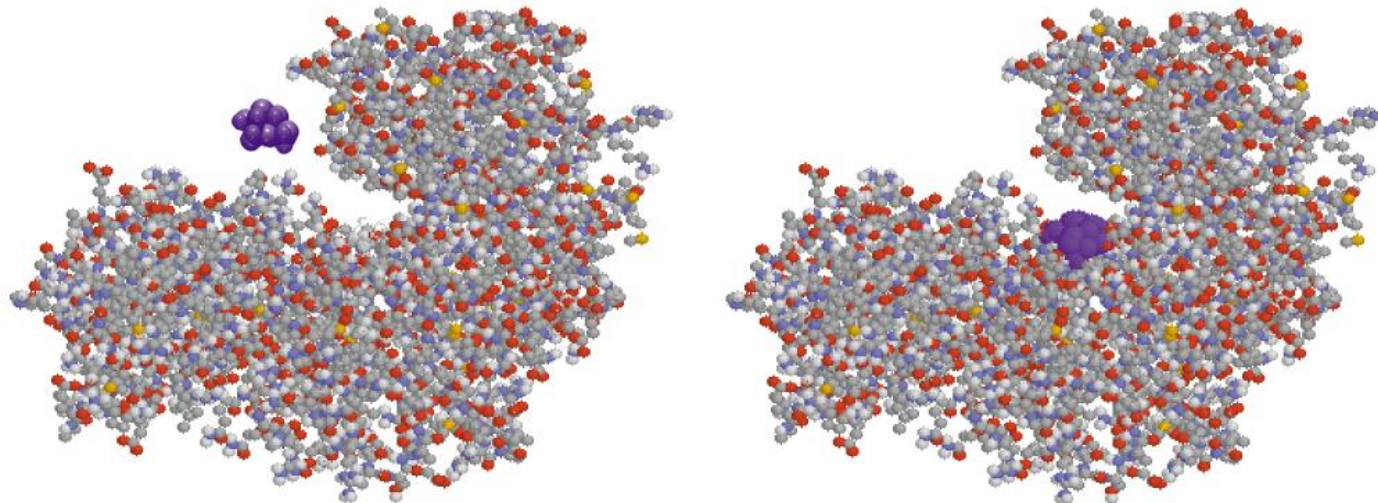
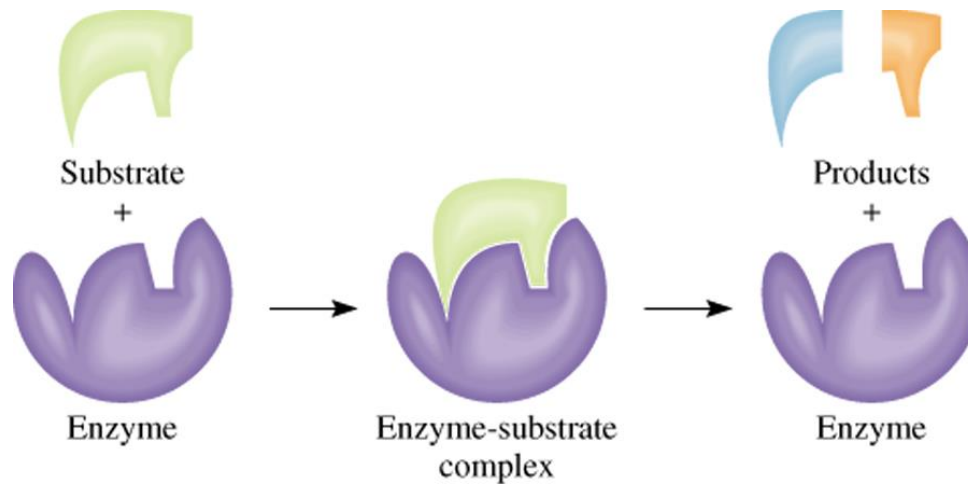
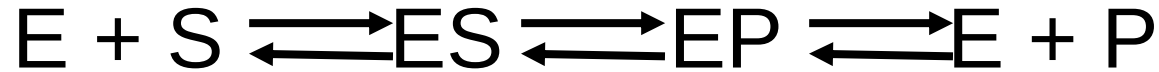


# KINETIKA ENZIMSKI KATALISANIH REAKCIJA



# Jednostavna enzimska reakcija

Michaelis i Menten mehanizam delovanja enzima (1913)



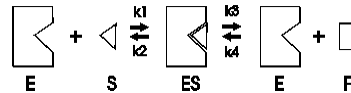
E: Enzim

S: Substrat

P: Produkt

ES: enzim-substrat kompleks

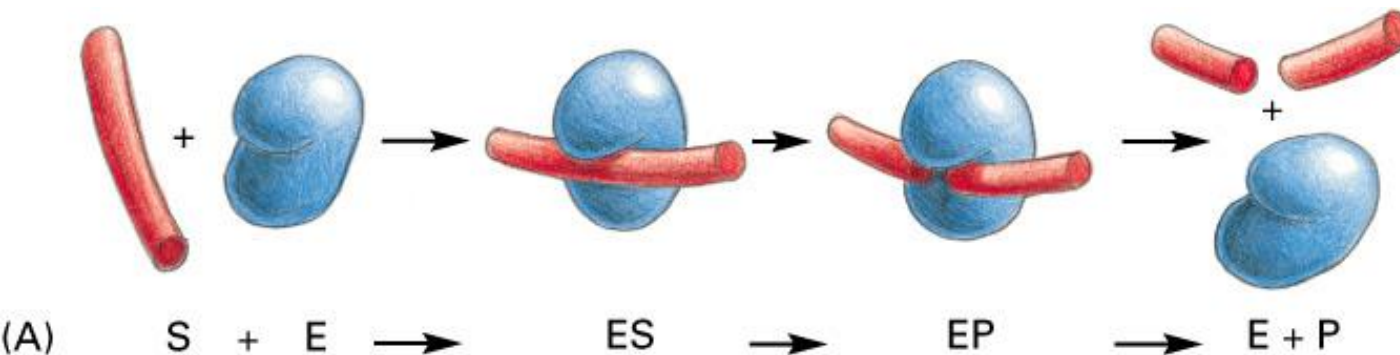
EP: enzim-produkt kompleks



Leonor Michaelis  
1875–1949

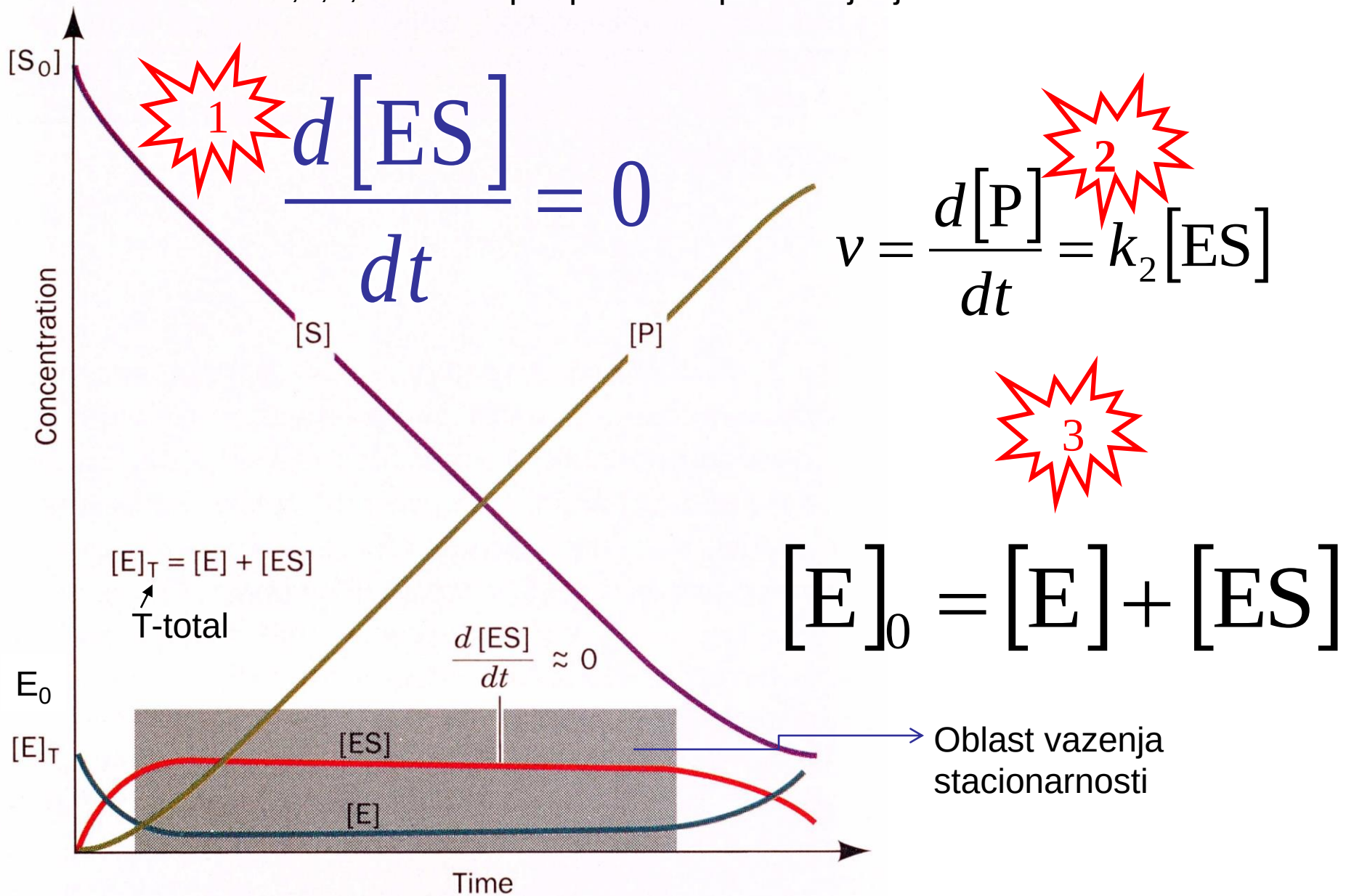


Maud Menten  
1879–1960



Primer za  
raskidanje  
proteina na  
manje delove

1,2,3, osnovne pretpostavke pri izvodjenju MM kinetike



$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = k_1[\text{E}][\text{S}] - k_{-1}[\text{ES}] - k_2[\text{ES}] = 0$$

$$k_1([\text{E}]_0 - [\text{ES}])[\text{S}] = (k_{-1} + k_2)[\text{ES}]$$

$$[\text{ES}](k_{-1} + k_2 + k_1[\text{S}]) = k_1[\text{E}]_0[\text{S}]$$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{E}]_0[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}$$

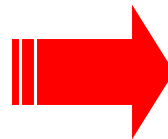
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$v = \left( \frac{d[P]}{dt} \right) = k_2 [ES] = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$

$$V_{\max} = k_2 [E]_0$$

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

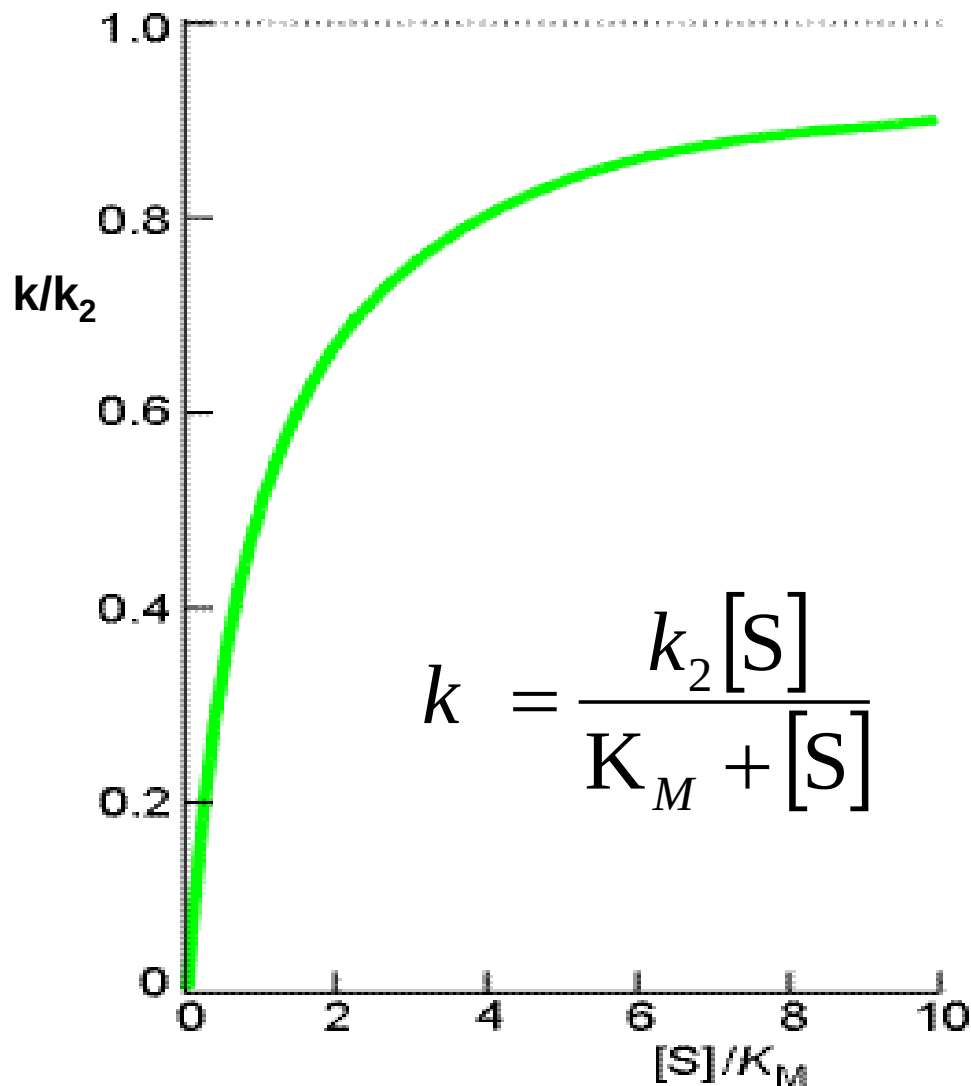
$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]}{K_M + [S]}$$



$$\frac{d[P]}{dt} = k [E]_0$$

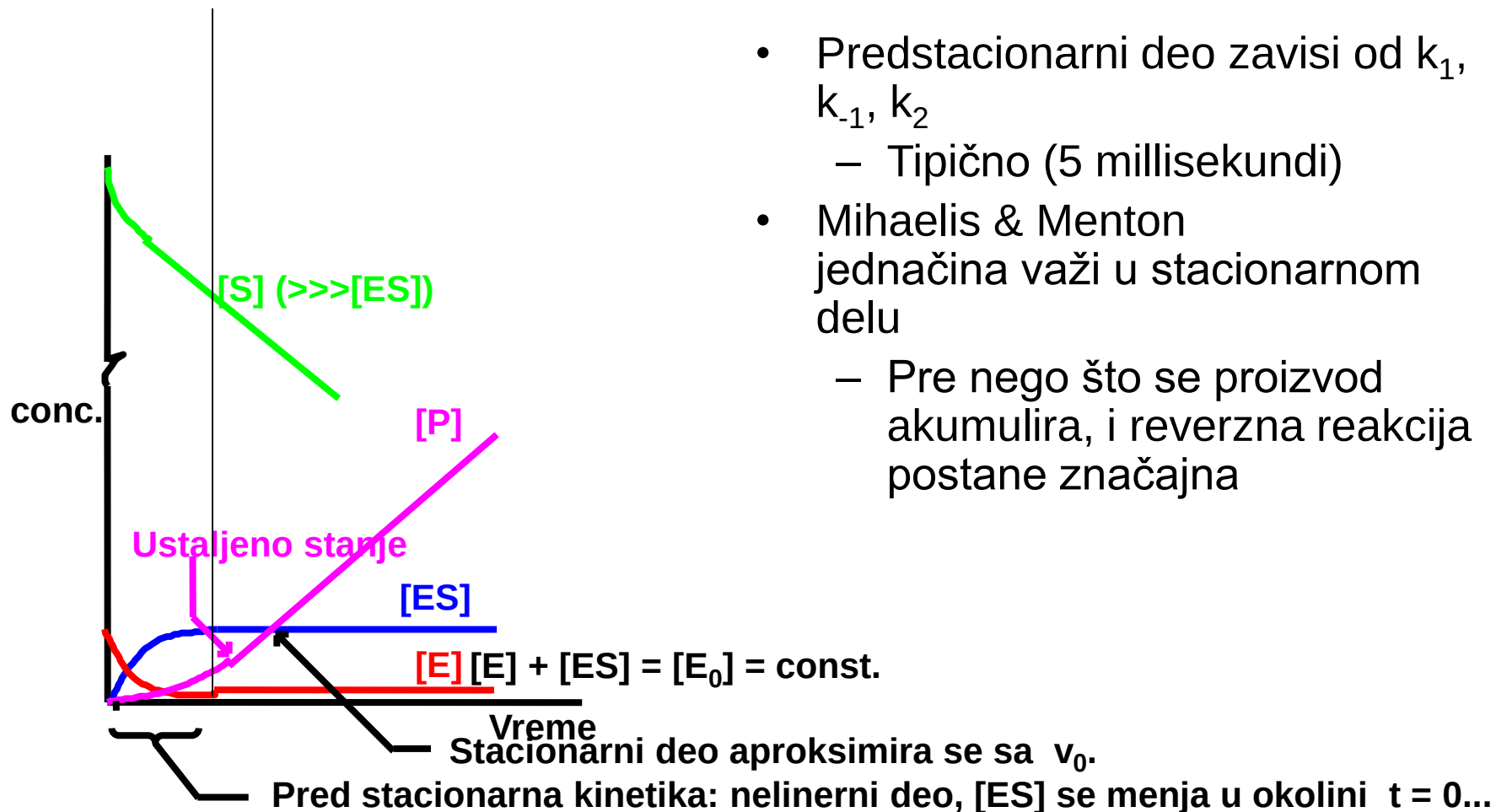
$$k = \frac{k_2[S]}{K_M + [S]}$$

- Ako se uzme da je  $d[P]/dt = k [E]_0$  gde je  $k$  efektivna (prividna) konstanta brzine
- $k = k_2 [S]/([S] + K_M)$
- Kriva  $k$  vs.  $[S]$  pokazuje da će se za velike vrednosti  $[S]$ ,  $k$  približavati  $k_2$



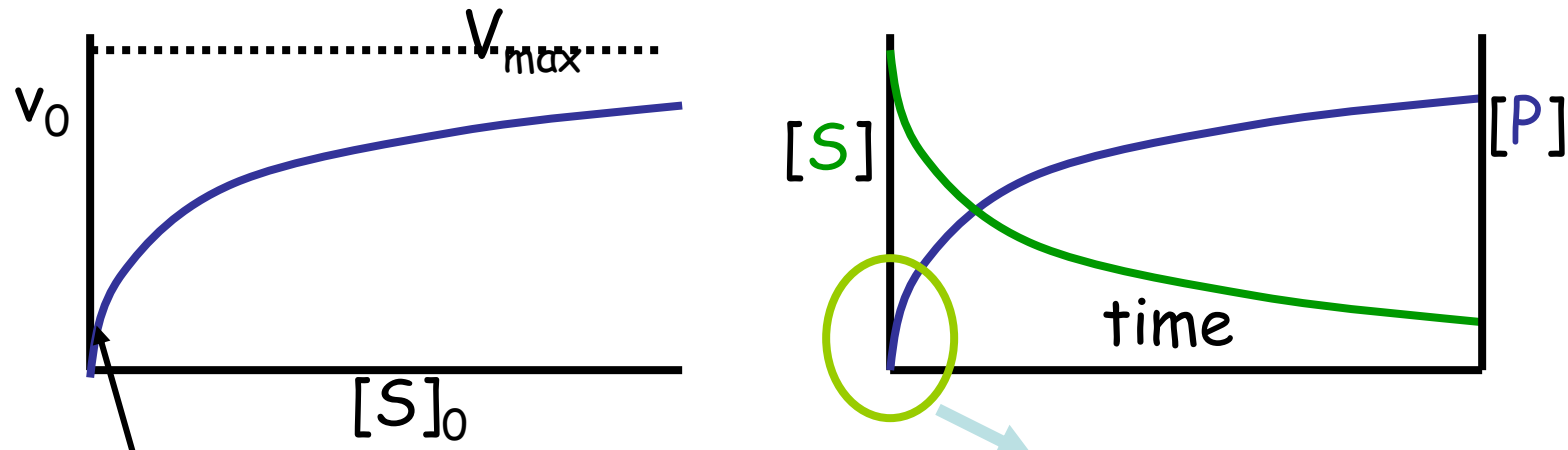
# Pred stacionarni i stacionarni režim

(vreme koje prethodi uspostavljanju stacionarnosti)



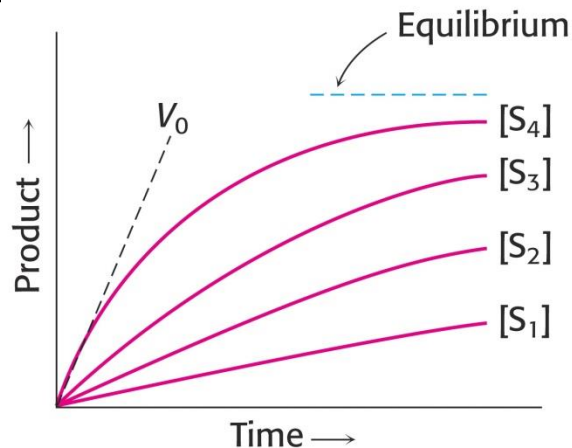
# Eksperiment u stacionarnom stanju

Meri se  $v_0$  dok je  $[ES]$  konstantno tj u ustaljenom stanju



Meri se početna brzina nastajanja produkta (ili nestajanja supstrata) za različito  $[S]_0$  i crta grafik  $v_0 = f([S]_0)$

**Pri različitim početnim koncentracijama supstrata menjaće se svakako brzina nastajanja proizvoda**



Početne brzine se standardno određuju iz nagiba tangente u  $t_0$  za razne  $[S]_0$



# Interpretacija osnovnih parametra MM kinetike:

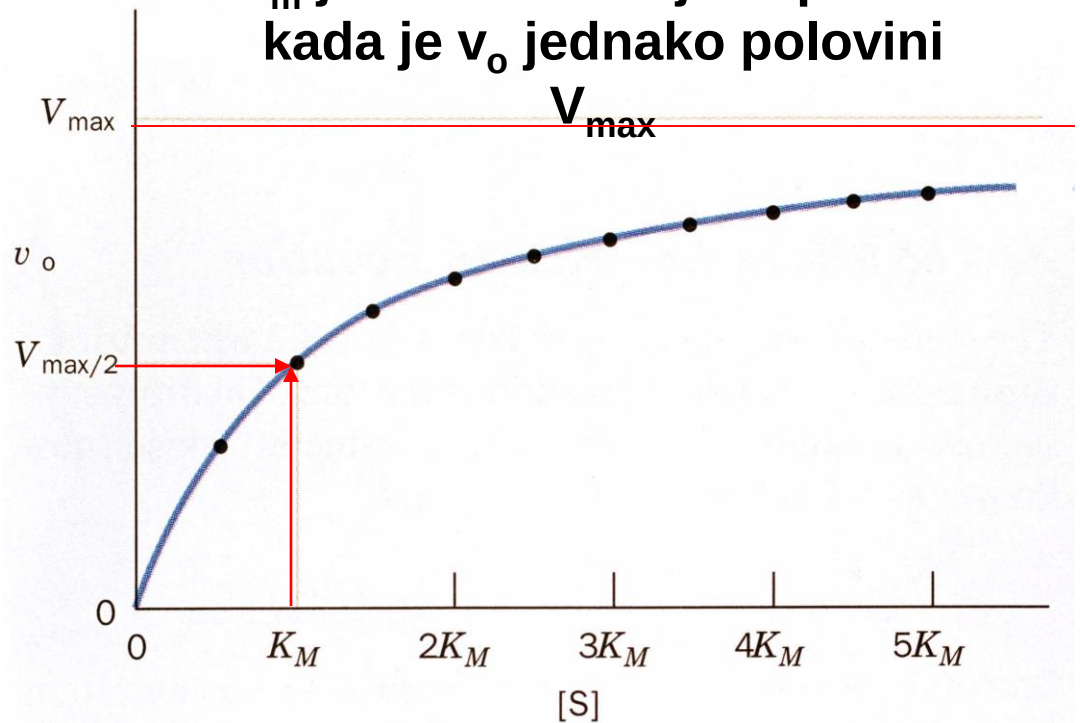
$$v_o = \left( \frac{d[P]}{dt} \right)_{t=0} = k_2 [ES] = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$

$v_o$  je početna brzina

$V_{\max} = k_2 [E]_0$   
maksimalna brzina

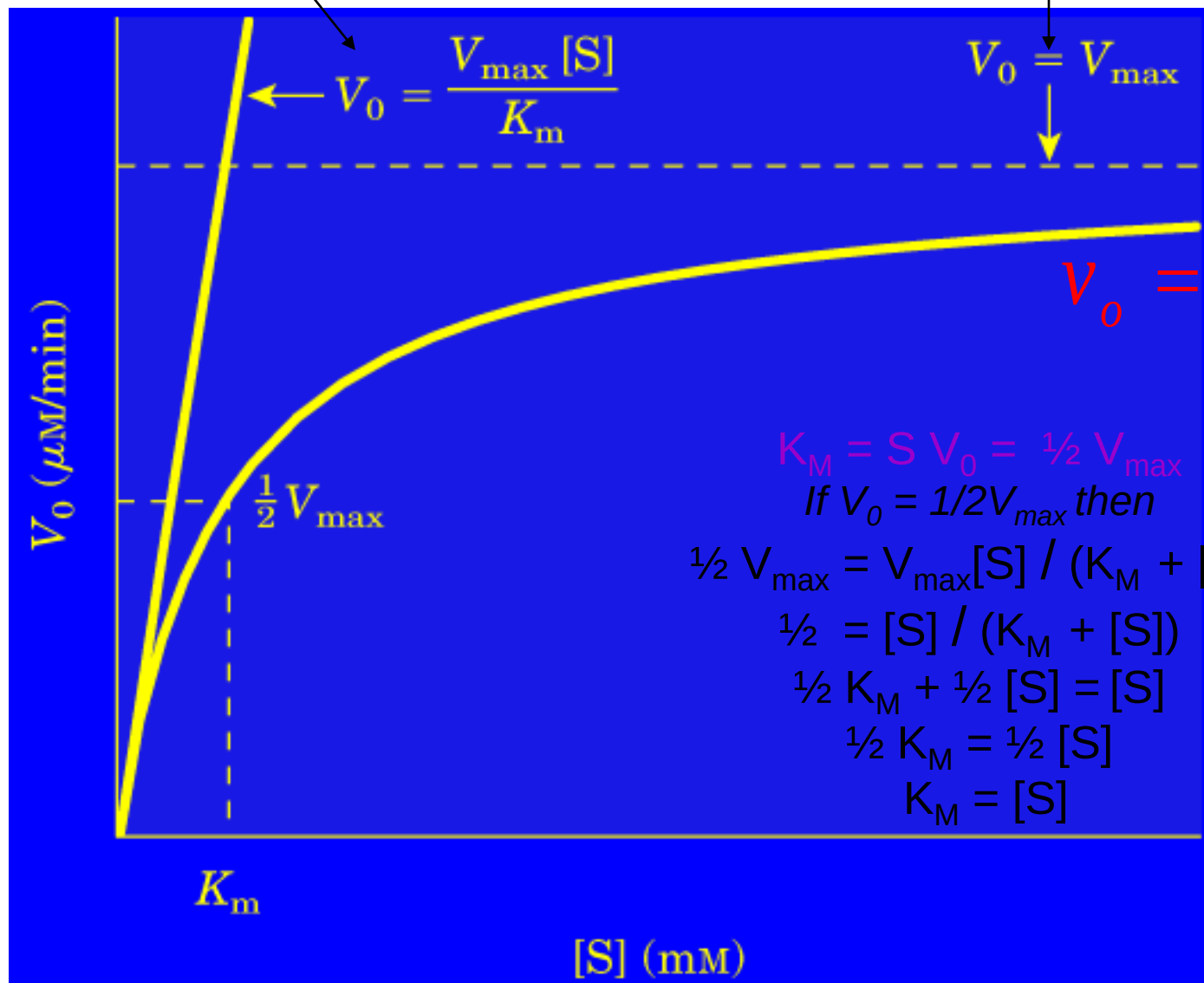
$K_m$  je koncentracija supstrata  
kada je  $v_o$  jednako polovini

$$v_o = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$



Prvi red reakcije u odnosu na S

Nulti red reakcije u odnosu na S



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$K_M = [S] \text{ when } V_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$$

If  $V_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$  then

$$\frac{1}{2} V_{\max} = V_{\max} [S] / (K_M + [S])$$

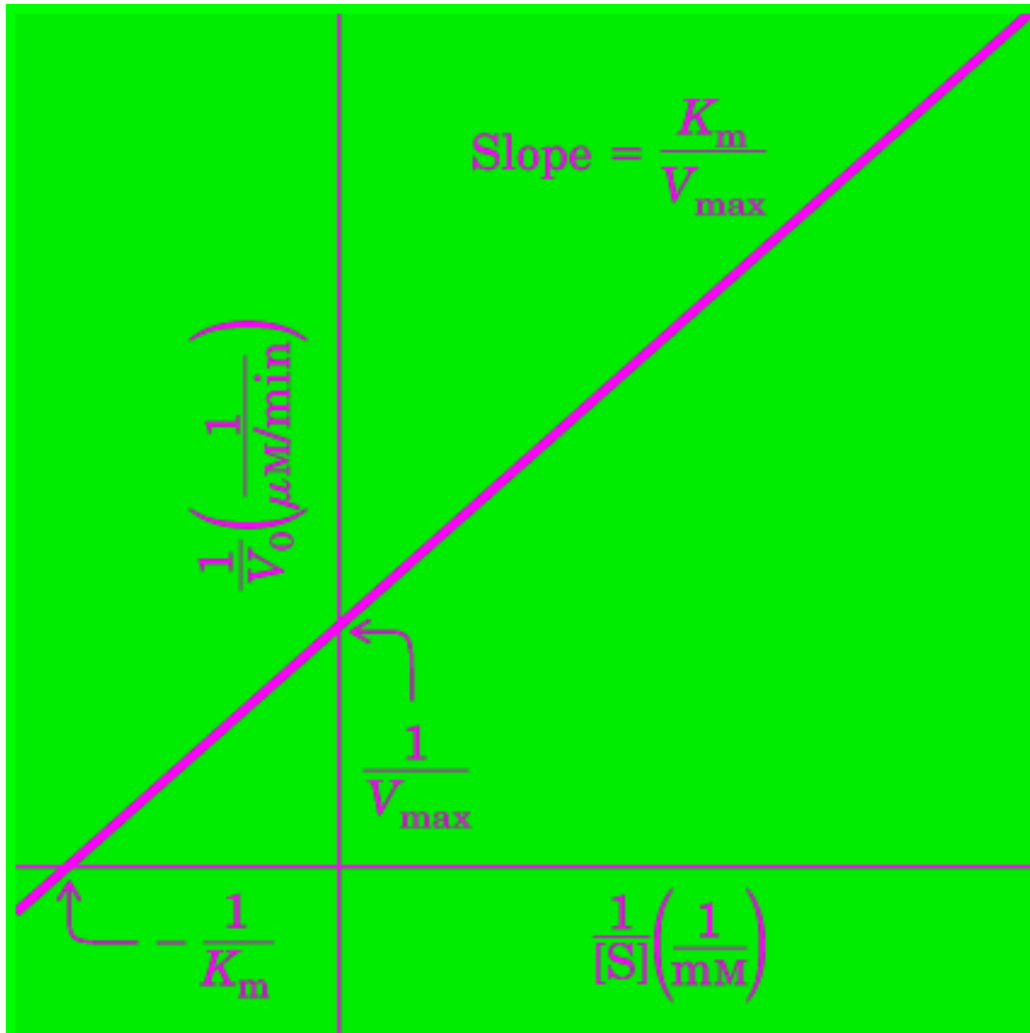
$$\frac{1}{2} = [S] / (K_M + [S])$$

$$\frac{1}{2} K_M + \frac{1}{2} [S] = [S]$$

$$\frac{1}{2} K_M = \frac{1}{2} [S]$$

$$K_M = [S]$$

Linearizacija MM jednačine da bi se lakše odredili parametri enzimske kinetike



$$\frac{1}{v_o} = \left( \frac{K_M}{V_{\text{max}}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\text{max}}}$$

# $K_M$ -Mihaelisova konstanta

table 8–6

$K_m$  for Some Enzymes and Substrates

| Enzyme                 | Substrate                     | $K_m$ (mM) |
|------------------------|-------------------------------|------------|
| Catalase               | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 25         |
| Hexokinase (brain)     | ATP                           | 0.4        |
|                        | D-Glucose                     | 0.05       |
|                        | D-Fructose                    | 1.5        |
| Carbonic anhydrase     | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 26         |
| Chymotrypsin           | Glycyltyrosinylglycine        | 108        |
|                        | N-Benzoyltyrosinamide         | 2.5        |
| $\beta$ -Galactosidase | D-Lactose                     | 4.0        |
| Threonine dehydratase  | L-Threonine                   | 5.0        |

# Turnover broj, broj ponavljanja, $k_{\text{cat}}$

- broj reakcija koje se dese na svakom aktivnom centru u jedinici vremena, ili broj molekula produkta koji se stvori po jednom aktivnom centru u jedinici vremena

- Turn over broj predstavlja formiranje produkta pri visokoj koncentraciji substrata.

- $k_{\text{cat}} = V_{\text{max}}/E_0$                       (  $V_{\text{max}} = k_2 \times E_0$  )

- $k_{\text{cat}} = k_2$  za Mihaelis-Menten ovu kinetiku

- biće znatno kompleksnije za složenije mehanizme

# Turnover broj, $k_{\text{cat}}$

table 8–7

Turnover Numbers ( $k_{\text{cat}}$ ) of Some Enzymes

| Enzyme                   | Substrate              | $k_{\text{cat}}$ ( $\text{s}^{-1}$ ) |
|--------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| Catalase                 | $\text{H}_2\text{O}_2$ | 40,000,000                           |
| Carbonic anhydrase       | $\text{HCO}_3^-$       | 400,000                              |
| Acetylcholinesterase     | Acetylcholine          | 14,000                               |
| $\beta$ -Lactamase       | Benzylpenicillin       | 2,000                                |
| Fumarase                 | Fumarate               | 800                                  |
| RecA protein (an ATPase) | ATP                    | 0.4                                  |

# Katalitička efikasnost: $k_{\text{cat}}/K_M$

Za Mihaelis –Mentonovu kinetiku  $k_2 = k_{\text{cat}}$

Kada je  $[S] \ll K_M$ , (nema puno produkta)

$$v_o \approx \frac{k_2}{K_M} [E]_0 [S] \approx \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} [E]_0 [S]$$

**$k_{\text{cat}}/K_M$  je konstanta brzine reakcije drugog reda i približno je mera katalitičke efikasnosti**

# Katalitička efikasnost: $\epsilon = k_{\text{cat}}/K_M$

$$\# k_{\text{cat}}/K_M = k_2/K_M = k_1 k_2 / (k_{-1} + k_2)$$

$$\# \text{ za } k_2 \gg k_{-1} \text{ maksimalna vrednost } \epsilon = k_{\text{cat}}/K_M = k_1$$

Ukoliko je  $k_1$  brzo, brzina reakcije je određena difuzijom S i E

table 8-8

Enzymes for Which  $k_{\text{cat}}/K_m$  Is Close to the Diffusion-Controlled Limit ( $10^8$  to  $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )

| Enzyme                     | Substrate                  | $k_{\text{cat}}$<br>( $\text{s}^{-1}$ ) | $K_m$<br>(M)         | $k_{\text{cat}}/K_m$<br>( $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|
| Acetylcholinesterase       | Acetylcholine              | $1.4 \times 10^4$                       | $9 \times 10^{-5}$   | $1.6 \times 10^8$                                        |
| Carbonic anhydrase         | $\text{CO}_2$              | $1 \times 10^6$                         | $1.2 \times 10^{-2}$ | $8.3 \times 10^7$                                        |
|                            | $\text{HCO}_3^-$           | $4 \times 10^5$                         | $2.6 \times 10^{-2}$ | $1.5 \times 10^7$                                        |
| Catalase                   | $\text{H}_2\text{O}_2$     | $4 \times 10^7$                         | 1.1                  | $4 \times 10^7$                                          |
| Crotonase                  | Crotonyl-CoA               | $5.7 \times 10^3$                       | $2 \times 10^{-5}$   | $2.8 \times 10^8$                                        |
| Fumarase                   | Fumarate                   | $8 \times 10^2$                         | $5 \times 10^{-6}$   | $1.6 \times 10^8$                                        |
|                            | Malate                     | $9 \times 10^2$                         | $2.5 \times 10^{-5}$ | $3.6 \times 10^7$                                        |
| $\beta$ -Lactamase         | Benzylpenicillin           | $2.0 \times 10^3$                       | $2 \times 10^{-5}$   | $1 \times 10^8$                                          |
| Triose phosphate isomerase | Glyceraldehyde 3-phosphate | $4.3 \times 10^3$                       | $4.7 \times 10^{-4}$ | $2.4 \times 10^8$                                        |



# Šta je katalitička perfekcija?

Kada je  $k_2 \gg k_{-1}$  ili odnos  $\frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}$  maksimalan

Tada je  $\frac{k_{cat}}{K_M} = k_1$  Svaki supstrat koji se našao na enzimu je reagovao.

**Reakcija je samo difuziono kontrolisana, brzina difuzije je  $10^8$  to  $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Enzim toliko snižava energiju aktivacije za reakciju da svaki susret supstrata sa aktivnim centrom dovodi do reakcije.**

# INHIBICIJA

Inhibitor je supstanca koja se vezuje za enzim i smanjuje konverziju u produkt. Jačina ove veze se definiše konstantom stabilnosti, koja u slučaju direktne veze sa aktivnim centrom enzima može da se prikaže na sledeći način:

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

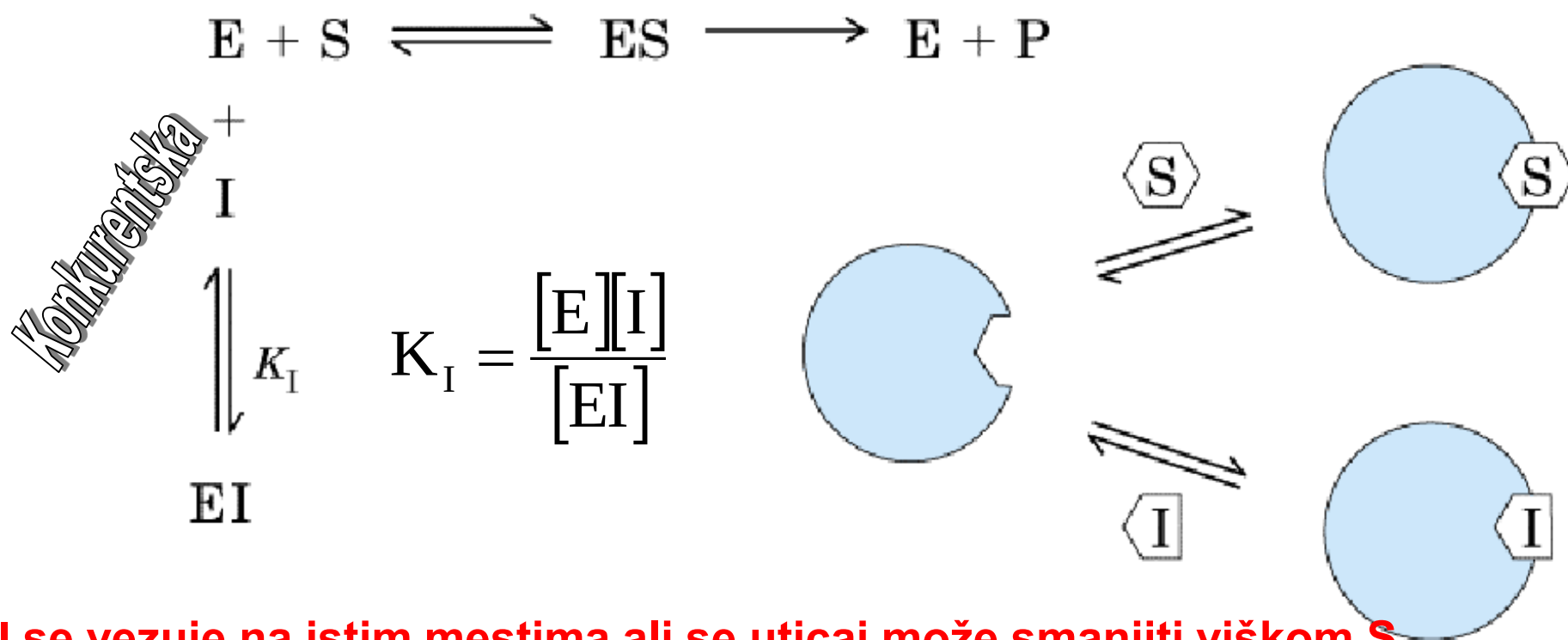
u prisustvu inhibitora I dalje važi MM kinetika. Merene konstante  $K_M$  i  $V_{max}$  su sada prividne (složene) konstante.

# Kinetika inhibicije

- Inhibitori- substance koje utiču na aktivnost enzima
  - Utiču na vezivanje supstrata
  - Menjaju turnover broj, brzinu katalitičke reakcije
- reverzibilni inhibitori interaguju sa nekovalentnim vezama
- Ireverzibilni inhibitori se vezuju jakim kovalentnim vezama za enzim

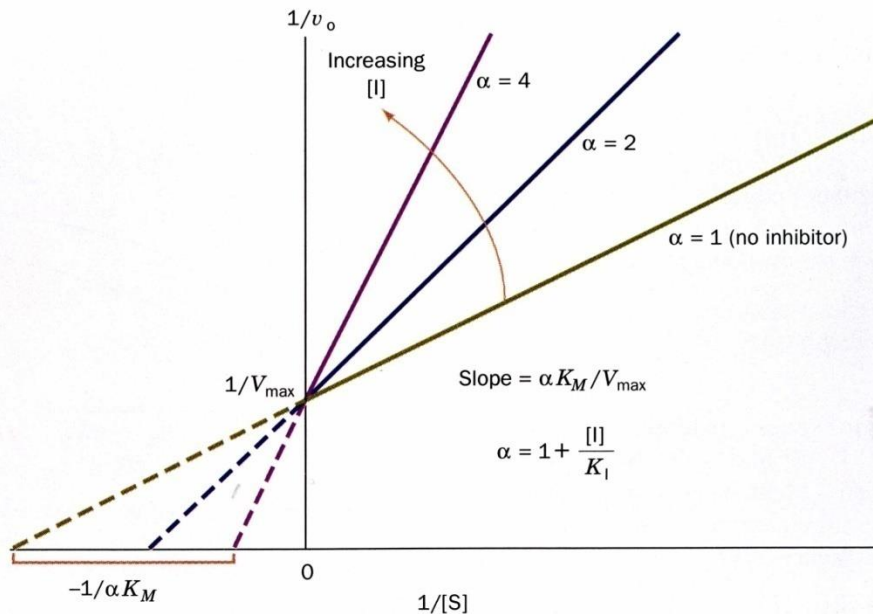
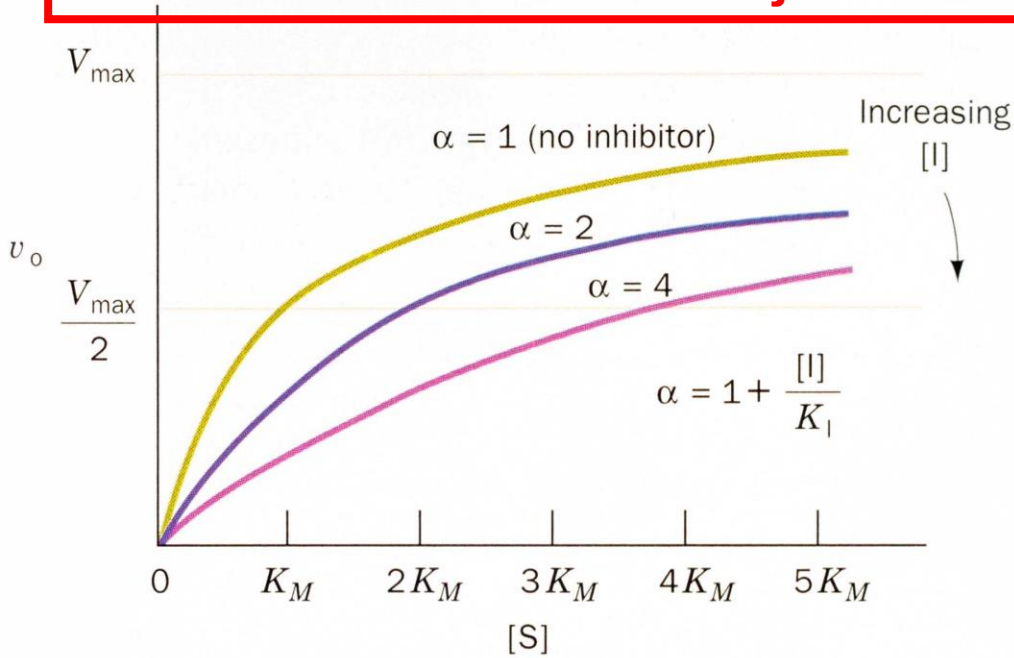
# Konkurentska inhibicija

Konkurentska inhibicija, inhibitor se vezuje na isti centar kao supstrat, onemogućava supstrat da reaguje, smanjuje broj mesta na kojima se supstrat vezuje.



- Ne utiče na  $V_{\max}$
- prividna  $K_M$  ( $\alpha K_M$ ) će rasti sa porastom koncentracije inhibitora.

# Konkurentska inhibicija



$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$v_o = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_M + [S]}$$

$$\alpha = \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

$$\frac{1}{v_o} = \left( \frac{\alpha K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{S} + \frac{1}{v_{\max}}$$

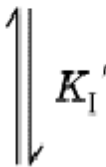
# Nekonkurentska inhibicija (uncompetitive inhibition)

Inhibitor se vezuje nakon vezivanja supstrata na centar koji nije aktivni centar

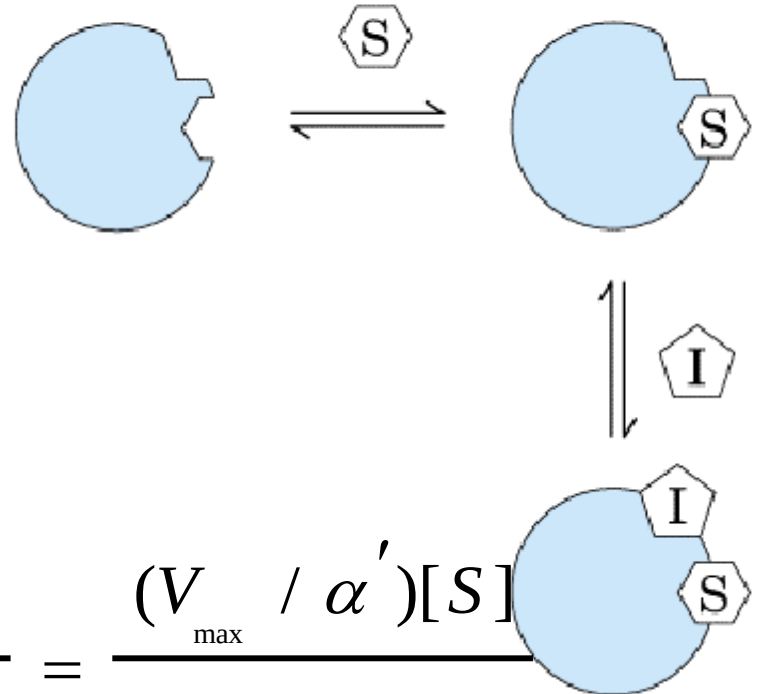


+

I



ESI



Inhibitor se vezuje samo na ES kompleks

I sprečava formiranje produkta,

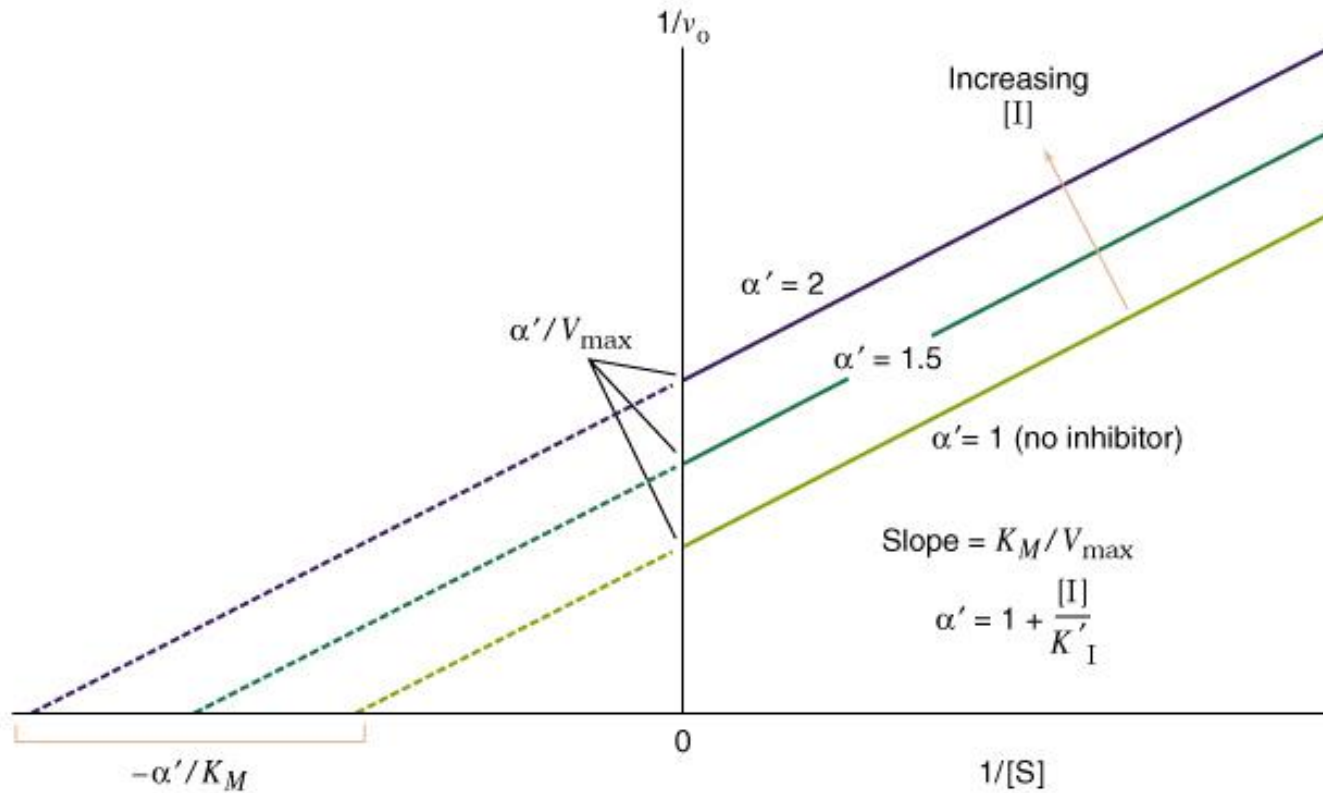
•  $V_{\max}$  opada i

•  $K_M$  opada u istom iznosu

$$\alpha' = \left( 1 + \frac{[I]}{K_I'} \right) \quad v_o = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + \alpha' [S]} = \frac{(V_{\max} / \alpha') [S]}{K_M / \alpha' + [S]}$$

# Nekonkurentska inhibicija

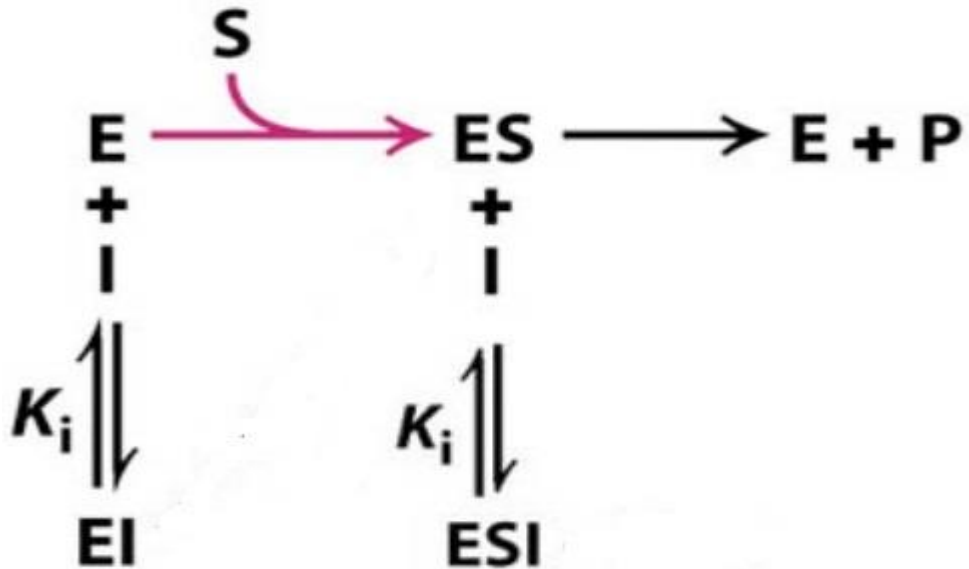
$$\frac{1}{v_o} = \left( \frac{K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{S} + \frac{\alpha'}{v_{\max}}$$



# Mešovita inhibicija

Inhibitor se vezuje  
blokirajući i E i ES;

- utiče na oba faktora  $V_{\max}$  i  $K_M$  ali ne uvek.



Mešovita

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_M + \alpha' [S]} = \frac{(V_{\max} / \alpha') [S]}{\alpha K_M / \alpha' + [S]}$$

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

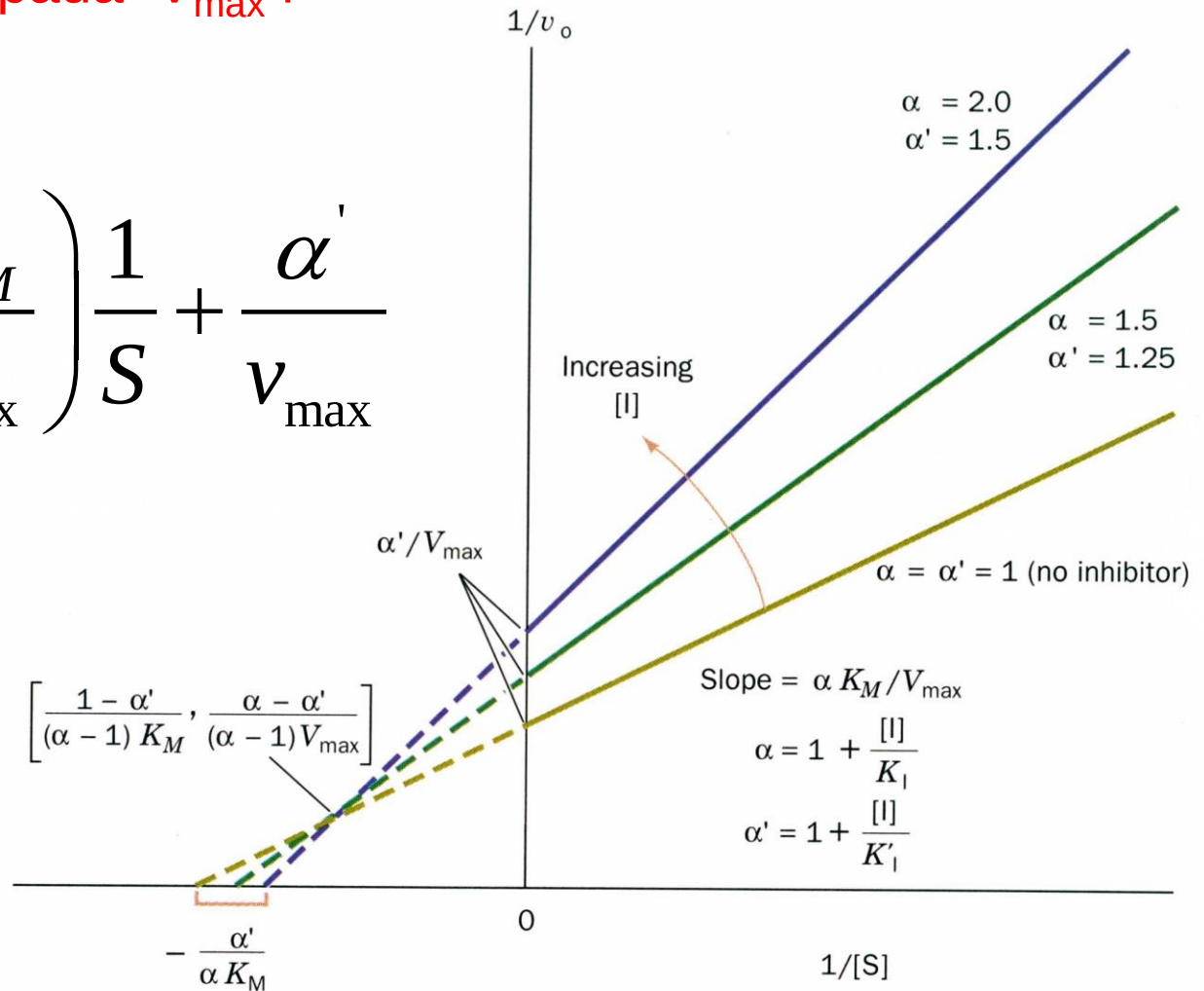


- Sa porastom  $[I]$  opada  $V_{\max}$  i raste  $K_M$ .

$$\frac{1}{v_o} = \left( \frac{\alpha K_M}{\alpha' v_{\max}} \right) \frac{1}{S} + \frac{\alpha'}{v_{\max}}$$

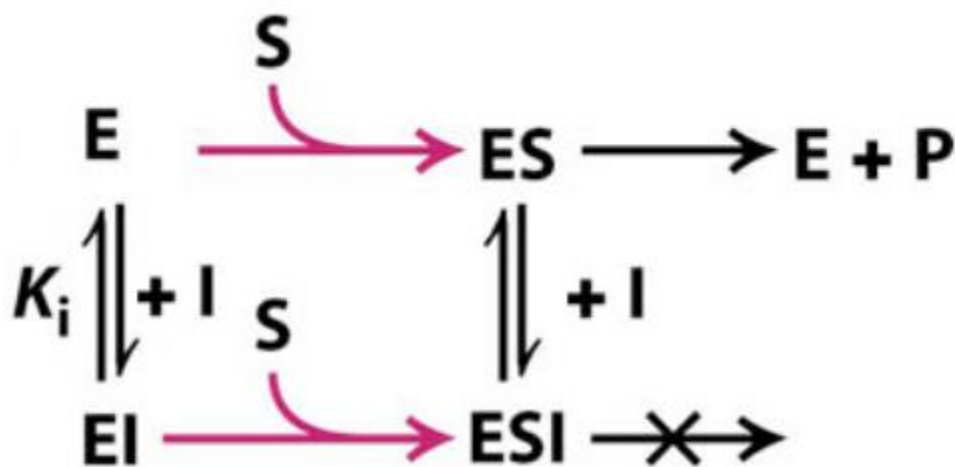
$$\alpha = \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

$$\alpha' = \left( 1 + \frac{[I]}{K'_I} \right)$$



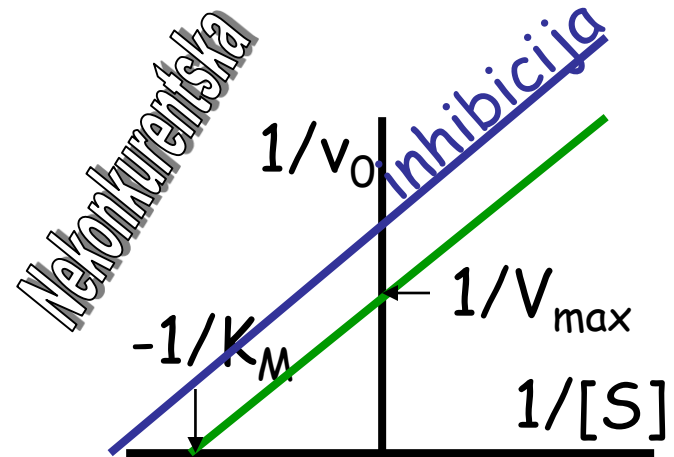
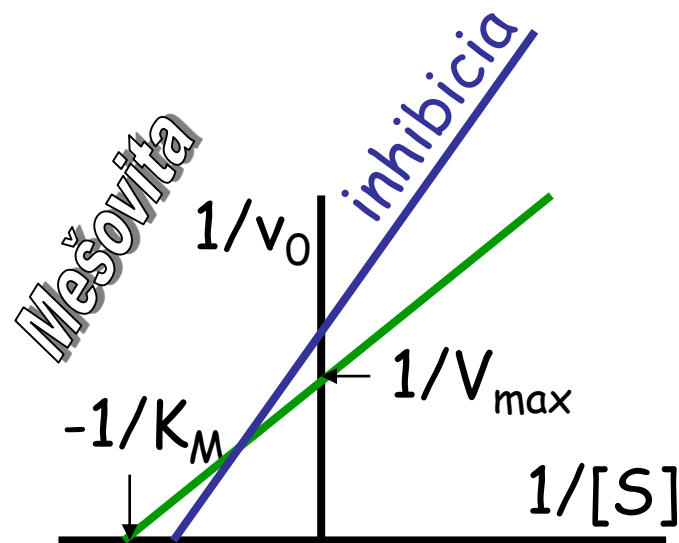
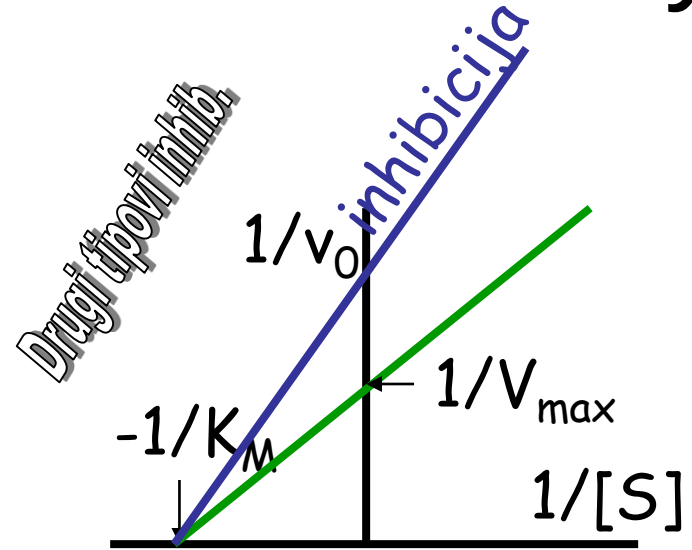
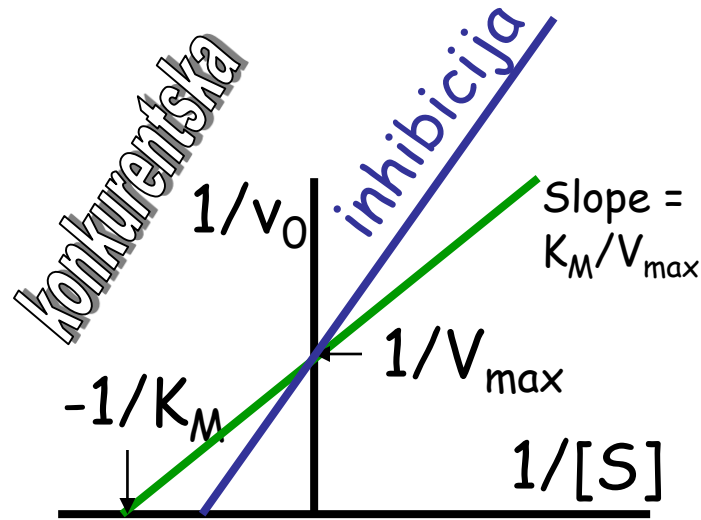
## Ne-kompetitivna inhibicija - drugi tipovi inhibicije, (non-competitive)

Nekonkurentna inhibicija, slučaj u kome se inhibitor veže potpuno nezavisno od supstrata. U tom slučaju njegovo vezivanje ne utiče na  $K_M$ , ali može da smanjuje  $V_{max}$ ,



**Supstrat može da se veže direktno na E ali i na EI. Inhibitor može da se veže i na E in ES.**  
**Iz ESI ne dolazi do gradjenja produkta zbog konformacionih promena izazvanih inhibitorom**

# Types of inhibition - Summary



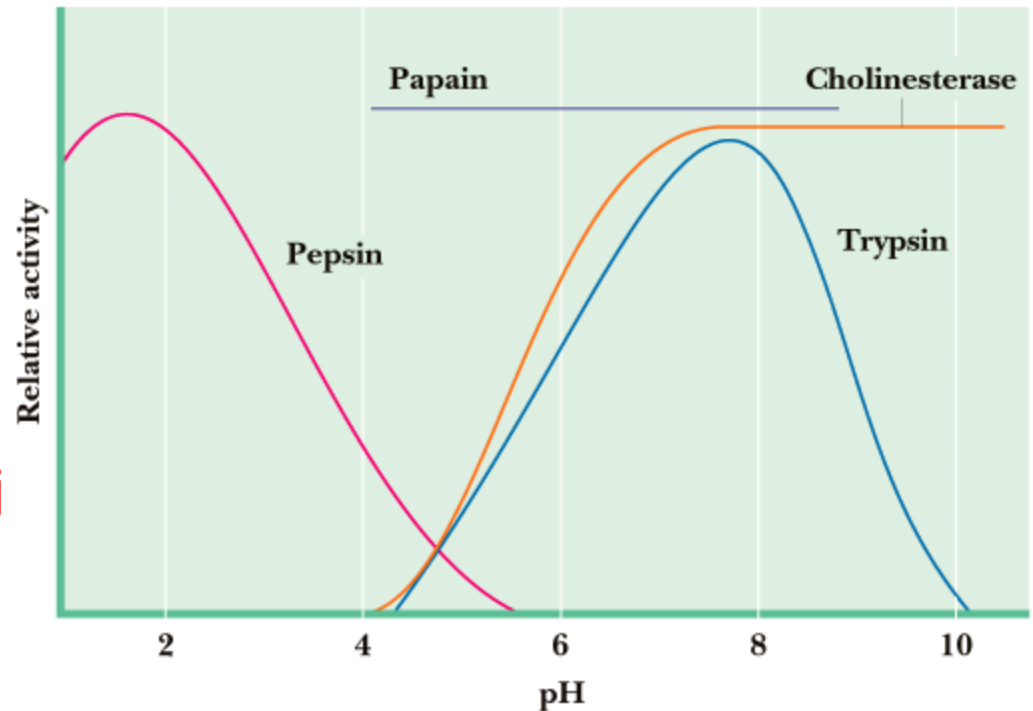
# Uticaj inhibicije na parametre Mihelis Mentenove jednačine

| Tip inhibicije | $V_{\max}^{priv}$    | $K_M^{priv}$           |
|----------------|----------------------|------------------------|
| Bez inhibicije | $V_{\max}$           | $K_M$                  |
| konkurentska   | $V_{\max}$           | $\alpha K_M$           |
| nekonkurentska | $V_{\max} / \alpha'$ | $K_M / \alpha'$        |
| mešovita       | $V_{\max} / \alpha'$ | $\alpha K_M / \alpha'$ |

# UTICAJ pH

Aktivnost enzima zavisi od pH sredine, za svaki enzim postoji specifična zavisnost od pH sredine.

pH koji odgovara maksimalnoj brzini reakcije je poznat kao optimalni pH.



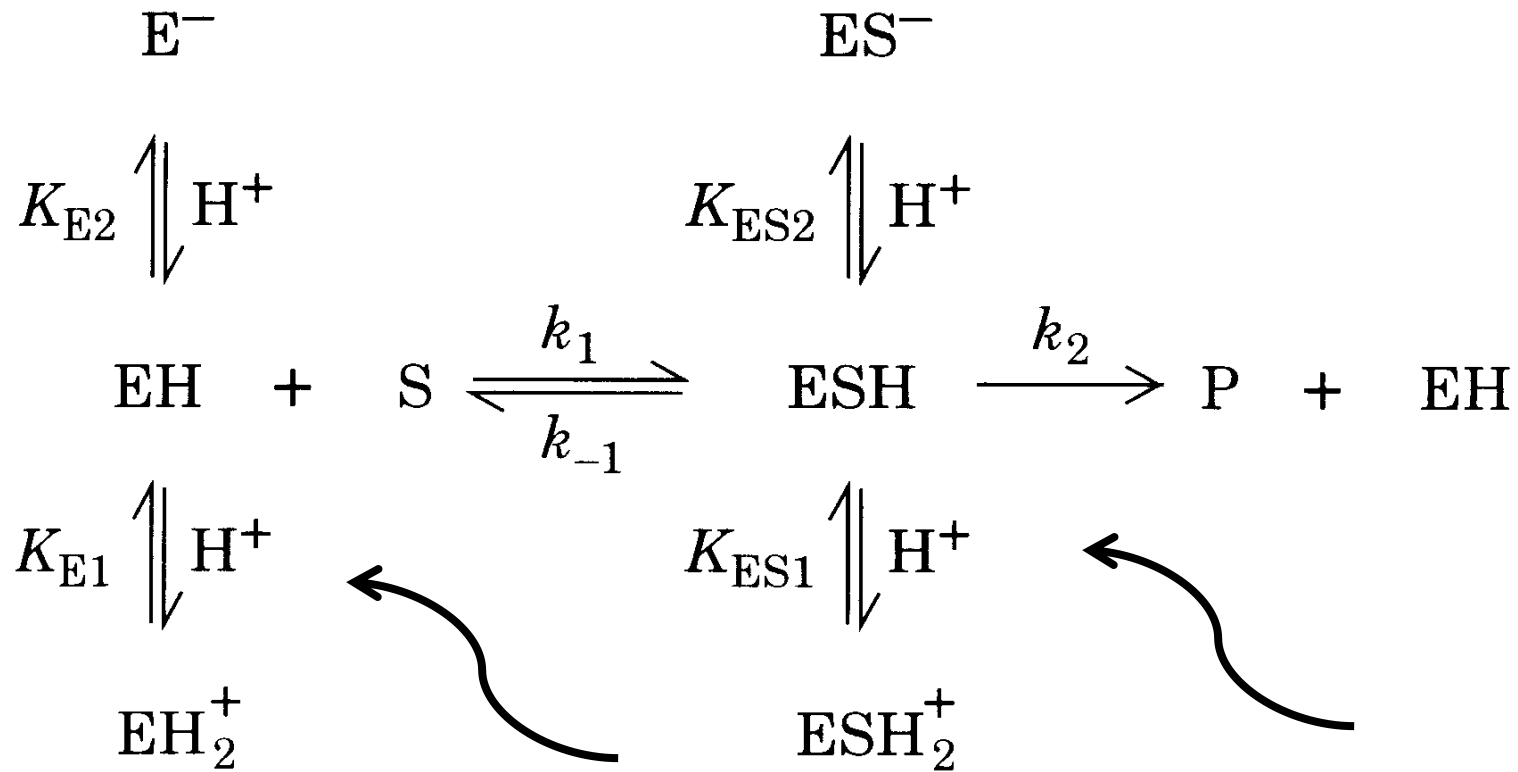
Uticaj pH je prvi vrlo malim ili pri vrlo velikim vrednostima ireverzibilan jer u tim uslovima dolazi do narušavanja tercijerne strukture proteina.

Reverzibilne promene će se događati u oblastima gde se pH ne razlikuje mnogo od optimalnog pH.

| Optimum pH of Some Enzymes |            |
|----------------------------|------------|
| Enzyme                     | Optimum pH |
| Pepsin                     | 1.5        |
| Catalase                   | 7.6        |
| Trypsin                    | 7.7        |
| Fumarase                   | 7.8        |
| Ribonuclease               | 7.8        |
| Arginase                   | 9.7        |

# Uticaj pH na kinetičke parametre

Protonovanje i deprotonovanje EH i ESH ne pogoduje stvaranju P. Zato za svaki enzim postoji optimalni pH u zavisnosti od odgovarajućih kiselinskih K



$$K_b = \frac{[EH][H^+]}{[EH_2^+]}; \quad K_a = \frac{[E^-][H^+]}{[EH]}$$

$$K_{bx} = \frac{[ESH][H^+]}{[ESH_2^+]}; \quad K_{ax} = \frac{[ES^-][H^+]}{[ESH]}$$

$$E_o = [EH] + [E^-] + [EH_2^+] + [ESH] + [ES^-] + [ESH_2^+]$$

Koncentracija određene forme enzima će zavisiti od pH sredine

( $E^-$ ,  $EH_2^+$ , se izraze preko  $K_a$  i  $K_b$  a  $ES^-$  i  $ESH_2^+$  preko  $K_{ax}$  i  $K_{bx}$  u izrazu za  $E_o$ )

$$E_o = [EH] \left[ 1 + \frac{[H^+]}{K_b} + \frac{K_a}{[H^+]} \right] + [ESH] \left[ 1 + \frac{[H^+]}{K_{bX}} + \frac{K_{aX}}{[H^+]} \right]$$

$$\frac{d[[ESH]]}{dt} = 0$$

Stacionarno stanje  
Po ESH

$$= -(k_{-1} + k_2)[ESH] + k_1[EH][S]$$

Slično kao kod obične MM kinetike, koncentracija preostalog enzima EH se izrazi preko  $EH_0$  i EHS. Izračunata EHS (iz stacionarnog stanja) se uvrsti u izraz za brzinu procesa:

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{K_m(1 + K_a/[H]^+ + [H^+]/K_b) + [S](1 + K_{ax}/[H^+] + [H^+]/K_{bx})}$$

Za veliko S

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{[S](1 + K_{ax}/[H^+] + [H^+]/K_{bx})}$$

Za malo S

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{K_m(1 + K_a/[H]^+ + [H^+]/K_b)}$$



Primer : Merenje brzine pri **malim**  $[S]$  na raznim pH  
može da objasni yavisnost brzine od pH:

Visoka  $[H^+]$  odnosno malo  
pH

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{K_m[H^+] / K_b}; \log v = \text{const} - \log[H^+]$$

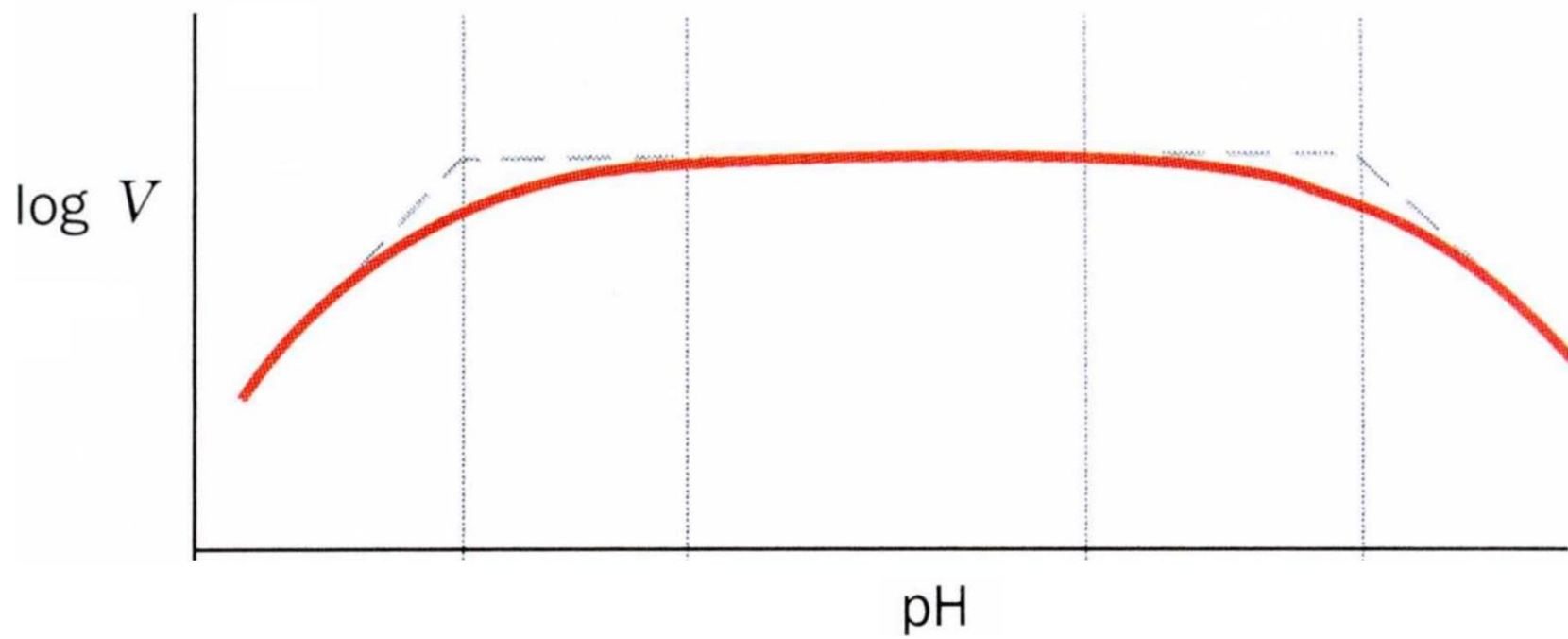
$$= \text{const} + pH$$

Srednje kiselosti

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{K_m}; \log v \text{ ne zavisi od } pH$$

Niska  $[H^+]$  odnosno  
visko pH

$$v = \frac{k_2[E_0][S]}{K_m(K_a / [H]^+)}; \log v = \text{const} - pH$$



Izraz za brzinu se može svesti na Standardni oblik MM kinetike:

$$K'_M = K_M \frac{\left[ 1 + \frac{[H^+]}{K_b} + \frac{K_a}{[H^+]} \right]}{\left[ 1 + \frac{[H^+]}{K_{bX}} + \frac{K_{ax}X}{[H^+]} \right]}$$

Delenjem sa izrazom pored S u imeniocu mogu se definisati prividna  $K'_M$  i  $V'_{max}$  koje takodje imaju pH zavisnost

$$V'_{max} = V_{max} \frac{1}{\left[ 1 + \frac{[H^+]}{K_{bX}} + \frac{K_{ax}X}{[H^+]} \right]}$$

$V_{max}$  i  $K_M$  su konstante aktivne forme enzima

$$v = \frac{V'_{max} [S]}{K'_M + [S]}$$

# Temperaturska zavisnost enzimski katalisanih reakcija

(odredjena je T zavisnošću  $k_{-1}$ ,  $k_1$  i  $k_2$ )

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

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

$$V_{\max} = k_2 [E_o]$$

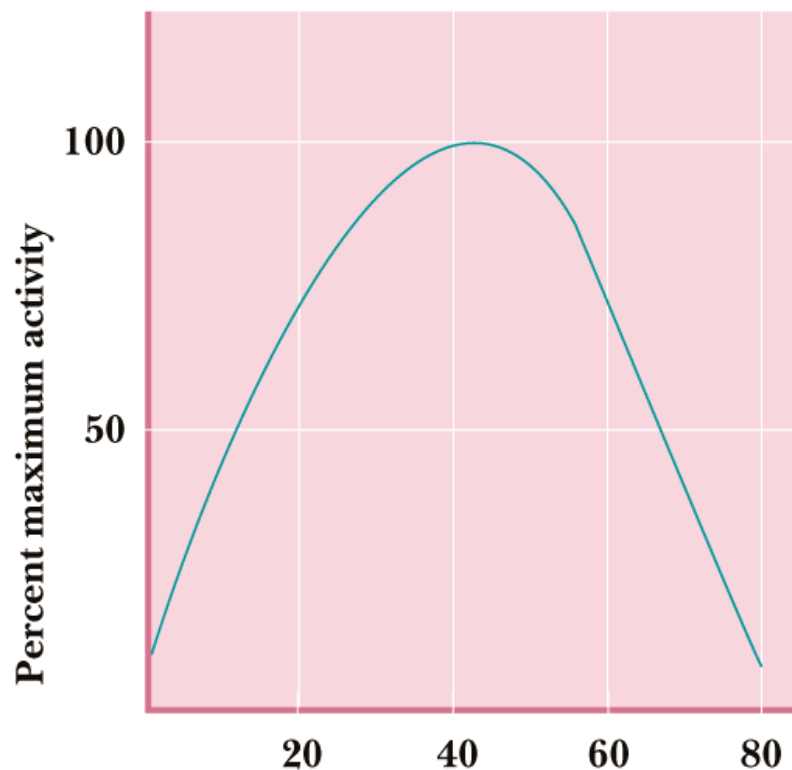
Ako je S malo

$$v = \frac{k_2 k_1 [E_o] [S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

Slučaj 1.  $k_2 \gg k_{-1}$

$$v = k_1 [E_o] [S]$$

Energija aktivacije  
odredjena sa  $k_1$   
formiranja kompleksa ES

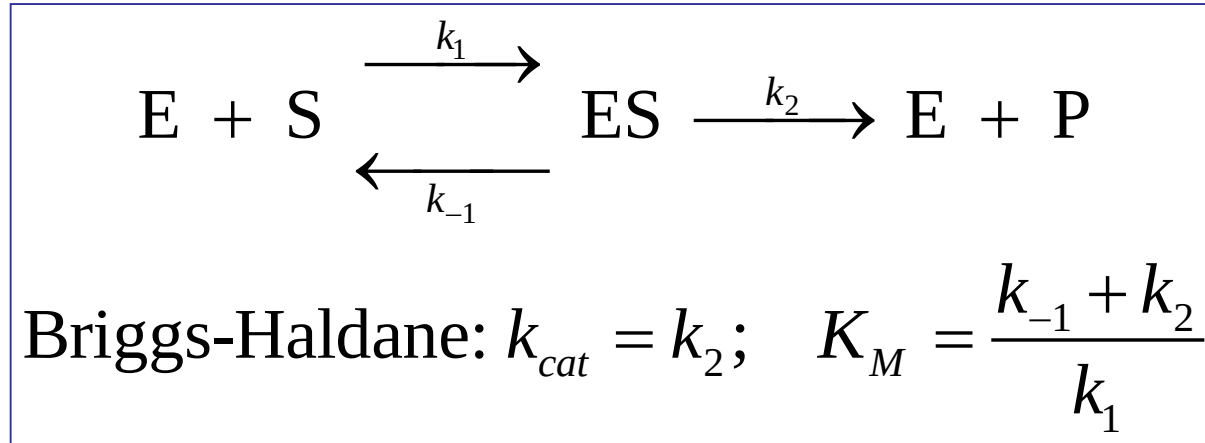


Slučaj 2.  $k_{-1} \gg k_2$   $t, ^\circ\text{C}$

$$v = \frac{k_2 k_1 [E_o] [S]}{k_{-1}} \quad \frac{k_2 k_1}{k_{-1}}$$

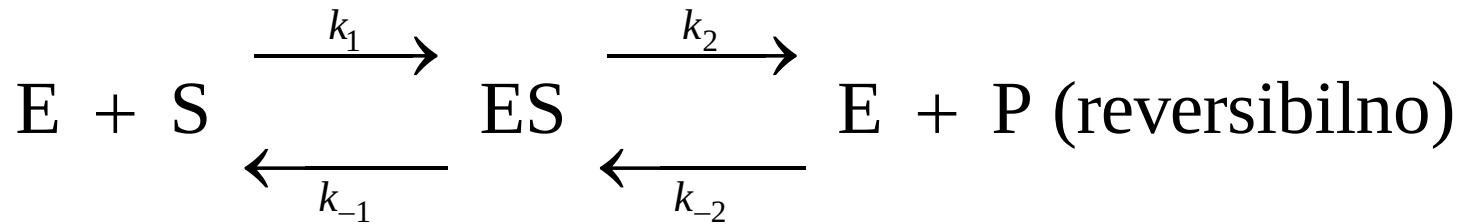
Energija aktivacije  
 $E = E_1 + E_2 - E_{-1}$

Mehanizmi na koje se može primeniti Mihaelis-Menten kinetika:



- Mnoge reakcije se mogu redukovati na ovu osnovnu formu.
- Jednostavna kinetika ne može razdvojiti  $k_1$ ,  $k_2$ , ...
- Složene i prividne konstante su ono što se može dobiti analizom ovih sistema  $k_{cat}$ ,  $K_M$

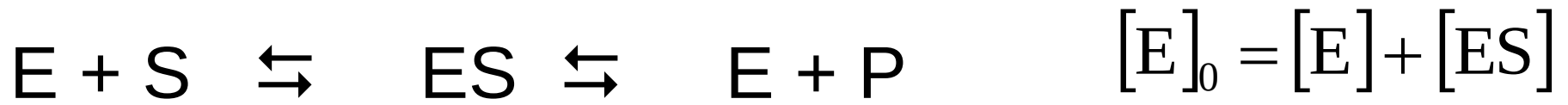
# Mehanizmi na koje se može primeniti Mihaelis-Menten kinetika



$$v = \frac{k_s [\text{E}_0][\text{S}] - k_p [\text{E}_0][\text{P}]}{1 + [\text{S}]/K_{mS} + [\text{P}]/K_{mP}} \text{ (opsta jednacina)}$$

$$K_{mS} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}; \quad k_s = k_2 / K_{mS}; \quad K_{mP} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}}; \quad k_p = k_{-2} / K_{mP};$$

$$\text{ako } [\text{P}] \rightarrow 0: v_0 = \frac{k_{cat} [\text{E}_0][\text{S}]}{K_{mS} + [\text{S}]} \text{ (Mihaelis – Menton)}$$



$$[S]_0 = [P] + [S]$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] + k_{-2}[E][P] = 0$$

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES]$$

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = \frac{(k_1 k_2 [S] - k_{-1} k_{-2} [P])[E_0]}{k_1 [S] + k_{-2} [P] + k_{-1} + k_2}$$

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = \frac{(k_1 k_2 [S] - k_{-1} k_{-2} [P])[E_o]}{k_1 [S] + k_{-2} [P] + k_{-1} + k_2}$$

$$V_{\max} = k_2 [E_o]$$

$$V_{\max P} = k_{-1} [E_o]$$

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

$$K_{MP} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}}$$

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{[V_{\max} / K_M][S] - [V_{\max P} / K_{MP}][P]}{1 + [S] / K_M + [P] / K_{MP}}$$

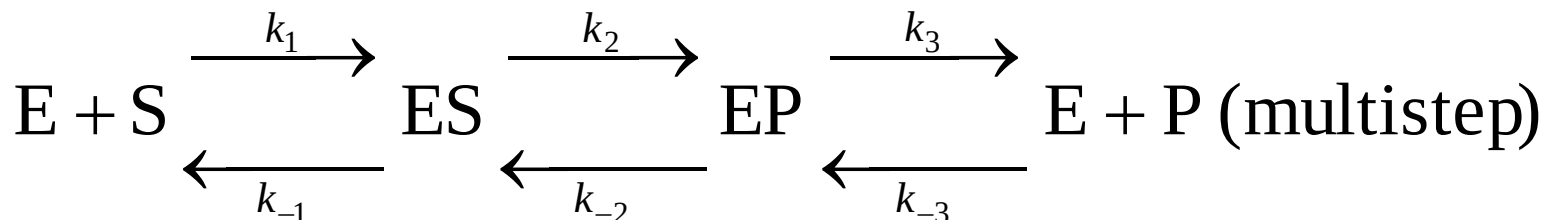
Kada je  $P=0$

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_2 [E_o][S]}{K_M + [S]}$$



# Mehanizmi na koje se može primeniti Mihaelis-Menten kinetika

(ne treba izvodjenje ovo je samo ilustracija kako se složeni mehanizmi mogu svesti na formalno slične izraze)

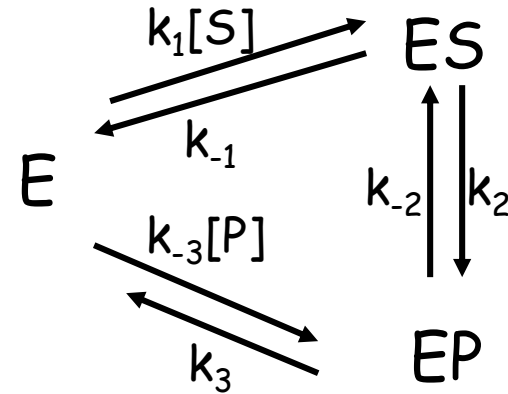


$$v = \frac{k_s [\text{E}_0][\text{S}] - k_p [\text{E}_0][\text{P}]}{1 + [\text{S}]/K_{mS} + [\text{P}]/K_{mP}} \quad (\text{ista generalna jednacina})$$

$$K_{mS} = \frac{k_{-1}k_{-2} + k_{-1}k_3 + k_2k_3}{k_{-1}(k_{-2} + k_2 + k_3)}; \quad k_s = \frac{k_1k_2k_3}{k_{-1}k_{-2} + k_{-1}k_3 + k_2k_3}; \quad K_{mP} = \dots;$$

(znatno složenije, ali ista generalna forma)

# King-Altman: mechanism



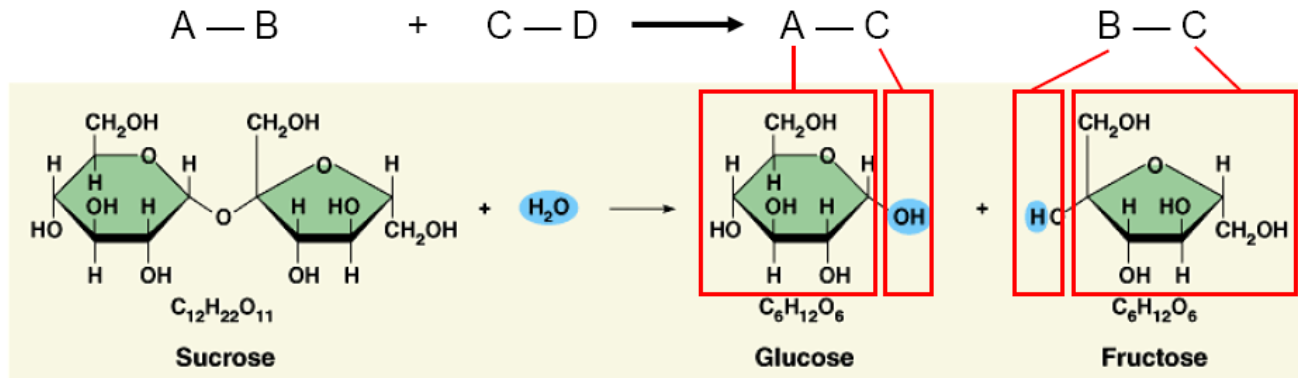
$$\frac{v_0}{[E_0]} = \frac{k_1 k_2 k_3 [S] - k_{-1} k_{-2} k_{-3} [P]}{(k_{-1} k_{-2} + k_{-1} k_3 + k_2 k_3) + k_1 (k_{-2} + k_2 + k_3) [S] + k_{-3} (k_{-1} + k_{-2} + k_2) [P]}$$

group constants:  $v_0 = \frac{N_1 [S] - N_2 [P]}{c + C_S [S] + C_P [P]}$ ; this form was shown

earlier as the reversible Michaelis - Menton equation (as expected!)

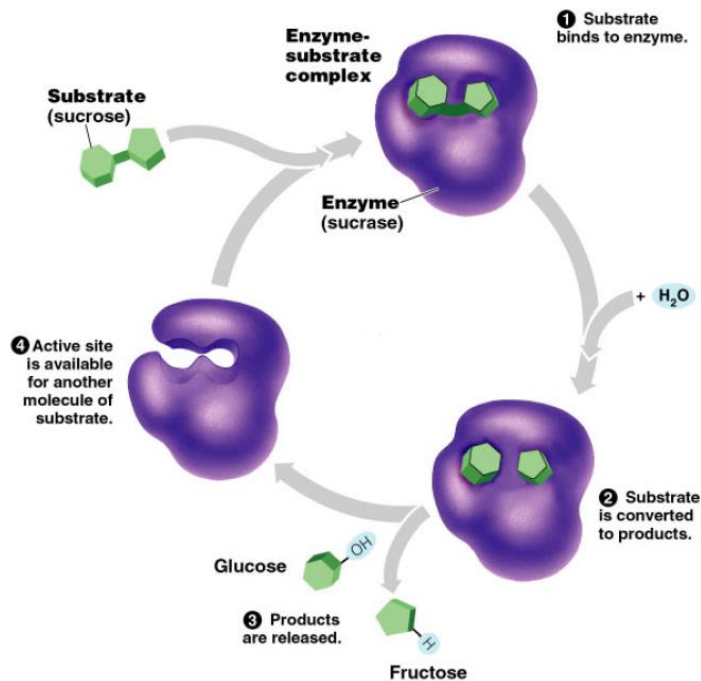
Cleland showed:  $V_{\max} = \frac{N_1}{C_S}$ ;  $K_M = \frac{c}{C_S}$ ;  $K_{eq} = \frac{N_1}{N_2}$

# REAKCIJE KATALISANE ENZIMIMA

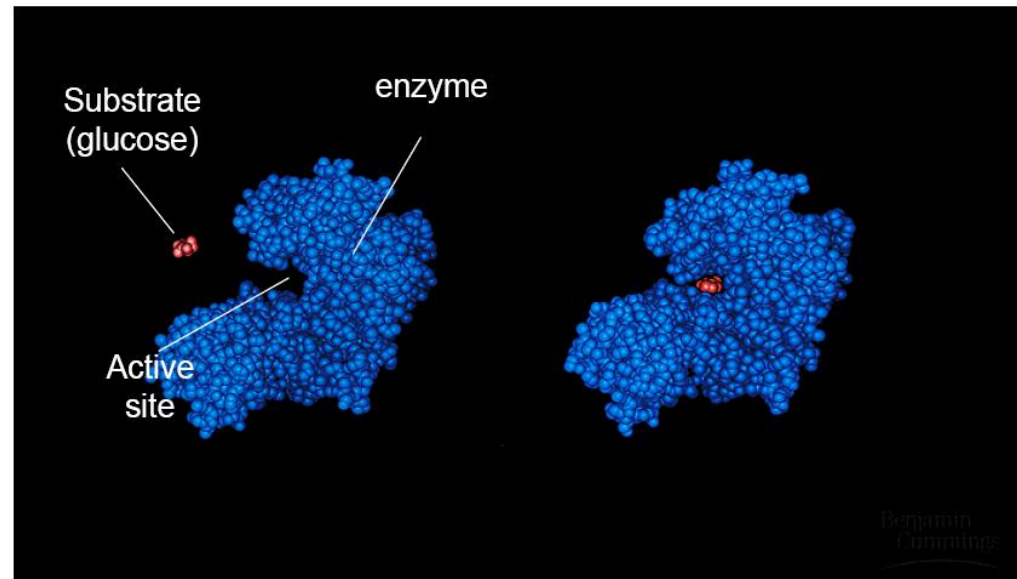


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

## Hidroliza saharoze



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Benjamin  
Cummings

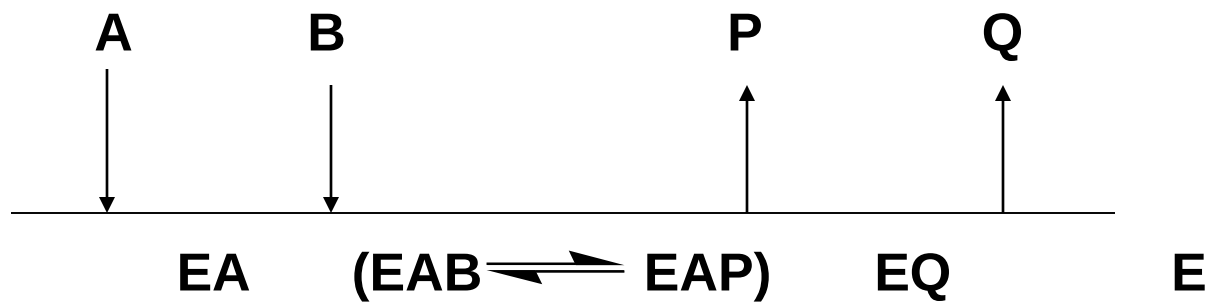
# Označavanje Mechanizama ER

## A: Sekvencijalne reakcije

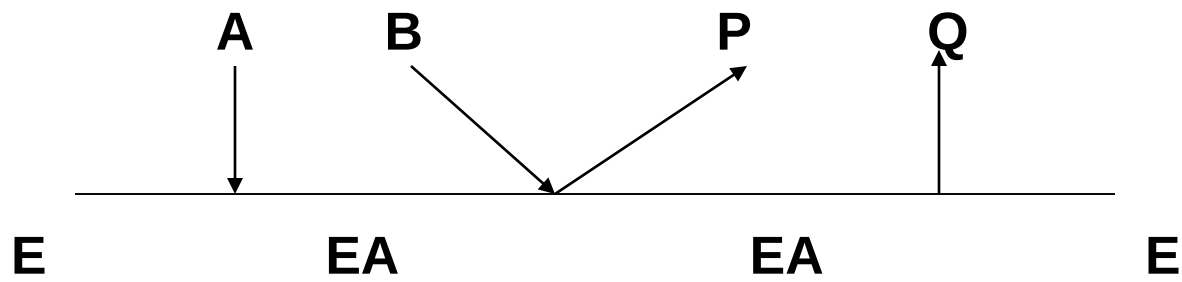
- Svi supstrati se vezuju za enzim pre nego što se dogodi reakcija



Uredjeni sekvencijalni mehanizam



\*Prvo se transformiše B ostavljajući EA koji naknadno prelazi u Q.

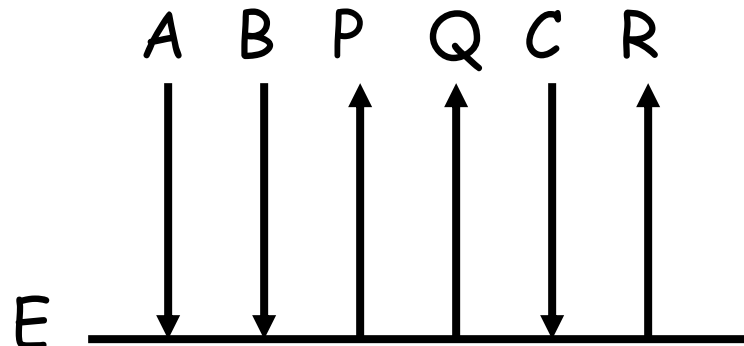


example: liver alcohol dehydrogenase.

# Cleland Schematics

- Moguća konfuzija u šemi:
  - Da li je supstanca reaktant ili produkt?
- Cleland schema definiše
  - Po konvenciji:
    - ABC... substrates
    - PQR... products
    - E = enzyme

Strelice na dole označava  
vezivanje supstrata a  
strelica nagore  
oslobadjanje produkta



Ilustracija: Enzimi mogu biti veoma komplikovani ogranski molekuli u kojima voda (Wat) može znatno uticati na reakcije na aktivnom centru:

