

# CINETICA ENZIMATICA

Studia la velocità delle reazioni enzimatiche in funzione di

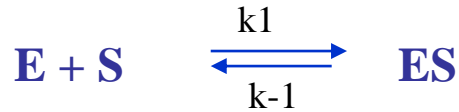
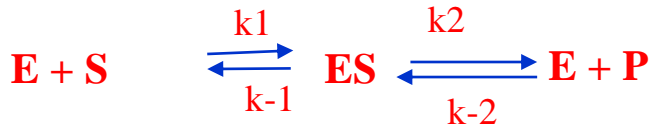
Concentrazione del substrato

temperatura

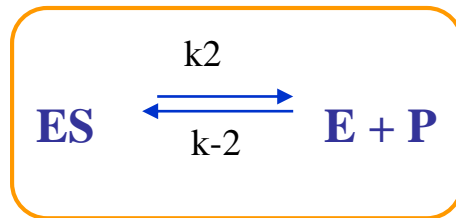
pH

Presenza di inibitori o attivatori

# CINETICA ENZIMATICA



reazione veloce



reazione lenta

↓  
Tappa limitante

La velocità della reazione dipende da [ES]

Enzima

Enzima libero

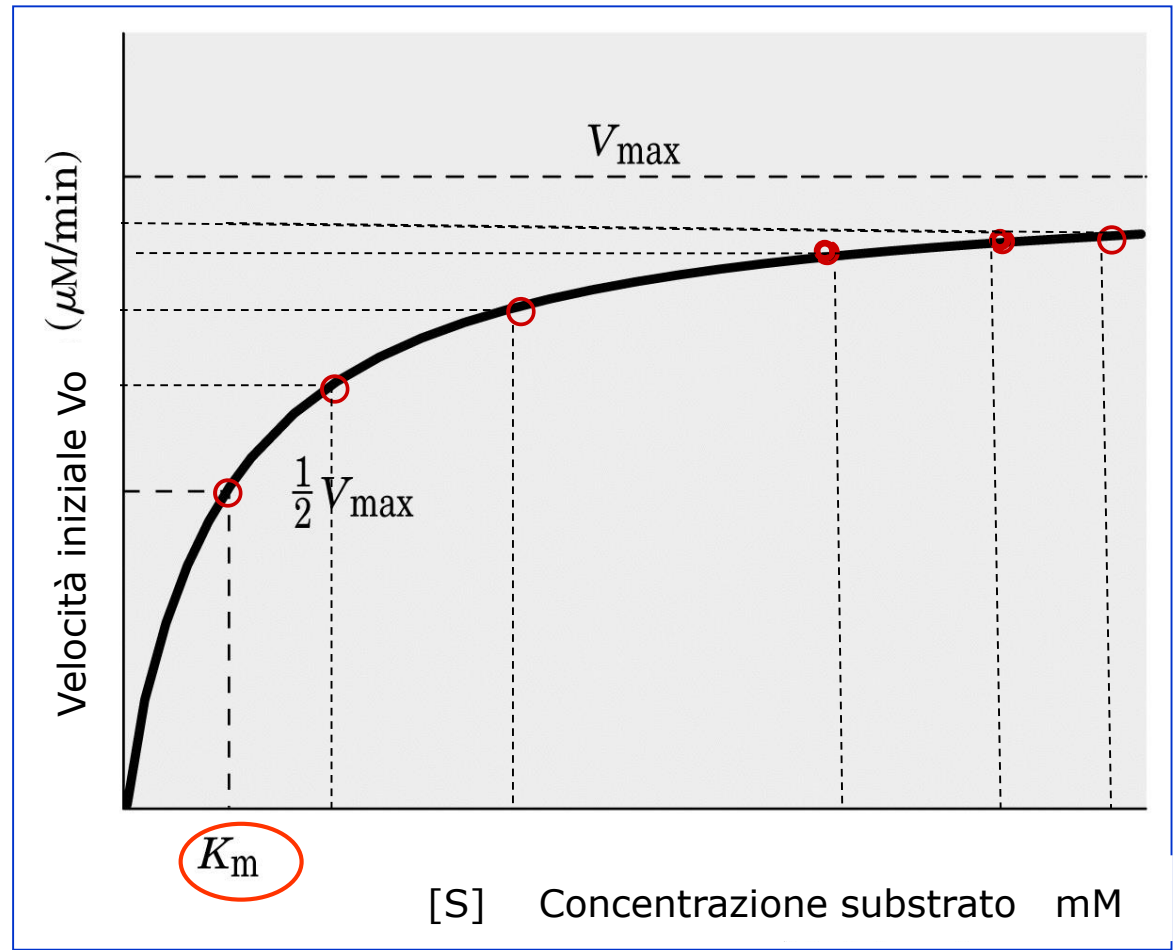
Enzima legato

[S] bassa → **E libero** → velocità dipende da [S]

[S] alta → **E legato** → velocità non dipende da [S] ma da [ES]

# CINETICA ENZIMATICA

[S]	V
2.5	0.024
5	0.036
10	0.053
20	0.064
25	0.064
30	0.064

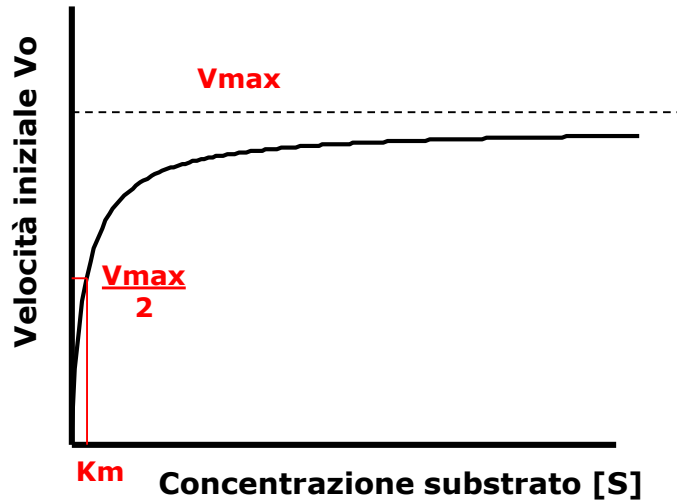


Equazione di Michaelis e Menten (1913)

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

Alte concentrazioni di substrato  $\rightarrow$  saturazione dell'enzima

# CINETICA ENZIMATICA

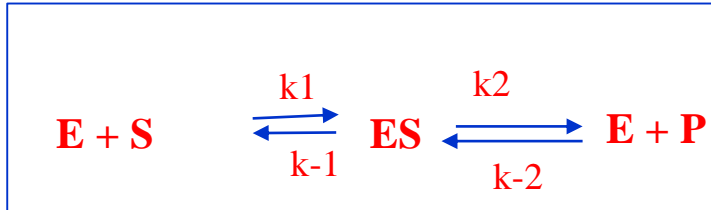


Equazione di Michaelis e Menten

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

# CINETICA ENZIMATICA

**K<sub>m</sub>** costante di Michaelis e Menten



k dissociazione ES  
k formazione ES

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

$$\text{K}_m = [\text{S}] \quad \text{quando } V_o = \frac{V_{\max}}{2}$$

## Costante di Michaelis e Menten (Km)

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

Equazione di Michaelis e Menten

$$V_o = V_{max}/2$$

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad \text{Divido per } V_{max}$$

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

$$2 = \frac{K_m + [S]}{[S]} \quad 2 [S] = K_m + [S]$$

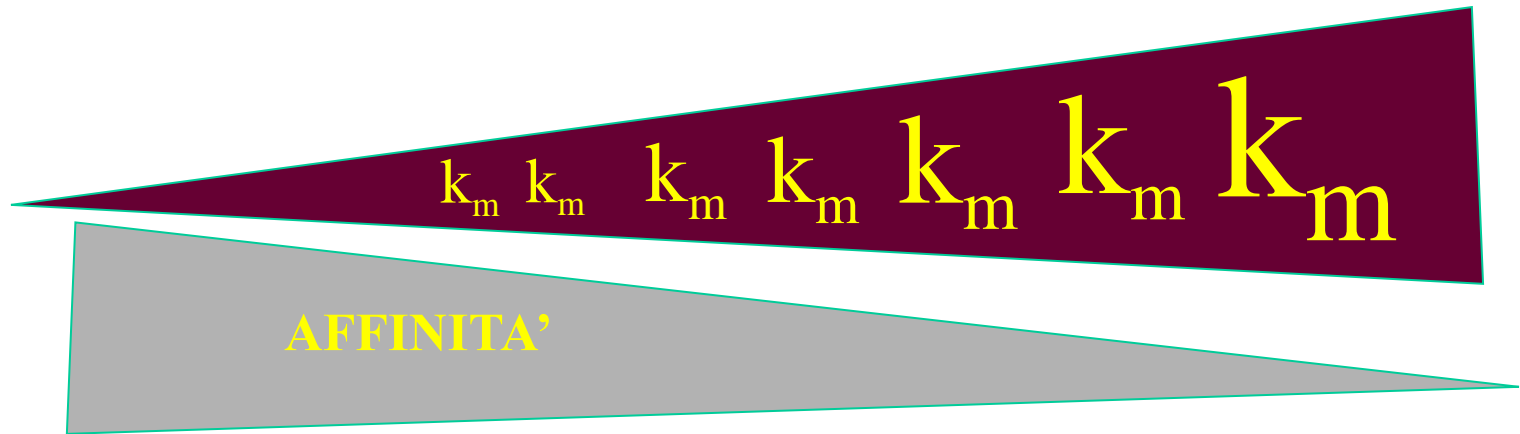
$$2 [S] - [S] = K_m$$

$$[S] = K_m$$

Quando  $V_o = V_{max}/2$

**Km è la [S] a cui la Vo corrisponde a Vmax/2**

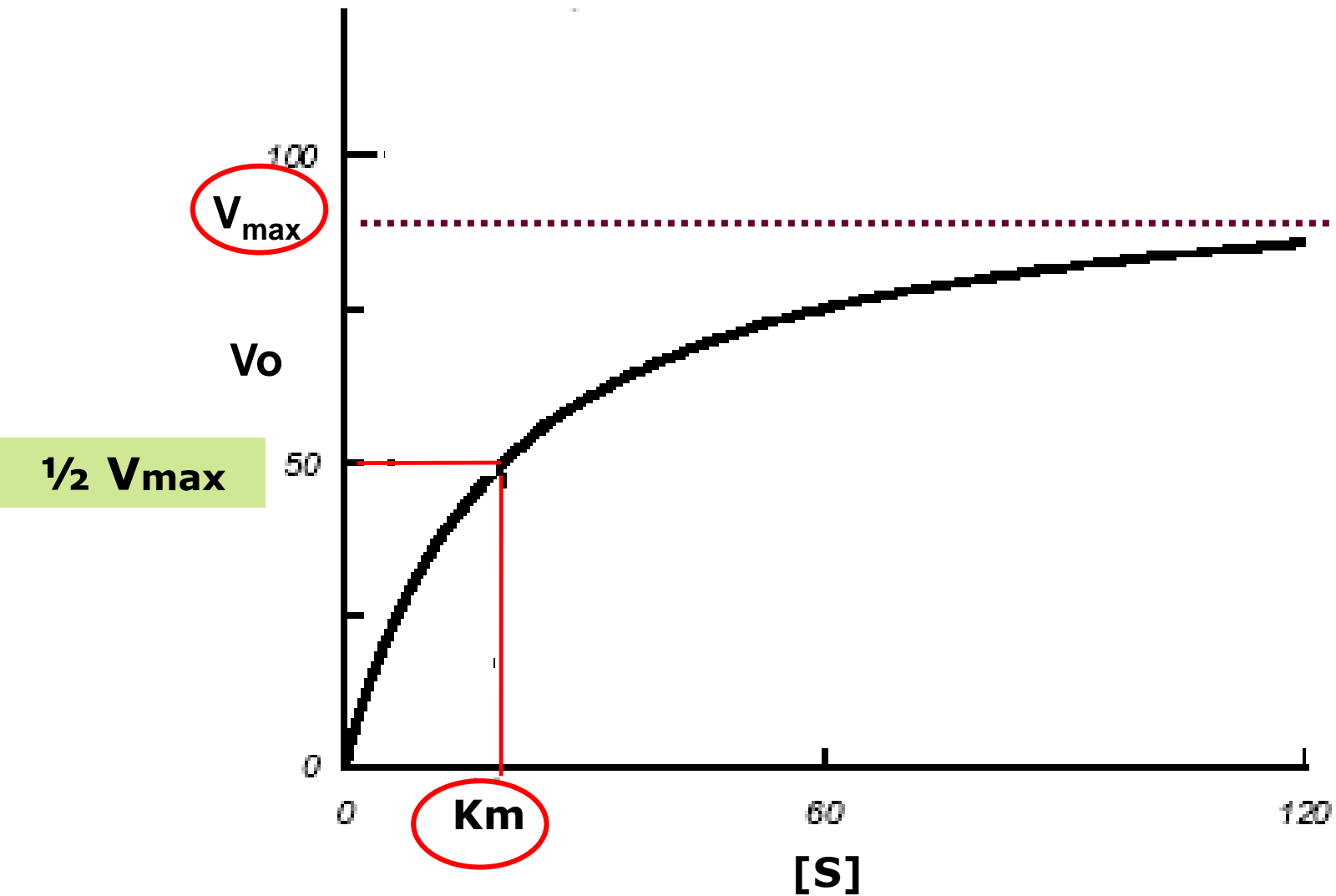
## La costante di Michaelis ( $K_m$ )



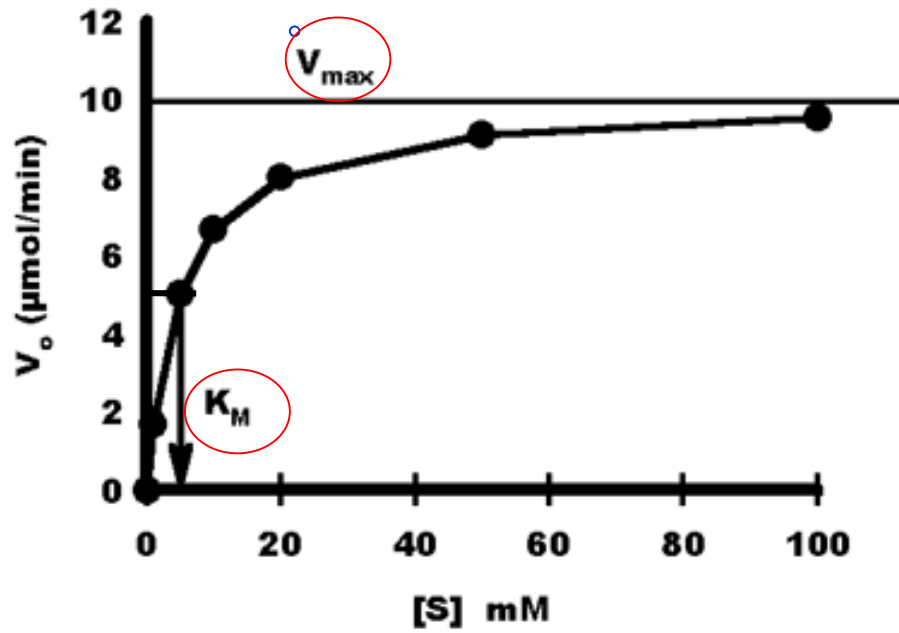
$K_m$  è la concentrazione del substrato alla quale la metà dei siti per il substrato sono saturati

$K_m$  fornisce una misura della concentrazione di substrato necessaria affinché la catalisi avvenga

# Cinetica Enzimatica



## Grafico di Michaelis-Menten



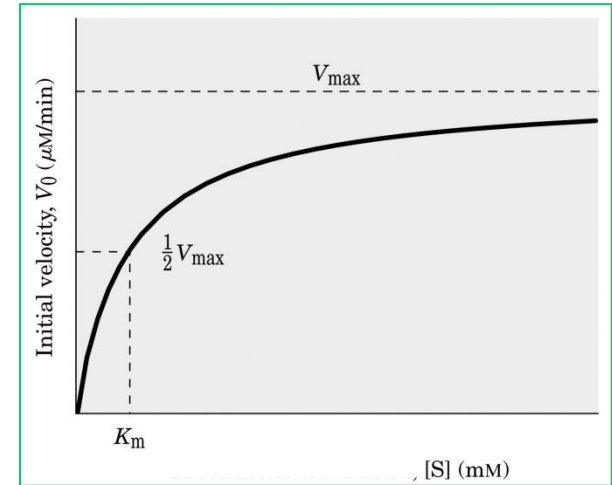
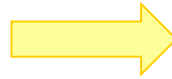
## Valori di $K_m$

### $K_m$ for Some Enzymes and Substrates

Enzyme	Substrate	$K_m$ (mM)
Catalase	$H_2O_2$	25
Hexokinase	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	$HCO_3^-$	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
$\beta$ -Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

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

Equazione di Michaelis e Menten



L'equazione di Michaelis e Menten può essere trasformata nel suo reciproco

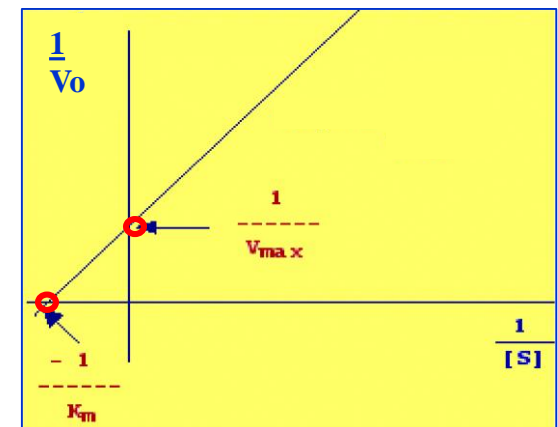
Inverso dell'equazione di Michaelis e Menten



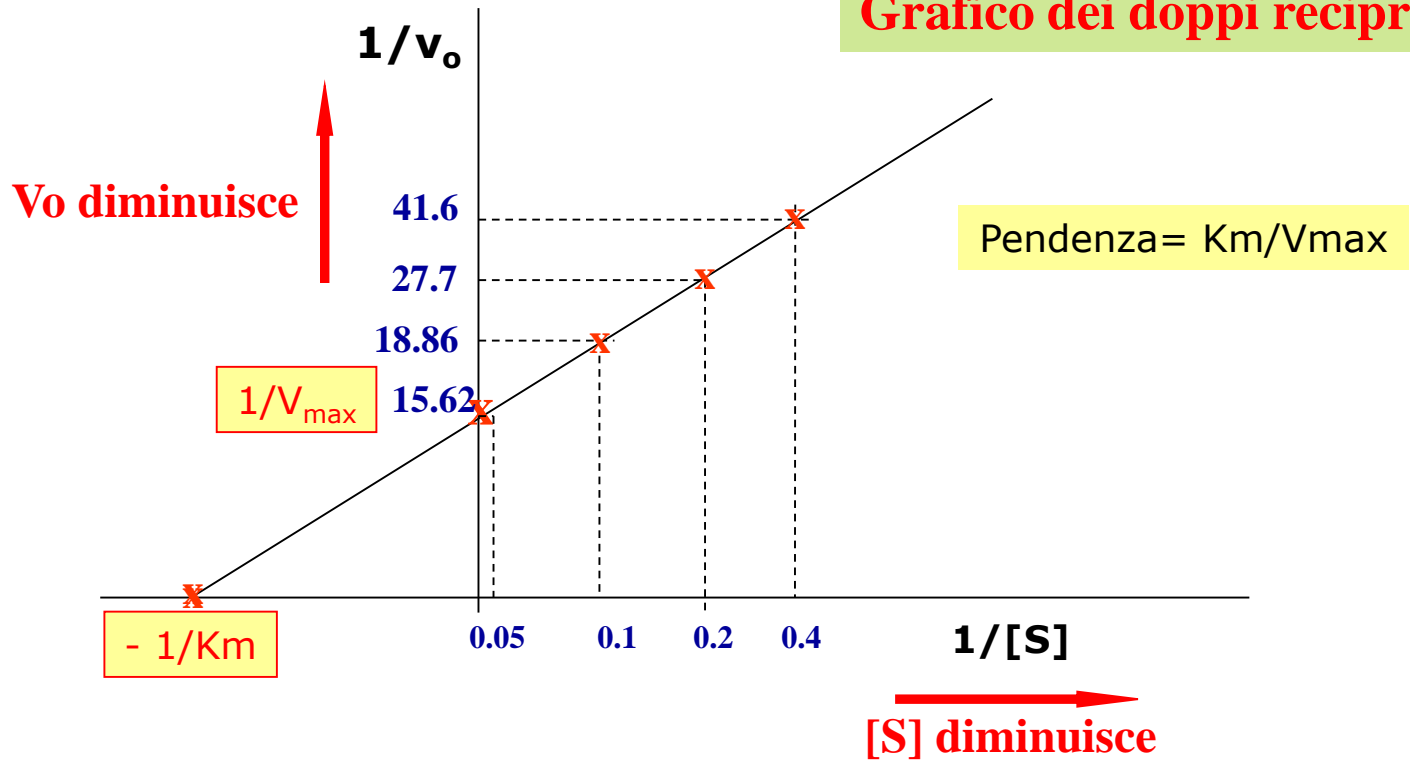
$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



Altro grafico



# Grafico dei doppi reciproci



<b>[S]</b>	<b>1/[S]</b>	<b>V</b>	<b>1/V</b>
2.5	0.4	0.024	41,66
5	0.2	0.036	27.77
10	0.1	0.053	18.86
20	0.05	0.064	15.62

Valori importanti	1/Vmax
	- 1/Km

## Parametri cinetici

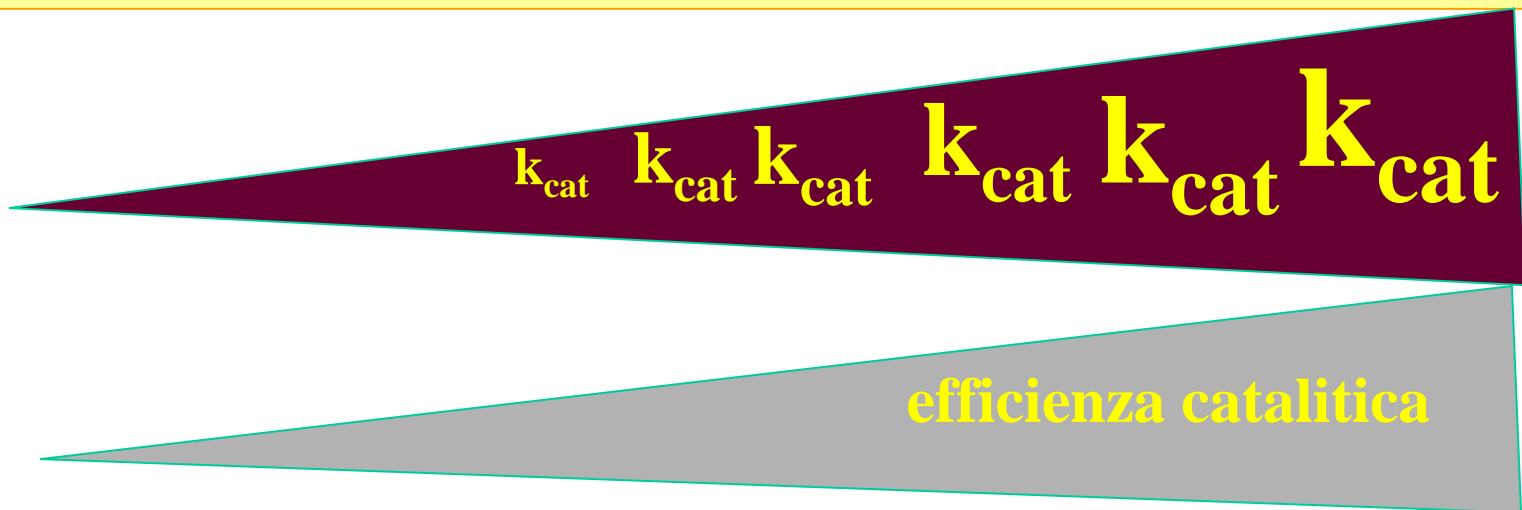
**$K_m$**  è caratteristica per ogni enzima

Dipende da → natura del substrato  
→ tipo di enzima

**Costante catalitica ( $K_{cat}$ )** → n° di molecole di substrato convertite in prodotto da 1 molecola di enzima nell'unità di tempo

**$K_{cat}$  = Numero di turnover di un enzima**

Rappresenta l'**efficienza catalitica** di un enzima in condizioni di  $[S]$  saturanti e quando si raggiunge la  $V_{max}$



## Costante catalitica (Kcat)

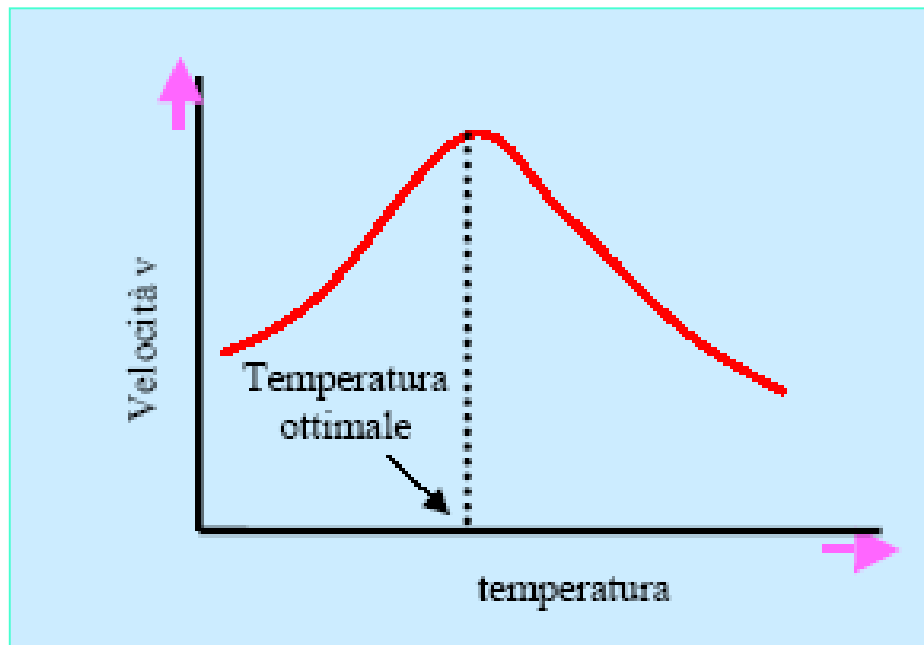
n° di molecole di substrato convertite in prodotto da 1 molecola di enzima nell'unità di tempo

Enzima	$k_{cat}$
catalasi	40.000.000
anidrasi carbonica	1.000.000
acetilcolinesterasi	14.0000
lattato deidrogenasi	1.000
chimotripsina	100
DNA polimerasi	15
lisozima	0,5

## Effetto della temperatura sulla velocità della reazione enzimatica

Ogni enzima ha una temperatura ottimale generalmente vicina alla temperatura fisiologica

Il calore eccessivo può denaturare la proteina

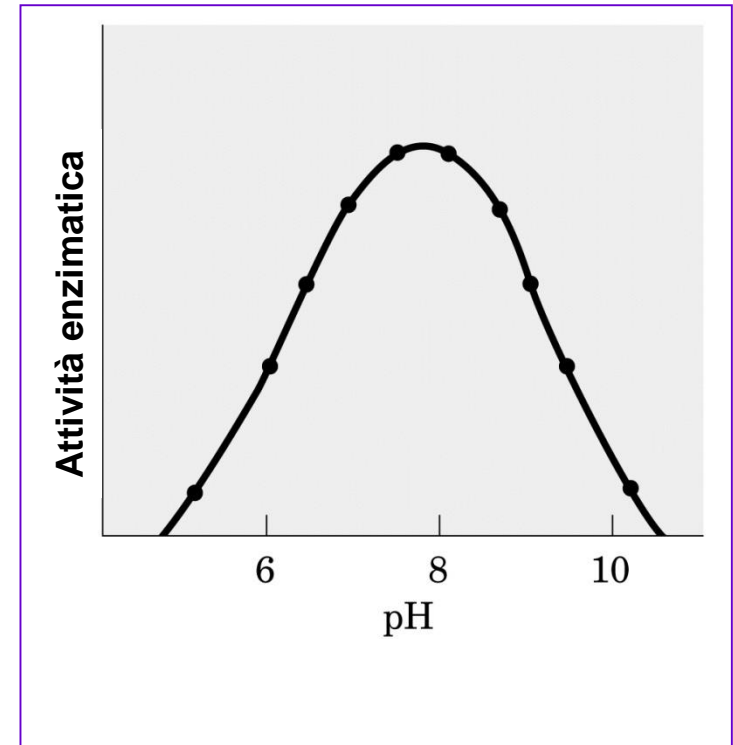


# Effetto del pH sulla velocità della reazione enzimatica

Il pH influenza le interazioni enzima/substrato

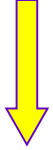
Gli enzimi funzionano meglio a **pH fisiologico**

Valori estremi di pH denaturano la proteina

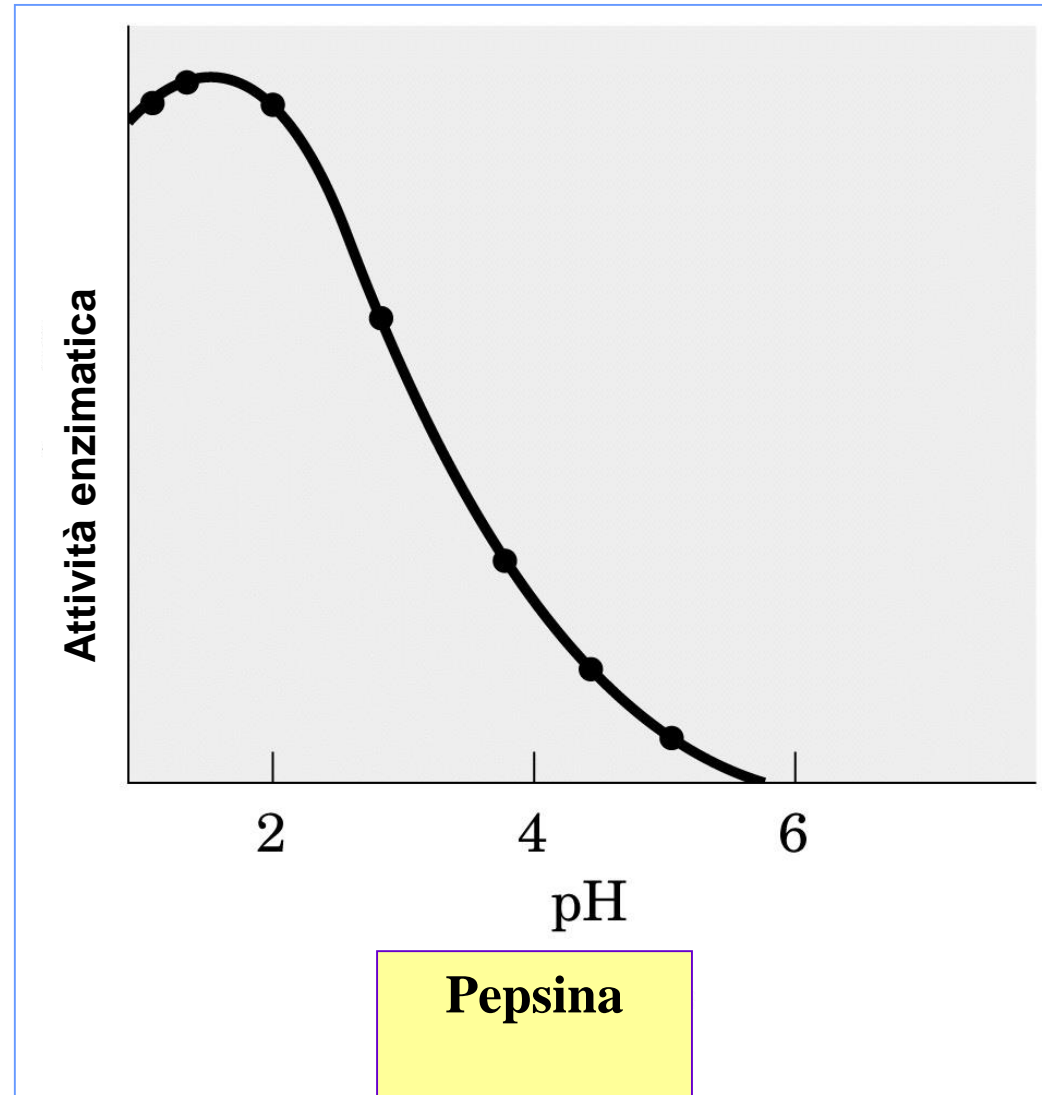


# Effetto del pH sulla velocità della reazione enzimatica

Le proteasi



Massima attività a pH acido



# Reazioni enzimatiche con più di un substrato

## FORMAZIONE DI UN COMPLESSO TERNARIO

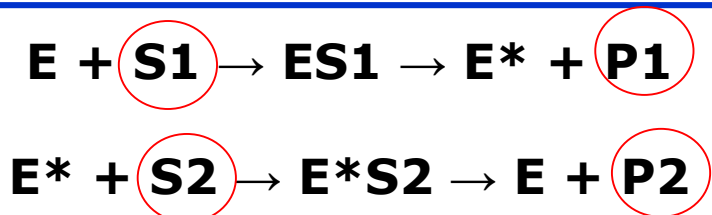
### Casuale



### Ordinata



## SENZA FORMAZIONE DI UN COMPLESSO TERNARIO



# MECCANISMI DI CATALISI

Catalisi acido-base



Trasferimento di protoni

Aa presenti nel sito attivo possono agire da accettori o donatori di protoni

Formazione di intermedi carichi instabili  
Trasferimento di protoni → Intermedi stabili

Catalisi covalente



Formazione di legami covalenti transitori tra enzima e substrato

Catalisi da ioni metallici



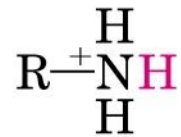
Interazioni ioniche da parte di ioni metallici

# Aminoacidi

**Glu, Asp**



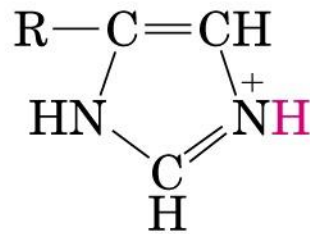
**Lys, Arg**



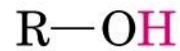
**Cys**



**His**

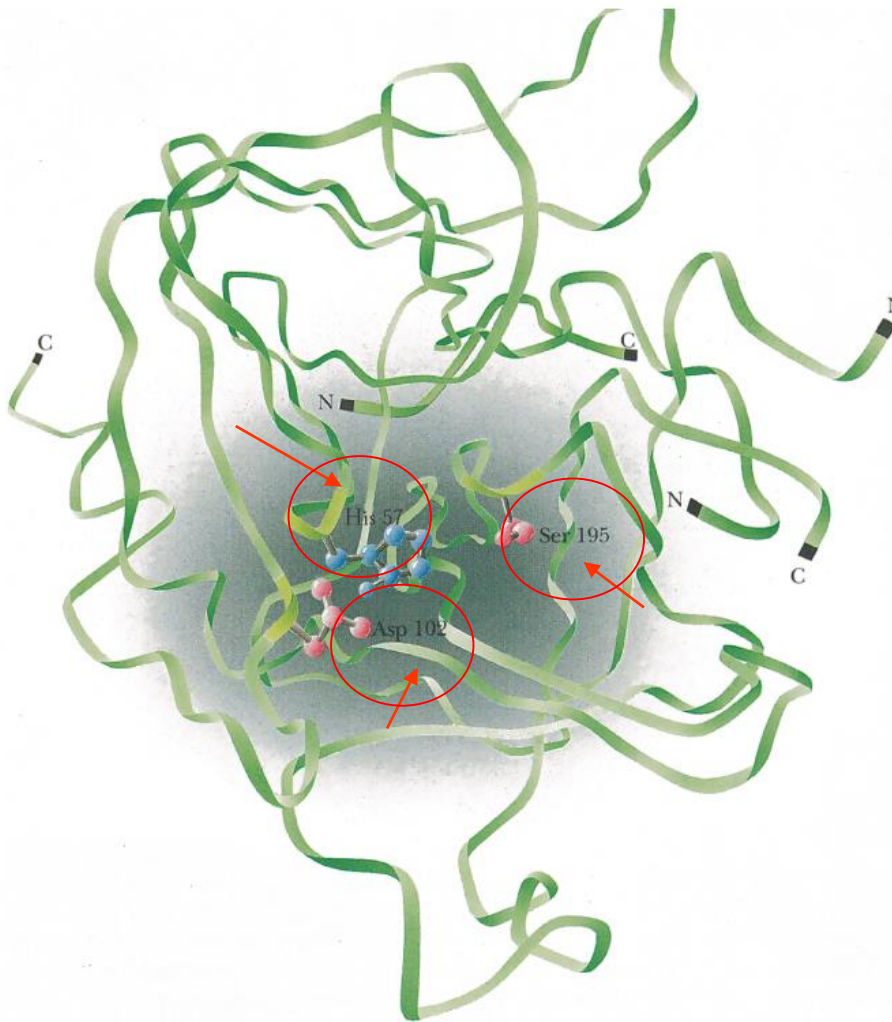


**Ser**



**Tyr**





Ser 195  
His 57  
Asp 102  
aa importanti per  
il sito attivo

Struttura della  
chimotripsina