

## LA RELACIÓN DE HALDANE

Consideremos la ecuación de Michaelis-Menten reversible, obtenida bajo la condición de que el efecto de la reacción inversa es no despreciable:

$$v_p = \frac{\frac{V_S S}{K_S} - \frac{V_P P}{K_P}}{1 + \frac{S}{K_S} + \frac{P}{K_P}}$$

En condición de equilibrio, se tiene que la velocidad de aparición de producto es nula ( $v_p = 0$ ). Además, por estar en equilibrio, las concentraciones de sustrato y producto cumplen:  $K_{eq} = \frac{P_{eq}}{S_{eq}}$ .

a) Demuestre, a partir de tales condiciones que:

$$K_{eq} = \frac{V_S K_P}{V_P K_S},$$

Conocida como la *relación de Haldane*.

## SOLUCIÓN

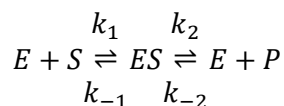
En equilibrio se cumple que  $v_p = 0$ , entonces:

$$\frac{V_S S}{K_S} - \frac{V_P P}{K_P} = 0 \Rightarrow \frac{V_S S}{K_S} = \frac{V_P P}{K_P}$$

Además, el equilibrio también implica que  $S=S_{eq}$  y  $P=P_{eq}$ , por lo tanto:

$$\frac{V_S S_{eq}}{K_S} = \frac{V_P P_{eq}}{K_P} \Rightarrow \frac{V_S K_P}{V_P K_S} = \frac{P_{eq}}{S_{eq}} = K_{eq}$$

Así queda establecida sencillamente la relación de Haldane, la que es una relación de gran importancia que relaciona los parámetros cinéticos involucrados en la reacción catalizada por la enzima, con la constante de equilibrio propia de la reacción, estableciendo una relación de dependencia entre el conjunto de constantes cinéticas. Por ejemplo, si el mecanismo de reacción se corresponde con la ecuación química:



la relación de Haldane toma la forma:

$$K_{eq} = \frac{k_2 k_1}{k_{-2} k_{-1}}$$

Esto implica que el conjunto de constantes cinéticas de la reacción catalizada es un sistema con tres grados de libertad, esto quiere decir que, una vez establecidos los valores de tres de las constantes cinéticas, la cuarta queda determinada por las otras tres y la constante de equilibrio. Tal relación se debe a implicancias termodinámicas, de forma que los procesos que llevan a la formación de producto (consumo de sustrato) no se verán desmedidamente favorecidos respecto de los procesos que consumen producto (formación de sustrato), más allá de lo que las características de la reacción no catalizada establecen.

## PROBLEMA DE ENZIMOLOGÍA

Una enzima E cataliza una reacción prácticamente irreversible  $S \xrightarrow{E} P$  que es inhibida por exceso de sustrato. La ecuación de velocidad de esa enzima está dada por la ecuación

$$v = V \frac{s}{K_M + s + \frac{s^2}{K_I}},$$

donde  $V = k_{\text{cat}} E_T$  se asume conocida porque se conocen previamente al experimento la constante catalítica  $k_{\text{cat}}$  y la concentración total de enzima  $E_T$ ,  $K_M$  es la constante de Michaelis (no conocida),  $K_I$  es la constante de inhibición por el propio sustrato (tampoco conocida) y  $s$  es la concentración del sustrato.

Ante esta situación,

- determine el valor de  $K_M$  suponiendo que es conocido el valor de la derivada  $dv/ds$  cuando  $s = 0$ .
- obtenga el valor de  $s^*$  para el que ocurre el máximo de la velocidad  $v$ , y a partir de este resultado determine el valor de  $K_I$ .
- calcule el valor de la velocidad máxima y compárelo con el parámetro  $V$ .
- evalúe, tanto a partir de la ecuación  $v = v(s)$  como a partir del resultado obtenido en el problema c), qué ocurre con la velocidad máxima si  $K_I \rightarrow \infty$ .

## SOLUCIONES

Veamos primero la derivada de  $v$  respecto a  $s$ :

$$\frac{dv}{ds} = V \frac{K_M - \frac{s^2}{K_I}}{\left(K_M + s + \frac{s^2}{K_I}\right)^2}.$$

## Respuesta a

Para  $s = 0$ , la derivada es  $\left. \frac{dv}{ds} \right|_{s=0} = \frac{V}{K_M}$ , de modo que como  $V$  es conocido previamente, la medida de esa derivada inicial permite obtener el  $K_M$ .

## Respuesta b

El valor extremo de la función  $v = v(s)$  ocurre para el  $s^*$  que anula la primera derivada. Como en nuestro caso el denominador es siempre positivo, la derivada se anula cuando se anula el numerador (tratar ese extremo como un máximo sin hacer la segunda derivada, ateniéndose a la lógica de la ecuación y de la situación física). Este máximo ocurre cuando la concentración de sustrato es

$$s^* = \sqrt{K_M K_I} .$$

Por consiguiente, como  $K_M$  ya se calculó, a partir de ese valor y el de  $s^*$  se obtiene la constante de inhibición del sustrato

$$K_I = \frac{(s^*)^2}{K_M} .$$

## Respuesta c

La velocidad máxima ocurre para  $s^* = \sqrt{K_M K_I}$ . En la ecuación general, esa velocidad máxima se obtiene sustituyendo  $s$  por  $s^*$ . El resultado inmediato es:

$$v_{\max} = V \frac{\sqrt{K_M K_I}}{K_M + \sqrt{K_M K_I} + \frac{K_M K_I}{K_I}} .$$

Simplificando (para empezar, dividir numerador y denominador por el numerador  $\sqrt{K_M K_I}$ ), resulta

$$v_{\max} = V \frac{1}{1 + 2\sqrt{\frac{K_M}{K_I}}} .$$

Por consiguiente, se ve que siendo el denominador mayor que 1, entonces  $v_{\max} < V$ .

## Respuesta d

Esa respuesta es inmediata. Tanto a partir de la ecuación de velocidad original como de este último resultado, se ve que si  $K_I \rightarrow \infty$ , entonces  $v_{\max} = V$ . Esto es físicamente natural, porque  $K_I \rightarrow \infty$  implica una constante de disociación infinita, equivalente a una constante de asociación (su recíproca) del sustrato como inhibidor nula. Esto significa que en ese límite no hay inhibición por exceso de sustrato.