

Механизмы регуляции активности ферментов

-Изостерическая регуляция (изос-
равный), осуществляется
количеством субстрата и продукта

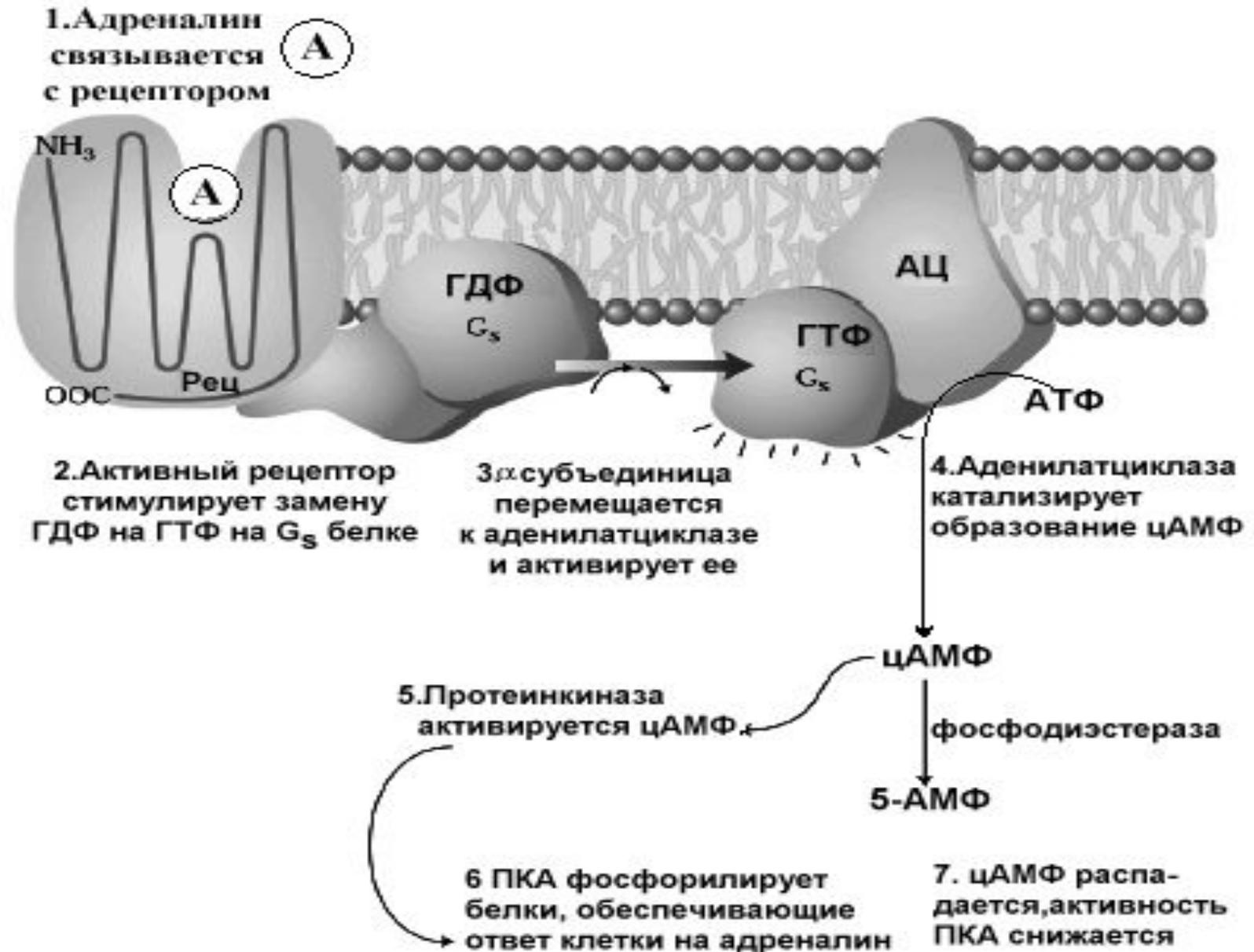
-Пассивная регуляция
осуществляется факторами среды-(
влияние, рН, температуры, ионной
силы раствора на активность
фермента

- Активная регуляция- регуляция на геномном уровне (лактозный оперон);
- Регуляция конститутивными и индуцибельными ферментами. Синтез первых не зависит от индуктора, т.к. есть определенный уровень фермента, даже при отсутствии индуктора- это базовый уровень.
- Индуцибельные ферменты это ферменты ЦСМ, цитохром Р-450, бета-ГОМГ-КоА-редуктаза.
- Биосинтез аргиназы увеличивается при повышенном потреблении белков и ускорении ЦСМ.
- Биосинтез липазы возрастает при голодании, обеспечивая мышцы, в том числе и миокард жирными кислотами.

Гормональная регуляция активности ферментов

- Осуществляется при:
- -функционировании АЦ комплекса,
- - с помощью вторичных посредников-
- цАМФ, цГМФ, Са-Кальмодулина, ИТФ,
- ДАГ, NO, олигоаденилатами.

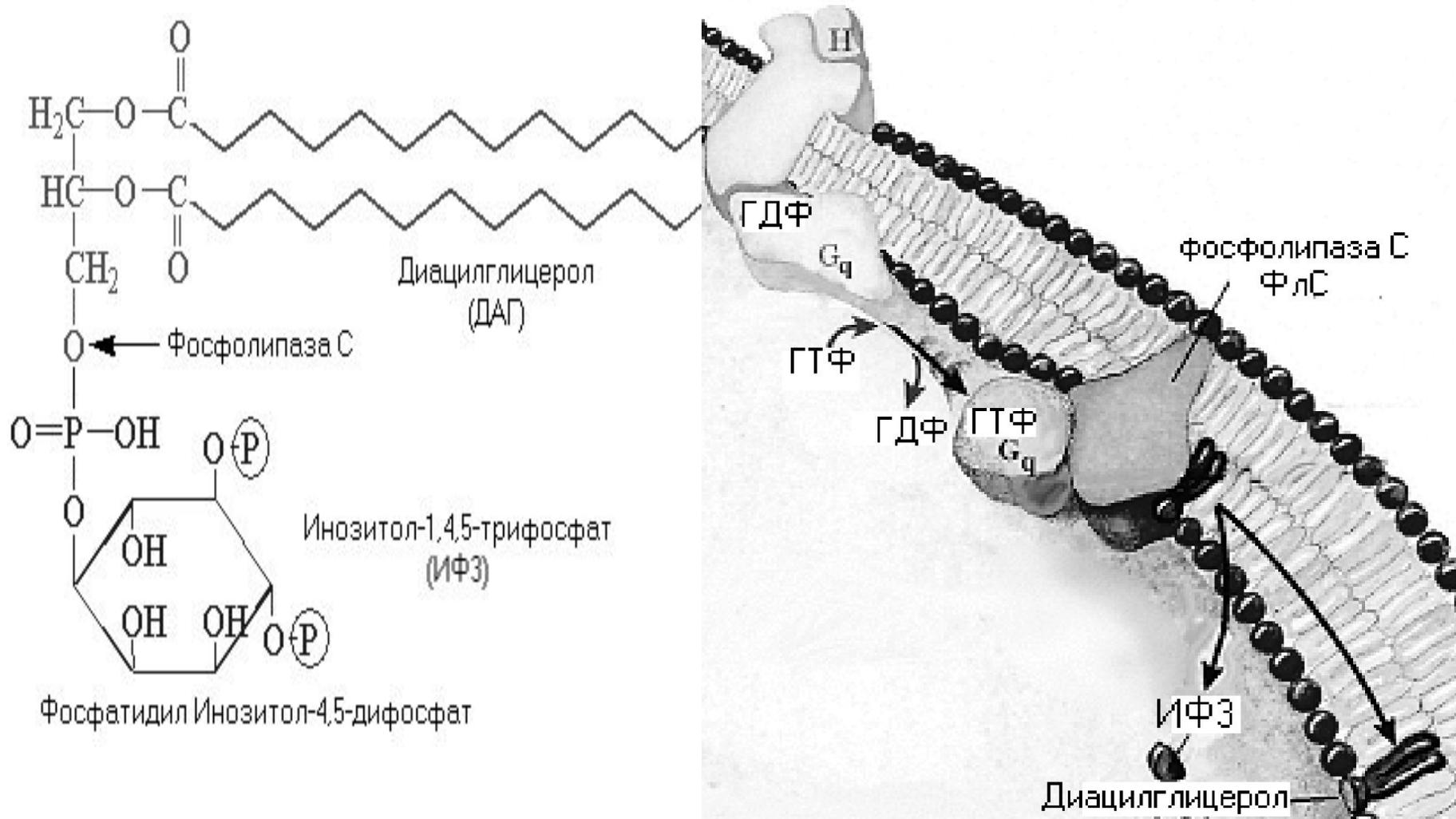
Аденилатциклазный механизм



Некоторые клеточные ответы на действие гормонов, опосредуемое циклическим АМФ

Гормон	Клетки-мишени	Главный ответ
Тиротропин	Тироциты	Синтез и секреция тироксина
Кортикотропин	Клетки пучковой и сетчатой зоны коры надпочечников	Секреция кортизола
Лютропин	Клетки Лейдига яичников	Секреция прогестерона
Адреналин	Миоциты, гепатоциты	Распад гликогена
Паратгормон	Остеокласты	Резорбция кости
Адреналин	Р-клетки водителя ритма сердца	Увеличение частоты сокращений
Вазопрессин	Эпителиоциты канальцев нефрона почки	Реабсорбция воды
Адреналин, кортикотропин, глюкагон, тиротропин	Адиipoциты	Расщепление триацилглицеролов

ИФ3 обеспечивает повышение уровня кальция



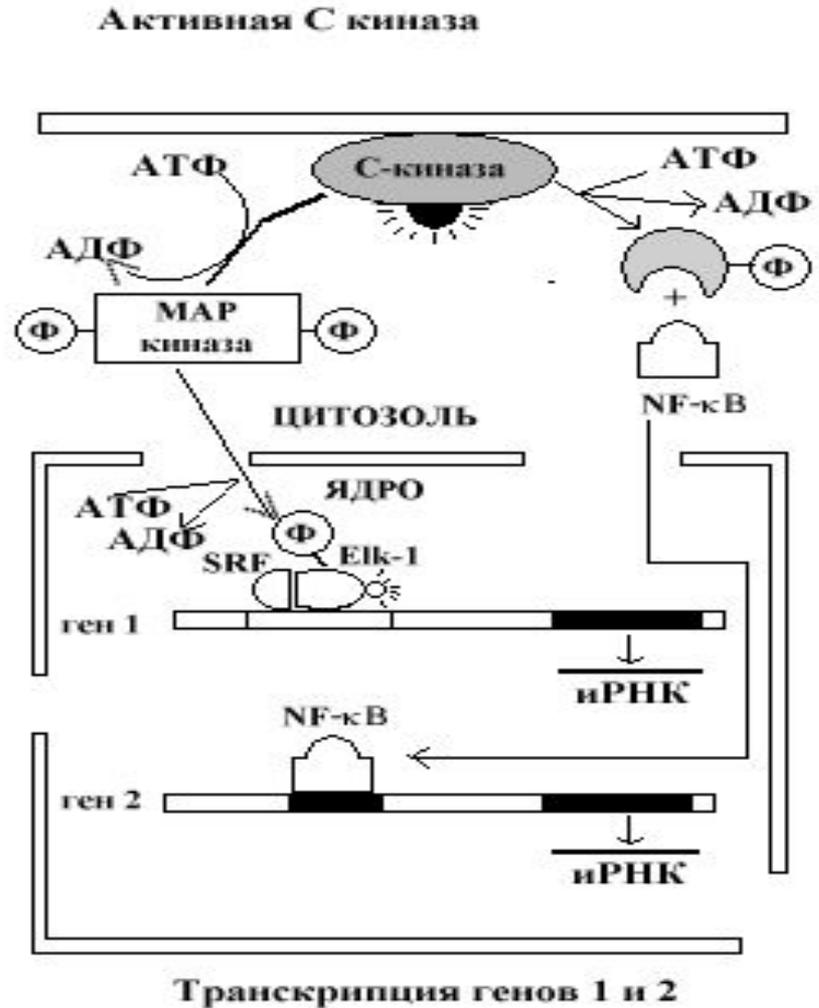
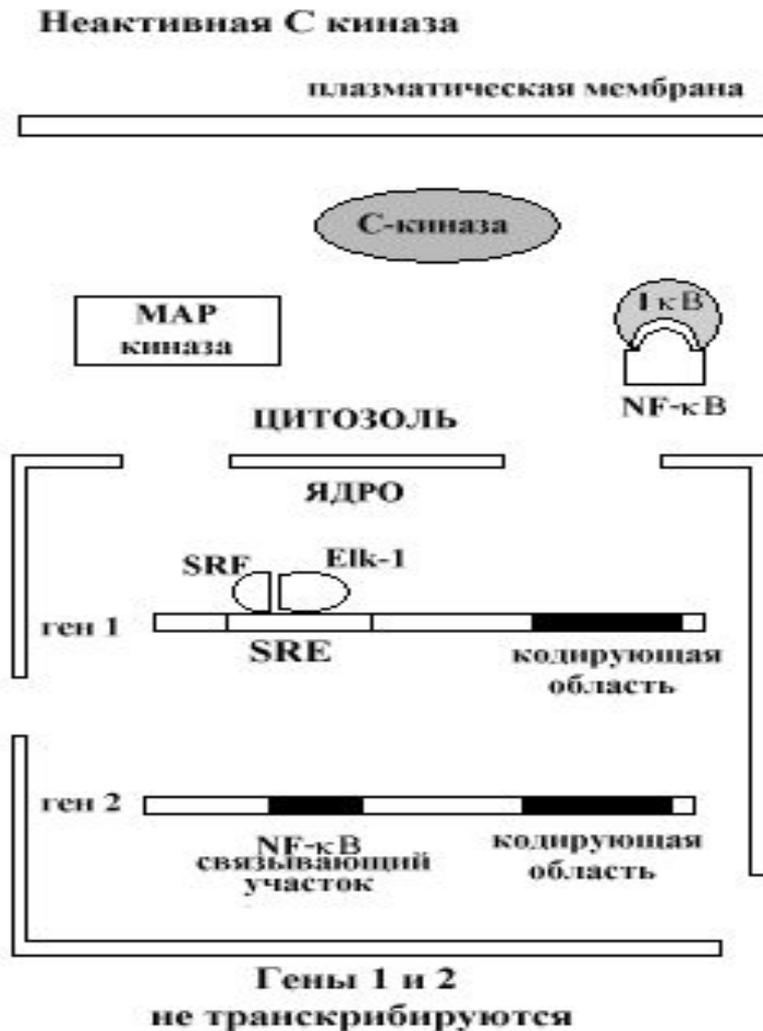
. Белки,регулируемые Ca^{2+} и калмодулином

Аденилат циклаза	Ca^{2+} /калмодулин зависимая протеинкиназа
ЦАМФ фосфодиэстераза	Ca^{2+} зависимый Na^+ канал
ЦАМФ зависимый канал (зрение)	Ca^{2+} канал эндоплазматической сети
Киназа легкой цепи миозина	Кальциневрин (фосфопротеинфосфатаза 2В)
НАДН киназа	цГМФ зависимый Na^+ , Ca^{2+} канал (колбочки)
Синтаза оксида азота	Ca^{2+} АТФаза плазм.мембран
ИФ-3-киназа	РНК хеликаза (p68)
ЦГМФ - зависимая протеинкиназа	киназа легких цепей миозина
киназа фосфоорилазы	фосфолипаза A_2

Сигнальные роли ДАГ

- Если ИФ3 повышает концентрацию ионов Ca^{2+} в цитозоле, другой продукт расщепления фосфатидилинозитол -4,5- дифосфата – ДАГ – остается в плазматической мембране и вызывает совершенно иные молекулярные эффекты. У него есть две "сигнальные" роли: он может гидролизироваться дальше с образованием арахидоновой кислоты, необходимой для синтеза простагландинов и родственных им медиаторов липидной природы, или способен активировать специфическую протеинкиназу, которая затем фосфорилирует ряд белков с различными функциями в клетке-мишени.
- Фермент, активируемый ДАГ, называется протеинкиназой С (ПКС) или С-киназой, так как активность его зависит от уровня Ca^{2+} в цитозоле клетки. Полипептидная цепь этого фермента содержит четыре консервативных домена и пять переменных областей. Консервативные области включают АТФ-, Ca^{2+} - , диацилглицерол- и субстрат-связывающие домены. При низком внутриклеточном уровне Ca^{2+} и отсутствии диацилглицерола протеинкиназа С находится в цитоплазме в неактивном состоянии. Связывание диацилглицерола изменяет конформацию протеинкиназы С, что сопровождается повышением ее сродства к ионам Ca^{2+} и липидам. Это приводит к связыванию протеинкиназы С с цитоплазматической поверхностью плазматической мембраны и переводу фермента в активное состояние. Активация С-киназы кратковременна, так как через несколько секунд диацилглицерол фосфорилируется до фосфатидной кислоты или расщепляется с высвобождением арахидоновой кислоты.
- С-киназа, активированная диацилглицеролом и Ca^{2+} , переносит концевую фосфатную группу с АТФ на специфические сериновые или треониновые остатки белков-мишеней, которые в разных клетках различны. Например, во многих животных клетках С-киназа фосфорилирует и тем самым активирует Na^+/H^+ обменный насос плазматической мембраны, контролирующей внутриклеточный рН. Концентрация С-киназы выше всего в нейронах головного мозга, где, помимо прочего она фосфорилирует ионные каналы нейронов и, изменяя их проницаемость, может влиять на возбудимость этих клеток.
- В некоторых клетках активация С - киназы усиливает транскрипцию определенных генов.

Роль ПКС в регуляции транскрипции

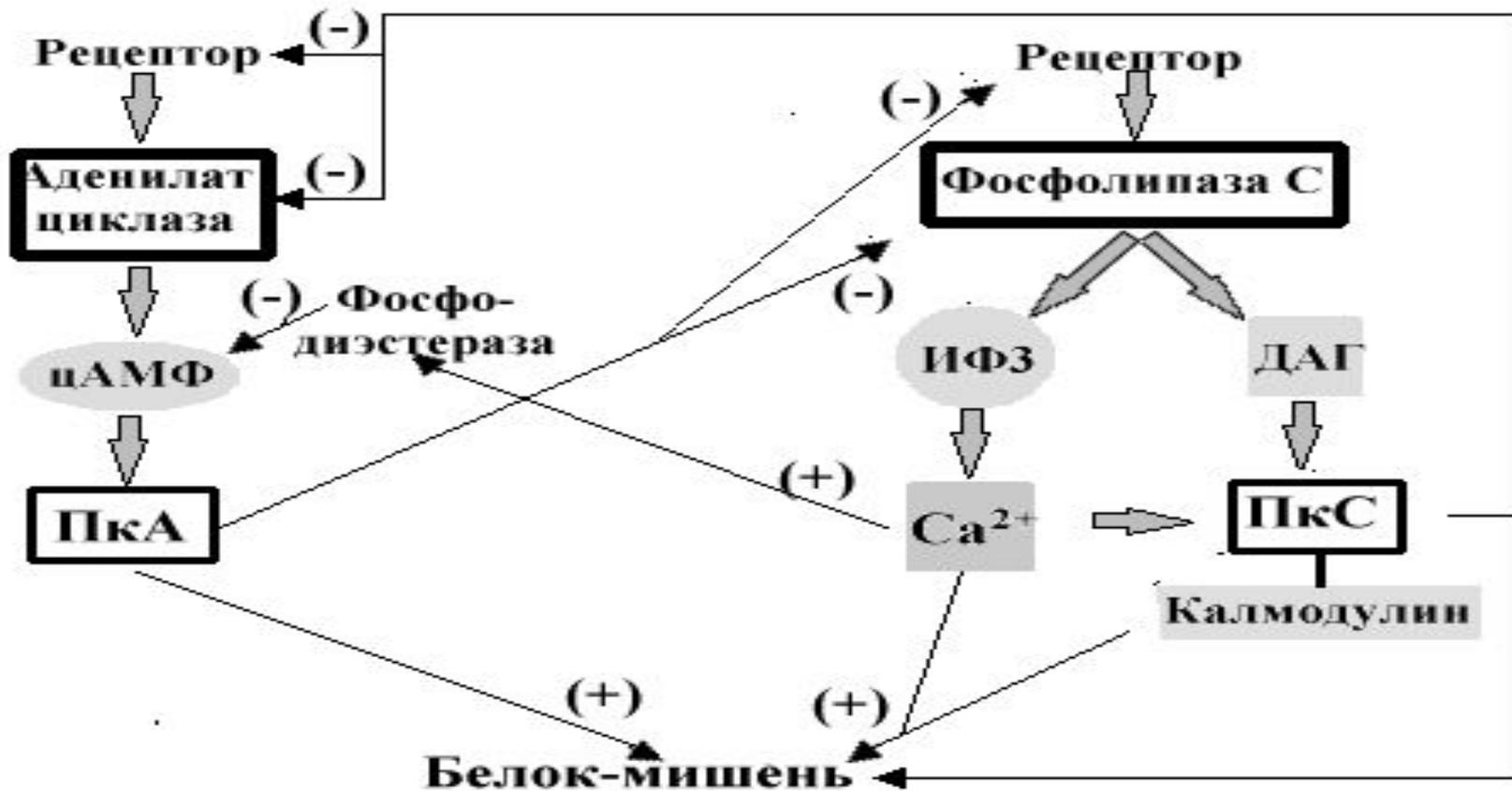


- Известны два внутриклеточных пути, через которые активированная С-киназа усиливает транскрипцию генов. В одном, С-киназа активирует протеинкиназный каскад, приводящий к фосфорилированию митоген-активируемой протеинкиназы (МАП – киназы), которая фосфорилирует и активирует ген-регуляторный белок Elk-1. Elk-1 связан с короткой последовательностью ДНК (обозначаемой serum response element – SRE) и ассоциирован с другим ДНК - связывающим белком (обозначаемым serum response factor – SRF).
- В другом пути, активация С-киназы приводит к фосфорилированию ингибиторного белка I κ B, что сопровождается высвобождением из комплекса ген-регуляторного белка NF – κ B, который мигрирует из цитозоля в ядро и активирует транскрипцию соответствующего гена.
- Существует группа соединений, среди которых наиболее хорошо изучены форболовые эфиры, которые являются мощными активаторами ПкС. Они действуют подобно ДАГ как вторичные посредники, но в отличие от естественного ДАГ, они разрушаются медленно. Постоянно активируя ПкС, эти синтетические вещества вмешиваются в нормальную регуляцию клеточного роста и деления и служат факторами, стимулирующими образование опухолей..

Взаимосвязь цАМФ и ИФ3 зависимых путей

цАМФ-зависимый путь

ИФ3-зависимый путь



Аллостерическая регуляция

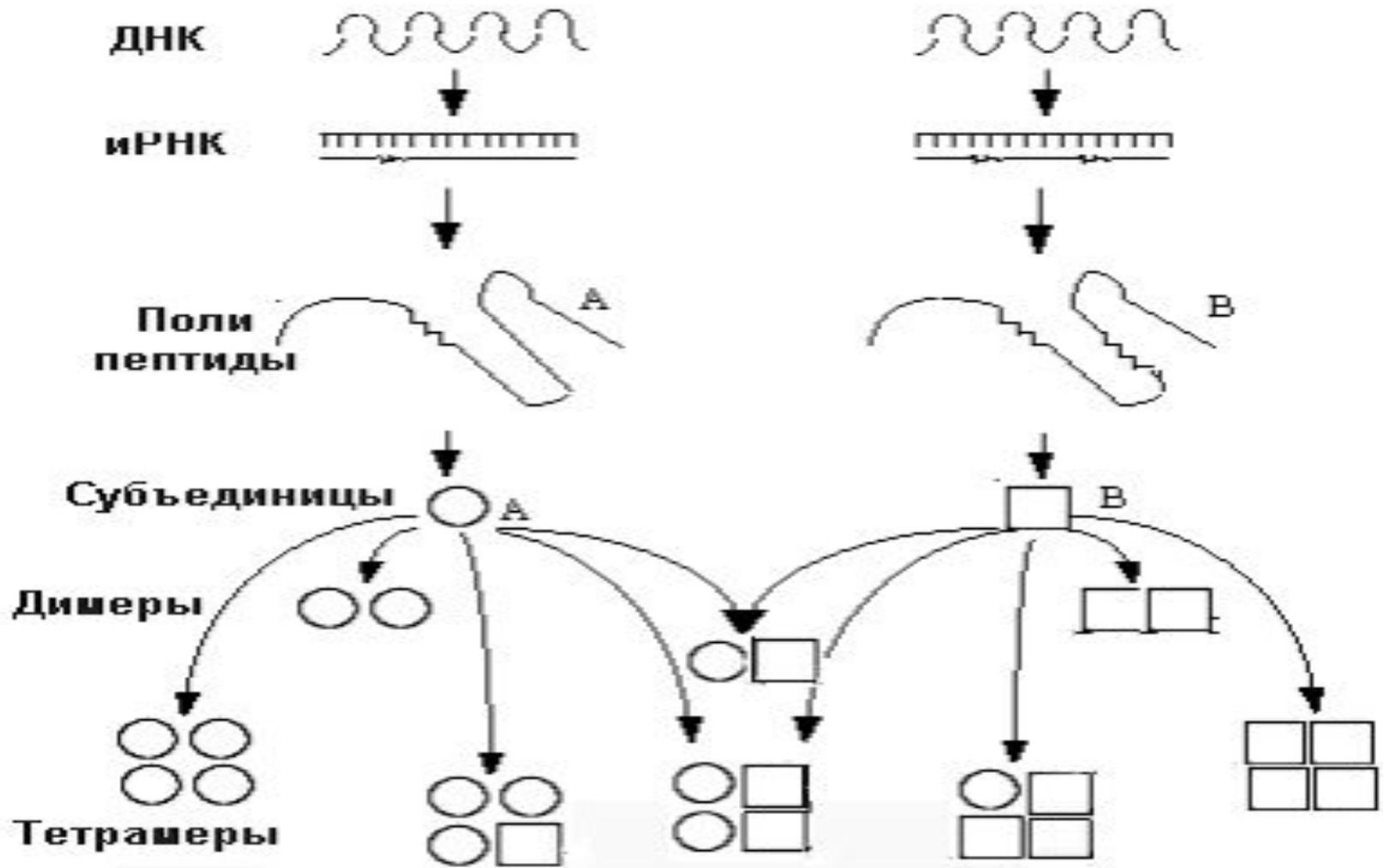
- Аллостерической. Аллостерическая регуляция имеет два определения.
- Регуляция с помощью другого вещества, не являющегося ни субстратом, ни продуктом данной реакции.
- Или регуляция путем связывания с другим центром, не являющимся активным(субстратным) центром

Аллостерические ферменты

- Это олигомеры с четным числом протомеров
- Имеют ось симметрии
- Обычно имеют два центра связывания
- Изменение конформации ограничено переходами от R к T
- Расположены в «Ключевых» точках метаболизма
- Регулируют интенсивность и переключают направление метаболического потока в целом

Изоферменты

Происхождение изоферментов



- Это генетически детерминированные множественные формы ферментов.
- Тетрамерный фермент, состоящий из двух кодируемых генетически субъединиц А и В может быть представлен пятью изоферментами А₄, А₃В₁, А₂В₂, А₁В₃ и В₄. Каждый из изоферментов может катализировать одинаковую реакцию, но отличается по своим свойствам, что важно при использовании этих ферментов в разных условиях. Таким путем Природа «экономит» генетический материал, создавая многообразие.

Метаболизм ферментов

- Превращение ферментов сходно с обменом других белков. Определенный уровень ферментов в тканях поддерживается их постоянным синтезом и распадом. В результате гибели клеток ферменты попадают в кровь, где при участии протеаз или в клетках РЭС подвергаются деградации.



- Имея высокую молекулярную массу, большая часть ферментов не экскретируется с мочой. Ферменты экскретируются с желчью (ЩФ, ГГТП, 5- нуклеотидаза, аминотрансферазы).

Активность фермента

- . Активность - это изменение количества субстрата под влиянием фермента в единицу времени. Под изменением субстрата понимают снижающееся в единицу времени количество субстрата или же увеличивающееся количество продукта. Понятие "активность фермента" по сути дела идентично понятию "скорость ферментативной" реакции. Ферментативная активность выражается в единицах активности. В связи с существованием различных систем единиц исчисления введена **интернациональная (стандартная)** единица активности. Она носит символ "U" (unit-единица) и определяется как 1 мкмоль субстрата/мин. **В системе СИ** в качестве единицы ферментативной активности используют "катал" (kat). Катал определяется как 1 моль/сек.
 - $1 \text{ kat} = 1 \text{ моль/сек.}$
 - Размерность её слишком велика, на практике пользуются меньшими кратными значениями, начиная с нанокатала (нкат). Это одна миллиардная катала или 10^{-9} кат. В сравнении с международной единицей следующее уравнение
 - $1 \text{ U} = 16,67 \text{ нкат}$

- В практике лабораторий широко пользуются понятием **удельная активность**. Для этого число стандартных единиц пересчитывают на какую-либо единицу сравнения. Это может быть мг белка в пробе или объем исследуемой биологической жидкости. Определение активности ферментов широко распространено в любой современной клинической лаборатории.
- При исследовании кинетики реакций используется и такое понятие как **молекулярная активность**. Она показывает, сколько молекул субстрата в секунду превращаются в продукт 1 молекулой фермента и используется для сравнительной характеристики активности нескольких ферментов.
- **Пример вычисления активности фермента:**

Пример для вычисления активности фермента

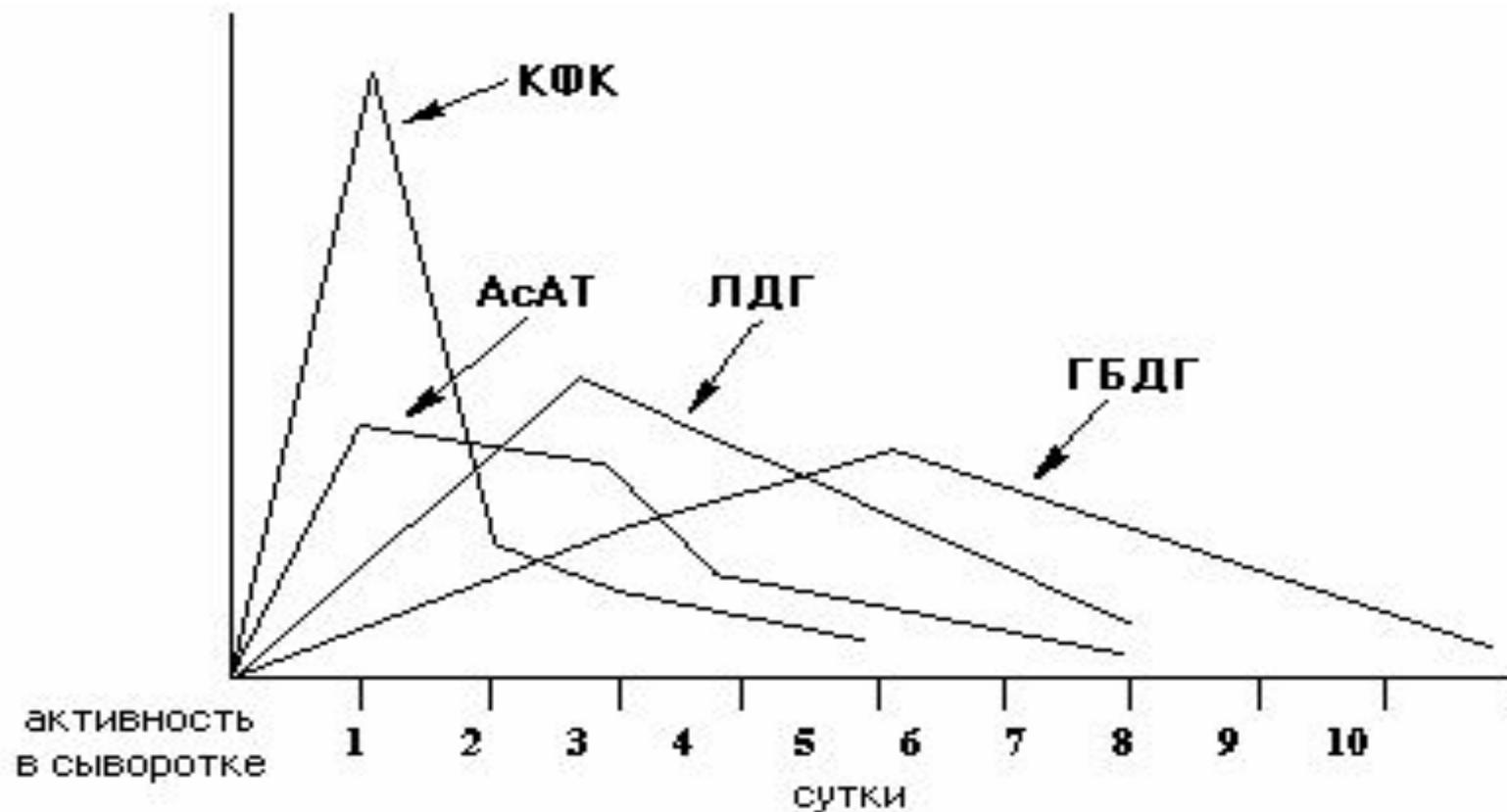
- **Исходные
данные:** 25.0×10^{-3}
моль л⁻¹ пептида-
субстрата,
объем реакционной
смеси 2.5 мл,
0.50 мкг
химотрипсина [\[1\]](#)

Через 10 мин:

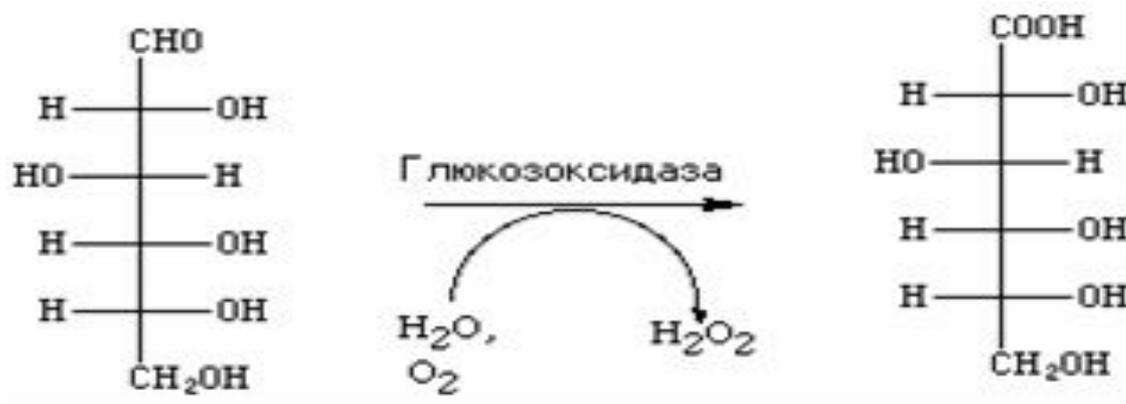
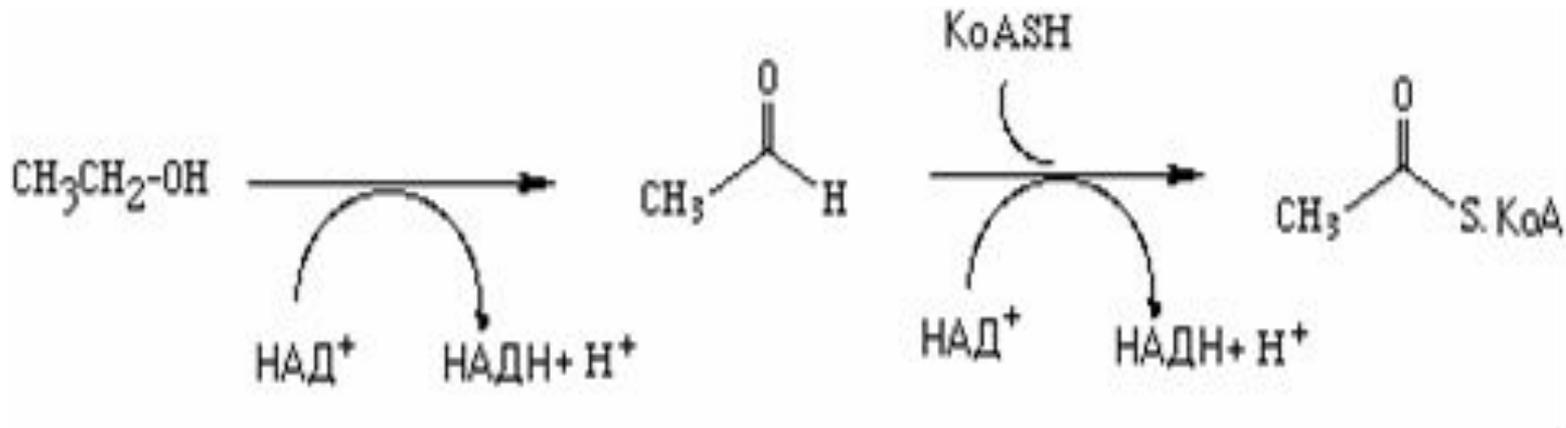
18.6×10^{-3} моль л⁻¹ пептида -субстрата,
Объем реакционной смеси 2.5 мл,
0.50 мкг химотрипсина.

18.6×10^{-3} моль л⁻¹ пептида -субстрата,
Объем реакционной смеси 2.5 мл,
0.50 мкг химотрипсина.

Изменения активности ферментов у больного ИМ в разные сроки заболевания



Номенклатура и классификация ферментов



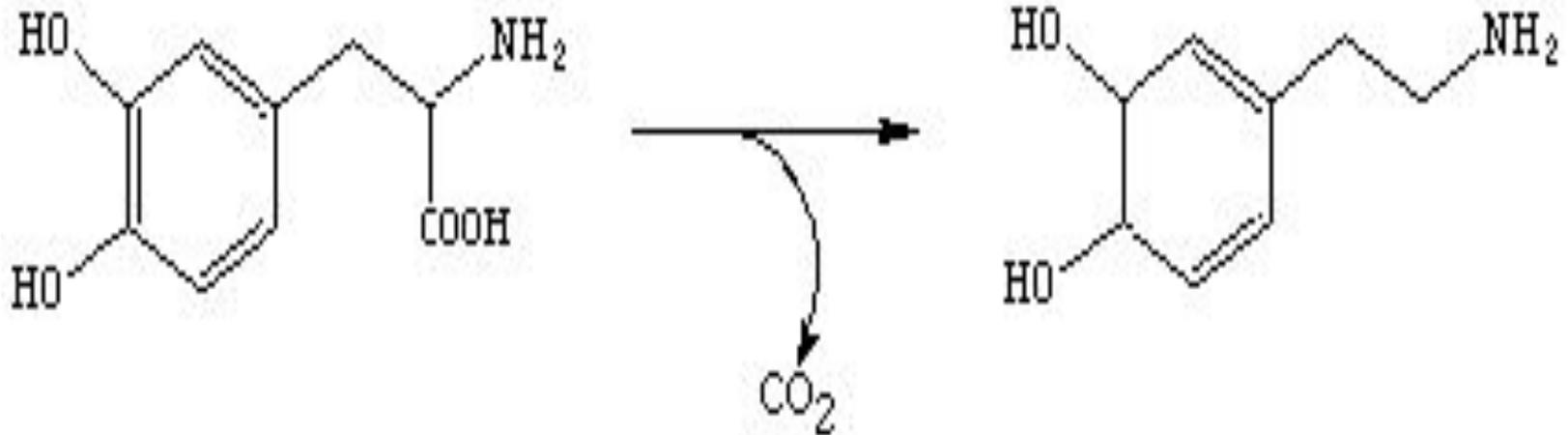
Оксидоредуктазы

- **Оксидоредуктазы (1.0.0.0.)**
- 1.1.0.0. Действуют на СН-ОН группы доноров
 - 1.1.1.0. НАД+ или НАДФ+ в качестве акцепторов
 - 1.1.1.1. Алкогольдегидрогеназа
- 1.14.0.0. Действуют на парные доноры при включении в один из них кислорода
 - 1.14.15.0. Один из доноров восстановленный железосерный белок и включение одного атома кислорода
 - 1.14.15.1. Цитохром Р-450
 - 1.14.15.5. Кортикостерон 18-монооксигеназа

Трансферазы

- **Трансферазы (2.0.0.0.)2.1.0.0.**
Переносят одноуглеродные группы
- 2.1.1.0. Метилтрансферазы
- 2.1.1.1. Никотинамид
метилтрансфераза
- 2.1.1.45. Тимидилат синтаза 2.3.0.0.
- Ацилтрансферазы 2.3.1.6.
холинацетил трансфераза

- **Гидролазы (3.0.0.0.)**3.1.0.0. Действуют на эфирные связи 3.1.1.0.
Гидролазы эфиров карбоновых кислот
3.1.1.17. Ацетилхолинэстераза
3.2.1.0. Гликозидгидролазы
3.2.1.1. α-амилаза
3.2.1.2. β-амилаза 3.4.0.0.
Действуют на пептидные связи
3.4.21.0. Сериновые протеазы
3.4.21.1. Химотрипсин
3.4.21.4. Трипсин
3.4.21.5. Тромбин



- **Лиазы**(4.0.0.0)4.1.0.0.Углерод-углерод лиазы
 4.1.1.0.Карбокси лиазы 4.1.1.1.
 Пируватдекарбоксилаза 4.2.0.0. Углерод-
 кислород-лиазы 4.2.1.0. Гидролиазы
 4.2.1.11. Енолаза 4.2.1.12.
 Фосфоглюконатдегидраза

- Лигазы (6.0.0.0)6.1.0.0. Образуют С-О связи
6.1.1.0. Образуют молекулы аминокцил-тРНК и родственные им соединения.
6.1.1.1. Тирозил-тРНК синтаза
6.5.0.0. Образуют фосфоэфирные связи
6.5.1.1. ДНК-лигаза (АТФ -зависимая)
6.5.1.2. ДНК-лигаза (НАД⁺-зависимая)

- Каждый фермент получает специфический кодовый номер-шифр фермента, отражающий его положение в классификации: первая цифра характеризует класс фермента, вторая –подкласс и третья подподкласс. Каждый подподкласс представляет собой список ферментов. Порядковый номер фермента в этом списке – четвертая цифра кода. На рис 1-1 показан шифр креатинфосфокиназы – КФ.2.7.3.2. Этот фермент катализирует реакцию фосфорилирования креатина. Систематическое название фермента АТФ: креатинфосфотрансфераза. Рабочее название этого фермента креатинкиназа или креатинфосфокиназа

Шифр КФК и ее место в классификации ферментов

