

## Equazione di Michaelis - Menten

- ① Allo stato stazionario la velocità di formazione del complesso enzima - substrato eguaglia la velocità di scomposizione

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

↓  
formazione

↓  
scissione  
verso la formazione  
di reagenti e  
di prodotti

- ② La concentrazione totale dell'enzima  $[E]_0$  è uguale alla somma dell'enzima legato e dell'enzima libero

$$[E] + [ES] = [E]_0$$

$$[E] = [E]_0 - [ES]$$

- ③ Ricavando la concentrazione dell'enzima libero  $[E]$  da questa relazione e sostituendole nell'espressione cinetica dello stato stazionario, si ricava:

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

- ④ Dalla quale, eseguendo i prodotti, è possibile ottenere la concentrazione del complesso enzima-sub. in funzione delle concentrazioni di substrato e enzima totale.

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

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

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

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

5) Possiamo semplificare ulteriormente, combinando le costanti di velocità in una sola

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

6) Il termine  $\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$  è noto come costante di Michaelis,  $K_m$ . Quindi:

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

7) Dato che la velocità iniziale ( $V_0$ ) dipende dalla demolizione di  $[ES]$  per dare origine al prodotto è quindi proporzionale a  $[ES]$

$$V_0 = k_2 [ES]$$

8) Sostituendo all'interno l'equazione precedente:

$$V_0 = \frac{k_2 [E_0][S]}{K_m + [S]}$$

9) Inoltre, poiché la velocità massima viene raggiunta quando tutto l'enzima è stato saturato con il substrato, il valore di  $[ES]$  equivaglia quello di  $[E_0]$  e  $V_{max}$  può essere definita come  $k_2 [E_0]$ . Sostituendo nell'equazione precedente:

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

Questa è l'equazione di Michaelis-Menten, l'equazione della velocità di una reazione a singolo substrato catalizzata da un enzima.

Dall'equazione di Michaelis-Menten emerge un'importante relazione numerica nel caso particolare in cui  $V_0$  sia esattamente uguale a  $\frac{1}{2} V_{max}$ :

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

Dividendo per  $V_{max}$  otteniamo

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

Risolvendo per  $K_m$  abbiamo che  $K_m + [S] = 2[S]$ , ovvero

$$K_m = [S] \quad \text{quando} \quad V_0 = \frac{1}{2} V_{max}$$

La costante  $K_{cat}$  è una costante di primo ordine espressa dal reciproco del tempo. Essa viene detta anche numero di turnover ed equivale al numero di molecole di substrato che vengono convertite in prodotto nell'unità di tempo da una singola molecola enzimatica quando l'enzima è saturo con il substrato.

I parametri cinetici  $K_{cat}$  e  $K_m$  sono in genere utilizzati per lo studio e il confronto di enzimi diversi. I parametri consentono anche di valutare l'efficienza catalitica degli enzimi. Il miglior modo per farlo è paragonare il rapporto  $K_{cat}/K_m$  delle due reazioni. Questo parametro viene chiamato costante di specificità ( $M^{-1} s^{-1}$ ) e permette di valutare l'efficienza di enzimi diversi o dello stesso enzima con substrati diversi.