



Michaelis-Menten-ligningen

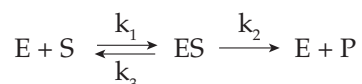
Begyndelseshastigheden

Figur 26 i Tema 4 viser mængden af produkt der dannes ved forskellige substratkoncentrationer. Som forventet stiger mængden af produkt som funktion af tiden indtil et punkt hvor der ikke længere ses en ændring i [S] eller [P]. Enzymet omdanner stadig substrat til produkt, men da enzymet også er i stand til at katalysere den modsatte reaktion, indtræder der i dette punkt en *ligevægt* mellem de to modsatrettede reaktioner.

Kinetikken er lettere at forstå når man ignorerer den reversible reaktion. Man kan anvende begyndelseshastigheden i stedet for blot hastigheden. Det minimerer de komplikationer der opstår i forbindelse med den reversible reaktion som fx produkternes inhibition og inaktivering af enzymet. Begyndelseshastigheden, V_0 , måles for hver [S] inden 10 % af substratet er omdannet til produkt, altså i starten af forsøget. Begyndelseshastighederne fra figur 26 er plottet i figur 27 på side 68 i Tema 4.

Udledning af Michealis-Menten-ligningen

Figur 27 i Tema 4 viser V_0 som funktion af [S], når [E] holdes konstant, og de to trin i den enzymkatalyserede reaktion, kan beskrives via deres hastighedskonstanter:



k_3 er hastighedskonstanten for substratets frigørelse fra enzymet idet bindingen er en reversibel proces.

Når substratkoncentrationen er høj, er enzymet fuldstændig på ES-form. Reaktionsskemaets andet trin er hastighedsbestemmende, og reaktionshastigheden kan beskrives via ligning 2 i Tema 4, side 67:

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES] \text{ (ligning 1)}$$

Reaktionen er af nulte orden med hensyn til [S]. – Læs om kinetik og nulteordensreaktioner i Tema 4, Link 5.

Hastigheden hvormed [ES] dannes, er differencen mellem hastighederne af det reaktionstrin der fører til dannelsen af ES, og de to reaktionstrin der nedbryder ES:

$$V = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E] \cdot [S] - k_3[ES] - k_2[ES] \text{ (ligning 2)}$$

For at gøre tingene nemmere antager man at [ES] er konstant under hele forsøget:

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \text{ (ligning 3)}$$

Hastigheden hvormed ES dannes er lig med hastigheden hvormed ES nedbrydes, og ligning 2 kan omskrives til:

$$\frac{k_3 + k_2}{k_1} = \frac{[E] \cdot [S]}{[ES]} \text{ (ligning 4)}$$

Ved at indføre en ny konstant, Michaelis-konstanten, K_M ,

$$K_M = \frac{k_3 + k_2}{k_1} \text{ (ligning 5)}$$

kan ligning 4 omskrives til:

$$[ES] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_M} \text{ (ligning 6)}$$

Når $[S]$ er høj, er koncentrationen af ukombineret substrat stort set lig den totale substratkoncentration. Derimod kan koncentrationen af ukombineret enzym, $[E]$, udtrykkes via:

$$[E] = [E]_T - [ES]$$

hvor $[E]_T$ er den totale enzymkoncentration. Substitueres dette udtryk med $[E]$ i ligning 6, kan ligningen omskrives og løses med hensyn til $[ES]$:

$$[ES] = \frac{[E]_T \cdot [S]}{[S] + K_M} \text{ (ligning 7)}$$

og reaktionens begyndelseshastighed, ligning 1, kan nu beskrives via $[E]_T$ og $[S]$, så

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES] = \frac{k_2 \cdot [E]_T \cdot [S]}{K_M + [S]} \text{ (ligning 8)}$$

Den maksimale hastighed, $V_{\max}$, indtræder når enzymet er mættet med substrat, $[ES]$ er lig $[E]_T$:

$$V_{\max} = k_2 \cdot [E]_T \text{ (ligning 9)}$$

Når vi indsætter $V_{\max}$ fra ligning 9 i ligning 8, får vi Michealis-Menten-ligningen:

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

Enzymets katalytiske effektivitet

De kinetiske parametre giver et mål for enzymets katalytiske effektivitet. Når $[S] \gg K_M$ er den katalytiske kapacitet defineret som

$$k_{\text{cat}} = \frac{V_{\max}}{[E]_T}$$

også kendt som enzymets *turnover number*, fordi det er antallet af reaktionstrin (turnovers) for hvert reaktive center pr. sekund. For enzymer der følger Michealis-Menten-ligningen er $k_{\text{cat}} = k_2$, men for enzymer der følger mere komplicerede reaktionsmekanismer, kan k_{cat} være funktionen af flere hastighedskonstanter.

Under fysiologiske forhold er $[S] \ll K_M$, $[ES]$ er lille, og $[E] \approx [E]_T$. Det betyder at ligning 8 kan reduceres til et andenordens hastighedsudtryk:

$$V_0 \approx \left(\frac{k_2}{K_M} \right) \cdot [E]_T \cdot [S] \approx \left(\frac{k_2}{K_M} \right) \cdot [E] \cdot [S] \text{ (ligning 10)}$$

hvor $\frac{k_2}{K_M}$ er hastighedskonstanten (læs om hastighedsudtrykket for andenordensreaktioner i Tema 4, Link 5). Hastigheden er direkte afhængig af hvor ofte enzym og substrat møder hinanden, og $\frac{k_2}{K_M}$ er et mål for enzymets katalytiske effektivitet.