**Лабораторное занятие № 4**

**ТЕМА:** ФЕРМЕНТЫ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ. РЕГУЛЯЦИЯ активности ферментов

**Обоснование темы.** Знание механизма действия ферментов как биокатализаторов, понимание закономерностей процессов, лежащих в основе повышения или понижения ферментативной активности, поможет будущему врачу глубже понять химическую сущность обмена веществ в организме человека в норме и при патологии, что позволит в дальнейшем проводить более обоснованную патогенетическую терапию при лечении соответствующих заболеваний с использованием активаторов и ингибиторов.

**Цель:** изучить механизм действия ферментов,изучить виды активирования и ингибирования ферментов, механизмы, лежащие в основе действия активаторов и ингибиторов.

**Необходимый исходный уровень:**

Из школьного курса знать:

1. Механизмы химических реакций
2. Кинетику химических реакций

**Основные понятия темы:** активный центр фермента, его свойства, механизм действия ферментов, активирование, ингибирование

**Вопросы К ЗАНЯТИЮ**

1. Структурно - функциональная организация ферментных белков: активный центр, его свойства. Контактный и каталитический участки активного центра ферментов.
2. Механизм действия ферментов. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и фермента. Константа Михаэлиса-Ментен.
3. Способы регуляции активности ферментов: белок-белковые взаимодействия, фосфорилирование (дефосфорилирование), частичный протеолиз.
4. Регуляторный (аллостерический) центр ферментов. Аллостерическая регуляция активности ферментов. Зависимость активности ферментов от конформации белков.
5. Ингибирование ферментов. Конкурентное и неконкурентное ингибирование, примеры. Обратимое и необратимое ингибирование.
6. Активаторы и ингибиторы ферментов: химическая природа, виды активирования и ингибирования ферментов. Биологическое и медицинское значение активаторов и ингибиторов ферментов.
7. Применение ферментов как лекарственных препаратов для лечения полости рта.
8. Применение ферментов в медицине. Энзимотерапия. Энзимодиагностика.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

**К ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ЗАНЯТИЯ**

**Лабораторная работа №1: «Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны»**

**Принцип метода**:

Метод основан на сравнении скорости гидролиза крахмала под действием амилазы слюны до и после добавления ионов хлора и меди. Продукт гидролиза крахмала обнаруживают пробой с йодом.

ХОД РАБОТЫ:

В первую пробирку вносят 1 мл дистиллированной воды, во вторую 1 мл 1% раствора хлорида натрия, в третью – 1 мл раствора сульфата меди (2). Затем в каждую пробирку добавляют по 1 мл разведенной слюны (1:10). Содержимое пробирок перемешивают, добавляют по 2 мл раствора крахмала и оставляют стоять при комнатной температуры 5 минут.

После инкубации во все пробирки вносят по 1-2 капли раствора йода. Наблюдают окрашивание в зависимости от степени расщепления крахмала амилазой. В первой пробирке появляется фиолетовая или бурая окраска, во второй пробирке, где ионы хлора играют роль активаторов, появляется желтая, а в третьей пробирке, где ионы меди угнетают действие амилазы слюны, окраска остается синей.

Результаты заносят в таблицу, и делают вывод о действии изученных веществ.

***Влияние различных факторов на амилазную активность слюны.***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ пробирки** | **Модификатор активности** | **Разведенная слюна (мл.)** | **Раствор крахмала (мл.)** | **Результат (окрашивание)** |
| 1 | 1 мл воды | 1 | 2 |  |
| 2 | 1 мл хлорида натрия | 1 | 2 |  |
| 3 | 1 мл сульфата | 1 | 2 |  |

Вывод:

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

Решить ситуационную задачу:

1. Каков механизм действия сульфаниламидных препаратов, ингибирующих рост патогенных бактерий, нуждающихся в парааминобензойной кислоте?
2. Дайте письменные ответы в тетрадях на следующие вопросы и заполните следующую таблицу:
3. 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 в стоматологии?
4. Приведите примеры, демонстрирующие диагностическое значение определения активности ферментов (трансаминаз, альфа - амилаза, кислой и щелочной фосфатаз, изоферментов ЛДГ) в крови.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Основные разделы | Ферменты | Примеры использования |
| Энзимодиагностика |  |  |
| Энзимотерапия |  |  |
| Использование ферментов в качестве аналитических реактивов в клинико-диагностических лабораториях |  |  |

основная Литература:

1. Лекции по курсу биологической химии
2. Вавилова Т.В. ,Медведев А.Е. Биологическая химия. Биохимия полости рта -М.: «ГЭОТАР-МЕД», 2014.-554с.
3. Биохимия / под ред .Е.С. Северина. – М.: ГЭОТАР – МЕД, 2009. – 759с
4. Ершов, Ю. А.  Биохимия человека: учебник для вузов/ Ю. А. Ершов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2020. — 466 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-02577-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. —URL:  https://urait.ru/bcode/423741

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Чиркин А.А. Биохимия / А.А.Чиркин. Е.О.Данченко - М.: Медицина, 2010.- 605 с.