

# Биологический катализ.

## Ферменты



«Алиса в стране чудес», иллюстрация John Tenniel,  
*The Nursery Alice*. (Mary Evans Picture Library, London)

# Отличия ферментов от небиологических катализаторов

---

- Удивительная эффективность ферментов

## Число оборотов некоторых ферментов

Фермент	Число оборотов в 1 мин при 37°C
Карбоангидраза	36 000 000
$\beta$ -Амилаза	1 100 000
Фосфоглюкомутаза	1 240

# **Отличия ферментов от небиологических катализаторов**

---

- Ферменты обладают высокой субстратной специфичностью
- Ферменты обладают высокой специфичностью к типу катализируемой реакции
- Ферменты обладают высокой региоспецифичностью
- Ферменты обладают высокой стереоспецифичностью

# Отличия ферментов от небиологических катализаторов

---

Составные ферменты: белковая часть обеспечивает связывание субстрата, а катализ осуществляют небелковые (мономерные) соединения, называемые **коферментом** (кофактором, простетической группой). Белковая часть такого фермента называется **апоферментом**, а активный фермент (комплекс апофермента и кофермента) — **холоферментом**.

# Коферменты и витамины

---

- **Витаминами** можно назвать некую группу низкомолекулярных органических соединений различной химической природы, необходимых для осуществления жизненно важных биохимических процессов *in vivo*.
- Природные соединения, не являющиеся витаминами, но легко превращающиеся в них в организме человека, называются **провитаминами**.

# Коферменты и витамины

---

- Если несколько соединений близкой химической природы выполняют одну и ту же витаминную функцию в организме — их называют **витамерами**.
- **Коферменты** — это органические природные низкомолекулярные соединения различной химической природы, необходимые для осуществления каталитического действия ферментов, катализирующих химические процессы *in vivo*.

# Коферменты и витамины

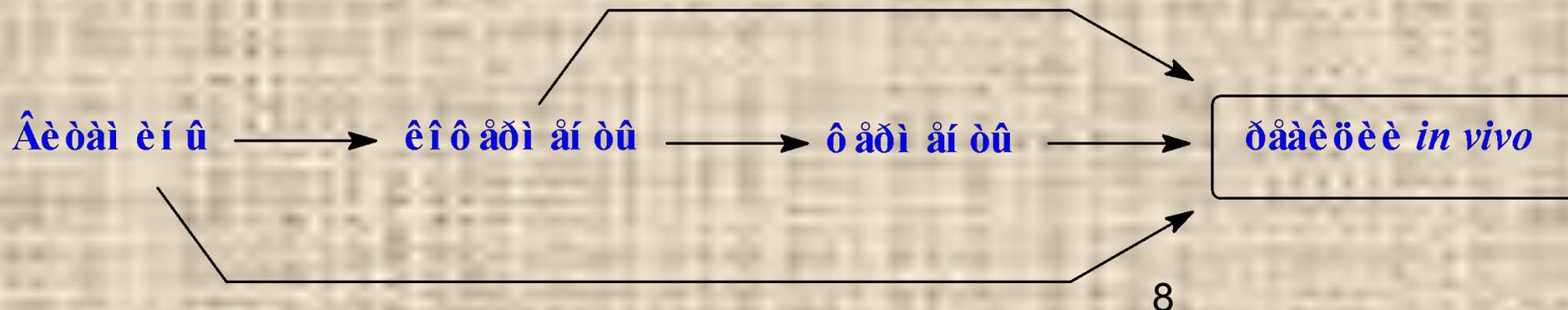
---

- **Собственно витамины — это соединения, выполняющие свою витаминную роль самостоятельно.**
- **Витамины-коферменты — соединения, выполняющие определенную биохимическую функцию в виде производных, т.е. в виде коферментов.**

# Коферменты и витамины

---

- Следует выделить отдельно группу коферментов, т.е. тех соединений, которые образованы из соответствующих витаминов или синтезированы самостоятельно данным организмом для осуществления того или иного химического процесса в живой клетке.



# Коферменты и витамины

Витамин	Коферментная форма	Тип катализируемой реакции
<b>Водорастворимые витамины</b>		
Тиамин (В <sub>1</sub> )	Тиаминпирофосфат	Декарбоксилирование $\alpha$ -кетокислот
Рибофлавин (В <sub>2</sub> )	Флавиномононуклеотид, флавинадениндинуклеотид	Окислительно-восстановительные реакции
Никотиновая кислота	Никотинамидадениндинуклеотид, никотинамидадениндинуклеотидфосфат	Окислительно-восстановительные реакции
Пантотеновая кислота	Кофермент (коэнзим) А	Перенос ацильных групп
Пиридоксин (В <sub>6</sub> )	Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп
Биотин (Н)	Биотицин	Перенос CO <sub>2</sub>
Фолиевая кислота	Тетрагидрофолат	Перенос одноуглеродных групп
Витамин В <sub>12</sub>	Дезоксиаденозилкобаламин	Перенос связанного с углеродом атома водорода на соседний атом углерода
Аскорбиновая кислота (С)	Не известна	Реакции гидроксилирования

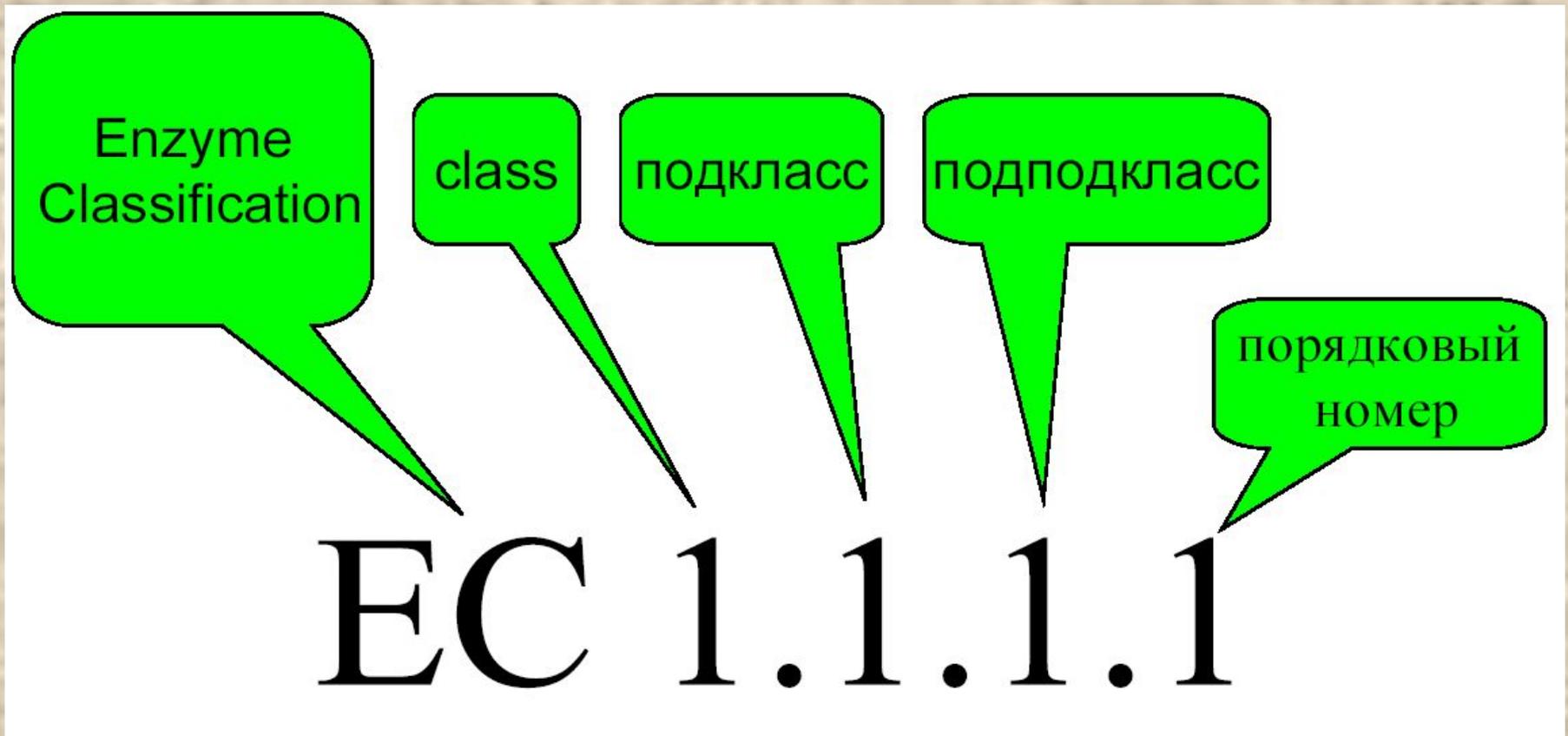
# Коферменты и витамины

---

<b>Витамин</b>	<b>Коферментная форма</b>	<b>Тип катализируемой реакции</b>
<b>Жирорастворимые витамины</b>		
<b>Витамин А</b>	<b>Ретиналь</b>	<b>Зрительный процесс</b>
<b>Витамин D</b>	<b>1,25-Дигидроксиголекальциферол</b>	<b>Регуляция обмена Са</b>
<b>Витамин Е</b>	<b>Не известна</b>	<b>Защита мембранных липидов</b>
<b>Витамин К</b>	<b>Не известна</b>	<b>Реакции декарбоксилирования</b>

# Классификация энзимов – E.C. (Enzyme Classification)

---



# Классификация энзимов – E.C. (Enzyme Classification)

---

- E.C.1. – оксидоредуктазы (*oxidoreductases*).
- E.C.2. – трансферазы (*transferases*).
- E.C.3. – гидролазы (*hydrolases*).
- E.C.4. – лиазы (*lyases*).
- E.C.5. – изомеразы (*isomerases*)
- E.C.6. – лигазы (*ligases*).

# **Оксиредуктазы**

---

***Дегидрогеназы (редуктазы)***

***Оксидазы***

***Пероксидазы***

***Гидроксилазы***

***Оксигеназы***

***Гидрогеназы***

# Оксиредуктазы

---

**E.C.1.1. – действует на СН-ОН функцию**

**E.C.1.2. – действует на альдегидную группу**

**E.C.1.3. – действует на СН-СН группу**

.....  
**E.C.1.10. – действует на дифенолы и родственные группы**

.....  
**E.C.1.13. – действует на простую связь с внедрением молекулярного кислорода**

.....  
**E.C.1.17. – действует на СН<sub>2</sub> фрагмент**

# Оксиредуктазы

---

**Е.С.1.1.1. – NAD<sup>+</sup> или NADP<sup>+</sup>**

**Е.С.1.1.2. – цитохромом**

**Е.С.1.1.3. – кислородом**

**Е.С.1.1.4. – дисульфидом**

**Е.С.1.1.5. – хиноном**

# Оксиредуктазы

---

**E.C.1.1.1.1. – алкоголь дегидрогеназа NAD<sup>+</sup>**

**E.C.1.1.1.2. – алкоголь дегидрогеназа NADP<sup>+</sup>**

.....  
**E.C.1.1.1.27 – L-лактат дегидрогеназа**

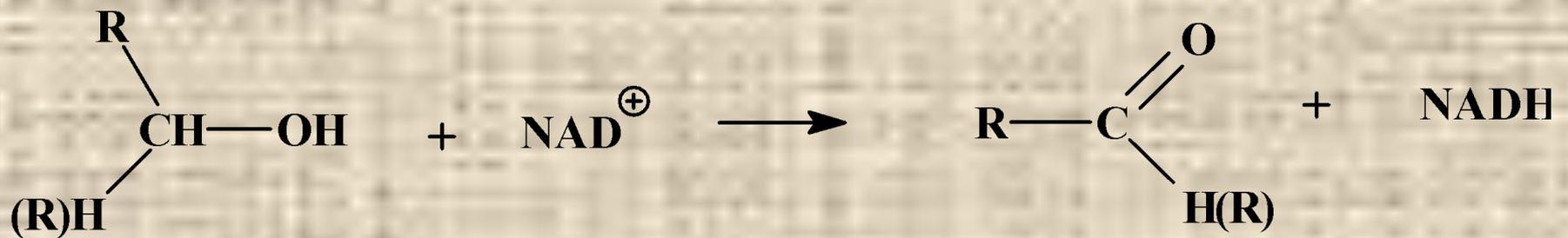
.....  
**E.C.1.1.1.32 – мевальдат редуктаза**

.....  
**E.C.1.1.1.62 – эстрадиол 17-β-дегидрогеназа**

# Оксиредуктазы

---

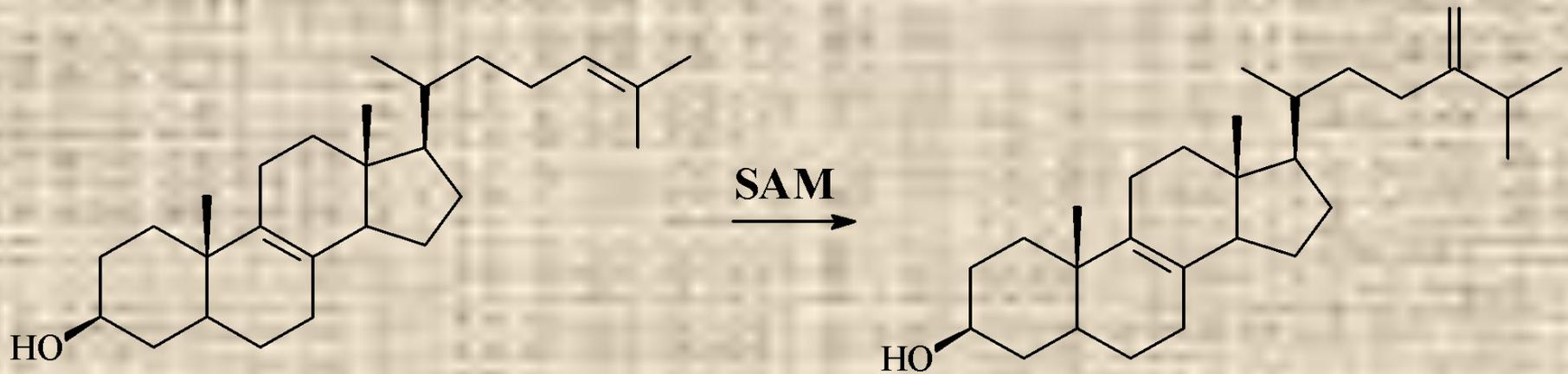
## E.C.1.1.1.1





# Трансферазы

---



Где SAM – S-аденозил-L-метионин

# Трансферазы

---

- Е.С.2.1. – переносчики одно-углеродной группы**
- Е.С.2.2. – переносчики карбонильных функций**
- Е.С.2.3. – ацетилтрансферазы**
- Е.С.2.4. – гликозилтрансферазы**
- Е.С.2.5. – переносчики алкильных (кроме метильных) и арильных групп**
- Е.С.2.6. – переносчики азотистых функций**
- Е.С.2.7. – переносчики фосфор-содержащих групп**
- Е.С.2.8. – переносчики серу-содержащих функций**
- Е.С.2.9. – переносчики селен-содержащих групп**

# Трансферазы

---

**Е.С.2.1. — трансферазы одноуглеродной группы**

**Е.С.2.1.1. — метилтрансферазы**

**Е.С.2.1.1.41. — стерол 24-С-метилтрансфераза**

# Гидролазы

---

***Протеазы*** — гидролизуют белки

***Нуклеазы*** — гидролизуют нуклеиновые кислоты

Специфические ***эндонуклеазы*** (так называемые ***рестриктазы***) — разрывают полинуклеотиды по строго определенным последовательностям

# Гидролазы

---

**Е.С.3.1. – действуют на сложноэфирные связи, эстеразы**

**Е.С.3.2. – гликозилазы**

**Е.С.3.3. – действуют на простоэфирные связи**

**Е.С.3.4. – действуют на пептидные связи (пептид гидролазы)**

**Е.С.3.5. – действуют на С – N связи, кроме пептидных**

**Е.С.3.6. – действуют на ангидриды кислот**

**Е.С.3.7. – действуют на углерод-углеродные связи**

**Е.С.3.8. – действуют на связи с галогеном**

**Е.С.3.9. – действуют на связи P – N**

**Е.С.3.10.– действуют на S – N связи**

**Е.С.3.11.– действуют на C – P связи**

**Е.С.3.12.– действуют на S – S связи**

**Е.С.3.13.– действуют на C – S связи.**

# Гидролазы

---

**Е.С.3.1 гидролазы действующие на  
сложноэфирную связь**

**Е.С.3.1.1. гидролазы эфиров карбоновых кислот**

**Е.С.3.1.1.1 карбоксилэстеразы**



# Лиазы

---

**Е.С.4.1. – углерод-углеродные лиазы**

**Е.С.4.2. – углерод-кислородные лиазы**

**Е.С.4.3. – углерод-азотные лиазы**

**Е.С.4.4. – углерод-серы лиазы**

**Е.С.4.5. – углерод-галоген лиазы**

**Е.С.4.6. – фосфор-кислородные лиазы**

**Е.С.4.99.– другие лиазы.**

# Лиазы

---

**Е.С.4.1.1. – карбокси лиазы**

**Е.С.4.1.2. – альдегид лиазы**

**Е.С.4.1.3. – оксо-кислотные лиазы**

**Е.С.4.1.99. – другие углерод-углеродные лиазы**

**Е.С.4.1.1.1. – пируват декарбоксилаза**

.....

**Е.С.4.1.1.23. – оротидин-5-фосфат декабоксилаза**

.....

**Е.С.4.1.1.31. – фосфоенолпируват карбоксилаза**

.....

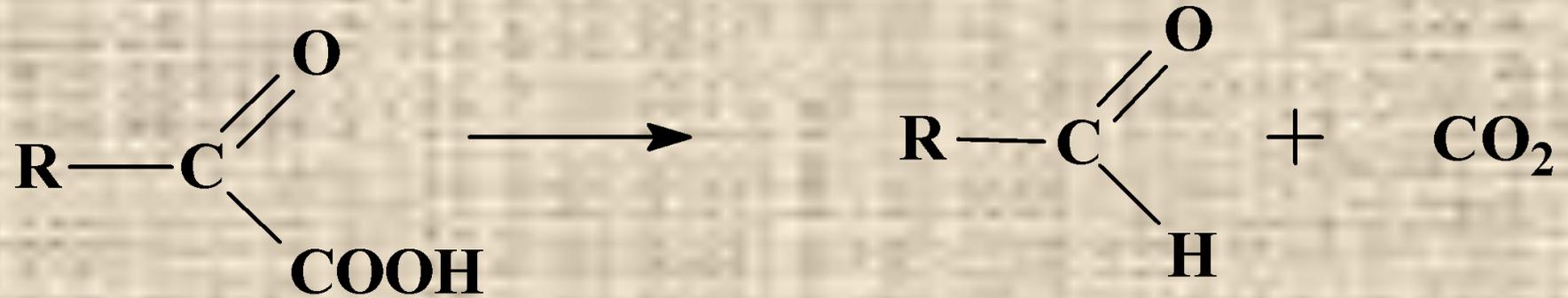
**Е.С.4.1.1.39. – рибулозодифосфат карбоксилаза**

.....

**Е.С.4.1.1.50. – аденозилметионин декарбоксилаза**

# Лиазы

---



# Изомеразы

---

**Е.С.5.1. – рацемазы и эпимеразы**

**Е.С.5.2. – *цис-трас*-изомеразы**

**Е.С.5.3. – внутримолекулярные оксидоредуктазы**

**Е.С.5.4. – внутримолекулярные трансферазы**

**(мутазы)**

**Е.С.5.5. – внутримолекулярные лиазы**

**Е.С.5.99. – другие изомеразы.**

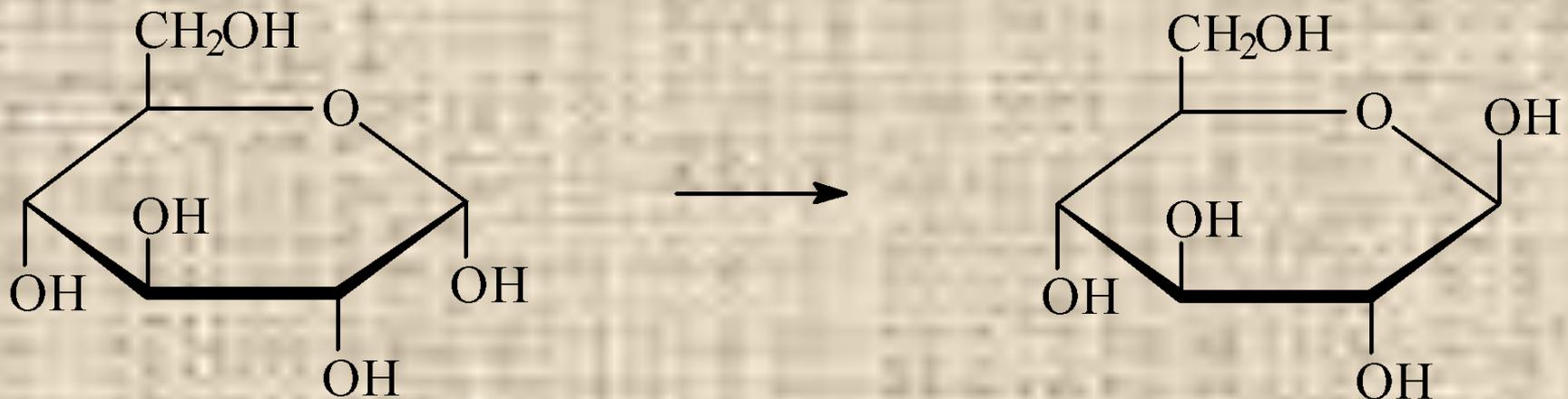
# Изомеразы

---

**Е.С.5.1. рацемазы и эримеразы**

**Е.С.5.1.3. действующие на углеводу и их производные**

**Е.С.5.1.3.3. альдоза-1-эпимераза**



# Лигазы (синтетазы)

---

**Е.С.6.1. – образуют углерод-кислородные связи**

**Е.С.6.2. – образуют углерод-сера связи**

**Е.С.6.3. – образуют углерод-азотные связи**

**Е.С.6.4. – образуют углерод-углеродные связи**

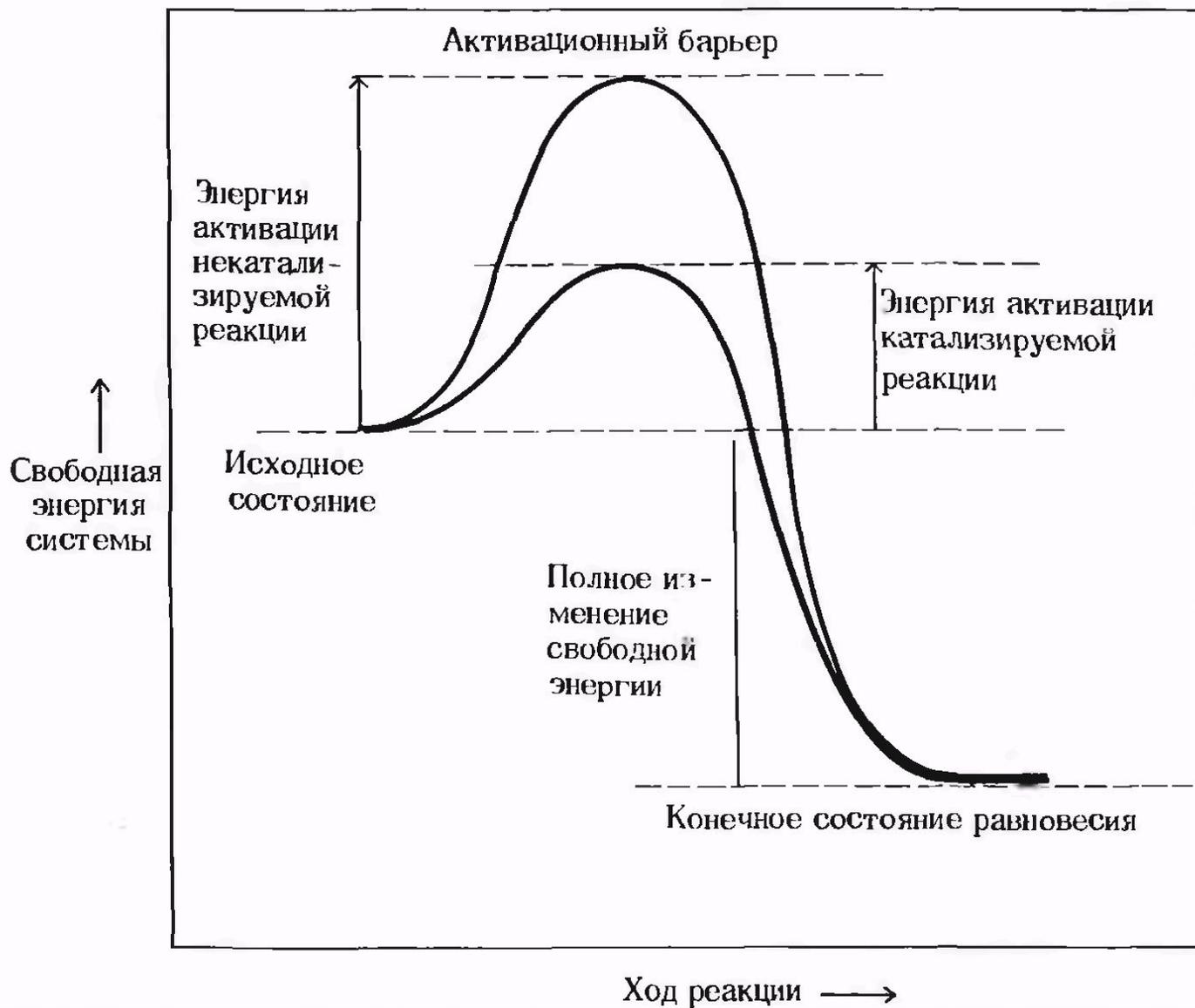
**Е.С.6.5. – образуют фосфат эфирные связи.**

**Е.С.6.3. образующие углерод-азотные связи**

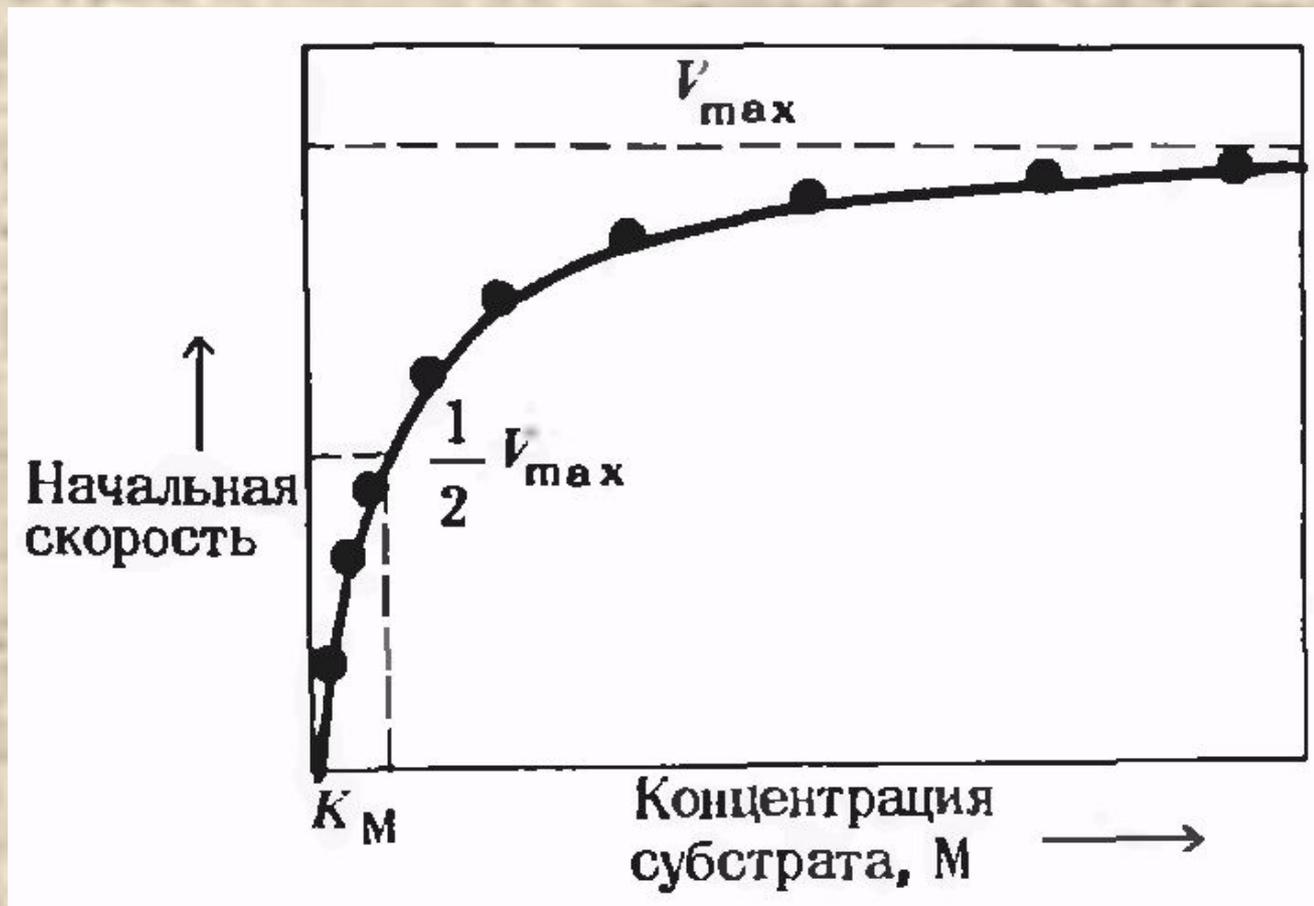
**Е.С.6.3.1. кислота-аммиак (или амид) лигазы  
(амид синтазы)**

**Е.С.6.3.1.1. аспарат-аммиак лигаза.**

# Кинетика ферментативных реакций



# Кинетика ферментативных реакций



Влияние концентрации субстрата на начальную скорость катализируемой ферментом реакции. Из такого графика можно определить величину  $V$  только путем аппроксимирования. Точное определение этой величины в данном случае невозможно, так как по мере повышения концентрации субстрата начальная скорость реакции лишь приближаете к  $V$ , но никогда ее не достигает. Концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной, численно равна  $K_M$  константе Михаэлиса - Ментен.

# Кинетика ферментативных реакций

---

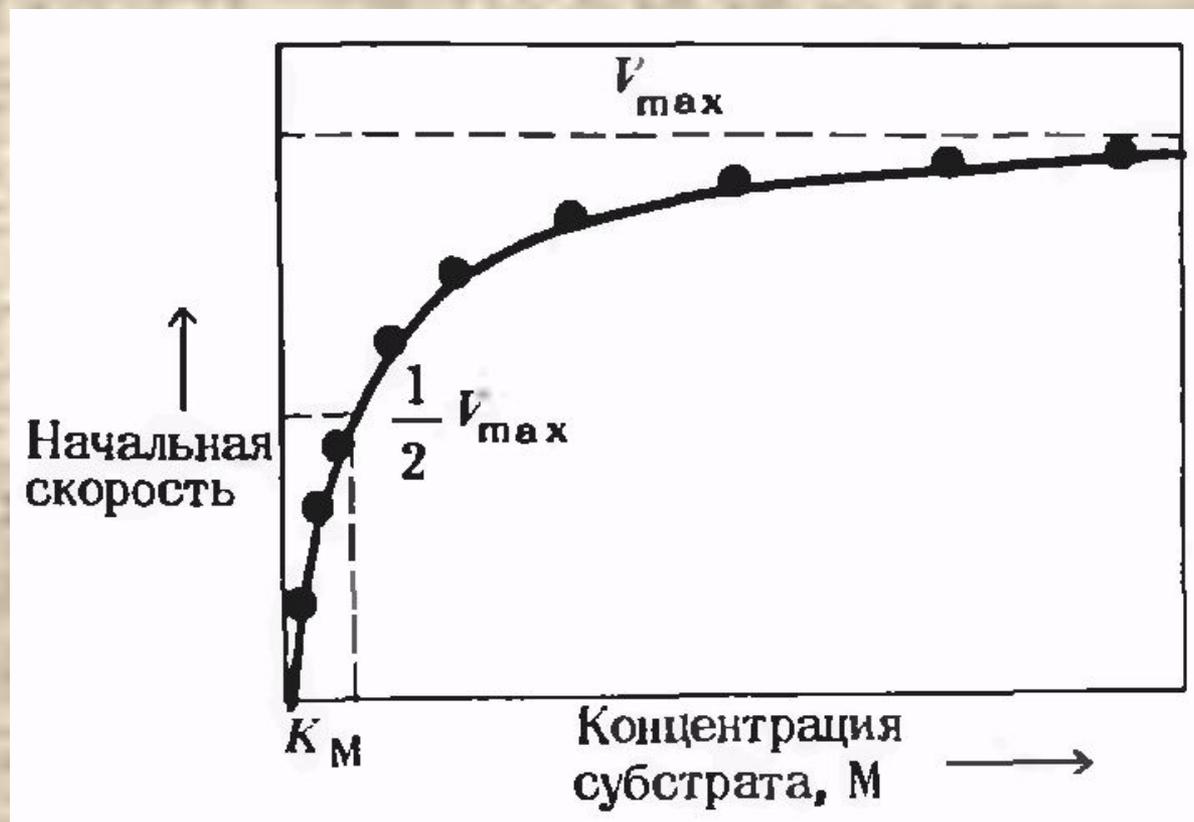
Виктор Генри (1903 г.)

Леонор Михаэлис, Мод Ментен (1913 г.)



# Кинетика ферментативных реакций

## Модель Михаэлиса-Ментон



# Кинетика ферментативных реакций

---

## Модель Михаэлиса-Ментон

**$K_m$  (константа Михаэлиса-Ментен) —**  
**концентрация специфического субстрата,**  
**при которой данный фермент обеспечивает**  
**скорость реакции, равную половине ее**  
**максимальной скорости**

# Кинетика ферментативных реакций

---

## Модель Михаэлиса-Ментон

### *Уравнение Михаэлиса-Ментен*

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

где  $v_0$  начальная скорость при концентрации субстрата  $[S]$ ,  $V_{\max}$  – максимальная скорость и  $K_M$  – константа Михаэлиса-Ментен для данного фермента, соответствующая определенному субстрату

# Кинетика ферментативных реакций

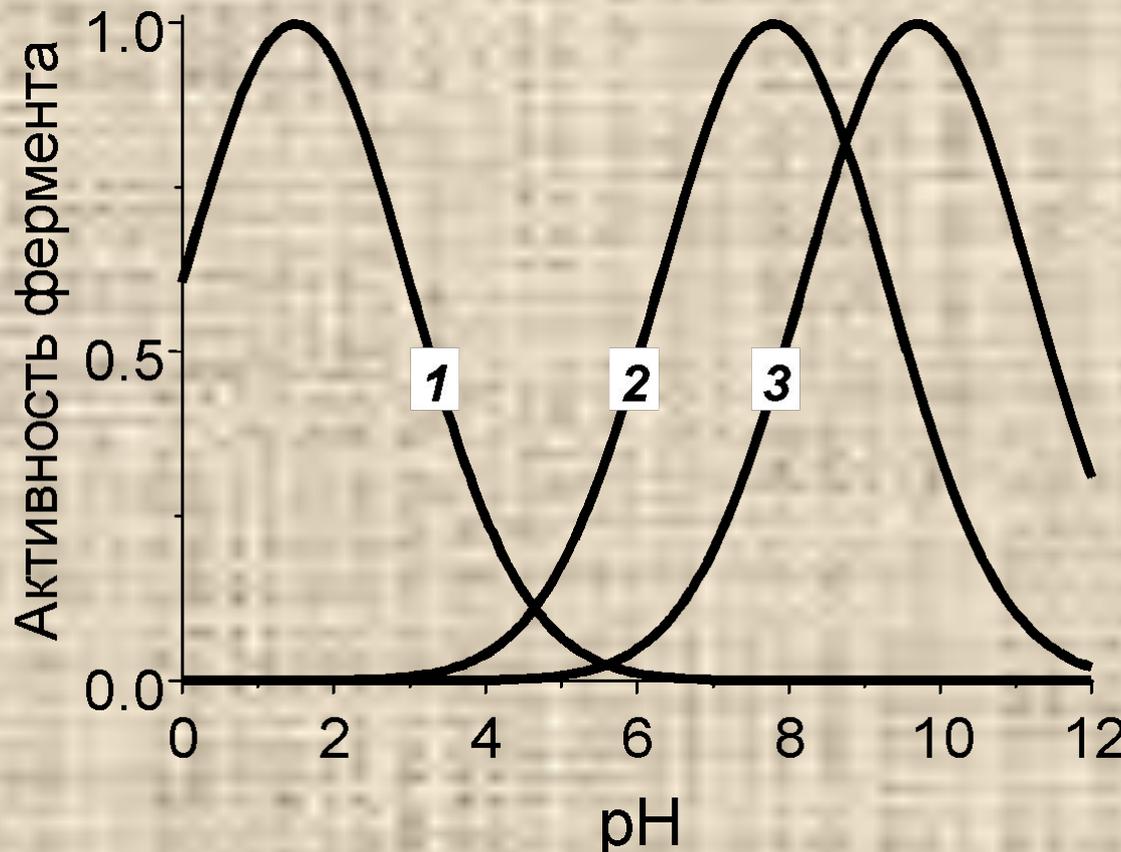
## Модель Михаэлиса-Ментон

Значения констант Михаэлиса-Ментен ( $K_m$ ) для некоторых ферментов

Фермент	Субстрат	$K_m$
Каталаза	$H_2O_2$	25
Гексокиназа (мозг)	АТФ	0,4
	D-глюкоза	0,05
	D-фруктоза	1,5
Карбоангидраза	$HCO_3$	9
Химотрипсин	Глицил-тирозинил-глицин	108
	N-бензоилтирозинамид	2,5
$\beta$ -Галактозидаза	D-лактоза	4,0
Треониндегидратаза	L-треонин	5,0

# Кинетика ферментативных реакций

## Зависимость скорости ферментативных реакций от pH



Зависимость активности ферментов (для удобства сравнения приведены активности, нормированные к единице) от pH.

- 1 — Пепсин,
- 2 — рибонуклеаза,
- 3 — аргиназа

# Кинетика ферментативных реакций

---

## Зависимость скорости ферментативных реакций от pH

Оптимальные значения pH для некоторых ферментов

<b>Фермент</b>	<b>Оптимум pH</b>
<b>Пепсин</b>	<b>1,5</b>
<b>Трипсин</b>	<b>7,7</b>
<b>Катал аза</b>	<b>7,6</b>
<b>Аргиназа</b>	<b>9,7</b>
<b>Фумараза</b>	<b>7,8</b>
<b>Рибонуклеаза</b>	<b>7,8</b>

# Кинетика ферментативных реакций

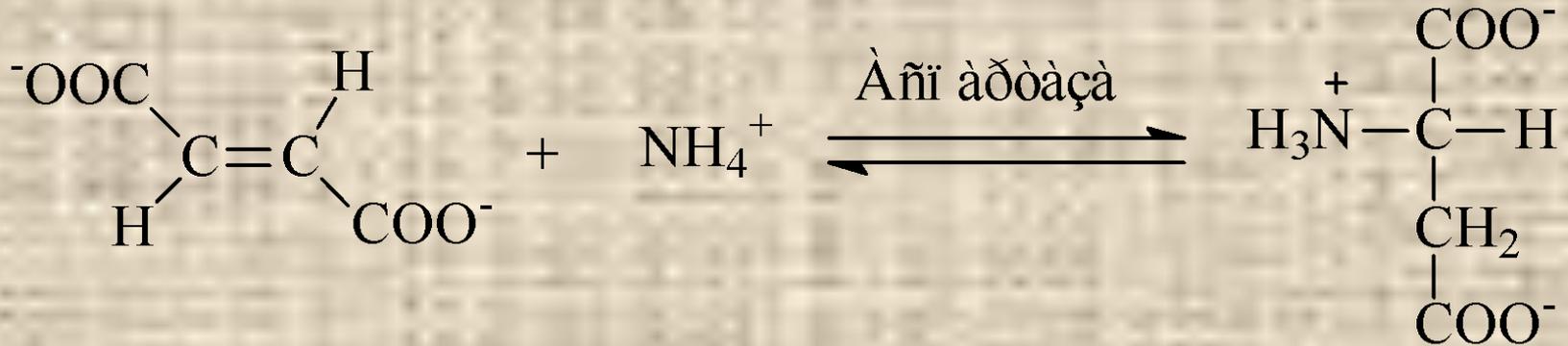
---

Количество фермента можно определить по его активности

*За единицу активности фермента принимается такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата (1 мкмоль =  $10^{-6}$  моля) в 1 мин при 25°C в оптимальных условиях действия фермента.*

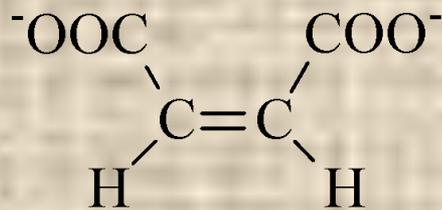
***Удельной активностью** называется число единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка.*

# Специфичность ферментов по отношению к субстратам

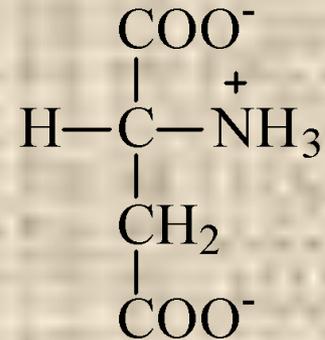


Ôóì àďàò  
(ò ďàí ñ-èçî ì àď)

L-àñĩ àďòàò



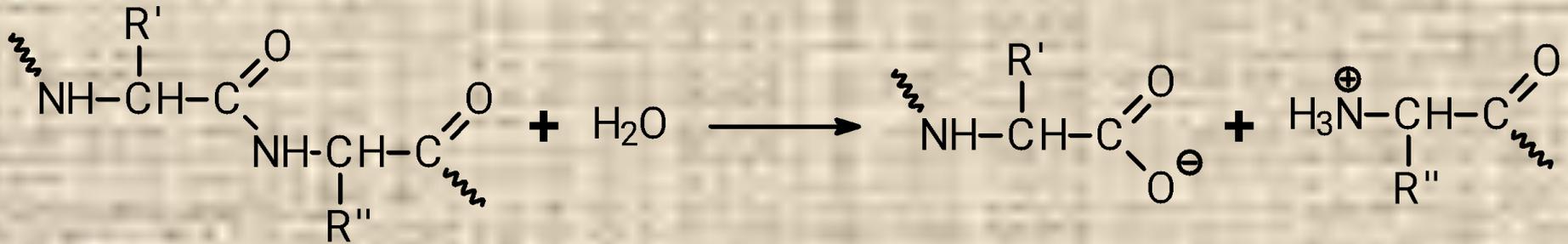
Ì àěàò  
(öèñ-èçî ì àď)



D-àñĩ àďòàò

# Пространственное строение активного центра ферментов

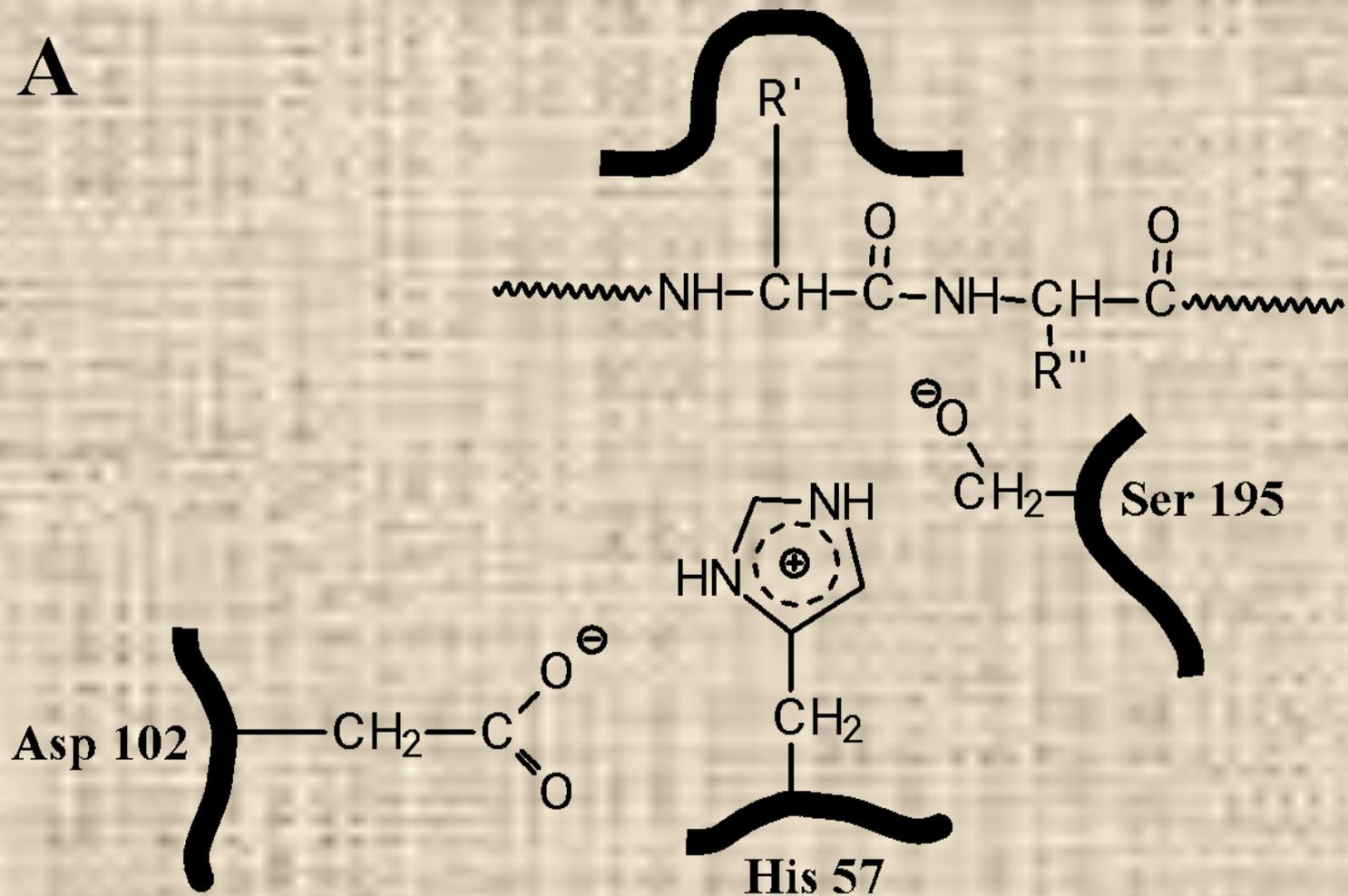
---



# Пространственное строение активного центра ферментов

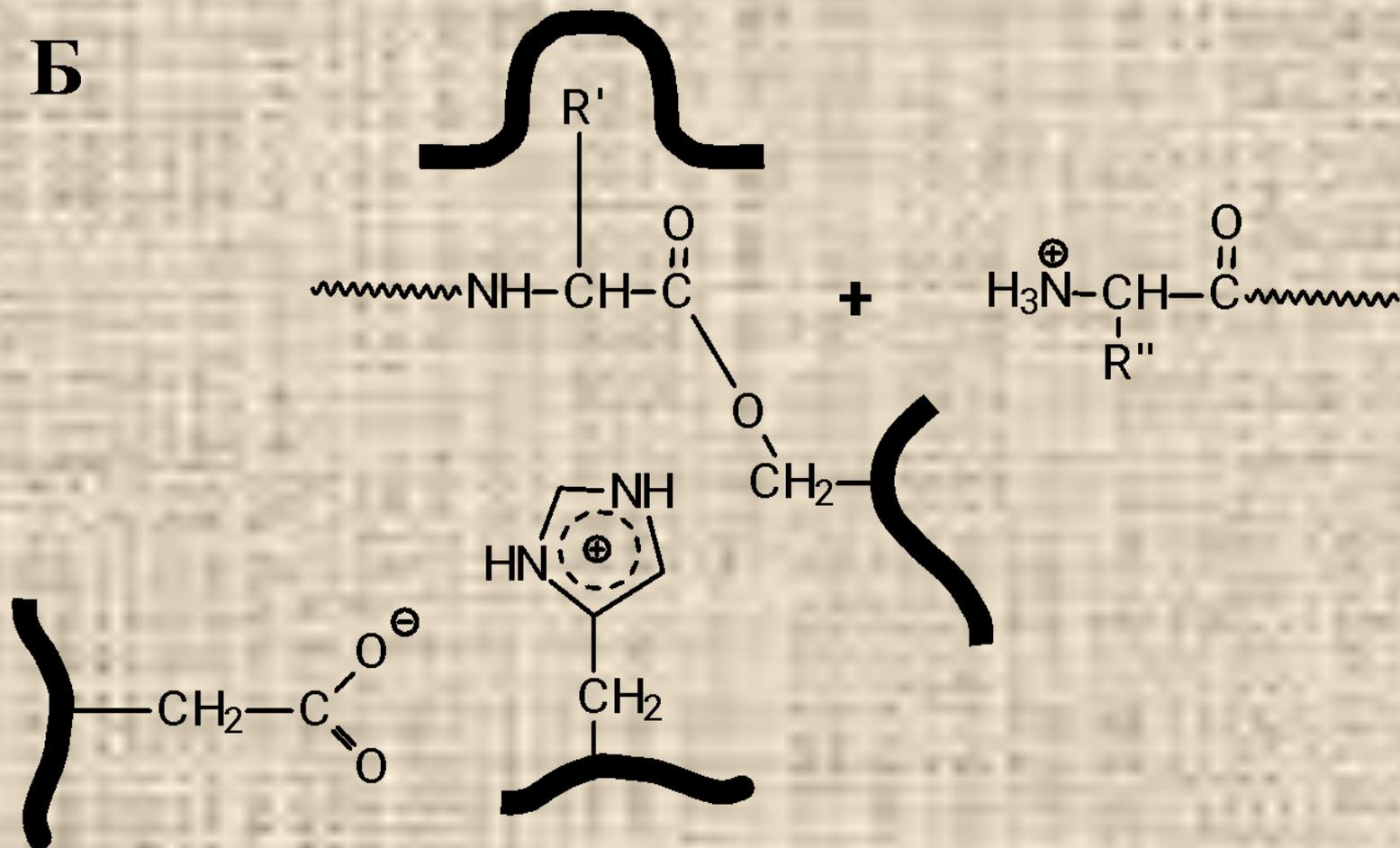
---

A



# Пространственное строение активного центра ферментов

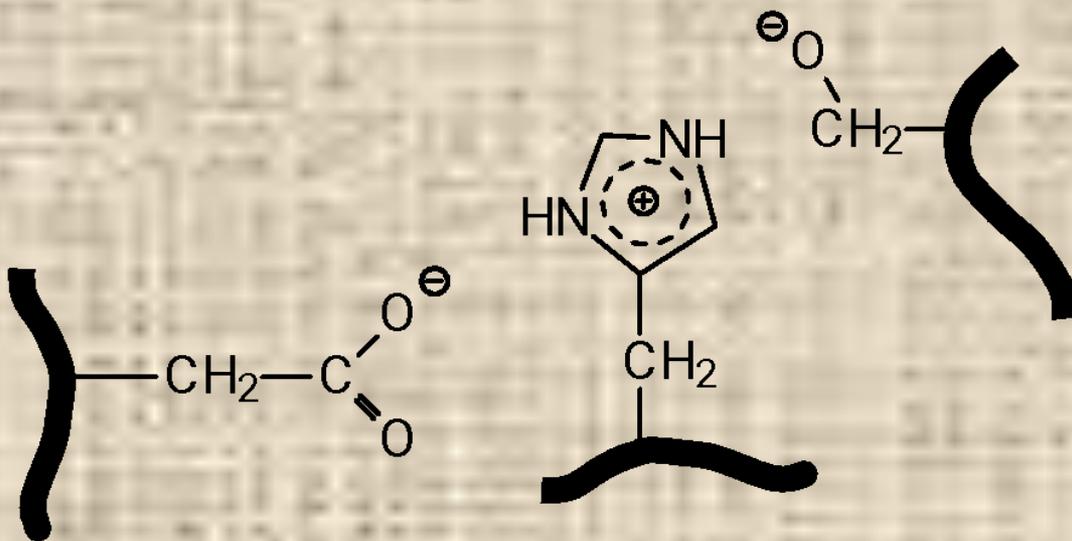
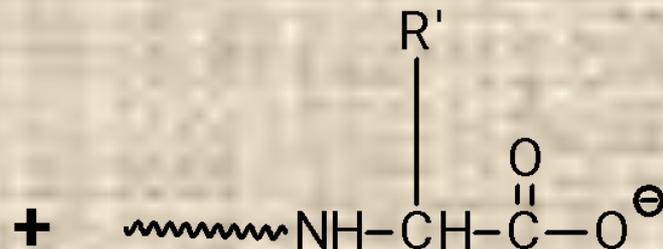
Б



# Пространственное строение активного центра ферментов

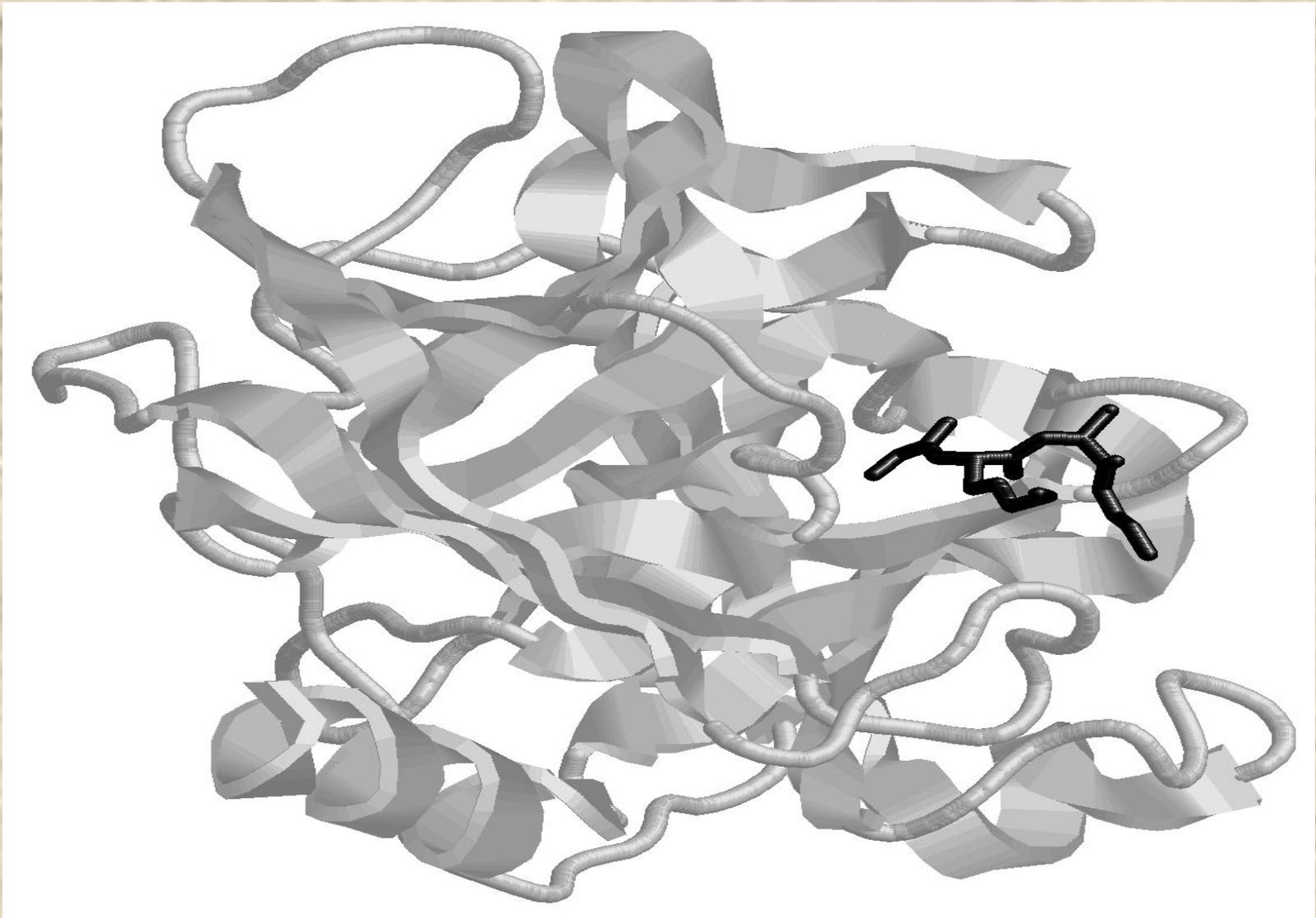
---

**B**



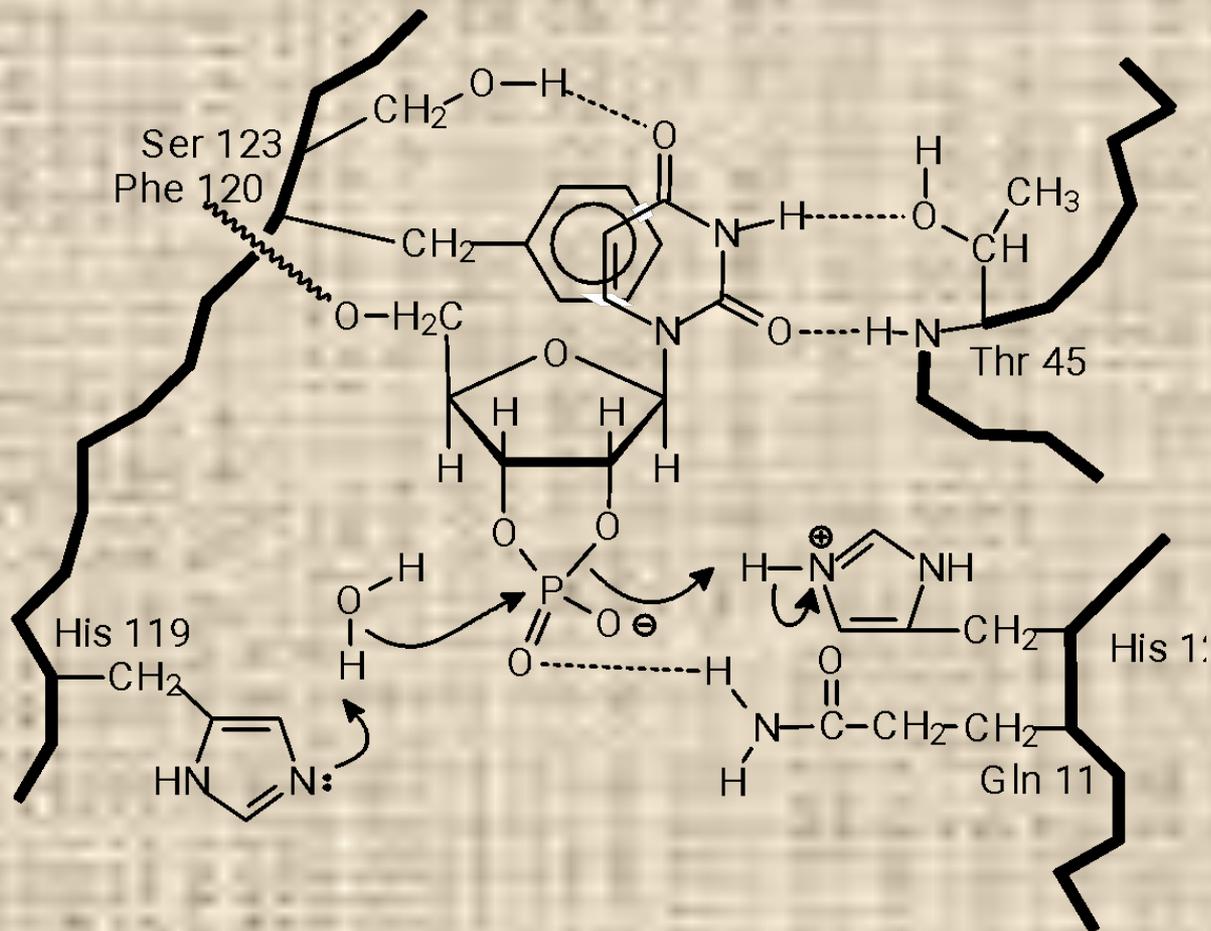
# Пространственное строение активного центра ферментов

---

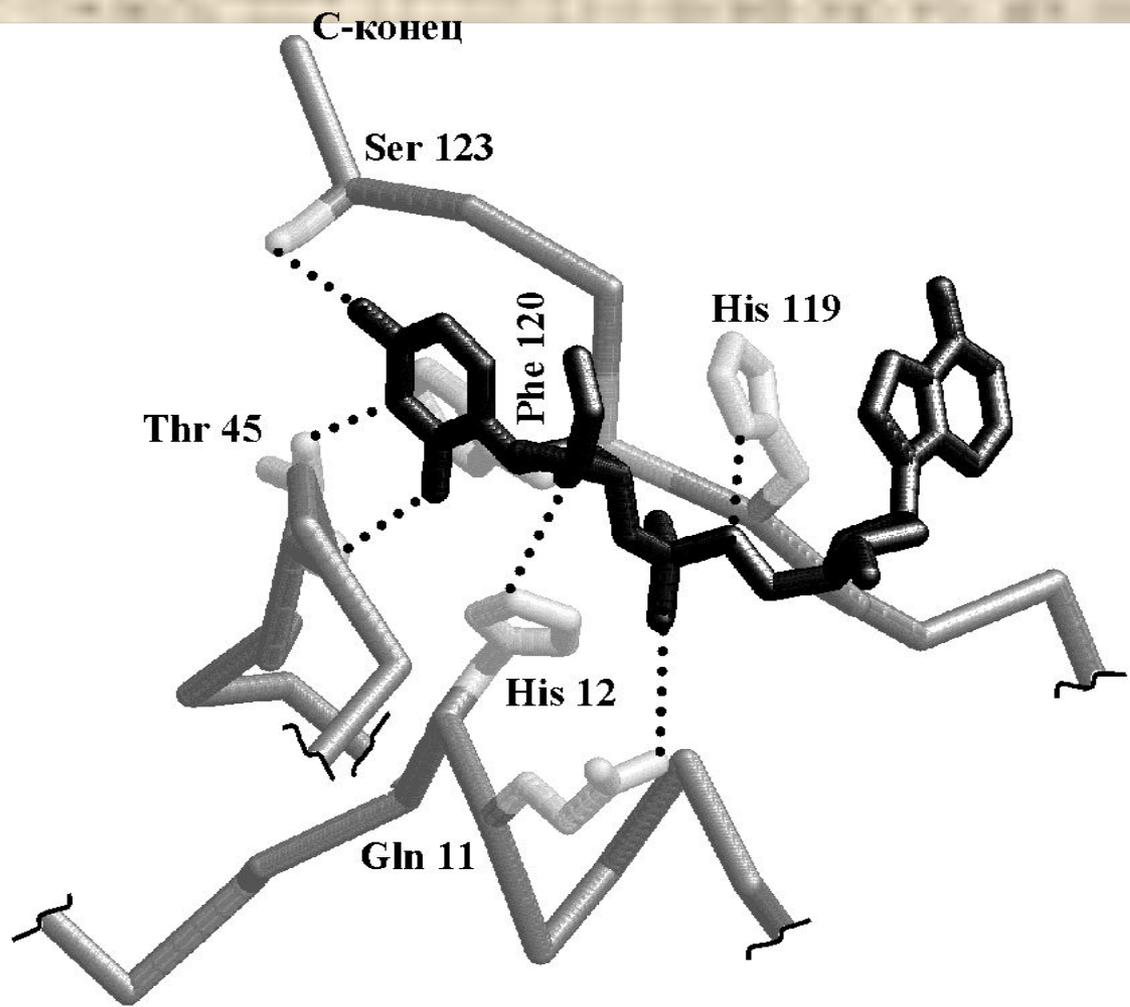




# Пространственное строение активного центра ферментов



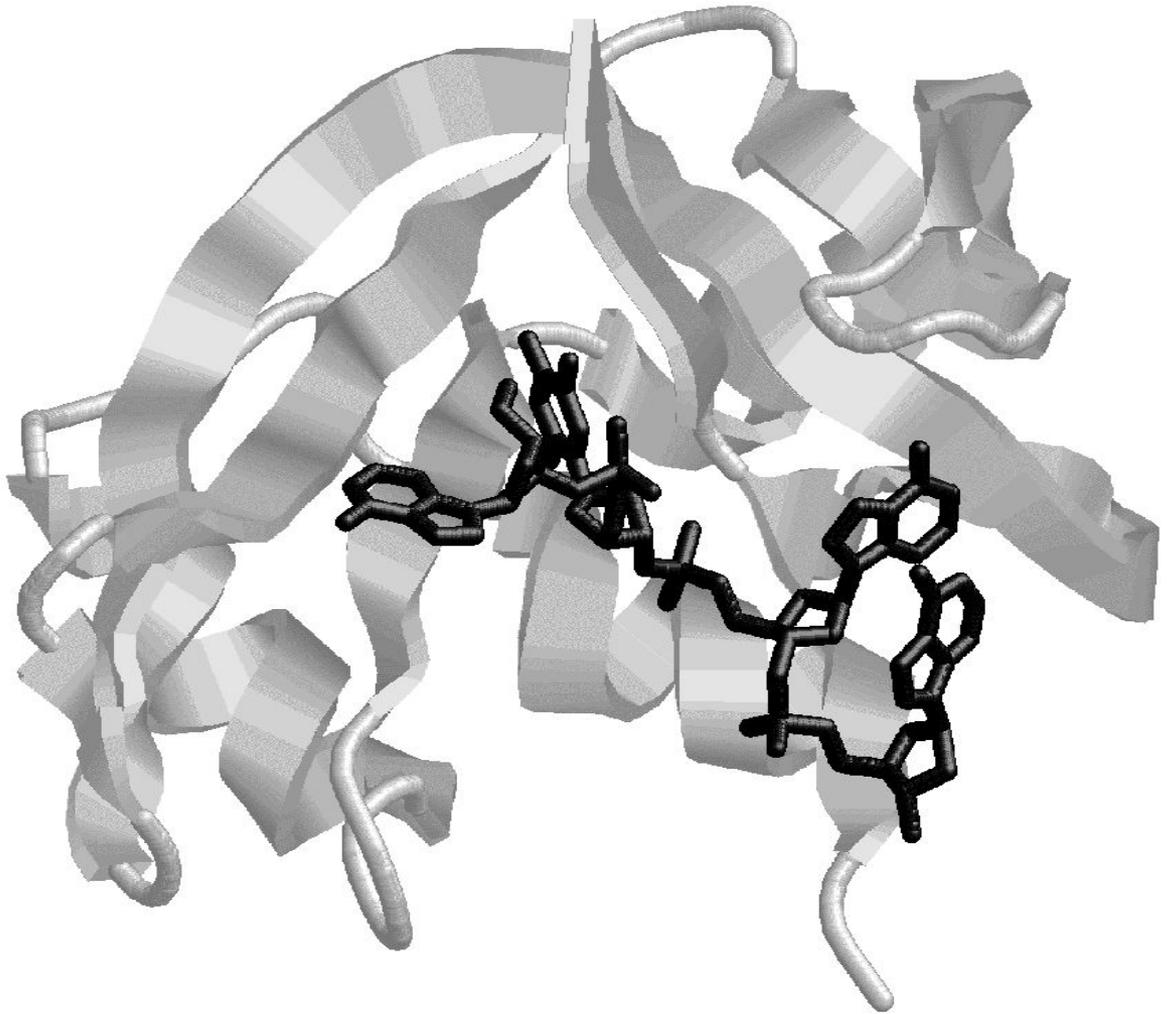
# Пространственное строение активного центра ферментов



Трехмерная структура активного центра рибонуклеазы А по данным рентгено-структурного анализа. Для удобства показаны лишь участки полипептидной цепи несущие связывающие и каталитические группы. Полипептидные цепи представлены ходом пептидного остова (темно-серые), связывающие и каталитические группы — палочковыми моделями (светло-серые), модель субстрата [уридилил (3'→5')аденозин] — черной палочковой моделью. Водородные связи обозначены пунктиром

# Пространственное строение активного центра ферментов

---



Укладка субстрата [аденилил  
(3'→5')уридилил  
(3'→5')аденилил(3'→5')  
аденозина] в третичной  
структуре фермента

# **Факторы, определяющие каталитическую эффективность ферментов**

---

- Сближение и ориентация**
- Напряжение и деформация;  
индуцированное соответствие**
- Общий кислотно-основной катализ**
- Ковалентный катализ**