

Enzymová kinetika

Tato pomůcka slouží k procvičování postupů při kinetikou Michaelise a Mentenové.

- 1) V listu "data" vyberte podle zadání učitele enzim a počáteční koncentraci substrátu a v grafu se vám zobrazí Počáteční rychlosť reakce je rovna směrnici tečny. Takto generujte další data.
- 2) Určete kinetické parametry K_M a v_{lim} lineární regrese (list "lin_reg_MM"). Zhodnoťte, jak se na výsledek podíváte.
- 3) Pro tuto data určete K_M a v_{lim} početní variantou.
- 4) Pro tuto data určete K_M a v_{lim} nelineární regrese. Zatížených experimentální chybou je ilustrován výsledek.
- 5) Rovněž vyhodnoťte jednu časovou závislost S (časy, koncentrace S) lze pomocí kurzoru odečítat.

© Igor Kučera 2016

a: rovnice MM

vyhodnocování kinetických dat pro enzym řídící se jednoduchou

zym ze seznamu (1-20). Pak posuvníkem nastavujte
m vždy zobrazí výsledek simulovaného experimentu.

u časové závislosti koncentrace substrátu pro t=0. Tuto hodnotu
jte 10 dvojic počáteční koncentrace substrátu, počáteční rychlosti
egresí ze směrnic a úseků přímek lineárních výnosů
kterých projeví náhodná chyba při měření rychlosti.

tou přímého lineárního výnosu ("primy_lin").

nesí pomocí Řešitele ("nelin_reg_MM"). Pro případ dat
výpočet standardních chyb parametrů.

na t použitím integrované rovnice MM. Potřebná data
t přímo z grafu v listu "data".

du

**tu
ost.**

Zvolte enzym



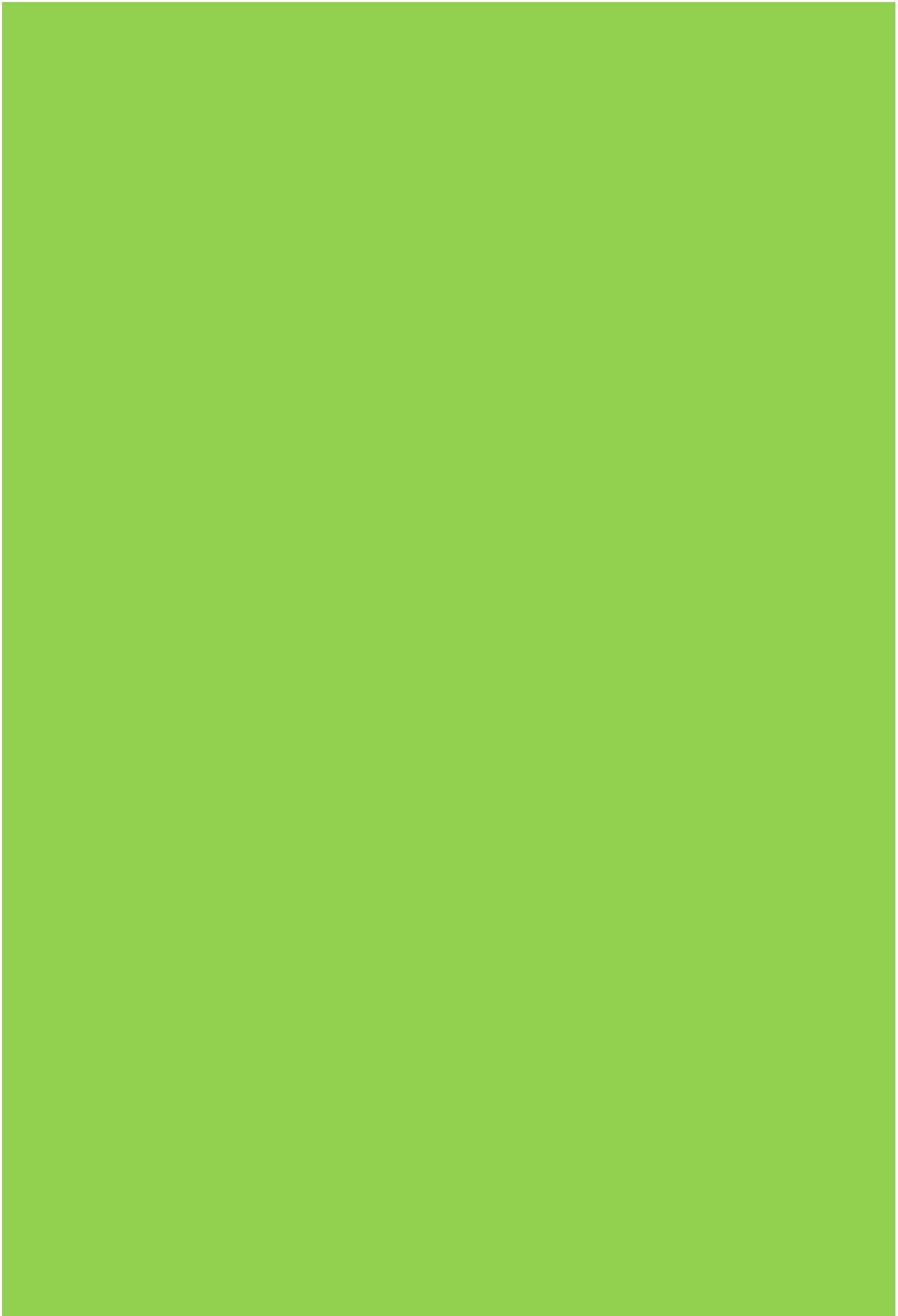
1

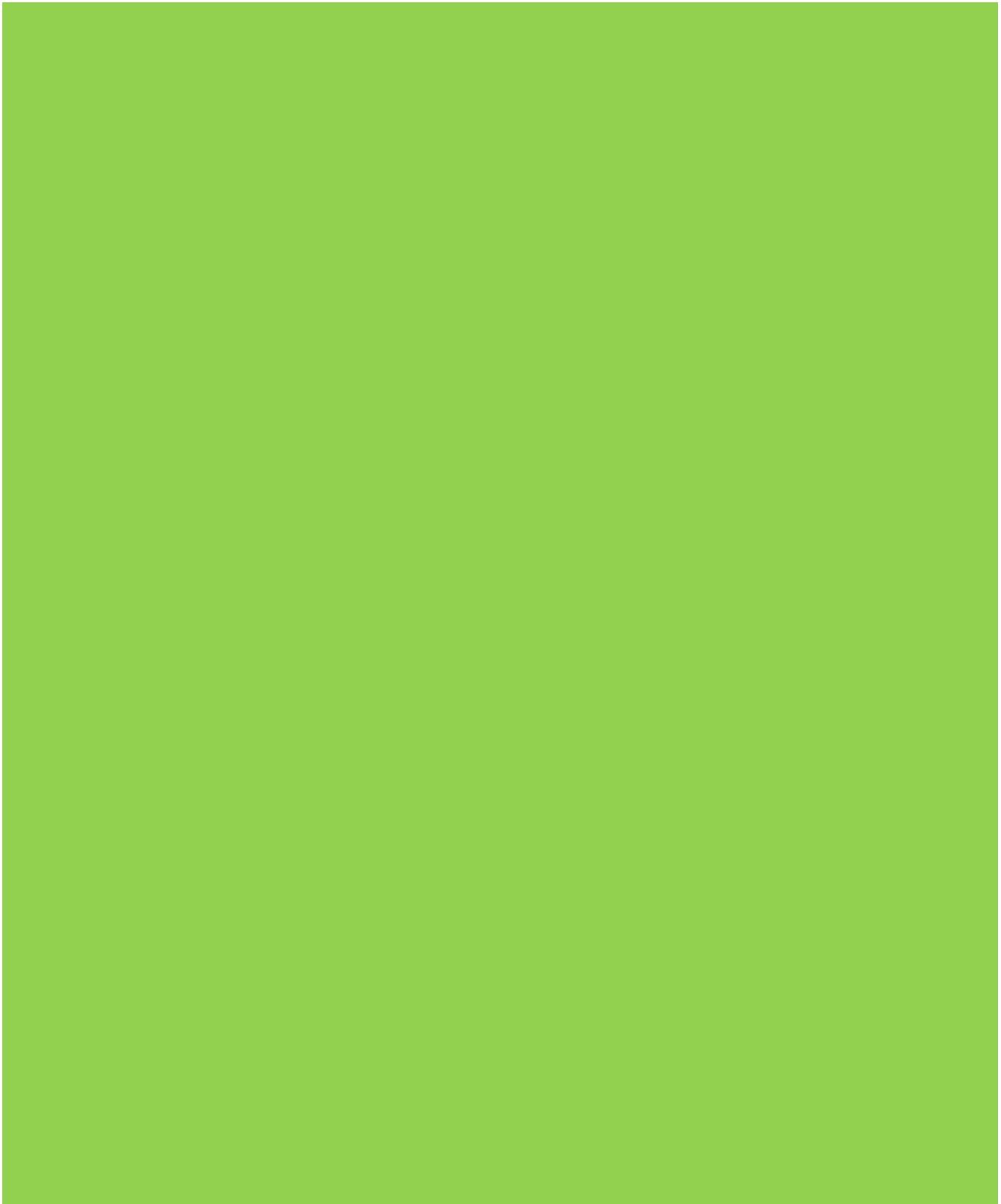
Posuvníkem volte počáteční koncentrace substrátu

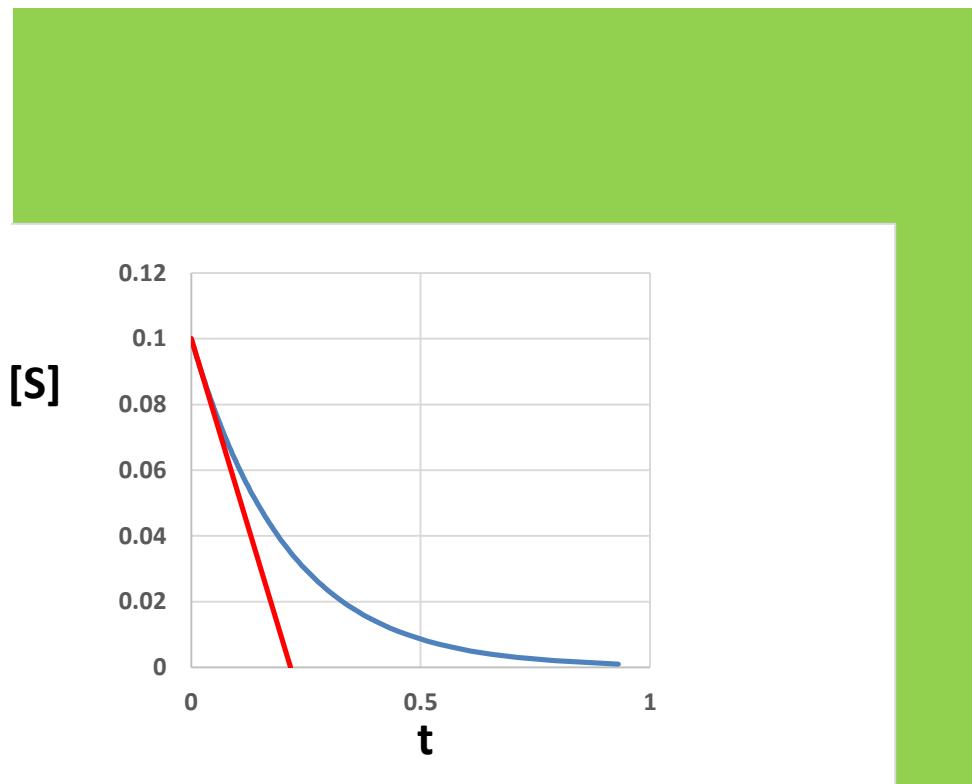
[S]₀ = 0.1

Rovnice tečny

$$S = -0.462423 t + 0.1$$







[S]	v	s chybou
0.2	0.884	0.884
0.5	1.951	1.951
1	3.265	3.265
2	4.923	4.923
2.5	5.48	5.48
3	5.926	5.926
4	6.598	6.598
6	7.442	7.442
8	7.95	7.95
13	8.584	8.584

1/[S]	1/v	v/[S]	[S]/v
5	1.131222	4.42	0.226244
2	0.512558	3.902	0.256279
1	0.306279	3.265	0.306279
0.5	0.203128	2.4615	0.406256
0.4	0.182482	2.192	0.456204
0.333333	0.168748	1.975333	0.506244
0.25	0.151561	1.6495	0.606244
0.166667	0.134372	1.240333	0.806235
0.125	0.125786	0.99375	1.006289
0.076923	0.116496	0.660308	1.514445

Směrodatná odchylka

0 %

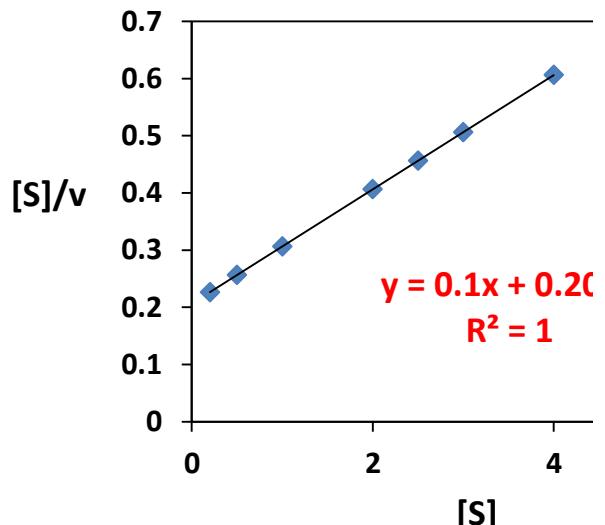
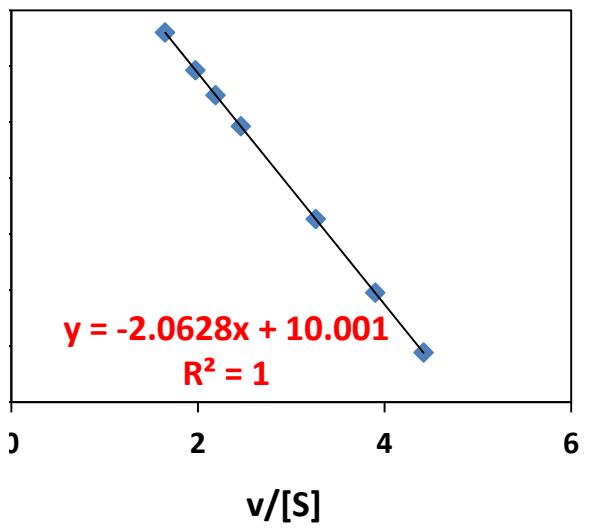
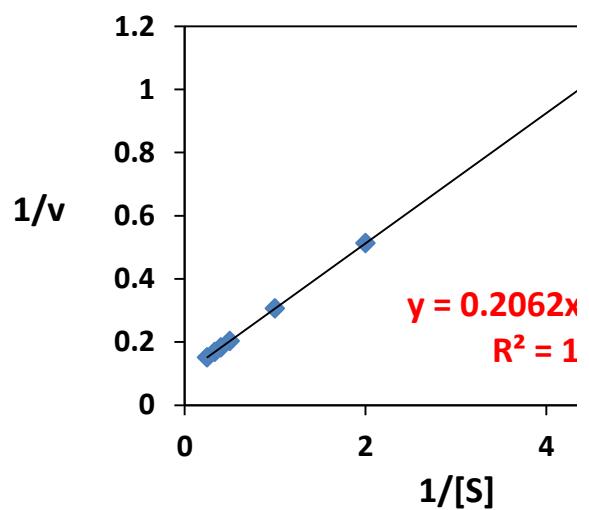
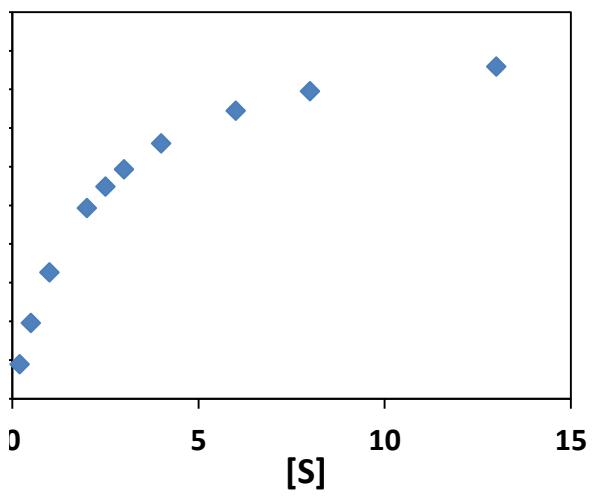


přepočítání listu = F9

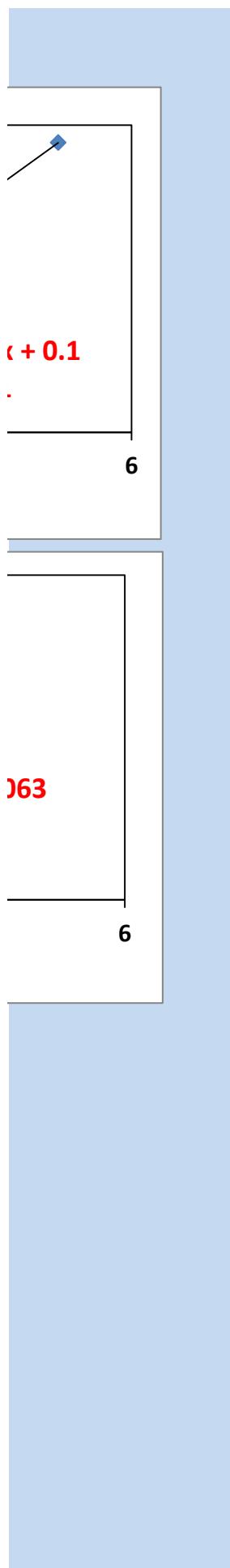
10 -
9 -
8 -
7 -
6 -
5 -
4 -
3 -
2 -
1 -
0 -
(

7
6
5
4
3
2
1
0
(









[S]	v
0.2	0.894235
0.5	1.897962
1	3.352477
2	4.819358
2.5	6.286783
3	6.381651
4	6.277827
6	7.225656
8	9.199987
13	7.506404

$$K_{ij} = (v_j - v_i) / ((v_i/[S]_i) - (v_j/[S]_j))$$

1.48645

3.28003 2.197416

1.555879 2.107418 1.904017

-13.9709 3.502544 3.425528 2.756277

0.244821 5.530982 2.472268 2.686925 2.34109

-0.18614 -0.009474 1.735814 1.640671 1.967182 1.855312

2.595505 0.914474 0.716458 1.99626 1.802987 2.05571

36.37469 6.966506 2.884039 2.134661 3.477572 2.65496

-2.9578 0.447865 1.238434 0.725741 0.629548 1.466518

$$KM = 1.938053$$

$$V_{ij} = ([S]_i - [S]_j) / (([S]_i/v_i) - ([S]_j/v_j))$$

	7.540413					
	14.3487	10.71927				
	8.568527	9.897558	9.407429			
	-28.846	15.09468	14.901	13.21803		
	6.902439	18.14725	11.6407	12.09732	11.36166	
	5.985684	6.262958	9.002113	8.852789	9.365235	
1.938053		10.35136	8.326935	8.088469	9.629704	9.396949
2.759725	2.500847	51.03082	17.21146	12.51663	11.65484	13.19919
1.496877	1.74256	1.698146	5.798527	7.765009	8.221496	7.925459
						7.869915

Vlim =	9.407429
--------	----------

9.18966

9.701307 9.559606

12.2532 12.37367 12.07596

8.353195 8.370725 8.512586 8.486941

Kinetické parametry

$$v_{\text{lim}} = \boxed{9.578498}$$

$$K_M = \boxed{1.716873}$$

$$SS = \boxed{3.542344}$$

$$DF = 8$$

Výpočet sta

$$SE(\hat{p})$$

Experimentální hodnoty

[S]	v exper	v vypočt	dv/dvlim	dv/dKM	F
0.2	0.894235	0.999388	0.104337	-0.52136	0.104335
0.5	1.897962	2.160363	0.225543	-0.97451	0.225539
1	3.352477	3.52556	0.36807	-1.29765	0.368066
2	4.819358	5.154063	0.538087	-1.38667	0.538082
2.5	6.286783	5.678674	0.592856	-1.34666	0.592852
3	6.381651	6.092065	0.636015	-1.29155	0.63601
4	6.277827	6.701914	0.699683	-1.1723	0.699679
6	7.225656	7.447445	0.777517	-0.96509	0.777514
8	9.199987	7.886075	0.82331	-0.81159	0.823307
13	7.506404	8.461069	0.88334	-0.57492	0.883338

standardní chyby kinetických parametrů

$$\sigma_i = \sqrt{\frac{SS_{\min}}{DF} \times (F^T F)^{-1}_{ii}}$$

FT

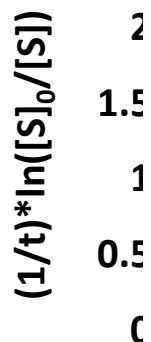
-0.52135	0.104335	0.225539	0.368066	0.538082	0.592852	0.63601	0.699679
-0.97448	-0.52135	-0.97448	-1.29763	-1.38665	-1.34664	-1.29154	-1.1723
-1.29763							
-1.38665							
-1.34664							
-1.29154							
-1.1723							
-0.96508							
-0.81158							
-0.57492							

$$\begin{array}{lll}
 \mathbf{FT^*F} & & (\mathbf{FT^*F})^{-1} \\
 \begin{matrix} 0.777514 & 0.823307 & 0.883338 \\ -0.96508 & -0.81158 & -0.57492 \end{matrix} &
 \begin{matrix} 3.794938 & -5.86434 \\ -5.86434 & 11.60443 \end{matrix} &
 \begin{matrix} 1.20283 & 0.607854 \\ 0.607854 & 0.393355 \end{matrix} \\
 & & \\
 & \text{SE (vlim)} = & 0.729798 \\
 & \text{SE(KM)} = & 0.417343
 \end{array}$$

Lineární regrese

$[S]_0 =$

t	[S]	$([S]_0 - [S])/t$	$(1/t) * \ln([S]_0/[S])$
0.12	9	8.333333333	0.878004297
0.17	8.6	8.235294118	0.887193469
0.36	7.1	8.055555556	0.951361969
0.5	6	8	1.021651248
0.57	5.5	7.894736842	1.048836843
0.65	4.9	7.846153846	1.097461366
0.84	3.6	7.619047619	1.216251485
1.2	1.6	7	1.52715122
1.36	1	6.617647059	1.693077274
1.6	0.4	6	2.011797391



Nelineární regrese

$[S]_0 =$

$v_{lim} =$

$K_M =$

SS= 3.58E-05

t	[S]	t vypočet
0.12	9	0.120642846
0.17	8.6	0.16956458
0.36	7.1	0.357263929
0.5	6	0.500474015
0.57	5.5	0.567671617
0.65	4.9	0.650531804
0.84	3.6	0.841683723
1.2	1.6	1.203185292
1.36	1	1.357046418
1.6	0.4	1.600294373

