




**РЕГУЛЯЦИЯ  
КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ  
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ  
РЕАКЦИЙ**



# **РЕГУЛЯЦИЯ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ**

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

- ИНГИБИРОВАНИЕ
- pH – ЗАВИСИМОСТИ
- ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ



# *Ингибиторы ферментов*

## ■ ОБРАТИМЫЕ

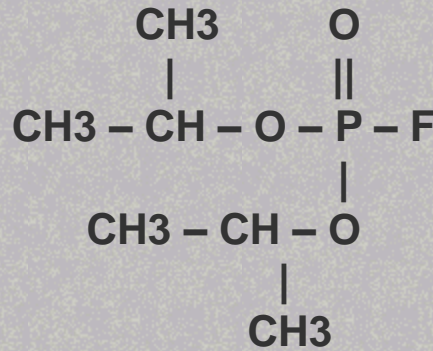
- КОНКУРЕНТНЫЕ
- НЕКОНКУРЕНТНЫЕ
- БЕСКОНКУРЕНТНЫЕ

## ■ НЕОБРАТИМЫЕ

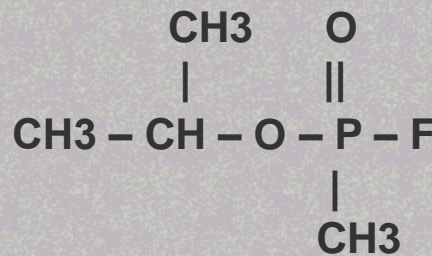
- МОДИФИКАТОРЫ
- СУБСТРАТОПОДОБНЫЕ (СУИЦИДНЫЕ)



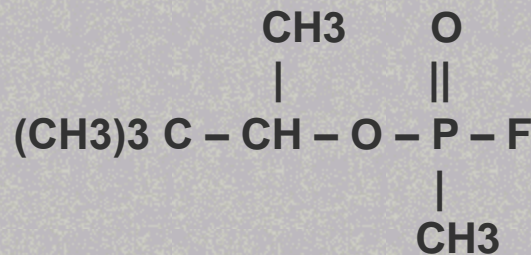
*Необратимые  
ингибиторы  
сериновых протеаз*



диизопропилфторфосфат



зарин

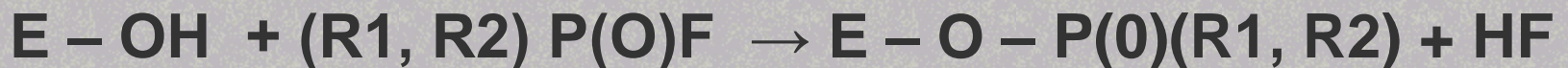


зоман



# 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*

- **Применение ингибиторов в исследованиях:**
  - **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

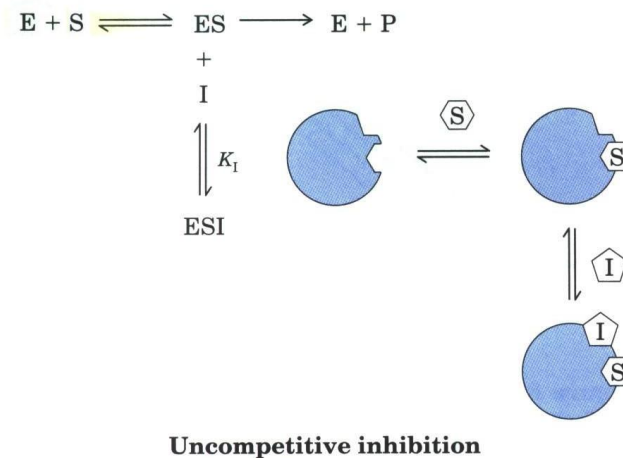
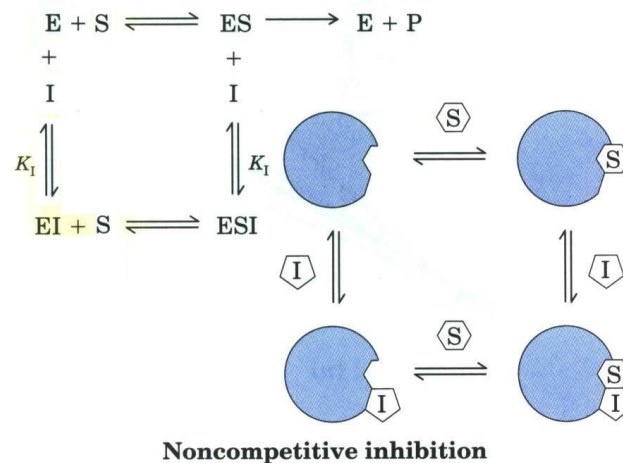
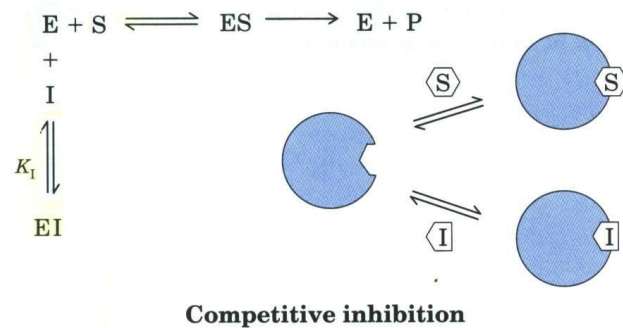
- **КИНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ**
  - Воздействию ингибитора могут быть подвержены разные участки активного центра фермента:

Сорбционная область

Каталитический центр

# Обратимое ингибирование

- конкурентное
- неконкурентное
- бесконкурентное





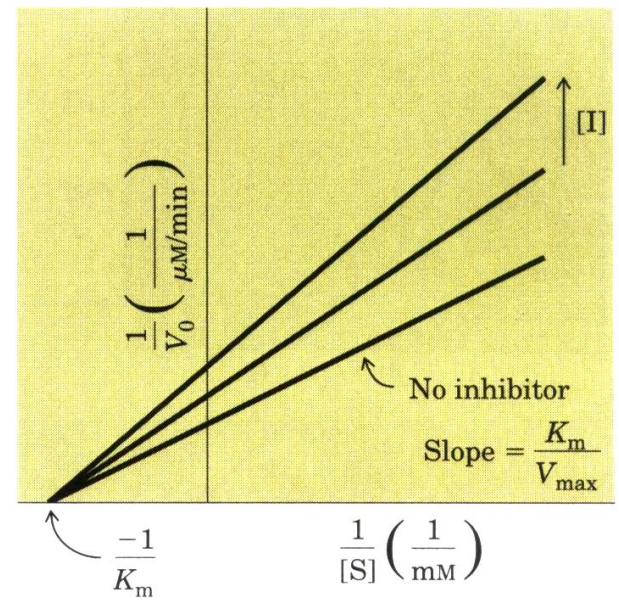
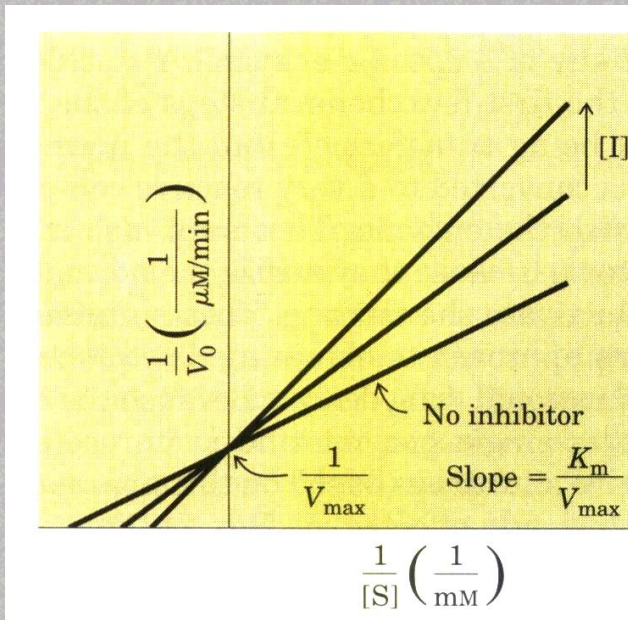
# Обратимое ингибирование

- КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНГИБИРОВАНИЯ

$K_i$   
конкурентное

и  $I_{50}$

неконкурентное





# Обратимое ингибирование

## ■ Домашнее задание

- Проанализировать кинетическую схему бесконкурентного ингибирования
- Предложить (вывести) зависимости наблюдаемых параметров от концентрации ингибитора для расчета  $K_i$
- Сравнить, как соотносятся между собой параметры  $I_{50}$  и  $K_i$  для каждого из типов обратимого ингибирования



# ***Ингибиторный анализ***

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

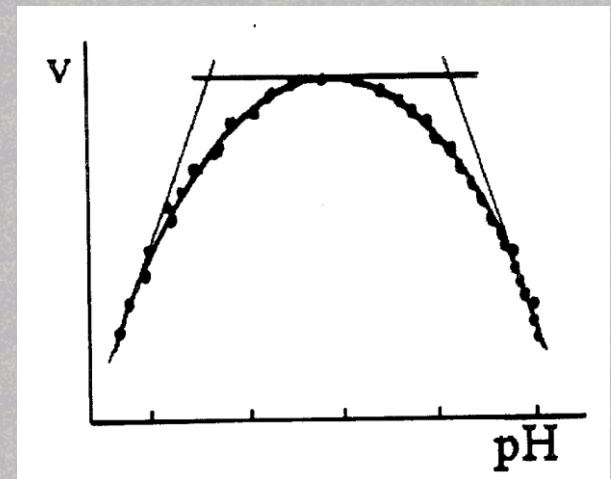
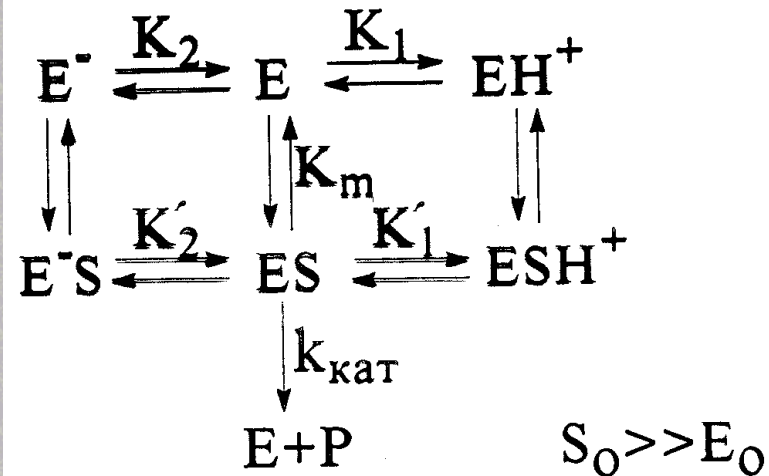


# Ингибирование ферментов

- *pH-зависимости ферментативной активности: протон - ингибитор и активатор фермента*

# *pH-зависимости ферментативной активности*

- Протон - как ингибитор и активатор фермента

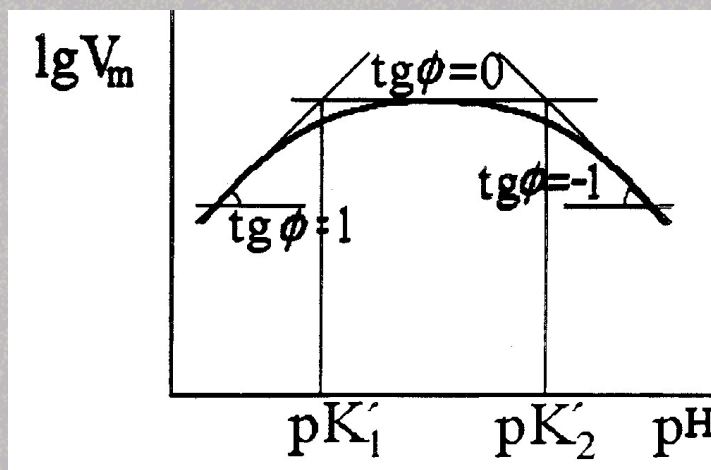


$$v = \frac{k_{кат(каж)} \cdot E_0 \cdot S_0}{K_{m(каж)} + S_0}$$

# *pH-зависимости ферментативной активности*

- Зависимость кажущейся (наблюдаемой) максимальной скорости от pH

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



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

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

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

# *pH-зависимости ферментативной активности*

- Определение  $pK_a$  функциональных групп активного центра фермента и фермент-субстратного комплекса

