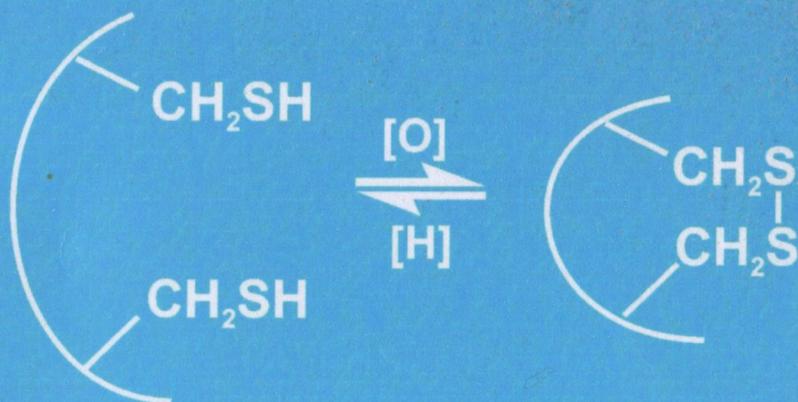


С. М. МАШАРИПОВ., Н. Х. МУХАМЕДОВА

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

С. М. МАШАРИПОВ., Н. Х. МУХАМЕДОВА

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ

Учебное- пособие для студентов медицинских институтов



TOSHKENT TIBBIYOT
AKADEMIYASI KUTUBXONASI
№ _____

Ташкент 2021

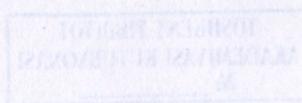
УДК: 616-074/-078

Составители:

- Машарипов С.М. - профессор кафедры медицинский и биологический химии ТМА
- Мухамедова Н.Х. - доцент кафедры медицинский и биологический химии ТМА

Рецензенты:

- Хаджиметов А.А. - доктор биологических наук, профессор, кафедры медицинский и биологический химии ТГСИ
- Иноятова Ф.Х. - доктор биологических наук, профессор, кафедры медицинский и биологический химии Ташкентской медицинской академии



ВВЕДЕНИЕ

Учебное- пособие по медицинской и биологической химии для студентов лечебного, медико-профилактического, медико-биологического и медико- педагогического факультетов составлены с учетом действующих в настоящее время учебных программ и планов. При составлении настоящего учебно-методического пособия авторы не преследовали целей охватить все разделы современной биохимии. Основная задача состояла в том, чтобы дать студенту представления о молекулярном уровне основ жизни вообще и человеческой в частности, вызвать интерес к одному из важнейших разделов современной биологии и побудить будущего специалиста постоянно углублять свои знания и представления о сути биохимических изменений при той или иной патологии, осмысленно подходить к ее устранению, помочь освоить принципы проведения основных биохимических анализов, научить трактовать результаты биохимических исследований.

Учебное- пособие составлено в строгом соответствии с учебными планами дисциплины, типовыми программами по медицинской и биологической химии: по специальностям 5510900 – лечебное дело, 5111000 – медико- педагогическое дело, 5510300 – медико-профилактическое дело и 5510900 – медико-биологическое дело.

Белки и аминокислоты

Белки и Ферментами, или энзимами, называют специфические белки, входящие в состав всех клеток и тканей живых организмов и выполняющие роль биологических катализаторов. Глубокое знание основ функционирования ферментов необходимо для понимания особенностей химических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности организмов и формирования профессиональных компетенций врача. Белки (протеины) – высокомолекулярные органические соединения, мономерными единицами которых являются аминокислоты. В настоящее время в составе различных белков обнаружено около 20 аминокислот (а также аминокислоты – пролин и оксипролин). Все они являются α -аминокислотами и по конфигурации принадлежат к L – ряду. Аминокислоты в молекуле белка связаны между собой пептидными связями ($-\text{CO}-\text{NH}-$). Белки, состоящие только из аминокислот, – простые белки (протеины). Сложные белки, кроме аминокислот, включают в состав вещества иной природы – простетические группы.

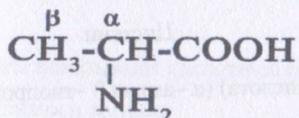
Аминокислоты (аминокарбоновые кислоты; АМК)—органические соединения, в молекуле которых одновременно содержатся карбоксильные и аминные группы. Основные химические элементы аминокислот — это углерод(C),водород(H),кислород(O) и азот (N), хотя другие элементы также встречаются в радикале определенных аминокислот. Известны около 500 встречающихся в природе аминокислот (хотя только 20 используются в генетическом коде). Аминокислоты могут рассматриваться как производные карбоновых кислот, в которых один или несколько атомов водорода заменены на аминогруппы.

α -Аминокислоты гетерофункциональные соединения. У них в одном атоме углерода содержится и карбоксильная и аминогруппа.

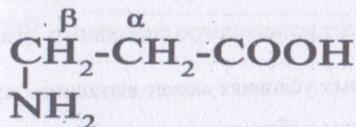
Классификация и номенклатура аминокислот.

По строению углеродного радикала аминокислоты делятся на: алифатические, ароматические и гетероциклические.

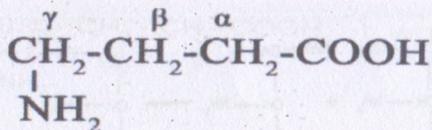
Алифатические аминокислоты в свою очередь делятся на α , β и γ аминокислоты.



А-аланин (2-аминопропановая кислота)



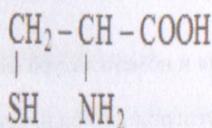
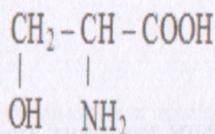
В-аланин (3-аминопропановая кислота)



γ -аминомасляная кислота

По числу амина и карбоксильных групп алифатические α -аминокислоты делятся на следующие. Моноамины карбоновые кислоты (число амина и карбоксильных групп один); Моноамины дикарбоновые кислоты (число амина групп один, число карбоксильных групп два); диамины карбоновые кислоты (число амина групп два, число карбоксильных групп один); Первый представитель моноамина карбоновых кислот – это глицин (гликокол);

У проионовой кислоты существует три производных – это аланин, серин и цистеин.



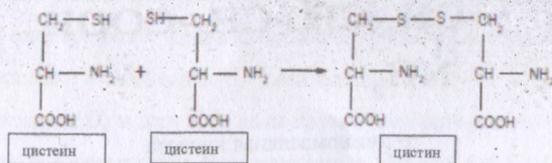
Серин

Цистеин

(α -амин β -гидроксипропионовая кислота) (α -амин β -тиопрпионовая кислота)

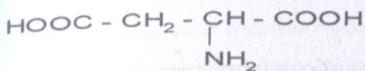
В отличие от аланина в серине и цистеине кроме амина и карбоксильных групп содержится гидроксильная или сульфгидрильная группы. Содержание гидроксильной и сульфгидрильной группы повышает реакционную способность этих соединений.

Например: цистеин в определенных условиях может вытяснить водород и соединить свои две молекулы с помощью серы с образованием новой аминокислоты цистин.

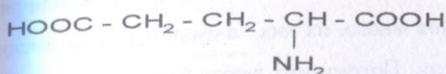


Моноаминодикарбоновые кислоты играют важную роль в азотном обмене.

Примерами могут служить аспарагиновая и глутаминовая кислота:

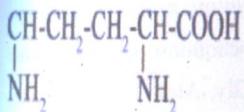


Аспарагиновая кислота

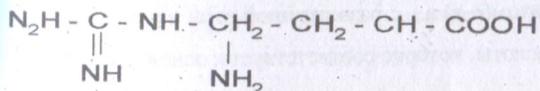


Глутаминовая кислота

Эти две аминокислоты показывают кислотную среду. К диаминокарбонным кислотам относятся лизин и аргинин



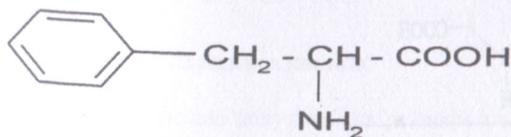
Лизин (α , ϵ -диаминоуксусная кислота)



Аргинин

Группа
Гуанидина

В составе ароматических аминокислот содержится бензольное кольцо амина и карбоксил группы. Функциональные группы могут располагаться в кольце или рядом в цепи:



фенилаланин (α -амино- β -фенилпропионовая кислота)

В составе гетероциклических аминокислот содержатся гетероциклическое ядро, амина и карбоксил группы. Аминогруппа может располагаться в гетероцикле или рядом в цепи. Видно, что видов аминокислот много, из них α -аминокислоты имеют важную роль в физиологических процессах. Потому что любая белковая молекула построена из α -аминокислот.

Номенклатура. Аминокислот образовались в результате обмена карбоновых кислот атома Н на NH_2 -группу. Поэтому аминокислоты называют эмпирическим названием. Согласно рациональному номенклатуру, к соответствующим карбоновым кислотам добавляется приставка "амина". Аминокислоты имеют еще историческое название. Историческая названия аминокислоты - глицин, аминопропионовой кислоты аланин, аминопентановой кислоты - валин. В основном исторические (тривиальные) названия пишутся латинскими сокращениями (Gly, Ala). Согласно систематической номенклатуре, первым нумеруется атом углерода карбоксильной группы в молекуле аминокислоты, затем нумеруется атом углерода, связанный с аминогруппой затем, идут номера атом(ов) α - с разветвленной цепи и названия радикалов в конце пишется название кислоты, которое соответствует к основной цепи.

Иминокислоты. В продуктах гидролиза многих белков кроме α -аминокислоты встречается пролин и гидроксипролин.

Пролин можно рассматривать как производное пирролидина.



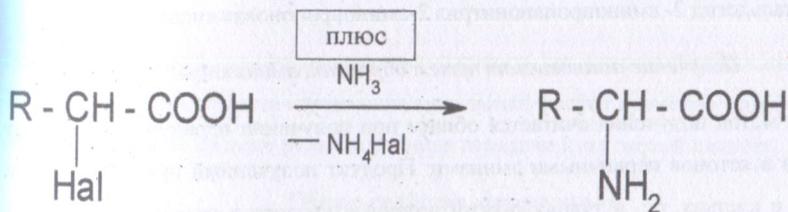
Пролин и гидроксипролин содержат в своем составе иминогруппу ($> \text{NH}$) и их кислоты называются иминокислотами. В белках гидроксипролин встречается чаще чем пролин.

Способы получения аминокислот.

Биохимический метод. В организме путем биохимического синтеза при участии ферментов, образуются биологически важные аминокислоты.

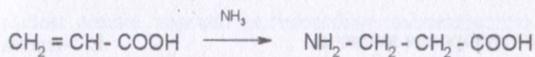
Получение путем воздействия аммиака на галоидообменные карбоновые кислоты.

Это называется амонолиз α -галоген карбоновых кислот.



Если воздействовать аммиаком на спиртовые растворы α , β -ненасыщенных кислот, то образуются - β аминокислоты.

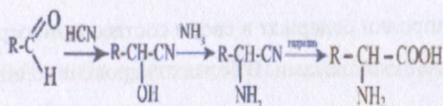
Например:



Акриловая кислота

β -аланин

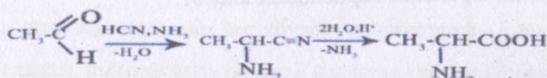
Аминокислоты можно получить при реакции альдегидов и кетонов с циановодородной кислотой или цианидом аммония:



α -гидроксинитрил

α -аминонитрил

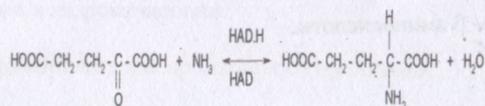
В этом случае сначала образуется α -гидроксинитрил (циангидрин). Под воздействием аммиака он переходит в α -аминонитрил. В результате гидролиза аминокнитрила образуется α -аминокислота. Это можно увидеть на примере ацетальдегида. В этом случае первым образуется 2- α аминопропанонитрил. В результате его гидролиза образуется 2-аминопропановая кислота.



Ацетальдегид 2-аминопропанонитрил 2-аминопропановая кислота

Получение аминокислот путем обратной аминизации.

Этот метод получения считается общим при получении первичных аминов от альдегидов и кетонов первичными аминами. Продукт полученный при метаболизме углеводов в клетках т.е. в тканях α -кетоглутаровая кислота в результате обратной аминизации превращается в L-глутаминовую кислоту.



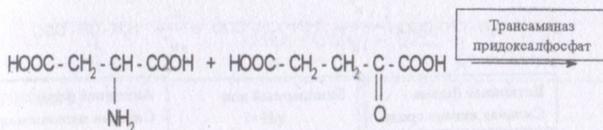
α -Кетоглутаровая кислота

L-глутаминовая кислота

Здесь обратимым агентом считается кофермент NADH

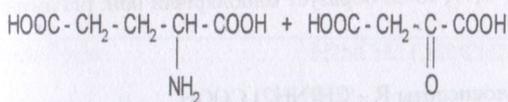
Получение аминокислот путем обратного пере минированные. В органах под воздействием аминотрансфераза фермента пиродоксалфосфата кофермента происходит обратное а минирование (транса минирование).

Примером можно привести происходящую в органах переаминизацию превращение L-аспарагина в L-глутаминовую кислоту.



L-аспарагиновая кислота

α-кетоглутаровая кислота



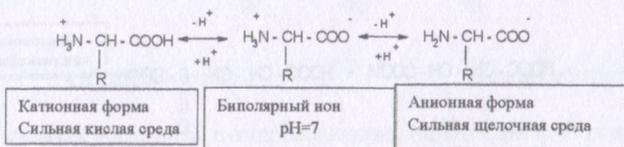
L-глутаминовая кислота щавельноуксусная кислота

Реакцию переаминирования можно рассматривать как взаимный обмен амина и карбонильных групп. В этом случае парадоксальный фосфат временно сохраняет в себе аминогруппу и выполняет роль посредника передачи к кетоновой кислоте.

Общие свойства аминокислот.

Входящие в состав белков аминокислоты это белые кристаллические вещества. При нагреве до 100-200°C в водных растворах аминокислоты не разрушаются, но при добавлении кислоты или щелочи они полностью разрушаются. Аминокислоты растворяются в воде в разных температурах. Цистин и тирозин самые малорастворимые, а пролин и оксипролин самые хорошо растворимые аминокислоты. Большинство аминокислот малорастворимы в абсолютном спирте. Все аминокислоты входящие в состав белков, по строению они все считаются α-аминокислотами, т.е. NH₂ группа стоит в соседнем углероде карбоксила. Если в составе аминокислоты есть вторая NH₂ то он всегда стоит на конечном атоме углерода. Например аргитин. Молекулы α-аминокислот в твердом состоянии находятся в виде внутренней соли, в водном

растворе в виде биполярного иона, катионно-анионные формы могут находиться в виде равновесной смеси, а это зависит от pH среды.

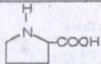


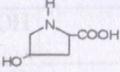
Аминокислоты переходящие в биполярно ионный раствор в сумме pH называется изоэлектрической точкой (pI). Например: pI(gly) = 5,97 значит, если у водного раствора молекулы глицина pH=5,97, то он образует биполярный ион. pH аминокислот приведены в таблице 1.

Распространенные α-аминокислоты R – CH(NH₂) COOH

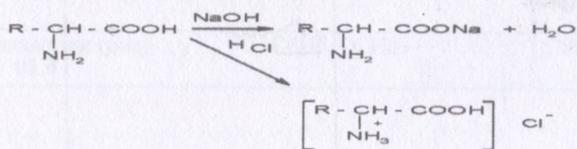
Таблице 1.

№	Название (краткое)	R	pH
1	Глицин (гликокол, gly)	H-	5.97
2	Аланин (ala)	CH ₃ -	6.02
3	Валин (val)	(CH ₃) ₂ – CH -	5.97
4	Лейцин (leu)	(CH ₃) ₂ – CH – CH ₂ -	5.98
5	Изолейцин (ileu)	CH ₃ - CH ₂ – CH – (CH ₃)-	6.02
6	Фенилаланин (phe)	C ₆ H ₅ – CH ₂ -	5.88
Двухосновные (кислотные) аминокислоты			
7	Аспарагиновая кислота (asp)	HOOC – CH ₂ -	2.87
8	Глутаминовая кислота (glu)	HOOCCH ₂ – CH ₂ -	3.22

9	Серин (ser)	HO - CH ₂ -	5.68
10	Треонин (thr)a	CH ₃ - CH - (OH)-	6.53
11	Тирозин (tyr)	HO - C ₆ H ₄ - CH ₂ -	5.65
Амидоаминокислоты			
12	Аспарагин (asp)	H ₂ NC(O)CH ₂ -	5.41
13	Глутамин (gln)	H ₂ NC(O)CH ₂ CH ₂ -	5.65
Основные аминокислоты			
14	Лизин (lys)a	H ₂ NCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	9.47
15	Аргинин (arg)	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ \text{C} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \\ \parallel \\ \text{NH} \end{array}$	10.76
Аминокислоты с серой			
16	Метионин (met)a	CH ₃ - S - CH ₂ CH ₂ -	5.75
17	Цистеин (cyst)	HS - CH ₂ -	5.02
18	Цистин (cys-syc)	- CH ₂ - S - S - CH ₂	5.061-
Гетероциклические аминокислоты			
19	Пролин (pro)		6.10

21	Оксипролин (hypro)		5.78
22	Триптофана		5.88
23	Гистидин		7.58

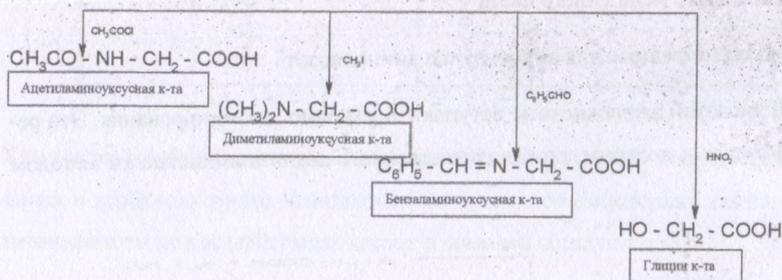
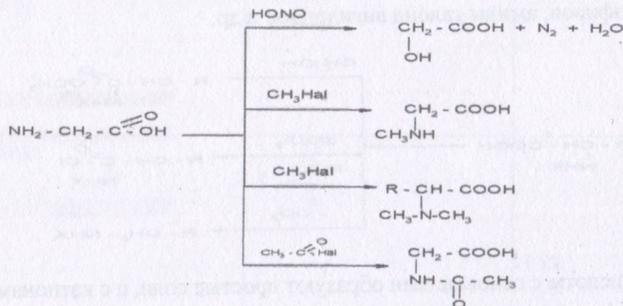
Химические свойства аминокислот. Аминокислоты вступают в характерные реакции амина и карбоксил групп. Аминокислоты проявляют амфотерные свойства. То есть аминокислоты под воздействием кислот и щелочей образуют соли.



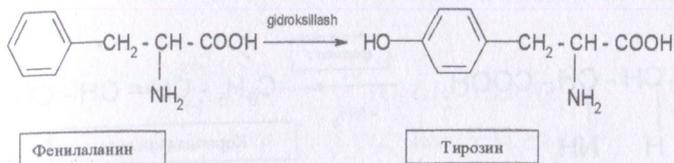
В кислотной среде аминокислоты путем присоединения иона-Н⁺ к NH₂-группе превращаются в катион. Молекулы аминокислоты в твердом состоянии из COOH группы, ион Н⁺ переходит в NH₂ группу этой молекулы, мигрирует и молекула превращается в два противоположно заряженный ион. Это называется б поляризацией.

При действии галоид алкила образуются монозамещенные и дизамененные соединения водорода аминогруппы.

Рассмотрим на примере:

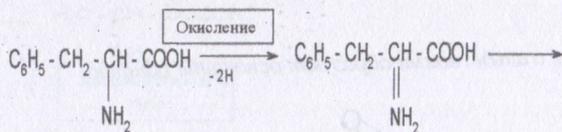


Болезнь фенилкетонурия связана с нарушением синтеза тирозина из фенилаланина и с накоплением ядовитых веществ. Образующихся в следствие дезаминирования фенилаланина. Рассмотрим, что образуется из фенилаланина в результате дезаминирования в организме под воздействием фермента гидроксилазы фенилаланин переходит в тирозин:

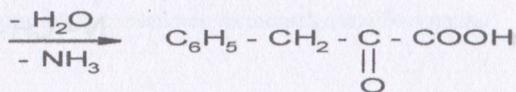


При отсутствии фермента или его недостатке фенилаланин накапливается в организме. При его дезаминировании (при потери функциональной группы, содержащий азот) образуется оксокислота-фенилпировиноградная кислота. Он ядовит. Реакция дезаминирования не действует на углеродный скелет аминокислот. Поэтому в продуктах дезаминирования сохраняется способность участвовать в других процессах. Кроме этого, посредством дезаминирования осуществляется генетическая связь с другими видами органических кислот: при дезаминировании, окисляясь, аминокислоты образуют кетокислоту, а, не окисляясь при дезаминировании, образуют ненасыщенные органические кислоты, при действии азотной кислоты на инвертор образуются гидроксы кислоты.

В организме окисление и дезаминирование происходит при участии ферментов, кофермента ФАД. На первом этапе фенилаланин, образуя аминокислоту, окисляется. В следующем этапе молекула аммиака отделяется и образуется оксокислота:

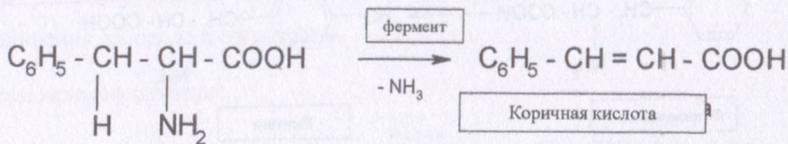


Фенилаланин α-Иминокислота

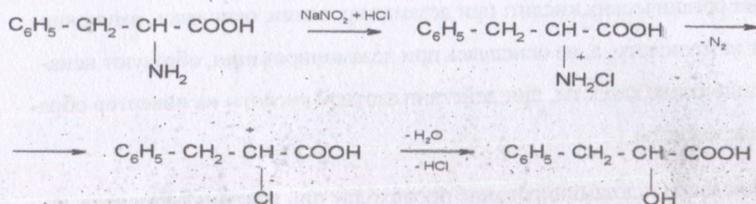


Фенилпировиноградная кислота

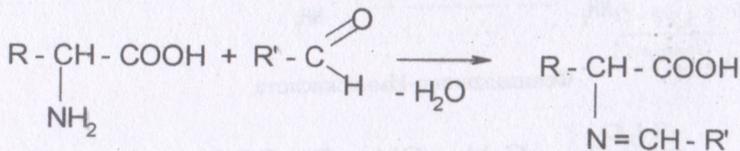
Дезаминирование происходящее без окисления происходит с образованием устойчивой молекулы аммиака из NH₂ группы и двойной связи:



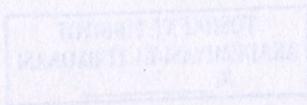
Потеря NH₂ группы и замена его на гидроксильную группу происходит под действием азотистой кислоты. В результате этой реакции фенилаланин превращается в гидроксикислоту:

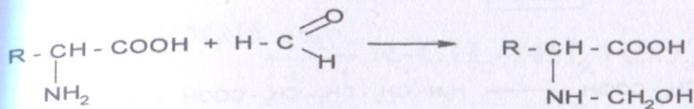


Аминокислоты с альдегидами образуют основание Шиффа:



Если в этой реакции применяется формальдегид, реакцию останавливают при образовании производного 2-аминокислоты гидроксиметила. Эта реакция используется для формального титрования аминокислот (метод Серенсена):



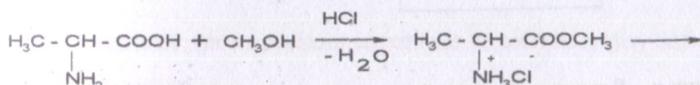


Гидроксиметильное производное аминокислоты 2

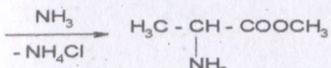
Объем производного N- гидрокс метила можно уточнить титрованием.

Реакции свойственные для карбоксильной группы.

1. Аминокислоты, при участии HCl в реакции со спиртами образуют сложные эфиры:

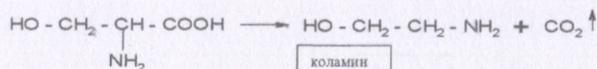


Аланинметильный эфир гидрохлорид



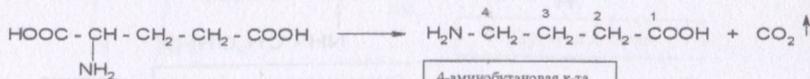
Аланинметильный эфир

1. Реакция декарбоксилирования. В лабораторных условиях эта реакция идет с участием Ba(OH)2. А в организме с участием фермента декарбоксилазы:



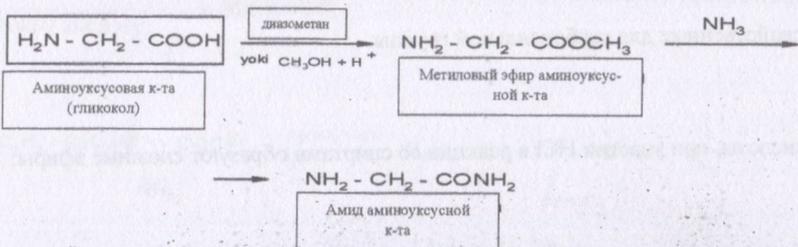
серин

колагин



Глутаминовая к-та

4-аминобутановая к-та



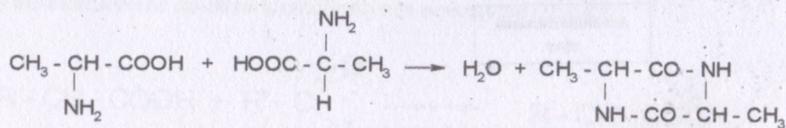
Аминоуксусовая к-та
(гликокол)

Метилловый эфир аминоуксус-
ной к-та

Амид аминоуксусной
к-та

Реакции для различия α-, β и γ-аминокислот.

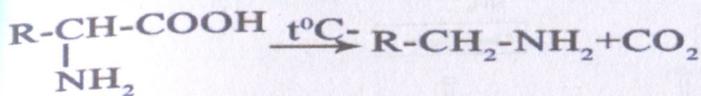
α-аминокислота и ее сложные эфиры образуют простые ангидриды.



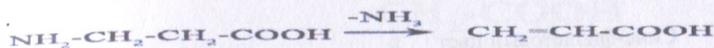
Ангидрид аминокислоты.

Эти ангидриды называются дикетопиперазинами или диоксипиперазинами.

α-аминокислота при нагревании с Ва (ОН)2 вступает в реакцию декарбосилирования.

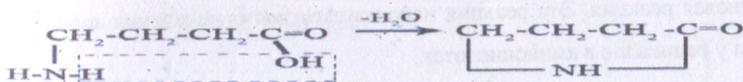


β -аминокислота при нагревании вытесняет из себя молекулу NH_3 и образует ненасыщенную кислоту.



Акриловая кислота

γ -аминокислоты при нагревании вытесняют из себя молекулу воды и образуют внутренние амиды.

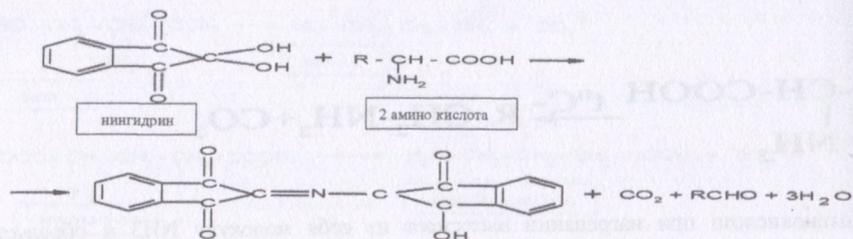


Образованные внутренние амиды называются лактамами.

Качественные реакции на α -аминокислоты.

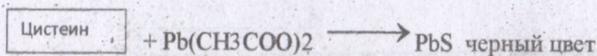
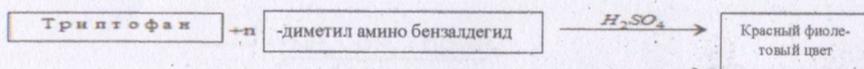
1. Реакция с нингидрином.

α -аминокислота при реакции с нингидрином образует сине-фиолетовое вещество.

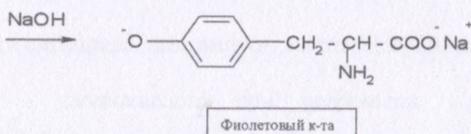
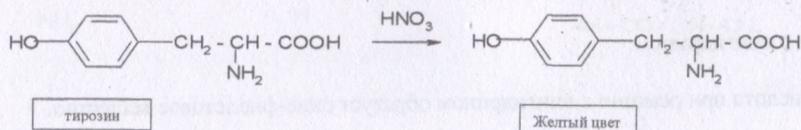


Синь-фиолетовый цвет

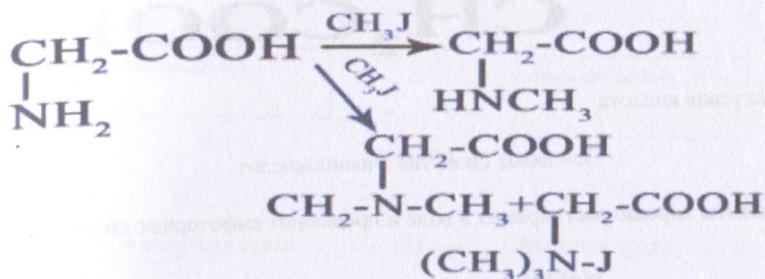
Реакция Эрлиха используется для опознавания триптофана.



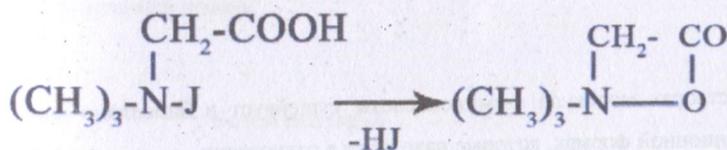
Ксантопротеиновая реакция. Эта реакция используется для определения ароматического характера у радикалов в аминокислотах.



Если к глицину добавить метил йодид, то можно получить метиламиноуксусную или диметил аминоуксусную кислоту.



Образованное с йодом соединение при воздействии щелочей, вытесняя из себя HI образует внутреннюю соль четвертичноаммонийного основания и его называют бетаином.

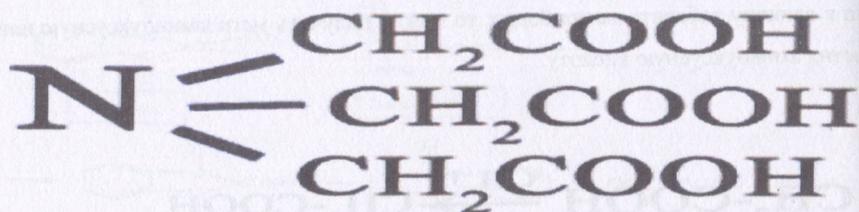


Йодидная соль бетаино водорода

Бетаин

Есть вторичные и третичные аминокислоты, в составе которых есть 2 или 3 карбоксильные группы.

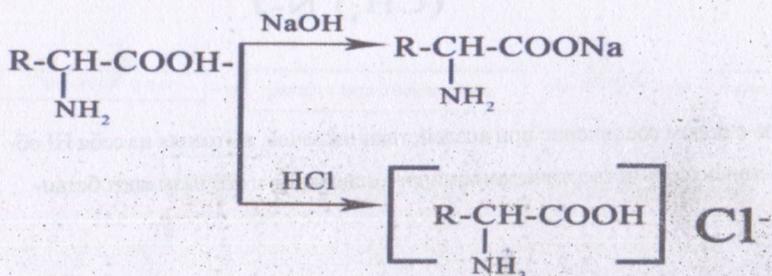
$\text{NH}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$ Иминоуксусная кислота



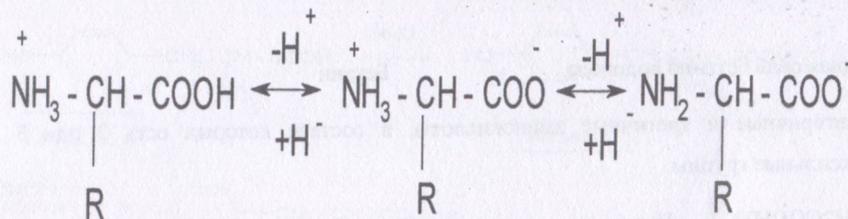
Нитролуксусная кислота

Основные свойства α -аминокислот

Аминокислоты хорошо растворяются в воде и проявляют амфотерные свойства.



В водных растворах молекула α -аминокислоты существует в биполярно ионной, катионной и анионной формах, которые находятся в равновесии.



Катионная форма

Биполярный ион

Анионная форма

Все аминокислоты в кислой среде находятся в катионной форме, а в щелочной среде всегда в анионной форме.

Катионная форма

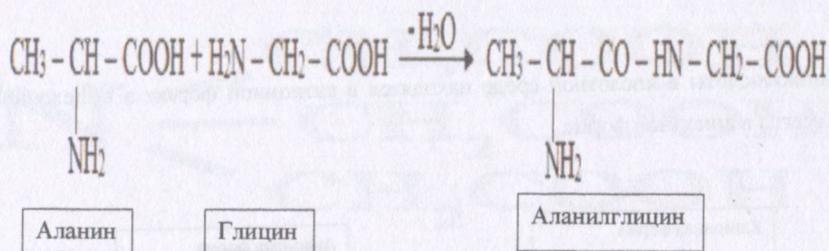
Анионная форма

Кислотная среда ← рН → Щелочная среда

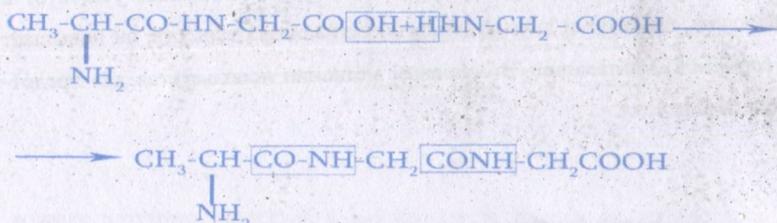
Значение рН, которой соответствует концентрация биполярного иона, в котором уравновешены максимальные формы катиона и аниона называется изоэлектрической точкой. Входит в ряд незаменимых аминокислот. Служит для роста и укрепления организма и для стойкости азотного баланса. Метианин участвует в синтезе адреналина, кератина и других биологически важных веществ, он повышает активность гормонов и витаминов. В основном метианин используется для предотвращения болезней печени.

Белки пептиды.

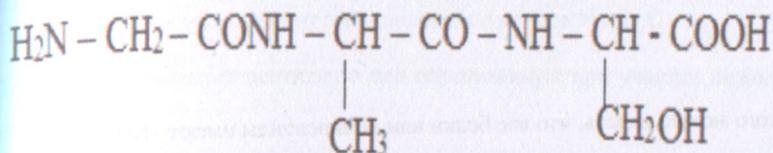
В определенных условиях при помощи аминокислот образуются новые вещества. Например, взаимодействие аланина и глицина можно написать так



Пептид – это продукт взаимодействия аминокислот между собой. Дипептид образуется за счет свободных 1 amino и 1 карбоксильных групп. Он может присоединить себе 1 или 2 аминокислоты. Трипептидом называется вещество, образовавшееся в результате соединения трех остатков аминокислоты.



Трипептид в свою очередь, может присоединить себе один или два аминокислоты и образовать тетрапептиды или полипептиды. При названии пептидов аминокислот, в первую очередь называется аминокислотный остаток содержащий NH₂ группы. Если аминокислота в образовании пептидной связи использует свою карбоксильную группу, то тогда он рассматривается как ациловый радикал и к нему присоединяется окончание – ил. Последняя аминокислота, которая содержит свободную карбоксильную группу, не меняет своё название. Например, трипептид, содержащий глицин, аланин и серин, называется так.

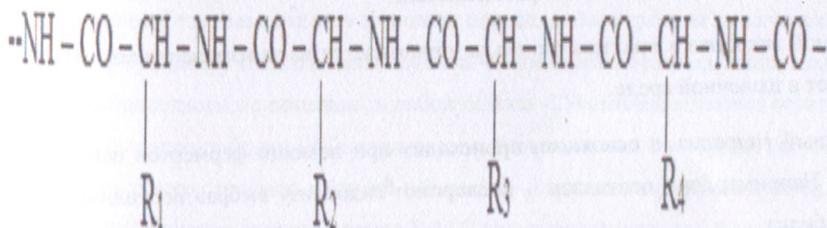


Глицилананилсерин

В последнее время название пептидов используется в сокращённом виде. В таком случае остаток для названия аминокислоты используют только первые три буквы.

Например, вышеуказанный пептид глицилананилсерин называется так гли-ала-сер.

В начале XX века подтвердилось представление Э. Фишера и его учеников о синтезе полипептидов, образование которых происходит за счет аминокислотных связей. Сложные полипептиды, как белки, в воде образуют коллоидный раствор. В определённых условиях они могут становиться крупнее и выпадать в осадок. Они могут вступать в реакцию Биурета и в другие свойственные белкам. По мнению Фишера пептидную цепь можно выражать так:

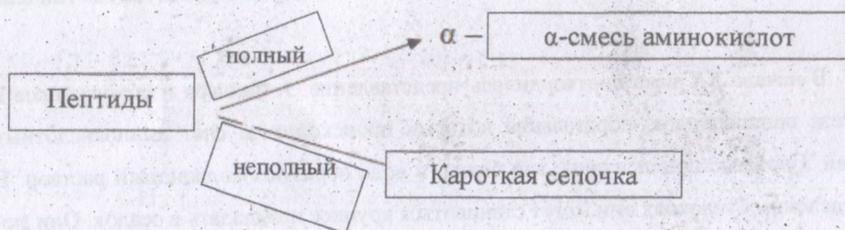


Из этого можно видеть, что все белки или полипептиды имеют $-NH-CO-$ группу, в одном повторяющемся направлении. В цепи аминокислоты азотным – концом считается конецсодержащий NH_2 – группу, а углеродным концом называют тот конец содержащий $COOH$ группу.

Цель пептидов и белков принято писать начиная с последнего N.

Гидролиз пептидов

Пептидная связь имеет способность гидролизироваться в кислой или щелочной среде. Гидролиз может быть полным и неполным



Полный гидролиз происходит при кипячении 6м (20%) HCl в течение 24 часов. В этих условиях можно расщеплять отдельные α -аминокислоты. Например, триптофан в этих условиях может полностью расщепляться.

Щелочной гидролиз в практике почти не принимается из-за изменения многих аминокислот в щелочной среде.

Не полный гидролиз, в основном, происходит при помощи ферментов пептидного класса. Например, энд пептидазы – подвергают гидролизу выбрав пептидную связь внутри белка.

Экзопептидазы – гидролизуют аминокислоты с концов N или C.

Трипсин - гидролизует пептидную цепь образованную при участии лизина или аргинина.

Химотрипсин – гидролизует связи фенилаланина, триптофана, тирозина.

Пепсин – гидролизует связи валина и лейцина

Химический синтез и физико – химический анализ полипептидов полностью доказывает наличие в составе белков пептидных связей. Известны следующие экспериментальные доказательства подтверждающие теорию полипептидного строения белков.

В естественных белках группы COOH и NH_2 значительно меньше. Причина этого является в том, что большинство из них находятся в состоянии образования пептидных связей. В реакции титрование участвуют только свободные группы - COOH и - NH_2 . Образование $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ групп, титрированных стехиометрическом количестве, при гидролизе белков в кислотной и щелочной среде, показывает разрыв пептидных связей в определенном количестве.

Белки под воздействием протеолитических ферментов (протеиназ) разделяются на части называемые полипептидами и имеющие в конце аминокислотные остатки.

Синтезированием химическим методом некоторых фрагментов такого неполного гидролиза подтверждено их строение. Реакцию Буррете, идущую с образованием сине-фиолетового цвета в щелочной среде с участием Cu SO_4 дают пептиды, и белки.

Анализирование рентгенограммы кристаллов белков тоже доказывает полипептидное строение белков. Точное доказательство полипептидного строения белков -это синтезирование белков и пептидов имеющих определенное строение химическим способом. Определено что в составе инсулина -51 аминокислотных остатков лизоцима - 121 аминокислотного остатков , в рибонуклеазе -124 аминокислотных остатков.

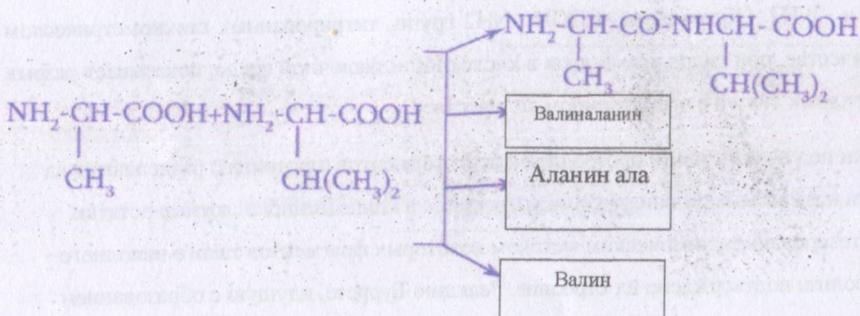
В природе существует более 1012 видов разных белков, из них более 2500 устроение остаток первичного строение, пептиды и белки, α – аминокислот. В молекуле содержащие до 100 аминокислотного остатка В.М.С называется пептидом, а содержащие

более 100 аминокислотного остатка называется белки. Пептиды в свою очередь разделяются на олигопептиды (аминокислотные остатки до 10) и полипептиды (аминокислотные остатки от 11 до 100).

В настоящие время определены молекулы белков состоящие из 1 или нескольких полипептидных цепей. Каждая полипептидная цепь может быть открытой, разветвленной и циклической.

Синтез пептидов

При помощи 2 аминокислот можно взять 4 вида дипептида. Например, из аланина и валина, из 3-х аминокислотных остатков можно образовать 6 три пептидов.



Значит из 2 аминокислотных остатков можно образовать 4 дипептида, из 3 аминокислотных остатков - 6 три пептидов из 4 аминокислотных остатков - 24 тетра пептида, из 20 аминокислотных остатков - 1014 разные пептиды. Расчленение пептидов и определение их строения. Для отделения пептидов, из смеси используются следующие методы: фракционной диализ, распределительная хроматография, адсорбционная хроматография, электрофорез и др.

Изложить расчленение пептидов, определение их строения, анализируется количественный состав аминокислоты и определяется концевые участки пептидной цепи. Первичным строением белков – называется порядок расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Зная первичное строение молекулы белка, можно написать его структурную формулу, если он состоит из одной полипептидной цепи. Порядок осаднения первичной структуры химической гомогенной полипептидной цепи состоит из следующих:

1. В первую очередь – это внедряется при помощи гидролиза.
2. Аминокислота расположенная в конце пептидных цепей в природе остается в остаточном виде.
3. Порядок повторения аминокислот внутри полипептидной цепи.

Белки

Белки – это высокомолекулярные соединения, в их состав входят более 100 или 1000 аминокислотных остатков. Молекулярная масса белков 6000–1000000. Физические и химические свойства белков состоят из следующих:

- Высокая вязкость раствора
- малое количество диффузии
- способность набухать в больших границах
- оптическая активность
- подвижность в электрической плоскости
- обладает низким осмотическим давлением и высоким онкотическим давлением.
- способность поглощать УФ лучи в 280 нм

Белки, как и аминокислоты обладают амфотерными свойствами. Белки по составу среды могут быть щелочными и кислотными свойствами, а по соотношению

аминокислот белки могут быть положительно и отрицательно заряженными. Поэтому они в электронной площади движутся к аноду или к катоду. В изоэлектрической точке сумма зарядов белков равняется полю, и не двигаются в электрической площади. Зная аминокислотное строение белков, можно определить их изоэлектрическую точку. Изоэлектрическая точка многих белков находится между 5,5-7,0 рН.

Но в природе существуют такие белки что их изоэлектрические точки (рН) совпадают с крайними значениями. Например: изоэлектрическая точка желудочного сока равно рН=1, белок с амином в составе молока семги равно рН=12. В изоэлектрической точке белки легко впадают в осадок и менее устойчивы.

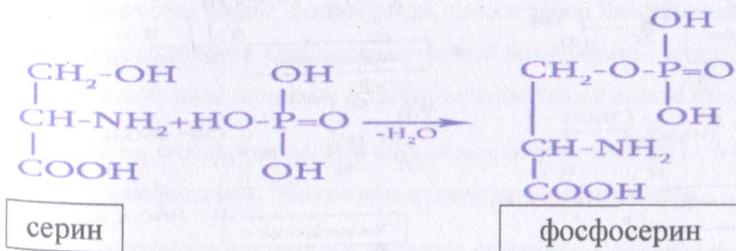
Распространение в природе. Белки один из важных соединений для всех растений и животных. Белки составляет основу растительной протоплазмы. Они входят в крови животных, молока мышц, и сухожилий и играет важную роль. Белки входят состав волос, ногтей, кожи, перьев, шерсти, шелка. А также составляет основную часть яйца. Растения синтезируют белки за счет азота в составе глины, бобовые культуры за счет азота в составе воздуха. Животное не могут синтезировать некоторые белки, они усваивают белки в готовом виде из растений и животных. В период жизни в организме белки всегда окисляются, расщепляются, поэтому в составе еды должны присутствовать белки. В состав многих белков входят 4 элемента: углерод, водород, кислород, азот. У некоторых белков может быть 5 элемент – сера. В составе белков количество элементов непостоянно содержание углерода 50-55% водорода 6.6-7.3%, азота 15-18%, кислорода 19-24%, серы 0,2-2.4%.

Некоторые белки содержат такие элементы как фосфор железо и йод. Белки обладают высокой молекулярной массой 104-107.

Простые белки – состоят из аминокислот и при гидролизе расщепляется только на аминокислоты. Сложные белки – в их состав входит два компонента. Первый компонент - это простой белок, второй компонент не белковая часть которой называется простатической группой. При гидролизе сложных белков образуется свободной аминокислотный остаток, кроме этого, простатическая группа или продукты их разложения.

Простые белки свою очередь делятся на протамины, гистоны, альбумины, глобулины, проламины, глутамины и др. Сложные белки делятся по природе небелковых структур. Поэтому сложные белки делятся на фосфопротеиды, хромопротеины, нуклеопротеиды, гликопротеины, липопротеины, металл протеины. Нуклеопротеиды состоят из белков и нуклеиновых кислот. В природе существует 2 вида нуклеопротеидов дезоксирибонуклеопротеины и рибонуклеопротеины. Они отличается друг от друга размерами и физико химическими свойствами. Изменение название нуклеопротеидов связано с природой компонентов углевода входящих в состав нуклеиновых кислот. В РНП углевод рибоза, а в ДНП углевод дезоксирибоза.

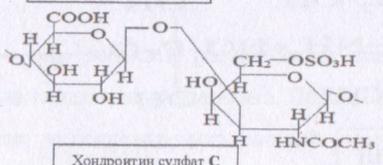
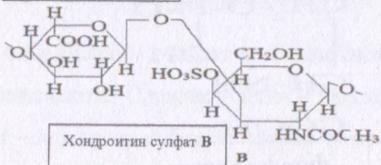
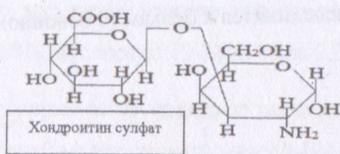
В настоящее время определили, что в составе ядро больше ДНП, а в цитоплазме РНП. Природа белков, синтезированных в клетках в первую очередь связана с природой ДНК (кислоты) остатка ДНП. Свойства живых органов в свою очередь связано со свойствами синтезированного белка. Особенность ДНК - это сохранение наследственной информации. В разных нуклеопротеинах количество нуклеиновых кислот в промежутке 40-45%. Содержание нуклеиновых кислот нуклеопротеинах вирусов 2-5%. Фосфопротеины это сложные эфиры в составе которых содержатся белок и остаток фосфорной кислоты примером этого можно взять казино генное молоко. В их составе количество фосфорной кислоты доходит до 10%. Характерным признаком фосфопротеинов является то, что фосфорная кислота через сложных эфиры связана и гидроксильной группой. В-окси аминокислоты присоединятся к белкам (в основном при помощи серина или треонина).



Гликопротеины состоят из углеводов протастической группы или их производных. В состав некоторых гликопротеинов входят гликозамингликоны, гиалурон и хондроитин сульфатной кислоты. Гиалуроновая кислота в основном встречается в оболочке клетки, состоит из повторения дисахарида полимерных лилейных структур.



Гиалуроновая кислота входит в состав многих органов. Например, кожа стекловидное тело и др. Они используются при лечении катаракты, остеоартрит и др. Глазных заболеваний. Кроме этого, гиалуроновая кислота широко используется в космической хирургии, она способна расширять кожу, то есть может удалять морщины. Сульфатная кислота хондроитин – молекулярная масса вне клетки равна 50000, полимер, имеющий схожие с гиалуроновой кислотой свойства. Имеет способность предотвращать сгущение крови, но это его свойство не мощнее чем у гепарина.



Металл протеины – это биополимерные соединения в составе кроме молекулы белка содержат один или несколько ионов металлов. Примерам к этому можно железа содержащие белки ферритин, трансферрин, имосидерины. Феррин водорастворимый белок, молекулярная масса около 400000 количество железа 17-23 %, он в основном встречается в печени, жидкости мозга, и выполняет роль дело для ионов железа.

Ферритин олигомерный белок состоящий 24 протомеров. Молярная масса 450000, диаметр около 12нм внутри есть полость со сферической формой, диаметр полости 7,5нм, в этой полости между протомерой имеется 6 каналов, через эти каналы в полость входят ионы железа (не менее 2500 ионов) и образуют ядро железа. Состав запаса железа ферратина содержится в виде гидроксид фосфата $[(\text{FeO} \cdot \text{OH})_8(\text{FeO} \cdot \text{OPO}_3\text{H}_2)]$.

Трансферин- гликопротеид. Его функция транспорт железа через кровь из железу накапливающих клеток и в железо расходующие клетки. Синтезируется в печени. Имеются 2 центра, связующие железо. В крови концентрация трансферрина 0,4 г/мл. В кишке железо всасывается при помощи белка, который похоже на трасферрин, потом железо всасывается в трасферрин в крови.

Липопротеины - это сложные белки состоящие из белка и липида, хорошо распространены в природе. Выполняет разные биологические функции в растворах, в животных микроорганизмах. Пример, в их липидный слоя являются нейтральные жиры, свободная жировая кислот, фосфолипиды, холестерины. Липопротеины входят в состав клеточных мембран ядра внутриклеточной биомембраны, митохондрий и микросомы и в свободном состоянии встречается в основном в плазме крове.

Липопротеины в основном делятся на α -липопротеины (З.Ю.Л.П.), β -липопротеины (З.Ж.П.Л), хило микроны. Образование и транспорт липопротеинов.

Жиры не растворяются в воде и в жидкости организма. Поэтому для их транспорта нужен определенный механизм. Эту функцию выполняют липопротеины. Липопро-

теины образуется в клетках слизистой оболочки кишки (хиломикроны и З.Ж.П.Л), гепатоцидах (З.Ж.П.Л и З.Ю.Л) плазме крови (З.П.Л и З.Ю.Л) (таблица 2). Хиломикроны и ЛОВП помогают транспортировать жиры по руслу крови, ЛПНП и ЛПВП помогают транспорту холестерина.

таблица 2 Составы липопротеинов.

Показатели	Хиломикроны	ЗЖПЛ	ЗПЛ	ЗЛЮ
Плотность(г/л)	0.93	0.97	1.035	1.13
Мол. мас. (млн.дальтон)	500	20	2.5	0.25
Диаметричные (нм)	120	30-100	21-25	7915
Белок, %	2	10	22	50
Фосфолипиды, %	3	18	21	27
Свободный холестерин, %	2	7	7	5
Эфиры холестерина, %	3	15	40	20
Триглицериды, %	90	55	7	3

Качественные реакция для белков:

Реакция Бюрета: В щелочной среде раствор сульфата меди окрашивается в фиолетовый цвет. Реакция Бюрета пептидным или -CO – NH – связям. Например, дипептиды дают – голубой, трипептид –фиолетовый, высшие пептиды – красный цвет.

Реакция ксантопротеина –при помощи концентрированного HNO₃ окрашивается в желтый цвет, при 25% NH₄OH становится темно-желтый,

Реакция миллона – при нагревании белка соли нитрата ртути растворы нитрата и нитрита дают красно-коричневый осадок, эта реакция свойственна для тирозина и триптофана.

Реакция нингидрина – при нагревании с раствором нингидрин дает голубой цвет.

Белки и их роль в природе.

Белки по строению подразделяются на простые и сложные. При гидролизе простых белки образуют только α -аминокислоты, и они называются протеинами.

Сложные белки называется протеидами. В их состав входят кроме белков углеводы, нуклеиновые кислоты, фосфатные кислоты, жиры и др. Простые белки по свойствам протеинов разделяется на:

Гистоны (гр. Хитос - ткань) - тканевой белок многоклеточных организмов, связан с ДНК хроматином. Молярная масса этих белков относительно меньше (11000-24000). По электрохимическим свойствам показывает свойства сильных оснований. Потому что у разных гистонов изоэлектрическая точка бывает около 9,5-12,0. Гистоны обладают только третичной структурой. Они подразделяются на 5 видов: Н1; Н2а; Н2б; Н3; Н4.

Разделение на такие группы связано с составом гистонов аргинина и лизина. Кроме этого, в эритроцитах птиц, амфибий, рыб встречается другой вид гистонов Н5. В клетке многоклеточных организмов соотношение гистоны/ДНК около 7. В естественных условиях гистоны прочно связаны с ДНК и выделяются вместе с нуклепротеидами. Связь гистон – ДНК считается электростатической, потому что в составе гистонов количество положительного заряда аргинина и лизина больше, а цепь ДНК заряжена отрицательно. Гистоновые белки встречаются в составе рибосомы клеточной цитоплазмы. В бактериях не встречаются типичные гистоны, а в вирусах встречаются гистоновые белки.

Основная функция гистонов - структура и контроль. Их структурная функция-поддержка устойчивости пространственного строения ДНК и в свою очередь, струк-

туры хромосом хроматина. Все 4 вида гистонов, кроме типа H, составляют основу структурной единицы хроматина, нуклеосомы; а H гистон заполняет фрагменты ДНК между нуклеосомами.

Функция контроля блокировка перехода информации из ДНК в РНК.

К гистонам относятся белки (гемоглобин) глобин, гистоны щитовидной железы, скомброн (берётся из рыбы скумбрия).

Протамины – считаются своеобразными биологическими заместителями гистонов, но они отличается от гистонов составом аминокислот и строением. Они просто построенные белки, молярная масса тоже самая маленькая до 4000 – 12000. Но в их составе количество аргинина и лизина больше, до 80% и больше, поэтому они обладают сильными щелочными свойствами. Протамины как гистоны – поликатионные белки, они связываются с ДНК в хроматине спермы. Протамины встречаются в составе нуклепротамина в икре рыб. Такие протамины называются, смотря от чего взяты: от ласоса - салмин, от фореля – трутин, от скумбрии – скумбрин, от сельди – клупеин. Протамины тоже, как и гистоны выполняют функцию структуры жирования ДНК сперматозоидов.

Проламины – группа растительных белков, встречается в зерне бобовых. Особенное свойство проламинов не растворимость в воде, в соленых растворах, абсолютных спиртах, кислотах и щелочах. Из них при 70 °С, этаноле, делают экстракцию. Способность растворяться в таких средах связано с тем, что в их составе неполярные аминокислоты и пролины. Название проламинов также зависит от источника получения.

Глутелины – группа растительных белков, не растворяются в нейтральных растворителях – H₂O, растворах солей и этанола, но растворяются – в разбавленных кислотах и щелочах. Их растворение в таких растворителях связано с относительным большим содержанием проламина чем аргинина, меньше, чем пролина. К этой группе относится также оризенин взятый от риса, гултанин от пшеницы.

Альбумины и глобулины – встречаются всех растениях и животных. Они составляет основную часть белков в плазме крови, в клетки и в биологических жидкостях. Альбумины и глобулины входят подсолённые группы белков в нейтральных солях аммония или сульфата натрия подсаливает в разных количествах.

Альбумины – белки с меньшей молярной массой (15000 - 70000) в их составе глутаминовая кислота больше, поэтому они заряжается отрицательным зарядом и представляют свойства кислоты (изоэлектрическая точка 4,7) эти белки является сильно гидролизующими и за счет этого, если в растворе будут водаотнимающие соединения тогда выпадает в осадок. К альбуминам свойственно сильно адсорбирующая способность. Они адсорбирует полярные и не полярные молекулы. Альбумины в плазме крови адсорбируют разные не специфические соединения за счет этого они выполняют важную роль при транспорте. Основные представители альбуминов: альбумин молока, альбумин сыворотки лейкозин (взято от зерна пшеницы).

Молярная масса глобулинов больше, чем альбумина (100000 более). Они не растворяются в чистой воде и с этим отличается от альбуминов, но в слабых растворах растворяется (разбавленный). Глобулины бывают слабыми кислотными или нейтральными белками (изоэлектрическая точка между pH 6-7,3). Эти белки сильно гидратируются, поэтому при мало концентрированных растворах $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ выпадает осадок. Основные представители белков: в мышцах миозин ген, от кенафа эдестин, от, но хата легулин, глобулин в желтках яйца, глобулин сыворотка крови и др

Склеропроотеины – не растворяются в воде, встречаются в наружных эпидермисах животных и соединительном ткани. К ним относятся: кератин, коллаген, эластин, фиброины.

Кератин – волосы, рога, ногти, перья и наружный эпидермис образован из кератина. Скорлупа яйцо тоже содержит кератин, в состав кератина входит большое количество серы.

Коллагены – в организме распространено, в основном встречается в костях, соединительной ткани. Кости позвоночных образованы соединениями солей кальция, жиров и коллагена. Если кипятить коллагены костей с водой, образуется клей.

Эластин входит в состав сосудов и других с соединений ткани. В мокром шелке имеется белок фиброин, а в шёлковом клее сертцин.

Протеиды.

1. Фосфопротеиды - белки в составе которых содержится фосфор. Они имеют кислотные свойства. Основной представитель казеиновой молока. В казеине ярко выражены кислотные свойства, из-за этого он может вытеснять из солей угольной кислоты. Вместе с щелочами образует соли. Соли казеина называется казеина том. При нагревании казеин не набухает. Их соли, взаимодействуя с кислотами, образуют казеин. Если в молоко добавить дрожжи казеин меняется и образуется не растворимый параказеин. Из него готовят сыр. Вителлин, встречающийся в составе желтка, входит в состав фосфопротеидов.

2. Нуклеопротеиды – входят в состав клеточного ядра, при медленном гидролизе расщепляется на нуклеиновые кислоты. Эти сложные соединения распадаются на фосфорную кислоту, на углевод, пуриновые и пиримидиновые основания.

3. Хромо протеиды – протеиды, образующиеся при добавлении к белкам красящих веществ, называются хромо протеидами. К хромо протеидам относятся гемоглобин красящее вещество красных кровяных телец. Гемоглобин, соединяясь с кислородом образует оксигемоглобин. Оксигемоглобин даёт кислород другим соединениям и заново преобразовывается в гемоглобин. Гемоглобин с плазмой крови регулирует количество рН и движение CO_2 в организме. Гемоглобин хорошо соединяется с CO , теряет способность присоединять O_2 . Поэтому CO является ядовитым. Белковая соединения гемоглобин – соединение основного гемма окрашивающим с глобином. Вне организма гемоглобин присоединяясь CO_2 образует мет глобин.

Метгемоглобин под действием, концентрированной ледяной уксусной кислоты, распадается на гематин. Гематин в случае обработки NaCl образует гемин. Гемин кристалл красно – бурого цвета.

4. Гликопротеиды- эти белки встречаются в желудке, печени, кишке, слюне. Гликопротеиды - это соединения белков образующий олиго или полисахаридами.

5. Липопротеиды – при гидролизе они распадаются на белки, жиры, лецитины и др фосфоритам.

Свойства белков.

Белки высокомолекулярное соединения, мало растворимые в воде. Вода растворимые белки образует коллоидный раствор. При сжигании белки образуется уголь и входит такой запах, как горение шерсти. Белки тоже как аминокислоты амфотерные в их молекуле повышением карбоксильных или амина наблюдается или кислотное или основное свойства.

выпадение осадок белков. В случае нагревание в присутствии сильных кислот, щелочей и солей тяжелых металлов могут наблюдаться нарушения конфигурации белков, и они могут выпадает в осадок. Это явление называется денатурация. При денатурации нарушается мостики, связывающие первичное и вторичное структурное звено. Этим мостикам относятся Н связи, солевой мостик, S- бисульфитной мостик, мостики сложных эфиров.

Кислотный и ферментативной гидролиз

Белки при нагревании с кислотами и ферментами гидролизуются. Например, гидролиз трипептида:

листе вторичной структуре при её образовании полипептидной цепь конформации зигзага между собой располагается параллельно, между собой связывается Н связью

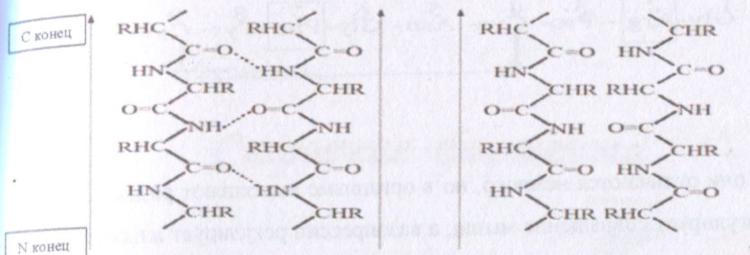


Рисунок 9.2. Параллельно и антипараллельно сложенная

Полипептидная цепь имея в себе элементы той или иной вторичной структуры способно вся целиком укладывается определенном образе в пространстве т.е. приобретает третичную структуру. При устойчивости 3-ней структуры белка, кроме Н-ой связи, участвуют и другие связи.

Четвертичная структура белка – наблюдается в белках составе которых несколько полипептидной цепи, между собой связанное с не ковалентной связью. Для полного понимания пептидов надо было понять только первое строение, а для белков надо рассмотреть все пространственные конформационные структуры. При изучении развитии белковой химии особое внимание имеют вазопрессин, окситоцин и инсулин.

В 1953-году американский биохимик В. Дю. Вино определил в гипофизе гормоны окситоцин и вазопрессин. По его описанию в этих гормонах качестве общности строение является пептидная цепь составляющиеся из 9 аминокислот. В этой цепи 4 и 9 аминокислоты связано между собой дисульфидной мостиками. Вышеуказанные гормоны друг от друга отличается от вторых аминокислот: в окситоцине место лейцина и изолейцина, в вазопрессине располагается аргинин и фенилаланин.

стрептококк и пневмококки используется дека пептид грамцитидин S цикло, в её состав входит ряд Ламинокислоте, кроме этого, 2 остаток фенилаланина.

Ферменты.

Строение фермента

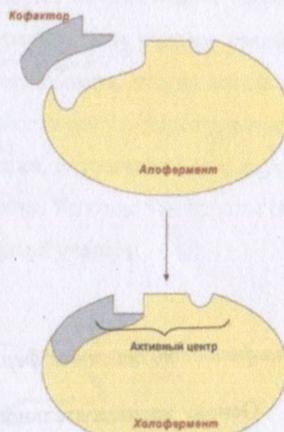
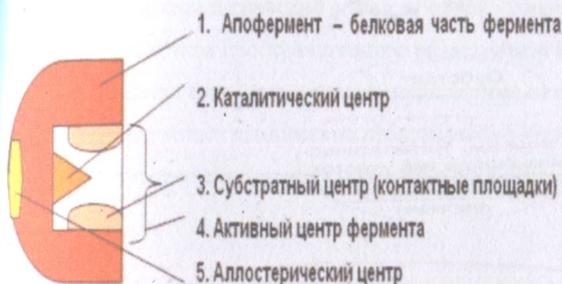
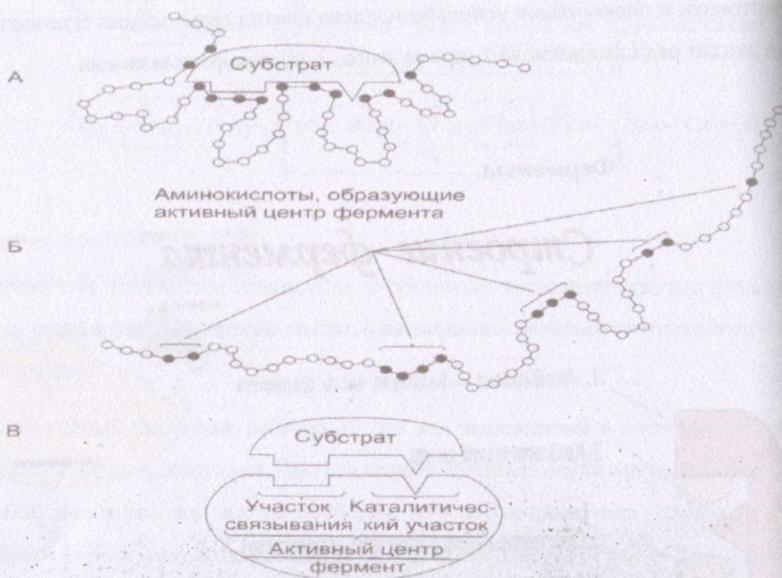


Схема формирования сложного фермента

ФЕРМЕНТЫ - это специфичные белки, выполняющие функцию биологических катализаторов.



Специфичность действия ферментов

Основу жизнедеятельности любого организма составляют химические процессы. Практически все реакции в живом организме протекают с участием природных биокатализаторов, называемых ферментами, или энзимами. Среди множества энергетически возможных реакций ферменты избирательно преобразуют реагенты, называемые субстратами, по физиологически полезному пути. Таким образом, ферменты управляют всеми метаболическими процессами организма. Ферменты, как было установлено ещё в 1922 г., являются белками. Их роль уникальна: они увеличивают скорость протекания химической реакции, однако при этом не расходуются. В 1926 г. был впервые очищен и выделен в виде белковых кристаллов фермент уреаза, катализирующий реакции расщепления мочевины до аммиака и диоксида углерода. К настоящему времени в кристаллическом виде получены сотни различных ферментов, расшифрованы их аминокислотные последовательности, изучается их роль в метаболических превращениях. Поскольку ферменты — белковые молекулы, следовательно,

они обладают всеми свойствами, характерными для белков. В то же время они имеют особенности строения, характеризующие их как катализаторы.

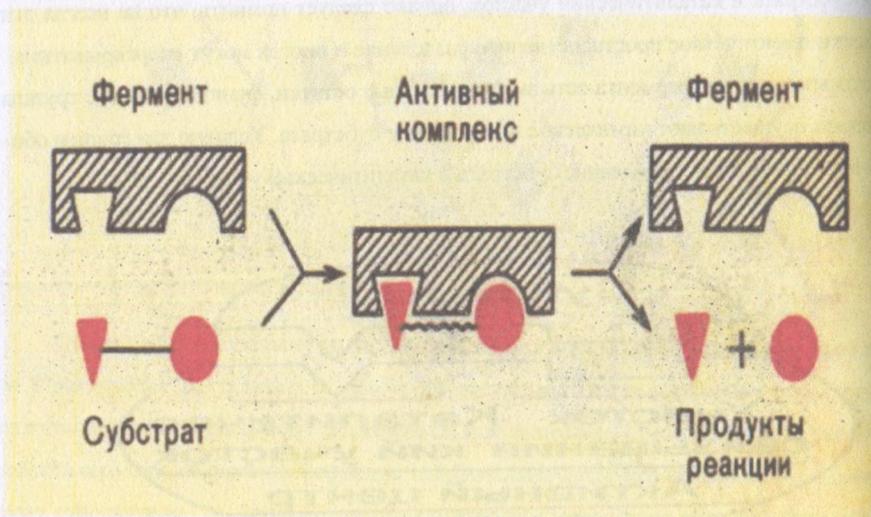
Биологическая функция фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра. Легенд, взаимодействующий с активным центром фермента, называют субстратом. В активном центре фермента есть аминокислотные остатки, функциональные группы которых обеспечивают связывание субстрата, и аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата. Условно эти группы обозначают как участок связывания субстрата и каталитический участок, однако следует помнить, что не всегда эти участки имеют четкое пространственное разделение и иногда могут «перекрываться». В активном центре фермента есть аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата. Условно эти группы обозначают как участок связывания субстрата и каталитический участок.



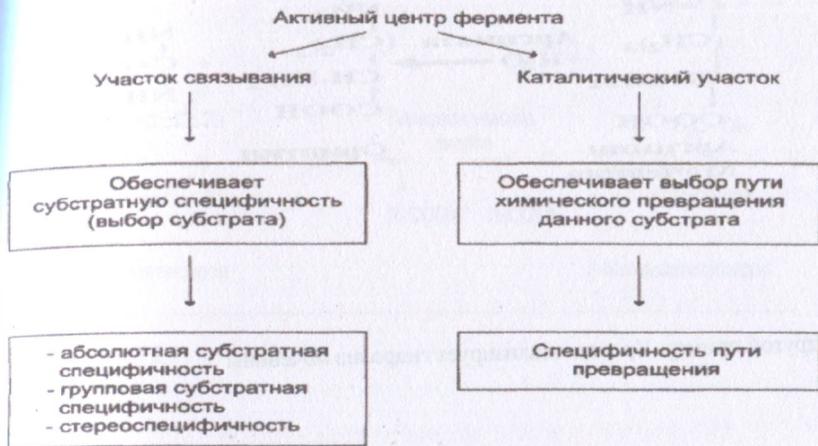
В участке связывания субстрат при помощи нековалентных связей взаимодействует (связывается) с ферментом, формируя фермент- субстратный комплекс. В каталитическом участке субстрат претерпевает химическое превращение в продукт, который

затем высвобождается из активного центра фермента. Схематично процесс катализа можно представить следующим уравнением: $E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow EP \leftrightarrow E + P$,

Где E - фермент, S - субстрат, P- продукт. Данные обозначения общеприняты и происходят от английских слов enzyme, substrat, product.



Специфичность - наиболее важное свойство ферментов, определяющее биологическую значимость этих молекул. Различают субстратную и каталитическую специфичности фермента, определяемые строением активного центра.



Субстратная специфичность

Под субстратной специфичностью понимают способность каждого фермента взаимодействовать лишь с одним или несколькими определенными субстратами. Различают:

Абсолютную субстратную специфичность;

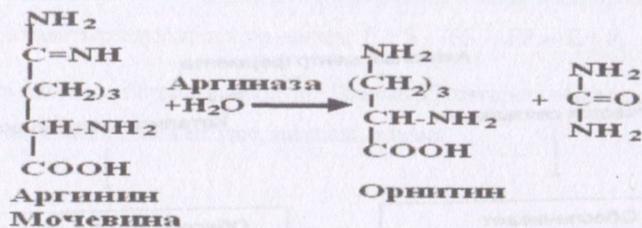
Групповую субстратную специфичность;

Стереоспецифичность.

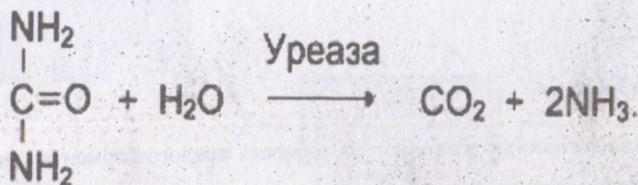
Абсолютная субстратная специфичность.

Активный центр ферментов, обладающих абсолютной субстратной специфичностью, комплементарен только одному субстрату. Следует отметить, что таких ферментов в живых организмах мало.

Пример фермента с абсолютной субстратной специфичностью - аргиназа, катализирующая реакцию расщепления аргинина до мочевины и орнитина:

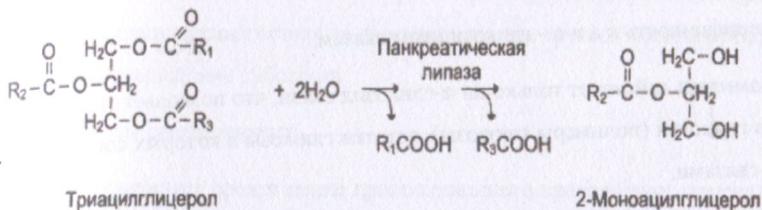


Или другой пример: Уреаза катализирует гидролиз мочевины



Групповая субстратная специфичность

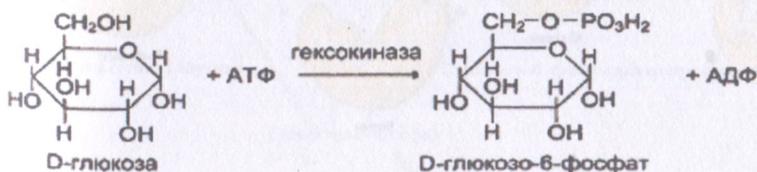
Большинство ферментов катализирует однотипные реакции с небольшим количеством (группой) структурно похожих субстратов. Так, фермент панкреатическая липаза катализирует гидролиз жиров в двенадцатиперстной кишке человека, катализируя превращение любой молекулы жира (триацилглицерола) до молекулы моноацилглицерола и двух молекул высших жирных кислот. Панкреатическая липаза гидролизует эфирную связь у α -атомов углерода глицерола, независимо от того, какие жирные кислоты входят в состав молекулы жира.



Большинство протеолитических ферментов, осуществляющих гидролиз белков, имеет групповую субстратную специфичность, гидролизуя пептидные связи, образованные разными аминокислотами.

Стереоспецифичность

При наличии у субстрата нескольких стереоизомеров фермент проявляет абсолютную специфичность к одному из них. Например: гексокиназа катализирует только D-моносахаридов



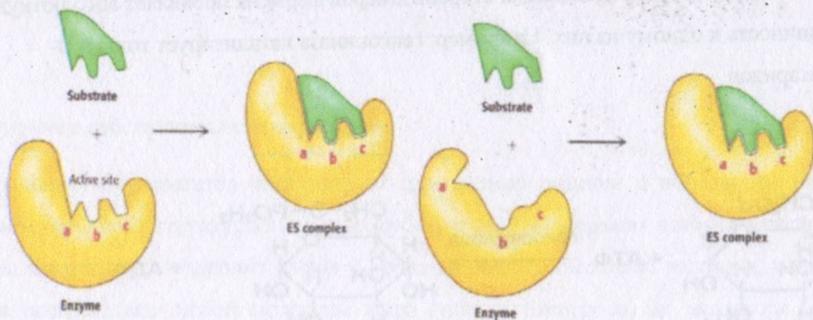
Исключение составляют только ферменты эпимеразы (рацемазы), катализирующие превращение оптических изомеров.

Стереоспецифичность к α и β - гликозидным связям.

Фермент амилаза действует только на α -гликозид связи, что позволяет гидролизовать крахмал и гликоген (полимеры глюкозы), остатки глюкозы в которых соединены α -гликозид связями.

Целлюлоза - также полимер глюкозы, однако остатки глюкозы в нем связаны β -гликозид связями. В результате отсутствия у человека ферментов, специфичных к β -гликозид связи, целлюлоза не гидролизуется в кишечнике человека и не может служить источником глюкозы. В результате отсутствия у человека ферментов специфичных к

β -гликозиды связям, целлюлоза не гидролизуется в кишечнике человека.

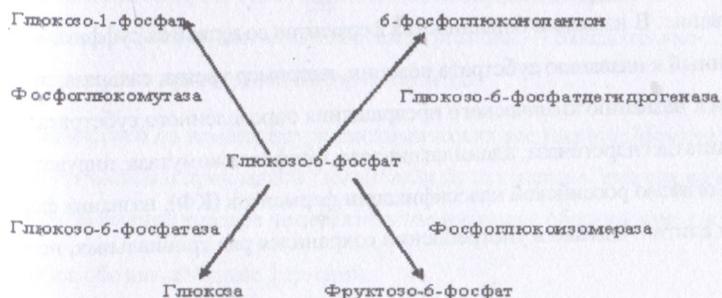


Участок связывания представлен радикалами аминокислот, функциональные группы которых обеспечивают связывание субстрата. Каталитический участок образован радикалами аминокислотных остатков, функциональные группы которых обеспечивают химическое превращение субстрата.

Каталитическая специфичность

Фермент катализирует превращение присоединенного превращение присоединенного субстрата по одному из возможных путей его превращения. Это свойство обеспечивается строением каталитического участка активного центра фермента и называется каталитической специфичностью пути превращения субстрата. Так, как молекула глюкозо-6-фосфата в клетках печени человека – под действием различных ферментов: фосфоглюкомутазы, глюкозо-6-фосфатфосфатазы, фосфоглюкоизомеразы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы протекает различные реакции. Однако из-за особенностей строения каталитических участков этих ферментов происходит различное превращение этого соединения с образованием 4 различных продуктов. В зависимости от строения каталитического участка активного центра фермент катализирует превращение присоединенного субстрата, по одному из возможных путей его превращения. И это называется каталитической специфичностью.

Н: глюкоза -6-фосфат в клетках печени из-за особенностей строения каталитических участков ферментов происходят различные превращения субстрата.



Каталитическая эффективность

Каждая молекула фермента способна за секунду трансформировать от 100 до 1000 молекул субстрата в продукт.

Количество молекул субстрата, превращенных в продукт с помощью одной молекулы фермента за 1 с, называют

числом оборотов фермента или молярной активностью. Лабильность ферментов Каталитическая эффективность фермента, зависит от его конформации т.е. от конформации активного центра.

Способность ферментов к небольшим изменениям нативной конформации называется конформационной лабильностью фермента.

Воздействие денатурирующих агентов способных изменять конформацию активного центра фермента приводит к снижению активности фермента.

Классификация и номенклатура ферментов

Каждый фермент имеет 2 названия. Первое - короткое, так называемое рабочее, удобное для повседневного использования. Второе (более полное) - систематическое, применяемое для однозначной идентификации фермента.

Рабочее название. В названии большинства ферментов содержится суффикс «аза», присоединенный к названию субстрата реакции, например уреаза, сахараза, липаза, нуклеаза или к названию химического превращения определенного субстрата, например лактатдегидрогеназа, аденилатциклаза, фосфоглюкомутаза, пируваткарбоксилаза. Согласно российской классификации ферментов (КФ), названия ферментов пишутся слитно. Однако в употреблении сохранился ряд тривиальных, историче-

вторая цифра (подкласс) уточняет преобразуемую группировку,

третья (под подкласс) — уточняет дополнительных участников реакции (например, донора и акцептора) и

четвертая — порядковый номер фермента в данной подгруппе.

Так, фермент малакдегидрогеназа имеет систематическое название L-малак: NAD-оксидоредуктаза и кодовый шифр 1.1.1.38. Шифр означает, что этот фермент относят к первому классу ферментов — оксидоредуктаз, окисляемая группа — гидроксильная группировка (1) в присутствии кофермента NAD⁺ (1) и порядковый номер фермента в этой подгруппе — 38. Кодовую номенклатуру ферментов в основном используют в научной литературе.

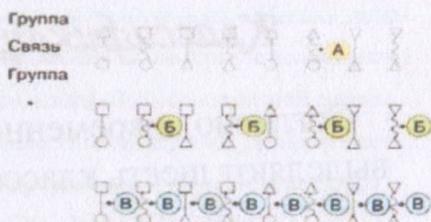
Классы ферментов

Международный союз биохимии и молекулярной биологии в 1961 г. разработал систематическую номенклатуру, согласно которой все ферменты разбиты на 6 основных классов в зависимости от типа катализируемой химической реакции:

6 основных классов. Каждый класс состоит из многочисленных подклассов и подподклассами.



1 катал (кат) : количество фермента, которое увеличивает превращение субстрата на 1 моль / с



	Реакционная специфичность	Субстратная специфичность
A	Высокая	Высокая
B	Высокая	Низкая
B'	Низкая	Низкая

А. Ферментативная активность

Б. Реакционная и субстратная специфичность

Класс	Тип реакции	Важнейшие подклассы
1 Оксидоредуктазы	<p>C = Восстановительный эквивалент</p>	Дегидрогеназы Оксидазы, пероксидазы Редуктазы Моноксигеназы, диоксигеназы
2 Трансферазы		C ₁ -Трансферазы Гликозилтрансферазы Аминотрансферазы Фосфотрансферазы
3 Гидролазы		Эстеразы Гликозидазы Пептидазы Амидазы
4 Лиазы ("синтазы")		C-C- Лиазы C-O- Лиазы C-N- Лиазы C-S- Лиазы
5 Изамеразы		Эпимеразы <i>цис-транс</i> -Изомеразы Внутримолекулярные трансферазы
6 Лиазы ("синтазы")	<p>X = A, G, U, C</p>	C-C- Лиазы C-O- Лиазы C-N- Лиазы C-S- Лиазы

В. Классы ферментов

Классификация ферментов



Согласно современной классификации, выделяют шесть классов ферментов:

- оксидоредуктазы;
- трансферазы;
- гидролазы;
- лиазы;
- изомеразы;
- лигазы.



Каждый класс состоит из многочисленных подклассов и подподклассов с учетом преобразуемой химической группы субстрата, донора и акцептора преобразуемых группировок, наличия дополнительных молекул и т.д. Каждый из 6 классов имеет свой порядковый номер, строго закрепленный за ним.

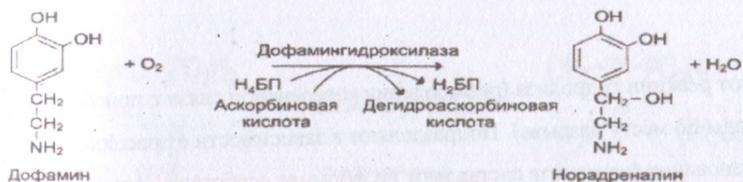
Оксидоредуктазы

Катализуют различные окислительные - восстановительные реакции с участием 2 субстратов (перенос e или атомов водорода с одного субстрата на другой).

Систематическое наименование ферментов составляют по формуле «донор: акцептор-оксидоредуктаза», рабочее - субстрат - подкласс оксидоредуктаз.

Дегидрогеназы. В этот подкласс входят ферменты, катализирующие реакции дегидрирования (отщепления водорода). В качестве акцепторов электронов используются коферменты NAD^+ , $NADP^+$, FAD^+ , FMN^+ (см. ниже). Все ферменты этой группы обладают высокой субстратной специфичностью. Пример реакции: Дегидрогеназы: Это ферменты катализирующие реакции дегидрирования. В качестве акцепторов электронов используются коферменты NAD^+ , $NADP^+$, FAD ,

Оксигеназы – атом кислорода из молекулы кислорода присоединяется к субстрату.



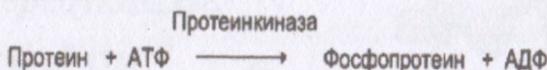
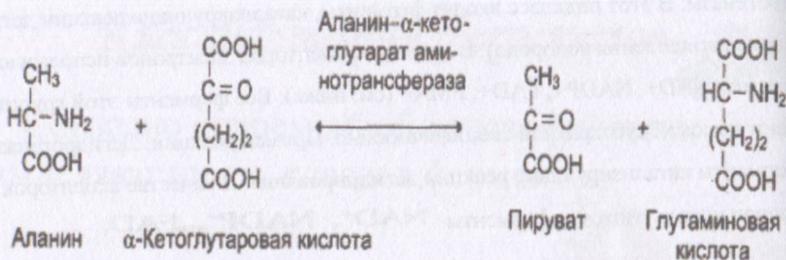
Трансферазы катализируют перенос функциональных групп от одного соединения к другому:

Подразделяют в зависимости от переносимой группы.

Название этих ферментов составляют по формуле «донор: акцептор транспортируемая

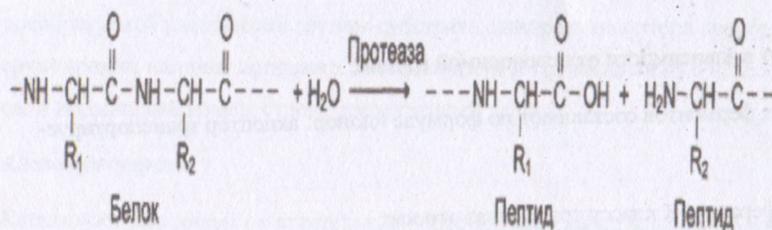
группа трансферазы». К классу трансфераз относят

аминотрансферазы, ацилтрансферазы, метилтрансферазы, гликозилтрансферазы, киназы (фосфотрансферазы). Примеры реакций.



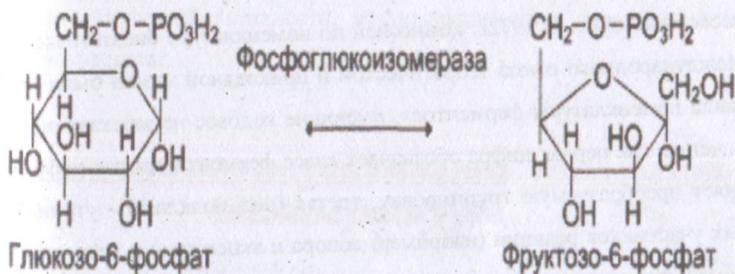
Гидролазы

Катализируют реакции гидролиза (расщепления ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва). Подразделяют в зависимости от расщепляемой связи. Наименование ферментов составляют по формуле «субстрат—гидролаза» или прямым присоединением к названию субстрата суффикса «аза», например протеаза, липаза, фосфолипаза, рибонуклеаза. Для отдельных классов гидролаз применимы специальные термины, характеризующие гидролиз определённой химической связи: эстеразы, фосфатазы и др.



Лиазы. К лиазам относят ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путём определённую группу (при этом могут отщепляться CCC , H_2O , NH_2 , SH_2 и др.) или присоединяющие чаще всего молекулу воды по двойной связи.

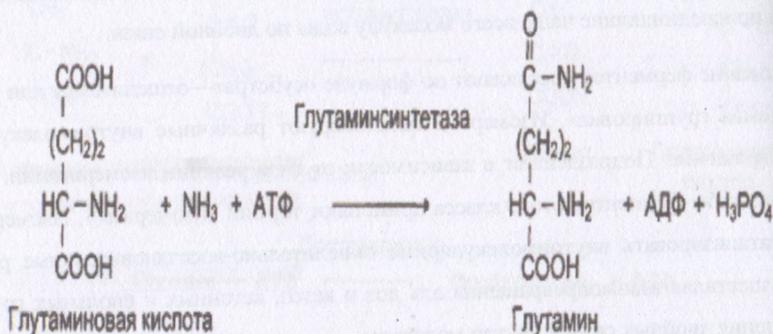
Наименование ферментов составляют по формуле «субстрат—отщепляемая или присоединяемая группировка». Изомеразы катализируют различные внутримолекулярные превращения. Подразделяют в зависимости от типа реакции изомеризации. Как общее название ферментов этого класса применяют термин «изомеразы». Изомеразы могут катализировать внутримолекулярные окислительно-восстановительные реакции, осуществляя взаимопревращения альдоз и кетоз, кетонных и енольных групп, перемещения двойных связей внутри молекулы.



Когда изомеризация состоит во внутримолекулярном переносе группы, фермент называют «мутазой».

Лигазы (синтетазы) катализируют реакции присоединения друг к другу двух молекул с образованием ковалентной связи. Этот процесс сопряжён с разрывом фосфоэфирной связи в молекуле АТФ (или других нуклеозидтрифосфатов) или с разрывом макроэргических связей других соединений. В первом случае (при использовании энергии: гидролиза АТФ) такие ферменты называют лигазами или синтетазами. В случае,

когда источником энергии служит любое другое макроэргическое соединение (не АТФ), ферменты называют синтезами.



Систематическое название. В 1972г. комиссией по номенклатуре биохимических соединений Международного союза теоретической и прикладной химии были предложены «Правила номенклатуры ферментов», имеющие кодовое четырехзначное цифровое обозначение, где первая цифра обозначает класс фермента, вторая цифра (подкласс) уточняет преобразуемую группировку, третья (под подкласс) - уточняет дополнительных участников реакции (например, донора и акцептора) и четвертая - порядковый номер фермента в данной подгруппе. Так, фермент малатдегидрогеназа имеет систематическое название L -малат: NAD- оксидоредуктаза и кодовый шифр 1.1.1.38.

Шифр означает, что этот фермент относят к первому классу ферментов - оксидоредуктаз, окисляемая группа -гидроксильная группировка (1) в присутствии кофермента NAD⁺ (1) и порядковый номер фермента в этой подгруппе - 38.

Зависимость скорости ферментативной реакции от различных факторов.

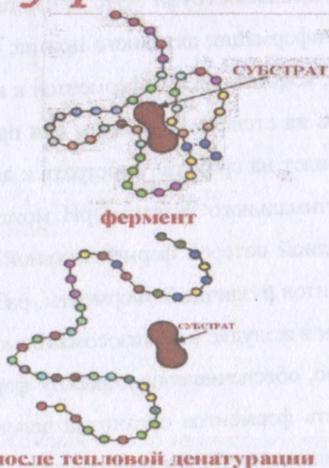
Кинетика ферментативных реакций — раздел энзимологии, изучающий зависимость скорости химических реакций, катализируемых ферментами, от химической природы реагирующих веществ, а также от факторов окружающей среды. Скорость ферментативной реакции зависит от ряда факторов, таких как количество и активность фер-

ментов, концентрация субстрата, температура среды, pH раствора, присутствие регуляторных молекул (активаторов и ингибиторов). Рассмотрим влияние этих факторов на скорость ферментативной реакции.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры.

Повышение температуры до определённых пределов оказывает влияние на скорость ферментативной реакции, подобно влиянию температуры на любую химическую реакцию. С повышением температуры ускоряется движение молекул, что приводит к повышению вероятности взаимодействия реагирующих веществ. Кроме того, температура может повышать энергию реагирующих молекул, что также приводит к ускорению реакции. Однако скорость химической реакции, катализируемая ферментами, имеет свой температурный оптимум, превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, возникающим из-за термической денатурации белковой молекулы.

Зависимость активности фермента от температуры



Для большинства ферментов человека оптимальна температура 37-38°C. Однако в природе существуют и термостабильные ферменты. Например, Так—полимераза, выделенная из микроорганизмов, живущих в горячих источниках, не инактивируется при повышении температуры до 95 °С. Этот фермент используют в научно-практической медицине для молекулярной диагностики заболеваний с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Зависимость скорости ферментативной реакции от рН среды. Активность ферментов зависит от рН раствора, в котором протекает ферментативная реакция. Для каждого фермента существует значение рН, при котором наблюдается его максимальная активность. Отклонение от оптимального значения рН приводит к понижению ферментативной активности. Влияние рН на активность ферментов связано с ионизацией функциональных групп аминокислотных остатков данного белка, обеспечивающих оптимальную конформацию активного центра фермента. При изменении рН от оптимальных значений происходит изменение ионизации функциональных групп молекулы белка. Например, при закислении среды происходит протонирование свободных аминогрупп (NH_3^+), а при защелачивании происходит отщепление протона от карбоксильных групп. Это приводит к изменению конформации молекулы фермента и конформации активного центра; следовательно, нарушается присоединение субстрата, кофакторов и коферментов к активному центру. Кроме того, рН среды может влиять на степень ионизации или пространственную организацию субстрата, что также влияет на сродство субстрата к активному центру. При значительном отклонении от оптимального значения рН может происходить денатурация белковой молекулы с полной потерей ферментативной активности. Оптимум значения рН у разных ферментов различный. Ферменты, работающие в кислых условиях среды (например, пепсин в желудке или лизосомальные ферменты), эволюционно приобретают конформацию, обеспечивающую работу фермента при кислых значениях рН. Однако большая часть ферментов организма человека имеет оптимум рН, близкий к нейтральному, совпадающий с физиологическим значением рН.

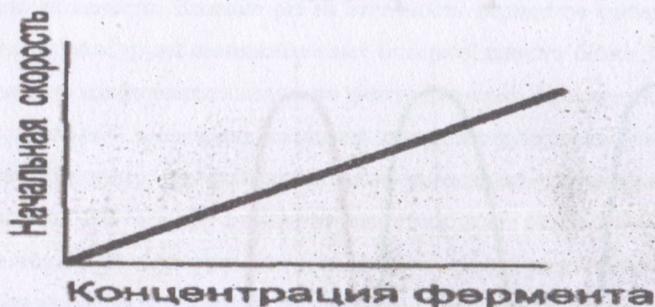
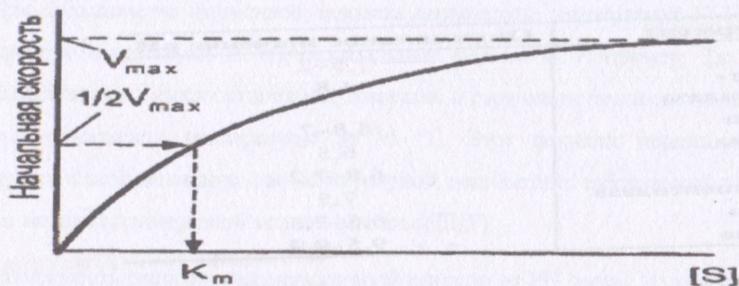
Фермент	Оптимальное значение pH
Пепсин	1,5–2
Пируват-карбоксилаза	4,8
Каталаза	6,8–7
Фумараза	6,5
Уреаза	6,8–7,2
Кабоксипептидаза	7,5
Трипсин	6,5–7,5
Аргиназа	9,5–9,9

Зависимость активности фермента от pH среды

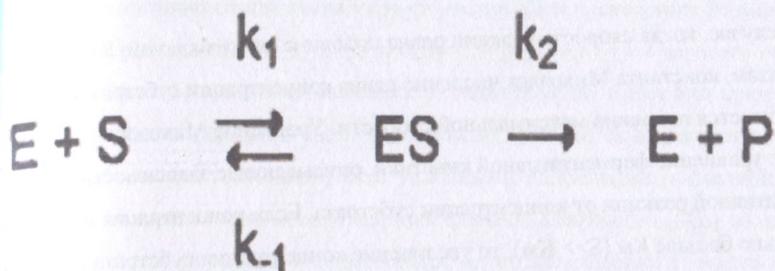


Зависимость скорости ферментативной реакции от количества субстрата.

Если концентрацию ферментов оставить постоянной, изменяя только количество субстрата, то график скорости ферментативной реакции описывают гиперболой.



При увеличении количества субстрата начальная скорость возрастает. Когда фермент становится полностью насыщенным субстратом, т.е. происходит максимально возможное при данной концентрации фермента формирование фермент-субстратного комплекса, наблюдают наибольшую скорость образования продукта. Дальнейшее повышение концентрации субстрата не приводит к увеличению образования продукта, т.е. скорость реакции не возрастает. Данное состояние соответствует максимальной скорости реакции V_{max} . Таким образом, концентрация фермента — лимитирующий фактор в образовании продукта. Это наблюдение легло в основу ферментативной кинетики, разработанной учёными Л. Михоэлсом и М. Метен в 1913 г. Ферментативный процесс можно выразить следующим уравнением:



где k_1 — константа скорости образования фермент-субстратного комплекса; k_{-1} — константа скорости обратной реакции, распада фермент-субстратного комплекса; k_2 — константа скорости образования продукта реакции.

Следующее соотношение констант скоростей $(k_{-1} + k_2)/k_1$ называют константой Михаэлиса и обозначают K_m . Скорость реакции пропорциональна концентрации фермент-субстратного комплекса ES , а скорость образования ES зависит от концентрации субстрата и концентрации свободного фермента. На концентрацию ES влияет скорость формирования и распада ES . Наибольшая скорость реакции наблюдается в том случае, когда все молекулы фермента находятся в комплексе с субстратом, т.е. в фермент-субстратном комплексе ES , т.е. $[E] = [ES]$.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата выражается следующим уравнением:

$$V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

Это уравнение получило название уравнения Михаэлиса—Ментен.

В случае, когда скорость реакции равна половине максимальной, $K_m = [S]$. Таким образом, константа Михаэлиса численно равна концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной скорости. Уравнение Михаэлиса—Ментен — основное уравнение ферментативной кинетики, описывающее зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Если концентрация субстрата значительно больше K_m ($S \gg K_m$), то увеличение концентрации субстрата на величину K_m практически не влияет на сумму ($K_m + S$) и её можно считать равной концентрации субстрата. Следовательно, скорость реакции становится равной максимальной скорости: $V = V_{max}$. В этих условиях реакция имеет нулевой порядок, т.е. не зависит от концентрации субстрата. Можно сделать вывод, что V_{max} — величина постоянная для данной концентрации фермента, не зависящая от концентрации субстрата. Если концентрация субстрата значительно меньше K_m ($S \ll K_m$), то сумма ($K_m + S$) примерно равна K_m , следовательно, $V = V_{max}[S]/K_m$, т.е. в данном случае скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата (реакция имеет первый порядок). V_{max} и K_m — кинетические характеристики эффективности фермента. V_{max} даёт характеристику каталитической активности фермента и имеет размерность скорости ферментативной реакции моль/л, т.е. определяет максимальную возможность образования продукта при данной концентрации фермента и в условиях избытка субстрата. K_m характеризует сродство данного фермента к данному субстрату и является величиной постоянной, не зависящей от концентрации фермента. Чем меньше K_m , тем больше сродство фермента к данному субстрату, тем выше начальная скорость реакции и наоборот, чем больше K_m , тем меньше начальная скорость реакции, тем меньше сродство фермента к субстрату.

Единицы измерения активности ферментов

Для измерения каталитической активности ферментов используют такие показатели, как скорость реакции или активность фермента. Скорость ферментативной реакции определяется изменением количества молекул субстрата или продукта за единицу времени. Скорость ферментативной реакции — мера каталитической активности

фермента, её обозначают как активность фермента. При проведении ферментативной реакции в условиях избытка субстрата скорость реакции будет зависеть от концентрации фермента. Графическая зависимость такой реакции имеет вид прямой линии. Однако количество фермента часто невозможно определить в абсолютных величинах, поэтому на практике пользуются условными величинами, характеризующими активность фермента: одна международная единица активности (МЕ) соответствует такому количеству фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин при оптимальных условиях проведения ферментативной реакции. Оптимальные условия индивидуальны для каждого фермента и зависят от температуры среды, рН раствора, при отсутствии активаторов и ингибиторов.

$$1 \text{ ME} = \frac{1 \text{ мкмоль превращённого субстрата}}{1 \text{ мин}}$$

Количество единиц активности nME определяют по формуле:

$$n \text{ ME} = \frac{\text{Количество превращённого субстрата (мкмоль)}}{\text{Время (мин)}}$$

В 1973 г. была принята новая единица активности ферментов: 1 катал (кат), соответствующий такому количеству катализатора, которое превращает 1 моль субстрата за 1 с. Количество катало определяют по формуле:

$$n \text{ катал} = \frac{\text{Количество превращённого субстрата (моль)}}{\text{Время (с)}}$$

Международная единица ферментативной активности МЕ связана с каталами следующими равенствами:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль } s/c = 60 \text{ моль } s/\text{мин} = 60 \times 10^6 \text{ мкмоль}/\text{мин} = 6 \times 10^7 \text{ МЕ}$$

$$1 \text{ МЕ} = 1 \text{ мкмоль}/\text{мин} = 1/60 \text{ мкмоль}/c = 1/60 \text{ мккат} = 16,67 \text{ нкат}$$

В медицинской и фармацевтической практике для оценки активности ферментов часто используют международные единицы активности — МЕ. Для оценки количества молекул фермента среди других белков данной ткани определяют удельную активность (уд. ак.) фермента, численно равную количеству единиц активности фермента (пМЕ) в образце ткани, делённому на массу (мг) белка в этой ткани:

$$\text{Уд. ак.} = \frac{\text{Количество превращённого субстрата (мкмоль)}}{\text{Время (мин)} \times \text{количество белка (мг)}}$$

Кофакторы и коферменты.

Большинство ферментов для проявления ферментативной активности нуждается в низкомолекулярных органических соединениях небелковой природы (коферментах) и/или в ионах металлов (кофакторах). Термин «кофермент» был введен в начале XX века и обозначал часть некоторых ферментов, которая легко отделялась от белковой молекулы фермента и удалялась через полупроницаемую мембрану при диализе. Несколько позже было выяснено, что большинство ферментов состоит из термолabileйной белковой части и термостабильного небелкового фактора - кофермента. Белковая часть получила название «апофермент», который в отсутствие кофермента не обладает каталитической активностью. Кофермент с белковой молекулой (апоферментом) формируют молекулу холофермента, обладающую каталитической активностью. Более 25% всех ферментов для проявления полной каталитической активности нуждаются в ионах металлов. Рассмотрим роль кофакторов в ферментативном катализе.

ф е р м е н т

белковая часть небелковая часть

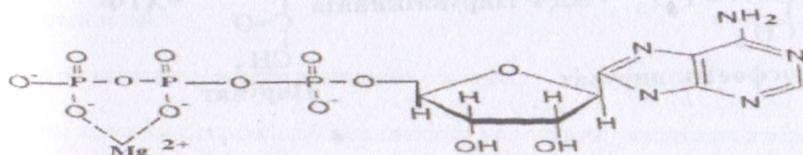
апофермент ионе металла

кофактор

х о л о ф е р м е н т

Роль металлов в присоединении субстрата в активном центре фермента

Ионы металла выполняют функцию стабилизаторов молекулы субстрата, активного центра фермента и конформации белковой молекулы фермента, а именно третичной и четвертичной структур.



Схематично роль кофактора при взаимодействии фермента и субстрата можно представить как комплекс E-S-Me, где E - фермент, S - субстрат, Me - ион металла.

В качестве примера можно привести расположение субстратов в активном центре гексокиназы.

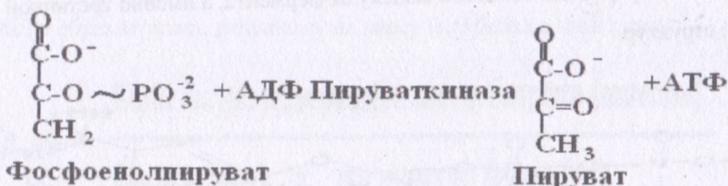
Гексокиназа катализирует перенос концевой, γ - фосфатного остатка молекулы АТФ на глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата:

Ион Mg^{2+} участвует в присоединении и «правильной» ориентации молекулы АТФ в активном центре фермента, ослабляя фосфоэфирную связь и облегчая перенос фосфата на глюкозу. Ионы металла - стабилизаторы активного центра фермента.

В некоторых случаях ионы металла служат «мостиком» между ферментом и субстратом. Они выполняют функцию стабилизаторов активного центра, облегчая присоединение к нему субстрата и протекание химической реакции. В ряде случаев ион металла может способствовать присоединению кофермента. Перечисленные выше функции выполняют такие металлы, как Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mo^{2+} . В отсутствие металла эти ферменты активностью не обладают. Такие ферменты получили название «металл энзимы». Схематично данный процесс взаимодействия фермента, субстрата и металла можно представить

E-Me-S

К металл энзимам относят, например, фермент пируваткиназу катализирующий реакцию:



Ионы металлов — стабилизаторы молекулы субстрата.

Для некоторых ферментов субстратом служит комплекс превращаемого вещества с ионом металла. Например, для большинства киназ в качестве одного из субстратов выступает не молекула АТФ, а комплекса Mg^{2+} -АТФ. В этом случае ион Mg^{2+} не взаимодействует непосредственно с ферментом, а участвует в стабилизации молекулы АТФ и нейтрализации отрицательного заряда субстрата, что облегчает его присоединение к активному центру фермента. Так, гексокиназа катализирует перенос концевой, γ -фосфатного остатка молекулы АТФ на глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата: Ион Mg^{2+} участвует в присоединении и «правильной» ориентации молекулы АТФ в активном центре фермента, ослабляя фосфоэфирную связь и облегчая перенос фосфата на глюкозу.

Роль металлов в стабилизации третичной и четвертичной структуры фермента.

Ионы металлов обеспечивают сохранение вторичной, третичной, четвертичной структуры молекулы фермента. Такие ферменты в отсутствие ионов металлов способны к химическому катализу, однако они нестабильны. Их активность снижается и даже полностью исчезает при небольших изменениях pH, температуры и других незначительных изменениях внешнего окружения. Таким образом, ионы металлов выполняют функцию стабилизаторов оптимальной конформации белковой молекулы.

Роль металлов в ферментативном катализе. Не менее важную роль отводят ионам металлов в осуществлении ферментативного катализа. Они участвуют в электрофильном катализе. Наиболее часто эту функцию выполняют ионы металлов с переменной валентностью, имеющие свободную d-орбиталь и выступающие в качестве электрофилов. Это, в первую очередь, такие металлы, как Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Si^{2+} . В ходе электрофильного катализа ионы металлов часто участвуют в стабилизации промежуточных соединений.

Участие в окислительно-восстановительных реакциях.

Ионы металлов с переменной валентностью могут также участвовать в переносе электронов. Например, в цитохромах (гемсодержащих белках) ион железа способен присоединять и отдавать один электрон. Благодаря этому свойству цитохромы

участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. Другой пример участия ионов металлов в окислительно-восстановительных реакциях — работа фермента дофамингидроксилазы, катализирующего реакцию образования норадреналина при участии витамина С. За окислительно-восстановительные свойства у дофамингидроксилазы отвечает ион меди. Фермент, содержащий ион Cu^{2+} , не вступает в реакцию с молекулой кислорода. При восстановлении Cu^{2+} до Cu^{+} с помощью аскорбиновой кислоты образуется ион меди, способный взаимодействовать с кислородом с образованием перекисного соединения. Далее гидроксильная группа переносится на молекулу дофамина с образованием норадреналина.

Роль металлов в регуляции активности ферментов.

Иногда ионы металлов выступают в роли регуляторных молекул. Например, ионы Ca^{2+} служат активаторами фермента протеинкиназы С, катализирующего реакции фосфорилирования белков. Ионы Ca^{2+} также изменяют активность ряда кальций-кальмодулинзависимых ферментов.

Участие ионов магния в присоединении субстрата в активном центре пируваткиназы.

Активный центр пируваткиназы имеет участки связывания для фосфоенолпирувата и АДФ. Mg^{2+} участвует в стабилизации активного центра, что облегчает присоединение фосфоенолпирувата. В ходе ферментативной реакции образуется пируват и АТФ. Ионы металлов способны к химическому катализу, однако они нестабильны. Их активность снижается и даже полностью исчезает при не больших изменениях рН, температуры и других незначительных изменениях внешнего окружения. Таким образом, ионы металлов выполняют функцию стабилизаторов оптимальной конформации белковой молекулы.

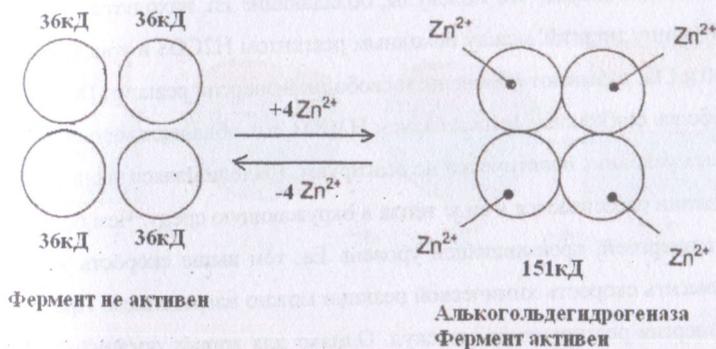
Иногда в стабилизации вторичной и третичной структуры принимают участие ионы щелочноземельных металлов. Так, для поддержания третичной конформации пируваткиназы необходимы ионы K^{+} .

Для стабилизации четвертичной структуры алкогольдегидрогеназы, катализирующей реакцию окисления этанола, необходимы ионы цинка. Алкогольдегидрогеназа состо-

ит из 4 субъединиц с молекулярной массой 151 кД. В состав фермента входят 4 атома Zn^{2+} , Удаление Zn^{2+} приводит к потере активности фермента за счет диссоциации на 4 неактивные субъединицы с молекулярной массой 36кД

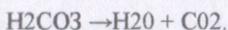
Роль металлов в ферментативном катализе

Не менее важную роль отводят ионам металлов в осуществлении ферментативного катализа.



Механизм действия ферментов

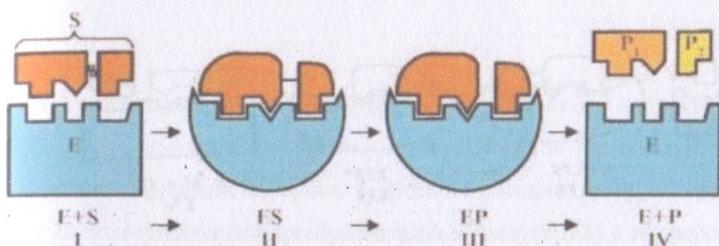
Механизм действия ферментов может быть рассмотрен с двух позиций: с точки зрения изменения энергетике химических реакций и с точки зрения событий в активном центре. Любые химические реакции протекают, подчиняясь двум основным законам термодинамики: закону сохранения энергии и закону энтропии. Согласно этим законам, общая энергия химической системы и её окружения остаётся постоянной, при этом химическая система стремится к снижению упорядоченности (увеличению энтропии). Для понимания энергетике химической реакции недостаточно знать энергетический баланс входящих и выходящих из реакции реагентов, необходимо учитывать изменения энергии в процессе данной химической реакции и роль ферментов в динамике этого процесса. Рассмотрим реакцию разложение угольной кислоты:



Угольная кислота слабая; реакция её разложения пойдёт при обычных условиях, если молекулы угольной кислоты имеют энергию, превышающую определённый уровень, называемый энергией активации E_a . Энергией активации называют дополнительное количество кинетической энергии, необходимое молекулам вещества, чтобы они вступили в реакцию. При достижении этого энергетического барьера в молекуле происходят изменения, вызывающие перераспределение химических связей образование новых соединений. Говорят, что молекулы, обладающие E_a , находятся в переходном состоянии. Разницу энергий между исходным реагентом H_2CO_3 и конечными соединениями H_2O и CO_2 называют изменением свободной энергии реакции ΔG . Молекулы H_2O и CO_2 - более стабильные вещества, чем H_2CO_3 , т.е. обладают меньшей энергией и при обычных условиях практически не реагируют. Выделившаяся энергия в результате этой реакции рассеивается в виде тепла в окружающую среду. Чем больше молекул обладает энергией, превышающей уровень E_a , тем выше скорость химической реакции. Повысить скорость химической реакции можно нагреванием. При этом увеличивается энергия реагирующих молекул. Однако для живых организмов высокие температуры губительны, поэтому в клетке для ускорения химических реакций используются ферменты. Ферменты обеспечивают высокую скорость реакций при оптимальных условиях.

Механизм ферментативного катализа

1. Теория Фишера: «ключ-замок».
2. Теория Кошланда: «рука и перчатка».
3. Теория вынужденного индуцированного соответствия субстрата и активного центра или теория гибких эластичных групп активного центра.



Этапы ферментативного катализа.

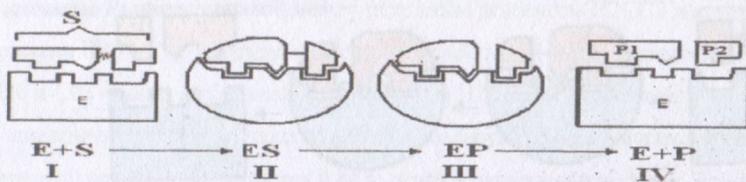
В 1959г. был предложен другой вариант гипотезы «ключ-замок», объясняющий события в активном центре фермента. По этой гипотезе активный центр является гибкой структурой по отношению к субстрату. Субстрат, взаимодействуя с активным центром фермента, вызывает изменение его конформации, приводя к формированию фермент - субстратного комплекса, благоприятного для химических модификаций субстрата. При этом молекула субстрата также изменяет свою конформацию, что II обеспечивает более высокую эффективность ферментативной реакции.

Процесс ферментативного катализа условно можно разделить на следующие этапы.

Первый, второй и четвертый этапы катализа непродолжительны и зависят от концентрации субстрата (для первого этапа) и констант связывания лигандов в активном

центре фермента (для первого и третьего этапов). Изменения энергетики химической реакции на этих стадиях незначительны.

Третий этап наиболее медленный; длительность его зависит от энергии активации химической реакции. На этой стадии происходят разрыв связей в молекуле субстрата, образование новых связей и формирование молекулы продукта.



Этапы ферментативного катализа.

I - этап сближения и ориентации субстрата относительно активного центра фермента.
II - образование фермент-субстратного комплекса (ES) в результате индуцированного соответствия
III - деформация субстрата и образование нестабильного комплекса фермент-продукт (EP);
IV - распад комплекса (EP) с высвобождением продуктов реакции из активного центра фермента и освобождением фермента.

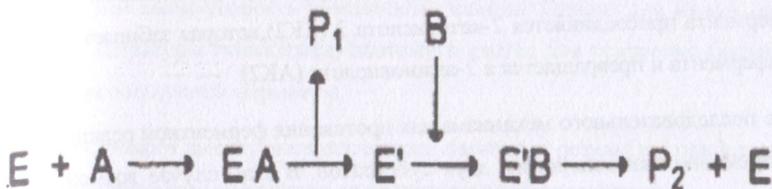
Мультисубстратные реакции

Большинство ферментов катализирует реакции, в которых участвует более чем один субстрат. В случае если кофермент не является простатической группой, его также можно рассматривать как ещё один субстрат. Следовательно, участников ферментативной реакции может быть несколько: непосредственно фермент, несколько субстратов и кофермент. В этих случаях механизм ферментативной реакции, как правило, может идти по одному из двух путей:

1. По механизму «пинг-понг» (механизм двойного замещения)

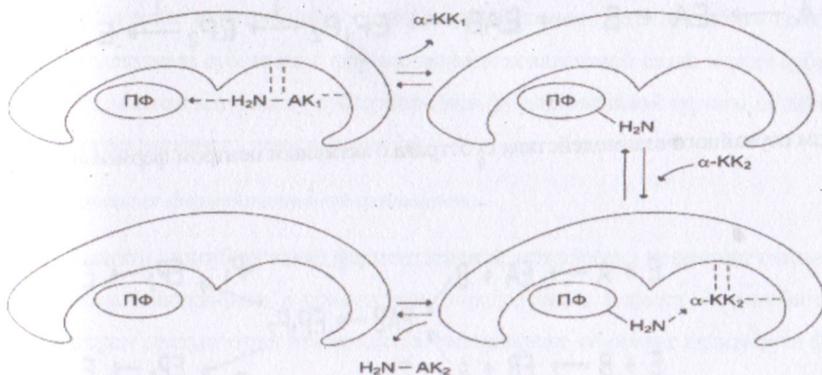
2. Последовательному механизму.

Схематично механизм «пинг-понг» может быть представлен следующим образом:



Субстрат А, взаимодействуя с ферментом (Е), превращается в продукт (Р₁). Фермент остаётся в результате этого преобразования не в нативной форме, а в изменённой (Е') в результате модификации кофермента. Далее к активному центру Е' присоединяется субстрат В, подвергающийся преобразованию в продукт (Р₂) с высвобождением нативной формы фермента (Е).

Примером механизма «пинг-понг» может быть реакции трансаминирования с участием ферментов аминотрансфераз (кофермент пиридоксальфосфат).

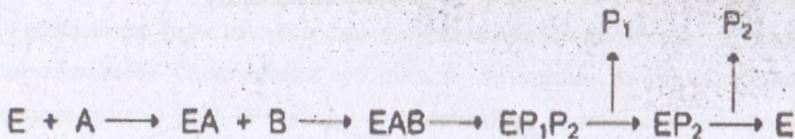


Кофермент пиродоксальфосфат (ПФ) связанный с ферментом, принимает α -аминогруппу от первой аминокислоты АК, которая превращается α -кетокислоту 1 (КК1). И высвобождается из активного центра фермента. Дальнейшем в активный центр фермента присоединяется 2-кетокислота 2 (КК2), которая забирает аминогруппу от кофермента и превращается в 2-аминокислоту (АК2)

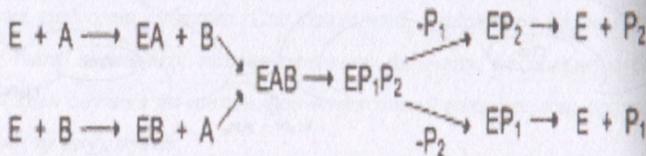
В случае последовательного механизма для протекания ферментной реакции требуется одновременно взаимодействие двух субстратов. В этом случае возможно присоединение субстратов двумя различными путями: упорядоченного взаимодействия субстрата с активным центром фермента или механизм случайного взаимодействия субстрата с активным центром фермента.

Последовательный механизм ферментативного катализа делится на 2. Механизм упорядоченного взаимодействия субстрата с активным центром фермента:

Первым в активный центр фермента присоединяется субстрат А, облегчая присоединение субстрата В



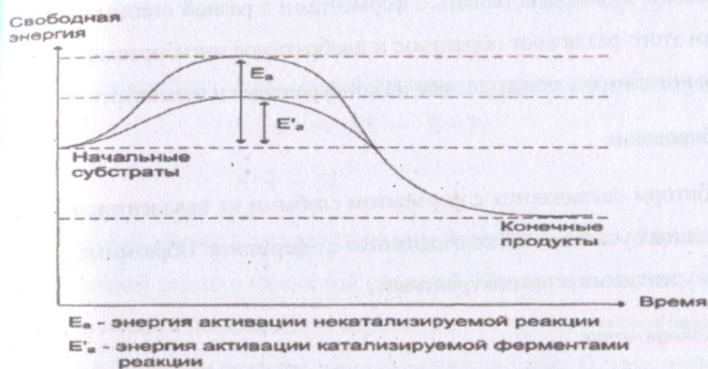
Механизм случайного взаимодействия субстрата с активным центром фермента



Механизм действия ферментов

Чем больше молекул субстрата обладает энергией, превышающей уровень E_a энергии активации, тем выше скорость химической реакции. Однако для живых организмов высокие температуры губительны, поэтому в клетке для ускорения биохимических процессов используются ферменты.

Ферменты снижают высоту энергетического барьера, в результате при низких температурах увеличивается количество реакционноспособных молекул.



Ковалентный катализ

Основан на атаке нуклеофильных или электрофильных групп активного центра фермента молекулами субстрата с формированием ковалентной связи между субстратом или коферментом или между субстратом или функциональной группы аминокислотного остатка активного центра фермента.

Ингибирования ферментативной активности

Под термином «ингибирование ферментативной активности» понимают снижение каталитической активности в присутствии определённых веществ — ингибиторов. К ингибиторам следует относить вещества, вызывающие снижение активности фермента. Следует отметить, что все денатурирующие агенты также вызывают уменьшение

скорости любой ферментативной реакции, вследствие неспецифической денатурации белковой молекулы, поэтому денатурирующие агенты к ингибиторам не относят.

Ингибиторы вызывают большой интерес для выяснения механизмов ферментативного катализа, помогают установить роль отдельных ферментов в метаболических путях организма. В основе действия многих лекарственных препаратов и ядов лежит ингибирование активности ферментов, поэтому знание механизмов этого процесса крайне важно для молекулярной фармакологии и токсикологии.

Ингибиторы способны взаимодействовать с ферментами с разной степенью прочности. На основании этого различают обратимое и необратимое ингибирование. По механизму действия ингибиторы подразделяют на конкурентные и неконкурентные.

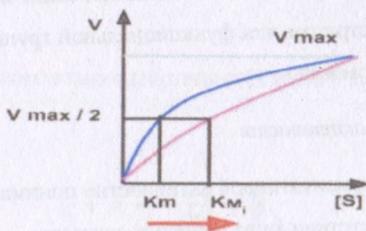
Обратимое ингибирования

Обратимые ингибиторы связываются с ферментом слабыми не ковалентными связями и при определённых условиях легко отделяются от фермента. Обратимые ингибиторы бывают конкурентными и неконкурентными.

Конкурентное ингибирование.

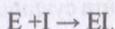
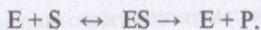
Конкурентный тип ингибирования

Осуществляется веществом, близким по химическому строению к субстрату



К конкурентному ингибированию относят обратимое снижение скорости ферментативной реакции, вызванное ингибитором, связывающимся с активным центром фермента и препятствующим образованию фермент-субстратного комплекса. Такой тип ингибирования наблюдают, когда ингибитор — структурный аналог субстрата, в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за место в активном центре фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо ингибитор, образуя комплексы фермент-субстрат (ES) или фермент-ингибитор (EI). При формировании комплекса фермента и ингибитора (EI) продукт реакции не образуется.

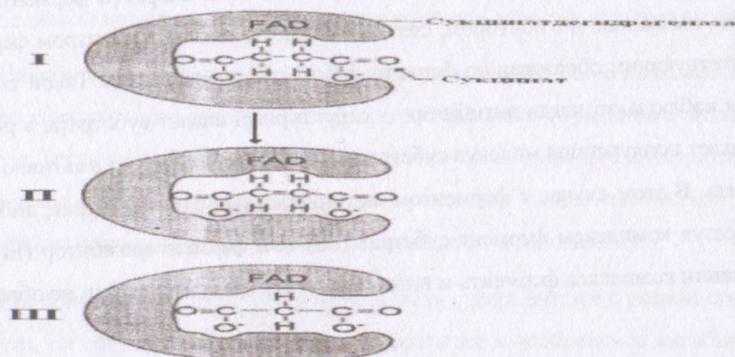
Для конкурентного типа ингибирования справедливы следующие уравнения:



Классический пример конкурентного ингибирования — ингибирование сукцинатдегидрогеназной реакции малоновой кислотой. Малоновая кислота — структурный аналог сукцината (наличие двух карбоксильных групп) и может также взаимодействовать с активным центром сукцинат дегидрогеназы. Однако отщепление двух атомов водорода от малоновой кислоты невозможно; следовательно, скорость реакции снижается.

Кинетические зависимости.

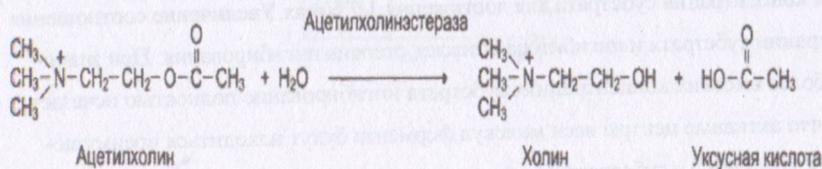
Конкурентные ингибиторы уменьшают скорость химической реакции. Конкурентный ингибитор повышает K_m для данного субстрата (уменьшает сродство субстрата к ферменту). Это означает, что в присутствии конкурентного ингибитора необходима большая концентрация субстрата для достижения $1/2 V_{max}$. Увеличение соотношения концентрации субстрата и ингибитора снижает степень ингибирования. При значительно более высоких концентрациях субстрата ингибирование полностью исчезает, потому что активные центры всех молекул фермента будут находиться преимущественно в комплексе с субстратом.

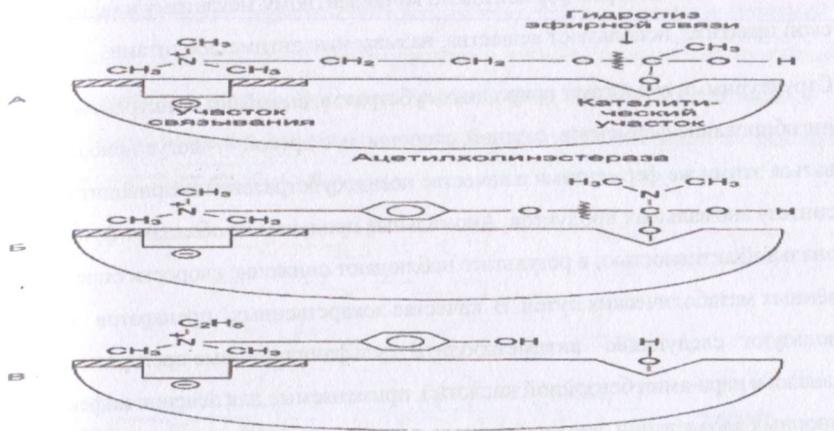


Пример конкурентного ингибирования сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой. I - сукцинат связывается с активным центром фермента сукцинатдегидрогеназы; II - в ходе ферментативной реакции происходит отщепление двух атомов водорода от сукцината присоединение их к коферменту FAD. В результате образуется фумарат, который высвобождается из активного центра сукцинатдегидрогеназы; III - малоновая кислота - структурный аналог сукцината, она также связывается с активным центром сукцинатдегидрогеназы. При этом химическая реакция не идет.

Лекарственные препараты как конкурентные ингибиторы

Многие лекарственные препараты оказывают своё терапевтическое действие по механизму конкурентного ингибирования. Например, четвертичные аммониевые основания ингибируют ацетилхолинэстеразу, катализирующую реакцию гидролиза ацетилхолина на холин и уксусную кислоту.





При добавлении ингибиторов активность ацетилхолинэстеразы уменьшается, концентрация ацетилхолина (субстрата) увеличивается, что сопровождается усилением проведения нервного импульса. Ингибиторы холинэстераз используют при лечении мышечных дистрофий. Эффективные антихолинэстеразные препараты — прозерин, эндрофоний и др.

Антиметаболиты как лекарственные препараты

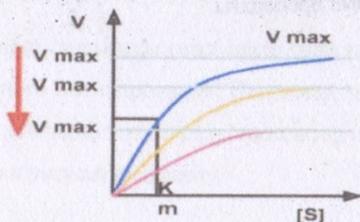
В качестве ингибиторов ферментов по конкурентному механизму в медицинской практике; используют вещества, называемые антимаболами.

Структурными аналогами природных субстратов, вызывают конкурентное ингибирование ферментов, с одной, стороны, и, с другой — могут использоваться этими же ферментами в качестве псевдосубстратов, что приводит к синтезу аномальных продуктов. Аномальные продукты не обладают функциональной активностью; в результате наблюдают снижение скорости определённых метаболических путей. В качестве лекарственных препаратов используют следующие антимаболами: сульфаниламидные препараты (аналоги пара-амин бензойной кислоты), применяемые для лечения инфекционных заболеваний, аналоги нуклеотидов для лечения онкологических заболеваний.

Неконкурентное ингибирование

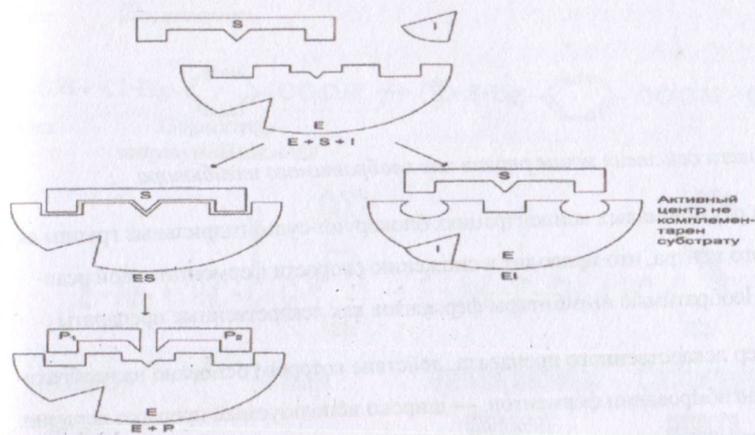
Неконкурентный тип ингибирования

Ингибитор реагирует с ферментом иным образом, чем субстрат, поэтому повышение концентрации субстрата не может вытеснить ингибитор и восстановить активность фермента



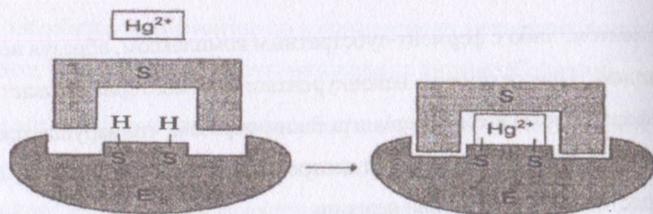
Неконкурентным называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра. Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата. Неконкурентный ингибитор может связываться либо с

ферментом, либо с фермент-субстратным комплексом, образуя неактивный комплекс. Присоединение неконкурентного ингибитора вызывает изменение конформации молекулы фермента таким образом, что нарушается взаимодействие субстрата с активным центром фермента, что приводит к снижению скорости ферментативной реакции.



Необратимое ингибирование

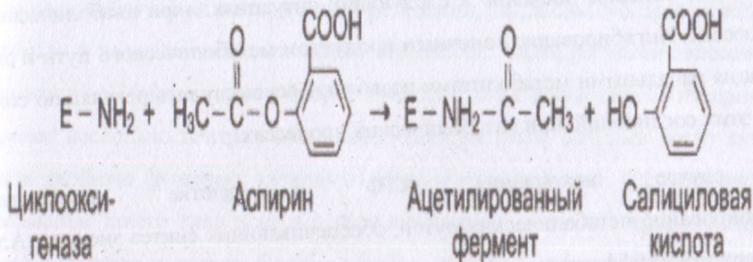
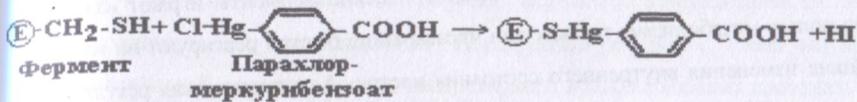
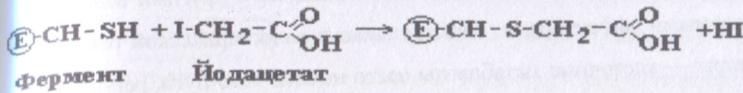
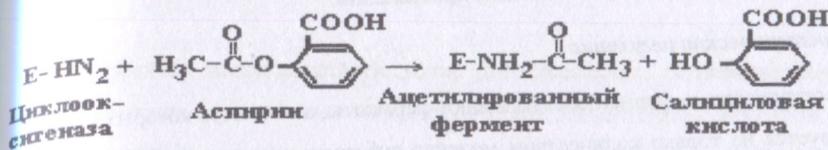
Необратимое ингибирование наблюдают в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента. Чаще всего модификации подвергается активный центр фермента. В результате фермент не может выполнять каталитическую функцию. К необратимым ингибиторам относят ионы тяжёлых металлов, например ртути (Hg^{2+}), серебра (Ag^{+}) и мышьяка (As^{+}), которые в малых концентрациях блокируют сульфгидрильные группы активного центра. Субстрат при этом не может подвергаться химическому превращению. При наличии реактиваторов ферментативная функция восстанавливается. В больших концентрациях ионы тяжёлых металлов вызывают денатурацию белковой молекулы фермента, т.е. приводят к полной инактивации фермента.



Механизм действия ионов ртути как необратимого ингибитора.

Ионы ртути в малых концентрациях блокируют сульфгидрильные группы активного центра, что приводит к снижению скорости ферментативной реакции. Необратимые ингибиторы ферментов как лекарственные препараты

Пример лекарственного препарата, действие которого основано на необратимом ингибировании ферментов, — широко используемый препарат аспирин. Противовоспалительный нестероидный препарат аспирин обеспечивает фармакологическое действие за счёт ингибирования фермента циклооксигеназы, катализирующего реакцию образования простагландинов из арахидоновой кислоты. В результате химической реакции ацетильный остаток аспирина присоединяется к свободной концевой NH_2 -группе одной из субъединиц циклооксигеназы. Это вызывает снижение образования продуктов реакции простагландинов, которые обладают широким спектром биологических функций, в том числе являются медиаторами воспаления.



Регуляция каталитической активности ферментов

Важнейшее значение в изменении скорости метаболических путей играет регуляция каталитической активности одного или нескольких ключевых ферментов данного метаболического пути. Это высокоэффективный и быстрый способ регуляции метаболизма.

Основные способы регуляции активности ферментов:

аллостерическая регуляция;

регуляция с помощью белок-белковых взаимодействий;

регуляция путём фосфорилирования дифосфорилирования молекулы фермента;

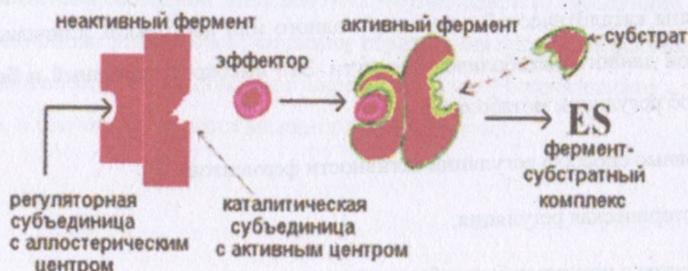
регуляция частичным (ограниченным) протеолизом.

Аллостерическая регуляция

Аллостерическими ферментами называют ферменты, активность которых регулируется не только количеством молекул субстрата, но и другими веществами, называемыми эффекторами. Участвующие в аллостерической регуляции эффекторы — клеточные метаболиты часто именно того пути, регуляцию которого они осуществляют. Аллостерические ферменты играют важную роль в метаболизме, так как они чрезвычайно быстро реагируют на малейшие изменения внутреннего состояния клетки. Аллостерическая регуляция имеет большое значение в следующих ситуациях: -при анаболических процессах. Ингибирование конечным продуктом метаболического пути и активация начальными метаболитами позволяют осуществлять регуляцию синтеза этих соединений; при катаболических процессах.

В случае накопления АТФ в клетке происходит ингибирование метаболических путей, обеспечивающих синтез энергии. Аллостерические эффекторы.

Аллостерическое ингибирование



Эффектор, вызывающий снижение (ингибирование) активности фермента, называют отрицательным эффектом, или ингибитором. Эффектор, вызывающий повышение (активацию) активности ферментов, называют положительным эффектом, или активатором. Аллостерическими эффекторами часто служат различные метаболиты. Конечные продукты метаболического пути — часто ингибиторы аллостерических ферментов, а исходные вещества — активаторы. Это так называемая гетеротропная регуляция. Такой вид аллостерической регуляции очень распространён в биологических системах. Более редкий случай аллостерической регуляции, когда сам субстрат может выступать в качестве положительного эффектора. Такая регуляция называется гемитропной (эффектор и субстрат — одно и то же вещество). Эти ферменты имеют несколько центров связывания для субстрата, которые могут выполнять двойную функцию: каталитическую и регуляторную. Аллостерические ферменты такого типа используются в ситуации, когда субстрат накапливается в избытке и должен быстро преобразоваться в продукт. Регуляция каталитической активности ферментов путем фосфорилирования и дифосфорилирования. В биологических системах часто встречается механизм регуляции активности ферментов с помощью ковалентной модификации аминокислотных остатков. Быстрый и широко распространенный способ химической модификации ферментов - фосфорилирование/дифосфорилирование. Модификации подвергаются ОН - группы ферментами протеинкиназами, а дефосфорилирование-фосфопротеинфосфатазами. Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат может быть двояким: одни ферменты при фосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными. Изменение активности фермента, вызванное фосфорилированием, обратимо. Отщепление остатка фосфорной кислоты осуществляется ферментами фосфорилирования фосфопротеинфосфатазами. Активность

протеинкиназ и фосфопроteinфосфатаз регулируется гормонами, что позволяет быстро изменять активность ключевых ферментов метаболических путей в зависимости от условий внешней среды. Антагонистичные по функции гормоны противоположным образом влияют на фосфорилирование дифосфорилирование ферментов, вызывая противоположные эффекты изменения метаболизма клетки. Например, под действием глюкагона (в период между приёмами пищи) в клетках происходит уменьшение синтеза энергетического материала — жира, гликогена и усиление его распада (мобилизация), вызванного фосфорилированием ключевых ферментов этих процессов. А под действием инсулина (вовремя пищеварения), наоборот, активируется синтез гликогена и ингибируется его распад, так как взаимодействие инсулина с рецептором активирует сигнальный путь, приводящий к дифосфорилированию тех же ключевых ферментов.

Регуляция каталитической активности ферментов частичным (ограниченным) протеолизом. Некоторые ферменты, функционирующие вне клеток (в ЖКТ или в плазме крови), синтезируются в виде неактивных предшественников и активируются только в результате гидролиза одной или нескольких определённых пептидных связей, что приводит к отщеплению части белковой молекулы предшественника. В результате в оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка и формируется активный центр фермента.

Рассмотрим механизм частичного протеолиза на примере активации протеолитического фермента трипсина. Трипсиноген, синтезируемый в поджелудочной железе, при пищеварении по протокам поджелудочной железы поступает в двенадцатиперстную кишку, где и активируется путём частичного протеолиза под действием фермента кишечника энтеропептидазы.

В результате отщепления гексапептида с N-конца формируется активный центр в оставшейся части молекулы. Следует напомнить, что трипсин относят к семейству «сиреневых» протеаз — активный центр фермента содержит

функционально важный, остаток Сер. Частичный протеолиз — пример регуляции, когда активность фермента изменяется необратимо. Такие ферменты функционируют, как правило, в течение короткого времени, определяемого временем жизни белковой молекулы. Частичный протеолиз лежит в основе активации протеолитических ферментов, белков свёртывающей системы крови и фибринолиза, белков системы комплемента, а также пептидных гормонов.

Изоферменты

Ферменты, катализирующие одну и ту же химическую реакцию, но отличающиеся по первичной структуре белка, называют изоферментами, или изоэнзимами. Они катализируют один и тот же тип реакции с принципиально одинаковым механизмом, но отличаются друг от друга кинетическими параметрами, условиями активации, особенностями связи апофермента и кофермента.

Природа появления изоферментов разнообразна, но чаще всего обусловлена различиями в структуре генов, кодирующих эти изоферменты. Следовательно, изоферменты различаются по первичной структуре белковой молекулы и, соответственно, по физико-химическим свойствам. На различиях в физико-химических свойствах основаны методы определения изоферментов. По всей структуре изоферменты в основном являются олигомерными белками. При этом та или иная ткань преимущественно синтезирует определенные виды протомеров. В результате определенной комбинации этих протомеров формируются ферменты с различной структурой - изомерные формы. Обнаружение определенных изоферментных форм ферментов позволяет использовать их для диагностики заболеваний.

Изоформы лактатдегидрогеназы. Ферменты лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализируют обратимую реакцию окисления лактата (молочной кислоты) до пирувата (пировиноградной кислоты).

Лактатдегидрогеназа - олигомерный белок с молекулярной массой 134 000Д, состоящий из 4 субъединиц 2 типов: М (от англ. muscle - мышца) и Н (от англ. heart - сердце). Комбинация этих субъединиц лежит в основе формирования 5 изоформ лактатдегидрогеназы. ЛДГ 1 и ЛДГ2 наиболее активны в сердечной мышце и почках, ЛДГ4 и ЛДГ5 - в скелетных мышцах и печени. В остальных тканях имеются различные формы этого фермента.

Изоформы ЛДГ отличаются электрофоретической подвижностью, что позволяет устанавливать тканевую принадлежность изоформ ЛДГ.

Появление в эволюции различных изоформ ЛДГ обусловлено особенностями окислительного метаболизма тканей. Изоферменты ЛДГ4 и ЛДГ5 (М-типы ЛДГ) работают эффективно в анаэробных условиях, ЛДГ 1 и ЛДГ2 (Н-типы) - в аэробных, когда пируват быстро окисляется до CO_2 и H_2O , а не восстанавливается до молочной кислоты.

При ряде заболеваний исследуют активность ЛДГ в плазме крови. В норме активность ЛДГ составляет 170-520 ЕД/л. Повышение активности наблюдают при острых поражениях сердца, печени, почек, а также при мегалобластных и гемолитических анемиях. Однако это указывает на повреждение лишь одной из перечисленных тканей.

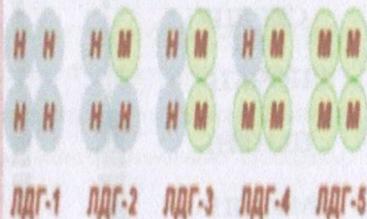
Для постановки диагноза необходимо исследование изоформ ЛДГ в плазме крови методом электрофореза.

Изоферменты

Ферменты, выполняющие одинаковую функцию, но различающиеся по физико-химическим свойствам, называются изоферментами.

Наибольшая активность ЛДГ в

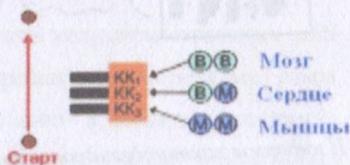
- миокарде,
- печени,
- почках,
- скелетных мышцах.



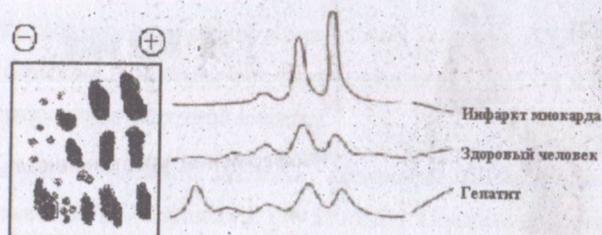
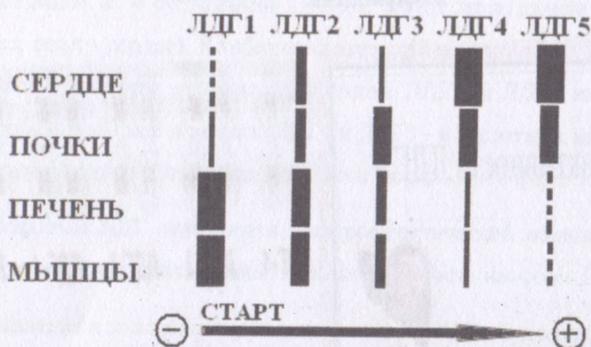
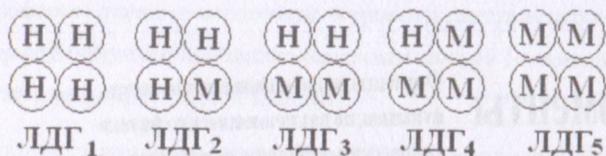
Н - Heart, сердце

М - Muscle, мышца

Изоферменты креатинкиназы



Они различаются и по локализации



Изоформы лактатдегидрогеназы. А - строение различных изоформ ЛДГ; Б - распределение на электрофореграмме и относительные количества изоформ ЛДГ в различных органах; В - содержание изоформ ЛДГ в плазме крови в норме и при патологии (электрофореграммы - слева и фотометрическое сканирование - справа)

Применение ферментов в медицине

Ферментные препараты широко используют в медицине. Ферменты в медицинской практике находят применение в качестве диагностических (энзимодиагностика) и терапевтических (энзимотерапия) средств.

Кроме того, ферменты используют в качестве специфических реактивов для определения ряда веществ. Так, глюкозооксидазу применяют для количественного определения глюкозы в моче и крови. Фермент сразу используют для определения содержания количества мочевины в крови и моче. С помощью различных дегидрогеназ обнаруживают соответствующие субстраты, например пируват, лактат, этиловый спирт и др.

Использование ферментов в качестве терапевтических средств имеет много ограничений вследствие их высокой иммуногенности. Тем не менее

энзимотерапию активно развивают в следующих направлениях:

заместительная терапия — использование ферментов в случае их недостаточности; элементы комплексной терапии — применение ферментов в сочетании и с другой терапией.

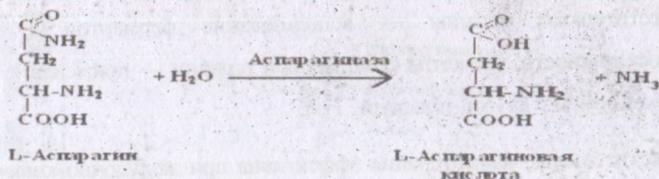
Заместительная энзимотерапия эффективна при желудочно-кишечных заболеваниях, связанных с недостаточностью секреции пищеварительных соков. Например, пепсин используют при ахилии, гипо- и анацидных гастритах. Дефицит панкреатических ферментов также в значительной степени может быть компенсирован приёмом внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, мезим-форте и др.).

В качестве дополнительных терапевтических средств ферменты используют при ряде заболеваний. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) применяют при местном воздействии для обработки гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток, для удаления сгустков крови или вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Фер-

ментные препараты рибонуклеазу и дезоксирибонуклеазу используют в качестве противовирусных препаратов при лечении аденовирусных конъюнктивитов, герметических кератитов.

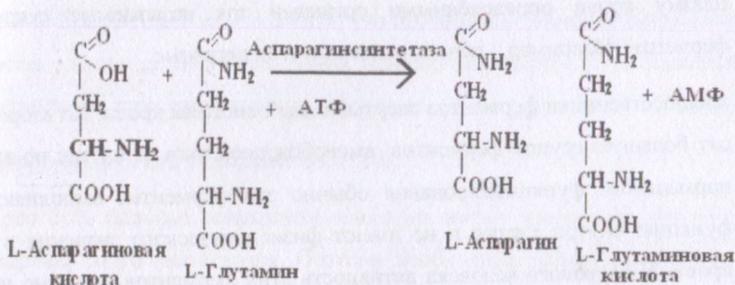
Ферментные препараты стали широко применять при тромбозах и тромбоэмболиях. С этой целью используют препараты фибринолизина, стрептолизина, стрептодеказы, урокиназы. Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания контрактур рубцов после ожогов и операций (гиалуроновая кислота образует сшивки в соединительной ткани).

Ферментные препараты используют при онкологических заболеваниях. Аспарагиназа, катализирующая реакцию катаболизма аспарагина, нашла применение для лечения лейкозов:



Предпосылкой антилейкемического действия аспарагиназы послужило обнаружение в лейкозных клетках дефектного фермента аспарагин-синтетазы, катализирующего реакцию синтеза аспарагина.

Лейкозные клетки не могут синтезировать аспарагин и получают его из плазмы крови.



Если имеющийся в плазме аспарагин разрушать введением аспарагиназы, то в лейкозных клетках наступит дефицит аспарагина и в результате — нарушение метаболизма клетки.

Энзимодиагностика

Энзимодиагностика заключается в постановке диагноза заболевания (или синдрома) на основе определения активности ферментов в биологических жидкостях человека. Принципы энзимодиагностики основаны на следующих позициях: при повреждении клеток в крови или других биологических жидкостях (например, в моче) увеличивается концентрация внутриклеточных ферментов повреждённых клеток; количество высвобождаемого фермента достаточно для его обнаружения; активность ферментов в биологических жидкостях, обнаруживаемых при повреждении клеток, стабильна в течение достаточно длительного времени и отличается от нормальных значений; ряд ферментов имеет преимущественную или абсолютную локализацию в определённых органах (орган специфичность); существуют различия во внутриклеточной локализации ряда ферментов.

Причины, приводящие к увеличению количества ферментов в крови

Ферменты плазмы крови можно разделить на 2 группы. Первая, относительно небольшая группа ферментов активно секретируется в

плазму крови определёнными органами так называемые секреторные ферменты. Например, печень синтезирует неактивные

предшественники ферментов свёртывающей системы крови. Ко второй относят большую группу ферментов, высвобождающихся из клеток во время их нормального функционирования обычно эти ферменты, выполняют свою функцию внутри клетки и не имеют физиологического значения в плазме крови. У здорового человека активность этих ферментов в плазме низкая и достаточно постоянная, так как постоянно соотношение скоростей высвобождения их из клеток и скоростей разрушения.

При многих заболеваниях происходит повреждение клеток, и их содержимое, в том числе и ферменты, высвобождаются в кровь. К причинам, вызывающим высвобождение внутриклеточного содержимого в кровь, относят нарушение проницаемости мембраны клеток (при воспалительных процессах) или нарушение целостности клеток (при некрозе). Определение в крови активности ряда ферментов хорошо налажено в биохимических лабораториях, что используют для диагностики заболеваний сердца, печени, скелетной мускулатуры и других тканей. Уровень активности ферментов в плазме коррелирует со степенью повреждения клеток.

Для энзим диагностики имеют большое значение знания о субклеточной локализации ферментов. Так, появление в плазме крови ферментов, имеющих только цитозольную локализацию, свидетельствует о воспалительном процессе; при обнаружении митохондриальных или ядерных ферментов можно говорить о более глубоких повреждениях клетки, например о некрозе.

Однако повышение концентрации ферментов не всегда связано с повреждением тканей. При избыточной клеточной пролиферации, например при онкопролиферативных процессах, при повышенной скорости синтеза некоторых ферментов в клетках или при нарушенном клиренсе (способности выводиться почками) наблюдают повышение концентрации в крови определённых

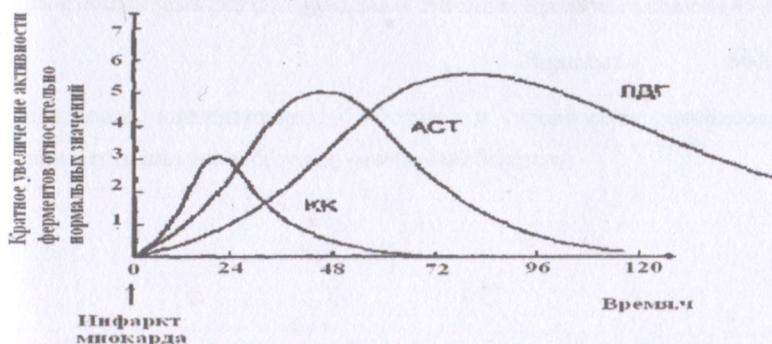
ферментов. Врачам следует учитывать, что нормальные значения активности ферментов в крови детей и беременных женщин отличаются от показателей, характерных для взрослых здоровых людей.

Энзим диагностики при инфаркте миокарда

Примерно 30% больных инфарктом миокарда имеют атипичную клиническую картину этого заболевания. Поэтому необходимо проводить дополнительные методы исследования для подтверждения повреждения сердечной мышцы.

При инфаркте миокарда наблюдают достоверные изменения в крови активности ферментов КК, ЛДГ и аспартатаминотрансферазы — АСТ, которые зависят от времени, прошедшего от начала развития инфаркта и от зоны тканевого повреждения. После закупорки (окклюзии) коронарного сосуда в крови вначале отмечают повышение активности КК изоформы МВ, однако фермент быстро удаляется из кровотока. Обнаружение повышенной активности КК в плазме крови — основной энзим диагностический критерий инфаркта миокарда. Если у пациента с загрудинными болями не обнаружено изменения в активности КК, диагноз инфаркта миокарда маловероятен.

Дополнительным подтверждением диагноза инфаркта миокарда служит обнаружение активностей ферментов АСТ и ЛДГ в крови больных. Динамика изменений этих активностей также представлена на этом рисунке.



Активность АСТ в норме составляет 5-40 МЕ/л. При инфаркте миокарда активность АСТ повышается через 4—6 ч;

Изменение активности ферментов в плазме крови при инфаркте миокарда.

Энзимопатии в основе многих заболеваний лежат нарушения функционирования ферментов в клетке — энзимопатии. Различают первичные (наследственные) и вторичные (приобретённые) энзимопатии. Приобретённые энзимопатии, как и вообще протеинопатии, по-видимому, наблюдают при всех болезнях.

При первичных энзимопатиях дефектные ферменты наследуются, в основном, по аутосомно-рецессивному типу. Гетерозиготы, чаще всего, не имеют фенотипических отклонений. Первичные энзимопатии обычно относят к метаболическим болезням, так как происходит нарушение определённых метаболических путей.

Клинико- диагностическое значение

Клинико-диагностическое значение определения активности и аспартаминотрансфераз в сыворотке крови: АСТ – внутриклеточный фермент, самая высокая концентрация. Активность АсАТ повышается при некрозе печеночных клеток любой этиологии, обширной травме скелетных мышц, тепловом ударе, миозите, инфаркте миокарда, дистрофии, миопатии, гемолитических болезнях, почках и эритроцитах. Нормальные значения. АСТ- 0,1-0,40 ммоль/л; АЛТ-0,1-0,68 ммоль/л.

Увеличение активности АСТ в плазме указывает скорее на повреждение клеток, чем на нарушения функции органа. Особенно большую информацию дает измерение активности этого фермента с другими, такими как АЛТ, креатининкиназа, лактодегидрогеназа, гаммаглутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза.

Повышение активности

- Инфаркт миокарда рост активности фермента наблюдается на 4 – 6 час после инфаркта. Повышенная активность сохраняется в течение последующих 3-5 суток; острый ревмокардит. В начальной фазе повышение активности АСТ коррелирует со степенью тяжести заболевания; тяжелый приступ стенокардии, тахикардии.

Клинико- диагностическое значение

Белок общий (сыворотка) нормальные значение: Кровь из пуповины 48-80г/л

Взрослые 64-83 г/л

Повышение концентрации – Острые и хронические инфекции; - аутоиммунизационные болезни; -миеломная болезнь;

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В КАЧЕСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Использование ферментов в качестве терапевтических средств имеет много ограничений вследствие их высокой иммуногенности. Тем не менее

энзимотерапию активно развивают в следующих направлениях:

- заместительная терапия — использование ферментов в случае их недостаточности;
- элементы комплексной терапии — применение ферментов в сочетании с другой терапией.

Энзимотерапия эффективна при желудочно-кишечных заболеваниях, связанных с недостаточностью секреции пищеварительных соков.

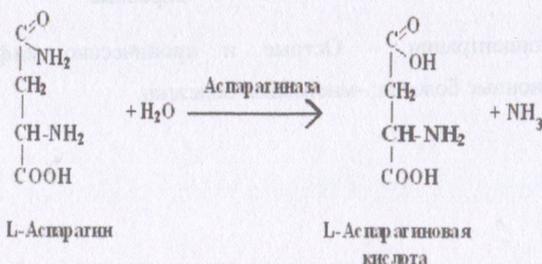
Например, пепсин используют при ахилии, гипо- и анацидных гастритах. Дефицит панкреатических ферментов также в значительной степени может быть компенсирован приёмом внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, энзистал, мезим-форте и др.).

В качестве дополнительных терапевтических средств ферменты используют при ряде заболеваний. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) применяют при местном воздействии для обработки гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток, для удаления сгустков крови или вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Ферментные препараты рибонуклеазу и дезоксирибонуклеазу используют в качестве противовирусных препаратов при лечении аденовирусных конъюнктивитов, герметических кератитов.

Ферментные препараты стали широко применять при тромбозах и тромбоемболиях. С этой целью используют препараты фибринолизина, стрептолизазы, стрептодеказы, урокиназы.

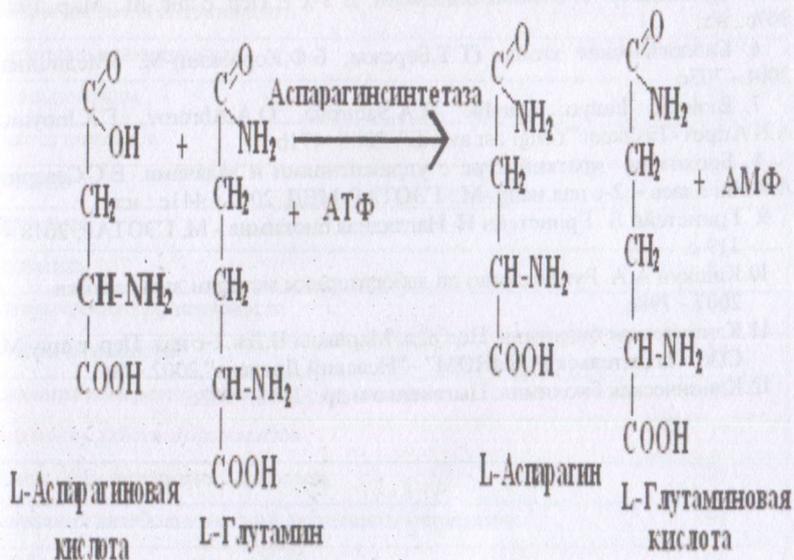
Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания контрактур рубцов после ожогов и операций (гиалуроновая кислота образует сшивки в соединительной ткани).

Ферментные препараты используют при онкологических заболеваниях. Аспарагиназа, катализирующая реакцию катаболизма аспарагина, нашла применение для лечения лейкозов:



Предпосылкой антилейкемического действия аспарагиназы послужило обнаружение в лейкозных клетках дефектного фермента аспарагинсинтетазы, катализирующего реакцию синтеза аспарагина.

Лейкозные клетки не могут синтезировать аспарагин и получают его из плазмы крови. Если имеющийся в плазме аспарагин разрушать введением аспарагиназы, то в лейкозных клетках наступит дефицит аспарагина и в результате — нарушение метаболизма клетки.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тиббий кимё Ўзбекистон Тошкент 2018 – С.М. Машарипов., Тоджиева Х.С., Машарипов Ш.С.
2. Биоорганическая химия, Ташкент 2007 - Махсумов А.Г., Жураев А.Ж.
3. Биохимия: Учебник/Под ред. Е.С.Северина. - 2-е изд.испр.-М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004.- 784с.: ил. – (Серия “XXI век”).
4. Органическая химия Тошкент. 2005 Собиров З.
5. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ.-М.; Мир, 1985.- 367с., ил.
6. Биологическая химия (Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин)-М. «Медицина»-2004.- 703с.
7. Biologic kimyo: Darslik/ R.A.Sabirova, O.A.Abrorov, F.X.Inoytova. A.N.Agipov-Tashkent“Yangi asr avlodi”, 2006.-471b.
8. Биохимия, краткий курс с упражнениями и задачами. Е.С.Северин., А.Я.Николаев.- 2-е изд.испр.-М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002.- 441с : ил.
9. Гринштейн Б., Гринштейн Н. Наглядная биохимия.- М, ГЭОТАР, 2018.- 119 с.
10. Кицкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. 2007.- 798с.
11. Клиническая биохимия. Под ред. Маршалл В. Дж. 2-е изд. Пер. с англ.-М.-СПб. "Издательский БИНОМ" – "Невский Диалект", 2002.-384.
12. Клиническая биохимия. Цыганенко и др., 2012.- 502с.

Оглавление

	стр.
Введение	3
Белки и аминокислоты	4
Иминокислоты	9
Общие свойства аминокислот	12
Ангидрид аминокислоты	23
Белки пептиды	28
Синтез пептидов	32
Гистоны	39
Протеиды	42
Ферменты	47
Каталитическая эффективности	56
Классы ферментов	58
Единицы измерения активности ферментов	70
Механизм действия ферментов	77
Этапы ферментативного катализа	79
Регуляция катаболической активности ферментов	91
Изоферменты	95
Энзимодиагностики	101
<i>Клинико-диагностическое значение</i>	105
<i>Применение ферментов в качестве лекарственных средств</i>	106
Список использованной литературы	108
Оглавление	109

85000

Босишга рухсат этилди: 2021й

Нашриёт босма табағи – 9.75

Шартли босма табағи – 4.8 Бичими 84x108 1/16

Бахоси клишилган нархда

“Poligraf Super Servis” МЧЖ

150114 Фарғона вилояти Фарғона шаҳар Авиасозлар кўчаси

2 – уй