

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

**А.Н. Бландов**

# **КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ**

**Учебно-методическое пособие**

 **УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

**Санкт-Петербург**

**2015**

УДК 557.1+663/664

**Бландов А.Н.** Кинетика ферментативных реакций: Учеб.-метод. пособие. – СПб: Университет ИТМО, 2015. – 30 с.

Изложены основы классической кинетики ферментативных реакций согласно теории Михаэлиса–Ментен. Рассмотрены типы ингибирования ферментов и их влияние на вывод кинетических уравнений, а также изменения в наблюдаемых графиках зависимости скорости от концентрации субстрата в прямых и обратных координатах. В конце работы дан список литературы.

Учебно-методическое пособие предназначено для самостоятельной работы магистрантов по дисциплине «Пищевая энзимология» направлений 19.04.02 Ферментативные процессы в биотехнологии и 19.04.03 Микробиологические процессы в пищевых технологиях очной и заочной форм обучения.

**Рецензент: доктор техн. наук, проф. В.Е. Куцакова**

**Рекомендовано к печати Советом факультета пищевых биотехнологий и инженерии, протокол № 2 от 03.04.2015 г.**



**Университет ИТМО** – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2015

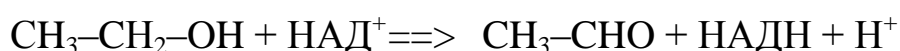
© Бландов А.Н., 2015

## ВВЕДЕНИЕ

*Ферменты* – специфические белки, выполняющие в организме роль биологических катализаторов. В отличие от большинства катализаторов неорганической природы ферменты обладают более высокой эффективностью и специфичностью действия. В то время как небелковые катализаторы обычно ускоряют реакции в  $10^1$ – $10^3$  раз, степень ускорения реакций под действием ферментов составляет  $10^6$ – $10^{12}$ . Один и тот же неорганический катализатор может быть использован для ускорения многих реакций, в которых участвуют самые разнообразные вещества. Что же касается ферментов, то они воздействуют либо только на один субстрат (абсолютная субстратная специфичность), либо на определенный класс субстратов (относительная субстратная специфичность). Например, уреаза катализирует только гидролиз мочевины, а пепсин – только гидролиз белков. Субстратная специфичность объясняется пространственным соответствием активного центра фермента и его субстрата. Ферменты термолабильны – нагревание до 70–80 °С приводит к инактивации большинства ферментов за счет денатурации – разрушения вторичной и третичной структуры белка, т. е. потери пространственной конфигурации молекулы фермента, в том числе его активного центра. Ферменты чувствительны также к изменению рН среды, при которой они действуют. Это связано с изменением пространственной конфигурации молекулы фермента при присоединении или отщеплении протонов. Для каждого из ферментов существуют определенные оптимальные значения температуры и рН среды, при которых они проявляют свою максимальную активность. Например, пепсин наиболее активен при рН 1,5–2,0 (кислая среда), а трипсин – при 7,8–8,0 (слабощелочная среда). Если рН среды сильно отличается от оптимума, то фермент почти не будет проявлять активности. Температура и рН относятся к неспецифическим факторам, так как в той или иной мере влияют на активность всех ферментов. Кроме того, существуют специфические факторы, которые в очень низких концентрациях повышают активность ферментов (активаторы), или, напротив, снижают ее (ингибиторы). Регуляция активности ферментов в организме происходит через аллостерический центр, который обычно удален от активного центра.

Общепринятыми являются названия ферментов с окончанием "аза", прибавляемое к названию субстрата, превращение которого ускоряется данным ферментом (например, амилаза от греч. *Amylon* – крахмал, или липаза от греч. *Lypos* – жир и т. д.). Однако, по современным правилам, название составляется из химического названия субстрата и названия реакции, которую фермент катализирует. Например, фермент, катализирующий окисление спирта в ацетальдегид, называется алкогольдегидрогеназа (АДГ):

### АДГ

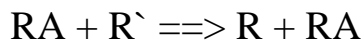


По своему строению АДГ относится к сложным белкам. Его небелковая часть, называемая коферментом, представляет собой никотинамидадениндинуклеотид (НАД<sup>+</sup>), содержащий амид никотиновой кислоты – витамин В<sub>5</sub> (РР). В состав коферментов входят большинство водорастворимых витаминов. Однако многие ферменты являются простыми белками, к их числу относятся, например, некоторые ферменты класса гидролаз.

В настоящее время известно более 2000 ферментов. Их международная классификация производится по типу химических реакций, которые они катализируют, и насчитывает шесть основных классов:

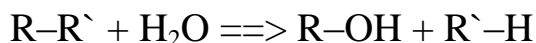
I. *Оксидоредуктазы* – ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. В активном центре оксидоредуктаз содержатся в качестве коферментов электронноакцепторные или электроннодонорные группы (например: гем, НАД<sup>+</sup> или ФАД). К числу оксидоредуктаз относятся дегидрогеназы, участвующие в энергетических процессах. Они катализируют реакции окисления ряда субстратов – глюкозы, аминокислот, жирных кислот, а выделяющаяся при этом энергия затем аккумулируется в макроэргических связях аденозинтрифосфата (АТФ). Именно с НАД<sup>+</sup> или ФАД начинается последовательность оксидоредуктаз в митохондриях клетки, называемая цепью тканевого дыхания. Она включает в себя также ФМН, убихинон и цитохромы, а конечным акцептором атомов водорода является О<sub>2</sub>.

II. *Трансферазы* – ферменты, которые катализируют обратимые реакции внутримолекулярного или межмолекулярного переноса атомов или группы атомов:



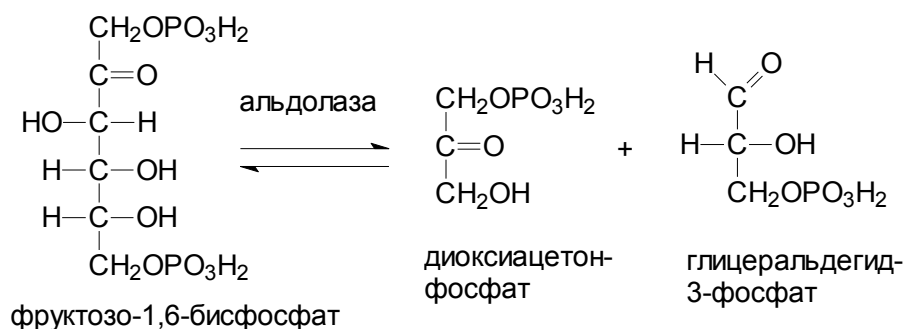
Трансферазы участвуют в реакциях метаболизма, связывающих процессы обмена углеводов, белков и липидов.

III. *Гидролазы* – ферменты, катализирующие реакции гидролиза, т. е. реакции расщепления веществ с присоединением элементов воды по месту расщепляемой связи:

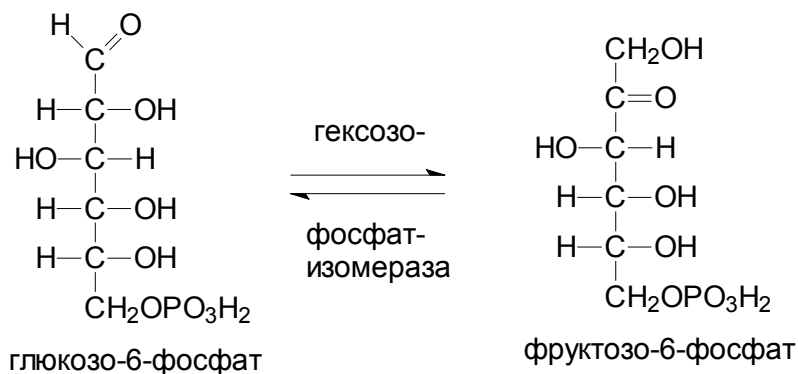


Гидролазы широко представлены в живых организмах. К ним относятся ферменты, участвующие в переваривании белков, углеводов, и липидов в желудочно-кишечном тракте (протеазы, гликозидазы и липазы соответственно). Многие гидролазы применяются в пищевых технологиях.

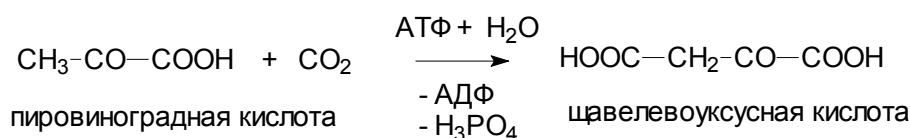
IV. *Лиазы* – ферменты, катализирующие негидролитический разрыв связей C–C с образованием двойных связей. Примером такой реакции служит расщепление фруктозо-1,6-бисфосфата с образованием двух фосфотриоз, катализируемое ферментом альдолазой:



V. *Изомеразы* – ферменты, которые катализируют реакции изомеризации. Например, фермент гексозофосфатизомераза катализирует изомерные превращения гексоз:



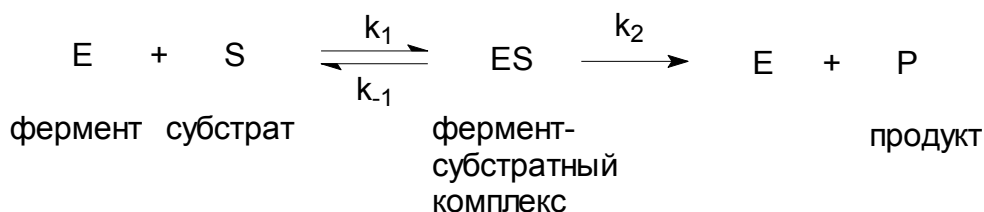
VI. *Лигазы (или синтетазы)* – ферменты, которые катализируют необратимые реакции синтеза. Эти реакции идут с затратой энергии, чаще всего в форме АТФ. Например, карбоксилирование пировиноградной кислоты под действием карбоксилазы:



Внутри основных классов выделяются подклассы. В свою очередь, подклассы делятся на подподклассы, а внутри подподклассов каждый фермент получает порядковый номер. В соответствии с этим каждому ферменту присваивается четырехзначный цифровой шифр. Например, шифр ацетилхолинэстеразы КФ 3.1.1.7, где КФ – классификация ферментов.

## КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Кинетика ферментативных реакций в большинстве случаев описывается классическим уравнением Михаэлиса–Ментен, выводимого из следующей кинетической схемы реакции:



Здесь  $k_1$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_2$  – константы скоростей соответствующих реакций. При этом вторая стадия предполагается необратимой, и определяет скорость ферментативной реакции  $V$ :

$$V = k_2 \cdot [ES]$$

В этом уравнении и далее квадратные скобки обозначают концентрацию соответствующего вещества в моль/л или ммоль/л. При больших концентрациях субстрата весь фермент находится в составе комплекса с субстратом, и скорость реакции при этом будет максимальной:

$$[ES] = [E]_0 \quad V_{\max} = k_2 \cdot [E]_0$$

Здесь  $[E]_0$  – общая концентрация фермента, внесенная в систему (свободный и связанный). В данной теории используется гипотеза квазистационарного состояния, т.е. предполагается, что  $[ES] = \text{const}$ , т. е. скорость его образования равна скорости расхода.

Следовательно:

$$k_1 \cdot [E][S] = k_{-1} \cdot [ES] + k_2 \cdot [ES]$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \quad (\text{константа Михаэлиса})$$

Запишем уравнение материального баланса по ферменту:

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

Выразим отсюда  $[E]$  и подставим ее в выражение для константы Михаэлиса, а затем преобразуем полученное уравнение:

$$[E] = [E]_0 - [ES]$$

$$\frac{([E]_0 - [ES]) \cdot [S]}{[ES]} = K_m$$

$$\frac{[E]_0 \cdot [S]}{[ES]} - [S] = K_m$$

$$\frac{[E]_0}{[ES]} = \frac{K_m + [S]}{[S]}$$

$$[ES] = [E]_0 \cdot \frac{K_m + [S]}{[S]}$$

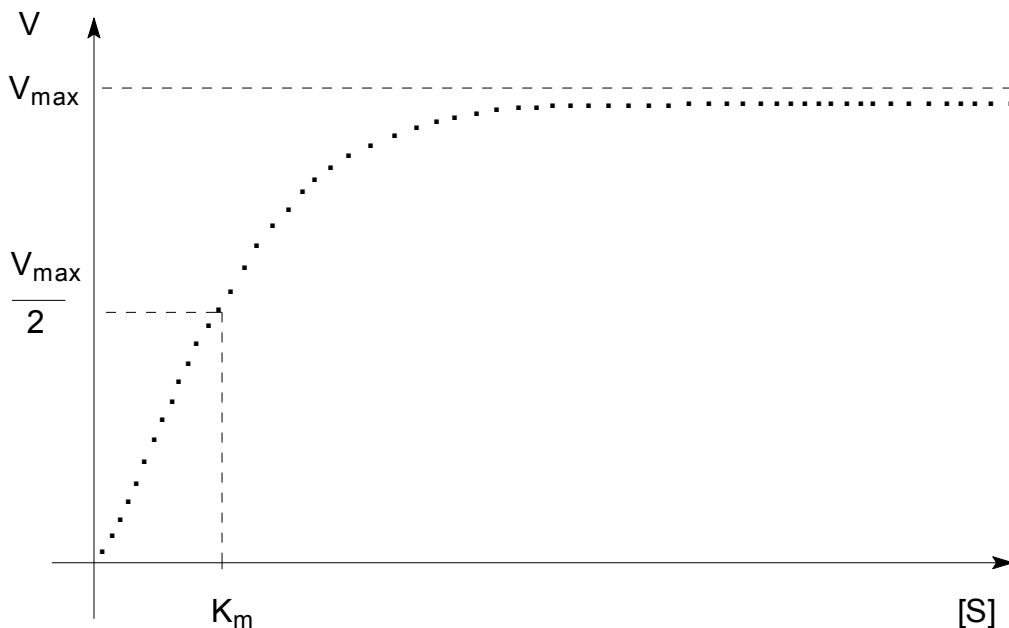
Затем подставим  $[ES]$  в формулу для скорости ферментативной реакции:

$$V = k_2 \cdot [ES] = k_2 \cdot [E]_0 \cdot \frac{K_m + [S]}{[S]}$$

Отсюда и вытекает уравнение Михаэлиса–Ментен:

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \text{где} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (\text{константа Михаэлиса})$$

Графически это выглядит следующим образом:



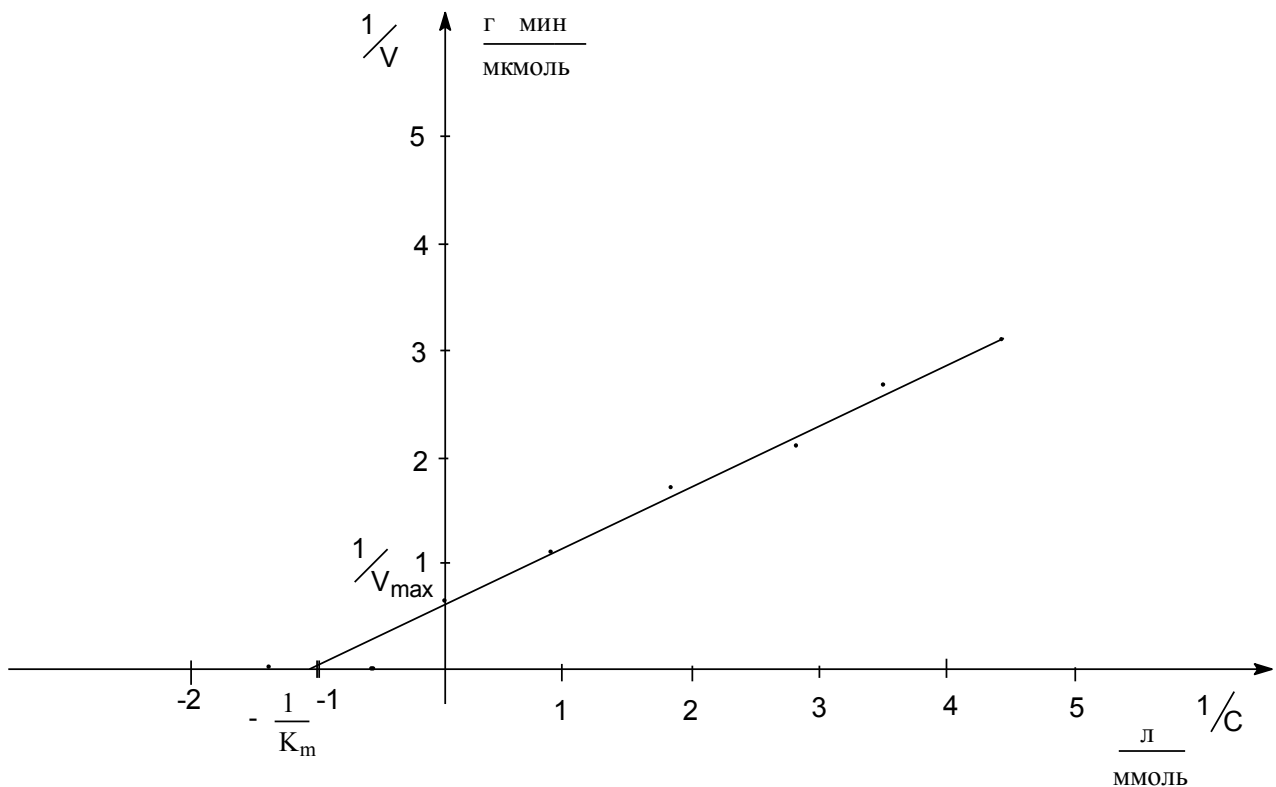
Основными кинетическими параметрами ферментативной реакции являются константа Михаэлиса и максимальная скорость реакции при насыщающих концентрациях субстрата. При этом, как следует из уравнения,  $K_m$  численно равна концентрации субстрата, соответствующей  $V = V_{\max} / 2$ .



Поскольку эта зависимость не является линейной, на практике кинетические параметры определяются с помощью преобразования Лайнуивера–Берка:

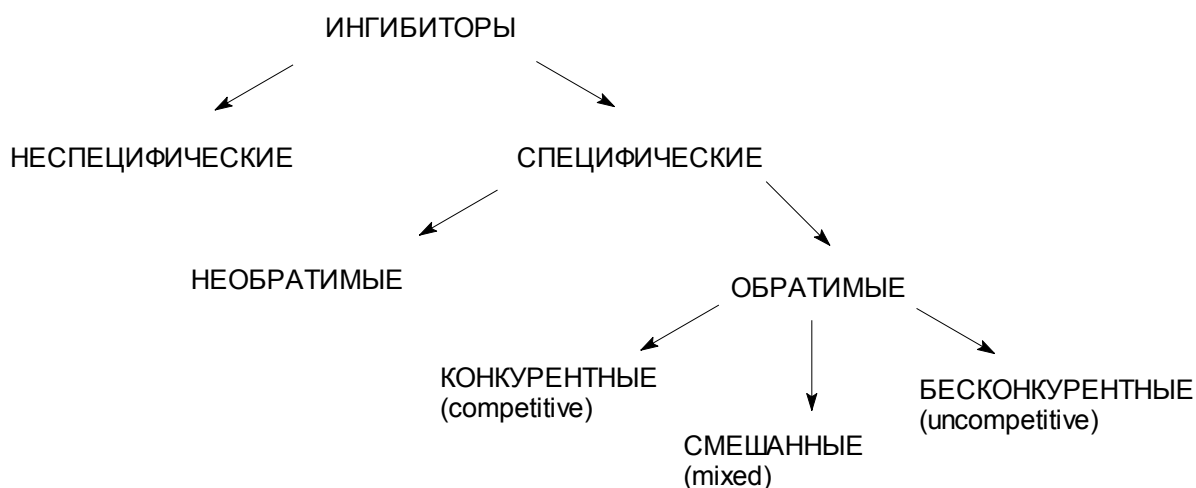
$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

Зависимость обратных величин носит линейный характер (линеаризация уравнения Михаэлиса–Ментен), что позволяет экстраполировать прямую до пересечения с осями координат и легко определить кинетические параметры реакции (а также тангенс угла наклона прямой, равный отношению  $K_m / V_{\max}$ ):



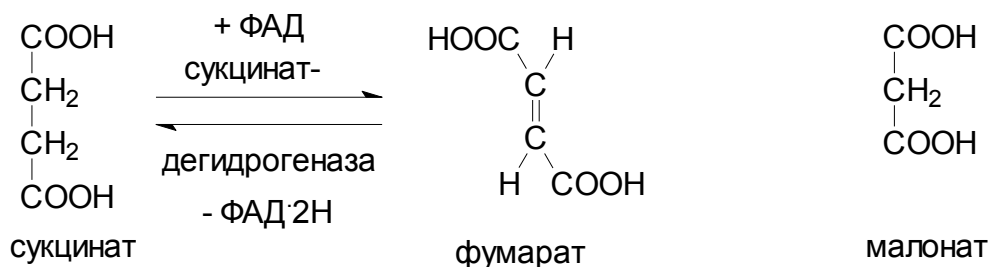
## ИНГИБИТОРЫ

Ингибиторы, замедляющие протекание ферментативной реакции, делятся на неспецифические (денатурирующие реагенты, инактивирующие все ферменты и вообще все белки) и специфические. Последние воздействуют лишь на определенные ферменты и делятся на необратимые и обратимые. Необратимые ковалентно модифицируют активный центр или всю молекулу фермента, и после их удаления активность не восстанавливается. Обратимые временно тормозят работу фермента, поэтому их удаление приводит к восстановлению активности фермента. Обратимые ингибиторы делятся на конкурентные, бесконкурентные и смешанные:

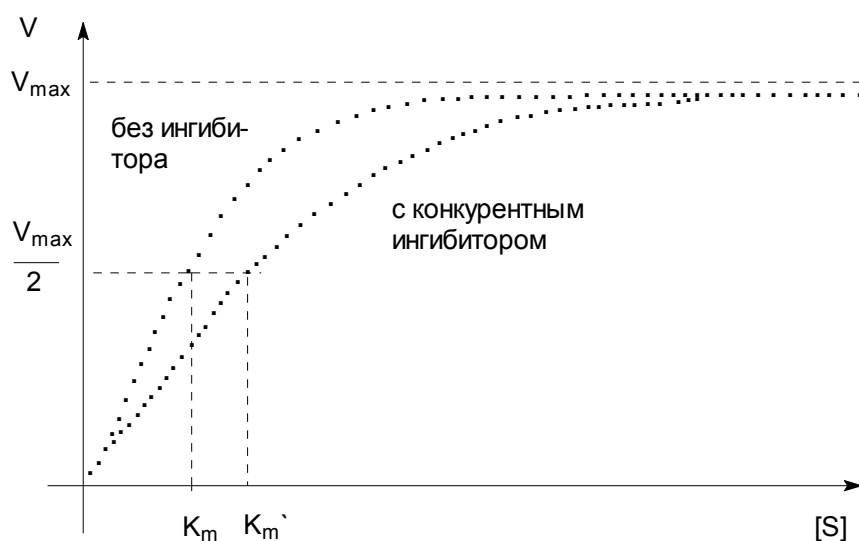


### КОНКУРЕНТНЫЕ (COMPETITIVE) ИНГИБИТОРЫ

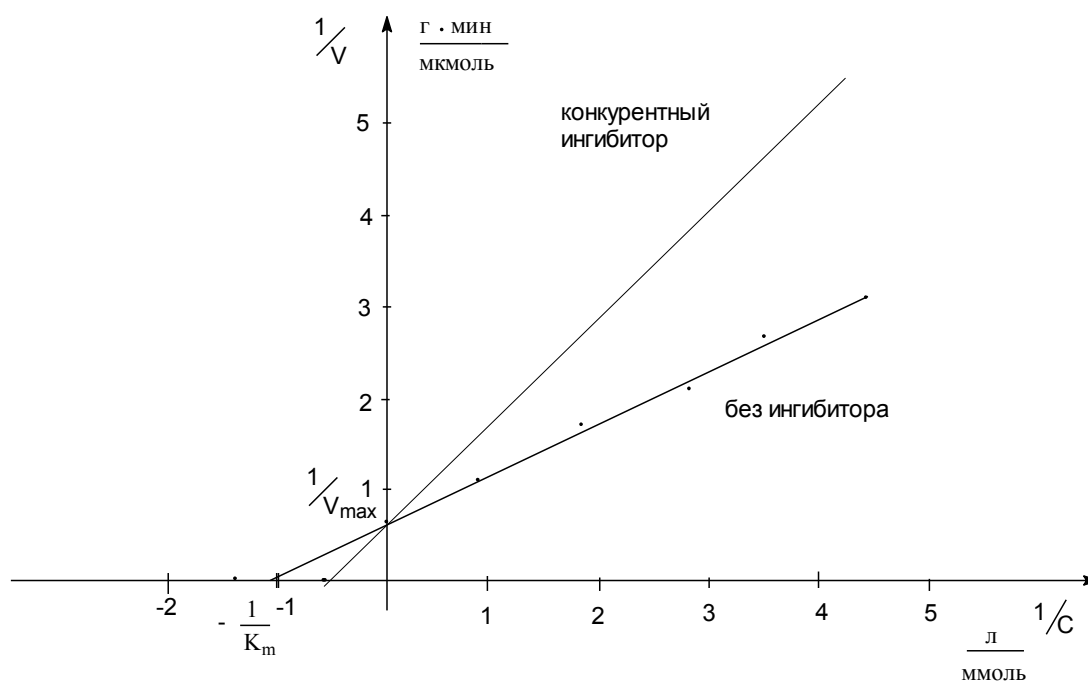
Конкурентные (competitive) ингибиторы по своей структуре похожи на субстрат, встраиваются в активный центр фермента, но не подвергаются ферментативному превращению и блокируют его работу. Классическим примером подобной ситуации является ингибирование сукцинатдегидрогеназы малонатом, по структуре похожим на сукцинат:



Конкурентные ингибиторы могут быть похожи и на кофермент, также встраиваются в активный центр, но не способны осуществлять функции кофермента (как в случае изониазида и пиридоксамина). В любом случае такое ингибирование преодолевается повышением концентрации субстрата, т.к. при этом он вытесняется из активного центра, и максимальная скорость реакции сохраняется неизменной, но константа Михаэлиса, косвенно характеризующая сродство фермента к субстрату, увеличивается (а сродство соответственно уменьшается за счет наличия ингибитора):



В обратных координатах график будет выглядеть так:





Теперь выразим отсюда  $[ES]$  и преобразуем выражение в форму, похожую на уравнение Михаэлиса–Ментен:

$$[ES] = [E]_0 * \frac{K_I}{[I] + K_I} * \frac{[S]}{K_m + [S] * \frac{K_I}{[I] + K_I}}$$

$$[ES] = [E]_0 * \frac{[S]}{K_m * \frac{[I] + K_I}{K_I} + [S]}$$

$$V = V_{max} * \frac{[S]}{K_m * \frac{[I] + K_I}{K_I} + [S]}$$

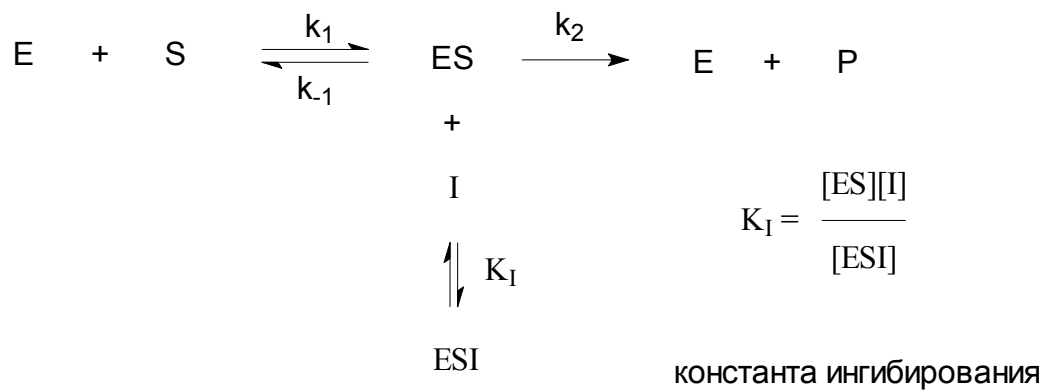
$$K'_m = \frac{[I] + K_I}{K_I} * K_m$$

$$K_I = \frac{K_m}{K'_m - K_m} * [I]$$

Отсюда видно, что  $V_{max}$  не изменяется, в то время как  $K_m$  увеличивается. По ее изменению можно рассчитать  $K_I$ .

## **БЕСКОНКУРЕНТНЫЕ (UNCOMPETITIVE) ИНГИБИТОРЫ**

Бесконкурентные (uncompetitive) ингибиторы воздействуют не на активный центр фермента, а на фермент-субстратный комплекс, соединяются с ним с образованием неактивного фермент-субстратно-ингибиторного комплекса ESI, что может быть описано следующей кинетической схемой:



Запишем уравнение материального баланса по ферменту, в котором в данном случае будет три слагаемых:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [ESI] = [E] + [ES] * \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

$$[E]_0 = [E] + [ES] * \frac{K_I + [I]}{K_I}$$

Выразим отсюда [E] и подставим в выражение константы Михаэлиса:

$$\frac{\left( [E]_0 - [ES] * \frac{K_I + [I]}{K_I} \right) * [S]}{[ES]} = K_m$$

$$[S] * \frac{[E]_0}{[ES]} = K_m + [S] * \frac{K_I + [I]}{K_I}$$

Теперь выразим отсюда [ES] и преобразуем выражение в форму, похожую на уравнение Михаэлиса–Ментен:

$$[ES] = [E]_0 * \frac{[S]}{K_m + [S] * \frac{K_I + [I]}{K_I}}$$

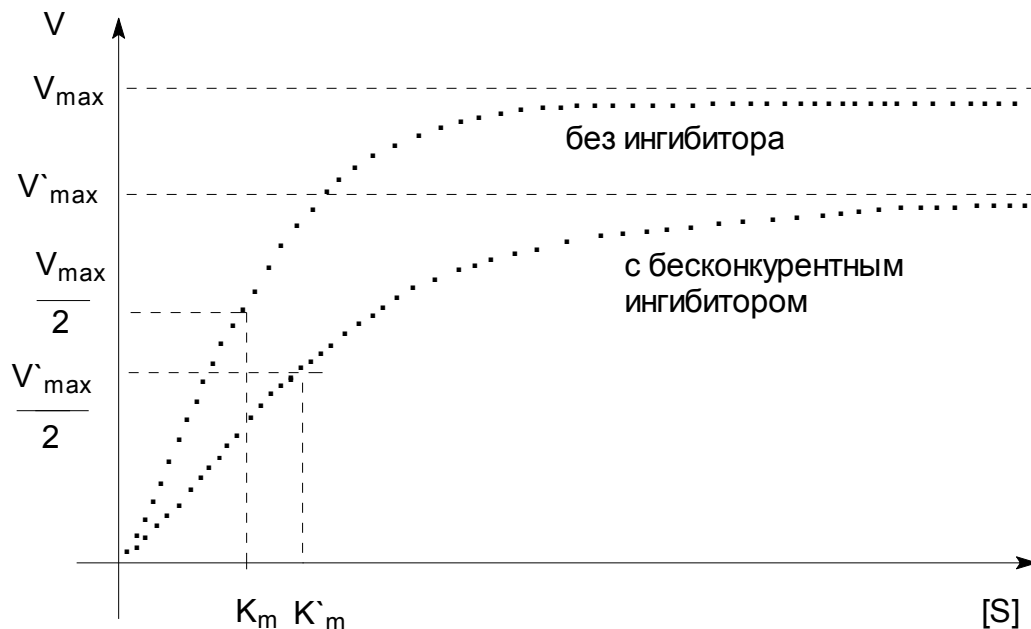
$$[ES] = [E]_0 * \frac{K_I}{[I] + K_I} * \frac{[S]}{K_m * \frac{K_I}{[I] + K_I} + [S]}$$

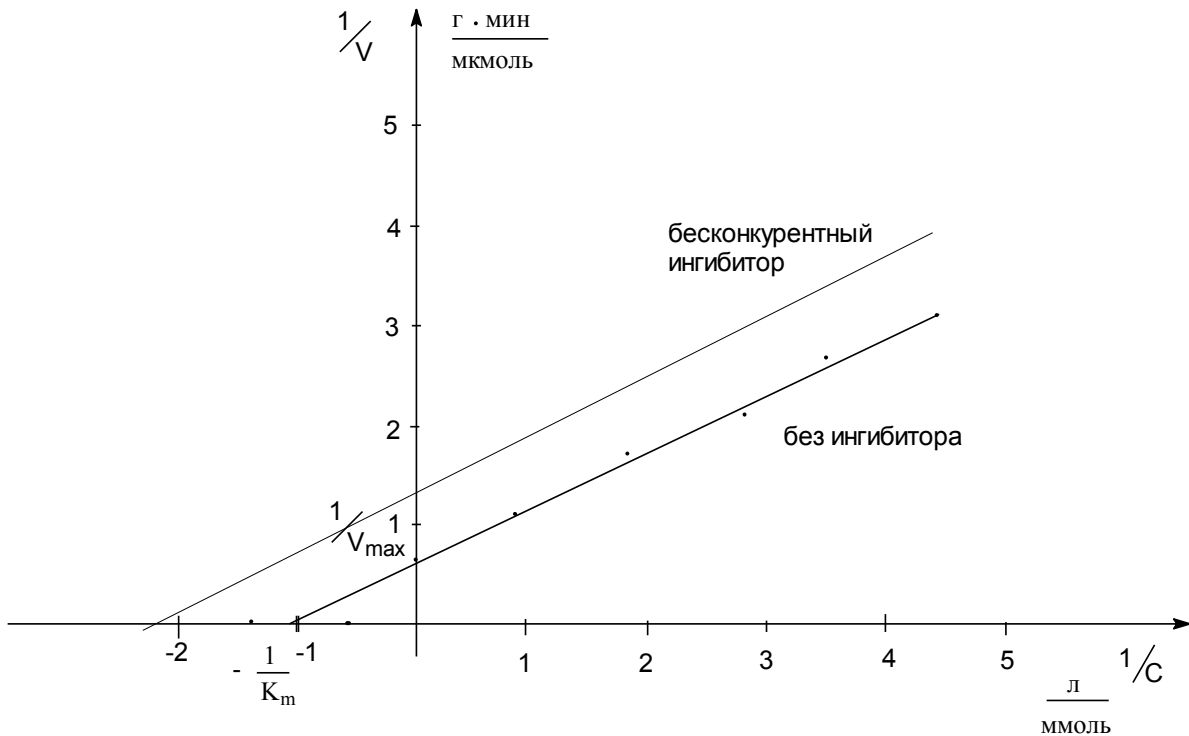
$$V = V_{max} * \frac{K_I}{[I] + K_I} * \frac{[S]}{K_m * \frac{K_I}{[I] + K_I} + [S]}$$

$$V'_{max} = \frac{K_I}{[I] + K_I} * V_{max}$$

$$K_I = \frac{K'_m}{K_m - K'_m} = \frac{V_{max}}{V_{max} - V'_{max}}$$

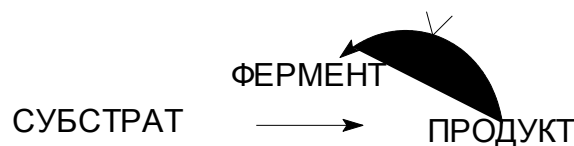
При этом графики зависимости V от [S] в прямых и в обратных координатах будут выглядеть следующим образом:





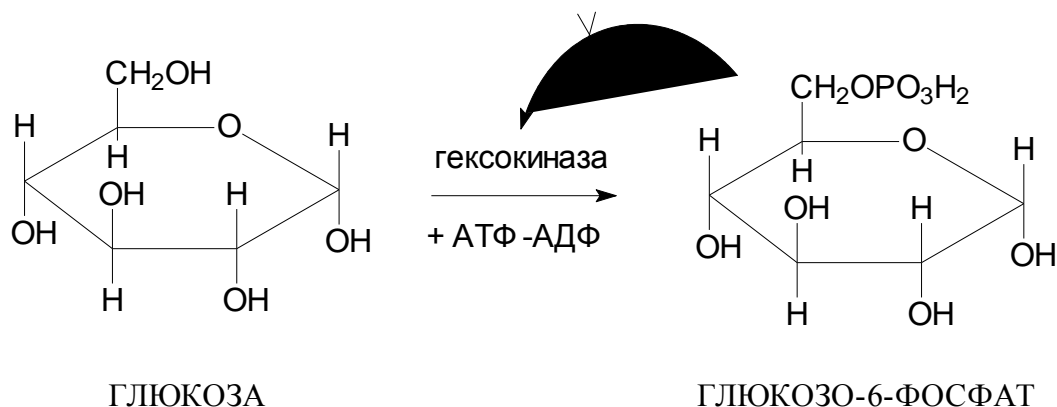
При этом прямые Лайнуивера–Берка идут параллельно, т. к. изменяются как максимальная скорость, так и константа Михаэлиса, причем оба параметра пропорционально уменьшаются и тангенс угла наклона прямой в итоге не изменяется. Уменьшение  $K_m$  говорит об увеличении сродства фермента к субстрату, но это происходит за счет непродуктивного связывания в неактивный комплекс ESI и в итоге скорость уменьшается.

Часто встречается бесконкурентное аллостерическое ингибирование, т. е. связанное с воздействием на регуляторный аллостерический центр фермента, не имеющий отношения к активному центру и часто удаленный от него, но присоединение ингибитора ведет к изменению формы молекулы фермента и ухудшению пространственного соответствия с молекулой субстрата. Часто ингибирование ферментов производят продукты ферментативных реакций, что препятствует синтезу избытка продукта (регуляция по принципу обратной связи):

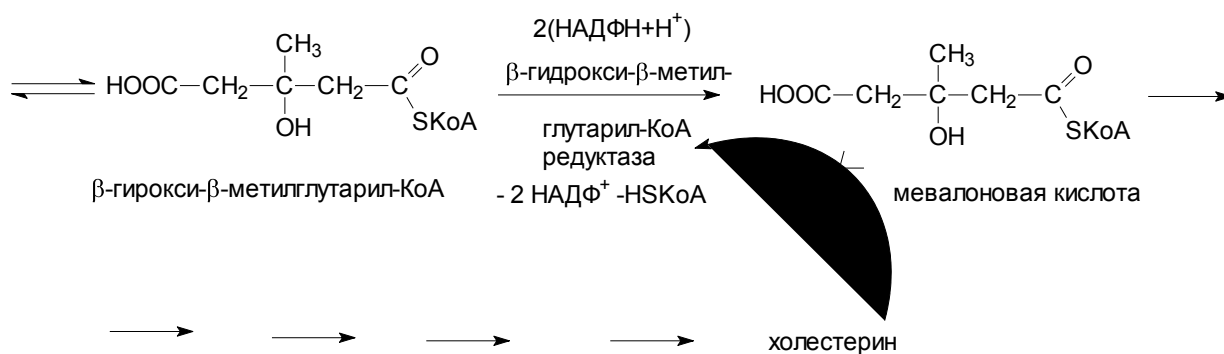




При этом роль ингибитора может играть не обязательно продукт работы данного фермента, как, например, глюкозо-6-фосфат для гексокиназы:



Конечный продукт всей цепочки превращений может подавлять работу первого фермента цепочки или катализирующую лимитирующую (самую медленную) или необратимую стадию цепочки, как, например,  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарилкоэнзим А редуктаза ингибируется холестерином, в синтезе которого играет лимитирующую роль:



Впрочем, кинетические исследования предполагают минимальную степень конверсии субстрата в продукт, чтобы исключить влияние обратимости или ингибирование продуктом, и вид графика Лайнуивера–Берка будет отклоняться от линейности лишь при несоблюдении этого условия и накоплении в смеси существенных количеств продукта.

Иногда может наблюдаться и ингибирование субстратом.



Выразим отсюда [E] и подставим в выражение константы Михаэлиса:

$$\frac{\left([E]_0 - [ES] * \frac{K_I + [S]}{K_I}\right) * [S]}{[ES]} = K_m$$

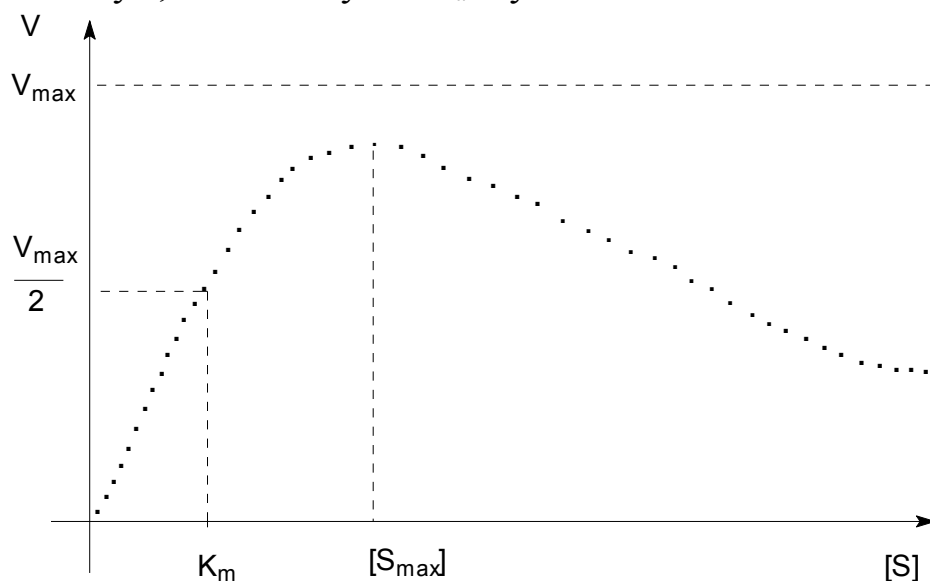
$$[S] * \frac{[E]_0}{[ES]} = K_m + [S] * \frac{K_I + [S]}{K_I}$$

Теперь выразим отсюда [ES] и преобразуем выражение в форму, похожую на уравнение Михаэлиса–Ментен:

$$[ES] = [E]_0 * \frac{[S]}{K_m + [S] * \left(1 + \frac{[S]}{K_I}\right)}$$

$$V = V_{max} * \frac{[S]}{K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_I}}$$

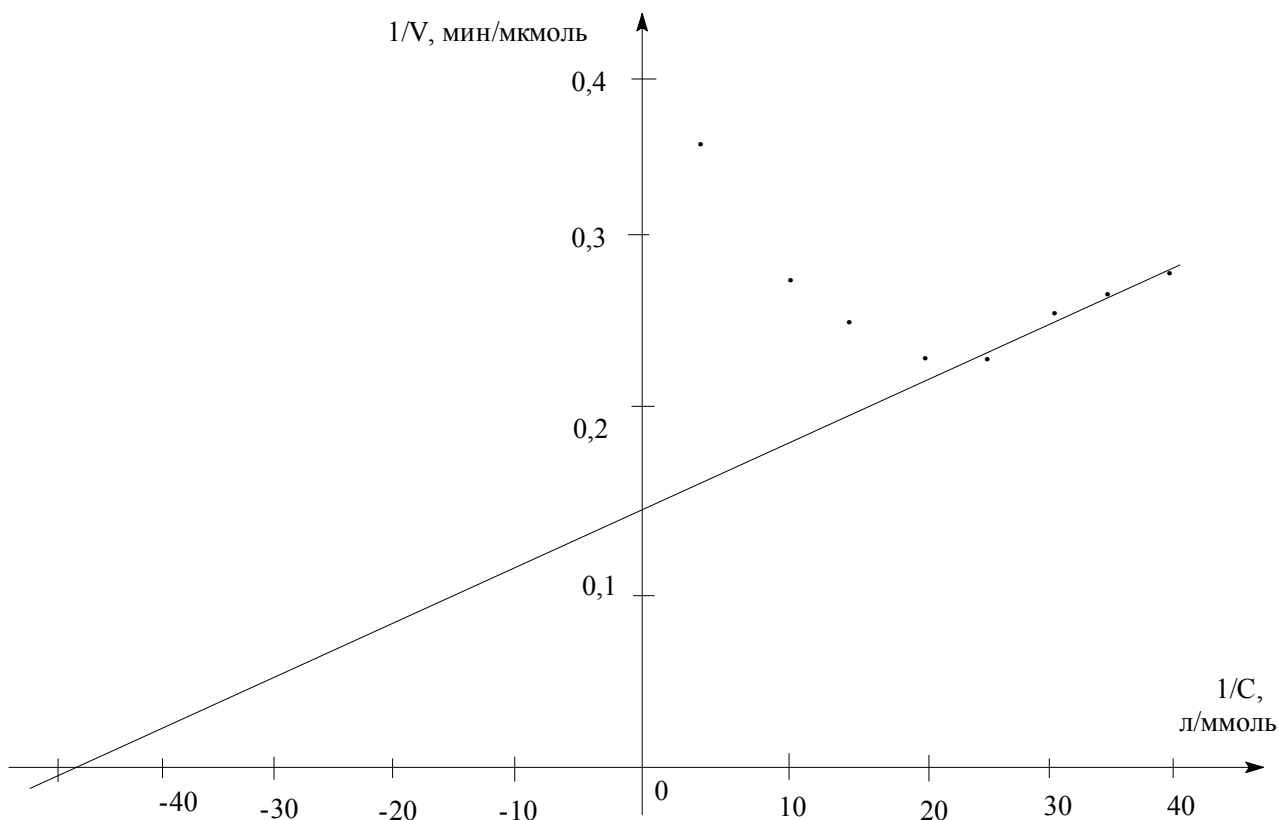
График зависимости в прямых величинах будет в этом случае иметь максимум, а достигнуть  $V_{max}$  будет невозможно:



Тогда уравнение Лайнуивера–Берка будет иметь следующий вид:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} * \left( 1 + \frac{K_m}{[S]} + \frac{[S]}{K_I} \right)$$

При этом на графике Лайнуивера–Берка в области больших концентраций субстрата наблюдается отклонение от линейности, и на графике, как в нашем случае, будет наблюдаться минимум:



Для того, чтобы найти  $[S]$ , соответствующую минимуму, продифференцируем обратную скорость (обозначим ее  $y$ ) по обратной концентрации (обозначим ее  $x$ ). В точке экстремума производная обращается в ноль. Исходя из этого находится концентрация субстрата, при которой кривая имеет минимум  $[S_{min}]$ :

$$\frac{1}{V} = y$$

$$\frac{1}{[S]} = x$$

$$y = \frac{1}{V_{max}} \left( 1 + K_m * x + \frac{1}{x * K_I} \right)$$

$$\frac{dy}{dx} = \frac{1}{V_{max}} \left( K_m * \frac{1}{x^2 * K_I} \right) = \frac{1}{V_{max}} \left( K_m - \frac{[S]^2}{K_I} \right) = 0$$

$$[S_{min}] = \sqrt{K_m * K_I}$$

$$K_I = \frac{[S_{min}]^2}{K_m}$$

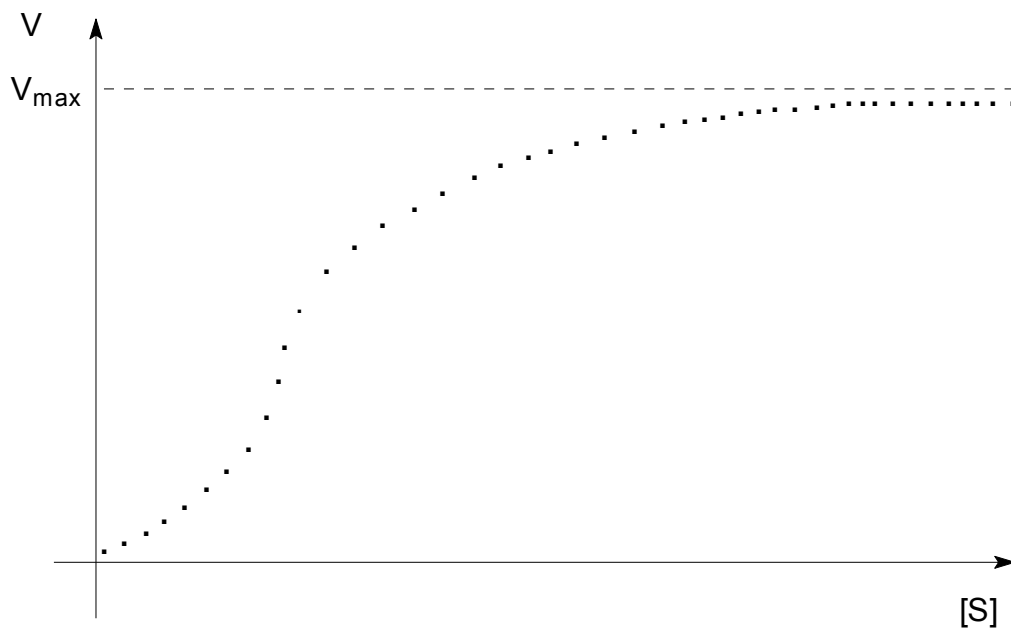
Непосредственно по графику рассчитать  $K_i$  невозможно, т. к. на первом участке кривой зависимость не является линейной. Однако в точке минимума на графике Лайнуивера–Берка производная  $d(1/V)/d(1/[S])$  обращается в ноль. Отсюда следует, что  $K_i = [S_{min}]^2 / K_m$ . Это дает возможность рассчитать константу ингибирования исходя из точки экстремума на графике.

Впрочем, следует заметить, что ингибирование субстратом – нечастое явление, физиологический смысл которого не вполне ясен (как полагают, это может предотвращать чрезмерный синтез биологически активных продуктов при больших концентрациях субстрата).

Кинетические параметры реакции определяются экстраполяцией линейного участка графика в области малых концентраций до пересечения с осями, как и в обычном случае.

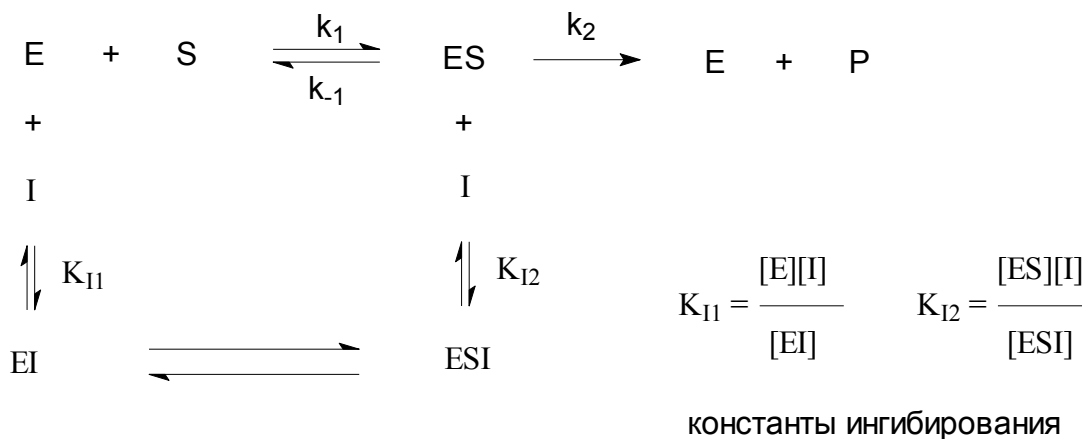
Иногда наблюдается наоборот активация субстратом. Обычно это бывает для ферментов, содержащих несколько активных центров (например, НАД-зависимые лактатдегидрогеназа и алкогольдегидро-

геназа дрожжей состоят из четырех субъединиц с четырьмя активными центрами). Тогда присоединение первой молекулы субстрата облегчает присоединение второй и т. д. (так называемый кооперативный эффект, подобный присоединению кислорода к гемоглобину, содержащему четыре гема). В этом случае на графике в прямых координатах наблюдается S-образная зависимость, похожая на кривую диссоциации оксигемоглобина:



## СМЕШАННОЕ (MIXED) ИНГИБИРОВАНИЕ

Нередко наблюдается смешанное (mixed) ингибирование, когда ингибитор взаимодействует и с самим ферментом, и с фермент-субстратным комплексом. При этом константы диссоциации (ингибирования) обоих комплексов вообще говоря могут и не совпадать. Это описывается следующей кинетической схемой:



Сделаем вывод уравнения Михаэлиса–Ментен для этого случая:

$$K_{I1} = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$K_{I2} = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

$$V = k_2[ES]$$

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

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

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

Запишем уравнение материального баланса по ферменту, в котором в данном случае будет четыре слагаемых:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EI] + [EIS] = [E] * \left(1 + \frac{[I]}{K_{I1}}\right) + [ES] * \left(1 + \frac{[I]}{K_{I2}}\right)$$

Выразим отсюда  $[E]$  и подставим в выражение константы Михаэлиса:

$$[E]_0 * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}} = [E] + [ES] * \frac{K_{I2} + [I]}{K_{I2}} * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}}$$

$$\frac{\left( [E]_0 * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}} - [ES] * \frac{K_{I2} + [I]}{K_{I2}} * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}} \right) * [S]}{[ES]} = K_m$$

$$[S] * \frac{[E]_0}{[ES]} * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}} = K_m + [S] * \frac{K_{I2} + [I]}{K_{I2}} * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}}$$

Теперь выразим отсюда  $[ES]$  и преобразуем выражение в форму, похожую на уравнение Михаэлиса–Ментен:

$$[ES] = [E]_0 * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}} * \frac{[S]}{K_m + [S] * \frac{K_{I2} + [I]}{K_{I2}} * \frac{K_{I1}}{[I] + K_{I1}}}$$

$$[ES] = [E]_0 * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} * \frac{[S]}{K_m * \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + [S]}$$

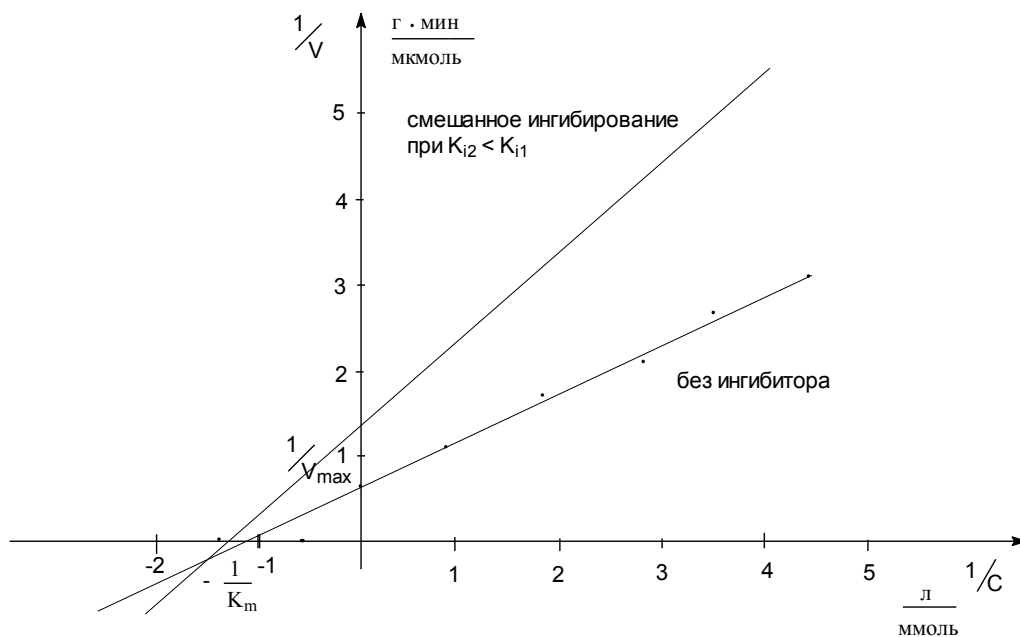
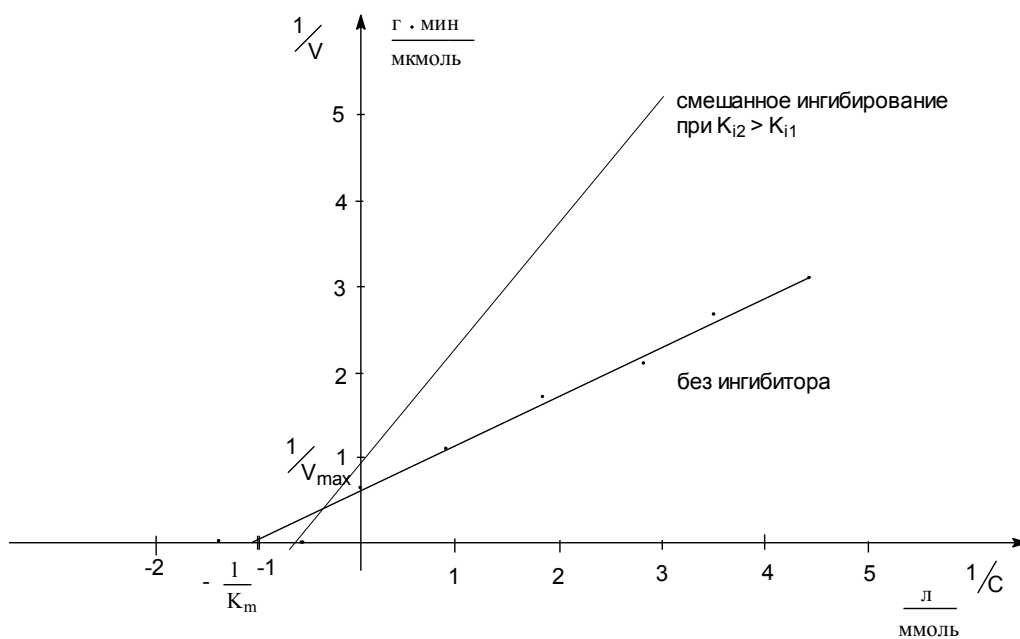
$$V = V_{max} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} * \frac{[S]}{K_m * \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + [S]}$$

$$V'_{max} = \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} * V_{max}$$

$$K'_m = \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} * K_m$$



Отсюда видно, что и  $K_M$  и  $V_{max}$  изменяются, но в неодинаковой степени, поэтому прямые не будут параллельными, а точка их пересечения будет зависеть от соотношения констант ингибирования. Если связывание с ферментом более прочное, то  $K_m$  увеличивается и прямые будут пересекаться в 4 квадранте, а если более прочное связывание с фермент-субстратным комплексом, то  $K_M$  уменьшается (как при бесконкурентном ингибировании) и прямые пересекутся в 3 квадранте:



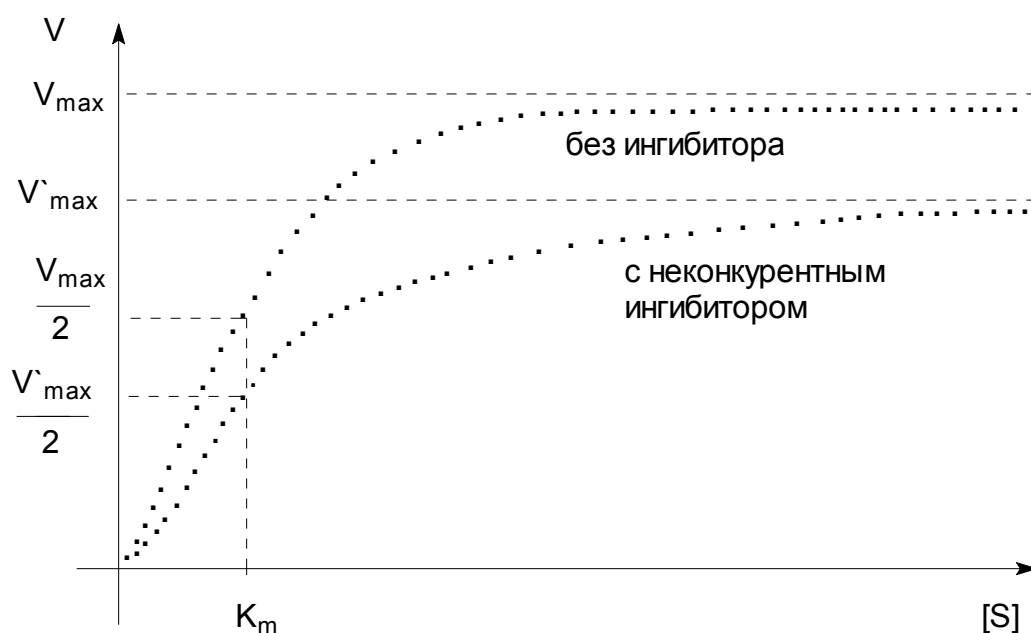
Если же константы ингибирования численно совпадают, то полученное выражение значительно упрощается:

$$V = V_{max} * \frac{K_I}{[I] + K_I} * \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

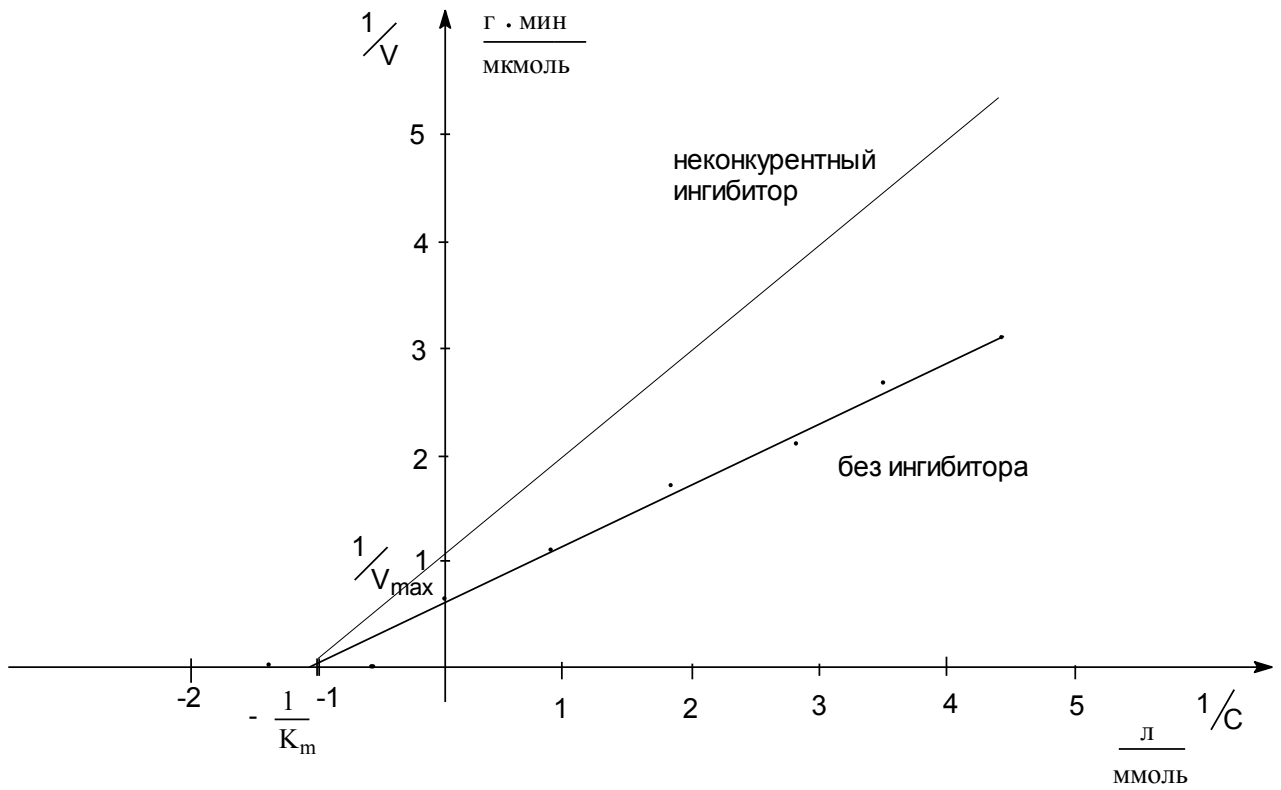
$$V'_{max} = \frac{K_I}{[I] + K_I} * V_{max}$$

$$K_I = \frac{V'_{max}}{V_{max} - V'_{max}} * [I]$$

В прямых координатах зависимость величин будет такая:



Видно, что  $K_m$  при этом не изменится, т. е. прямые Лайнуивера–Берка пересекутся на оси абсцисс. Такой вариант ингибирования называется неконкурентным (noncompetitive):



Таким образом, неконкурентное ингибирование – частный случай смешанного при численном совпадении обоих констант ингибирования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Кудряшова Н.В., Алексеев П.В., Халимская Л.М.** Ферментативная кинетика: Учеб. пособие. – Изд-во Новосиб. гос. ун-та. – Новосибирск, 2007. – 36 с.
2. **Плакунов В.К.** Основы энзимологии. – М.: Логос, 2002. – 128 с.
3. **Варфоломеев С.Д.** Химическая энзимология: Учеб. – М.: Изд. центр «Академия», 2005. – 480 с.
4. Биохимия с упражнениями и задачами: Учеб. для вузов / Под ред. Е.С. Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 384 с.
5. **Комов В.П., Шведова В.Н.** Биохимия. 3-е изд. – М.: Дрофа, 2008. – 638 с.
6. **Николаев А.Я.** Биологическая химия. 3-е изд. – М.: Мед. информ. агентство, 2004. – 566 с.
7. Биохимия: Учеб. / Под ред. Е.С. Северина. 4-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 784 с.
8. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. Е.С. Северина, А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2001. – 448 с.
9. **Щербак И.Г.** Биологическая химия: Учеб. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2005. – 480 с.
10. **Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.** Биологическая химия: Учеб. 3-е изд. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
11. **Кнорре Д.Г., Мызина С.Д.** Биологическая химия: Учеб. для хим., биол. и мед. спец. вузов. 2-е изд. – М.: Высш. шк., 1998. – 479 с.
12. **Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У.** и др. Справочник биохимика / Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ.....	6
ИНГИБИТОРЫ.....	10
КОНКУРЕНТНЫЕ (СОМРЕТИТИВЕ) ИНГИБИТОРЫ.....	10
БЕСКОНКУРЕНТНЫЕ (UNСОМРЕТИТИВЕ) ИНГИБИТОРЫ.....	13
СМЕШАННОЕ (MIXED) ИНГИБИРОВАНИЕ.....	22
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	28

Бландов Александр Николаевич

# КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

## Учебно-методическое пособие

*Ответственный редактор*

Т.Г. Смирнова

*Титульный редактор*

Р.А. Сафарова

*Компьютерная верстка*

Н.В. Гуральник

*Дизайн обложки*

Н.А. Потехина

*Печатается*

*в авторской редакции*

---

Подписано в печать 25.12.2015. Формат 60×84 1/16

Усл. печ. л. 1,86. Печ. л. 2,0. Уч.-изд. л. 1,69

Тираж 50 экз. Заказ № С 112

---

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс  
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9