



# 系统生物学 (Systems Biology)

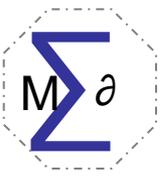
马彬广



# 代谢系统建模

(酶促反应动力学)

(第七讲)



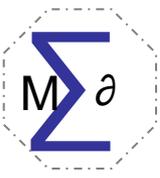
# 代谢系统



活细胞需要能量和物质来构建膜、贮存分子、补充酶、复制和修复DNA、运动以及完成许多其他生理过程。细胞通过代谢获得这些能力并将其用于构建新的细胞。代谢是细胞生存和繁衍的手段，它大体可以分为两大类：

- ① **分解代谢**（分解复杂化合物以获取**能量**和构建细胞所需**模块**）。
- ② **合成代谢**（构建细胞功能所需的**复杂化合物**）。

代谢是一种高度有组织的过程，它涉及了由酶催化的数以千计的反应。



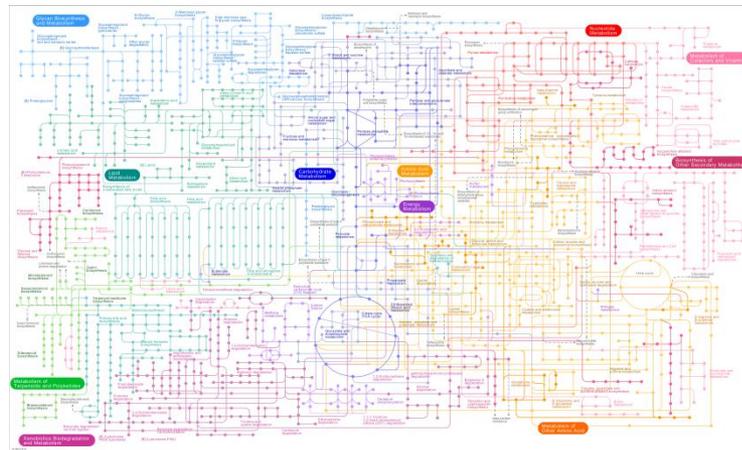
# 代谢网络

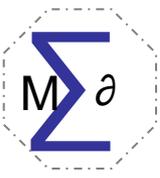


代谢网络把细胞内所有生化反应表示为一个网络，反映了所有参与代谢过程的化合物之间以及所有催化酶之间的相互作用，是细胞代谢的数学模型。

代谢网络是由将分子从一种形态转换为另一种形态的反应所组成的。在建模中，分子的**浓度**及其**转化速率**尤为重要。

代谢反应网络的基本概念和方法同样可以应用于其他类型的细胞反应网络，如信号转导通路和转录因子对DNA的结合等。



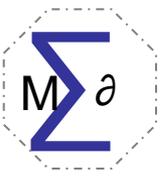


# 代谢分析



在三个层次上对代谢进行分析：

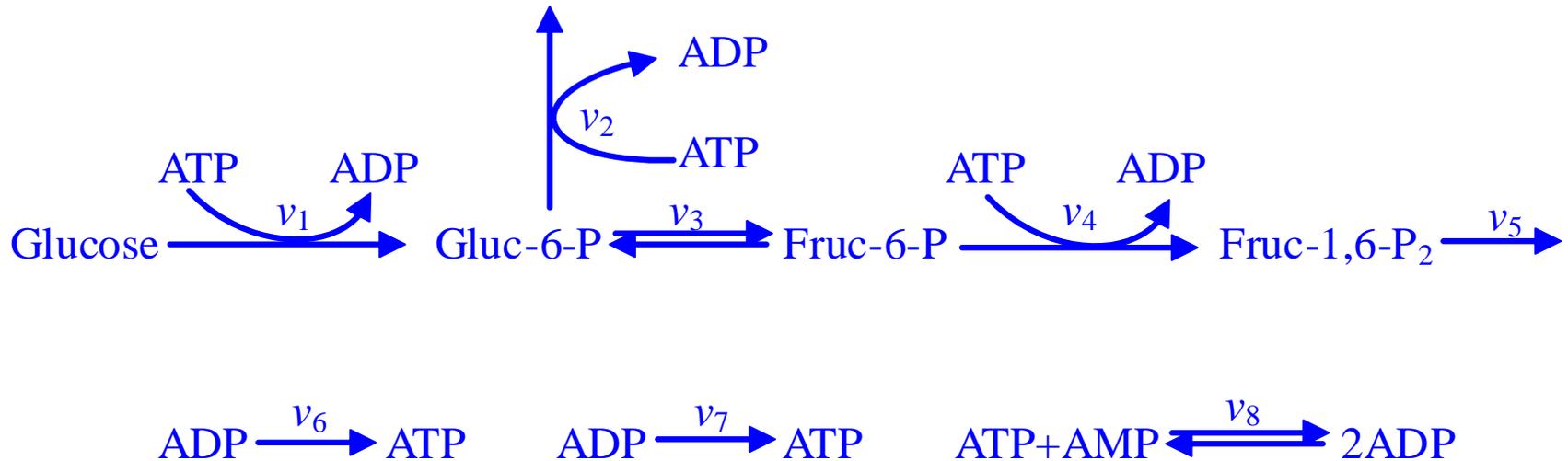
- (1) 酶动力学研究**孤立体系**中单个反应的动力学性质。
- (2) 代谢的网络特性则需要用到对化合物进行生成和降解平衡的**化学计量分析**。
- (3) 代谢控制分析则通过分析个体浓度变化动力学并将其整合到**网络**中，定量描述**扰动**对网络的影响。



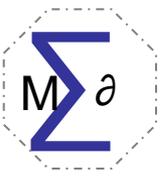
# 举例：糖酵解代谢



糖酵解中的最初4步，以及平衡能量流ATP和ADP的反应：



表示糖酵解的几步上游反应，糖酵解即葡萄糖的降解用以产生能量和细胞进程所需的构建模块。缩写：Gluc6P(葡萄糖-6-磷酸)，Fruc6P（果糖-6-磷酸），Fruc1,6P2（果糖-1,6-二磷酸），ATP（三磷酸腺苷），ADP（二磷酸腺苷），AMP(单磷酸腺苷)。反应v1(己糖激酶)，v2(葡萄糖-6-磷酸在其他通路中的消耗)，v3(磷酸葡萄糖异构酶)，v4(磷酸果糖激酶)，v5(醛缩酶)，v6(后继糖酵解中的ATP生成)，v7(ATP在其他通路中的生成)，v8(腺苷酸激酶)



## 举例：糖酵解代谢



这个反应体系的常微分方程（ODE）组如下：

$$\frac{d}{dt} Gluc6P = v_1 - v_2 - v_3$$

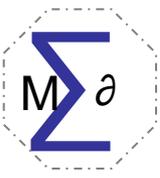
$$\frac{d}{dt} Fruc6P = v_3 - v_4$$

$$\frac{d}{dt} Fruc1,6P_2 = v_4 - v_5$$

$$\frac{d}{dt} ATP = -v_1 - v_2 - v_4 + v_6 + v_7 - v_8$$

$$\frac{d}{dt} ADP = v_1 + v_2 + v_4 - v_6 - v_7 + 2v_8$$

$$\frac{d}{dt} AMP = -v_8$$



# 举例：糖酵解代谢



速率表达式如下：

$$v_1 = \frac{v_{\max,1} ATP(t) \cdot Glucose}{1 + \frac{ATP(t)}{K_{ATP,1}} + \frac{Glucose}{K_{Glucose,1}} + \frac{ATP(t) \cdot Glucose}{K_{ATP,1} K_{Glucose,1}}} \text{ 或 } \frac{v_{\max,1} ATP(t)}{K_{ATP,1} + ATP(t)}$$

$$v_2 = k_2 ATP(t) \cdot Gluc6P(t)$$

$$v_5 = k_5 Fruc1,6P_2(t)$$

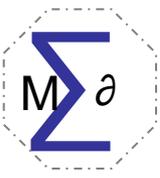
$$v_3 = \frac{\frac{V_{\max,3}^f}{K_{Gluc6P,3}} Gluc6P(t) - \frac{V_{\max,3}^r}{K_{Fruc6P,3}} Fruc6P(t)}{1 + \frac{Gluc6P(t)}{K_{Gluc6P,3}} + \frac{Fruc6P(t)}{K_{Fruc6P,3}}}$$

$$v_6 = k_6 ADP(t)$$

$$v_4 = \frac{v_{\max,4} (Fruc6P(t))^2}{K_{Fruc6P,4} \left[ 1 + k \left( \frac{ATP(t)}{AMP(t)} \right)^2 \right] + (Fruc6P(t))^2}$$

$$v_7 = k_7 ATP(t)$$

$$v_8 = k_{8f} ATP(t) \cdot AMP(t) - k_{8r} (ADP(t))^2$$



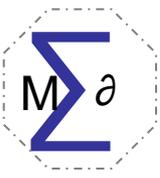
# 生化反应建模



- 单个生化反应的确定性动力学建模。最基本的量是底物S的浓度S（即单位体积V中分子的个数n）和反应速率v（即单位时间t中浓度S的改变）。
- 生化动力学依赖于如下假设：在特定时空点的反应速率v能够被该时空点中所有底物浓度的唯一函数所表达。经典酶动力学为了简化处理，假设反应速率的空间分布是均一的（“一室”试管），而且不直接依赖于时间：

$$v(t) = v(S(t))$$

- 在关于全细胞的建模中，需要考虑空间的不均一性，因为，细胞的结构阻止了分子的自由移动。不过，在绝大多数情况下可以假设扩散足够迅速，使得所有底物能够在空间中均匀分布。
- 酶是蛋白质，通常会和辅因子复合。酶通常具有一个高度特异的催化中心。一个酶分子每秒大约催化一千个反应（所谓的转换数范围从  $10^2 \text{ s}^{-1} \sim 10^7 \text{ s}^{-1}$ ），反应速率比非催化的自发反应下提高了  $10^6 \sim 10^{12}$  倍。



# 质量作用定律



生化动力学是基于质量作用定律的，该定律由Guldberg和Waage于19世纪引入。该定律认为**反应速率与反应物的碰撞概率成比例**，而碰撞概率又与**以相应反应分子数为幂的反应物浓度成比例**。反应分子数即该反应物参加特定反应的（最简约化）数目。例如，对于一个简单的反应如：



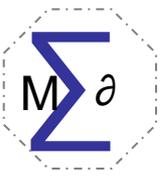
反应速率为：
$$v = v_+ - v_- = k_+ S_1 \cdot S_2 - k_- P^2$$

$v$ 是净速率， $v_+$ 是正反应速率， $v_-$ 是逆反应速率， $k_+$ 和 $k_-$ 分别是相应的比例因子，即所谓的**动力学或速率常数**。正反应的底物分子数为1，逆反应为2。如果我们测量每升的摩尔数（mol/L或M）作为浓度，时间以秒（s）计，这样速率单位为M/s。因此，双分子反应的速率常数单位应该是 $M^{-1}s^{-1}$ ，而单分子反应的速率常数量纲则为 $s^{-1}$ 。

对于底物浓度为  $S_i$ ，产物浓度为  $P_j$  的反应，基于质量作用定律的一般速率表达式为：

$$v = k_+ \prod_i S_i^{m_i} - k_- \prod_j P_j^{m_j}$$

其中， $m_i$ 和 $m_j$ 分别代表  $S_i$  和  $P_j$  的反应分子数。



# 平衡常数



平衡常数 $K_{eq}$ 表征平衡态下产物和底物的浓度比（ $P_{eq}$ 和 $S_{eq}$ ），平衡态即反应与逆反应速率相等时的状态。速率常数以下述方式与 $K_{eq}$ 关联：

$$K_{eq} = \frac{k_+}{k_-} = \frac{\prod P_{eq}}{\prod S_{eq}}$$

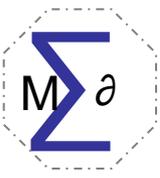
上述反应式的浓度动力学可由常微分方程组描述：

$$\frac{d}{dt} S_1 = \frac{d}{dt} S_2 = -v$$

$$\frac{d}{dt} P = 2v$$

底物减少，产物增加！

$S_1$ 、 $S_2$  和 $P$ 的时间进程可通过对上述常微分方程组进行积分获得。



# 简单分解反应的动力学描述



简单分解的动力学如：



可以描述为：

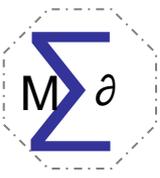
$$v = kS \quad \frac{d}{dt}S = -kS$$

对此常微分方程从时间 $t = 0$ 开始以初始浓度 $S_0$ 积分到任意时刻 $t$ 的浓度为：

$$S(t) : \int_{S_0}^S \frac{dS}{S} = - \int_{t=0}^t k dt$$

得到随时间的表达式：

$$S(t) = S_0 e^{-kt}$$



# 酶促反应的热力学

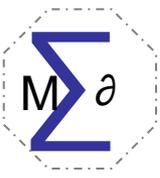


- 反应区分为**供能反应**、**需能反应**和**近零反应**3种。可逆热力学原理及其在化学反应上的应用使我们能够理解细胞中的能量循环。生物反应通常在**恒温恒压**和**近恒容**水溶液环境中进行的，这一前提将使问题简化。
- 无论反应是否自发的，反应进行的方向和平衡的位置对于生命过程而言都是重要的特性。热力学第一定律即能量守恒定律告诉我们在任何孤立系统中的总能量保持为常数。热力学第二定律则宣称只有当系统的总熵增加时，过程才是自发的。熵通常是无法直接测量到的，一个更适合的度量是吉布斯自由能**G**，它是指体**系统在恒温恒压条件下对外做功的能力**。

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

这里 $\Delta H$ 为焓变， $\Delta S$ 为熵变， $T$ 为开氏绝对温度。

- $\Delta G$ 是对**化学反应自发性和驱动力的度量**。如果 $\Delta G < 0$ 则反应自发进行并伴随释放能量（放能过程）；如果 $\Delta G > 0$ 则反应在能量上是不利的因而不会自发进行（吸能过程）； $\Delta G = 0$ 意味着系统达到了平衡。如果可以通过能量耦合从严格的放能反应中获取到能量，吸能反应也是可以发生的。



# 酶促反应的热力学

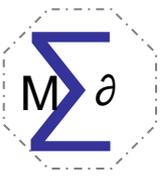


反应的自由能变(单位kJ/mol)可以通过产物自由能和与底物自由能之间的差值计算出来:

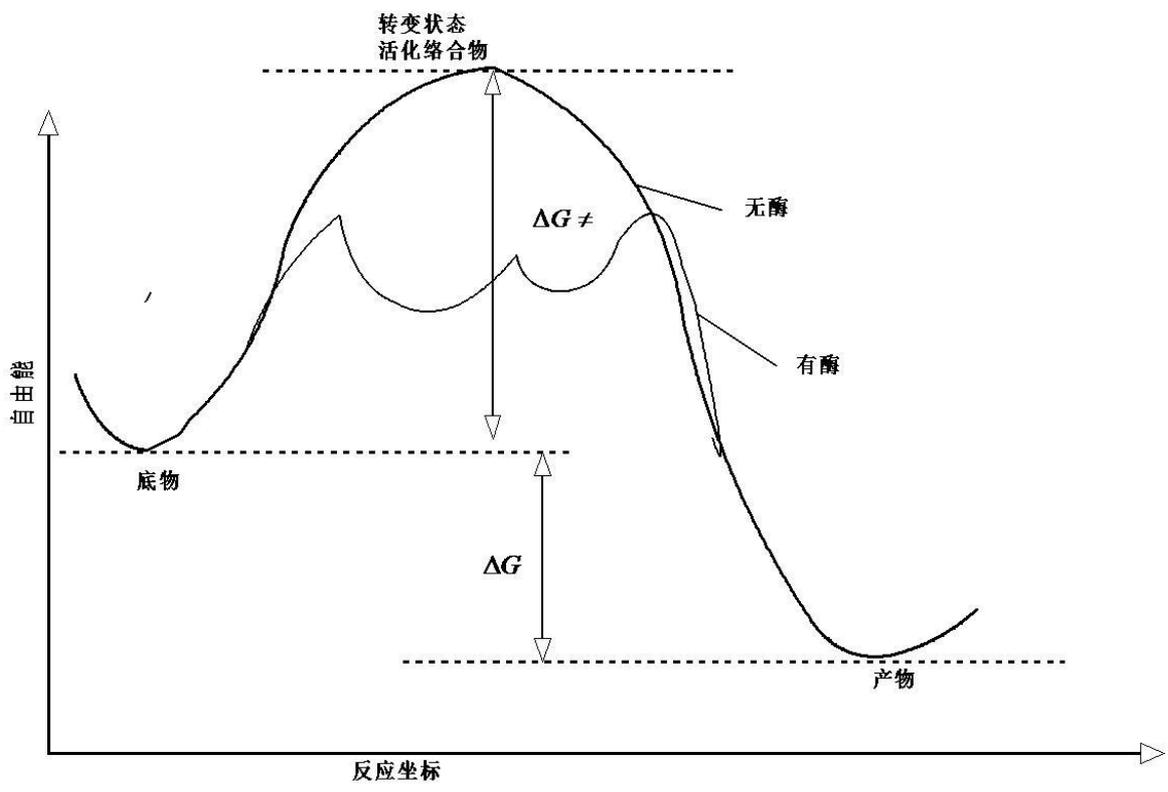
$$\Delta G = \sum G_P - \sum G_S$$

酶不能改变反应中产物和底物的自由能, 同样不能改变其差, 但是酶可以改变反应路径, 从而降低反应需要的活化能。过渡态理论(2001, Haynie) 阐明: 由于 $\Delta G \ll 0$ , 许多物质或混合物是热力学不稳定的。

然而它们在正常状态下可以储存很长时间, 原因是在反应过程中, 代谢物必须经过一个或更多的具有极大自由能的过渡态, 在这种状态下, 化学键会被解开或重新生成。过渡态是不稳定的, 其对应的分子构型被称为活化络合物。反应物与活化络合物之间的自由能差 $\Delta G^\ddagger$ 决定反应的动力学: 这个能差越高, 分子越过该能垒概率越低, 反应速率也就越小。

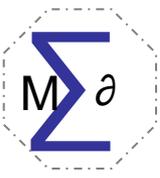


# 酶促反应的热力学



图展示了反应过程的简化图景。底物和产物均处于的局部极小自由能状态，活化络合物则被赋予了局部最大自由能。自由能变化与各反应中平衡常数的对数成比例：

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq}$$



# 酶促反应的热力学



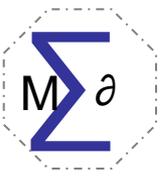
$\Delta G^\ddagger$  值对应于正反应动力学常数  $k_+$ ， $\Delta G^\ddagger = -RT \ln(k_+)$ 。而  $\Delta G^\ddagger + \Delta G$  则与逆反应速率  $k_-$  相关。

反应物与酶的相互作用可能会改变反应路径，从而导致更低的  $\Delta G^\ddagger$  值。更进一步的，在反应路径中可能呈现出更多的局部极小和极大自由能状态，分别对应不稳定的中间体复合物。一些生物学上重要反应的自由能变的值在下表给出。

表 5.1 一些重要反应的  $\Delta G^\circ'$  值

反 应	$\Delta G^\circ' / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
$2\text{H}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	-474
$2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	-99
$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2\text{P}_i$	-33.49
$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$	-30.56
葡萄糖-6-磷酸 + $\text{H}_2\text{O} \longrightarrow$ 葡萄糖 + $\text{P}_i$	-13.82
葡萄糖 + $\text{P}_i \longrightarrow$ 葡萄糖-6-磷酸 + $\text{H}_2\text{O}$	+13.82
葡萄糖-1-磷酸 $\longrightarrow$ 葡萄糖-6-磷酸	-7.12
葡萄糖-6-磷酸 $\longrightarrow$ 果糖-6-磷酸	+1.67
葡萄糖 + $6\text{O}_2 \longrightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	-2 890

注：资料来源于 Lehninger 1975。



# 米氏动力学



Brown (1920) 为转移酶反应提出了首个酶促反应机理，该反应全部是单底物的，没有逆反应和效应物：



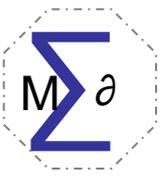
上式包含从游离酶E与底物S结合形成酶底复合物ES的可逆过程，以及产物P从酶E上不可逆释放过程。这一反应的动力学的相应常微分方程组如下：

$$\frac{dS}{dt} = -k_1 E \cdot S + k_{-1} ES$$

$$\frac{dES}{dt} = k_1 E \cdot S - (k_{-1} + k_2) ES$$

$$\frac{dE}{dt} = -k_1 E \cdot S + (k_{-1} + k_2) ES$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2 ES$$



# 米氏动力学



总反应速率与底物的消耗速率的负值以及产物的生成速率相同：

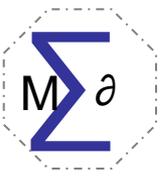
$$v = -\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}$$

这个常微分方程组无法得到解析解。通过假设达到令人满意的简化。Michaelis、Menten(1913)假定E和S转换为ES以及其逆过程远远快于ES分解为E和P的过程（所谓的游离酶与酶-底复合物间的准平衡），或者这三个常数间有关系：

$$k_1, k_{-1} \gg k_2$$

Briggs和Haldane（1925）则假定在反应过程中会达到一个ES复合物浓度保持不变的状态。这一假设在底物初始浓度远高于酶浓度时是合理的，即：如果不满足这个条件，这种假设中的稳态是永远达不到的。他们提出的ES复合物准稳态一般性假设可表示为：

$$\frac{dES}{dt} = 0$$



# 米氏动力学



反应速率的表达式可以从方程的处理以及ES的准稳态假设中导出：

$$\frac{dES}{dt} + \frac{dE}{dt} = 0 \quad \text{或} \quad E_{total} = E + ES$$

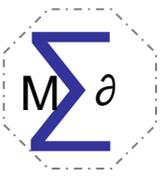
$$\frac{dE}{dt} = -k_1 E \cdot S + (k_{-1} + k_2) ES$$

$$\frac{dES}{dt} = k_1 E \cdot S - (k_{-1} + k_2) ES$$

在该反应中，酶即不会被产生也不会被消耗，它们可能以游离态或复合物形式存在，但总浓度保持不变。

将上面稳态假设方程代入方程组得：

$$ES = \frac{k_1 E_{total} S}{k_1 S + k_{-1} + k_2} = \frac{E_{total} S}{S + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}$$



# 米氏动力学



求出反应速率，得：

$$v = \frac{dP}{dt} = k_2 ES = \frac{Sk_2 E_{total} S}{S + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}$$

在酶动力学中通常是将方程以更简化的形式表示，该形式在理论和实际上都是很重要的：

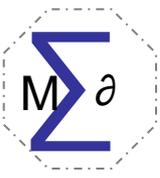
$$v = \frac{V_{max} S}{S + K_m}$$

此方程即为Michaelis-Menten动力学表达式。各参量解释如下。最大速率是酶在被底物饱和时可以达到的最大酶促反应速率：

$$V_{max} = k_2 E_{total}$$

米氏常数等于酶促反应速率达到最大速率一半时所需的底物浓度：

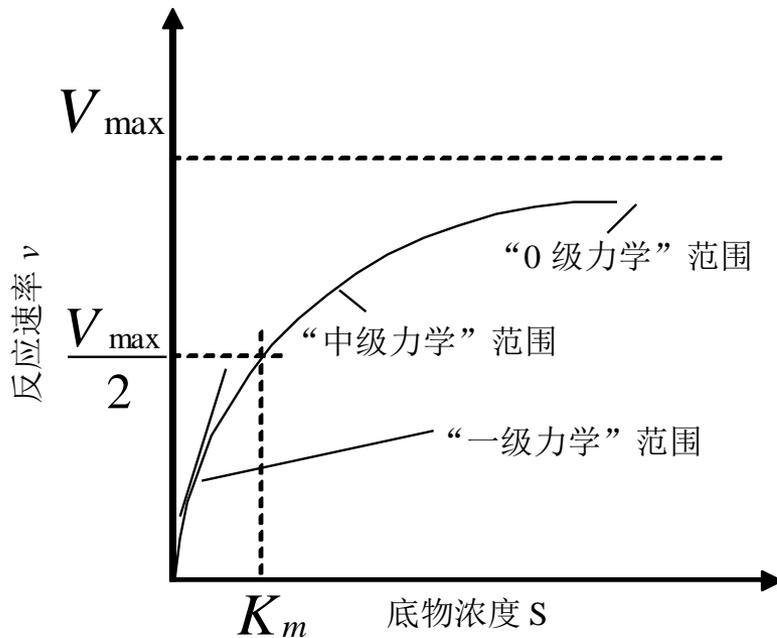
$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$



# 米氏动力学



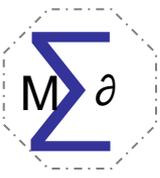
对于准平衡假设，有 $k_m \approx k_{-1}/k_1$ 。各参量的意义见速率对底物浓度图，该图像具有双曲线形状。



M-M动力学中反应速率 $v$ 对底物浓度 $S$ 的关系图。

$V_{\max}$ 表示高底物浓度下能够达到的最大反应速率。

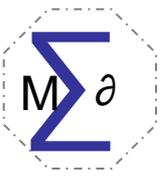
当底物浓度很低时， $v$ 几乎随着 $S$ 线性地增加；而当底物浓度很高时， $v$ 几乎与 $S$ 无关。



# 推导速率方程的一般方法小结



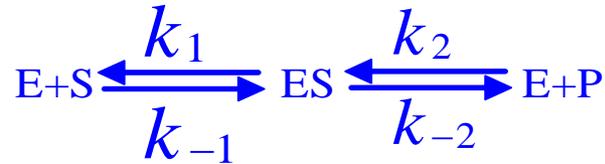
- 1) 将所有需要考虑的步骤都绘制出来。包括所有的底物和产物（S和P）以及n种游离的和结合态的酶（E和ES）。
- 2) 将所有生成和消耗该物质步骤的速率都加合起来，置于浓度变化常微分方程的右边。反应速率遵循质量作用定律。
- 3) 所有含有酶的物质加起来的量应该等于总酶浓度 $E_{total}$ （含有酶的所有微分方程右边加合起来应该等于0）。这个关系会构成一个方程。
- 4) 对n-1种含酶物质准稳态假设（即各自常微分方程右边都为0）与第3步的结果合起来可以构成关于这n种含酶物质浓度的n个代数方程。
- 5) 反应速率等于产物生成的速率，从第4步的结果中将各种含酶物质浓度代入即可。



# 可逆反应的米氏方程



在现实中许多反应是可逆的，酶可以在双向上催化反应。考察下列机理：



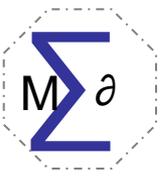
产物生成速率：
$$\frac{dP}{dt} = k_2 ES - k_{-2} P = v$$

相应的速率方程：
$$v = E_{total} \frac{Sq - P}{\frac{Sk_1}{k_{-1}k_{-2}} + \frac{1}{k_{-2}} + \frac{k_2}{k_{-1}k_{-2}} + \frac{P}{k_{-1}}} = \frac{V_{max}^{for} S - V_{max}^{back} P}{1 + \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}}}$$

参量  $k_{\pm 1}$  和  $k_{\pm 2}$  是各步反应的动力学常数；表观参量  $V_{max}^{for}$  和  $V_{max}^{back}$  分别表示零产物浓度下正方向和零底物下逆方向的最大反应速率；表观参量  $K_{mS}$  和  $K_{mP}$  分别表示使得正反应或逆反应为各自最大速率一半时，底物或产物的浓度。它们之间的关系有：

$$K_{eq} = \frac{V_{max}^{for} K_{mP}}{V_{max}^{back} K_{mS}}$$

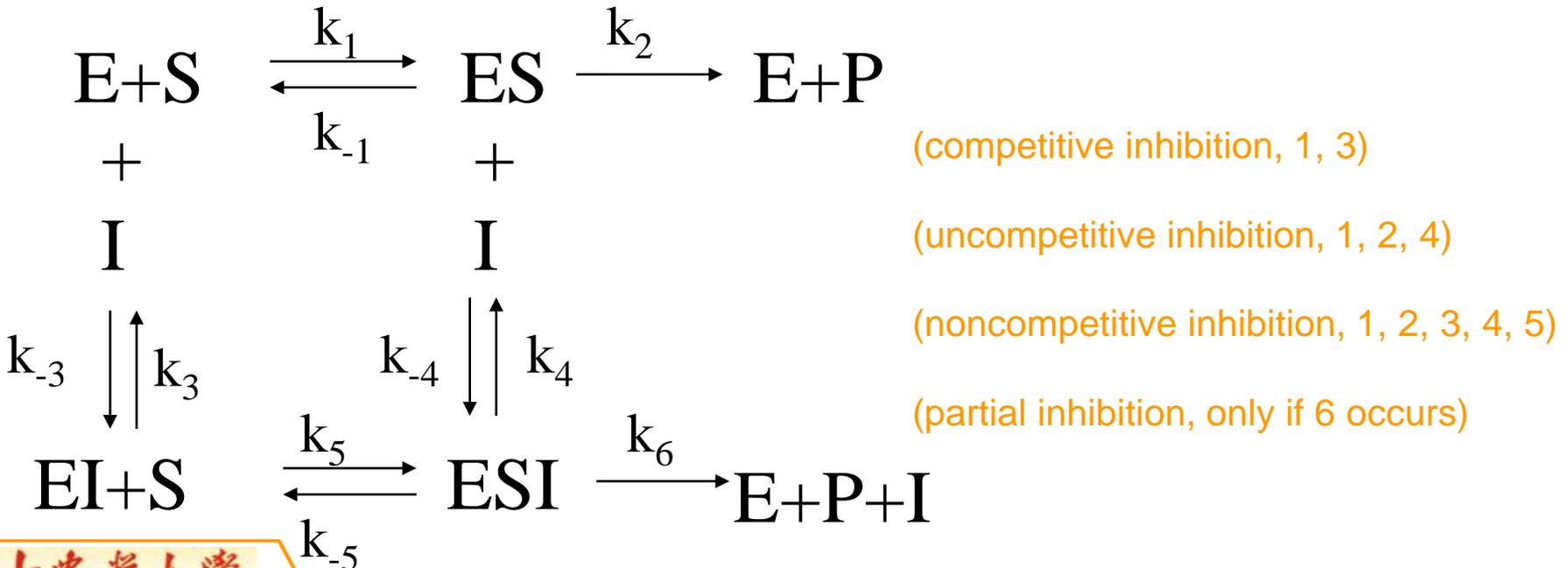
前例糖酵解中的  $v_3$  即为可逆米氏反应，试推导之。

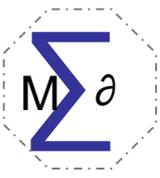


# 基于蛋白互作的酶活性调节



- 酶可以极大地提高反应速率，通过多种方式参与代谢调节，它们的生成与降解通常是与当前的细胞需求相适应的，而且，它们可能成为一些效应物的靶标，被激活或抑制。
- 这些效应物（激活剂或抑制剂）是能够影响酶促反应性能的蛋白质或其他分子。效应物与酶之间的相互作用会改变反应速率。
- 依据效应物与酶结合的状态（即与游离酶E或酶底复合物ES结合，还是与两者都结合）以及不同复合物释放产物的能力，可以将抑制作用分为几个基本类型。





# 基于蛋白互作的酶活性调节



速率方程的推导依照下列步骤进行。

(1) 考虑化合物及其复合物间的结合平衡:

$$K_m \cong \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{E \cdot S}{ES}, k_{1,3} = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{E \cdot I}{EI}, k_{1,4} = \frac{k_{-4}}{k_4} = \frac{ES \cdot I}{ESI}, k_{1,5} = \frac{k_{-5}}{k_5} = \frac{EI \cdot S}{ESI}$$

注意如果所有反应均能发生的话，则存在如下形式的Wegscheider规则：

$$\frac{k_1 k_4}{k_{-1} k_{-4}} = \frac{k_3 k_5}{k_{-3} k_{-5}} \quad \text{两条路径的产物ESI相同!}$$

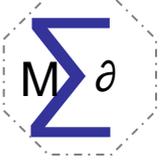
这意味着E和ESI之间的自由能差与反应选择的路径无关（通过ES或EI）。

(2) 考虑到总酶量的部分(moiety)守恒（只包括在反应中出现的那些复合物）：

$$E_{total} = E + ES + EI + ESI$$

(3) 反应速率等于产物生成速率： $v = \frac{dP}{dt} = k_2 ES + k_6 ESI$

上述方程包含了关于E、ES、EI和ESI这4种未知浓度的4个独立的方程。



# 抑制酶活的速率方程



实现	不可逆速率	可逆速率方程	特性
----	-------	--------	----

竞争性抑制

I只与游离的E结合；  
P只从ES复合物中释放；

$$k_{\pm 4} = k_{\pm 5} = k_6 = 0$$

$$v = \frac{V_{\max} S}{K_m \cdot i_3 + S}$$

$$v = \frac{V_{\max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{\max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{\frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} + i_3}$$

$K_m$  改变，  
 $V_{\max}$  保持；S与I  
竞争结合位点；  
高S可竞争过I

反竞争性抑制

I只与ES复合物结合；  
P只从ES复合物中释放；

$$k_{\pm 3} = k_{\pm 5} = k_6 = 0$$

$$v = \frac{V_{\max} S}{K_m + S \cdot i_4}$$

$$v = \frac{V_{\max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{\max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{1 + \left( \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} \right) + i_4}$$

$V_{\max}$ 、 $K_m$  均改变，  
但二者比率保持；S  
不会竞争过I

非竞争性抑制

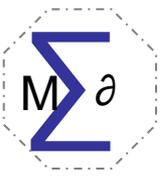
I与E和ES均结合；  
P只从ES中释放；

$$k_{I,3} = k_{I,4} \cdot k_6 = 0$$

$$v = \frac{V_{\max} S}{(K_m + S) \cdot i_3}$$

$$v = \frac{V_{\max}^f \frac{S}{K_{mS}} - V_{\max}^r \frac{P}{K_{mP}}}{\left( 1 + \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}} \right) \cdot i_4}$$

$K_m$  保持， $V_{\max}$   
改变；S不会竞争过I



# 抑制酶活的速率方程



实现	不可逆速率	可逆速率方程	特性
----	-------	--------	----

混合抑制

I与E和ES均结合；  
P只从ES中释放；

$$v = \frac{V_{\max} S}{K_m \cdot i_4 + S \cdot i_4}$$

$$k_{I,3} \neq k_{I,4}, k_6 = 0$$

$K_m$  和  $V_{\max}$  均改变；

$k_{I,3} > k_{I,4}$  : 竞争—非竞争性抑制；

$k_{I,3} < k_{I,4}$  : 反竞争—非竞争性抑制。

部分抑制

I可能与E和ES均结合；  
P从ES和ESI中释放；

$$v = \frac{V_{\max} S \left( 1 + \frac{k_6 \cdot I}{k_2 k_{I,3}} \right)}{K_m \cdot i_4 + S \cdot i_3}$$

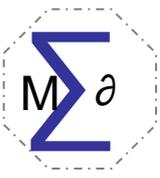
$$k_{I,3} \neq k_{I,4}, k_6 \neq 0$$

$K_m$  和  $V_{\max}$  均改变；

$k_6 > k_2$  则表现活化作用而非抑制作用。

缩写:

$$k_{I,3} = \frac{k_{-3}}{k_3}, k_{I,4} = \frac{k_{-4}}{k_4}, i_3 = 1 + \frac{I}{K_{I,3}}, i_4 = 1 + \frac{I}{K_{I,4}}$$



# 底物抑制

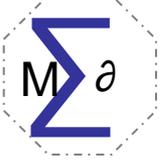


酶促反应的一个普遍特性是反应速率随着底物浓度S增加，直至逼近最大反应速率。但在一些情况下，在超过一定S值后反应速率反而会降低。这可能一个原因是：酶-底物复合物会进一步与底物分子结合形成ESS复合物，而复合物不能生成产物。如果第二个底物能够释放，则这种抑制作用是可逆的。将抑制剂用第二个结合的底物替换，速率方程则可以从反竞争性抑制模式中推导出来，得：

$$v = k_2 ES = \frac{V_{\max} S}{K_m + S \left( 1 + \frac{S}{K_1} \right)}$$

这个表达式有最大值，当：

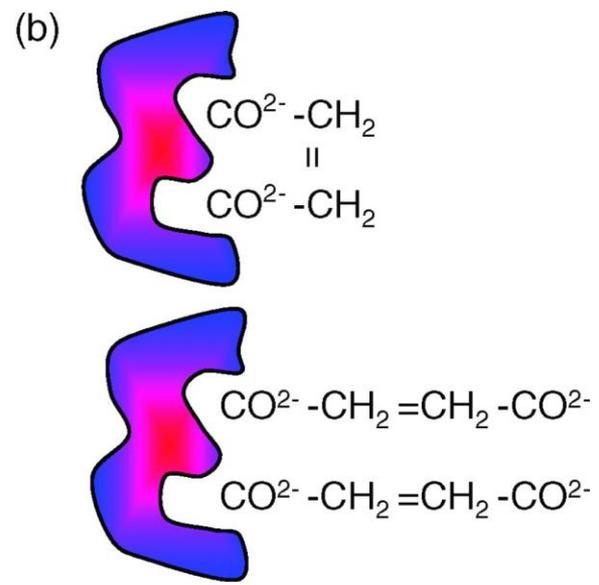
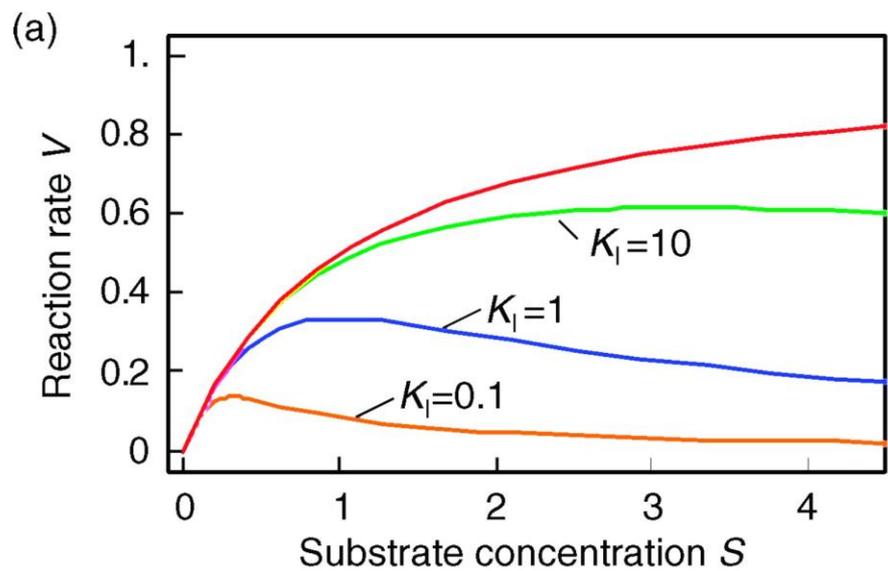
$$S_{opt} = \sqrt{K_m K_1} \quad \text{有} \quad v_{opt} = \frac{V_{\max}}{1 + 2\sqrt{K_m / K_1}}$$



# 底物抑制

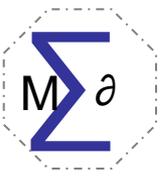


底物抑制一个典型的例子就是两个琥珀酸分子结合于丙二酸脱氢酶上，该酶具有两个对羧基的结合袋。底物抑制情况下，V对S的依赖关系如下图：



© 2010 Wiley-VCH, Weinheim  
Klipp - Systems Biology  
ISBN: 978-3-527-31874-2 fig-02-04

上面的曲线显示了没有抑制时的Michaelis-Menten动力学，下面的两条曲线显示了在结合常数下的动力学特性。右边的图显示了底物抑制的可能机理。酶（彩色物）具有对底物分子不同部分结合的两个结合口袋（上部）。在高底物浓度时，可能会有两个不同的分子进入结合袋，因而阻止了特定的反应（下部）。



# 抑制剂与底物结合导致的抑制



如果抑制剂与底物形成紧密复合物，反应速率同样会降低：



有效的底物浓度会下降至： $S_{eff} = S_0 - SI$

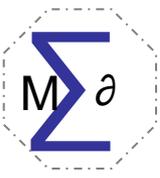
依据质量作用定律，实际平衡浓度有关系：

$$\frac{(I_0 - SI)(S_0 - SI)}{SI} = K_1$$

有效酶浓度的计算：

$$S_{eff} = S_0 - \frac{I_0 + S_0 + K_1}{2} + \sqrt{\left(\frac{I_0 + S_0 + K_1}{2}\right)^2 - S_0 \cdot I_0}$$

在高底物浓度下。存在抑制剂时反应的最大速率可以达到与无抑制剂时一样。



# 配基与蛋白质的结合



不考虑是否是反应中的主体，凡是与蛋白质结合的分子都被称为配基。下面我们考虑配基与单体蛋白质和寡聚蛋白质相结合的情形。在寡聚蛋白质中，可能存在着不同亚基中结合位点间的相互作用。

考虑到一个配基于蛋白质只会有一个结合位点： $ES \rightleftharpoons E + S$

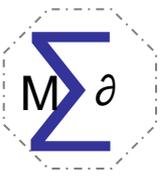
结合常数 $K_B$ 由下式给出： $K_B = \frac{ES}{E \cdot S}$

$K_B$ 的倒数 $K_D$ 为离解常数，蛋白质的饱和度分数 $Y$ 为结合了配基的亚基数除以总的亚基数。单亚基蛋白质的饱和分数为：

$$Y = \frac{ES}{E_{total}} = \frac{ES}{ES + E} = \frac{K_B \cdot S}{K_B \cdot S + 1}$$

类似于Michaelis-Menten动力学中 $v$ 对 $S$ 的图像，在总酶浓度保持不变的情况下 $Y$ 对 $S$ 的图像为一双曲线。在整个过程中， $S$ 结合到 $E$ 上是第一步，接下来产物释放。因此当 $S$ 初始浓度远高于 $E$ 初始浓度时，反应速率与 $ES$ 浓度成正比，有：

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{ES}{E_{total}} = Y$$

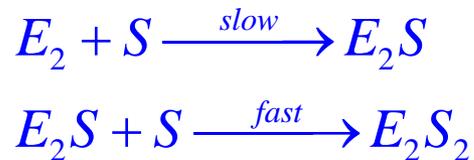


# 协同效应与希尔方程



如果蛋白质有几个结合位点，这些位点间可能发生相互作用，即在结合了一个或多个配基之后，随后上去的配基的亲合力的可能会有变化。这个现象被称为协同。正、负协同分别表示蛋白质对后结合上的配基亲合力的上升和下降。同类协同和异类协同分别表示施加影响的先结合配基与被影响的后结合配基是相同和不同的。

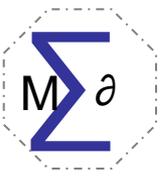
考察一个具有两个相同结合位点的二聚蛋白质，第一个配基的结合促进第二个配基的结合：



这里E是单聚体而E<sub>2</sub>是二聚体。饱和度分数为：

$$Y = \frac{2E_2S + 2E_2S_2}{2E_{2,\text{total}}} = \frac{2E_2S + 2E_2S_2}{2E_2 + 2E_2S + 2E_2S_2}$$

如果第二个配基与蛋白质的亲合力随第一个配基的结合强烈增加，这时E<sub>2</sub>S一旦生成将与S马上结合，因而E<sub>2</sub>S的浓度可以被忽略。



# 协同效应与希尔方程



在完全协同中，所有的蛋白质不是处于无配基结合就是处于与配基完全结合状态，反应式化简为：



结合常数为：

$$K_B = \frac{E_2S_2}{E_2 \cdot S^2}$$

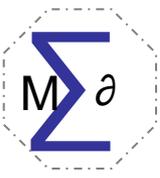
因此饱和度分数为：

$$Y = \frac{2E_2S_2}{2E_{2,total}} = \frac{E_2S_2}{E_{2,total}} = \frac{K_B S^2}{1 + K_B S^2}$$

通常对于具有n个亚基的蛋白质有：

$$v = V_{\max} Y = \frac{V_{\max} K_B S^n}{1 + K_B S^n}$$

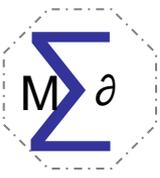
此为Hill方程的一般形式，该式意味着完全的同位协同。饱和度分数Y对底物浓度S作图可获得一S形曲线，该曲线的拐点在 $1/K_B$ 处。量n（通常用“h”代替）被称为Hill系数。



# 协同效应与希尔方程



该表达式的推导是基于氧与血红蛋白（Hb）结合实验的结果（Hill 1910、1913）。Bohr及其合作者在1904年发现携氧Hb的饱和度分数对氧分压作图呈现出S形。Hill（1909）用位于不同亚基上的结合位点间的相互作用解释了这一现象。这时已经知道每个亚基只结合一个氧分子。Hill假定过程为完全协同的，因此预测出实验Hill系数为2.8。今天我们知道血红蛋白有4个结合位点，但它们间的协同是非完全的。S形结合特征具有优势：在很高的氧分压下，血红蛋白与肺中的氧结合；当氧分压很低时，则很容易将释放到体内。



# 酶的S形动力学

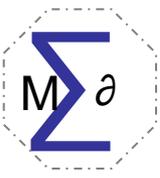


## Monod-Wynma-Changeux速率表达式

1965年Monod及其同事提出了一个解释S形酶动力学的模型，该模型考虑到了酶亚基间的相互作用（Monod等1965）。更全面的模型由Koshland等（1966）提出。

Monod等的模型采用了下列的假设：①酶包含n个相同的亚基；②每个亚基可以假定具有活性（R）和非活性（T）两种构象；③所有的亚基在同一时刻变换它们的构象（一致变换）；④R和T构象间的平衡由变构常数给出：

$$L = \frac{T_0}{R_0}$$



# 酶的S形动力学

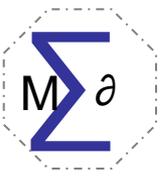


$T_i$ 和 $R_i$ 的指数 $i$ 表示底物分子的范围数。活性和非活性构象下的结合常数分别由 $K_R$ 和 $K_T$ 给出。如果底物分子只能与活性形式的亚基结合，即  $K_T = 0$ ，那么反应速率可表示为：

$$v = \frac{V_{\max} K_R S}{(1 + K_R S)} \frac{1}{\left(1 + \frac{L}{(1 + K_R S)^n}\right)}$$

这里因子  $\frac{V_{\max} K_R S}{(1 + K_R S)}$  对应于M-M速率表达式，而

$\left(1 + \frac{L}{(1 + K_R S)^n}\right)^{-1}$  则为调节因子。



# 酶的S形动力学

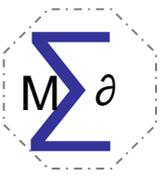


对于 $L = 0$ ， $v$ 对 $S$ 的图形是一条Michaelis-Menten动力学的双曲线。对于 $L > 0$ ，曲线向右漂移从而得到S形曲线。典型的边构常数值：

$$L \cong 10^4$$

当底物也能与非活性状态的亚基结合时（ $K_T \neq 0$ ），反应速率为：

$$v = \frac{V_{\max} K_R S}{(1 + K_R S)} \frac{K_R + K_T L \left( \frac{1 + K_T S}{1 + K_R S} \right)^{n-1}}{\left( 1 + L \left( \frac{1 + K_T S}{1 + K_R S} \right)^n \right)}$$



# 酶的S形动力学

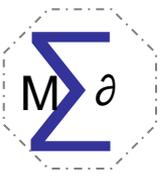


已经考虑了Monod-Wyman-Changeux模型中的同位正效应。但这一模型同样很适于解释反应速率与活化剂和抑制剂间的相关性。活化剂A仅仅与活性构象结合，而抑制剂I仅仅与非活性构象结合。这使得平衡向相应的构象移动。实际上，效应物的结合会改变L：

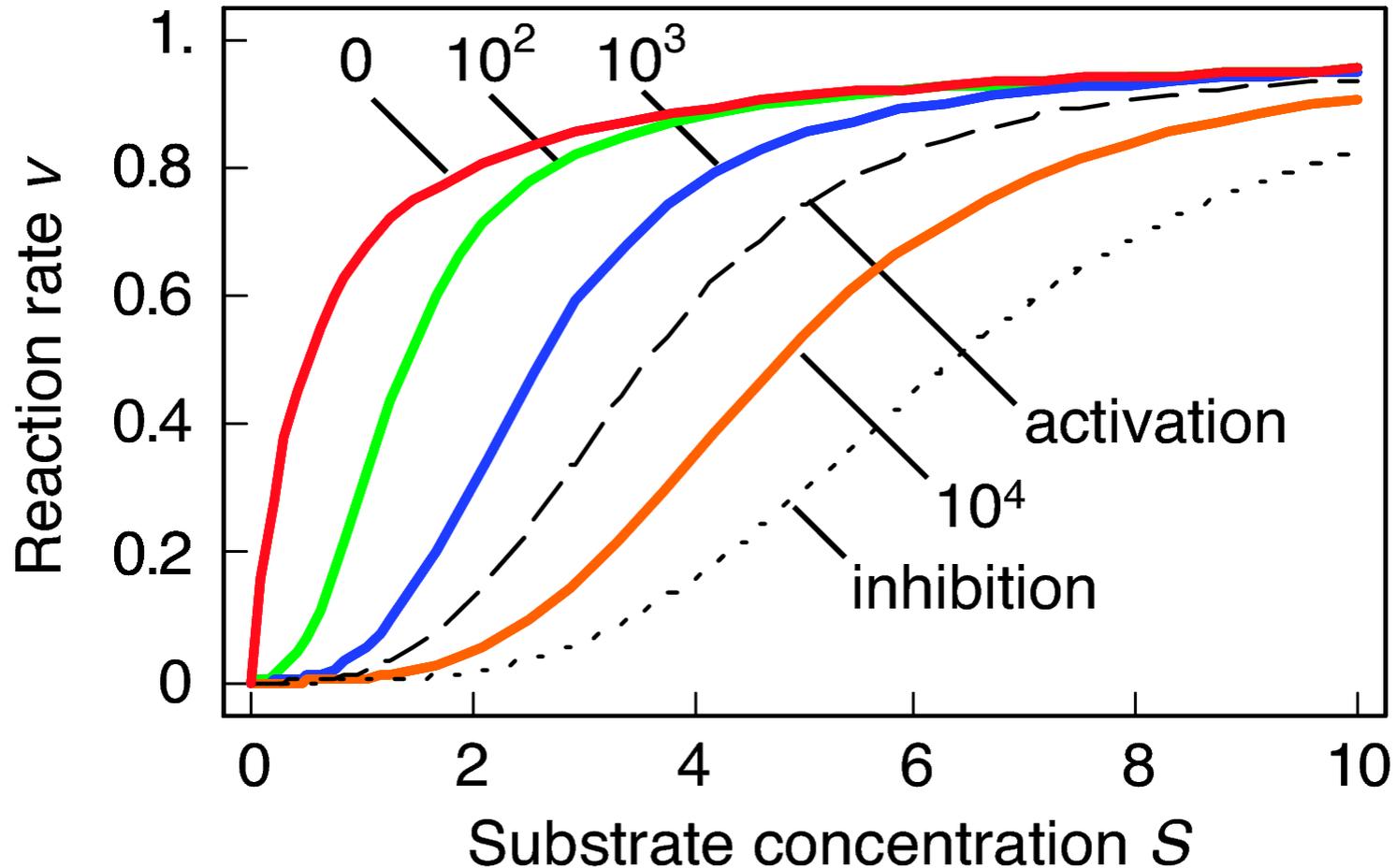
$$L' = L \frac{(1 + K_I I)^n}{(1 + K_A A)^n}$$

$K_I$ 和 $K_A$ 表示结合常数。与效应物的相互作用是同位效应。如图5.7所示，活化剂会减弱曲线的S形，而抑制剂则增强之。

作为一个例子，催化果糖-6-磷酸和ATP转化为果糖-1, 6-二磷酸的磷酸果糖激酶，其酶动力学能够被Monod-Wyman-Changeux模型所描述。AMP、NH<sub>4</sub>和K<sup>+</sup>是活化剂，而ATP是抑制剂（见下例）。



# 酶的S形动力学



© 2010 Wiley-VCH, Weinheim  
Klipp - Systems Biology  
ISBN: 978-3-527-31874-2 fig-02-05