

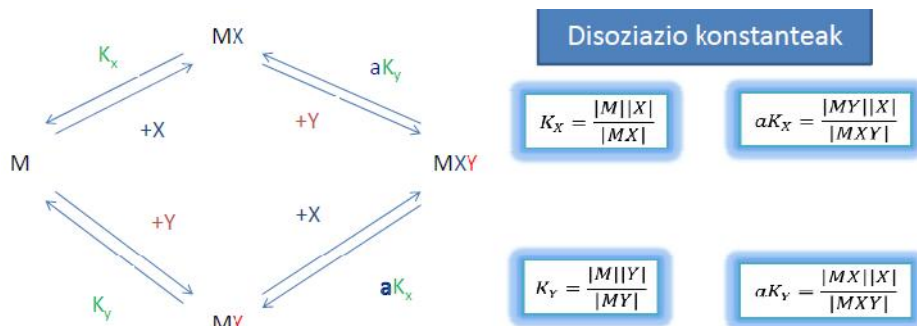
4.GAIA: Ligando bakoitzarentzat, batura gune bakarra duen makromolekula bati X eta Y ligandoen batura

Atalak:

- Makromolekulak X eta Y ligandoentzat batura zentru bakarra duenean.
 - Menpekotasuna
 - Saturazio edo asetze (frakzional) funtzioa
 - Frakzio molarrek
- Kasu konketuak
 1. Ligando bakarra dagoenean
 2. Ligando baten batuketak beste ligandoaren batuketa eragozten du
 3. Makromolekula ligando batez asega dago
 4. Ligandoen elkartze ordenatua
 5. Zentroen arteko menpekotasun eza

Aztertutako kasu orokorra

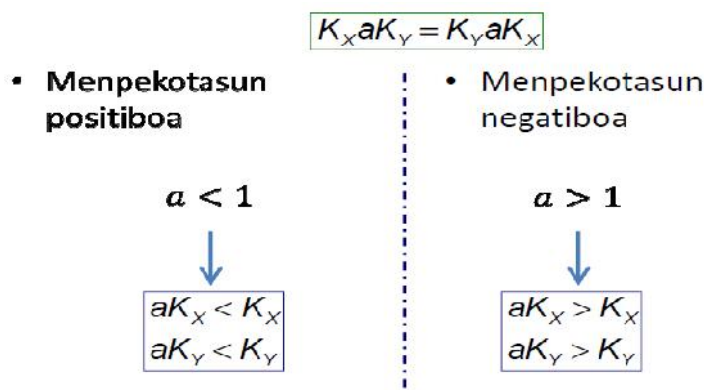
Makromolekulak lotura zentro bana izango du X eta Y ligandoentzako, horregatik beheko lau kasuak eman daitezke.



Zentroen arteko lotura erlazioa:

$$K_X aK_Y = K_Y aK_X \quad a = \text{elkarrekintza faktorea}$$

Menpekotasuna



Menpekotasun positiboaren kasuan lehenengo ligandoaren baturak bigarren ligandoaren batura erraztuko du. Adibidez, Ca^{2+} kalmoudulina konplexua poroteinei lotzearen ondorioz, proteinan konformazio aldaketa bat emango da, beste ligando baten lotzea ahalbidetuko duena.

Menpekotasun negatiboan aldiz, lehengo ligandoaren baturak bigarrenaren batura zaildu egiten du.

Menpekotasunik eza daukagun kasuan, ondokoa betetzen da:

Honen esanahia da, erreakzio batek ez duela bestean eragini. Bi makromolekula ezberdin izango balira bezala jokatzaren dutela. Ligando baten loturak ez du eraginik izango bestearen baturan.

$$a = 1$$



$$K_X = aK_X$$

$$K_Y = aK_Y$$

Saturazioa edo asetze funtzioa

Saturazioa, erreakzio sisteman dugun X edo Y ligandoari batutako makromolekula frakzioa izango da, hau da, ligandoa aurkitzen dugun konplexuen kontzentrazioen batura, makromolekularen kontzentrazio totalaz zatituta.

$$[M]_T = [M] + [MX] + [MY] + [MXY]$$

Makromolekularen kontzentrazio totala, makromolekula eta konplexu guztien kontzentrazioen batura izango da

$$v_x = Y_x$$

X-entzako lotura zentro bakarra dugulako lortzen dugu berdinketa hau. Y ligandoarentzat berdina da.

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

$$v_x = Y_x = \frac{\frac{[X]}{K_X} + \frac{[X] \cdot [Y]}{aK_X \cdot K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X] \cdot [Y]}{aK_X \cdot K_Y}}$$

Egiaztapena:

$V_y = Y_y$ lortzeko aurreko prozesu berdina egingo dugu, lortuz:

$$v_y = Y_y = \frac{[MY] + [MXY]}{[M] + [MX] + [MY] + [MXY]} = \frac{\frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X] \cdot [Y]}{aK_X \cdot K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X] \cdot [Y]}{aK_X \cdot K_Y}}$$

$$v_y = Y_y = \frac{|MY| + |MXY|}{|M| + |MX| + |MY| + |MXY|}$$

Aurreko ekuazioa goian bezala garatzen badugu, antzeko ekuazio lortzen dugu:

$$v_y = Y_y = \frac{\frac{[Y]}{K_y} + \frac{[X]}{aK_x} \frac{[Y]}{K_y}}{1 + \frac{[X]}{K_x} + \frac{[Y]}{K_y} + \frac{[X]}{aK_x} \frac{[Y]}{K_y}}$$

Ekuazioaren forma hau garrantzitsua da ligandoen eta konstanteen menpe garatzen delako. Ez dugu makromolekula edo konplexuen kontzentrazioa ezagutu behar V edota Y lortzeko.

Limiteak

[X]=0 edo [Y]=0 :

$$[X]=0; [Y]=\text{edozein} \rightarrow v_x = Y_x = 0 \quad v_y = \frac{[Y]}{K_y + [Y]}$$

$$[Y]=0; [X]=\text{edozein} \rightarrow v_y = Y_y = 0 \quad v_x = \frac{[X]}{K_x + [X]}$$

Hori garatuz gero. Adibide bezala X=0 eta Y=edozein deneko kasua:

Handwritten derivations for the limits of v_x and v_y as $X \rightarrow 0$:

$$\lim_{X \rightarrow 0} v_x = \frac{\frac{X^{10}}{K_x} + \frac{X+Y^{10}}{aK_x \cdot K_y}}{1 + \frac{X^{10}}{K_x} + \frac{Y}{K_y} + \frac{X+Y^{10}}{aK_x \cdot K_y}} = \frac{0}{1 + \frac{Y}{K_y}} = 0$$

$$\lim_{X \rightarrow 0} v_y = \frac{\frac{Y}{K_y} + \frac{X+Y^{10}}{aK_x \cdot K_y}}{1 + \frac{X^{10}}{K_x} + \frac{Y}{K_y} + \frac{X+Y^{10}}{aK_x \cdot K_y}} = \frac{\frac{Y}{K_y}}{1 + \frac{Y}{K_y}} = \frac{\frac{Y}{K_y}}{\frac{K_y + Y}{K_y}} = \frac{Y}{K_y + Y}$$

Prozesu bera egin beharko da Y=0 eta X=edozein denean.

$[X] \approx \infty$ edo $[Y] \approx \infty$:

$$[X] \approx \infty; [Y] = \text{edozein} \rightarrow v_x = v_y = 1$$

$$[Y] \approx \infty; [X] = \text{edozein} \rightarrow v_x = v_y = 1$$

Adibide gisa, $X = \infty$ eta $Y = \text{edozein}$ deneko kasua garatu dut.

Dena X-2 Zentitzen badugu

$$\lim_{X \rightarrow \infty} v_x = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}}{1 + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|Y|}{K_y} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}} = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}}{\frac{|X|}{|X|} + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|Y|}{|X|K_y} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}} = \frac{\frac{1}{K_x} + \frac{|Y|}{aK_xK_y}}{\frac{1}{K_x} + \frac{|Y|}{aK_xK_y}} = 1$$

X oso handia denez, 0-erantz joko da haren baliok

Beste kasuan ere prozesu bera jarraitu behar da.

$[X] \approx \infty$ eta $[Y] \approx \infty$:

$$[X] \approx \infty; [Y] \approx \infty \rightarrow v_x = v_y = 1$$

Dena X-2 eta Y-2 Zentitzen

$$\lim_{X \rightarrow \infty} v_x = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}}{1 + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|Y|}{K_y} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}} = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y}}{\frac{|X||Y|}{|X||Y|} + \frac{|X|}{K_x|Y|} + \frac{|Y|}{K_y|X|} + \frac{|X||Y|}{aK_xK_y|X||Y|}} = \frac{\frac{1}{K_x|Y|} + \frac{1}{aK_xK_y}}{\frac{1}{K_x|Y|} + \frac{1}{K_x|Y|} + \frac{1}{K_y|X|} + \frac{1}{aK_xK_y}} \approx 1$$

Oso handia izan da

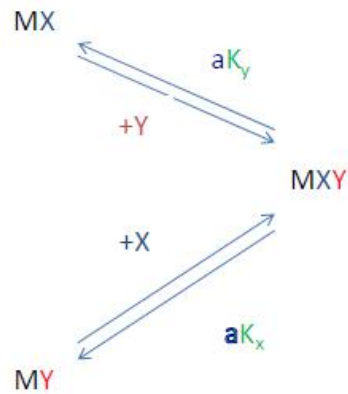
X-ren eta Y-ren asetze funtzioa 1 izango da, izan ere, oso kontzentrazioa altua daukatenez guztiz asetuta egongo dira.

Ondorioz $\rightarrow 0 \leq v_x \leq 1$

$v_x = 0$ denean \rightarrow makromolekula hutsik X-entzat

$v_x = 1$ denean \rightarrow makromolekula X-entzat asetuta

-Kasu bat. Makromolekula ligando bakar batekin asetuta dagoenean:



- $[X] \approx \infty$ eta $0 < Y < \infty$:

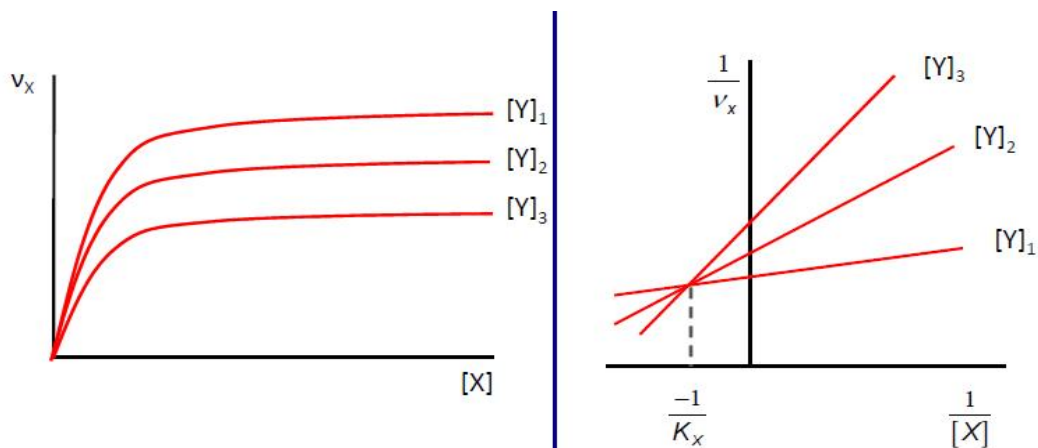
$$v_Y = \frac{[Y]}{aK_Y + [Y]}$$

- $[Y] \approx \infty$ eta $0 < X < \infty$:

$$v_X = \frac{[X]}{aK_X + [X]}$$

Irudikapen grafikoa

v_X edo v_Y vs $[X]$ eta $[Y] \rightarrow$ irudikapen tridimentsionalak ekiditen dira. Horretarako ligando baten kontzentrazioa KONSTANTE mantentzen da eta bestearena aldatzen da, horrela 2 dimentsioko irudikapenak lortzen ditugu, errazagoak baitira interpretatzen.



Frakzio molarrak

Espezie molekular baten proportzio erlatiboari deritzo.

$$F_M = \frac{|M|}{|M| + |MX| + |MY| + |MXY|}$$

Konplexu baten frakzioa 1 bada, espezie molekular hori bakarrik dagoela esan nahi du.

$$F_T = F_M + F_{MX} + F_{MY} + F_{MXY} = \sum F_i = 1$$

non F_i makromolekula eta ligando konplexuen frakzioa izango diren

Frakzio mota guztien batura unitatea izan behar da. KONTUZ, frakzio molarren batura beti izango da unitatea, saturazioenak ez du zertan.

Makromolekula eta konplexuen kontzentrazioak ordezkatu ditzakegu konstanteen eta ligandoen menpeko ekuazioa lortzeko

$$F_M = \frac{|M|}{|M| + |MX| + |MY| + |MXY|} = \frac{1}{1 + \frac{|X|}{K_X} + \frac{|Y|}{K_Y} + \frac{|X||Y|}{aK_XK_Y}} = \frac{1}{D}$$

$$1 + \frac{|X|}{K_X} + \frac{|Y|}{K_Y} + \frac{|X||Y|}{aK_XK_Y} = D$$

$$F_{MX} = \frac{|MX|}{D} = \frac{\frac{|X|}{K_X}}{D}$$

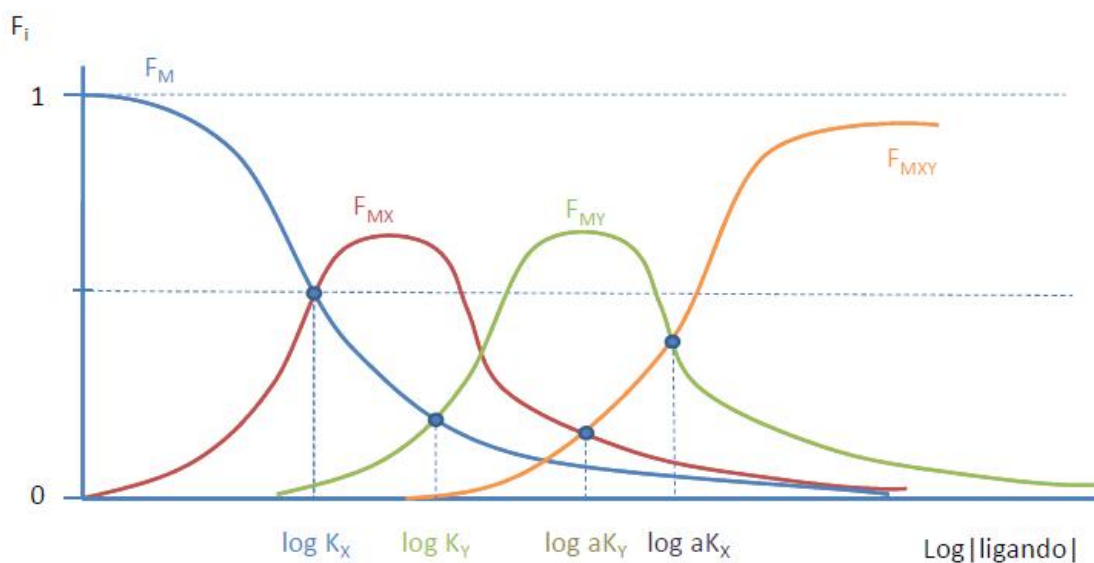
$$F_{MY} = \frac{|MY|}{D} = \frac{\frac{|Y|}{K_Y}}{D}$$

$$F_{MXY} = \frac{|MXY|}{D} = \frac{\frac{|X||Y|}{aK_XK_Y}}{D}$$

Asetze edo asetze frakzional funtzioak eta frakzio molarren arteko erlazioa:

$$\begin{aligned} V_X &= Y_X = F_{MX} + F_{MXY} \\ V_Y &= Y_Y = F_{MY} + F_{MXY} \end{aligned}$$

Irudikapen grafiko erdi logaritmikoa



Ebakitze puntuek disoziazio puntuak zeintzuk diren esango digute.

	F_{MX}	F_{MY}	F_{MXY}
F_M	$[X]=K_X$	$[Y]=K_Y$	$[X][Y]=aK_XK_Y$
F_{MX}	-----	$[X]/[Y]=K_X/K_Y$	$[Y]=aK_Y$
F_{MY}	-----	-----	$[X]=aK_X$

Adibidez, F_M eta F_{MX} elkar ebakitzen diren puntuan, bien frakzio molarren balioak berdinak izango dira:

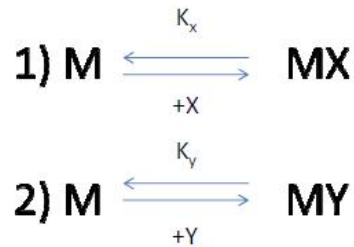
$$F_M = \frac{1}{D} \quad F_{MX} = \frac{|MX|}{D} = \frac{\frac{|X|}{K_X}}{D}$$

$$F_M = F_{MX} = \frac{1}{D} = \frac{\frac{|X|}{K_X}}{D} \quad \boxed{|X| = K_X}$$

Horrela, frakzio molarren aldaketa ikertuz, disoziazio oreka-konstanteak erraz ezaqutzeko aukera daukagu.

Kasu bereziak:

1. Ligando bakarra aurkitzen da



Kasu honetan medioan ligando bakarra egongo da, hortaz erreakzio bakarra emango da, eta beraz **ez da MXY konplexua eratuko**. MX edo MY, bietako bat eratu daiteke soilik.

Saturazio funtzioa ondokoa izango da:

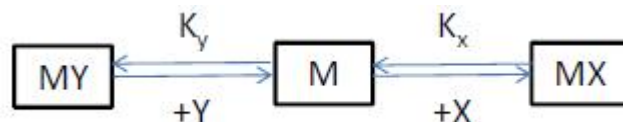
$$v_x = Y_x = \frac{[MX]}{[M] + [MX]} = F_{MX} = \frac{\frac{[X]}{K_x}}{1 + \frac{[X]}{K_x}} = \frac{[X]}{K_x + [X]}$$

Y-rentzat V_y eta Y_y aurrekoaren berdina izango du, soilik X beharrean Y izango duela eta K_x beharrean K_y ekuazioak.

Makromolekulen frakzioa molarra:

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{1 + \frac{[X]}{K_x}} = \frac{K_x}{K_x + [X]}$$

2. Ligandoak baztertzaileak dira



Ligando bakarra lotu dakioke entzimari. **Horregatik, ez da MXY konplexurik erakuto.** Inhibizio entzimatikoa hau gertatzen da adibidez.

$$[M]_T = [M] + [MX] + [MY] + [MXY] \quad \text{X}$$

X ligandoaren kasuan

$$v_x = Y_x = \frac{[MX]}{[M] + [MX] + [MY]} = \frac{\frac{[X]}{K_x}}{1 + \frac{[X]}{K_x} + \frac{[Y]}{K_y}} = F_{MX} = \frac{[X]}{K_x + [X] + \frac{[Y]K_x}{K_y}}$$

$$= \frac{[X]}{K_x \left(1 + \frac{[Y]}{K_y}\right) + [X]}$$

Makromolekularen frakzio Molarra:

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{1 + \frac{[X]}{K_x} + \frac{[Y]}{K_y}}$$

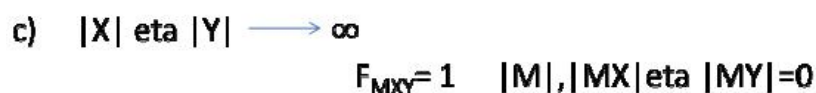
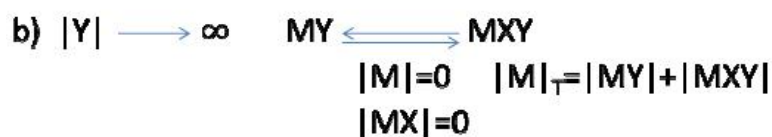
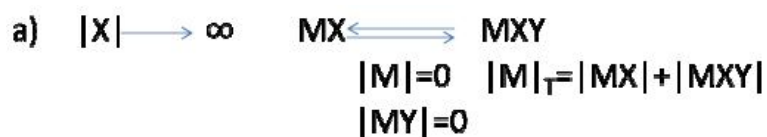
Y ligandoaren kasuan

$$v_y = Y_y = F_{MY} = \frac{[MY]}{[M] + [MX] + [MY]}$$

$$v_y = Y_y = F_{MY} = \frac{[Y]}{K_y \left(1 + \frac{[X]}{K_x}\right) + [Y]}$$

3. Makromolekula ligando batez asea dago

Makromolekula asea egongo da ligando batez, hiru kasu bereiz ditzakegu:



a) [X] asea dugunean

$$V_x = Y_y = 1$$

$ M = 0$	\longrightarrow	$F_M = 0$
$ MY = 0$	\longrightarrow	$F_{MY} = 0$

X-ren kontzentrazioa oso altua izango denez, ez da MY konplexua eratuko, Y-rekin emango den erreakzio bakarra $MX \rightarrow MXY$ eta alderantziz izango da.

$$v_y = Y_y = \frac{|MXY|}{|MX| + |MXY|} = F_{MXY}$$

$$v_y = \frac{\frac{|Y|}{aK_Y}}{1 + \frac{|Y|}{aK_Y}} = \frac{|Y|}{aK_Y + |Y|}$$

MX-en frakzio molarra:

$$F_M = \frac{[MX]}{[M]_{TOT}} = \frac{[MX]}{[MX] + [MXY]} = \frac{aK_Y}{aK_Y + [Y]}$$

b) [Y] asea dugunean

$$V_y = Y_y = 1$$

X-ren kasuan lortu dugun antzeko ekuazioa lortuko dugu:

$ M = 0$	\longrightarrow	$F_M = 0$
$ MX = 0$	\longrightarrow	$F_{MX} = 0$

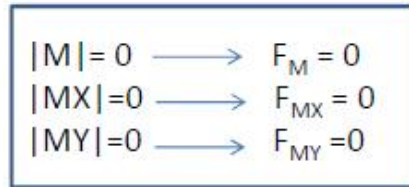
$$v_x = Y_x = \frac{|MXY|}{|MY| + |MXY|} = F_{MXY} = \frac{|X|}{aK_X + |X|}$$

MY-ren frakzio molarra:

$$F_{MY} = \frac{[MY]}{[M]_{TOT}} = \frac{[MX]}{[MX] + [MXY]} = \frac{aK_X}{aK_X + [X]}$$

c) $[X]$ eta $[Y]$ aseak daude

Ligandoen kontzentrazioa oso altua izango denez, erreakzio guztiak MXY konplexura lerratuko dira, hortaz beste konplexuen kontzentrazioa 0 edota oso txikia izango da.



$$v_X = Y_X = v_Y = Y_Y = 1 = F_{MXY}$$

4. Ligandoen baturak orden zehatz bat jarraitzen du

Hauetan orden zehatz bat dago. Lehenengo ligando bat elkartuko da makromolekulara (X adibidez) eta gero sortutako MX konplexu horretan Y ligandoa. Hau da, Y ligandoa lotu ahal izateko, lehenago X lotu behar zaio. Honen adibide da, entzima batzuetan substratua batu ahal izateko, lehenengo Ca^{2+} -kalmoudulina lotu behar zaio, aldaketa konformazioanala eman eta horrela bere substratua lotu ahal izateko.



Aldaketa konformazionala jasaten dituzten entzimetan eman daitezke (Koshland).

$$[M]_{TOT} = [M] + [MX] + [MXY]$$

Ez da MY konplexua
sortzen

$$v_X = Y_X = \frac{[MX] + [MXY]}{[M] + [MX] + [MXY]}$$

$$v_X = Y_X = F_{MX} + F_{MXY} = \frac{\frac{[X]}{K_X} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}$$

$$v_Y = Y_Y = \frac{[MXY]}{[M] + [MX] + [MXY]}$$

$$v_Y = Y_Y = F_{MXY} = \frac{\frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}$$

5.Zentroak askeak edo independenteak dira

Ligando bat lotzeak ez du inongo eraginik izango beste ligando batzearekin, hau da, batura zentroak independenteak dira. Hortaz:

$K_X = aK_X$ Ez dago menpekotasunik, beraz, $a=1$

$K_Y = aK_Y$

$$v_X = Y_X = \frac{[MX] + [MXY]}{[M] + [MX] + [MY] + [MXY]}$$

$$v_X = Y_X = F_{MX} + F_{MXY} = \frac{\frac{[X]}{K_X} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}$$

$$v_X = Y_X = F_{MX} + F_{MXY} = \frac{\frac{[X]}{K_X} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{D}$$

$$v_Y = Y_Y = \frac{[MY] + [MXY]}{[M] + [MX] + [MY] + [MXY]}$$

$$v_Y = Y_Y = F_{MY} + F_{MXY} = \frac{\frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{1 + \frac{[X]}{K_X} + \frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}$$

$$v_Y = Y_Y = F_{MY} + F_{MXY} = \frac{\frac{[Y]}{K_Y} + \frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{D}$$

Frakzio molarrak

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{D}$$

$$F_{MX} = \frac{[MX]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]}{K_X}}{D}$$

$$F_{MY} = \frac{[MY]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[Y]}{K_Y}}{D}$$

$$F_{MXY} = \frac{[MXY]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X][Y]}{K_X K_Y}}{D}$$

X ligandoan oinarritutako ekuazio bilduma

Laburtzeko, X-n oinarrituta.

Ligando bakarra

$$v_x = Y_x = \frac{|MX|}{|M| + |MX|} = F_{MX} = \frac{\frac{|X|}{K_x}}{1 + \frac{|X|}{K_x}} = \frac{|X|}{K_x + |X|}$$

Ligandoak elkar
bartzertzaileak

$$v_x = Y_x = \frac{|MX|}{|M| + |MX| + |MY|} = \frac{\frac{|X|}{K_x}}{1 + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|Y|}{K_y}} = F_{MX} = \frac{|X|}{K_x + |X| + \frac{|Y|K_x}{K_y}} = \frac{|X|}{K_x \left(1 + \frac{|Y|}{K_y}\right) + |X|}$$

Makromolekula X-entzako
asetuta

$$v_y = Y_y = \frac{|MXY|}{|MX| + |MXY|} = F_{MY} = \frac{\frac{|Y|}{aK_y}}{1 + \frac{|Y|}{aK_y}}$$

Ligandoen elkartze
ordenatua

$$v_x = Y_x = \frac{|MX| + |MXY|}{|M| + |MX| + |MXY|} = F_{MX} + F_{MXY} = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{K_x K_y}}{1 + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{K_x K_y}}$$

Zentroak independenteak
dira

$$v_x = Y_x = \frac{|MX| + |MXY|}{|M| + |MX| + |MY| + |MXY|} = F_{MX} + F_{MXY} = \frac{\frac{|X|}{K_x} + \frac{|X||Y|}{K_x K_y}}{1 + \frac{|X|}{K_x} + \frac{|Y|}{K_y} + \frac{|X||Y|}{K_x K_y}}$$