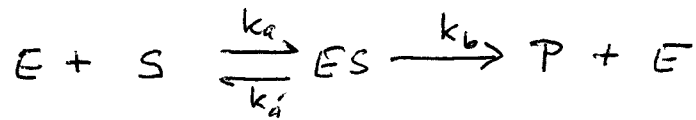


Michaelis-Menten mekanisme.

①



$[S] \gg [E]$ sædvanligvis. $e_0 = [E] + [ES]$.

$$0 \approx \frac{d[ES]}{dt} = k_a [E][S] - k'_a [ES] - k_b [ES]$$
$$= k_a (e_0 - [ES])[S] - (k'_a + k_b) [ES]$$

der giver

$$[ES] \approx \frac{k_a e_0 [S]}{k'_a + k_b + k_a [S]} = \frac{e_0 [S]}{\left(\frac{k'_a + k_b}{k_a}\right) + [S]}$$
$$= \frac{e_0 [S]}{K_m + [S]}$$

Produktet P's dannelsestastighed er da

$$v = k_b [ES] = \frac{k_b e_0 [S]}{K_m + [S]}$$

Dette er også den hastighed hvormed S forsvinder:

$$- \frac{d[S]}{dt} = k_a [E][S] - k'_a [ES] \approx k_b [ES]$$
$$\approx \frac{k_b e_0 [S]}{K_m + [S]}$$

Hvis $[S] \gg K_m$ for vi $v = k_b e_0 \equiv v_{max}$.

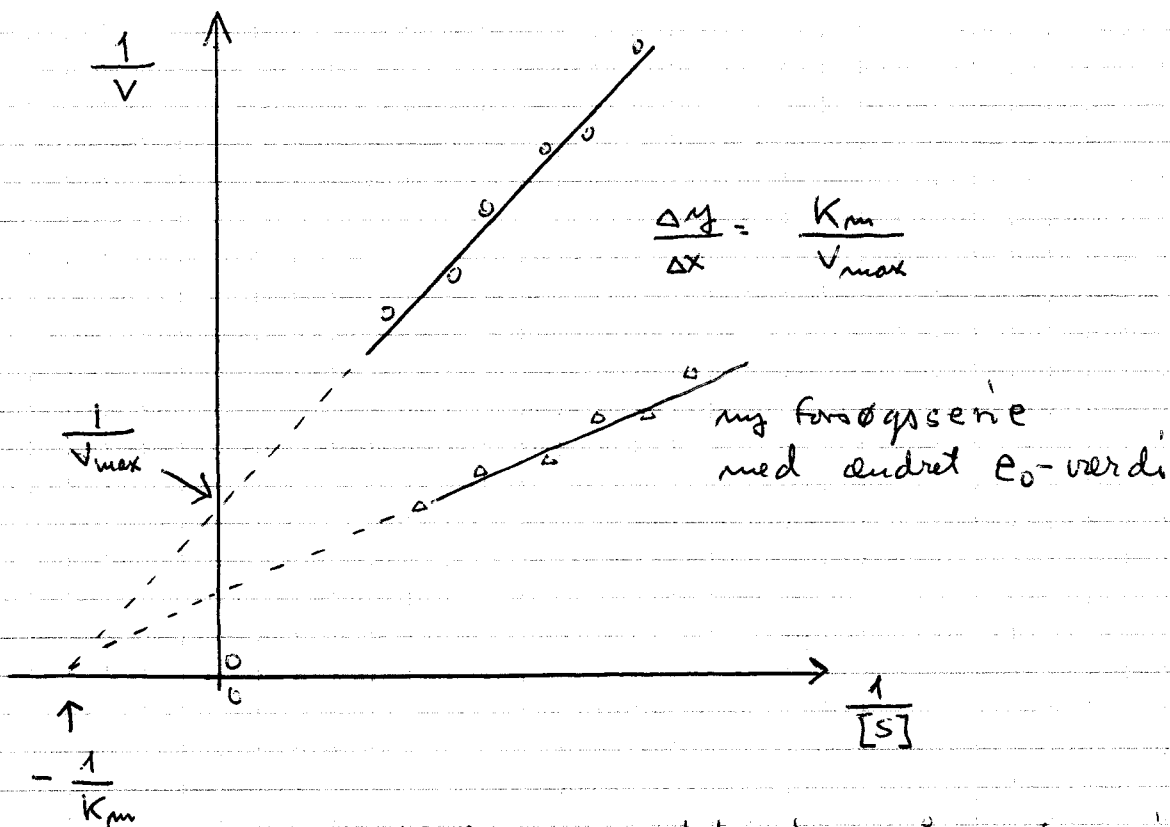
Omvendt, for $[S] \ll K_m$, $v \approx \frac{v_{max}}{K_m} \cdot [S]$.

I praksis måles v for en række værdier af $[S]$, og

$$\text{da } \frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{k_b e_0 [S]} = \frac{K_m}{k_b e_0} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{k_b e_0}$$

for man en ret linje, hvis v^{-1} plottes mod $[S]^{-1}$ og e_0 er den samme i alle forsøg (Lineweaver-Burk plot).

Heraf kan $k_b e_0$ ($\equiv v_{max}$) og K_m findes



men brug hældning og afskæring på y-aksen i stedet.

Hvis man udfører flere forsøgs serier med hver sin E_0 værdi, fås et sæt rette linjer der alle skærer x-aksen i $-\frac{1}{K_m}$, og dette kan bruges som check på, at kinetikken er givet ved MM-mekanismen.

LB-plottet erstattes undertiden af andre:

$v = \frac{v_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$ kan også omformes til

$v K_m + v [S] = v_{max} [S]$ og derefter

$v = v_{max} - K_m \frac{v}{[S]}$ (Eadie-plot)

der v som funktion af $v/[S]$ giver også en ret linje,

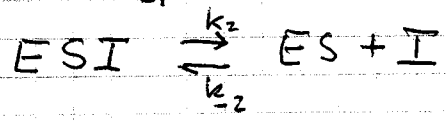
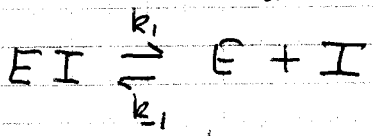
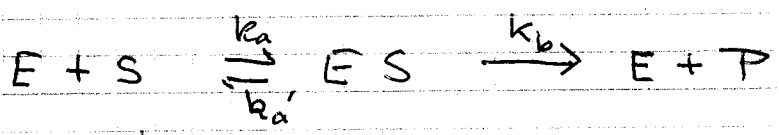
samt $\frac{[S]}{v} = \frac{[S]}{v_{max}} + \frac{K_m}{v_{max}}$ (Hanes-plot)

der $[S]/v$ plottet mod $[S]$.

Enzym inhibition

Mange species kan binde sig til enzymer og dermed måske ændre enzymets evne til at katalysere en reaktion.

En inhibitor I nedsætter den katalytiske virkning, I kan i princippet tænkes at binde sig til både enzymet E og dets aktive form ES. Vi har:



Som før er det kun ES der reagerer videre til P. Hvis både ES, EI og ESI er quasi-stationære, har vi

(1) $\frac{d[EI]}{dt} = k_1[E][I] - k_{-1}[EI] \approx 0$ des $\frac{[E][I]}{[EI]} \approx \frac{k_1}{k_{-1}} = K_I$

(2) $\frac{d[ESI]}{dt} = k_2[ES][I] - k_{-2}[ESI] \approx 0$ des $\frac{[ES][I]}{[ESI]} \approx \frac{k_2}{k_{-2}} = K_I'$

(3) $\frac{d[ES]}{dt} = k_a[E][S] - k_a'[ES] - k_b[ES] + \underbrace{k_2[ESI] - k_{-2}[ES][I]}_{=0 \text{ fra (2)}} \approx 0$

des vi genfinder

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_a + k_b}{k_a} \equiv K_M$$

Hvis vi indfører $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$ og $\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_I'}$

$$\text{har vi } e_0 = \underbrace{[E] + [EI]}_{[E] \cdot \alpha} + \underbrace{[ES] + [ESI]}_{[ES] \cdot \alpha'}$$

Tillige har vi $[E] = \frac{K_M}{[S]} [ES]$, der indsæt giver

$$e_0 = \left\{ \frac{K_M \alpha}{[S]} + \alpha' \right\} [ES]$$

udsætter vi i $v = k_b [ES]$ får

$$v = k_b \cdot \frac{e_0}{\frac{k_M \alpha}{[S]} + \alpha'} = \frac{k_b e_0 \cdot [S]}{K_M \alpha + \alpha' [S]}$$

der kan omformes til LB-plot (med $v_{max} = k_b \cdot e_0$ for den ikke-inhiberede reaktion som reference):

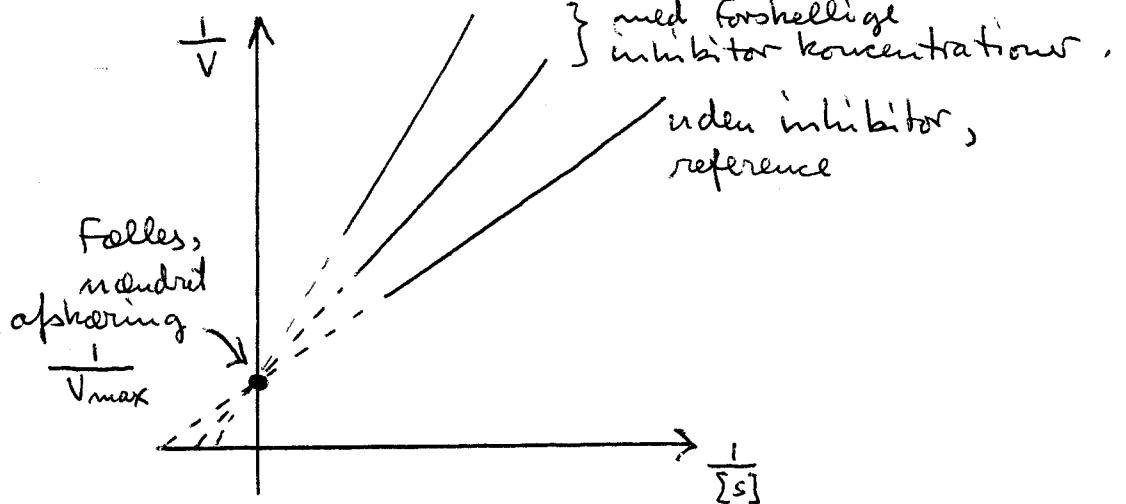
$$\frac{1}{v} = \frac{K_M \alpha + \alpha' [S]}{k_b e_0 [S]} = \frac{K_M \alpha}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{v_{max}} \quad (4)$$

Kompetitiv inhibering: Her konkurrerer I og S om enzymets aktive region, men de kan så ikke bindes samtidig:

des ESI dannes ikke og $\alpha' = 1$. Derimod er

$\alpha > 1$ med forskellige værdier afhængig af $[I]$.

Sammenligner vi med LB-plottet uden tilsat inhibitor (formelt $\alpha = 1$), bliver hældningerne nu afhængige af inhibitor-koncentrationen, men y -afskæringen er uændret:



Ikke-kompetitiv (non-competitive) inhibition (5)

Her bindes I til enzymet udenfor det aktive site, hvilket kan konformations af enzymet ændres, hvilket kan ændre det aktive sites geometri og føre til inhibition.

Både EI og ESI dannes, dvs $\alpha > 1$ og $\alpha' > 1$.

Hvis bindingen er (næsten) upåvirket af om S også er bundet, har vi $K_I \approx K_I'$ og dermed

$\alpha \approx \alpha' > 1$.

Ligning (4) bliver da

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max}'} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}'} \quad (5)$$

med $v_{max}' = v_{max}/\alpha$. (5) viser, at

skæringspunktet med abscisseaksen (dvs $\frac{1}{v} = 0$)

Fås for $[S]^{-1} = -\frac{1}{K_M}$ som for den uinhiberede

reference reaktion:

