

Enzymová kinetika (část 1)

Úloha 1

Určete podíl koncentrace substrátu a Michaelisovy konstanty (poměr $[S]/K_M$), při kterém enzymová reakce probíhá s počáteční rychlostí rovnou a) 10 %, b) 90 %, c) 99 % rychlosti limitní.

Úloha 2

Za předpokladu, že kinetiku dané enzymové reakce lze popsat rovnicí Michaelise a Mentenové, doplňte chybějící údaje v následující tabulce:

Koncentrace substrátu ($\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$)	0,2	0,4	0,6	
Počáteční rychlost ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{dm}^{-3}$)	28	40		55

Úloha 3

Michaelisova konstanta pro substrát S je rovna 0,1 mmol·dm⁻³. Po přidavku enzymu k roztoku substrátu poklesne za 5 min koncentrace S z počáteční hodnoty 50 μmol·dm⁻³ o 1 %. Vypočtete hodnotu v_{lim} a enzymovou aktivitu přítomnou v 1 cm³ media.

Úloha 4

Kryší játra obsahují dva enzymy katalyzující fosforylaci glukosy pomocí ATP za vzniku glukosa-6-fosfátu: hexokinasu a glukokinasu. Jejich Michaelisovy konstanty pro glukosu (při saturující koncentraci ATP) jsou 0,04 resp. 10 mmol·dm⁻³ a příslušné limitní rychlosti mají hodnoty 0,7 resp. 4,3 μmol min⁻¹(g tkáně)⁻¹. Vypočtete, kolika procenty přispívá glukokinasaová reakce k tvorbě glukosa-6-fosfátu při hladovění (koncentrace glukosy 3 mmol·dm⁻³) a v sytém stavu (koncentrace glukosy 9,5 mmol·dm⁻³). Předpokládejte, že ATP je v obou případech přítomen v saturující koncentraci.

Úloha 5

Odhadněte horní mez pro poměr k_{cat}/K_M u jednosubstrátové reakce za předpokladu, že difúzní koeficient enzymu je desetkrát nižší než difúzní koeficient substrátu. Viskozita vody při 25 °C činí 0,001 Pa·s.

(Poznámka: Ze Smoluchowského teorie plyne, že rychlost vzniku komplexu enzym-substrát limitovaná difúzí se rovná $4000\pi N_A(D_E + D_S)(r_E + r_S)[E][S]$, kde N_A je Avogadrova konstanta, D_E a D_S difúzní koeficienty enzymu a substrátu a r_E a r_S příslušné poloměry částic považovaných za koule. Difúzní koeficient D přitom souvisí s poloměrem částice r prostřednictvím Stokes-Einsteinova vztahu $D = k_B T / (6\pi\eta r)$, kde k_B značí Boltzmannovu konstantu, T teplotu a η viskozitu.)

Úloha 6

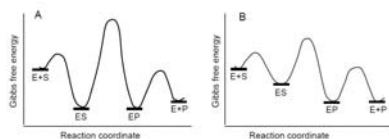
Fumarasa katalyzuje nejen hydrataci fumarátu ($k_{\text{cat}} = 2700 \text{ s}^{-1}$, $K_M = 2,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), ale i fluorfumarátu ($k_{\text{cat}} = 810 \text{ s}^{-1}$, $K_M = 5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$). Jaký lze očekávat poměr rychlostí přeměn obou substrátů, když bude enzym působit na jejich ekvimolární směs?

Úloha 7

Alanin-racemasa (EC 5.1.1.1) katalyzuje vzájemnou přeměnu D a L formy alaninu. U enzymu izolovaného z bakterie *Salmonella typhimurium* byly pro přeměnu L-alaninu na D-formu určeny parametry $K_M^L = 8,2 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a $k_{\text{cat}}^L = 1500 \text{ s}^{-1}$. Konverze D-alaninu na L-formu se vyznačovala konstantou $K_M^D = 2,1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vypočtete hodnotu k_{cat}^D .

Úloha 8

Místně řízenou mutagenezí byla k původnímu enzymu A připravena varianta B. Z energetických diagramů odhadněte, jak se změnila kinetická parametry K_M a k_{cat} ? Bude B lepším katalyzátorem než A?



Úloha 9

Součástí enzymového stanovení glycerolu je převedení tohoto substrátu na glycerol-3-fosfát reakcí s ATP za katalýzy enzymem glycerolkinasou. Vypočtete, jakou minimální enzymovou aktivitu je zapotřebí přidat do 1 cm³ vzorku obsahujícího 300 nmol glycerolu a nadbytek ATP, má-li za 15 minut konverze proběhnout z 98 %. K_M pro glycerol se rovná 0,15 mmol·dm⁻³.

Úloha 10

Inhibicí produktem nebo inaktivací enzymu během enzymové katalyzované přeměny substrátu lze jednoduše detegovat změřením časů odpovídajících dvěma stupňům konverze (např. 20 a 40 %). Dokažte, že v případě, kdy se rušivé jevy neuplatní, musí poměr obou zjištěných časů $t_{20\%}$ a $t_{40\%}$ ležet v intervalu 2 až 2,289.

Úloha 11

Termolabilní enzym katalyzuje ireverzibilní přeměnu substrátu na produkt. Při vysoké saturující koncentraci substrátu a počáteční rychlosti $5 \cdot 10^{-7}$ mol·dm⁻³·s⁻¹ se v důsledku probíhající postupné inaktivace enzymu produkt stačil akumulovat pouze do koncentrace $2 \cdot 10^{-3}$ mol·dm⁻³. Vypočtete rychlostní konstantu inaktivace enzymu.
