Έστω ενζυμικό σύστημα μοναδικού υποστρώματος που υπακούει στον μηχανισμό Michaelis - Menten. Γίνεται λήψη κινητικών μετρήσεων σε συγκεκριμένη θερμοκρασία με συγκεκριμένο υπόστρωμα S, καθώς και με υπόστρωμα S^* στο οποίο έχει συμβεί ισοτοπική υποκατάσταση.

α) Έστω ότι γίνονται ξεχωριστές μετρήσεις με το S και το S^*. Δώστε τον λόγο των ταχυτήτων σε χαμηλές και υψηλές συγκεντρώσεις των υποστρωμάτων.

Λύση: Χαμηλή συγκέντρωση υποστρωμάτων όπου ισχύει

$$v = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}[E]_0[S] \qquad \text{και} \qquad v^* = \frac{k_1^* k_2^*}{k_{-1}^* + k_2^*}[E]_0[S^*]$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \qquad\qquad K_m^* = \frac{k_{-1}^* + k_2^*}{k_1^*}$$

και $$v/v^* = \frac{k_2 K_m^*}{k_2^* K_m}$$

Υψηλή συγκέντρωση υποστρωμάτων:

$$v = k_2[E]_0 \qquad \text{και} \qquad v^* = k_2^*[E]_0$$

και $$v/v^* = \frac{k_2}{k_2^*}$$

β) Τώρα θα μελετήσουμε τον ρόλο του ανταγωνιστικού ισοτοπικού φαινομένου, όπου ταυτόχρονα συμμετέχουν τα υποστρώματα S και S^*. Ποιος θα είναι ο λόγος των ταχυτήτων;

Λύση:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + prod$$

$$E + S^* \underset{k_{-1}^*}{\overset{k_1^*}{\rightleftharpoons}} ES^* \xrightarrow{k_2} E + prod^*$$

Συνολική συγκέντρωση ενζύμου: $[E]_0 = [E] + [ES] + [ES^*]$ (1)

και με εφαρμογή της διαχείρισης σταθερής κατάστασης:

$$k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0 \quad (2)$$

$$k_1^*[E][S^*] - (k_{-1}^* + k_2^*)[ES^*] = 0 \quad (3)$$

$\longrightarrow$

Από την (2): $[E] = \frac{k_{-1}+k_2}{k_1}\frac{[ES]}{[S]} \iff [E] = K_m \frac{[ES]}{[S]}$ (4)

Αντικαθιστώ την (4) στην (3) και λύνω ως προς $[ES^*]$:

$$k_1^* K_m \frac{[ES]\,[S^*]}{[S]} - (k_{-1}^* + k_2^*)[ES^*] = 0 \iff$$

$$[ES^*] = \frac{k_1^*}{k_{-1}^* + k_2^*} K_m \frac{[ES]\,[S^*]}{[S]} \iff [ES^*] = \frac{K_m}{K_m^*}\frac{[ES]\,[S^*]}{[S]} \quad (5)$$

Αντικαθιστώ τις (4) και (5) στην (1):

$$[E]_0 = K_m \frac{[ES]}{[S]} + [ES] + \frac{K_m}{K_m^*}\frac{[ES][S^*]}{[S]} \iff$$

$$[E]_0 = [ES]\left(\frac{K_m}{[S]} + 1 + \frac{K_m}{K_m^*}\frac{[S^*]}{[S]}\right) \quad (6)$$

Λόγω της χρήσης της διαχείρισης σταθερής κατάστασης και με τη βοήθεια της (6):

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2 [E]_0}{\frac{K_m}{[S]} + 1 + \frac{K_m}{K_m^*}\frac{[S^*]}{[S]}} = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_m\left(1 + \frac{[S]}{K_m} + \frac{[S^*]}{K_m^*}\right)}$$

και με χρήση της (5) και (6):

$$v^* = k_2^*[ES^*] = \frac{k_2^* K_m}{K_m^*}\frac{[ES]\,[S^*]}{[S]} = \frac{k_2^* \cancel{K_m}}{K_m^*}\frac{[E]_0 \cancel{[S]}}{\cancel{K_m}\left(1+\frac{[S]}{K_m}+\frac{[S^*]}{K_m^*}\right)}\frac{[S^*]}{\cancel{[S]}}$$

$$= \frac{k_2^* [E]_0 [S^*]}{K_m^*\left(1 + \frac{[S]}{K_m} + \frac{[S^*]}{K_m^*}\right)}$$

Για ίσες συγκεντρώσεις των S και S^*: $\quad v/v^* = \dfrac{\frac{k_2}{K_m}}{\frac{k_2^*}{K_m^*}} = \dfrac{k_2 K_m^*}{k_2^* K_m}$

$\boxed{\text{Αληθές για κάθε συγκέντρωση του υποστρώματος!!!}}$