

Aufbaukurs Bioinformatik

4. Tag:

Enzymkinetik

Mechanismen, Funktionen und Datenbanken

Ursula Kummer, Sven Sahle

Ulla Rost, Katja Wegner und Andreas Weidemann

Reaktionskinetik

Die Reaktionskinetik beschreibt quantitativ, wie schnell eine Reaktion abläuft.

Um sie zu beschreiben benötigt man:

- Eine mathematische Formel
- Zahlenwerte, die in die Formel eingesetzt werden.

Reaktionsordnung

Normalerweise hängt die Reaktionsrate von der Menge des Substrats /der Substrate ab.

Dabei können im einfachsten Fall verschiedene Reaktionsordnungen unterschieden werden:

Reaktionsordnung

Reaktion 0. Ordnung:

z.B. konst. Zerfall



Reaktion 1. Ordnung:

z.B. radioaktiver Zerfall



Reaktion 2. Ordnung:

z.B. zwei Reaktanten reagieren miteinander



Einfache Reaktionskinetik I

Einfachster Fall:



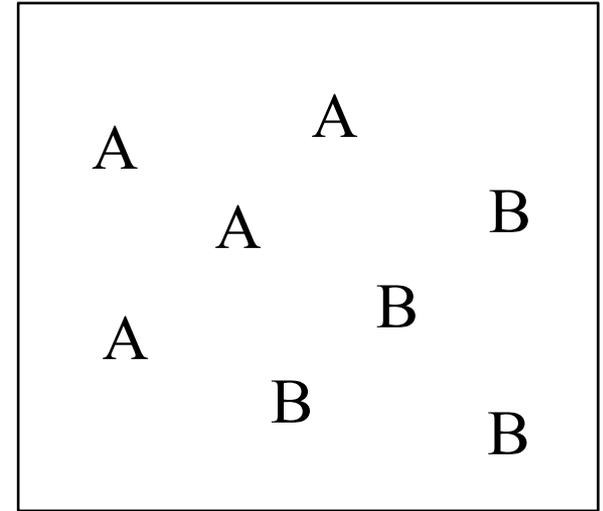
Reaktionsgeschwindigkeit:

$$v = k * [A]$$

Das heißt für [A] und [B]:

$$d[A]/dt = - k*[A]$$

$$d[B]/dt = + k*[A]$$



Einfache Reaktionskinetik II

Zwei Reaktanten:



Reaktionsgeschwindigkeit:

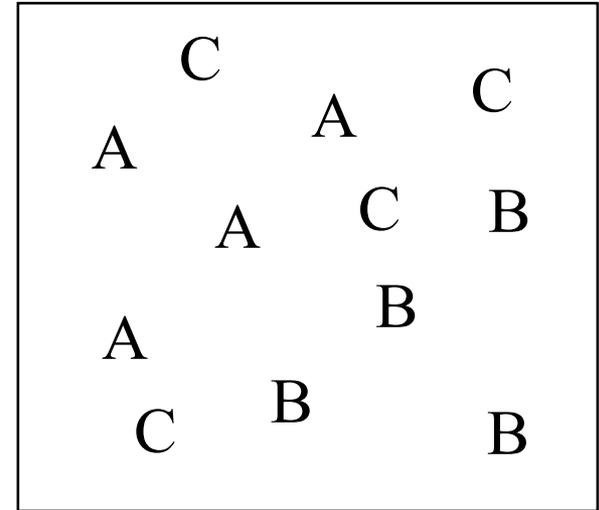
$$v = k * [A] * [B]$$

Das heißt für [A], [B] und [C]:

$$d[A]/dt = -k * [A] * [B]$$

$$d[B]/dt = -k * [A] * [B]$$

$$d[C]/dt = +k * [A] * [B]$$

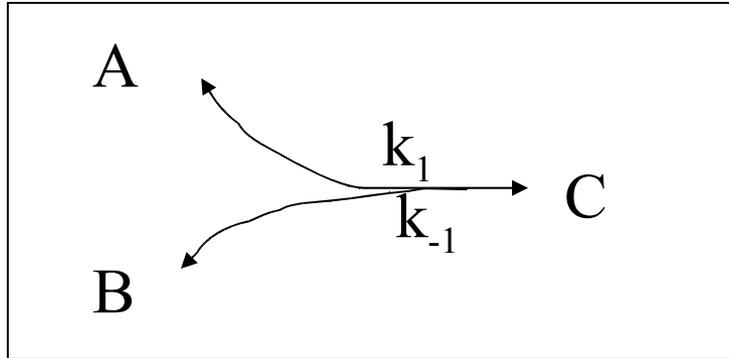


Einfache Reaktionskinetik

In diesen einfachen Fällen spricht man von **Massenwirkungskinetik**.

- Die mathematische Beschreibung der Reaktionsrate ist einfach das Produkt der Substratkonzentrationen
- Es wird ein Zahlenwert benötigt, **k**, die Reaktionskonstante.

Reversible Reaktionen



Reversible Reaktion

$$K = \frac{[C]}{[A] * [B]}$$

Gleichgewichtskonstante

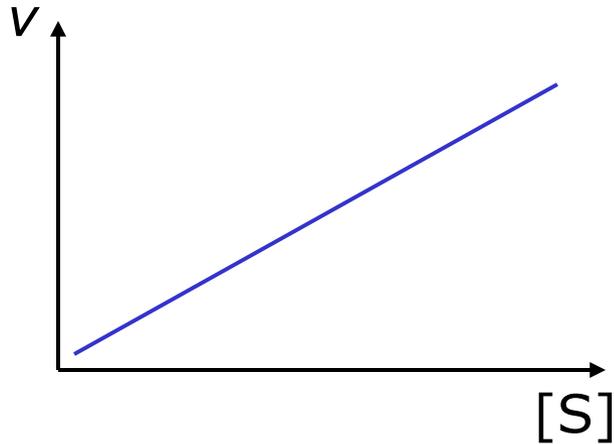
$$d[A]/dt = -k_1 * [A] * [B] + k_{-1} * [C]$$

$$d[B]/dt = -k_1 * [A] * [B] + k_{-1} * [C]$$

$$d[C]/dt = k_1 * [A] * [B] - k_{-1} * [C]$$

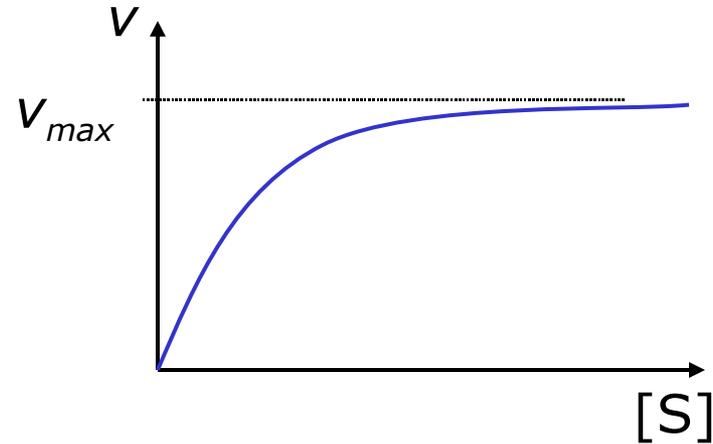
Systemgleichungen

Enzymkinetik



Massenwirkungskinetik
erster Ordnung

mehr Substrat
-> größere Reaktions-
geschwindigkeit



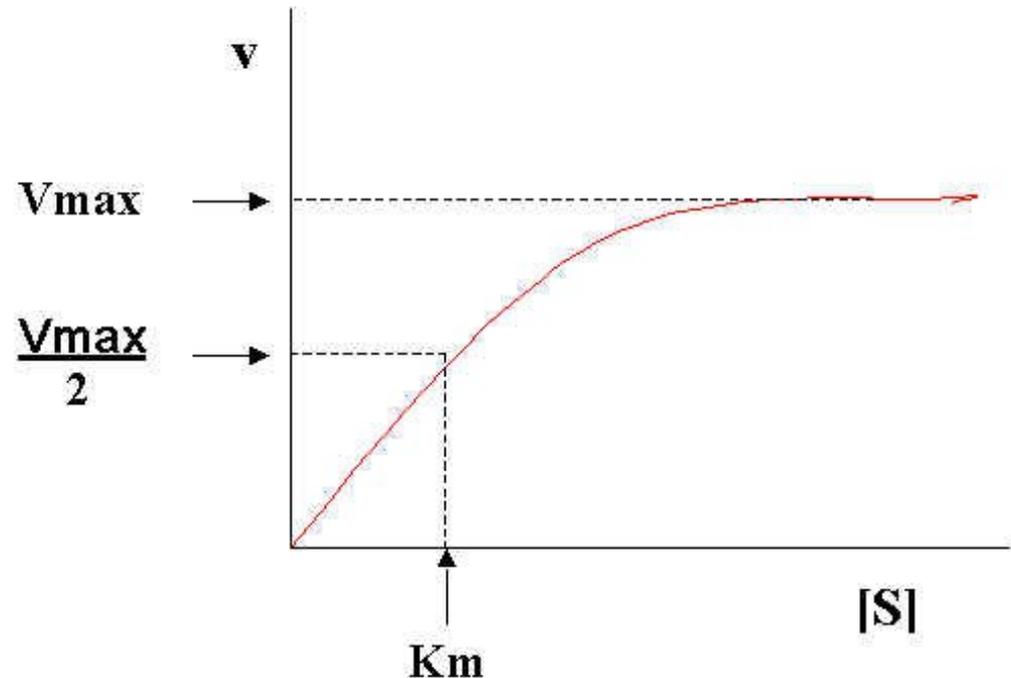
Enzymkinetik:

Sättigungskurve, das Enzym
kann die Reaktion nur bis zu
einer Maximalgeschwindigkeit
katalysieren.

-> V_{max}

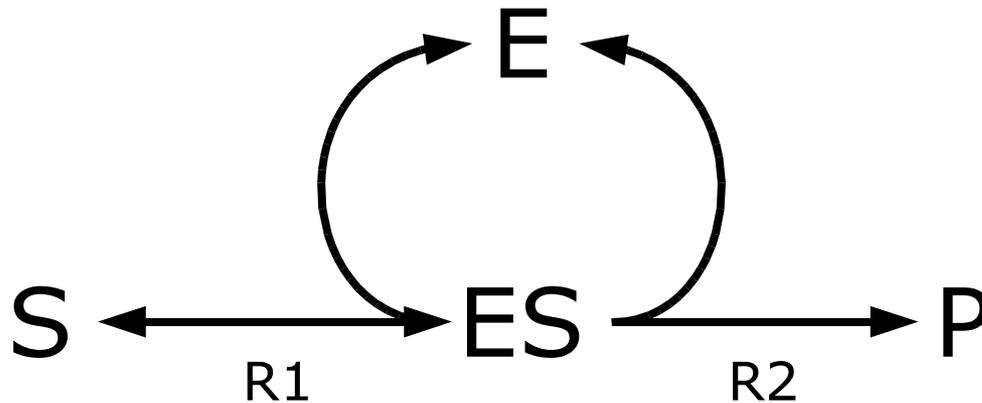
Enzymkinetik

Die Substratkonzentration bei halbmaximaler Geschwindigkeit entspricht K_M .



Michaelis-Menten/Briggs-Haldane Kinetik

Sehr einfache Modellvorstellung von den Elementarschritten einer enzymatischen Reaktion:



Gleichungen für die Elementarschritte:

$$dS/dt = -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES$$

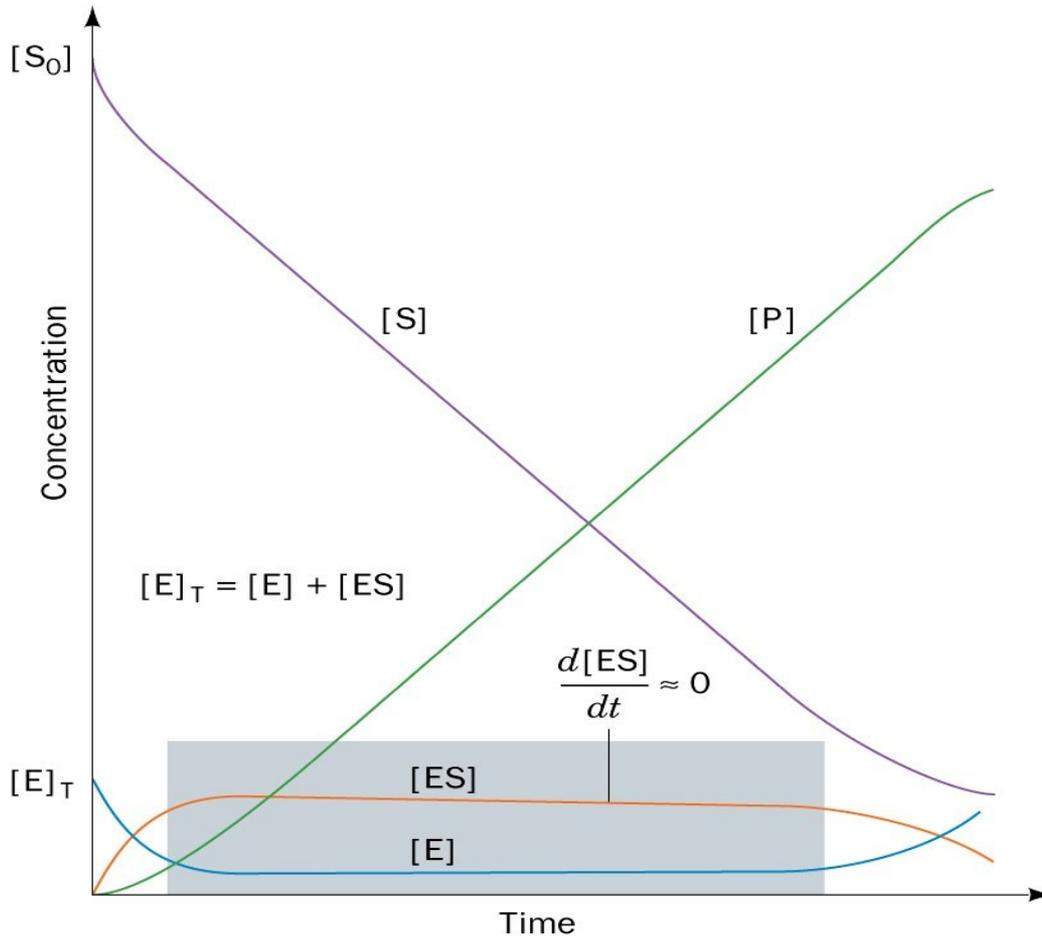
$$dE/dt = -k_1 \cdot S \cdot E + k_{-1} \cdot ES + k_2 \cdot ES$$

$$dES/dt = +k_1 \cdot S \cdot E - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$dP/dt = +k_2 \cdot ES$$

- 4 Gleichungen mit 2 (3) Reaktionen
- 3 kinetische Konstanten

Zeitverlauf der Konzentrationsänderungen für die Komponenten in einer simplen Michaelis-Menten-Reaktion



COPASI

Copasi ist ein Programm, mit dem man Modelle erstellen, simulieren und analysieren kann.

www.copasi.org

Michaelis-Menten-Kinetik

- Die Konzentration des Enzym-Substratkomplexes [ES] bzw. evtl. weiterer Zwischenprodukte ist experimentell nicht leicht zugänglich.
- Daher ist eine direkte Beschreibung der Geschwindigkeit der Reaktion von S nach P (ohne Zwischenschritte) erwünscht.

Quasigleichgewichts-Annahme

Zwischen gebundenem und freiem Enzym nehmen wir ein Gleichgewicht an:

$$dES/dt = 0$$

$$0 = +k_1 \cdot S \cdot (E_0 - ES) - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$0 = +k_1 \cdot S \cdot E_0 - k_1 \cdot S \cdot ES - k_{-1} \cdot ES - k_2 \cdot ES$$

$$ES \cdot (k_1 \cdot S + k_{-1} + k_2) = k_1 \cdot S \cdot E_0$$

$$ES = \frac{S \cdot E_0}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + S} = \frac{S \cdot E_0}{K_M + S}$$

$$v = \frac{k_2 \cdot S \cdot E_0}{K_M + S} = \frac{v_{\max} \cdot S}{K_M + S}$$



Michaelis-Menten

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

mit

- Maximalgeschwindigkeit
- Michaelis-Menten-Konstante

$$v_{max} = k_2 \cdot [E]_T$$

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

Vorteile der „beschreibenden“ Kinetiken

- Die Parameter der Elementarreaktionen sind häufig nicht bekannt. Die Anzahl der Parameter ist kleiner.
- Weniger Gleichungen, leichter zu berechnen (für den Computer)

Aber:

Nur unter bestimmten Voraussetzungen erlaubt.

Beispiele

Enzyme	Substrate	$K_M (M)$	$k_{cat} (s^{-1})$	$k_{cat}/K_M (M^{-1} \cdot s^{-1})$
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	9.5×10^{-5}	1.4×10^4	1.5×10^8
Carbonic anhydrase	CO ₂	1.2×10^{-2}	1.0×10^6	8.3×10^7
	HCO ₃	2.6×10^{-2}	4.0×10^5	1.5×10^7
Catalase	H ₂ O ₂	2.5×10^{-2}	1.0×10^7	4.0×10^8
Chymotrypsin	<i>N</i> -Acetylglycine ethyl ester	4.4×10^{-1}	5.1×10^{-2}	1.2×10^{-1}
	<i>N</i> -Acetylvaline ethyl ester	8.8×10^{-2}	1.7×10^{-1}	1.9
	<i>N</i> -Acetyltyrosine ethyl ester	6.6×10^{-4}	1.9×10^2	2.9×10^5
Fumarase	Fumarate	5.0×10^{-6}	8.0×10^2	1.6×10^8
	Malate	2.5×10^{-5}	9.0×10^2	3.6×10^7
Superoxide dismutase	Superoxide ion (O ₂ ⁻)	3.6×10^{-4}	1.0×10^6	2.8×10^9
Urease	Urea	2.5×10^{-2}	1.0×10^4	4.0×10^5

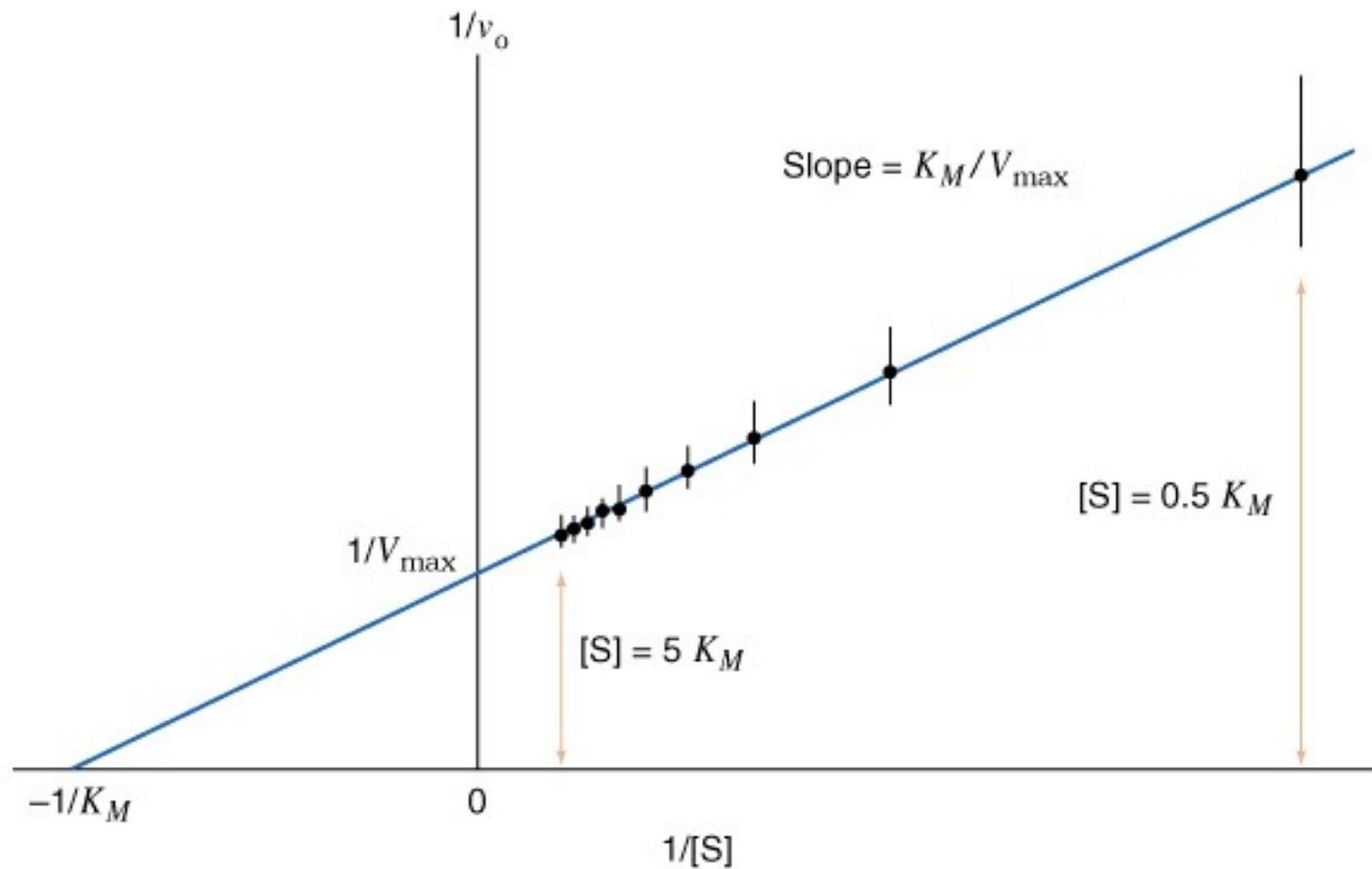
Lineweaver-Burk

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

-> reziprok:

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

Lineweaver-Burk

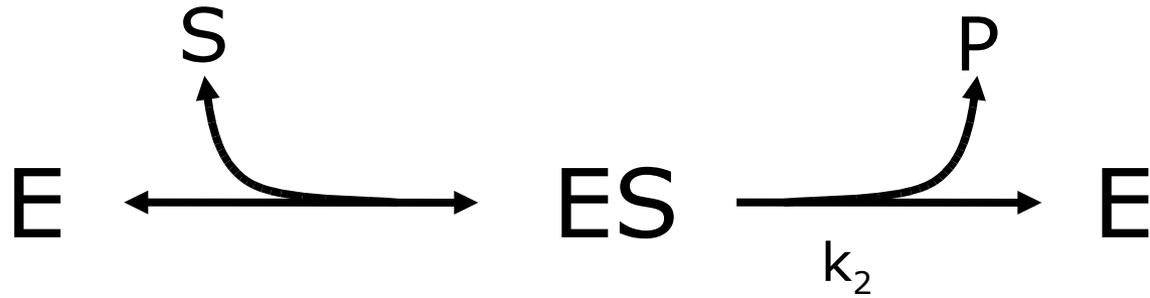


Andere Kinetiken

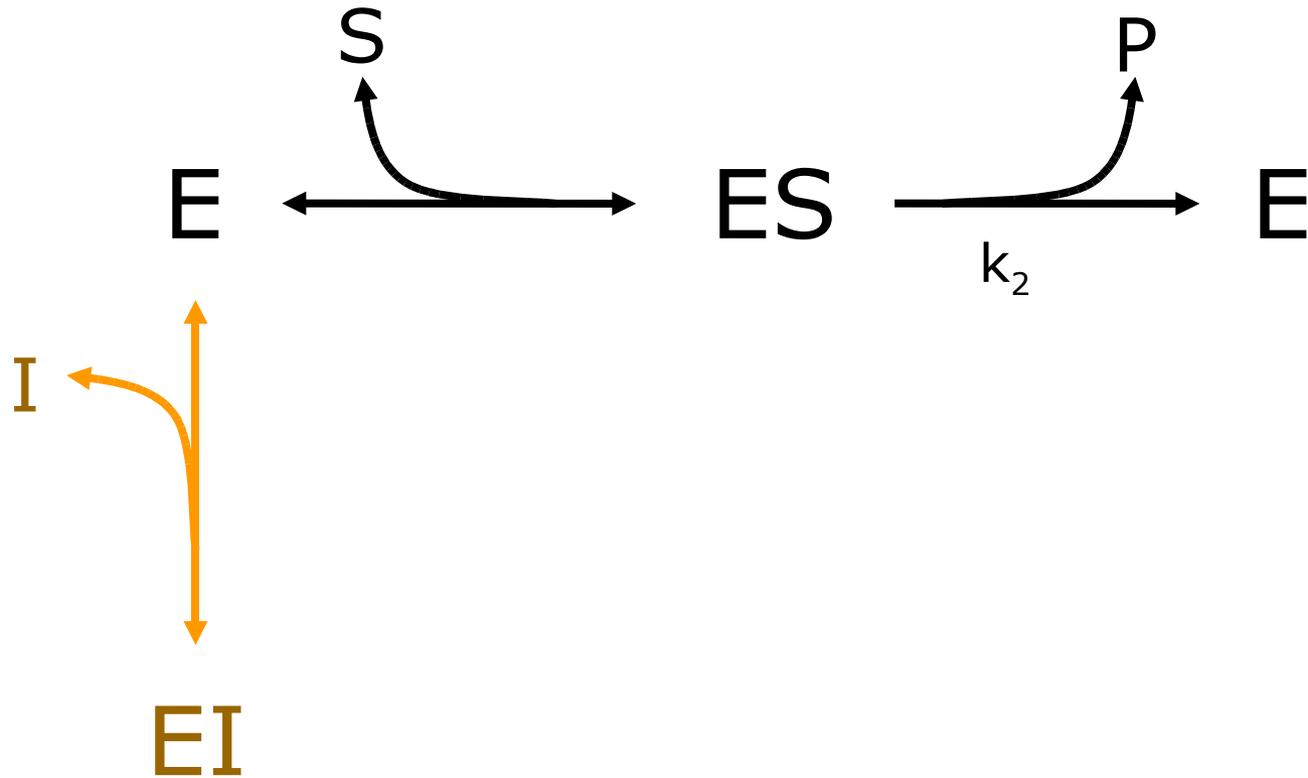
Das für die Michaelis-Menten-Kinetik angegebene Verfahren (QSSA) läßt sich auf viele andere Kinetiken anwenden, z.B. bimolekulare Reaktionen, verschiedene Inhibitionsmechanismen, usw. (s. Tag 4).

Es gibt aber auch Fälle, in denen es nicht anwendbar ist.

Andere Kinetiken



Andere Kinetiken



kompetitive Inhibition

Kompetitive Hemmung

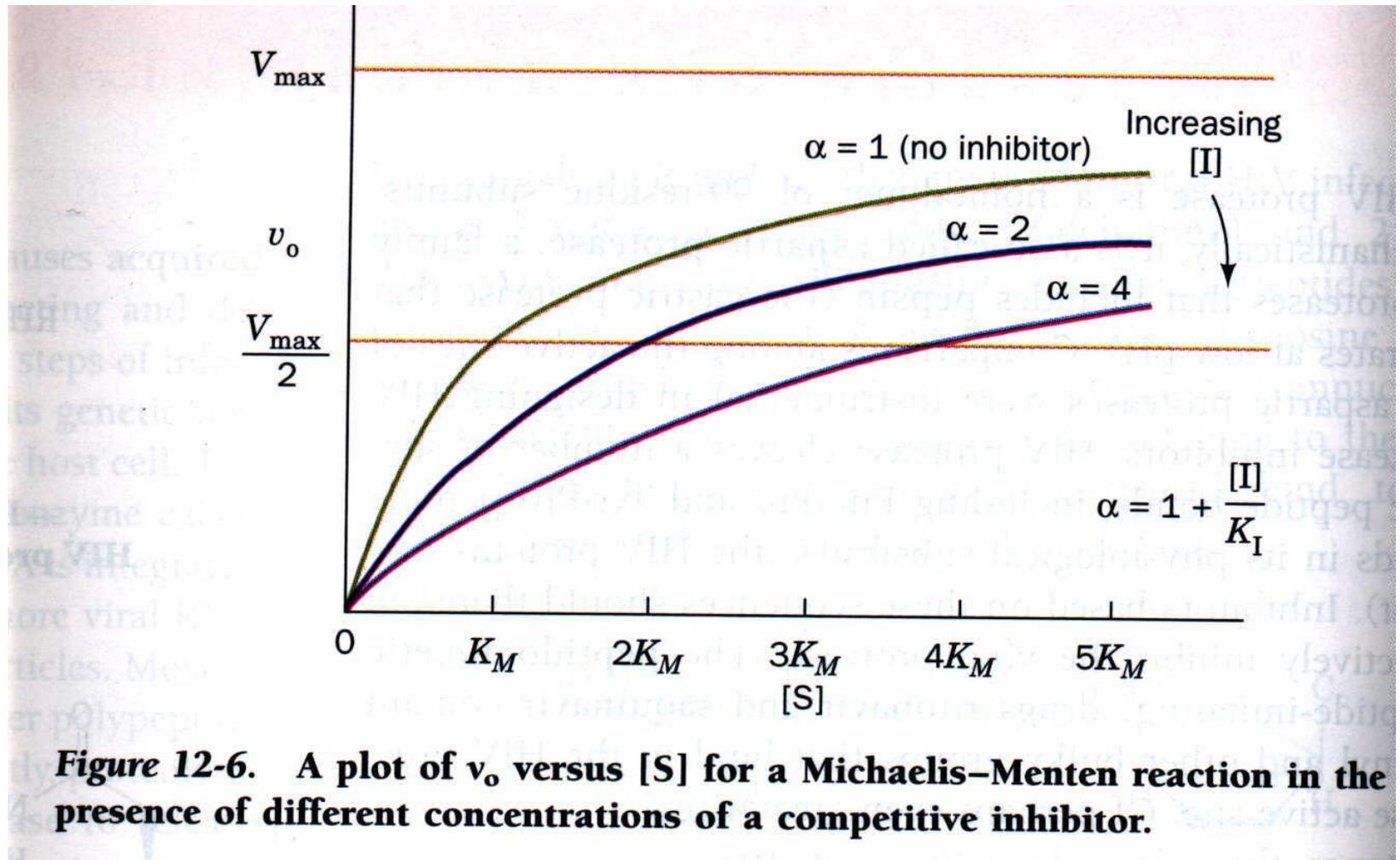
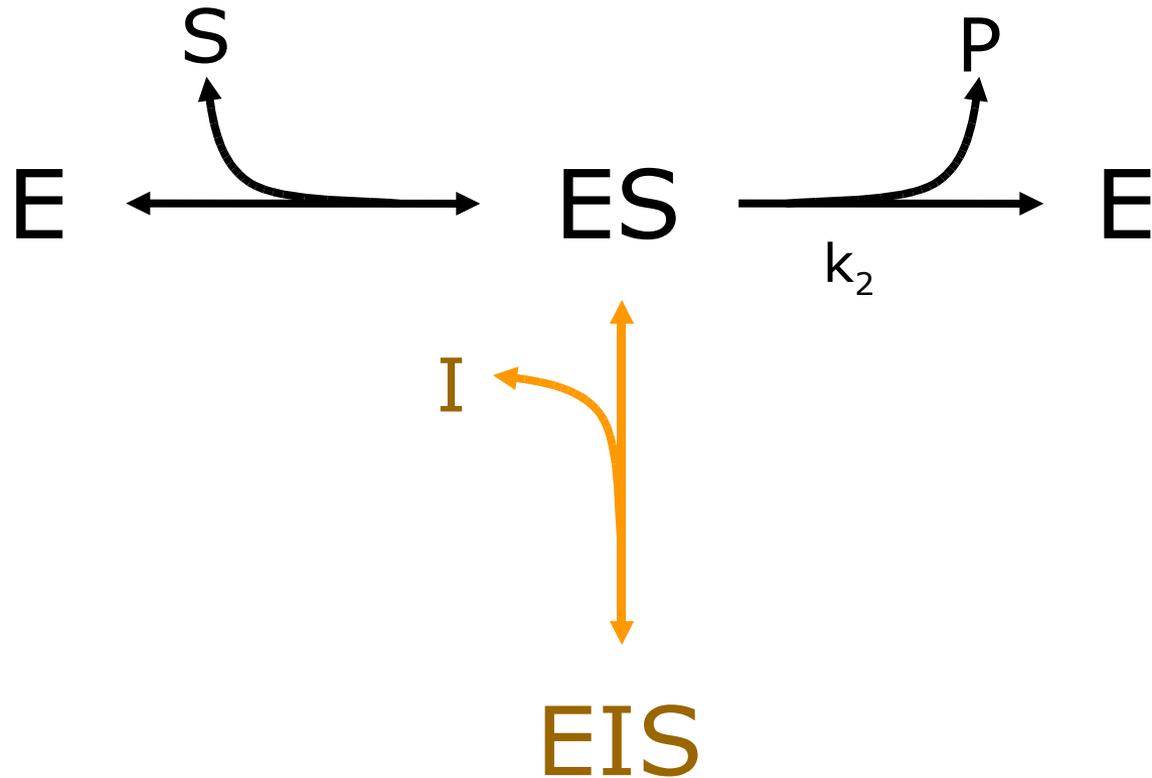


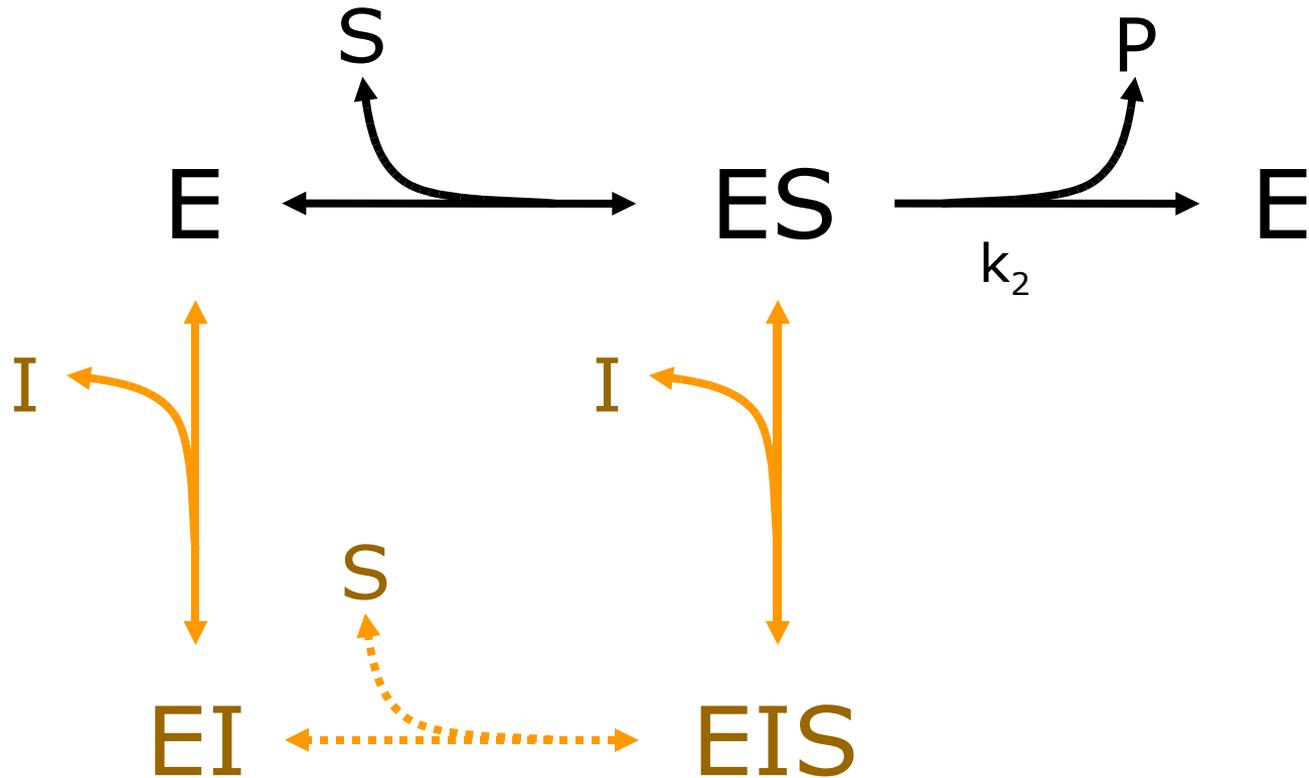
Figure 12-6. A plot of v_0 versus $[S]$ for a Michaelis–Menten reaction in the presence of different concentrations of a competitive inhibitor.

Andere Kinetiken



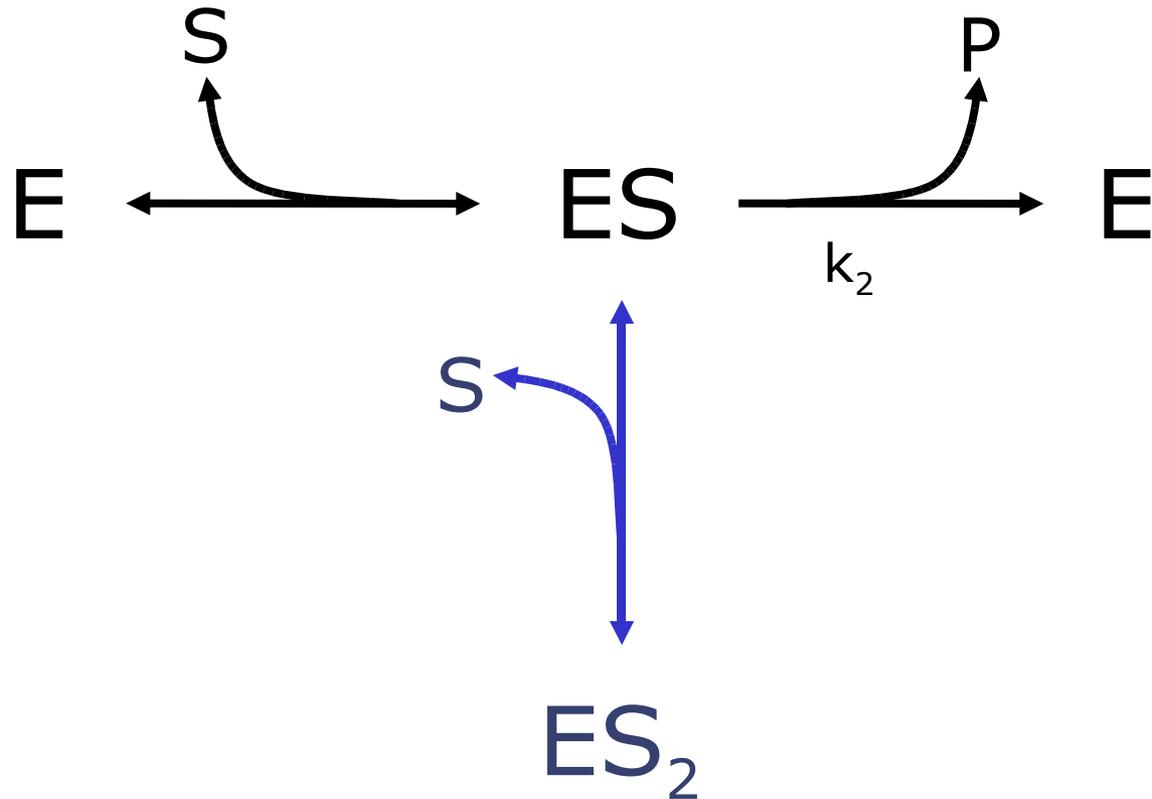
unkompetitive Inhibition

Andere Kinetiken



nicht kompetitive Inhibition

Andere Kinetiken



Substratinhibition

BiBi

Das erste Substrat A bindet an das Enzym, um den Enzymsubstratkomplex EA zu bilden. Dann bindet das zweite Substrat B.

Die Reaktion produziert EPQ und Produkt P wird vor Produkt Q freigesetzt.



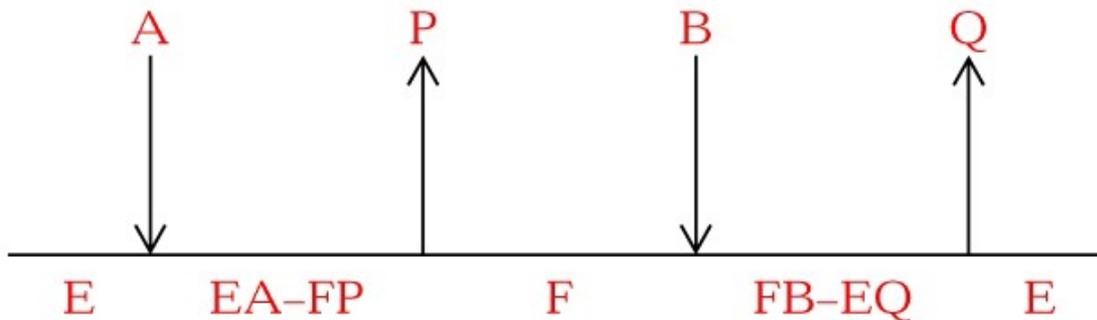
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Davon abgeleitet ergibt sich:

$$V = V_1 * \frac{S_1 * S_2}{(K_i S_1 * K_m S_2 + K_m S_2 * S_1 + K_m S_1 * S_2 + S_1 * S_2)}$$

Ping-Pong

Das erste Substrat A vereinigt sich wiederum mit E zu EA. Dann wird jedoch schon das erste Produkt P freigesetzt. Das zweite Substrat B bindet nun und Produkt Q wird freigesetzt.



Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Hier ergibt sich folgende Geschwindigkeit:

$$V = V_1 * \frac{S_1 * S_2}{(K_m S_2 * S_1 + K_m S_1 * S_2 + S_1 * S_2)}$$

Einheiten...

Typische verwendete Einheiten im Zusammenhang mit Enzymkinetiken:

- Units of Activity: Die Menge eines Enzyms, die 1 μmol pro Minute umsetzt (Bei „Standardbedingungen“). Das kann in einen v_{max} -Wert umgerechnet werden.
- Spezifische Aktivität in Units/mg = $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$. Diese gröÙe kann in einen k_{cat} -Wert umgerechnet werden.

...Einheiten

Um die verschiedenen verwendeten Einheiten für Enzymparameter ineinander umrechnen zu können, benötigt man u.U. folgende Größen:

- Molekulargewicht des Enzyms
- Größe der Zelle (bzw. des Kompartments)
- Menge des Enzyms im Kompartiment (diese Information ist häufig nicht leicht zugänglich)

Datenbanken im Netz

http://www.brenda-enzymes.info

[BREND A home](#)

[login](#)

[history](#)

[All enzymes](#)

SEARCH-Navigator

[close all](#) [open all](#)

- [Nomenclature](#)
- [Reaction & Specificity](#)
- [Functional Parameters](#)
- [Organism related Information](#)
- [Enzyme Structure](#)
- [Isolation & Preparation](#)
- [Stability](#)
- [Disease & References](#)
- [Application & Engineering](#)

- [Quick search](#)
- [Fulltext search](#)
- [Advanced search](#)
- [Substructure search](#)
- [TaxTree Explorer](#)
- [EC Explorer](#)
- [Sequence Search](#)
- [Genome Explorer](#)
- [Ontology Explorer](#)
- [Download](#)
- [Discussion groups](#)



The Comprehensive Enzyme Information System Release 2

EC-Number | **Enzyme Name** | **Organism** | **Advanced Search** | **Full text**

Search Display 10 entries

NEW: BREND A 7.1 release is online

 You have full access to BREND A!

Nomenclature	Reaction & Specificity	Functional Parameters
Enzyme Names EC Number Common/ Recommended Name Systematic Name Synonyms CAS Registry Number	Pathway Catalysed Reaction Reaction Type Natural Substrates and Products Substrates and Products Substrates Natural Substrate Products Natural Product Inhibitors Cofactors Metals/Ions Activating Compounds Ligands	Km Value Ki Value pI Value Turnover Number Specific Activity pH Optimum pH Range Temperature Optimum Temperature Range
Isolation & Preparation Purification Cloned Renatured Crystallization		Organism-related information Organism Source Tissue Localization
Stability pH Stability Temperature Stability General Stability Organic Solvent Stability Oxidation Stability Storage Stability	Enzyme Structure Sequence/ SwissProt link 3D-Structure/ PDB link Molecular Weight Subunits Posttranslational Modification	Disease & References Disease References
		Application & Engineering Engineering Application

Datenbanken im Netz

<http://sabio.villa-bosch.de/SABIORK/>



[CONTACT](#) | [HELP](#) | [IMPRINT](#)

Reaction Search

Return only reactions having kinetic data matching all criteria (blue and grey)

Search criteria in blue are used to define the search conditions for reactions, independently if there is or not kinetic data for these reactions.

Search Reaction



Specify Search Criteria:

Submit Search

Reset Form

SBML Model Setup



with **Reactant(s)**

[+] [-]



in **Pathway(s)**

[+] [-]



having **Enzyme(s)**

[+] [-]

in **Publication**

[+] [-]

in **Organism(s)**

[+] [-]

in **Tissue(s)/Cell Type(s)**

[+] [-]

in **(Intra/Extra)Cellular Location(s)**

[+] [-]

Having **Kinetic Data** Determined for Specific Experimental Conditions

[+] [-]

having **Kinetic data**

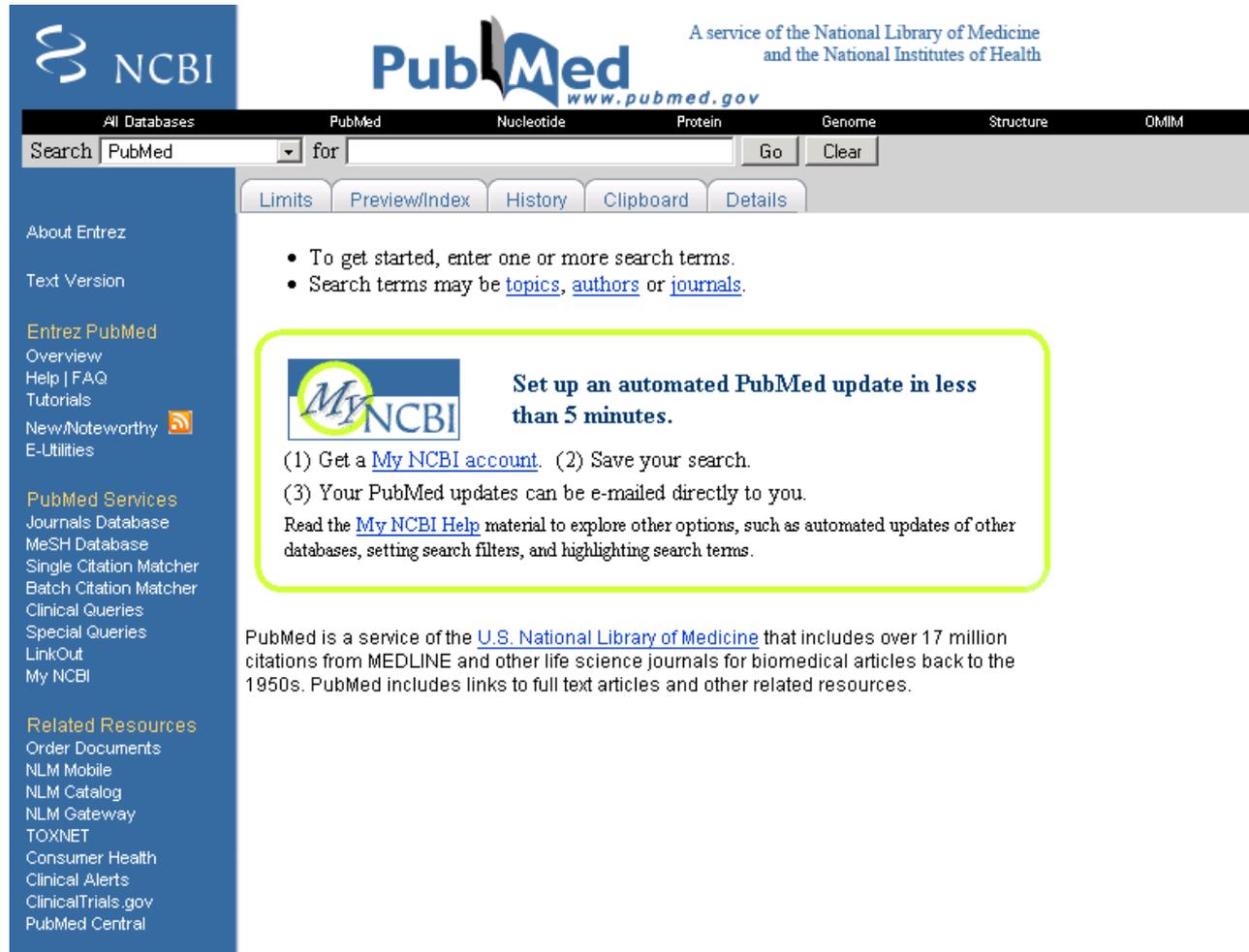
[+] [-]



© EML Research gGmbH

Datenbanken im Netz

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>



The screenshot displays the PubMed website interface. At the top, the NCBI logo is on the left, and the PubMed logo with the tagline "A service of the National Library of Medicine and the National Institutes of Health" and the URL "www.pubmed.gov" is on the right. Below the logo is a navigation bar with tabs for "All Databases", "PubMed", "Nucleotide", "Protein", "Genome", "Structure", and "OMIM". The search bar contains "PubMed" in a dropdown menu, followed by "for" and an empty input field, with "Go" and "Clear" buttons. Below the search bar are buttons for "Limits", "Preview/Index", "History", "Clipboard", and "Details".

On the left side, there is a vertical navigation menu with the following links:

- About Entrez
- Text Version
- Entrez PubMed
 - Overview
 - Help | FAQ
 - Tutorials
 - New/Noteworthy
 - E-Utilities
- PubMed Services
 - Journals Database
 - MeSH Database
 - Single Citation Matcher
 - Batch Citation Matcher
 - Clinical Queries
 - Special Queries
 - LinkOut
 - My NCBI
- Related Resources
 - Order Documents
 - NLM Mobile
 - NLM Catalog
 - NLM Gateway
 - TOXNET
 - Consumer Health
 - Clinical Alerts
 - ClinicalTrials.gov
 - PubMed Central

In the center, there are two bullet points:

- To get started, enter one or more search terms.
- Search terms may be [topics](#), [authors](#) or [journals](#).

A promotional box with a yellow border contains the following information:

 **Set up an automated PubMed update in less than 5 minutes.**

(1) Get a [My NCBI account](#). (2) Save your search.
(3) Your PubMed updates can be e-mailed directly to you.

Read the [My NCBI Help](#) material to explore other options, such as automated updates of other databases, setting search filters, and highlighting search terms.

PubMed is a service of the [U.S. National Library of Medicine](#) that includes over 17 million citations from MEDLINE and other life science journals for biomedical articles back to the 1950s. PubMed includes links to full text articles and other related resources.