

ФЕРМЕНТЫ-3



**Зав. кафедрой биохимии
профессор ЛЕЛЕВИЧ В.В.**

Аллостерические ферменты – это ферменты, активность которых регулируется не только концентрацией субстрата, но и другими веществами (аллостерическими регуляторами)

С греческого: **allo** – другой

stereos – участок

Аллостерический центр – специфический участок на поверхности молекулы аллостерического фермента (**отличный от активного центра**) с которым связывается молекула аллостерического регулятора

Алlostерический фермент



Роль аллостерических ферментов в метаболизме

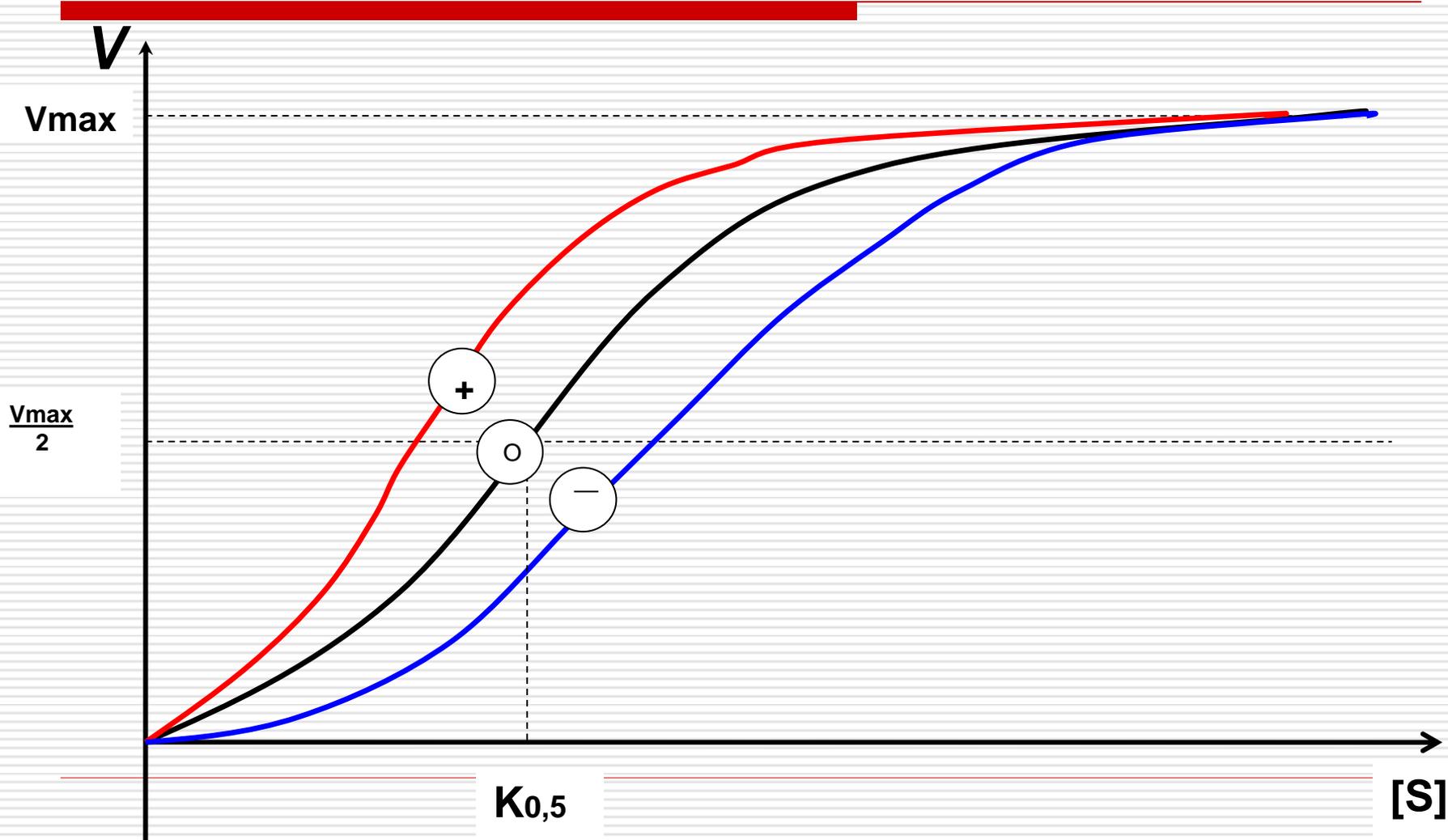


- ❑ Анаболические процессы (ингибирование конечными продуктами метаболического пути и активация начальными метаболитами)
 - ❑ Катаболические процессы (накопление **АТФ**)
 - ❑ Кординация анаболических и катаболических путей (**АТФ** и **АДФ** – аллостерические антагонисты)
 - ❑ Конечные продукты одного метаболического пути могут быть аллостерическими эффекторами другого
-

Особенности аллостерических ферментов

- Обычно это **олигомерные белки**, состоят из нескольких протомеров
 - Имеют аллостерический центр
 - Регуляторы присоединяются к аллостерическому центру **нековалентно**
 - Аллостерические центры могут проявлять различную специфичность по отношению к регуляторам
 - Обладают свойством **кооперативности** (изменение конформации всех субъединиц)
 - Регуляция аллостерических ферментов **обратима**
 - Аллостерические ферменты катализируют **ключевые реакции**
-

Кинетика реакций, катализируемых аллостерическими ферментами, обычно отличается от уравнения Михаэлиса-Ментен



Регуляция активности ферментов белок-белковыми взаимодействиями

- Активация ферментов при присоединении регуляторных белков – **аденилатциклаза** (рецептор G-белок)
- Изменение активности ферментов путем ассоциации/диссоциации протомеров

протеинкиназа А

(2 регуляторных и 2 каталитических субъединицы)

- **Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования (протеинкиназы, фосфопротеинфосфатазы)**

Фосфоорилаза

Пируватдегидрогеназный комплекс

- **Регуляция активности ферментов частичным протеолизом**

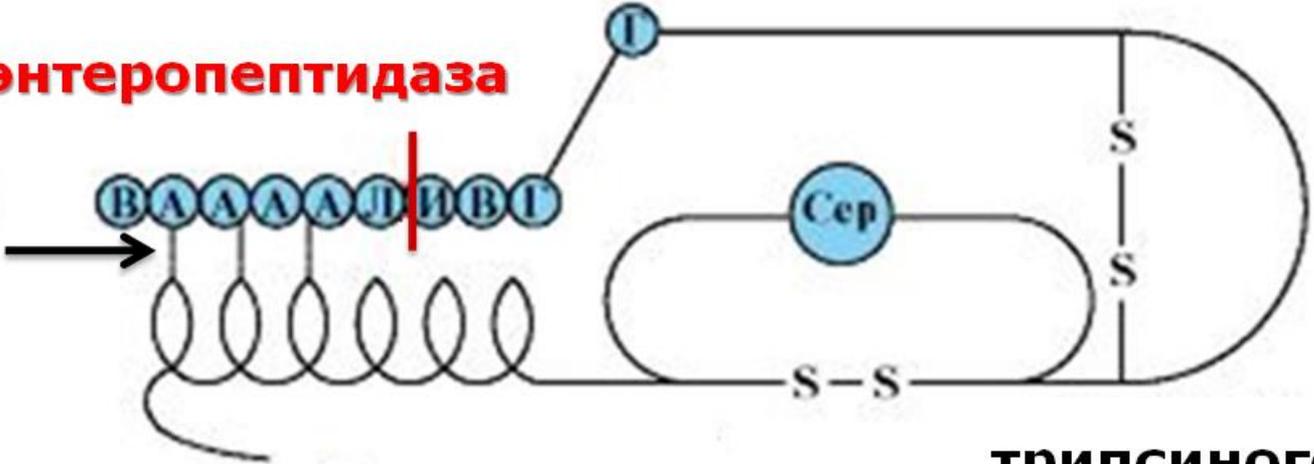
Трипсиноген – трипсин

Пепсиноген – пепсин

Частичный протеолиз трипсиногена

энтеропептидаза

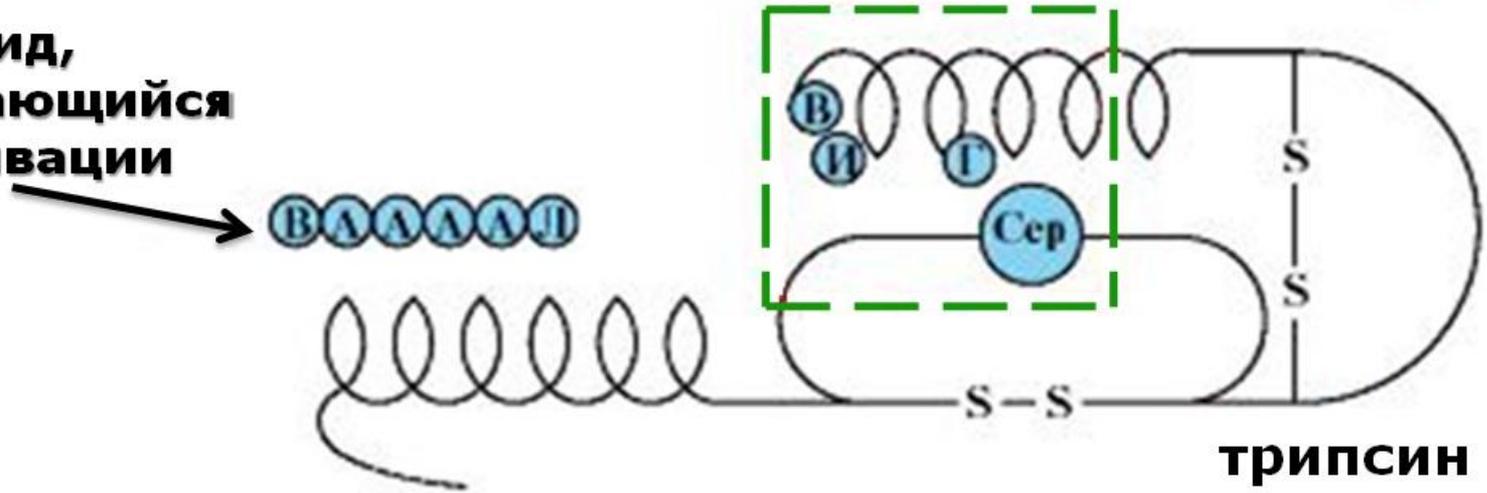
Водородные связи



трипсиноген

Активный центр

Пептид, освобождающийся при активации



трипсин

Ферменты плазмы крови



□ Собственные ферменты плазмы крови (секреторные)

- протромбин, проконвертин,
- проакцелерин,
- церулоплазмин

□ Экскреторные ферменты

- амилаза
- липаза

□ Клеточные ферменты



Органоспецифические ферменты (изоферменты)

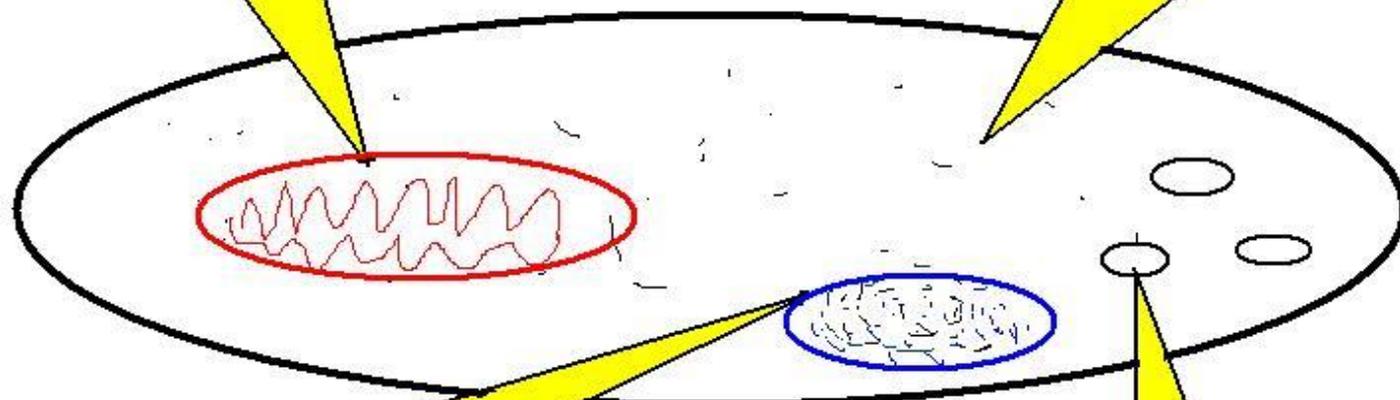
Фермент	Орган, при повреждении которого, активность фермента в крови увеличивается
ЛДГ1 ЛДГ2 ЛДГ3 ЛДГ4 ЛДГ5 амилаза АЛТ АСТ Кислотная фосфатаза Щелочная фосфатаза	миокард легкие печень, мышцы поджелудочная железа печень миокард простата печень

МИТОХОНДРИЯ

- Окислительное декарбоксилирование пирувата;
- Цикл трикарбоновых кислот;
- окисление жирных кислот

ЦИТОПЛАЗМА

- Гликолиз;
- Глюконеогенез;
- Синтез белка;
- Синтез жирных кислот;
- Синтез холестерина

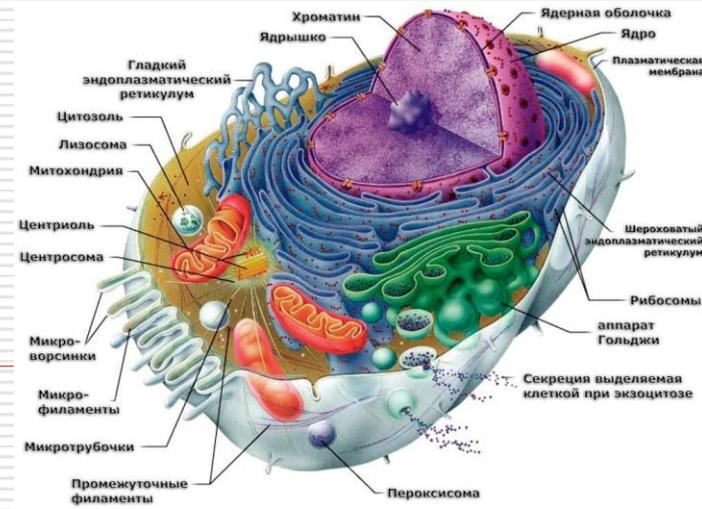


ЯДРО
Синтез ДНК и РНК

ЛИЗОСОМЫ
Деградация комплексов
макромолекул

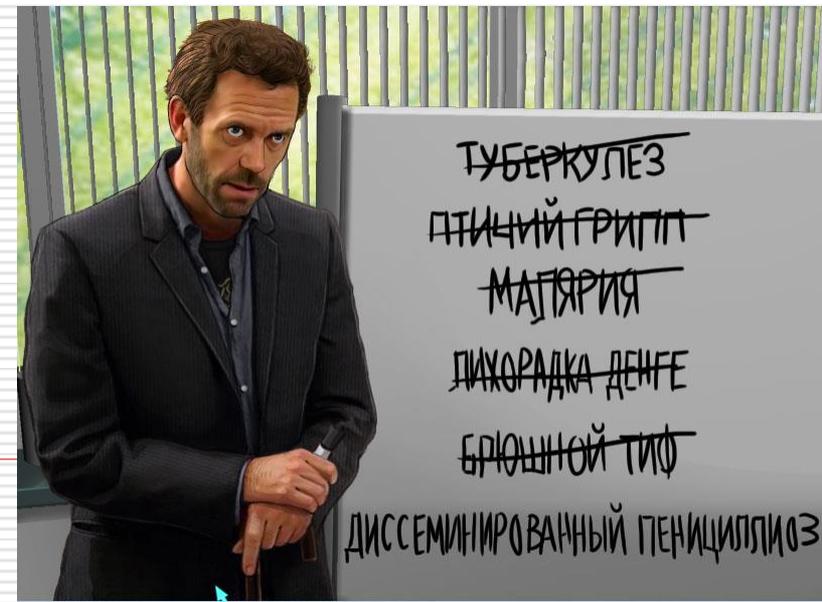
Внутриклеточная локализация ферментов

- **ЯДРО** - АРГИНАЗА
- **МИТОХОНДРИИ** - глутаматдегидрогеназы
- пируваткарбоксилаза
- **МИКРОСОМЫ** - ГГТП
- **ЦИТОПЛАЗМА** - лактатдегидрогеназа



Энзимодиагностика –

это постановка диагноза заболевания (или синдрома) на основе определения активности фермента в биологическом материале человека (биологические жидкости, ткани).





**В процессе энзимодиагностики
следует учитывать:**

- массу поврежденной ткани**
 - количество высвобождаемого фермента**
 - органоспецифичность фермента**
 - внутриклеточную локализацию фермента**
-

Энзимопатии – заболевания,
возникающие при отсутствии или
нарушении активности ферментов





Первичные энзимопатии – вызваны генетически обусловленной недостаточностью одного или нескольких ферментов

Альбинизм – тирозиназа

Гликогеноз I типа – глюкозо-6-фосфатаза

Вторичные энзимопатии – являются следствием тех или иных патологических процессов, сопровождающихся нарушением активности ферментов

алиментарные энзимопатии

панкреатит

гепатит



Нарушения метаболизма при первичных энзимопатиях

I. Нарушения образования конечных продуктов

пример – альбинизм (тирозингидроксилаза)

II. Накопление субстратов –предшественников

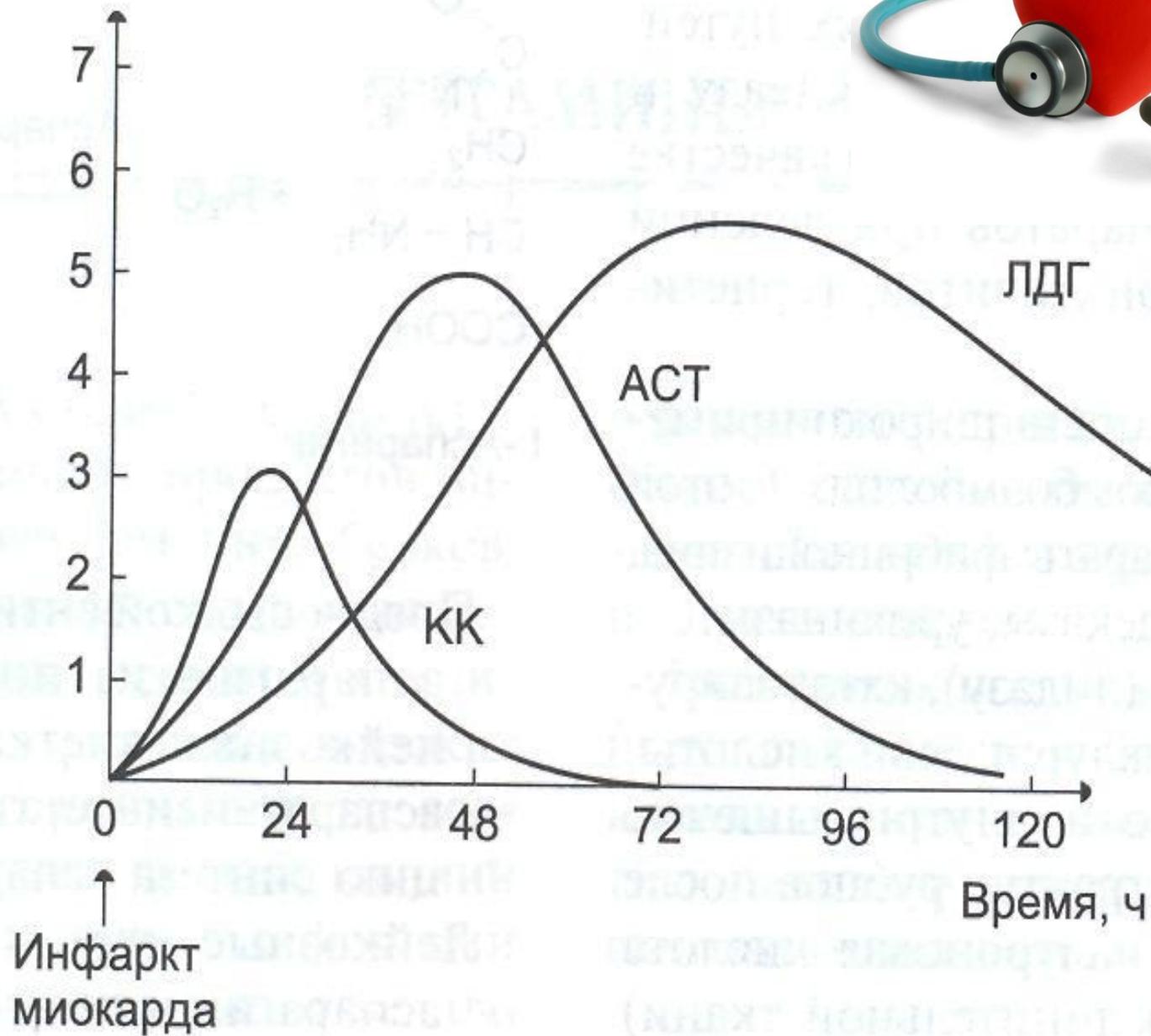
алкаптонурия (диоксигеназа гомогентизиновой
к-ты)

III. Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников

болезнь Гирке-гликогеноз I типа
(глюкозо-6 фосфатаза)



Кратное увеличение активности ферментов относительно нормальных значений



Применение ферментов в качестве лекарственных средств (энзимотерапия)

I. Заместительная терапия – использование ферментов в случае их недостаточности

пепсин
панкреатин
фестал
панзинорм



II. Элементы комплексной терапии – применение ферментов в сочетании с другой терапией

- Трипсин** - обработка гнойных ран
химотрипсин
- Фибринолизин**
стрептолиаза – тромболитическая
стрептодеказа терапия
- Лиаза** (гиалуронидаза)





Иммобилизованные ферменты – это ферменты, связанные с твердым носителем или помещенные в полимерную капсулу

Для иммобилизации ферментов используют два основных подхода:

- Химическая модификация фермента
 - Физическая изоляция фермента в инертном материале
-

Методы иммобилизации ферментов

Физические

Химические

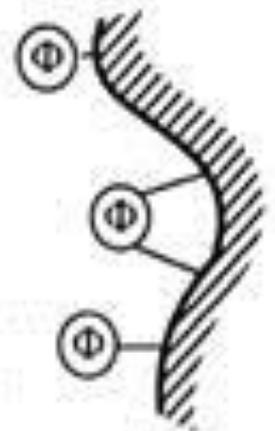
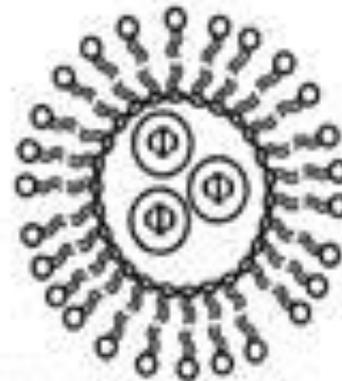
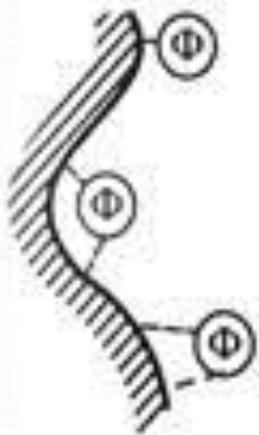
Адсорбция

Включение
в гель

Инкапсули-
рование

Включение
в липосомы

Ковалентное
связывание



Иммобилизированные ферменты используются в аналитических и препаративных целях:

- ферментные электроды
- тест – системы
- получение L-аминокислот (аминоацилаза)
- обработка молока



Ферментные электроды
используются,
например, в
автоматических
глюкометрах
(портативных приборах
для анализа
концентрации глюкозы
в крови) и в других
автоматических
диагностических
анализаторах.



Иммобилизированные ферменты очень важны для лабораторных клинических исследований:

ИФА (иммуноферментный анализ)-

лабораторный метод качественного или количественного определения различных соединений, макромолекул (особенно белков), вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело (лиганд-рецептор).

ИФА

состоит из двух компонентов – **иммунной реакции** и **ферментативной реакции**. Иммунная реакция происходит при связывании определяемых молекул, а ферментная реакция позволяет увидеть и измерить результат иммунологической реакции. При этом используются такие ферментативные реакции, продуктом которых являются окрашенные вещества. Для определения концентрации окрашенного продукта используется **колориметрия**.

Иммунная реакция

+

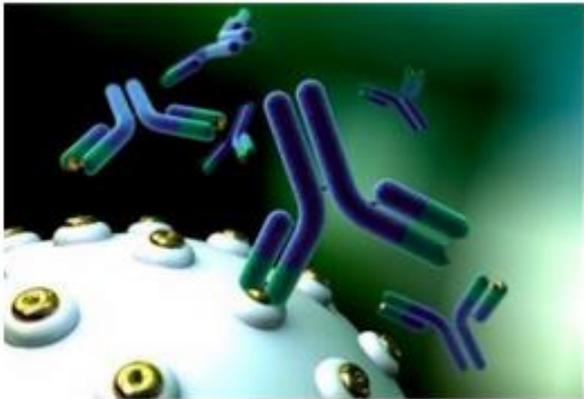
Ферментная реакция

Специфическое связывание
антигена с антителом

Химическая реакция превращения
субстрата под действием
фермента в продукт реакции

Иммунный комплекс

Колориметрическое определение



Характеристики метода ИФА:

- ❑ **высокая чувствительность**, позволяющая выявлять концентрации до 0,05 нг/мл.
 - ❑ Возможность использовать **минимальные объемы** исследуемого материала;
 - ❑ **Стабильность при хранении** всех ингредиентов, необходимых для проведения ИФА (до года и более);
 - ❑ **Простота** проведения реакции;
 - ❑ Наличие как инструментального (в качественном и количественном варианте), так и визуального учета;
 - ❑ Возможность **автоматизации** всех этапов реакции
 - ❑ Относительно **низкая стоимость** диагностических наборов.
-

ИФА используют для определения:



- сифилиса
 - ВИЧ-инфекции
 - вирусных гепатитов
 - антител при различных инфекционных заболеваниях
 - уровня гормонов
 - аутоантител
 - различных маркеров онкологических заболеваний
-

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

