

5. TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK

Eddig csak egyszubsztrátos enzimes reakciókkal foglalkoztunk, de sok reakcióhoz több szubsztrát is kell. Ezeknek két típusa van:

A.) Termékképzéshez *egyszerre több különböző* szubsztrát kell (sztöchiometrikus arányban). Pl.: hexokináz



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

1

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK

B.) A másik esetben a reakció keverékben több hasonló, lényegében alternatív szubsztrát van jelen.

Példák: a legtöbb biopolimer-hidrolizáló enzim:

amiláz, amilo-glikozidázok,
cellulázok
proteínázok.

Függetlenül attól, hogy ezekben az esetekben exo- vagy endo-enzimekről van-e szó, a reakció-keverékben *egyidejűleg több, különböző polimerizációs fokú szubsztrát van (lesz) jelen.*



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

2

KÉT KÜLÖNBÖZŐ SZUBSZTRÁT

bi-bi reakciók = mind S mind P oldalról BIMOLEKULÁRIS

Típusai:

- Random bi-bi reakciók: a két S belépésének sorrendje véletlenszerű
- Határozott sorrendű bi-bi reakciók: a sorrend kötött
- Ping-pong mechanizmus: a szubsztrátok nem is találkoznak, az enzim két állapot között alternál.



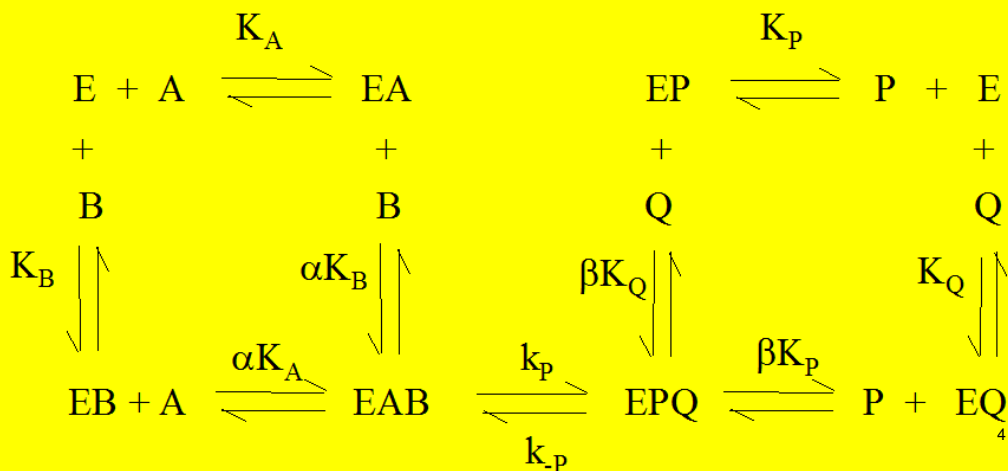
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

3

Random bi-bi reakciók

E mechanizmus nagyon hasonlít a *lineáris kevert típusú* inhibícióra, azzal a különbséggel, hogy itt a ternár EAB komplexből lesznek termékek, nem az EA-ból.



4

Random bi-bi reakciók

A szokásos módon felírva a rapid ekvilibrium kinetikáját a kettős szubsztrát limitáció felírható:

$$v = k_p \cdot EAB$$

$$E_0 = E + EA + EB + EAB$$

$$K_A = \frac{E \cdot A}{EA} \quad EA = \frac{E \cdot A}{K_A}$$

$$K_B = \frac{E \cdot B}{EB} \quad EB = \frac{E \cdot B}{K_B}$$

$$\alpha K_A = \frac{EB \cdot A}{EAB} \quad \alpha K_B = \frac{EA \cdot B}{EAB}$$

$$EAB = \frac{EB \cdot A}{\alpha K_A} \quad EAB = \frac{EA \cdot B}{\alpha K_B}$$

$$\frac{v}{E_0} = \frac{k_p \frac{E \cdot A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}{E + \frac{E \cdot A}{K_A} + \frac{E \cdot B}{K_B} + \frac{E \cdot A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

5

Random bi-bi reakciók

A szokásos módon felírva a rapid ekvilibrium kinetikáját a kettős szubsztrát limitáció felírható:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{\frac{A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}{1 + \frac{A}{K_A} + \frac{B}{K_B} + \frac{A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}$$

Átrendezve az egyenlet analóg a kevert inhibíciónál kappal:

$$\frac{v}{E_0} = \frac{\frac{A \cdot B}{\alpha K_B}}{K_A \left(1 + \frac{B}{K_B}\right) + A \left(1 + \frac{B}{\alpha K_B}\right)}$$



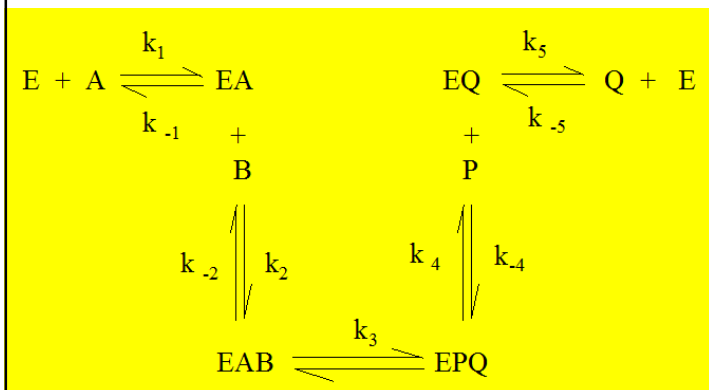
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

6

Határozott sorrendű bi-bi reakciók

az EAB → EPQ lépés a sebesség meghatározó



Rapid ekvilibriummal felírva a reakciósebesség:

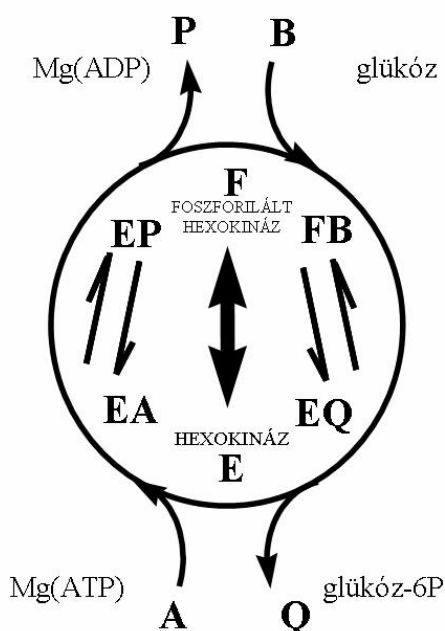
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{A \cdot B}{K_A K_B}}{1 + \frac{A}{K_A} + \frac{A \cdot B}{K_A K_B}}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Ping-pong mechanizmus



A lépések sorrendje meghatározott, de az első lépés, EA ⇌ EP után P leválik, és csak ezután léphet be a másik szubsztrát, majd átalakul Q terméké.

A hexokináz esetében ATP hatására az enzim foszforilálódik, az ADP leválik, ekkor kapcsolódik a glükóz, átveszi a foszfát csoportot és kilép.

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Ping-pong mechanizmus

A Haldane (kvázi steady state) levezetéssel megkapjuk

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{A \cdot B}{K_{mB}A + K_{mA}B + A \cdot B}$$

Illetve rögzített B értéknél:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{A}{K_{mA} + A \left(1 + \frac{K_{mB}}{B} \right)}$$

Az egyenlet szimmetrikus, A és B felcserélhetők.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

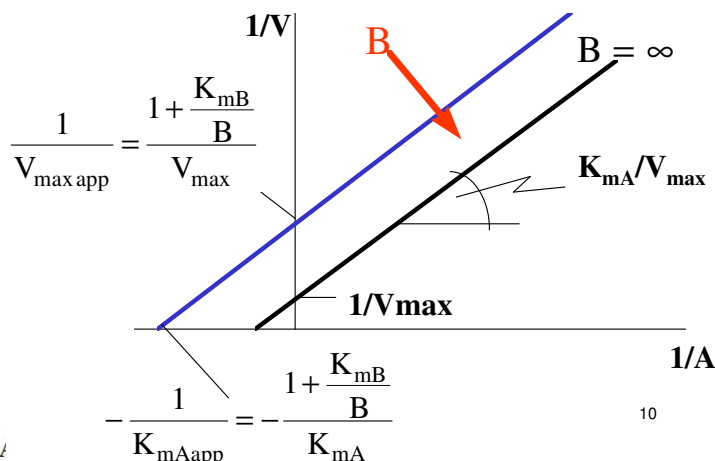
9

9

Ping-pong mechanizmus

Lineweaver-Burk ábrázolásban rögzített B koncentrációk mellett egyeneseket kapunk. B növelésével egyre közelebb kerül az enzim maximális kapacitásához.

De: a hexokináz mégsem jó példa! Nem kapunk ilyen ábrát = nem ping-pong mechanizmusú a foszforiláció.
 →tovább kell vizsgálni.



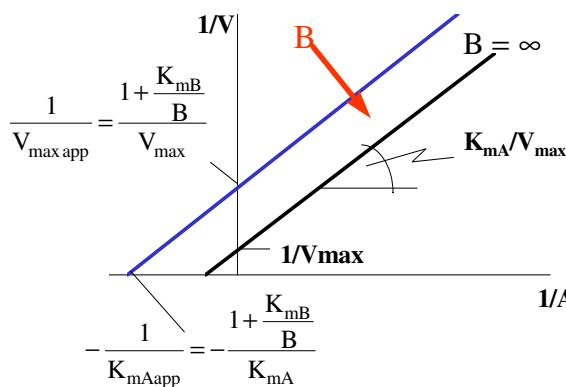
BME

10

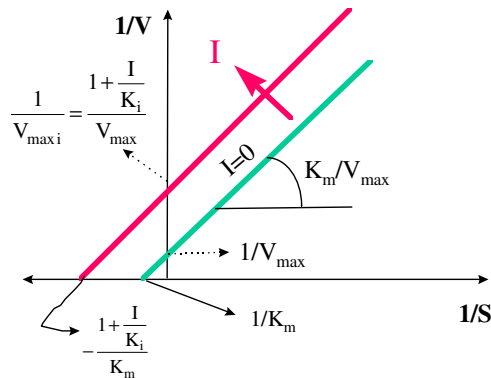
10

Ping-pong mechanizmus

Formális hasonlóság!
 többszubsztrátos



unkompetitív



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

11

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Sok enzim képes egynél *többféle szubsztrát* átalakítására is. Ilyen esetekben a különféle *alternatív szubsztrátok* versengenek egymással az enzim aktív helyé(i)ért. Ilyenek pl. a *Hidrolitikus depolimeráz* enzimek: sok azonos kötésre hatnak, pl.

lizozim: komplex muko-poliszacharidokat, a sejtfa-
 mureinjét bontja (a Gram+ baktériumokat
 elpusztítja).

**celluláz komplex,
 pektinázok,
 amilázok**



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

12

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Az ilyen polimerekben a monomereket összekapcsoló kondenzációs kötések úgy viselkednek, mint egy-egy különálló szubsztrát.

Az ilyen polimerek abban az értelemben sem tekinthetők közönséges egyszerű szubsztrátoknak, hogy általában már eleve különböző lánchosszúságú polimerek keverékei.

A hidrolitikus enzimek némelyike szelektivitást mutat aszerint, hogy a polimer mely részét bontja:

exo-hidrolázok - láncvégi vagy közel láncvégi kötések
 endo-hidrolázok - láncon belüli kötések statisztikusan



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

13

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

→ a kompetitív inhibíciónál szerepeltek.

Ha kétféle szubsztrátból kétféle termék lesz (pl. alkohol-dehidrogenáz):



Kompetitív inhibitoroként gátolják egymást:

$$V_1 = \frac{k_1 E_0 S_1}{K_1 \left(1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2} \right)}$$

$$V_1 = V_{1\max} \frac{S_1}{K_{S1} \left(1 + \frac{S_2}{K_{S2}} \right) + S_1}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

14

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

A másik szubsztrátra:

$$V_2 = \frac{\frac{k_2 E_0 S_2}{K_2}}{1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2}}$$

$$V_2 = V_{2\max} \frac{S_2}{K_{S2} \left(1 + \frac{S_1}{K_{S1}} \right) + S_2}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

15

TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Ha minden szubsztrátból ugyanaz a termék lesz: pl.
 keményítőből, dextrinekből → β-amilázzal → maltóz
 → össze kell adni reakciósebességeket.

$$V_T = V_1 + V_2 + \dots + V_n = \frac{E_0 \left(\frac{k_1 S_1}{K_1} + \frac{k_2 S_2}{K_2} + \dots + \frac{k_n S_n}{K_n} \right)}{1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2} + \dots + \frac{S_n}{K_n}}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

16