

9. GAIA. Aktibitate Entzimatikoaren Erregulazioa

Sarrera

Metabolismoa zeluletan ematen diren erreakzio kimiko desberdinez osatuta dago. Hauetako erreakzio bakoitzak bere entzima espezifikoa izango du, hau da, erreakzio bakoitza entzima espezifiko batek katalizatuko du. Hala, entzima taldeak eratzen dira bide metaboliko desberdinetan antolatuta egongo direnak. Entzima hauen aktibitatea erregulatu egin behar da unean uneko ingurunearen eta egoeraren arabera. Entzima horien eta ondorioz bide metabolikoen erregulazioa okerra bada gaixotasun metabolikoak sortuko dira eta beraz, oso garrantzitsua da bidezidorreko puntu zehatz batzuetan entzimak erregulatzea. Erregulazio hori modu askotara egin daiteke, efektoreen bidez esaterako.

Efektoreak entzimekin elkarrekiten duten molekulak dira. Elkarrekintza honen ondorioz, parametro zinetikoak, K_m edota V_{max} , aldatuko dira, efektore bakoitzak parametro horietan modu desberdinean eragingo duelarik. Efektoreak ioi organikoak (K^+ , Mg^{2+}) zein makromolekulak izan daitezke. Gainera, batzuetan erreakzioko produktuak ere efektore moduan joka dezake.

Entzimaren aktibitatean duten eraginaren arabera bi taldetan sailkatzen dira: inhibitzaileak batetik, eta aktibatzaileak bestetik. Inhibitzaileen kontzentrazioa igotzean, erreakzioaren abiadura gutxitu egingo da, hau da, aktibitatea gutxituko da. Aktibatzaileen kasuan, aldiz, efektorearen kontzentrazioa igo ahala abiadura ere handituko da, aktibitatea emendatuz. Hala ere, zenbaitetan efektore berak aktibatzaile edo inhibitzaile moduan joka dezake lotuko den entzimaren izaeraren arabera edota erabilitako efektore kontzentrazioaren arabera.

Inhibitzaile artifizialen erabilerak informazio asko eman dezake entzimaren inguruan zein erabilitako substantziari buruz. Entzimaren espezifitatearen berri eman dakiguke entzimarekin duen elkarrekintza motaren arabera. Honetaz gain, entzimaren gune aktiboaren egitura ere ezagutu dezakegu. Erreakzio eta katalisi mekanismoak ere aztertu ditzakegu, gure sistemaren funtzionamendua alegia. Azkenik, erabilitako efektore hori substantzia farmakologiko moduan ere aztertu daiteke, izan ditzakeen eraginak kontuan hartuz.

Efektoreak entzimara lotzeko bi elkarrekintza mota bereizi daitezke: efektorea modu itzulgarrian edota itzulezinean elkartu daiteke entzimarekin. Modu itzulgarrian elkartutako efektorearen eragina aktibitatean entzimaren eta inhibitzailearen baturaren araberrako izango da. Oreak azkar lortzen dela suposatzen da eta beraz, inhibizioa ez dago denboraren menpe, inhibitzailearen beraren baitan baizik. Modu itzulezinean berriz, entzimaren talde funtzional batzuk deuseztatzen dira. Oraingo honetan, inhibizioa denboraren menpe dago eta oreka azkarren lortzen duen efektorea izango da inhibitzaile onena.

Inhibizio itzulgarria

Hiru inhibizio itzulgarri mota gertatu daitezke: inhibizio lehiakorra, ez-lehiakorra edota des-lehiakorra.

Inhibizio lehiakorrean substratuak eta inhibitzaileak batura gune berdinarengatik lehiatuko dira, hau da, batura gune bakarra egongo da bi molekulentzako. Ondorioz, ez da inoiz EIS konplexu hirutarra eratuko. Inhibizio mota honetan K_s balioa aldatuko da soilik, hori dela eta K motako inhibizio bezala ezagutzen da.

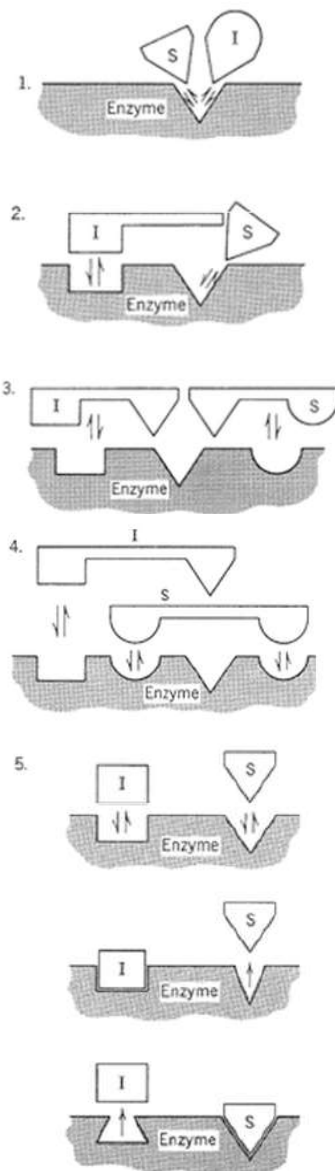
Inhibizio ez-lehiakorrean ez dago lehiarik substratua eta inhibitzailearen artean, ondorioz EIS konplexua eratu daiteke. Kasu honetan, V_{max} balioa da aldatuko den parametroa eta beraz, V motako inhibizioa ere deitzen zaio.

Inhibizio des-lehiakorrean bi parametroak aldatzen dira: bai V_{mx} baita K_s ere.

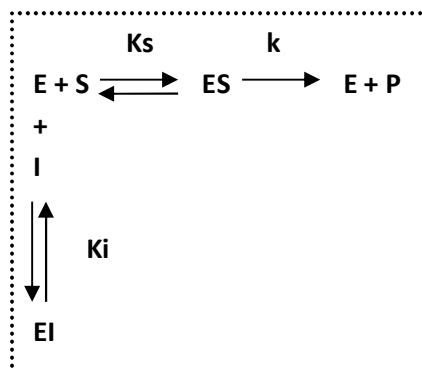
❖ Inhibizio lehiakorra

Esan bezala, inhibizio lehiakorrean substratua eta inhibitzailea ezin dira aldi berean entzimari lotuta egon. Hori azaltzeko bost modelo deskribatu dira:

1. Modeloa: Modelo orokorrena da eta substratua eta inhibitzailea batura gune berdinegatik lehiatuko dira, batura gune bakarra dagoelako.
2. Modeloa: Modelo honetan bi batura gune desberdin daude baina inhibitzaileak substratuaren batura oztokatzen du eragozpen esterikoak direla eta.
3. Modeloa: Batura gune bat baino gehiago daude eta horietako bat komunean izango dute substratuak eta inhibitzaileak. Beraz, bat batuta dagoenean bestea ezingo da batu.
4. Modeloa: Batura gune desberdinak erabiltzen dituzte baina hauek elkarren artean akoplatzen dira, tartekatuta daude biak batera elkartzea oztokatuz.
5. Modeloa: Modelo honek Koshland-en teoria jarraitzen du. Inhibitzailea edo substratua batzean (bietako bat) aldaketa konformazional bat gertatuko da eta ondorioz beste molekularen batura gunea aldatu denez ezin izango da batu.



Lehen aipatu modura, ez da EIS konplexu hirutarra osatuko. Hau da, beraz, inhibizio lehiakor puru edo totalaren eskema:



Hortaz disoziazio konstanteak desberdinak izango dira:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Dena dela, ES konplexua izango da katalitikoa den bakarra, beraz hori izango da kontuan hartuko duguna abiadurak kalkultzeko:

$$v = k[ES] \quad V_{max} = k[E]_{TOT}$$

Entzima totala kasu honetan eratu daitezkeen bi konplexu bitar moten eta entzima askearen baturari dagokio: $[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES]$

Eta batura hori konplexu katalitikoaren menpe jarrita:

$$[E]_{TOT} = \frac{K_s[ES]}{[S]} + \frac{K_s[ES][I]}{[S]K_i} + [ES] = [ES] \left(1 + \frac{K_s}{[S]} + \frac{K_s[I]}{[S]K_i} \right)$$

Abiaduren zatidura egitean:

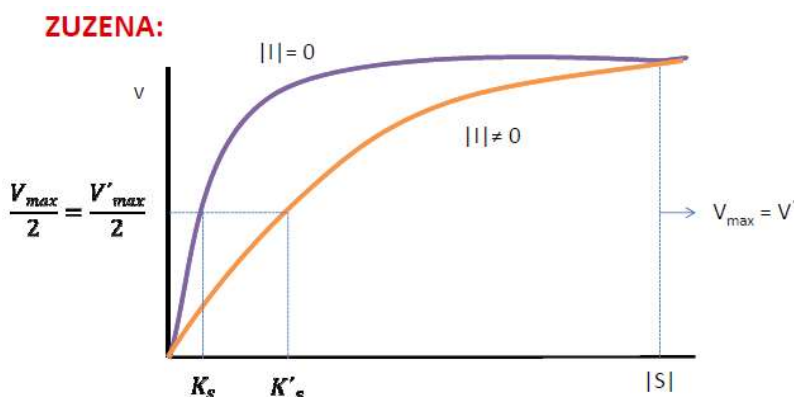
$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{k[ES]}{k[E]_{TOT}} = \frac{[ES]}{[ES] \left(1 + \frac{K_s}{[S]} + \frac{K_s[I]}{[S]K_i} \right)} = \frac{[S]}{[S] + K_s + \frac{K_s[I]}{K_i}} = \frac{[S]}{K_s \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) + [S]}$$

Beraz, abiadura ekuazioa honako hau izango da:
$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_s \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) + [S]}$$

Ekuazioa errazteko eta Michelis-Menten-en itxurako ekuazio bat lortzeko konstante berri bat definituko dugu: $K'_s = K_s \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$. Beraz, K'_s balioa beti izango da K_s balioa baino handiagoa, honek inhibitzailearen presentzia substratuari entzimarekin elkartzea gehiago kostatuko zaiola esan nahi du. Halere, inhibitzailearik ez dagoen kasuetan $K'_s = K_s$ beteko da.

🚦 IRUDIKAPEN ZUZENA

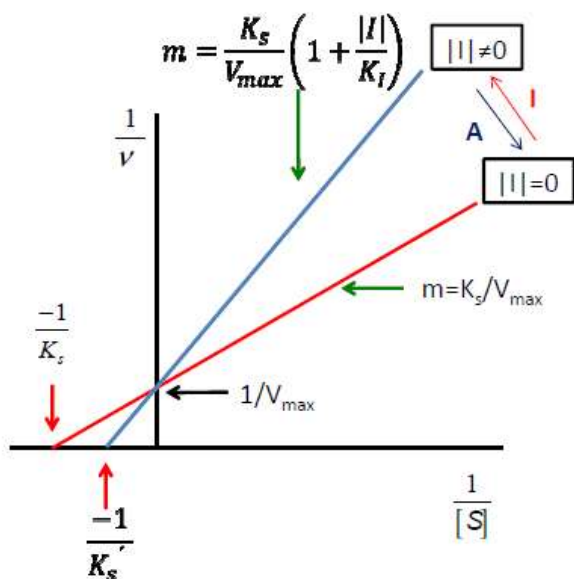
Hau irudikapen zuzenean ere ikus daiteke:



Morez ikusten den kurba inhibitzailearik ez dagoenean ematen den kurba da, Michelis-Menten itxurakoa dena. Kurba laranja inhibitzailea dagoen kasuan ematen den kurba da. Ikusten denez, V_{max} ez da aldatzen, nahiz eta substratu gehiago behar den entzima asetzeko.

Inhibitzaileak, entzimak substratuarekiko duen afinitatea aldatzen duela dirudien arren, K_s balioa ez da aldatzen, berdina da: beraz afinitatea ez da aldatzen. $K's$ balioa da aldatzen dena, ondorioz, inhibitzailearen presentzian substratu kontzentrazio altuagoak beharko dira asetze puntura iristeko.

ALDERANTZIZKO BIKOITZA



Abiadura ekuazioa alderantzikatuz gero honako ekuazio hau lortuko dugu:

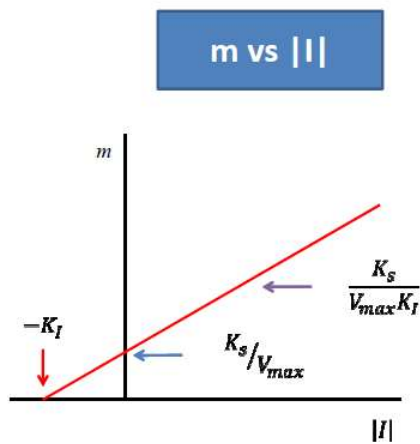
$$\underbrace{\frac{1}{v}}_y = \underbrace{\frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{|I|}{K_I} \right)}_m \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x + \underbrace{\frac{1}{V_{max}}}_b$$

Maldaren ekuaziotik inhibitzailearen kontzentrazioak gora egin ahala zuzenaren malda handiagoa izango dela deduzitu daiteke. Maldaren aldaketa behatuz efektorea aktibatzailea edo inhibitzailea den jakin daiteke: malda handiagoa bada inhibitzailea izango da eta txikiagoa bada, aktibatzailea.

Horrelako sistemak ikertzean inhibitzailearik gabeko lagina ere neurtu behar da, hau da %100eko aktibitatea duen lagina, konparaketa egin ahal izateko.

Ikusi daiteke, bi zuzenek Y ardatza puntu beran mozten dutela. Izan ere, V_{max} ez da aldatzen. X ardatza mozten dituzten puntuak, ordea, desberdinak dira, K_s eta $K's$ berdinak ez direlako inhibitzailearen presentzian.

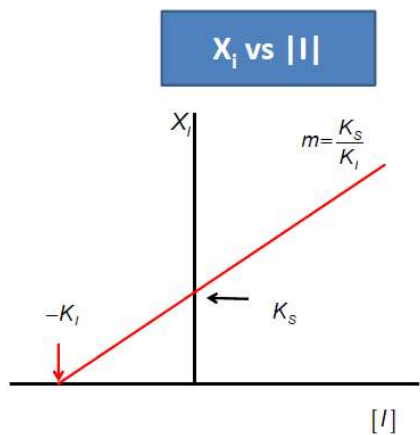
Alderantzizko bikoitzetik irudikapen sekundario desberdinak atera daitezke, nahiz eta hauek oso erabilgarriak ez izan.



Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$m = \underbrace{\frac{K_S}{V_{max}}}_{y} + \underbrace{\frac{K_S}{V_{max}K_I}}_{b} \underbrace{|I|}_{m} \underbrace{1}_{x}$$

Irudikapen sekundario honetatik Ki balioa lortu dezakegu.



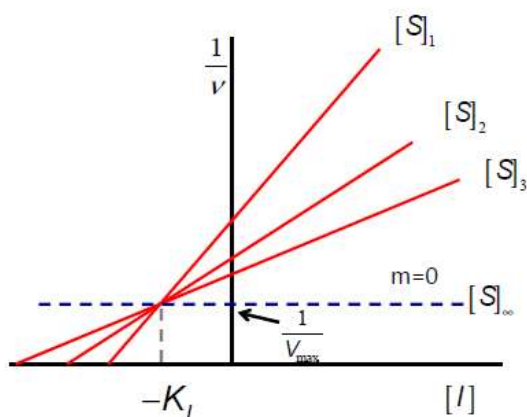
Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$X_i = \underbrace{\frac{K_S}{K_I}}_{y} \underbrace{|I|}_{m} + \underbrace{K_S}_{x} = \underbrace{\frac{1}{K'_S}}_{b}$$

Irudikapen sekundario honetarik Ks eta Ki balioak lortu daitezke. Y ardatza moztuko duen puntua beti berdina izango da Ks ez baita aldatzen.

DIXON IRUDIKAPENA

Irudikapen honetan abiaduraren alderantzizkoa inhibitzailearen kontzentrazioaren aurka irudikatzen da (1/v vs. [I]).



Hau da zuzenaren ekuazioa:

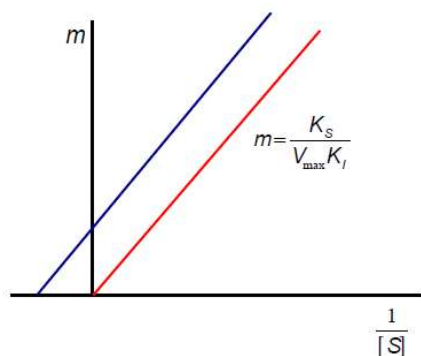
$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_S}{V_{max}K_I[S]}}_{y} \underbrace{|I|}_{m} + \underbrace{\frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_S}{[S]} \right)}_{b}$$

Ekuaziotik deduzitu daitekeenez, substratuaren kontzentrazioa zenbat eta altuagoa izan malda txikiagoa izango da.

Dixon irudikapenak inhibizioa purua edo partziala den jakiteko balio digu. Kasu honetan purua da, zuzenak lortu direlako. Inhibizio partzialetan kurbak lortzen dira. Gainera, inhibizio puruetan inhibitzaile kontzentrazio altuetan $v=0$ izatera iritsi daiteke (aktibitate ez), inhibizio partzialetan $v \neq 0$ izango da nahiz eta inhibitzaile asko egon.

Dixonen irudikapen primarioak irudikapen sekundarioak ere atera daitezke, malda edo Y ebakitze puntuak (b) kontuan hartuz.

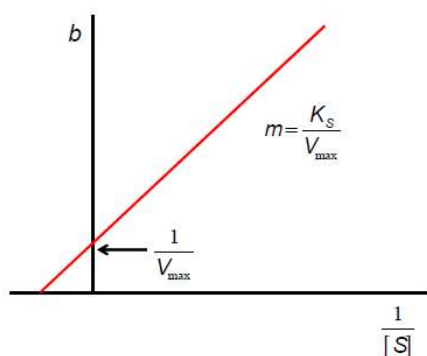
Kasu honetan, malda substratu kontzentrazioaren alderantzizkoaren aurka irudikatuko da.



Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$m = \underbrace{\frac{K_s}{V_{\max}}}_{\text{y}} \underbrace{\frac{1}{K_i}}_{\text{m}} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{\text{x}}$$

Irudikapen honek inhibizio mixtoa ala totala izan den jakiteko balio du. Zuzenak (0,0) puntutik pasatzen bada inhibizio totala izango da, bestela mixtoa.



Beste kasu honetan, berriz, b vs $1/[S]$ irudikapena egin da.

Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$b = \underbrace{\frac{K_s}{V_{\max}}}_{\text{y}} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{\text{m}} \underbrace{\frac{1}{K_i}}_{\text{x}} + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}}}_{\text{b}}$$

Laburbilduz hauek dira inhibizio lehiakorren oinarriak:

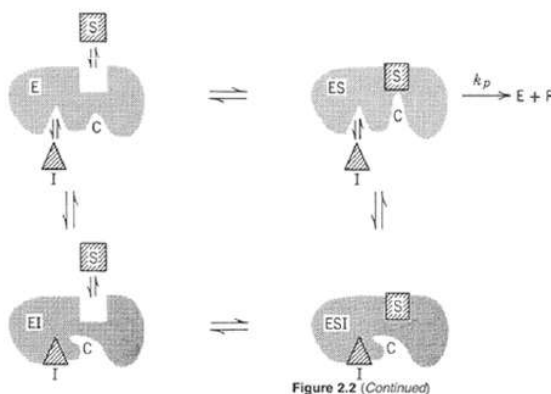
- ✚ Inhibitzaile lehiakor batek Michaelis-Menten konstante aparentea handituko du. Hau da, $K'_s > K_s$ izango da inhibitzailearen presentzian.
- ✚ Zenbat eta inhibitzailearen kontzentrazioa altuagoa izan orduan eta K'_s handiagoa izango da ere.
- ✚ V_{\max} ez da aldatzen, baina inhibitzailea gehituz gero, substratu kontzentrazio altuagoa beharko da V_{\max} -ra iristeko, entzima asetzeko azken finean.
- ✚ Inhibitzailearen presentzian, $V_{\max} [S] \geq 100K'_s$ denean lortuko da.
- ✚ Inhibizio maila $[S]$, $[I]$, K_s eta K_i -ren menpekota izango da.
- ✚ Substratu kontzentrazioa handitzeak, inhibitzailearen kontzentrazioa finko mantenduz, inhibizio maila gutxituko du. Hots, abiadura igoko du eta hortaz aktibitatea emendatu.
- ✚ Inhibitzaile kontzentrazioa handitzeak, substratuaren kontzentrazioa finko mantenduz, inhibizio maila handituko du. Hots, abiadura jaitsiko du eta hortaz aktibitatea murriztu.

❖ Inhibizio ez-lehiakorra

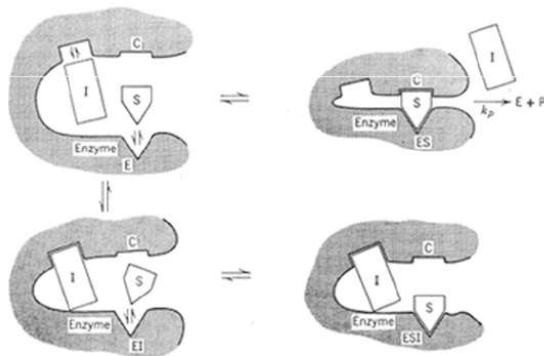
Inhibizio mekanismo honetan inhibitzailearen baturak ez du substratuaren batura eragozten, hau da biak batera elkartu daitezke entzimari. Beraz, EIS konplexu hirutarra eratuko da, nahiz eta hau ez den katalitikoki aktiboa izango. Substratua eta inhibitzailea bakoitza bere batura gunera lotuko da modu independente eta itzulgarrian.

Hemen ere modelo desberdinak deskribatu dira:

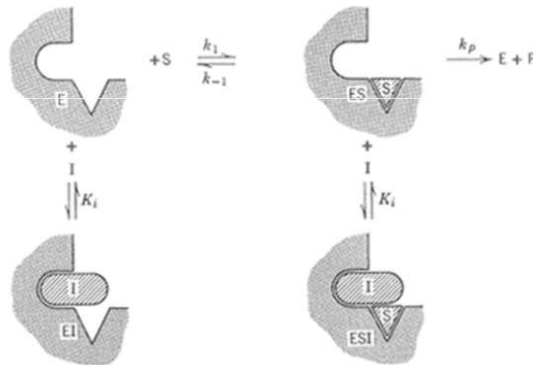
1. Modeloa: Modelo hau da orokorrean. Substratuak eta inhibitzaileak ez dute elkar eragotziko entzimara batzeko orduan. Baina, hala ere EIS konplexua ez da aktiboa izango. Izan ere, aktibo izateko gune katalitikoan (C) berrantolaketa zehatz bat gertatu behar da, substratuak eragiten duena hain zuzen. Inhibitzailea batzen den momentuan, beste berrantolaketa bat egongo da (egokia ez dena) eta ondorioz ez da aktiboa izango.



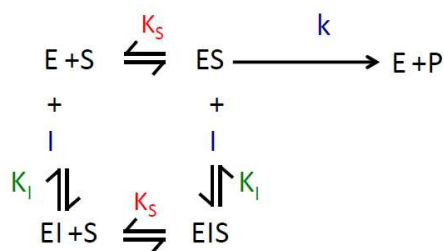
2. Modeloa: Kasu honetan EIS konplexua eratzeko lehenengo inhibitzailea batu beharko da. Hau da, inhibitzailea ezin da ES konplexura batu. Izan ere, substratua batzean konformazio ixten da eta ezingo da inhibitzailea sartu. Inhibitzailea batzean, ez da konformazio itxiko eta substratua batu ahalko da baino ez da katalitikoki aktiboa izango, konformazio egokia ez duelako.



3. Modeloa: Inhibitzailea lehena batuz gero beste formak (ES eta EIS) ezingo dira lortu. Hau da, EI eratzen bada ezingo da substratua batu eta beraz, ezingo da erreakzioirik gertatu.



Inhibizio ez-lehiakor puru edo total klasikoan (1 modeloa), aipatu bezala, inhibitzailearen baturak ez du substratuaren baturan eragingo, entzimarekin elkartzeko afinitatea berdina izango delarik. Bi hauen batura zorizkoa da, ordenak ez du garrantzirik, eta modu independente eta itzulgarrian gertatzen dira, konstanteak ez dira aldatuko beraz. Substratuak eta inhibitzaileak batura gune desberdinak izango dituzte. ES eta EI konplexu bitarrak zein EIS konplexu hirutarra batuko da, nahiz eta ES izango den katalitikoki aktiboa den bakararra. Hauxe da mekanismo honen eskema:



Kasu honetan, lehen esan bezala, K_i eta K_s balioak berdinak izango dira bi kasuetan. Hortaz:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{[EI][S]}{[EIS]} \quad K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

Dena dela, lehen ere aipaturiko moduan, ES konplexua izango da katalitikoa den bakararra, beraz hori izango da kontuan hartuko duguna abiadurak kalkulatzeko: $v = k[ES]$ $V_{max} = k[E]_{TOT}$

Entzima totala kasu honetan eratu daitezkeen bi konplexu bitar moten, entzima askearen eta konplexu hirutarren baturari dagokio: $[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES] + [EIS]$

Konplexu katalitikoaren menpe jarriko dugu espezie bakoitza:

$$[E] = \frac{K_s[ES]}{[S]} ; [EI] = \frac{[E][I]}{K_i} = \frac{K_s[ES][I]}{[S] K_i} ; [EIS] = \frac{[ES][I]}{K_i}$$

Abiaduren zatidura egitean:

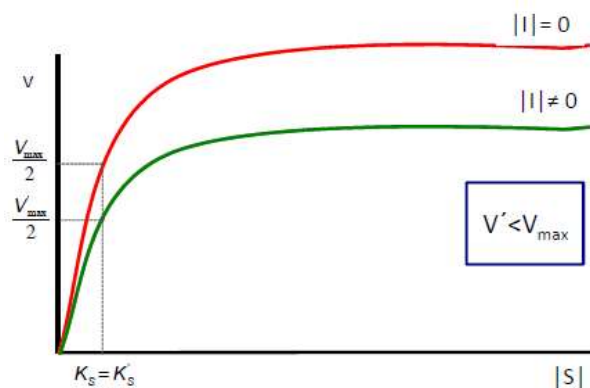
$$\begin{aligned}
 \frac{v}{V_{max}} &= \frac{k[ES]}{k[E]_{TOT}} = \frac{[ES]}{\frac{K_s[ES]}{[S]} + [ES] + \frac{K_s[ES][I]}{[S] K_i} + \frac{[ES][I]}{K_i}} = \frac{[S]}{[S] + K_s + \frac{K_s[I]}{K_i} + \frac{[I][S]}{K_i}} = \\
 &\xrightarrow{\text{Guztia } \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)\text{-rekin zatituko dugu.}} \frac{[S]}{[S]\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + K_s\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad v = \frac{V_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \frac{[S]}{K_s + [S]}
 \end{aligned}$$

Lorturiko ekuazioa errazteko eta Michelis-Menten-en itxurako ekuazio bat lortzeko $V'_{max} = \frac{V_{max}}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}$ dela hartuko dugu eta hala, abiadura ekuazioa honako hau izango da: $v = \frac{V'_{max}[S]}{K_s + [S]}$

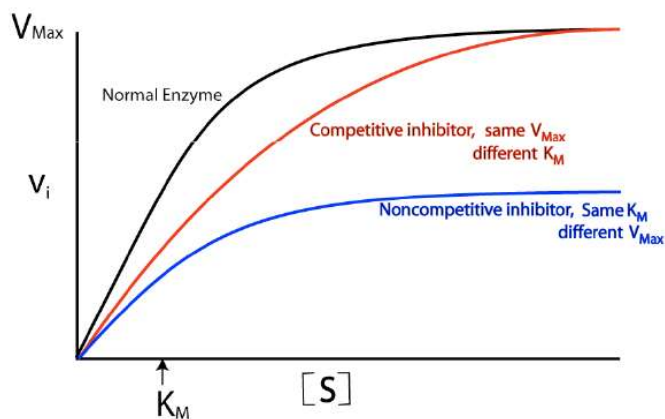
Beraz, inhibitzaile ez-lehiakor bat gehituta abiadura maximoa izango da aldatzen dena eta ez K_s balioa. Kasu honetan, V'_{max} balioa beti izango da V_{max} balioa baino txikiagoa.

IRUDIKAPEN ZUZENA

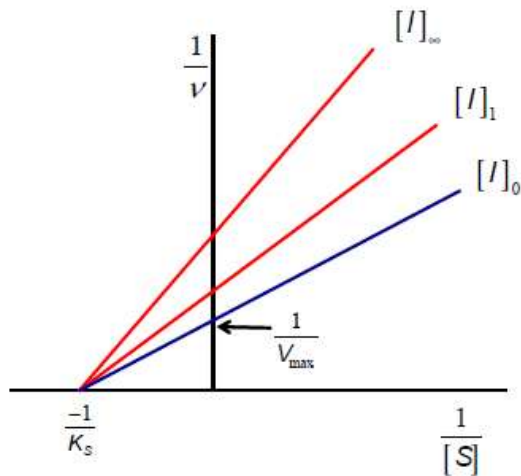
Beheko lehen grafika zuzenari behatuz, eta inhibitzaile gabea (gorria) eta inhibitzaile ez-lehiakorra (berdea) alderatuz, K_s balioa aldatzen ez dela ikus dezakegu, baina abiadura maximoa inhibitzailearekin gutxitu egiten dela argi ikus daiteke eta entzima gutxiago dagoela pentsarazten digu. Kontuan izan behar da, bi kasuetan entzimak beti duela substratuarekiko afinitate berdina.



Bigarren grafika zuzen honetan, entzima inhibitzaile gabe (beltza), inhibitzaile lehiakorrarekin (gorria) eta inhibitzaile ez-lehiakorra (urdina) alderatzen ditugu. Gorriaren kasuan K_s balioa aldatzen da baina abiadura maximoa ez dela aldatzen ikusten da, baina saturazio puntura iristea gehiago kostatzen zaio. Bestetik, urdinaren kasuan K_s balioa ez da aldatuko baina abiadura maximoa nabarmen txikiagoa dela ikusten da.



ALDERANTZIZKO BIKOITZA



Abiadura ekuazioa alderantzikatuz gero honako ekuazio hau lortuko dugu:

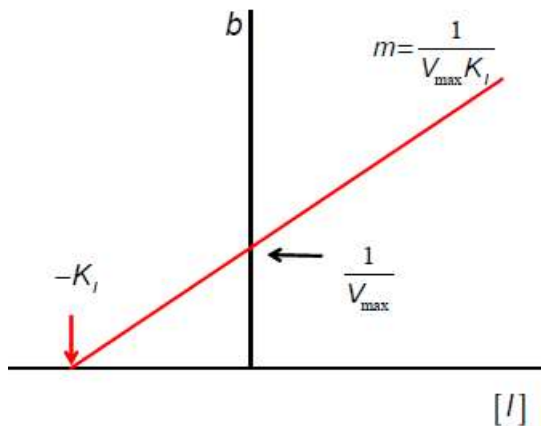
$$\frac{1}{v} = \frac{K_s}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$$

y m x b

Kasu honetan, inhibitzailearen kontzentrazioak gora egin ahala zuzenaren malda eta b puntua handiagoak izango dira. Normalean inhibitzailearik gabe lortzen diren datuen balioak ere ematen dizkigute eta kasu honetan monosubstratuarekin lortzen den zinetika izango dugu, y ardatza mozten duen puntutik abiadura maximoa jakin dezakegularik.

Alderantzizko bikoitzetik irudikapen sekundario desberdinak atera daitezke, nahiz eta hauek oso erabilgarriak ez izan, normalean parametroak Dixon irudikapenaren bidez lortzen baitira.

- b vs. [I]

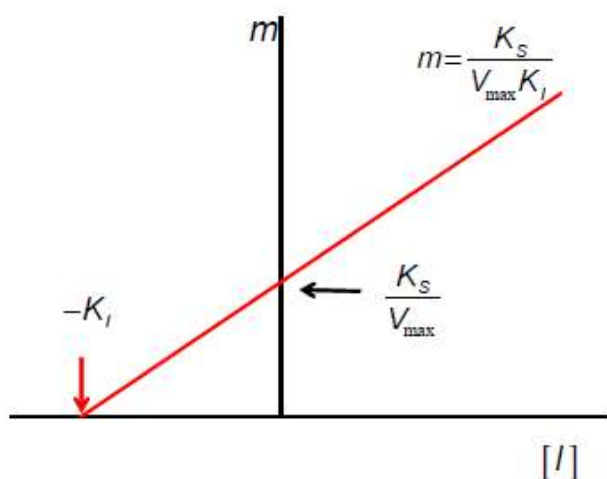


Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$b = \frac{1}{V_{\max} K_i} [I] + \frac{1}{V_{\max}}$$

y m x b

- m vs. [I]



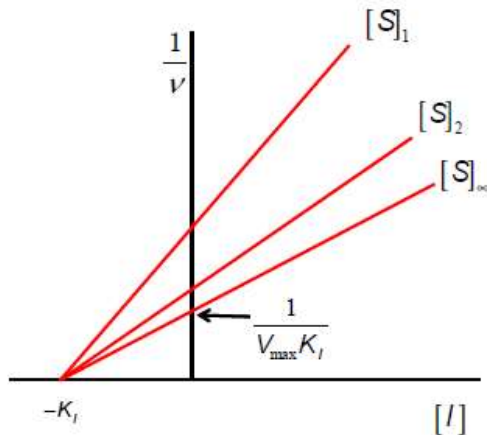
Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$m = \frac{K_s}{V_{\max} K_i} [I] + \frac{K_s}{V_{\max}}$$

y m x b

DIXON IRUDIKAPENA

Irudikapen honetan abiaduraren alderantzizkoa inhibitzailearen kontzentrazioaren aurka irudikatzen da ($1/v$ vs. $[I]$).



Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{1 + \frac{K_S}{[S]}}{V_{\max} K_I}}_y [I] + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_S}{[S]} \right)}_b$$

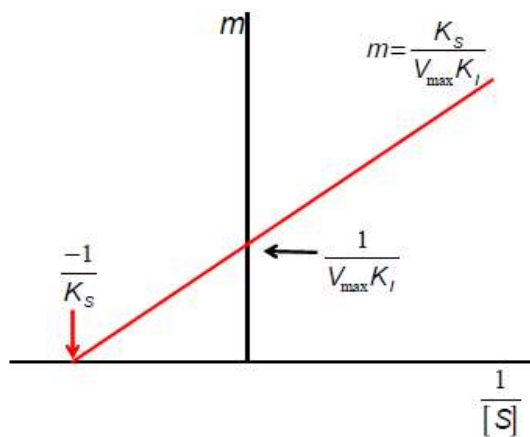
y m x b

Ekuaziotik deduzitu daitekeenez, substratuaren kontzentrazioa zenbat eta altuagoa izan malda txikiagoa izango da.

Dixon irudikapenak inhibizioa purua edo partziala den jakiteko balio digu, eta horregatik nahitaezkoa da irudikapen hau egitea. Kasu honetan purua da, zuzenak lortu direlako eta lehen aipatu bezala inhibizio partzialetan kurbak lortzen dira. Hala, irudikapen honetatik beharrezko parametro zinetikoak lortuko ditugu.

Dixonen irudikapen primarioak irudikapen sekundarioak ere atera daitezke, malda edo Y ebakitzeko puntuak (b) kontuan hartuz.

- m vs. $1/[S]$



Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$m = \underbrace{\frac{K_S}{V_{\max} K_I}}_y \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x + \underbrace{\frac{1}{V_{\max} K_I}}_b$$

y m x b

- b vs. $1/[S]$ irudikapena ere egin daiteke.

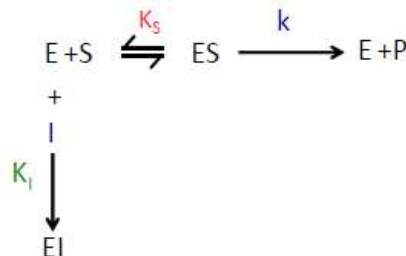
Laburbilduz hauek dira inhibizio ez-lehiakorren oinarriak:

- Inhibitzaile ez-lehiakor batek, abiadura maximo aparentea txikituko du.
- Inhibizio maila $[I]$ -ren eta K_i -ren menpekoa izango da, hau abiadura ekuazioa behatuz lor daiteke.
- Erreakzio abiadura I -ren presentzian (v_i) inhibitzaile gabe lortzen den abiaduraren (v_0) frakzio konstante bat izango da beti $[S]$ eta K_s -ren independentea dena.
- $[S]$ handitzeak, v_0 eta v_i -ren handipen proportzional bat eragiten du.
- Inhibitzaile ez-lehiakor baten efektu netoaren ondorioz, sistema kanpotik begiratzuz abiadura maximoa txikiagoa denez, pentsarazten digu sisteman berez dagoen entzima kantitatea baino gutxiagoa dagoela. Dakigun moduan hau ez da horrela, abiadura maximoaren txikitzea inhibitzailearen presentziaren ondorioa da.
- $[I]=K_i$ denean, edozein $[S]$ -rentzat inhibizioaren %50-a lortuko da.

INHIBIZIO ITZULEZINA vs ITZULKOR EZ-LEHIAKORRA

Inhibitzaile itzulezin baten jokaera, inhibitzaile ez-lehiakor baten oso antzekoa da, hori dela eta, batzuetan bi sistemak nahas daitezke. Bi kasuetan $V'_{max} < V_{max}$ eta $K'_s = K_s$ ematen da. Hortaz, soilik parametro zinetikoei behatzen badiegu ezingo dira ezberdindu.

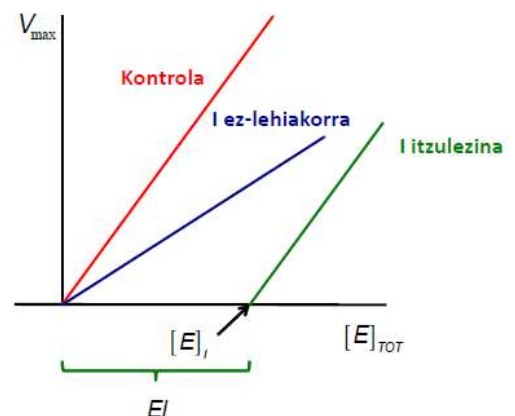
Inhibitzaile itzulezin bat modu itzulezinean batzen zaio entzimari, hau da, EI konplexua ez da inoiz entzima aske izatera itzuliko. Hori dela eta, inhibitzaileak nolabait entzima “bahitzen” duenez, sisteman dagoena baino entzima gutxiago dagoela eman dezake. Ondorengo eskema betetzen da inhibizio itzulezinean:



Inhibizio itzulezina eta itzulkor ez-lehiakorra ezberdintzeko, beraz, V_{max} vs. $[E]_{TOT}$ irudikapen grafikoa egiten da. Irudikapen honetan $[E]_{TOT}$ aldatzen ari gara puntu bakoitzean.

Ikus daitekeen moduan, bai inhibitzailearik gabeko zuzena, bai eta inhibitzaile ez-lehiakorren zuzena 0,0 puntura iristen dira. Honek esan nahi digu entzimarik ez dagoen kasuetan abiadura zero izango dela.

Bestetik, inhibitzaile itzulezinaren kasuan, ez da 0,0 puntutik pasatzen. Izan ere, inhibitzailea gehitzean entzima asko batuko dira berarekin entzima guztiz aktibatzerik gabe utziz, hau da, nolabait entzima “bahitzen” du eta ez da erreaktziorik emango. Entzima kontzentrazioa igotzen goazen heinean, entzima aske gehiago egongo da eta erreakzioa ikusi ahalko dugu, hala abiadura maximoa handituz doa.



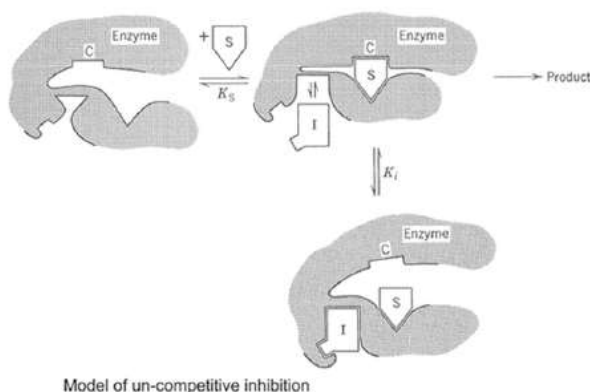
❖ Inhibizio des-lehiakorra

Entzimak bi batura gune ditu, bata inhibitzailearentzat eta bestea substratuarentzat. Hala ere, substratu eta inhibitzailearen baturak ez dira zorizkoak, orden zehatz bat jarraituko dute. Kasu honetan inhibitzailea batu ahal izateko lehenik substratua batu beharko da, hau da, ezin da inhibitzailea zuzenean entzimara batu, beti ES konplexu bitarrari batuko zaiolarik modu itzulezinean. Hortaz, ez da inoiz EI konplexu bitarra eratuko.

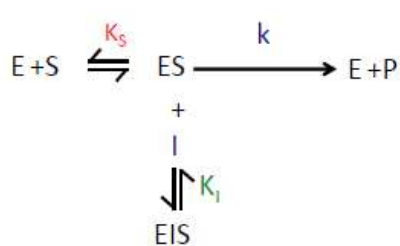
Inhibizio mota honek Koshland-en teoria jarraitzen du. Konformazio aldaketa bat jasango du entzimak substratua batzen zaionean eta honek inhibitzailea batzen den gunearen aldaketa konformazionala ahalbidetuko du, inhibitzailea batzea posible eginez.

Kasu honetan ere EIS konplexua ez da aktiboa izango.

🧩 Proposaturiko modeloak dio inhibitzailea entzimara batzeko substratua batu behar dela lehenengo. Hala, substratua batzen denean, aldaketa konformazional bat gertatzen da inhibitzailearen batura ahalbidetuz.



Ondorengoa da mekanismoaren eskema:



$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Erreakzioaren abiadura eta abiadura maximoa:

$$v = k[ES]$$

$$V_{max} = k[E]_{TOT}$$

Kasu honetan ez da EI konplexu bitarra sortuko. Beraz, entzima totala eratu daitekeen konplexu bitar bakarraren, entzima askearen eta konplexu hirutarraren baturari dagokio:

$$[E]_{TOT} = [E] + [ES] + [EIS]$$

Konplexu katalitikoaren menpe jarriko dugu espezie bakoitza:

$$[E] = \frac{K_s[ES]}{[S]} \text{ eta } [EIS] = \frac{[ES][I]}{K_i}$$

Abiaduren zatidura egitean ES konplexu bitarraren baitan jarriko ditugu denak, hau baita aktibitate katalitikoa duena:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{k[ES]}{k[E]_{TOT}} = \frac{[ES]}{\frac{K_S[ES]}{[S]} + [ES] + \frac{[ES][I]}{K_i}} = \frac{[S]}{[S] + K_S + \frac{[I][S]}{K_i}} = \frac{[S]}{[S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + K_S}$$

Guztia $\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$ -rekin zatituko dugu.

$$v = \frac{V'_{max} + [S]}{K'_S + [S]} \quad \leftarrow \quad v = \frac{\frac{V_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} [S]}{\frac{K_S}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} + [S]}$$

Ekuazioa errazteko eta Michelis-Menten-en itxurako ekuazio bat lortzeko bi konstante berri hauek definitzen dira.

$$V'_{max} = \frac{V_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

$$K'_S = \frac{K_S}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

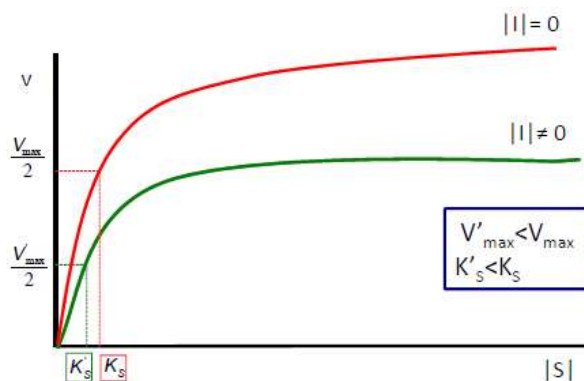
V'_{max} beti izango da V_{max} baino txikiagoa eta K'_S ere beti izango da K_S baino txikiagoa.

$V'_{max} < V_{max}$

$K'_S < K_S$

IRUDIKAPEN ZUZENA

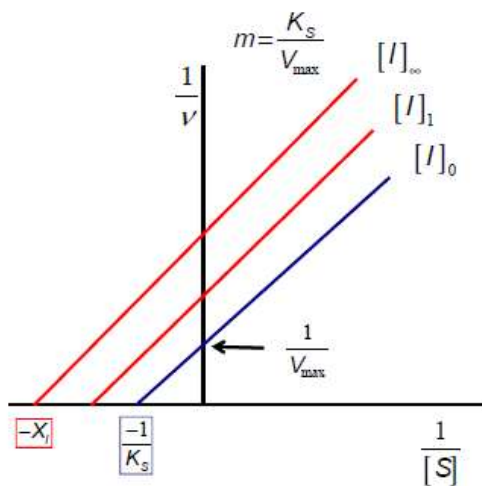
Irudikapenean argi ikusten da bi parametro zinetikoak aldatzen direla, bai K_S balioa baita V_{max} balioa ere. Hala ere, gogoratu behar da entzimak substratuarekiko beti izango duela afinitate berdina bi parametro horien balioa gutxitu arren, hori inhibitzailearen presentziaren ondorioa baita.



ALDERANTZIZKO BIKOITZA

Inhibitzaile kontzentrazio ezberdinentzat malda beti berdina izango da.

Kasu honetan ere inhibitzailearen kontzentrazioa 0 deneko puntutik abiadura maximoa lor daiteke. Gainontzeko parametro zinetikoak irudikapen sekundarioetatik lortuko dira.



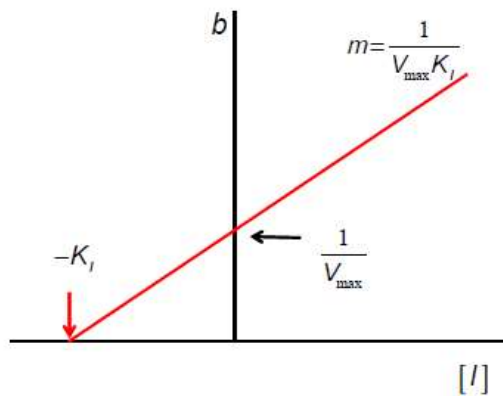
Abiadura ekuazioa alderantzikatuz gero honako ekuazio hau lortuko dugu:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_s}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$$

y m x b

Alderantzizko bikoitzetik irudikapen sekundario desberdinak atera daitezke, nahiz eta hauek oso erabilgarriak ez izan.

- b vs. $[I]$

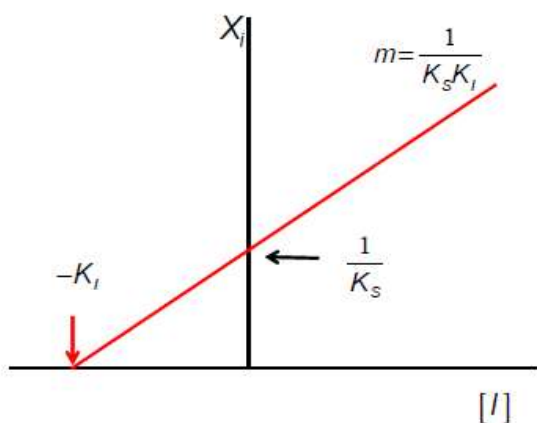


Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$b = \frac{1}{V_{\max} K_i} [I] + \frac{1}{V_{\max}}$$

y m x b

- X_i vs. $[I]$



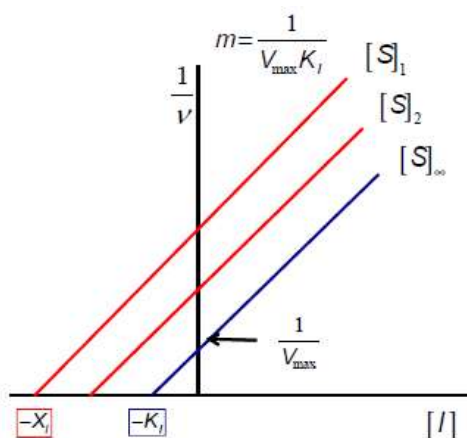
Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$X_i = \frac{1}{K_s K_i} [I] + \frac{1}{K_s} = \frac{1}{K_s}$$

y m x b

DIXON IRUDIKAPENA

Irudikapen honetan abiaduraren alderantzizkoa inhibitzailearen kontzentrazioaren aurka irudikatzen da ($1/v$ vs. $[I]$).



Hau da zuzenaren ekuazioa:

$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{1}{V_{\max} K_I}}_y [I] + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_S}{[S]} \right)}_b$$

y m x b

Irudikapen hau behar-beharrezkoa da inhibizio ez-lehiakor edo des-lehiakor bat den jakiteko. $[S]_\infty$ beharrezkoa izango da, hau gabe ezingo delako parametro zinetikorik kalkulatu.

Hemendik abiatuak b vs $1/[S]$ eta X_I vs $1/[S]$ irudikapenak ere egin daitezke.

❖ Aktibitatea adierazteko moduak

Inhibizioa gertatu den kasuetan aktibitatea bi modutara adierazi daiteke: batetik Hondar Aktibitate Erlatibo (a) moduan, eta bestetik Inhibizio Erlatibo (i) moduan.

Hondar Aktibitate Erlatiboak geratzen den aktibitatearen berri ematen du eta inhibitzailearen erreakzioaren eta inhibitzaile gabeko erreakzioaren arteko erlazioa da; hau da, aktibitatea gutxitua eta %100eko aktibitatea duten erreakzioen arteko erlazioa.

$$a = \frac{v_I}{v_0} \longrightarrow a\% = 100 \frac{v_I}{v_0}$$

Inhibizio Erlatiboak berriz galdutako aktibitatearen berri emango du.

$$i = 1 - a = 1 - \frac{v_I}{v_0} \longrightarrow i\% = 100 \left(1 - \frac{v_I}{v_0} \right)$$

Jarraian inhibizio mota bakoitzaren aktibitatea nola adierazten den ikusiko dugu:

INHIBIZIO LEHIAKORRETAN:

- Hondar Aktibitate Erlatiboa, a .

$$\left. \begin{aligned} v_i &= \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \\ v_0 &= \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]} \end{aligned} \right\} a = \frac{v_i}{v_0} \rightarrow$$

$$\rightarrow a = \frac{v_i}{v_0} = \frac{\frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]}}{\frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]}} \rightarrow a = \frac{K_s + [S]}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]}$$

- Inhibizio Erlatiboa, i .

$$i = 1 - a = 1 - \frac{K_s + [S]}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} = \frac{K_s + K_s \cdot \frac{[I]}{K_i} + [S] - [S] - K_s}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} =$$

$$\frac{\frac{K_s \cdot [I]}{K_i}}{K_s \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} = \frac{\frac{K_s \cdot [I]}{K_i}}{K_s + \frac{K_s \cdot [I]}{K_i} + [S]} = \frac{[I]}{\frac{K_i \cdot K_s}{K_s} + \frac{K_i \cdot K_s \cdot [I]}{K_i} + \frac{K_i \cdot [S]}{K_s}} =$$

$$\frac{[I]}{K_i + [I] + \frac{K_i \cdot [S]}{K_s}} \rightarrow i = \frac{[I]}{K_i \cdot \left(1 + \frac{[S]}{K_s} + [I]\right)}$$

INHIBIZIO EZ-LEHIAKORRETAN:

- Hondar Aktibitate Erlatiboa, a .

$$\left. \begin{aligned} v_i &= \frac{\frac{V_{max} \cdot [S]}{1 + \frac{[I]}{K_i}}}{K_s + [S]} \\ v_0 &= \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]} \end{aligned} \right\} a = \frac{v_i}{v_0} \rightarrow$$

$$\rightarrow a = \frac{v_i}{v_0} = \frac{\frac{\frac{V_{max} \cdot [S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}}{K_s + [S]}}{\frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]}} = \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i + [I]}} \rightarrow a = \frac{K_i}{K_i + [I]}$$

- Inhibizio Erlatiboa, i .

$$i = 1 - a = 1 - \frac{K_i}{K_i + [I]} = \frac{K_i + [I] - K_i}{K_i + [I]} \rightarrow i = \frac{[I]}{K_i + [I]}$$

INHIBIZIO DES-LEHIAKORRETAN:

- *Hondar Aktibitate Erlatiboa, a.*

$$\left. \begin{aligned} v_i &= \frac{\frac{Vmax \cdot [S]}{1 + \frac{[I]}{Ki}}}{\frac{Ks}{1 + \frac{[I]}{Ki}} + [S]} = \frac{Vmax \cdot [S]}{[S] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) + Ks} \\ v_0 &= \frac{Vmax \cdot [S]}{Ks + [S]} \end{aligned} \right\} a = \frac{v_i}{v_0} \rightarrow$$

$$\rightarrow a = \frac{v_i}{v_0} = \frac{\frac{Vmax \cdot [S]}{[S] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) + Ks}}{\frac{Vmax \cdot [S]}{Ks + [S]}} \rightarrow a = \frac{Ks + [S]}{[S] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) + Ks}$$

- *Inhibizio Erlatiboa, i.*

$$i = 1 - a = 1 - \frac{Ks + [S]}{[S] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) + Ks} = \frac{[S] + \frac{[S] \cdot [I]}{Ki} + Ks - [S]}{[S] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{Ki}\right) + Ks} =$$

$$\frac{\frac{[S] \cdot [I]}{Ki}}{[S] + \frac{[S] \cdot [I]}{Ki} + K} = \frac{[I]}{Ki \left(1 + \frac{Ks}{[S]}\right) + [I]} \rightarrow i = \frac{[I]}{Ki \cdot \left(1 + \frac{Ks}{[S]}\right) + [I]}$$

Inhibizio partzialak eta mistoak

Inhibizioa purua denean, EI eta EIS konplexuak ez dira katalitikoki aktiboak. Inhibizio partzial eta mistoan aldiz, konplexu hirutarrek katalisi aktibitatea izango du. Konplexu hirutarren sorrera emango da eta produktua sortuko da eraginkortasun berdina edo gutxiagorekin. Mekanismo desberdinak daude:

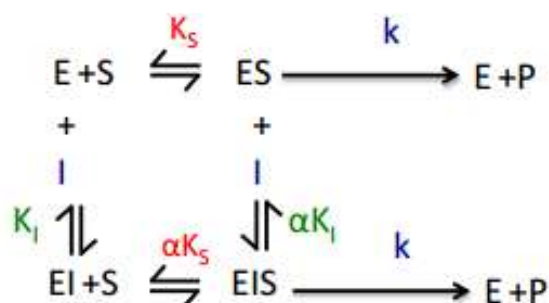
- Inhibizio lehiakor partziala
- Inhibizio ez lehiako partziala
- Inhibizio des-lehiakor partziala
- Inhibizio misto lineala

1. Inhibizio lehiakor partzial edo hiperbolikoa

Entzimak bi batura gune ditu, bat inhibitzailearentzat eta bestea substratuarentzat. ES, EI eta EIS konplexuak sortuko dira. Hala ere, kontuan hartu behar da substratua afinitate gehiagorekin batuko zaiola entzima askeari EI konplexuari baino, eta era berean inhibitzailea afinitate gehiagorekin batuko zaio entzima askeari ES konplexuari baino. ES eta EIS konplexuak aktiboak dira; biak produktiboak dira eta konstante katalitiko bera dute.

Inhibizio partzial edo HIPERBOLIKOA esaten zaio irudikapen sekundarioak kurbak ematen dituztelako.

Honakoa da inhibizio mota honen eskema:



Esan bezala, bai ES zein EIS aktiboak dira eta konstante katalitiko bera dute. Ezberdintasuna disoziazio konstanteetan aurkituko dugu, eta bata besteari oztopo bera egiten diola suposatuz, bietan α faktorea aurkitzen dugu.

α faktorea, inhibitzailea entzimari batzen zaionean ematen den K_s -ren aldaketa izango da. Faktore hau beti izango da 1 baino handiagoa (beti kostatuko zaiolako gehiago substratua EI konplexuari lotzea entzima askeari baino) eta horren ondorioz, $\alpha K_s > K_s$ eta $\alpha K_i > K_i$ izango dira.

Kontuan hartu orain bi konplexu produktibo ditugula, ES eta EIS, eta produktibitate berdina dutela suposatuko dugu. Hala ere, substratua EI-ra batzea zailagoa denez, afinitate baxuagoa du eta beraz konplexuen eraketa geldotzen ari gara.

Abiadura ekuazioa zehazteko, lehenik eta behin disoziazio konstanteak, eta entzima kontzentrazio totala zehaztuko ditugu:

-Disoziazio kteak:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$\alpha K_s = \frac{[EI][S]}{[ESI]}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\alpha K_i = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

Kasu honetan, katalitikoki aktiboak diren bi konplexu ditugunez, biak hartu beharko ditugu kontuan erreakzio abiadura idazterako orduan, eta ondorioz, honako hau izango da erreakzio

$$v = k[ES] + k[EIS] = k([ES] + [EIS])$$

$$[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES] + [EIS]$$

abiadura:

Hau guztia kontuan izanik, ondorengo moduan aterako dugu abiadura ekuazioa:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{k[ES] + k[EIS]}{k[E]_{tot}} = \frac{k[ES] + k[EIS]}{k([E] + [ES] + [EI] + [EIS])} =$$

$$\frac{\frac{[E][S]}{K_s} + \frac{[E][S]}{K_s} \cdot \frac{[I]}{\alpha K_i}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_s} + \frac{[E][I]}{K_i} + \frac{[E][S][I]}{K_s \cdot \alpha K_i}} = \frac{\frac{[S]}{K_s} + (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}{\frac{[S]}{K_s} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}) + 1 + \frac{[I]}{K_i}} =$$

$$\frac{[S] \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}{[S] \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}) + K_s \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} = \frac{[S]}{[S] + K_s \cdot \underbrace{\left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}} \right)}} \rightarrow v = \frac{[S]V_{max}}{K's + [S]}$$

$$K's$$

1.Urratsa: Entzima kontzentrazio totalaren adierazpena aldatu

2.Urratsa: Konstante katalitikoak adierazpen guztietan agertzen direnez sinplifikatu egiten da. Horrez gain, aldagai guztiak E entzima askearen menpe adierazten dira.

3.Urratsa: [E] guztietan dagoenez sinplifikatu egiten da. Horrez gain, [S]/K_s aldagai komuna ateratzen da.

4.Urratsa: Guztia K_s-rekin biderkatzen da

5.Urratsa: Goian eta behean 1 + [I]/αK_i-rekin zatitzen da.

ES eta EIS produktiboak dira, beraz sistemaren abiadura maximoa ez da aldatzen, V'_{max} = V_{max} izango da. Aldiz, disoziazio konstanteei dagokionez, K's > K_s izango da beti.

α >>>> 1 denean, αK_s >>>> K_s izango da, ez da EIS sortuko eta ondorioz inhibizio lehiakor purua izango dugu.

[I] = infinito denean, K's = αK_s izango da.

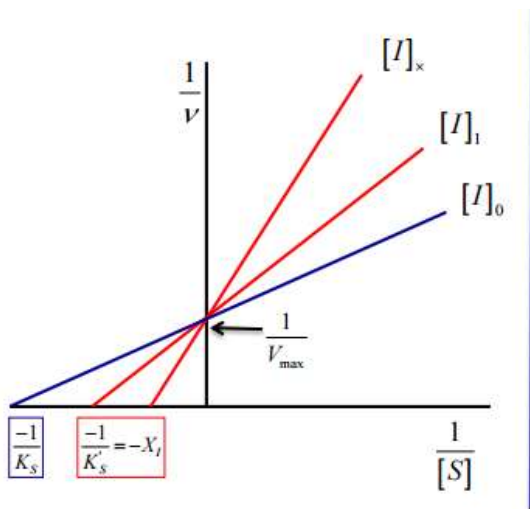
$$K's = K_s \cdot \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}}$$

$[I] = \infty$ denean

$$K's = K_s \cdot \frac{\frac{1}{[I]} + \frac{1}{K_i}}{\frac{1}{[I]} + \frac{1}{\alpha K_i}} \rightarrow K's = K_s \cdot \frac{\cancel{\frac{1}{[I]}} + \frac{1}{K_i}}{\cancel{\frac{1}{[I]}} + \frac{1}{\alpha K_i}} \rightarrow K's = \alpha K_s$$

Kasu honetan ez dago entzimarik inhibitzailearekin batu gabe, $[I]$ saturatzailea izango da. Ondorioz, hasierako eskemako beheko zatia egongo da aktibo, hau da, substratua EI-ri elkartuko zaio eta hortik EIS sortuko da. Horrek gero produktuak emango ditu.

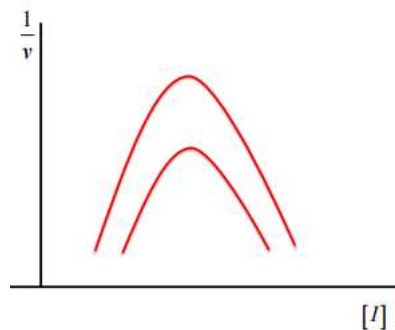
Alderantzizko bikoitza: $1/v$ vs $1/[S]$.



Abiadura ekuazioari buelta emanaz:

$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_s}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\frac{(1 + \frac{[I]}{K_i})}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}}_{m} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{x} + \underbrace{\frac{1}{V_{max}}}_{b}$$

Irudikapen honetan ikusten dugu lerro guztien Y ardatzeko puntu berean mozten dutela, hau da, inhibitzailearen kontzentrazioa edozein izanda ere abiadura maximoa ez dela aldatzen. Beraz, V_{max} aldatzen ez denez, badakigu inhibizio lehiakor baten aurrean gaudela, baina ez dakigu partziala edo totala izango den. Horretarako, irudikapen sekundarioak eta Dixonen irudikapenak egin behar dira. Inhibizio partzialen kasuan, bi irudikapen hauetan kurbak



lortuko ditugu.

Nola kalkulatu parametro zinetikoak kurbetatik?

$$\Delta m = m_{[I] \neq 0} - m_{[I] = 0}$$

Zuzen bat lortzeko maldaren gehikuntza (Δm) erabiltzen da.

$\Delta m = m_i - m_0$, hau da, inhibitzailea duenaren malda – inhibitzailearik ez duenaren malda.

Hau horrela izanik, Δm -ren ekuazioa aterako dugu modu honetan:

$$\Delta m_i = \frac{K_s \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}{V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})} - \frac{K_s}{V_{max}} = \frac{(K_s + K \frac{[I]}{K_i}) - (K_s + K_s \frac{[I]}{\alpha K_i})}{V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})} =$$

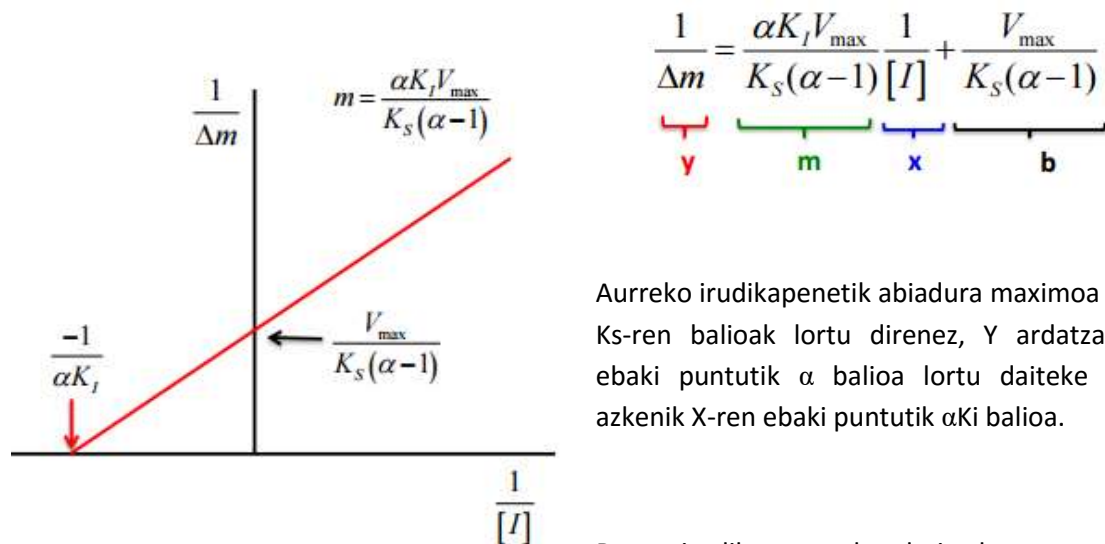
$$\frac{K_s + K_s \frac{[I]}{K_i} - K_s - K_s \frac{[I]}{\alpha K_i}}{V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})} = \frac{\frac{\alpha K_s [I]}{\alpha K_i} - K_s \frac{[I]}{\alpha K_i}}{V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})} = \frac{\frac{K_s}{\alpha K_i} (\alpha - 1) [I]}{V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})} =$$

$$\frac{K_s (\alpha - 1) [I]}{\alpha K_i \cdot V_{max} \cdot (1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}$$

1. Urratsa: Guztiari $V_{max} (1 + [I]/\alpha K_i)$ izendatzailea jartzen zaio
2. Urratsa: Zenbakitzaileko parentesia askatzen da
3. Urratsa: Zenbakitzaileko K_s -ak sinplifikatu egiten dira eta goian αK_i izendatzaile komuna jartzen da
4. Urratsa: $K_s/\alpha K_i$ faktore komuna ateratzen da
5. Urratsa: Goiko adierazpeneko αK behera pasatzen da

Honen alderantzizko bikoitza erabiliz, $1/\Delta m$ vs $1/[I]$ irudikatzen badugu, zuzen bat lortuko dugu.

Irudikapen sekundarioa $\rightarrow 1/\Delta m$ vs $1/[I]$



Aurreko irudikapenetik abiadura maximoa eta K_s -ren balioak lortu direnez, Y ardatzaren ebaki puntutik α balioa lortu daiteke eta azkenik X-ren ebaki puntutik αK_i balioa.

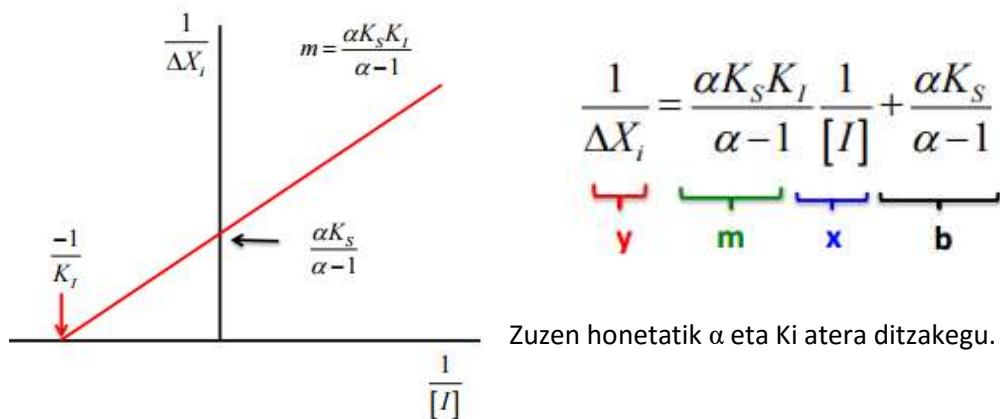
Beste irudikapen sekundario bat ere egin daiteke, eta hemen X ardatzaren ebaki puntuen gehikuntza erabiliko da.

$$\Delta x_i = x_i - x_0 = \frac{-1}{K'_s} - \frac{1}{K_s} = \frac{1}{K_s} - \frac{1}{K'_s} = \frac{1}{K_s} - \frac{1}{K_s \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}} \right)} =$$

$$\frac{1}{K_S} - \frac{1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}}{K_S \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} = \frac{1 + \frac{[I]}{K_i} - 1 - \frac{[I]}{\alpha K_i}}{K_S \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} = \frac{\frac{\alpha [I]}{\alpha K_i} - \frac{[I]}{\alpha K_i}}{K_S \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} = \frac{\frac{[I]}{\alpha K_i} (\alpha - 1)}{K_S \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})}$$

1. Urratsa: Adierazpena berrantolatzen da
2. Urratsa: K's Ks-ren baitan adierazten da
3. Urratsa: $1 + [I] / \alpha K_i$ gora pasatzen da
4. Urratsa: Izendatzaile komuna jartzen da $K_S \cdot (1 + [I] / K_i)$
5. Urratsa: Goian 1 zenbakiak sinplifikatzen dira eta αK_i izendatzaile komuna jartzen da
6. Urratsa: Goian $[I] / \alpha K_i$ faktore komuna ateratzen da

Irudikapen sekundarioa: $1/\Delta x_i$ vs $1/[I]$



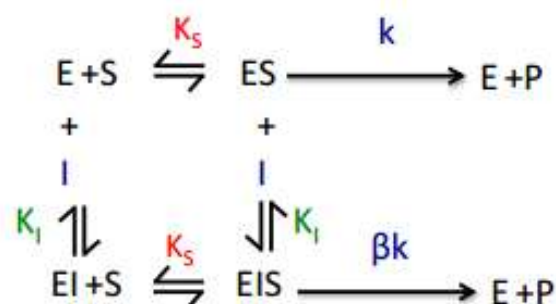
Beraz, ikusten den bezala inhibizio partzialean Dixon irudikapena erabili dezakegu zein mekanismo den jakiteko (kurbak lortuko direlako), baina parametroak lortzeko irudikapen sekundarioak egin beharko ditugu.

2. Inhibizio ez lehiakor partziala edo hiperbolikoa

Hemen ere entzimak bi batura gune ditu, bat inhibitzailearentzat eta bestea substratuarentzat. Kasu honetan lotura afinitate berdinarekin emango beste osagaia egon edo ez. Beraz, ez dago zentroen arteko menpekotasunik.

Mekanismo honetan ere bi konplexu aktibo daude, baina EIS konplexua ez da ES bezain produktiboa.

Hau izango litzateke eskema:



Inhibizio ez lehiakorrean ez dago menpekotasunik. Entzima askeari edo EI-ri batu, S-k afinitate bera du, hau da, K_s berdina da. Gauza berdina gertatzen da inhibitzailearentzat, eta beraz K_i konstantea ere berdina da bi kasuetan.

Desberdintasuna konplexuaren aktibitate katalitikoari dagokiona da. EIS konplexuak beste konstante katalitiko bat izango du, βK_s . Hemen dago inhibizioaren oinarria, izan ere, EISren aktibitate katalitikoa desberdina delako ematen da inhibizioa.

β beti 1 baino txikiagoa izango da, beraz, EIS-ren aktibitate katalitikoa ES-rena baino txikiagoa izango da beti.

-Disoziazio kteak:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{[EI][S]}{[EIS]}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

-Erreakzio abiadura:

$$v = k[ES] + \beta k[EIS] = k([ES] + \beta[EIS])$$

-Entzima kontzentrazio totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES] + [EIS]$$

Hau guztia kontuan izanik, ondorengo moduan aterako dugu abiadura ekuazioa:

$$\begin{aligned} \frac{v}{V_{max}} &= \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k[E]_{tot}} = \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k([E] + [ES] + [EI] + [EIS])} = \\ &= \frac{\frac{[E][S]}{K_s} + \beta \frac{[E][S][I]}{K_s K_i}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_s} + \frac{[E][I]}{K_i} + \frac{[E][S][I]}{K_s K_i}} = \frac{\frac{[S]}{K_s} \cdot (1 + \frac{\beta[I]}{K_i})}{\frac{[S]}{K_s} \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i}) + 1 + \frac{[I]}{K_i}} = \frac{[S] (1 + \frac{\beta[I]}{K_i})}{[S] \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i}) + K_s \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} \\ &= \frac{[S] \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right)}{[S] + K_s} = \underbrace{V_{max} \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right)}_{V'_{max}} \frac{[S]}{[S] + K_s} \rightarrow v = \frac{V'_{max} \cdot [S]}{[S] + K_s} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V'_{max} &< V_{max} \\ K'_s &= K_s \end{aligned}$$

- 1.Urratsa: Entzima totalen adierazpena aldatzen da
- 2.Urratsa: K sinplifikatu eta guztia $[E]$ askearen baitan idazten da
- 3.Urratsa: S/K_s faktore komuna ateratzen da
- 4.Urratsa: Goian eta behean K_s -rekin biderkatzen da
- 5.Urratsa: Goian eta behean $1 + ([I]/K_i)$ -rekin zatitzen da
- 6.Urratsa: Erreakzioa v -ren baitan jartzeko abiadura maximoa bidertzen pasatzen da

Ikusten denez, inhibitzailea gehitzean abiadura maximoan du eragina. Gainera, β parametroa beti 1 baino txikiagoa izango denez, ekuazioaren zatiketan inhibitzailearekin lortzen dena beti inhibitzaile gabekoa baino txikiagoa izango da.

Muturreko egoerak

- $\beta \ll 1$ denean βk ere k baino askoz ere txikiagoa izango da. Honek esan nahi du EIS konplexuaren produktibitatea oso baxua izango dela (edo ez dela produktiboa izango) eta egoera honetan erreakzio katalitikoa ES espeziearen baitan soilik egongo da: inhibizio ez-lehiakor puru bat bezala jokatu du.
- $[I]=0$ denean sistemak abiadura maximoa lortuko du, konplexu produktibo guztiak ES espeziekoak izango direlako.
- $[I]=\infty$ denean: limiteak kalkulatzen dira (zati $[I]$ eginez):

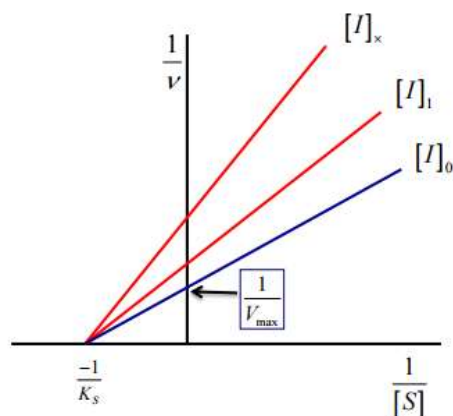
$$V'_{max} = V_{max} \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) = V_{max} \left(\frac{\frac{1}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}}{\frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i}}} \right) = V_{max} \left(\frac{\beta}{1} \right) = V_{max} \cdot \beta$$

$$v = \frac{\beta V_{max} \cdot [S]}{[S] + K_s}$$

Alderantzizko bikoitza: $1/v$ vs $1/[S]$

Alderantzizko bikoitza irudikatzeko abiadura ekuazioaren alderantzizkoa lortu beharko da:

$$\frac{1}{v} = \frac{[S] + K_s}{V_{max} \cdot \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) [S]} = \underbrace{\frac{1}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)}_b + \underbrace{\frac{K_s}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)}_m \cdot \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x$$



Ebaki puntuak lortzeko ekuazioak hartu eta bi aldeak berdindu behar dira. Izan ere lerroak elkartzen diren puntuan $1/s$ eta $1/v$ balio bera izango dute bi zuzenek. Demagun $[I]=0$ eta $[I]=1$ dugula:

$$\frac{1}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right) + \frac{K_s}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right) \cdot \frac{1}{[S]} = \frac{-1}{V_{max}} + \frac{K_s}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

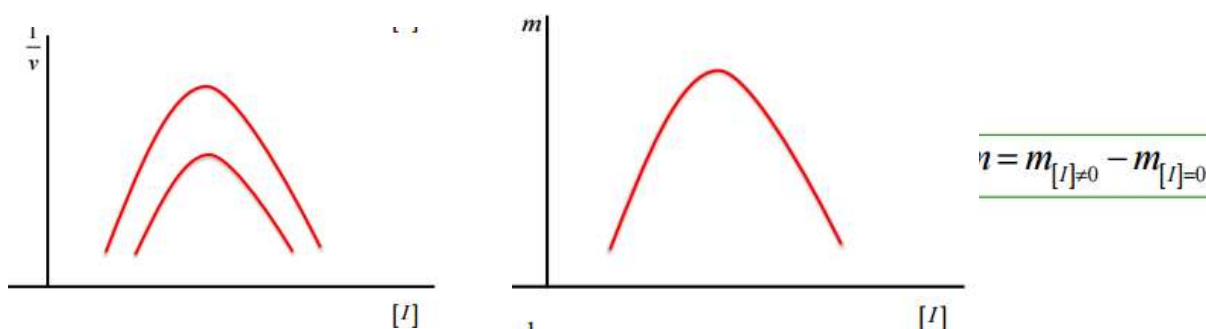
$$\frac{1}{[S]} \cdot \frac{K_s}{V_{max}} \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} - 1 \right) = \frac{1}{V_{max}} \left(1 - \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)$$

$$\frac{1}{[S]} = \frac{\frac{1}{V_{max}} \left(1 - \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)}{\frac{K_s}{V_{max}} \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} - 1 \right)} = \frac{- \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} - 1 \right)}{K_s \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} - 1 \right)} \rightarrow \frac{1}{[S]} = - \frac{1}{K_s}$$

Irudikapen primarioko $[I]=0$ deneko lerrotik K_s eta V_{max} lortu daitezke. Hala ere, soilik irudikapen honekin ezin dugu jakin inhibizio puru ala partzial bat den. Hori ezagutzeko DIXON irudikapena egin beharko da.

Dixon irudikapena

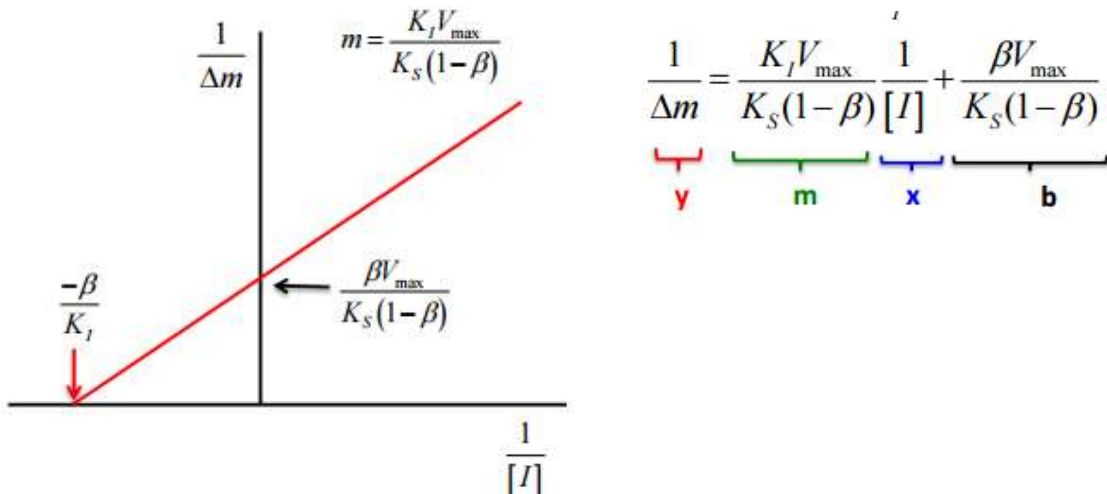
Gainontzeko parametroen balioak lortzeko irudikapen sekundarioak eta Dixon irudikapena egiten dira. Inhibizio partzialaren kasuan bai malda zein $1/v$ irudikapenetan kurbak lortzen dira. Bertatik zuzenean parametroak ezin ditugunez lortu, maldaren aldaketak (Δm) kalkulatzeko dira:



$$\Delta m = \frac{K_s}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right) - \frac{K_s}{V_{max}} = \frac{K_s + K_s \frac{[I]}{K_i} - K_s - \beta K_s \frac{[I]}{K_i}}{V_{max} \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i} \right)}$$

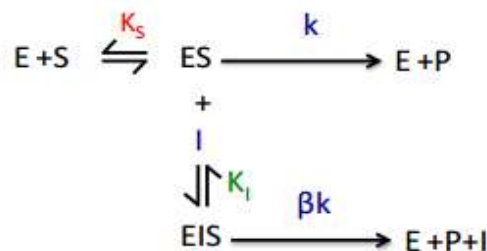
$$= \frac{\frac{K_s[I]}{K_i} (1 - \beta)}{V_{max} \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i} \right)}$$

Zuzena bihurtzeko honen alderantzizkoa lortu behar da:



3. Inhibizio des-lehiakor partzial edo hiperbolikoa

Oso sistema arraroa da. Mekanismo honek orden zehatz bat jarraitzen du: derrigorrez substratua batu behar zaio entzimari inhibitzaileak batura gune bat izateko. Hori dela eta EI konplexua ez da inoiz eratzen. Honakoa da sistemaren eskema:



Inhibizio partziala da bai ES zein EIS konplexuak produktiboak direlako. Hala ere, konstante katalitikoaren balioa ezberdina dela ikusten da eta β parametroa beti 1 baino txikiagoa denez, EIS espezieak produktibitate baxuagoa izango du beti.

-Disoziazio kteak:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$K_i = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

-Entzima kontzentrazio totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [ES] + [EIS]$$

-Erreakzio abiadura:

$$v = k[ES] + \beta k[EIS] = k([ES] + \beta[EIS])$$

Hau guztia kontuan izanik, ondorengo moduan aterako dugu abiadura ekuazioa:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k[E]_{tot}} = \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k([E] + [ES] + [EIS])} = \frac{\frac{[E][S]}{K_s} + \beta \frac{[E][S][I]}{K_s K_i}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_s} + \frac{[E][S][I]}{K_s K_i}} =$$

$$\frac{\frac{[S]}{K_s} \cdot \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i}\right)}{1 + \frac{[S]}{K_s} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} = \frac{[S] \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i}\right)}{K_s [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} = \frac{[S] \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}}\right)}{[S] + \frac{K_s}{1 + \frac{[I]}{K_i}}}$$

$$V = \frac{V'_{max} \cdot [S] \cdot \underbrace{\left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}}\right)}_{K'_s}}{[S] + \underbrace{\frac{K_s}{1 + \frac{[I]}{K_i}}}_{K'_s}}$$

$$\boxed{V'_{max} < V_{max} \\ K'_s < K_s}$$

- 1.Urratsa: Entzima totalen adierazpena aldatzen da
- 2.Urratsa: K sinplifikatu eta guztia [E] askearen baitan idazten da
- 3.Urratsa: S/Ks faktore komuna ateratzen da
- 4.Urratsa: Goian eta behean Ks-rekin biderkatzen da
- 5.Urratsa: Goian eta behean $1 + ([I]/K_i)$ -rekin zatitzen da
- 6.Urratsa: Erreakzioa v-ren baitan jartzeko abiadura maximoa bidertzen pasatzen da

Ikusten denez, inhibitzaileak abiadura maximoari eta disoziazio konstanteari eragiten dio. $\beta < 1$ izango denez beti, inhibitzailearen presentzian erreakzioaren abiadura maximoa txikiagoa izango da inhibitzailearik gabe baino. Gauza bera gertatuko da Ks-rekin, beti txikiagoa izango dela.

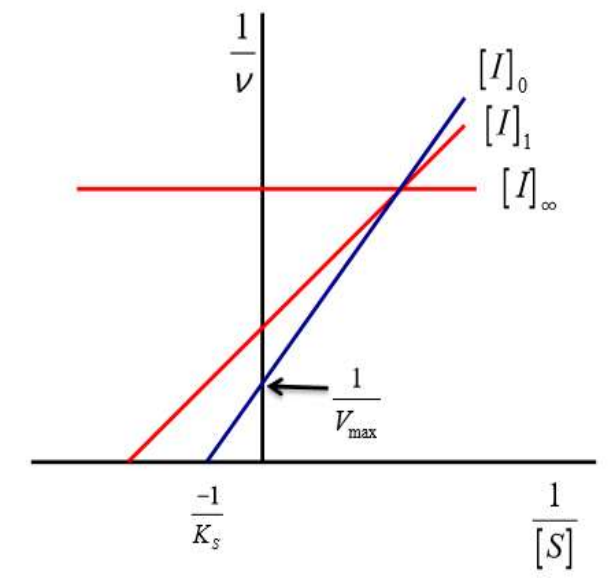
Inhibitzailearen kontzentrazioa saturatzailea denean ($[I] = \infty$), $V'_{max} = \beta V_{max}$ izango da eta Ks-k 0-rantz joko du.

$$V'_{max} = V_{max} \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) = V_{max} \left(\frac{\frac{1}{\frac{1}{[I]} + \frac{\beta}{K_i}}}{\frac{1}{[I]} + \frac{1}{K_i}} \right) = V_{max} \left(\frac{\frac{\beta}{K_i}}{\frac{1}{K_i}} \right) = V_{max} \cdot \beta$$

$$K'_s = \frac{K_s}{1 + \frac{[I]}{K_i}} = \frac{K_s}{\frac{1}{[I]} + \frac{1}{K_i}} = \sim 0$$

Alderantzizko bikoitza: $1/v$ vs $1/[S]$

$$\underbrace{\frac{1}{v}}_y = \underbrace{\frac{1}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)}_b + \underbrace{\frac{K_s}{V_{max}} \cdot \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{\beta[I]}{K_i}} \right)}_m \cdot \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x$$



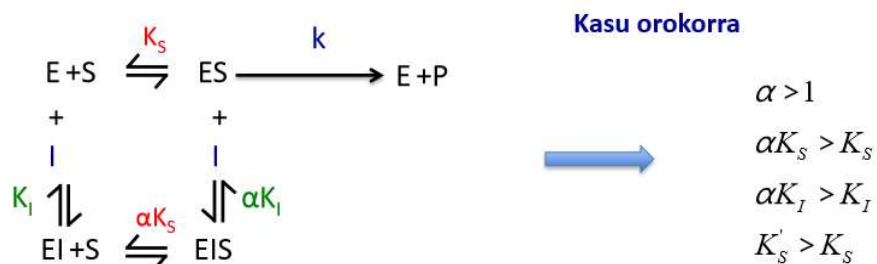
4. Inhibizio misto lineala

Mota desberdin asko daude baina ohikoena:

- EI konplexu bitarrak E askeak baino afinitate gutxiago du S-rekiko.
- ES konplexu bitarrak, E askeak baino afinitate gutxiago du I-rekiko

Inhibizio misto linealean entzimak bi bateragunea ditu bat S-rentzat eta bestea I-rentzat. Gainera zentroen arteko elkarrekintza edo menpekotasuna egongo da. Kasurik ohikoena $\alpha > 1$ denean izango da, hau da menpekotasun negatiboa, non $\alpha K_s > K_s$ izango den. Hala ere, nahiz eta arraroa izan menpekotasun positiboa ere eman daiteke $\alpha < 1$, non $\alpha K_s < K_s$ izango den.

Aurreko kasuetan ez bezala, EIS konplexua ez da produktiboa izango.



Lineala dela esaten da irudikapen sekuendarioak zuzenak ematen dituztelako, hau ES konplexu produktibo bakarra dagoelako da. Bestalde, mixtoa dela esaten da, I lehiakor partzial eta I ez-lehiakor puruaren arteko nahasketa bat delako. Beraz, bai bi parametroak aldatuko dira inhibitzailearen presentzian, Vmax txikituz eta Ks handituz (afinitatea txikituz).

$$V'_{\max} < V_{\max} \text{ eta } K'_S > K_S$$

[I]=□ eta [S] kte mantenduz --> v=0 izango da. Sistema EIS konplexua osatzera bultzatu.

-Disoziazio kteak:

$$K_S = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$\alpha K_S = \frac{[EI][S]}{[ESI]}$$

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\alpha K_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

-Erreakzio abiadura:

$$v = k[ES]$$

-Entzima kontzentrazio totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES] + [EIS]$$

Abiadura ekuazioa lortzeko:

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{k[ES]}{k[E]_{TOT}} = \frac{\frac{[E][S]}{K_S}}{\frac{[E][S]}{K_S} + [E] + \frac{[E][I]}{K_I} + \frac{[E][S][I]}{\alpha K_S K_I}} =$$

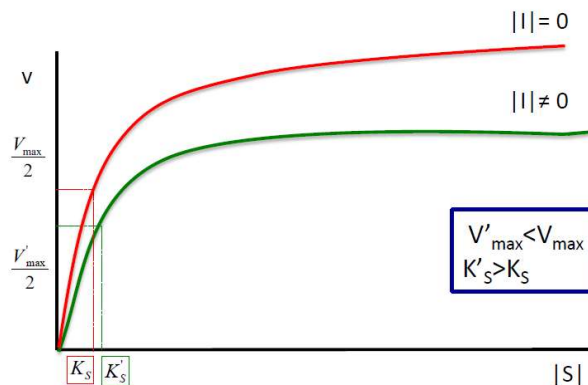
$$= \frac{[S]}{[S] + k_s + \frac{[I]k_s}{K_i} + \frac{[S][I]}{\alpha K_i}} = \frac{[S]}{[S](1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}) + K_s(1 + \frac{[I]}{K_i})} = \frac{V_{\max}[S](1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}{[S] + \underbrace{\frac{K_s(1 + \frac{[I]}{K_i})}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}}_{K's}} \quad \left. \vphantom{\frac{V_{\max}[S](1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}{[S] + \frac{K_s(1 + \frac{[I]}{K_i})}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i})}}} \right\} V'_{\max}$$

$$V = \frac{[S]V'_{\max}}{K's + [S]}$$

1. Urratsa: Entzima totalen adierazpena aldatzen da
2. Urratsa: K sinplifikatu eta guztia [E] askearen baitan idazten da
3. Urratsa: [E] sinplifikatu eta k_s behera biderkatzen pasatu
4. Urratsa: V_{\max} beste aldera pasatu eta goian eta behean $1 + ([I]/\alpha K_i)$ jarri

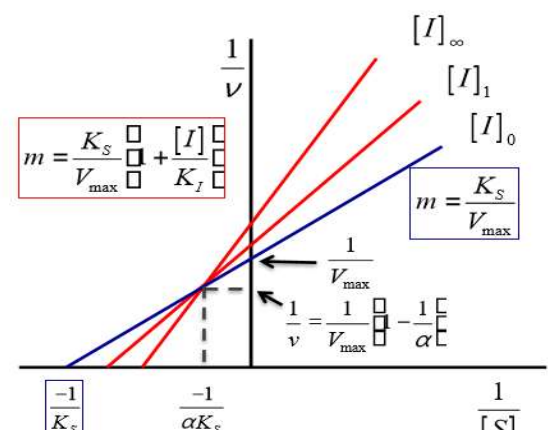
IRUDIKAPEN GRAFIKOAK

• ZUZENA:

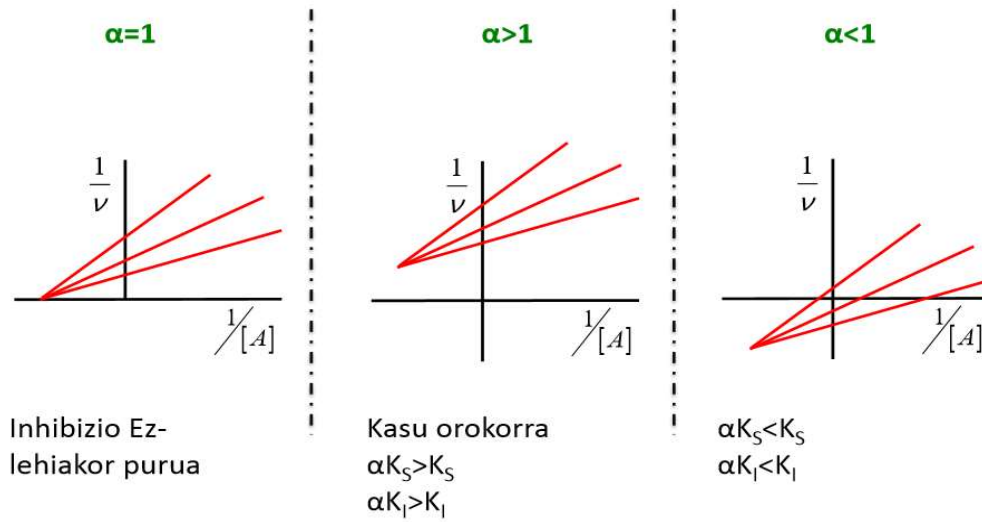


Alderantzizko bikoitza: $1/v$ vs $1/[S]$

$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}\right)}_b + \underbrace{\frac{K_s}{V_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}_m \cdot \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x$$

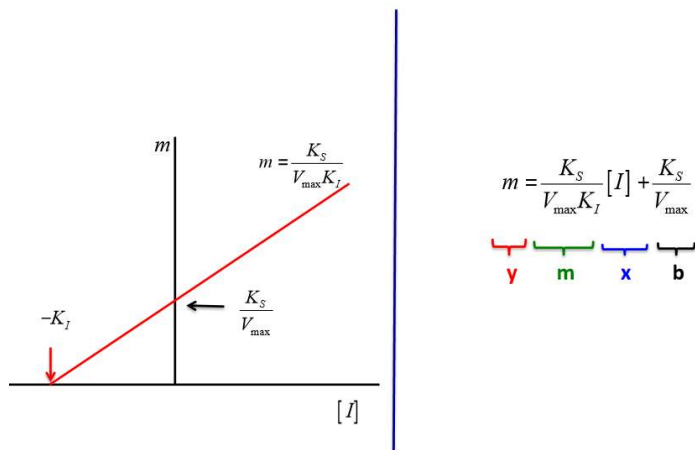


Kasu desberdinak:

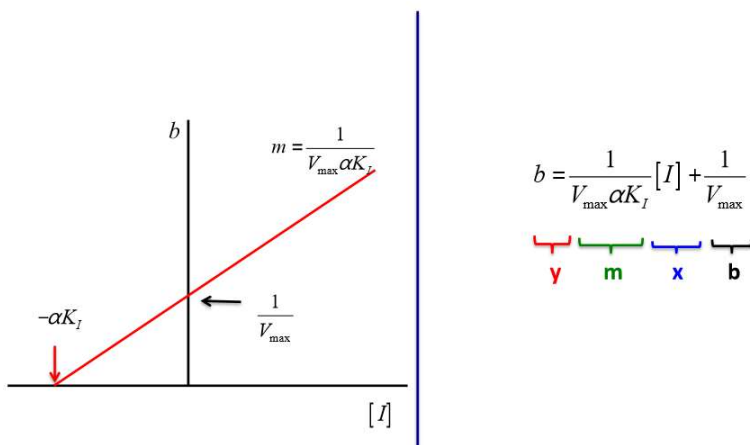


Parametro zinetikoak kalkulatzeko irudikpane sekundarioak egin behar dira:

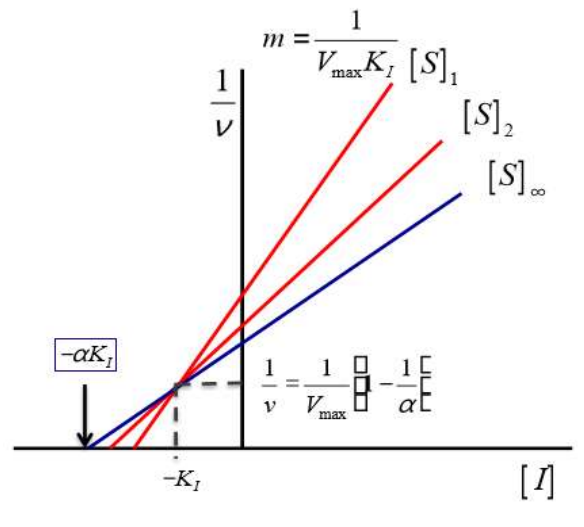
Irudikapen sekundarioa → 1/ m vs [I]



Irudikapen sekundarioa → 1/ m vs [I]

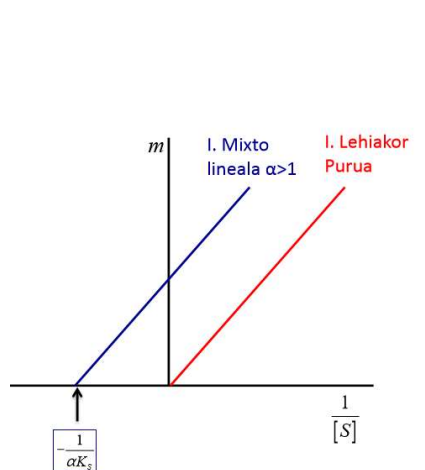


Dixon-en irudikapena: [I] vs 1/v



$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_I}{K_I V_{\max}} \cdot \left(\frac{1}{\alpha} + \frac{K_S}{[S]} \right)}_m [I] + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{K_S}{[S]} \right)}_b$$

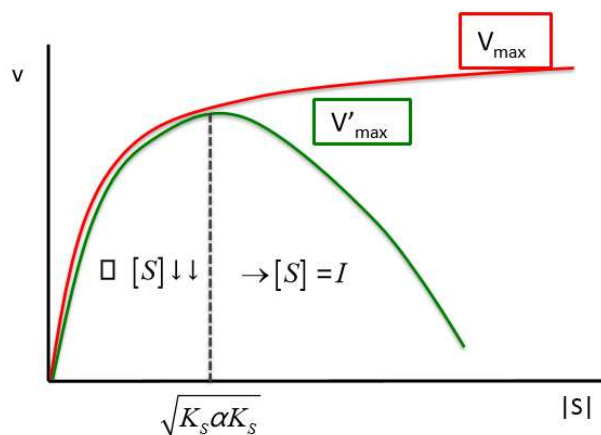
Inhibizio lehiakor puruan lortzen den irudikapen berdina lortzen da, beraz hauek biak desberdintzeko alderantzizko bikoitzak egin beharko dira hau desberdina baita.



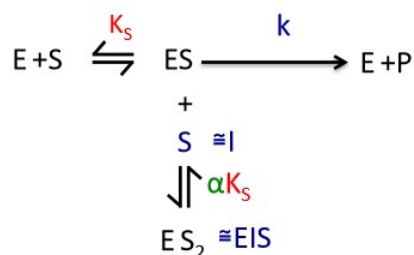
$$m = \underbrace{\frac{K_S}{V_{\max} K_I}}_y \underbrace{\frac{1}{[S]}}_m + \underbrace{\frac{1}{V_{\max} \alpha K_I}}_b$$

5. Inhibizioa substratu kontzentrazio altuengatik

Batzutan entzima batzuk S kontzentrazio altuetan inhibitzen dira. Hasierako kontzentrazioetan V handitzen joango da puntu bateraino non abiadura maximoa lortuko duen. Handik aurrera E inhibitzen hasiko da V txikituz, S I bat bezala jokatuko duelako.



Batzuetan, v vs $[S]$ egiterakoan ez da hiperbola angeluzuzen aldeakide bat lortzen.



I des-lehiakor bat bezalakoa da orden zehatz bat jarraitzen duelako, hau da lehenengo S bat eta gero I bezala jokatzen duen S berdina sartuko da. Kasu honetan $V'_{max} < V_{max}$ eta orokorrean $K_s < \alpha K_s$ izango dira. E_2S (EIS bezalakoa) batzutan produktiboa izango da eta beste batzutan ez.

Ekuazioa abiadura lortzeko:

-Disoziazio kteak:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$\alpha K_s = \frac{[ES][S]}{[ES_2]}$$

-Erreakzio abiadura:

$$v = k[ES]$$

-Entzima kontzentrazio totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [ES] + [ES_2]$$

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{k[ES]}{k[E]_{TOT}} = \frac{\frac{[E][S]}{K_S}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_S} + \frac{[E][S][S]}{\alpha K_S K_S}} = \frac{[S]}{K_S + [S] + \frac{[S][S]}{\alpha K_S}}$$

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_S + [S] + \frac{[S]^2}{\alpha K_S}}$$

- 1.Urratsa: Entzima totalen adierazpena aldatzen da
- 2.Urratsa: K sinplifikatu eta guztia [E] askearen baitan idazten da
- 3.Urratsa: [E] sinplifikatu eta Ks behera biderkatzen pasatu
- 4.Urratsa: Vmax beste aldera pasatu

Kurbaren balio maximoa kalkulatzeko abiadura ekuazioa hartu, deribatua egin eta 0-rekin berdintzen da. Puntu hori izango da abiadura maximo lortzeko behar den substratu kontzentrazioa.

$$\frac{dv}{d[S]} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{K_S}{[S]} + \frac{[S]}{\alpha K_S}} \left(-\frac{K_S}{[S]^2} + \frac{1}{\alpha K_S} \right)$$

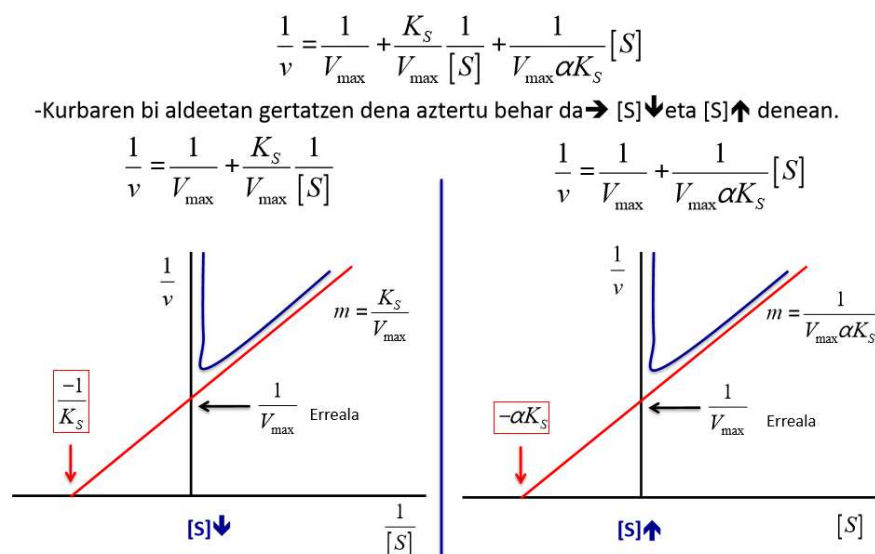
$$\left(-\frac{K_S}{[S]^2} + \frac{1}{\alpha K_S} \right) = 0$$

$$\frac{K_S}{[S]^2} = \frac{1}{\alpha K_S} \rightarrow [S] = \sqrt{\alpha K_S K_S}$$

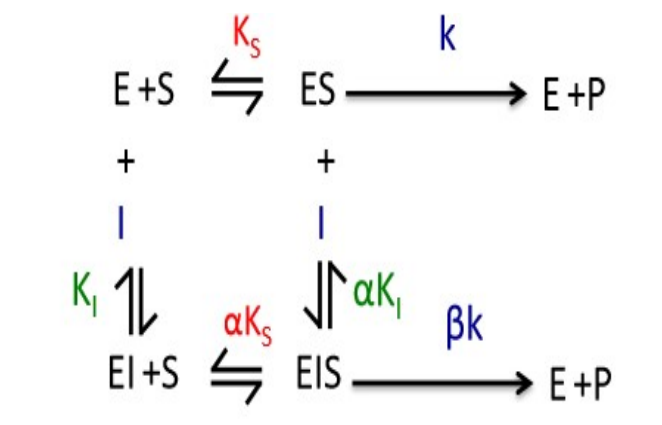
$\alpha K_S = K_S \rightarrow [S] = K_S$

Ks eta α ezagutzen baditugu maximoa kalkulatu ahalko dugu.

Parametro zinetikoen kalkulatzeko alderantziko bikoitzaren hurbilketak egin behar dira, hau da, bi grafiko egin beharko dira; bata substratu kontzentrazio altuekin eta bestea substratu kontzentrazio baxuekin:



6. Inhibizioa misto partzial edo hiperbolikoa



Entzimak bi batera gune ditu bat I-rentzatz eta beste bat S-rentzatz. EIS konplexua hirutiarra misto linealean ez bezala produktiboa izango da maila maila txikian, $\beta k[EIS] < k[ES]$. Beraz, bi konplexu produktibo daude EIS eta ES

$[I] = \square$ eta $[S]$ kte mantenduz $\rightarrow v \neq 0$ izango da.

$$[ES] \rightarrow k \neq 0$$

$$[EIS] \rightarrow \beta k \neq 0 \rightarrow \beta k < 1 \rightarrow \beta k < k$$

Ekuazio abiadura lortzeko:

-Disoziazio kteak:

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

$$\alpha K_s = \frac{[EI][S]}{[EIS]}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\alpha K_i = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

-Erreakzio abiadura:

$$v = k[ES] + \beta k[EIS]$$

-Entzima kontzentrazio totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EI] + [ES] + [EIS]$$

$$\begin{aligned}
 \frac{v}{v_{max}} &= \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k[E]_{TOT}} = \frac{k[ES] + \beta k[EIS]}{k([E] + [ES] + [EIS] + [EI])} = \\
 &= \frac{\frac{[E][S]}{K_s} + \beta \frac{[E][S][I]}{K_s \alpha K_i}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_s} + \frac{[E][S][I]}{\alpha K_s K_i} + \frac{[E][I]}{K_i}} = \frac{\frac{[S]}{K_s} \cdot \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i}\right)}{1 + \frac{[S]}{K_s} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}\right) + \frac{[I]}{K_i}} = \frac{[S] \left(1 + \frac{\beta[I]}{K_i}\right)}{K_s \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i}\right)}
 \end{aligned}$$

$$V = \frac{[S]V_{\max} \left(\frac{1 + \frac{\beta[I]}{K_I}}{1 + \frac{[I]}{\alpha K_I}} \right)}{[S] + K_S \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_I}}{1 + \frac{[I]}{\alpha K_I}} \right)} = \frac{[S]V'_{\max}}{[S] + K'_S} \longrightarrow \begin{matrix} V'_{\max} \neq V_{\max} \\ K'_S \neq K_S \end{matrix}$$

- 1.Urratsa: Entzima totalen adierazpena aldatzen da
- 2.Urratsa: K sinplifikatu eta guztia [E] askearen baitan idazten da
- 3.Urratsa: S/Ks faktore komuna ateratzen da
- 4.Urratsa: Goian eta behean Ks-rekin biderkatzen da
- 5.Urratsa: Goian eta behean $1 + ([I]/\alpha K_I)$ -ekin zatitzen da
- 6.Urratsa: Erreakzioa v-ren baitan jartzeko abiadura maximoa bidertzen pasatzen da

$[I] = \infty$ denean

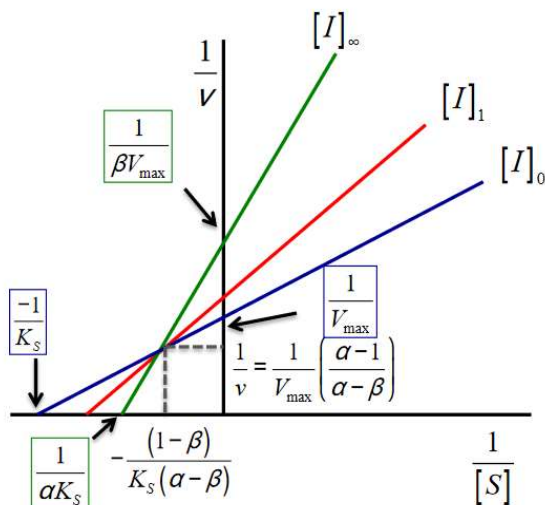
$$\begin{matrix} V'_{\max} = \beta V_{\max} \\ K'_S = \alpha K_S \end{matrix} \longrightarrow v = \frac{\beta V_{\max} [S]}{\alpha K_S + [S]}$$

IRUDIKAPEN GRAFIKOAK

Alderantzizko bikoitza: $1/v$ vs $1/[S]$

Alderantzizko bikoitzean uzenei 1., 2. edo 3. koadrantean moztu dezakete. Zuzen paraleloak ere izan daitezke, α eta β -ren arabera.

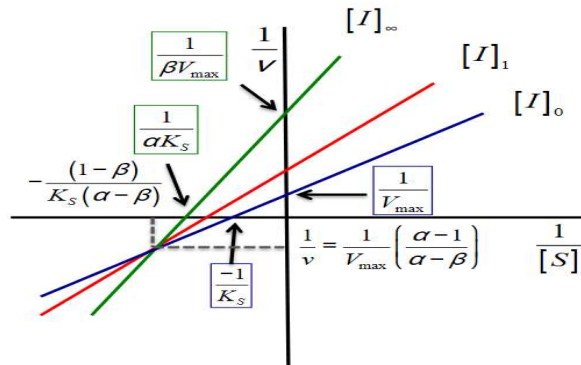
$\alpha > 1$ eta $\beta < 1 \rightarrow \nearrow \beta$



$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_S}{V_{\max}}}_{\text{y}} \underbrace{\left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_I}}{1 + \frac{\beta[I]}{\alpha K_I}} \right)}_{\text{m}} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{\text{x}} + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \left(\frac{1 + \frac{[I]}{\alpha K_I}}{1 + \frac{\beta[I]}{\alpha K_I}} \right)}_{\text{b}}$$

Kasu orokorra, zuzenak 2. koadrantean moztu daitezke.

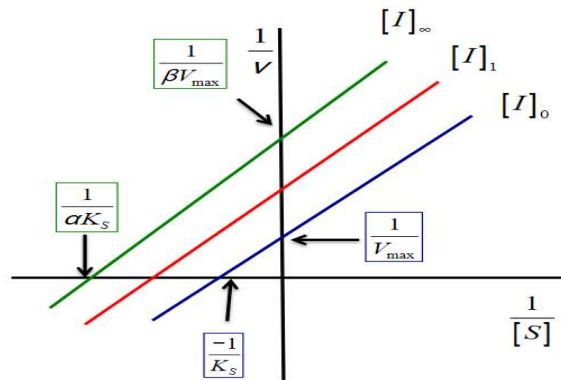
$\alpha < 1$ eta $\beta < 1 \rightarrow \uparrow \beta$



Kasu honetan $\alpha < 1$ eta $\beta < 1$. Beraz, zuzenak 3.koadrantean moztzen dute:

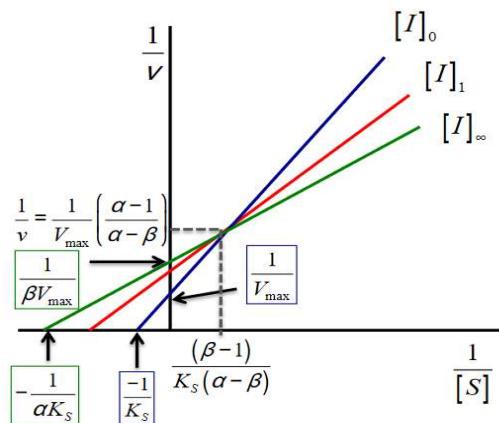
- $\alpha K_s < K_s$
 - $\alpha K_1 < K_1$
 - $\beta k < k$
- } Ez da ohikoa konplexu binarioek afinitate gehiago edukitzea

$\alpha < 1$ eta $\beta < 1 \rightarrow \uparrow \beta$



Kasu hau arraroena da eta zuzenak paraleloak ateratzen dira eta ondorioz guztiek m berdina izango dute.

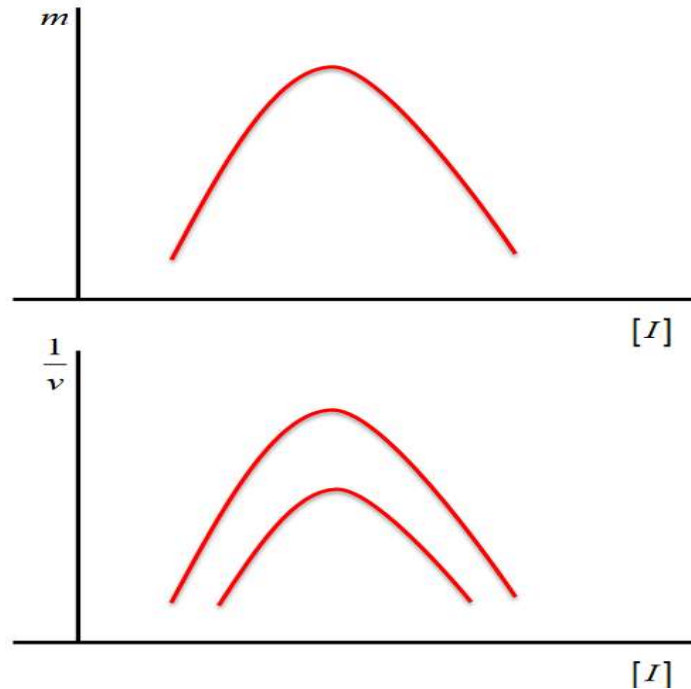
$\alpha < 1$ eta $\beta < 1 \rightarrow \nearrow \beta$



Kasu hau des-lehiakor partzialaren antzekoa da zuzenek 1.koadrantean mozten baitute.

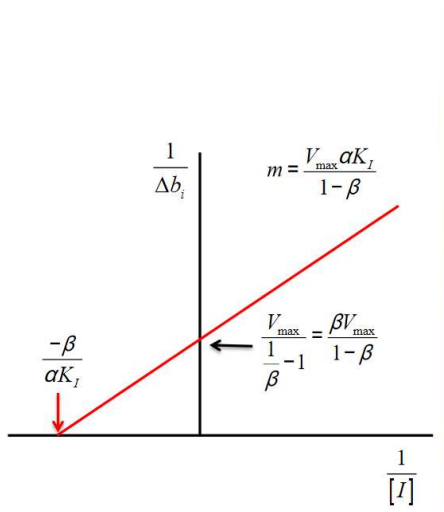
Dixon-en irudikapena: $[I]$ vs $1/v$

Partzila denez dixonen irudikapenean kurbak agertuko dira. Beraz, zuzen bat lortzeko gehikuntza Δ erabiltzen dugu.



Irudikapen sekundarioak

- $1/\Delta b$ vs $1/[I]$

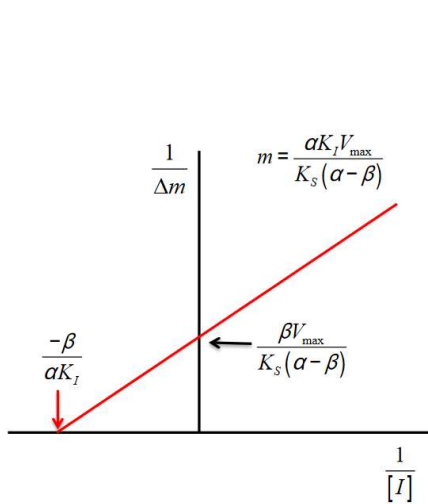


$$\Delta b_i = b_{\{I\} \neq 0} - b_{\{I\} = 0}$$

$$\Delta b_i = \frac{1}{V_{\max}} \frac{\left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_I}\right)}{\left(1 + \frac{\beta [I]}{\alpha K_I}\right)} - \frac{1}{V_{\max}}$$

$$\frac{1}{\Delta b_i} = \underbrace{\frac{V_{\max} \alpha K_I}{(1 - \beta)}}_y \underbrace{\frac{1}{[I]}}_x + \underbrace{\frac{\beta V_{\max}}{(1 - \beta)}}_b$$

- $1/\Delta m$ vs $1/[I]$



$$\Delta m = m_{[I] \neq 0} - m_{[I] = 0}$$

$$\Delta m = \frac{K_s}{V_{\max}} \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}{1 + \frac{\beta [I]}{\alpha K_I}} - \frac{K_s}{V_{\max}}$$

$$\frac{1}{\Delta m} = \underbrace{\frac{\alpha K_I V_{\max}}{K_s(\alpha - \beta)}}_y \underbrace{\frac{1}{[I]}}_x + \underbrace{\frac{\beta V_{\max}}{K_s(\alpha - \beta)}}_b$$