

Ферментативная кинетика

Хохлов Даниил Витальевич

Олимпиадный сезон 2020-21

Схема Михаэлиса-Ментен

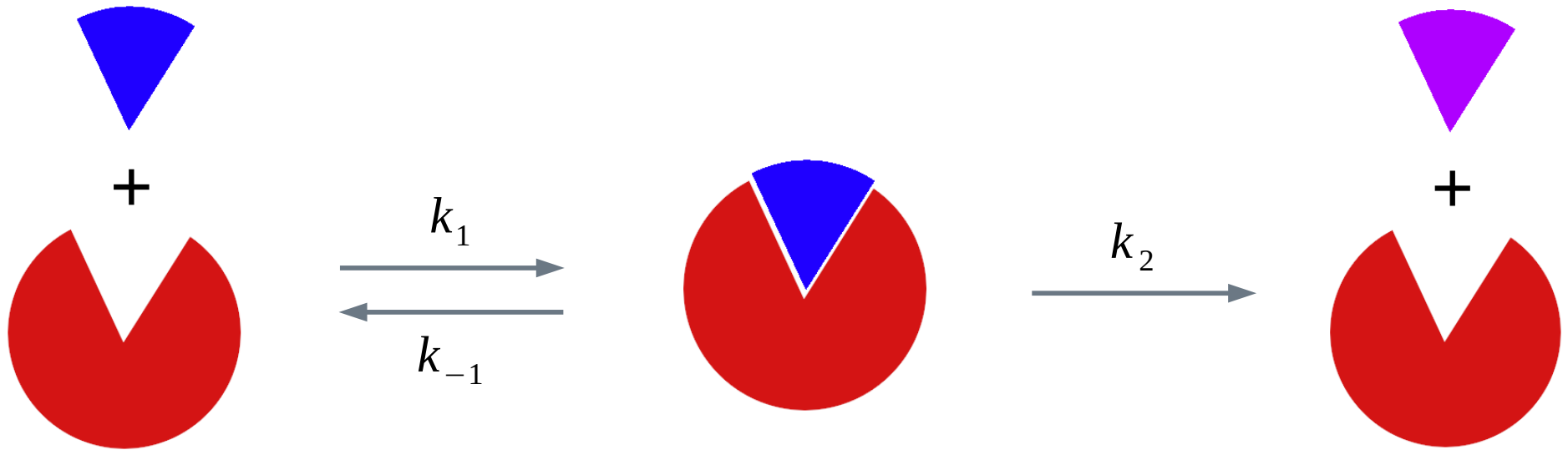


Схема Михаэлиса-Ментен

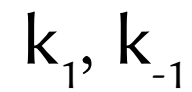
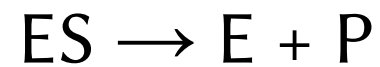
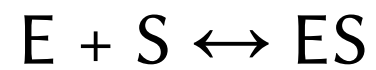
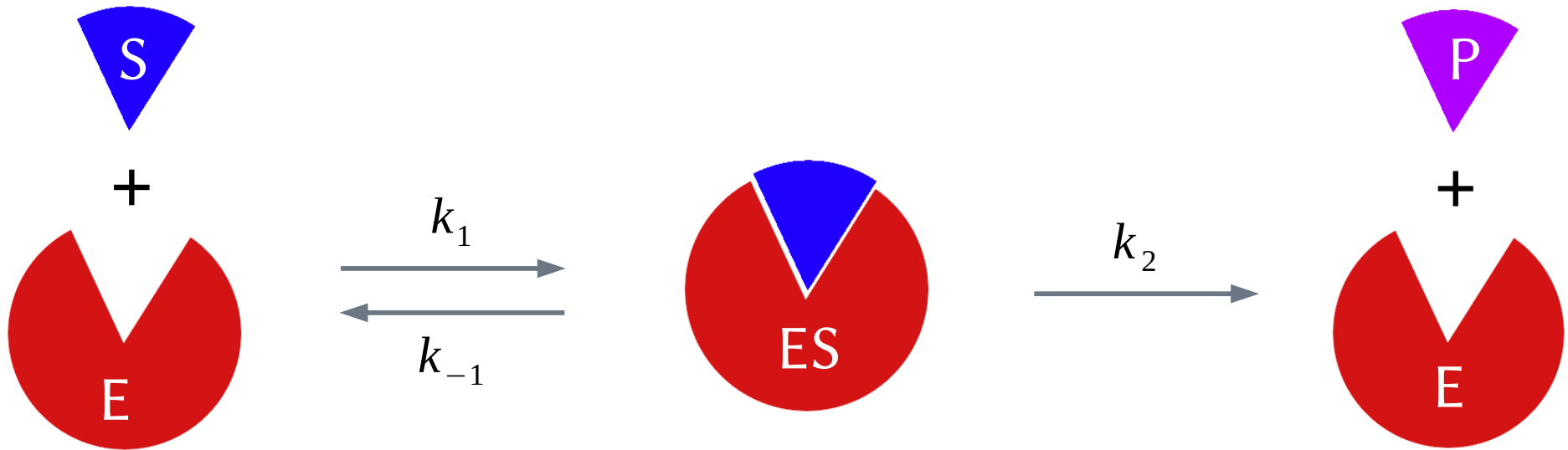


Схема Михаэлиса-Ментен

Скорость ферментативной реакции

$$r = k_2[ES]$$

Квазистационарное приближение по ES

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \approx 0 \Rightarrow [E] = \frac{(k_{-1} + k_2)[ES]}{k_1[S]}$$



Схема Михаэлиса-Ментен

Скорость ферментативной реакции

$$r = k_2[ES]$$

Квазистационарное приближение по ES

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \approx 0 \Rightarrow [E] = \frac{(k_{-1} + k_2)[ES]}{k_1[S]}$$

Материальный баланс по ферменту

$$[E]_0 = [E] + [ES] = \frac{(k_{-1} + k_2)[ES]}{k_1[S]} + [ES] = [ES] \left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1[S]} + 1 \right)$$

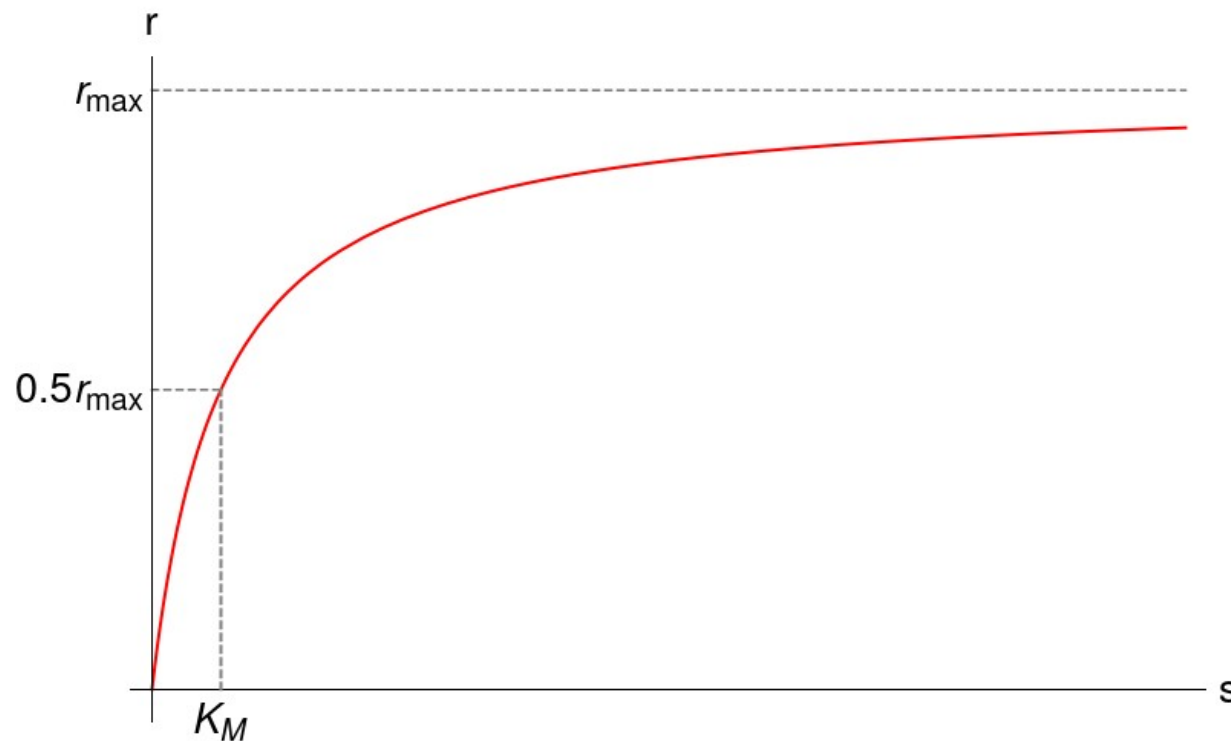
$$[ES] = \frac{[E]_0}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1[S]} + 1} = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]} \Rightarrow r$$



Схема Михаэлиса-Ментен

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} + [S]} \Rightarrow r = \frac{k_2[E]_0[S]}{\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} + [S]} = \frac{r_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

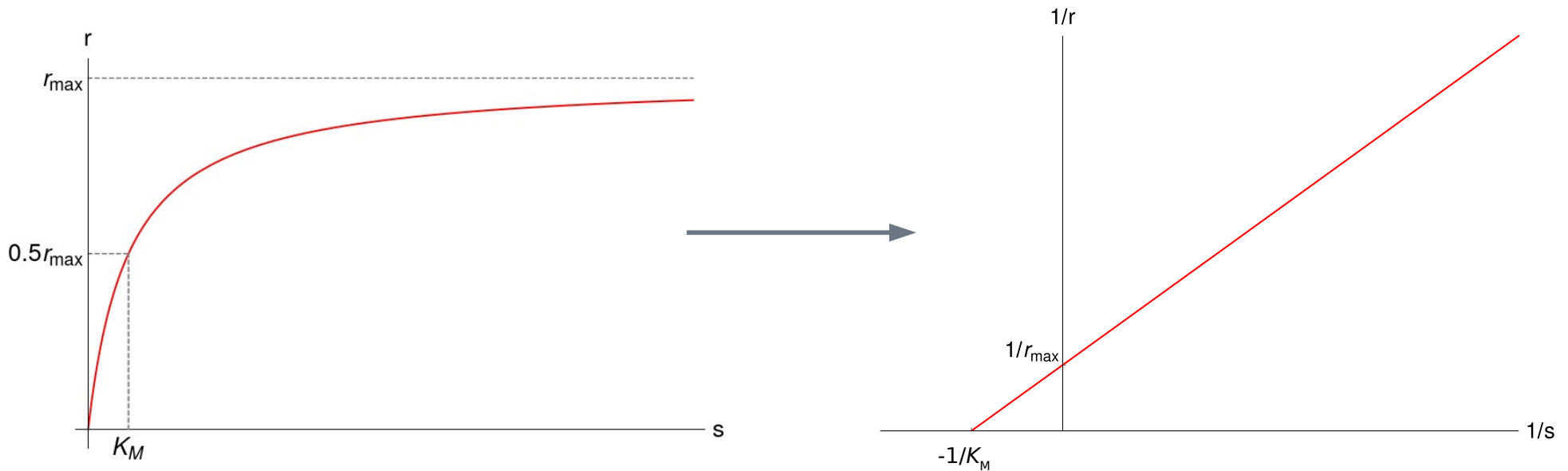
$$r_{max} = k_2[E]_0$$
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$



Линеаризация кривой

Двойные обратные координаты (Лайнуивера-Берка)

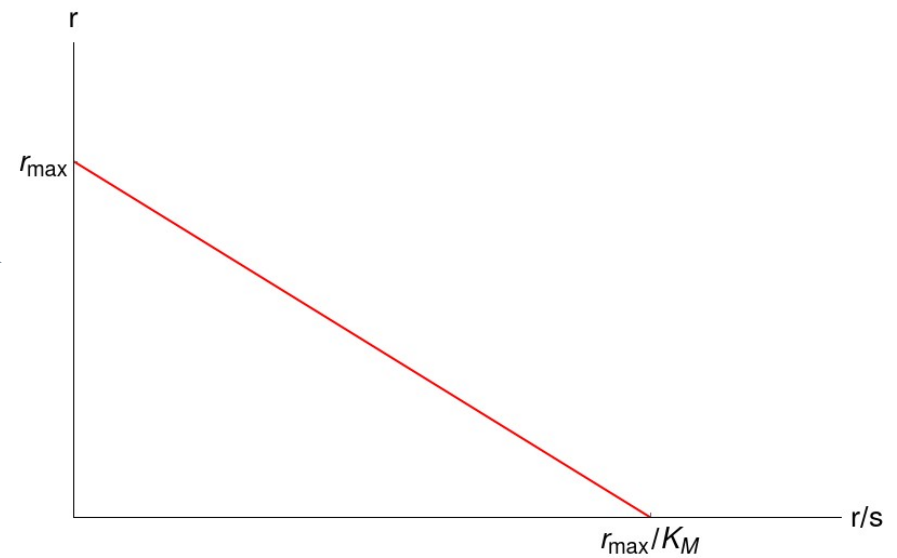
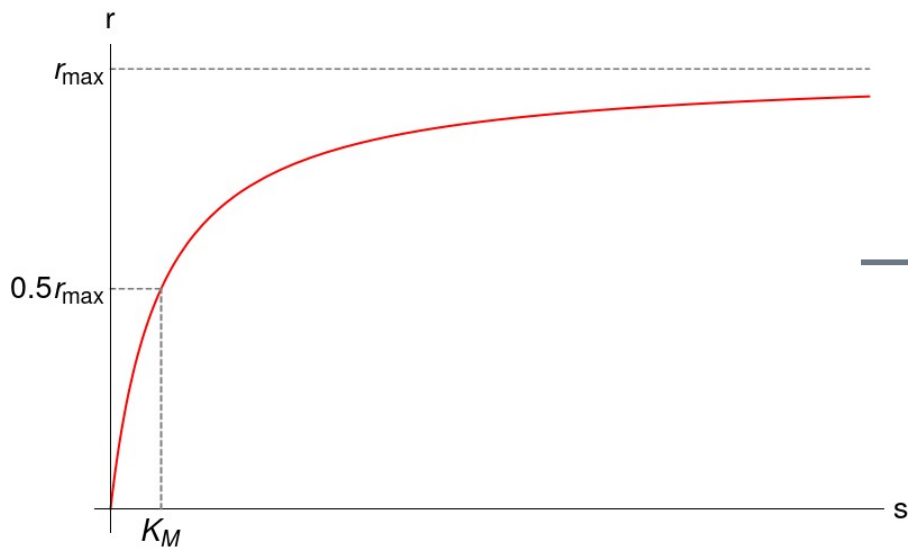
$$r = \frac{r_{max} [S]}{K_M + [S]} \longrightarrow \frac{1}{r} = \frac{1}{r_{max}} + \frac{K_M}{r_{max}} \frac{1}{[S]}$$



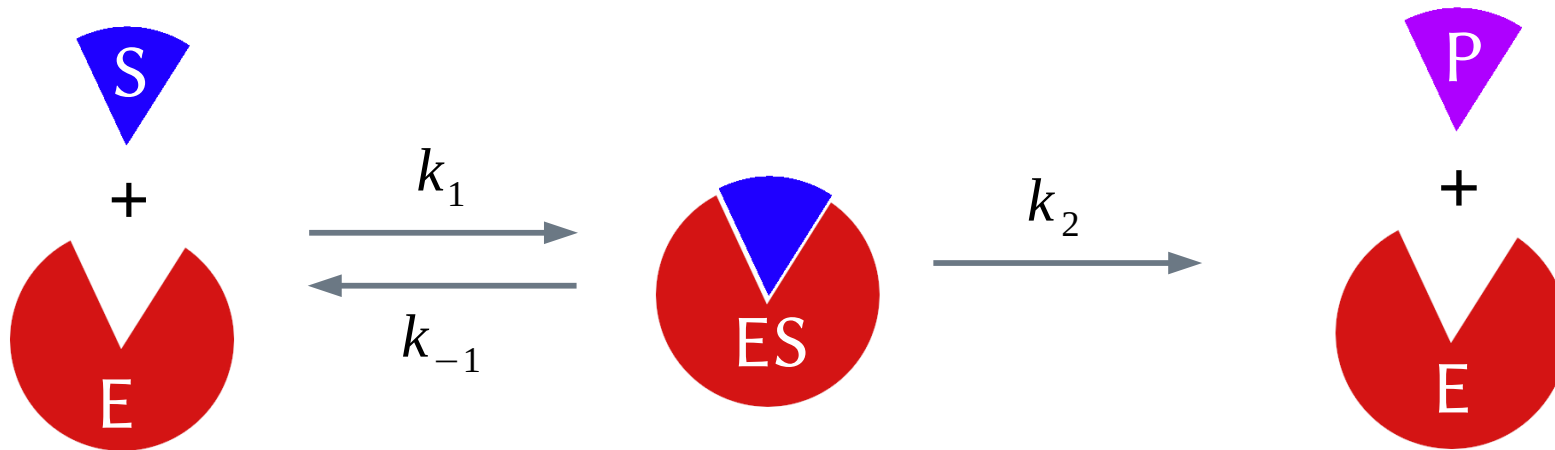
Линеаризация кривой

Координаты Иди-Хофсти

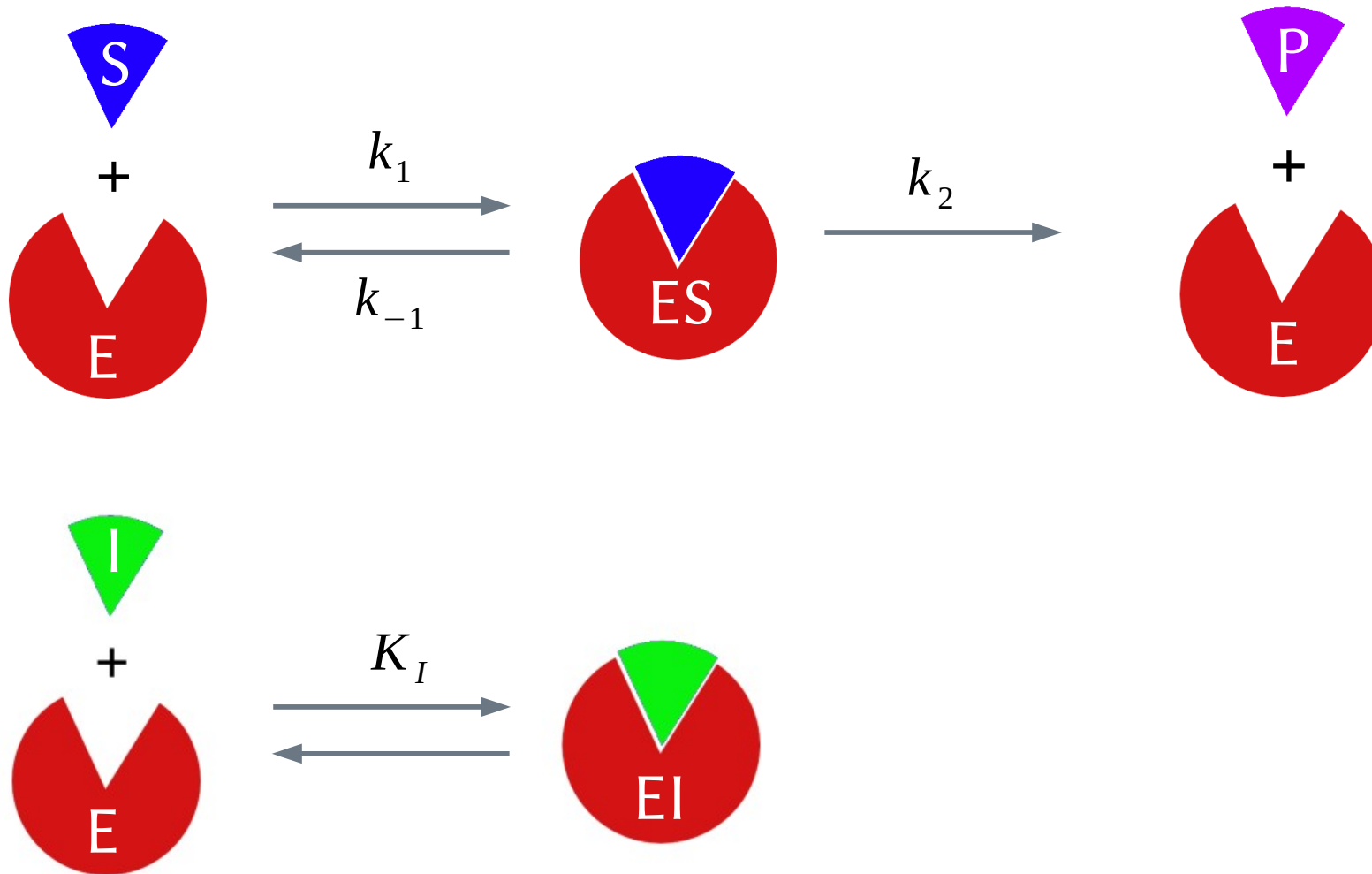
$$r = \frac{r_{max} [S]}{K_M + [S]} \longrightarrow r = r_{max} - K_M \frac{r}{[S]}$$



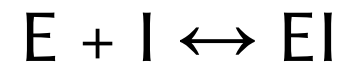
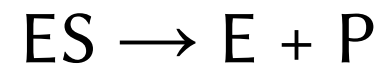
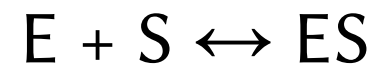
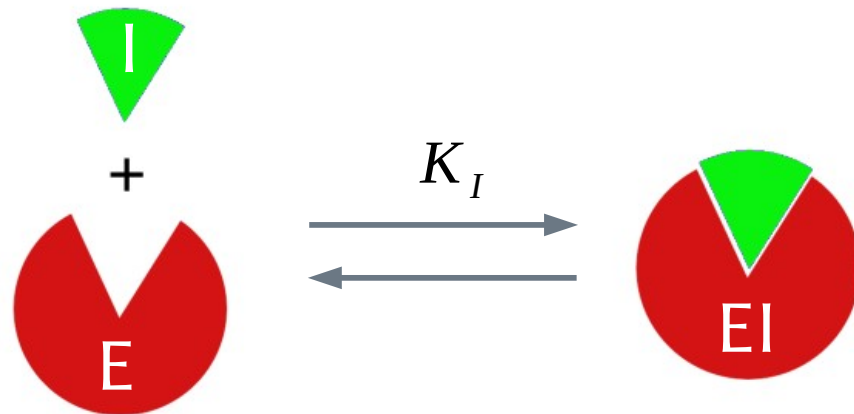
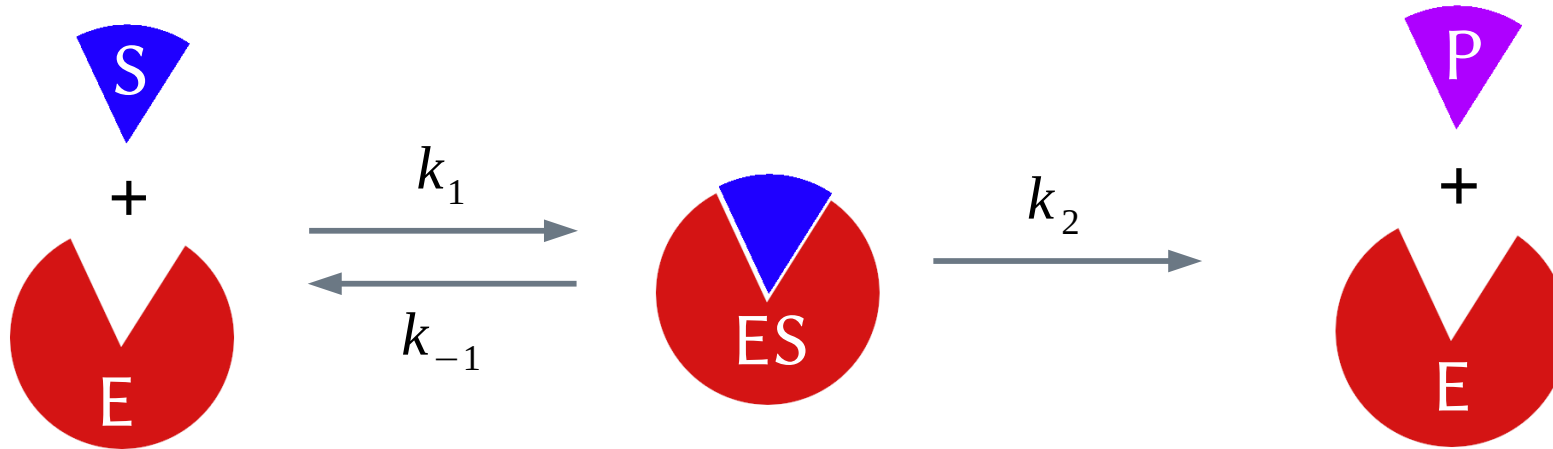
Конкурентное ингибирование



Конкурентное ингибирование



Конкурентное ингибирование



k_1, k_{-1}

k_2

K_I



Конкурентное ингибирование

Из схемы Михаэлиса-Ментен

$$r = k_2[ES] \quad [E] = K_M \frac{[ES]}{[S]} \quad K_I = \frac{[EI]}{[E][I]} \Rightarrow [EI] = K_I[E][I]$$

Материальный баланс по ферменту

$$\begin{aligned} [E]_0 &= [E] + [ES] + [EI] = K_M \frac{[ES]}{[S]} + [ES] + K_I[E][I] = \\ &= [ES] \left(\frac{K_M}{[S]} + 1 + K_I K_M \frac{[I]}{[S]} \right) \\ [ES] &= \frac{[E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1 + K_I K_M \frac{[I]}{[S]}} = \frac{[E]_0[S]}{K_M(1 + K_I[I]) + [S]} \end{aligned}$$

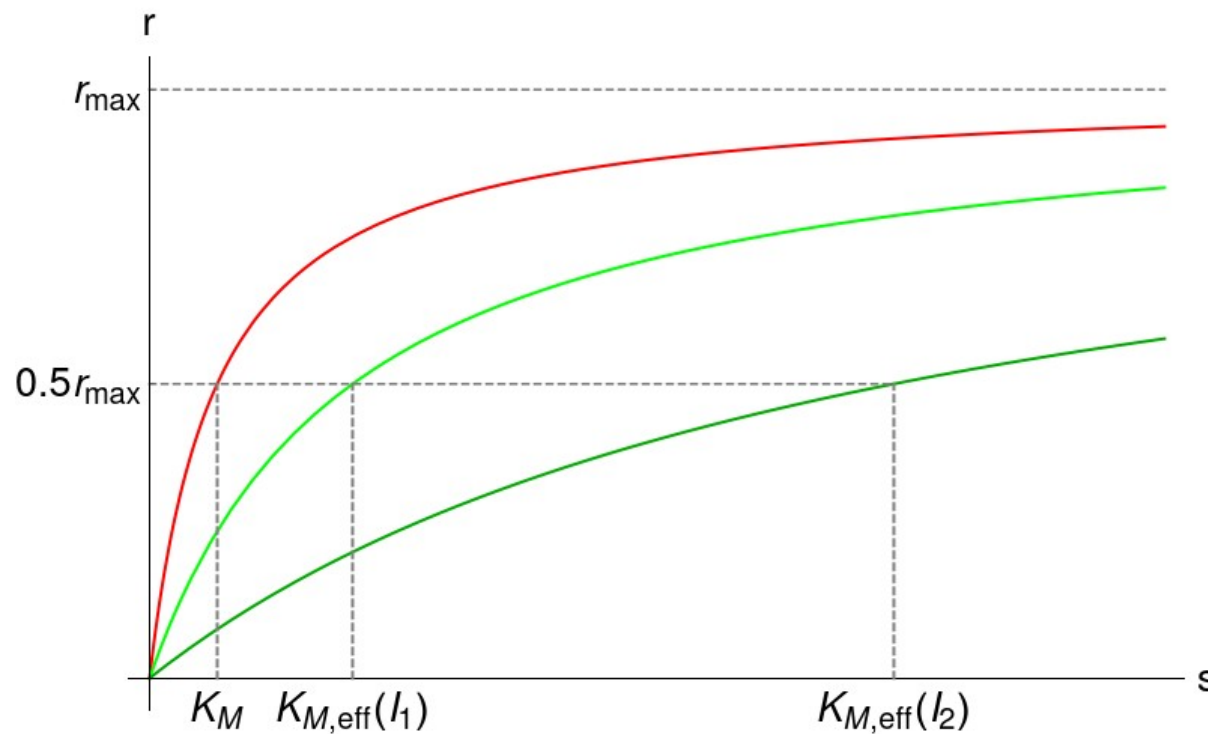


Конкурентное ингибирование

$$r = \frac{r_{max} [S]}{K_{M,eff} + [S]}$$

$$r_{max} = k_2 [E]_0$$

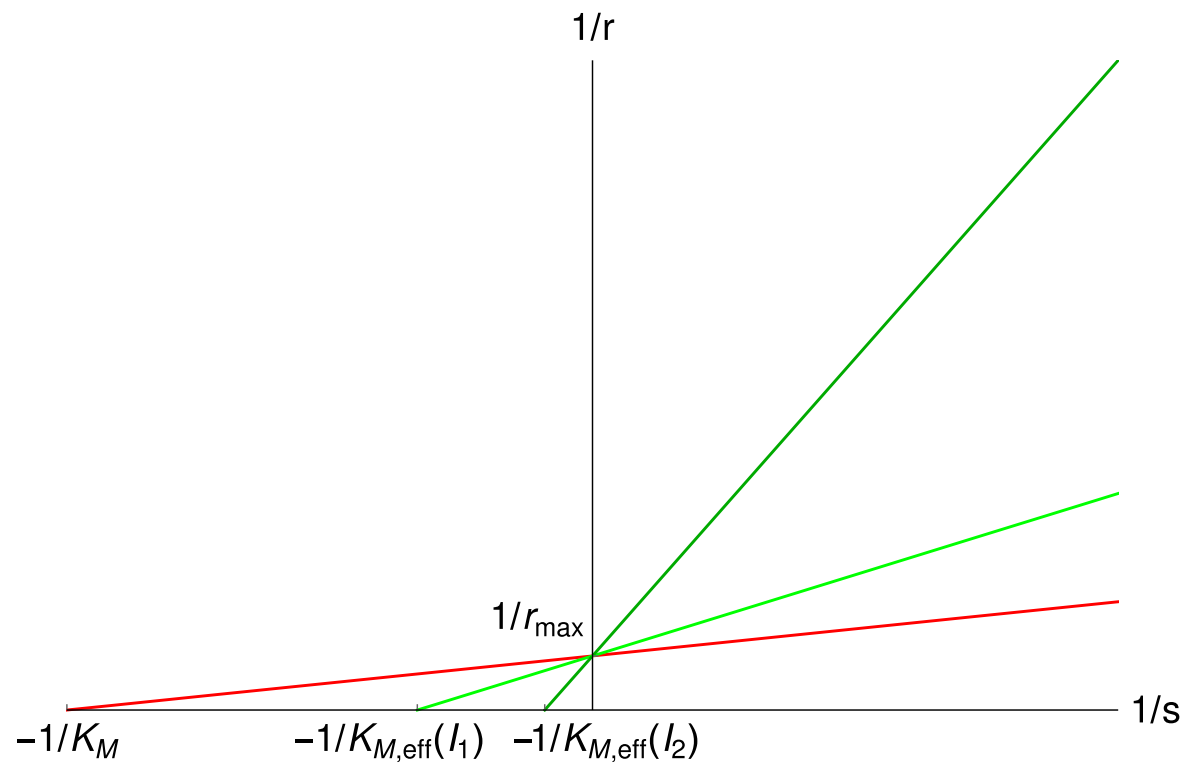
$$K_{M,eff} = K_M (1 + K_I [I])$$



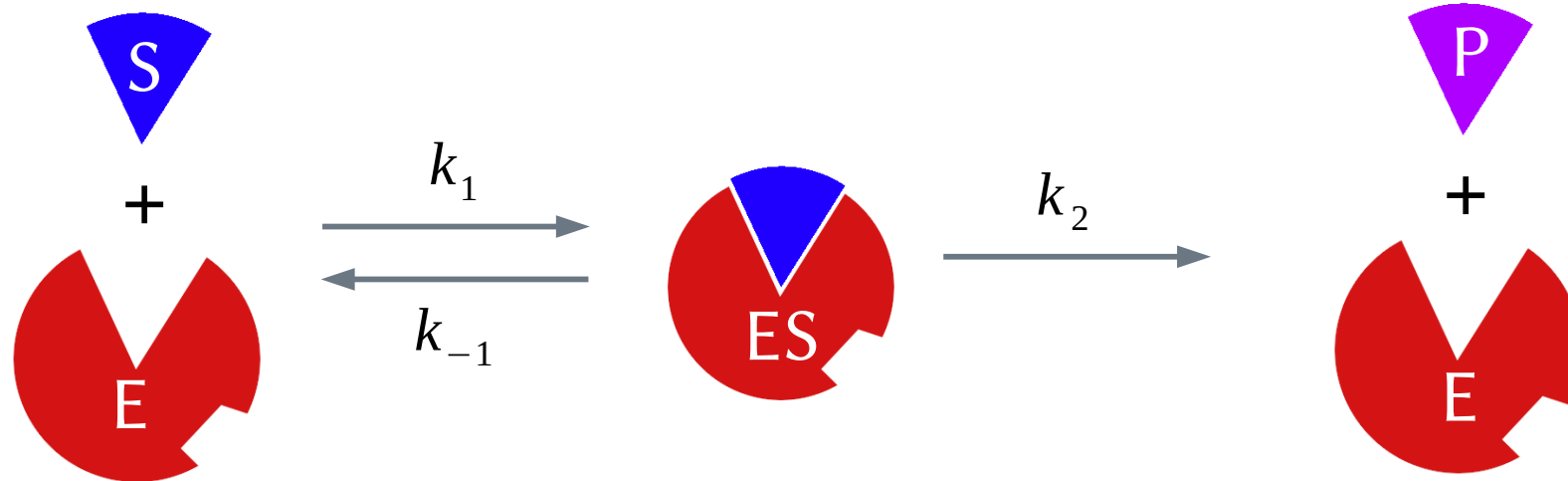
Конкурентное ингибирование

$$r = \frac{r_{max} [S]}{K_{M,eff} + [S]}$$

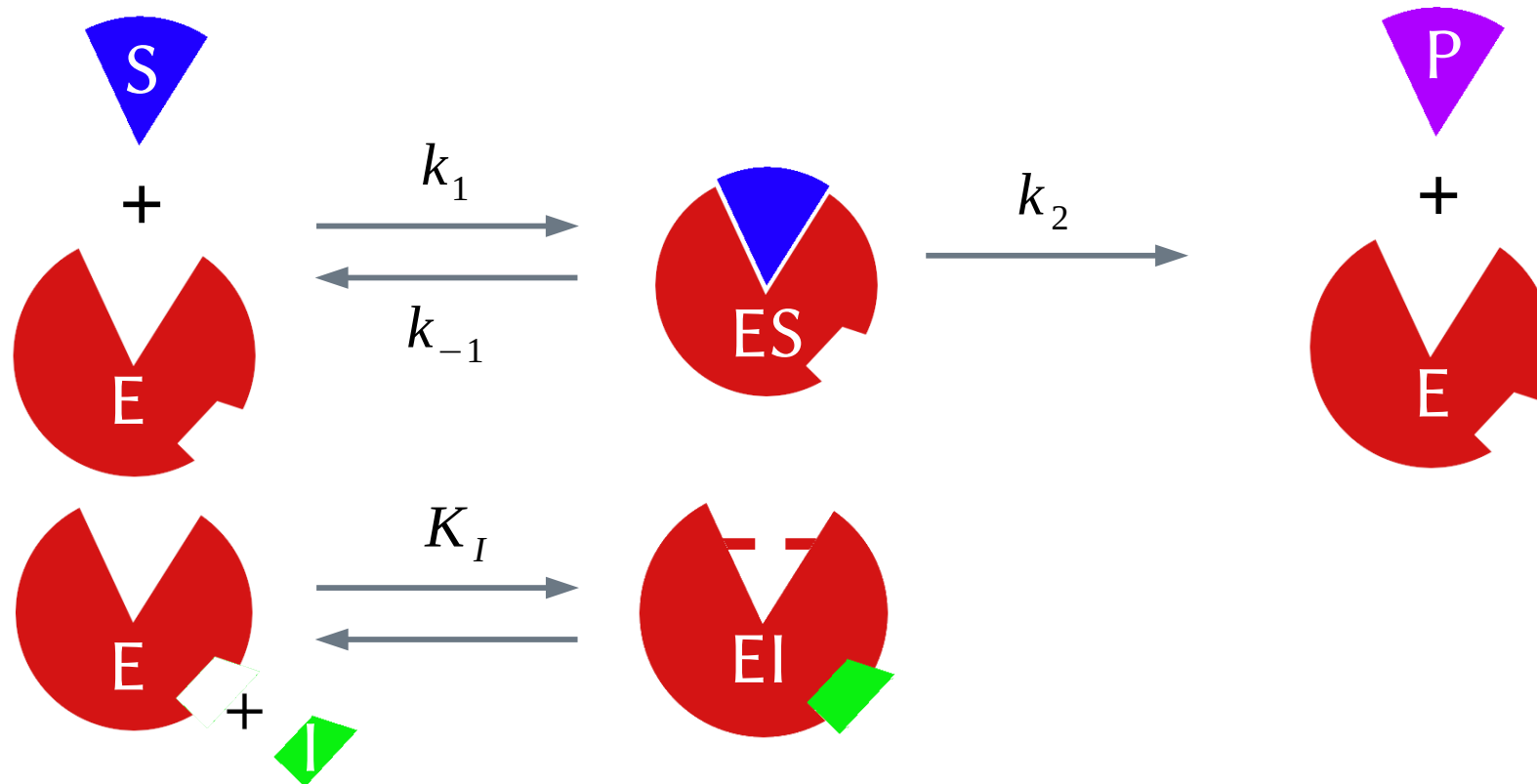
$$r_{max} = k_2 [E]_0$$
$$K_{M,eff} = K_M (1 + K_I [I])$$



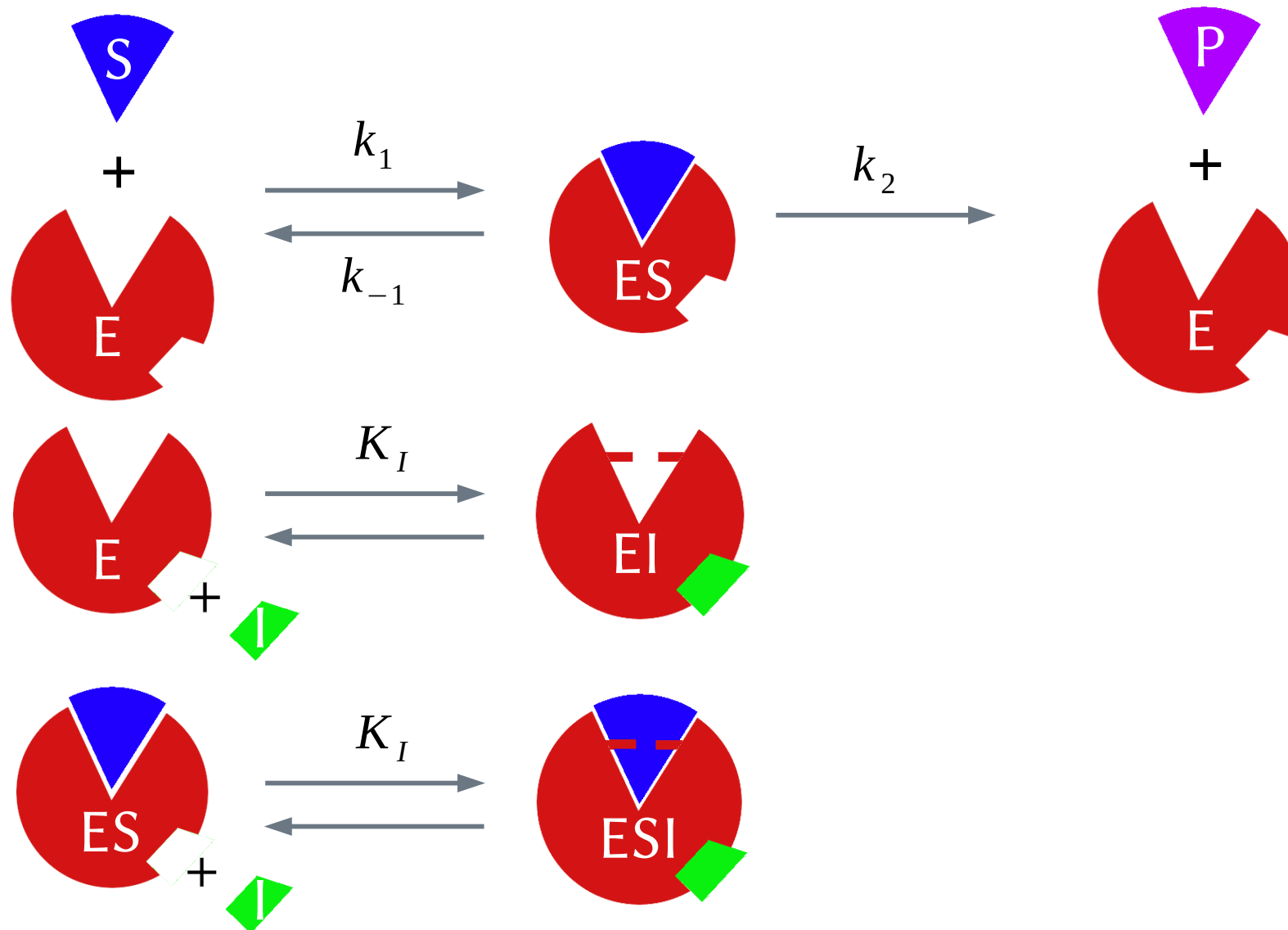
Неконкурентное ингибирование



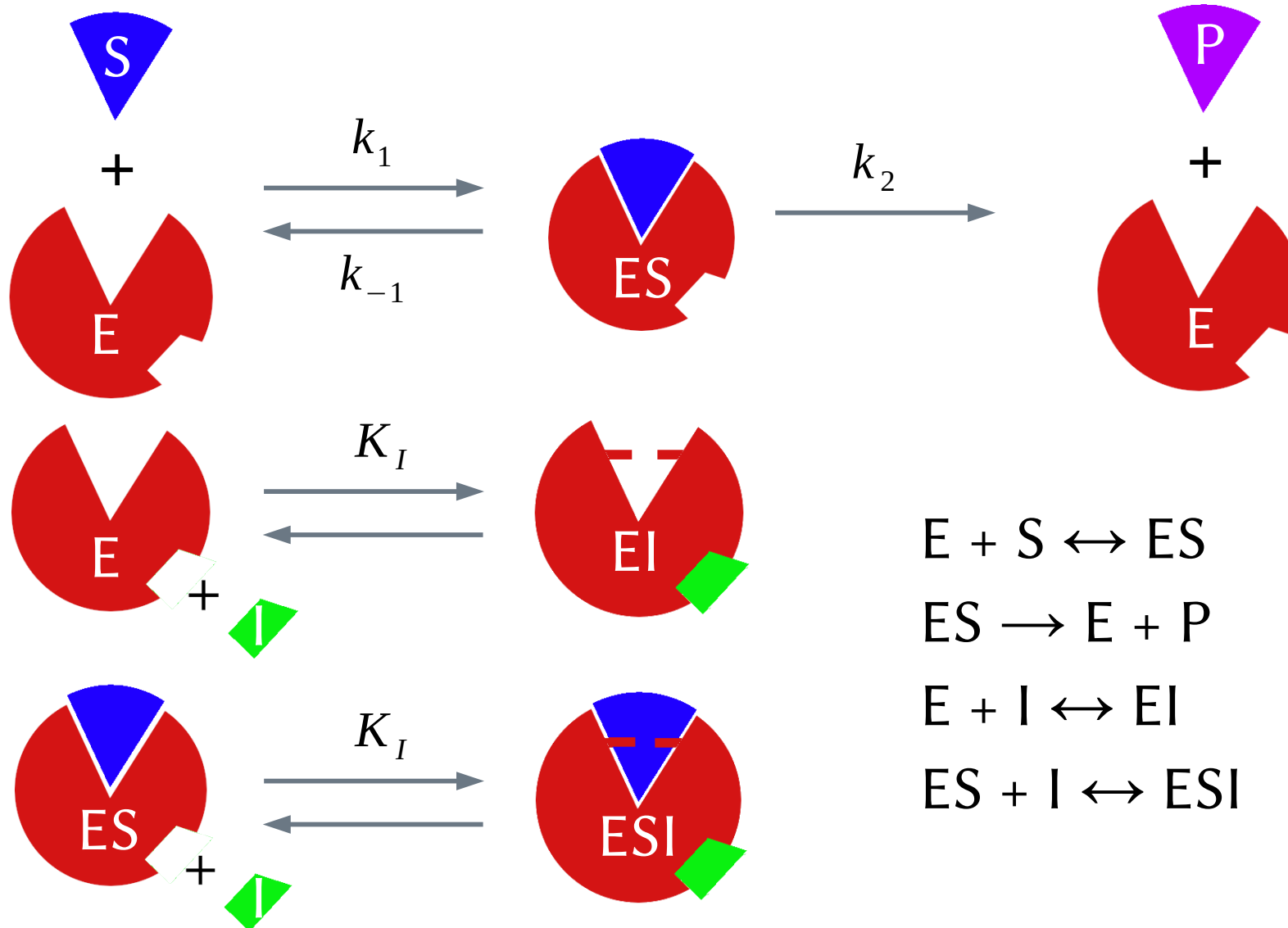
Неконкурентное ингибирование



Неконкурентное ингибирование



Неконкурентное ингибирование



Неконкурентное ингибирование

Из схемы Михаэлиса-Ментен

$$r = k_2[ES] \quad [E] = K_M \frac{[ES]}{[S]}$$

$$K_I = \frac{[EI]}{[E][I]} \Rightarrow [EI] = K_I[E][I]$$
$$K_I = \frac{[ESI]}{[ES][I]} \Rightarrow [ESI] = K_I[ES][I]$$



Неконкурентное ингибирование

Из схемы Михаэлиса-Ментен

$$r = k_2[ES] \quad [E] = K_M \frac{[ES]}{[S]}$$

$$K_I = \frac{[EI]}{[E][I]} \Rightarrow [EI] = K_I[E][I]$$

$$K_I = \frac{[ESI]}{[ES][I]} \Rightarrow [ESI] = K_I[ES][I]$$

Материальный баланс по ферменту

$$\begin{aligned} [E]_0 &= [E] + [ES] + [EI] + [ESI] = K_M \frac{[ES]}{[S]} + [ES] + K_I[E][I] + K_I[ES][I] = \\ &= [ES] \left(\frac{K_M}{[S]} + 1 + K_I K_M \frac{[I]}{[S]} + K_I[I] \right) \end{aligned}$$

$$[ES] = \frac{[E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1 + K_I K_M \frac{[I]}{[S]} + K_I[I]} = \frac{[E]_0 [S]}{K_M (1 + K_I[I]) + [S] (1 + K_I[I])}$$

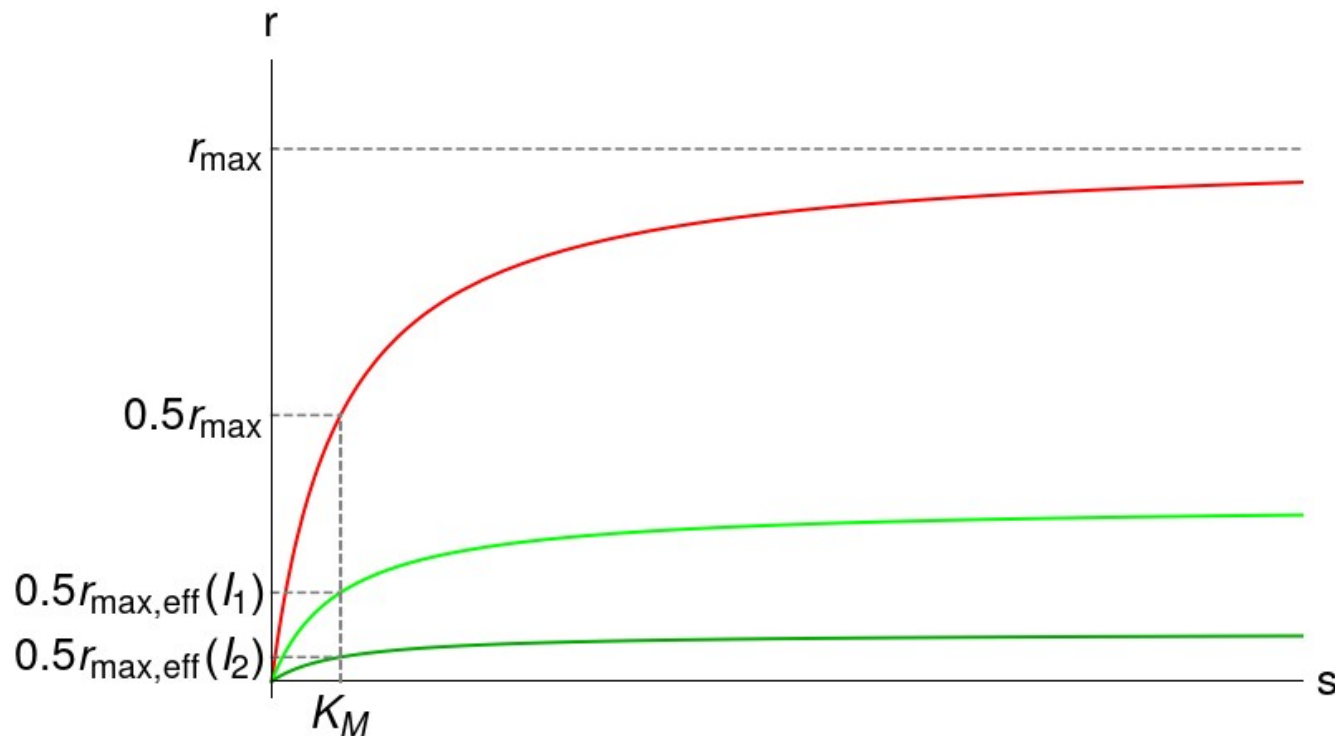


Неконкурентное ингибирование

$$r = \frac{r_{max,eff} [S]}{K_M + [S]}$$

$$r_{max,eff} = \frac{k_2 [E]_0}{1 + K_I [I]}$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

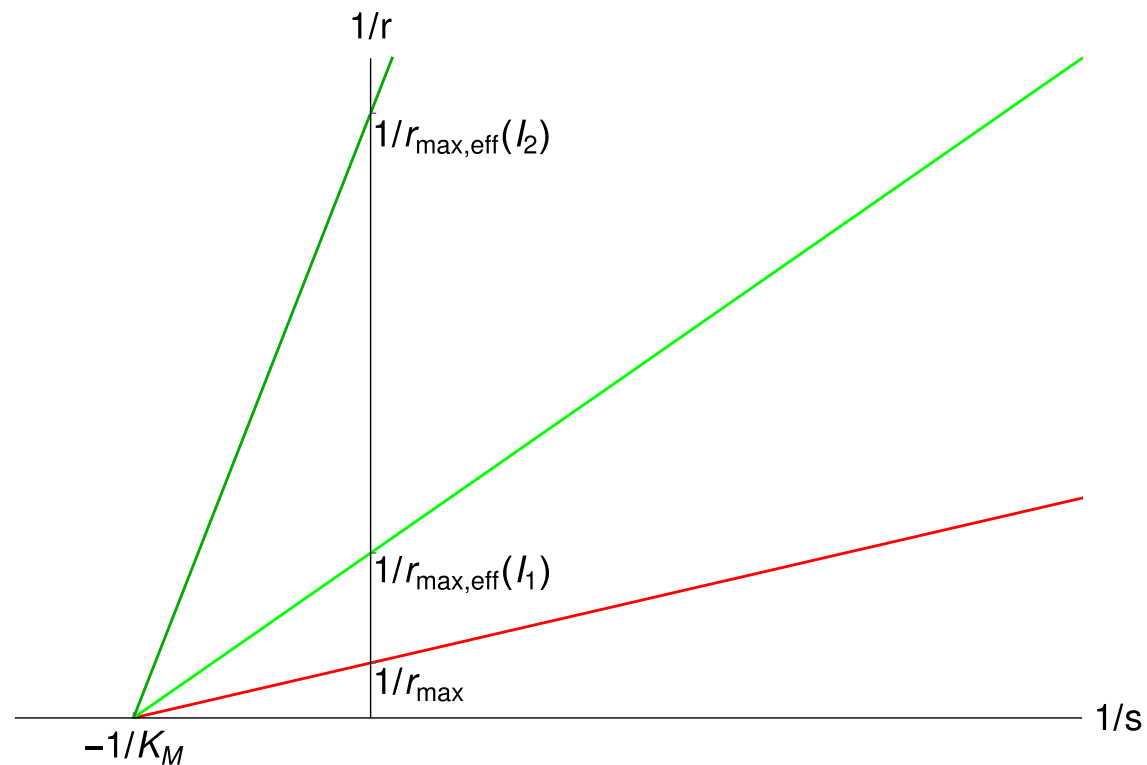


Неконкурентное ингибирование

$$r = \frac{r_{max,eff} [S]}{K_M + [S]}$$

$$r_{max,eff} = \frac{k_2 [E]_0}{1 + K_I [I]}$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$



Пример 1

Начальная скорость выделения O_2 при действии фермента на субстрат была измерена для ряда концентраций субстрата:

S, M	0.050	0.017	0.010	0.005	0.002
r, мм ³ /мин	16.6	12.4	10.1	6.6	3.3

Определите константу Михаэлиса реакции.

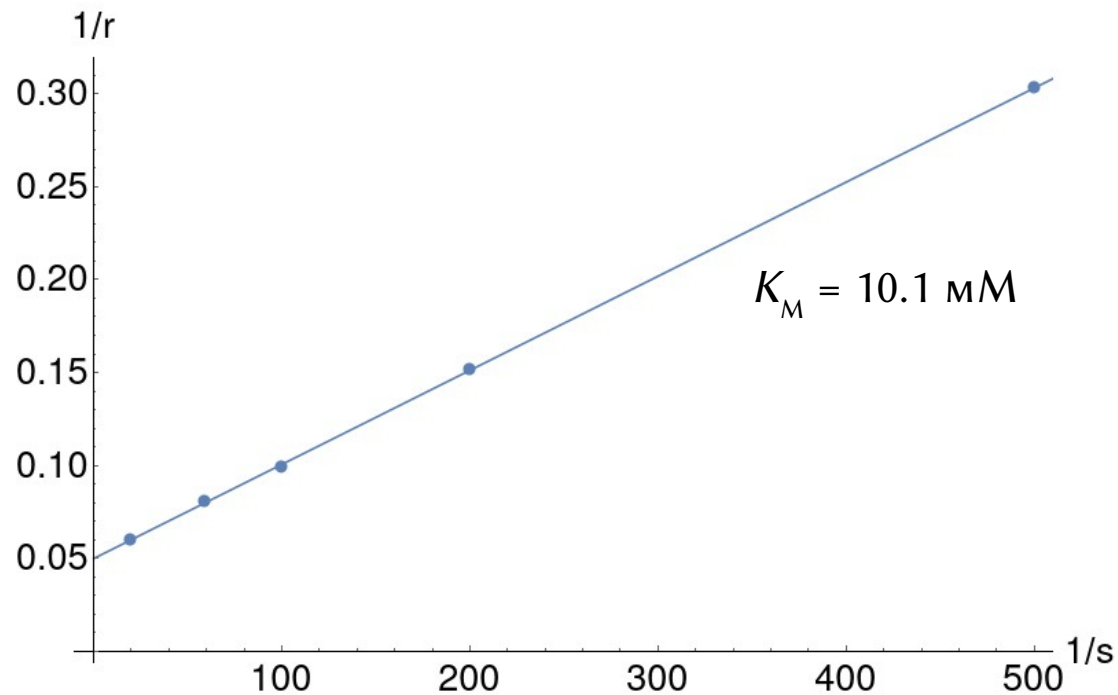


Пример 1

Начальная скорость выделения O_2 при действии фермента на субстрат была измерена для ряда концентраций субстрата:

S, M	0.050	0.017	0.010	0.005	0.002
$r, \text{мм}^3/\text{мин}$	16.6	12.4	10.1	6.6	3.3

Определите константу Михаэлиса реакции.

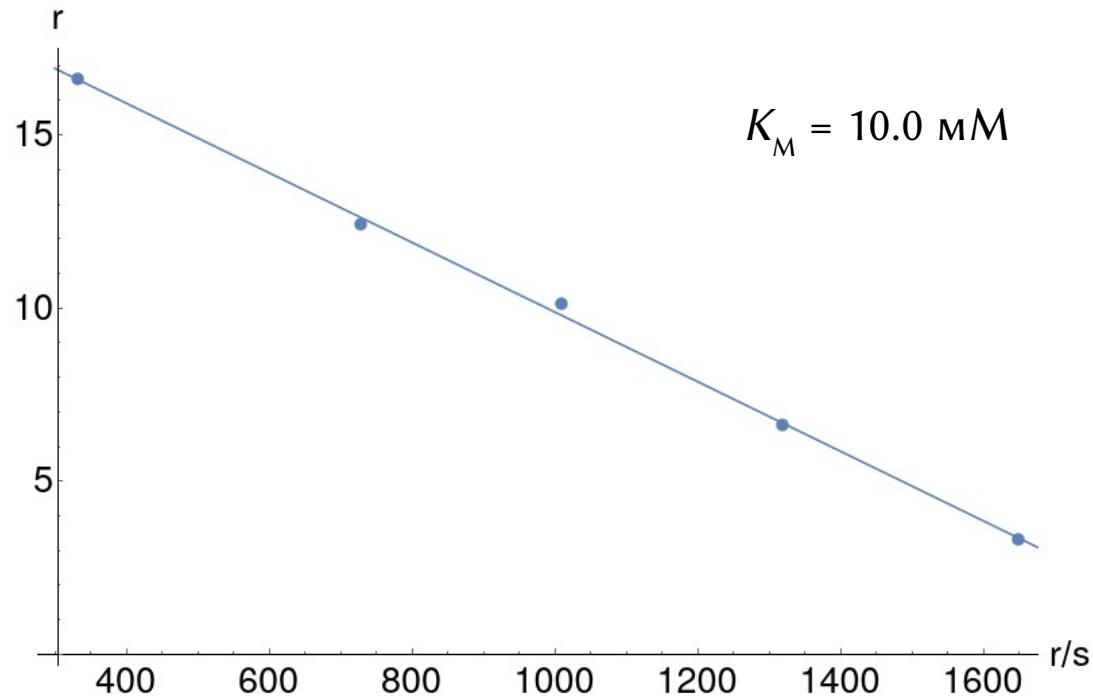


Пример 1

Начальная скорость выделения O_2 при действии фермента на субстрат была измерена для ряда концентраций субстрата:

S, M	0.050	0.017	0.010	0.005	0.002
$r, \text{мм}^3/\text{мин}$	16.6	12.4	10.1	6.6	3.3

Определите константу Михаэлиса реакции.



Пример 2

При добавлении неконкурентного ингибитора в ферментативную систему, подчиняющуюся схеме Михаэлиса-Ментен ($K_m = 3$ мМ), скорость реакции уменьшилась на 70%. Концентрация субстрата равна 2.5 мМ, концентрация ингибитора 0.5 мМ. При какой концентрации ингибитора скорость реакции составит 35% от исходной?



Пример 2

При добавлении неконкурентного ингибитора в ферментативную систему, подчиняющуюся схеме Михаэлиса-Ментен ($K_m = 3$ мМ), скорость реакции уменьшилась на 70%. Концентрация субстрата равна 2.5 мМ, концентрация ингибитора 0.5 мМ. При какой концентрации ингибитора скорость реакции составит 35% от исходной?

$$0.3 = \frac{r_I}{r} = \frac{1}{1 + K_I[I]} \Rightarrow K_I = 4.67 \text{ мМ}^{-1}$$

$$0.35 = \frac{r_I}{r} = \frac{1}{1 + K_I[I]} \Rightarrow [I] = 0.40 \text{ мМ}$$

