

Строение и свойства ферментов

Ферментами называют биологические катализаторы, построенные из белков, способные высокоизбирательно реагировать с веществами и ускорять их превращения в другие вещества.



Строение ферментов

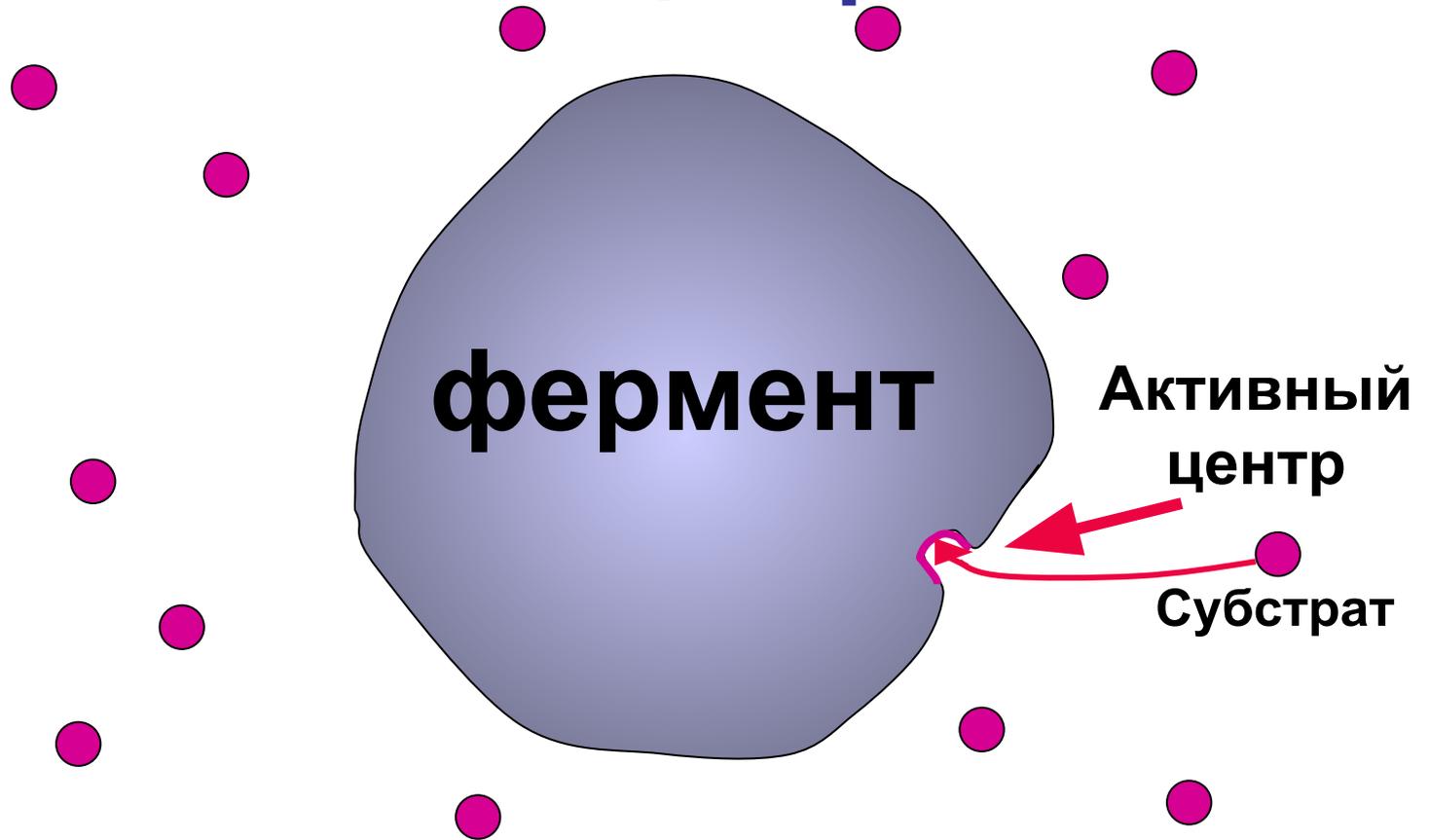
простые белки

сложные белки

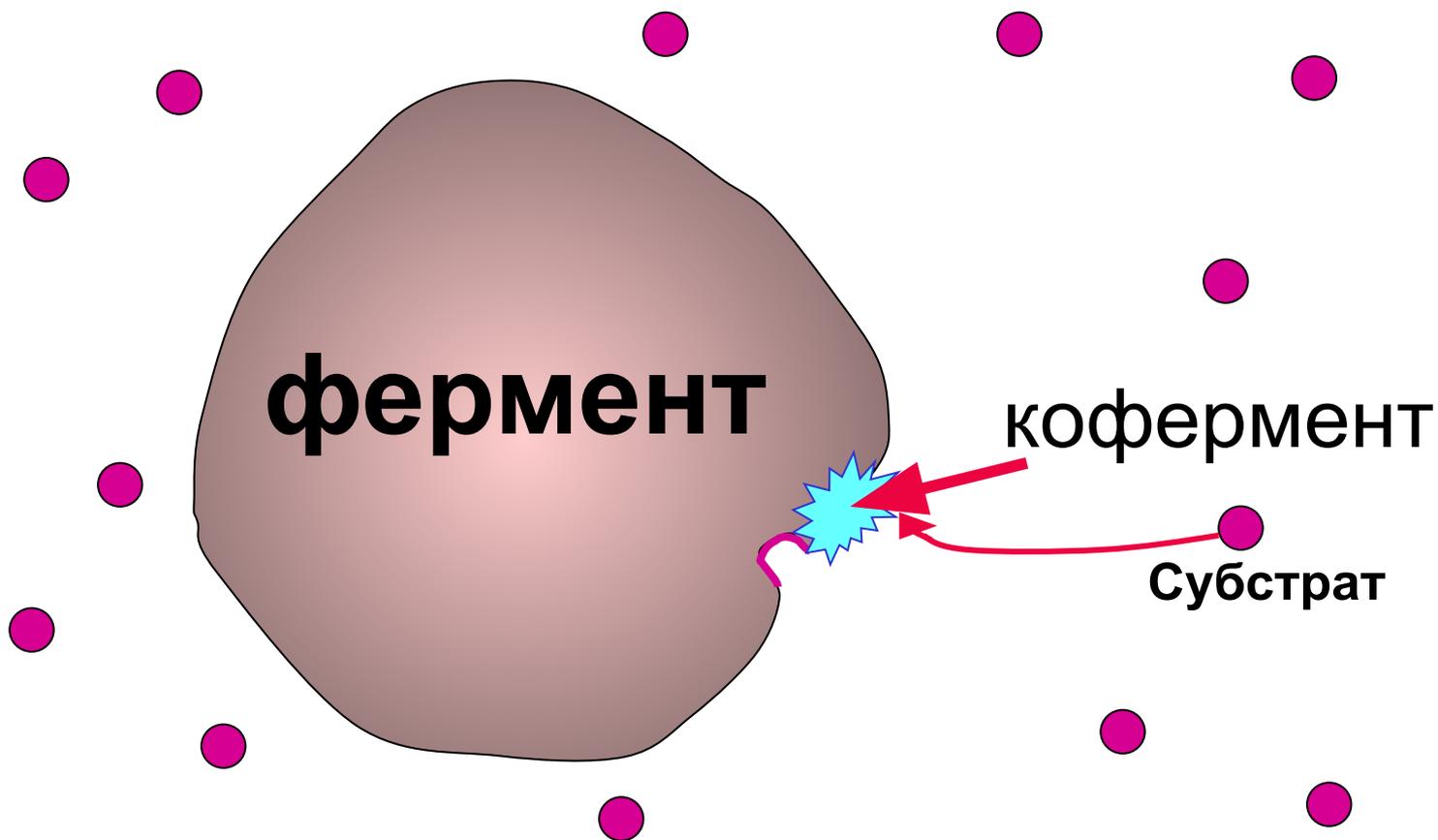
**Состоят
только
из белка**

Апофермент (белковая часть)	+	Кофермент (небелковая часть)
-одна субъединица		-витамины
-несколько субъединиц		-нуклеотиды
		-металлы
		-фосфорная кислота

Фермент реагирует с субстратом путем взаимодействия с активным центром



Субстрат может образовывать ковалентные связи с коферментом в активном центре фермента



Роль коферментов в ферментативной реакции

- Улучшают взаимодействие субстрата с ферментом
- Образуют связи с субстратом
- Участвуют в превращении субстрата
- Принимают на себя и отдают другим ферментам продукты реакции

Свойства ферментов

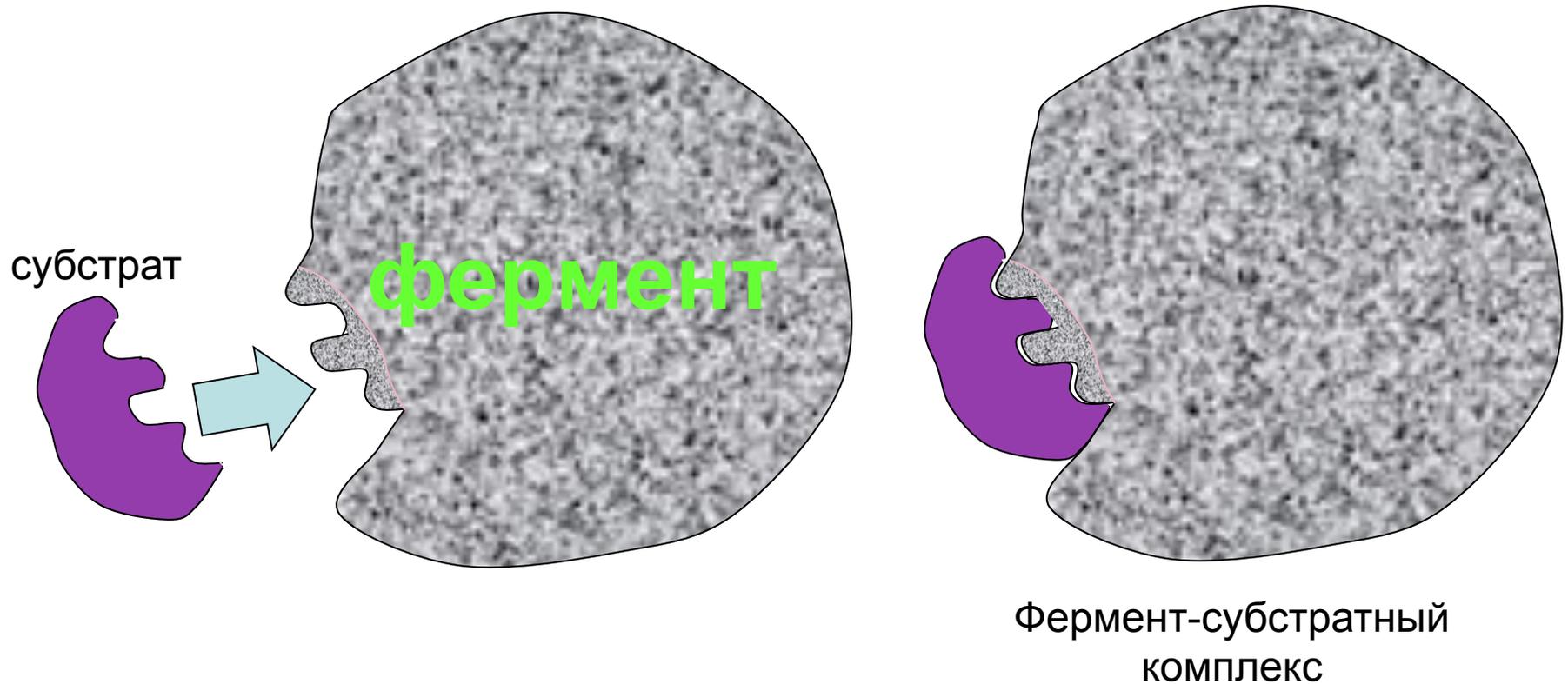


Специфичность

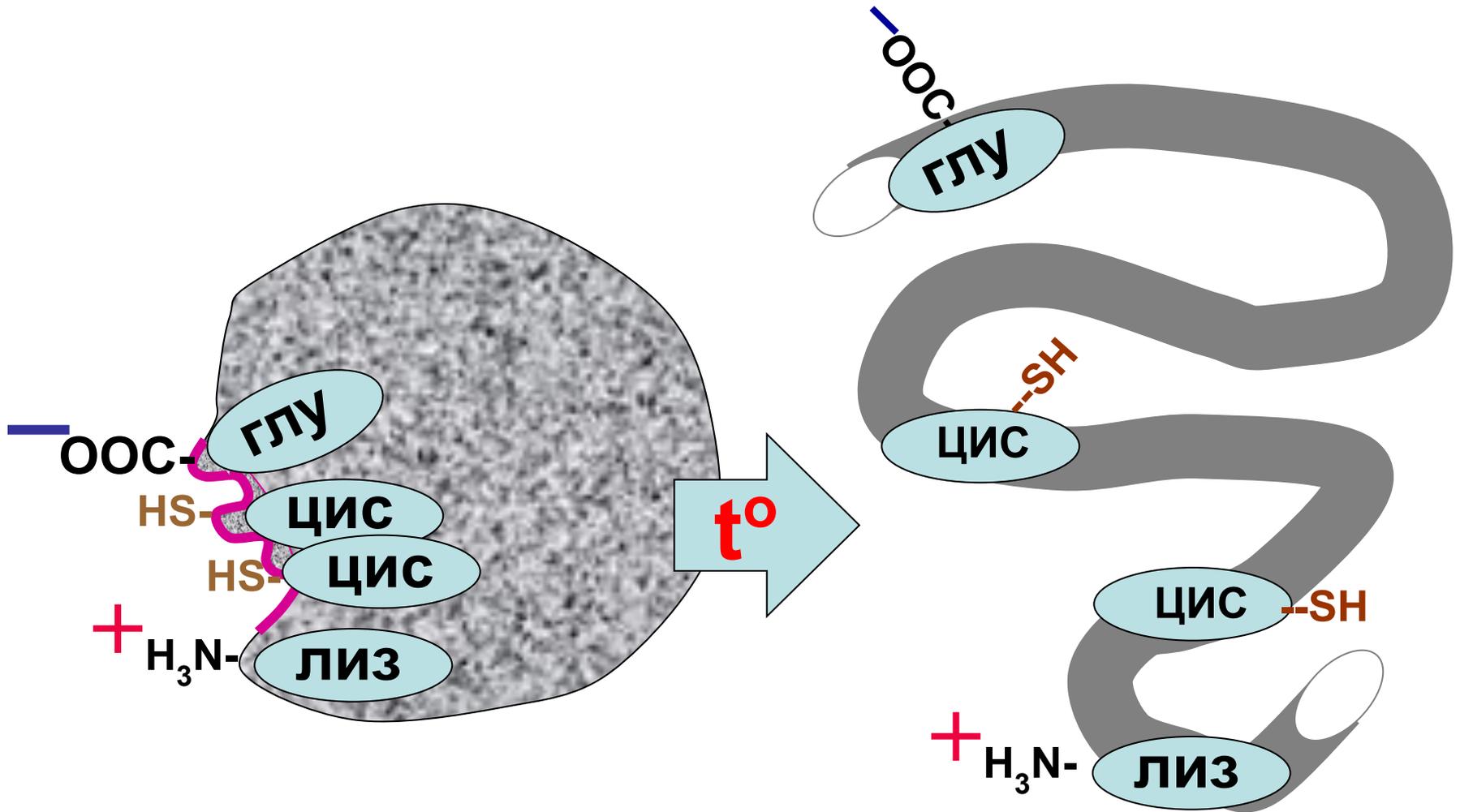
фермента –

*способность
взаимодействовать
только с определенным
видом молекул
(субстратом)*

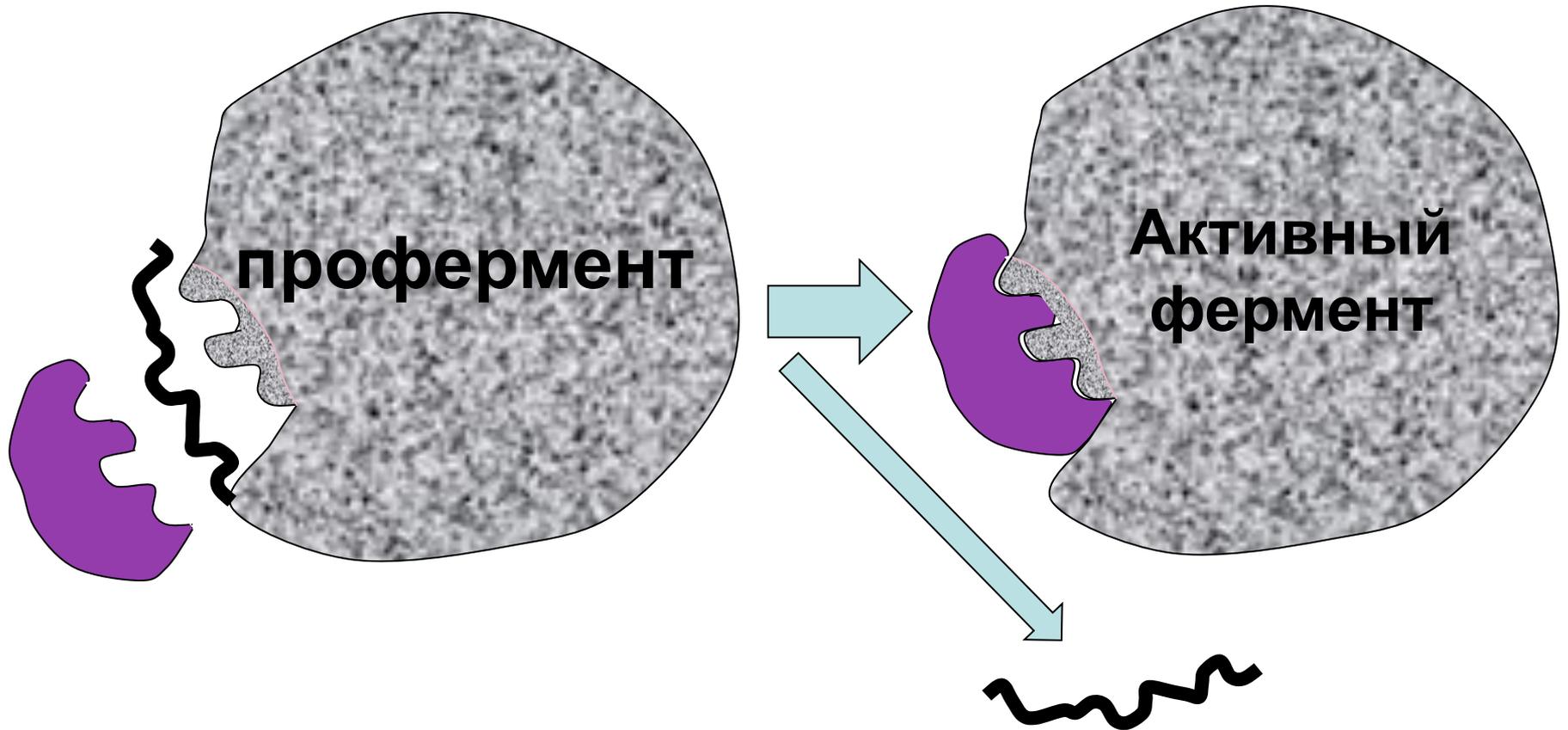
Образование фермент-субстратного комплекса



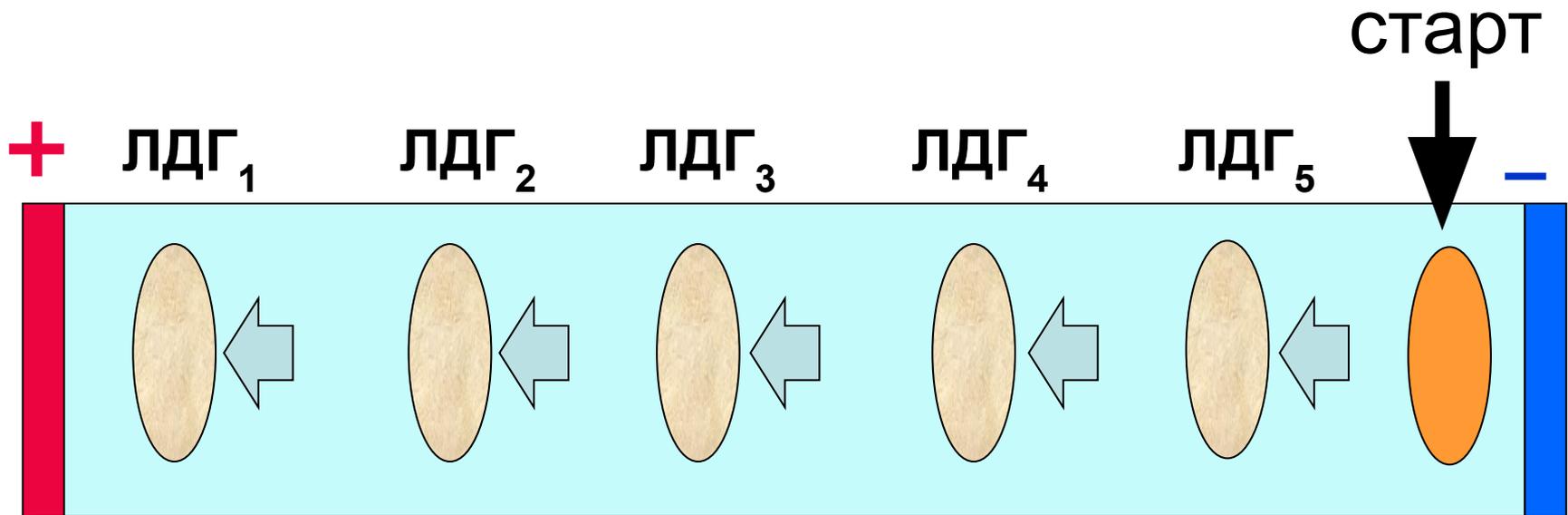
Строение активного центра. Его разрушение при денатурации фермента



Строение профермента

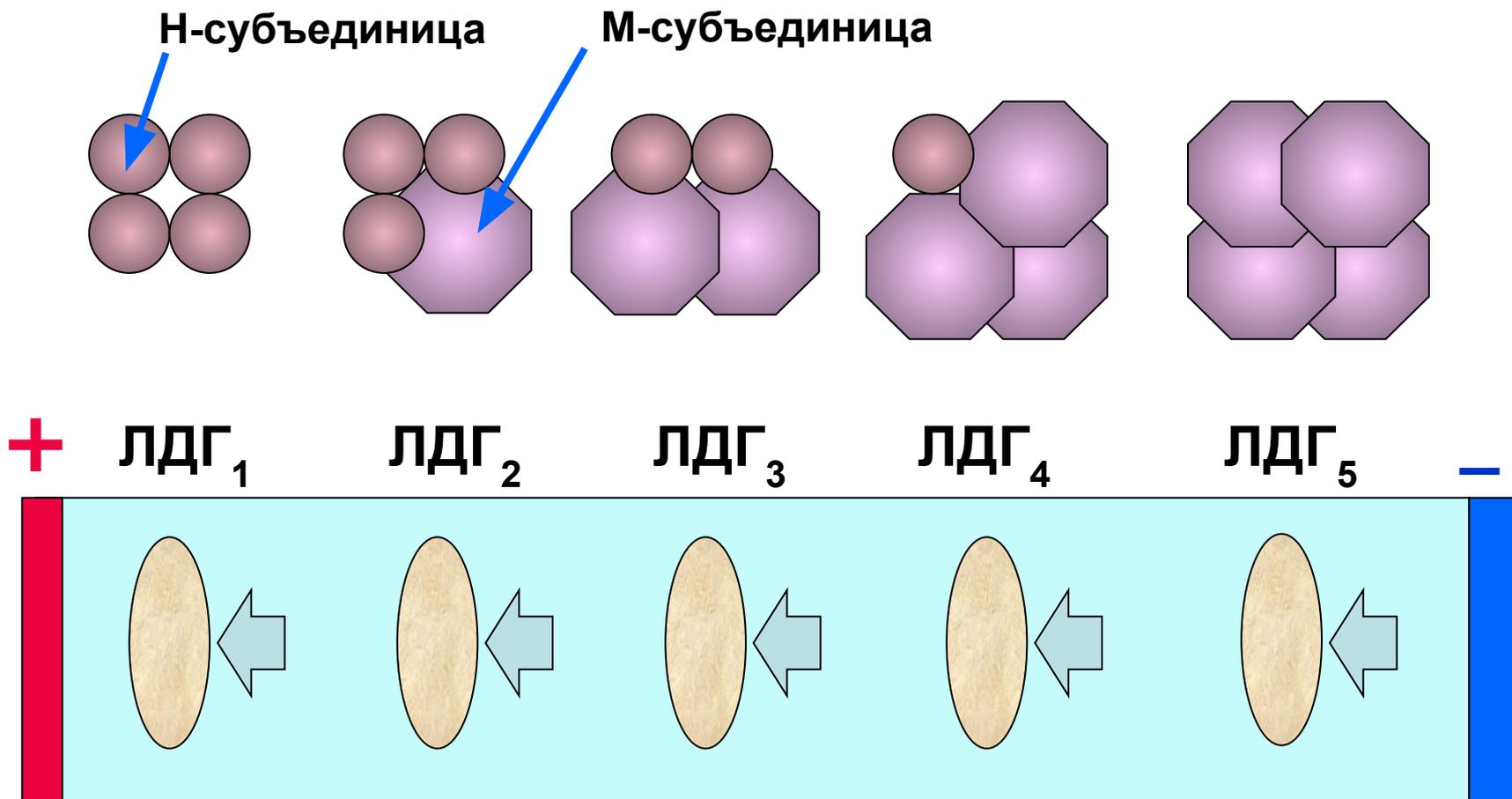


Строение изоферментов

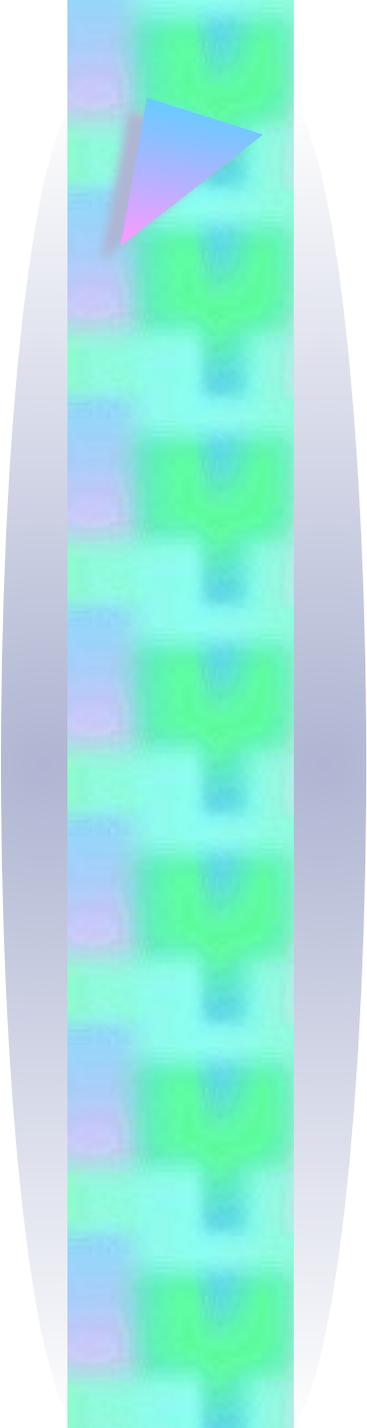


Электрофорез сыворотки крови

Строение изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ)



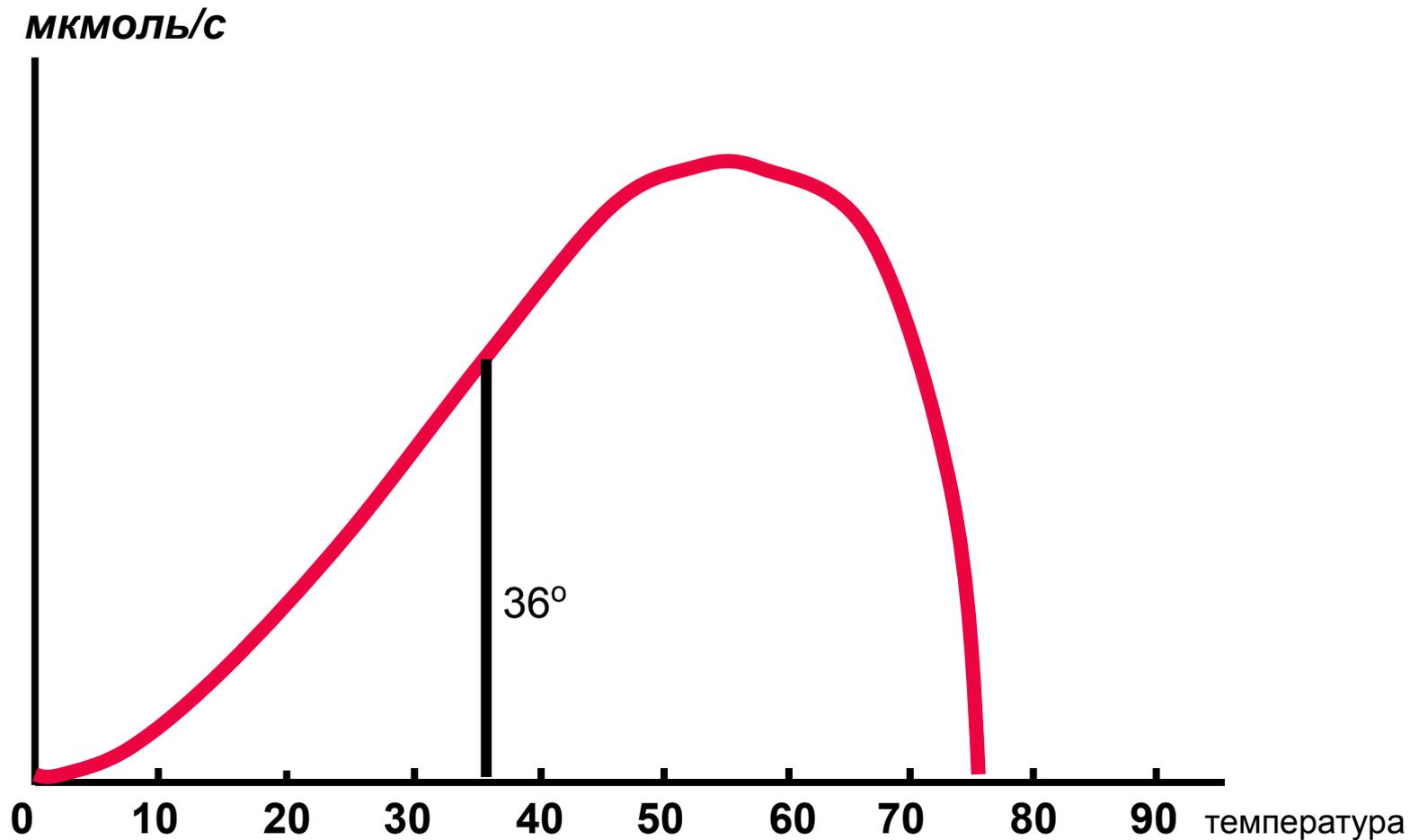
Электрофорез сыворотки крови



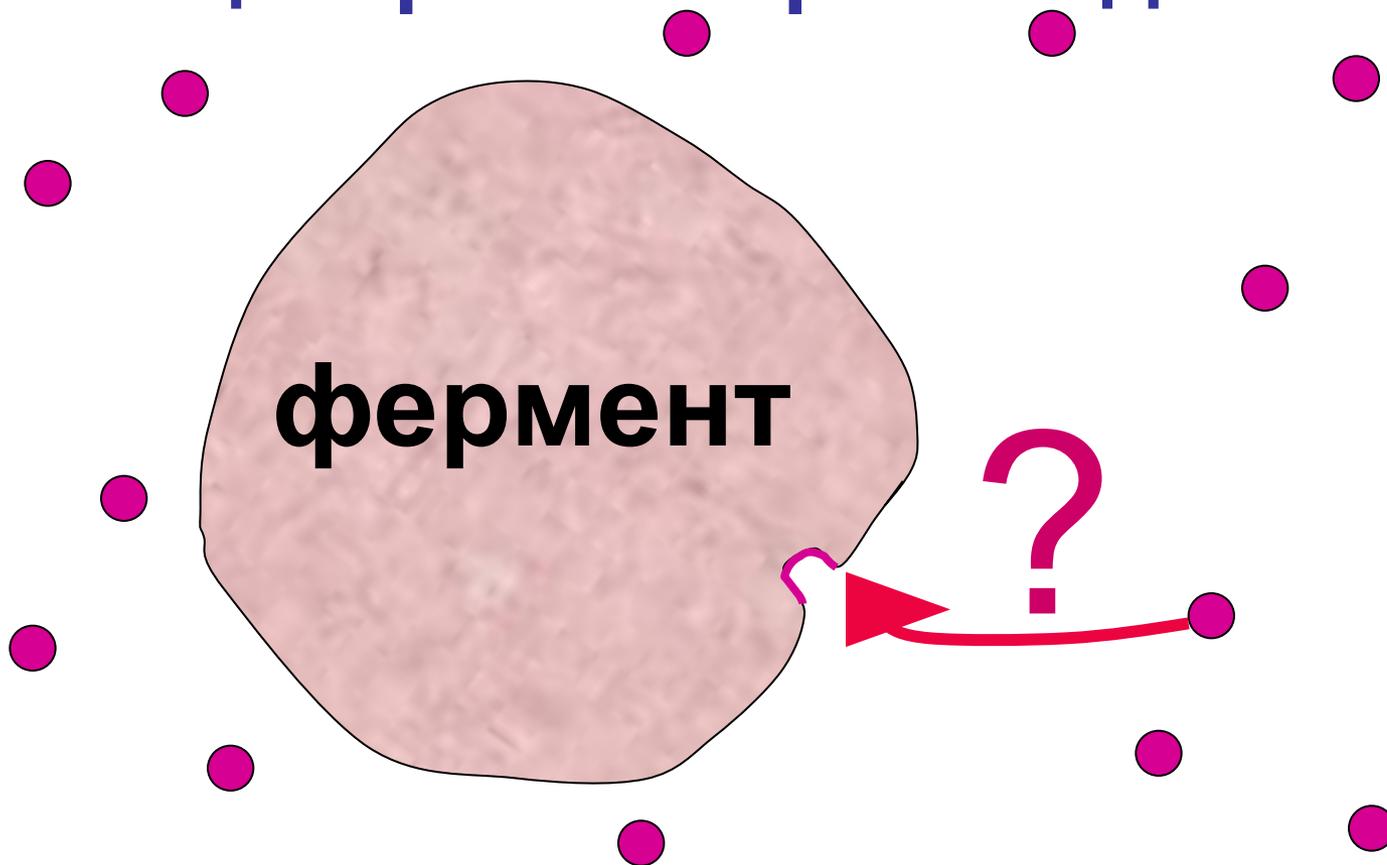
Факторы, влияющие на активность ферментов

- **Температура**
- **Кислотность среды**
- **Металлы**
- **Коферменты**
- **Концентрация субстрата**
- **Концентрация продукта реакции**
- **Ингибиторы**

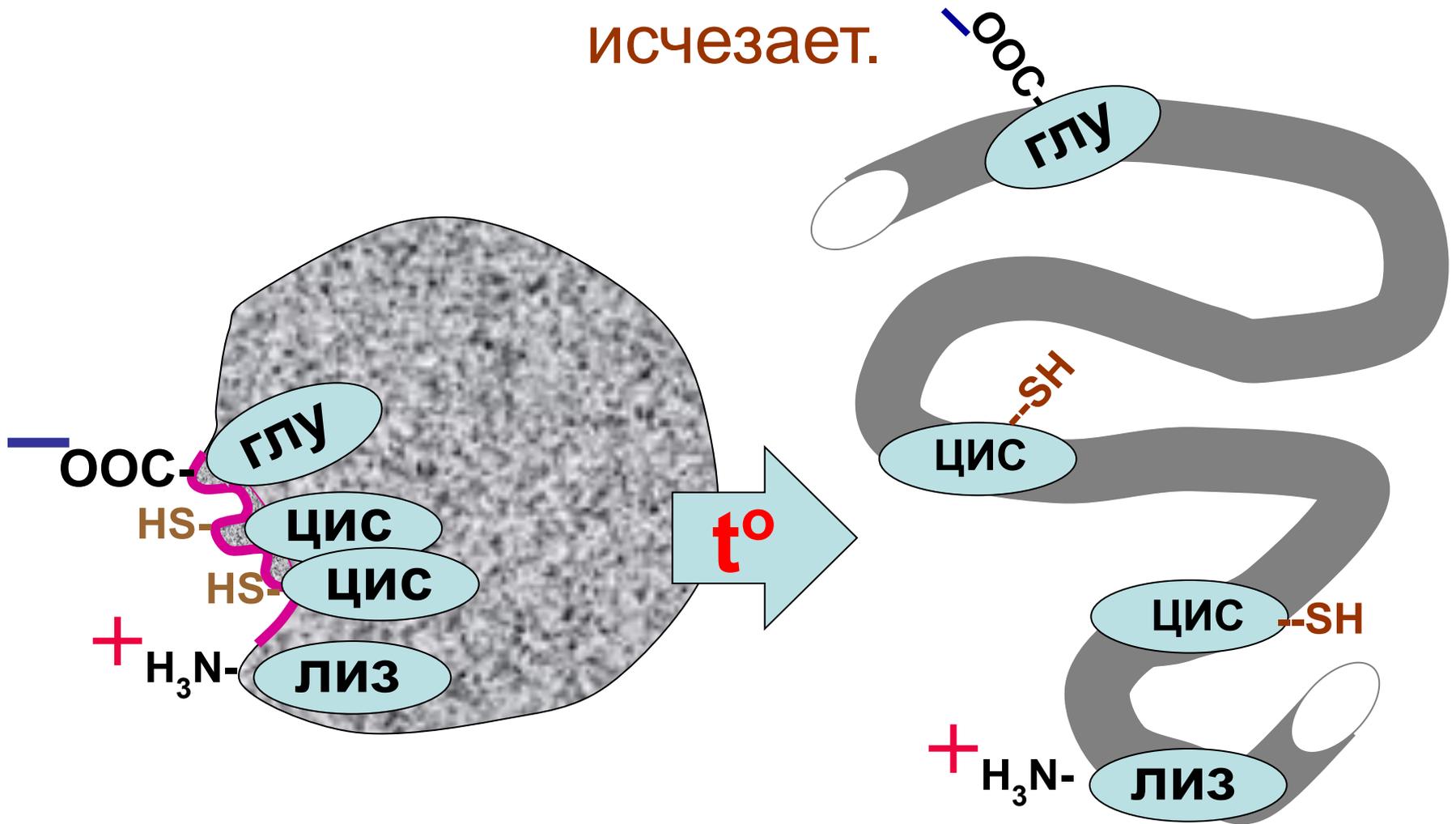
Влияние температуры на активность ферментов



При низкой температуре хаотическое движение молекул прекращается. Столкновения субстрата с активным центром не происходят

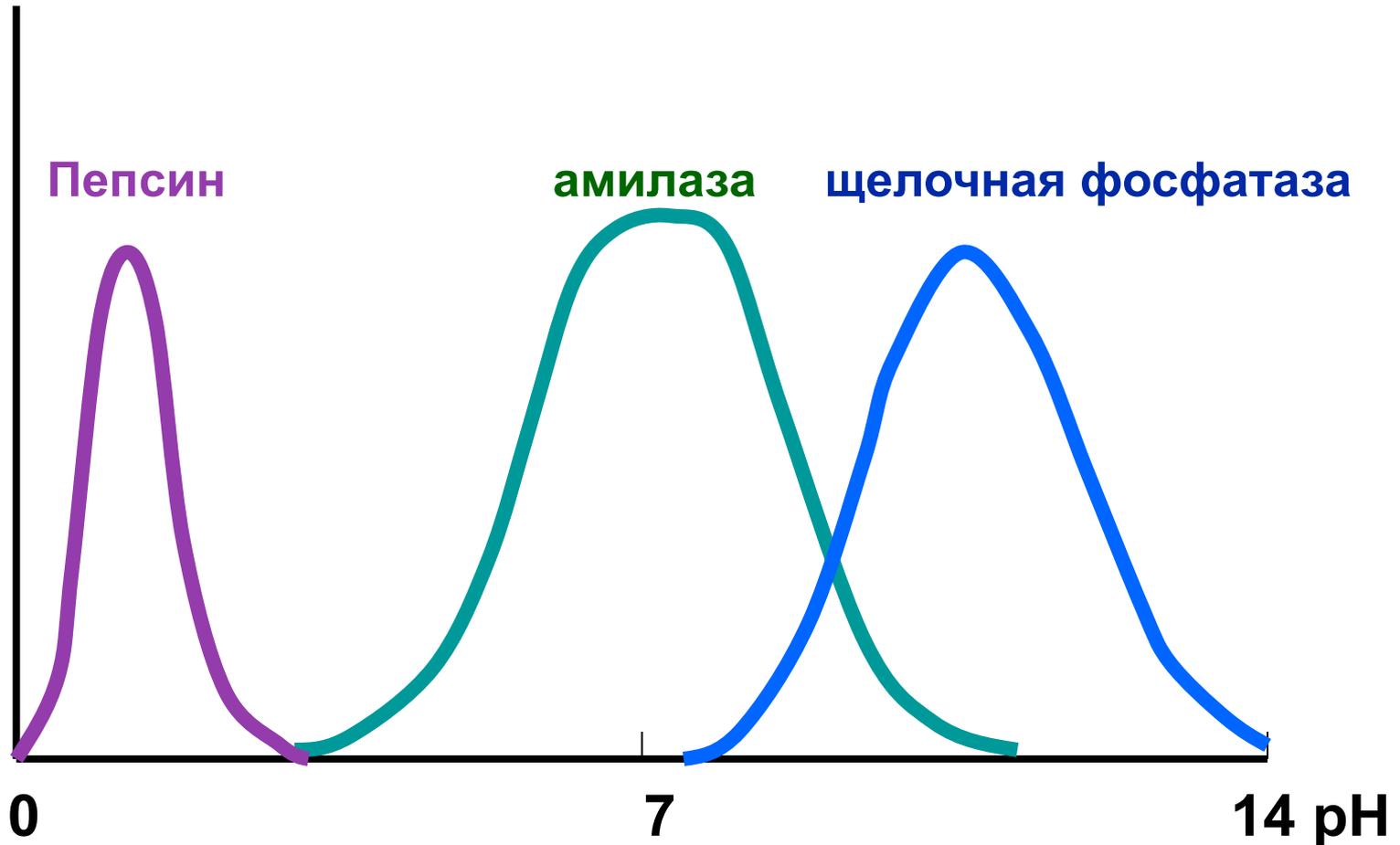


Высокая температура вызывает разрушение (денатурацию) фермента. Активный центр исчезает.



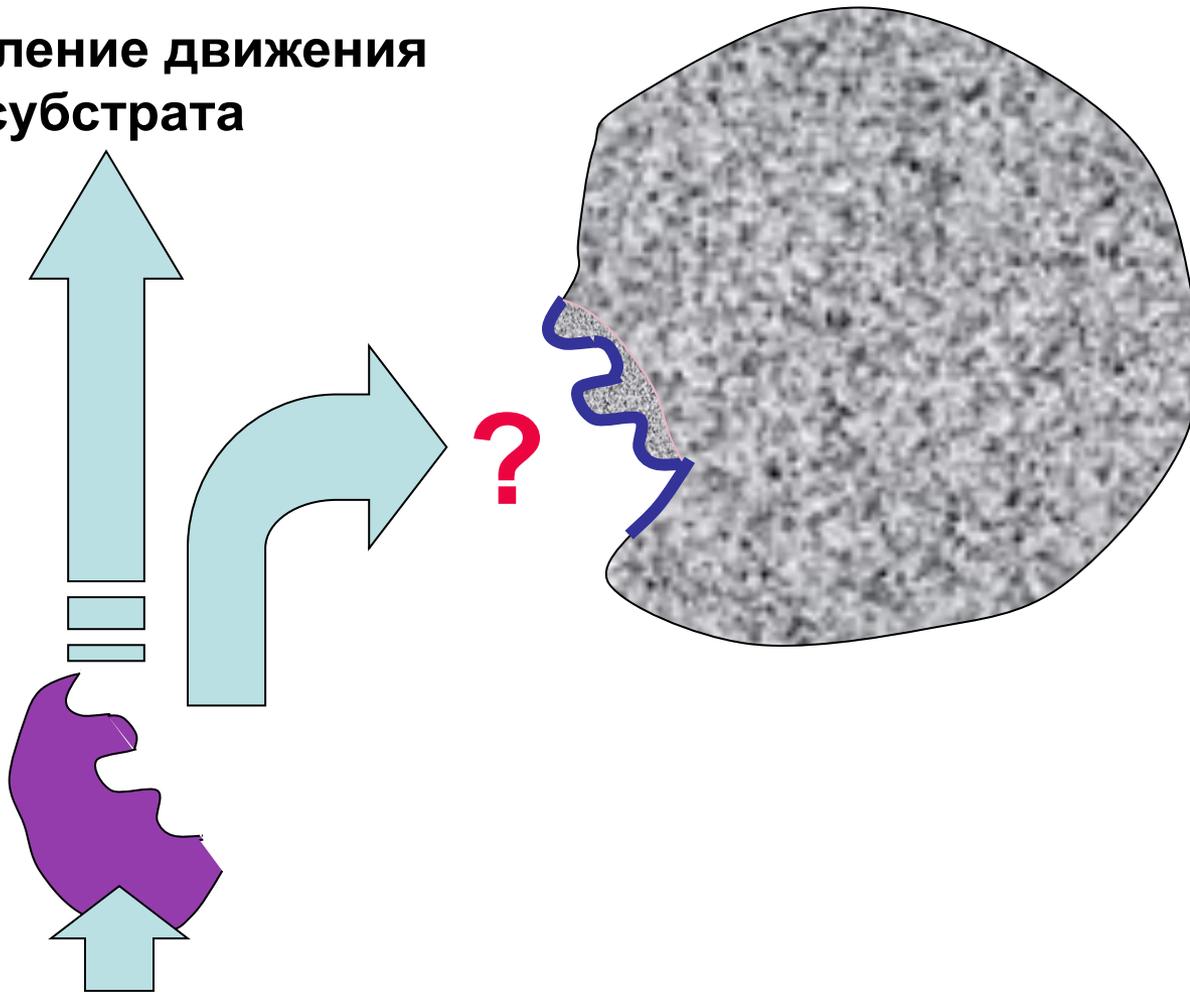
Влияние pH на активность ферментов

МКМОЛЬ/С

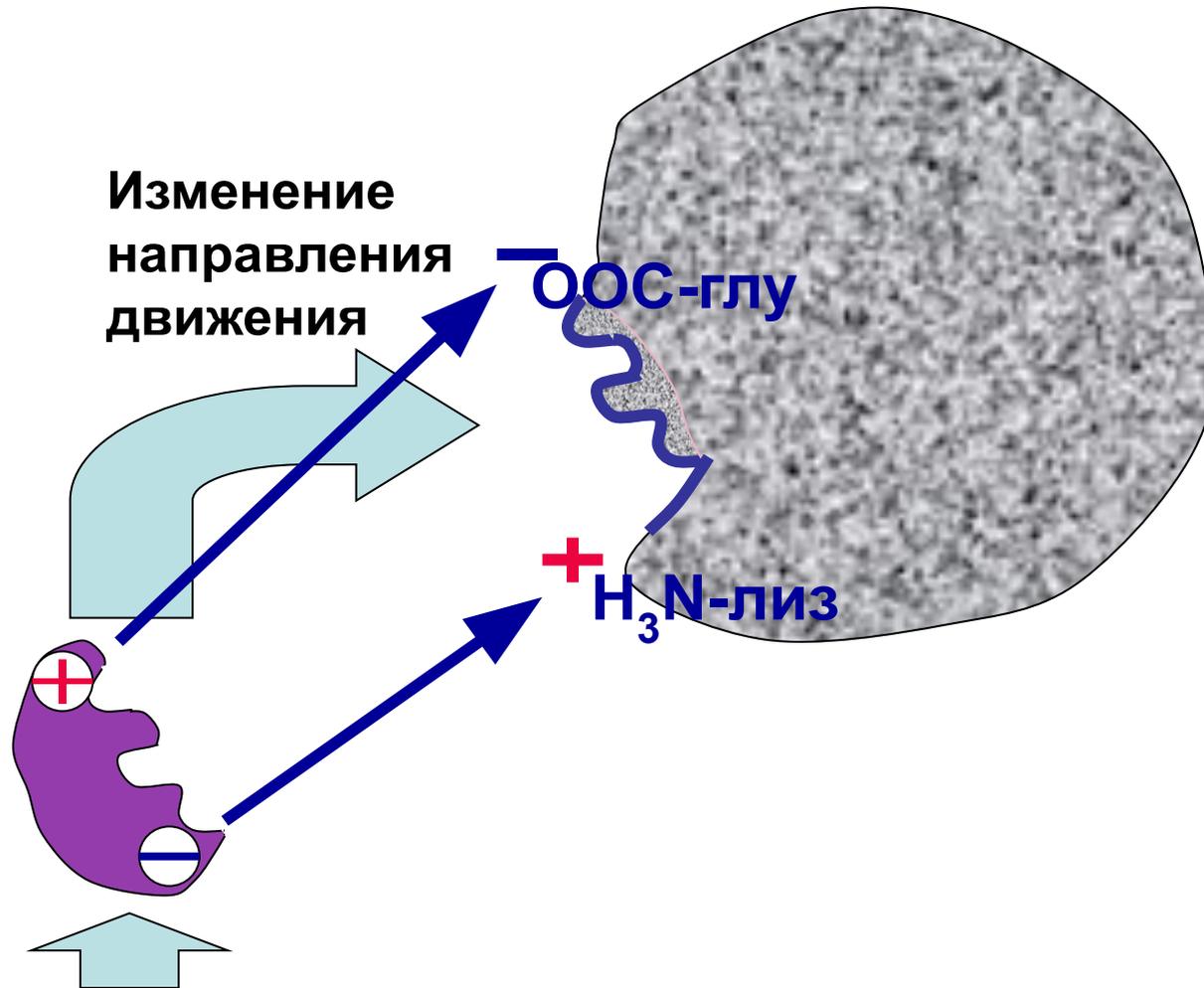


Какие силы заставляют субстрат присоединиться к активному центру фермента?

Направление движения субстрата

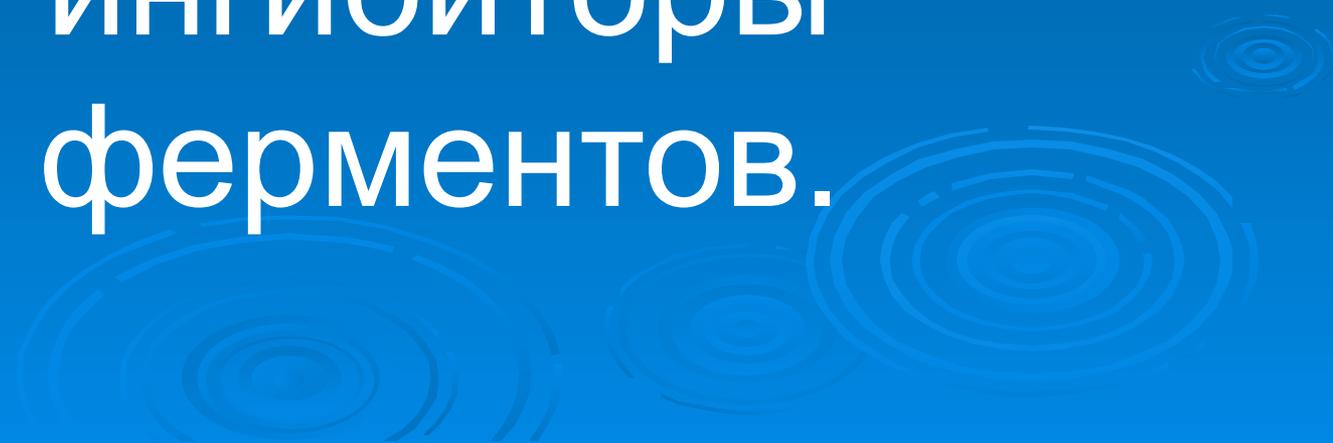


Влияние электростатических сил на присоединение субстрата к ферменту

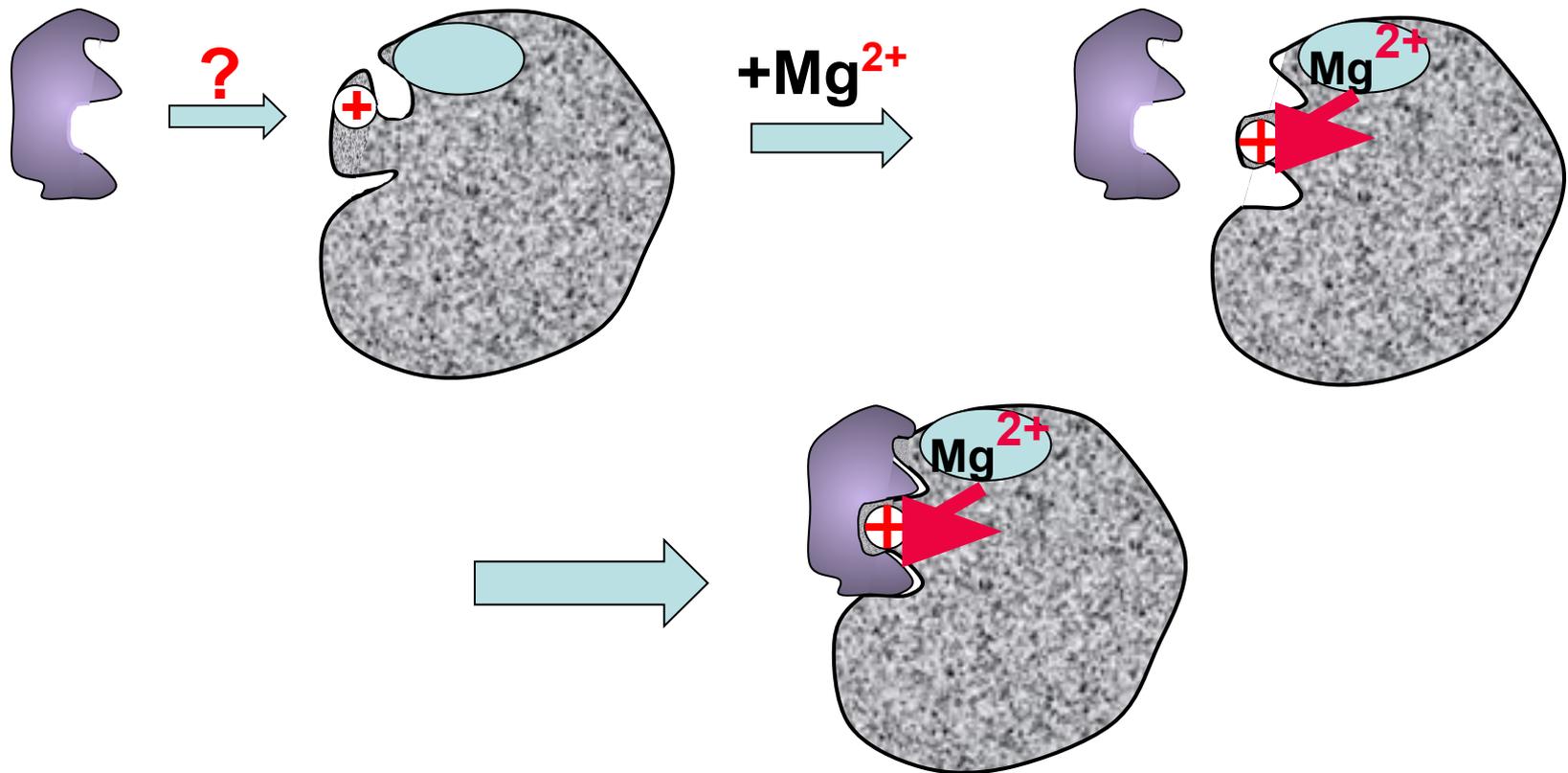


Механизм
ингибирования
активности
фермента при
снижении рН внутри
клеток

На активность
фермента оказывают
влияние металлы,
активаторы или
ингибиторы
ферментов.

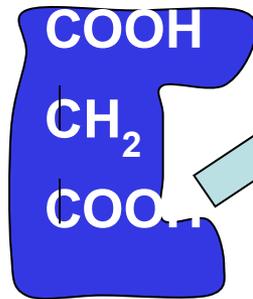
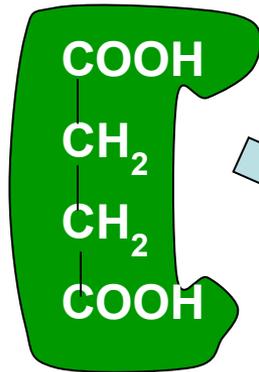
The background features several faint, concentric circular patterns in a lighter shade of blue, resembling ripples in water, located primarily in the lower right and bottom center areas of the slide.

Металлы изменяют строение активного центра, который лучше взаимодействует с субстратом

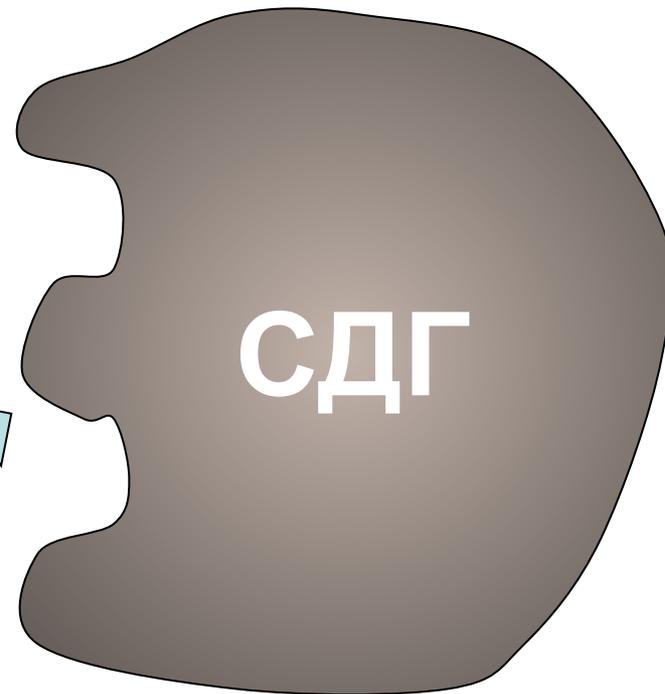


Конкурентный тип ингибирования фермента

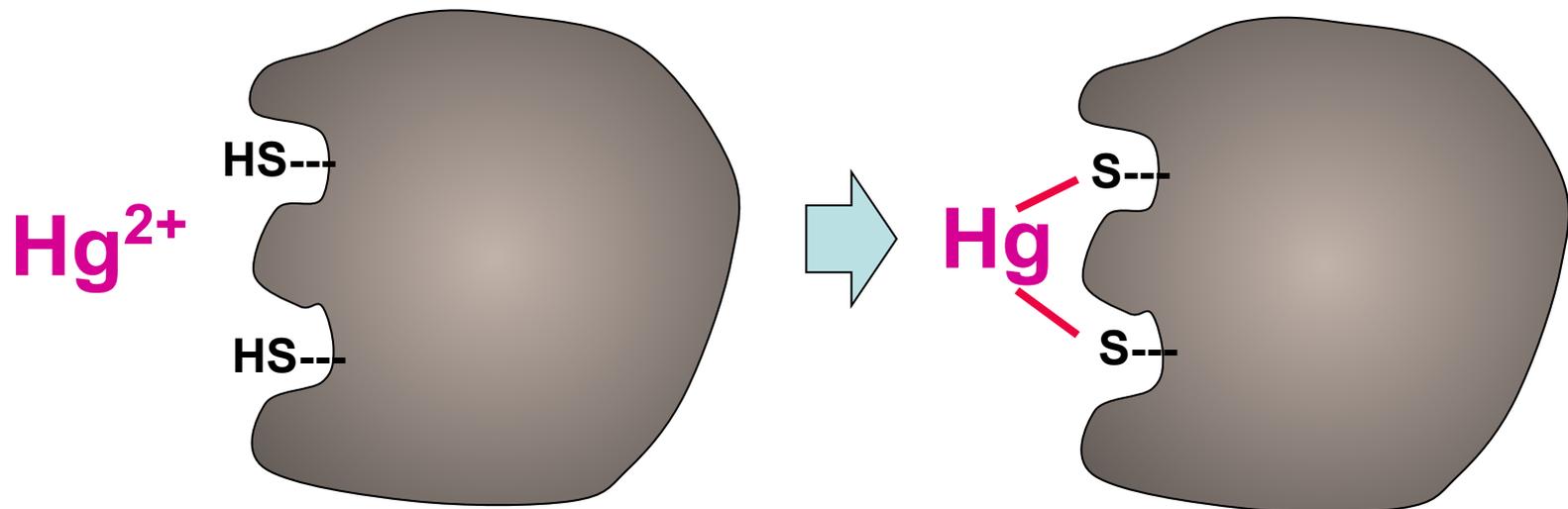
Янтарная кислота



Малоновая кислота



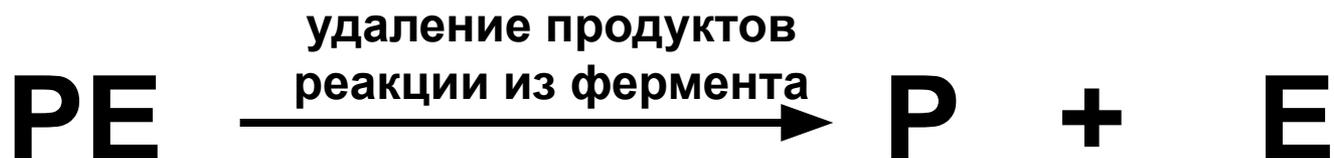
Неконкурентный тип ингибирования фермента



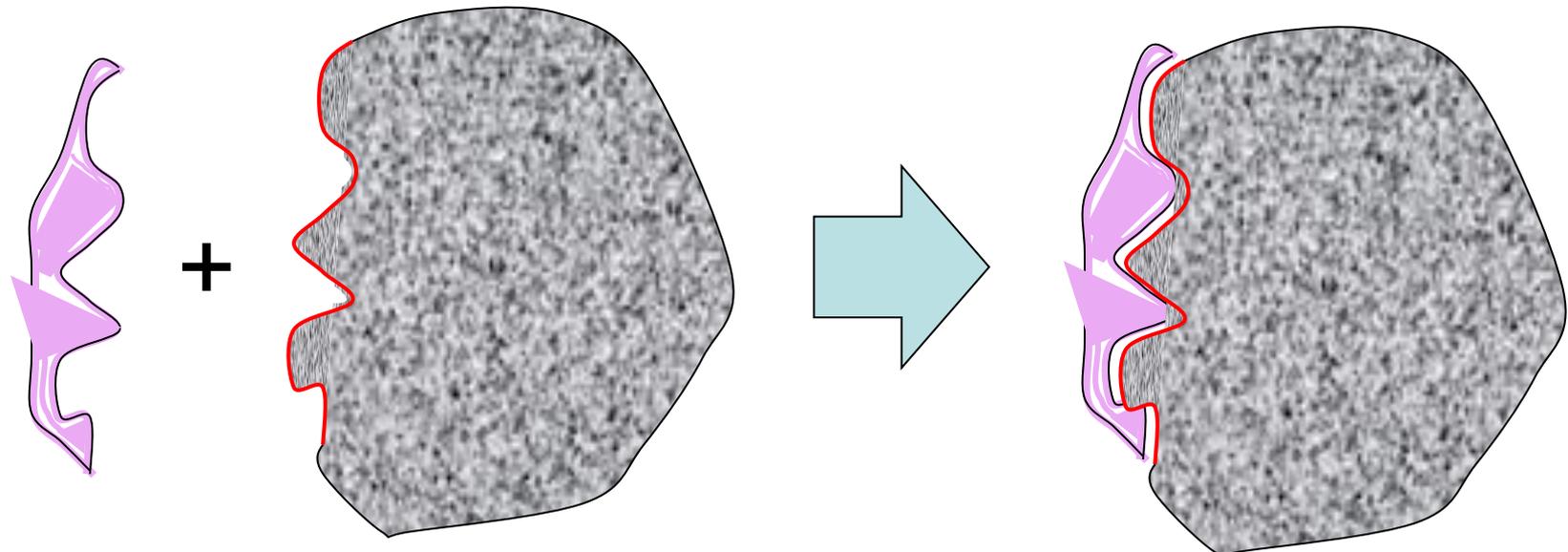
Этапы ферментативного катализа

1. **Присоединение** субстрата к активному центру с образованием единого молекулярного комплекса;
2. **Конформационная перестройка молекулы белка фермента** и, соответственно, активного центра;
3. **Преобразование субстрата в другую молекулу** в результате перераспределения электронных плотностей в молекуле субстрата и разрыва (или возникновения) **новых ковалентных связей** в субстрате.
4. **Удаление продукта** реакции из активного центра.

Этапы ферментативного катализа

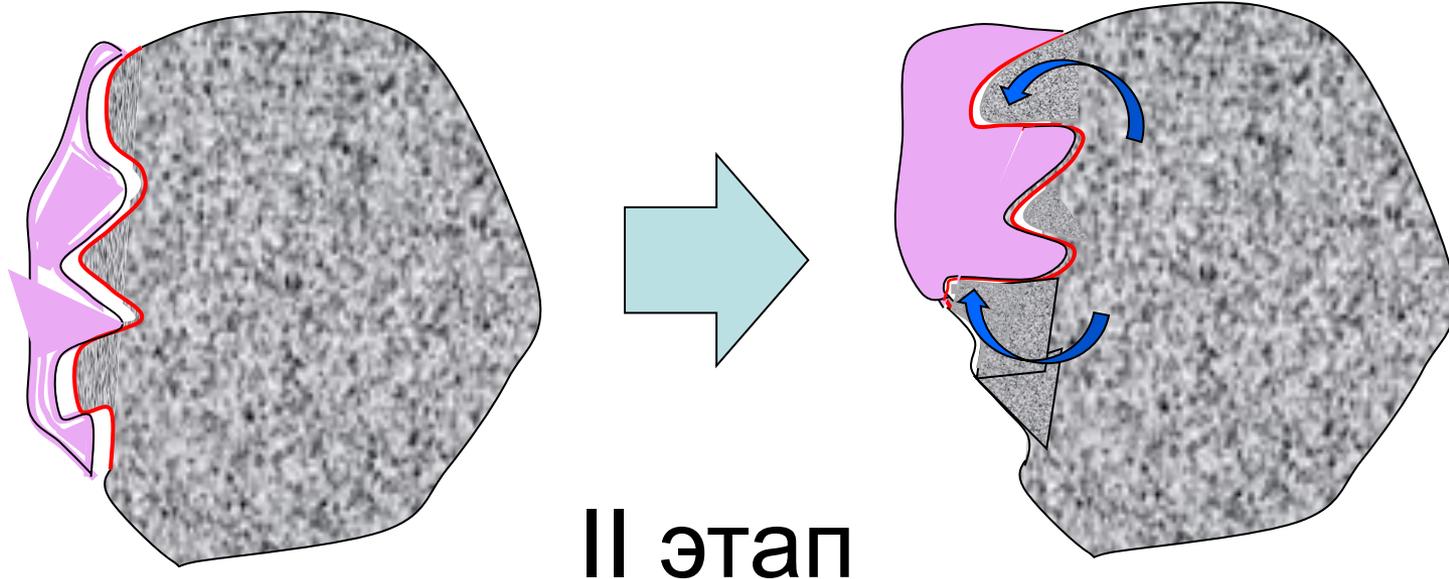


Этапы ферментативного катализа (S – субстрат; E – фермент)

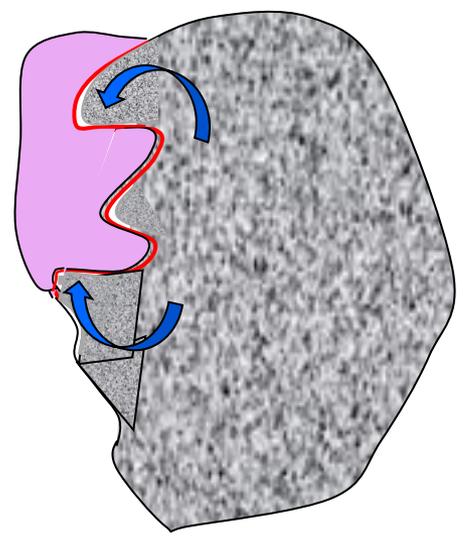


I этап

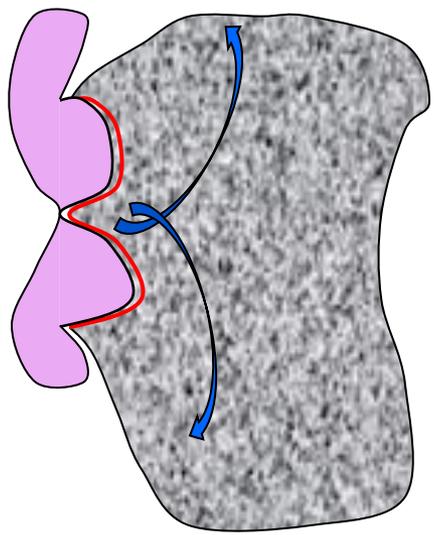
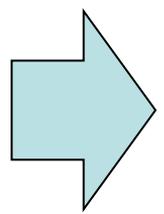
Конформационная перестройка молекулы белка фермента и, соответственно, активного центра



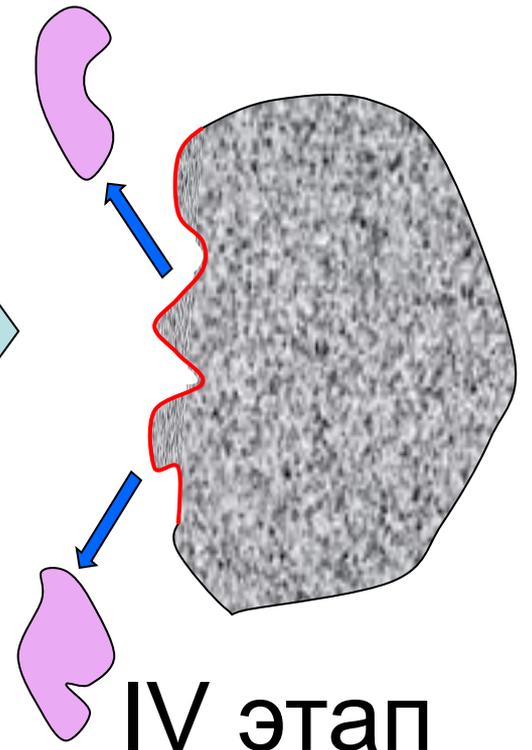
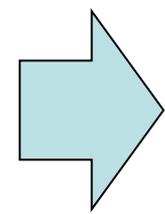
Этапы ферментативного катализа (S – субстрат; E – фермент)



II этап



III этап



IV этап

Динамика изменения
активности фермента
во время протекания
химической реакции

Показатели активности ферментативной реакции

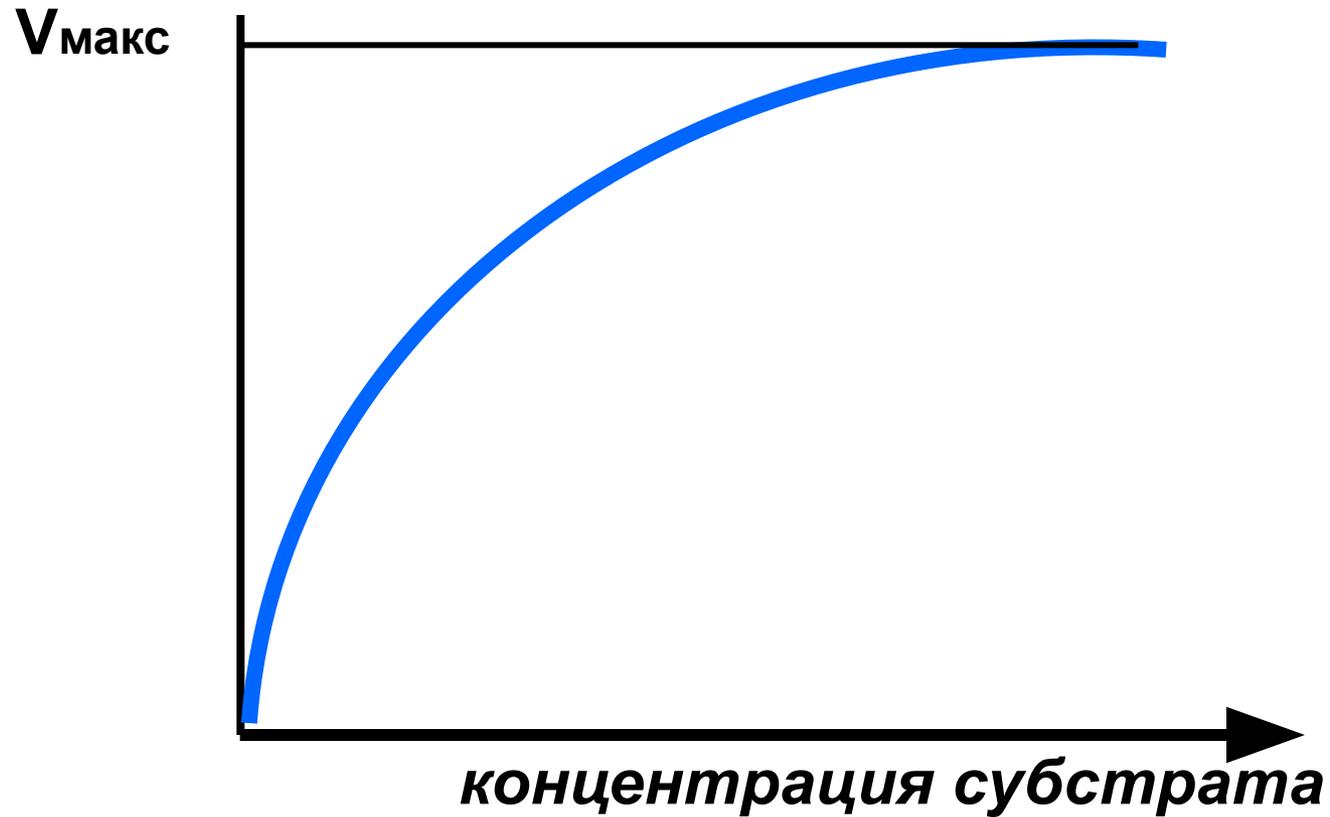
СКОРОСТЬ РЕАКЦИИ (V) - определяют по количеству молей субстрата превращенного ферментом за секунду (моль/с).

КАТАЛ - единица активности фермента (моль/с)

МЕЖДУНАРОДНАЯ ЕДИНИЦА активности фермента (U) рассчитывается в мкмоль субстрата превращенного за одну минуту ($U = \text{мкмоль/мин}$)

УДЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ рассчитывается количеством молей субстрата, превращаемого в секунду одним килограммом ткани (моль/с•кг) или (катал/кг) или (мкмоль/мин•мг белка)

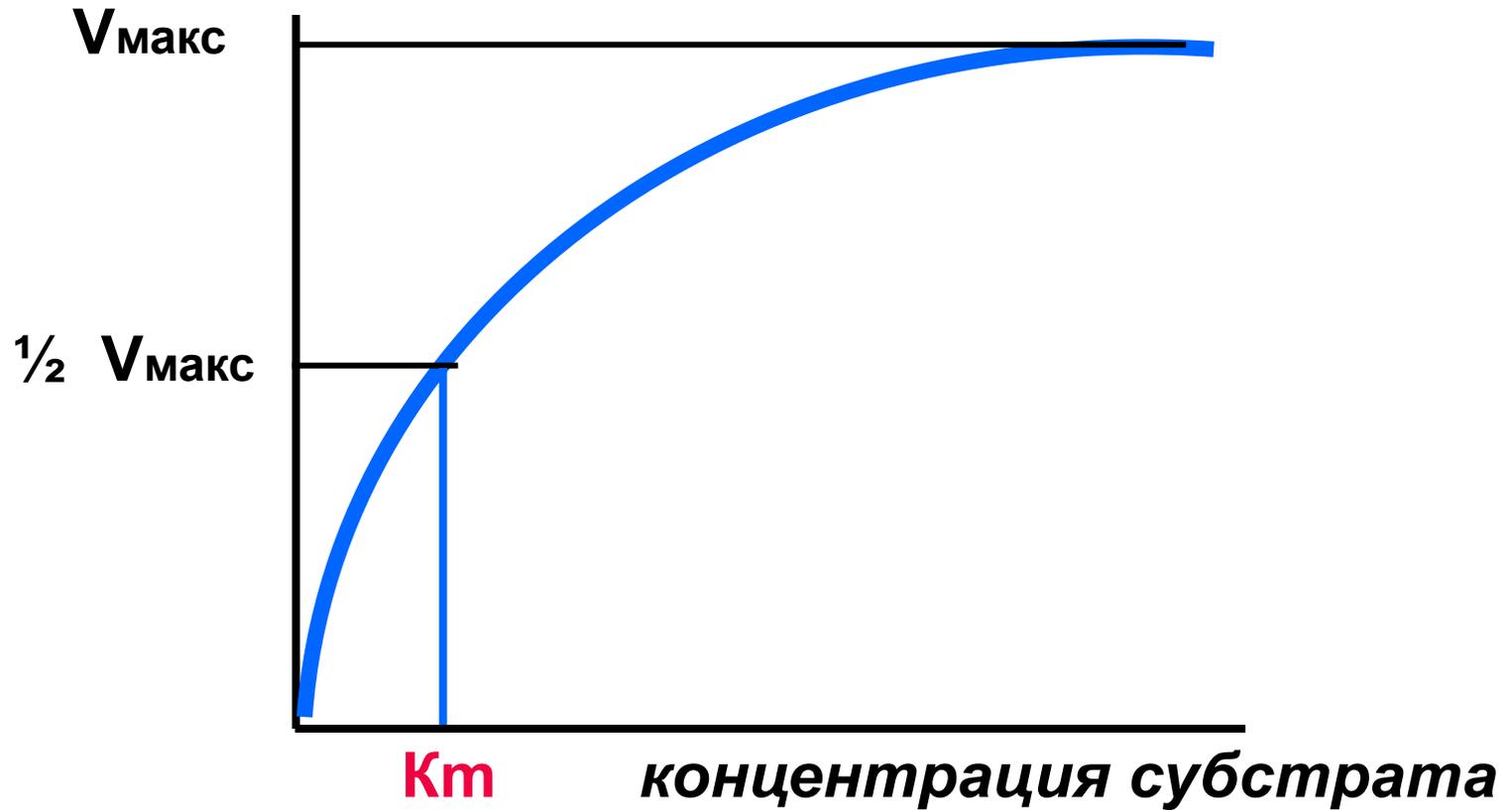
Влияние концентрации субстрата на активность фермента



Уравнение Михаэлиса-Ментена

$$V = \frac{V_{\text{макс}}}{1 + \frac{K_m}{S}}$$

Метод расчета K_m фермента



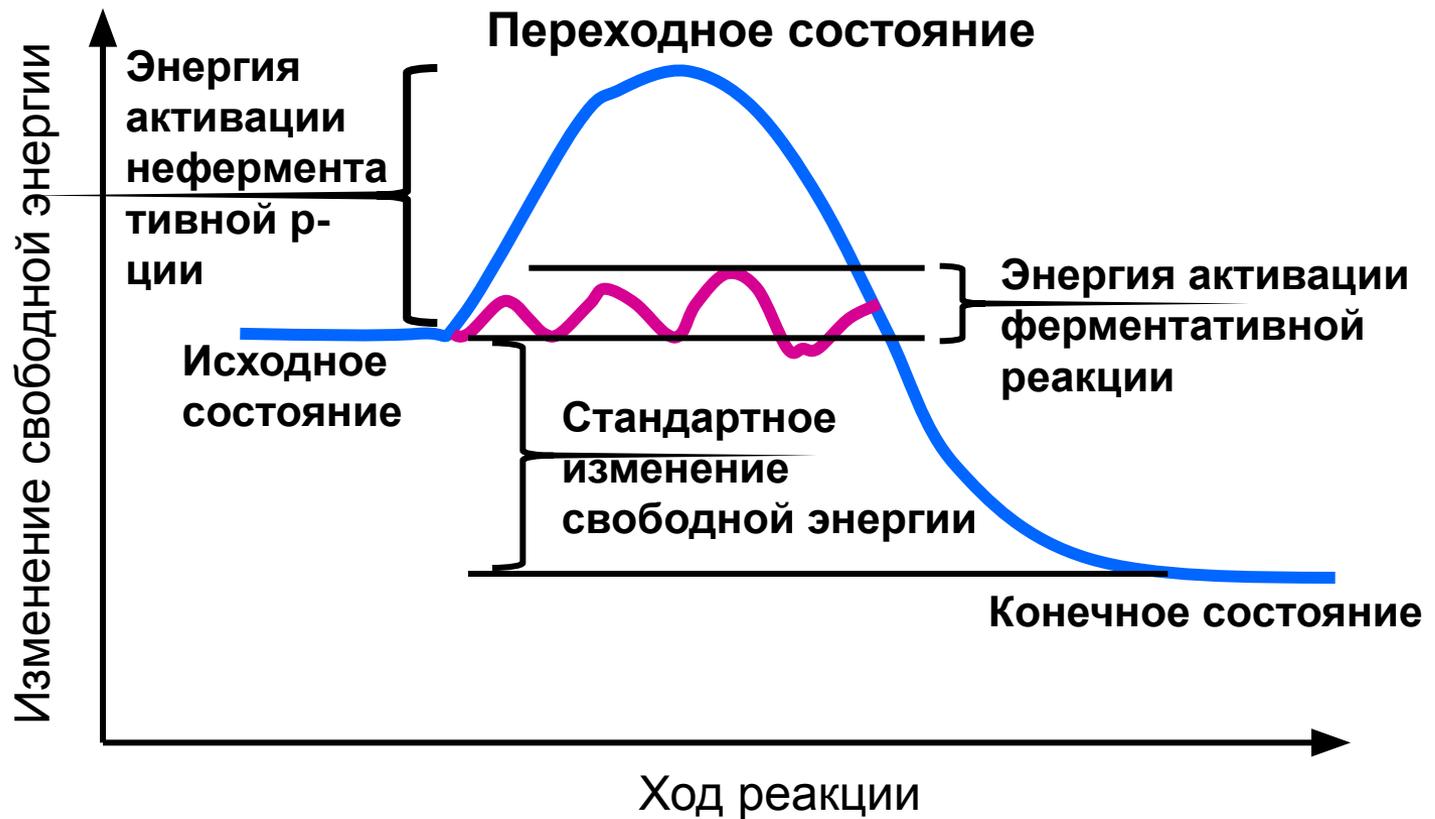
Оценка K_m в биохимической практике

1. позволяет определить величину сродства субстрата к активному центру (чувствительность фермента к субстрату);
2. позволяет дать более полную характеристику каталитической активности фермента.

Механизм ускорения химической реакции ферментом



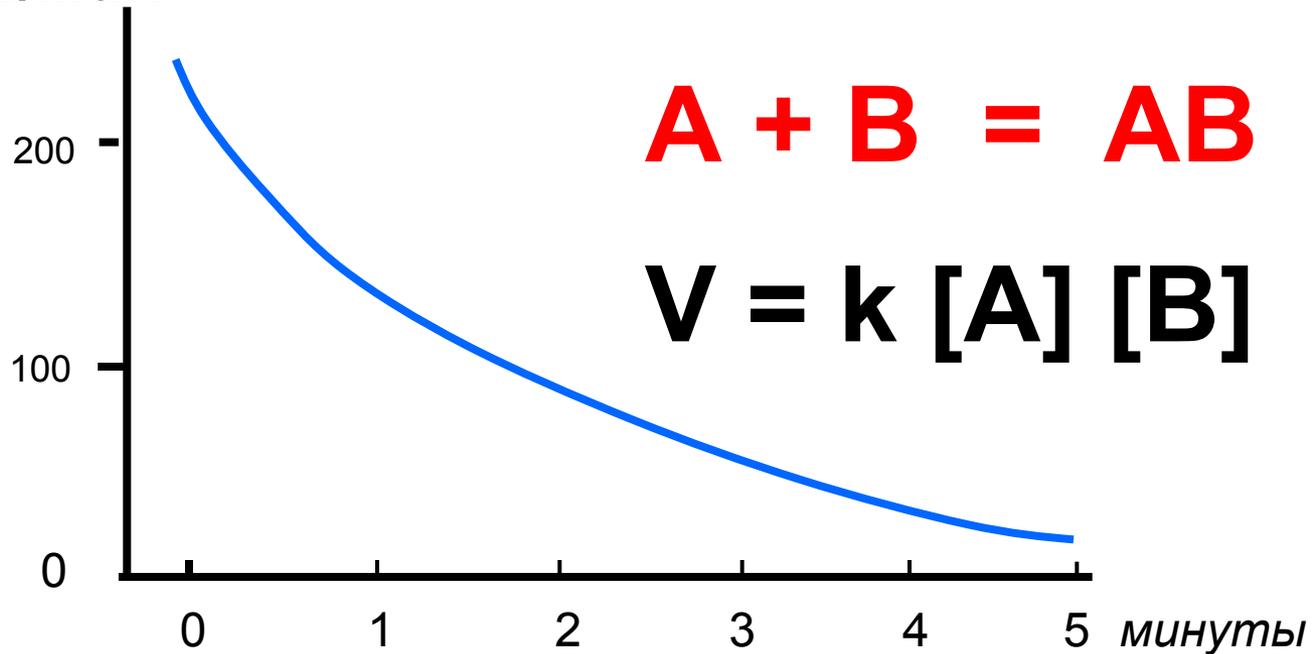
Энергетическая схема ферментативной химической реакции



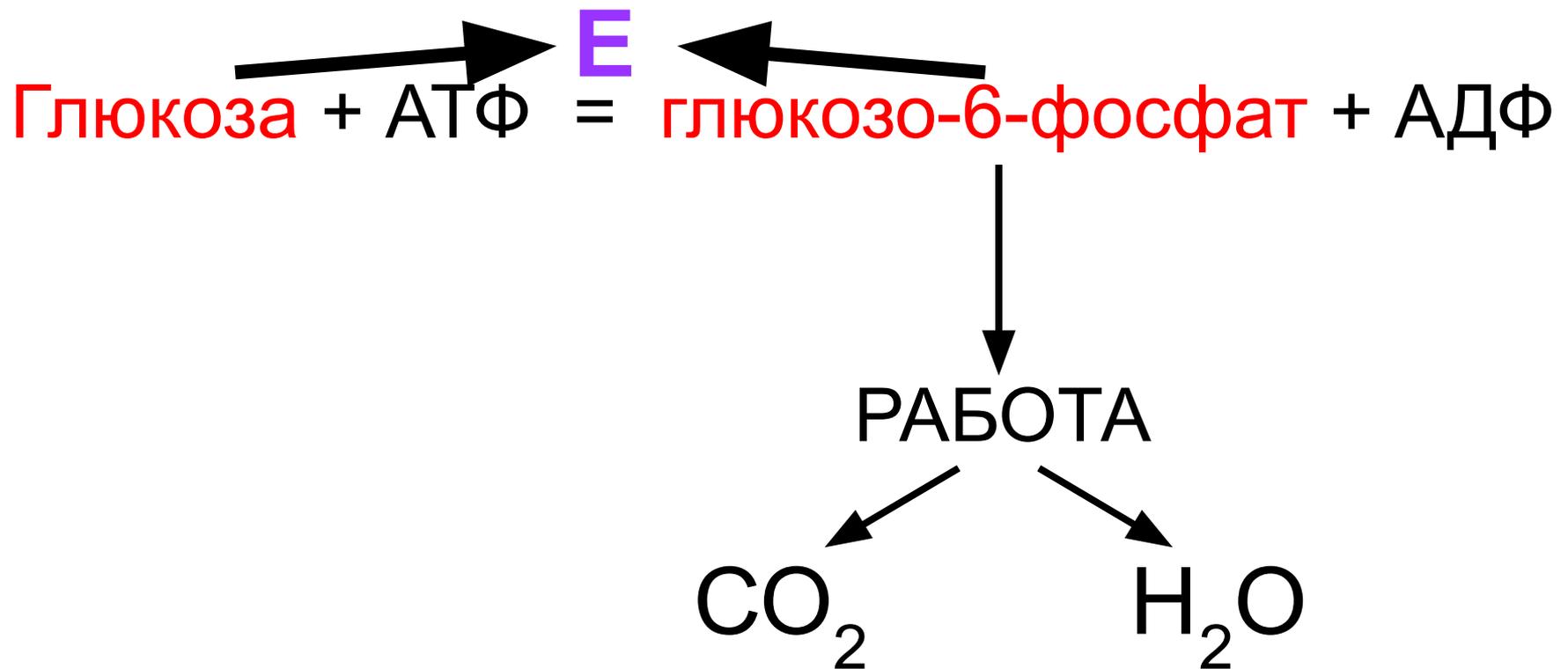
Регуляция активности ферментов

Кинетика снижения скорости ферментативной реакции во времени

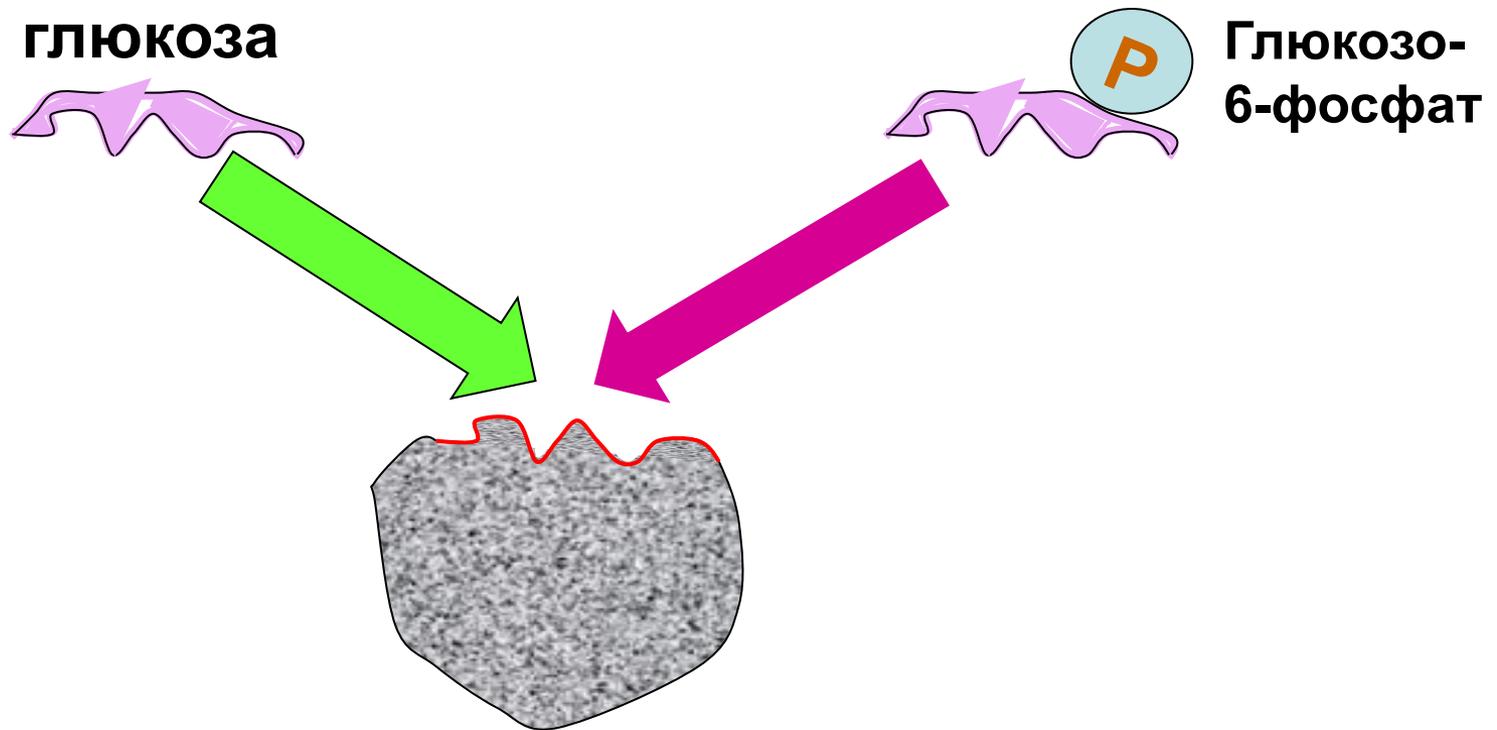
скорость реакции
(мкмоль/мин)



Изостерический тип регуляции активности фермента

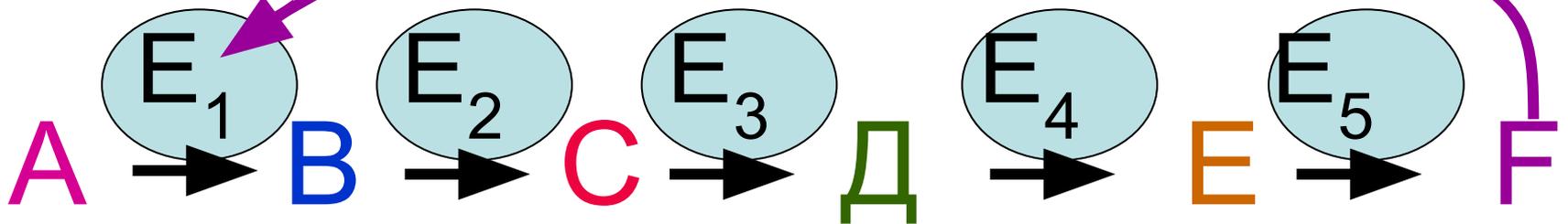


Изостерический тип регуляции активности ферментов

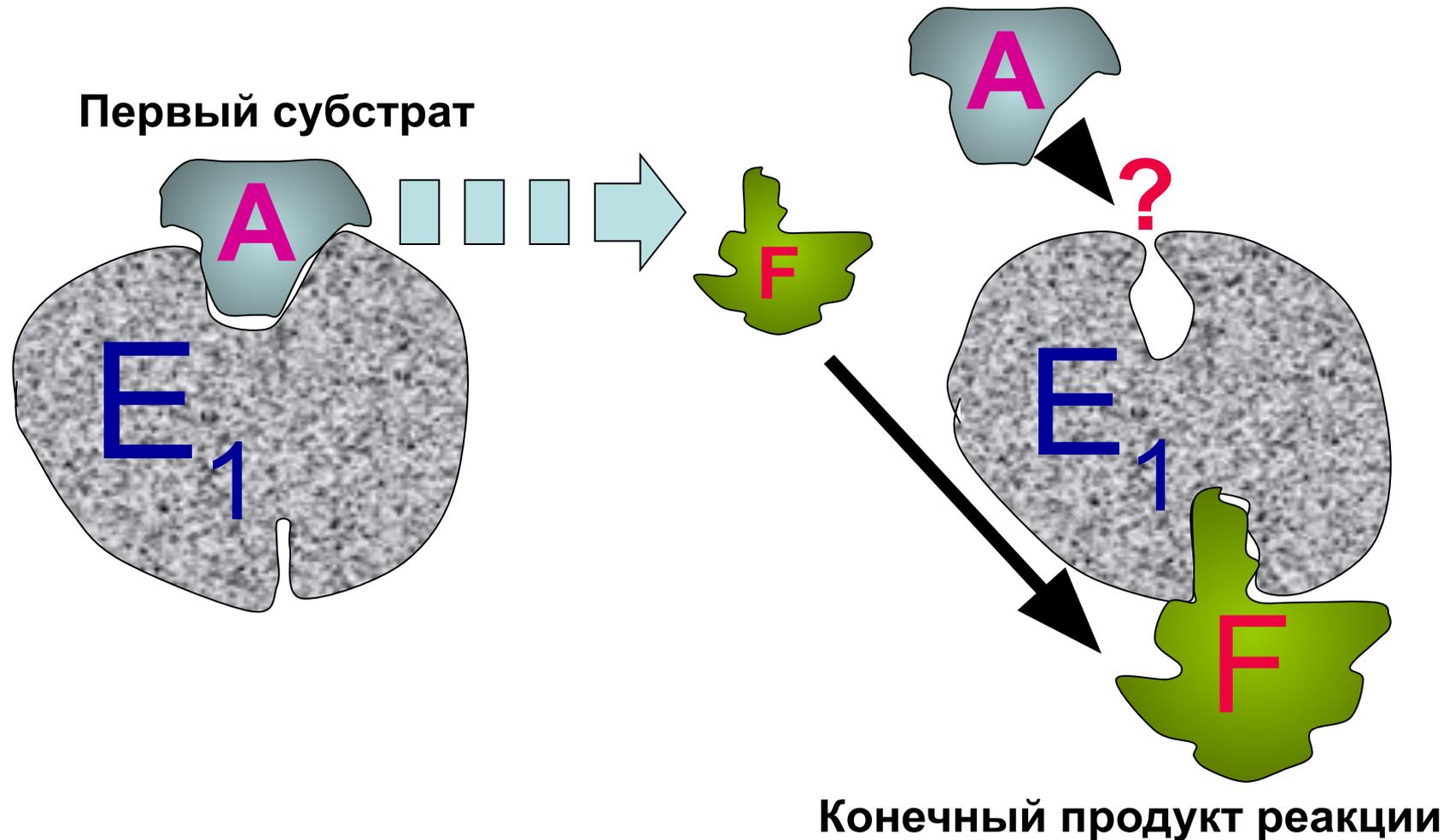


Аллостерический тип регуляции ферментов

ингибирование



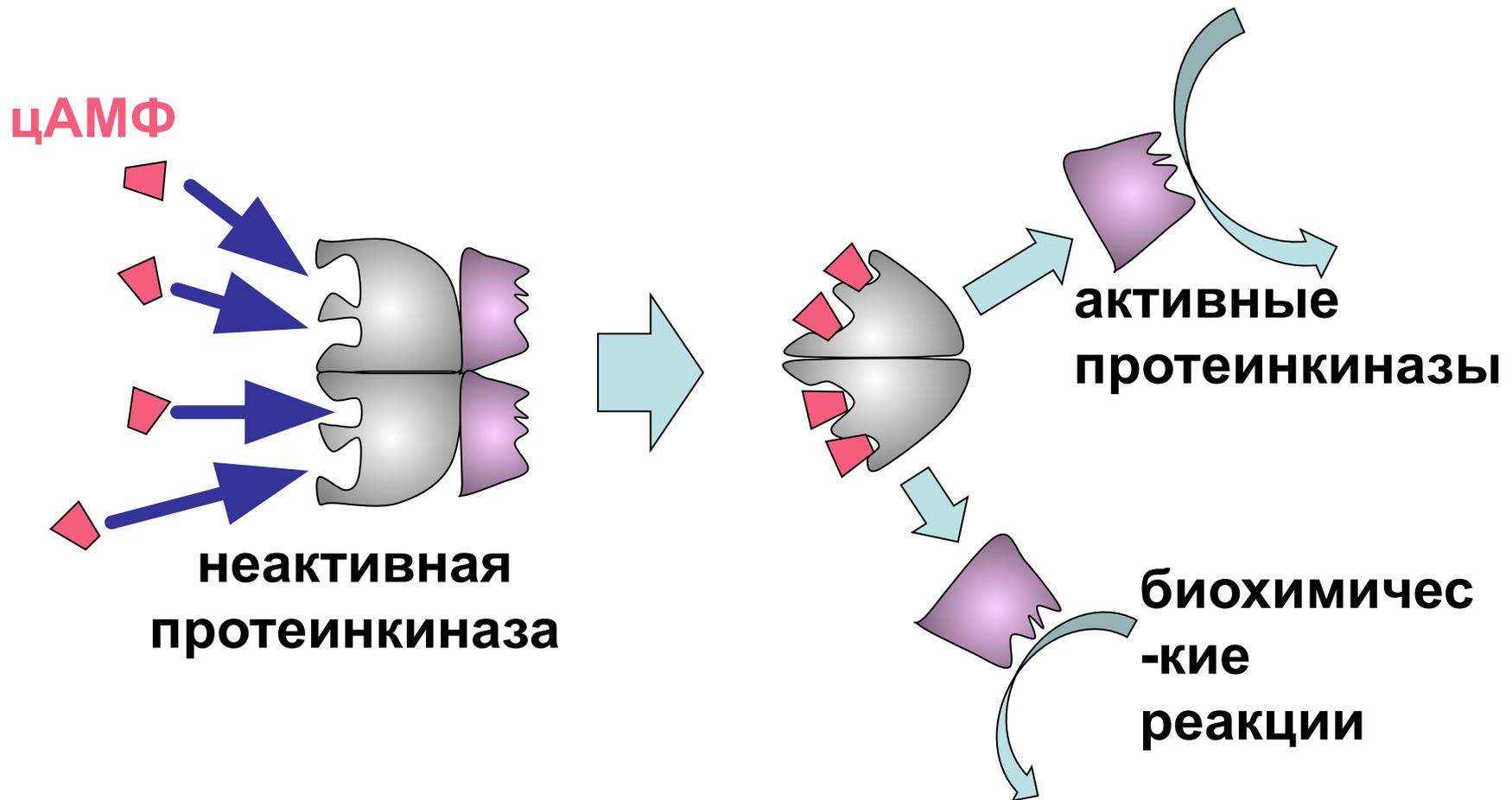
Аллостерический тип регуляции активности ферментов



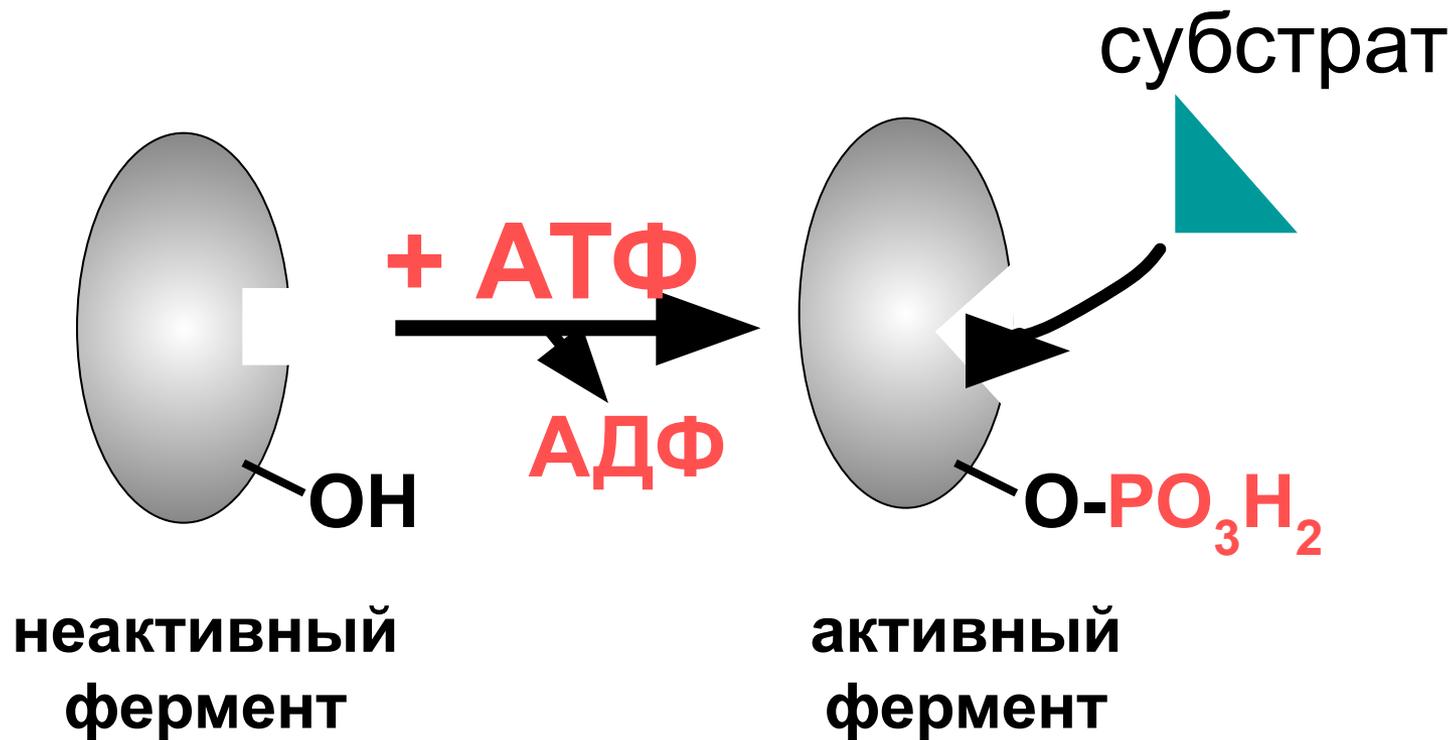
Роль аллостерических ферментов в метаболизме клетки

- 1. Регуляция скорости синтеза веществ;**
- 2. В случае накопления энергии (АТФ), обмен веществ идет по пути запасания резервных питательных веществ;**
- 3. Для координации процессов синтеза и распада веществ (регуляторы – АТФ и АДФ;**
- 4. Для координации параллельно протекающих путей превращений**

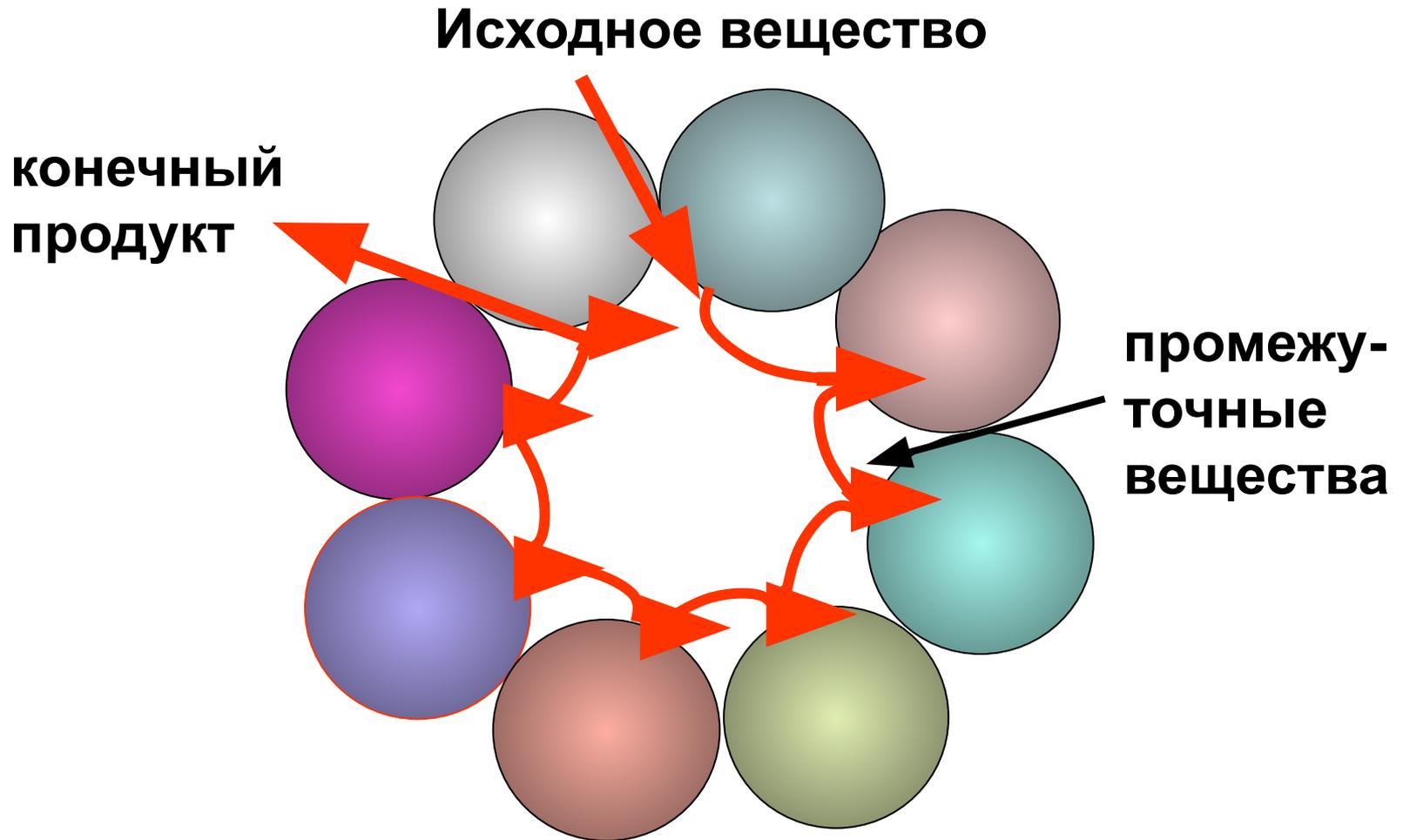
Регуляция каталитической активности ферментов ассоциацией – диссоциацией протомеров (субъединиц)



Регуляция активности путем фосфорилирования (дефосфорилирования) фермента

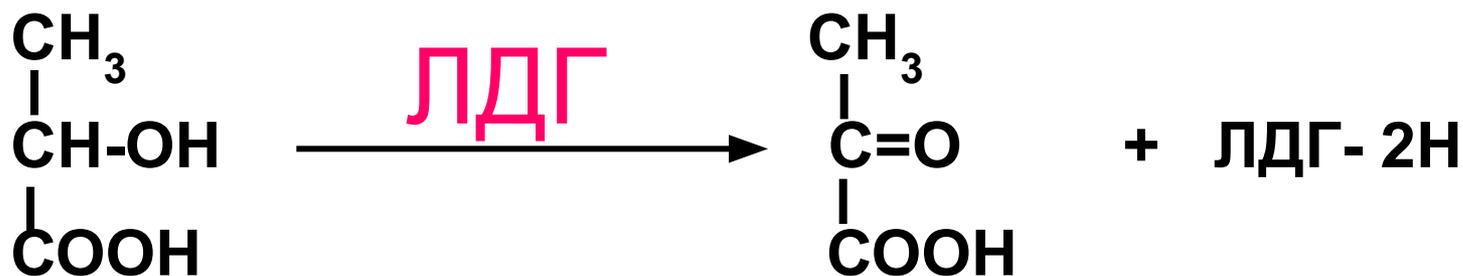


Образование метаболона в клетке



Правила названия фермента

Название **субстрата** (:) название **продукта** реакции – **класс фермента**.



Лактат : **пируват** - **оксидоредуктаза**

Классификация ферментов

- Оксидоредуктазы
- Трансферазы
- Гидролазы
- Лиазы
- Изомеразы
- Лигазы

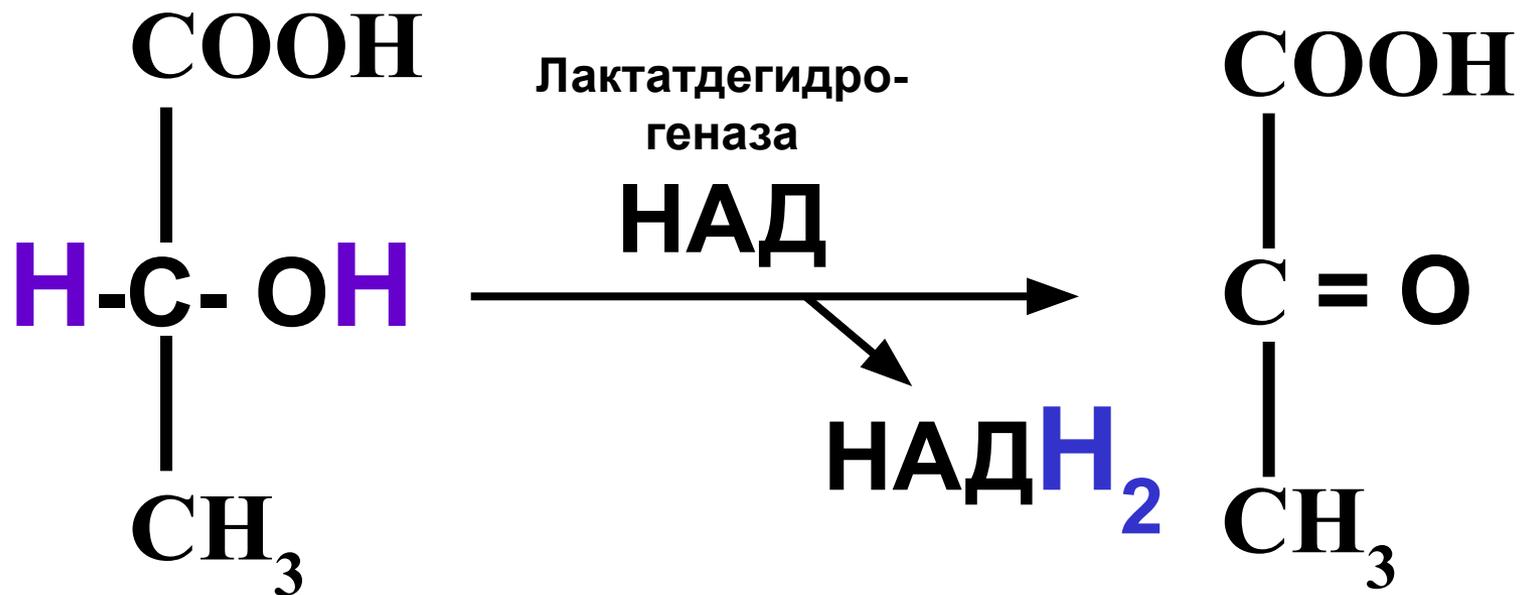


1. Оксидоредуктазы

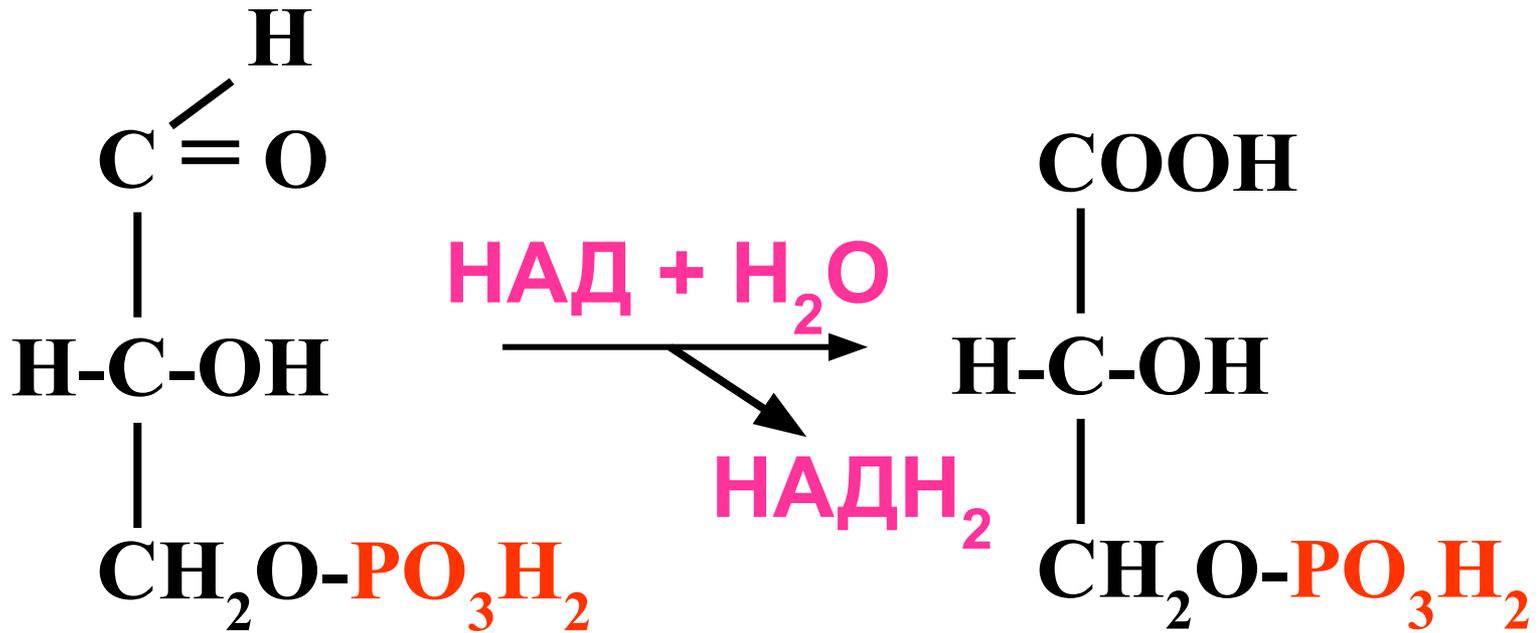
Катализируют окислительно-восстановительные реакции

1. Окисление спиртовых групп;
2. Окисление альдегидов;
3. Окисление кетонов (одновременно с декарбоксилированием);
4. Дегидрирование углеродных цепочек;
5. Окислительное дезаминирование.

Окисление молочной кислоты ферментом лактатдегидрогеназой (ЛДГ)



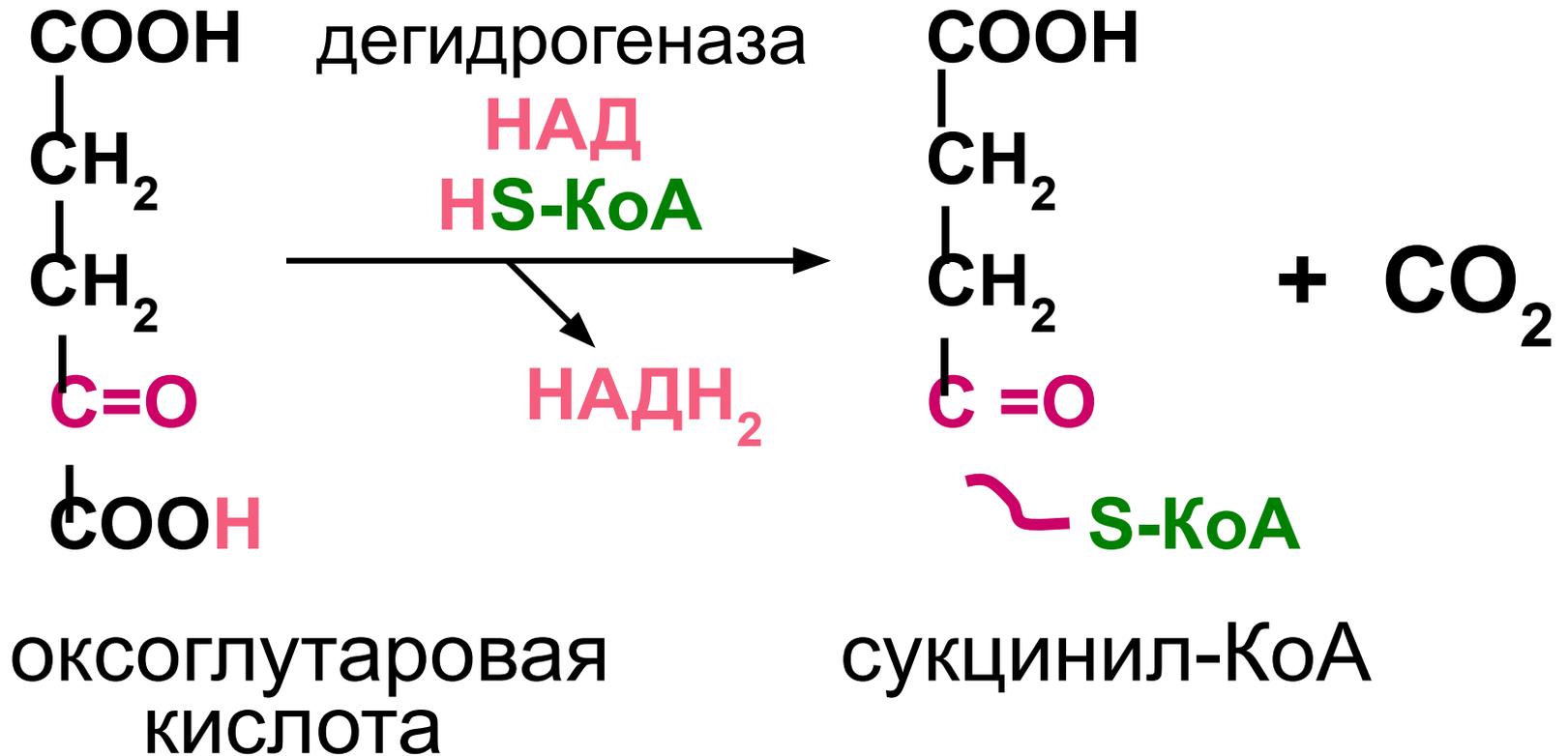
Окисление альдегидов



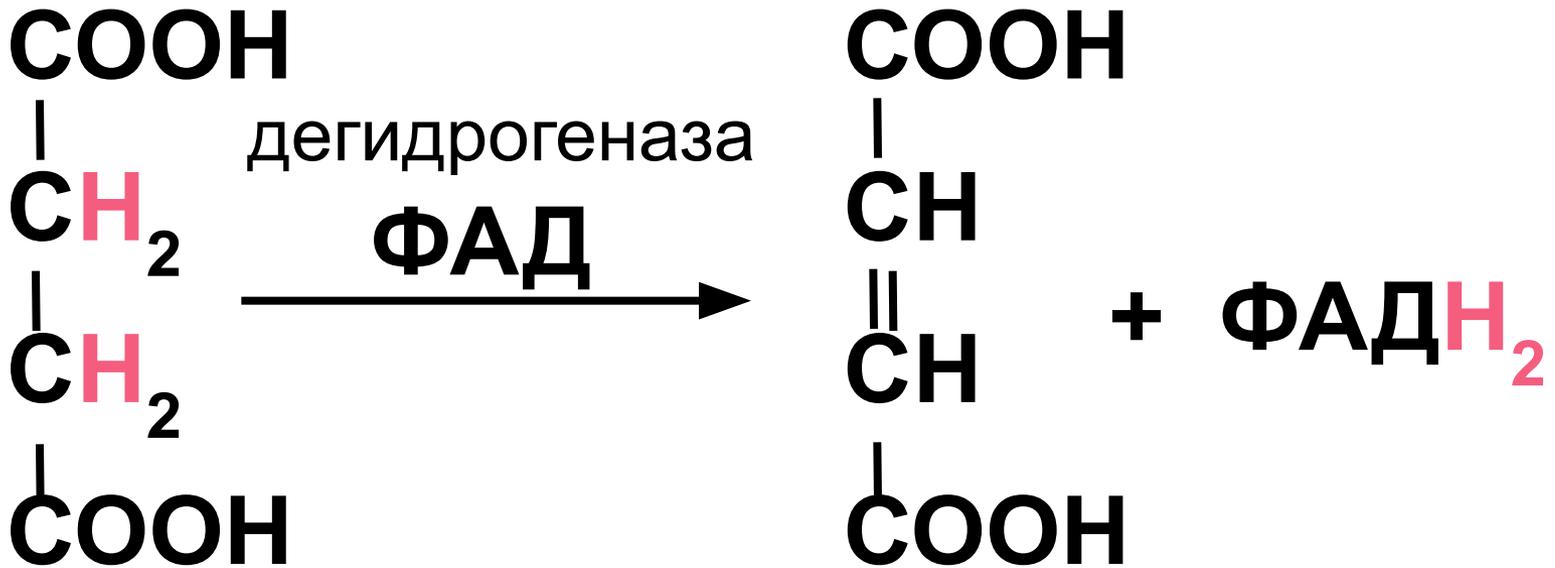
фосфоглицериновый
альдегид

фосфоглицериновая
кислота

Окисление кетонов



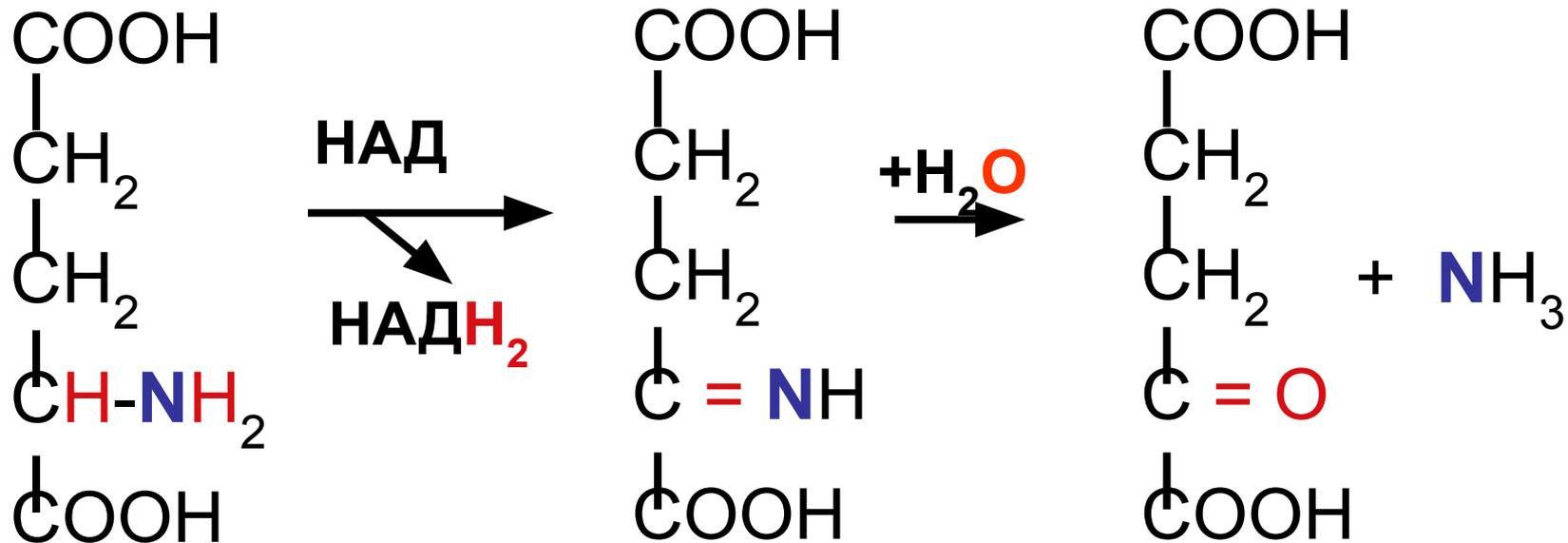
Окисление углеродной цепочки



янтарная к-та

фумаровая к-та

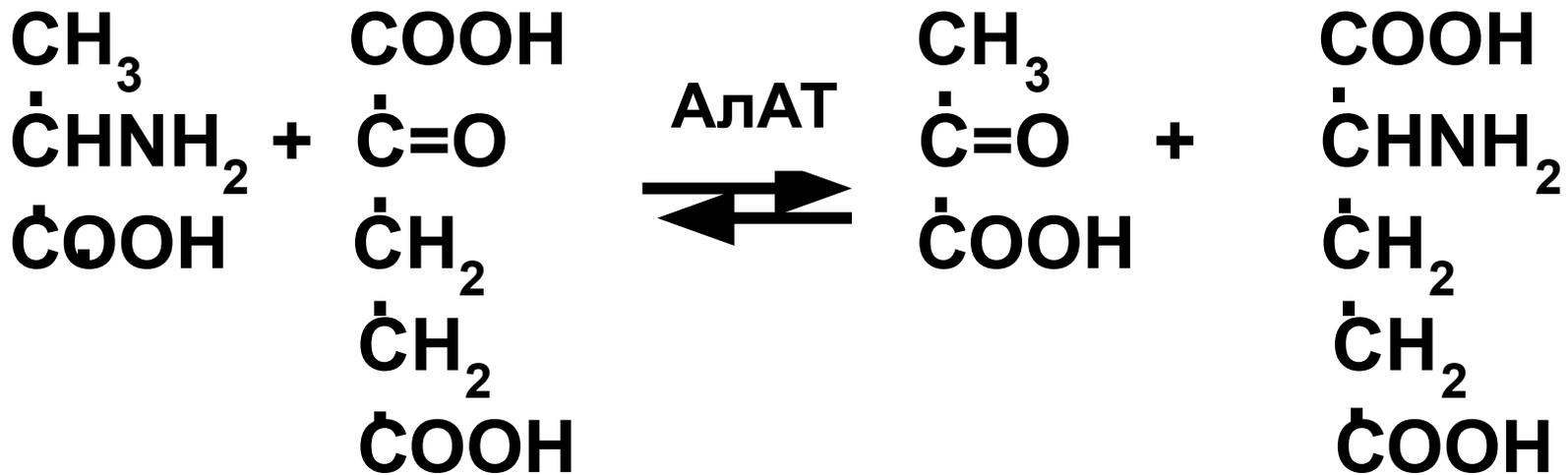
Реакция окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты



2. Трансферазы

Катализируют реакции переноса атомов или групп атомов.

КФ 2.6.1.2. Аланин:оксoglутарат- аминотрансфераза



3. Гидролазы

Расщепляют ковалентные связи с участием молекул воды

3.1.1.3 - липаза

3.2.1.1. - альфа-амилаза

3.4.3.2. - дипептидаза

4. Лиазы

*Разрывают ковалентные связи
без участия молекул воды*

**4.1.1.1. – пируватдекарбоксилаза
(разрывают связи -C-C-)**

**4.2.1.1. – карбоангидраза
(разрывают связи -C-O-)**

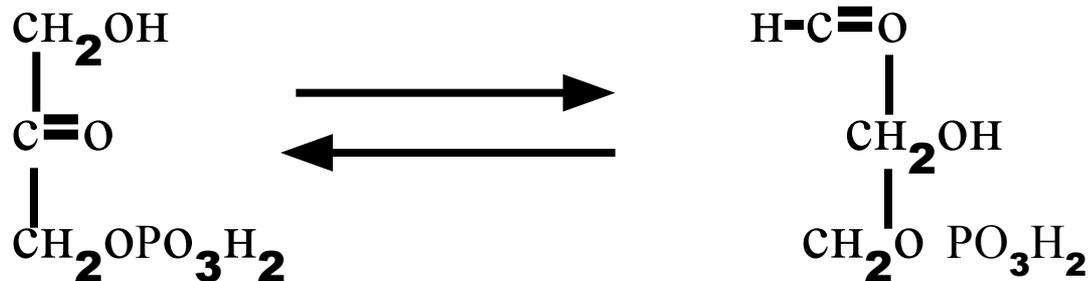
**4.3.1.1. – аспартат: аммиак-лиаза
(разрывают связи -C-N-)**

5. Изомеразы

Превращают один вид изомера в другой

5.2.1.3 ретинен цис: транс-изомераза
(ретиненизомераза)

5.3.1.1. триозофосфат - изомераза



6. Лигазаы (синтетазы)

**Участвуют в синтезе новых веществ,
путем соединения молекул друг с
другом**

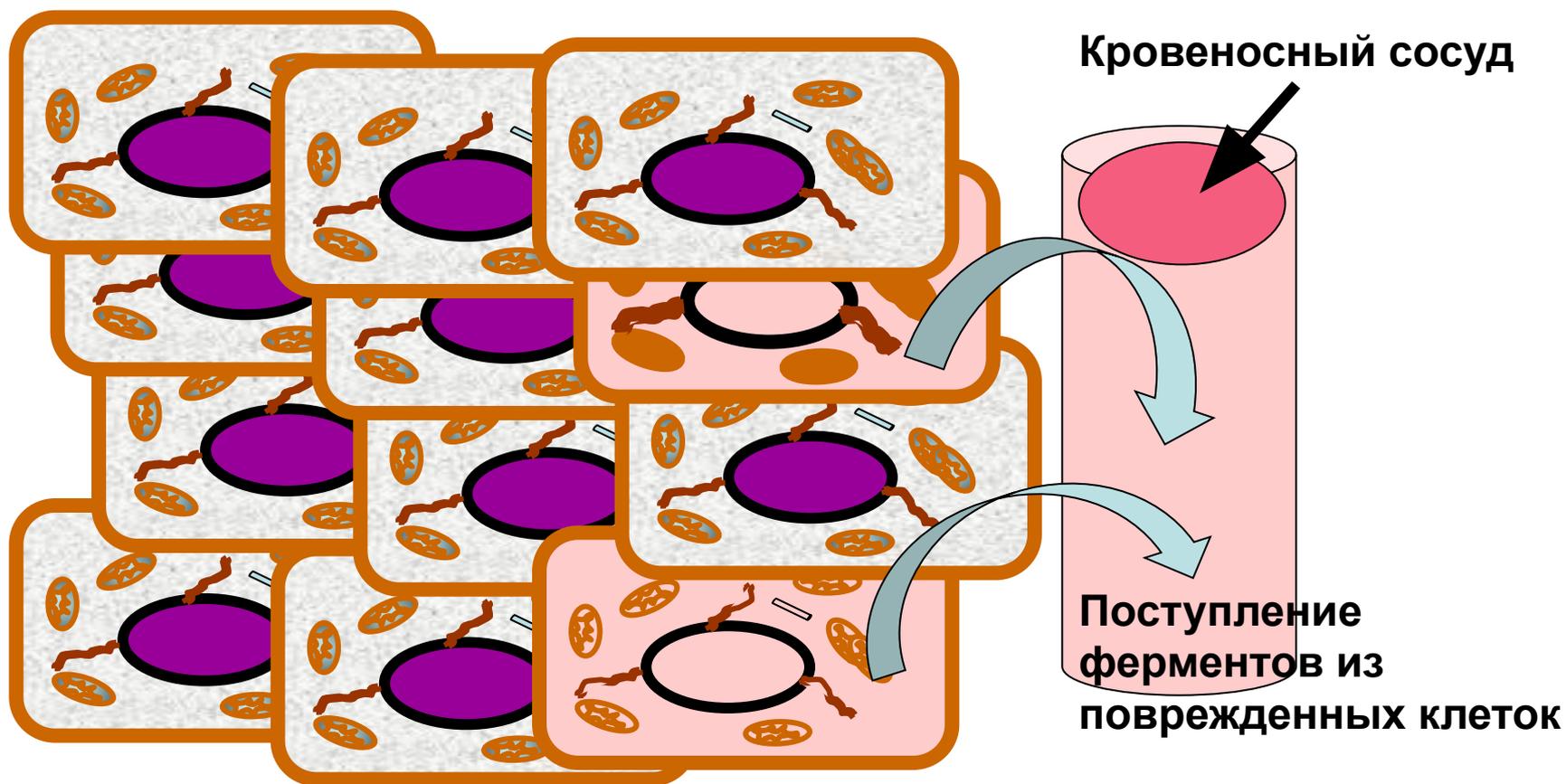
6.1.1.1. тирозин: т-РНК - лигаза

6.3.1.2. глутамат: аммиак - лигаза

Применение ферментов в медицине.

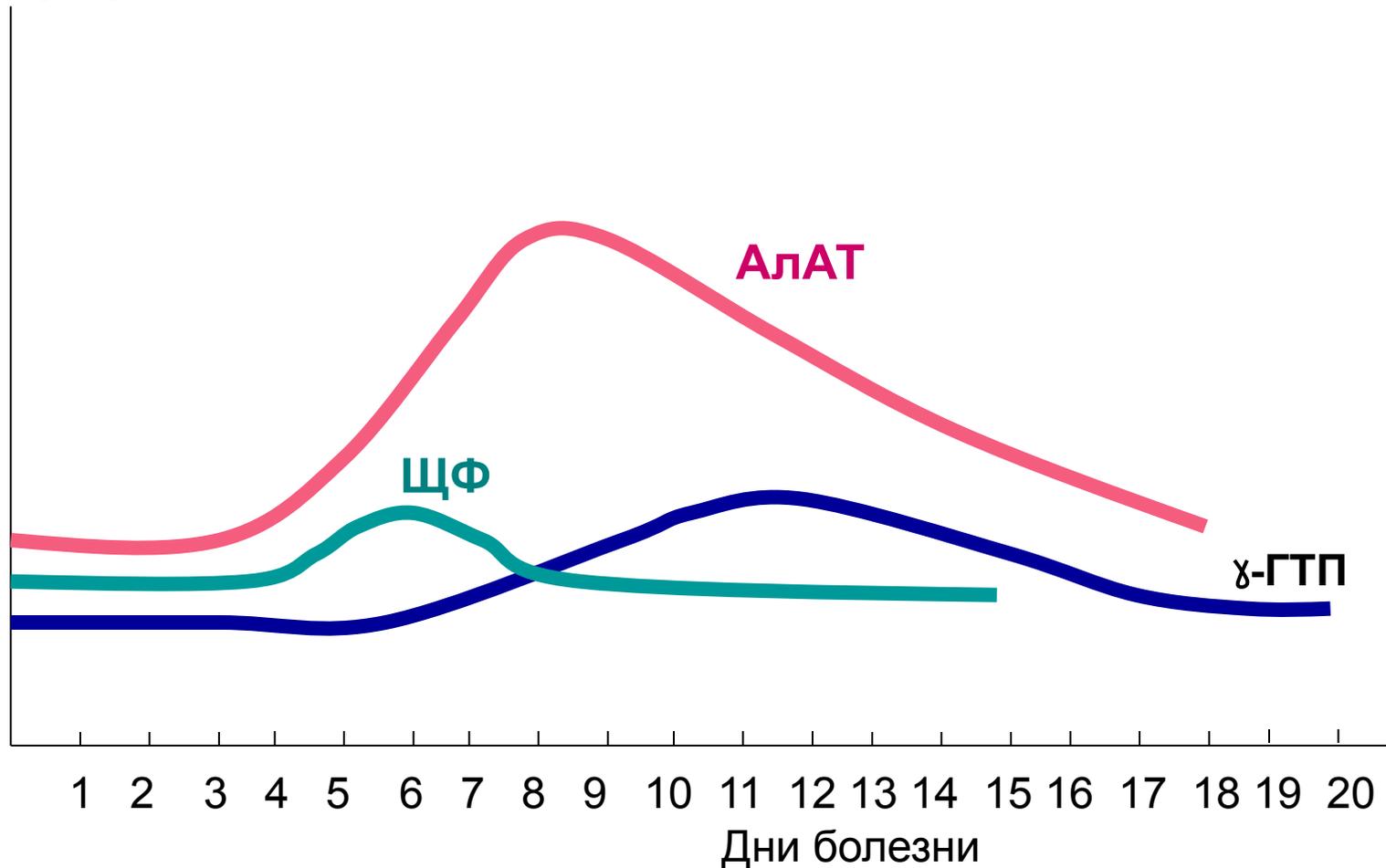
1. Для диагностики заболеваний;
2. Для оценки тяжести протекания болезни;
3. Для контроля качества лечения;
4. В качестве контроля времени выздоровления;
5. Применение ферментов в виде лекарственных средств;
6. Использование ферментов в аналитической практике – для измерения концентрации веществ в биологических жидкостях (кровь, моча и др.)

Диагностика заболеваний с помощью ферментов основывается на явлении **ЦИТОЛИЗА** – выхода ферментов из цитоплазмы клеток в кровь при повреждении органа.



Динамика повышения активности ферментов крови при гепатите

Активность ферментов

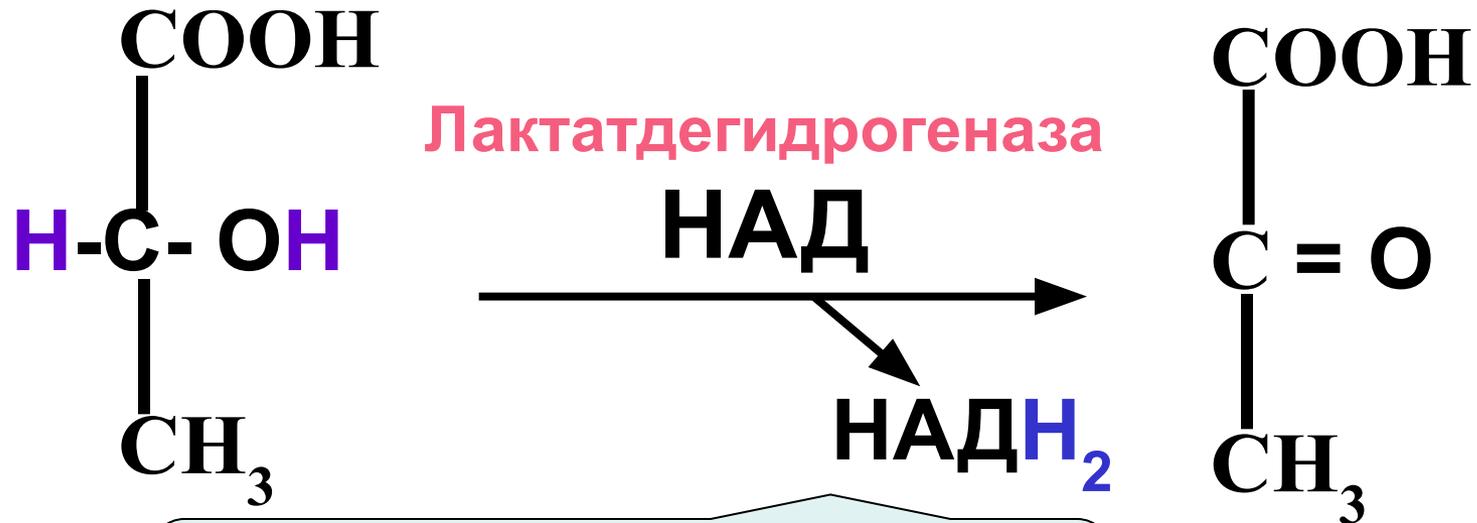


Применение ферментов в качестве лекарственных средств

1. **Заместительная терапия (пепсин, ферменты поджелудочной железы);**
2. **В хирургической практике для очищения ран (трипсин, химотрипсин);**
3. **В качестве противовирусных средств (рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза);**
4. **Для растворения тромбов в сосудах (фибринолизин, стрептолиаза);**
5. **Для удаления рубцов и спаек (гиалуронидаза, лидаза);**
6. **Для лечения рака крови (аспарагиназа)**

Применение ферментов в аналитических целях.

Для измерения концентрации молочной кислоты крови используют лактатдегидрогеназу



спектрофотометрическое
определение концентрации