

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы, Михаэлис Ментен теңдеуі

**Км және V тах анықтау әдістері (Лайнуивер Берк, Иди-
Хофсты, Вульф-Хейнс)**

***Лектор: қауымдастырылған профессор, химия
ғылымдарының кандидаты Түсюпова Бакыт
Баймуратовна***

Дәрістің жоспары:

1. Ферменттілік реакциялардың кинетикасы.
Михаэлис-Ментен теңдеуі
2. K_m , V_{max} -ды анықтау әдістері
3. Фермент концентрациясының және субстрат
концентрациясының ферменттілік реакция
жылдамдығына әсері
4. Температураның ферменттілік реакция
жылдамдығына әсері
5. Ортаның рН-ның ферменттілік реакция
жылдамдығына әсері

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы деп ферменттің әсерімен жүзеге асатын химиялық реакцияның **жүру жылдамдығын** айтады.

Кинетикалық зерттеудің ең басты мақсаты — химиялық реакция жылдамдығының басқа параметрлерге, мысалы, субстраттың және басқа факторларға тәуелділігін анықтау.

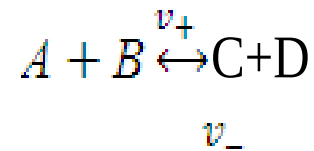
Реакция молекулалығы. Ол реакцияның элементарлық актісіне қатысатын молекулалардың саны. Молекулалардың санына қарай реакцияларды мономолекулалық, биомолекулалық және үшмолекулалық деп бөледі. Мономолекулалық реакция – бұл элементарлық актіге бір молекула қатысатын реакция, биомолекулалық реакцияларда екі молекула өзара әрекеттеседі, үшмолекулалық реакция – үш молекула өзара әрекеттесетін реакция.

Реакцияның реттілігі реакцияның кинетикалық сипаттамасының бірі. Реакцияның реттілігі кинетикалық теңдеуге кіретін концентрациялардың дәреже көрсеткіштерінің қосындысына тең. Әдетте ол реакцияның жалпы реттілігі және берілген зат бойынша реттілігі болып екіге бөлінеді. Реакция реттілігі бойынша нөлінші, бірінші реттілікті, екінші реттілікті, үшінші реттілікті деп бөлінеді.

Ферменттілік реакцияның жылдамдығына әсер ететін факторлар:

- Ферменттілік реакцияның жылдамдығы химиялық реакциялардың жылдамдықтары сияқты ең алдымен реакцияға түсетін заттардың **табиғатына** байланысты болады
- ферменттің өзінің **концентрациясына** және реакцияға түсетін заттардың **концентрацияларына** тәуелді болады.
- **температураның** тәуелді болады — маңызды факторлардың бірі. Ферменттілік реакция жылдамдығы температура артқанда өседі, алайда ол өсу белгілі бір шекке дейін ғана, өйткені белгілі бір температурадан бастап белоктың бұзылуы басталып, оның табиғисыздануы болады.
- **Коферменттермен** қатар көптеген ферменттердің құрамында кейбір металдар да болады. Ендеше олардың да концентрациясы ферменттілік реакция жылдамдығына әсер етеді.
- Ферменттілік реакция жылдамдығына сондай-ақ **pH** та айтарлықтай әсер етеді.
- Ферменттілік реакция жылдамдықтарына жасушада немесе ерітіндіде ферменттердің әртүрлі белсендіргіштері **активаторлары** мен **бәсеңдеткіштер**дің болуы да әсер етеді.

Ферментативтік реакция реакцияға қатысатын заттардың концентрациясына тура пропорционал болады. Егер мынадай реакцияны қарастырсақ:



$$v_{+l} = K_{+l} [A][B]$$

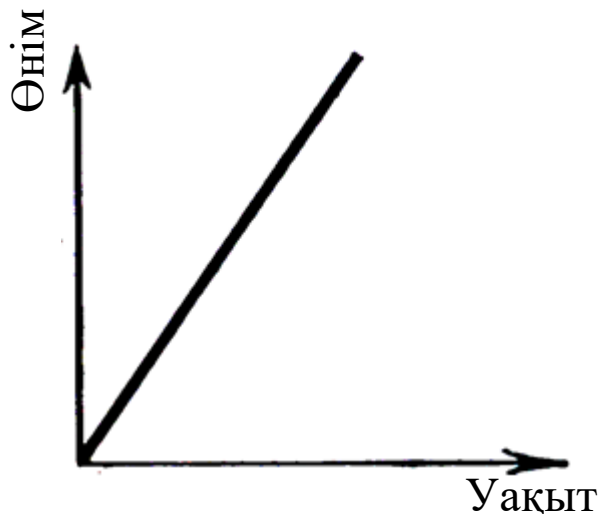
$$v_{-l} = K_{-l} [C][D]$$

Егер химиялық тепе-теңдікте:

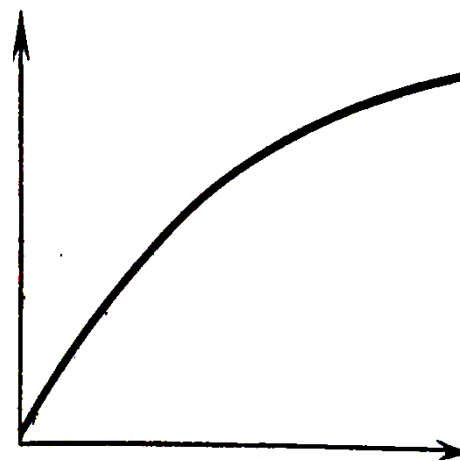
$$K_{+l} [A][B] = K_{-l} [C][D]$$

$$\frac{K_{+l}}{K_{-l}} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$$\frac{K_{+l}}{K_{-l}} = K_{eq}$$



1-сурет. Нөлдік реттілікті графиктік көрінісі



2-сурет. Бірінші реттілікті реакцияның графиктік көрінісі

Нөліншы реттілікті реакция:

$$K_0 = \frac{dx}{dt}$$

Бірінші реттілікті ферменттілік реакциясында:

$$\frac{dx}{dt} = K(A - x)$$

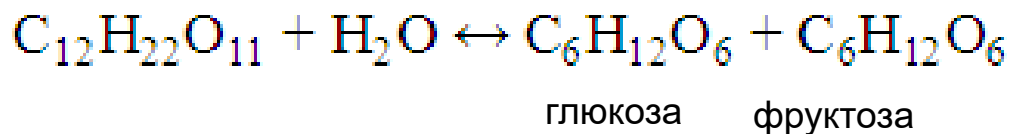
мұндағы: A – субстраттың бастапқы концентрациясы, x – субстраттың түрленген бөлігінің концентрациясы. Сонда $(A - X)$ – субстраттың әрбір уақытындағы (уақыттың әр сәтіндегі) концентрациясы болады.

Екінші реттілікті ферменттілік реакцияда реакция жылдамдығы реакцияға түсетін заттардың концентрациясының көбейтіндісіне тура пропорционалды түрде сипатталады:

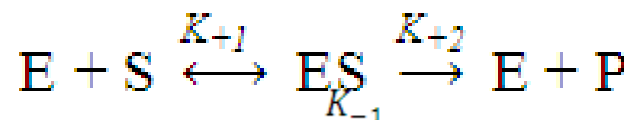
$$v = K [A][B]$$

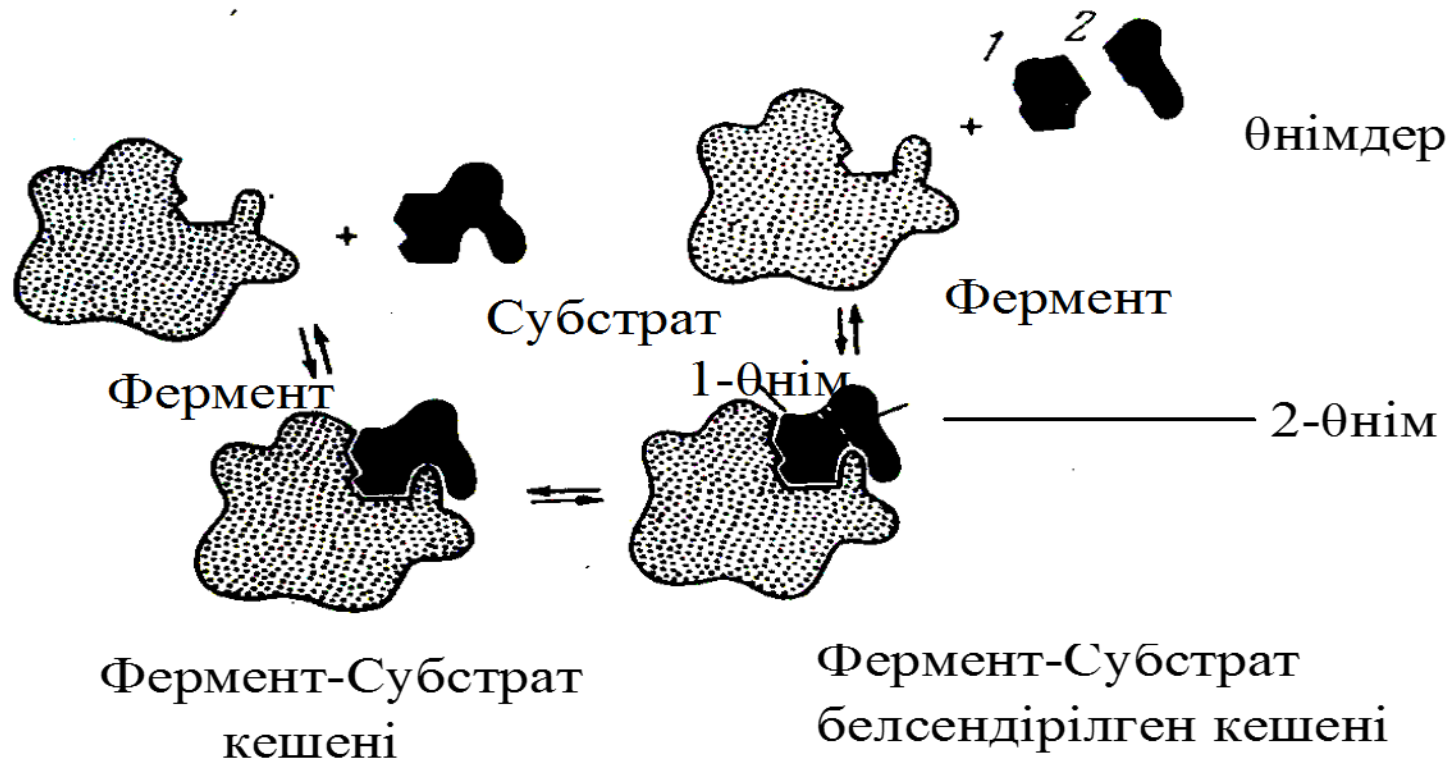
Екінші реттілікті реакцияларға функциялық топтарды тасымалдаудың барлық реакциялары жатады, мысалы, қайта аминдеу реакциялары, сондай-ақ тотығу-тотықсыздану реакциялары жатады.

Екінші реттілікті реакциялардың бірін біз бұрын қарастырғанбыз. Ол – сахарозаның β -фруктофуранозидаза әсерінен гидролиздену реакциясы:



Олар мынадай теңдеуді негізге алып, одан әрі дамытты:





3-сурет. Ферменттің субстратпен әрекеттесуі

Фермент-субстрат кешені диссоциациялана алады деп былай жазуға болады:

$$K_s = \frac{K_{-1}}{K_{+1}}$$

K_s - кешеннің диссоциациялану константасы

Ендеше, [ES] өрнегі неғұрлым көп болса, соғұрлым берілген ферменттілік реакция жылдамдығы көп болады. $[ES] = [E_0]$ болғанда болады. Ендеше максималды жылдамдық барлық фермент фермент-субстрат кешеніне еніп, онымен толық контактіде болады. Мынадай тәуелділікті жазуға болады:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{[ES]}{[E_0]}$$

Яғни берілген реакция жылдамдығының максималды жылдамдыққа қатынасы ол мынаған тең:

$$\frac{[ES]}{[E_0]} = \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

Ендеше:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

$$v = v_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

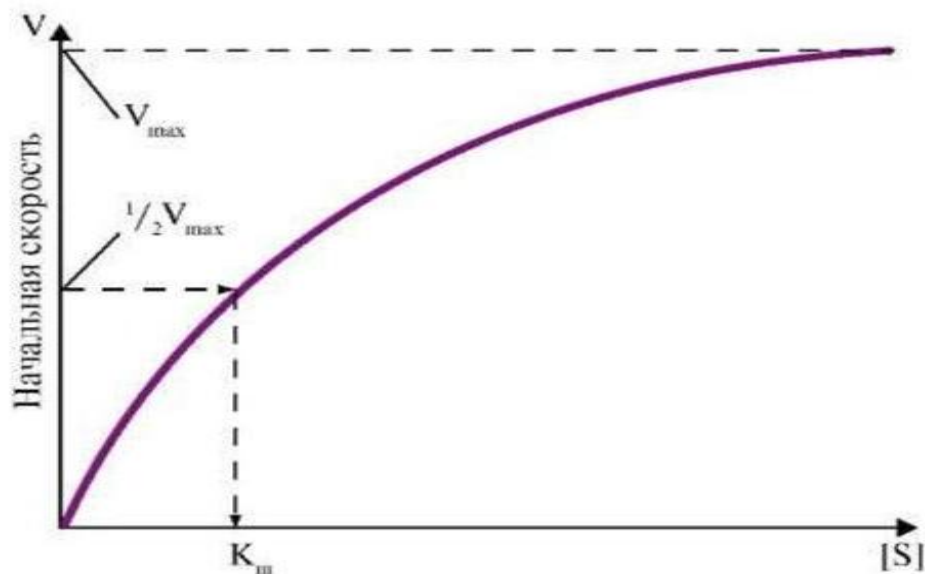
Михаэлис-Ментен теңдеуі:

$$v = V \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

Егер субстрат концентрациясы аз болса :

$$v = V \frac{[S]}{K_s}$$

:



4-сурет. Ферменттілік реакция жылдамдығының (v) субстрат концентрациясына (S) тәуелділігі

Михаэлис теңдеуінің 3 мүмкін шешімі бар:

- 1. $[S] > K_m \rightarrow V = V_{\max} \cdot [S] / [S] = V_{\max}$**
- 2. $K_m > [S] \rightarrow V = V_{\max} \cdot [S] / K_m = K_1 [S]$**
- 3. $[S] = K_m \rightarrow V = V_{\max} \cdot [S] / ([S] + [S]) = V_{\max} / 2$**

K_m , V_{max} -ды анықтау әдістері

Ыңғайлырақ болу үшін Михаэлис-Ментен теңдеуін *Лайнуивер мен Берк* сызықтық түрге түрлендірді. Егер екі шама өзара тең болса, онда олардың кері шамалары да тең деген принцип негізінде Лайнуивер мен Берк *қос кері шама әдісін* ұсынды. Ол әдіс бойынша Михаэлис-Ментен теңдеуі былай жазылады:

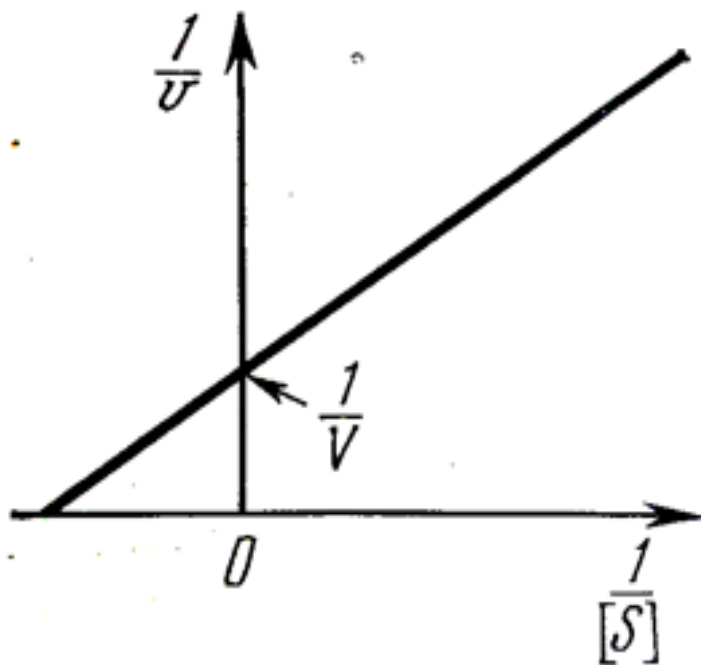
$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \cdot \frac{[S]}{K_s + [S]} \text{ немесе } \frac{1}{v} = \frac{1}{V} \cdot \left(\frac{K_s}{[S]} + 1 \right)$$

Бұл теңдеуді басқаша былайша жазуға болады:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_s}{V} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

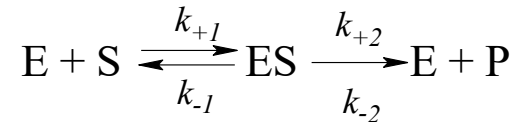
Сонымен бұл теңдеу қос кері шама әдісімен түрленген Михаэлис-Ментен теңдеуі, яғни *Лайнуивер-Берк теңдеуі*.

Лайнуивер-Берк теңдеуін графикалық түрде көрсетсек суреттегідей болады



5-сурет. Ферменттілік реакция жылдамдығының субстрат концентрациясына тәуелділігін Лайнуивер-Берк бойынша өрнектеу

Ферменттілік реакцияның жүрісін дұрысырақ жазу үшін, оны былай көрсетуге болады:



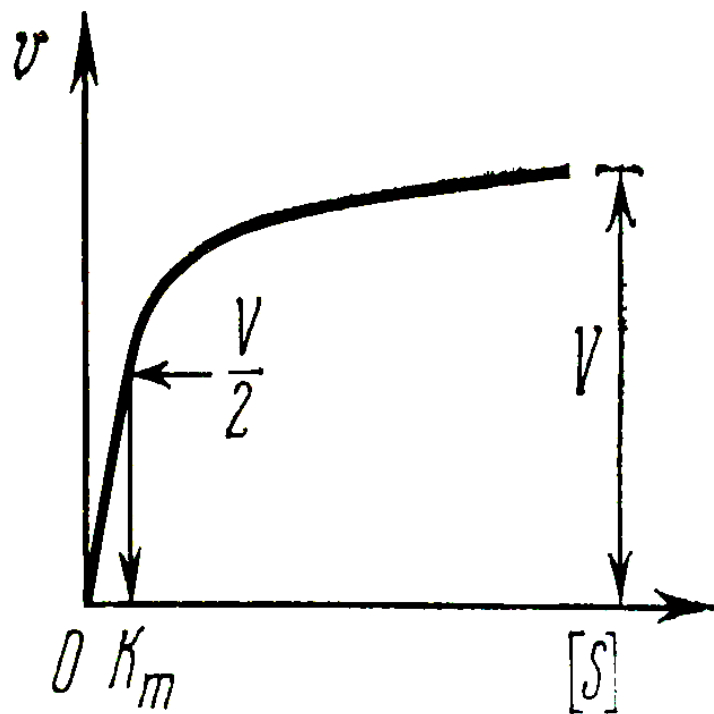
Осыған байланысты, реакция өнімінің әсерін еске алатын бірқатар жетілген теңдеулер ұсынылды. Соның бірі *Д.Холбдейн мен Д.Бриггс теңдеуі*. Ол былай жазылады:

$$v = V \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

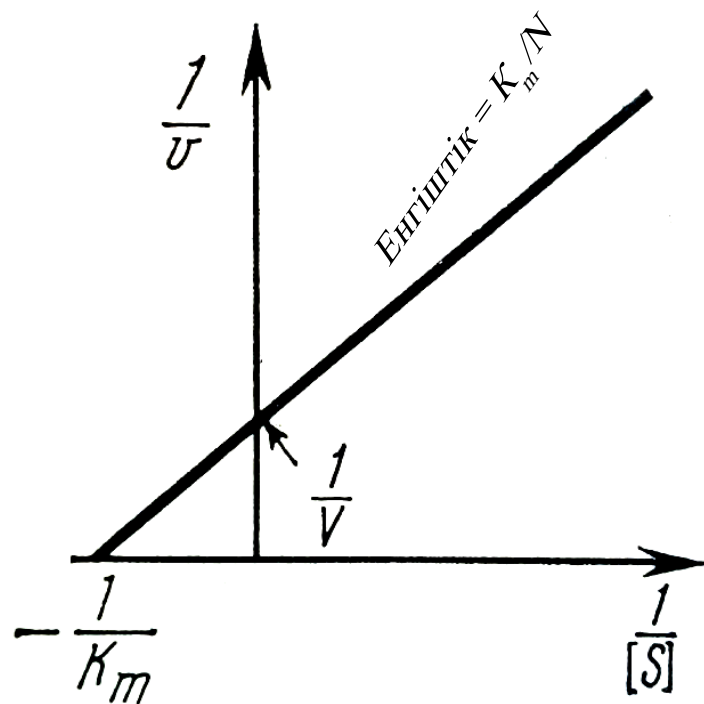
Мұндағы K_m – Михаэлис константасы.

Михаэлис константасының энзимологиядағы маңызы зор және ол берілген ферменттің маңызды сипаттамасы болып табылады. Михаэлис-Ментеннің классикалық теңдеуінде дұрысында фермент-субстрат қосылысының диссоциациялану константасы былай жазылуы тиіс:

$$K_m = \frac{K_{-1} + K_{+2}}{K_{+1}}$$

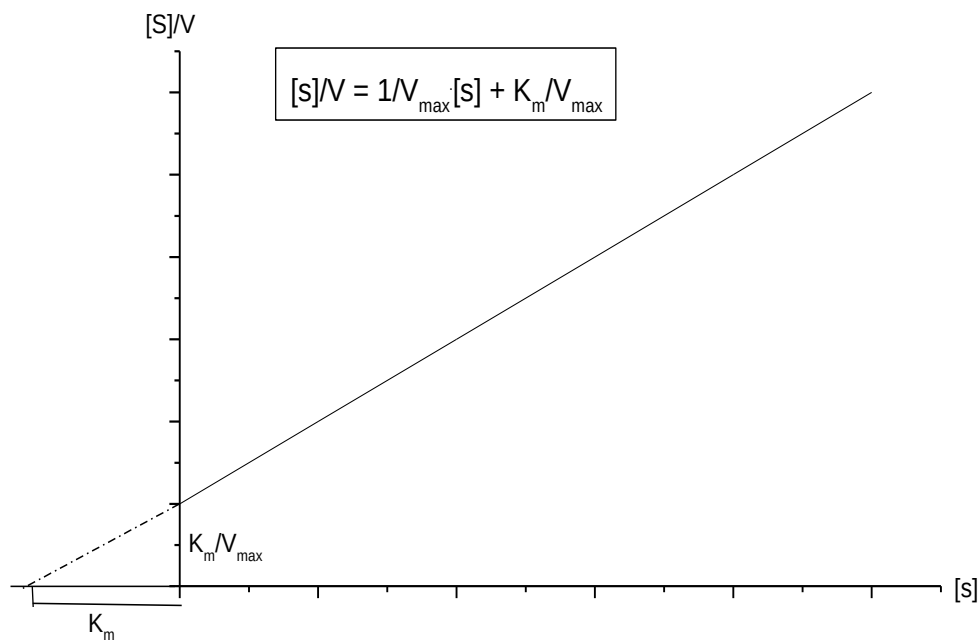


6-сурет K_m -ді график түрінде көрсету



7-сурет. K_m -ді-Лайнуивер Берктің қос кері шама әдісі арқылы график түрінде табу

Иди-Хофсти әдісі. Теңдеуді мына түрге келтіріп $v = V - K_m V / [S]$ Иди-Хофсти графигін тұрғызады.

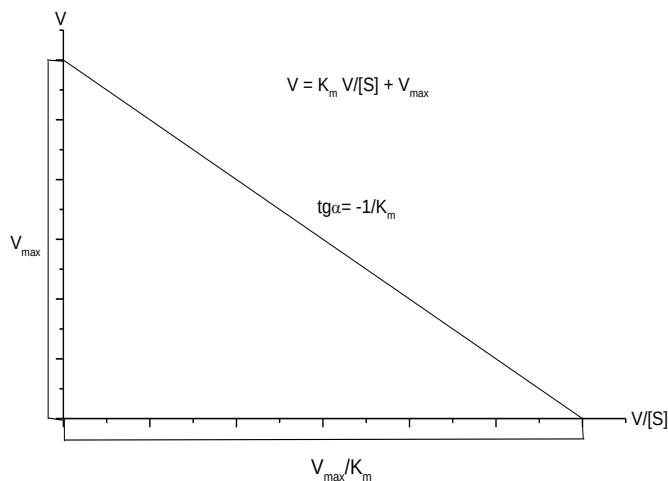


8-сурет. k_m мен V -ны Иди-Хофсти теңдеуі арқылы график түрінде табу

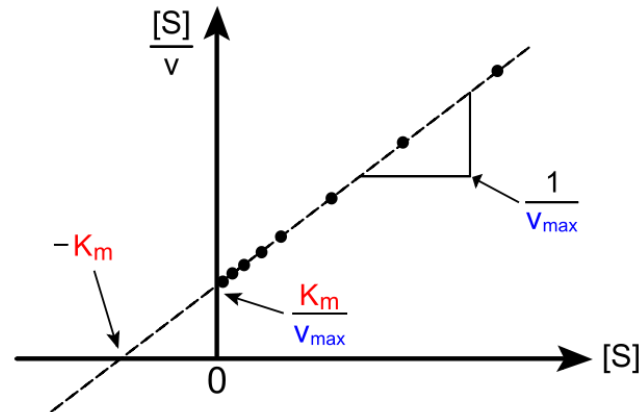
Вульф-Хейнс әдісі бойынша анықтау. Вульф пен Хейнс басқадай сызықтық теңдеу алған:

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

Одан да берілгендерді Вульф-Хейнс $[S]/v$, $[S]$ сәйкесті координаттарға салып, K_m мен V -ны табуға болатынын көрсеткен.

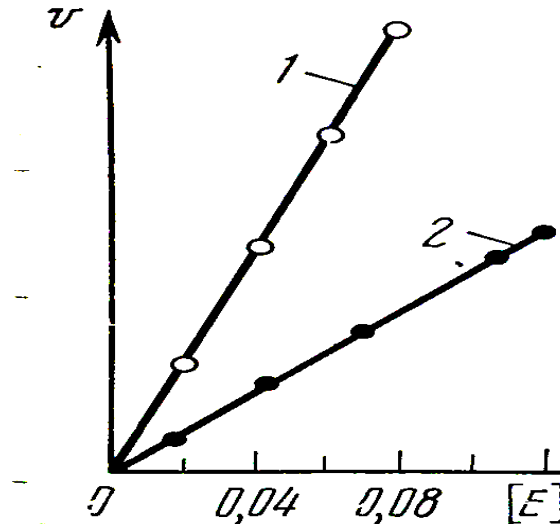


9-сурет. k_m мен V -ны Вульф-Хейнс теңдеуі арқылы график түрінде табу



Фермент концентрациясының және субстрат концентрациясының ферменттілік реакция жылдамдығына әсері

Субстрат артық мөлшерде болғанда ферменттілік реакция жылдамдығы ең алдымен фермент концентрациясына тәуелді болады. Ендеше, $v = k[E]$ деп жазуымызға болады, мұндағы $[E]$ – ферменттің концентрациясы. Бұл тәуелділікті график түрінде көрсетсек, онда көптеген ферменттер үшін 10-суреттегідей түзу сызықты тәуелділік аламыз.



10-сурет. $[E]$ ферментінің концентрациясының реакция жылдамдығына (v) әсері: 1 – аспартат – аммиак-лиаза; 2 – фумарат-гидратаза; абсцисса осімен – фермент концентрациясы, мл-мен; ордината осімен – реакция жылдамдығы (200 нм 1 мин кезіндегі оптикалық тығыздықтың өзгеруі)

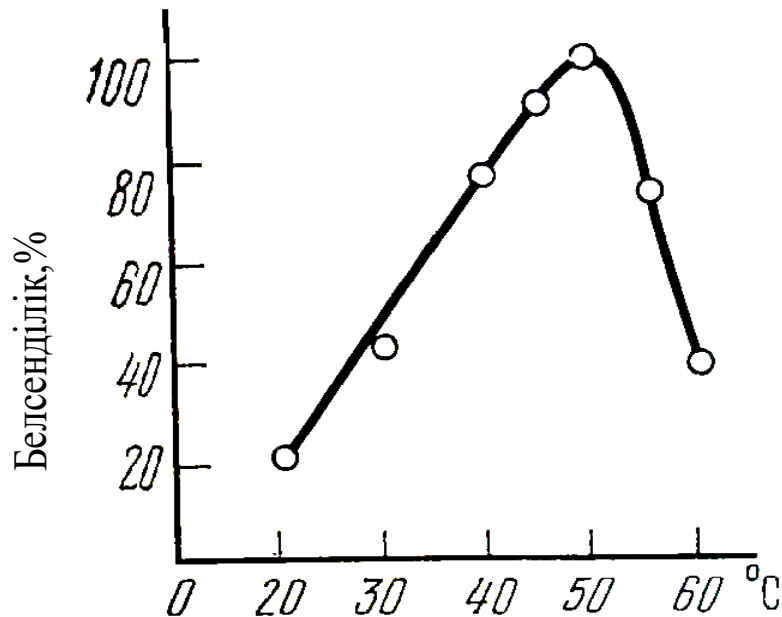
Кейбір жағдайларда 10-суреттегідей ауытқып, яғни түзу сызықты тәуелділік болмауы мүмкін. Ол әр түрлі факторлардан: бәсеңдеткіш немесе диффузиясының бояуларынан және т.б. болуы мүмкін.

Температураның ферменттілік реакция жылдамдығына әсері

Ферменттің белсенділігіне температураның әсерін сипаттайтын қисықтың жалпы көрінісін 11-суреттегідей етіп көрсетуге болады.

Абцисса осіне температура, ал ордината осіне бидай дәнінің глютоматдегидрогеназасының белсенділігі салынған.

Суреттегі қисықтан фермент әсерінің оңтайлығын (оптимумы) қарастырған жағдайда 50°C екені көрініп тұр. Бұл температура берілген ферменттің әсері үшін *оңтайлы (оптималды) температура* деп аталады.



11-сурет. Температураның фермент белсенділігіне әсері

Аррениус теңдеуін оған температуралық коэффициентті қойып, түрлендіріп мынаны алуға болады:

$$E = \frac{RT^2 \ln Q_{10}}{10}$$

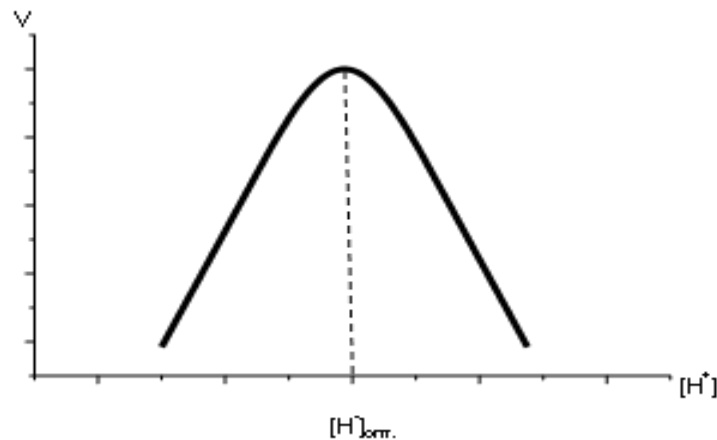
Бұл өрнек Q_{10} мәнін анықтау арқылы берілген ферменттілік реакцияның белсендіру энергиясын анықтауға мүмкіндік береді.

Температуралық коэффициент ферменттілік реакциялар үшін $Q_{10}=1-2$ тең болса, химиялық реакциялар үшін $Q_{10}=2-3$ (Вант-Гофф коэффициенті) болады.

Температураның химиялық реакцияның жылдамдығына әсерін сипаттау үшін температуралық коэффициентті (Q_{10}) пайдаланады. Ол температураны 10 градусқа арттырғанда берілген реакция қаншалықты жылдамданатынын көрсетеді.

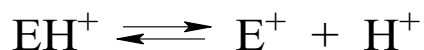
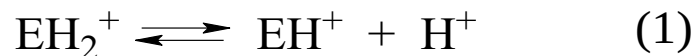
Ортаның рН-ның ферменттілік реакция кинетикасына әсері

Ферменттерді зерттеудің алғашқы кезеңдерінің өзінде-ақ ферменттердің белсенділігі $[H^+]$ -ға , яғни рН-қа тәуелді екені белгілі болды. Ол тәуелділік белгілі бір рН-та максимум болатын өркеш тәрізді болып өрнектеледі.

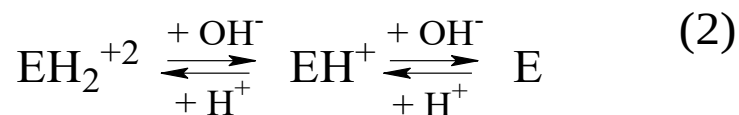


12-сурет. V-ның $[H^+]$ -ке тәуелділігі

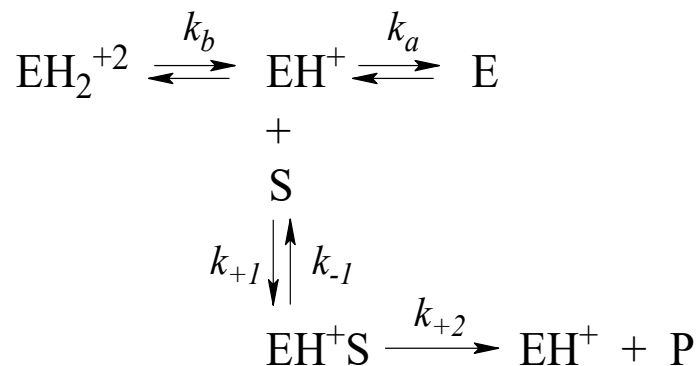
Белсенді орталықтың ионогенді топтары қатысатын ферментілік реакцияның қарапайым механизмін қарастырайық. Егер ферменттің субстратпен реакцияға қабілетті белсенді орталығын EH^+ деп белгілесек, ал субстратпен реакцияға бейім емес орталықтарды EH_2^+ деп белгілесек, онда жүйе қышқылды-негіздік тепе-теңдіктің қарапайым сұлбасымен сипатталуы мүмкін:



Бұл кезде ерітіндіде ферменттің екі белсенді емес (EH_2^{+2} және E) және бір белсенді түрі (EH^+) болады. Ортаның рН-ның жүйенің тепе-теңдігіне әсері мынадай 5.2-сұлба бойынша өрнектелуі мүмкін:



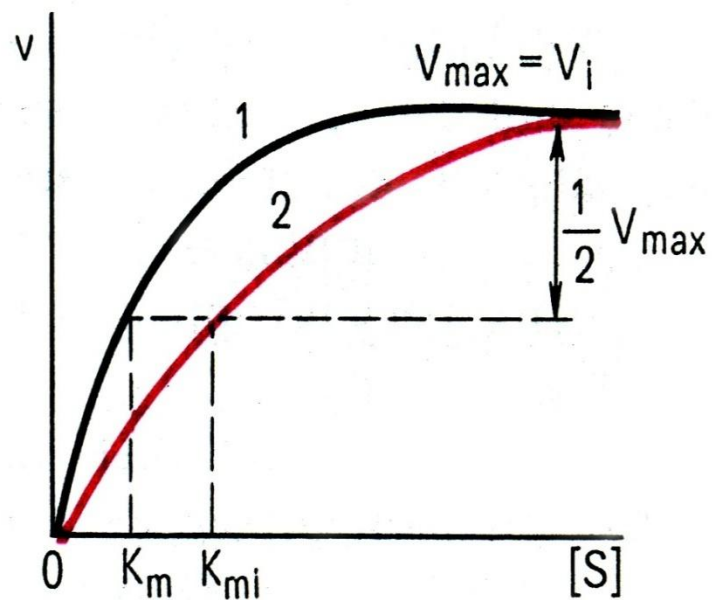
Ферменттің белсенді және белсенді емес формаларының тепе-теңдік концентрацияларымен сипатталатын жүйеде механизмі қарапайым төмендегідей ферменттілік реакция жүрсін



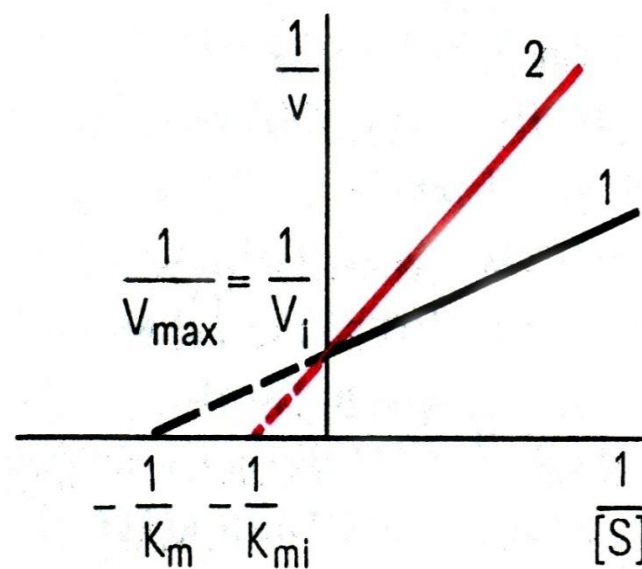
$$\frac{V'_{max}}{V'} = 1 + \frac{K'_a}{[\text{H}^+]} + \frac{[\text{H}^+]}{K'_b}$$

Оны K'_a және K'_b шамаларын анықтау үшін пайдалану ешқандай түсіндіруді қажет етейді. Лейдгер әр түрлі ферменттілік реакциялардың V_{max} , V , K_m шамаларының рН-қа тәуелділік теңдеуін ұсынды.

Бұндағы V' - V'_{max} $[\text{H}^+]$ -қа тәуелділігінің реакция жылдамдығы және максималды жылдамдық



a



b

ҚОРЫТЫНДЫ:

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы мен Михаэлис-Ментен теңдеуі — ферменттердің әрекет ету жылдамдығын сандық түрде сипаттайтын маңызды ұғым. Бұл модель фермент пен субстрат арасындағы әрекеттесуді сипаттайды және реакция жылдамдығы субстрат концентрациясына қалай тәуелді екенін көрсетеді. Михаэлис-Ментен теңдеуі арқылы ферменттің тиімділігі мен аффинділігі (байланысу қабілеті) бағаланады. Бұл теңдеудің көмегімен $V_{\max}$ (максималды жылдамдық) және K_m (Михаэлис тұрақтысы) сияқты маңызды кинетикалық параметрлер анықталады. Олар ферменттің биологиялық белсенділігін түсінуге, дәрілік заттардың әсерін болжауға және биохимиялық реакцияларды басқаруға мүмкіндік береді.

Пысықтау сұрақтары:

1. Ферменттік реакциялардың кинетикасы нені сипаттайды?
2. Михаэлис-Ментен теңдеуі қандай мақсатта қолданылады?
Михаэлис тұрақтысы (K_m) нені білдіреді?
3. Реакция жылдамдығы субстрат концентрациясына қалай тәуелді?
4. V_{max} ұғымына анықтама беріңіз. K_m мәні аз және көп болған жағдайда фермент пен субстрат арасындағы байланыс қандай болады?
5. Фермент әрекетінің алғашқы кезеңінде неге өнім мөлшері есепке алынбайды?
6. Түзу график алу үшін қандай түрлендіру әдістері қолданылады?
7. Михаэлис-Ментен моделіне қандай шектеулер немесе кемшіліктер тән?

Пайдаланылған әдебиеттер:

1. Қоқанбаев Ә.Қ., Түсюпова Б.Б., Тәжібаева С.М., Мұсабеков Қ.Б.

Химиялық энзимология негіздері: оқу құралы /.—Алматы: Қазақ университеті, 2016 ж. С. 376. ISBN 978-601-04-1921-6.

2. Duncan J. Show. Introduction to colloid and surface chemistry 4th, 2003. - 306 p.

3. Shchukin E.D., Pertsov A.V., Amelina E.A., Zelenev A.Z. Colloid and surface chemistry. Elsevier, 2001. — P. 747

4. Клесов А.А. ферментативный катализ. —М. Издво МГУ, 1984.

5. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия.-М.: просвещение, 1987. — С. 304.

6. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. Пер. с англ. — М.: Мир, 1990. — С. 350.

7. Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология. —М.: академия, 2005. — С. 471.

8. Яковлев В.Л. Кинетика ферментативного катализа. —М.: Наука, 1965. — С. 298.

Назарларыңызға рахмет!!!