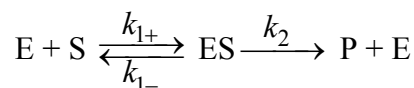


## 9. HETEROGENNÍ KATALÝZA

Úloha 9-1	Kinetická analýza enzymové reakce .....	2
Úloha 9-2	Kinetická analýza enzymové reakce .....	2
Úloha 9-3	Kinetická analýza enzymové reakce .....	3
Úloha 9-4	Kinetická analýza enzymové reakce .....	3
Úloha 9-5	Kinetická analýza enzymové reakce .....	3
Úloha 9-6	Výpočet stupně přeměny enzymové reakce .....	4
Úloha 9-7	Výpočet přeměny enzymové reakce .....	4
Úloha 9-8	Výpočet koncentrace enzymu .....	4
Úloha 9-9	Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat .....	4
Úloha 9-10	Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat .....	5
Úloha 9-11	Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat .....	5
Úloha 9-12	Kinetická analýza enzymové reakce – integrální data .....	5
Úloha 9-13	Kinetika enzymové reakce .....	6
Úloha 9-14	Inhibice enzymových reakcí - plně akompetitivní inhibice .....	6
Úloha 9-15	Inhibice enzymových reakcí – smíšená inhibice .....	7
Úloha 9-16	Inhibice enzymových reakcí – částečně kompetitivní inhibice .....	8
Úloha 9-17	Inhibice enzymových reakcí – plně kompetitivní inhibice .....	9
Úloha 9-18	Inhibice enzymových reakcí – plně nekompetitivní inhibice .....	11
Úloha 9-19	Inhibice enzymových reakcí – částečně nekompetitivní inhibice .....	12
Úloha 9-20	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	13
Úloha 9-21	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	13
Úloha 9-22	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	14
Úloha 9-23	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	14
Úloha 9-24	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	15
Úloha 9-25	Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí .....	16

## Úloha 9-1 Kinetická analýza enzymové reakce

Hodnoty počáteční rychlosti enzymatické reakce



stanovené při různých koncentracích substrátu, jsou uvedeny v následující tabulce:

$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$	$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$
0,0003	0,822	0,012	12,6
0,0005	1,33	0,051	17,6
0,001	2,50	0,074	18,3
0,005	8,33	0,092	18,6

- (a) Stanovte konstanty rovnice Michaelise a Mentenové.  
(b) Jak dlouho bude trvat, než zreaguje 25 % substrátu, jehož počáteční koncentrace byla  
(i)  $1,35 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ , (ii)  $1,35 \text{ mol dm}^{-3}$ , (iii)  $1,35 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ?

**Výsledek:** (a)  $K_M = 7,0102 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $v_{\max} = 2,0002 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$   
(b) (i) 2,8 h, (ii) 468,7 h, (iii) 3,2694 h

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

## Úloha 9-2 Kinetická analýza enzymové reakce

Kinetická studie syntézy vycházející z kyseliny valerové a pentanolu, katalyzované PEG lipasou, prováděná za konstantní koncentrace enzymu ( $c_{E0} = 0,45 \text{ mg cm}^{-3}$ ,  $M_E = 250\,000 \text{ g mol}^{-1}$ ) a konstantní koncentrace pentanolu ( $0,75 \text{ mol dm}^{-3}$ ), poskytla tuto závislost počáteční rychlosti  $v_0$  na koncentraci kyseliny valerové (substrátu S)

$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^4 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ min}^{-1}}$	$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^4 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ min}^{-1}}$
0,042	1,80	0,370	6,30
0,083	2,95	0,550	7,11
0,126	3,73	0,760	7,65
0,167	4,50	1,000	7,92
0,238	5,36	1,300	8,06

- (a) Nakreslete saturační křivku  
(b) Stanovte  $K_M$  ( $\text{mol dm}^{-3}$ ),  $v_{\max}$  ( $\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ ) a katalytickou aktivitu lipasy ( $\text{s}^{-1}$ ).

**Výsledek:**

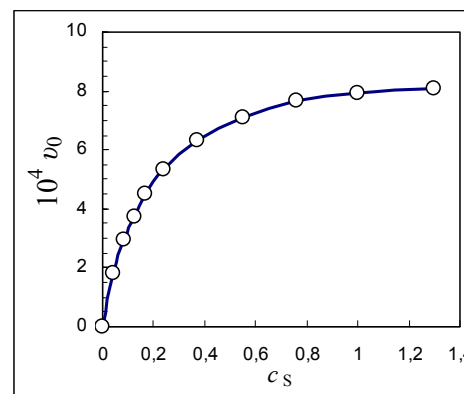
(a) *Saturační křivka:* závislost  $v_0$  na  $c_S$

(b)  $K_M = 0,17564 \text{ mol dm}^{-3}$

$$v_{\max} = 9,2539 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{ min}^{-1}$$

$$= 1,5423 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

$$k_2 = 8,568 \text{ s}^{-1}$$



**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

### Úloha 9-3 Kinetická analýza enzymové reakce

Působení pepsinu na ethylester 1-karboxy-1-glutamylytyrosinu bylo sledováno při teplotě 38°C a pH = 4. Reakce, která představuje hydrolýzu peptidové vazby, byla provedena s komerčním pepsinem v koncentraci  $4,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  (molární hmotnost  $35500 \text{ g mol}^{-1}$ ). Reakce byla sledována titrací uvolněné kyseliny. Hodnoty počáteční rychlosti při různých koncentracích substrátu jsou uvedeny v následující tabulce. Stanovte hodnoty Michaelisovy konstanty  $K_M$  a maximální rychlosti  $v_{\max}$ .

$\frac{c_S}{\text{mmol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$	$\frac{c_S}{\text{mmol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$
0,30	2,40	4,00	10,5
0,77	4,88	6,15	11,6
1,52	7,24	8,00	12,1
2,46	8,94	10,34	12,6

**Výsledek:**  $K_M = 1,5027 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $v_{\max} = 1,4413 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka, 🖨️ + Excel, 🖨️ + Maple

### Úloha 9-4 Kinetická analýza enzymové reakce

Při stejných podmínkách jako v předcházejícím příkladu (38°C pH = 4) bylo sledováno působení pepsinu na 1-karboxy-1-glutamylytyrosin:

$\frac{c_S}{\text{mmol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$	$\frac{c_S}{\text{mmol dm}^{-3}}$	$\frac{10^8 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$
0,25	1,16	4,5	6,64
0,62	2,43	8,0	7,55
1,60	4,42	12,4	8,06
2,70	5,60	15,6	8,27

- (a) Stanovte hodnoty kinetických parametrů  $K_M$  a  $v_{\max}$  pro tento případ.  
(b) Vypočítejte, kolik procent původně přítomného 1-karboxy-1-glutamylytyrosinu se přemění za 10 hodin, je-li jeho počáteční koncentrace  $0,8 \text{ mol dm}^{-3}$ .

**Výsledek:** (a)  $K_M = 1,728 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $v_{\max} = 9,1884 \cdot 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ , (b)  $\alpha = 4,135 \cdot 10^{-3}$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka, 🖨️ + Excel, 🖨️ + Maple

### Úloha 9-5 Kinetická analýza enzymové reakce

Enzymatická hydrolýza jisté opticky aktivní látky (substrátu) byla sledována měřením počáteční rychlosti při různých koncentracích substrátu. Rychlost byla měřena rychlostí změny údaje polarimetru. Byla získána tato data:

$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^6 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$	$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{10^6 v_0}{\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}}$
0,0052	0,608	0,15	5,02
0,012	1,26	0,53	6,18
0,041	2,97	1,32	6,54
0,079	4,07	1,67	6,59

Stanovte z těchto dat Michaelisovu konstantu  $K_M$  pro komplex enzym-substrát a hodnotu maximální rychlosti  $v_{\max}$ .

**Výsledek:**  $K_M = 0,0529 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $v_{\max} = 6,8 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka, 🖨️ + Excel, 🖨️ + Maple

### Úloha 9-6 Výpočet stupně přeměny enzymové reakce

Vypočítejte, jakého stupně přeměny dosáhnete po 2 hodinách od přidání enzymu k roztoku opticky aktivní látky (viz předchozí úloha), provádíte-li reakci

(a) v oblasti nízkých koncentrací, při  $c_{S0} = 1,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ,

(b) v oblasti vysokých koncentrací, při  $c_{S0} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}$ .

**Výsledek:** (a)  $\alpha = 0,6035$ , (b)  $\alpha = 0,03265$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

### Úloha 9-7 Výpočet přeměny enzymové reakce

Působení ribosafosfátisomerasy na D-ribosa-5-fosfát (substrát) bylo sledováno při teplotě 37°C a pH = 7,6. Michaelisova konstanta má hodnotu  $K_M = 2,7 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , maximální rychlost  $v_{\max} = 3,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Kolik substrátu se přemění za jednu hodinu, měla-li výchozí koncentrace hodnotu  $1,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ?

**Výsledek:**  $4,73 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ; 26,275 %

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

### 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?

**Výsledek:**  $c_{E0(1)}/c_{E0(2)} = 0,4333$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

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

Pro Michaelisovu konstantu ribonukleasy z hovězího pankreasu byla při jejím působení na 3',5'thimidin (substrát) o počáteční koncentraci  $2 \text{ mol dm}^{-3}$  při 25°C a 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

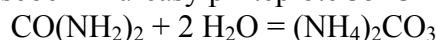
Časová závislost stupně přeměny  $\alpha$  je lineární. Stanovte molární aktivitu ribonukleasy.

**Výsledek:**  $k_2 = 150 \text{ s}^{-1}$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

### Úloha 9-10 Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat

Při studiu rozkladu močoviny působením ureasy při teplotě 35°C



byl sledován vliv koncentrace enzymu.

K 10 cm<sup>3</sup> roztoku, který obsahoval 0,00165 molu močoviny, bylo přidáváno 1 až 5 cm<sup>3</sup> roztoku ureasy (podle pokusu) a množství vody, potřebné k doplnění vzorku na objem 15 cm<sup>3</sup>. V 1 cm<sup>3</sup> roztoku ureasy bylo obsaženo 3,6 mg ureasy ( $M = 480 \text{ kg mol}^{-1}$ ). Reakce byla přerušována po vhodně volené době přidáním přebytku 0,1 M HCl. Tím se enzym zničil a množství HCl, zbylé po neutralizaci uhličitanu amonného, vytvořeného rozkladem močoviny, bylo stanoveno titrací 0,1 M hydroxidem. Byla zjištěna tato data:

$\tau$ /min	relativní množství enzymu	rozložená močovina / %
80,0	1	51,2
40,0	2	52,0
26,6	3	52,6
20,0	4	53,2
16,0	5	53,3

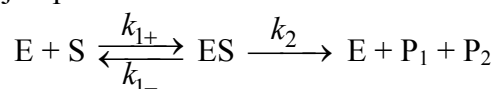
Množství enzymu je uváděno relativně k množství enzymu přidanému při prvním pokusu. Jaká je molární aktivita ureasy? Michaelisova konstanta má hodnotu  $K_M = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$ .

**Výsledek:**  $k_2 = 36,458 \text{ s}^{-1}$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-11 Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat

Pro enzymovou reakci probíhající podle schématu



byla z počátečních reakčních rychlostí vyhodnocena Michaelisova konstanta  $K_M = 214 \text{ mmol dm}^{-3}$ . Při sledování časové závislosti koncentrace substrátu S bylo zjištěno, že po 1 hodině 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?

**Výsledek:**  $k_2 = 25,1 \text{ s}^{-1}$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### 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:

$\tau$	$c_S$	$\tau$	$c_S$
min	$\text{mol dm}^{-3}$	min	$\text{mol dm}^{-3}$
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.

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

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple



Kinetické parametry (pro  $c_1 / (\text{mol dm}^{-3})$ ):

$$K'_M / (\text{mol dm}^{-3}) = \frac{2,1 \cdot 10^{-6}}{7 \cdot 10^{-3} + c_1}, \quad v'_{\max} / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}) = \frac{1,75 \cdot 10^{-6}}{7 \cdot 10^{-3} + c_1}$$

Dixonův graf: rovnoběžné přímky se stejnou směrnici:  $\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v_{\max}} \cdot \underbrace{\left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{1}{v_{\max} \cdot K'_I}}_{\text{směrnice}} \cdot c_1$

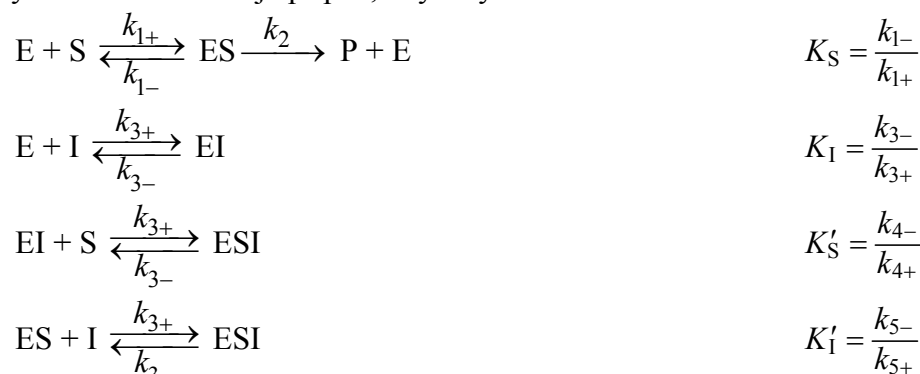
Graf Huntera a Downse: jedna hyperbola pro všechny koncentrace inhibitoru:

$$\frac{c_1 \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{K'_I \cdot K_M}{c_S} + K'_I = \frac{2,1 \cdot 10^{-6}}{c_S} + 7 \cdot 10^{-3}$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-15 Inhibice enzymových reakcí – smíšená inhibice

Příkladem typicky smíšené inhibice je případ, kdy v systému dochází k těmto dílčím reakcím:



Od plně nekompetitivní inhibice se toto schema liší v tom, že platí

$$\frac{K'_I}{K_I} = \frac{K'_S}{K_S} = \alpha > 1$$

Najděte výraz pro rychlost inhibované reakce a pro níže uvedená experimentální data stanovte hodnoty všech kinetických konstant. Nakreslete Dixonův graf a graf podle Huntera a Downse.

$\frac{c_S}{\text{mol dm}^{-3}}$	$10^5 v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$				
	$\frac{c_I = 0}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,005}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,012}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,017}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,025}{\text{mol dm}^{-3}}$
0,008	4,870	2,804	1,759	1,389	1,040
0,025	6,140	3,588	2,268	1,796	1,347
0,050	6,542	3,840	2,433	1,929	1,448
0,080	6,707	3,944	2,502	1,984	1,490

**Výsledek:**  $v_i = k_2 \cdot c_{E0} \frac{K_I}{K_I + c_1 / \alpha} \cdot \frac{c_S}{K_M \left( \frac{K_I + c_1}{K_I + c_1 / \alpha} \right) + c_S}$ ,

$$v'_{\max} = v_{\max} \cdot \frac{K_I}{K_I + c_1 / \alpha}, \quad K'_M = K_M \cdot \left( \frac{K_I + c_1}{K_I + c_1 / \alpha} \right)$$

$$v_{\max} = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}, \quad K_M = 0,0035 \text{ mol dm}^{-3},$$

$$K_I = 0,006 \text{ mol dm}^{-3}, \quad \alpha = 1,2,$$

$$K'_I = 0,0072 \text{ mol dm}^{-3},$$

$$K'_S = 0,0042 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$v'_{\max} / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}) = \frac{5,04 \cdot 10^{-7}}{7,2 \cdot 10^{-3} + c_I}$$

$$K'_M / (\text{mol dm}^{-3}) = 4,2 \cdot 10^{-3} \cdot \left( \frac{6 \cdot 10^{-3} + c_I}{7,2 \cdot 10^{-3} + c_I} \right) \quad (\text{pro } c_I / \text{mol dm}^{-3})$$

Lineweaver a Burk: 
$$\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v'_{\max}} + \frac{K'_M}{v'_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} = \underbrace{\frac{K_I + c_I / \alpha}{v_{\max} \cdot K_I}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{1}{c_S}$$

Hanes: 
$$\frac{c_S}{v_i} = \frac{K'_M}{v'_{\max}} + \frac{1}{v'_{\max}} \cdot c_S = \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_I + c_I / \alpha}{v_{\max} \cdot K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$$

Eadie: 
$$v_i = v'_{\max} - K'_M \cdot \frac{v_i}{c_S} = v_{\max} \cdot \underbrace{\frac{K_I}{K_I + c_I / \alpha}}_{\text{úsek}} - \underbrace{K_M \cdot \left( \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha} \right)}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{v_i}{c_S}$$

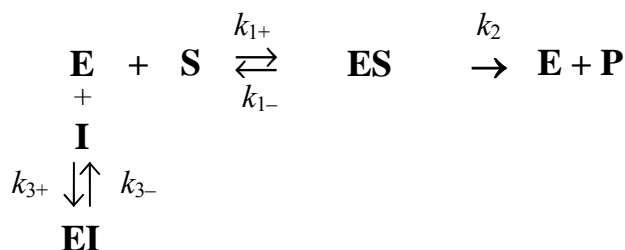
Dixonův graf: svazek sbíhavých přímek 
$$\frac{1}{v_i} = \underbrace{\left( \frac{K_M + c_S}{v_{\max} \cdot c_S} \right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\left( \frac{1}{v_{\max} \cdot K_I \cdot \alpha} + \frac{K_M}{v_{\max} \cdot K_I \cdot c_S} \right)}_{\text{směrnice}} \cdot c_I$$

Graf podle Huntera a Downse - nelineární průběh: 
$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_I \cdot K_I \cdot (K_M + c_S)}{K_M + c_S / \alpha}$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-16 Inhibice enzymových reakcí – částečně kompetitivní inhibice

Odvoďte (a) výraz pro rychlost plně kompetitivní reakce, probíhající podle schématu



- (b) linearizované tvary rychlostní rovnice podle (i) Hanese, (ii) Lineweavera a Burka, (iii) Eadiea,  
(c) Pro data uvedená v následující tabulce vypočítejte kinetické parametry  $v'_{\max}$ ,  $K'_M$  a  $K_I$  uvažované inhibované reakce

$c_S$ mol dm <sup>-3</sup>	$v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$				
	$\frac{c_I = 0}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,005}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,012}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,032}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,084}{\text{mol dm}^{-3}}$
0,014	$1,718 \cdot 10^{-6}$	$1,654 \cdot 10^{-6}$	$1,571 \cdot 10^{-6}$	$1,375 \cdot 10^{-6}$	$1,038 \cdot 10^{-6}$
0,038	$3,828 \cdot 10^{-6}$	$3,710 \cdot 10^{-6}$	$3,555 \cdot 10^{-6}$	$3,178 \cdot 10^{-6}$	$2,490 \cdot 10^{-6}$
0,124	$7,609 \cdot 10^{-6}$	$7,464 \cdot 10^{-6}$	$7,269 \cdot 10^{-6}$	$6,766 \cdot 10^{-6}$	$5,733 \cdot 10^{-6}$
0,340	$1,053 \cdot 10^{-5}$	$1,043 \cdot 10^{-5}$	$1,028 \cdot 10^{-5}$	$9,904 \cdot 10^{-6}$	$9,035 \cdot 10^{-6}$

- (d) Zkonstruujte Dixonův graf a graf podle Huntera a Downse.



**Výsledek:** (a)  $v_i = \frac{k_2 \cdot c_{E0} \cdot c_S}{K_M \left(1 + \frac{c_I}{K_I}\right) + c_S}$ ,

(b) Linearizované tvary:

Lineweaver a Burk:  $\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v'_{\max}} + \frac{K'_M}{v'_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} = \underbrace{\frac{1}{v'_{\max}}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_M \cdot (K_I + c_I)}{v'_{\max} \cdot K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{1}{c_S}$

Hanes:  $\frac{c_S}{v_i} = \frac{K'_M}{v'_{\max}} + \frac{1}{v'_{\max}} \cdot c_S = \underbrace{\frac{K_M \cdot (K_I + c_I)}{v'_{\max} \cdot K_I}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{1}{v'_{\max}}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$

Eadie:  $v_i = v'_{\max} - K'_M \cdot \frac{v_i}{c_S} = \underbrace{v'_{\max}}_{\text{úsek}} - \underbrace{K_M \cdot \left(\frac{K_I + c_I}{K_I}\right)}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{v_i}{c_S}$

(c)  $v'_{\max} = v_{\max} = 1,350 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$   
 $K_M = 0,0960633 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $K_I = 0,1121 \text{ mol dm}^{-3}$

$$K'_M = K_M \cdot \left(\frac{K_I + c_I}{K_I}\right) = 0,09606 + 0,85694 \cdot c_I$$

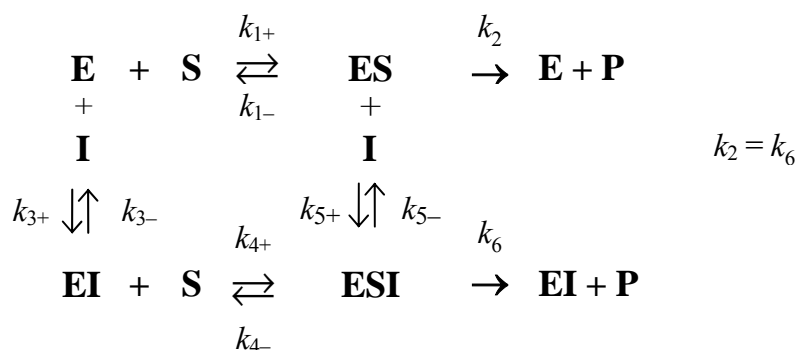
(d) Dixonův graf - svazek sbíhavých přímek:  $\frac{1}{v_i} = \underbrace{\frac{1}{v_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\left(\frac{K_M}{v_{\max} \cdot K_I \cdot c_S}\right)}_{\text{směrnice}} \cdot c_I$

Graf podle Huntera a Downse - svazek sbíhavých přímek:  $\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \underbrace{K_I}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_I}{K_M}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

### Úloha 9-17 Inhibice enzymových reakcí – plně kompetitivní inhibice

Pro jistou enzymovou reakci bylo navrženo schema



kteří popisuje částečně kompetitivní inhibici.

- Odvoďte vztah pro rychlost této inhibované reakce a porovnejte výrazy pro zdánlivé konstanty  $K'_M$  a  $v'_{\max}$  s  $K_M$  a  $v_{\max}$  neinhobované reakce
- Odvoďte linerizované výrazy
  - podle Lineweavera a Burka,
  - podle Hanese,
  - podle Eadiea.
- Z hodnot počátečních rychlostí, naměřených při různých koncentracích substrátu a inhibitoru, stanovte hodnoty konstant v rychlostní rovnici.
- Sestrojte graf (i) podle Dixona, (ii) podle Huntera a Downse. Jak rozlišíme plně kompetitivní inhibici od částečně kompetitivní?

$c_S$ mol dm <sup>-3</sup>	$10^5 v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$				
	$\frac{c_I = 0}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,013}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,027}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,075}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I = 0,109}{\text{mol dm}^{-3}}$
0,012	5,778	4,841	4,785	4,749	4,733
0,090	6,393	6,216	6,204	6,195	6,192
0,260	6,463	6,399	6,394	6,391	6,390
0,380	6,474	6,430	6,427	6,425	6,424

### Výsledek:

$$(a) v_i = \frac{k_2 \cdot c_{E0} \cdot c_S}{K_M \left( \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha} \right) + c_S}, \quad v'_{\max} = k_2 \cdot c_{E0} = v_{\max}, \quad K'_M = K_M \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha}$$

(b) Linearizace:

$$(i) \text{ Lineweaver a Burk: } \frac{1}{v_i} = \frac{1}{v'_{\max}} + \frac{K'_M}{v'_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} = \frac{1}{v'_{\max}} + \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha}}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{1}{c_S}$$

$$(ii) \text{ Hanes: } \frac{c_S}{v_i} = \frac{K'_M}{v'_{\max}} + \frac{1}{v'_{\max}} \cdot c_S = \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{1}{v_{\max}}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$$

$$(iii) \text{ Eadie } v_i = v'_{\max} - K'_M \cdot \frac{v_i}{c_S} = \underbrace{v_{\max}}_{\text{úsek}} - \underbrace{K_M \cdot \left( \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha} \right)}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{v_i}{c_S}$$

$$(c) v_{\max} = v'_{\max} = 6,500 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}, \quad K_M = 1,4991 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$K_I = 6,7528 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}, \quad \alpha = 3,014$$

$$K'_I = 2,0351 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$K'_S = 4,5179 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} (K_S = K_M)$$

$$K'_M = 4,5183 \cdot 10^{-3} \cdot \frac{6,7528 \cdot 10^{-4} + c_I}{2,0353 \cdot 10^{-3} + c_I}$$

(d) (i) Dixonův graf – je nelineární- tím lze rozlišit částečně kompetitivní inhibici od inhibice plné, jejíž Dixonův graf je lineární (viz Úloha 9-16)

$$\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v_{\max}} + \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I / \alpha}$$

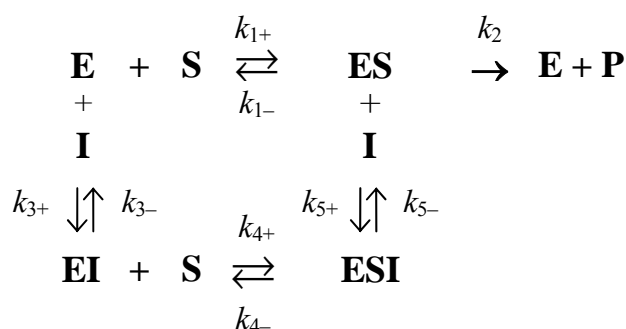
(ii) Graf podle Huntera a Downse - je lineární, svazek sbíhajících se přímek

$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \underbrace{\frac{(\alpha \cdot K_I + c_I)}{(\alpha - 1)}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{(\alpha \cdot K_I + c_I)}{K_M \cdot (\alpha - 1)}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka , 🖨️ + Excel , 🖨️ + Maple

## Úloha 9-18 Inhibice enzymových reakcí – plně nekompetitivní inhibice

Enzymová reakce probíhá za přítomnosti inhibitoru podle následujícího schématu:



- (a) Odvoďte vztah pro rychlost inhibované reakce. Jak ovlivňuje tato plně nekompetitivní inhibice hodnoty parametrů  $K_M$  a  $v_{\max}$  v porovnání s neinhibovanou enzymatickou reakcí?
- (b) Odvoďte linearizované tvary rychlostní rovnice podle (i) Lineweavera a Burka, (ii) Hanese, (iii) Eadiea a vypočítejte hodnoty kinetických parametrů  $K_M$ ,  $v_{\max}$ ,  $K'_M$ ,  $v'_{\max}$  a  $K_I$ .
- (c) Pomocí závislostí podle (i) Dixona, (ii) Huntera a Downse ukažte jak lze rozlišit plnou a částečnou kompetitivní inhibici.

$c_S$ mol dm <sup>-3</sup>	$v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$				
	$c_I = 0$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,01$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,02$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,03$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,04$ mol dm <sup>-3</sup>
0,026	$4,514 \cdot 10^{-7}$	$2,138 \cdot 10^{-7}$	$1,401 \cdot 10^{-7}$	$1,042 \cdot 10^{-7}$	$8,291 \cdot 10^{-8}$
0,108	$1,459 \cdot 10^{-6}$	$6,913 \cdot 10^{-7}$	$4,529 \cdot 10^{-7}$	$3,368 \cdot 10^{-7}$	$2,681 \cdot 10^{-7}$
0,340	$2,824 \cdot 10^{-6}$	$1,338 \cdot 10^{-6}$	$8,764 \cdot 10^{-7}$	$6,517 \cdot 10^{-7}$	$5,187 \cdot 10^{-7}$
0,570	$3,425 \cdot 10^{-6}$	$1,623 \cdot 10^{-6}$	$1,063 \cdot 10^{-6}$	$7,905 \cdot 10^{-7}$	$6,292 \cdot 10^{-7}$

**Výsledek:** (a)  $v_i = \frac{k_2 \cdot c_{E0} \frac{K_I}{K_I + c_I} \cdot c_S}{K_M + c_S} = \frac{v'_{\max} \cdot c_S}{K'_M + c_S}$ ,  $K'_M = K_M$ ,  $v'_{\max} = v_{\max} \cdot \frac{K_I}{K_I + c_I}$

(b) Linearizace

(i) Lineweavera a Burka:  $\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v'_{\max}} + \frac{K'_M}{v'_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} = \underbrace{\frac{K_I + c_I}{v_{\max} \cdot K_I}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{1}{c_S}$

(ii) Hanese  $\frac{c_S}{v_i} = \frac{K'_M}{v'_{\max}} + \frac{1}{v'_{\max}} \cdot c_S = \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I}}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_I + c_I}{v_{\max} \cdot K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$

(iii) Eadiea  $v_i = v'_{\max} - K'_M \cdot \frac{v_i}{c_S} = v_{\max} \cdot \underbrace{\frac{K_I}{K_I + c_I}}_{\text{úsek}} - \underbrace{K_M}_{\text{směrnice}} \cdot \frac{v_i}{c_S}$

$v_{\max} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ ,  $K_M = 0,262 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $K_I = 9 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$

$v'_{\max} / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}) = \frac{4,5 \cdot 10^{-9}}{9 \cdot 10^{-3} + c_I}$

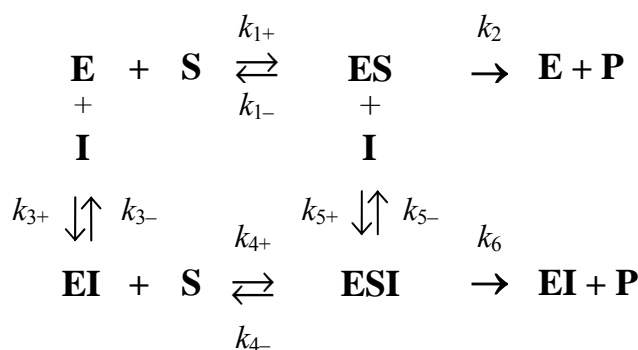
(c)(i) Dixonův graf je lineární:  $\frac{1}{v_i} = \underbrace{\frac{1}{v_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{1}{v_{\max} \cdot K_I} \cdot \left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{směrnice}} \cdot c_I$

(ii) Graf podle Huntera a Downse  $\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = K_I$  - jediná přímka pro všechny koncentrace inhibitoru.

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🍁 + Maple

## Úloha 9-19 Inhibice enzymových reakcí – částečně nekompetitivní inhibice

O jisté enzymové reakci se předpokládá, že probíhá podle schématu



které popisuje částečně nekompetitivní inhibici. Vyjádřete

(a) rychlost reakce jako funkci koncentrace substrátu a inhibitoru,

(b) nejčastěji používané linearizované tvary rychlostní rovnice

(c) Z dat uvedených v následující tabulce vypočítejte kinetické parametry inhibované i neinhobované reakce

$c_S$ mol dm <sup>-3</sup>	$v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$				
	$c_I = 0$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,0053$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,012$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,025$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 0,060$ mol dm <sup>-3</sup>
0,025	$7,054 \cdot 10^{-6}$	$6,008 \cdot 10^{-6}$	$5,442 \cdot 10^{-6}$	$4,979 \cdot 10^{-6}$	$4,600 \cdot 10^{-6}$
0,110	$2,294 \cdot 10^{-5}$	$1,954 \cdot 10^{-5}$	$1,770 \cdot 10^{-5}$	$1,620 \cdot 10^{-5}$	$1,496 \cdot 10^{-5}$
0,250	$3,648 \cdot 10^{-5}$	$3,107 \cdot 10^{-5}$	$2,814 \cdot 10^{-5}$	$2,575 \cdot 10^{-5}$	$2,379 \cdot 10^{-5}$
0,550	$4,883 \cdot 10^{-5}$	$4,159 \cdot 10^{-5}$	$3,766 \cdot 10^{-5}$	$3,446 \cdot 10^{-5}$	$3,184 \cdot 10^{-5}$

(d) Sestrojte grafy podle Dixona a podle Huntera a Downse.

**Výsledek:** (a)  $v_i = \left( \frac{K_I + \beta \cdot c_I}{K_I + c_I} \right) \cdot \frac{k_2 \cdot c_{E0} \cdot c_S}{K_M + c_S}$

(b) Linearizace podle

(i) Lineweavera a Burka:  $\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v'_{\max}} + \frac{K'_M}{v'_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} = \frac{1}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + \beta \cdot c_I} + \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + \beta \cdot c_I} \cdot \frac{1}{c_S}$   
úsek směřnice

(ii) Hanese  $\frac{c_S}{v_i} = \frac{K'_M}{v'_{\max}} + \frac{1}{v'_{\max}} \cdot c_S = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + \beta \cdot c_I} + \frac{1}{v_{\max}} \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + \beta \cdot c_I} \cdot c_S$   
úsek směřnice

(iii) Eadie  $v_i = v'_{\max} - K'_M \cdot \frac{v_i}{c_S} = v_{\max} \cdot \frac{K_I + \beta \cdot c_I}{K_I + c_I} - K_M \cdot \frac{v_i}{c_S}$   
úsek směřnice

(c)  $v_{\max} = 6,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ ,  $K_M = 0,216 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $K_I = 0,009 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $\beta = 0,6$

$$v'_{\max} = \frac{6,12 \cdot 10^{-7} + 4,08 \cdot 10^{-5} \cdot c_I}{9 \cdot 10^{-3} + c_I}$$

(d) (i) Dixonův graf je nelineární:  $\frac{1}{v_i} = \frac{(K_M + c_S) \cdot (K_I + c_I)}{v_{\max} \cdot c_S \cdot (K_I + \beta \cdot c_I)}$

(ii) Graf podle Huntera a Downse  $\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{K_I + \beta \cdot c_I}{1 - \beta}$  - soustava rovnoběžných přímek

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka, 📊 + Excel, 🌲 + Maple

### Úloha 9-20 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Při syntéze purinů byl sledován vliv azaserinu, který má inhibiční účinky:

$c_S$	$10^6 v$	$10^6 v_i$			
		$c_I=0,004$	$c_I=0,012$	$c_I=0,03$	$c_I=0,05$
0,005	1,000	0,937	0,831	0,662	0,540
0,008	1,429	1,344	1,200	0,968	0,797
0,012	1,875	1,772	1,594	1,300	1,080
0,018	2,368	2,250	2,040	1,690	1,418
0,022	2,620	2,493	2,271	1,894	1,600
0,035	3,182	3,045	2,802	2,377	2,034
0,048	3,530	3,390	3,138	2,690	2,324
0,060	3,750	3,609	3,355	2,900	2,516

$v$  je počáteční rychlost neinhibované enzymové reakce ( $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$ ),  $v_i$  počáteční rychlost enzymové reakce za přítomnosti inhibitoru ( $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$ ),  $c_S$  koncentrace substrátu ( $\text{mol dm}^{-3}$ ),  $c_I$  koncentrace inhibitoru ( $\text{mol dm}^{-3}$ ). Posuďte charakter inhibičního účinku azaserinu, najděte rovnici popisující závislost počáteční rychlosti na koncentraci substrátu a inhibitoru a stanovte hodnoty konstant.

**Výsledek:** Smíšená inhibice: 
$$v_i = \frac{v_{\max} \cdot K_I}{\alpha K_I + c_I} \cdot \frac{c_S}{K_M \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I/\alpha} + c_S}$$

$$v_{\max} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1} ; K_M = 0,02 \text{ mol dm}^{-3} ; K_I = 0,051 \text{ mol dm}^{-3} , \alpha = 3$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-21 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Působení enzymu arginasy na substrát argirin bylo při teplotě 37°C a pH 8,4 sledováno jednak za přítomnosti, jednak za nepřítomnosti norvalinu, který má inhibiční účinek. Výsledky byly vyjádřeny poměrem hodnot rychlostí  $v/v_i$  ( $v$  nepřítomnosti inhibitoru, za přítomnosti inhibitoru  $v_i$ ) pro různé koncentrace inhibitoru a substrátu:

$c_S$ (arginin) $\text{mol dm}^{-3}$	$c_I$ (norvalin) $\text{mol dm}^{-3}$	$v/v_i$
0,0223	0,0890	3,67
	0,0445	2,34
	0,0178	1,53
0,0667	0,0334	2,03
	0,0179	1,54
	0,0083	1,25
0,0445	0,0890	3,74
	0,0445	2,36
	0,0178	1,54

Na základě těchto dat posuďte, zda norvalin má plně kompetitivní nebo nekompetitivní účinek a stanovte inhibiční konstantu (konstanty).

**Výsledek:** Plně nekompetitivní, 
$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_I}{v/v_i - 1} = K_I = 0,033 \text{ mol dm}^{-3}$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-22 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Inhibice působení arginasy na argirin, vyvolaná přítomností ornithinu byla sledována při teplotě 37°C a pH 8,4 měřením počátečních reakčních rychlostí při různých koncentracích argirinu a inhibitoru. Poměr počáteční rychlosti v nepřítomnosti inhibitoru ( $v$ ) a v přítomnosti inhibitoru ( $v_i$ ) je uveden ve třetím sloupci následující tabulky:

$c_S$ (arginin) $\text{mol dm}^{-3}$	$c_I$ (ornithin) $\text{mol dm}^{-3}$	$v/v_i$	$c_S$ (arginin) $\text{mol dm}^{-3}$	$c_I$ (ornithin) $\text{mol dm}^{-3}$	$v/v_i$
0,0223	0,0890	9,1	0,0667	0,0667	3,44
	0,0445	5		0,0334	2,17
	0,0223	2,9		0,0167	1,61
	0,0111	1,89		0,00834	1,30
0,0297	0,0297	3,06	0,089	0,0890	3,42
	0,0148	1,98		0,0445	2,20
	0,0074	1,47		0,0223	1,63
		0,0111		1,31	0,00556
0,0445	0,0445	3,33			
	0,0223	2,18			
	0,0111	1,57			

Rozhodněte, zda se jedná o plně kompetitivní nebo plně nekompetitivní inhibici a stanovte hodnoty disociačních konstant pro systém arginasa-arginin ( $K_M$ ) a arginasa-ornithin ( $K_I$ ).

**Výsledek:** Graf podle Dixona je přímkový pro oba případy. Plně kompetitivní a plně nekompetitivní je možno odlišit závislostí podle Huntera a Downse – výraz  $c_I \cdot v_i / (v - v_i)$  je lineárně závislý na  $c_S$ , inhibice je *plně kompetitivní*:

$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_I}{v/v_i - 1} = K_I + \frac{K_I}{K_M} \cdot c_S$$

(pro plně nekompetitivní inhibici nezávisí na koncentraci inhibitoru ani na koncentraci substrátu)

$$K_I = 3,651 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$K_M = 0,01009 \text{ mol dm}^{-3}$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple

### Úloha 9-23 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Analýzou kinetických dat získaných sledováním enzymatického působení hexakinasy ( $M = 380 \text{ kg mol}^{-1}$ ) na substrát S při koncentraci enzymu  $4,75 \text{ mg dm}^{-3}$  byla zjištěna pro Michaelisovu konstantu hodnota  $K_M = 0,0035 \text{ mol dm}^{-3}$ , pro molekulární aktivitu enzymu hodnota  $k_2 = 250 \text{ s}^{-1}$ . Z hodnot počátečních reakčních rychlostí naměřených za přítomnosti glukosa-6-fosfátu (viz tabulka) určete povahu inhibičních účinků glukosa-6-fosfátu, sestavte rovnici pro závislost rychlosti inhibované reakce na koncentraci substrátu a inhibitoru a stanovte hodnoty konstant této rovnice. Porovnejte průběh saturační křivky neinhibované a inhibované reakce.

$c_s$	$10^6 v_i / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$			
	$c_I = 2,5 \cdot 10^{-4}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 6,8 \cdot 10^{-4}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 2 \cdot 10^{-3}$ mol dm <sup>-3</sup>	$c_I = 7 \cdot 10^{-3}$ mol dm <sup>-3</sup>
0,0003	0,227	0,210	0,192	0,179
0,0015	0,863	0,800	0,729	0,682
0,0027	1,253	1,160	1,058	0,990
0,0039	1,517	1,404	1,280	1,198
0,0043	1,587	1,468	1,340	1,253
0,0058	1,795	1,660	1,516	1,417
0,0090	2,072	1,917	1,750	1,636
0,0120	2,228	2,062	1,882	1,760

**Výsledek:** Průběh saturačních křivek odpovídá buď nekompetitivní inhibici (obr. 9.8a) nebo inhibici smíšené (obr. 9.10a). *Dixonův graf* má hyperbolický průběh  $\Rightarrow$  inhibice je částečně nekompetitivní.

$$K_I = 7 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}, \beta = 0,7$$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka , 🖨️ + Excel , 🖨️ + Maple

#### Úloha 9-24 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Byl zkoumán vliv různých inhibitorů na enzymové působení dehydrogenasy na pyrohroznan. Pro neinhibovanou reakci byly zjištěny konstanty  $K_M = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$  a  $v_{\max} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Všechny tři testované inhibitory mají akompetitivní účinky. Při koncentraci pyrohroznanu  $0,02 \text{ mol dm}^{-3}$  byly získány tyto hodnoty počátečních rychlostí enzymové reakce (v  $\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ ):

$c_I$ mol dm <sup>-3</sup>	$10^5 v_i$		
	inhibitor A	inhibitor B	inhibitor C
0,003	1,515	1,375	1,626
0,010	1,250	1,053	1,538
0,022	0,961	0,839	1,400
0,035	0,769	0,739	1,290
0,060	0,556	0,652	1,111

Na základě těchto dat rozhodněte, jde-li o inhibici plnou nebo částečnou a v případě plné inhibice stanovte hodnoty inhibičních konstant  $K_I'$ .

**Výsledek:** *Dixonův graf* je lineární v případě inhibitorů A a C, hyperbolický u inhibitoru B.

A: plná inhibice,  $K_I' = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$

B: částečná inhibice,

C: plná inhibice,  $K_I' = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$

**Řešení:** 🖨️ + kalkulačka , 🖨️ + Excel , 🖨️ + Maple

### Úloha 9-25 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Působení lysozymu (molární hmotnost 14300 g/mol, molekulární aktivita  $k_2 = 0,5 \text{ s}^{-1}$ ) v koncentraci  $0,858 \text{ mg cm}^{-3}$  na substrát S bez přítomnosti inhibitoru je charakterizováno Michaelisovou konstantou  $K_M = 0,085 \text{ mol dm}^{-3}$ . Pro tutéž enzymovou reakci byly v přítomnosti inhibitoru naměřeny hodnoty počátečních reakčních rychlostí  $v_i$  [ $\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ ] při různých koncentracích substrátu  $c_S$  (v  $\text{mol dm}^{-3}$ ) a inhibitoru  $c_I$  (v  $\text{mol dm}^{-3}$ ):

$c_S$	$c_I$	$10^6 v_i$	$c_S$	$c_I$	$10^6 v_i$
0,007	0,005	2,102	0,075	0,005	13,400
	0,01	1,954		0,01	12,824
	0,05	1,334		0,05	9,983
	0,09	1,082		0,09	8,588
	0,15	0,898		0,15	7,458
0,03	0,005	7,323	0,12	0,005	16,909
	0,01	6,900		0,01	16,330
	0,05	4,990		0,05	13,314
	0,09	4,147		0,09	11,726
	0,15	3,506		0,15	10,385

Zjistěte, jaký typ inhibice tento inhibitor vyvolává, navrhněte rychlostní rovnici a stanovte hodnoty inhibičních konstant.

**Výsledek:** částečně kompetitivní inhibice

$$v_i = \frac{v_{\max} \cdot c_S}{K_M \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I/\alpha} + c_S}$$

$$K'_M = K_M \cdot \frac{K_I + c_I}{K_I + c_I/\alpha}, \quad v_{\max} = v'_{\max} = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

$c_I / (\text{mol dm}^{-3})$	$K'_M / (\text{mol dm}^{-3})$	$v'_{\max} / (\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1})$
0	0,08500	$3,0000 \cdot 10^{-5}$
0,005	0,09290	$2,9999 \cdot 10^{-5}$
0,01	0,10048	$3,0005 \cdot 10^{-5}$
0,05	0,15044	$3,0007 \cdot 10^{-5}$
0,09	0,18721	$3,0022 \cdot 10^{-5}$
0,15	0,22719	$3,0049 \cdot 10^{-5}$

$$K_I = 0,042 \text{ mol dm}^{-3},$$

$$\alpha = 5$$

**Řešení:** 🧮 + kalkulačka , 📊 + Excel , 🍁 + Maple