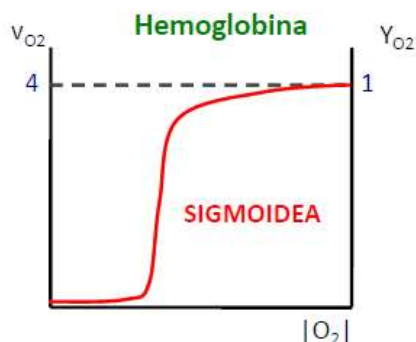


12. GAIA:

KOOPERATIBITATEA AZALTZEKO MODELOAK

Beraien jatorrian kooperatibitatea eta alosterismoa hemoglobinarekin portaera azaltzeko erabili ziren. Izan ere, ordura arteko modeloek ez zuten azaltzen hemoglobinarekin asetze funtzioa egitean lortzen zen sigmoidea (Bohr-ek "aurkitu" 1903an). Jokaera sigmoideo honek hiperbola angeluzuzen aldeak batek baino 3 aldiz O_2 gehiago askatzea ahalbidetzen du.



Aurreko gaiaren errepaso gisa:

- X-en baturak makromolekulari, molekula gehiagoren batura beste zentruetara erraztu edo oztopatu dezake --> efektu HOMOTROPIKOA edo kooperatibitatea. Kasu honetan makromolekulak dauzkan zentroak baliokideak dira. Zentro hauek izan daitezke:
 - Independentek
 - Menpekoak
 - Kooperatibitate positiboa
 - Kooperatibitate negatiboa
- X ligandoaren batura makromolekulari, beste ligando desberdinek (Y edo Z) erregula dezake --> efektu HETEROTROPIKOA edo alosterismoa. Efektore alosterikoak izan daitezke:
 - Y makromolekulari batzen zaionean (bere zentruan) X ligandoaren batura errazten du --> Aktibatzaile alosterikoa
 - Z makromolekulari batzen zaionean (bere zentroan) X ligandoaren batura oztopatzen du --> Inhibitzaile alosterikoa.

Hemoglobinarekin ezohiko saturazioa azaltzeko zenbait modelo edo postulatu proposatu ziren. Modelo guztiek efektu homotropiko positiboak azaltzen dituzte eta gainera hemoglobinak O_2 -rentzat 4 batura gune dituenaz, postulatuak 4 zentro baliokide dituzten makromolekulei bideratuta daude.

Ondoren, proposatutako 4 modelo aztertuko ditugu:

1. Adair-en modeloa (1925)

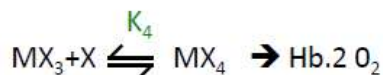
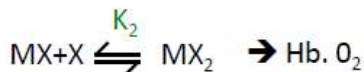
-2 arrazoiengatik da Adair-en aportazioa garrantzitsua

1) Hemoglobina (Hb.) oxigenoz saturatzen denean ematen den kooperatibitatea azaltzen saiatu zen edo beste modu batera esanda, asetze funtzioaren forma azaltzen.

2) Hemoglobina tetramerikoa lortzeko protokoloa zehaztu zuen eta horrela, bere pisu molekularra determinatu ahal izan zuen. Ordurarteko protokoloetan ikerlariak Hb. gatzekin tratatzen zuten eta horregatik monomeroak eta dimerok lortzen zituzten (berez tetramerikoa da). Hori dela eta aktibitatea irudikatzerakoan hiperbola angeluzuzen aldeak lortzen zituzten. Aurrerapen honekin Hb.-aren pisu molekularra 68 000 Da-ekoa dela determinatu zen.

- Adair-ek proposatu zuen O₂-ren baturan Hb.-ari, **erdi-saturatuak** zeuden konplexu egonkorak eratzen zirela. Bere ustetan Hb. menpekotasun positiboa duten 4 baturaguneko makromolekula zen, pixkanaka saturatzen dena bitartekari erdi-saturatuak osatuz.

- Sortzen diren bitartekari erdi-saturatuak:



Konstante mikroskopiko eta makroskopikoen arteko erlazioa ondorengoa dela jakinik eta zentroak independenteak balira K' guztiak berdindu egin beharko liratekeela ezaguturik, berdinketa hau lortu beharko litzateke.

-Konstante makroskopiko eta mikroskopikoen arteko erlazioa:

$$\begin{aligned} K_1 &= \frac{1}{4} K' \\ K_2 &= \frac{2}{3} K' \\ K_3 &= \frac{3}{2} K' \\ K_4 &= 4 K' \end{aligned}$$

Zentroak independenteak balira lortuko genukeen berdintza:

$$4K_1 = \frac{3}{2}K_2 = \frac{2}{3}K_3 = \frac{1}{4}K_4 = K'$$

Esperimentalki konstante horien balioak atera zituenean, ordea, ikusi zuen berdintza hori ez zela betetzen eta horren ordean ondorengo gertatzen zela:

$$4K_1 > \frac{3}{2}K_2 > \frac{2}{3}K_3 > \frac{1}{4}K_4$$

- Hemendik ondorioztatu daiteke disoziazio konstanteak txikituz doanez, ligandoaren eta makromolekularen arteko afinitatea handituz doala, hau da, ligandoa lotzeak beste ligandoen batura errazten duela. Hau ikusirik, Hb.-ak 4 zentro baliokide zituela eta hauen artean menpekotasun positiboa zegoela ondorioztatu zuen, hau da, kooperatibitate positiboa ematen zela. Hala ere, egitura molekularra (simetria, kokapen espaziala) ez zuen kontutan hartu bere ondoriora iristeko.

- Baina, **nola** lortu zituen konstante makroskopikoak Adair-ek?

Honetarako bitartekari bakoitzaren frakzio molarrek kalkulatu zituen, $[M]_{TOT}$ -en formula sinplifikatzeko izendatzaile guztiari D deituz.

Bitartekarien frakzio molarrek:

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{1 + \frac{[X]}{K_1} + \frac{[X]^2}{K_1K_2} + \frac{[X]^3}{K_1K_2K_3} + \frac{[X]^4}{K_1K_2K_3K_4}} = \frac{1}{D}$$

$$F_{MX} = \frac{[MX]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]}{K_1}}{D}$$

$$F_{MX_2} = \frac{[MX_2]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]^2}{K_1K_2}}{D}$$

$$F_{MX_3} = \frac{[MX_3]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]^3}{K_1K_2K_3}}{D}$$

$$F_{MX_4} = \frac{[MX_4]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]^4}{K_1K_2K_3K_4}}{D}$$

Ondoren, frakzio molar hauen ebaki puntuetatik konstanteak atera ahal izan zituen. Izan ere, bitartekari baten frakzio molarra hurrengo bitartekariarekin moztzen den puntuan $[X]=K_n$ berdintza betetzen da, hurrengo taulan eta irudian ikusi daitekeen bezala.

FM	FMX ₂	FMX ₃	FMX ₄	
$[X] = K_1$	$[X] = \sqrt{K_1 K_2}$	$[X] = \sqrt[3]{K_1 K_2 K_3}$	$[X] = \sqrt[4]{K_1 K_2 K_3 K_4}$	FM
	$[X] = K_2$	$[X] = \sqrt{K_2 K_3}$	$[X] = \sqrt[3]{K_2 K_3 K_4}$	FMX
		$[X] = K_3$	$[X] = \sqrt{K_3 K_4}$	FMX ₂
			$[X] = K_4$	FMX ₃

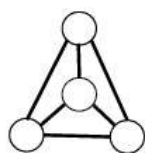
Adibidez:

$$F_n = \frac{1}{D} \quad \Rightarrow \quad \frac{1}{D} = \frac{[X]}{K_1} \quad \Rightarrow \quad K_1 = [X]$$

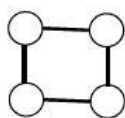
$$F_{nx} = \frac{\frac{[X]}{K_1}}{D}$$

2. Pauling (1935)-Wyman (1948) modeloa

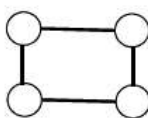
- Adair-en modeloa hobetzeko asmoz egin zen. Aurrez esan bezala, Adair-ek ez zuen Hb-ren egitura fisikoa kontutan hartu eta hauek, ordea, bai.
- O₂-ren batura azpiunitate bati, inguruneko azpiunitateak ligandoari batuta edo hutsik egotearen menpe badago, efektu kooperatiboa makromolekularen simetriagatik eraginda egongo da. Beraien ustetan, beraz, azpiunitateen kokapen espazialak garrantzia zeukan.
- Hb. tetramero bat denez, simetria aukera ezberdinak daude. Proposatutako simetria modeloak ondorengoak dira:



Tetraedrikoa



Laukia



Laukizuzena



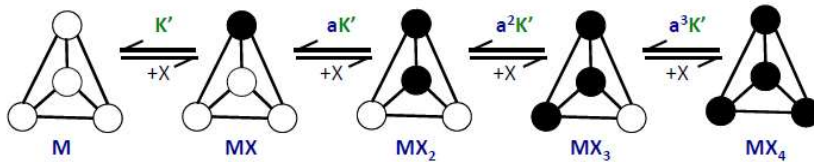
Zuzen batean

- Modelo tetraedrikoan:

- 4 azpiunitateen arteko distantzia berdina da.

- Ligandoaren baturak zentru batera, beste batura gune guztien afinitatea aldatzen (hobetzen) du "a" faktore konstante batez. Modelo honen iritziz, zentruak distantzia berera daudenez, eragin berdina izango da guztietan.

- Zentro bakoitzak disoziazio konstate bat dauka: K' .



- Adair-en modeloan bezala, honetan ere bitartekari egonkorak daudela onartzen da.

- Zentroak

- Independentek izanez gero, $a=1$ izango da.

- Menpekoak izanez gero, $a \neq 1$ izango da eta

- $a > 1$ denean kooperatibitatea negatiboa izango da eta

- $a < 1$ denean, kooperatibitate positiboa.

- Pauling-en arabera konstante makroskopiko eta mikroskopikoak erlazionatzeko a faktore hori beharrezkoa da. Lehenengo ligandoa batzean, lotura horrek beste 3 zentruetara ligandoa lotzea erraztuko du, a faktoreaz adieraziko dena. 2. ligandoa batzean, ordea, 2 zentrok eragingo dute beste bietara lotura erraztea eta horregatik a^2 -koa izango da "hobekuntza" eta 3-rekin a^3 . Beraz, konstante makroskopiko eta mikroskopikoen arteko erlazioa Pauling-en arabera horrela geratuko litzateke:

$$\begin{aligned} K_1 &= \frac{1}{4} K' \\ K_2 &= \frac{2}{3} a K' \\ K_3 &= \frac{3}{2} a^2 K' \\ K_4 &= 4 a^3 K' \end{aligned}$$

- Zentroak independentek balira ondorengo berdintza lortuko litzateke:

$$4K_1 = \frac{3}{2a} K_2 = \frac{2}{3a^2} K_3 = \frac{1}{4a^3} K_4 = K'$$

- Benetan gertatzen dena, ordea, K' -k txikituz doazela da.

$$4K_1 > \frac{3}{2a} K_2 > \frac{2}{3a^2} K_3 > \frac{1}{4a^3} K_4$$

- Pauling-en asetze funtzioa:

$$V_X = \frac{[MX] + 2[MX_2] + 3[MX_3] + 4[MX_4]}{[M] + [MX] + [MX_2] + [MX_3] + [MX_4]}$$

$$V_X = \frac{\frac{[M][X]}{K_1} + \frac{2[M][X]^2}{K_1 K_2} + \frac{3[M][X]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{4[M][X]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4}}{[M] + \frac{[M][X]}{K_1} + \frac{[M][X]^2}{K_1 K_2} + \frac{[M][X]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[M][X]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4}}$$

Ordezkatuz

$$K_1 = \frac{1}{4} K'$$

$$K_1 K_2 = \frac{1}{6} a (K')^2$$

$$K_1 K_2 K_3 = \frac{1}{4} a^3 (K')^3$$

$$K_1 K_2 K_3 K_4 = a^6 (K')^4$$

$$V_X = \frac{\frac{4[X]}{K'} + \frac{12[X]^2}{a(K')^2} + \frac{12[X]^3}{a^3(K')^3} + \frac{4[X]^4}{a^6(K')^4}}{1 + \frac{4[X]}{K'} + \frac{6[X]^2}{a(K')^2} + \frac{4[X]^3}{a^3(K')^3} + \frac{[X]^4}{a^6(K')^4}}$$

- Adair-en modeloan bezala, konstante makroskopikoak ateratzeko frakzio molarrek definitu behar dira, baina simetriaren ideia hau kontutan hartuz. $[M]_{TOT}$ asetze funtzioan definitua izan da. Frakzio molar hauek gurutzatzen edo ebakitzen diren puntuan $[X]$ -ri begiratuta, konstanteen balioak ezagutu ahalko ditugu, Adair-en kasuan bezala.

Frakzio molarrek:

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{1 + \frac{4[X]}{K'} + \frac{6[X]^2}{a(K')^2} + \frac{4[X]^3}{a^3(K')^3} + \frac{[X]^4}{a^6(K')^4}} = \frac{1}{D}$$

$$F_{MX} = \frac{[MX]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{4[X]}{K'}}{D}$$

$$F_{MX_2} = \frac{[MX_2]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{6[X]^2}{a(K')^2}}{D}$$

$$F_{MX_3} = \frac{[MX_3]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{4[X]^3}{a^3(K')^3}}{D}$$

$$F_{MX_4} = \frac{[MX_4]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]^4}{a^6(K')^4}}{D}$$

Bitartekarien frakzioen arteko erlazioa:

FM	FMX ₂	FMX ₃	FMX ₄	
$[X] = \frac{K'}{4} = K_1$	$[X] = \sqrt{\frac{a(K')^2}{6}}$	$[X] = \sqrt[3]{\frac{a^3(K')^3}{4}}$	$[X] = \sqrt[4]{a^6(K')^4}$	FM
	$[X] = \frac{2aK'}{3} = K_2$	$[X] = \sqrt{a^3(K')^2}$	$[X] = \sqrt[3]{4a^6(K')^3}$	FMX
		$[X] = \frac{3a^2K'}{2} = K_3$	$[X] = \sqrt{\frac{a^5(K')^2}{6}}$	FMX ₂
			$[X] = 4a^3K' = K_4$	FMX ₃

3. Wong-Endrenyi (1971) modeloa

- Modelo honen arabera gun batetik besterako elkarrekintza faktore horrek (a) ez du zertan konstantea izan behar. Hori dela eta, a-ren balioa biderkatu beharrean batetik bestera, faktore berriak gehitzen joango gara (b eta c 4 zentroko makromolekularen kasuan). Beraz, horrela geratuko litzateke:

$$\begin{aligned} K_1 &= \frac{1}{2} K' \\ K_2 &= \frac{2}{3} aK' \\ K_3 &= \frac{3}{2} abK' \\ K_4 &= 4abck' \end{aligned}$$

- Asetze funtzioa berdina izango da, baina faktore berri horiek erabiliz.

$$V_x = \frac{\frac{4[X]}{K'} + \frac{12[X]^2}{a(K')^2} + \frac{12[X]^3}{a^2b(K')^3} + \frac{4[X]^4}{a^3b^2c(K')^4}}{1 + \frac{4[X]}{K'} + \frac{6[X]^2}{a(K')^2} + \frac{4[X]^3}{a^2b(K')^3} + \frac{[X]^4}{a^3b^2c(K')^4}}$$

- Konstanteen balioak ezagutzeko, berriz ere, bitartekarien frakzio molarrek mozten diren puntuetan $[X]=K_n$ beteko da.

Frakzio molarrak

$$F_M = \frac{[M]}{[M]_{TOT}} = \frac{1}{1 + \frac{4[X]}{K'} + \frac{6[X]^2}{a(K')^2} + \frac{4[X]^3}{a^2b(K')^3} + \frac{[X]^4}{a^3b^2c(K')^4}} = \frac{1}{D}$$

$$F_{MX} = \frac{[MX]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{4[X]}{K'}}{D}$$

$$F_{MX_2} = \frac{[MX_2]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{6[X]^2}{a(K')^2}}{D}$$

$$F_{MX_3} = \frac{[MX_3]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{4[X]^3}{a^2b(K')^3}}{D}$$

$$F_{MX_4} = \frac{[MX_4]}{[M]_{TOT}} = \frac{\frac{[X]^4}{a^3b^2c(K')^4}}{D}$$

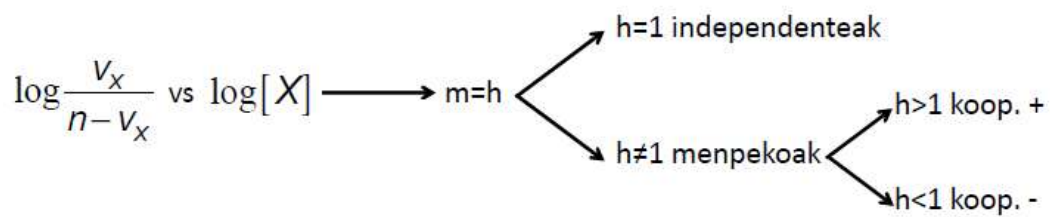
Bitartekarien frakzio molarren arteko erlazioa

FM	FMX ₂	FMX ₃	FMX ₄	
$[X] = \frac{K'}{4} = K_1$	$[X] = \sqrt{\frac{a(K')^2}{6}}$	$[X] = \sqrt[3]{\frac{a^2b(K')^3}{4}}$	$[X] = \sqrt[4]{a^3b^2c(K')^4}$	FM
	$[X] = \frac{2aK'}{3} = K_2$	$[X] = \sqrt{a^2b(K')^2}$	$[X] = \sqrt[3]{4a^3b^2c(K')^3}$	FMX
		$[X] = \frac{3abK'}{2} = K_3$	$[X] = \sqrt{\frac{a^2b^2c(K')^2}{6}}$	FMX ₂
			$[X] = 4abcK' = K_4$	FMX ₃

4. Hill-en (1910) modeloa

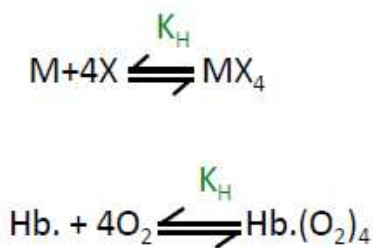
- Ez da guztiz zuzena, baina gaur egun gehien erabiltzen den modelo empirikoa da Hb.-ren saturazioa O₂-z azaltzeko. .

-Menpekotasuna (kooperatibitatea) dagoen hala ez jakiteko eta baita hau negatiboa edo positiboa den zehazteko "h" faktorearen balioa atera behar da, zentro aparenteen kopurua adierazten duena. Ez da berdina zentro erreal kopurua (n=benetan makromolekulak dituen zentroak) eta aparente kopurua (h= makromolekulak dituela dirudiena). log (V_x/n- V_x) vs. log [X] irudikapenetik lortzen den zuzenaren malda h faktore hori izango da.



-Hill-ek suposatu zuen hemoglobinarekin kooperatibitatea ideala zela, benetan horrela ez den arren. Berak esaten zuenaren arabera makromolekula askea pausu bakarrean lotzen zaio ligandoari eta beraz, ez dira onartzen edo definitzen bitartekari erdi-saturatuak.

- Erreakzio horren disoziazio oreka konstante makroskopikoa K_H da.



Disoziazio konstanteak, beraz;

$$K_H = \frac{[M][X]^4}{[MX_4]}$$

Edo

$$K_H = \frac{[\text{Hb.}][\text{O}_2]^4}{[\text{Hb.}(\text{O}_2)_4]}$$

$$K_H = \frac{[M][X]^4}{[MX_4]} \Rightarrow [MX_4] = \frac{[M][X]^4}{K_H}$$

$$V_x = \frac{4[MX_4]}{[M] + [MX_4]} = \frac{4 \frac{[M][X]^4}{K_H}}{[M] + \frac{[M][X]^4}{K_H}} = \frac{\frac{4[X]^4}{K_H}}{\frac{K_H + [X]^4}{K_H}} = \frac{4[X]^4}{K_H + [X]^4}$$

$$Y_x = \frac{V_x}{4} = \frac{[X]^4}{K_H + [X]^4}$$

- Asetze funtzioa (V_x), hau da, orekan ligandoari batuta dagoen makromolekula eta makromolekularen kontzentrazio totalaren arteko erlazioa, ondorengoa da:

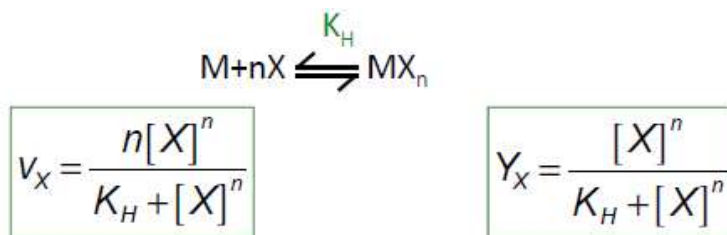
$$V_X = \frac{4[MX_4]}{[M] + [MX_4]}$$

-Asetze frakzional funtzioa (Y_X):

$$Y_X = \frac{V_X}{n} = \frac{V_X}{4}$$

- $[MX]_4$ M-ren funtziopean adieraziz eta V_X eta Y_X -en $[MX]_4$ ordezkatur:

- **Kooperatibitate idealaren kasu orokorrean** aurreko ekuazioetan 4 doan lekuan n joango da, hau da, batura gune errealeen kopurua.



Limiteak kasu honetan ondorengoak izango dira (beti bezala)

• Hill-en : $V_X = \frac{4[MX_4]}{[M] + [MX_4]}$

• Beste modeloetan: $[MX_4] = \frac{[M][X]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} = \frac{[M][X]^4}{a^3 b^2 c (K')^4}$

Hill-en V_X -ean ordezkatur

$$V_X = \frac{\frac{4[M][X]^4}{a^3 b^2 c (K')^4}}{[M] + \frac{[M][X]^4}{a^3 b^2 c (K')^4}} = \frac{\frac{4[X]^4}{a^3 b^2 c (K')^4} K_H}{1 + \frac{[X]^4}{a^3 b^2 c (K')^4}} \Rightarrow V_X = \frac{4[X]^4}{K_H + [X]^4}$$

→ kasu orokorrean (n zenhotarako)

$$K_H = a^{n-1} b^{n-2} \dots z^1 (K')^n$$

- Hill-ek proposatutako modeloa Pauling eta Wong-Endrenyi-ren modeloarekin konparatu daiteke:

- Kooperatibitatea ideala izango balitz, edo kooperatibitatea oso positiboa izango balitz, makromolekularen zentru kopuru erreala (n) eta zentrua aparenteak (h) berdinak izango lirateke, n=h.

$$V_X \neq \frac{4[X]^4}{[X]^4 + [K]_H}$$

Benetan gertatzen dena da, h horren balioa 2.8 ingurukoa dela:

$$V_X = \frac{4[X]^{2.8}}{[X]^{2.8} + [K]_H}$$

Beraz, asetze eta asetze frakzional funtzioak horrela eratuko lirateke n-ren lekuan h jarritz gero:

$$V_X = \frac{n[X]^h}{K_H + [X]^h}$$

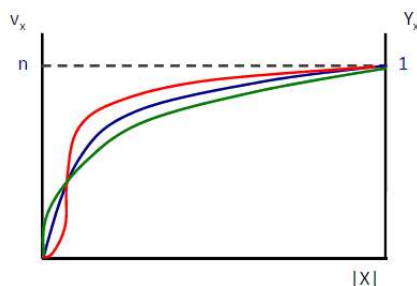
$$Y_X = \frac{[X]^h}{K_H + [X]^h}$$

Hb.-aren kasuan h=2.8 denez, bere zentruetatik gutxi gorabehera 3-k %100-ean eta batek %0-an lan egiten dutela esan dezakegu. Makromolekularen funtzionamendu partziala adierazteko:

$$\frac{h}{n} \times 100 \rightarrow \frac{2.8}{4} \times 100 = 70\%$$

Hurrengo grafikoa eginez ikusten da nola h-aren balioaren arabera grafikoa aldatzen den. Zentruak independenteak direnean (h=1), hiperbola angeluzuzen aldeakide bat lortzen da, hau da, zentru bakarra dagoela dirudi, berez horrela ez den arren. Kooperatibitate positiboa dagoen kasuan, aurrez esan bezala, sigmoide bat lortzen da. Hau da orain arte aztertu dugun hemoglobinareneko kasua. Kooperatibitatea negatiboa denean, ordea, hiperbola angeluzuzen bat lortzen da baina aldeakidea ez dena.

ZUZENA: v_x edo Y_x vs $[X]$



HIPERBOLA ANGELUZUZEN ALDEKIDEA: h=1 independenteak.

SIGMOIDEA: h>1 kooperatibitate +.

HIPERBOLA ANGELUZUZEN EZ ALDEKIDEA: h<1 kooperatibitate -.

- Baina nola jakin dezakegu ziur grafikoan lortu duguna hiperbola angeluzuzen aldeakide/ez-aldeakide edo sigmoide bat den? Horretarako Toketo eta Pogell-en indizea (R_x) atera behar da, hurrengo balioen zatiketak eginez:

$$R_x = \frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}}$$

$$[X]_{0.9} = Y_x = 0.9$$

$$[X]_{0.1} = Y_x = 0.1$$

Asetze frakzional funtzioetatik abiatuz, horrela kalkulatu behar dira $[X]_{0.9}$ eta $[X]_{0.1}$ -en balioak:

$$Y_x = \frac{[X]^h}{K_H + [X]^h}$$

$$Y_x = \frac{[X]_{0.9}^h}{K_H + [X]_{0.9}^h} \qquad Y_x = \frac{[X]_{0.1}^h}{K_H + [X]_{0.1}^h}$$

$$-Y_{x0.9}:$$

$$Y_x = \frac{[X]_{0.9}^h}{K_H + [X]_{0.9}^h}$$

$$0.9K_H + 0.9[X]_{0.9}^h = [X]_{0.9}^h$$

$$0.9K_H = 0.1[X]_{0.9}^h$$

$$[X]_{0.9}^h = 9K_H$$

$$[X]_{0.9} = \sqrt[h]{9K_H}$$

$$-Y_{x0.1}:$$

$$Y_x = \frac{[X]_{0.1}^h}{K_H + [X]_{0.1}^h}$$

$$0.1K_H + 0.1[X]_{0.1}^h = [X]_{0.1}^h$$

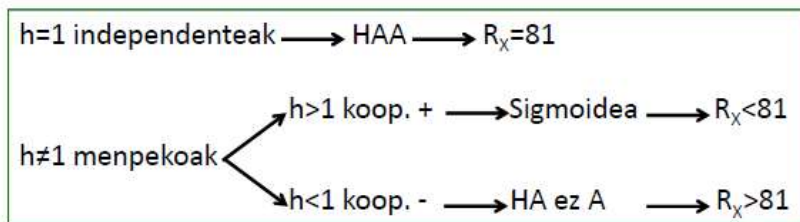
$$0.1K_H = 0.9[X]_{0.1}^h$$

$$[X]_{0.1}^h = \frac{0.1}{0.9}K_H$$

$$[X]_{0.1} = \sqrt[h]{\frac{K_H}{9}}$$

$$R_x = \frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}} = \frac{\sqrt[h]{9K_H}}{\sqrt[h]{\frac{K_H}{9}}} = \sqrt[h]{81}$$

$h=1$ bada, R_x 81-en berdina izango da. Menpekotasuna baldin badago, ordea, desberdina. $h=1$ baino handiagoa bada (menpekotasun positiboa) erroketan ordezkatzuz 81 baino balio txikiago bat lortuko da eta txikiagoa bada (menpekotasun negatiboa), berriz, 81 baino handiagoa.



$$n = \frac{\log 81}{\log \frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}}}$$

Berdintza hau ere betetzen da. Kooperatibitatea ideala ez bada, n beharrean h izango da zatiketa honek emango digun balioa. Berdintza hau horrela lortzen da:

$$\begin{aligned} \frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}} &= \sqrt[n]{81} \\ \log \frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}} &= \frac{1}{n} \log 81 \\ n &= \frac{\log 81}{\frac{[X]_{0.9}}{[X]_{0.1}}} \end{aligned}$$

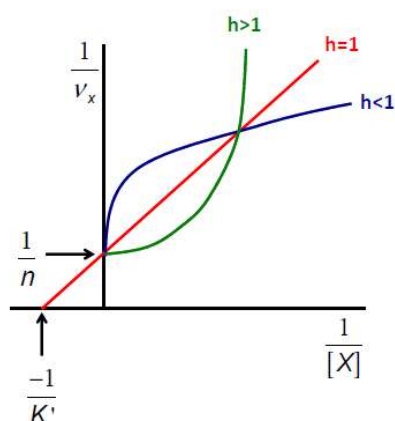
Zentroak independenteak direnean ($h=1$), ondorengoa betetzen da:

$$\begin{aligned} y_x &= \frac{[X]^h}{K_H + [X]^h} \\ y_x = 0.5 \text{ denean: } 0.5 &= \frac{[X]_{0.5}^h}{K_H + [X]_{0.5}^h} \Rightarrow 0.5 K_H + 0.5 [X]_{0.5}^h = [X]_{0.5}^h \\ 0.5 K_H &= 0.5 [X]_{0.5}^h \\ [X]_{0.5}^h &= K_H = K_S \end{aligned}$$

Parametro ezberdinak kalkulatzeko eta gauza ezberdinak ikusteko zenbait irudikapen grafiko egin ditzakegu.

1) Alderantzizko bikoitza

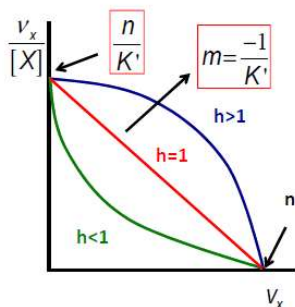
ALDERANTZIZKO BIKOITZA: $1/v_x$ edo $1/Y_x$ vs $1/[X]$



Zentroak independenteak direnean, alderantzizko zuzenean zuzen bat lortzen da eta ebaki puntuetatik $1/n$ eta $-1/K'$ balioak atera daitezke. Menpekotasuna positiboa denean kurba ahur bat lortzen da eta negatiboa denean, berriz, ganbila.

2) Scatchard-en irudikapena

SCATCHARD-EN IRUDIKAPENA: $v_x/[X]$ vs v_x edo $Y_x/[X]$ vs Y_x

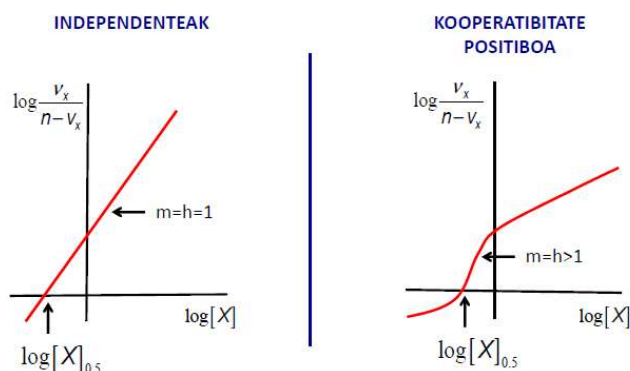


Ahurtasuna eta ganbiltasuna alderantziz agertzen dira irudikapen hau egitean. Scatchard-en irudikapena n , zentro errealeko kopurua, determinatzeko erabiltzen da.

3) Hill-en irudikapena

HILL-EN IRUDIKAPENA: $\log v_x/(n-v_x)$ vs $\log [X]$ edo $\log Y_x/(1-Y_x)$ vs $\log [X]$

$$\log \frac{v_x}{n-v_x} = h \log [X] - \log K_H$$



Zentroak independenteak direnean lortzen den zuzenaren malda h izango da. Kooperatibitate positiboa dagoenean, ordea, kurba bat sortzen denez, definitu egin behar da zeren malda den h -ren berdina. Kasu honetan, $y=0$ denean, hau da, $\log [X]_{0.5}$ inguruan sortzen den zuzenaren malda izango da h .

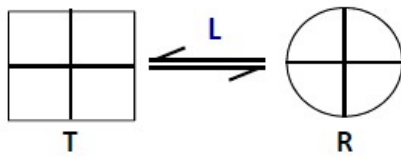
ren balioa emango diguna. Horrela lortzen da zuzenaren ekuazioa:

$$\begin{aligned}
 V_x &= \frac{n [X]^h}{K_H + [X]^h} \\
 V_x K_H + V_x [X]^h &= n [X]^h \\
 V_x K_H &= n [X]^h - V_x [X]^h \\
 V_x K_H &= [X]^h (n - V_x) \\
 \frac{V_x}{n - V_x} &= \frac{[X]^h}{K_H} \\
 \log \frac{V_x}{n - V_x} &= \log \frac{[X]^h}{K_H} \\
 \log \frac{V_x}{n - V_x} &= \log [X]^h - \log K_H \\
 \log \frac{V_x}{n - V_x} &= h \log [X] - \log K_H \\
 \underbrace{\log \frac{V_x}{n - V_x}}_y &= \underbrace{h}_m \underbrace{\log [X]}_x - \underbrace{\log K_H}_b \\
 [X]_{0.5} \text{ denean } \log \frac{V_x}{n - V_x} &= \log \frac{1}{1} = 0 \text{ beteko da.}
 \end{aligned}$$

Bukaerako berdintza hori beteko da $[X]_{0.5}$ denean beti gertatuko delako $\log (1/1)$ ematea. Izan ere, adibidez zentro kopurua 4koa bada, V_x 2 izango da, beraz $2/4-2= 1/1$ geldituko da.

- 5) Ligandoarekiko afinitatea protomeroaren, eta beraz, oligomeroaren konformazioaren menpekoa da:
- Ligando batzuk oligomeroari konformazio batean batuko dira eta beste ligando batzuk bestean.
 - Ligandoen baturak bi formen arteko orekaren desplazamendua eragiten du.
- Adibidez, ligando batek afinitate gehiago badu T-rekiko, hau batzean oreka T egoeraruntz desplazatuko da eta ligando honekiko afinitate gehiago duen batura guneak sortuko ditu.

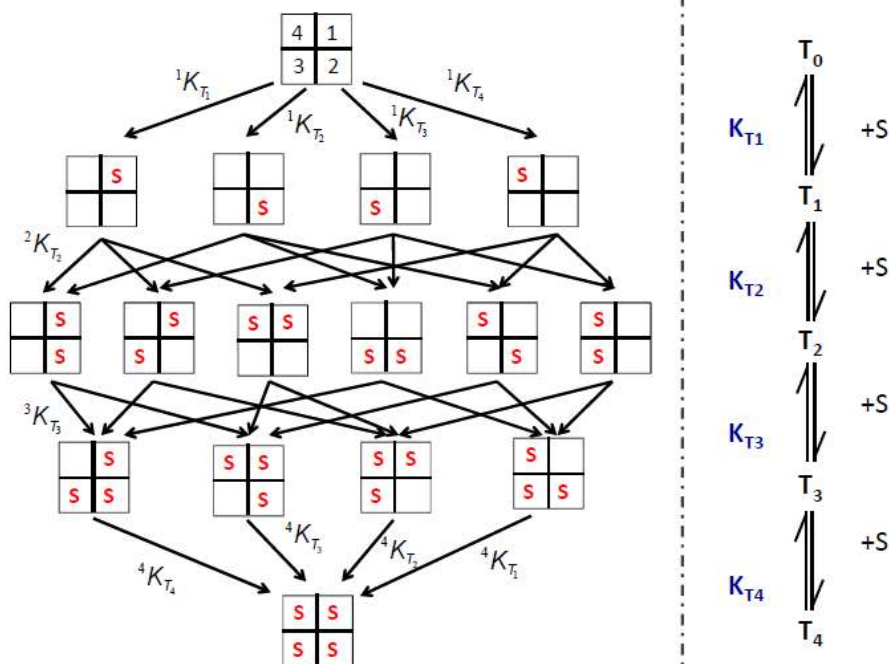
1.1 EFEKTU HOMOTROPIKOAK



L: Oreka konstantea. T eta R arteko ratioa ligandorik ez dagoenean.

$$L = [T_0] / [R_0]$$

T formak afinitate handiagoa du I-rekiko (inhibitzailearekiko) eta R formak, ordea, afinitate handiagoa du S (substratu) eta A-rekiko (aktibatzailearekiko).



Irudian, ezkerraldean konstante mikroskopikoak eta eskuinean makroskopikoak.

Modelo honek zentroak baliokideak direla onartzen du, eta beraz:

$$^1K_{T_1} = ^1K_{T_2} = ^1K_{T_3} = ^1K_{T_4} = ^1K_T$$

Eta independenteak direnez:

$$^1K_T = ^2K_T = ^3K_T = ^4K_T = K_T$$

Orokorki, konstante makroskopikoak eta mikroskopikoak erlazionatuz:

$$K_{T_i} = \frac{i}{n-i+1} K_T$$

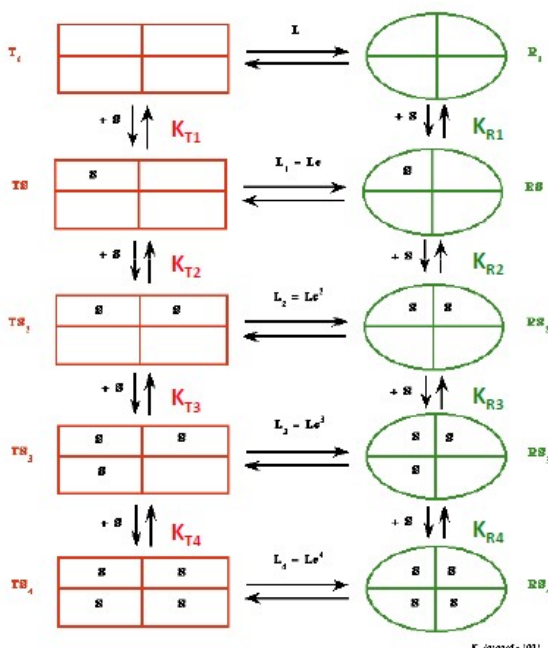
$$K_{Ri} = \frac{i}{n-i+1} K_R$$

$$\begin{aligned} K_{T_1} &= \frac{1}{4} K_T \\ K_{T_2} &= \frac{2}{3} K_T \\ K_{T_3} &= \frac{3}{2} K_T \\ K_{T_4} &= 4 K_T \end{aligned}$$

Gauza bera gertatzen da forma erlaxatuarentzat (K_R).

- Asetze funtzioa:

Bi modutan kalkula dezakegu:



1. Trantsizio konstanteak kalkulatu:

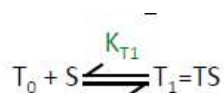
Non, L_s -k bi formen arteko ratioa adierazten duen, substratuarekin batuta dagoenean.

Batura ez-esklusiboaren koefizienteak (c) konstante mikroskopikoak erlazionatzen ditu eta forma batean edo bestean bihurtzeko joera duenaren ideia ematen digu.

$$L = \frac{[T_0]}{[R_0]} \longrightarrow L_s = \frac{\sum [T]}{\sum [R]}$$

$$c = \frac{K_R}{K_T}$$

-Zergatik da $L_1 = L_c$?



$$K_{T_1} = \frac{[T_0][S]}{[T_1]} = \frac{1}{4} K_T \rightarrow [T_1] = \frac{4[T_0][S]}{K_T}$$



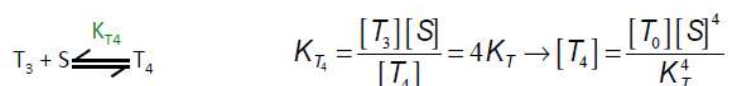
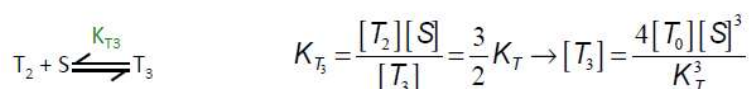
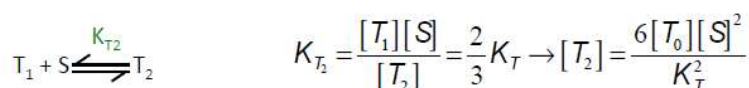
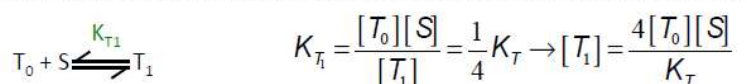
$$K_{R_1} = \frac{[R_0][S]}{[R_1]} = \frac{1}{4} K_R \rightarrow [R_1] = \frac{4[R_0][S]}{K_R}$$

$$L_1 = \frac{[T_1]}{[R_1]} = \frac{4 \frac{[T_0][S]}{K_T}}{\frac{4[R_0][S]}{K_R}} = \frac{[T_0]}{[R_0]} \frac{K_R}{K_T} = L.C$$

2- Modu orokorra n=4

makromolekularentzat:

$$V_s = \frac{([R_1] + 2[R_2] + 3[R_3] + 4[R_4]) + ([T_1] + 2[T_2] + 3[T_3] + 4[T_4])}{([R_0] + [R_1] + [R_2] + [R_3] + [R_4]) + ([T_0] + [T_1] + [T_2] + [T_3] + [T_4])}$$



Forma bakoitzaren kontzentrazioa $[T_0]$ -ren menpe jarriko dugu eta ondoren asetze frakzio funtzionalean ordezkatu. Kontuan izan:

$$Y_s = \frac{V_s}{n} = \frac{V_s}{4}$$

$$Y_s = \frac{\left(\frac{4[R_0][S]}{K_R} + \frac{12[R_0][S]^2}{K_R^2} + \frac{12[R_0][S]^3}{K_R^3} + \frac{4[R_0][S]^4}{K_R^4} \right) + \left(\frac{4[T_0][S]}{K_T} + \frac{12[T_0][S]^2}{K_T^2} + \frac{12[T_0][S]^3}{K_T^3} + \frac{4[T_0][S]^4}{K_T^4} \right)}{4 \left[\left([R_0] + \frac{4[R_0][S]}{K_R} + \frac{6[R_0][S]^2}{K_R^2} + \frac{4[R_0][S]^3}{K_R^3} + \frac{[R_0][S]^4}{K_R^4} \right) + \left([T_0] + \frac{4[T_0][S]}{K_T} + \frac{6[T_0][S]^2}{K_T^2} + \frac{4[T_0][S]^3}{K_T^3} + \frac{[T_0][S]^4}{K_T^4} \right) \right]}$$

-Izendatzaile komunak atera:

$$Y_s = \frac{\frac{4[R_0][S]}{K_R} \left(1 + \frac{3[S]}{K_R} + \frac{3[S]^2}{K_R^2} + \frac{[S]^3}{K_R^3} \right) + \frac{4[T_0][S]}{K_T} \left(1 + \frac{3[S]}{K_T} + \frac{3[S]^2}{K_T^2} + \frac{[S]^3}{K_T^3} \right)}{4 \left[[R_0] \left(1 + \frac{4[S]}{K_R} + \frac{6[S]^2}{K_R^2} + \frac{4[S]^3}{K_R^3} + \frac{[S]^4}{K_R^4} \right) + [T_0] \left(1 + \frac{4[S]}{K_T} + \frac{6[S]^2}{K_T^2} + \frac{4[S]^3}{K_T^3} + \frac{[S]^4}{K_T^4} \right) \right]}$$

$$L = \frac{[T_0]}{[R_0]} \rightarrow [T_0] = L[R_0] \quad \longrightarrow \quad Y_s = \frac{\frac{[S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R} \right)^3 + \frac{L[S]}{K_T} \left(1 + \frac{[S]}{K_T} \right)^3}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R} \right)^4 + L \left(1 + \frac{[S]}{K_T} \right)^4}$$

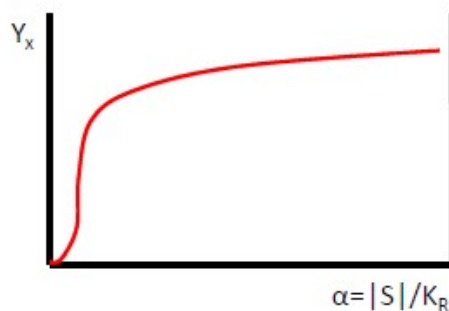
Ekuazio hau sinplifikatze aldera, kontzentrazio espezifikoak (α) eta batura ez esklusiboaren koefizientea (c) definituko ditugu eta aurreko ekuazioan ordezkatu:

$$\alpha = \frac{[S]}{K_R} \quad c = \frac{K_R}{K_T} \rightarrow c\alpha = \frac{[S]}{K_T}$$

$$Y_s = \frac{\alpha (1 + \alpha)^3 + Lc\alpha(1 + c\alpha)^3}{(1 + \alpha)^4 + L(1 + c\alpha)^4}$$

Eta hau modu orokorrean jarrita:

$$Y_s = \frac{\alpha (1 + \alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1 + c\alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + L(1 + c\alpha)^{n-1}} = V/V_{max}$$



Zentru independenteak dira, baina R eta T konformazioen afinitate ezberdak direla eta sigmoidizitatea azaltzen da.

- Kasu bereziak:
 - 1- Substartuaren batura esklusiboa arbuia garria : $c \approx 0$ denean (Hemoglobinarene kasua)

$$c = \frac{K_R}{K_T} \cong 0 \quad K_R \lllll K_T$$

Ligandoa forma erlaxatuari batuko zaio ia esklusiboki. Beraz, eta $c=0$ denez:

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + L\alpha\alpha(1+\alpha\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+\alpha\alpha)^n} \rightarrow Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L}$$

- Irudikapen zuzena → Sigmoide bat izaten jarraitzen du, R konformazioa soilik dagoelako (afinitate handienekoa)



Sigmoidea R-rekiko afinitate handiagatik azal daiteke, honen ondorioz [S] oso azkar batuko baita.

- 2- Egoera bat existitzen da soilik (C=1 denean) :

Afinitate oso antzekoak dira ($K_T=K_R$) eta sigmoidizitatea desagertzen da, kooperatibitatea galtzen dela esan dezakegu. Bi konstanteak berdinak izatean, bi konformazioentzat afinitatea berdina da eta ez da aldaketa konformazionalik emango. Irudikapen zuzenak hiperbola angeluzuzen aldeakide bat emango digu.

$$\frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + L\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+\alpha)^n} = (C=1 \text{ denean}) = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + L\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+\alpha)^n}$$

$$= \frac{\alpha [(1+\alpha)^{n-1} + L(1+\alpha)^{n-1}]}{1+\alpha [(1+\alpha)^{n-1} + L(1+\alpha)^{n-1}]} = \frac{\alpha}{1+\alpha} \quad \alpha = \frac{[S]}{K_R} \text{ denean} = \frac{\frac{[S]}{K_R}}{1 + \frac{[S]}{K_R}}$$

$$Y_s = \frac{[S]}{K_R + [S]}$$

- 3- Egoera bakarra existitzen da, arrazoi ezberdinak direla medio:

A) L-ren balioa zeroruntz doa:

$$L = \frac{[T_0]}{[R_0]} = 0$$

$$[T_0] \llll [R_0] \rightarrow R$$

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)((1+\alpha)^{n-1} + L(1+c\alpha)^{n-1})}$$

$$\rightarrow Y_s = \frac{\alpha}{1+\alpha} = \frac{[S]}{K_R + [S]}$$

Sigmoidizitatea galtzen da, ez da konformazio aldaketarik emango eta irudikapen zuzenak hiperbola angeluzuzen aldeakidea ematen du.

B) L-ren balioa infinituruntz doa:

$$L = \frac{[T_0]}{[R_0]} = \infty$$

$$[T_0] \gggg [R_0] \rightarrow T$$

$$Y_s = \frac{c\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+c\alpha)^n} \rightarrow Y_s = \frac{c\alpha}{1+c\alpha} = \frac{[S]}{K_T + [S]}$$

Kasu honetan ere, sigmoidizitatea galtzen da, ez da konformazio aldaketarik emango eta irudikapen zuzenak hiperbola angeluzuzen aldeakidea ematen du.

C) Protomero bakarra dago (n=1)

Kasu teorikoa modeluaren aurka doa. Logikoki, n=1 denez ez dago kooperatibitatearik.

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+c\alpha)^n} = \frac{\alpha + Lc\alpha}{(1+\alpha) + L(1+c\alpha)} =$$

$$Y_s = \frac{\alpha(1+Lc)}{\alpha(1+Lc) + 1 + L} = \frac{\alpha}{\alpha + \frac{1+L}{1+Lc}} = \frac{\alpha}{\alpha + kte.}$$

- Egoera funtzioa:

[S] jakinean makromolekula zein egoeratan agertzen den jakin dezakegu, hau da R/T ratioa:

○ R forman dagoen makromolekularen frakzioa:

$$\bar{R} = \frac{[R]}{[M]_{TOT}} = \frac{[R_0] + [R_1] + [R_2] + [R_3] + [R_4]}{([R_0] + [R_1] + [R_2] + [R_3] + [R_4]) + ([T_0] + [T_1] + [T_2] + [T_3] + [T_4])}$$

➔ Espezie bakoitza R_0 , K_R eta $[S]$ -ren funtziopean adieraziz:

$$\bar{R} = \frac{[R_0] + \frac{4[R_0][S]}{K_R} + \frac{6[R_0][S]^2}{K_R^2} + \frac{4[R_0][S]^3}{K_R^3} + \frac{[R_0][S]^4}{K_R^4}}{\left([R_0] + \frac{4[R_0][S]}{K_R} + \frac{6[R_0][S]^2}{K_R^2} + \frac{4[R_0][S]^3}{K_R^3} + \frac{[R_0][S]^4}{K_R^4}\right) + \left([T_0] + \frac{4[T_0][S]}{K_T} + \frac{6[T_0][S]^2}{K_T^2} + \frac{4[T_0][S]^3}{K_T^3} + \frac{[T_0][S]^4}{K_T^4}\right)}$$

R

$_0$) dela kontuan hartuz eta forma bakoitza $[R_0]$ -ren menpe ipiniz, lehen definitu bezala:

$$\bar{R} = \frac{[R_0] \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^4}{[R_0] \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^4 + [T_0] \left(1 + \frac{[S]}{K_T}\right)^4} = \frac{(1 + \alpha)^n}{(1 + \alpha)^n + L(1 + \alpha\alpha)^n}$$

○ T forman dagoen makromolekularen frakzioa: $\bar{T} = 1 - \bar{R}$ denez:

$$\bar{T} = \frac{L \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^4}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^4 + L \left(1 + \frac{[S]}{K_T}\right)^4} = \frac{L(1 + \alpha\alpha)^n}{(1 + \alpha)^n + L(1 + \alpha\alpha)^n}$$

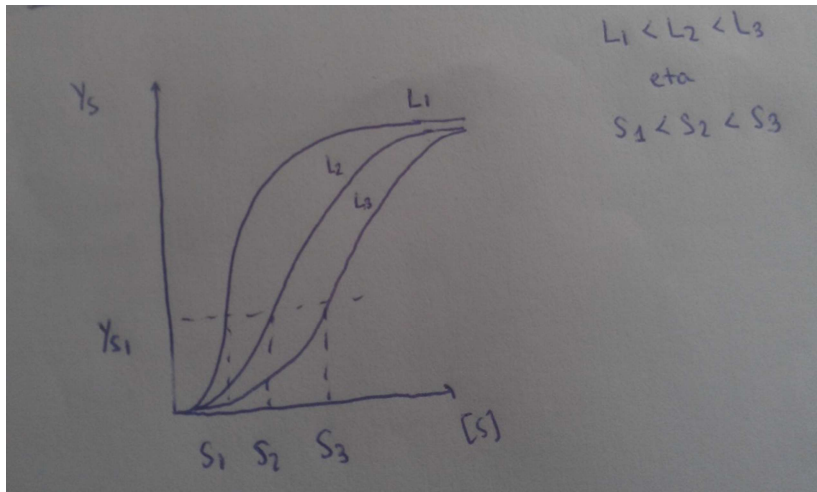
○ Bi konformazioen arteko erlazioa:

$$Q = \frac{\bar{R}}{\bar{T}} = \frac{\bar{R}}{1 - \bar{R}} = \frac{(1 + \alpha)^n}{L(1 + \alpha\alpha)^n}$$

- L eta c-ren efektua kooperatibitatean:

S-ren baturaren kooperatibitatea L eta c-ren menpekoak dira.

a) L handitzean T forma tentsoan egongo da makromolekula eta konformazio aldaketa gehiago egon beharko dira substratua batzeko. Sigmoidizitatea handitzen da eta asetze funtzioaren maila berean egoteko $[S]$ gehiago beharko da.



b) C txikia bada $K_T > K_R$ eta beraz, afinitate handiagoa edukiko du forma tentsoarekiko, sigmoidizitatea igoz.

1.2- EFEKTU HETEROTROPIKOAK:

-INHIBITZAILE ALOSTERIKOAK:

Inhibitzailea T zein R formari batuko da, baina beti T formarekiko afinitate gehiago edukiko du.

Disoziazio konstante mikroskopikoak:

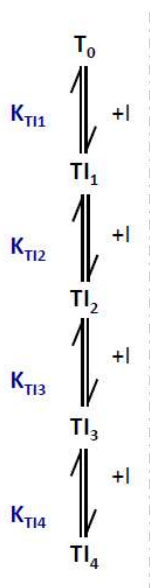
K_{Ti} eta K_{Ri} non, $K_{Ri} > K_{Ti}$.

Kasu honetan, inhibitzaileari dagokion batura ez-esklusiboaren koefizientea (f) eta kontzentrazioa espezifikoa (β) definituko ditugu:

$$f = \frac{K_{Ri}}{K_{Ti}} \quad K_{Ri} > K_{Ti} \quad \beta = \frac{[I]}{K_{Ti}} \quad \frac{\beta}{f} = \frac{[I]}{K_{Ri}}$$

L inhibitzaile baten presentzian, beraz:

$$L_I = \frac{\sum [T]}{\sum [R]} = \frac{[T_0] + [T_1] + [T_2] + [T_3] + [T_4]}{[R_0] + [R_1] + [R_2] + [R_3] + [R_4]}$$



Inhibitzaile Alosterikoak

- Konstante makroskopiko eta mikroskopikoen arteko erlazioa erabiliz:

$$K_{T1} = \frac{[T_0][S]}{[T_1]} = \frac{1}{4} K_{\pi} \rightarrow [T_1] = \frac{4[T_0][I]}{K_{\pi}}$$

$$K_{T2} = \frac{[T_1][I]}{[T_2]} = \frac{2}{3} K_{\pi} \rightarrow [T_2] = \frac{6[T_0][I]^2}{K_{\pi}^2}$$

$$K_{T3} = \frac{[T_2][I]}{[T_3]} = \frac{3}{2} K_{\pi} \rightarrow [T_3] = \frac{4[T_0][I]^3}{K_{\pi}^3}$$

$$K_{T4} = \frac{[T_3][I]}{[T_4]} = 4K_{\pi} \rightarrow [T_4] = \frac{[T_0][I]^4}{K_{\pi}^4}$$

$$L_1 = \frac{[T_0] + \frac{4[T_0][I]}{K_{\pi}} + \frac{6[T_0][I]^2}{K_{\pi}^2} + \frac{4[T_0][I]^3}{K_{\pi}^3} + \frac{[T_0][I]^4}{K_{\pi}^4}}{[R_0] + \frac{4[R_0][I]}{K_R} + \frac{6[R_0][I]^2}{K_R^2} + \frac{4[R_0][I]^3}{K_R^3} + \frac{[R_0][I]^4}{K_R^4}}$$

Edo:

$$L_I = \frac{[T_0]}{[R_0]} \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{\pi}}\right)^4}{\left(1 + \frac{[I]}{K_R}\right)^4} \rightarrow L_I = L \frac{(1 + \beta)^n}{\left(1 + \frac{\beta}{f}\right)^n}$$

$K_{Ti} < K_{Ri}$ denez, $[I] \neq 0$ denean, beti beteko da $L_I > L$. Beraz, inhibitzaile alosteriko baten presentzian, oreka forma trinkoruntz desplazatuko da, sigmoidizitatea handituko da eta ondorioz entzima asetzeko $[S]$ gehiago beharko da.

- a) Inhibitzailearen batura eskusiboa forma trinkoari ($f \approx \infty$)

$$K_{Ri} \gg K_{Ti} \quad f = \frac{K_{Ri}}{K_{Ti}} \cong 1 \quad \frac{\beta}{f} = \frac{[I]}{K_{Ri}} \approx 0$$

- Inhibitzailea forma trinkoari batuko zaio modu ia eskusiboan.

$$L_I = L \left(1 + \frac{[I]}{K_{\pi}}\right)^n = L(1 + \beta)^n$$

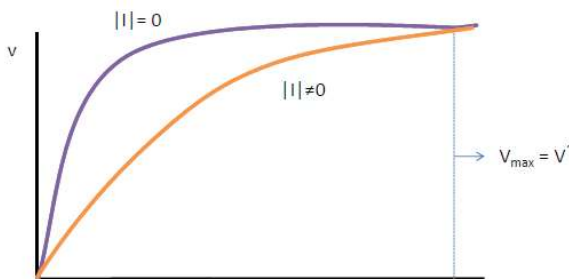
b) Substratuaren batura eskusiboa forma erlaxaturari : $c \approx 0$

$$K_R \llll K_T \quad c = \frac{K_R}{K_T} \approx 0$$

$$\boxed{Y_S = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L}} \xrightarrow{[I] \neq 0} \boxed{Y_S = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L_I}}$$

c) Inhibitzailearen batura eskusiboa forma trinkoari eta substratuaren batura eskusiboa forma erlaxatuari:

$$\begin{array}{l} S+R \longrightarrow K_R \llll K_T \\ I+T \longrightarrow K_R \gggg K_T \end{array} \quad \boxed{Y_S = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+\beta)^n}}$$



Inhibitzaile alosterikoak, beraz, nolabait asetzea zailtzen du. Inhibitzailearen kontzentrazioa igo ahala sigmoidizitatea igotzen da eta beraz [S] altuagoa beharko da asetze funtzio frakzional berera heltzeko. Inhibitzaile lehiako baten moduan jokatzeko duela esan dezakegu.

- AKTIBATZAILE ALOSTERIKOAK

Efektu heterotropiko positiboak eragingo dituzte, baina inhibitzaileentzat erabilitako eskema berdina jarraitu daiteke.

Molekula makromolekularen forma trinkora (T) edo erlaxatura (R) lotu daiteke, bigarren honek afinitate handiagoa izanez.

Batura ez eskusiboaren koefizientea (g), eta Kontzentrazio Espezifikoaren (γ) definizioak honako hauek dira aktibatzaileen kasuan:

$$g = \frac{K_{R_A}}{K_{T_A}} \quad \boxed{K_{R_A} < K_{T_A}} \quad \gamma = \frac{[A]}{K_{R_A}} \quad \gamma g = \frac{[A]}{K_{T_A}}$$

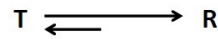
L aktibatzaile baten presentzia izanez gero, honako hau izango dugu

$$L_A = \frac{\sum [T]}{\sum [R]} = \frac{[T_0] + [TA_1] + [TA_2] + [TA_3] + [TA_4]}{[R_0] + [RA_1] + [RA_2] + [RA_3] + [RA_4]}$$

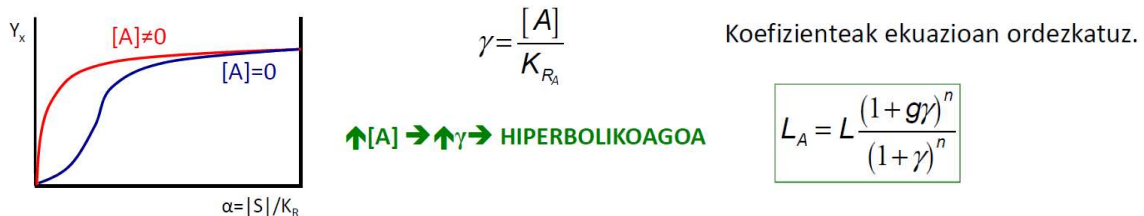
$$L_A = \frac{\sum[T]}{\sum[R]} = L \frac{(1 + \frac{[A]}{K_{TA}})^n}{(1 + \frac{[A]}{K_{RA}})^n}$$

$[A] \neq 0 \quad L_A < L$

Honen ondorioz, aktibatzaile alosterikoaren forma trinko eta erlaxatuaren oreka erlaxaturantz desplazatzen da.



Aktibatzailearen kontzentrazioa handitzerakoan, sigmoidizitatea galdu egiten da, kurba geroz eta hiperbolikoagoa da, ez baitago aldaketa konformazionalik. Eta ondorioz, kooperatibitatea galtzen da.



Oreka forma erlaxatura desplazatuta egotean, zentro gehiago egongo dira substratuarekiko afinitate handiagoarekin, eta horrela, substratuaren sarrera erraztu egingo da.

Aktibatzailearen batura eskusiboa denean forma erlaxatuari ($g \approx 0$), K_{TA} arbuigarria izango da.

$$K_{RA} \llll K_{TA} \quad g = \frac{K_{RA}}{K_{TA}} \cong 0 \quad \gamma g = \frac{[A]}{K_{TA}} \approx 0$$

$$L_A = \frac{L}{\left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n} = \frac{L}{(1 + \gamma)^n}$$

Forma erlaxatuarekiko batura eskusiboa aktibatzaileak izan beharrean substratuak duenean berriz ($c \approx 0$), K_T izango da arbuigarria, eta asetze funtzioa sinplifikatu egingo da.

$$K_R \llll K_T \quad c = \frac{K_R}{K_T} \cong 0$$

$$Y_S = \frac{\alpha(1 + \alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + L}$$

$\xrightarrow{[A] \neq 0}$

$$Y_S = \frac{\alpha(1 + \alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + L_A}$$

Substratua eta aktibatzailea forma erlaxatuarekiko batura eskusiboa izatea eman daiteke ere.

$$c = \frac{K_R}{K_T} \cong 0 \quad \gamma g = \frac{[A]}{K_{TA}} \approx 0$$

Kasu honetan, asetze frakzionalaren funtzioa honako hau izango da:

$$Y_S = \frac{\frac{[R_0][S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^{n-1} \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n}{[R_0] \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n + [T_0]} = \frac{\frac{[S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^{n-1} \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n + L}$$

* $[T_0] = L [R_0]$

EFEKTORE ALOSTERIKOEN BATURA

Kasu honetan, batera izango ditugu efektu heterotropiko positibo eta negatiboak. Protomero bakoitzean batura gune bat egongo da ligando bakoitzerako, S, A eta I-rentzko (3 batura gune guztira).

- **L inhibitzaile eta aktibatzaileen presentzia:**

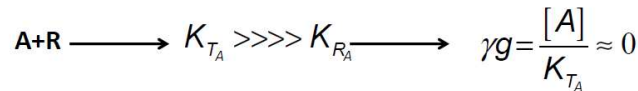
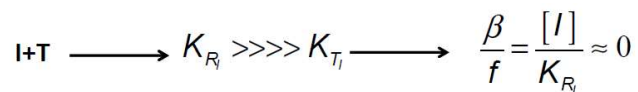
$$L_{AI} = \frac{\sum [T]}{\sum [R]} = \frac{[T_0] + [TA_1] + [TA_2] + [TA_3] + [TA_4] + [TI_1] + [TI_2] + [TI_3] + [TI_4]}{[R_0] + [RA_1] + [RA_2] + [RA_3] + [RA_4] + [RI_1] + [RI_2] + [RI_3] + [RI_4]}$$

-Edo:

$$L_{AI} = L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{TI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{TA}}\right)^n}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{RI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n} = L \frac{(1+\beta)^n (1+g\gamma)^n}{\left(1 + \frac{\beta}{f}\right)^n (1+\gamma)^n}$$

- Efektoreen batura eskusiboa:

Inhibitzailea modu eskusiboan batuko zaio forma trinkoari, aktibatzailea berriz, modu eskusiboan batuko da ere, baina forma erlaxatuari.



-Beraz:

$$L_{AI} = L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{TI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{TA}}\right)^n}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{RI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n} = L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{TI}}\right)^n}{\left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n} = L \frac{(1+\beta)^n}{(1+\gamma)^n}$$

- Substratuaren batura eskusiboa ematen bada ere forma erlaxatura:

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+c\alpha)^n} \rightarrow Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L_{Al}} = \boxed{\frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L \frac{(1+\beta)^n}{(1+\gamma)^n}}}$$

-Kontzentrazioak erabiliz:

$$Y_s = \frac{\frac{[S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^{n-1}}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^n + L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n}{\left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n}}$$

Hiru ligandoek batura eskusiboa aurkezten dutenean.

- Substratuaren batura eskusiboa forma erlaxatuari ($c \approx 0$), baino aktibatzaile eta inhibitzailearen batura ez eskusiboa:

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L_{Al}} = \boxed{\frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L \frac{(1+\beta)^n (1+g\gamma)^n}{\left(1 + \frac{\beta}{f}\right)^n (1+\gamma)^n}}}$$

-Kontzentrazioak erabiliz:

$$Y_s = \frac{\frac{[S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^{n-1}}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^n + L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{TA}}\right)^n}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{RI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n}}$$

- Substratuaren, aktibatzailearen eta inhibitzailearen batura ez eskusiboa:

Hiru ligandoak forma erlaxatu zein trinkoari batu daitezke.

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L(1+c\alpha)^n} \rightarrow \boxed{\frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + L_{Al}c\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L_{Al}(1+c\alpha)^n}}$$

-Edo:

$$Y_s = \frac{\alpha(1+\alpha)^{n-1} + L \frac{(1+\beta)^n (1+g\gamma)^n}{\left(1 + \frac{\beta}{f}\right)^n (1+\gamma)^n} c\alpha(1+c\alpha)^{n-1}}{(1+\alpha)^n + L \frac{(1+\beta)^n (1+g\gamma)^n}{\left(1 + \frac{\beta}{f}\right)^n (1+\gamma)^n} (1+c\alpha)^n}$$

$$\begin{array}{l}
 [R_0] \\
 [R_0A_1] \\
 [R_0A_2] \\
 [R_0A_3] \\
 [R_0A_4]
 \end{array}
 \left\{
 \begin{array}{l}
 \text{labortutur} \Rightarrow [R_0] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4
 \end{array}
 \right.$$

$$\begin{array}{l}
 [R_0] \quad [R_1] \quad [R_2] \quad [R_3] \quad [R_4] \\
 [R_0A_1] \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \\
 [R_0A_2] \\
 \dots
 \end{array}
 \left\{
 \begin{array}{l}
 \text{labortutur} \Rightarrow [R_0] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4 + [R_1] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4 + \\
 + [R_2] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4 + [R_3] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4 + [R_4] \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4
 \end{array}
 \right.$$

$$\boxed{R_0 \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^4 \left(1 + \frac{[A]}{K_{EA}}\right)^4} \quad \leftarrow \text{LABORUTUR}$$

Kontzentrazioak erabiliz:

$$Y_S = \frac{\frac{[S]}{K_R} \left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^{n-1} + L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{TI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{TA}}\right)^n [S] \left(1 + \frac{[S]}{K_T}\right)^{n-1}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{RI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n K_T}}{\left(1 + \frac{[S]}{K_R}\right)^n + L \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{TI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{TA}}\right)^n \left(1 + \frac{[S]}{K_T}\right)^n}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{RI}}\right)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_{RA}}\right)^n}}$$

Funtzio hau jarraituko luke Hemoglobinak bere Aktibatzaile eta Inhibitzaileen presentzian aurkitzen denean.

→ Hau K sistema bezala izendatu zuten

K sistema honetan, makromolekularen forma trinko eta erlaxatuaren afinitatea aldatu egiten da ligandoekiko. Honen ondorioz, konstante mikroskopikoak desberdinak izango dira. $K_R \neq K_T$

Produktibitate bera dutenez, konstante katalitikoak berdinak izango dira. $K_R = K_T$

Efektoreek K_m aldatuko dute, baina ez V_{max} . **Aktibatzaileak** K_m -a txikituko du makromolekularen afinitatea S-rekiko handituz. Aktibatzaile baten presentzian Hemoglobinareneko O_2 -rekiko afinitatea handitu egingo da (aktibatzaile lehiakor baten antza izango du).

Inhibitzaileak berriz, K_m -a handituko du makromolekularen afinitatea S-rekiko txikituz. Inhibitzaile baten presentzian Hemoglobinareneko O_2 -rekiko afinitatea txikitu egingo da (inhibitzaile lehiakor baten antza izango du).

V sisteman, makromolekularen forma trinko eta erlaxatuak afinitate berdina izango dute ligandoekiko, baina kasu honetan, produktibitatea desberdina izango da.

Beraz, konstante mikroskopikoak berdinak izango dira oraingoan, $K_R = K_T$. Konstante katalitikoak berriz, desberdinak; $K_R \neq K_T$.

Abiadura maximoa aldatu egingo da, eta aktibatzaile zein inhibitzaileek ez lehiako modura jokatuko dute.

2. KOSHLAND, NEMETHY ETA FILMER (1966). "INTERAKZIO SEKUENTZIALAK".

Modelo hau, Koshland-ek 1958-an proposatutako "Eragindako Doikuntzaren" modeloaren, Adair-en (1925) modeloaren eta Pauling-ek (1925) proposatutako modeloen jarraipen bat bezala hartzen da.

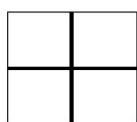
Adair eta Pauling-en modelotik desberdintzen da, modelo honetan ligandoaren baturak ez duelako zertan beste batura gune huts guztien afinitatea modu berean aldatu behar.

Monod, Wyman eta Changeux-en modelotik ere desberdintzen da, kasu honetan oligomeroaren simetria ez delako mantentzen ligandoa batu eta gero.

Modelo honek efektu homotropiko positibo zein negatiboak azaltzen ditu, baita heterotropikoak ere.

- Modeloaren printzipioak:

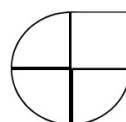
- Proteina alosteriko eta kooperatibo guztiak polimeroak dira, protomero kopuru finito batez osatuak. Ligandoa batzeak ez du zertan modu berean eragin beharrik inguruko batura guneetan, ez du zertan simetria mantendu beharrik. Forma trinko (T) eta erlaxatuaz (R) gain, forma hibridoak (H) ere aurki daitezke.



T



R



H

- Protomero bakoitza konformazio desberdinetan egon daiteke (ez daude bi bakarrik), eta ez dute derrigorrez orekan egon behar. Protomero bat aldatzeak ez du esan nahi protomero osoaren konformazioa aldatzen denik.
- Protomero baten konformazioa batuta dauden ligandoen kopuru eta izaeraren arabera izango da.
 - Hutsik dagoenean A konformazioan.
 - Ligandoa edo/eta aktibatzailea batuta, B konformazioan.
 - Inhibitzailea batzerakoan, C konformazioan.



A



B

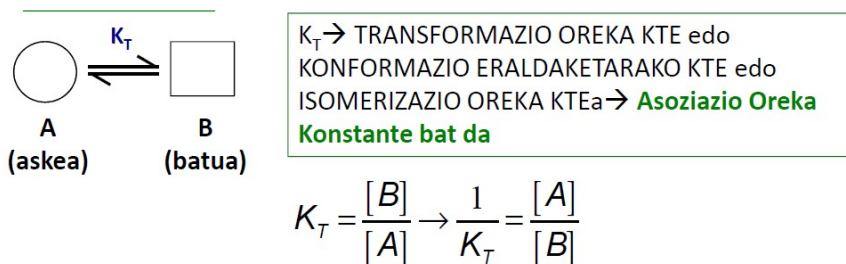


C

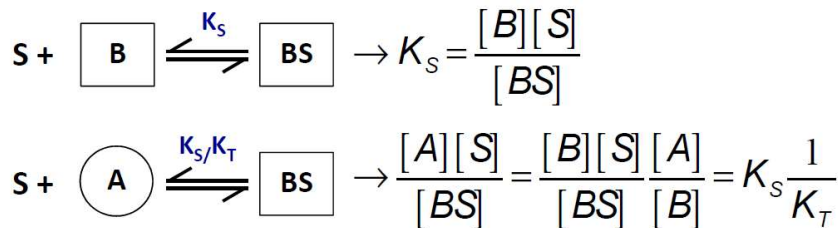
4. Protomero baten konformazio aldaketak, hutsik dauden beste protomeroen ligandoarekiko afinitatean eragiten du. Kasu honetan, kooperatibitatea, protomeroaren elkarrekintzen ondorioz azaltzen da.

- Ligandoaren baturak egonkortzen badu, afinitatea handitu egingo da.
→ **Kooperatibitate positiboa.**
- Ligandoaren baturak desegonkortzen badu, afinitatea txikitu egingo da. → **Kooperatibitate negatiboa.**

- Protomeroa: K_T , asoziazio konstante baten moduan definitzen da.



Transformazioaz gain, ligandoaren batura ere gertatzen da (konformazio aldaketa eta S batura batera):

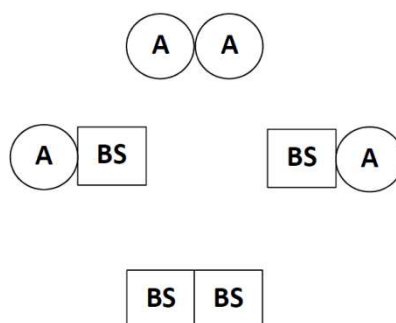


Protomeroa hutsik dagoenean, A konformazioa izango du, eta substratua batuz gero, B konformazioa hartuko du. Bi gertaera pauso ematen direnez oreka honetan (substratuaren batura eta konformazio aldaketa), oreka definitzeko orduan, bi prozesuak hartu behar dira kontuan.

- Dimeroa: Dimeroak bi protomeroz osatuak daude.

Efektu homotropikoa aztertuko dugu, hau da, substratua eta aktibatzailea bakarrik izango ditugu.

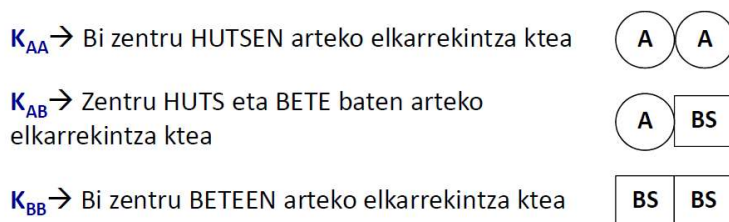
Konformazio aldaketa sekuentziala egongo da. Protomeroa hutsik dagoenean, lehen bezala A konformazioa izango du. Baina substratu bat gehituta, bi protomero horietako bat konformazioz aldatuko da, eta bigarrenak hutsik jarraitzen duenez, hasierako konformazioa mantenduko du. Beste substratu bat gehituz gero, bigarren protomeroa ere konformazioz aldatuko da.



Hiru prozesuetan ematen dira: Ligandoaren batura, konformazio aldaketa eta protomeroen arteko elkarrekintzak.

Substratuaren baturak, beste protomeroaren **egonkortasunean** eragin dezake. Egonkortasuna azpiunitateen (protomero) arteko elkarrekintza da, eta honek, zentro hutsen eta ligandoen arteko disoziazioari (afinitateari) eragingo dio.

Egonkortasun hau konstante batzuen bidez definitu daiteke, eta elkarrekintza konstante hauek, elkarrekiten duten protomeroaren arabera.



Konstante hauek ez dute zertan berdinak izan behar. Zentro horietan kooperatibitatea dagoen edo ez jakiten lagunduko digute, baita kooperatibitate hori positiboa edo negatiboa den.

Guretzat erreferentzia K_{AA} izango da, zentroak substratu edo ligando (S) gabe daudenean ez dute beraien artean elkarrekiten, eta bere balioa batekoa dela esango dugu. $K_{AA} = 1$

Konformazio aldaketak egonkortasunean duen eragina aztertu nahi dugu, beraz K_{AB} (substratu bat batuta duenean) hutsik dagoenean baino handiagoa bada, kooperatibitate positiboa dagoela esango dugu, eta beraz bigarren substratuaren batura erraztuko du. $K_{AB} > 1$

Kontrako kasuan, K_{AB} txikiagoa bada, substratua batzean desegonkortuagoa egongo da, beraz zildu egiten du hurrengo substratuaren batura, eta kooperatibitate negatiboa dagoela esango dugu. $K_{AB} < 1$

K_{BB} –rekin berdina gertatuko da, bat baino handiagoa bada, egonkortuagoa egongo da, beraz kooperatibitate positibo purua izango dugu. $K_{BB} > 1$

Honen kontrako kasuan, alderantziz gertatuko da, BB elkarrekintza desegonkorragoa izango da AA baino. $K_{BB} < 1$

K_{AB} eta K_{BB} konstanteek (asoziazioak) analogia dute Wong-Endrenyi-ren modeloan definitutako elkarrekintza faktoreekin (a, b, c...). Erlazionaturik daude faktore eta konstante horiek, substratu bat batzeak beste batura guneen egonkortasunean eragina du.

$K_{AB} \geq 1$ eta $K_{BB} > K_{AB} \rightarrow$ KOOPERATIBITATE POSITIBO PURUA

$K_{AB} > 1$ eta $K_{BB} \leq 1 \rightarrow$ KOOPERATIBITATE MISTOA

$K_{AB} < 1$ eta $K_{BB} < K_{AB} \rightarrow$ KOOPERATIBITATE NEGATIBO PURUA

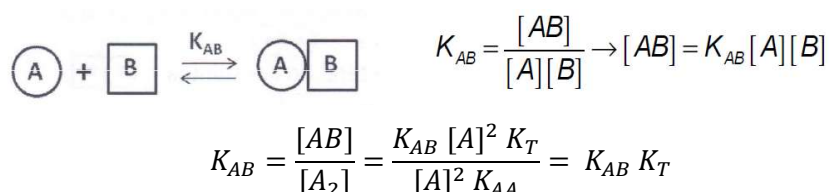
$K_{AB} = K_{AB} = K_{BB} = 1 \rightarrow$ Ez da zentroen arteko inongo elkarrekintzarik egongo = ez da kooperatibitaterik emango

- Azpiunitateen arteko elkarrekintza transformazioaren ondorioz:

Bi protomero hutsen elkarrekintza aztertzerakoan, asoziazio aldea definituz (K_{AA}), lehen esan bezala konstante honen balioa 1 moduan definituko dugu. Ez dago transformaziorik, produktu eta errektiboak berdinak dira.



Hutsik dagoen bat (A), beteta dagoen batekin (B) elkartzen denean, K_{AB} asoziazio erreakzioaren konstantea definituko dugu. Transformazio bat dago A eta B-ren artean eta ondorioz elkarrekintza ere aldatu egingo dira.



Biak beteta daudenean, K_{BB} asoziazio erreakzioaren konstantea definituko dugu.

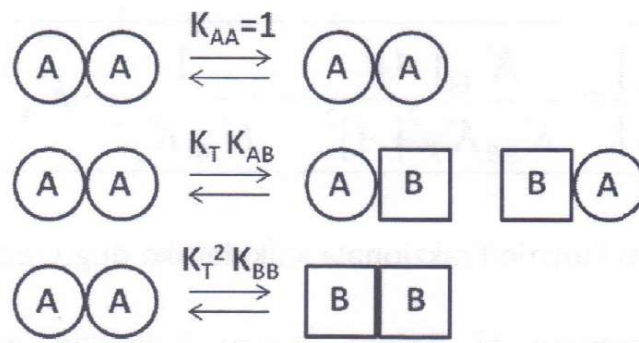


$$K_{AB} = \frac{[B_2]}{[A_2]} = \frac{K_{BB} [A]^2 K_T}{[A]^2 K_{AA}} = K_{BB} K_T$$

Aurretik aipatutako transformazioaren konstantea (K_T), B-ren eta A-ren kontzentrazioaren baitan jarri dezakegu:

$$K_T = \frac{[B]}{[A]} \rightarrow [B] = K_T [A] \quad \Rightarrow \quad \begin{cases} [A_2] = K_{AA} [A]^2 \\ [AB] = K_{AB} [A]^2 K_T \\ [B_2] = K_{BB} [A]^2 K_T^2 \end{cases}$$

Ondorengo erreakzioak kontuan hartuta, hauen oreka konstanteak definituko ditugu. Asoziazio aldera definituta, produktuak zati errektiboak egin beharko dugu.



Lehengo erreakzioaren kasuan, $\frac{[A_2]}{[A]^2} = 1$ izango dugu, ez da ezer gertatzen ari, hau da, produktu eta erreaktibo berdinak ditugu.

Bigarren erreakzioan, transformazio bat ematen ari da, beraz elkarrekintza ere aldatu egiten da. A protomero baten transformazioa ematen ari da, A eta B-ren arteko elkarrekintza aldaketa bat.

Hirugarrenaren kasuan, bi protomeroen transformazioa emango da, beraz transformazio konstantea K_T^2 izango da.

$$\frac{[AB]}{[A_2]} = \frac{K_{AB} K_T [A]^2}{K_{AA} [A]^2} = K_T K_{AB}$$

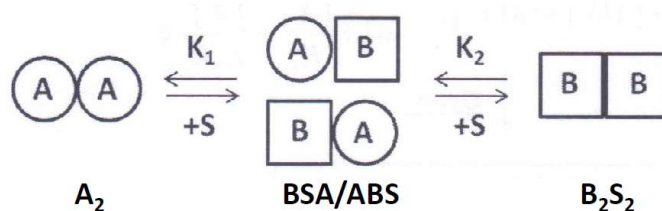
$$\frac{[B_2]}{[A_2]} = \frac{K_{BB} K_T^2 [A]^2}{K_{AA} [A]^2} = K_{BB} K_T^2$$

1, K_T , K_{AB} , K_T^2 , K_{BB} , konformazio bakoitza (AB edo BB) dimero askearekin (AA) erlazionatzen dituzten konstanteak izango dira.

- Ligandoaren batura:

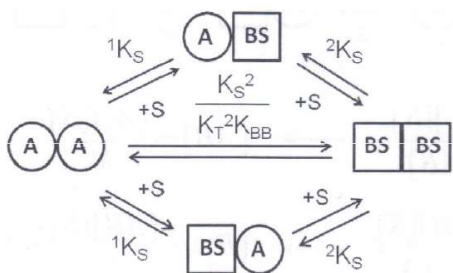
Transformazioa eman ahal izateko, ligandoaren batura eman behar da, beraz dimero hutsetik hasita, substratu baten batura emango da, ondoren bigarrena, eta azkenik asetutako molekulara iritsiko gara.

Erreakzio honetan bi disoziazio konstante makroskopiko definitu ditzakegu, K_1 eta K_2 .



Erdiko produktua bi modutan definitu daiteke, substratua bietako batura gune batean batu baitaiteke.

Konstante makroskopikoez aparte, mikroskopikoak ere izango ditugu. 1K_S definitzeko (lehenengo ligandoaren disoziazio konstantea), ABS-ren disoziazioa hartu beharko dugu kontuan, hau da, produktua A_2 izango da, eta errektiboa berriz, AB.



Hauek disoziazioak izanik, aurretik definitutako asoziazioei buelta eman beharko diegu, hau da, lehen $\frac{AB}{A_2}$ zena adibidez, orain $\frac{A_2}{AB}$ izango da.

$$^1K_S = \frac{[A_2]}{[AB]} = \frac{K_{AA}[A]^2}{K_{AB}K_T[A]^2} = \frac{1}{K_{AB}K_T} K_S \rightarrow ^1K_S = \frac{K_S}{K_{AB}K_T}$$

$$^2K_S = \frac{[AB]}{[B_2]} = \frac{K_{AB}K_T[A]^2}{K_{BB}K_T^2[A]^2} = \frac{K_{AB}}{K_{BB}K_T} K_S \rightarrow ^2K_S = \frac{K_S K_{AB}}{K_{BB}K_T}$$

AA konformaziotik (A_2) zuzenean BB konformaziora pasatzen bagara (B_2), hau da erreakzioa pauso batean emanda, bi erreakzioen batura bat izango dugu, bi konstanteen biderketa.

$$^1K_S ^2K_S = \frac{[A_2]}{[B_2]} = \frac{K_{AA}[A]^2}{K_{BB}K_T^2[A]^2} = \frac{1}{K_{BB}K_T^2} K_S^2 = \frac{K_S^2}{K_{BB}K_T^2}$$

Oreka konstante makroskopiko eta mikroskopikoak definituak izanda, asetze funtzio frakzionala definitu ahal izango dugu (bi batura zentro baliokide eta menpeko dituen makromolekula batentzat).

$$Y_X = \frac{[MX] + 2[MX_2]}{2([M] + [MX] + [MX_2])} = \frac{\frac{[X]}{K_1} + \frac{2[X]^2}{K_1K_2}}{2\left(1 + \frac{[X]}{K_1} + \frac{[X]^2}{K_1K_2}\right)} \longrightarrow Y_S = \frac{[AB] + 2[B_2]}{2([A_2] + [AB] + [B_2])}$$

Bigarren berdintza, konstante makroskopikoen baitan jarrita izango da.

Bigarren ligandoaren disoziazio kontantea, lehenengo ligandoaren disoziazio konstantearekin erlazionatzen da elkarrekintza konstantearen (a) bidez. Honek makromolekularen egonkortasunari buruzko informazioa emango digu, kooperatibitate mota zehaztea baimenduz.

$$^1K_S = \frac{K_S}{K_{AB} K_T} \quad ^2K_S = \frac{K_S K_{AB}}{K_{BB} K_T} \quad \longrightarrow \quad a = \frac{\frac{K_S K_{AB}}{K_{BB} K_T}}{\frac{K_S}{K_{AB} K_T}} = \frac{K_S K_{AB} K_{AB} K_T}{K_{BB} K_T K_S} = \frac{K_{AB}^2}{K_{BB}}$$

$$^2K_S = a^1K_S$$

$$a = \frac{K_{AB}^2}{K_{BB}}$$

- ✓ **a>1** denean, $K_{BB} < K_{AB}^2$ izango da, eta menpeko zentroak izango ditugu, **kooperatibitate negatibo**arekin. Kasu honetan makromolekula egonkorragoa da substratu batekin lotuta birekin baino. Hau da, lehenengoaren loturak bigarrenarena oztopatzen du.
- ✓ **a<1** denean, $K_{BB} > K_{AB}^2$ izango da, eta menpeko zentroak izango ditugu, **kooperatibitate positibo**arekin. Kasu honetan, makromolekula egonkorragoa da bi substraturekin lotuta batekin baino, beraz, lehenengoaren loturak bigarrenarena errazten du.
- ✓ **a=1** denean, $K_{BB} = K_{AB}^2$ izango da, eta **zentro independenteak** izango ditugu. Kasu honetan substratu baten loturak ez du bestearen loturan eraginik izango.

- Efektu homotropikoa → eredu tetramerikoa

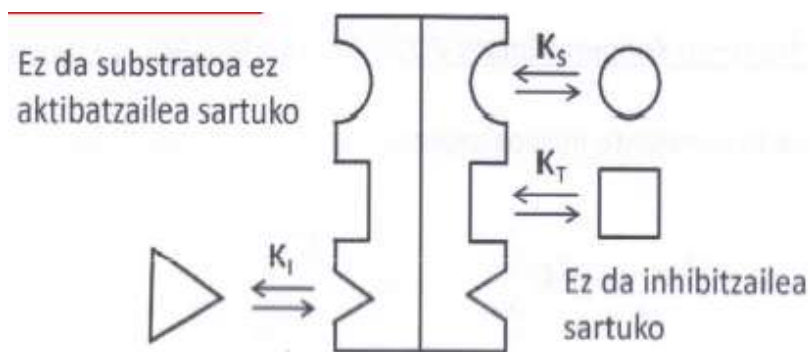
Modelo hau hemoglobinarekin kasura aplikatutakoa da, kasu tetramerikoa. Protomeroen arteko distantzia berdina da, simetrikoki kokatuta daude espazioan eta euren arteko elkarrekintzak berdinak izango dira. Beraz, substratua edozein protomerora afinitate berdinarekin lotuko da, eta ondorioz lotura ezberdinak emango dira konformazio ezberdinak lortuz: A₄, A₃B, A₂B₂S₂, AB₃S₃, B₄S₄.

- Efektu heterotropikoak

Orain arte substratuaren batura soilik hartu dugu kontuan (efektu homotropikoa) eta orain aktibatzaile zein inhibitzaileen baturak ere hartuko ditugu (efektu heterotropikoa). Beraz, dimero bati aktibatzaile edo inhibitzaile bat lotzeko prozesua aztertuko dugu.

Protomeroa hutsa dagoenean ligando ezberdinak lotu ahalko zaizkio: substratua (S), aktibatzailea (T=A. T erabili ohi da, A protomero hutsaren konformazioari dagokiolako) eta inhibitzailea (I). Eta lotzen zaion ligandoaren arabera protomeroa hiru konformazio ezberdinetan egon daiteke: A ligando gabe, B substratu edo aktibatzaileari batuta eta C

Nola eragiten diote ligandoek protomero baten konformazioari? Atik Brako eta Atik Crako aldaketak K_T konstanteak zuzentzen ditu, zeina ematen den aldaketaren arabera K_{TAB} edo K_{TAC} izango den. Hala ere, inhibitzailea protomero bati lotzen zaionean ezingo dira aktibatzaile eta substratua lotu protomero horretara, eta ezingo da aktiboa izan. Izan ere, protomero bat aktibo izateko modu bakarra substratua lotuta izatea da. Beraz, ematen diren baturen arabera, protomeroen forma ezberdinak lortuko ditugu, eta ondorioz dimeroarenak ere bai: ABS, B_2S_2 , B_2ST , $BSCI$, $BSTCI$, B_2ST_2 , B_2S_2T , $B_2S_2T_2$.

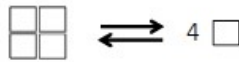


Normalean makromolekula gehienak aktibitate kooperatiboa Monod-en eta Koshland-en modeloen bidez deskribatzen dira, Monod-enak efektu homotropikoak eta Koshland-enak efektu heterotropikoak hobeto azaltzen dituztelarik. Hala ere, badaude hainbat salbuespen ezin direnak bi modelo hauen bidez azaldu:

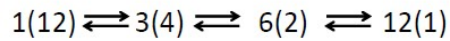
- Kooperatibitatea azaltzen duten monomeroak, nahiz eta monomeroak izanik ezin duten zentroen arteko elkarrekintzarik izan.
- Histerisia. Kooperatibiterik izan gabe zinetika sigmoideak dituzten entzimak. Kasu hauetan asetze funtzioei erreparatuz nahiz eta kooperatibitatea dagoela dirudien, gertatzen dena da makromolekulei asko kostatzen zaiela substratuari lotu eta asetzea, baita konformazio aldaketak ematea ere. Hau isomerizatzen diren edo afinitate txikia duten entzimetan gerta daiteke.

Asoziazio-disoziazio modeloa

Modelo hau Friedem eta Kurganow-ek planteatu zuten 1967an, disoziatzeko gai diren proteinen portaera alosterikoa azaltzeko. Izan ere, monomero bat izan edo polimero bat izan ez dugu aktibitate berdina ikusiko, substratuarekiko afinitatea ezberdina izango da.



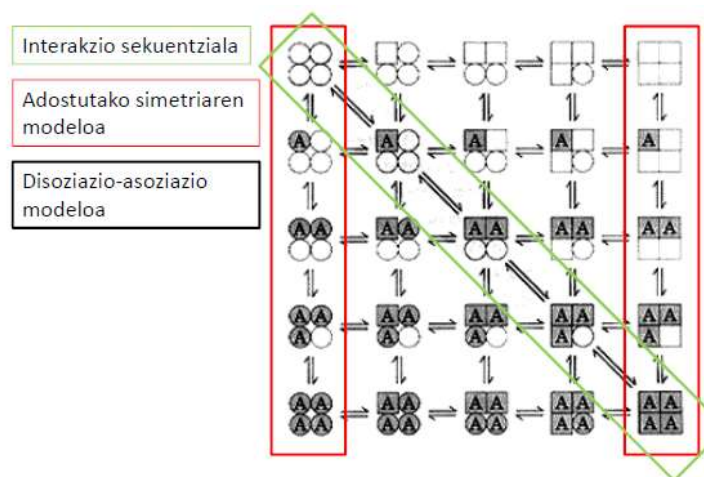
Glutamina sintasaren kasuan, esaterako. Kasu honetan monomeroa ez da aktiboa eta polimeroa (dodekameroa) bai. Beraz, bata eta bestearen arteko proportzio ezberdinetako nahasteek aktibitate ezberdinak azalduko dituzte.



Askotan polimerizazio maila proteina kontzentrazioaren menpekoa da. Diluitzen badugu, proteinak monomerizatzeko joera izango du, eta kontzentrazioak igotzean aldiz, polimerizatu eta baita agregatzeko joera izango du. Lortuko dugun zinetika beraz, nahaste horren menpekoa izango da, eta nagusitzen den formari dagokio, hau da, frakzio handiena duen proteinaren formarena izango da. Hau hainbat faktoreekin jokatzuz aldatu ahal izango dugu: pH, indar ionikoa eta substratu kontzentrazioa.

Modelo orokortua

Esan bezala, nahiz eta normalean oinarritzko bi modeloak erabiltzen diren entzimen zinetika edo portaera deskribatzeko, *modelo orokortua* ere badago. Modelo bat bestearen egoera berezitat hartzen da, guztiak batu eta modelo bakar bat eraikiz. Ondorioz, modelo honen barnean gure makromolekulak duen zinetikaren arabera modu batera edo bestera ulertu beharko genuke, prozesu edo makromolekula bakoitzak izaera ezberdina izango duelako.

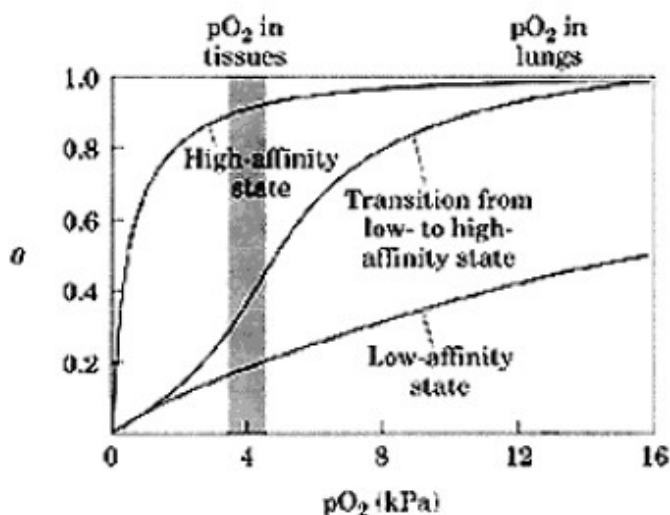


Gorritz markatutako erreakzioak Adostutako simetriaren modeloari dagozkie, diagonalean berdez markatutako erreakzioak interakzio sekuentzial modeloari dagozkie, eta azkenik gainontzeko guztiak disoziazio-asoziazio modeloari, zeinek hibrido ezberdinak emango dituzten. Hau guztia orekan egongo da.

Modelo orokortu hau orokorrean tetrameroen kasuan aplika daiteke. Esaterako, hemoglobinarekin kasua:

Grafikoan Y ardatzean asetze funtzio frakzionala eta x ardatzean oxigenoaren presio partziala ditugu, eta hemoglobinarekin funtzionamendua azaltzen da.

Hemoglobina biriketara iristen denean bertako presio partzialean asetu egiten da eta odolera garraiatzen da. Bertan ez du oxigenoa askatzeko joerarik izango, baina grafikoan ikusten den moduan, asetze funtzioa jaitsi egiten da grafikoko sigmoidea eraginez. Horrela hemoglobinarekin oxigenoa askatzeko joera handitu egiten da, odolean oxigenoa askatzea erraztuz.



8

Bigarren grafiko honetan fosfoglizeratua daukagu, hemoglobinarekin inhibitzailea alosterikoa. Honek hemoglobinarekin forma tentsoa egonkortzen du, sigmoidizitate hori handituz. Ondorioz, biriketan hemoglobina gutxiago asetuko da, nahiz eta kasu honetan ez dagoen diferentzia handirik. Hala ere, odolean asetze funtzio hori askoz gehiago jaisten da, horrela odolean oxigeno gehiago askatuz. Inhibitzaile honen honen sintesia oxigeno presio partzial oso baxuetan gaudenean ematen da (altuera handietan, adibidez) ingurunean oxigeno gutxi egon arren proteina guztiz asetu eta horrela odolean oxigeno gehiago askatu ahal izateko.

