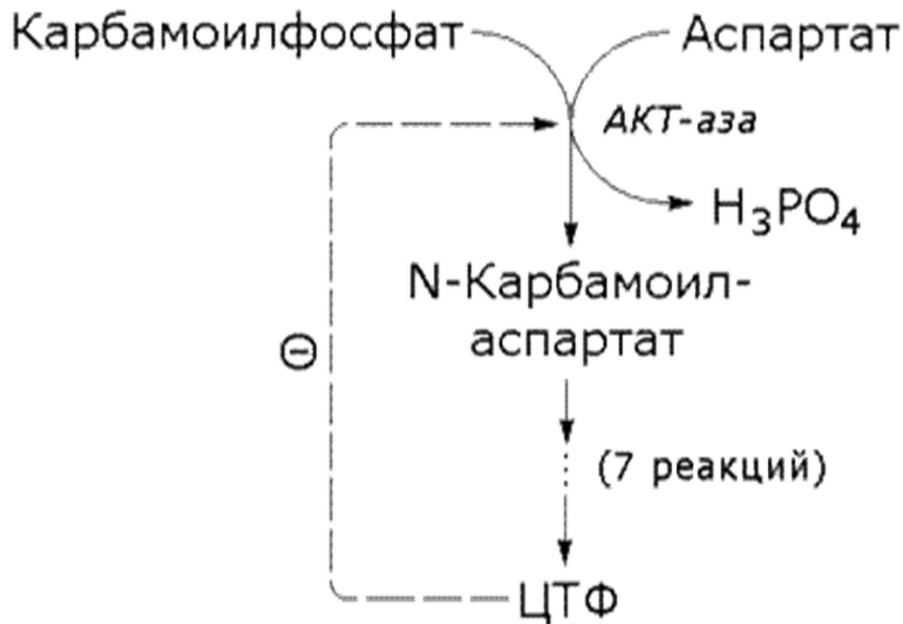


Выявить ферменты с аллостерической регуляцией можно, изучая кинетику этих ферментов.

Эти ферменты не подчиняются законам Михаэлиса-Ментен, они имеют характерную **S-образную кривую зависимости скорости реакции от концентрации субстрата**.



# S-образная кривая зависимости скорости реакции от концентрации субстрата

*Впервые S-образные функции для насыщения были получены в 1909 году (А. Хилл)*

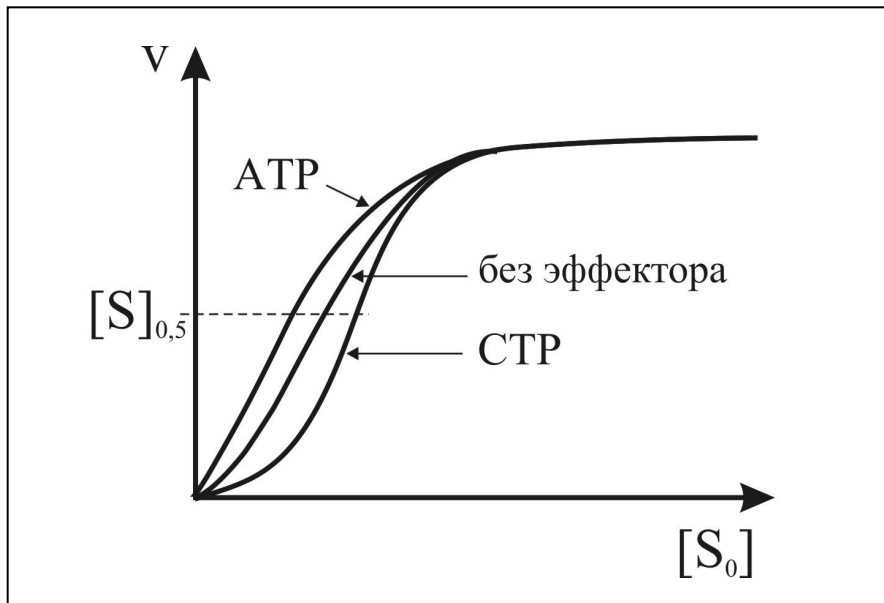


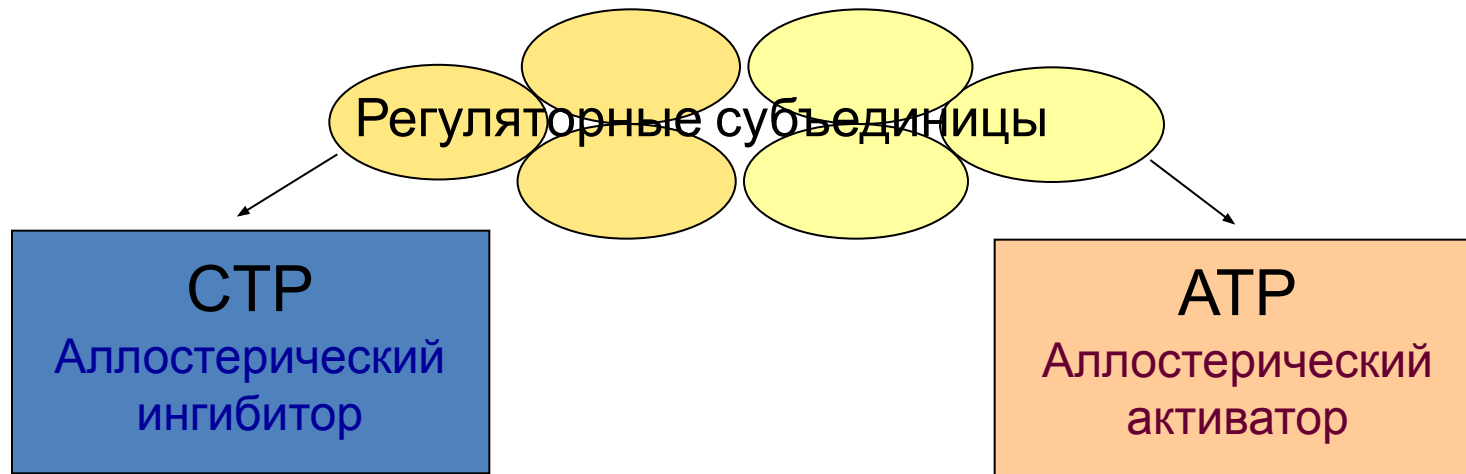
График зависимости скорости реакции от концентрации субстрата в виде S-образной кривой на примере АКТ-азы: без эффиктора, с АТФ, с СТР. Субстрат – аспарат.



Арчибальд Хилл  
1886-1977

Английский физиолог  
Нобелевская премия по  
физиологии и медицине  
1922 г.

# Работа регуляторных субъединиц АКТ-азы



Протекание реакции во времени приводит к появлению СТР – конечного продукта цепи. По мере накопления СТР и его связывания с ферментом сродство к субстратам снижается и фермент включается в работу только при гораздо больших концентрациях субстрата. АТР конкурирует с СТР и может устранять его ингибирующее действие. Регуляция является обратимой и при изменении в клетке концентрации АТР или СТР скорость работы фермента изменяется. Таким образом АКТ-аза обеспечивает постоянное присутствие в клетке нужных количеств СТР.

# Кооперативное связывание

Аллостерические ферменты обладают **свойством кооперативности**: взаимодействие **эффектора с аллостерическим центром** вызывает последовательное кооперативное изменение конформации всех субъединиц, приводящее к **изменению конформации активного центра и к изменению сродства фермента к субстрату**, что **снижает или увеличивает каталитическую активность фермента**.

# Коэффициент Хилла $h$ – безразмерная величина, характеризующая кооперативность связывания лиганда ферментом

$$Y = \frac{[L]^h}{[L]_{0,5}^h + [L]^h}$$

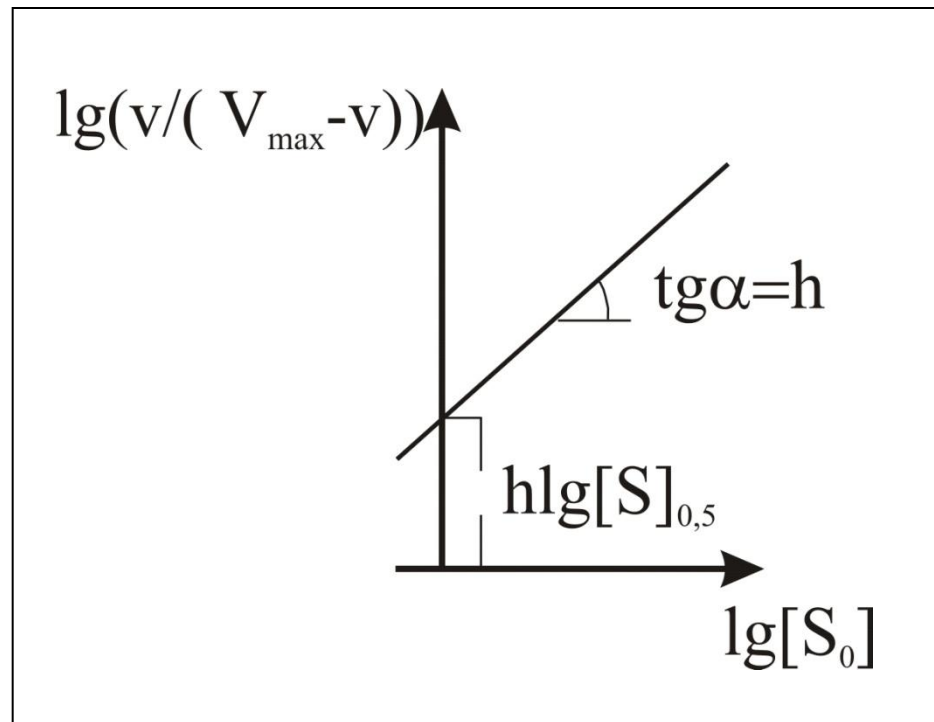
$Y$  – степень насыщения,  $[L]$  – равновесная концентрация лиганда и  $[L]_{0,5}$  – равновесная концентрация лиганда, при которой  $Y=0,5$  от максимального насыщения.

$$v = V_{\max} \frac{[S_0]^h}{[S]_{0,5}^h + [S_0]^h}$$

$V_{\max}$  – максимальная скорость при  $S_0 \rightarrow \infty$ ,  $[S]_{0,5}$  – концентрация субстрата при половине максимальной скорости, которая входит в уравнение вместо константы Михаэлиса  $K_M$ .

# Графическое определение коэффициента Хилла

$$\lg(v/(V_{\max} - v)) = h \lg[S_0] - h \lg[S]_{0,5}$$



- Для **изостерических ферментов**, у которых кооперативного взаимодействия между активными центрами нет, то есть сродство фермента к субстрату не зависит от уже присоединенных молекул субстрата,  **$h=1$** .
- Положительная кооперативность ( **$h>1$** ) характеризуется тем, что присоединение одной молекулы субстрата к активному центру фермента увеличивает сродство к субстрату остальных активных центров.

*S-образные кривые зависимости скорости реакции от концентрации субстрата характерны для положительной кооперативности. Связывание кислорода с гемоглобином, имеющим 4 центра связи, характеризуется параметром Хилла  $h=2,9$ .*

- Отрицательная кооперативность ( **$h<1$** ) характеризуется тем, что присоединение одной молекулы лиганда к активному центру фермента уменьшает сродство к лиганду остальных активных центров.

## **Особенности строения и функционирования аллостерических ферментов:**

- обычно это олигомерные белки, состоящие из нескольких протомеров (субъединиц);
- они имеют аллостерический центр, пространственно удалённый от каталитического активного центра;
- эффекторы присоединяются к ферменту нековалентно в аллостерических (регуляторных) центрах;
- аллостерические центры, так же, как и каталитические, могут проявлять различную специфичность по отношению к лигандам: она может быть абсолютной и групповой. Некоторые ферменты имеют несколько аллостерических центров, одни из которых специфичны к активаторам, другие - к ингибиторам.



- аллостерические ферменты обладают свойством кооперативности;
- регуляция аллостерических ферментов обратима: отсоединение эффектора от регуляторной субъединицы восстанавливает исходную каталитическую активность фермента;
- аллостерические ферменты катализируют ключевые реакции данного метаболического пути.

## **Эффект кооперативности:**

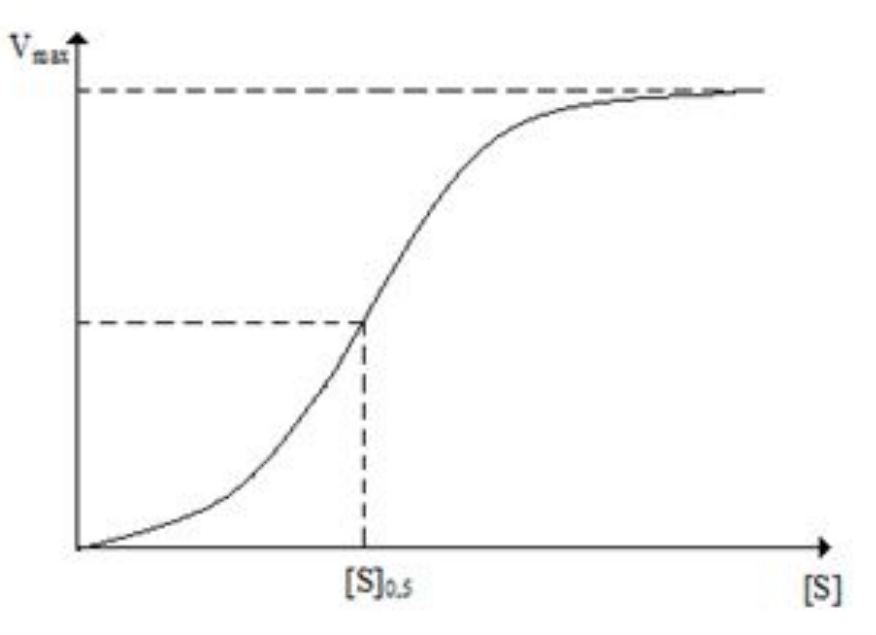
Присоединение первой молекулы соответствующего лиганда (субстрата к активному центру или эффектора к аллостерическому центру) сопровождается конформационными изменениями, которые изменяют его сродство к субстрату или эффектору.

Кооперативные эффекты подразделяют на гомотропные и гетеротропные.

**Гомотропные эффекты**, при которых взаимодействия с лигандами могут быть кооперативными и антикооперативными, наблюдаются для идентичных лигандов, например, для молекул субстрата (а также для молекул кофермента или ингибитора).

**Гетеротропные эффекты**, при которых взаимодействия, также являющиеся либо кооперативными, либо антикооперативными, наблюдаются для молекул различных лигандов.

У аллостерических ферментов, так же как и у нерегуляторных ферментов, наблюдается «насыщение» субстратом



Хотя на сигмоидной кривой насыщения субстратом для аллостерических ферментов можно найти точку, в которой скорость реакции равна половине от максимальной скорости, эта величина не соответствует величине  $K_m$ , поскольку поведение аллостерических ферментов не описывается гиперболической зависимостью, вытекающей из уравнения Михаэлиса-Ментен.