





# Кинетика ферментативных реакций

Единицы ферментативной активности

Катал  $\longrightarrow$  моль/с (Kat)

мкат (mKat)  
ммоль/с

мккат ( $\mu$ Kat)  
мкмоль/с

нкат (nKat)  
нмоль/с

мккат/л = мкмоль/с·л



## Кинетика ферментативных реакций

Единицы концентрации каталитической активности фермента

**СИ:**

кат/л и производные от катала: **ммоль/с·л; мкмоль/с·л; нмоль/с·л.**

**E = ME = мкмоль/мин = U**    **U/l = мкмоль/мин·л**

**1 мккат/л = 1 мкмоль/с·л = 60 U/l = 60 E/l**



## Активность ЛДГ

120 U/l Сколько мккат/л ?

- I. 1 мккат/л - 60 U/l  
X мккат/л - 120 U/l

$$X = 2 \text{ мккат/л}$$

- II.  $\text{мккат/л} = \text{мкмоль/с}\cdot\text{л} = \frac{120 \text{ мкмоль/мин}\cdot\text{л}}{60} = 2 \text{ мккат/л}$



## Удельная активность фермента

$$\text{Уд. акт.} = \frac{\text{число единиц акт-ти фермента в образце (Е/мл)}}{\text{масса белка-фермента в образце (мг/мл)}} = X \text{ (мкмоль/мин·мг)}$$

$$\text{моль/с·кг} = \frac{\text{мкмоль/мин·мг}}{60} \cdot \frac{10^6}{10^6}$$



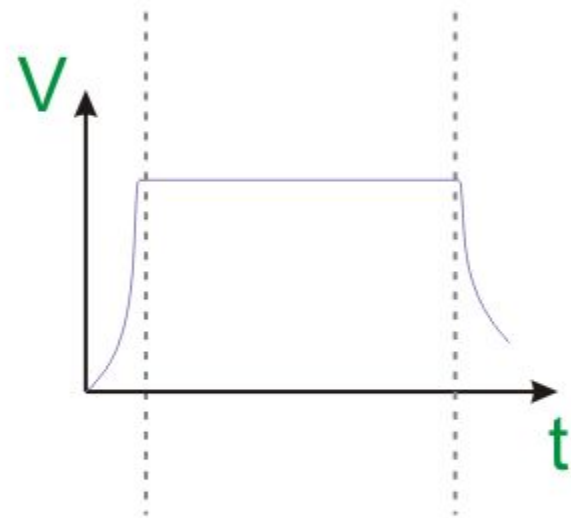
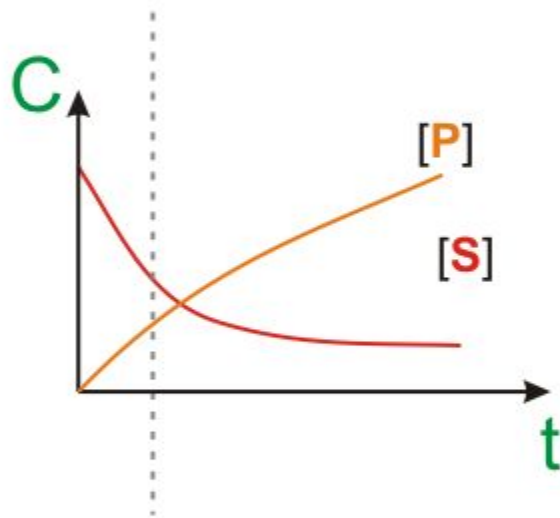
Молярная акт. =  $\frac{\text{число единиц акт-ти фермента в образце (мкмоль/мин)}}{\text{количество фермента (мкмоль)}} = \dots \text{мин}^{-1}$   
(молекулярная, число оборотов)

*Пример:* В образце, содержащем 0,0014 мкмоль ацетилхолинэстеразы, обнаружена активность 420 мкмоль/мин.

$$\text{Мол. акт.} = \frac{420 \text{ мкмоль/мин}}{0,0014 \text{ мкмоль}} = 300\,000 \text{ мин}^{-1}$$



# Измерение скорости ферментативной реакции



участок начальной скорости реакции



## Порядок реакции

$$V = K = K[S]^0$$

$$V = K[S] = K[S]^1$$

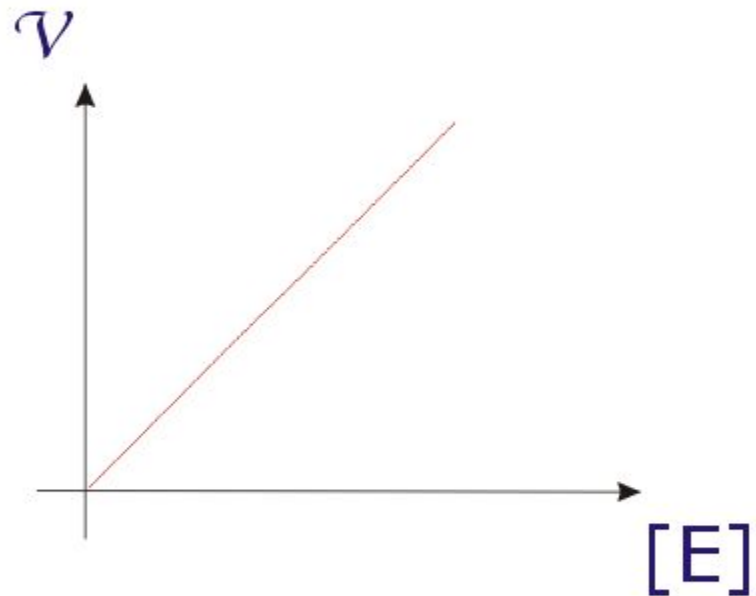
$$V = K[S_1][S_2]; \text{ в случае } [S_1] = [S_2] \quad V = K[S]^2$$





## Влияние на скорость ферментативной реакции

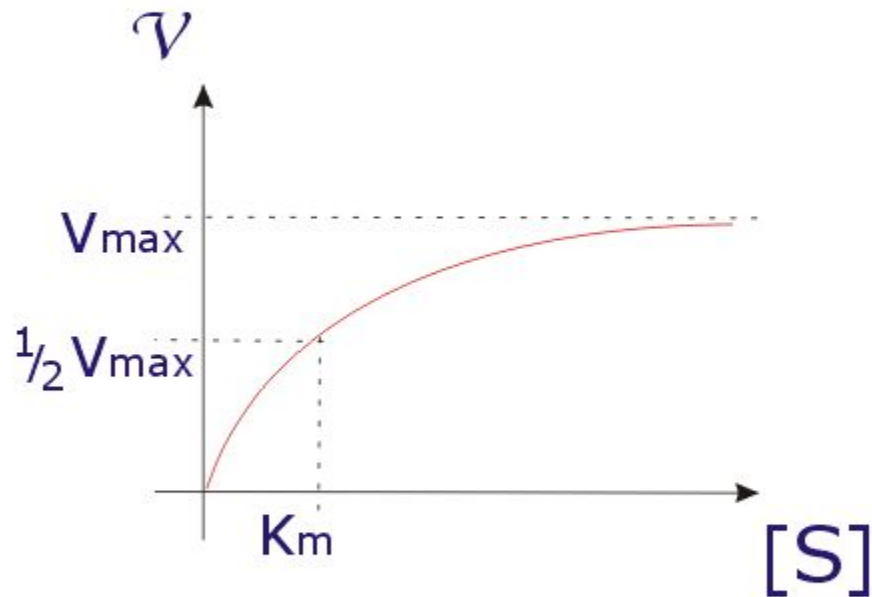
а) концентрации фермента





## Влияние на скорость ферментативной реакции

б) концентрации субстрата



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



## Влияние на скорость ферментативной реакции

б) концентрации субстрата

$$K_m = \frac{K_{-1} + K_2}{K_1}$$





## Влияние на скорость ферментативной реакции

б) концентрации субстрата

Если  $v = \frac{1}{2} v_{\max}$ ,

$$\text{то } \frac{v_{\max}}{2} = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]},$$

отсюда  $K_m = [S]$



## Влияние на скорость ферментативной реакции

*Определение  $K_m$  . Метод двойных обратных величин*

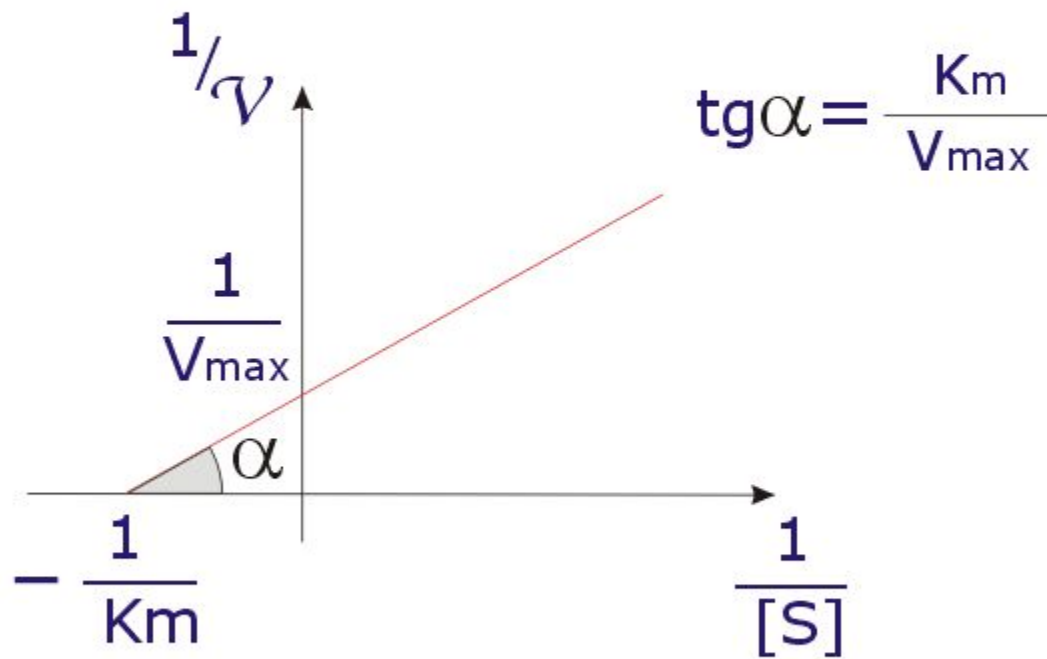
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$y = ax + b$$



## Влияние на скорость ферментативной реакции

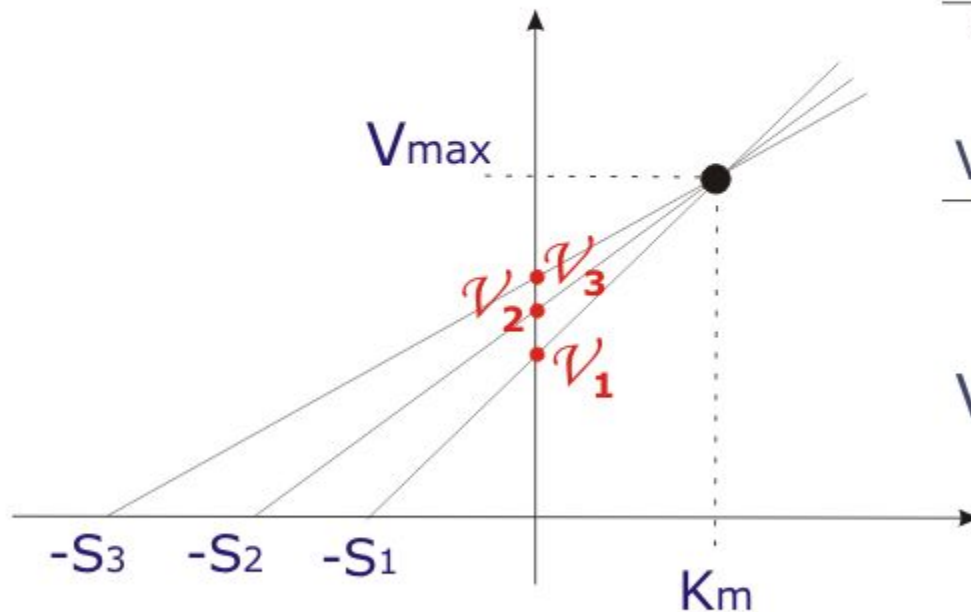
График Лайнуивера - Бэрка (Lineweaver - Burk)





## Влияние на скорость ферментативной реакции

График Корниш - Боудена



$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

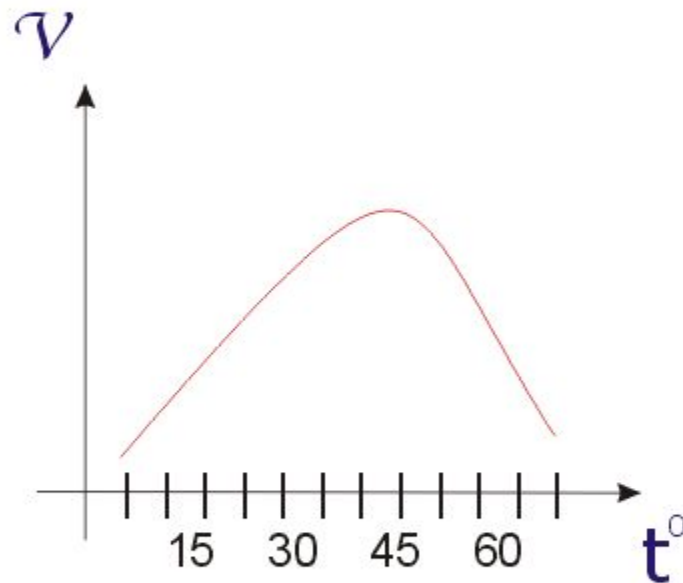
$$\frac{V_{\max}}{v} = \frac{K_m}{[S]} + 1$$

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



## Влияние на скорость ферментативной реакции

в) температуры

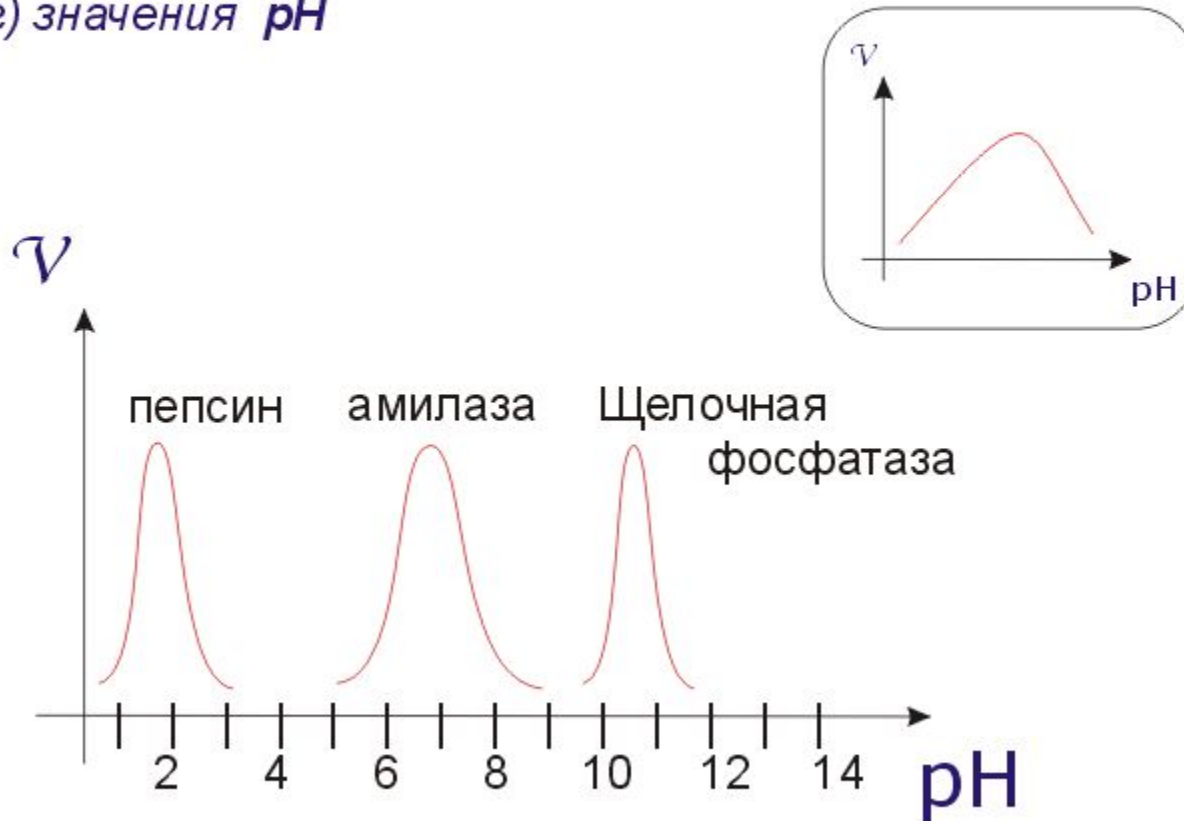






# Влияние на скорость ферментативной реакции

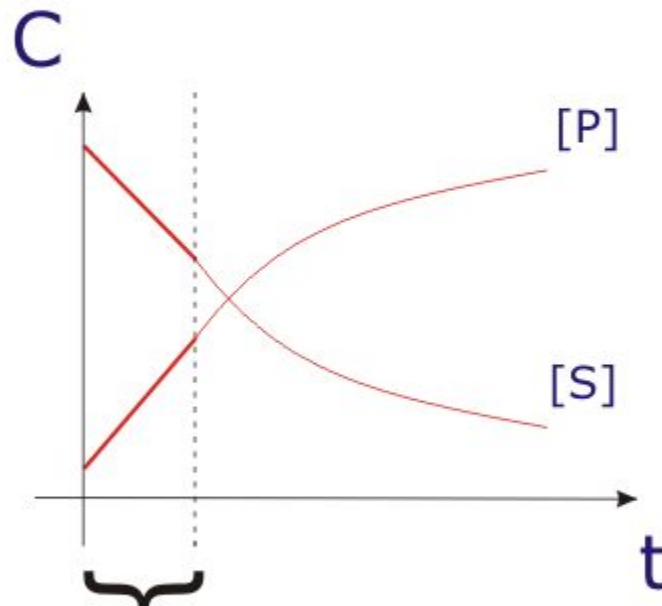
г) значения pH





## Влияние на скорость ферментативной реакции

д) времени



*начальная скорость  
реакции измеряется в  
этом интервале времени*



2004