

**ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ
РЕАКЦИИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ**

ЭНЕРГИЯ АКТИВАЦИИ



Я. Х. Вант-Гофф
(1852–1911)

ПРАВИЛО ВАНТ - ГОФФА

$$v = v_0 \cdot \gamma^{\frac{\Delta t}{10}}, \text{ где}$$

v - скорость реакции при t_2

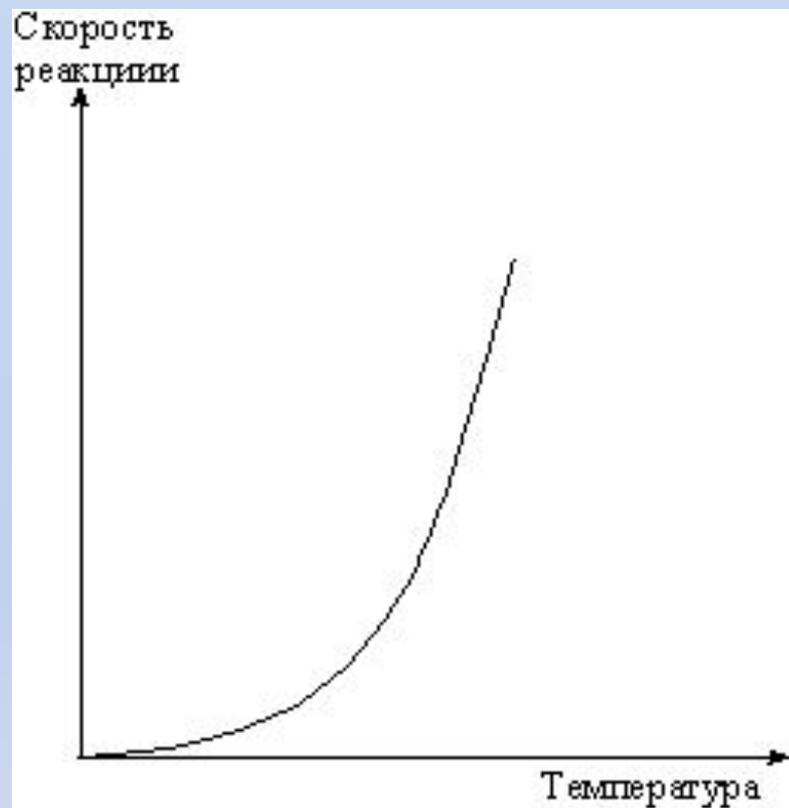
v_0 - начальная скорость реакции при t_1

γ - коэффициент скорости р-ции

$$\Delta t = t_2 - t_1$$

$$\frac{k_{t+10}}{k_t} = \gamma$$

где γ принимает значение от 2 до 4



Зависимость скорости реакции от температуры



**С. А.
Аррениус**
(1859–1927)

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$$

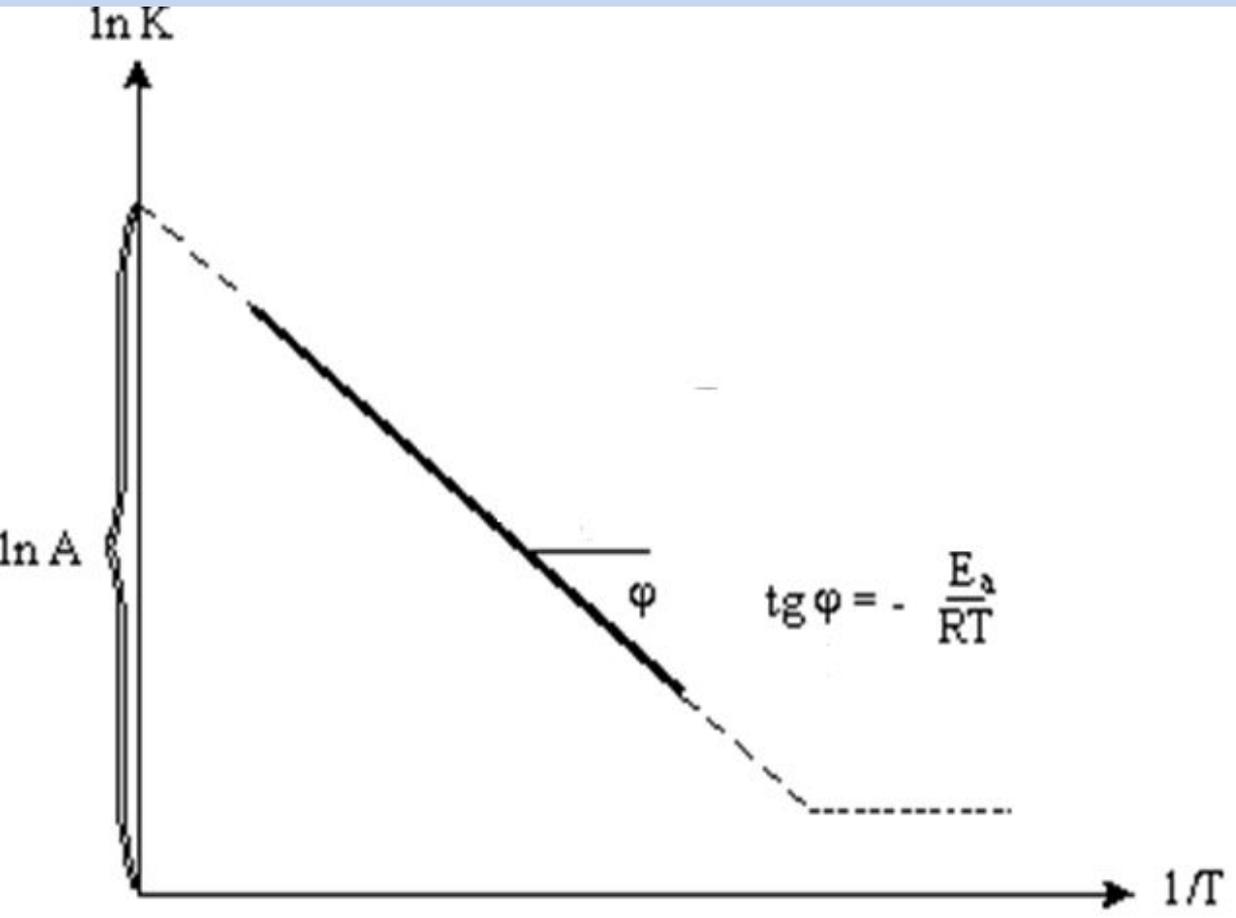
$$A = pz$$

$$k = pze^{-\frac{E_a}{RT}}$$

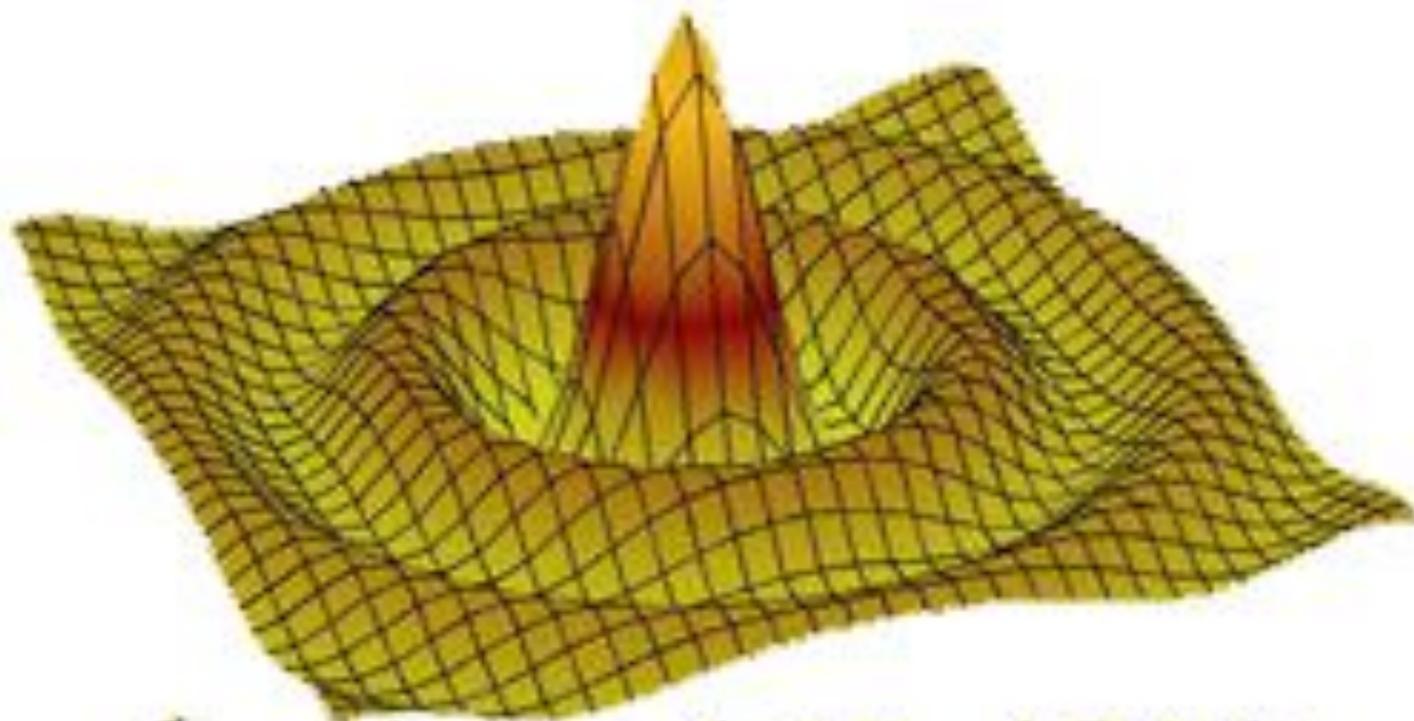
E_a - энергия

АКТИВАЦИИ

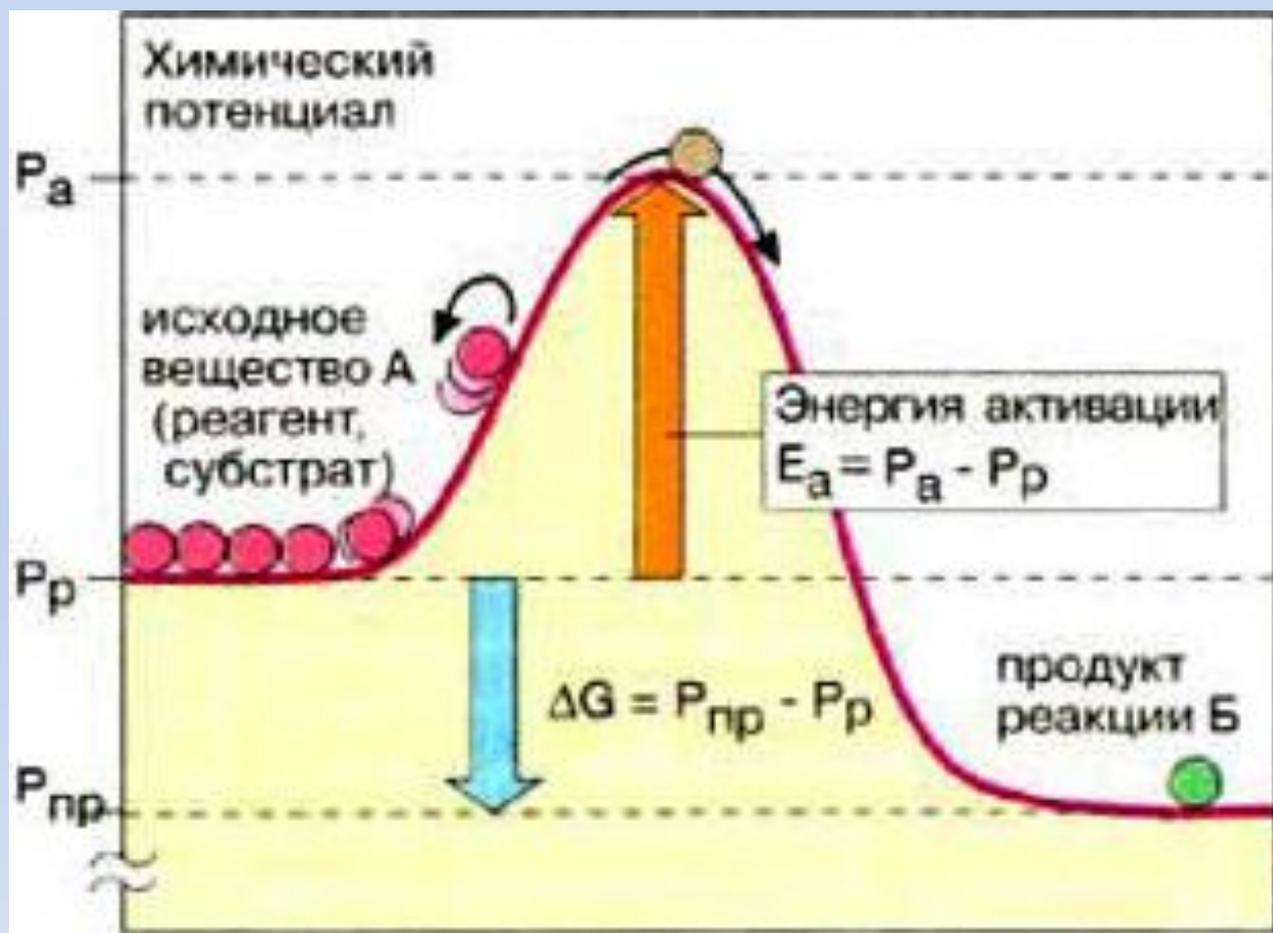
Зависимость $\ln k$ от $1/T$.



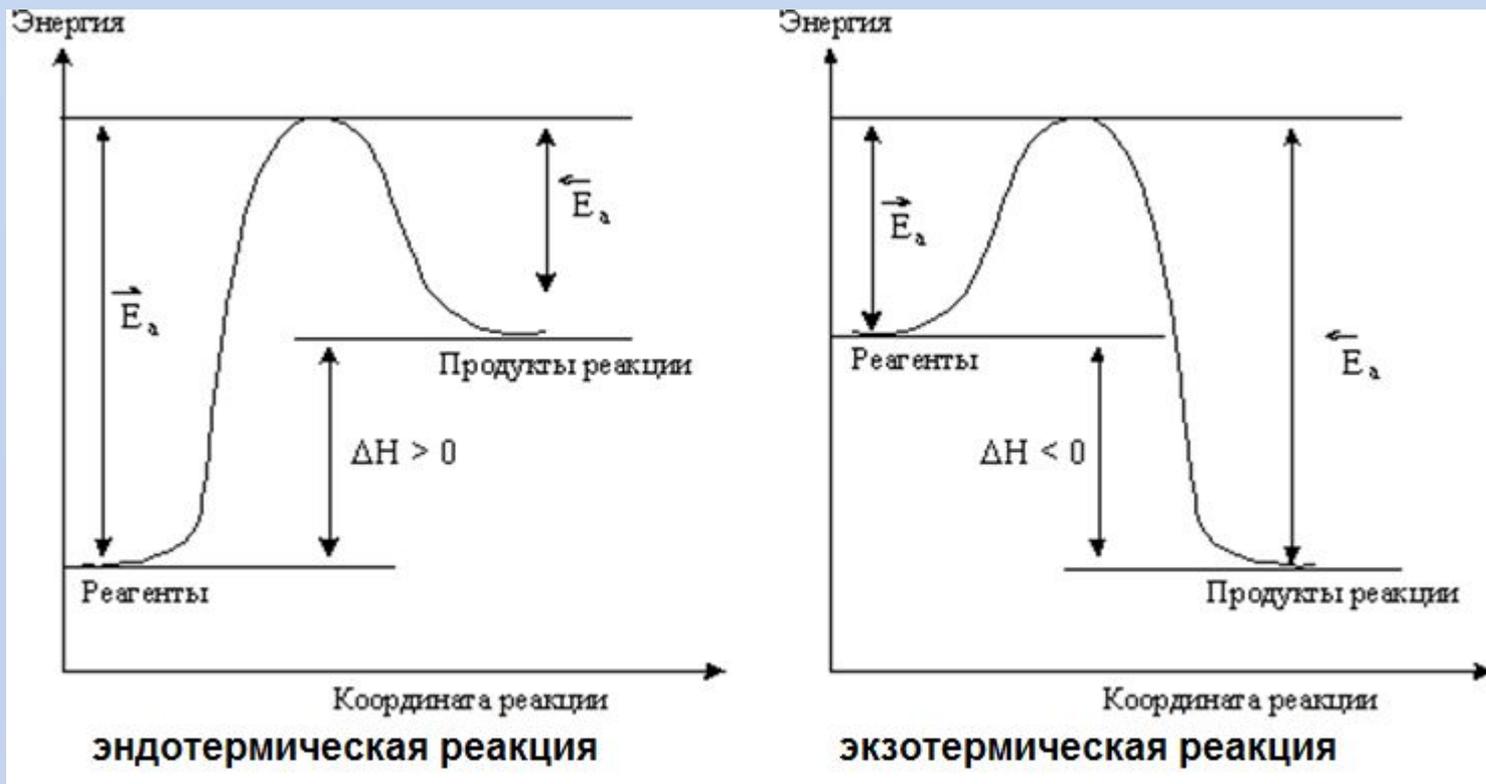
$$\ln k = \ln pz - \frac{E_a}{RT}$$



$$k = A \exp(-E_a / RT)$$



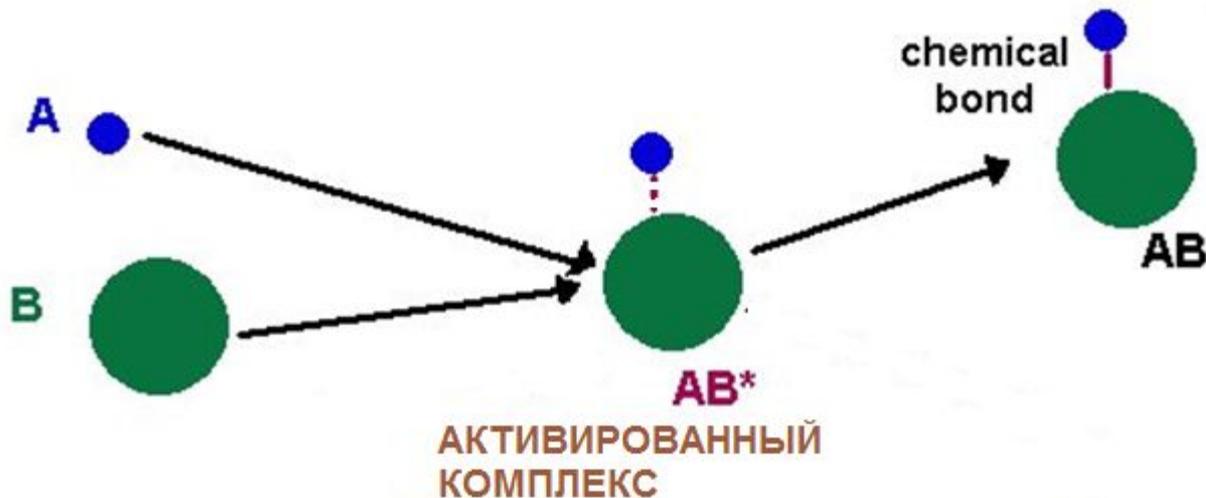
А. Энергия активации



Изменение энергии реагирующей системы:

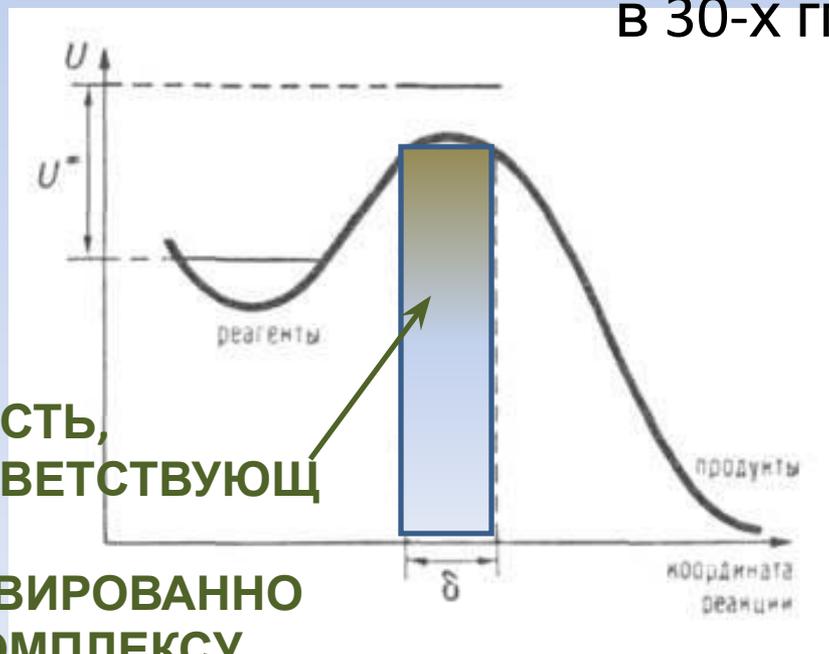
На схеме:  и  - энергии активации прямой и обратной реакций.

В соответствии с законом сохранения энергии разность между ними равна тепловому эффекту реакции.

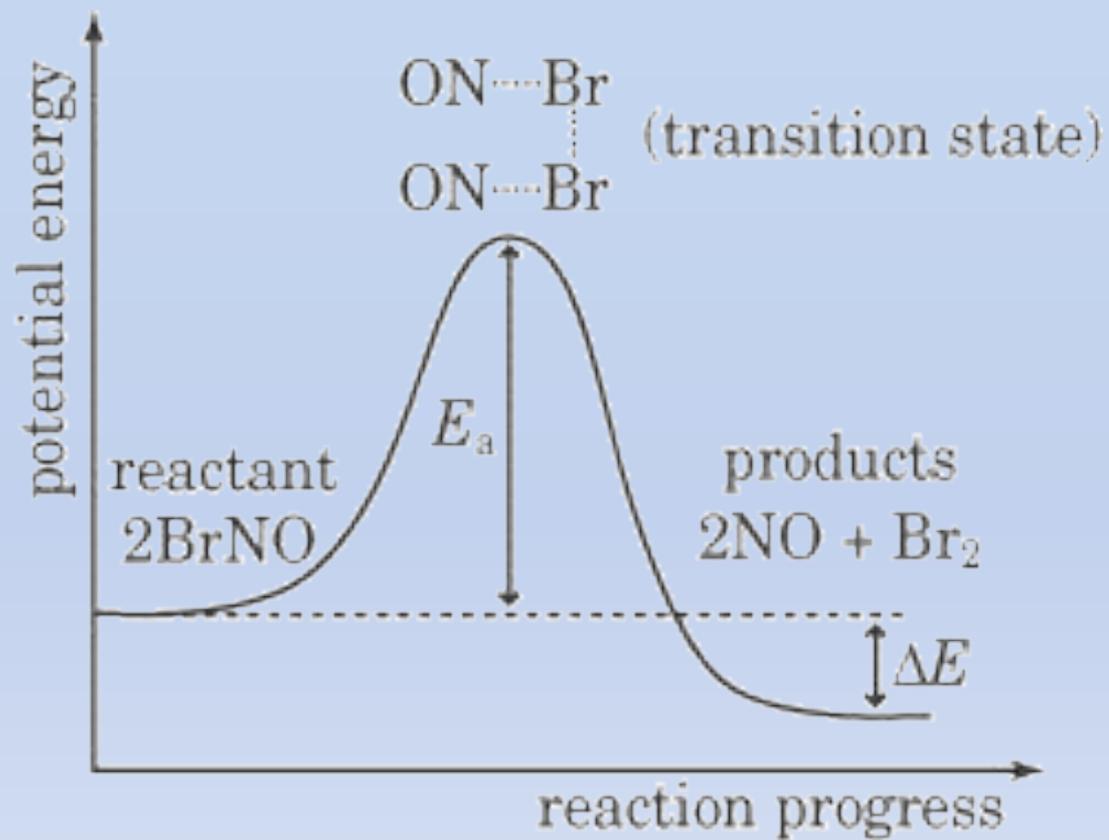


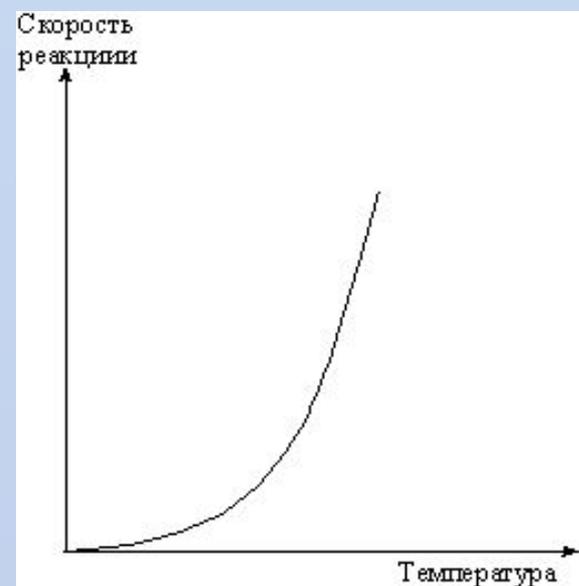
ТЕОРИЯ АКТИВИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА

создана
Э. Вигнером,
М. Поляни,
Г. Эйрингом,
М. Эвансом
в 30-х гг. 20 в.



ОБЛАСТЬ,
СООТВЕТСТВУЮЩАЯ
АКТИВИРОВАННОМУ
КОМПЛЕКСУ





**Распределение молекул по
скоростям
при данной температуре**



КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ (БС)

1. В БС в качестве переменных выступают не только концентрации, но и **любые другие величины**.
2. Переменные изменяются **не только во времени, но и в пространстве**. Скорость определяется не только константами реакции, но и диффузионными процессами.
3. БС **пространственно неоднородны**. Условия в разных частях системы могут отличаться.
4. БС **мультистационарны**. Может быть несколько устойчивых режимов функционирования.
5. Процессы в БС **нелинейны**.
6. Кинетические модели БС крайне сложные. Моделирование требует **большого числа упрощений**.

Модель Мальтуса. Экспоненциальный рост

$$\frac{dx}{dt} = \alpha x$$



α — коэффициент прироста



$$x = x_0 e^{\alpha t}$$

x_0 — численность популяции в начальный момент времени.

Модель Ферхюльста. Рост популяции, ограниченный ресурсами



Пьер Ферхюльст
1804 - 1849

$$\frac{dx}{dt} = rx \left(1 - \frac{x}{K}\right)$$

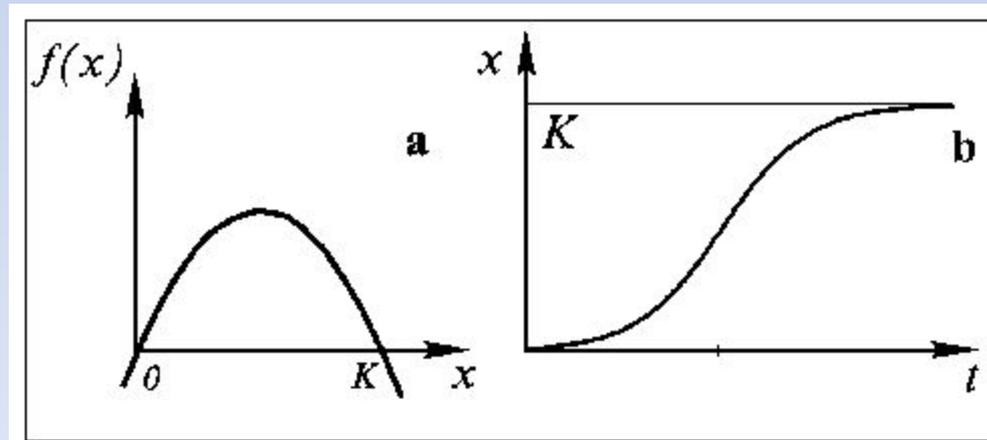
x - численность популяции,

t - время,

r - максимальная скорость прироста,

K - емкость популяции

Ограниченный рост. Зависимость величины скорости роста от численности (а) и численности от времени (б)





Вито Вольтерра
1860 - 1940,

Модель Вольтерры «хищник - жертва»

$$\frac{dx}{dt} = k_1 x \quad \text{Рост численности жертв}$$

$$\frac{dy}{dt} = -k_1' y \quad \text{Убыль хищников}$$

k_1 - характеризует частоту встреч хищников и жертв,

k_1' - коэффициент убыли хищников



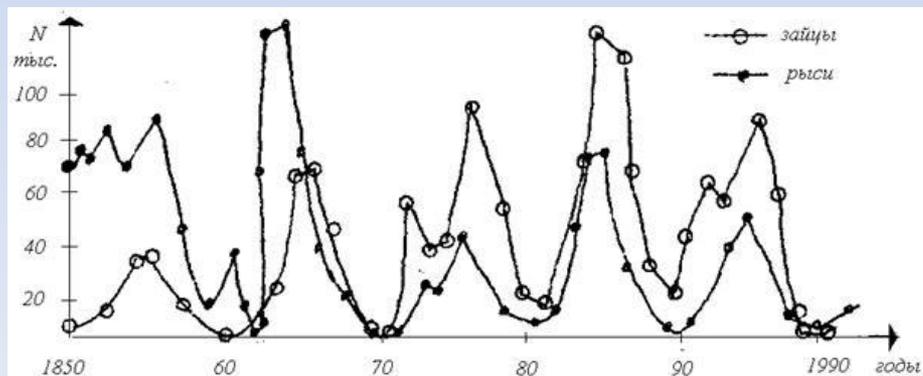
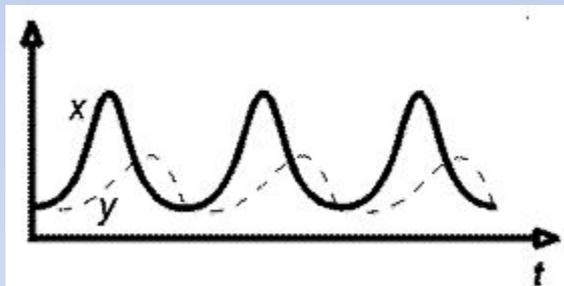
Совместное существование жертв и хищников



$$\frac{dx}{dt} = x(k_1 - k_2 y)$$

$$\frac{dy}{dt} = -y(k_1' - k_2' x)$$

k_1 - характеризует частоту встреч хищников и жертв,
 k_2 - коэффициент выживаемости жертв при встрече с хищниками
 k_1' - коэффициент убыли хищников
 k_2' - коэффициент эффективности поедания жертв

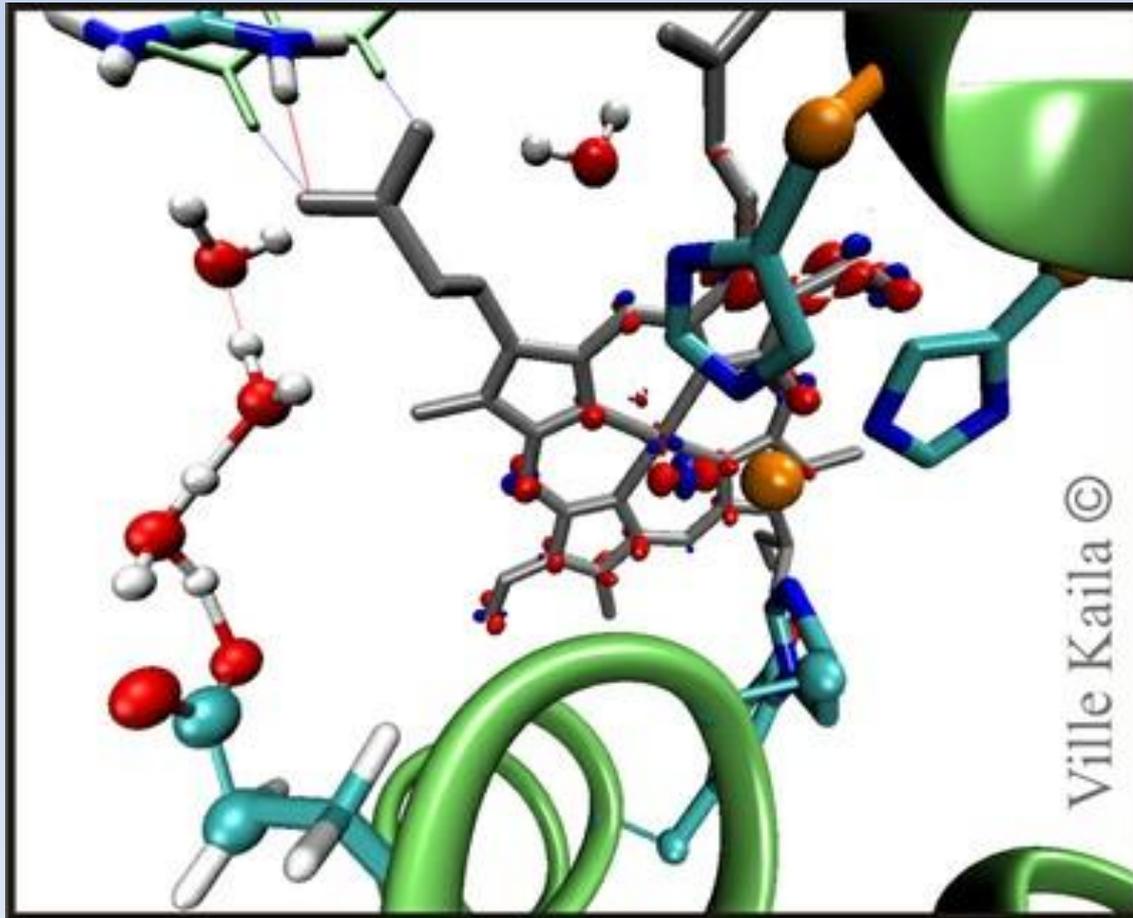


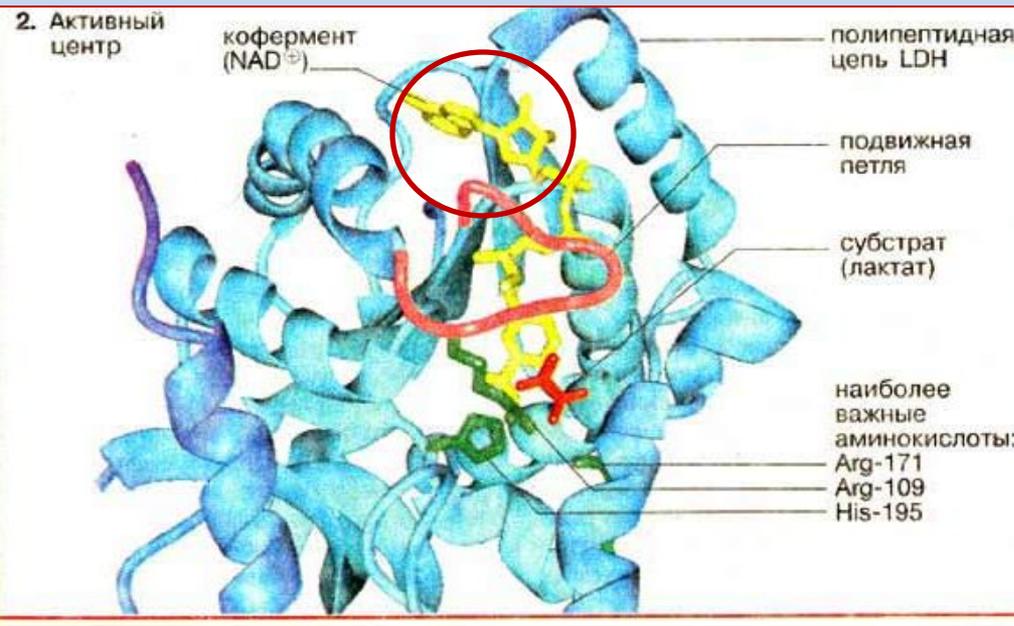
ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ КАТАЛИЗ

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТОВ

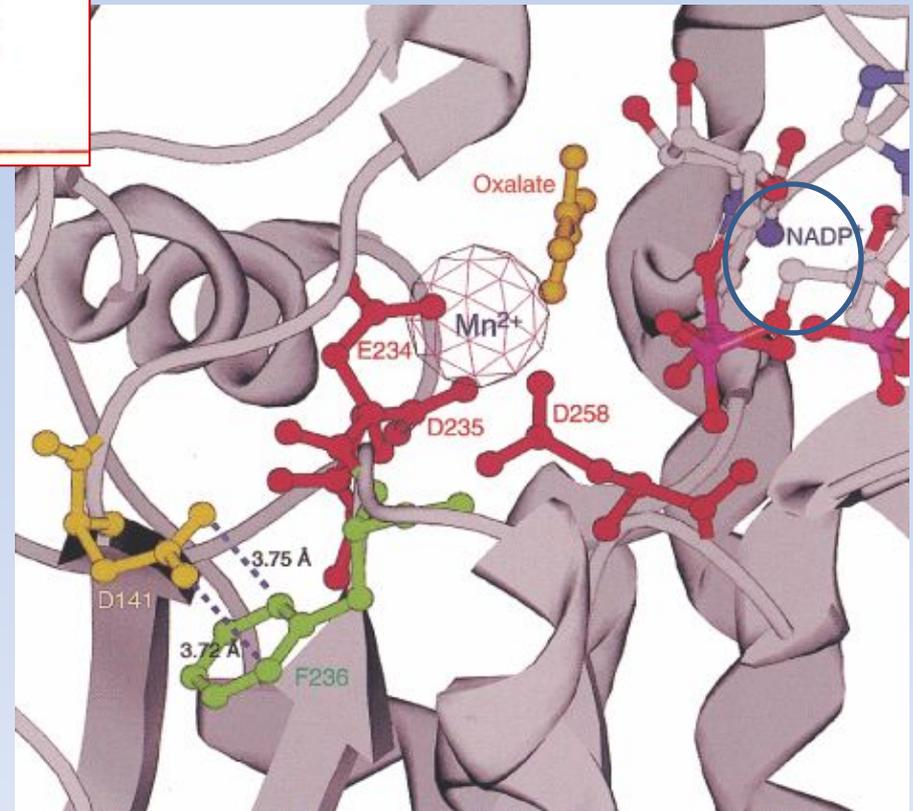
1. **СКОРОСТЬ** ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ В **10^8** – **10^{20}** **РАЗ БОЛЬШЕ**, ЧЕМ СООТВЕТСТВУЮЩИХ НЕКАТАЛИЗИРУЕМЫХ РЕАКЦИЙ.
2. **СПЕЦИФИЧНОСТЬ** ДЕЙСТВИЯ.
3. РЕАКЦИЯ ПРОТЕКАЕТ ВНУТРИ **ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНОГО КОМПЛЕКСА**.

АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ФЕРМЕНТА -ЭТО
ОБЛАСТЬ, В КОТОРОЙ ПРОИСХОДИТ СВЯЗЫВАНИЕ И ПРЕВРАЩЕНИЕ
СУБСТРАТА

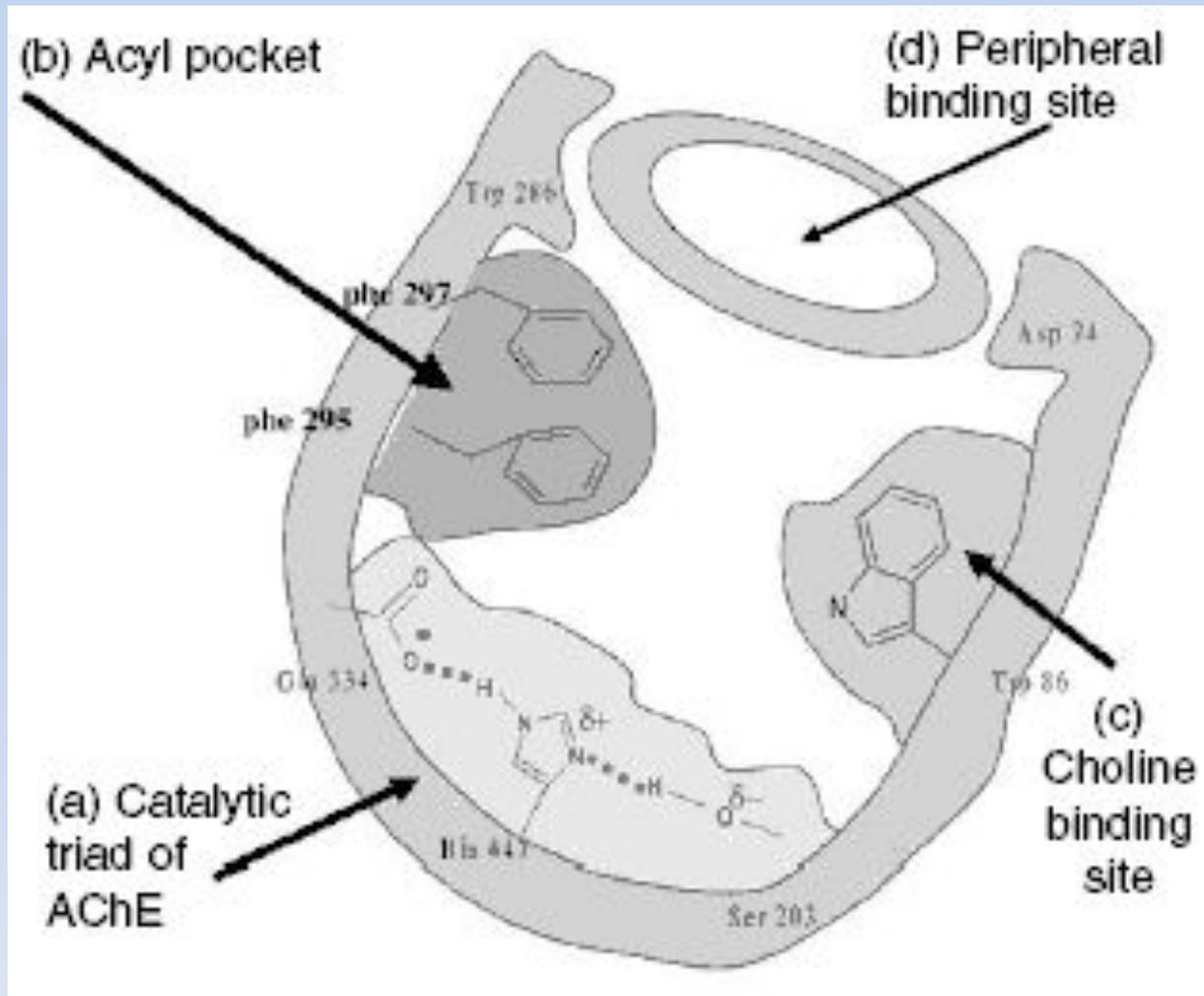


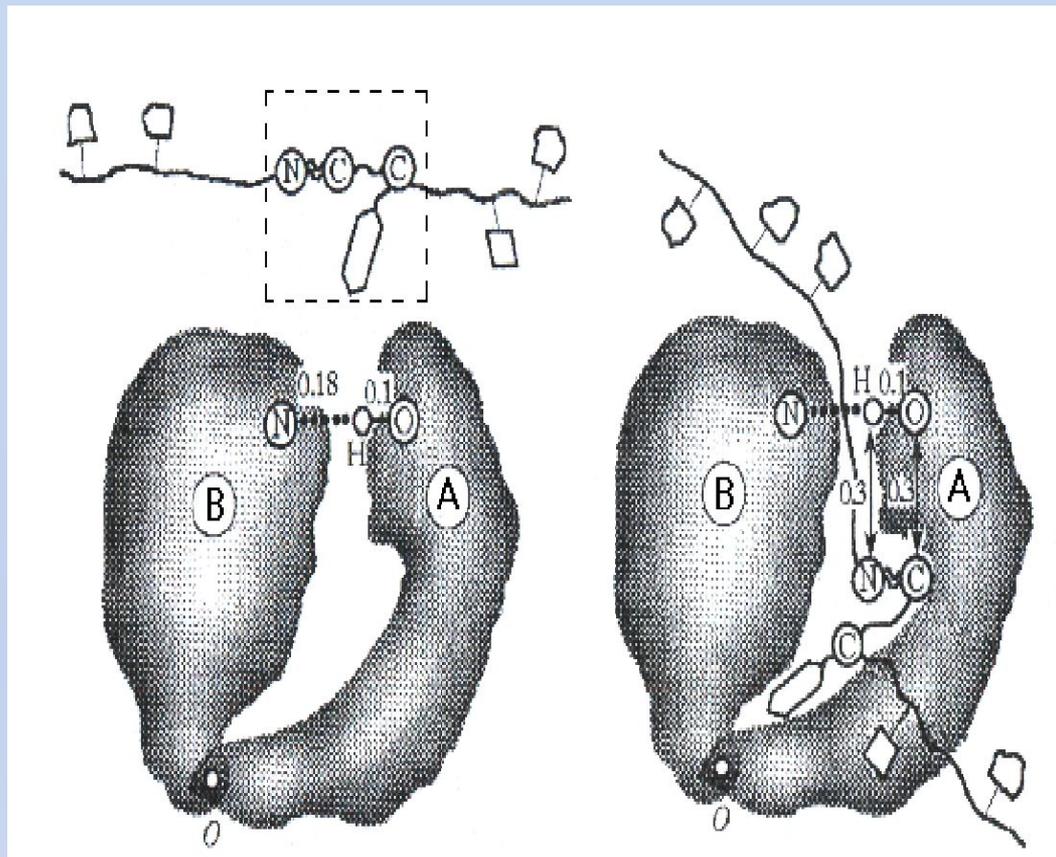


АКТИВНЫЙ ЦЕНТР
ФОРМИРУЕТСЯ
ФРАГМЕНТОМ
ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ,
СОДЕРЖАЩЕЙ РАЗНЫЕ
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ГРУППЫ



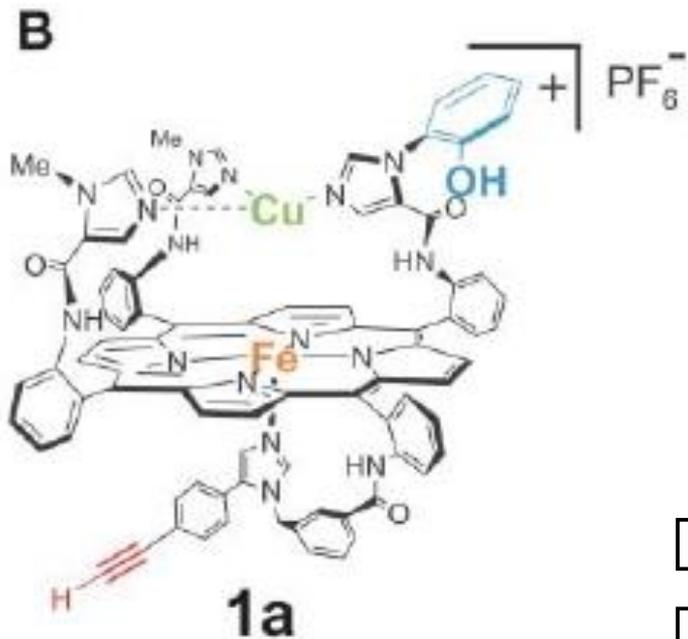
АКТИВНЫЙ ЦЕНТР АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ





Фермент α -химотрипсин

Субстрат удерживается в активном центре водородными связями.



Синтезированная модель ключевого элемента активного центра фермента цитохромоксидазы (По материалам

Science)

Содержит

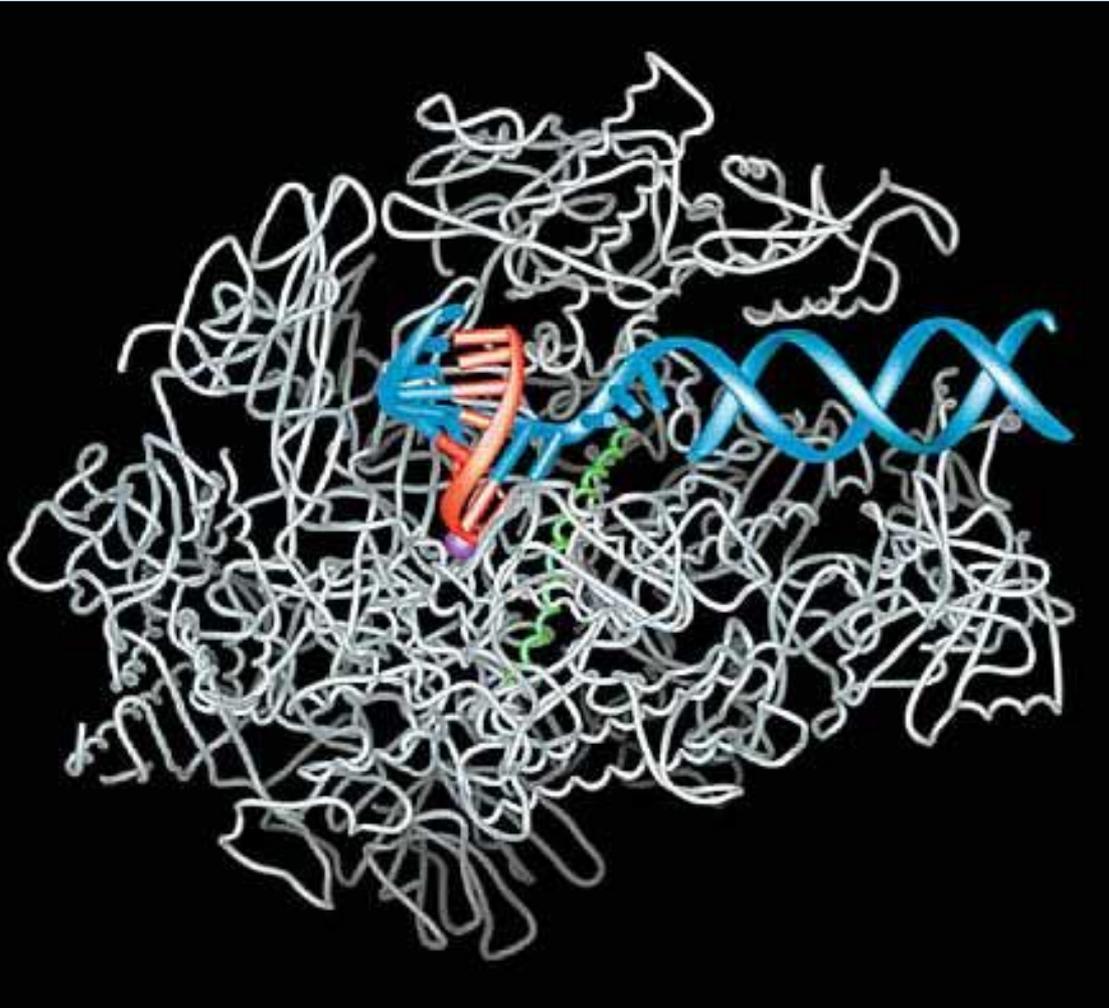
- фенольную группировку,
- атом железа
- атом меди.

Совместная работа этих трех центров обеспечивает появление четырех электронов, необходимых для восстановления кислорода в воду.

РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП

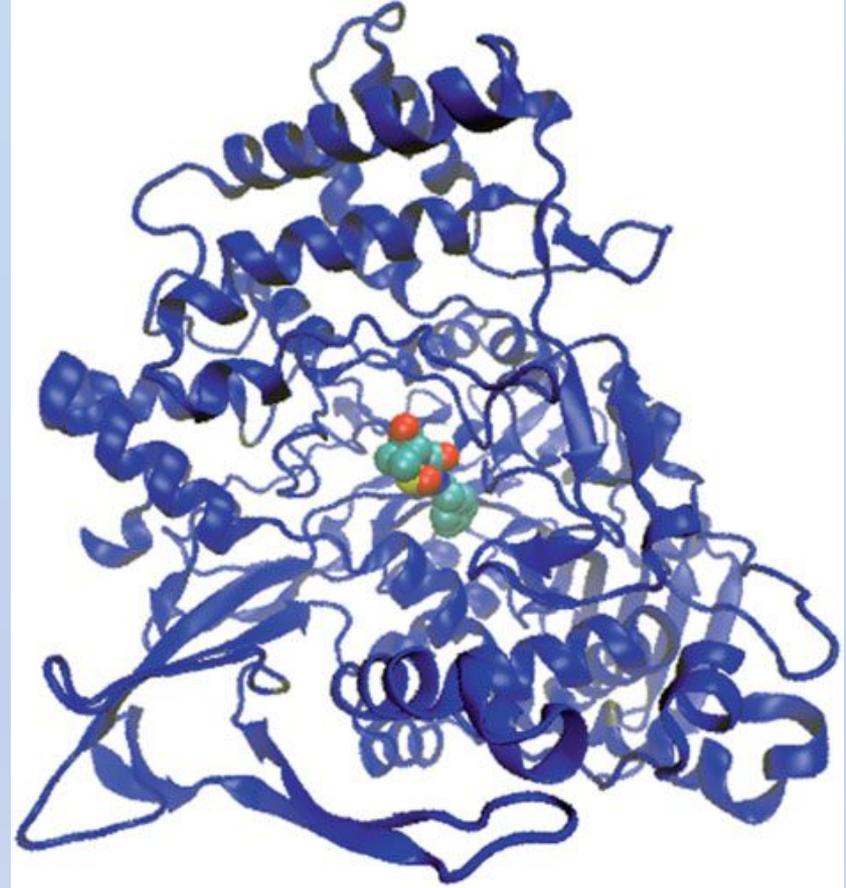
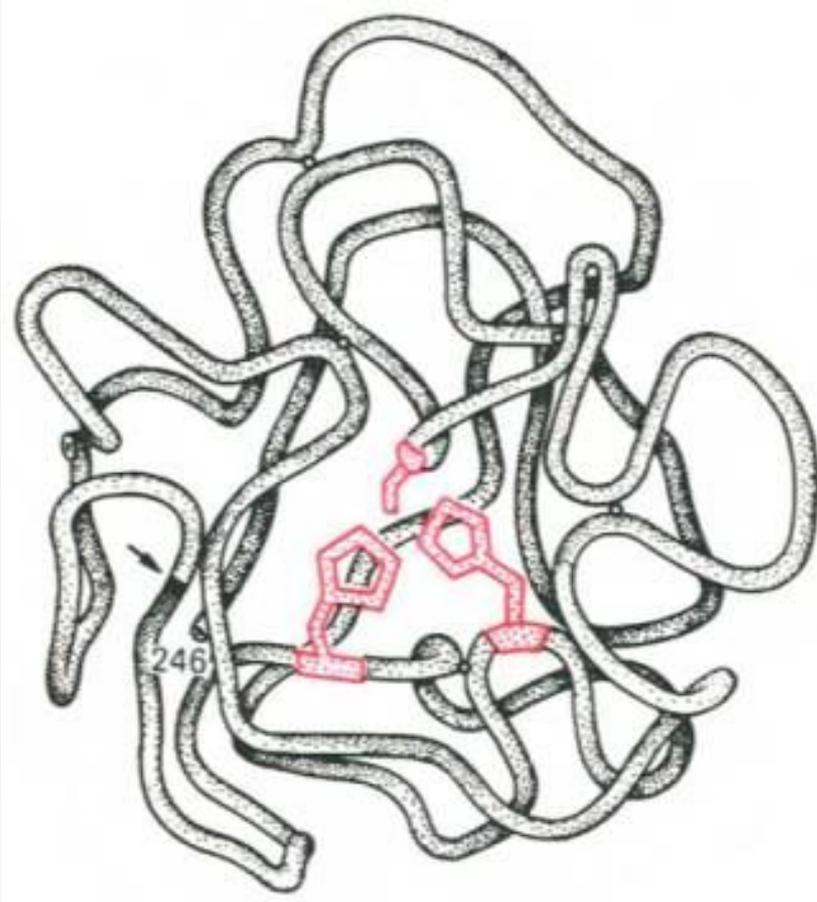
- УЧАСТИЕ В СОРБЦИИ СУБСТРАТА
- УЧАСТИЕ В ХИМИЧЕСКОМ ПРЕВРАЩЕНИИ СУБСТРАТА

ЧАСТО АКТИВНЫЙ ЦЕНТР РАСПОЛОЖЕН НА СТЫКЕ ДОМЕНОВ, ЛИБО В СТАНДАРТНО РАСПОЛОЖЕННОЙ «ВМЯТИНЕ»



Фрагмент структуры РНК-полимеразы II, содержащий **щель, в которой локализован активный центр фермента.**

Показаны спираль ДНК (*синяя*), растущая цепь РНК (*красная*), ион металла в активном центре в виде *фиолетовой сферы* и “мостиковая” α -спираль (*зеленая*).



СУБСТРАТ ОКРУЖЕН МНОГИМИ БОКОВЫМИ ЦЕПЯМИ БЕЛКА
ТАКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ **АКТИВНОГО ЦЕНТРА** ОБЕСПЕЧИВАЕТ
ФОРМИРОВАНИЕ ОСОБОЙ СРЕДЫ, КОТОРАЯ ОТЛИЧАЕТСЯ ОТ
КЛЕТОЧНОЙ.

МОДЕЛИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ФЕРМЕНТА

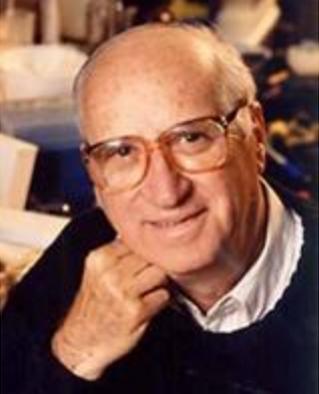
МОДЕЛЬ «КЛЮЧ - ЗАМОК» (Г.Э.ФИШЕР)



Герман Эмиль
Фишер
1852 - 1919



Нобелевская премия по химии, 1902 г.

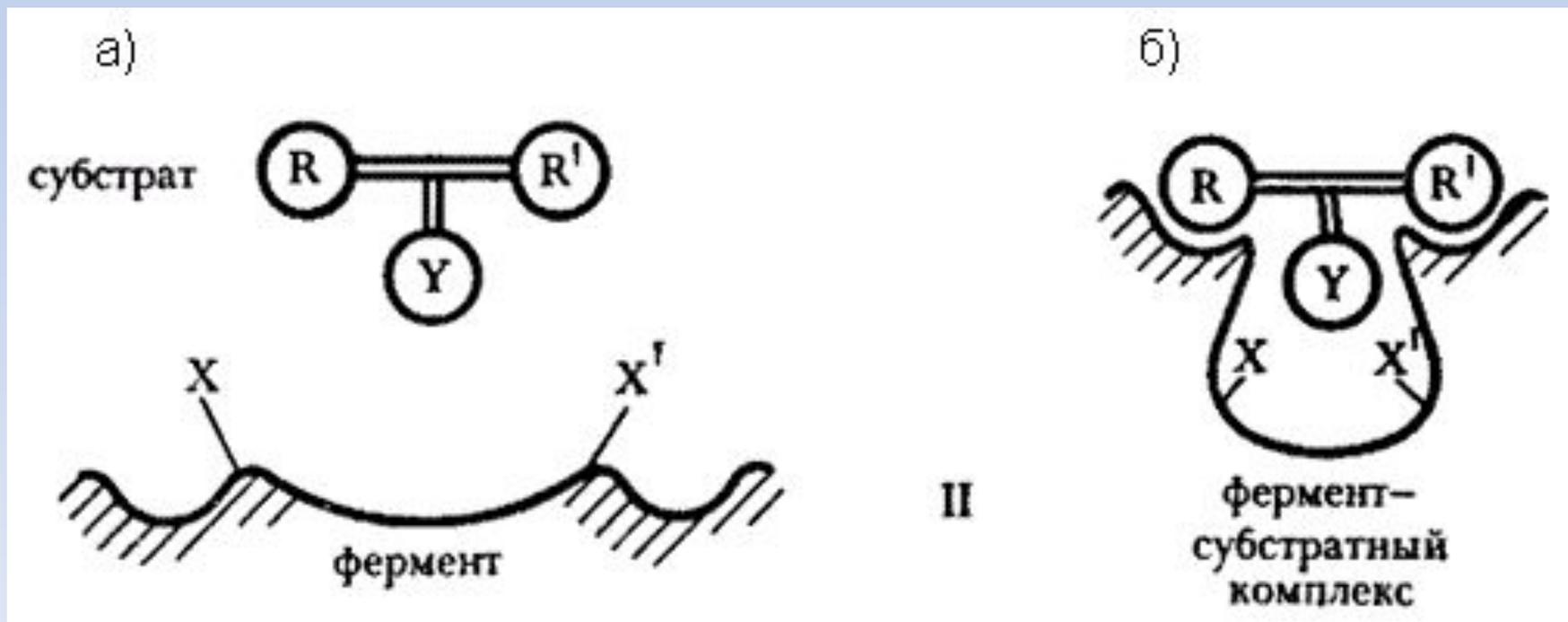


ТЕОРИЯ ИНДУЦИРОВАННОГО СООТВЕТСТВИЯ (Д.Э.КОШЛАНД)

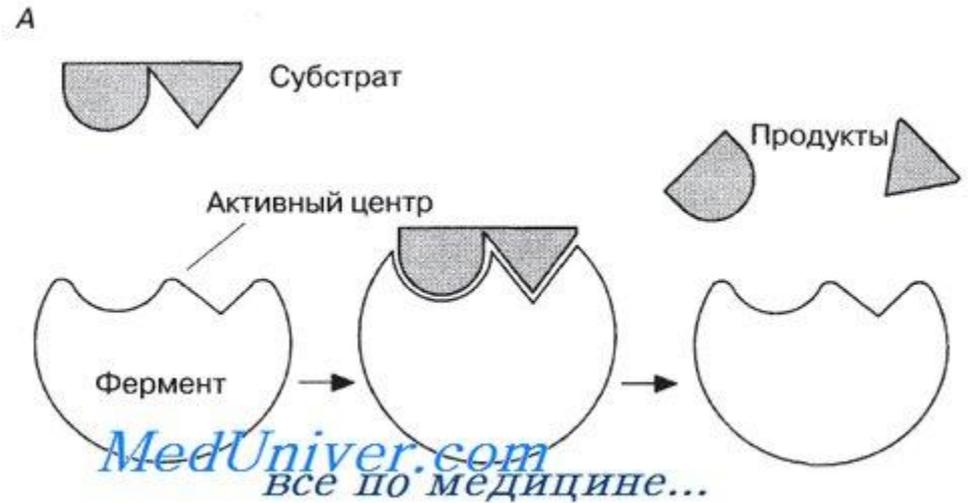
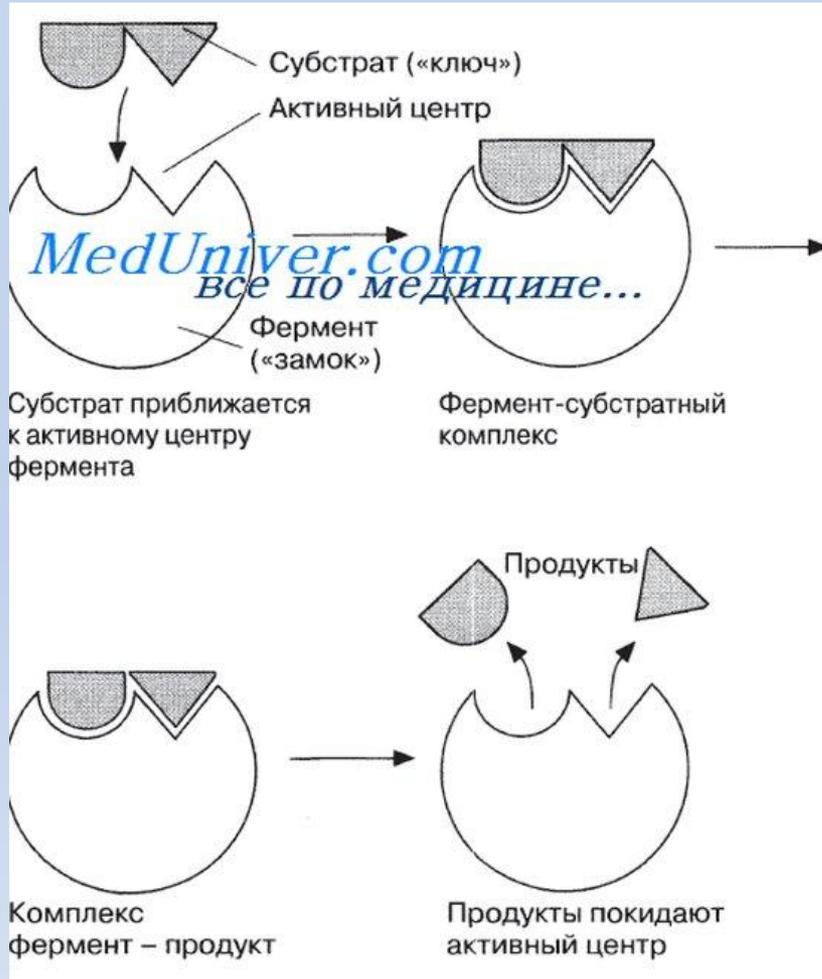
Даниэл Эдвард

Кошланд

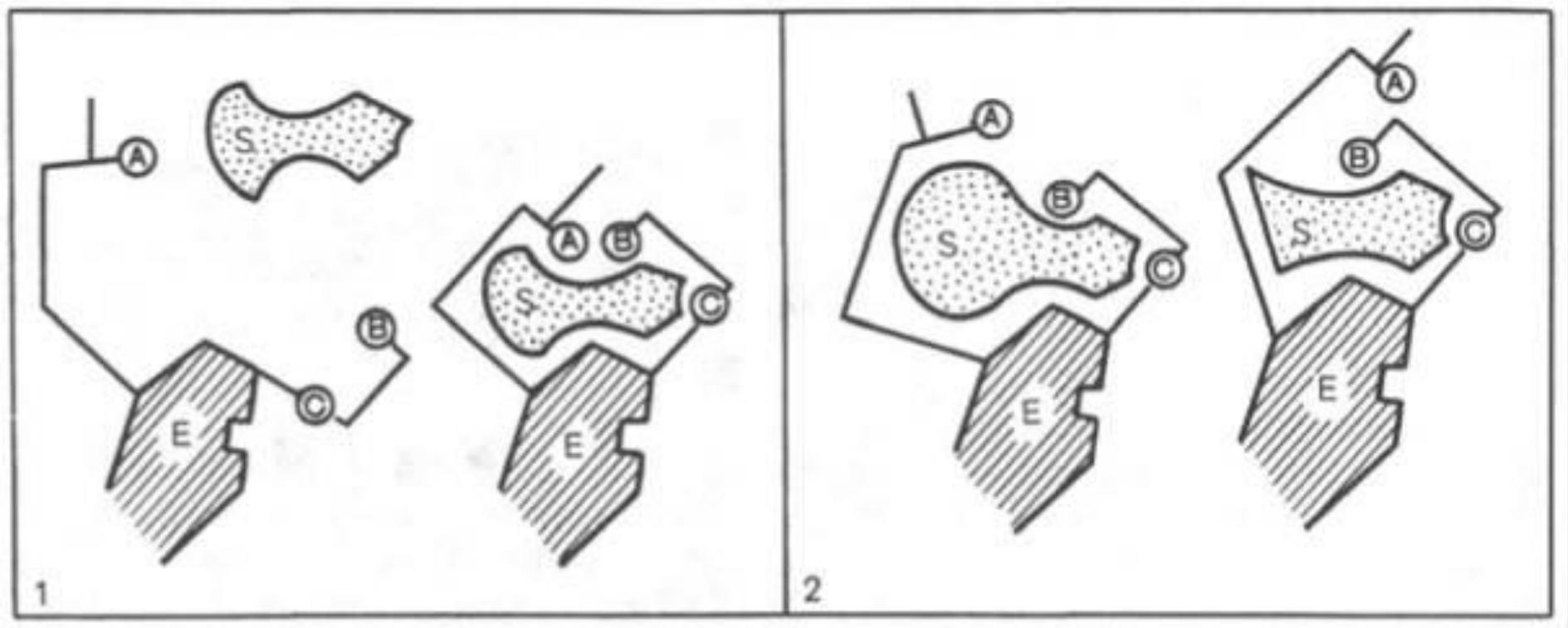
1920 — 2007



ТЕОРИЯ ИНДУЦИРОВАННОГО СООТВЕТСТВИЯ



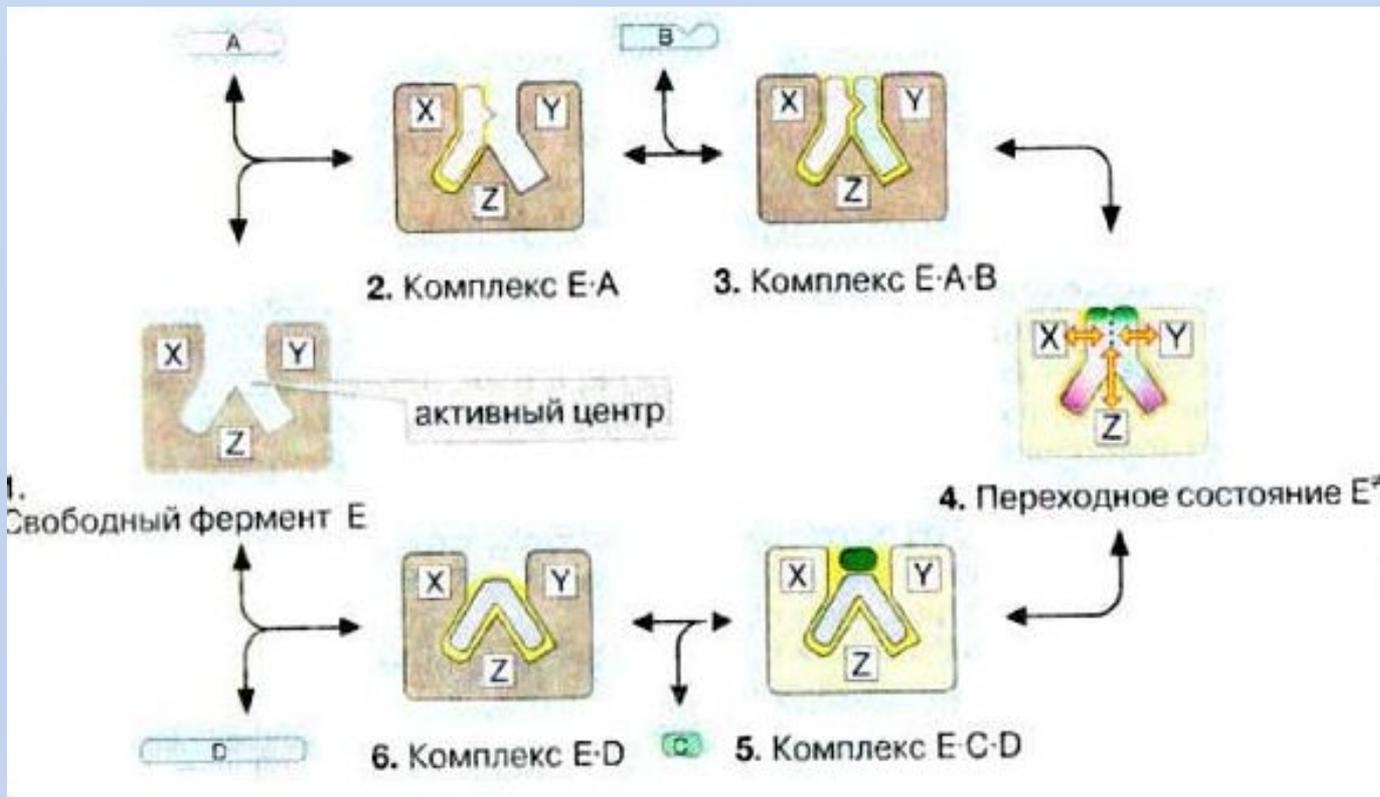
МОДЕЛЬ «КЛЮЧ - ЗАМОК»



Изменения структуры активного центра, вызванные субстратом, согласно модели «индуцированного соответствия» Д. Кошланда

ИНДУЦИРОВАННОЕ СООТВЕТСТВИЕ

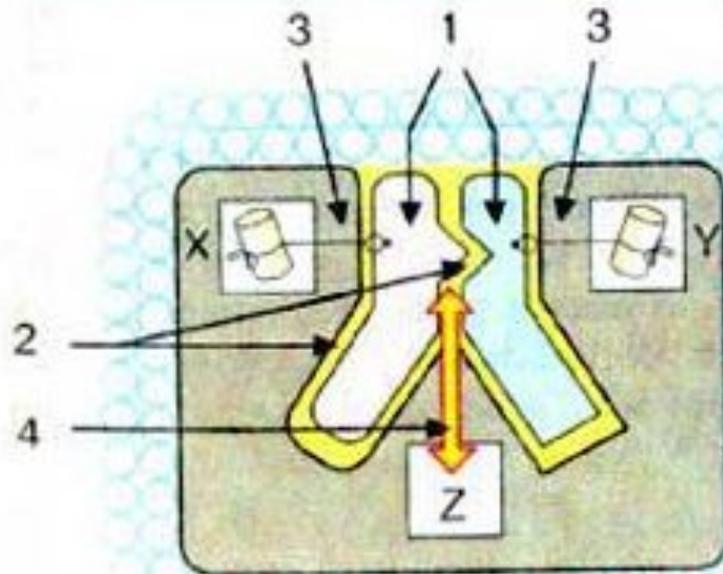
ДОСТИГАЕТСЯ СМЕЩЕНИЕМ ЛИБО КРУПНЫХ БЛОКОВ, ЛИБО ЦЕЛЫХ БЕЛКОВЫХ ДОМЕНОВ. ЭТИ СМЕЩЕНИЯ ПРОИСХОДЯТ ПУТЕМ МЕЛКИХ ЛОКАЛЬНЫХ ДЕФОРМАЦИЙ.



1. ДО СВЯЗЫВАНИЯ С СУБСТРАТОМ ФЕРМЕНТ НАХОДИТСЯ В **ОТКРЫТОЙ ФОРМЕ**
2. ПОСЛЕ СВЯЗЫВАНИЯ С СУБСТРАТОМ ДОМЕНЫ ПОВОРАЧИВАЮТСЯ, ЩЕЛЬ ЗАКРЫВАЕТСЯ, ИЗ НЕЕ ВЫТЕСНЯЕТСЯ ВОДА, ФЕРМЕНТ ПЕРЕХОДИТ В **ЗАКРЫТУЮ ФОРМУ**
3. ПОСЛЕ КАТАЛИТИЧЕСКОГО АКТА ФЕРМЕНТ СНОВА ОТКРЫВАЕТСЯ И ПРОДУКТ ОСВОБОЖДАЕТСЯ

ЭТАПЫ

- 1 Сближение и ориентация субстратов
- 2 Исключение воды
- 3 Стабилизация переходного состояния
- 4 Перенос группы

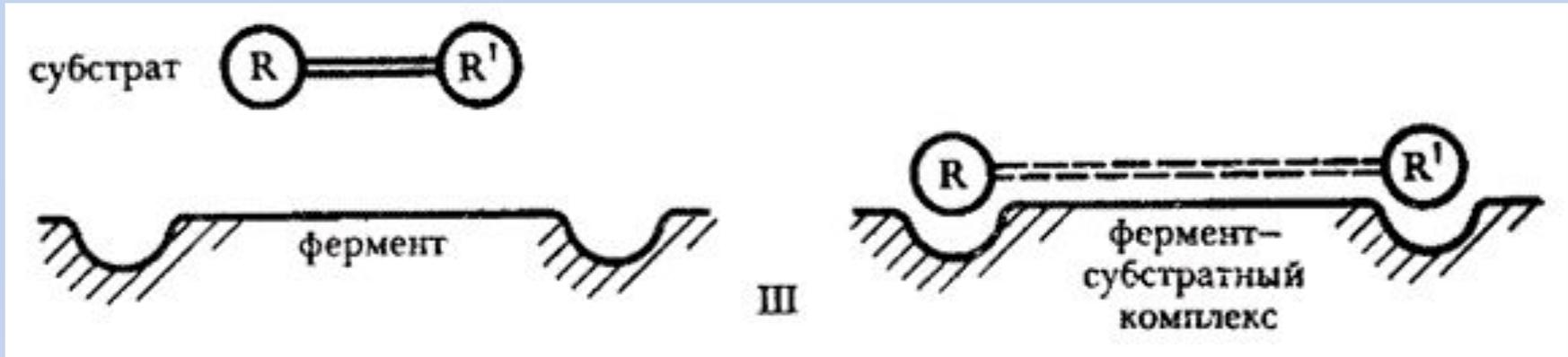




Генри **ЭЙРИНГ**

1901 – 1981

ТЕОРИЯ НАПРЯЖЕНИЙ (Р.ЛАМРИ, Г.ЭЙРИНГ, ДЖ.Д. СПАЙКС)



СИЛЫ СОРБЦИИ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НАПРЯЖЕНИЙ (ДЕФОРМАЦИЙ) В МОЛЕКУЛАХ РЕАГЕНТОВ.

АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ЖЕСТКИЙ, И МОЛЕКУЛА СУБСТРАТА ДОЛЖНА ПОДВЕРГНУТЬСЯ ДЕФОРМАЦИИ. В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЕФОРМАЦИИ СУБСТРАТ АКТИВИРУЕТСЯ

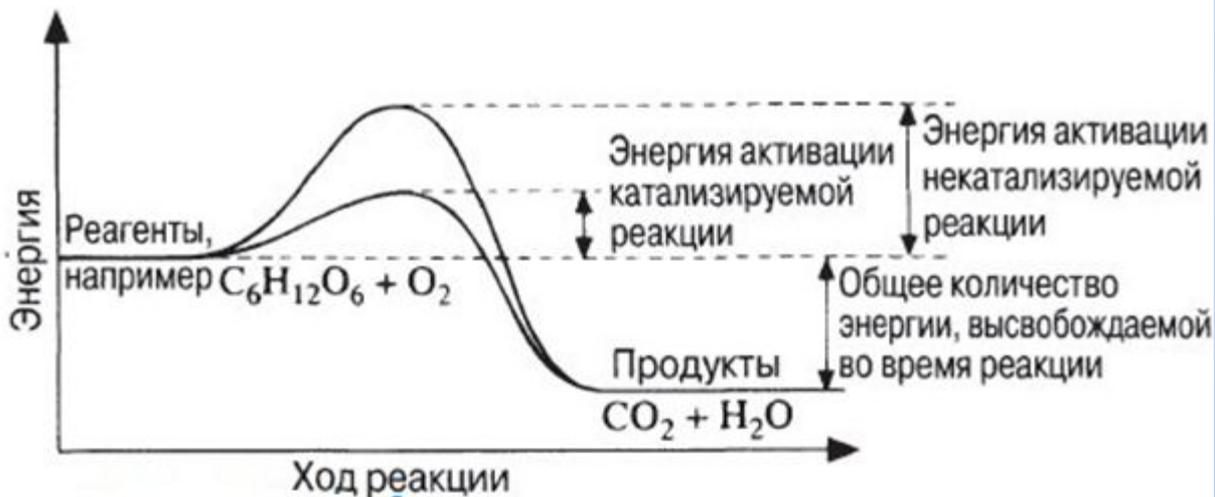
В реальных системах ни субстрат, ни фермент не являются жесткими молекулами. При связывании претерпевают конформационные изменения, как правило, молекулы обоих реагентов.

Поэтому провести четкую грань между различными механизмами катализа не представляется возможным.

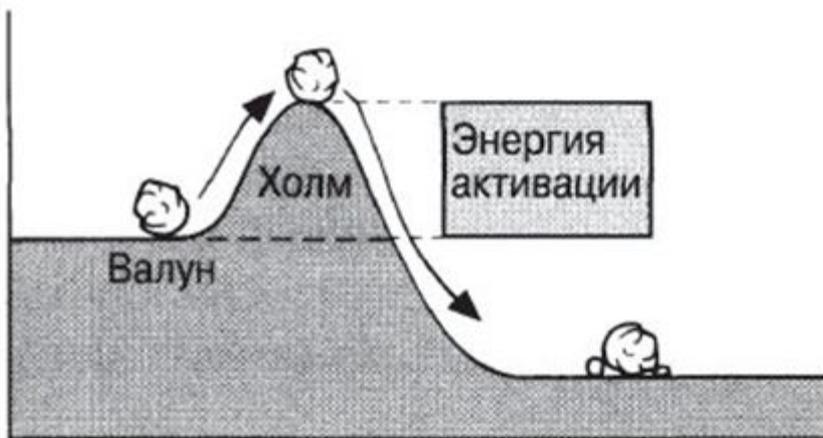
ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ СУЩНОСТЬ всех этих теорий одна:

потенциальная свободная энергия связывания (сорбции) субстрата на ферменте тратится на **понижение барьера свободной энергии активации** последующей химической реакции.

А

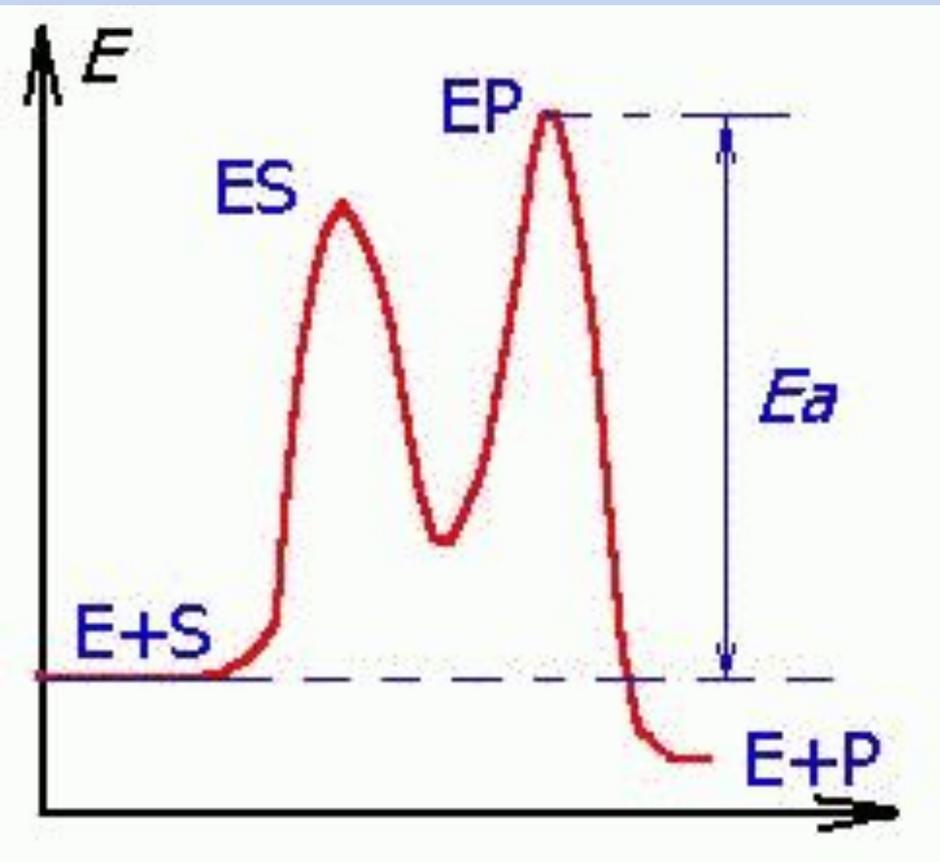


Б





Катализ приводит к **ускорению достижения равновесия** за счет **снижения энергии активации** (E_a), часто ступенчато



Три стадии процесса:



(БЫСТРАЯ)



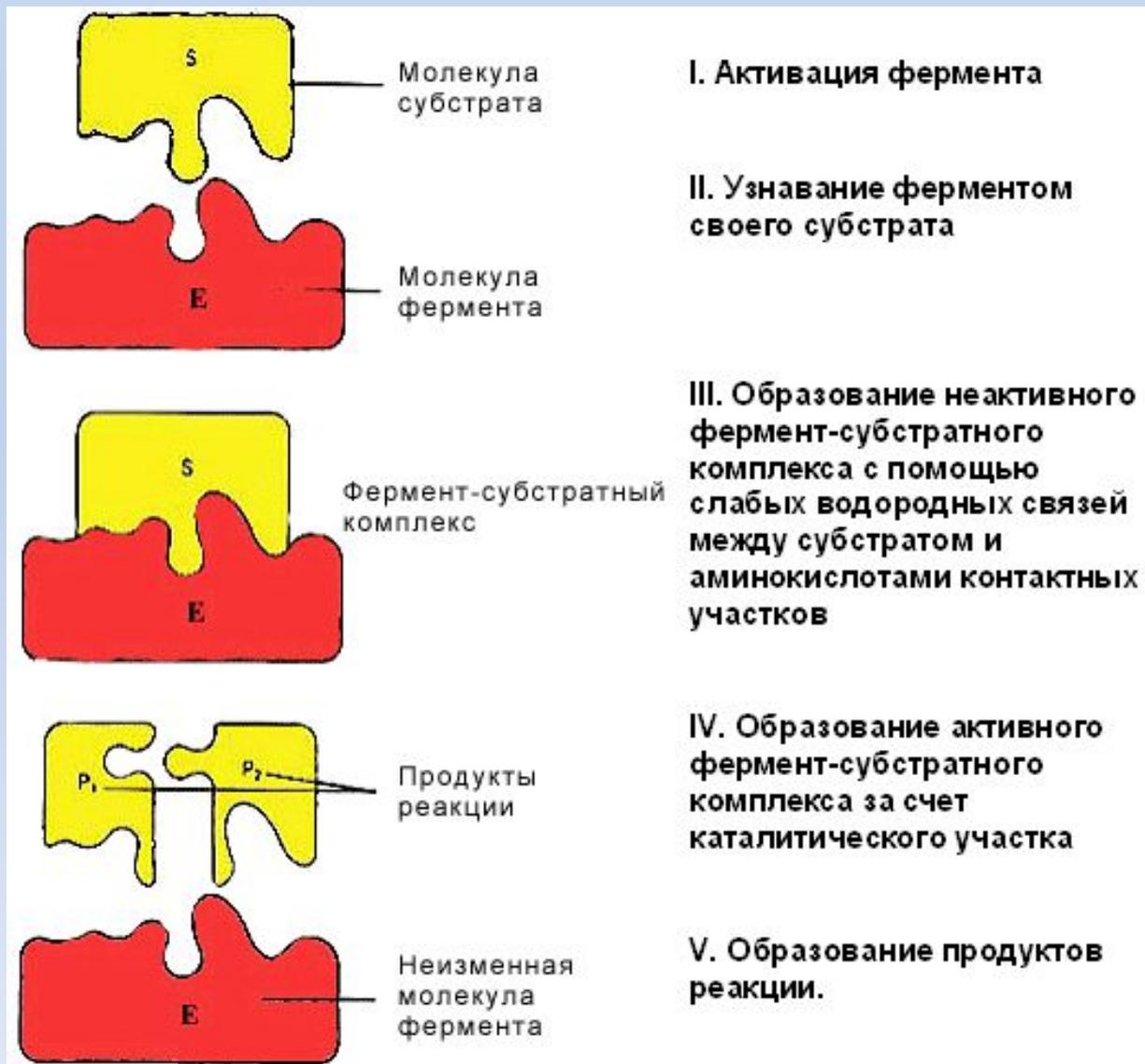
Таким образом, в момент равновесия скорости образования и исчезновения фермент-субстратного комплекса (ES) равны:



Разложение перекиси водорода

- Неферментативный путь: энергия активации 75 кДж/моль
- Ферментативный путь (каталаза): энергия активации 8 кДж/моль

МЕХАНИЗМ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ



ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ ФЕРМЕНТА И СУБСТРАТОМ

В образовании фермент-субстратных комплексов участвуют

□ водородные связи

□ электростатические взаимодействия

□ гидрофобные взаимодействия

□ ковалентные, координационные

Информация о природе связей между субстратом и связывающим участком активного центра фермента может быть получена методами ЭПР и ЯМР, а также методами УФ- и ИК-спектроскопии.

Прямые доказательства существования фермент-субстратного комплекса были получены в лабораториях

Д. Кейлина и Б. Чанса.

В настоящее время экспериментальные и математические методы кинетики, термодинамики и статической механики химических реакций позволяют определить для ряда ферментативных реакций кинетические и термодинамические показатели, в частности, константы диссоциации промежуточных фермент-субстратных комплексов, константы скорости и равновесия их образования.

ВЫВОД УРАВНЕНИЯ МИХАЭЛИСА - МЕНТЕН

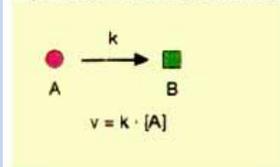


Леонор МИХАЭЛИС
1875 –1949

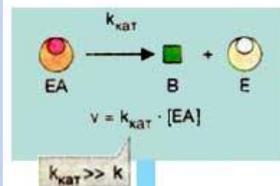


Мод Леонора МЕНТЕН
1879 –1960

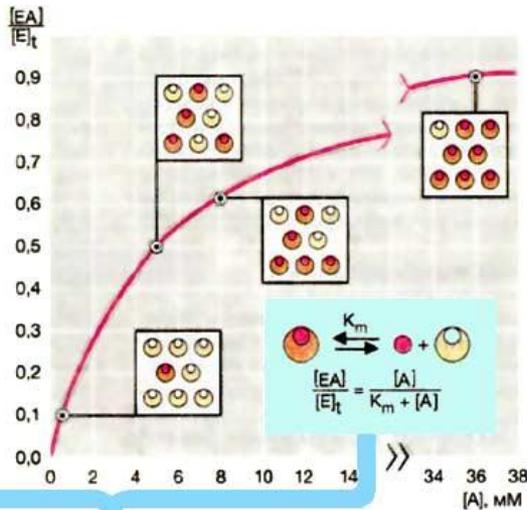
1. Некаталитическая реакция (в отсутствие фермента)



2. Ферментативная реакция



3. Связывание субстрата



4. Уравнение Михаэлиса-Ментен

V: максимальная скорость
 $V = k_{кат} [E]_t$
 характеризует эффективность катализа

$$v = \frac{k_{кат} [E]_t \cdot [A]}{K_m + [A]}$$

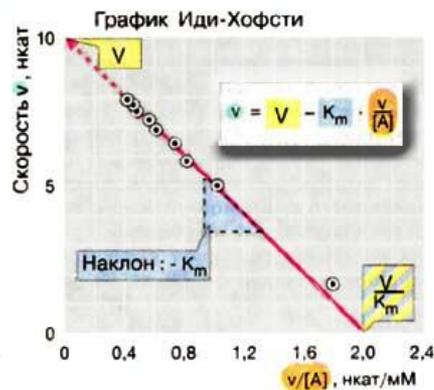
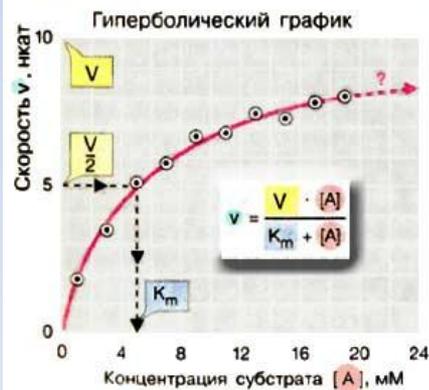
K_m : константа Михаэлиса
 $K_m = [A]$ при $v = V/2$
 характеризует сродство фермента к субстрату

Размерность: М/с

Размерность: М/с

Размерность: М

А. Модель Михаэлиса-Ментен

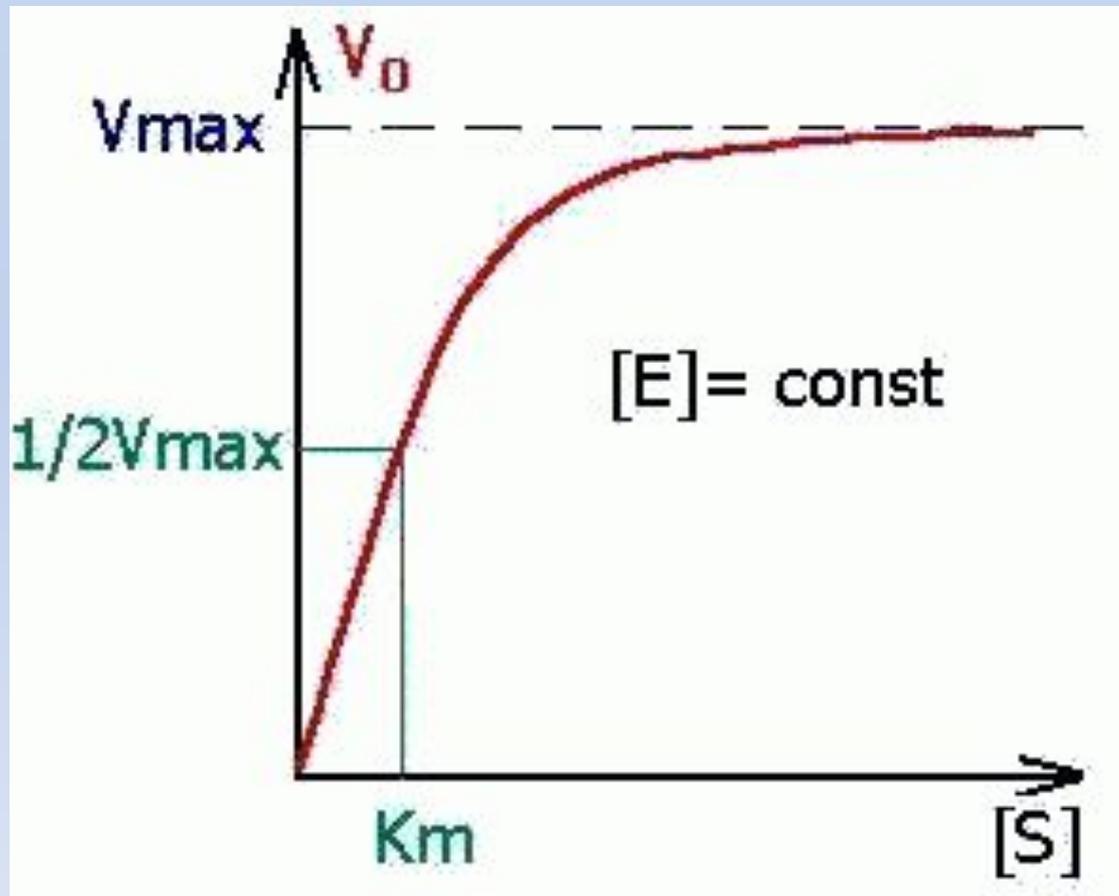


Б. Определение V и K_m

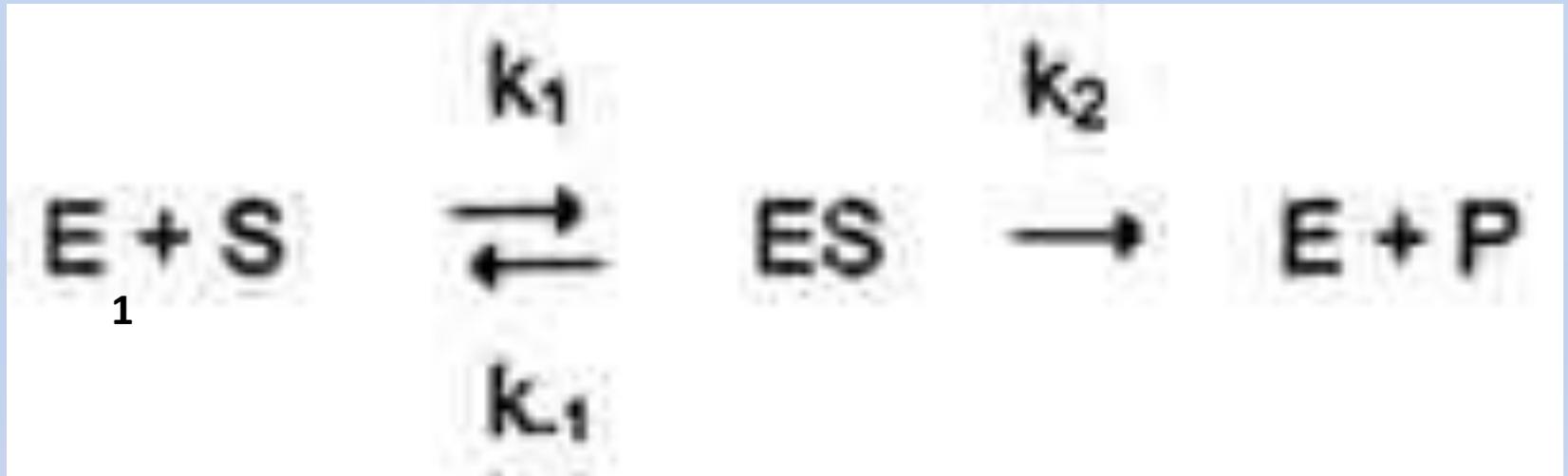
Допущения:

- 1) В стационарном состоянии скорости образования и расходования **ES** равны;
- 2) Весь фермент в условиях насыщающих концентраций субстрата превращается в фермент-субстратный комплекс **ES**
- 3) Если весь фермент находится в виде **ES**, то скорость реакции максимальна и $V_{\max} = k_2[ES]$.

ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ СУБСТРАТА



РАССМОТРИМ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ РЕАКЦИЮ



E_1 – свободный фермент

S – субстрат

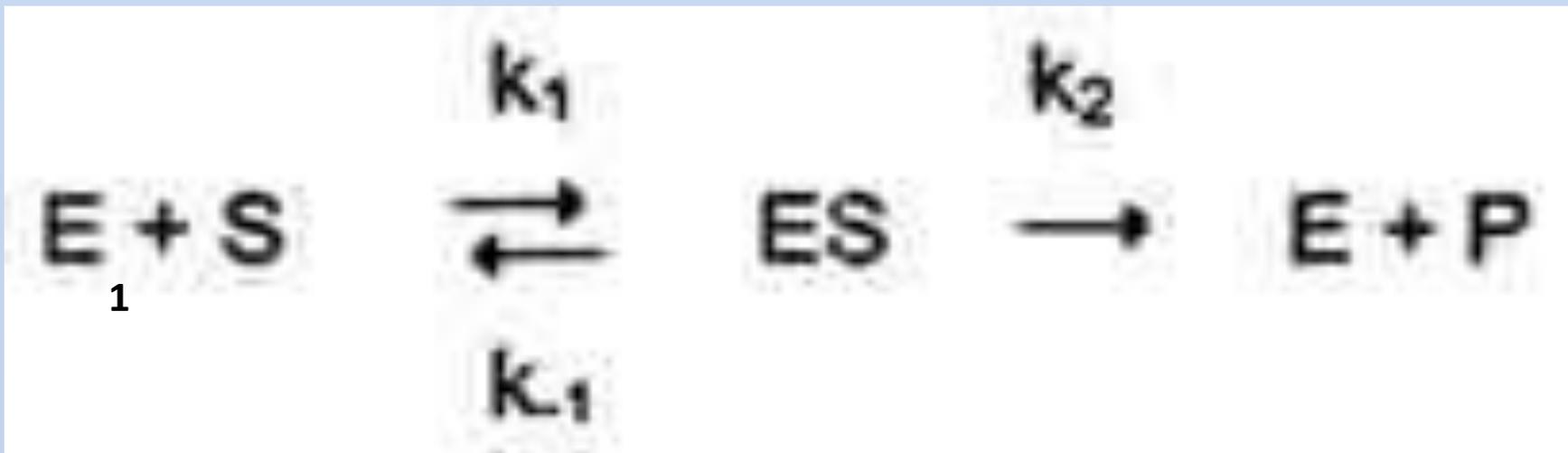
P - продукт

РАССМОТРИМ ПРИНЦИП ЗАКРЫТОСТИ
СИСТЕМЫ:

$$[E] = [E_1] + [ES]$$

ОТСЮДА

$$[E_1] = [E] - [ES]$$



V_1 — СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ И РАСЩЕПЛЕНИЯ ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНОГО КОМПЛЕКСА

$$V_1 = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES]$$

В СТАЦИОНАРНОМ СОСТОЯНИИ $V_1 = 0$, ТОГДА

$$k_1 [E_1][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

$$[E_1] = [E] - [ES]$$

$$k_1 ([E] - [ES])[S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

ВЫРАЗИМ [ES]

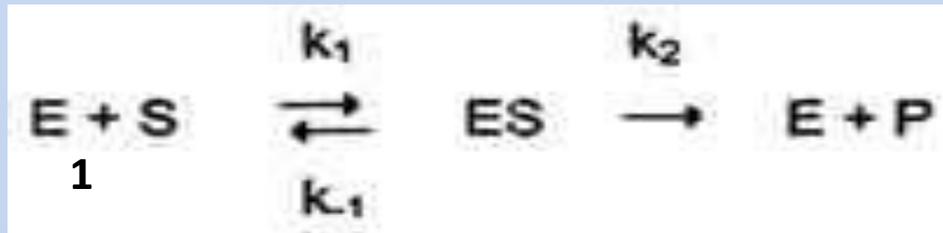
$$[ES] = \frac{[E][S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}$$

ОТНОШЕНИЯ КОНСТАНТ СКОРОСТЕЙ

$$\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M$$

ТОГДА

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M + [S]}$$



ЗАПИШЕМ СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ
КАК СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОДУКТА

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_2 [ES]$$

ПОДСТАВИМ ВЫРАЖЕНИЕ ДЛЯ **ES**

ПОЛУЧИМ

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = k_2 \frac{[E][S]}{K_M + [S]}$$

УЧТЕМ, ЧТО

$$V_{\max} = k_2 [E]$$

В ЭТОЙ СИТУАЦИИ ВЕСЬ ФЕРМЕНТ ПОШЕЛ НА ОБРАЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНОГО КОМПЛЕКСА.

В ИТОГЕ ПОЛУЧИМ УРАВНЕНИЕ МИХАЭЛИСА –
МЕНТЕН

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

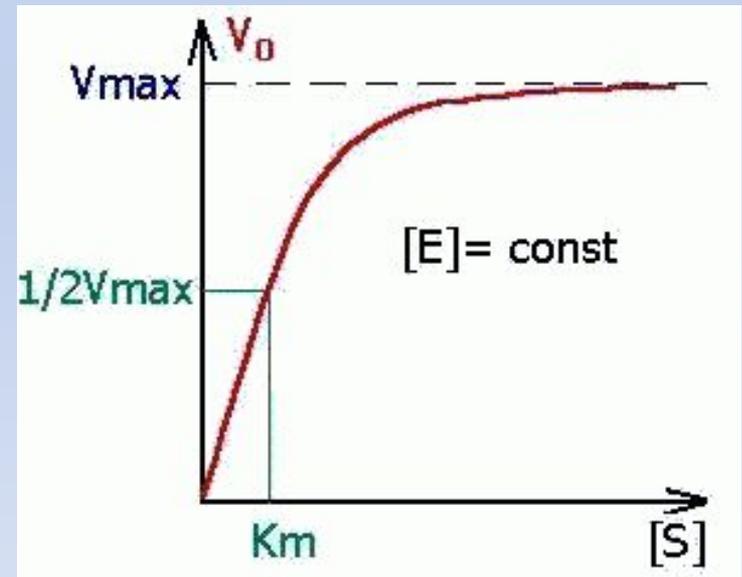
Константа Михаэлиса измеряется в молях на литр и колеблется от 10^{-2} до 10^{-7} моль/л.

Чем меньше K_M , тем активнее фермент.

При $V=1/2V_{\max}$, имеем $K_M = [S]$.

Однако определение v_{\max} и K_M затруднительно.

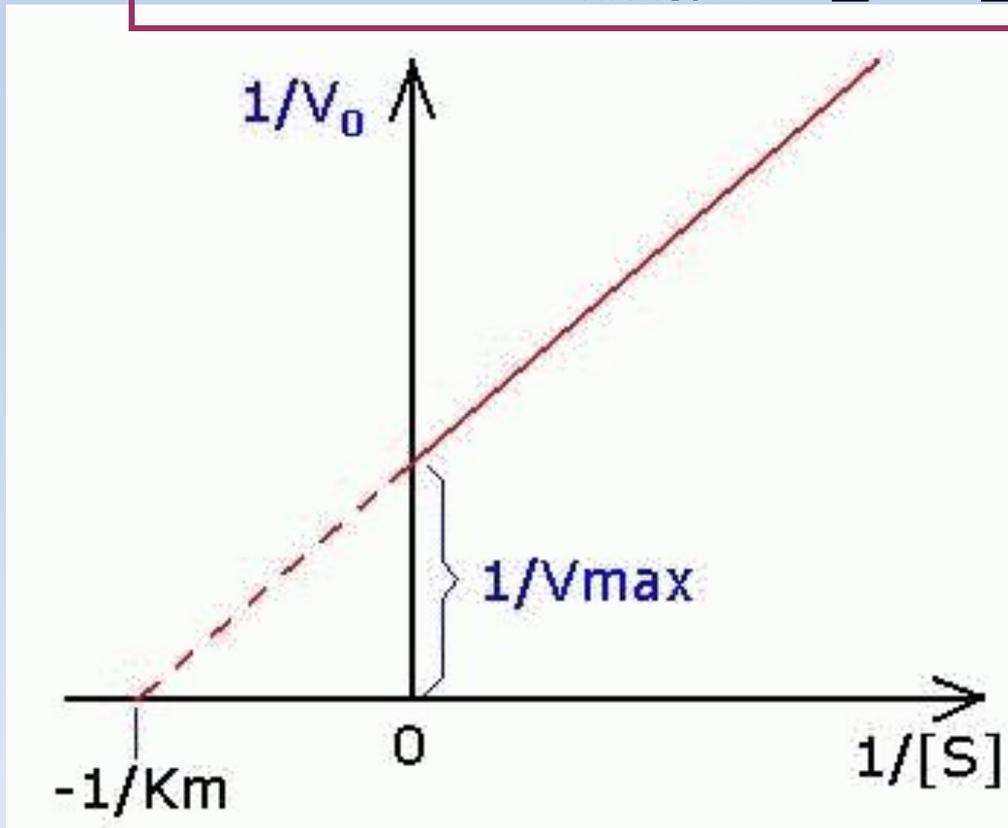
Для определения K_M и v_{\max} используют прием **линеаризации** уравнения Михаэлиса – Ментен.



ЛИНЕЙНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ УРАВНЕНИЯ МИХАЭЛИСА - МЕНТЕН

УРАВНЕНИЕ ЛАЙНУИВЕРА - БЕРКА

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

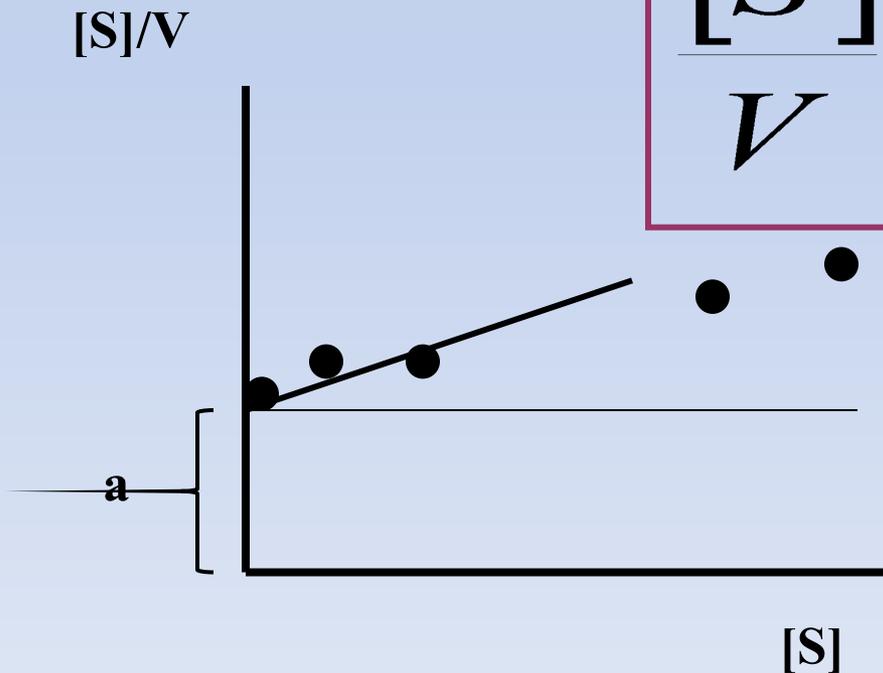


$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{K_M}{V_{\max}}$$

УРАВНЕНИЕ ЛЭНГМЮРА используется, если отклонения от линейности наблюдаются при высоких концентрациях субстрата

ПОЛУЧИМ, УМНОЖАЯ ОБЕ ЧАСТИ УРАВНЕНИЯ ЛАЙНУИВЕРА – БЕРКА НА [S]

$$\frac{[S]}{V} = \frac{[S]}{V_{\max}} + \frac{K_M}{V_{\max}}$$



$$a = K_M / V_{\max}$$

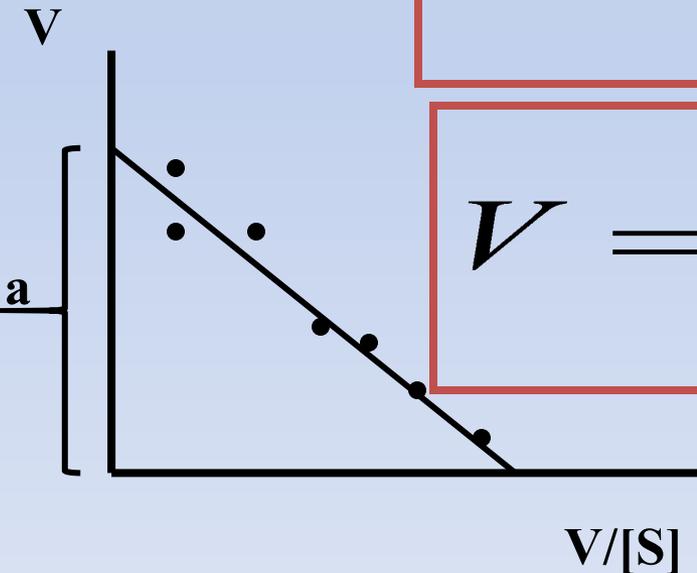
$$\operatorname{tg} \alpha = 1 / V_{\max}$$

УРАВНЕНИЕ ИДИ - ХОФСТИ

ПОЛУЧИМ, УМНОЖАЯ ОБЕ ЧАСТИ УРАВНЕНИЯ ЛАЙНУИВЕРА –
БЕРКА НА $v \cdot V_{\max}$

$$V_{\max} = \frac{1}{[S]} K_M V + V$$

$$V = V_{\max} - \frac{1}{[S]} K_M V$$

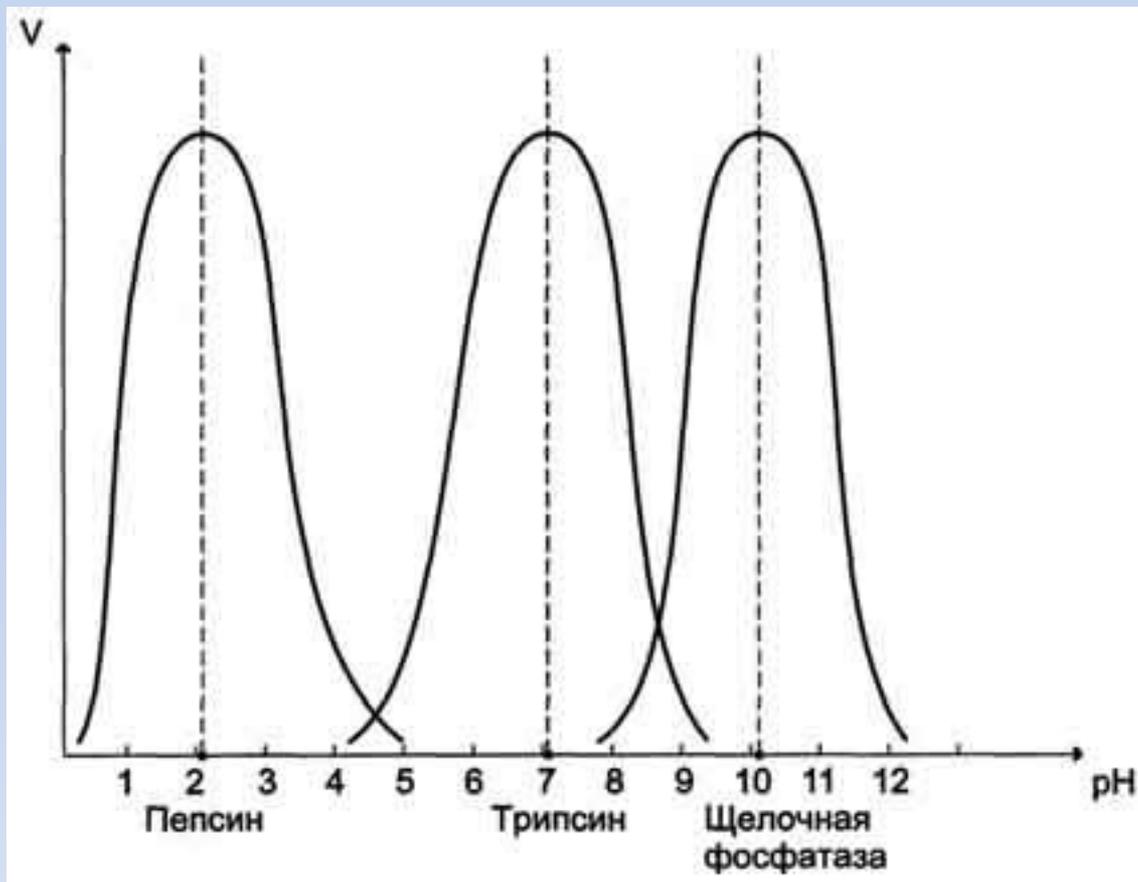


$$a = V_{\max}; \operatorname{tg} \alpha = -K_M$$

Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры



Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от pH среды.



Оптимальные значения pH для некоторых ферментов

Фермент	Оптимальное значение pH
Пепсин	1,5-2
Пируват-карбоксилаза	4,8
Каталаза	6,8-7
Фумараза	6,5
Уреаза	6,8-7,2
Кабоксипептидаза	7,5
Трипсин	6,5-7,5
Аргиназа	9,5-9,9