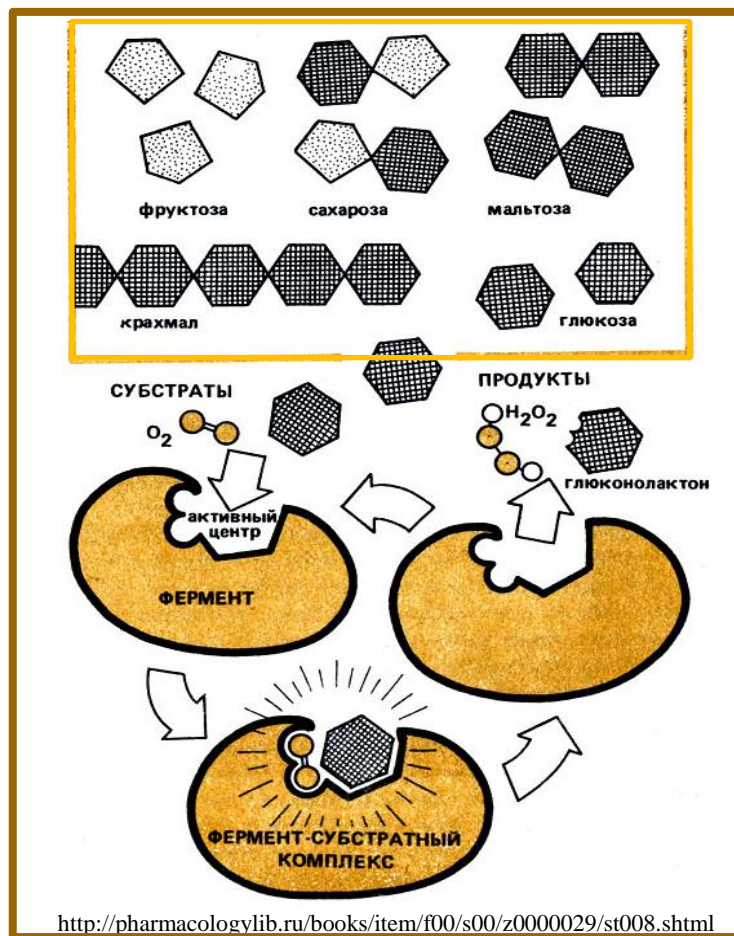


КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЬИ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ



Абрамова З.И.

Биохимия: ферменты и коферменты
Сборник задач, упражнений и вопросов

Казань-2018

УДК 577.151

Рекомендовано к публикации учебно-методической комиссией ИФМиБ,
протокол №2 от 15.10.2018

Составитель:

д.б.н. профессор Абрамова З.И.

Рецензенты:

Мустафин И.Г. – профессор, д.м.н., заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский институт.

Ганеева Л.А. – к.б.н., доцент кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии ИФМиБ ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) федеральный университет".

Биохимия: ферменты и коферменты. Сборник задач, упражнений и вопросов: Учебно-методическое пособие. Часть 1 / З.И. Абрамова - Казань: КФУ, 2018 - 34с.

Сборник является частью учебного комплекса по курсу «Биохимия». В сборнике содержатся задачи, упражнения и вопросы по функционированию ферментов, решение которых способствует в процессе самостоятельной работы студентов, усвоению теоретического материала.

Предисловие

Сборник задач, упражнений и вопросов представляет собой часть учебного комплекса по курсу «Биохимия», раздел «Ферменты». В нем содержатся задачи и упражнения и вопросы по структуре, свойствам и механизме действия ферментов.

В пособии представлены методические указания для самостоятельной работы студентов по разделам: «Структура и свойства ферментов», «Регуляция активности и компартментализация ферментов», «Коферменты», «Классификация и номенклатура ферментов» и «Кинетика ферментативных реакций».

Задачи расположены в порядке возрастания сложности, начиная от простых и заканчивая задачами по обработке числовых данных.

Учебно-методическое пособие может помочь научить студентов вникать в смысл научного исследования, правильно интерпретировать результаты и использовать свои знания для практического решения задач биохимии, в частности раздела по энзимологии.

1. Структура и свойства фермента

1.1. Какой фермент обладает абсолютной специфичностью к субстрату:

а) химотрипсин, б) папаин, в) уреазы, г) аргиназа, д) лизоцим?

1.2. Какой оптимум рН имеет фермент пепсин: а) 1.5-2.5, б) 4.-5, в) 4-7,

г) 8-9, д) 10-11?

1.3. Какой оптимум рН имеет фермент аргиназа: а) 1.5-2.5, б) 4.-5, в) 4-7,

г) 8-9, д) 10-11?

1.4. Какой оптимум рН имеет фермент амилаза: а) 1.5-2.5, б) 4.-5, в) 4-7,

г) 8-9, д) 10-11?

1.5. Какой из протеолитических ферментов обладает эстеразной активностью:

а) трипсин, б) карбоксипептидаза, в) аминопептидаза, г) химотрипсин, д) пепсин?

1.6. При каком рН большинство ферментов проявляет максимальную активность: а) кислом - рН 1.5-2, б) щелочном-рН 8-9, в) близком к нейтральному, г) только при рН -7?

1.7. При какой температуре ферменты денатурируют: а) 0 °С, б) 80-100°С, в) 20-30 °С, г) 30-40 °С?

1.8. Какая температура является оптимальной для действия большинства ферментов: а) 0 °С, б) 80-100 °С, в) 20-30 °С, г) 30-40 °С?

1.9. Какой фермент обладает стереоспецифичностью: а) альдолаза,

б) пируватдегидрогеназа, в) α-глюкозидаза, г) фумаратгидратаза, д) липаза?

1.10. Приведите схему, поясняющую ступенчатый характер действия амин- и карбоксипептидаз.

Решите задачи и проведите соответствующие превращения

1.11. Молекулярная масса пируваткарбоксилазы $M=183$. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет 1.2×10^3 Е.

1.12. Рассчитайте удельную активность каталазы ($M=252000$) и лактатдегидрогеназы ($M=45000$), если молекулярная активность этих ферментов при температуре 25°С, при оптимальном рН и полном насыщении субстратом равна 5×10^6 и 3.7×10^4 , соответственно.

1.13. Рассчитайте удельную активность карбоангидразы ($M=30000$), гексокиназы ($M=45000$) и альдолазы ($M=142000$), если их молекулярная активность равна 0.96×10^8 , 1.7×10^4 , 4.3×10^3 .

1.14. Рассчитайте активность каталитических центров каталазы, лактатдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы (молекулярная активность их соответственно равна - 5×10^6 , 3.7×10^4 , 2.7×10^4), если число каталитических центров у первых двух ферментов равно четырем, а у последних – двум.

1.15. Определите удельную активность (а) пируваткиназы ($M=2370000$), (б) цитохромС-редуктазы ($M=75000$) и (в) бутирил-КоА-дегидрогеназы ($M=2000000$), исходя из значений их молекулярной активности: 6×10^3 , 1.3×10^4 , 2×10^3 , соответственно.

1.16. В каком состоянии находится HS-группа цистеина ($pK_a = 8.33$) и имидазольный радикал гистидина ($pK_a = 7.12$) в молекуле гексокиназы в условиях оптимального pH (8.3-8.6) действия этого фермента.

1.17. Число нейтральных, основных и кислых аминокислотных остатков в составе лизоцима, рибонуклеазы и цитохрома с таково:

Наименование фермента	Аминокислотные остатки			
	Всего	Нейтральные	Основные	Кислые
Лизоцим куриного яйца	129	38	17	37
Рибонуклеаза из поджелудочной железы быка	124	36	18	27
Цитохом из плесневого гриба	107	45	18	21

Рассчитайте долю (в процентах) нейтральных, основных и кислых аминокислотных остатков от общего числа для указанных белков и выведите закономерности состава перечисленных ферментов в этом отношении.

1.18. Рассчитайте концентрацию меди (в процентах) в медьсодержащем ферменте аскорбатоксидазе ($M=150000$), если каждая молекула содержит 6 атомов меди.

1.19. Рассчитайте концентрацию меди (в процентах) в гемоцианине - медьсодержащем белке крови омара, если известно, что $M=780000$ и на одну молекулу приходится 20 атомов меди.

1.20. Рассчитайте молекулярную массу протомера кристаллической каталазы, представляющего протеид с активной группой в виде железо-порфирированного комплекса с одним атомом железа, если концентрация железа в кристаллической каталазе равна 0.12%.

1.21. Массовая концентрация лейцина и изолейцина в рибонуклеазе составляет 1.65 и 2.48%, соответственно. Рассчитайте ее минимальную массу.

1.22. Парциальный удельный объем рибонуклеазы равен $0.707 \text{ см}^3 \times \text{г}^{-1}$, коэффициент диффузии (при 20 °C) равен $13.1 \times 10^{-7} \text{ см}^2 \times \text{с}^{-1}$. Константа седиментации рибонуклеазе, также приведенная к воде при 20 °C, равна 2.05.

Плотность воды при 20°C составляет $0.998 \times \text{см}^{-3}$. Используя уравнение Сведберга, вычислите молекулярную массу рибонуклеазы.

1.23. Имеется раствор NaCl (0.1 моль/л) и такой же концентрации раствор серной кислоты, ацетона ($pK'=4.76$), малата ($pK'=3.86$), фосфорной кислоты ($pK'=7.2$) и хлорида аммония ($pK'=9.25$). Как приготовить буфер с pH 5.4 для опытов с ферментами, приводящими к образованию кислоты?

1.24. Какой объем HCl (0.1 моль/л) необходимо добавить к 20 мл фосфатного буфера (0.04 моль/л) с pH 6.5, содержащего уреазу, чтобы уменьшить активность фермента на 50% в условиях, когда лимитирующим фактором является pH? Буферной емкостью самой уреазы можно пренебречь. Максимальная активность уреазы (100%) при pH 6.5, а 50% ее активности при pH 5.

1.25. Активный центр фермента представляет собой "карман" на поверхности фермента, выстланный боковыми цепями аминокислот, необходимыми для связывания субстрата и катализа его химического превращения. Молекула карбоксипептидазы, последовательно отщепляющей C-концевые аминокислотные остатки от субстратов (пептидов), состоит из одной полипептидной цепи (307 аминокислотных остатков). Три главные каталитические группы в активном центре – это аргинин 145, тирозин 248 и глутаминовая кислота 270 (номер указывает положение аминокислоты в цепи).

а) Если бы карбоксипептидаза представляла собой идеальную α -спираль, то на каком расстоянии (в нм) друг от друга находились бы аргинин 145 и тирозин 248, аргинин 145 и глутаминовая кислота 270?

б) Объясните, каким образом эти три аминокислоты, расположенные далеко друг от друга в полипептидной цепи, могут катализировать реакцию, участники которой занимают пространство размером в несколько десятых долей нанометра.

в) Если в процессе гидролиза участвуют только эти три каталитические группы, для чего ферменту необходимо иметь так много аминокислотных остатков?

1.26. Дана смесь белков:

Название белка	Молекулярная масса	pI белка
Церулоплазмин	151 000	4.4
γ -Глобулин	150 000	6.3
β -Лактоглобулин	37 100	5.2

Предложите методы разделения белков и укажите последовательность их выделения из смеси.

1.27. Из экстракта, содержащего 500 мг общего белка и 100 ед. активности фермента, получен препарат, содержащий 2 мг белка и 80 ед. активности. С каким выходом (по активности) получен фермент и какова степень его очистки?

1.28. При каких значениях рН наиболее целесообразно электрофоретическое фракционирование: а) миозина и гемоглобина; б) уреазы и гемоглобина; в) щелочной фосфатазы, сывороточного альбумина и уреазы; г) цитохрома с и гемоглобина, если изоэлектрическая точка миозина – 5.4; щелочной фосфатазы – 4.5; гемоглобина – 6.8; уреазы – 5.0; цитохрома С – 10.65?

1.29. Используя обозначения: К – катод, А – анод, С – линия старта, укажите направление перемещения при электрофорезе следующих белков:

а) тропомиозина – в буферной системе с рН 5.1; б) гемоглобина – рН 4.8;

в) рибонуклеазы – рН 4.2; 9.5; 11.3; учитывая, что изоэлектрическая точка тропомиозина – 5,1; гемоглобина – 6.8; рибонуклеазы – 9.45.

1.30. Как изменится электрофоретическая подвижность белка (изоэлектрическая точка его равна 6,8; фракционирование ведется при рН 7,0), если в его молекуле: а) глу заменен на вал; б) лиз заменен на глу; в) глу заменен на лиз; г) вал заменен на глу; д) гис заменен на арг?

1.31. Токсический эффект тяжелых металлов, например Cd^{2+} и Hg^{2+} , объясняется тем, что они могут замещать Zn^{2+} в активном центре определенных ферментов. Приведите примеры ферментов, в активном центре которых содержатся металлы, и объясните: а) как при этом изменяется активность ферментов и почему; б) почему при этом изменяется скорость транскрипции, а также снабжение клеток кислородом.

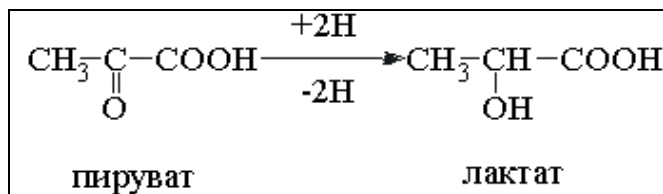
1.32. В двух пробах за 10 мин гидролизовалось равное количество крахмала: в первой пробе количество амилазы 2 мг, во второй – 5 мг. Одинакова ли активность амилазы в обеих пробах?

1.33. В гомогенатах печени двух крыс обнаружена одинаковая удельная активность фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Одинаковое ли количество этого фермента содержится в 1 г печени обеих крыс? Почему вы так считаете?

а) дайте определение удельной активности фермента, объясните, какова размерность этой величины;

б) напишите реакцию, которую катализирует фермент, назовите вещества, которые могут повлиять на активность этого фермента в печени.

1.34. Рассмотрите схему ферментативной реакции. Сравните структурные формулы субстрата и продукта:



а) Назовите класс фермента, катализирующего данную реакцию.

б) С участием какого кофермента протекает реакция? Напишите формулу витамина, входящего в его состав.

в) Рассчитайте удельную активность фермента, если за 30 с 1 мг фермента при оптимальных условиях инкубации (рН 7.2; 37 °С) превращает 50 мкмоль пирувата.

1.35. Добавление адреналина к гомогенату или препарату разрушенных клеток здоровой печени приводит к увеличению активности гликогенфосфорилазы. Однако если гомогенат предварительно центрифугировать при высокой скорости и затем к прозрачной надосадочной жидкости добавить адреналин или глюкагон, то увеличения фосфорилазной активности не наблюдается. Объясните причину данного явления.

1.36. Назовите по рациональной номенклатуре ферменты, катализирующие гидролиз: а) дипептида; б) лактозы; в) сахарозы; г) амилозы.

1.37. Инкубационная проба объемом 3 мл содержит 2.75 мл буфера, 200 мкл субстрата с конечной концентрацией 0.3 мМ и 50 мкл кофермента с конечной концентрацией 0.2 мМ. Рассчитайте начальные концентрации субстрата и кофермента.

2. Механизм действия, регуляция активности и компартиментализация ферментов

2.1. У каких ферментов в активном центре обнаружена серин-гистидиновая пара: а) лизоцим, б) α-химотрипсин, в) ацетилхолинэстераза, г) цитохромоксидаза, д) трипсин?

2.2. У каких ферментов в активном центре находятся гистидин и цистеин: а) гексокиназа, б) алкогольдегидрогеназа, в) трипсин, г) креатинкиназа?

2.3. У каких ферментов в активном центре находятся два остатка гистидина: а) пепсин, б) рибонуклеаза, в) лизоцим, г) фумаратгидратаза, д) фосфоглюкомутаза?

2.4. У каких ферментов в активном центре обнаружен фосфосерин: а) фосфоглюкомутаза, б) гексокиназа, в) фосфатаза, г) пируваткиназа, д) карбоксипептидаза?

2.5. У каких ферментов в активных центрах обнаружены аминокислоты глутамат и аспарат: а) пируватдегидрогеназа, б) лизоцим, в) пепсин, г) уреазы, д) карбоксипептидаза?

2.6. Какие ферменты относятся к группе «сериновых»: а) пепсин, б) α -химотрипсин, в) трипсин г) ацетилхолтинэстераза, д) лизоцим?

2.7. Какой вид катализа может осуществлять имидазольное кольцо гистидина: а) нуклеофильный, б) общий основной, в) общий кислотный, г) электрофильный, д) специфический основной?

2.8. Какая из функциональных групп ферментативных белков образует альдиминную связь: а) гидроксильная группа серина, б) ϵ -аминогруппа лизина, в) имидазольное кольцо гистидина, г) сульфгидрильная группа цистеина, д) фенольная группа тирозина?

2.9. Какие соединения являются алкилирующими для сульфгидрильных групп: а) *n*-хлормеркурибензоат серина, б) акриламид, в) уксусный ангидрид, г) диазосоединения, д) метильная группа?

2.10. Какие соединения используются для количественного определения сульфгидрильных групп: а) *o*-иодобензоат, б) диизопропилфторфосфат, в) *n*-хлормеркурибензоат, г) HgCl_2 , д) *N*-этилендиамид?

2.11. В каких реакциях вступают дисульфидные связи: а) с ионами металла, б) ацилирования, в) алкилирования, г) восстановления боргидридом натрия, д) тиол-дисульфидного обмена?

2.12. Какой фермент Дж.Самнер в 1926 году впервые получил в кристаллическом виде: а) пепсин, б) гексокиназу, в) уреазу, г) аргиназу, д) амилазу?

2.13. Как называется участок молекулы фермента ответственный одновременно и за присоединение вещества, подвергающегося ферментативному действию, и за осуществление ферментативного катализа: а) гидрофобный центр, б) каталитический центр, в) активный центр, г) адсорбционный центр, д) аллостерический центр?

2.14. Для каких ферментов активатором являются ионы Mg^{2+} : а) фосфорилазы, б) амилазы, в) гексокиназы, г) креатинкиназы, д) карбоксипептидазы?

2.15. Для каких ферментов активатором являются ионы Zn^{2+} : а) карбоксипептидазы, б) карбоангидразы, в) глутаматдегидрогеназы, г) лактатдегидрогеназы, д) аминоксидазы?

2.16. Какой ион необходим для действия киназ (фосфотрансфераз), катализирующих образование *O*-фосфорных эфиров: а) Mg^{2+} , б) Co^{2+} , в) Ca^{2+} , г) Na^{2+} , д) K^{2+} ?

а) Какой из ферментов является железосодержащим флавопротеидом: а) нитратредуктаза, б) липоилдегидрогеназа, в) сукцинатдегидрогеназа, г) малатдегидрогеназа, д) оксидаза L-аминокислот?

3. Коферменты

3.1. Для какого класса ферментов коферментом является тиамин пиродифосфат: а) трансфераз, б) оксидоредуктаз, в) гидролаз, г) лиаз, д) лигаз?

3.2. Тетрагидрофолиевая кислота принимает участие в активации и переносе различных групп. Кажите каких именно: а) метильных, б) ацетильных, в) одноуглеродных, г) CO_2 , д) фосфорильных?

3.3. Какие коферменты содержат витамин B_2 : а) никотинамидные, б) пиридоксальные, в) флавиновые, г) кофермент А, д) кобамидные?

3.4. Для какого класса ферментов коферментом является CoA: а) гидролаз,

б) трансфераз, в) оксидоредуктаз, г) лигаз, д) лиаз?

3.5. Какие реакции в организме катализирует глутатион:

а) перенос метильных групп, б) окисление α -кетоглутаровой кислоты, в) контроль обратимых превращений дисульфидных групп в сульфгидрильные в белках, г) превращение глиокселей в α -гидроксикислоты, д) перенос фосфатных групп?

3.6. Какие коферменты содержат витамины B_{12} : а) пиридоксальные, б) флавиновые, в) кобамидные, г) никотинамидные, д) железопорфириновые?

3.7. Для какого класса ферментов коферментом является убихинон: а) оксидоредуктаз, б) трансфераз, в) гидролаз, г) изомераз, д) лиаз?

3.8. S-аденозилметионин принимает участие в переносе различных групп. Укажите каких именно: а) ацетильных, б) метильных, в) фосфорильных, г) одноуглеродных, д) CO_2 ?

3.9. Какие коферменты содержат витамин B_6 : а) кобамидные, б) пиридоксальные, в) флавиновые, г) никотинамидные, д) железопорфириновые?

3.10. Для какого класса ферментов коферментом являются фосфаты углеводов: а) оксидоредуктаз, б) гидролаз, в) трансфераз, г) лиаз, д) изомераз)?

3.11. Биотин принимает участие в активации и переносе определенной групп – какой: а) ацетильной, б) метильной, в) CO_2 , г) фосфорильной, д) аденозильной)?

3.12. Какие коферменты содержат витамины В1: а) флавинадениндинуклеотид, б) тиаминпирофосфат, в) никотинамидадениндинуклеотид, г) пиродоксальфосфат, д) кобаламин?

3.13. Производные уридина принимают участие в активизации и переносе соединений. Укажите каких: а) аминокислот, б) глюкозильных остатков, в) фосфолипидов, г) жирных кислот, д) холина?

3.14. Какие коферменты содержат никотиновую кислоту: а) тиаминпирофосфат, б), флавинаденинмононуклеотид, в) никотинамидадениндинуклеотид, г) пиродоксальфосфат?

3.15. Какое соединение выполняет активную функцию в CoA:

а) аденозин-3'-фосфат, б), пантотеновая кислота, в) β-меркаптоэтиламин, г) β-аланин?

3.16. Какой кофермент принимает участие в превращении аминокислот: а) тетрагидрофолевая кислота, б), пиродоксаль-5-фосфат, в) тиаминпирофосфат, г) флавинадениндинуклеотид, д) никотинамидадениндинуклеотид?

3.17. В какой мультиферментный комплекс входят следующие коферменты-тиаминпирофосфат, липоевая кислота, CoA: а) синтетазы жирных кислот, б), α-кетоглутаратдегидрогеназный, в) изоцитратдегидрогеназы, г) дигидролипоилгидрогеназы, д) сукцинатдегидрогеназы, ж) пируватдегидрогеназной системы?

3.18. Каковы спектральные характеристики НАДН₂: а) полоса поглощения при 280нм, б), поглощение при 280нм, в) сильная флуоресценция в области 440нм, г) появление полосы поглощения при 340нм, д) полоса поглощения при 450нм?

3.19. Каковы спектральные характеристика ФАД: а) полоса поглощения при 340нм, б), широкая полоса поглощения при 370нм, в) полоса поглощения при 450нм, г) сильная флуоресценция, д) полоса поглощения при 260нм?

3.20. В какой кофермент входит пантотеновая кислота:

а) флавинаденинмононуклеотид, б), кофермент А, в) уридиндифосфатглюкоза, г) никотинамидадениндинуклеотид, д) цитидиндифосфатхолин?

3.21. Какой кофермент принимает участие в биосинтезе всех углеводородных остатков жирных кислот: а) уридинфосфатглюкоза, б), цитидиндифосфатхолин, в) кофермент А, г) пиродоксаль-5-фосфат, д) аденозинтрифосфат?

3.22. Для какого фермента коферметом является липоевая кислота: а) пируватдегидрогеназы, б), сукцинатагидрогеназы, в)

дигидролипоилтрансферазы, г) изоцитратдегидрогеназы, д) дигидролипоилдегидрогеназы?

3.23. Для какого класса ферментов коферментом является АТФ:

а) оксидоредуктаз, б) трансфераз, в) изомераз, г) лиаз, д) гидролаз?

3.24. Какие коферменты являются гетероциклическими соединениями:

а) коэнзимы, б), пиридоксальные, в) тиаминпирофосфат А, г) тетрагидрофолевая кислота, д) НАД⁺ и НАДФ⁺?

3.25. Какие коферменты относятся к алифатическим соединениям:

а) производные нуклеотидов и нуклеозидов, б), глутатион, в) производные фолиевой кислоты, г) биотин, д) липоевая кислота?

3.26. Какие коферменты связаны с классом ферментов трансфераз:

а) фосфаты углеводов, б), глутатион, в) кофермент ацелирования, г) биотин?

3.27. Какие коферменты связаны с классом ферментов оксидоредуктаз:

а) тиаминпирофосфат, б), НАД⁺ и НАДФ⁺, в) ДМН и ФАД, г) глутатион, д) убихиноны?

3.28. Какие коферменты связаны с классом лигаз (синтетаз): а) биотин, б), кобамидные, в) производные нуклеотидов, г) тиаминпирофосфат, д) глутатион?

3.29. Какой фермент содержит кобальт: а) тиаминпирофосфат, б), липоилдегидрогеназа, в) сукцинатдегидрогеназа, г) малатдегидрогеназа, д) оксидаза L-аминокислот ?

3.30. Какие из указанных металлопорфиринов являются ферментами:

а) гемоглобин, б), миоглобин, в) каталаза, г) пероксидаза, д) цитохромы ?

4. Классификация и номенклатура ферментов

Напишите систематические и рабочие названия, укажите класс фермента, катализирующего реакцию

4.1. D-глюкозо-1-фосфат + H₂O = D-глюкоза + ортофосфат.

4.2. L-аспарагин + H₂O = L- аспарат + NH₃.

4.3. Седугептулозо-7фосфат + D-глицеральдегид-3-фосфат = D-рибозо-5-фосфат + D-ксилулозо-5-фосфат.

4.4. Ацетил-СоА + ортофосфат = СоА + ацетилфосфат.

4.5. Оксалат D формиат + СО₂.

4.6. (1,4-α-D-глюкозил)_n + ортофосфат = (1,4-α-D-глюкозил)_{n-1} + -α-D-глюкозо-1-фосфат.

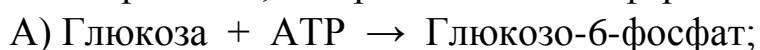
4.7. L-лизин = кадаверин + СО₂.

- 4.8. *L*-метионин = *D*-метионин.
- 4.9. АТФ + *D*-гексоза = АДФ + *D*-гексозо-6-фосфат.
- 4.10. АТФ + ацетат + СоА = АМФ + пирофосфат + ацетилСоА.
- 4.11. УДФ-глюкоза + (1,4- α -*D*-глюкозил)_{*n*} = УДФ + (1,4- α -*D*-глюкозил)_{*n+1*}.
- 4.12. АТФ + протеин = АДФ + фосфопротеид.
- 4.13. АТФ + креатин = АДФ + фосфокреатин.
- 4.14. *L*-глутамат = *D*-глутамат.
- 4.15. *L*-аспартат + 2-оксоглутарат = оксалоацетат + *L*-глутамат.
- 4.16. АТФ + *D*-глюкоза = АДФ + *D*-глюкозо-6-фосфат.
- 4.17. Мочевина + Н₂О = 2NH₃ + СО₂.
- 4.18. Пирофосфат + Н₂О = 2ортофосфа.
- 4.19. *L*-глутамат + Н₂О + НАД⁺ = 2оксоглутарат + NH₃ + НАДН.
- 4.20. Ксантин + Н₂О + О₂ = урат + Н₂О₂.

Написать реакцию, катализируемую ферментом, указать рабочее название и шифр фермента:

- 4.21. Алкаголь: НАД⁺ оксидоредуктаза.
- 4.22. *L*-лактат: НАД⁺ оксидоредуктаза.
- 4.23. *L*-малат: НАД⁺ оксидоредуктаза.
- 4.24. Альдегид: НАД⁺ оксидоредуктаза
- 4.25. *L*-аланин: НАД⁺ оксидоредуктаза.
- 4.26. *L*-аминокислота: кислород оксидоредуктаза (дезаминирующая).
- 4.27. β - *D*-глюкоза: кислород 1-оксидоредуктаза.
- 4.28. Пируват: кислород оксидоредуктаза (фосфорилирующая).
- 4.29. *L*-аминокислота: кислород оксидоредуктаза (дезаминирующая).
- 4.30. *L*-аскорбат: кислород оксидоредуктаза.
- 4.31. Перекись водорода: перекись водорода оксидоредуктаза.
- 4.32. Донор: перекись водорода оксидоредуктаза.
- 4.33. УДФ-глюкоза: *D*-фруктоза-6-фосфат 2- α -глюкозитрансфераза.
- 4.34. АТФ: тиамин пирофосфотрансфераза.
- 4.35. Ацетилхолин-ацетилгидролаза.
- 4.36. *D*-глюкозо-6-фосфат фосфогидролаза.
- 4.37. Карбокси-лиаза 2-оксокислот.
- 4.38. АТФ-пирофосфат-лиаза (циклизирующая).
- 4.39. Аланинрацемаза.
- 4.40. *L*-аланин: тРНК^{*ala*} - лигаза (образующая АМФ)

4.41. Напишите схемы реакций, назовите ферменты, ускоряющие указанные реакции, и определите класс ферментов:



Б) Глюкозо-1-фосфат \rightarrow Глюкозо-6-фосфат;

В) Молочная кислота + $\text{NAD}^+ \rightarrow$ Пировиноградная кислота + $\text{NADH} + \text{H}^+$;

Г) Аланин + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ Молочная кислота + NH_3 .

Укажите, какой из приведенных ответов правильный.

4.42. К какому классу относится фермент пируваткиназа: а) лигаз, б) гидролаз, в) оксидоредуктаз, г) трансфераз, д) изомераз?

4.43. К какому классу относится фермент ацетил-СоА-карбоксилаза: а) лиаз, б) гидролаз, в) трансфераз, г) лигаз (синтетаз), д) изомераз?

4.44. К какому классу относится фермент уреазы: а) оксидоредуктаз, б) трансфераз, в) гидролаз, г) лиаз, д) изомераз?

4.45. К какому классу относится фермент альдолаза: а) трансфераз, б) оксидоредуктаз, в) гидролаз, г) лиаз, д) лигаз (синтетаз)?

4.46. Какую реакцию катализируют оксидазы: а) $\text{H}_2\text{O} + \text{AH}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{A}$, б) $\text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{R}' \rightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}' + \text{H}_2\text{O}$, в) $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$?

4.47. Какую реакцию катализирует фермент каталаза: а) $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$, б) $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, в) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{A}$?

4.48. Какую реакцию катализируют гидралазы: а) $\text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{R}' \rightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}' + \text{H}_2\text{O}$, б) $\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$, в) $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$?

4.49. Какую реакцию катализируют дегидрогеназы: а) $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, б) $\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$, в) $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$?

4.50. Какую реакцию катализируют эстеразы: а) не гидролитические реакции распада органических соединений по связи углерод-кислород, б) действие на сложно-эфирные связи, в) окисление органических соединений молекулярным кислородом с образованием гидроксильной группы?

4.51. Какую функцию выполняют пептид-пептидгидролазы: а) действуют на сложноэфирные связи, б) используют восстановленные НАД и НАДФ в качестве субстратов, в) катализируют гидролиз небольшого числа внутренних пептидных связей в белковой молекуле?

4.52. Какую реакцию катализируют изомеразы: а) $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$, б) УДФ-глюкоза \rightarrow УДФ-галактоза, в) лактат + $\text{НАД}^+ \rightarrow$ пируват + $\text{НАДН} + \text{H}^+$?

4.53. Какую реакцию катализирует метилтрансфераза: а) *L*-тирозин + 2-оксоглутарат \rightarrow *n*-оксифенилпируват + *L*-глутамат, б) *S*-аденозилметионин + гистамин \rightarrow *S*-аденозилгомоцистеин + 1-метилгистамин, в) АТФ + $\text{НАД}^+ \rightarrow$ $\text{НАДН} + \text{H}^+ + \text{АДФ}$.

4.54. Какой фермент специфически ускоряет реакцию разрыва пептидных связей, начиная с С-концевой аминокислоты: а) трипсин, б) химотрипсин, в) карбоксипептидаза, г) пепсин, д) аминопептидаза?

4.55. Какой фермент является эндопептидазой, расщепляющей пептидные связи, в образовании которых принимают участие карбоксильные группы лизина и аргинина: а) химотрипсин, б) папаин, в) пепсин, г) трипсин, д) карбоксипептидаза?

4.56. Какие из указанных ферментов являются амидазами: а) липаза, б) аспарагиназа, в) глутаминаза, г) аминаза, д) уреаза?

4.57. Какие из указанных ферментов являются гликозидазами: а) сахараза, б) гексокиназа, в) амилаза, г) липаза, д) мальтаза?

4.58. Какой фермент является углерод-кислород-лиазой: а) альдолаза, б) фумаратгидратаза, в) пантотеинатсинтетазы?

4.58. Как называются ферменты, катализирующие внутримолекулярный перенос групп: а) киназы, б) мутазы, в) рацемазы, г) оксигеназы, д) трансферазы?

4.60. С участием каких аминокислот пептидные связи избирательно гидролизуются химотрипсином: а) дикарбоновых аминокислот, б) аргенина и лизина, в) ароматических аминокислот, г) лейцина и глицина, д) метионина?

4.61. Как называются реакции, протекающие в соответствии с уравнением- $R_1-O_2-R_2 + H_3PO_4 \rightarrow R_1OPO_3H_2 + R_2OH$: а) изомеризации, б) гидролиза, в) фосфоролиза, г) протеолиза, д) оксидоредукции?

4.62. Какую функцию выполняют ферменты гидроксилазы: а) переносят атомы водорода с одной молекулы H_2O_2 на другую, б) ускоряют реакцию включения одного атома кислорода в субстрат в процессе биологического окисления, в) это-гемопротейд, обеспечивающий ускорение реакции переноса электронов за счет изменения валентного состояния атомов железа, г) переносят атом водорода с субстрата на пероксид водорода?

5. Кинетика ферментативных реакций

Решите задачи и дайте объяснения:

5.1. Покажите, что для ферментативной реакции величина K_m численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции вдвое меньше максимальной?

5.2. Полупериод реакции первого порядка равен 0.3с. Чему равна константа скорости k ?

5.3. В реакции первого порядка $A \rightarrow B$ концентрация вещества A в начальный период была равна 0.50ммоль/л. Спустя 2 с она стала равной 0.25 ммоль/л. Какой она станет спустя 5 с?

5.4. В реакции второго порядка $A + B \rightarrow C$ в начальный момент

концентрация вещества А была равна 5.0 ммоль/л, В – 4.0 ммоль/л. Спустя 1 с концентрация вещества А стала равной 4.0 ммоль/л, В – 3 ммоль/л. Каким будет отношение концентраций веществ А и В спустя 3 с?

5.5. Влияние концентрации субстрата на активность печеночной 6-фосфоглюконатдегидрогеназы при двух значениях рН изучали следующим образом: 0.9 мл буфера с рН 7.6 и 0.2 мл раствора НАДФ (0.3 ммоль/л) добавляли в пять спектрофотометрических кювет шириной 1 см. Затем в четыре кюветы добавляли различные количества раствора 6-фосфоглюконата (0.25 ммоль/л). Пятую кювету – без субстрата – использовали как контрольный образец. Объем проб в кюветах доводили дистиллированной водой до 2.9 мл и в определенный момент, принимаемый за нулевой, начинали реакцию, путем добавления 0.1 мл раствора фермента. Через каждые 30 с измеряли оптическую плотность при $\lambda=340$ нм по отношению к контрольной кювете. Опыт проводили также при рН 9.0. Полученные данные представлены в таблице:

Активность 6-фосфоглюконатдегидрогеназы в зависимости от концентрации 6-фосфоглюконата:

Время, мин	Оптическая плотность при объеме 6-фосфоглюконата, мл							
	0.2		0.3		0.6		1.8	
	рН 7.6	рН 9.0	рН 7.6	рН 9.0	рН 7.6	рН 9.0	рН 7.6	рН 9.0
0.5	0.011	0.004	0.014	0.010	0.014	0.013	0.02	0.022
1.0	0.022	0.009	0.026	0.016	0.027	0.023	0.054	0.040
1.5	0.031	0.013	0.037	0.022	0.040	0.033	0.060	0.056
2.0	0.041	0.017	0.047	0.028	0.051	0.042	0.063	0.067
2.5	0.050	0.021	0.057	0.033	0.062	0.051	0.076	0.089

Дайте возможно более полное и строгое объяснение влияния различных концентраций субстрата на активность фермента. Молярный коэффициент поглощения восстановленного НАДФ при $\lambda = 340$ нм равен 6220. 6-фосфоглюконатдегидрогеназа катализирует окислительное декарбоксилирование своего субстрата. В процессе окислительного декарбоксилирования освобождается CO_2 , поэтому не требуется никаких специальных методических приемов для смещения равновесия реакции.

5.6. В одно-солевые экстракты двух органов (печени и сердца) взятых у одного животного, окисляли L-лактат с восстановлением НАД. Ниже приведены результаты, и полученные при изучении влияния различных концентраций субстрата на активность реакции, катализируемой лактатдегидрогеназами из этих экстрактов. Перед опытами тканевые экстракты диализировали против дистиллированной воды. Дайте полное и

строгое обоснование своего ответа о кинетике лактатдегидрогеназной реакции.

Ход эксперимента: В кювету для спектрофотометра диаметром 1 см добавляли 0.5 мл экстракта ткани, 0.3 мл раствора НАД (10 ммоль/л), 0.2 мл раствора семикарбазида (30 ммоль/л) и 1.0 мл натрийфосфатного буфера, рН Затем в кювету добавляли раствор L-лактата натрия (100ммоль/л) в количествах, указанных в таблице.

Доводили объем пробы в кюветах до 3 мл. Сразу после добавления лактата содержимое кювет перемешивали и измеряли оптическую плотность проб на спектрофотометре при $\lambda=340$ нм. Затем оптическую плотность измеряли каждые 30 с. Результаты активности лактатдегидрогеназы из печени и сердца представлены в таблице:

Время после первого измерения, мин	Оптическая плотность при объеме добавленного L-лактата, мл			
	0.2	0.25	0.5	1.0
Экстракт печени				
0	0.016	0.012	0.023	0.031
0.5	0.050	0.052	0.080	0.106
1.0	0.084	0.092	0.137	0.174
1.5	0.117	0.131	0.208	0.252
2.0	0.140	0.169	0.249	0.328
2.5	0.180	0.207	0.305	0.397
Экстракт сердца				
0	0.013	0.030	0.023	0.015
0.5	0.052	0.074	0.082	0.084
1.0	0.090	0.119	0.137	0.155
1.5	0.127	0.162	0.196	0.222
2.0	0.163	0.204	0.258	0.290
2.5	0.199	0.245	0.315	0.350

Поглощение НАД при $\lambda=340$ нм столь мало, что этой величиной можно пренебречь, тогда как восстановленная форма НАД при этой длине волны поглощает сильно(молярный коэффициент поглощения равен 6.22×10^3 .)

В процессах с участием дегидрогеназ реакция, идущая в направлении восстановления НАД, часто оказывается термодинамически невыгодной. Поэтому при нейтральных значениях рН для смещения равновесия могут использоваться агенты, связывающие различные альдегиды или кетоны (в данном случае - семикарбазид).

5.7. Трансаминаза катализирует следующую реакцию: глутамат + оксалоацетат \rightarrow α -кетоглутарат + аспатат. Коферментом этого

каталитического процесса служит пиридоксальфосфат (ПФ). Рассчитайте величину K_m для комплекса апофермент-кофермент, исходя из приведенных ниже данных, при условии, что концентрация ПФ менялась, а все остальные параметры и, в частности, концентрации глутамата и оксалоацетата, оставались постоянными:

Скорость исчезновения глутамата, мг/мин ⁻¹	0.17, 0.27, 0.48, 0.65, 0.78, 0.79, 0.81
Количество добавленного ПФ, мкмоль/л	0.30, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0

5.8. Из приведенных ниже данных для ферментативной реакции определите, является ли действие ингибитора конкурентным или неконкурентным. Вычислите величину K_m для фермента и значение K_i для фермент-ингибирующего комплекса. Определите значение v_{max} :

Концентрация субстрата v , ммоль/л	2.0, 3.0, 4.0, 10.0, 15.0
Скорость образования продукта в отсутствие ингибитора, мкг·ч ⁻¹	138, 179, 213, 313, 370
Скорость образования продукта в присутствии ингибитора (6 ммоль/л), мкг·ч ⁻¹	88, 121, 149, 257, 313

5.9. Салицилат ингибирует каталитическое действие глутаматдегидрогеназы. Определите путем графического анализа приведенных ниже данных, является ли ингибирование конкурентным или неконкурентным. Предполагается, что концентрация салицилата составляет 40 мкмоль/л и поддерживается на постоянном уровне. Вычислите величину K_m для фермента и значение константы диссоциации фермент-ингибирующего комплекса K_i :

Концентрация субстрата v , ммоль/л	1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 8.0, 16.0
Скорость образования продукта v в отсутствие салицилата, мг·мин ⁻¹	0.21, 0.25, 0.28, 0.33, 0.44, 0.40
Скорость образования продукта v в присутствии салицилата, мг·мин ⁻¹	0.80, 0.10, 0.12, 0.13, 0.16, 0.18

5.10. Некоторые ионы могут активировать α -амилазу слюны. Для изучения механизма активации фермента исследовали влияние рН среды на активность фермента, как в присутствии анионов, так и без них. Полученные данные по влиянию анионов на активность α -амилазы слюны приведены в таблице:

рН	Скорость, в усл.ед.		
	Без хлорида	Хлорид, 0.04моль/л	Бромид, 0.04моль/л
5.0	25	30	29
5.3	32	40	39
5.5	40	50	42
6.0	42	75	60
6.5	38	100	80
7.0	22	110	81
7.5	0.8	85	65
8.0	-	60	49
8.5	-	34	29
9.0	-	16	8

Что можно сказать о механизме активации α -амилазы анионами, основываясь на приведенных данных?

5.11. Для исследования влияния сульфата магния на активность фосфатазы (фермента, катализирующего гидролиз эфиров) был поставлен опыт. В ряд пробирок добавляли по 0.2 мл буфера, разные объемы раствора $MgSO_4$ (10 ммоль/л) и раствор субстрата (100ммоль/л). Объем пробы доводили дистиллированной водой до 1,8 мл. Пробы инкубировали в водяной бане при 37°C. С интервалом в 1 мин в каждой пробирке начинали реакцию, добавляли по 0.2 мл раствора фермента при помешивании. После 10 мин инкубации в водяной бане реакцию останавливали, добавляя по 10 мл 5%-ной трихлоруксусной кислоты. Пробы встряхивали и фильтровали.

Количество неорганического фосфата в фильтратах измеряли колориметрически. Фильтрат (5мл) помещали в мерную колбу объемом 25 мл и добавляли 2,5 мл раствора молибдата, а также 15 мл Дистиллированной воды. Затем добавляли 1 мл восстановителя (0.1 %-ный раствор аскорбиновой кислоты), объем доводили до метки водой и смесь перемешивали. Через 15 мин на фотоколориметре измеряли интенсивность окраски, используя красный фильтр. Результаты влияния магния на активность фосфатазы приведены в таблице:

Объем раствора $MgSO_4$, мл	Показания колориметра при объеме субстрата, мл			
	0.06	0.10	0.20	0.50
0.10	0.84	1.35	2.14	3.03
0.20	1.18	2.00	2.84	4.25
0.40	1.47	2.42	3.52	5.00
1.00	1.75	3.03	4.35	6.55

Стандартная кривая была получена описанным выше методом, но вместо 5 мл фильтрата использовали разные объемы раствора KH_2PO_4 (1 ммоль/л). Какие выводы вы можете сделать на основании результата?

5.12. По кинетическим точкам, снятым при разной концентрации субстрата, определите V_{\max} и K_m для субстрата: cpm (counts per minute; импульсы распада в мин):

[S]×10 ⁻⁴ М	0	5	10	15	20	30
1.00	20	500	1010	1470	2050	2700
1,43	10	754	1480	2230	2930	4420
1,70	10	937	1820	2631	3530	5270
2,33	15	1217	2380	3520	4720	7070
3.00	13	1400	2970	4520	6010	8400
5.00	17	2370	4820	7230	9550	14000
7.00	17	3010	5980	9060	11900	17000
10.0	23	1850	3680	5600	7390	10500
11,1	24	1710	3210	4900	6670	9669
12.0	21	1010	1990	3015	3900	5250

1) Рассчитайте величину V_{\max} при концентрации белка 0,015 мг/мл, если удельная активность субстрата 11000 cpm/микромоль; аликвота для счета радиоактивности 10 мкл.

2) Рассчитать величину k_{cat} , если молекулярная масса белка 150 000.

5.13. Альфа-кетоглутарат является конкурентным ингибитором реакции окисления N-метил- L-глутамата, катализируемого N-метилглутамат-дегидрогеназой. Доказать, что ингибирование является конкурентным и определить константу диссоциации комплекса фермент-ингибитор, исходя из данных таблицы:

Концентрация ингибитора, × 10 ³ , М	Концентрация субстрата, × 10 ⁴ , М	Скорость реакции, М × мин ⁻¹
0	4.10	2.08
	1,00	1,67
	0.625	1,43
	0,50	1,33
	0,417	1,25
	<u>0,264</u>	<u>1,00</u>
	4.1	1.96
	1,67	1,67
0,6	1,00	1,47
	0,625	1,18
	0,5	1,04
	<u>0,33</u>	<u>0,8</u>
	10.63	1.88
	5.0	1,56
3,0	1,67	1,00
	1,00	0,77
	0,667	0,57
	0,5	0,45

5.14. Фермент проявляет относительную специфичность. Определите, исходя из величины K_m тот субстрат, который будет подвергаться каталитическому превращению с наибольшей скоростью при концентрации субстрата, равной :

- а) $K_m=2 \times 10^{-1} M$; б) $K_m= 2 \times 10^{-3} M$; в) $K_m=2 \times 10^{-4} M$; г) $K_m= 2 \times 10^{-6} M$.

5.15. Сериновые протеазы проявляют групповую специфичность к субстратам. Эти ферменты имеют похожую структуру и общий каталитический механизм, но различаются по субстратной специфичности. Что определяет специфичность этих ферментов к субстрату, а что специфичность к пути превращения?

- а) объясните название этих ферментов – «сериновые протеазы»;
 б) сравните структуру каталитического и субстратсвязывающего участков активного центра химотрипсина, трипсина и эластазы.

5.16. Метанол (древесный спирт), который когда-то использовался как антифриз для автомобилей, очень токсичен; прием внутрь всего лишь 30 мл метанола может привести к смерти. Такая необычайно высокая токсичность метанола обусловлена действием не столько самого метанола, сколько продукта его метаболизма – формальдегида. Метанол быстро окисляется до формальдегида под действием фермента печени алкогольдегидрогеназы:

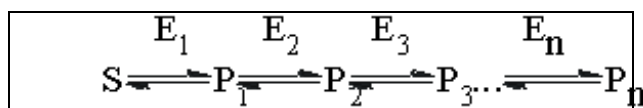


5.17. Один из методов лечения при отравлении метанолом состоит в том, что больному назначают этанол (этиловый спирт) либо внутрь, либо внутривенно в количествах, которые у здорового человека вызывают интоксикацию. Объясните, почему такое лечение оказывается эффективным?

Регуляция активности и компартиментализация ферментов

5.18. Чем отличается изменение ферментативной активности путем ковалентной модификацией от аллостерической регуляции?

5.19. В метаболической цепи реакций реакция, катализируемая ферментом E_1 , протекает с наименьшей скоростью.



- а) Какой фермент может быть регуляторным в данной цепи реакций?
 б) Какой из продуктов реакций (P_1, P_2, P_3, P_n) может служить ингибитором метаболического пути? Объясните, почему.
 в) Назовите тип регуляции.

г) Каковы структурные особенности регуляторного фермента?

5.29. Докажите, что быстрая и эффективная регуляция активности метаболического пути осуществляется аллостерическими ферментами, а не ферментами, подчиняющимися кинетике Михаэлиса.

5.21. Исследователям аденилатциклазной системы удалось выделить мутантные клетки мышинной лимфомы, способные связывать гормон и содержащие нормальное количество фермента аденилатциклазы. Однако присоединение гормона не приводило к повышению концентрации сАМР. Какой блок отсутствовал в цитоплазматической мембране мутантных клеток? Для ответа на вопрос:

а) приведите схему трансмембранной передачи сигнала;

б) укажите особенности строения этого белка;

в) объясните, какую роль играет этот белок в функционировании аденилатциклазной мессенджерной системы.

5.22. Для изучения инозитолфосфатной системы использовали мембраны клеток печени. В инкубационную среду добавили активатор рецептора и субстрат фосфолипазы С. Однако концентрация Ca^{2+} не возрастала. Что забыли добавить в инкубационную среду исследователи?

Для решения задачи:

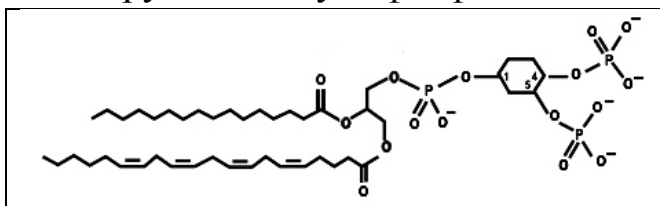
а) приведите схему инозитолфосфатной мессенджерной системы передачи сигнала; б) объясните, на каком этапе функционирования системы необходимо это вещество.

5.23. Существует выражение «сахарный диабет – это голод среди изобилия». Для обоснования этого выражения ответьте на вопросы и выполните задание:

а) в каких тканях протекает метаболизм по типу голодания на фоне гипергликемии; б) какие метаболические пути активируются и ингибируются в этих тканях; в) представьте схему одного из метаболических путей, скорость которого повышена в этих условиях; г) какие симптомы сахарного диабета отражают эти изменения метаболизма.

5.24. Изобразите схему передачи сигнала в фосфоинозитидной мессенджерной системе.

5.25. Назовите соединение, структурная формула которого изображена ниже, укажите связь, на которую действует фосфолипаза С.

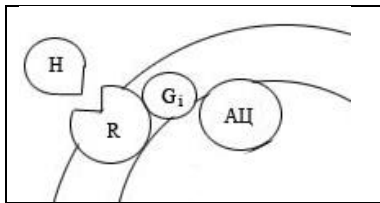


5.26. Объясните механизм стимулирующего действия кофеина.

5.27. Чем можно объяснить, что многие тирозинкиназные рецепторы вовлечены в процессы злокачественного роста?

5.28. Объясните причину ускорения инициации опухоли канцерогенами, при воздействии форболовых эфиров.

5.29. В каком направлении будет изменяться активность аденилатциклазы в результате действия гормона на данный рецептор?



5.30. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) может приводить к нарушению основных функций биологических мембран. Одним из проявлений ПОЛ мембран является нарушение липид-белковых взаимодействий. Как это отразится на функциях белков мембран? Для ответа на этот вопрос:

а) объясните, какие компоненты молекул липидов подвергаются этой модификации; б) укажите, какие процессы, протекающие в клетке, могут быть источниками активных радикалов, иницирующих ПОЛ; в) приведите примеры мембранных белков и объясните влияние липидного окружения на их функции.

5.31. Молекула холестерина легко встраивается в бислою мембраны. Существует механизм защиты клеток от избытка ХС – это реакция его этерификации. Образованный продукт не удерживается в мембране. Как изменится содержание ХС в бислое при снижении активности этого фермента? Для решения задачи:

а) напишите схему реакции этерификации ХС, назовите фермент; б) укажите, какие изменения в структуре мембран наблюдаются при этом нарушении; в) объясните, как повышение содержания ХС будет влиять на функционирование мембранных ферментов.

5.32. Нарисуйте схему действия гидрофильных гормонов на примере адреналина.

5.31. Нарисуйте схему действия гидрофобных гормонов.

Прикладное значение ферментов

5.33. Составьте схему эксперимента по получению рекомбинантной гексозаминидазы А человека для ее использования в качестве лекарственного препарата.

5.34. Составьте схему эксперимента по сайт-специфическому мутагенезу глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы с заменой Arg132 на Ala.

5.35. Перечислите преимущества и недостатки рекомбинантных ферментов и рекомбинантных ферментативных систем перед природными.

5.36. Составьте схему эксперимента по изменению специфичности рестриктазы *ecor*I методами генной инженерии.

5.37. Предложите конструкцию эффективного экспрессионного вектора.

5.38. Предложите схему эксперимента по созданию искусственного метаболического пути, объединяющего один бактериальный и один растительный фермент.

5.39. Предложите перечень методов с их краткой характеристикой, которые можно использовать для проверки того, что свойства ферментов действительно изменились после генно-инженерных манипуляций.

6. Контрольные вопросы

6.1. Структура и свойства ферментов

Введение в энзимологию:

1. Что такое катализатор реакции и в чем состоит его функция?
2. В чем сходство и различия механизмов химического и ферментативного катализа?
3. Какие методы используют для получения иммобилизованных ферментов?
4. Основные классы ферментов и примеры ферментативных реакций?
5. Прикладное значение ферментов?

Методы регистрации ферментативной активности:

1. Способы количественного выражения активности ферментов?
2. Определение активности ферментов: Характеристика стационарных методов определения активности ферментов?
3. Определение активности ферментов: Характеристика кинетических методов определения активности ферментов?
4. В чём отличия прямого и непрямого оптического теста Варбурга?
5. Способы расчёта ферментативной активности?
6. Что такое сопряженные реакции?
7. В чем состоит принцип колориметрического метода определения активности ферментов?
8. В чем состоит принцип билюминесцентного метода определения активности ферментов?

Уровни структурной организации ферментов:

1. Перечислите и подробно расскажите о стадиях сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию.
2. Что такое «расплавленная глобула»?
3. Что такое неспецифическая агрегация белка?
4. Какие известны механизмы регуляции процесса сворачивания полипептидной цепи внутри клетки?
5. Какие ферменты, участвуют в фолдинге белка?
6. Какие известны белки, увеличивающие эффективность сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию?
7. Чем шапероны отличаются от шаперонинов?
8. Что такое посттрансляционная модификация белка?

9. Роль доменов в пространственной организации молекул ферментов?

10. Увеличение числа доменов в ферменте и усложнение взаимодействий между ними?

11. Роль доменов в формировании активного центра фермента, в регуляции ферментативной активности и в связывании ферментов с мембранами?

12. Какие ферменты называют полифункциональными?

13. Расскажите о бифункциональных ферментах, катализирующих реакции одного метаболического пути.

14. Расскажите о бифункциональных ферментах, катализирующих противоположно направленные реакции.

Топография активных центров простых и сложных ферментов:

1. Как образуется активный центр у простых ферментов?

2. Радикалы, каких аминокислотных остатков наиболее часто встречаются в активных центрах ферментов?

3. Какие аминокислоты являются структурообразующими?

4. В чем сходство и отличие активных центров эластазы, трипсина и химотрипсина?

5. Как формируются активные центры сложных ферментов?

6. Какими методами можно изучать топографию активных центров ферментов?

7. В чем заключается метод химической модификации функциональных групп активных центров ферментов?

Специфичность – уникальное свойство ферментов:

1. Дайте определение специфичности.

2. Что такое относительная или групповая специфичность действия?

3. Как проявляют относительную специфичность сериновые протеазы?

4. Что такое абсолютная специфичность действия?

5. Что такое стереоспецифичность ферментов?

6. Расскажите о специфичности А- и В-классов NAD(P)-зависимых дегидрогеназ

7. Что такое концепция стерического соответствия «ключ-замок»?

8. Что такое концепция индуцированного соответствия?

6.2. Механизм действия, регуляция активности и компартиментализация ферментов

Ферменты в клетке и в организованных системах:

1. Как можно выделить клеточные органоиды для определения в них активности ферментов?
2. Какие ферменты называют маркерными?
3. Какой фермент является маркером митохондрий?
4. В чем отличие мультиферментных комплексов от мультиферментных конъюгатов?
5. Какие преимущества имеет гликолитический метаболон по сравнению с неассоциированными в единую структуру гликолитическими ферментами?
6. В чем смысл наличия разных типов изоферментов лактатдегидрогеназы в скелетной и сердечной мышцах?

Изостерические и аллостерические механизмы регуляции активности ферментов:

1. Что такое зимоген?
2. Чем отличаются конститутивные и адаптивные ферменты?
3. Какие соединения могут выступать в качестве изостерических регуляторов активности ферментов?
4. В чем заключаются преимущества ферментов с положительной кооперативностью перед простыми ферментами?
5. Какие метаболические пути регулируются путем ретроингибирования?
6. Каким требованиям должен отвечать ключевой регуляторный фермент метаболического пути?
7. Что такое регуляторные энзимопатии, чем они отличаются от классических энзимопатий?

Ковалентная модификация ферментов и ее типы:

1. Какие известны типы ковалентной модификации ферментов?
2. Что такое зимоген?
3. В чем заключаются отличия функционирования протеинкиназы А и С?
4. Каким стимулом запускается ковалентная модификация ферментов?
5. В чем заключается ADP-рибозилирование?
6. Из каких компонентов состоит каскадный механизм регуляции

активности гликогенфосфоорилазы?

7. В чем особенности регуляции путем белок-белковых взаимодействий?

Регуляция количества ферментов в клетке:

1. Какими процессами определяется количество ферментов в клетке?
2. Каким образом осуществляется индукция синтеза ферментов?
3. Какие ферменты называют конститутивными?
4. В чем состоит особенность внутриклеточного протеолиза у прокариот?
5. Какие выявляются стадии протеолиза у прокариот?
6. Какой механизм убиквитин-протеосомного пути деградации белков у эукариот?
7. В чем состоит особенность строения 26S протеосомы?

Факторы, определяющие эффективность действия ферментов:

1. Чем гомогенный катализ отличается от гетерогенного?
2. В чём заключаются сходства и отличия ферментов с небиологическими катализаторами?
3. Расскажите о стадиях образования фермент-субстратного комплекса.
4. Природа сил, стабилизирующих различные конформационные состояния ферментсубстратного комплекса?
5. Какие взаимодействия называются электростатическими и почему?
6. Как образуются водородные связи?
7. При каких условиях возникают вандерваальсовы взаимодействия?
8. Что такое гидрофобные взаимодействия?
9. Какие факторы определяют эффективность и специфичность ферментативного катализа?
10. В чём заключаются физико-химические механизмы ферментативного катализа?

Сходство и отличия мультиферментных комплексов от мультиферментных конъюгатов:

1. Что такое мультиферментный комплекс?
2. Что такое мультиферментный конъюгат?
3. Пируватдегидрогеназный комплекс – это мультиферментный комплекс или конъюгат?
4. Синтаза жирных кислот – это мультиферментный комплекс или

конъюгат?

5. В чём сходства и отличия мультиферментного комплекса и конъюгата?

Белок-белковые взаимодействия в регуляции активности ферментов:

1. Приведите примеры ферментов, в регуляции, активности которых принимают участие белок-белковые взаимодействия?

2. Какова структура протеинкиназы А?

3. Что такое псевдосубстратная последовательность в структуре протеинкиназы А?

4. Какое соединение является сигналом, приводящим к отделению регуляторных субъединиц от каталитических в протеинкиназе А?

5. В чём сходства и отличия мультиферментного комплекса и конъюгата?

6.3. Коферменты

Кофакторы ферментов и их роль в катализе:

1. Классифицируйте кофакторы по структуре (коферменты, простетические группы, ионы металлов).

2. Классифицируйте кофакторы по функциональному признаку.

3. Функции кофакторов?

4. Рассказать о кофакторах окислительно-восстановительных процессов на примере никотинамидных кофакторов.

5. Рассказать о кофакторах переноса групп на примере коферментов – производных пиридоксина.

6. Рассказать о кофакторах процессов синтеза, изомеризации и расщепления С-С связей на примере биотина.

7. В чём заключается роль металлов в функционировании ферментов?

6.4. Классификация и номенклатура ферментов

Принципы классификации и номенклатуры ферментов:

1. Оксидоредуктазы. Характеристика ферментов важнейших подклассов и подподклассов.

2. Трансферазы. Характеристика ферментов важнейших подклассов и подподклассов.

3. Гидролазы. Характеристика ферментов важнейших подклассов и подподклассов.

4. Лиазы. Характеристика ферментов важнейших подклассов и

подподклассов.

5. Изомеразы. Характеристика ферментов важнейших подклассов и подподклассов.

6. Лигазы (синтетазы). Характеристика ферментов важнейших подклассов и подподклассов.

7. Как используют молекулярный кислород в процессе реакции монооксигеназы?

8. Как используют молекулярный кислород в процессе реакции диксигеназы?

9. Какую функцию выполняет тетрагидробиоптерин в гидроксилазных реакциях?

10. Что является промежуточным переносчиком аминогрупп в реакциях, катализируемых аминотрансферазами?

11. К какому классу ферментов относится неорганическая пирофосфатаза?

12. Как формируется шифр фермента, если химизм реакции окончательно не установлен?

13. Почему каталаза не имеет рационального названия?

Механизм действия карбоксипептидаз: карбоксипептидазы А – строение, свойства, механизм действия

1. Какое место гидролазы занимают в общей классификации ферментов?

2. Классифицируйте гидролаз на типы по механизму действия.

3. Классифицируйте гидролаз на типы по строению активного центра.

4. Структура, свойства и биологическая роль карбоксипептидазы А?

5. Как происходит связывание субстрата карбоксипептидазой А?

6. Роль Липскомба с сотрудниками по установлению молекулярного механизма действия КПА?

7. Второй возможный механизм каталитического действия карбоксипептидазы А?

8. Какие методы используются для изучения механизма действия ферментов?

Механизм действия оксидоредуктаз на примере алкогольдегидрогеназы:

1. Какую реакцию катализирует алкогольдегидрогеназа?

2. Какой кофактор входит в активный центр алкогольдегидрогеназы?

3. Радикалы каких аминокислотных остатков осуществляют каталитическую и вспомогательную роль в активности алкогольдегидрогеназы?

4. Роль алкогольдегидрогеназы в метаболизме алкоголя?

5. Порядок взаимодействия субстрата и кофактора с активным центром алкогольдегидрогеназы?

6. Наблюдаются ли конформационные изменения в молекуле алкогольдегидрогеназы при взаимодействии с участниками ферментативного процесса?

Специфичность сериновых протеиназ: механизм действия гидролаз на примере лизоцима:

1. Строение, свойства и биологическая роль лизоцима?

2. Субстраты лизоцима?

3. Каким образом была построена модель, предсказывающая, как связывается с лизоцимом его эффективный субстрат гекса-NAG.?

4. В чём состоит суть гипотезы механизма каталитического действия лизоцима, предложенная Д. Филлипсом с сотрудниками?

5. Что такое ионом карбония?

6. Каким образом электростатический фактор способствует промежуточному образованию иона карбония?

7. Каким образом геометрический фактор способствует промежуточному образованию иона карбония?

6.5. Кинетика ферментативных реакций

Факторы, определяющие эффективность действия ферментов

1. Чем гомогенный катализ отличается от гетерогенного?

2. В чём заключаются сходства и отличия ферментов с небиологическими катализаторами?

3. Расскажите о стадиях образования фермент-субстратного комплекса.

4. Природа сил, стабилизирующих различные конформационные состояния ферментсубстратного комплекса?

5. Какие взаимодействия называются электростатическими и почему?

6. Как образуются водородные связи?

7. При каких условиях возникают вандерваальсовы взаимодействия?

8. Что такое гидрофобные взаимодействия?

9. Какие факторы определяют эффективность и специфичность

ферментативного катализа?

10. В чём заключаются физико-химические механизмы ферментативного катализа?

Создание ферментов с заданными свойствами путем сайт-специфического мутагенеза:

1. Что такое сайт-специфический мутагенез?

2. В чём преимущества сайт-специфического мутагенеза перед другими классическими методами мутирования?

3. Какие мутации можно получить при использовании направленного мутагенеза?

4. В чём отличия сайт-специфического мутагенеза от сегмент-специфического?

5. Каким образом может быть использован сайт-специфический мутагенез для изучения механизмов катализа, субстратной специфичности ферментов, стабильности полипептидов?

6. Приведите пример создания фермента с заданными свойствами методом сайт-специфического мутагенеза с использованием эндонуклеаз рестрикции?

7. Приведите пример создания фермента с заданными свойствами методом сайт-специфического мутагенеза с использованием сайт-специфического олигонуклеотид-направленного мутагенеза?

В чём преимущества и недостатки использования сайт-специфического мутагенеза с применением эндонуклеаз рестрикции?

Прикладное значение ферментов:

1. Что такое иммобилизованный фермент?

2. Носители для иммобилизации ферментов.

3. В чем отличие физических и химических методов иммобилизации?

4. Каким критериям должны отвечать иммобилизованные ферменты, применяемые в качестве лекарственных средств?

5. Приведите примеры иммобилизованных ферментов, применяемых в медицине.

6. Можно ли использовать иммобилизованные ферменты как аналитические реагенты?

Используемая литература

- Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебник. - 3-е изд./ –М: ОАО «Из-во «Медицина», 2012.-704 с.:ил.
- Кленова, Н. А. Химия белка и ферментов [Электронный ресурс]. Часть 2. Ферменты: учебное пособие / Н. А. Кленова, О. Н. Макурина – Самара: Изд-во «Самарский университет», 2015 – 32 с. - <http://repo.ssau.ru/handle/Uchebnye-posobiya-2/Himiya-belka-i-fermentov-Ch-2-Fermenty-68272>.
- Лебедева Е.Н. Избранные вопросы энзимологии: классификация, номенклатура, применение ферментов в медицине и фармации [Электронный ресурс] /Лебедева Е.Н., Голинская Л.В., Афонина С.Н., Гирина Л.В., Винокурова Н.В., Мачнева И.В. // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 12-4. – С. 566-566; URL: <http://www.expeducation.ru/ru/article/view?id=9239>.
- Шлейкин А.Г. Биохимия. Лабораторный практикум. Часть 2. Белки. Ферменты. Витамины [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Шлейкин А.Г., Скворцова Н.Н., Бландов А.Н.— Электрон. текстовые данные.— СПб: Университет ИТМО, 2015.— 106 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/65803.html>.— ЭБС «IPRbooks»
- Титова Н. М. Энзимология [Электронный ресурс]: методические указания к самостоятельной работе / сост.: Н.М. Титова, Т.Н. Субботина. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2012. – 62 с. — bio.sfu-kras.ru/files/1895_SD.F.1_MY_CR_Enzimologiya_VH_2009_Titova.doc
- Гамаюрова В.С. Ферменты [Электронный ресурс]: лабораторный практикум/ Гамаюрова В.С., Зиновьева М.Е.— Электрон. текстовые данные.— Казань: Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2010.— 278 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/63527.html>.— ЭБС «IPRbooks»
- Биохимия и молекулярная биология. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : конспект лекций / Н. М. Титова, А. А. Савченко, Т. Н. Замай и др. – Электрон. дан. (10 Мб). – Красноярск: ИПК СФУ, 2008. — http://files.lib.sfu-kras.ru/ebibl/umkd/175/u_lectures.pdf
- Филиппович Ю.Б. - Основы биохимии [Электронный ресурс]: М: Изд-во "Агар", 1999. -512 с. — <https://studfiles.net/preview/1726535/>
- Nelson D.L., Cox M.M. Leninger Principles of Biochemistry (Fourth Edition). [Электронный ресурс]: www.molbiol.ru.
- Аудиокурс Биохимия [Электронный ресурс]: — <https://search.rsl.ru/ru/record/01005494090>

Содержание

Предисловие	3
1. Структура и свойства фермента	4
2. Механизм действия, регуляция активности и компартментализация ферментов	8
3. Коферменты	10
4. Классификация и номенклатура ферментов	12
5. Кинетика ферментативных реакций	15
6. Контрольные вопросы	25
6.1. Структура и свойства ферментов	25
<i>Введение в энзимологию</i>	25
<i>Методы регистрации ферментативной активности</i>	25
<i>Уровни структурной организации ферментов</i>	25
<i>Топография активных центров простых и сложных ферментов</i>	26
6.2. Механизм действия, регуляция активности и компартментализация ферментов	27
<i>Ферменты в клетке и в организованных системах</i>	27
<i>Изостерические и аллостерические механизмы регуляции активности ферментов</i>	27
<i>Ковалентная модификация ферментов и ее типы</i>	27
<i>Регуляция количества ферментов в клетке</i>	28
<i>Факторы, определяющие эффективность действия ферментов</i>	28
<i>Сходство и отличия мультиферментных комплексов от мультиферментных конъюгатов</i>	28
<i>Белок-белковые взаимодействия в регуляции активности ферментов</i>	29
6.3. Коферменты	29
6.4. Классификация и номенклатура ферментов	29
<i>Принципы классификации и номенклатуры ферментов</i>	29
<i>Механизм действия карбоксипептидаз: карбоксипептидазы– строение, свойства, механизм действия</i>	30
<i>Механизм действия оксидоредуктаз на примере алкогольдегидрогеназы</i>	30
<i>Специфичность сериновых протеиназ: механизм действия гидролаз на примере лизоцима</i>	31
6.5. Кинетика ферментативных реакций	31
<i>Факторы, определяющие эффективность действия ферментов</i>	31
<i>Создание ферментов с заданными свойствами путем сайт-специфического мутагенеза</i>	32
<i>Прикладное значение ферментов</i>	32
Используемая литература	33
Содержание	34