

Вводная лекция

СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ (ОЧНО-ЗАОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ) НА ТРЕТИЙ
СЕМЕСТР 2013/2014уч.г.

Кафедра биологической химии (биохимии)
6 сентября 2013

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕКЦИИ

- Предмет и задачи биохимии.
 - Строение и свойства белков.
 - Функциональное многообразие белков.
 - Классификация белков по биологическим функциям.
 - Строение ферментов.
 - Классификация ферментов, отличие ферментов от биологических катализаторов.
 - Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, pH среды, концентрации фермента и субстрата.
 - Активаторы и ингибиторы ферментативных реакций.
- Применение ферментов в медицине.

Предмет и задачи биохимии

Биологическая химия - это наука о молекулярных основах жизни, которая изучает химический состав и химические процессы, лежащие в основе жизнедеятельности организма.

Биологическая химия изучает:

- 1) химическую природу веществ, входящих в состав живых организмов
- 2) их превращения
- 3) связь этих превращений с деятельностью клеток, тканей, органов и организма в целом.

Задачи биохимии:

- 1) объяснить, как функционируют живые системы с точки зрения молекулярных процессов в состоянии «здоровья»;
- 2) объяснить молекулярные процессы, лежащие в основе заболеваний и их эффективного лечения.

Биохимия изучает химию живой природы в широком диапазоне: от человека и позвоночных до бактерий, а также молекулярные основы взаимодействия живых объектов с физическими (например, излучения), химическими (например, ксенобиотики) или биологическими (например, вирусы) факторами окружающей среды. *В зависимости от объекта исследований*

Предмет и задачи биохимии

Задачи биохимии: 1) объяснить, как функционируют живые системы с точки зрения молекулярных процессов в состоянии «здоровья»;
2) объяснить молекулярные процессы, лежащие в основе заболеваний и их эффективного лечения.

Биохимия изучает химию живой природы в широком диапазоне: от человека и позвоночных до бактерий, а также молекулярные основы взаимодействия живых объектов с физическими (например, излучения), химическими (например, ксенобиотики) или биологическими (например, вирусы) факторами окружающей среды. Основные разделы и направления в биохимии

Предмет и задачи биохимии

Выделяют разделы биохимии по направлениям исследований: техническая биохимия (молекулярные основы хлебопечения, сыроварения, виноделия и пр.); медицинская биохимия (биохимические процессы в организме человека в норме и при патологии), эволюционная биохимия (эволюция обмена веществ в рамках эволюции живых организмов); квантовая биохимия (квантово-физические характеристики метаболитов и их превращений в живом организме); энзимология.(структура, свойства и механизм действия ферментов) и др.

Предмет и задачи биохимии

В *медицинской биохимии* выделяют три основных раздела:

- 1) **статическая биохимия** — изучает химическую природу организма
- 2) **динамическая биохимия** — изучает превращения химических веществ в организме (метаболизм);
- 3) **функциональная биохимия** — изучает роль превращений химических веществ в проявлении функций клеток, тканей, органов, организма.

В *медицинской биохимии* выделяют несколько направлений (частная биохимия):

- 1) биохимию систем органов (нервной, гепатобилпарной, сердечно-сосудистой, эндокринной и др.);
- 2) биохимию основных процессов (движения, пищеварения, размножения и др.)
- 3) прикладную биохимию (клиническая биохимия, биохимическая лабораторная диагностика и др.).

Строение и свойства белков

Белки являются основными биополимерами клеток, за счет которых осуществляются практически все функции организма.

Белки являются линейными неразветвленными полимерами построенными из аминокислот. Информация о структуре белка закодирована в ДНК. Все живые организмы используют 20 идентичных аминокислот и, за некоторым исключением, имеют одинаковый генетический код.

Строение и свойства белков

Структурные функции. Основными структурными белками являются *коллаген, эластин* (формируют костный матрикс, сосудистую систему и другие органы) и *α-кератин* (присутствует в эпидермальной ткани).

Динамические функции. Эти функции реализуют разнообразные белки: ферменты, гормоны, факторы свертывания крови, иммуноглобулины, мембранные рецепторы, резервные белки, сократительные белки, дыхательные белки и др.

Функциональное многообразие белков

Различают несколько принципов классификации белков:

- 1) по функции,
- 2) по химической структуре и растворимости
- 3) по биологической (пищевой) ценности

Функция	Характеристика
Ферменты или катализаторы, активаторы и ингибиторы ферментов	Для белков-ферментов характерна высокая степень структурирования молекулы, благодаря чему возможен катализ химической реакции в области активного центра и регуляция активности фермента через взаимодействие эффекторов с аллостерическим центром. Известны белки-активаторы (апопротеин) и ингибиторы (ингибиторы трипсина из поджелудочной железы, соевых бобов; ингибиторы протеиназ из яда гадюки, ингибитор химотрипсина из картофеля).
Гормоны	Как правило, белки (м. м. 20-30 кДа), которые содержат небольшие фрагменты определяющие гормональную активность; относятся к группе непроникающих в клетку гормонов, на поверхности клеток взаимодействуют с рецепторами, гормональный эффект реализуется через внутриклеточные посредники (гормоны гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной железы, паращитовидных желез)
Регуляторные белки	Гистоны стабилизируют структуру ДНК и регулируют функционирование генома (проявление матричной активности ДНК при ослаблении связей с гистонами); гетерогенная группа негистоновых белков (м. м. 5-200 кДа) участвует в формировании нуклеосом и взаимодействии с хроматином гормон - рецепторных комплексов, в регуляции процессов репликации, транскрипции и трансляции; белки теплового шока (стрессовые белки); G-белки, регулирующие синтез циклических нуклеотидов; онкобелки и антионкобелки, определяющие малигнизацию клетки.

Защитные белки	Антитела (иммуноглобулины) вырабатываются в ответ на введение антигенов; белки системы свертывания крови; белки системы комплемента; ферменты обезвреживания ксенобиотиков; интерфероны, интерлейкины, лизоцим; белки-антифризы рыб; антивирусные белки растений; антибактериальные белки
Токсические	<p>Высокомолекулярные белковые токсины микроорганизмов и растений представлены тремя типами белков. Мультимерные дифтерийный и холерный токсины, токсин шигеллы построены из одной субъединицы типа А (20, 28 и 32 кДа, соответственно) и пяти субъединиц типа В (25, 12 и 7,7 кДа, соответственно); субъединицы В связываются с клеточной поверхностью, а субъединица А проникает внутрь клетки, где блокирует синтез белков на рибосомах.</p> <p>Аналогично действуют растительные токсины — рицин, абрин, модецин, лектин. Энтеротоксин стафилококка или гемолизин кишечной палочки, встраиваясь в плазматическую мембрану, образуют в ней поры, через которые теряются важные компоненты цитоплазмы клеток. Токсины ядов змей представлены малыми белками — 6,7-7 кДа (примерно 60 аминокислотных остатков). Токсические пептиды ядов скорпиона, пчелы и осы состоят в среднем из 45 аминокислотных остатков. Эти токсины связываются с холинергическими белками и оказывают нейротоксическое действие.</p>

Транспортные белки	Альбумины и глобулины — переносчики различных веществ в плазме крови. Порины — образуют поры для переноса веществ через клеточные мембраны. Транслоказы — обеспечивают обмен компонентами различных компартментов клеток.
Структурные белки	Структурные белки мембран являются их структурными компонентами, склонны к агрегации и специфическим взаимодействиям (процессы самосборки), содержат в своем составе до 20 % гидрофобных аминокислотных остатков и до 40 % приходится на долю α -спиральных участков. Эти белки легко взаимодействуют с фосфолипидами мембран. Структурные функции выполняют также белки межклеточного матрикса (коллаген, ретикулин, кератин), кристаллины, белки ядерного матрикса, белки цитоплазматического скелета.
Сократительные белки	Участвуют в механическом сокращении для осуществления движения(обладают, как правило, аденозинтрифосфатазной активностью):актин и миозин мышц, белки центральных и периферических фибрилл жгутиков и ресничек простейших, жгутиков сперматозоидов, тубулин аппарата движения хромосом в процессе митоза, миксомиозин — нитевидный белок из плазмодия гриба физариума и др.

Функциональное многообразие белков

Рецепторные белки

Во внутренней среде организма служат для взаимодействия с молекулами-биорегуляторами (сигнальными молекулами). Локализуются в мембранных структурах клеток, а также могут быть в растворенном состоянии. Клетка, содержащая рецептор, является клеткой-мишенью для управляющего химического сигнала, а также для взаимодействия с липопротеинами или вирусами. Для восприятия сигналов внешней среды известны фоторецепторные белки (опсин), для оценки вкуса сладкочувствительный белок, для восприятия запаха обонятельный белок, для восприятия звука холинорецепторные белки; в жизнедеятельности живых организмов важное место занимает рецепция ферромоннов, аттрактантов, репеллентов, стрессогенных веществ ран.

Строение ферментов

Ферменты — биологические катализаторы белковой природы (от греч. enzyme — в дрожжах или от лат. fermentatio — брожение).

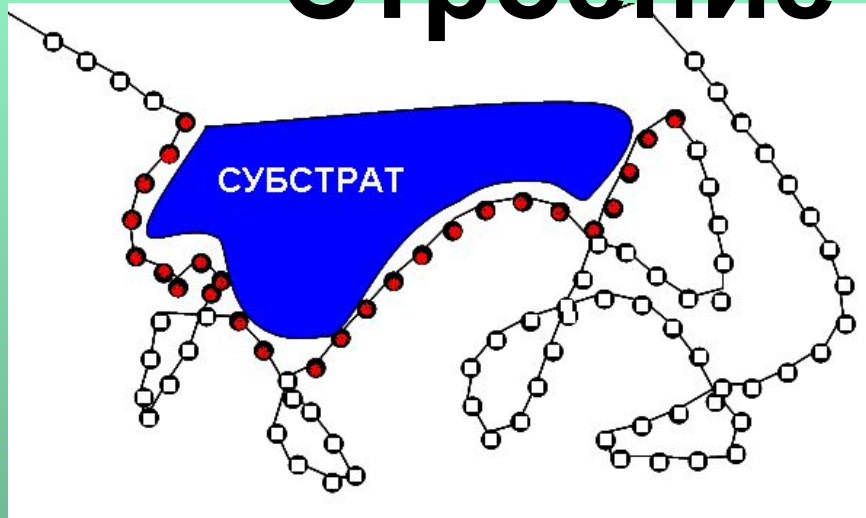
Вещества, вступающие в ферментативную реакцию, называются *субстратами*. В результате ферментативных превращений получают *продукты реакции*.

В трехмерной структуре фермента выделяют несколько участков, несущих определенную функцию. В молекуле фермента выделяют *активный центр*, т. е. участок, с которым связывается субстрат и где протекает каталитическая реакция

Кроме активного центра у ряда ферментов имеется *регуляторный, или аллостерический* (от греч. allos — иной, чужой) центр, который в молекуле фермента, как правило, пространственно отделен от активного центра. К аллостерическому центру присоединяются вещества — *эфффекторы*, которые делятся на *активаторы и ингибиторы*.

Присоединение эфффектора к аллостерическому центру приводит к изменению третичной и/или четвертичной структуры молекулы фермента и соответственно конфигурации активного центра, вызывая снижение или повышение ферментативной активности. Ферменты, имеющие аллостерический центр, называются *аллостерическими*.

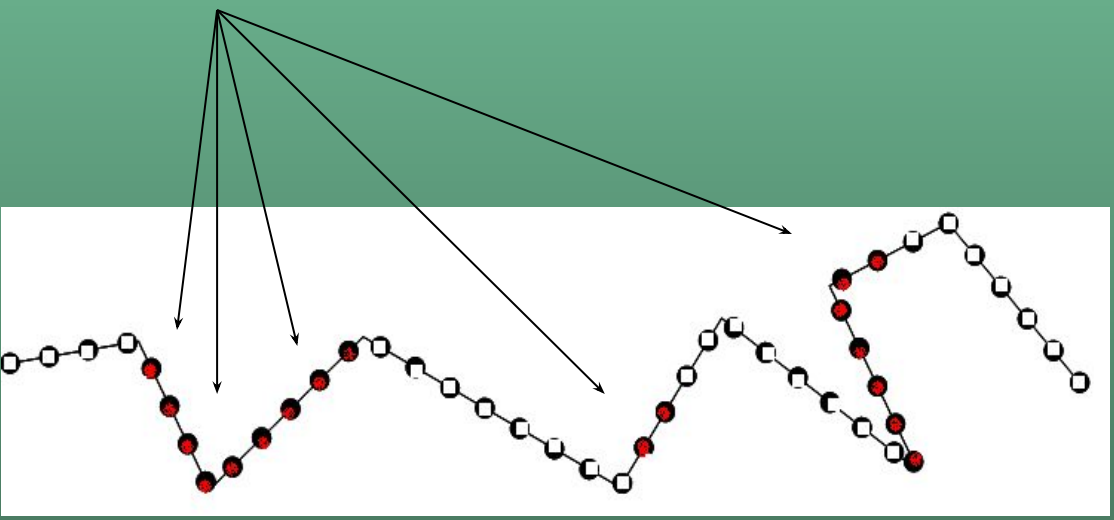
Строение ферментов



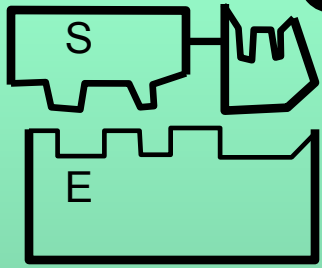
Строение активного центра фермента



Аминокислоты, образующие активный центр



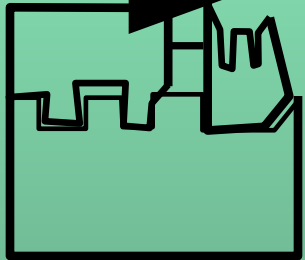
Строение ферментов



$E + S$

1

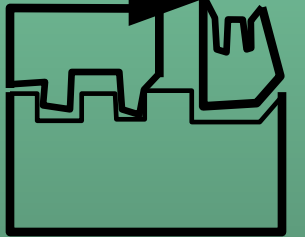
Сближение и ориентация субстрата относительно активного центра



ES

2

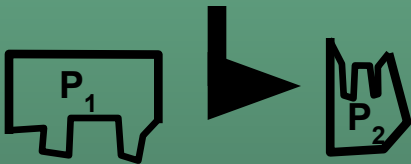
Образование фермент – субстратного комплекса



EP

3

Образование нестабильного комплекса фермент - продукт



$E + P$

4

Распад комплекса с высвобождением продуктов реакции



Классификация ферментов, отличие ферментов от биологических катализаторов

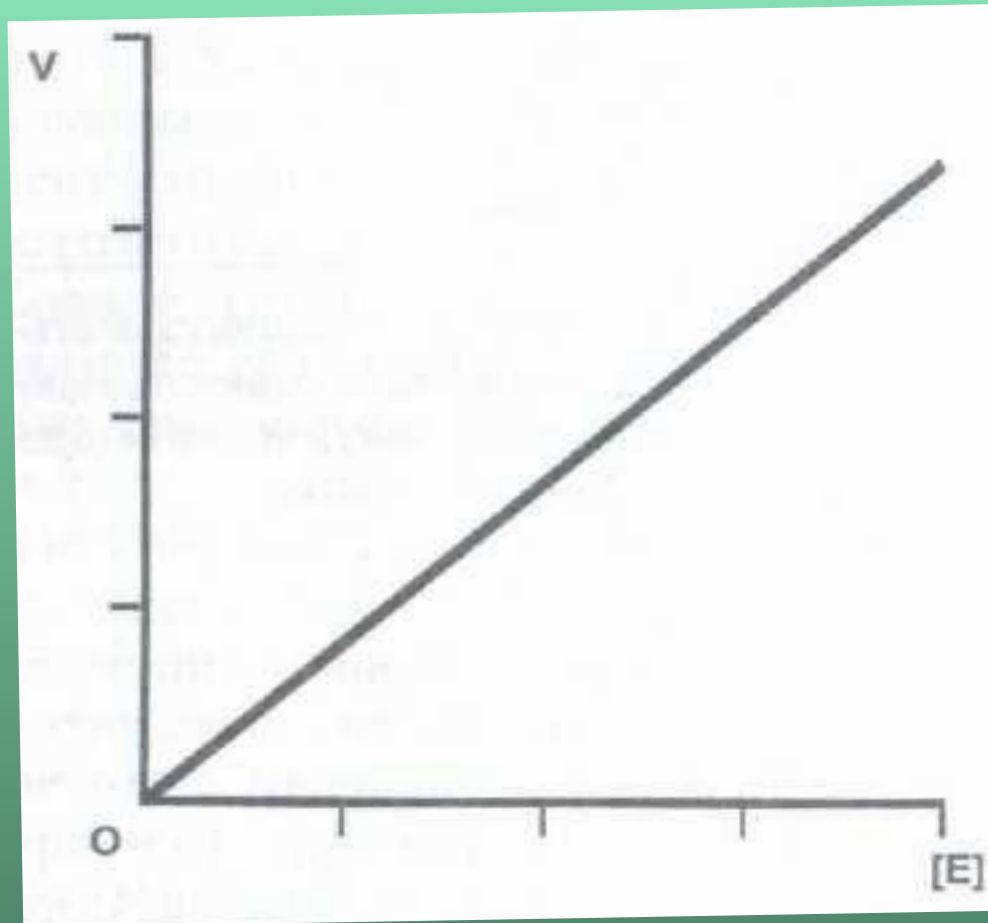
Ферменты называются добавлением суффикса — *аза* к названию субстрата, на который данный фермент действует. Например, уреаза катализирует гидролиз мочевины; ферменты, гидролизующие крахмал (амилон), были названы амилазами; гидролизующие жиры (липос) — липазами; ферменты, гидролизующие белки (протеины) — протеиназам и.

Используются названия для групп ферментов, катализирующих сходные по механизму реакции. Их название строится по принципу — «субстрат-тип реакции». Например, ферменты, которые переносят остаток фосфорной кислоты от АТФ на другую молекулу, называются киназами (глюкокиназа катализирует перенос фосфорильного остатка от АТФ на глюкозу).

Тривиальные названия не показывают механизма действия, но они широко используются. Например, пепсин, трипсин и др.

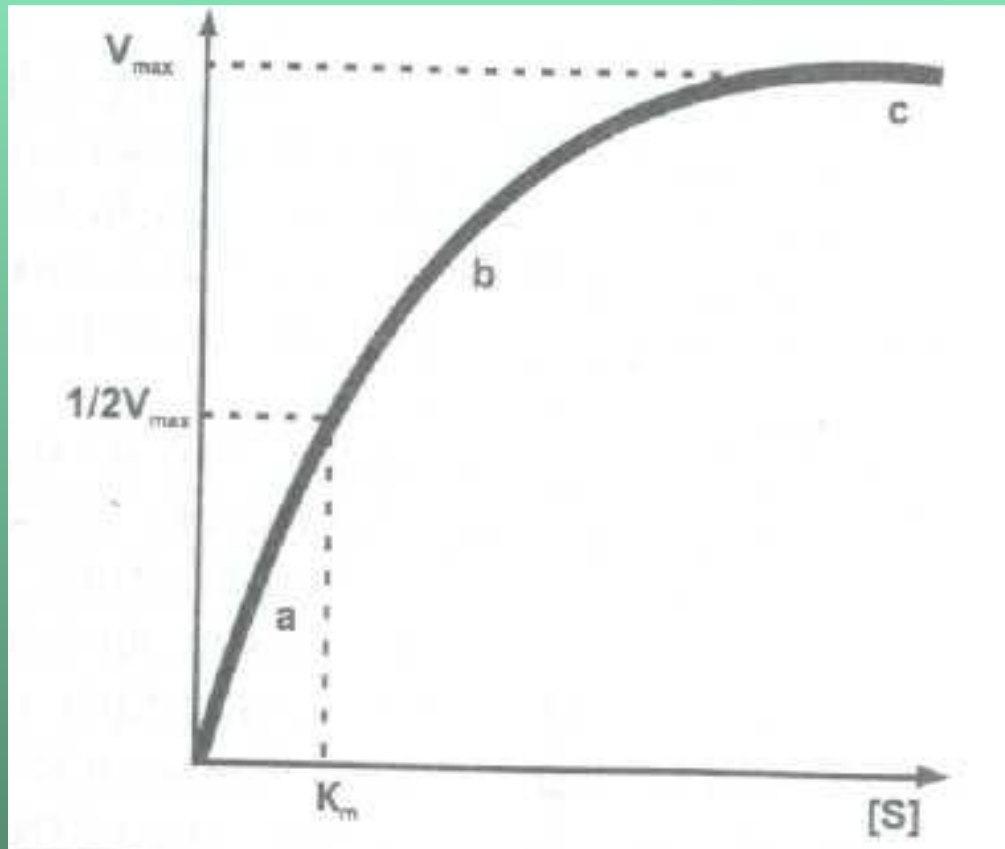
Международный Совет Биохимиков (IUB) предложил систематическое название и классификацию ферментов по типу и механизму катализируемой реакции.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН среды, концентрации фермента и субстрата.



Зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН среды, концентрации фермента и субстрата.



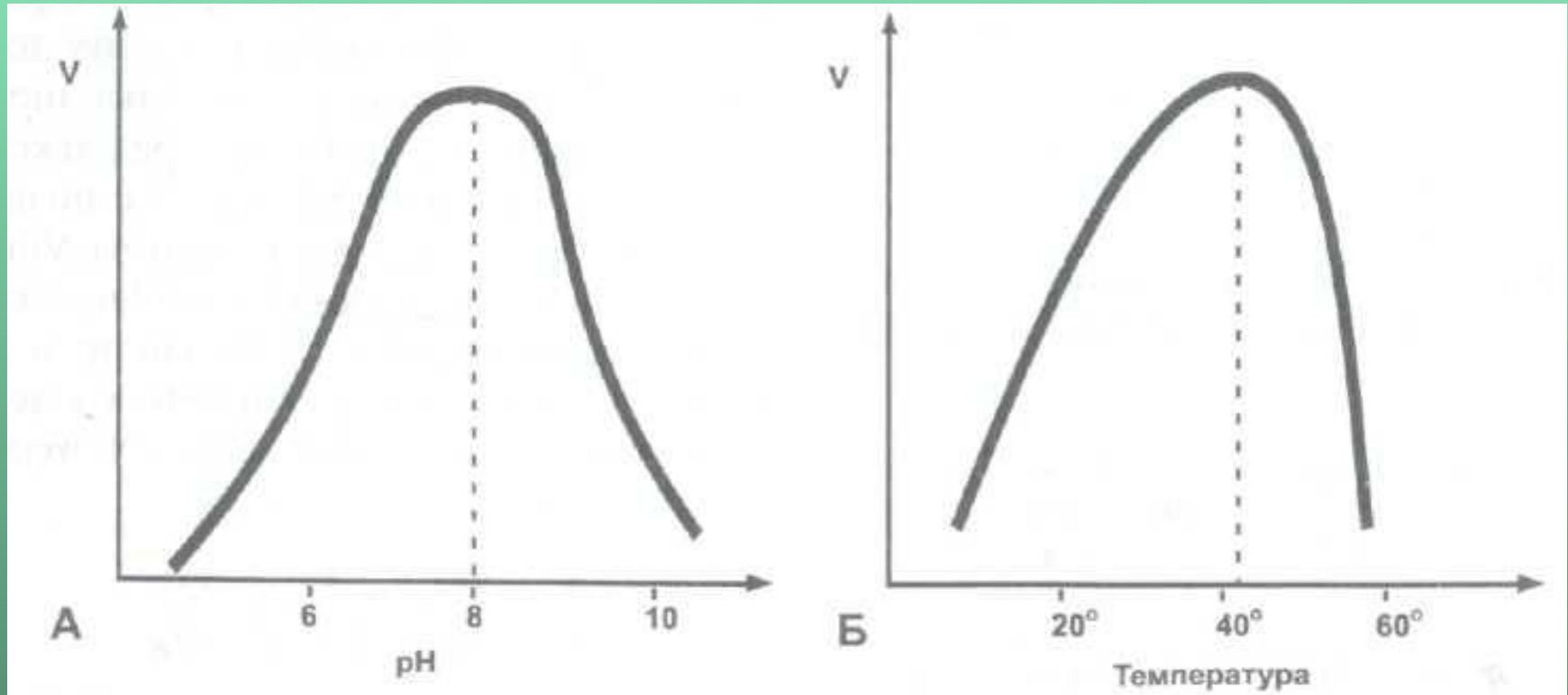
Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН среды, концентрации фермента и субстрата.

Величина K_m равна концентрации субстрата $[S]$, при которой половина мест связывания в активном центре фермента заполнена субстратом. Или, K_m численно равна концентрации субстрата $[S]$, при которой скорость реакции равна половине максимальной. Для ряда ферментов установлено, что величина K_m близка к концентрации субстрата *in vivo*.

Величина K_m соответствует константе диссоциации фермент-субстратного комплекса (ES), если $k_1 < k_2$. В этих условиях K_m характеризует прочность ES комплекса (аффинность, сродство субстрата к ферменту): высокое значение K_m свидетельствует о слабом связывании субстрата с активным центром фермента, низкое значение K_m указывает на сильное связывание (высокое сродство субстрата к ферменту)

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН среды, концентрации фермента и субстрата.



Зависимость скорости реакции от рН (А) и температуры (Б).

Применение ферментов в медицине.

Энзимодиагностика — исследование ферментов в биологических средах организма с диагностической целью.

Нормальные уровни активности ферментов в сыворотке крови отражают соотношение между биосинтезом и высвобождением ферментов (при обычном обновлении клеток), а также их клиренсом из кровотока. Повышение скорости обновления ферментов, повреждения клеток или индуцирование синтеза обычно приводят к повышению активности ферментов в сыворотке крови. В сыворотке крови выделяют три группы ферментов: *клеточные, секреторные и экскреторные*.

Применение ферментов в медицине.

Клеточные ферменты в зависимости от локализации в тканях делят на несколько групп:

Неспецифические ферменты, которые катализируют общие для всех тканей реакции обменов белков, углеводов, липидов и находятся в большинстве органов и тканей. При повреждении мембран клеток и гистогематических барьеров эти ферменты появляются в крови или повышается их количество. Определение повышенного количества этих ферментов в крови не позволяет локализовать патологический процесс.

Органоспецифические, или индикаторные, ферменты, специфичные только для определенного типа тканей. Как правило, эти ферменты катализируют реакции, обеспечивающие специфические функции органа. В клетках других органов этих ферментов нет или находят следы. Выход органоспецифических ферментов в кровь сигнализирует о поражении определенного органа.

Изоферменты — группа или семейство ферментов с четвертичной структурой, которые катализируют одну и ту же реакцию, но отличаются по строению (т. е. первичной структуре) субъединиц и физико-химическим свойствам. Например, фермент лактатдегидрогеназа.

Ферменты, локализованные в органеллах клеток (окислительно-восстановительные в митохондриях; кислые гидролазы в лизосомах и др.), выходя в кровь, сигнализируют о глубоком поражении клетки.

Применение ферментов в медицине.

Секреторные ферменты (псевдохолинэстераза) поступают непосредственно в кровь и выполняют в ней специфические функции. Эти ферменты синтезируются в печени и постоянно высвобождаются в кровь.

Их активность в сыворотке крови выше, чем в клетках или тканях. При нарушении функции печени их активность в сыворотке крови становится ниже нормы.

Применение ферментов в медицине.

Экскреторные ферменты образуются органами пищеварительной системы (поджелудочной железой, слизистой оболочкой кишечника, печенью, эндотелием желчных путей). К ним относятся α -амилаза, щелочная фосфатаза. В норме их активность в сыворотке крови низкая и постоянная. Однако при патологии, когда блокирован любой из обычных путей экскреции, активность этих ферментов в сыворотке крови значительно увеличивается.

Применение ферментов в медицине.

Наследственные энзимопатии

Ряд пороков обмена веществ является результатом наследственного дефицита определенных ферментов. В этом случае диагноз ставится, главным образом, на основе исследования показателей обмена этих ферментативных реакций (биохимический диагноз).

Применение ферментов в медицине.

Энзимотерапия — использование ферментов и метаболитов в качестве лечебных средств:

заместительная терапия ферментами используется при болезнях желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин, химотрипсин, амилаза, липаза)

для очистки ран и воздействия на избыточно разрастающуюся соединительную ткань применяют гиалуронидазу, трипсин, химотрипсин;

нашли применение регуляторы (активаторы и ингибиторы) ферментов. Например, ингибиторы моноаминоксидазы используют при нервных и психических заболеваниях; тканевые ингибиторы протеиназ эффективны при лечении панкреатита, эмфиземы легких, инфаркте миокарда.

Применение ферментов в медицине.

Ферменты как аналитические реагенты.

Широко применяются в практике лабораторных исследований при определении субстратов, нуклеотидов и пр. В настоящее время выпускается ряд наборов для определения глюкозы, этанола, молочной кислоты, АТФ и пр.

Принцип: в исследуемом материале содержится неизвестное количество субстрата. Чтобы определить его количество, вводят фермент, катализирующий превращение только этого субстрата, создают оптимальные условия реакции (рН, t и др.) и регистрируют скорость реакции (по образованию продукта или изменению кофермента). Затем определяют концентрацию искомого субстрата по скорости реакции, используя калибровочный график.