Veterinatrska fakulteta

Vaja iz biokemije

***Encimatoka***

Ljubljana, 20.3.05

UVOD:

Encimi so katalizatorji v živih organizmih. Reakcije, ki jih katalizirajo hitreje in v milejših pogoji, kot pa reakcije katalizirane z anorganskimi katalizatorji. So proteini, ki včasih za delovanje potrebujejo tudi neproteinski del – koencim. Kot vsi katalizatorji pospešijo reakcijo in znižajo Gibsovo energijo, ki je potrebna za začetek reakcije.

Encime delimo jih v 6 razredov, glede na tip reakcije, ki jo katalizirajo. To so: oksidoreduktaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze ter ligaze.

Učinkovitost encimov je odvisna od reakcijskih pogojev kot so pH, temperatura, koncentracija substratov prisotnost kofaktorjev in prisotnosti modulatorjev encimske reakcije.

Poznamo tudi enote za encimsko aktivnost. U (količina encima, ki pretvori 1 mikromol substrata v minuti), katal(količina encima, ki pretvori 1mol substrata v produkt v 1 sekundi) in specifična aktivnost (št. Encimskih enot na miligram proteina).

REZULTATI:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Koncentracija substrata (M) { 1/[S] } | Absorpcija (A 410) | 1 / v |
| 0.00200 {500} | 2.415 | 41410 |
| 0.00100 {1000} | 1.424 | 70220 |
| 0.00070 {1430} | 1.280 | 78130 |
| 0.00049 {2040} | 0.877 | 114030 |
| 0.00024 {4170} | 0.422 | 236970 |

Hitrost odvisna od koncentracije substrata:



|  |  |
| --- | --- |
| Čas inkubiranja (min)  | Absorpcija ( A 410) |
| 5 | 0.550 |
| 10 | 0.739 |
| 15 | 1.618 |
| 30 | 1.737 |

Merjenje časovne odvisnosti razgradnje: ( c (substrata) = 0,001M )



|  |  |
| --- | --- |
| pH | Absorpcija (A 410) |
| 4 | 0,002 |
| 5 | 0,002 |
| 6 | 0,021 |
| 7 | 0,77 |
| 8 | 0,874 |
| 9 | 0,948 |
| 10 | 0,881 |

pH optimum: ( c (substrata) = 0,001M )



|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Čas inkubacije (min) | T (˚C) | Absorpcija (A 410) |
| 5 | 4 | 0,446 |
| 20 | 0,691 |
| 37 | 1,660 |
| 60 | 1,104 |
| 30 | 4 | 0,799 |
| 20 | 1,430 |
| 37 | 2,100 |
| 60 | 1,673 |

Odvisnost delovanja encima od temperature:

Zaključek:

Iz tabel in grafov se da razbrati v kakšnih pogojih encim najbolje deluje in kateri dejavniki nanj najbolj vplivajo. Optimum tripsina je recimo pri pH 9 in 37° C. Vidi se tudi, da nastane več produktov v daljšem času in pa tudi pri večji koncentraciji substrata.