

## Лекция 3

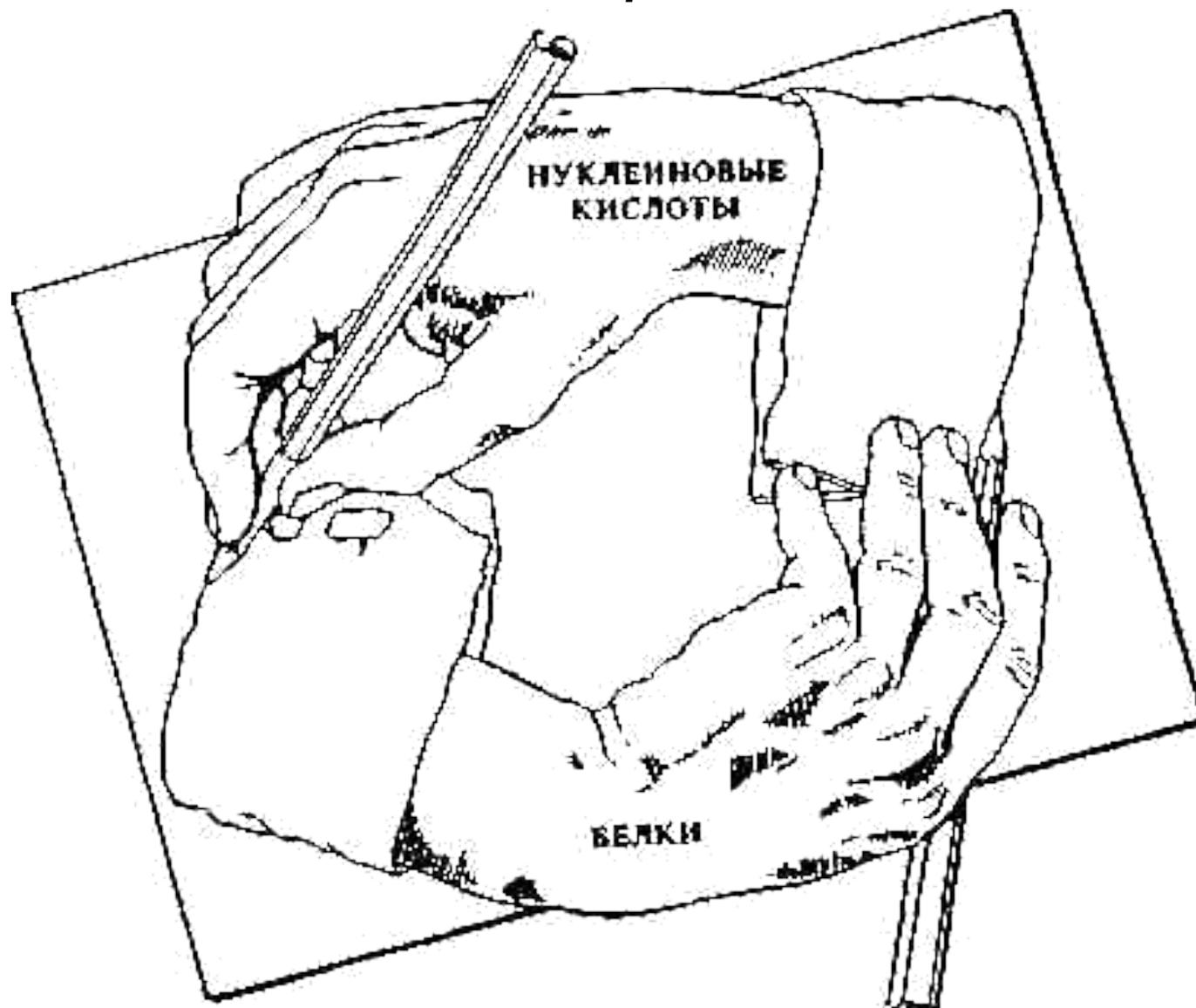
# **ФЕРМЕНТЫ**

# ПАРАДОКС ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЖИЗНИ

- Для воспроизводства все живые клетки нуждаются в нуклеиновых кислотах. Следовательно, без нуклеиновых кислот не может быть жизни.
- Все живые клетки нуждаются в белках, необходимых для множества процессов, с помощью которых поддерживается жизнь клетки. Следовательно, без белков не может быть жизни.
- Белки производятся *только* нуклеиновыми кислотами. Значит, без нуклеиновых кислот не может быть белков.
- Нуклеиновые кислоты могут воспроизводиться *только* в присутствии белков. Следовательно, без белков не может быть

- Одной из многих важных нерешенных проблем в науке о происхождении жизни является исходное функциональное соотношение между белками и нуклеиновыми кислотами — что из них появилось раньше?
- Нуклеиновые кислоты не могут воспроизводиться без ферментов [белков], а ферменты не могут образовываться без нуклеиновых кислот

*«Рисующие руки», по литографии М.С. Эшера*



# Области применения ферментов в биологии и медицине (по Грину).



# План:

1. Ферменты.
2. Коферменты, простетические группы.
3. Активный центр, субстратная специфичность ферментов.
4. Динамичность фермент - субстратного взаимодействия.
5. Классификация и номенклатура.
6. Активаторы и ингибиторы.
7. Регуляция активности ферментов.

**ФЕРМЕНТЫ** (энзимы) - это высокоспецифичные белки, выполняющие функции биологических катализаторов.

**Катализатор** - это вещество, которое ускоряет химическую реакцию, но само в ходе этой реакции не расходуется.

# **Отличия ферментов от небиологических катализаторов:**

- Высокая эффективность действия**
- Специфичность действия**
- Способность к регуляции**

# Сложные ферменты:

- Белковая часть (**апофермент**) обеспечивает связывание субстрата, а катализ осуществляют небелковые (мономерные) соединения, называемые **кофактором**.
- Комплекс апофермента и кофактора называется **холоферментом**.
- Кофакторами могут быть ионы металлов ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ) или органические соединения, которые обычно называют **коферментами**. Большинство из них являются производными витаминов.

# Некоторые коферменты и их функции

Кофермент-предшественник	Функция	Витамин
NAD <sup>+</sup> , NADP <sup>+</sup>	Перенос водорода (электронов) в окислительно-восстановительных реакциях	Никотиновая кислота - PP
FAD	Перенос водорода (электронов) в окислительно-восстановительных реакциях	Рибофлавин – витамин B2
Кофермент А	Активация и перенос ацильных групп в реакциях, катализируемых лигазами и трансферазами.	Паптотеновая кислота
Биотин	Связывание CO <sub>2</sub> , активация и включение в молекулы (класс лигазы)	Биотин – витамин H
Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп и декарбоксилирование аминокислот (класс трансферазы, лиазы)	Пиридоксин – витамин B6

Тип связи между ферментом и коферментом может быть различным:

- Иногда связь слабая и возникает только во время протекания реакции
- В других случаях кофактор и фермент прочно соединены ковалентными связями. В этом случае небелковую часть фермента называют **простетической группой.**

# Функции кофакторов:

1. Участвуют в формировании третичной структуры белка и обеспечении комплементарности между ферментом и субстратом.
2. Могут непосредственно вовлекаться в реакции в качестве еще одного субстрата. В этой роли обычно выступают органические коферменты – они выступают как доноры или акцепторы определенных химических групп.

# СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

**Субстрат (S)** - вещество, химические превращения которого в продукт (P) катализирует фермент (E).

**Активный центр фермента** - тот участок поверхности молекулы фермента, который непосредственно взаимодействует с молекулой субстрата.

# АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ФЕРМЕНТА

- Активный центр фермента образован из остатков аминокислот, находящихся в составе различных участков полипептидной цепи или различных полипептидных цепей, пространственно сближенных. Образуется на уровне третичной структуры белка-фермента.
- В его пределах различают **адсорбционный центр** и **каталитический центр**.
- Вне активного центра фермента встречаются особые функциональные участки, каждый из них обозначают термином **аллостерический центр**.

# КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

- Это та область (зона) активного центра фермента, которая непосредственно формируется за счет радикалов двух, иногда трех аминокислот, расположенных в разных местах полипептидной цепи фермента, но пространственно сближенных между собой за счет изгибов этой цепи.
- Каталитический центр "серин-гистидиновых" ферментов формируется за счет радикалов аминокислот серина и гистидина. Если фермент является сложным белком, то в формировании каталитического центра нередко участвует простетическая группа молекулы фермента (кофермент).

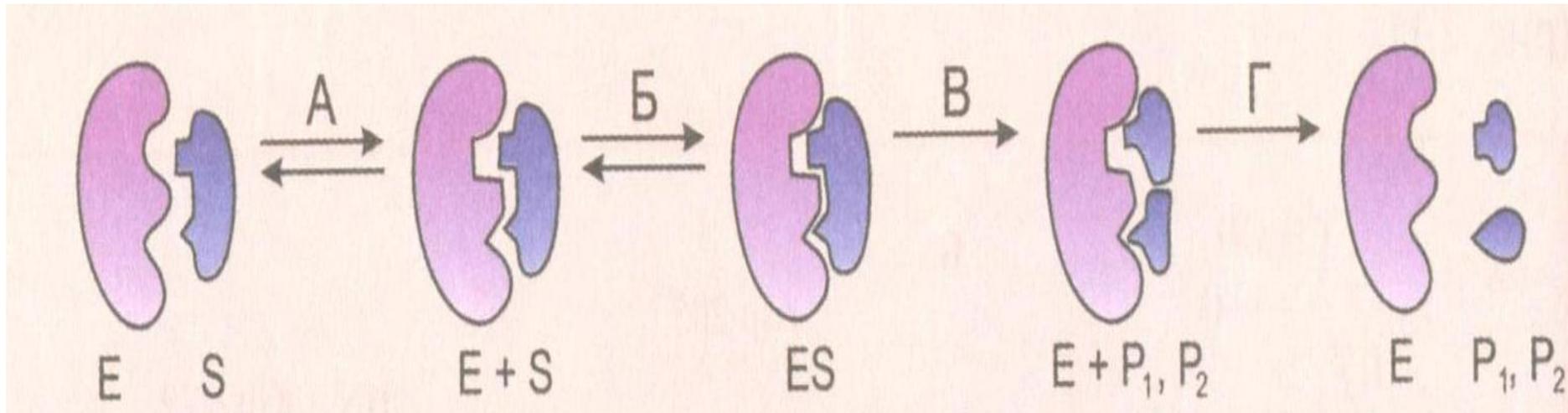
# АДСОРБЦИОННЫЙ ЦЕНТР

- Участок активного центра молекулы фермента, на котором происходит сорбция (связывание) молекулы субстрата.
- Он формируется одним, двумя, чаще тремя радикалами аминокислот, которые обычно расположены рядом с каталитическим центром.
- Главная его функция - **связывание молекулы субстрата и передача этой молекулы каталитическому центру** в наиболее удобном положении (для каталитического центра).

**Эта сорбция происходит только за счет слабых типов связей и потому является обратимой.**

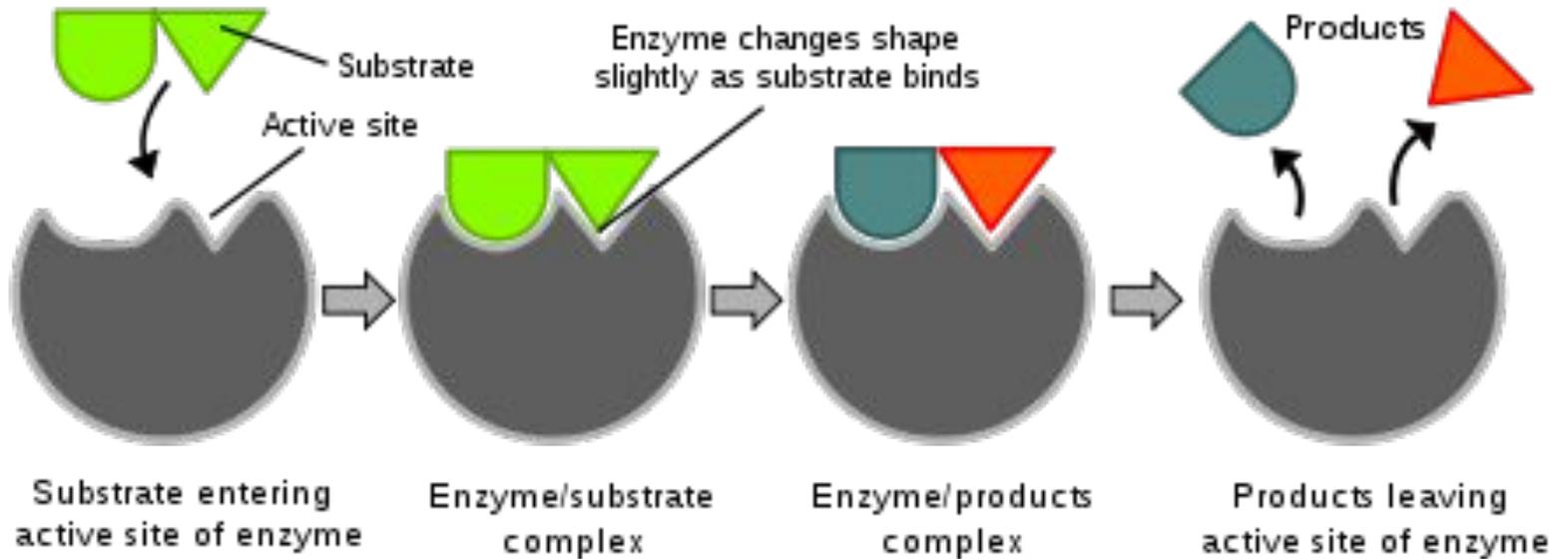
По мере формирования этих связей происходит конформационная перестройка адсорбционного центра, которая приводит к более тесному сближению субстрата и активного центра фермента, более точному соответствию между их пространственными конфигурациями.

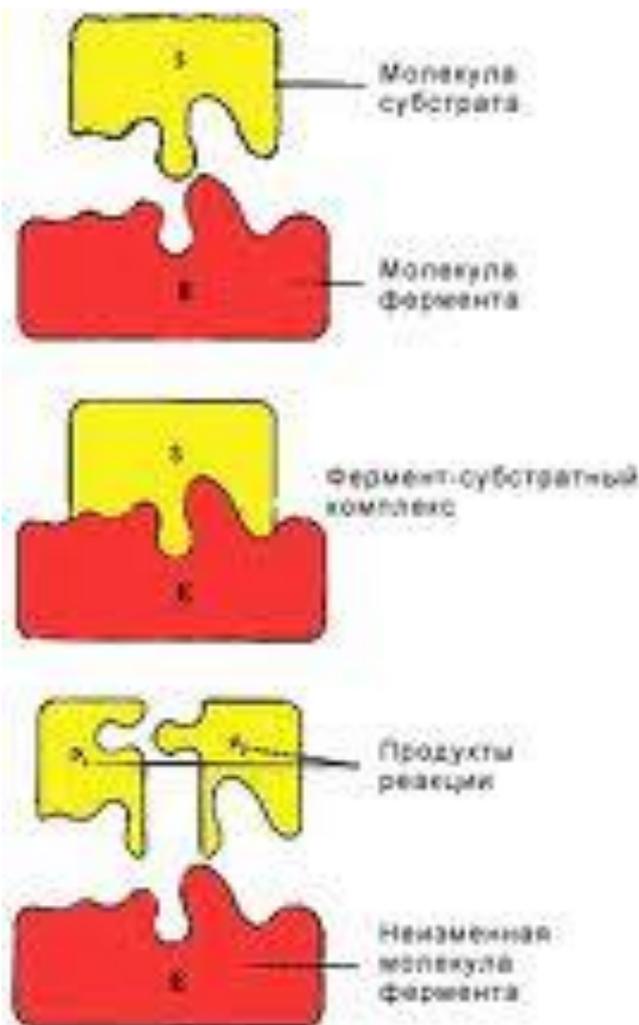
# Механизм действия ферментов



- А – установление индуцированного соответствия конформации активного центра фермента и субстрата
- Б – образование фермент-субстратного комплекса
- В – образование продуктов реакции
- Г – освобождение продуктов реакции и переход фермента в исходное состояние

# Модель ключ - замок





I. Активация фермента

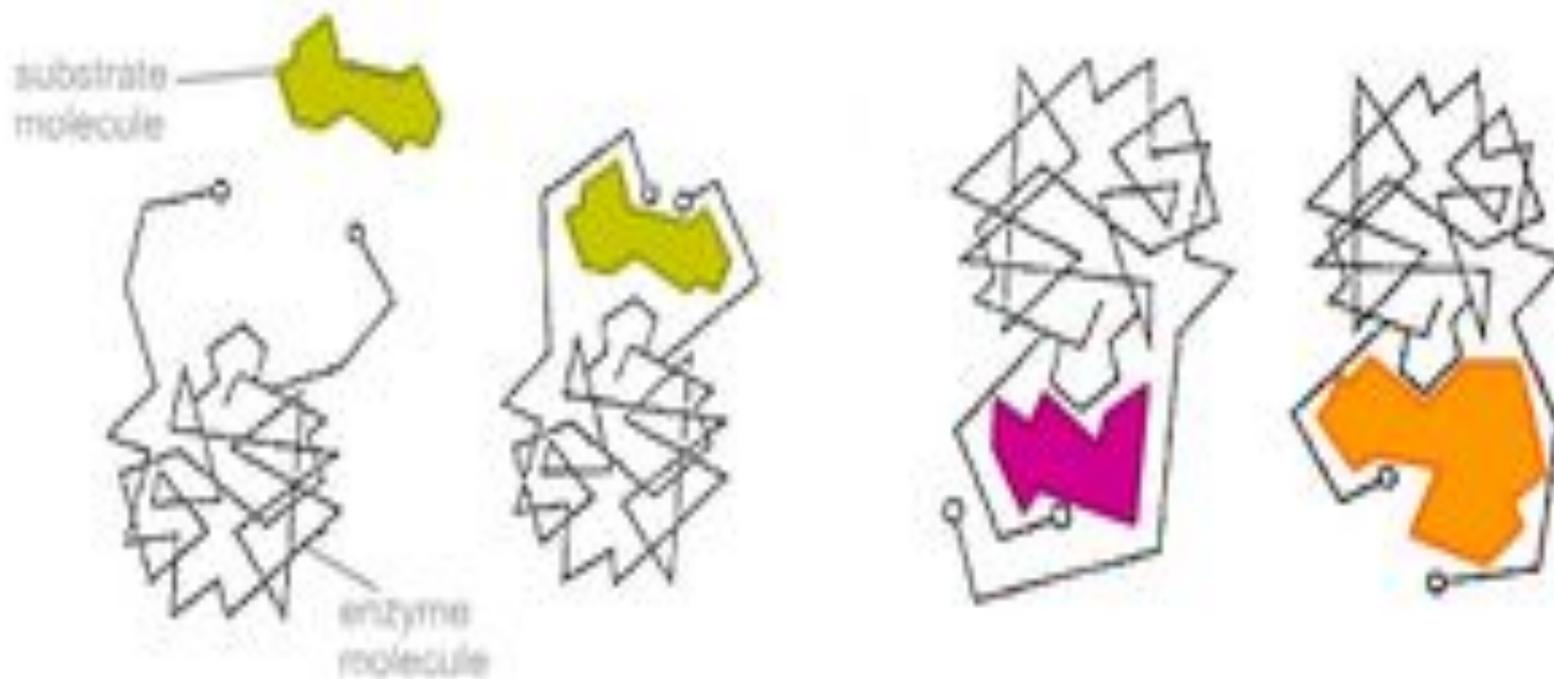
II. Узнавание ферментом своего субстрата

III. Образование неактивного фермент-субстратного комплекса с помощью слабых водородных связей между субстратом и аминокислотами контактных участков

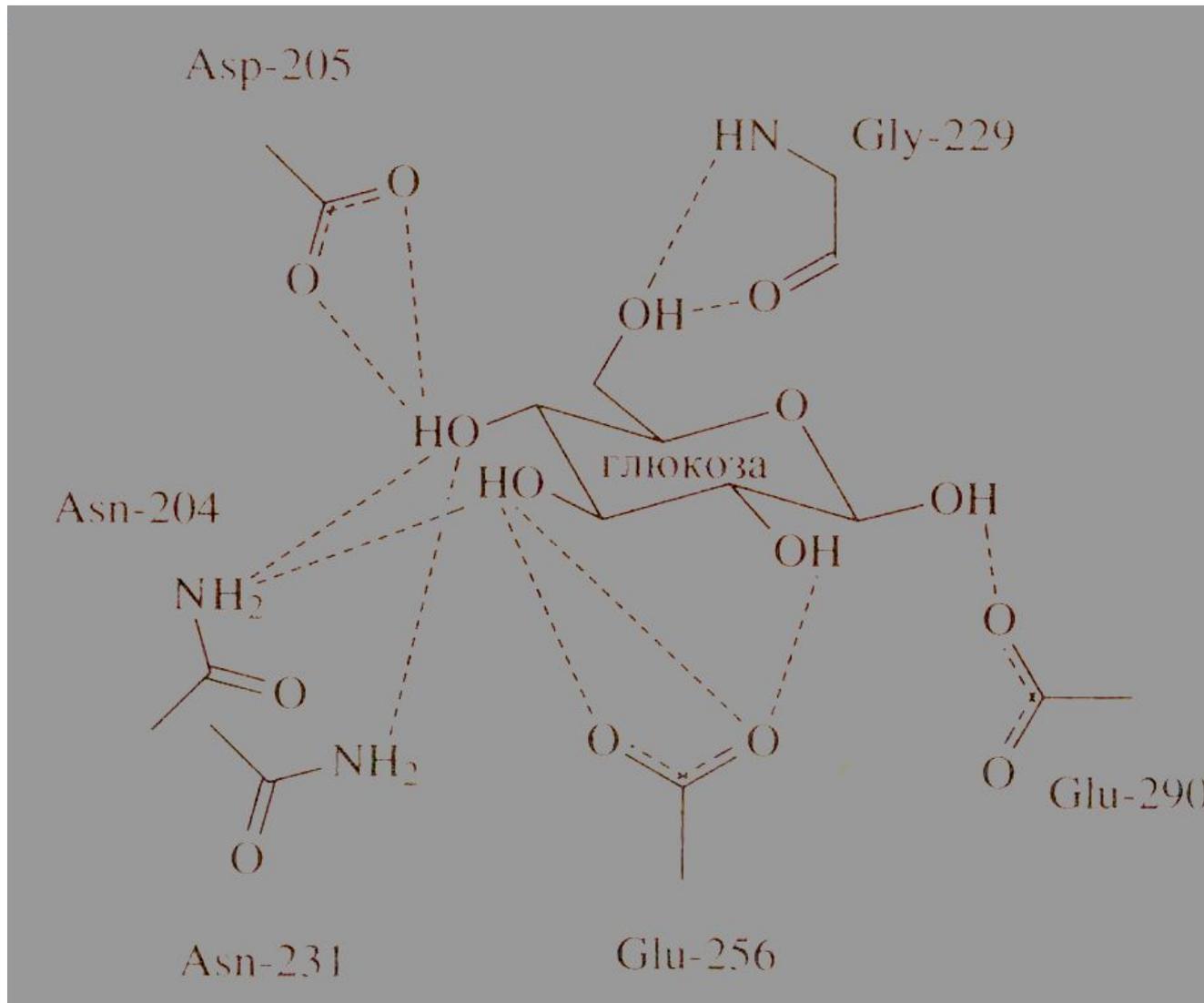
IV. Образование активного фермент-субстратного комплекса за счет каталитического участка

V. Образование продуктов реакции.

# Гипотеза Кошланда об индуцированном соответствии



# Образование фермент-субстратного комплекса

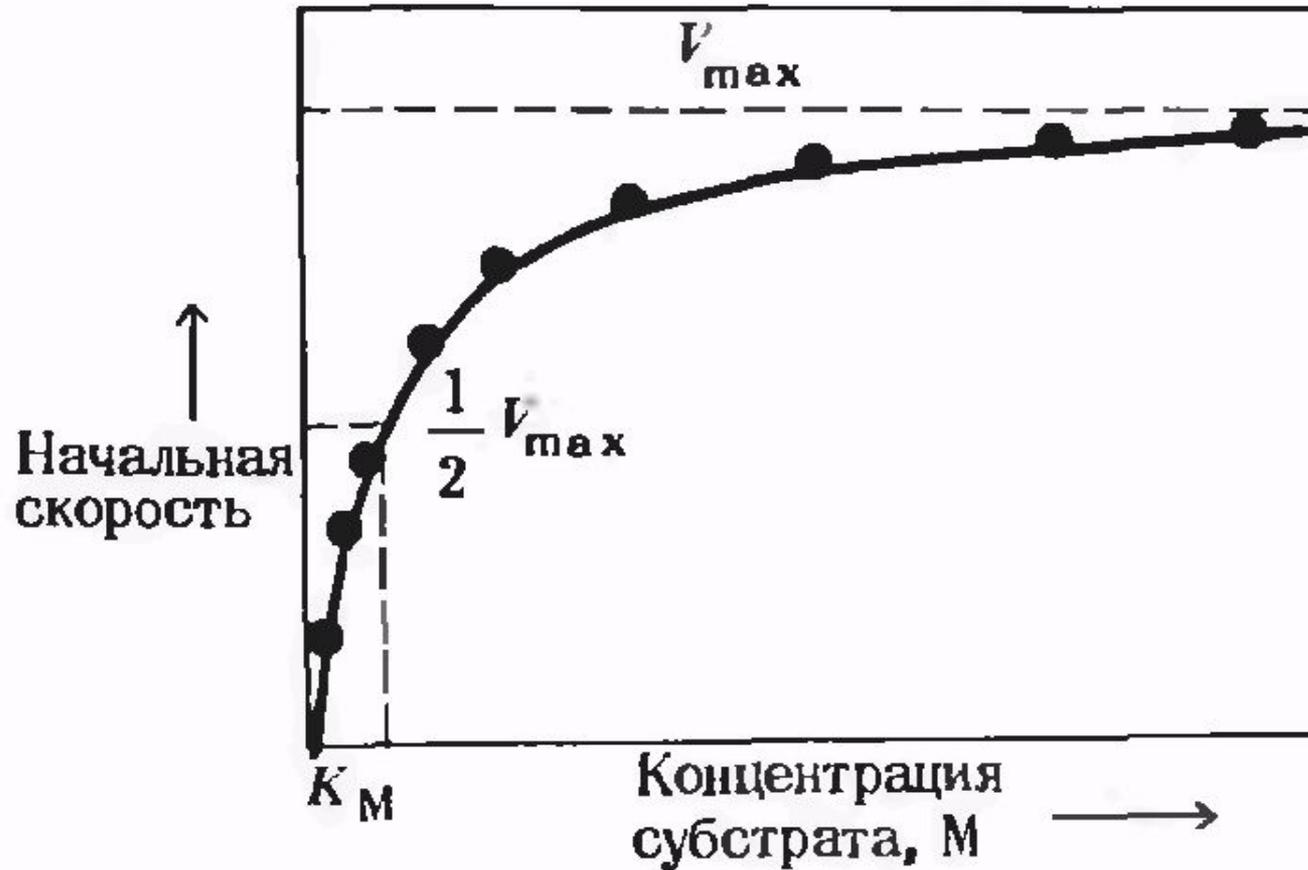


# Кинетика ферментативных реакций

Это раздел энзимологии, изучающий зависимость скоростей реакции, катализируемых ферментами, от различных факторов.

Скорость ферментативных реакций ( $V$ ) измеряют по убыли субстрата ( $S$ ) или приросту продукта ( $P$ ) за единицу времени.

# Модель Михаэлиса-Ментен



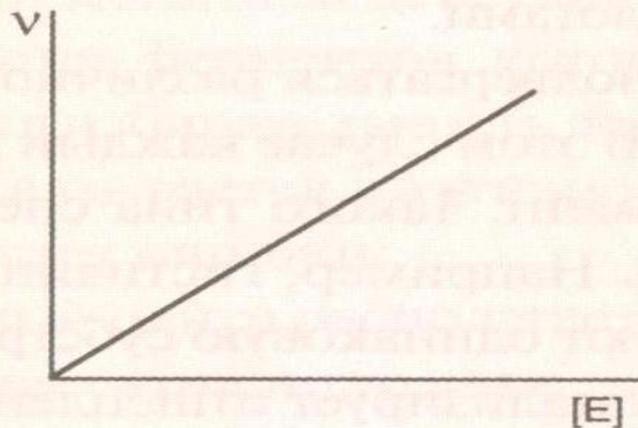
$K_M$  (константа Михаэлиса-Ментен) – концентрация специфического субстрата, при которой данный фермент обеспечивает скорость реакции, равную половине ее максимальной скорости

# Уравнение Михаэлиса-Ментен

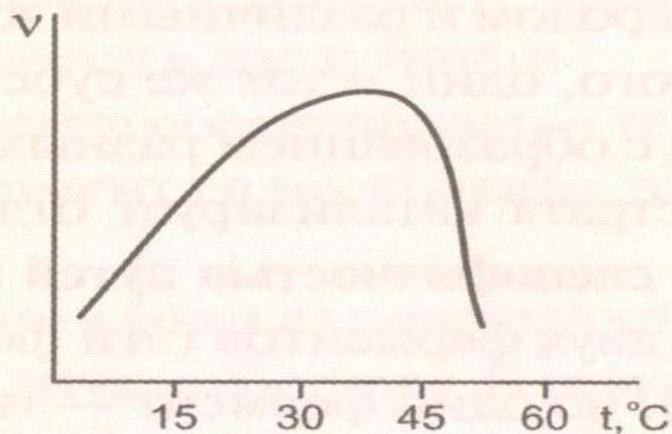
$$v_0 = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

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

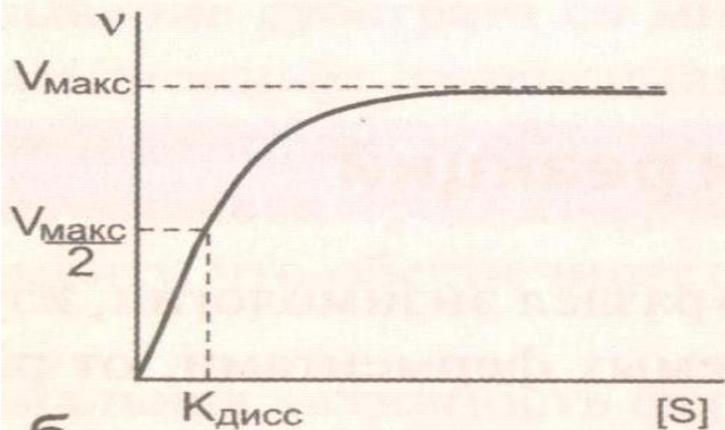
# Зависимость скорости реакции от концентрации фермента (а), концентрации субстрата (б), от температуры (в), рН (г)



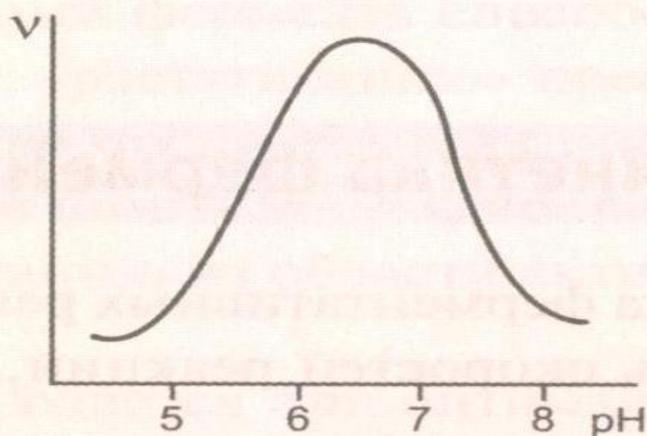
а



в



б



г

# Единица активности и Удельная активность Фермента

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**

Различают два главных вида  
специфичности ферментов:

- 1. СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ**
- 2. СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ**

**Субстратная специфичность** - это способность фермента катализировать превращения только одного определенного субстрата или же группы сходных по строению субстратов. Определяется структурой адсорбционного участка активного центра фермента.

## Различают 3 типа субстратной специфичности:

1. **Абсолютная субстратная специфичность** - это способность фермента катализировать превращение только одного, строго определенного субстрата.
2. **Относительная субстратная специфичность** - способность фермента катализировать превращения нескольких, сходных по строению, субстратов.
3. **Стереоспецифичность** - способность фермента катализировать превращения определенных стереоизомеров.

**Специфичность действия** - это способность фермента катализировать только определенный тип химической реакции.

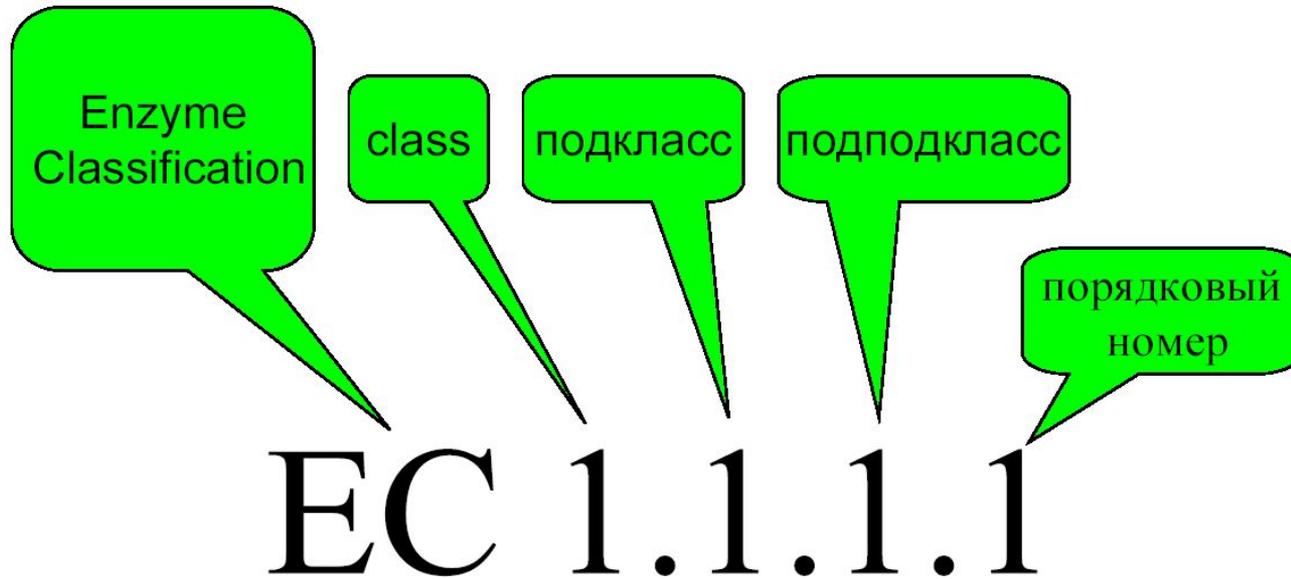
В соответствии со специфичностью действия все ферменты делятся на **6 классов**.

# Классификация названий

- **Рабочие** названия образуются из объединения названия субстрата, типа реакции и окончания "-аза". Например: ЛАКТАТ + ДЕГИДРОГЕНИЗАЦИЯ + АЗА = **ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА**
- **Систематическое** название фермента формируется следующим образом: (*название субстратов (через дробь), название типа химического превращения + аза*). Та же **лактатдегидрогеназа** будет иметь систематическое название

**"L-лактат:NAD<sup>+</sup> оксидоредуктаза".**

# Классификация энзимов – Е.С. (Enzyme Classification)

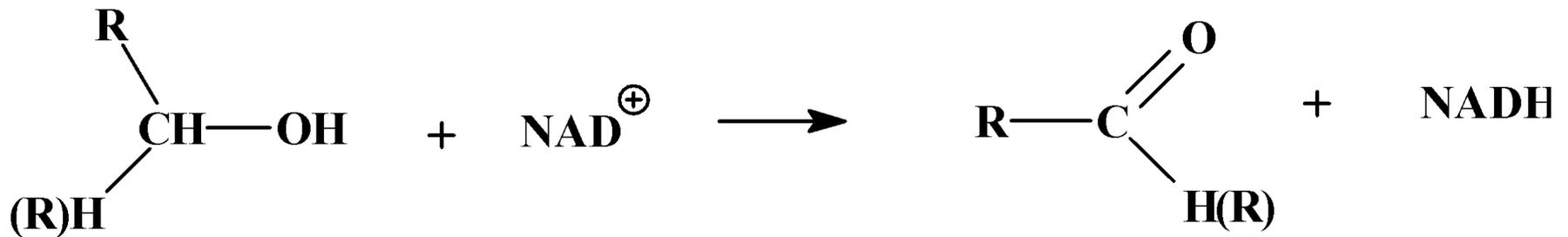


Классы ферментов обозначаются латинскими цифрами. Название каждого класса ферментов соответствует этой цифре. Каждый класс разделен на подклассы и подподклассы, которые уточняют специфичность действия данного фермента.

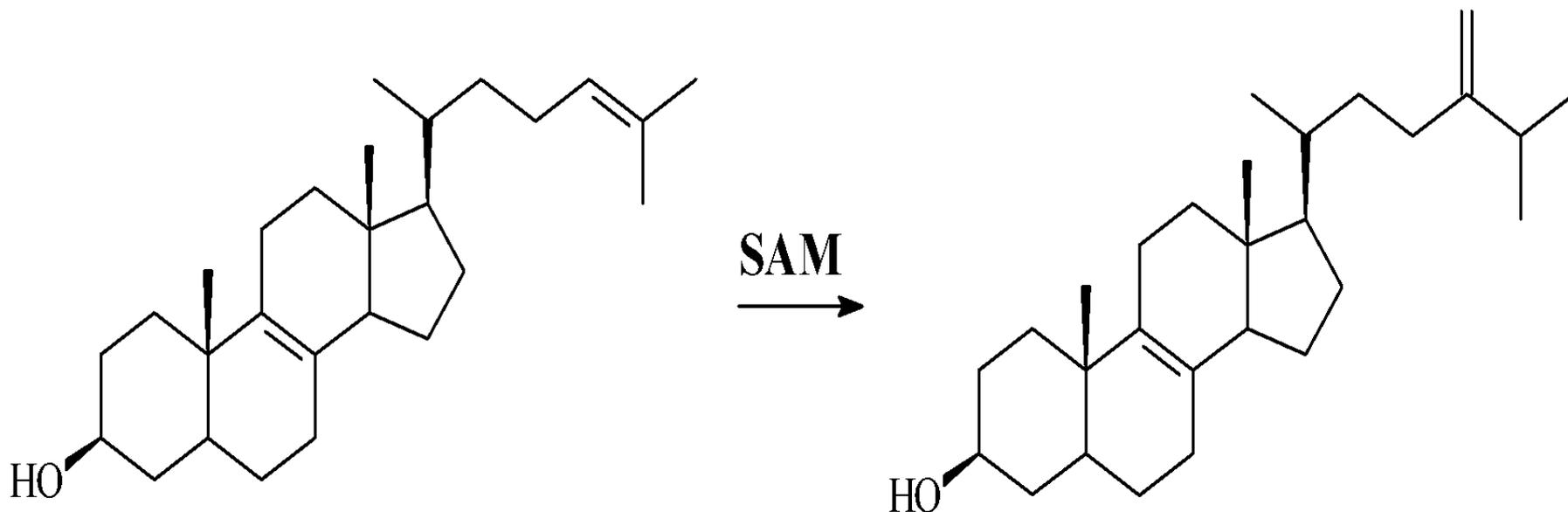
Класс	Тип катализируемой реакции
Е.С.1. - оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции
Е.С.2. – трансферазы	Перенос отдельных групп атомов от донорной молекулы к акцепторной молекуле
Е.С.3. – гидролазы	Гидролитическое (с участием воды) расщепление связей
Е.С.4. – лиазы	Расщепление не гидролитическим путем связей С-С, отщепление малых молекул (вода) с образованием двойной связи или их присоединение по двойной связи
Е.С.5. – изомеразы	Взаимопревращение различных изомеров
Е.С.6. – лигазы	Взаимодействие двух различных соединений с образованием более сложного вещества.

# Оксиредуктазы

## -Окислительно-восстановительные реакции

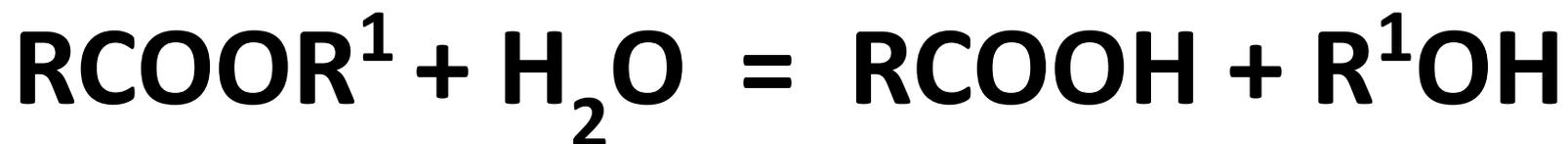


# Трансферазы

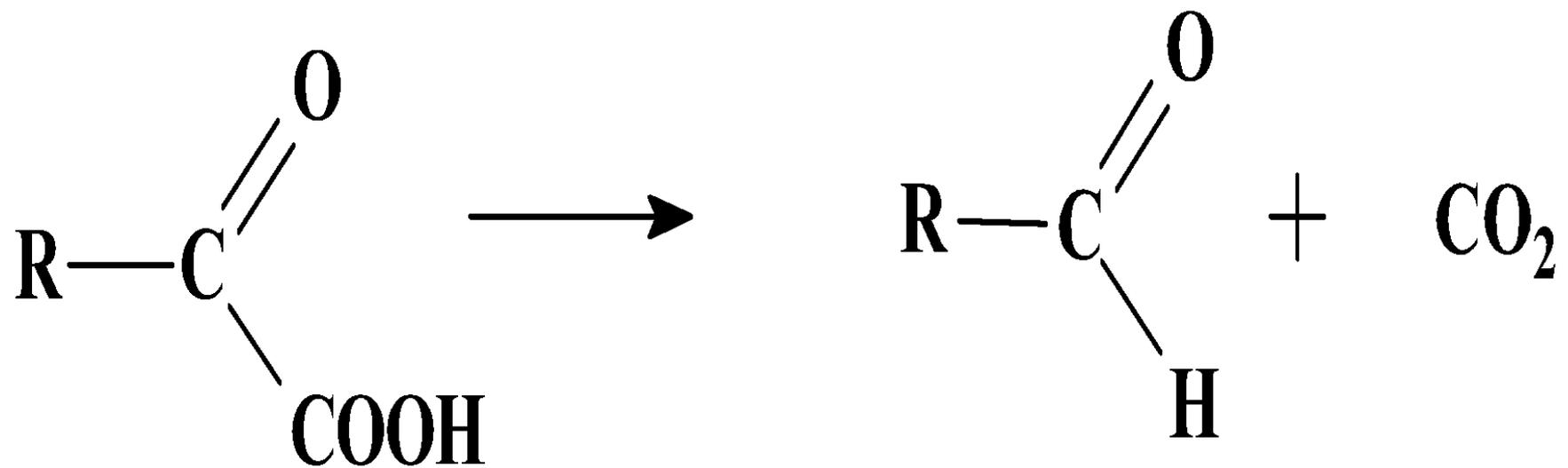


Где SAM – S-аденозил-L-  
метионин

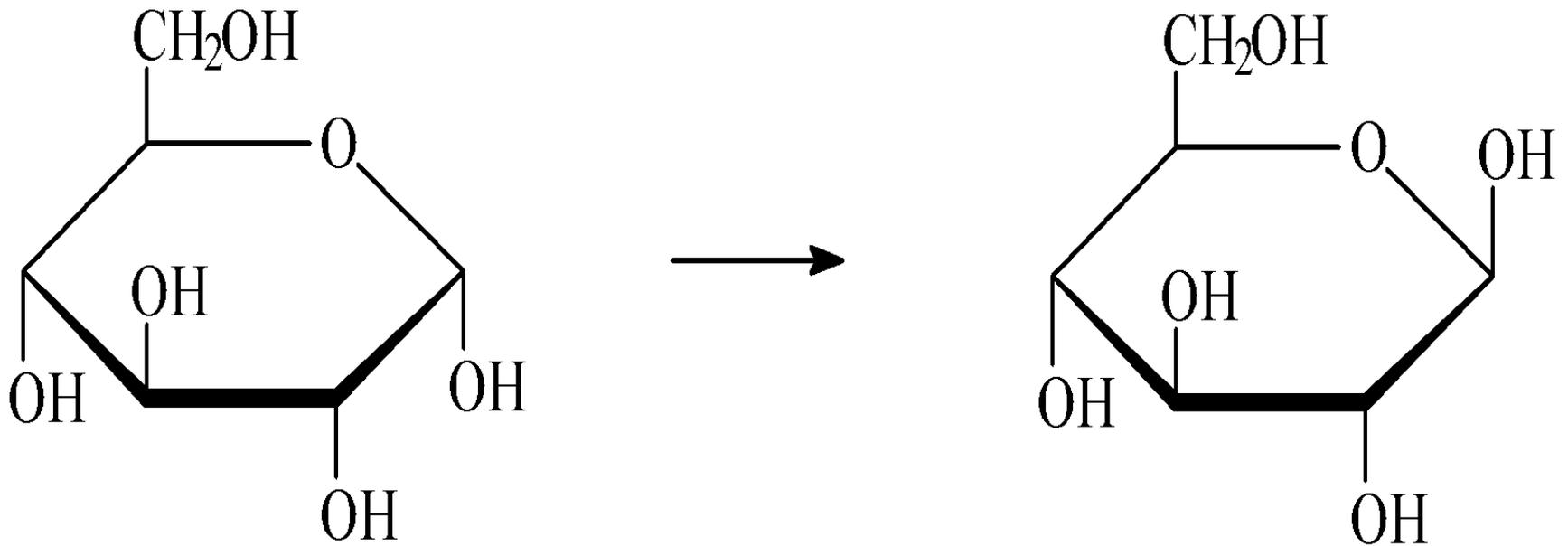
# Гидролазы



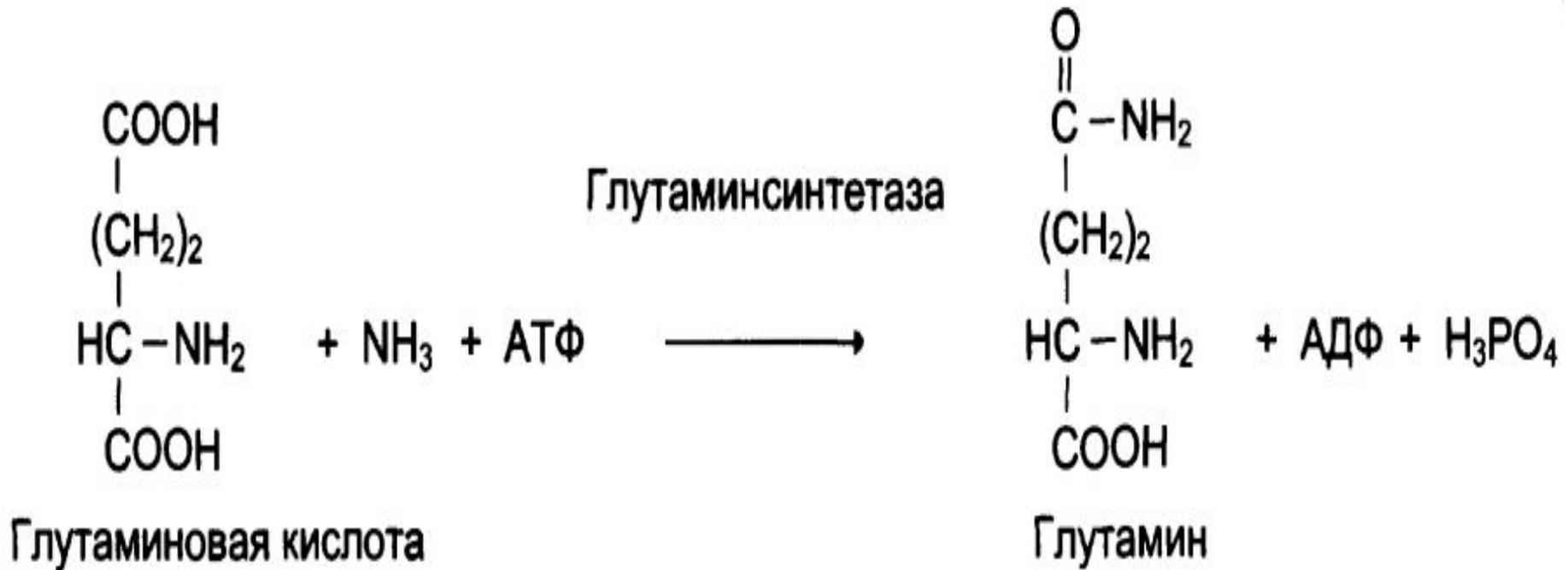
# Лиазы



# Изомеразы



# ЛИГАЗЫ (синтетазы)



Ингибиторы ферментов - это вещества, снижающие их активность.

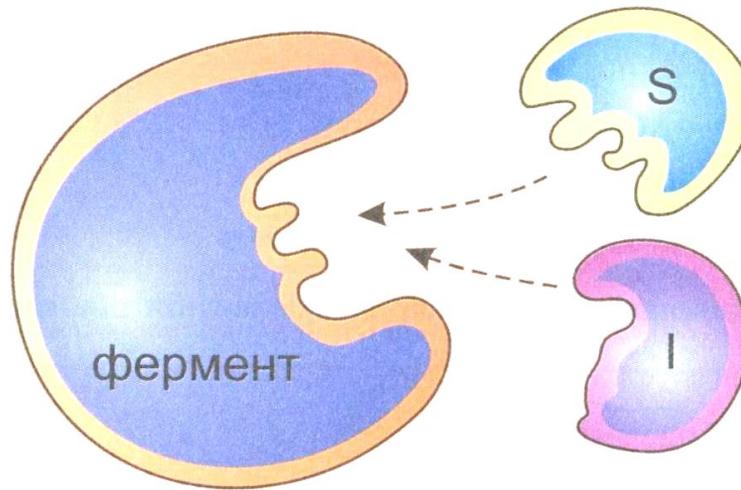
Различают ингибиторы:

- необратимые
- обратимые

**Необратимые ингибиторы** прочно связываются и блокируют функциональные группы активного центра фермента, необходимые для проявления его активности.

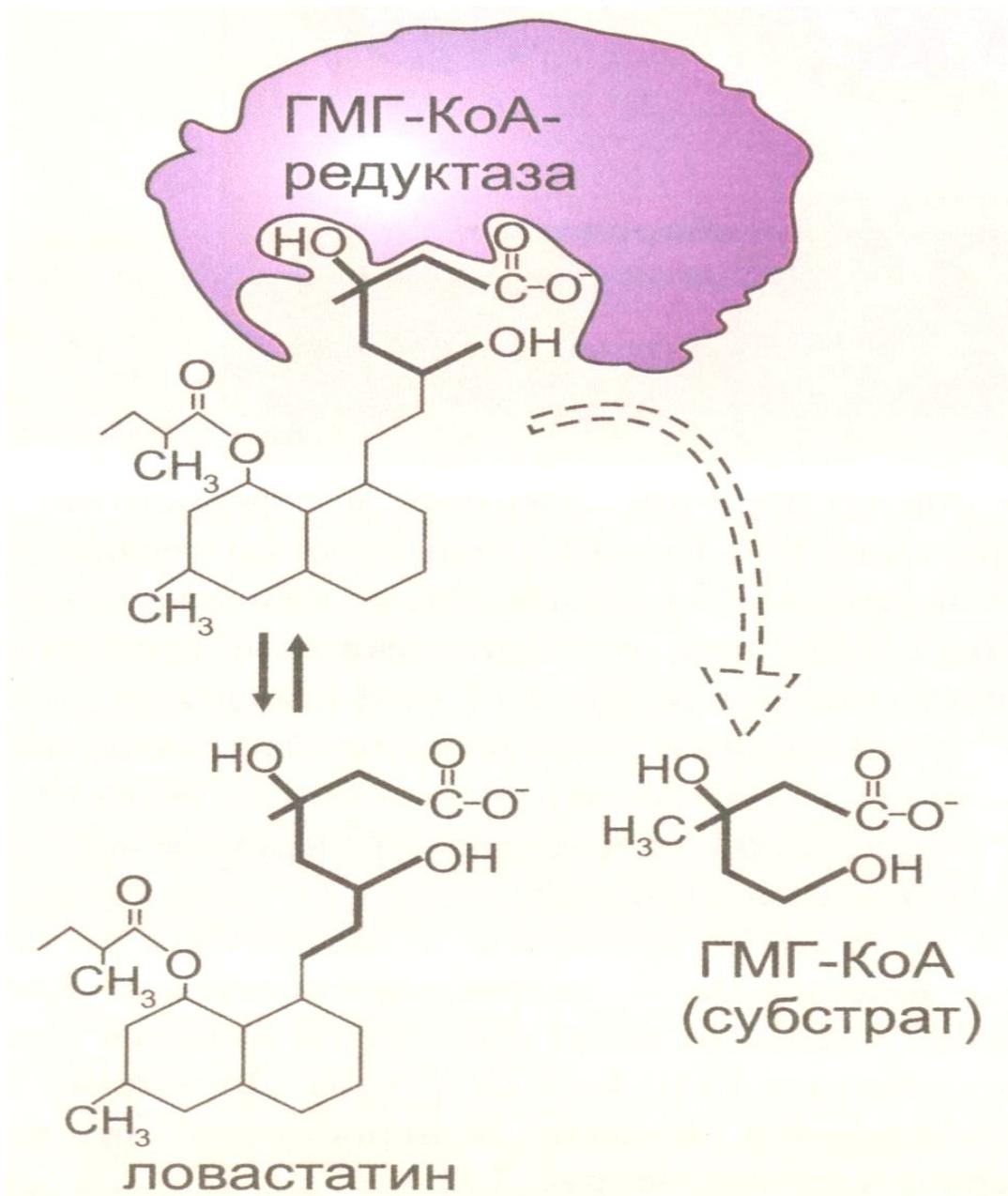
# Обратимые ингибиторы

1. **Конкурентные** – конкурируют с субстратом за связывание с активным центром фермента (ингибитор и субстрат имеют участки со с



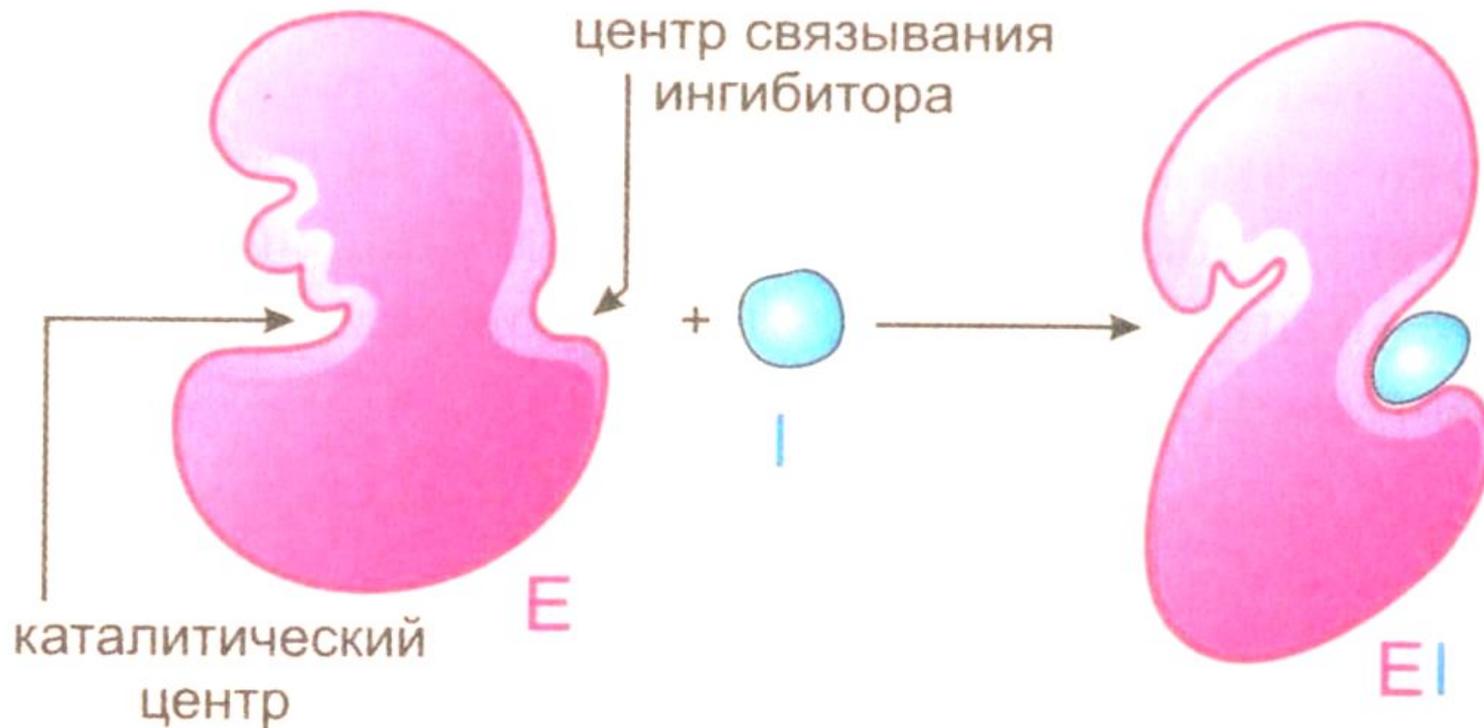
S – субстрат; I – ингибитор

Связывание S и I происходит  
взаимоисключающим образом. Образуется  
либо ES, либо EI, но не EIS



Конкурентное  
ингибирование  
ГМГ-КоА-  
редуктазы  
ловастатином

**2. Неконкурентные ингибиторы** – присоединяются к ферменту не в активном центре, а в другом участке молекулы. Связывание приводит к изменению конформации фермента и нарушению



# Активаторы ферментов

- Это вещества, увеличивающие скорость ферментативной реакции.
- Чаще всего в качестве активаторов выступают ионы металлов, такие как

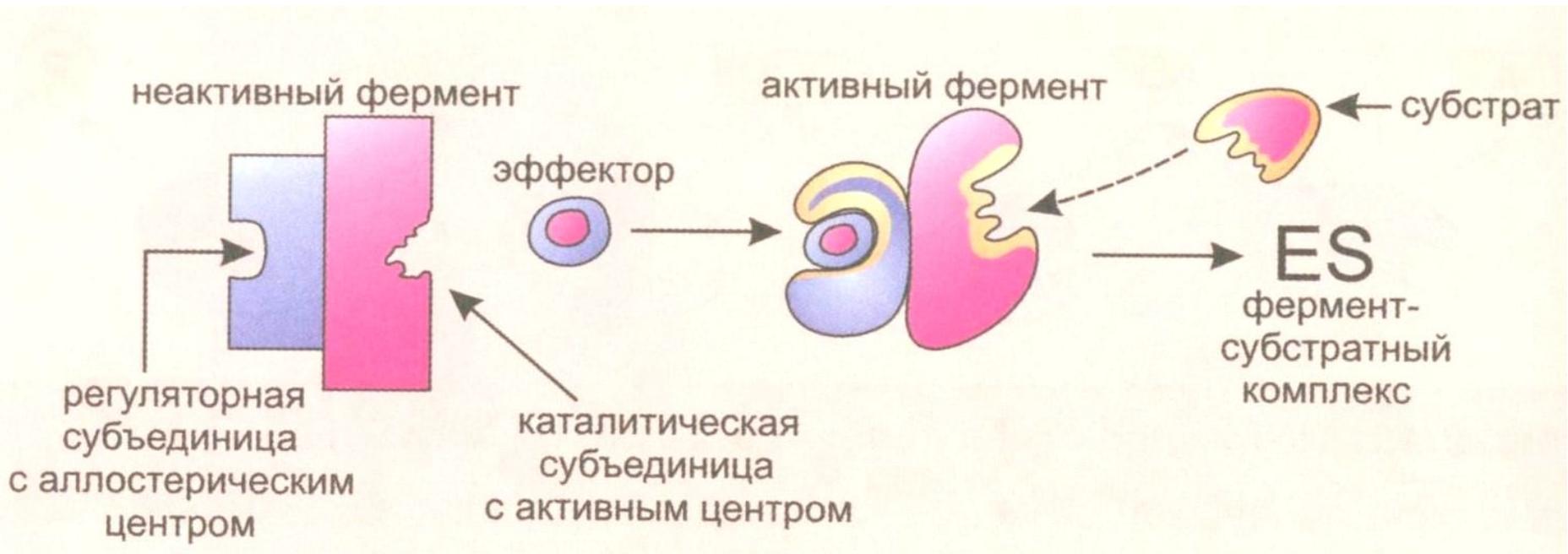
# Активаторы ферментов

- Это вещества, увеличивающие скорость ферментативной реакции.
- Чаще всего в качестве активаторов выступают ионы металлов, такие как Fe, Cu, Co, Mg и др.
- Металлы-активаторы участвуют в образовании стабильной переходной конформации фермента, что способствует более быстрому образованию фермент-субстратного комплекса.

Фермент	Металл
ДНК-полимераза Гексокиназа	Mg
Оксидоредуктаза Дегидрогеназа	Mn
Карбоангидраза Уриказа	Zn
Липаза $\alpha$ -амилаза	Ca
Тирозиназа	Cu
Аргиназа	Ni
Фосфатаза	Co

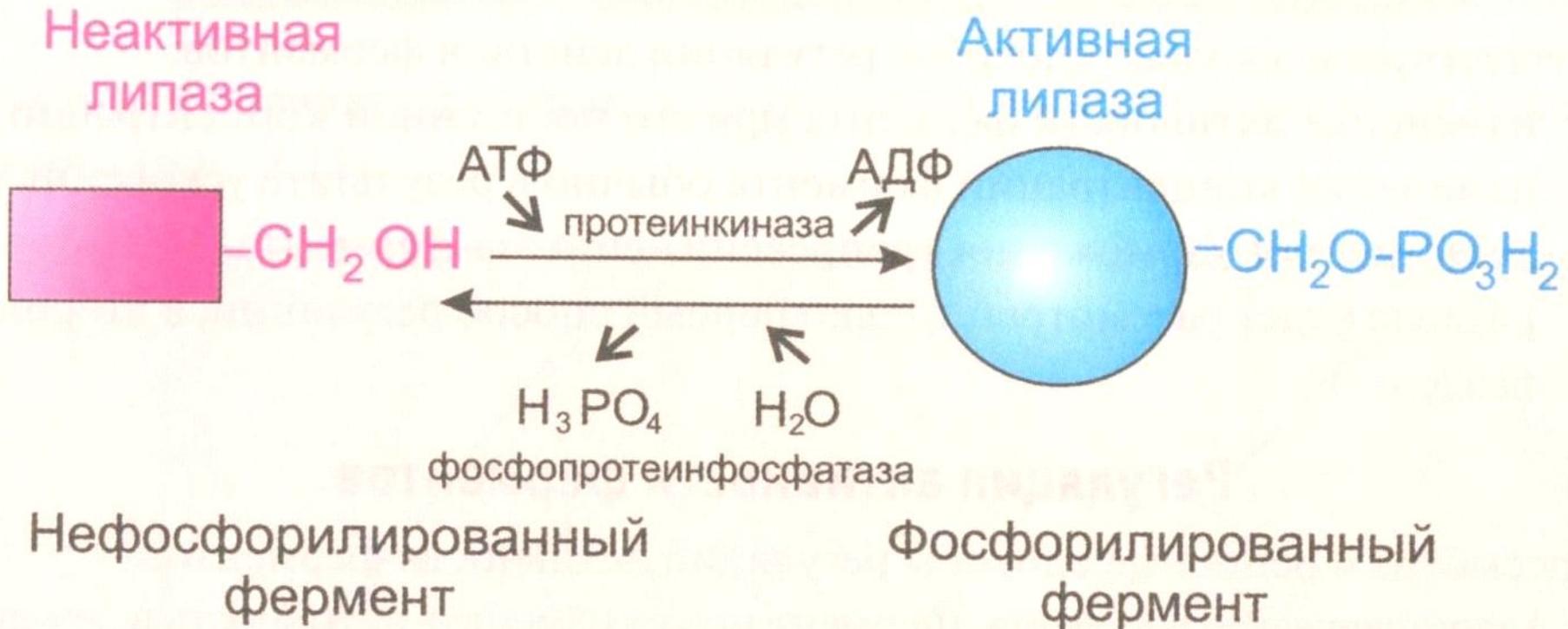
# Регуляция активности ферментов

- 1. Аллостерическая регуляция.** Фермент может изменять активность в результате нековалентного взаимодействия с эффекторами.

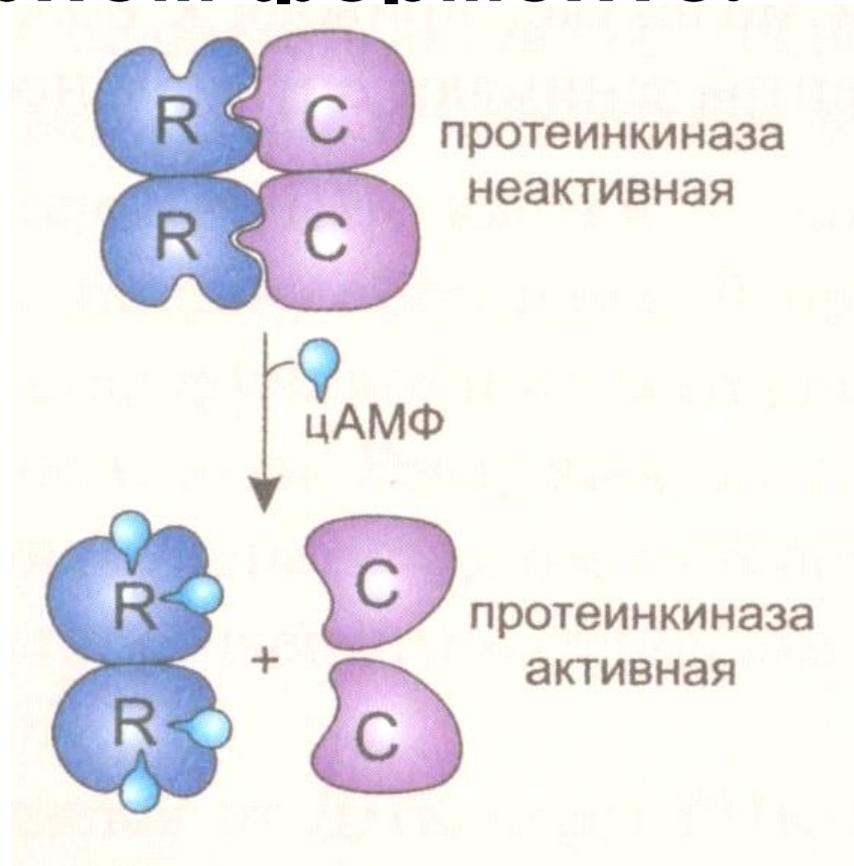


## 2. Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования-дефосфорилирования. Фермент изменяет активность в результате ковалентной модификации.

Например, регуляция активности липазы:



### 3. Регуляция путем ассоциации-диссоциации субъединиц в олигомерном ферменте.



## 4. Активация ферментов путем частичного протеолиза.

Некоторые ферменты синтезируются первоначально в неактивной форме (**профермент**).

Активация профермента включает гидролитическое расщепление молекулы с одновременным изменением конформации. При этом R-группы активного центра занимают оптимальное положение для катализа.