

Úloha 9-12 Kinetická analýza enzymové reakce – integrální data

Při působení chymotrypsinu, získaného z hovězího pankreasu, na acetyl-L-tyrosinethylester (substrát S) byla při 25°C a pH = 7,8 zjištěna tato časová závislost okamžité koncentrace substrátu:

τ min	c_S mol dm ⁻³	τ min	c_S mol dm ⁻³
0	$2,0 \cdot 10^{-4}$	24,3	$1,2 \cdot 10^{-4}$
5,2	$1,8 \cdot 10^{-4}$	32,5	$1,0 \cdot 10^{-4}$
10,9	$1,6 \cdot 10^{-4}$	42,3	$8,0 \cdot 10^{-5}$
17,2	$1,4 \cdot 10^{-4}$		

Stanovte kinetické parametry K_M a v_{\max} této enzymové reakce.

$$[K_M = 7,1219 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}, v_{\max} = 1,8263 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}]$$

Řešení:

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

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

$$-\left(\frac{K_M}{c_S} + 1\right)dc_S = v_{\max} \cdot d\tau$$

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

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

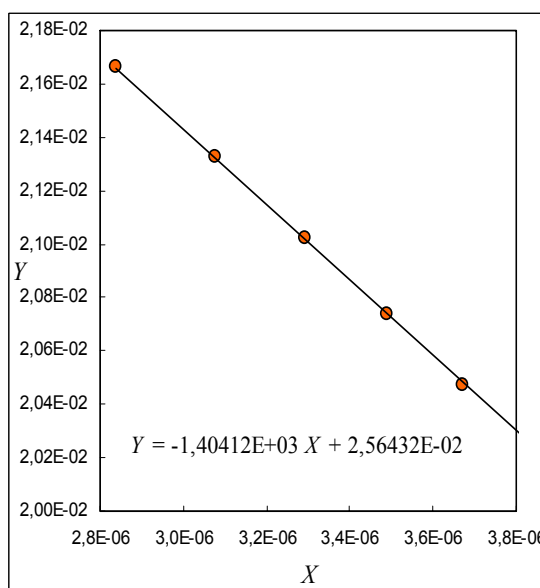
$$\frac{1}{\tau} \cdot \ln \frac{c_{S0}}{c_S} = \frac{v_{\max}}{K_M} - \frac{1}{K_M} \cdot \frac{(c_{S0} - c_S)}{\tau}$$

V souřadnicích $Y \equiv \frac{1}{\tau} \cdot \ln \frac{c_{S0}}{c_S}$, $X \equiv \frac{(c_{S0} - c_S)}{\tau}$ je závislost lineární se

směrnici $B = -\frac{1}{K_M}$ a úsekem $A = \frac{v_{\max}}{K_M}$

τ min	$10^4 c_S$	c_S mol dm ⁻³	X	Y
0	2	0,0002 = c_{S0}		
5,2	1,8	0,00018	$3,84615 \cdot 10^{-6}$	$2,0262 \cdot 10^{-2}$
10,9	1,6	0,00016	$3,66972 \cdot 10^{-6}$	$2,0472 \cdot 10^{-2}$
17,2	1,4	0,00014	$3,48837 \cdot 10^{-6}$	$2,0737 \cdot 10^{-2}$
24,3	1,2	0,00012	$3,29218 \cdot 10^{-6}$	$2,1022 \cdot 10^{-2}$
32,5	1	0,0001	$3,07692 \cdot 10^{-6}$	$2,1328 \cdot 10^{-2}$
42,3	0,8	0,00008	$2,83688 \cdot 10^{-6}$	$2,1662 \cdot 10^{-2}$

Lineární regresí: $Y = 2,56432 \cdot 10^{-2} - 1404,12 \cdot X$



$$B = -\frac{1}{K_M} = -1404,12 \quad \Rightarrow \quad K_M = -\frac{1}{(-1404,12)} = 7,1219 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$A = \frac{v_{\max}}{K_M} = 2,56432 \cdot 10^{-2} \quad \Rightarrow \quad v_{\max} = A \cdot K_M = 2,56432 \cdot 10^{-2} \cdot 7,1219 \cdot 10^{-4} =$$

$$v_{\max} = 1,82628 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ min}^{-1}$$