

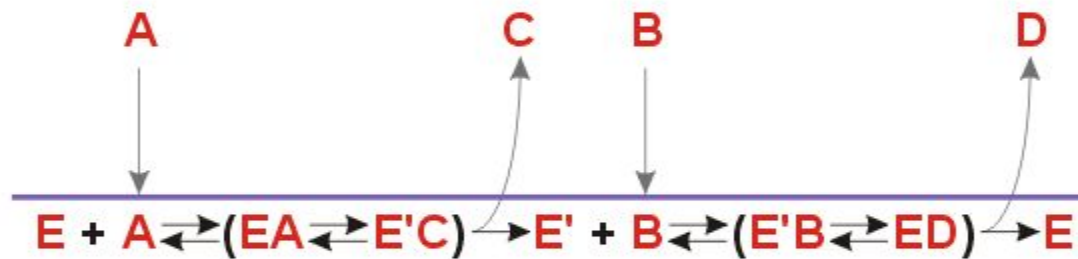


2004



Механизмы двухсубстратных реакций

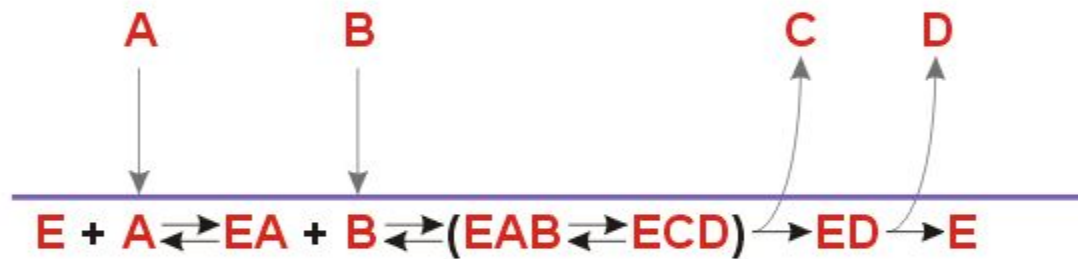
Механизм двойного замещения ("пинг-понг" механизм)





Механизмы двухсубстратных реакций

Последовательный механизм

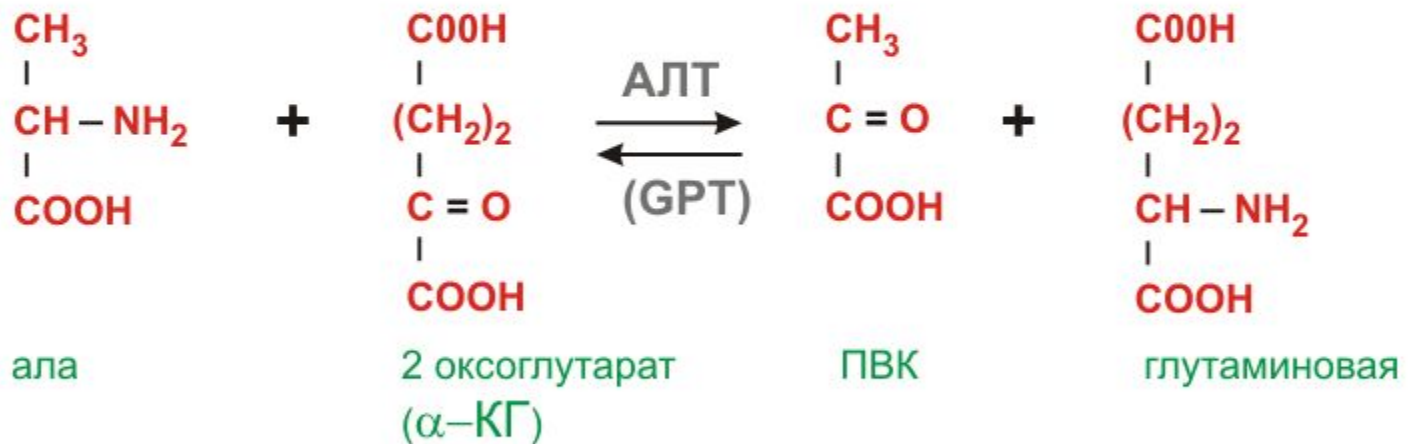


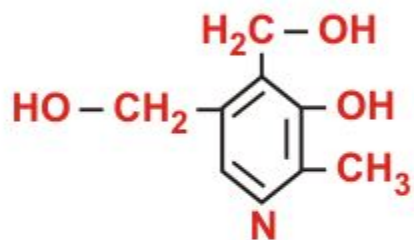


Механизм ферментативного действия аланинаминотрансферазы

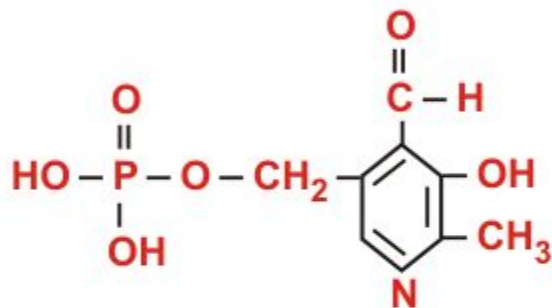
КФ 2.6.1.2

L-аланин: 2 оксоглутарат аминотрансфераза

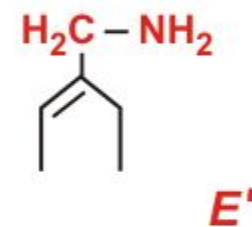




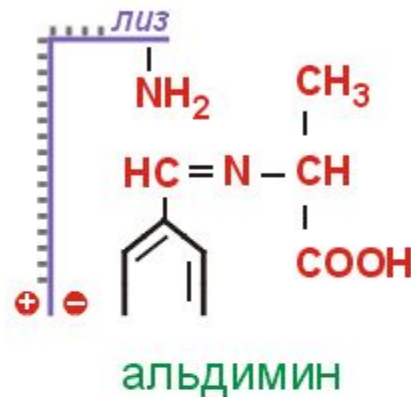
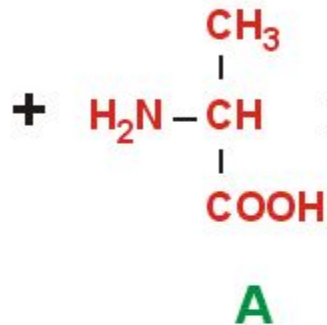
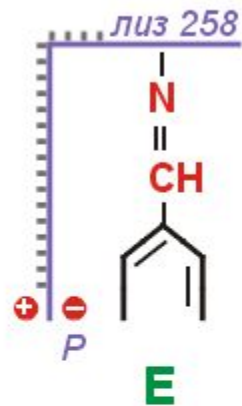
пиридоксин (вит. B₆)



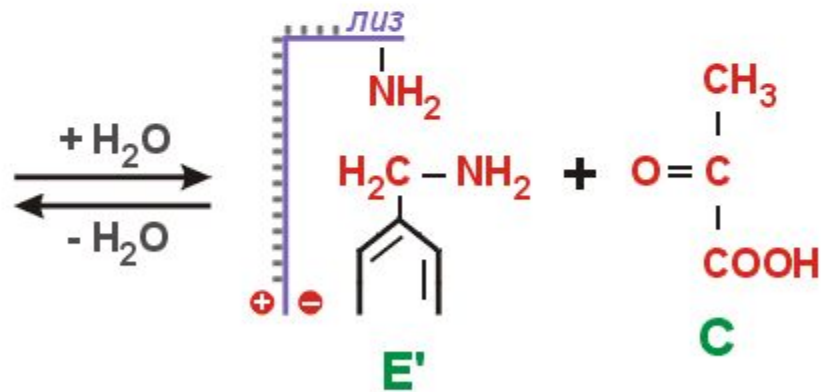
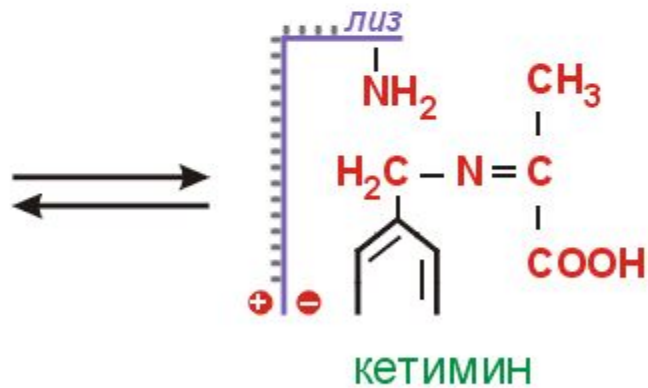
пиридоксальфосфат
(кофермент аминотрансферазы)



пиридоксамин-
фосфат

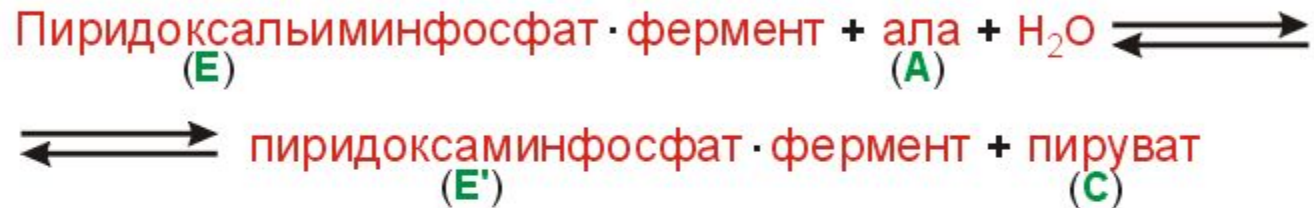


перегрупп-
пировка
Амадори

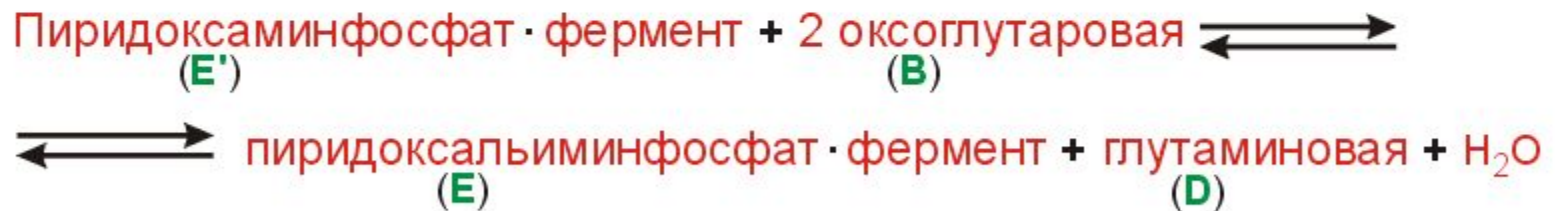




1ая полуреакция:



2ая полуреакция:





Кинетика ферментативных реакций

Единицы ферментативной активности

Катал \longrightarrow моль/с (Kat)

мкат (mKat)
ммоль/с

мккат (μ 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

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

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



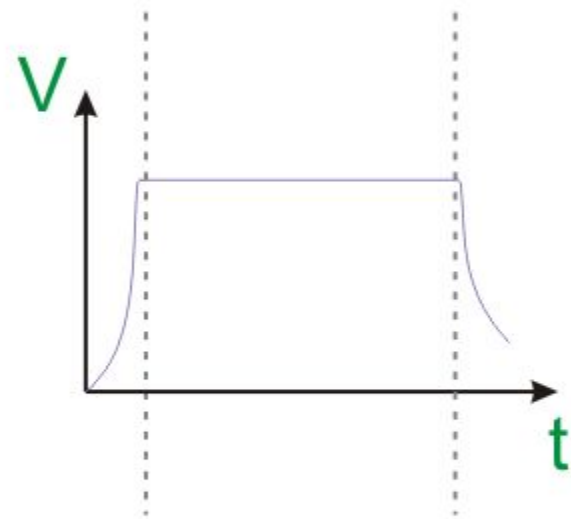
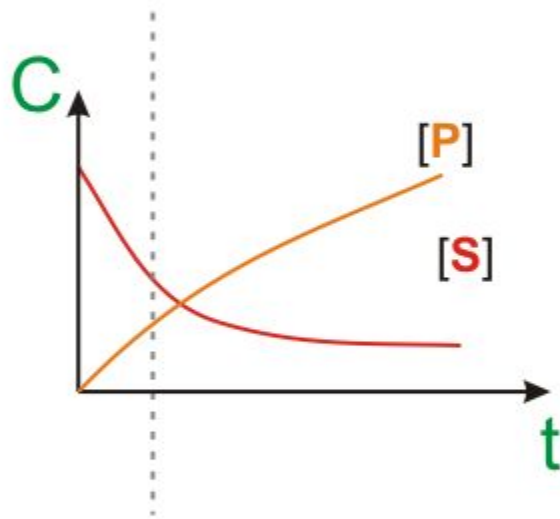
Молярная акт. = $\frac{\text{число единиц акт-ти фермента в образце (мкмоль/мин)}}{\text{количество фермента (мкмоль)}} = \dots \text{мин}^{-1}$
(молекулярная, число оборотов)

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

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

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

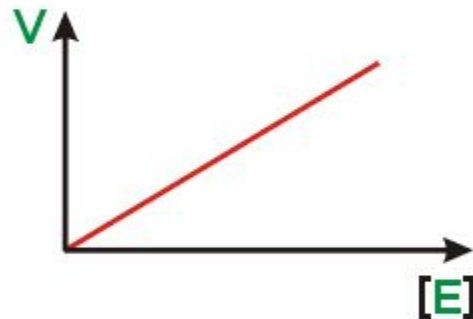
$$V = K[S_1][S_2]; \text{ в случае } [S_1] = [S_2] \quad V = K[S]^2$$



Влияние на скорость ферментативной реакции

Общие условия

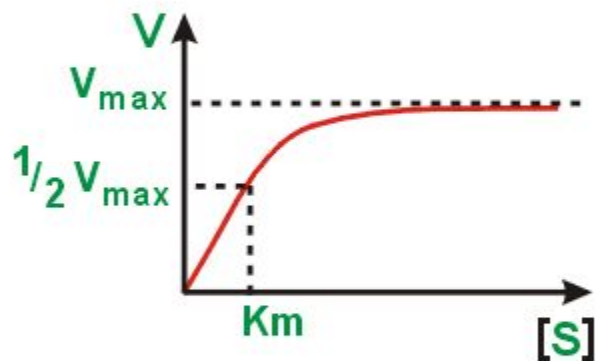
a) концентрации фермента





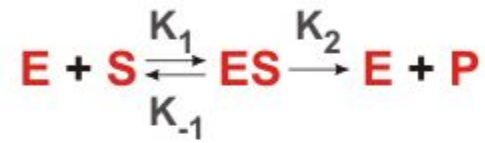
Влияние на скорость ферментативной реакции

б) концентрации субстрата





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



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

Если $v = \frac{1}{2}V_{\max}$, то $\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$, отсюда $K_m = [S]$



2004