Kinetika enzymově katalysovaných reakcí

Rychlost reakce

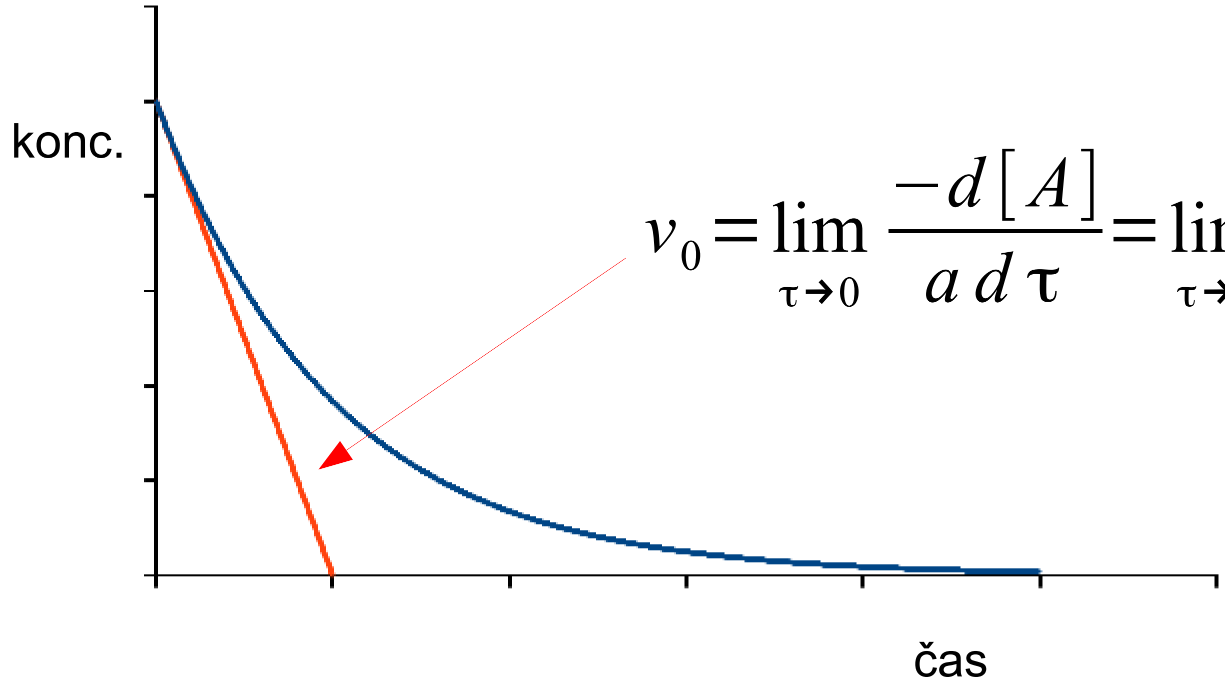
a A + b B + … $\rightarrow$ c C + d D + ...

$$v = \frac{-dn_A}{aV\,d\tau} = \frac{-d[A]}{a\,d\tau} = \frac{-d[B]}{b\,d\tau} = \frac{d[C]}{c\,d\tau}$$

Počáteční rychlost reakce

a A + b B + … → c C + d D + ...

$$v_0 = \lim_{\tau \to 0} \frac{-d[A]}{a\,d\tau} = \lim_{\tau \to 0} \frac{d[C]}{c\,d\tau}$$

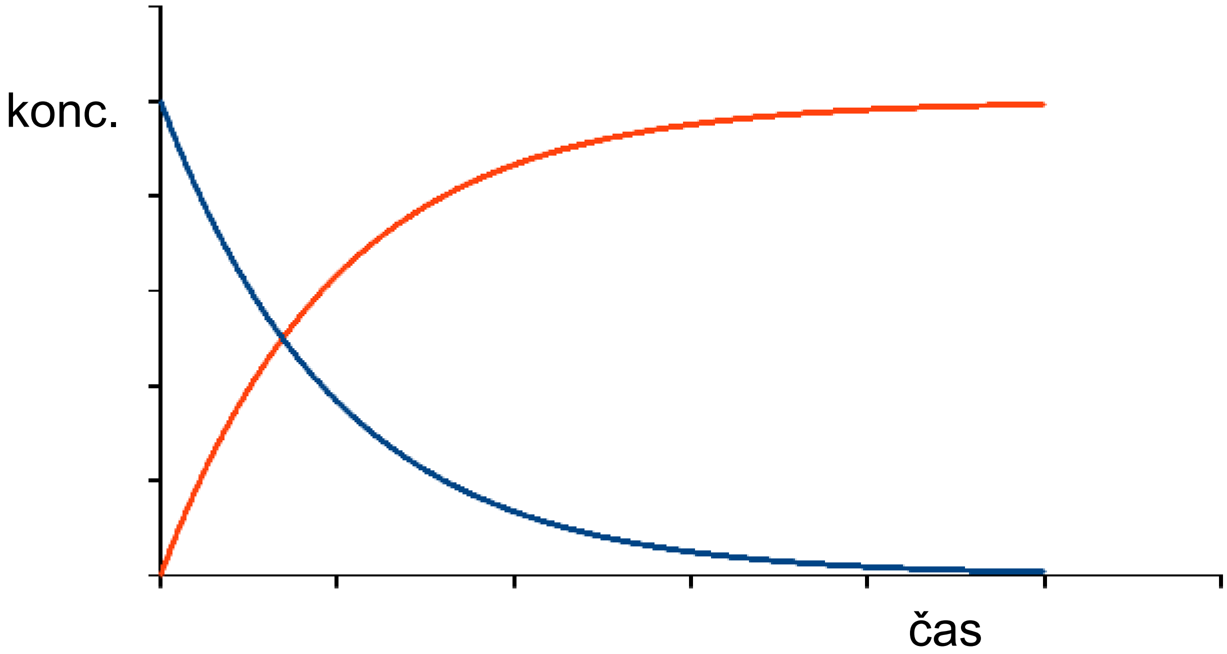


Rychlost chemické reakce

$$\frac{d[A]}{d\tau} = -k[A]$$

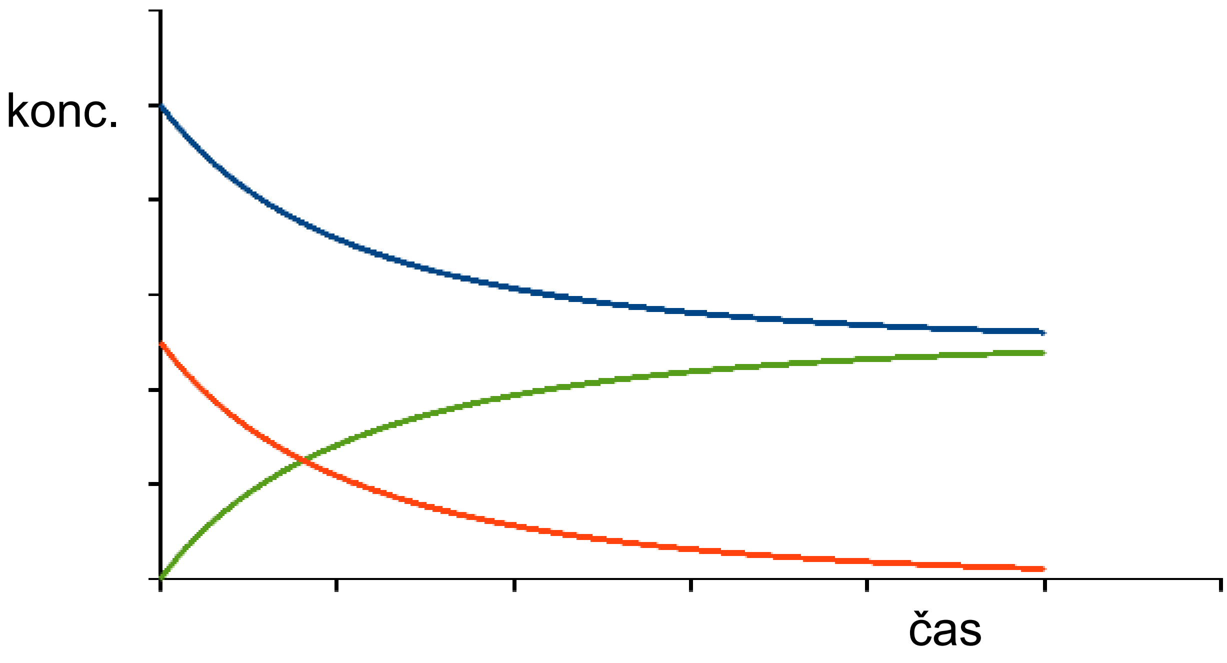
$$\frac{d[B]}{d\tau} = k[A]$$

$$A \xrightarrow{k} B$$



Rychlost chemické reakce

$$A + B \xrightarrow{k} C \qquad \frac{d[A]}{d\tau} = -k[A][B]$$



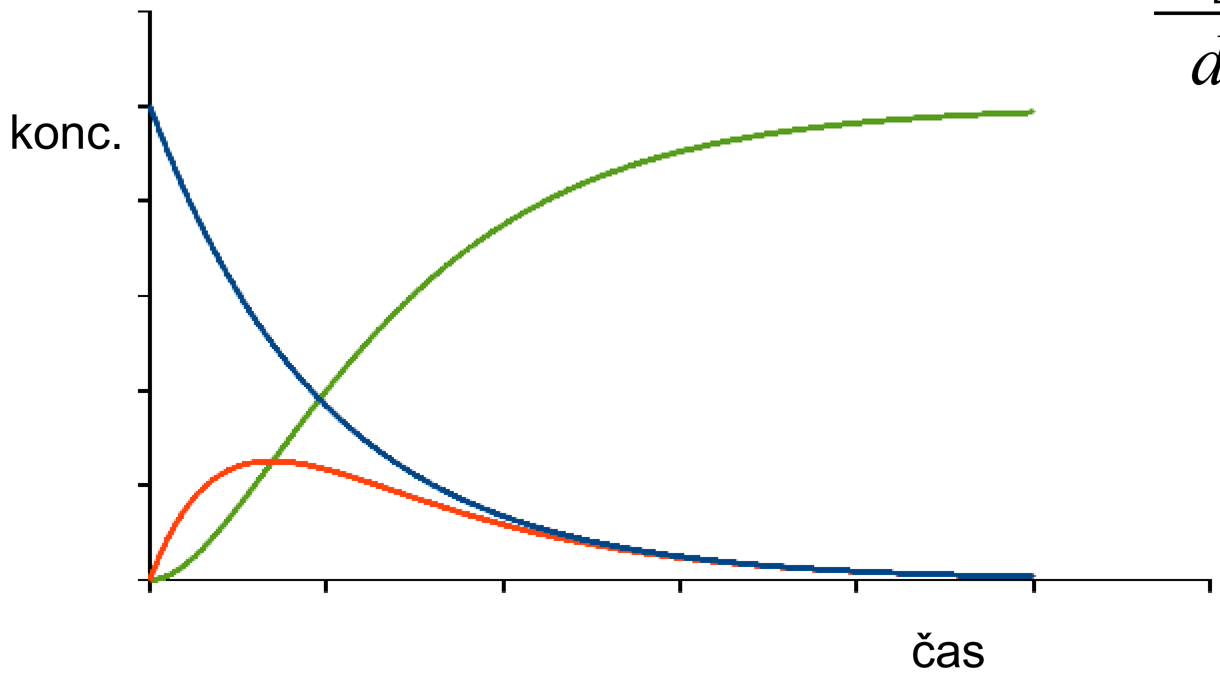
Rychlost chemické reakce

$$A \xrightarrow{k_1} B \xrightarrow{k_2} C$$

$$\frac{d[A]}{d\tau} = -k_1[A]$$

$$\frac{d[B]}{d\tau} = k_1[A] - k_2[B]$$

$$\frac{d[C]}{d\tau} = k_2[B]$$

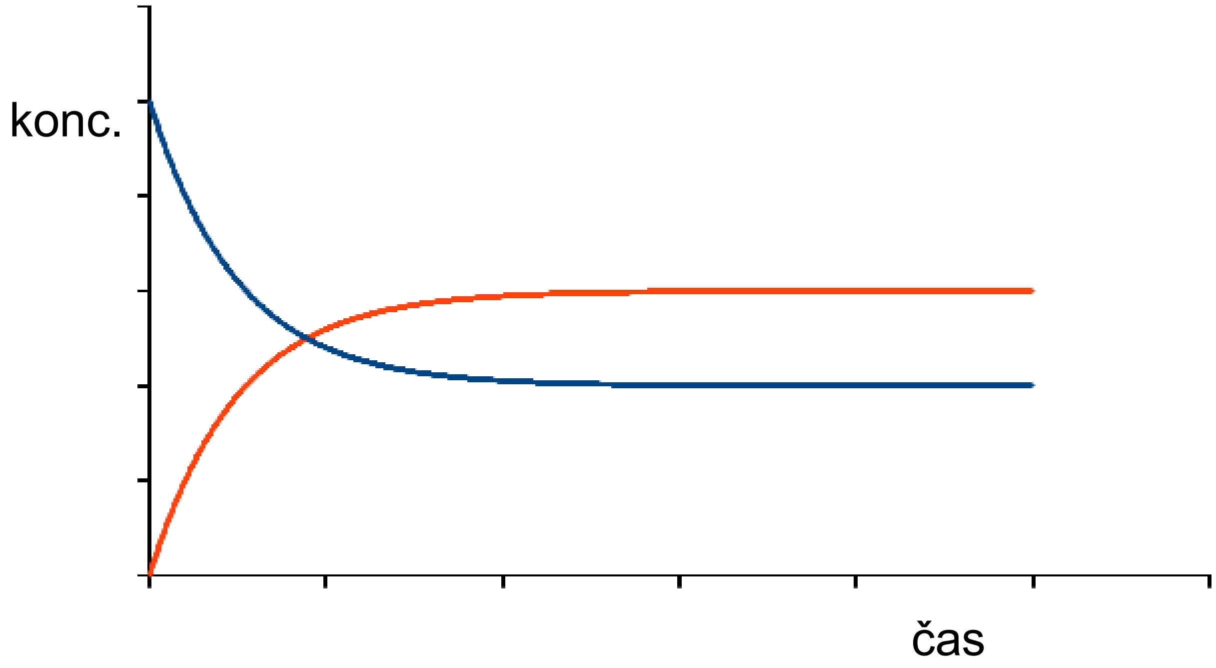


Rychlost chemické reakce

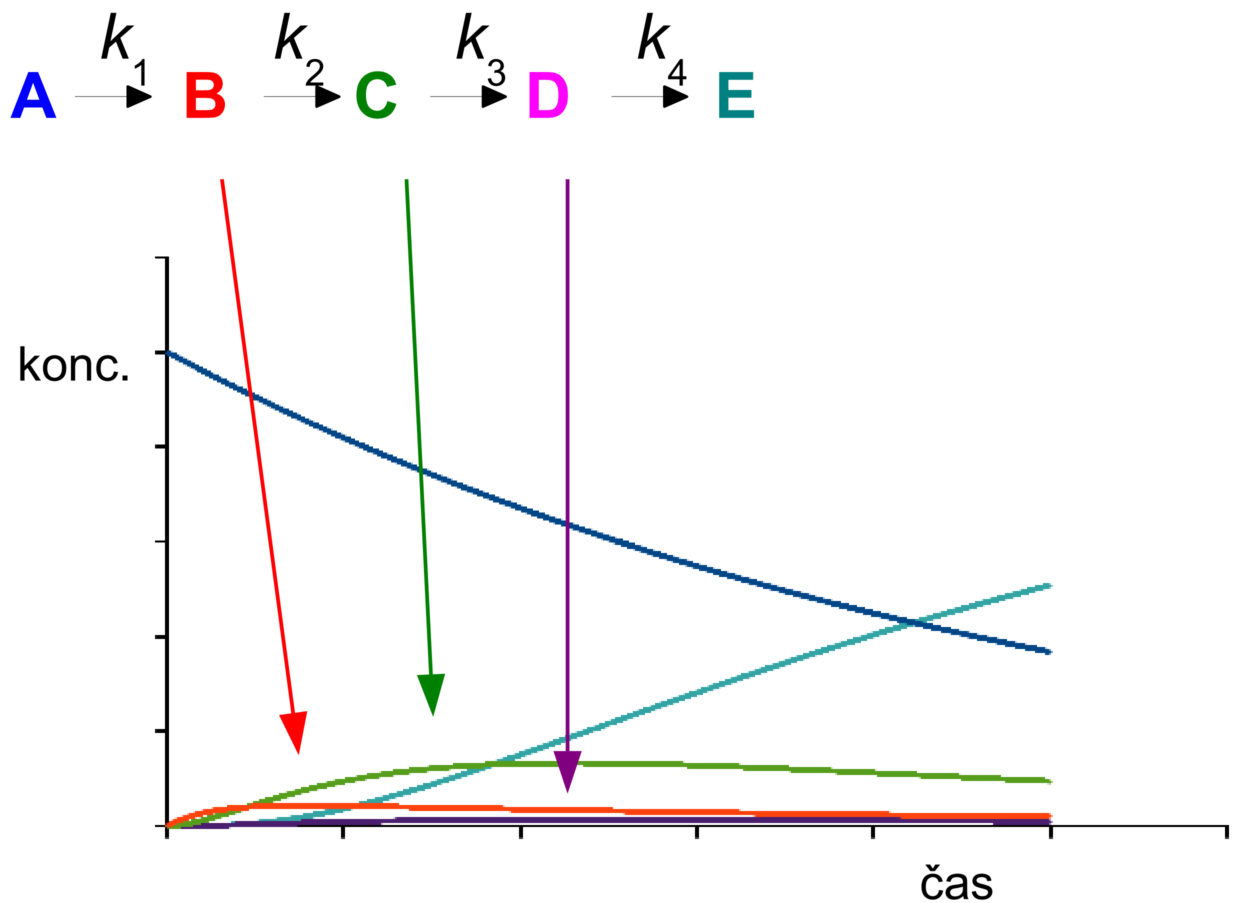
$$\mathrm{A} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{B}$$

$$\frac{d[A]}{d\tau} = -k_1[A] + k_{-1}[B]$$

$$\frac{d[B]}{d\tau} = k_1[A] - k_{-1}[B]$$



Ustálený stav



Rychlost enzymově katalysované reakce

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \xrightarrow{k_2} \mathrm{P} + \mathrm{E}$$

Rychlost:

$$v = \frac{d[P]}{d\tau}$$

Aktivita enzymu:

$$a = \frac{d\,n_P}{d\tau}$$

Rychlost enzymově katalysované reakce

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

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

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

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

$$\frac{d[P]}{d\tau} = k_2[ES]$$

Rychlost enzymově katalysované reakce

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

Ustálený stav

$$\frac{d[ES]}{d\tau} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

Celková koncentrace enzymu

$$c_E = [E] + [ES]$$

$$[E] = c_E - [ES]$$

Rychlost enzymově katalysované reakce

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

Ustálený stav

$$\frac{d[ES]}{d\tau} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

Celková koncentrace enzymu

$$c_E = [E] + [ES]$$

$$[E] = c_E - [ES]$$

$$k_1(c_E - [ES])[S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

$$k_1 c_E[S] - k_1[ES][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

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

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

Rychlost enzymově katalysované reakce rovnice podle Michaelise a Menten

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \xrightarrow{k_2} \mathrm{P} + \mathrm{E}$$

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

$$\frac{d[P]}{d\tau} = k_2 [ES] = \frac{k_2 c_E [S]}{[S] + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}} = \frac{v_{\lim} [S]}{[S] + K_M}$$

K_M nebo K_m

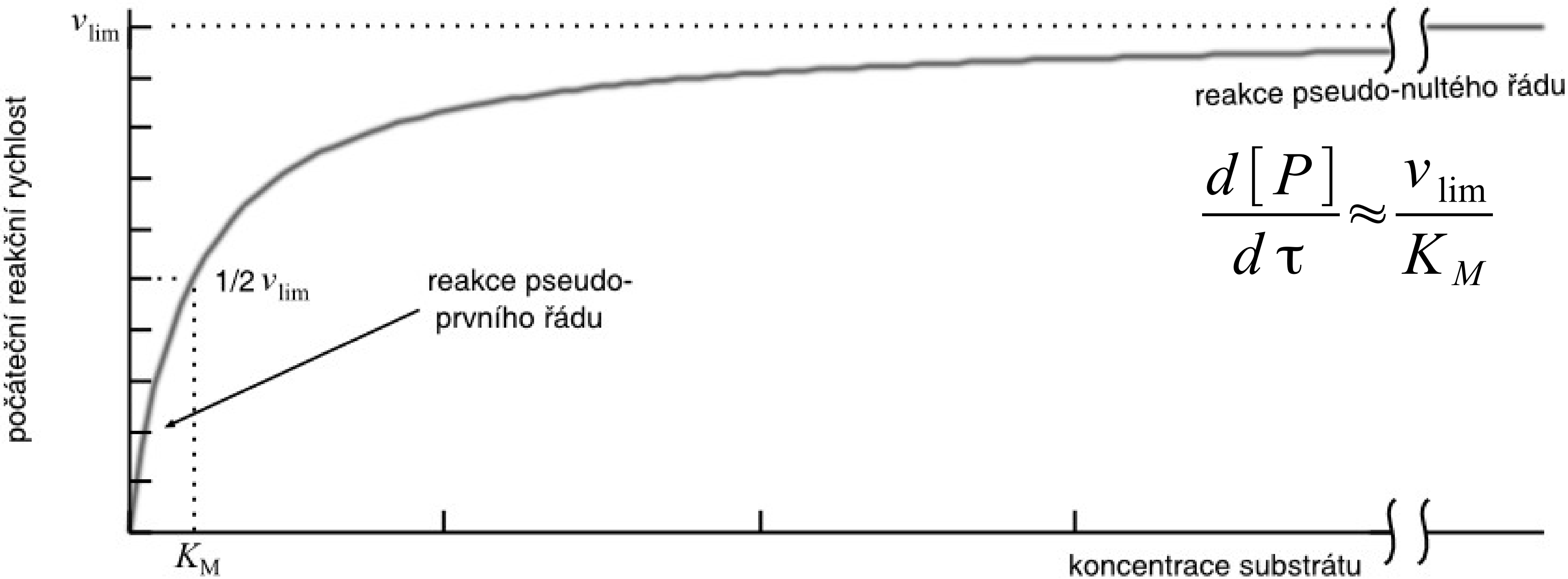
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

v_{max} nebo v_{lim}

$$v_{\lim} = k_2 c_E = k_{cat} c_E$$

Rychlost enzymově katalysované reakce

$$\frac{d[P]}{d\tau} = \frac{v_{\lim}[S]}{[S]+K_M}$$



$$\frac{d[P]}{d\tau} \approx \frac{v_{\lim}}{K_M}$$

$$\frac{d[P]}{d\tau} \approx \frac{v_{\lim}[S]}{K_M}$$

Rychlost enzymově katalysované reakce rovnice podle Michaelise a Menten

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

$$k_2 \ll k_{-1}$$

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

Rychlost enzymově katalysované reakce rovnice podle Michaelise a Menten

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \xrightarrow{k_2} \mathrm{P} + \mathrm{E}$$

$$\text{Substrátová specificita} = \frac{v_{\mathrm{lim}}}{K_M}$$

Rychlost enzymově katalysované reakce
rovnovážná reakce – Haldaneova rovnice

$$\mathbf{E} + \mathbf{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} \mathbf{ES} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} \mathbf{P} + \mathbf{E}$$

$$v_{\lim, S \rightarrow P} = k_2 c_E \qquad v_{\lim, P \rightarrow S} = k_{-1} c_E$$

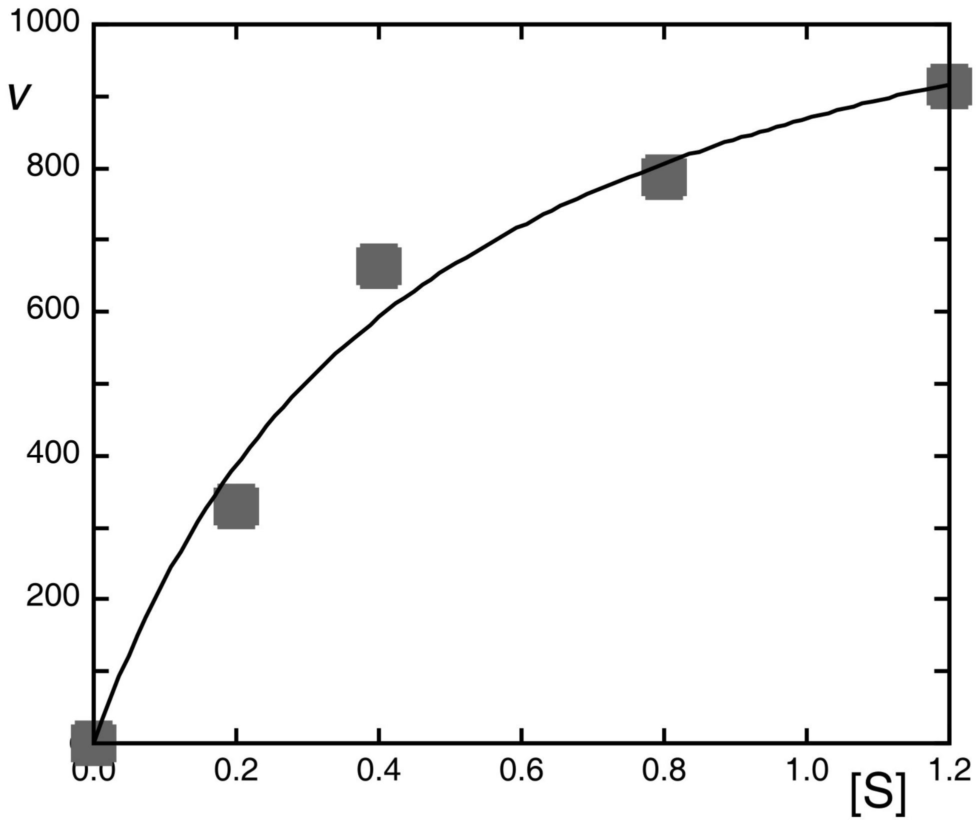
$$K_{M, S \rightarrow P} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \qquad K_{M, P \rightarrow S} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}}$$

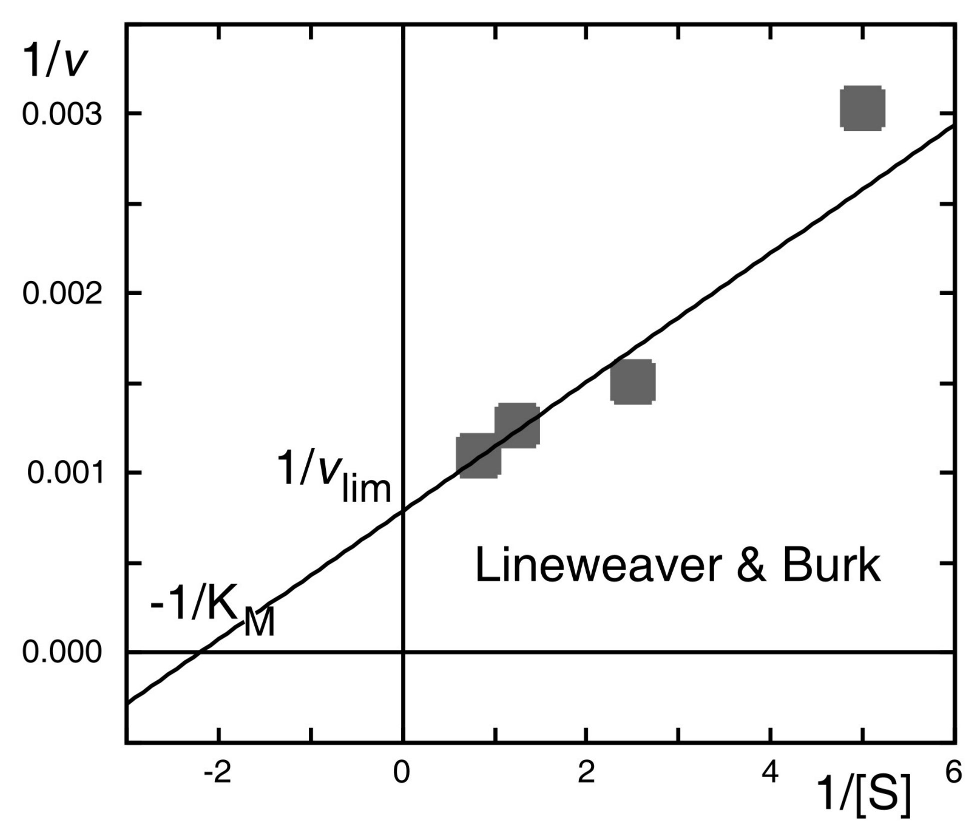
$$K = \frac{v_{\lim, S \rightarrow P} K_{M, P \rightarrow S}}{v_{\lim, P \rightarrow S} K_{M, S \rightarrow P}}$$

Rychlost enzymově katalysované reakce linearizované výnosy

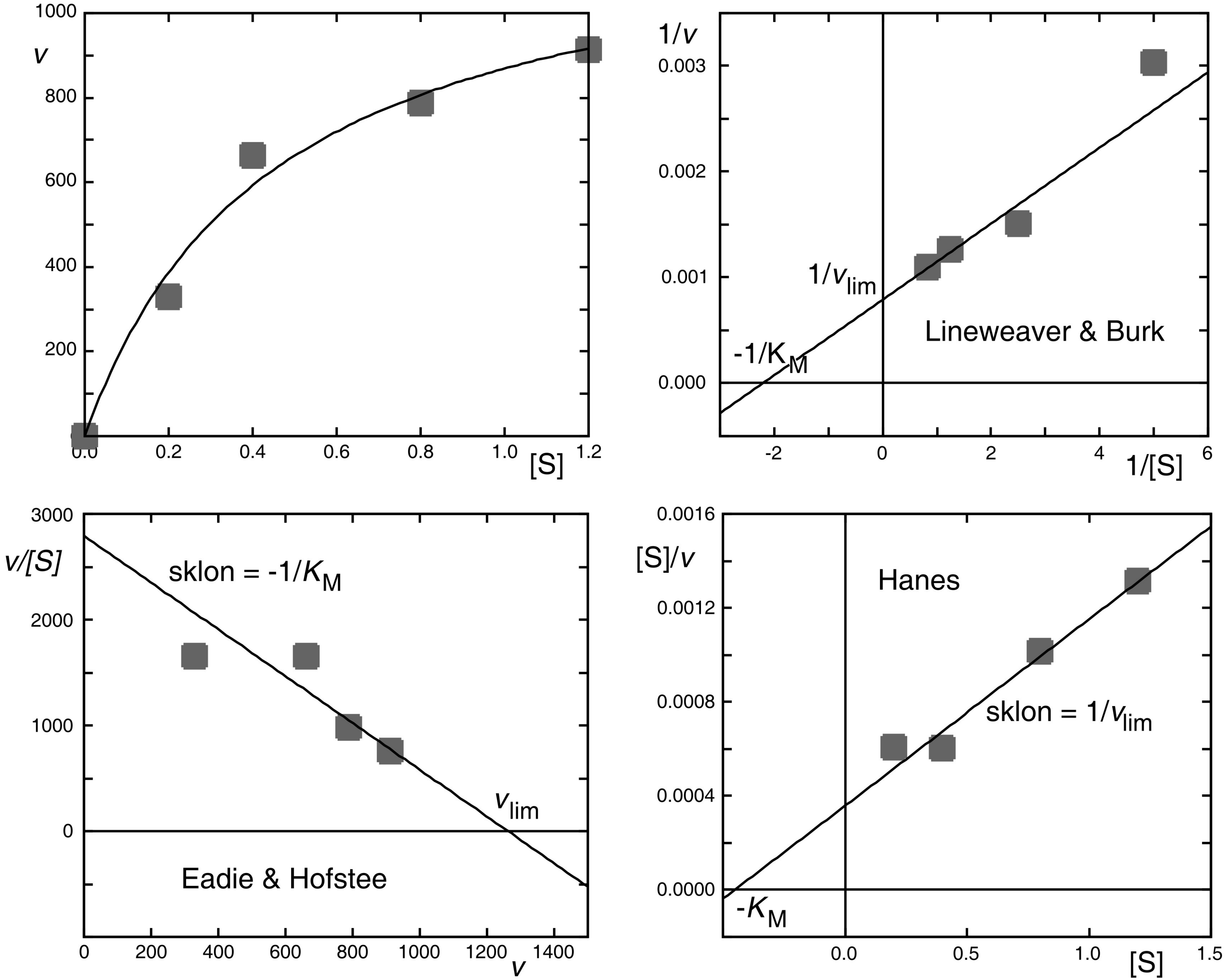
$$v = \frac{d[P]}{d\tau} = \frac{v_{\lim}[S]}{[S] + K_M}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{[S] + K_m}{v_{\lim}[S]} = \frac{1}{v_{\lim}} + \frac{K_M}{v_{\lim}[S]}$$

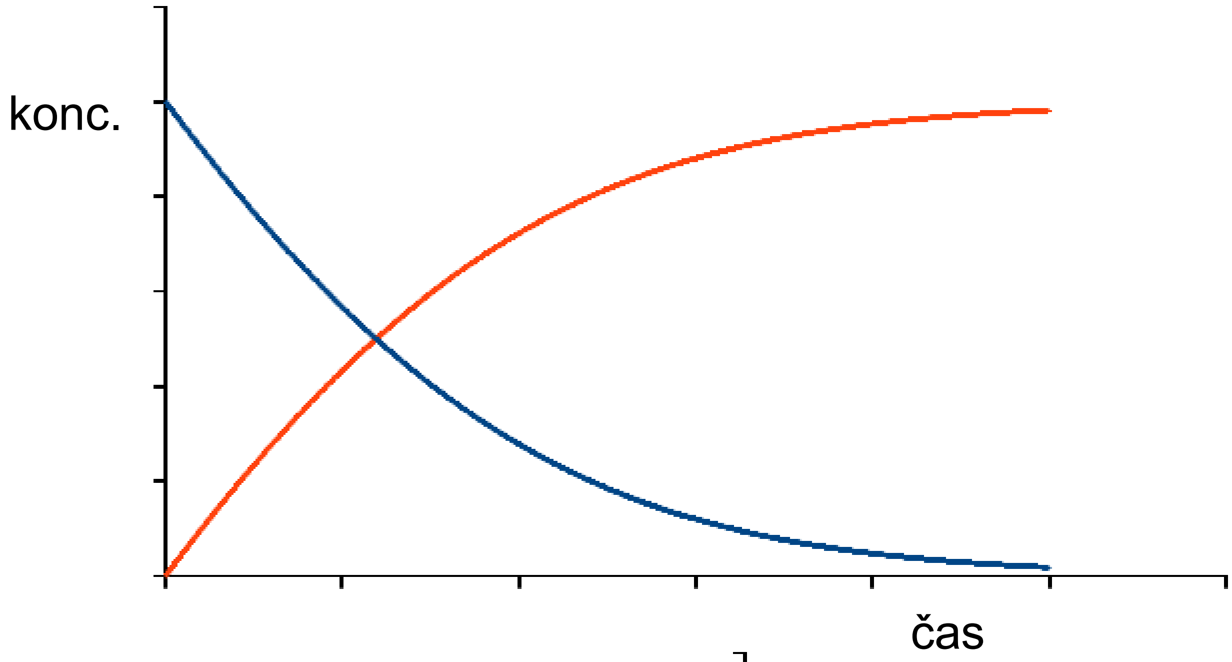


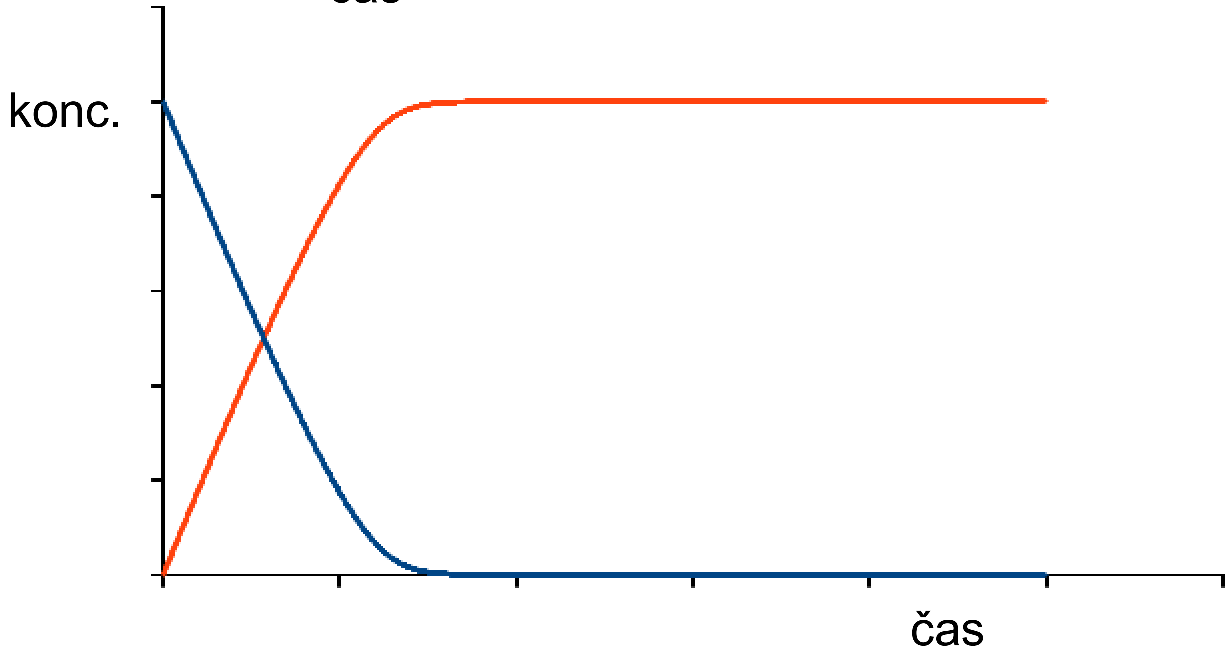


Rychlost enzymově katalysované reakce linearizované výnosy



Rychlost enzymově katalysované reakce
Integrovaná rovnice podle Michaelise a Menten





Rychlost enzymově katalysované reakce
Integrovaná rovnice podle Michaelise a Menten

$$\frac{d[S]}{d\tau} = -\frac{v_{\lim}[S]}{[S]+K_M}$$

$$d[S] = -\frac{v_{\lim}[S]}{[S]+K_M} d\tau$$

$$-\frac{[S]+K_M}{v_{\lim}[S]} d[S] = d\tau$$

$$-\frac{1}{v_{max}} - \frac{K_M}{v_{\lim}[S]} d[S] = d\tau$$

$$-\frac{K_M}{v_{\lim}} \ln\frac{[S]_0}{[S]} + \frac{[S]_0 - [S]}{v_{\lim}} = \tau$$

Inhibice
Kompetitivní

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

$$+ I \; \updownarrow K_I$$

$$EI$$

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

$$c_E = [ES] + [E] + [EI]$$

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

$$[E] = \frac{c_E - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

Inhibice
Kompetitivní

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

$$+I \ \updownarrow K_I$$

$$EI$$

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

$$[E] = \frac{c_E - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$$

$$k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

$$k_1 \frac{c_E - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}}[S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$$

$$k_1 c_E[S] - k_1[ES][S] - k_{-1}[ES]\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) - k_2[ES]\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) = 0$$

Inhibice
Kompetitivní

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

$$+\,I \;\updownarrow\; K_I$$

$$EI$$

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

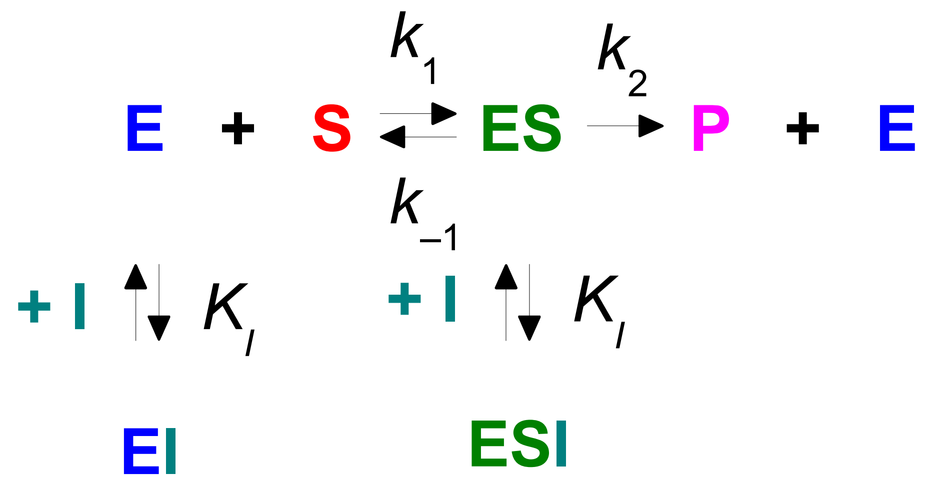
$$k_1 c_E [S] - k_1 [ES][S] - k_{-1}[ES]\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) - k_2 [ES]\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) = 0$$

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

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{v_{\lim}[S]}{[S] + K_M\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

Inhibice

Nekompetitivní



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

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{\dfrac{v_{\lim}}{\left(1+[I]/K_I\right)}[S]}{[S]+K_M}$$

Inhibice
Akompetitivní

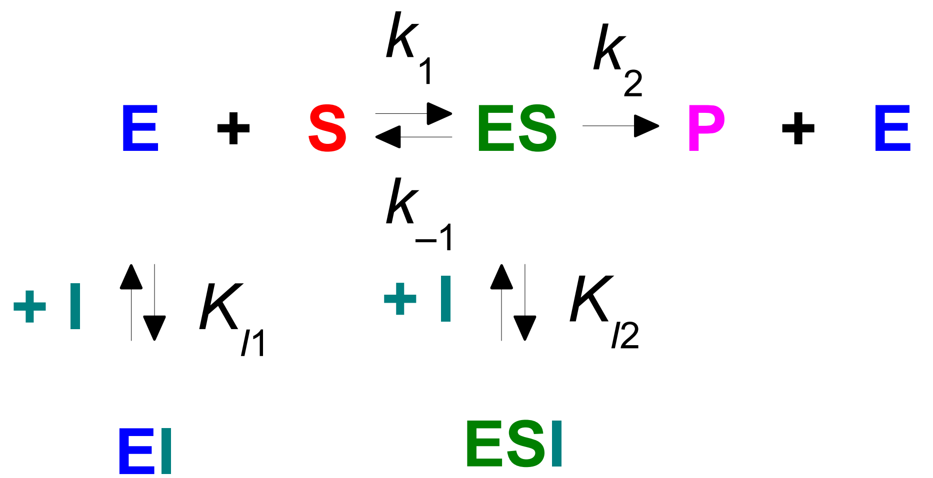
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} P + E$$

$$ES + I \overset{K_I}{\rightleftharpoons} ESI$$

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

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{\dfrac{v_{\lim}}{\left(1+[I]/K_I\right)}[S]}{[S] + \dfrac{K_M}{\left(1+[I]/K_I\right)}}$$

Inhibice
Smíšená



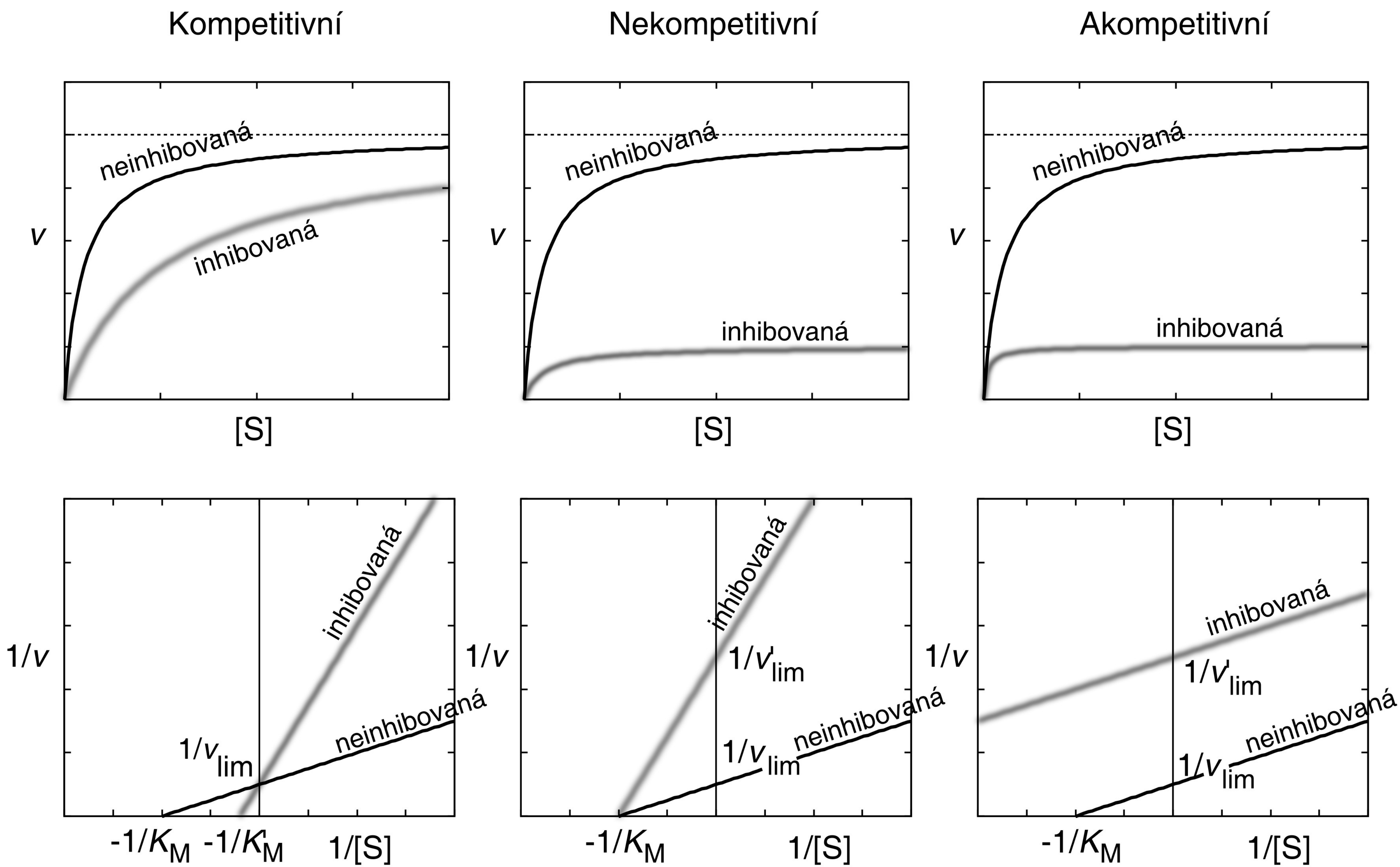
$$K_{I1} = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

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

Inhibice

	$K_M{}'$	$v_{\lim}{}'$
žádná	K_M	$v_{\lim}$
Kompetitivní (competitive)	$K_M\left(1+\frac{[I]}{K_I}\right)$	$v_{\lim}$
Nekompetitivní (noncompetitive)	K_M	$\frac{v_{\lim}}{1+[I]/K_I}$
Akompetitivní (Uncompetitive)	$\frac{K_M}{1+[I]/K_I}$	$\frac{v_{\lim}}{1+[I]/K_I}$

Inhibice


Kompetitivní
Nekompetitivní
Akompetitivní
neinhibovaná
inhibovaná
v
[S]
neinhibovaná
inhibovaná
v
[S]
neinhibovaná
inhibovaná
v
[S]
inhibovaná
1/v
1/v_lim
neinhibovaná
-1/K_M
-1/K'_M
1/[S]
inhibovaná
1/v
1/v'_lim
1/v_lim
neinhibovaná
-1/K_M
1/[S]
inhibovaná
1/v
1/v'_lim
1/v_lim
neinhibovaná
-1/K_M
1/[S]

Inhibice

IC_{50} Koncentrace inhibitoru způsobující 50% inhibici

Řádově odpovídá inhibiční konstantě

Snáze se měří

Může záviset na [S]!

Inhibice
nevratná/kovalentní

Kovalentní inhibitory:

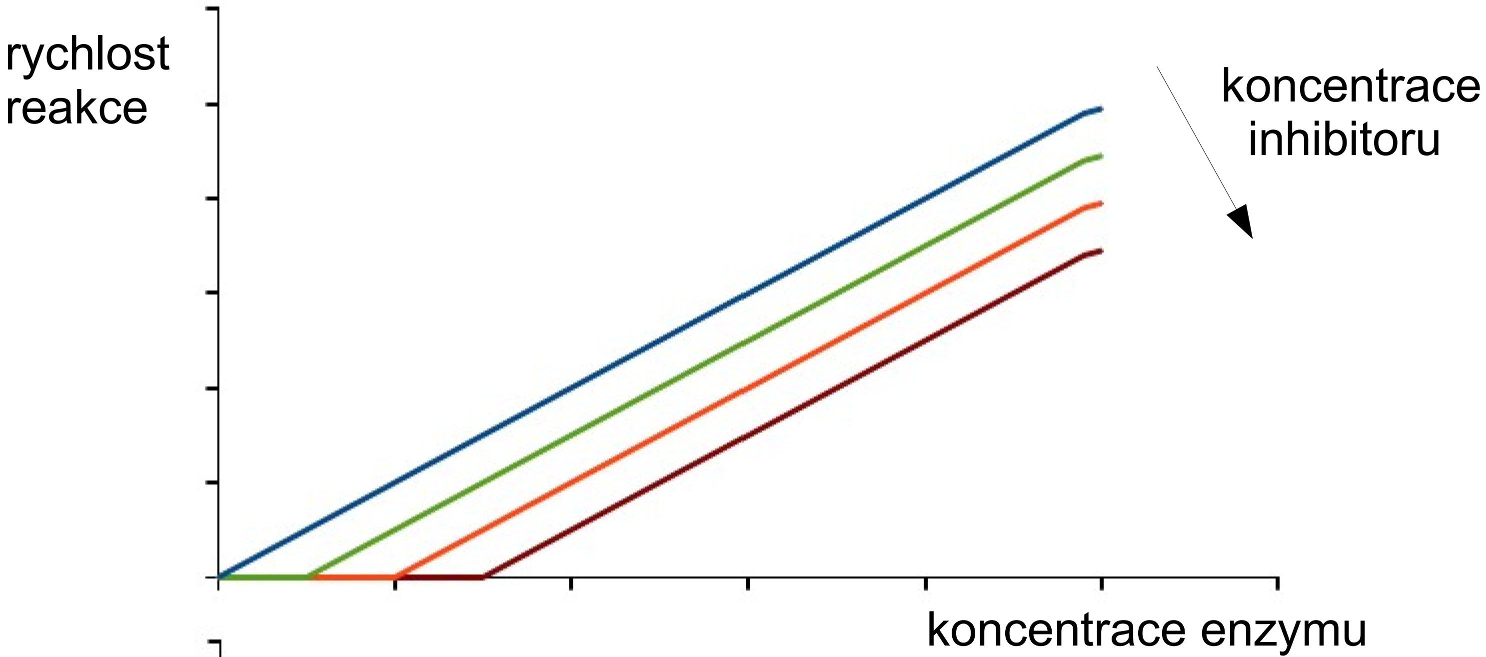
- některá léčiva: aspirin, penicilin, …

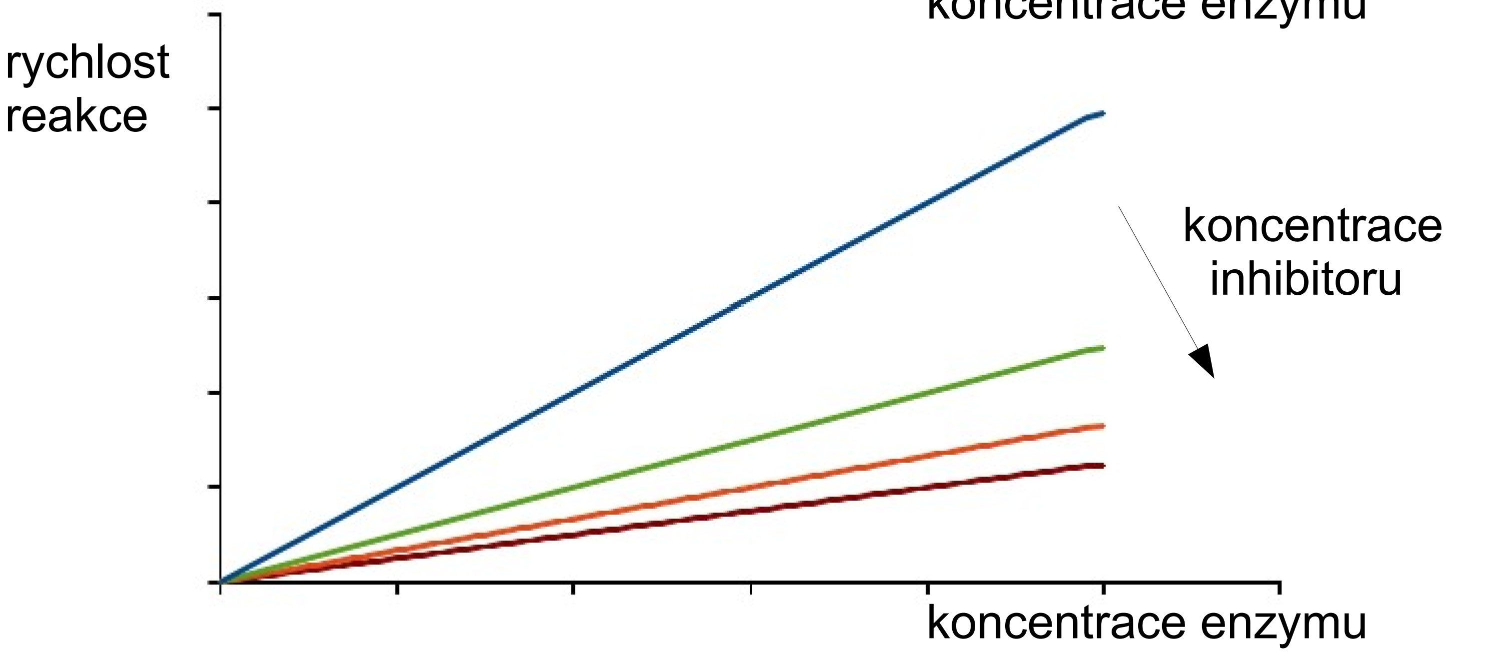
- některé inhibitory proteas používané při isolaci proteinů

- bojové plyny (Tabun, Sarin, Soman)

- další ...

Inhibice nevratná/kovalentní

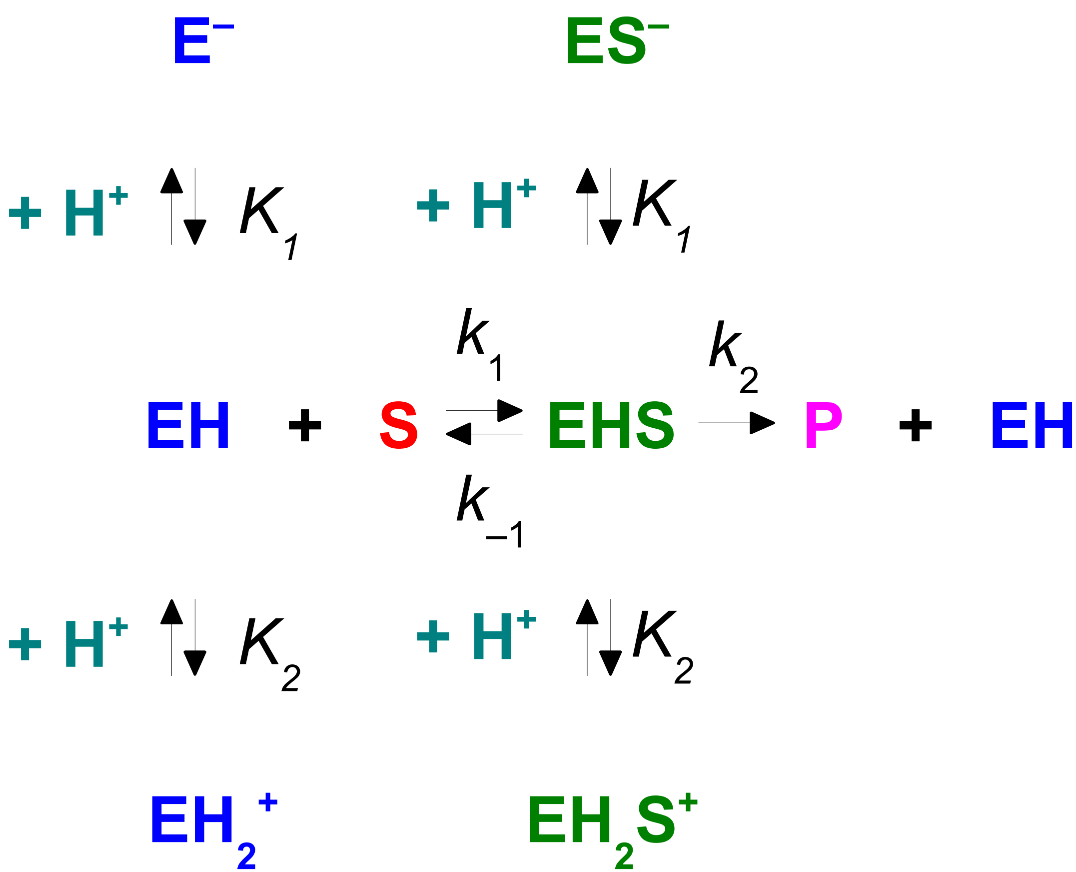




Vliv pH na aktivitu enzymu

- extrémní pH může denaturovat enzym

- změny pH způsobují změny ionizace postranních řetězců v aktivním místě



Vliv pH na aktivitu enzymu

- extrémní pH může denaturovat enzym

- změny pH způsobují změny ionizace postranních řetězců v aktivním místě

$$E^-$$

$$+\,H^+ \quad \uparrow\downarrow \quad K_1$$

$$EH + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} EHS \xrightarrow{k_2} P + EH$$

$$+\,H^+ \quad \uparrow\downarrow \quad K_2$$

$$EH_2^+$$

$$v_{\lim}' = \frac{v_{\lim}}{1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_2}}$$

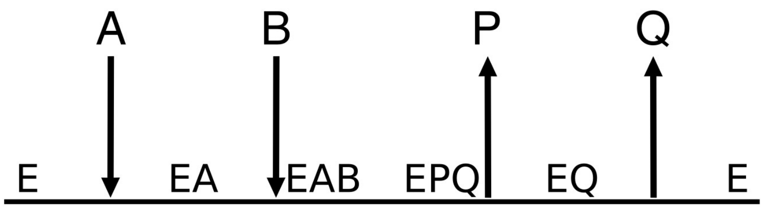
Kinetika vícesubstrátových reakcí

1 uni-
2 bi-
3 ter-
4 quad-

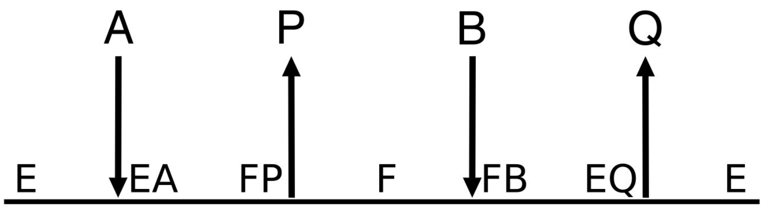
$A \rightarrow B$	uni-uni
$A + B \rightarrow C + D$	bi-bi
$A + B + C \rightarrow D + E$	ter-bi

Kinetika vícesubstrátových reakcí
Clerandovy diagramy

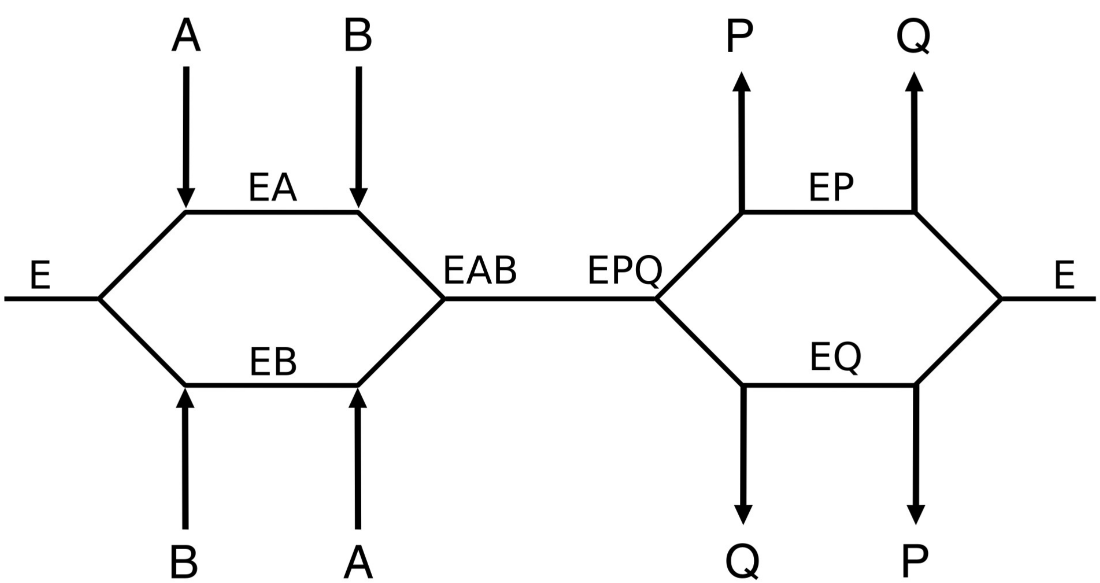
sekvenční uspořádaný



ping-pongový

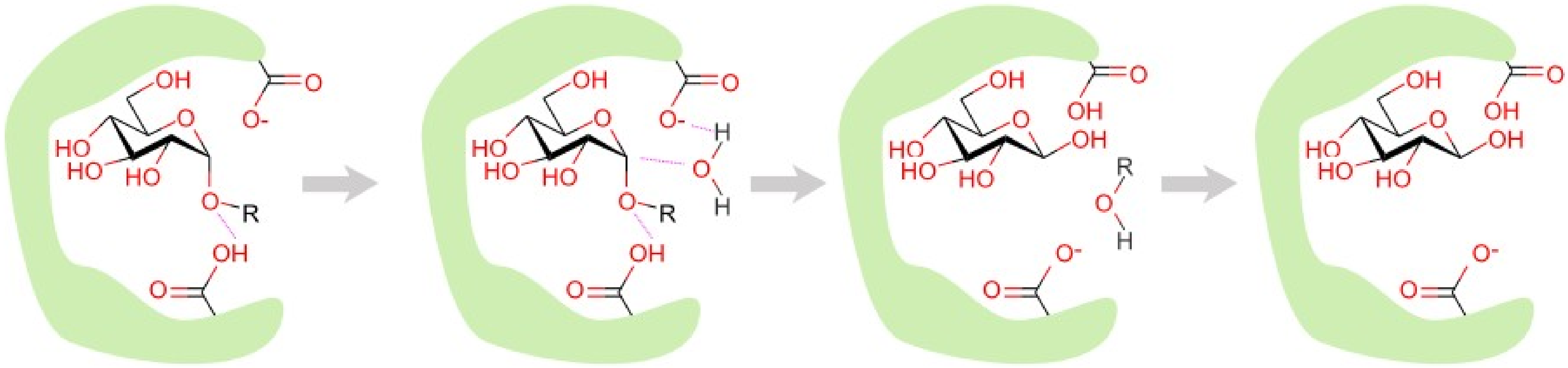


sekvenční neuspořádaný



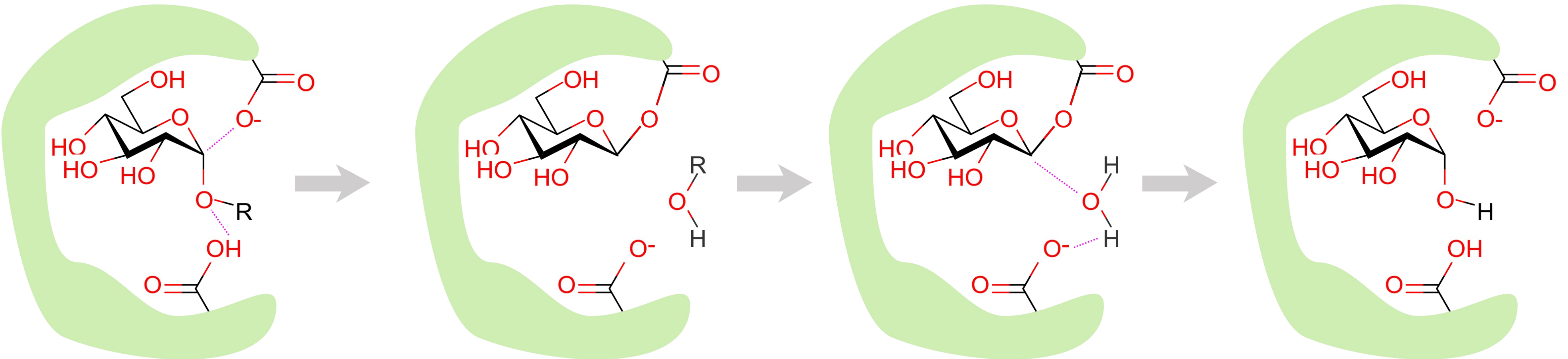
Kinetika vícesubstrátových reakcí

Sekvenční mechanismus



Kinetika vícesubstrátových reakcí

Ping-pongový mechanismus



Kinetika vícesubstrátových reakcí

Sekvenční uspořádaný mechanismus

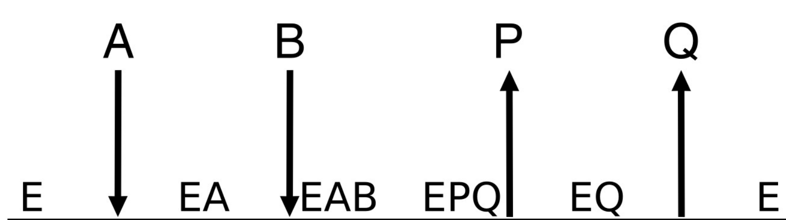
$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{v_{\lim}[A][B]}{K_{iA}K_{MB} + K_{MB}[A] + K_{MA}[B] + [A][B]}$$

Ks pro A

Km pro B (nasycení A)

Km pro A (nasycení B)

sekvenční uspořádaný

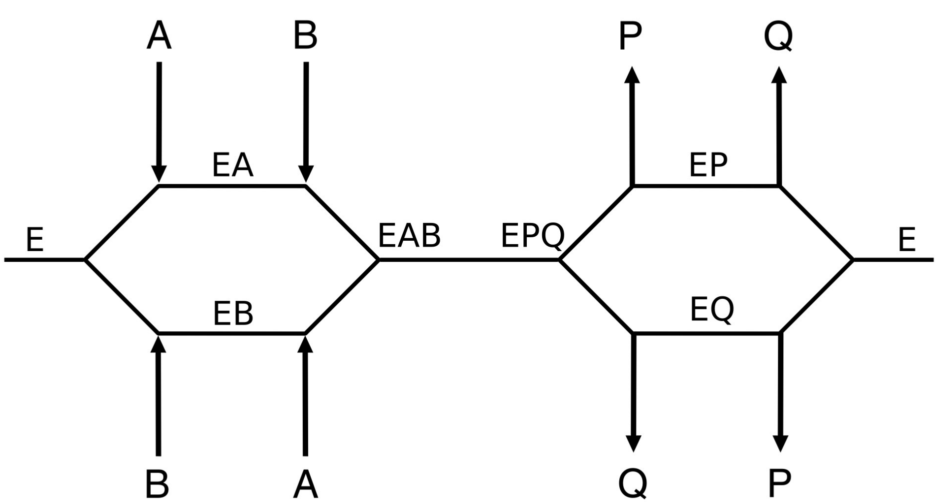


Kinetika vícesubstrátových reakcí

Sekvenční neuspořádaný mechanismus

$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{a[A][B] + b[A]^2[B] + c[A][B]^2}{d + e[A] + f[B] + g[A]^2 + h[B]^2 + j[A][B] + k[A]^2[B] + l[A][B]^2}$$

sekvenční neuspořádaný



Kinetika vícesubstrátových reakcí

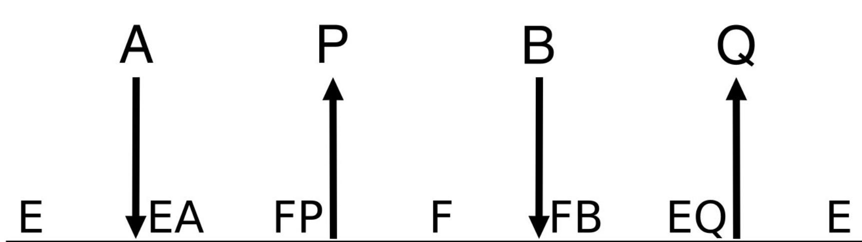
Ping-pongový mechanismus

$$\frac{d[P]}{dt}=\frac{v_{\lim}[A][B]}{K_{MB}[A]+K_{MA}[B]+[A][B]}$$

Km pro B (nasycení A)

Km pro A (nasycení B)

ping-pongový



Kinetika vícesubstrátových reakcí

Inhibice, inhibice produktem