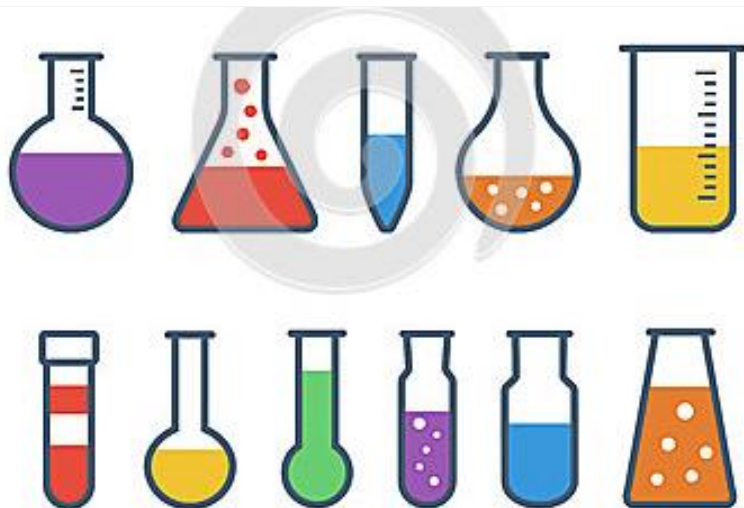


ФЕРМЕНТЫ-2



**Зав. кафедрой биохимии
профессор ЛЕЛЕВИЧ В.В.**

Ферментативная кинетика –

занимается исследованием закономерностей влияния химической природы реагирующих веществ (фермента, субстрата) и условий их взаимодействия (концентрация, pH, температура, присутствие активаторов или ингибиторов и др.) на скорость ферментативных реакций.

Главной целью изучения кинетики ферментативных реакций является получение информации, которая может способствовать пониманию механизма действия фермента.

Уравнение Михаэлиса-Ментен

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

K_m – константа Михаэлиса

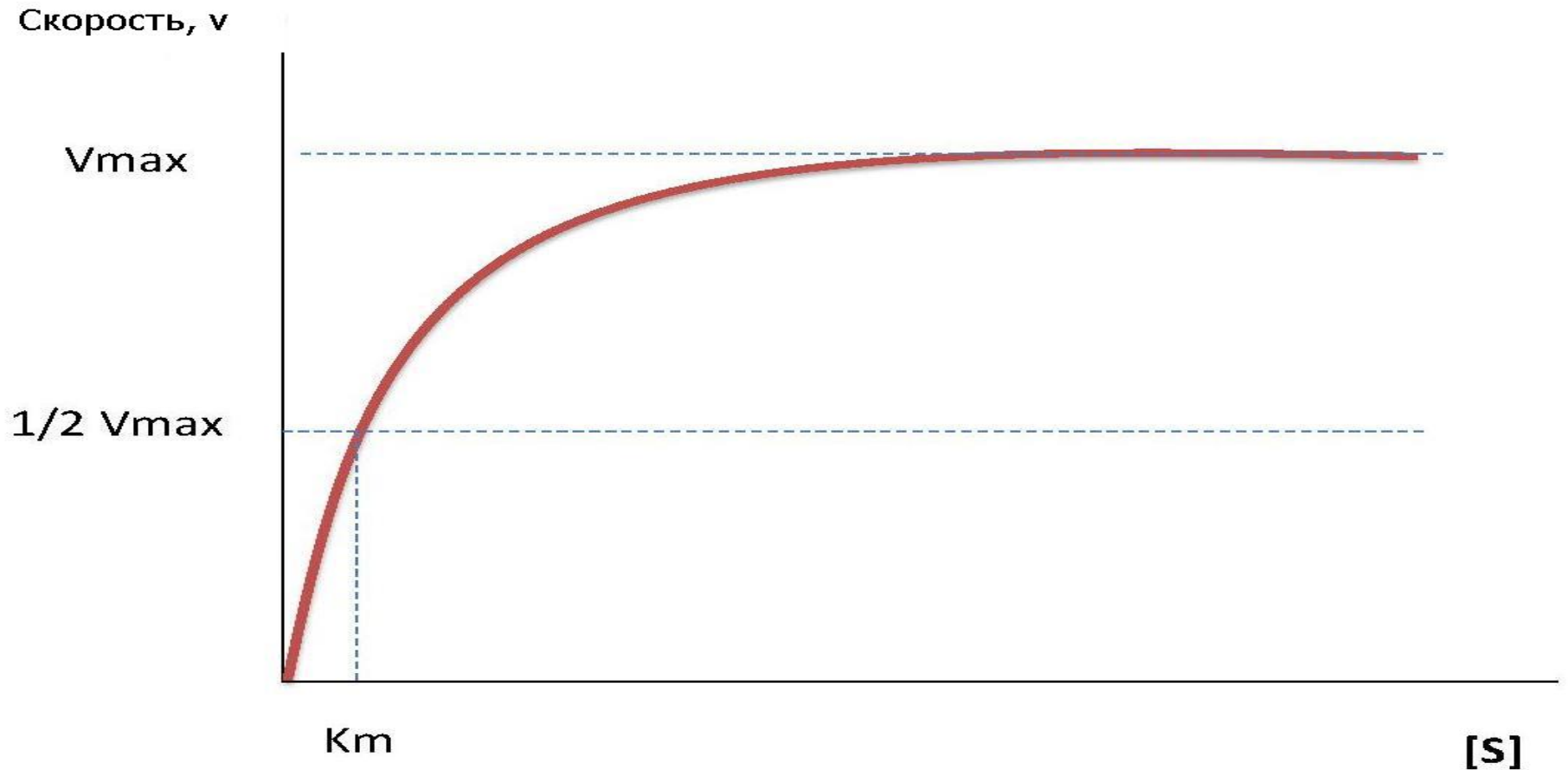
K_m численно равна концентрации субстрата (моль · л) при которой скорость данной ферментативной реакции составляет половину максимальной. Для большинства ферментов значения K_m лежат в пределах 10^{-2} – 10^{-5} М.

Уравнение Михаэлиса-Ментен

Уравнение Михаэлиса-Ментен было выведено исходя из предложения о том, что лимитирующей стадией ферментативной реакции является распад комплекса [ES] на продукт и свободный фермент.



Уравнение Михаэлиса-Ментен



Уравнение Лайнуивера Бэрка

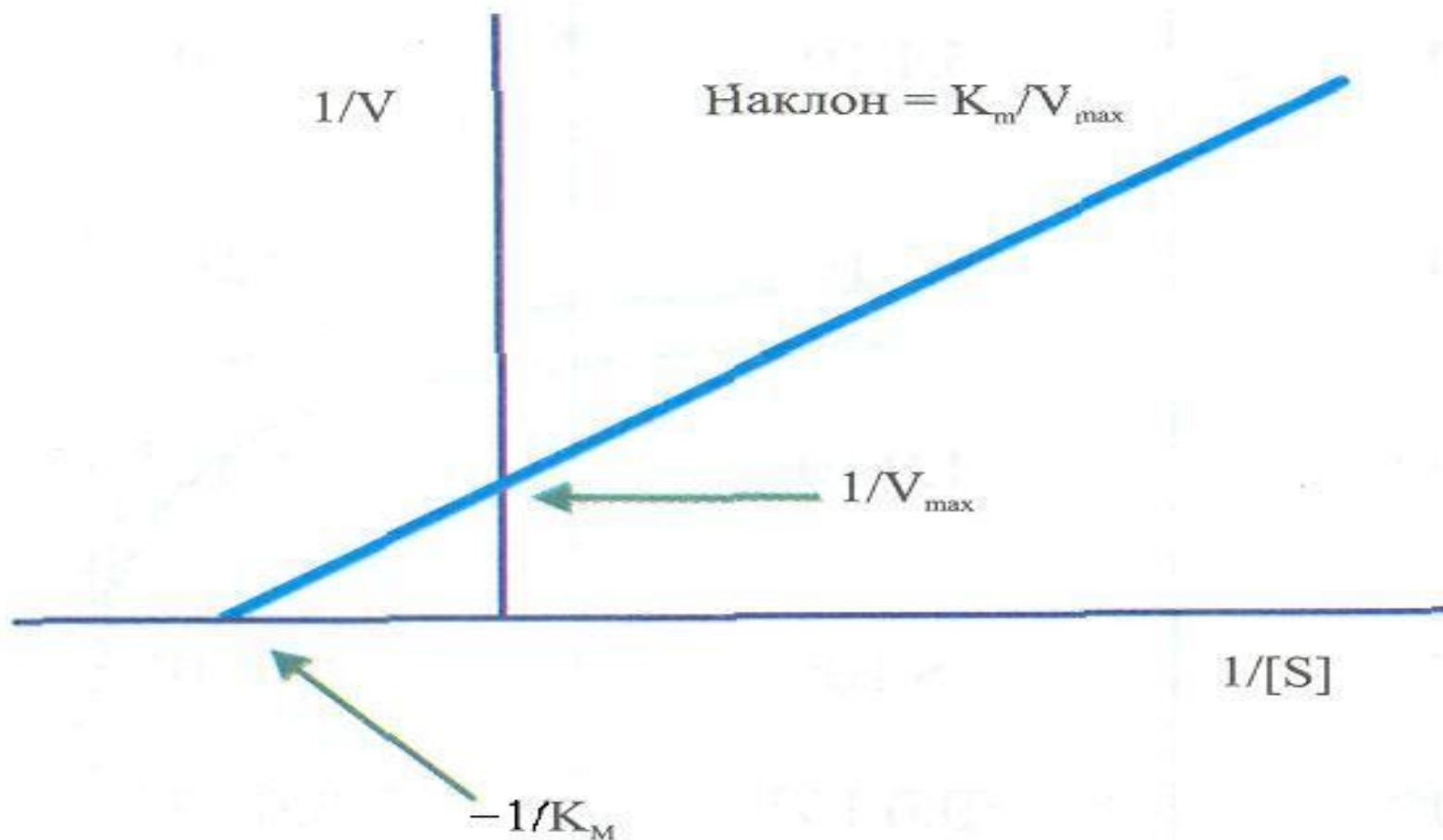
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Уравнение Лайнуивера-Бэрка получили в результате преобразования уравнения Михаэлиса-Ментен по методу двойных обратных величин.

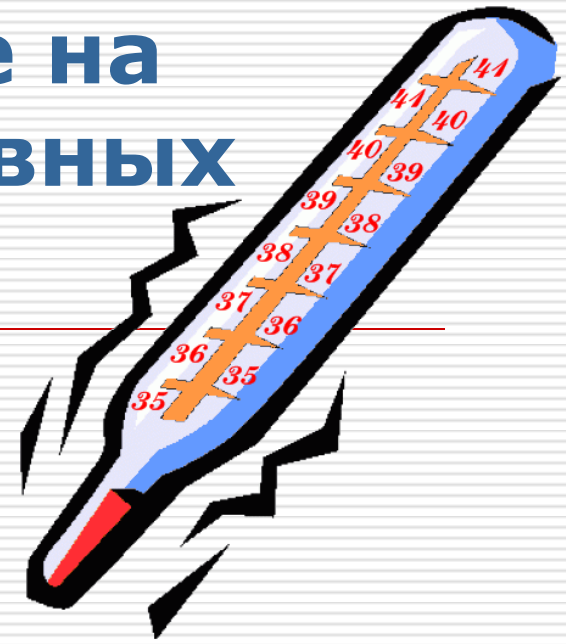
При пользовании графиком Михаэлиса-Ментен V_{\max} является

асимптотической величиной и определяется недостаточно точно.

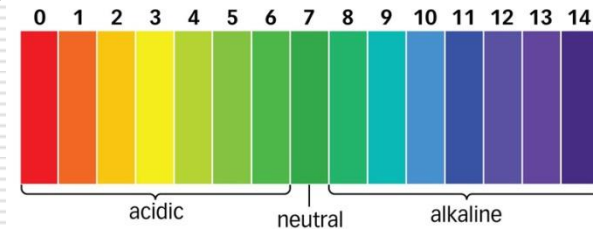
Уравнение Лайнуивера Бэрка



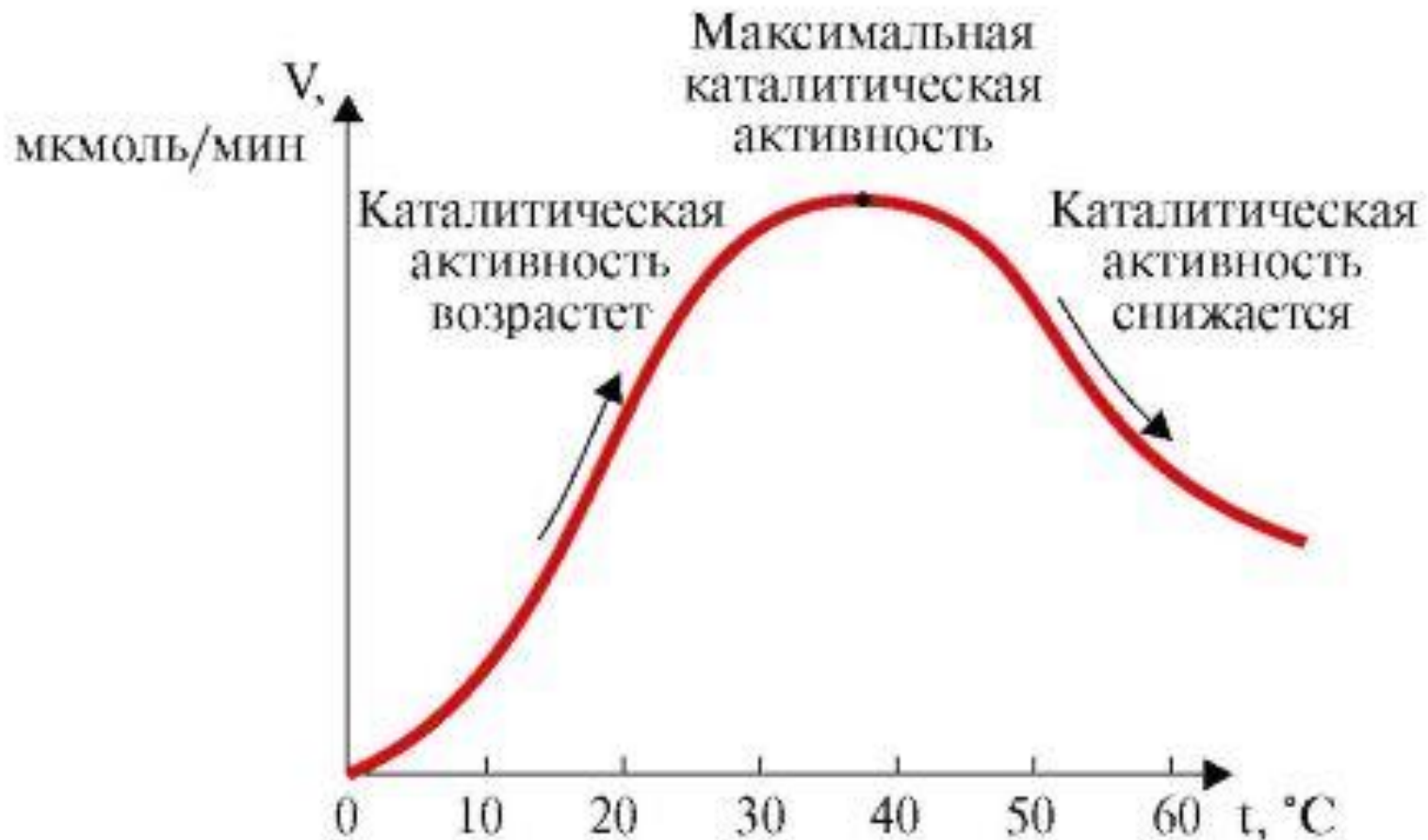
Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций:



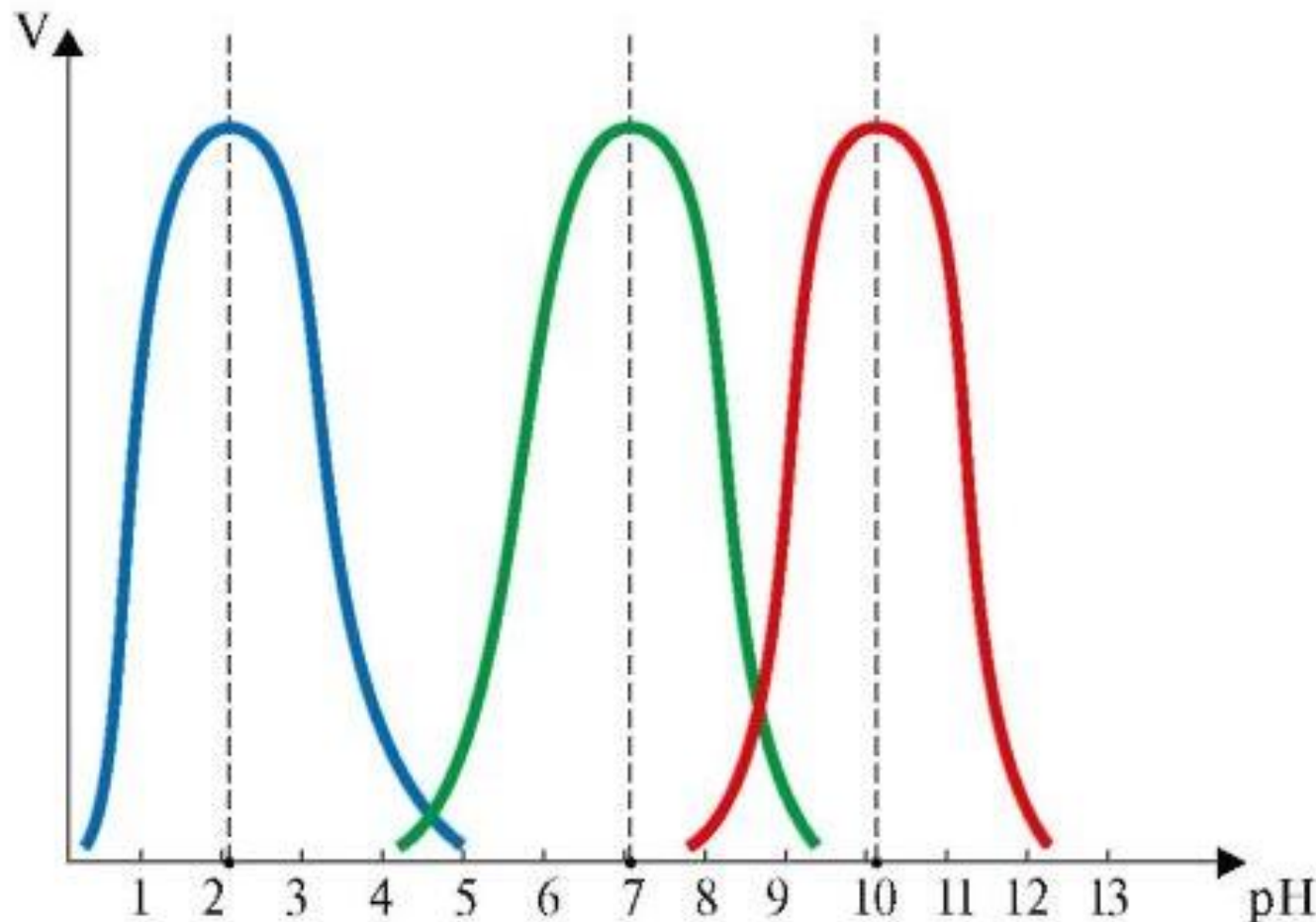
1. Температура
2. pH среды
3. Концентрация субстрата (уравнение Михаэлиса-Ментен)
4. Концентрация фермента
5. Концентрация продуктов реакции
6. Действие регуляторов (активаторы и ингибиторы)



Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры



Зависимость скорости ферментативной реакции от pH среды



пепсин

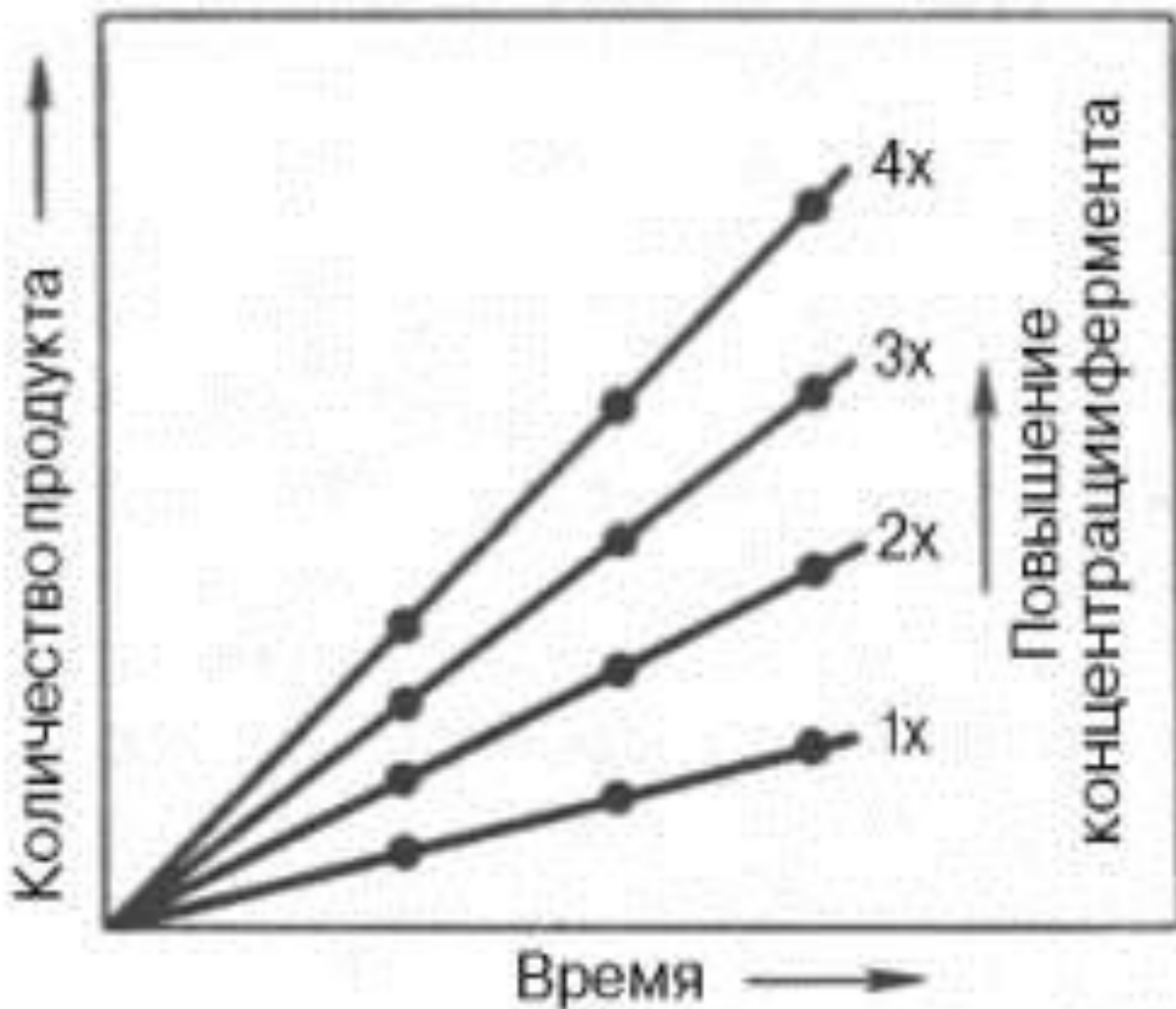
трипсин

Щелочная
фосфатаза

рН оптимум некоторых ферментов

Фермент	Оптимальное значение рН
Пепсин	1,5-2,0
Пируваткарбоксилаза	4,8
Уреаза	6,8-7,2
Трипсин	6,5-7,5
Аргиназа	9,5-9,9

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента



Специфичность действия ферментов

- ❑ Ферменты обладают более высокой специфичностью действия по сравнению с неорганическими катализаторами.
- ❑ Специфичность по отношению к субстрату – это предпочтительность фермента к субстрату определенной структуры.



Специфичность действия ферментов

Различают 4 вида субстратной специфичности:

- Абсолютная -**
 - глюкокиназа**
 - аргиназа**
 - уреаза**

 - Относительная -** **липаза**
 - Относительная групповая –**
 - пепсин**
 - химотрипсин**
 - трипсин**

 - Стереохимическая –**
 - аспартатдекарбоксилаза действует**
 - только на L-аспартат**
-

ИЗОФЕРМЕНТЫ –

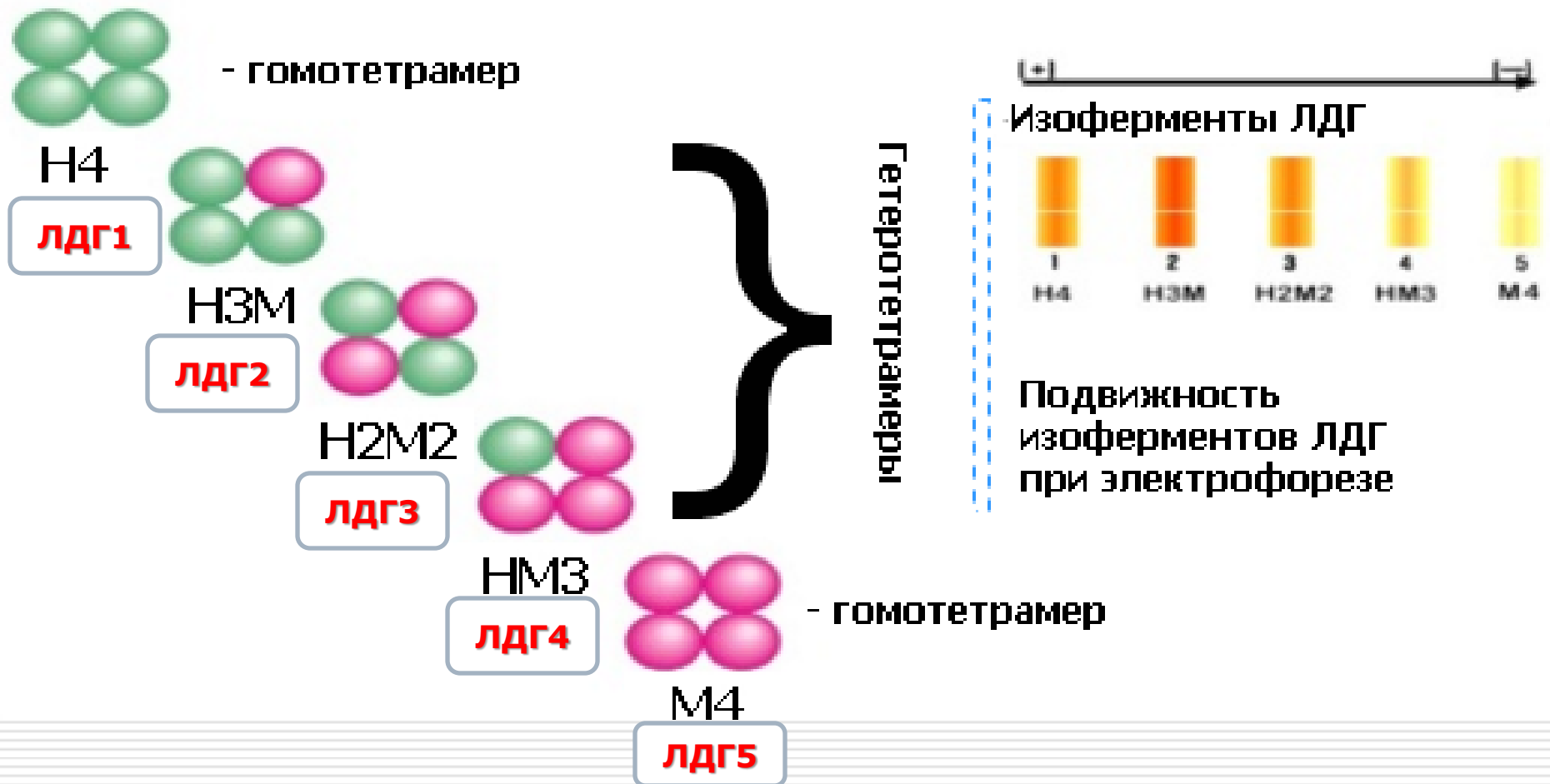


это ферменты, катализирующие одну и ту же химическую реакцию, но отличающиеся по первичной структуре белка, физико-химическим и каталитическим свойствам.

- ЛДГ1 – НННН ЛДГ2 – НННМ
ЛДГ3 – ННММ ЛДГ4 – НМММ ЛДГ5 –
ММММ**
 - ЛДГ1 и ЛДГ2 : миокард, почки**
 - ЛДГ4 и ЛДГ5 : скелетные мышцы, печень**
-

Пример изоферментов:

5 изоферментов ЛДГ



Благодаря изоферментам достигается:

- ❑ Особенности метаболизма в различных органах
 - ❑ Специализация метаболизма внутри клеток (цитоплазма, митохондрии, лизосомы)
 - ❑ Дифференцировка и развитие тканей в онтогенезе
 - ❑ Тонкая регуляция метаболизма
-

ЕДИНИЦЫ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

Международная единица – это то количество фермента, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 минуту.

- **КАТАЛ** – это то количество фермента, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 моля субстрата за 1 секунду.

$$1 \text{ катал} = 6 \cdot 10^7 \text{ МЕ}$$

- **Удельная активность** – равна числу МЕ ферментативной активности на 1 мг активного белка (или числу каталов на 1 кг активного белка).
 - **Молекулярная активность** – равна числу молекул субстрата, подвергающихся превращению 1 молекулой фермента за 1 минуту.
-

Способы регуляции активности ферментов

- 1. Изменение количества фермента**
- 2. Изменение каталитической эффективности фермента**
- 3. Изменение условий протекания реакции**



РЕГУЛЯЦИЯ КОЛИЧЕСТВА ФЕРМЕНТОВ

Конститутивные ферменты – являются обязательными компонентами клетки, синтезируются с постоянной скоростью в постоянных количествах.

Адаптивные ферменты – их образование зависит от определенных условий. Среди них выделяют индуцируемые и репресслируемые ферменты.

РЕГУЛЯЦИЯ КОЛИЧЕСТВА ФЕРМЕНТОВ

Индукцируемые – ферменты с катаболической функцией. Их образование может быть вызвано или ускорено субстратом данного фермента.

Репрессируемые – ферменты анаболической направленности. Ингибиторами их синтеза может быть конечный продукт данной реакции.

ИЗМЕНЕНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Активаторы могут повышать активность ферментов посредством разных механизмов:

- формируют активный центр фермента
 - облегчают образование [ES] комплекса
 - стабилизируют нативную структуру фермента
 - защищают функциональные группы активного центра
-

ТИПЫ ИНГИБИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ

□ **Неспецифическое**

□ **Специфическое:**

а) **необратимое**

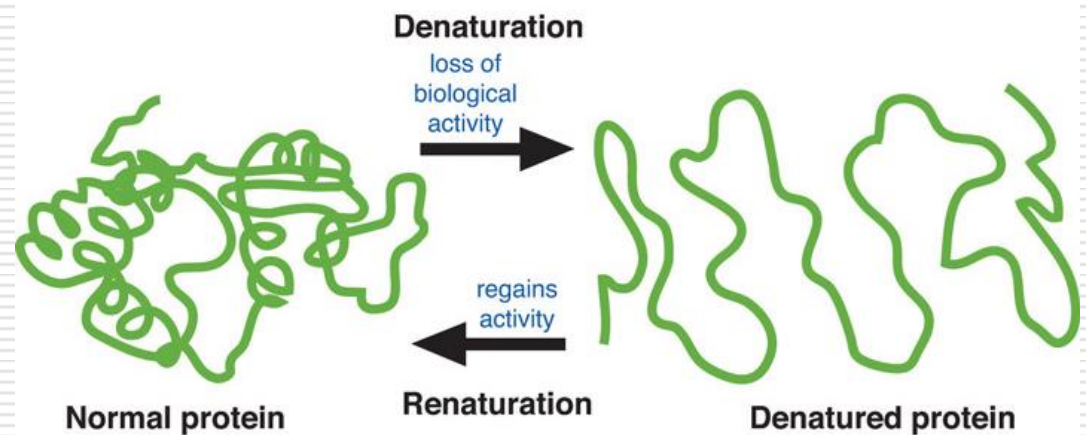
б) **обратимое:**

- **конкурентное**
- **неконкурентное**



Неспецифическое ингибирование

- Все факторы, вызывающие денатурацию белков, в том числе белков-ферментов (t° , кислоты, щелочи, органические вещества и др.)



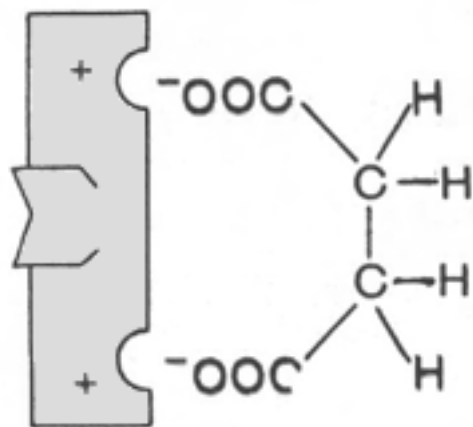
- Ацетат йода, монодуксусная кислота, П-хлормеркурибензоат – легко вступают в реакцию с любыми свободными **SH-группами** ферментов.

Необратимое ингибирование

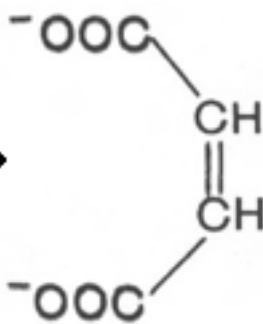
- ❑ Все факторы, вызывающие необратимую денатурацию белков-ферментов.
- ❑ При образовании ковалентных стабильных связей между ингибитором и ферментом (ионы тяжелых металлов – ртуть, серебро, мышьяк).
- ❑ Диизопропилфторфосфат (ДФФ) относится к специфическим необратимым ингибиторам «сериновых» ферментов – специфически реагирует лишь с одним из многих остатков серина в активном центре фермента.

Пример конкурентного ингибирования

Сукцинат-дегидрогеназа

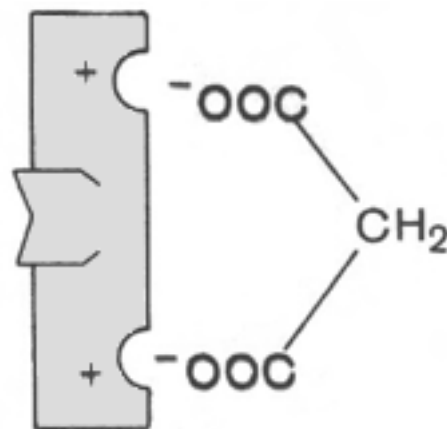


Сукцинат



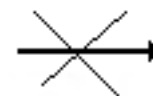
Фумарат

Сукцинат-дегидрогеназа

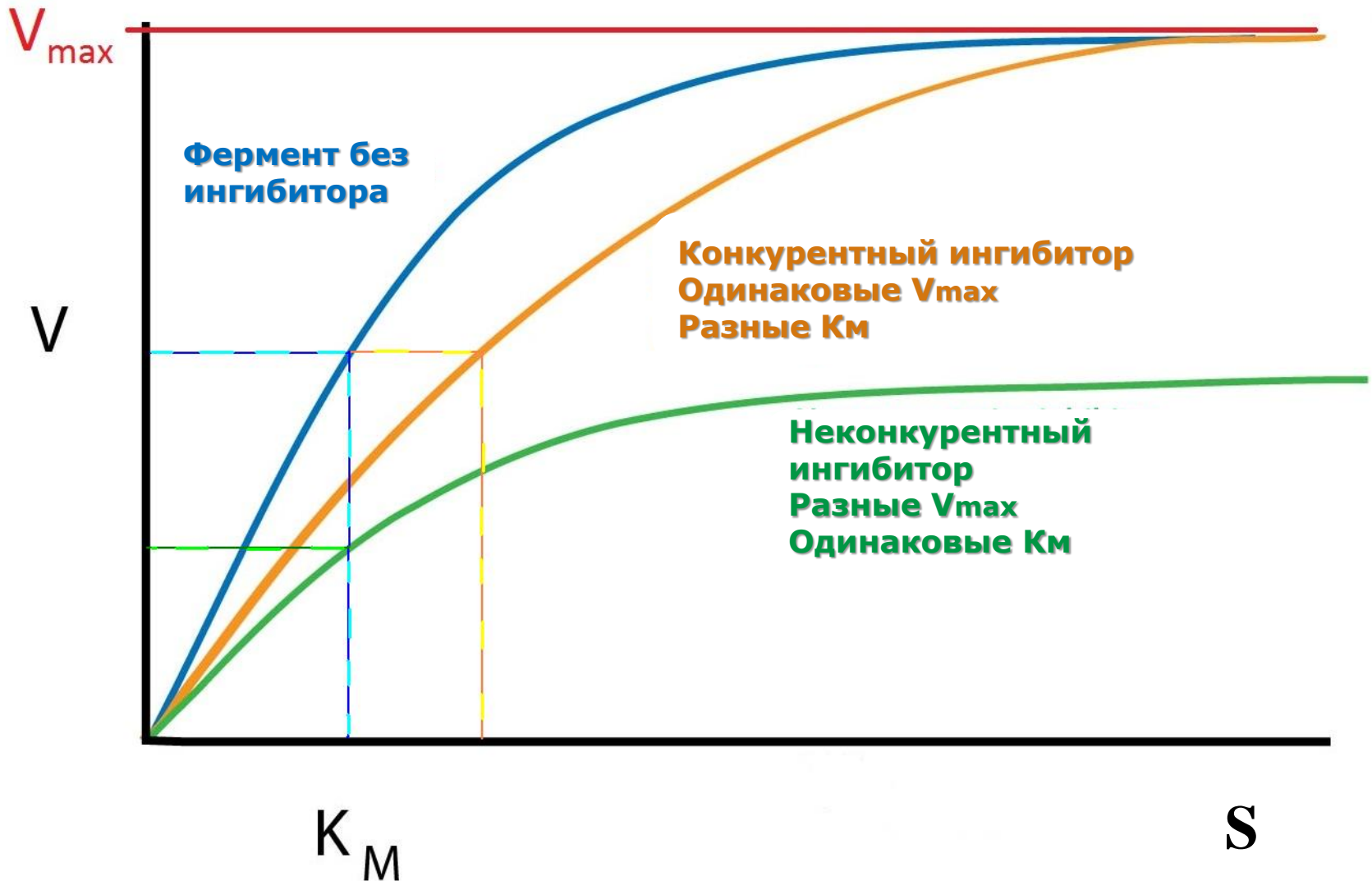


Малонат

Реакция не идет



Конкурентное и неконкурентное ингибирование



ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ – ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

I Необратимое ингибирование

Аспирин – ингибирует **циклооксигеназу**, катализирующую образование простагландинов из **арахидоновой кислоты**.

II Конкурентное ингибирование

Ингибиторы холинэстеразы (Холинэстераза вызывает гидролиз ацетилхолина на холин и уксусную кислоту):

- Прозерин
- Эндروفоний

III Антиметаболиты

- Сульфаниламиды
- 6-меркаптопурин
- 5-фторурацил



A close-up photograph of a laboratory experiment. A glass pipette is positioned above a row of test tubes, dispensing a clear liquid into them. The test tubes contain varying levels of blue liquid. In the background, a conical flask with orange liquid and a test tube with purple liquid are visible, though out of focus. The scene is brightly lit, creating a clean and professional atmosphere.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!