

8^a Lezione

Gli enzimi

Lo studio della velocità con cui procedono le reazioni chimiche costituisce l'oggetto della cinetica chimica.

Lo studio della cinetica enzimatica è incentrato sul ruolo degli enzimi come catalizzatori biologici e sui loro meccanismi.

Gli enzimi

Una reazione del tipo :



Presumibilmente avverrà attraverso più passaggi :



Se si assume che la reazione avvenga senza intermedi, allora si avrà che per una reazione elementare come :



Esiste una descrizione cinetica che la definisce.

Gli enzimi

La velocità della reazione è :

$$V = \frac{d [P]}{dt} \qquad V = - \frac{d [A]}{dt}$$

E' questa l'equazione della velocità

Nel caso in cui : $V = - \frac{d [A]}{dt} = k [A]$

$K =$ costante di velocità (t^{-1}) e quindi (s^{-1})

V è una funzione di $[A]$ alla prima potenza oppure
 V è di primo ordine rispetto ad A

Gli enzimi

L'ordine di reazione corrisponde alla molecolarità della reazione, e cioè al numero di molecole che devono incontrarsi (o scontrarsi) per dare origine ad un prodotto.

Nella reazione :



$$V = - \frac{d[A]}{dt} = k [A]^2$$

La velocità della reazione è proporzionale al quadrato della [A]

La reazione è di secondo ordine ed è una reazione bimolecolare.

Gli enzimi

Se si considera la reazione :



La sua equazione della velocità è :

$$V = - \frac{d[A]}{dt} = - \frac{d[B]}{dt} = k[A][B]$$

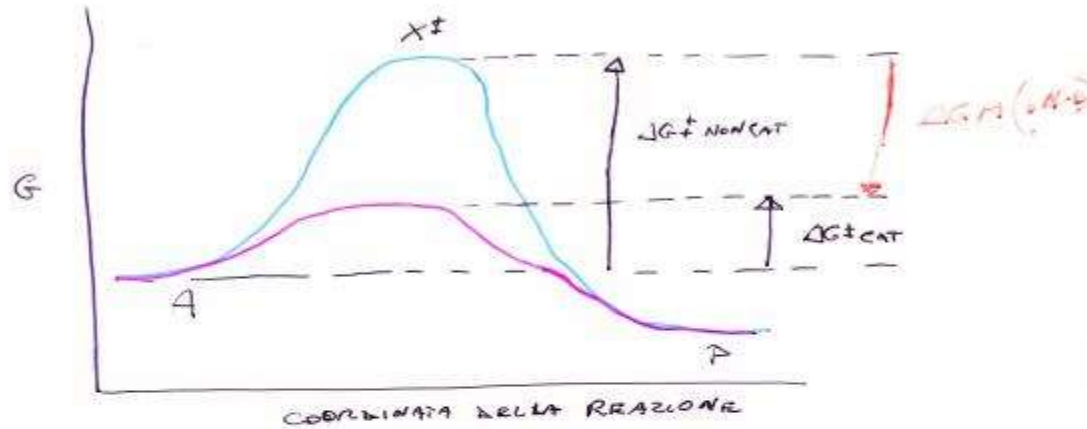
La reazione è di secondo ordine ed è una reazione bimolecolare.

Le reazioni unimolecolari e bimolecolari sono abbastanza comuni.

Le reazioni trimolecolari sono molto più rare.

Gli enzimi

PER LA REAZIONE :



EQUAZIONE DI ARRHENIUS :

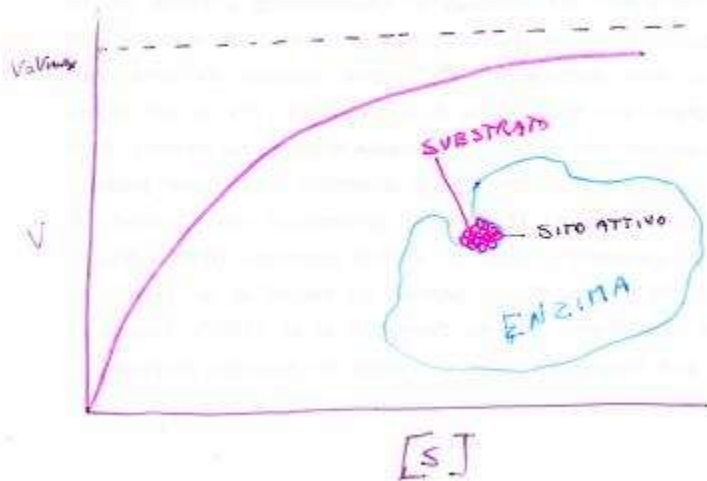
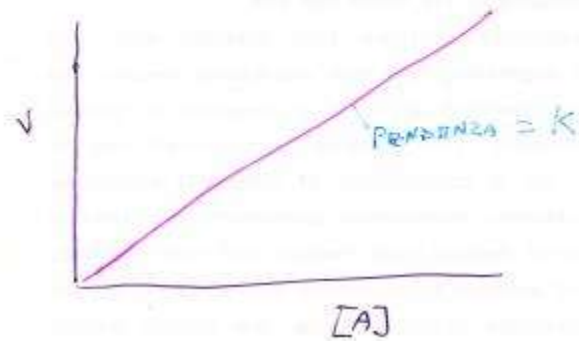
$$K = A \cdot e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$$

$$\frac{1}{K} = \frac{1}{A} \cdot e^{\Delta G^\ddagger / RT}$$

$$K = \frac{k_B T}{h} \cdot e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$$

k_B = COSTANTE DI BOLTZMANN h = COSTANTE DI PLANCK

PER LA REAZIONE :



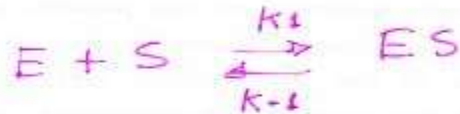
$$v = - \frac{d[A]}{dt} = k[A]$$

Gli enzimi



MODELLO CINETICO DI MICHAELIS - MENTEN

I ASSUNTO = FORMAZIONE DI ES



ALL' EQUILIBRIO SI HA:

$$k_{-1} [ES] = k_1 [E] [S]$$

E RISOLVENDO:

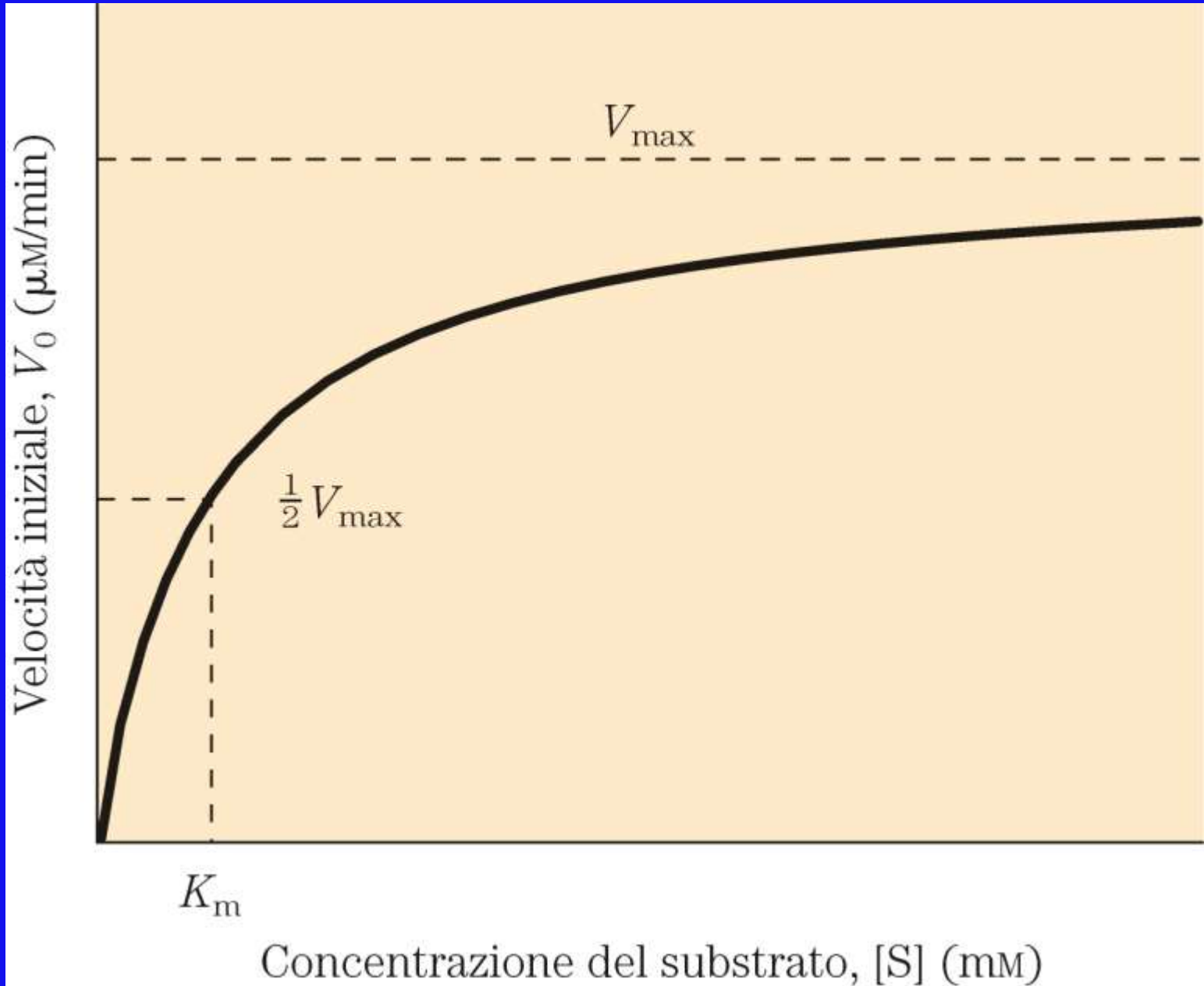
$$\frac{[E] [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1} = K_s$$

POI SI HA:



Assunzione della
formazione
del complesso ES
secondo la teoria di
Michaelis e Menten

Gli enzimi



Gli enzimi

II ASSUNTO = STATO STAZIONARIO

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$

III ASSUNTO = VELOCITA' INIZIALE

$V_0 =$ VELOCITA' INIZIALE

QUANDO SI CONSIDERA:

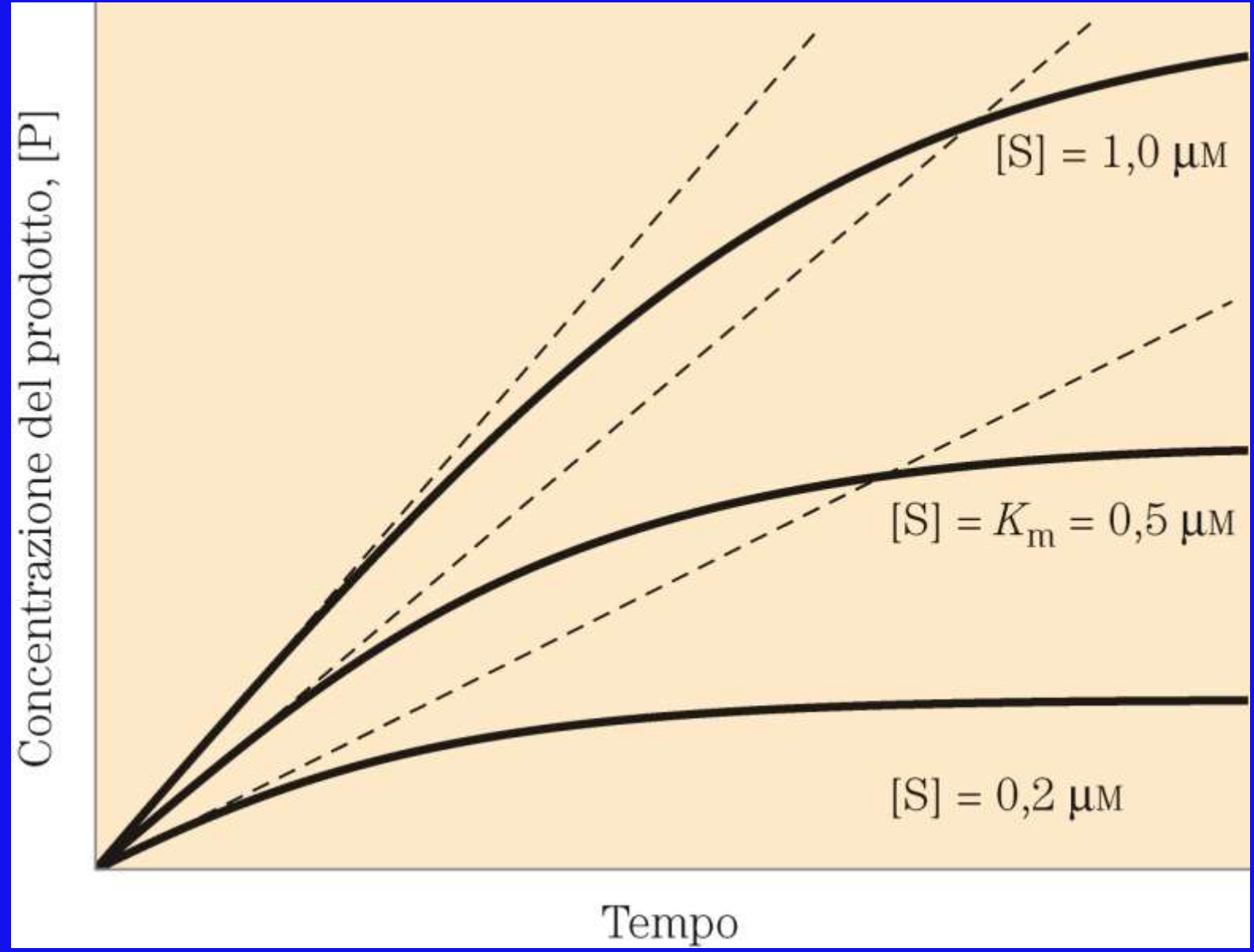


LA REAZIONE COMPLESSIVA E':



Assunzione dello stato
stazionario di
Briggs e Haldane

Gli enzimi



Gli enzimi

II ASSUNTO = STATO STAZIONARIO

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$

III ASSUNTO = VELOCITA' INIZIALE

V_0 = VELOCITA' INIZIALE

QUANDO SI CONSIDERA:



LA REAZIONE COMPLESSIVA E':



Gli enzimi

IN UNA FASE INIZIALE:

$$V_0 = k_2 [ES]$$

PER

$$[E_T] - [ES] = [E]$$

BISOGNA CONSIDERARE CHE:

$$[S] \gg [E_T]$$

$$[ES] \text{ COME COMPLESSO } \rightleftharpoons 0$$

IN QUESTE CONDIZIONI:

$$V_{\text{VELOCITA' DI FORMAZIONE ES}} = k_1 [E] [S]$$

MA

$$[E] = [E_T] - [ES]$$

E QUINDI:

$$V_{\text{VELOCITA' DI FORMAZIONE ES}} = k_1 ([E_T] - [ES]) \cdot [S]$$

Gli enzimi

$$\text{VELOCITA' DI DEMOLIZIONE DI ES} = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}]$$

ALLO STATO STAZIONARIO :

$$k_1([\text{E}_T] - [\text{ES}]) \cdot [\text{S}] = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}]$$

RISOLVENDO SI HA :

$$k_1[\text{E}_T][\text{S}] - k_1[\text{ES}][\text{S}] = (k_{-1} + k_2)[\text{ES}]$$

AGGIUNGENDO IL TERMINE $k_1[\text{ES}][\text{S}]$, SI HA :

$$k_1[\text{E}_T][\text{S}] - k_1[\text{ES}][\text{S}] + k_1[\text{ES}][\text{S}] = (k_{-1} + k_2)[\text{ES}] + k_1[\text{ES}][\text{S}]$$

SEMPLIFICANDO SI HA :

$$k_1[\text{E}_T][\text{S}] = (k_1[\text{S}] + k_{-1} + k_2)[\text{ES}]$$

Gli enzimi

RISOLVENDO PER $[ES]$, SI HA:

$$[ES] = \frac{k_1 [E_T] [S]}{k_3 [S] + k_{-1} + k_2}$$

SEMPLIFICANDO, SI HA:

$$[ES] = \frac{[E_T] [S]}{[S] + (k_2 + k_{-1}) / k_1}$$

MA $\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = K_m =$ COSTANTE DI
MICHAELIS - MENTEN

PER CUI SI HA:

$$[ES] = \frac{[E_T] [S]}{[S] + K_m}$$

MA $V_0 = k_2 [ES] = \frac{k_2 [E_T] [S]}{K_m + [S]}$



Gli enzimi

$$M A S E \quad [E_T] = [E_S] :$$

$$V_{max} = k_2 [E_T]$$

INFINE :

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{k_m + [S]}$$

QUESTA E' L'EQUAZIONE DI MICHAELIS-MENTEN

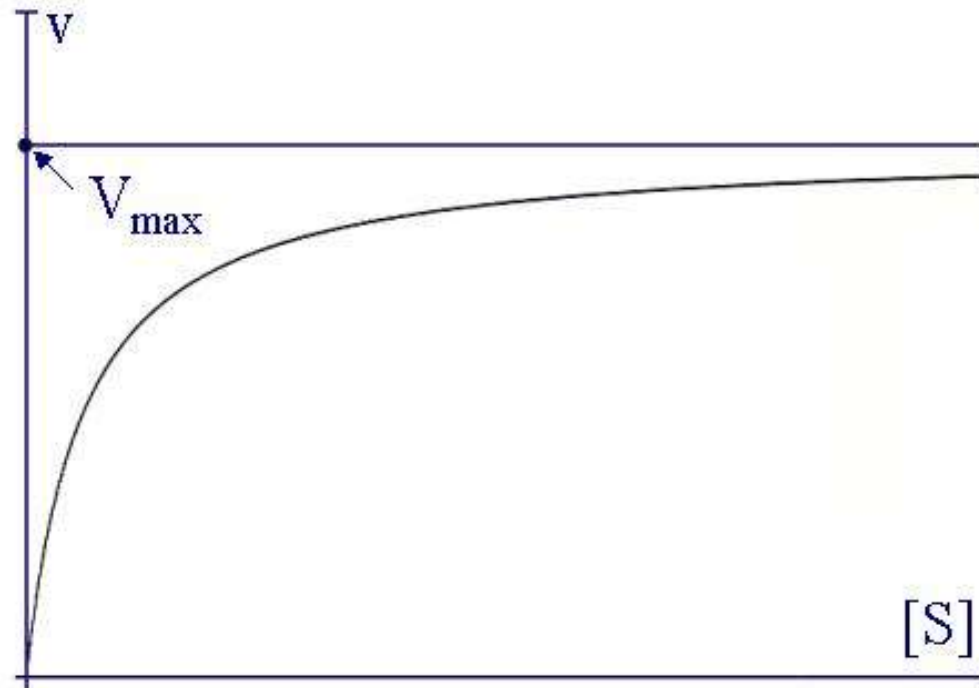
Gli enzimi

Equazione di Michaelis e Menten

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

Gli enzimi

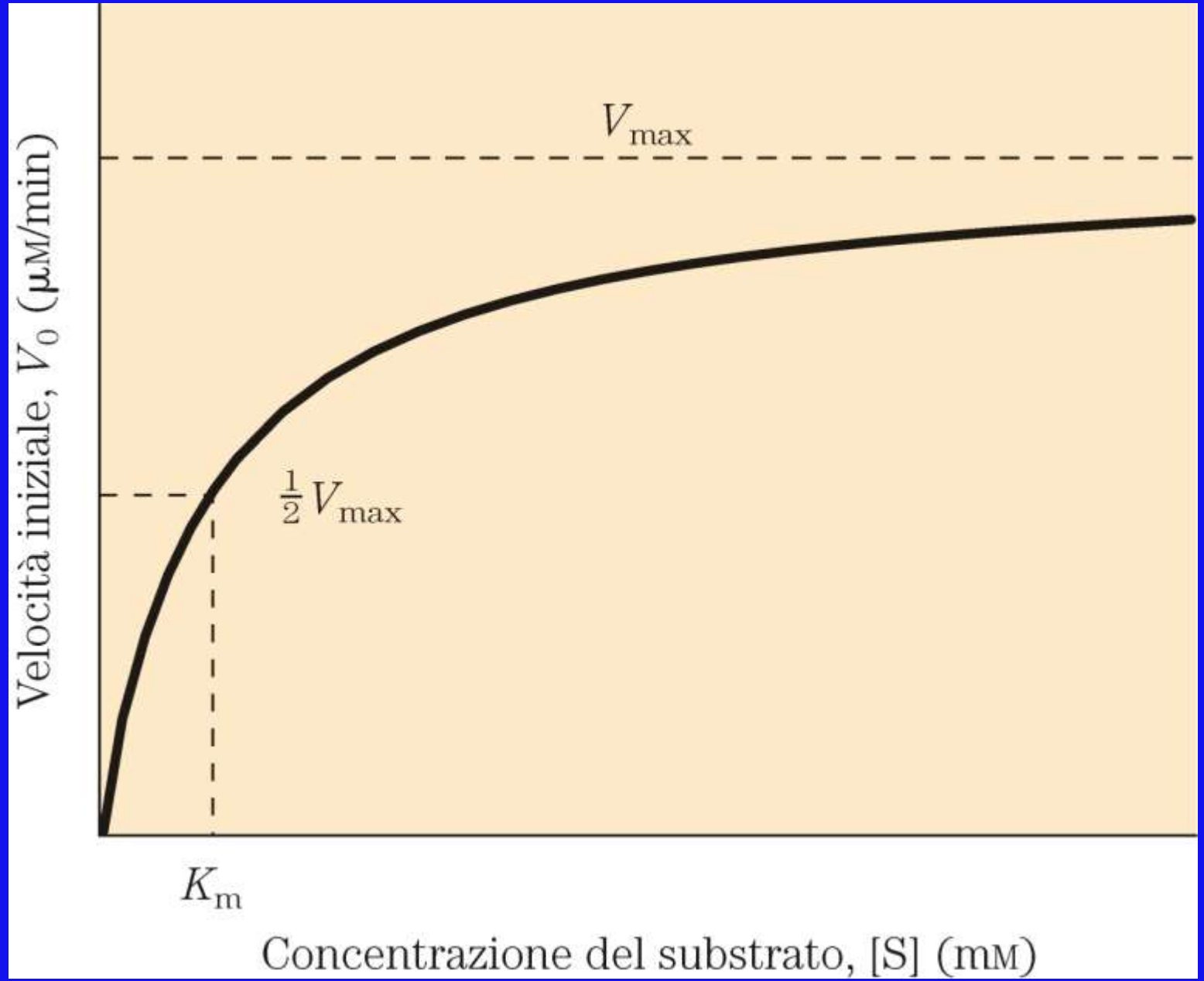
Equazione di Michaelis-Menten



Si vede come la velocità di una reazione enzimatica dipende solo dalla concentrazione del substrato [S]. La velocità massima V_{\max} viene determinata sperimentalmente e da essa, per una determinata coppia di valori [S] e v, si calcola la costante di dissociazione K_m .

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

Gli enzimi



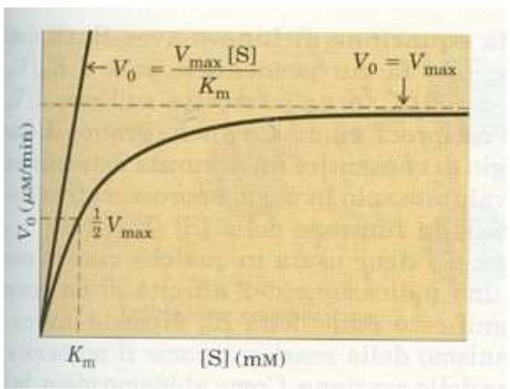
Gli enzimi

la relazione tra [S] e la velocità della reazione enzimatica può essere espressa in modo quantitativo

Equazione di Michaelis - Menten

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} V_0 \approx \frac{V_{\max}}{K_m} [S] \\ V_0 \approx V_{\max} \end{array} \right.$$



1. $K_m = (K_2 + K_1) / K_1$
2. un solo substrato

• definizione pratica di K_m :

$$V_0 = \frac{1}{2} V_{\max} \rightarrow K_m = [S]$$

• in genere K_m è una funzione complessa; se però $K_2 \ll K_1$ essa può essere considerata la misura dell'affinità di un enzima per il substrato: più è alta K_m , minore è l'affinità

Gli enzimi

A $[S]$ MOLTO BASSA, $K_m \gg [S]$ E

NELL'EQUAZIONE

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$[S]$ E' TRASCURABILE AL DENOMINATORE.

PER CUI SI HA :

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m}$$

AD ALTA $[S]$ $K_m \ll [S]$ E NELL'

EQUAZIONE

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

K_m E' TRASCURABILE AL DENOMINATORE

PER CUI :

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{[S]} = V_{max}$$

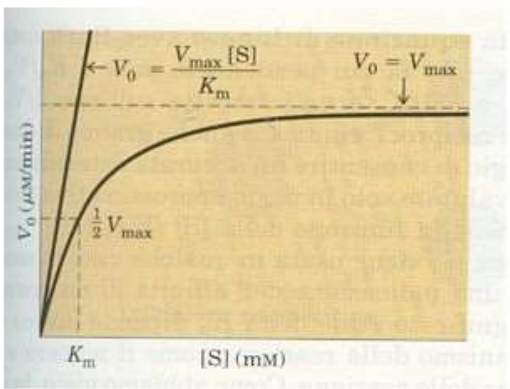
Gli enzimi

la relazione tra [S] e la velocità della reazione enzimatica può essere espressa in modo quantitativo

Equazione di Michaelis - Menten

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} V_0 \approx \frac{V_{\max}}{K_m} [S] \\ V_0 \approx V_{\max} \end{array} \right.$$



1. $K_m = (K_2 + K_1) / K_1$
2. un solo substrato

• definizione pratica di K_m :

$$V_0 = \frac{1}{2} V_{\max} \rightarrow K_m = [S]$$

• in genere K_m è una funzione complessa; se però $K_2 \ll K_1$ essa può essere considerata la misura dell'affinità di un enzima per il substrato: più è alta K_m , minore è l'affinità

Gli enzimi

A $[S]$ MOLTO BASSA, $K_m \gg [S]$ E

NELL'EQUAZIONE

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$[S]$ E' TRASCURABILE AL DENOMINATORE.

PER CUI SI HA :

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m}$$

AD ALTA $[S]$ $K_m \ll [S]$ E NELL'

EQUAZIONE

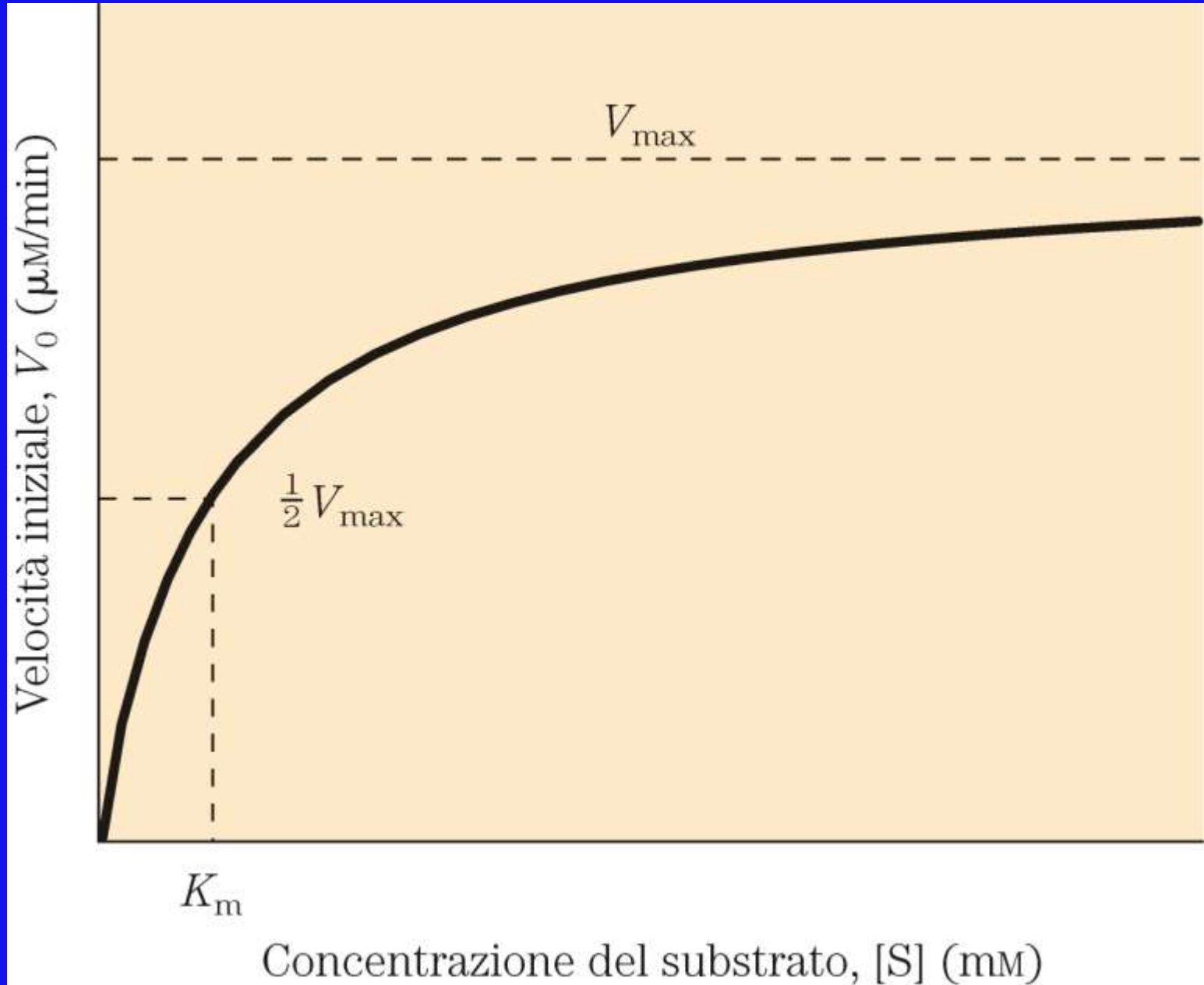
$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

K_m E' TRASCURABILE AL DENOMINATORE

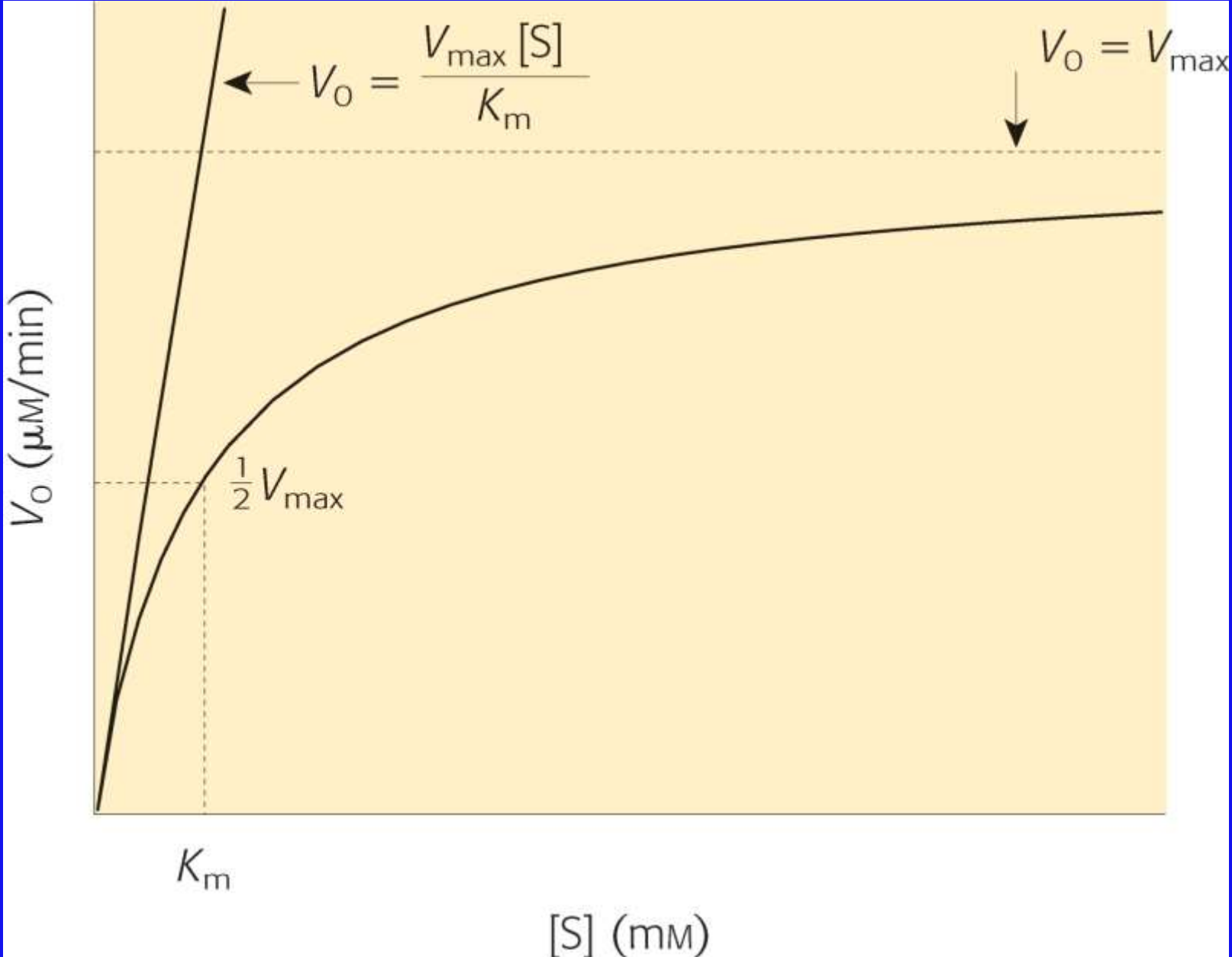
PER CUI :

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{[S]} = V_{max}$$

Gli enzimi



Gli enzimi



Gli enzimi

E' POSSIBILE DARE UNA DEFINIZIONE QUANTITATIVA DI K_m .

INFATTI, SE $V_0 = \frac{V_{max}}{2}$, L'EQUAZIONE DI MICHAELIS-MENTEN DIVENTA:

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

RISOLVENDO PER V_{max} , SI HA:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

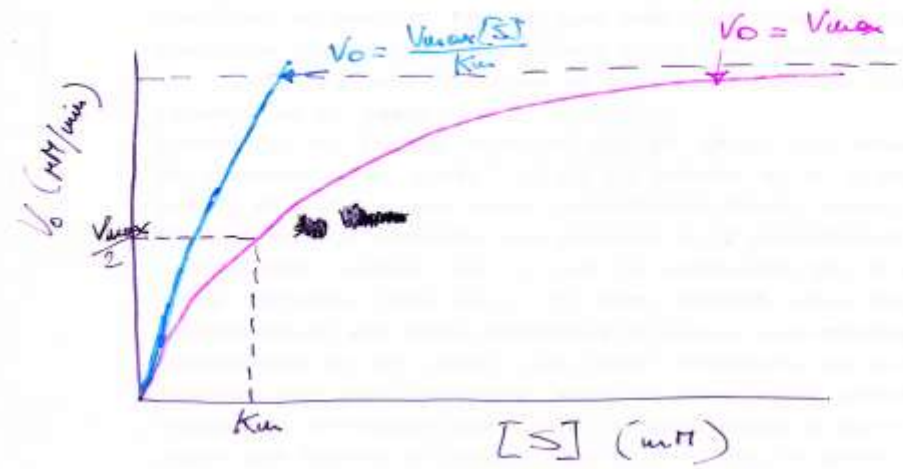
RISOLVENDO PER K_m E SEMPLIFICANDO:

$$K_m + [S] = 2 [S]$$

$$K_m = 2 [S] - [S]$$

$$K_m = [S]$$

Gli enzimi



- 1) LA REAZIONE COINVOLGA UN SOLO SUBSTRATO
- 2) LA REAZIONE $ES \rightarrow E + P$ SIA IRREVERSIBILE
E $[P] = 0$ (STATO INIZIALE)
- 3) $[S_0] > [E_T]$ E $[E_T]$ SIA COSTANTE
- 4) pH, TEMPERATURA E FORZA IONICA NON
INFLUENZINO LA VELOCITA' DELLA REAZIONE

Gli enzimi

SIGNIFICATO DI K_m

ABBIAMO VISTO CHE :

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

k_2 E' LA COSTANTE CHE LIMITA LA VELOCITA' DELLA REAZIONE

SE $k_2 \ll k_{-1}$, SI HA :

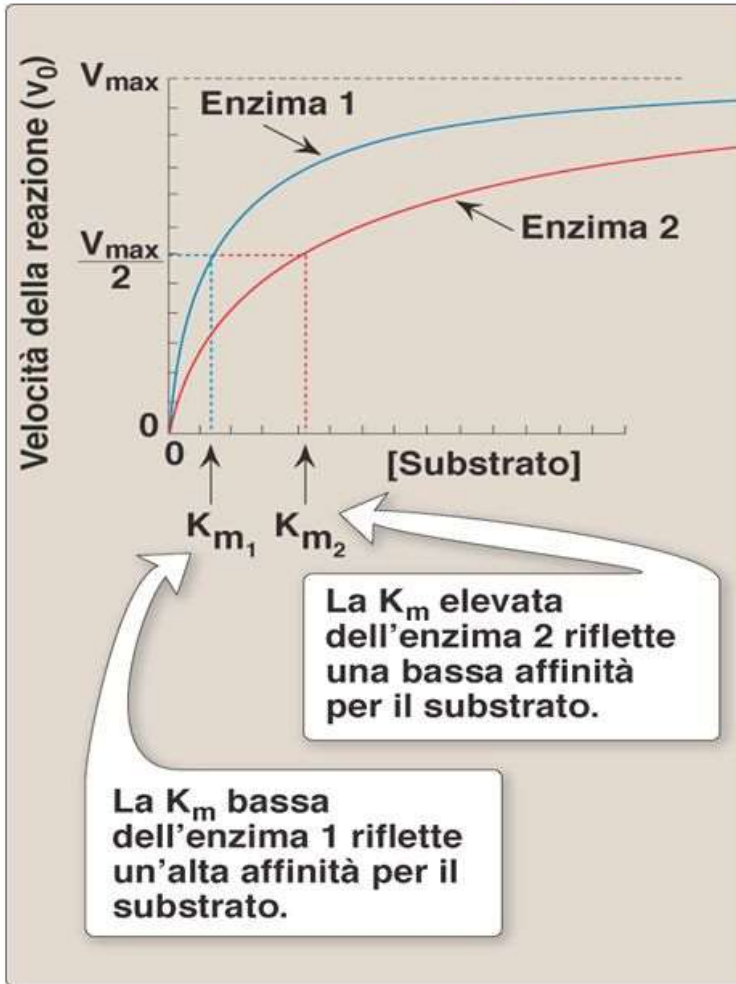
$$K_m = \frac{k_{-1}}{k_1} = K_s = \text{COSTANTE DI DISSOCIAZIONE DEL COMPLESSO ES}$$

SOLO IN QUESTE CONDIZIONI K_m E' UNA MISURA DELL'AFFINITA' DELL'ENZIMA PER IL SUO SUBSTRATO NEL COMPLESSO ES.



Gli enzimi

Significato di K_m (1)



Es1: confronto dei valori di K_m tra due enzimi con i relativi substrati

Il valore di K_m indica il **grado di affinità** di un enzima per un certo substrato

Anidraasi carbonica	10^7
Fosfofruttomutasi	10^{12}
Ureasi	10^{14}

Gli enzimi

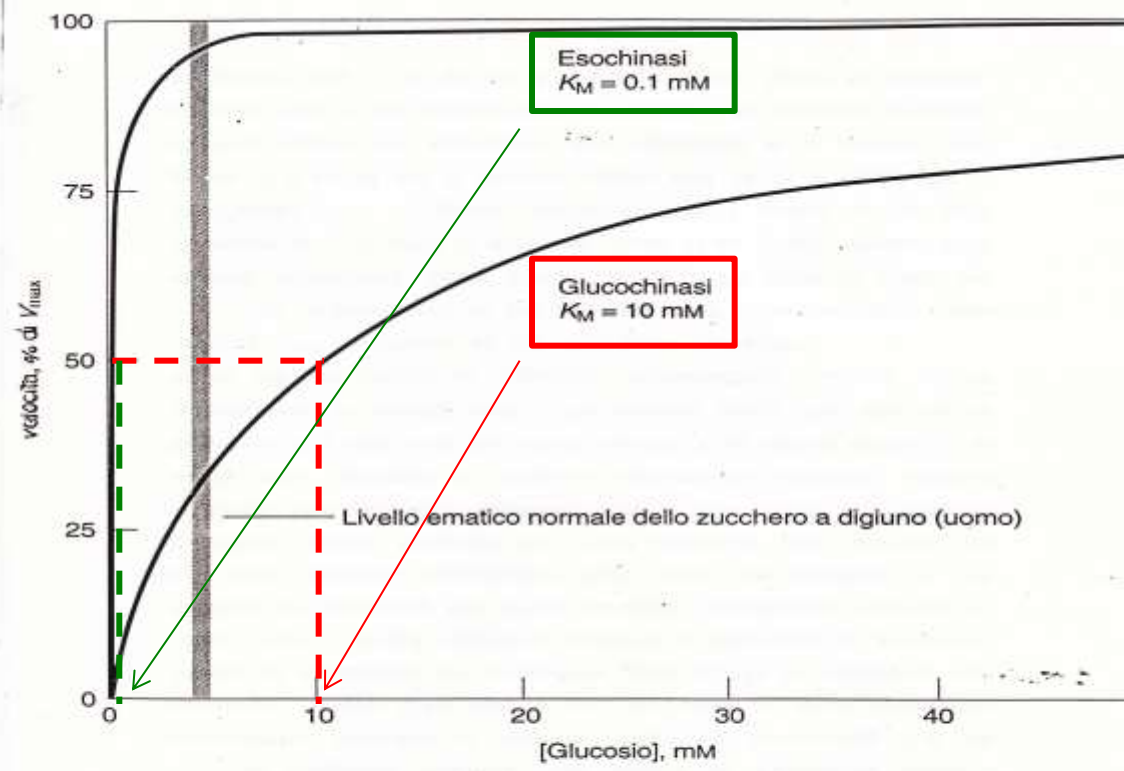


FIGURA 13.4
Relazione tra esochinasi e glucochinasi: curve di saturazione da substrato per esochinasi e glucochinasi. Ai normali livelli di glucosio presenti nel sangue (4.4 mM), l'esochinasi è praticamente saturata e non può rispondere a piccoli cambiamenti della concentrazione sanguigna di glucosio; la glucochinasi può invece aumentare la propria attività quando la concentrazione di glucosio nel sangue aumenta, per esempio dopo un pasto.