



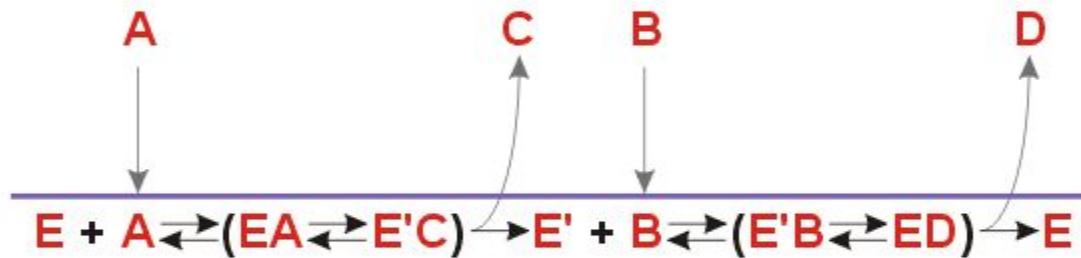
METABURG

2004



# Механизмы двухсубстратных реакций

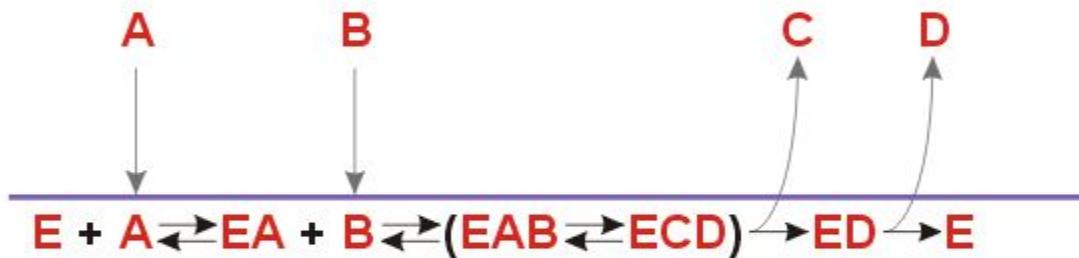
Механизм двойного замещения ("пинг-понг" механизм)





# Механизмы двухсубстратных реакций

Последовательный механизм



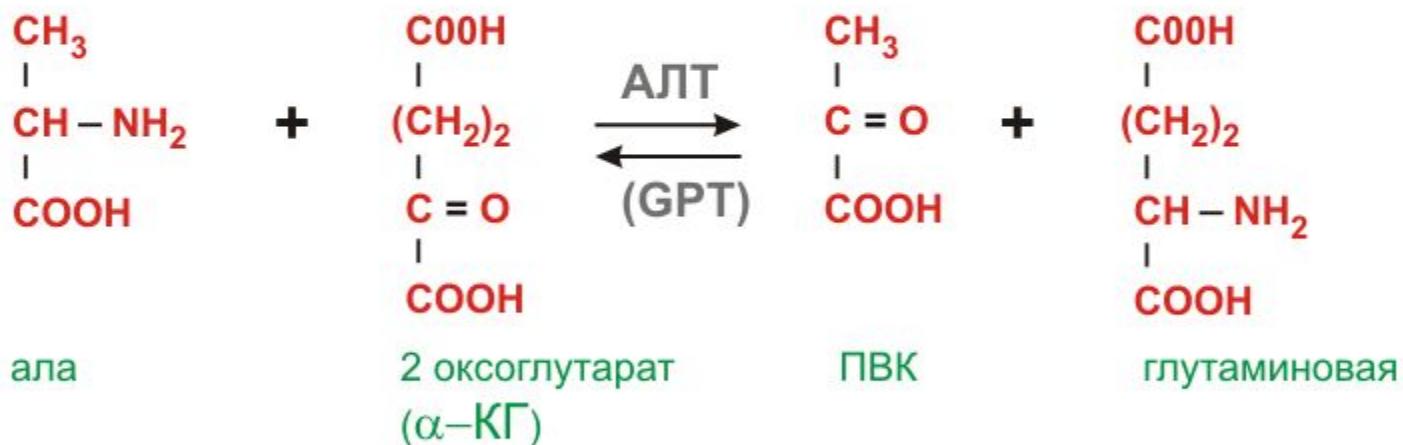


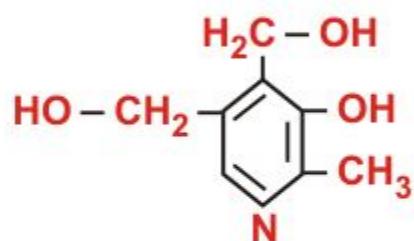
## Механизм ферментативного действия

аланинаминотрансферазы

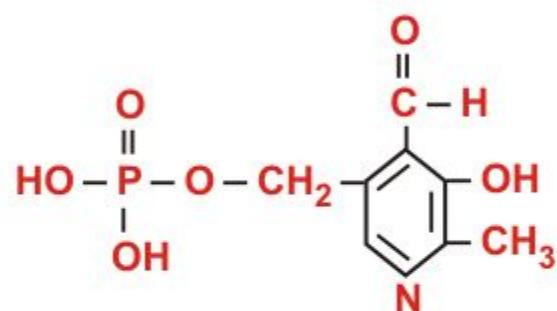
### КФ 2.6.1.2

L-аланин: 2 оксоглутарат аминотрансфераза

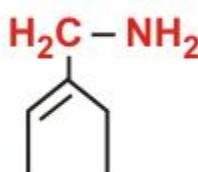




пиридоксин (вит. B<sub>6</sub>)

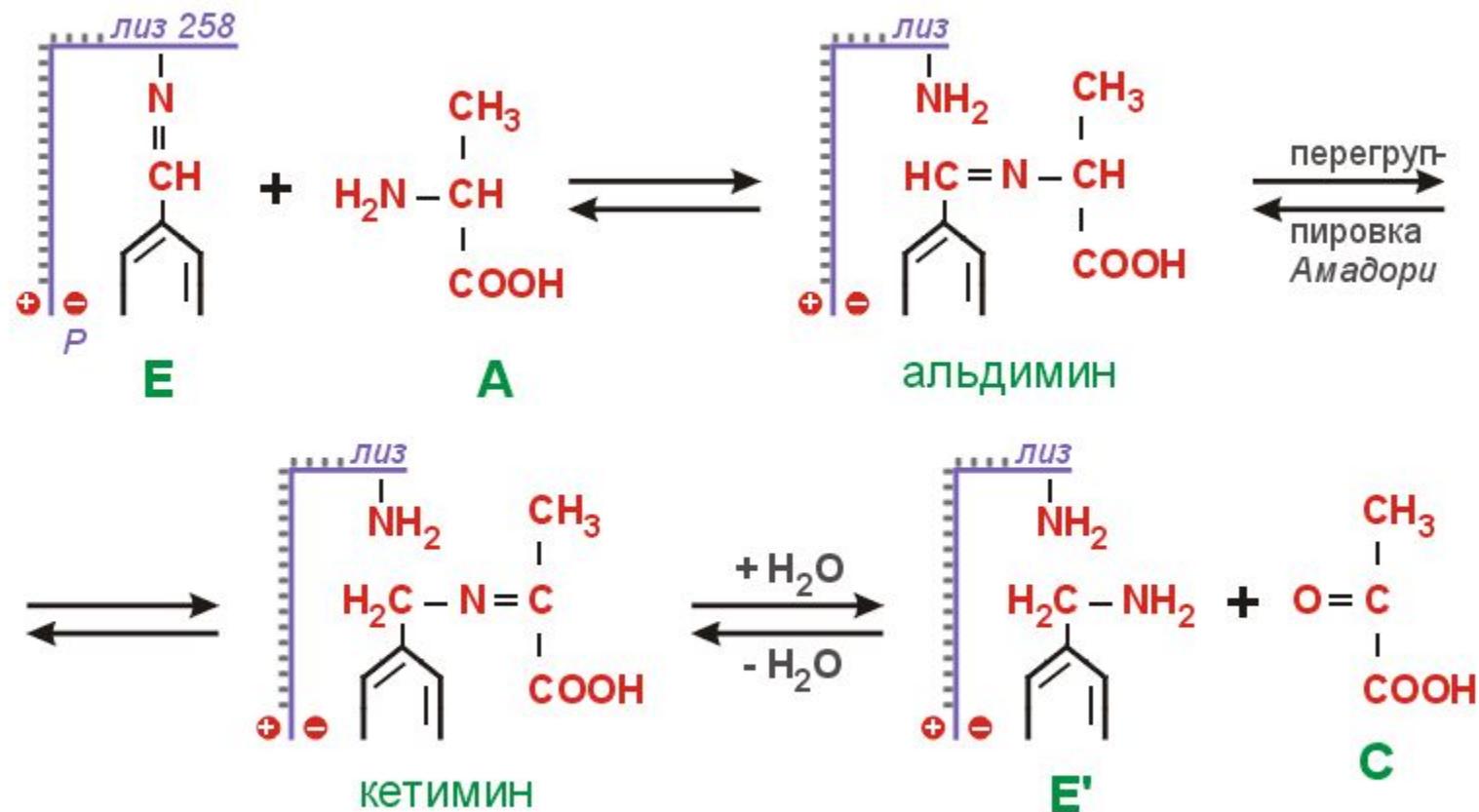


пиридоксальфосфат  
(кофермент аминотрансферазы)



пиридоксамин-  
фосфат

E'





**1ая** полуreakция:



**2ая** полуreakция:





# Кинетика ферментативных реакций

Единицы ферментативной активности

Катал  $\longrightarrow$  моль/с ( Kat )

мкат ( mKat )  
ммоль/с

мккат (  $\mu$ Kat )  
мкмоль/с

нкат ( nKat )  
нмоль/с

$$\text{мккат/л} = \text{мкмоль/с} \cdot \text{л}$$



## Кинетика ферментативных реакций

Единицы концентрации каталитической активности фермента

**СИ:**

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

$$E = ME = \text{мкмоль/мин} = U \quad U/\ell = \text{мкмоль/мин}\cdot\text{l}$$

$$1 \text{ мккат/л} = 1 \text{ мкмоль/с·л} = 60 \text{ } U/\ell = 60 \text{ E/l}$$



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



## Удельная активность фермента

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

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



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

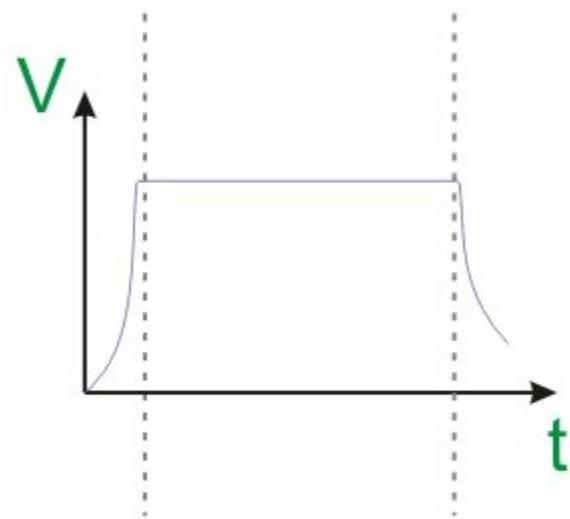
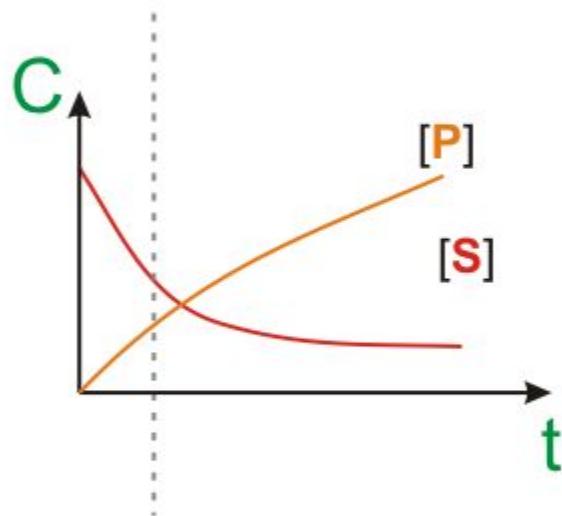
(молекулярная,  
число оборотов)

*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

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

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

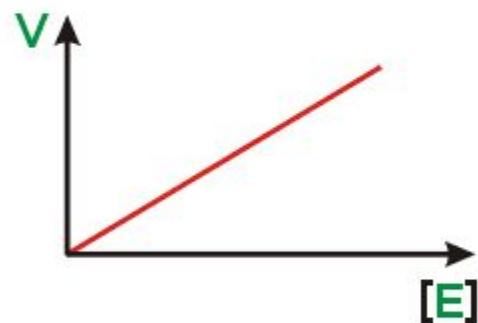
$$V = K[S_1][S_2]; \text{ в случае } [S_1] = [S_2] \quad V = K[S]^2$$



## Влияние на скорость ферментативной реакции

Общие условия

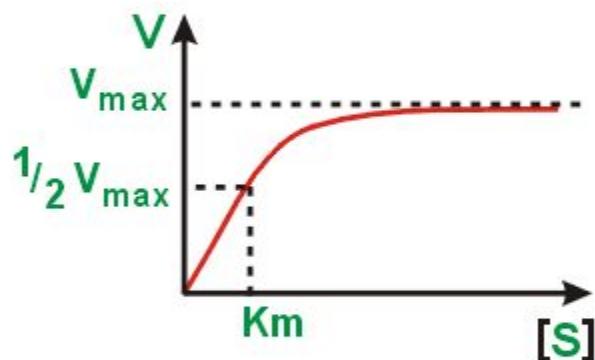
а) концентрации фермента





## 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  $K_m = [S]$



METABURG

2004