

ФЕРМЕНТЫ-2

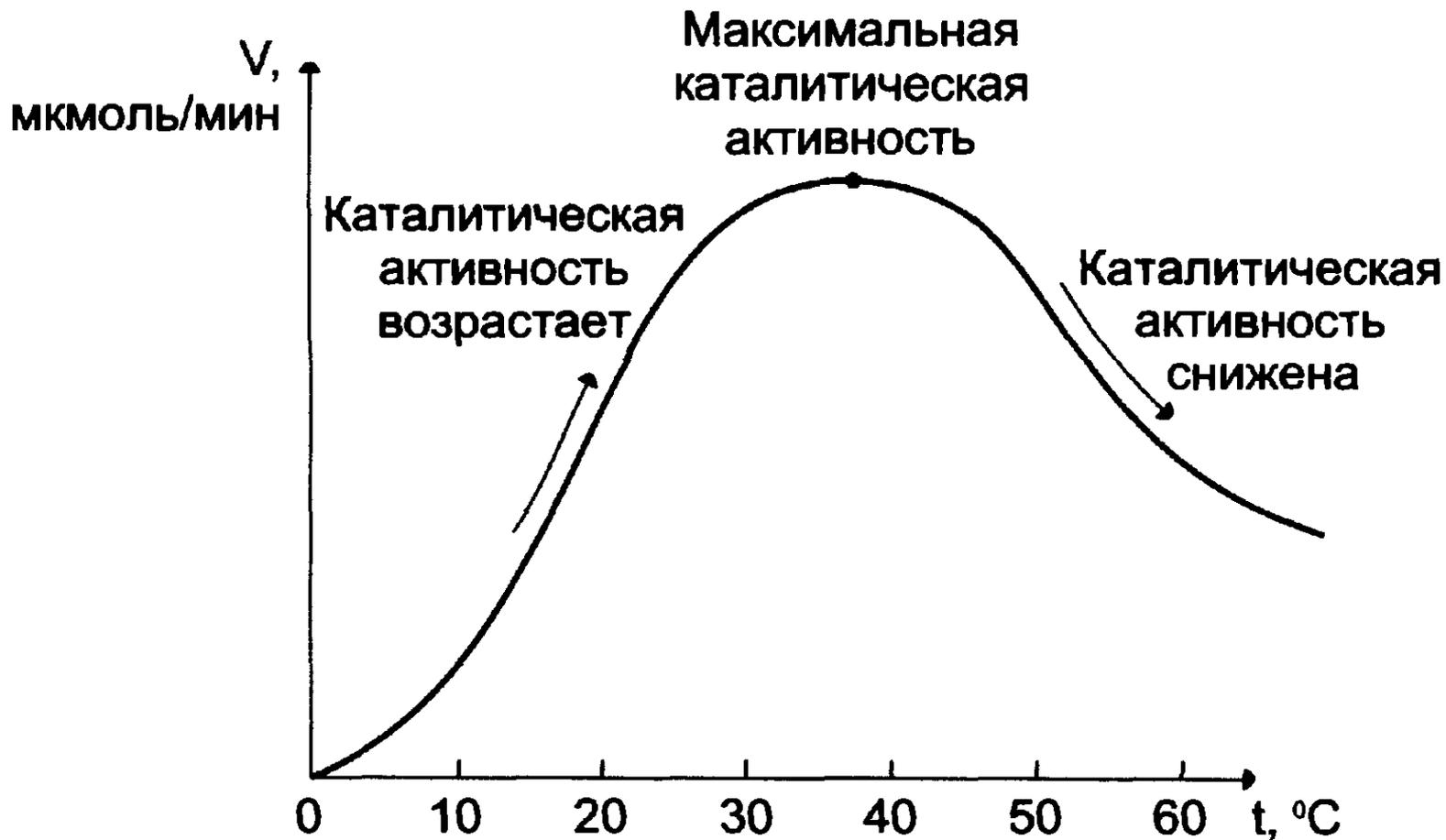
Наумов А.В.

Кинетика ферментативных реакций

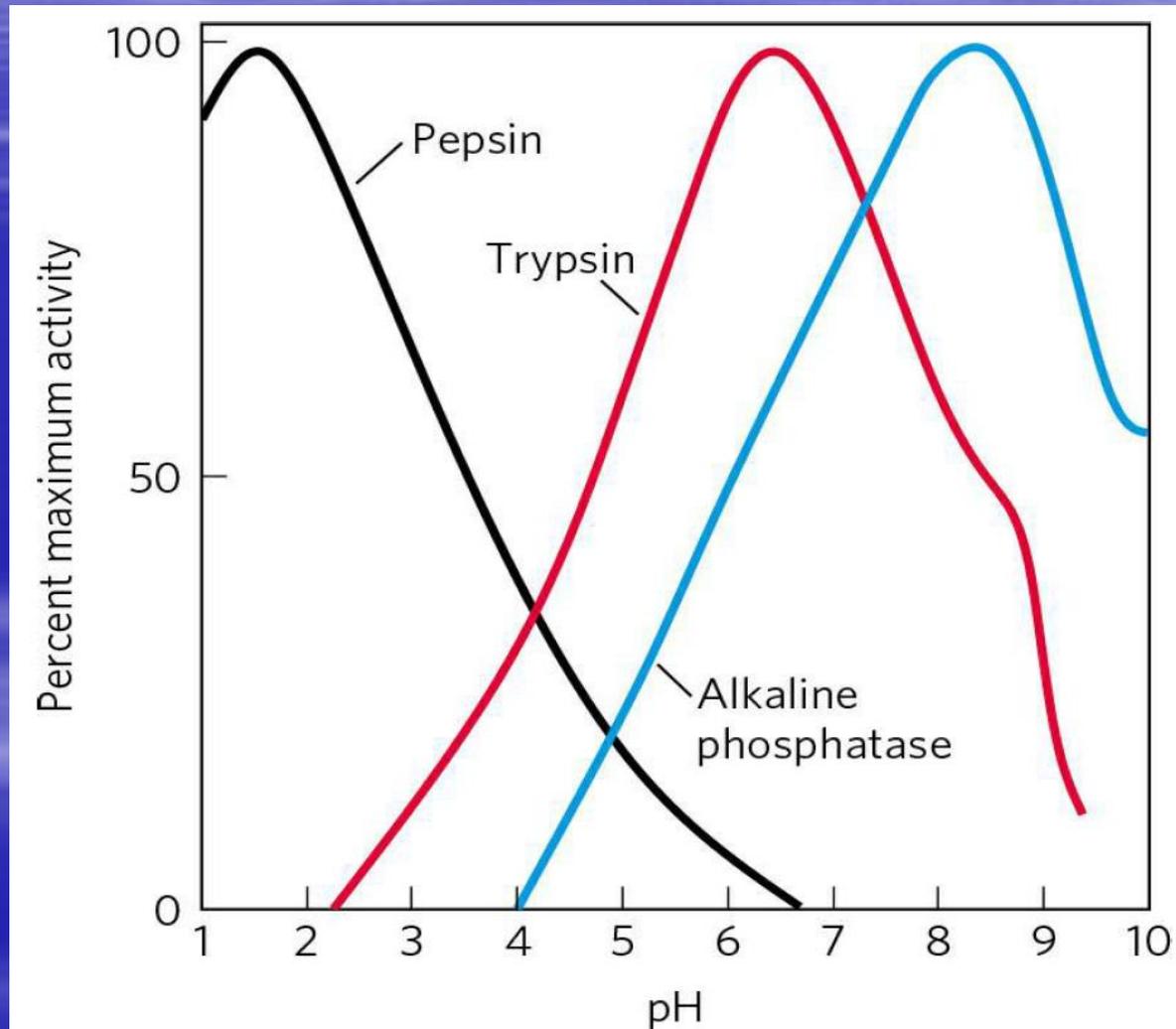
Кинетика – изучает скорость химической реакции и её зависимость от различных факторов

- t° ,
- pH,
- присутствия активаторов, ингибиторов.

Особенности ферментативного катализа - t°



Особенности ферментативного катализа - pH

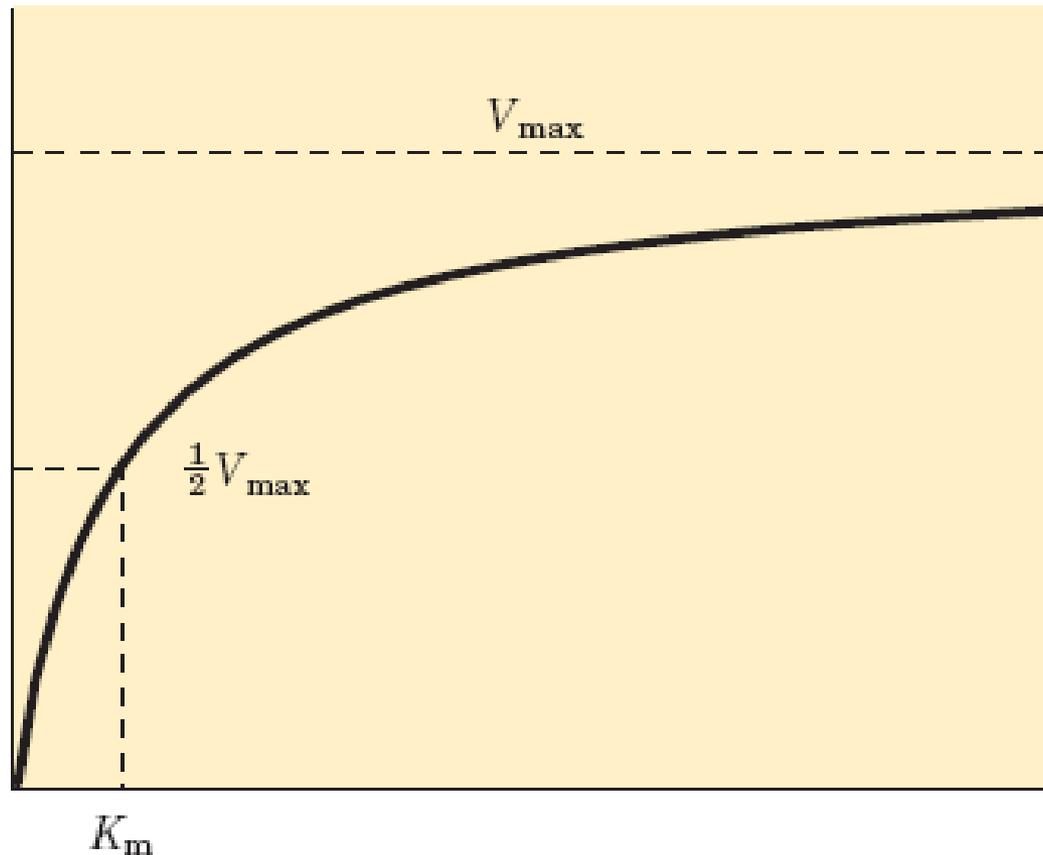


Особенности ферментативного катализа – [E]



Кинетика ферментативных реакций

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата



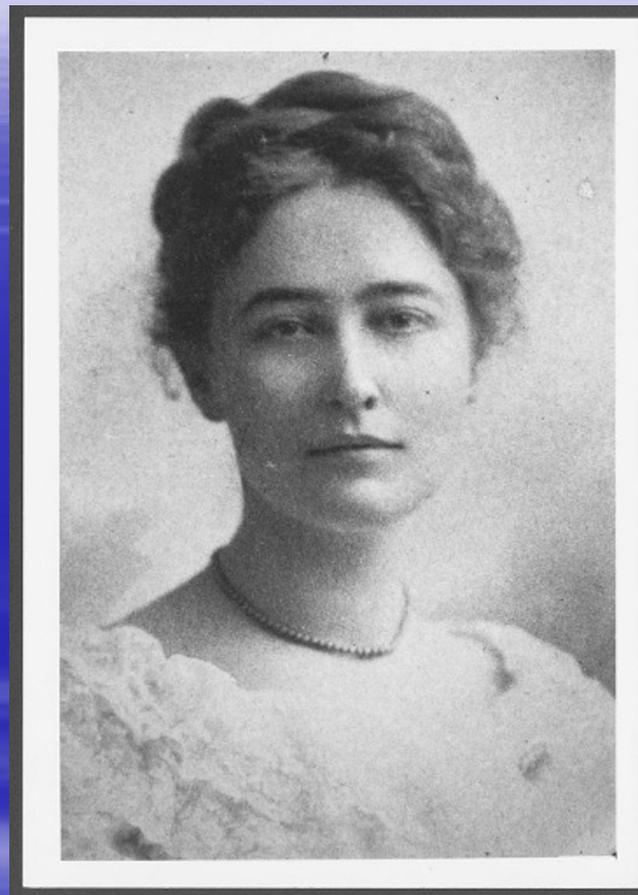
Кинетика ферментативных реакций

Уравнение Михаэлиса – Ментен

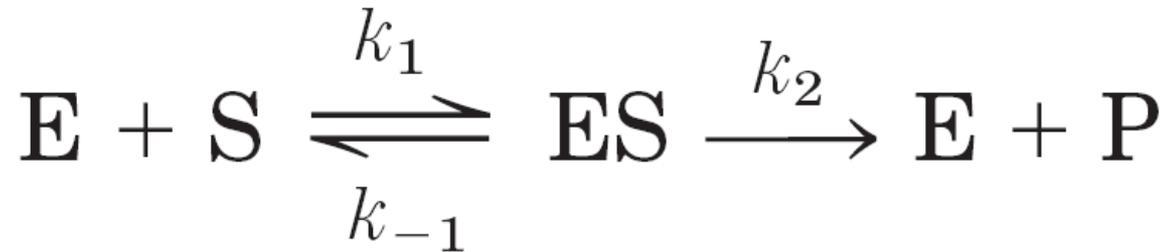
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$



Л. Михаэлис



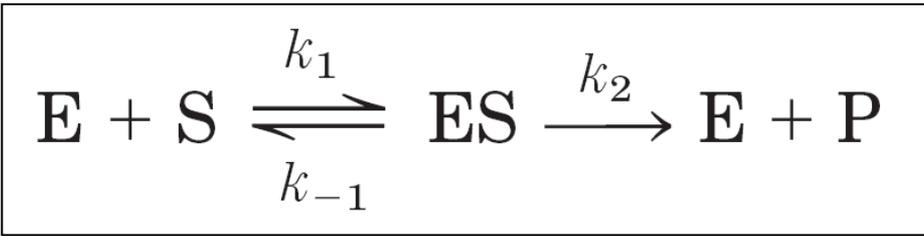
М. Ментен



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

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

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



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

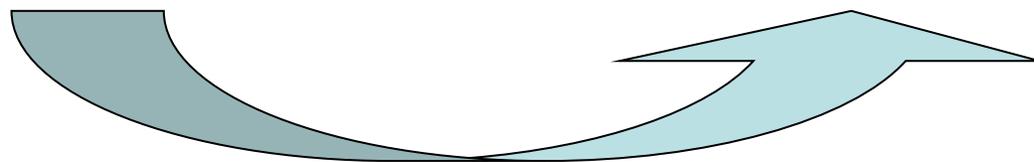
(Распад) $\text{ES} = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}]$

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

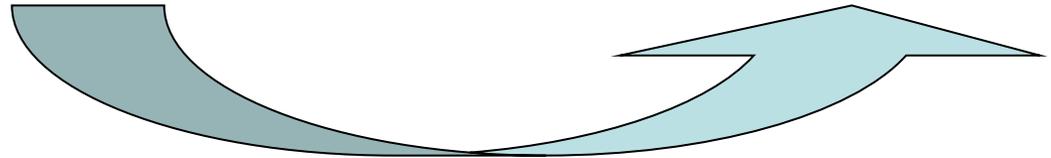
(Распад) $ES = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$

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

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



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



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

Решаем уравнение относительно [ES]:

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

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

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

**если знаменатель
/K₁**

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

Соотношение суммы констант скорости распада
к константе скорости синтеза

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

получило название
константа Михаэлиса

K_m

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

так как $V_0 = k_2[ES]$

подставляем значение $[ES]$

$$V_0 = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

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:

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

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

$$K_m = [S]$$

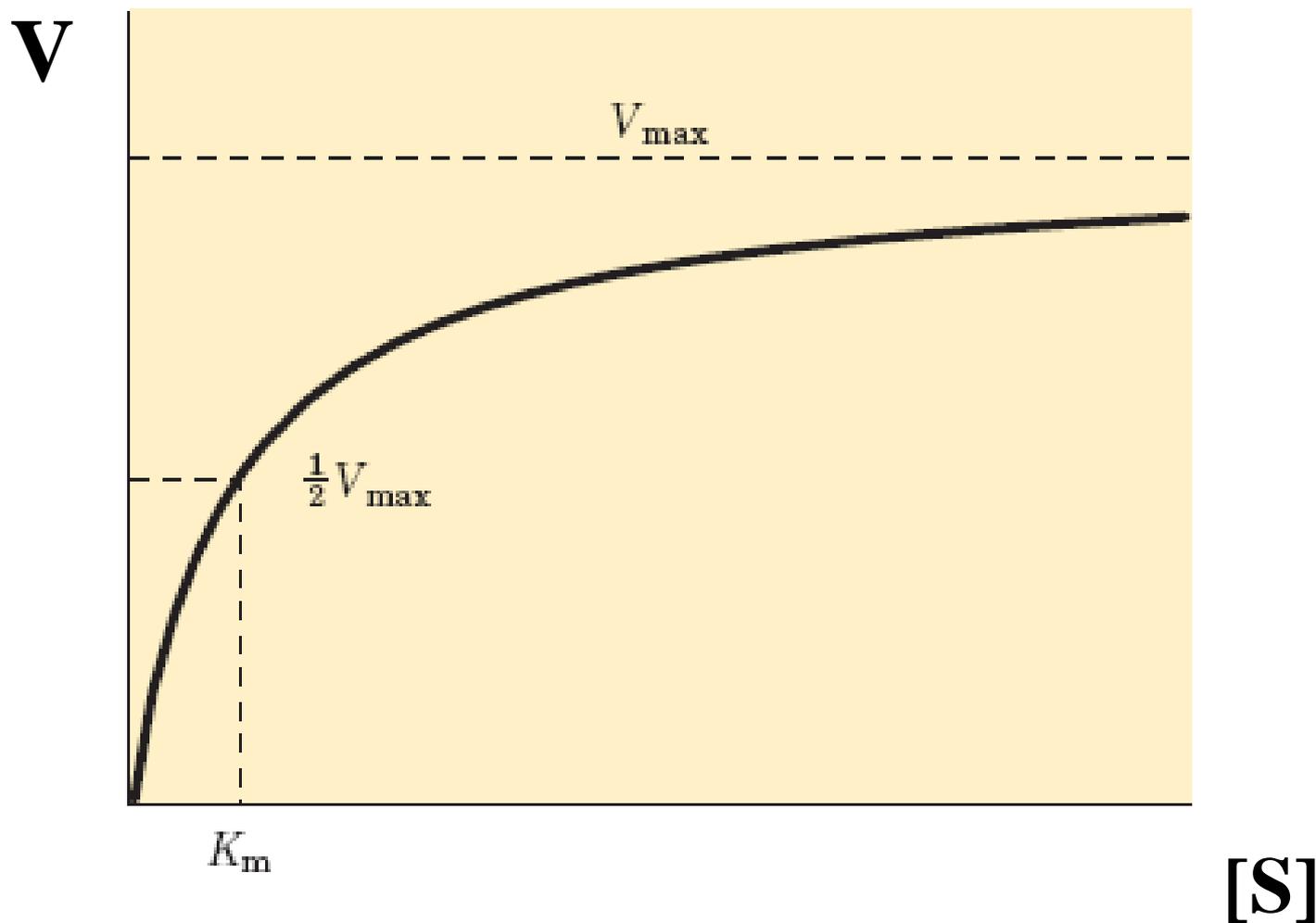
$$K_m = [S]$$

Константа Михаэлиса

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

K_m характеризует **сродство** субстрата к ферменту

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата



Уравнение Лайнвивер-Бэрка (Lineweaver-Burk).

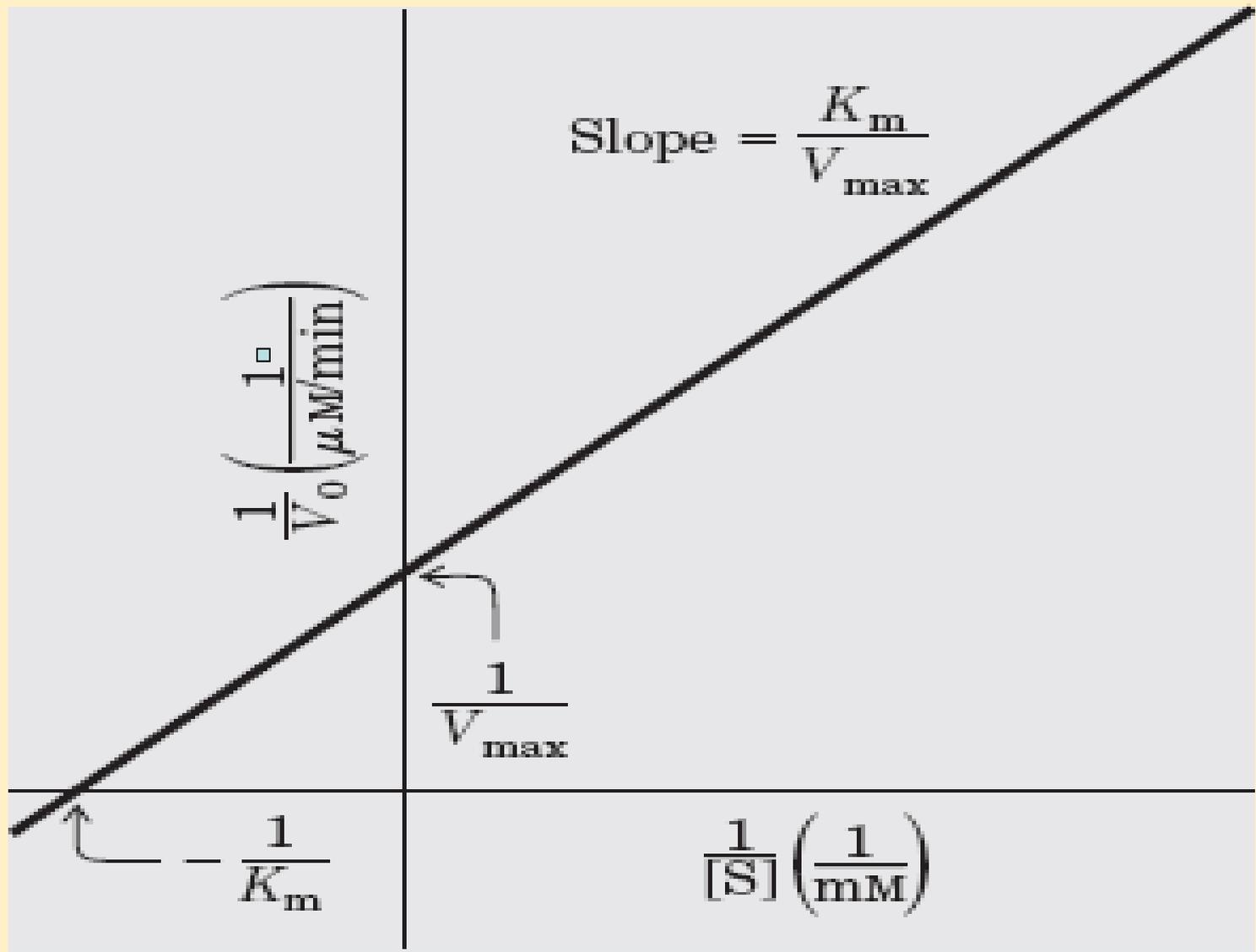
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

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

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

Уравнение и график Лайнвивера-Берка

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



Активаторы и ингибиторы ферментов

Активаторы ферментов

- Повышают ферментативную активность путём изменения **конформации** 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,**
- ЩЁЛОЧИ,**
- СОЛИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ.**

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ

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.

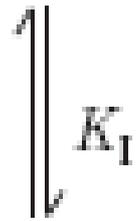
Обратимые ингибиторы бывают:

- **конкурентными**
- **неконкурентными.**

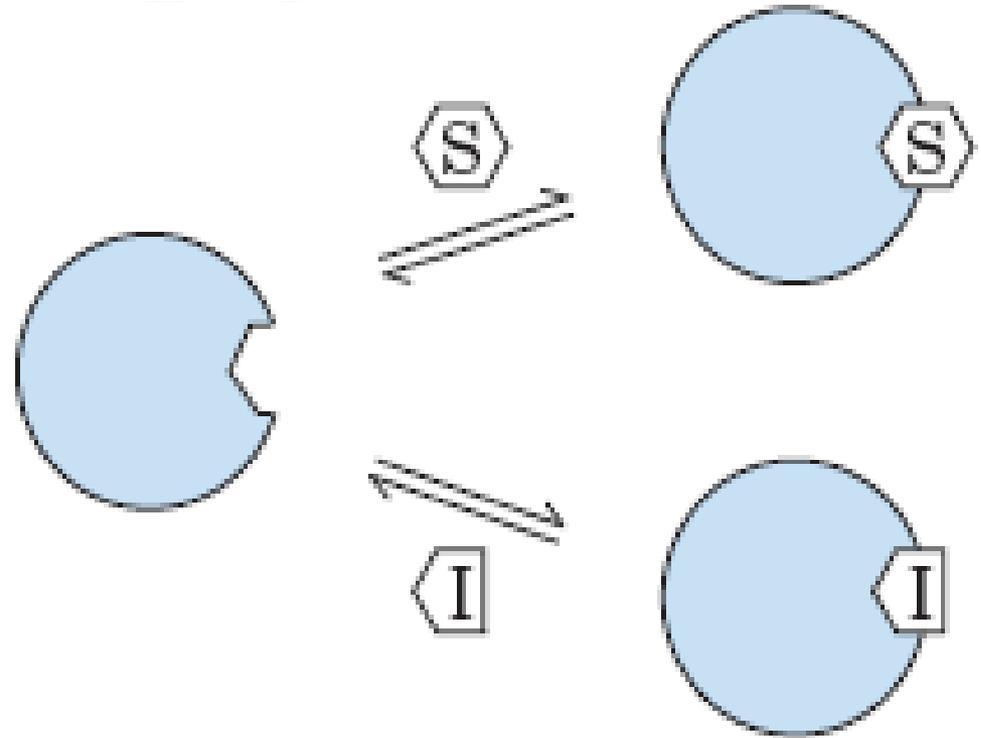
КОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ



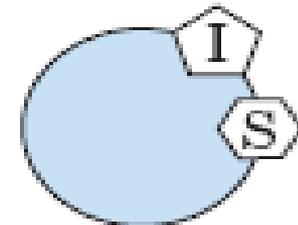
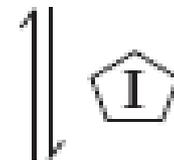
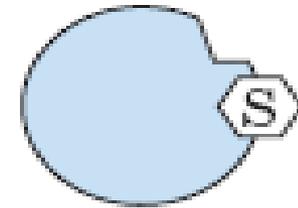
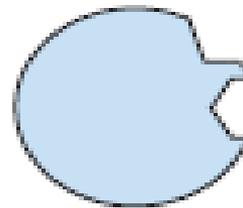
+
I

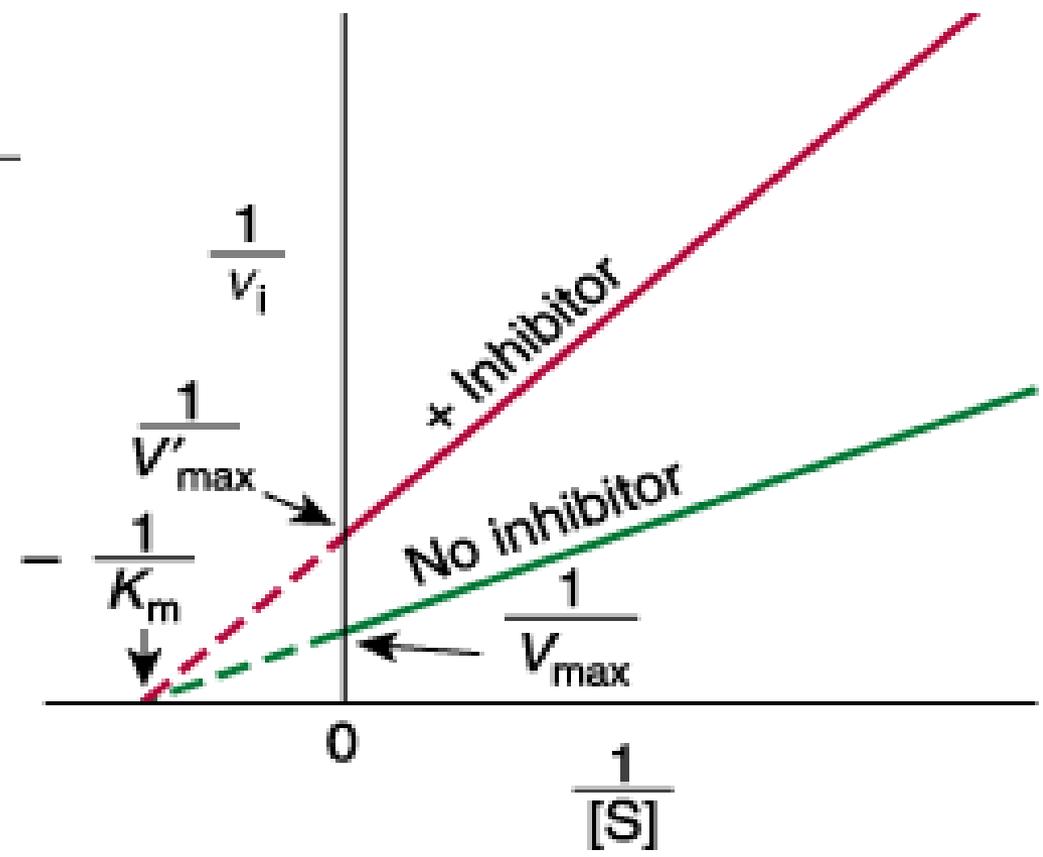
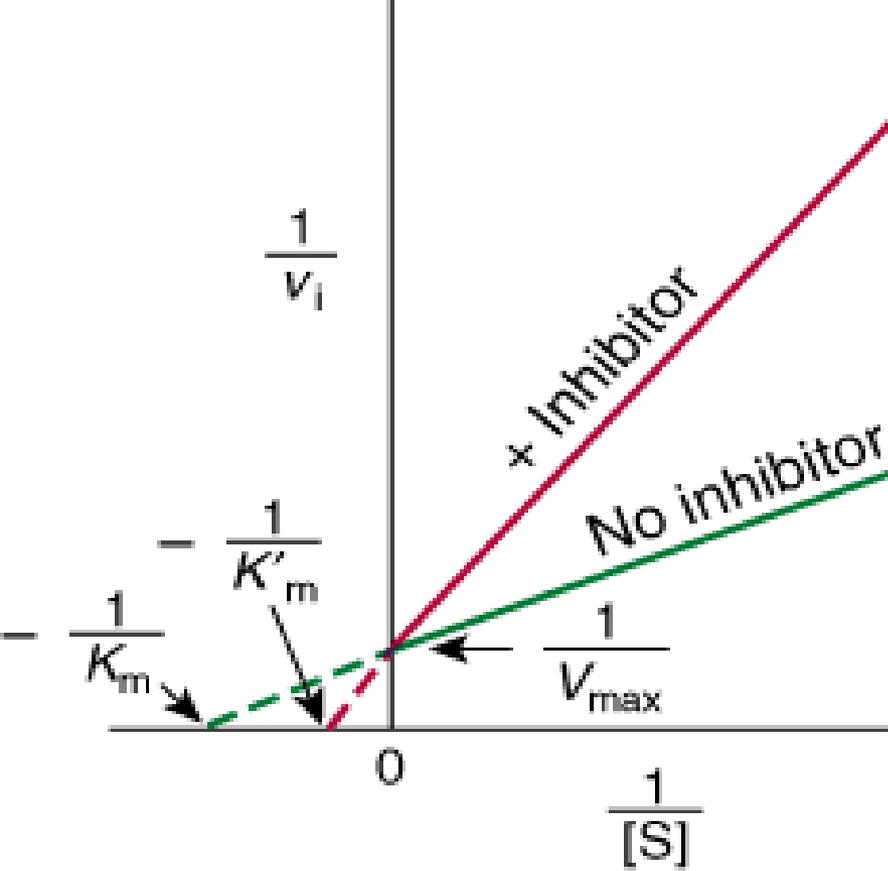


EI



НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ





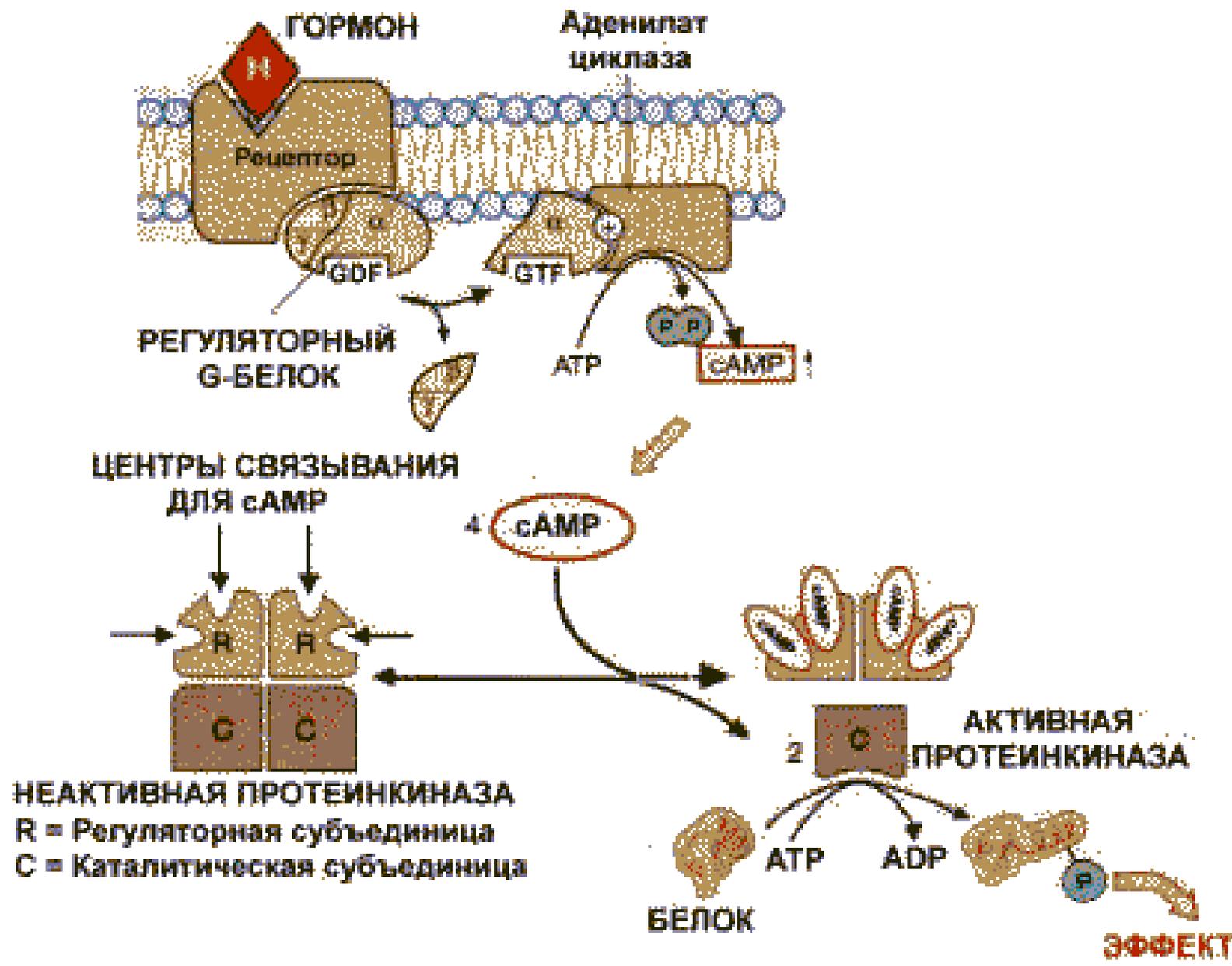
Регуляция активности ферментов

- регуляторные белки
- ассоциации / диссоциации протомеров
- химическая модификация
- частичный протеолиз

Регуляция активности ферментов

- 1) Активация ферментов при присоединении регуляторных белков –

аденилатциклаза



Регуляция активности ферментов

- 2) Изменение активности ферментов путем ассоциации / диссоциации протомеров -
протеинкиназа А

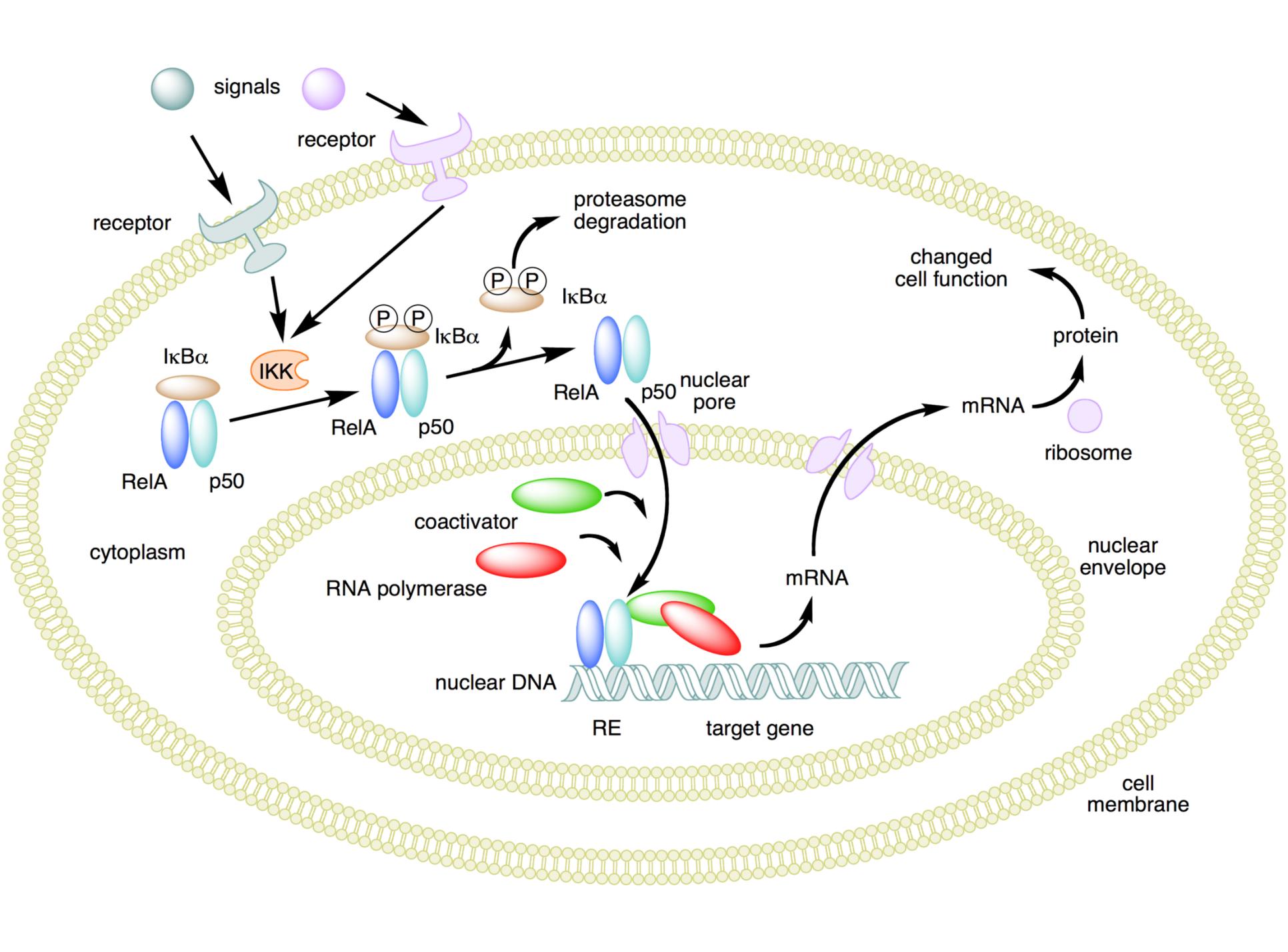
Транскрипционный фактор NF-κB (ядерный фактор «каппа-Б»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

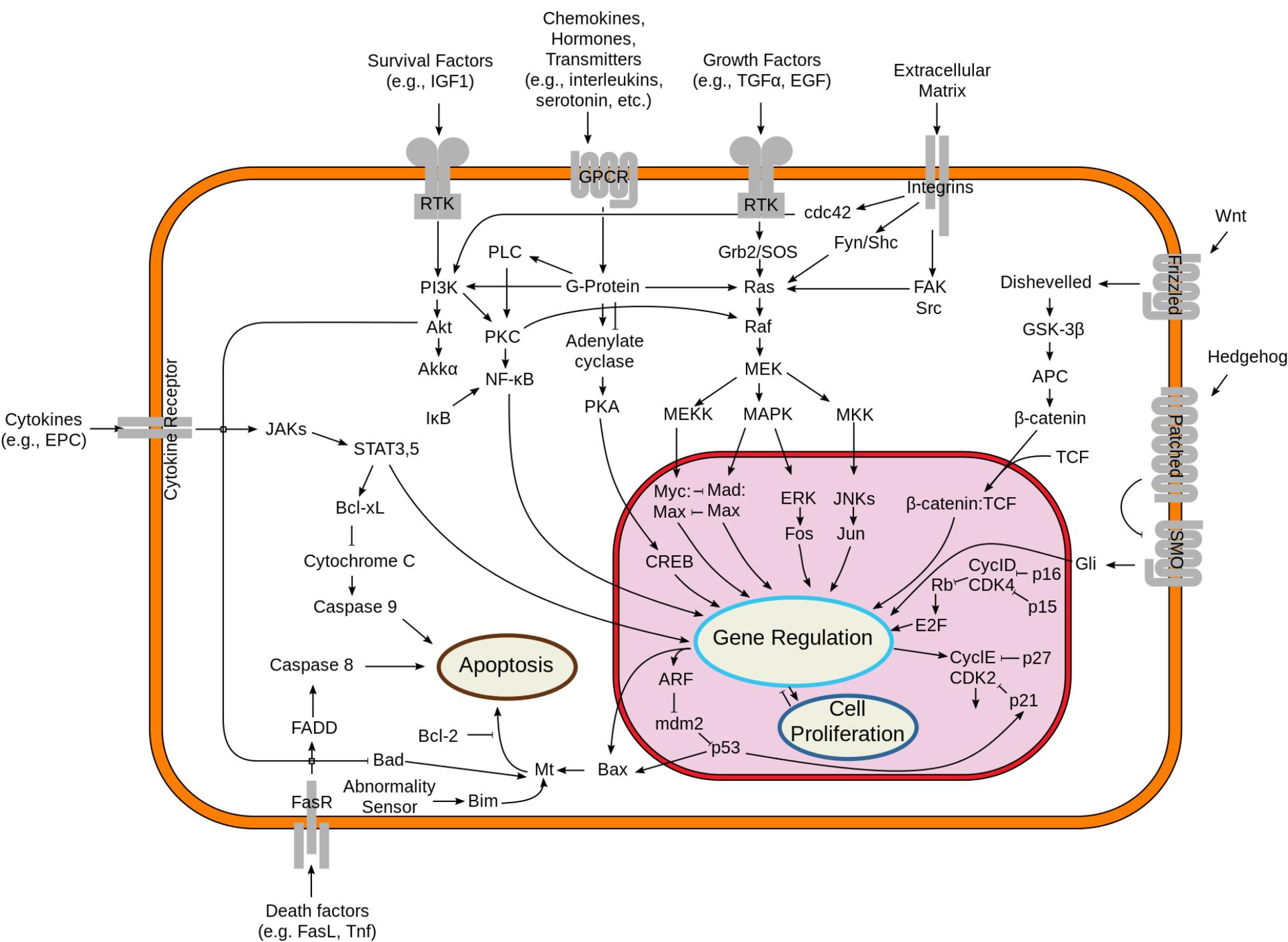
— универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов:

- иммунного ответа,
- апоптоза
- клеточного цикла.

Нарушение регуляции **NF-κB** вызывает:

- воспаление,
- аутоиммунные заболевания,
- развитие вирусных инфекций,
- рака.

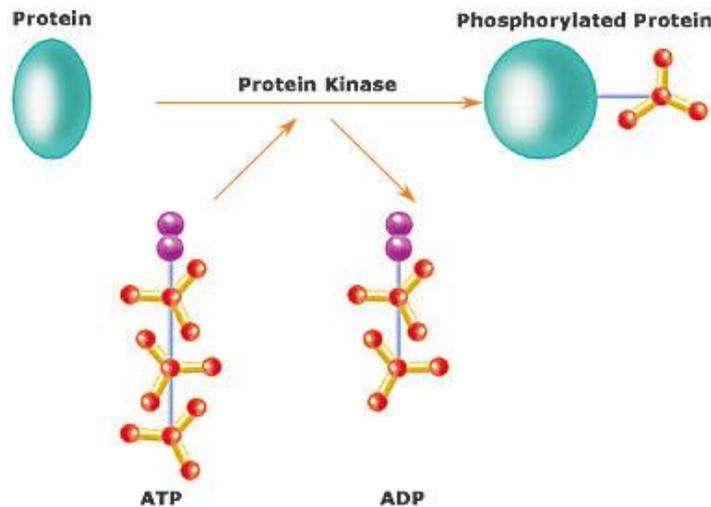


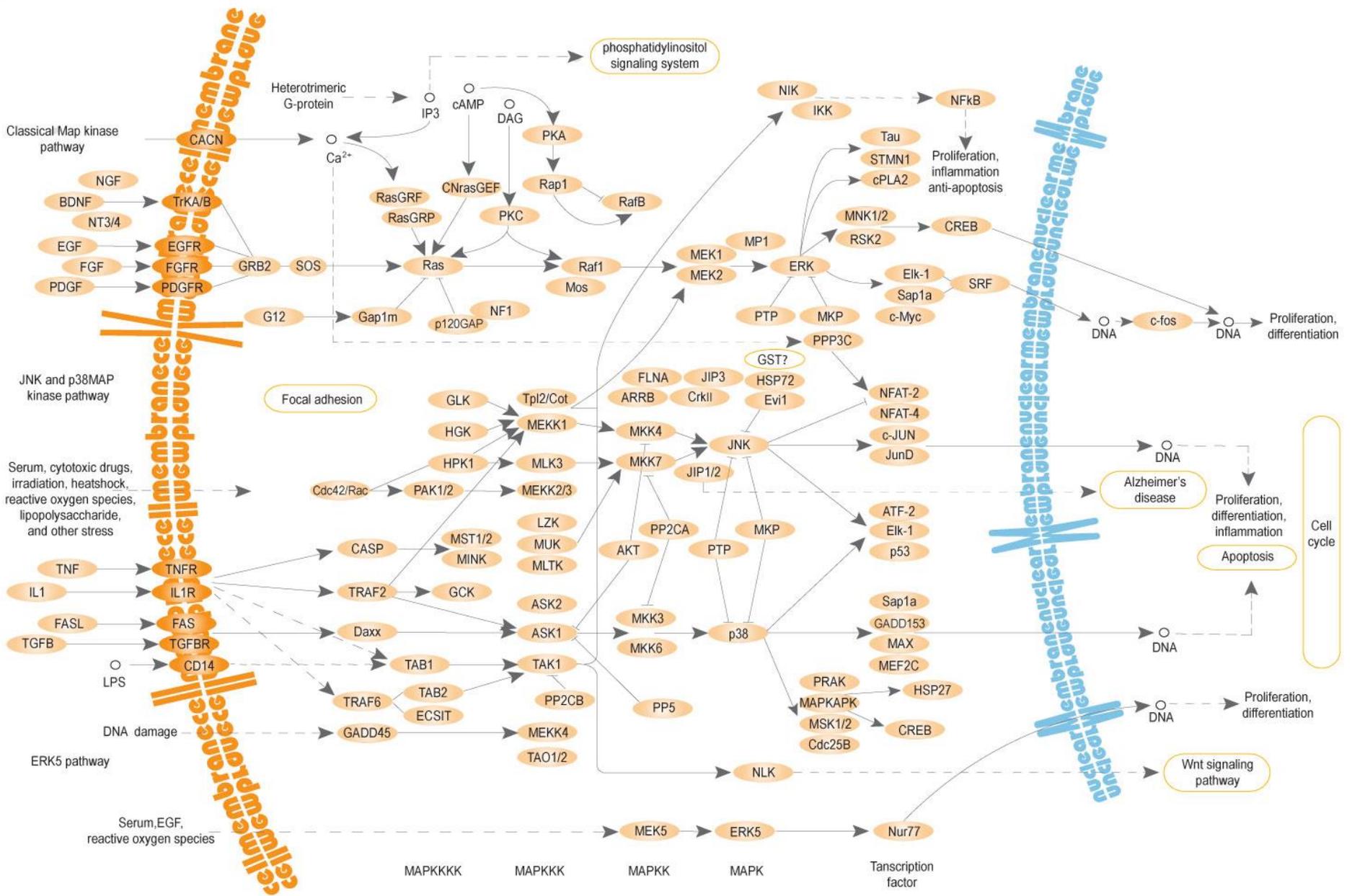


3) Химическая модификация фермента

- Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования/дефосфорилирования

протеинкиназы, фосфоорилазы





Classical Map kinase pathway

JNK and p38MAP kinase pathway

Serum, cytotoxic drugs, irradiation, heatshock, reactive oxygen species, lipopolysaccharide, and other stress

ERK5 pathway

Serum, EGF, reactive oxygen species

phosphatidylinositol signaling system

Focal adhesion

Alzheimer's disease

Proliferation, differentiation, inflammation

Apoptosis

DNA

DNA

DNA

Proliferation, differentiation

Wnt signaling pathway

Cell cycle

MAPKKK MAPKKK MAPKK MAPK Transcription factor

- Регуляция активности ферментов
частичным протеолизом

пепсиноген - пепсин

трипсиноген - трипсин

**ангиотензиноген - ангиотензин I -
ангиотензин II.**

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!