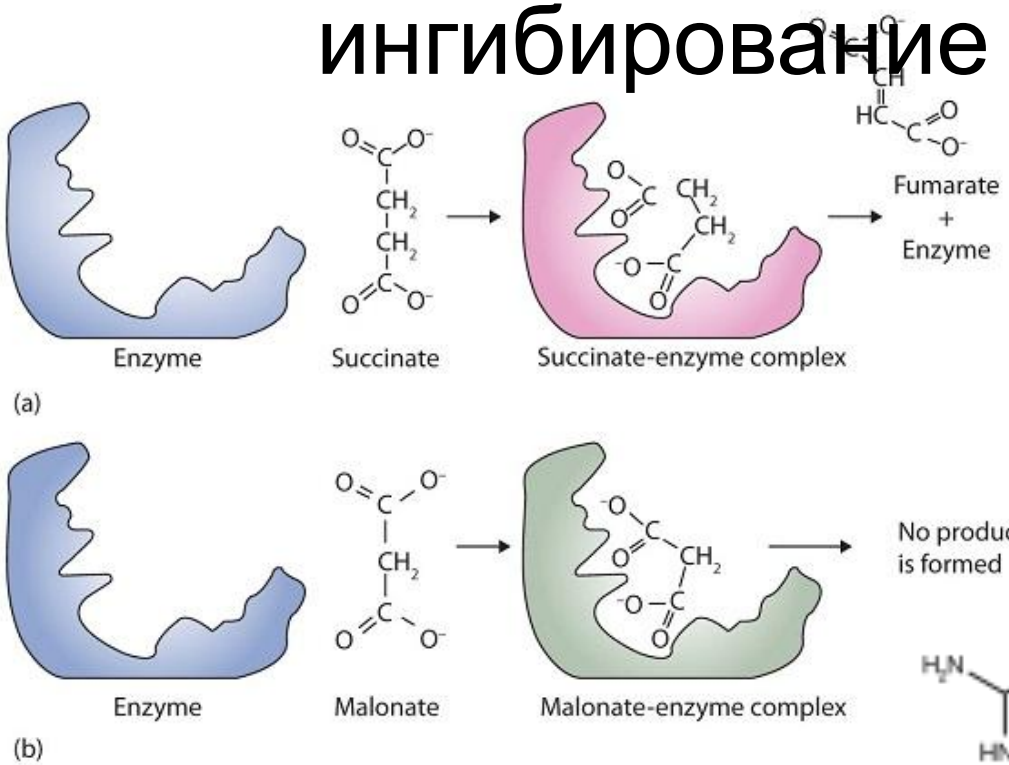
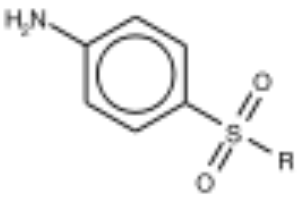
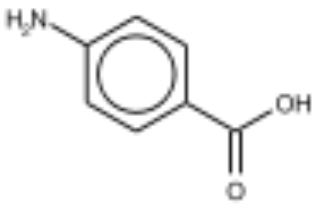
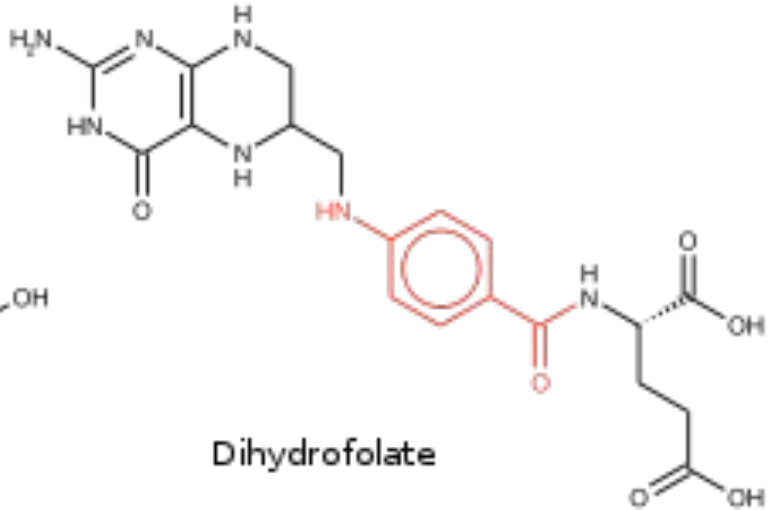
Обратимое ингибирование









Какова будет скорость реакции, катализируемая ферментом, для которого максимальная скорость превращения субстрата составляет 190 мкмоль/мин, а величина Km= 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 CO_2.

$$H_2O + CO_2 \rightleftharpoons H_2CO_3$$

Данная реакция играет важную роль в транспорте CO_2 от тканей к легким. Каково число оборотов карбоангидразы (в единицах/мин), если за 1 мин при 37 °С 10 мкг чистого фермента катализируют гидратацию 0,3 г 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:

$$\text{ГРУСТЬ} \rightleftharpoons \text{ВЕСЕЛЬЕ}$$

Начато изучение свойств фермента.

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

б) Во втором эксперименте при $[E_t] = 1$ нМ и [ВЕСЕЛЬЕ] = 30 мкМ было найдено значение начальной скорости реакции $v_0 = 300$ 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 мкМ $с^{-1}$, а измеренное в условиях эксперимента (б) значение K_M оказалось равным 15 мкМ. Рассчитайте параметры α и α' для ингибитора ЗЛОСТЬ.

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

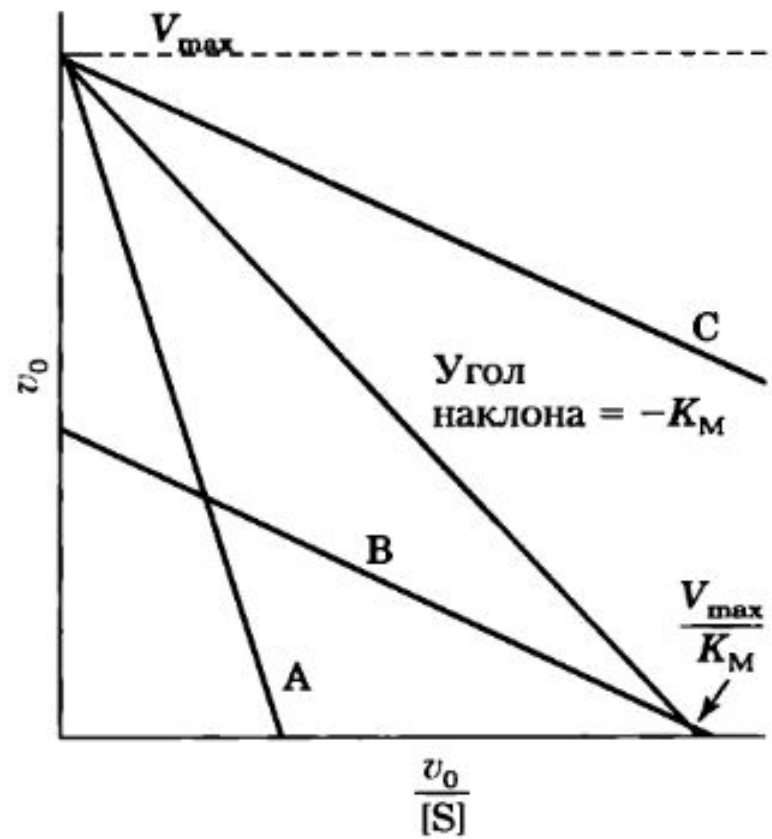
12. Свойства фермента, участвующего в синтезе простагландинов. Простагландины — это класс эйкозаноидов, т. е. производных жирных кислот, оказывающих чрезвычайно сильное влияние на ткани позвоночных животных. Простагландины (ПГ) связаны с возникновением лихорадки и воспаления, а также с сопутствующими 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.

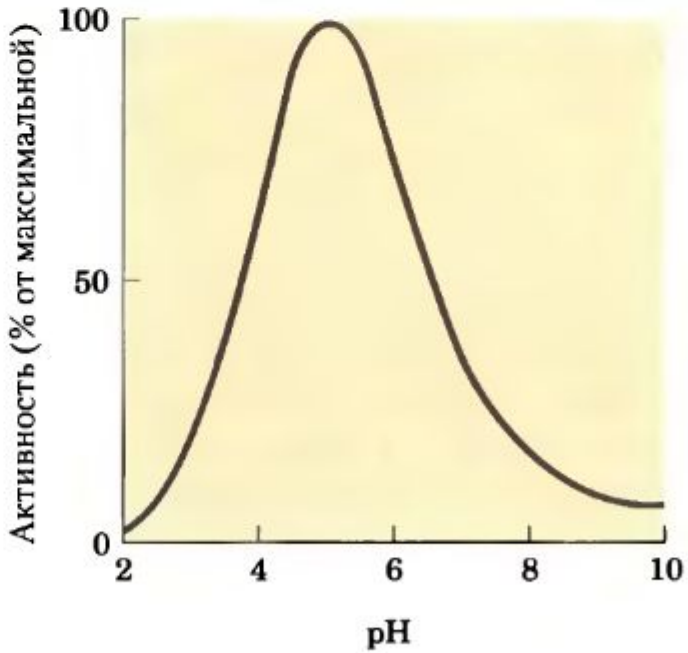
Концентрация арахидоновой кислоты (мМ)	Скорость образования ПГ G_2 (мМ/мин)	Скорость образования ПГ G_2 в присутствии 10 мг/мл ибупрофена (мМ/мин)
0,5	23,5	16,67
1,0	32,2	25,25
1,5	36,9	30,49
2,5	41,8	37,04
3,5	44,0	38,91

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 (A, B или C) 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^{35} и Asp^{52}. 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

Аминокислота	**pKa (αCOOH)**	**pKa (αNH$_3^+$)**	**pKa (радикал)**
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 пе

Аминокислота	Сокращение/ символ		M_r*	Значения pK_a			pI	ГИ**	Встречаемость в белках (%)***
				pK_1 (—COOH)	pK_2 ($—NH_3^+$)	pK_R (R-группы)			
Неполярные алифатические R-группы									
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
Ароматические R-группы									
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	3,2
Триптофан	Trp	W	204	2,38	9,39		5,89	20,9	1,4
Полярные незаряженные R-группы									
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	1,9
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
Положительно заряженные R-группы									
Лизин	Lys	K	146	2,18	8,95	10,53	9,74	23,9	5,9
Гистидин	His	H	155	1,82	9,17	6,00	7,59	23,2	2,3
Аргинин	Arg	R	174	2,17	9,04	12,48	10,76	24,5	5,1
Отрицательно заряженные R-группы									
Аспарагиновая кислота	Asp	D	133	1,88	9,60	3,65	2,77	23,5	5,3
Глутаминовая кислота	Glu	E	147	2,19	9,67	4,25	3,22	23,5	6,3

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	Глн	Арг	А
	Лей	Про	Глн	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

РЕШУЕГЭ.РФ