



РЕГУЛЯЦИЯ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция

Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция

Регуляция

Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Регуляция транскрипции гена
фермента**



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Регуляция транскрипции гена
фермента**

**Регуляция трансляции гена
фермента с мРНК**



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

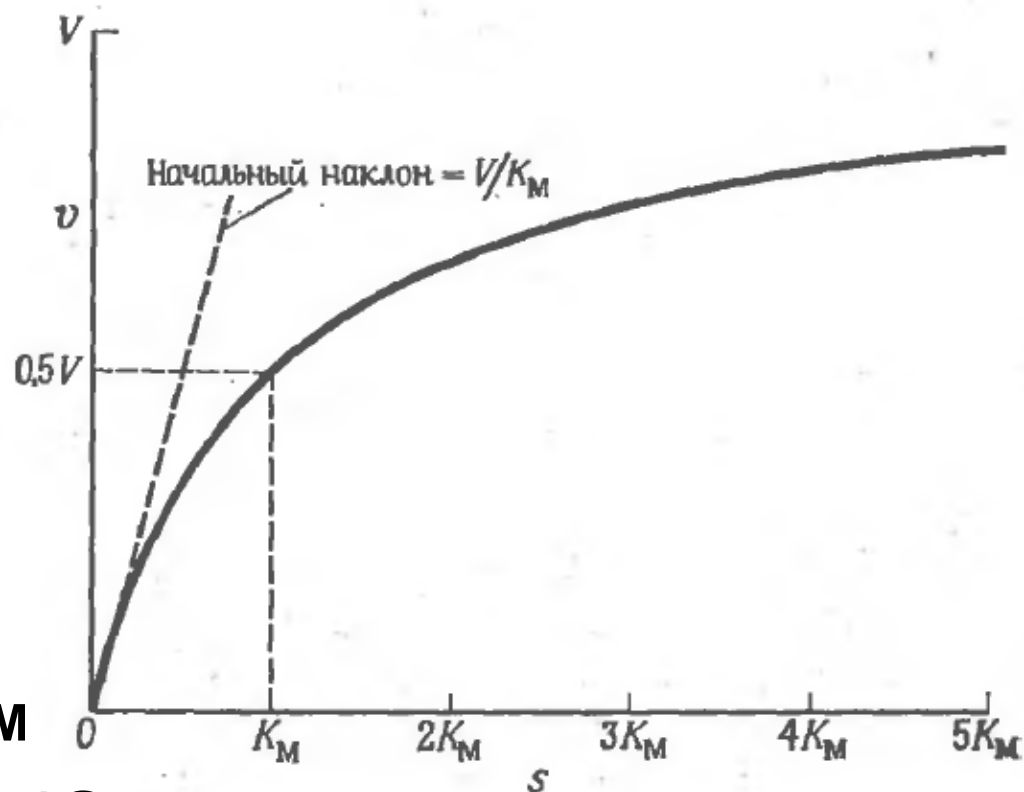
**Регуляция транскрипции гена
фермента**

**Регуляция трансляции гена фермента
с мРНК**

**Регуляция активности
фермента**

Регуляция активности фермента.

1. Концентрация субстрата



$$S_0 \ll K_M$$

$$v = V_{\max} / K_M * S_0$$

$$S_0 \gg K_M$$
$$v = V_{\max}$$

$$v = V_{\max} * S_0 / (K_M + S_0)$$



РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА

$$v = dP/dt = f([E]_0, [S]_0, [X (I)]_0, pH, T, \dots(\epsilon, \mu\dots)\dots t)$$

- ИНГИБИРОВАНИЕ
- pH – ЗАВИСИМОСТИ
- ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ



Ингибирование ферментов

■ ОБРАТИМЫЕ

- КОНКУРЕНТНЫЕ
- НЕКОНКУРЕНТНЫЕ
- БЕСКОНКУРЕНТНЫЕ

■ НЕОБРАТИМЫЕ

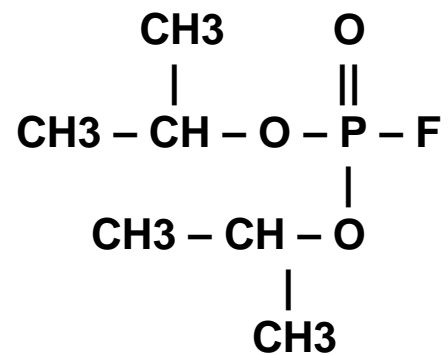
- МОДИФИКАТОРЫ
- СУБСТРАТОПОДОБНЫЕ
(СУИЦИДНЫЕ)



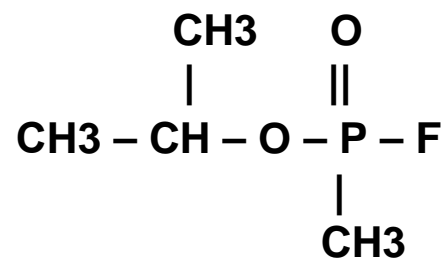
Ингибирование ферментов

- **ПОЛНОЕ**
- **НЕПОЛНОЕ**

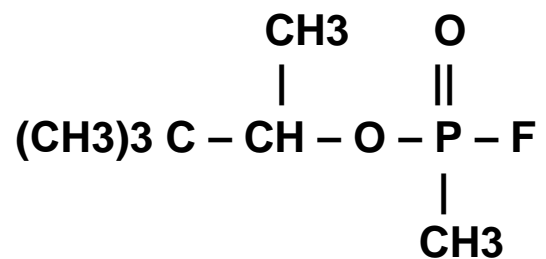
В дальнейшем рассматриваем
только **ПОЛНОЕ**



диизопропилфторфосфат



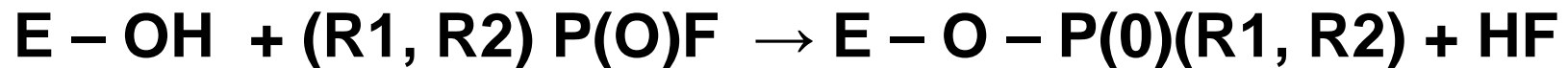
зарин



зоман

Ингибирование ферментов

- ИНГИБИРОВАНИЕ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ
ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ОТРАВЛЯЮЩИМИ
ВЕЩЕСТВАМИ



$$[E] = [E]_0 \exp \left(- \frac{k_i I_0}{K_i + I_0} * t \right)$$



Ингибирование ферментов

- **определение природы функциональных групп активных центров ферментов**
- **фиксация промежуточных соединений**
- **инактивация протеолитических ферментов**
- **титрование активных центров**
- **введение метки – репортера**
- **установление взаимосвязи структуры и реакционной способности**



Обратимое ингибирование

- **КИНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ**

Сорбционная область

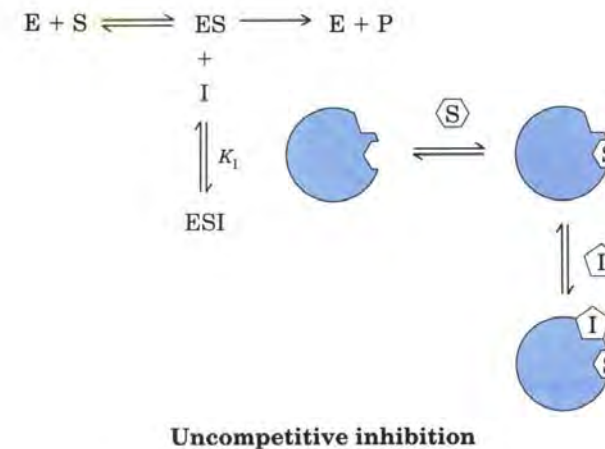
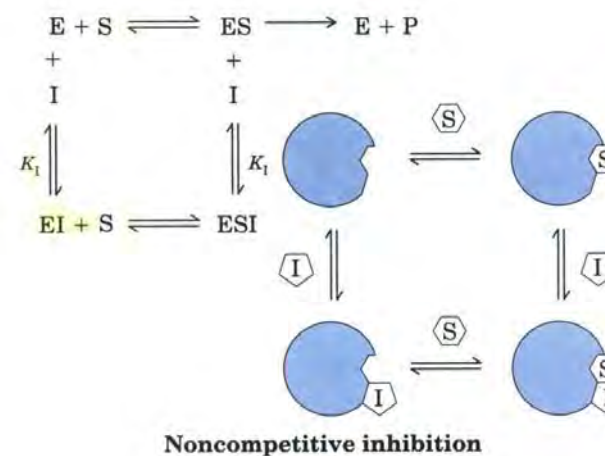
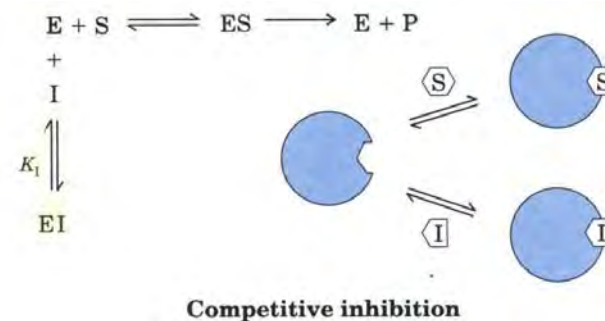
Каталитический центр

Обратимое ингибирование

конкурентное

неконкурентное

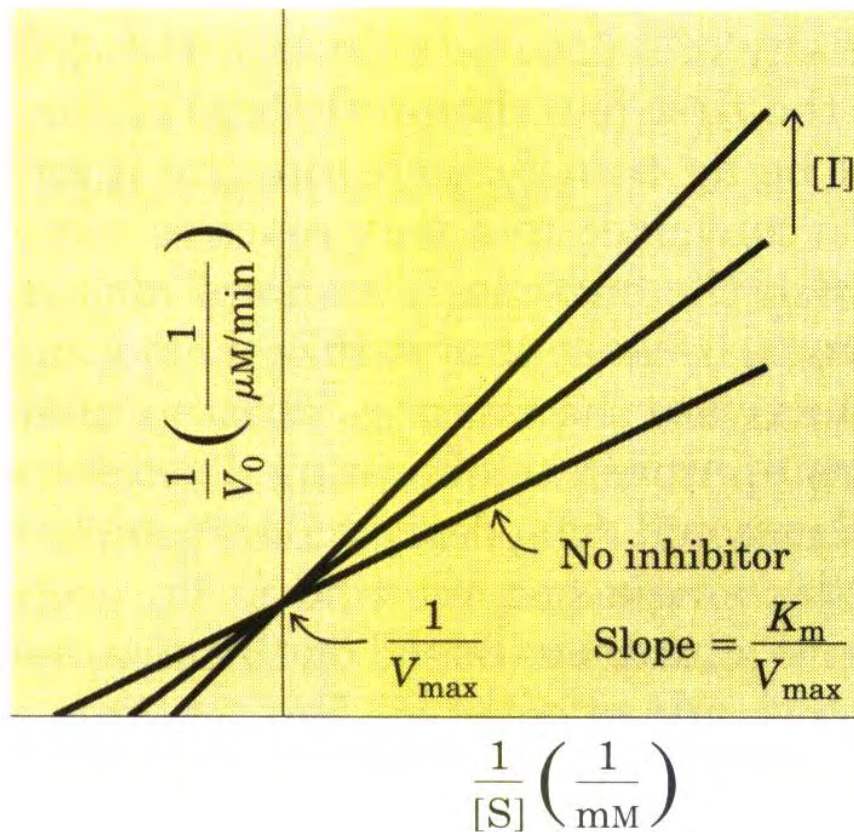
бесконкурентное



Обратимое ингибирование

- КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ,
ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНГИБИРОВАНИЯ

K_i и I_{50}



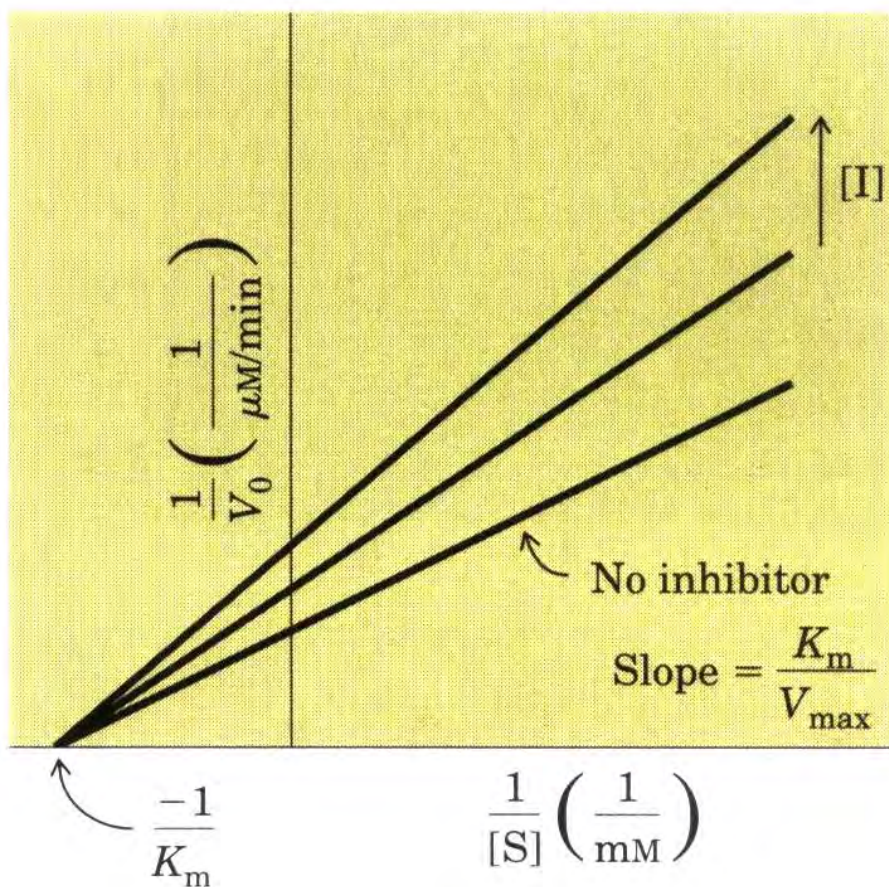
конкурентное
ингибирование

$$v = \frac{V_s}{K_M (1 + i/K_i) + s}$$

$$V_{\text{каж}} = V,$$

$$K_{M, \text{каж}} = K_M (1 + i/K_i)$$

Обратимое ингибирование



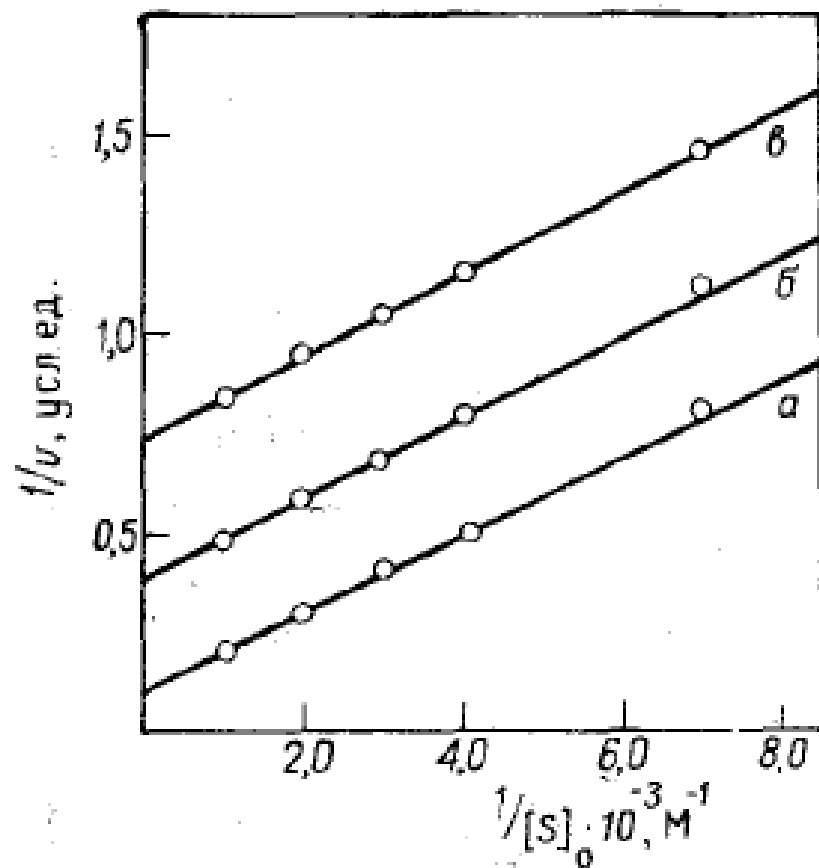
неконкурентное
(смешанное)
ингибирование

$$V_{\text{каж}} = \frac{V}{1 + i/K'_i}$$

$$K_{M, \text{ каж}} = \frac{K_M (1 + i/K_i)}{1 + i/K'_i}$$

Обратимое ингибирование

бесконкурентное
ингибирование



$$V_{\text{ каж}} = \frac{V}{1 + i/K'_i}$$

$$K_{M, \text{ каж}} = \frac{K_M}{1 + i/K'_i}$$

$$V_{\text{ каж}}/K_{M, \text{ каж}} = V/K_M$$

Характеристики типов ингибирования

СВОЙСТВА ЛИНЕЙНЫХ ИНГИБИТОРОВ

Тип ингибирования	$V_{\text{каж}}$	$V_{\text{каж}}/K_{\text{M, каж}}$	$K_{\text{M, каж}}$
Конкурентное	V	$\frac{V/K_{\text{M}}}{1 + i/K_i}$	$K_{\text{M}} (1 + i/K_i)$
Смешанное	$\frac{V}{1 + i/K_i'}$	$\frac{V/K_{\text{M}}}{1 + i/K_i}$	$\frac{K_{\text{M}} (1 + i/K_i)}{1 + i/K_i'}$
Бесконкурентное	$\frac{V}{1 + i/K_i'}$	V/K_{M}	$\frac{K_{\text{M}}}{1 + i/K_i'}$



Ингибиторный анализ

- **ИССЛЕДОВАНИЕ ТОПОГРАФИИ И СТРУКТУРЫ АКТИВНЫХ ЦЕНТРОВ**
- **БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРЫ**



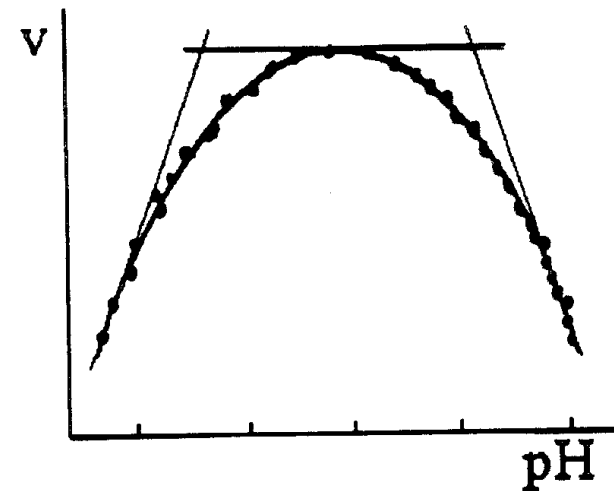
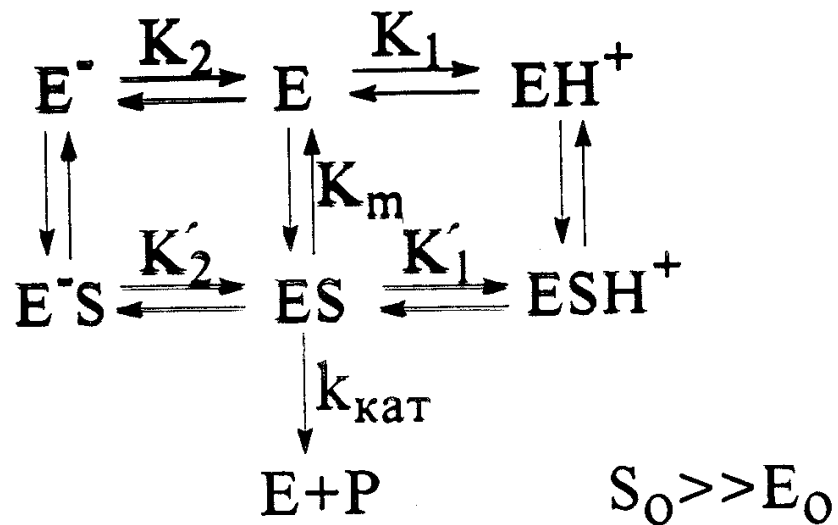
Ингибирование ферментов

- **pH-зависимости ферментативной активности:**

протон - ингибитор и активатор фермента

pH-зависимости ферментативной активности

- Протон - как ингибитор и активатор фермента

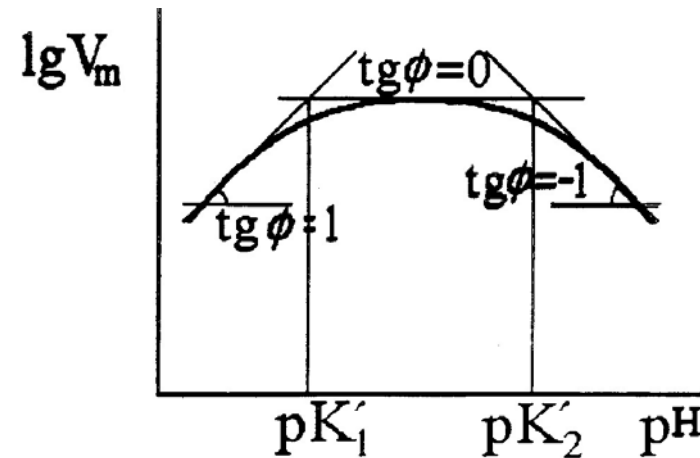


$$v = \frac{k_{\text{кат(каж)}} \cdot E_0 \cdot S_0}{K_{m(\text{каж})} + S_0}$$

рН-зависимости ферментативной активности

Зависимость кажущейся максимальной скорости от рН

$$V_{m,H} = \frac{V_m}{1 + \frac{H^+}{K_1} + \frac{K_2}{H^+}}$$



1. "Кислая" область

$$H^+ \gg K_1 \quad H^+ \gg K_2$$

$$H^+/K_1 \gg 1 \quad K_2/H^+ \ll 1$$

$$V_{m,H} = \frac{V_m K_1}{H^+}$$

$$\lg V_{m,H} = \text{const} - \lg H^+$$

2. Нейтральная область

$$H^+ \ll K_1 \quad H^+ \gg K_2$$

$$V_{m,H} = V_m$$

3. "Щелочная" область

$$H^+ \ll K_1 \quad H^+ \ll K_2$$

$$H^+/K_1 \ll 1 \quad K_2/H^+ \gg 1$$

$$V_{m,H} = \frac{V_m H^+}{K_2}$$

$$\lg V_{m,H} = \text{const} + \lg H^+$$

рН-зависимости ферментативной активности

- Определение pK_a функциональных групп фермента и фермент-субстратного комплекса

