

Ферментативный катализ

- **Ферменты** или **энзимы** - особые белки, выполняющие функцию катализаторов химических реакций;
- Практически все химические реакции в организме протекают с огромными скоростями благодаря участию ферментов.

Строение ферментов

ФЕРМЕНТЫ

ОДНОКОМПОНЕНТНЫЕ

(простые белки)

- α Амилаза слюны
- Пепсин
- Сахараза
- Лактаза
- Липаза

ДВУХКОМПОНЕНТНЫЕ - холоферменты

НЕБЕЛКОВАЯ ЧАСТЬ – протетическая группа

АПОФЕРМЕНТ
(белок)

КОФЕРМЕНТЫ
(витамины группы В)

КОФАКТОРЫ
- Металлы
- Нуклеотиды и их
производные

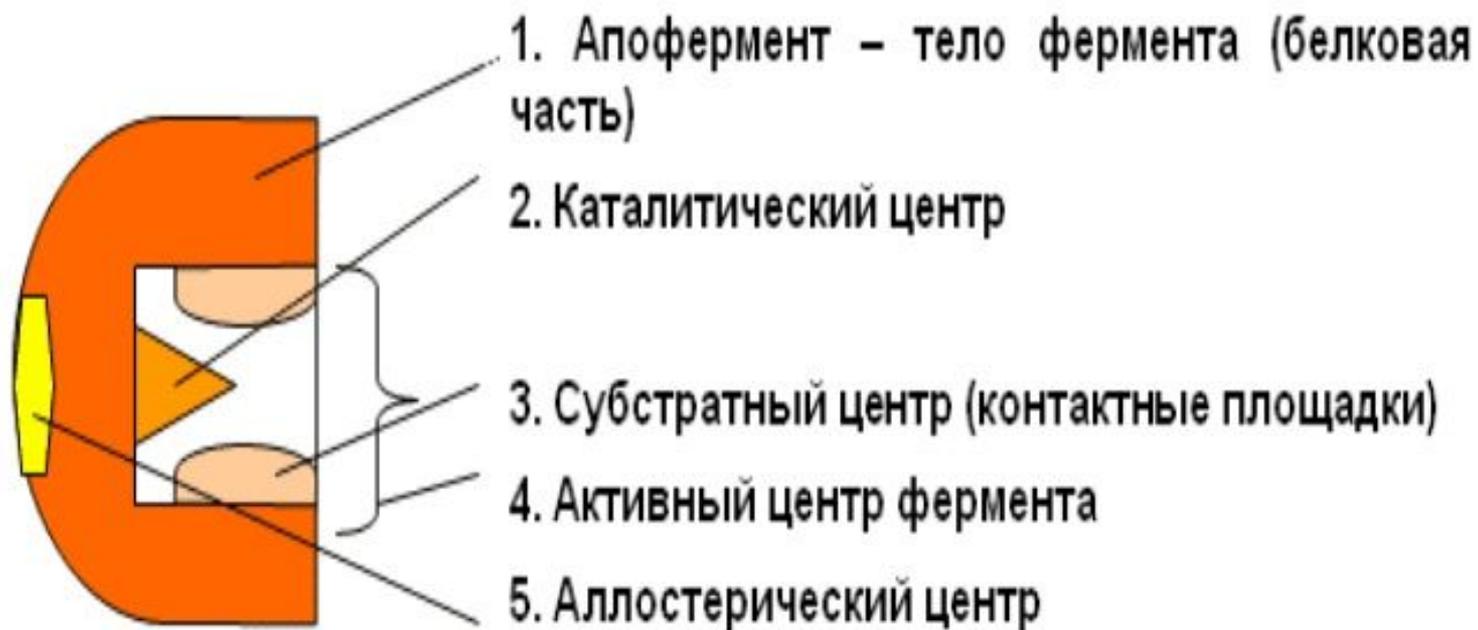
Витамины – предшественники коферментов

Витамин	кофермент	Фермент и функция кофермента
Никотиновая кислота витамин PP	NAD ⁺ , NADP ⁺	Оксидоредуктазы Перенос H ⁺ (e ⁻)
Рибофлавин - витамин B ₂	FAD, FMN	Оксидоредуктазы Перенос H ⁺ (e ⁻)
Пантотеновая кислота	Кофермент А (Кознзим А)	Активация и перенос ацильных групп
Биотин	Биотин	Карбоксилазы Перенос COO-групп
Пиридоксин - витамин B ₆	Пиридоксаль-Фосфат	Трансаминазы Перенос аминогрупп
Фолиевая кислота	Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос одноуглеродных Фрагментов

- **Участок молекулы фермента, на котором происходит катализ, получил название «активный центр»;**
- **Если фермент по строению является простым белком, то его активный центр формируется только остатками аминокислот;**
- **У ферментов - сложных белков в состав активного центра часто входит их простетическая группа.**

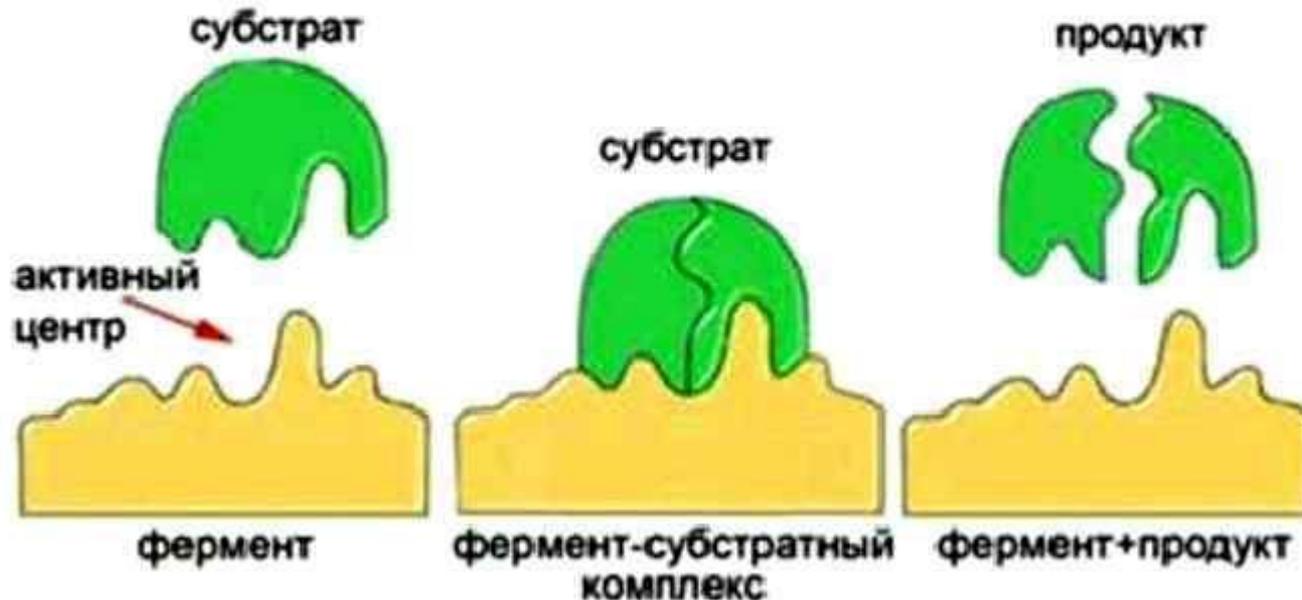
- **Адсорбционный участок** (*центр связывания, субстратный центр*) по своему строению соответствует структуре реагирующих соединений, и поэтому к нему легко присоединяются молекулы субстрата;
- **Каталитический участок** активного центра непосредственно осуществляет ферментативную реакцию;
- **Большинство ферментов содержат в своей молекуле только один активный центр.**

СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТА



Ферментативный катализ обычно протекает в три стадии

В 1894 г Эмиль Фишер выдвинул теорию о строгом соответствии активного центра фермента строению субстрата

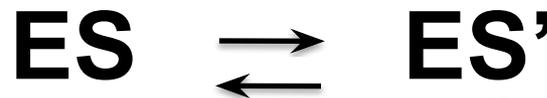


I стадия – образование фермент-субстратного комплекса

- На этой стадии молекулы реагирующих веществ (*субстрата*) присоединяются к адсорбционному участку активного центра фермента за счет слабых связей, что приводит к возникновению благоприятной пространственной ориентации реагирующих молекул;
- Эта стадия ферментативного катализа полностью обратима, так как фермент-субстратный комплекс может легко распасться снова на фермент и субстрат:
- $E + S \rightleftharpoons ES$

II стадия – химическое преобразование фермент-субстратного комплекса

- На второй стадии с участием каталитического участка активного центра и молекул субстрата происходят различные реакции, имеющие низкую величину энергии активации и поэтому протекающие с высокой скоростью;
- В результате этих реакций в конечном итоге образуется либо продукт реакции, или же почти готовый продукт, связанный с активным центром:



Химически преобразованный фермент-субстратный

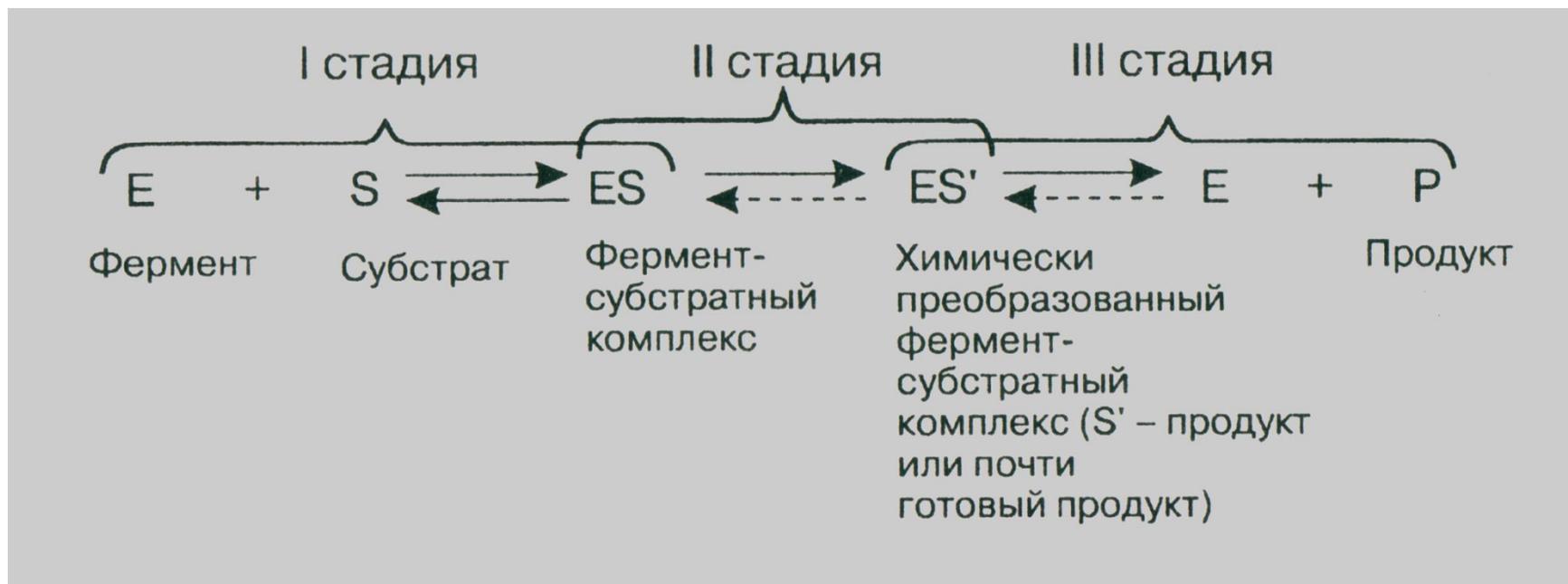
комплекс

III стадия - образование конечного продукта

- На третьей стадии происходит отделение продукта реакции от активного центра с образованием свободного фермента, способного присоединять к себе новые молекулы субстрата;
- Если на второй стадии был получен почти готовый продукт, то он предварительно превращается в продукт, который затем отделяется от фермента:



Общая схема ферментативного катализа

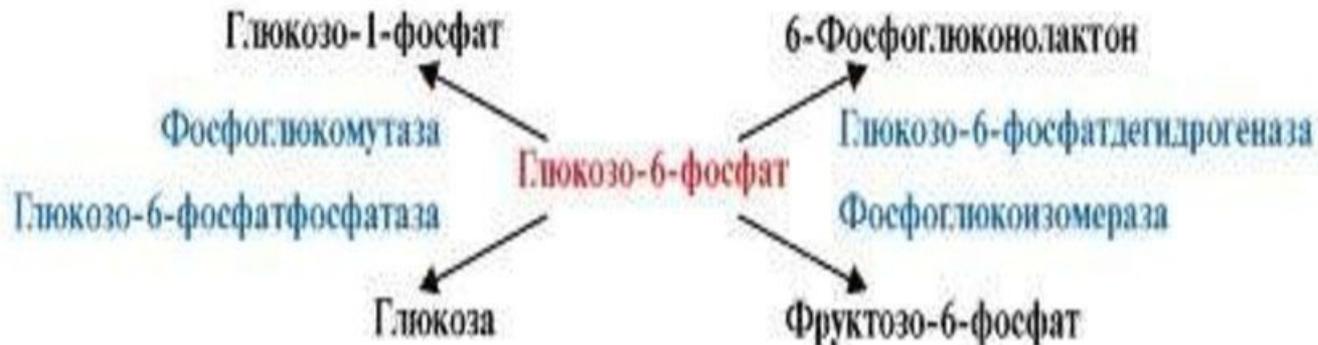


Специфичность ферментов

- Различают два вида специфичности ферментов:
 - **специфичность действия или каталитическая специфичность** и
 - **субстратная специфичность**;
- Специфичность действия – это способность фермента катализировать только строго определенный **тип химической реакции**
- Если субстрат может вступать в разные реакции, то для каждой реакции нужен свой фермент.

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

- специфичность пути превращения субстрата, обеспечивает преобразование одного и того же субстрата под действием разных ферментов.



Каталитическая специфичность определяется в основном особенностями строения каталитического участка активного центра фермента.

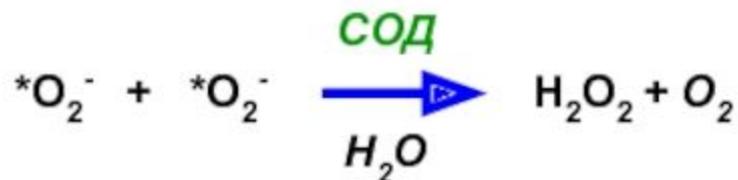
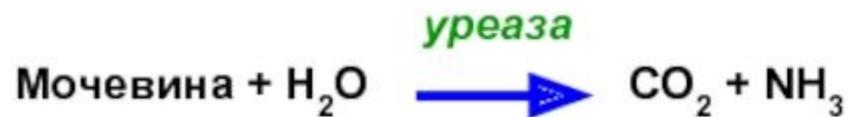
- **Субстратная специфичность** – способность фермента действовать только на **определенные субстраты**;
- Различают две разновидности субстратной специфичности: **абсолютную** и **относительную**.

- Фермент, обладающий **абсолютной** субстратной специфичностью, катализирует превращения только **одного субстрата**;
- На другие вещества, даже очень близкие по строению к этому субстрату, фермент не действует;
- Примером фермента с абсолютной субстратной специфичностью является **аргиназа** – фермент, отщепляющий от аминокислоты **аргинина** мочевину;
- Аргинин – единственный субстрат аргиназы.

Субстратная специфичность ферментов

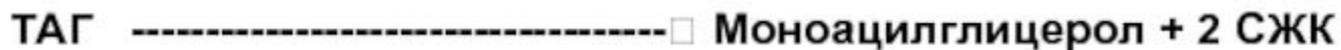
1. Абсолютная субстратная специфичность.

Активный центр фермента комплементарен только одному субстрату. В природе явление сравнительно редкое.

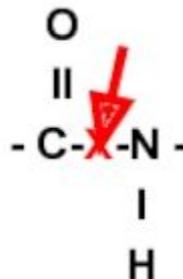


- **Относительная (групповая) субстратная специфичность** – это способность фермента катализировать превращения нескольких похожих по строению веществ;
- Обычно эти вещества обладают одним и тем же **типом химической связи** и **одинаковой структурой одной из химических группировок**, соединенных этой связью;
- Субстратная специфичность обусловлена, главным образом, структурой адсорбционного участка активного центра фермента.

панкреатическая липаза



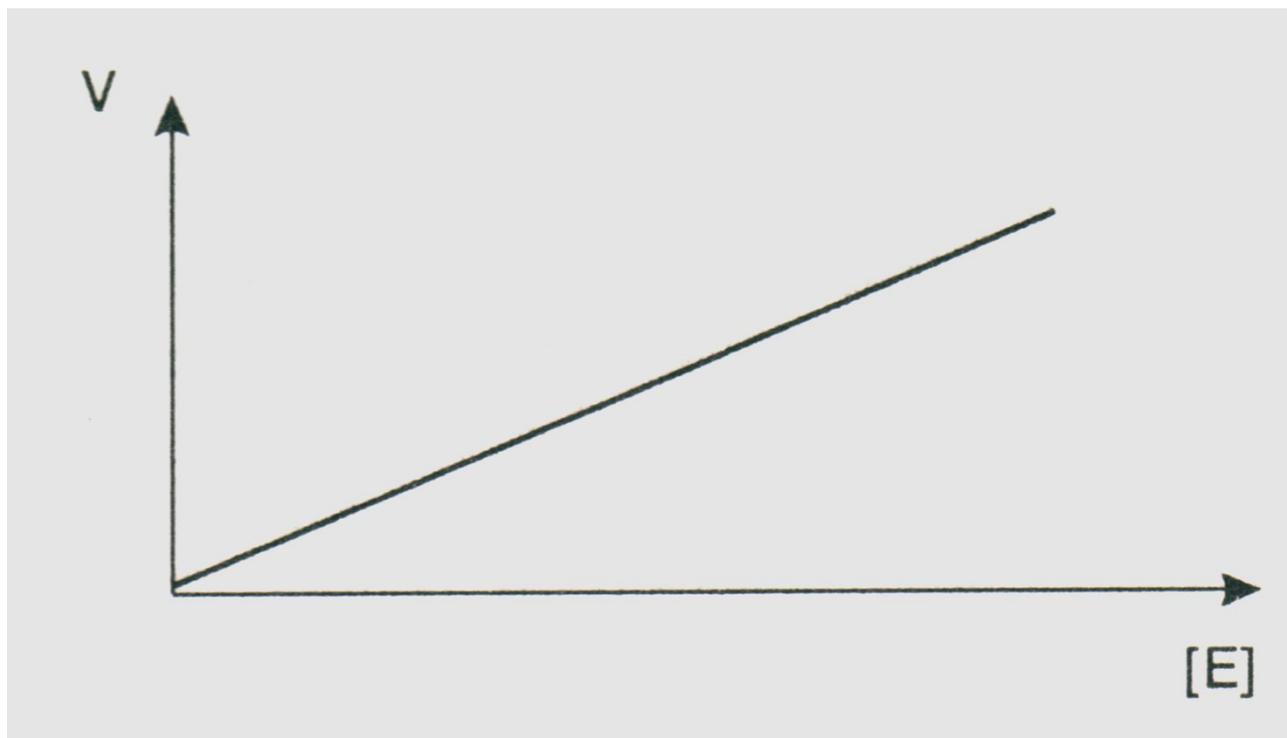
Протеазы – гидролиз пептидной связи:



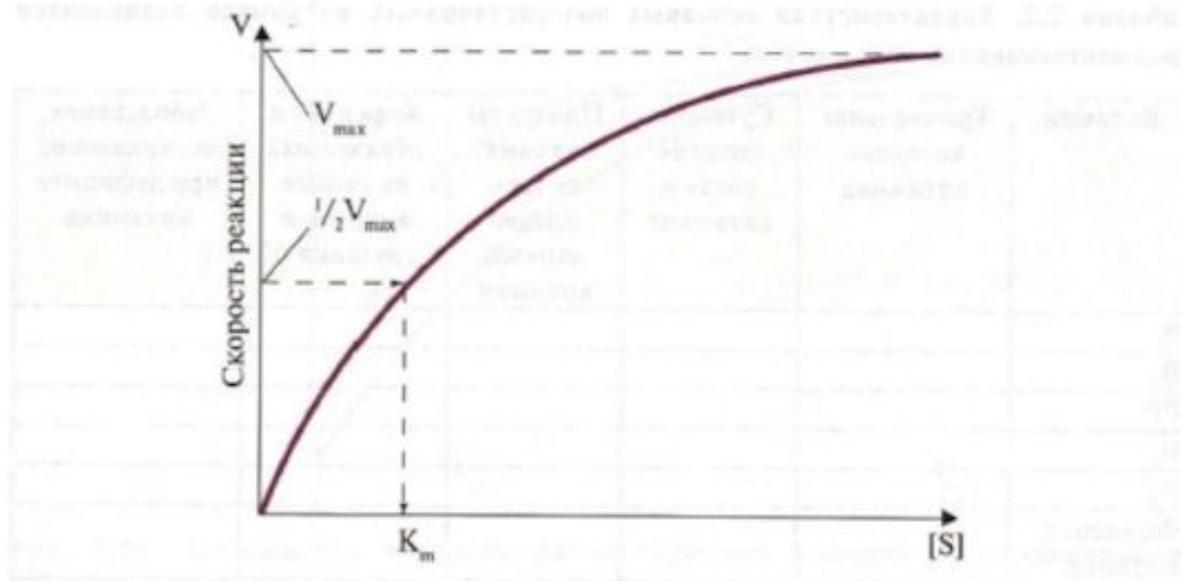
Кинетика ферментативного катализа

- **Скорость ферментативных реакций существенно зависит от многих факторов;**
- **К ним относятся концентрации участников ферментативного катализа (фермента и субстрата) и условия среды, в которой протекает ферментативная реакция (температура, pH, присутствие ингибиторов и активаторов).**

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента



Скорость реакции и концентрация субстрата

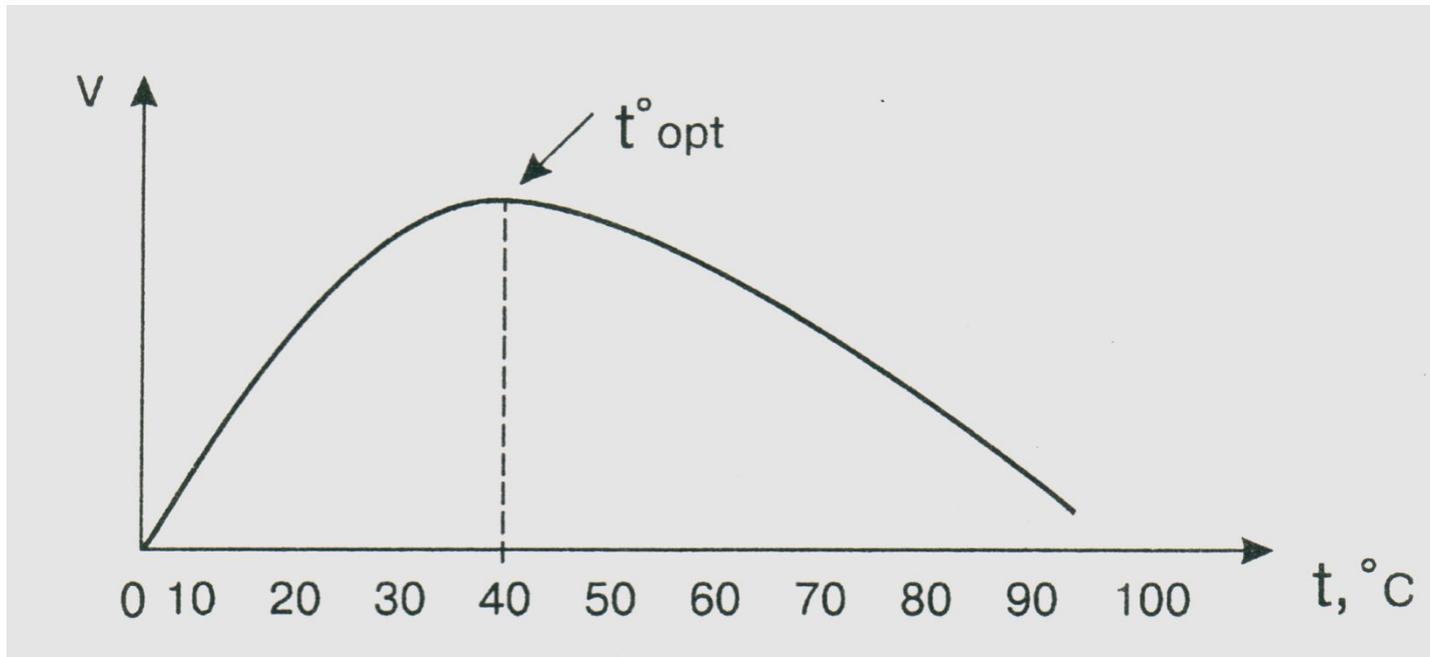


Зависимость скорости реакции (V) от концентрации субстрата S:

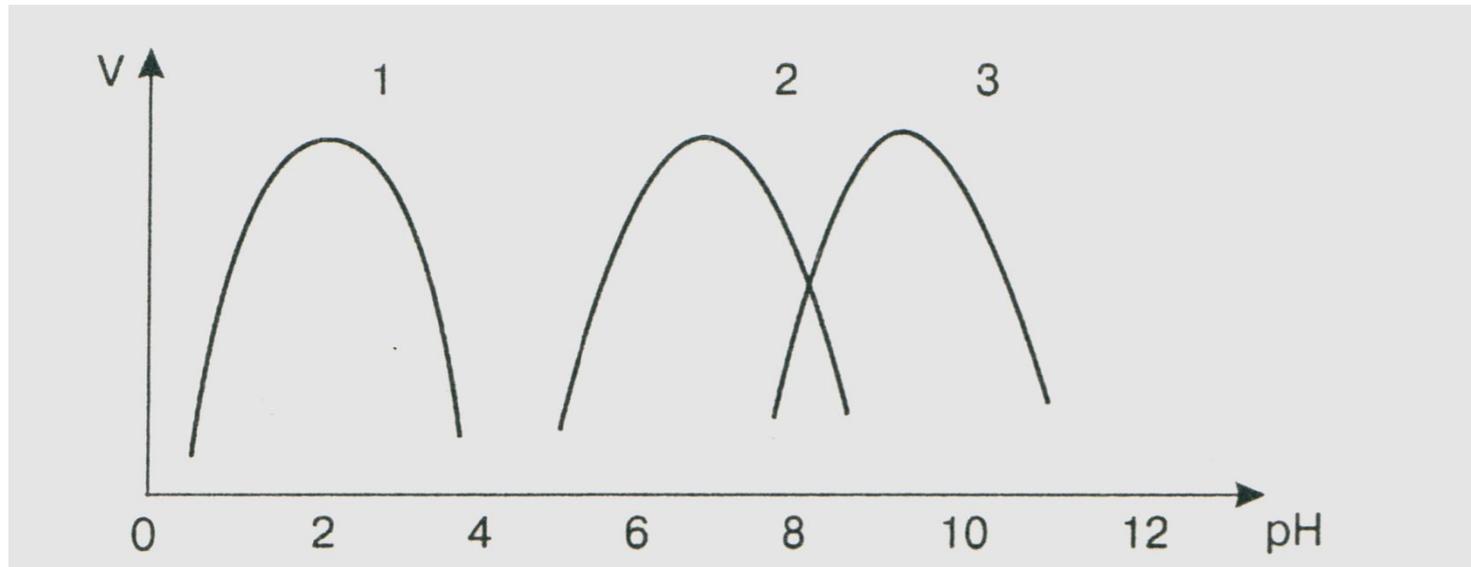
V_{\max} — максимальная скорость реакции при данной концентрации фермента в оптимальных условиях проведения реакции; K_m — константа Михаэлиса

Константа Михаэлиса (концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна $1/2$ от максимальной). Характеризует сродство фермента к субстрату (чем меньше значение, тем выше сродство). Является величиной постоянной.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры



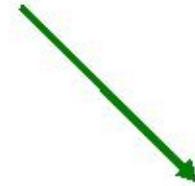
Зависимость скорости ферментативной реакции от pH



- 1 – пепсин**
- 2 – амилаза**
- 3 – щелочная фосфатаза**

Вещества, которые оказывают влияние на активность ферментов, называют **эффекторами**

Эффекторы



ингибиторы

соединения,
тормозящие
каталитический процесс

активаторы

вещества,
ускоряющие
каталитический процесс

Ингибиторы и активаторы ферментов

- **Ингибиторы (I)** - это химические соединения (обычно низкомолекулярные), которые, находясь в низких концентрациях, избирательно **тормозят** определенные ферментативные реакции;
- При этом ингибитор всегда присоединяется к ферменту с образованием фермент-ингибиторного комплекса;
- Фермент, связанный с ингибитором, теряет свою каталитическую активность.

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*

- Если связи между ферментом и ингибитором прочные, то действие ингибитора носит необратимый характер, и торможение нарастает во времени вплоть до полного прекращения ферментативной реакции:



- Такие ингибиторы называются **необратимыми**.

- Если ингибитор присоединяется к ферменту за счет непрочных связей, то торможение фермента является обратимым и не зависит от времени:

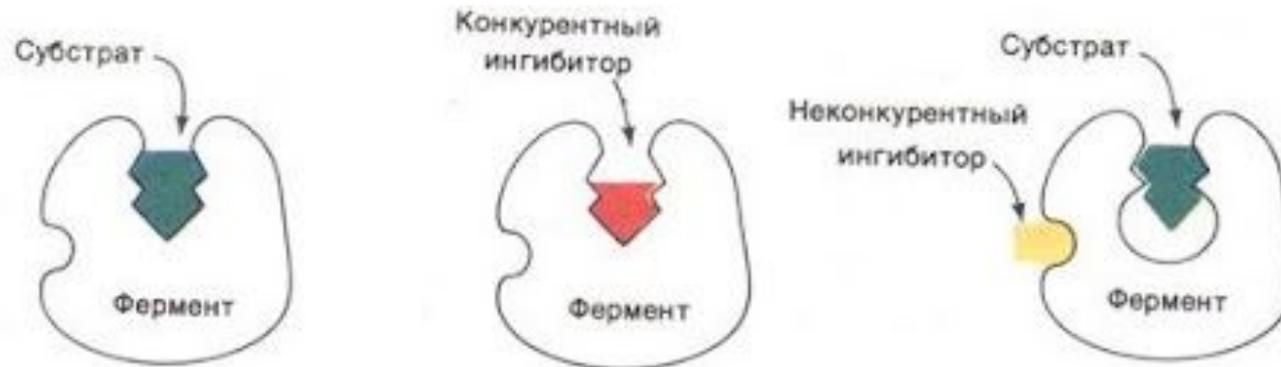


- Ингибиторы такого типа называются **обратимыми**.

Обратимые ингибиторы

конкурентные

неконкурентные

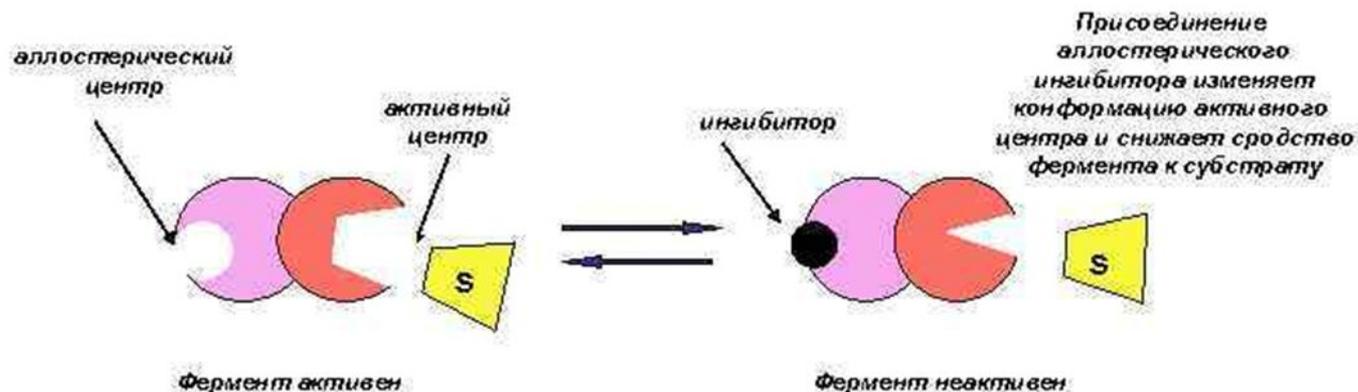


- **Конкурентные ингибиторы** присоединяются к **активному центру** фермента, т.е. к тому же участку поверхности фермента, что и субстрат;
- Поэтому между ингибитором и субстратом идет конкуренция за присоединение к активному центру;
- Занимая активный центр, ингибитор тем самым препятствует образованию фермент-субстратного комплекса - первой стадии ферментативного катализа;
- **Конкурентные ингибиторы обычно по строению похожи на субстрат.**

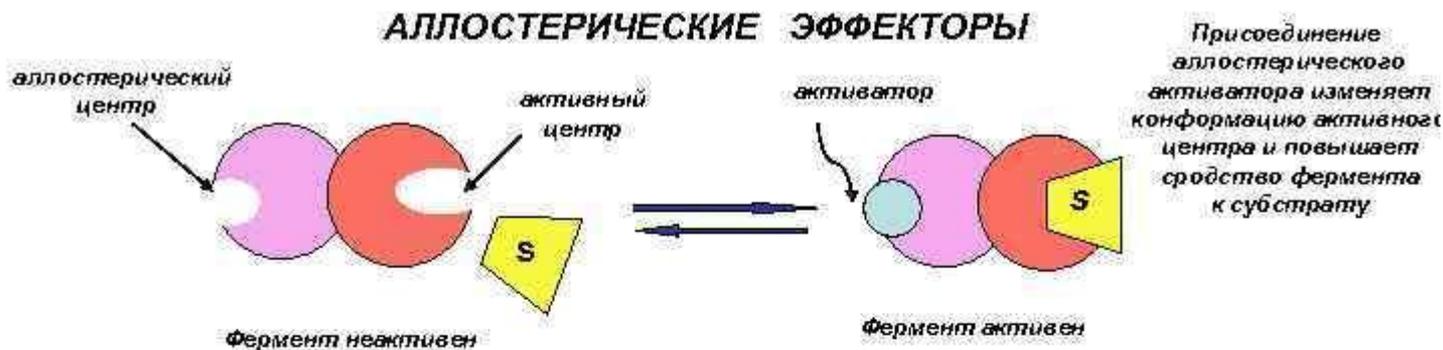
Неконкурентные ингибиторы присоединяются к ферменту в **аллостерическом центре**

Присоединение неконкурентного ингибитора к аллостерическому центру вызывает неблагоприятное изменение пространственной структуры (**конформации**) всей молекулы фермента, в т.ч. и активного центра;

В результате каталитические свойства фермента снижаются.



- **Активаторы** - вещества, избирательно повышающие скорость определенных ферментативных реакций;
- Активаторы, подобно неконкурентным ингибиторам, присоединяются обратимо к **аллостерическому центру** фермента;
- В этом случае изменение конформации фермента является благоприятным для функционирования активного центра, что приводит в итоге к повышению скорости ферментативной реакции;



Эффекторами ферментативной активности являются некоторые гормоны, промежуточные или конечные продукты путей метаболизма, ионы металлов, АТФ, АДФ, АМФ, лекарственные препараты и т.п.

Одни и те же соединения для одних ферментов могут выполнять роль активаторов, а для других ингибиторов

Для каждого фермента существуют свои активаторы и ингибиторы

Регуляция скорости ферментативных реакций

- **Особенностью ферментативных реакций является наличие механизмов регуляции их скорости;**
- **Благодаря регуляторным механизмам ферментативные реакции протекают со скоростями, соответствующими потребностям организма.**

Основные механизмы регуляции скорости ферментативных реакций

- **Изменение скорости синтеза ферментов;**
- **Модификация ферментов;**
- **Изменение конформации ферментов;**

Классификация и индексация ферментов

- Современная классификация ферментов основывается на характере химической реакции, катализируемой ферментом;
- Все ферменты делятся на шесть классов в зависимости от типа катализируемой реакции.

Современные классификация и номенклатура ферментов были разработаны **Комиссией по ферментам Международного биохимического союза**. И утверждены на **V Международном биохимическом конгрессе в 1961 г.** в Москве.

- В соответствии с этой классификацией все ферменты делятся:
 - на 6 классов – 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.

В настоящее время классификация ферментов периодически обновляется **Комиссией по ферментам** (*англ.* Enzyme commission, отсюда термин «EC number», принятый в англоязычной литературе) при **Международном союзе биохимии и молекулярной биологии**.

Каждый шифр КФ ассоциирован также с рекомендованным названием соответствующего фермента.

Современная номенклатура ферментов – международная, переведена на разные языки



Тривиальная

Исторически сложившиеся названия:

(пепсин, трипсин)

рабочие названия:

субстрат + окончание аза (сахараза)

субстрат + его хим. превращение + аза

(пируваткарбоксилаза)



Систематическая

По названию можно точно идентифицировать фермент и его катализируемую реакцию.

В каждом классе строится по определённой схеме

Принята в 1961г
Международным союзом
биохимиков

Классификация ферментов

Классы ферментов	Катализируемая реакция	Примеры ферментов или их групп
Оксидоредуктазы	Перенос атомов водорода или электронов от одного вещества к другому	Дегидрогеназа, оксидаза
Трансферазы	Перенос определенной группы атомов – метильной, ацильной, фосфатной или аминогруппы – от одного вещества к другому	Трансаминаза, киназа
Гидролазы	Реакции гидролиза	Липаза, амилаза, пептидаза
Лиазы	Негидролитическое присоединение к субстрату или отщепление от него группы атомов. При этом могут разрываться связи C-C, C-N, C-O или C-S	Декарбоксилаза, фумараза, альдолаза
Изомеразы	Внутримолекулярная перестройка	Изомераза, мутаза
Лигазы	Соединение двух молекул в результате образования новых связей C-C, C-N, C-O, C-S, сопряженное с распадом АТФ	Синтетаза

Транслоказы (ЕС 7.X.X.X).

В августе 2018 г. учеными Университета Маккуори (**Macquarie University, Австралия**) был предложен 7-й класс ферментов – Транслоказы, объединивший мембранные ферменты, функцией которых являлся перенос ионов.

Предлагаемые подклассы

ЕС 7.1 — ферменты, катализирующие транслокации (переносы) протонов (ионов водорода)

ЕС 7.2 — ферменты, катализирующие транслокации неорганических катионов и их хелатов

ЕС 7.3 — ферменты, катализирующие транслокации неорганических анионов

ЕС 7.4 — ферменты, катализирующие транслокации аминокислот и пептидов

ЕС 7.5 — ферменты, катализирующие транслокации углеводов и их производных

ЕС 7.6 — ферменты, катализирующие транслокации других соединений

В настоящее время разрабатывается номенклатура для каждого фермента транслоказы.

- Номенклатурные номера ферментов АТФ-аз скоро изменятся с [КФ 3.6.1.3], на [КФ 7.2.2.x].
- В 7-й класс ферментов не были включены транспортёры ионов, работающие по принципу обмена и не зависящие от реакций, катализируемых ферментами.
- Точный список и положение ферментов в 7-м классе будет опубликован на сайте :

<http://www.enzyme-database.org/news.php>

Индексация (нумерация) ферментов

- **Индекс (*шифр*) каждого фермента состоит из четырех чисел, разделенных точками;**
- **Первая цифра индекса указывает к какому из шести классов принадлежит данный фермент;**
- **Второе и третье числа индекса обозначают соответственно порядковые номера подклассов и подподклассов;**
- **Четвертое число индекса – порядковый номер индивидуального фермента внутри своего подподкласса.**
- ЕС (международная) 1.1.1.27
- КФ (русскоязычная) 1.1.1.27 } лактатдегидрогеназа

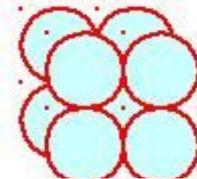
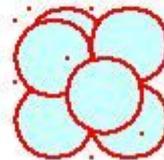
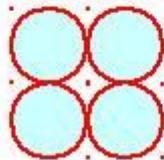
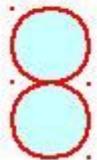
Изоферменты

Изоферменты – это множественные формы одного фермента, катализирующие одну и ту же реакцию, и отличающиеся химическим составом

Изоферменты отличаются:

- сродством к субстрату (разные K_m),
- максимальной скорости катализируемой реакции,
- электрофоретической подвижности,
- разной чувствительности к ингибиторам и активаторам,
- оптимуму pH
- термостабильности

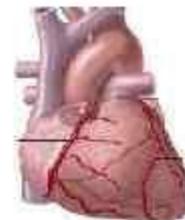
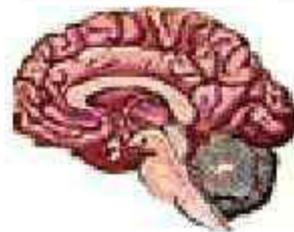
Изоферменты имеют четвертичную структуру, которая образована четным количеством субъединиц (2, 4, 6 и т.д.):



**NB! ИЗОФЕРМЕНТЫ КОДИРУЮТСЯ
РАЗНЫМИ ГЕНАМИ**

Изоферменты КФК

- ММ – в скелетных мышцах,
- МВ – в миокарде (+ММ),
- ВВ - в ткани мозга.



Собственно множественные формы (истинные) — это ферменты, синтез которых кодируется одним и тем же аллелем одного и того же гена, у них одинаковая первичная структура и свойства, но после синтеза на рибосомах они подвергаются модификации, становятся разными, хотя и катализируют одну и ту же реакцию. Эти ферменты обладают свойствами изоферментов, но образуются в результате **посттрансляционных модификаций**. Последние могут осуществляться, например, в результате гликозилирования, фосфорилирования, аденилирования, амидирования и деамидирования остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот пептидной цепи, а также путем частичного протеолиза последней с образованием более низкомолекулярных продуктов. В модификации пептидных цепей участвуют специфические ферменты - аденилилтрансфераза, гликозилтрансферазы, протеазы, фосфокиназы и др.

Тест 1

Ферменты в организме выполняют функцию:

- а) каталитическую**
- б) структурную**
- в) транспортную**
- г) энергетическую**

Тест 2

Ферменты проявляют оптимальную активность при температуре:

- а) 0-10 °С**
- б) 35-40 °С**
- в) 55-75 °С**
- г) 90-100 °С**

Тест 3

Первой стадией ферментативного катализа является:

- а) возвращение фермента в исходное состояние**
- б) образование фермент-субстратного комплекса**
- в) освобождение продукта реакции**
- г) химическое преобразование фермент-субстратного комплекса**

Тест 4

Ферменты обладают наибольшей активностью:

- а) в кислой среде**
- б) в нейтральной среде**
- в) в щелочной среде**
- г) при строго определенном для каждого фермента значении рН**

Тест 5

Скорость ферментативной реакции зависит от:

- а) аминокислотного состава фермента**
- б) концентрации фермента**
- в) молекулярной массы фермента**
- г) молекулярной массы субстрата**

Тест 6

Конкурентные ингибиторы снижают скорость ферментативных реакций вследствие:

- а) присоединения к активному центру фермента**
- б) присоединения к аллостерическому центру фермента**
- в) увеличения количества фермента**
- г) уменьшения количества фермента**

Тест 7

Неконкурентные ингибиторы снижают скорость ферментативных реакций вследствие:

- а) изменения конформации фермента**
- б) изменения химического состава фермента**
- в) увеличения количества фермента**
- г) уменьшения количества фермента**

Тест 8

В состав коферментов входят:

- а) α -аминокислоты**
- б) витамины**
- в) гормоны**
- г) жирные кислоты**

Тест 9

Название класса ферментов указывает на:

- а) конформацию фермента**
- б) молекулярную массу фермента**
- в) тип кофермента**
- г) тип химической реакции**

Тест 10

Ферменты, катализирующие реакции расщепления с участием воды, относятся к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 11

Ферменты, катализирующие реакции внутримолекулярного переноса, относятся к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 12

Ферменты, катализирующие реакции межмолекулярного переноса, относятся к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 13

Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, относятся к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 14

Каждый фермент имеет индекс:

- а) двухзначный**
- б) трехзначный**
- в) четырехзначный**
- г) пятизначный**

Тест 15

Фермент с индексом 1.1.1.27 относится к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 16

Фермент с индексом 3.1.1.7 относится к классу:

- а) гидролаз**
- б) изомераз**
- в) оксидоредуктаз**
- г) трансфераз**

Тест 17

Фермент лактатдегидрогеназа имеет индекс:

- а) 1.1.1.1**
- б) 2.1.1.10**
- в) 3.1.1.3**
- г) 5.4.1.1**

Тест 18

**Фермент аланинаминотрансаминаза
имеет индекс:**

- а) 1.1.1.1**
- б) 2.6.1.2**
- в) 3.1.1.3**
- г) 5.4.1.1**