

Pracownia biochemiczna

– arkusz zadań z miejscami do udzielenia odpowiedzi

Zanim zaczniesz rozwiązywać zadania, wpisz swoje imię i nazwisko oraz nr PESEL.

Imię i nazwisko

PESEL

Informacje dotyczące pracowni biochemicznej

Zanim zaczniesz rozwiązywać zadania, zastąp „nnnnnnnnnnn” w nazwie tego pliku swoim numerem PESEL. Po zakończeniu egzaminu niezwłocznie prześlij ten plik opiekunowi.

Zadanie 1. (30 pkt)

Identyfikacja typu inhibicji reakcji enzymatycznej oraz wyznaczenie stałej inhibitorowej K_i .

Wprowadzenie

Badano wpływ związku X na aktywność enzymu dehydrogenazy alkoholowej. Stwierdzono, że związek X jest inhibitorem badanego enzymu. W celu określenia mechanizmu działania inhibitora oraz wyznaczenia stałej inhibitorowej K_i , zmierzono szybkość początkową reakcji enzymatycznej dla różnych stężeń początkowych substratu (od 0,5 do 10 mM) w obecności rosnących stężeń związku X (od 0,05 do 1 mM).

Twoim zadaniem jest analiza danych pomiarowych w celu określenia typu inhibicji oraz stałej K_i dla związku X.

Aby poprawnie rozwiązać zadanie należy najpierw wyznaczyć wartości parametrów kinetycznych K_M i V_{max} stosując metodę Lineweavera-Burka, która polega na przekształceniu równania Michaelisa-Menten do postaci liniowej (równanie prostej $y = ax + b$), dla wszystkich stężeń związku X:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]_0} + \frac{1}{V_{max}}$$

gdzie: V_0 – szybkość początkowa reakcji [$\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$]; V_{max} – szybkość maksymalna reakcji [$\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$]; $[S]_0$ – stężenie początkowe substratu [mM]; K_M – stała Michaelisa [mM].

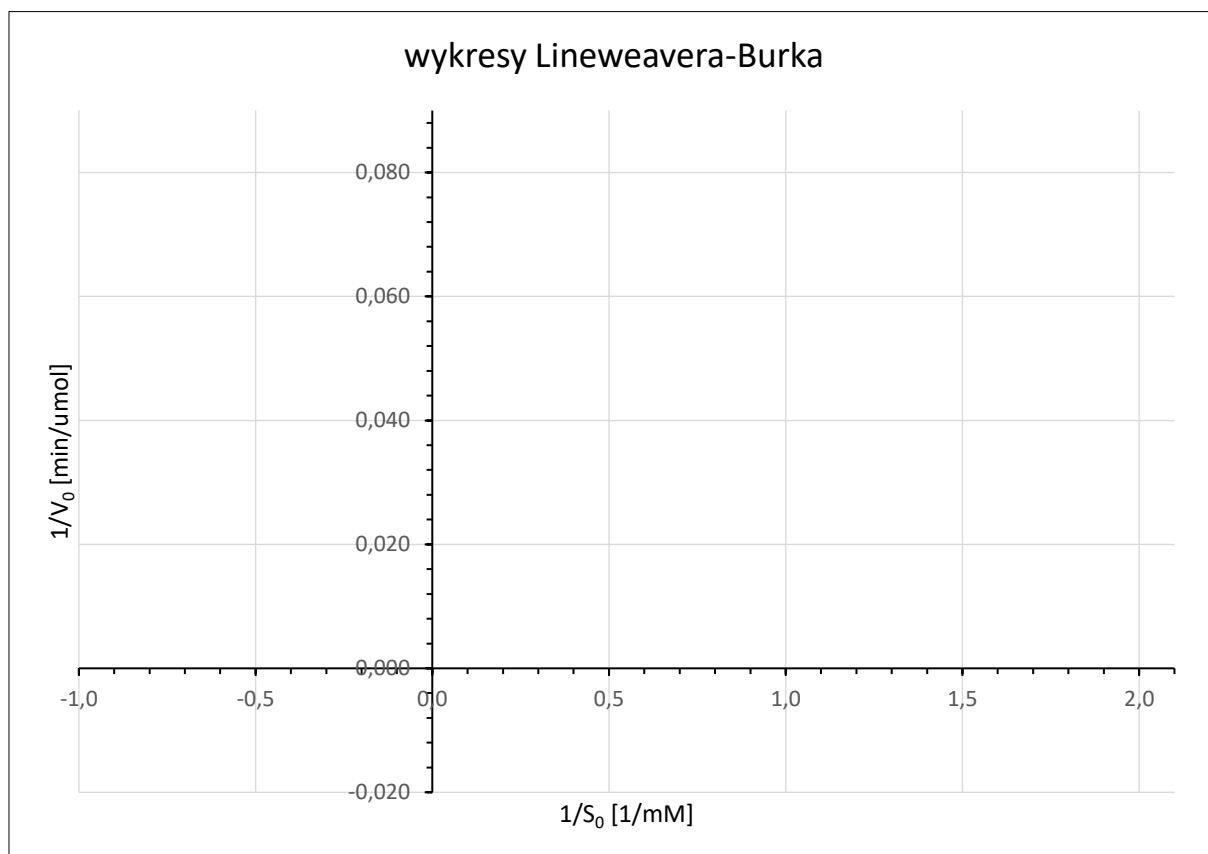
W celu wyznaczenia wartości stałej K_i należy wykonać wykres:

- 1) K_{MP} w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji współzawodniczej,
- 2) $1/V_{maxP}$ w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji niewspółzawodniczej,
- 3) $1/K_{MP}$ w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji awspółzawodniczej.

Wartości K_{MP} i V_{maxP} oznaczają, odpowiednio, wartości stałej Michaelisa i szybkości maksymalnej w obecności inhibitora (tak zwane wartości pozorne K_M i V_{max}). Po naniesieniu punktów na układ współrzędnych należy dopasować do nich linię prostą. Przecięcie linii prostej z osią X odpowiada wartości – K_i .

Zadanie 1.1. (10 pkt)

Na podstawie danych z tabeli 1. (patrz ostatnia strona tego pliku; dane są dostępne także w pliku „bioch-dane.csv”) oblicz w poniższym układzie współrzędnych równania prostych Lineweavera-Burka dla reakcji enzymatycznych przeprowadzonych bez substancji X oraz przy wzrastających stężeniach tej substancji. Wartości współczynnika kierunkowego prostej i punktu przecięcia z osią rzędnych podaj z dokładnością do czterech miejsc po przecinku.



Stężenie związku X [mM]	Współczynnik kierunkowy prostej	Punkt przecięcia z osią rzędnych
0		
0,05		
0,1		
0,5		
1		

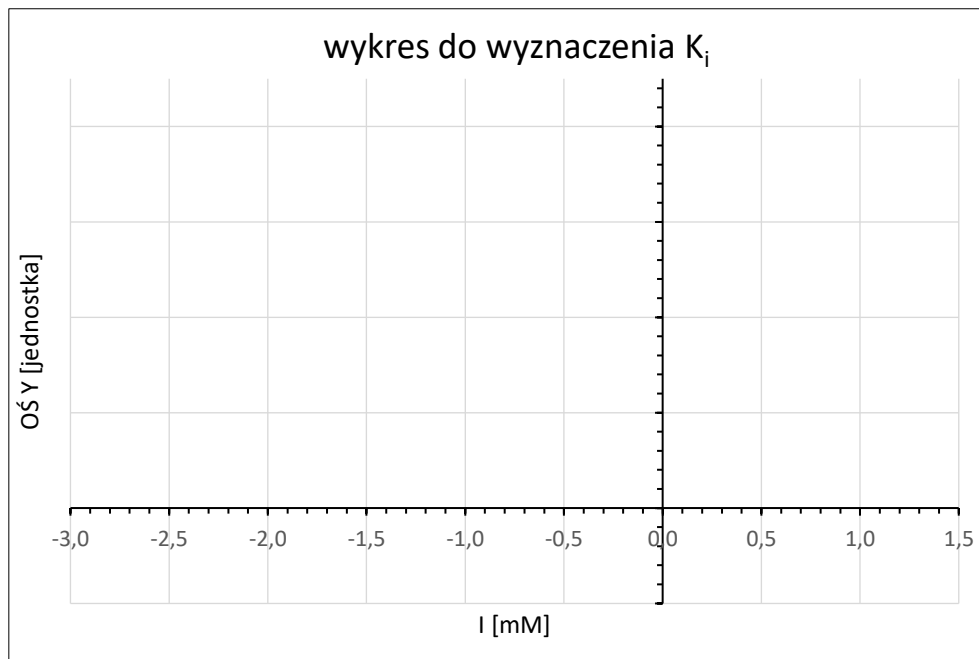
Zadanie 1.2. (16 pkt)

Wykorzystując wykresy Lineweavera-Burka z zadania 1.1., wypełnij tabelę i wyznacz wartości K_M i V_{max} oraz K_{MP} i V_{maxP} (wszystkie z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku) dla reakcji enzymatycznej przy braku, jak i w obecności wzrastających stężeń substancji X, a następnie określ rodzaj inhibicji, który wykazuje substancja X.

Stężenie związku X [mM]	Punkty przecięcia prostych (z dokładnością do trzech miejsc po przecinku)		K_M	V_{max}
	z osią X	z osią Y		
0				
 	 	 	K_{MP}	V_{maxP}
0,05				
0,1				
0,5				
1				
Substancja X wykazuje inhibicję (określ typ inhibicji jednym słowem)				

Zadanie 1.3. (4 pkt)

Wykorzystując wartości K_{MP} i V_{maxP} z zadania 1.2. oraz informacje ze wstępu do zadania, oblicz w poniższym układzie współrzędnych równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i .



Zadanie 1.3.1.

Określ parametr, którego wartość na osi Y należy odczytać w celu wyznaczenia wartości K_i .

- A. K_{MP}
- B. $1/V_{maxP}$
- C. $1/K_{MP}$

Zadanie 1.3.2.

Podaj równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i oraz wartość K_i dla związku X z dokładnością do jednego miejsca po przecinku wraz z jednostką.

Równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i	
Wartość K_i wraz z jednostką	

Tabela 1. Wartości szybkości początkowych reakcji dla różnych stężeń początkowych substratu w obecności wzrastających stężeń związku X.

Stężenie związku X [mM]	Stężenie początkowe substratu ($[S]_0$) [mM]	Szybkość początkowa reakcji (V_0) [$\mu\text{mol}/\text{min}$]
0	0,5	25,05
	2,875	65,85
	5,25	77,93
	7,625	83,73
	10	87,13
0,05	0,5	24,14
	2,875	64,74
	5,25	77,08
	7,625	83,05
	10	86,57
0,1	0,5	23,3
	2,875	63,66
	5,25	76,24
	7,625	82,37
	10	86,01
0,5	0,5	18,22
	2,875	56,21
	5,25	70,14
	7,625	77,37
	10	81,8
1	0,5	14,31
	2,875	49,03
	5,25	63,76
	7,625	71,91
	10	77,08

Pracownia biochemiczna – zasady oceniania

Zadanie 1.1. (10 pkt)

- 1 pkt – za prawidłowe wyznaczenie współczynnika kierunkowego prostej dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 5 pkt).
- 1 pkt – za prawidłowe wyznaczenie punktu przecięcia prostej z osią rzędnych dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 5 pkt).
- 0 pkt – za odpowiedzi niespełniające powyższych kryteriów lub brak odpowiedzi.

Uwaga: tolerancja dla wyznaczenia wartości liczbowych to $\pm 5\%$ wartości prawidłowej:

stężenie związku X [mM]	współczynnik kierunkowy prostej		przecięcie z osią rzędnych	
	min	max	min	max
0	0,0143	0,0158	0,0095	0,0105
0,05	0,0149	0,0165	0,0095	0,0105
0,1	0,0157	0,0173	0,0095	0,0105
0,5	0,0214	0,0236	0,0095	0,0105
1	0,0285	0,0315	0,0095	0,0105

Zadanie 1.2. (16 pkt)

- 0,5 – pkt za prawidłowe wyznaczenie punktu przecięcia prostej z osią X układu współrzędnych dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 2,5 pkt).
- 0,5 – pkt za prawidłowe wyznaczenie punktu przecięcia prostej z osią Y układu współrzędnych dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 2,5 pkt).
- 1 pkt – za prawidłowe wyznaczenie wartości K_M lub K_{MP} dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 5 pkt).
- 1 pkt – za prawidłowe wyznaczenie wartości V_{max} lub V_{maxP} dla jednego stężenia związku X (maksymalnie 5 pkt).
- 1 pkt – za określenie typu inhibicji (współzawodnicząca lub kompetycyjna).
- 0 pkt – za odpowiedzi niespełniające powyższych kryteriów lub brak odpowiedzi.

Uwaga: tolerancja dla wyznaczenia wartości liczbowych punktów przecięcia z osiami X i Y to $\pm 5\%$ wartości prawidłowej:

stężenie związku X [mM]	przecięcie z osią X		przecięcie z osią Y	
	min	max	min	max
0	-0,700	-0,634	0,0095	0,0105
0,05	-0,669	-0,605	0,0095	0,0105
0,1	-0,636	-0,576	0,0095	0,0105
0,5	-0,466	-0,422	0,0095	0,0105
1	-0,350	-0,316	0,0095	0,0105

- Jeżeli wartości K_M , K_{MP} , V_{max} , V_{maxP} są obliczone na podstawie nieprawidłowych danych to przyznawane jest 50% punktów za odpowiednią część zadania.
- Punkty za prawidłowe określenie typu inhibicji są przyznawane jedynie w przypadku, gdy obliczone parametry K_M , K_{MP} , V_{max} , V_{maxP} uprawniają do takiego stwierdzenia.

Zadanie 1.3. (4 pkt)

Zadanie 1.3.1

- 1 pkt – za prawidłową odpowiedź.
- 0 pkt – za brak odpowiedzi lub odpowiedź nieprawidłową.

Zadanie 1.3.2

- 1 pkt – za prawidłowe podanie równania prostej.
- 1 pkt – za podanie prawidłowej wartości K_i .
- 1 pkt – za podanie prawidłowej jednostki dla K_i .
- 0 pkt – za odpowiedzi niespełniające powyższych kryteriów lub brak odpowiedzi.

Uwaga:

- *Zadanie 1.3 jest oceniane tylko w przypadku, gdy w zadaniu 1.2 prawidłowo został określony typ inhibicji.*
- *Wyznaczona wartość K_i musi wynikać z podanego równania prostej.*
- *Oceniana jest wartość bezwzględna K_i .*

Pracownia biochemiczna

– arkusz zadań z miejscami do udzielenia odpowiedzi

Zanim zaczniesz rozwiązywać zadania, wpisz swoje imię i nazwisko oraz nr PESEL.

Imię i nazwisko

KGOB

PESEL

2222222222

Informacje dotyczące pracowni biochemicznej

Zanim zaczniesz rozwiązywać zadania, zastąp „nnnnnnnnnn” w nazwie tego pliku swoim numerem PESEL. Po zakończeniu egzaminu niezwłocznie prześlij ten plik opiekunowi.

Zadanie 1. (30 pkt)

Identyfikacja typu inhibicji reakcji enzymatycznej oraz wyznaczenie stałej inhibitorowej K_i .

Wprowadzenie

Badano wpływ związku X na aktywność enzymu dehydrogenazy alkoholowej. Stwierdzono, że związek X jest inhibitorem badanego enzymu. W celu określenia mechanizmu działania inhibitora oraz wyznaczenia stałej inhibitorowej K_i , zmierzono szybkość początkową reakcji enzymatycznej dla różnych stężeń początkowych substratu (od 0,5 do 10 mM) w obecności rosnących stężeń związku X (od 0,05 do 1 mM).

Twoim zadaniem jest analiza danych pomiarowych w celu określenia typu inhibicji oraz stałej K_i dla związku X.

Aby poprawnie rozwiązać zadanie należy najpierw wyznaczyć wartości parametrów kinetycznych K_M i V_{max} stosując metodę Lineweavera-Burka, która polega na przekształceniu równania Michaelisa-Menten do postaci liniowej (równanie prostej $y = ax + b$), dla wszystkich stężeń związku X:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]_0} + \frac{1}{V_{max}}$$

gdzie: V_0 – szybkość początkowa reakcji [$\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$]; V_{max} – szybkość maksymalna reakcji [$\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$]; $[S]_0$ – stężenie początkowe substratu [mM]; K_M – stała Michaelisa [mM].

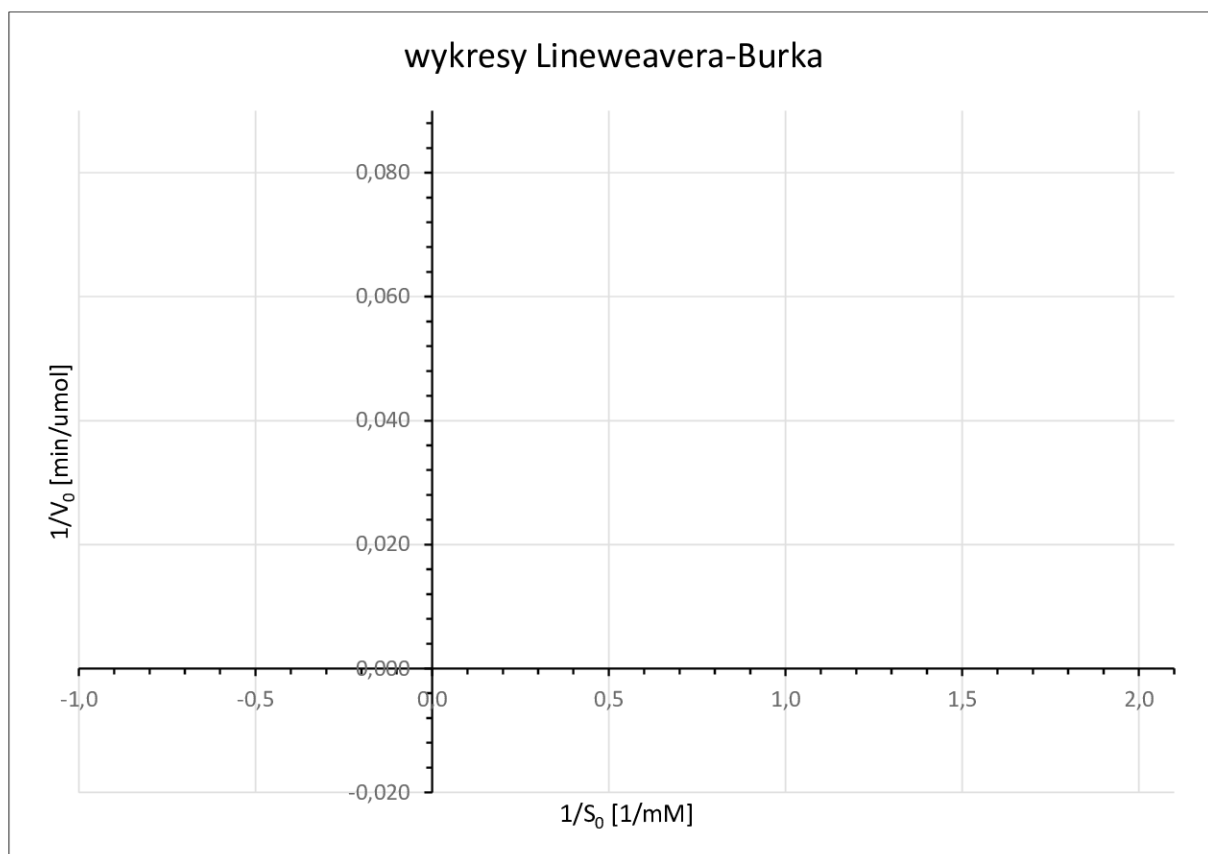
W celu wyznaczenia wartości stałej K_i należy wykonać wykres:

- 1) K_{MP} w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji współzawodniczej,
- 2) $1/V_{maxP}$ w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji niewspółzawodniczej,
- 3) $1/K_{MP}$ w zależności od stężenia inhibitora – w przypadku inhibicji awspółzawodniczej.

Wartości K_{MP} i V_{maxP} oznaczają, odpowiednio, wartości stałej Michaelisa i szybkości maksymalnej w obecności inhibitora (tak zwane wartości pozorne K_M i V_{max}). Po naniesieniu punktów na układ współrzędnych należy dopasować do nich linię prostą. Przecięcie linii prostej z osią X odpowiada wartości – K_i .

Zadanie 1.1. (10 pkt)

Na podstawie danych z tabeli 1. (patrz ostatnia strona tego pliku; dane są dostępne także w pliku „bioch-dane.csv”) oblicz w poniższym układzie współrzędnych równania prostych Lineweavera-Burka dla reakcji enzymatycznych przeprowadzonych bez substancji X oraz przy wzrastających stężeniach tej substancji. Wartości współczynnika kierunkowego prostej i punktu przecięcia z osią rzędnych podaj z dokładnością do czterech miejsc po przecinku.



Stężenie związku X [mM]	Współczynnik kierunkowy prostej	Punkt przecięcia z osią rzędnych
0	<input type="text" value="0,0150"/>	<input type="text" value="0,0100"/>
0,05	<input type="text" value="0,0157"/>	<input type="text" value="0,0100"/>
0,1	<input type="text" value="0,0165"/>	<input type="text" value="0,0100"/>
0,5	<input type="text" value="0,0225"/>	<input type="text" value="0,0100"/>
1	<input type="text" value="0,0300"/>	<input type="text" value="0,0100"/>

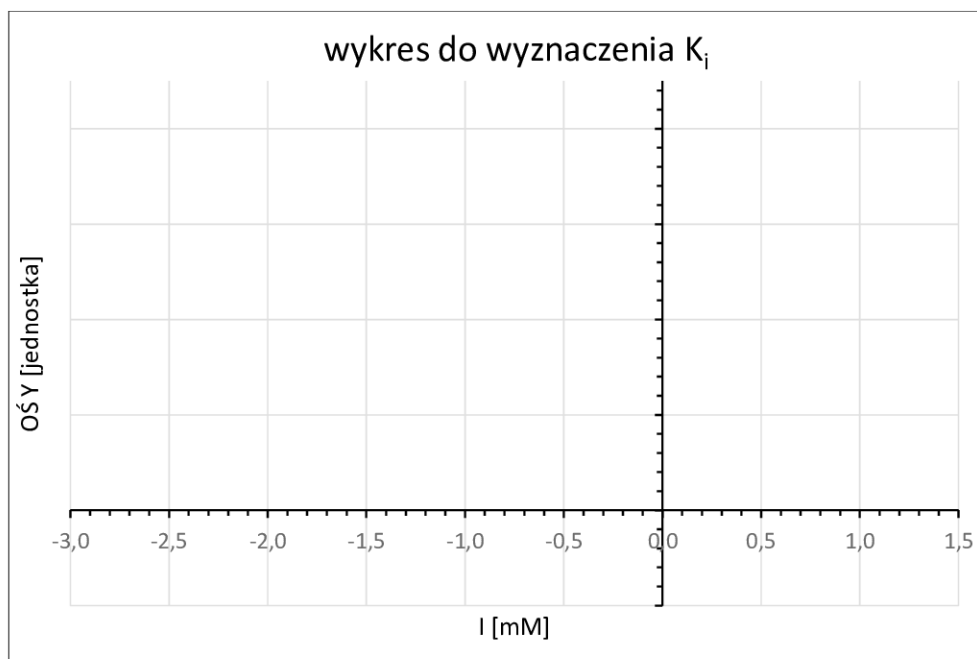
Zadanie 1.2. (16 pkt)

Wykorzystując wykresy Lineweavera-Burka z zadania 1.1., wypełnij tabelę i wyznacz wartości K_M i V_{max} oraz K_{MP} i V_{maxP} (wszystkie z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku) dla reakcji enzymatycznej przy braku, jak i w obecności wzrastających stężeń substancji X, a następnie określ rodzaj inhibicji, który wykazuje substancja X.

Stężenie związku X [mM]	Punkty przecięcia prostych (z dokładnością do trzech miejsc po przecinku)		K_M	V_{max}
	z osią X	z osią Y		
0	-0,667	0,010	1,50	100,00
 	 	 	K_{MP}	V_{maxP}
0,05	-0,637	0,010	1,57	100,00
0,1	-0,606	0,010	1,65	100,00
0,5	-0,444	0,010	2,25	100,00
1	-0,333	0,010	3,00	100,00
Substancja X wykazuje inhibicję			współzawodniczącą	(określ typ inhibicji jednym słowem)

Zadanie 1.3. (4 pkt)

Wykorzystując wartości K_{MP} i V_{maxP} z zadania 1.2. oraz informacje ze wstępu do zadania, oblicz w poniższym układzie współrzędnych równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i .



Zadanie 1.3.1.

Określ parametr, którego wartość na osi Y należy odczytać w celu wyznaczenia wartości K_i .

- A. K_{MP}
- B. $1/V_{maxP}$
- C. $1/K_{MP}$

Zadanie 1.3.2.

Podaj równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i oraz wartość K_i dla związku X z dokładnością do jednego miejsca po przecinku wraz z jednostką.

Równanie prostej konieczne do wyznaczenia wartości K_i	<input type="text" value="y = 1,5x + 1,5"/>
Wartość K_i wraz z jednostką	<input type="text" value="1 mM"/>

Dopuszczalny zakres wsp. kierunkowego prostej: 1,4–1,6.

Dopuszczalny zakres stałej w równaniu prostej: 1,4–1,6.

Dopuszczalny zakres wartości K_i : 0,9–1,1.

Tabela 1. Wartości szybkości początkowych reakcji dla różnych stężeń początkowych substratu w obecności wzrastających stężeń związku X.

Stężenie związku X [mM]	Stężenie początkowe substratu ($[S]_0$) [mM]	Szybkość początkowa reakcji (V_0) [$\mu\text{mol}/\text{min}$]
0	0,5	25,05
	2,875	65,85
	5,25	77,93
	7,625	83,73
	10	87,13
0,05	0,5	24,14
	2,875	64,74
	5,25	77,08
	7,625	83,05
	10	86,57
0,1	0,5	23,3
	2,875	63,66
	5,25	76,24
	7,625	82,37
	10	86,01
0,5	0,5	18,22
	2,875	56,21
	5,25	70,14
	7,625	77,37
	10	81,8
1	0,5	14,31
	2,875	49,03
	5,25	63,76
	7,625	71,91
	10	77,08