

Лекция 5

Схема Михаэлиса-Ментен.

Р. стр. 107-115

Э.-К. стр. 326-328

Реагент S (субстрат) взаимодействует с ферментом E (первая буква английского слова enzyme), образуется промежуточный продукт, комплекс SE , который затем распадается с образованием продукта P :



Это - каталитическая реакция, фермент E является катализатором.

Наша задача - получить дифференциальное уравнение для скорости образования P .

Записываем условие квазистационарности для SE :

$$d[SE]/dt=0, \quad k_1 [S]*[E] = k_2*[SE]+k_{-1}*[SE]$$

$$[SE] = k_1 [S]*[E] / (k_2+k_{-1}) \quad (2)$$

Запишем уравнения материального баланса:

$$[E]_0 = [SE] + [E] \quad [E]_0 - [SE] = [E] \quad (3)$$

$[E]_0$ – начальная концентрация фермента.

Задача рассматривается при больших начальных концентрациях субстрата

$$[S]_0 \approx [S] \gg [SE], [P] \quad (4)$$

В итоге получаем для стационарной концентрации $[SE]$

$$[SE] = k_1 [S]* ([E]_0 - [SE]) / (k_2+k_{-1}) \quad (5)$$

$$[SE] = k_1 [S]* [E]_0 / \{(k_2+k_{-1})+ k_1 [S]\} \quad (6)$$

Для скорости образования конечного продукта получаем:

$$\begin{aligned}
 d[P]/dt &= k_2 [SE] = k_2 k_1 [S]^* [E]_0 / \{(k_2 + k_{-1}) + k_1 [S]\} = r \\
 &= k_2 [S]^* [E]_0 / \{(k_2 + k_{-1})/k_1 + [S]\}
 \end{aligned}
 \tag{7}$$

Поскольку выполняется условие (4), в уравнениях (5) – (7) концентрация субстрата $[S]$ практически равна начальной концентрации $[S]_0$.

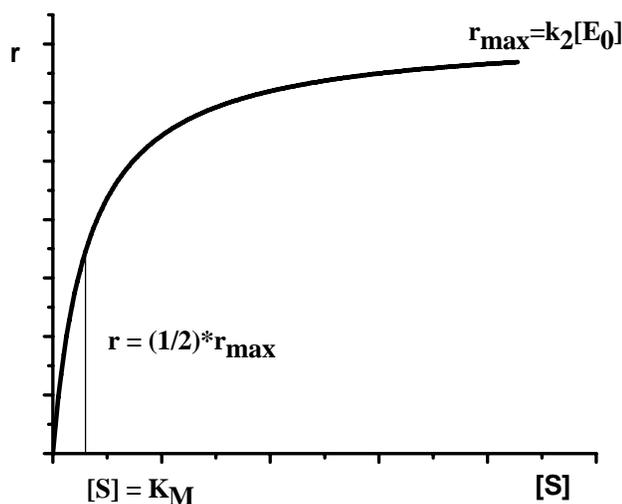
Выражение (7) называется *уравнением Михаэлиса-Ментен*. Величина

$$(k_2 + k_{-1})/k_1 = K_M \tag{8}$$

называется *константой Михаэлиса*. Ее размерность - концентрация!

Нарисуем кривую зависимости начальной скорости реакции r от концентрации $[S] \approx [S]_0$:

$$r = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$



При больших значениях $[S]$ реакция имеет по $[S]$ нулевой порядок. При этом достигается максимально возможная скорость реакции:

$$r_{\max} = k_2 E_0 \quad [S]_0 \approx [S] \gg K_M \tag{9}$$

При низких значениях $[S]_0 \approx [S]$ наблюдается первый порядок реакции по субстрату. В знаменателе можно пренебречь концентрацией

$$r = \frac{k_2[E]_0[S]}{K_M + [S]} \approx \frac{k_2[E]_0}{K_M} \quad K_M \gg [S] \approx [S]_0 \quad (10)$$

Когда концентрация $[S]$ равна константе Михаэлиса, скорость равна половине максимальной скорости

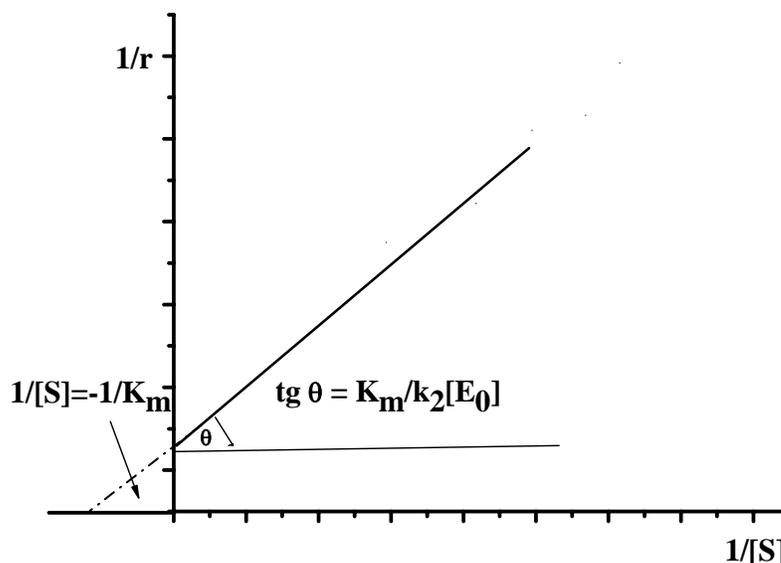
$$r = \frac{r_{\max}}{2} = \frac{k_2[E]_0[S]}{2[S]} = \frac{k_2[E]_0}{2}; \quad K_M = [S] \approx [S]_0 \quad (11)$$

Для рассмотрения схемы Михаэлиса-Ментен удобны обратные координаты *Лаунивера - Берка*:

$$\frac{1}{r} = \frac{K_M}{k_2[E]_0} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{k_2[E]_0} = a \frac{1}{[S]} + b \quad (12)$$

Уравнение (12) получено «переворотом» уравнения (7).

Построим график линейной зависимости $\frac{1}{r} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$



Из значений a и b для линейной зависимости (12) определяются оба параметра уравнения Михаэлиса – Ментен:

$$k_2 = \frac{1}{b[E]_0}; \quad K_M = \frac{a}{b} \quad (13)$$

Схема Михаэлиса-Ментен и квазиравновесие.

Предположим, что в (2) константа скорости реакции образования продукта значительно меньше, чем константа скорости распада комплекса на реагенты. Тогда “условие квазистационарности” превращается в условие “квазиравновесия”:

$$k_1[S][E] = k_{-1}[SE], \quad k_{-1} \gg k_2; \quad K = \frac{[SE]}{[S][E]} = \frac{k_1}{k_{-1}}$$

$$[E] = [E]_0 - [SE],$$

$$k_1[S][E]_0 - k_1[S][SE] = k_{-1}[SE],$$

$$[SE] = \frac{k_1[S][E]_0}{k_{-1} + k_1[S]} = \frac{[S][E]_0}{\frac{k_{-1}}{k_1} + [S]}, \quad (14)$$

$$r = \frac{k_2[S][E]_0}{\frac{1}{K} + [S]}$$

На месте константы Михаэлиса появляется величина, обратная обычной константе равновесия реакции образования комплекса.

Схема Михаэлиса-Ментен и схема Ленгмюра-Хиншельвуда.

Равновесная монослойная адсорбция вещества из газовой фазы на однородной твердой поверхности описывается уравнением:



Равновесная концентрация «адсорбционных» комплексов на поверхности:

$$[AC]_s = Kp_A \times [C]_s \quad (16)$$

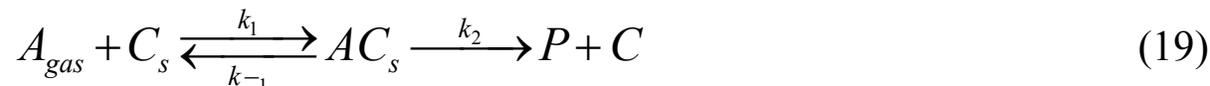
Здесь

$$K = \frac{k_1}{k_{-1}} \quad (17)$$

Уравнение Ленгмюра дает концентрацию комплексов AC на поверхности или долю занятой поверхности:

$$\theta_{AC} = \frac{Kp_A}{1 + Kp_A}; \quad \theta_{AC} = \frac{[AC]_s}{[C]_0} \quad (18)$$

Рассмотрим гетерогенную каталитическую реакцию, протекающую по схеме:



Вещество A из газовой фазы кинетически обратимо адсорбируется на поверхности и там происходит необратимая реакция первого порядка:

$$r = k_2[AC]_s = k_2\theta_{AC}[C]_0 = \frac{k_2Kp_A[C]_0}{1 + Kp_A} = \frac{k_2p_A[C]_0}{\frac{1}{K} + p_A}; \quad (20)$$

Уравнение (20) описывает схему Ленгмюра-Хиншельвуда. Она практически тождественна схеме Михаэлиса-Ментен. Субстрат - это вещество A, катализатор - это поверхность, и вместо $[E]_0$ в уравнение входит полное количество активных центров на единицу площади поверхности $[C]_0$. Все остальные обозначения - прежние:

$$\frac{k_2[S][E]_0}{K_M + [S]} \Leftrightarrow \frac{k_2p_A[C]_0}{\frac{1}{K} + p_A} = \frac{k_2p_A[C]_0}{\frac{k_{-1}}{k_1} + p_A} \quad (21)$$

В схеме Михаэлиса-Ментен использовано условие квазистационарности, а в схеме Ленгмюра Хиншельвуда – квазиравновесия.

Конкурентное и неконкурентное ингибирование. Субстратное торможение.

Р. стр. 117-122

Э.-К. стр. 330-333

Схема Михаэлиса-Ментен усложняется другими реакциями, протекающими в системе.

1) Фермент может связываться ингибитором I в каталитически неактивный комплекс EI :



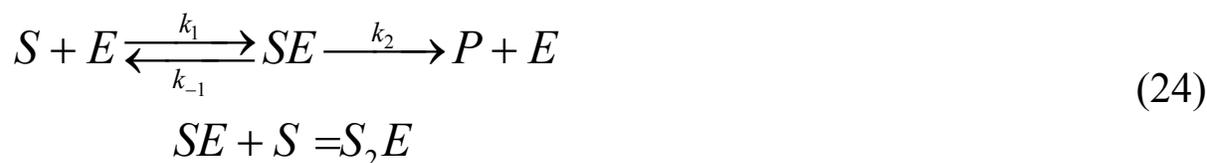
Это - конкурентное ингибирование. Два субстрата S и I конкурируют за место на катализаторе.

2) Ингибитор может связывать комплекс ES, мешая ему превращаться в продукт:



Эта схема называется неконкурентным ингибированием.

3) Наконец, сам субстрат может служить ингибитором комплекса, мешая комплексу превращаться в продукт:



Этот случай называется субстратным торможением.

Конкурентное ингибирование.

Рассмотрим схему (22). Используем предположения:

- для комплекса SE сохраняется условие квазистационарности;
- концентрации комплекса EI рассчитывается с помощью соответствующих условий квазиравновесия (см. выше!)
- в уравнении баланса для E учитывается комплекс EI.

$$\frac{d[SE]}{dt} = k_1[S][E] - k_{-1}[SE] - k_2[SE] = 0
 \tag{25}$$

$$[IE] = K_I[E][I], [I]_0 \approx [I] \gg [EI] \quad (26)$$

$$\begin{aligned} [E] &= [E]_0 - [SE] - [IE] = \\ &[E]_0 - [SE] - K_I[I]_0[E] \end{aligned} \quad (27)$$

Из соотношений (25)-(27) получаем :

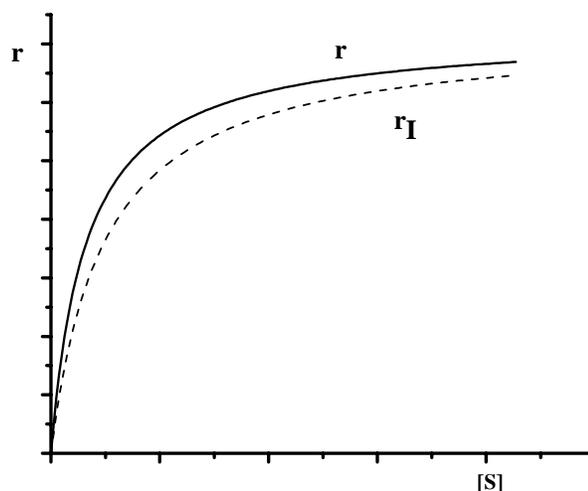
$$\begin{aligned} [E] &= \frac{[E]_0 - [SE]}{1 + K_I[I]_0}; \\ k_1[S] \times \frac{[E]_0 - [SE]}{1 + K_I[I]_0} &= (k_{-1} + k_2)[SE]; \\ k_1[S] \times \frac{[E]_0}{1 + K_I[I]_0} &= [SE] \times \left\{ (k_{-1} + k_2) + \frac{k_1[S]}{1 + K_I[I]_0} \right\} \\ [SE] &= \frac{k_1[S] \times \frac{[E]_0}{1 + K_I[I]_0}}{(k_{-1} + k_2) + \frac{k_1[S]}{1 + K_I[I]_0}} = \frac{[S] \times [E]_0}{K_M (1 + K_I[I]_0) + [S]}; \\ r_I &= \frac{k_2[S] \times [E]_0}{K_M^* + [S]} \end{aligned} \quad (28)$$

Вместо константы Михаэлиса K_M в уравнении появляется эффективная константа Михаэлиса K_M^* , причем,

$$K_M^* = K_M (1 + K_I[I]_0) > K_M \quad (29)$$

и скорость образования продукта, разумеется, в случае ингибирования будет меньше. Максимальная скорость останется прежней.

$$r_I = k_2[E]_0, [S] \gg K_M^* \quad (30)$$



Зависимость отношения начальных скоростей от концентрации ингибитора:

$$\frac{r}{r_I} = \frac{[S]_0 + K_M(1 + K_I[I]_0)}{[S]_0 + K_M} = 1 + \frac{K_M K_I}{[S]_0 + K_M} \times [I]_0 \quad (31)$$

Это - линейная зависимость, тангенс угла наклона позволяет рассчитать константу ингибирования, если известны концентрации субстрата и ингибитора и константа Михаэлиса.

Конкурентное ингибирование и схема Ленгмюра – Хиншельвуда.

Одновременная адсорбция на поверхности двух веществ по Ленгмюру описывается уравнением:

$$\theta_{AC} = \frac{K_A p_A}{1 + K_A p_A + K_B p_B}; \quad (32)$$

Здесь θ_{AC} - доля мест на поверхности, занятая комплексами AC .

Теперь представим себе ситуацию в каталитической реакции:

$$r = \frac{k_2 K_A p_A [C]_0}{1 + K_A p_A + K_B p_B} = \frac{k_2 p_A [C]_0}{\frac{1}{K_A} (1 + K_B p_B) + p_A}; \quad (33)$$

Перед нами случай конкурентного ингибирования :

$$r \Leftrightarrow \frac{k_2[S][E]_0}{K_M(1 + K_I[I]_0) + [S]} \Leftrightarrow \frac{k_2 p_A [C]_0}{\frac{1}{K_A}(1 + K_B p_B) + p_A}; \quad (34)$$