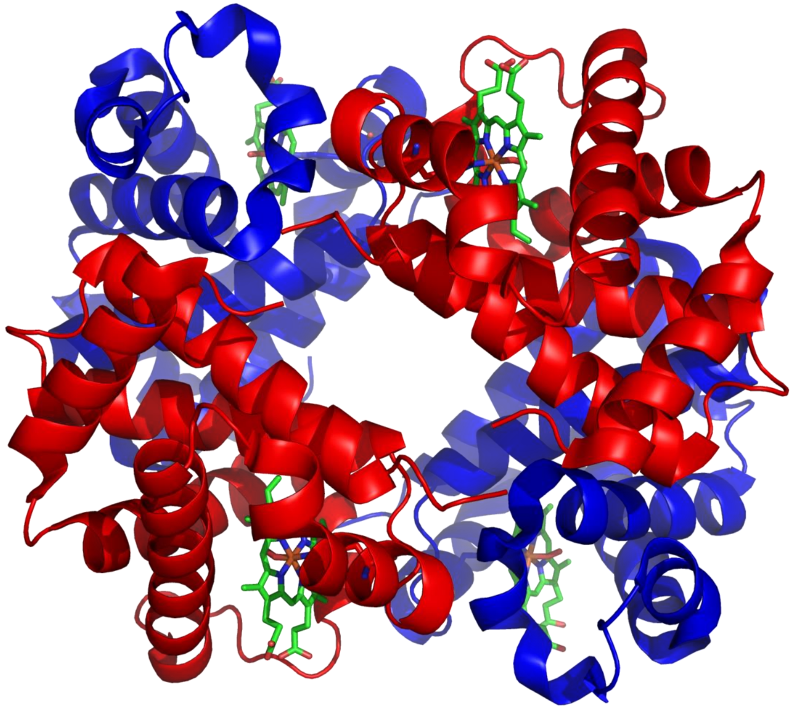

Interacción Receptor-Ligando (II): Anexo

Ismael Acosta
(iacosta@fcien.edu.uy)
Facultad de Ciencias, UdelaR

Anexo 1

Recordar que esta no es una demostración válida ya que el número de Hill es una constante empírica y puede tomar valores no-enteros.

Demostrar la Ecuación de Hill

Partimos de un receptor que puede unirse con h ligandos:

$$R + hL \leftrightharpoons RL_h$$

Definimos las Constantes de Asociación y Disociación (en el equilibrio):

$$K_a = \frac{[productos]}{[reactivos]} = \frac{[RL_h]}{[R][L]^h} \Longrightarrow K_d = \frac{1}{K_a} = \frac{[R][L]^h}{[RL_h]}$$

$$Y \equiv \frac{[sitios\ ocupados]}{[sitios\ totales\ del\ receptor]} = \frac{[RL_h]}{[R] + [RL_h]}$$

$$si\ \ [RL_h] = K_a[R][L]^h = \frac{1}{K_d}[R][L]^h$$

$$\Longrightarrow Y = \frac{\left(\frac{[R][L]^h}{K_d}\right)}{\left([R] + \frac{[R][L]^h}{K_d}\right)} = \frac{\left(\frac{[R][L]^h}{K_d}\right)}{\left(\frac{K_d[R] + [R][L]^h}{K_d}\right)}$$

$$= \left(\frac{\cancel{[R]}[L]^h}{\cancel{K_d}}\right)\left(\frac{\cancel{K_d}}{\cancel{[R]}(K_d + [L]^h)}\right) = \boldsymbol{\frac{[L]^h}{K_d + [L]^h}}$$

Análogamente al modelo de receptor simple, podemos notar que:

$$si \;\; K_d = [L]^h \Longrightarrow Y = \frac{[L]^h}{[L]^h + [L]^h} = \frac{[L]^h}{2[L]^h} = \frac{1}{2}$$

La concentración a la cual el 50% de los sitios de unión están completos (condición de semi-saturación) es:

$$K_d = [L]^h \Longrightarrow [L] = \sqrt[h]{K_d} = K_d^{\left(\frac{1}{h}\right)} = K_{0.5}$$

Esta variable es la **Constante de Semi-Saturación**. Notar que en el modelo de receptor simple y modelo de n sitios independientes (no cooperativo):

$$K_d = K_{0.5} \Longrightarrow h = 1$$

Anexo 2

En clase llegamos a obtener la fracción de saturación en función de las constantes microscópicas de asociación para un tetrámero simétrico de acuerdo con el **Modelo de Adair** (1925):

$$Y = \frac{4k_1 s + 12k_2 k_1 s^2 + 12k_3 k_2 k_1 s^3 + 4k_4 k_3 k_2 k_1 s^4}{4(1 + 4k_1 s + 6k_2 k_1 s^2 + 4k_3 k_2 k_1 s^3 + k_4 k_3 k_2 k_1 s^4)}$$

Podemos generalizar esta expresión para un receptor simétrico de n sitios.

Sea un receptor polimérico simétrico de concentración libre e_0 con n sitios de unión con ligando de concentración s, podemos expresar todos los intermediarios de unión secuencial de la siguiente manera:

$$
\begin{aligned}
&es_1 = K_1 e_0 s \\
&es_2 = K_1 K_2 e_0 s^2 \\
&es_3 = K_3 K_2 K_1 e_0 s^3 \\
&\vdots \\
&es_n = K_n K_{n-1} \ldots K_3 K_2 K_1 e_0 s^n
\end{aligned}
$$

Donde K_i es la **Constante Macroscópica de Asociación** para el completado de la i-ésima unidad.

La fracción de saturación se define como:

$$Y \equiv \frac{[sitios\ ocupados]}{[sitios\ totales]}$$

Si llamamos T a la cantidad de sitios totales y B a la cantidad de sitios ocupados (‘*binded*’) la fracción de saturación es:

$$Y = \frac{B}{T}$$

La cantidad de sitios totales es la suma de las concentraciones de cada estado del sistema multiplicada por el número de sitios totales del receptor:

$$T = n(e_0 + es_1 + es_2 + es_3 + \cdots + es_{n-1} + es_n)$$

Podemos sustituir las concentraciones de los estados por sus correspondientes constantes macroscópicas:

$$T = n(e_0 + es_1 + es_2 + es_3 + \cdots + es_{n-1} + es_n)$$

$$T = n(e_0 + K_1 e_0 s + K_2 K_1 e_0 s^2 + \cdots + (K_n \ldots K_2 K_1) e_0 s^n)$$

$$\boldsymbol{T = ne_0\left(1 + K_1 s + K_2 K_1 s^2 + \cdots + (K_n \ldots K_2 K_1) s^n\right)}$$

La cantidad de sitios ocupados (‘*binded*’) es la suma de todos los estados ocupados, multiplicada por el número de sitios que tienen ocupados:

$$B = es_1 + 2es_2 + 3es_3 + \cdots + (n-1)es_{n-1} + nes_n$$

$$B = K_1 e_0 s + 2K_2 K_1 e_0 s^2 + 3K_3 K_2 K_1 e_0 s^3 + \cdots + n(K_n \ldots K_2 K_1) e_0 s^n$$

$$\boldsymbol{B = e_0\left(K_1 s + 2K_2 K_1 s^2 + 3K_3 K_2 K_1 s^3 + \cdots + n(K_n \ldots K_2 K_1) s^n\right)}$$

Introducimos dos herramientas matemáticas que nos permiten condensar sucesiones de operaciones: **sumatoria y productoria**.

$$\sum_{i=1}^{n} s_i = s_1 + s_2 + s_3 + \cdots + s_{n-1} + s_n$$

$$\prod_{i=1}^{n} k_1 = k_1 \cdot k_2 \cdot k_3 \ldots k_{n-1} \cdot k_n$$

Generalizando,

$$T = ne_0(1 + K_1 s + K_2 K_1 s^2 + \cdots + (K_n \ldots K_2 K_1) s^n)$$

$$T = ne_0\left(1 + \sum_{i=1}^{n} s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\, i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j\right)$$

$$B = e_0(K_1 s + 2K_2 K_1 s^2 + 3K_3 K_2 K_1 s^3 + \cdots + n(K_n \ldots K_2 K_1) s^n)$$

$$B = e_0\left(\sum_{i=1}^{n} i s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\, i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j\right)$$

La fracción de saturación es:

$$Y = \frac{B}{T} = \frac{\cancel{e_0}\left(\sum_{i=1}^{n} i s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j\right)}{n\cancel{e_0}\left(1 + \sum_{i=1}^{n} s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j\right)}$$

$$\boldsymbol{Y = \frac{B}{T} = \frac{\sum_{i=1}^{n} i s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j}{n\left(1 + \sum_{i=1}^{n} s^i \left(\frac{n!}{(n-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{n} k_j\right)}}$$

Ej.: para un dímero: $n = 2$

$$Y = \frac{B}{T} = \frac{\sum_{i=1}^{2} is^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{2} k_j}{n\left(1 + \sum_{i=1}^{2} s^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{2} k_j\right)}$$

$$\sum_{i=1}^{2} is^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) = \left(1s^1\left(\frac{2!}{(2-1)!\,1!}\right)\right) + \left(2s^2\left(\frac{2!}{(2-2)!\,2!}\right)\right) = 2s + 2s^2$$

$$\sum_{i=1}^{2} s^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) = \left(s^1\left(\frac{2!}{(2-1)!\,1!}\right)\right) + \left(s^2\left(\frac{2!}{(2-2)!\,2!}\right)\right) = 2s + s^2$$

$$\prod_{j=1}^{2} k_j = k_1 k_2$$

Ej.: para un dímero: $n = 2$

$$Y = \frac{B}{T} = \frac{\sum_{i=1}^{2} i s^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{2} k_j}{n\left(1 + \sum_{i=1}^{2} s^i \left(\frac{2!}{(2-i)!\,i!}\right) \prod_{j=1}^{2} k_j\right)}$$

$$Y = \frac{2k_1 s + 2k_1 k_2 s^2}{2(1 + 2k_1 s + k_1 k_2 s^2)} = \frac{2(k_1 s + k_1 k_2 s^2)}{2(1 + 2k_1 s + k_1 k_2 s^2)} = \boldsymbol{\frac{k_1 s + k_1 k_2 s^2}{1 + 2k_1 s + k_1 k_2 s^2}}$$

Compare esta ecuación con la obtenida en clase.

Los coeficientes del polinomio denominador se pueden obtener a través del **Triángulo de Pascal**. Este triángulo computa los coeficientes del **Binomio de Newton** $(a + b)^n$ o de las Combinaciones de $C(n, i)$, siendo n el número de sitios del receptor e i el número de sitios unidos a un ligando.