

8장 효소반응 속도론

반응속도론(reaction kinetics)은 화학반응속도와 반응메커니즘에 대해 연구하는 학문분야이다. 반응속도론에서는 반응메커니즘, 반응속도에 영향을 미치는 반응물의 농도, 반응온도, pH 등과 같은 여러 가지 환경인자들에 대한 연구가 주요 대상이다. 이 장은 일반적인 화학반응속도론을 서술하고, 이와 비교하여 효소가 촉매역할을 해서 일어나는 생화학 반응에 대한 속도론은 어떻게 다른가에 대하여 설명하였다.

8.1 반응속도의 정의

화학공정이나 생물공정에서 일어나는 반응은 그 속도가 빠른 것도 있고 느린 것도 있다. 반응속도(chemical reaction rate)는 단위부피당 단위시간에 소모되는 반응물성분 A의 몰농도로 정의되며, SI 단위로 표시하면 $\text{mol}/\text{m}^3 \cdot \text{s}$ 가 된다. 반응속도를 반응물 소모를 기준으로 나타낼 경우 반응이 진행됨에 따라 반응물의 농도가 감소하므로 음의 부호(-)를 붙여야 한다.

예로서 반응물 A가 생성물 R로 변하는 다음과 같은 간단한 반응을 생각해 보자.



이때 반응속도(즉, 반응물의 소실속도)는 다음과 같이 정의된다.

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} \quad (8.1)$$

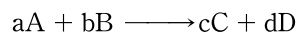
반응속도는 온도, 압력 및 반응계의 조성에 의존되며, 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$r = kf(C_i) \quad (8.2)$$

여기서 $f(C_i)$ 는 각 성분의 농도에 의존되는 함수로서 다음 절의 반응차수에서 논하는 것처럼 반응마다 특정한 형태로 주어진다. k 는 반응속도 상수(reaction rate constant)로서 일반적으로 온도에 의존되며 등온반응(isothermal reaction)인 경우에는 일정한 값을 갖는다.

8.2 반응차수 (reaction order)

반응속도에 영향을 주는 요인은 온도와 반응물의 농도 두 가지인데 이 중에서 농도 의존성을 실험을 통해 구체적으로 결정하여 반응차수를 구한다. 예를 들어, 아래와 같은 비가역반응(irreversible reaction)의 경우 반응속도식은 다음과 같이 일반식으로 나타낼 수 있다.



$$-r_A = kC_A^a C_B^b \quad (8.3)$$

위 반응속도식에서 α 와 β 는 반응속도가 반응물 A와 B의 농도에 따라 각각 어떻게 변하는가를 나타내는 것으로서 반응차수(reaction order)라 한다. 즉, 이때 반응속도는 반응물 A에 대해서는 α 차, 반응물 B에 대해서는 β 차이며, 전체적으로는 $(\alpha + \beta)$ 차이다. α 와 β 는 시간과 농도에 무관한 상수로서 실험적으로 결정해야 하는 값이며, 화학양론계수 a , b 와 무관하다.

예를 들어, ascorbic acid가 공기 중의 산소(O_2)와 반응하여 dehydroascorbic acid로 변하여 vitamin C로서의 활성을 잃게 되는 경우를 보자.



이때 ascorbic acid의 손실속도식은 실험에 의해 다음과 같이 결정되었다.

$$-r_A = kC_A C_{O_2} \quad (8.4)$$

여기서 C_A 는 ascorbic acid의 농도, C_{O_2} 는 산소의 농도이다. Ascorbic acid의 분해속도는 ascorbic acid와 산소에 대하여 각각 1차 반응을 나타내고, 전체반응은 2차 반응이다.

반응차수는 실험적으로 결정되는 값으로서 정수가 아닌 경우도 있다. 또한 반응속도식이 간단한 차수의 형태로 표시할 수 없는 복잡한 반응이 있다. 예를 들어, 효소반응은 다음과 같은 형태의 Michaelis-Menten 속도식으로 표현되는데, 이 속도식의 반응차수는 고정되어 있는 것이 아니라 기질의 농도(C_s)가 증가함에 따라 1차에서 0차로 변한다.

$$r = \frac{V_{\max} C_s}{K_M + C_s} \quad (8.5)$$

여기서, C_s : 기질(substrate)의 농도

V_{\max} : 최대 반응속도

K_M : Michaelis-Menten 상수

8.3 반응속도 상수(reaction rate constant)

반응속도 상수 k 는 온도에 따라 변할 뿐 아니라 반응에 사용하는 용매, 촉매농도, pH 등 환경 조건에 따라서 변한다. 그러나 일반적으로 다른 환경조건은 일정하다고 생각하고 k 를 온도만의 함수로 나타내는 경우가 많다. 반응속도 상수 k 는 반응물이나 생성물의 농도에 무관하므로 특정 온도에서 반응속도의 크기를 나타내는 데 매우 유용하게 사용된다. 속도상수의 단위는 총괄 반응차수에 의존한다. 예를 들어, 1차 반응의 경우 속도상수의 단위는 시간의 역수(sec^{-1})이다.

8.4 단순 정용반응계의 반응속도식 (reaction rate expression for a simple constant volume reaction system)

반응속도식은 여러 가지 수학적 형태로 표현되며, 반응차수도 항상 정수는 아니다. 그러나 화학 공정이나 생물공정에서 많은 반응은 단순한 형태로 근사적으로 표현될 수 있으며 반응차수도 0 차 또는 1차인 경우가 많다.

8.4.1 비가역 1차 반응(irreversible first order reaction kinetics)

1차 반응은 반응속도가 한 종류의 반응물질의 농도에 비례한다. 비가역(irreversible)이란 반응물이 생성물로 전환될 뿐이며 생성물이 다시 반응물로 복귀되는 일이 없음을 말한다. 다음과 같은 비가역적인 단분자반응(unimolecular reaction)을 고려해 보자.



이 반응이 1차 반응(first order reaction)을 따른다면 그 속도식은

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} = kC_A \quad (8.6)$$

으로 나타낼 수 있다. 식 (8.6)의 우측 두 항을 변수 분리하여 적분하면 다음과 같이 표시된다.

$$-\int_{C_{A0}}^{C_A} dC_A = k \int_0^t dt \quad (8.7)$$

$$\boxed{-\ln \frac{C_A}{C_{A0}} = kt} \quad (8.8)$$

위 식을 임의의 시간 t 에 반응물 A 의 농도 C_A 를 구하는 식으로 표현하면

$$C_A = C_{A0} \exp(-kt) \quad (8.9)$$

로 나타낼 수 있다. 즉, A 의 농도는 반응이 진행됨에 따라 대수 함수적으로 감소한다.

아래 그림 8.1은 식 (8.8)을 도식한 것으로 비가역 1차 반응의 경우 반응물 농도의 대수값과 반응시간 사이에 직선관계가 있음을 나타내고 있다. 실험에 의해 얻어진 반응시간에 따른 농도(C_A) 데이터로부터 구한 $-\ln(C_A/C_{A0})$ 값을 반응시간 t 에 대해 구하고, 동그라미(open circle)로 표시된 데이터를 통과하며 원점을 지나는 직선식을 최소자승법(least square method)에 의해 구한다. 이 직선의 기울기가 반응속도 상수 k 값이다.

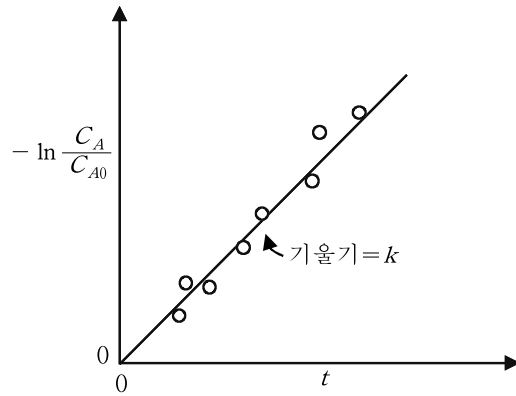


그림 8.1 비가역 1차 반응에 대한 도시험

식 (8.6)에서와 같은 1차 반응속도는 초기농도(C_{A0})에 무관하다. 1차 반응의 경우 반응속도를 반감기(half life)로 나타내면 편리할 때가 많다. 반감기는 반응물질의 농도(C_A)가 초기농도(C_{A0})의 절반으로 감소하는데 걸리는 시간을 의미하며 $t_{1/2}$ 로 표시한다. 식 (8.8)에 $C_A = \frac{1}{2} C_{A0}$ 를 대입하면 아래 식 (8.10)이 되며, 1차 반응의 반감기는 농도에 무관하고 반응속도 상수에 반비례함을 알 수 있다.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (8.10)$$

8.4.2 0차 반응(zero order reaction kinetics)

반응속도가 반응물의 농도에 전혀 영향을 받지 않는 반응을 0차 반응이라 한다. 0차 반응속도 식은 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} = k \quad (8.11)$$

위 식의 우측의 두 항을 적분하면

$$C_{A0} - C_A = kt, \quad \boxed{C_A = C_{A0} - kt} \quad (8.12)$$

또는

이 식 (8.12)는 반응물의 소모된 양, 즉 $(C_{A0} - C_A)$ 가 반응시간에 비례함을 의미한다.

0차 반응인 경우에는 농도-시간 실험데이터로부터 각 반응시간에서의 잔존 반응물의 농도 C_A 를 시간 t 에 대해 도시험하면 그림 8.2와 같은 직선을 얻게 되며, 이 직선의 기울기 값으로부터 반응속도 상수 k 를 구할 수 있다. 일반적으로 화학반응은 초기에 반응물질의 농도(C_{A0})가 충분히 높을 때에는 0차 반응을 나타내다가 농도가 어느 수준 이하로 감소하면 반응성이 농도에 의존하게 되어 반응차수가 증가하게 된다.

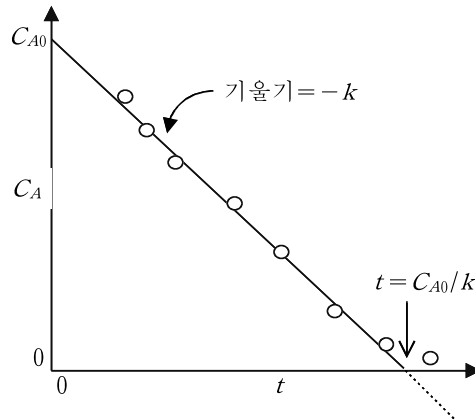


그림 8.2 0차 반응에 대한 도시험

8.4.3 비가역 연속반응(irreversible serial reaction)

효소에 의한 생화학 반응은 대개 여러 단계의 연속된 반응이다. 가장 간단한 경우로서 2단계 비가역 연속반응에서 반응물, 중간생성물, 최종생성물의 농도가 시간에 따라 어떻게 변화하는지 알아보자.

다음과 같은 연속 단분자형 1차 반응에서 세 가지 성분에 대한 속도식은 아래와 같이 표현된다.



$$r_A = \frac{dC_A}{dt} = -k_1 C_A \quad (8.14)$$

$$r_R = \frac{dC_R}{dt} = k_1 C_A - k_2 C_R \quad (8.15)$$

$$r_S = \frac{dC_S}{dt} = k_2 C_R \quad (8.16)$$

위 세 개의 선형 1차 미분방정식을 연립하여 풀면 반응물(A), 중간생성물(R) 및 최종생성물(S)의 농도가 식 (8.17), (8.23) 및 (8.25)과 같이 시간의 함수로 구해진다. 초기에 R이나 S는 존재하지 않고, A의 농도는 C_{A0} 에서 반응을 개시하여 세 성분들의 농도변화가 시간에 따라 어떻게 되는지 알아보자.

식 (8.14)을 적분하면 아래와 같이 된다.

$$C_{A0} - C_A = kt, \quad \boxed{C_A = C_{A0} e^{-k_1 t}} \quad (8.17)$$

또는

R의 시간에 따른 농도변화를 구하기 위하여 식 (8.17)을 식 (8.15)에 대입하면 다음의 미분방정식을 얻는다.

$$\frac{dC_R}{dt} + k_2 C_R = k_1 C_{A0} e^{-k_1 t} \quad (8.18)$$

이 형태는 아래와 같은 1차 선형 미분방정식 형태이다.

$$\frac{dy}{dx} + py = r \quad (8.19)$$

이 방정식의 해를 구하면 다음과 같다.

$$y(x) = e^{-h} \left[\int e^{hx} r dx + c \right], \quad h = \int p(x) dx \quad (8.20)$$

그런데 여기서

$$p = k_2$$

$$r = k_1 C_{A0} e^{-k_1 t}$$

$$h = \int p dt = k_2 t$$

따라서

$$C_R = e^{-k_2 t} \left[\int e^{k_2 t} k_1 C_{A0} e^{-k_1 t} dt + C \right]$$

$$C_R = e^{-k_2 t} \left[k_1 C_{A0} \frac{e^{(k_2 - k_1)t}}{k_2 - k_1} + C \right] \quad (8.21)$$

$t=0$ 일 때 $C_R=0$ 이므로

$$C = -k_1 C_{A0} \frac{1}{k_2 - k_1} \quad (8.22)$$

식 (8.22)를 식 (8.21)에 대입하면

$$C_R = k_1 C_{A0} \left(\frac{e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} + \frac{e^{-k_2 t}}{k_1 - k_2} \right) \quad (8.23)$$

전체 몰수 변화는 없으므로 양론으로부터 반응물, 중간생성물, 최종생성물 사이에는 다음 관계가 성립된다.

$$C_{A0} = C_A + C_R + C_S \quad (8.24)$$

식 (8.17)과 식 (8.23)을 식 (8.24)에 대입하면 최종생성물 S 의 시간에 따른 농도변화를 구할 수 있다.

$$C_S = C_{A0} \left(1 + \frac{k_2}{k_1 - k_2} e^{-k_1 t} + \frac{k_1}{k_2 - k_1} e^{-k_2 t} \right) \quad (8.25)$$

식 (8.17), (8.23) 및 (8.25)의 결과를 도시하면 그림 8.3과 같다. 반응물질(A)은 지속적으로 감소하며, 최종생성물(S)은 S형으로 증가한다. 중간생성물(R)은 최대값을 갖는다. R의 최대농도와 그때의 시간은 k_1 과 k_2 에 의해 정해진다. 즉, 식 (8.23)을 미분하여 $dC_R/dt = 0$ 일 때 다음과 같이 시간(t)을 구한다.

$$\frac{dC_R}{dt} = \frac{k_1 C_{A0}}{k_2 - k_1} (-k_1 e^{-k_1 t} + k_2 e^{-k_2 t}) = 0 \quad (8.26)$$

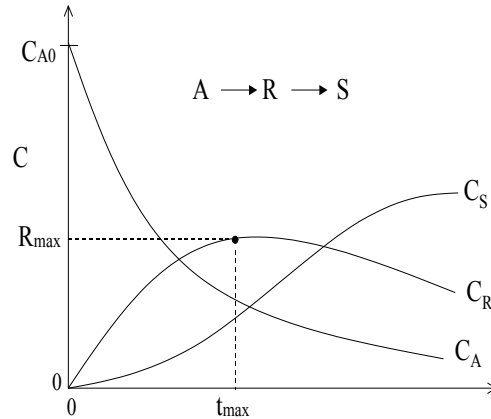


그림 8.3 비가역 연속 1차 반응에 대한 전형적인 농도-시간 곡선

$$k_1 e^{-k_1 t} = k_2 e^{-k_2 t} \quad (8.27)$$

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{e^{-k_2 t}}{e^{-k_1 t}} = e^{-k_2 t + k_1 t} \quad (8.28)$$

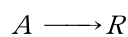
$$t_{\max} = \frac{\ln \frac{k_1}{k_2}}{k_1 - k_2} \quad (8.29)$$

R의 최대농도는 식 (8.29)과 식 (8.23)을 결합하여 다음과 같이 구해진다.

$$C_{R, \max} = C_{A0} \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{k_2 / (k_2 - k_1)} \quad (8.30)$$

8.4.4 반응차수가 변동되는 반응속도식

속도식의 탐색에서 고농도에서는 데이터가 어떤 반응차수에 잘 부합되는 데 저온도에서는 다른 반응차수에 부합되는 것을 볼 수 있다. 반응물의 농도감소에 따라 낮은 차수에서 높은 차수로 이동하는 반응을 아래와 같이 표시하면



이것의 반응속도는 다음과 같이 표현될 수 있다.

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} = -\frac{k_1 C_A}{1 + k_2 C_A} \quad (8.31)$$

이 속도식으로부터 고농도의 C_A (또는 $k_2 C_A \gg 1$)에서 이 반응은 속도상수가 k_1/k_2 인 0

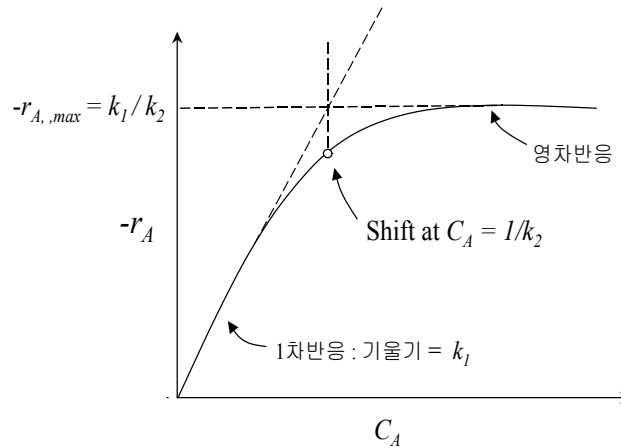


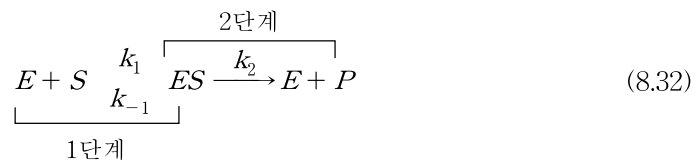
그림 8.4 차수가 변동되는 반응곡선

차 반응이다. 그러나 저농도의 C_A (또는 $k_2 C_A \ll 1$)에서 이 반응은 속도상수가 k_1 인 1차 반응으로 바뀐다(그림 8.4). 이러한 형태의 반응속도식을 일반적으로 Langmuir-Hinshelwood 속도식이라고 부르며, 이 식은 생물공학에서 효소 촉매반응의 반응식인 Michaelis-Menten 식과 유사한 식이다.

8.5 효소 반응속도론 (enzyme reaction kinetics)

단일 기질-효소 촉매반응의 속도식은 Michaelis-Menten 속도식을 기본으로 한다. 효소속도론의 정성적인 특징은 Langmuir-Hinshelwood 속도론과 비슷하다. 생물계에서는 다기질-다효소반응과 같은 보다 복잡한 효소-기질간 상호작용이 일어날 수 있다. 효소는 기질과 결합할 수 있는 활성부위의 숫자가 일정하기 때문에 높은 기질농도에서는 활성부위 모두가 기질과 결합하여 효소가 포화되는 상태가 된다.

효소 반응속도론은 다음과 같이 효소(E) - 기질(S)의 복합체[ES] 형성단계의 가역반응과 ES 복합체의 비가역 해리단계의 2단계의 반응체계로부터 구할 수 있다.



위 반응체계는 ES 복합체가 다소 빠른 속도로 형성되고 두번째 단계의 역반응속도를 무시한다

는 가정을 전제로 한다. 두번째 반응의 비가역가정은 반응초기에 생성물의 축적

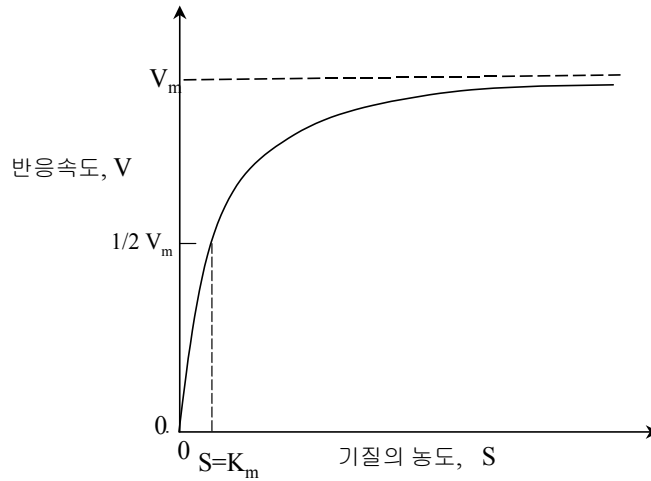


그림 8.5 기질의 농도가 효소촉매 반응속도에 미치는 영향

을 무시할 때 성립된다. 위의 2단계 반응체계로부터 효소 반응속도식(즉, Michaelis-Menten kinetics)을 유도하기 위해서 다음의 두 가지 가정 중에 한 가지를 사용한다.

- (1) 빠른 평형(rapid equilibrium approach) 가정
- (2) 유사 정상상태(quasi-steady-state approach) 가정

8.5.1 단순 효소속도론의 수학적 모형 (Michealis-Menten Kinetics)

유사 정상상태 또는 빠른 평형을 가정하여 효소 반응속도식을 유도할 때 초기 단계는 두 경우가 동일하다. 반응속도 v 는 생성물의 생성속도 또는 기질의 소모 속도로서 moles/L · s의 단위를 갖는다.

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (8.33)$$

여기서 ES 복합체의 시간에 따른 변화속도는 식 (8.34)와 같다. 이 식은 식 (8.32)의 1단계에서 E 와 S 의 반응에 의한 ES 복합체의 생성, ES 의 분해에 의한 E 와 S 로의 역반응 및 2단계에서 ES 의 분해에 의한 E 와 P 의 생성속도를 고려한 것이다

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \quad (8.34)$$

효소에 대한 보존식은 다음과 같다.

$$[E] = [E_0] - [ES] \quad (8.35)$$

식 (8.35)에서 복합체 $[ES]$ 의 농도를 측정하는 것은 어려우므로 빠른 평형이나 유사 정상상태를 가정하여 $[ES]$ 를 대신할 표현식을 찾는다.

빠른 평형을 가정한 Michaelis-Menten 속도식 유도

빠른 평형가정은 효소와 기질이 반응하여 ES 복합체를 형성하는 과정이 빠르게 도달한다고 가정한 것이다. 정반응속도와 역반응속도가 동일하다고 하면

$$K_m' = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad (8.36)$$

효소가 보존된다면 $[E] = [E_0] - [ES]$ 이므로 위 식 (8.36)에 대입하면

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m' + [S]} \quad (8.37)$$

위 식 (8.37)을 식 (8.33)에 대입하면

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \frac{[E_0][S]}{K_m' + [S]} \quad (8.38)$$

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m' + [S]} \quad (8.39)$$

단, $V_m = k_2[E_0]$

K_m' 은 최대 반응속도의 1/2의 속도에 해당하는 기질의 농도로서 기질과 효소의 친화도를 나타내고, K_m' 이 작다는 것은 효소의 기질에 대한 친화도가 높다는 것을 나타낸다.

유사 정상상태를 가정한 Michaelis-Menten 속도식 유도

대부분의 실험은 초기에는 효소농도에 비해 충분히 높은 기질농도를 유지하는 회분식 반응을 이용한다. 이 경우 효소의 농도($[E_0]$)가 충분히 낮기 때문에 $d[ES]/dt \approx 0$ 이라 가정할 수 있고 이를 유사 정상상태라고 한다.

식 (8.34)로부터 다음과 같이 유도할 수 있다.

$$[ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2} \quad (8.40)$$

$[E] = [E_0] - [ES]$ 를 대입하면

$$[ES] = \frac{k_1([E_0] - [ES])[S]}{k_{-1} + k_2} \quad (8.41)$$

을 얻을 수 있다.

식 (8.41)를 $[ES]$ 에 관하여 풀면 아래와 같다.

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]} \quad (8.42)$$

식 (8.42)를 식 (8.33)에 대입하면

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m + [S]} \quad (8.42)$$

여기서,

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (8.44)$$

$$V_m = k_2[E_0] \quad (8.45)$$

위에서 보듯이 두 가지 가정 중에서 어느 것을 사용하던지 동일한 결과가 유도되는 것을 알 수 있다.

8.5.2 Michaelis-Menten 속도식의 속도상수의 결정

효소에 의한 반응이 Michealis-Menten 속도식을 따르는지 여부를 확인하고 속도식 내의 상수인 K_m 과 V_m 값을 결정하기 위해 일반적으로 초기속도(initial velocity) 실험으로 실험결과를 얻는다. 이 실험은 회분식 반응기에서 이미 알고있는 양의 기질 $[S_0]$ 와 효소 $[E_0]$ 를 첨가한 후 시간에 따라 기질의 농도가 감소하는 것을 측정하여 도식화하고 이 곡선의 초기 기울기로부터 v 가 결정된다.

$$v = -\frac{d[S]}{dt} \quad (8.46)$$

$$v \approx \frac{[S_1] - [S_0]}{t_1 - t_0} = \text{초기 기울기} \quad (8.47)$$

여기서, S_0 는 t_0 에서의 기질의 농도이며 S_1 은 t_1 에서의 기질의 농도이다.

이 초기 기울기의 역수($1/v$)와 해당 기질농도의 역수($1/S$)를 각각 세로 및 가로축으로 하여 실험데이터를 도시한다(그림 8.7). 다음 이 데이터를 관통하는 직선식을 최소자승법(least square method)을 이용하여 구한다. 이것을 Lineweaver-Burk라 하며 이 직선의 기울기의 값은 K_m / V_m 이고, 절편값은 $1/V_m$ 이므로 이로부터 K_m 과 V_m 을 각각 구한다.

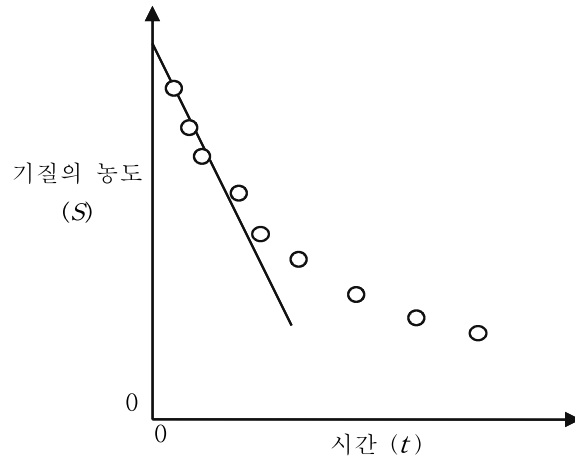


그림 8.6 초기 기율기 구하기

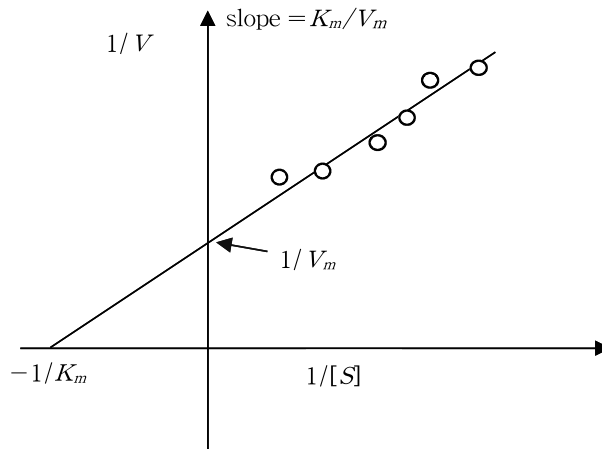


그림 8.7 Lineweaver-Burk plot에 의한 V_m 과 K_m 구하기

이중역수 도표(Lineweaver-Burk 도표)를 이용하여 속도상수 구하기

Michaelis-Menten 식의 좌우 양변에 역수를 취하면 다음과 같다.

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} \frac{[S] + K_m}{[S]} = \frac{1}{V_m} \left(1 + \frac{K_m}{[S]} \right) \quad (8.48)$$

즉,

$$\boxed{\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]}} \quad (8.49)$$

식 (8.49)는 $y = b + ax$ 형태이므로 $1/v$ 를 세로축, $1/[S]$ 를 가로축으로 하여 그래프를 그리면 그림 8.7과 같다. 그래프에서 직선의 기울기는 K_m / V_m 이고, y 절편은 $1 / V_m$ 이다. 이 그림에서 실험데이터가 y 축에 가까운 부분에서는 나타나 있지 않음에 주의하라. 이 부분에서는 기질(S)

의 농도가 너무 높기 때문이다.

8.5.3 알로스테릭 효소 (allosteric enzyme) 속도론

Michaelis-Menten 속도식은 효소 내에 기질을 결합하는 부위가 하나 있는 경우이다. 그런데 어떤 효소들은 하나 이상의 기질 결합부위를 갖고 있다. 이러한 효소의 경우에는 기질이 효소와 결합하면 다른 기질분자의 결합을 촉진한다. 이와 같은 현상을 알로스테리(allostery) 또는 협동결합이라 하고 조절효소(regulatory enzyme)가 이 현상을 따른다. 이 경우 속도식의 표현은 아래와 같다.

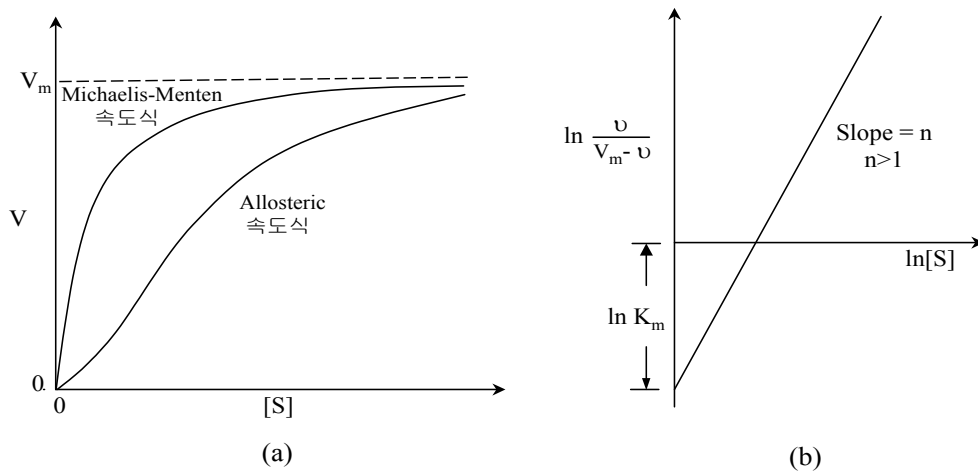


그림 8.8 (a) Michaelis-Menten 속도식과 allosteric 속도식
(b) Allosteric 속도식의 협동계수를 구하기 위한 그래프 방법

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{V_m[S]^n}{K_m + [S]^n} \quad (8.50)$$

여기서 n 은 협동계수(cooperativity coefficient)이고, $n > 1$ 은 양성 협동상태(positive cooperativity)를 나타낸다. $n=1$ 이면 식 (8.50)은 Michaelis-Menten 속도식이 된다. 그림 8.8(a)는 Michaelis-Menten 속도론과 알로스테릭 효소의 속도론을 비교하여 나타낸 것이며 알로스테릭 효소는 v 가 $[S]$ 에 대하여 S자 모양의 형태를 보여 준다.

협동계수는 식 (8.50)을 재정리하여 얻어진 아래의 식 (8.51)로부터 그림 8.8(b)와 같이 $\ln v/(V_m - v)$ 를 세로축에, $\ln[S]$ 를 가로축에 도시화함으로써 얻어진 직선의 기울기로부터 구할 수 있다.

$$\ln \frac{v}{V_m - v} = n \ln [S] - \ln K_m \quad (8.51)$$

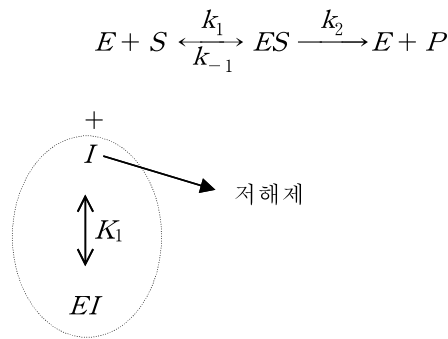
8.5.4 저해반응에서의 효소 속도론

효소반응은 저해물질이 있는 경우 그 속도가 느려진다. 저해반응은 크게 세 가지로서 저해제가 기질과 유사하여 효소와 경쟁적(competitive)으로 결합하는 경우, 기질과 유사성이 없이 효소-기질복합체(ES)에 구별 없이 무차별적으로 결합하는 비경쟁적(uncompetitive) 저해하는 경우, 그리고 저해제가 효소와는 결합하지 않고 복합체 ES와 반응하는 반경쟁적(noncompetitive) 저해의 세 가지가 있다. 기질 저해작용은 일종의 반경쟁적 저해이다.

어떤 물질은 효소와 결합하여 효소의 활성도를 감소시킨다. 이와 같은 물질을 효소 저해제(enzyme inhibitors)라 한다. 효소 저해반응은 가역적이거나 비가역적이다. 효소 저해반응은 EDTA와 구연산과 같은 킬레이팅제(chelating agents)를 이용하면 가역화된다. 가역적 저해제는 효소와 결합한 뒤 효소로부터 쉽게 해리된다.

(1) 경쟁적 저해제(competitive inhibitor)는 기질과 유사하다.

경쟁적 저해제는 보통 기질유사체(substrate analogs)이며 효소의 활성부위에 기질과 경쟁적으로 결합한다. 경쟁적 효소저해 반응은 다음과 같이 나타낼 수 있다.



빠른 평형 가정과 아래와 같이 정의하면

$$K_m' = \frac{[E][S]}{[ES]}, \quad K_1 = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad (8.52)$$

$$[E_0] = [E] + [ES] + [EI] \quad \text{및} \quad v = k_2[ES]$$

효소의 전환식은 다음 식으로 표시된다.

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m' \left[1 + \frac{[I]}{K_1} \right] + [S]} \quad (8.53)$$

또는

$$v = \frac{V_m[S]}{K_{m,app}' + [S]} \quad (8.54)$$

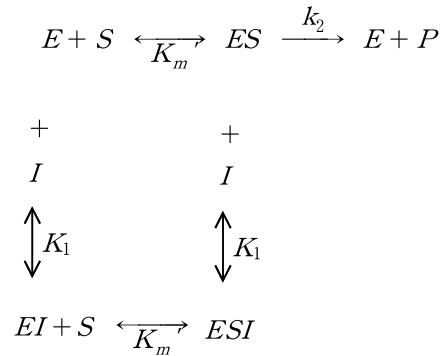
이다. 여기에서 $K_{m,app}'$ 는 $K_m'(1 + [I]/K_1)$ 이다.

경쟁적 저해반응에 의한 실제 효과는 K_m' 이 $K_{m,app}'$ 로 증가함에 따른 반응속도의 감소이다. 경

쟁적 저해반응은 기질농도를 높임으로써 극복된다. 위 식 (8.53)에서 대괄호 안의 값이 1이면 Michaelis-Menten식과 동일함을 유의하라.

(2) 비경쟁적 저해제(noncompetitive inhibitor)는 기질과 유사성이 없다.

비경쟁적 저해제는 효소의 활성부위가 아닌 다른 부위에 결합하여 기질의 효소에 대한 친화성을 감소시킨다. 비경쟁적 효소 저해반응은 아래와 같이 나타낼 수 있다.



위와 같은 정의로 속도식을 전개하면

$$v = \frac{V_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_1}\right)\left(1 + \frac{K_m'}{[S]}\right)} \quad (8.55)$$

또는

$$\boxed{v = \frac{V_{m,app}}{\left(1 + \frac{K_m'}{[S]}\right)}} \quad (8.56)$$

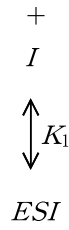
과 같고 여기에서 $V_{m,app}$ 는 $V_m/(1 + [I]/K_1)$ 이다.

식 (8.55)에서 분모의 첫째 항에서 $[I]/K_1$ 이 없는 경우에 Michaelis-Menten식이 됨에 유의하라. 비경쟁적 저해반응의 실제 효과는 V_m 의 감소이다. 기질의 농도를 높이는 방법으로는 비경쟁적 저해반응을 극복할 수 없다. 효소에 대한 비경쟁 저해의 결합을 방지하기 위해서는 다른 화합물을 첨가하여야 한다. 또 다른 비경쟁적 저해반응의 형태는 V_m 의 감소와 동시에 K_m' 을 증가시키기도 한다. 이와 같은 현상은 ESI 복합체가 산물을 생성하는 경우에 나타난다.

(3) 반경쟁적 저해제(uncompetitive inhibitor)는 ES 복합체에만 결합하고 효소와는 친화력이 없다.

이와 같은 반경쟁적 저해형태를 살펴보면,





반응속도를 유도하면

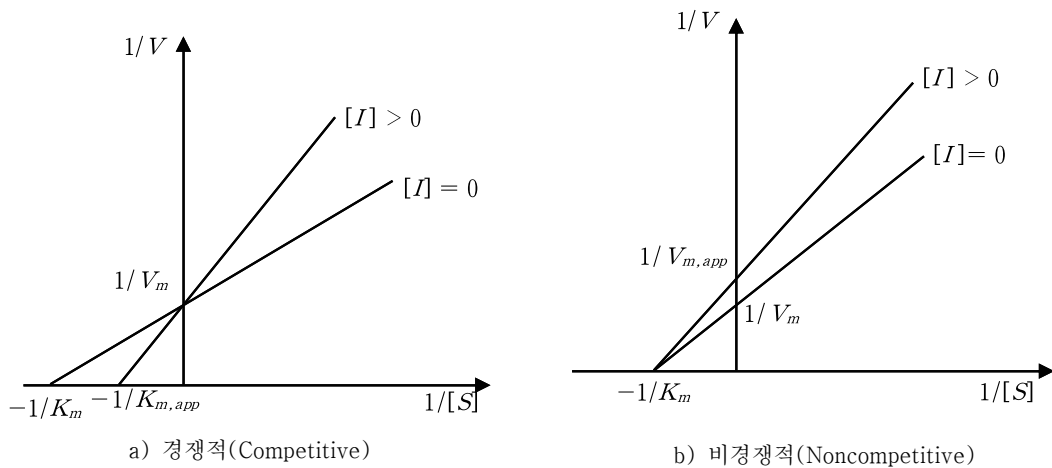
$$v = \frac{\frac{V_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_1}\right)}[S]}{\frac{K_m'}{\left(1 + \frac{[I]}{K_1}\right)} + [S]} \quad (8.57)$$

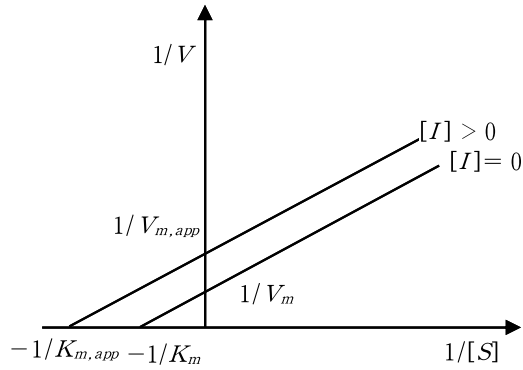
또는

$$\boxed{v = \frac{V_{m,app}[S]}{K_{m,app} + [S]}} \quad (8.58)$$

이다. 반경쟁적 저해반응의 실제효과를 살펴보면 분자 V_m 와 분모 K_m 의 감소이다. 그런데 식 (8.58)의 분자에 있는 V_m 의 감소가 K_m' 의 감소보다 그 영향이 더욱 두드러지기 때문에 결과적으로 효소반응속도의 감소를 가져온다.

이상의 세 가지 저해반응을 Michaelis-Menten kinetics와 대비하여 Lineweaver-Burk 그래프에 그리면 다음과 같다.



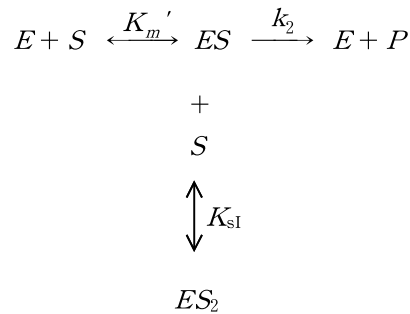


c) 반경쟁적(Uncompetitive)

그림 8.9 저해효소 반응속도의 다른 형태들 ([I]는 저해제의 농도를 나타냄)

8.5.5 기질 저해 작용이 있을 때의 효소 속도식

기질의 농도가 지나치게 높은 경우 오히려 효소반응을 저해한다. 이 경우를 기질 저해반응 (substrate inhibition)이라 한다. 이것은 일종의 반경쟁적(uncompetitive)저해로서 기질이 ES 복합체와 반응한다.



이때 K_{SI} 와 K_m' 을 정의하면 아래와 같다.

$$K_{SI} = \frac{[S][ES]}{[ES_2]}, \quad K_m' = \frac{[S][E]}{[ES]} \quad (8.59)$$

빠른 평형 가정으로 속도식을 구하면 다음과 같다.

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m' + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}}} \quad (8.60)$$

식 (8.60)을 도식화하면 그림 8.10(a)와 같다. 양변에 역수를 취하여 도식화하면 그림 8.10(b)와 같다.

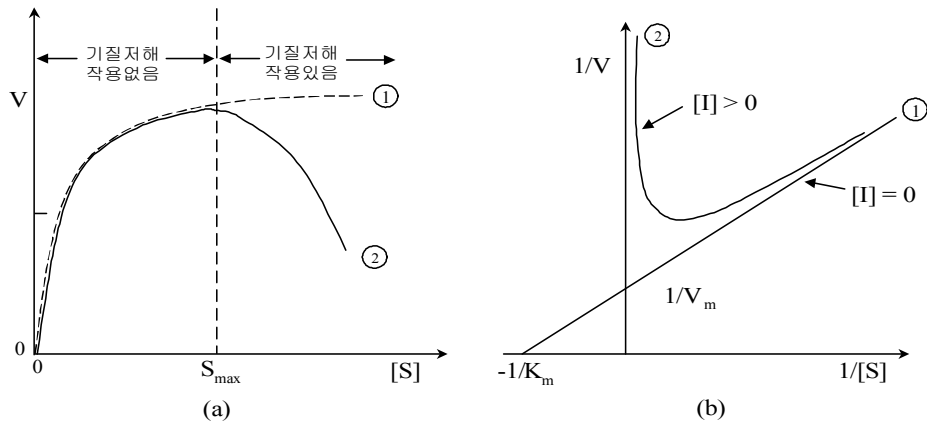


그림 8.10 동일한 V_m 과 K_m 이면서 기질저해 작용이 없는 경우(①)와 기질저해 작용이 있는 경우(②)의 비교. (a)는 속도식을 도식화 한 것이고 (b)는 이중역수 도표를 그린 것이다.

8.6 반응속도의 온도 의존성

화학반응의 속도는 반응온도에 의해 영향을 받으며 대개 온도가 10°C 상승하면 반응속도가 약 2배 증가하는 것으로 알려져 있다. 반응속도식에서 온도의 영향을 받는 인자는 식에서 기술했 바와 같이 반응속도 상수이다. 즉, 반응속도에 영향을 미치는 온도의 영향은 반응속도 상수(k)의 온도의존성으로 나타낼 수 있다.

$$r = k(T)f(C_i) \quad (8.61)$$

여기서 반응속도 상수의 온도의존성 $k(T)$ 는 일반적으로 아레니우스(Arrhenius) 식으로 표현된다.

$$k(T) = Ae^{-E_a/RT} \quad (8.62)$$

k : 반응속도 상수

A : 빈도 인자(frequency factor), k 와 같은 단위를 갖는다.

E_a : 활성화 에너지(activation energy, J/mol)

R : 기체상수(universal gas constant, $8.314 \text{ kJ/mol} \cdot \text{K}$)

T : 절대온도(K)

8.6.1 활성화 에너지 구하는 방법

아레니우스(Arrhenius) 식은 비교적 넓은 온도범위에서 반응속도 상수의 온도의존성을 잘 나타내며 온도가 증가할수록 반응속도 상수가 증가함을 나타낸다. 아레니우스 식에 들어 있는 활성화 에너지 E_a 는 반응이 일어나기 위해서 반응물의 분자가 가져야 하는 최소에너지로서 이것을 구하는 방법은 두 가지가 있다.

여러 온도에서의 반응속도 실험 데이터로부터 활성화에너지 구하기

식 (8.62)의 양변에 대수를 취하면

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (8.63)$$

일반적인 반응에서 사용되는 온도범위 내에서는 A 와 E_a 는 일정한 값을 가진다. 따라서 각 온도에서 구한 반응속도 상수의 대수값 ($\ln k$)을 $1/T$ 에 대해 도시하면 그림 8.11과 같은 직선을 얻게되며 직선의 기울기로부터 E_a 를 구하고, 절편 값으로부터 A 를 구할 수 있다.

반응속도의 온도의존성은 활성화 에너지(E_a)의 크기에 따라 결정되는데 E_a 값이 큰 반응은 그림 8.11에서 기울기가 크므로 온도변화에 민감하고, E_a 가 낮은 반응은 온도변화에 대해 덜 민감하다. 이러한 특성을 활용한다면 온도에 따라 원하는 반응을 선택적으로 진행시킬 수 있도록 반응조건을 선택할 수 있다.

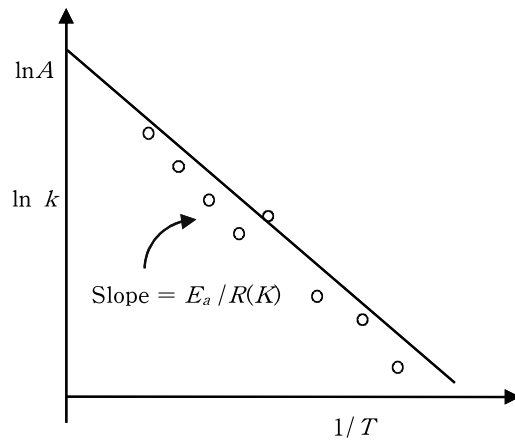


그림 8.11 Arrhenius 법칙에 따른 반응의 온도의존성

서로 다른 온도 T_1 과 T_2 에서 반응속도 상수를 측정하여 활성화에너지 구하기

서로 다른 온도 T_1 과 T_2 에서 각각 k_1 과 k_2 의 반응속도 상수를 얻었다면 식 (8.63)은 다음과 같이 표시된다.

$$\ln k_1 = \ln A - \frac{E_a}{RT_1} \quad (8.64)$$

$$\ln k_2 = \ln A - \frac{E_a}{RT_2} \quad (8.65)$$

식 (8.65)의 양변으로부터 식 (8.64)의 양변을 각각 빼면

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (8.66)$$

식 (8.66)을 이용하여 활성화 에너지를 구할 때 주의할 점은 반응온도 T_1 과 T_2 범위 내에서 활성화 에너지가 일정한 경우에만 적용이 가능하다는 것이다. 또한 식 (8.66)은 두 반응온도 간의 속도상수값(k_1 과 k_2)으로부터 E_a 를 결정하는 데 쓰이는 외에 반대로 어떤 반응의 E_a 를 알고 있을 때 한 온도의 반응속도 상수(k_1)로부터 다른 온도의 반응속도 상수(k_2)를 구하는 데 이용되기도 한다.

8.6.2 효소반응의 온도의존성

효소에 의한 촉매반응의 속도는 일정 한계까지 온도에 따라 증가하며 다른 화학반응과 마찬가지로 아레니우스 식으로 표현할 수 있다. 그러나 효소반응은 다른 화학반응보다 온도 범위가 좁으며, 특정 온도 이상이 되면 단백질인 효소는 변성되어 온도가 증가하면 효소의 활성도는 오히려 감소한다. 다음 그림 8.12의 증가하는 영역을 온도활성화 영역이라고 한다. 이 영역에서의 반응속도는 아레니우스(Arrhenius)식을 따른다.

$$v = k_2[E] \quad (8.67)$$

$$k_2 = Ae^{-E_a/RT} \quad (8.68)$$

감소하는 영역을 온도 비활성화 또는 열변성(thermal denaturation) 영역이라 한다. 온도에 의한 변성속도는 아래와 같이 나타낸다.

$$-\frac{d[E]}{dt} = k_d[E] \quad (8.69)$$

즉,

$$E = E_0 e^{-k_d t} \quad (8.70)$$

여기에서 $[E]$ 는 효소농도이고, k_d 는 비활성 상수이다. k_d 역시 Arrhenius 식의 형태로 온도에 따라 변한다.

$$k_d = A_d e^{-E_d/RT} \quad (8.71)$$

여기에서 E_d 는 비활성화 에너지(kcal/mol)이다.

식 (8.67)에 식 (8.68)과 (8.70)을 대입하면 결과적으로 효소 촉매반응의 온도에 따른 변화는 다음 식으로 표시된다.

$$v = Ae^{-E_a/RT} E_0 e^{-k_d t} \quad (8.72)$$

이 식에 따르면 대체로 온도가 10 °C씩 오를 때마다 효소반응의 속도는 약 두 배로 증가한다. 이것은 기질과 효소의 분자운동이 증가하여 서로 접촉할 수 있는 기회가 늘어나기 때문이다. 그러나 효소는 단백질이므로 열이 너무 많이 가해지면 형태가 변해서 제 기능을 못하게 된다. 대부분의 경우 50~60 °C 이상의 온도에서는 효소의 활성도가 급격히 감소한다(그림 8.12). 그러나 예외적으로 아주 높은 온도에서 잘 작용하는 효소도 있다. 예를 들어, 온천 지대에서 발견되는 미생물에는 내열성 효소가 존재한다.

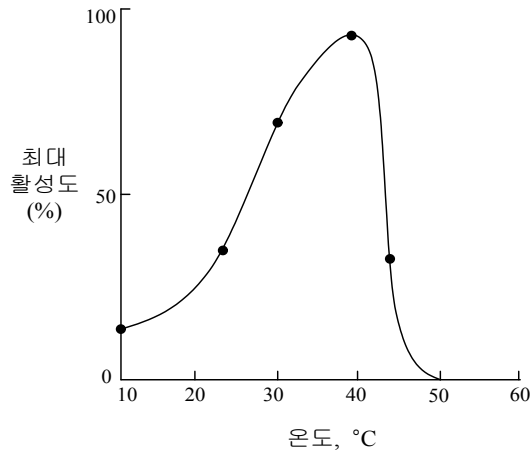


그림 8.12 효소의 활성에 대한 온도의 영향

8.7 효소 반응속도의 pH 의존성

효소에 의한 반응이 다른 화학반응과 크게 다른 점 중에 하나는 효소반응 속도가 pH에 크게 의존된다는 것이다. 왜 이러한 현상이 일어날까?

효소는 단백질인데 단백질은 아미노산으로 만들어져 있다. 아미노산은 아미노기와 카르복실기를 갖고 있어 수용액 중에서 이온의 상태로 존재한다. 어떤 효소들은 활성부위에 이온(ion)을 갖고 있고, 이들 이온은 효소의 촉매기능을 위하여 적합한 형태(산성 또는 염기성)로 존재하여야 한다. 반응액의 pH가 변하면 활성부위의 이온형태가 변화되고, 효소의 활성도가 바뀌게 되고 결국 반응속도도 변한다.

pH가 변함에 따라 효소의 3차원 구조도 조금씩 변하며 특정 pH에서 기질과 가장 잘 결합할 수 있는 모양이 되는데, 이처럼 효소를 가장 활성화시키는 pH를 최적 pH라 한다. 최적 pH는 효소에 따라 다르다. 위(stomach)에서 작용하는 펩신(pepsin)은 최적 pH가 2 정도로 매우 강한 산성이다. 장에서 작용하는 트립신(trypsin)의 최적 pH는 8정도이며, 녹말을 분해하는 아밀라아제(amylase)의 최적 pH는 7정도이다. 실제로 인체는 위의 pH를 1~2로, 장의 pH를 8 내외로 조절하여 효소의 활성을 극대화한다.

효소의 최적 pH를 이론적으로 예측하기 어렵기 때문에 주로 실험에 의해서 구해진다. 그림 8.13는 두 개의 다른 효소에 있어서 pH에 따른 효소활성도의 변화를 보여주는 그림이다.

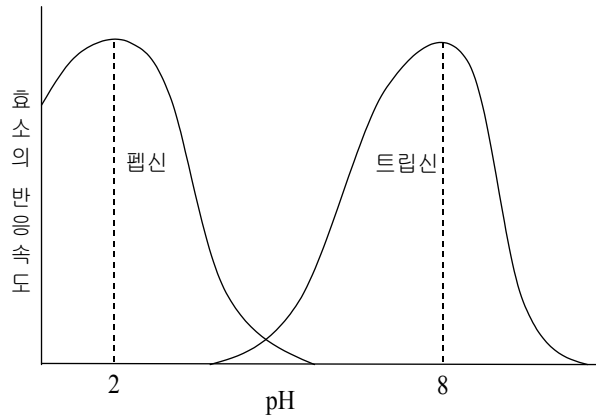
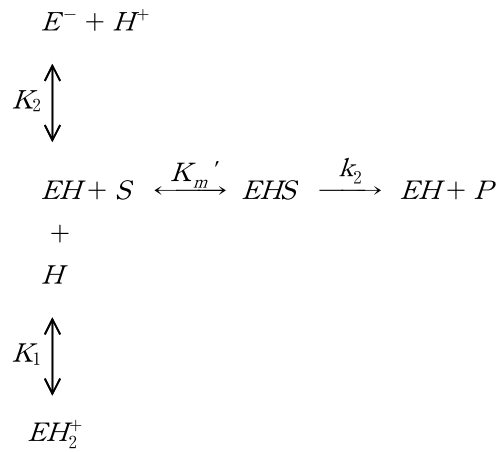


그림 8.13 펩신(pepsin)과 트립신(trypsin) pH의 의존성

아래의 반응경로는 이온화 효소에 대한 효소 반응속도와 pH의 영향을 설명하는 데 이용된다.



이때 K_m' 과 K_1 , K_2 는 다음과 같이 정의된다. 여기서 K_m' 은 (8.52)와 (8.59)에 정의된 K_m' 과 다르게 정의되어 있음에 주의하라.

$$K_m' = \frac{[EH][S]}{[EHS]} \quad (8.73)$$

$$K_1 = \frac{[EH][H^+]}{[EH_2^+]} \quad (8.74)$$

$$K_2 = \frac{[E^-][H^+]}{[EH]} \quad (8.75)$$

$$[E_0] = [E^-] + [EH] + [EH_2^+] + [EHS], \quad v = k_2[EHS]$$

위와 같은 정의로부터 다음의 속도식을 유도할 수 있다.

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m' \left[1 + \frac{K_2}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_1} \right] + [S]} \quad (8.76)$$

또는

$$v = \frac{V_m[S]}{K_{m,app} + [S]} \quad (8.77)$$

여기에서 $K_{m,app} = 1 + \frac{K_2}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_1}$ 이다. 결과적으로 효소의 최적 pH는 pK_1 과 pK_2 사이에 존재한다.