

ЦМК лабораторная диагностика
специальность 31.02.03

ХИМИЯ ФЕРМЕНТОВ


ПРИРОДА ФЕРМЕНТОВ И ИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

ПМ.03 проведение лабораторных биохимических исследований

ЦМК лабораторной диагностики



Преподаватель Цитиридис Е.М.


Ставрополь 2019г.




■ "Ферменты есть, так сказать, первый акт жизненной деятельности. Все химические процессы направляются в теле именно этими веществами, они есть возбудители всех химических превращений. Все эти вещества играют огромную роль, они обуславливают собою те процессы, благодаря которым проявляется жизнь, они и есть в полном смысле возбудители жизни. Они составляют основной пункт, центр тяжести физиолого-химического знания"


И.П.Павлов

- 
- 
- ***Ферменты***, или ***энзимы***, представляют каталитически действующие вещества биологического происхождения.
 - Это высокомолекулярные, коллоидные органические вещества, вырабатываемые животными, растениями и микроорганизмами.

- 
- Это специфические белки. Они, как и катализаторы, не создают новых реакций, а только ускоряют существующие.



■ От обычных катализаторов ферменты отличаются высокой специфичностью, большой мощностью действия, термолабильностью. Пример: для расщепления белков до аминокислот необходимо кипятить их с 25%-ной серной кислотой примерно в течение суток; при помощи же трипсина достигают тех же результатов (при 37С) в течение нескольких часов.



■ Одна молекула каталазы разлагает в 1 минуту 2 600 000 молекул H_2O_2 при $T=0C$. Подобно катализаторам, ферменты не расходуются во время процесса и не входят в состав конечных продуктов. Таким образом:


■ **Ферменты - это высокомолекулярные органические соединения белковой природы, входят в состав всех клеток и тканей, играют роль биологических катализаторов.**



Роль ферментов

- пищеварение и использование поступивших питательных веществ для энергообразования;
- построение структурных и функциональных компонентов тканей и жидкостей организма;
- рост и воспроизведение;
- свертывание крови;
- мышечное сокращение и т. д.

Строение ферментов

- **Простые, или однокомпонентные.** Состоят только из аминокислот - рибонуклеаза, амилаза, альдолаза, пепсин, уреаза и др.

- 
- **Сложные.** Состоят из двух компонентов - небелковой части, или **простетической группы**, и белковой, или **апофермента**.
 - Обе части только в комплексе друг с другом обладают каталитическими свойствами.

- 
- 
- **Простетическая группа** - это термостабильная, низкомолекулярная часть молекулы фермента. Это производные витаминов, группы сахаров, соединения гема, нуклеотиды, нуклеозиды и др. Простетическая группа облегчает связывание фермента с субстратом.

Коферменты

- Если небелковая составная часть слабо связана с апоферментом, то ее называют **коферментом**, или **коэнзимом**. Коферменты могут входить в состав нескольких ферментов. Наиболее часто коферментами служат витамины и их производные.

Коферменты

- В качестве коферментов могут участвовать фосфаты нуклеозидов (нуклеотиды), ионы металлов (железо, медь, цинк, марганец, магний, молибден, кобальт и др.)

Апофермент

- это полимер, состоящий из аминокислот. Его уровень организации молекулы может быть различным - первичным, вторичным, третичным или четвертичным.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ



- вещество, на которое действует фермент, вступает с ним в промежуточное соединение, которое оказывается менее стойким, чем исходные продукты. Степень диссоциации соединения "фермент+субстрат" определяет скорость ферментной реакции.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

- Схематическая ферментативная реакция следующая:
- $C + \Phi = \Phi C K = \Phi P K = \Phi + P$
- **C** - вещество, подвергающееся превращению (субстрат),
- **Φ** - фермент,
- **P** - вещество, образующееся в результате ферментативной реакции (продукт),
- **ΦCK** - фермент-субстратный комплекс,
- **ΦPK** - фермент-продуктный комплекс.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

- На первом этапе образуется **ФСК**, в котором субстрат переходит в активированное состояние. На втором этапе субстрат превращается в продукт реакции, находящемся в комплексе с **Ф** (**ФПК**), который затем распадается с образованием **Ф** и **П**.

- 
- 
- Фермент в процессе взаимодействия остается неизменным. Это имеет большое биологическое значение для сохранения количества фермента и возможности его взаимодействия с другими молекулами субстрата.

активный центр

При взаимодействии **Ф** и **С** важную роль играет **активный центр фермента** - часть молекулы фермента, состоящая из совокупности химических группировок, которые обеспечивают каталитическое действие.

активный центр

- Активный центр состоит из ряда реакционноспособных функциональных групп белковой и небелковой частей **фермента** (-ОН, -Н, -СООН и др.), ориентированных определенным образом в пространстве. **Кофермент** почти полностью входит в состав активного центра.

Строение активного центра

- В процессе взаимодействия с субстратом активный центр разделяется на три функциональные группы -
 - **каталитическую,**
 - **контактную,**
 - **вспомогательную.**

активный центр

- **Каталитическая группа** участвует в превращении субстрата в продукт.
Контактная группа обеспечивает специфическое сходство с субстратом и образование соединения фермент-субстрат, высокую скорость реакции.
Вспомогательная группа фиксирует третичную или четвертичную структуры для формирования активного центра фермента.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Специфичность ферментов (действуют на определенный субстрат, на определенный тип химической связи в молекуле)
- Обратимость ферментативных реакций (ферменты катализируют прямую и обратную реакции).

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Зависимость активности ферментов от рН среды. Значение рН, при котором ферменты находятся в максимально активном состоянии называется **оптимумом рН** (для пепсина рН=1,5-2,5, для трипсина рН=8,0-9,0)

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Зависимость активности фермента от температуры, при которой активность фермента максимальна и называется **температурным оптимумом**. Для большинства ферментов температурный оптимум близок к температуре тела.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Зависимость активности фермента от концентрации субстрата. При высокой концентрации субстрата может произойти ингибирование фермента и снижение скорости реакции.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Зависимость активности фермента от ингибиторов. Различают **необратимое ингибирование**, которое вызывают денатуранты (ртуть, серебро, свинец, мышьяк и их соли, синильная кислота и ее производные и т.д.) и **обратимое ингибирование** - наблюдается только тормозящий эффект.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

- Зависимость активности фермента от активаторов - веществ, повышающих скорость ферментативных реакций. Это одно- или двухвалентные катионы кальция, магния, марганца, кобальта, калия, натрия или анионы хлора, желчные кислоты, вещества, содержащие -SH-группу).

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

- Названия ферментов состоят обычно или из названия вещества, на которое действует фермент, или из слова, определяющего характер реакции. В таких словах последние один-два слога заменяются окончанием **аза**, например: сахар**о**за - сахар**а**за, аргин**ин** - аргин**а**за, катал**из** - катал**а**за.

Классы ферментов

- **Оксиредуктазы** - ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. К ним относятся: **дегидрогеназы и оксидазы** (лактат-, глутамат-, сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы, каталаза, пероксидаза и другие).

Классы ферментов

- **Трансферазы** - ферменты, осуществляющие перенос различных химических радикалов с донора на акцептор, Этот класс включает амино-, фосфо-, глюкозил-, ацилтрансферазы и другие.

Классы ферментов

- **Гидролазы** - ферменты, катализирующие процессы гидролитического расщепления субстратов. Включает пепсин, трипсин, химотрипсин, липазу, амилазу, дисахаридазы и другие.

Классы ферментов



- **Лиазы** - ферменты, катализирующие внутримолекулярный перенос химических радикалов с образованием изомеров. К этому классу принадлежат глюкозо-, триозофосфатизомераза и другие.



Классы ферментов

- **Лигазы** - ферменты, осуществляющие реакции синтеза, которые сопровождаются поглощением энергии, например, глутамат-, гликоген-, гемсинтетазы и другие.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ

- В противоположность другим биохимическим компонентам количество ферментов не может быть измерено, в единицах массы, т.е. в миллиграммах или молях. О количестве фермента косвенно судят по его активности - по производимому ферментом действию, таким образом присутствие и количество фермента распознается по специфичности и скорости катализируемой им реакции.



- 
- 
- Активность фермента можно определить либо по скорости накопления продуктов ферментативной реакции, либо по скорости убыли субстрата.
 - Ферментативную реакцию принято проводить при температуре, лежащей в пределах 25о-40о С.

- 
- 
- В практике работы клинико-диагностических лабораториях для определения активности ферментов чаще используют калориметрические и спектрофотометрические методы.



- В основе калориметрических методов лежит измерение при помощи ФЭК интенсивности окраски вещества, образующегося при взаимодействии субстрата или продукта действия фермента со специфическими реактивами, добавленными в пробу, после остановки ферментативной реакции.

- Спектрофотометрические методы основаны на поглощении света в определенных участках спектра субстратами или продуктами реакции. Спектры поглощения этих соединений могут иметь максимумы при определенной длине волны как в ультрафиолетовой, так и в видимой области.

- Комиссия по ферментам Международного биохимического союза предложила за единицу активности (Е) фермента принять то количество его, которое катализирует превращение 1 микромоля субстрата (или образование 1 микромоля продукта реакции) в минуту при заданных условиях.

- 
- 
- Необходимо указать температуру, при которой проводилась ферментативная реакция. Активность фермента в сыворотке или плазме крови следует выражать в единицах на 1 л.

- Увеличение активности ферментов в плазме крови связано с разрушением клеток или одним только повышением проницаемости их наружной, плазматической мембраны. При этом активность фермента в поврежденном органе снижается, а в плазме (сыворотке) крови, наоборот, повышается вследствие выхода фермента из ткани в кровеносное русло.

- 
- 
- Полагают, что в силу характерной общей реакции организма ферменты переходят в плазму не только из поврежденного органа, но также в значительной мере из клеток других тканей, непосредственно не затронутых патологическим процессом.





