

# Biochemie II

LVA 166.163 (WS 2015)

## Vortragender:

Ao.Univ.Prof. Dr. Ewald Srebotnik  
ewald.srebotnik@tuwien.ac.at

## Einheit 15:

### *Enzyme – Mechanismen und Kinetik*

### *Enzymes – Mechanisms and Kinetics*

## Literatur:

### Lehrbuch der Biochemie

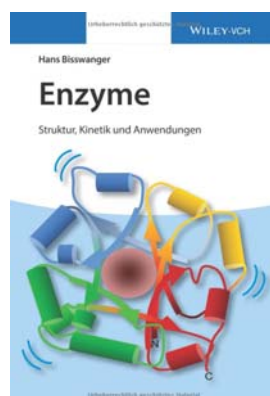
D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt,  
*Wiley-VCH*

### Enzyme

H. Bisswanger  
*Wiley-VCH*

### Taschenatlas Biochemie des Menschen

J. Koolman und K-H Röhm,  
*Thieme*



## Allgemeine Betrachtungen: Biokatalysatoren

Enzyme (katalytisch aktive Proteine)

Ribozyme (katalytisch aktive RNA)

1. Wirkungsspezifität	$2\text{-Oxosäure} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{1} 2\text{-Hydroxysäure} + \text{NAD}^+$ <div style="display: flex; justify-content: space-around; font-size: small;"> <div style="text-align: center;"> <math>\begin{array}{c} \text{Substrat} \\ \text{Coenzym} \end{array}</math> </div> <div style="text-align: center;"> <math>\begin{array}{c} \text{Substrat} \\ \text{Coenzym} \end{array}</math> </div> </div>		Reaktionstyp (Redoxreaktion, Hydrolyse, Isomerisierung...)																			
2. Substratspezifität	<table border="1" style="font-size: x-small;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R</th> <th>rel. <math>k_{cat}</math></th> <th><math>K_m</math> (mM)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5" style="text-align: center;"> <math>\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{O}=\text{C} \\   \\ \text{R} \end{array}</math> </td> <td>-CH<sub>3</sub></td> <td>100</td> <td>0,09</td> </tr> <tr> <td>-H</td> <td>60</td> <td>3,2</td> </tr> <tr> <td>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub></td> <td>50</td> <td>0,6</td> </tr> <tr> <td>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub></td> <td>6</td> <td>1,9</td> </tr> <tr> <td>-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub></td> <td>0,02</td> <td>3,6</td> </tr> </tbody> </table>		R	rel. $k_{cat}$	$K_m$ (mM)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{O}=\text{C} \\   \\ \text{R} \end{array}$	-CH <sub>3</sub>	100	0,09	-H	60	3,2	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	50	0,6	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	6	1,9	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,02	3,6	Unterscheidung auch zwischen strukturell ähnlichen Substraten
	R	rel. $k_{cat}$	$K_m$ (mM)																			
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{O}=\text{C} \\   \\ \text{R} \end{array}$	-CH <sub>3</sub>	100	0,09																			
	-H	60	3,2																			
	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	50	0,6																			
	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	6	1,9																			
	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,02	3,6																			
3. Stereospezifität	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <math>\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{HO}-\overset{*}{\text{C}}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_3 \\ \text{L-Lactat} \end{array} \xrightleftharpoons{1a} \begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{O}=\text{C} \\   \\ \text{CH}_3 \\ \text{Pyruvat} \end{array}</math> <p>1a L-Lactat-Dehydrogenase</p> </div> <div style="text-align: center;"> <math>\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{O}=\text{C} \\   \\ \text{CH}_3 \\ \text{Pyruvat} \end{array} \xrightleftharpoons{1b} \begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\overset{*}{\text{C}}-\text{HO} \\   \\ \text{CH}_3 \\ \text{D-Lactat} \end{array}</math> <p>1b D-Lactat-Dehydrogenase</p> </div> </div>		Stereospezifität: L-Lactat bei Tieren, D-Lactat bei bakterieller Milchsäuregärung																			

### Unterschiede zu chemischen Katalysatoren:

- 1) Sehr hohe Reaktionsgeschwindigkeiten (Faktor  $10^6$ - $10^{12}$  schneller als unkatalysiert)
- 2) Milde Reaktionsbedingungen (< 100°C; Atmosphärendruck, neutraler pH-Wert)
- 3) Größere Reaktionsspezifität (Substrate und Produkte ohne Nebenprodukte)
- 4) Regulationsmöglichkeit (z.B. allosterische Kontrolle, Nicht-Substrat-Kontrolle)

J. Koolman und K-H Röhms, Taschenatlas Biochemie des Menschen, Thieme

## Enzymklassifizierung nach Reaktionstyp (EC-Nummer):

Klasse	Reaktionstyp	wichtige Unterklassen
1 Oxidoreduktasen	$A_{red} + B_{ox} \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A_{ox} + B_{red}$	Dehydrogenasen Oxidasen, Peroxidasen Oxygenasen
2 Transferasen	$A-B + C \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A + B-C$	C <sub>1</sub> -Transferasen Glycosyltransferasen Aminotransferasen Phosphotransferasen
3 Hydrolasen	$A + H_2O \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A-H + B-OH$	Esterasen Glycosidasen Peptidasen Amidasen
4 Lyasen („Synthasen“)	$A + B \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A-B$	C-C-Lyasen C-O-Lyasen C-N-Lyasen C-S-Lyasen
5 Isomerasen	$A \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A'$	Epimerasen cis-trans-Isomerasen Intramolekulare Transferasen
6 Ligasen („Synthetasen“)	$A + B + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{Enzym}} A + B + \text{ADP} + P_i$	C-C-Ligasen C-O-Ligasen C-N-Ligasen C-S-Ligasen

Übertragung von Elektronen bei Redoxsystemen (immer mit Coenzym)

Übertragung von Gruppen (immer mit Coenzym)

Übertragung von Gruppen mit H<sub>2</sub>O als Akzeptor (statt Coenzym)

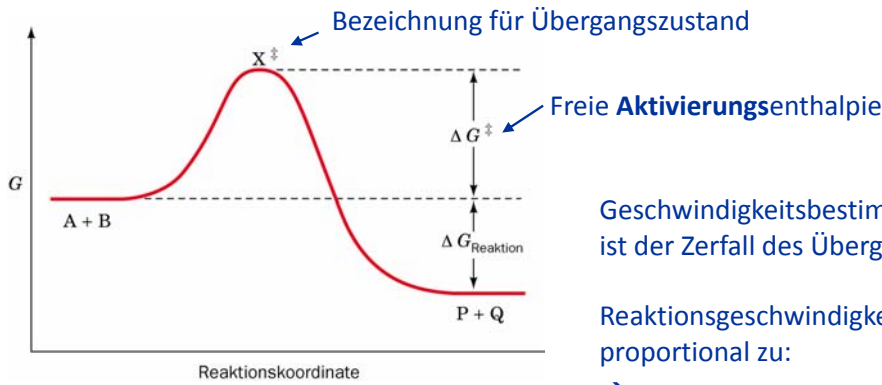
Spaltung/Bildung chemischer Bindungen, wobei C=C-Bindungen entstehen oder verschwinden

Umbau eines Moleküls bei Erhalt der Summenformel

Knüpfen chemische Bindungen (endergon, daher ATP nötig)

J. Koolman und K-H Röhms, Taschenatlas Biochemie des Menschen, Thieme

**Aktivierungsenergie - Wiederholung aus Biochemie I:**



Geschwindigkeitsbestimmender Schritt ist der Zerfall des Übergangszustands.

Reaktionsgeschwindigkeit ist proportional zu:  $e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$

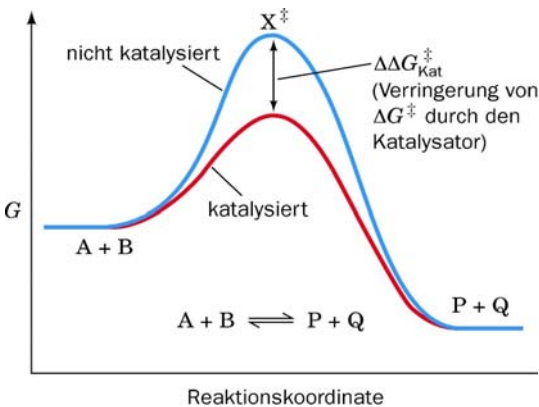
→

Geschwindigkeitserhöhung durch  $\Delta\Delta G^\ddagger_{\text{Kat}}$  ergibt sich aus:  $e^{-\Delta\Delta G^\ddagger / RT}$

→

$\Delta\Delta G^\ddagger_{\text{Kat}} = 5,71 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  10-fache Erhöhung

$\Delta\Delta G^\ddagger_{\text{Kat}} = 34 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$   $10^6$ -fache Erhöhung  
(Bruchteil der Energie einer kovalenten Bindung)



Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH

**Katalysatoren beschleunigen Reaktionen durch Verringerung der Energie des Übergangszustands!**

**Welche molekularen Prozesse verringern  $\Delta G$  des Übergangszustands?**

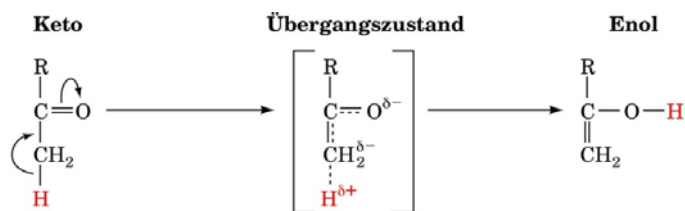
1. Säure- und Basenkatalyse
2. Kovalente Katalyse
3. Metallionenkatalyse
4. Nachbargruppen- und Orientierungseffekte
5. Stabilisierung des Übergangszustandskomplexes

## ad 1) Säure-/Basenkatalyse:

### Beispiel Keto-Enol-Tautomerie

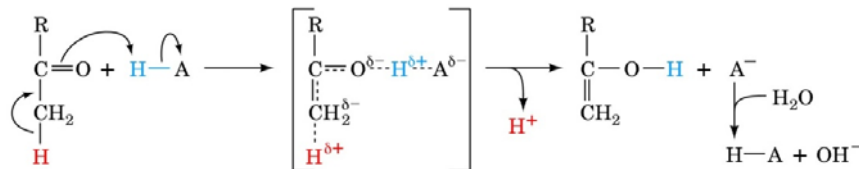
#### (a) Nicht katalysiert

Carbanion-artiger Übergangszustand hat hohe freie Energie → langsam



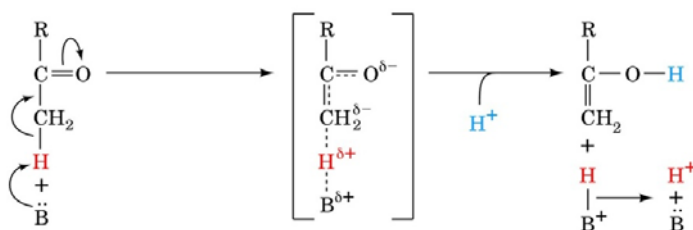
#### (b) Allgemeine Säurekatalyse

Protonierung reduziert Carbanion-Charakter → Reaktionsbeschleunigung



#### (c) Allgemeine Basenkatalyse

Ähnlicher Effekt wie Säurekatalyse durch Deprotonierung



# Enzyme – Mechanismen

## ad 1) Säure-/Basenkatalyse:

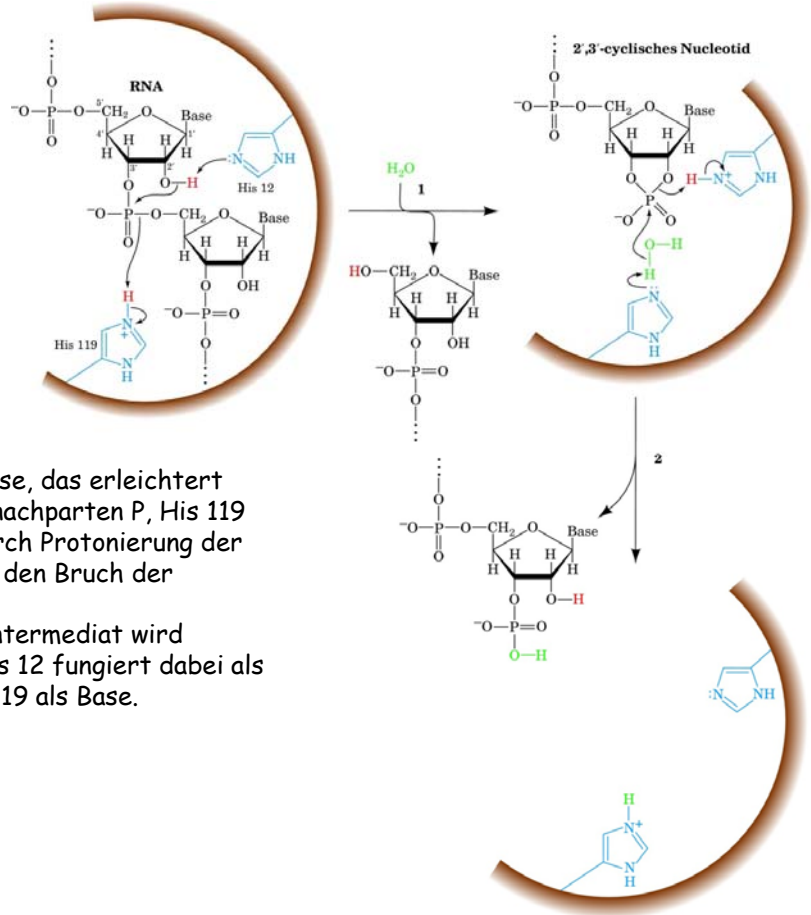
Die Aminosäuren E, D, K, R, C, H, S, Y haben pK-Werte im oder nahe des physiologischen Bereichs und fungieren daher als Säure- und/oder Basekatalysatoren.

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
<b>Glu, Asp</b>	R-COOH	R-COO <sup>-</sup>
<b>Lys, Arg</b>	R-N <sup>+</sup> H <sub>2</sub>	R-NH <sub>2</sub>
<b>Cys</b>	R-SH	R-S <sup>-</sup>
<b>His</b>	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\   \quad   \\ \text{HN} \quad \text{NH}^+ \\   \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\   \quad   \\ \text{HN} \quad \text{N}: \\   \\ \text{H} \end{array}$
<b>Ser</b>	R-OH	R-O <sup>-</sup>
<b>Tyr</b>		

Enzyme können MEHRERE katalytische Gruppen mit unterschiedlichen pK-Werten um ein Substrat anordnen → **konzertierte Säure-Base-Katalyse** (d.h. beide Mechanismen gleichzeitig)

ad 1) Säure-/Basenkatalyse:

Beispiel RNase-A-Mechanismus  
(Enzym im Verdauungssystem)  
Konzertierte Säure-  
Basenreaktion

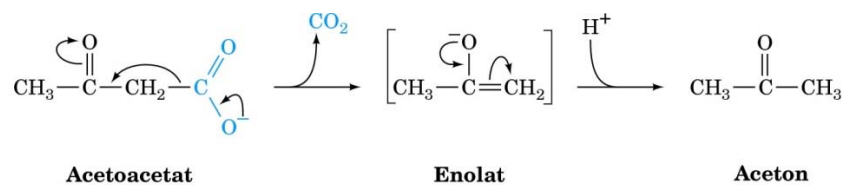


1. His 12 als Base, das erleichtert Angriff auf benachparten P, His 119 unterstützt durch Protonierung der Abgangsgruppe den Bruch der Bindung.
2. Cyclisches Intermediat wird hydrolysiert. His 12 fungiert dabei als Säure und His 119 als Base.

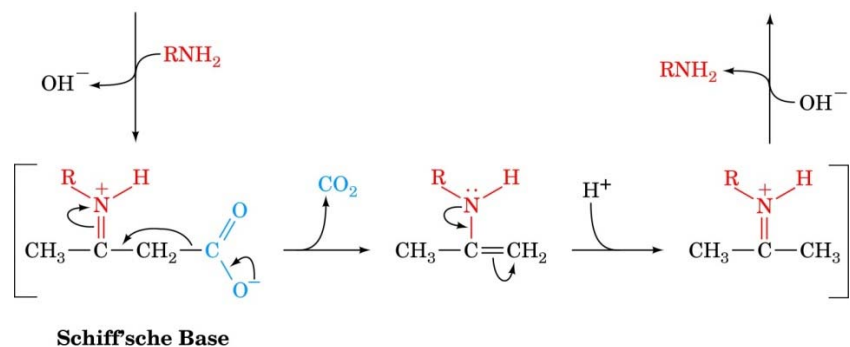
ad 2) Kovalente Katalyse (nucleophile Katalyse)

Vorübergehende Bildung einer kovalenten Enzym-Substrat-Bindung  
Beispiel: Decarboxylierung von Acetoacetat:

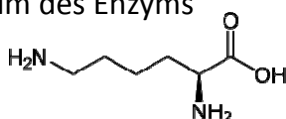
Nicht katalysierter  
Mechanismus (Enolatbildung)



Katalysierter (durch primäres  
Amin\*) Mechanismus

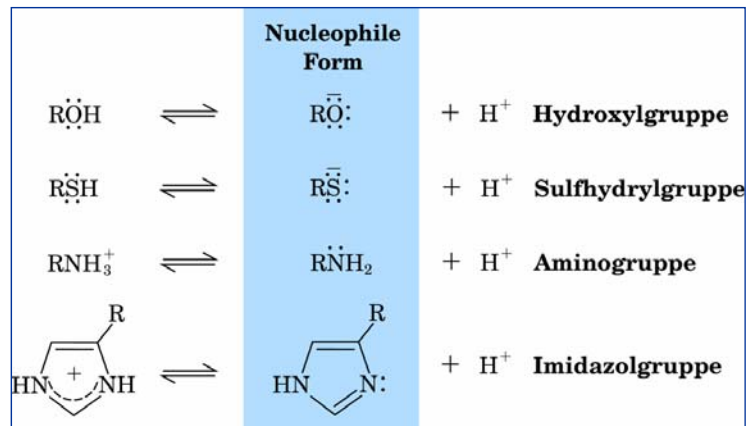
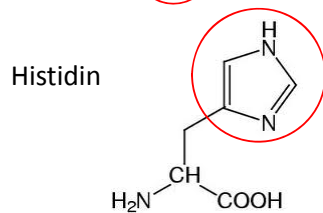
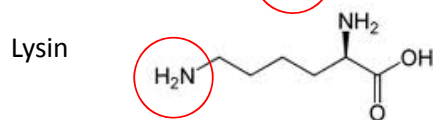
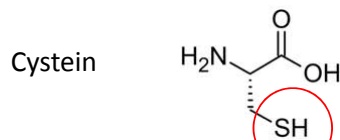
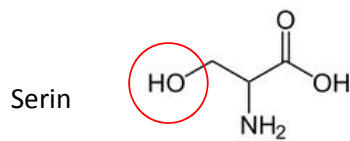


\*z.B. Lysin-Rest im aktiven  
Zentrum des Enzyms



## ad 2) Kovalente Katalyse (nucleophile Katalyse)

Gute Nucleophile/Abgangsgruppen:



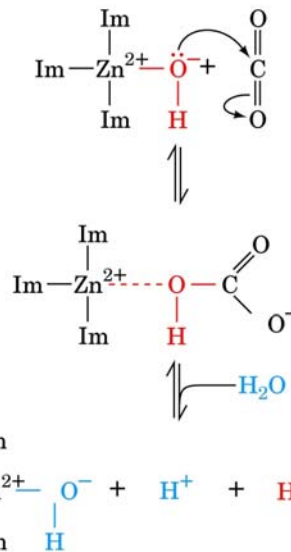
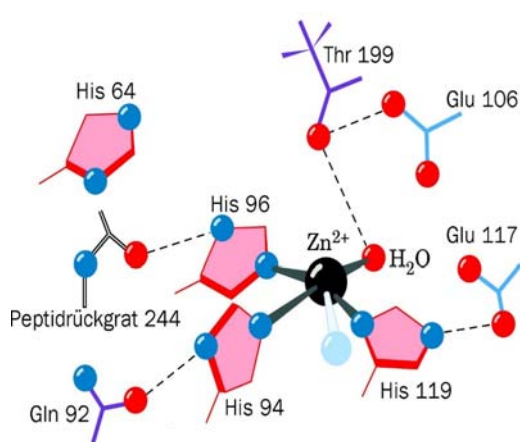
Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH

## ad 3) Metallionen-Katalyse - Metalloenzyme

- Metalle bei Metalloenzymen fest gebunden als Cofaktoren
  - meist Übergangsmetalle ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ )
  - Metallionen oft eher strukturelle als katalytische Bedeutung für Enzyme
- Metallionen sind auf 3 Arten an katalytischen Prozessen beteiligt
  - Bindung an Substrate um sie in eine geeignete Konformation zu bringen
  - Reversible Änderungen des Oxidationszustandes der Metallionen vermitteln Redox-Reaktionen
  - Elektrostatische Stabilisierung oder Abschirmung negativer Ladungen
- Oft fungiert das Metallion ähnlich wie ein Proton und neutralisiert negative Ladungen
- Die Ladung eines Metallions macht seine koordinativ gebundenen Wassermoleküle acider; damit können diese selbst bei saurem pH als nucleophile  $\text{OH}^-$  Ionen agieren.

ad 3) Metallionen-Katalyse - Metalloenzyme

Beispiel Carboanhydrase:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$



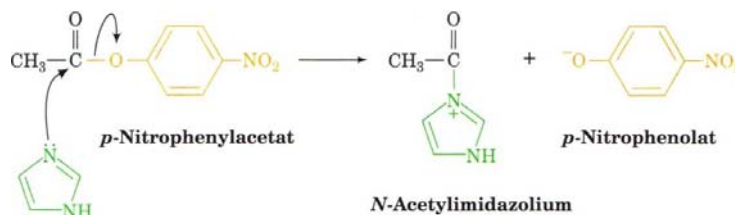
nucleophiler Angriff von  $\text{OH}^-$  (polarisiertes  $\text{H}_2\text{O}$ ) auf  $\text{CO}_2$

Ablösung von  $\text{HCO}_3^-$  und Bindung eines neuen  $\text{H}_2\text{O}$

Im = Imidazol

ad 4) Katalyse durch Nachbargruppen- und Orientierungseffekte

Beschleunigung der Reaktion findet statt, da Enzym zwei Reaktionspartner in geeigneter Nähe und Orientierung zusammenbringt („pseudo-intramolekulare Reaktion“)

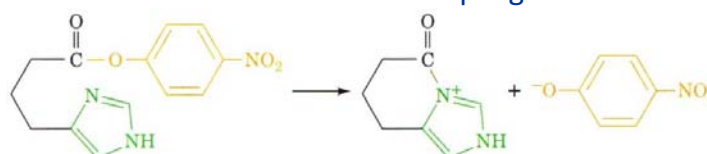


Intermolekulare Reaktion:

Produktbildung begleitet von hohem Verlust von Entropie. Dies erhöht Aktivierungsenergie für Bildung des Übergangszustandes.

Intramolekulare Reaktion:

Entropieabnahme hat bereits bei der Bildung des Enzym-Substratkomplexes stattgefunden. Dieser Schritt wird oft von einer sinkenden Enthalpie getrieben (durch elektrostatische WW).



Modellreaktionen Vergleich Inter/Intra

## ad 4) Katalyse durch Nachbargruppen- und Orientierungseffekte

Durch die Bindung der Substrate fördern Enzyme die von ihnen katalysierte Reaktion auf folgende Arten:

- 1) Bringen Substrate mit katalytischen Gruppen, oder mehrere Substrate miteinander in Kontakt
- 2) Binden Substrate in der richtigen Orientierung
- 3) Geladene Gruppen könne dabei helfen den Übergangszustand der Reaktion zu stabilisieren (**elektrostatische Katalyse**).
- 4) Enzyme schränken die Translations- und Rotationsbewegungen ihrer Substrate und katalytischen Gruppen ein (wichtig für den Übergangszustand)

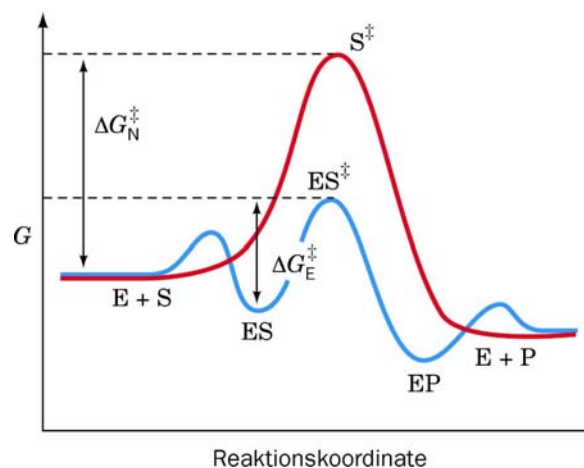
Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH

## ad 5) Katalyse durch Stabilisierung des Übergangszustands

Die vorhergehenden Mechanismen 1) bis 4) erklären nicht das volle Ausmaß der beobachteten Geschwindigkeitssteigerungen → weiterer Mechanismus:

**Ein Enzym kann den Übergangszustand der katalysierten Reaktion mit höherer Affinität binden als die Substrate oder Produkte.**

Je fester ein Enzym den Übergangszustand seiner Reaktion im Verhältnis zum Substrat bindet, desto höher ist die Konzentration des Übergangszustands und damit proportional die Geschwindigkeit der katalysierten Reaktion relativ zur nicht katalysierten.

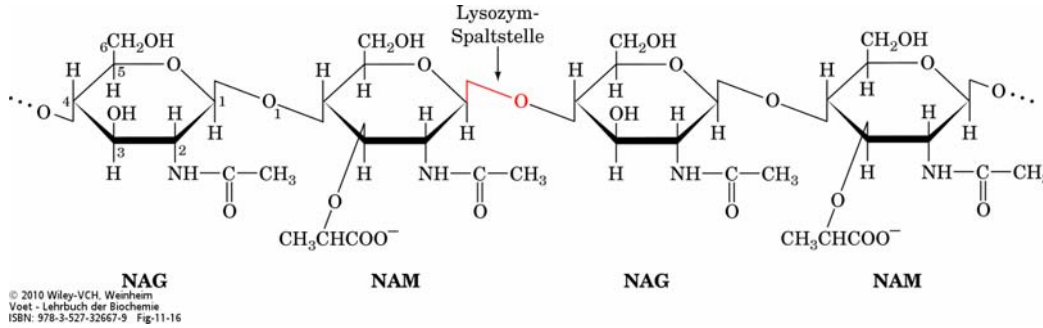


Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH



## Beispiel Lysozym – katalysierte Reaktionen

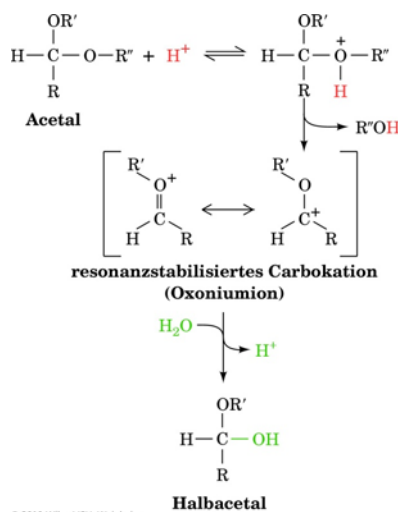
- Dieses Enzym zerstört bakterielle Zellwände.
- Hydrolysiert die  $\beta$ -1,4 Bindungen zwischen *N*-Acetylmuraminsäure (MurNAc) und *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc)



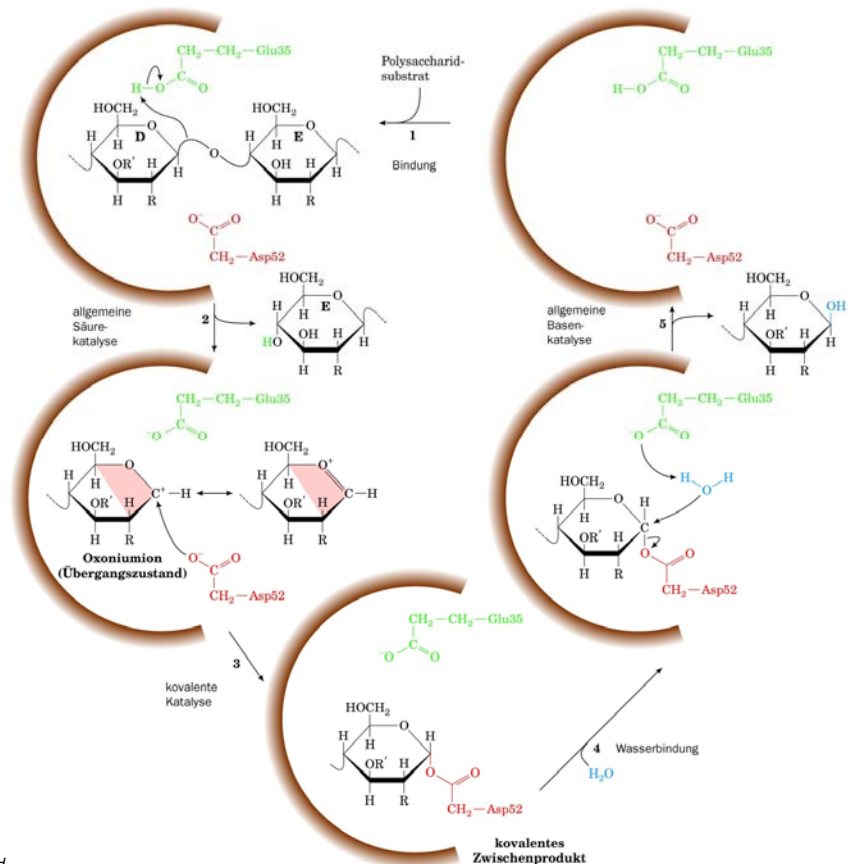
# Enzyme – Mechanismen

## Beispiel Lysozym - Katalysemechanismus

- Säurekatalyse
- kovalente Katalyse
- Basenkatalyse



© 2010 Wiley-VCH, Weinheim  
Voet - Lehrbuch der Biochemie  
ISBN: 978-3-527-32667-9 Fig-11-20



## Beispiel Serinproteasen – katalysierte Reaktionen

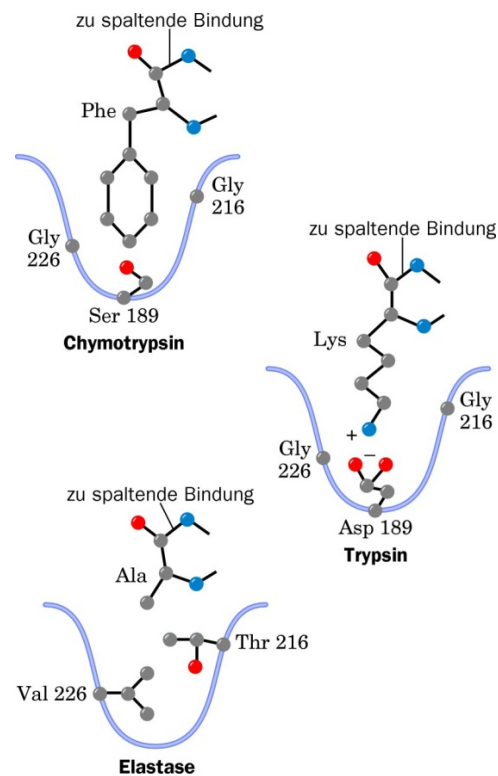
**Chymotrypsin, Trypsin und Elastase** sind Verdauungsenzyme, die die Hydrolyse von Peptid- (Amid-) bindungen katalysieren, aber mit unterschiedlichen Spezifitäten:

Chymotrypsin spaltet nach großen, hydrophoben Resten,

Trypsin spaltet nach positiv geladenen Resten,

Elastase nach kleinen, neutralen Resten.

Diese 3 Enzyme haben strukturell unterschiedliche „Spezifitäts-Taschen“.



Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH

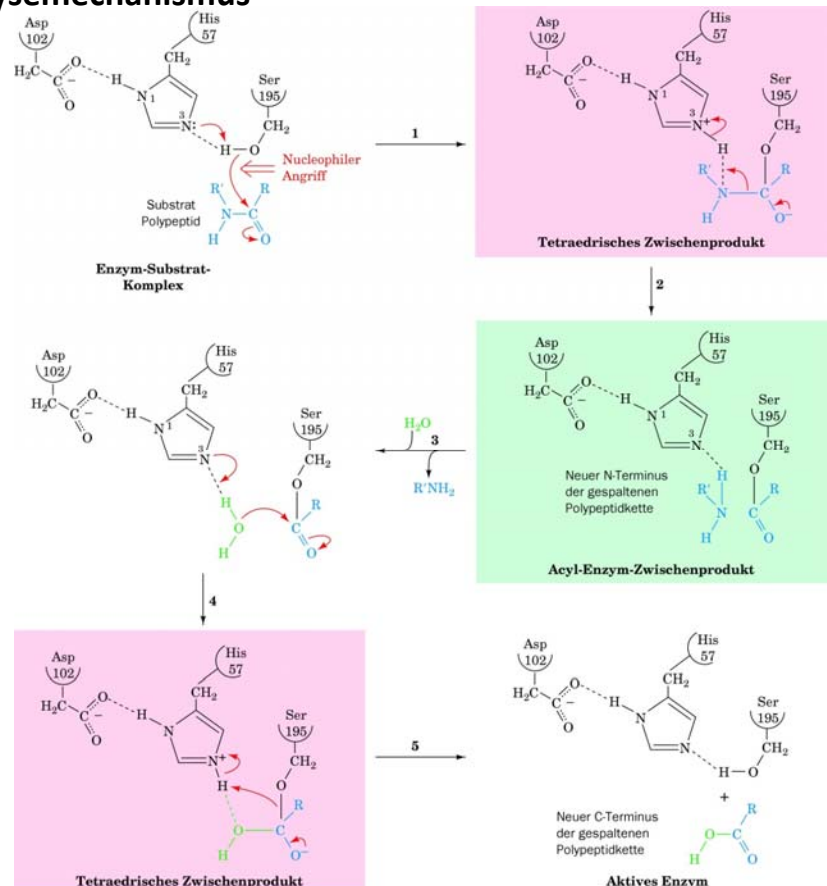
# Enzyme – Mechanismen

## Beispiel Serinproteasen – Katalysemechanismus

Lehrbuch der Biochemie, D.Voet, J.G. Voet und C.W. Pratt, Wiley-VCH

- kovalente Katalyse
- Basenkatalyse
- elektrostatische Katalyse
- Katalyse durch Stabilisierung des Übergangszustands

- (1) Tetraedrisches Zwischenprodukt entsteht durch **kovalente Katalyse**
  - Ser 195 ist dafür in idealer Position (Nachbargruppen- und Orientierungseffekte)
  - H<sup>+</sup> wird auf His 57 übertragen (allg. Basenkatalyse)
  - Dieser Vorgang wird durch Asp102 unterstützt (**elektrostat. Katalyse**)
- (2) Acyl-Enzym Zwischenprodukt entsteht durch **allg. Säure-katalyse** (H<sup>+</sup> von His 57). Dies wird durch Polarisierungseffekte von Asp 102 und His 57 unterstützt (elektrostat. Katalyse)
- (3) Abgehende Aminogruppe wird durch Wasser ersetzt
- (4) Tetraedrisches Zwischenprodukt entsteht (Umkehr von Schritt 2)
- (5) Neuer C-Terminus der Peptidkette und Regenerierung des Enzyms (Umkehr von Schritt 1).

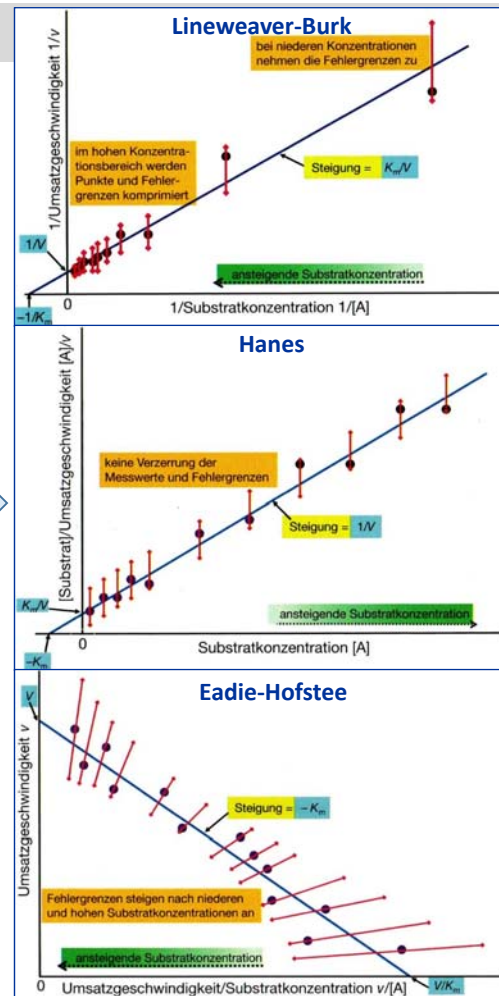
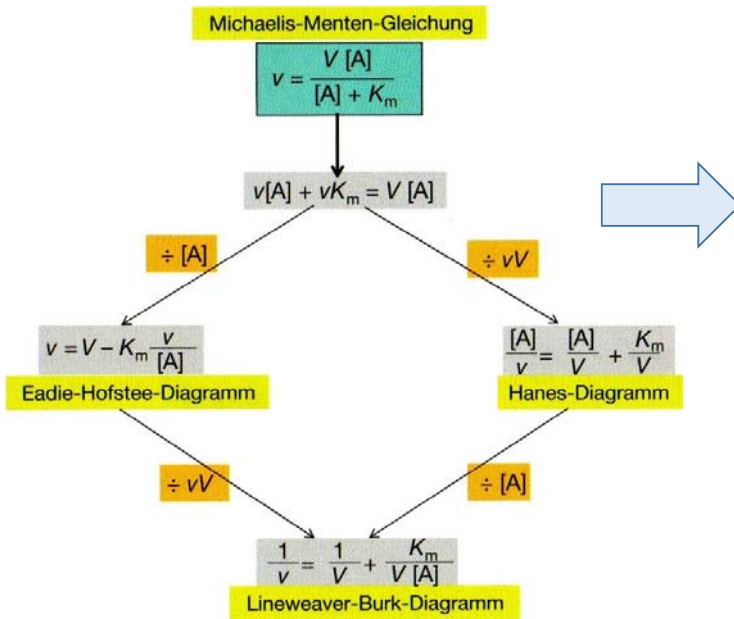


# Enzyme – Kinetik

## Einsubstrat-Reaktionen

nach Michaelis-Menton, vgl. Biochemie I

Direkte und linearisierte Auftragungen:

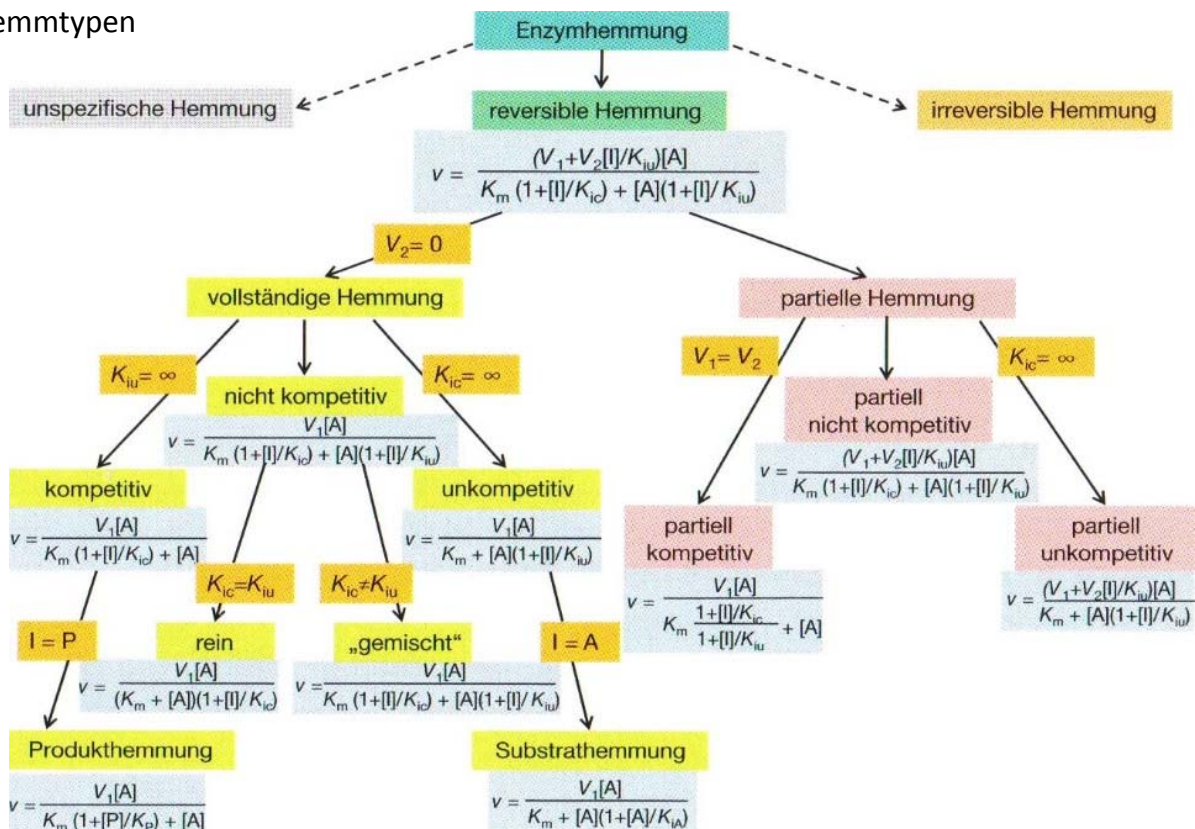


Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

# Enzyme – Kinetik

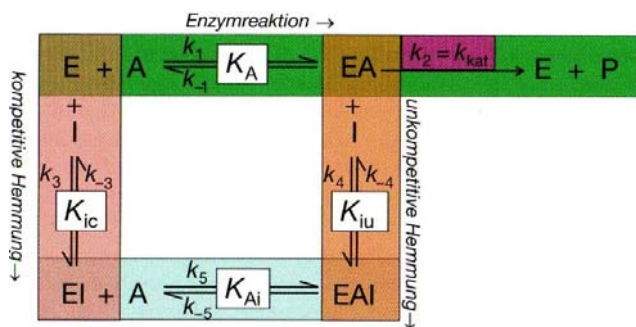
## Einsubstrat-Reaktionen:

Hemmtypen



Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

## Einsubstrat-Reaktionen: Hemmtypen



$K_A$ ... Dissoziationskonstanten des Substrats

$K_i$ ... Hemmkonstanten

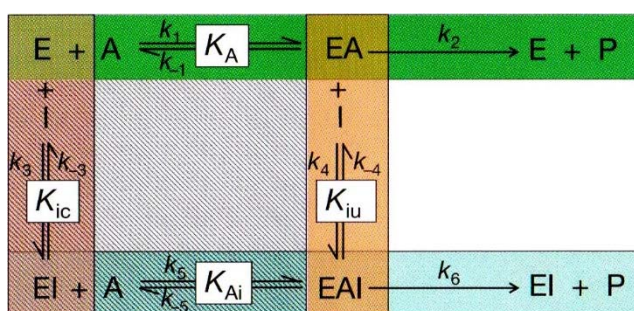
$k_1, k_{-1}...$  Geschwindigkeitskonstanten

$k_2 = k_{kat}$  katalytische Konstante

kompetitive Hemmung: nur  $E + I \rightarrow EI$

unkompetitive Hemmung: nur  $EA + I \rightarrow EAI$

nicht-kompetitive Hemmung:  
alle gezeigten Reaktionen



partielle kompetitive Hemmung:  $k_2 = k_6$

partiell unkompetitive Hemmung:  
schraffierter Bereich entfällt

partiell nicht-kompetitive Hemmung:  $k_2 > k_6$

Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

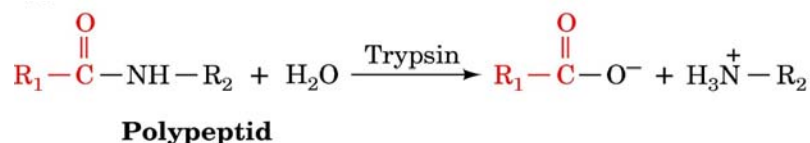
# Enzyme – Kinetik

## Bisubstrat-Reaktionen: die meisten (60%) biochemischen Reaktionen

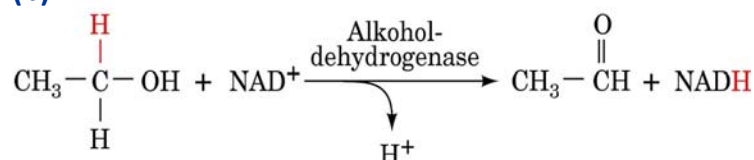
Bei Bisubstrat-Reaktionen werden entweder **(a)** funktionelle Gruppen (Transferasen, Hydrolasen), oder **(b)** Redoxäquivalente (Oxidoreductasen) zwischen 2 Substraten übertragen.



### Beispiele: (a)



### (b)



## Bisubstrat-Reaktionen:

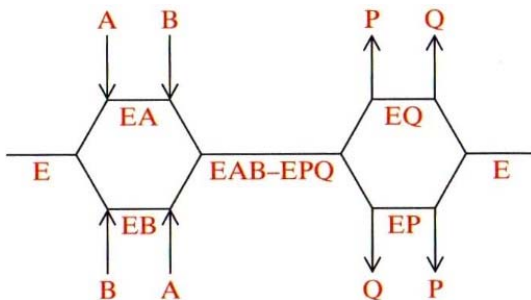
### (1) Sequenzieller Mechanismus – geordnet:



A = Leitsubstrat, B = Folgesubstrat

Viele NAD- und NADP-benötigenden Dehydrogenasen (z.B. Lactat-Dehydrogenase) folgen einem geordneten Bisubstratmechanismus mit dem Coenzym als Leitsubstrat

### (2) Sequenzieller Mechanismus – zufällig:



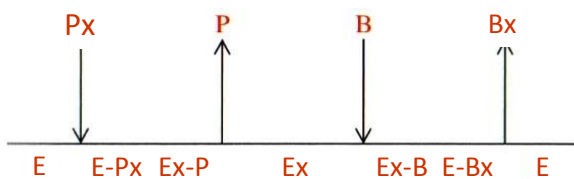
Einige Dehydrogenasen und Kinasen folgen dem zufälligen Mechanismus

A, B Substrate  
 P, Q Produkte  
 E Enzym  
 EX, EXX Enzym-Substrat/Produkt-Komplexe

# Enzyme – Mechanismen

## Bisubstrat-Reaktionen:

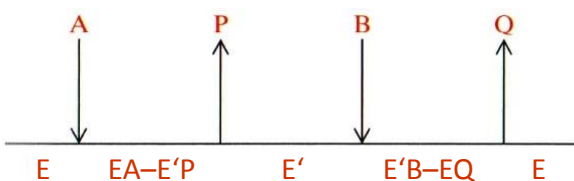
### (3) Ping-Pong-Mechanismus:



Funktionelle Gruppe (x) wird durch Enzym vom Substrat (Px) verdrängt → es entsteht das erste Produkt (P) und eine stabile intermediäre Enzymform (Ex)

Funktionelle Gruppe (x) wird durch das zweite Substrat (B) vom Enzym verdrängt → es entsteht das zweite Produkt (Bx) und die freie Form des Enzyms

Beispiele: Trypsin, Transaminasen, einige Flavoenzyme

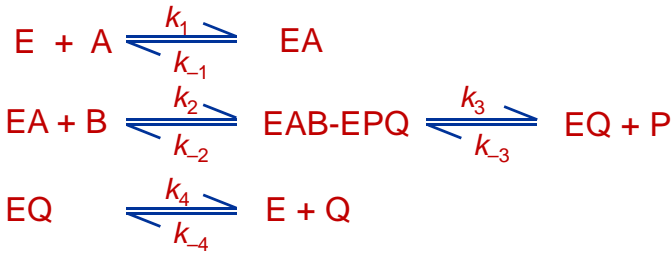


konventionelle Schreibweise

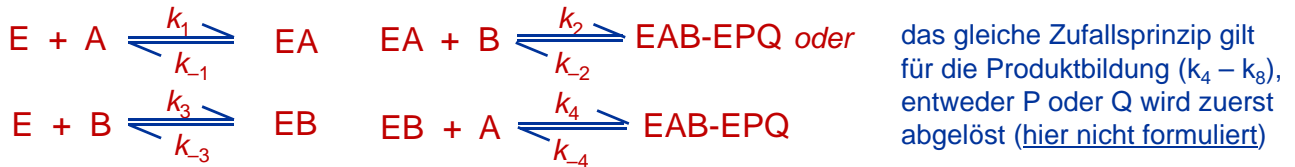
A, B Substrate  
 P, Q Produkte  
 x übertragene funktionelle Gruppe  
 E Enzym  
 EX, E'X Enzym-Substrat/Produkt-Komplexe

Reaktionsgleichungen für Bisubstrat-Reaktionen:

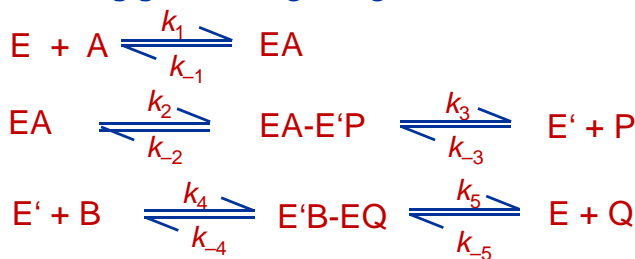
1. Bindung in *geordneter Reihenfolge* (zuerst bindet A, dann B)



2. Bindung in *zufälliger Reihenfolge* (entweder A oder B bindet zuerst)

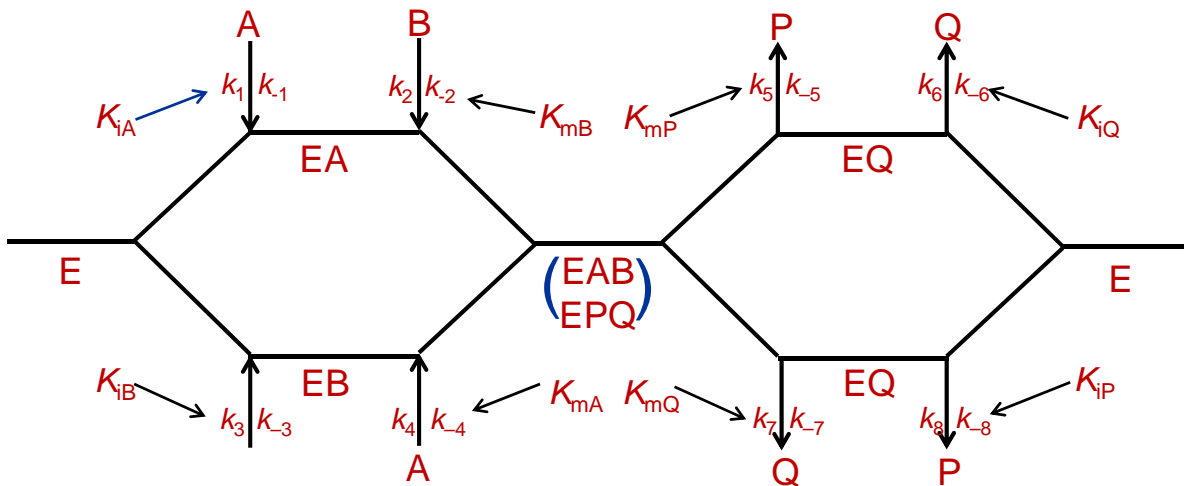


3. Bindung gemäß *Ping-Pong Mechanismus*

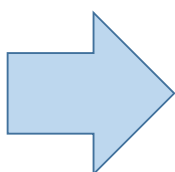


Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

Analyse von Bisubstratreaktionen am Beispiel Zufallsmechanismus:



Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH



$$v = \frac{V[A][B]}{K_{iA}K_{mB} + K_{mB}[A] + K_{mA}[B] + [A][B]}$$

Gleichung für direkte Auftragung (analog zu Michaelis-Menten)

Einfachster Fall:  $K_{iA} = K_{mA}; K_{iB} = K_{mB}$

d.h. keine gegenseitige Behinderung von A oder B bei Bindung an E

# Enzyme – Kinetik

## Gleichungen für die drei Grundtypen von Bisubstratreaktionen:

- Direkte und lineare (Lineweaver-Burk, Hanes, Eadie-Hofstee) Auftragungen
- Gleichungen gelten für Anfangsgeschwindigkeit wenn [Produkt] = 0 (da nur Reaktionsrichtung Substrat → Produkt berücksichtigt ist)

Sekundärdiagramme aus dem Lineweaver-Burk-Diagramm bei Variation von Substrat A:

$$\text{Steigung} = \frac{K_{iA}K_{mB}}{V[B]} + \frac{K_{mA}}{V}; \quad \text{Ordinatenschnittpunkt} = \frac{K_{mB}}{V[B]} + \frac{1}{V}$$

Variation von Substrat B:

$$\text{Steigung} = \frac{K_{iA}K_{mB}}{V[A]} + \frac{K_{mB}}{V}; \quad \text{Ordinatenschnittpunkt} = \frac{K_{mA}}{V[A]} + \frac{1}{V}$$

Für Michaelis- und Hemmkonstanten beider Substrate gilt folgender Zusammenhang:

$$\frac{K_{iA}}{K_{iB}} = \frac{K_{mA}}{K_{mB}}$$

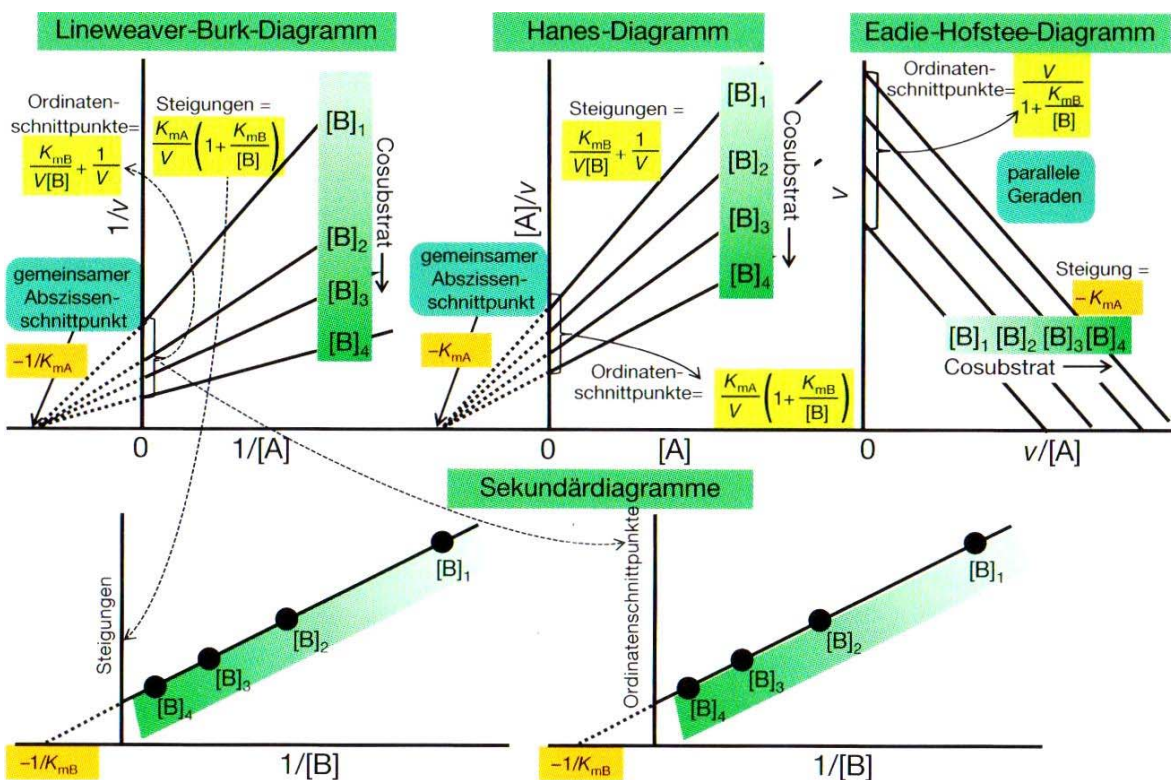
Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

Geordneter und Zufallsmechanismus	Ping-Pong-Mechanismus
Gleichung für die direkte Auftragung $v = \frac{V[A][B]}{K_{iA}K_{mB} + K_{mB}[A] + K_{mA}[B] + [A][B]}$	$v = \frac{V[A][B]}{K_{mB}[A] + K_{mA}[B] + [A][B]}$
Gleichungen für das Lineweaver-Burk-Diagramm bei Variation von Substrat A: $\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right) + \frac{1}{V[A]} \left( K_{mA} + \frac{K_{iA}K_{mB}}{[B]} \right)$	$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right) + \frac{K_{mA}}{V[A]}$
Variation von Substrat B: $\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right) + \frac{K_{mB}}{V[B]} \left( 1 + \frac{K_{iA}}{[A]} \right)$	$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right) + \frac{K_{mB}}{V[B]}$
Gleichung für das Hanes-Diagramm bei Variation von Substrat A: $\frac{[A]}{v} = \frac{1}{V} \left( K_{mA} + \frac{K_{iA}K_{mB}}{[B]} \right) + \frac{[A]}{V} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right)$	$\frac{[A]}{v} = \frac{K_{mA}}{V} + \frac{[A]}{V} \left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right)$
Variation von Substrat B: $\frac{[B]}{v} = \frac{K_{mB}}{V} \left( 1 + \frac{K_{iA}}{[A]} \right) + \frac{[B]}{V} \left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right)$	$\frac{[B]}{v} = \frac{K_{mB}}{V} + \frac{[B]}{V} \left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right)$
Gleichungen für das Eadie-Hofstee-Diagramm bei Variation von Substrat A: $v = \frac{V}{1 + \frac{K_{mB}}{[B]}} - \frac{v}{[A]} \cdot \frac{\left( K_{mA} + \frac{K_{iA}K_{mB}}{[B]} \right)}{\left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right)}$	$v = \frac{V}{1 + \frac{K_{mB}}{[B]}} - \frac{v}{[A]} \frac{K_{mA}}{\left( 1 + \frac{K_{mB}}{[B]} \right)}$
Variation von Substrat B: $v = \frac{V}{1 + \frac{K_{mA}}{[A]}} - \frac{v}{[B]} \cdot \frac{K_{mB} \left( 1 + \frac{K_{iA}}{[A]} \right)}{\left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right)}$	$v = \frac{V}{1 + \frac{K_{mA}}{[A]}} - \frac{v}{[B]} \frac{K_{mB}}{\left( 1 + \frac{K_{mA}}{[A]} \right)}$

# Enzyme – Kinetik

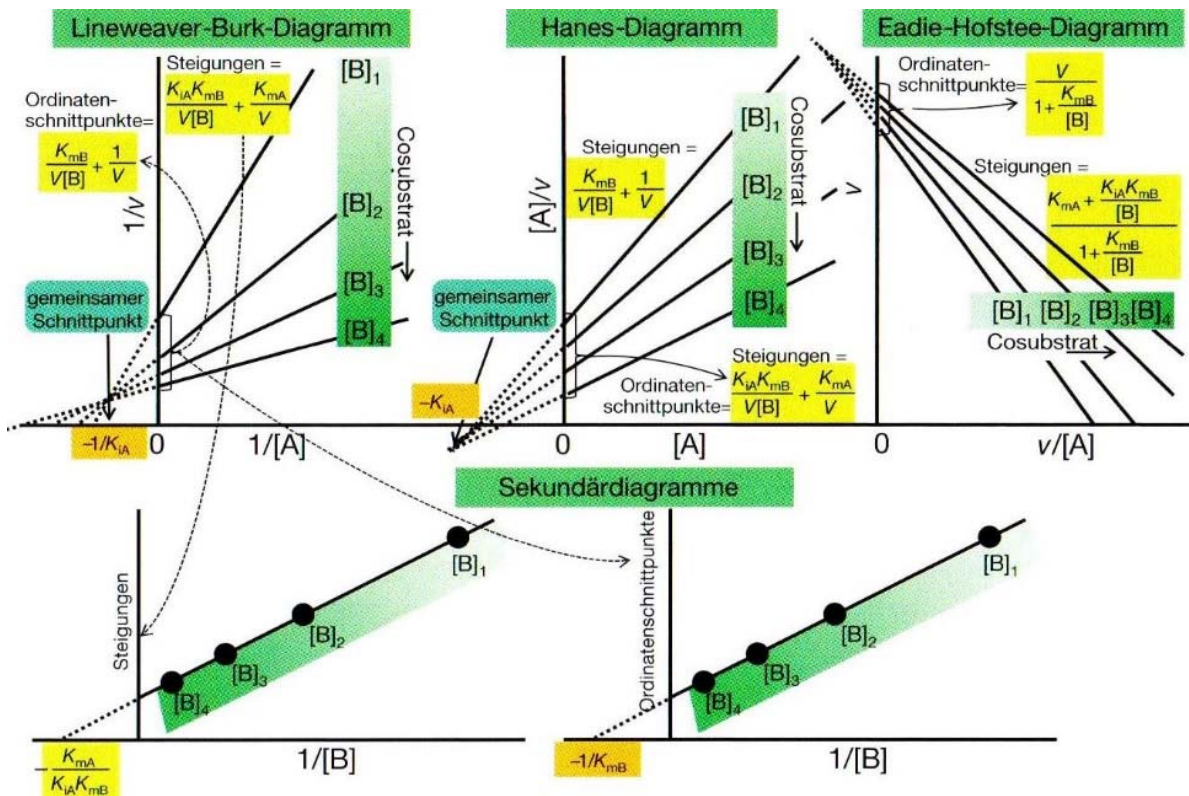


Lineare Diagramme (für die Variation von Substrat A) sowie Sekundärauftragungen aus dem Lineweaver-Burk-Diagramm für den Zufallsmechanismus, d.h.  $K_{iA} = K_{mA}$ ;  $K_{iB} = K_{mB}$ :



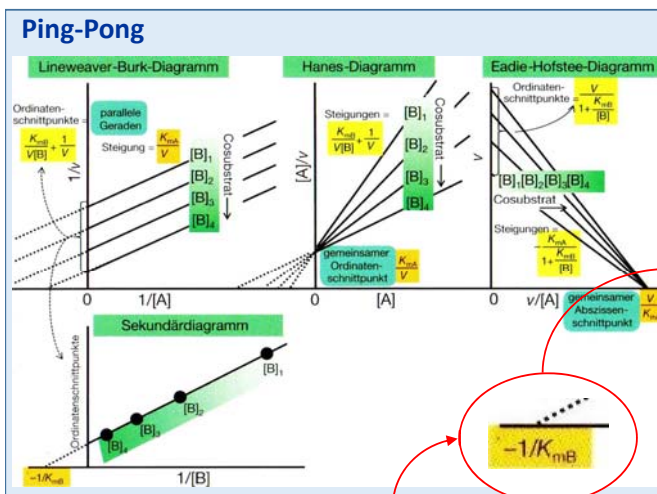
Enzyme, H. Bisswanger, Wiley-VCH

Lineare Diagramme (für die Variation von Substrat A) sowie Sekundärauftragungen aus dem Lineweaver-Burk-Diagramm für den geordneten Mechanismus, d.h.  $K_{iA} < K_{mA}$ ;  $K_{iB} < K_{mB}$ :

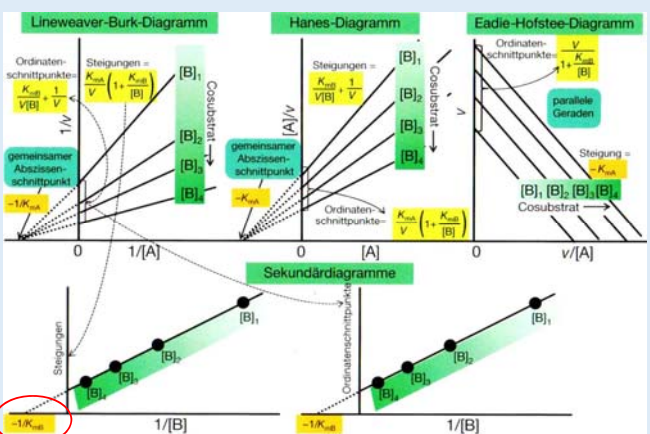


Wiley-VCH

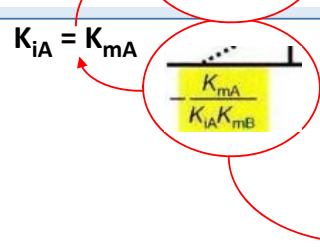
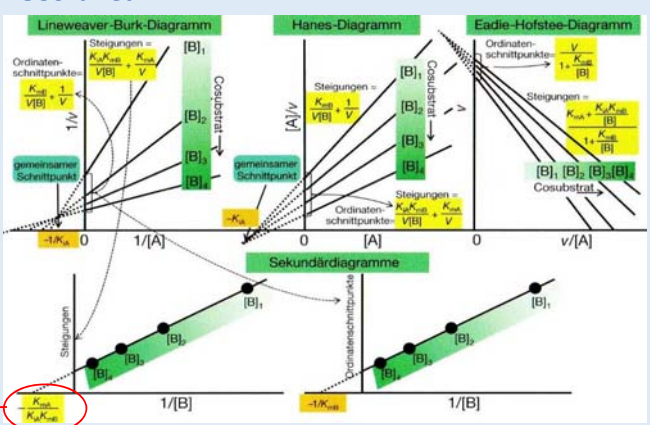
Lineare Diagramme: Alle drei Mechanismen lassen sich eindeutig unterscheiden!



Zufall



Geordnet





**3-Substrat Reaktionen: 14 Klassen von Mechanismen**

I	Random Ter
II(a)	Ordered Ter
II(a')	Ordered Theorell-Chance Ter
II(b)	Random AC* Ter
III	Random AC
IV	Random A-Ter
V	Random (No EAC) Ter
VI	Random AB Ter
VII	Random BC (Equilibrium A) Ter
VIII	Random BC (Steady State A) Ter
IX	Equilibrium Ordered Ter
X	Hexa Uni Ping Pong
XI	Ordered Bi Uni Uni Bi Ping Pong
XII	Ordered Uni Uni Bi Bi Ping Pong
XIII	Random Bi Uni Uni Bi Ping Pong
XIV	Random Uni Uni Bi Bi Ping Pong

---

\* all ternary complexes present