

Entzimen konstante zinetiko guztiak, **esperimentalki lortuak** daude.

Baldintza zehatzak behar dira entzimekin lan egiteko:

- pH egokia.
- T egokia.
- P egokia.

T-ra termostatizatu egin behar da **25°C**-tara entzima gehitzean; 2°C-ko T-ra diferentziak eragin izan dezake honen jokaeran.

Entzima bainura gehitzen den momentuan; **T=0 seg.**

Substratu eta produktua pilatzean, **oreka-egoerara** iritsi dela esango dugu.

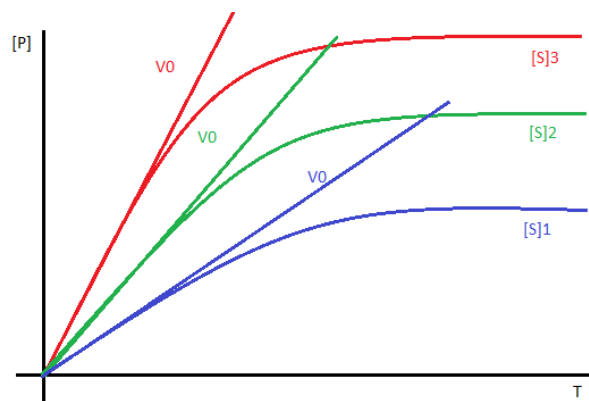
1. Lehen pausua: **V₀ kalkulatu.**

Substratuaren kontzentrazio desberdinetan erreakzioaren abiadura neurtu.

Ondoren, Hasierako abiadura kalkulatu, v₀.

Edozein erreakzioan, abiadura neurtzen da epe jakin batean substratuaren desagerpena edo produktuaren agerpenaren bidez. Lehenengoarena negatiboa da, eta bigarrenarena positiboa.

$$V_0 = -\frac{\Delta[A]}{\Delta t} \text{ edo } \frac{\Delta[P]}{\Delta t}$$



Erreakzio entzimatikoen kasuan, normalena da erreaktanteak soluzioan elkartu eta entzima gehitzea, erreakzioa abiaraztea. Hala ere, substratu baten gehiketak ere erabili liteke batzutan.

Erreakzioaren hasierako unean, ez dago produkturik (zero ordeneko zinetika), eta erreakzioaren abiadura altuena da. Abiadura honi V_0 deritzaio. Substratu kontzentrazio bakoitzeko V_0 bat lortu kalkulatzeko da esperimentera.

V_0 kalkulatzeko tarte txiki bat aukeratu da non V hasierakoaren berdina izango den. Horretaz gain, V_0 zuzena luzatu egiten da abiadura hobea kalkulatzeko.

Ondorioz, V_0 guztiak irudikatzen dira beraien substratu kontzentrazioen aurrean:

Michaelis-Menten irudikapena $\rightarrow V_0$ vs. $[S]$

Teorian irudikapenetik kalkulatu edo ateratu dira K_m eta V_{max} .

Aktibitatea, produktu kontzentrazioa da:

$$V_0 = \frac{\Delta prod.}{\Delta t}$$

Hasieran erreakzioa 1. Ordenakoa da, V_0 handitu ahala $[S]$ handitzen delako, baina $[S]$ handitu ahala V_0 ez da handitzen, txikitu baizik; Ondorioz, ordena 0 izango da.

Entzimen aktibitatea nola adierazi.

Entzimaren unitatea sailaren edo arloaren arabera da.

ENTZIMEN UNITATEAK	
Hautazko sistema	Hautazkoak dira unitateak. Adbz: Espektrofotometroan \rightarrow 360nm/0,001 absorb.
IUB sistema	Nazioarteko unitateak \rightarrow IU edo $\mu\text{mol}/\text{min}$. Katal \rightarrow Mol/seg (industrian, kantitate nahiko handiak).
Industrian	Kantitateak handiagoak direnean, neurketa tekniken arabera unitateak.

Hainbat definizio.

$$1 \text{ kat} = 1 \frac{\text{mol}}{\text{seg}} = 6 \times 10^7 \text{ UI}$$

$$1 \text{ UI} = 1 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} = 16,67 \text{ nkat}$$

Aktibitate espezifiko: Entzimaren aktibitatea proteina miligramoko $(\frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \times \text{mg}})$. Aktibitate espezifikoak adierazten du **entzimaren purutasuna**.

Michaelis-Menten zinetika.

Km eta Vmax beharrezkoak dira.

$$\frac{1}{2} V_{max} \rightarrow K_m = [S]$$

Esperimentalki Vmax lortuko genuke [S] infinitua denean; Orduan urrunen iritsiko ginatekeen puntuan oinarritu beharko ginatke, baina hori ez litzateke Vmax izango.

ESPERIMENTALKI EZIN DA Vmax KALKULATU!

Orduan, ezin dugu Km kalkulatu irudikapen grafiko honetan oinarrituta.

Lineweaver-Burk Irudikapena.

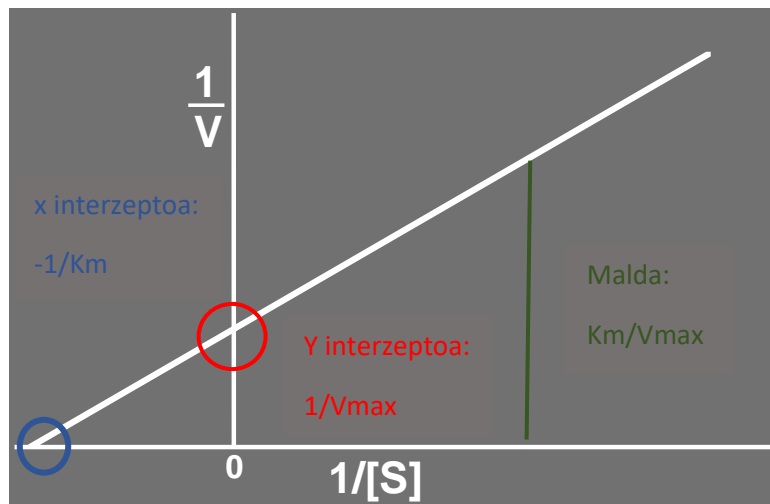
Michaelis eta Menten irudikapena eraldatu zuten zuzen bat lortuz. Honela datu zehatzagoa lortu zituzten Km lortzeko.

$$Y = Ax + B$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Y=1/V ; **X**=1/[S]

A=Km/Vmax (malda) ; **B**=1/Vmax (interzeptoa)



Esperimentalki beharrezkoa da puntuak sakabanatuak lortzea, bestela ezin dugu erregresio egokia lortu.

Abiadura aldatuz doa, [S] handitu ahala, $\frac{1}{V}$ txikitu egingo da.