

### Úloha 9-8 Výpočet koncentrace enzymu

Při teplotě 0°C, kdy je deaktivace trypsinu zanedbatelná, bylo sledováno trávení kaseinu (substrát) trypsinem s roztoky kaseinu o koncentraci  $1,52 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ , jejichž pH bylo pufrům kyselina boritá-boritan sodný udržováno na hodnotě 7,6. Pro Michaelisovu konstantu byla nalezena hodnota  $K_M = 7 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . Při prvním pokusu klesla koncentrace kaseinu po 35 minutách na 80 % původní hodnoty, při druhém pokusu se stejnou počáteční koncentrací kaseinu, avšak s jinou koncentrací enzymu, se za 24 minut po přidání enzymu do roztoku kaseinu přeměnilo 30 % kaseinu. Jaký byl poměr koncentrací enzymu při prvním a druhém pokusu?

$$[(c_{E0})_1 / (c_{E0})_2 = 0,4333]$$

Řešení:

$$K_M = 7 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}.$$

$$c_{S0} = 1,52 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3},$$

$$\tau_1 = 35 \text{ min} \quad c_{S1} = 0,8 c_{S0} \quad (v_{\max})_1 = k_2 \cdot (c_{E0})_1$$

$$\tau_2 = 24 \text{ min} \quad c_{S2} = c_{S0} - 0,3 c_{S0} = 0,7 c_{S0} \quad (v_{\max})_2 = k_2 \cdot (c_{E0})_2$$

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

$$-v_{\max} \cdot d\tau = \frac{K_M}{c_S} \cdot dc_S + dc_S$$

$$-v_{\max} \cdot \tau = -c_{E0} \cdot k_2 \cdot \tau = K_M \cdot \ln \frac{c_S}{c_{S0}} + (c_S - c_{S0})$$

$$\left. \begin{aligned} -(c_{E0})_1 \cdot k_2 \cdot \tau_1 &= K_M \cdot \ln \frac{c_{S1}}{c_{S0}} + (c_{S1} - c_{S0}) \\ -(c_{E0})_2 \cdot k_2 \cdot \tau_2 &= K_M \cdot \ln \frac{c_{S2}}{c_{S0}} + (c_{S2} - c_{S0}) \end{aligned} \right\} \frac{-(c_{E0})_1 \cdot k_2 \cdot \tau_1}{-(c_{E0})_2 \cdot k_2 \cdot \tau_2} = \frac{K_M \cdot \ln \frac{c_{S1}}{c_{S0}} + (c_{S1} - c_{S0})}{K_M \cdot \ln \frac{c_{S2}}{c_{S0}} + (c_{S2} - c_{S0})}$$

$$\frac{(c_{E0})_1}{(c_{E0})_2} = \frac{\tau_2}{\tau_1} \cdot \frac{K_M \cdot \ln \frac{c_{S1}}{c_{S0}} + (c_{S1} - c_{S0})}{K_M \cdot \ln \frac{c_{S2}}{c_{S0}} + (c_{S2} - c_{S0})} = \frac{24}{35} \cdot \frac{7 \cdot 10^{-4} \cdot \ln \frac{0,8 c_{S0}}{c_{S0}} + 1,52 \cdot 10^{-4} \cdot (0,8 - 1)}{7 \cdot 10^{-4} \cdot \ln \frac{0,7 c_{S0}}{c_{S0}} + 1,52 \cdot 10^{-4} \cdot (0,7 - 1)}$$

$$\frac{(c_{E0})_1}{(c_{E0})_2} = 0,4333$$