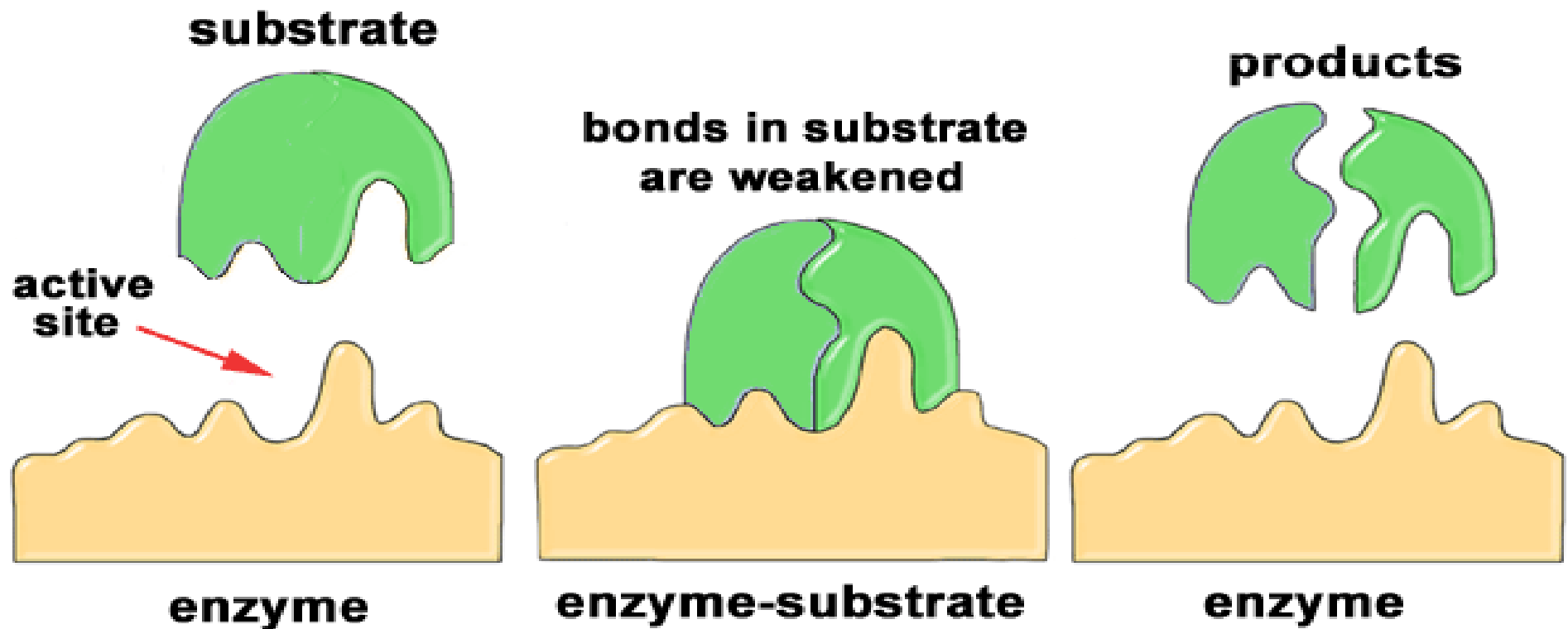
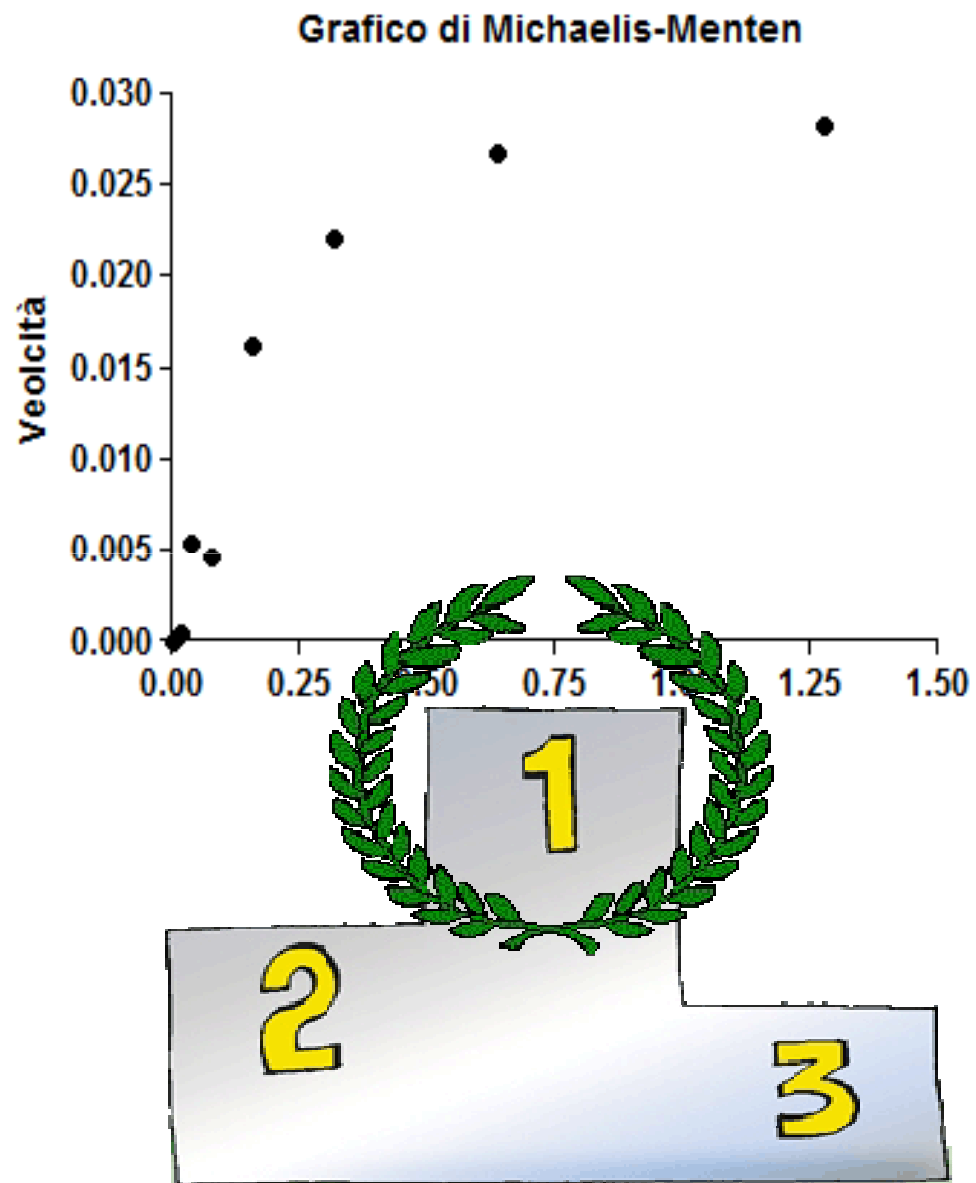


Costanti Cinetiche

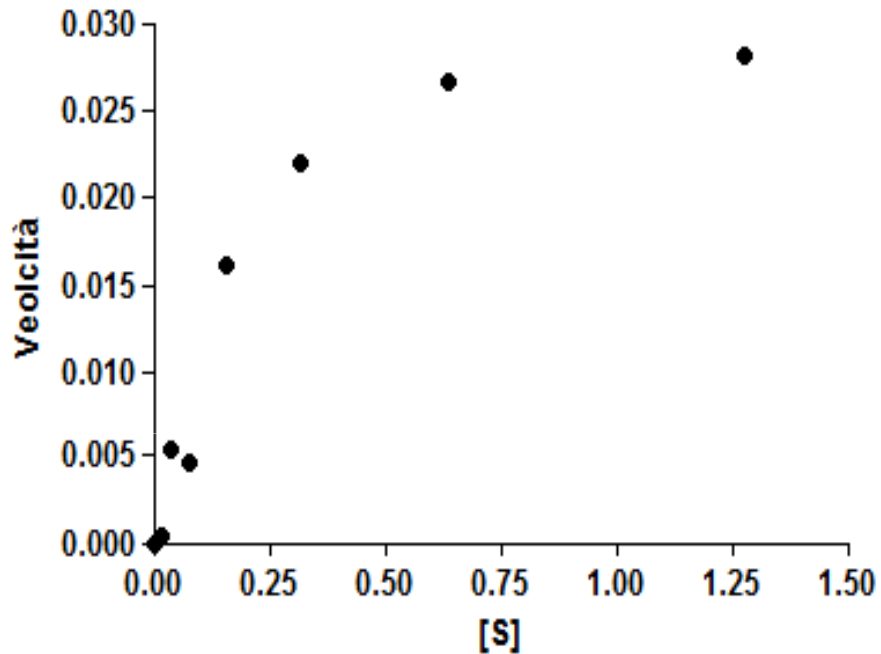


Esperimenti in laboratorio..... il 1° posto



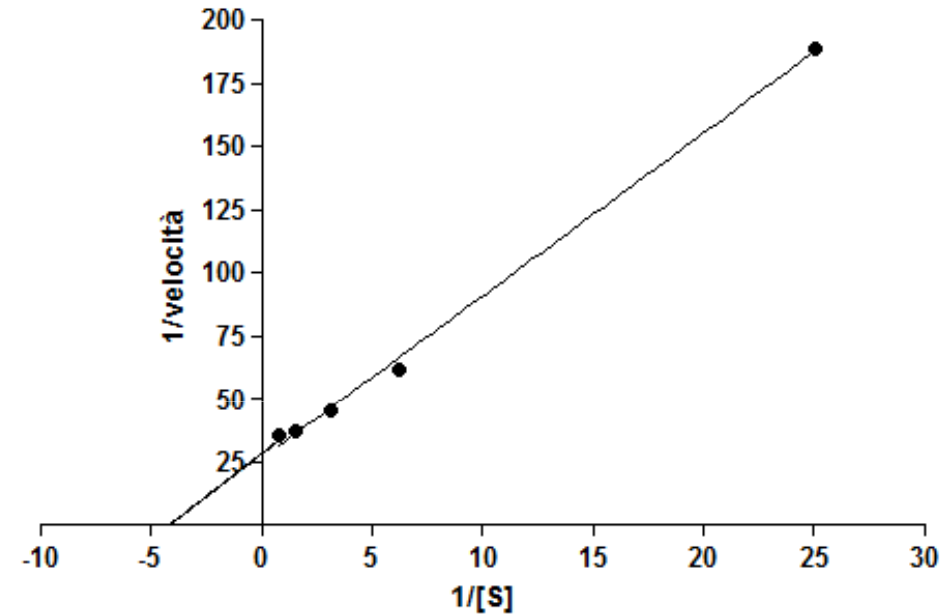
Esperimenti in laboratorio..... il 1° posto

Grafico di Michaelis-Menten



Vmax **0,035**
Km **0,24**

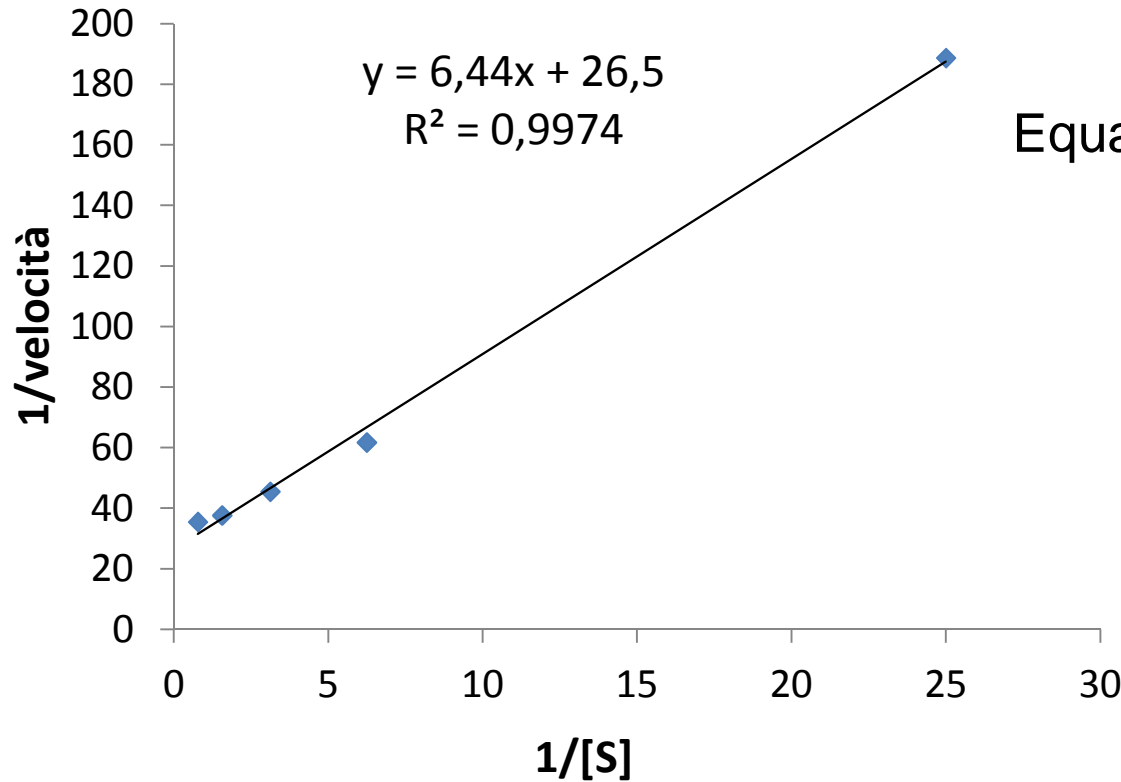
Grafico dei Doppi reciproci



1/Vmax **26,5**
-1/Km **- 4,1**

Vmax **0,038**
Km **0,24**

Esperimenti in laboratorio..... il 1° posto



Equazione della retta calcolata:

$$y = 6,44 \cdot x + 26,5$$

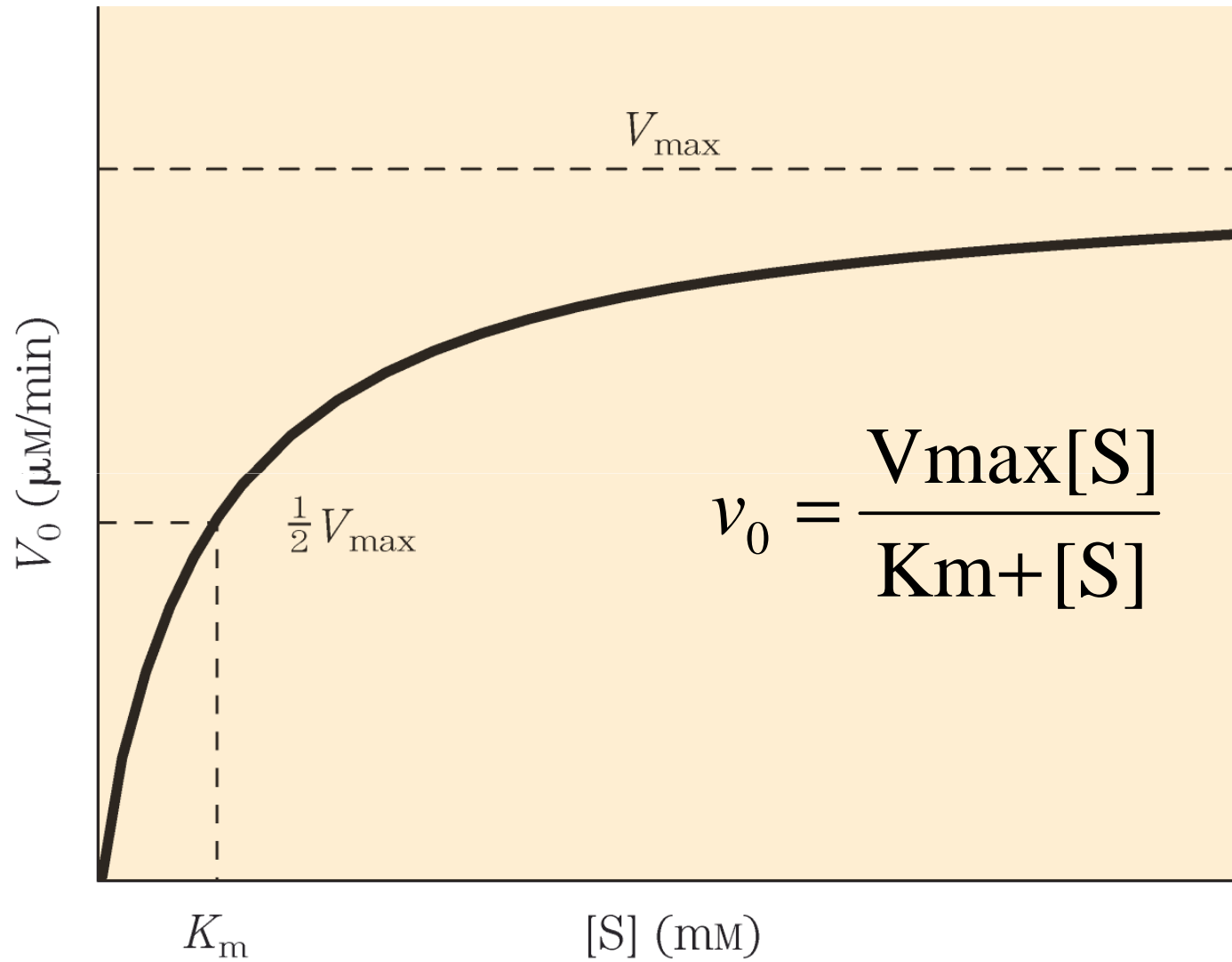
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

$$y = m \cdot x + q$$

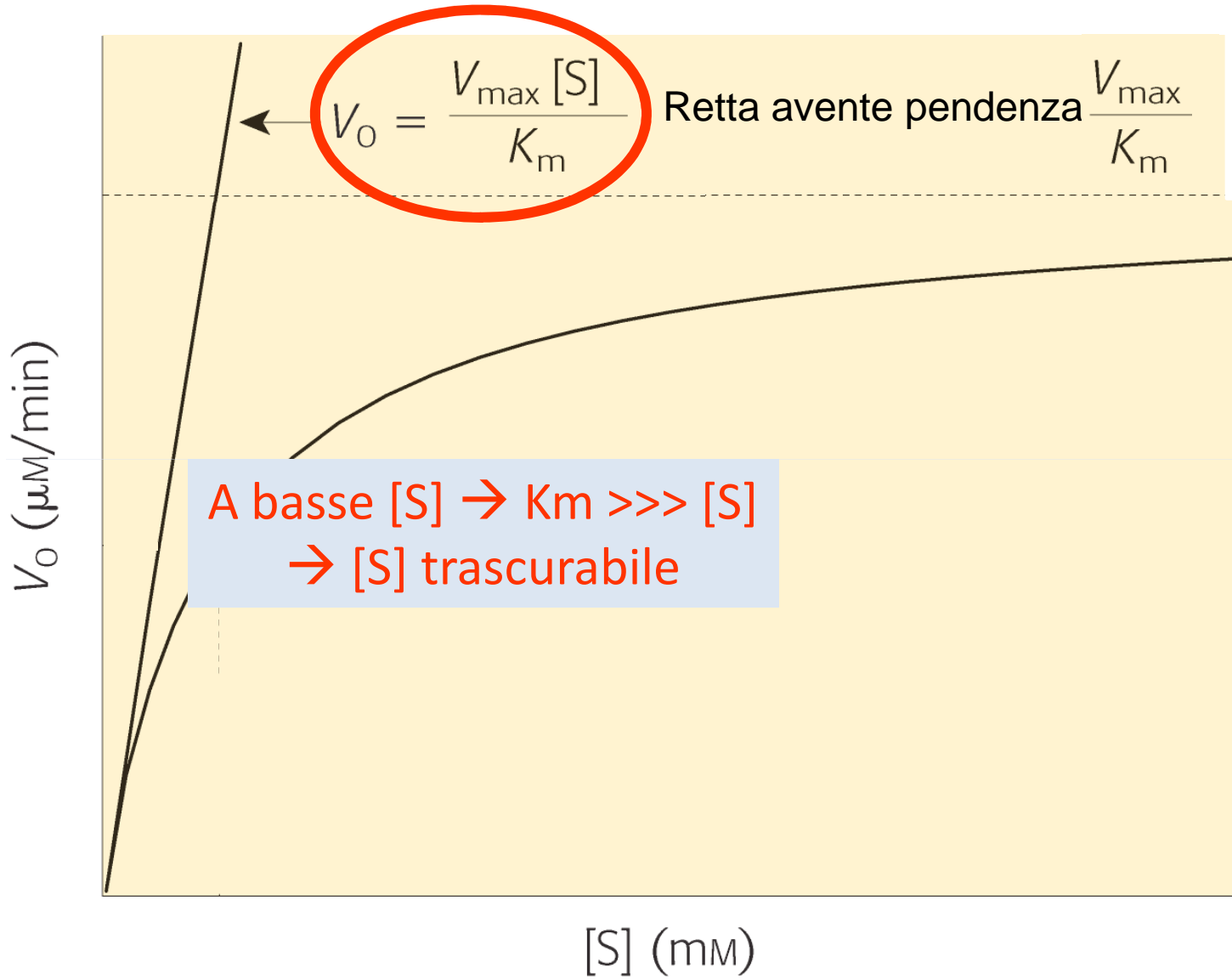
$$\frac{1}{V_{max}} = 26,5 \longrightarrow V_{max} = \frac{1}{26,5} \longrightarrow \mathbf{V_{max} = 0,038}$$

$$\frac{K_m}{V_{max}} = 6,44 \longrightarrow K_m = 6,44 \cdot V_{max} \longrightarrow \mathbf{K_m = 0,24}$$
$$K_m = 6,44 \cdot 0,038$$

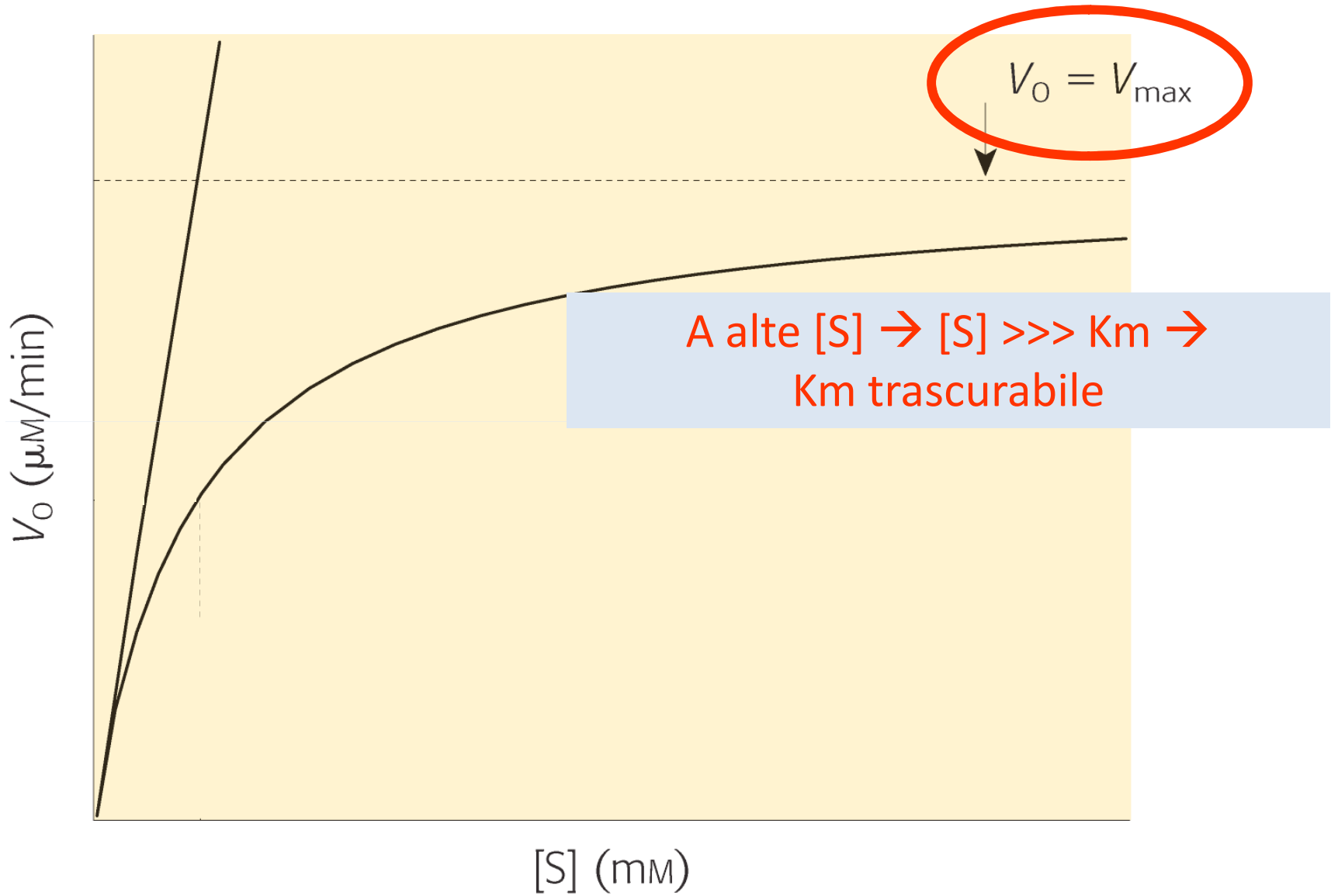
Cinetica di Michaelis-Menten



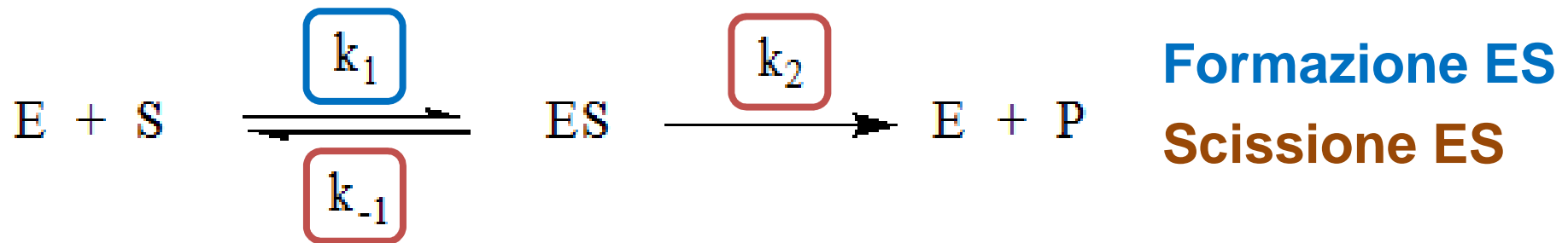
Per valori estremi di [S].....



Per valori estremi di [S].....



Il complesso ES e significato di Km



E = Enzima

S = Substrato

ES = Complesso Enzima-Substrato

P = Prodotto

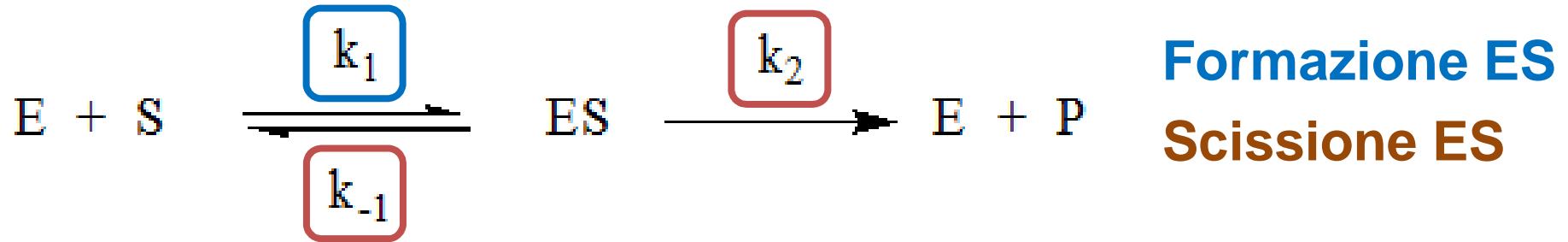
**Costanti di velocità
di reazione:**

k_1 = formazione ES

k_{-1} = scissione ES \rightarrow E + S

k_2 = formazione P

Formazione del complesso ES ed espressione di Km in relazione alle costanti di velocità



E = Enzima

S = Substrato

ES = Complesso Enzima-Substrato

P = Prodotto

Costanti di velocità di reazione:

k_1 = formazione ES

k_{-1} = scissione ES \rightarrow E + S

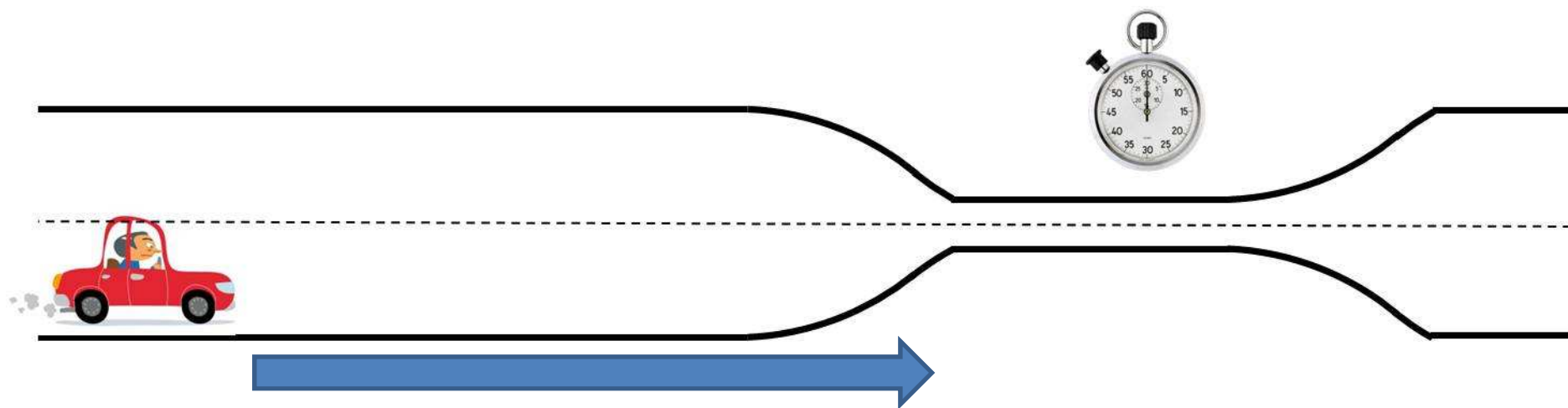
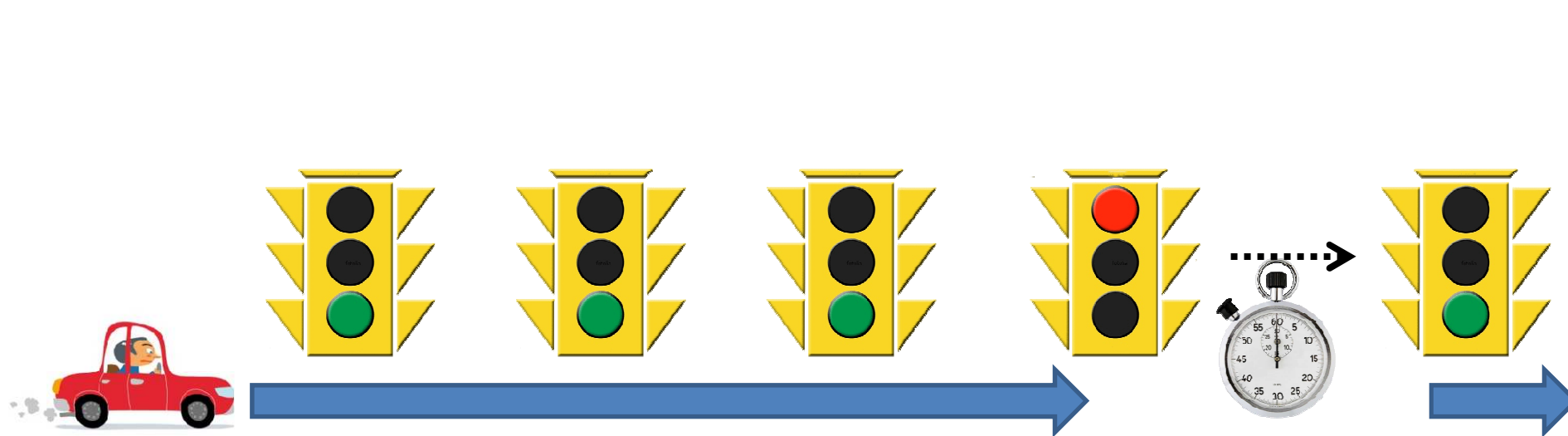
k_2 = formazione P

$$\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = Km$$

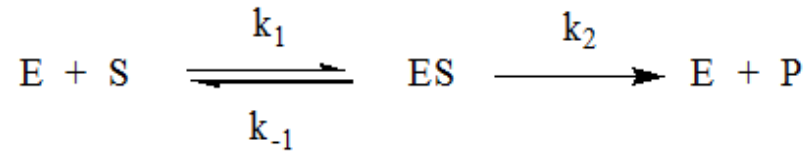


Elevata **affinità** dell'Enzima per il Substrato

Lo step limitante determina la velocità complessiva

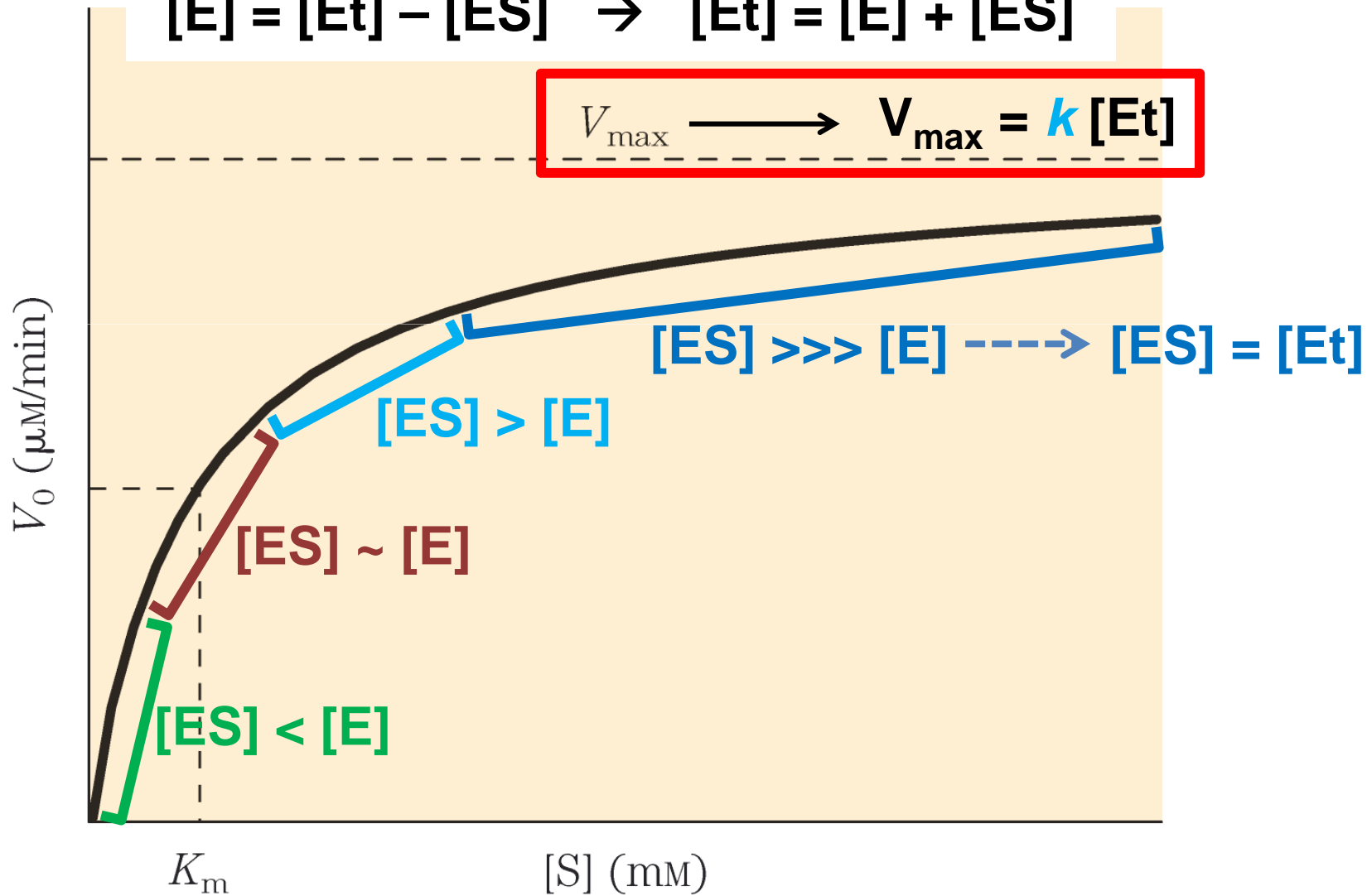


Quando $V=V_{\max}$ tutto l'enzima si trova nella forma ES



$$[E] = [Et] - [ES] \rightarrow [Et] = [E] + [ES]$$

$$V_{\max} \longrightarrow V_{\max} = k [Et]$$



Costante catalitica (k_{cat}) o Numero di *turnover*

È rappresentata dalla k della reazione limitante

È correlata alla velocità di dissociazione del complesso ES

Per il modello di Michaelis-Menten

k è definita da k_2 :

$$V_{\text{max}} = k_2 [\text{Et}] = k_{\text{cat}} [\text{Et}]$$

$$k_{\text{cat}} = \frac{V_{\text{max}}}{[\text{Et}]}$$

k_{cat} , il **numero di turnover**, è il numero massimo di molecole di substrato convertite in prodotto nell'unità di tempo da una molecola di enzima

I valori di k_{cat} variano da meno di 1/secondo ($1 \cdot s^{-1}$) a diversi milioni per secondo

TABLE 6-7		Turnover Numbers, k_{cat}, of Some Enzymes	
Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	
Catalase	H_2O_2	40,000,000	
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000	
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	14,000	
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2,000	
Fumarase	Fumarate	800	
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.5	

Trioso fosfato isomerasi

Substrate	k_{cat} (s^{-1})
GAP	4300
DHAP	430

k_{cat} e K_m

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	1.4×10^4	9×10^{-5}
Carbonic anhydrase	CO_2	1×10^6	1.2×10^{-2}
	HCO_3^-	4×10^5	2.6×10^{-2}
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1.1×10^0
Crotonase	Crotonyl-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}
	Malate	9×10^2	2.5×10^{-5}
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2.0×10^3	2×10^{-5}

Il rapporto k_{cat}/K_m (costante di specificità) definisce l'efficienza catalitica di un enzima relativamente ad un substrato

Misura **l'efficienza di un enzima**

- dipende in maniera diretta dalla **frequenza di interazione** (di “incontro”) tra E ed S;
- dipende dall'**efficienza** con cui E ed S si legano in soluzione
- è legato alla velocità di conversione di E + S a E + P

Il rapporto k_{cat}/K_m (costante di specificità) definisce l'efficienza catalitica di un enzima relativamente ad un substrato

- Può essere confrontata l'efficienza relativa con cui vengono trasformati **substrati diversi (specificità)**
- Tiene conto della velocità di catalisi (k_{cat}) e dell'affinità tra E ed S (K_m)
- Il limite massimo per k_{cat}/K_m è dato dalla velocità di diffusione, ossia la velocità di movimento di E ed S in soluzione.
- La velocità di diffusione massima per piccole molecole è **$10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$** .

Il rapporto k_{cat}/K_m definisce l'efficienza catalitica di un enzima

Se $V_{\text{max}} = k_{\text{cat}} [\text{Et}]$

$$v_0 = \frac{k_{\text{cat}}[\text{Et}][\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$



Quando $[\text{S}] \ll K_m$

$$v_0 = \frac{k_{\text{cat}}}{K_m} [\text{Et}][\text{S}]$$

- Ha come unità di misura $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
- Enzimi “perfettamente” evoluti hanno costanti cinetiche che si approssimano alla diffusione $-10^8 -10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \rightarrow$ definiti enzimi che hanno raggiunto la “perfezione catalitica”

Livelli massimi di efficienza catalitica sono ottenibili da valori diversi di k_{cat} e k_m

Vale per enzimi differenti e per lo stesso enzima nei confronti di più substrati

Trioso fosfato isomerasi

Substrate	k_{cat} (s^{-1})	K_m (mM)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
GAP	4300	0.4*	9.1×10^6
DHAP	430	0.97	4.4×10^5

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Carbonic anhydrase	CO_2	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO_3^-	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1.1×10^0	4×10^7
Crotonase	Crotonyl-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malate	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2.0×10^3	2×10^{-5}	1×10^8

Livelli massimi di efficienza catalitica sono ottenibili da valori diversi di k_{cat} e k_m

Vale per enzimi differenti e per lo stesso enzima nei confronti di più substrati

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Carbonic anhydrase	CO ₂	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO ₃ ⁻	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
Catalase	H ₂ O ₂	4×10^7	1.1×10^0	4×10^7
Crotonase	Crotonyl-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malate	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2.0×10^3	2×10^{-5}	1×10^8

Costanti catalitiche: riassunto

K_m (mM) = concentrazione di substrato che corrisponde alla metà della velocità massima.

K_{cat} (s^{-1}) = detto anche numero di turnover, costante cinetica definita dalla k della reazione limitante; è il numero massimo di molecole di substrato convertite in prodotto nell'unità di tempo da una molecola di enzima.

K_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$) = parametro cinetico che dipende in maniera diretta dalla frequenza di interazione (di "incontro") tra E ed S e dall'efficienza con cui E ed S si dissociano