

Ферменты.

Регуляция активности.

Активаторы и ингибиторы.

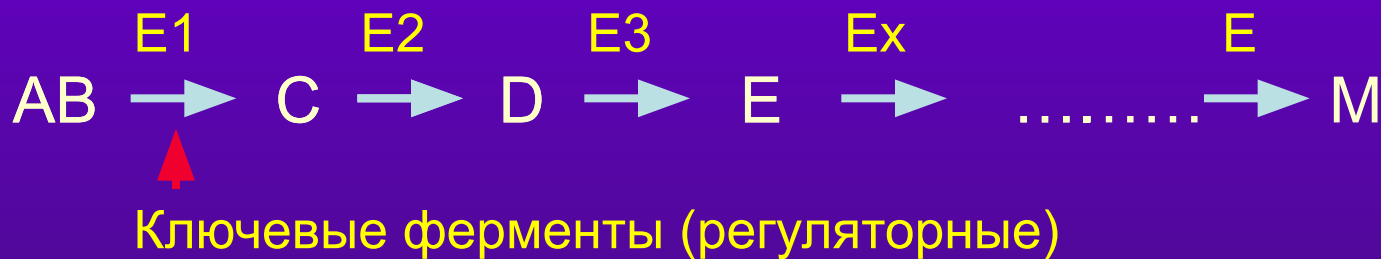
Вопросы лекции

- 1) Регуляция активности ферментов**
- 2) Уровни организации структуры ферментов**
- 3) Мультимолекулярные ферментные комплексы**
- 4) Множественные формы ферментов**
- 5) Введение в клиническую энзимологию**

Регуляция активности ферментов



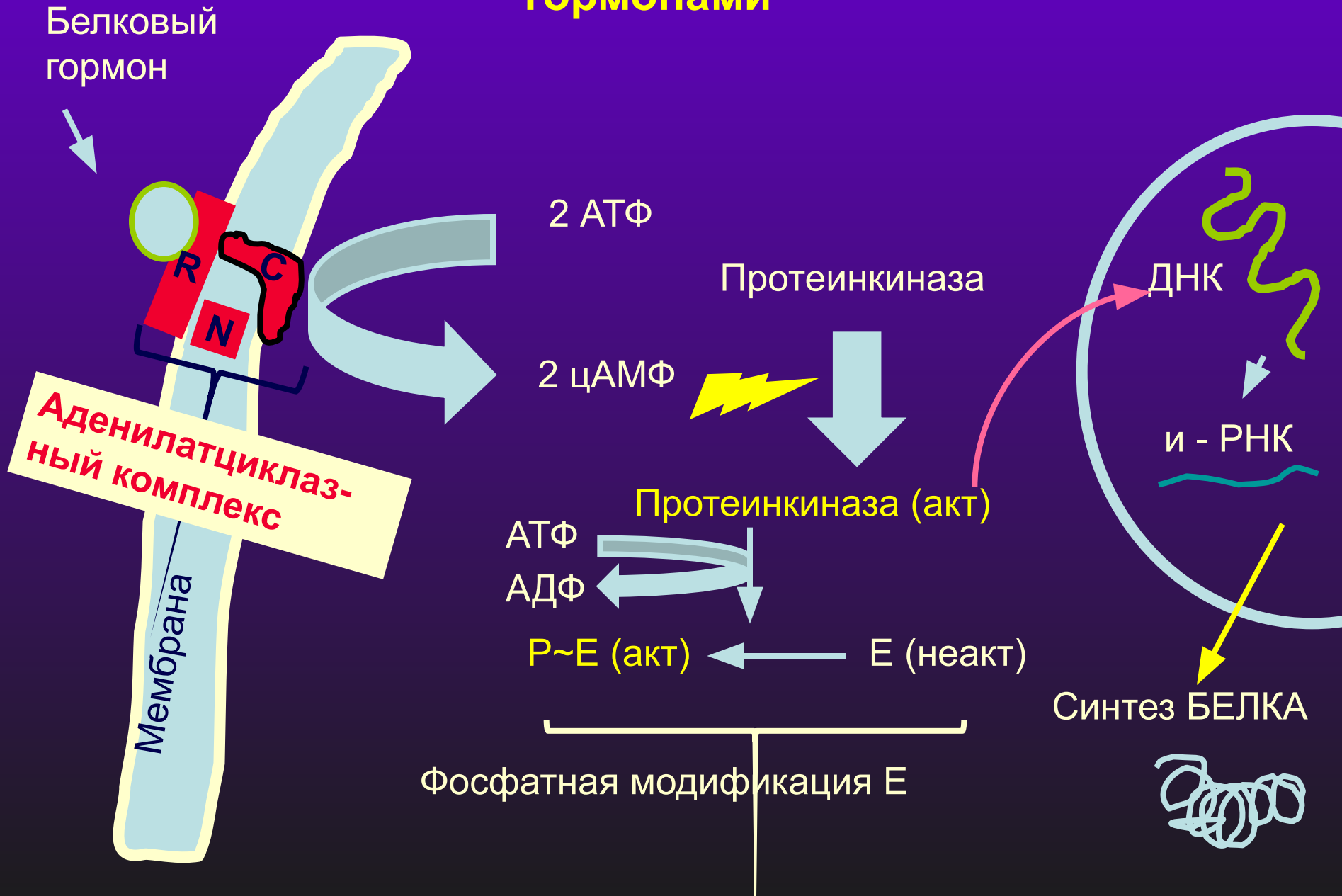
Ключевые ферменты



СИНТЕЗ ГЕМА



Быстрая гормональная регуляция белковыми гормонами



Активация профермента (частичный протеолиз)

1 **Химотрипсиноген** 245 неактивен

трипсин

активен

1 15 16 **π - химотрипсин** 245

арг иле

Активен X 2

1 15 16 **δ - химотрипсин** 148 149 245

арг иле

химотрипсин

сер(14) – арг(15)

тир(147) – асп(148)

S

S

S

S

S

S

1 13

16

α - Химотрипсин

146

149 245

лей

иле

тир

ала

А - цепь

В - цепь

С - цепь

Медленная метаболическая регуляция

Теория Жакоба и Моно

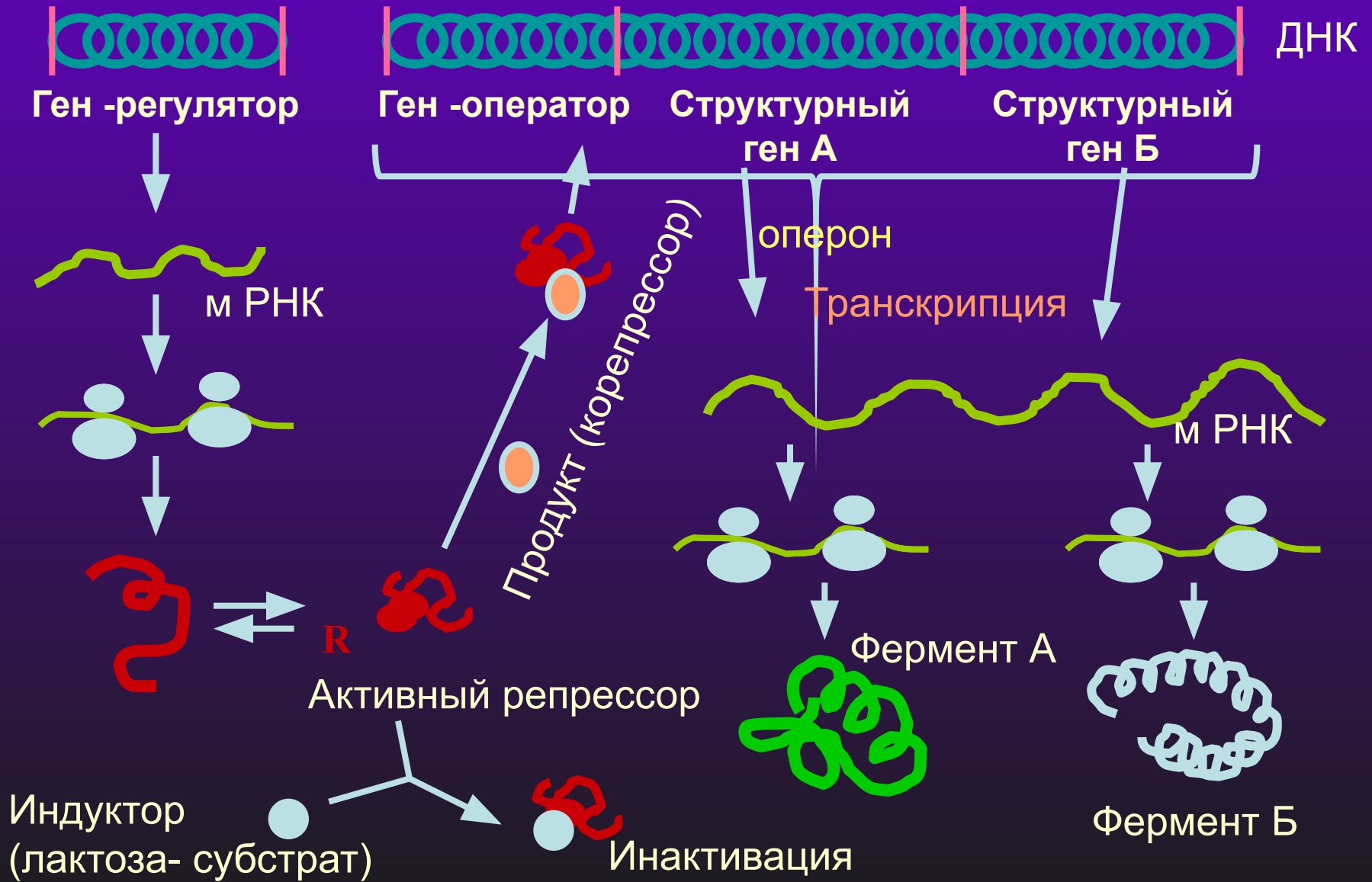
В биосинтезе белка у бактерий принимают участие по крайней мере 3 типа генов :

- структурные гены А и В
- ген – регулятор
- ген – оператор

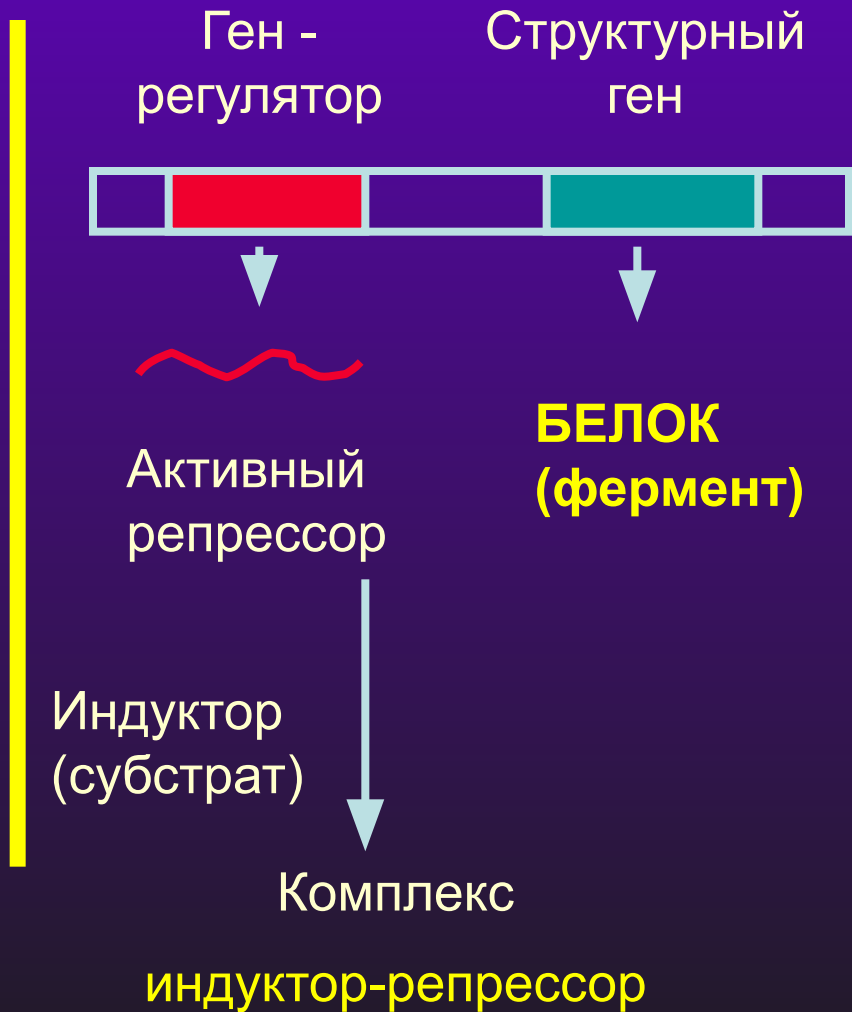
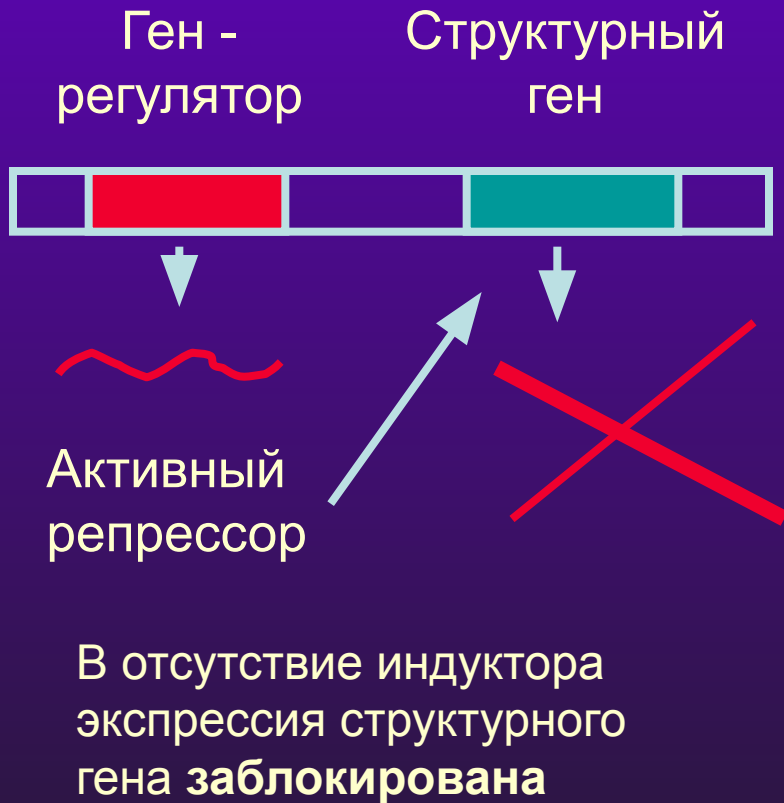
Различают 2 типа регуляции синтеза белка:

- 1) **ПУТЕМ ИНДУКЦИИ**, когда субстрат – индуктор ферментативной реакции (он связывает ген – регулятор и блокирует синтез белка – репрессора)
- 2) **ПУТЕМ РЕПРЕССИИ**, когда продукт реакции – корепрессор синтеза фермента.

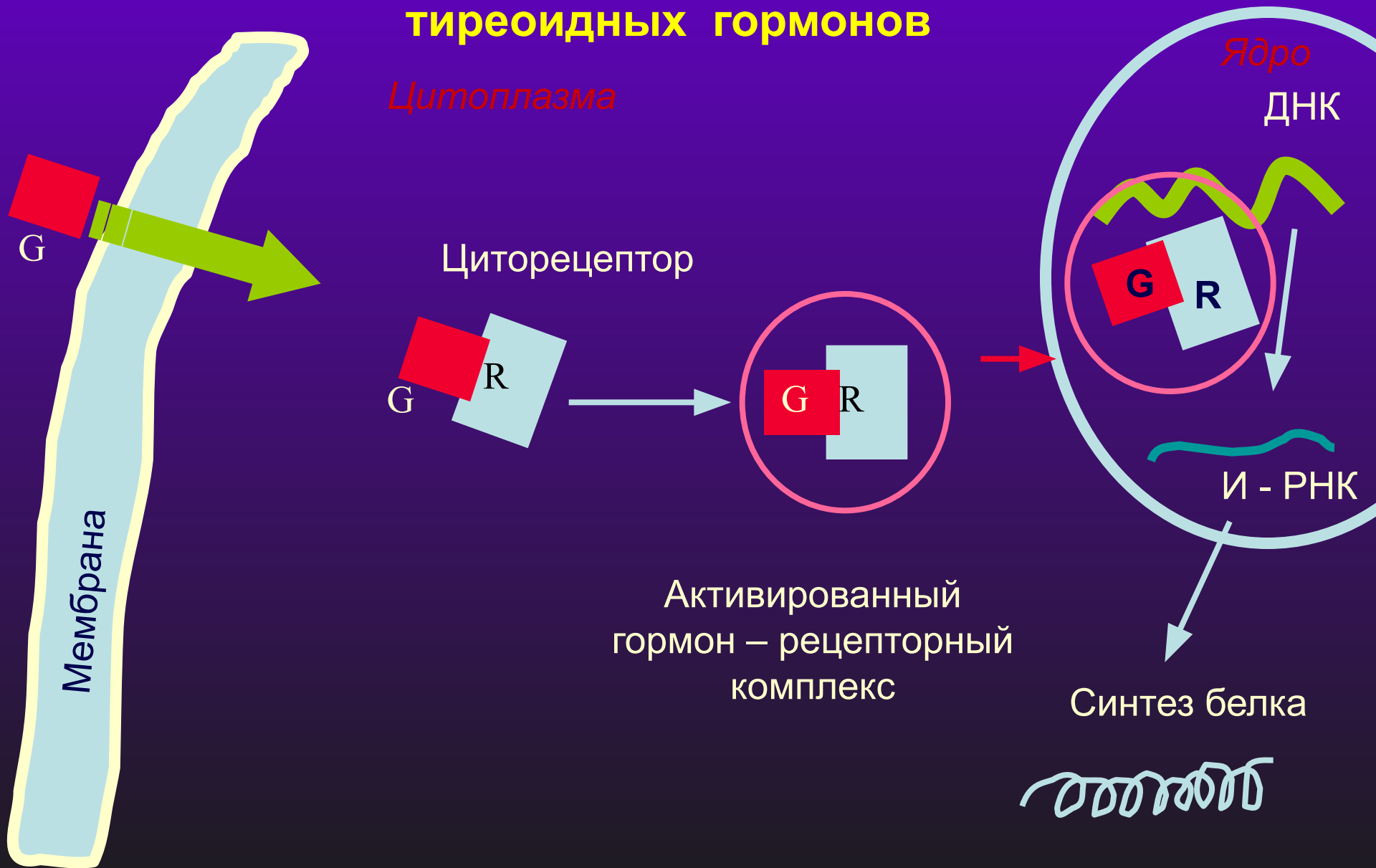
Регуляция синтеза белка



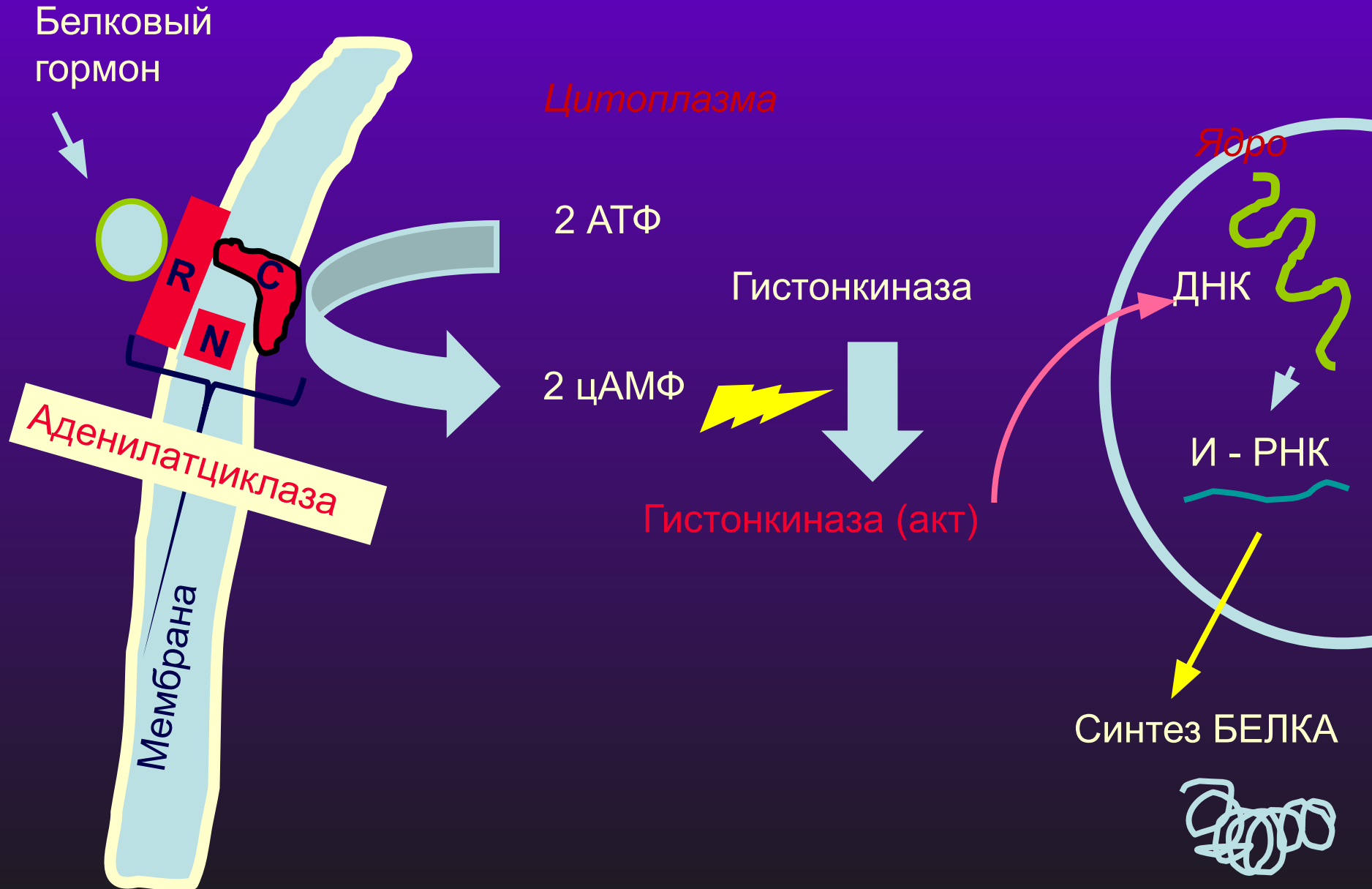
Теория индукции – репрессии активности генов. (1961 г. Жакоб и Моно)




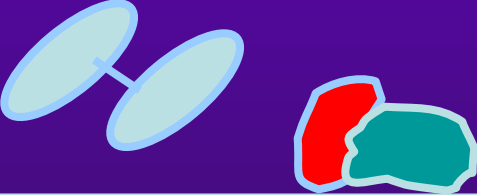


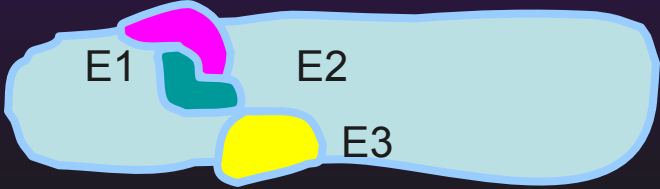
Медленная гормональная регуляция Механизм действия стероидных и тиреоидных гормонов



Медленная гормональная регуляция белковыми гормонами



2) Уровни структурной организации ферментов

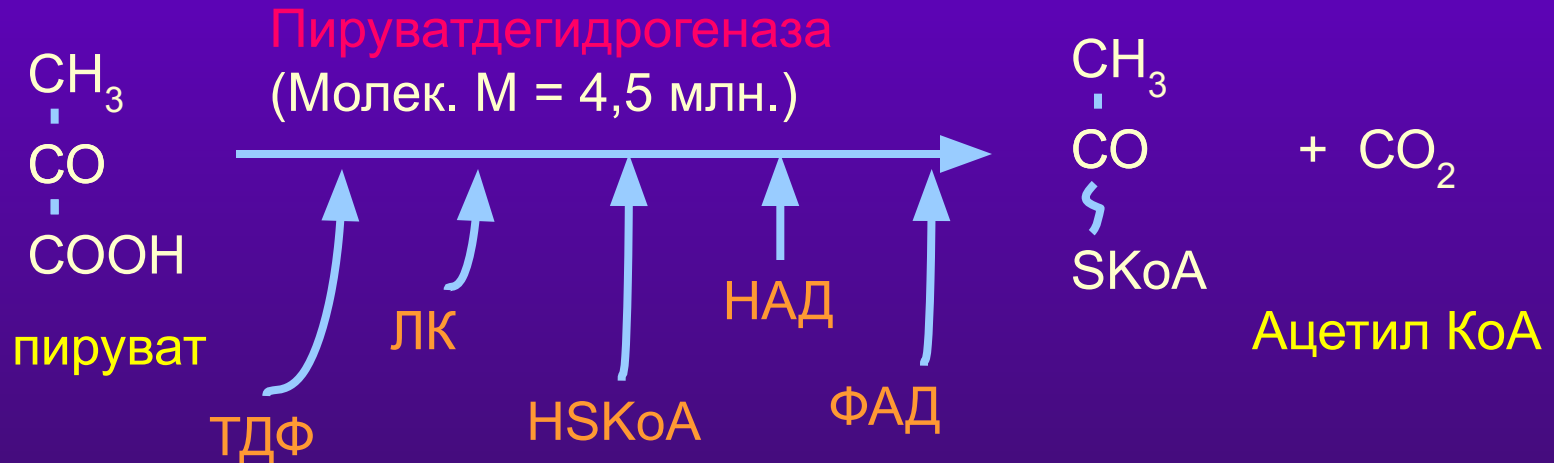
Уровень организации	Схема	Название
Первичн., втор., трет. структуры		Мономерный фермент
Четвертичная структура		Олигомерный фермент Сложный ферм.
Надмолекулярная организация		Мультиферментный комплекс
		Мультиферментный конъюгат
		Ферментные ансамбли: -Адсорбционного типа
		-Интегрального типа

Виды организации полиферментных систем

- 1) Функциональная организация (гликолиз – связующим звеном между растворенными ферментами являются метаболиты)
- 2) Структурно – функциональная организация (ПВК –ДГ комплекс, синтетаза ВЖК; фермент – ферментные взаимодействия -> структурные полиферментные надмолекулярные комплексы.
- 3) Смешанный тип организации (комбинация 1 и 2 - цикл Кребса; часть ферментов объединена в структурный комплекс, а часть соединена функционально с помощью связующих метаболитов.

3) Мультиэнзимные комплексы

Пируватдегидрогеназный комплекс



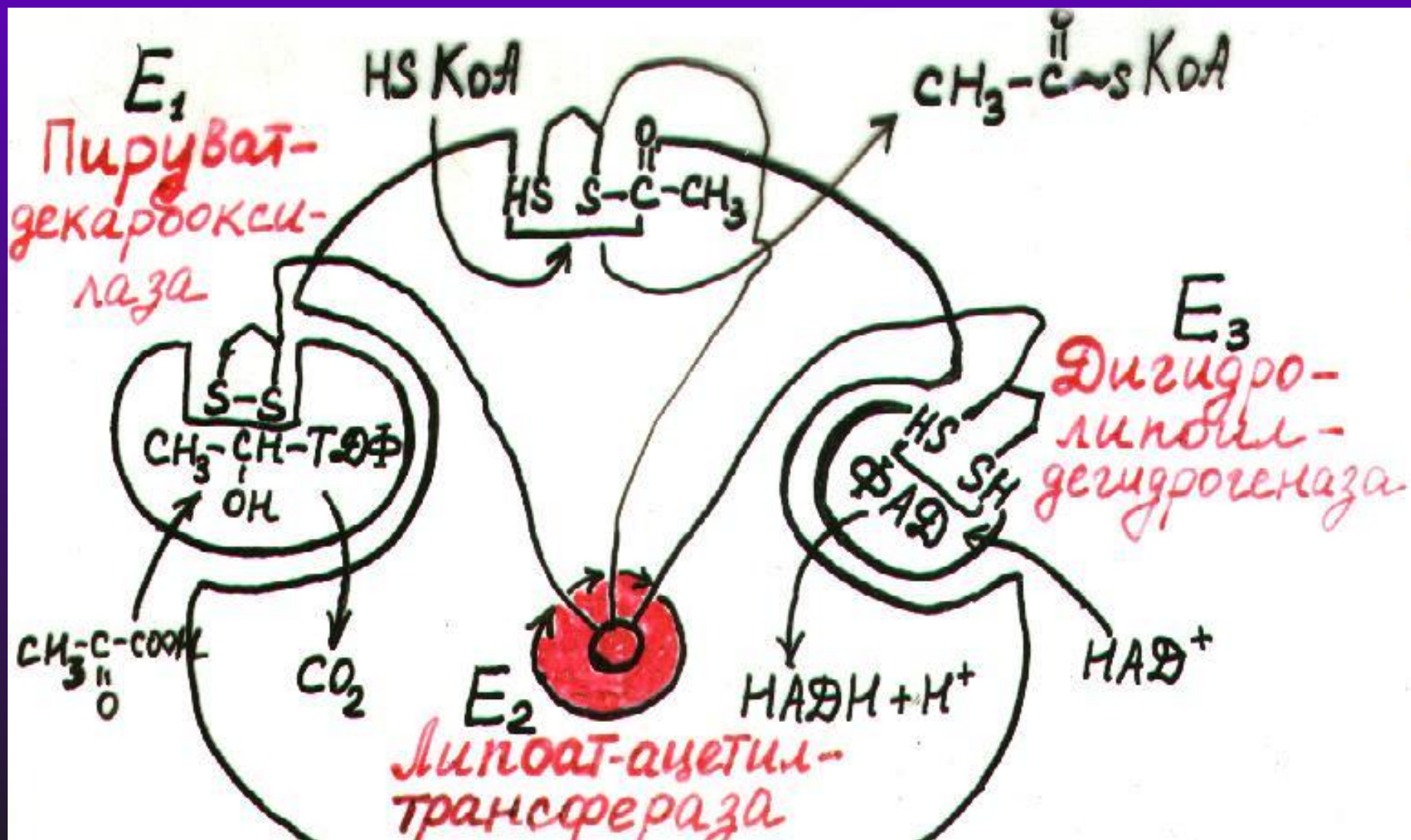
3 фермента и 5 коферментов:

E1 - Пируватдегидрогеназа (12 димеров с мол.м = 192.000)

E2 - Липоацетилтрансфераза (12 димеров с мол.м. =70.000)

E3 - Дигидролипоилдегидрогеназа (6дм, мол.м. = 112.000)

Механизм действия ПДГ - комплекса



4) Множественные молекулярные формы ферментов -

это семейство или группа ферментов, катализирующих одну и ту же реакцию, но отличающихся по целому ряду физико – химических свойств:

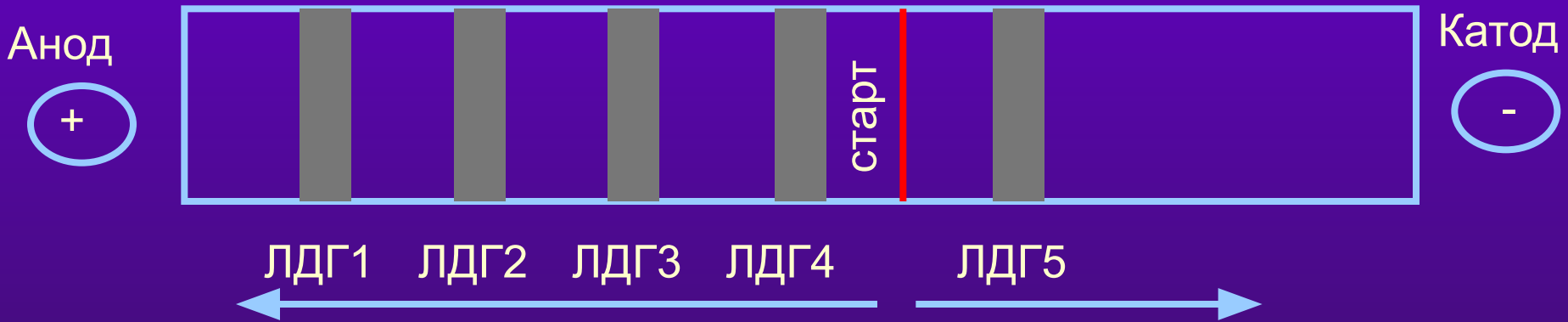
- По электрофоретической подвижности
- По адсорбционным свойствам
- По оптимуму pH
- По термостабильности
- По чувствительности к ингибиторам и сродству к субстрату
- По способности образовывать комплексы с аналогами коферментов

ИЗОФЕРМЕНТЫ - это молекулярные формы ферментов, возникающие вследствие генетических различий в первичной структуре ферментного белка.

Множественные формы ферментов

Группы	Причины множественности	Примеры
Изоферменты	ГЕНЕТИЧЕСКИЕ 1) Генетически независимые белки 2) Гибриды двух и более субъединиц, имеющие независимое генетическое происхождение 3) Генетические варианты одного белка (перестановки АК в цепях, не влияющих на специфич. функцию фермента)	Малатдегидрогеназа
		Лактатдегидрогеназа
Остальные множествен. формы ферментов	НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ 1) Белки, сопряженные с др. группами 2) Белки, образовавшиеся из одной ПП цепи 3) Полимеры одной субъединицы 4) Конформационные формы (конформеры)	Фосфорилаза А,В
		Семейство химотрипсинов
		Глутамат ДГ
		Все аллостерические модификации Е

Изоферменты ЛДГ (Nieland, 1952)



Отн. молекулярная масса ЛДГ = 135 000

Мм = 38 500



ЛДГ1

ЛДГ2

ЛДГ3

ЛДГ4

ЛДГ5

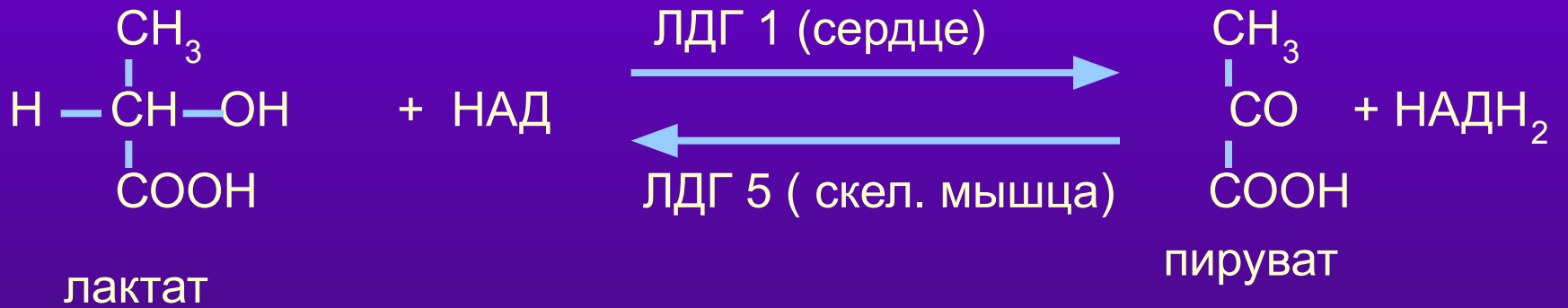
сердце

другие органы

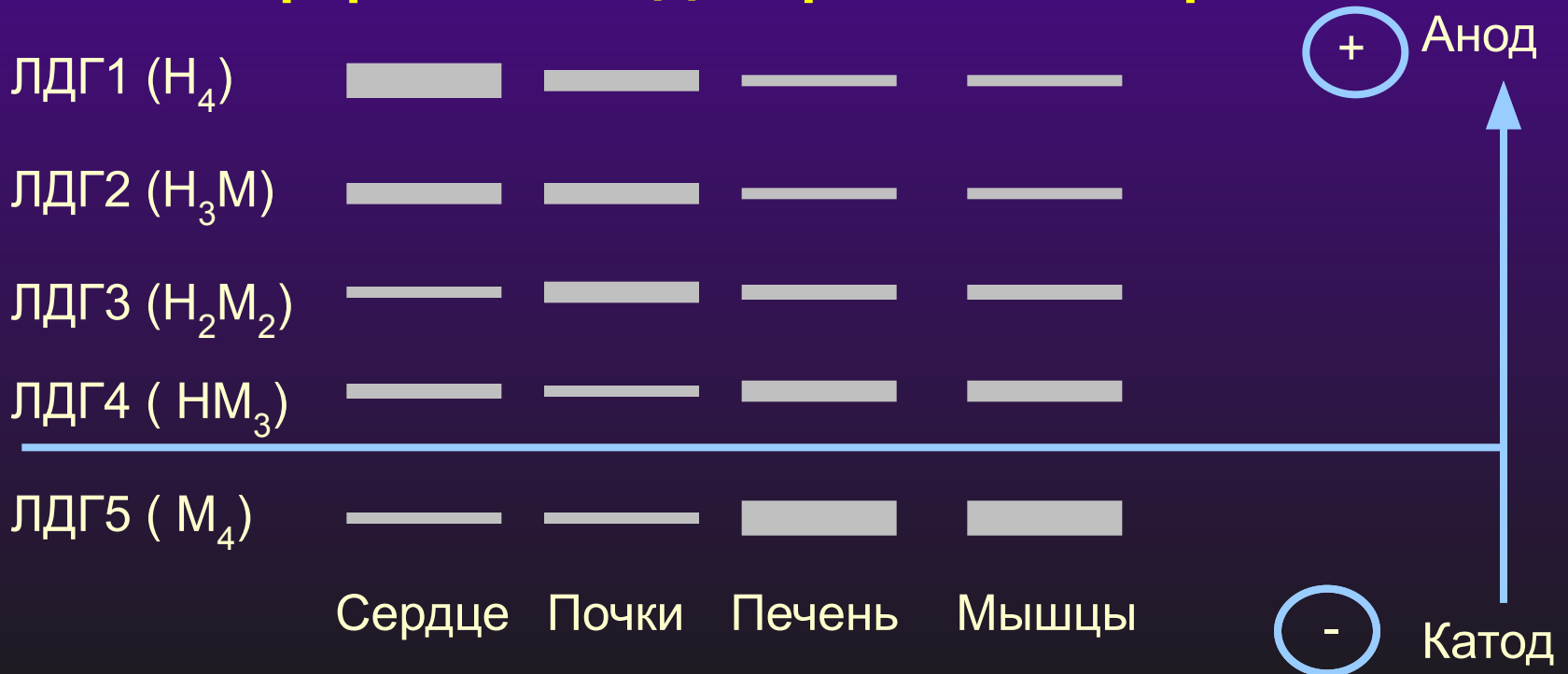
Скелетные мышцы
и печень

H (heart - сердце) – преобладает в тканях с преимущественно аэробным обменом (сердце, мозг, почки)

M (muscle – мышца) – печень, мышца

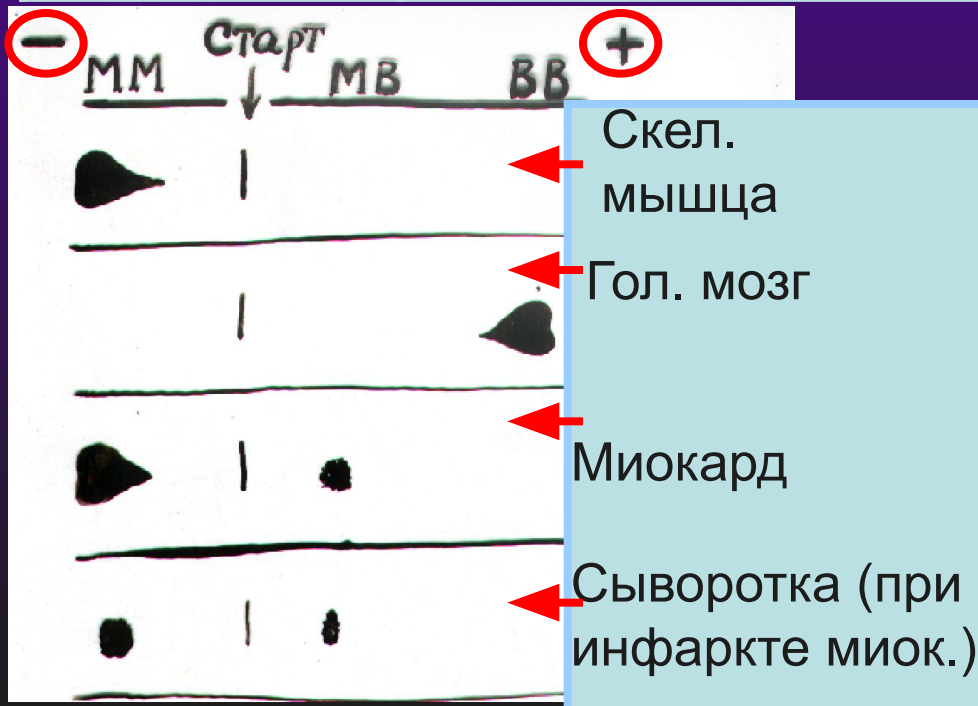


Распределение и относительное содержание изоферментов ЛДГ в различных органах



Количество изоформ у разных ферментов

ФЕРМЕНТ	Кол-во гетерополимеров	Кол-во изоферментов
ЛДГ	4 (2+2)	5
КФК	2(1+1)	3
АСТ	2(1)	2
ХЭ	2(1)	2
Щелочная фосфатаза	3(1)	3



Изоферментные спектры КФК

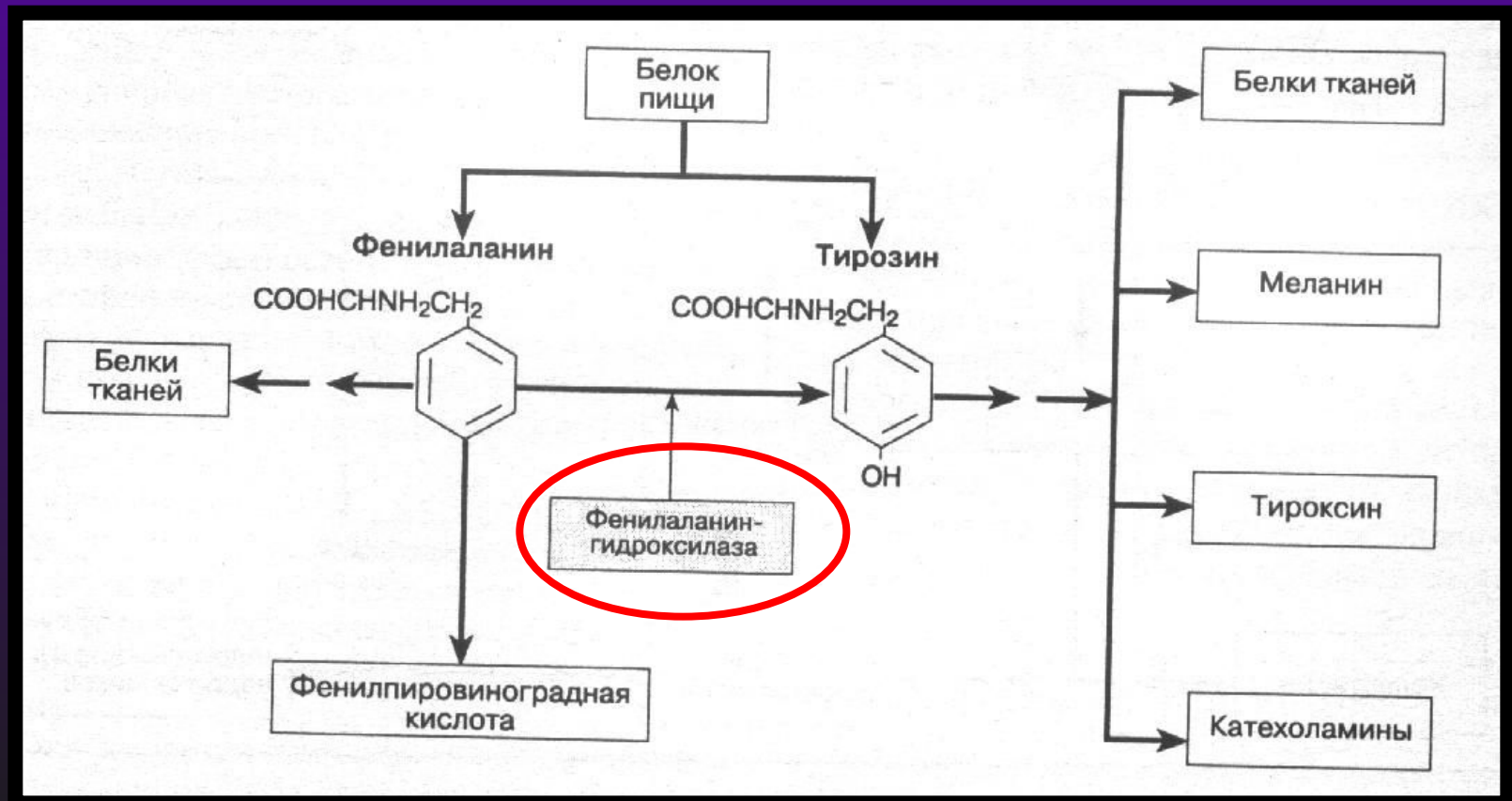
Медицинская энзимология

3 основных направления:



ЭНЗИМОПАТОЛОГИЯ – изучает наследственные дефекты синтеза ферментов - **ЭНЗИМОПАТИИ**

Пример:





ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

1) Старение и отмирание клеток

2) «Утечка» через поврежденные мембраны

3) Некроз ткани

4) Повышенный биосинтез

5) Изменение катаболической активности

Активность фермента в сыворотке крови

1) Внутрисосудистая инактивация

2) Поглощение клетками РЭС

3) Экскреция (моча, желчь)

Распределение ферментов в органах

	печень	миок.	Ск. м	Почки	Er	Кость	Простата
АСТ	75-100%	75-100%	10-50%	10-50%	0-10%		
АЛТ	75-100%	10-50%	10-50%	0-10%	0-10%		
ЛДГ	75-100%	75-100%	75-100%	10-50%	10-50%		
КФК	0-10%	10-50%	75-100%	0-10%	0-10%		
ЩФ	10-50%	0-10%	0-10%	10-50%	0-10%	75-100%	10-50%
КФ	0-10%			0-10%	0-10%	0-10%	75-100%



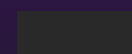
0-10%



10-50%



50-75%



75-100%

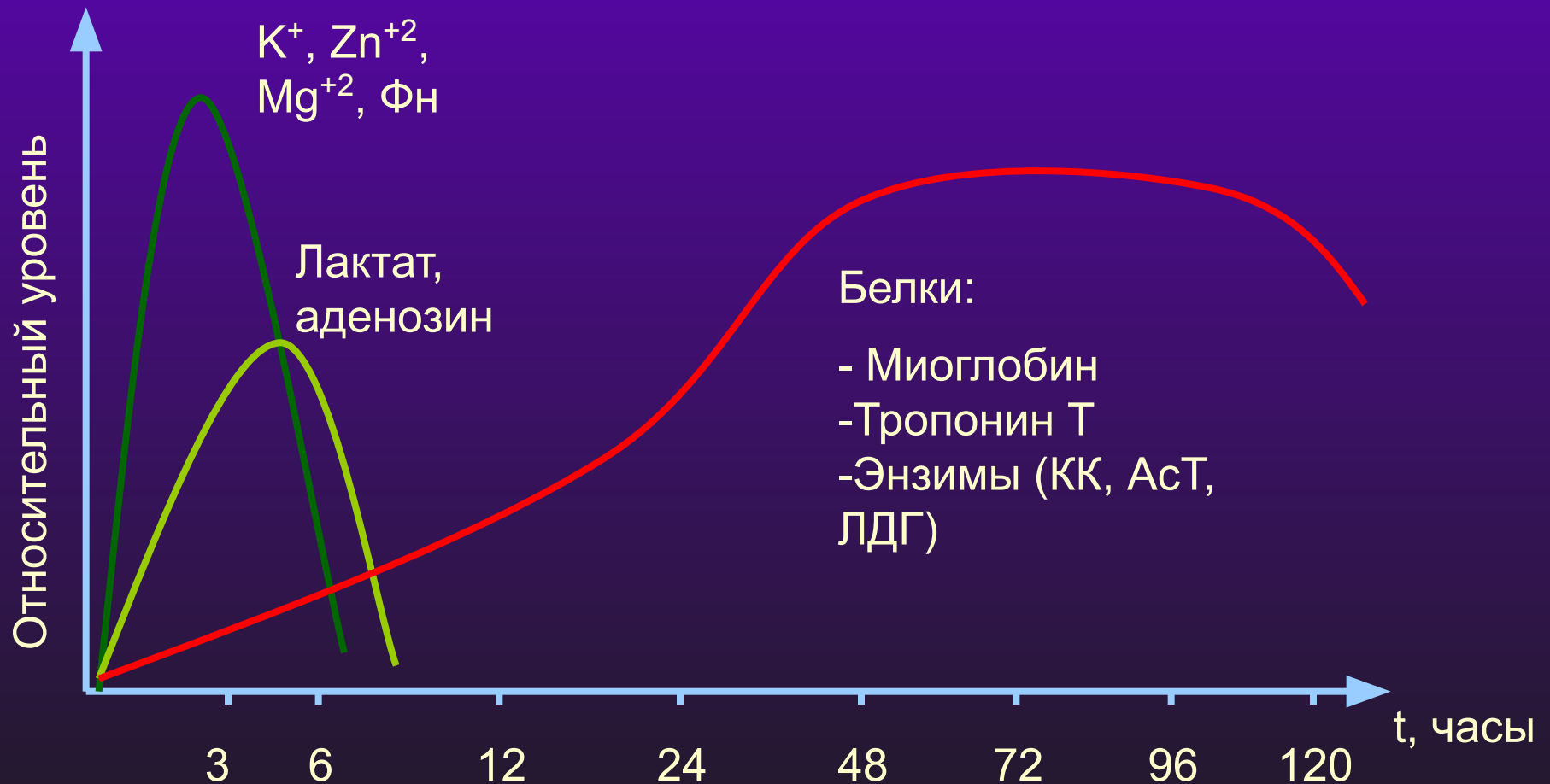
Локализация ферментов в клетке

Цитозоль	МХ	Ядро	Микросом фракция	Плазматическ мембрана
Ферменты гликолиза, Пентозного пути, активации аминок-т, синтеза ЖК, фосфорилаза, ФЭП - карбоксилаза	ПДГ комп. Ферм. ЦТК, окисления ЖК, биол. окисления, окислит. фосфорил, ГлДГ АсАТ	Ферм. репл. ДНК, ДНК – полимераза, РНК – полим., НАД - синтетаза	Ферм. синтеза фосфолип., ТГ, ХС , Рибосом. ферменты.	АТФ – аза, Аденилат – циклаза, ЩФ
				Лизосомы
				Кислые гидролазы, кислая РНКаза, катепсины, гиалуронидаза

Ферменты, наиболее часто используемые в энзимодиагностике

- 1) **КФК**: креатин + АТФ → креатин – ф + АДФ
(заболевания сердца и скелетной мускулатуры)
- 2) **АСТ**: асп. к-та + кетоглутаровая к-та → оксалоацетат + глу к-та
(Заболевания почек, печени, сердца)
- 3) **АЛТ**: аланил + кетоглутаровая к-та → ПВК + глу
- 4) **ЛДГ**: α –лактат + НАД → ПВК + НАД - Н₂
(заболевания миокарда, скел. муск, почек)
- 5) **КФ**: заболевания предстательной железы
- 6) **ЩФ**: поражения костей
- 7) **α – амилаза**: заболевания поджелудочной железы
крахмал → декстрины
- 8) **СДГ**
- 9) **5` -НУК**

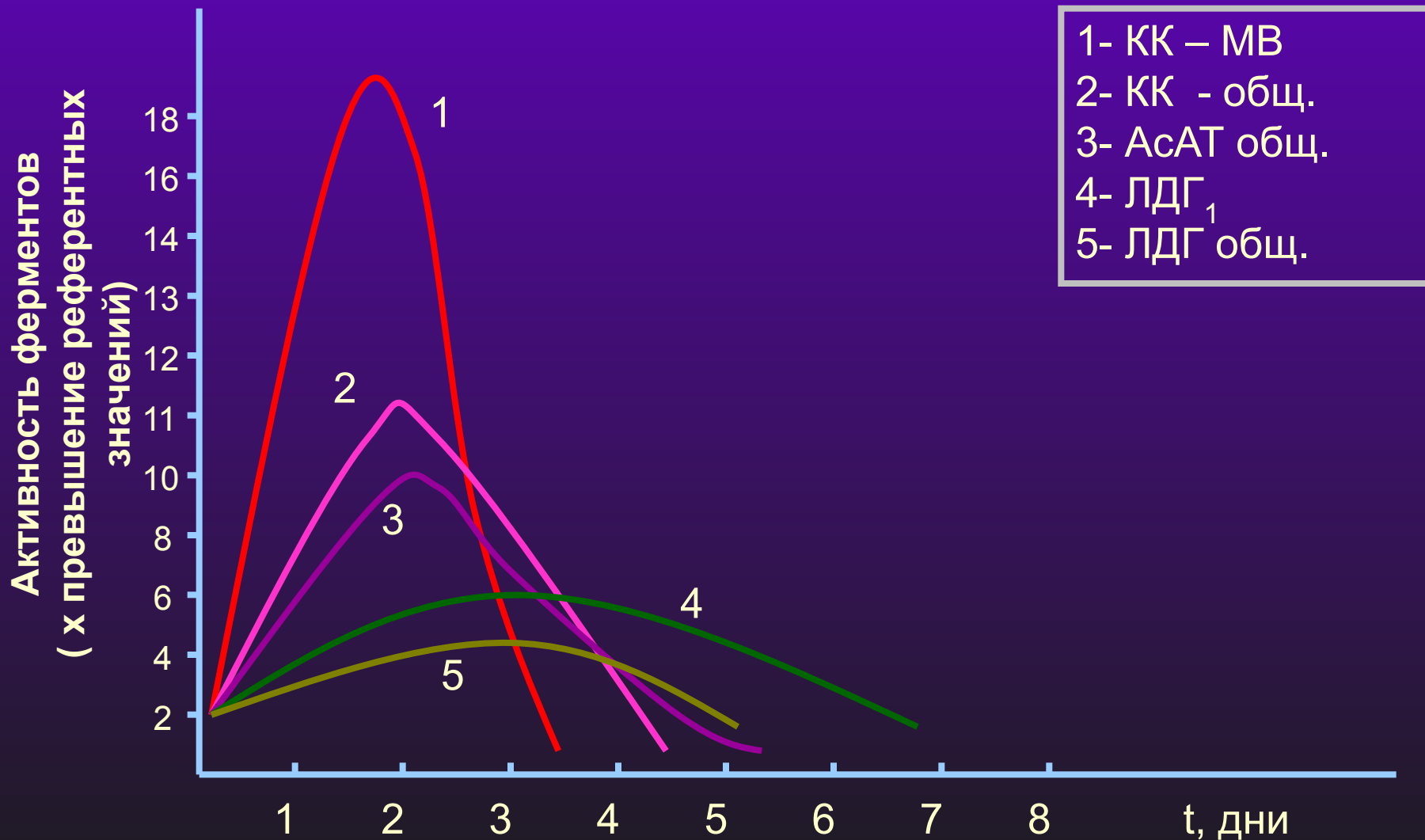
Компоненты клетки в плазме при остром инфаркте миокарда



Молекулярная масса и $t_{1/2}$ ферментов

Фермент	Молек. масса	$T_{1/2}$ (шрифт)
КФК (КК) смесь изоферментов при ОИМ		12
-КК – ММ	85 000	20
-КК – МВ	87 000	10
-КК – ВВ	88 400	3
АлАТ (АЛТ)	110 000	50
АсАТ: смесь изоферментов при ОИМ		12
-Цитоплазматический изофермент	120 000	14
-Митохондриальный изофермент	100 000	6
ЛДГ 1	135 000	107
ЛДГ5	135 000	10
ЩФ:		
-Кишечная	-	<1
-Костей	-	40
-Плаценты	120 000	170
-Простата – специфический АГ	34 000	76

Кинетика выхода в кровь тканевых ферментов при остром инфаркте миокарда

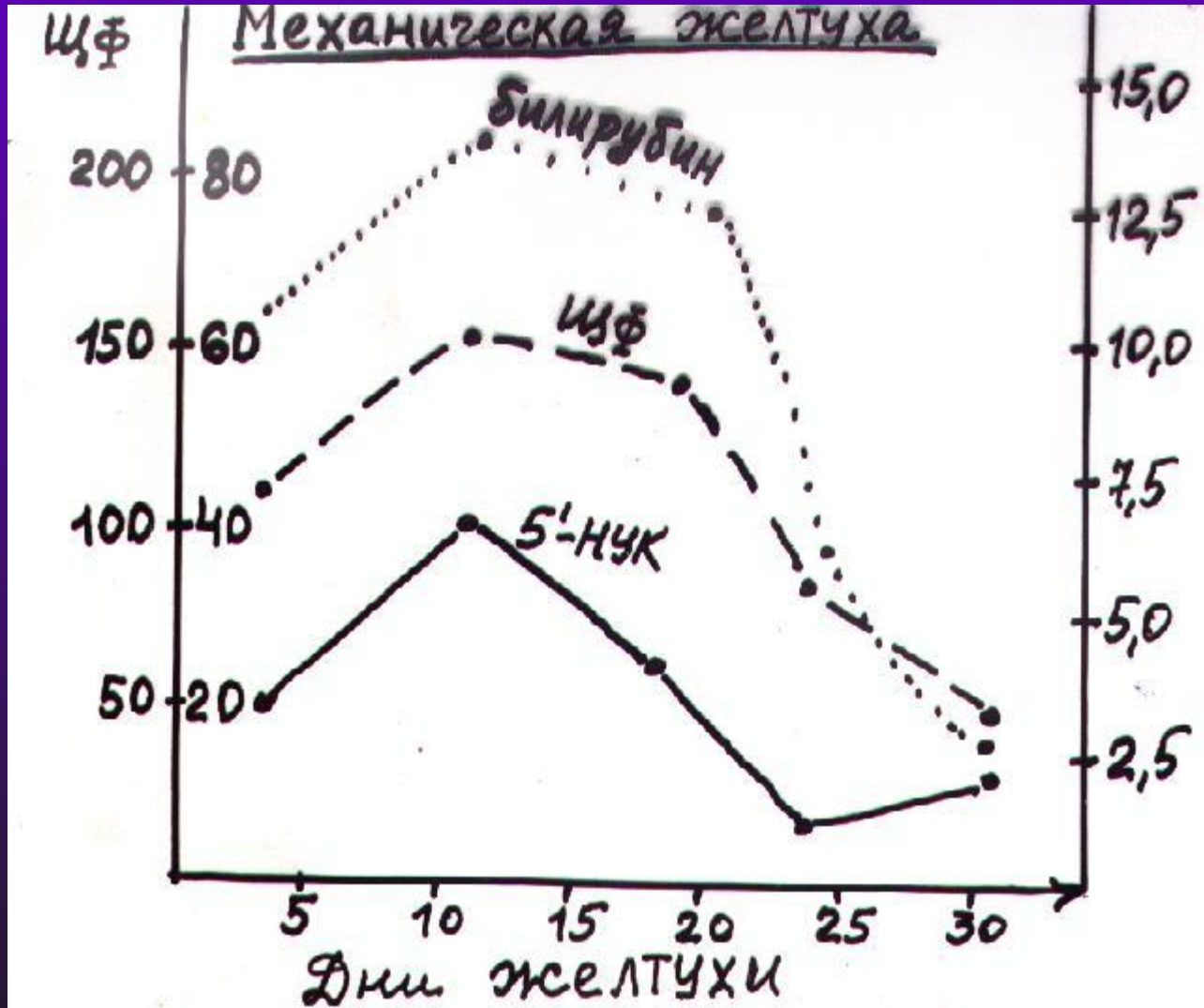


Диагностическая ценность различных методов исследования при остром инфаркте миокарда

□ ЭКГ - 70 %

□ ЭКГ + АСТ + общая активность КФК и ЛДГ - 80%

□+ Изоферменты КФК и ЛДГ - 100%





ЭНЗИМОТЕРАПИЯ – занимается изучением возможности применения ферментных препаратов для лечения различных заболеваний.

Спасибо за внимание