

ЗАНЯТИЕ 3.6

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ: СТАДИИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА, КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ.

Скорость метаболических процессов в организме зависит от активности соответствующих ферментов. Понимание кинетики ферментативного катализа и механизмов регуляции ферментативной активности необходимо для понимания метаболизма и причин патологий, связанных с нарушением этой регуляции. Кроме того, в настоящее время имеется целый ряд препаратов, лечебный эффект которых достигается путем ингибирования ферментов целевых метаболических процессов (аллопуринол для биосинтеза мочевины, статины для биосинтеза холестерина, каптоприл для биосинтеза ангиотензина-2).

Цель занятия: сформировать представление об активном центре ферментов и этапах ферментативного катализа, особенностях кинетики ферментативного катализа и механизмах регуляции активности ферментов.

Необходимый исходный уровень: студент должен знать основы химической кинетики и катализа; особенности ферментов как биокатализаторов.

Основные понятия темы: активный центр ферментов, аллостерический центр, субстрат и продукт ферментативной реакции, максимальная скорость реакции, константа Михаэлиса, активирование, ингибирование, проферменты (зимогены), ограниченный протеолиз, активаторы и ингибиторы ферментов, энзимодиагностика и энзимотерапия.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ

1. Структурно - функциональная организация ферментных белков: активный центр, его свойства. Контактный и каталитический участки активного центра ферментов.

2. Регуляторные (аллостерические) центры ферментов. Аллостерические модуляторы ферментов. Зависимость активности ферментов от конформации белков.

1. Механизм действия ферментов. Стадии ферментативного катализа.

2. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и фермента.

3. Активаторы и ингибиторы ферментов: химическая природа, виды активирования и ингибирования ферментов. Биологическое и медицинское значение активаторов и ингибиторов ферментов.

4. Определение активности ферментов в диагностике заболеваний (энзимодиагностика).

5. Применение ферментов как лекарственных препаратов (энзимотерапия). Понятие об иммобилизованных ферментах

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ (домашнее задание)

Задание 1. Решите следующие ситуационные задачи:

А) Каков механизм действия сульфаниламидных препаратов, ингибирующих рост патогенных бактерий, нуждающихся в парааминобензойной кислоте?

В) При остром панкреатите происходит внутриклеточная активация трипсिनогена и химотрипсिनогена, в результате чего происходит разрушение тканей поджелудочной железы. Такие лечебные препараты как трасилол, контрикал, гордокс являются структурными аналогами субстратов этих ферментов. На чем основано лечебное действие трасилола?

Задание 2. Назовите ферменты, которые используются в клинике в лечебных целях. Укажите, при каких патологических состояниях используются такие ферменты как пепсин, гиалуронидаза, нуклеазы. Каковы причины применения ферментов с лечебной целью?

Задание 3. Приведите примеры, демонстрирующие диагностическое значение определения активности ферментов (трансаминаз, альфа - амилаза, кислой и щелочной фосфатаз, изоферментов ЛДГ) в крови.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Опыт 1. Получение препарата уреазы

Оборудование и реактивы. Фарфоровая ступка и пестик, химический стакан на 100 мл, воронка, марля для фильтрования, мерные пробирки (2шт), арбузные семечки (4-5 шт), вода дистиллированная, мочевины (1%-ый раствор), фенолфталеин (0,1%-й спиртовой раствор), (1%-ый раствор тиомочевин), спиртовка, буферный раствор с рН=2, буферный раствор с рН=7, штативы, пробирки, автоматические пипетки, наконечники.

Ход работы: Дежурные при помощи группы готовят суспензию в количестве 40 мл. Для этого 5 арбузных семечек растирают в ступке, затем добавляют 5 мл дистиллированной воды, продолжая гомогенизацию и экстракцию, затем добавляют ещё 15 мл воды и фильтруют в стакан через влажную марлю, сложенную в четыре слоя, слегка отжимают, получают суспензию. К полученной суспензии (20 мл) добавляют 20 мл дистиллированной воды, перемешивают.

Передают стакан с суспензией «по конвейеру» на каждое рабочее место, где рабочая группа отбирает в мерную пробирку 6 мл полученного препарата уреазы (суспензии), предварительно перемешивая содержимое стакана.

Опыт 2. Исследование ингибирования уреазы солями тяжелых металлов

В три пробирки отбирают по 1 мл полученной суспензии, используя мерную пробирку, в которой находится суспензия на рабочем месте.

В пробирки добавляют по 2-3 капли раствора фенолфталеина. Затем, в первую пробирку добавляют 5 капель дистиллированной воды, во вторую – 5 капель раствора соли ртути, в третью – 5 капель раствора соли меди. После этого во все пробирки вносят по 1 мл раствора мочевины

Результат и выводы: