www.reshefmd.com

רשף משולם – לימודי ביולוגיה ורפואה
reshefm87@gmail.com
054-3318431

בחינת הידע

קבלה לתוכנית ה-4 שנתית ללימודי רפואה

ביוכימיה א

מבוא לביוכימייה – מולקולות החיים

- פחמימות וסוכרים
- ליפידים
- חומצות אמינו וחלבונים
- חומצות גרעין

סוכרים

www.reshefmd.com

פחמימות

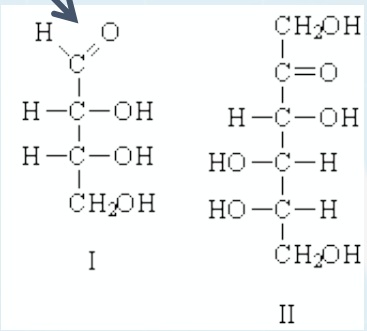
$C_nH_{2n}O_n$

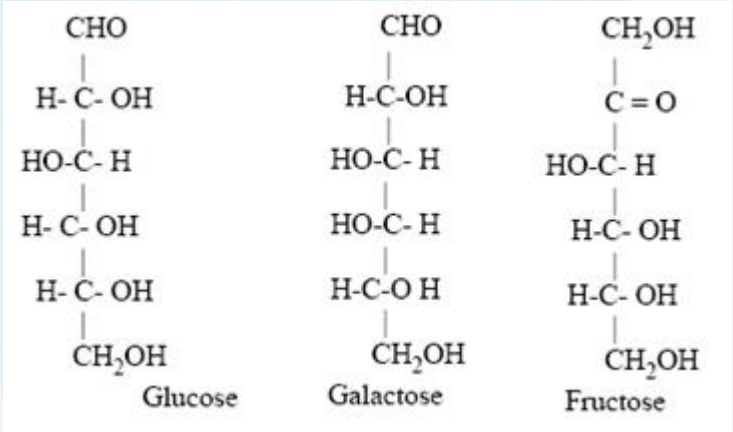
- סוכרים – מונו-סכרידים, מכילים מספר רב של קבוצות הידרוקסיל. סיווגם נגזר הן ממספר הפחמנים (טריוזות, טטרוזות וכו...) או ממיקום הקבוצה הקרבונילית (קטוזות מול אלדוזות).
- דו-סוכרים – שני מולקולות סוכר המחוברות בקשר גליקוזידי, הנוצר על ידי ריאקציית דחיסה תוך יציאת מולקולת מים. לדוגמא – לקטוז וסוכרוז.
- אוליגו-סאכרידים – מספר ספיר של סוכרים המחוברים בקשר גליקוזידי
- רב-סוכרים – מספר בלתי ספיר של סוכרים המחוברים בקשר גליקוזידי

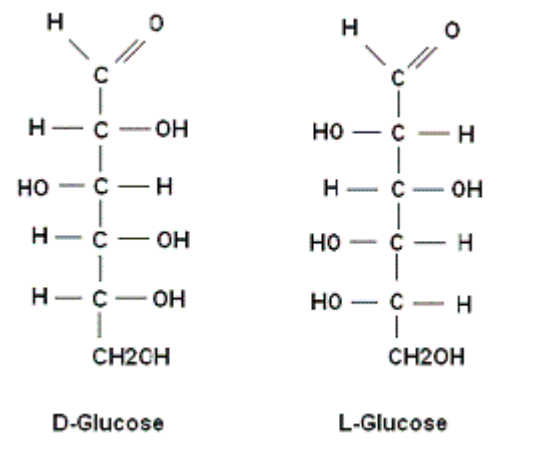
פחמימות

aldehyde

ketone







D & L •

תמונת ראי אחד של השני, בעלי אותו השם .

D-glucose

L-glucose.

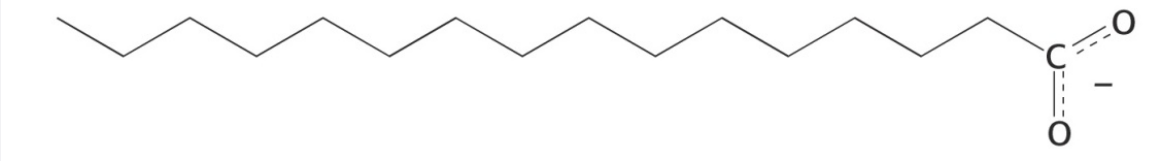
סטריואיזומרים אחרים מקבלים שמות שונים

ליפידים

www.reshefmd.com

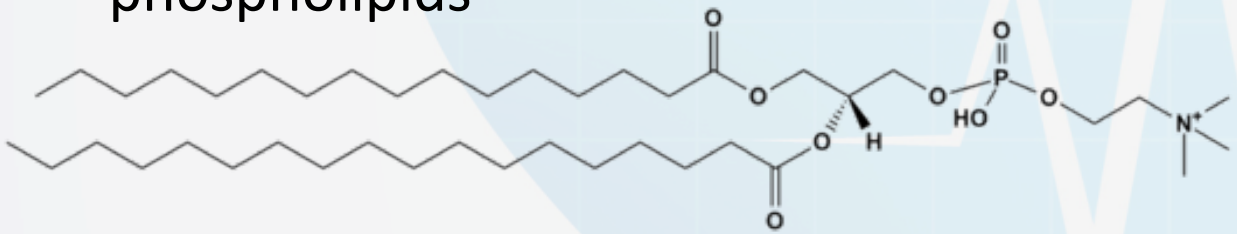
ליפידים

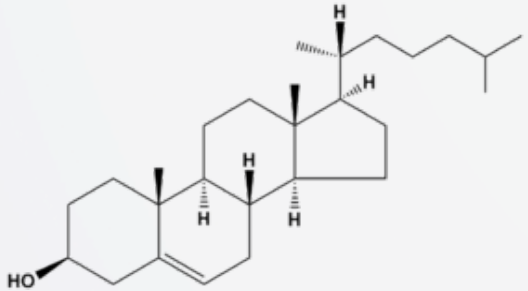
- ליפידים הן מולקולות הידרופוביות ולהן שימושים רבים
- חומצות שומן הן הדרך העיקרית של התא לאגור אנרגיה, בצורה של טרי-גליצרידים
- כולסטרול משמש הן לייצוב ממברנות והן כחומר מוצא לוייטמינים רבים ולהורמונים
- פוספוליפידים הן מולקולות מורכבות מגליצרות, 2 חומצות שומן ופספאט ותפקידן לבנות את ממברנות התא ולעיתים לשמש כמערכת להולכת אותות



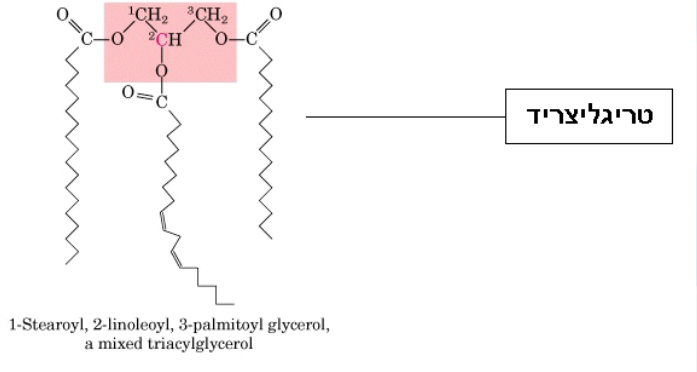
Fatty acids

phospholipids



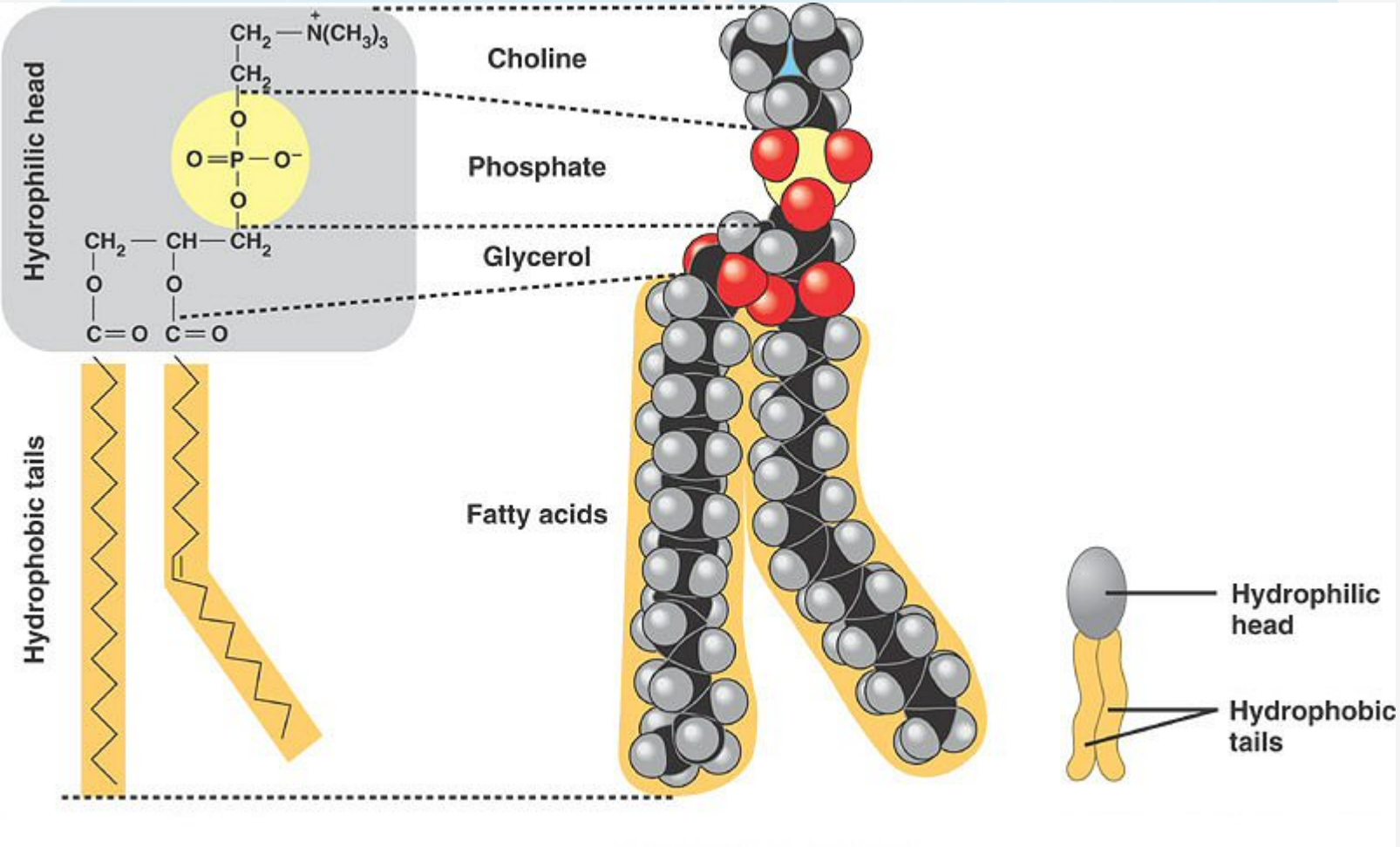


Cholesterol

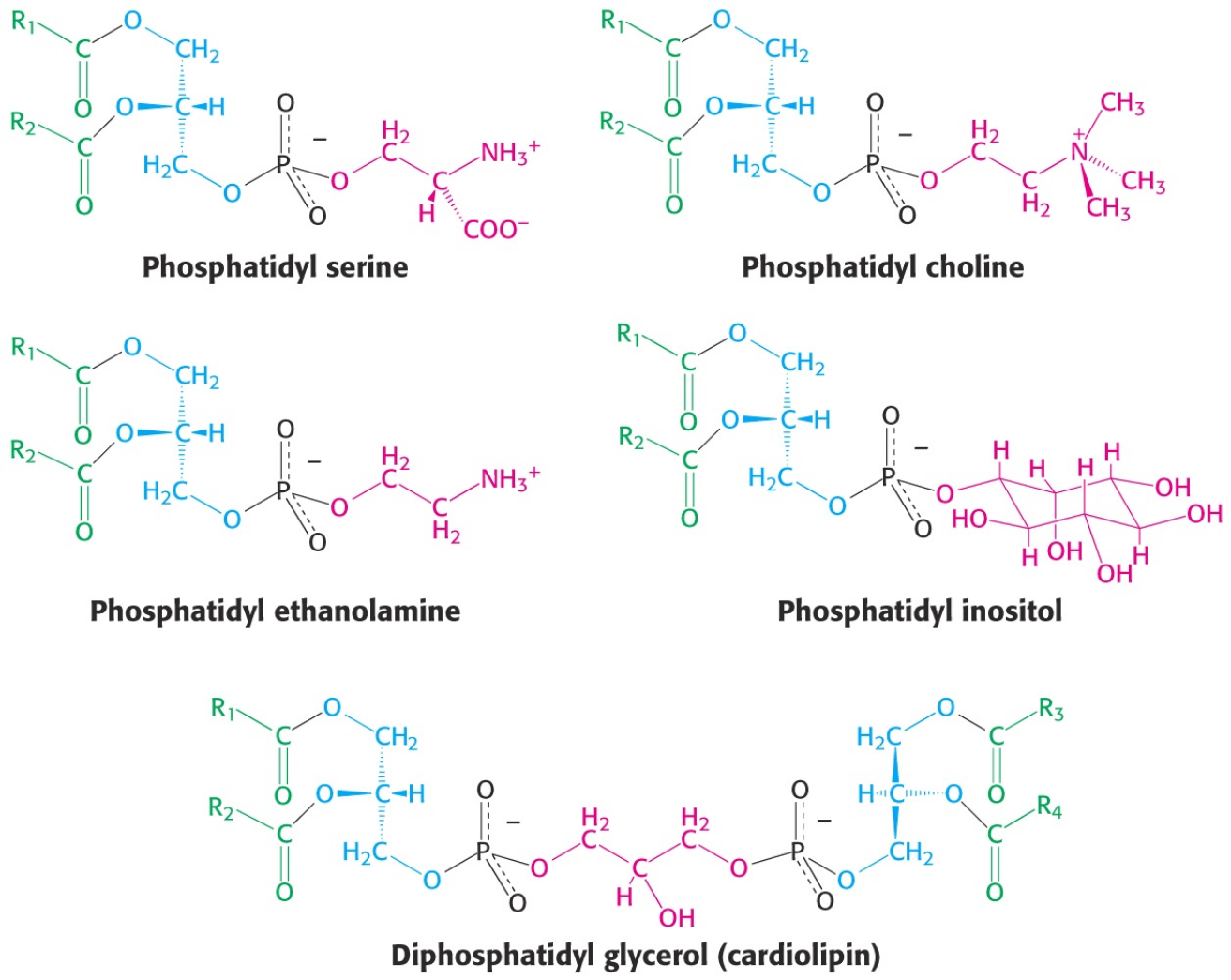


1-Stearoyl, 2-linoleoyl, 3-palmitoyl glycerol, a mixed triacylglycerol

פוספוליפידים



סוגים של פוספוליפידים

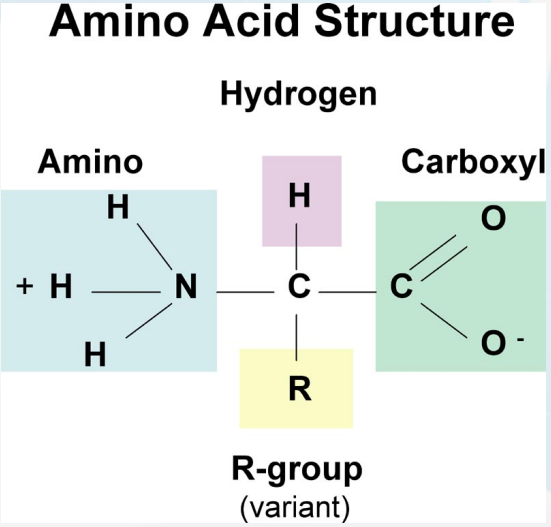


חומצות אמינו וחלבונים

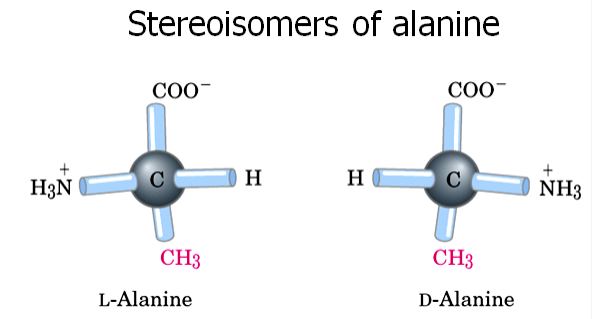
www.reshefmd.com

חומצות אמינו

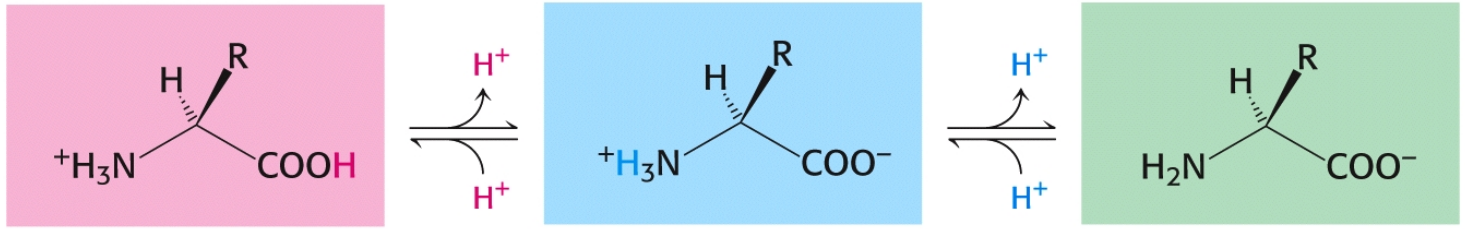
- אבן הבניין של חלבונים ופפטידים, אך משמשות גם להולכת אותות ויצירת אנרגיה.
- קיימות מעל 300 חומצות אמינו שונות בטבע, מתוכן רק 20 מקודדות בקוד הגנטי
- כל חומצות האמינו מלבד גליצין מכילות פחמן אלפא שהוא א-סימטרי ולכן מסובבות אור מקוטב. הפחמן הא-סימטרי קשור קוולנטית למימן, קרבוקסיל ואמין, כמו גם לשייר משתנה
- במרבית היצורים החיים קיימים חומצות אמינו רק מסוג L
- בסביבה מימית לרוב ניתן למצוא אותן מיוננות ובסביבה נייטראלית רובן יהיו במצבב צביטריוני
- לכל חומצות האמינו יש עקומת טיטרציה בשל היותן

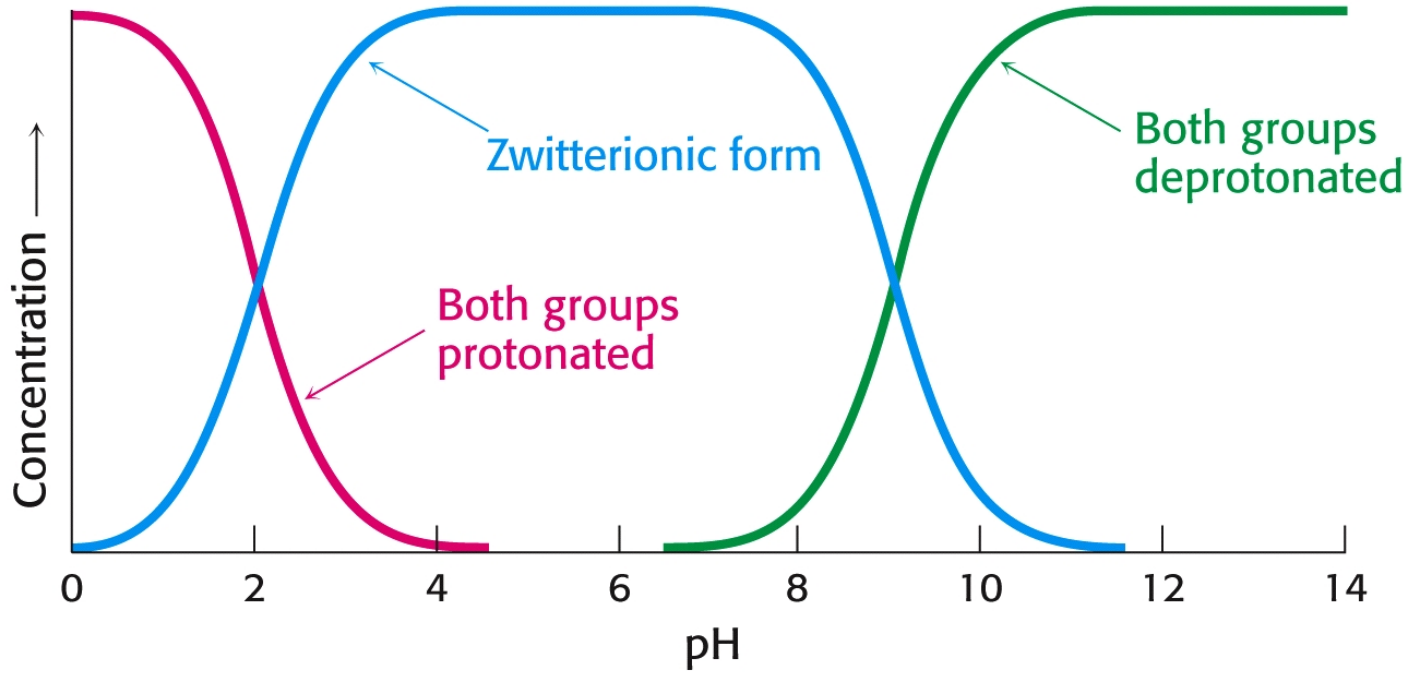


חומצות חלשות

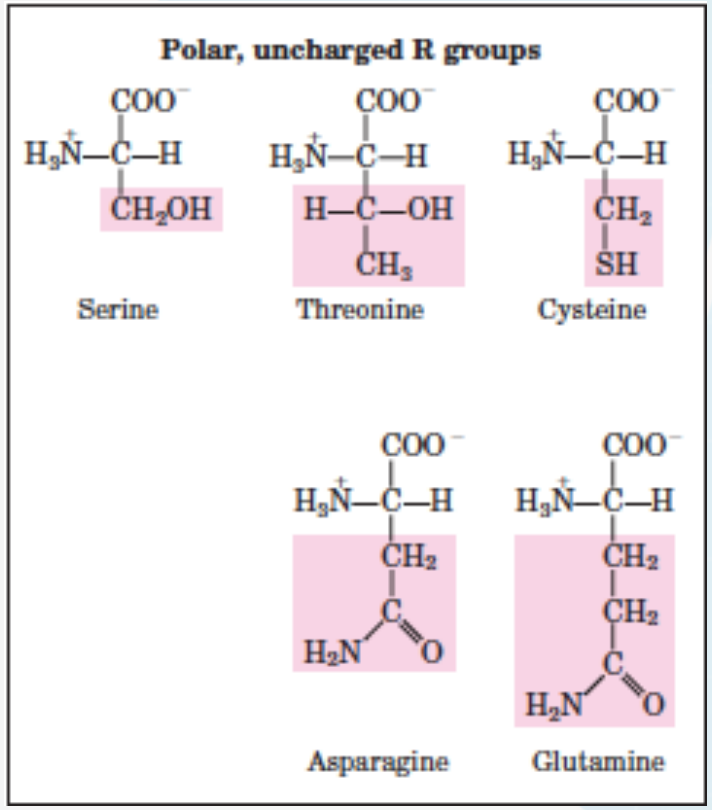


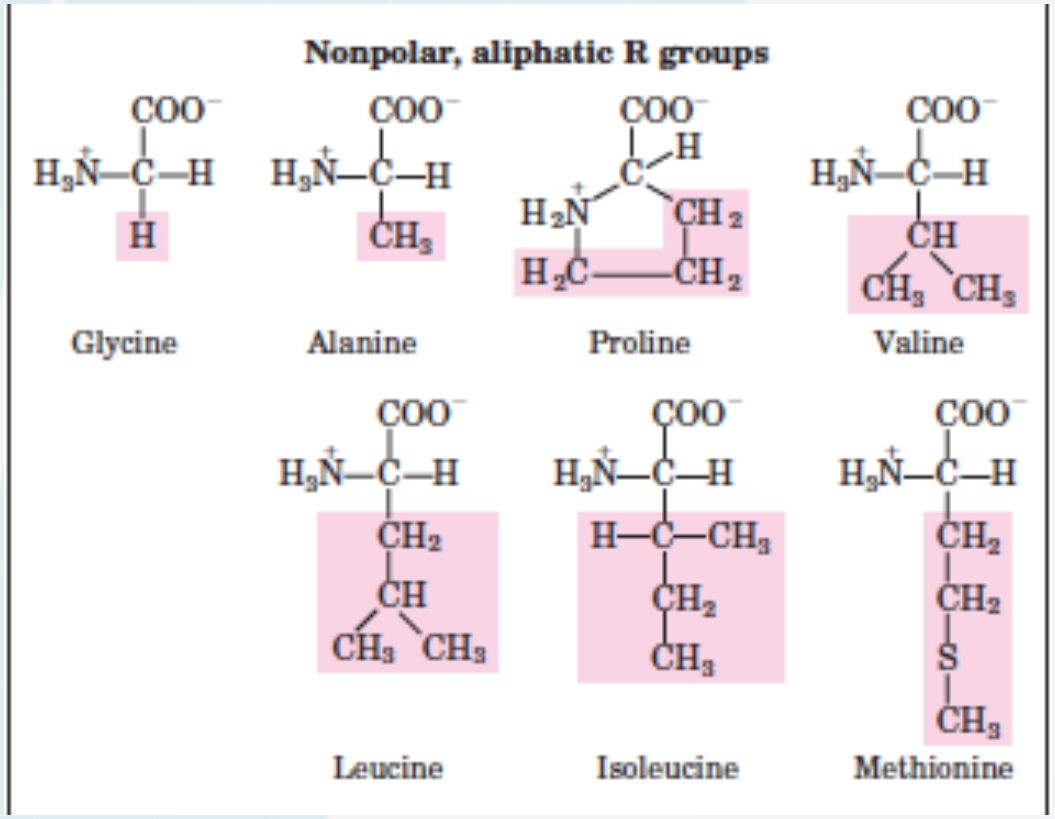
חומצות אמינו



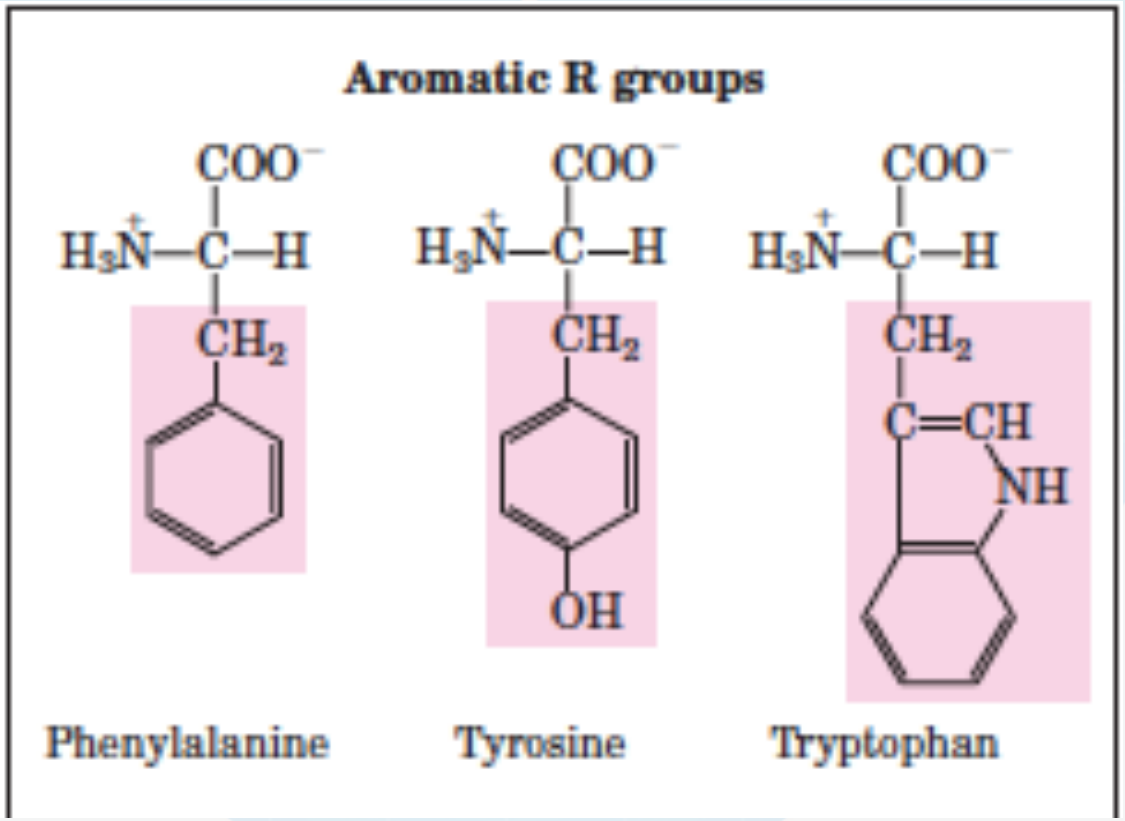


חומצות אמינו לא טעונות

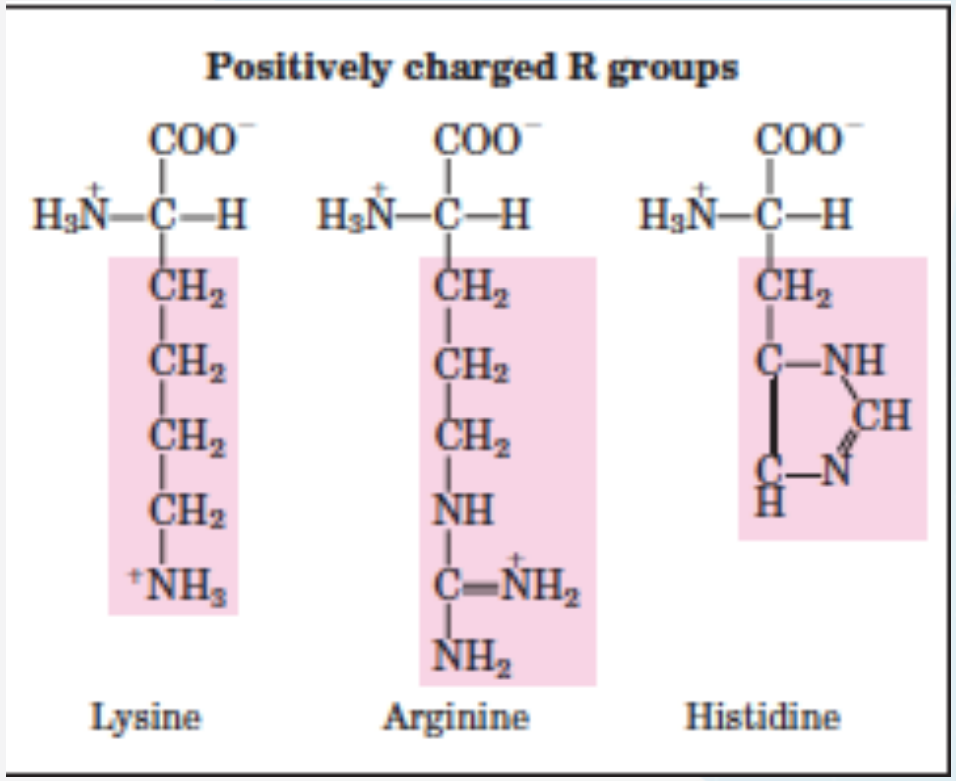


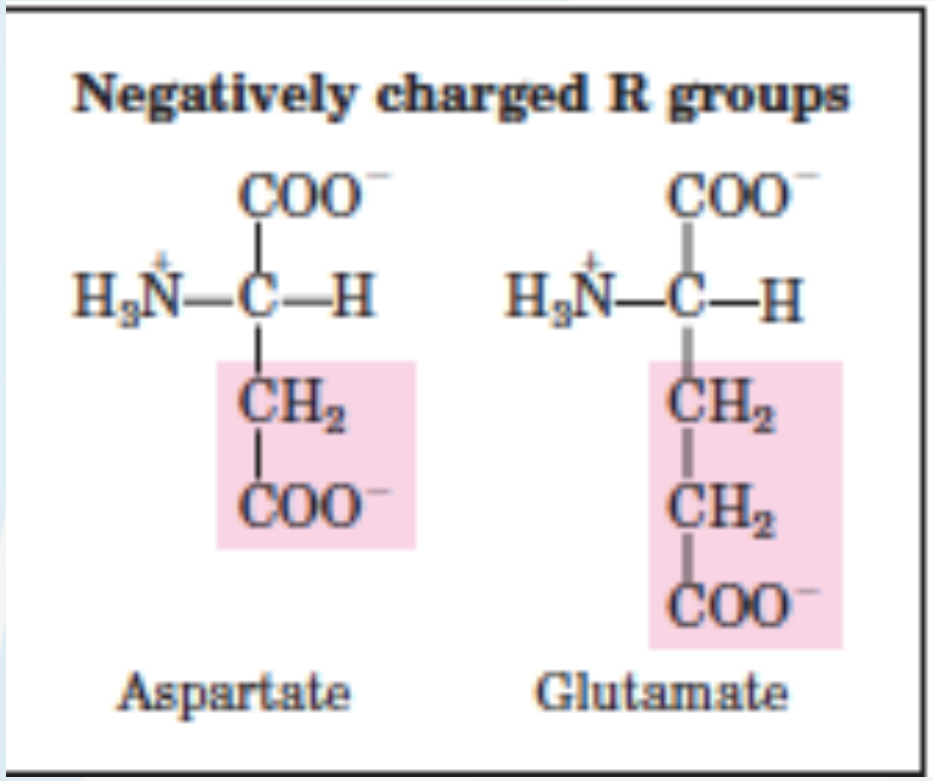


חומצות אמינו ארומטיות



חומצות אמינו טעונות





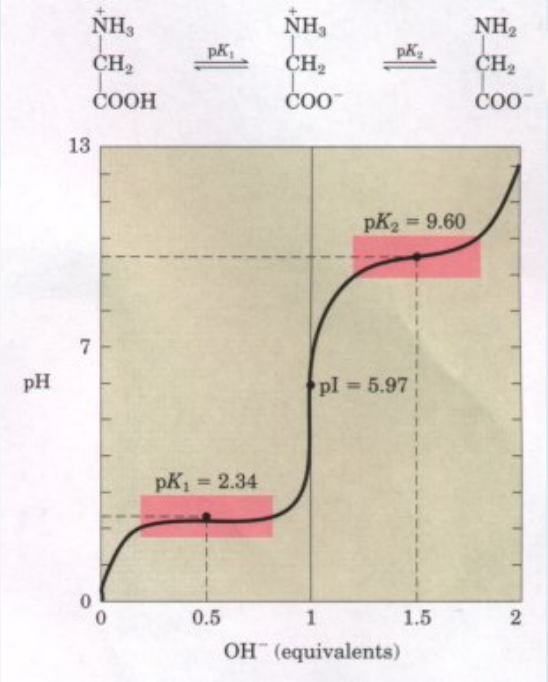
חומצות אמינו

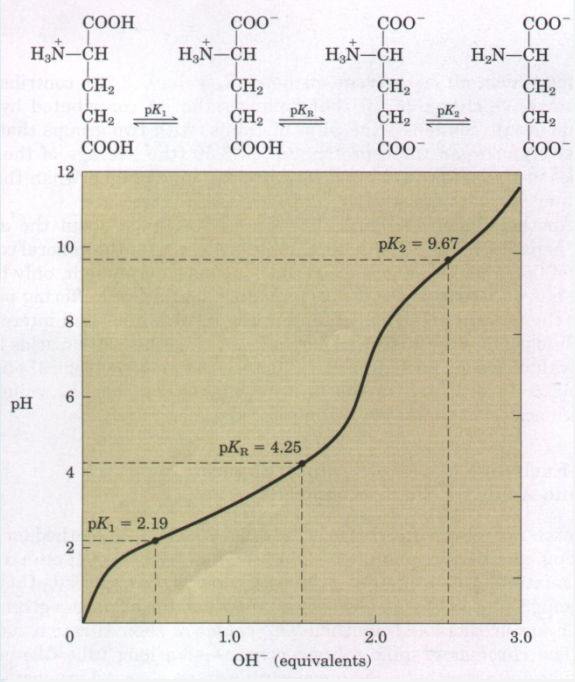
TABLE 3–1 Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r*	pK_a values: pK_1 (—COOH)	pK_2 ($—NH_3^+$)	pK_R (R group)	pI	Hydropathy index†	Occurrence in proteins (%)‡
Nonpolar, aliphatic R groups								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	−0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	−1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	−0.9	1.4
Polar, uncharged R groups								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	−0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	−0.7	5.9
Cysteine§	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	−3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	−3.5	4.2
Positively charged R groups								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	−3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	−3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	−4.5	5.1
Negatively charged R groups								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	−3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	−3.5	6.3

טיטרציה ונקודה איזו-אלקטרית

- עקומת הטיטרציה משתנה בהתאם לשייר ה-R. בעזרתה ניתן להגיע לחישוב הנקודה האיזו-אלקטרית pI



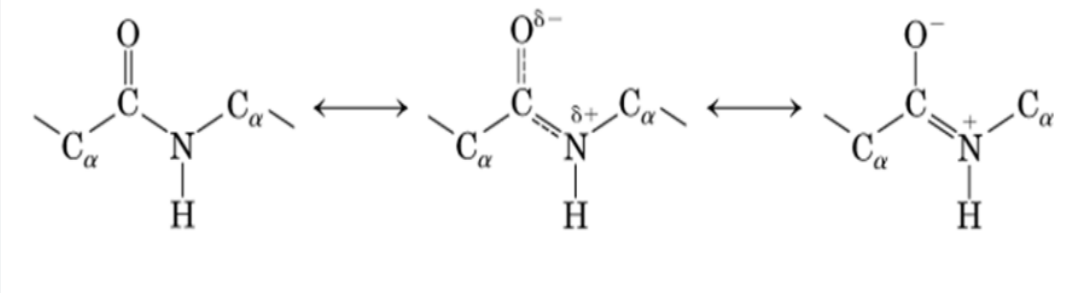


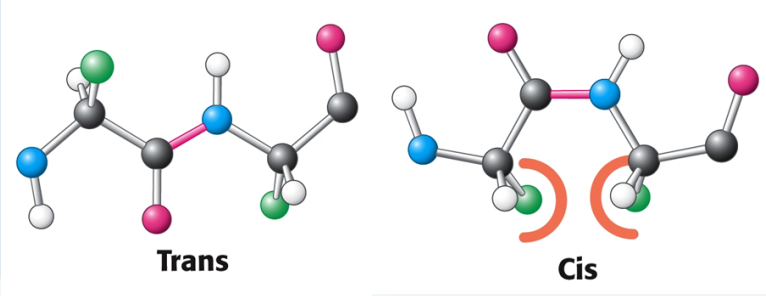
$$pI = \frac{1}{2}\left(pK_1 + pK_2\right) = \frac{1}{2}\left(2.34 + 9.6\right) = 5.97$$

$$pI = \frac{1}{2}\left(pK_1 + pK_R\right) = \frac{1}{2}\left(2.19 + 4.25\right) = 3.22$$

הקשר הפפטידי

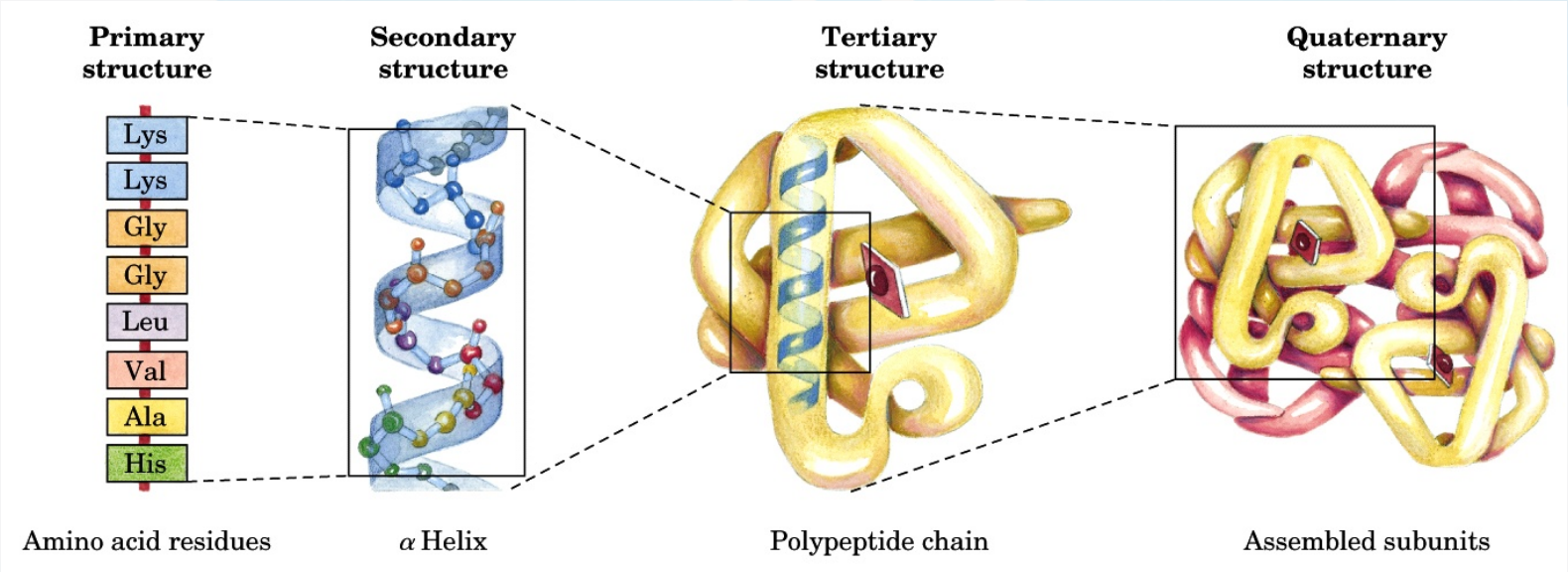
- הקשר הפפטידי נוצר בזכות התקפה נוקלאופילית של הקצה האמיני של החומצה האמינית n+1 על הקבוצה הקרבוקסילית של החומצה האמינית N
- הקשר יציב במיוחד, בבזכות רזוננס המונע את הרוטציה האופיינית לקשר יחיד מסוג סיגמא. שימו לב למולקולת המים שיוצאת החוצה בדומה לכל ריאקציית דחיסה.
- המצב היציב ביותר הוא כאשר שיירי ה R מונחים במרחב במצב טראנס אחד לשני.



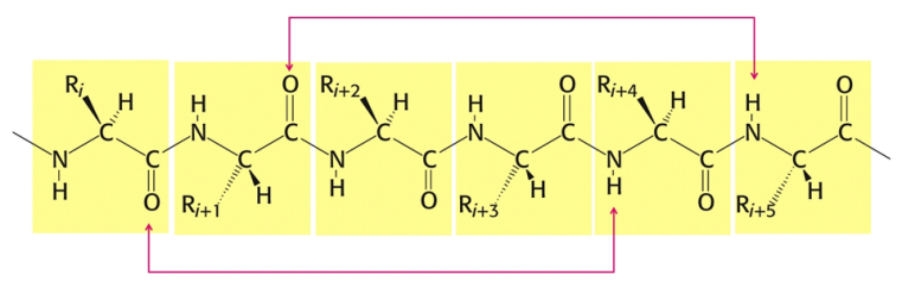


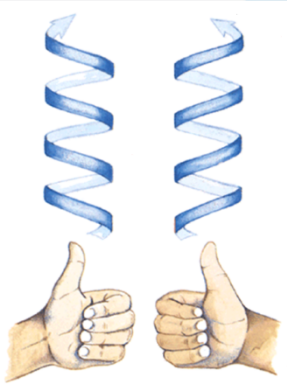
מבנה החלבונים

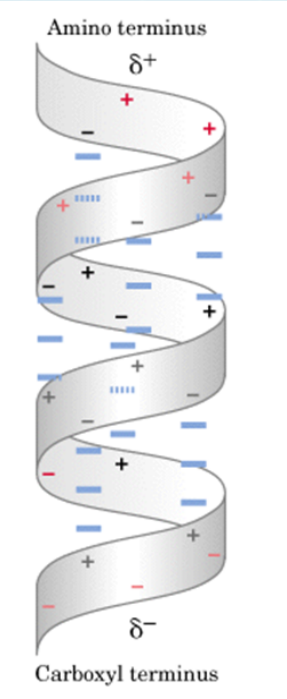
- מבנה ראשוני – רצף חומצות האמיניות הקשורות אחת לשנייה בקשר פפטידי
- מבנה שניוני – קשרי מימן בין קבוצות קרבונילית ואמידיות בשלד הפפטיד, ללא מעורבות שיירי ה- R
- מבנה שלישוני – מבנה תלת מימדי המערב את כל סוגי האינטרקציות הבין מולקולריות והן קשרי SS. מערב את שיירי ה-R.
- מבנה רביעוני – אינטרקציות קוולנטיות או בלתי קוולנטיות בין מספר שרשרות פולי-פפטידיות



α הליקס

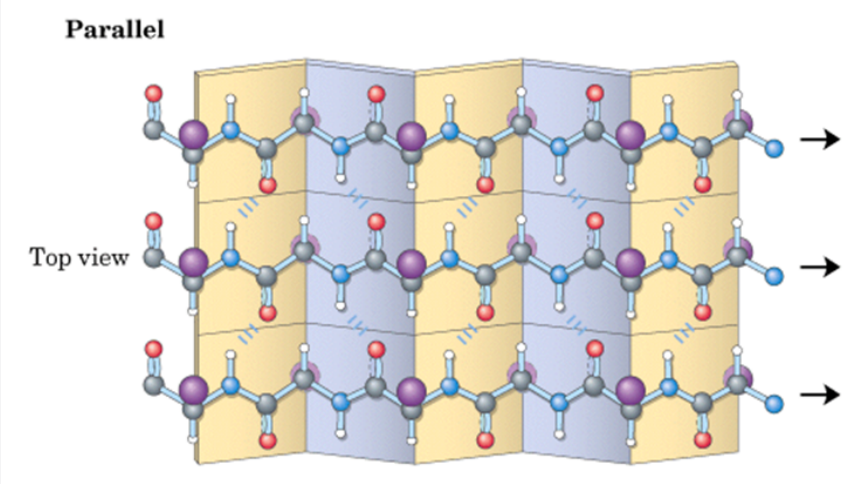


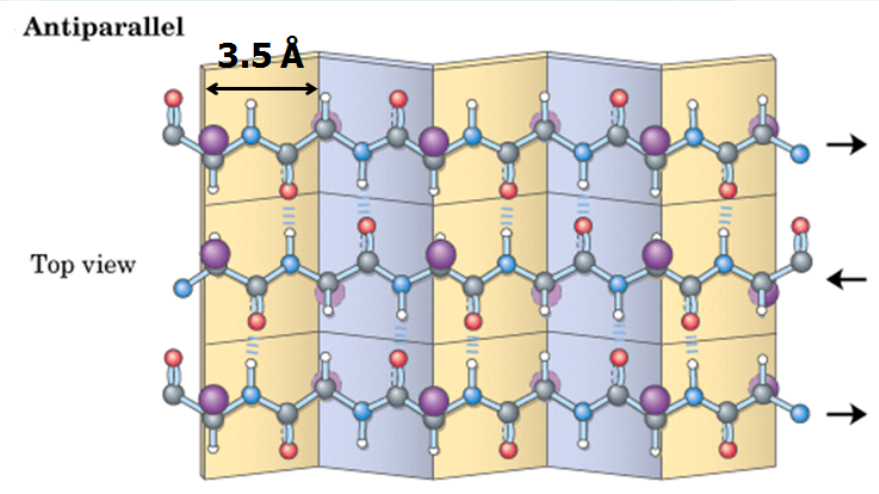




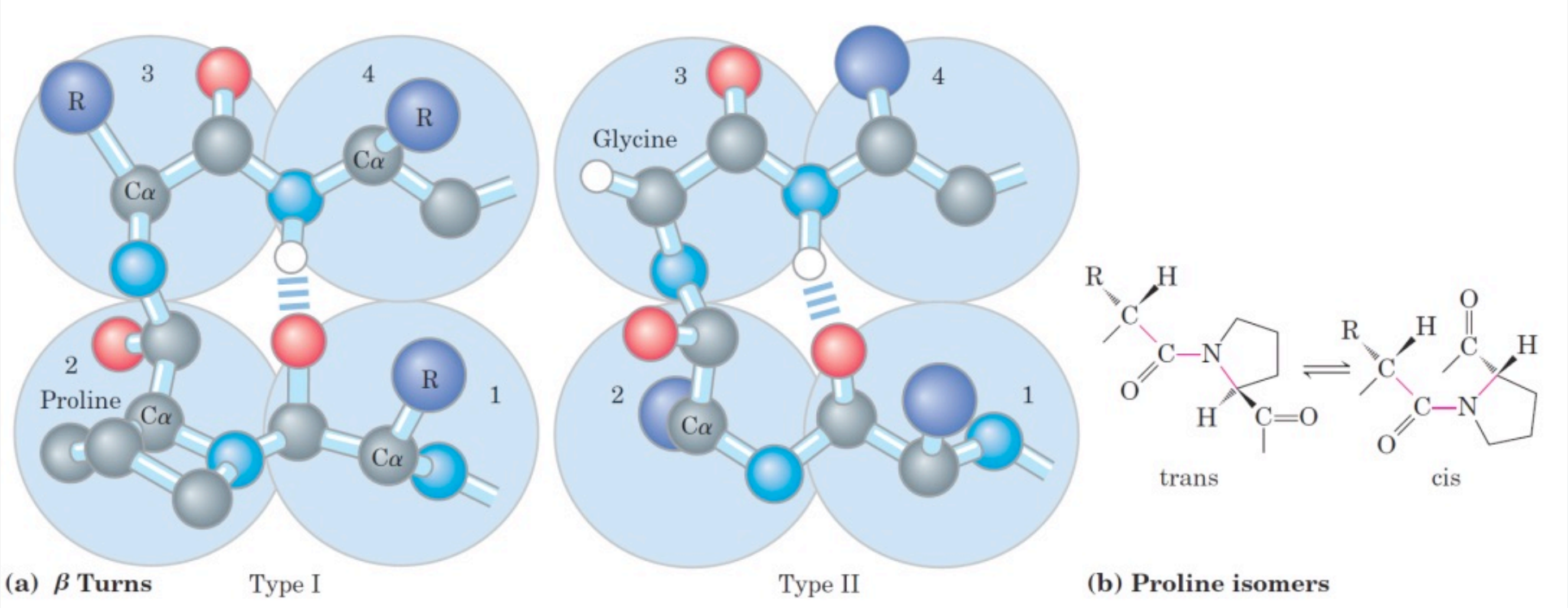
- המרחק בין שני פחמני אלפא הוא בערך 1.5 אנגסטרם
- כל סיבבוב מורכב מ3.6 חומצות אמינו בממוצע
- זווית הסיבוב בין חומצה אמינית אחת לבאה היא 100 מעלות
- מבנה זה מצוי לרוב באזורים חוצי ממברנה ובמוטיבים היוצרים אינטרקציה עם הדנ"א
- חומצה אמינית פרולין, או ריבוי שיריים הטעונים באותו מטען גורמים להליקס להיות פחות יציב
- שיירי ה-R פונים אל חוץ ההליקס

סדין B





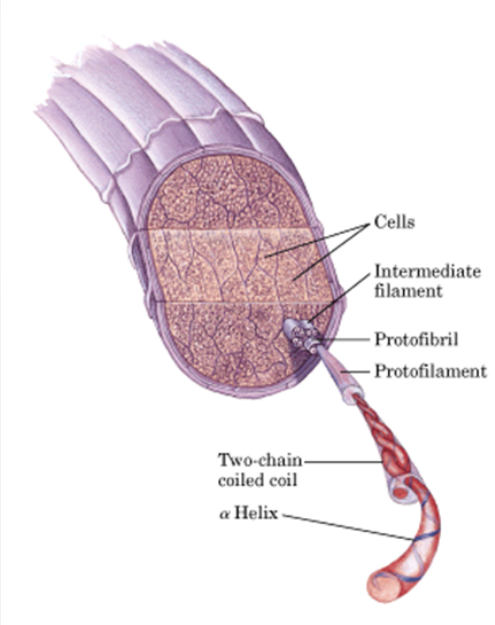
סיבוב חד - בטא

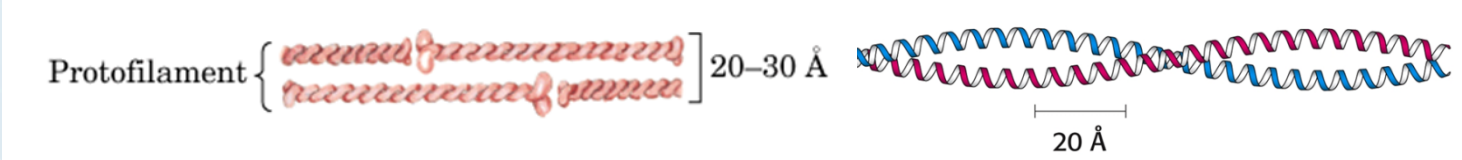


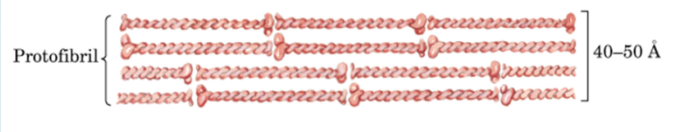
(a) β Turns Type I Type II (b) Proline isomers

מבנים מיוחדים

- קרטינים הם משפחה של סיבי ביניים המצויים במבנים קשיחים בסידור של coiled coil – זה מבנה רביעוני שמורכב מיחידות בעלות מבנה שניוני
  - α קרטינים – נמצא בשיעור, קרניים, ציפורניים – בעיקר אלפא הליקס
  - β קרטינים – קרניים וצפרוניים, בעיקר סדין בטא



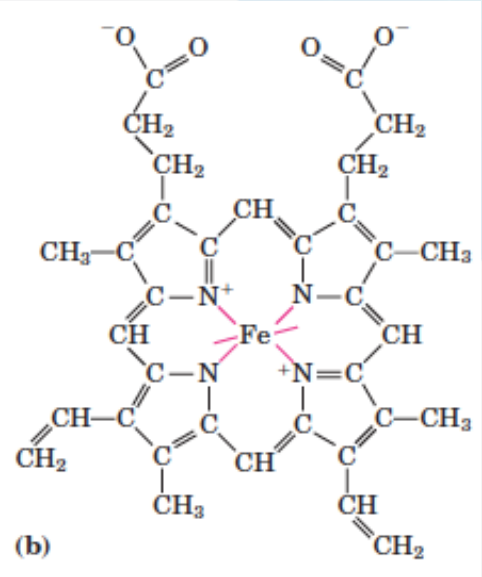


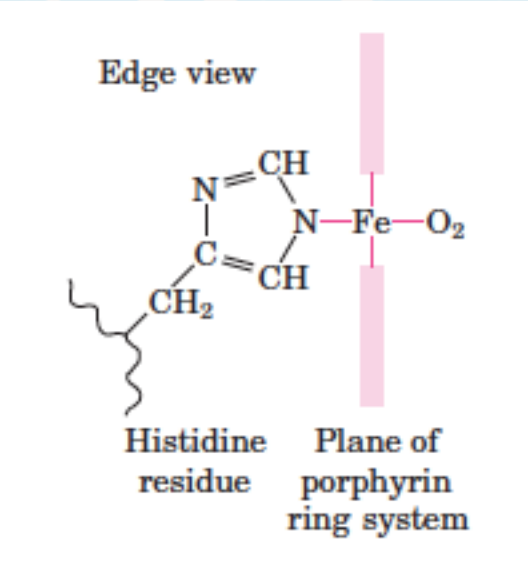


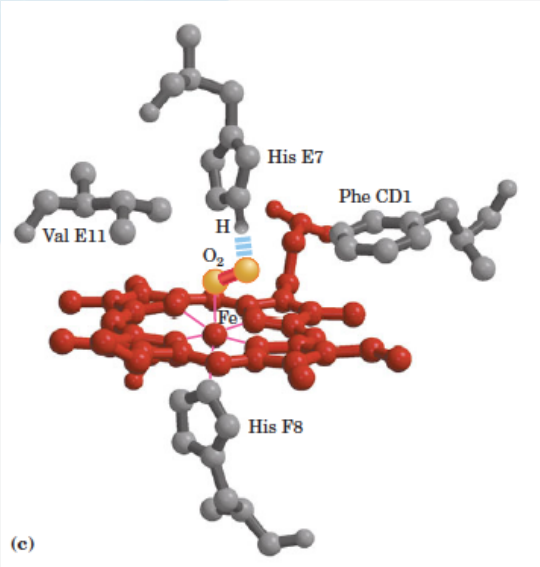
Coiled coil

המוגלובין

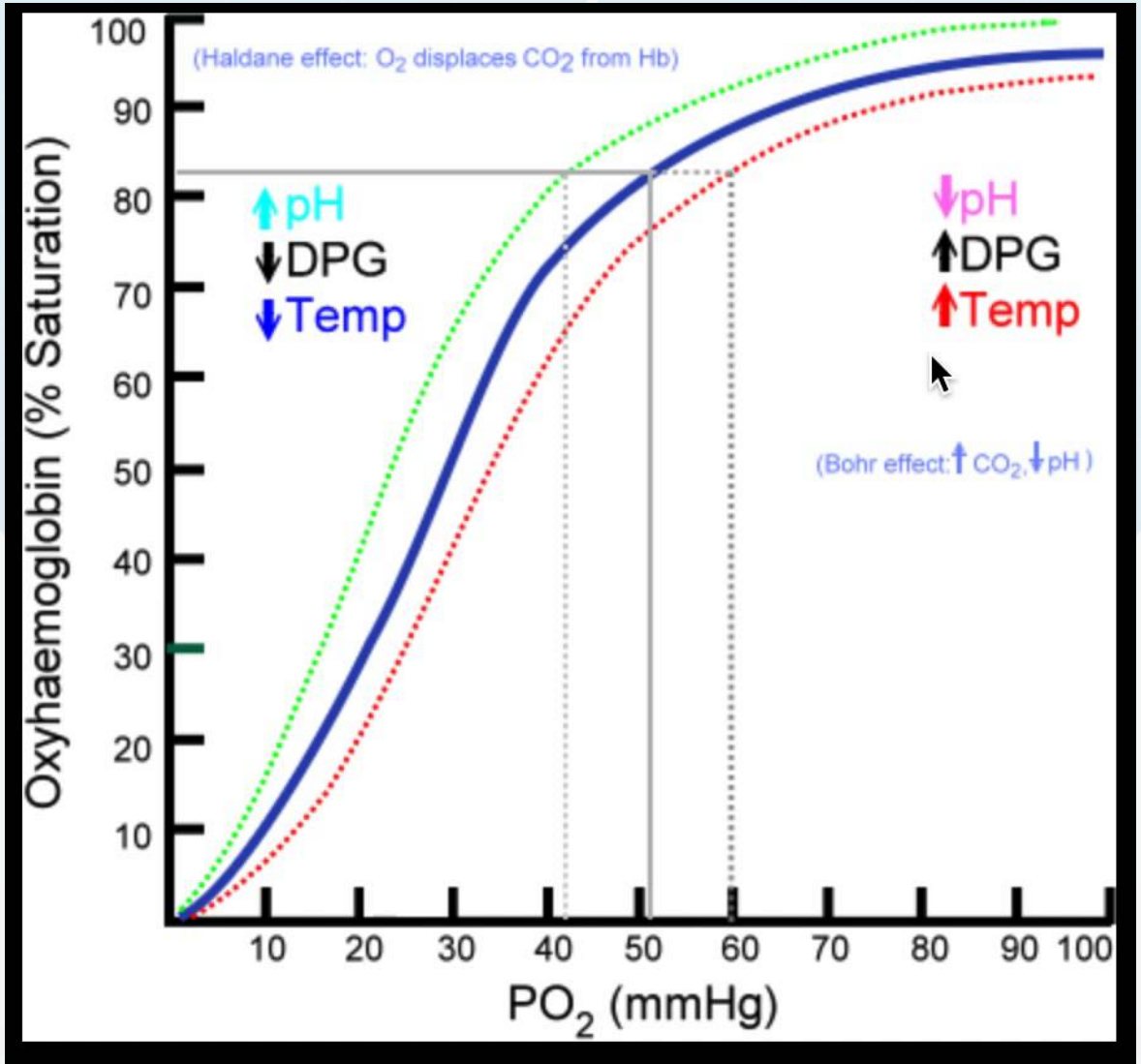
- המוגלובין בנוי במבנה רביעוני ותפקידו להוביל חמצן מהריאות אל הרקמות
- המבנה הרביעוני מיוצב בעיקר על ידי אינטרקציות הידרופוביות
- מנגנון הפעולה הוא קואופרטיבי ולכן העקומה של פעילותו/סטורציה תהיה סיגמואידלית
- הקבוצה קושרת החמצן היא קבוצת Heme בעזרת הברזל היודע לעבור בין 2+ ל 3
- קבוצת ה heme מורכבת מיחידות הקרויות פרוטופירין







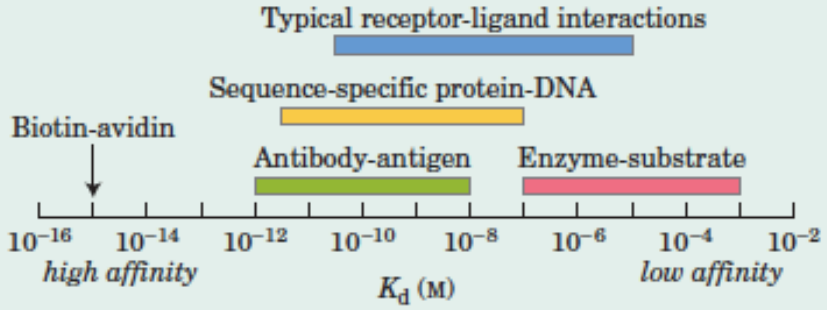
המוגלובין


(Haldane effect: O_2 displaces CO_2 from Hb)
↑pH
↓DPG
↓Temp
↓pH
↑DPG
↑Temp
(Bohr effect: ↑CO_2, ↓pH)
Oxyhaemoglobin (% Saturation)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
PO_2 (mmHg)

אפיניות .... אפיניות בכל מקום...

TABLE 5–1 Some Protein Dissociation Constants

Protein	Ligand	K_d (M)*
Avidin (egg white)	Biotin	1×10^{-15}
Insulin receptor (human)	Insulin	1×10^{-10}
Anti-HIV immunoglobulin (human)†	gp41 (HIV-1 surface protein)	4×10^{-10}
Nickel-binding protein (*E. coli*)	Ni^{2+}	1×10^{-7}
Calmodulin (rat)‡	Ca^{2+}	3×10^{-6}
		2×10^{-5}



Color bars indicate the range of dissociation constants typical of various classes of interactions in biological systems. A few interactions, such as that between the protein avidin and the enzyme cofactor biotin, fall outside the normal ranges. The avidin-biotin interaction is so tight it may be considered irreversible. Sequence-specific protein-DNA interactions reflect proteins that bind to a particular sequence of nucleotides in DNA, as opposed to general binding to any DNA site.

קו-אנזימים וקופקטורים

TABLE 6–2 Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

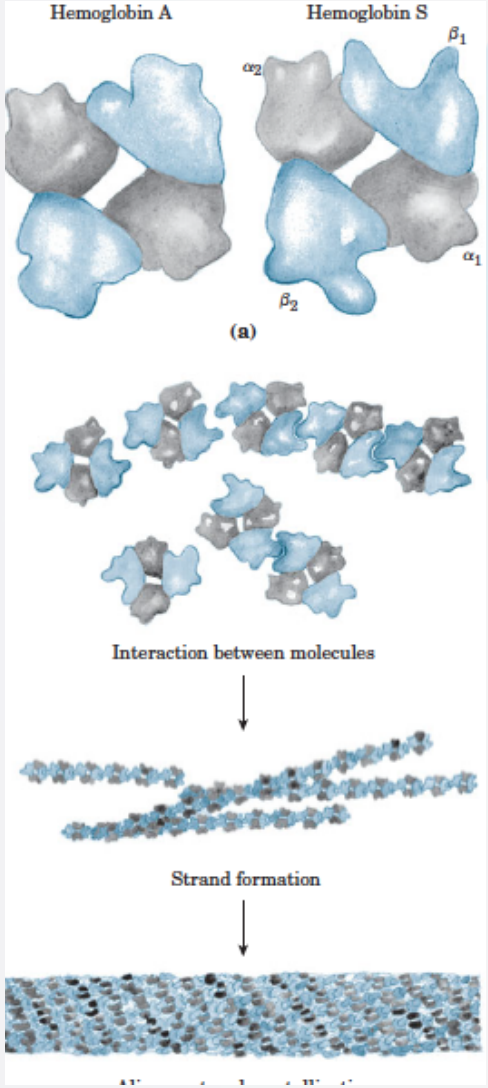
Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biocytin	CO_2	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5′-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B_{12})	H atoms and alkyl groups	Vitamin B_{12}
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B_2)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion ($:H^-$)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B_6)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B_1)

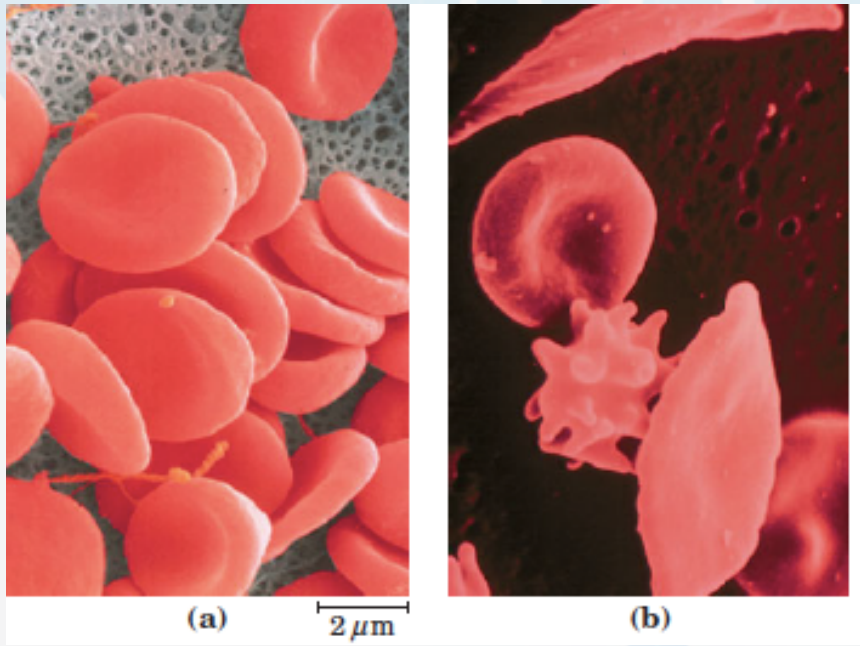
TABLE 6–1 Some Inorganic Ions That Serve as Cofactors for Enzymes

Ions	Enzymes
Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^+	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

אנמיה חרמשית

- תת יחידה בטא מוטנטית, מציגה ואלין במקום גלוטמאט.
- המוגלובין נורמאלי – A – נשאר מסיס לא משנה אם קשור לחמצן או לא
- המוגלובין של אנמיה חרמשית - S – כאשר אינו קושר חמצן הופך לאגרגטים סיביים השוקעים על הממברנה
- מחלה מעוררת כאב רב, סבל ומוות מוקדם





אנזימולוגיה

סוגי אנזימים

- סוגי האנזימים הקיימים בטבע:
  - Isomerases
  - Ligases
  - Oxydoreductases
  - Transferases
  - Hydrolases
  - Lyase

BOX 16–2 Synthases and Synthetases; Ligases and Lyases; Kinases, Phosphatases, and Phosphorylases: Yes, the Names Are Confusing!

Citrate synthase is one of many enzymes that catalyze condensation reactions, yielding a product more chemically complex than its precursors. **Synthases** catalyze condensation reactions in which no nucleoside triphosphate (ATP, GTP, and so forth) is required as an energy source. **Synthetases** catalyze condensations that *do* use ATP or another nucleoside triphosphate as a source of energy for the synthetic reaction. Succinyl-CoA synthetase is such an enzyme. **Ligases** (from the Latin *ligare*, "to tie together") are enzymes that catalyze condensation reactions in which two atoms are joined, using ATP or another energy source. (Thus synthetases are ligases.) DNA ligase, for example, closes breaks in DNA molecules, using energy supplied by either ATP or NAD^+; it is widely used in joining DNA pieces for genetic engineering. Ligases are not to be confused with **lyases**, enzymes that catalyze cleavages (or, in the reverse direction, additions) in which electronic rearrangements occur. The PDH complex, which oxidatively cleaves CO_2 from pyruvate, is a member of the large class of lyases.

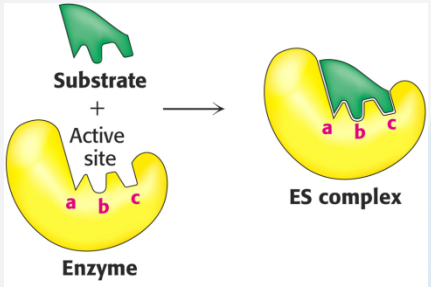
The name **kinase** is applied to enzymes that transfer a phosphoryl group from a nucleoside triphosphate such as ATP to an acceptor molecule—a sugar (as in hexokinase and glucokinase), a protein (as in glycogen phosphorylase kinase), another nucleotide (as in nucleoside diphosphate kinase), or a metabolic intermediate such as oxaloacetate (as in PEP carboxykinase). The reaction catalyzed by a kinase is a *phosphorylation*. On the other hand, *phosphorolysis* is a displacement reaction in which phosphate is the attacking species and becomes covalently attached at the point of bond breakage. Such reactions are catalyzed by **phosphorylases**. Glycogen phosphorylase, for example, catalyzes the phosphorolysis of glycogen, producing glucose 1-phosphate. *Dephosphorylation*, the removal of a phosphoryl group from a phosphate ester, is catalyzed by **phosphatases**, with water as the attacking species. Fructose bisphosphatase-1 converts fructose 1,6-bisphosphate to fructose 6-phosphate in gluconeogenesis, and phosphorylase *a* phosphatase removes phosphoryl groups from phosphoserine in phosphorylated glycogen phosphorylase. Whew!

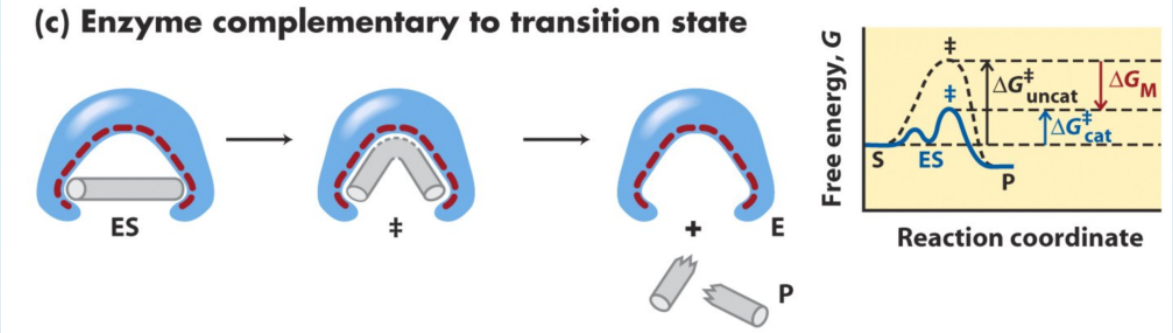
Unfortunately, these descriptions of enzyme types overlap, and many enzymes are commonly called by two or more names. Succinyl-CoA synthetase, for example, is also called succinate thiokinase; the enzyme is both a synthetase in the citric acid cycle and a kinase when acting in the direction of succinyl-CoA synthesis. This raises another source of confusion in the naming of enzymes. An enzyme may have been discovered by the use of an assay in which, say, A is converted to B. The enzyme is then named for that reaction. Later work may show, however, that in the cell, the enzyme functions primarily in converting B to A. Commonly, the first name continues to be used, although the metabolic role of the enzyme would be better described by naming it for the reverse reaction. The glycolytic enzyme pyruvate kinase illustrates this situation (p. 538). To a beginner in biochemistry, this duplication in nomenclature can be bewildering. International committees have made heroic efforts to systematize the nomenclature of enzymes (see Table 6–3 for a brief summary of the system), but some systematic names have proved too long and cumbersome and are not frequently used in biochemical conversation.

We have tried throughout this book to use the enzyme name most commonly used by working biochemists and to point out cases in which an enzyme has more than one widely used name. For current information on enzyme nomenclature, refer to the recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/nomenclature/).

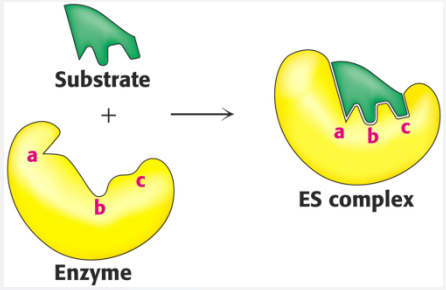
אנזימולוגיה

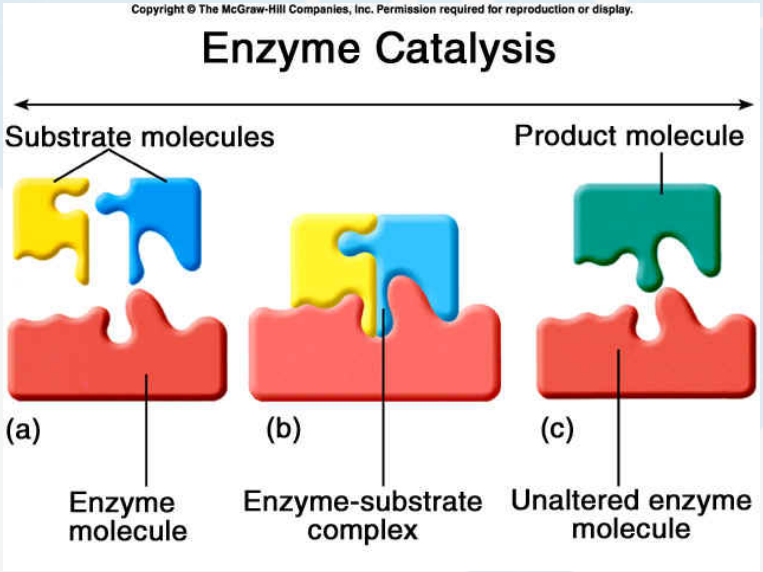
- Lock & key



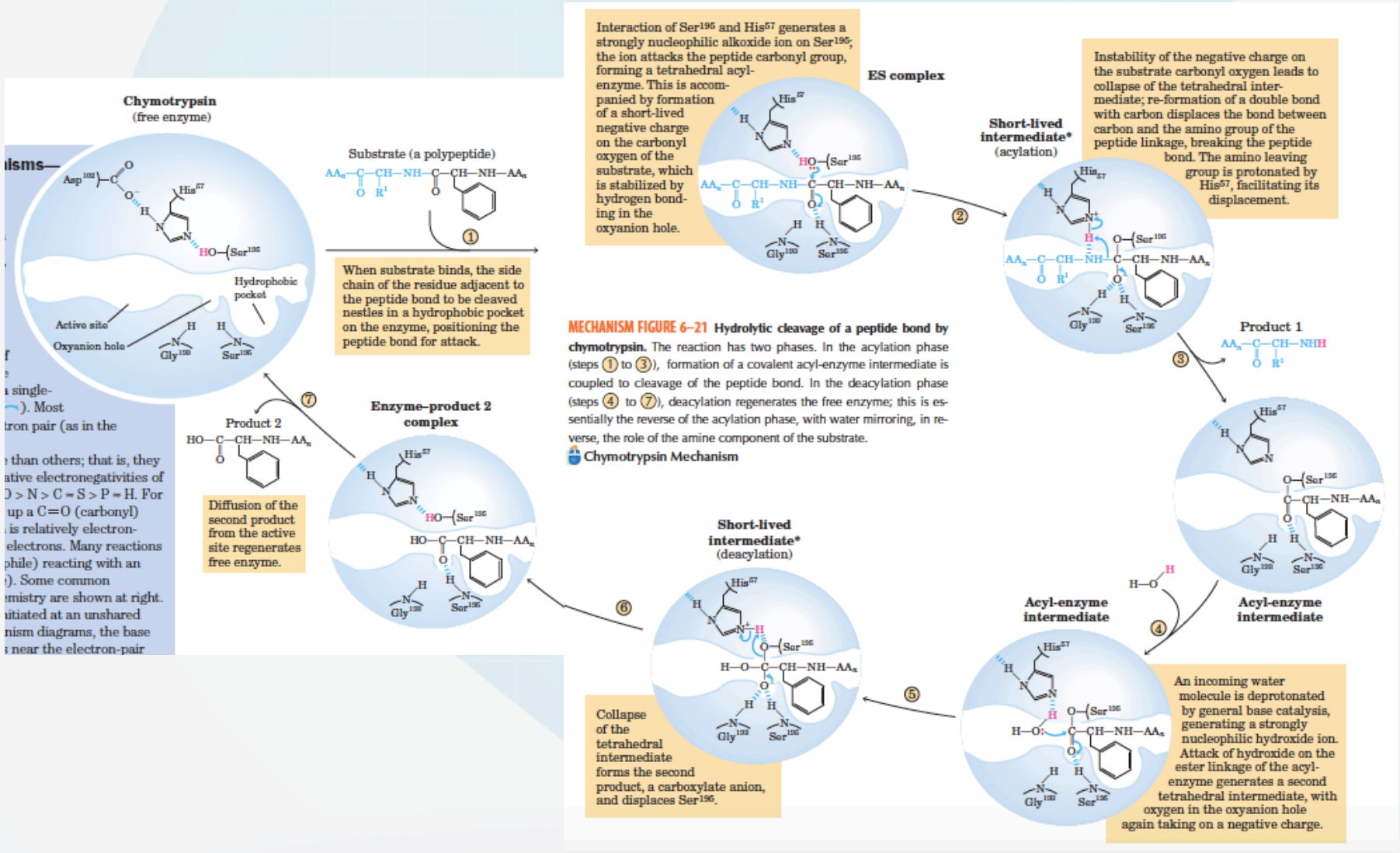


- Induced fit



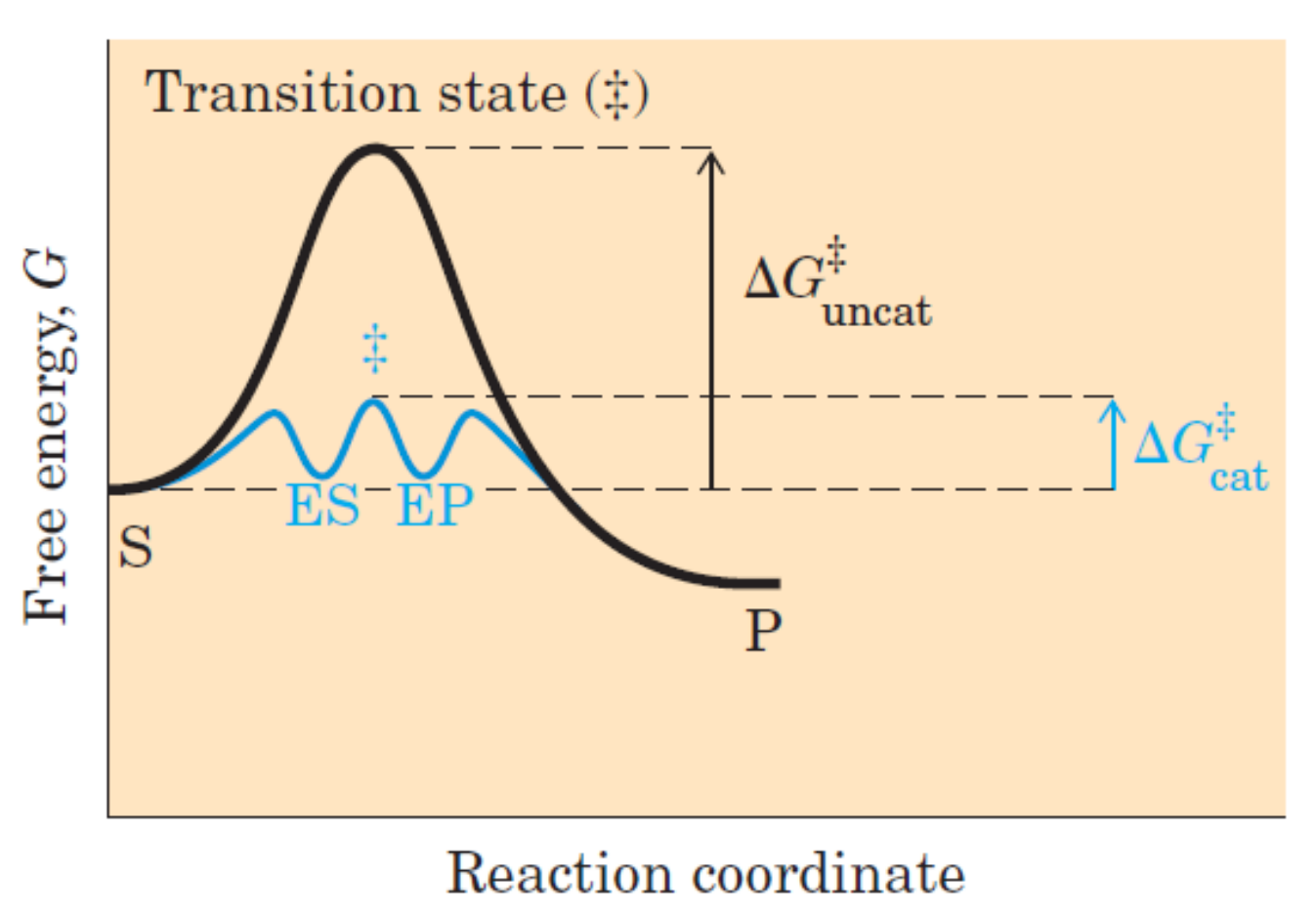


מנגנון של האנזים כימוטריפסין



קינטיקה אנזימתית

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P$$



מודל מיכאליס מנטן

$$S + E \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_{+2}}{\rightleftharpoons}} P + E$$

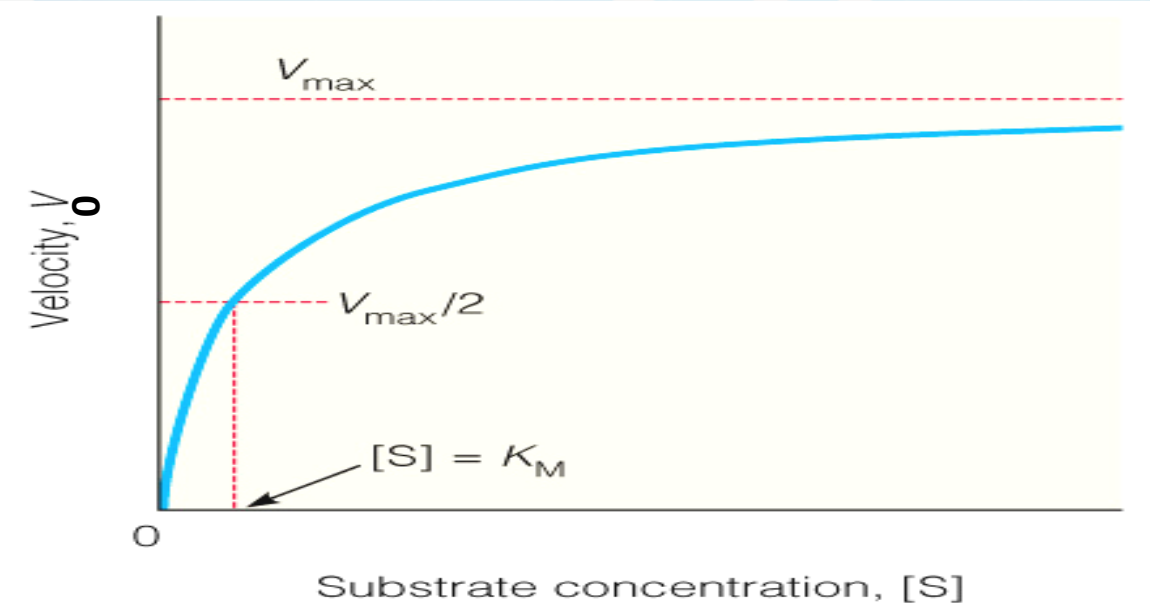
- על מנת לבצע השוואה נאותה בין אנזימים, נמדוד את פעילות האנזימים בזמן 0, שכן לאורך הזמן ריכוז הסובסטראט יורד והופך לתוצר, לכן יש לבחור נקודת זמן סטנדרטית – V0, ב עוד לא קיים תוצר.
- אם עוד לא קיים תוצר בזמן 0, הרי שניתן להזניח את k-2.
- נניח כי בכל רגע נתון, ריכוז הסובסטראט גדול משמעותית מריכוז האנזים,כך שהגורם שישפיע על קישור האנזים לסובסטראט הוא האפיניות בלבד.
- נניח ריאקציה מסדר ראשון בלבד
- נניח כי k2 הוא השלב קובע המהירות, ולכן מהירות הריאקציה בזמן 0 נקבעת על ידי הנוסחא: V_0=K2[ES}
- נניח מצב יציב של ריכוז הקומפלקס אנזים סובסטראט ES

$$\text{Rate of ES formation} = k_1([E_t] - [ES])[S]$$

$$\text{Rate of ES breakdown} = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

מודל מיכאליס מנטן

- משוואת מיכאלס מנטן



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

מודל מיכאליס מנטן

- נגזר מהפיתוח של הנוסחא ומהווה מדד להתפרקות הקומפלקס אנזים סובסטראט לעומת היווצרותו. במקרי קצה בהם האנזים איטי מאד, ניתן להזניח את k2 ולומר כי Km הוא בקורלציה לאפיניות

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

- Kcat הוא המספר המקסימאלי של ריאקציות אנזימטיות הניתנות ביחידת זמן – המדד האמין ביותר לטיבו של האנזים

$$\frac{V_{\max}}{[E_t]} = k_2 = k_{cat}$$

מודל מיכאליס מנטן

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

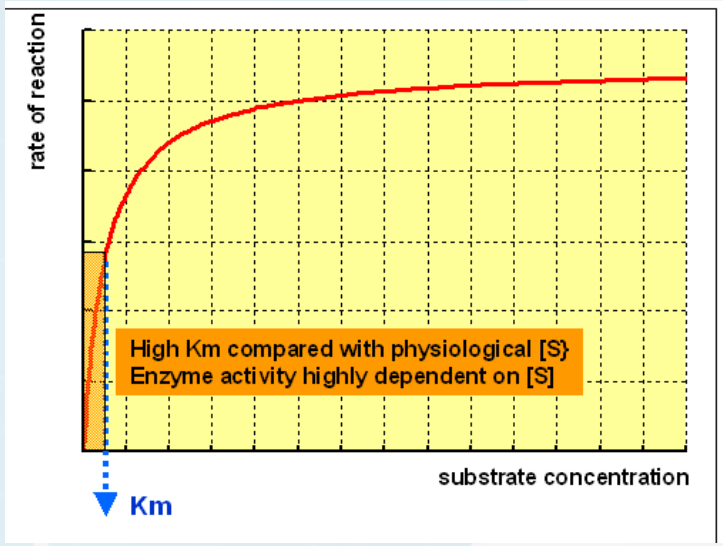
- [S]<<Km

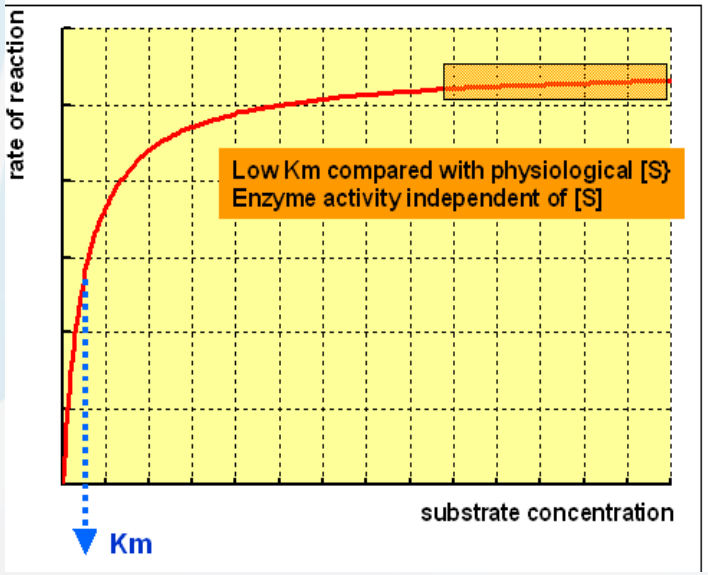
$$V_0 = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m}$$

[S]>>Km

$$V_0 = V_{max}$$

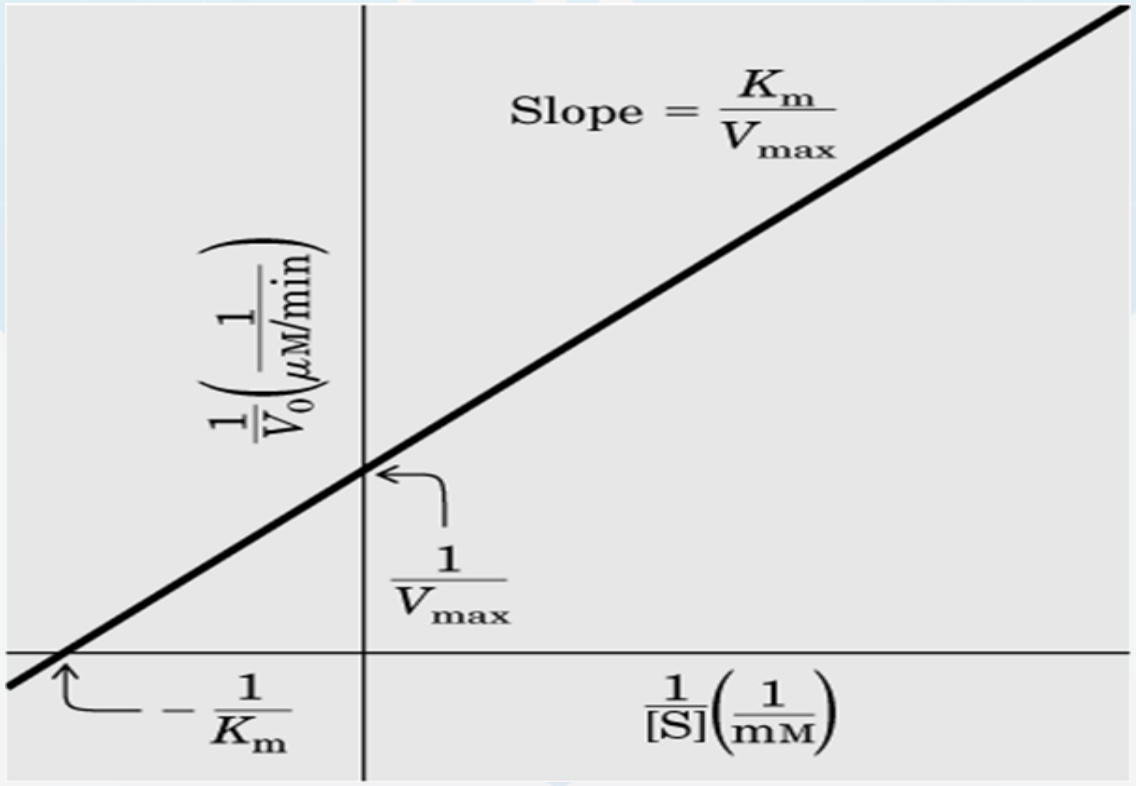
km=[S] => V0=Vmax/2





משוואת ליינוואבר ברק

$$\frac{1}{V_0} = \frac{Km}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

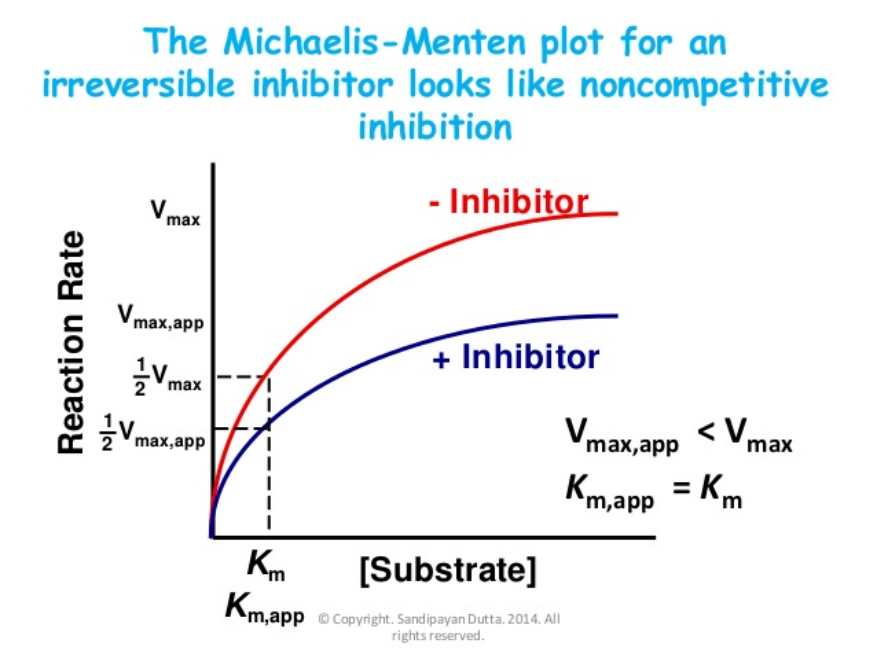


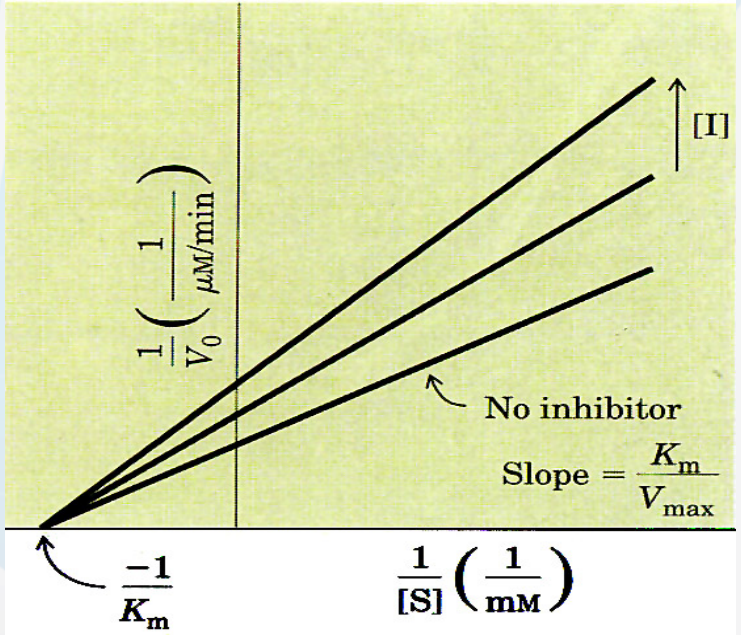
מעכבים

- מעכב בלי הפיך
- מעכב הפיך
  - תחרותי
  - בלתי תחורתי Un
  - משולב
    - אל-תחרותי non

מעכב בלתי הפיך

- נקשר קוולנטית לאנזים ומעכב אותו
- יכול לסייע במעבדה בזיהוי ריכוז האנזים במידה ואיננו ידוע
- מכיוון שהוא מפחית את כמות האנזימים הפעילים, הוא יפחית את ה Vmax, לא משפיע על km

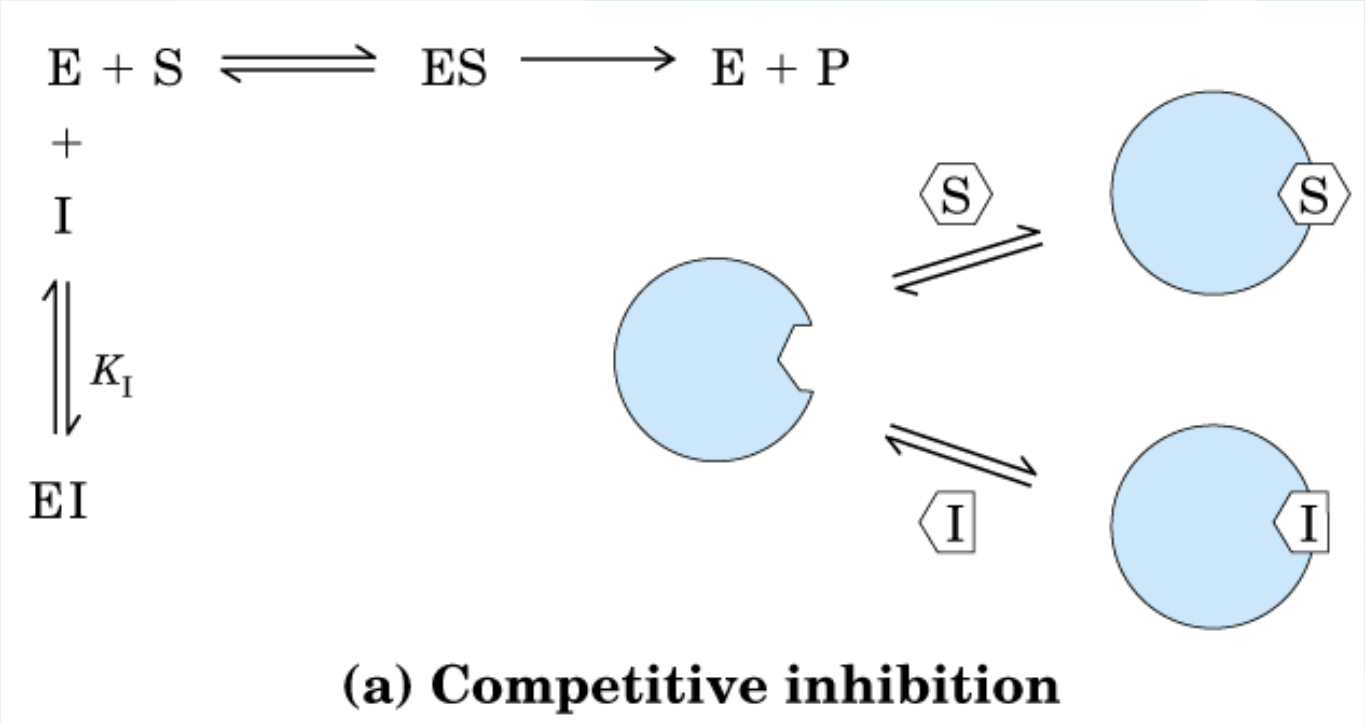




מעכבים הפיכים

- כעת נעבור על המעכבי ההפיכים: תחרותי, לא תחרותי ומשולב ומקרה פרטי של מעכב משולב.
- בכל מעכב נבדוק את הפרמטרים הבאים:
  - האם המעכב דומה לסובסטראט?
  - האם המעכב נקשר לאתר הפעיל או לאתר אקראי?
  - האם המעכב נקשר לאנזים החופשי או לקומפלקס אנזים סובסטראט?
  - מה דינו של Vmax?
  - מה דינו של Km?
  - כיצד נראים הגרפים "מיכאליס מנטן" ו"ליינוואבר ברק"?

מעכב תחרותי



(a) Competitive inhibition

המעכב דומה לסובסטראט!
המעכב נקשר לאתר הפעיל!
המעכב נקשר לאנזים החופשי
Vmax? לא משתנה
Km? עולה פי הפקטור α

$$Km_{app} = \alpha Km$$

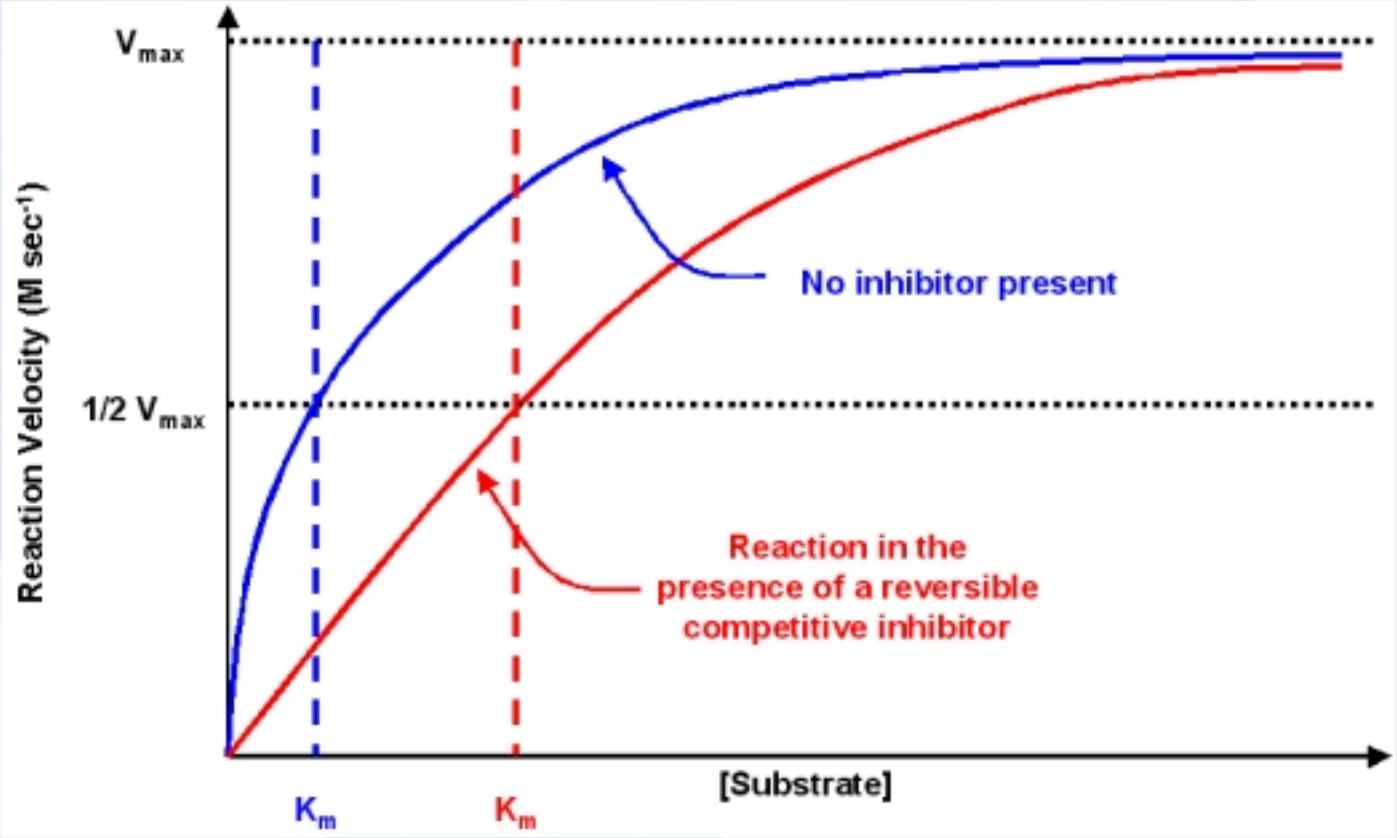
$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

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

מעכב תחרותי

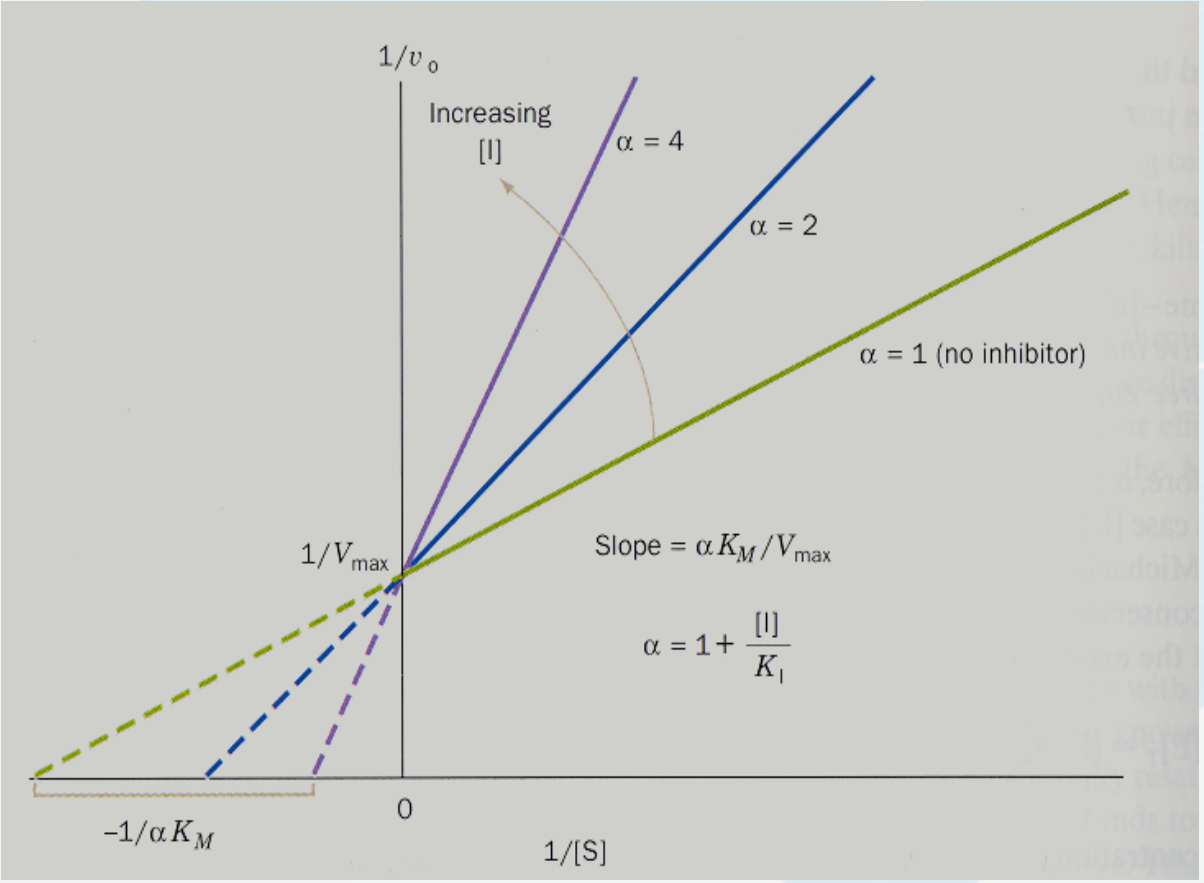
לא Vmax – משתנה

Km – עולה

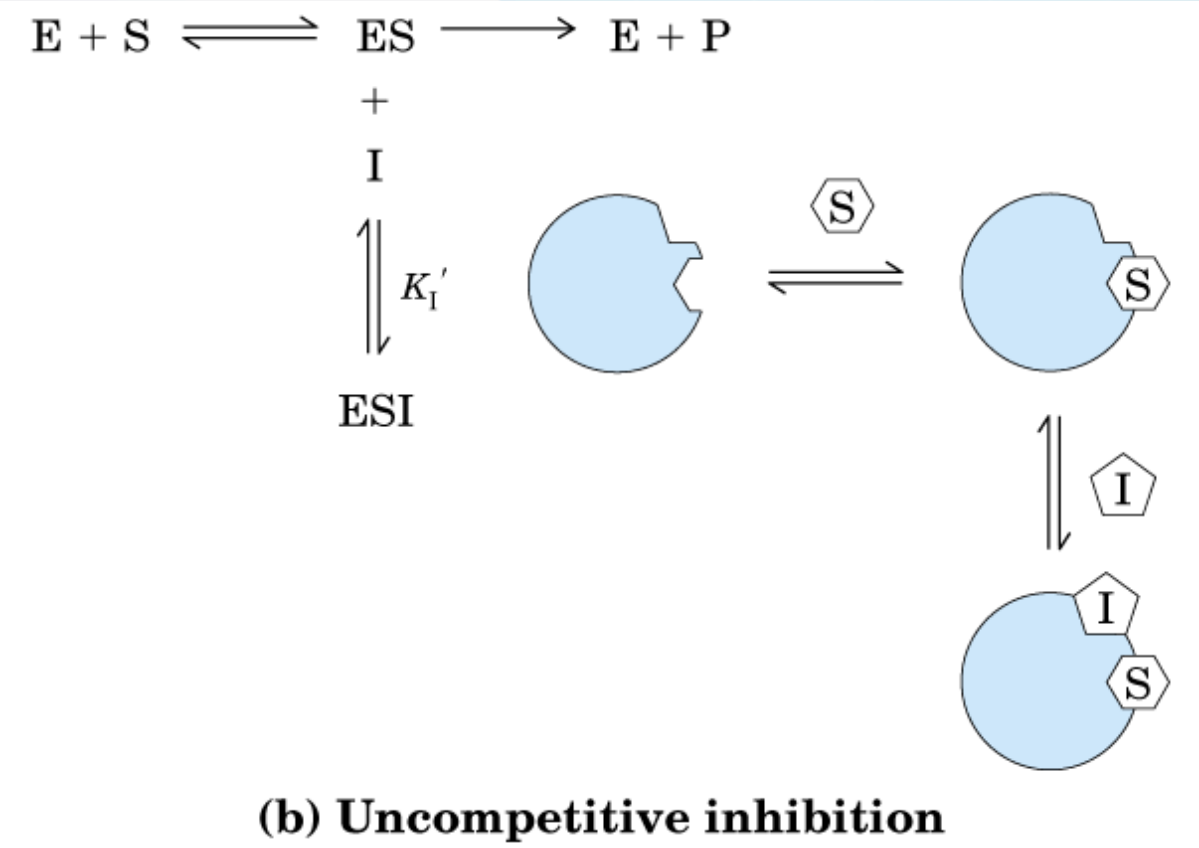


מעכב תחרותי

$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_m \alpha}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



Uncompetitive - מעכב לא תחרותי



(b) Uncompetitive inhibition

המעכב אינו דומה לסובסטראט!
המעכב נקשר לאתר אקראי!
המעכב נקשר לקומפלקס אנזים סובסטראט
Vmax? יורד פי α'
Km? יורד פי α'

$$Km_{app} = Km/\alpha'$$

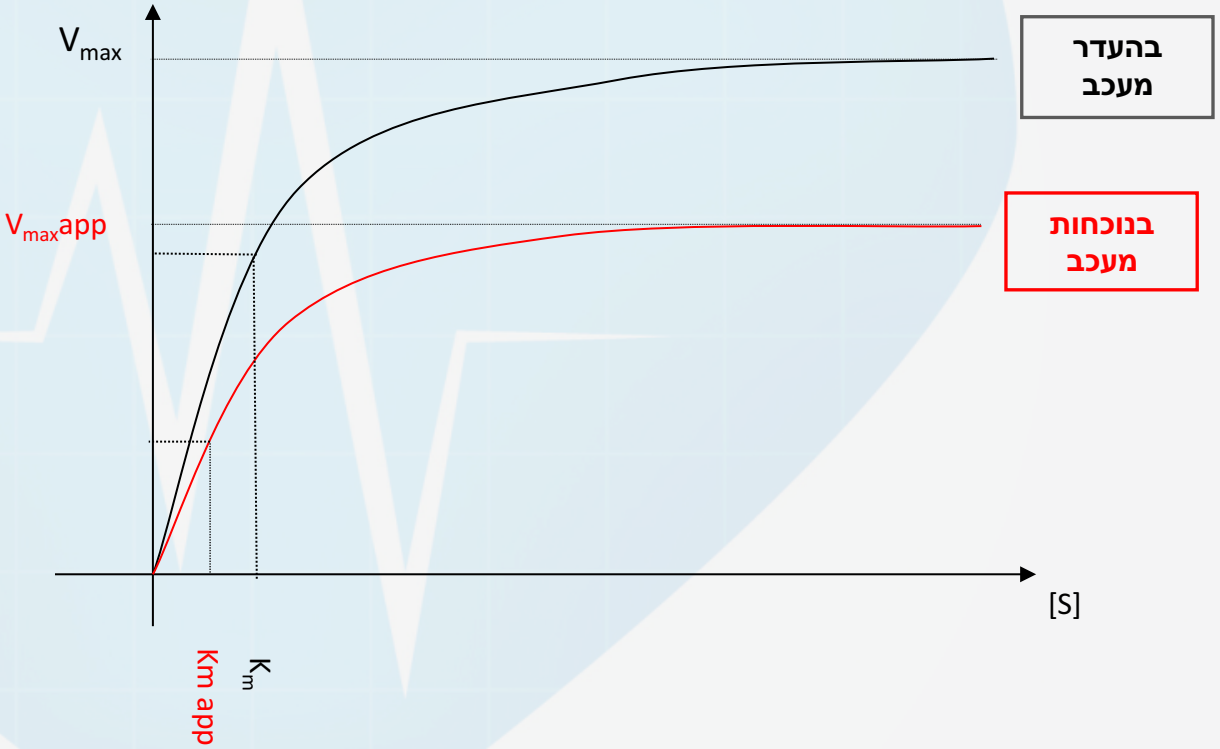
$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + \alpha'[S]}$$

$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I} \qquad K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

מעכב לא תחרותי - Uncompetitive

– Vmax יורד

– Km יורד

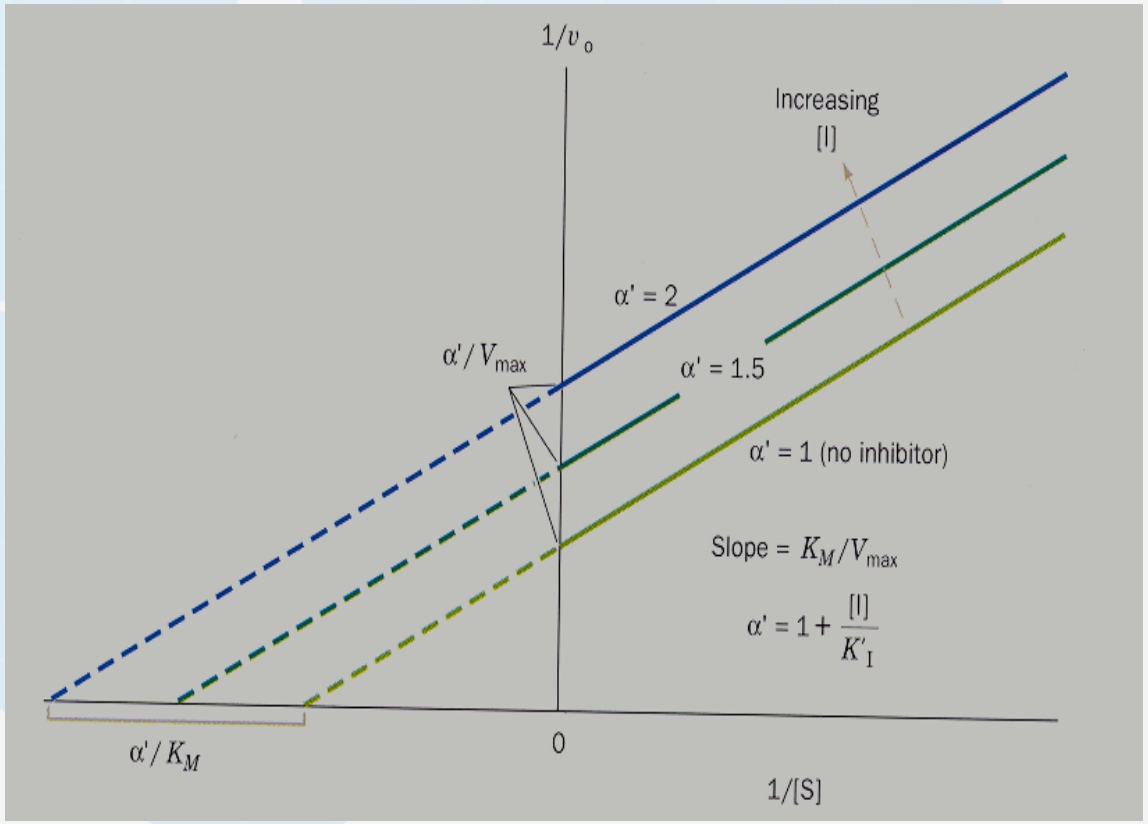


Uncompetitive - מעכב לא תחרותי

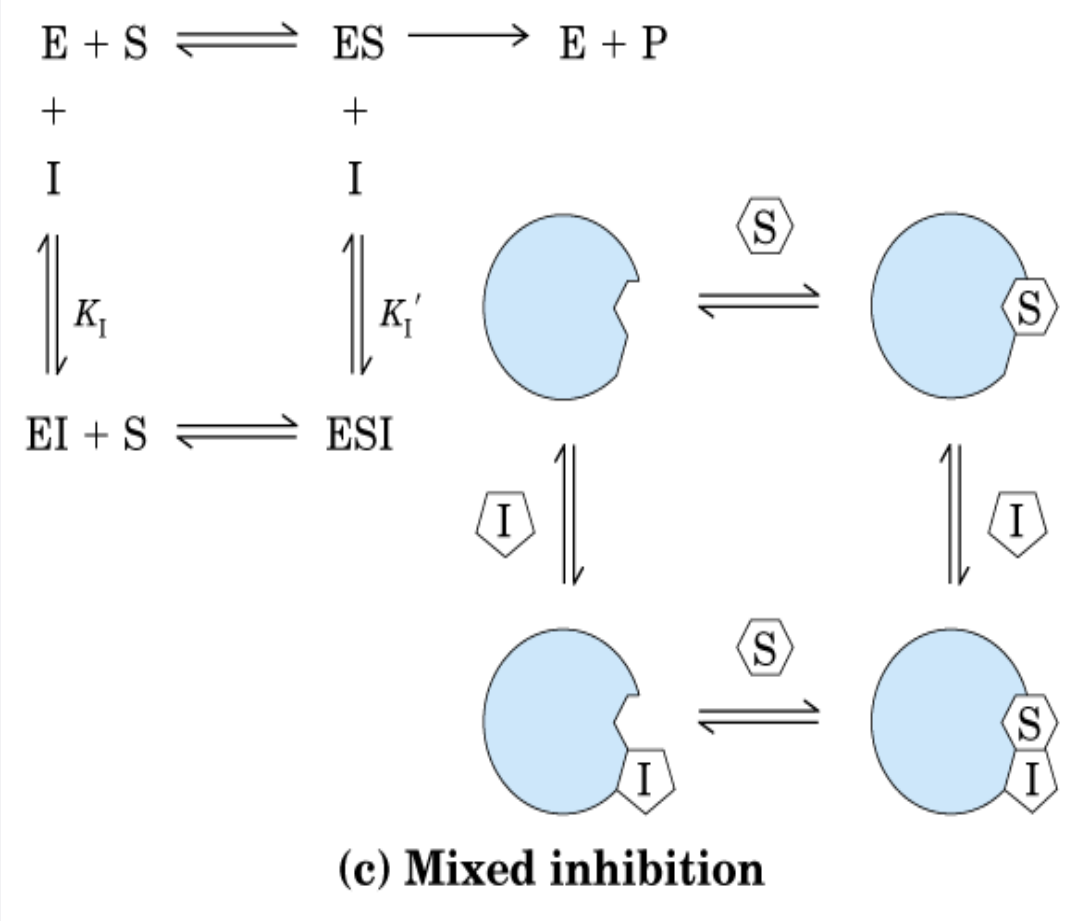
$V_{max\,app} = V_{max}/\alpha'$

$K_{m\,app} = K_m/\alpha'$

$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



מעכב משולב - mixed



(c) Mixed inhibition

המעכב אינו דומה לסובסטראט!

המעכב נקשר לאתר אקראי!

המעכב נקשר לקומפלקס אנזים סובסטראט ולאנזים החופשי

Vmax? יורד פי α'

Km? יורד פי α' ועולה פי α

מעכב משולב - mixed

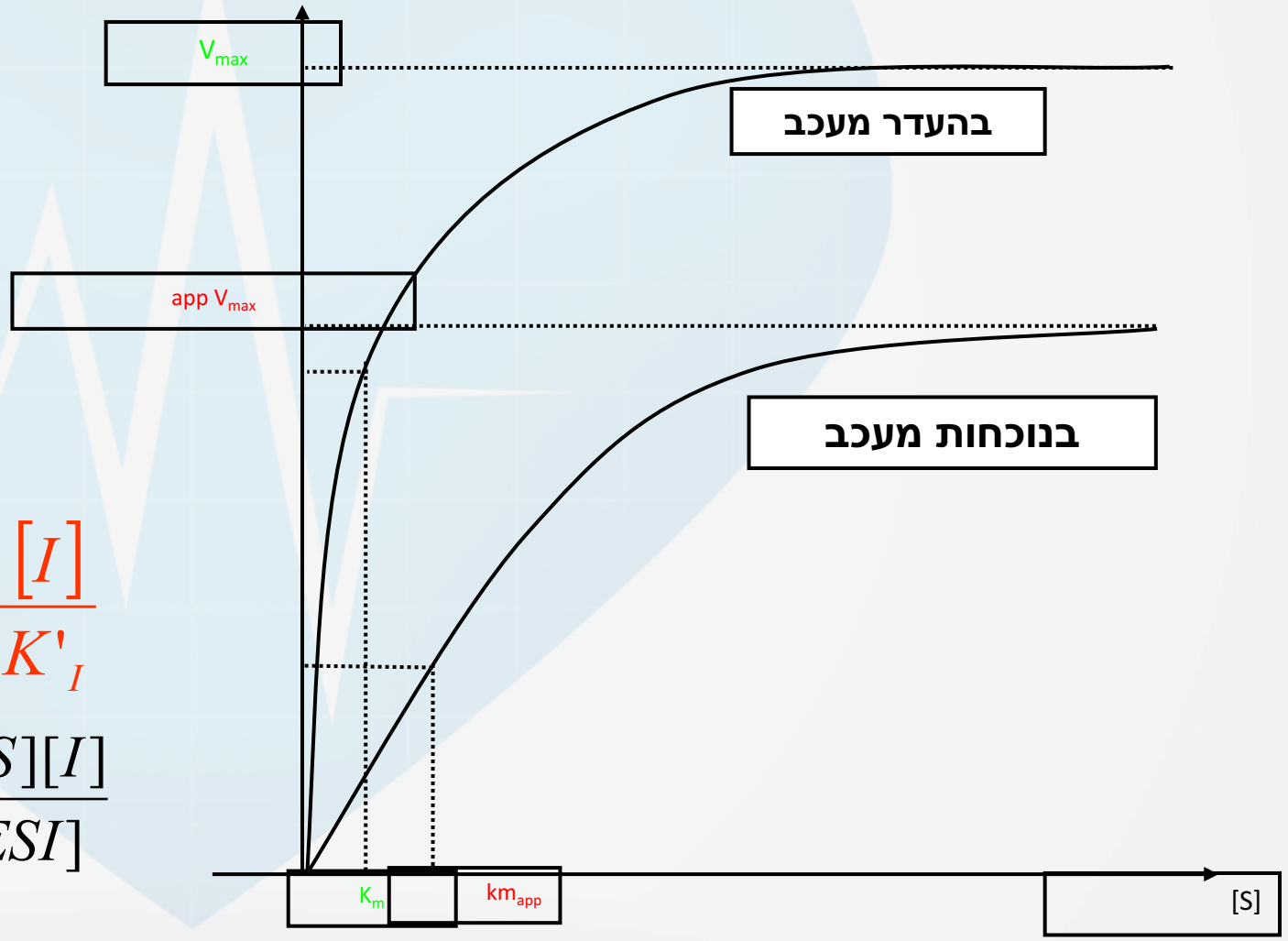
$Vmax_{app} = Vmax/\alpha'$

$Km_{app} = Km\ \alpha/\alpha'$

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

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \qquad \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I}$$

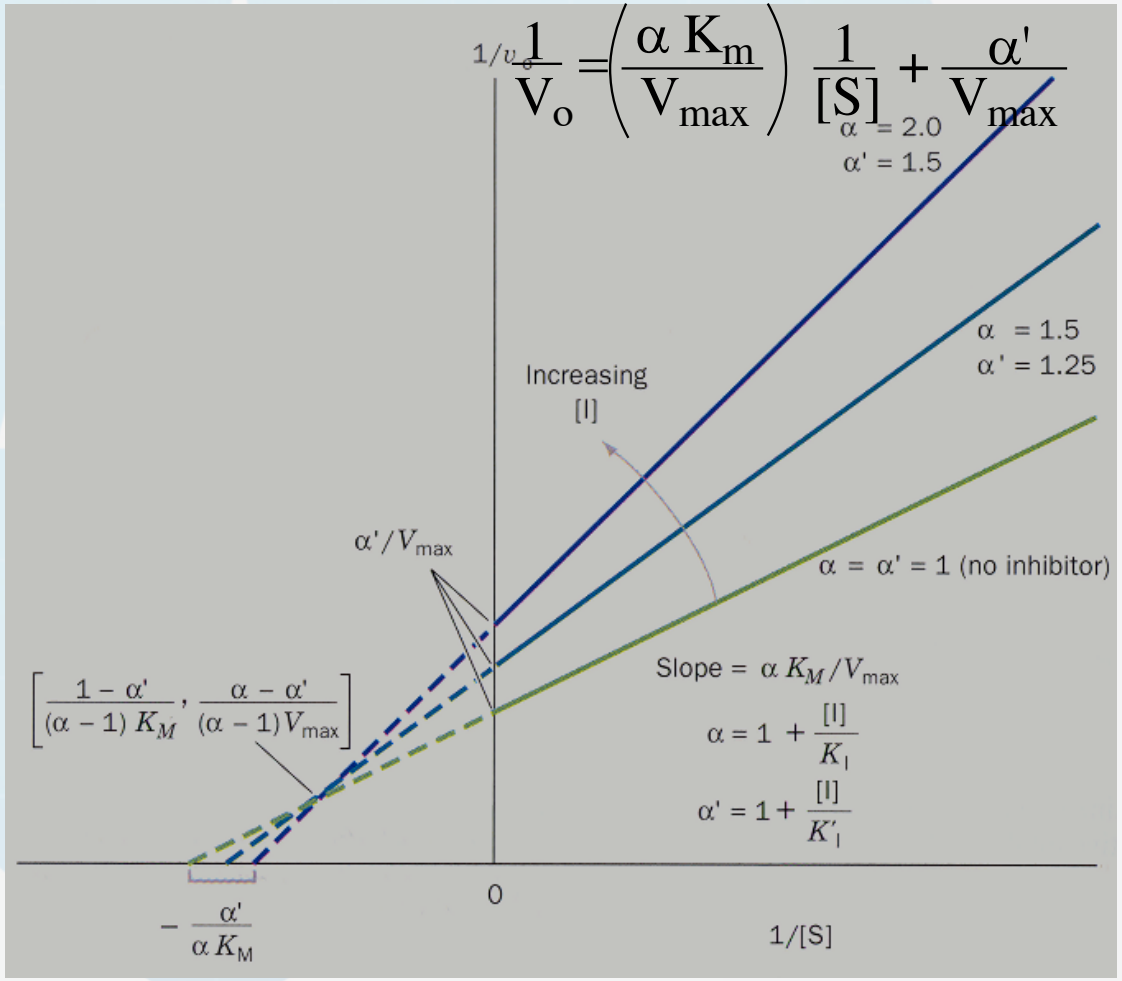
$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \qquad K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$



מעכב משולב - mixed

$Vmax_{app} = Vmax/\alpha'$

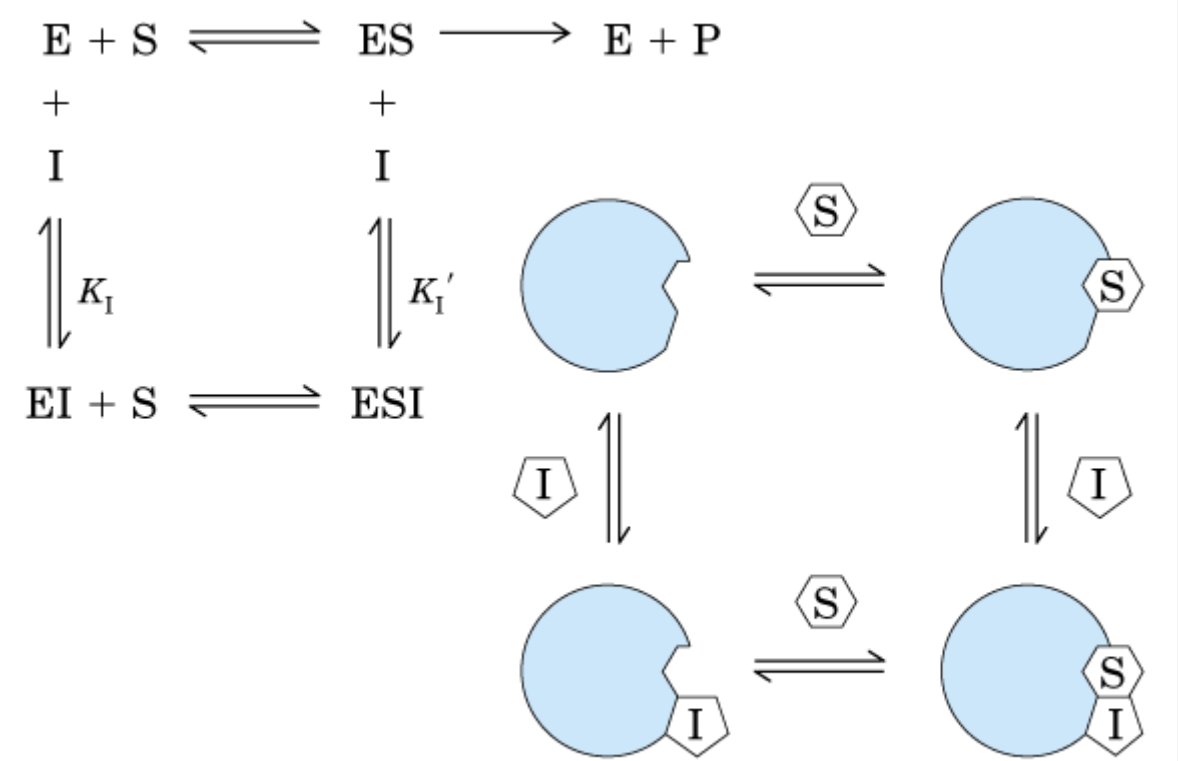
$Km_{app} = Km\alpha/\alpha'$



מעכב אל - תחרותי - non competitive

$$\alpha = \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

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



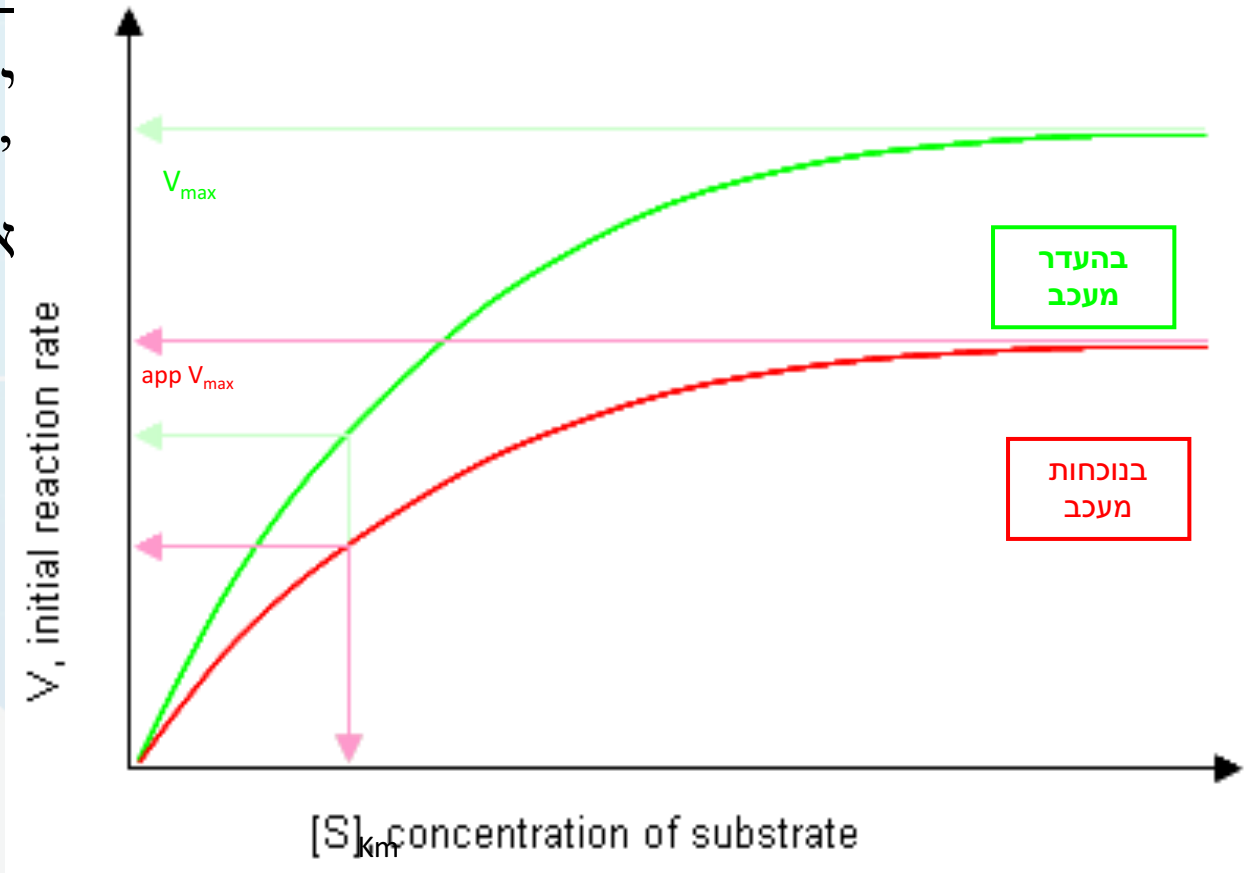
(c) Mixed inhibition

מעכב אל - תחרותי - non competitive

$Vmax_{app} = Vmax/\alpha'$ - יורד

$Km_{app} = \alpha Km/\alpha'$

איננו משתנה

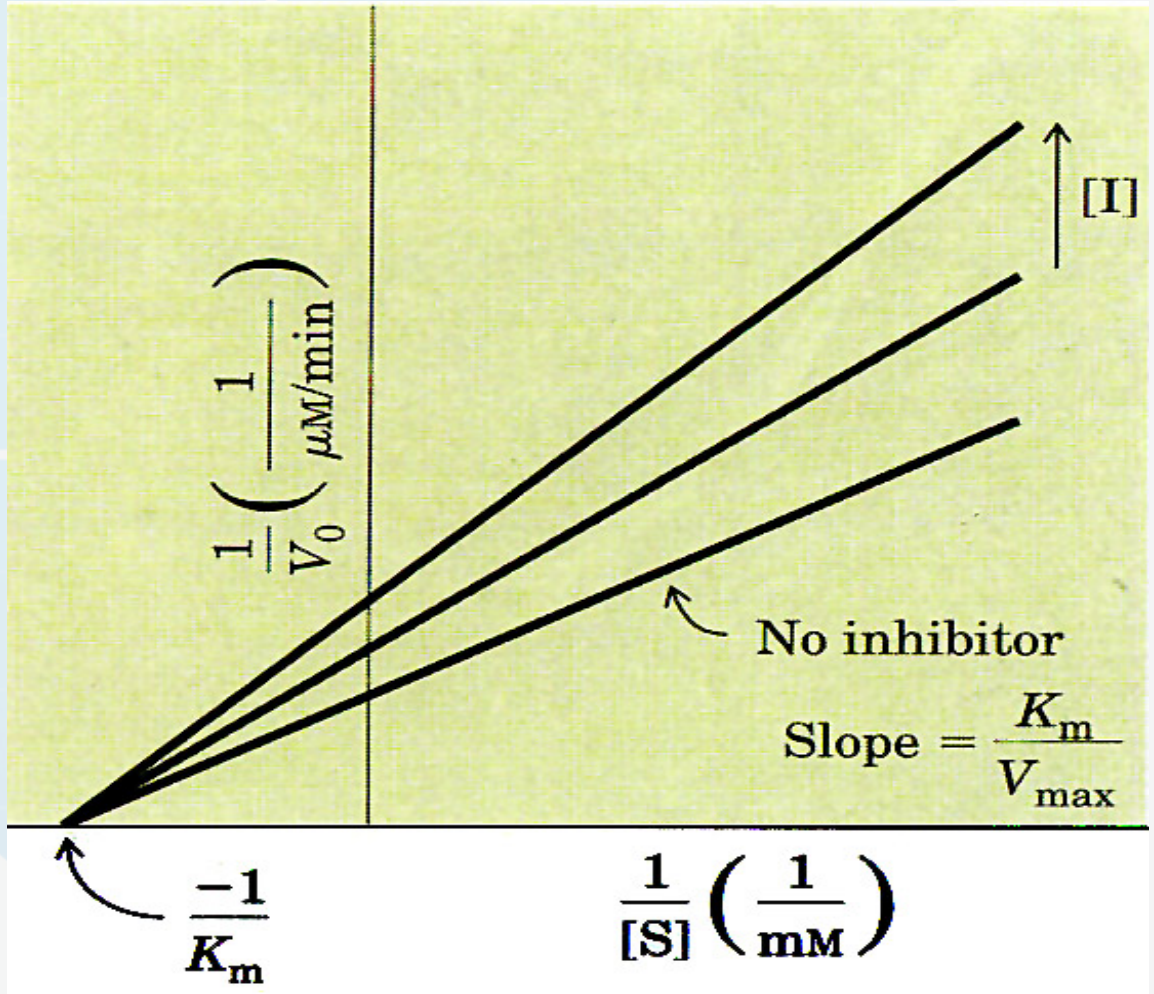


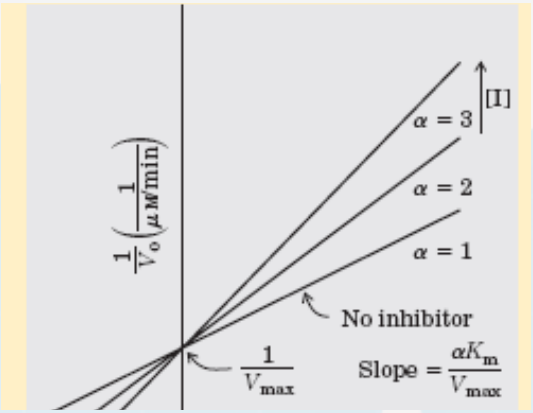
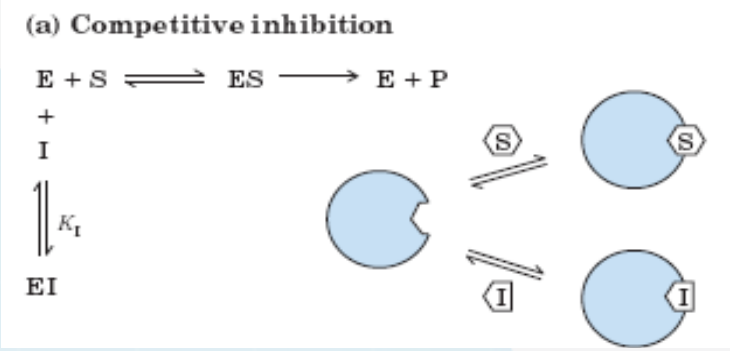
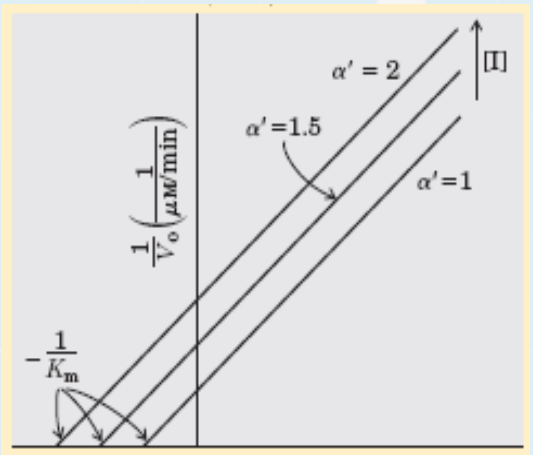
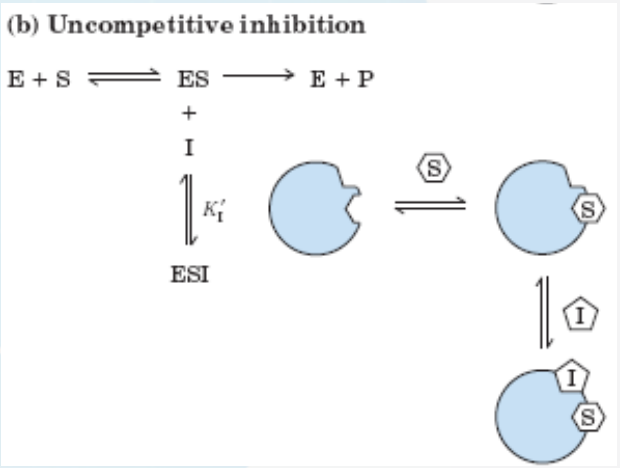
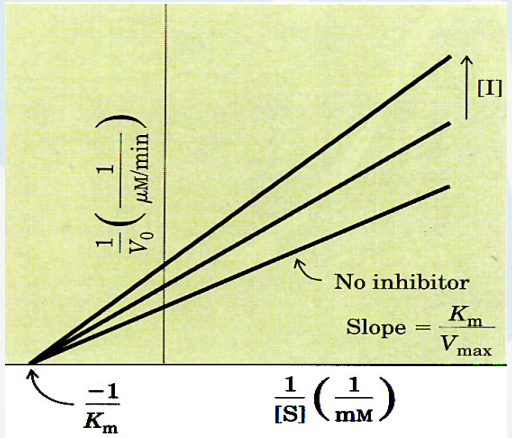
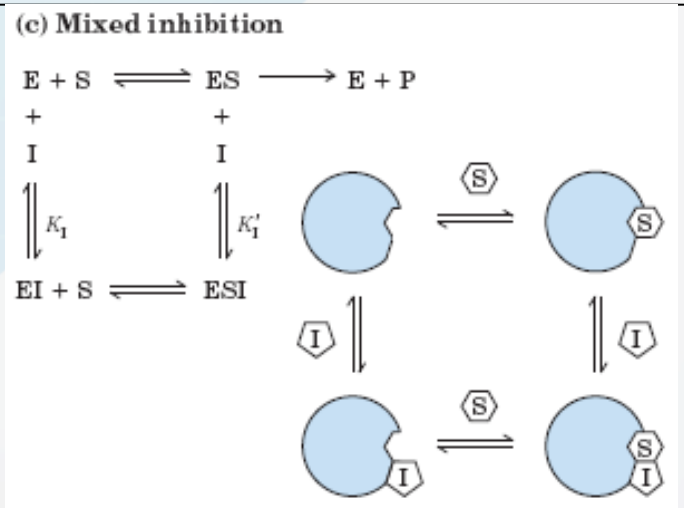
$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$$

מעכב אל - תחרותי - non competitive

Vmax $_{app}$ = Vmax/ α' - יורד

Km $_{app}$ =– kt na,bv.



V_{max}	α ↑		
$\frac{V_{max}}{\alpha'}$ ↓	$\frac{K_m}{\alpha'}$ ↓		
$\frac{V_{max}}{\alpha'}$ ↓	$\frac{\alpha}{\alpha'} K_m$ ↑↓		
Noncompetitive (Ki=K'i)			
$\frac{V_{max}}{\alpha'}$ ↓	K_m		

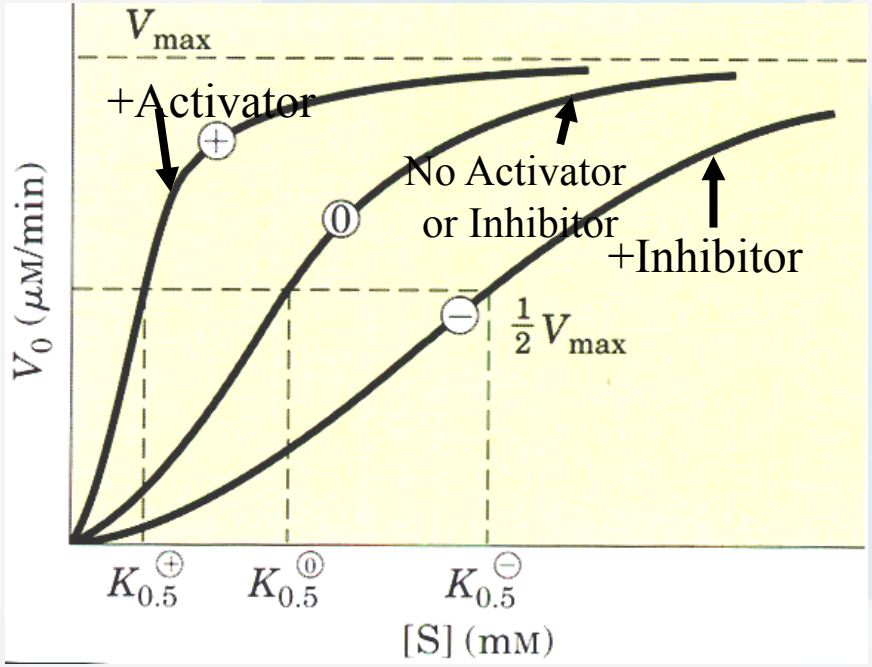
השפעת האנזימים

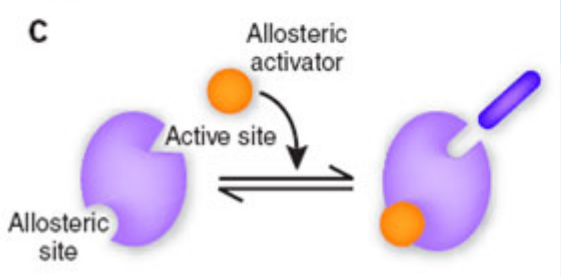
TABLE 6–9 Effects of Reversible Inhibitors on Apparent V_{max} and Apparent K_m

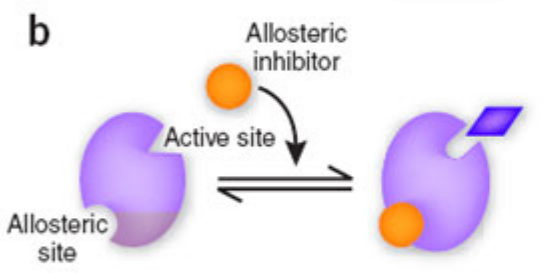
Inhibitor type	*Apparent V_{max}*	*Apparent K_m*
None	V_{max}	K_m
Competitive	V_{max}	αK_m
Uncompetitive	V_{max}/α'	K_m/α'
Mixed	V_{max}/α'	$\alpha K_m/\alpha'$
Non-competitive	V_{max}/α'	K_m

אנזימים אלוסטרים

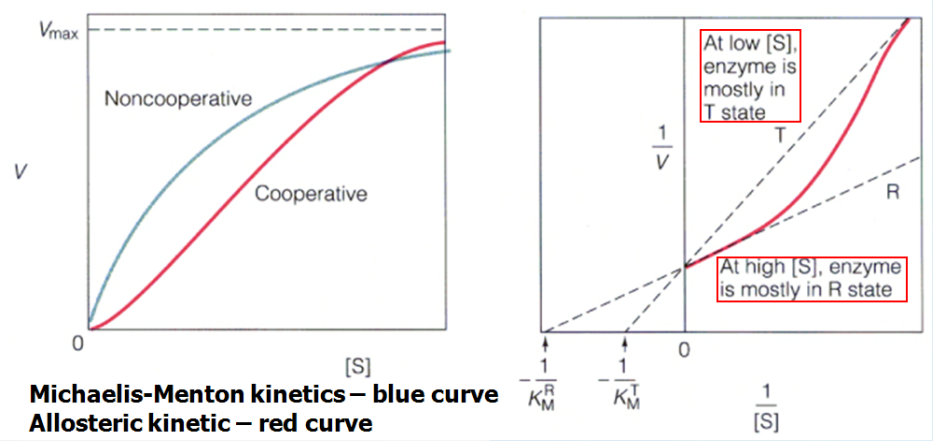
- אלו הם אנזימים אשר משנים את המבנה שלהם לאחר שקשרו אקטיבטור או מעכב ובנויים ממספר יחידות הנותנות תפקוד קיאופורטיבי
- כל יחידה משפיעה על האפיניות והפעילות של היחידות האחרות, בדומה (אך להבדיל) מהמוגלובין
- הרגולציה נחשבת לאלוסטרית ואיננה חלק ממודל מיכאליס מנטן



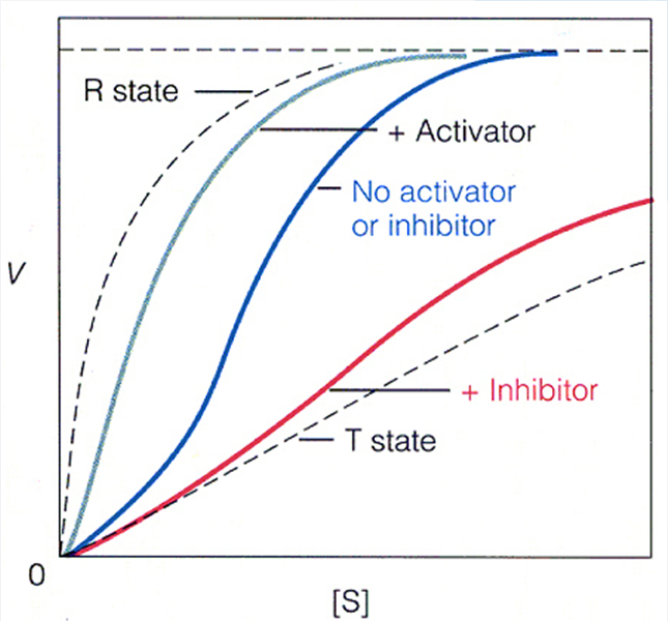




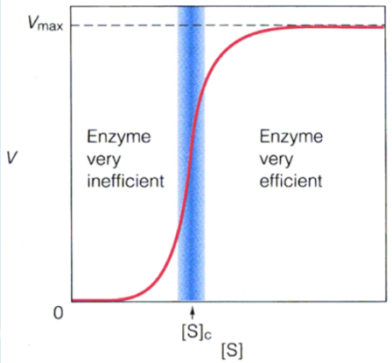
אנזימים אלוסטרים



Michaelis-Menton kinetics – blue curve
Allosteric kinetic – red curve



- **Homoallosteric regulation**



- **Heteroallosteric regulation**