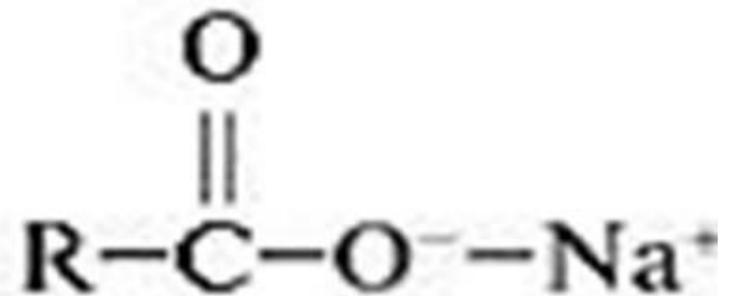
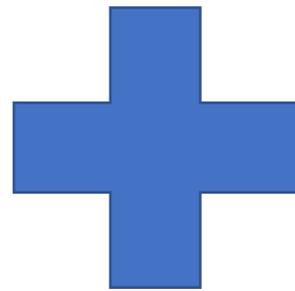
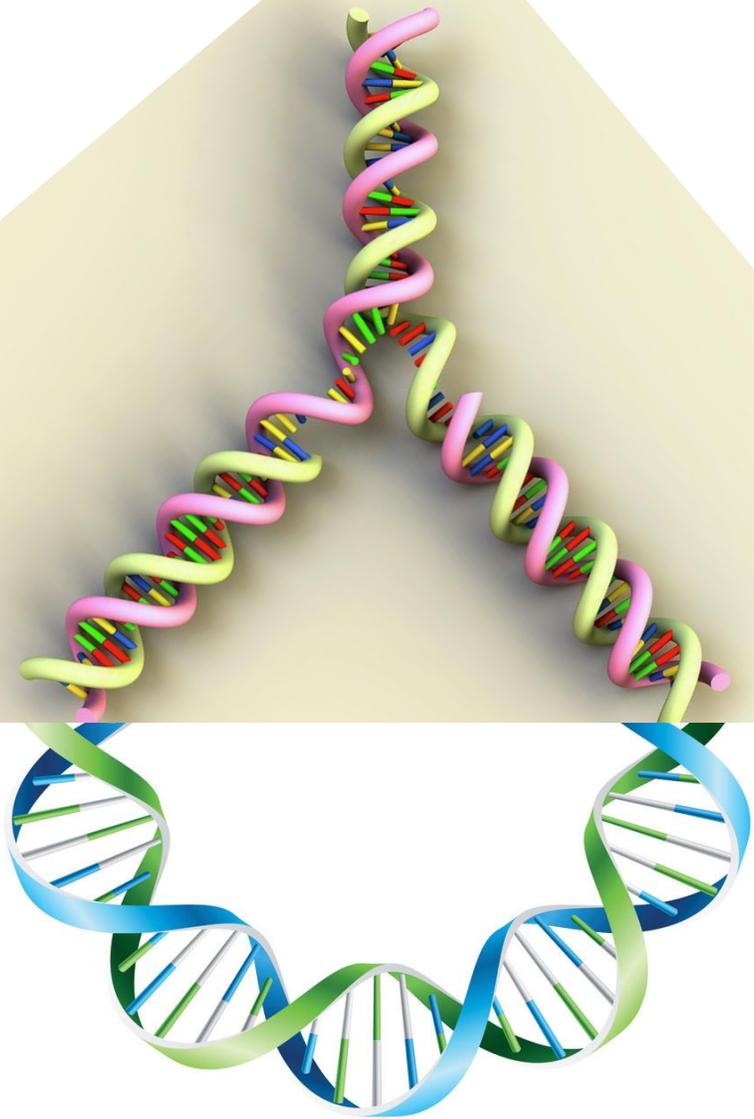


Ферментативная КИНЕТИКА



- **Уравнение Хендерсона –Хассельбаха**
- **Изоэлектрическая точка**
- **Закон Бугера-Ламберта-Бэра**
- **Классификация ферментов**
- **Кофакторы**
- **Уравнение Михаэлиса – Ментен**
- **Ингибирование**

Уравнение Хендерсона -Хассельбаха

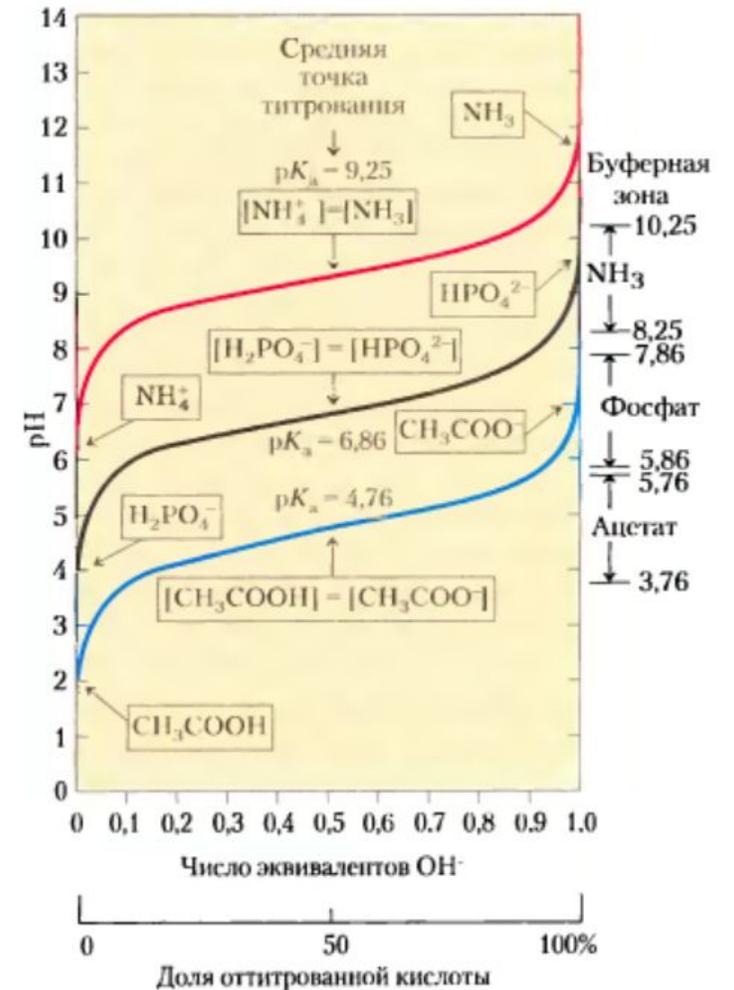
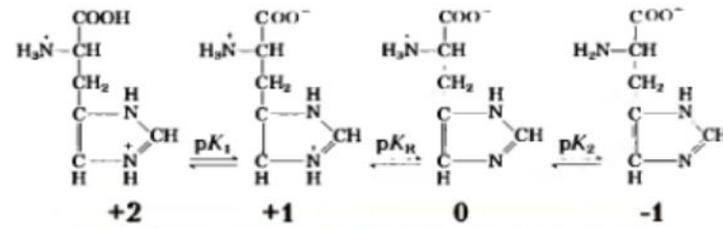
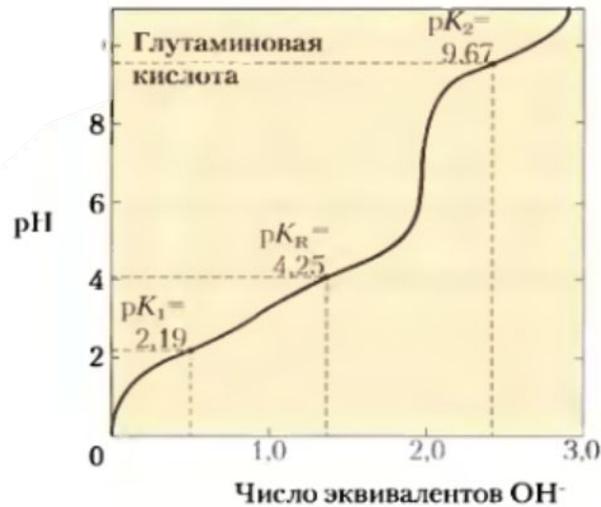
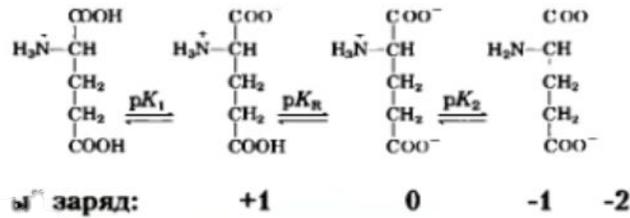


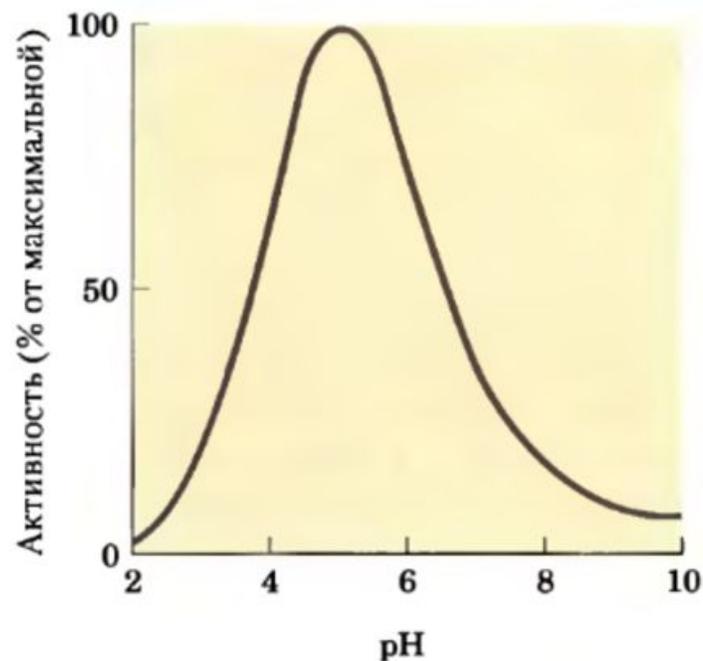
Рис. 3-12. Кривые титрования а) глутаминовой кислоты и б) гистидина. Значения pK_a R-групп обозначены как pK_R .

$$pH = pK_a + \lg \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Изоэлектрическая точка

- Значение рН, в котором молекула не имеет заряда, называется **изоэлектрической** точкой и равно среднему арифметическому констант равновесия заряженных групп
- Аминокислоты в изоэлектрической точке являются цвиттер-ионами

21. Оптимум рН для действия лизоцима. В активном центре лизоцима расположены два аминокислотных остатка, играющих основную роль в катализе: Glu³⁵ и Asp⁵². 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?

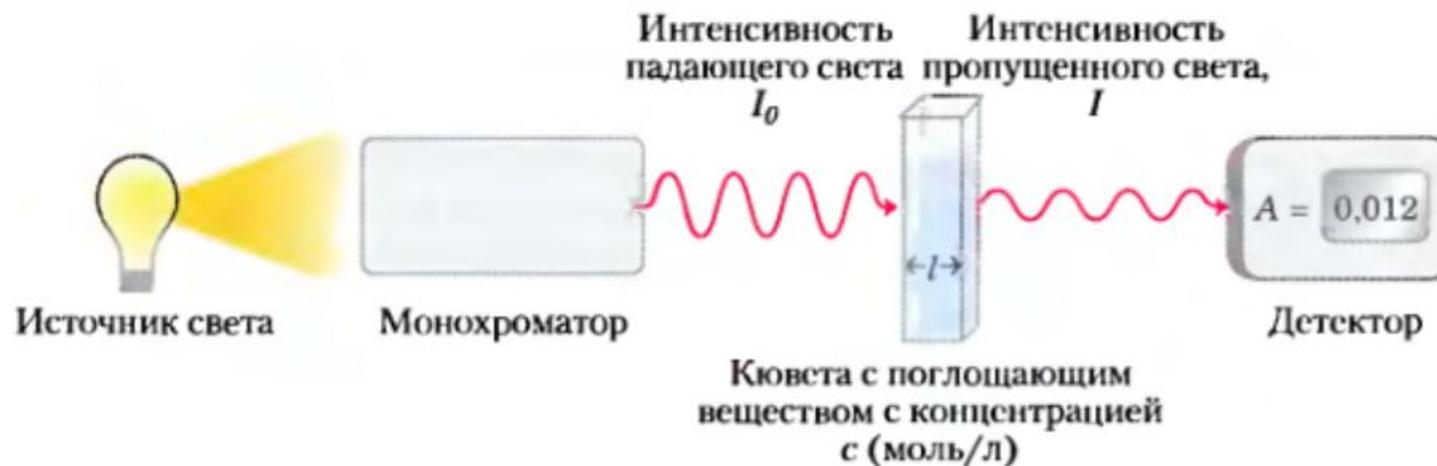
Определите значение изоэлектрической точки пептида: Гли-Глу-Лиз

Аминокислота	pK_a (αCOOH)	pK_a (αNH_3^+)	pK_a (радикал)
Глицин	2,34	9,58	-
Глутаминовая кислота	2,19	9,67	4,25
Лизин	2,18	8,95	10,53

13. Изоэлектрическая точка гистонов. Гистоны — это белки, содержащиеся в ядре эукариотической клетки и прочно связанные с молекулами ДНК, которые богаты фосфатными группами. Значение pI гистонов очень высокое — около 10,8. Какие аминокислотные остатки должны в большом количестве содержаться в молекулах гистонов? Каким образом эти остатки обеспечивают прочное связывание гистонов с ДНК?

Закон Бугера-Ламберта-Бэра

$$\lg(I/I_0) = \epsilon c l,$$



Классификация ферментов

Таблица 6-3 Международная система классификации ферментов

№	Класс	Тип катализируемой реакции
1	Оксидоредуктазы	Перенос электронов (гидрид-ионов или атомов H)
2	Трансферазы	Перенос группы
3	Гидролазы	Реакции гидролиза (перенос функциональных групп на молекулу воды)
4	Лиазы	Присоединение группы к двойной связи или образование двойной связи путем удаления группы
5	Изомеразы	Перенос групп внутри молекулы с образованием изомерных форм
6	Лигаза	Образование связей C-C, C-S, C-O и C-N в реакциях конденсации, сопряженных с расщеплением АТФ



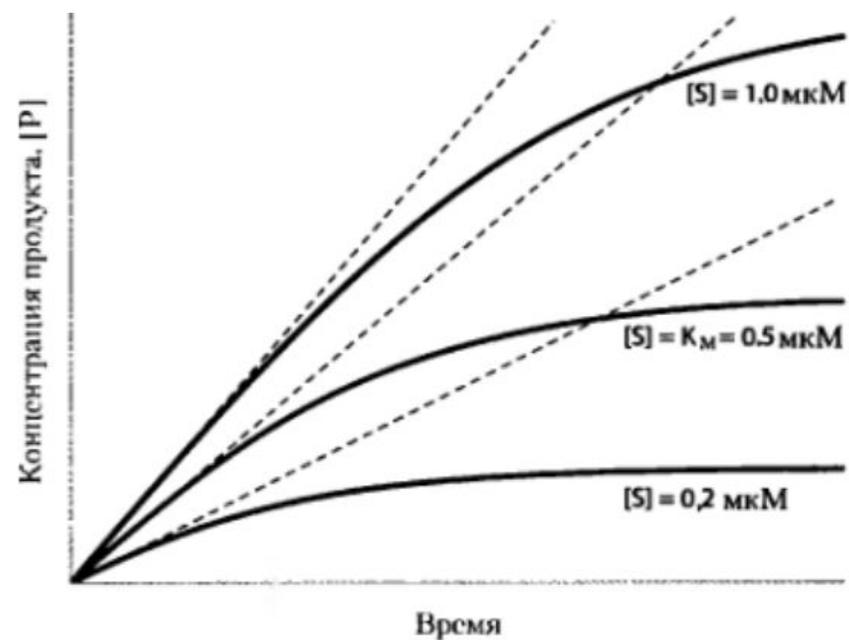
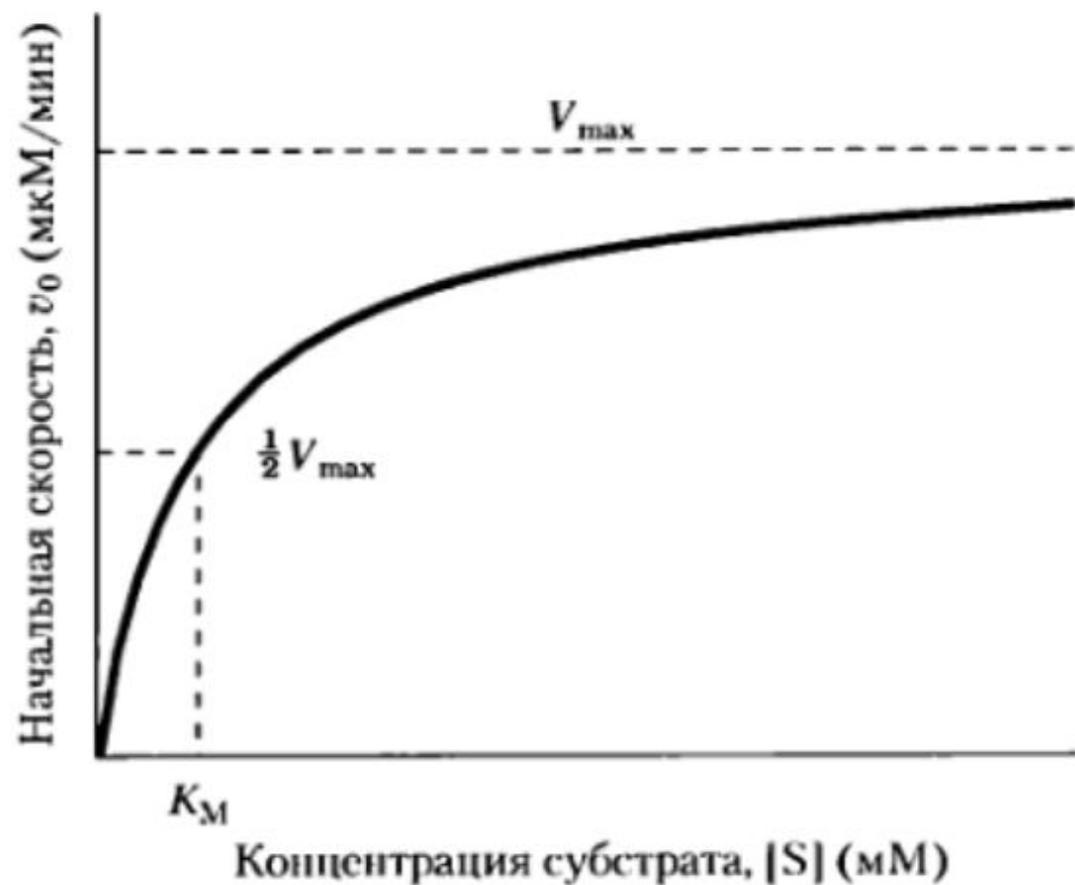


Рис. 6-10. Начальная скорость ферментативных реакций. Гипотетический фермент катализирует реакцию $S \rightleftharpoons P$, присутствуя в концентрации, достаточной для достижения максимальной скорости $V_{\max} = 1 \text{ М/мин}$. Константа Михаэлиса K_M (ее определение см. в тексте) составляет $0,5 \text{ мкМ}$. На графике представлены кривые, соответствующие ходу реакции при концентрации субстрата, которая ниже значения K_M , равна или выше него. Скорость ферментативной реакции снижается по мере превращения субстрата в продукт. Угол наклона касательной, проведенной к каждой кривой в момент времени $t = 0$, соответствует начальной скорости v_0 .

Уравнение Михаэлиса – Ментен и Лайнувера - Берка

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

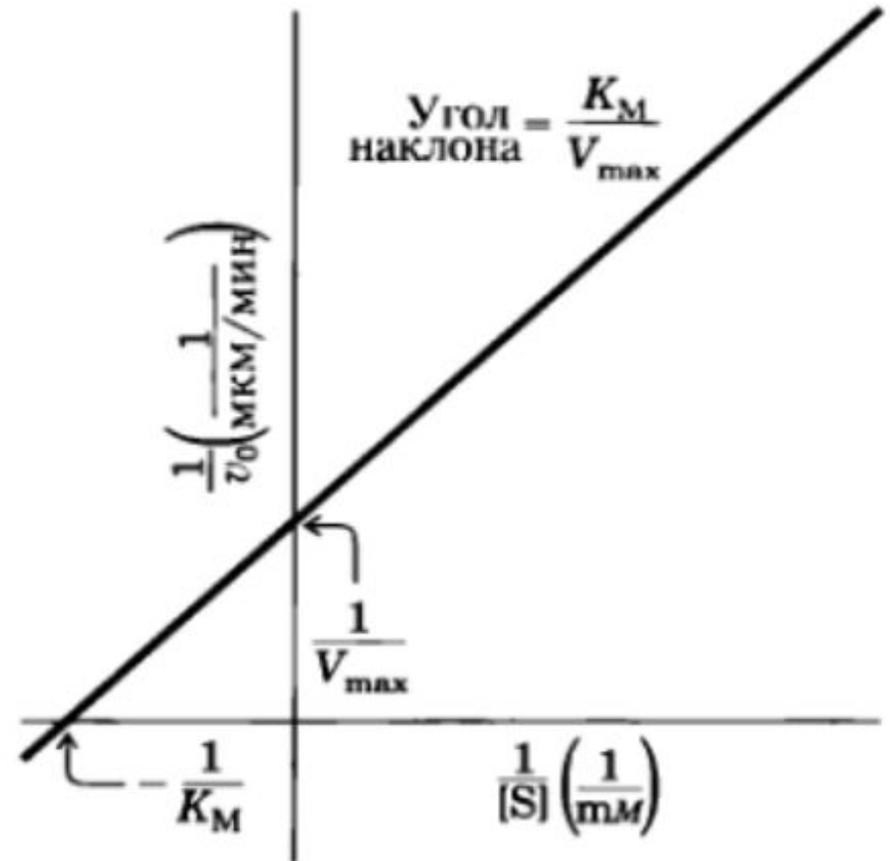


Рис. 1. График в двойных обратных координатах (график Лайнувера-Берка).

..

Был исследован фермент, катализирующий следующую химическую реакцию:



Исследователи назвали фермент веселазой. Они обнаружили, что k_{cat} для этого фермента составляет 600 с^{-1} . Было решено поставить несколько экспериментов.

При $[E_1] = 20 \text{ нМ}$ и $[\text{ГРУСТЬ}] = 40 \text{ мкМ}$ начальная скорость реакции v_0 равна $9,6 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$. Найдите значение K_M для субстрата ГРУСТЬ.

Ингибирование

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_M + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad \text{и} \quad K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Типы обратимого ингибирования

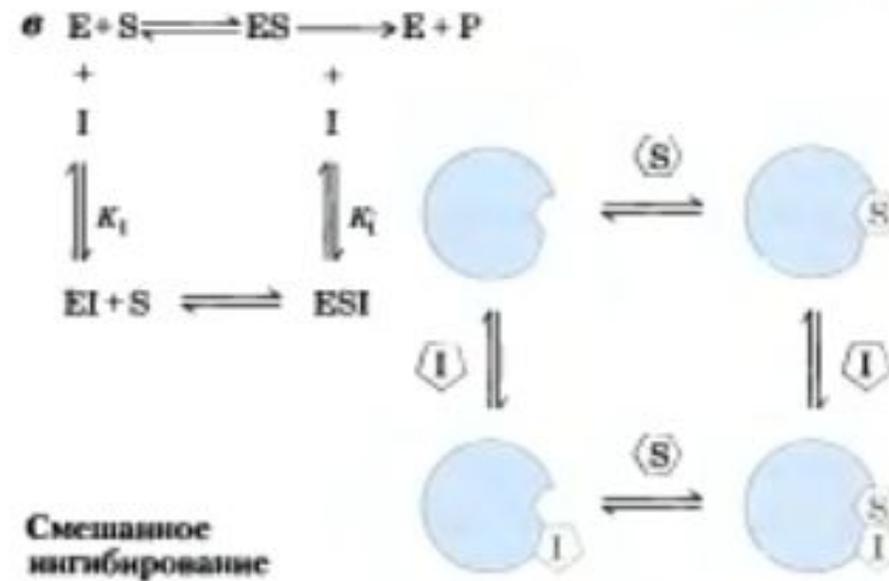
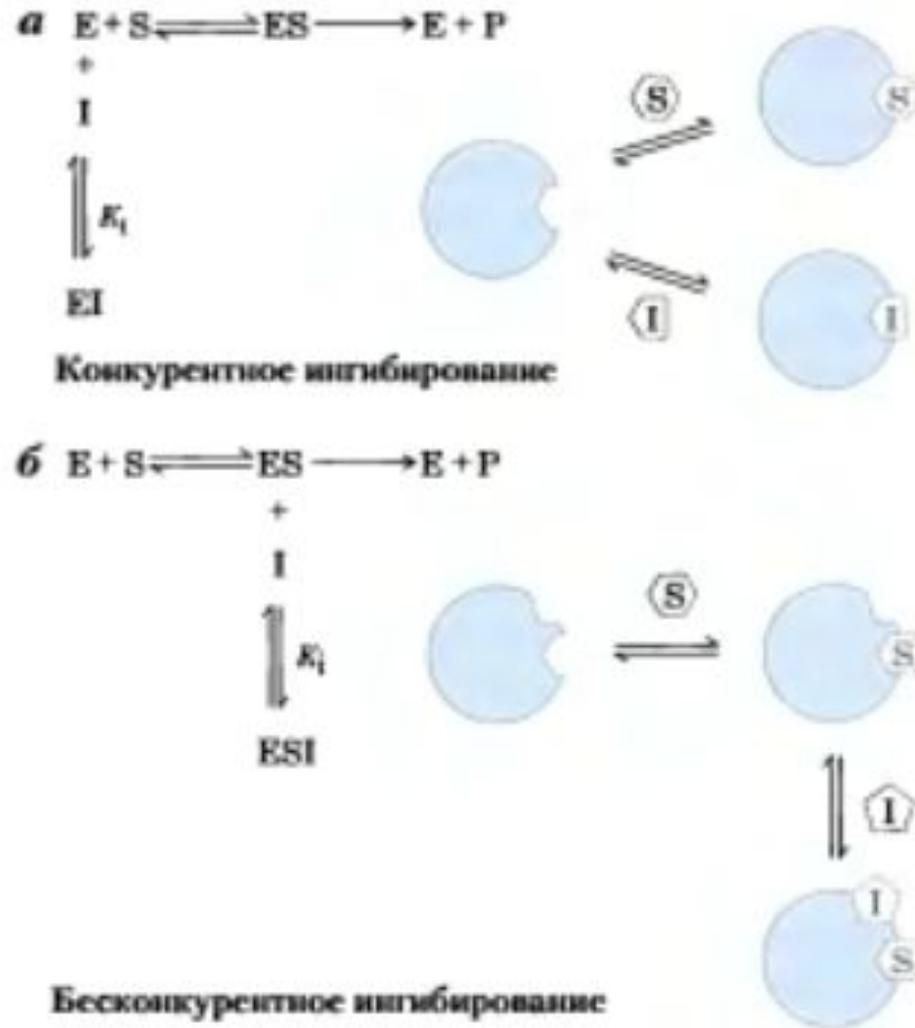
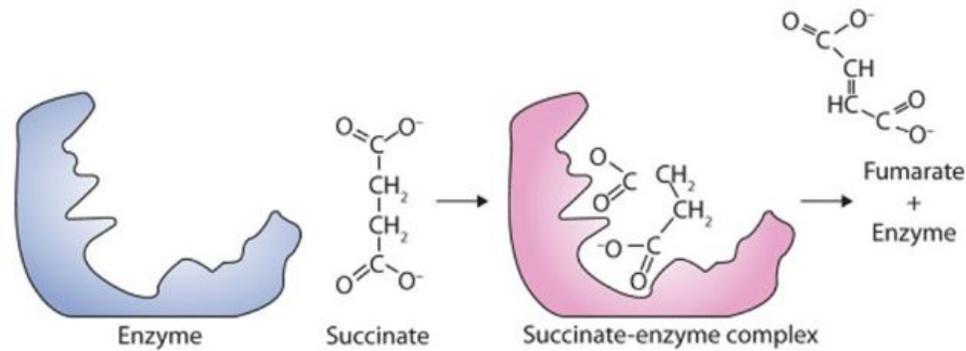
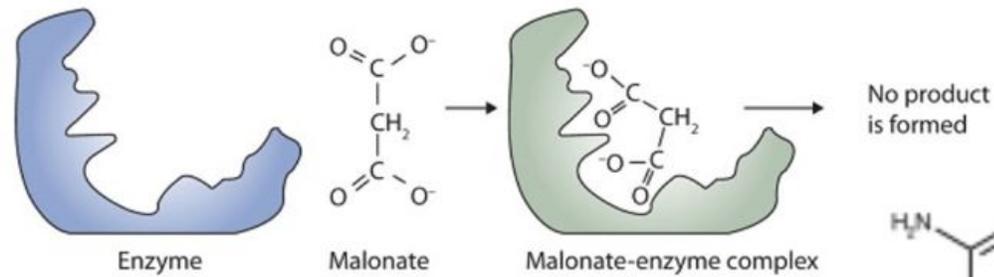


Рис. 6-15. Три типа обратимого ингибирования. а) Конкурентный ингибитор связывается в активном центре фермента; связывание ингибитора с ферментом характеризуется константой равновесия (K_i). б) Бесконкурентный ингибитор связывается вне активного центра фермента, причем связывание происходит только с уже сформировавшимся комплексом ES. Связывание ингибитора с комплексом ES характеризуется константой (K_i'). в) При смешанном типе ингибирования ингибитор связывается вне активного центра, причем может связываться как с E, так и с ES.

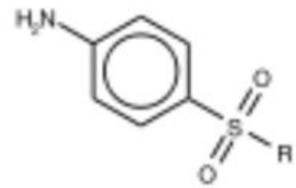
Обратимое ингибирование



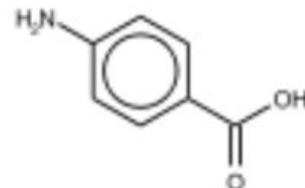
(a)



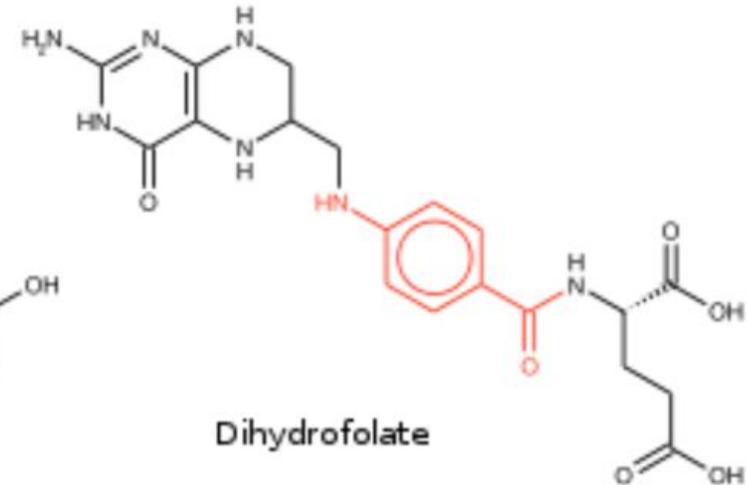
(b)



Sulfanilamide

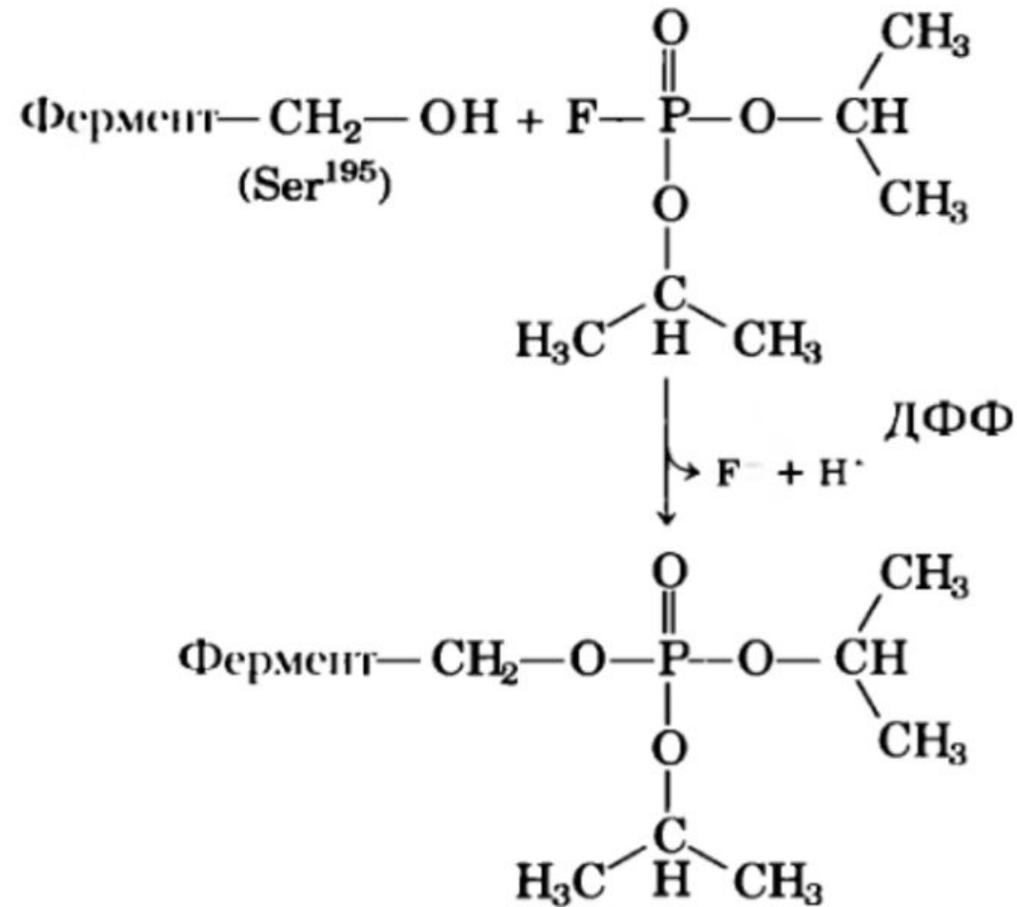


PABA



Dihydrofolate

Необратимое ингибирование



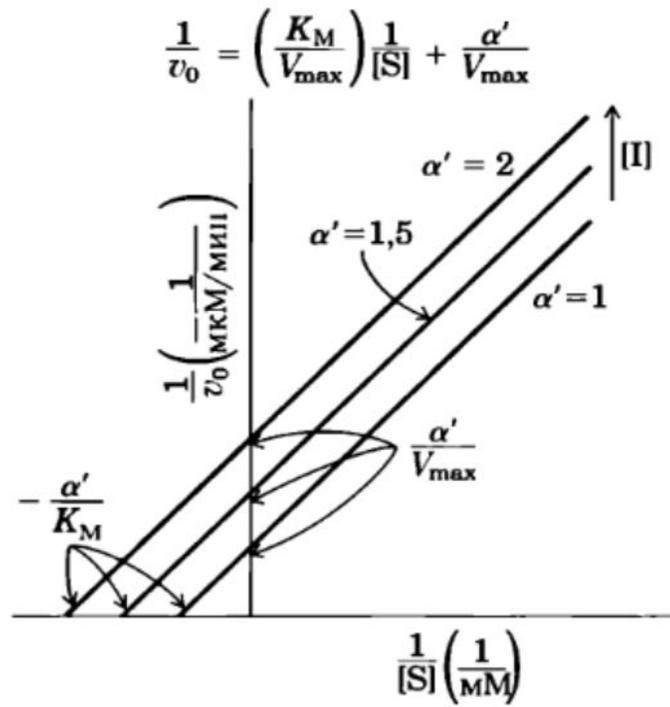


Рис. 2. Бесконкурентное ингибирование.

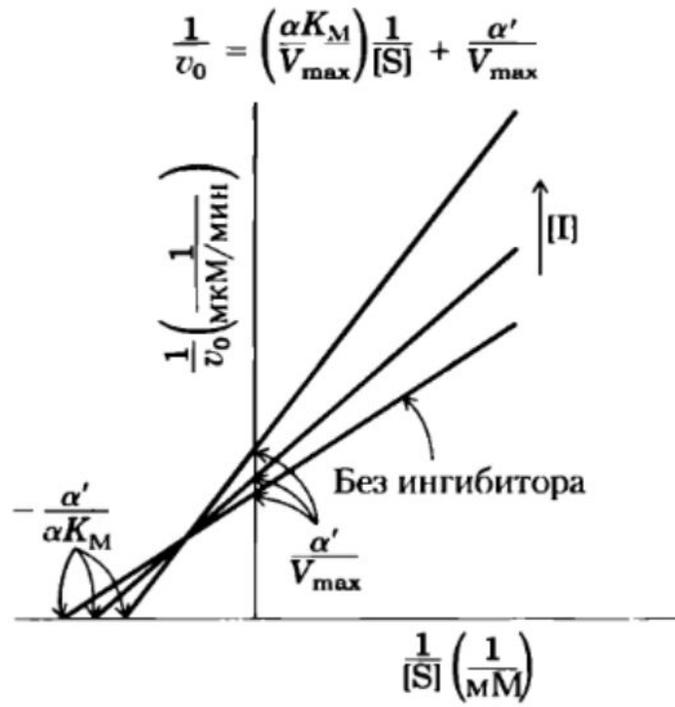


Рис. 3. Смешанное ингибирование.

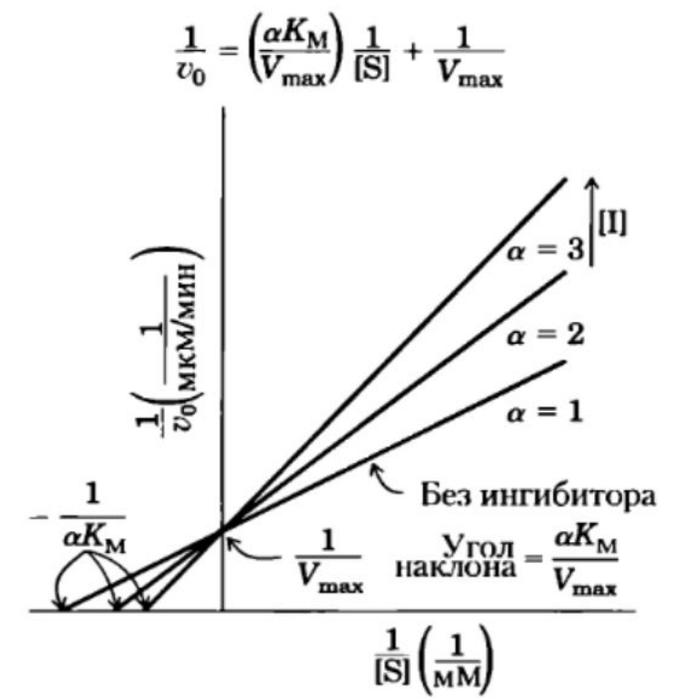


Рис. 1. Конкурентное ингибирование.

Исследователи, изучавшие веселазу (см. примеры 6-1 и 6-2), выяснили, что ее мощным конкурентным ингибитором является вещество СТРЕСС. Добавление 1 нМ СТРЕСС повышает измеряемое значение K_M для субстрата ГРУСТЬ в два раза. Определите значения α и α' в этих условиях.

Кофакторы (простетические группы)

Фермент с кофактором называется холофермент
Белковая часть - апофермент

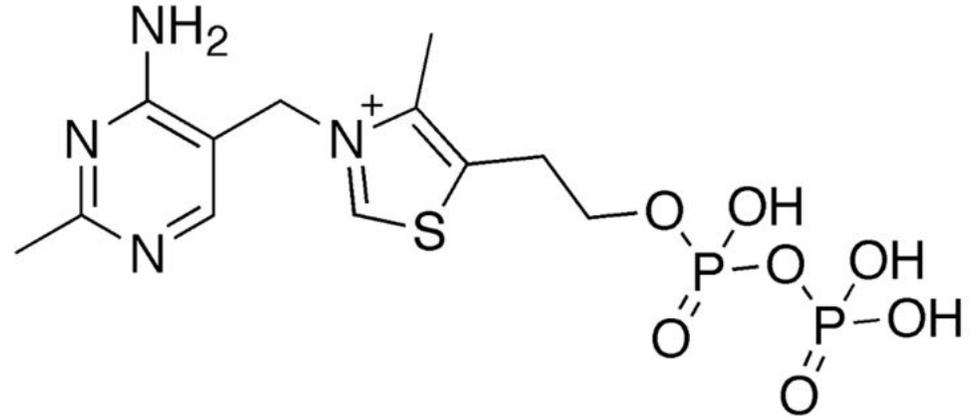
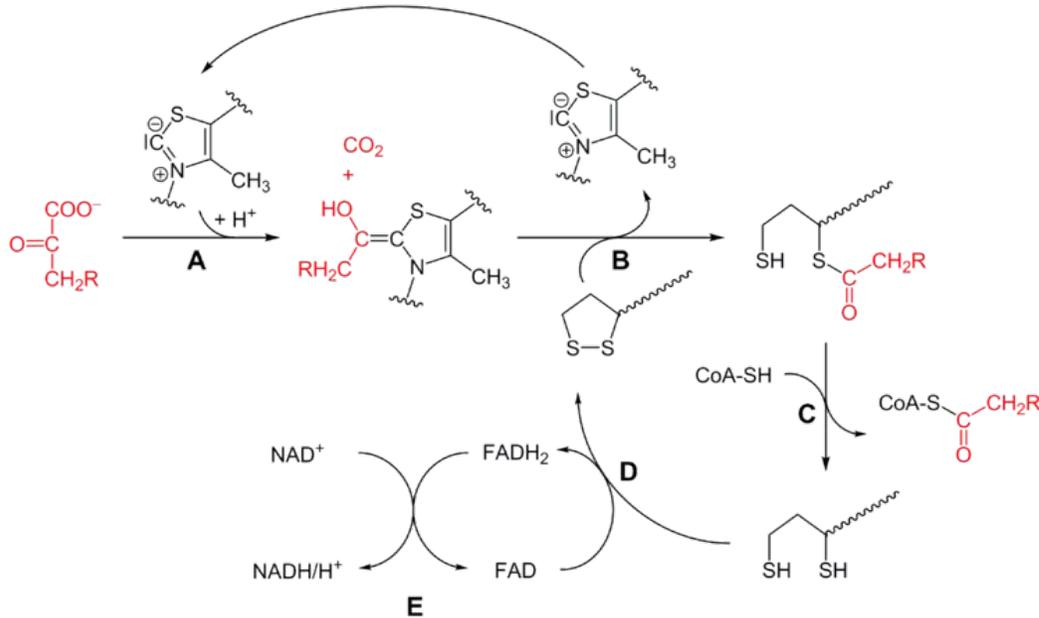
- неорганические

Таблица 6-1		Некоторые ионы и атомы, являющиеся кофакторами ферментов
Ионы	Ферменты	
Cu^{2+}	Цитохромоксидаза	
Fe^{2+} или Fe^{3+}	Цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза	
K^{+}	Пируваткиназа	
Mg^{2+}	Гексокиназа, глюкозо-6-фосфатаза, пируваткиназа	
Mn^{2+}	Аргиназа, рибонуклеотидредуктаза	
Mo	Нитрогеназа	
Ni^{2+}	Уреаза	
Se	Глутатионпероксидаза	
Zn^{2+}	Карбоангидраза, алкогольдегидрогеназа, карбоксипептидазы А и В	

Коферменты

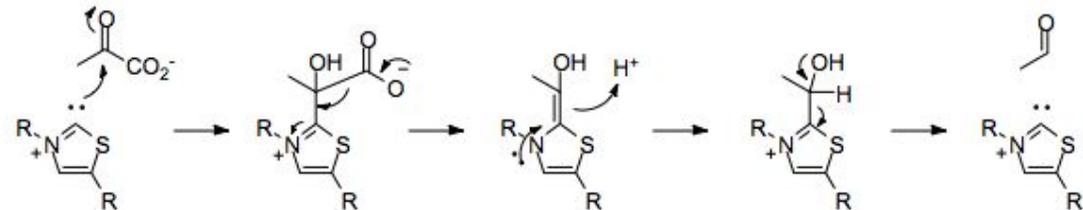
Тиаминпирофосфат (тиамин - Витамин В1)

- органические



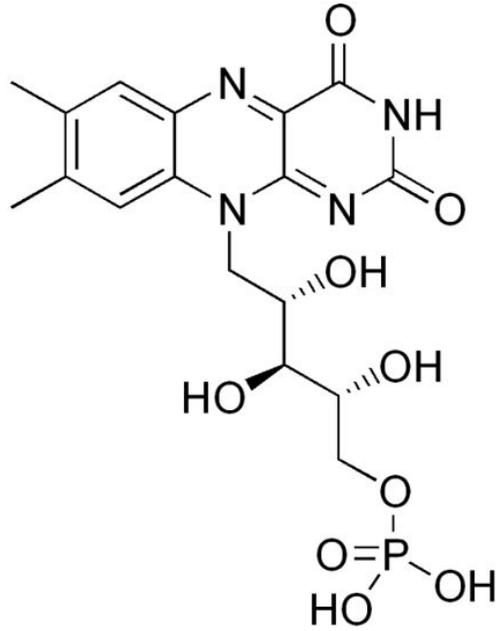
Перенос альдегидных групп

Пример: пируватдегидрогеназа, альфа-кетоглутаратдегидрогеназа, транскетолаза

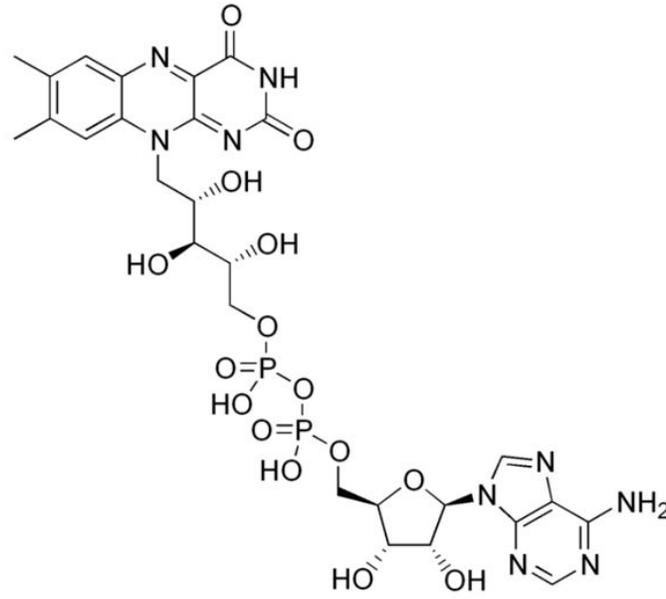


Флавинмононуклеотид и флавинадениндинуклеотид

(витамин В2 – рибофлавин)

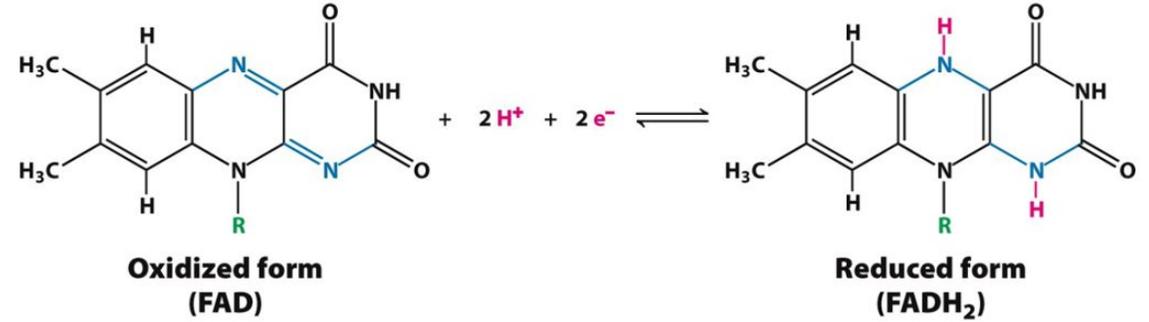


FMN



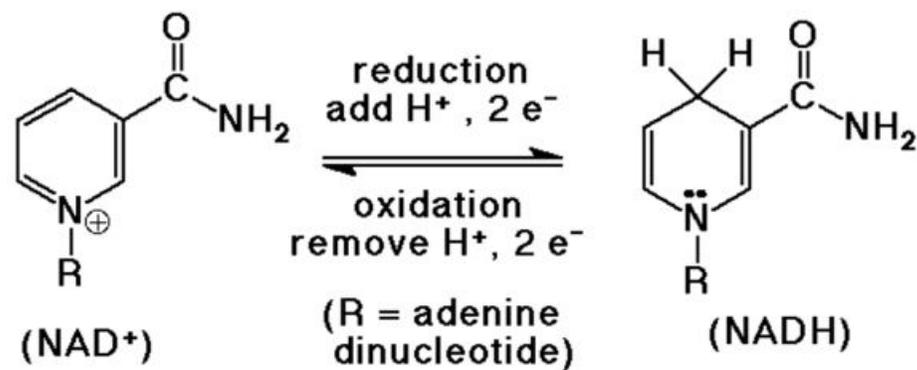
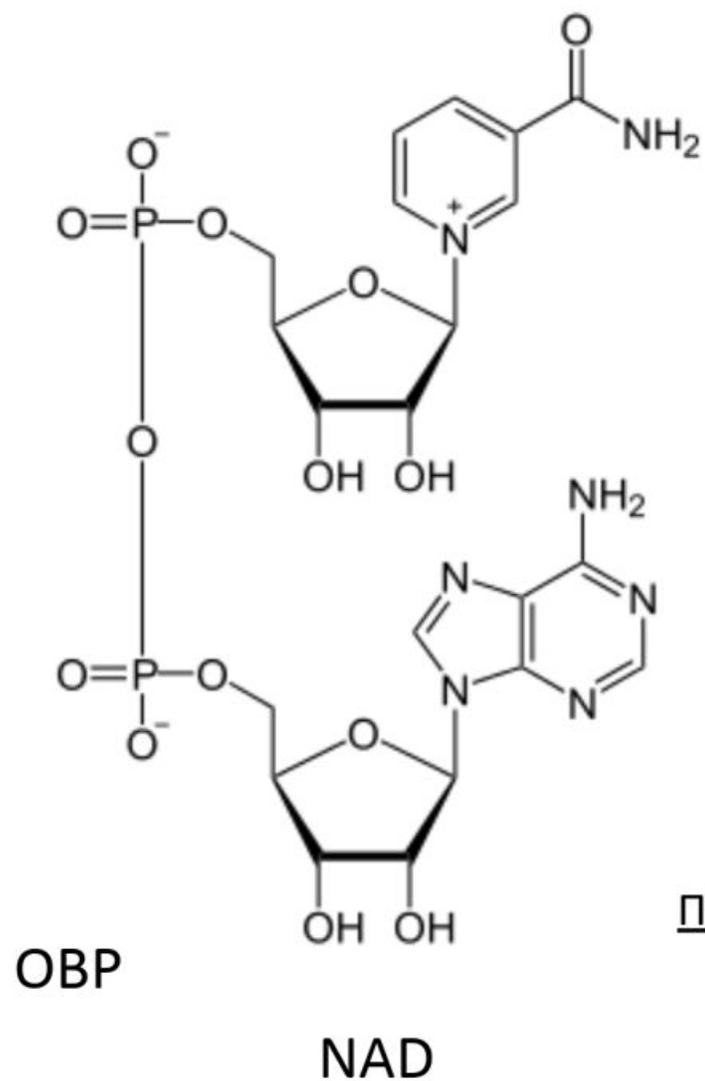
FAD

Участвует в ОВР



Пример: сукцинатдегидрогеназа (FAD), NADH – дегидрогеназа (FMN)

Никотинамидадениндинуклеотид (ниацин – витамин В3)



Пример: Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

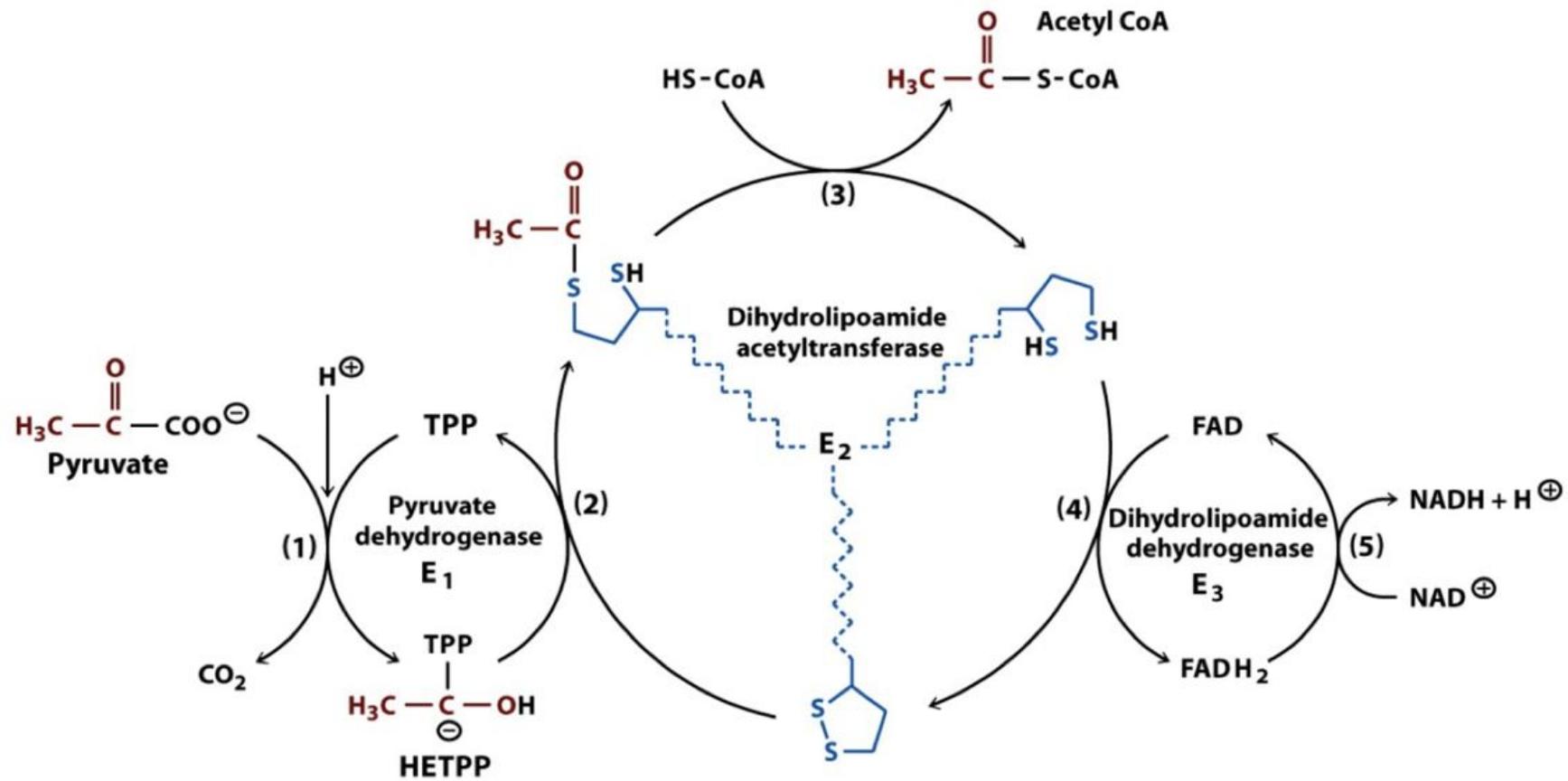
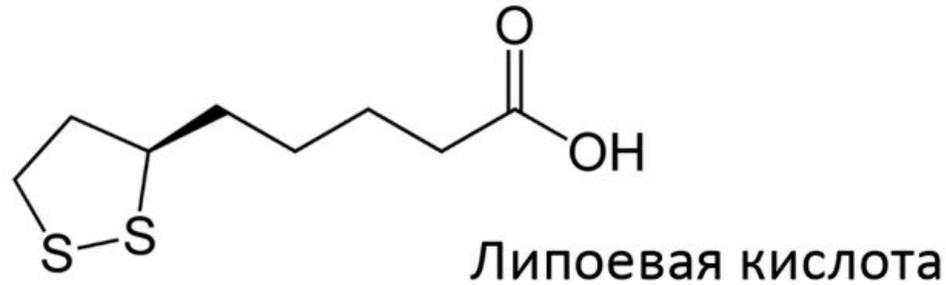
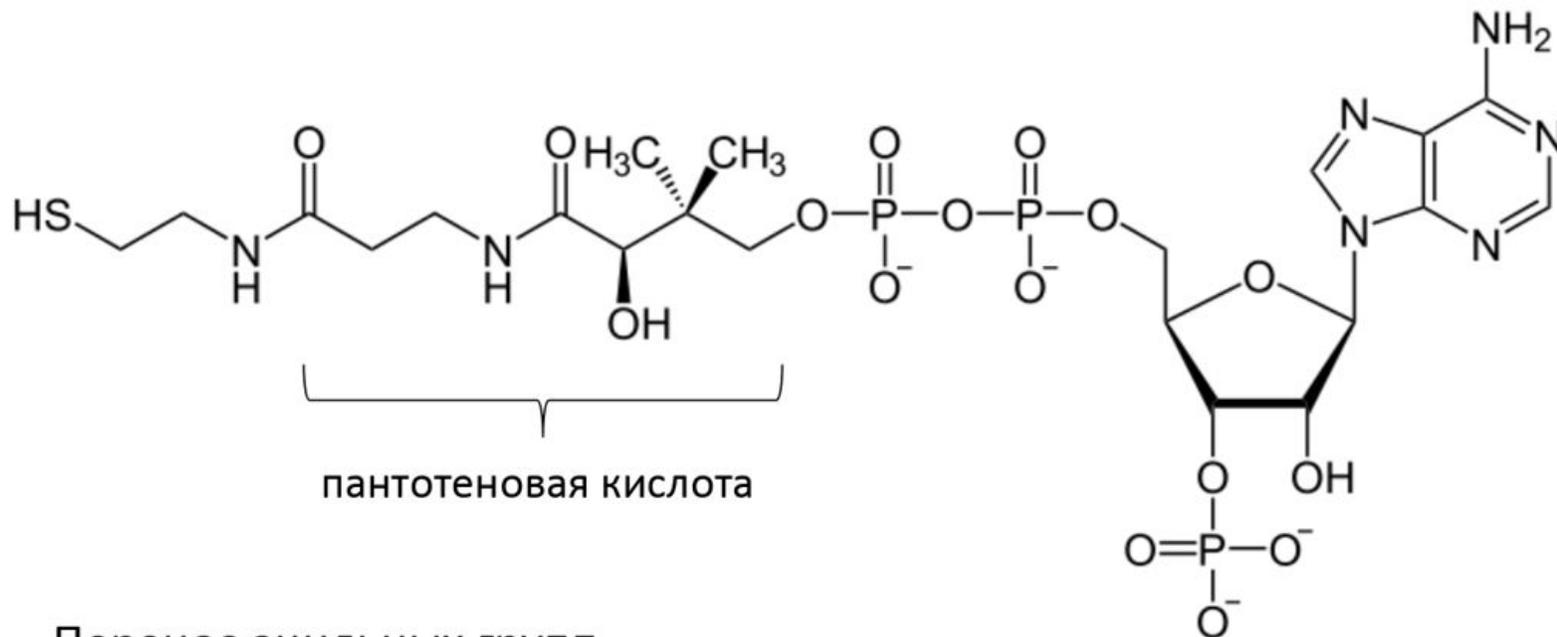


Figure 13-1 Principles of Biochemistry, 4/e
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



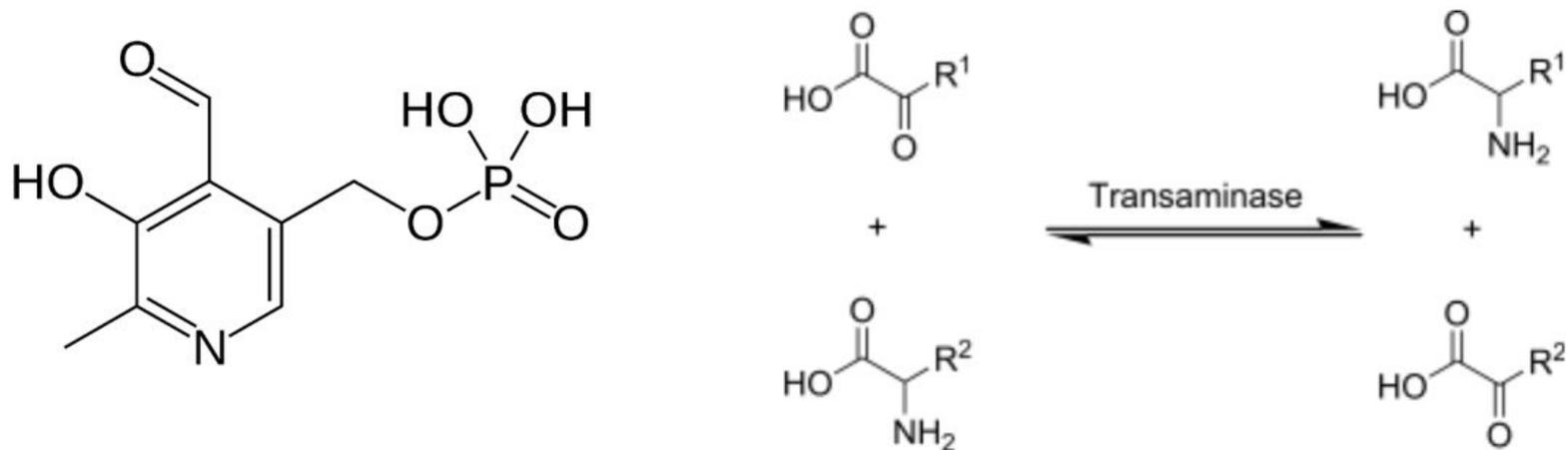
Кофермент А (витамин В5 - пантотеновая кислота)



Перенос ацильных групп

Пример: ацил-Коа-синтетаза

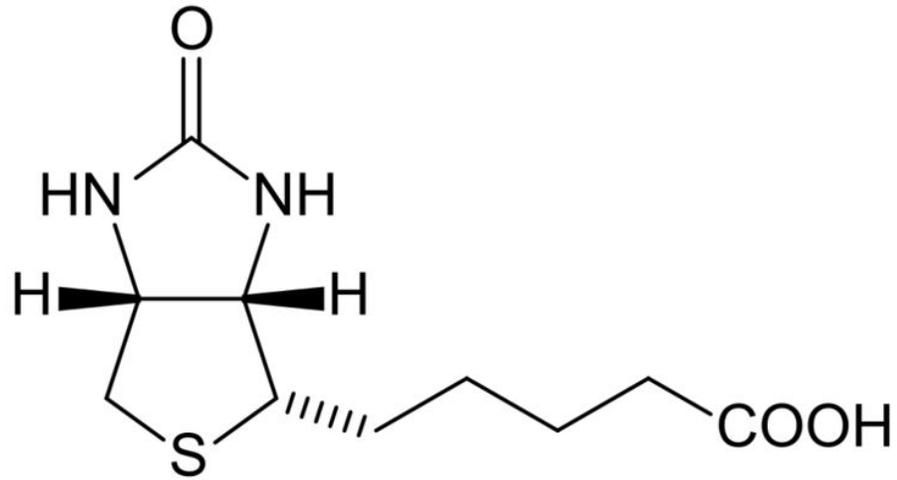
Пиридоксальфосфат (витамин В6 - пиридоксин)



Перенос аминогрупп, декарбоксилирование аминокислот

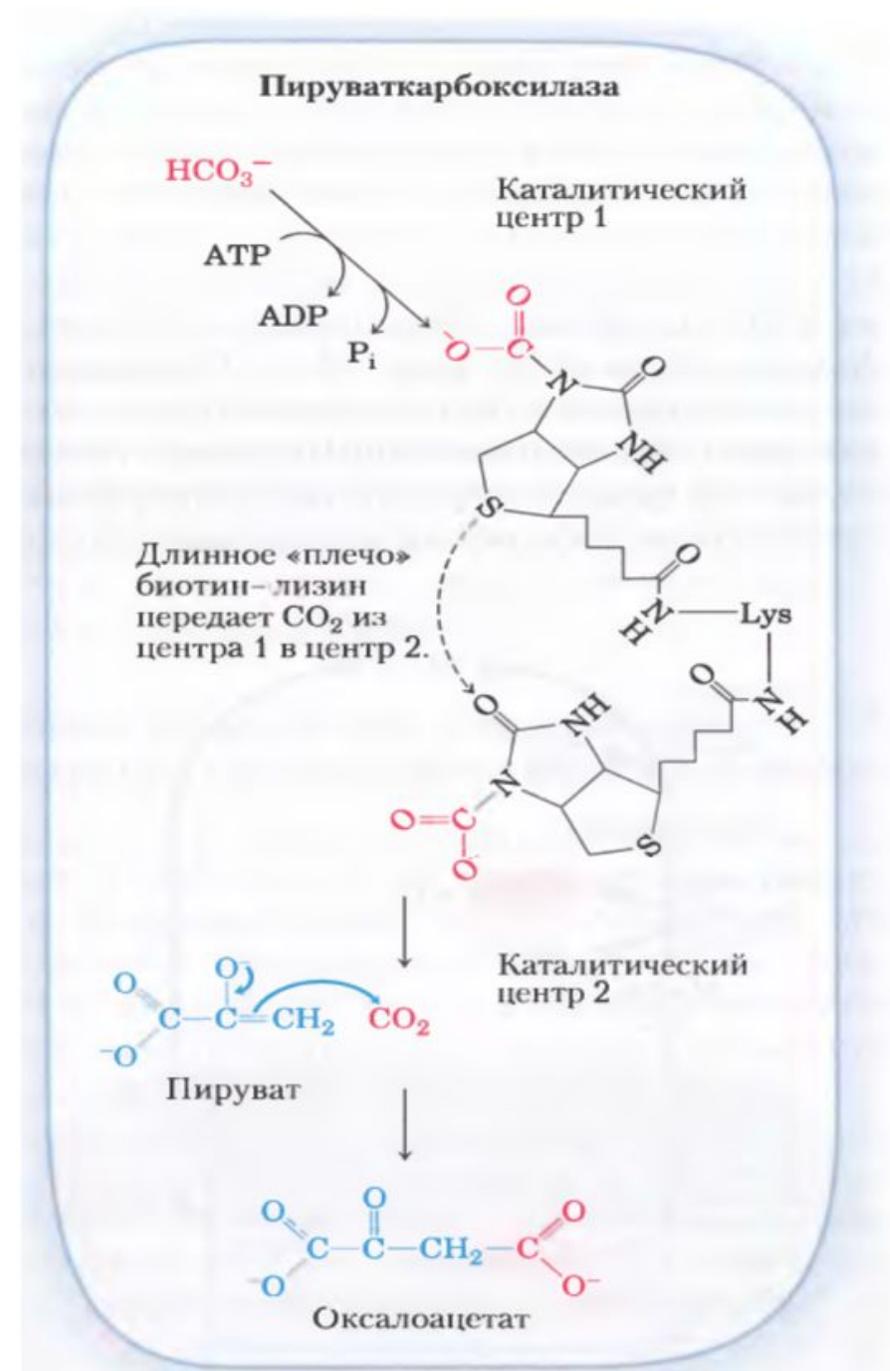
Пример: трансаминазы

БИОТИН (витамин Н, В7)

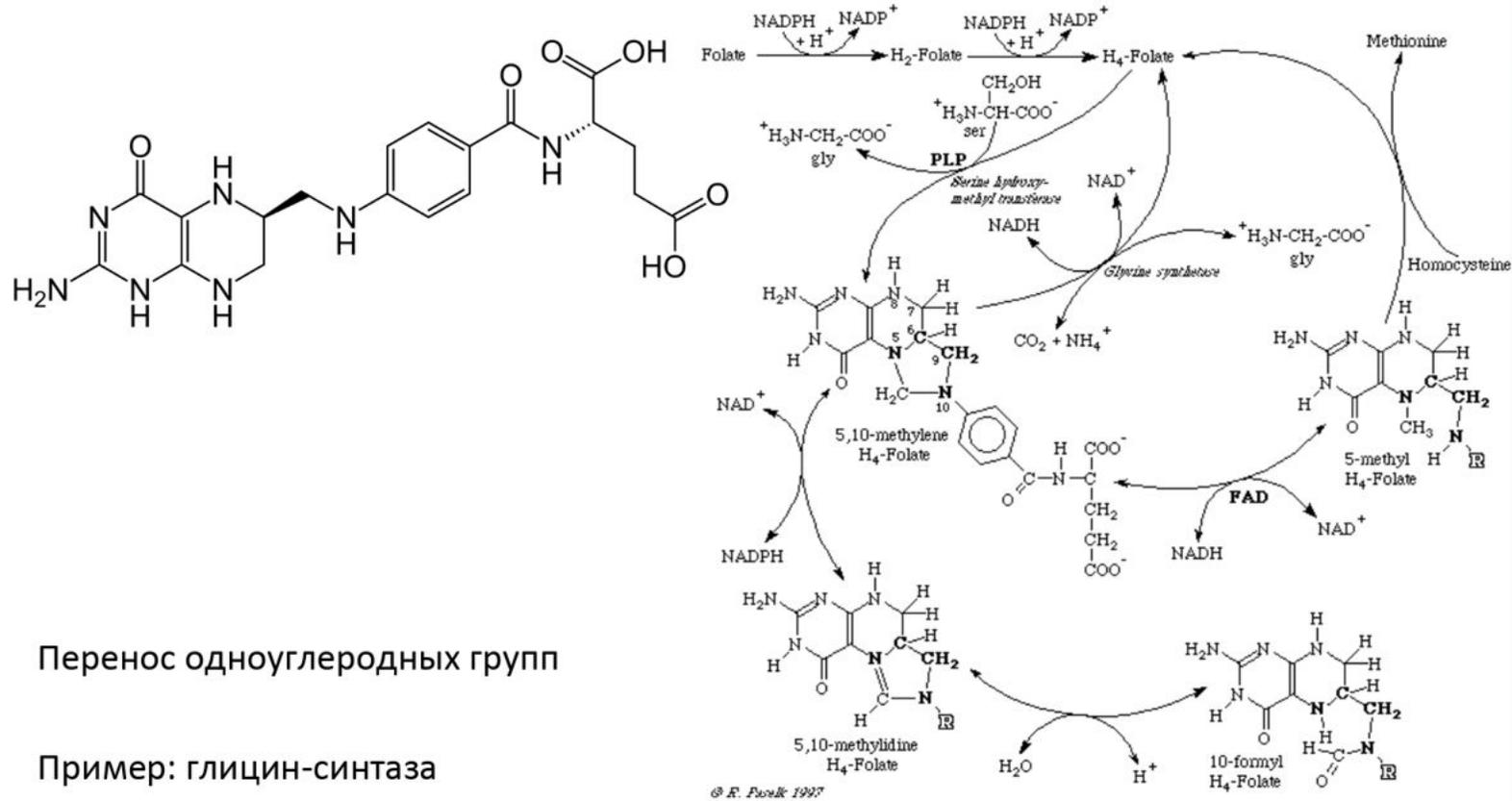


Перенос карбоксильной группы (CO_2)

Пример: пируваткарбоксилаза, ацетил-КоА-карбоксилаза



Тетрагидрофолат (фолиевая кислота – витамин B9)



Перенос одноуглеродных групп

Пример: глицин-синтаза

Цианокобаламин (Витамин В12)

