



Краткий повтор предыдущей лекции

Уравнение Михаэлиса-Ментен

ОСНОВНЫЕ ПОСТУЛАТЫ



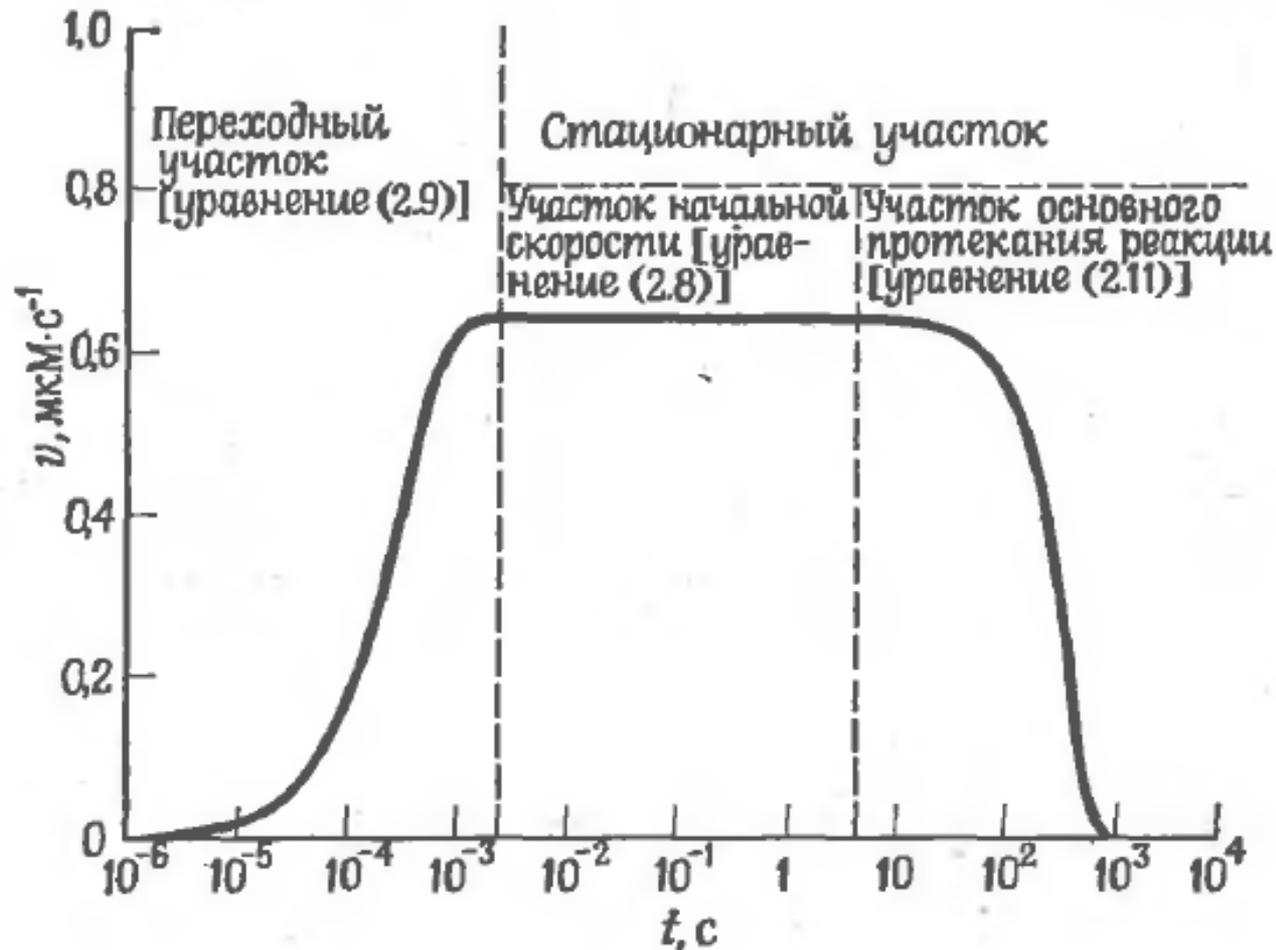
1. E_0 – общая концентрация фермента, E , ES концентрации фермента и фермент-субстратного комплекса в ходе реакции
 S_0 и S – начальная и текущая концентрации субстрата

2. $S_0 \gg E_0$, $S_0 \approx S$

3. Принцип стационарности

$$dES/dt \approx 0.$$

Справедливость допущения стационарного режима



ФЕРМЕНТАТИВНАЯ КИНЕТИКА

Вывод уравнения Михаэлиса-Ментен



Скорость реакции $v = k_2 * ES$

$$dES/dt = k_1 * E * S_0 - (k_{-1} + k_2) * ES = 0$$

$$E_0 = E + ES \quad E = E_0 - ES$$

$$k_1 * (E_0 - ES) * S_0 = (k_{-1} + k_2) * ES$$

$$k_1 * ES * S_0 + (k_{-1} + k_2) * ES = k_1 * E_0 * S_0$$

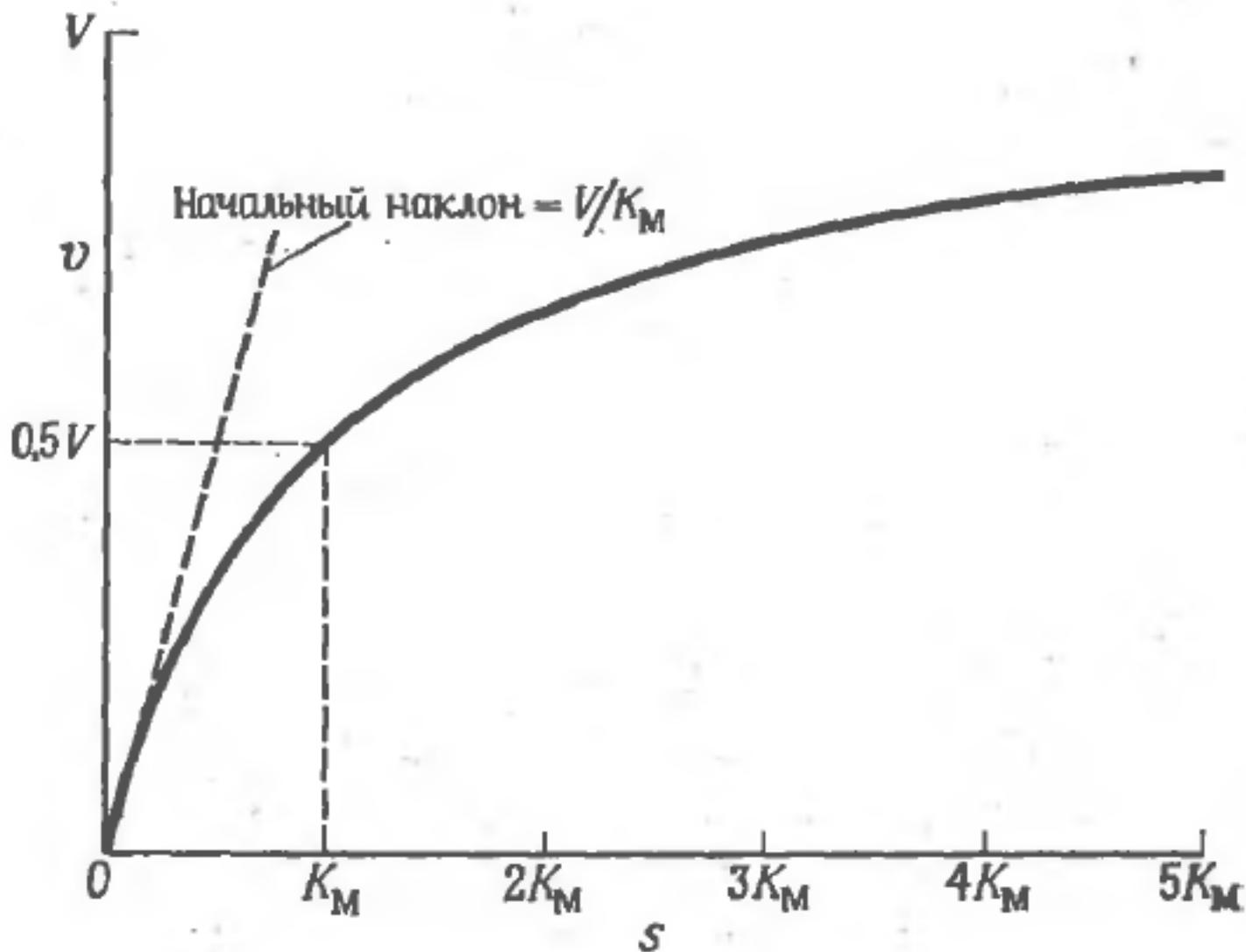
$$ES = k_1 * E_0 * S_0 / (k_1 * S_0 + (k_{-1} + k_2))$$

$$v = k_2 * ES = k_1 * k_2 * E_0 * S_0 / (k_1 * S_0 + (k_{-1} + k_2)) = k_2 * E_0 * S_0 / ((k_{-1} + k_2) / k_1 + S_0)$$

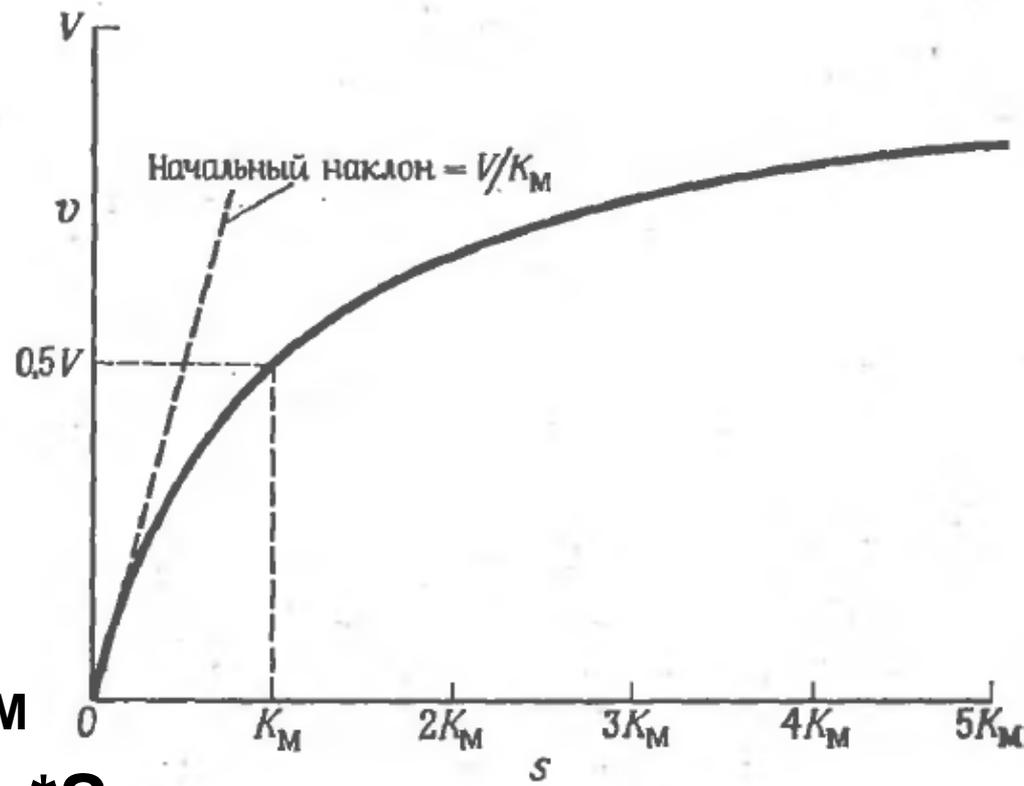
$$v = k_2 * E_0 * S_0 / (K_M + S_0) \quad V_{\max} = k_2 * E_0 \quad K_M = (k_{-1} + k_2) / k_1$$

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

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата



Порядок реакции в уравнении Михаэлиса - Ментен



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

$S_0 \ll K_M$

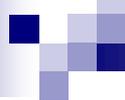
$$v = V_{max}/K_M * S_0$$

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



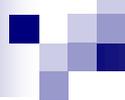


**РЕГУЛЯЦИЯ
КИНЕТИЧЕСКИХ
ПАРАМЕТРОВ
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ
РЕАКЦИЙ**



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

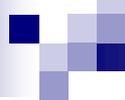
Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция

Регуляция

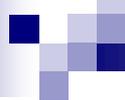


ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция

Регуляция

Регуляция



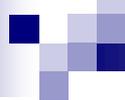
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

Регуляция

Регуляция

Регуляция

Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

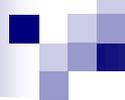
Регуляция

Регуляция

Регуляция

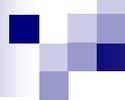
.....

Регуляция



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

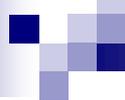
Регуляция транскрипции гена фермента



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Регуляция транскрипции гена
фермента**

**Регуляция трансляции гена
фермента с мРНК**

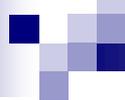


ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Регуляция транскрипции
гена фермента**

**Регуляция трансляции гена
фермента с мРНК**

**Регуляция количества
фермента в системе**



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Регуляция транскрипции
гена фермента**

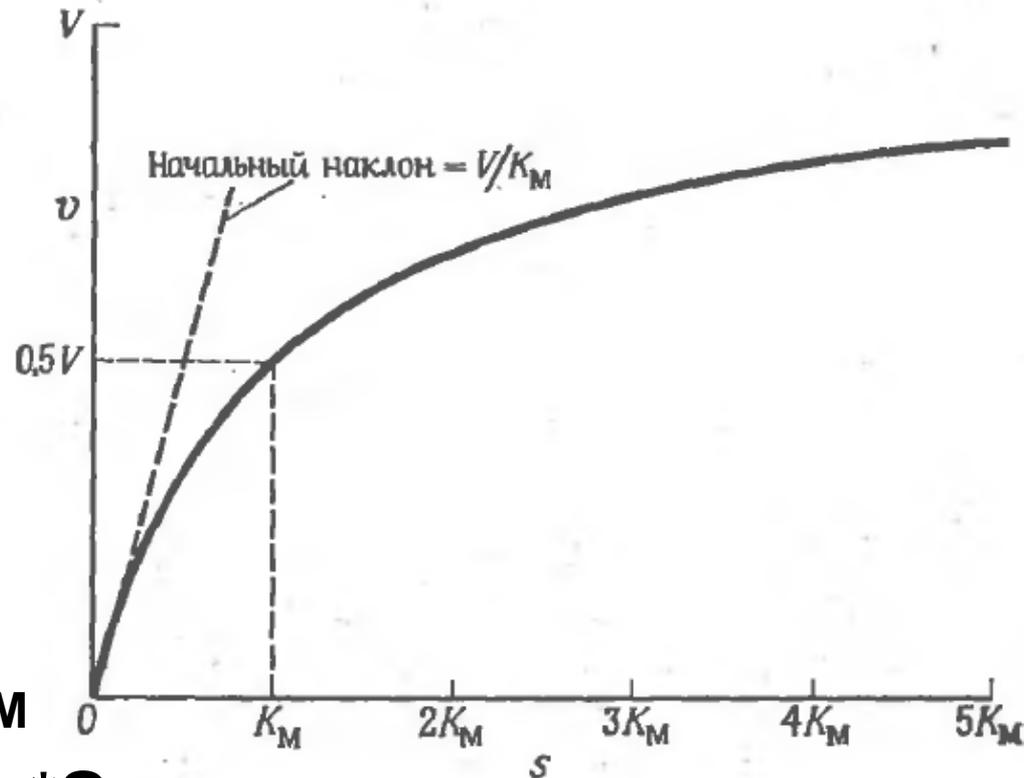
**Регуляция трансляции
гена фермента с мРНК**

**Регуляция количества
фермента в системе**

**Регуляция активности
фермента**

Регуляция активности фермента.

1. Концентрация субстрата



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

$S_0 \ll K_M$

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

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

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

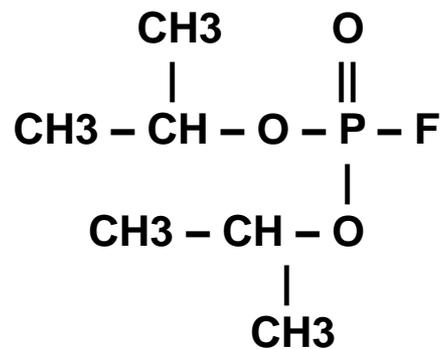
■ НЕОБРАТИМЫЕ

- МОДИФИКАТОРЫ
- СУБСТРАТОПОДОБНЫЕ
(СУИЦИДНЫЕ)

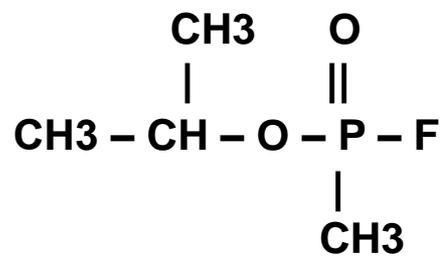
Ингибирование ферментов

- **ПОЛНОЕ**
- **НЕПОЛНОЕ**

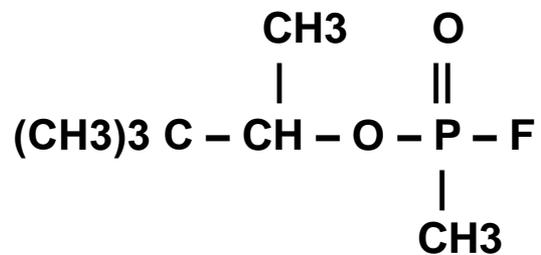
В дальнейшем рассматриваем
только ПОЛНОЕ



диизопропилфторфосфат



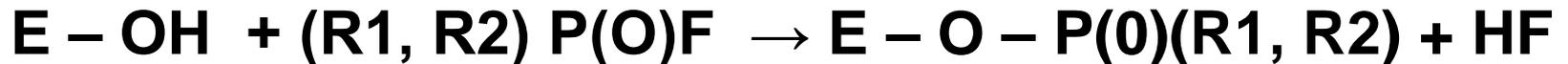
зарин



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

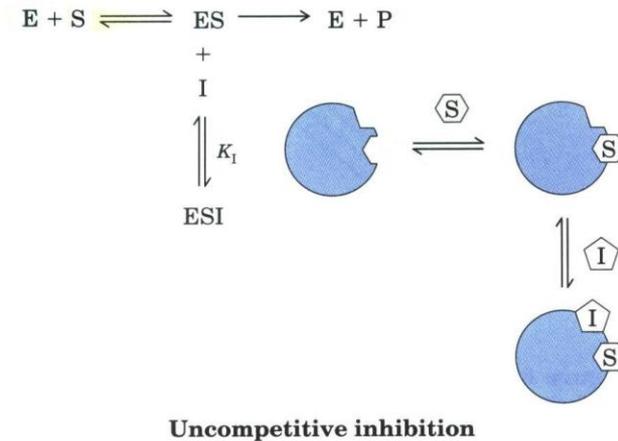
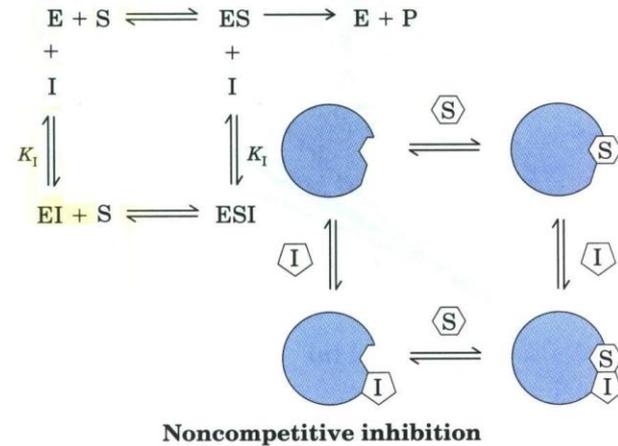
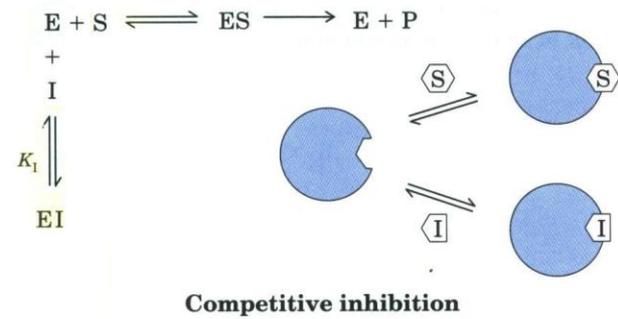
Каталитический центр

Обратимое ингибирование

конкурентное

неконкурентное

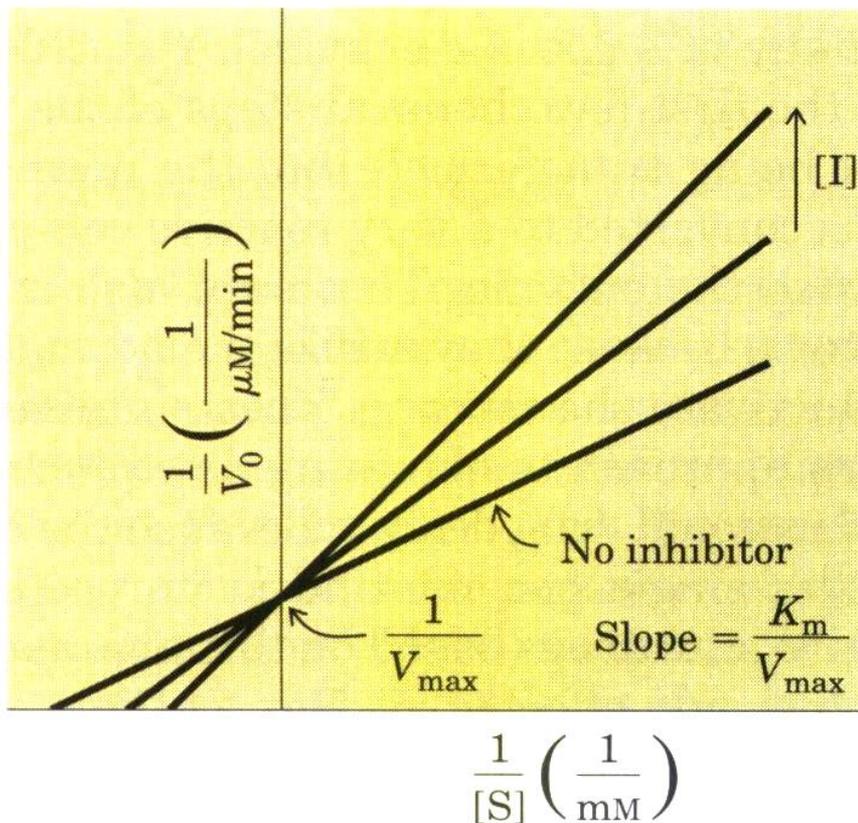
бесконкурентное



Обратимое ингибирование

- КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНГИБИРОВАНИЯ

K_i и I_{50}



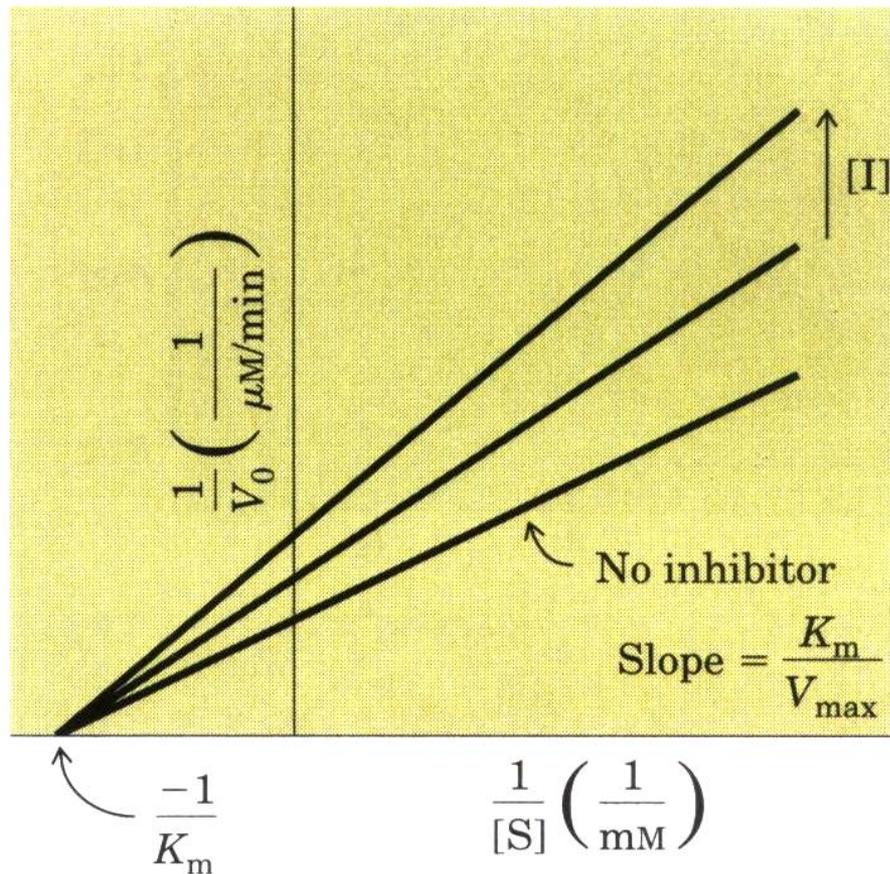
конкурентное ингибирование

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

$$V_{\text{каж}} = V,$$

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

Обратимое ингибирование



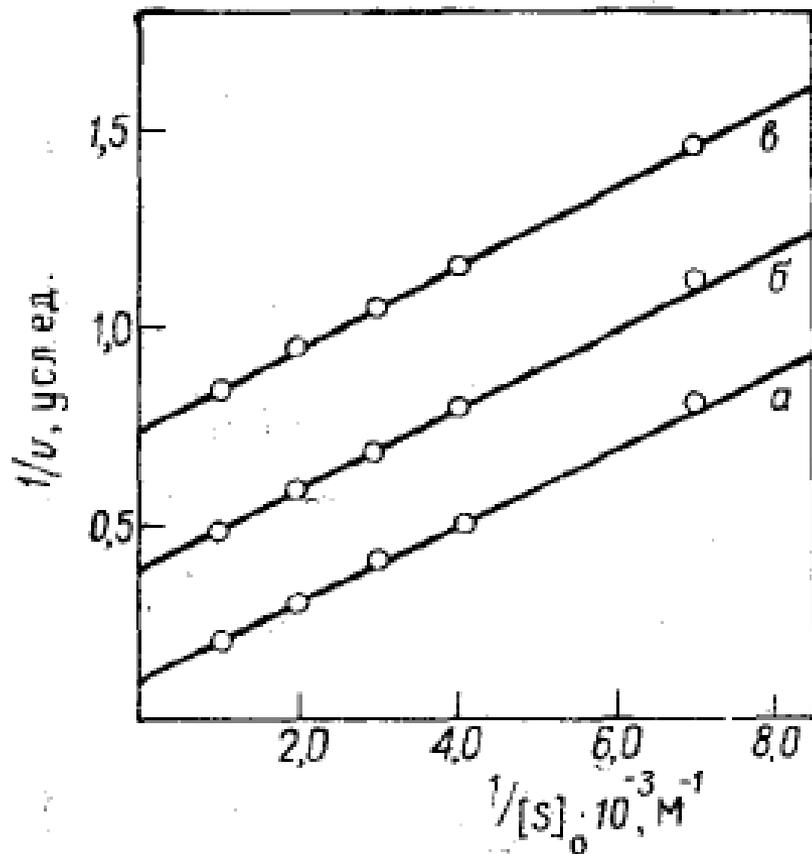
неконкурентное
(смешанное)
ингибирование

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

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

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 | $V_{\text{каж}}$ | $V_{\text{каж}}/K_{\text{M, каж}}$ | $K_{\text{M, каж}}$ |
|-------------------|------------------------|------------------------------------|---|
| Конкуренентное | V | $\frac{V/K_{\text{M}}}{1 + i/K_i}$ | $K_{\text{M}} (1 + i/K_i)$ |
| Смешанное | $\frac{V}{1 + i/K'_i}$ | $\frac{V/K_{\text{M}}}{1 + i/K_i}$ | $\frac{K_{\text{M}} (1 + i/K_i)}{1 + i/K'_i}$ |
| Бесконкуренентное | $\frac{V}{1 + i/K'_i}$ | V/K_{M} | $\frac{K_{\text{M}}}{1 + i/K'_i}$ |



Ингибиторный анализ

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

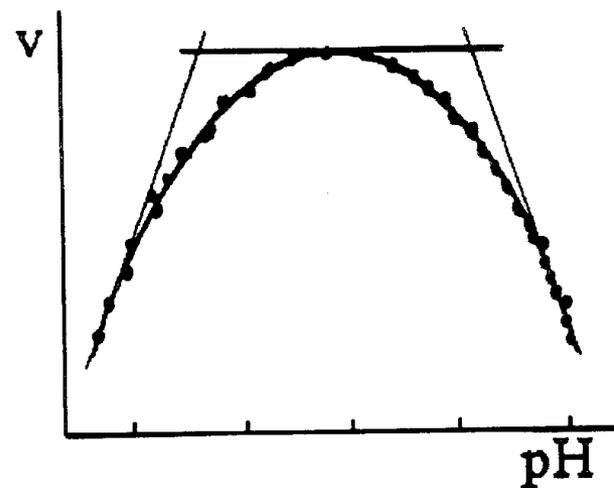
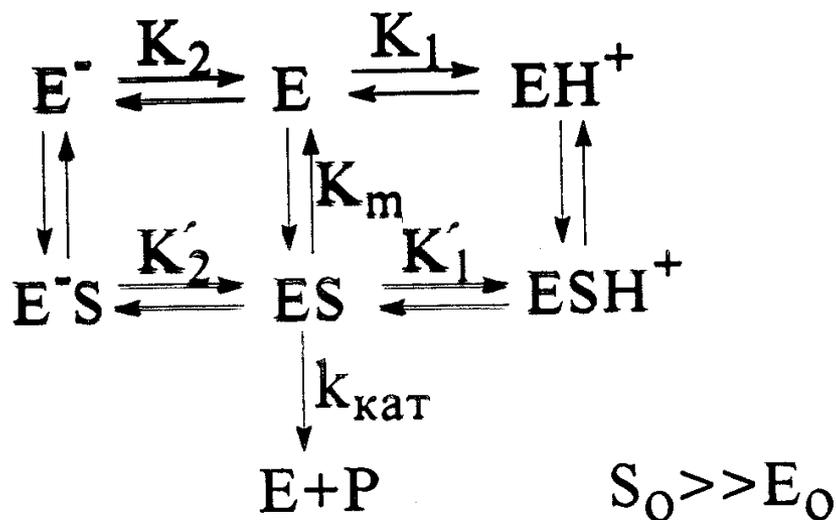
Ингибирование ферментов

- рН-зависимости ферментативной активности:

протон - ингибитор и активатор фермента

pH-зависимости ферментативной активности

- Протон - как ингибитор и активатор фермента

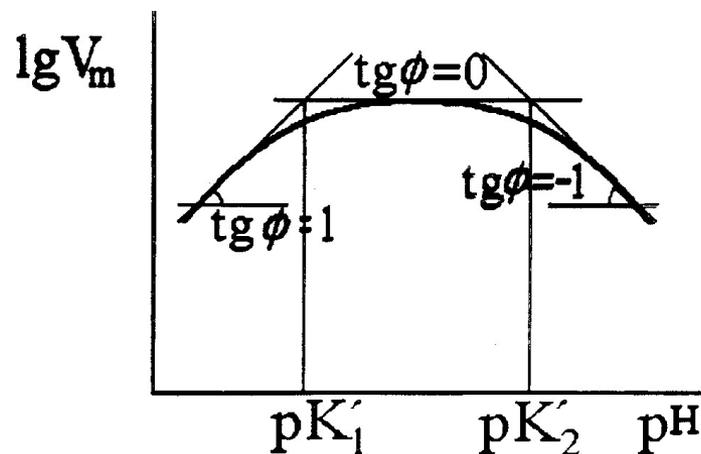


$$v = \frac{k_{кат(каж)} \cdot E_0 \cdot S_0}{K_{m(каж)} + S_0}$$

pH-зависимости ферментативной активности

Зависимость кажущейся 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 фермента и фермент-субстратного комплекса

