

酶促反应动力学

周华瑞

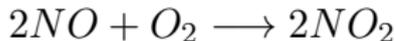
元反应

- ▶ 化学反应从微观角度上看是分子之间相互碰撞导致化学键的断裂和形成的动态过程.
- ▶ 直接由分子经历一次碰撞实现的化学反应称为元反应, 例如元反应

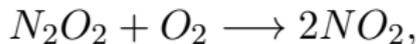
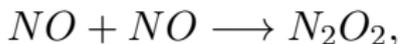


就是 A 和 B 碰撞之后“粘”在一起产生了物质 C .

- ▶ 复杂的化学反应通常都可以分解成若干个元反应, 比如



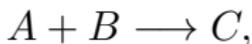
可以看作是二个元反应的累加结果



即两个 NO 碰撞产生一个 N_2O_2 , 随后 N_2O_2 再和 O_2 碰撞产生两个 NO_2 .

元反应的质量作用定律

- ▶ 对于元反应, 我们有非常重要的**质量作用定律**(Law of mass action), 即元反应的反应速率和反应物 (也叫底物, 元反应箭头左边的物质) 的浓度乘积成正比.
- ▶ 例如对于元反应



有

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

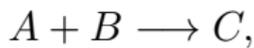
其中 v 是反应速率, 可以用 A 或 B 的消耗速率或者 C 的生成速率来表示 (单位: $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$), k 是比例系数, $[\cdot]$ 表示物质的量浓度 (单位: mol/L).

- ▶ 物质的变化速率通常用

$$\frac{d[\cdot]}{dt}$$

来表示, 如果其大于 0, 说明浓度在不断增加, 如果小于 0 说明浓度在不断减少, 如果等于 0 说明浓度不变.

- ▶ 因此元反应



的速率方程可以写成

$$\frac{d[C]}{dt} = k[A][B],$$

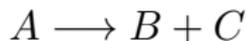
或

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B],$$

或

$$-\frac{d[B]}{dt} = k[A][B].$$

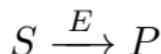
- ▶ 思考：如何书写元反应



的速率方程？

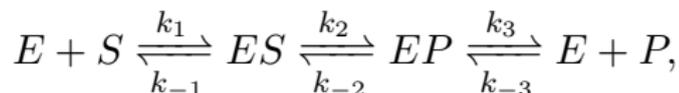
酶促反应的 Michaelis-Menten 模型

- ▶ 在生物体内, 酶作为催化剂可以有效的提高化学反应的反应速率, 但如何计算反应速率呢?
- ▶ 首先酶促反应不是元反应, 因为不是只涉及一个变化的步骤, 比如由酶 E 参与的酶促反应



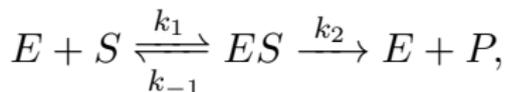
实际上包括 S 和 E 的结合形成 ES 复合体, ES 复合体重新解离变成 S 和 E , ES 变形成为 EP , EP 分裂变成 $E+P$ 等等.

- ▶ 具体来说可以写成



酶促反应的 Michaelis-Menten 模型

- ▶ Michaelis 和 Menten 两位科学家基于一些合理的假设对上述模型进行了简化
- ▶ 首先他们假设 ES 和 EP 之间的转变是非常快的, 于是把 ES 和 EP 都写成 ES ; 其次他们只考虑不可逆反应, 因此假设 $k_{-3} \approx 0$.
- ▶ 最终上述模型简化为 (为方便起见, 下面把原来的 k_3 写成了 k_2)



- ▶ 这个模型称为 **Michaelis-Menten 模型**, 下面简称 M-M 模型, 它包含了三个元反应



M-M 模型的速率方程

- ▶ 我们现在想求 M-M 模型的速率方程, 如果用产物 P 的生成速率来表示反应速率, 即要求

$$v = \frac{d[P]}{dt}$$

的表达式.

- ▶ 首先由元反应 (3) 的速率方程可以得到

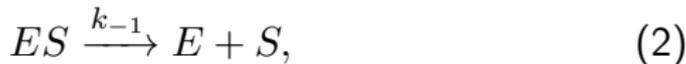
$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES], \quad (4)$$

于是我们只要求出 ES 的表达式即可.

- ▶ 这里我们有两种近似方法可以使用: 平衡态假设和稳态假设.

平衡态假设

- ▶ 平衡态假设两条重要的假设：
 - ▶ 总反应速率取决于决速步（即元反应 (3)）的反应速率；
 - ▶ 决速步骤前的对峙反应（即元反应 (1) 和 (2)）达到平衡。
- ▶ 根据第二条假设，我们假设元反应 (1) 和 (2)



达到平衡，即

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES],$$

设体系中酶的总浓度为 $[E]_T$ ，则 $[E]_T = [E] + [ES]$ ，我们可以求出

$$[ES] = \frac{k_1[E]_T[S]}{k_{-1} + k_1[S]} = \frac{[E]_T[S]}{\frac{k_{-1}}{k_1} + [S]}, \quad (5)$$

平衡态假设

- ▶ 令 $K_s = k_{-1}/k_1$, 将 (5) 代入 (4) 式即得

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{v_2[E]_T[S]}{K_s + [S]}.$$

- ▶ 由于特殊状态的酶的浓度永远不会超过酶的总浓度, 即 $[ES] \leq [E]_T$, 我们有

$$v = k_2[ES] \leq k_2[E]_T.$$

- ▶ 我们定义最大反应速率 $V_{max} = k_2[E]_T$, 因此有

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_s + [S]} \quad (6)$$

- ▶ (6) 式称为平衡态假设下 M-M 模型的速率方程.

稳态假设

- ▶ 稳态假设的基本假设是不稳定中间产物的变化速率为零，即中间产物浓度不随时间而变化
- ▶ 对于 M-M 模型, ES 被认为是不稳定的中间产物, 因此根据稳态假设

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0. \quad (7)$$

- ▶ 根据元反应 (1)(2)(3), 我们可以写出

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \quad (8)$$

- ▶ (7)(8) 结合 $[E]_T = [E] + [ES]$ 可以求出

$$[ES] = \frac{k_1[E]_T[S]}{k_{-1} + k_2 + k_1[S]} = \frac{[E]_T[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}, \quad (9)$$

稳态假设

- ▶ 类似地, 令 $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$, $V_{max} = k_2[E]_T$, 将 (9) 代入 (4) 式即得

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}. \quad (10)$$

- ▶ (10) 式称为 Michaelis-Menten 方程或米式方程, K_M 称为米式常数.
- ▶ 目前使用的速率方程主要是基于稳态假设推出的米式方程.
- ▶ 当 $k_2 \ll k_1$ 时,

$$K_M \approx \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} = K_s,$$

即 K_M 近似于解离平衡常数 K_s , 当 K_M 越小, 酶与底物的亲和力就越大.

- ▶ k_2 直接反映了底物饱和的情况下产物生成的快慢, 也叫做转换数 (turnover number), 也记做 k_{cat}

根据米氏方程列常微分方程

- ▶ 我们根据米氏方程可以列出常微分方程

$$\begin{cases} \frac{dx(t)}{dt} = -\frac{V_{max}x(t)}{K_M + x(t)} \\ x(0) = S_0 \\ y(t) = x(0) - x(t) \end{cases}$$

其中 $x(t)$ 表示底物浓度随时间的函数, $y(t)$ 表示产物浓度随时间的函数. 由上述常微分方程我们可以解出 $x(t)$ 和 $y(t)$, 即底物和产物随时间如何变化.

产物-时间曲线: 改变底物初始浓度

我们取 $V_{max} = 1$, $K_M = 1$, 改变底物初始浓度.

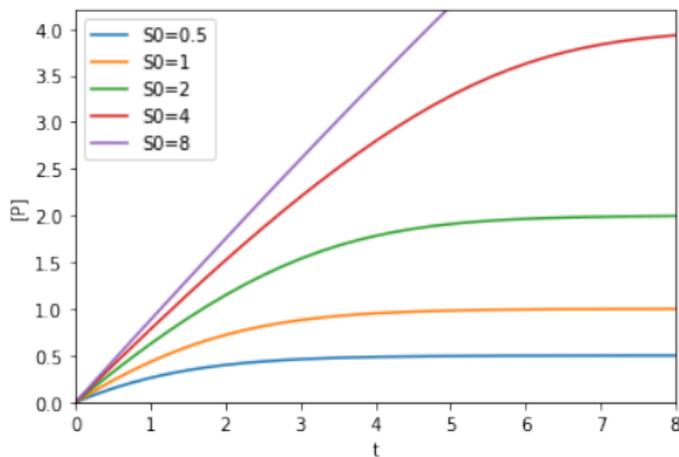


图 1: [P] 随时间变化曲线, 改变 S_0 .

产物-时间曲线: 改变 V_{max}

我们取 $K_M = 1$, $S_0 = 2$ 改变 V_{max} .

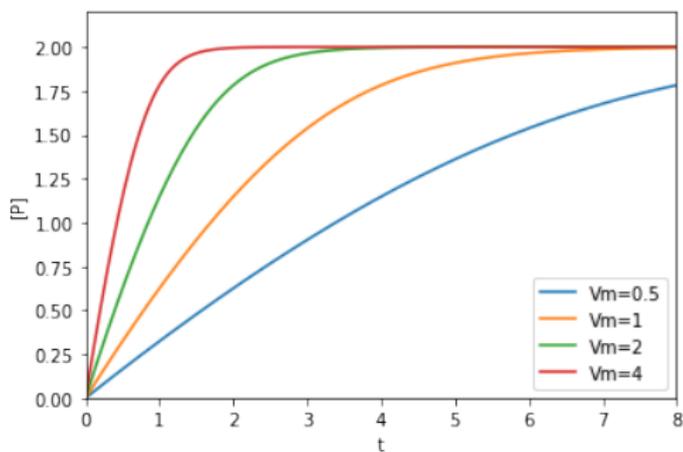


图 2: [P] 随时间变化曲线, 改变 V_{max} .

产物-时间曲线: 改变 K_M

我们取 $V_{max} = 1$, $S_0 = 2$ 改变 K_M .

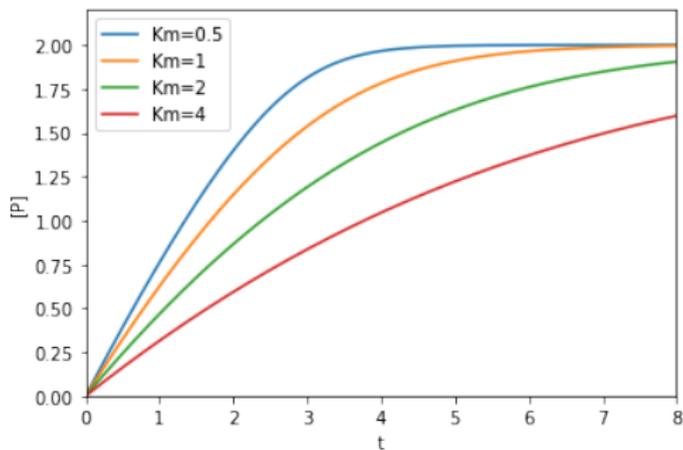
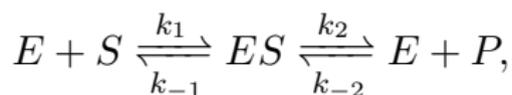


图 3: [P] 随时间变化曲线, 改变 K_M .

可逆反应的速率方程

我们考虑可逆反应模型



可以利用稳态假设计算其反应速率方程 (练习),

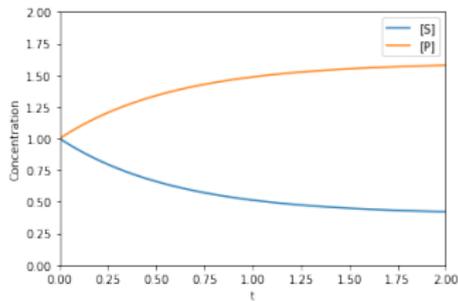
$$v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_m^f[S] - V_m^r[P]}{1 + \frac{[S]}{K_m^S} + \frac{[P]}{K_m^P}},$$

其中

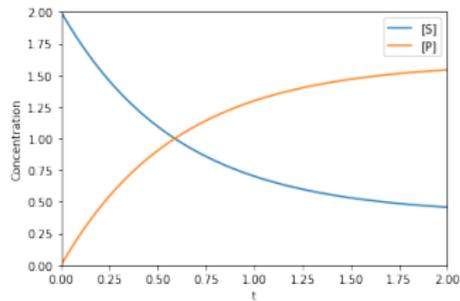
$$V_m^f = k_2[E]_t, \quad V_m^r = k_{-1}[E]_t,$$
$$K_M^S = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad K_M^P = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}}.$$

可逆反应的底物/产物-时间曲线

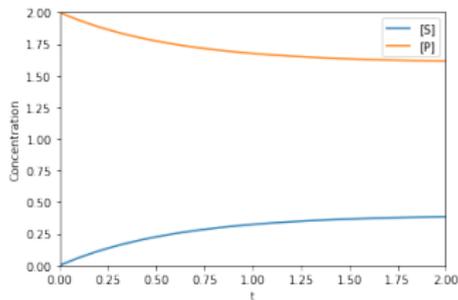
我们令 $V_m^f = 4, V_m^r = 1, K_M^S = K_M^P = 1$, 改变底物和产物的初始浓度, 下面是 Python 计算出来的数值解, 你发现了什么?



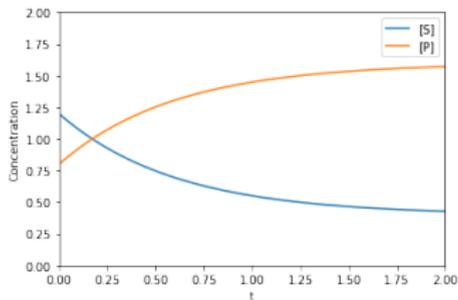
(a) $S_0 = P_0 = 1$



(b) $S_0 = 2, P_0 = 0$



(c) $S_0 = 0, P_0 = 2$

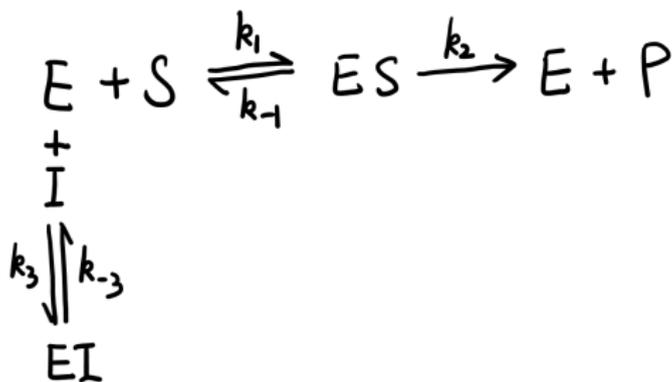


(d) $S_0 = 1.2, P_0 = 0.8$

酶的可逆抑制剂

- ▶ 酶的可逆抑制剂是指可以和酶可逆结合 (结合后又能够解离) 并对酶的活性有抑制作用的化学分子.
- ▶ 可逆抑制剂可以分为三种类型:
 - ▶ **竞争性抑制剂**(competitive inhibitor): 与空载的酶结合, 通常与酶上的底物结合位点结合, 能够阻止底物和酶结合
 - ▶ **反竞争性抑制剂**(uncompetitive inhibitor): 与酶/底物复合体结合, 结合部位通常不是酶上的底物结合位点, 能够阻止酶/底物复合体解离生成产物.
 - ▶ **混合型抑制剂**(mixed inhibitor): 既能与空载的酶结合, 又能和酶/底物复合体结合
- ▶ 下面我们将写出三种可逆抑制剂下的酶促反应模型, 并利用稳态假设推导反应速率方程.

竞争性抑制剂下的酶促反应模型



- ▶ 我们的目标是求

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (11)$$

- ▶ 根据稳态假设有

$$0 = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (12)$$

$$0 = \frac{d[EI]}{dt} = k_3[E][I] - k_{-3}[EI] \quad (13)$$

竞争性抑制剂下的酶促反应模型

- ▶ 并且根据酶的总浓度守恒有

$$[E]_T = [E] + [ES] + [EI],$$

- ▶ 将 $[EI] = \frac{k_3[E][I]}{k_{-3}}$ 代入上式得到

$$[E]_T = \left(1 + \frac{k_3[I]}{k_{-3}}\right)[E] + [ES],$$

定义解离常数

$$K_I = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{[E][I]}{[EI]},$$

并且令

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I},$$

得到

$$[E]_T = \alpha[E] + [ES],$$

竞争性抑制剂下的酶促反应模型

- ▶ 将 $[E] = ([E]_T - [ES])/\alpha$ 代入 (12) 式得到

$$[ES] = \frac{k_1[E]_T[S]/\alpha}{\frac{k_1[S]}{\alpha} + k_1 + k_2} = \frac{[E]_T[S]}{[S] + \alpha K_M}, \quad (14)$$

其中

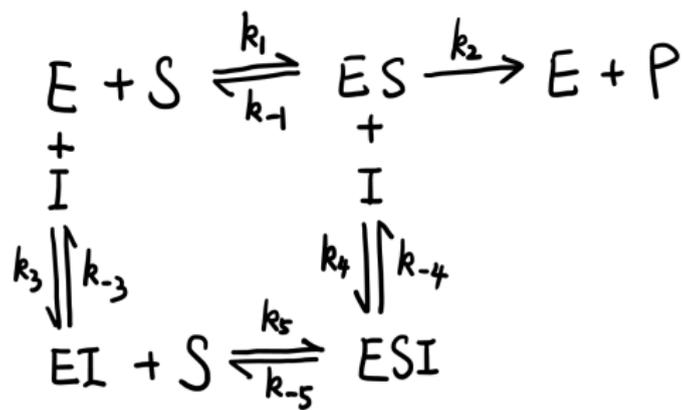
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1},$$

- ▶ 将 (14) 代入 (11), 令 $V_{max} = k_2[E]_T$, 得到

$$v = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_M + [S]}, \quad (15)$$

其中 $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$.

混合型抑制剂下的速率方程推导



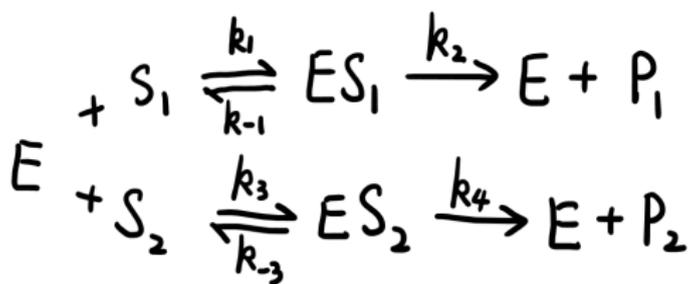
- ▶ 由稳态假设可以推出 (练习)

$$v = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_M + \alpha'[S]}, \quad (17)$$

其中 $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$, $\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I}$.

- ▶ 当 $\alpha = \alpha' > 1$ 的时候, 称为**非竞争性抑制剂**.

两个底物相互竞争的酶促反应速率方程



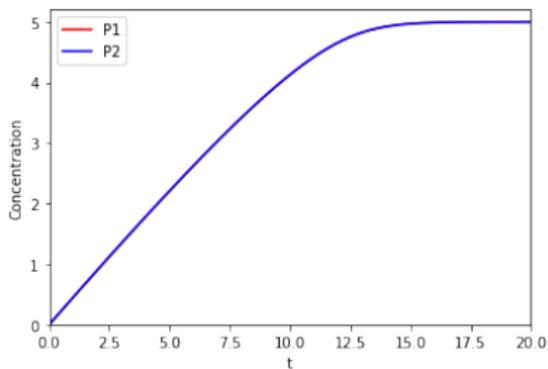
通过稳态假设可以求出两种产物各自的生成速率为 (练习)

$$v_1 = \frac{d[P_1]}{dt} = \frac{\frac{V_1}{K_1}[S_1]}{1 + \frac{[S_1]}{K_1} + \frac{[S_2]}{K_2}}, \quad v_2 = \frac{d[P_2]}{dt} = \frac{\frac{V_2}{K_2}[S_2]}{1 + \frac{[S_1]}{K_1} + \frac{[S_2]}{K_2}},$$

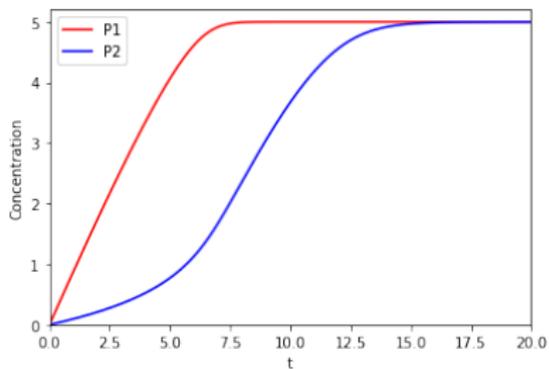
其中

$$K_1 = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad K_2 = \frac{k_{-3} + k_4}{k_3}, \quad V_1 = k_2[E]_T, \quad V_2 = k_4[E]_T.$$

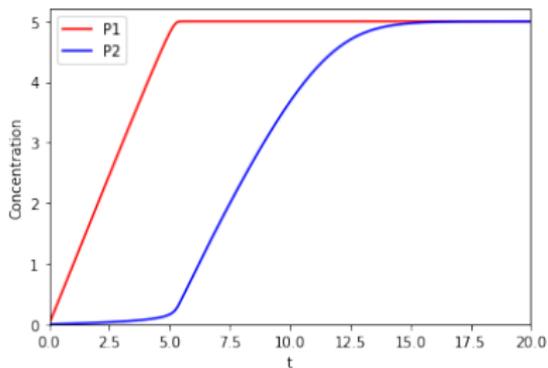
下面是用 Python 做的模拟, 我们令 S_1 和 S_2 的初始浓度都为 5.



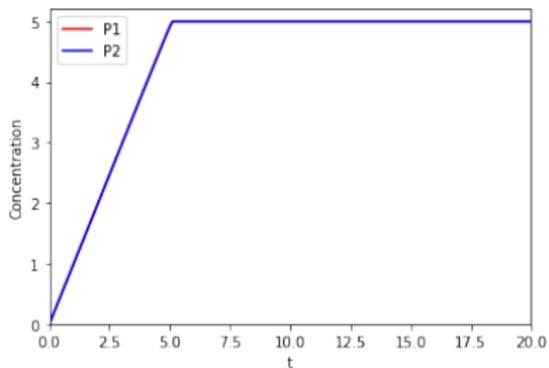
(a) $K_1 = K_2 = 1, V_1 = V_2 = 1$



(b) $K_1 = 0.1, K_2 = 1, V_1 = V_2 = 1$



(c) $K_1 = 0.01, K_2 = 1, V_1 = V_2 = 1$



(d) $K_1 = 0.01, K_2 = 1, V_1 = 1, V_2 = 100$