

1. Michaelis-Menten plot

Dataene stammer fra forsøget i sektion 6 på websitet:

http://www.wiley.com/college/pratt/0471393878/student/animations/enzyme_kinetics/index.html

Tube 1 → Tube 6						
5	5	5	5	5	5	[E] (μM)
0	10	20	40	80	160	[S] (mM)
5	5	5	5	5	5	time (min)
10	405	610	850	1005	1096	[P] formed (μM)
2	81	122	170	201	219	$v_0 = \Delta P / \Delta t$ ($\mu\text{M}/\text{min}$)

Der anvendes:

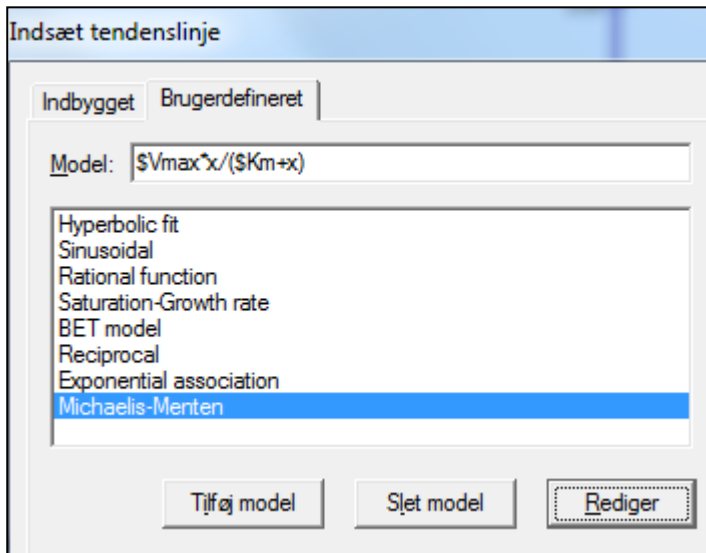
- [S] som x
- v_0 som y

Dataene indtastes som en *punktserie* i programmet **Graph**:

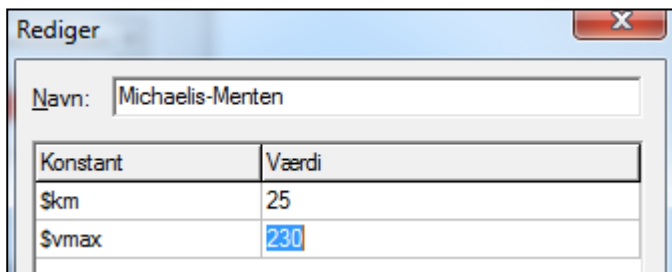
Rediger punktserie	
Beskrivelse:	Michaelis-Menten data
X	Y
0	2
10	81
20	122
40	170
80	201
160	219

Indsæt en *tendenslinje* af **brugerdefineret** type, som du selv skal indtaste.

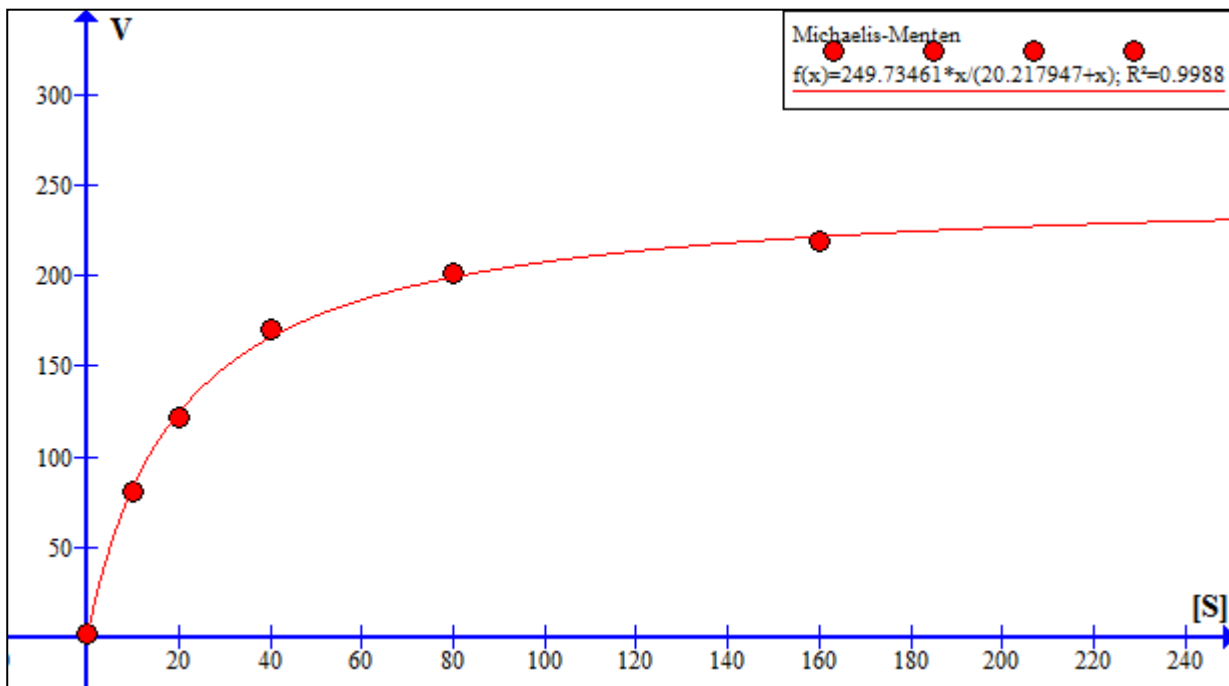
§-tegn foran en størrelse angiver, at den er en konstant, som skal findes ved tendenslinjen (regressionen).



Brug følgende *startværdier* for variablene:



Det er vigtigt, at startværdierne er tæt på facit, ellers kokser Graph.
Startværdierne kan vurderes ud fra punkterne på grafen.



Resultatet bliver:

Michaelis-Menten modellen:
 $y = a \cdot x / (b + x)$ eller $y = V_{\max} \cdot x / (K_m + x)$ eller $V = V_{\max} \cdot [S] / (K_m + [S])$

$a = V_{\max}$, så $V_{\max} = 249.73461$,
 dvs. $V_{\max} = 250$

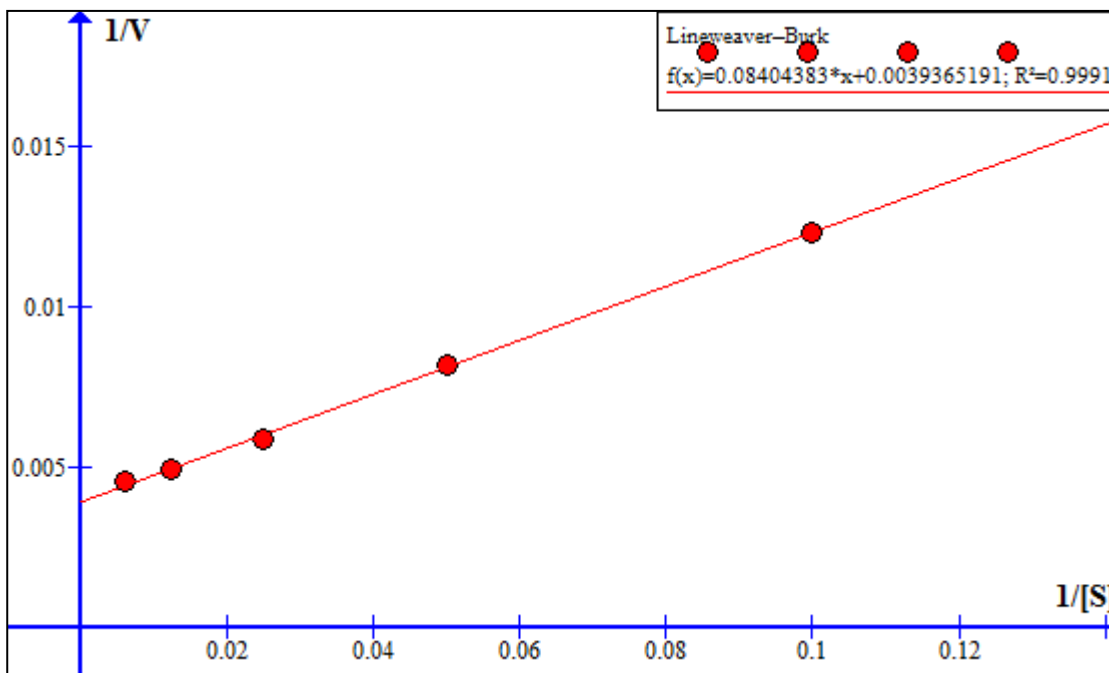
$b = K_m$, så $K_m = 20.217947$
 dvs. $K_m = 20$

2. Lineweaver-Burk plot

Indtast *punktserien* (NB: 0 må udelukkes, da 1/0 ikke giver mening):

Rediger punktserie	
Beskrivelse:	Lineweaver-Burk
X	Y
1/10	1/81
1/20	1/122
1/40	1/170
1/80	1/201
1/160	1/219

Indsæt en *tendenslinje* af typen *lineær*.



Resultatet bliver:

Lineweaver-Burk Plot:

$y=a*x+b$ eller $y=(K_m/V_{max})*x+1/V_{max}$ eller $1/V=(K_m/V_{max})*(1/V)+1/V_{max}$

$b=1/V_{max}$, dvs. $V_{max}=1/b$, så $V_{max}=1/0.0039365191$,
dvs. **$V_{max}=254$**

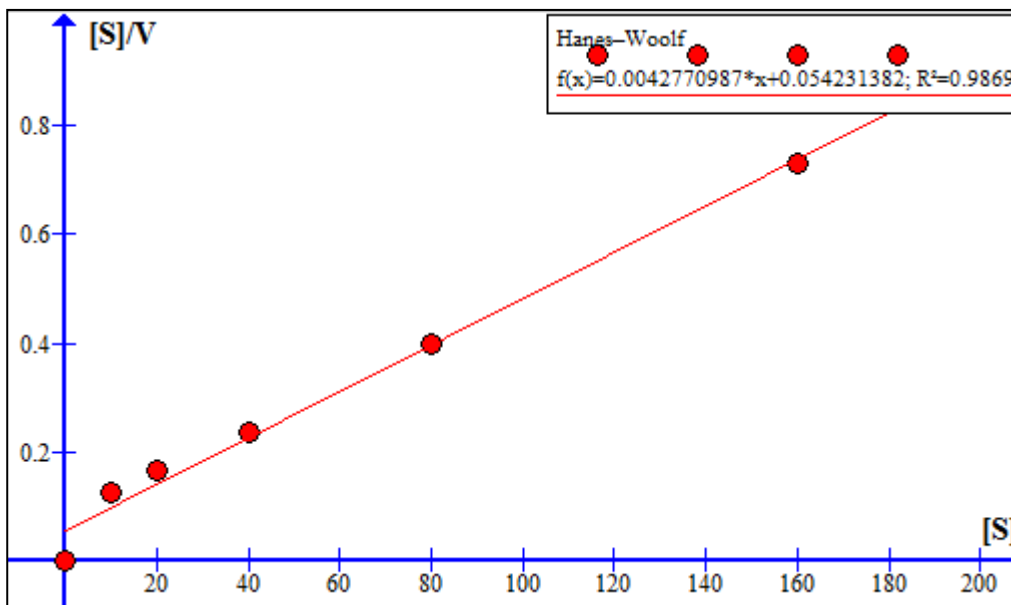
$a=K_m/V_{max}$, dvs. $K_m=a*V_{max}$, så $K_m=a/b=0.08404383/0.0039365191$,
dvs. **$K_m=21$**

3. Hanes-Woolf plot

Indtast punktserien:

Rediger punktserie	
Beskrivelse: Hanes-Woolf	
X	Y
0	0/2
10	10/81
20	20/122
40	40/170
80	80/201
160	160/219

Indsæt en *tendenslinje* af typen *lineær*.



Resultatet bliver:

Hanes-Woolf Plot:

$$y = a \cdot x + b \text{ eller } y = (1/V_{\max}) \cdot x + (K_m/V_{\max}) \text{ eller } [S]/V = (1/V_{\max}) \cdot [S] + (K_m/V_{\max})$$

$a = 1/V_{\max}$ dvs. $V_{\max} = 1/a$, så $V_{\max} = 1/0.004277098$,

dvs. **$V_{\max} = 234$**

$b = K_m/V_{\max}$ dvs. $K_m = b \cdot V_{\max}$, så $K_m = b/a = 0.054231382/0.004277098$,

dvs. **$K_m = 13$**

NB: Resultatet ville blive nærmere værdierne fra de 2 andre plots, hvis 1. punkt blev udelukket.

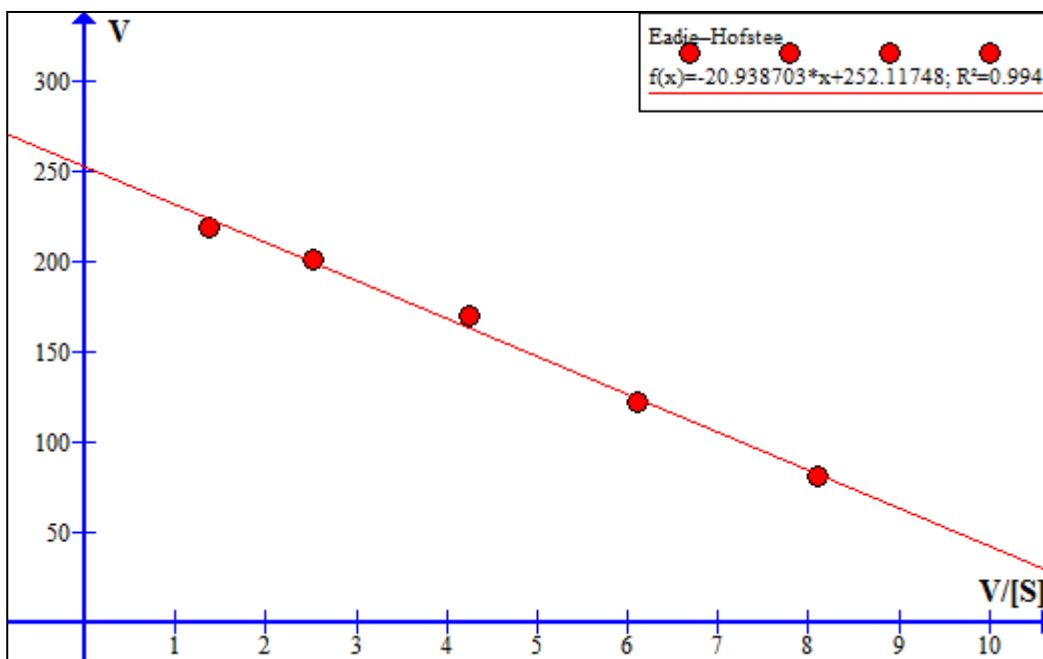
For så ville a blive mindre, dvs. V_{\max} ville blive større.

4. Eadie-Hofstee diagram

Indtast *punktserien*:

Rediger punktserie	
Beskrivelse:	Eadie-Hofstee
X	Y
81/10	81
122/20	122
170/40	170
201/80	201
219/160	219

Indsæt en *tendenslinje* af typen *lineær*.



Resultatet bliver:

Eadie-Hofstee modellen:

(NB: Første målepunkt droppes, da $[S]=0$)

$y=a*x+b$ eller $y= -K_m*x + V_{max}$ eller $V= -K_m*V/[S]+V_{max}$

$a= -K_m$, så **$K_m=21$**

$b=V_{max}$, så **$V_{max}=252$**