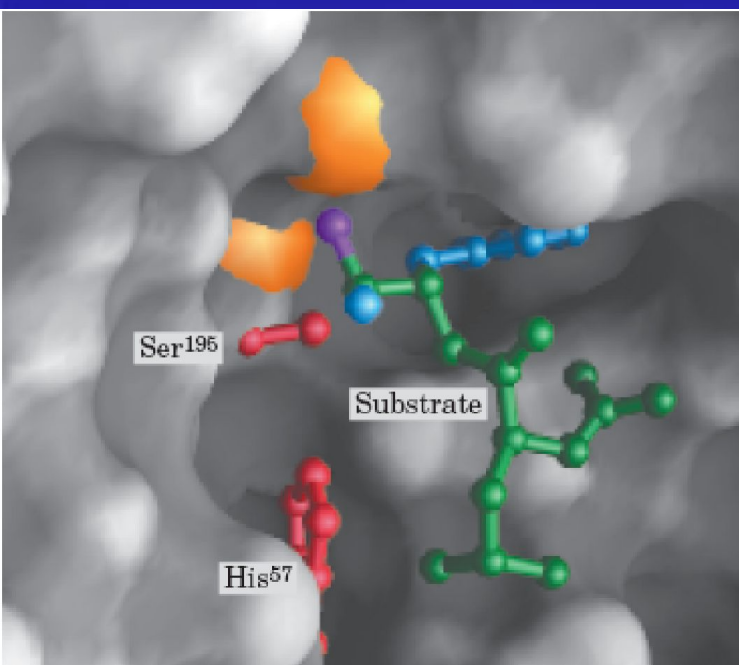


ФЕРМЕНТЫ-2

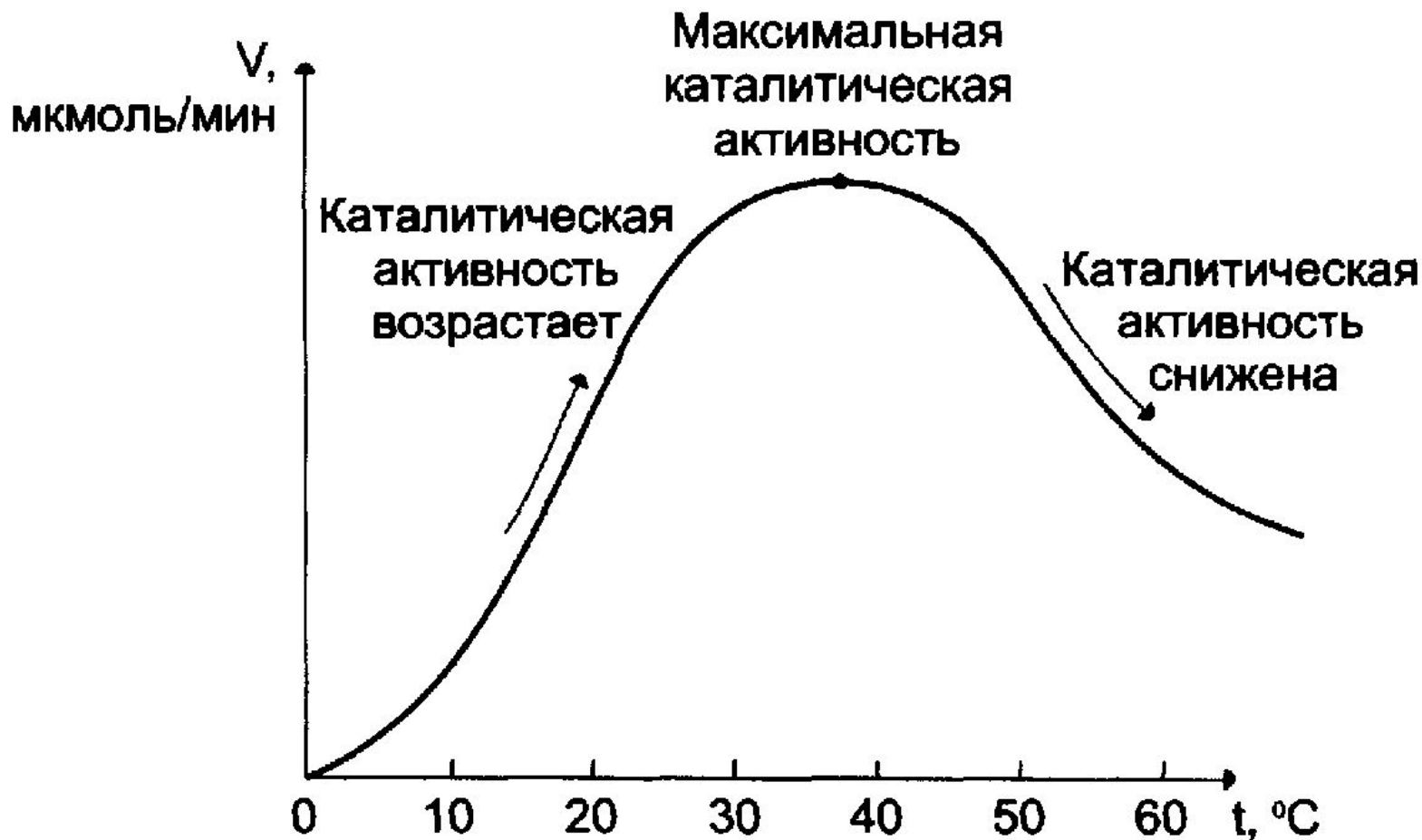


Наумов А.В.

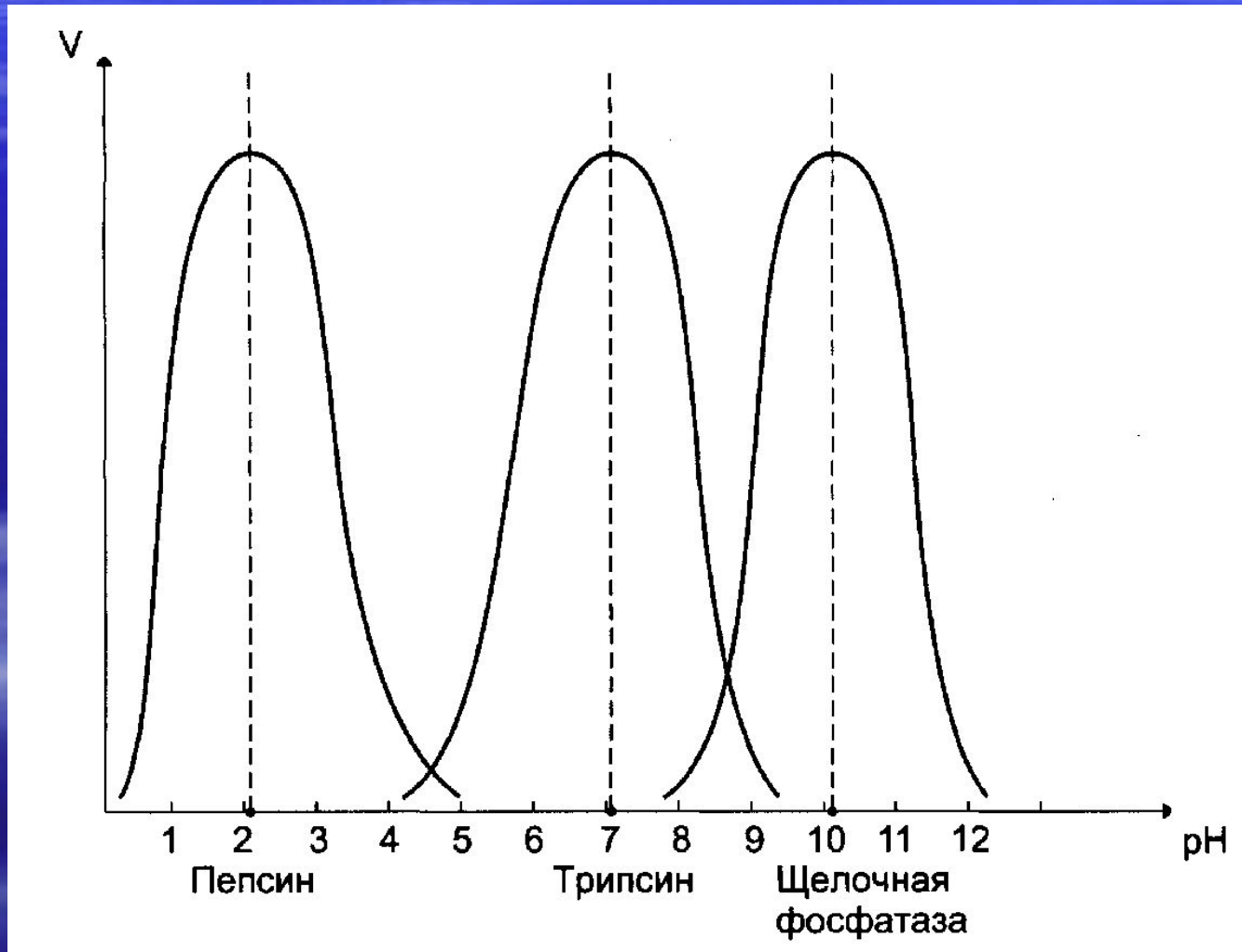
Кинетика ферментативных реакций

Кинетика – изучает скорость химической реакции и её зависимость от факторов - t° , pH, активаторов, ингибиторов.

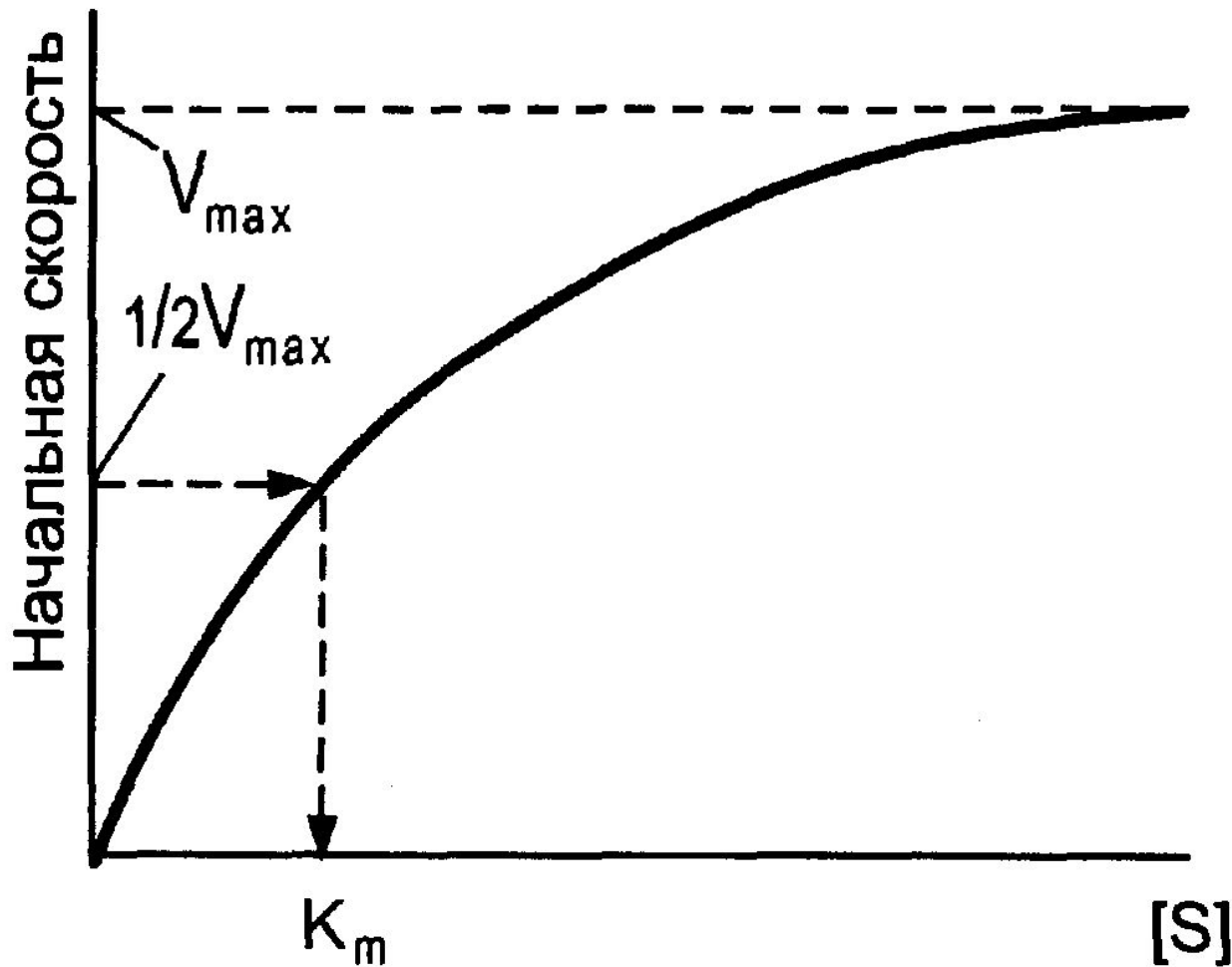
Особенности ферментативного катализа - t



Особенности ферментативного катализа - pH



Особенности ферментативного катализа – [S]

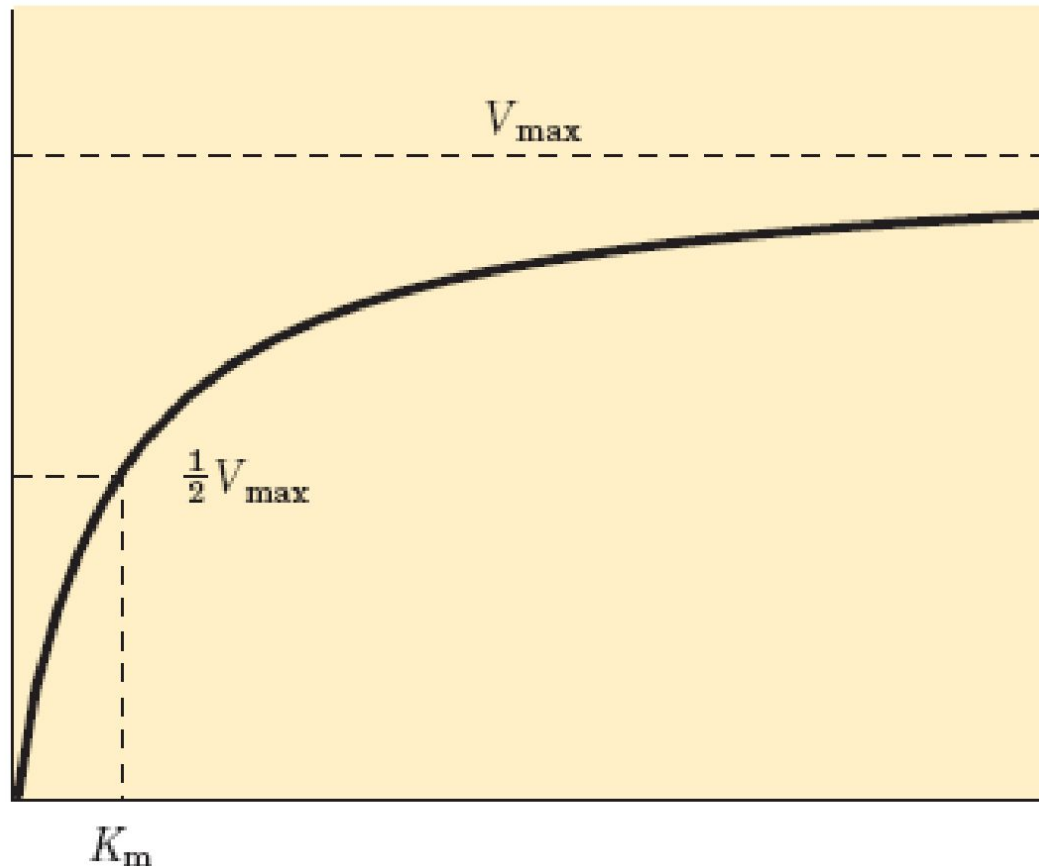


Особенности ферментативного катализа – [E]



Кинетика ферментативных реакций

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата



Кинетика ферментативных реакций

Уравнение Михаэлиса – Ментен

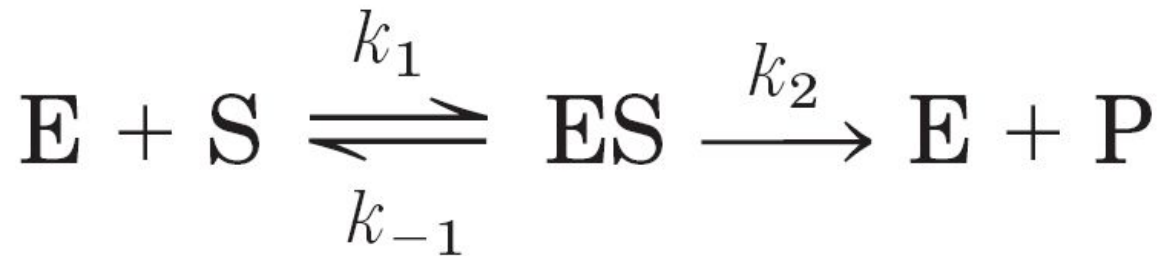
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$



Л. Михаэлис



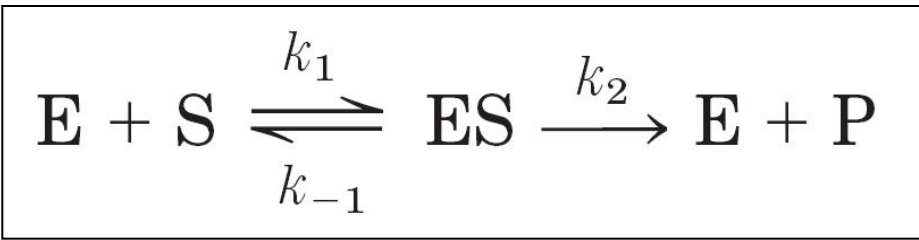
М. Менген



$$V_0 = k_2[\mathbf{ES}]$$

$[\mathbf{E}_t]$ – общий уровень фермента, участвующего в реакции на данный момент.

$[\mathbf{E}_t] - [\mathbf{ES}]$ - концентрация свободного фермента.



(Образование) $\text{ES} = k_1([\text{E}_t] - [\text{ES}])[\text{S}]$

(Распад) $\text{ES} = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}]$

(Образование) $\text{ES} = k_1([\text{E}_t] - [\text{ES}])[\text{S}]$

(Распад) $\text{ES} = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}]$

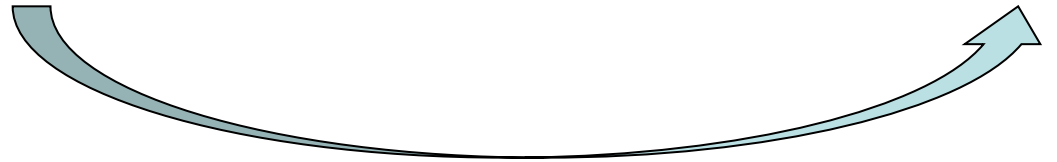
$$k_1([\text{E}_t] - [\text{ES}])[\text{S}]$$

$$k_1([E_t] - [ES])[S]$$
$$=$$

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$k_1[E_t][S] - k_{-1}[ES][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$k_1[E_t][S] - k_1[ES][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$



$$k_1[\mathbf{E}_t][\mathbf{S}] = (k_1[\mathbf{S}] + k_{-1} + k_2)[\mathbf{ES}]$$

Решаем уравнение относительно [ES]:

$$k_1[E_t][S] = (k_1[S] + k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$[\text{ES}] = \frac{k_1[\text{E}_t][\text{S}]}{k_1[\text{S}] + k_{-1} + k_2}$$

$/K_1$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{E}_t][\text{S}]}{[\text{S}] + (k_2 + k_{-1})/k_1}$$

Соотношение суммы констант скорости распада
к константе скорости синтеза

$$\frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1}$$

получило название
константа Михаэлиса -

K_m

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

$$V_0 = k_2[\text{ES}]$$

$$V_0 = \frac{k_2[\text{E}_t][\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$

Максимальная скорость - V_{\max}
возможна при условии **полного насыщения** фермента
субстратом, т.е. когда

$$[ES] = [E_t]$$

В этом случае V_{\max} может быть представлена как

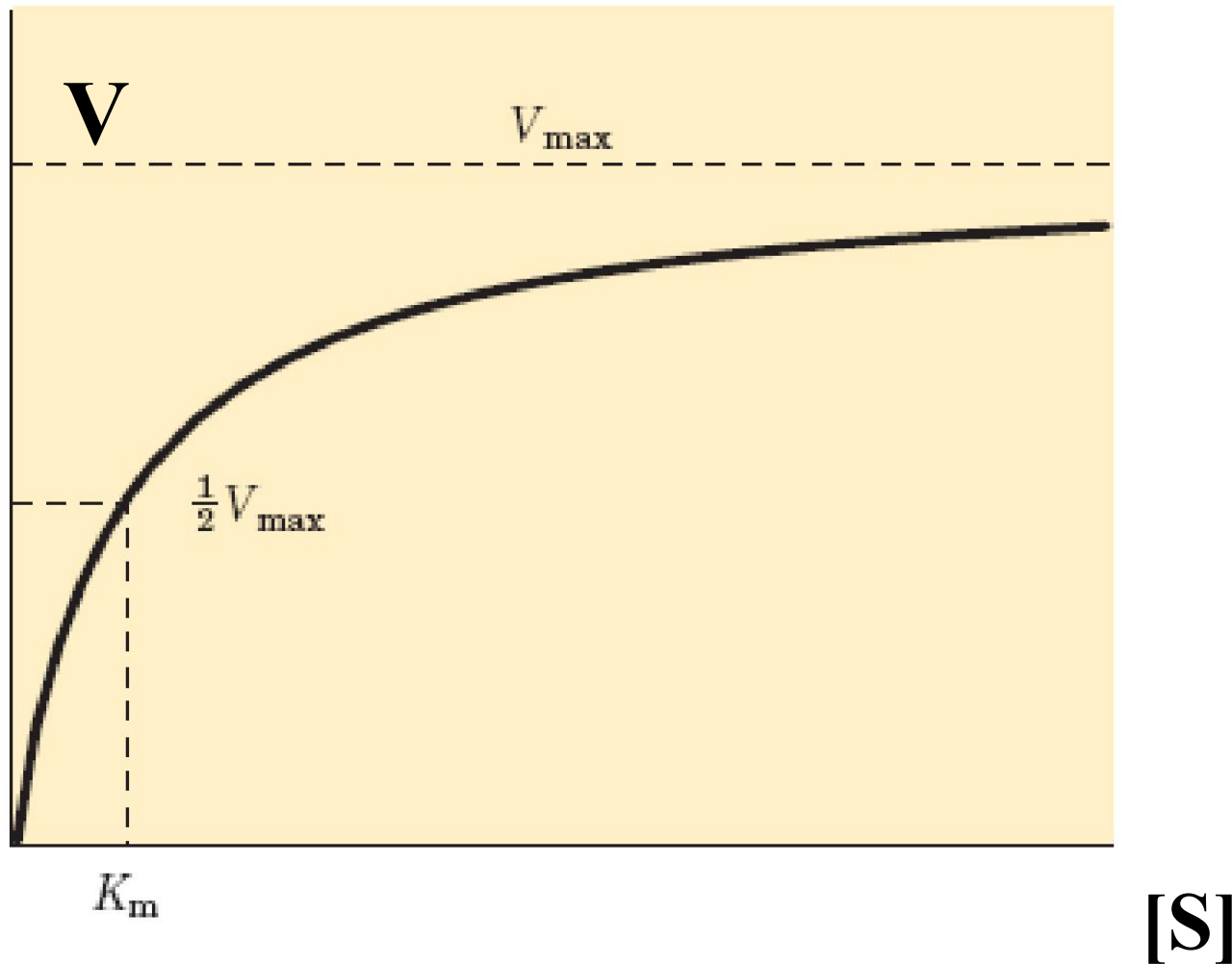
$$V_{\max} = k_2[E_t].$$

Подставив это в уравнение $V_0 = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]}$ получаем

уравнение Михаэлиса-Ментен:

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата



При условии $V_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$

подставляем в уравнение

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

разделив обе половины уравнения на V_{\max} получаем:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

решая его относительно K_m получаем:

$$K_m + [S] = 2[S]$$

ИЛИ

$$K_m = [S]$$

$$K_m = [S]$$

Константа Михаэлиса

- это концентрация субстрата при которой скорость ферментативной реакции равна половине максимальной.

K_m характеризует сродство субстрата к ферменту

Уравнение Лайнвивер-Бэрка (Lineweaver-Burk).

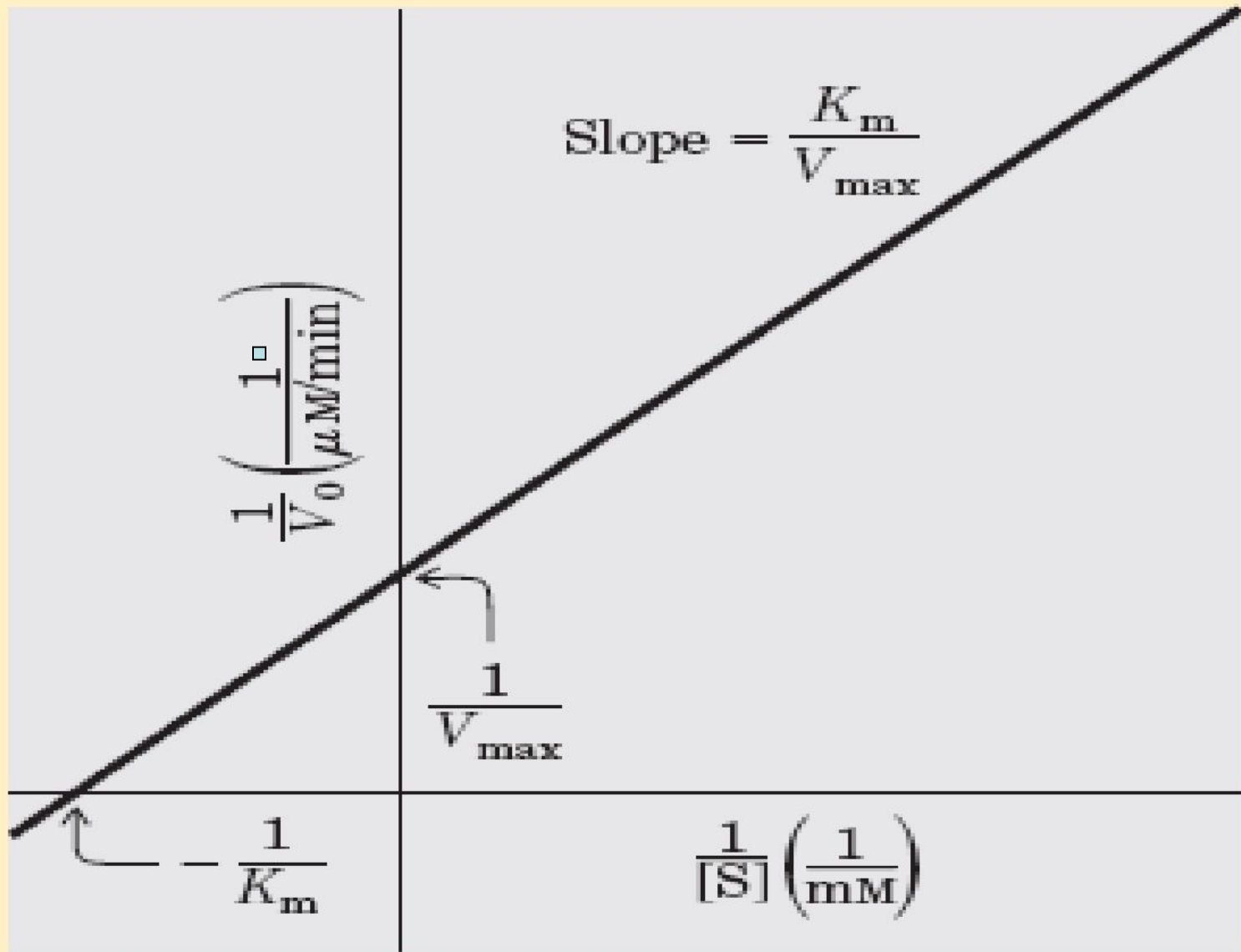
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Уравнение и график Лайнуивера -Берка

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$



Активаторы ферментов

- Повышают ферментативную активность;
- Формируют конформацию активного центра фермента;
- Облегчают образование фермент- субстратного комплекса;
- Стабилизируют нативную структуру фермента;
- Защищают функциональные группы активного центра.

Ингибиторы ферментов

- **НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ.**
 - **СПЕЦИФИЧЕСКИЕ:**
 - А) НЕОБРАТИМЫЕ**
 - Б) ОБРАТИМЫЕ:**
 - КОНКУРЕНТНЫЕ**
 - НЕКОНКУРЕНТНЫЕ.**
-

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ

Вызывают денатурацию молекулы фермента –

- **КИСЛОТЫ,**
- **ЩЕЛОЧИ,**
- **СОЛИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ.**

НЕОБРАТИМЫЕ ИНГИБИТОРЫ

Необратимое ингибирование - наблюдается при образовании ковалентных связей между ингибитором и активным центром фермента. Фермент не может выполнять каталитическую функцию.

ОБРАТИМЫЕ ИНГИБИТОРЫ

Связываются с активным центром фермента слабыми нековалентными связями и легко отделяются от фермента.

Обратимые ингибиторы бывают:

- конкурентными**
- неконкурентными.**

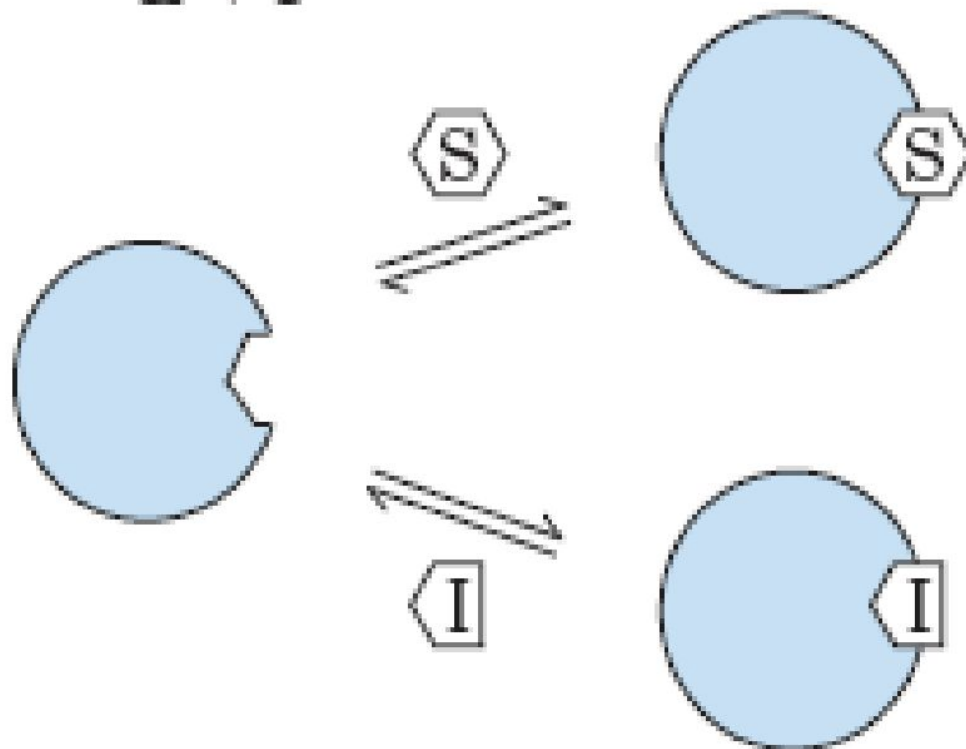
КОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ



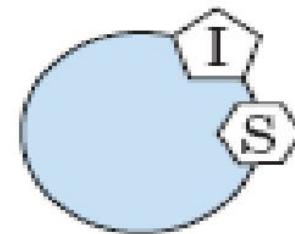
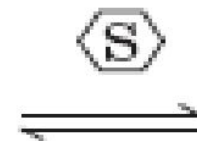
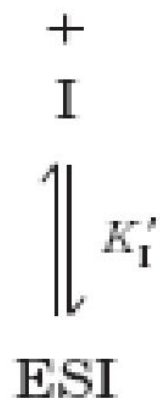
+
I

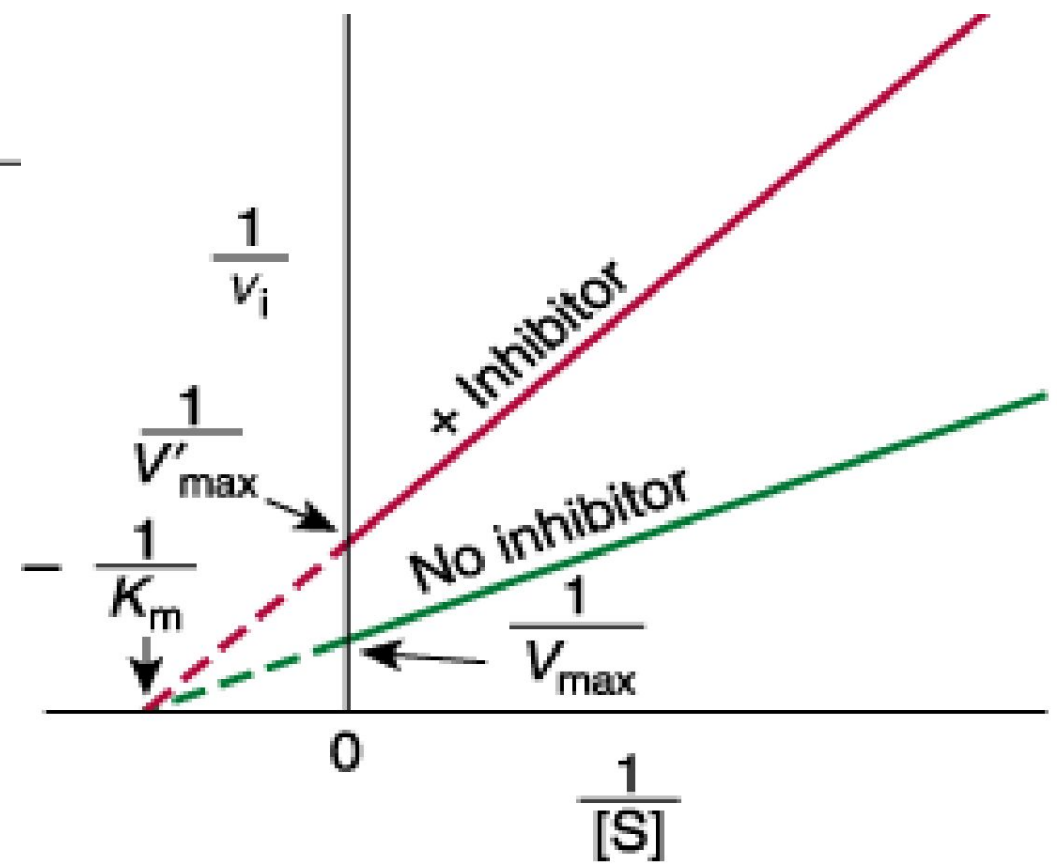
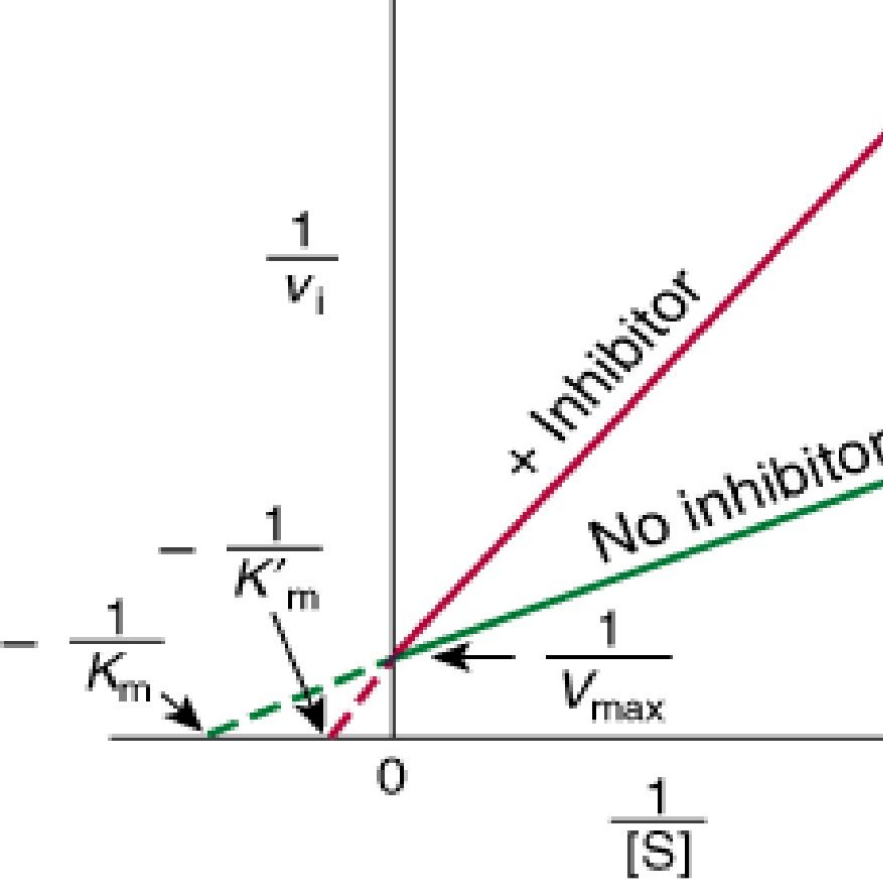


EI



НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ





Регуляция активности ферментов

- 1) Активация ферментов при присоединении регуляторных белков – **аденилатциклаза**
- 2) Изменение активности ферментов путем ассоциации / диссоциации протомеров - **протеинкиназа А**

3) Химическая модификация фермента

- Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования

фосфоорилаза

- Регуляция активности ферментов частичным протеолизом

пепсиноген - пепсин

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!