

BIOREAKTOROK és a MÉRNÖKI GYAKORLAT

Előadás:

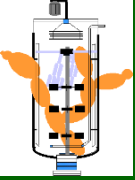
- tanári
- hallgatói ea -> aláírásért
(benne javasolt vizsgakérdés!)
- Szűrőpróba katalógus

Labor: 1 hetes

Hétfő	Oktatási hét	Tárgy	Témavezető	Gyakorlat				
2016.02.15	1							
2016.02.22	2	Ipari Mikrobi	Barta Zsolt	Pichia fermentációk vizsgálata				
2016.02.29	3	Ipari Mikrobi	Barta Zsolt	Pichia fermentációk vizsgálata				
2016.03.07	4	Ipari Mikrobi	Németh Á	Rekombináns E.coli fermentáció és GFP tisztítás				
2016.03.14	5	Ipari Mikrobi	Kiss B	Alga tenyésztés	márc.15 kedd->14 H szünet			
2016.03.21	6	Bioreaktorok	Németh Á	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturMOdel2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel				
2016.03.28	7				Húsvét H:28. 30.: Amszterdamiak			
2016.04.04	8	Bioreaktorok	Németh Á	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturMOdel2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel				
2016.04.11	9				Ápr.13 VBK szünet Vegyésznapok			
2016.04.18	10				Ápr.21-22: SuperPro			
2016.04.25	11				MÜKKI: ápr.26-28			
2016.05.02	12	Bioreaktorok	Németh Á	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturMOdel2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel				
2016.05.09	13	Bioreaktorok	Németh Á	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturMOdel2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel				
2016.05.16	14	Bioreaktorok	Németh Á	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturMOdel2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel				

Előadások

1	Biológiai biztonság
2	kontainment szabályozás +730-743
3	Control of sterilization El-Mansi240-243
4	Tisztítás, CIP és Készülékek sterilizése Bioprocess Engineering 471-496
5	Gyógyszeripari víztisztítás Bioprocess Engineering 525-572
6	Közművek Bioprocess Engineering 575-610
7	Fűtés, hűtés,HVAC Bioprocess Engineering 643-668
8	Szűrőelemek a biotechban: Bioprocess Engineering 319-367 és enyém.
9	Reaktortech alapok -reakt1
10	növterm-ideálisban-MSc
11	bioreakt-pfr-MSc
12	aerob keverős bioreaktorok
13	aerob air lift és plugflow bioreaktorok
14	enzimes reaktorok
15	Biofolyamatok mérése Schügerl 3.
16	Biosensors El-Mansi Fermentation Microbiol & Biotech197-217
17	Control of ferm El-Mansi Fermentation Microbiol & Biotech 223-259
18	tervezés,esettan.5-67 ,
19	Mikrobioreaktorok és mérésük
20	Scale up
21	MCA Sevelle Béla
22	Flux control El-Mansi Fermentation Microbiol & Biotech 186-195
23	CsóTartálySzelep: Bioprocess Engineering 191-214, 215-252.
24	Hulladékkezelés Bioprocess Engineering 610-638
25	gmp, validálás: Bioprocess Engineering 747-780.



ENZIMES ÖSSZEFOGLALÓ



mol/dm³!!!!

MIÉRT NEM MÉRHETŐ?

Egy **egység** az az enzim mennyiség, amely 1 μmol szubsztrátot alakít át vagy 1 μmol terméket képez 1 perc alatt *adott reakció körülmények között*.

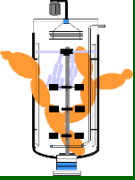
SI rendszerben: 1 Katal: 1 mol szubsztrátot alakít át 1 s alatt.

hatalmas enzim mennyiség nKat = 10⁻⁹ Kat

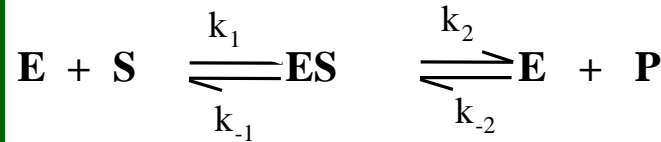
1 Kat = 6*10⁷ U, 1U = 1.6*10⁻⁸ Kat, 1U = 1/60 μKat

E/uf **E/mg** → fajlagos aktivitás

Michaelis és Menten



Michaelis-Menten kinetika



feltételezések: * $k_{-2} = 0$

*első lépés gyorsan egyensúlyra jut= **RAPID EKVILIBRIUM**

*stabil ES komplex, EP komplex elhanyagolható

*egy aktiv centrum, egy szubsztrát
aktivitás helyett cc használható

$S \gg E_0$ vagyis $E_0 / S \ll 1$

$$k_1 S E = k_{-1} (ES)$$

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{S \cdot E}{(ES)}$$

a „minket érdeklő” reakciósebesség:

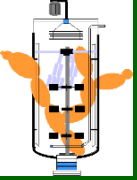
$$V = \frac{dP}{dt} = k_2 (ES)$$

az (ES) disszociációs
állandója

$$E + (ES) = E_0$$

anyagmérleg

összük el ezt a kettőt egymással



Michaelis-Menten kinetika

$$V = \frac{dP}{dt} = k_2(ES)$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2(ES)}{E + (ES)}$$

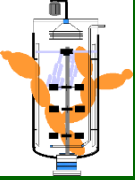
$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{S \cdot E}{(ES)}$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2 \frac{S}{K_s} E}{E + \frac{S}{K_s} E}$$

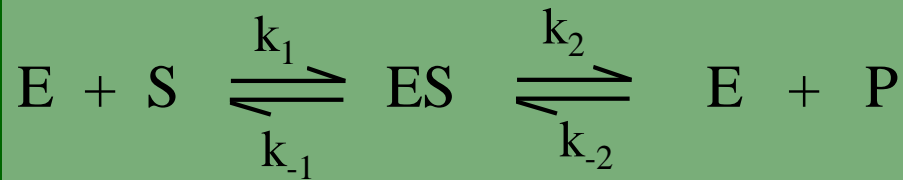
Rendezzük át!

$$\frac{V}{k_2 E_0} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s}} = \frac{S}{K_s + S}$$

$$V_{\max} = k_2 E_0$$



BRIGGS-HALDANE KINETIKA



$$\frac{dS}{dt} = -k_1ES + k_{-1}(ES)$$

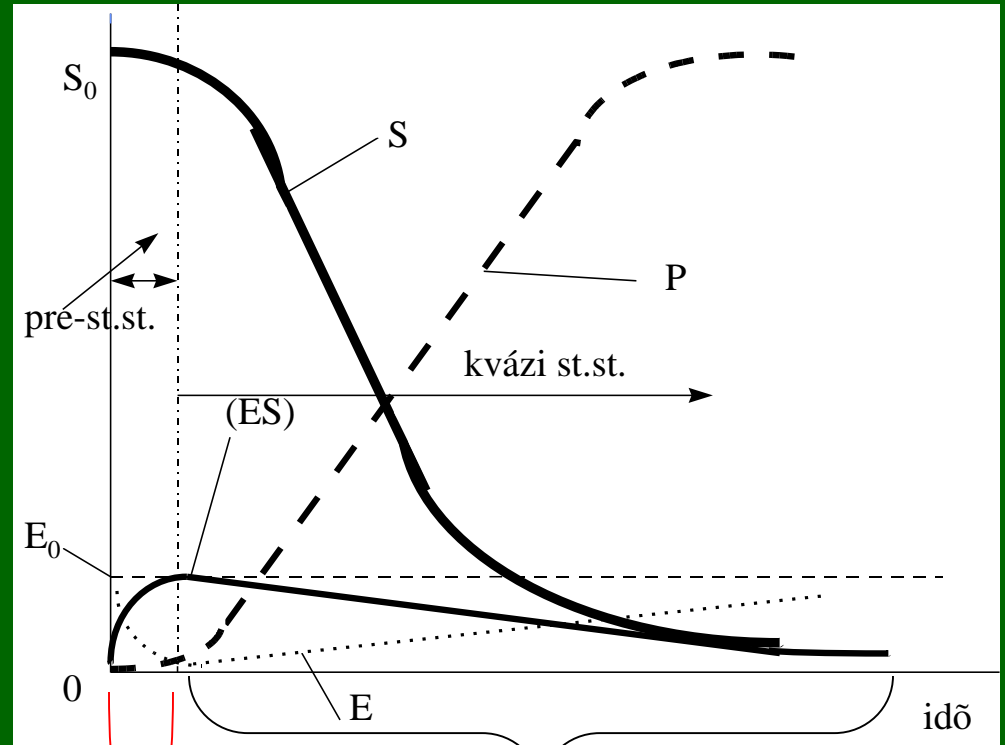
$$\frac{d(ES)}{dt} = k_1ES - k_{-1}(ES) - k_2(ES)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2(ES)$$

steady state

$$d(ES)/dt = 0$$

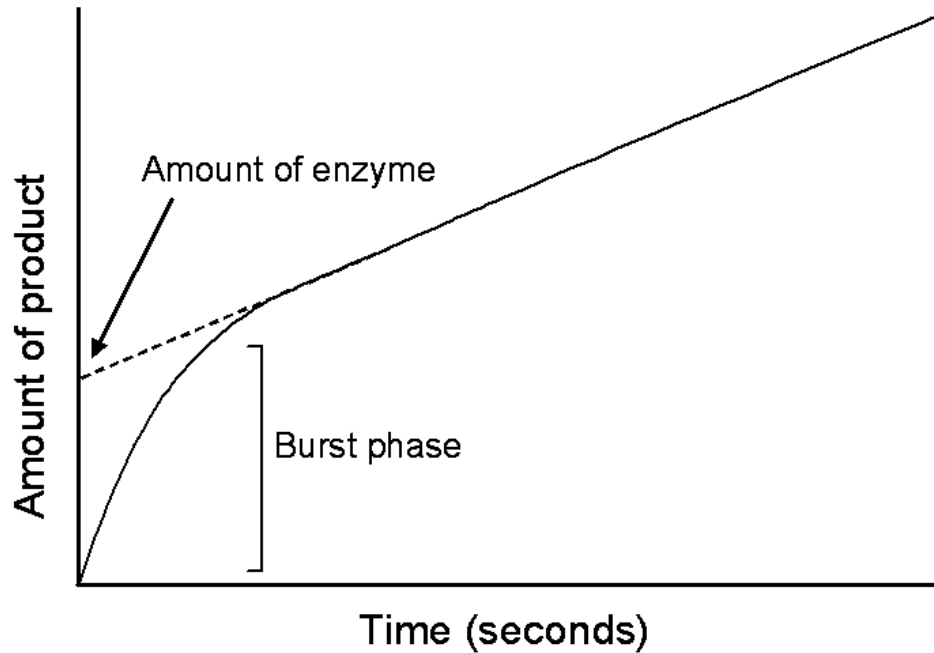
$$S \gg E_0$$

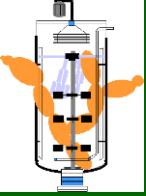


NAGYON RÖVID IDŐ

HOSSZÚ IDŐ

PRE-STEADY STATE





BRIGGS-HALDANE KINETIKA

$$\frac{d(\text{ES})}{dt} = k_1 \text{ES} - k_{-1}(\text{ES}) - k_2(\text{ES}) = 0$$

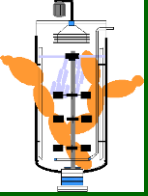
$$k_1 \text{ES} = (k_{-1} + k_2)(\text{ES})$$

$$(\text{ES}) = \frac{k_1 \text{ES}}{(k_{-1} + k_2)}$$

$$\text{E} + (\text{ES}) = \text{E}_0$$

$$V = \frac{k_2 \text{E}_0 \text{S}}{K_m + \text{S}} = V_{\text{max}} \frac{\text{S}}{K_m + \text{S}}$$

$K_m = (k_{-1} + k_2) / k_1$
Michaelis állandó



DISZKUSSIÓ

Michaelis -Menten

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

Briggs-Haldane

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_m + S}$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_{-1}}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} = K_s + \frac{k_2}{k_1}$$

ha $\text{num}(k_1) \gg \text{num}(k_2) \rightarrow$ a két konst. azonos!

DISZKUSSIÓ

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

$$V_{\max} = k_2 E_0$$

$$K_m / V_{\max} = \text{specfi(ci)tás idő}$$

$$V = (V_{\max} / K_s) * S$$

1. rendű
tartomány

$$S \ll K_s$$

derékszögű hiperbola

Ha $S \gg K_s$

0. rendű
tartomány

látszólagos elsőrendű sebességi állandó

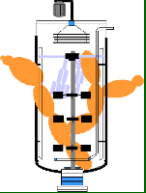
$K_m ; K_s$

S

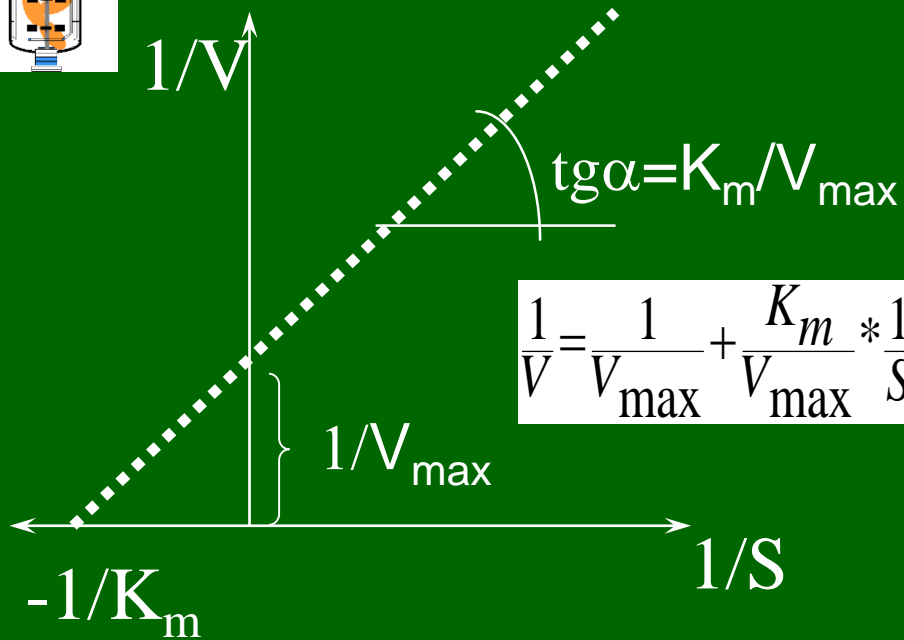
$$V \approx \frac{k_2}{K_s} E_0 S = k' E_0 S$$

katalitikus effektivitás = specfi(ci)tás állandó

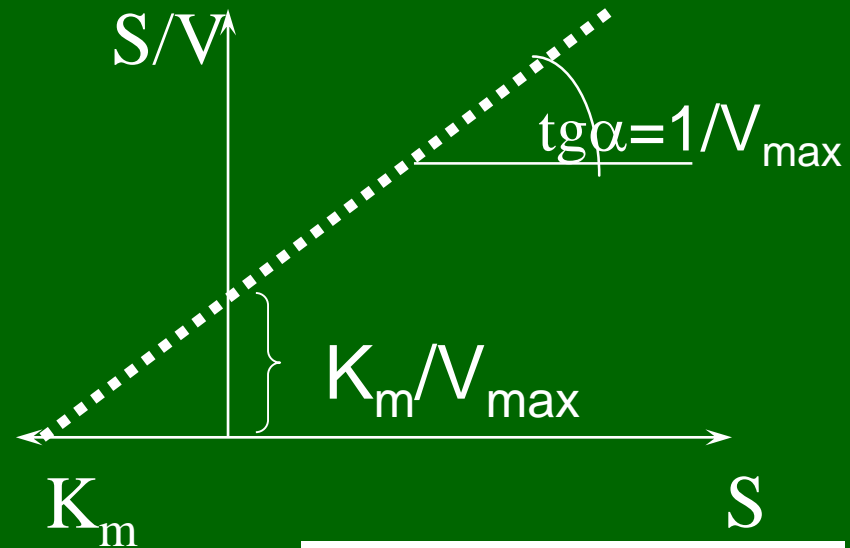




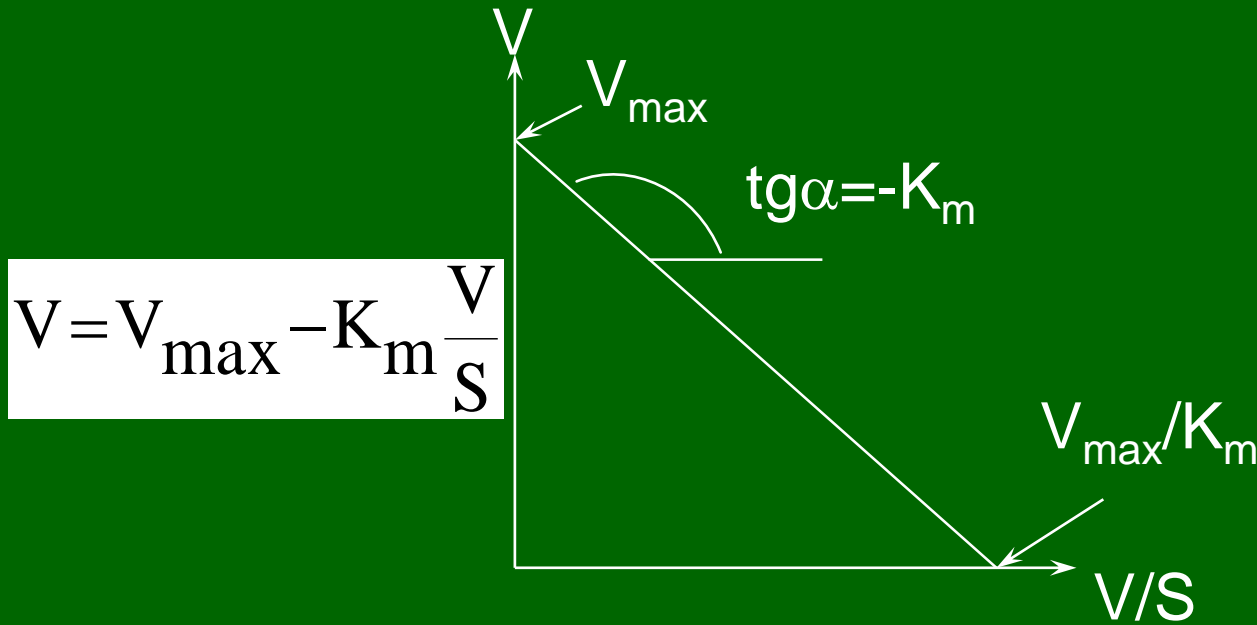
L-B, L-H, E-H ábrázolások



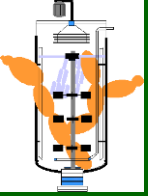
$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} * \frac{1}{S}$$



$$\frac{S}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}} * S$$

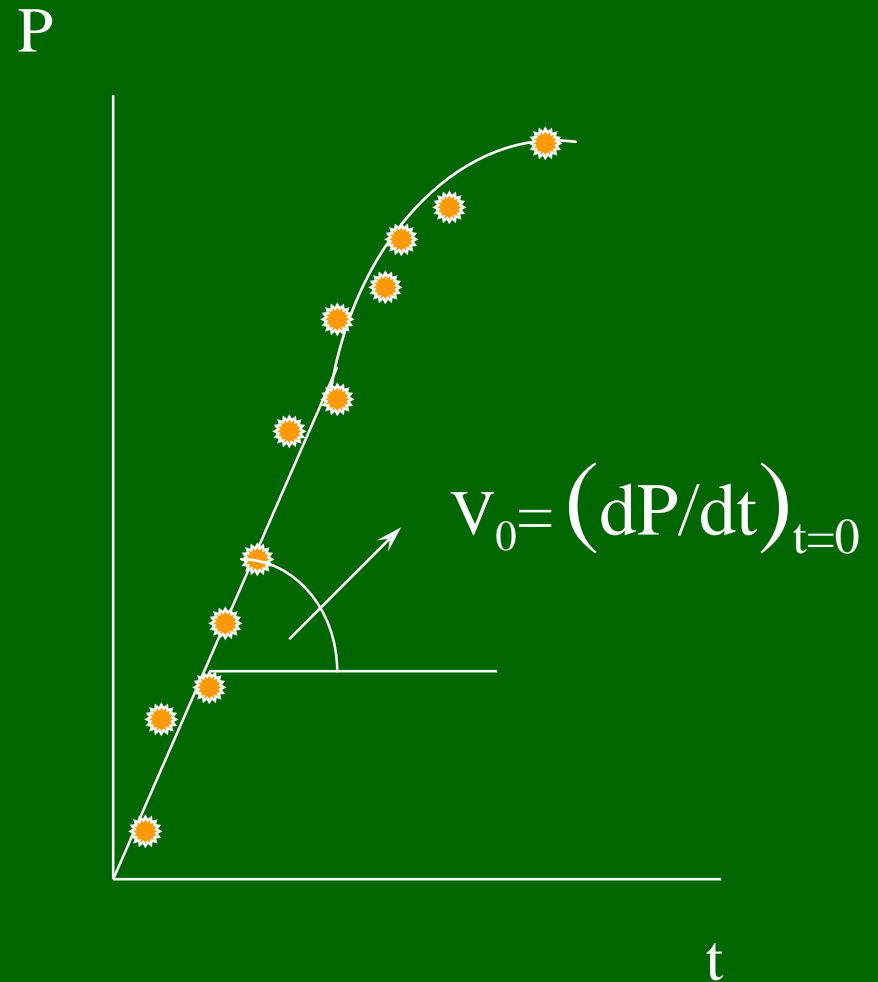
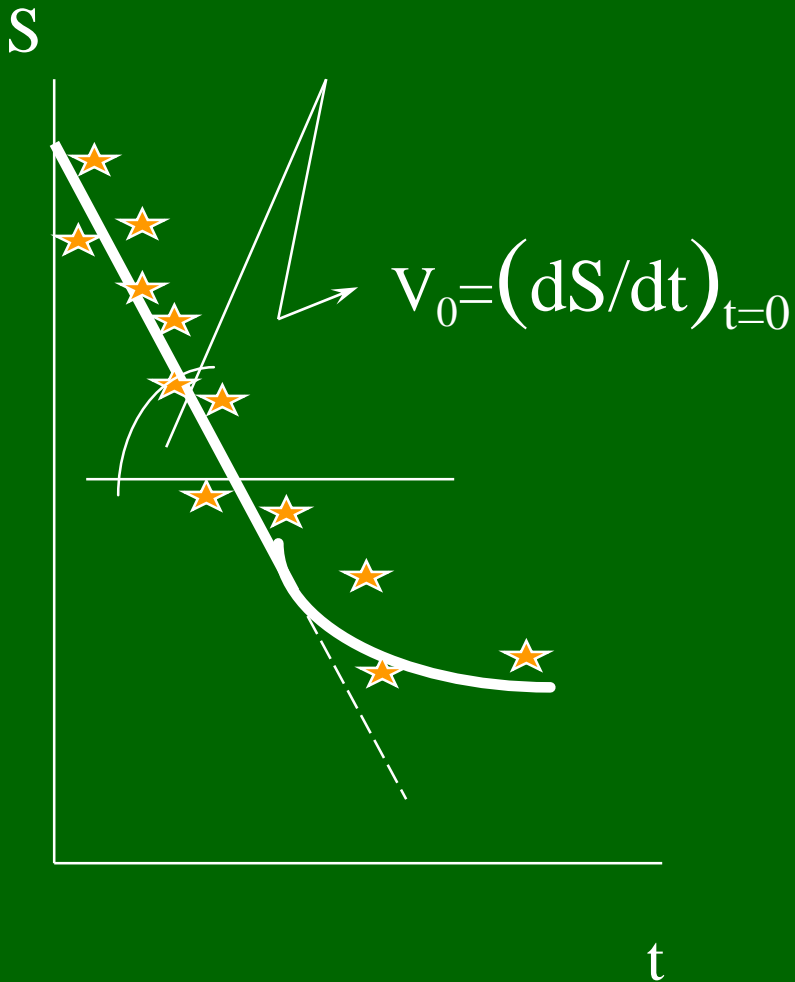


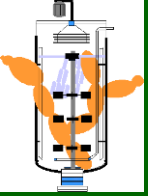
$$V = V_{\max} - K_m \frac{V}{S}$$



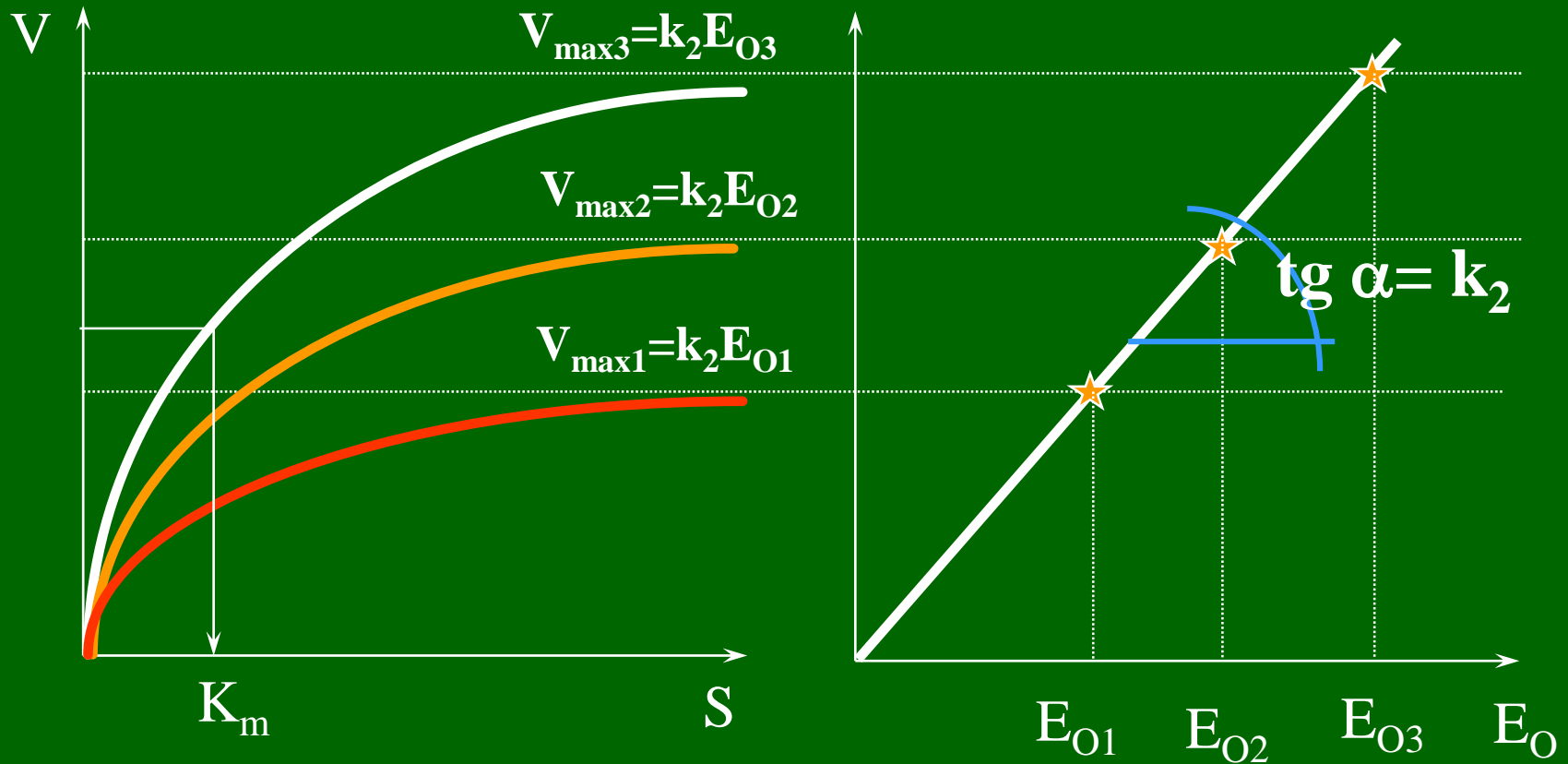
V_0 értelmezése

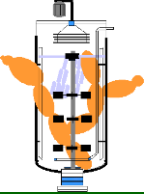
A M-M és B-H egyenletekben
 V kezdeti reakciósebességet jelent!!!





A k_2 meghatározása és V_{\max} E_0 -függése





A kinetikai paraméterek értelmezése 1

V_{max}

IUBMB: nem max, hanem limit!!!

HATÁRSEBESSÉG

NEM ENZIMTULAJDONSÁG

$$V_{max} = k_2 \cdot E_0$$

= **AKTIVITÁS**

k_2 [s⁻¹]

ENZIMTULAJDONSÁG = turnover number, váltásszám

Kiterjesztés minden enzimre és minden kinetikára

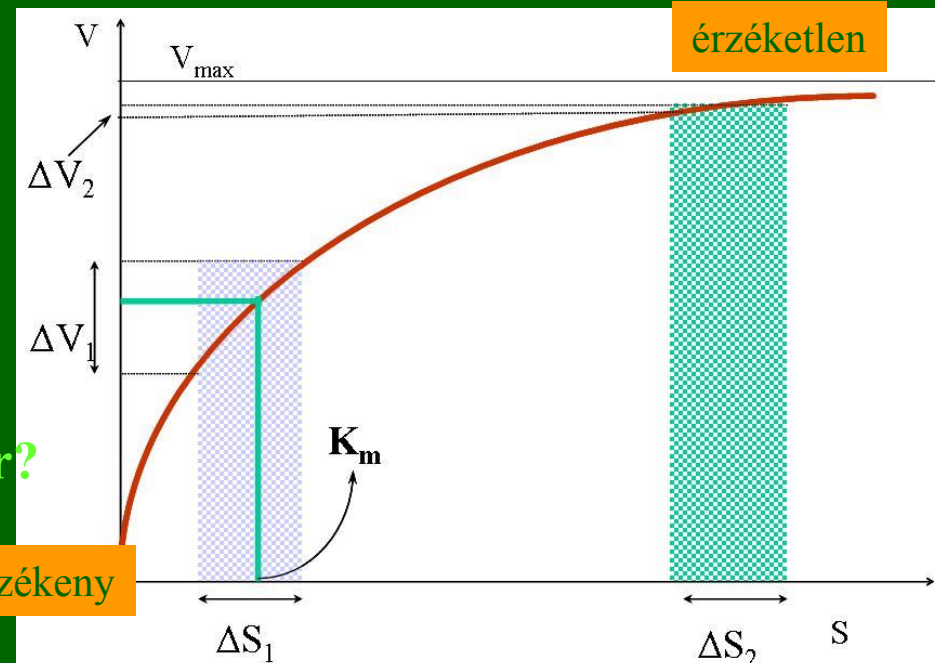
$$V_{max} = k_{cat} \cdot E_0$$

k_{cat} : [s⁻¹]

Egy enzim molekula átalakítási frekvenciája
S-telítés esetén

K_m , K_S

- Közelítőleg az S az élő sejtben
- az enzim affinitása
- A = B ???
- Változott a K_S Inhibitor? Aktivátor?
- Enzimanalitika $S \gg K_S$



Túl érzékeny

érzéketlen

A kinetikai paraméterek értelmezése 2

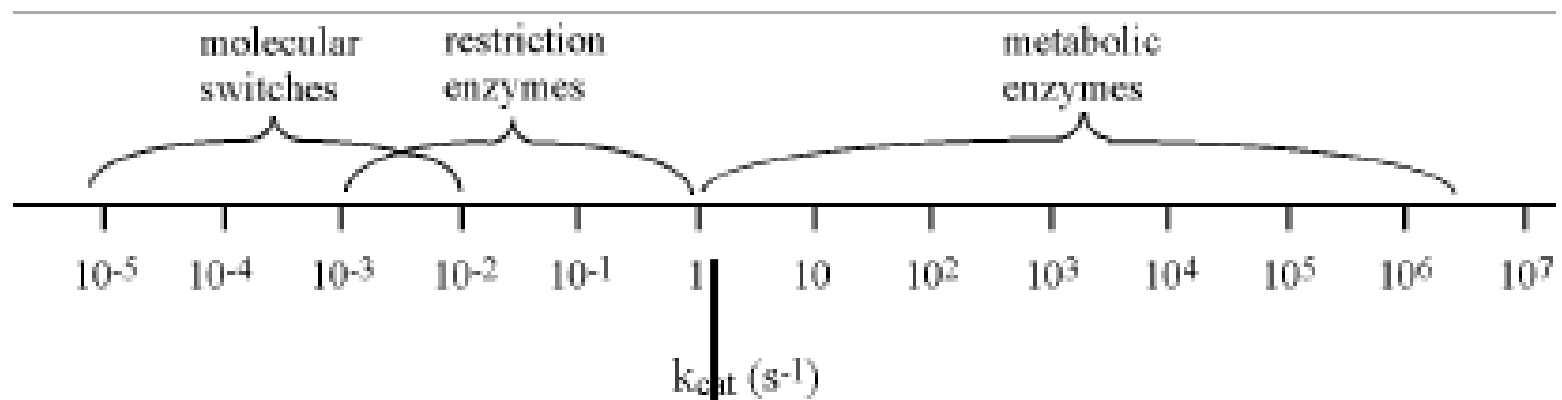
E 13-1. THE VALUES OF K_M , k_{cat} , AND k_{cat}/K_M FOR SOME ENZYMES AND SUBSTRATES

Enzyme	Substrate	K_M (M)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_M (M ⁻¹ s ⁻¹)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	9.5×10^{-5}	1.4×10^4	1.5×10^8
Carbonic anhydrase	CO ₂	1.2×10^{-2}	1.0×10^6	8.3×10^7
	HCO ₃ ⁻	2.6×10^{-2}	4.0×10^5	1.5×10^7
Catalase	H ₂ O ₂	2.5×10^{-2}	1.0×10^7	4.0×10^8
Chymotrypsin	<i>N</i> -Acetylglycine ethyl ester	4.4×10^{-1}	5.1×10^{-2}	1.2×10^{-1}
	<i>N</i> -Acetylvaline ethyl ester	8.8×10^{-2}	1.7×10^{-1}	1.9
	<i>N</i> -Acetyltyrosine ethyl ester	6.6×10^{-4}	1.9×10^2	2.9×10^5
Fumarase	Fumarate	5.0×10^{-6}	8.0×10^2	1.6×10^8
	Malate	2.5×10^{-5}	9.0×10^2	3.6×10^7
Urease	Urea	2.5×10^{-2}	1.0×10^4	4.0×10^5

katalitikus effektivitás= specfi(ci)tás állandó

$$\frac{k_{cat}}{K_m} = 10^7 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1} = \frac{10^7 \text{ s}^{-1}}{1 \text{ M}} = \frac{1 \text{ s}^{-1}}{10^{-7} \text{ M}}$$

Legtöbb enzim e két szélső eset között



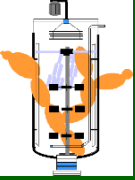
k_{cat} alsó határa metabolikus enzimeknél

Természetes enzimeknél: $>10^5$

Mesterséges e-nél (DNA-zyme, abzyme): $<10^3$

$<10^8-10^9 M^{-1}s^{-1}$

diffúziókontrollált bimolekuláris reakció



ENZIM MODULÁCIÓ

Effektorok hatása

INHIBITÓR

CSÖKKENTIK A
REAKCIÓSEBESÉGET

V_i

INHIBÍCIÓ FOKA

$$\epsilon_i = \frac{V_0 - V_i}{V_0}$$

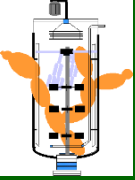
AKTIVÁTOR

NÖVELIK A REAKCIÓSEBESÉGET

V_a

AKTIVÁLÁS FOKA

$$\epsilon_a = \frac{V_a - V_0}{V_0}$$

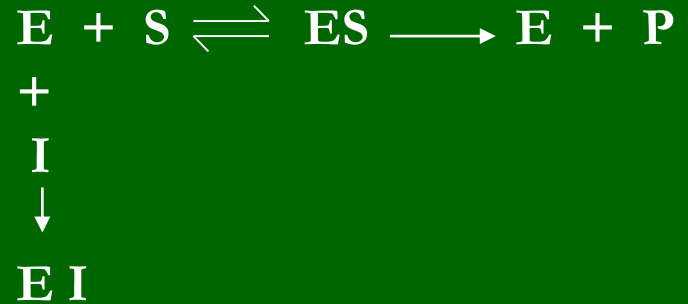


INHIBÍCIÓ

REVERZIBILIS

DINAMIKUS **EI** KOMPLEX

IRREVERZIBILIS

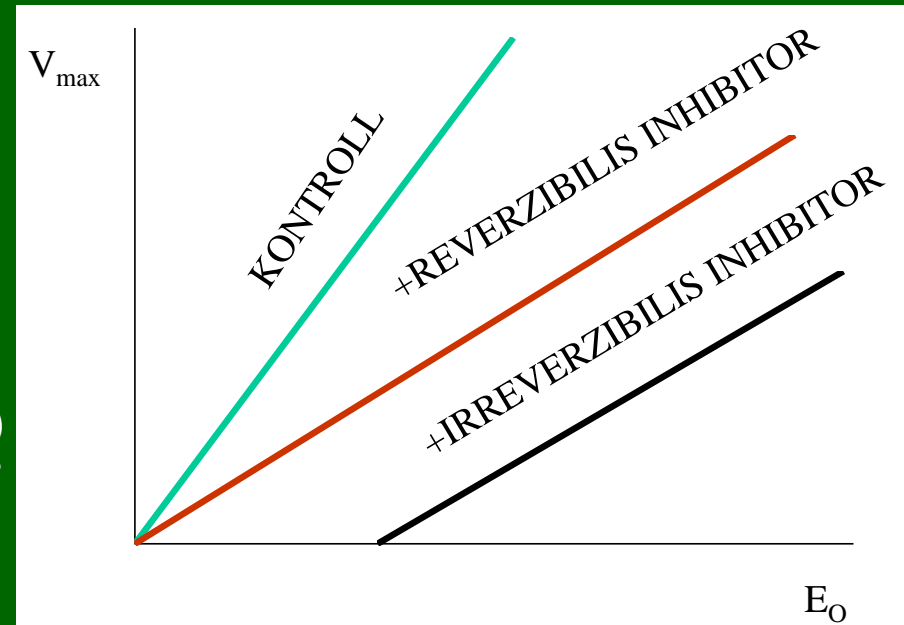


LINEÁRIS INHIBÍCIÓ

komplett k_p

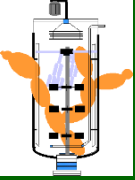
NEMLINEÁRIS INHIBÍCIÓ (HIPERBOLIKUS)

részleges βk_p „csökkent, maradék aktivitás”



DIXON
ábrázolás

1/V - I
ábrázolás



KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

VERSENGÉS S ÉS I KÖZÖTT AZ E AKTÍV HELYÉÉRT, VAGY.....

KÖLCSÖNÖS KIZÁRÁS

I

**szubsztrát analóg
alternatív szubsztrát
termék**

MODELLEK

1. MODELL: Klasszikus kompetitív inhibíció

Az **I** verseng **S**-sel ugyanazon aktív hely elfoglalásáért

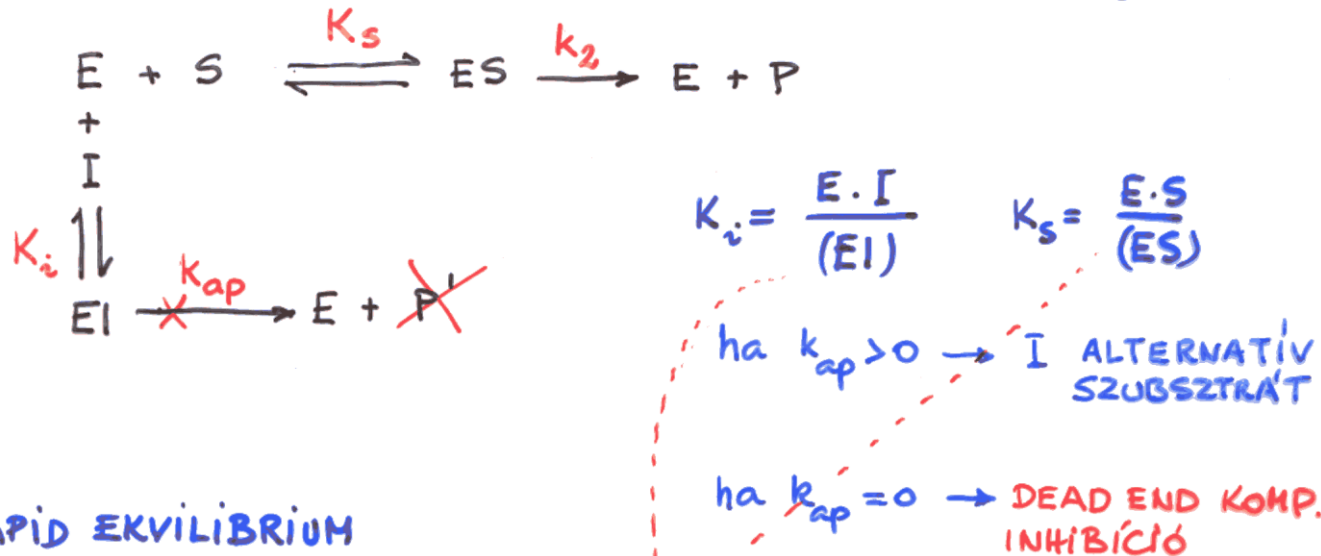
2.-3. MODELL: sztérikus GÁTLÁS

4. MODELL: átlapoló helyek esete :1 és 3 kötő hely képes az **i, a 2 és 4 kötő hely pedig az **S** megkötésére, de egymást kölcsönösen kizárják**

5. MODELL: **I kötődése az enzimhez konformáció változást okoz az enzimen és ez megakadályozza **S**-nek az aktív centrumhoz kötődését. Ilyen a végtermék gátlás (feed back inhibíció) is.**

1. KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 5.

KLASSZIKUS KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ KINETIKÁJA



① RAPID EKVILIBRIUM

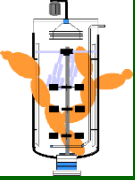
$$V = k_2 (ES)$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2 (ES)}{E + (ES) + (EI)}$$

NIVEL $(ES) = \frac{S}{K_s} \cdot E$ és $(EI) = \frac{I}{K_i} \cdot E$

illetve $V_{max} = k_2 E_0$

$$\frac{V}{k_2 E_0} = \frac{V}{V_{max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i}}$$



1. KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 6.

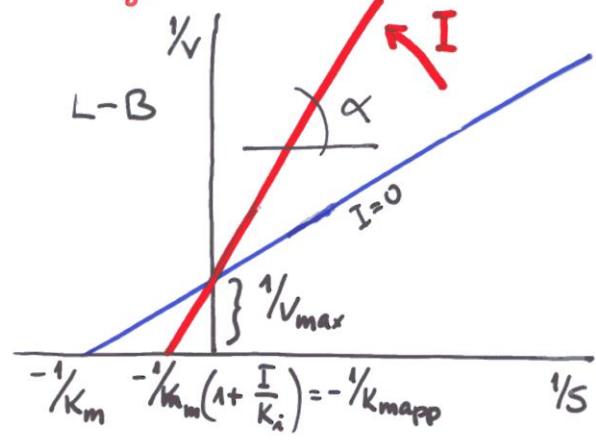
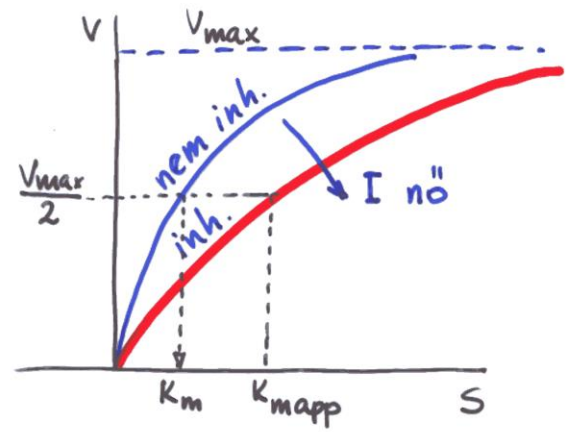
$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

ma!
 K_m

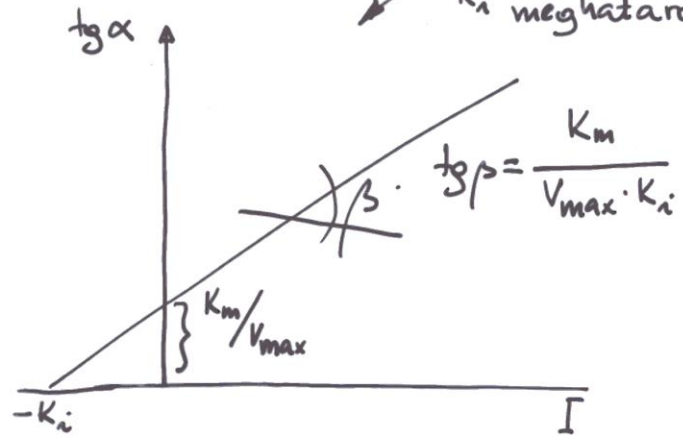
$$v = V_{max} \frac{S}{K_{sapp} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S}$$

K_{sapp} v. K_{mapp}
 láthatóság állandó



$\text{tg } \alpha = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$
 K_i grafikus meghatározása



ANALÓGIÁK

k. termék inhibíció

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{P}{K_P} \right) + S}$$

kompetitív inhibíció

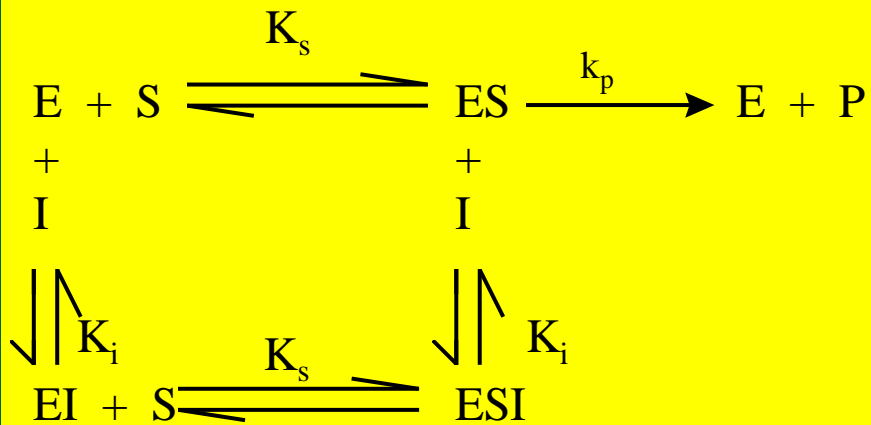
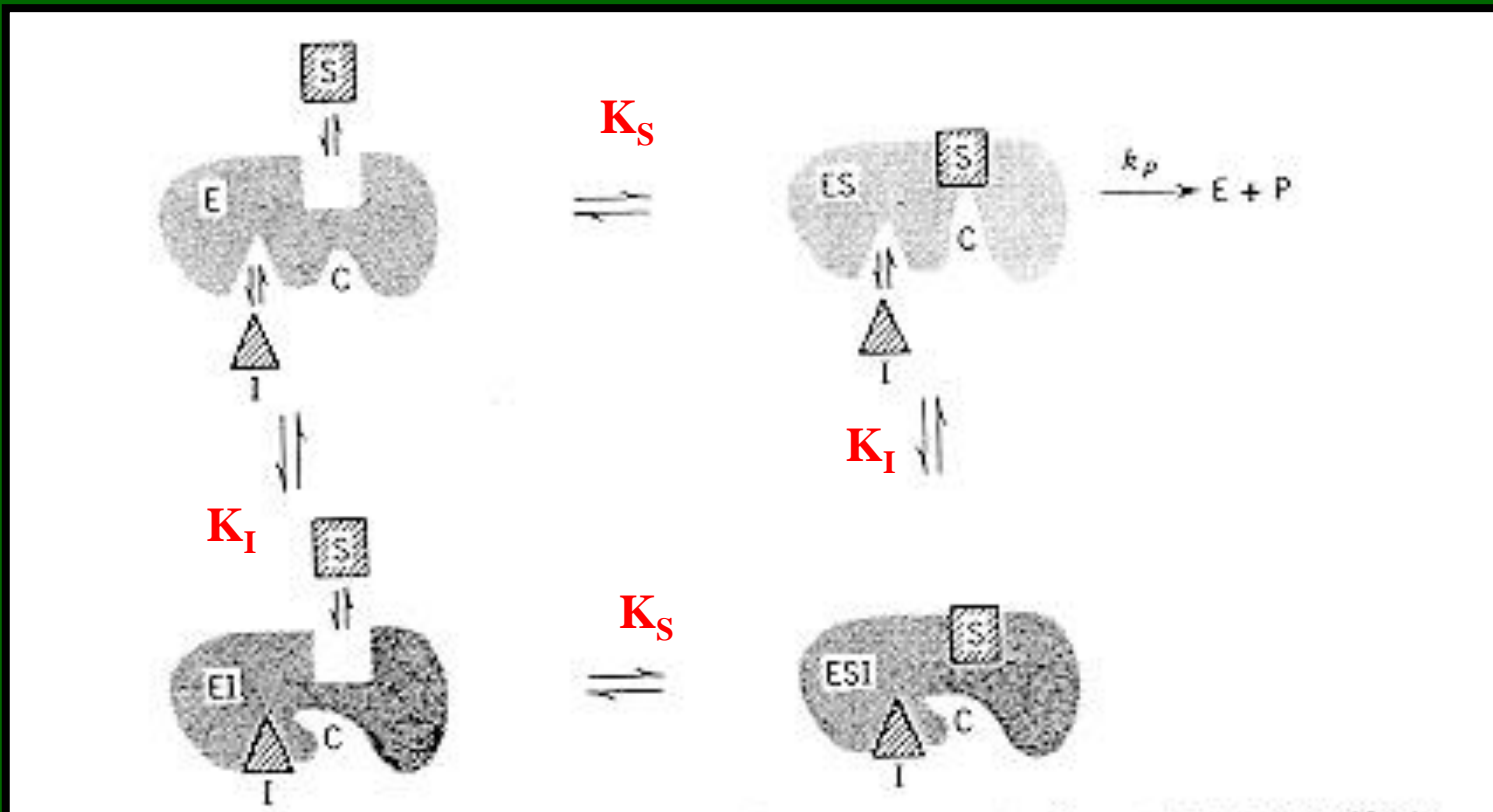
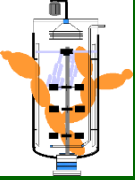
$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i} \right) + S}$$

alternatív v. versengő szubsztrátok

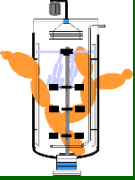
$$V_1 = V_{1\max} \frac{S_1}{K_s^1 \left(1 + \frac{S_2}{K_s^2} \right) + S_1}$$

$$V_2 = V_{2\max} \frac{S_2}{K_s^2 \left(1 + \frac{S_1}{K_s^1} \right) + S_2}$$

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ



$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{ES}{E + ES + EI + ESI}$$



2. NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

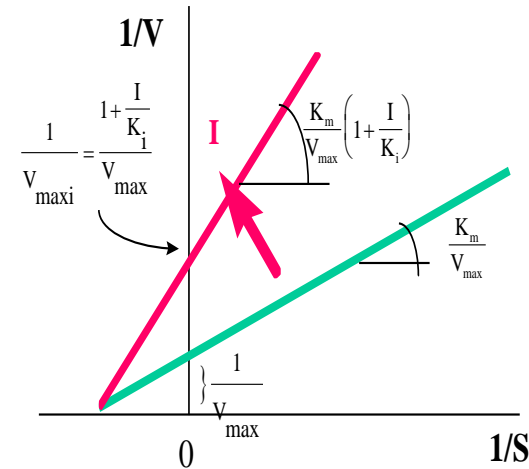
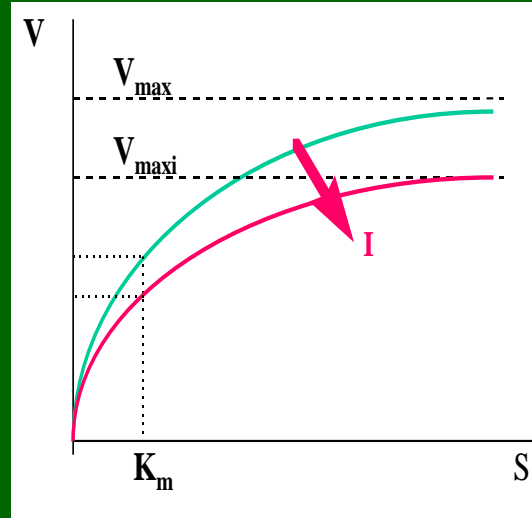
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{K_s K_i}}$$

vagy

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}$$

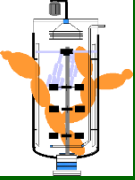
illetve

$$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{K_s}{S} + 1}$$



AZ inhibitor a látszólagos V_{\max} értéket változtatja meg, K_s (illetve K_m) értékét nem befolyásolja.

3. UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 1

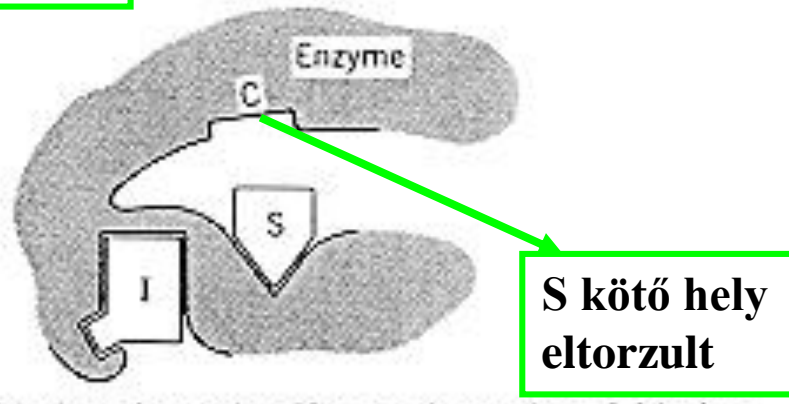


I kötő hely „nem kész”

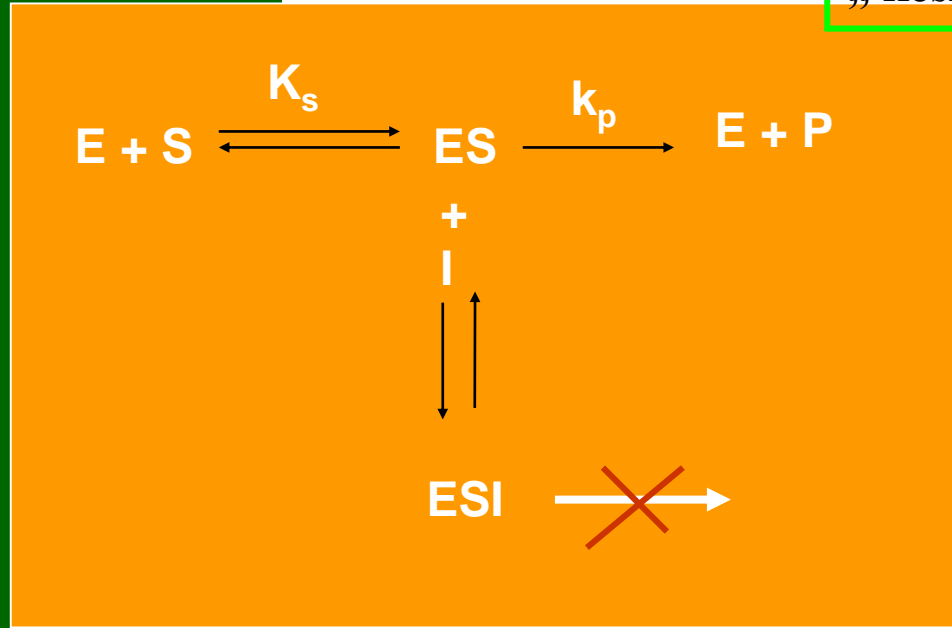
I csak az ES-hez kötődik

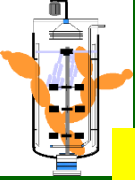


I kötő hely „kész”



S kötő hely eltorzult





3. UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 2

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{SI}{K_s K_i}}$$

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{I}{K_i} \right)}$$

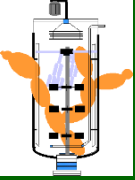
mi változott?

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\left(\frac{K_s}{1 + \frac{I}{K_i}} \right) + S}$$

1.nemkomp.inh.

a komp fordítottja, K_s csökken

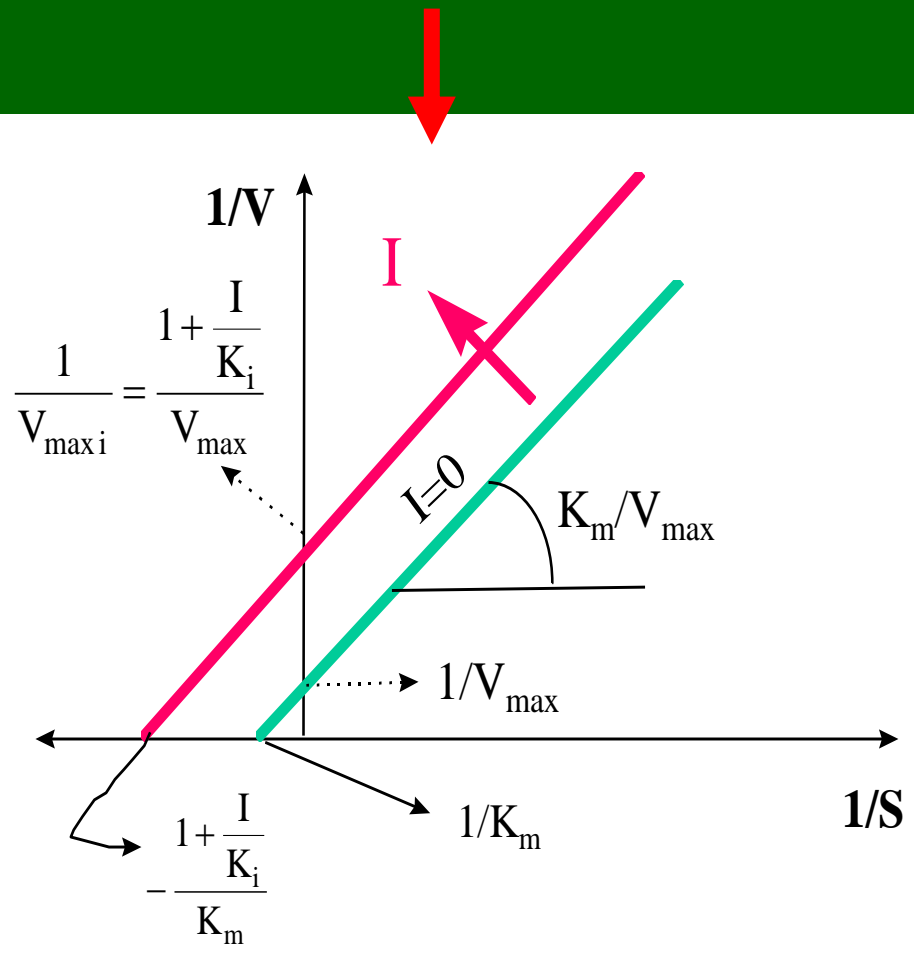
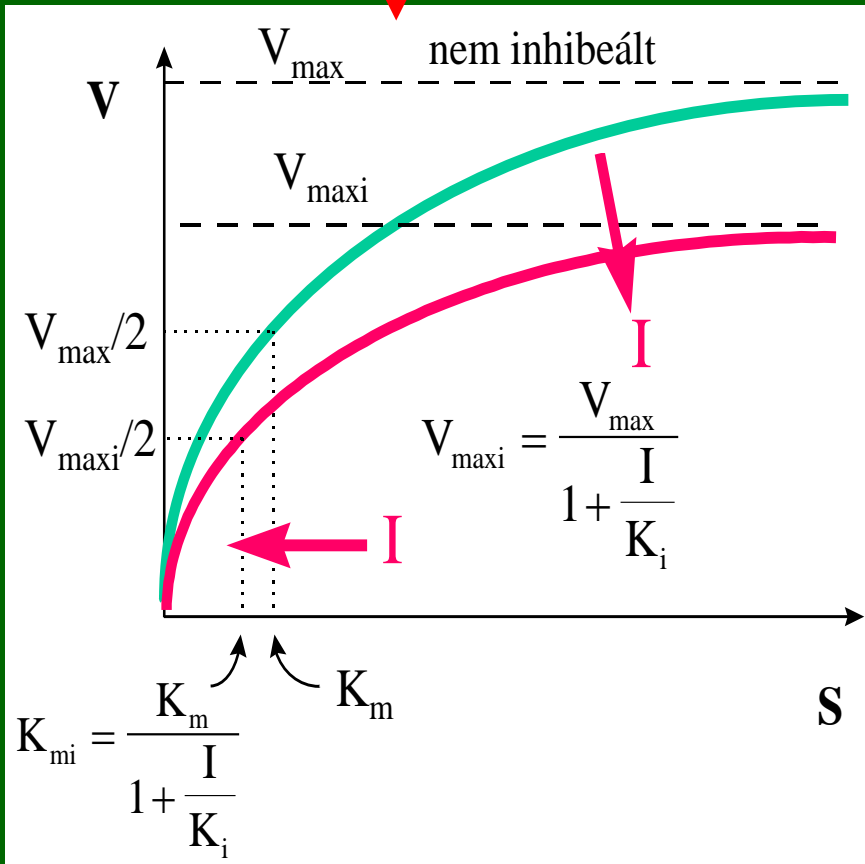
Egy unkompetitív **I** K_s és V_{\max} értékét ugyanolyan mértékben csökkenti

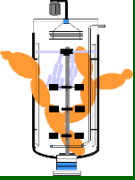


3. UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 3

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right) K_m + S}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$$

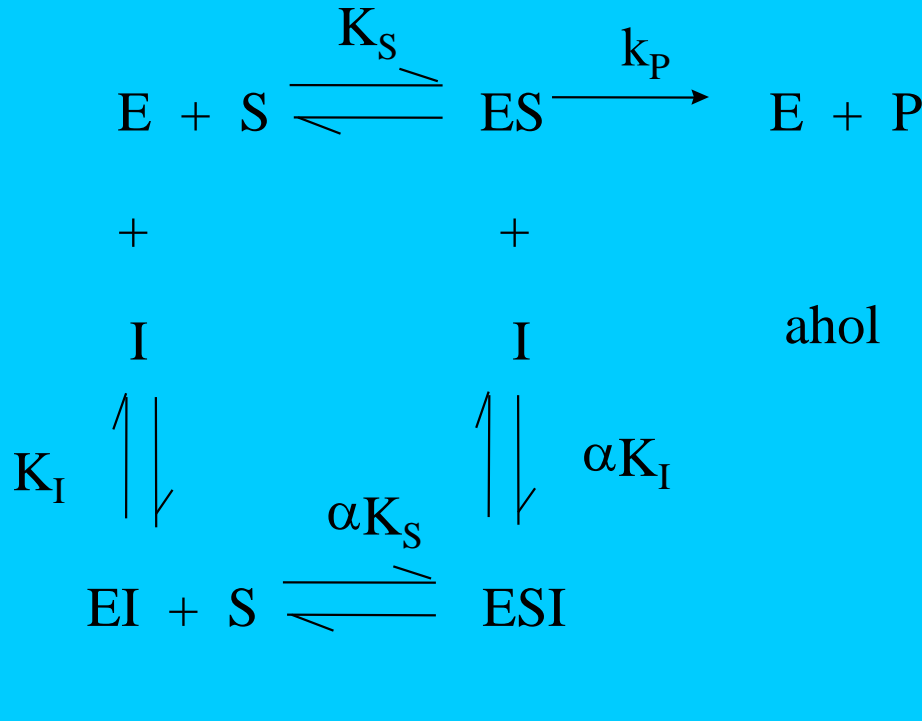




LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBÍCIÓ

1. nemkomp!!!

DE

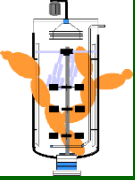


ahol $K_S = E \cdot S / ES$,
 $\alpha K_S = EI \cdot S / ESI$
 $K_I = E \cdot I / EI$
 $\alpha K_I = ES \cdot I / ESI$

I JELENLÉTE MÓDOSITJA S-NEK ES-RŐL TÖRTÉNŐ DISSZOCIÁCIÓJÁT

$$K_{eq} = \frac{1}{K_S(\alpha K_I)} = \frac{1}{K_I(\alpha K_S)}$$





LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBICIÓ 2

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{\alpha K_s K_i}}$$

vagy kissé átalakítva

L. NEMKOMP!!!

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$$

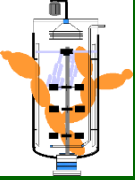
vagy

$$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_I}\right)} \cdot \frac{S}{K_s \cdot \frac{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_I}\right)} + S}$$

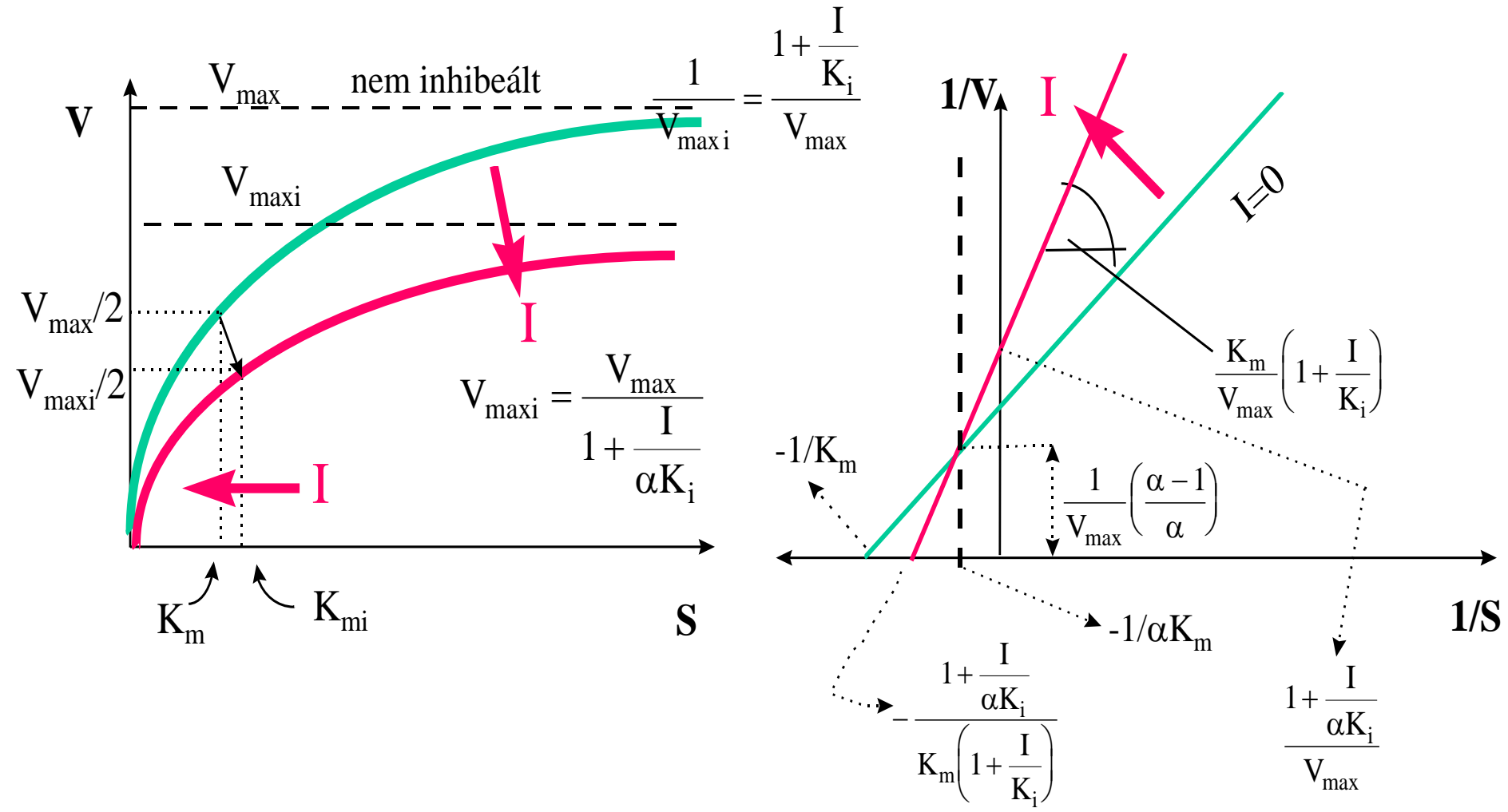
nemkomp

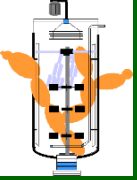
komp

unkomp



LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBÍCIÓ 3





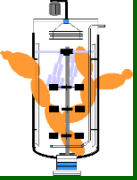
INHIBICIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA

S és I kölcsönösen kizárják egymást az enzimről **KOMPETITIV**

S és I egymástól függetlenül kötődnek az enzimre **NEMKOMPETITIV**

mint előző, de az I megváltoztatja az enzim affinitását **KEVERT TIPUSÚ**

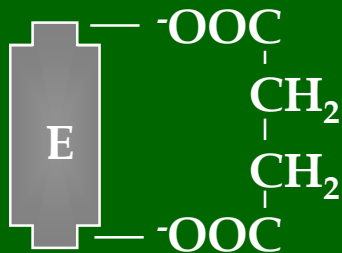
I csak a S után kötődik **UNKOMPETITIV**



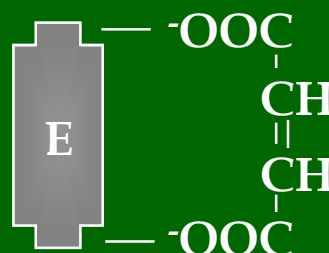
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

- A szubsztrátnak ahhoz, hogy termékképző átmeneti komplex jöjjön létre, két vagy több helyen kell, hogy az enzimhez kötődjenek.

Sok S molekula → egy S molekula az egyik,
másik S molekula pedig egy másik
kötőhelyhez kapcsolódik s így inaktív komplexek
jönnek létre (ez is reverzibilis inhibíció).



Succinate

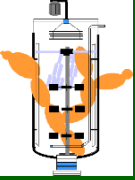


Malonate



S inhibition

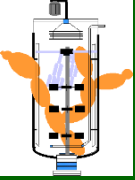
Normal



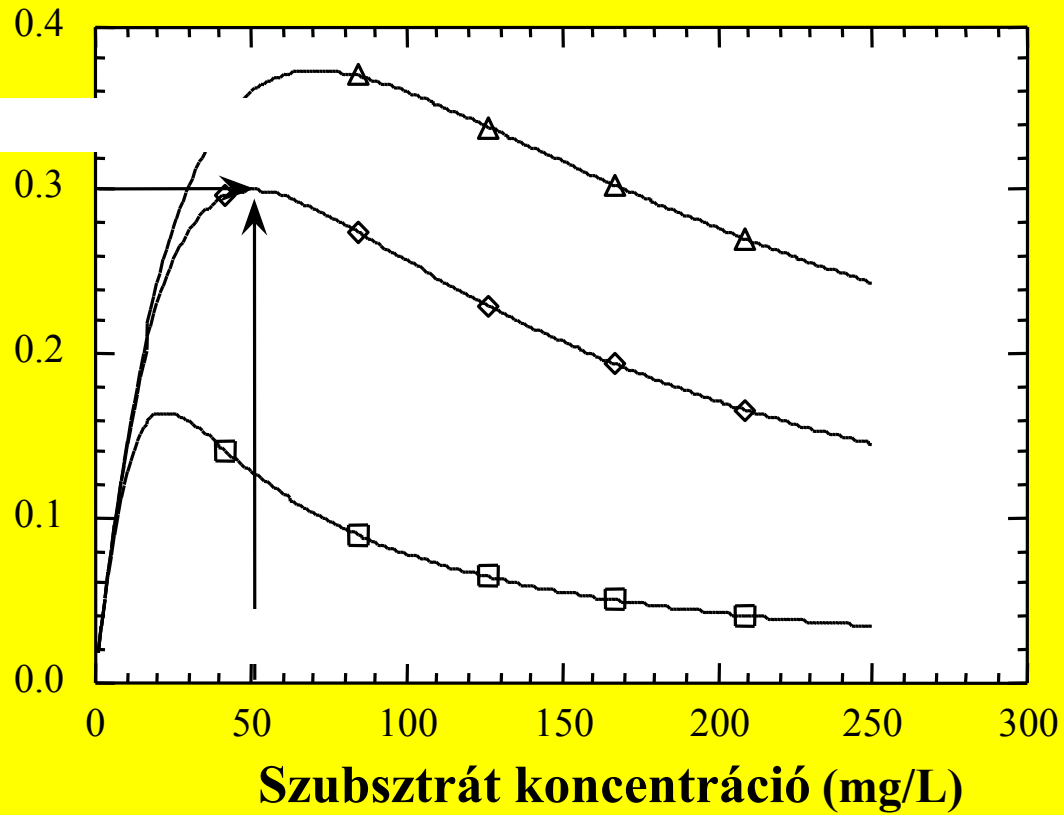
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

- Nagy S koncentrációnál egy S molekula olyan kötőhelyhez is kapcsolódhat az enzimen, amely nem az aktív centrum része, az ilyen kötődés mintegy NEMKOMPETITIV (v. unkompetitiv) módon megakadályozza a normális S kötődést.
- Az enzim működéshez szükség lehet egy aktivátor molekulára. Ha ez kapcsolódni képes a szubsztráttal, sok S molekula "elvonja" az enzimtől az aktivátort, így csökkentve annak tényleges aktivitását.
- Két (vagy több) szubsztrátos reakciók esetén az egyik szubsztrát feleslege lekötheti a másik szubsztrát kötő helyeit, megakadályozva a szükséges második szubsztrát kapcsolódását, így megintcsak inaktív komplexek jönnek létre.
- Nagy S koncentráció aspecifikus módon is gátolhatja a reakciót, például az ionerősség megnövekedése miatt.

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{a^* K_s}}$$



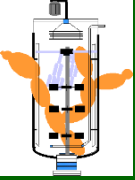
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ



—□— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=10$

—◇— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=50$

—△— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=100$



TÖBB SZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK

Két típus

A.) Termékképzéshez *egyszerre több különböző szubsztrát kell,*

hexokináz



foszforilezés

két termék

B.) A másik esetben a reakció keverékben egy enzim és több különböző, lényegében alternatív szubsztrát.

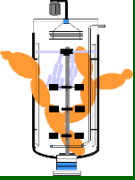
példák: a legtöbb biopolimer hidrolizáló enzim

amiláz, amilo-glikozidázok,

cellulázok

proteinázok.

Függetlenül attól, hogy ezekben az esetekben exo- vagy endo-enzimekről van-e szó, a reakció-keverékben *egyidejűleg több, különböző polimerizációs fokú szubsztrát van (lesz) jelen.*



EGYÉB HATÁSOK AZ ENZIMAKTIVITÁSRA

Ionerősség

pH

Hőmérséklet

Nyírás

Nyomás (hidrosztatikai)

Felületi feszültség

Kémiai szerek (alkohol, urea, H_2O_2 ...)

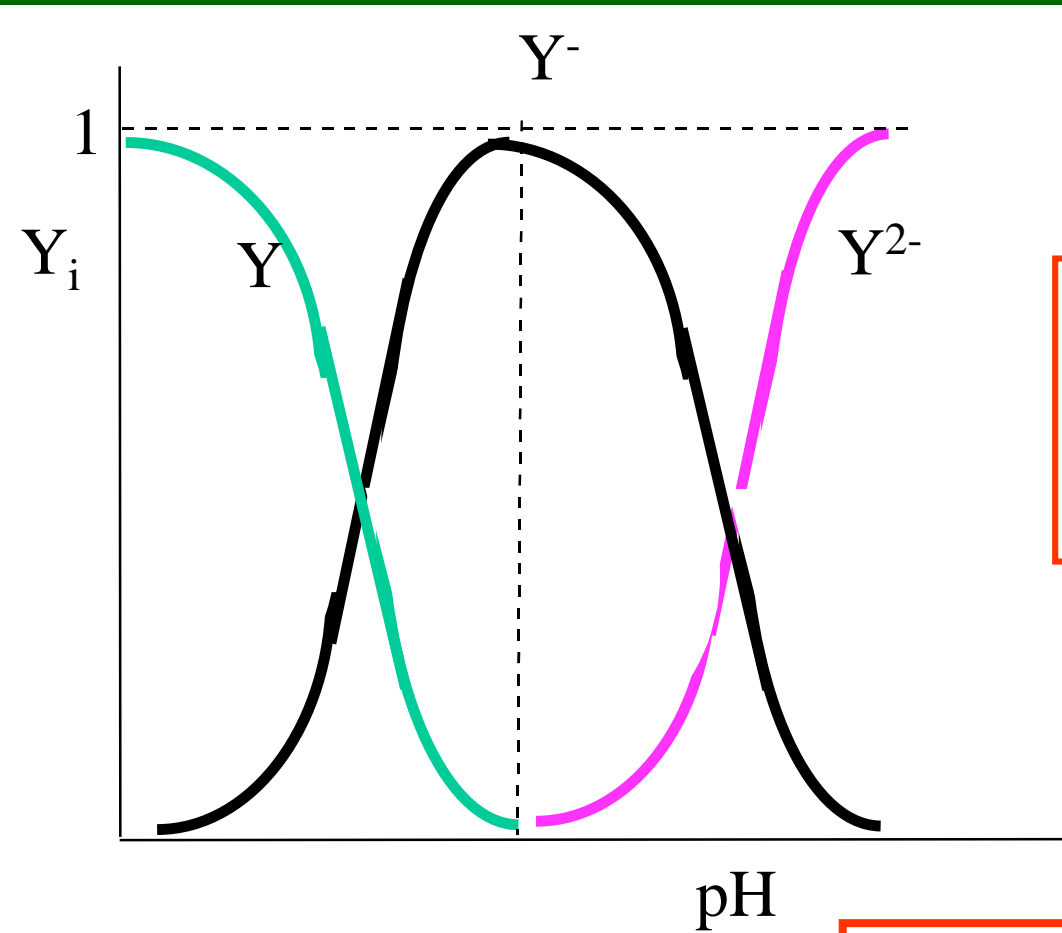
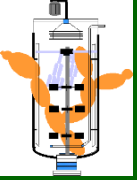
Fény, hang, ionizáló sugárzások

REVERZIBILIS

VÁLTOZÁSOK

IRREVERZIBILIS

pH hatása 2



$$Y^- = \frac{1}{1 + H^+ / K_1 + K_2 / H^+}$$

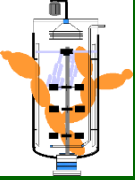
$Y =$

$Y^{2-} =$

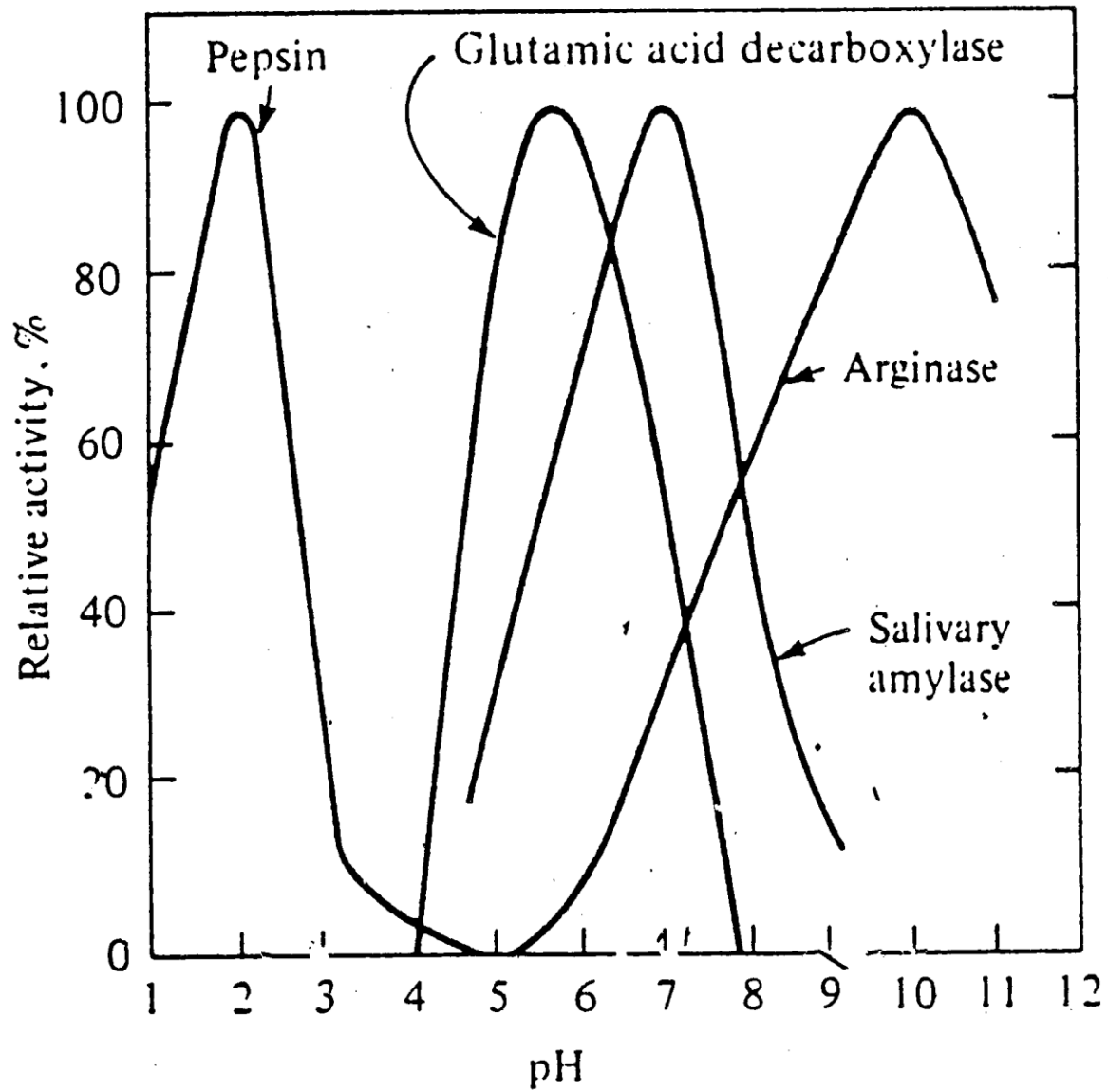
$$H^+_{\text{optimum}} = \sqrt{K_1 K_2}$$

$$(pH)_{\text{optimum}} = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

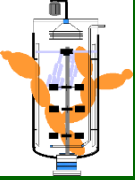
$$V_{\text{max}} = k_2 E_0 Y^- = k_2 E_0 \frac{1}{1 + H^+ / K_1 + K_2 / H^+}$$



pH hatása 2



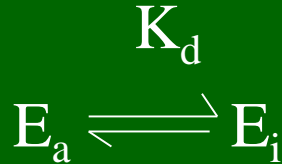
Hőmérséklet hatása



Kettős hatás → Reakciósebesség nő
→ Csökken: denaturálódás

irreverzibilis

reverzibilis



$$\frac{E_i}{E_a} = K_d = \exp\left(\frac{-\Delta G_d}{RT}\right) = \exp\left(\frac{-\Delta H_d}{RT}\right) \exp\left(\frac{\Delta S_d}{R}\right)$$

Mivel $E_0 = E_a + E_i$

$$E_a = \frac{E_0}{1 + K_d} \quad \text{és} \quad V_{\max} = k_2(T)E_a$$

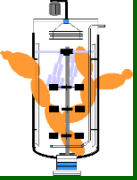
ahol

$$k_2(T) = \beta \left(\frac{k_B T}{h} \right) e^{\Delta S^*/R} \cdot e^{-E/RT}$$

$$V_{\max} = \frac{\alpha T e^{-E/RT}}{1 + e^{\Delta S^*/R} \cdot e^{-\Delta H_d/RT}}$$

$\alpha =$ kombináció ($\beta, k_B, h, E_0, \Delta S^*$)

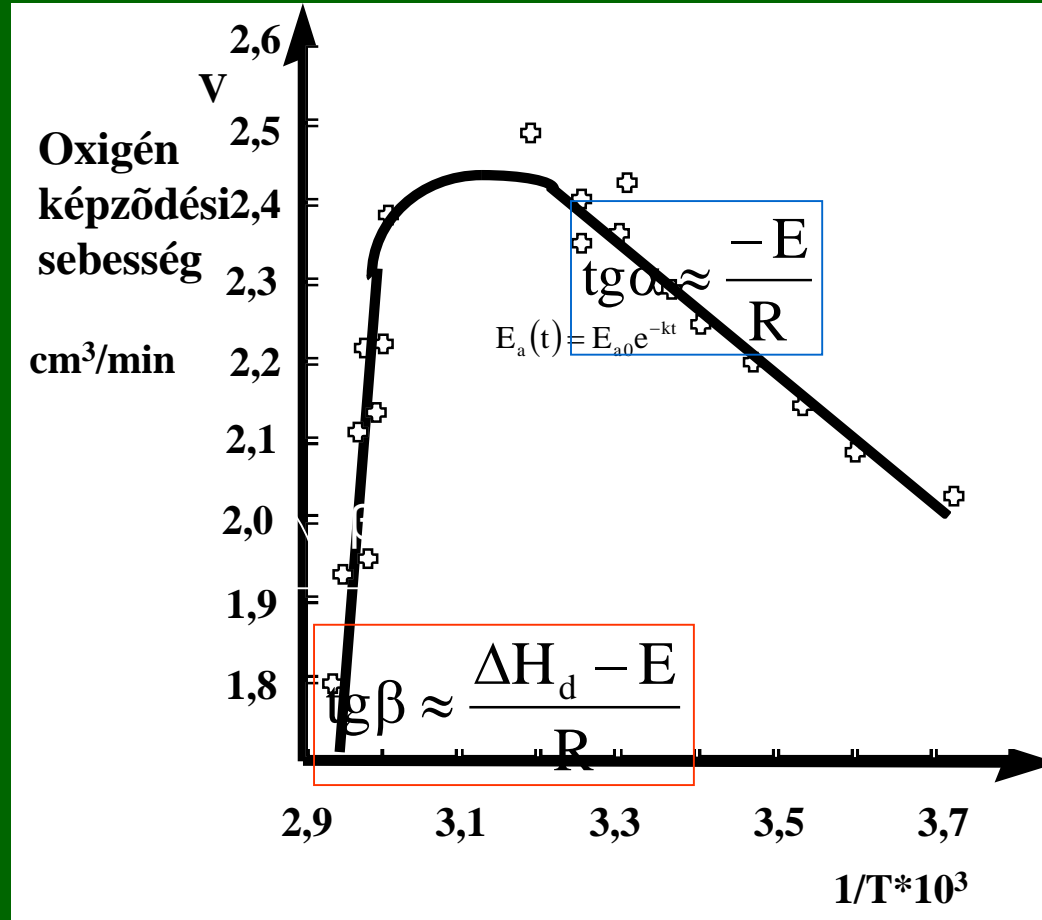
K_m is függ T-től!

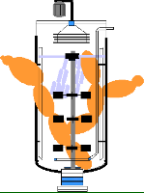


Hőmérséklet hatása

Időtől is függ!

$$\frac{dE_a}{dt} = -kE_a \longrightarrow E_a(t) = E_{a0}e^{-kt}$$





REVERZIBILIS REAKCIÓK 1

Sok enzim katalizálta reakció - főként a **biopolimer hidrolízisek** - nagymértékben a jobboldali irányba eltolt egyensúlyal rendelkeznek, \rightarrow gyakorlatilag k_{-2} valóban elhanyagolható.

De például a **glükóz** \rightleftharpoons **fruktóz** (glükóz izomeráz) gyakorlatban is egyensúlyi reakcióként

$$K_{ms} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$
$$K_{mp} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_{-2}}$$

alkedi
E

$$K_1 = \frac{k_1}{k_{-1}}$$

$$K_2 = \frac{k_2}{k_{-2}}$$

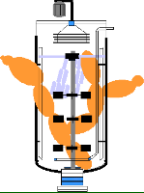
P

$$K_{eq(\text{uilibrium})} = K_1 K_2 = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} k_{-2}}$$

$$V_{maxs} = k_2 E_o$$
$$V_{maxp} = k_{-1} E_o$$

$1/K_s$

K_p



REVERZIBILIS REAKCIÓK 2

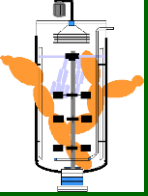
Végezzük el a következő osztásokat:

$$\frac{V_{\text{maxs}}}{K_{\text{ms}}} = \frac{k_1 k_2 E_o}{k_2 + k_{-1}} \quad \text{és} \quad \frac{V_{\text{maxp}}}{K_{\text{mp}}} = \frac{k_{-2} k_{-1} E_o}{k_2 + k_{-1}}$$

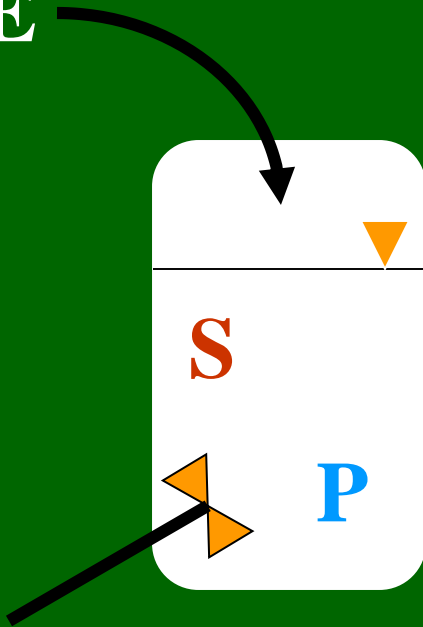
$$\frac{\frac{V_{\text{maxs}}}{K_{\text{ms}}}}{\frac{V_{\text{maxp}}}{K_{\text{mp}}}} = \frac{V_{\text{maxs}} K_{\text{mp}}}{V_{\text{maxp}} K_{\text{ms}}} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} k_{-2}} = K_{\text{eq}}$$

HALDANE összefüggés

REVERZIBILIS REAKCIÓK 3



E



MI TÖRTÉNIK?



$S \rightarrow P$ vagy $P \rightarrow S$

MITŐL FÜGG? K_{eq} , S , P értéke

$$V_{\text{netto}} = V_{\text{előre}} - V_{\text{vissza}} = k_2(\text{ES}) - k_{-2}(\text{EP})$$

$$V_{\text{netto}} = \frac{V_{\text{maxS}} \left(S - \frac{P}{K_{\text{eq}}} \right)}{K_{\text{ms}} \left(1 + \frac{P}{K_{\text{mp}}} \right) + S} = \frac{V_{\text{maxS}} \frac{S}{K_{\text{ms}}} - V_{\text{maxP}} \frac{P}{K_{\text{mp}}}}{1 + \frac{S}{K_{\text{ms}}} + \frac{P}{K_{\text{mp}}}}$$

$$\frac{k_s E_0 S - k_p E_0 P}{1 + \frac{S}{K_{\text{mS}}} + \frac{P}{K_{\text{mP}}}}$$

$$\frac{k_A E_0 a - k_P E_0 p}{1 + \frac{a}{K_{\text{mS}}} + \frac{p}{K_{\text{mP}}}}$$

MCA

Ahol: $k_s = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}$ és $k_p = \frac{k_{-1} k_{-2}}{k_{-1} + k_2}$

k_a