



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

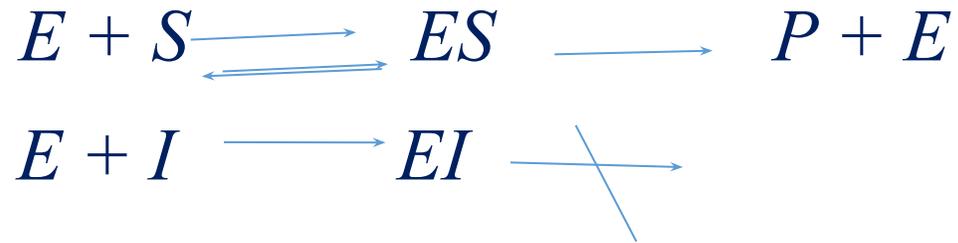


и ингибиторы необратимого действия

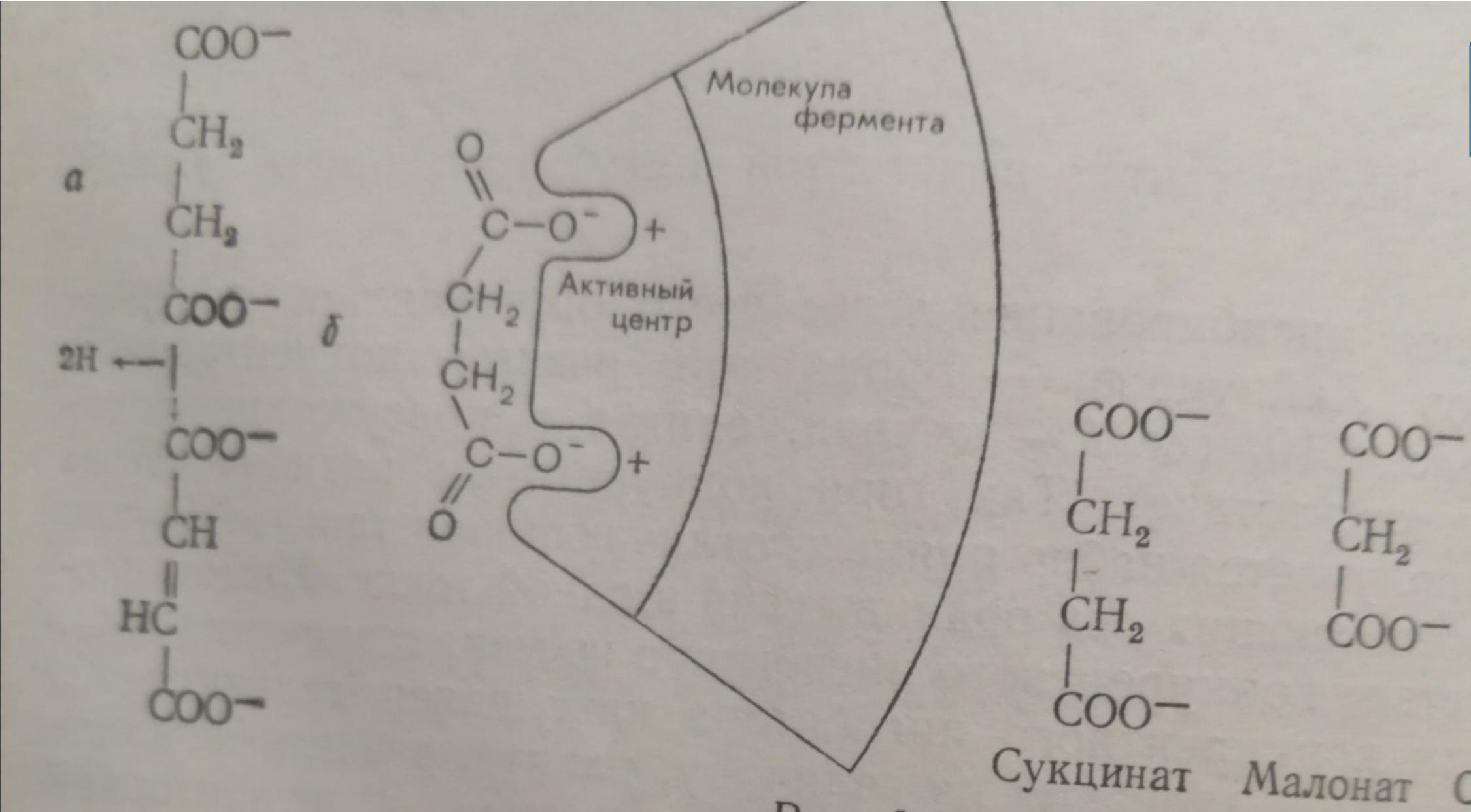


где $E I$ - неактивный фермент-ингибиторный комплекс

*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 .*



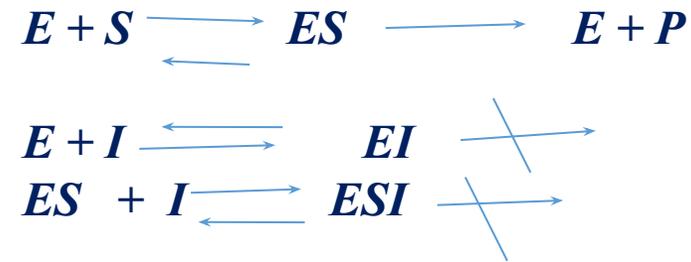
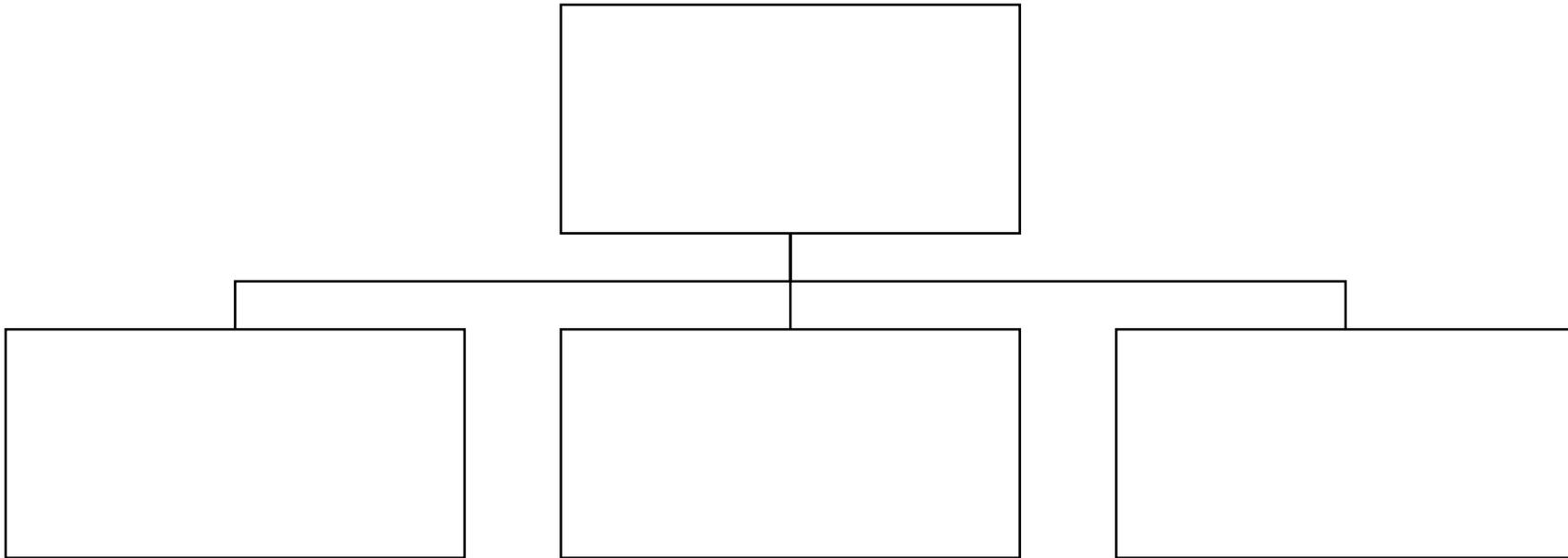


Схема неконкурентного ингибирования, когда ингибитор связывается и с ферментом E , и с фермент-субстратным комплексом ES , образуя фермент-субстрат-ингибиторный комплекс, EI и ESI далее не превращаются в конечный продукт. Примеры неконкурентных ингибиторов – ионы некоторых тяжелых металлов

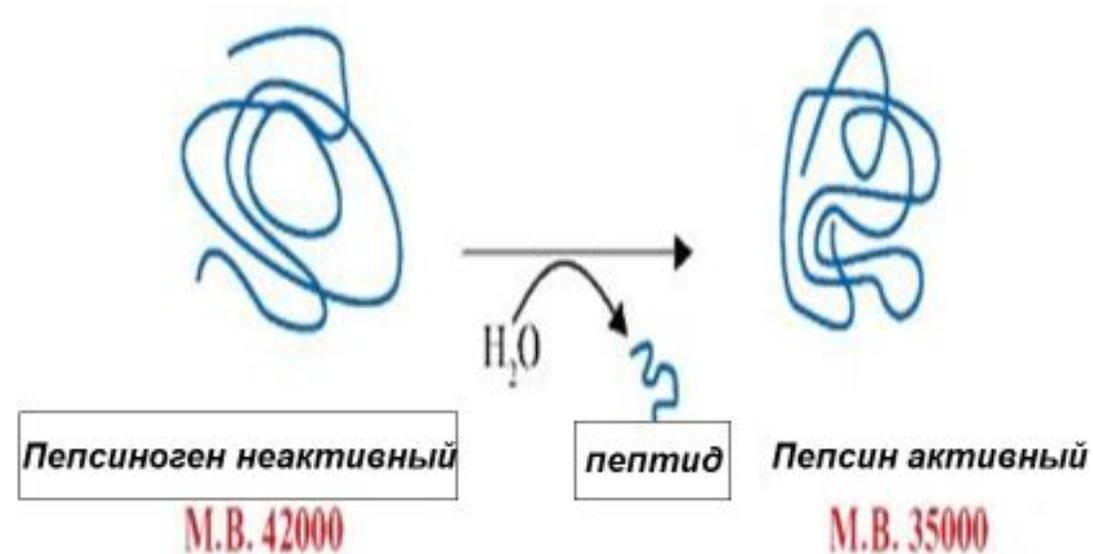


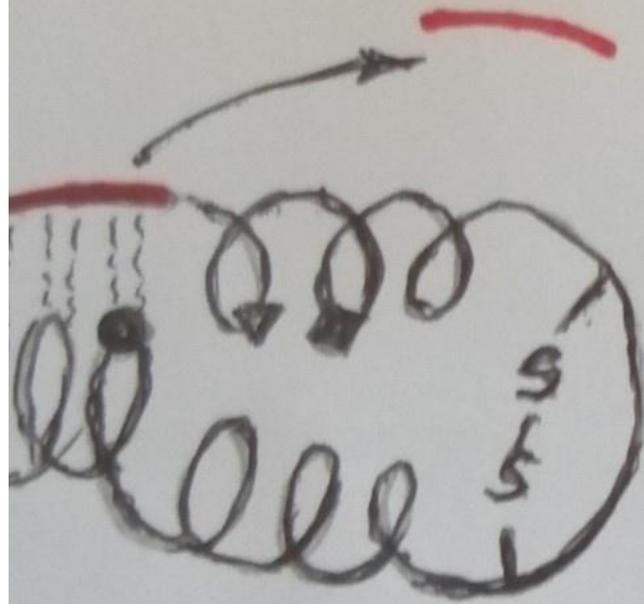
Активация ионами металлов

- 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⁺⁺ - АТФ**

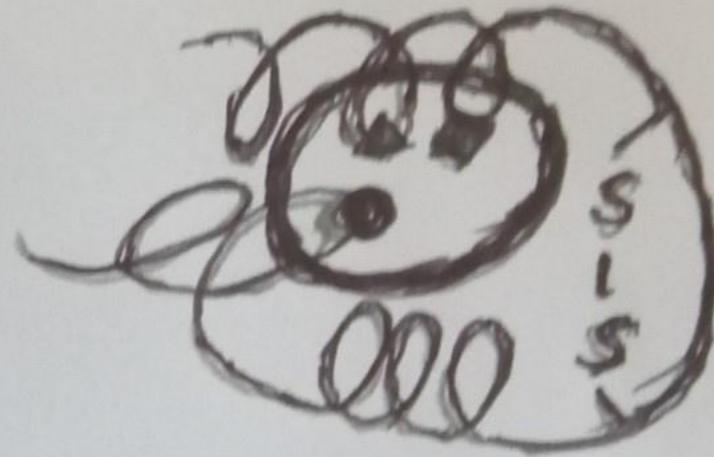
Активация ферментов ограниченным протеолизом

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





НСЕ
 →
 протеазы



профермент
 (псиноген,
 трипсиноген...)
 неактивны

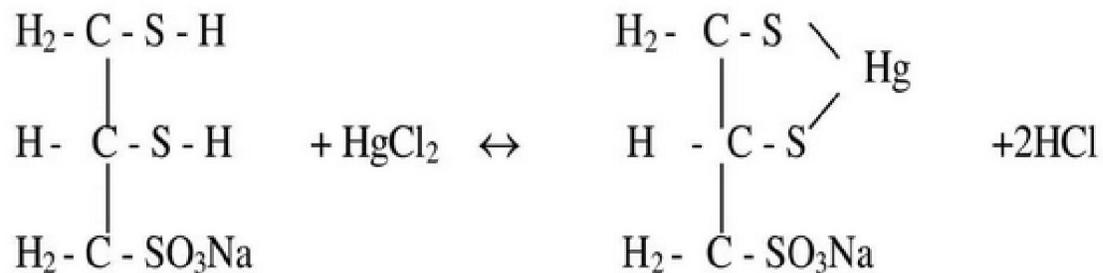
— пептид 6-8-
 аминокислот

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)

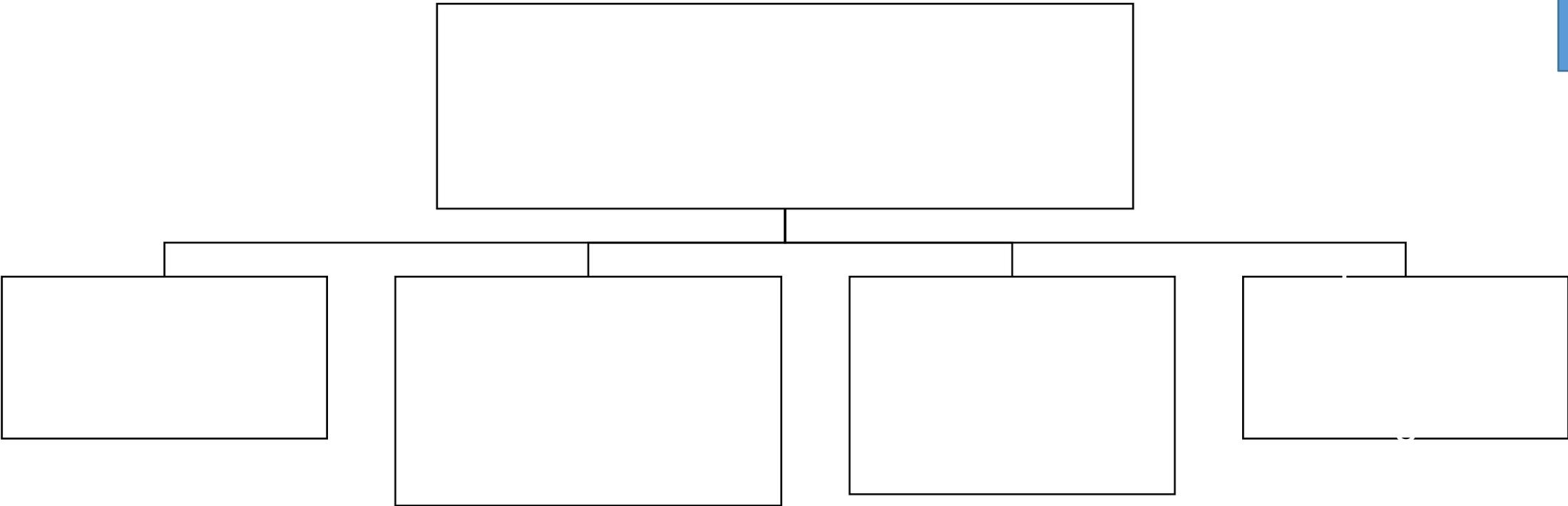
МЕДЛЕННА
Я
(Часы, сутки)
(на уровне
гена)

Изменение количества молекул фермента

Это медленная регуляция, осуществляется метаболитами, гормонами и др

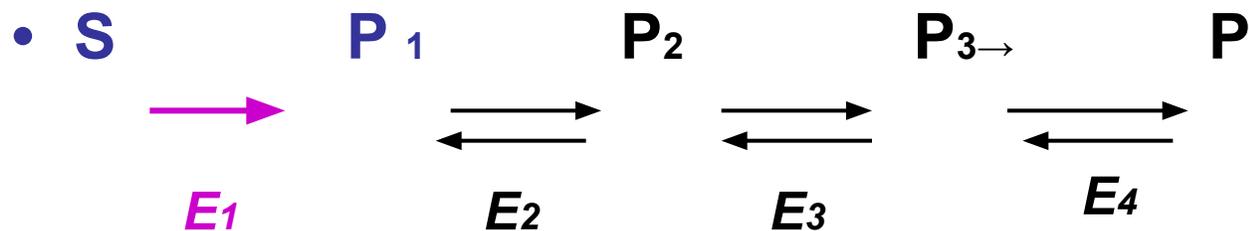
Концентрация фермента в клетке определяется соотношением двух процессов: синтеза и распада. Наиболее изучен механизм регуляции синтеза фермента на уровне транскрипции (синтеза мРНК), который регулируется определенными метаболитами, гормонами и рядом биологически активных молекул

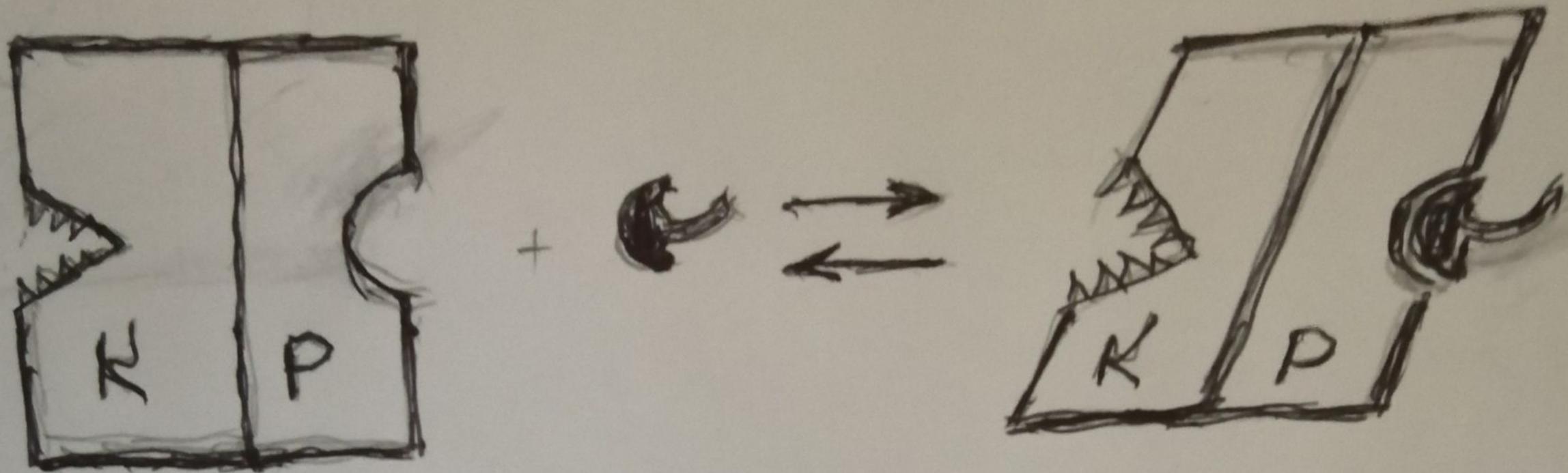
.



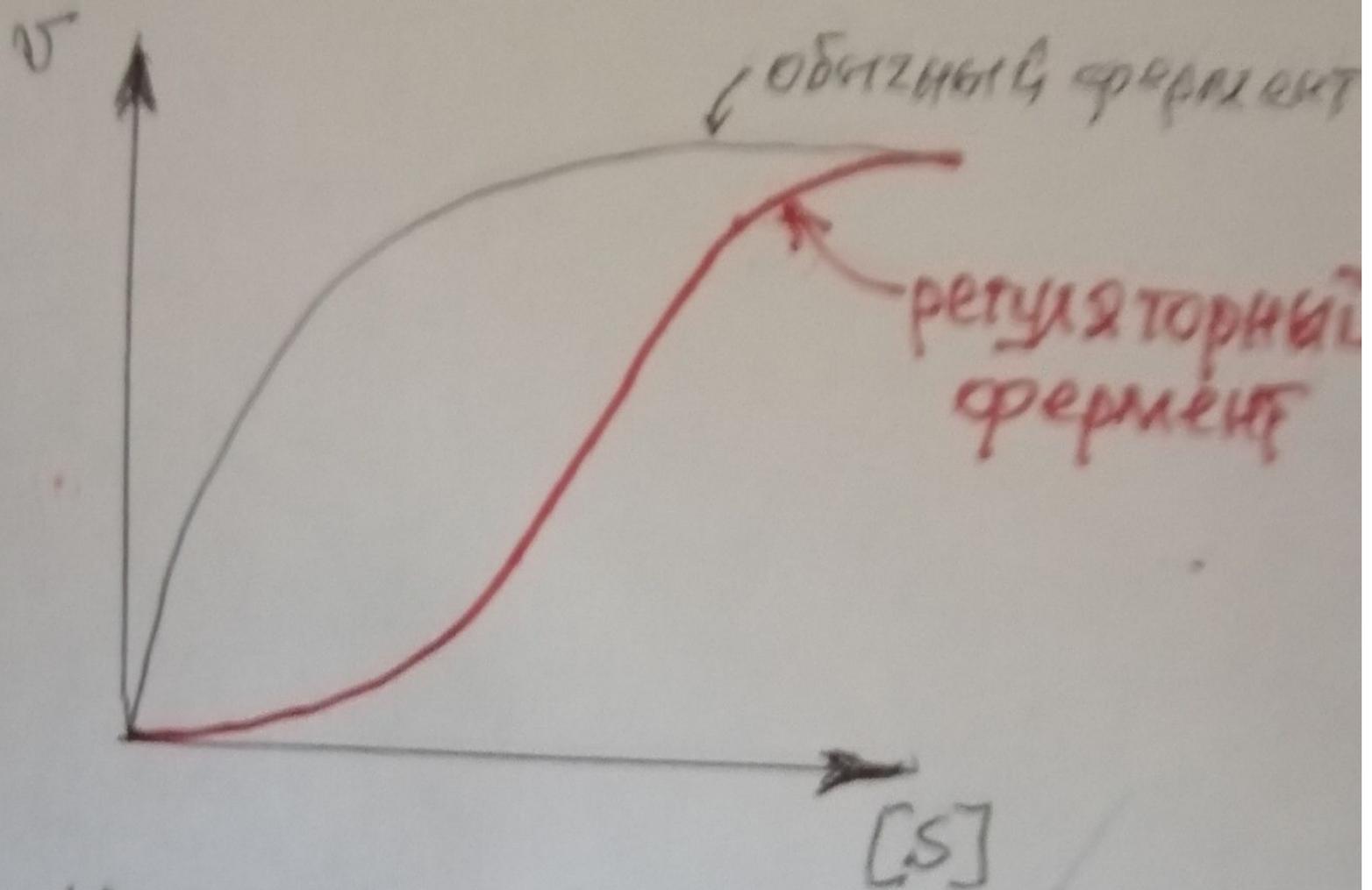
Аллостерическая регуляция

- 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]

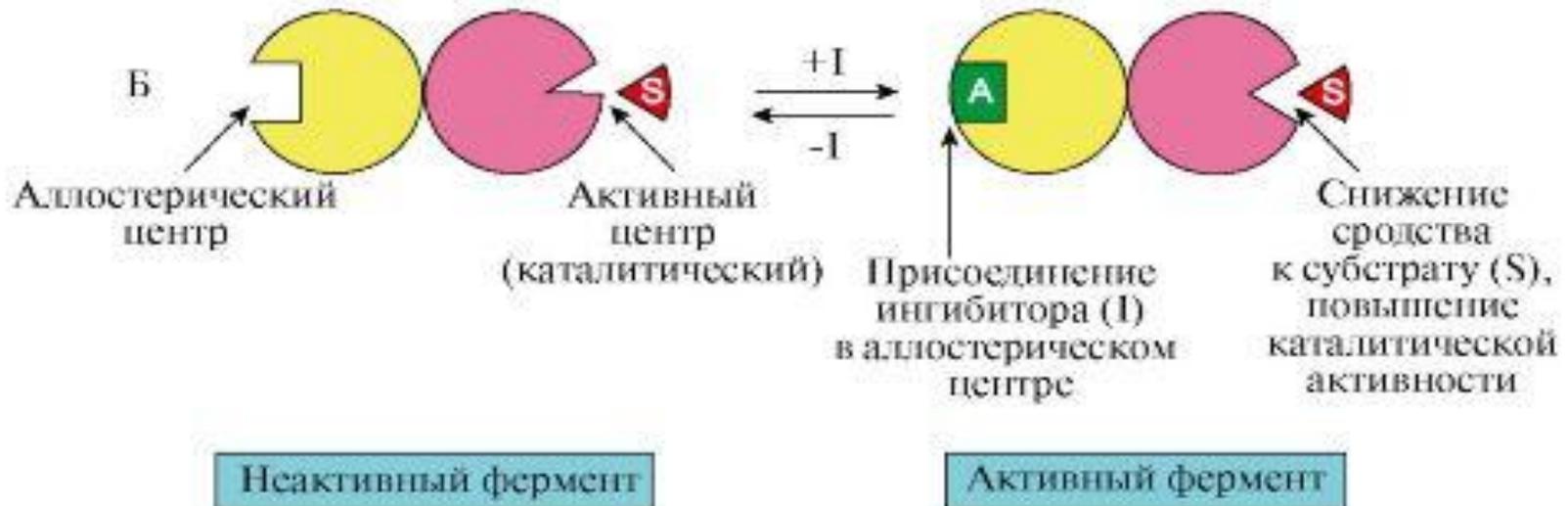
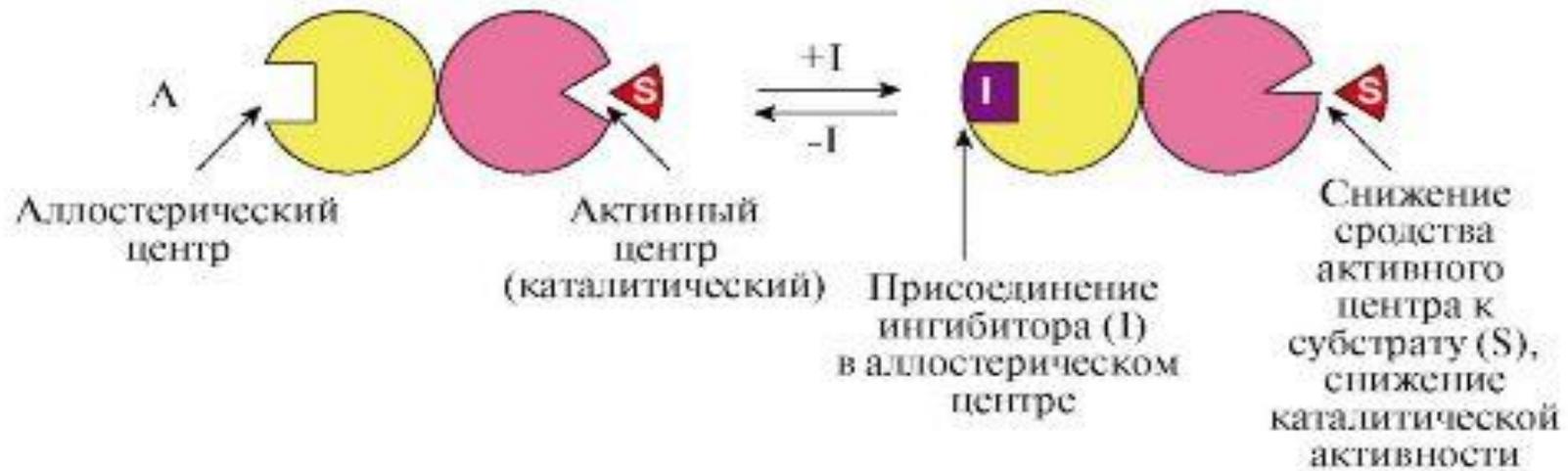




K — каталитическая субъединица
 P — регуляторная субъединица
 — вторичный посредник (мессенджер) — cGMP , cAMP , Ca^{++}

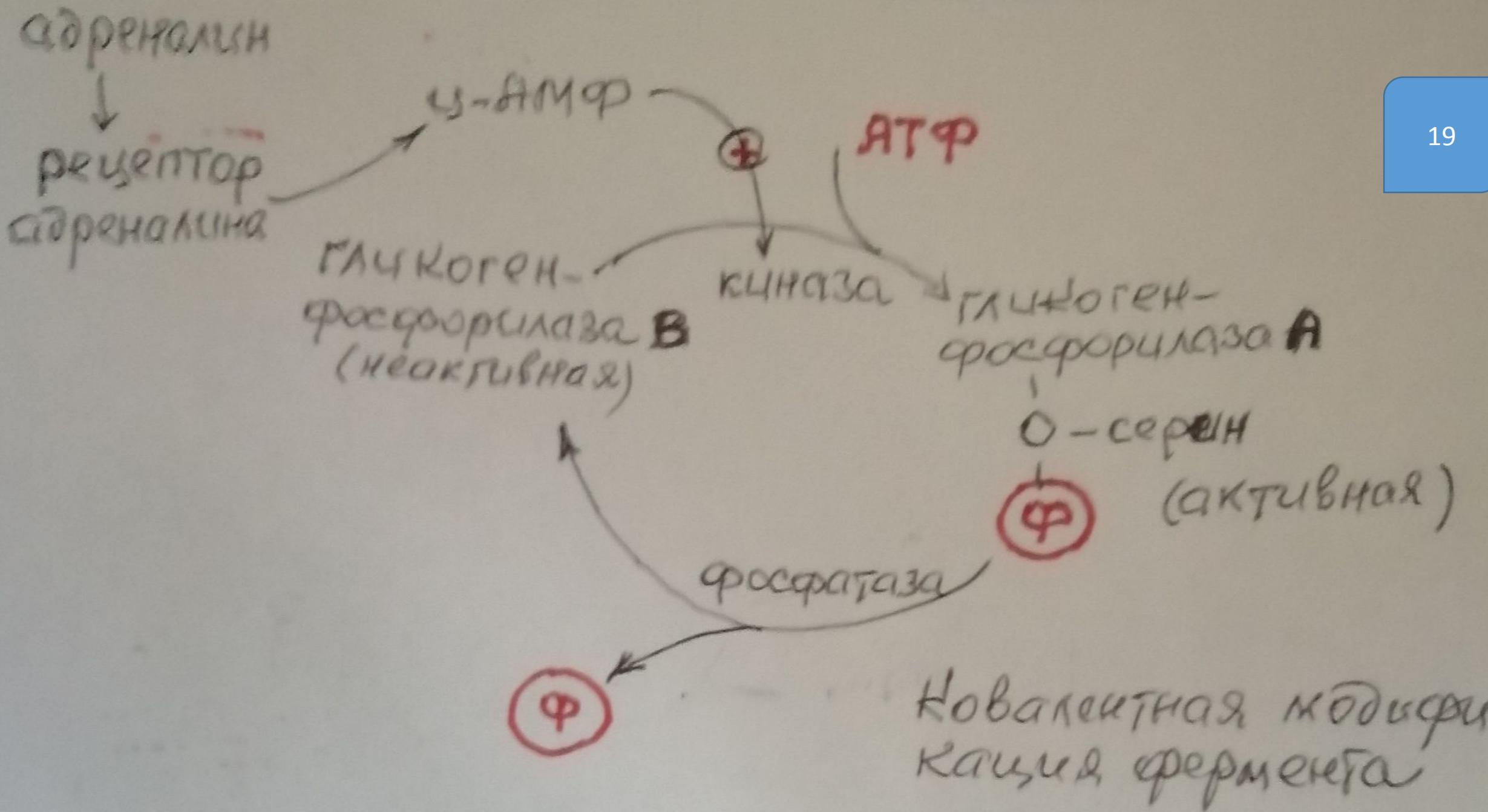


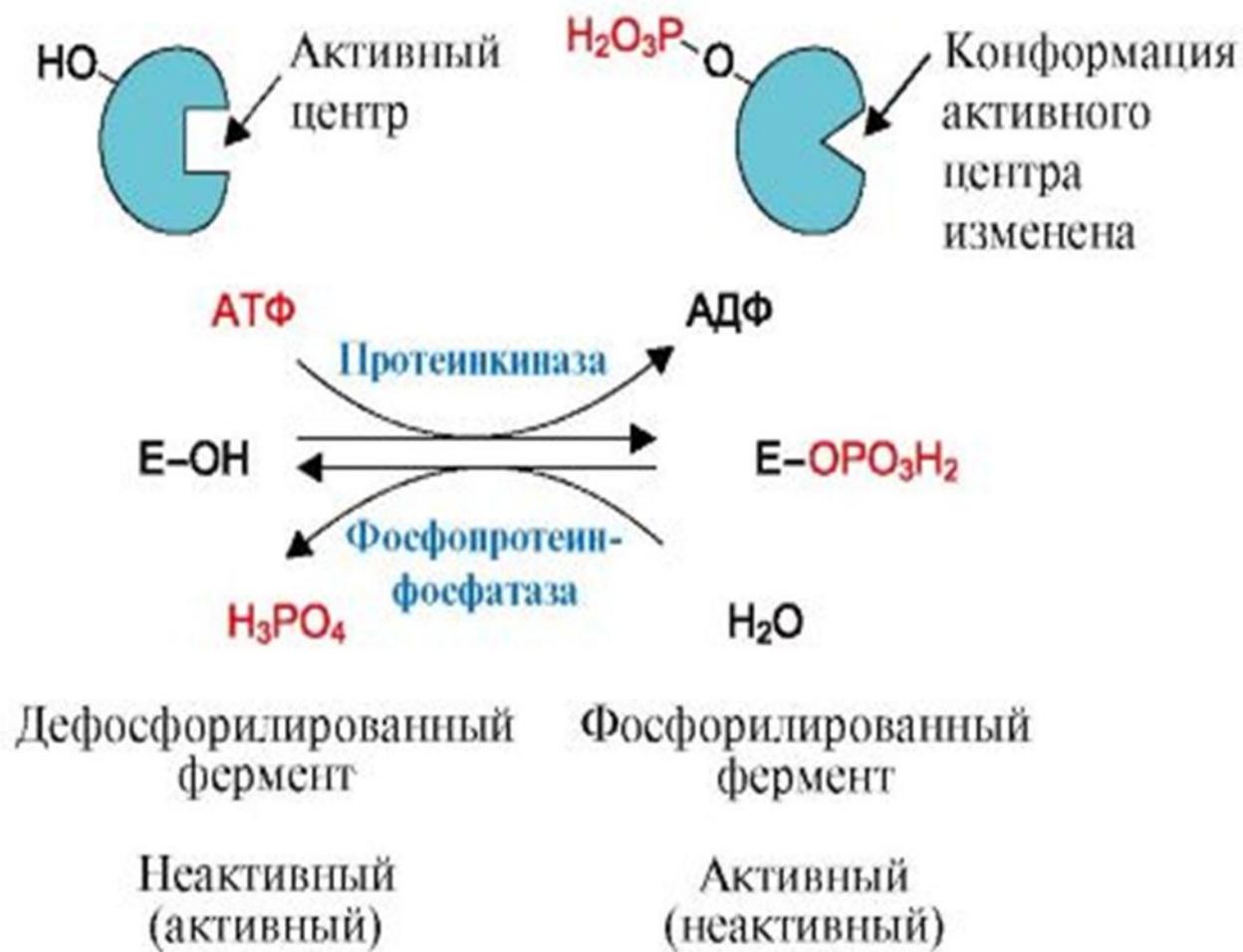
Кривые Михаэлиса-Ментен для
 обычных (нерегуляторных) ферментов
 и регуляторных (сигмоидная
 кривая) — неподчинение уравнению М-М



Регуляция путём фосфорилирования- дефосфорилирования

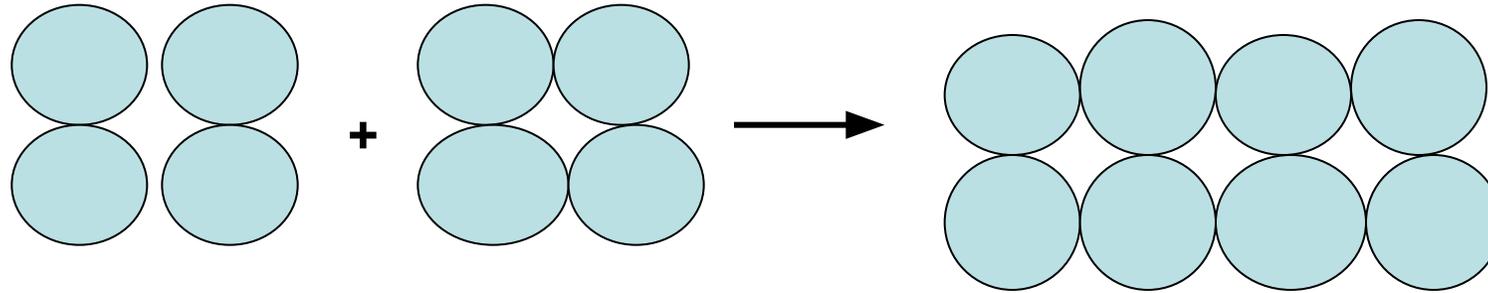
- Фосфорилированию подвергаются ОН-группы фермента, которое осуществляется ферментами **протеинкиназами** (фосфорилирование) и **фосфатазами** (дефосфорилирование)
- Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат 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)

