**1.**

Для двух-субстратной реакции A + B P + Q уравнение скорости реакции выглядит так при наличии продукта.



Где коэффициенты *K*1 –*K*10 представляют разные комбинации константа скорости реакции, где *a, b, p, q* это концентрации субстратов А и В и продуктов P и Q.

a. Какой механизм у этой энзиматической реакции?

b. Вырози Km (констант Микаэлиса-Ментена) для субстрата А при помощи подходящих коэффициентов.

c. Покажи в графе (1/*v* against 1/*a*) эффект разных концентраций продукта P при отсутствии продукта Q и ненасыщенной (non-saturated) коцентрации субстрата В.

d. Как должен выглядит граф если концентрация субстрата В насыщенная (saturated)?

**2.**

Энзим катализирует реакцию A + B P. Измерения стандартного состояния (steady-state) изначальной скорости (v) дали следующие графы (i-iv), зависимые от концентрации изначально присутствующего субстрата (A, B) и продукта (P).



(a, b и p это изначальные концентрации A, B и P)

1. Какой энзиматический механизм подходит полученным графам? Мотивируй свой ответ.
2. Как будет выглядеть граф (plot of 1/v against 1/a) при разных концентрациях P и если концентрация В насыщенная (saturated)?

3.

For an enzyme that follows A + B + C = P + Q mechanism, only P is a colored substance which has a molar extinction coefficient of 12000 M-1cm-1 at its absorption peak at 535 nm. The reaction is practically irreversible with no back reaction. In an enzyme assay we measured the absorption values of P in a spectrophotometer in a 1 ml cuvette, which has a 1 cm light path (we zeroed the spectrophotometer just before each experiment). We prepared the cuvettes with different B substrate concentrations (A and C was present in a saturating concentration, no P and Q added) and started the reaction by adding 1 μl of 10 μM enzyme. We recorded the initial absorption change 2 second after the initiation of the reaction. Assume that we were able to record the initial rate in 2 seconds. Determine the Michaelis-Menten kinetic constants from this measurement highlighting each step of the calculation.

|  |  |
| --- | --- |
| Substrate concentration (microM) | Absorption  after 2 sec |
| 5 | 0.010909091 |
| 10 | 0.02 |
| 50 | 0.06 |
| 63 | 0.067043248 |
| 100 | 0.08 |
| 250 | 0.1 |
| 500 | 0.109090909 |