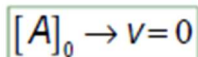


10.GAIA:AKTIBAZIO ENTZIMATIKOA

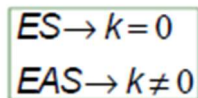
SARRERA

Aktibatzaile Entzimakoak (A) entzima batek katalizatutako erreakzio baten abiadura handitzen duten efektoreak dira. Bi motatako efektoreak daude:

1. **Aktibatzaile Esentzialak:** Erreakzio gertatu ahal izateko substratua zein aktibatzailea batuta egon behar dira. Aktibatzailerik gabe, ez da erreakziorik gertatuko, hau da, erreakzioaren abiadura zero izango da Aktibatzaile esentzialen adibide tipikoa dira ioiak.

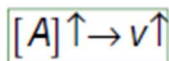
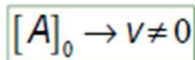


Benetazko substratua, substratu-aktibatzaile (AS) konplexu bitarra izango da. A normalean ioi metaliko bat izaten da, adibidez, $ATP-Mg^{2+}$.



Katalitikoki aktiboa den bakarra EAS konplexua da.

2. **Aktibatzaile Ez- esentziala:** Erreakzio aktibatzailerik gabe eman daiteke, baina erreakzio motelagoa izango da. Aktibatzaile gabe ere aktibo daude, abiadura ez da 0 izango, baina aktibatzailearen presentzian erreakzio azkartuko da.



1.Aktibazio Esentziala

Aktibazio esentzialaren barruan 2 sistema ezberdin banatu ditzakegu:

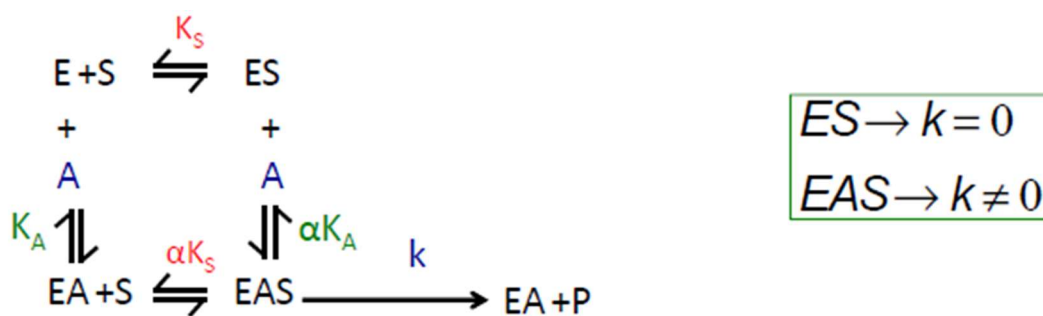
1.SISTEMA

Entzimak 2 lotura gune izango ditu, bat S-rentzat eta beste bat A-rentzat. Zentroak **dependenteak** edo **independenteak** izan daitezke.

Substratua entzimari batzerakoan zentruaren arabera bi gauza gertatu daitezke:

- Dependenteak: A-ren batura erraztu edo oztopatu dezake substratuak.
- Independenteak: Substatua batzeak ez dauka inongo eraginik aktibatzailearen batzean.

Sistemaren eskema ondokoa da:



Ikusten den bezala, EAS soilik den arren konplexu produktiboa, hori lortzeko ez da beharrezkoa orden zehatz bat jarraitzea ligandoen baturak. Sistema honen oinarria honetan datza.
 2.Sisteman aldiz orden zehatz bat jarraitu beharra dago.

α hartzen duen balioaren arabera kasu desberdinak emango dira.

-Disoziazio kte.-ak:

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

$$\alpha K_S = \frac{[EA][S]}{[EAS]}$$

$$K_A = \frac{[E][A]}{[EA]}$$

$$\alpha K_A = \frac{[ES][A]}{[EAS]}$$

-Erreakzioaren abiadura:

$$v = k[EAS]$$

-Entzima totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EA] + [ES] + [EAS]$$

Entzimaren espezie bakoitza E-funtzioan adieraziko dugu:

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

$$[EA] = \frac{[E][A]}{K_A}$$

$$[EAS] = \frac{[S][A][E]}{K_S \alpha K_A}$$

Espezie guztiak horrela jarrita, orain entzima totalaren ekuazioan ordezkatu ditzakegu:

$$[E]_{TOT} = [E] \left(1 + \frac{[S]}{K_S} + \frac{[A]}{K_A} + \frac{[S][A]}{K_S \alpha K_A} \right)$$

Abiadura ekuazioaren garapena:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{K[EAS]}{K[E]_{\text{tot}}} = \frac{\frac{[E][A][S]}{\alpha K_S K_A}}{[E] + \frac{[E][A]}{K_A} + \frac{[E][S]}{K_S} + \frac{[E][S][A]}{\alpha K_S K_A}}$$

$$V = \frac{[S] V_{\max} \frac{[A]}{\alpha K_A}}{K_S + \frac{K_S [A]}{K_A} + [S] + [S] \frac{[A]}{\alpha K_A}} = \frac{V_{\max} \frac{[A]}{\alpha K_A} [S]}{K_S \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right) + [S] \left(1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}\right)} \Rightarrow$$

$$V = \frac{V_{\max} \left(\frac{\frac{[A]}{\alpha K_A}}{1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}} \right) [S]}{K_S \left(\frac{1 + \frac{[A]}{K_A}}{1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}} \right) + [S]} = \frac{V'_{\max} [S]}{K'_S + [S]}$$

$$\begin{aligned} V'_{\max} &\neq V_{\max} \\ K'_S &\neq K_S \end{aligned}$$

Entzima aktibatzailez saturatzen orduan entzimak izan dezakeen abiadura handiena lortuko dugu, hau da, $[A] = \infty$ denean:

$$\begin{aligned} V'_{\max} &= V_{\max} \\ K'_S &= \alpha K_S \end{aligned}$$

Aktibatzaile kontzentrazioa ez denean saturatzailea, $[A] < \infty$ orduan:

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

1. Sistemaren barnean, menpekotasun ezberdina edota menpekotasunik ez duten zentruak aurkituko ditugu. **Jarraian azaldutako mekanismo guztietan ekuazioak berdinak izango dira, hori ez da aldatzen, baina α -ren balioa aldatuko da, eta hortaz mekanismoa aldatuko da.**

Alderantzizko bikoitzaren garapena eta bere irudikapen sekundarioak:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_s \left(1 + \frac{|A|}{K_A} \right) + |S|}{V_{max} \left(\frac{|A|}{\alpha K_A} \right) |S|} = \frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{|A|}{K_A} \right) \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}} \left(\frac{1 + \frac{|A|}{\alpha K_A}}{\frac{|A|}{\alpha K_A}} \right)$$

$$m = \frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{|A|}{K_A} \right) = \frac{K_s}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} + \frac{K_s}{V_{max}} \frac{\left(\frac{|A|}{K_A} \right)}{\left(\frac{|A|}{\alpha K_A} \right)} =$$

$$= \frac{K_s \cdot \alpha K_A}{V_{max}} \cdot \frac{1}{|A|} + \frac{K_s \alpha}{V_{max}}$$

$$b = \frac{\left(1 + \frac{|A|}{\alpha K_A} \right)}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} = \frac{1}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} + \frac{\frac{|A|}{\alpha K_A}}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} = \frac{\alpha K_A}{V_{max}} \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}}$$

Dixonen Analogoa

Dixonen Analogoa

$$\frac{1}{v} = \frac{K_s}{V_{max}} \frac{\left(1 + \frac{|A|}{K_A} \right)}{\left(\frac{|A|}{\alpha K_A} \right)} \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}} \frac{\left(1 + \frac{|A|}{\alpha K_A} \right)}{\left(\frac{|A|}{\alpha K_A} \right)} =$$

$$= \frac{K_s}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A} |S|} + \frac{K_s \frac{|A|}{K_A}}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A} |S|} + \frac{1}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} + \frac{\frac{|A|}{\alpha K_A}}{V_{max} \frac{|A|}{\alpha K_A}} \Rightarrow$$

$$\frac{1}{v} = \frac{\alpha K_A}{V_{max}} \left(\frac{K_s}{|S|} + 1 \right) \frac{1}{|A|} + \frac{1}{V_{max}} \left(\frac{\alpha K_s}{|S|} + 1 \right)$$

A. MENPEKOTASUN POSITIBOA

Kasu honetan:

$$\alpha < 1 \Rightarrow \begin{matrix} \alpha K_s < K_s \\ \alpha K_A < K_A \end{matrix}$$

$$\begin{matrix} V'_{max} \neq V_{max} \\ K'_s \neq K_s \end{matrix}$$

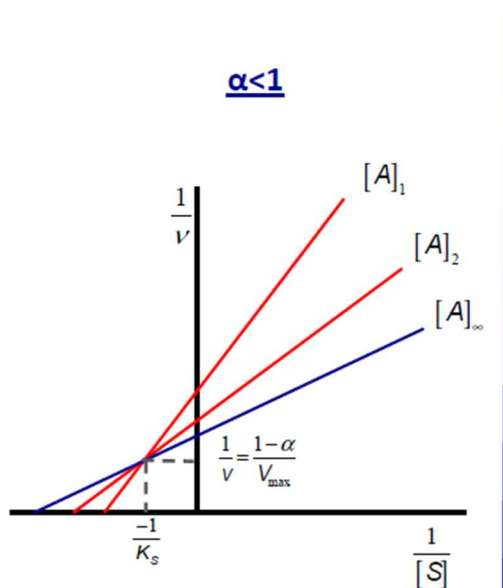
Honek adierazten du, menpekotasun positiboa dagoen kasuan α -ren balioa 1 baino txikiagoa izango dela, eta beraz lehenengo ligandoa (A edo S) batzerakoan, honek faboratu egiten duela ondorengo ligandoaren batura (S edo A). Adibidez, lehenengo S batzen bada entzimari, orduan

honek A-ren batura ematea faboratuko du, izan ere, entzimaren afinitatea A-rekiko handiagoa izango da aske dagoenean baino.

Aktibatzaile kontzentrazioa 0 den kasuan, ez dugu aktibitaterik izango. Hau da, beharrezkoa da aktibatzailea egotea erreakzioa eman ahal izateko.

Aktibatzaile hauek Misto Linealak izango dira, izan ere, inhibizio misto linealaren itxura daukate irudikapenek eta baita mekanismoak ere. Kasu honetan ere, konplexu produktibo bakarra izango dugu EAS dena. Parametro zinetikoak ateratzeko, ondoko irudikapenak egin beharko ditugu:

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



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

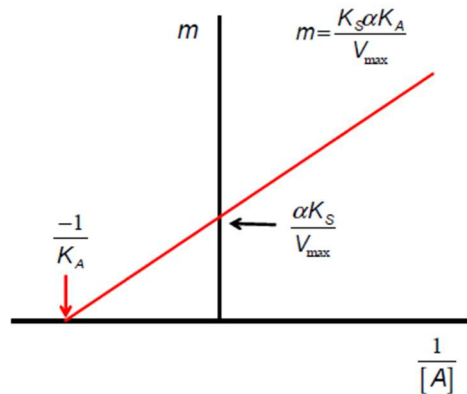
→ $[A]=0$ denean ez dugu aktibitaterik izango.

Menpekotasun positiboa dagoen kasuan zuzenak lehenengo koadrantean elkar moztuko dute, inhibizio misto linealean ere berdin gertatzen da. Inhibizio misto linealarekin konparatzen badugu, kasu honetan zenbat eta aktibatzaile gehiago gehitu malda txikiagoa da, v handiagoa izango delako eta hortaz $1/v$ txikiagoa. Inhibitzailean justu kontrakoa gertatzen da, zenbat eta inhibitzaile kontzentrazio altuagoa v baxuagoa, eta beraz $1/v$ altuagoa.

Aktibatzaile kontzentrazio 0 deneko kasuan, ezin izango dugu inongo zuzenik irudikatu ez baitu entzimak aktibitaterik izango.

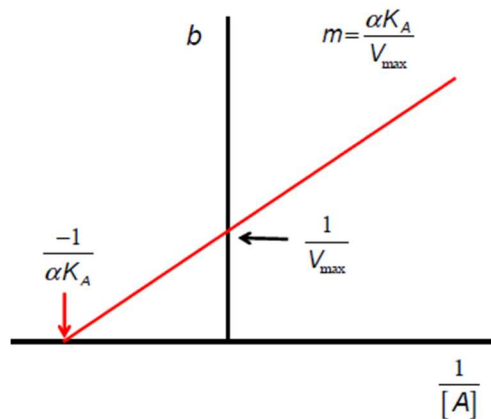
Alderantziko bikoitzarekin soil K_S lortuko dugu, parametro gehiago lortzeko honen irudikapen sekundarioak egin beharko dira. Hala ere, alderantziko bikoitza ezinbesteko irudikapena da entzimak jarraitzen duen mekanismoa jakiteko, eta baita Dixon irudikapena. Mekanismoa ezagutzeko beraz Dixon eta alderantziko bikoitza ezinbestekoak dira, eta ondoren irudikapen sekundarioak parametroak ateratzeko dira baliagarriak.

Irudikapen sekundarioa: m vs 1/[A]



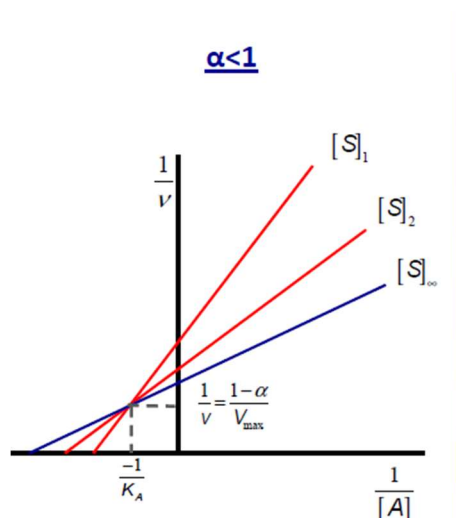
$$m = \underbrace{\frac{K_S \alpha K_A}{V_{\max}}}_{y} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{m} + \underbrace{\frac{\alpha K_S}{V_{\max}}}_{x} \underbrace{1}_{b}$$

Irudikapen sekundarioa: b vs 1/[A]



$$b = \underbrace{\frac{\alpha K_A}{V_{\max}}}_{y} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{m} + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}}}_{x} \underbrace{1}_{b}$$

Dixonen Analogoa: 1/v vs 1/[A]



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

Kasu honetan Dixonen irudipanean ez da adierazten [A]-rekiko , $1/[A]$ -rekiko baizik. Dixonen inhibitzaileentzako soilik garatu zuen bere irudikapena. Hortaz horren analogoa den irudikapen hau erabili behar dugu aktibatzaileentzako. Inhibizio misto linealean menpekotasun positiboa daukan kasuan bezala, 2.koadrantean moztuko dute zuzenak.

B.MENPEKOTASUN NEGATIBOA:

Aktibatzaile Misto Lineala izango da, menpekotasun negatiboduna. Kasu honetan ere konplexu produktibo bakarra izango dugu, EAS dena.

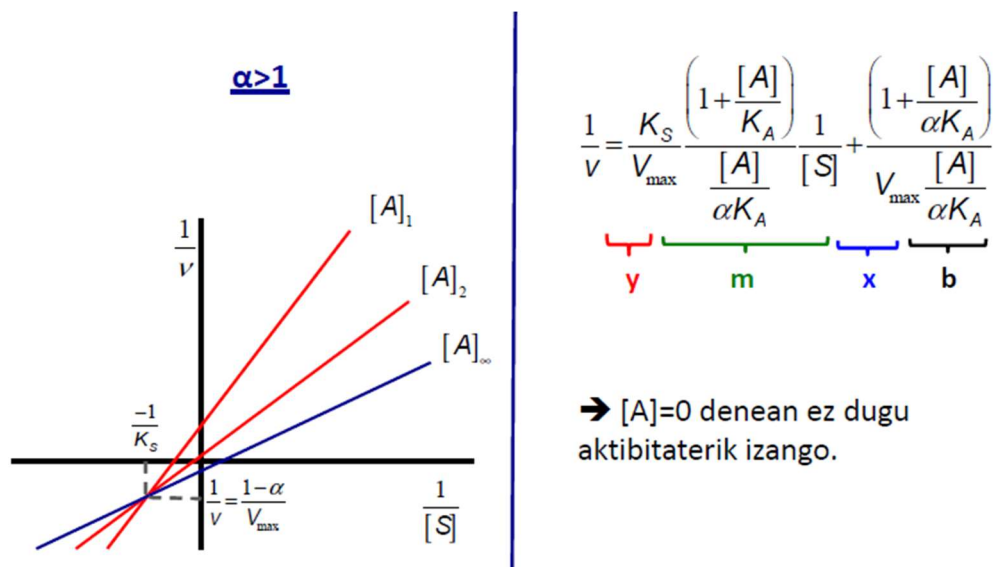
α -ren balio 1, baino handiagoa izango da, beraz kasu honetan lehenengo ligandoa batzeak (A edo S) hurrengo ligandoaren batura (S edo A) oztopatuko du. Izan ere, lehenengo ligandoa batzerakoa, bigarren ligandoa batzeko afinitatea baxuagoa izango da aske egongo balitz baino, horregaitik deritzo menpekotasun negatiboa duela.

Kasu honetan:

$$\alpha > 1 \Rightarrow \begin{matrix} \alpha K_S > K_S \\ \alpha K_A > K_A \end{matrix} \quad \begin{matrix} V'_{\max} \neq V_{\max} \\ K'_S \neq K_S \end{matrix}$$

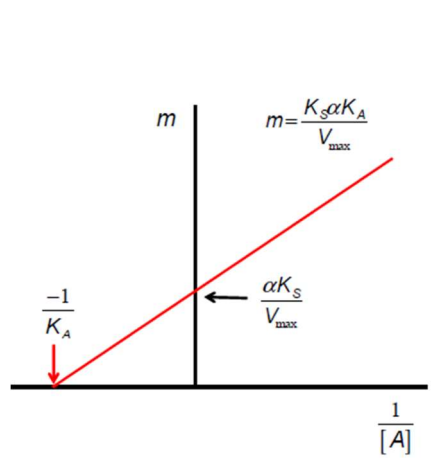
Parametro zinetikoak ateratzeko egin beharreko irudikapenak:

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



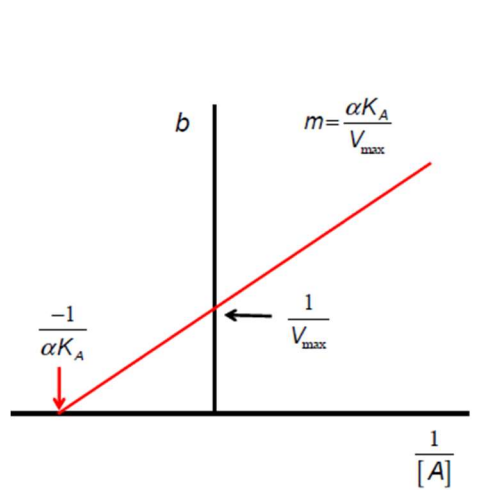
α -ren balioa 1 baino handiagoa denez, inhibizio misto linealean bezala, alderantzizko bikoitzean(baita Dixonen analogoan) 3. koadrantean moztuko dira zuzenak. Ikusten den bezala alderantzizko bikoitzaren ekuazioa berdina da, aldatzen den gauza bakarra α -balioa izango da, eta hortaz mekanismoa.

Irudikapen **sekundarioa:** **m** **vs** **1/[A]**



$$m = \underbrace{\frac{K_S}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\alpha K_A}_{m} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{x} + \underbrace{\frac{\alpha K_S}{V_{max}}}_{b}$$

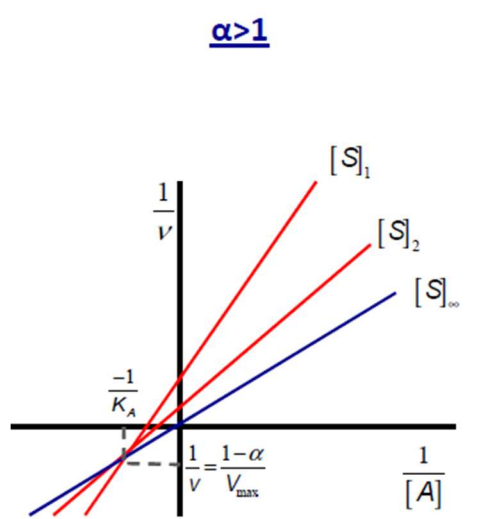
Irudikapen sekundarioa: b vs 1/[A]



$$b = \underbrace{\frac{\alpha K_A}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{m} + \underbrace{\frac{1}{V_{max}}}_{b}$$

Dixonen Analogoa: 1/v vs 1/[A]

$\alpha > 1$



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

Esan bezala, menpekotasun negatiboa dagoen kasu honetan zuzenak 3. koadrantean elkar moztuko dira.

C. ZENTRU INDEPENDENTEAK

Zentruak independenteak diren kasuan α -ren balioa 1 izango da, hortaz honek adierazten du, lehenengo ligandoa (A edo S) batzen denean, ez duela inongo eraginik izango hurrengo ligandoaren (S edo A) baturan. Hau da, zentruak guztiz independenteak balira bezala jokatu dute.

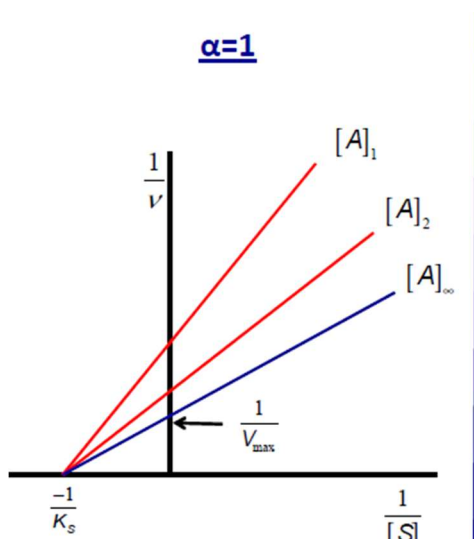
$$\alpha = 1 \quad \longrightarrow \quad \begin{aligned} \alpha K_S &= K_S \\ \alpha K_A &= K_A \end{aligned}$$

Abiadura ekuazioan α -ren balioa 1 egatik ordezkatzeko badugu beraz, lehenengo ekuazio berdina loruko dugu, baina oraingoa α gabe.

$$v = \frac{V_{\max} \frac{[A]}{K_A} [S]}{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right) \left([A] + K_S \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)\right)} \rightarrow v = \frac{V'_{\max} [S]}{K'_S + [S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_S}{V_{\max}} \frac{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{\frac{[A]}{K_A}} \frac{1}{[S]} + \frac{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{V_{\max} \frac{[A]}{K_A}}$$

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



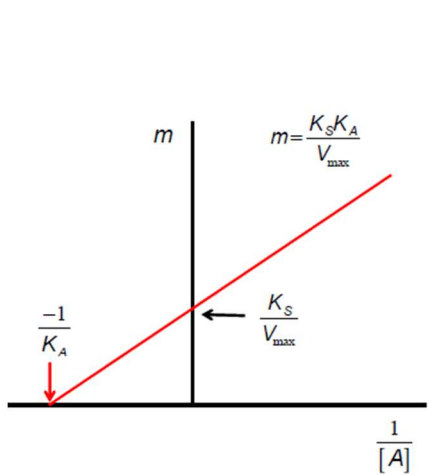
$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_S}{V_{\max}}}_{y} \underbrace{\frac{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{\frac{[A]}{K_A}}}_{m} \frac{1}{[S]} + \underbrace{\frac{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{V_{\max} \frac{[A]}{K_A}}}_{b}$$

➔ Mekanismoa aztertzeke erabili beharrekoa.

➔ $[A]=0$ denean ez dugu aktibitatearik izango.

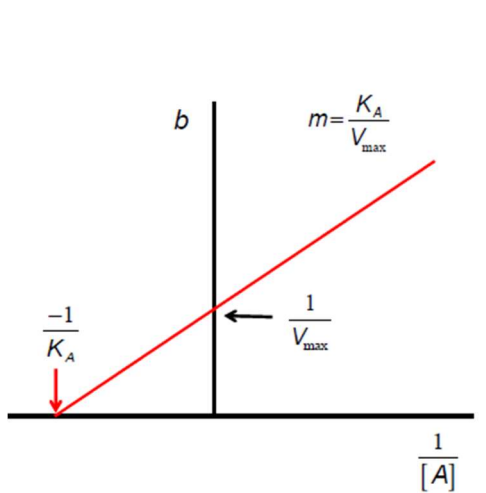
Zuzen guztiek abzisa moztu dute, beraz erraz atera dezakegu K_S -ren balioa. Aldiz V_{\max} lortzeko aktibatzailez asetu behar da entzima. Hori lortzea ez denez erraza, eta ez dugunez jakingo ea guztiz asetu dugun, orduan irudikapen sekundarioak egin behar dira hori lortzeko.

Irudikapen sekundarioa: m vs 1/[A]:



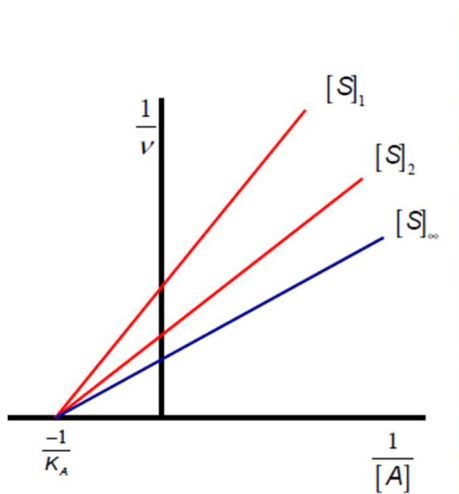
$$m = \underbrace{\frac{K_S K_A}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{x} + \underbrace{\frac{K_S}{V_{max}}}_{b}$$

Irudikapen sekundarioa: b vs 1/[A]:



$$b = \underbrace{\frac{K_A}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{x} + \underbrace{\frac{1}{V_{max}}}_{b}$$

Dixonen Analogoa:

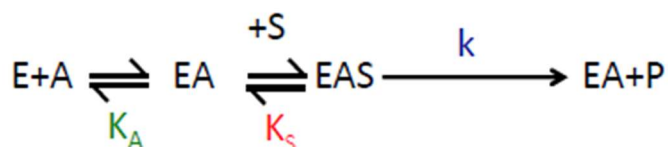


$$\frac{1}{v} = \underbrace{\frac{K_A}{V_{max}}}_{y} \underbrace{\left(1 + \frac{K_S}{[S]}\right)}_{m} \underbrace{\frac{1}{[A]}}_{x} + \underbrace{\frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_S}{[S]}\right)}_{b}$$

2.SISTEMA

Sistema honetan entzimak lotura gune bat edukiko du substratuarentzat eta beste bat aktibatzailearentzat. 1.sisteman ez bezala A eta S-ren baturak orden zehatz bat jarraitzen du.

Ez da inoiz ES konplexu bitarrik eratuko, eta lehenengo kasuan bezala EAS izango da konplexu produktibo bakarra.



Lehenengo A batu behar zaio ondoren S batu ahal izateko eta konplexu produktiboa eratu ahal izateko. Aktibatzailea batzeak aldaketa konformazionala eragingo du, substratua batzen duen zentrua agerian utziko duena.

Guk honela hartuko dugu modeloa, nahiz eta berez S batu daitekeen lehenengo eta ondoren A, baina kasu hau nahiko arraroa da eta askoz gutxiago ematen da. Horregatik guk goian adierazitako ordena jarraituko dugu.

-Disoziazio kte.-ak:

$$K_S = \frac{[EA][S]}{[EAS]}$$

$$K_A = \frac{[E][A]}{[EA]}$$

-Erreakzioaren abiadura:

$$v = k[EAS]$$

-Entzima totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EA] + [EAS]$$

Betiko moduan, abiadura ekuazioa errazteko entzimaren espezie bakoitza E-ren funtziopean jarriko dugu, eta ondoren entzima totalaren ekuazioan ordezkatu:

$$[EA] = \frac{[E][A]}{K_A} \quad [EAS] = \frac{[S][A][E]}{K_S K_A}$$

$$[E]_{TOT} = [E] \left(1 + \frac{[A]}{K_A} + \frac{[S][A]}{K_S K_A} \right)$$

Abiadura

ekuazioa:

2. Sistema

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{K |EAS|}{K |E|_{\text{tot}}} = \frac{K |EAS|}{K (|E| + |EA| + |EAS|)} = \frac{\frac{|E||A||S|}{K_A K_S}}{|E| + \frac{|E||A|}{K_A} + \frac{|E||A||S|}{K_A K_S}} =$$

$$= \frac{|S| \frac{|A|}{K_A}}{K_S \left(1 + \frac{|A|}{K_A}\right) + |S| \frac{|A|}{K_A}}$$

$$V = \frac{V_{\max} |S|}{K_S \left(1 + \frac{|A|}{K_A}\right) + |S| \frac{|A|}{K_A}} \rightarrow \boxed{V = \frac{V_{\max} |S|}{K_S \left(\frac{K_A}{|A|} + 1\right) + |S|}}$$

$$\boxed{V_{\max} = V_{\max}} \\ \boxed{K_S' \neq K_S}$$

Alderantzizko bikoitza:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_S}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_A}{|A|}\right) \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Dixonen analogoa:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_S \left(1 + \frac{K_A}{|A|}\right)}{V_{\max}} \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{\max}} = \frac{K_S}{V_{\max}} + \frac{K_S \cdot K_A}{V_{\max} |S| |A|} + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_A K_S}{V_{\max} |S| |A|} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_S}{|S|}\right)$$

Oraingoan, AKTIBATZAILE LEHIAKOR PURU edo LINEALA-ren itxurako irudikapenak lortuko ditugu. Lehengo kasuan bezala konplexu produktibo bakarra egongo da, EAS dena.

Kontutan izan behar dugu:

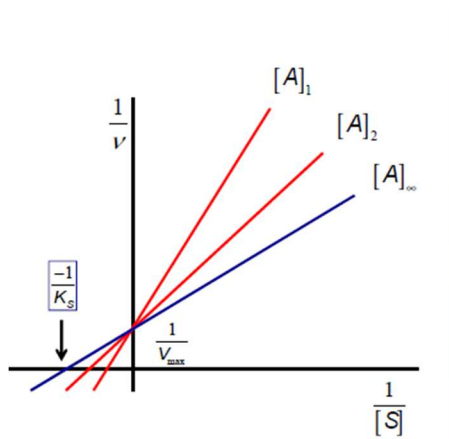
→ $[A] = \infty$ denean:

$$\boxed{V'_{\max} = V_{\max}} \\ \boxed{K'_S = K_S}$$

→ $[A] < \infty$ denean:

$$\boxed{V'_{\max} = V_{\max}}$$

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



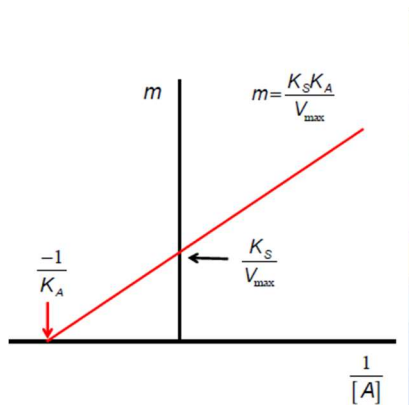
$$\frac{1}{v} = \frac{K_S}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_A}{[A]} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

y m x b

Zuzenak ordenatuan moztuko dute elkar, horti Vmax aterata ahalko dugularik. Ondoren aktibatzaileen asetze kontzentrazioa zein den jakinez gero, honen zuzenak abzisan moztzen duen puntuan aterata ahalko genuke K_S, baina balio hori ez badaukagu, orduan irudikapen sekundarioak beharrezkoak izango dira. Inhibizio lehiakor puruaren itxura dauka irudikapenak.

Oraingoan ezin izango dugu b vs 1/[A] irudikapen sekundariorik egin zuzen guztiek ordenatuaren puntu berean moztzen dutelako.

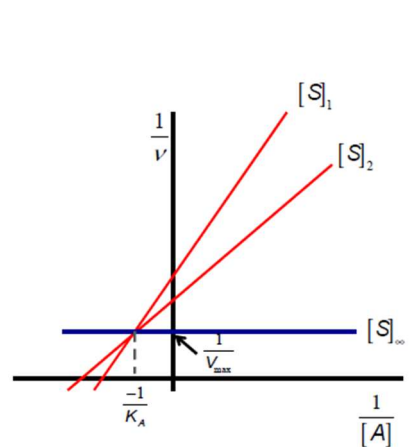
Irudikapen sekundarioa: m vs 1/[A]:



$$m = \frac{K_S K_A}{V_{\max}} \frac{1}{[A]} + \frac{K_S}{V_{\max}}$$

y m x b

Dixonen Analogoa



$$\frac{1}{v} = \frac{K_S K_A}{V_{\max} [S]} \frac{1}{[A]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_S}{[S]} \right)$$

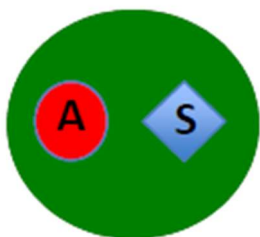
y m x b

➔ Inhibizioekin gertatzen zen moduan, aktibazio mota honetan (lehiakor purua) soilik, alderantzizko bikoitza eta dixonen analogoak desberdinak dira.

Substratuz asetuz gero gure entzima, orduan V_{max} izatera iritsiko gara. Hala ere, gogoratu aktibatzailea egon behar dela medioan erreakzioa katalizatu ahal izateko.

2. Aktibazio Ez-esentziala

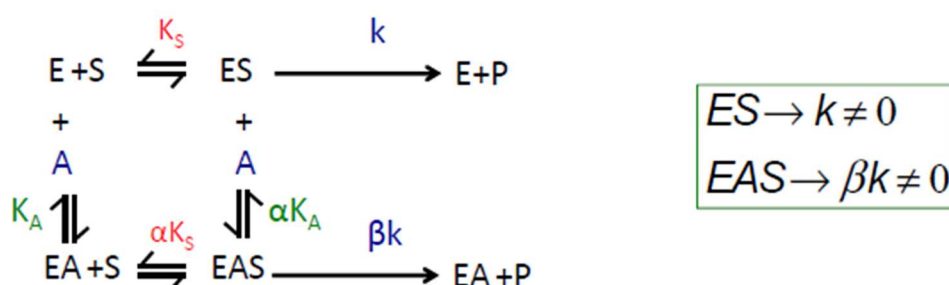
Entzimak lotura gune bat edukiko du S-rentzat eta beste bat A-rentzat. Aktibatzailearik gabe ere emango da erreakzioa baina abiadura txikiagoan.



Beraz, oraingoan bi konplexu produktiboa ditugu, ES eta EAS. Hala ere, EAS askoz ere produktiboagoa izango da ES baino.

Zentroak independenteak edo independenteak izan daitezke. α -ren balioaren arabera izango da hori.

$\beta > 1$ izango da beti, izan ere EAS beti delako produktiboagoa ES baino. Inhibizioetan soilik $\beta < 1$ emango da.



Esan bezala α -ren balioaren arabera 3 aktibazio ez-esentzial mota egongo dira:

$\alpha < 1 \rightarrow \begin{matrix} \alpha K_S < K_S \\ \alpha K_A < K_A \end{matrix}$	<p>→ Menpekotasun positiboa, orokorra.</p> <p>→ A misto partzial edo hiperbolikoa</p>
$\alpha > 1 \rightarrow \begin{matrix} \alpha K_S > K_S \\ \alpha K_A > K_A \end{matrix}$	<p>→ Menpekotasun negatiboa.</p> <p>→ A misto partzial edo hiperbolikoa</p>
$\alpha = 1 \rightarrow \begin{matrix} \alpha K_S = K_S \\ \alpha K_A = K_A \end{matrix}$	<p>→ Independenteak.</p> <p>→ A Ez-lehiakor partzial edo hiperbolikoa</p>

Motak azaltzen hasi aurretik, lehenengo abiadura ekuazioak aterako ditugu, izan ere, guztietarako izango dira berdinak, aldatuko den bakarra mekanismoa izango da.

-Disoziazio kte.-ak:

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

$$\alpha K_S = \frac{[EA][S]}{[EAS]}$$

$$K_A = \frac{[E][A]}{[EA]}$$

$$\alpha K_A = \frac{[ES][A]}{[EAS]}$$

-Erreakzioaren abiadura:

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

-Entzima totala:

$$[E]_{TOT} = [E] + [EA] + [ES] + [EAS]$$

Beti bezala, orain entzimaren espezie bakoitza E-ren funtziopean adieraziko dugu, eta ondoren [E]tot-en ekuazioan ordezkatu.

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

$$[EA] = \frac{[E][A]}{K_A}$$

$$[EAS] = \frac{[S][A][E]}{K_S \alpha K_A}$$

$$[E]_{TOT} = [E] \left(1 + \frac{[S]}{K_S} + \frac{[A]}{K_A} + \frac{[S][A]}{K_S \alpha K_A} \right)$$

Abiadura ekuazioaren garapena:

$$\begin{aligned} \frac{v}{v_{max}} &= \frac{k[ES] + \beta k[EAS]}{k([E] + [ES] + [EA] + [EAS])} = \frac{\frac{[E][S]}{K_S} + \beta \frac{[E][A][S]}{\alpha K_A K_S}}{[E] + \frac{[E][S]}{K_S} + \frac{[E][A]}{K_A} + \frac{[E][A][S]}{\alpha K_A K_S}} \\ &= \frac{\frac{[S]}{K_S} \left(1 + \beta \frac{[A]}{\alpha K_A} \right)}{1 + \frac{[A]}{K_A} + \frac{[S]}{K_S} + \frac{[S][A]}{K_S \alpha K_A}} = \frac{[S] \left(\frac{\beta [A]}{\alpha K_A} + 1 \right)}{K_S \left(1 + \frac{[A]}{K_A} \right) + [S] \left(1 + \frac{[A]}{\alpha K_A} \right)} \\ &= \frac{V_{max} \left(\frac{1 + \frac{\beta [A]}{\alpha K_A}}{1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}} \right) [S]}{K_S \left(\frac{1 + \frac{[A]}{K_A}}{1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}} \right) + [S]} = \frac{V'_{max} [S]}{K'_S + [S]} \end{aligned}$$

$$\begin{matrix} V'_{\max} > V_{\max} \\ K'_S \neq K_S \end{matrix}$$

→ [A]=∞ denean:

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

ZENTRO INDEPENDENTEA

Zentruak independenteak direnean, α-ren balioa 1 izango da, hortaz afinitate berarekin batuko dira ligandoak entzima askera zein entzima-ligando konplexura.

$$\alpha = 1 \quad \longrightarrow \quad \begin{matrix} \alpha K_S = K_S \\ \alpha K_A = K_A \end{matrix}$$

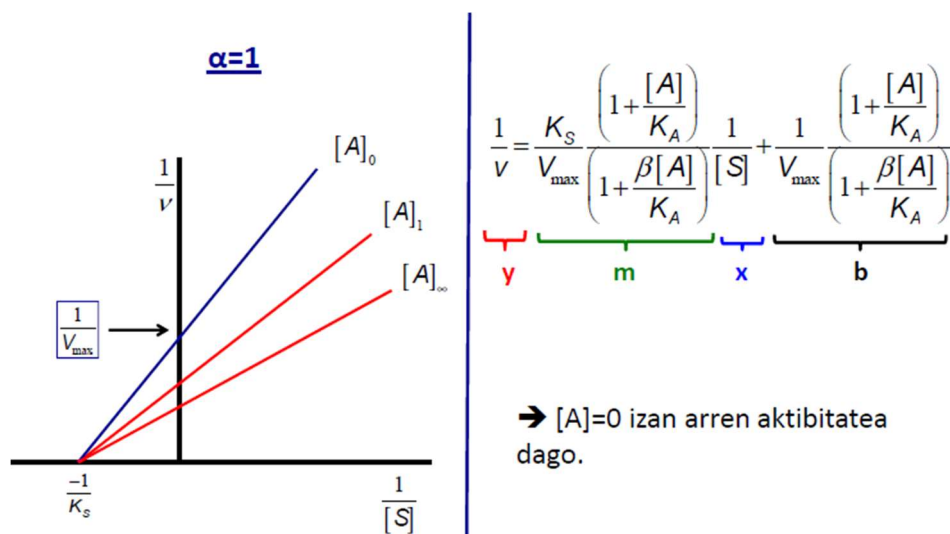
α=1, abiadura ekuazioan ordezkatzeko badugu, honela geratuko zaigu:

$$v = \frac{V_{\max} \left(1 + \beta \frac{[A]}{K_A} \right) [S]}{\left(1 + \frac{[A]}{K_A} \right) ([S] + K_S)}$$

$$\begin{matrix} V'_{\max} \neq V_{\max} \\ K'_S = K_S \end{matrix}$$

Aktibatzaile ez-lehiakor partzial edo hiperbolikoa izango da.

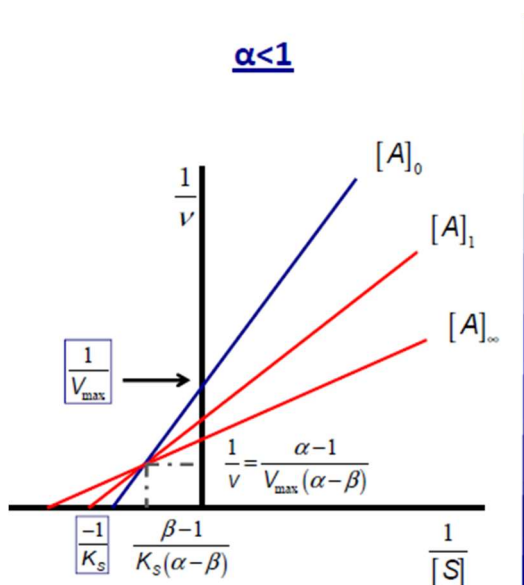
Alderantzizko bikoitza: 1/v vs 1/[S]



1. Sistemako aktibatzaile esentzial independendepenteak ez zuen inongo aktibitaterik A-ren kontzentrazioa 0 zenean. Aldiz, hemen ikusten da nahiz eta aktibatzaileak ez egon badagoela aktibitate basala. Beste bi aktibazio ez-esentzial motetan ere berdina gertatuko da.

MENPEKOTASUN NEGATIBOA

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

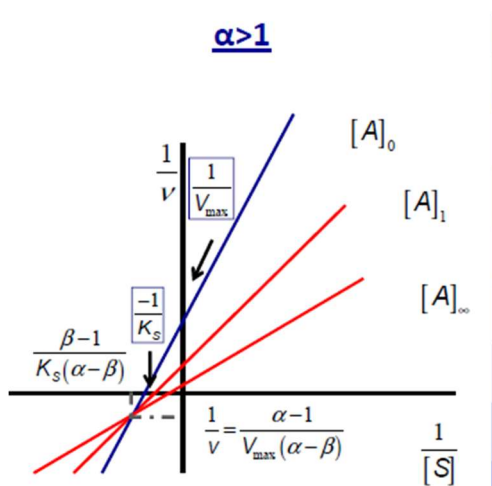


$$\frac{1}{v} = \underbrace{K_S}_{\text{y}} \underbrace{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}_{\text{m}} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{\text{x}} + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}\right)}_{\text{b}}$$

→ $[A]=0$ izan arren aktibitatea dago.

MENPEKOTASUN POSITIBOA

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

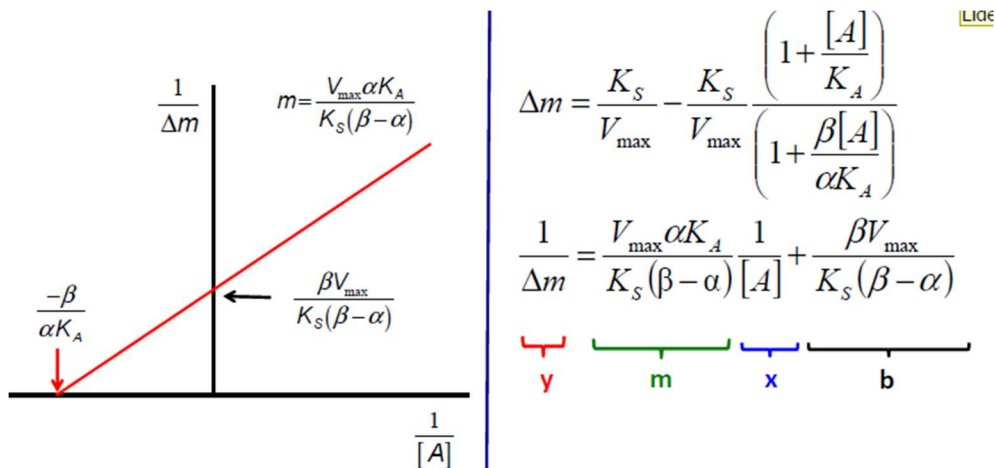


$$\frac{1}{v} = \underbrace{K_S}_{\text{y}} \underbrace{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}_{\text{m}} \underbrace{\frac{1}{[S]}}_{\text{x}} + \underbrace{\frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[A]}{\alpha K_A}\right)}_{\text{b}}$$

→ $[A]=0$ izan arren aktibitatea dago.

Bi konplexu produktibo daudenez, orduan aktibatzaile partzial gisa jokatuko dute. Hortaz, ezin izango dugu irudikapen sekundario arruntik (m eta b) ezta Dixonen-analogorik egin, kurba itxura emango baitute. Beraz, parametro zintetikoak ateratzeko Δm eta Δb irudikapen sekundarioak egin beharko dira.

Irudikapen sekundarioa: $1/\Delta m$ vs $1/[A]$

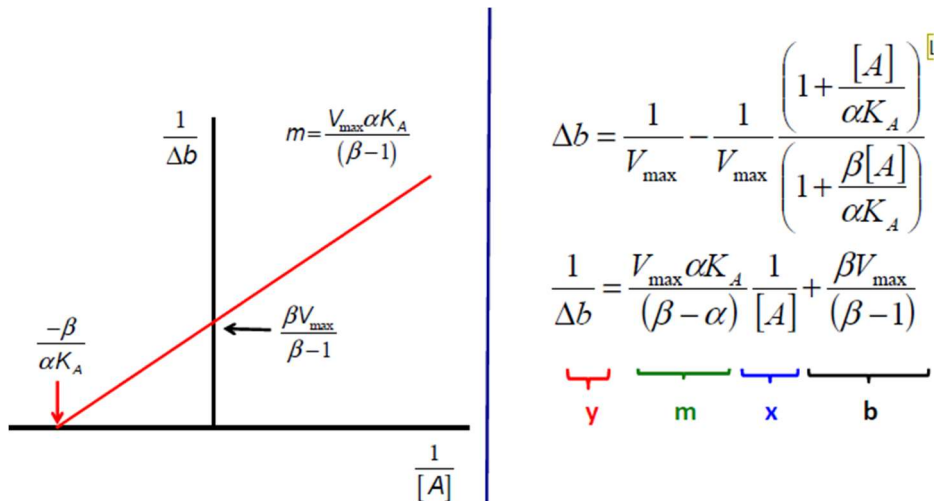


Lehen esan bezala alderantzizko bikoitzean, zenbat eta aktibatzaile gehiago izan, orduan eta malda txikiagoa izango dugu. Hau justu inhibitzaileekin gertatzen denaren aurkakoa da, izan ere, zenbat eta inhibitzaile gehiago izan, orduan eta malda altuagoa. Beraz, irudikapen sekundarioa egiterakoan, oraingoan Δm inhibitzaileekin egiten dugunaren aurka kalkulatu dugu:

$$\Delta m = m(A \text{ gabe}) - m(A - \text{rekin})$$

$$\begin{aligned} \Delta m &= m_0 - m_A = \frac{K_S}{V_{\max}} - \frac{K_S}{V_{\max}} \frac{\left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{\left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right)} = \\ &= \frac{K_S \left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right) - K_S \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)}{V_{\max} \left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right)} = \frac{K_S + K_S \frac{\beta[A]}{\alpha K_A} - K_S - K_S \frac{[A]}{K_A}}{V_{\max} \left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right)} = \\ &= \frac{K_S \frac{[A]}{K_A} \left(\frac{\beta}{\alpha} - 1\right)}{V_{\max} \left(\frac{\beta[A]}{\alpha K_A} + 1\right)} = \frac{K_S \frac{[A]}{K_A} \left(\frac{\beta}{\alpha} - \frac{\alpha}{\alpha}\right)}{V_{\max} \left(\frac{\beta[A]}{\alpha K_A} + 1\right)} = \frac{K_S \frac{[A]}{K_A} (\beta - \alpha)}{V_{\max} \left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right)} \\ \frac{1}{\Delta m} &= \frac{V_{\max} \left(1 + \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}\right)}{K_S (\beta - \alpha)} \frac{1}{[A]} + \frac{V_{\max} \alpha K_A \frac{\beta[A]}{\alpha K_A}}{K_S [A] (\beta - \alpha)} \\ \frac{1}{\Delta m} &= \frac{\alpha K_A V_{\max}}{K_S (\beta - \alpha)} \frac{1}{[A]} + \frac{\beta V_{\max}}{K_S (\beta - \alpha)} \end{aligned}$$

Irudikapen sekundarioa: $1/\Delta b$ vs $1/[A]$



Kasu honetan ere:

$$\Delta b = b(\text{aktibatzaile gabe}) - b(\text{aktibatzailearekin})$$

3.Substratu bidezko aktibazioa

Substratu bidezko inhibizioa maiztasun gehiagorekin ematen den arren, S bidezko aktibazioa ere gerta daiteke kasu batzuetan.

Entzima batzuk, S-rentzat batura gune bat baino gehiago dituzte. Batzuek, gune katalitikoaz gain, substratua batzeko gune EZ KATALITIKOAK dituzte. Hauei **ZENTRO ERREGULATZAILEAK** deritze.

Substratu bidezko bi aktibazio mota gerta daitezke:

- Batura Ordenatua
- Zorizko Batura

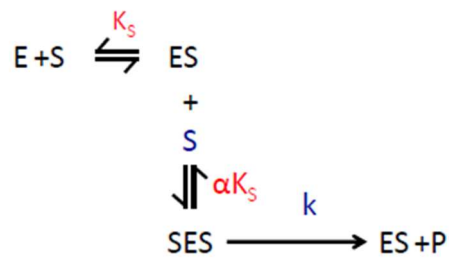
A.BATURA ORDENATUA

Entzimak bi batura gune izango ditu:

- Zentro EFEKTOREA
- Zentro KATALITIKOA

Zentro efektorea beti egongo da S-rentzako eskuragarri baina ez dauka aktibitate katalitikorik. Hona S batzean aldaketa konformazionala emango da, zentro katalitikoa agerian utziko duena. Beraz zentro katalitikoa soilik eskuragarri egongo da, lehenago S zentro efektoreari batzen denean.

Ikusten den bezala, ordena konkretu bat jarraitzen du mekanismoak. Forma produktibo bakarra SES izango da.



-Disoziazio kte.-ak:

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

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

-Erreakzioaren abiadura:

$$v = k[SES]$$

-Entzima totala:

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

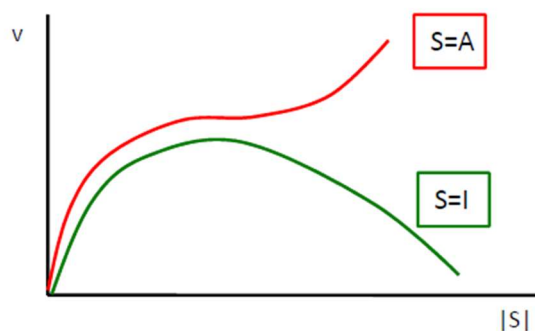
Betiko bezala, disoziazio konstanteak E-ren funtzioan jartzen baditugu, eta ondoren ordezkatu Entzima totalaren ekuazioan, horrela abiadura ekuazioa garatzeko pausu bat emango dugu.

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

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

v ekuazioa jarri

Irudikapen zuzena



Ikusten den bezala, substratua aktibatzailea den kasuan, kurba sigmoide bat ematen du. Substratua inhibitzailea den kasuarekin alderatuta ikusten dugu irudi berdinean.

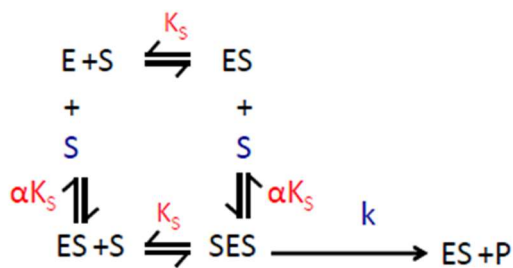
Ezin daiteke honekin alderantzizko bikoitzik egin, izan ere kurba bat ematen baitu.

B. ZORIZKO BATURA

Kasu honetan, ez da inongo ordenarik ligandoak batzerako orduan. Hau da, S- modu independentean zentro katalitikoari zein efektoreari batzen zaio.

Ez da konformazio aldaketa bat behar beste substratua batu ahal izateko. Hala ere, substratu bat batzerakoan beste substratua batzeko afinitatea aldatzen du.

Bi substratuak batuta egon behar dira SES konplexu produktiboa eratzen, erreakzioa emateko.



$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[\text{S}]^2}{\alpha K_S^2}}{1 + \frac{[\text{S}]}{K_S} + \frac{[\text{S}]}{\alpha K_S} + \frac{[\text{S}]^2}{\alpha K_S^2}}$$