

# Температурные зависимости действия ферментов и инактивация ферментов



# Температурные зависимости и инактивация ферментов

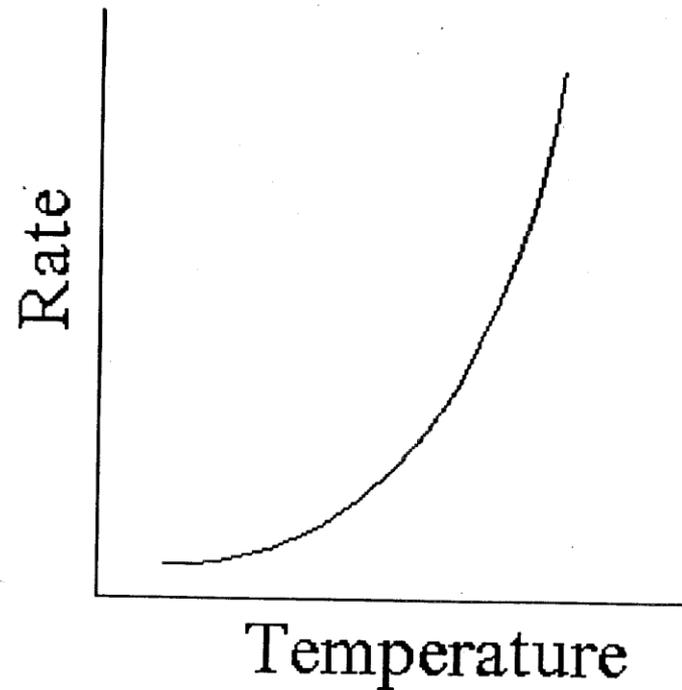
- Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры. Энергии активации
- Денатурация ферментов

# Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

$10^{\circ} \rightarrow 2-5 \text{ times}$

$\Delta H^{\#} \approx 25 \text{ kcal}$

$k_{90^{\circ}}/k_{20^{\circ}} = 13000$



# Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры



$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{\text{ass}} = \Delta H^0 - T \Delta S^0$$

$$\Delta G^\ddagger = -RT \ln \{k_R / (k_B T / h)\} = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger$$

Теория абсолютных скоростей:

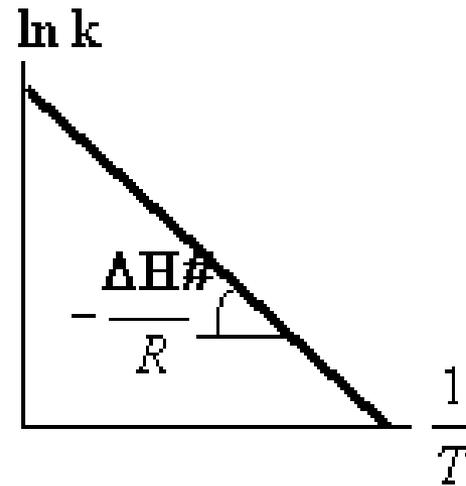
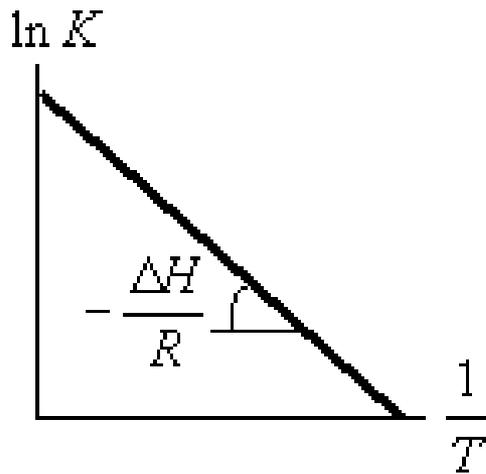
$$k_r = (k_B T / h) e^{-(\Delta G^\ddagger / RT)}$$

Уравнение Аррениуса:

$$k_r = k_0 e^{-(E_a / RT)} \quad E_a = \Delta H^\ddagger + RT$$

# АНАЛИЗ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ЭФФЕКТОВ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ

Зависимости  $\ln K$  и  $\ln k_r$  от  $T$



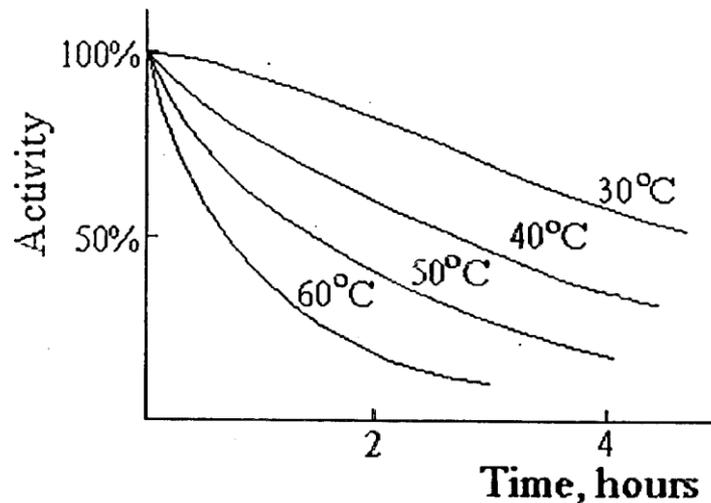
$$k(T) = \frac{kT}{h} e^{\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} e^{-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}}$$

Верно ли указаны параметры,  
находимые из данных линеаризаций?

# АНАЛИЗ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ЭФФЕКТОВ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ

## Инактивация ферментов

Исследование активности фермента  
при выдерживании в течение некоторого времени  
при фиксированной температуре



Инактивация может  
описываться кинетикой  
реакций различного  
порядка.

Уравнение для процесса  
инактивации первого  
порядка:

$$A(t) = A_0 e^{-k_{in}(T)t}$$

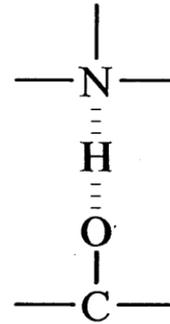
# Денатурация белков (ферментов)



$$\Delta H = \frac{4RT^2}{\Delta T}$$

# Стабилизация ферментов – уменьшение скорости инактивации

- Водородные связи



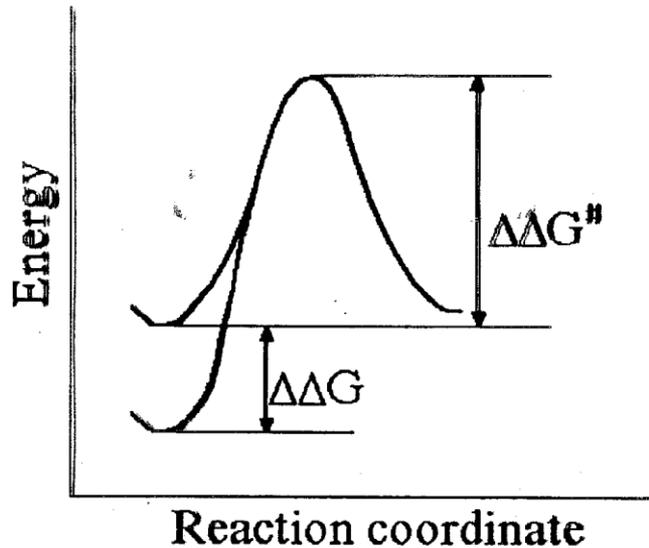
- Электростатические взаимодействия  
(солевые мостики)



- Дисульфидные связи



# Стабилизация ферментов – уменьшение скорости инактивации

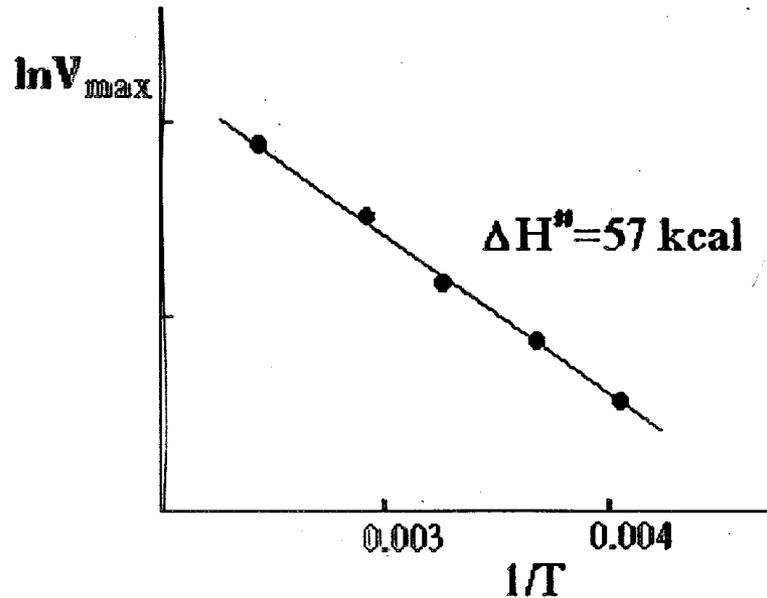


$$\frac{k_{in}^{(1)}}{k_{in}^{(2)}} = e^{\frac{\Delta\Delta G^\ddagger}{RT}}$$

$$\Delta\Delta G^\ddagger = 3 - 6 \text{ kcal/mole}$$

- Эффект стабилизации  
150 –  $2.2 \cdot 10^4$

# Ферменты из термофильных организмов



- Высокая стабильность
- Высокая энергия активации
- Ферменты из термофилов обычно при комнатной температуре проявляют низкую активность