

# ФЕРМЕНТЫ

Еликов Антон Вячеславович

Доцент кафедры химии

---

---

# ФЕРМЕНТЫ – БИОЛОГИЧЕСКИЕ КАТАЛИЗАТОРЫ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ.

Термин «фермент» введен в начале 17 века Ван Гельмонтом. Синонимом слова фермент является энзим.

---

Fermentum – закваска

En zyme – в дрожжах

- **Начало XVII века** – Ван Гельмонт вводит название «фермент», как вещество влияющее на спиртовое брожение
- **Конец XVIII** – Реомюр и Спалланцани показали, что растворение мяса желудочным соком процесс химический
- **1814г.** – К.С. Кирхгоф обнаружил способность вытяжки из солода превращать крахмал в более простые сахара
- **1836г.** – Шванн обнаружил в желудочном соке фермент пепсин
- **1837г.** – Берцелиус ввел термин «катализ» и сравнил ферменты с неорганическими катализаторами

- **конец XIX века** – М.М. Манассеина и братья Бухнер доказали несостоятельность деления ферментов на «организованные» и «неорганизованные»
- **1913г.** – Михаэлис и Ментен создали учение о кинетике ферментативных реакций
- **1926г.** – Самнер получает в кристаллическом виде фермент уреазу
- **1957г.** - Виланд и Пфлейдерер открыли изоферменты
- **1960г.** - Филлипс установил при помощи рентгеноструктурного анализа трехмерную структуру лизоцима

- **1955г.** – Мур и Стейн полностью расшифровали, а в **1969г.** В лаборатории Мерифилда искусственно синтезировали фермент рибонуклеаза, состоящая из 124 а/к остатков
- **1989г.** – С.Альтману и Т. Цеху вручена Нобелевская премия за открытие ферментативных свойств РНК (первый и пока единственный случай, когда ферментативной активностью обладала небелковая система).

---

## **Основная биологическая роль**

**ферментов** – это обеспечение протекания химических реакций в живом организме. Вместе с тем ферменты обладают рядом существенных отличий от небиологических катализаторов:

- 
1. высокая скорость катализа
  2. обладают высокой специфичностью
  3. катализируют в мягких условиях ( $t=37^{\circ}$ , рН-нейтральное, нормальное атмосферное давление)
  4. регулируемость
  5. скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента.



---

Тем не менее, ферменты подчиняются общим законам катализа: т.е.:

1. Катализируют только энергетически возможные реакции.
2. Они никогда не изменяют направления реакции
3. Они не изменяют направления обратимой реакции, а лишь ускоряют его наступление
4. Не расходуются в процессе реакции

# ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ФЕРМЕНТОВ И ИХ СТРОЕНИЕ

---

Все ферменты являются белками. Выделяют ферменты простые и сложные. **Простые** ферменты представлены только полипептидной цепью (т.е. состоят только из аминокислотных остатков).

**Сложные** ферменты – кроме белковой части имеют в своем составе вещество небелковой природы, которое называется **кофермент**.

Сложный фермент = Белковая часть +  
Небелковая

---

(холофермент)

(апофермент)

часть

(кофермент)

Если кофермент очень прочно связан с апоферментом, то он называется - простетическая группа.

В отсутствии кофермента белковая часть ферментативной активностью не обладает

---

До 1/3 всех ферментов нуждается в присутствии иона металла, который либо активирует фермент, либо обеспечивает его четвертичную конформацию.

# СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ ФЕРМЕНТА

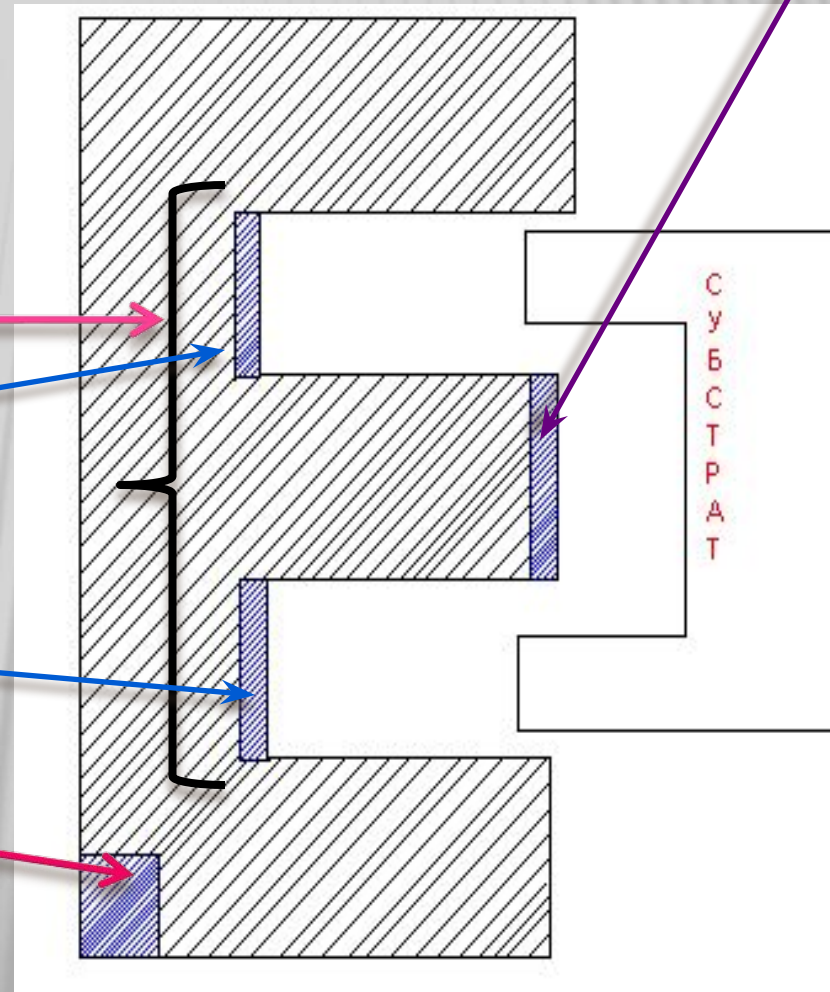
- Любой фермент имеет в своем составе **активный центр**. В состав активного центра входят **контактный** (якорный) участок и **каталитический** участок.
- Якорный участок обеспечивает связывание субстрата, а каталитический обеспечивает его превращение.

# Активный центр (контактный + каталитический)

Каталитический  
участок

«якорный»  
(контактный)  
участок

аллостерический центр



---

В состав активного центра сложного фермента входит кофермент или простетическая группа, в простом ферменте эту функцию выполняют радикалы аминокислот. Наиболее часто в состав активного центра входят радикалы гистидина, серина, аргинина, цистеина, лизина и дикарбоновых аминокислот.

- 
- Аминокислоты, образующие активный центр в простом ферменте при образовании первичной структуры полипептидной цепи не обязательно находятся рядом (могут быть на противоположных концах полипептидной цепи), но при укладке полипептидной цепи в пространстве (третичная структура) сближаются и образуют единую функциональную группу.



---

Пример: активный центр пищеварительной гидролазы химотрипсина образуют серин - 195, гистидин - 57, аспарагиновая кислота - 102.

**Структура активного центра комплиментарна субстрату.**

# АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

Выполняет регуляторную функцию, путем взаимодействия с аллостерическим эффектором, веществом комплиментарным по строению с аллостерическим центром. Ничего общего по химическому строению аллостерический эффектор с субстратом не имеет и регулирует активность фермента путем изменения третичной структуры всей молекулы фермента.

Эффектор присоединяется в аллостерическом центре

```
graph TD; A[Эффектор присоединяется в аллостерическом центре] --> B[Изменяется конформация аллостерического центра]; B --> C[Изменяется конформация фермента]; C --> D[Изменяется конформация активного центра]; D --> E[Изменяется комплиментарность активного центра к субстрату];
```

Изменяется конформация аллостерического центра

Изменяется конформация фермента

Изменяется конформация активного центра

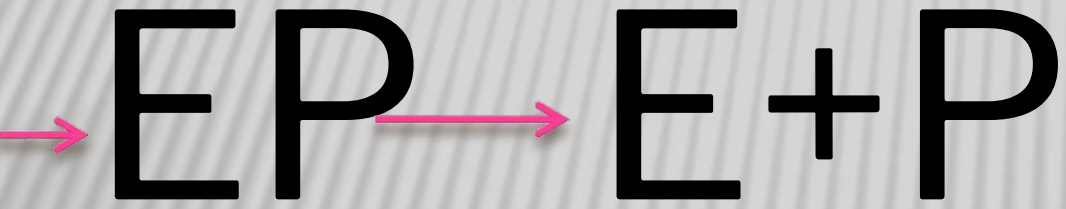
Изменяется комплиментарность активного центра к субстрату

# ЭТАПЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

---

1. Диффузия фермента и субстрата;
2. Образование фермент-субстратного комплекса за счет комплиментарности активного центра фермента и субстрата;
3. Образование активированного фермент-субстратного комплекса за счет перераспределения электронной плотности в химических связях субстрата;

- 
4. Образование новых химических связей в молекулах, превращаемых под действием фермента и появление комплекса фермент + продукт;
  5. Выход продукта реакции в окружающую среду.



# МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

В основе действия любого фермента лежит снижение энергии активации. Данный эффект может быть достигнут следующими путями:

1. Ориентация реагентов. Заключается в ориентации реакционных центров реагирующих молекул, что значительно снижает энергию активации.

---

2. **Деформация субстрата.** Заключается в принудительном увеличении межатомных связей субстрата, что позволяет легче их атаковать реагентом.

3. **Кислотно-основной катализ.** Заключается в перераспределении электронной плотности в молекуле субстрата, за счет функциональных групп входящих в состав активного центра фермента, что способствует образованию новых химических связей.



---

4. **Ковалентный катализ.** Заключается в образовании с каталитическими группами фермента промежуточных веществ, которые затем легко распадаются с освобождением продуктов реакции.

# СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

В зависимости от степени сродства фермента к субстрату выделяют следующие виды специфичности:

- 1. Стереохимическая специфичность** – фермент может работать только с одним из стереоизомеров субстрата. Пример: фумаратгидратаза работает только с фумаровой кислотой, но не с малеиновой.

---

## 2. Абсолютная субстратная специфичность.

Фермент катализирует превращение только одного субстрата. Пример: уреаза катализирует превращение только мочевины.

## 3. Абсолютная групповая специфичность –

фермент катализирует превращение сходной группы субстратов. Пример: алкогольдегидрогеназа обеспечивает дегидрирование не только этанола, но и других алифатических спиртов.

---

#### 4. Относительная групповая специфичность.

Для фермента первостепенное значение имеет характер химической связи в субстрате. Пример: протеазы действуют на пептидную связь.

#### 5. Относительная субстратная

**специфичность.** Фермент работает с субстратами разных химических групп.

Пример один – цитохром P450.

Единственное требование к субстрату, чтобы он был неполярный.

# ТЕОРИИ ОБЪЯСНЯЮЩИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

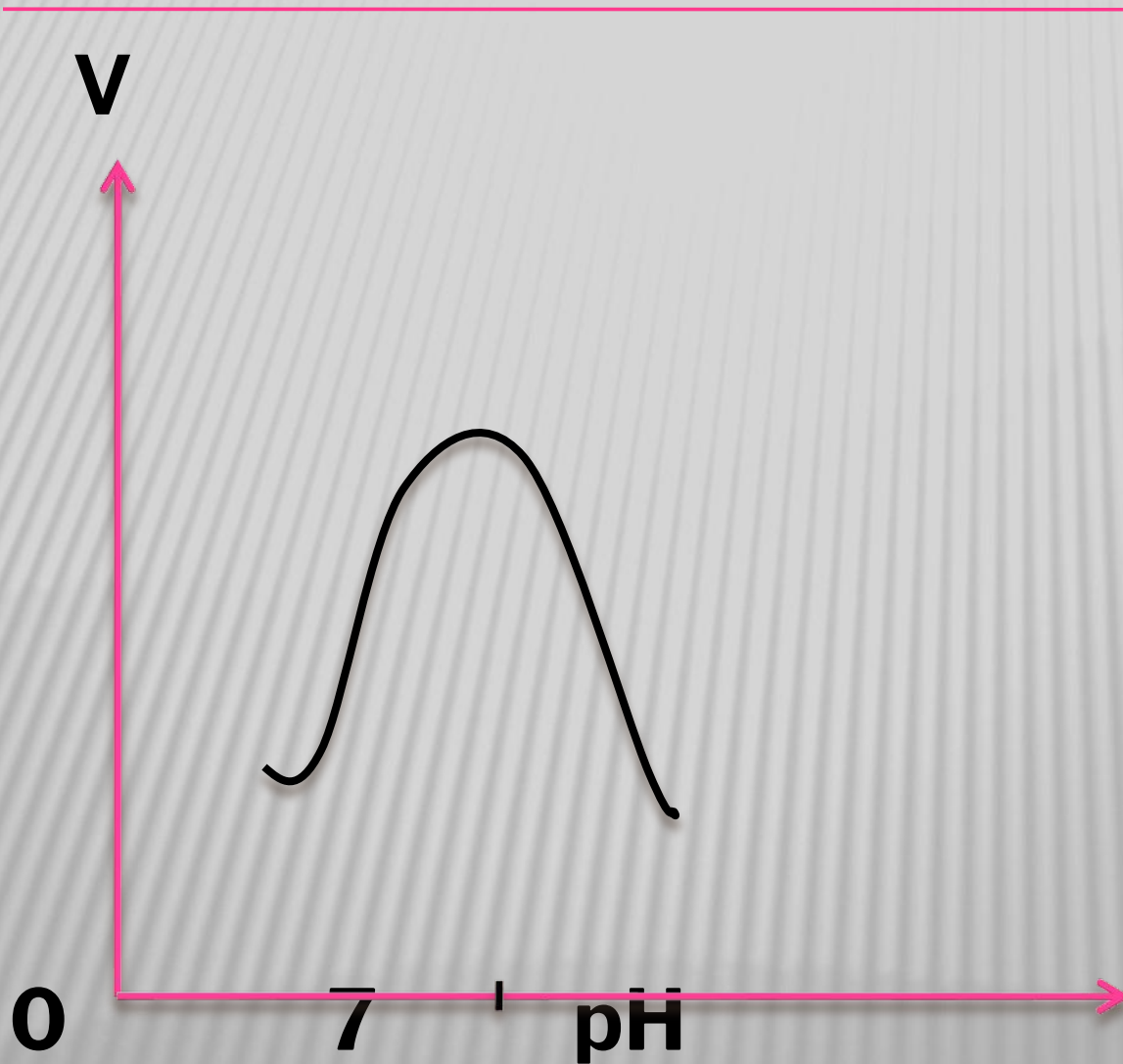
1. **Теория Фишера** – «ключ-замок». Активный центр фермента жесткая структура. Субстрат подходит к активному центру как ключ к замку. Имеет историческое значение.
2. **Теория Кошленда** – «перчатка-рука», «теория вынужденного соответствия». Активный центр фермента структура пластичная, при взаимодействии с субстратом принимает его форму, но в пределах определенных границ. Данная

# КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

---

- 1. Зависимость скорости ферментативной реакции от рН. График имеет колоколообразный характер, с оптимумом рН чаще всего равным 7. Однако не все ферменты имеют рН в нейтральной среде. Например пепсин, работающий в составе желудочного сока имеет оптимум рН 1,5.

# Зависимость $V$ (скорости) от pH среды



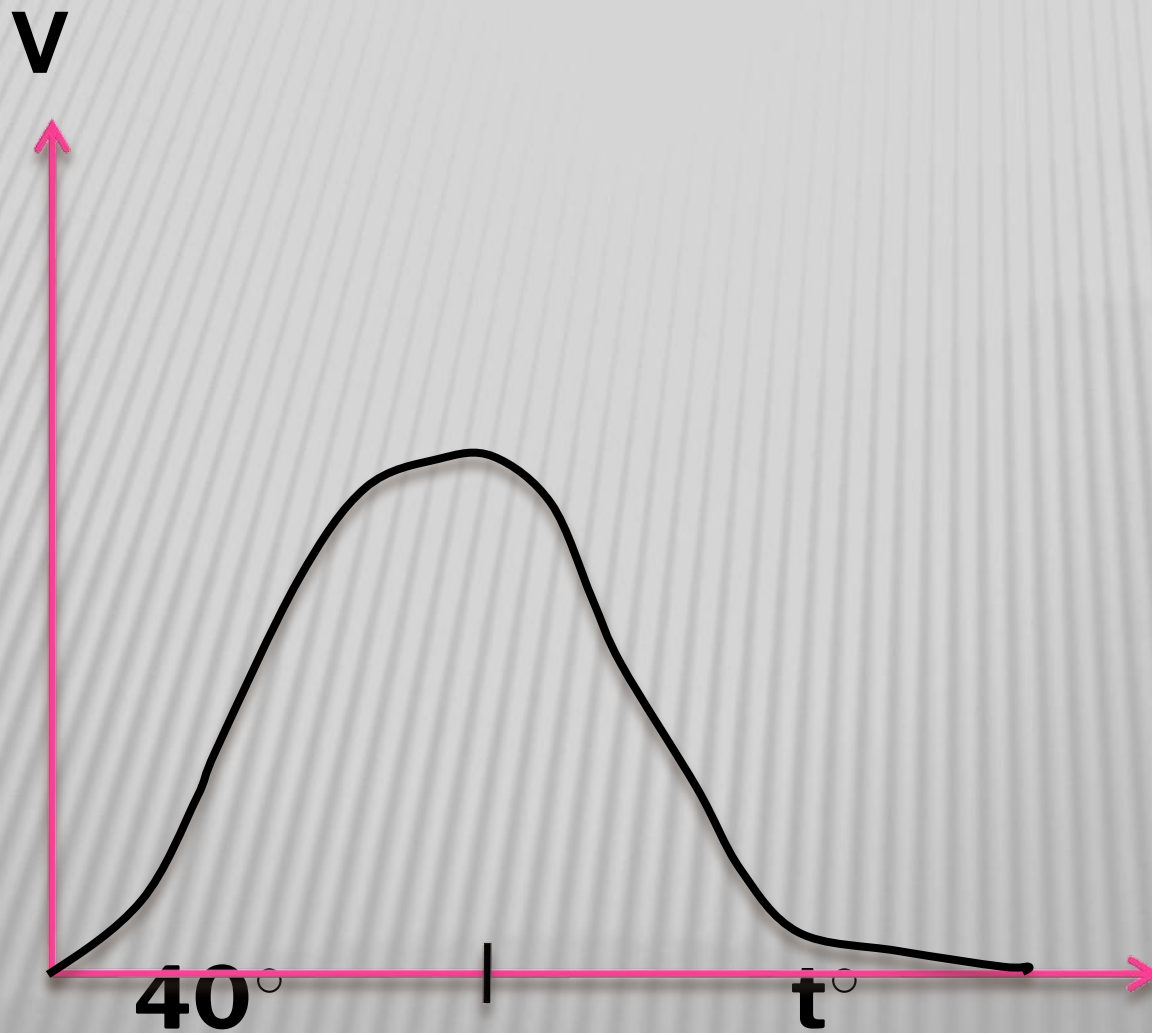
- 
- **2. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры.** График имеет колоколообразный характер. При увеличении  $t$  в соответствии с законами катализа скорость увеличивается (в 2 раза на каждые  $10^{\circ}\text{C}$  или 20% на  $1^{\circ}\text{C}$ ), что имеет значение при метаболизме в лихорадочном состоянии (расценивается клиницистами как положительное явление).



---

Однако при дальнейшем увеличении температуры происходит денатурация ферментов и резкое падение скорости реакции, поэтому температуру тела выше  $40^{\circ}\text{C}$  следует сбивать.

# Зависимость $V$ от $t$ (температуры)



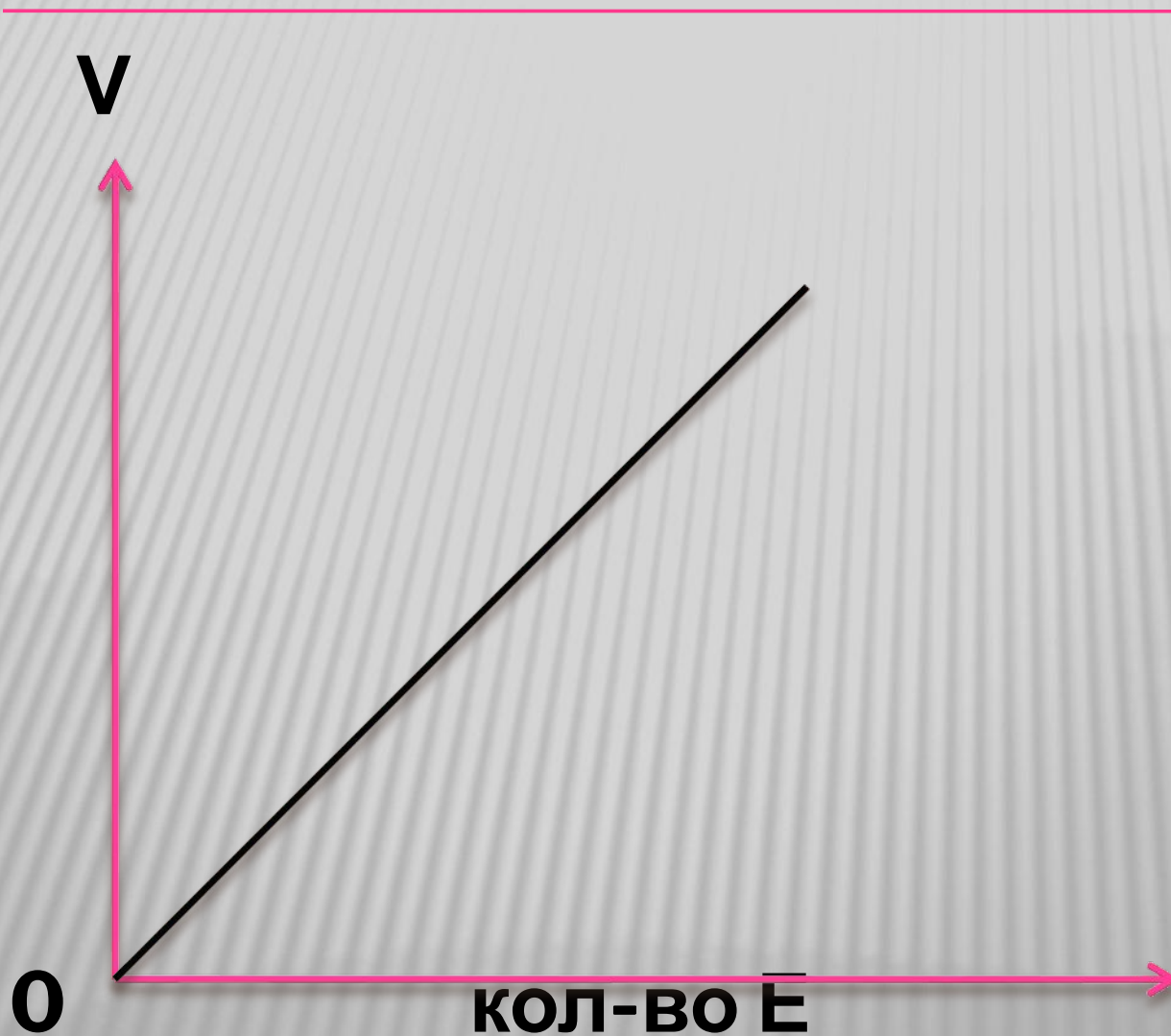
---

Не все ферменты имеют оптимум при 40 °С.  
Например каталаза имеет оптимум при 0°  
С.

### 3. Зависимость скорости ферментативной реакции от количества фермента.

Зависимость линейная, чем больше  
фермента, тем выше скорость.

# Зависимость $V$ от количества фермента

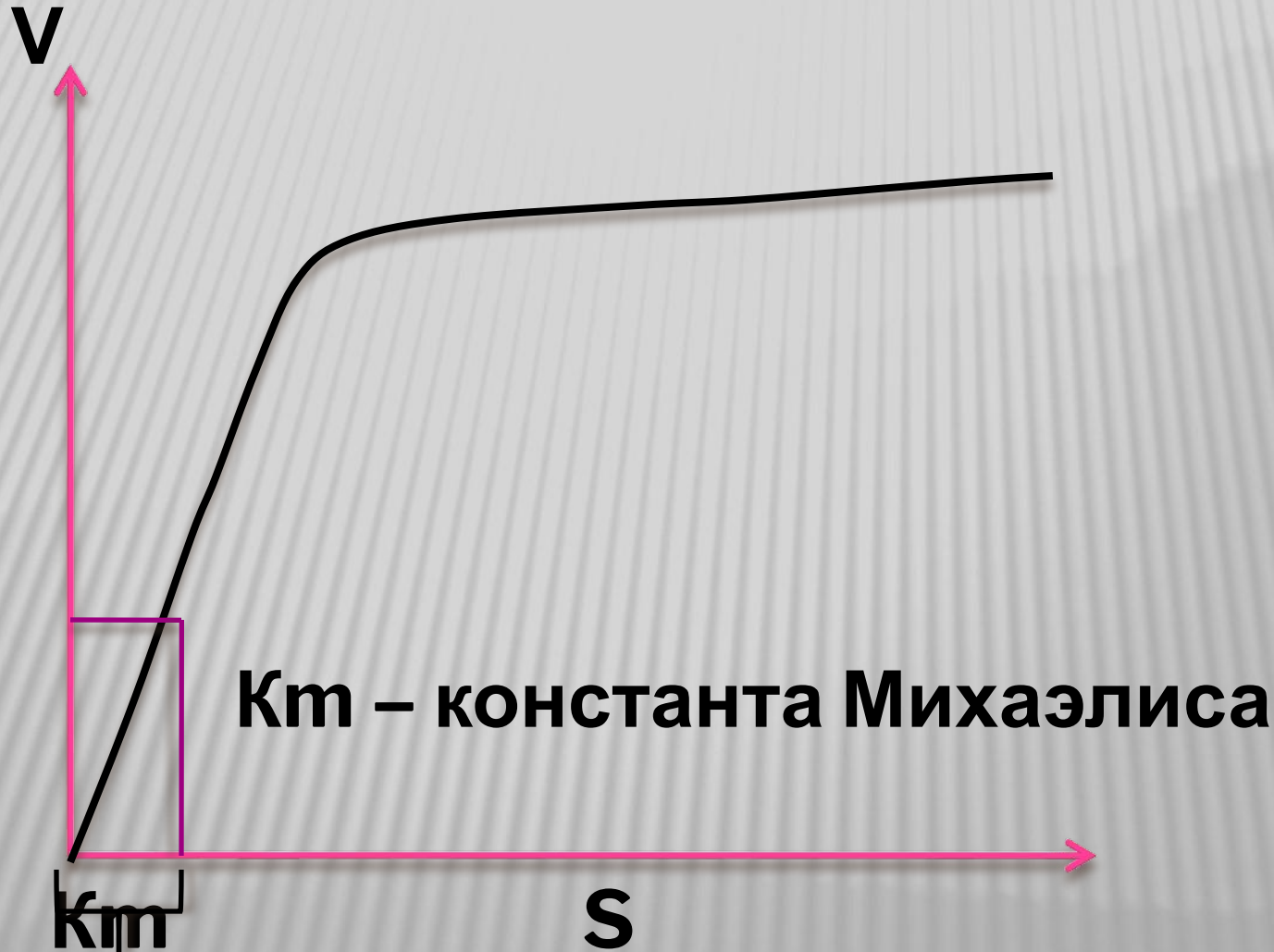


---

□ 4. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.

Графическое изображение данной зависимости носит название «кривой Михаэлиса» - при увеличении количества субстрата скорость реакции увеличивается до определенных пределов. В дальнейшем увеличения скорости не происходит, график имеет платообразный характер.

# Зависимость $V$ ферментативной реакции от концентрации $S$ (субстрата)



---

Достижение максимальной скорости реакции зависит от сродства фермента к субстрату. Для того, чтобы численно отобразить степень сродства введено понятие константа Михаэлиса.

---

□ **Константа Михаэлиса** – это такое количество субстрата, при котором достигается половина максимальной скорости реакции.

Т.о., чем больше сродство фермента к субстрату, тем быстрее достигается максимальная скорость реакции, тем меньше константа Михаэлиса и наоборот.



# Классификация ферментов

1. Оксидоредуктазы – обеспечивают перенос электронов и протонов. Участие в окислительно – восстановительных реакциях.
2. Трансферазы – участвуют в переносе функциональных групп.
3. Гидролазы – разрыв связи с присоединением воды.
4. Лиазы – разрыв связи без присоединения воды.
5. Изомеразы – внутримолекулярный перенос.
6. Лигазаы – присоединение с затратой энергии.

# ХАРАКТЕРИСТИКА КЛАССОВ ФЕРМЕНТОВ

---

**I класс.** Оксидоредуктазы катализируют окисление-дегидрирование в аэробных и анаэробных условиях.

Редуктазы – анаэробные

Оксидазы – аэробные

Всего класс насчитывает 480 ферментов, которые подразделяются на 17 подклассов.

Пример: лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

# Коферменты оксидоредуктаз (1)

---

1. Никотинамидные (НАД, НАДФ)
2. Флавиновые (ФМН, ФАД)
3. Металлопорфириновые (гемы a, b, c, d)
4. Хинонкоферменты (убихинон)
5. Пептидные (глутатион)
6. Липоевая кислота

---

**II класс.** Трансферазы – перенос атомных групп и молекулярных остатков.  
Подразделяется на 8 подклассов.

# Группы:

амино-, альдегидная,  
сульфо-, кетонные остатки,  
глюко-, фосфо-,  
одноуглеродные фрагменты ( $\text{CH}_3^-$ ,  
 $\text{CH}_2^-$ )

Пример: гексокиназа.

D – глю + АТФ  
АДФ

D – глю – 6 – фосфат +

гексокиназа

# Коферменты трансфераз (2)

---

1. **Пиридоксиновые (ПАЛФ, ПАМФ)**
2. **Пантотеновые (КоА, дефосфо – КоА, 4 - фосфопантотенат)**
3. **Нуклеотидные (УДФ – глюкоза, ЦДФ - холин)**
4. **Фолиевые (ТГФК)**
5. **Кобамидные (метилкобаламин)**

---

**III класс.** Гидролазы – ферменты, которые осуществляют разрыв химической связи с присоединением молекулы воды. В основном представлены ферментами ЖКТ и лизосом. Коферментов нет. Некоторые имеют ион металла в качестве активатора. В зависимости от характера гидролизуемой связи выделяют эстеразы, гликозидазы, пептидазы. Всего класс объединяет 460 ферментов, составляющих 11 подклассов.

Пример: амилаза, липаза, пепсин.

---

**IV класс.** Лиазы – осуществляют негидролитические и неокислительные реакции распада и обратные им реакции синтеза (синтазы). Класс насчитывает 230 ферментов, разделенных на 7 подклассов. Примеры: альдолаза, цитратсинтаза.



# Коферменты лиаз (4)

---

1. **Пиридоксиновые (ПАЛФ)**
2. **Пантотеновые (КоА, дефосфо - КоА)**
3. **Тиаминовые (ТДФ)**
4. **Кобамидные  
(дезоксияденозилкобаламин)**

---

**V класс.** Изомеразы – осуществляют внутримолекулярные превращения, изменения пространственного положения, перенос H, перемещение двойных связей. Класс насчитывает 80 ферментов, которые подразделяются на 6 подклассов.

# Коферменты изомераз (5)

---

1. **Пиридоксиновые (ПАЛФ)**
2. **Кобамидные**  
(дезоксияденозилкобаламин)
3. **Фосфаты моносахаридов**  
(глюкозо – 1, 6 – дифосфат, 2, 3 -  
дифосфоглицерат)
4. **Пептидные (глутатион)**
5. **Никотинамидные (НАД)**

---

**VI класс.** Лигазы – ферменты наращивания (синтетазы) осуществляют реакции синтеза с затратой энергии АТФ или других макроэнергических источников (ГТФ, ЦТФ). Всего известно около 80 лигаз, подразделяются на 5 подклассов.

# Коферменты лигаз (6)

---

1. Нуклеотидные (УДФ – глюкоза, ЦДФ – холин и др.)
2. Биотиновые (карбоксибиотин)
3. Фолиевые (5, 10 – метенил ТГФК)

# НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

Для ряда давно известных ферментов оставлены тривиальные названия: пепсин, трипсин, амилаза.

Кроме того все ферменты имеют рабочее и систематическое название.

## Рабочее название:

Лактат + дегидрогенизация + аза →  
→ лактатдегидрогеназа

## Систематическое название:

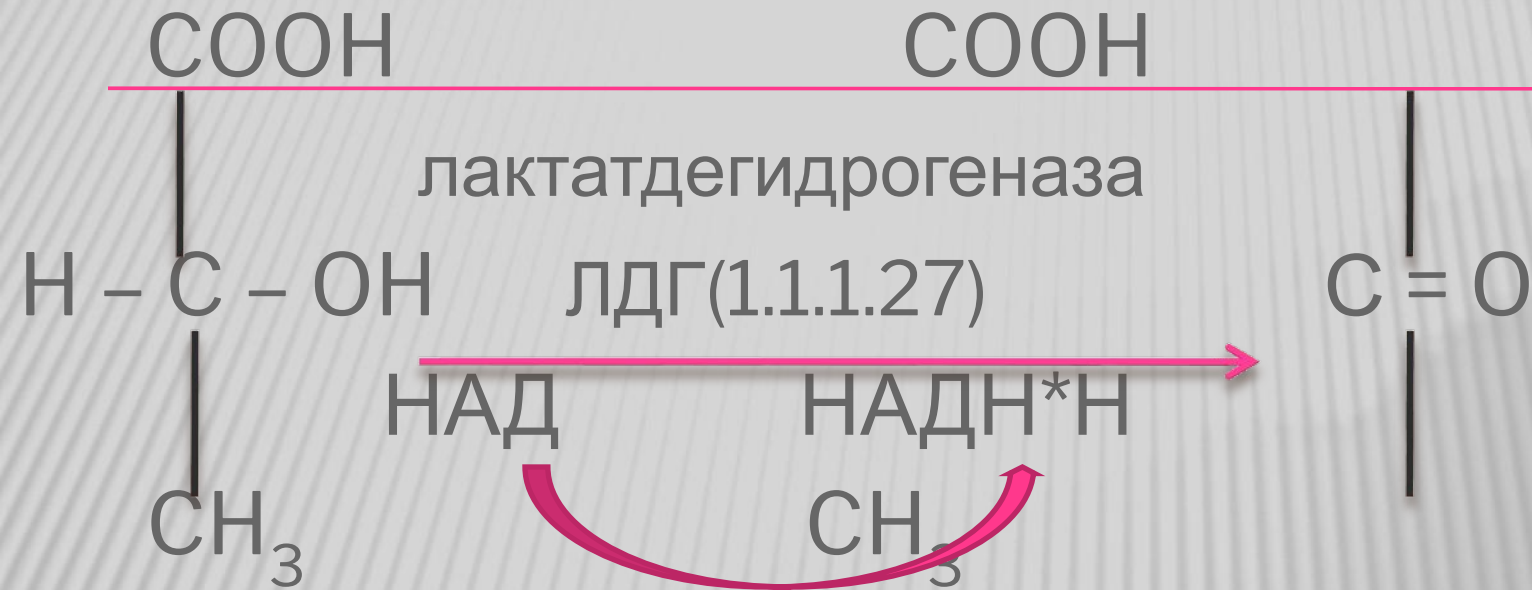
L – лактат: НАД<sup>+</sup> - оксидоредуктаза  
субстрат I субстрат II тип химического  
превращения

1. – номер класса

1. – номер подкласса

1.1.1.27 1. – номер под – подкласса

27 – порядковый номер в под - подклассе



лактатдегидрогеназа

ЛДГ(1.1.1.27)

НАД

НАДН\*Н

Лактат

Пируват

АЛГОКОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗА КФ (1.1.1.1.)