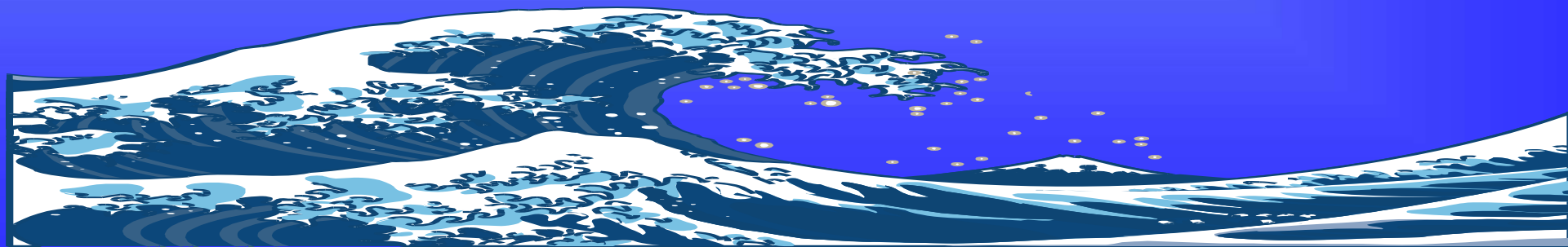


Kinetyka reakcji chemicznych

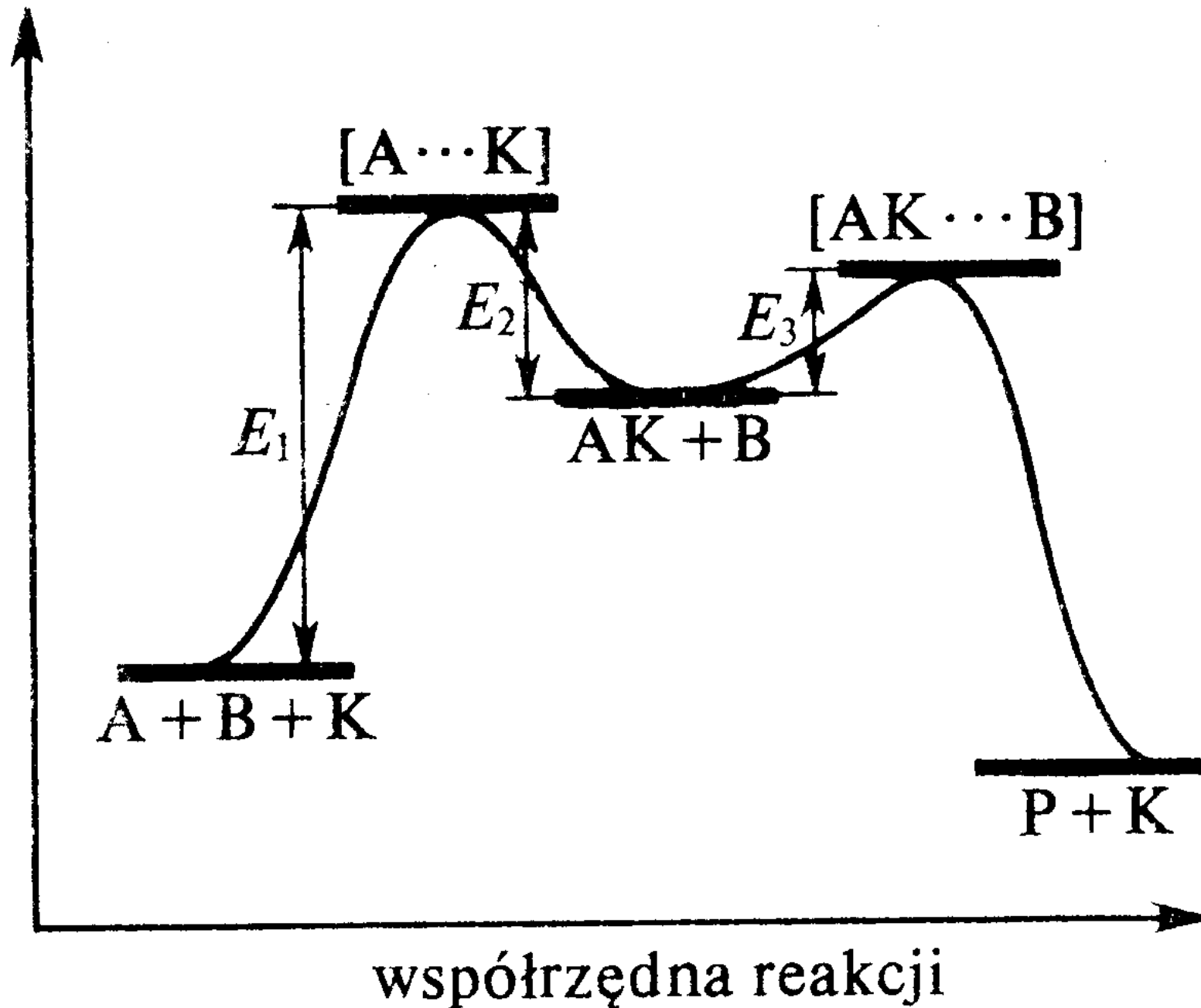
4.3.1. Kataliza i reakcje enzymatyczne

4.3.2. Kinetyka reakcji enzymatycznych

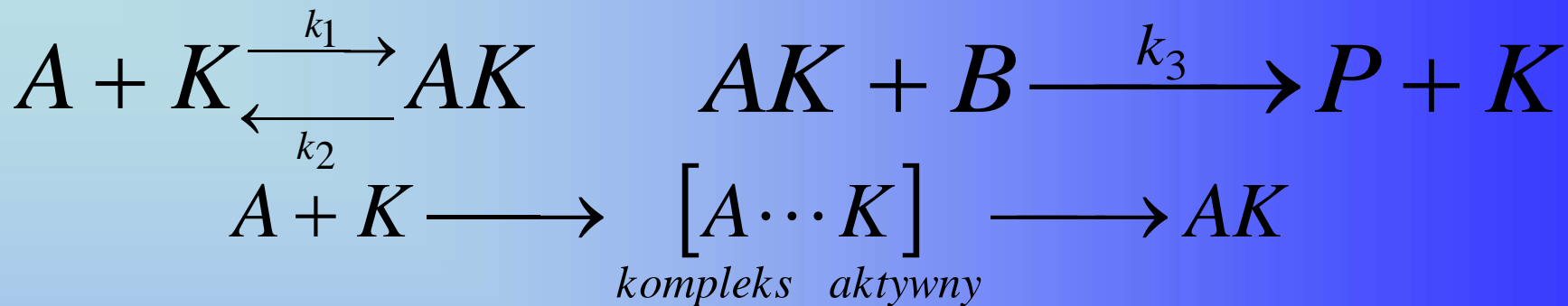
4.3.3. Równanie Michaelis-Menten



Ilościowy opis mechanizm działania katalizatorów



Ilościowy opis mechanizm działania katalizatorów



$$\frac{d[AK]}{dt} = k_1[A] \cdot [K] - k_2[AK] - k_3[AK] \cdot [B] = 0$$

Szybkość zmian stężenia kompleksu aktywnego jest równa zero. Kompleks tworzy się i rozpada z tą samą szybkością, utrzymując swoje stężenie niezmiennie w trakcie przebiegu katalizowanej reakcji.

$$\frac{d[P]}{dt} = k_3[AK] \cdot [B]$$

Wniosek:

szybkość homogenicznej reakcji katalitycznej jest wprost proporcjonalna do stężenia katalizatora. (Stężenie to pozostaje jednak stale znacznie mniejsze od stężeń reagentów występujących w równaniu stechiometrycznym katalizowanej reakcji.)

Enzymy i reakcje enzymatyczne

Nazewnictwo enzymów
 związane jest z ich aktywnością
oksydoreduktazy – katalizują
 procesy redoks związków
 organicznych

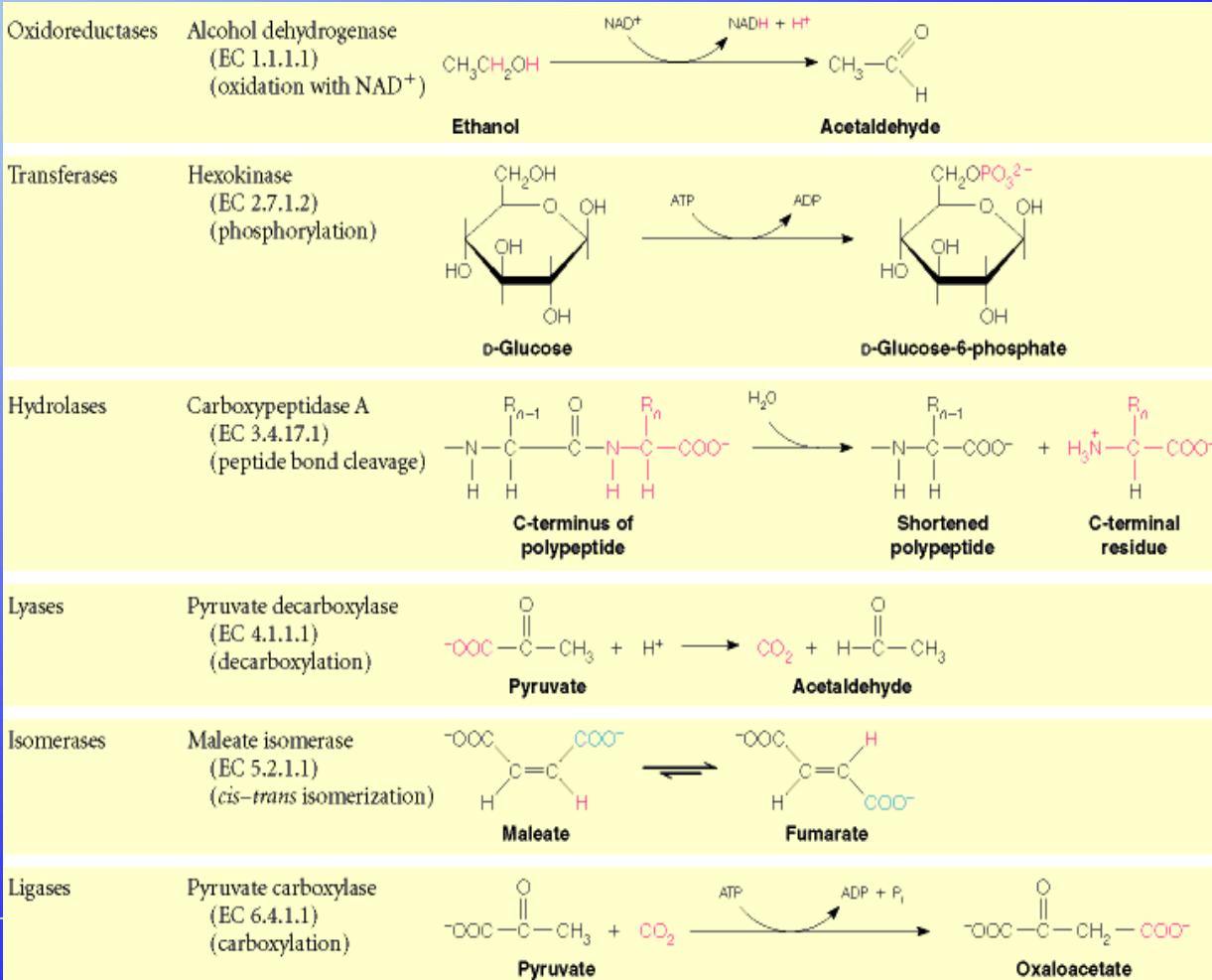
transferazy – katalizują
 transfer aktywnych grup
 chemicznych pomiędzy
 związkami

hydrolazy – katalizują procesy
 hydrolizy

izomerazy – katalizują procesy
 przegrupowań wewnętrznych

ligazy – katalizują syntezę
 większych związków
 z monomerów
 lub niskocząsteczkowych
 substratów

Enzymy są biologicznymi katalizatorami, stymulującymi specyficznie reakcje ważne z punktu widzenia funkcjonowania komórki. Są one białkami najczęściej aktywowanymi na żądanie i działającymi w relatywnie wąskim zakresie pH.



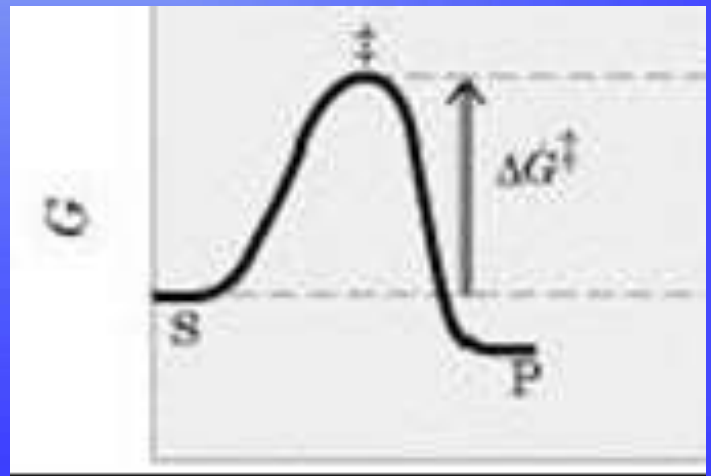
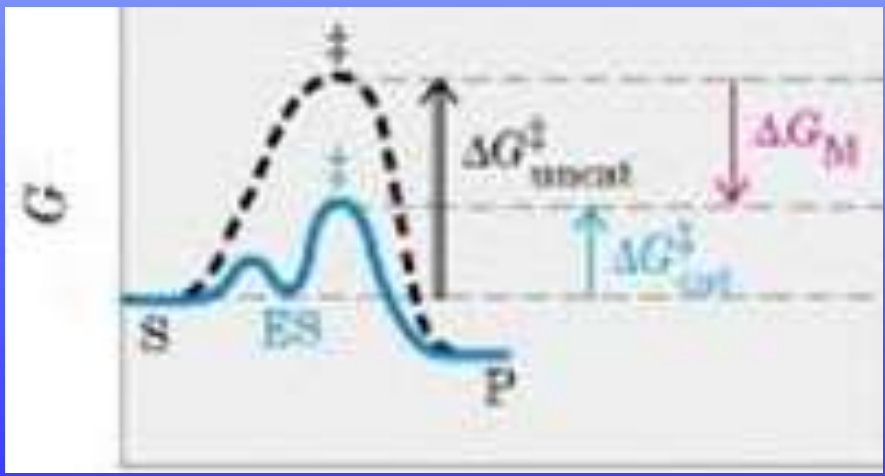
Efektywności enzymów

Typowa reakcja biochemiczna bez udziału enzymu zachodziłaby w czasie nawet 750 000 000 lat. Z udziałem enzymu zachodzi w 22 milisekundy. Enzymy zwiększają wartość stałej szybkości

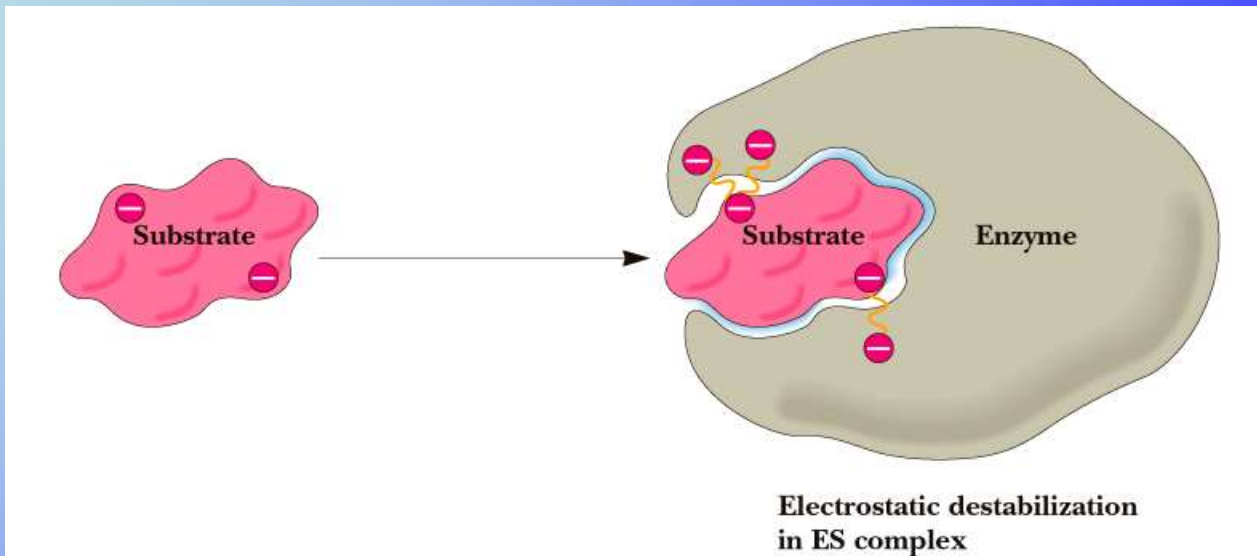
$$\text{efektywność} = \frac{k_{\text{nieenzymatycznej}}}{k_{\text{enzymatycznej}}} = \frac{10^5}{10^{-8}} = 10^{13}$$

Przykład konwersja cukru, na CO₂ i H₂O stanowiąca podstawowe źródło energii praktycznie nie zachodzi zarówno w ciele stałym jak i w roztworze. Z udziałem enzymu jest prawie natychmiastowa

Mechanizm katalizy enzymatycznej - specyficzność



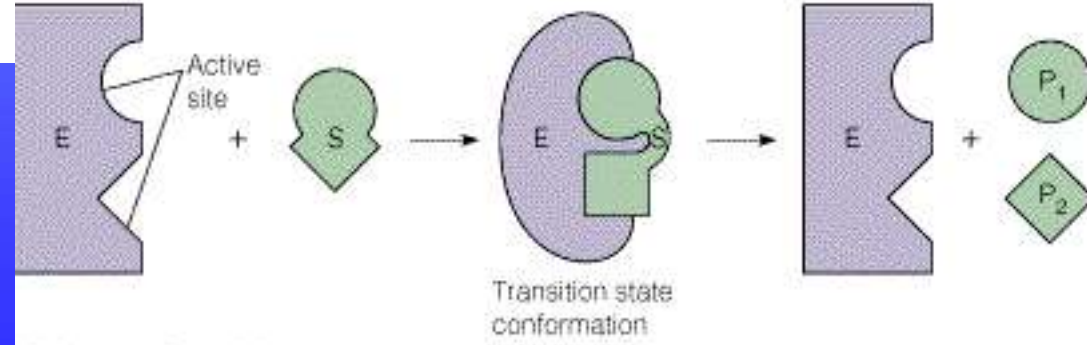
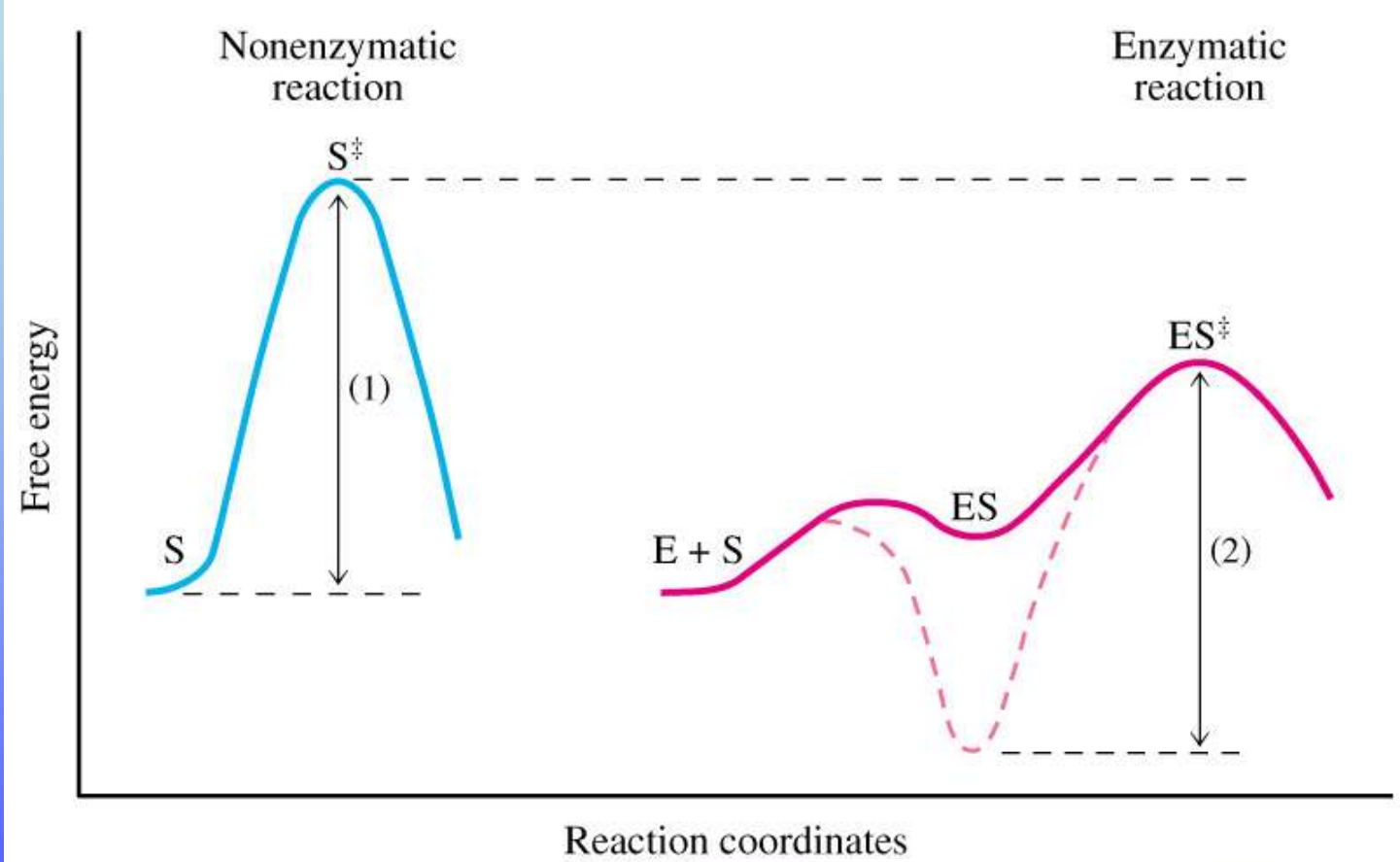
Jakie efekty molekularne wywołują enzymy?



- 1. Efekt przybliżania** – reagenty muszą zostać zbliżone do siebie w celu utworzenia nowych wiązań chemicznych. W reakcjach nieenzymatycznych jest to dokonywane za pomocą wzrostu temperatury (poprzez zwiększenie średniej energii kinetycznej cząsteczek - częstsze kolizje).
- 2. Efekt orientacyjny**
- 3. Efekt energetyczny** – zmieniając strukturę kompleksu aktywnego wpływają na jego energię
- 4. Efekt katalityczny** – centrum aktywne enzymu może zmieniać polarność i kwasowość "mikro-środowiska", w którym znajduje się reagent, bez wywoływania widocznych zmian w roztworze.

Jakie efekty molekularne wywołują enzymy?

Kompleks aktywny nie może być zbyt trwały

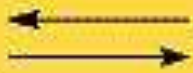
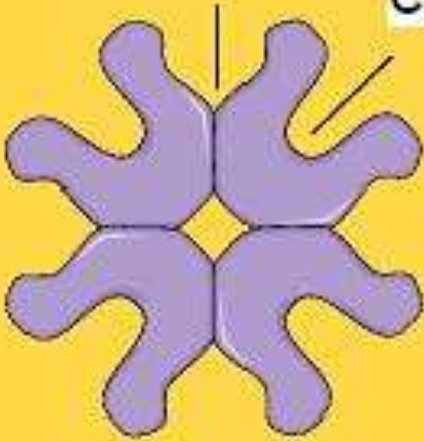


Przykład: Złożoność reakcji enzymatycznych

Dwa stany enzymów czasami enzym wymaga aktywacji

Centrum allosferyczne

Centrum aktywne



Forma aktywna

Forma nieaktywna

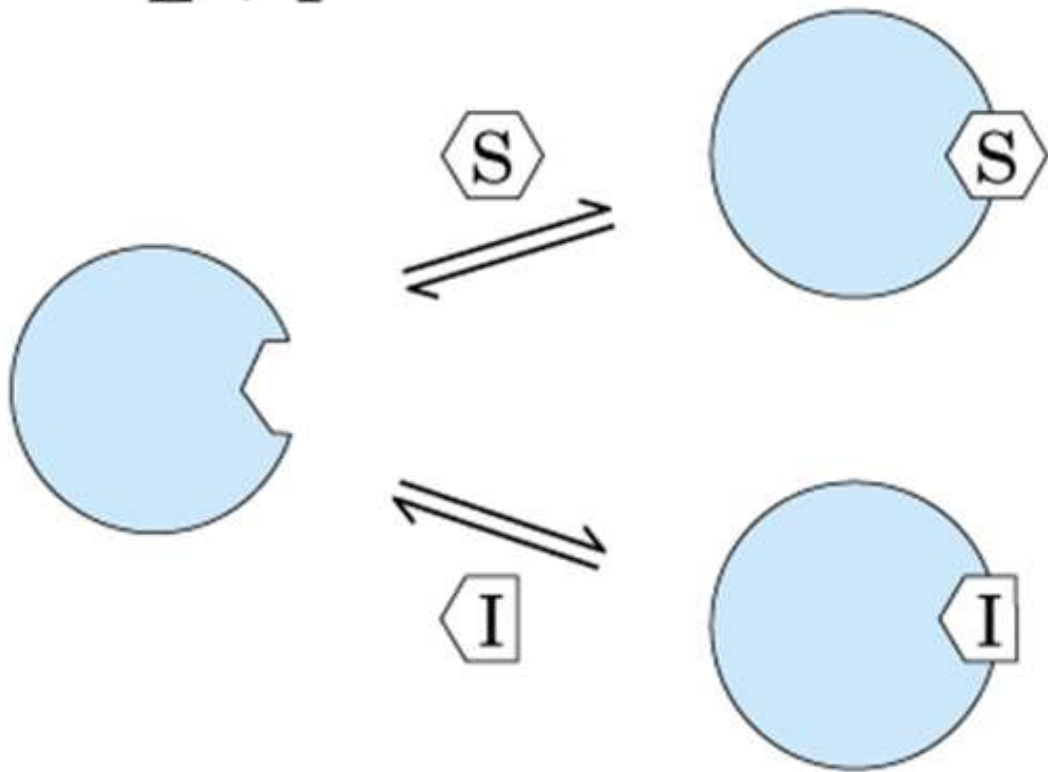
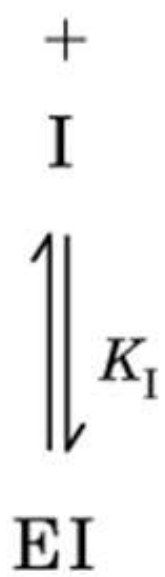
Aktywator



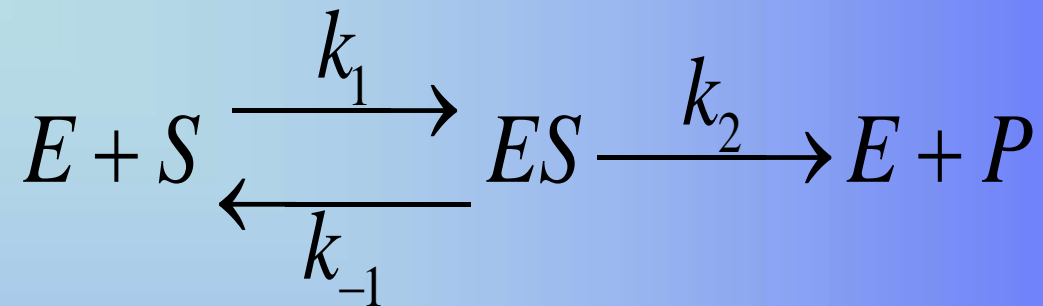
Inhibitor



Przykład: Zjawisko inhibicji enzymatycznej



Kinetyka reakcji enzymatycznych



S – substrat
P – produkt
E – enzym
ES – kompleks

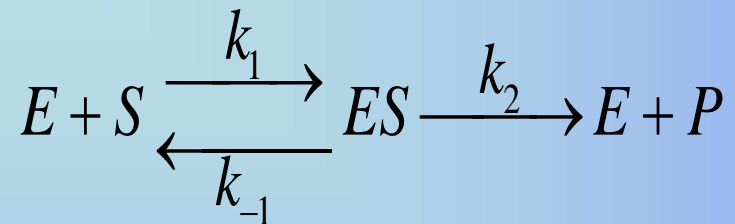
$$\frac{dE}{dt} = -k_1 \cdot E \cdot S + (k_{-1} + k_2) \cdot ES$$

$$\frac{dS}{dt} = -k_1 \cdot E \cdot S + k_{-1} \cdot ES$$

$$\frac{dC}{dt} = k_1 \cdot E \cdot S - (k_{-1} + k_2) \cdot ES$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2 \cdot ES$$

Ujęcie Michaelis-Menten

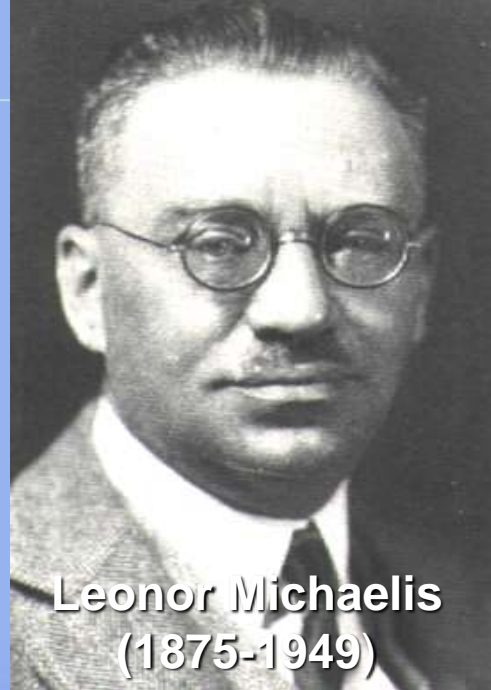


zasugerowali, że wartości stałych k_1 oraz k_{-1} są małe w porównaniu do k_2 , dlatego też ustala się stan równowagi pomiędzy E oraz ES

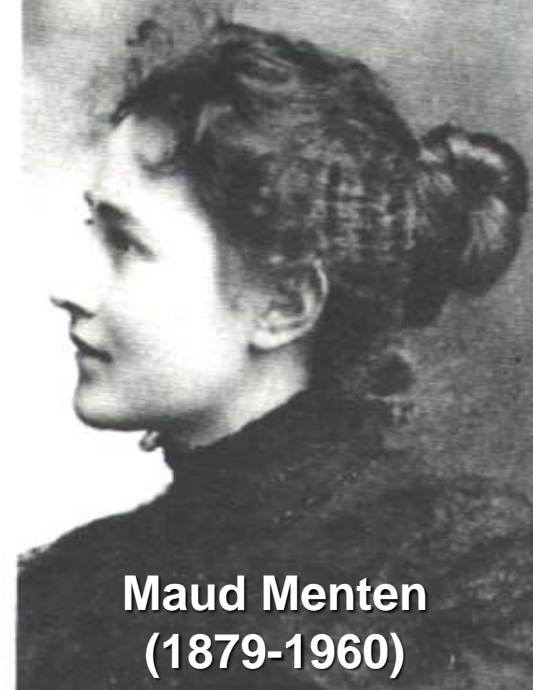
$$[ES] = [E]_{total}$$

Odpowiada to maksimum prędkości:

$$V_{max} = k_2 [E]_{total}$$



Leonor Michaelis
(1875-1949)



Maud Menten
(1879-1960)

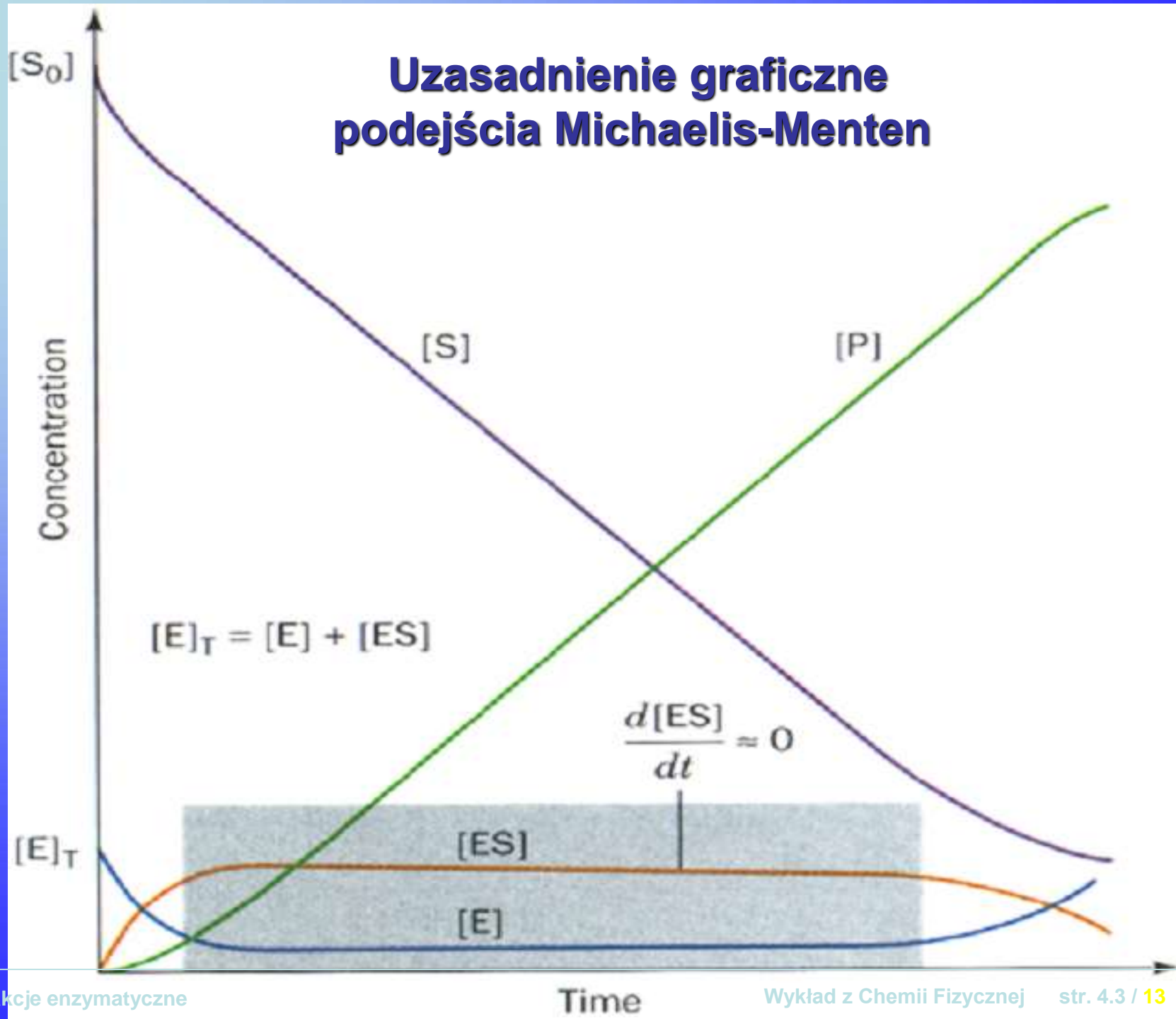
Wówczas można udowodnić, że:

$$V_i = k_2 [E]_{total} [S] / (K_M + [S])$$

$$K_M = (k_{-1} + k_2) / k_1$$

$$V_i = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

Uzasadnienie graficzne podejścia Michaelis-Menten



Ujęcie Michaelis-Menten – wnioski

Sens wartości K_M

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

stała wyrażana w jednostkach stężenia
małe wartości stałej oznaczają silny efekt
wiązący substratu, duże wartości – słabe
wiązanie substratu.

wartość liczbowa odpowiada stężeniu
substratu, w którym $V=0.5 V_{max}$

Sens wartości V_{max}

stała wyrażana w jednostkach szybkości reakcji
chemicznej
teoretyczna, największa wartość szybkości reakcji
(odpowiadająca nieskończenie wielkiemu stężeniu
substratu) – asymptota na wykresie kinetycznym
stan w którym wszystkie cząsteczki enzymu są
związane z substratem

Ujęcie Michaelis-Menten – wnioski

Miara wydajności reakcji k_{cat}

Liczba moli substratu, która przereagowała w przeliczeniu na jeden mol enzymu

W przypadku, gdy stężenie enzym jest nasycone ze względu na substrat lub gdy $[S] \gg [E_t]$,

$$k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E_t]}$$

$$k_2 = \frac{V_{max}}{[E_t]} = k_{cat}$$

Przykładowe wartości k_{cat} :

Catalase	40,000,000
Carbonic anhydrase	1,000,000
Acetylcholinesterase	14,000
Penicillinase	2,000
Lactate dehydrogenase	1,000
Chymotrypsin	100
DNA polymerase I	15
Lysozyme	0.5

Ujęcie Michaelis-Menten – wnioski

Rząd równania MM

niskie stężenie substratu → **reakcja I rzędowa**

$$V = \frac{k_{cat} [E_t][S]}{[S] + K_M} \approx \frac{k_{cat} [E_t][S]}{K_M}$$

niskie stężenie substratu oraz $[E_t] \approx [E]$ → **reakcja II rzędowa**

$$V \approx \frac{k_{cat} [E_t][S]}{K_M} \approx \frac{k_{cat} [E][S]}{K_M}$$

wysokie stężenie substratu → **reakcja zerowego rzędu**

$$V = \frac{v_{max} [E_t][S]}{[S] + K_M} \approx v_{max} [E_t]$$

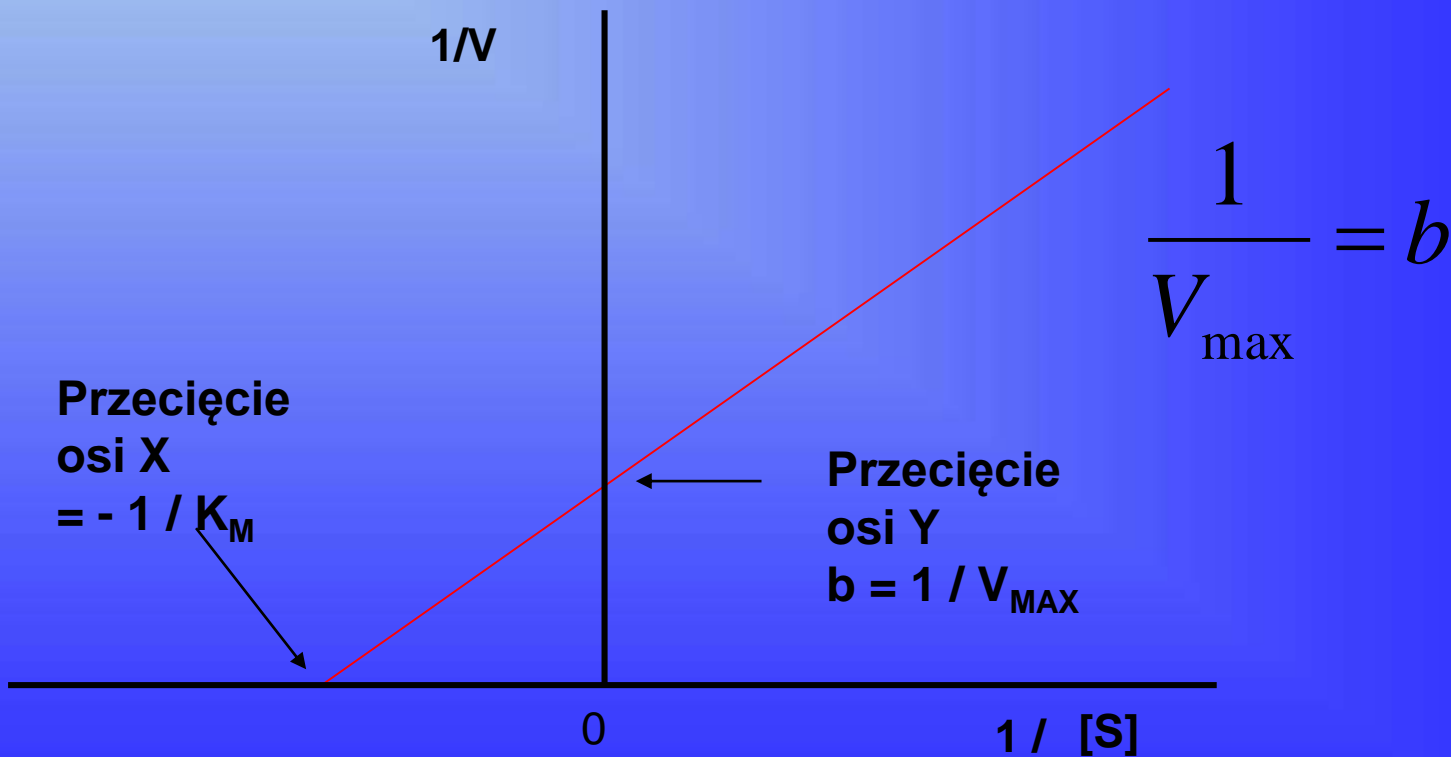
Metoda Lineweaver – Burke

polega na linearyzacji równania Michaelis-Menten

$$\left(\frac{1}{V_i} \right) = \frac{K_M}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$x = \left(\frac{1}{[S]} \right) \quad y = \left(\frac{1}{V_i} \right)$$

$$y = mx + b$$



$$\frac{K_M}{V_{\max}} = m$$

Parametry Michaelis-Menten dla kilku enzymów

		K_M	k_{cat}	k_{cat}/K_M
Chymotrypsin	$Ac-Phe-Ala \xrightarrow{H_2O} Ac-Phe + Ala$	1.5×10^{-2}	0.14	9.3
Pepsin	$Phe-Gly \xrightarrow{H_2O} Phe + Gly$	3×10^{-4}	0.5	1.7×10^3
Tyrosyl-tRNA synthetase	$Tyrosine + tRNA \longrightarrow tyrosyl-tRNA$	9×10^{-4}	7.6	8.4×10^3
Ribonuclease	$Cytidine\ 2',\ 3'\text{-cyclic\ phosphate} \xrightarrow{H_2O} cytidine\ 3'\text{-phosphate}$	7.9×10^{-3}	7.9×10^2	1.0×10^5
Carbonic anhydrase	$HCO_3^- + H^+ \longrightarrow H_2O + CO_2$	2.6×10^{-2}	4×10^5	1.5×10^7
Fumarase	$Fumarate \xrightarrow{H_2O} malate$	5×10^{-6}	8×10^2	1.6×10^8