

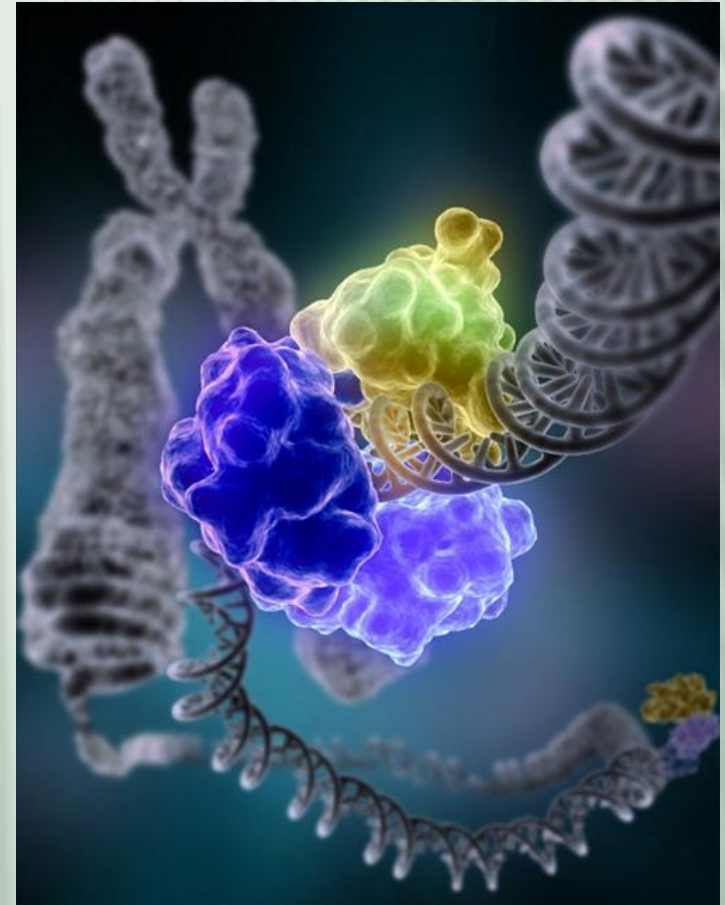
ФЕРМЕНТЫ. УРАВНЕНИЕ МИХАЭЛИСА-МЕНТЕН

Выполнила: Евстратова Я. В.
ПуцГЕНИ 2016.

ФЕРМЕНТЫ (ЭНЗИМЫ)

- это высокоспецифичные белки, выполняющие функции биологических катализаторов.

Катализатор - это вещество, которое ускоряет химическую реакцию, но само в ходе этой реакции не расходуется



КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Классы ферментов	Катализируемая реакция	Примеры ферментов или их групп
Оксидоредуктазы	Перенос атомов водорода или электронов от одного вещества к другому.	Дегидрогеназа, оксидаза
Трансферазы	Перенос определенной группы атомов -метильной, ацильной, фосфатной или аминокислотной группы одного вещества к другому	Трансаминаза, киназа
Гидролазы	Реакции гидролиза	Липаза, амилаза, пептидаза
Лиазы	Негидролитическое присоединение к субстрату или отщепление от него группы атомов. При этом могут разрываться связи C-C, C-N, C-O или C-S	Декарбоксилаза, фумараза, альдолаза
Изомеразы	Внутримолекулярная перестройка	Изомераза, мутаза
Лигаза	Соединение двух молекул в результате образования новых связей, сопряженное с распадом АТФ	Синтетаза

Строение ферментов

Связь может быть
ковалентной или
нековалентной



Белок~кофактор

Холофермент
(оптимальная каталитическая
активность)

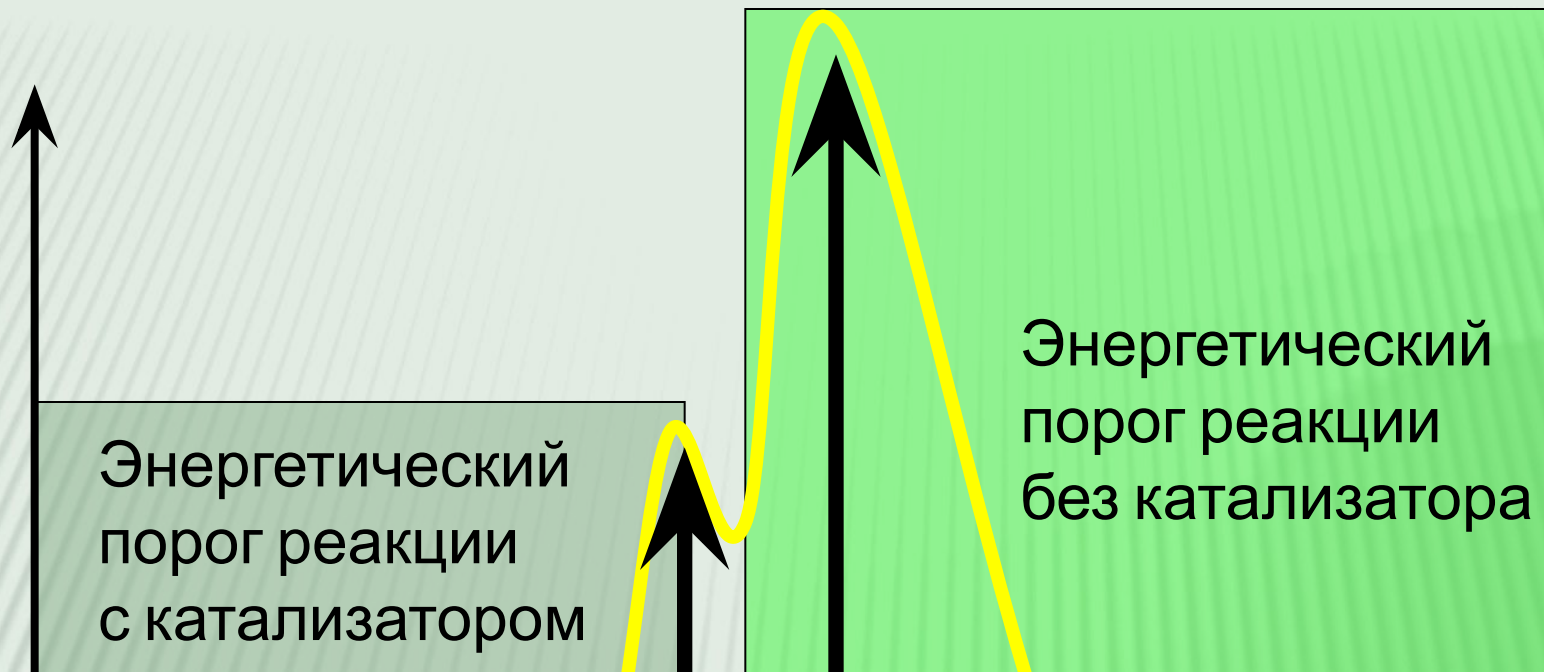
белок

Апофермент;
неактивен
или менее активен

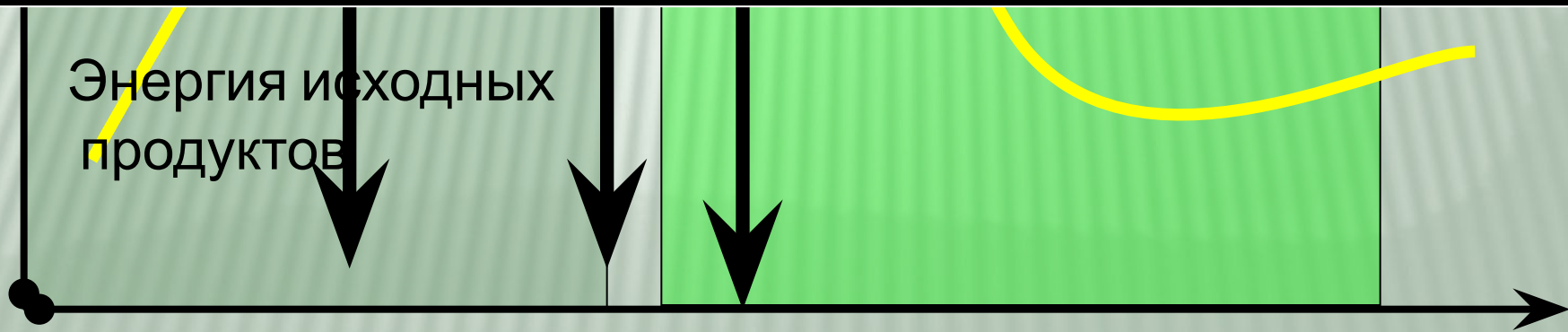
кофактор

(Неорганический ион
или органическое соединение)

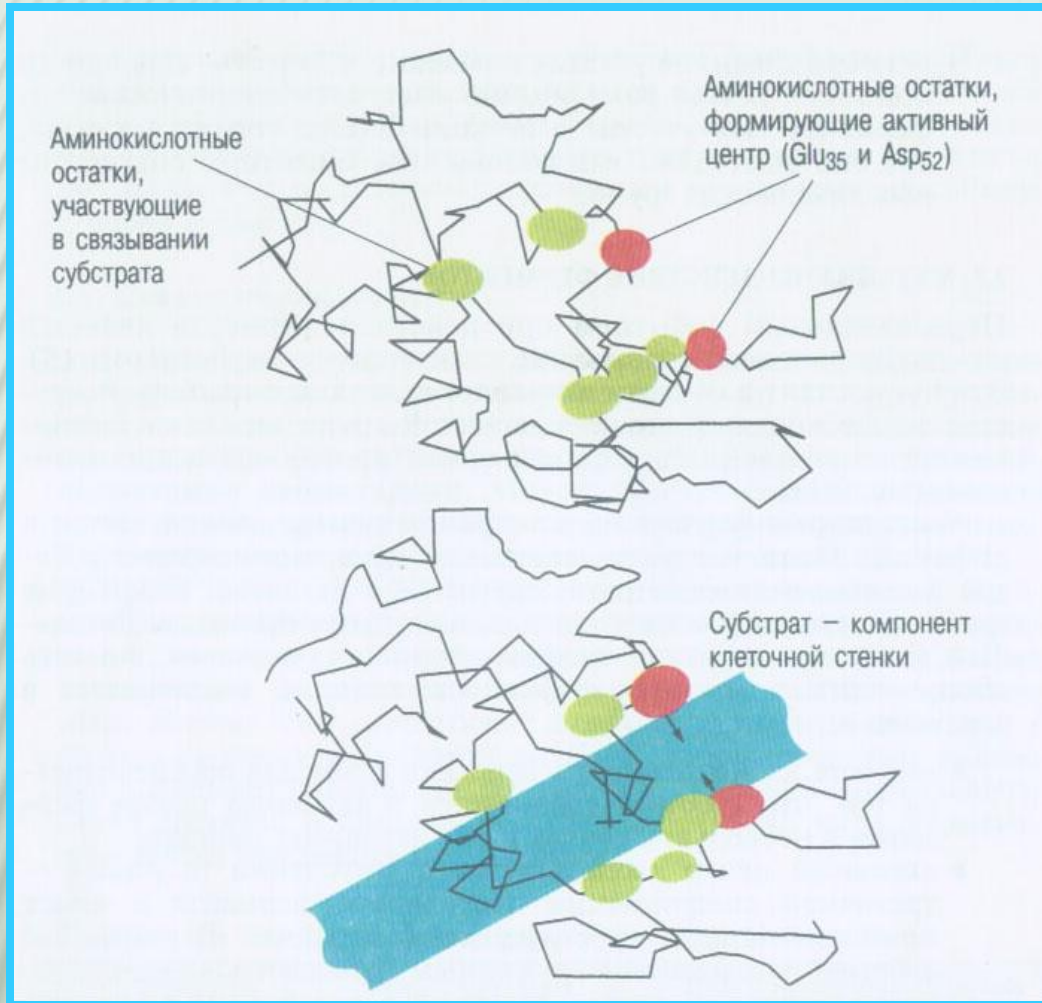
Некоторые ферменты требуют два или три различных кофактора



КАТАЛИЗАТОР - это вещество, которое направляет реакцию по пути, характеризующемуся более низкой энергией переходного состояния.



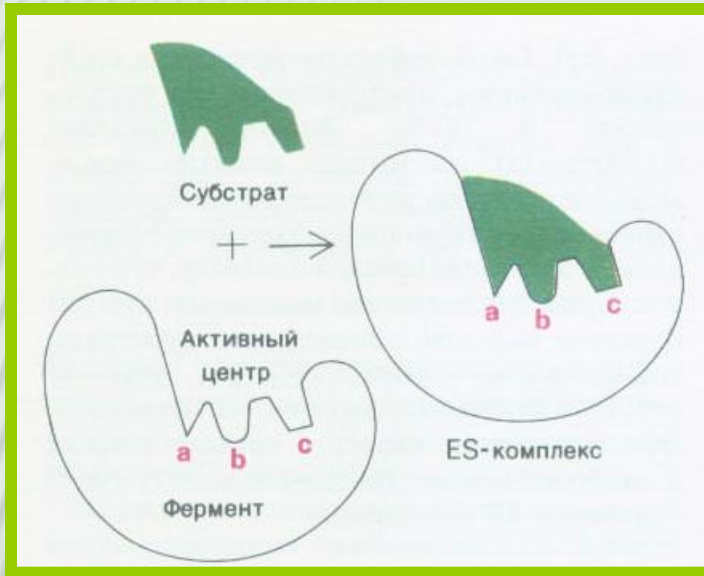
Связывание фермента с субстратом происходит в **активном центре**



В активном центре участвуют аминокислотные остатки, имеющие химически активные боковые цепи:
Cys, Ser, Thr, Asp, Glu, Lys, Arg, Tyr, His

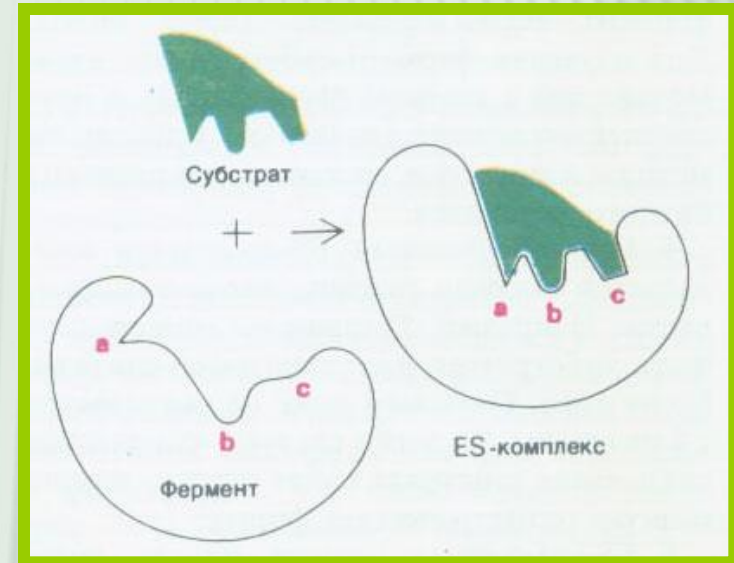
Типы взаимодействия «фермент - субстрат»

«Ключ - замок»



Жесткая матрица
Э. Фишер

«Перчатка - рука»



**Индукцированное
соответствие**

Г. Кошланд

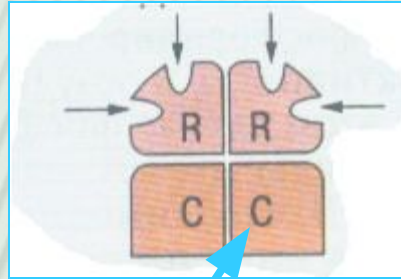
Высокая избирательность действия фермента обеспечивается тем, что субстрат связывается в активном центре фермента в нескольких точках

Способы регуляции:

1. Аллостерическая регуляция
2. Ковалентная модификация
3. Диссоциация неактивного предшественника (зимогена), на активный фермент

1. Аллостерическая регуляция

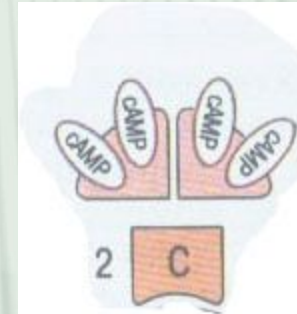
Регуляторная субъединица с аллостерическим центром



Каталитическая субъединица с активным центром

Неактивный фермент

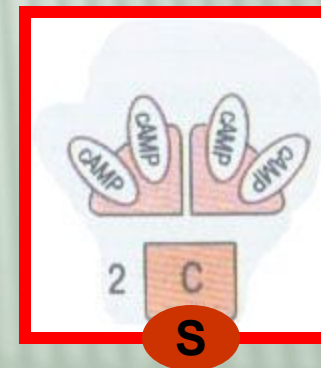
эффектор



Активный фермент



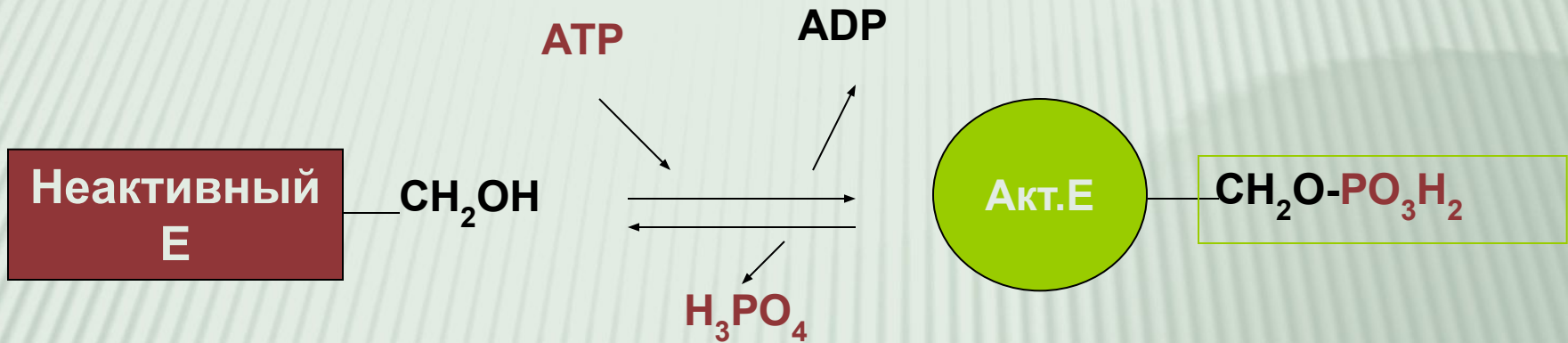
субстрат



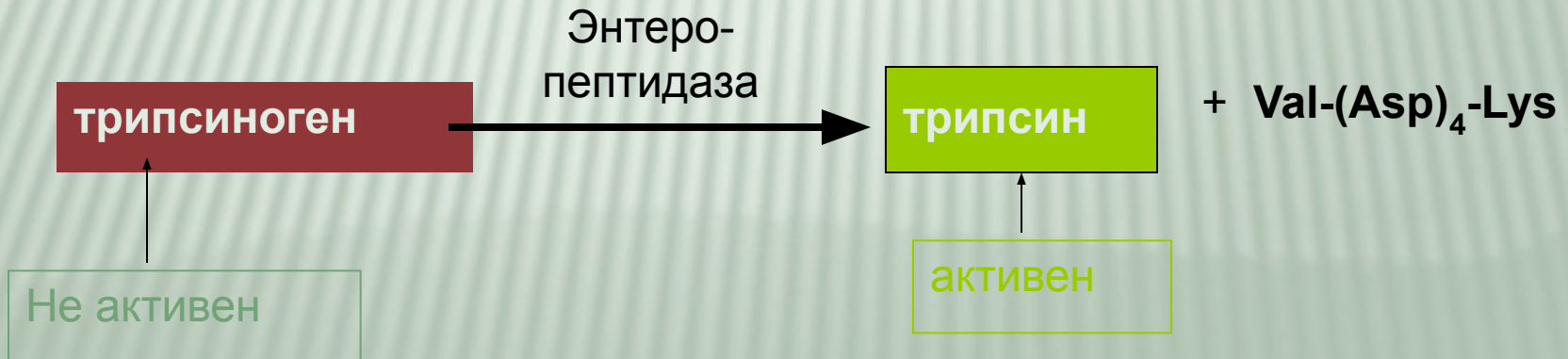
ES-ферментсубстратный комплекс

2. Ковалентная модификация

а) **Фосфорилирование** - дефосфорилирование



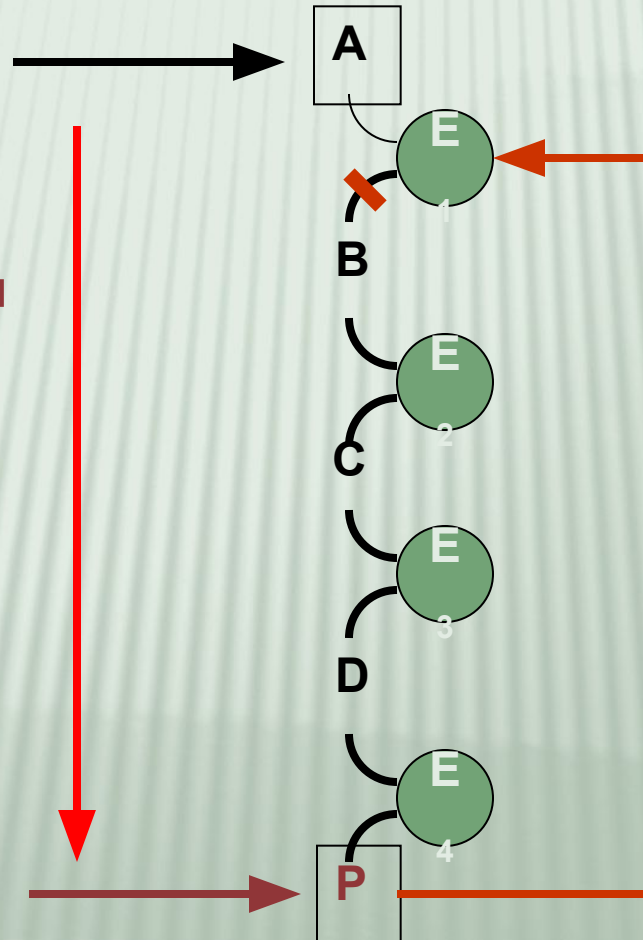
б) активация зимогенов - предшественников ферментов



Регуляция действия ферментов

Ингибирование по принципу обратной связи

Исходный субстрат



Мультиферментная система, осуществляющая превращение А в Р в ходе четырех последовательных ферментативных реакций

Конечный продукт

ИНГИБИТОРЫ

```
graph TD; A[ИНГИБИТОРЫ] --> B[специфические]; A --> C[неспецифические]; B --> D[необратимые]; B --> E[обратимые]; C --> E; E --> F[конкурентные]; E --> G[неконкурентные];
```

The diagram is a hierarchical flowchart. At the top is the title 'ИНГИБИТОРЫ'. Below it, a horizontal line separates the title from the first level of classification. Two arrows point from the title to two boxes: 'специфические' (left) and 'неспецифические' (right). From 'специфические', two arrows point to 'необратимые' and 'обратимые'. From 'неспецифические', one arrow points to 'обратимые'. From 'обратимые', two arrows point to 'конкурентные' and 'неконкурентные'. The boxes are color-coded: light green for the top level, dark red for the middle level, and bright green for the bottom level.

специфические

неспецифические

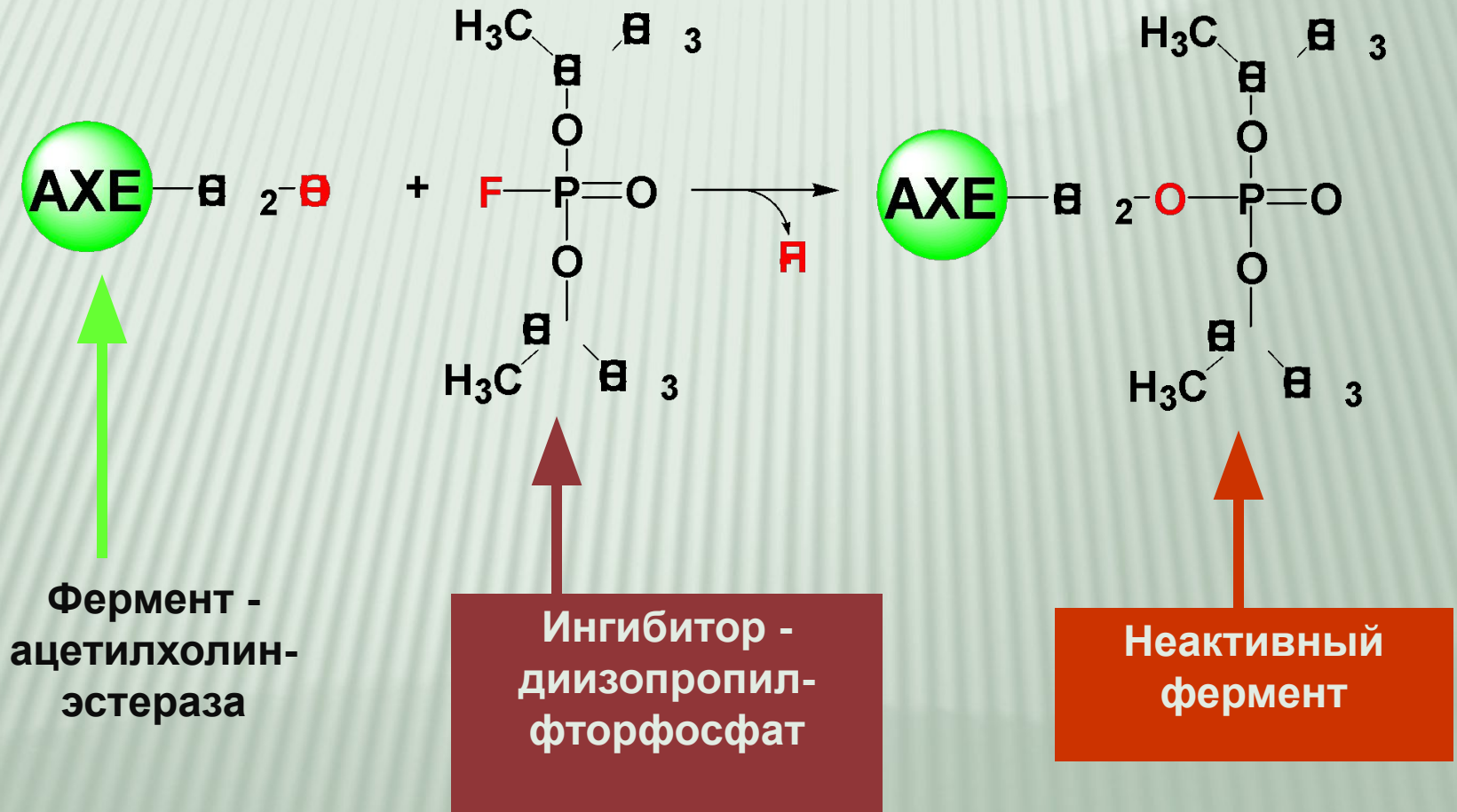
необратимые

обратимые

конкурентные

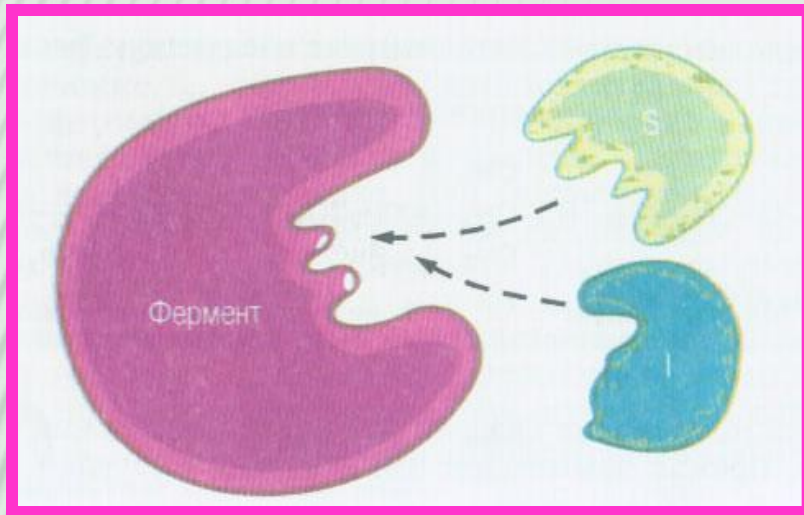
неконкурентные

**Необратимое ингибирование
путем ковалентной модификации**

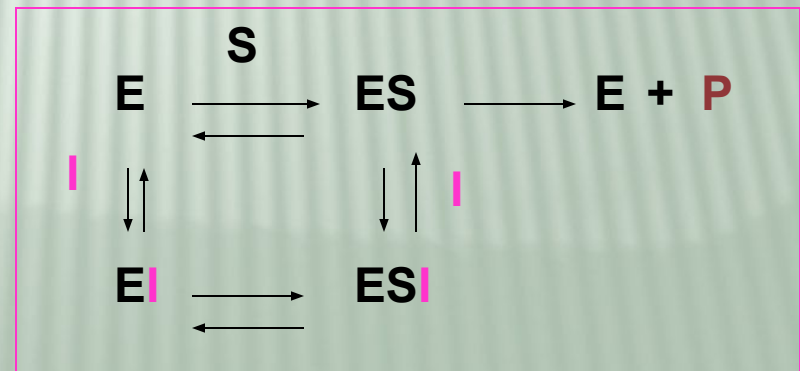
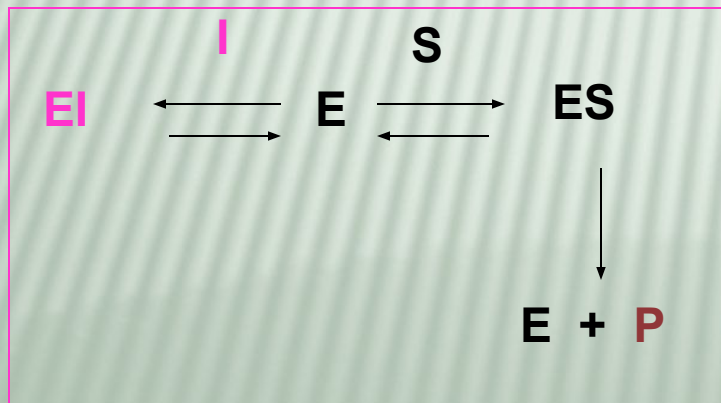
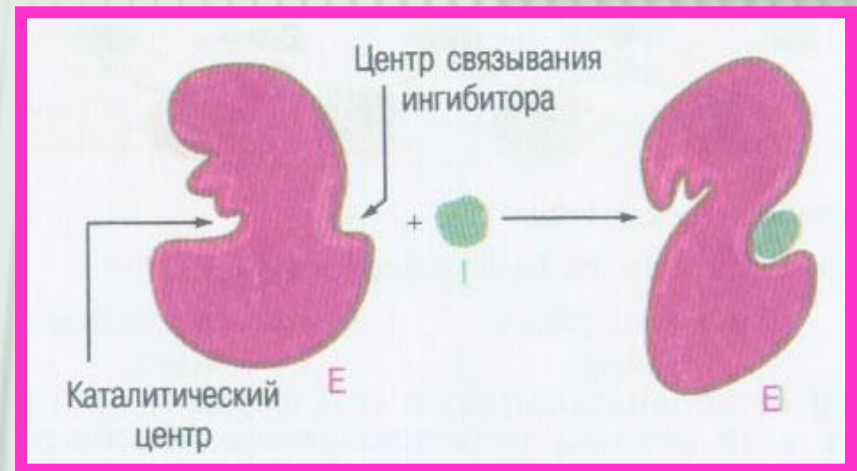


Обратимое ингибирование ферментов

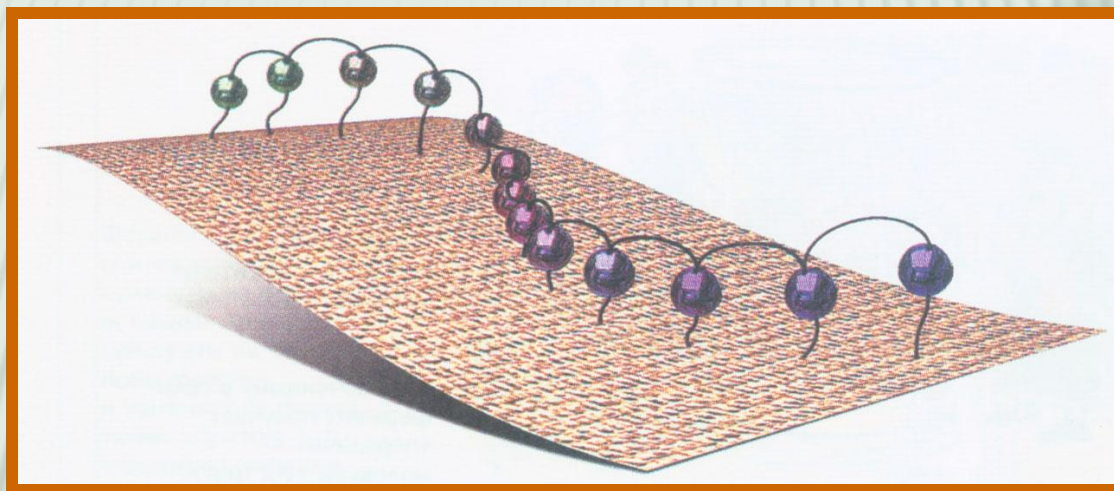
Конкуренентное ингибирование



Неконкуренентное ингибирование



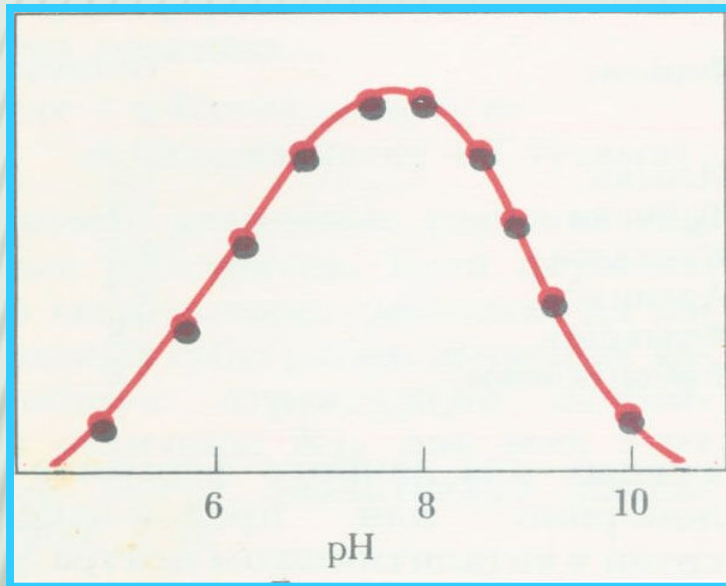
Иммобилизация фермента - закрепление на полимерном носителе (полистироле)



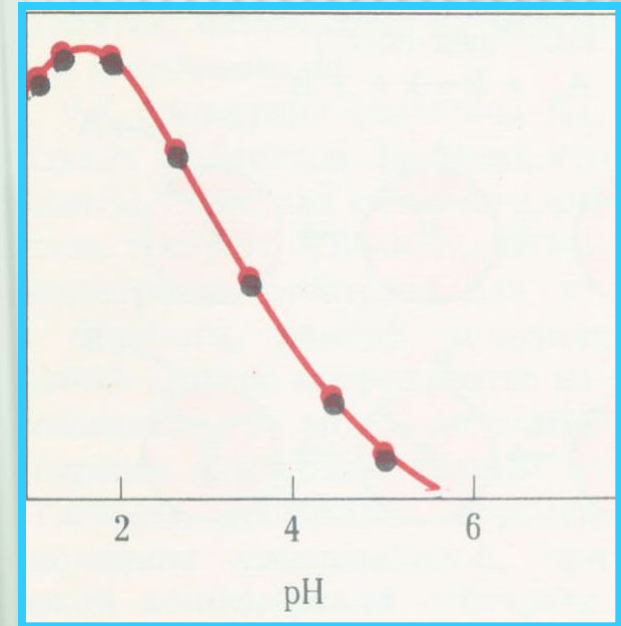
Иммобилизованный фермент не смешивается с продуктами реакции, более устойчив к денатурации

Каждый фермент имеет определенный оптимум pH

↑
Относи-
тельная
скорость

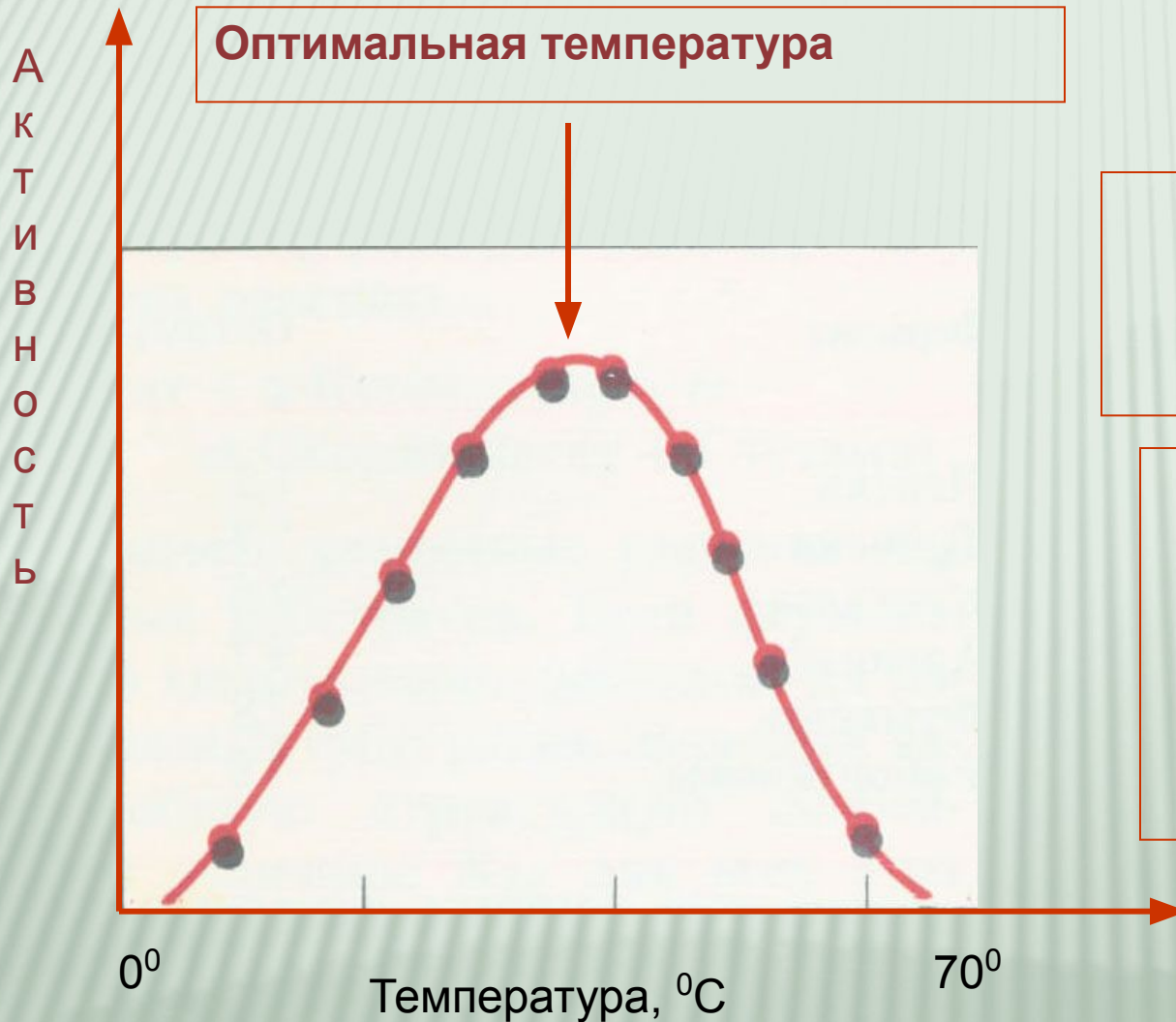


Активность ферментов
печени максимальна
при **pH ~ 7,2**



Активность пепсина-
фермента желудочного
сока максимальна при
pH ~ 1 - 2

Активность ферментов зависит от температуры

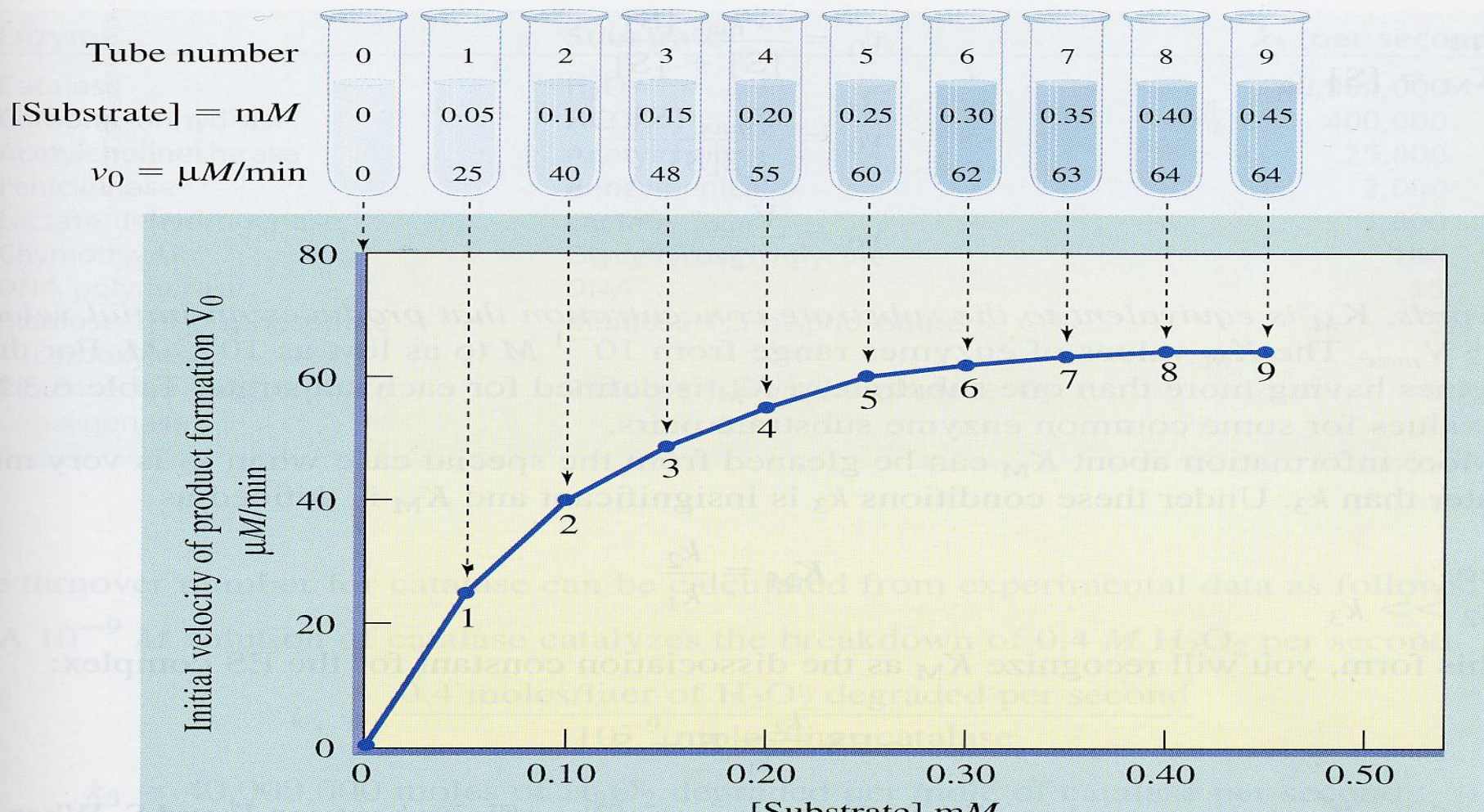


• Для большинства ферментов
 $t_{\text{опт}} = 37 - 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$

• При высоких температурах реализуется **денатурация** ферментов

Кинетика ферментативных реакций

Влияние концентрации субстрата на скорость реакции



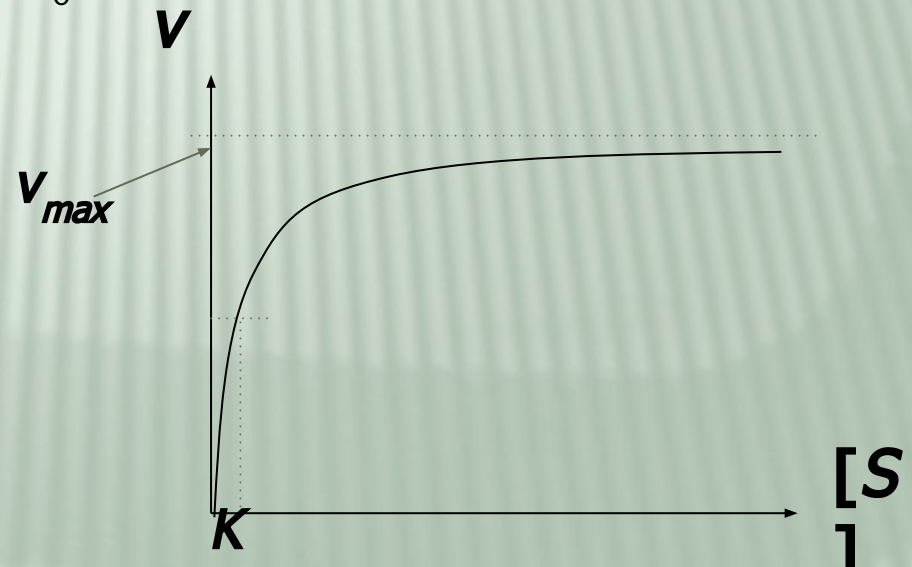
УРАВНЕНИЕ МИХАЭЛИСА-МЕНТЕН

В чем его смысл? — Позволяет получить формальные характеристики скорости ферментативной реакции вида

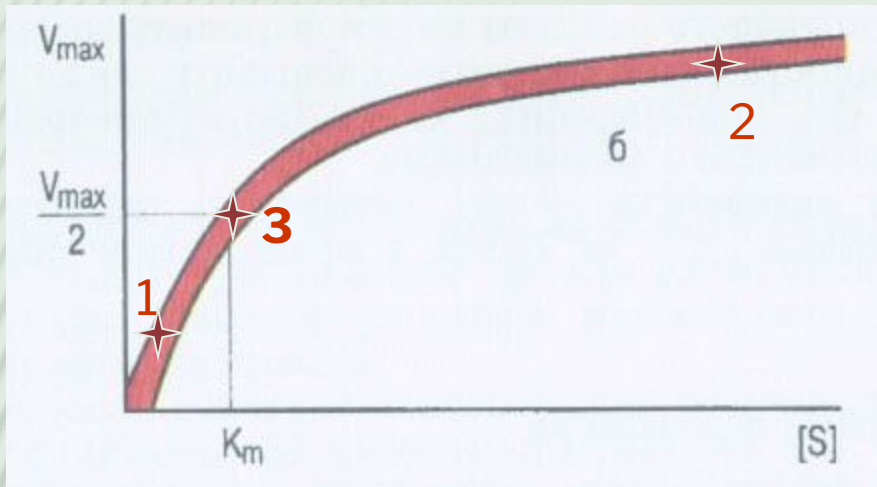


- Уравнение реакции превращения субстрата (S) в продукт (P), катализируемой ферментом (E);
- Уравнение Михаэлиса-Ментен описывает зависимость скорости реакции от концентрации субстрата и, в частности, демонстрирует явление насыщения. Условия, при которых работает уравнение Михаэлиса-Ментен:
 - 1) Стационарная фаза реакции, т.е. $[ES]=\text{const}$, $d[ES]/dt=0$;
 - 2) Измеряется **начальная** скорость; $[S] \approx [S_0]$
 - 3) $[E] = [E_0] - [ES]$

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{[S] + K_m}$$



Анализ уравнения Михаэлиса -Ментен



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

1. $[S] \ll K_m$, *тогда* $V \sim K [S]$

1

2. $[S] \gg K_m$, *тогда* $V_0 \sim V_{\max}$

2

3. $K_m = [S]$, *тогда* $V_0 = 1/2 V_{\max}$

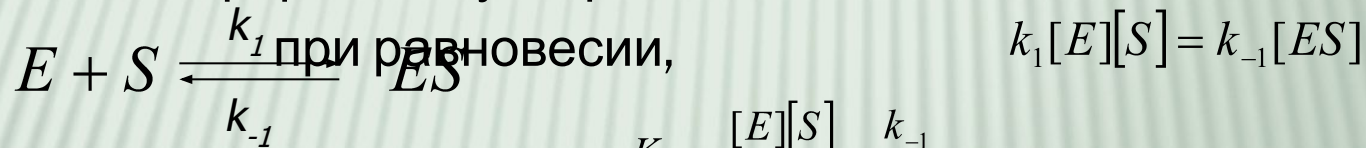
3

СМЫСЛ K_M

- ▣ K_m выводится из констант скоростей

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

- ▣ K_m в условиях Михаэлиса-Ментен определяет скорость распада фермент-субстратного комплекса



Константа диссоциации

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

Маленькая K_m означает сильное связывание; высокая K_m означает слабое связывание.

- ▣ K_m равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной $v = 1/2 v_{max}$

Спасибо за внимание