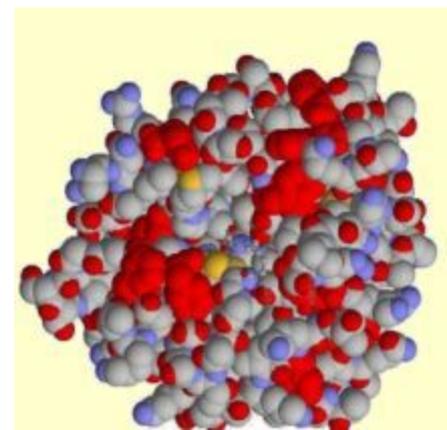
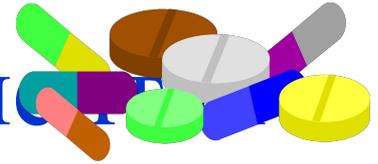


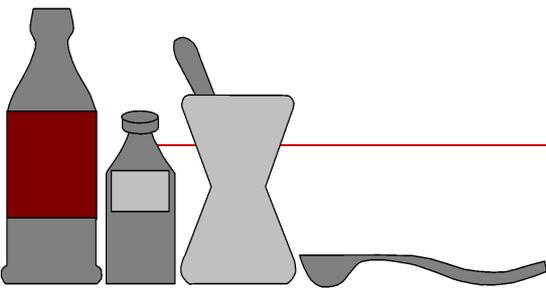
Структура и общие свойства ферментов



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



Lactobacillus



Propionibacterium



Streptococcus
10 мкм



DNA

клеточная стенка

Инженерная энзимология

- Имобилизованная β -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 B₁₂, 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.

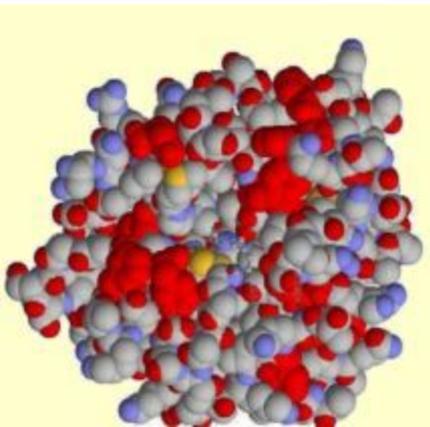


Доказательства белковой природы ферментов

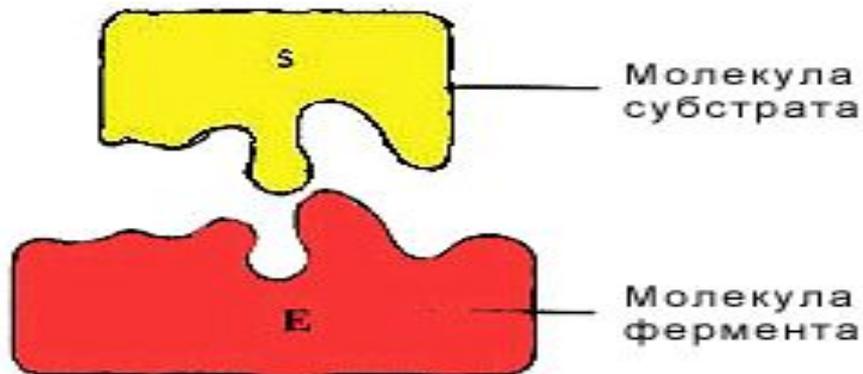
- все выделенные ферменты – белки,
 - методы получения ферментов и белков одинаковы,
 - факторы, вызывающие денатурацию белка, вызывают инактивацию ферментов,
 - при гидролизе ферменты дают аминокислоты,
 - ферменты обладают высокой специфичностью.
-

Ферменты могут быть простыми белками

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



действует фермент и которое им активируется.

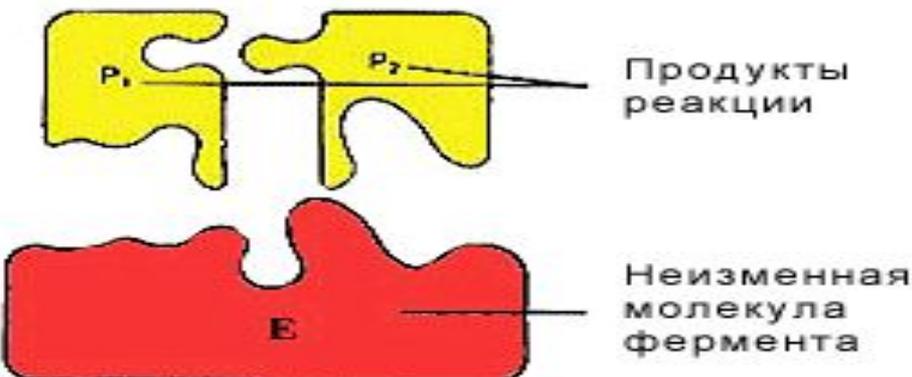


I. Активация фермента

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

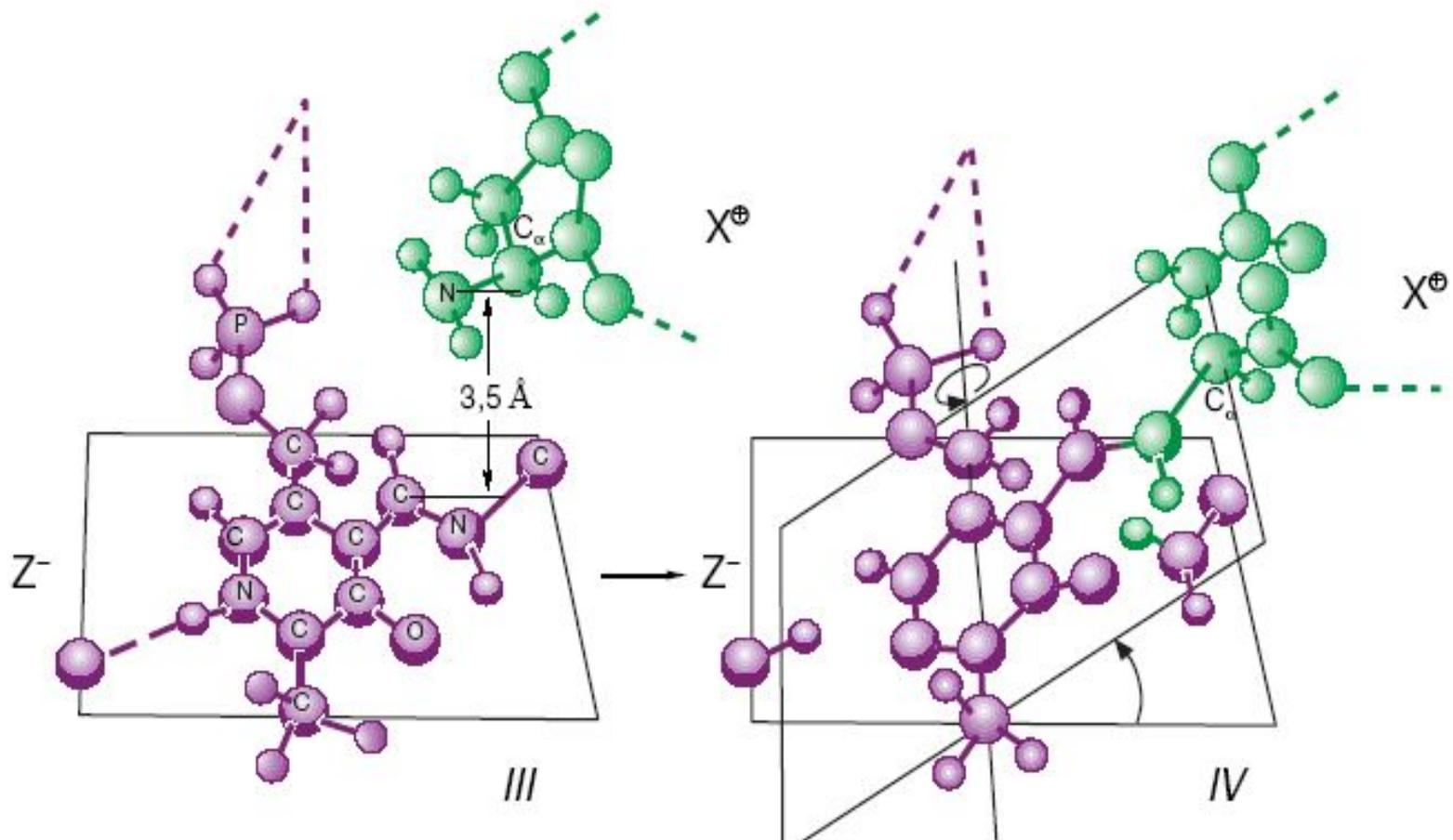
Активный центр фермента – несколько аминокислотных остатков, которые в ходе ферментативного катализа взаимодействуют с субстратом.

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.

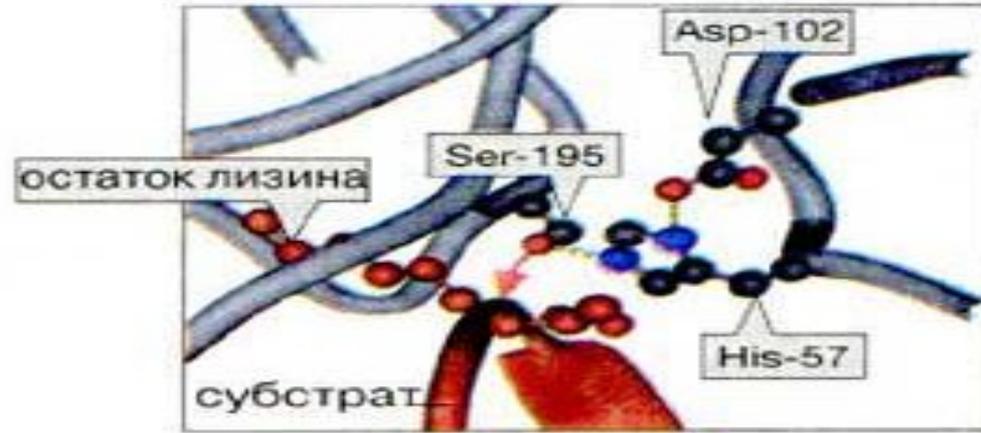
Наиболее часто в активный центр входят 3-5 аминокислот.

Активный центр фермента



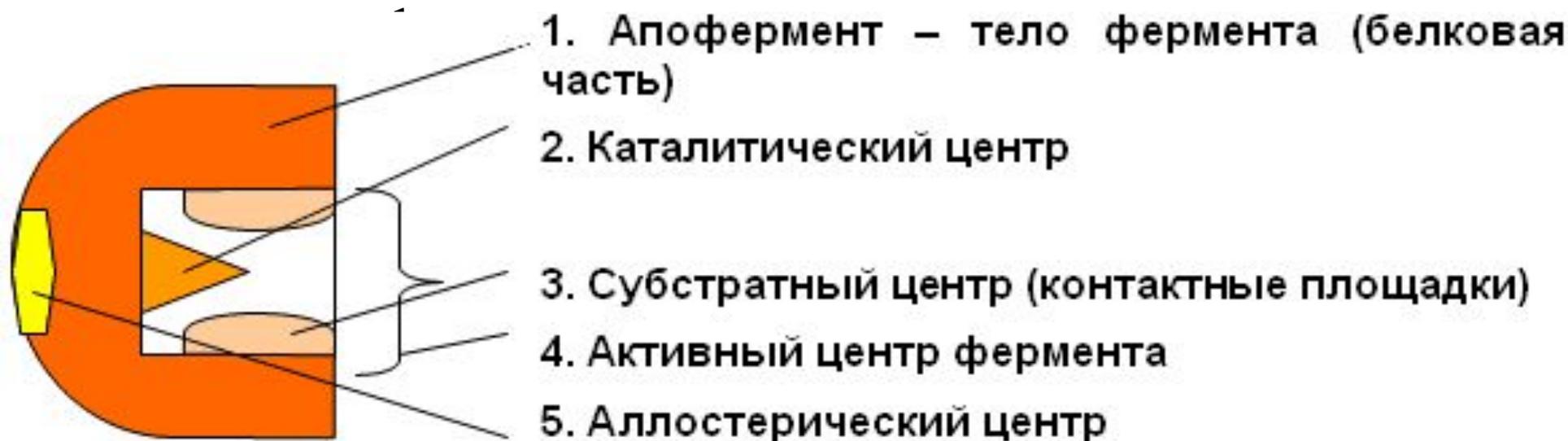
Часто встречаются в активном центре

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



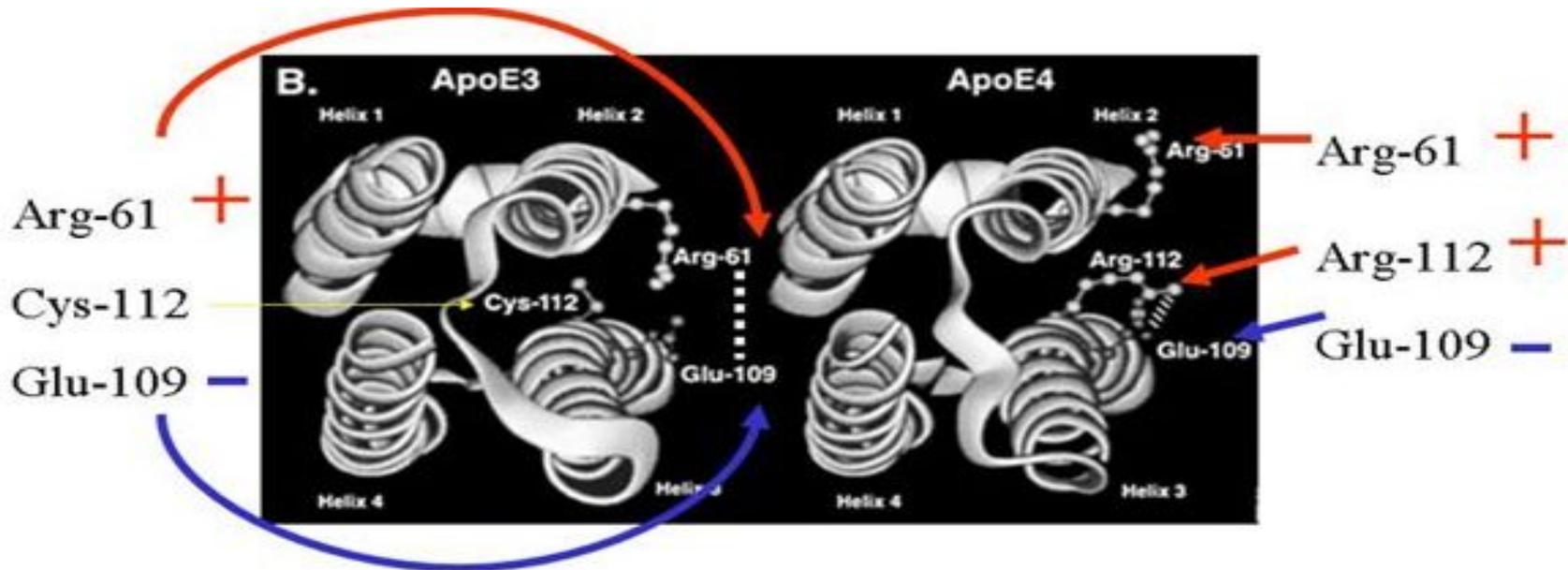
2. Трипсин: активный центр

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

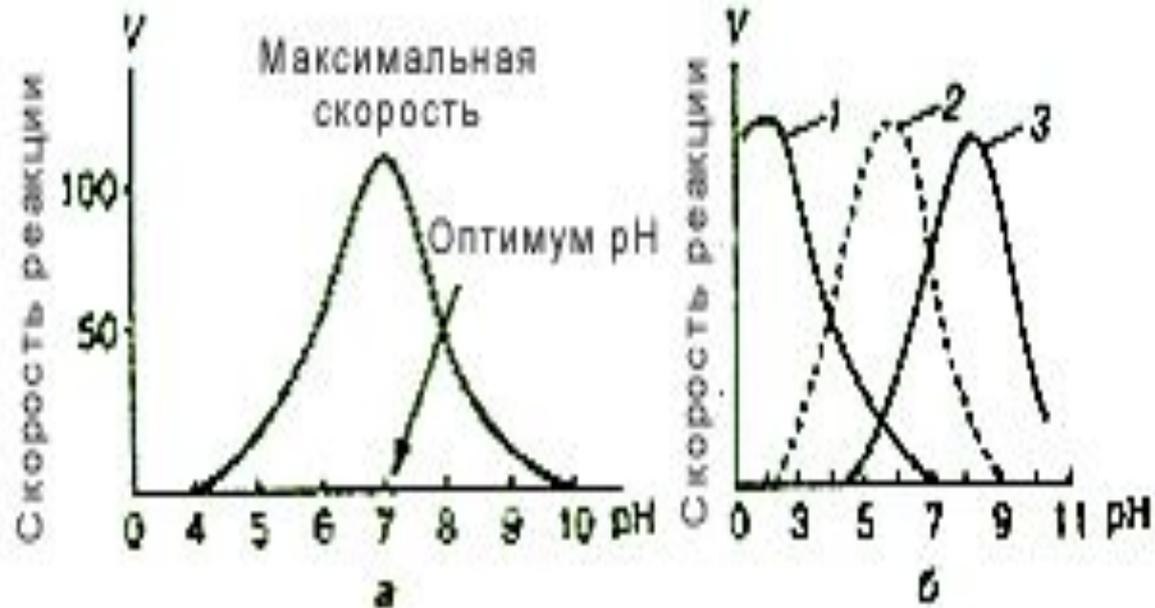
Отличия ферментов от неорганических катализаторов

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

Влияние pH

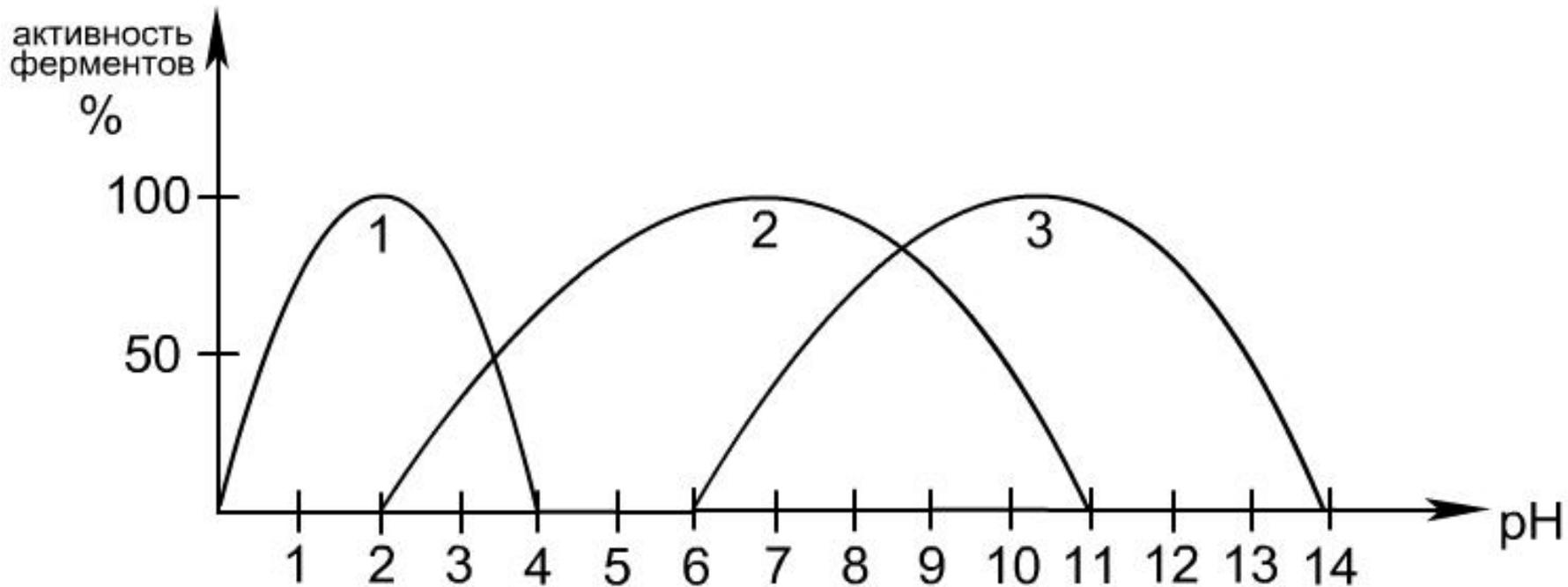


- на скорость реакции,
- на сродство фермента к субстрату,
- на стабильность фермента.

Ферменты активны в определённом интервале pH, имеют оптимум pH.

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

Влияние pH



1 - Пепсин (pH=1.5-2)

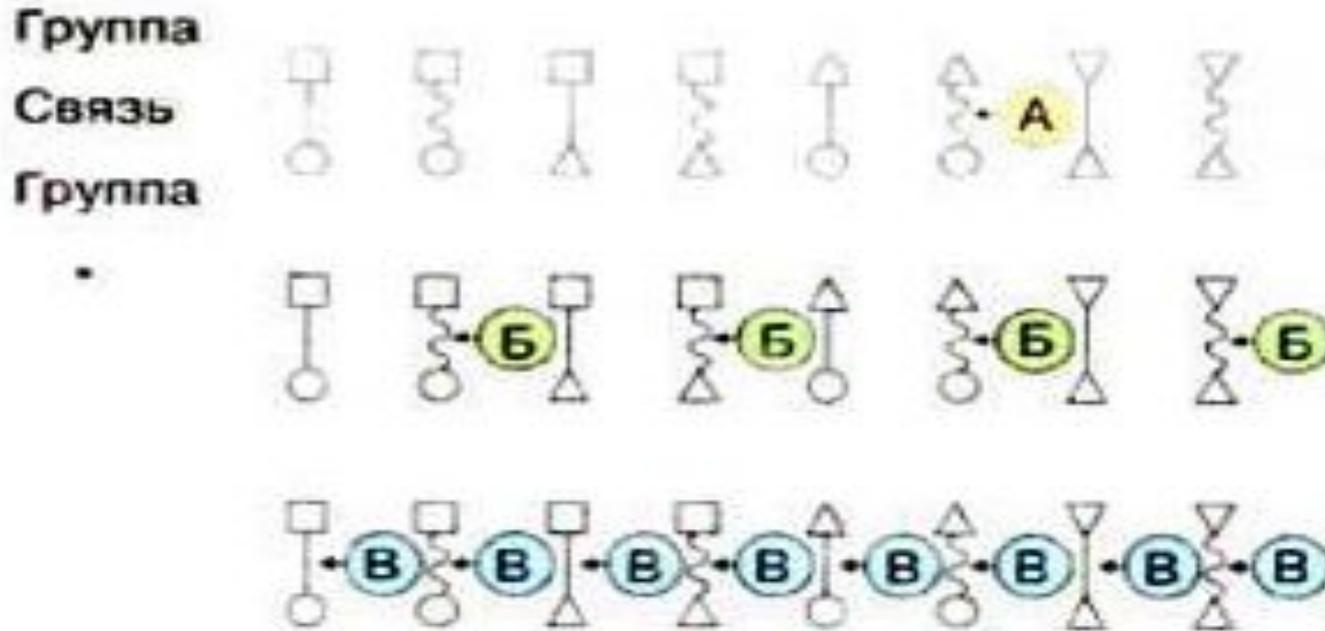
2 - Амилаза слюны (pH=6.7-8)

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
Ⓐ	Высокая	Высокая
Ⓑ	Высокая	Низкая
Ⓒ	Низкая	Низкая

Реакционная и субстратная специфичность

Абсолютная специфичность

Фермент катализирует превращение только одного субстрата.

- уреаза,
 - аргиназа.
-

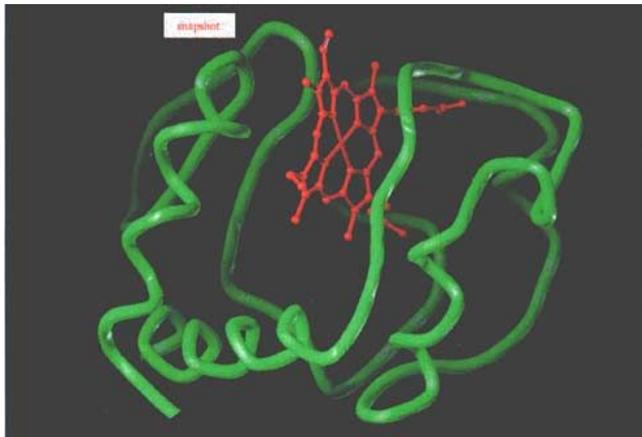
Стереоспецифичность

- 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 аминок группой 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.
-

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-

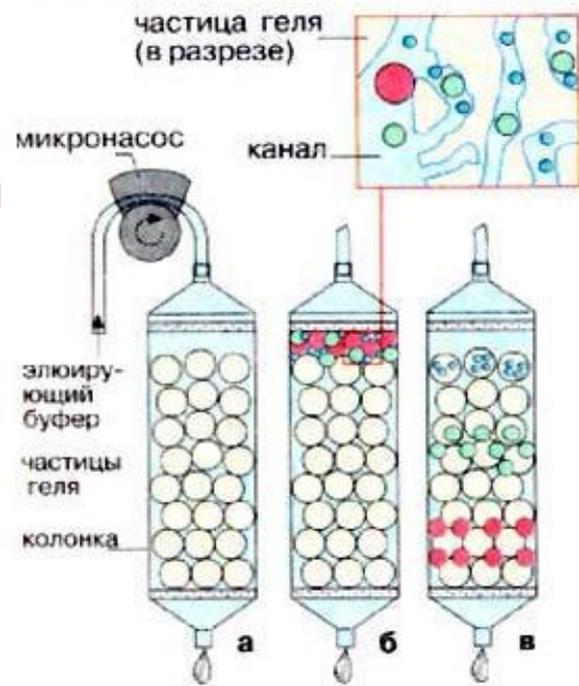
множественные молекулярные формы фермента данной особи, катализирующие одну и ту же реакцию, но разделяющиеся при помощи физико-химических методов, так как отличаются по физико-химическим свойствам:

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

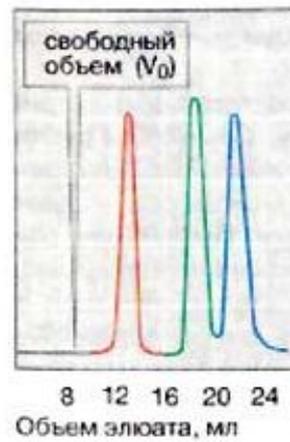
Методы для выделения изоферментов

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

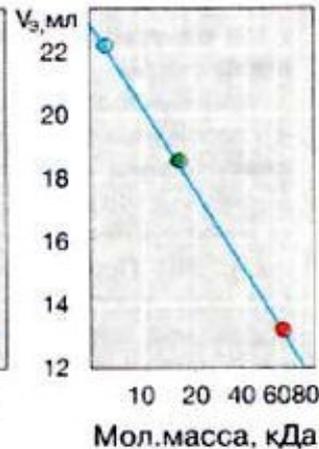
Методы для выделения изоферментов



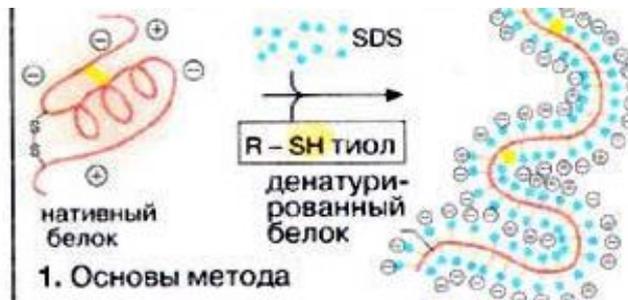
1. Основы метода



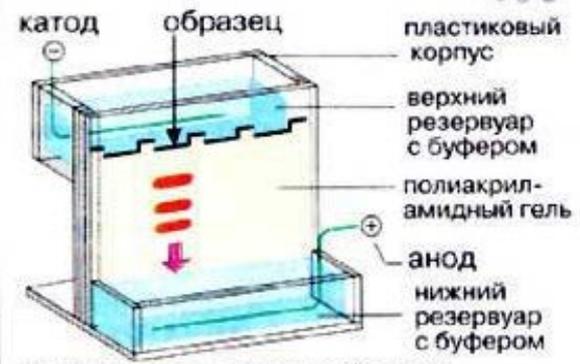
2. График элюирования
В. Гель-фильтрация



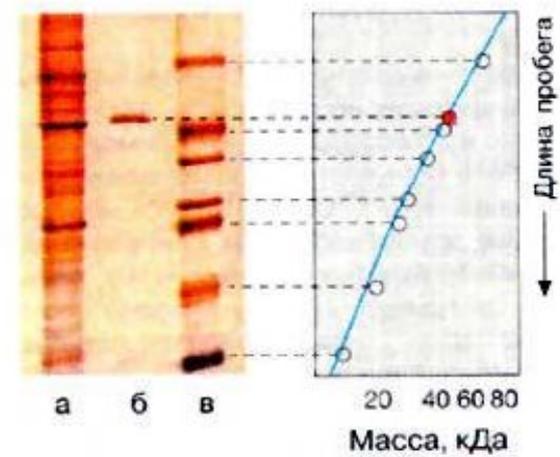
3. Определение мол. массы



1. Основы метода



2. Камера для электрофореза



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

Изоферменты

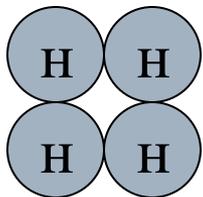
- Генетически детерминированные изоферменты возникают в результате множественности аллелей в одном локусе.
 - Посттрансляционные (вторичные) изоферменты возникают в результате химической модификации исходного фермента или его частичного протеолиза.
-

Применение изоферментов

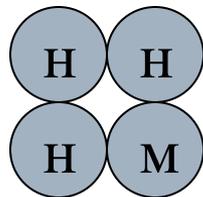
- С помощью изоферментного анализа удаётся выявить небольшие мутации.
 - Изоферменты изменяются в процессе развития и дифференцировки (в печени эмбриона – ГК1, а в печени взрослого – ГК3 и ГК4).
 - Изоферменты играют роль в регуляции метаболизма.
-

ЛДГ

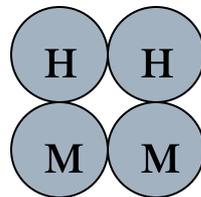
- Ткани человека продуцируют 2 электрофоретически различающихся субъединицы ЛДГ: Н и М.
- Так как ЛДГ – фермент-тетрамер, то образуется 5 изоферментов.



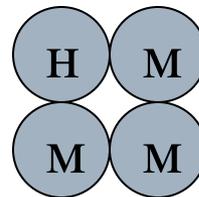
ЛДГ₁



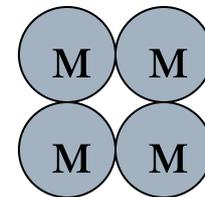
ЛДГ₂



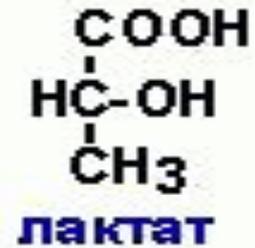
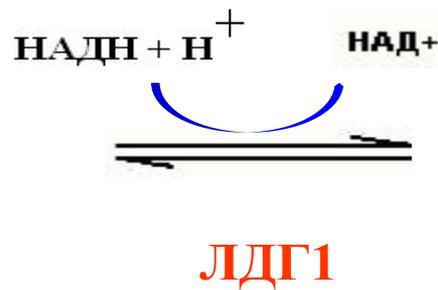
ЛДГ₃



ЛДГ₄

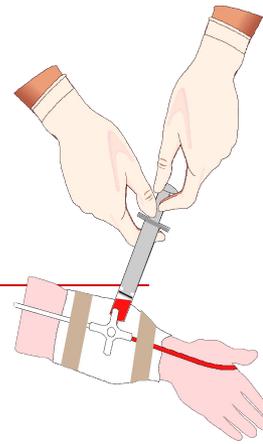


ЛДГ₅



- 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.
-

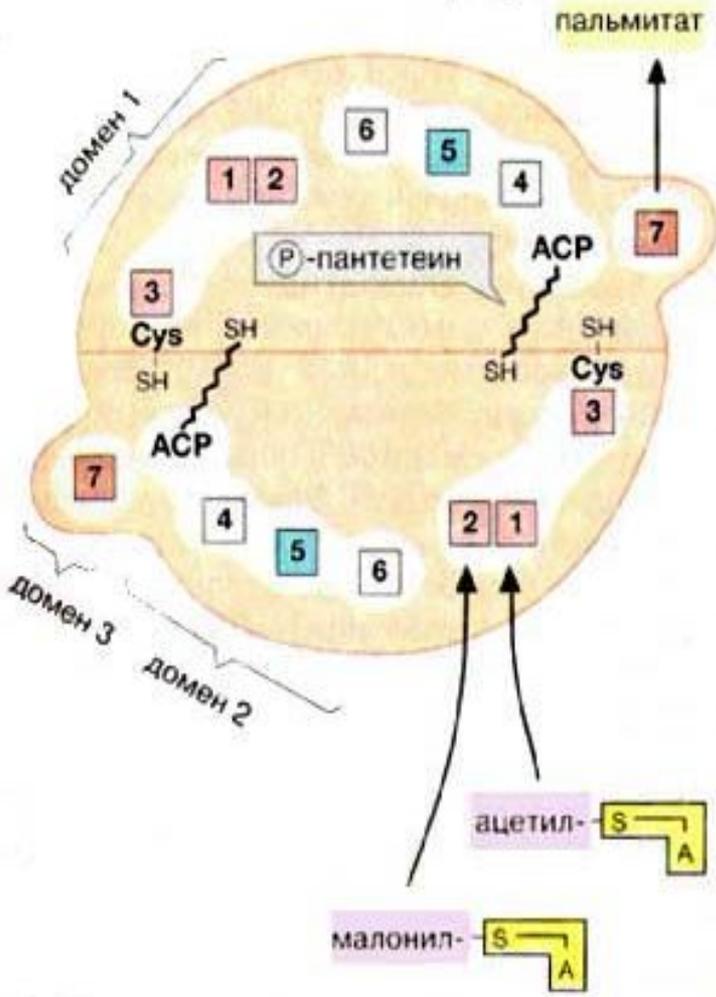
Мультиферментные комплексы

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

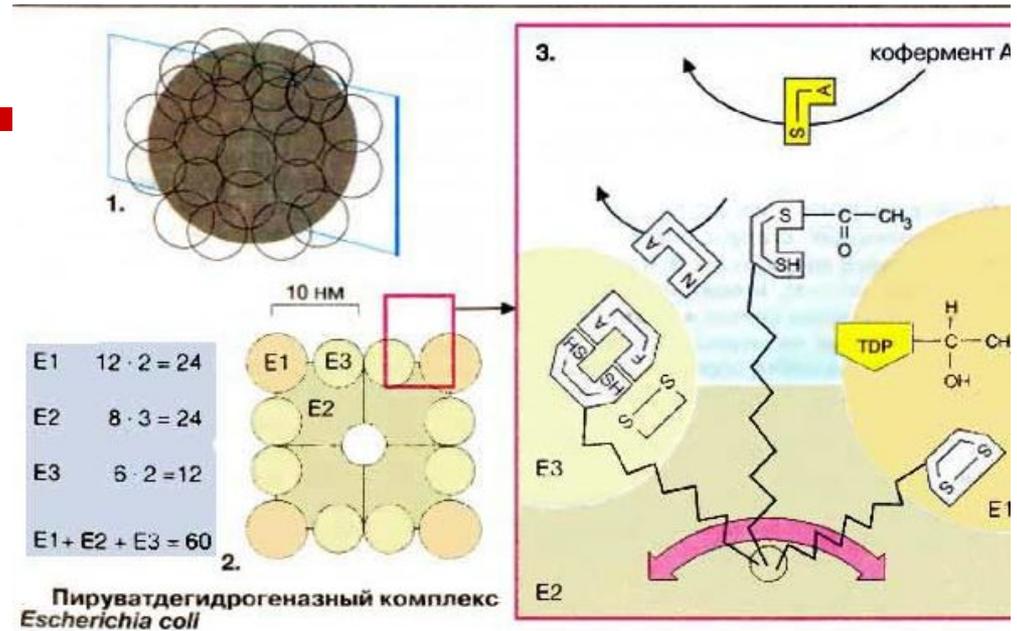
Мультиферментные комплексы

синтетаза жирных кислот

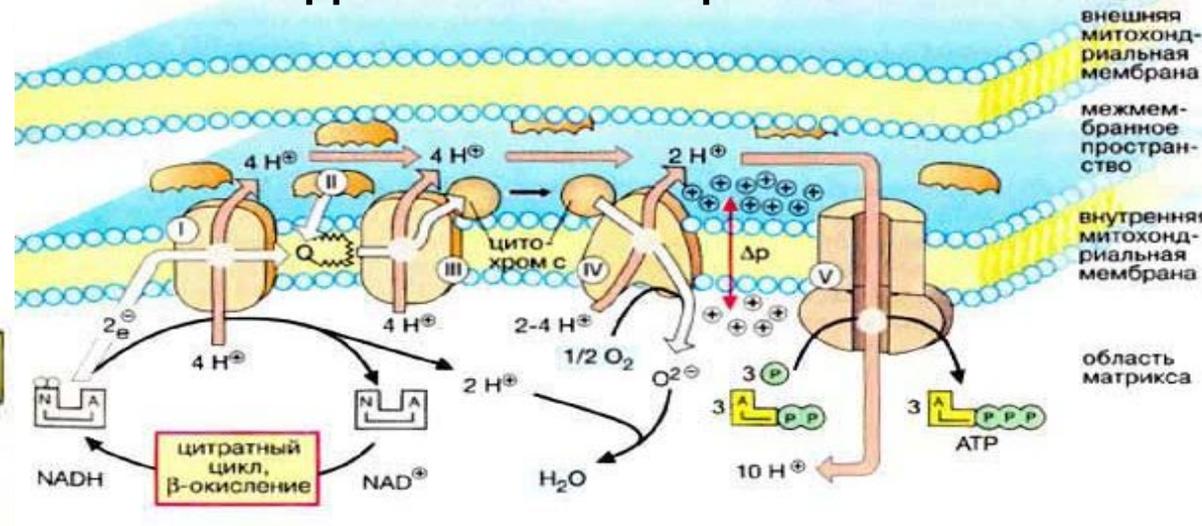
- 1 присоединение субстратов к АСР
- 2 удлинение цепи
- 3 восстановление
- 4 восстановление
- 5 отщепление воды
- 6 восстановление
- 7 высвобождение продукта



пируватДГ комплекс

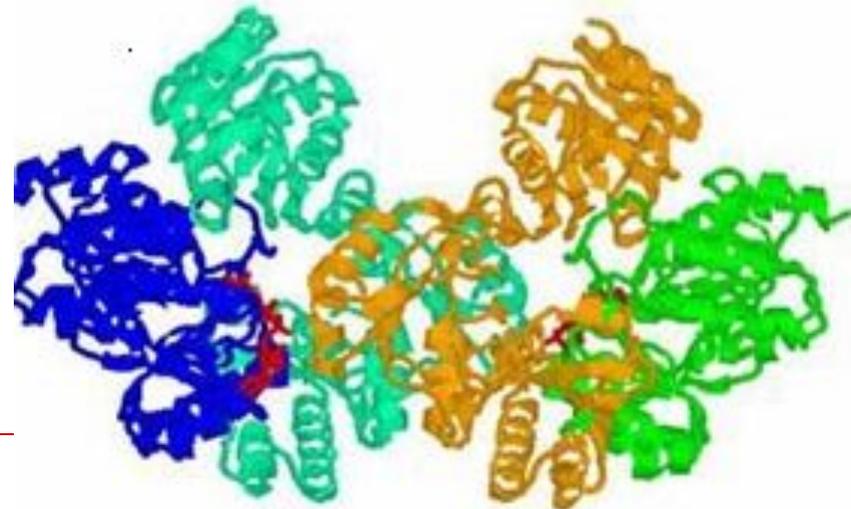


дыхательная цепь

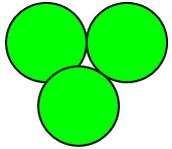


Строение

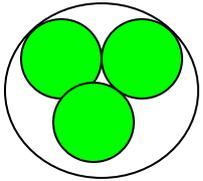
- Чаще ферменты построены из двух или более полипептидов, каждый из которых уложен в отдельную глобулу.



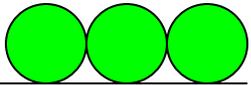
Надмолекулярная организация ферментов



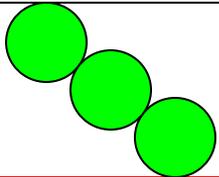
Мультиферментный комплекс



Мультиферментный конъюгат



Ферментный ансамбль



Интегральный мультиферментный ансамбль