ОСНОВЫ БИОХИМИИ / ЛЕКЦИЯ 04

Ферменты: общие свойства, механизмы действия, классификация.



Лектор: к.х.н., ассоциированный профессор Литвиненко Ю.А.

Цель и задачи лекции

ЦЕЛЬ

Сформировать представление о ферментах как биологических катализаторах и объяснить связь их структуры с функцией.

01 **Определить**

понятие фермента и основные этапы развития энзимологии

02 **Классифицировать**

ферменты по типу катализируемых реакций

03 **Объяснить**

строение, активный центр и механизм катализа

04 **Проанализировать**

влияние pH, температуры и регуляторов активности

Ферменты — биологические катализаторы

Фермент (энзим)

Биологический катализатор, ускоряющий реакцию без расходования в её суммарном ходе.

Энзимология

Раздел биохимии, изучающий ферменты, механизмы и регуляцию их действия.



ОСНОВНОЙ ПРИНЦИП

Большинство ферментов — белки; существуют также каталитические РНК (рибозимы).

От «брожения» к науке о ферментах



XVII век

Я. Б. ван Гельмонт

Формирование понятия «фермент»

XIX век

Луи Пастер

Связь брожения с дрожжевыми клетками

1897

Эдуард Бухнер

Бесклеточное спиртовое брожение

1926

Дж. Самнер

Кристаллизация уреазы; подтверждение белковой природы

Ключевой вывод Катализ возможен вне интактной живой клетки.

Ключевой научный спор XIX века

Луи Пастер

Брожение связано с жизнедеятельностью микроорганизмов; ферментативная активность рассматривалась в контексте живой клетки.

Юстус фон Либих

Брожение имеет химическую природу; допускалось действие растворимых веществ, образующихся в клетке.

1897 год Э. Бухнер экспериментально показал брожение в бесклеточном экстракте дрожжей.

Какие открытия сформировали энзимологию?

1897 — **Э. Бухнер**

Бесклеточное брожение

1926 — **Дж. Самнер**

Кристаллическая уреаза

1946 — **Нобелевская премия**

Самнер, Нортроп и Стэнли

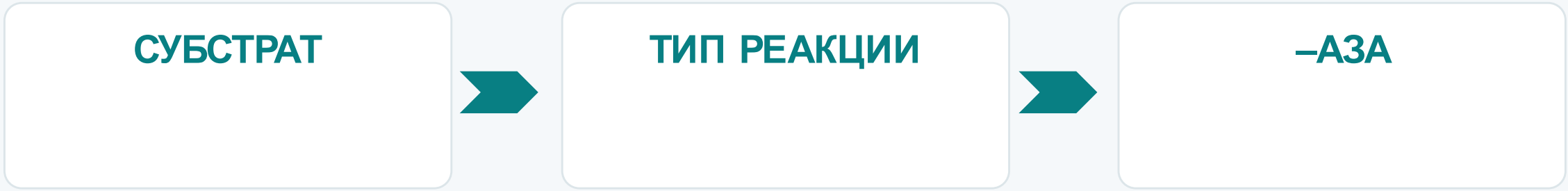
1961 — **Номенклатура**

Систематизация ферментов по реакциям

Для обсуждения Почему опыт Бухнера изменил представления о природе брожения?

От тривиального названия к систематическому

ПРИНЦИП НОМЕНКЛАТУРЫ



Пример: лактат + дегидрогенирование → лактатдегидрогеназа

Традиционные названия сохраняются: пепсин, трипсин.

Современная классификация: 7 классов EC

EC 1 — **Оксидоредуктазы**
Окисление / восстановление

EC 2 — **Трансферазы**
Перенос функциональных групп

EC 3 — **Гидролазы**
Расщепление с участием H_2O

EC 4 — **Лиазы**
Разрыв / образование связей без гидролиза

EC 5 — **Изомеразы**
Внутримолекулярная перестройка

EC 6 — **Лигазы**
Соединение молекул с расходом энергии

EC 7 — **Транслоказы**
Перенос веществ через мембраны

ВАЖНО Седьмой класс EC 7 добавлен в 2018 году.

Источник: NC-IUBMB · iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/

Как различать классы ферментов?

КЛАСС	ПРИМЕР	ФУНКЦИЯ
Оксидоредуктазы	Лактатдегидрогеназа	Перенос электронов / H
Трансферазы	Гексокиназа	Перенос фосфатной группы
Гидролазы	Амилаза	Гидролиз гликозидных связей
Лиазы	Декарбоксилаза	Отщепление CO_2
Изомеразы	Фосфоглюкоизомераза	Перестройка структуры
Лигазы	ДНК-лигаза	Соединение фрагментов ДНК
Транслоказы	Na^+/K^+-АТФаза	Перемещение ионов через мембрану

Запомнить Класс определяют по типу реакции, а не по происхождению фермента.

Откуда получают ферменты?

Животные ткани

Пищеварительные ферменты

Растительное сырьё

Папаин, бромелаин

Микроорганизмы

Промышленное культивирование

Биотехнология

Рекомбинантные ферменты

Практика Выбор источника определяется доступностью, активностью и чистотой ферментного препарата.

Строение: простые и сложные ферменты

Простые ферменты

Состоят только из белковых полипептидных цепей.

Сложные ферменты

Для активности дополнительно требуется небелковый компонент — кофактор.

АПОФЕРМЕНТ + КОФАКТОР → ХОЛОФЕРМЕНТ

Кофактор может быть ионом металла или органической молекулой (коферментом).

Кофакторы и коферменты

Неорганические кофакторы

Ионы Mg^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+}/Fe^{3+} и др. могут участвовать в катализе и стабилизации структуры фермента.

Органические коферменты

$НАД^{+}/НАДФ^{+}$, ФАД/ФМН, коэнзим А, тиаминпирофосфат — перенос электронов или химических групп.

Различие Простетическая группа связана прочно; косубстрат связывается и высвобождается.

Активный центр — зона взаимодействия



АКТИВНЫЙ ЦЕНТР

- Распознаёт и связывает субстрат.
- Формирует условия для химического превращения.
- Обеспечивает высокую специфичность катализа.

Участок связывания + каталитические группы

Аллостерический центр — управление активностью

Аллостерический участок

Регуляторная молекула связывается вне активного центра и изменяет конформацию фермента — а значит, его активность.

Активатор

Повышает активность фермента.

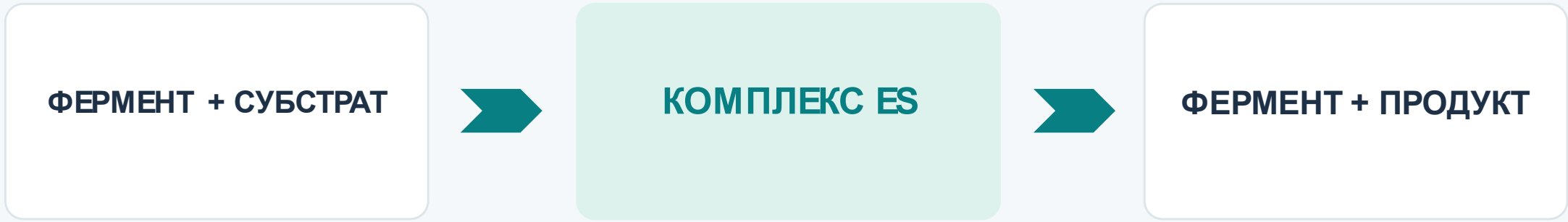
Ингибитор

Снижает активность фермента.

Главная идея Регуляция может происходить без прямого занятия активного центра.

Что такое субстрат?

Субстрат — молекула, которую фермент связывает и химически преобразует.



В ходе реакции фермент регенерируется и может вступать в следующий каталитический цикл.

Модели распознавания субстрата

Модель «ключ — замок»

Активный центр и субстрат рассматриваются как заранее комплементарные структуры.

Модель индуцированного соответствия

Связывание субстрата способно изменять конформацию фермента и повышать эффективность катализа.

Вопрос группе Почему реальный фермент — не абсолютно жёсткая структура?

Фермент-субстратный комплекс

1

Связывание

$E + S$

2

Катализ

$ES \rightarrow EP$

3

Освобождение

$E + P$

Результат Субстрат превращается в продукт, а фермент возвращается в исходный цикл.

Три стадии ферментативного катализа

01 **Образование ES**

Субстрат связывается с активным центром.

02 **Химическое превращение**

Снижается энергетический барьер; возникают продукты.

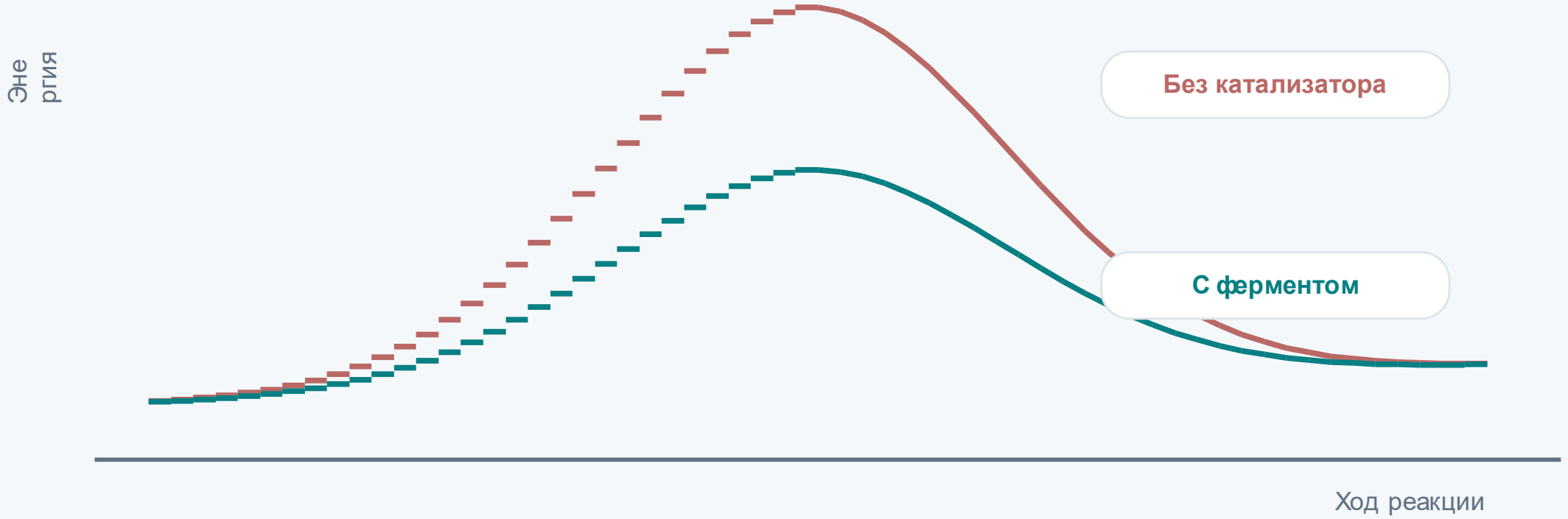
03 **Диссоциация EP**

Продукты покидают активный центр.

Важно Фермент ускоряет достижение равновесия, но не смещает положение равновесия.

Почему ферменты ускоряют реакции?

Ферменты снижают энергию активации (E_a), стабилизируя переходное состояние.



Главные свойства ферментов

01 **Специфичность**

Распознавание определённых субстратов

02 **Зависимость от pH**

Заряд групп и конфигурация центра

03 **Зависимость от температуры**

Ускорение и последующая инактивация

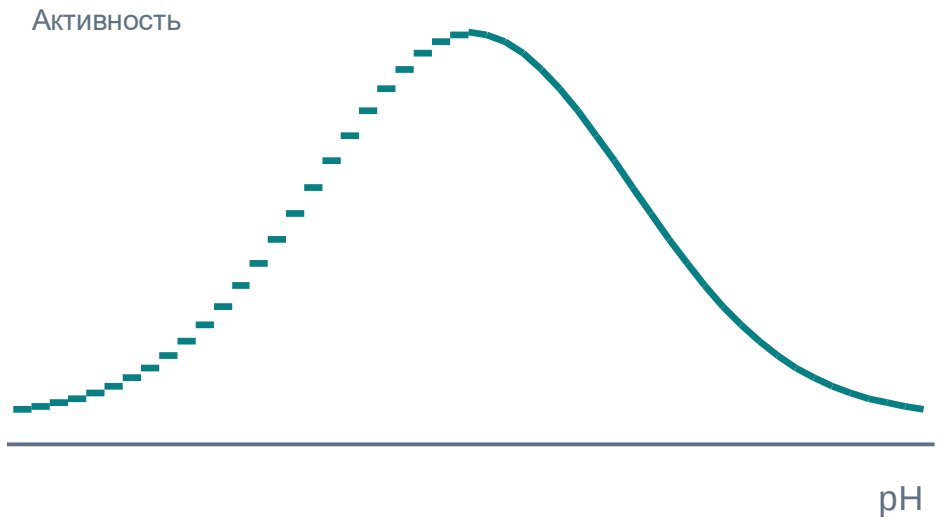
04 **Регулируемость**

Активаторы, ингибиторы, эффекторы

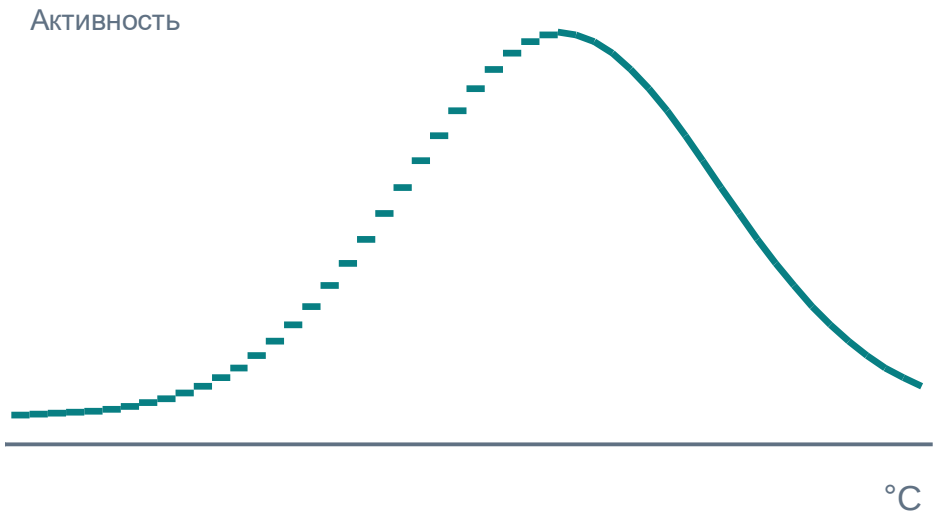
Вывод Активность фермента определяется одновременно структурой и условиями среды.

Как pH и температура влияют на активность?

Зависимость от pH



Зависимость от температуры



Оптимум зависит от конкретного фермента и биологического контекста.

Специфичность: почему фермент избирателен?



Структура активного центра определяет:

- Какая молекула может связаться
- Какой тип превращения возможен
- Какой стереоизомер реагирует

Пример Уреаза катализирует гидролиз мочевины.

Три вида субстратной специфичности

Абсолютная	Один определённый субстрат	Уреаза → мочевина
Групповая	Группа структурно близких веществ	Алкогольдегидрогеназа → спирты
Стереоспецифичность	Определённая пространственная форма	Фумараза → фумарат

Проверь себя Какой вид специфичности демонстрирует уреаза?

Регуляция: активаторы и ингибиторы

Активаторы

Увеличивают скорость ферментативной реакции при данных условиях; например, необходимый ион металла или аллостерический эффектор.

Ингибиторы

Снижают активность, связываясь с активным центром или с другим участком фермента.

Нюанс Один и тот же ион может активировать одни ферменты и подавлять другие.

Два механизма ингибирования

Конкурентное

Ингибитор конкурирует с субстратом за активный центр; эффект может ослабляться при увеличении [S].

Неконкурентное (чистый случай)

Ингибитор связывается с ферментом вне активного центра, снижая каталитическую активность.

Обсуждение Чем отличается конкуренция за активный центр от аллостерической регуляции?

Распределение и роль ферментов в организме

Клеточная локализация

Цитозоль, митохондрии, мембраны, ЭПР

Тканевая специфика

Разный набор ферментов в разных тканях

Изоферменты

Разные молекулярные формы сходной реакции

Проферменты

Неактивные предшественники активных ферментов

Клинический смысл Изменения ферментной активности в крови могут помогать диагностике.

Где используются ферменты — и что важно запомнить?

Медицина

Диагностика, заместительная терапия

Пищевая промышленность

Сыры, выпечка, напитки

Биотехнология

Биокатализ и производство веществ

Бытовые технологии

Моющие средства, обработка материалов

ТРИ ГЛАВНЫХ ТЕЗИСА

Структура → специфичность | Катализ → снижение E_a | Условия → активность

Вопрос для закрепления: почему нагревание может сначала ускорить реакцию, а затем остановить её?