

Член-корреспондент АН СССР М. В. ВОЛЬКЕНШТЕЙН, Ю. Б. МАГАРШАК,
В. Е. СТЕФАНОВ

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ДИАГРАММ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ КИНЕТИКИ

В работах ^(1, 2) был разработан диаграммный метод решения задач быстро-равновесной ферментативной кинетики. В настоящей работе рассмотрены преобразования диаграмм, заключающиеся в объединении двух или более ее вершин. Объединению вершин диаграммы соответствует несколько различных случаев, реализуемых в конкретных ферментативных процессах. В ферментативных реакциях, катализируемых ферментами, состоящими из субъединиц, может образоваться несколько ферментсодержащих комплексов, в которых каждый реагент связывает одинаковое число активных центров; такие вершины могут быть объединены, что соответствует переходу от детальной к совмещенной диаграмме реакции ⁽³⁾. Аналогичная ситуация имеет место для ферментов, находящихся в нескольких активных конформациях: модель Мопо, Шанжё и Уаймса ⁽⁴⁾, модель Уайтхеда ⁽⁵⁾ и др. Объединение вершин диаграммы имеет место также при фиксировании концентраций одного или нескольких реагентов реакции. В частности, фиксирование концентраций всех реагентов сводит исходную диаграмму к элементарной, состоящей из единственной вершины с выходящей из нее волнистой линией и соответствующей экспериментально измеренному при данных зафиксированных концентрациях реагентов значению скорости реакции.

Найдем правила, по которым преобразуются элементы диаграммы, потребовав, чтобы скорость реакции, найденная по преобразованной диаграмме, по правилам, выведенным в работах ^(1, 2), равнялась скорости, полученной из исходной диаграммы. Этому требованию можно удовлетворить, выбрав следующие значения величин цепей преобразованной диаграммы.

$$M^*[x \rightarrow y] = \frac{\sum_{s \subset d_y} M[i \rightarrow s]}{\sum_{s \subset d_x} M[i \rightarrow s]}, \quad \Pi^*[x \rightarrow y] = \frac{\sum_{s \subset d_y} \Pi[i \rightarrow s]}{\sum_{s \subset d_x} \Pi[i \rightarrow s]}, \quad (1)$$

где x — вершина преобразованной диаграммы D^* , образовавшаяся в результате объединения вершин d_x исходной диаграммы D ; y — вершина преобразованной диаграммы D^* , образовавшаяся в результате объединения вершин d_y исходной диаграммы D .

Покажем, что при определенных по формуле (1) величинах цепей диаграммы скорость реакции не изменяется. В самом деле

$$\begin{aligned} v^* &= \frac{\sum_{y \subset D^*} \Pi^*[x \rightarrow y]}{\sum_{y \subset D^*} M^*[x \rightarrow y]} = \frac{\sum_{y \subset D^*} \left(\frac{\sum_{s \subset d_y} \Pi[i \rightarrow s]}{\sum_{s \subset d_x} M[i \rightarrow s]} \right)}{\sum_{y \subset D^*} \left(\frac{\sum_{s \subset d_y} M[i \rightarrow s]}{\sum_{s \subset d_x} M[i \rightarrow s]} \right)} = \\ &= \frac{\sum_{s \subset D} \Pi[i \rightarrow s]}{\sum_{s \subset D} M[i \rightarrow s]} = v, \end{aligned}$$

что и требовалось доказать.

Аналогично можно показать, что для всех вершин преобразованной диаграммы $M^*[x \rightarrow y]M^*[y \rightarrow z] = M^*[x \rightarrow z]$, а также, что $M^*[x \rightarrow x] = 1$ и что произведение величин дуг преобразованной диаграммы не зависит от цепи.

Для того чтобы выразить величины дуг преобразованной диаграммы через величины дуг исходной диаграммы, целесообразно ввести в рассмотрение подсеть d_y исходной диаграммы D , состоящую из объединяемых в вершину y преобразованной диаграммы вершин исходной диаграммы и соединяющих их дуг. Величина дуги $a_{y_1 y_2}$ преобразованной диаграммы D^* , выходящей из вершины y_1 и входящей в вершину y_2 , равна

$$a_{y_1 y_2}^{D^*} = \frac{M_{D^*}[x_1 \rightarrow y_2]}{M_{D^*}[x_1 \rightarrow y_1]} = \frac{\sum_{s \in d_{y_2}} M[i \rightarrow s]}{\sum_{s \in d_{y_1}} M[i \rightarrow s]} = \frac{H_{d_{y_2}}(i_1)}{H_{d_{y_1}}(i_1)} a_{i_1}^{D^*} \quad (2)$$

здесь $H_{d_{y_2}}(j_1)$ — величина подсети d_{y_2} диаграммы D , в которой входом является вершина j_1 ; $H_{d_{y_1}}(i_1)$ — величина подсети d_{y_1} диаграммы D , в которой

входом является вершина i_1 .

Если вершина j_1 при преобразовании не объединяется с другими вершинами диаграммы, то $H(j_1) = 1$ и, следовательно, $a_{y_1 y_2}^{D^*} = a_{i_1}^{D^*} / H(i_1)$. Если же при преобразовании с другими вершинами диаграммы не объединяется вершина i_1 , то $H(i_1) = 1$; в этом случае $a_{y_1 y_2}^{D^*} = a_{i_1}^{D^*} H(j_1)$.

На рис. 1 изображена диаграмма двухсубстратной реакции со случайным присоединением субстратов S_1 и S_2 и конкурентным ингибитором I

субстрата S_2 . На рис. 2а изображена диаграмма, полученная из диаграммы (1) фиксированием концентраций всех трех реагентов; величина волнистой линии

$$k_7 = \frac{k_6}{(1 + K_1/S_1)[1 + K_2/S_2(1 + I/K_I)]}.$$

На рис. 2б изображена диаграмма, полученная при фиксировании концентраций субстрата S_2 и ингибитора I ; она дает ту максимальную информацию, которая может быть получена для рассматриваемого механизма при кинетических экспериментах из графика зависимости обратной скорости реакции от обратной концентрации субстрата S_1 . Вершины 1, 3 и 5 диаграммы (1) объединяются в вершину 8 диаграммы рис. 2б, а вершины 2, 4 и 6 — в вершину 9. В данном случае подсеть d_8 состоит из вершин 1, 3, 5 и соединяющих их дуг (5, 3) и (3, 1), а подсеть d_9 — из вершин 2, 4, 6 и соединяющих их дуг (6, 4) и (4, 2). Величина волнистой линии и дуги (9, 8) диаграммы рис. 2б может быть найдена, например, из диаграммы рис. 2в:

$$a_9^8 = \frac{1 + (1 + I/K_I) K_2/S_2}{1 + (1 + I/K_I) K_2/S_2} \cdot \frac{K_1}{S_1} = \frac{d_8}{d_9} a_6^5 = \frac{K_1}{S_1}.$$

Легко убедиться непосредственно, что, как и следовало ожидать, величина волнистой линии и дуги не изменяется от того, производятся вычисления по диаграмме рис. 2в, 2г или 2д.

На рис. 2е изображена диаграмма, полученная из диаграммы (1) фиксированием концентрации ингибитора I ; на ней вершины 1 и 3 исходной диаграммы объединены в вершину 10, а вершины 2 и 4 исходной диаграммы — в вершину 11. Диаграмма рис. 2е дает максимальную информацию, которая может быть получена из кинетических экспериментов с переменными концентрациями субстратов S_1 и S_2 при фиксированной кон-

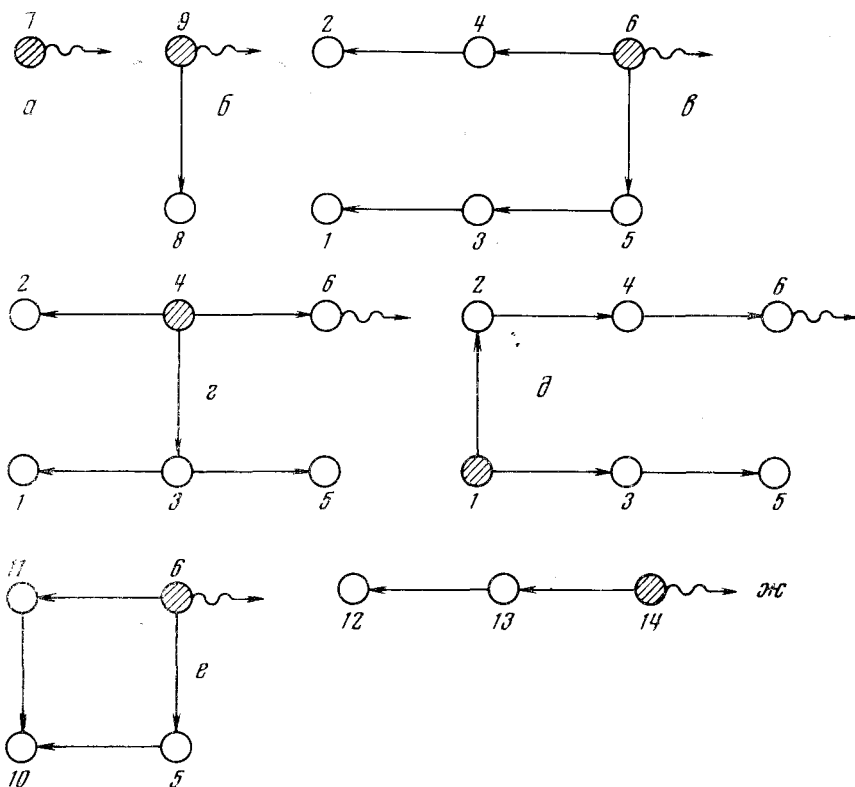


Рис. 2

центрации ингибитора I . Величины дуг диаграммы рис. 2е равны

$$a_6^5 = a_{11}^{10} = \frac{K_1}{S_1}; \quad a_3^1 = a_6^{11} = \frac{K_2}{S_2} \left(1 + \frac{I}{K_I} \right).$$

На рис. 2ж изображена диаграмма, полученная из исходной диаграммы (1) фиксированием концентрации субстрата S_1 ; на ней вершины 1 и 2, 3 и 4, 5 и 6 попарно объединены в вершины 12, 13 и 14 соответственно. Диаграмма рис. 2ж дает максимальную информацию, которая может быть получена из кинетических экспериментов с переменными концентрациями субстрата S_2 и ингибитора I при фиксированной концентрации субстрата S_1 . Элементы диаграммы рис. 2ж равны

$$a_{14}^{13} = \frac{K_2}{S_2}; \quad a_{13}^{12} = \frac{I}{K_I}; \quad k_{12} = \frac{k_6}{1 + K_1/S_1}.$$

Если в реакции отсутствуют медленные стадии, то восстановление её механизма по кинетическим кривым даже в случае простейших процессов неоднозначно (⁶⁻⁸). Соблюдение условий быстрого равновесия, позволяющих использовать диаграммный метод, дает возможность достоверно восстанавливать полную совмещенную диаграмму реакции по совокупности элементарных диаграмм, соответствующих фиксированию концентраций всех реагентов, т. е. экспериментально измеряемым значениям скорости.

Авторы приносят благодарность Ф. М. Кули за ценную дискуссию.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
18 IX 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. В. Волькенштейн, Ю. Б. Магаршак, 15, 5, 777 (1970). ² М. В. Волькенштейн, Ю. Б. Магаршак, Биофизика, 15, 6, 949 (1970). ³ М. В. Волькенштейн, Ю. Б. Магаршак, В. Е. Стефанов, ДАН, 197, № 4, 958 (1971). ⁴ J. Monod, J. P. Changeux, J. Wyman, J. Mol. Biol., 12, 88 (1965). ⁵ E. Whitehead, Biochemistry, 9, 1440 (1970). ⁶ W. W. Cleland, Biochim. et biophys. acta, 67, 188 (1963). ⁷ D. E. Koshland jr., G. Nemethy, D. Filmer, Biochemistry, 5, 365 (1966). ⁸ J. T. Wong, C. S. Hanes, Canad. J. Biochem. Physiol., 40, 763 (1962).