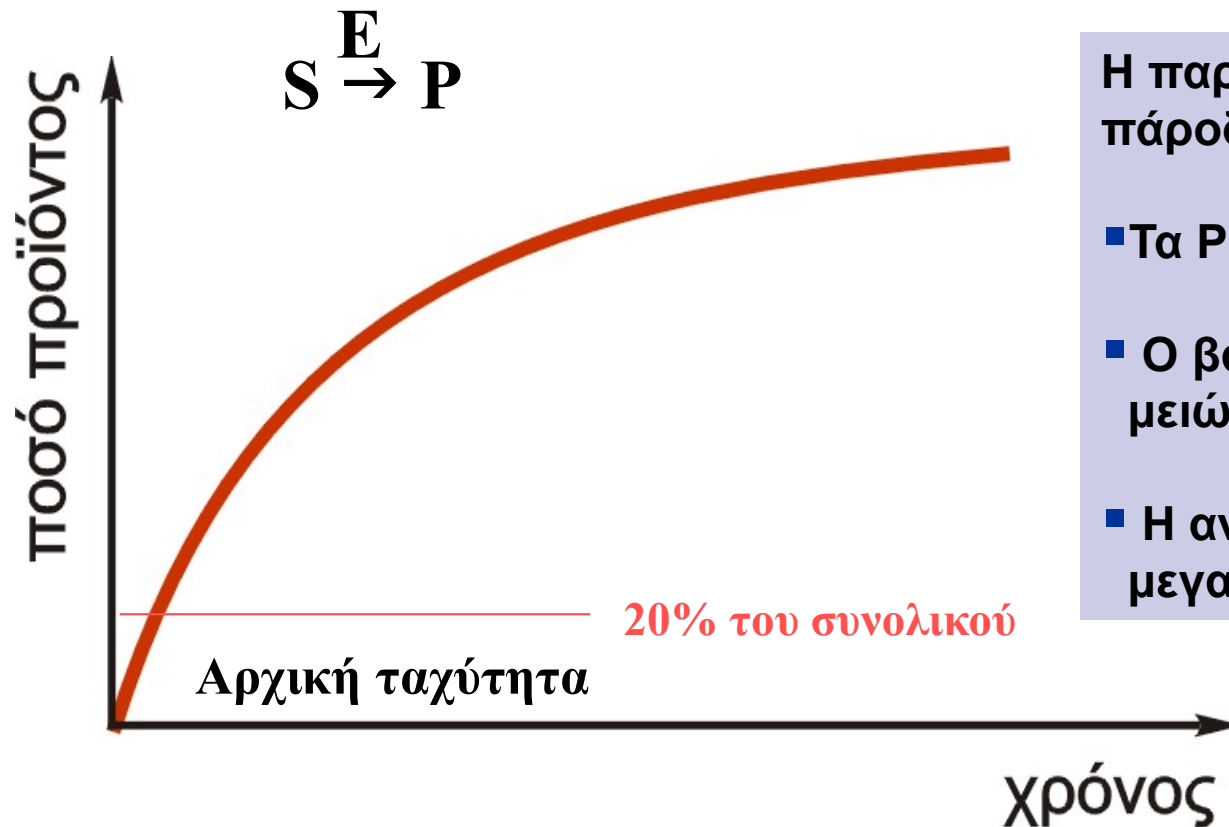


Μέτρηση καταλυτικής δράσης ενζύμων

Ποσοτικά : Με μέτρηση της ταχύτητας της αντίδρασης

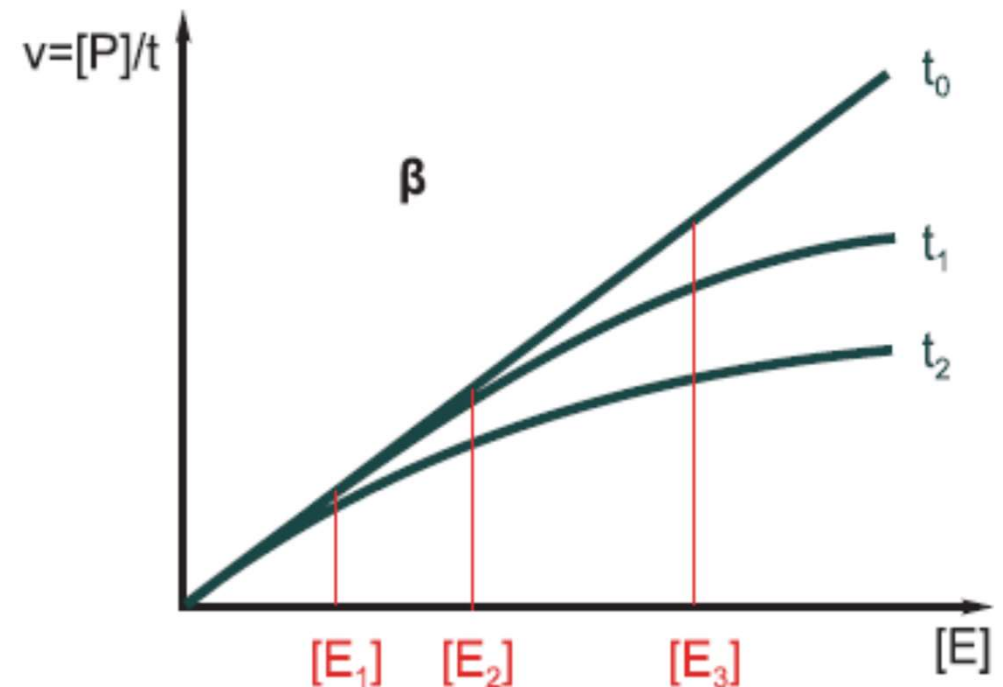
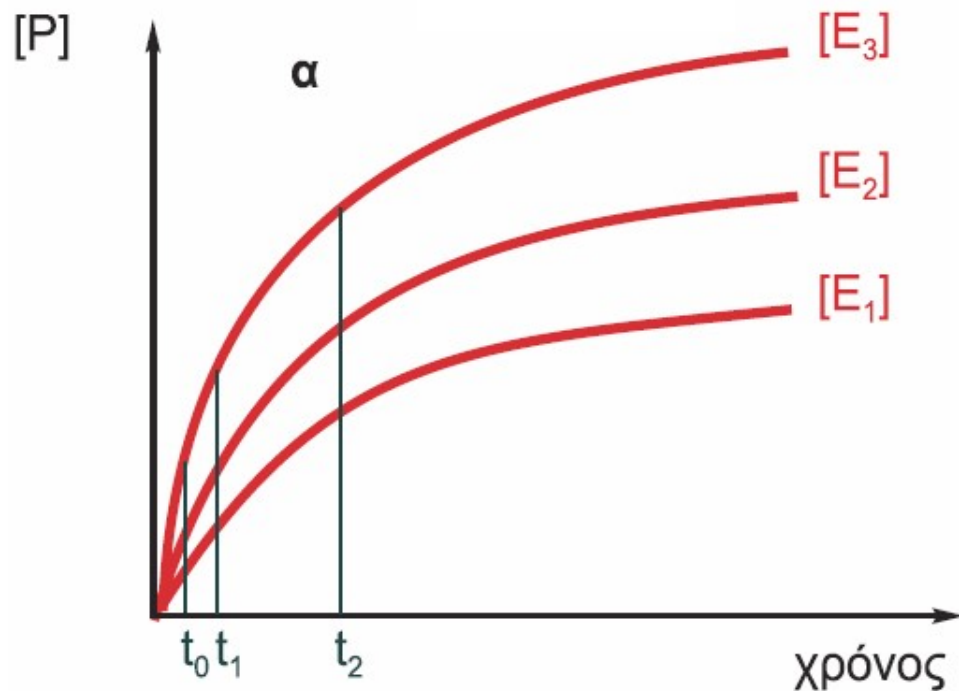


Η παραγωγή προϊόντος μειώνεται με την πάροδο του χρόνου (καμπύλη υπερβολής)

- Τα P αναστέλλουν το E
- Ο βαθμός κορεσμού του E με το S μειώνεται πιθανώς λόγω μείωσης της [S]
- Η αντίστροφη πορεία γίνεται σε μεγαλύτερο βαθμό λόγω αύξησης της [P]

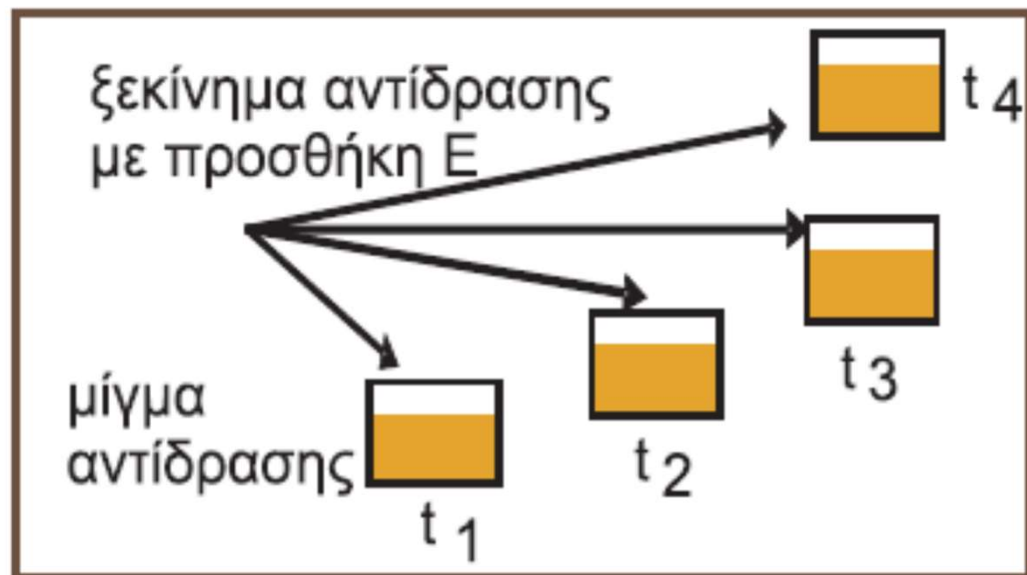
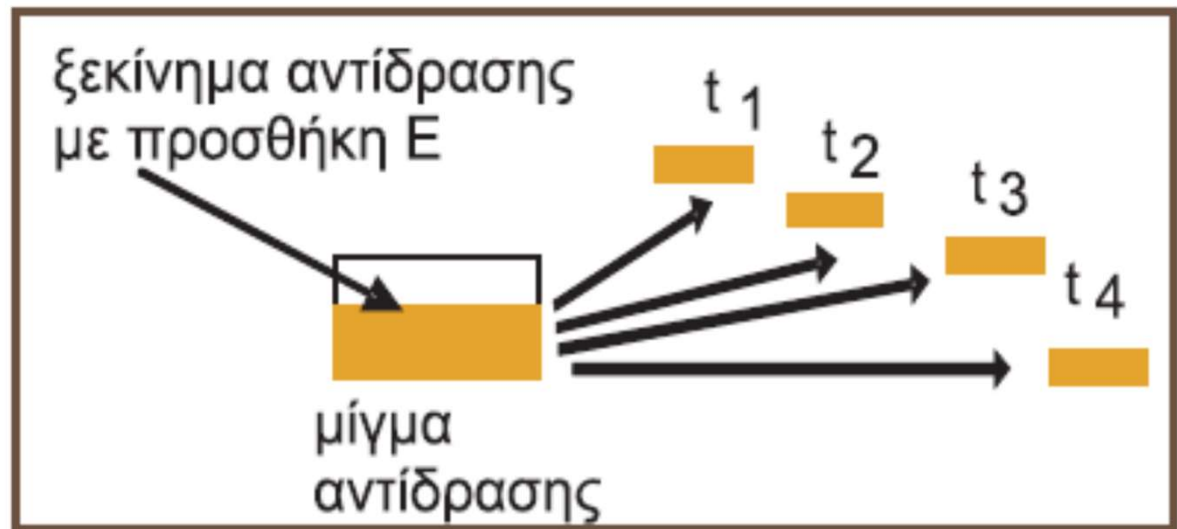
Συνθήκες αρχικής ταχύτητας

Σε συνθήκες αρχικής ταχύτητας η συνάρτηση $V=f[E]$ είναι ευθεία γραμμή και επομένως η ταχύτητα είναι ανάλογη της ποσότητας του ενζύμου



Παρακολούθηση βαθμού προόδου της ενζυμικής αντίδρασης

- Λήψη δείγματος σε διάφορες χρονικές στιγμές από το ίδιο μίγμα της αντίδρασης (sampling methods)
- Χρήση διαφορετικών μιγμάτων αντίδρασης που έχουν την ίδια σύσταση και τα οποία επωάζονται σε διαφορετικούς χρόνους (continuous methods)



Κινητική - Ενζυμικών Αντιδράσεων

- η μελέτη του ρυθμού της ενζυμικής αντίδρασης (*δηλαδή της ταχύτητας*)
- η μελέτη της μεταβολής του κατά την τροποποίηση των πειραματικών παραμέτρων

Παράγοντες που επηρεάζουν την ταχύτητα (τη δράση του ενζύμου):

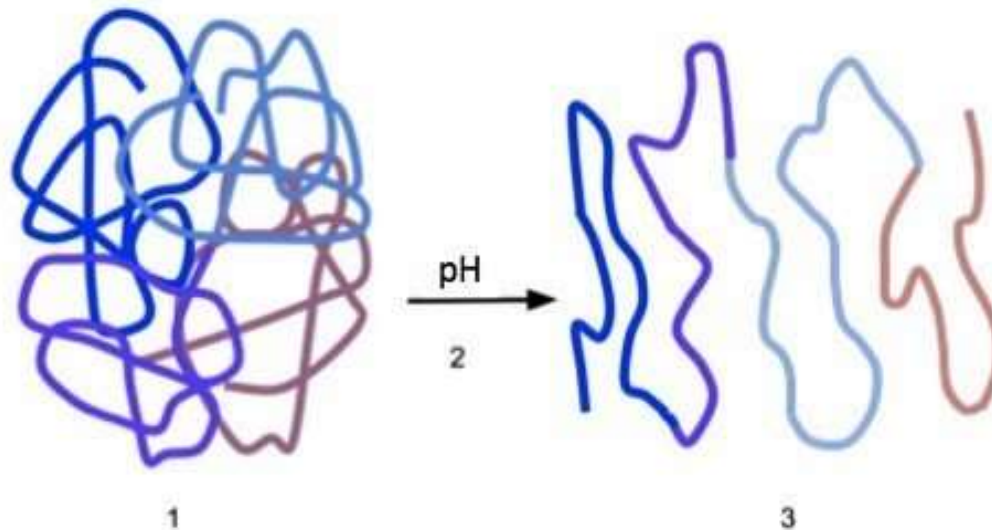
- [S]
- [E]
- pH
- θερμοκρασία
- πίεση
- σύσταση του δ/τη
- ύπαρξη αναστολέων / ενεργοποιητών

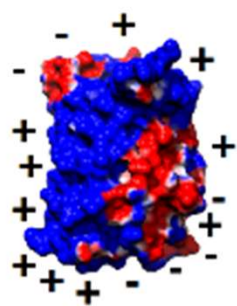
Κάθε φορά που μελετάμε έναν παράγοντα διατηρούμε τους άλλους σταθερούς

Επίδραση του pH στη δράση του ενζύμου

Προκαλεί αλλαγή στην ιοντική κατάσταση:

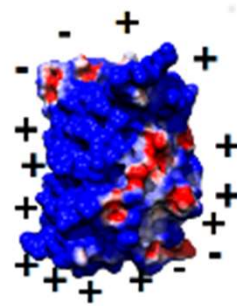
- του ενζύμου
 - ομάδες στο ενεργό κέντρο του ενζύμου
 - ομάδες γειτονικές στο ενεργό κέντρο του ενζύμου
 - ομάδες απομακρυσμένες από το ενεργό κέντρο
- του S
- του ES (επιδρά στην ταχύτητα σχηματισμού ή διάσπασης)
- υπόλοιπων συστατικών (συνένζυμα, ενεργοποιητές, αναστολείς κ.τλ.)



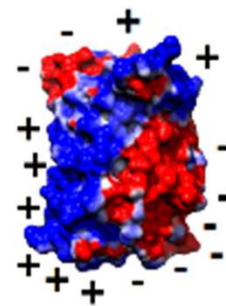


pH=2

protein protonated
positively charged

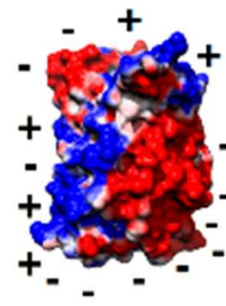


pH=4

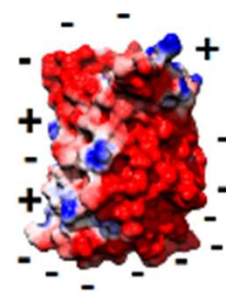


pH=5.8

isoelectric point
"+" = "-"
zero net charge

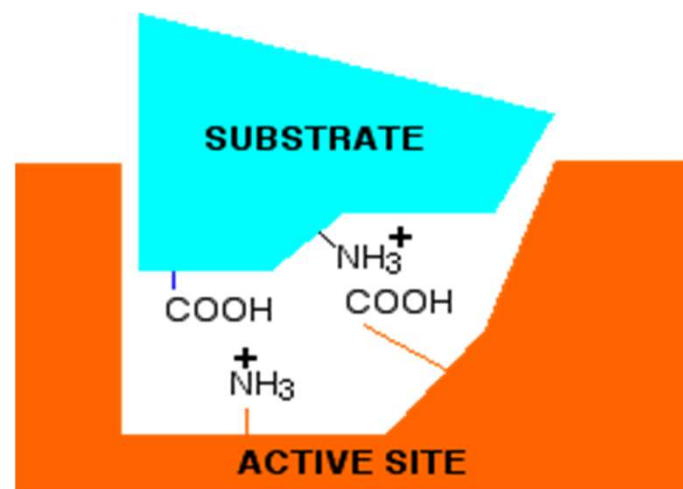
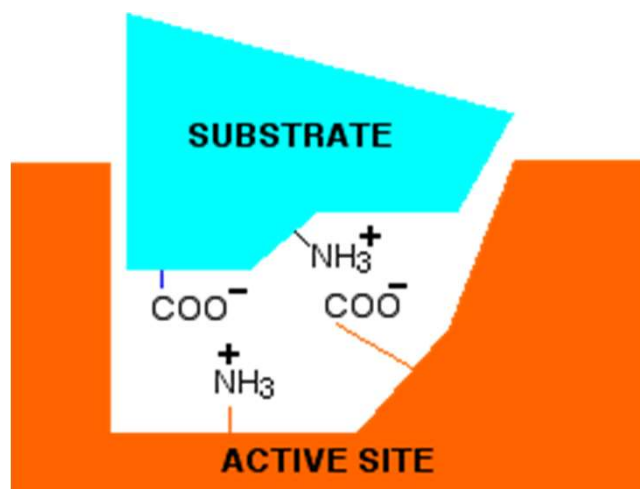


pH=7



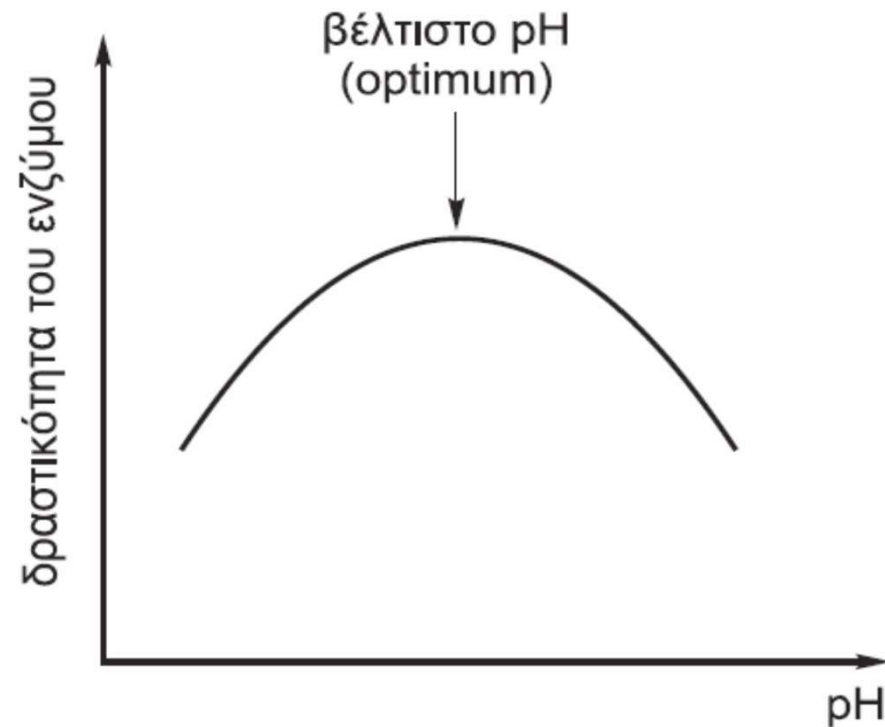
pH=10

protein deprotonated
negatively charged



Βέλτιστο pH για τη δράση του ενζύμου

- ✓ Πραγματοποιείς την ενζυμική αντίδραση σε διαφορετικά pH
- ✓ Μετράς την παραγωγή προϊόντος
- ✓ Υπολογίζεις τη δραστηριότητα του ενζύμου
- ✓ Κατασκευάζεις το γράφημα $\Delta\rho.E. = f(pH)$



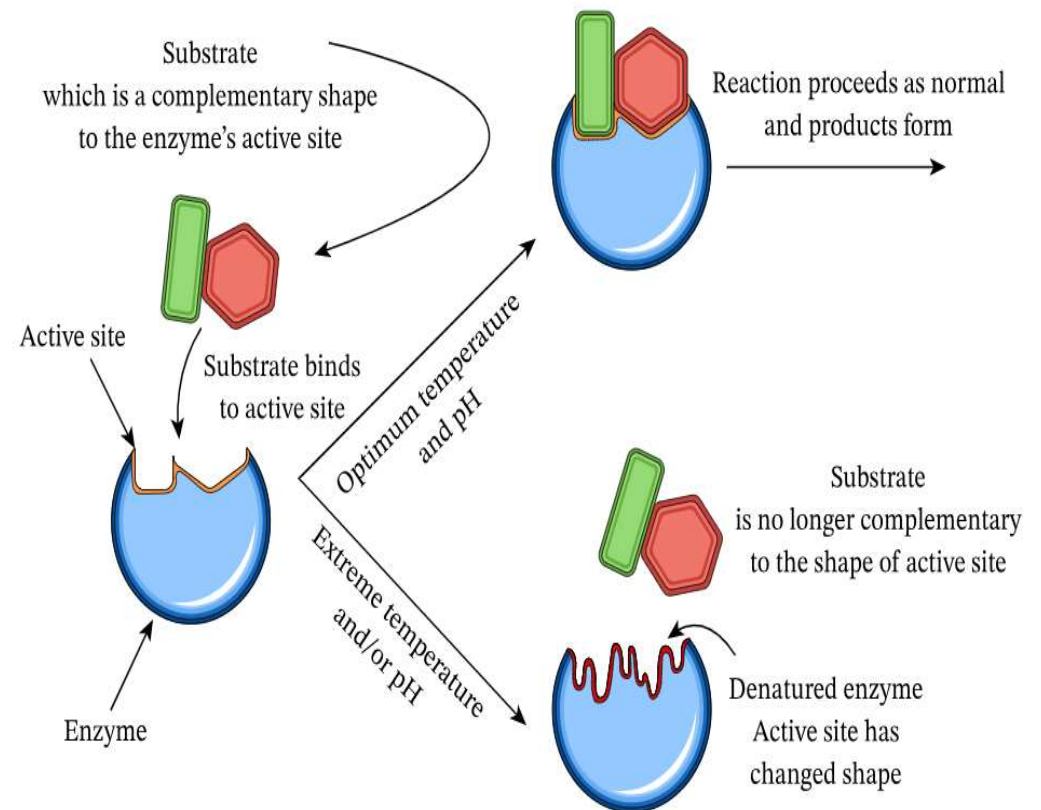
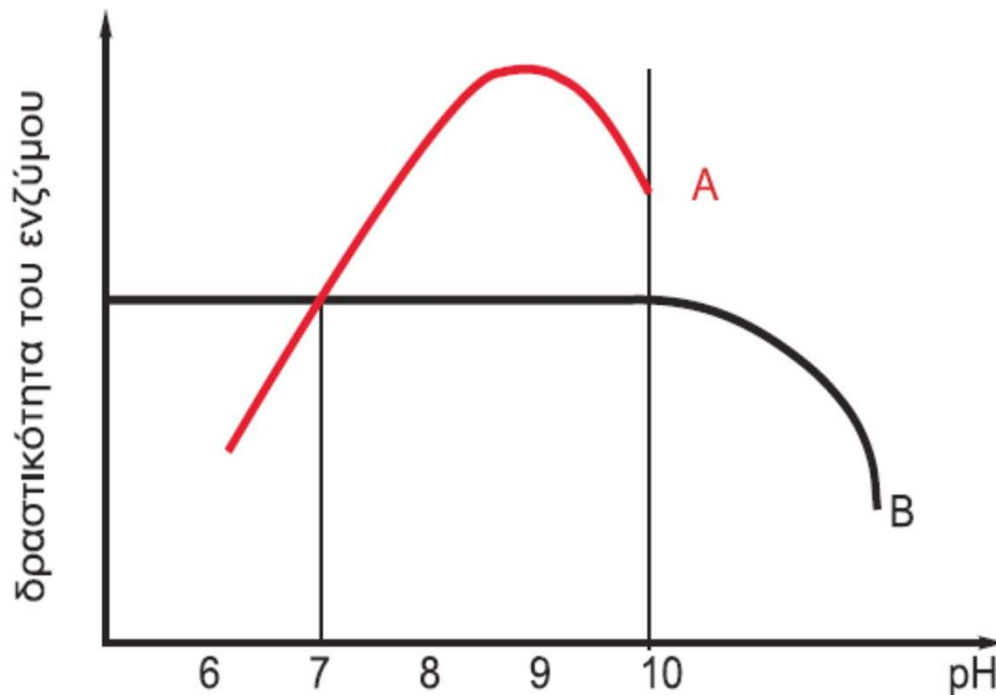
Επίδραση του pH στην V

Καθορισμός της περιοχής pH που επιδρά μη αντιστρεπτά στη σταθερότητα του ενζύμου (μετουσίωση ενζύμου)

A: το πείραμα όπως περιγράφετε στην προηγούμενη διαφάνεια

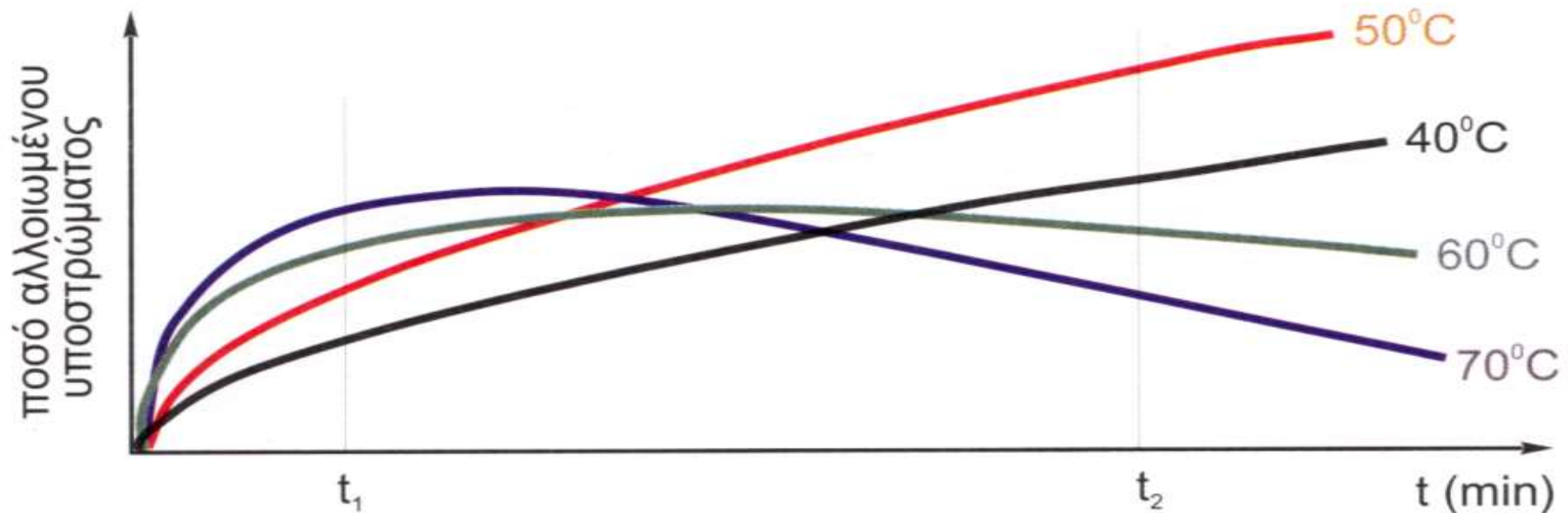
B:

- ✓ Επωάζεις το ένζυμο σε διαφορετικά pH για t λεπτά
- ✓ Πραγματοποιείς την ενζυμική αντίδραση στο βέλτιστο pH
- ✓ Μετράς την παραγωγή προϊόντος
- ✓ Υπολογίζεις τη δραστικότητα του ενζύμου
- ✓ Κατασκευάζεις το γράφημα $\Delta\rho.E. = f(pH)$



Επίδραση της θερμοκρασίας στην V

- Στη σταθερότητα του ενζύμου
- Στην ταχύτητα διάσπασης του ES (k_2)
- Στη χημική συγγένεια του E με το S (k_1, k_{-1})
- Στις τιμές pKs των συστατικών της αντίδρασης
- Στη χημική συγγένεια του E με I και A
- Διαφοροποιεί κάποιες άλλες ιδιότητες των συστατικών της αντίδρασης π.χ. διαλυτότητα



Επίδραση της θερμοκρασίας στην V

- Ο ρυθμός απενεργοποίησης των ενζύμων σε διαλύματα αυξάνει ραγδαία με την αύξηση της θερμοκρασίας. Τα περισσότερα ένζυμα απενεργοποιούνται στους 70°C ενώ στους 100°C σχεδόν όλα είναι απενεργοποιημένα.
- η απενεργοποίηση των ενζύμων από τη θερμοκρασία εξαρτάται άμεσα από την τιμή του pH του διαλύματός του.

Οι βέλτιστες θερμοκρασίες για τα ένζυμα των ζώων είναι μεταξύ 40 και 50°C , ενώ των φυτών είναι μεταξύ 50 και 60°C .

