

4. KINETIKA ENZYMOVÝCH REAKCÍ

01	Stanovení konstant rovnice Michaelise a Mentenové z diferenciálních dat; integrální tvar pro $c_{S0} \ll K_M$	1
02	Stanovení konstant rovnice Michaelise a Mentenové z diferenciálních dat; integrální tvar pro $c_{S0} \gg K_M$	1
03	Kinetická analýza enzymové reakce – integrální data.....	1
04	Integrální tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet množství enzymu.....	2
05	Integrální tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet množství enzymu.....	2
06	Molární aktivita enzymu	2
07	Integrální tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet molární aktivity enzymu.....	2
08	Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat; $c_{S0} \ll K_M$	2
09	Integrální tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \gg K_M$; výpočet přeměny.....	2

$$v = \frac{dc_P}{d\tau} = \frac{v_{\max} \cdot c_S}{K_M + c_S}$$

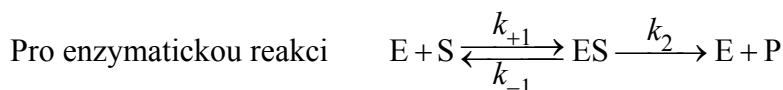
$$v_{\max} = c_{E0} \cdot k_2$$

$$c_{S0} \approx K_M \qquad c_{E0} \cdot k_2 \cdot \tau = c_{S0} \cdot \alpha - K_M \cdot \ln(1 - \alpha)$$

$$c_{S0} \gg K_M \qquad \alpha \cdot c_{S0} = v_{\max} \cdot \tau$$

$$c_{S0} \ll K_M \qquad \ln(1 - \alpha) = -\frac{v_{\max}}{K_M} \cdot \tau$$

01 Stanovení konstant rovnice Michaelise a Mentenové z diferenciálních dat; integrální tvar pro $c_{S0} \ll K_M$



byly naměřeny hodnoty počátečních rychlostí při dvou koncentracích substrátu

$c_S / (\text{mmol dm}^{-3})$	0,25	76,923
$10^8 v_0 / (\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1})$	1,852	27,78

- (a) Odhadněte z těchto dat konstanty rovnice Michaelise a Mentenové
 (b) Jak dlouho bude trvat, než zreaguje 25 % substrátu, jehož počáteční koncentrace byla $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$?

[(a) $v_{\max} = 2,9106 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$, $K_M = 3,679 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, (b) $\tau = 1,01 \text{ h}$]

02 Stanovení konstant rovnice Michaelise a Mentenové z diferenciálních dat; integrální tvar pro $c_{S0} \gg K_M$

Polarimetrickým sledováním enzymatické hydrolýzy opticky aktivního substrátu byla získána závislost počáteční rychlosti na koncentraci substrátu. Některé z naměřených hodnot jsou uvedeny v následující tabulce:

$c_S / (\text{mol dm}^{-3})$	0,062	1,82
$10^6 v_0 / (\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1})$	4,96	5,48

- (a) Odhadněte z těchto dat konstanty rovnice Michaelise a Mentenové
 (b) Jakého stupně přeměny bude dosaženo po 6 hodinách od přidání enzymu k roztoku opticky aktivního substrátu o počáteční koncentraci byla $2,2 \text{ mol dm}^{-3}$?

[(a) $K_M = 6,754 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $v_{\max} = 5,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$; (b) $\alpha = 0,054$]

03 Kinetická analýza enzymové reakce – integrální data

Stanovte kinetické parametry K_M a v_{\max} pro působení chymotrypsinu, získaného z hovězího pankreasu, na acetyl-L-tyrosinethylester (substrát S) z těchto údajů, zjištěných při 25°C a $\text{pH} = 7,8$:

τ/min	0	17,2	32,5
$c_S / \text{mol dm}^{-3}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$

$$[K_M = 6,966 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}, v_{\max} = 1,7933 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}]$$

04 Integrovaný tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet množství enzymu

Kolik μg enzymu má být přidáno k 15 cm^3 roztoku, které obsahují $0,168 \text{ mmol}$ substrátu, aby za 40 s od počátku reakce zreagovalo 35% původně přítomného substrátu? Molární hmotnost enzymu je 38 kg mol^{-1} , jeho katalytická aktivita $k_2 = 8 \cdot 10^5 \mu\text{mol}$ substrátu na $1 \mu\text{mol}$ enzymu za sekundu. Michaelisova konstanta pro tento systém má hodnotu $K_M = 8,13 \text{ mmol dm}^{-3}$.

$$[m_{E0} = 1,322 \cdot 10^{-10} \text{ kg} = 0,132 \mu\text{g}]$$

05 Integrovaný tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet množství enzymu

Trávení kaseinu trypsinem bylo sledováno při teplotě 0°C , kdy je deaktivace trypsinu zanedbatelná, s roztoky kaseinu o koncentraci $5,52 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, jejichž pH bylo pufrům kyselina boritá-boritan sodný udržováno na hodnotě $7,6$. Pro Michaelisovu konstantu byla nalezena hodnota $K_M = 7 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Po 28 min klesla koncentrace kaseinu (substrát) na 84% původní hodnoty. Kolikrát větší koncentrace enzymu bylo použito při dalším pokusu, při němž bylo stejné koncentrace substrátu dosaženo již po 20 minutách?

$$[(c_{E0})_2 = 1,4 (c_{E0})_1]$$

06 Molární aktivita enzymu

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.

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

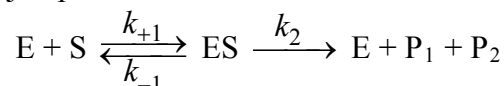
07 Integrovaný tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \approx K_M$; výpočet molární aktivity enzymu

Při sledování působení pepsinu na 1-karboxy-1-glutamyltyrosin byla pro Michaelisovu konstantu zjištěna hodnota $1,73 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. Jestliže bylo ke 20 cm^3 roztoku, který obsahoval $1,24 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$ substrátu, přidáno $8,8 \cdot 10^{-8} \text{ mol}$ pepsinu, bylo po $1,2 \text{ min}$ zjištěno, že se rozložilo 50% původně přítomného substrátu. Vypočítejte molární aktivitu pepsinu.

$$[k_2 = 13,57 \text{ mol}_{\text{substrát}} (\text{mol}_{\text{enzym}})^{-1} \text{ s}^{-1}]$$

08 Výpočet molární aktivity enzymu z integrovaných dat; $c_{S0} \ll K_M$

Pro enzymovou reakci probíhající podle schématu



byla z počátečních reakčních rychlostí vyhodnocena Michaelisova konstanta $K_M = 226 \text{ mmol dm}^{-3}$. Při sledování časové závislosti koncentrace substrátu S bylo zjištěno, že za $1,2$ hodiny klesla jeho koncentrace z počáteční hodnoty $3 \mu\text{g cm}^{-3}$ ($M_S = 150 \text{ g mol}^{-1}$) na 40% původní hodnoty. Koncentrace enzymu, který uvažovanou reakce katalyzuje, byla při tomto pokusu $2,17 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$. Jaká je molární aktivita tohoto enzymu?

$$[k_2 = 22,09 \text{ s}^{-1}]$$

09 Integrovaný tvar rovnice Michaelise a Mentenové; $c_{S0} \gg K_M$; výpočet přeměny

Pro působení pepsinu na 1-karboxy-1-glutamyltyrosin (substrát S) při teplotě 38°C a $\text{pH} = 4$ byly stanoveny tyto hodnoty kinetických parametrů

$$K_M = 1,73 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3} \quad \text{a} \quad v_{\max} = 9,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

Vypočítejte, kolik procent původně přítomného 1-karboxy-1-glutamyltyrosinu se přemění za 10 hodin, je-li jeho počáteční koncentrace $0,8 \text{ mol dm}^{-3}$.

$$[4,14 \%]$$