

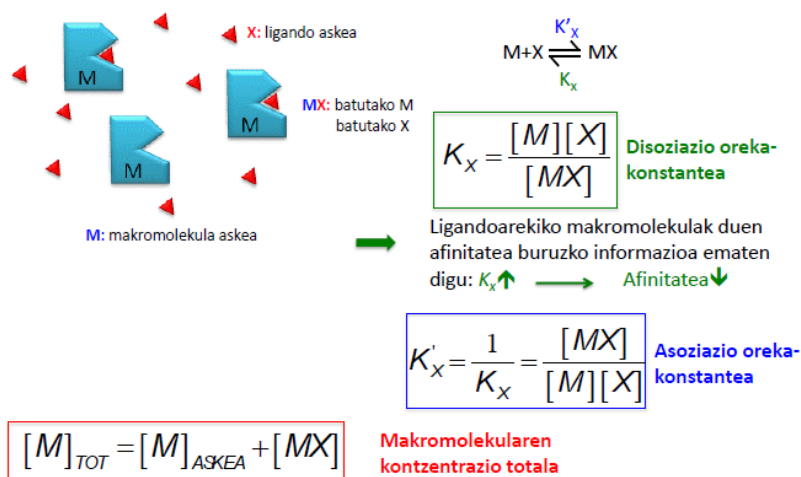
### 3. GAIA: X LIGANDOAREN BATURA, BATURA GUNE BAKARRA DUEN MAKROMOLEKULA BATENTZAT

#### 1. LIGANDO MOTA BAKAR BATEN BATUKETA, BATUKETA GUNE BAKARRA DUEN PROTEINA BATI

Proteinak substratuetara lotzen dira, aktibitate biologikoa izateko beharrezkoa delarik. Batura hori itzulgarria eta espezifikoa izaten da. Entzimen ligando gisa joka dezakete substratuak, koentzima edo kofaktoreek, aktibatzaile edo inhibitzaileek, produktuek... Protoia ligando unibertsala da, entzima guztiak batu daitezke protoietara, ez da substratu espezifikoa. Horrez gain, substratu espezifikoa izango du entzimak. Zenbait entzimek kofaktoreak behar dituzte. Bestalde, entzimetara efektore izeneko molekulak ere batzen dira, aktibatzaile zein inhibitzaileak izan daitezkeelarik (zinetika erregulatuko dute). Gainera, entzimak produktuetara batzeko gai dira, alderantzizko erreakzioak burutzeko gai direlako.

Demagun disoluzio batean hainbat M makromolekula ditugula, baita X izeneko ligandoa ere. Nahaste horretan alde batetik ligando eta makromolekula askeak izango ditugu, eta bestetik, hauek batzean sortutako MX konplexu edo bitartekariak (konplexu bitarra).

Mekanismoari dagokionez, makromolekula ligandoari lotzean MX konplexu bitarra eratzen da, prozesu itzulgarria delarik. Hau horrela, asoziazio oreka konstantea  $K'_x$  eta disoziazio oreka konstantea  $K_x$  definitu daitezke. Bi konstante hauek elkarrekiko alderantzizko proportzionalak dira.



- **Asetze edo Saturatze Funtzioa ( $v_x$ ):** Orekan, ligandoari batuta daogen makromolekula eta makromolekularen kontzentrazio totalaren arteko erlazioa da. Hain zuzen ere, batura mekanismoa aztertu ahal izateko definitzen da asetze funtzioa. Asetze funtzioaren balioak 0-1 bitartekoak dira. Ligandoari loturiko makromolekularik ez badago, asetze funtzioaren balioa 0 da. Makromolekula guztiak ligandoari lotuta badaude aldiz, 1.

[MX],  $K_x$ -ren ekuaziotik isolatu eta  $v_x$ -ren ekuazioan ordezkatu, asetzen funtzioaren balioa ligando askearen kontzentrazioaren eta disoziazio konstantearen arabera izango dela ikus daiteke.

$$v_x = \frac{[MX]}{[M] + [MX]}$$

[MX],  $K_x$ -en ekuaziotik isolatzen badugu, eta  $v_x$ -en ekuazioan ordezkatzuz:

$$K_x = \frac{[M][X]}{[MX]} \rightarrow [MX] = \frac{[M][X]}{K_x}$$

$$v_x = \frac{\frac{[M][X]}{K_x}}{\frac{[M][X]}{K_x} + [M]} = \frac{\frac{[M][X]}{K_x}}{\frac{[M][X] + [M]K_x}{K_x}} = \frac{[M][X]}{[M][X] + [M]K_x} = \frac{[X]}{[X] + K_x} v_x$$

Asetze funtzioaren eta Michaelis Menten-en ekuazioaren artean antzekotasun handia dago:

$v_x = 1 \frac{[X]}{K_x + [X]}$ <p><b>Asetze funtzioa</b></p> <p>Kasu honetan <math>0 \leq v_x \leq 1</math></p> <p style="text-align: center;">Batuketa zentru kopurua</p> <p><math>1 - v_x \rightarrow</math> Hutsik geratzen diren zentruen portzentaia</p>	$v = V_{\max} \frac{[S]}{K_s + [S]}$ <p><b>Michaelis Menten</b></p> <p>Kasu honetan <math>v \leq V_{\max}</math></p>
--	--

Asetze funtzioan 1 zenbakiak batura zentroen kopurua adierazten du. **Hutsik geratzen diren zentroen portzentaia**  $1 - v_x$  izango da.

- **Asetze Funtzio Frakzionala ( $Y_x$ ):** ligandoari lotuta dauden zentro kopuruaren eta makromolekula dituen zentroen arteko erlazioa adierazten du (asetze funtzioa/batura gune kopurua).

$$Y_x = \frac{v_x}{n}$$

Kasu honetan, asetze funtzio frakzionala eta asetze funtzioa berdinak dira.

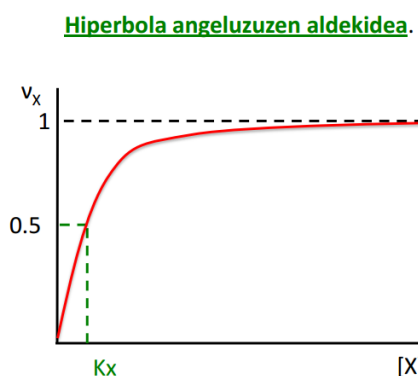
$$Y_x = v_x$$

## Irudikapen grafikoa

Irudikapen grafiko bidez eta ekuazioak ezagututa, guretzat interesgarriak izan daitezkeen hainbat balio lor ditzakegu.

- **Zuzena:** Asetze funtzio ( $v_x$ ) vs. ligando kontzentrazioa  $[x]$ .

Hiperbola angeluzuzen aldeakide bat lortzen da. Grafiko honi esker,  $K_x$  kalkulatu daiteke. Hain zuzen ere, asetze balioaren erdia lortzen denean, ligando kontzentrazioa disoziazio konstantearen berdina da.



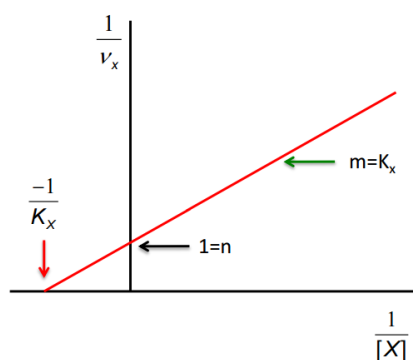
$$v_x = \frac{[X]}{K_x + [X]} \rightarrow v_x = 0.5$$

$$0.5 = \frac{[X]}{K_x + [X]} \rightarrow 0.5K_x + 0.5[X] = [X]$$

$$0.5K_x = 0.5[X] \rightarrow K_x = [X]$$

- **Alderantzizko bikoitza:** Asetze funtzioaren alderantzizkoa ( $1/v_x$ ) (edo  $1/Y_x$ ) vs. Ligandoaren kontzentrazioaren alderantzizkoa ( $1/[x]$ ).

Zuzen baten itxurako irudikapena lortuko da. Malda =  $K_x$  izango da.



$$v_x = \frac{[X]}{K_x + [X]}$$

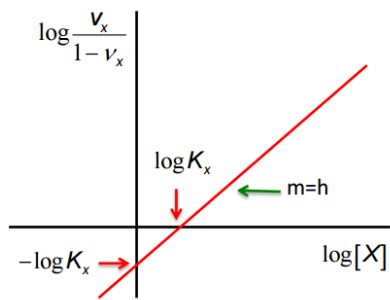
$$\frac{1}{v_x} = \frac{K_x + [X]}{[X]} \rightarrow \frac{1}{v_x} = K_x \frac{1}{[X]} + 1$$

$$\underbrace{\quad}_{y} = \underbrace{K_x}_{m} \underbrace{\frac{1}{[X]}}_{x} + \underbrace{1}_{b}$$

y ardatzaren ebaki puntua

- **Hill irudikapena:**  $\log(v_x/n - v_x)$  vs.  $\log[X]$  edo  $\log(Y_x/1 - Y_x)$  vs.  $\log[X]$ .

Batura zentroen **kooperatibitateari** buruzko informazioa ematen digu. Honetan ere, zuzen bat lortzen da. Kasu honetan,  $n=1$  da. Zuzenaren malda beraz, 1 izango da.  $K_x$  ere kalkula daiteke.



$h=1 \rightarrow$  batura gune independenteak  
 $h>1 \rightarrow$  kooperatibitate positiboa  
 $h<1 \rightarrow$  kooperatibitate negatiboa

$$1 - v_x = 1 - \frac{[X]}{K_x + [X]} = \frac{K_x}{K_x + [X]}$$

$$\frac{v_x}{1 - v_x} = \frac{\frac{[X]}{K_x + [X]}}{\frac{K_x}{K_x + [X]}} = \frac{[X]}{K_x}$$

$$\log \frac{v_x}{1 - v_x} = \log [X] - \log K_x$$

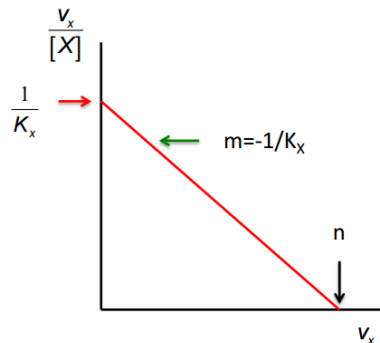
y      x      b

Kooperatibitatea dagoenean, batura gune desberdinen artean dagoen interakzioa ikus daiteke. Maldaren balioa bat bada, batura guneak independenteak dira. **Balioa 1 baino handiagoa** bada, kooperatibitatea **positiboa** eta **txikiagoa** bada, **negatiboa**.

- Skatchard-en irudikapena:  $v_x/[X]$  (edo  $Y_x/[X]$ ) vs.  $v_x$

Kx-ren balioa ematen digu. Batura zentroen kopuru erreala (n) kalkulatu ahal izateko erabiltzen da.

Kooperatibitatea dagoen kasuetan, ez dugu inoiz zuzen bat ikusiko, kurba bat lortuko da eta formak nolako kooperatibitatea ematen den adieraziko digu.



Kooperatibitatea badago ez da zuzen bat izango  $\rightarrow$  kurba bat

$$v_x = \frac{[K]}{K_x + [K]}$$

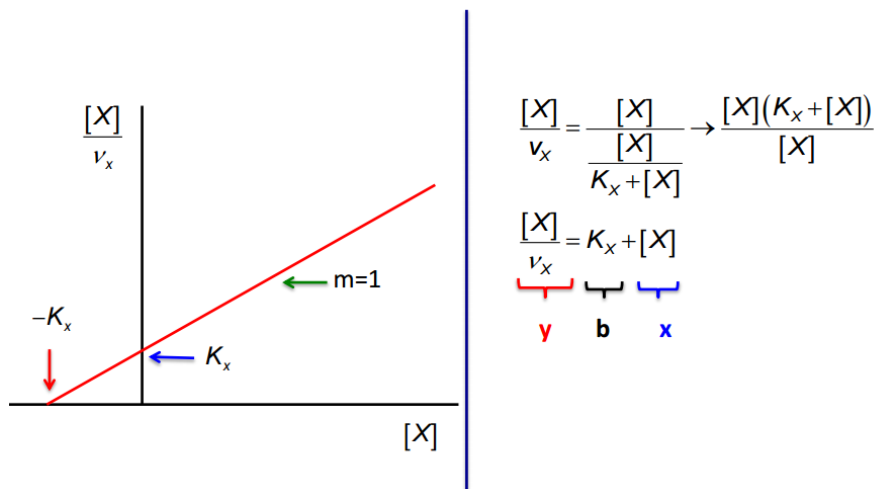
$$v_x K_x + v_x [K] = [K]$$

$$\frac{v_x}{[K]} = \frac{1}{K_x} - \frac{1}{K_x} v_x$$

y      b      m      x

- Klotz-en irudikapena:  $[X]/v_x$  vs.  $[X]$

Kx balioa lortuko da.



### Frakzio molarrak

Makromolekula forma baten proportzio erlatiboa da.

$$F_i = \frac{[M]_i}{[M]_{TOT}}$$

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} \rightarrow \frac{[M]}{[M] + [MX]}$$

$$F_M = \frac{[M]}{[M] + \frac{[M][X]}{K_x}}$$

$$F_M = \frac{K_x}{K_x + [X]}$$

$$F_{MX} = \frac{[X]}{K_x + [X]} = v_x = Y_x$$