

### 5. TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK


Eddig csak egyszubsztrátos enzim reakciókkal foglalkoztunk, de sok reakcióhoz több szubsztrát is kell. Ezeknek két típusa van:

**A.)** Termékképzéshez *egyszerre több különböző* szubsztrát kell (sztöchiometrikus arányban). Pl.: hexokináz

glükóz + (Mg)ATP  $\longrightarrow$  glükóz-6-foszfát + (Mg)ADP

**foszforilezés**

két szubsztrát két termék



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 1

1

---

---

---

---

---

---

---

---


### TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK

**B.)** A másik esetben a reakció keverékben több hasonló, lényegében alternatív szubsztrát van jelen.

Példák: a legtöbb biopolimer-hidrolizáló enzim:

- amiláz, amilo-glikozidázok,
- cellulázok
- proteinázok.

Függetlenül attól, hogy ezekben az esetekben exo- vagy endo-enzimekről van-e szó, a reakció-keverékben *egyidejűleg több, különböző polimerizációs fokú szubsztrát van (lesz) jelen.*



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 2

2

---

---

---

---

---

---

---


---

### KÉT KÜLÖNBÖZŐ SZUBSZTRÁT

bi-bi reakciók = mind S mind P oldalról BIMOLEKULÁRIS

Típusai:

- Random bi-bi reakciók: a két S belépésének sorrendje véletlenszerű
- Határozott sorrendű bi-bi reakciók: a sorrend kötött
- Ping-pong mechanizmus: a szubsztrátok nem is találkoznak, az enzim két állapot között alternál.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 3

3

---

---

---

---

---

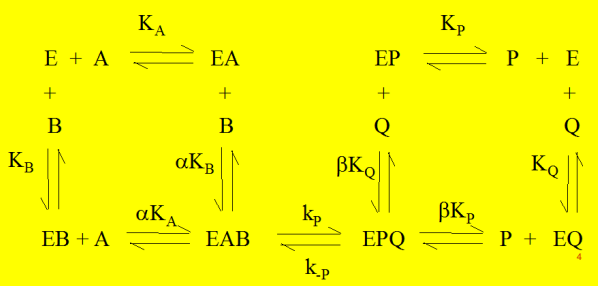
---

---

---

### Random bi-bi reakciók

E mechanizmus nagyon hasonlít a *lineáris kevert típusú* inhibícióra, azzal a különbséggel, hogy itt a ternér EAB komplexből lesznek termékek, nem az EA-ból.



4

---

---

---

---

---

---

---

---

### Random bi-bi reakciók

A szokásos módon felírva a rapid ekvilibrium kinetikáját a kettős szubsztrát limitáció felírható:

$$\begin{array}{l}
 v = k_p \cdot EAB \\
 E_0 = E + EA + EB + EAB
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{l}
 K_A = \frac{E \cdot A}{EA} \\
 K_B = \frac{E \cdot B}{EB} \\
 \alpha K_A = \frac{EB \cdot A}{EAB} \\
 EAB = \frac{EB \cdot A}{\alpha K_A}
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{l}
 EA = \frac{E \cdot A}{K_A} \\
 EB = \frac{E \cdot B}{K_B} \\
 \alpha K_B = \frac{EA \cdot B}{EAB} \\
 EAB = \frac{EA \cdot B}{\alpha K_B}
 \end{array}$$

$$\frac{v}{E_0} = \frac{k_p \frac{E \cdot A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}{E + \frac{E \cdot A}{K_A} + \frac{E \cdot B}{K_B} + \frac{E \cdot A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}$$

5

5

---

---

---

---

---

---

---

---

### Random bi-bi reakciók

A szokásos módon felírva a rapid ekvilibrium kinetikáját a kettős szubsztrát limitáció felírható:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{\frac{A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}{1 + \frac{A}{K_A} + \frac{B}{K_B} + \frac{A \cdot B}{\alpha K_A K_B}}$$

Átrendezve az egyenlet analóg a kevert inhibíciónál kaptottal:

$$\frac{v}{E_0} = \frac{\frac{A \cdot B}{\alpha K_B}}{K_A \left(1 + \frac{B}{K_B}\right) + A \left(1 + \frac{B}{\alpha K_B}\right)}$$

6

6

---

---

---

---

---

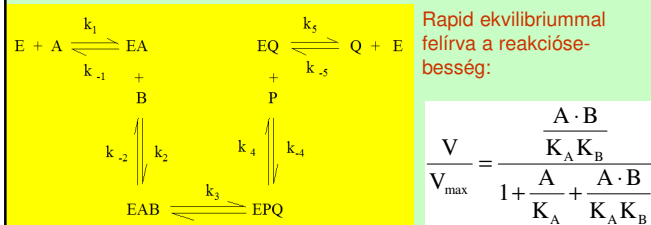
---

---

---

### Határozott sorrendű bi-bi reakciók

az EAB → EPQ lépés a sebesség meghatározó



7

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ping-pong mechanizmus



8

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ping-pong mechanizmus

A Haldane (kvázi steady state) levezetéssel megkapjuk

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{A \cdot B}{K_{mB}A + K_{mA}B + A \cdot B}$$

Illetve rögzített B értéknél:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{A}{K_{mA} + A \left( 1 + \frac{K_{mB}}{B} \right)}$$

Az egyenlet szimmetrikus, A és B felcserélhetők.

9

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ping-pong mechanizmus

Lineweaver-Burk ábrázolásban rögzített B koncentrációk mellett egyeneseket kapunk. B növelésével egyre közelebb kerül az enzim maximális kapacitásához.

De: a hexokináz mégsem jó példa! Nem kapunk ilyen ábrát = nem ping-pong mechanizmusú a foszforiláció. →tovább kell vizsgálni.

$\frac{1}{V_{\max \text{ app}}} = \frac{1}{V_{\max}} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{B} \right)$

$\frac{1}{K_{mA \text{ app}}} = \frac{1}{K_{mA}} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{B} \right)$

10

---

---

---

---

---

---

---

---

10

### Ping-pong mechanizmus

Formális hasonlóság!  
 többszubsztrátos                      unkompetitív

$\frac{1}{V_{\max \text{ app}}} = \frac{1}{V_{\max}} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{B} \right)$

$\frac{1}{V_{\max i}} = \frac{1}{V_{\max}} \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right)$

11

---

---

---

---

---

---

---

---

11

### TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Sok enzim képes egynél *többféle szubsztrát* átalakítására is. Ilyen esetekben a különféle *alternatív szubsztrátok* versengenek egymással az enzim aktív helyé(i)ért. Ilyenek pl. a **Hidrolitikus depolimeráz** enzimek: sok azonos kötésre hatnak, pl.

- lizozim:** komplex muko-poliszacharidokat, a sejtfal mureinjét bontja (a Gram+ baktériumokat elpusztítja).
- celluláz komplex,**
- pektinázok,**
- amilázok**

12

---

---

---

---

---

---

---

---


12

### TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Az ilyen polimerekben a monomereket összekapcsoló kondenzációs kötések úgy viselkednek, mint egy-egy különálló szubsztrát.

Az ilyen polimerek abban az értelemben sem tekinthetők közönséges egyszerű szubsztrátoknak, hogy általában már eleve különböző lánc hosszúságú polimerek keverékei.

A hidrolitikus enzimek némelyike szelektivitást mutat aszerint, hogy a polimer mely részét bontja:  
 exo-hidrolázok - láncvégi vagy közel láncvégi kötések  
 endo-hidrolázok - láncon belüli kötések statisztikusan



13 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

→ a kompetitív inhibíciónál szerepeltek.  
 Ha kétféle szubsztrátból kétféle termék lesz (pl. alkohol-dehidrogenáz):

$$E + S_1 \xrightleftharpoons{K_1} ES_1 \xrightarrow{k_1} E + P_1$$

$$E + S_2 \xrightleftharpoons{K_2} ES_2 \xrightarrow{k_2} E + P_2$$

Kompetitív inhibitoroként gátolják egymást:

$$V_1 = \frac{k_1 E_0 S_1}{K_1 \left( 1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2} \right)}$$

$$V_1 = V_{1max} \frac{S_1}{K_{S1} \left( 1 + \frac{S_2}{K_{S2}} \right) + S_1}$$



14 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

---

---

---

---

---

---

---

---

---


---

### TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

A másik szubsztrátra:

$$V_2 = \frac{k_2 E_0 S_2}{K_2 \left( 1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2} \right)}$$

$$V_2 = V_{2max} \frac{S_2}{K_{S2} \left( 1 + \frac{S_1}{K_{S1}} \right) + S_2}$$



15 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## TÖBBSZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK – alternatív szubsztrátok

Ha minden szubsztrátból ugyanaz a termék lesz: pl.  
keményítóből, dextrinekből → β-amilázzal → maltóz  
→ össze kell adni reakciósebességeket.

$$V_T = V_1 + V_2 + \dots + V_n = \frac{E_0 \left( \frac{k_1 S_1}{K_1} + \frac{k_2 S_2}{K_2} + \dots + \frac{k_n S_n}{K_n} \right)}{1 + \frac{S_1}{K_1} + \frac{S_2}{K_2} + \dots + \frac{S_n}{K_n}}$$



---

---

---

---

---

---

---

---