

Cinetica enzimatica

La cinetica delle reazioni

Concetti chiave

- L'equazione di Michaelis-Menten è quella di una curva iperbolica che mette in relazione la velocità iniziale di una reazione (V_0) con la velocità massima (V_{max}) e con la costante di Michaelis-Menten (K_M) per un particolare enzima e un dato substrato.
- La costante di Michaelis-Menten, K_M , rappresenta la concentrazione di substrato necessaria, affinché la reazione abbia velocità pari a **metà della velocità massima** (o velocità semi-massimale).
- La velocità massima, V_{max} , può essere raggiunta solo quando **tutto l'enzima presente in soluzione** è legato al substrato, complesso ES (**condizione di saturazione**). La V_{max} dipende dalla concentrazione dell'enzima in soluzione $[E]_T$ secondo la relazione:

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

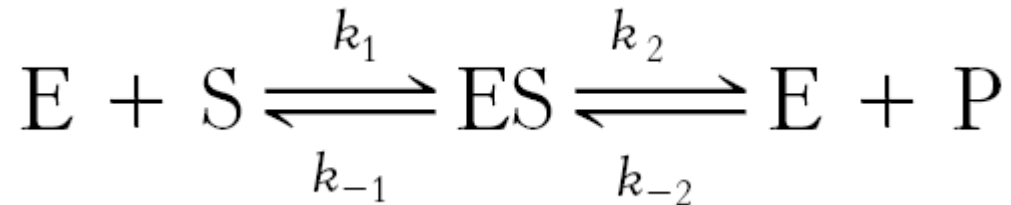
dove k_{cat} è la costante catalitica, o numero di turnover, una proprietà cinetica intrinseca dell'enzima che esprime il **numero di molecole di substrato convertite in prodotto da una molecola di enzima nell'unità di tempo, quando l'enzima è saturo**.

- Il grafico di Lineweaver-Burk può essere utilizzato per presentare i dati cinetici e per calcolare i valori di K_M e V_{max} .

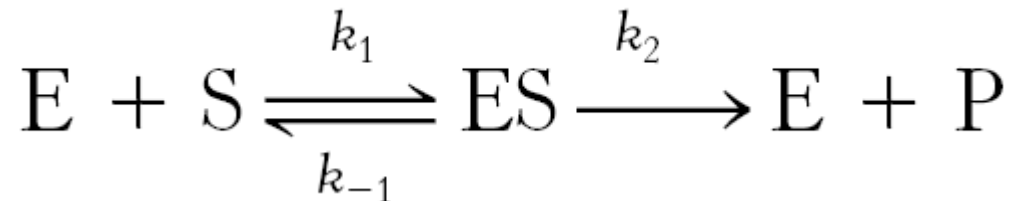
CINETICA ENZIMATICA

La cinetica enzimatica è lo studio delle velocità di reazione catalizzate da enzimi. Il suo studio consente di individuare il meccanismo di catalisi.

Meccanismo cinetico di Michaelis-Menten



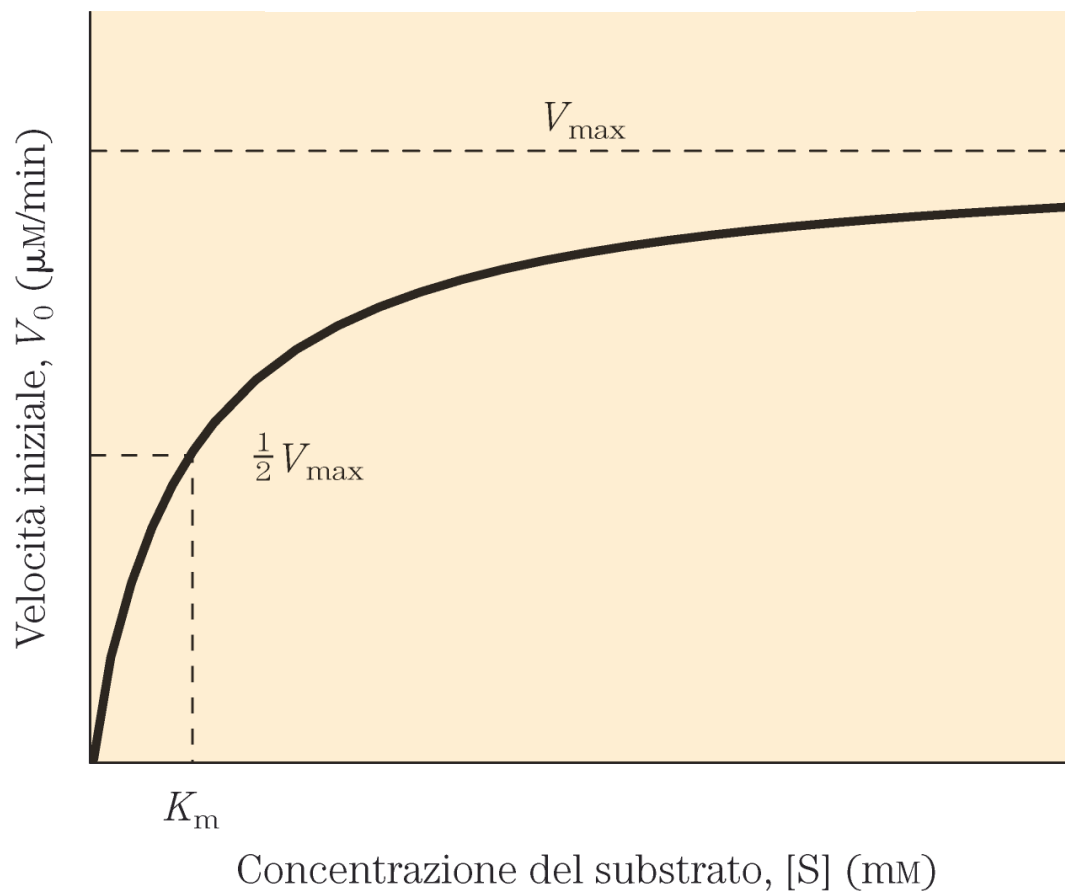
In condizioni di **velocità iniziale**, $[P] \sim 0$,
quindi possiamo trascurare la reazione che dai prodotti
porta ad ES:



Secondo questo meccanismo la reazione enzimatica prevede una prima tappa di associazione tra E e S a formare il complesso ES, seguita da una seconda tappa, più lenta della precedente, in cui il complesso si dissocia rilasciando l'enzima libero e il prodotto.

La curva di Michaelis-Menten

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



L'equazione di Michaelis-Menten mette in relazione la velocità di formazione (iniziale) del prodotto V_0 con la concentrazione del substrato $[S]$.

K_M

La costante di Michaelis-Menten, K_M , rappresenta la concentrazione di substrato necessaria, affinché la reazione abbia velocità pari a metà della velocità massima (o velocità semi-massimale, $V_{\max}/2$)

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

La costante di Michaelis-Menten è una **proprietà caratteristica** di ciascun enzima.

Essa indica quantitativamente l'**affinità tra un enzima e il suo substrato**: più basso è il valore di K_M e più bassa sarà la concentrazione di substrato necessari a saturare metà delle molecole di enzima presenti in soluzione, il che indica un'alta affinità dell'enzima per il substrato.

Viceversa, un alto valore di K_M indica che sarà necessario più substrato per legare la metà delle molecole di enzima presenti in soluzione, il che significa una minore affinità dell'enzima per il substrato.

V_{\max} , Costante Catalitica/Numero di Turnover

$$V_{\max} = k_2[E]_T$$

$$k_2 = V_{\max}/[E]_T$$

TABLE 8.6 Maximum turnover numbers of some enzymes

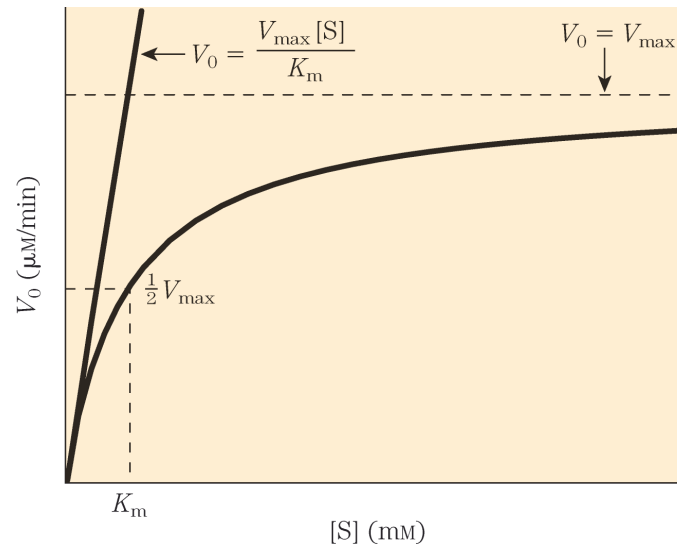
Enzyme	Turnover number (per second)
Carbonic anhydrase	600,000
3-Ketosteroid isomerase	280,000
Acetylcholinesterase	25,000
Penicillinase	2,000
Lactate dehydrogenase	1,000
Chymotrypsin	100
DNA polymerase I	15
Tryptophan synthetase	2
Lysozyme	0.5

Per esempio una soluzione 10^{-6} M di anidrasi carbonica catalizza la formazione di 0,6 M H_2CO_3 al secondo ($V_{\max} = 0,6$ M/s), se l'enzima è completamente saturato col substrato (CO_2). Per cui k_{cat} è **6×10^5 /s**. Questo numero di turnover è uno dei più elevati che si conosca. Ogni reazione catalizzata avviene in un tempo approssimativamente uguale a $1/k_{\text{cat}}$, che per l'anidrasi carbonica corrisponde a **1.7 microsecondi** (μs). Il numero di turnover della maggioranza degli enzimi nei confronti dei loro substrati fisiologici è compreso tra 1 e 10^4 (vedasi tabella).

La curva di Michaelis-Menten, **un'iperbole rettangolare**, descrive l'andamento della velocità di una reazione catalizzata da enzimi, al variare della concentrazione del substrato.

Questa equazione è generalmente **valida per gli enzimi non allosterici**.

Il modello cinetico di Michaelis Menten spiega come all'aumentare della concentrazione del substrato disponibile per una data quantità di enzima, la velocità della reazione aumenti in modo lineare con la $[S]$ quando questa sia trascurabile rispetto al valore K_m . In corrispondenza di tale valore la reazione raggiunge il suo valore semi-massimale (i.e., $1/2 V_{max}$). A $[S]$ più elevate, la velocità della reazione tende a aumentare in modo non-lineare e via via sempre più lentamente fino al raggiungimento di un valore massimo, chiamato velocità massima (V_{max}).



In questo punto è presente tanto substrato da **saturare** tutto l'enzima presente in soluzione, perciò un'ulteriore aggiunta di substrato non servirebbe, in quanto non verrebbe più attaccato da enzimi, che sono tutti già legati al substrato.

Grafico dei doppi reciproci (di Lineweaver-Burk)

