

Тема №2: Ферменты. Регуляция активности ферментов.

Цель: Дать представление о строении и функции ферментов.

- **Основные вопросы лекции:**
- 1.Строение и свойства ферментов. Различия ферментного состава органов и тканей. Изоферменты. Органоспецифические ферменты. Мультиферментные комплексы
- 2.Кофакторы ферментов: ионы металлов и коферменты. Коферментные функции витаминов.
- 3.Классификация ферментов и их номенклатура.
- 4.Механизм действия и особенности ферментативного катализа. Лекарственные препараты - ингибиторы и активаторы ферментов.
- 5.Единицы измерения активности и количества ферментов. Регуляция активности ферментов.
- 6.Изменения активности ферментов в онтогенезе и при патологии. Наследственные энзимопатии. Ферменты в медицине.

Строение и свойства ферментов.

- По своей химической природе **ферменты (энзимы)** являются простыми или сложными белками.
- В 1897 году Бертран обнаружил в составе ферментов различные кофакторы - органические вещества не белковой природы, необходимые ферментам для проявления их каталитических свойств и которые в последствии были названы коферментами (коэнзимами).
- Как впоследствии выяснилось, в роли кофакторов ферментов могут выступать ионы металлов и особой структуры органические вещества, называемые **коферменты (коэнзимы)**.
- В зависимости от наличия в структуре фермента какого-либо кофактора, ферменты бывают одно и двухкомпонентные.
- Двухкомпонентные ферменты (**холоферменты**), как разновидность сложных белков, состоят из белковой части (**апофермента**) и простетической группы (**кофермента**).

Особенности структурной организации ферментов.

- Ферментам присущи все особенности структурной организации белков. Они имеют четыре уровня организации молекулы: **первичный, вторичный, третичный и четвертичный**
- На уровне **третичной структуры**, т.е. субъединицы, у фермента формируется **каталитически активный центр, способный узнавать, связывать и обеспечивать катализ какого-либо конкретного субстрата.**
- Активный центр фермента формируется 12-16 и более остатками аминокислот, находящимися в разных местах полипептидной цепи, но пространственно уложенных так, что обеспечивают функциональное единство домена (активного центра).
- У двухкомпонентных ферментов в формировании активного центра принимают участие кофакторы - коферменты.

- Кроме активного центра у ферментов (E) имеется **регуляторный центр**, через который обеспечивается регуляция активного центра посредством активаторов и ингибиторов.
- Разновидностью регуляторного центра является имеющийся у ряда ферментов **аллостерический центр**.
- **Аллостерическим** (от греч. allos - иной, чужой) он потому, что молекулы, связывающиеся с этим центром по строению (стерически) не похожи на субстрат (S), но оказывают влияние на связывание и катализ субстрата, изменяя конфигурацию активного центра.
- Вещества, оказывающие влияние на аллостерический центр называются аллостерическими эффекторами. Соответственно эти эффекторы могут проявлять себя как активаторы или ингибиторы.
- Число активных, регуляторных и аллостерических центров у олигомерных ферментов (у ферментов имеющих четыре уровня структурной организации молекулы) может быть равно сумме субъединиц.

Четвертичная структура фермента

- Большинство ферментов, имея четыре уровня структурной организации, **состоят из нескольких субъединиц (протомеров)**.
- Вследствие этого ферментам присуща множественность форм субъединичной их молекулярной организации.
- Один и тот же фермент может быть построен из разного набора субъединиц, формирующих **ИЗОЭНЗИМНЫЙ (изоферментный)** ряд.
- **Изоферменты** - это генетически детерминированная физико-химическая разновидность молекулярных форм фермента, катализирующих одну и ту же реакцию.
- Например, лактатдегидрогеназа имеет пять изоформ (**ЛДГ₁₋₅**)
- Наиболее изучены изоферменты лактатдегидрогеназы (ЛДГ). К ним относятся ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3, ЛДГ4, ЛДГ5 имеющих разную локализацию по тканям и органам, **т.е. изоферменты органоспецифичны**.

- Каждый орган имеет характерный для него набор ферментов, которые при развитии в этом органе патологического процесса выходят в кровь.
- Например в сердце наибольшей активностью обладают изоферменты ЛДГ1 и ЛДГ2. В печени, скелетной мускулатуре преобладают ЛДГ5 и ЛДГ4.
- С целью диагностики в сыворотке крови определяют активность нескольких органоспецифических ферментов (так называемый ферментный спектр), характерных для данного органа, ткани.
- Так, при инфаркте миокарда определяют активность ЛДГ1, аспартатаминотрансферазы, креатинфосфокиназы, бета-гидрокси-бутиратдегидрогеназы.
- При поражении печени (болезни Боткина) определяют активность ЛДГ4, ЛДГ5, аланинаминотрансферазы (АЛТ), сорбитдегидрогеназы.
- По увеличению активности в сыворотке крови клеточных, органоспецифических ферментов можно судить о локализации патологического процесса.

1) 3 изофермента для креатинкиназы:



BB (КК₁)
(Головной мозг)



BM (КК₂)
(Сердце)



MM (КК₃)
(Скелетные мышцы)

2) Лактатдегидрогеназа - тетрамер, состоящий из 2-х типов субъединиц (Н и М)



Н и М

5 изоферментов:

НННН

ЛДГ₁

МННН

ЛДГ₂

ММНН

ЛДГ₃

МММН

ЛДГ₄

ММММ

ЛДГ₅

} Сердечная мышца

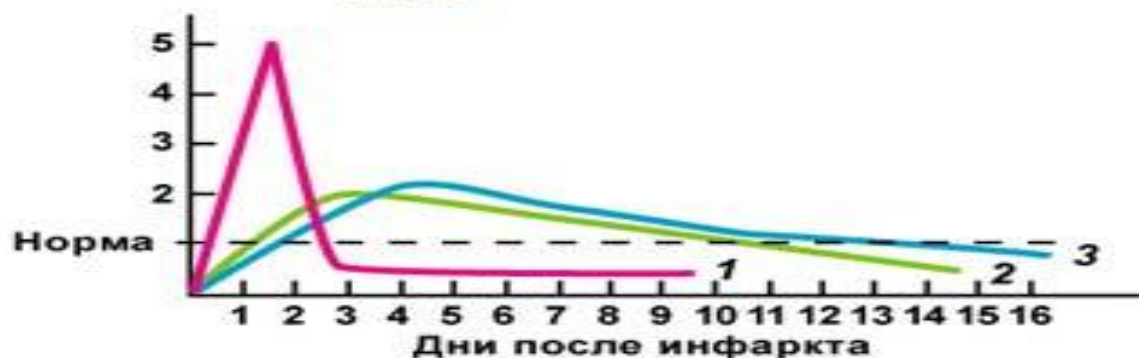
} Скелетные мышцы

Пример:

ЛДГ₃:



ММНН



Изменение активности ферментов в крови после инфаркта. По оси ординат - кратность увеличения активности. 1 - КК; 2 - ЛДГ; 3 - β-гидроксибутиратдегидрогеназа.

Кофакторы ферментов

Кофакторы у ферментов бывают двух типов:

- ионы металлов

- коферменты

Металлы, как кофакторы ферментов

необходимы для проявления каталитических функций следующих ферментов:

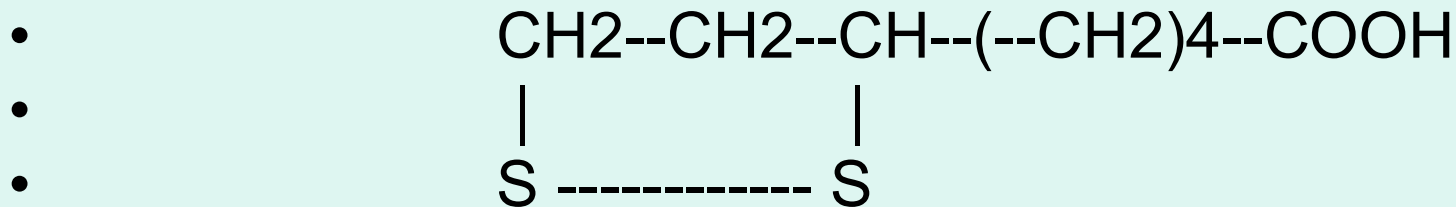
Fe ⁺⁺ и Fe ⁺⁺⁺	-	Цитохромоксидаза	Каталаза	Пероксидаза
Cu ⁺⁺	-	Цитохромоксидаза	Тирозиназа	
Zn ⁺⁺	-	Карбангидраза	ДНК-полимераза, алкоголь-дегидрогеназа, Альдолаза	
Mg ⁺⁺	-	Гексокиназа	АТФ-аза	Пируваткиназа
		Фосфатаза		
Mn ⁺⁺	-	Аргиназа		
K ⁺	-	Пируваткиназа	АТФ-аза	
Ni ⁺⁺	-	Уреаза		
Mo	-	Нитратредуктаза		
Se	-	Глутатионпероксидаза		

Типы коферментов

- В отличие от ионов металлов, коферменты являются сложными органическими соединениями и по своей химической природе могут быть следующих типов:
 - - коферменты алифатического ряда
 - - коферменты ароматического ряда
 - - коферменты гетероциклического ряда
 - - коферменты нуклеотиды
 - - металлокоферменты

Коферменты алифатического ряда

- К этой группе коферментов относятся **глутатион и липоевая кислота**.
- **Глутатион** - это кофермент таких ферментов как глиоксилаза, дегидрогеназа фосфоглицериновой кислоты и др. оксидаз. По химической природе глутатион трипептид: **гамма-глутаминил-цистеинил-глицин**.
- **Липоевая кислота** - это кофермент полиферментного комплекса окислительных декарбоксилаз альфа-кетокислот (пирувата и альфа-кетоглутарата). **Липоевую кислоту иногда обозначают как витамин Н:**



КОЭНЗИМ Q10 (УБИХИНОН) от лат. ubiquitous - повсеместный).

- Коэнзим Q10 (убихинон) по строению и окислительно-восстановительным свойствам близок к нафтохинонам (витамин К) и к токоферолам (витамин Е).
- это жирорастворимое соединение класса бензохинонов участвует энергетическом метаболизме клеток.
- Коэнзим Q10 – витаминоподобное соединение, которое вырабатывается в печени любого организма, включая человека (в молодости до 300 мг/сут.).
- Он также поступает в организм человека с продуктами животного происхождения.
- С возрастом - обычно где-то с 30 лет - содержание коэнзим Q10 в организме Он может стать настоящим «эликсиром молодости».
- Снижение процесса синтеза коэнзима Q10 усугубляется нервными и экологическими перегрузками, что заметно сказывается на работе сердца, почек, нервной, эндокринной и иммунной систем, зрения и пр.

Биологические эффекты убихинона (коэнзима Q10)

- Коэнзим Q10 участвует в трансмембранном переносе электронов от водорода окисляемого субстрата к кислороду и тем самым стимулирует синтез АТФ в митохондриях.
- Сердце, печень, почки, селезенка, поджелудочная железа потребляют большое количество энергии АТФ, поэтому в них должен поддерживаться высокий уровень кофермента Q10. Неслучайно содержание коэнзим Q10 в миокарде значительно выше, чем во всех других органах
- Коэнзим Q10 является естественным защитником митохондрии от окислительного стресса и выполняет роль антиоксиданта не только в митохондриях разных тканей, но и в биологических мембранах всех клеток организма.
- В механизме повреждений, возникающих при ишемической болезни сердца, ведущую роль играют все те же свободные радикалы. При этом выживание клеток и восстановление их функции решающим образом зависит от активности антиоксидантной системы..
- Коэнзим Q10 восстанавливает витамин Е, причем, вследствие своей липофильности, он делает это лучше, чем известный восстановитель токоферола аскорбиновая кислота.
- Сам коэнзим Q10 в напарниках не нуждается, так как в клетке есть ферментные системы, которые обеспечивают его восстановление.

- Коэнзим Q10 усиливает фагоцитарную активность макрофагов, повышает число гранулоцитов в костном мозге и плазме крови, увеличивает количество иммуноглобулинов, поддерживает функцию вилочковой железы, стимулирует процесс кроветворения.
- Коэнзим Q10, препятствует развитию ишемической болезни сердца, коронарного артериотромбоза, инфаркта миокарда, стимулирует процесс энергетического сжигания жиров, обогащает жировую ткань кислородом, что обеспечивает эффективное снижение веса у тучных людей.
- Коэнзим Q10 является природным мощным иммуномодулятором, эффективно и быстро восстанавливает недостаточность функций иммунной системы, активизирует антимикробную и противовирусную защиту организма
- Способность Коэнзима Q10 усиливать иммунитет проявляется при использовании его для лечения парадонтоза и опухолевой болезни, в способности ускорять заживлять поврежденные ткани и тормозить рост злокачественных клеток.

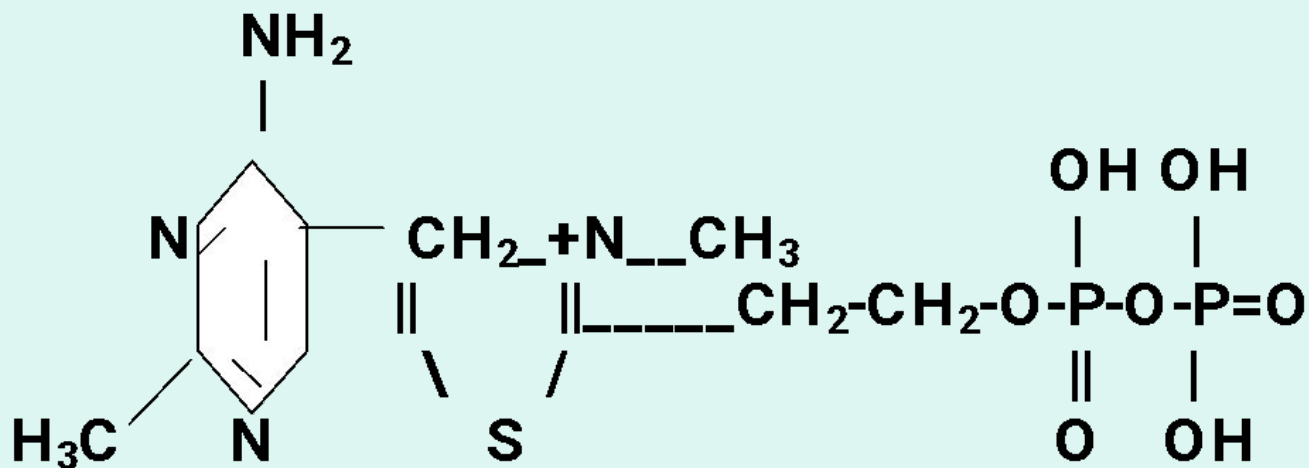
- Коэнзим Q10 полезен для лечения последствий радиоактивного поражения.
- Коэнзим Q10 уменьшает токсичность лекарств и поэтому его применение полезно в курсе лучевой и химиотерапии опухолевых заболеваний, при синдроме хронической усталости, при вторичных иммунодефицитных состояниях, при оксидантном стрессе и избыточном весе.
- **Коэнзим Q10 обладает свойствами эффективного геропротектора (защитника от старения). Он способен не только продлить жизнь, но и насытить ее энергией, здоровьем, молодостью, наполнить человека любого возраста ощущением остроты и радости жизни**

Коферменты гетероциклического ряда

- К коферментам гетероциклического ряда относятся производные водорастворимых витаминов:
- витамина В1 - тиаминпирофосфат (ТПФ),
- витамина В6 - фосфопиридоксаль (ФП-СН=О)
- витамин Н - N-карбоксибиотин
- витамина В9 - тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)

Тиаминпирофосфат

Тиаминпирофосфат (ТПФ)

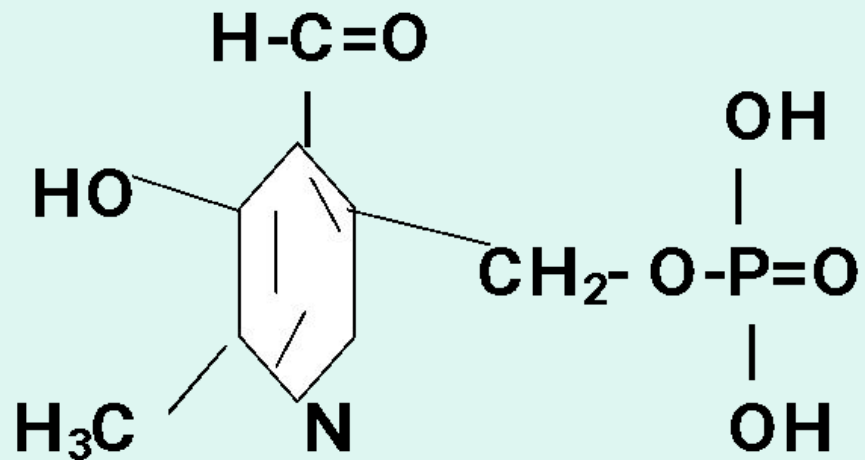


Тиаминпирофосфат

- Тиаминпирофосфат (ТПФ) является коферментом окислительных декарбоксилаз альфа-кетокислот (пирувата, альфа-кетоглутарата) и транскетолаз.
- ТПФ непосредственно или косвенно участвует в синаптической передаче нервных импульсов,
- ТПФ участвует в синтезе ДНК

Фосфопиридоксаль

Фосфопиридоксаль (ФП-СН=Н)

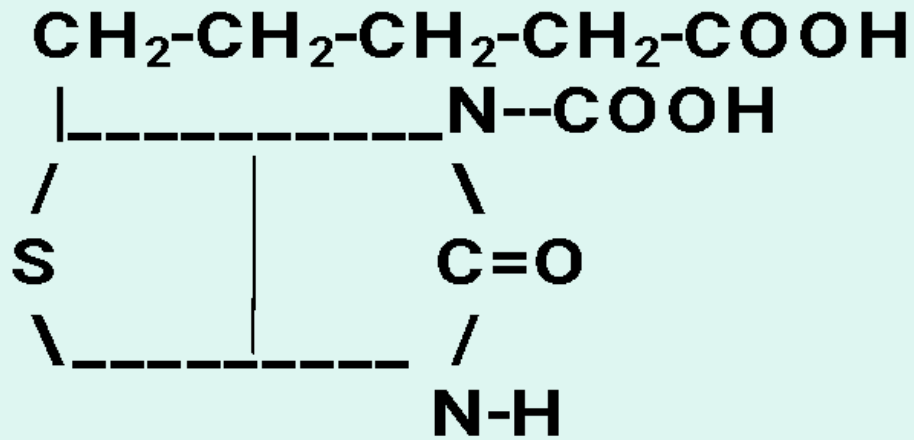


Фосфопиридоксаль

- Фосфопиридоксаль (ФП-СН=О) является коферментом трансаминаз, декарбоксилаз и изомераз аминокислот.
- Входит в состав моноаминоксидаз и диаминоксидаз биогенных аминов.
- Является коферментом синтетазы дельта-аминолевулиновой кислоты и 3-кетодигидросфингозина

Карбоксибиотин

N-Карбоксибиотин

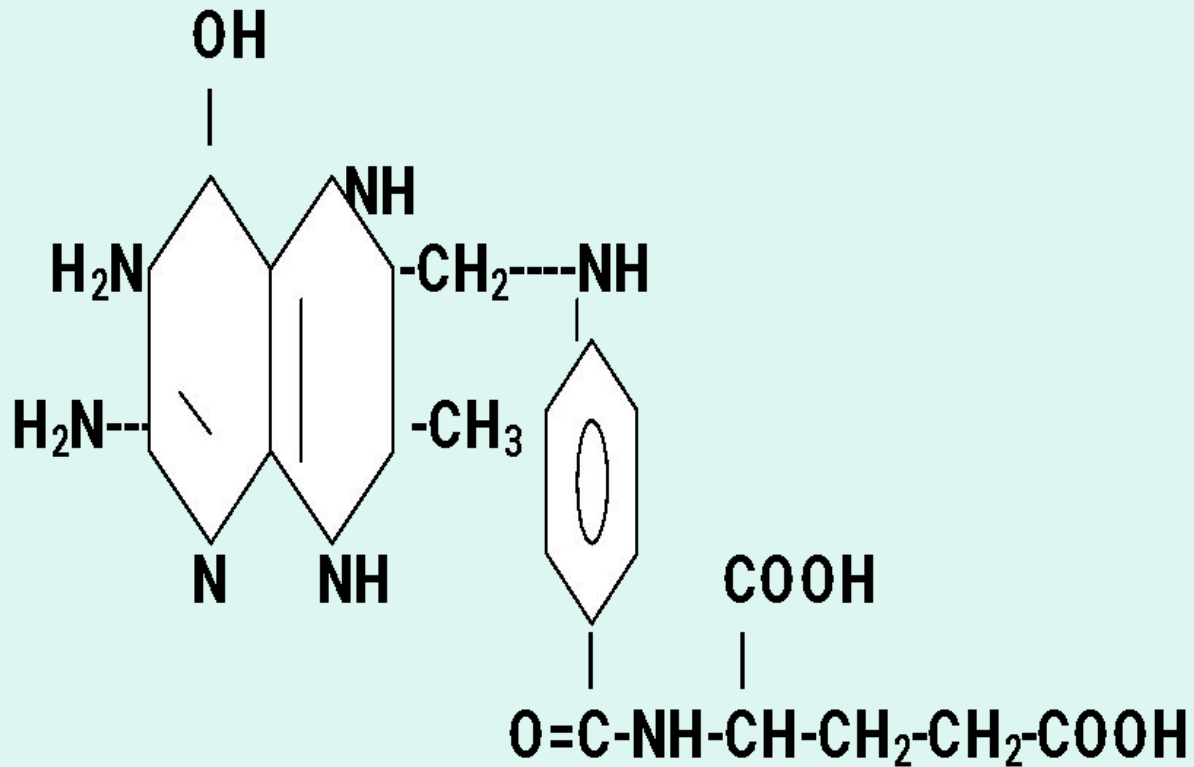


Карбоксибиотин

- Коферментной формой биотина (витамина Н) является N-карбоксибиотин, который входит в состав ферментов обеспечивающих реакции карбоксилирования:
 - пируваткарбоксилазы,
 - ацетил-КоА-карбоксилазы,
 - пропионил-КоА-карбоксилазы.

тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)

тетрагидрофолиевая кислота



тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)

- *5,6,7,8- тетрагидрофолиевая кислота* (ТГФК) является коферментом ферментов обеспечивающих перенос одноуглеродистых радикалов необходимых для синтеза пуриновых, пиримидиновых оснований,
- в синтезе глицина из серина и метионина из гомоцистеина,
- в образовании d-ТМФ из d-УМФ.

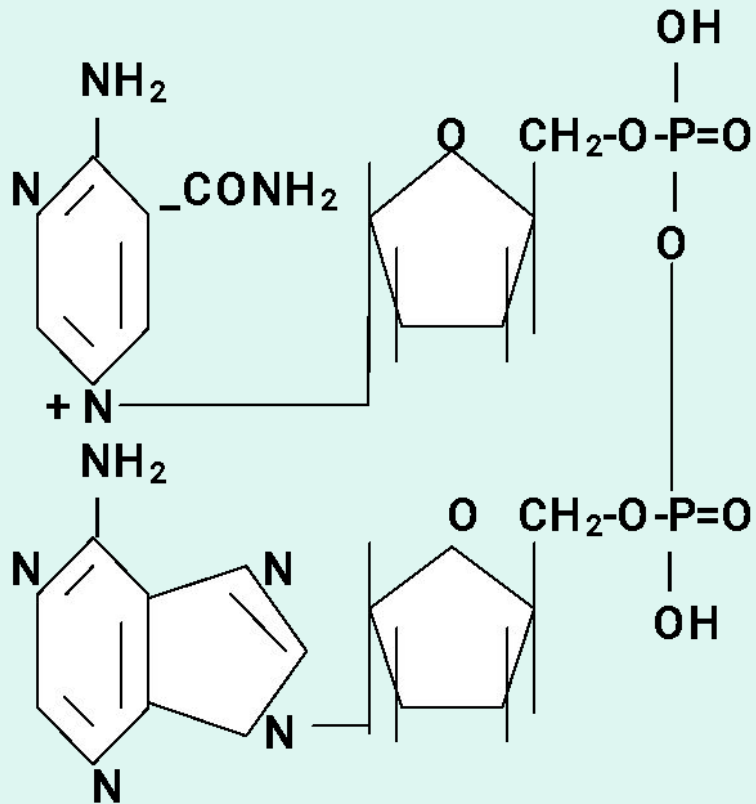
Коферменты нуклеотиды

- Коферменты нуклеотиды можно рассматривать как производные водорастворимых витаминов:
- **витамина РР (В5)** - никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамид адениндинуклеотид фосфат (НАДФ).
- **витамина В2** - флавинадениндинуклетид (ФАД) и флавинмононуклеотид (ФМН).
- **витамина В3** - коэнзим А.
- **витамина В12** - метилкобламин (метил-В12) и дезоксиаденозин кобламин (ДА-В12).

Коферментные функции выполняют пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды такие как **УДФ, ЦДФ, ТТФ, АТФ** и другие аналоги.

НАД

Í èêî ò èí àì èä-ääáí èí -äèí óêëâî ò èä (Í ÄÄ).

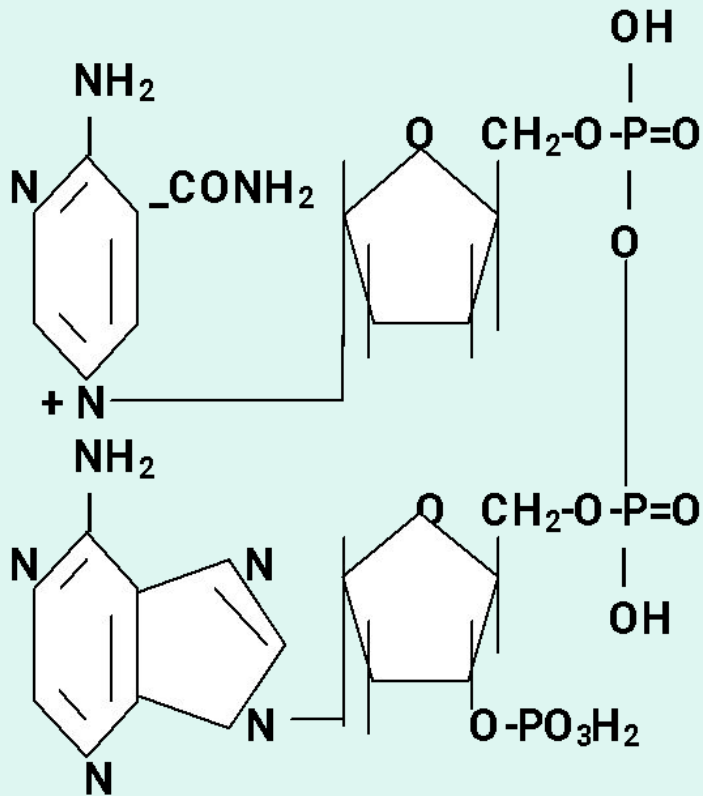


Никотинамид адениндинуклеотид (НАД) и никотинамид адениндинуклеотид фосфат (НАДФ)

- являются производными витамина РР (В5, никотинамид) и служат в качестве кофермента анаэробных дегидрогеназ:
- изоцитрат дегидрогеназа,
- лактатдегидрогеназа,
- малатдегидрогеназа,
- оксиацил КоА-дегидрогеназы и др.
- эти ферменты обеспечивают перенос атомов водорода от окисляемого субстрата к любому акцептору кроме кислорода:

НАДФ

Í èëî ò èí àì èä-ääáí èí -äèí óêëâî ò èä ô î ñô àò (Í ÄÄÔ).

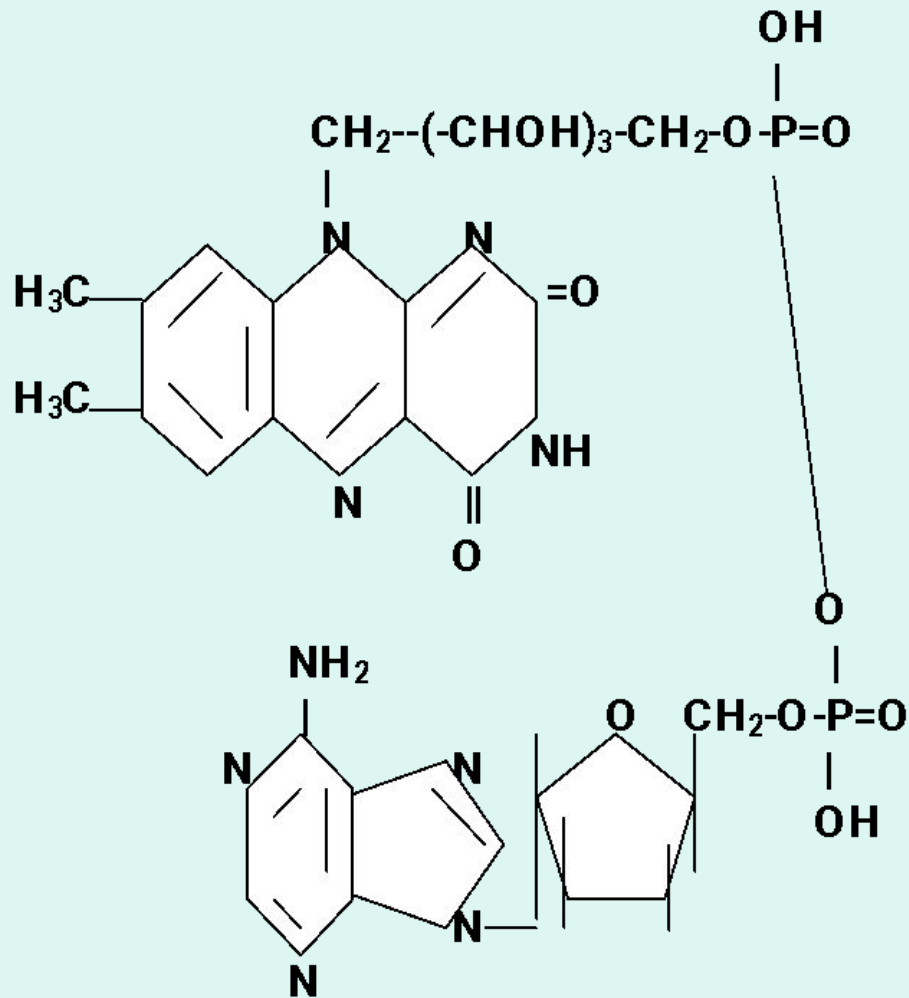


*ФЛАВИН-АДЕНИН-ДИНУКЛЕОТИД (ФАД)
ФЛАВИН-МОНОНУКЛЕОТИД (ФМН)*

- Коферменты ФАД и ФМН являются производными витамина В2 (рибофлавин), являются коферментами аэробных дегидрогеназ:
- (сукцинатдегидрогеназа, ацил-КоА-дегидрогеназы и др.).
- Витамин В2 (рибофлавин) и его производные ФАД и ФМН в окисленном состоянии имеют желтую окраску, которая при восстановлении исчезает.

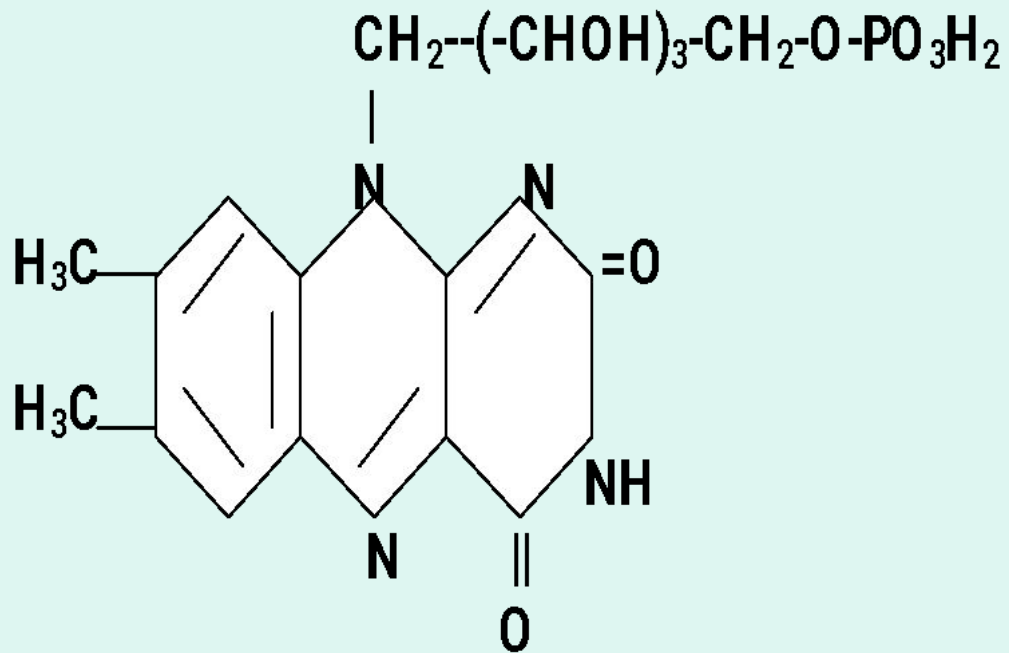
ФАД

ФЛАВИН-АДЕНИН-ДИНУКЛЕОТИД (ФАД)



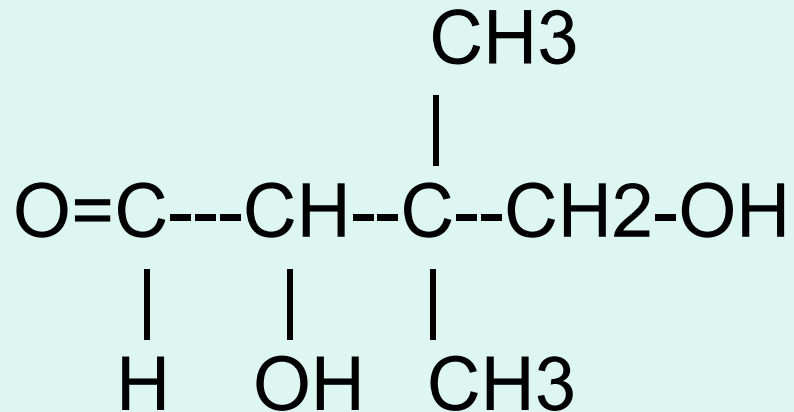
ФМН

ФЛАВИН-МОНОНУКЛЕОТИД (ФМН)



Коэнзим А

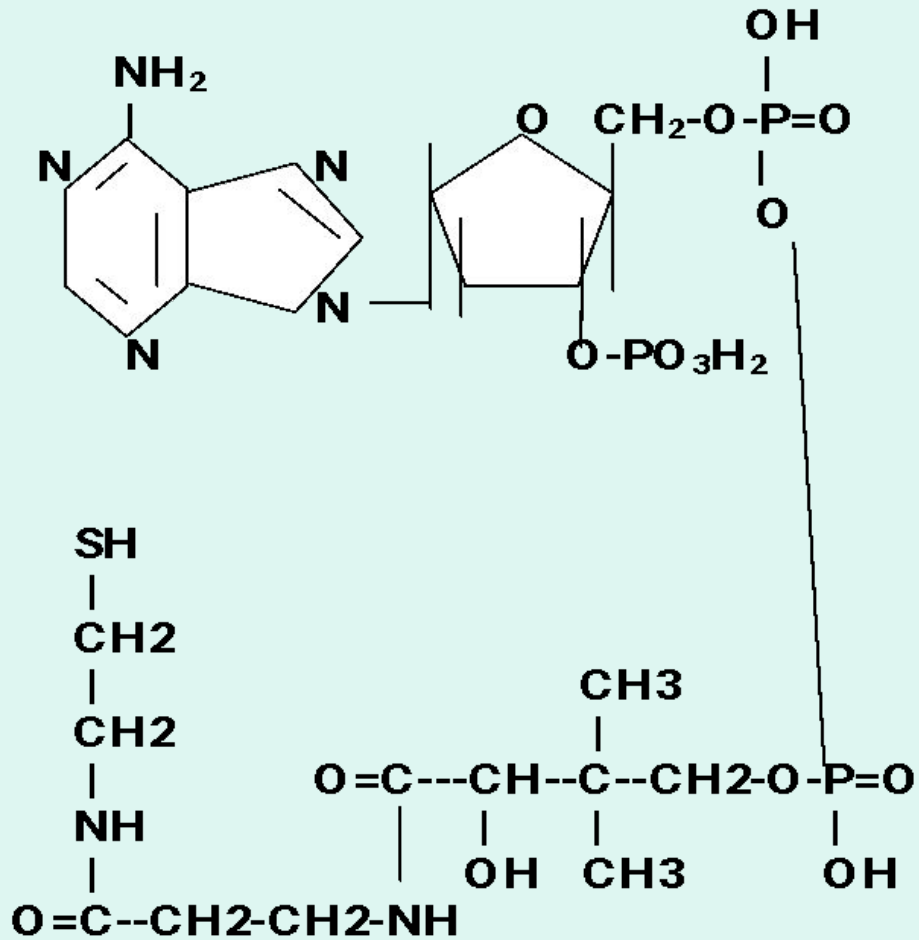
- Коэнзим А является производным витамина В3 – пантотеновой кислоты



- Коэнзим А выполняет коферментную функцию у ацилтрансфераз, катализирующих реакции ацилирования.

КОЭНЗИМ А

Êî ýí çèì À.



Не содержащие витамины нуклеотидные коферменты.

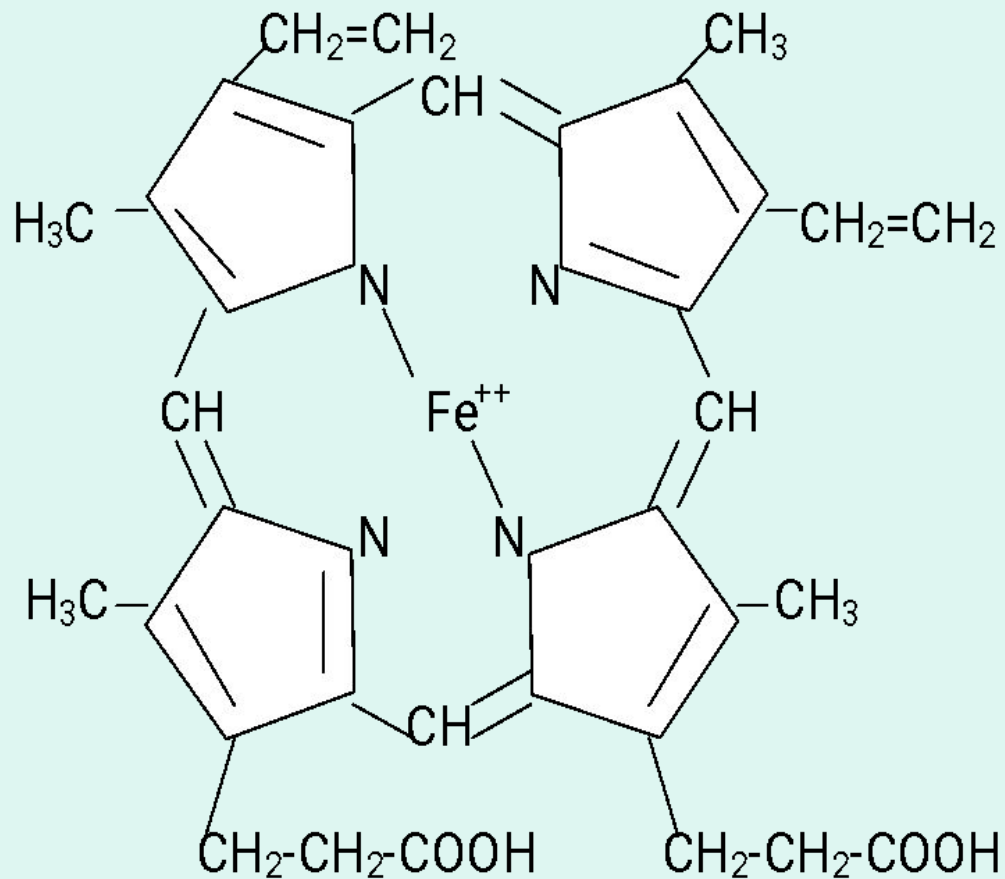
- Коферменты этого типа можно поделить на пять групп в зависимости от типа нуклеозида –аденозиновые, гуанозиновые, уридилловые, цитидиловые и тимидиловые:
- аденозиндифосфат (АДФ),
- гуанозиндифосфат (ГДФ),
- цитидиндифосфат (ЦДФ),
- уридиндифосфат (УДФ).

Эти коферменты обеспечивают каталитическую активность трансфераз, изомераз и синтетаз.

Металлокоферменты

- К этой группе коферментов относятся железопорфириновые и колбамидные коферменты.
- **Железопорфириновые гемсодержащие коферменты.**
- Коферменты цитохромов, цитохромоксидазы, каталазы, пероксидазы и некоторых других оксидоредуктаз относятся к железопорфириновым коферментам, в молекуле которых возможен переход ферриформы (Fe^{+++}) в ферроформу (Fe^{++}).
- **Кобламидные коферменты** являются производными витамина В12 в структуре которого находится кобальт.
- Эти коферменты входят в состав ферментов обеспечивающих перенос метильных групп (метил трансфераз) и других одноуглеродистых радикалов

Гем



ГЕМ (1,3,5,8-тетраметил 2,4-дивинил 6,7-дипропионқышқылды темірпорфирин

Классификация ферментов

- Согласно международной классификации ферменты делятся на шесть классов по типу катализируемой реакции:
 - **1. Оксидоредуктазы**
 - **2. Трансферазы**
 - **3. Гидролазы**
 - **4. Лиазы**
 - **5. Изомеразы**
 - **6. Лигазы**

1 класс - Оксидоредуктазы.

- Ферменты этого класса катализируют окислительно-восстановительные реакции, лежащие в основе процессов биологического окисления, осуществляемое реакциями переноса атомов водорода, электронов или кислорода.
- В этом классе 17 подклассов:
 - 1.1. действуют на $=\text{CH-OH}$ группу
 - 1.2. действуют на $=\text{C=O}$ группу
 - 1.3. действуют на $-\text{CH=CH}-$ группу
 - 1.4. действуют на $=\text{CH-NH}_2$ группу
 - 1.5. действуют на $=\text{CH=NH}$ группу
 - 1.6. действуют на НАДН, НАДФН
 - 1.7. действуют на другие азотистые соединения в качестве доноров
 - 1.8. действуют на серосодержащие группы
 - 1.9. действуют на гем
 - 1.10. действуют на дифенолы
 - 1.11. действуют на перекись водорода
 - 1.12. действуют на водород
 - 1.13. действуют на одиночный донор с включением в него молекулярного кислорода (оксигеназы)
 - 1.14. действуют на пару доноров, катализируя включение молекулярного кислорода
 - 1.15. действуют на перекисные радикалы
 - 1.16. окисляют ионы металлов
 - 1.17. действуют на $-\text{CH}_2=$ группы

2 класс - Трансферазы.

- Ферменты этого класса катализируют перенос функциональных групп и делятся по этому принципу на 8 подклассов:
 - 2.1. переносит одноуглеродные остатки (метил-, метенил-)
 - 2.2. переносят альдегидные или кетоновые группы
 - 2.3. переносят ацильные (кислотные) остатки
 - 2.4. переносят гликозильные остатки
 - 2.5. переносят алкильные или арильные группы
 - 2.6. переносят азотсодержащие группы (амино-, амидино- и др.)
 - 2.7. переносят фосфорсодержащие группы
 - 2.8. переносят серосодержащие группы (тиогруппы)

3 класс - Гидролазы.

- **Этот класс ферментов катализирует реакции гидролиза, и в зависимости от типа гидролизуемой связи делятся на 11 подклассов:**
- 3.1. гидролиз сложноэфирной связи
- 3.2. гидролиз гликозидной связи
- 3.3. гидролиз простой эфирной связи
- 3.4. гидролиз пептидной связи
- 3.5. гидролиз не пептидной C-N связи
- 3.6. гидролиз кислотно-ангидридной связи
- 3.7. гидролиз C-C связи
- 3.8. гидролиз галоидной связи
- 3.9. гидролиз P-N связи
- 3.10. гидролиз S-N связи
- 3.11. гидролиз C-P связи
-

4 класс - Лиазы.

- Ферменты этого класса катализируют не гидролитическое разрушение соединений с отщеплением групп (CO_2 , H_2O , NH_2 и др.) от молекулы субстрата.
- Катализируют также образование двойных связей или присоединение атомов или молекул по месту разрыва двойной связи.
- В этом классе 7 подклассов, которые делятся по принципу присоединения каких - либо атомов или молекул по месту разрыва следующих связей:
 - 4.1. $=\text{C}=\text{C}=\text{C}$
 - 4.2. $=\text{C}=\text{O}$
 - 4.3. $=\text{C}=\text{N}-$
 - 4.4. $\text{C}-\text{S}$
 - 4.5. $\text{C}-\text{P}$ (- $\text{C}-\text{Cl}$)
 - 4.6. $\text{P}-\text{O}-$
 - 4.99. прочие лиазы
 -

5 класс - Изомеразы.

- Эта группа ферментов катализирует реакции изомеризации, и делится на 6 подклассов:
 - 5.1. рацемазы и эпимеразы
 - 5.2. цис-транс-изомеразы
 - 5.3. внутри молекулярные оксидоредуктазы
 - 5.4. внутри молекулярные трансфераза
 - 5.5. внутри молекулярные лиазы
 - 5.99. прочие изомеразы

6 класс - Лигазаы (синтетазы).

- Этот класс ферментов катализирует реакции синтеза соединений с использованием энергии АТФ и других аналогичных макроэргов, или с использованием биотина
- и делятся на 5 подклассов по типу образующихся связей:
 - 6.1. $=C=O$ связи
 - 6.2. $=C-S-$ связи
 - 6.3. $=C=N-$ связи
 - 6.4. $-C-C-$ связи
 - 6.5. фосфоэфирные связи

В каждом классе для структурной организации молекулы фермента используются свои группы коферментов (коэнзимов):

- - **1 класс оксидоредуктазы** - НАД (НАДФ), ФМН (ФАД), убихинон, металлопорфирины (гем), липоевая кислота, глутатион.
- - **2 класс трансферазы** - фосфопиридоксаль (ФП-СН=О), коэнзим А (КоА), тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК), цианкоблагмин, УДФ, ЦДФ.
- - **4 класс лиазы** - ФП-СН=О, КоА, тиаминпирофосфат (ТПФ), цианкоблагмин,
- - **5 класс изомеразы** - ФП-СН=О, цианкоблагмин, глутатион.
- - **6 класс лигазы** - УДФ, ЦДФ, биотин, ТГФК
- **Как исключение, ферменты 3 класса (гидролазы) не имеют коферментов**

Особенности ферментативного катализа.

- **Ферментативный катализ отличается целым рядом отличительных признаков:**
- **1. Ферменты намного активнее чем неорганические катализаторы.** Так химотрипсин в 1 млн. раз превосходит щелочной и кислотный гидролиз белка. Одна молекула каталазы может за 1 минуту разрушить 18 млн. молекул перекиси водорода.
- **2. Ферментативная реакция идет более "чисто", т.к. фермент катализирует только одну реакцию не влияя на другие.**
- **Это свойство ферментов связано с их специфичностью.**

- **Специфичность бывает абсолютная и относительная.**
- **Абсолютная специфичность** - фермент катализирует превращение только одного субстрата.
- Например, уреаза катализирует гидролиз только мочевины.
- Наиболее выражена абсолютная специфичность в виде стереохимической субстратной специфичности - фермент катализирует превращение только одного из всех возможных стереоизомеров одного субстрата.
- Например, фумараза действует только на фумаровую кислоту и не действует на ее стереоизомер на малеиновую кислоту.

- Некоторые ферменты проявляют **абсолютную групповую специфичность**, катализируя превращение сходной группы субстратов. Например, алкогольдегидрогеназа катализирует превращение не только этилового спирта, но и других алифатических спиртов.
- **Относительная специфичность** может проявляться в двух вариантах: в форме **относительной групповой** и в форме **относительной субстратной специфичности**.
- **Протеолитические ферменты желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин, химотрипсин и др.) вызывая гидролиз пептидных связей в полипептидных цепях разных белковых молекул, проявляют групповую относительную специфичность.**
- Фермент цитохром P450, участвуя в гидроксилировании разных соединений, проявляет относительную субстратную специфичность.

Скорость ферментативного катализа зависит от температуры

- **Влияние температуры:**

- Влияние температуры на скорость ферментативной реакции может быть выражена через температурный коэффициент (Q10) :

- $$Q_{10} = \frac{\text{Скорость реакции при } (X + 10) \text{ град С}}{\text{Скорость реакции при } X \text{ град С}}$$

- В пределах от 0-40Сo коэффициент Q10 ферментативной реакции равен двум.
- Иными словами, при каждом повышении температуры на 10 градусов скорость ферментативной реакции удваивается.
- Температура, обеспечивающая наибольшую активность, называется оптимальной температурой.
- За пределами этого уровня вследствие наступающей денатурации фермента, скорость реакции снижается до нуля.

• Влияние pH-среды:

- При постоянной температуре любой фермент проявляет наибольшую активность в определённом диапазоне pH среды.
- Оптимальным считается то значение pH, при котором реакция протекает с максимальной скоростью.
- При более низком или более высоком уровне pH активность фермента снижается.
- Например, оптимум pH среды для пепсина = 2,00, для сахаразы = 4,5, для амилазы слюны = 6,8, для каталаз = 7,6, для липазы = 9,0.

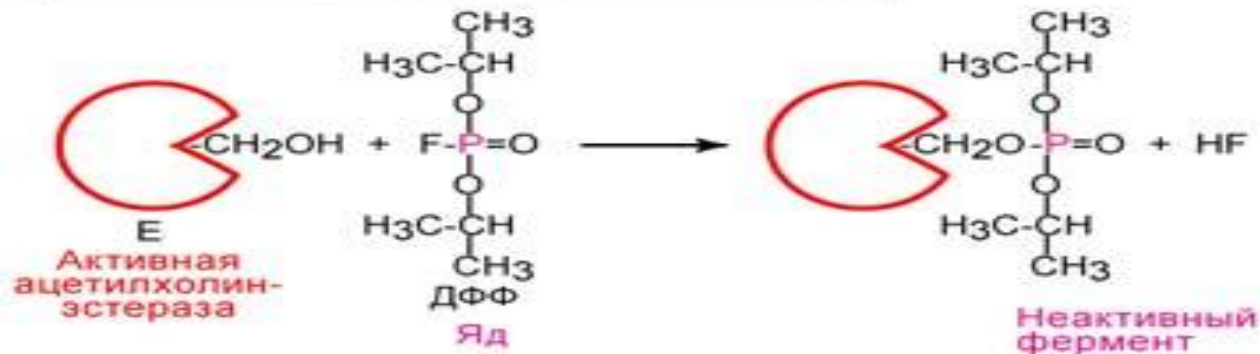
Влияние активаторов и ингибиторов

- Вещества, повышающие активность ферментов и, следовательно, скорость ферментативной реакции называются активаторами.
- Ионы металлов, кофакторы ферментов, субстраты могут повышать активность ферментов.
- Активация ферментов может осуществляться путем химической модификации структуры фермента, т.е. путем превращения неактивного профермента в фермент, путем присоединения какой-либо специфической модифицирующей группы к молекуле фермента, или путем диссоциации неактивного комплекса на активный фермент и связывающий комплекс.
- Вещества, снижающие активность фермента называются ингибиторами.

Ингибиторы ферментов — лекарства и яды

Пример 1: Ацетилхолинэстераза ингибируется фосфорорганическими соединениями:

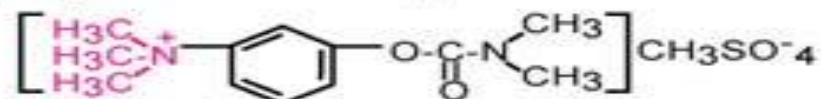
Диизопропилфторфосфат (ДФФ), зарин — яды



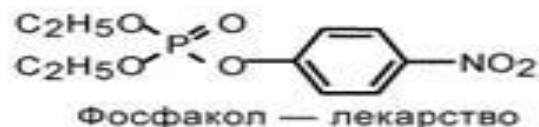
Пример 2: Для лечения миастении используются лекарства — ингибиторы фермента ацетилхолинэстеразы:



1) Прозерин — обратимый конкурентный ингибитор ацетилхолинэстеразы:



2) Фосфакол — необратимый специфический ингибитор ацетилхолинэстеразы:

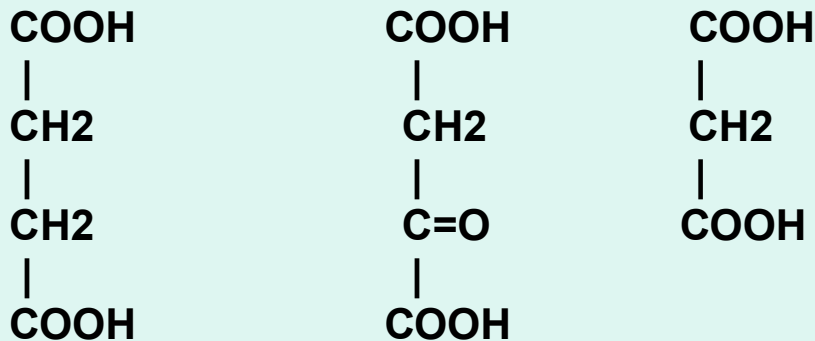


Различают обратимое и необратимое ингибирование ферментов.

- **Обратимое ингибирование бывает двух видов: конкурентное и неконкурентное обратимое ингибирование.**
- При определенных условиях при обратимом ингибировании возможно удаление ингибитора и восстановление активности фермента.
- **При конкурентном обратимом ингибировании ингибитор по своей структуре похож на субстрат, легко соединяется с субстратным центром фермента, но не может прореагировать с ним.**
- **Находясь в активном центре фермента ингибитор преграждает доступ субстрата к активному центру фермента, как бы конкурируя с ним за активный центр.**

Конкурентное обратимое ингибирование.

- Примером конкурентного обратимого ингибирования может служить ингибирование сукцинатдегидрогеназы малоновой или щавелевоуксусной кислотой, соединениями очень сходными по структуре с янтарной кислотой- субстратом сукцинатдегидрогеназы:



- *янтарная кислота щавелевоуксусная малоновая кислота*

- Конкурентное ингибирование обратимо. Так при увеличении концентрации субстрата скорость ферментативной реакции возрастает.
- Это связано с тем, что при избытке субстрата ингибитор вытесняется из активного центра фермента.

Неконкурентное обратимое ингибирование

- Некоторые ингибиторы образуют комплекс не со свободным ферментом, а с фермент-субстратным комплексом: $ES + J \rightleftharpoons ESJ$
- **В этих случаях повышение концентрации субстрата не уменьшает действие ингибитора. Такие ингибиторы называются неконкурентными.**
- Ингибиторы этого типа не родственны по своей структуре субстрату данного фермента. В образовании комплекса **ESJ** участвует не активный центр фермента, а какая-нибудь его часть.
- Образование комплекса влечет за собой изменение конформации фермента и, хотя субстрат все же присоединяется к ферменту, катализ, тем не менее, оказывается невозможным.
- Неконкурентным обратимым ингибитором цитохромоксидазы, является цианид, связывающий ионы меди простетической группы этого фермента.

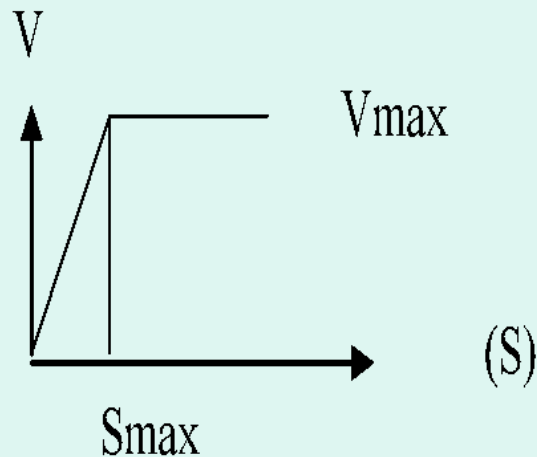
Необратимое ингибирование

- **Необратимое ингибирование** вызывается малыми концентрациями ионов тяжелых металлов, например ионов ртути, серебра и мышьяка или иодуксусная кислота, п-хлормеркурибензоат.
- **Необратимое ингибирование ферментов**, т.е. инактивацию могут вызвать некоторые структурные аналоги субстратов (3-хлорацетолфосфат инактивирует диоксиацетон фосфатизомеразу) и аналоги коферментов, способные занимать место настоящего кофермента, но неспособные выполнять его функции.
- Например **необратимое ингибирование** ацетилхолинэстеразы приводит к накоплению ацетилхолина в холинэргическом синапсе, что сопровождается нарушением проводимости и может завершиться параличем и смертью.
- Многие лекарственные вещества являются ингибиторами ферментов. Так в лечении ряда заболеваний используются препараты, содержащие ртуть, мышьяк, висмут, которые ингибируют ферменты бактерий, чем обуславливается их лечебный эффект.

Влияние концентрация субстрата

Влияние концентрации субстрата на активность фермента

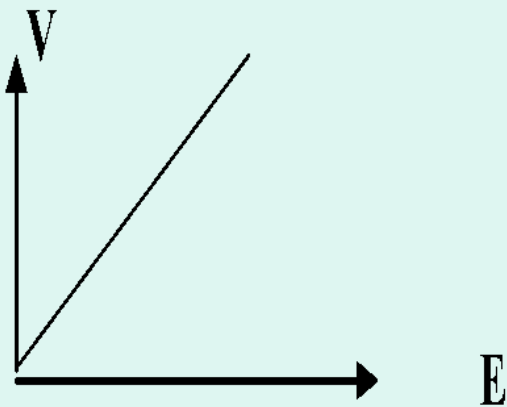
- При увеличении концентрации субстрата скорость ферментативного катализа возрастает и достигает максимума (V_{max}), и затем при увеличении концентрации субстрата не меняется.



Влияние концентрации фермента

Влияние концентрации фермента :

- При высокой (насыщающей – S_{max}) концентрации субстрата и при постоянстве температуры, pH среды, скорость ферментативной реакции пропорциональна концентрации фермента (E), т.е. с ростом концентрации фермента растет скорость реакции (V).



Регуляция активности ферментов.

- Метаболические процессы, протекающие в клетке находятся в постоянном равновесии, одновременны, подчинены и определяют физиологическое состояние организма. Направленность и интенсивность метаболических реакций зависит от активности ферментов. Факторы способные изменить активность фермента включаются в процесс регуляции метаболизма.
- **Основными факторами, от которых зависит активность ферментов в клетке являются:**
 - - количество фермента,
 - - локализация ферментов в клетке,
 - - изменения уровня рН, температуры,
 - - количество субстрата,
 - - наличие аллостерических эффекторов, активаторов и ингибиторов.

Единицы измерения активности ферментов

- За международную единицу активности фермента принимается такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль вещества за 1 мин в стандартных условиях.
- Чаще всего в практической биохимии используется удельная активность фермента равная массе фермента (в миллиграммах), способная превратить 1 мкмоль субстрата на 1 мин в стандартных условиях,
- и выражается в мкмоль / мин мг белка исследуемой ткани или мл (литр) исследуемой биологической жидкости (плазмы крови).

Номенклатура ферментов.

- В 1961 году специальной комиссией Международного биохимического союза была предложена систематическая номенклатура ферментов.
- Каждый фермент получил систематическое наименование, точно описывающее катализируемую им реакцию и название субстрата с добавлением суффикса "аза".
- К систематическому названию фермента добавляется шифр фермента, определяющий класс, подкласс, подподкласс и порядковый номер фермента.
- Напримет: Креатинфосфокиназа (КФ 2.7.3.3)
- Рабочее название фермента может складывается из названия субстрата с прибавлением суффикса "аза".
- Так аргиназа катализирует гидролиз аргинина, липаза гидролиз жира, фосфатаза гидролизует фосфорные эфиры.
- Другой способ рабочего названия - добавление суффикса "аза" к названию катализируемой ферментом реакции.
- Например, дегидрогеназа катализирует перенос водорода, гидролаза катализирует гидролиз, трансфераза переносит химические группы и т.д.

Современные подходы к диагностике заболеваний

- При любых заболеваниях всегда имеет место нарушения различных звеньев обмена веществ, вызванные изменениями активности ферментов.
- В зависимости от того, какой фермент изменяет свою активность, нарушается соответствующее звено обмена, что приводит к формированию соответствующего патологического процесса.
- Такой подход к становлению болезни, к сожалению пока не имеет место в клинической практике.
- Чаще всего для диагностики используются данные об изменении активности органо-специфичных ферментов. Этот подход позволяет только указать место сформировавшегося патологического процесса, не вскрывая механизма его становления.
- Стратегия функциональной диагностики только что формирующегося патологического процесса, должна строиться из определения статуса конкретных звеньев метаболизма путем выбора соответствующей группы ферментов подлежащих изучению.
- В этой связи необходимо четко представлять все метаболические пути и ферменты этих путей и своевременно проводить их определение.

1. Ферменты углеводного обмена

- *Дихотомическим* путь катаболизма глюкозы:
 - гексокиназа (фосфоглюкокиназа)
 - фосфорилаза
 - фосфоглюкоизомераза
 - фосфофруктокиназа
 - альдолаза
 - фосфотриозоизомераза
 - глицеральдегид-дегидрогеназа
 - фосфоглицераткиназа
 - фосфоглицеромутаза
 - енолаза
 - пируваткиназа
 - лактатдегидрогеназа
-
- *Апотомический* путь катаболизма глюкозы:
 - глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа
 - лактоназа
 - 6-фосфоглюконат дегидрогеназа
 - пентозофосфатизомераза
 - транскетолаза
 - трансальдолаза

Ферменты общих путей катаболизма

- окислительная декарбоксилаза пирувата
- цитратсинтетаза
- аконитаза
- изоцитратдегидрогеназа
- α -кетоглутарат дегидрогеназа
- сукцинаттиокиназа
- сукцинатдегидрогеназа
- фумараза
- малатдегидрогеназа

Метаболизм гликогена

- **Синтез гликогене и глюконеогенез:**
- УДФ-глюкозилпирофосфорилаза
- гликогенсинтетаза (гликозилтрансфераза)
- амило-гликозилтрансфераза
- пируваткарбоксилаза
- Фосфоенолпируваткарбоксикиназа

- **Мобилизация гликогена :**
- аденилатциклаза
- фосфорилазкиназа
- фосфорилаза
- протеинкиназа

Превращения олигосахаридов и гликозамингликанов

мальтаза

лактаза

сахараза

амилаза

глюкуронидаза

альдозоредуктаза

сорбитдегидрогеназа

УДФ-глюкозилтрансфераза

УДФ-глюкуронилтрансфераза

Ферменты дыхательной цепи митохондрий

Биоэнергетика клетки

- окислительная декарбоксилаза пирувата
- изоцитратдегидрогеназа
- α -кетоглутарат дегидрогеназа
- сукцинаттиокиназа
- сукцинатдегидрогеназа
- малатдегидрогеназа
- НАДН-дегидрогеназа
- ФМНН-дегидрогеназа
- КоQ -редуктаза
- цитохром-С-оксидаза

Катаболизм триацилглицеридов и жирных

КИСЛОТ

- триацилглицеридлипаза
- липопротеидлипаза
- диглицеридлипаза
- моноглицеридлипаза
- липопротеинлипаза
- глицераткиназа
- α -глицерофосфатдегидрогеназа
- ацил КоА-синтетаза
- трансацетилаза
- карнитин-ацилтрансфераза
- ацил-КоА-дегидрогеназа
- еноил-КоА-гидратаза
- гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа
- ацил-КоА-ацилтрансфераза
- циклооксигеназа
- липооксигеназа

Анаболизм липидов и биосинтез кетоновых тел и холестерина

- **Анаболизм липидов**

- ацетил КоА-карбоксилаза
- малонитрансацетилаза
- цитратлиаза
- β -кетоацил-синтетаза
- β -кетоацил-редуктаза
- гидроксиацил-гидратаза
- еноилредуктаза
- ацилтрансфераза
- фосфатаза

- **Биосинтез кетоновых тел и холестерина**

- ацетил-КоА-ацетилтрансфераза
- β - β -гидроксиметилглутарил-КоА-синтетаза
- гидроксиметилглутарил-КоА-лиаза
- гидроксibuтиратдегидрогеназа
- ацетоацета-декарбоксилаза
- β - β -гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза
- мевалонилфосфокиназа
- мевалонилпирофосфатдекарбоксилаза

Катаболизм белков и аминокислот

- пептидазы пищеварительных соков (пепсин, трипсин, химотрипсин)
- тканевые катепсины
- трансаминазы
- глутаматдегидрогеназа
- АМФ-аминогидролаза
- гистидаза
- серин (треонин) дегидротаза
- оксидаза L-аминокислот
- декарбоксилаза аминокислот
- метионин-аденозилтрансфераза
- метилтрансфераза
- цистатионинсинтетаза
- цистатионинлиаза
- глутаматдекарбоксилаза
- фенилаланингидроксилаза
- тирозиназа
- катехол-O-метилтрансфераза
- моноаминоксидаза
- глутаминилтранспептидаза
- аргиназа
- NO-синтетаза

Обезвреживание аммиака и синтез мочевины

- глутаминсинтетаза
- глутаминаза
- карбомоилфосфат-синтетаза
- карбомоилтрансфераз
- аргининосукцинасинтетаза
- аргининосукциназа
- аргиназа

Ферменты обмена нуклеотидов и

нуклеиновых кислот

- нуклеазы (ДНК-аза, РНК-аза)
- 5`-нуклеотидаза
- нуклеозидазы
- АМФ дезаминаза
- аденозиндезаминаза
- гуаниндезаминаза
- цитозиндезаминаза
- ксантиноксидаза
- фосфорибозилтрансфераза
- дигидрооротатдегидрогеназа
- рибонуклеозидредуктаза
- тиоредоксинредуктаза

Ферменты метаболизма гемоглобина и антиоксидантной защиты

- δ -аминолевулинатсинтетаза
- δ -аминолевулинатдегидротаза
- феррохелотаза
- гемоглобинредуктаза
- глутатионредуктаза
- глутатионпероксидаза
- супероксиддисмутаза
- 2,3-дифосфоглицератмутаза
- глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
- каталаза
- пероксидаза