

Veterinarska fakulteta v Ljubljani

8. vaja
Encimsko katalizirane reakcije

Ljubljana, 7.3. 2005

UVOD:

Encimi so biološki katalizatorji, ki zmanjšujejo aktivacijsko energijo in s tem pospešijo reakcijo. Encimske reakcije so lahko do milijon krat in več hitrejšje kot ne katalizirane.

Encimi so torej beljakovine ki katalizirajo kemijske reakcije v živih organizmih.

Encimi so: praviloma boljši katalizatorji kot anorganskih, delujejo pri milih reakcijskih pogojih, so specifični in so regulirani.

Encimsko katalizirano reakcijo lahko napišemo tudi kot: $E + S = ES - P + E$ (Michaelis – mentelova reakcija).

Razvrščamo jih v 6 glavnih razredov: oksidoreduktaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze in ligaze.

Aktivnost bioloških katalizatorjev pa je odvisna od: - koncentracije substrata

- kofaktorjev

- pH

- temperature

- ionske jakosti.

Encim ima tudi mero encimske aktivnosti to je njegova sposobnost preoblikovanja molekule substrata. Za to uporabljamo predvsem tri enote: IU(količina encima ki pretvori 1 mikromol substrata v minuti), katal(1mo substrata v produkt v 1 sekundi) in specifična aktivnost (št. Encimskih enot na miligram proteina).

REZULTATI:

Hitrost odvisna od koncentracije substrata:

Koncentracija substrata (M)	Absorpcija (A 410)
Proba (samo pufer)	0
0.00200	2.415
0.00100	1.424
0.00070	1.280
0.00049	0.877
0.00024	0.422

Merjenje časovne odvisnosti razgradnje:

Koncentracija sub. (M)	Čas inkubiranja (min)	Absorpcija (A 410)
Proba	30	0
0.00100	5	0.550
0.00100	10	0.739
0.00100	15	1.618
0.00100	30	1.737

pH optimum:

Koncentracija sub. (M)	pH	Absorpcija (A 410)
Proba	3	0
0.001	4	0.002
0.001	5	0.002
0.001	6	0.021
0.001	7	0.77
0.001	8	0.874
0.001	9	0.948
0.001	10	0.881

Odvisnost delovanja encima od temperature:

Čas inkubacije	T (°C)	Absorpcija (A 410)
5	4	0.446
5	20	0.691
5	37	1.660
5	60	1.104
30	4	0.799
30	20	1.430
30	37	2.100
30	60	1.673

RAZPRAVA:

Vrhovi grafov in rezultati v tabelah nam nazorno kažejo kje encimi optimalno delujejo in kako vpliva na nastane produktov čas, koncentracija substrata, pH in temperatura. Encim najbolje deluje pri najvišji koncentracija substrata (0.00200 M). Dalj časa ko je protein aktiven, več produktov nastane (po 30 min). Naš encim je glede na odvisnost od pH najbolje deloval ko je bil pH 9. Temperatura do neke meje pospešuje delovanje encima, dokler se le ta ne denaturira, tako encim slabše katalizira. Temperaturni optimum je pri 37 stopinjah.