



*Кафедра биологической и общей химии*

# Механизмы регуляции ферментативной активности

## Что такое активность ферментов?

- При исследовании фермента определяется не количество фермента, а его *активность*, поскольку весовое содержание фермента в биологических системах трудно определить
- Мерой активности фермента является скорость катализируемой им реакции, которая называется стационарной скоростью (обозначается  $U$ ), равна половине максимальной скорости
- В свою очередь *скорость* определяется *убылью субстрата* или *накоплением продукта* реакции, которая определяется аналитически, обычно фотометрическим методом

Ингибиторами ( обозначаются буквой  $I$  ) называются вещества, которые понижают активность ферментов, т е уменьшают скорость ферментативных реакций. Напомню, что именно скорость реакции является мерой ферментативной активности.

По характеру взаимодействия ингибитора с ферментом ингибиторы подразделяются на ингибиторы обратимого действия

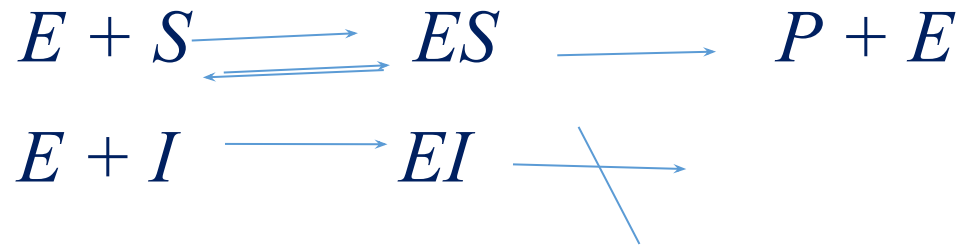


и ингибиторы необратимого действия

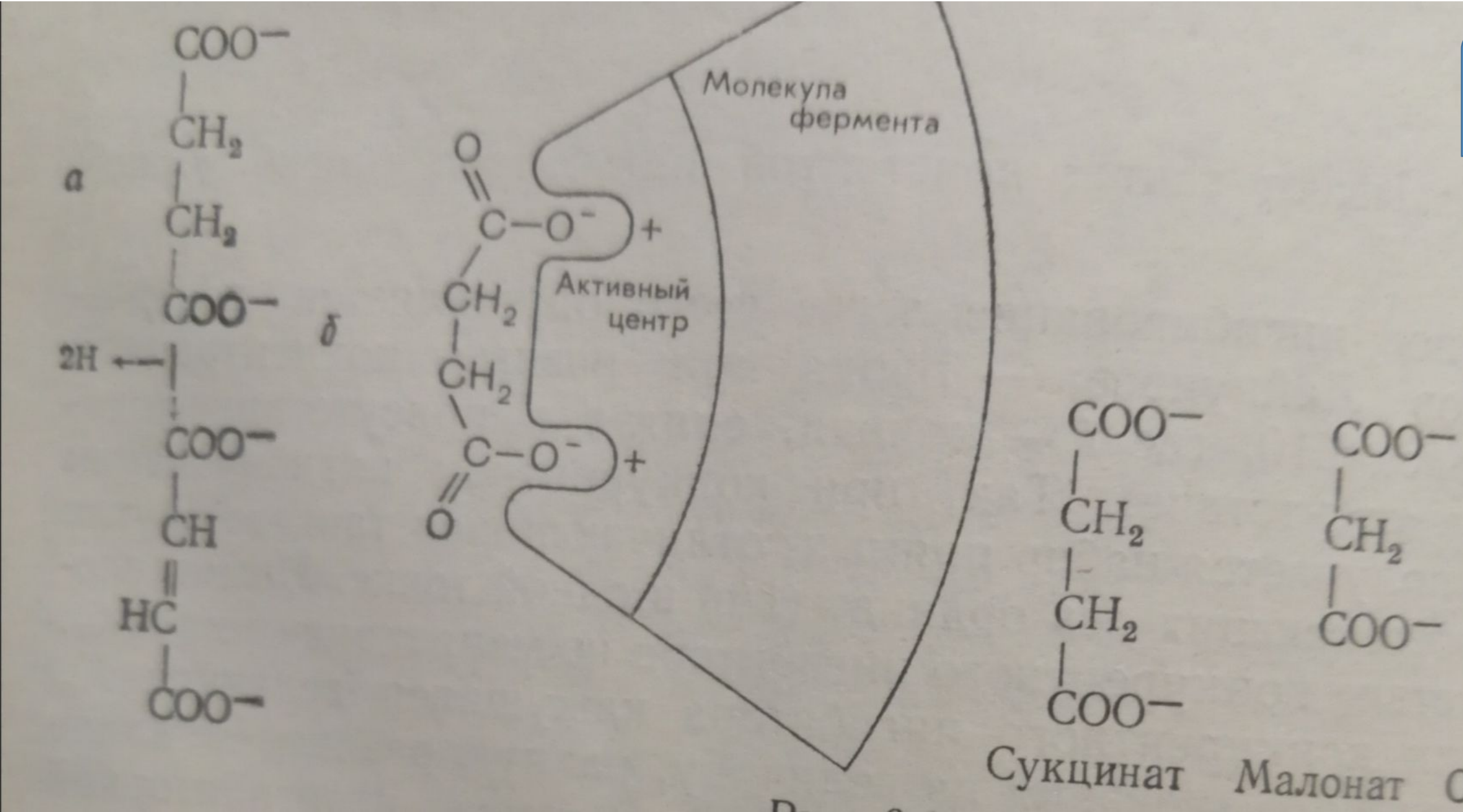


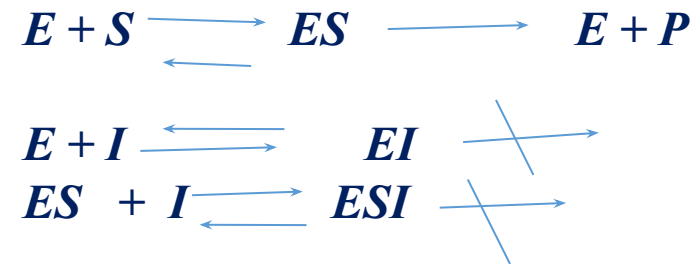
где  $E I$  - неактивный фермент-ингибиторный комплекс

*По месту взаимодействия ингибитора с ферментом ингибиторы подразделяются на ингибиторы **конкурентного** действия*

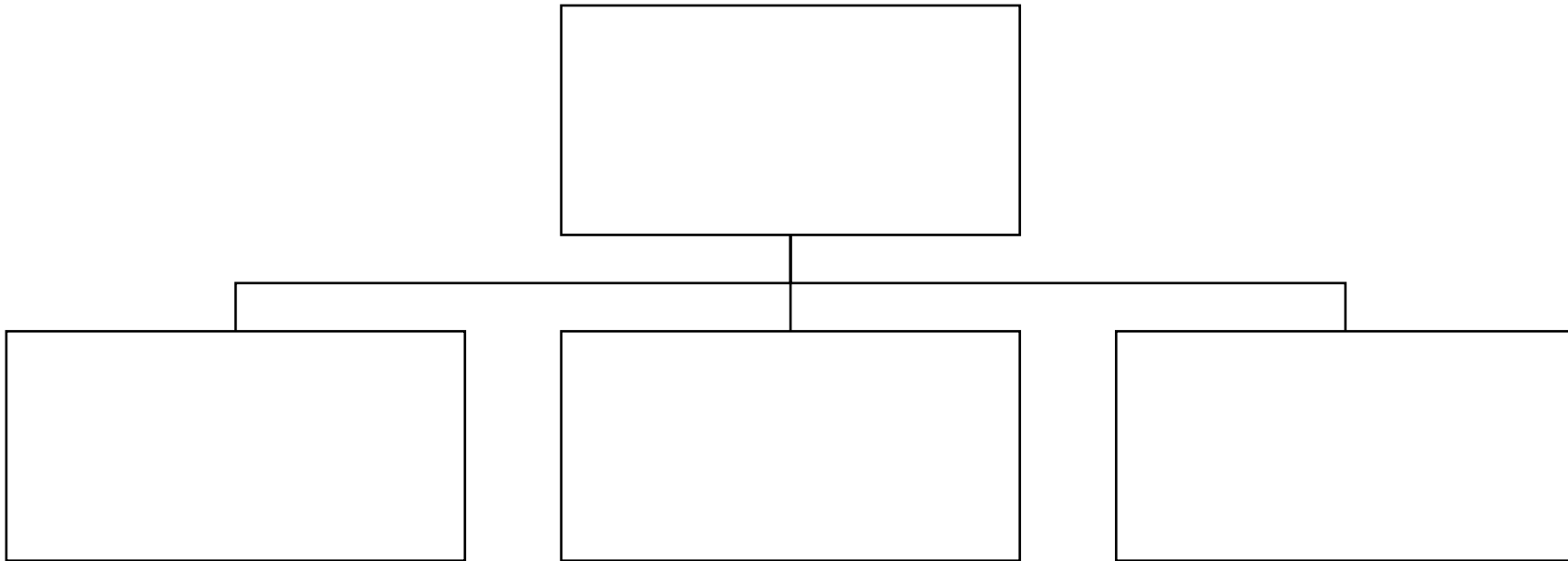


*когда ингибитор связывается с активным центром фермента, конкурируя с субстратом, что возможно, если ингибитор структурно похож на субстрат и **неконкурентного** действия (схема на след. слайде). **Неконкурентные** ингибиторы не имеют структурного сходства с субстратом и связываются вне области активного центра, поэтому его связывание происходит и с ферментом  $E$ , и с фермент-субстратным комплексом  $ES$ .*





*Схема неконкурентного ингибирования, когда ингибитор связывается и с ферментом  $E$ , и с фермент-субстратным комплексом  $ES$ , образуя фермент-субстрат-ингибиторный комплекс,  $EI$  и  $ESI$  далее не превращаются в конечный продукт. Примеры неконкурентных ингибиторов – ионы некоторых тяжелых металлов*



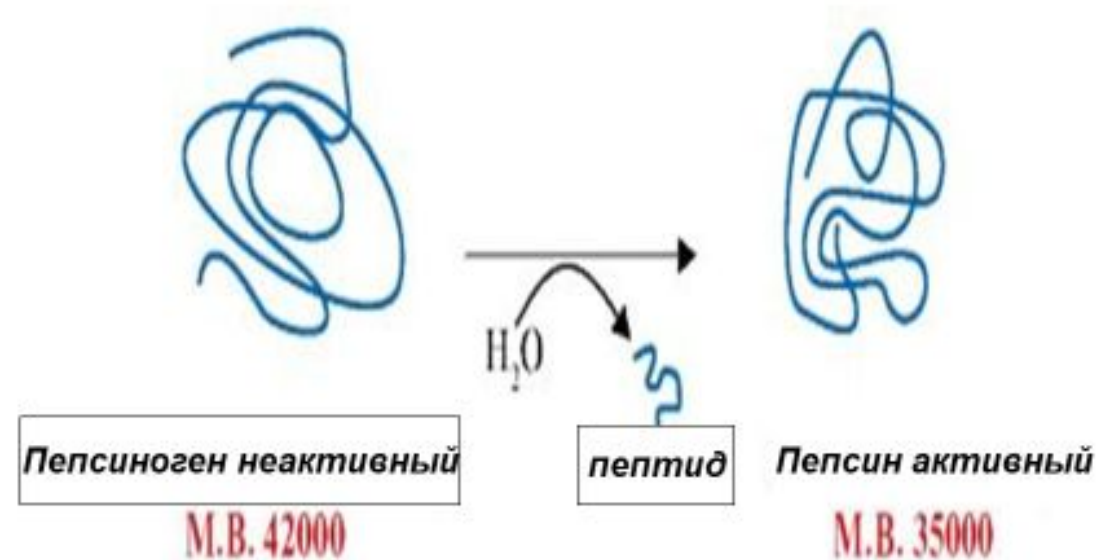
# Активация ионами металлов

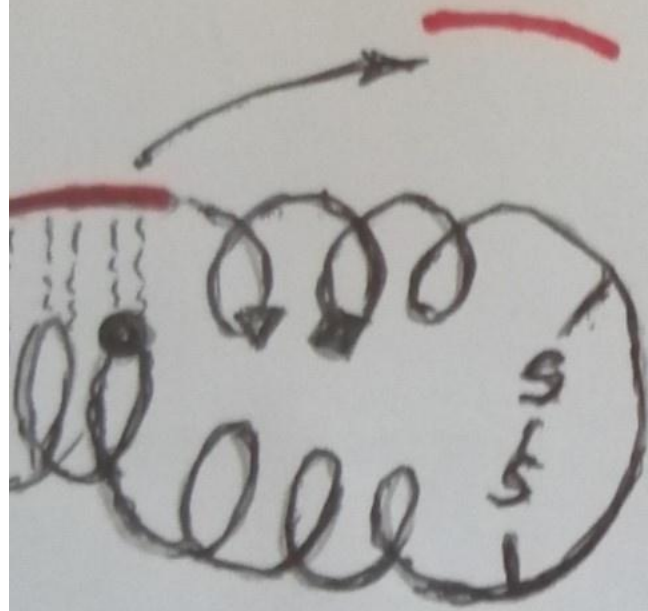
- Обеспечивают нативную конформацию активного центра фермента
- Стабилизируют конформацию белковой молекулы фермента
- Непосредственно участвуют в ферментативном катализе
- **ПРИМЕРОМ ЯВЛЯЕТСЯ АКТИВАЦИЯ ВСЕХ АТФ- ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ ИОНАМИ МАГНИЯ**
- **АПОФЕРМЕНТ**
- 
- **Mg<sup>++</sup> - АТФ**



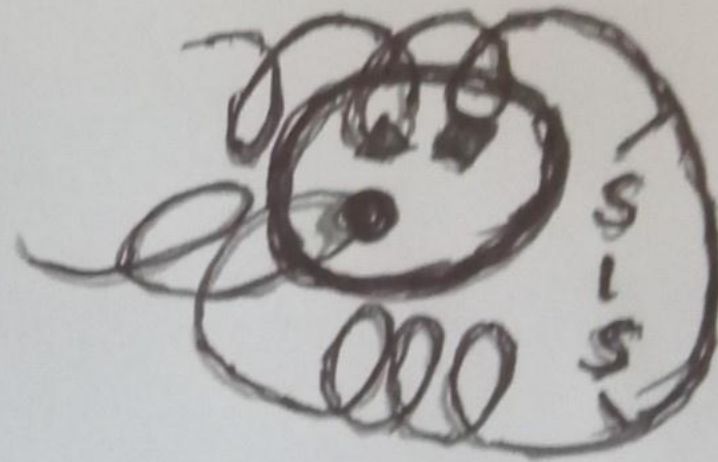
# Активация ферментов ограниченным протеолизом

Активация профермента путем отщепления пептида под действием пептидаз(протеазы ЖКТ, факторы гемостаза)





НСЕ  
 →  
 протеазы



профермент  
 (псиноген,  
 трипсиноген...)  
 неактивны

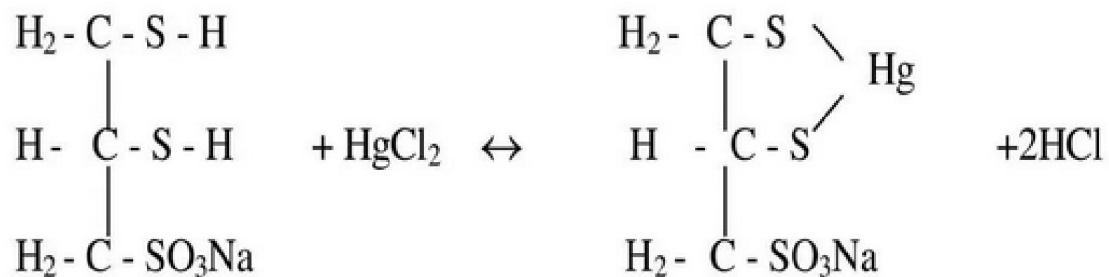
— пептид 6-8-  
 аминокислот

фермент  
 активен —  
 сформирован  
 активный центр  
 (в овале)

# АКТИВАЦИЯ ПРОТЕКТОРАМИ

- Протекторы ( глутатион, унитиол ) – низкомолекулярные вещества, содержащие SH-группы, которые способны связывать тяжелые металлы (тиоловые яды, например, ионы ртути Hg), тем самым защищая SH-группы ферментов

Меркаптидная связь



# Регуляция скорости реакции в клетке осуществляется на 3-х независимых уровнях:

- Регуляция количества фермента в клетке
- Наличие и концентрация субстрата в клетке
- Изменение активности фермента

# Регуляция активности ферментов

12

**БЫСТРАЯ**  
(Секунды,  
десятки  
секунд )

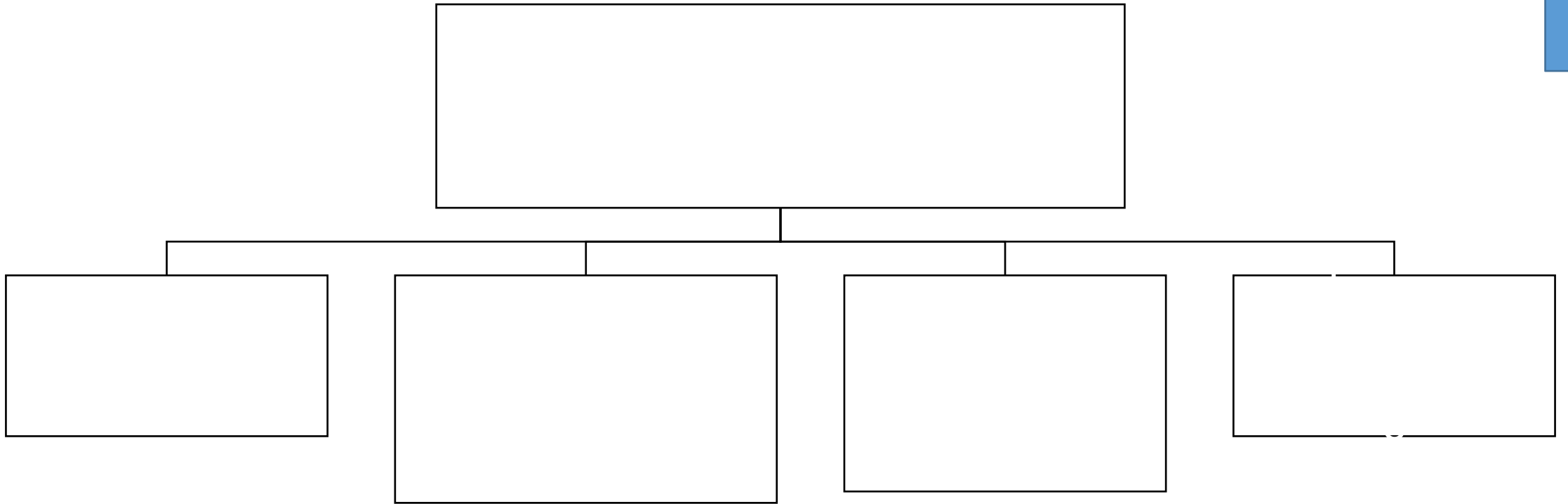
**МЕДЛЕННА**  
**Я**  
(Часы, сутки)  
(на уровне  
гена)

# Изменение количества молекул фермента

Это медленная регуляция, осуществляется метаболитами, гормонами и др

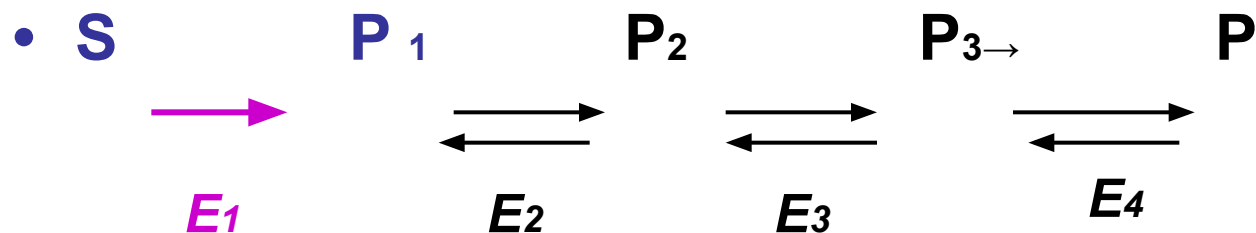
Концентрация фермента в клетке определяется соотношением двух процессов: синтеза и распада. Наиболее изучен механизм регуляции синтеза фермента на уровне транскрипции (синтеза мРНК), который регулируется определенными метаболитами, гормонами и рядом биологически активных молекул

.

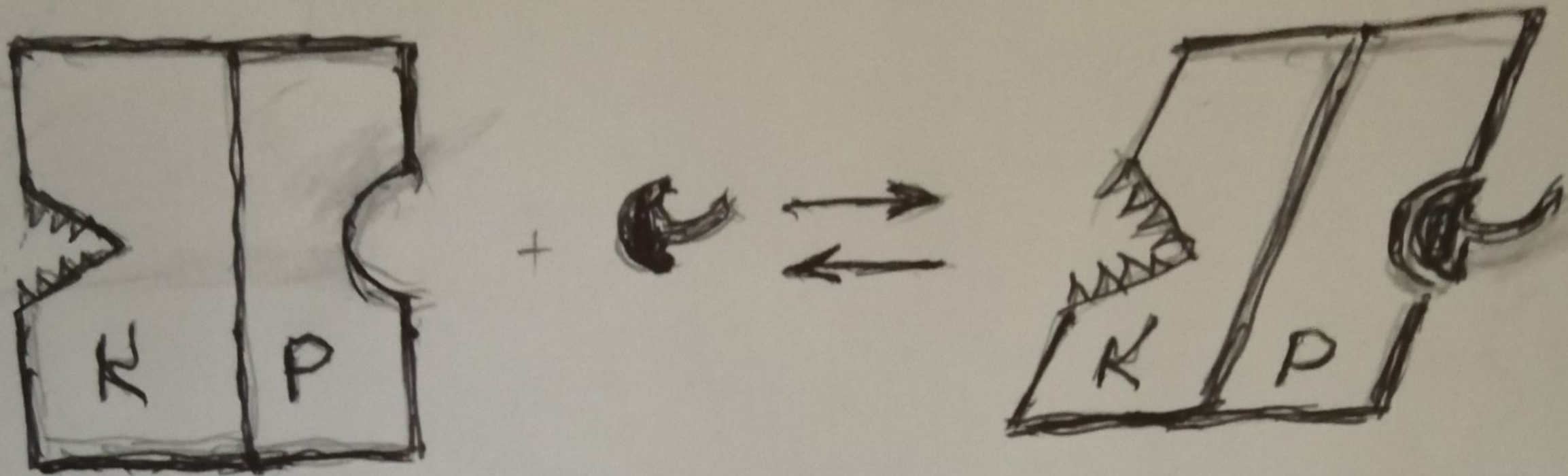



## Аллостерическая регуляция

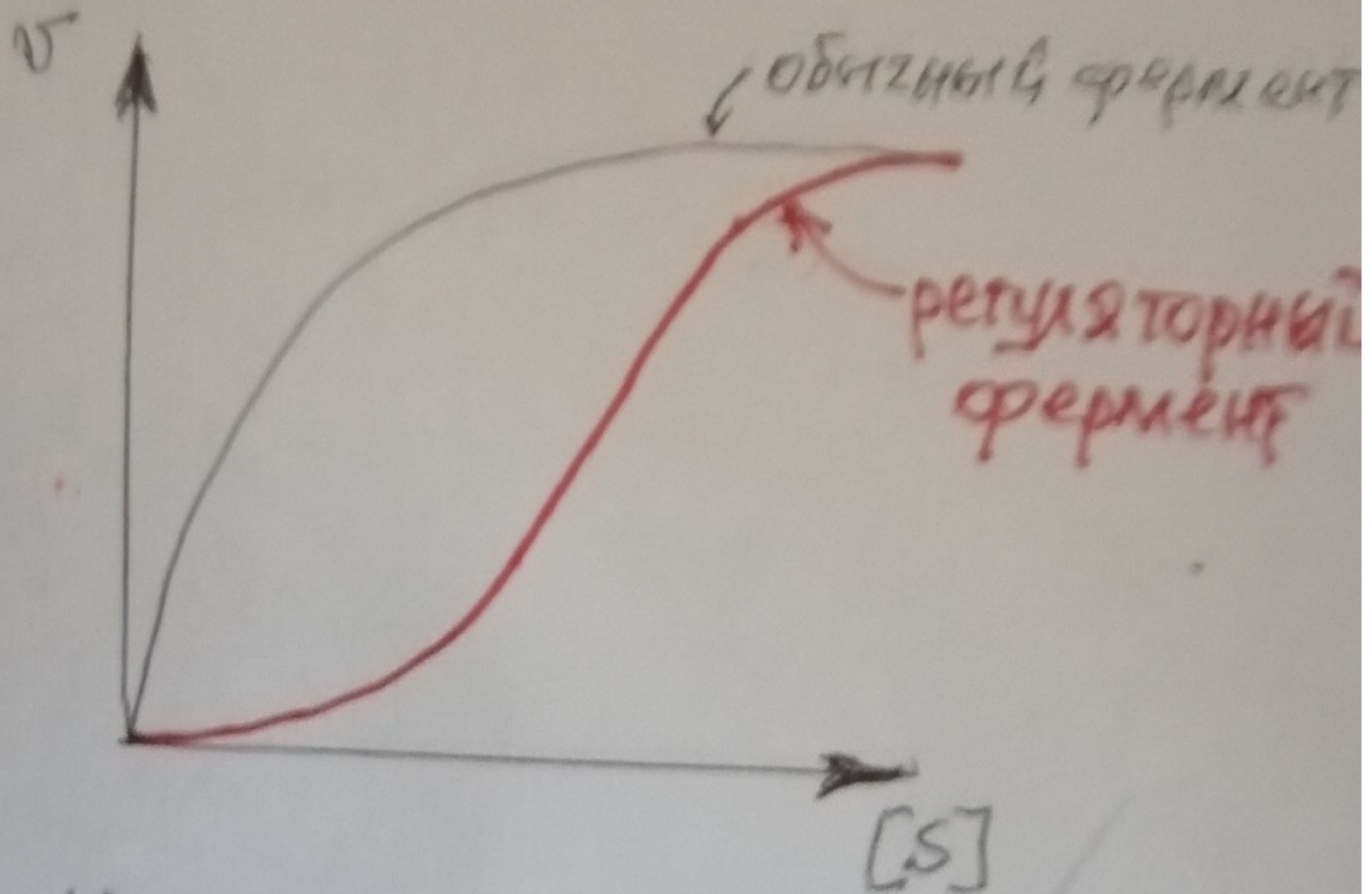
- Характерна для **олигомерных** ферментов (четвертичная структура). В структуре имеются **каталитические** протомеры (с активным центром) и протомеры - **регуляторные** (с аллостерическим центром)
- Аллостерические ферменты меняют активность не только от концентрации субстрата, но и под действием эффекторов (результат- изменение конфигурации молекулы и активного центра).
- Аллостерические ферменты- регуляторные ферменты метаболических путей, катализируют **1-ю, самую медленную реакцию метаболического пути.**
- Активность остальных ферментов этого пути от [S]







K — каталитическая субъединица  
 P — регуляторная субъединица  
 — вторичный посредник (мессенджер) —  $\text{cGMP}$ ,  $\text{cAMP}$ ,  $\text{Ca}^{++}$



Кривые Михаэлиса-Ментен для  
 обычных (нерегуляторных) ферментов  
 и регуляторных (сигмоидная  
 кривая) — неподчинение уравнению М-М



Активный фермент

Неактивный фермент

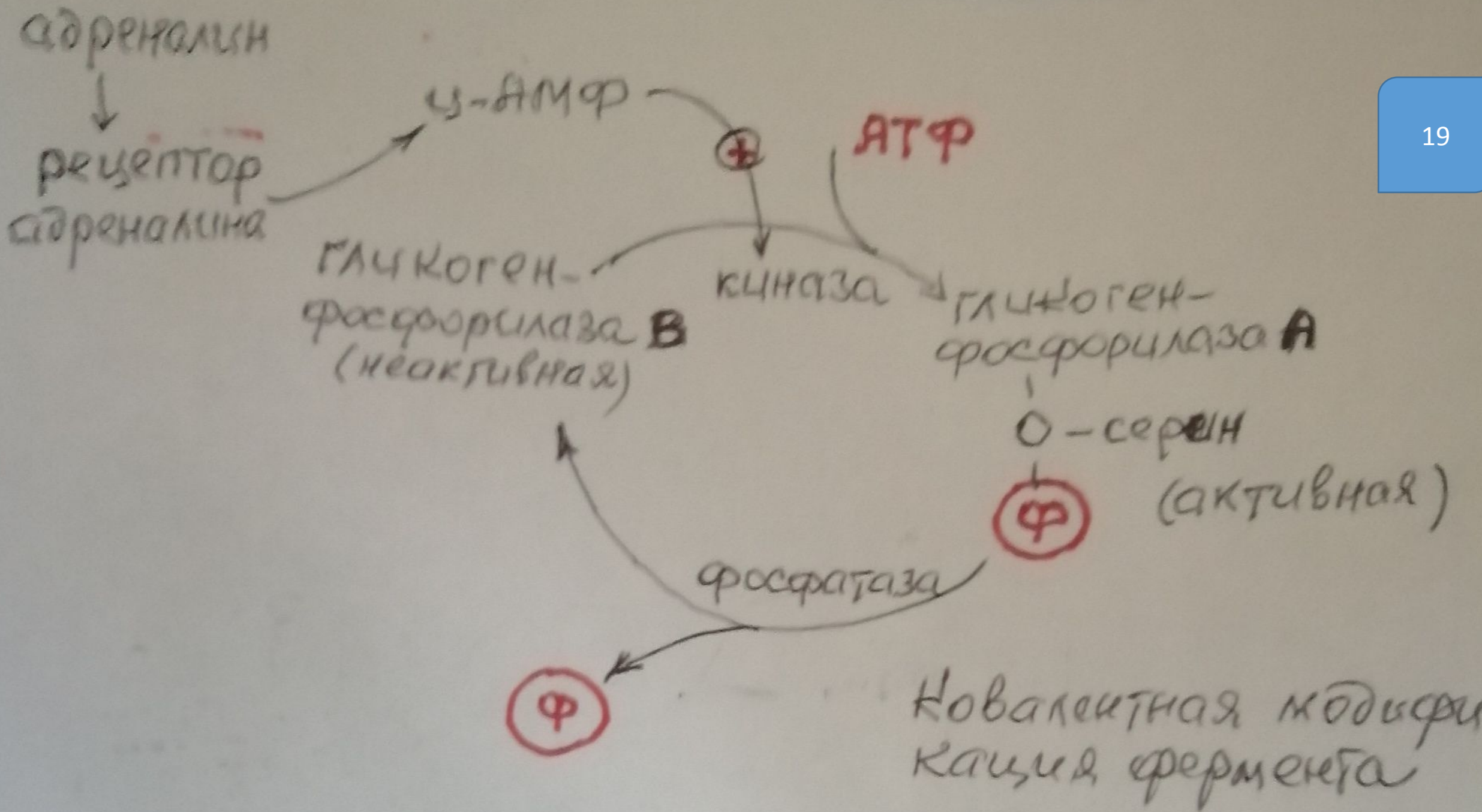


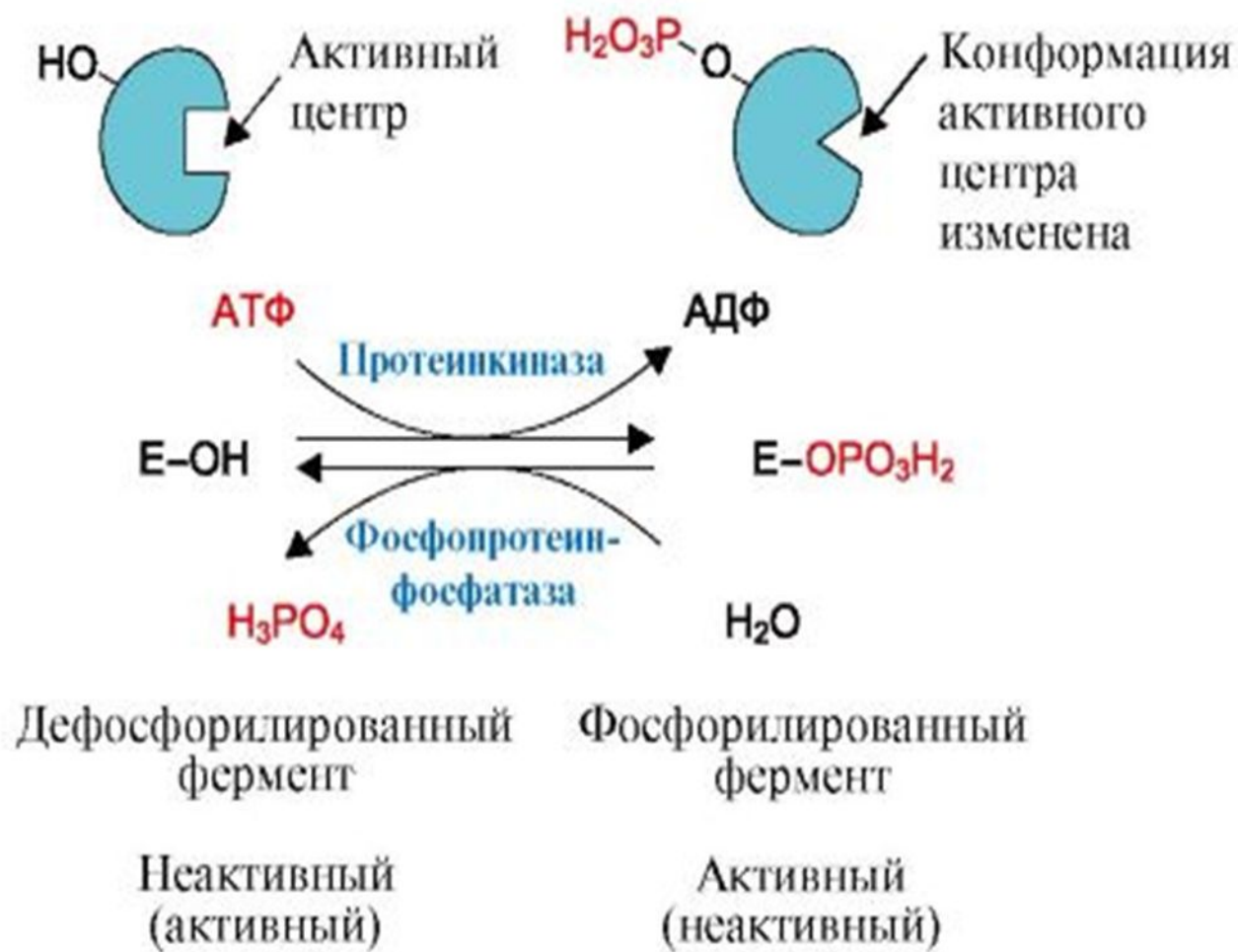
Неактивный фермент

Активный фермент

# Регуляция путём фосфорилирования- дефосфорилирования

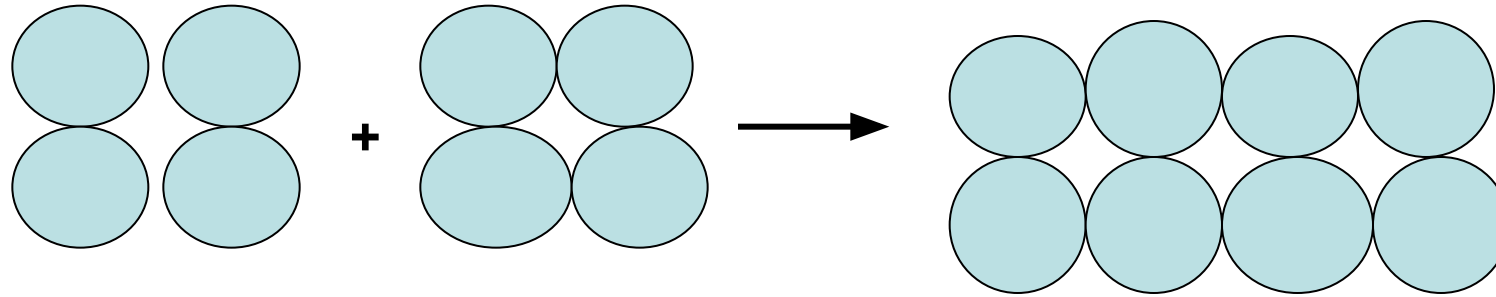
- Фосфорилированию подвергаются ОН-группы фермента, которое осуществляется ферментами **протеинкиназами** (фосфорилирование) и **фосфатазами** (дефосфорилирование)
- Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат может быть двояким: одни ферменты при фосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными





# Регуляция активности путем ассоциации/диссоциации

- Ассоциация – нековалентная модификация **обратимая** Ферменты - олигомерные белки. Например, два белка, состоящие из 4 субъединиц (неактивных), ассоциируют с образованием ассоциата из 8 – уже активному



*E неактивный*

*E активный*

*Пример – ацетилКоА-карбоксилаза (Синтез ВЖК)*

