

Enzimkinetika és enzim-inhibíciós kinetika

BIM labor mérési jegyzőkönyv

A csoport jelzése:	Dátum:	Mérésvezető:		
A mérést végezték:	ZH jegy	mérés + jegyzőkönyv	Σ jegy	
Az inhibitor jelzése:				

A mérési feladat:

A mérés kivitelezése: a mérési előíratot lemásolni nem kell, elég hivatkozni rá, az esetleges eltéréseket viszont fel kell tüntetni;

Adatok: a mért és számított értékeket táblázatos formában;

Diagramok: az adatok grafikus megjelenítése

- ábrázolják a Michaelis-Menten hiperbolákat egy tetszőlegesen választott, nemlineáris regresszió számítására alkalmas program segítségével. Adják meg a program nevét, a kinyomtatott görbét és a program által megadott paramétereket.
- ábrázolják az adatokat mind a négy tanult linearizálási módszerrel. Ezt javasolt, de nem kötelező Excel programmal elvégezni.
- a Lineweaver-Burk ábrázolás adataiból készítsenek másodlagos ábrázolást ($tg\alpha - I$)!
- ügyeljenek a diagramok szemléletes megszerkesztésére! (Ne használjanak pontozott vonalat, töltsék ki a felületet, mutassák meg a jellemző pontokat, pl. a metszéspontokat.)

Szöveges értékelés

- Látható-e olyan eltérés, ami mérési hibára utal? Célszerű-e egy-két nyilvánvalóan hibás pontot elhagyni?
- Mi észlelhető a linearizálásokkal kapott egyenesek elrendeződésén? Milyen mértékben egyeznek a kapott képek az elméletivel?
- Melyik típusba sorolható be az inhibíció? (indoklás)
- Mennyinek adódik a v_{max} és K_M értéke a különböző kiértékelésekkel? Milyen az egyezés a nemlineáris regresszióval kapott és a linearizálásokkal kapott paraméterek között?
- Mennyinek adódik a K_i értéke a másodlagos ábrázolásból?

Számítások

- Mennyi lehet az enzim maximális váltásszáma (a vizsgálat körülményei között), ha a móltömege 105 kDa, és a bemért poralakú enzimpreparátumnak csak 15 %-a aktív fehérje? A számoláshoz használják a kiértékelésnél kapott v_{max} értékek átlagát!
- A névlegeshez képest mennyi a szilárd enzim preparátum fajlagos aktivitása Unit/mg-ban? A számoláshoz használják a kiértékelésnél kapott v_{max} értékek átlagát!

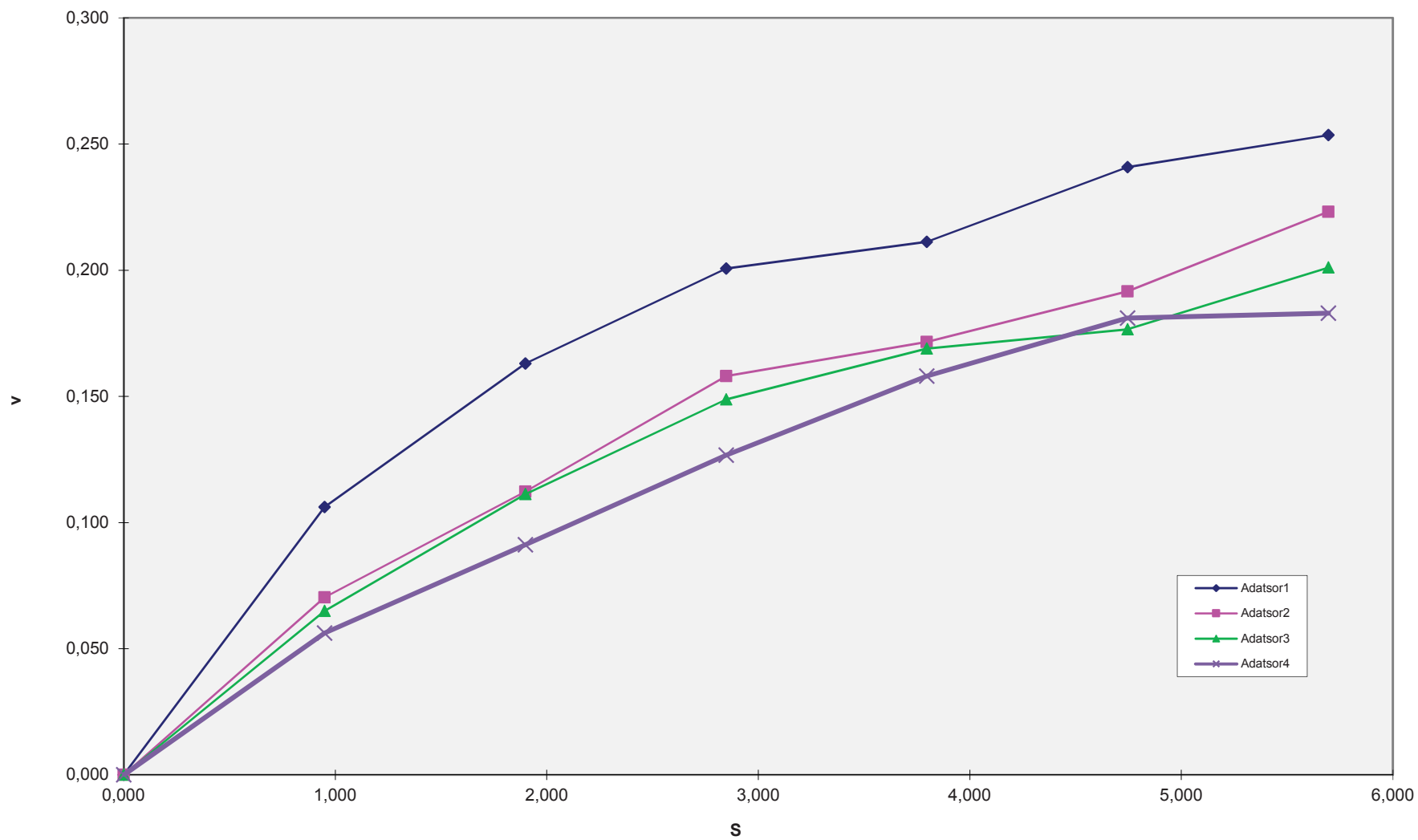
ul,E	0	200	400	600
100	0,585	0,381	0,350	0,300
200	0,909	0,620	0,614	0,500
300	1,124	0,881	0,828	0,702
400	1,184	0,958	0,943	0,881
500	1,353	1,072	0,986	1,012
600	1,425	1,252	1,126	1,023

S;V,I					
I2 estén:	0,000	19,048	38,095	57,143	mmol/l
I1 estén:	0,000	41,771	83,542	125,313	mmol/l
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
0,949	0,106	0,070	0,065	0,056	
1,898	0,163	0,112	0,111	0,091	
2,848	0,201	0,158	0,149	0,127	
3,797	0,211	0,172	0,169	0,158	
4,746	0,241	0,192	0,177	0,181	
5,695	0,254	0,223	0,201	0,183	
	mmol/l		μmol ONP/perc		

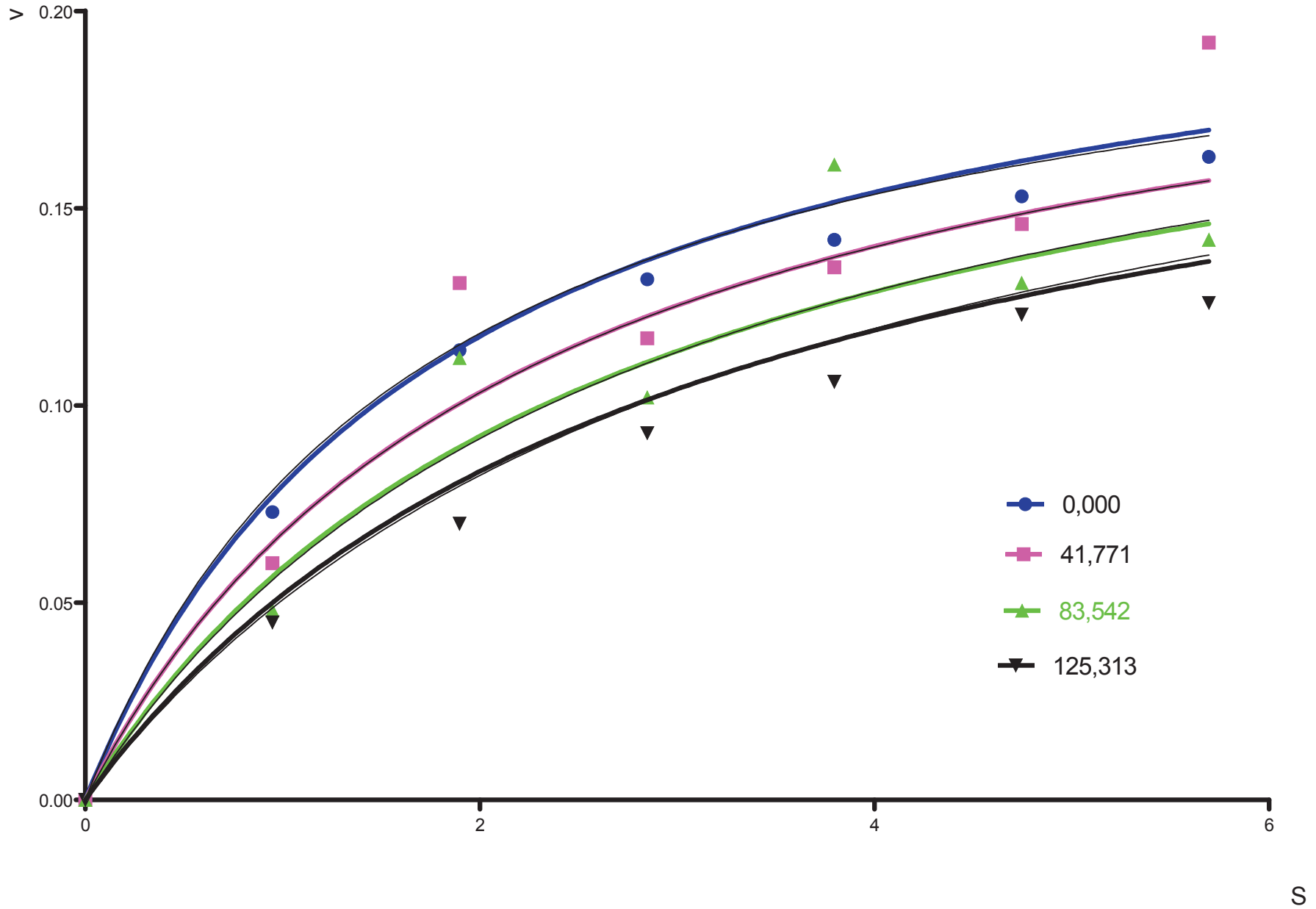
I/S;I/V;I	0,000	41,771	83,542	125,313
1,054	9,419	14,209	15,399	17,804
0,527	6,135	8,904	8,988	10,958
0,351	4,982	6,325	6,720	7,893
0,263	4,734	5,827	5,918	6,325
0,211	4,151	5,219	5,665	5,522
0,176	3,944	4,481	4,973	5,464

V/S				S	S/v				
0,112	0,074	0,068	0,059	0,949	8,941	13,487	14,617	16,900	
0,086	0,059	0,059	0,048	1,898	11,646	16,904	17,064	20,803	
0,070	0,056	0,052	0,044	2,848	14,186	18,012	19,137	22,476	
0,056	0,045	0,045	0,042	3,797	17,973	22,125	22,470	24,016	
0,051	0,040	0,037	0,038	4,746	19,701	24,770	26,887	26,210	
0,045	0,039	0,035	0,032	5,695	22,463	25,518	28,323	31,120	

M-M



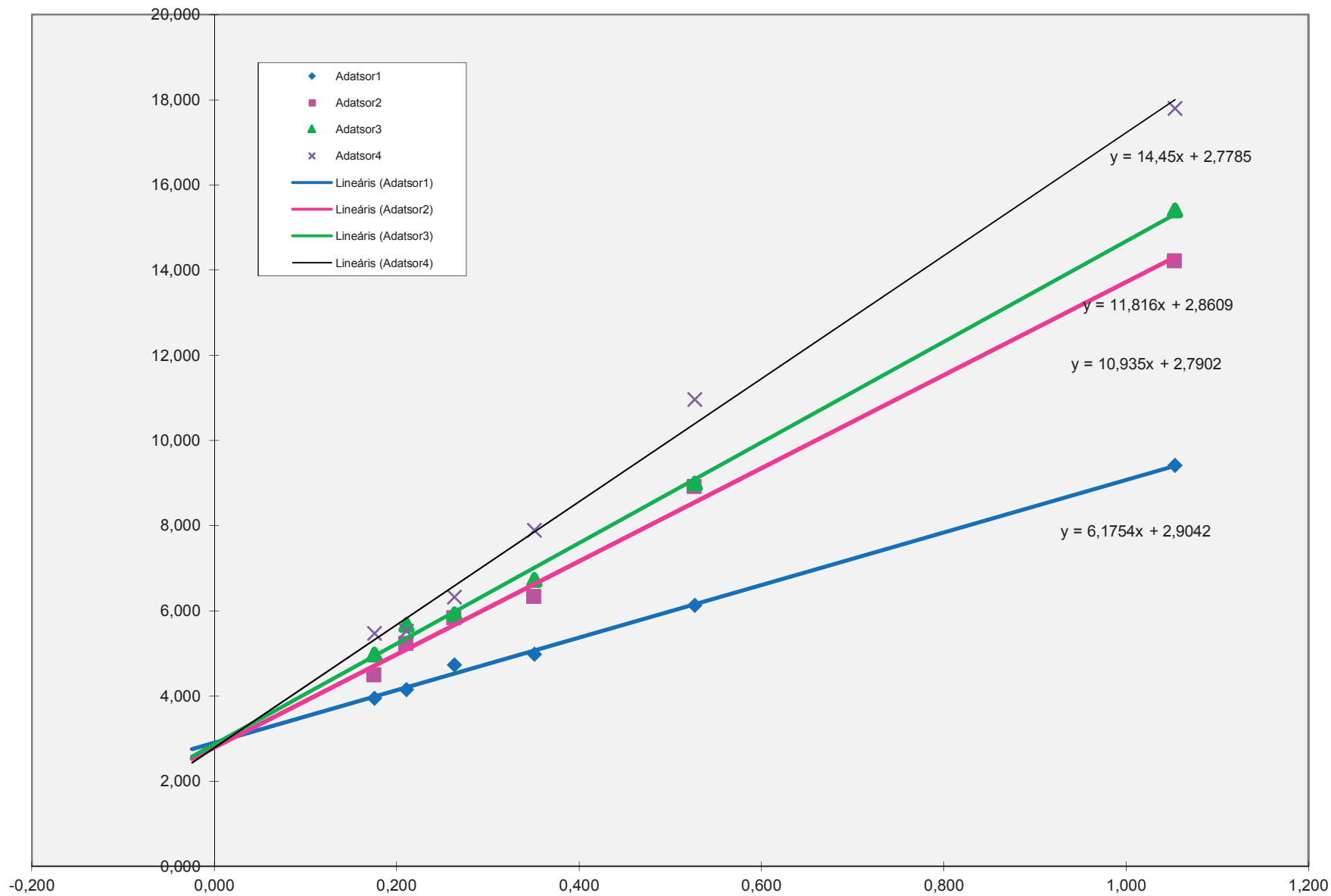
170912



Nonlin fit		A	B	C	D	E
		I=0	I=19,084	I=38,095	I=57,143	Global (shared)
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Competitive inhibition					
2	Best-fit values					
3	Km	2.365	2.365	2.365	2.365	2.365
4	I	= 0.0	= 19.08	= 38.10	= 57.14	
5	Ki	47.50	47.50	47.50	47.50	47.50
6	Vmax	0.3516	0.3516	0.3516	0.3516	0.3516
7	Std. Error					
8	Km	0.2632	0.2632	0.2632	0.2632	0.2632
9	Ki	5.233	5.233	5.233	5.233	5.233
10	Vmax	0.01547	0.01547	0.01547	0.01547	0.01547
11	95% Confidence Intervals					
12	Km	1.823 to 2.908	1.823 to 2.908	1.823 to 2.908	1.823 to 2.908	1.823 to 2.908
13	Ki	36.71 to 58.28	36.71 to 58.28	36.71 to 58.28	36.71 to 58.28	36.71 to 58.28
14	Vmax	0.3197 to 0.3834	0.3197 to 0.3834	0.3197 to 0.3834	0.3197 to 0.3834	0.3197 to 0.3834
15	Goodness of Fit					
16	Degrees of Freedom					25
17	R2	0.9947	0.9773	0.9949	0.9895	0.9901
18	Absolute Sum of Squares	0.0002546	0.0008124	0.0001541	0.0002965	0.001518
19	Sy.x					0.007792
20	Constraints					
21	Km	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	
22	I	I = 0.0	I = 19.08	I = 38.10	I = 57.14	
23	Ki	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	
24	Vmax	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	
25	Number of points					
26	Analyzed	7	7	7	7	

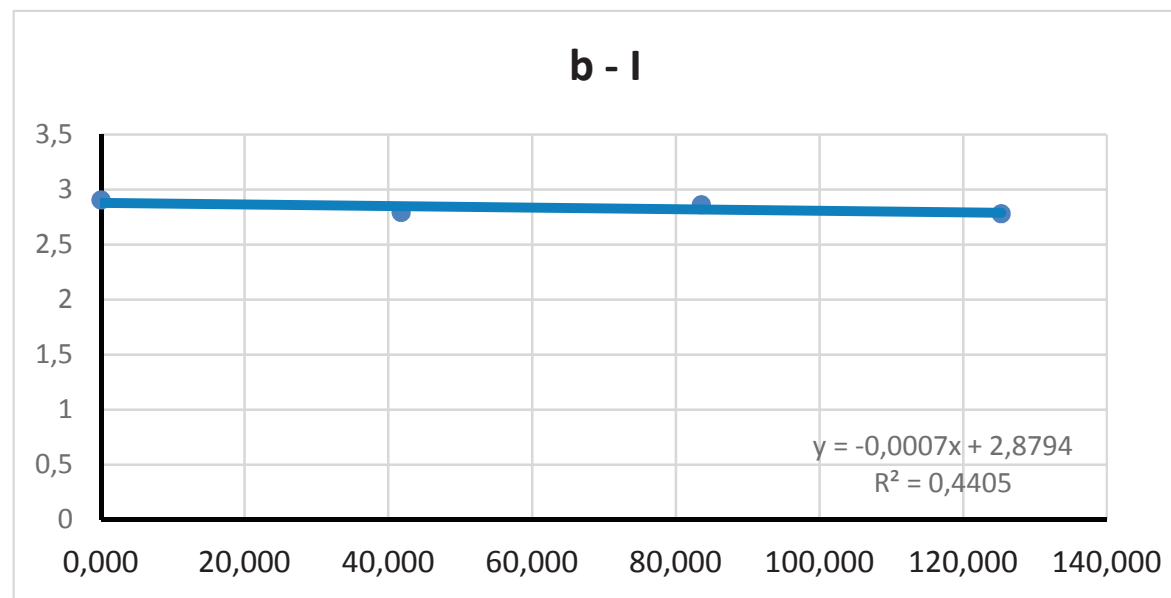
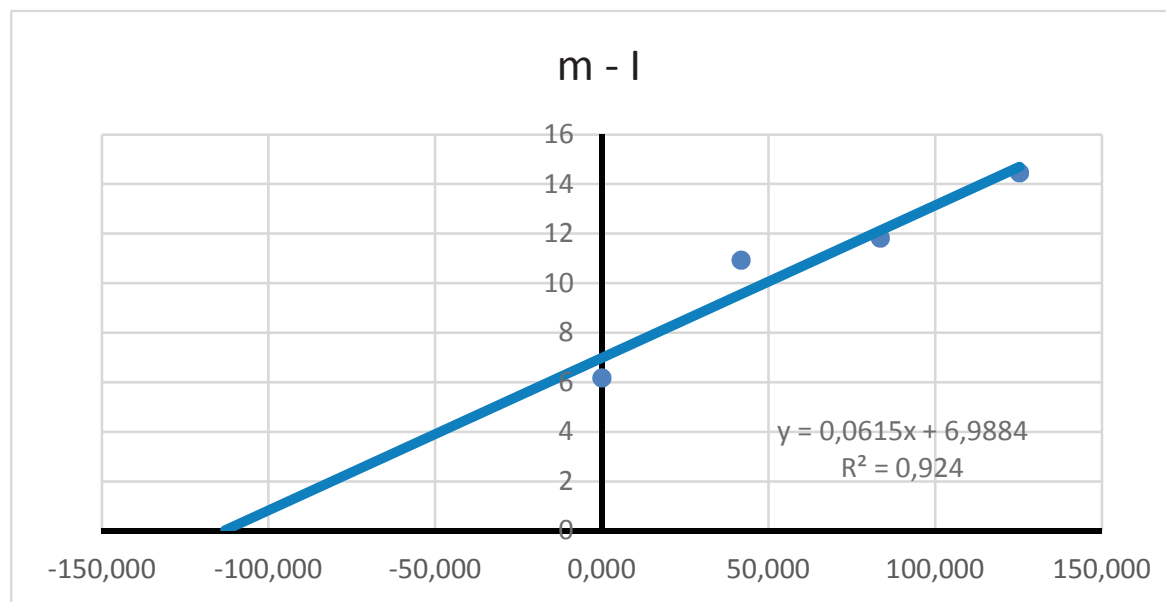
Nonlin fit		A	B	C	D	E
		I=0	I=19,084	I=38,095	I=57,143	Global (shared)
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Mixed model inhibition	Ambiguous	Ambiguous	Ambiguous	Ambiguous	
2	Best-fit values					
3	Vmax	0.3516	0.3516	0.3516	0.3516	0.3516
4	I	= 0.0	= 19.08	= 38.10	= 57.14	
5	Alpha	~ 2.211e+022	~ 2.211e+022	~ 2.211e+022	~ 2.211e+022	~ 2.211e+022
6	Ki	47.50	47.50	47.50	47.50	47.50
7	Km	2.365	2.365	2.365	2.365	2.365
8	Std. Error					
9	Vmax	0.01579	0.01579	0.01579	0.01579	0.01579
10	Alpha	~	~	~	~	~ Value too large
11	Ki	9.761	9.761	9.761	9.761	9.761
12	Km	0.2686	0.2686	0.2686	0.2686	0.2686
13	95% Confidence Intervals					
14	Vmax	0.3190 to 0.3841	0.3190 to 0.3841	0.3190 to 0.3841	0.3190 to 0.3841	0.3190 to 0.3841
15	Alpha	(Very wide)	(Very wide)	(Very wide)	(Very wide)	(Very wide)
16	Ki	27.35 to 67.64	27.35 to 67.64	27.35 to 67.64	27.35 to 67.64	27.35 to 67.64
17	Km	1.811 to 2.920	1.811 to 2.920	1.811 to 2.920	1.811 to 2.920	1.811 to 2.920
18	Goodness of Fit					
19	Degrees of Freedom					24
20	R2	0.9947	0.9773	0.9949	0.9895	0.9901
21	Absolute Sum of Squares	0.0002546	0.0008124	0.0001541	0.0002965	0.001518
22	Sy.x					0.007952
23	Constraints					
24	Vmax	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	Vmax > 0.0 and shared	
25	I	I = 0.0	I = 19.08	I = 38.10	I = 57.14	
26	Alpha	Alpha > 0.0 and shared	Alpha > 0.0 and shared	Alpha > 0.0 and shared	Alpha > 0.0 and shared	
27	Ki	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	Ki > 0.0 and shared	
28	Km	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	Km > 0.0 and shared	
29	Number of points					
30	Analyzed	7	7	7	7	

Lineweaver-Burk

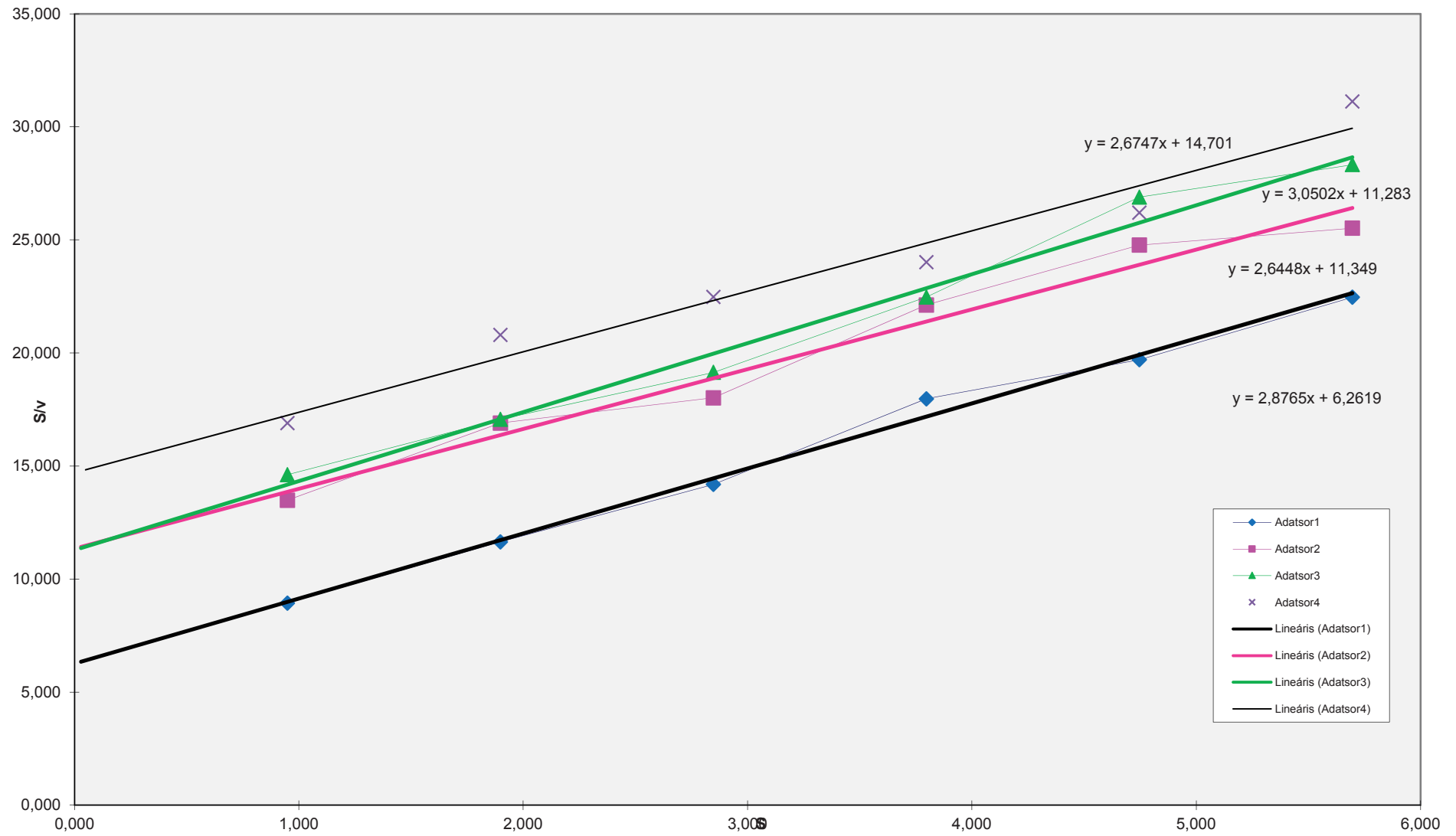


L - B másodlagos ábrázolásai

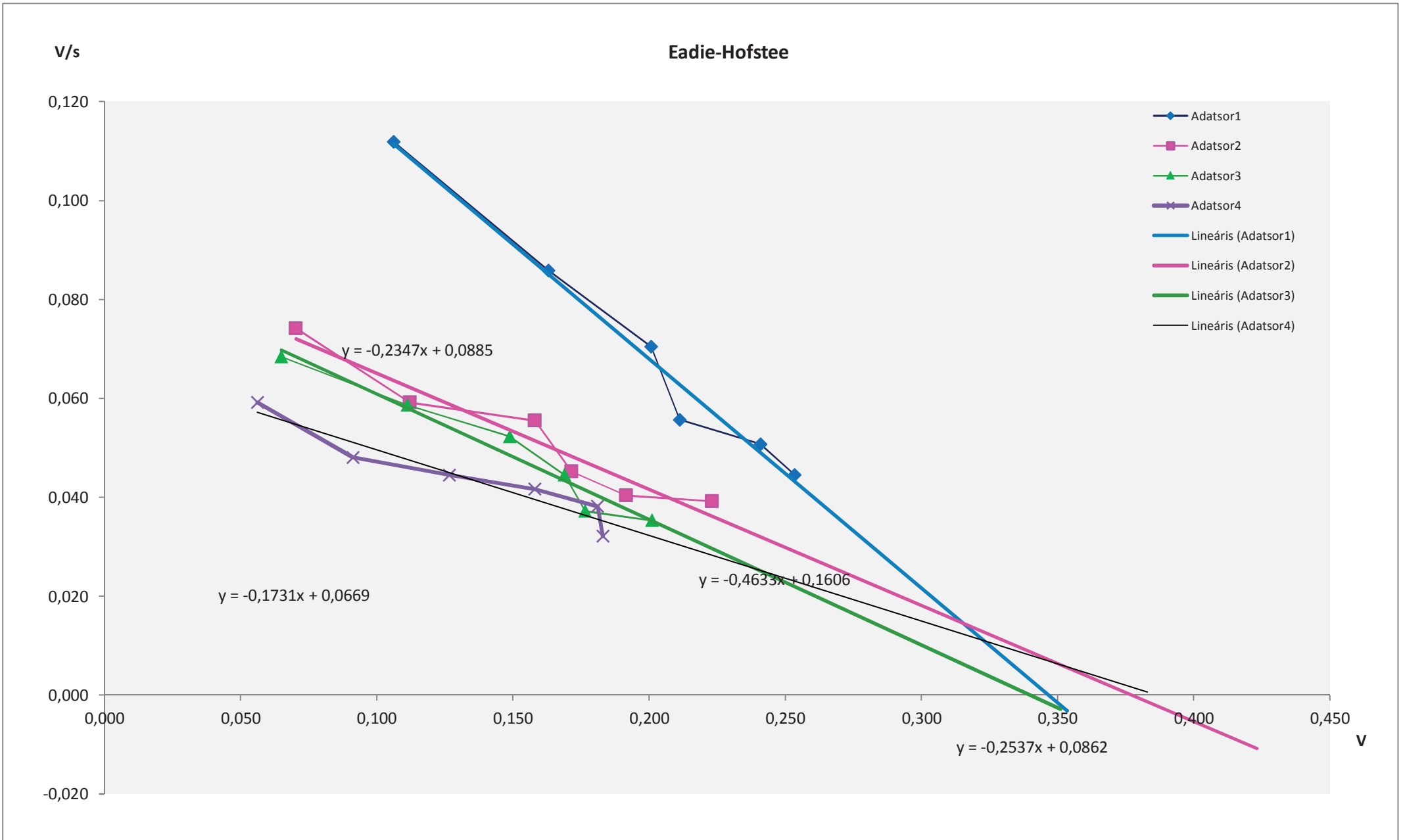
m	b
6,175396	2,904157
10,93495	2,790155
11,81618	2,860879
14,44963	2,7785



HANES - LANGMUIR



Eadie-Hofstee



Dixon

