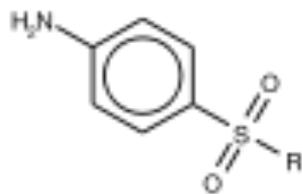
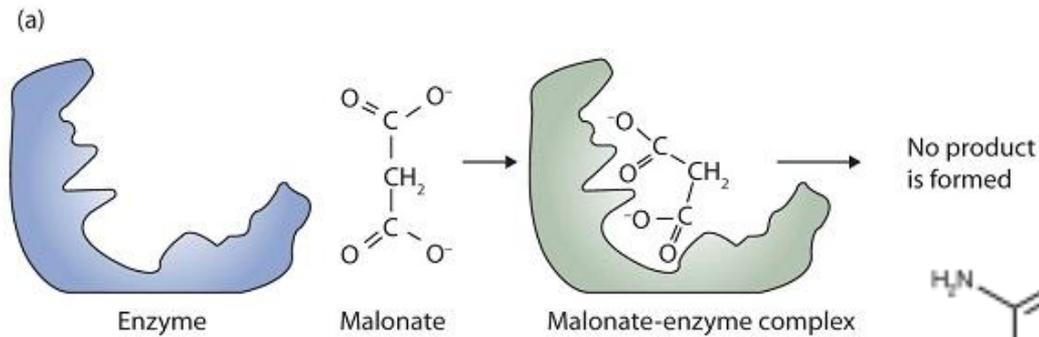
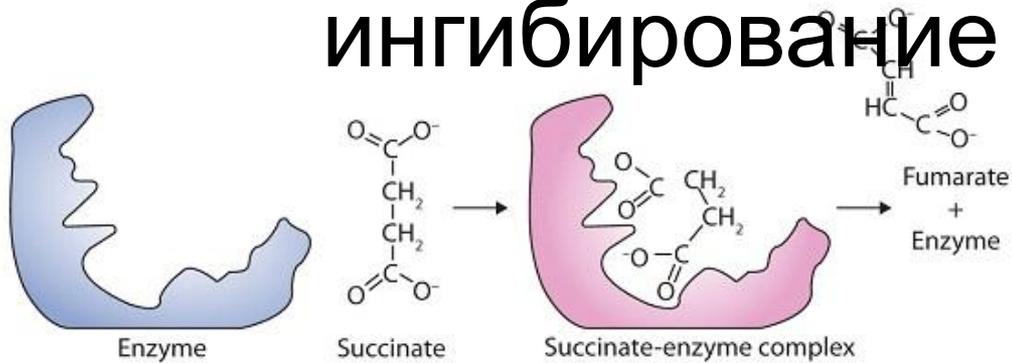
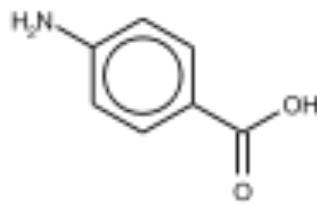


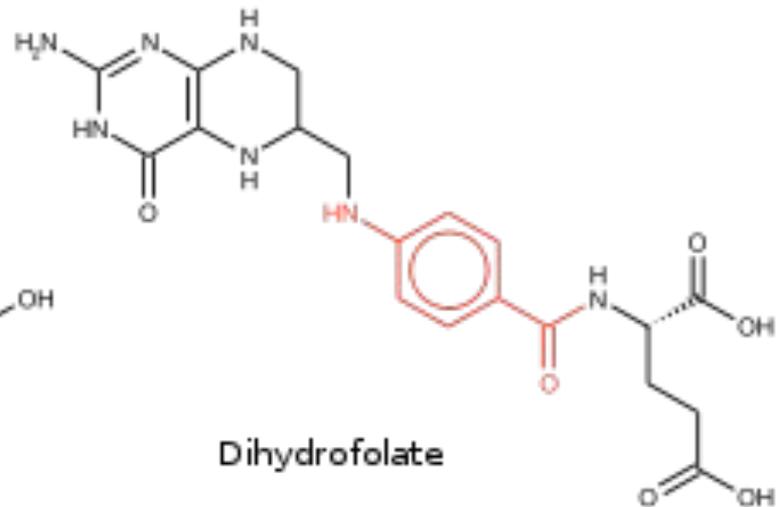
# Обратимое ингибирование



Sulfanilamide



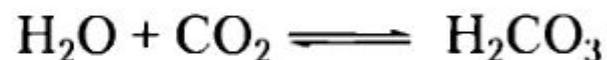
PABA



Dihydrofolate

Какова будет скорость реакции, катализируемая ферментом, для которого максимальная скорость превращения субстрата составляет 190 мкмоль/мин, а величина  $K_m = 0.03$  М, при концентрации субстрата, равной 0.7 М?

**15. Число оборотов карбоангидразы.** Карбоангидраза эритроцитов ( $M_r = 30\ 000$ ) — один из наиболее активных из известных на сегодняшний день ферментов. Она катализирует обратимую гидратацию  $\text{CO}_2$ .



Данная реакция играет важную роль в транспорте  $\text{CO}_2$  от тканей к легким. Каково число оборотов карбоангидразы (в единицах/мин), если за 1 мин при  $37\ ^\circ\text{C}$  10 мкг чистого фермента катализируют гидратацию 0,3 г  $\text{CO}_2$ ?

**11. Оценка  $V_{\max}$  и  $K_M$  по экспериментальным данным.** Хотя существуют методы точного определения  $V_{\max}$  и  $K_M$  (доп. 6-1), иногда эти параметры можно быстро оценить, просто наблюдая за значением начальных скоростей реакции при разных концентрациях субстрата. Оцените  $V_{\max}$  и  $K_M$  ферментативной реакции на основании приведенных в таблице данных.

$[S]$ (M)	$v_0$ (мкМ/мин)
$2,5 \cdot 10^{-6}$	28
$4,0 \cdot 10^{-6}$	40
$1 \cdot 10^{-5}$	70
$2 \cdot 10^{-5}$	95
$4 \cdot 10^{-5}$	112
$1 \cdot 10^{-4}$	128
$2 \cdot 10^{-3}$	139
$1 \cdot 10^{-2}$	140

## 9. Применение уравнения Михаэлиса–Ментен

(I). В лаборатории открыта новая версия фермента веселазы, которую назвали веселаза\*; фермент катализирует следующую реакцию:



Начато изучение свойств фермента.

а) В первом эксперименте при  $[E_1] = 4 \text{ нМ}$  найдено значение максимальной скорости  $V_{\max} = 1,6 \text{ мкМ с}^{-1}$ . Зная это, определите константу  $k_{\text{cat}}$  для веселазы\* (в соответствующих единицах измерения).

б) Во втором эксперименте при  $[E_1] = 1 \text{ нМ}$  и  $[\text{ВЕСЕЛЬЕ}] = 30 \text{ мкМ}$  было найдено значение начальной скорости реакции  $v_0 = 300 \text{ нМ с}^{-1}$ . Каково измеряемое значение  $K_M$  для веселазы\* для субстрата ВЕСЕЛЬЕ (в соответствующих единицах измерения)?

в) Дальнейшие исследования показали, что очищенная веселаза\*, использовавшаяся в двух первых экспериментах, на самом деле содержала примесь обратимого ингибитора, называемого ЗЛОСТЬ. Примесь ЗЛОСТИ была тщательно удалена из образца фермента, а два эксперимента провели вновь; измеренное в условиях эксперимента (а) значение  $V_{\max}$  составило  $4,8 \text{ мкМ с}^{-1}$ , а измеренное в условиях эксперимента (б) значение  $K_M$  оказалось равным  $15 \text{ мкМ}$ . Рассчитайте параметры  $\alpha$  и  $\alpha'$  для ингибитора ЗЛОСТЬ.

г) Исходя из представленной выше информации, определите, к какому типу ингибиторов относится ЗЛОСТЬ.

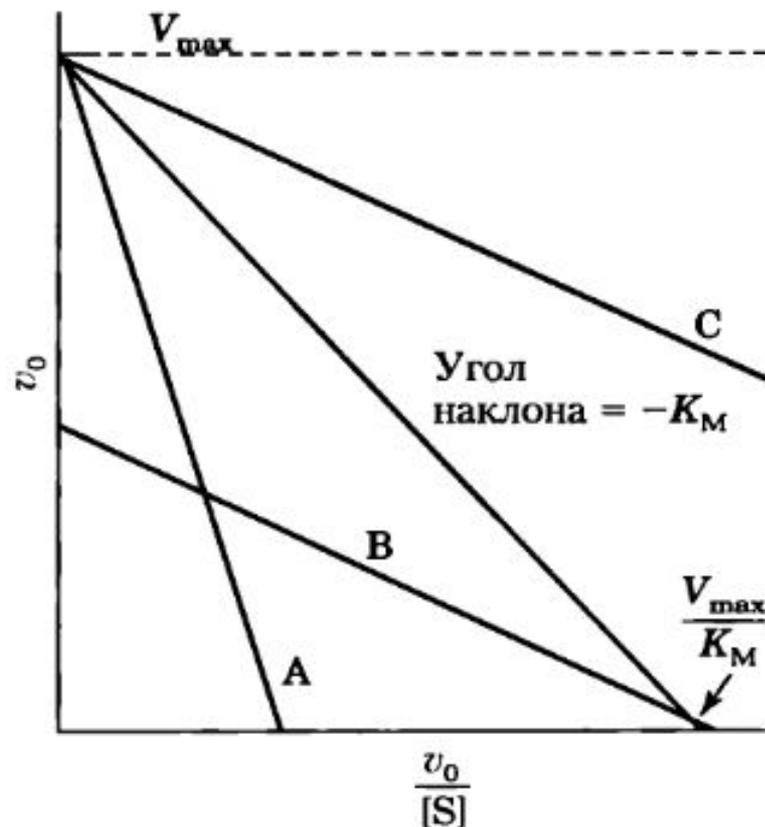
**12. Свойства фермента, участвующего в синтезе простагландинов.** Простагландины – это класс эйкозаноидов, т. е. производных жирных кислот, оказывающих чрезвычайно сильное влияние на ткани позвоночных животных. Простагландины (ПГ) связаны с возникновением лихорадки и воспаления, а также с сопутствующими им болевыми ощущениями. Простагландины образуются из 20-углеродной жирной кислоты, называемой арахидоновой кислотой, в результате реакции, которую катализирует фермент простагландин-эндопероксид-синтаза. Этот фермент из класса циклооксигеназ использует кислород для превращения арахидоновой кислоты в ПГ  $G_2$ , являющийся непосредственным предшественником многих различных простагландинов (синтез простагландинов обсуждается в гл. 21).

а) Ниже представлены кинетические данные для реакции, катализируемой простагландин-эндопероксид-синтазой. Обращая внимание на первые две колонки, определите  $V_{\max}$  и  $K_M$  для данного фермента.

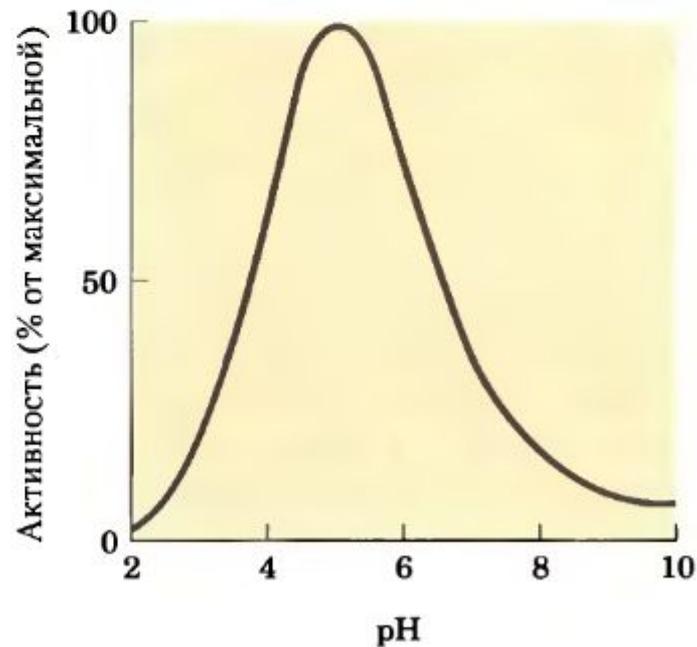
Концентрация арахидоновой кислоты (мМ)	Скорость образования ПГ $G_2$ (мМ/мин)	Скорость образования ПГ $G_2$ в присутствии 10 мг/мл ибупрофена (мМ/мин)
0,5	23,5	16,67
1,0	32,2	25,25
1,5	36,9	30,49
2,5	41,8	37,04
3,5	44,0	38,91

б) Ибупрофен является ингибитором простагландин-эндопероксид-синтазы. Путем ингибирования синтеза ПГ ибупрофен снижает воспаление и боль. Используя данные первой и третьей колонок, определите тип ингибирования ибупрофеном реакции, катализируемой простагландин-эндопероксид-синтазой.

Ниже представлен график зависимости  $v_0$  от  $v_0 / [S]$  для ферментативной реакции. Синяя кривая была получена без ингибитора. Какая кривая (А, В или С) получена в присутствии конкурентного ингибитора? Подсказка: см. уравнение 6-30.



**21. Оптимум pH для действия лизоцима.** В активном центре лизоцима расположены два аминокислотных остатка, играющих основную роль в катализе: Glu<sup>35</sup> и Asp<sup>52</sup>. Значения  $pK_a$  карбоксильных групп боковых цепей этих остатков равны соответственно 5,9 и 4,5. В каком состоянии ионизации (протонированном или депротонированном) находится каждый из этих остатков



при оптимальном значении pH для лизоцима (5,2)? Как состояние ионизации этих остатков может объяснить приведенная на рисунке pH-зависимость активности лизоцима?

Определите значение изоэлектрической точки пептида: Гли-Глу-Лиз

<b>Аминокислота</b>	<b>pKa (<math>\alpha</math>COOH)</b>	<b>pKa (<math>\alpha</math>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)</b>	<b>pKa (радикал)</b>
Глицин	2,34	9,58	-
Глутаминовая кислота	2,19	9,67	4,25
Лизин	2,18	8,95	10,53

Была определена последовательность нуклеотидов кодирующего короткий пептид участка информационной РНК:

УААЦУГАЦУААУГАААЦАУАЦУГАГАЦЦГЦУАГАГАГАГУААГЦАУГА  
ГАЦГУААГ

Используя таблицу генетического кода, определите, какова длина этого пептида

Аминокислота	Сокращение/ символ	$M_r^*$	Значения $pK_a$			$pI$	PI**	Встречаемость в белках (%)***
			$pK_1$ (—COOH)	$pK_2$ (—NH <sub>2</sub> )	$pK_R$ (R-группы)			
<b>Неполярные алифатические R-группы</b>								
Глицин	Gly	G	75	2,34	9,60	5,97	20,4	7,2
Аланин	Ala	A	89	2,34	9,69	6,01	1,8	7,8
Пролин	Pro	P	115	1,99	10,96	6,48	1,6	5,2
Валин	Val	V	117	2,32	9,62	5,97	4,2	6,6
Лейцин	Leu	L	131	2,36	9,60	5,98	3,8	9,1
Изолейцин	Ile	I	131	2,36	9,68	6,02	4,5	5,3
Метионин	Met	M	149	2,28	9,21	5,74	1,9	2,3
<b>Ароматические R-группы</b>								
Фенилаланин	Phe	F	165	1,83	9,13	5,48	2,8	3,9
Тирозин	Tyr	Y	181	2,20	9,11	10,07	5,66	21,3
Триптофан	Trp	W	204	2,38	9,39	5,89	20,9	1,4
<b>Полярные незаряженные R-группы</b>								
Серин	Ser	S	105	2,21	9,15	5,68	20,8	6,8
Треонин	Thr	T	119	2,11	9,62	5,87	20,7	5,9
Цистеин****	Cys	C	121	1,96	10,28	8,18	5,07	2,5
Аспарагин	Asn	N	132	2,02	8,80	5,41	23,5	4,3
Глутамин	Gln	Q	146	2,17	9,13	5,65	23,5	4,2
<b>Положительно заряженные R-группы</b>								
Лизин	Lys	K	146	2,18	8,95	10,53	9,74	23,9
Гистидин	His	H	155	1,82	9,17	6,00	7,59	23,2
Аргинин	Arg	R	174	2,17	9,04	12,48	10,76	24,5
<b>Отрицательно заряженные R-группы</b>								
Аспарагиновая кислота	Asp	D	133	1,88	9,60	3,65	2,77	23,5
Глутаминовая кислота	Glu	E	147	2,19	9,67	4,25	3,22	23,5

### Генетический код (иРНК)

Первое основание	Второе основание				Третье основание
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц
	Лей	Сер	—	—	А
	Лей	Сер	—	Три	Г
Ц	Лей	Про	Гис	Арг	У
	Лей	Про	Гис	Арг	Ц
	Лей	Про	Гли	Арг	А
	Лей	Про	Гли	Арг	Г
А	Иле	Тре	Асн	Сер	У
	Иле	Тре	Асн	Сер	Ц
	Иле	Тре	Лиз	Арг	А
	Мет	Тре	Лиз	Арг	Г
Г	Вал	Ала	Асп	Гли	У
	Вал	Ала	Асп	Гли	Ц
	Вал	Ала	Глу	Гли	А
	Вал	Ала	Глу	Гли	Г