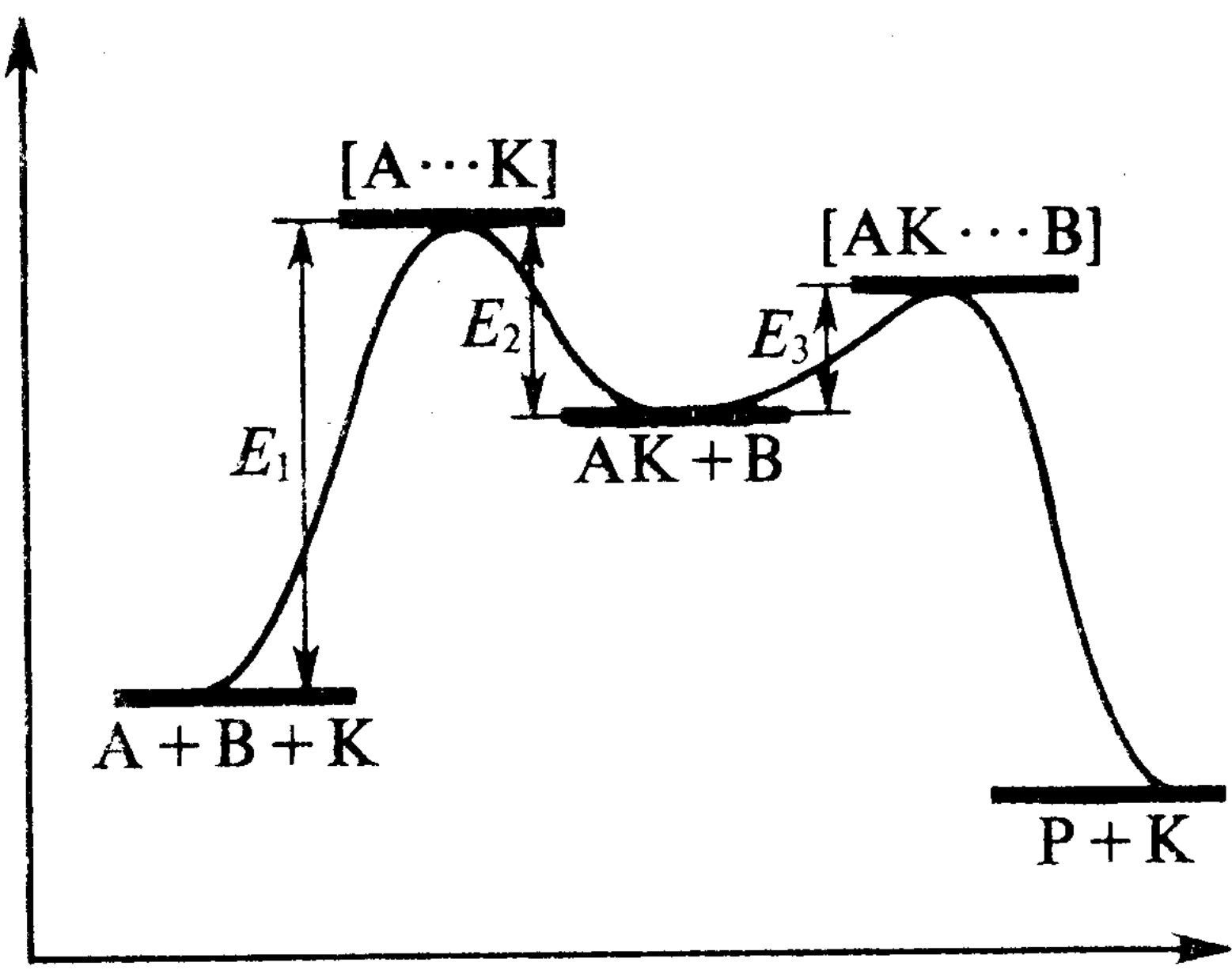


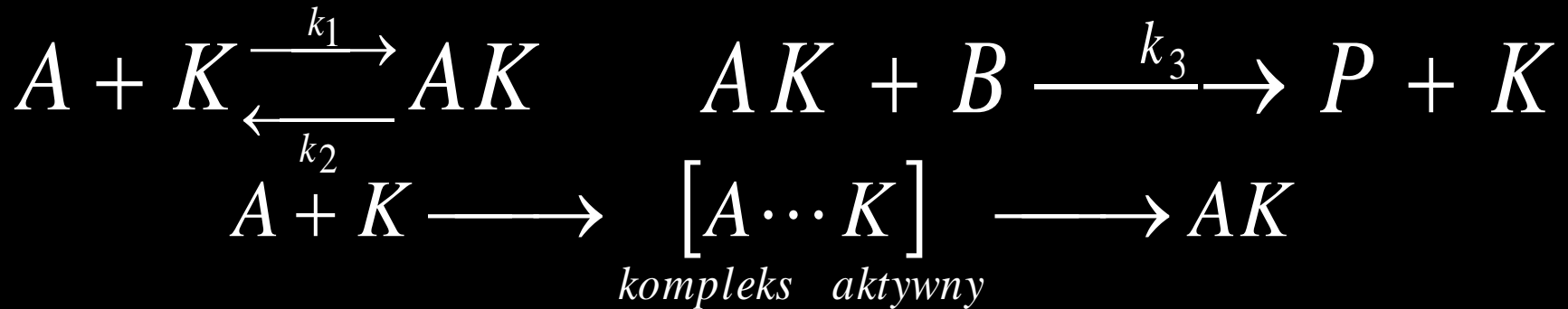
Kinetyka chemiczna kataliza i reakcje enzymatyczne

Ilościowy opis mechanizm działania katalizatorów



współrzędna reakcji

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.

Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD ⁺)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{-C}(=\text{O})\text{H} + \text{NADH} + \text{H}^+$
		<p style="text-align: center;">Ethanol Acetaldehyde</p>
Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	$\text{D-Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\quad} \text{D-Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$
		<p style="text-align: center;">D-Glucose D-Glucose-6-phosphate</p>
Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	$\text{C-terminus of polypeptide} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\quad} \text{Shortened polypeptide} + \text{C-terminal residue}$
		<p style="text-align: center;">C-terminus of polypeptide Shortened polypeptide C-terminal residue</p>
Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{H}^+ \xrightarrow{\quad} \text{Acetaldehyde} + \text{CO}_2$
		<p style="text-align: center;">Pyruvate Acetaldehyde</p>
Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (cis-trans isomerization)	$\text{Maleate} \rightleftharpoons \text{Fumarate}$
		<p style="text-align: center;">Maleate Fumarate</p>
Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{Pyruvate} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \xrightarrow{\quad} \text{Oxaloacetate} + \text{ADP} + \text{P}_i$
		<p style="text-align: center;">Pyruvate Oxaloacetate</p>

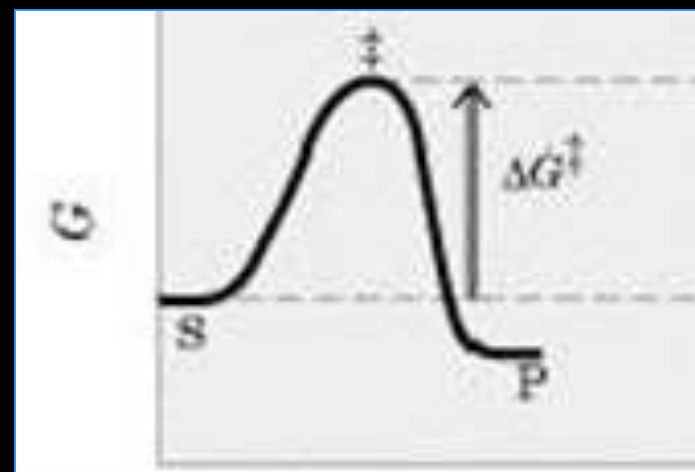
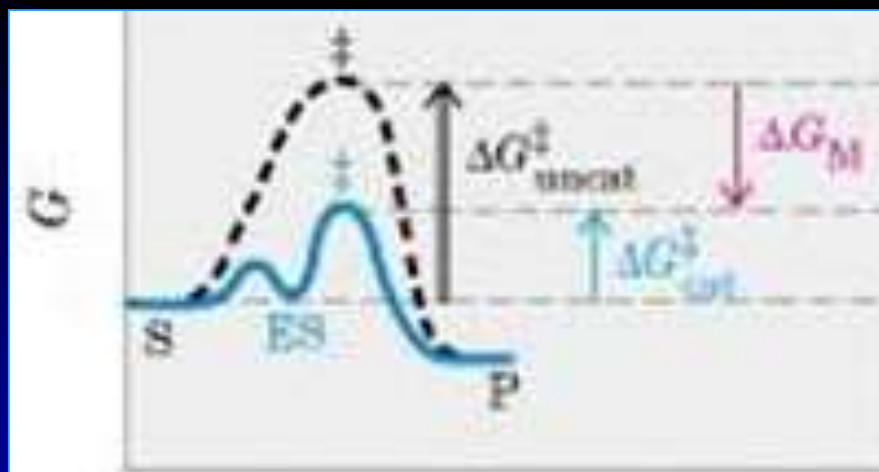
Efektywności enzymów

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

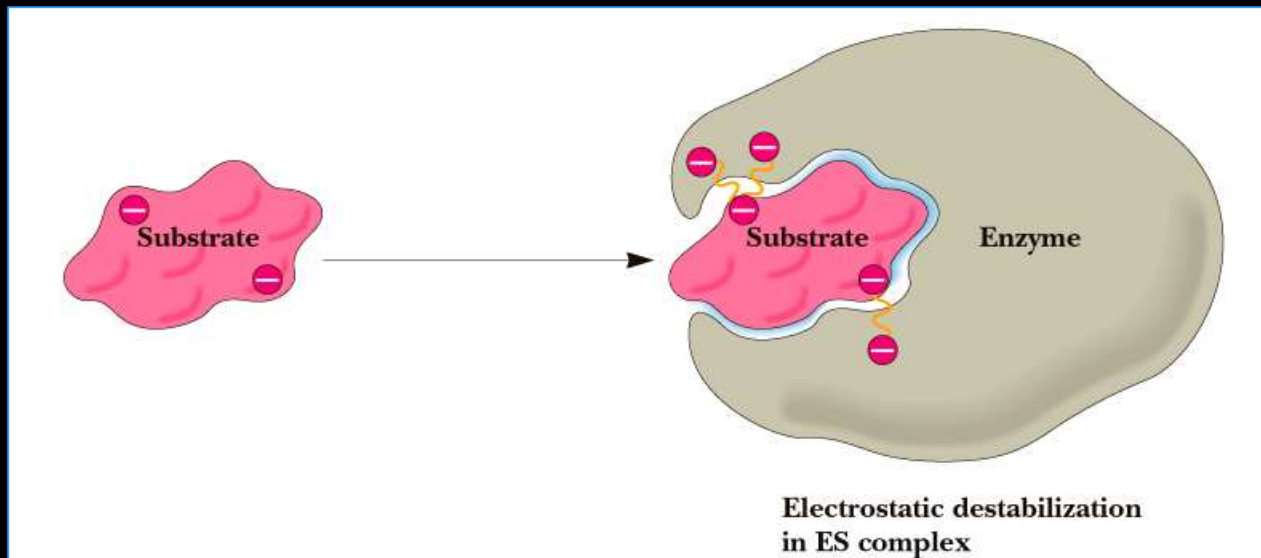
$$\text{efektywność} = \frac{k_{\text{nieenzymatycznej}}}{k_{\text{enzymatycznej}}} = \frac{10^5}{10^{-8}} = 10^{13}$$

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



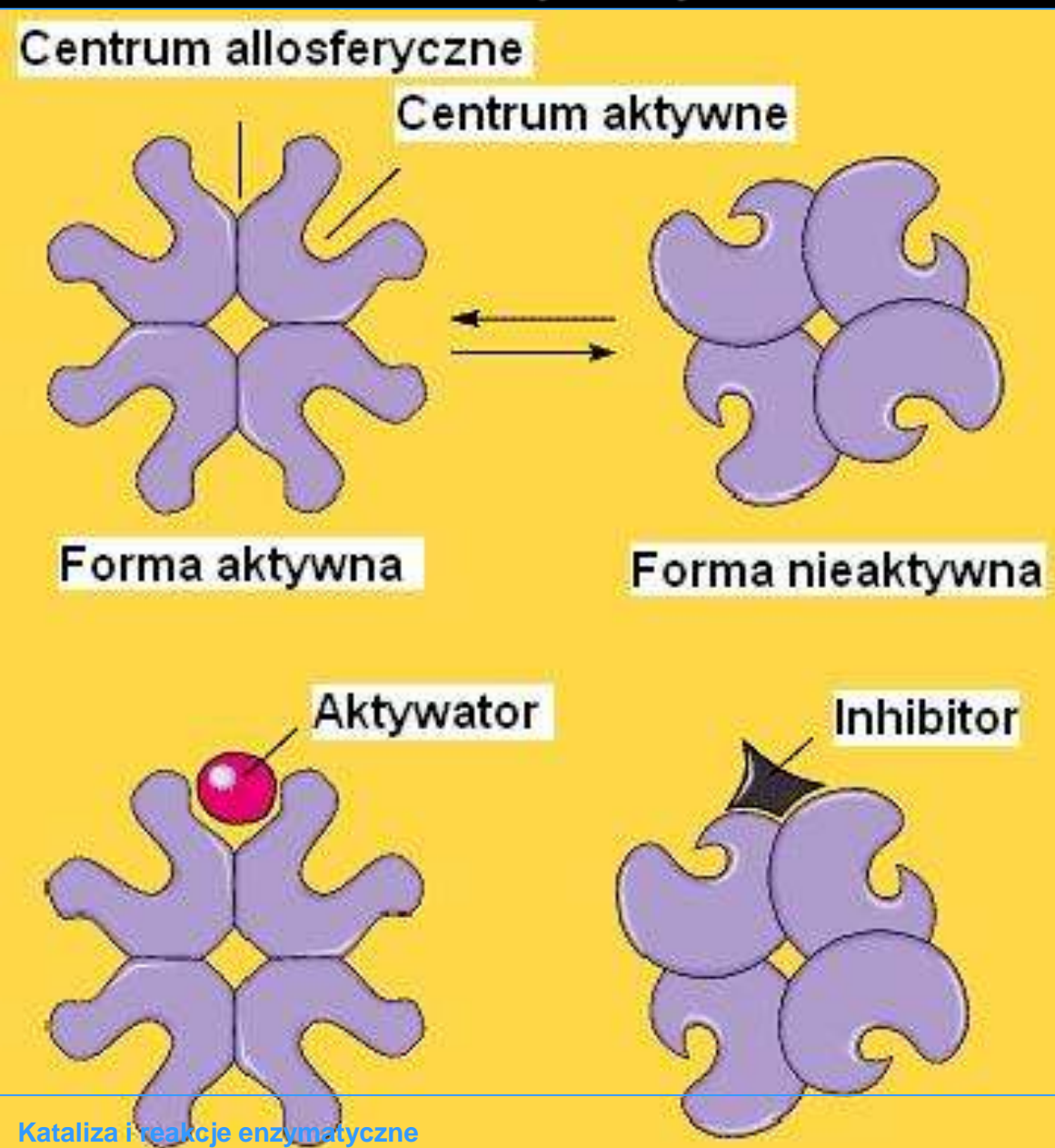
Jakie efekty molekularne wywołują enzymy?



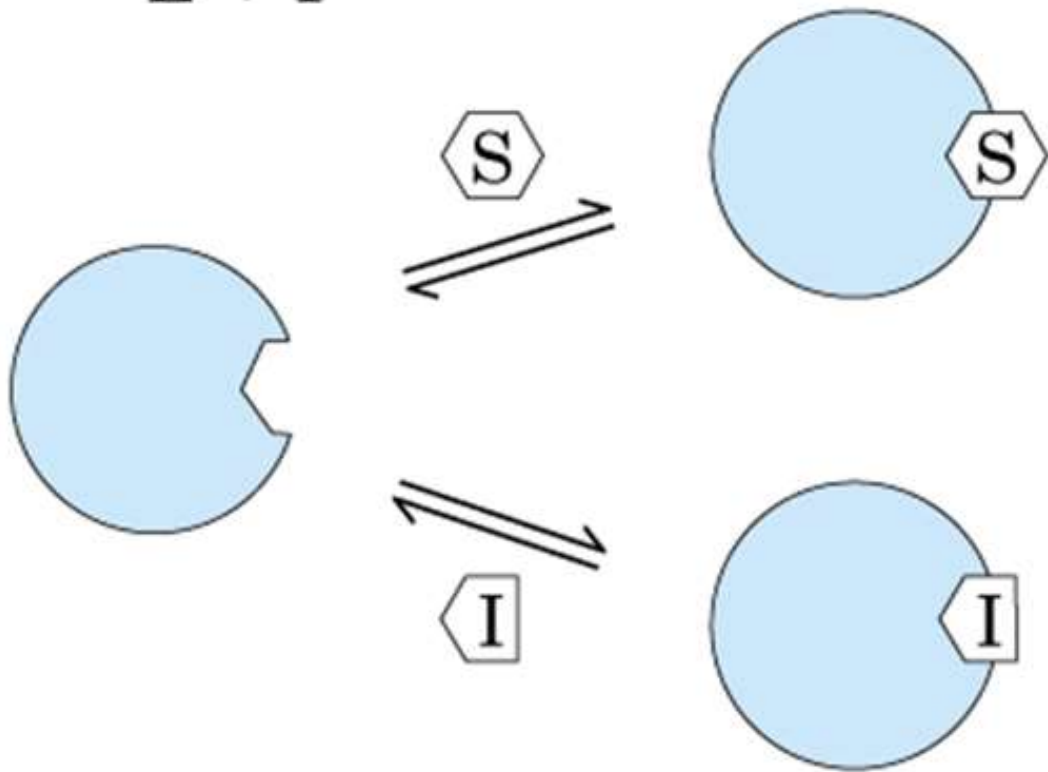
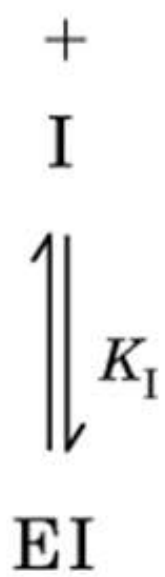
- 1. Efekt przybliżania** – reagenty muszą zostać zbliżone do siebie w celu utworzenia nowych wiązań chemicznych. W reakcjach nieenzymatycznych jest to dokonywane za pomocą wzrostu temperatury (poprzez zwiększenie średniej energii kinetycznej cząsteczek - częstsze kolizje).
- 2. Efekt orientacyjny**
- 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.

Przykład: Złożoność reakcji enzymatycznych

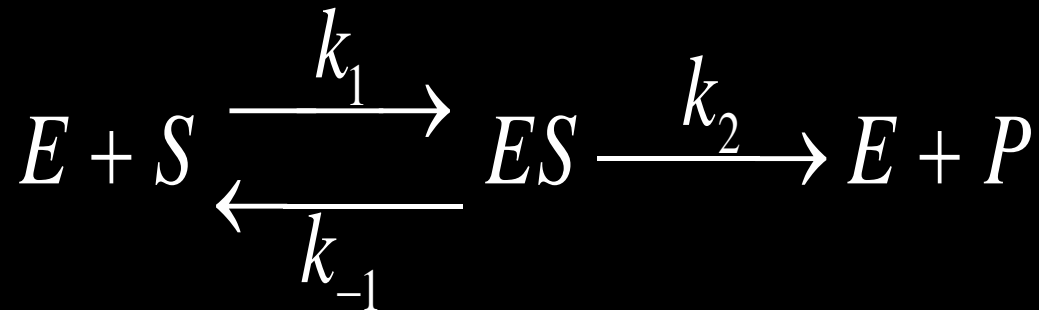
Dwa stany enzymów czasami enzym wymaga aktywacji



Przykład: Zjawisko inhibicji enzymatycznej



Kinetyka reakcji enzymatycznych



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

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

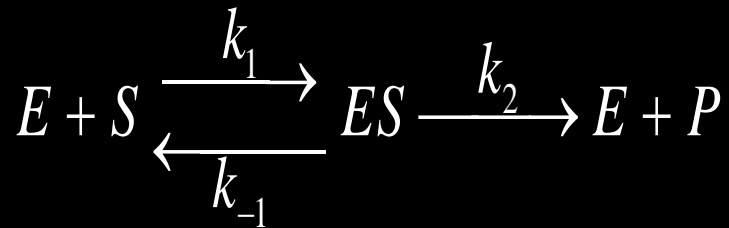
$$\frac{dS}{dt} = -k_1 \cdot E \cdot S + k_{-1} \cdot ES$$

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

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



Ujęcie Michaelis-Menten

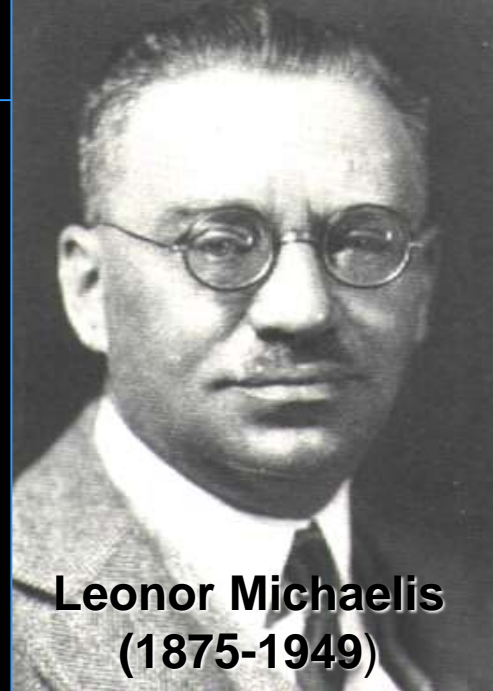


zasugerowali, że wartości stałych k_1 oraz k_{-1} są duże w porównaniu do k_2 , dlatego też ustala się stan równowagi pomiędzy E oraz ES

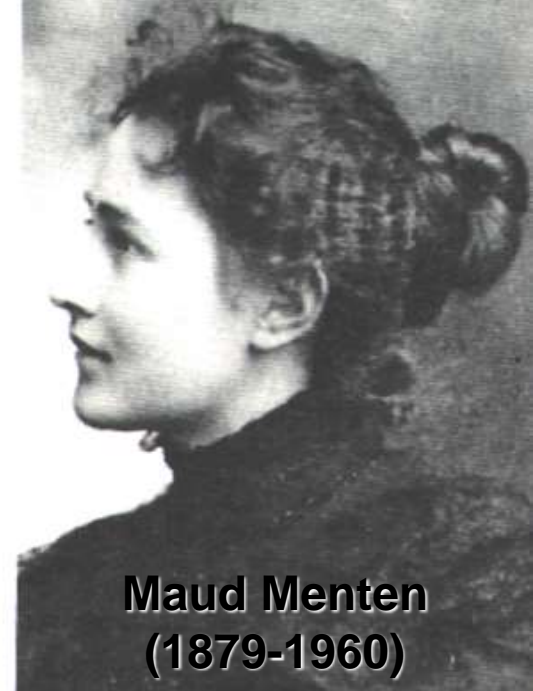
$$[ES] = [E]_{total}$$

Odpowiada to maksimum prędkości:

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



Leonor Michaelis
(1875-1949)



Maud Menten
(1879-1960)

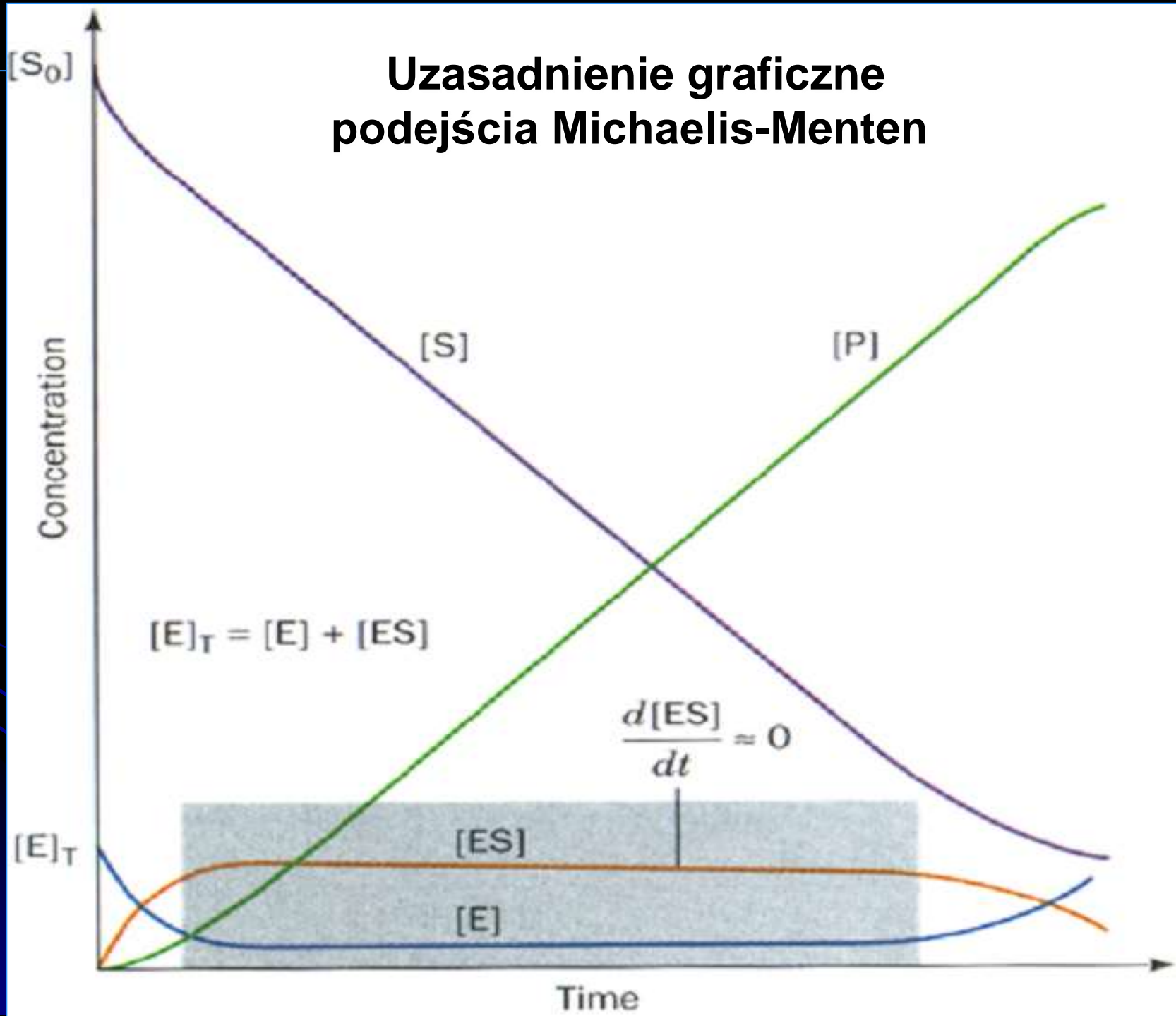
Wówczas można udowodnić, że:

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

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

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

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

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

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

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

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

