

РЕШЕНИЕ ОБРАТНОЙ КИНЕТИЧЕСКОЙ ЗАДАЧИ
для СХЕМЫ МИХАЭЛИСА-МЕНТЕН.

Обработка экспериментальных данных в координатах Берка -Лауинивера позволяет определить два параметра схемы Михаэлиса-Ментен (М-М), константу Михаэлиса, K_m , и константу скорости образования продукта, k_2 (см. Лекцию 5). Остальные две константы, k_1 и k_{-1} , при обработке в квазистационарном приближении получить нельзя.

Однако, эти константы можно определить при рассмотрении начального участка кинетической кривой, т.е. того отрезка времени, когда концентрация промежуточного продукта SE еще не вышла на квазистационарное значение.

Схема М.-М. имеет вид



с дополнительными условиями $[S_0] \gg [E_0]$ и $[S_0] \approx [S]$. Индексом «0» отмечены концентрации в начальный момент времени.

Для концентрации SE можно записать дифференциальное уравнение

$$\frac{d[SE]}{dt} = k_1[S][E] - (k_{-1} + k_2)[SE] = k_1[S_0][E_0] - (k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])[SE] \quad (2)$$

При записи (2) мы использовали равенство $[E] = [E_0] - [SE]$. Заметим, что условие (2) справедливо всегда. Равенство нулю правой части, т.е. условие Боденштейна, выполняется только приблизительно. Однако, начальный участок кинетической кривой и участок, где квазистационарное состояние достигнуто, заметно отличаются друг от друга (см. рис.1).

Проинтегрируем соотношение (2).

$$\begin{aligned}
\frac{d[SE]}{dt} &= k_1[S_0][E_0] - (k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])[SE] = \\
&(k_{-1} + k_2 + k_1[S_0]) \left(\frac{k_1[S_0][E_0]}{(k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])} - [SE] \right) = \\
&(k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])([SE]_{Cm} - [SE]); \\
\frac{d[SE]}{([SE]_{Cm} - [SE])} &= (k_{-1} + k_2 + k_1[S_0]) dt; \\
\int_0^{[SE]} \frac{d[SE]}{([SE]_{Cm} - [SE])} &= \int_0^t (k_{-1} + k_2 + k_1[S_0]) dt \\
\ln([SE]_{Cm} - [SE]) - \ln([SE]_{Cm}) &= -(k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])t \quad (3)
\end{aligned}$$

Напомним, что квазистационарное значение концентрации промежуточного продукта,

$$[SE]_{Cm} = \frac{k_1[S_0][E_0]}{(k_{-1} + k_2 + k_1[S_0])} = \frac{[S_0][E_0]}{(K_m + [S_0])}$$

Уравнение (3) (последняя строчка!) не может быть использовано для практического расчета, поскольку концентрации SE трудно измерить. Необходимо получить соотношение для скорости образования продукта, P . Сначала потенцируем последнюю строчку (3),

$$[SE] = [SE]_{Cm} \left\{ 1 - e^{-t/\tau} \right\}, \quad \tau = \frac{1}{k_{-1} + k_2 + k_1[S_0]} \quad (4)$$

а затем получаем нужное выражение для скорости

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[SE] = k_2[SE]_{Cm} \left\{ 1 - e^{-t/\tau} \right\} \quad (5)$$

и интегрируем его

$$P(t) = \int_0^t k_2[SE]_{Cm} \{1 - e^{-t/\tau}\} dt = k_2[SE]_{Cm} \left\{ t + \tau e^{-t/\tau} \right\} \Big|_0^t = k_2[SE]_{Cm} \left\{ t - \tau(1 - e^{-t/\tau}) \right\} \quad (6)$$

Экспонента в последнем выражении должна практически обратиться в ноль при выходе на квазистационарный участок, и получится линейная зависимость концентрации продукта от времени

$$P(t) = k_2[SE]_{Cm} \left\{ t - \tau(1 - e^{-t/\tau}) \right\} \approx k_2[SE]_{Cm} \left\{ t - \tau \right\} \quad (7)$$

Экстраполяция к нулевой концентрации позволяет определить значение τ (см. рис.1).

Затем нужно провести опыты с разными значениями начальной концентрации $[S_0]$ и построить график линейной зависимости

$$\frac{1}{\tau} = \varphi([S_0]) = (k_{-1} + k_2 + k_1[S_0]) \quad (8)$$

Параметры линейной зависимости (8) позволяют определить k_1 и, а если известна k_2 , то и значения второй константы, k_{-1}

Приходится провести несколько опытов и выполнить громоздкие вычисления, но в результате обратная кинетическая задача для схемы Михаэлиса-Ментен решается полностью, т.е. становятся известны величины k_1 , k_2 , и k_{-1} . Необходимые для расчета графики приведены на рис.1

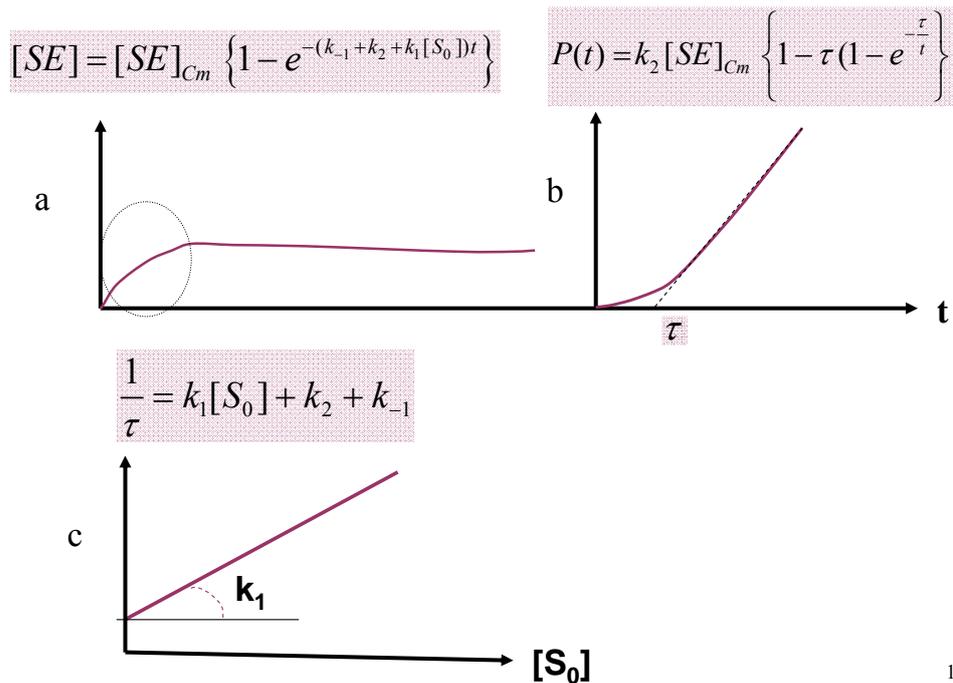


Рис.1. Расчет параметров уравнения Михаэлиса – Ментен.

а) Кинетическая кривая для промежуточного продукта. Отмечен начальный участок кривой, где условие Боденштейна еще не выполняется! Именно он используется для расчета. б) Кинетическая кривая для продукта, с помощью которой рассчитывается параметр τ . в) Линейная зависимость для расчета константы скорости k_1 .