

### Úloha 9-9 Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat

Pro Michaelisovu konstantu ribonukleasy z hovězího pankreatu byla při jejím působení na 3',5'thimidin (substrát) o počáteční koncentraci  $2 \text{ mol dm}^{-3}$  při  $25^\circ\text{C}$  a  $\text{pH} = 7$  zjištěna hodnota  $K_M = 0,0014 \text{ mol dm}^{-3}$ . Byl sledován úbytek koncentrace substrátu s časem při dvou různých koncentracích enzymu:

I. $c_{E0} = 4,5 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$		II. $c_{E0} = 1,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$	
$\tau / \text{h}$	$\alpha$	$\tau / \text{min}$	$\alpha$
1	0,121	8	0,0685
2,5	0,308	15	0,128
6	0,729	38	0,324
8	0,972	69	0,586

Časová závislost stupně přeměny  $\alpha$  je lineární. Stanovte molární aktivitu ribonukleasy ( $\text{s}^{-1}$ ).

[ $k_2 = 150 \text{ s}^{-1}$ ]

#### Řešení:

$$c_{S0} = 2 \text{ mol dm}^{-3} \gg K_M = 1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

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

$$c_{S0} \cdot \frac{d\alpha}{d\tau} = v_{\max} \text{ - reakce probíhá kinetikou nultého řádu}$$

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

$$\frac{k_2 \cdot c_{E0}}{c_{S0}} = \text{směrnice závislosti } \alpha \text{ na } \tau:$$

$$\text{I. } (c_{E0})_I = 4,5 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$\frac{(k_2)_I \cdot (c_{E0})_I}{c_{S0}} = \frac{1}{4} \cdot \left( \frac{0,121}{1} + \frac{0,308}{2,5} + \frac{0,729}{6} + \frac{0,972}{8} \right) = 0,1218 \text{ h}^{-1} = \frac{0,1218}{3600} \text{ s}^{-1} \quad (\text{h}^{-1} = 3600^{-1} \text{ s}^{-1})$$

$$(k_2)_I = \frac{0,1218 \cdot c_{S0}}{3600 \cdot (c_{E0})_I} = \frac{0,1218 \cdot 2}{3600 \cdot 4,5 \cdot 10^{-7}} = 150,37037 \text{ s}^{-1}$$

$$\text{II. } (c_{E0})_{II} = 1,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$\frac{(k_2)_{II} \cdot (c_{E0})_{II}}{c_{S0}} = \frac{1}{4} \cdot \left( \frac{0,0685}{8} + \frac{0,128}{15} + \frac{0,324}{38} + \frac{0,586}{69} \right) =$$

$$= 0,1218 \text{ min}^{-1} = \frac{8,528725 \cdot 10^{-3}}{60} \text{ s}^{-1} \quad (\text{min}^{-1} = 60^{-1} \text{ s}^{-1})$$

$$(k_2)_{II} = \frac{8,528725 \cdot 10^{-3} \cdot c_{S0}}{60 \cdot (c_{E0})_2} = \frac{8,528725 \cdot 10^{-3} \cdot 2}{60 \cdot 1,9 \cdot 10^{-6}} = 149,6267544 \text{ s}^{-1}$$

Střední hodnota molární aktivity:

$$k_2 = \frac{1}{2} (150,37037 + 149,6267544) = 150 \text{ s}^{-1}$$