

Reakciókinetika és katalízis

14. előadás: Enzimkatalízis

Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Alapfogalmak

- ▶ **Enzim:** Olyan egyszerű vagy összetett fehérjék, amelyek az élő szervezetekben végbemenő reakciók katalizátorai.
- ▶ **Szubsztrát:** A reakcióban átalakuló molekula.
- ▶ **Aktív centrum:** Az enzimmolekula azon része, ami a reakcióban ténylegesen részt vesz.
- ▶ Az aktív centrumon való megkötődés szelektív, melynek több fajtája létezik:
 - 1 szubsztrátspecifitás: Csak egyfajta molekula megkötésére alkalmas az enzim. (Pl.: glükózizomeráz, ami a glükóz-fruktóz átalakulást katalizálja)
 - 2 csoportspecifitás: Az enzim a szubsztrátmolekula meghatározott funkciócsoportjához képes csak kapcsolódni függetlenül a molekula többi részéhez. (Pl.: Észter-hidrolázok)
 - 3 sztereospecifitás: Egy adott molekula sztereoizomerjei közül csak az egyiket képes az enzim megkötni. (Pl.: fumaráz, ami a fumarát–L-malát átalakulást katalizálja.)

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

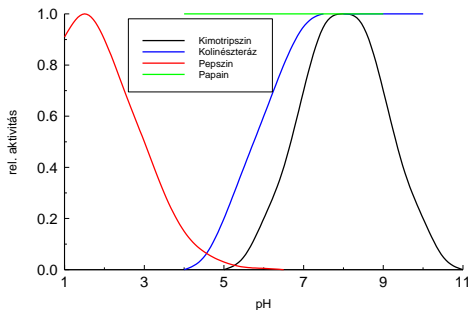
Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Enzimaktivitás

- ▶ Enzimaktivitás: Az enzimek katalitikus hatásának jellemzésére szolgál. Megadja, hogy adott körülmények között, adott idő alatt, adott mennyiségű enzim mennyi anyagot képes átalakítani.
- ▶ Aktivitást befolyásoló tényezők:
 - 1 pH (általában optimális pH szükséges a működéshez)



Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

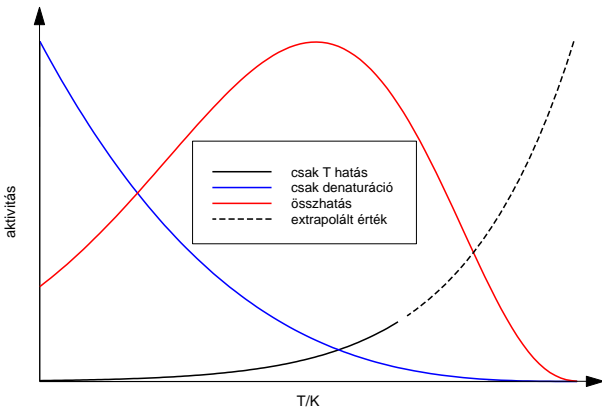
Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

- ② Hőmérséklet (Arrhenius¹ ↔ Denaturáció): Az aktivitás maximumgörbe szerint változik a hőmérséklet függvényében.



¹ A hőmérséklet hatása önmagában egy bizonyos hőmérséklet határon túl nem mérhető a növekvő denaturáció miatt. Az ábrán ezt szaggatott vonal jelzi, ami arra utal, hogy ezek csak extrapolált értékek.

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Michaelis-Menten kinetika

Legyen



Alkalmazzuk a steady-state közelítést [ES]-re

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_a[E][S] - k_{-a}[ES] - k_b[ES] \approx 0$$

Azaz

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_{-a} + k_b}$$

Kihasználva, hogy

$$[E]_0 = [ES] + [E]$$

behelyettesítve kapjuk, hogy

$$[ES] = \frac{k_a[E]_0[S]}{k_{-a} + k_b + k_a[S]}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

A reakciósebességre kapjuk:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_b[ES] = \frac{k_a k_b [E]_0 [S]}{k_{-a} + k_b + k_a [S]} = \frac{k_b [E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$

ahol K_M a Michaelis állandó:

$$K_M = \frac{k_{-a} + k_b}{k_a}$$

1 Ha $[S] \gg K_M$:

$$v \approx k_b [E]_0$$

Azaz a reakció formálisan nulladrendű lesz a szubsztrátra nézve, tehát a reakciósebesség tovább nem növelhető a szubsztrátkoncentráció növelésével.

2 Ha $K_M \gg [S]$:

$$v \approx \frac{k_b}{K_M} [E]_0 [S]$$

Azaz a reakció formálisan elsőrendű lesz a szubsztrátra nézve, tehát a reakciósebesség lineárisan nő a szubsztrátkoncentrációval.

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

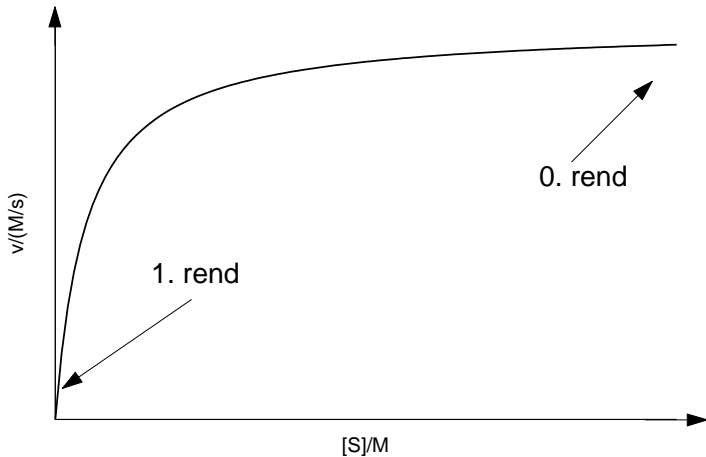
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció



Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztérmetékes

mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Lineweaver-Burk ábrázolás

- ▶ Jelöljük:

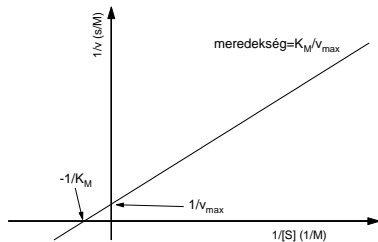
$$v_{\max} = k_b[E]_0$$

- ▶ Ekkor

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

- ▶ Átalakítva kapjuk, hogy

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$



Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Integrális módszer

Előző megfontolásaink alapján:

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = v_{\max} \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Átalakítva, változók szeparációjával:

$$-\frac{K_M + [S]}{[S]} d[S] = v_{\max} dt$$

Integrálva:

$$-\int_{[S]_0}^{[S]} \left(\frac{K_M}{y} + 1 \right) dy = \int_0^t v_{\max} dx$$

Kiintegrálás és algebrai átrendezés után:

$$\frac{1}{t} \ln \frac{[S]}{[S]_0} = -\frac{1}{K_M} \frac{([S]_0 - [S])}{t} + \frac{v_{\max}}{K_M}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztérmetékes

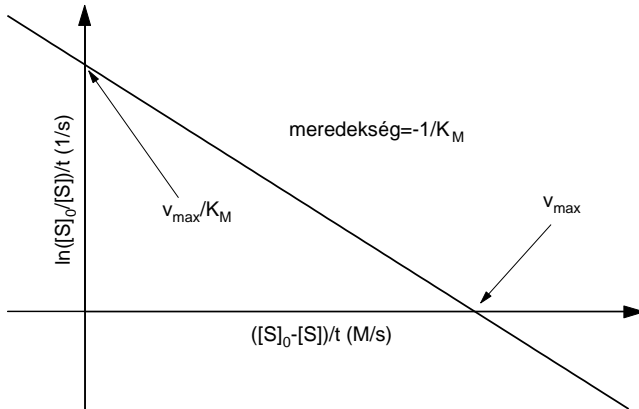
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció



Két köztitermékes mechanizmus

Legyen



Alkalmazzuk a steady-state közelítést $[ES_1]$ és $[ES_2]$ -re:

$$[ES_1] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2}$$
$$[ES_2] = \frac{k_2[ES_1]}{k_3} = \frac{k_1 k_2 [E][S]}{k_3(k_{-1} + k_2)}$$

Felhasználva, hogy $[E]_0 = [E] + [ES_1] + [ES_2]$:

$$[E]_0 = [E] + \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2} + \frac{k_1 k_2 [E][S]}{k_3(k_{-1} + k_2)}$$

Azaz:

$$[E] = [E]_0 \frac{k_3(k_{-1} + k_2)}{k_3(k_{-1} + k_2) + k_1[S](k_2 + k_3)}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubstrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Behelyettesítve:

$$v = \frac{d[P_2]}{dt} = k_3[ES_2] = \frac{k_1 k_2 [E][S]}{k_{-1} + k_2} = \frac{k_1 k_2 k_3 [E]_0 [S]}{k_3(k_{-1} + k_2) + k_1(k_2 + k_3)[S]} = \frac{\frac{k_2 k_3}{k_2 + k_3} [E]_0 [S]}{\frac{k_3(k_1 + k_2)}{k_1(k_2 + k_3)} + [S]} = \frac{V[S]}{K_M + [S]}$$

- ▶ A kapott egyenlet alakra megegyezik az egy közttermékes esettel.
- ▶ V , K_M kifejezés bonyolultabb.
- ▶ Hosszas számolás esetén belátható, hogy akárhány köztterméket feltételezünk, a kapott egyenlet alakja ugyanaz marad.
- ▶ Következmény: Csak a stacionárius kinetika tanulmányozásával NEM lehet meghatározni a folyamatban résztvevő komplexek számát!

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

**2 közttermékes
mechanizmus**

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

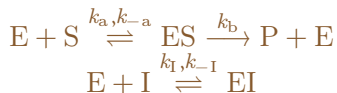
Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Kompetitív inhibíció

Kompetitív inhibíció: Az inhibitor reverzibilisen csak az enzimet köti meg.

Legyen



Korábban már láttuk, hogy:

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_{-a} + k_b}$$

Továbbá:

$$[EI] = \frac{k_I[E][I]}{k_{-I}}$$

Felhasználva

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EI]$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Levezethető, hogy:

$$[E] = \frac{k_{-I}(k_{-a} + k_b)[E]_0}{(k_{-a} + k_b)(k_{-I} + k_I[I]) + k_a k_{-I}[S]}$$

Ezért

$$[ES] = \frac{k_a k_{-I}[E]_0[S]}{(k_{-a} + k_b)(k_{-I} + k_I[I]) + k_a k_{-I}[S]}$$

Így

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_b[ES] = \frac{k_b[E]_0[S]}{K_M(1 + K_I[I]) + [S]}$$

Felhasználva, hogy $v_{\max} = k_b[E]_0$

$$v = \frac{v_{\max}[S]}{K_M(1 + [I]K_I) + [S]}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

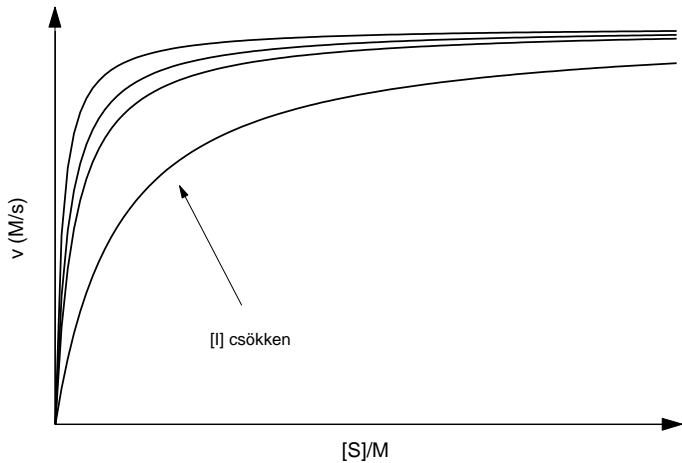
2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció



Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

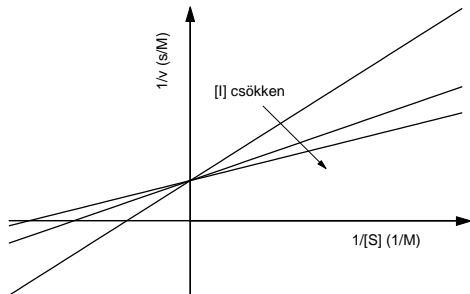
Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Lineweaver-Burk ábrázolás átrendezés után:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M(1 + [I]K_I)}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$



Lényeg: y-tengelymetszet állandó!

Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

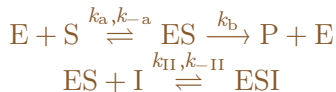
Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció: Az inhibitor reverzibilisen csak az enzim-szubsztrátumot köti meg.

Legyen



Alkalmazzuk [ES]-re a steady-state közelítést:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_a[E][S] - k_{-a}[ES] - k_b[ES] - \underbrace{k_{II}[ES][I] + k_{-II}[EIS]}_0 = 0$$

Így:

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_{-a} + k_b}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztérmékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Felhasználva, hogy

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [ESI] \text{ és } [ESI] = \frac{k_{II}}{k_{-II}} [ES][I]$$

kapjuk:

$$[E] = \frac{(k_{-a} + k_b)[E]_0}{k_{-a} + k_b + k_a[S] \left(1 + \frac{k_{II}}{k_{-II}} [I]\right)}$$

Azaz:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_b [ES] = k_b \frac{k_a [S][E]_0}{k_{-a} + k_b + k_a [S] \left(1 + K_{II}[I]\right)} = \frac{k_b [E]_0 [S]}{K_M + (1 + K_{II}[I])[S]}$$

Kihasználva, hogy $v_{\max} = k_b [E]_0$:

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + (1 + K_{II}[I])[S]}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

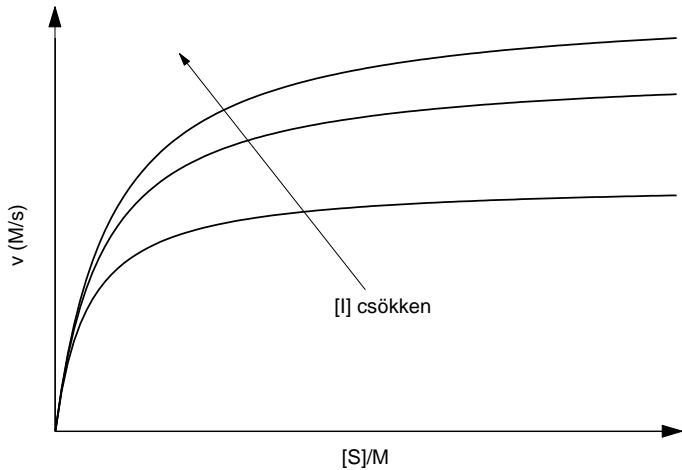
2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció



Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

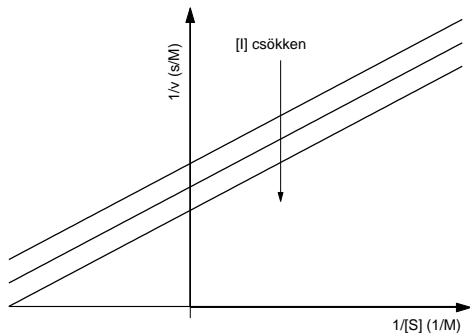
Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Lineweaver-Burk ábrázolás átrendezés után:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1 + K_{II}[I]}{v_{\max}}$$



Lényeg: meredekség állandó!

Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes

mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

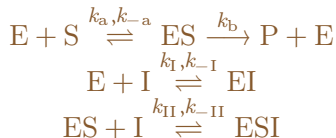
Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Nemkompetitív inhibíció: Az inhibitor reverzibilisen nemcsak az enzimet, hanem az enzim-szubsztrátumot is megköti.

Legyen



Alkalmazzuk [ES]-re a steady-state közelítést:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_a[E][S] - k_{-a}[ES] - k_b[ES] - \underbrace{k_{II}[ES][I] + k_{-II}[EIS]}_0 = 0$$

Így:

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_{-a} + k_b}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Felhasználva, hogy

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EI] + [ESI], [ESI] = \frac{k_{II}}{k_{-II}} [ES][I], [EI] = \frac{k_I}{k_{-I}} [E][I]$$

kapjuk:

$$[E]_0 = [E] \left(1 + \frac{k_a [E][S]}{k_{-a} + k_b} + \frac{k_I [E][I]}{k_{-I}} + \frac{k_{II} k_a [E][S][I]}{k_{-II} (k_{-a} + k_b)} \right)$$

Ebből átrendezéssel:

$$[E] = \frac{(k_{-a} + k_b)[E]_0 k_{-I} k_{-II}}{(k_{-a} + k_b) k_{-I} k_{-II} + k_I k_{-II} (k_{-a} + k_b) [I] + k_a k_{-I} [S] (k_{-II} + k_{II} [I])}$$

Kapjuk, hogy

$$[ES] = \frac{k_a k_{-I} k_{-II} [E]_0 [S]}{k_{-I} k_{-II} (k_{-a} + k_b) + k_I k_{-II} (k_{-a} + k_b) [I] + k_{-I} k_a [S] (k_{-II} + k_{II} [I])}$$

Kihasználva, hogy

$$K_M = \frac{k_{-a} + k_b}{k_a}$$

Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

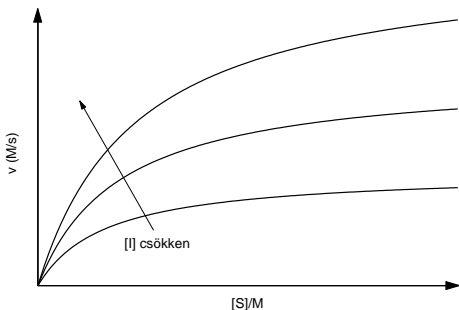
Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_b[ES] = \frac{k_b[E]_0[S]}{(1 + K_I[I])K_M + (1 + K_{II}[I])[S]}$$

Kihasználva, hogy $v_{\max} = k_b[E]_0$:

$$v = \frac{v_{\max}[S]}{(1 + K_I[I])K_M + (1 + K_{II}[I])[S]}$$



Cím

Enzimreakciók
kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes
mechanizmus

Enziminhibíció

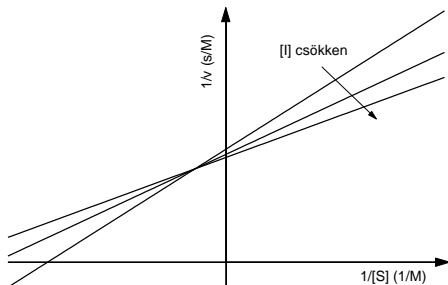
Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció

Lineweaver-Burk ábrázolás átrendezés után:

$$\frac{1}{v} = \frac{(1 + K_I[I]) K_M}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1 + K_{II}[I]}{v_{\max}}$$



Lényeg: meredekség és tengelymetszet változik, de a különböző [I] értékekhez tartozó egyenesek egy pontban metszik egymást!

Cím

Enzimreakciók kinetikája

Enzimreakciók alapfogalmai

Enzimaktivitás jellemzése

Michaelis-Menten kinetika

LB ábrázolás

integrális módszer

2 köztitermékes mechanizmus

Enziminhibíció

Kompetitív inhibíció

Enzimszubsztrát-inhibíció

Nemkompetitív inhibíció