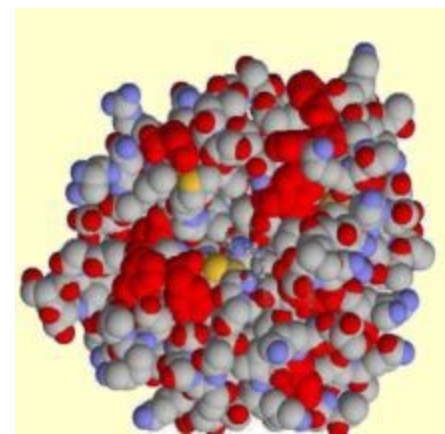
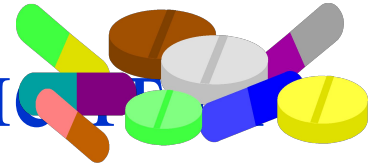


# Структура и общие свойства ферментов

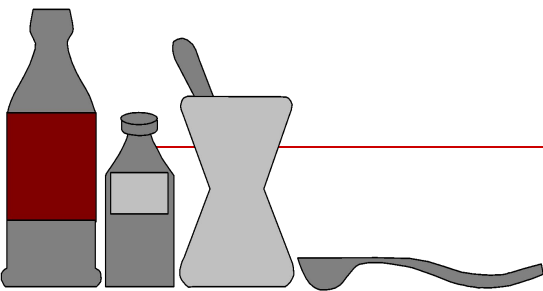
---



# Энзимология – наука о ферментах



- Фермент – биологический катализатор белковой природы.
- Энзимология появилась на стыке химической, биологической и медицинской наук.



# Значение ферментов

---

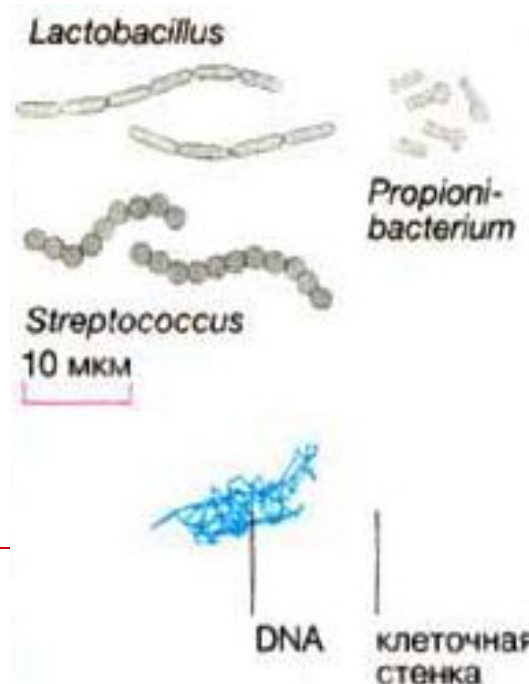
- любые химические превращения веществ в организме происходят при участии ферментов,
- практическое применение ферментов во всех областях деятельности, где речь идёт о живых существах:
  - хлебопечение,
  - виноделие,
  - сыроварение,
  - чайное, кожевенное, меховое производство.

# Значение ферментов

1.



Спиртовое брожение



# Инженерная энзимология

---

- Имобилизованная  $\beta$ -галактозидаза, присоединённая к магнитному стержню-мешалке, используется для снижения содержания молочного сахара в молоке, то есть продукта, который не расщепляется в организме больного ребёнка с наследственной непереносимостью лактозы.
  - Методами генной инженерии получены L-треонин, витамин B<sub>12</sub>, интерфероны.
-

# История развития ЭНЗИМОЛОГИИ

---



- Появилась энзимология в 1814 году, когда Кирхгоф показал, что в вытяжке из проросшего ячменя содержится вещество, которое вызывает превращение крахмала в сахар (амилаза).
- В 1836 году Т.Шванн выделил из желудочного сока пепсин.
- В настоящее время известно 10 000 ферментов, 500 получено в кристаллическом состоянии.



# Доказательства белковой природы ферментов

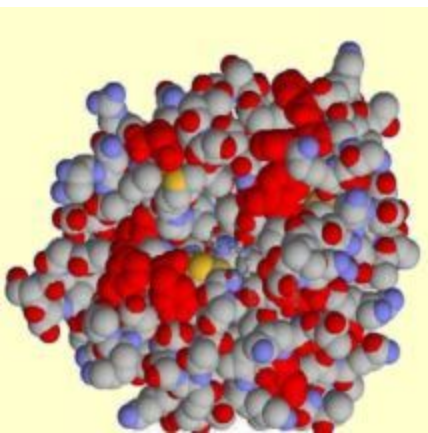
---

- все выделенные ферменты – белки,
  - методы получения ферментов и белков одинаковы,
  - факторы, вызывающие денатурацию белка, вызывают инактивацию ферментов,
  - при гидролизе ферменты дают аминокислоты,
  - ферменты обладают высокой специфичностью.
-



# Ферменты могут быть простыми белками

- пепсин,
- трипсин,
- уреаза,
- ЛИЗОЦИМ.

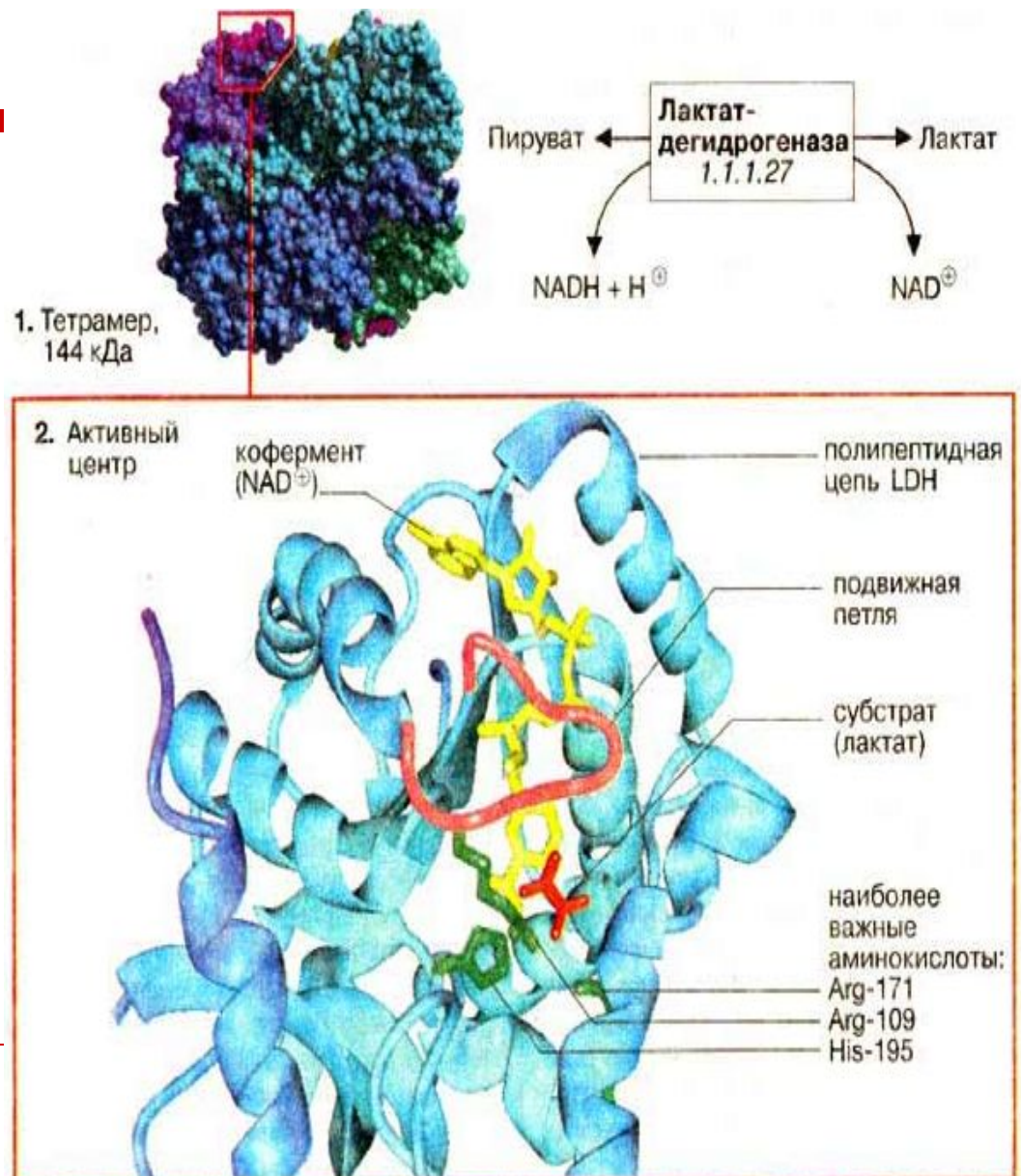




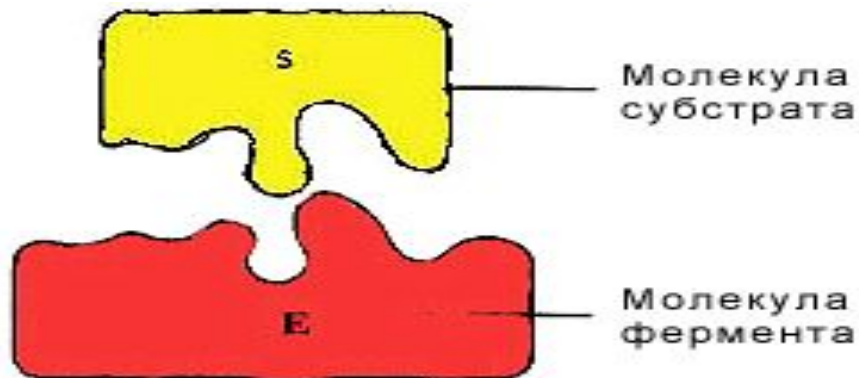
# Ферменты могут быть сложными белками

- ЛДГ,
- трансаминазы.

Сложные ферменты помимо белковой части содержат небелковую часть — кофермент.



действует фермент и которое им активируется.

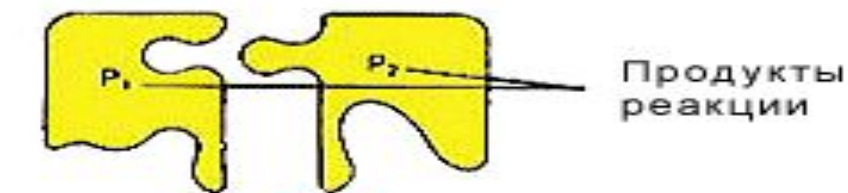


**I. Активация фермента**

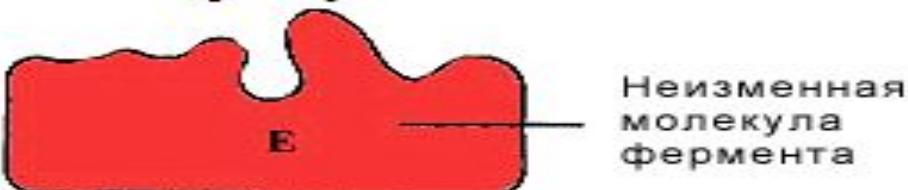
**II. Узнавание ферментом своего субстрата**



**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.**

# Активный центр фермента

---

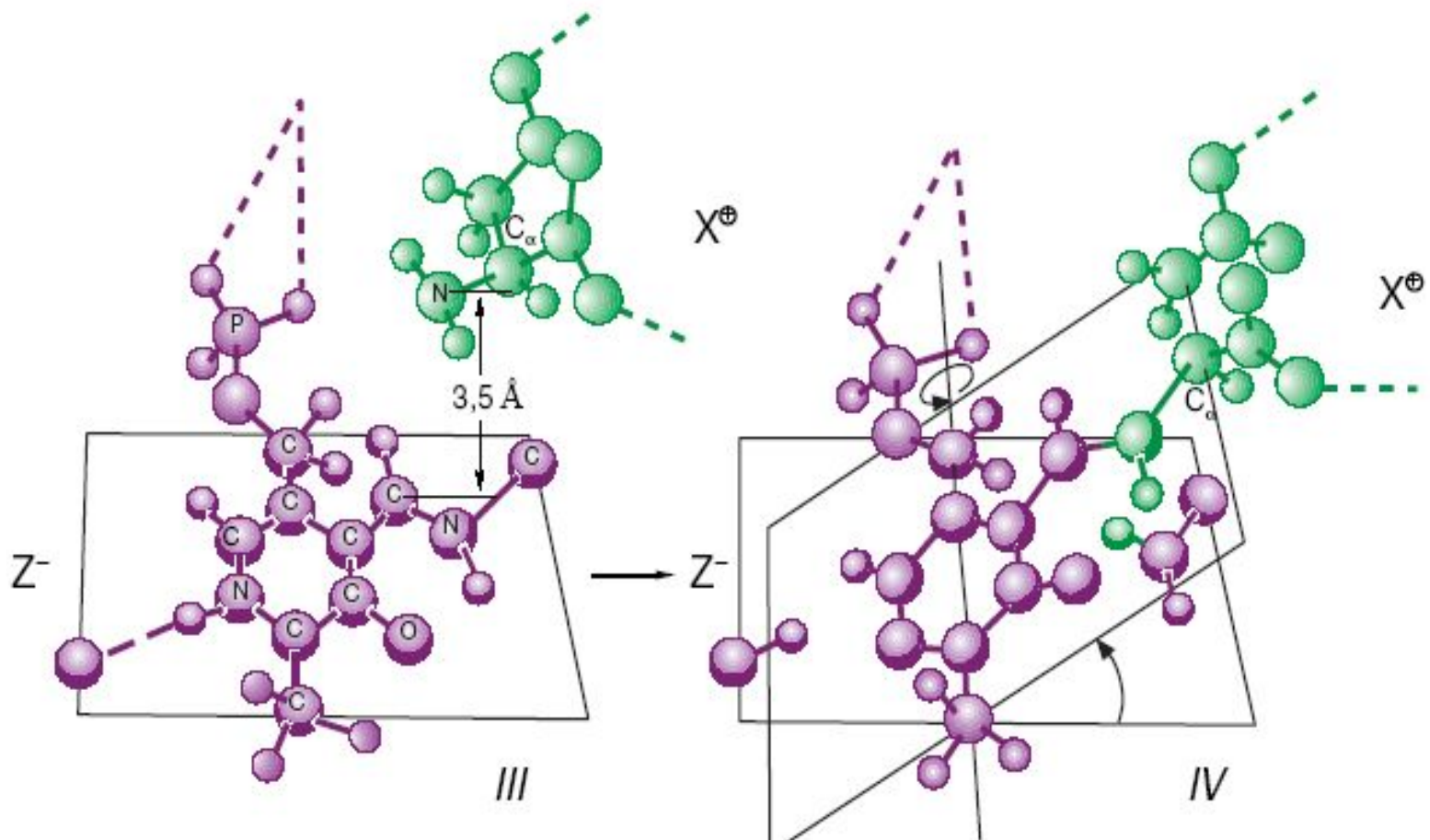
Активный центр фермента – несколько аминокислотных остатков, которые в ходе ферментативного катализа взаимодействуют с субстратом.

У сложных ферментов в активный центр входят и простетические группы (коферменты).

Для формирования активного центра имеют значение третичная и четвертичная структуры фермента, так как в активный центр входят аминокислоты, расположенные далеко друг от друга.

Наиболее часто в активный центр входят 3-5 аминокислот.

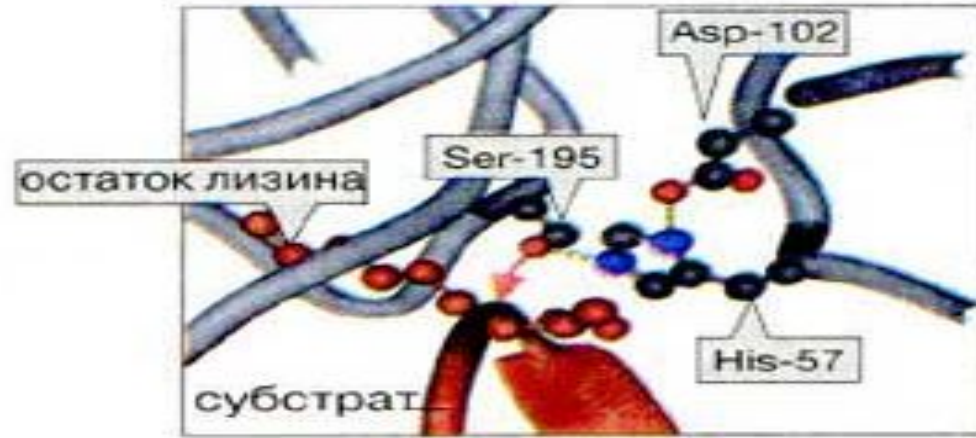
# Активный центр фермента





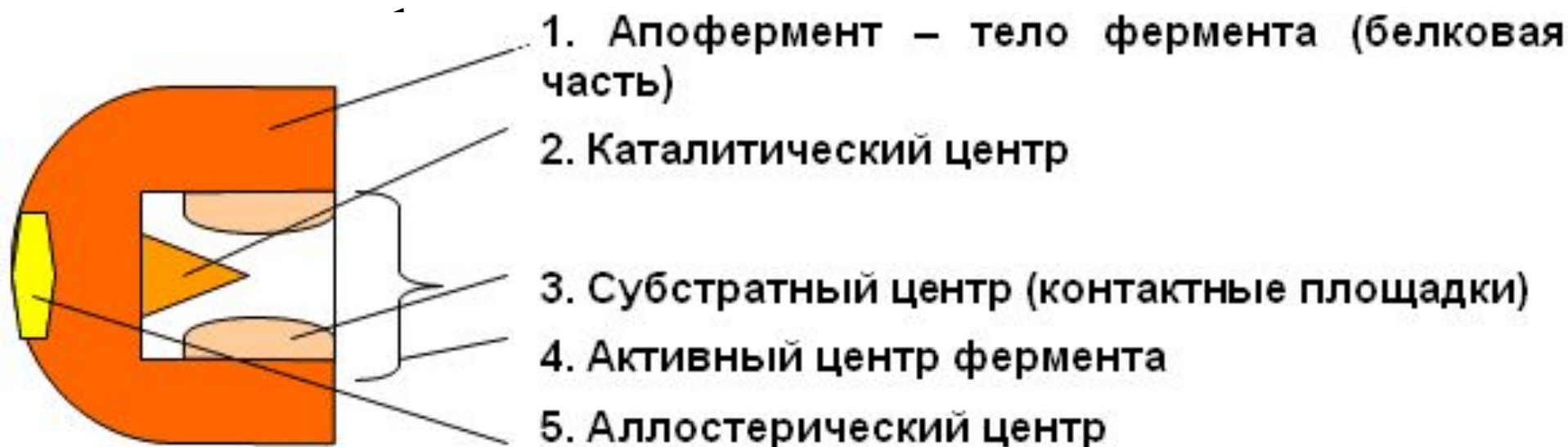
# Часто встречаются в активном центре

- гис, лиз, арг,
- асп, глу,
- сер, тир,
- цис.



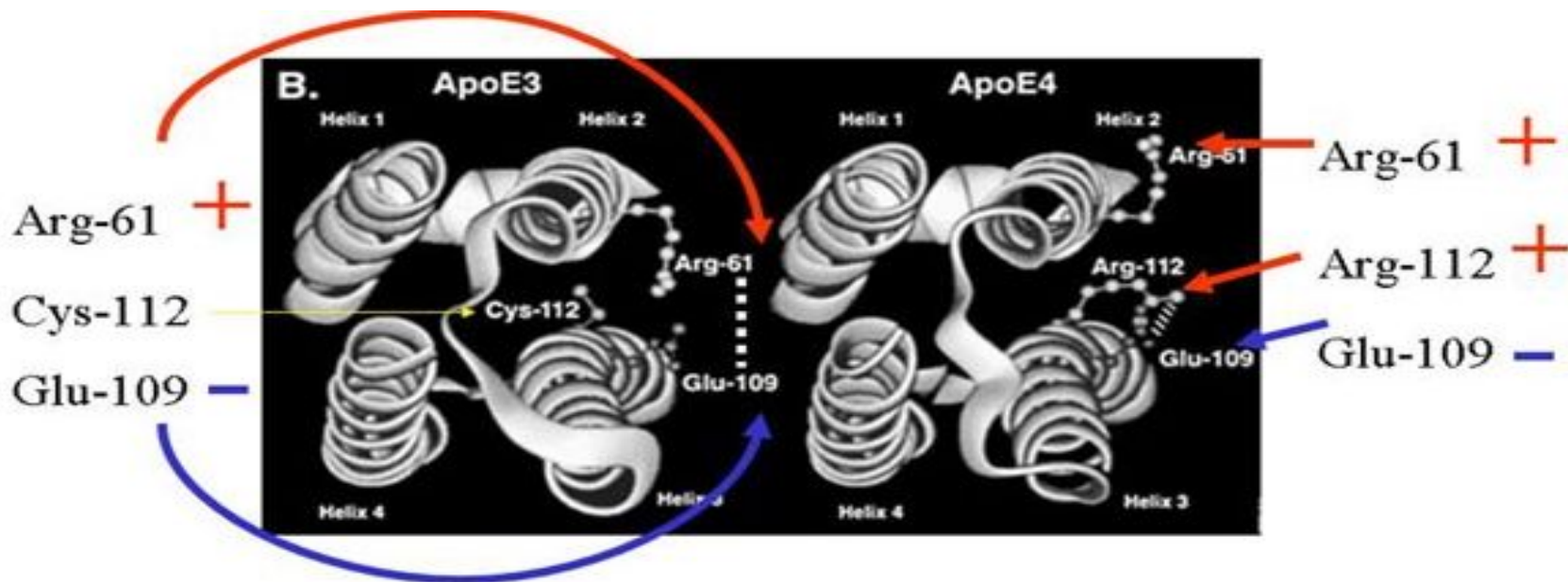
2. Трипсин: активный центр

Для проявления активности фермента необходимо



# Инактивация ферментов

Факторы, вызывающие денатурацию, вызывают потерю ферментативной активности, так как происходит разрыв дисульфидных связей, которые способствуют формированию третичной структуры.



Разрушение солевого мостика меняет взаимодействие субъединиц белка

# Отличия ферментов от неорганических катализаторов

---

- высокая молекулярная активность,
  - лабильность - ферменты действуют при относительно мягких условиях (t, рН, давление),
  - специфичность действия,
  - регуляция ферментов нейрогуморальным путём с участием других ферментов.
-



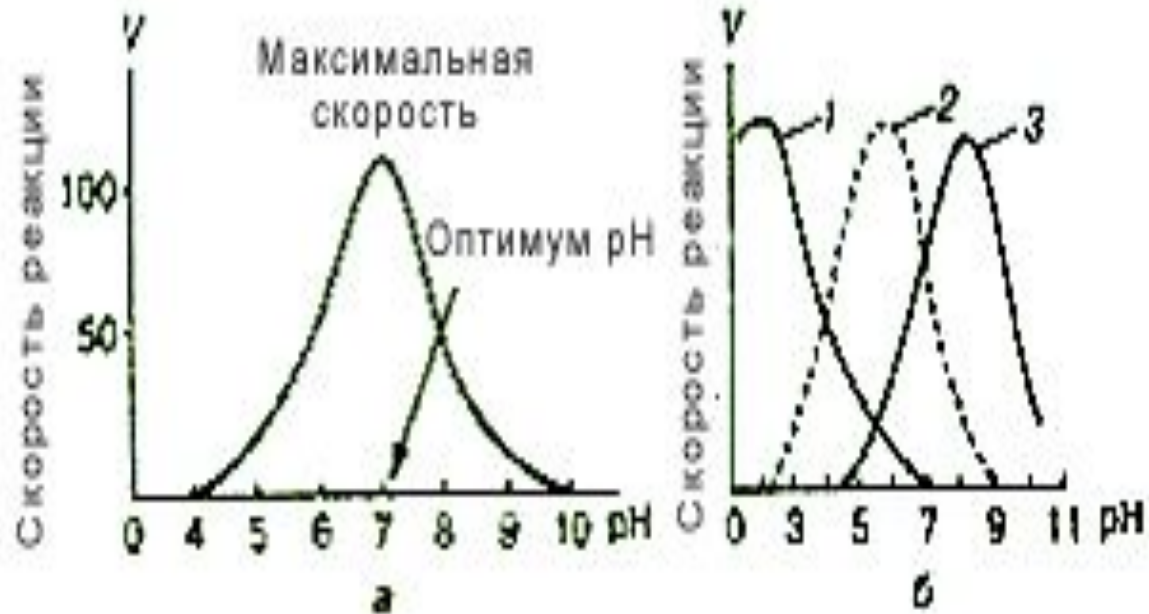
# Влияние температуры

---

- Термолабильность – чувствительность ферментов к температуре.
- При температуре  $60^{\circ}$  наступает денатурация.
- Миокиназа мышц выдерживает нагревание до  $100^{\circ}$ .
- Оптимум температуры  $37-40^{\circ}$  C.
- При температуре  $50^{\circ}$  снижается активность ферментов.
- Эффект температуры в отношении скорости реакции объясняется её влиянием на кинетическую энергию молекул.

# Влияние рН

---



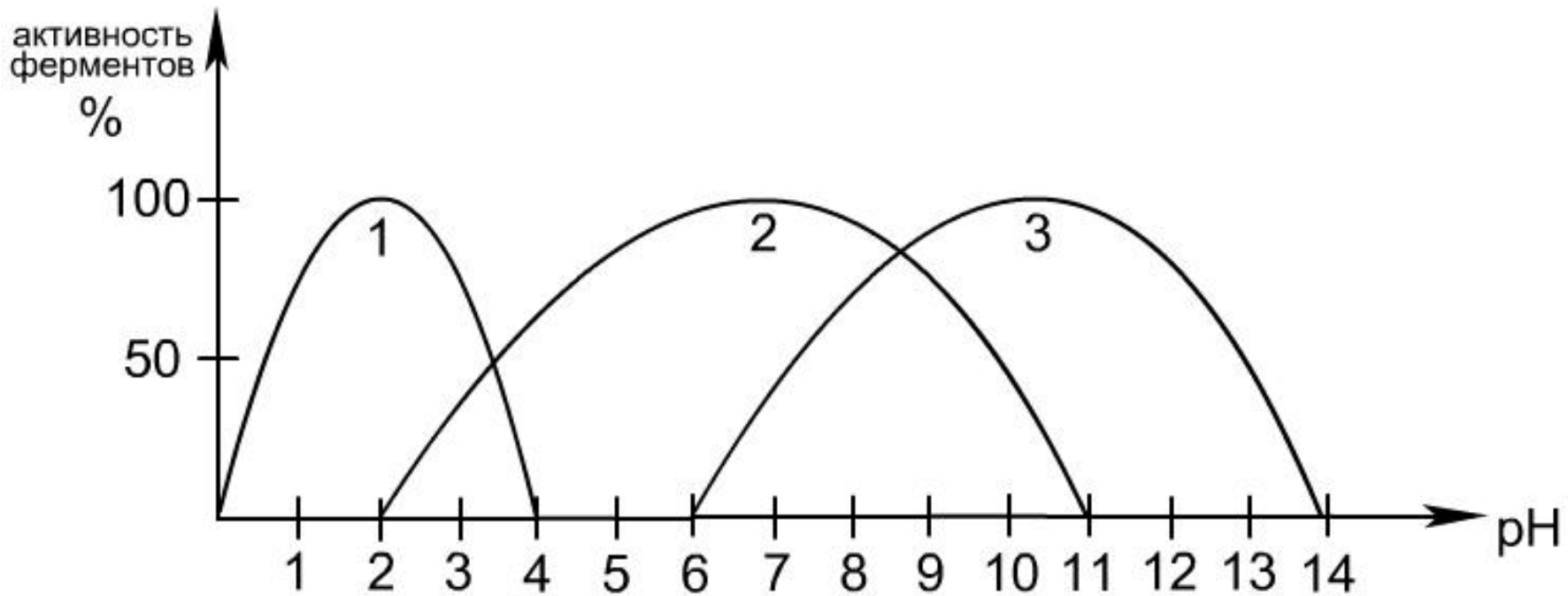
- на скорость реакции,
- на сродство фермента к субстрату,
- на стабильность фермента.

Ферменты активны в определённом интервале рН, имеют оптимум рН.

Изменение рН приводит к изменению степени ионизации ионогенных групп в активном центре фермента.

# Влияние pH

---



1 - Пепсин (pH=1.5-2)

2 - Амилаза слюны (pH=6.7-8)

3 - Аргиназа печени (pH=10)

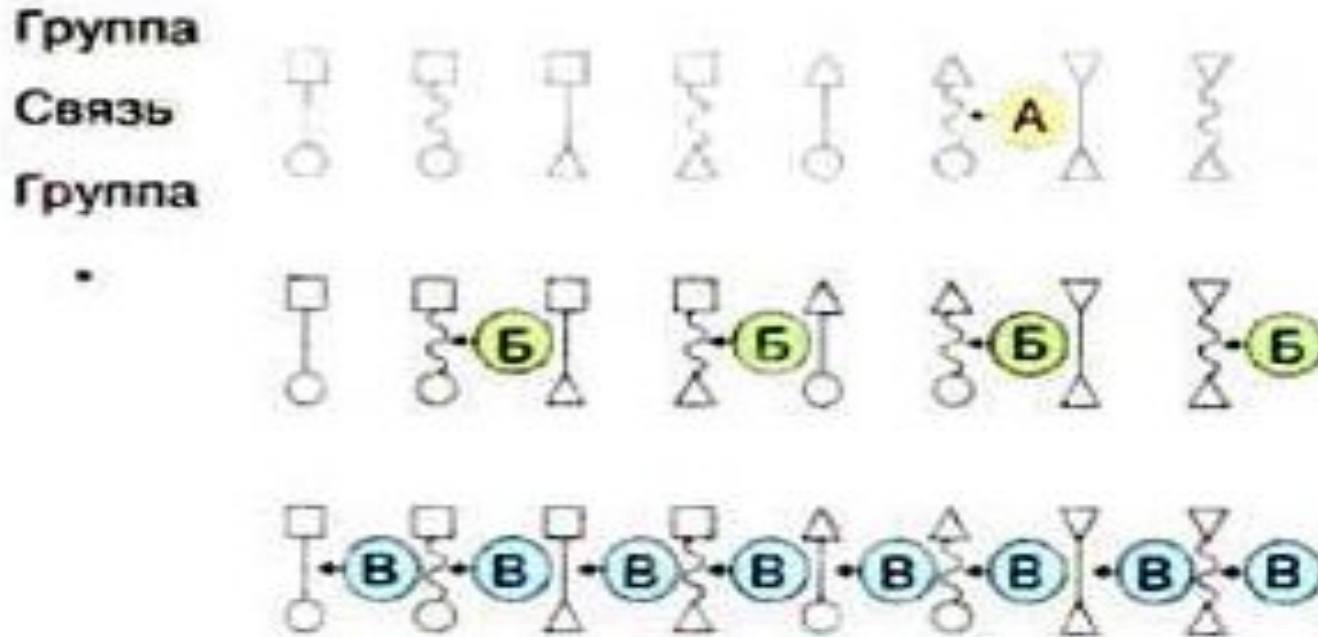
---

# Специфичность действия ферментов

---

- Каждый фермент действует строго на одно вещество или очень небольшое число близкородственных веществ.
  - Если бы ферменты не обладали специфичностью, их действие приводило бы к распаду клеточного материала.
  - Структура активного центра фермента комплементарна структуре его субстрата.
-

# Специфичность действия ферментов



	Реакционная специфичность	Субстратная специфичность
А	Высокая	Высокая
Б	Высокая	Низкая
В	Низкая	Низкая

**Реакционная и субстратная специфичность**

# Абсолютная специфичность

---

Фермент катализирует превращение только одного субстрата.

- уреаза,
  - аргиназа.
-

# Стереоспецифичность

---

- фермент катализирует превращение одного из стереоизомеров,
  - оксидазы L и D аминокислот.
-

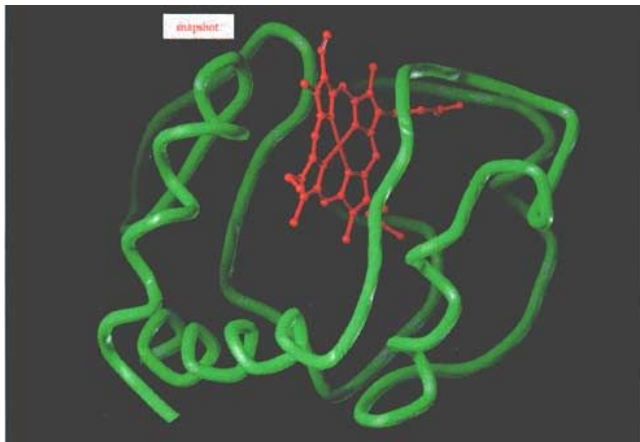


# Относительная специфичность

---

- Фермент действует на субстраты разных групп химических соединений.
- Специфичность по типу реакции.

Цитохром Р450.

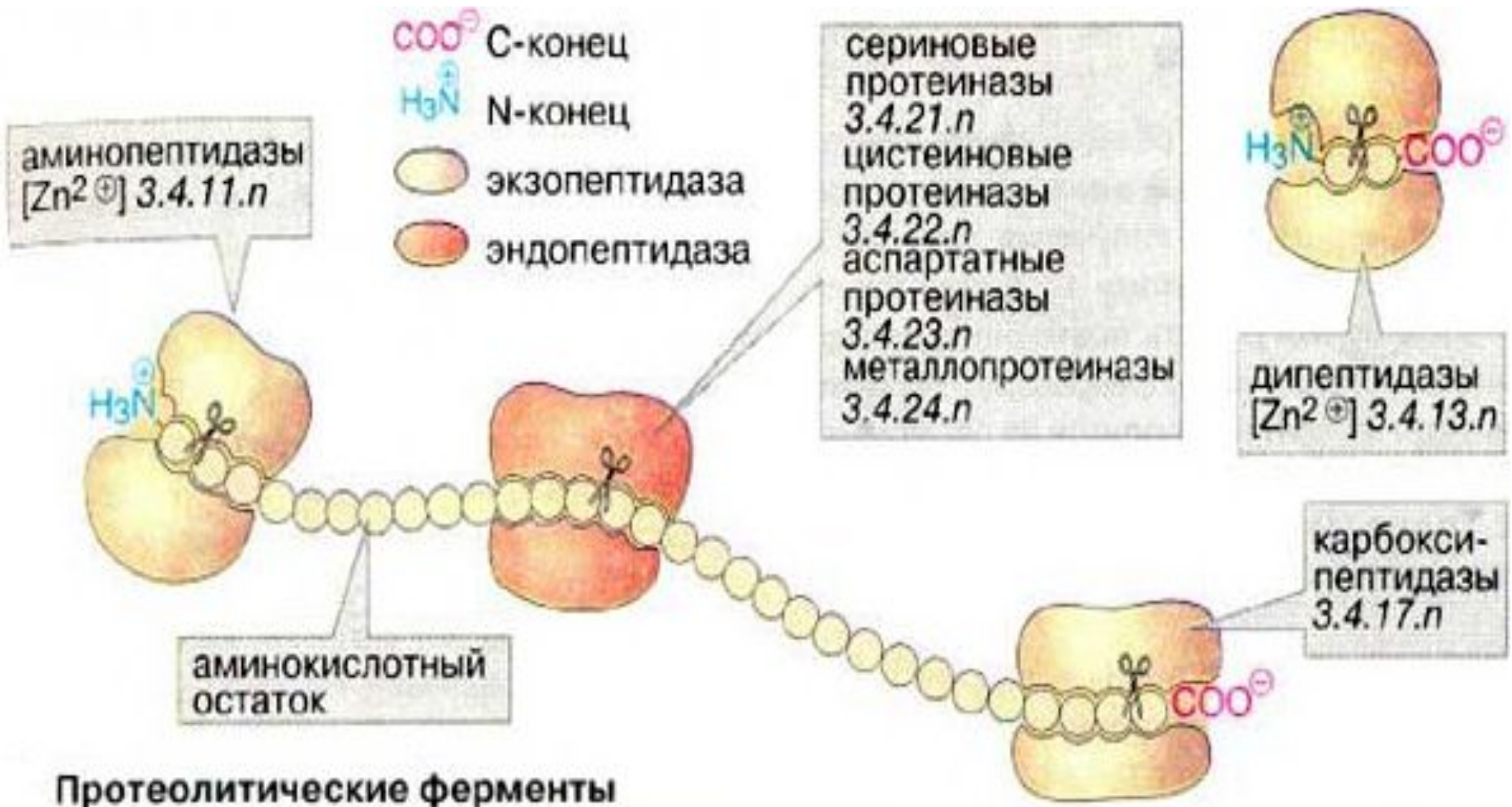


# Групповая специфичность

---

- Фермент действует на отдельные связи определённой группы субстратов.
  - Пепсин расщепляет связи, образованные аминогруппой тирозина или фенилаланина.
  - Трипсин гидролизует пептидные связи, в образовании которых принимают участие СООН-группы лиз и арг.
  - Химотрипсин гидролизует пептидные связи, в образовании которых участвуют СООН-группы ароматических АМК.
  - Эластаза гидролизует пептидные связи, в образовании которых участвуют СООН-группы гли, ала.
-

# Специфичность протеолитических ферментов



# Энзимопатология

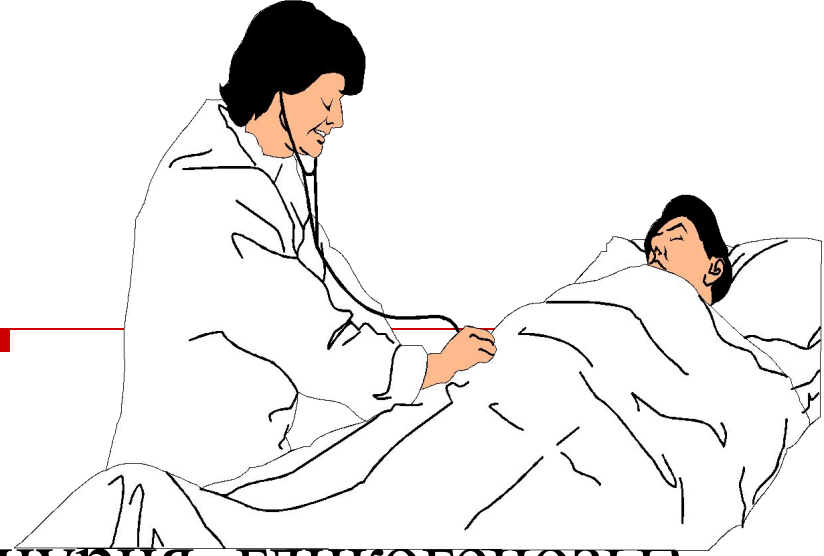
---

□ раздел медицины, изучающий заболевания, связанные с нарушением функционирования ферментов.



# Энзимопатии

---



- наследственные (фенилкетонурия, гликогенозы),
  - токсические (передозировка лекарств, воздействие токсинов инфекционных агентов),
  - алиментарные (при недостаточном поступлении в организм витаминов, микроэлементов),
  - из-за нарушения организации ферментных процессов в клетке (нарушение кровоснабжения тканей).
-

# Изоферменты-

множественные молекулярные формы фермента данной особи, катализирующие одну и ту же реакцию, но разделяющиеся при помощи физико-химических методов, так как отличаются по физико-химическим свойствам:

- электрофоретические свойства,
- адсорбционные свойства,
- оптимум pH,
- термостабильность,
- чувствительность к ингибиторам,
- сродство к субстрату,
- небольшие различия в первичной структуре.

# Методы для выделения изоферментов

---

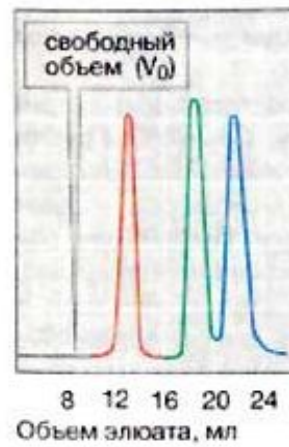
- электрофорез,
  - ионообменная хроматография,
  - гельфильтрация,
  - избирательная адсорбция,
  - иммунохимический метод.
-



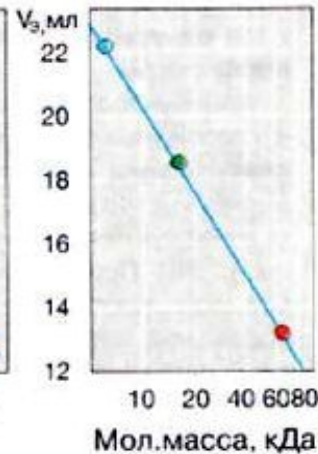
# Методы для выделения изоферментов



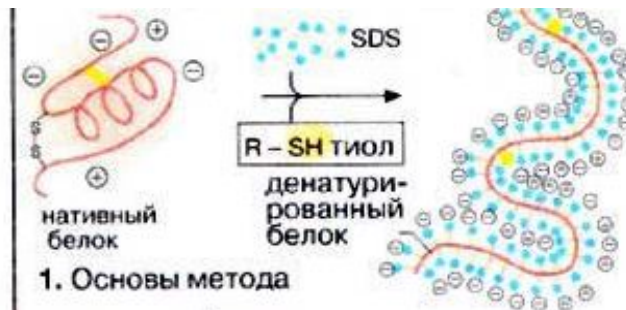
1. Основы метода



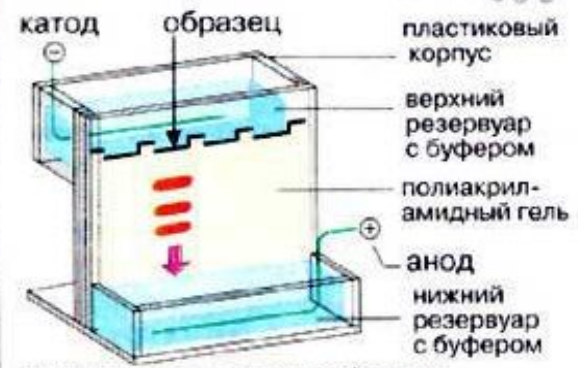
2. График элюирования  
В. Гель-фильтрация



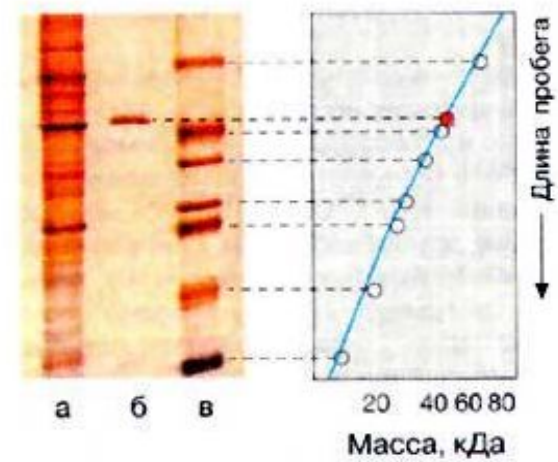
3. Определение мол. массы



1. Основы метода



2. Камера для электрофореза



3. Окрашенный гель  
Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ  
4. Определение мол. массы

# Изоферменты

---

- Генетически детерминированные изоферменты возникают в результате множественности аллелей в одном локусе.
  - Посттрансляционные (вторичные) изоферменты возникают в результате химической модификации исходного фермента или его частичного протеолиза.
-

# Применение изоферментов

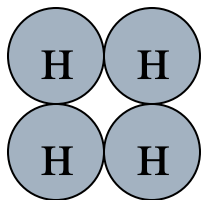
---

- С помощью изоферментного анализа удаётся выявить небольшие мутации.
  - Изоферменты изменяются в процессе развития и дифференцировки (в печени эмбриона – ГК1, а в печени взрослого – ГК3 и ГК4).
  - Изоферменты играют роль в регуляции метаболизма.
-

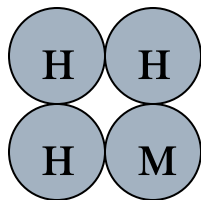
# ЛДГ

---

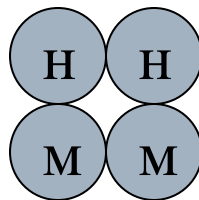
- Ткани человека продуцируют 2 электрофоретически различающихся субъединицы ЛДГ: Н и М.
- Так как ЛДГ – фермент-тетрамер, то образуется 5 изоферментов.



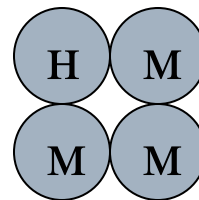
ЛДГ<sub>1</sub>



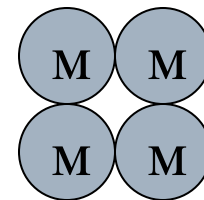
ЛДГ<sub>2</sub>



ЛДГ<sub>3</sub>



ЛДГ<sub>4</sub>

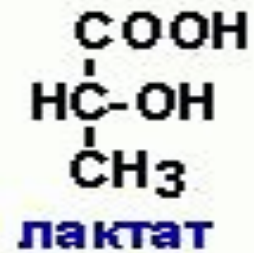
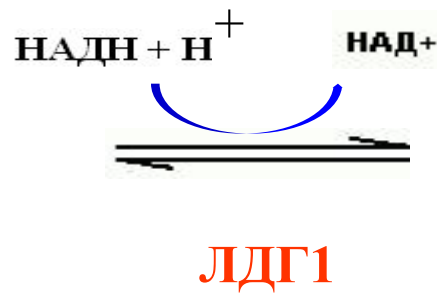


ЛДГ<sub>5</sub>

---

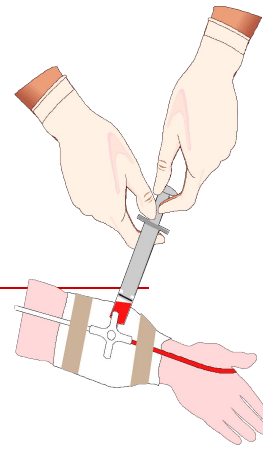






- ЛДГ5 катализирует образование лактата, а ЛДГ1 – её утилизацию.
- В тканях с высоким уровнем аэробного обмена (сердце) содержится ЛДГ1.

# Определение изоферментов сыворотке крови для диагностики



- При инфаркте миокарда в крови повышается активность ЛДГ1, а при патологии печени – ЛДГ5 и ЛДГ4.
- В опухолевых тканях повышается ЛДГ5 и уменьшается ЛДГ1, возможен эмбриональный изоферментный спектр.
- При детском церебральном параличе повышается ЛДГ5 и ЛДГ4, уменьшается ЛДГ1, ЛДГ2, МДГ1, МДГ2, повышается МДГ4.

# Мультиферментные комплексы

---

- ряд ферментов многоэтапного биохимического процесса: действие одного фермента – необходимый этап для действия другого.
  - Продукт действия одного фермента становится субстратом для следующего.
-



# Мультиферментные комплексы

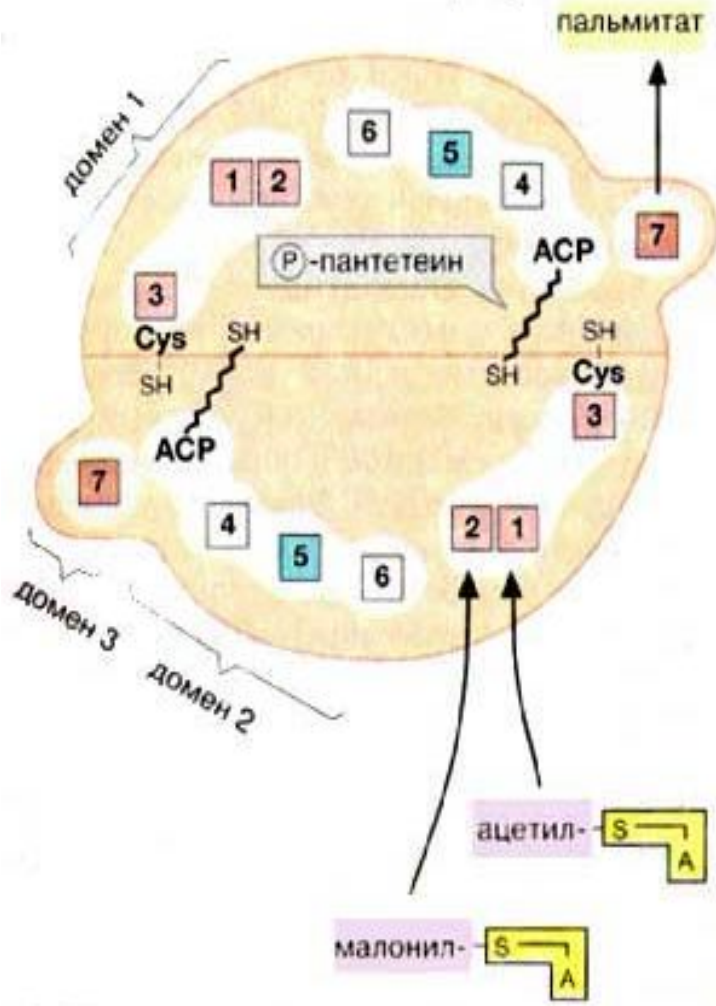
---

- синтетаза жирных кислот,
  - пируватДГ комплекс,
  - дыхательная цепь,
  - ферменты гликолиза.
-

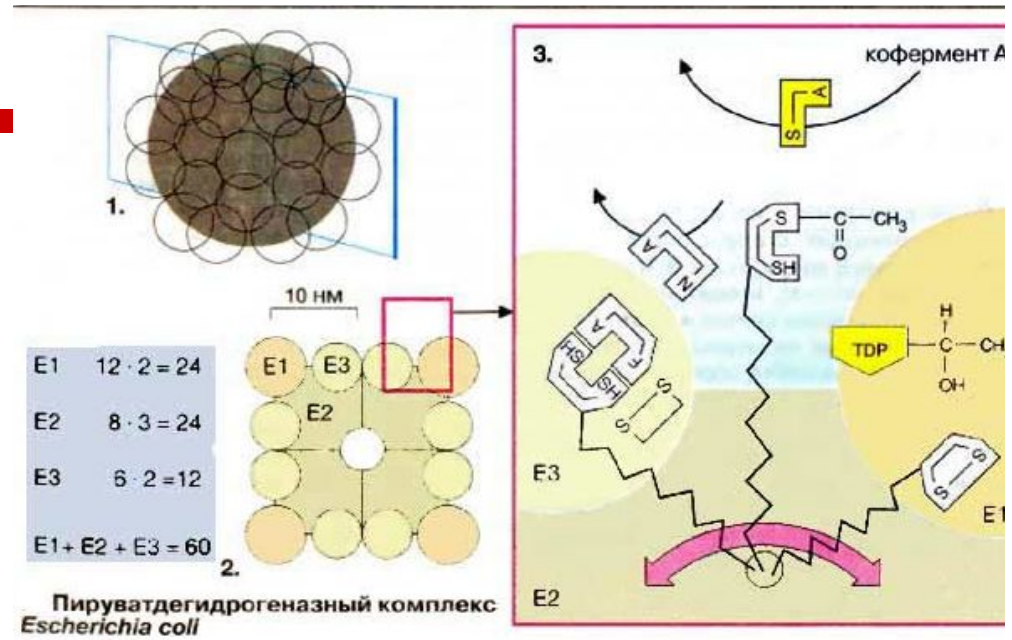
# Мультиферментные комплексы

## синтетаза жирных кислот

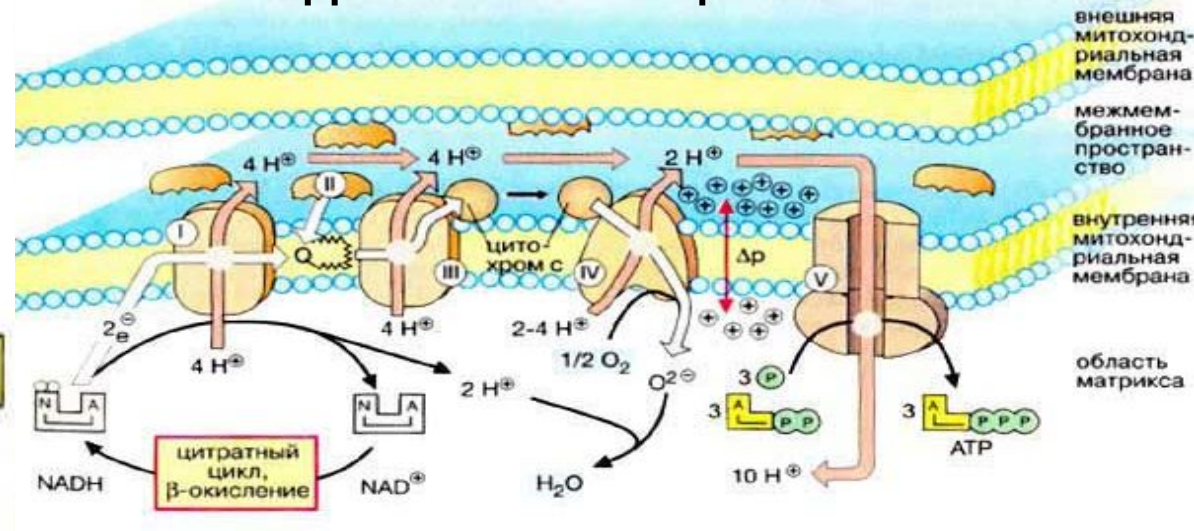
- 1 присоединение субстратов к АСР
- 2 удлинение цепи
- 3 восстановление
- 4 восстановление
- 5 отщепление воды
- 6 восстановление
- 7 высвобождение продукта



## пируватДГ комплекс



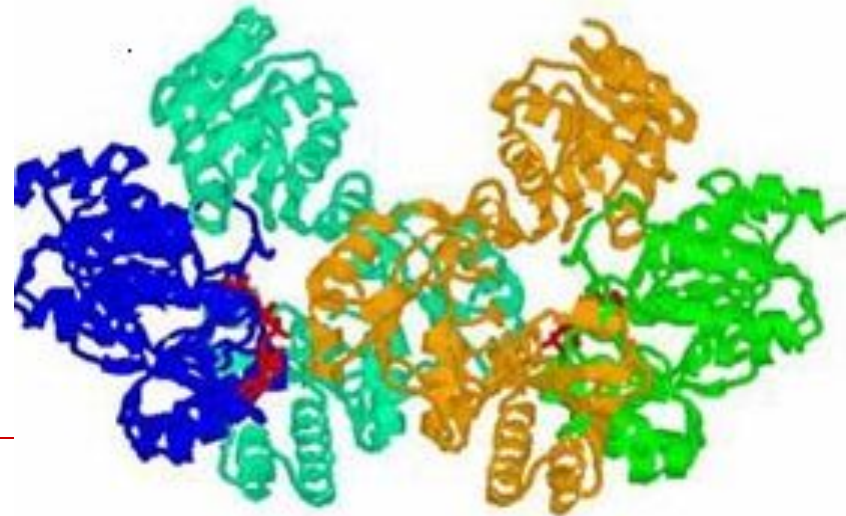
## дыхательная цепь



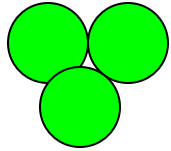
# Строение

---

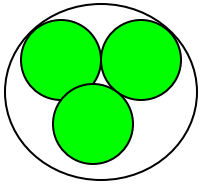
- Чаще ферменты построены из двух или более полипептидов, каждый из которых уложен в отдельную глобулу.



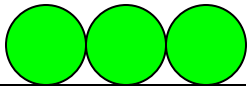
# Надмолекулярная организация ферментов



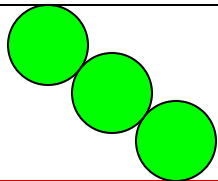
Мультиферментный комплекс



Мультиферментный конъюгат



Ферментный ансамбль



Интегральный мультиферментный ансамбль