

Při působení ribonukleasy z hovězího pankreasu na substrát o počáteční koncentraci $0,18 \text{ mol dm}^{-3}$ byla při teplotě 28°C zjištěna hodnota $K_M = 0,0087 \text{ mol dm}^{-3}$. Při počáteční koncentraci enzymu $c_{E0} = 3,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ byla naměřena tato časová závislost stupně přeměny koncentrace substrátu

τ / h	1,2	2,35	4,5	6,2
α	0,147	0,287	0,549	0,758

Stanovte molární aktivitu ribonukleasy.

$$[k_2 = 16,97 \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1}]$$

Řešení:

Koncentrace substrátu ($0,18 \text{ mol dm}^{-3}$) je ve srovnání s Michelisovou konstantou ($0,0087 \text{ mol dm}^{-3}$) vysoká, $c_{S0} \gg K_M$, reakce probíhá kinetikou nultého řádu:

$$v_0 = v_{\max}, \quad -\frac{dc_S}{d\tau} = k_2 \cdot c_{E0}$$

balance:

$$c_S = c_{S0} - c_{S0} \cdot \alpha, \quad dc_S = -c_{S0} \cdot d\alpha$$

$$c_P = c_{S0} \cdot \alpha, \quad dc_P = c_{S0} \cdot d\alpha$$

$$\int_0^\alpha c_{S0} d\alpha = k_2 \cdot c_{E0} \int_0^\tau d\tau$$

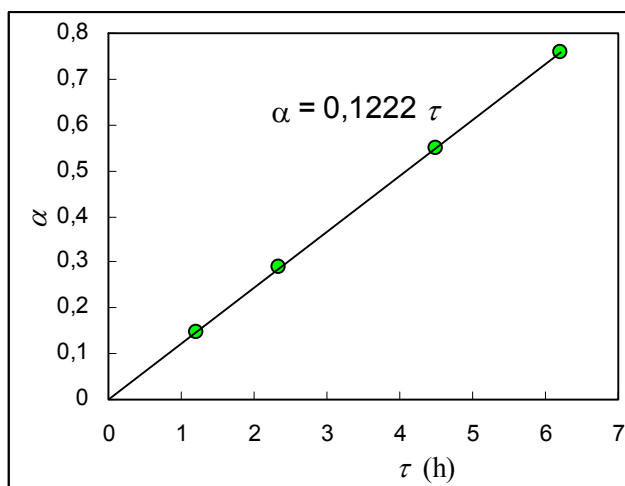
$$c_{S0} \cdot \alpha = k_2 \cdot c_{E0} \cdot \tau \Rightarrow k_2 = \frac{c_{S0} \cdot \alpha}{c_{E0} \cdot \tau}$$

$$k_2 = \frac{0,18 \cdot \alpha}{3,6 \cdot 10^{-7} \cdot \tau} = 5 \cdot 10^5 \cdot \frac{\alpha}{\tau} \left[\frac{\text{mol}_{\text{substrát}} \text{ dm}^{-3}}{\text{mol}_{\text{enzym}} \text{ dm}^{-3}} \cdot \frac{1}{\text{h}} = \frac{1}{3600} \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1} \right]$$

τ / h	1,2	2,35	4,5	6,2
α	0,147	0,287	0,549	0,758
$k_2 / (\text{mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ h}^{-1})$	61250	61063,8	61000	61290
$k_2 / (\text{mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1})$	17	16,962	16,944	16,98

Průměr $k_2 = 16,97 \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1}$

Graficky:



$$\alpha = \frac{k_2 \cdot c_{E0} \cdot \tau}{c_{S0}}$$

$$\frac{k_2 \cdot c_{E0}}{c_{S0}} = 0,1222$$

$$c_{S0} = 0,18 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$c_{E0} = 3,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$k_2 = \frac{c_{S0}}{c_{E0}} \cdot 0,1222 = \frac{0,18}{3,6 \cdot 10^{-7}} \cdot 0,1222$$

$$k_2 = 61100 \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ h}^{-1} = 16,972 \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1}$$