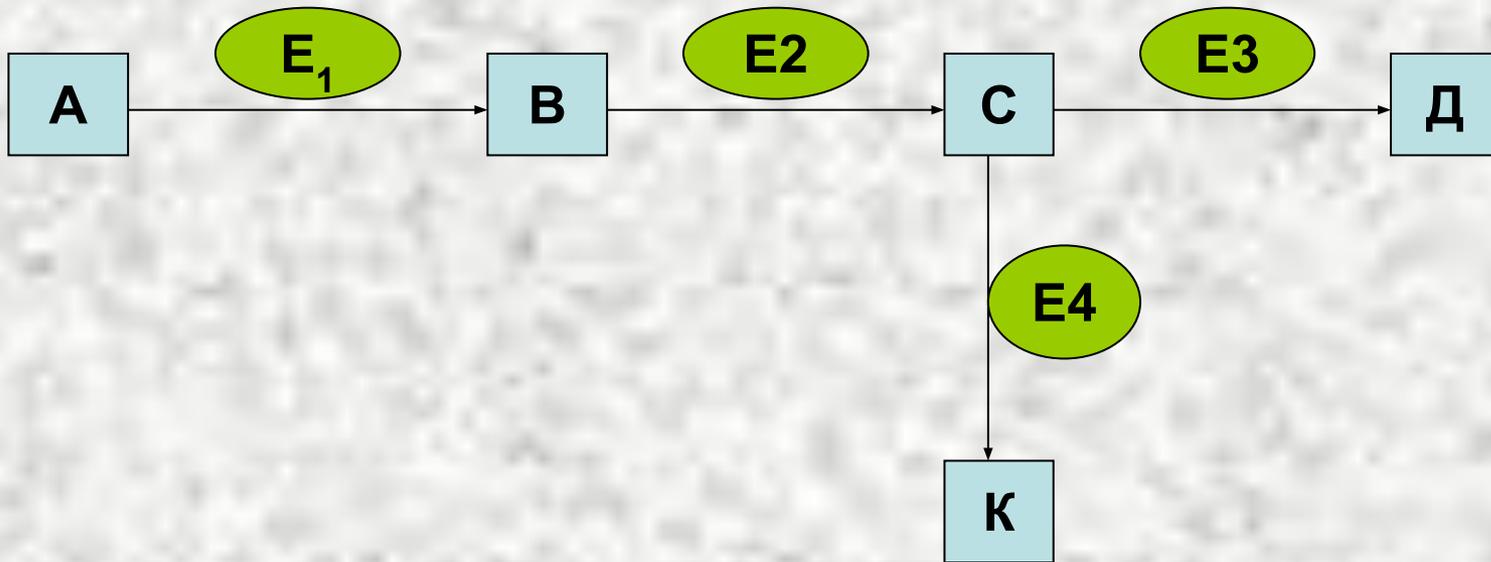
### Конкурентное

- 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 ( $E_1, E_2, E_3$  и  $E_1, E_2, E_4$ );
- 2) конкурентное ( $E_3$  и  $E_4$ )

***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. **Лигазаы** – 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

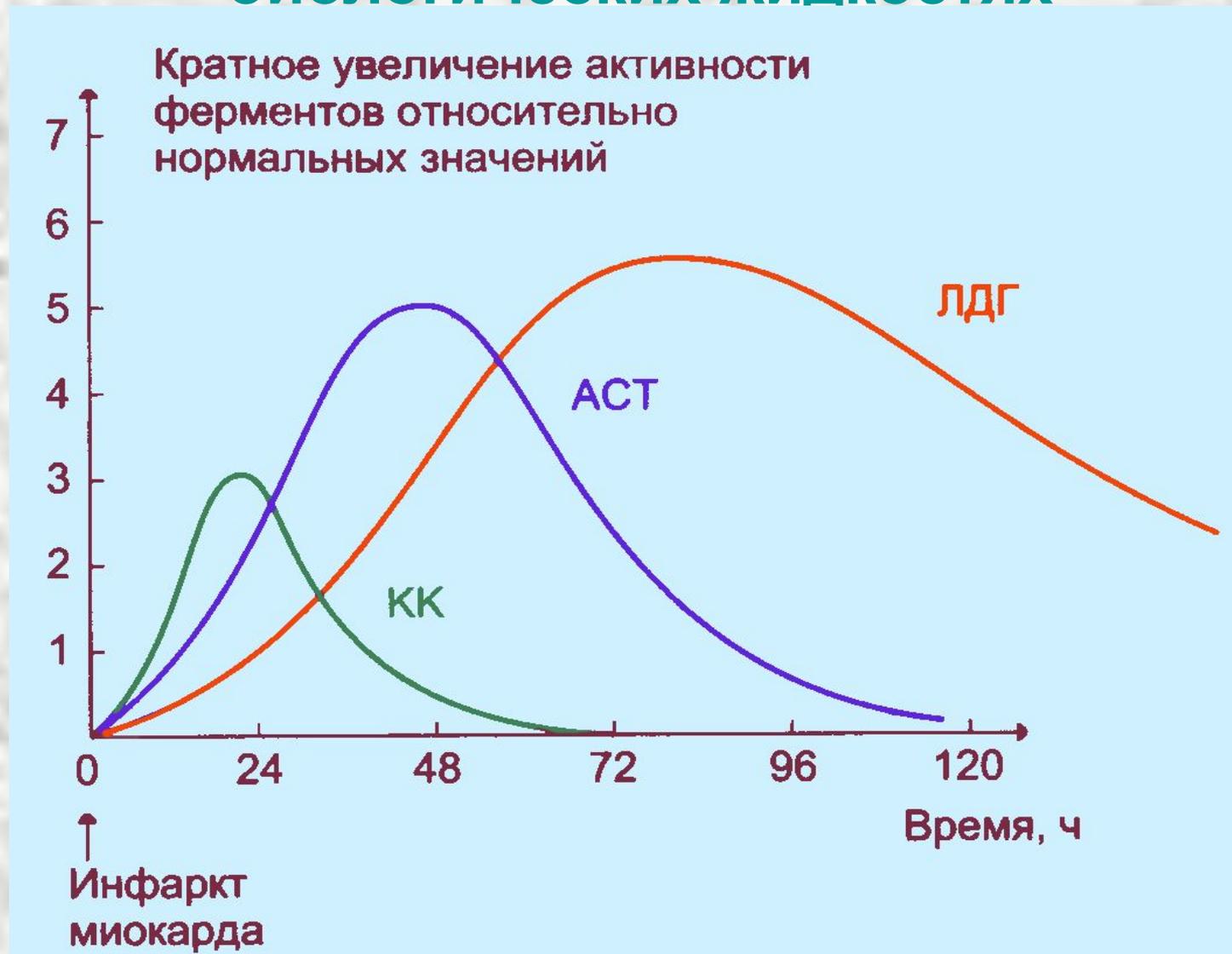
1. Применение ферментов для определения различных веществ в биологических жидкостях.

- 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

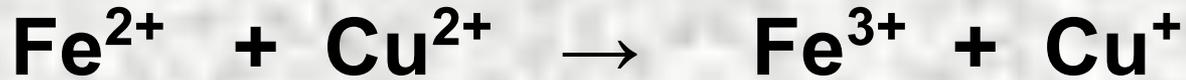
## 2. Определение активности ферментов в биологических жидкостях



# 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<sup>+</sup> - и НАДФ<sup>+</sup> - 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:  
 $\text{R-CH}_3 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CH}_2\text{OH}$

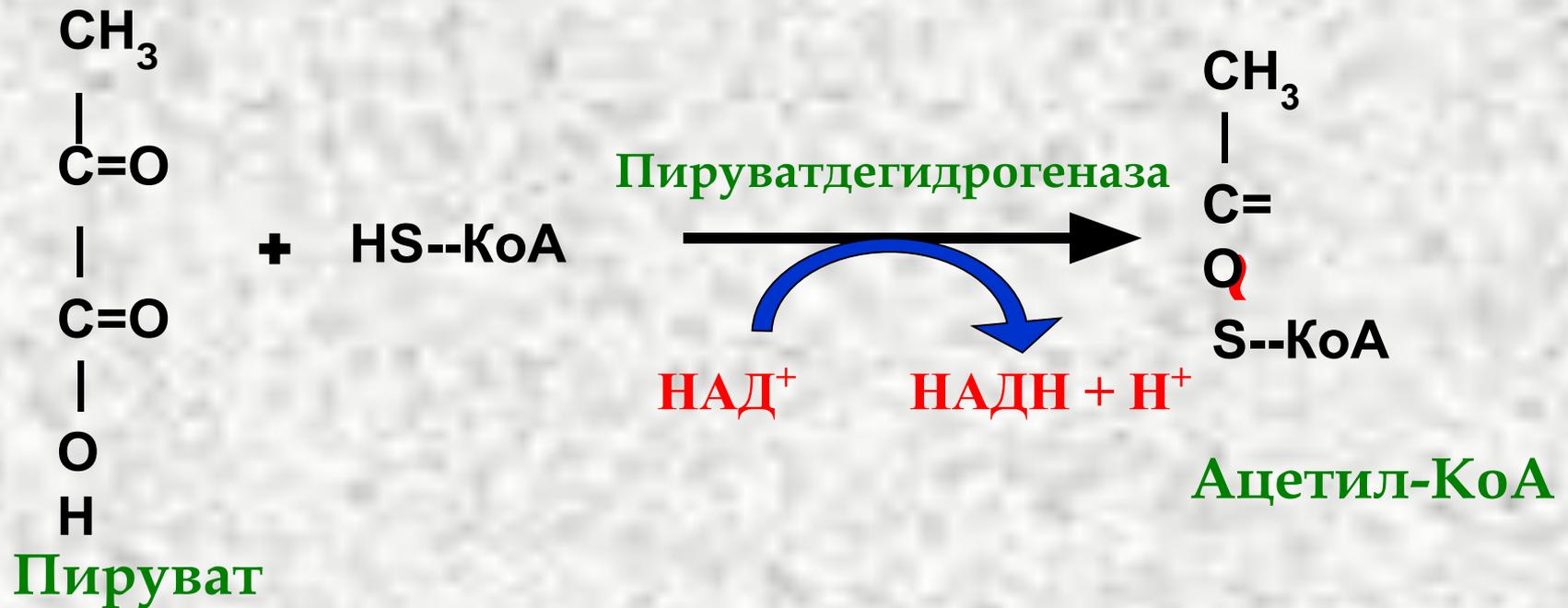
# **Отличия биологического окисления от окисления в неживой природе**

- **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)

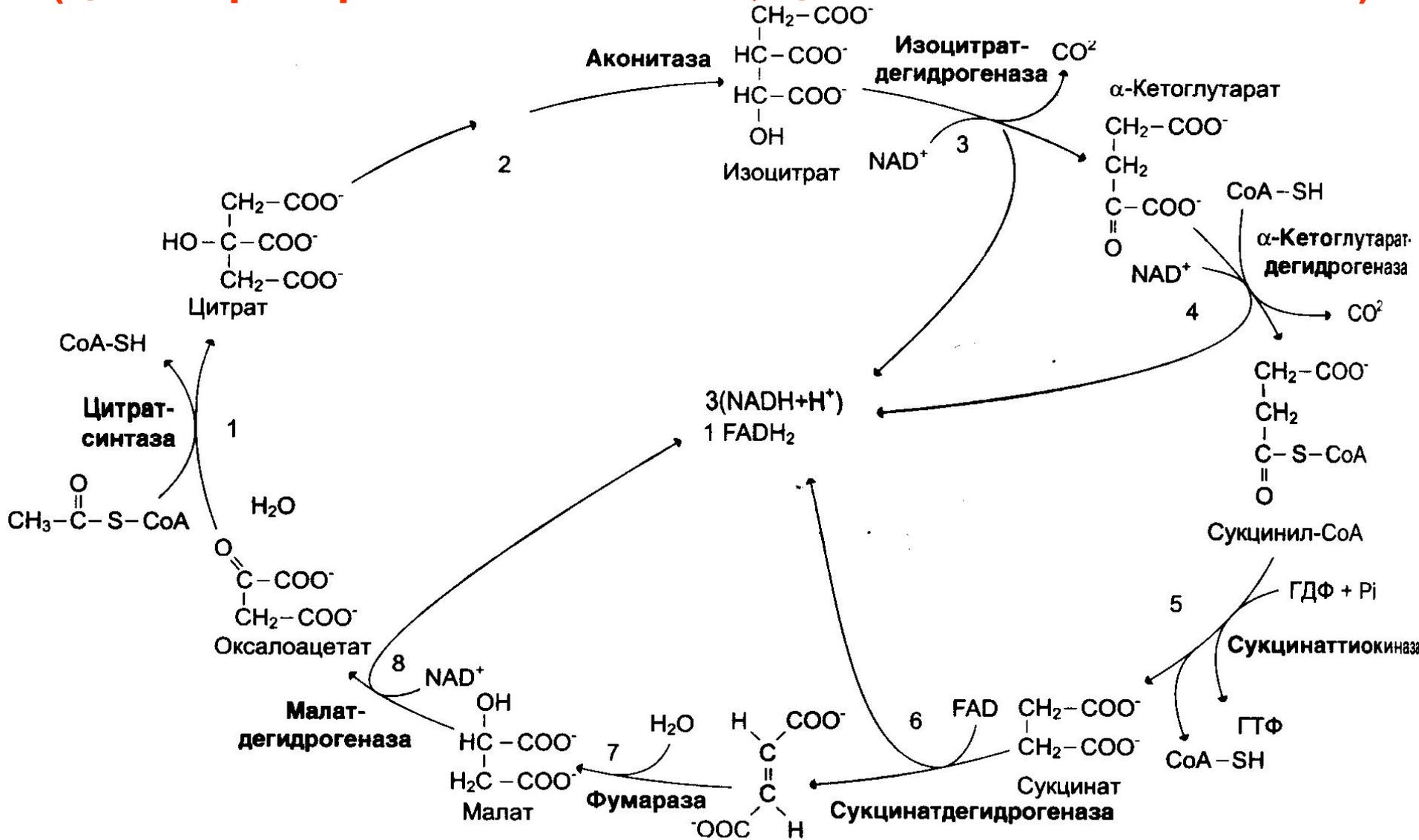


# Окислительное декарбоксилирование пирувата

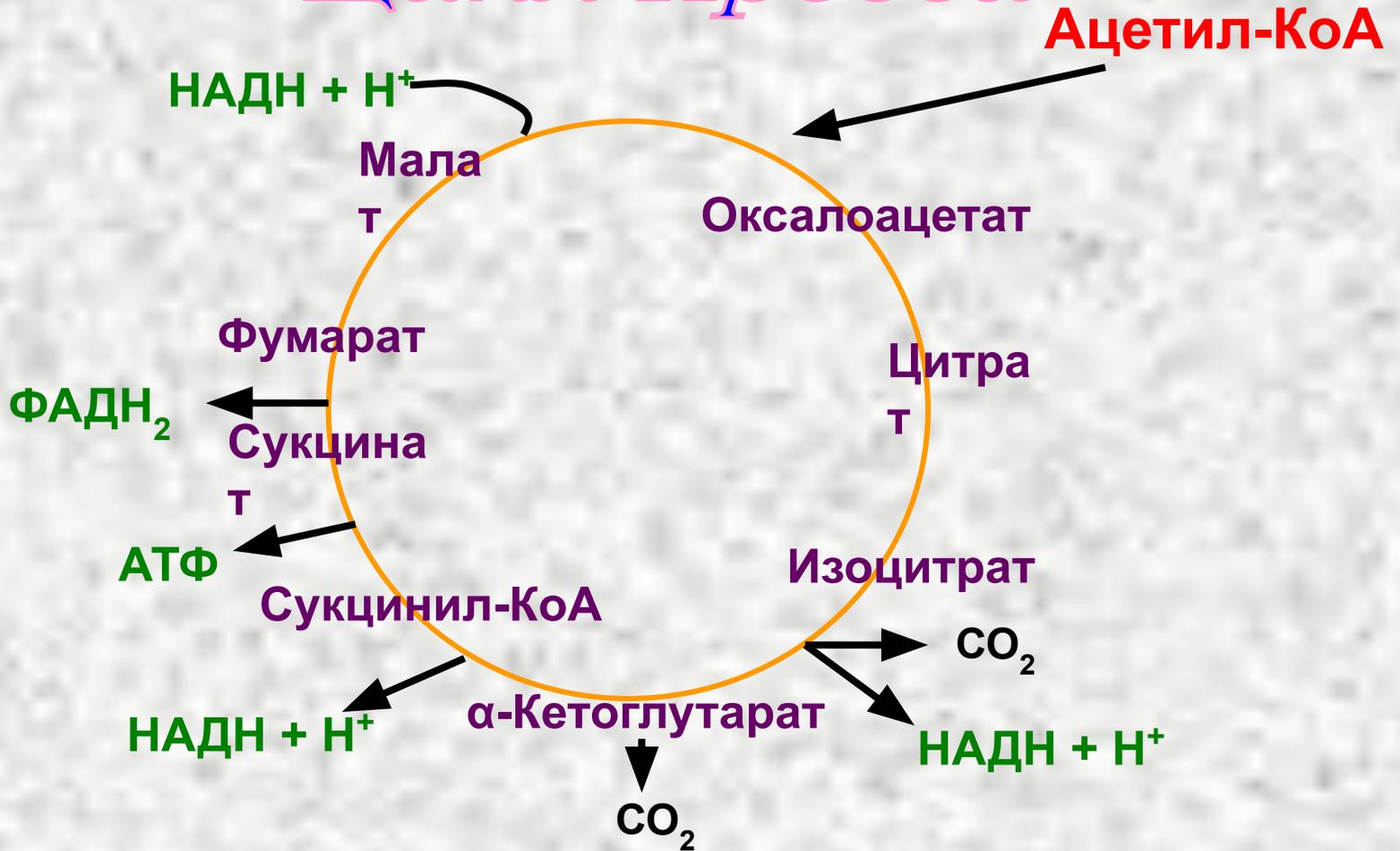


# Цикл Кребса

(цикл трикарбоновых кислот, цикл лимонной кислоты)



# Цикл Кребса



# Регуляция цикла Кребса

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

# 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

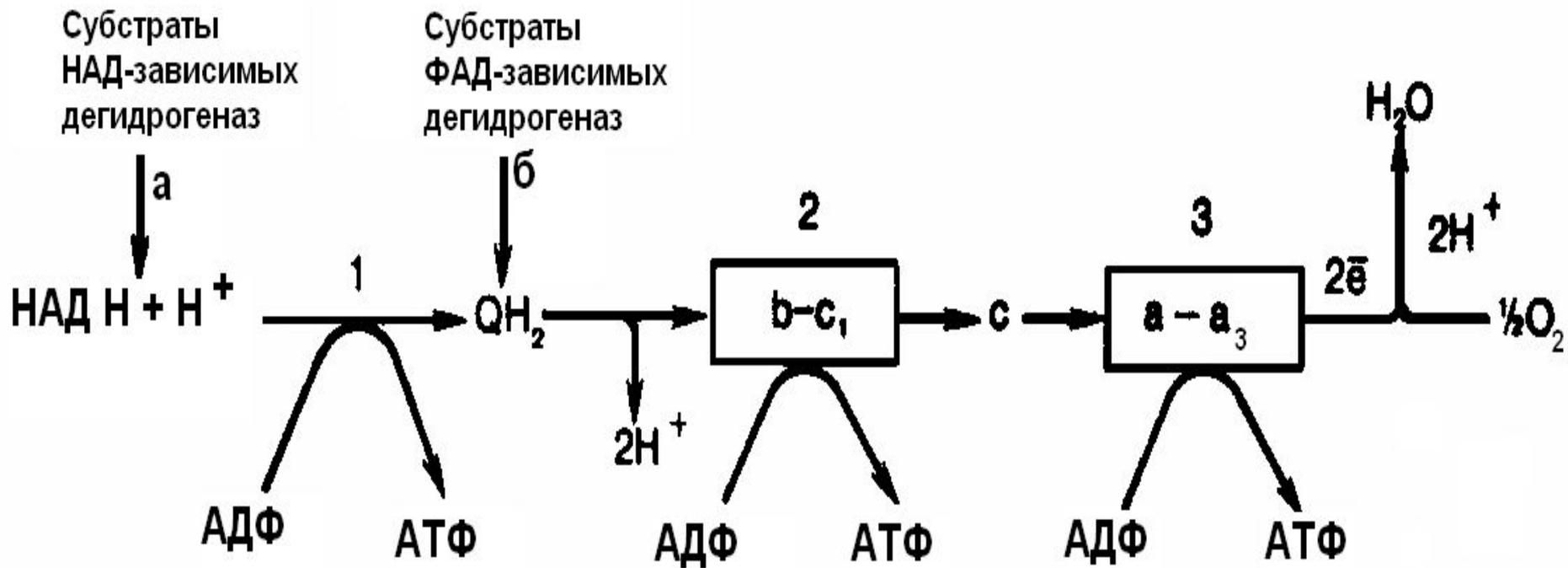
**3. Регуляторное** (метаболиты - цитрат и АТФ - регуляторы других процессов: активируют синтез жирных кислот и ингибируют гликолиз).

# 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.

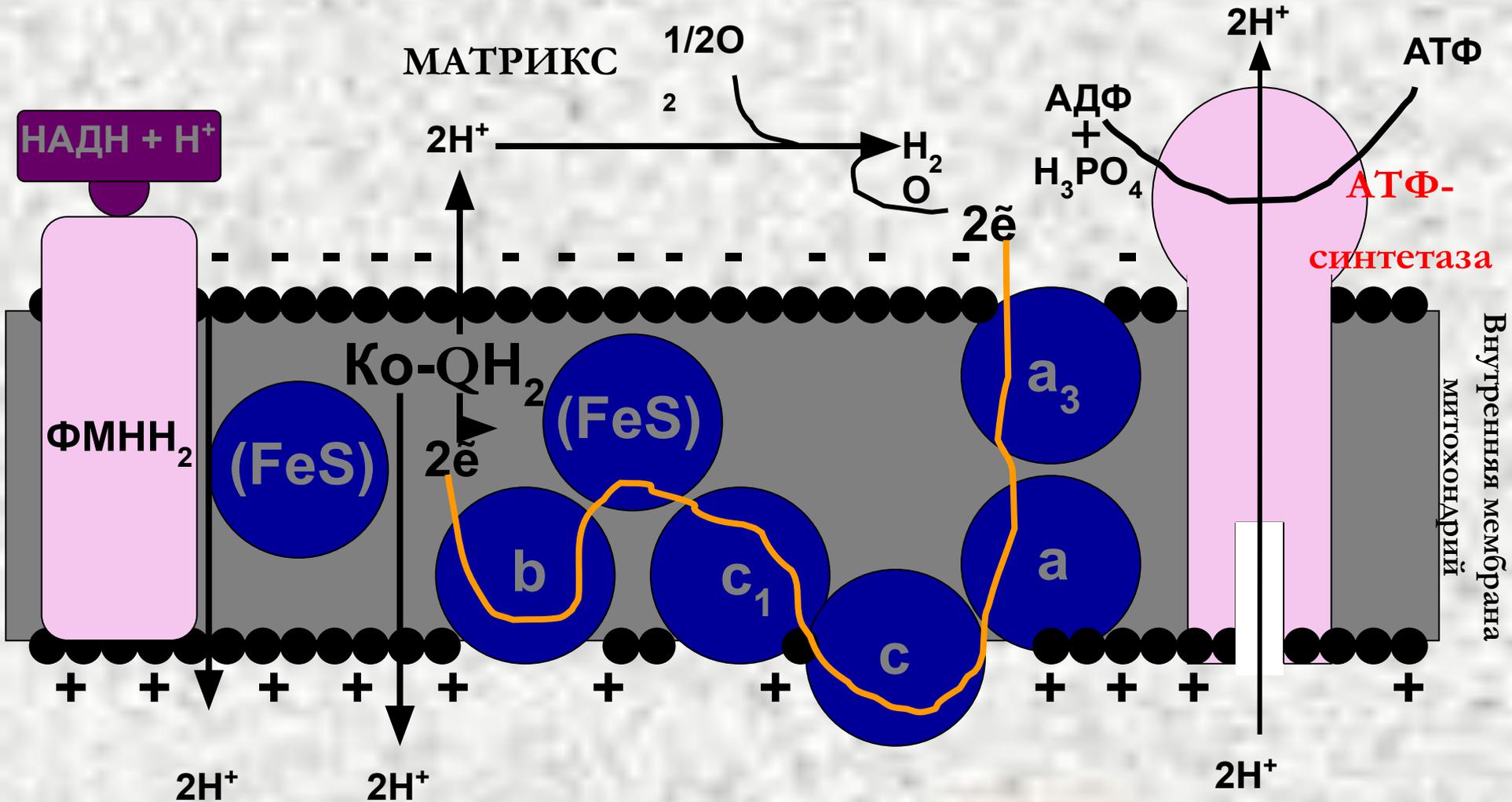
***Назначение дыхательной цепи - генерирование энергии.***

# Схема дыхательной цепи



# Организация компонентов дыхательной цепи митохондрий

## Фосфорилирование



# Ферментные комплексы дыхательной цепи

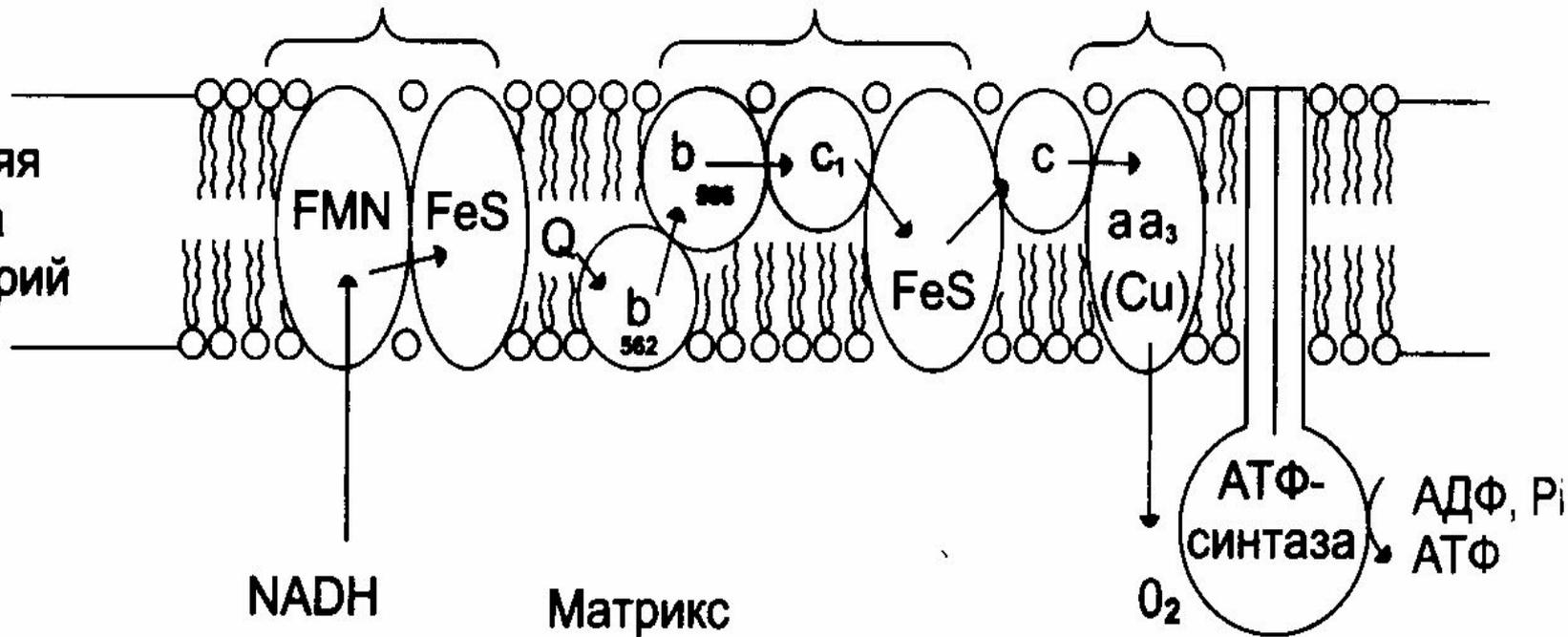
Межмембранное  
пространство

Внутренняя  
мембрана  
митохондрий

Комплекс I

Комплекс III

Комплекс IV



NADH

Матрикс

$O_2$

АТФ-  
синтаза

АДФ,  $P_i$   
АТФ

Комплекс V

# 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 ФАДН<sub>2</sub> - 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.