



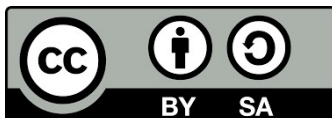
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΑΝΟΙΚΤΑ ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΑ
ΜΑΘΗΜΑΤΑ**



Εργαστήριο Βιοχημείας

**Κινητική του ενζύμου όξινη
φωσφατάση από σπέρματα σίτου**

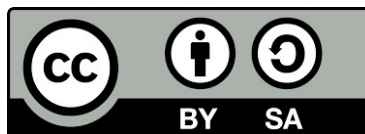
**Διδάσκοντες: Αναπλ. Καθ. Α. Ε.
Κούκκου, Καθ. Μ. Ε. Λέκκα, Αναπλ. Καθ.
Ε. Πάνου, Καθ. Ε. Παπαμιχαήλ, Καθ. Α.
Τσελέπης, Καθ. Δ. Τσουκάτος**



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



ΑΣΚΗΣΗ 8

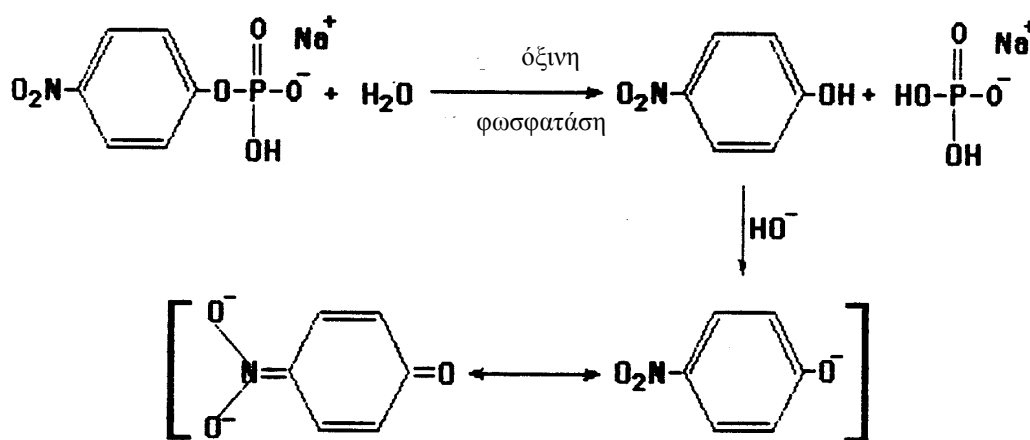
ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΟΞΙΝΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ ΑΠΟ ΣΠΕΡΜΑΤΑ ΣΙΤΟΥ

1. Γενικό μέρος
2. Αντιδραστήρια
3. Πρότυπη καμπύλη π-νιτροφαινόλης
4. Προσδιορισμός της ταχύτητας της ενζυμικής αντίδρασης. Επίδραση της συγκέντρωσης του υποστρώματος. Εύρεση των σταθερών K_m και V_{max} .
5. Επίδραση του pH στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης
6. Επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης
7. Επίδραση αναστολέα (φωσφορικών ιόντων)
8. Προσαρμογή κινητικών ενζυμικών δεδομένων στις γραμμικές μετατροπές της εξίσωσης Michaelis - Menten.

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Οι φωσφατάσες (φωσφοϋδρολάσες ορθοφωσφορικών μονοεστέρων) έχουν απομονωθεί από πολλές φυσικές πηγές. Με το ίδιο συστηματικό όνομα, αλλά με διαφορετικό EC (κωδικό) και διαφορετικό κοινό όνομα, υπάρχουν δύο ένζυμα. Η EC 3.1.3.1 (αλκαλική φωσφατάση, βέλτιστο pH = 8 ως 9) και η EC 3.1.3.2 (όξινη φωσφατάση, βέλτιστο pH = 4 έως 6) δεν καταλύουν την υδρόλυση φωσφοδιεστέρων.

Στην άσκηση αυτή θα μελετηθεί η κινητική της υδρόλυσης π-νιτρο-φαινυλοφωσφορικού νατρίου (SNPP) παρουσία όξινης φωσφατάσης από σπέρματα σίτου. Η όξινη φωσφατάση έχει ευρύ φάσμα εξειδίκευσης υποστρώματος και γι' αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν υπόστρωμα το SNPP. Με το υπόστρωμα αυτό έχουμε το πλεονέκτημα ότι ο βαθμός της υδρόλυσης του προσδιορίζεται με φωτομετρικό προσδιορισμό της π-νιτρο-φαινόλης, που ελευθερώνεται από την αντίδραση. Σε αλκαλικό περιβάλλον το έγχρωμο ιόν της π-νιτρο-φαινόλης έχει μέγιστο απορρόφησης στα 450nm.



Αναλυτικά θα μελετηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης του υποστρώματος στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης και θα βρεθούν οι σταθερές Km και Vmax. Θα γίνει επίσης μελέτη της επίδρασης του pH και της θερμοκρασίας στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης. Τέλος θα μελετηθεί η επίδραση αναστολέα (φωσφορικά ιόντα) στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης.

2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

α. Ρυθμιστικά διαλύματα κιτρικού νατρίου

0,05M, pH 4,8. Διαλύονται 7,35gr κιτρικού νατρίου σε 400ml νερό, ρυθμίζεται το pH στα 4,8 με προσθήκη 1 N NaOH (έλεγχος με πεχάμετρο) και αραιώνεται ο όγκος στα 500ml. Ξαναελέγχεται το pH του τελικού διαλύματος.

0,05M, pH 3,0. Όπως το προηγούμενο, φροντίζοντας ώστε το pH να γίνει 3,0.

0,05M, pH 7,0. Όπως το προηγούμενο, φροντίζοντας ώστε το pH να γίνει 7,0.

β. Πρότυπο διάλυμα π-νιτρο-φαινόλης (60 μM) σε 0,02 M NaOH

Διαλύονται 0,0041 gr π-νιτρο-φαινόλης σε 500 ml 0,02 M NaOH

γ. Διαλύματα καυστικού νατρίου

0,1M. Διαλύονται 2gr NaOH σε 500ml νερό

0,2M. Διαλύονται 0,4gr NaOH σε 500ml νερό

δ. Διάλυμα ενζύμου (3mgr/100ml)

Διαλύονται 3mgr όξινης φωσφατάσης από σπέρματα σίτου σε 100ml νερό.

ε. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4)

0,003 M, pH 4,8. Διαλύονται 2,24gr (KH_2PO_4) σε 400ml νερό, ρυθμίζεται το pH στα 4,8 με προσθήκη 1N NaOH (έλεγχος με πεχάμετρο) και αραιώνεται ο όγκος στα 500ml. Ξαναελέγχεται το pH του τελικού διαλύματος.

στ. Διαλύματα π-νιτρο-φαινυλο-φωσφορικού νατρίου

0,006M διαλύονται 0,1578gr SNPP σε 100ml νερού.

0,004M αραιώνονται 33,33ml του 0,006M SNPP στα 50ml.

0,002M αραιώνονται 16,66ml του 0,006M SNPP στα 50ml.

0,0004M αραιώνονται 3,33ml του 0,006M SNPP στα 50ml.

0,0001M αραιώνονται 0,83ml του 0,006M SNPP στα 50ml.

3. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ π-ΝΙΤΡΟ-ΦΑΙΝΟΛΗΣ

Ετοιμάζουμε 6 σωλήνες με 0,1,2,3,4 και 5ml διαλύματος 60μM π-νιτρο-φαινόλης και φέρουμε το περιεχόμενο κάθε σωλήνα σε τελικό όγκο 6ml με προσθήκη 0,02M NaOH.

Αναμιγνύουμε καλά, μεταφέρουμε σε φωτομετρικούς σωλήνες και μετράμε την απορρόφηση (ABSORBANCE) στα 405nm, χρησιμοποιώντας, τον πρώτο σωλήνα σαν τυφλό. Με τον Η/Υ θα χαραχθεί η πρότυπη καμπύλη (μoles νιτροφαινόλης συναρτήσει της οπτικής απορρόφησης).

Προσδιορισμός της ταχύτητας της ενζυμικής αντιδράσεως. Επίδραση της συγκεντρώσεως του υποστρώματος. Εύρεση των σταθερών K_m και V_{max} .

Σε 12 σημειωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες προσθέτουμε τα διαλύματα που αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα Ι και αυστηρά με τη σειρά που αναφέρονται. Σημειώνουμε τον ακριβή χρόνο που προσθέτουμε το ένζυμο. (Για να υπάρχει ευχέρεια χρόνου κατά τις φωτομετρήσεις προσθέτουμε το ένζυμο στους σωλήνες που πρέπει σε διαστήματα 1 λεπτού). Οι σωλήνες των τυφλών δεν περιέχουν ένζυμο. Δεκαπέντε λεπτά ακριβώς μετά την προσθήκη του ενζύμου προσθέτουμε 3ml 0,1 NaOH σε όλους τους σωλήνες.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι

Αντιδραστήριο	Σ Ω Λ Η Ν Ε Σ					
	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑΤΑ		ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑΤΑ	
		1Α 1Β 1Γ			2Α 2Β 2Γ	
Διάλυμα 1 0.0004 M SNPP σε ml	1	1 1 1				
Διάλυμα 2 0.002 M SNPP σε ml			1	1 1 1		
Διάλυμα 3 0.006 M SNPP σε ml					1	1 1 1
Διάλυμα. Ρυθμιστικό Κιτρικών pH=4.8(ml)	1	1 1 1	1	1 1 1	1	1 1 1
Εξισορρόπηση για 5 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$						
H ₂ O dist. (ml)	1		1		1	
Διάλυμα ενζύμου (ml) 3 mg/100 ml		1 1 1		1 1 1		1 1 1
Ανάδευση σε Vortex και εξισορρόπηση για 15 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$						
Διάλυμα 0.1 N NaOH (ml)	3	3 3 3	3	3 3 3	3	3 3 3
Σύνολο (ml)	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6
Μέτρηση απορρόφησης στα 405 nm						

Από την πρότυπη καμπύλη υπολογίζουμε τα μmoles της π-νιτροφαινόλης που σχηματίστηκαν και επομένως το ποσό του υποστρώματος που υδρολύθηκε για κάθε συγκέντρωση υποστρώματος. Υπολογίζουμε την ταχύτητα της αντιδράσεως (μmoles υποστρώματος που υδρολύθηκε/min/mg ενζύμου για κάθε συγκέντρωση υποστρώματος). Τα παραπάνω γίνονται συγχρόνως στον Η/Υ. Με τη χρήση του Η/Υ (στην αντίστοιχη άσκηση) και με τα δεδομένα της άσκησης κατασκευάζουμε καμπύλη της ταχύτητας της ενζυμικής αντιδράσεως σε συνάρτηση με την συγκέντρωση του υποστρώματος [S] και προσδιορίζουμε τις V_{max} και K_m .

Χρησιμοποιούνται διάφορες γραμμικές μετατροπές της εξίσωσης Michaelis-Menten και η ίδια η εξίσωση Michaelis-Menten.

Επίδραση του pH στην ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως.

Σε 6 σημειωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες προσθέτουμε τα διαλύματα που αναφέρονται στον πίνακα στον πίνακα II.

ΠΙΝΑΚΑΣ II

Αντιδραστήριο	Σ Ω Λ Η Ν Ε Σ					
	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ
Διάλυμα 0.004 M SNPP (ml)	1	1	1	1	1	1
Διάλυμα Ρυθμιστικό Κιτρικών pH=3 (ml)	1	1				
Διάλυμα Ρυθμιστικό Κιτρικών pH=4.8 (ml)			1	1		
Διάλυμα Ρυθμιστικό Κιτρικών pH=7 (ml)					1	1
Εξισορρόπηση για 5 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$						
H ₂ O dist. (ml)	1		1		1	
Διάλυμα ενζύμου (ml) 3mg / 100 ml		1		1		1
Εξισορρόπηση για 15 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$						
Διάλυμα 0,1 N NaOH (ml)	3	3	3	3	3	3
Σύνολο (ml)	6	6	6	6	6	6

Μέτρηση της απορρόφησης στα 405nm.

Επίδραση θερμοκρασίας στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης

Σε έξι αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες προσθέτουμε τα αντιδραστήρια του επόμενου πίνακα III.

ΠΙΝΑΚΑΣ III

Αντιδραστήριο	Σ Ω Λ Η Ν Ε Σ					
	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ
Διάλυμα 0.004 M SNPP (ml)	1	1	1	1	1	1
Διάλυμα Ρυθμιστικό Κιτρικών pH=4.8 (ml)	1	1	1	1	1	1
Για 5 min, σε Υδρόλουτρο θερμοκρασίας	Δωματ.	Δωματ.	37°C	37°C	75°C	75°C
H ₂ O distil. (ml)	1		1		1	
Διάλυμα ενζύμου (ml) 3 mg/100 ml		1		1		1
Για 15 min σε Υδρόλουτρο θερμοκρασίας	Δωματ.	Δωματ.	37°C	37°C	75°C	75°C
Διάλυμα 0.1 N NaOH (ml)	3	3	3	3	3	3
Σύνολο (ml)	6	6	6	6	6	6

Μέτρηση απορρόφησης στα 405 nm.

Υπολογίζουμε την ταχύτητα υδρόλυσης (μmoles υποστρώματος που υδρολύεται/min/mg ενζύμου για κάθε θερμοκρασία. Κατασκευάζουμε καμπύλη της ταχύτητας συναρτήσεως της θερμοκρασίας και από αυτή προσδιορίζουμε τη βέλτιστη θερμοκρασία.

Επίδραση αναστολέα (φωσφορικών ιόντων) στην ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης.

Η συγκέντρωση των φωσφορικών θα παραμείνει σταθερή και θα μεταβάλλεται η συγκέντρωση του υποστρώματος.

Ρυθμιστικό διάλυμα δοκιμασίας αναστολέα (P. Δ. Α.).

Προσθέτουμε 1ml 0,33M KH₂PO₄ (το pH του έχει ρυθμιστεί σε 4.8 με 0.1N NaOH) σε 10ml ρυθμιστικού κιτρικών pH 4.8 και αναμιγνύουμε. Αυτό θα χρησιμοποιηθεί στη θέση του ρυθμιστικού διαλύματος.

Η δοκιμασία θα γίνει όπως περιγράφεται στον Πίνακα IV.

ΠΙΝΑΚΑΣ IV

Αντιδραστήρια	Σ Ω Λ Η Ν Ε Σ							
	T1	Δ1	T2	Δ2	T3	Δ3	T4	Δ4
Διάλυμα 1 0.0001 M SNPP σε ml	1	1 1						
Διάλυμα 2 0.0004 M SNPP σε ml			1	1 1				
Διάλυμα 3 0.002 M SNPP σε ml					1	1 1		
Διάλυμα 4 0.006 M SNPP σε ml							1	1 1
Ρυθμιστικό διάλυμα Ρ.Δ.Α. pH=4.8 σε ml	1	1	1	1	1	1	1	1
Εξισορρόπηση για 5 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$								
H ₂ O dist. σε ml	1		1		1		1	
Διάλυμα ενζύμου σε ml 3 mg/100 ml		1		1		1		1
Ανάδευση σε Vortex και εξισορρόπηση για 15 min σε υδρόλουτρο $\theta=37^{\circ}\text{C}$								
Διάλυμα 0.1 N NaOH σε ml	3	3	3	3	3	3	3	3
Σύνολο σε (ml)	6	6	6	6	6	6	6	6

Μέτρηση απορρόφησης στα 405 nm.

Υπολογίζουμε την ταχύτητα της αντίδρασης για κάθε συγκέντρωση υποστρώματος. Κατασκευάζουμε τις καμπύλες ταχύτητας με αναστολέα. (Michaelis-Menten). Υπολογίζουμε τις τιμές V_{\max} και K_m παρουσία του αναστολέα. Τι είδους αναστολή έχουμε;

Υπολογίζουμε τις σταθερές πάλι με τη χρήση του υπολογιστή.

8. ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΙΣ ΓΡΑΜΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΤΡΟΠΕΣ ΤΗΣ ΕΞΙΣΩΣΗΣ MICHAELIS-MENTEN ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΙΣΩΣΗ MICHAELIS-MENTEN

A. Ο ορισμός του προβλήματος

Η εύρεση ενός ελάχιστου (ή μέγιστου) της τιμής μιας συνάρτησης είναι το βασικό πρόβλημα, που αντιμετωπίζεται στη διαδικασία προσαρμογής δεδομένων σε καμπύλη (CURVE FITTING).

Αυτό το πρόβλημα είναι ειδική περίπτωση του γενικότερου προβλήματος της «προσέγγισης» σε μια δεδομένη εξίσωση. Τέτοιες προσεγγίσεις μπορούμε να διακρίνουμε δύο ειδών, που θα τις αντιμετωπίσουμε στη διάρκεια της άσκησης.

Είναι η πολυωνυμική προσέγγιση όταν η εξίσωση εκφράζεται αναλυτικά σαν ένα πολυώνυμο πρώτου ή ανώτερου βαθμού και η μη πολυωνυμική ή μη γραμμική προσέγγιση όταν η εξίσωση εκφράζεται αναλυτικά από μη πολυωνυμική μορφή όπως π.χ. η MICHAELIS-MENTEN εξίσωση.

B. Μεθοδολογία

Όπως θα είναι ήδη γνωστό, σήμερα, οι προσπάθειες για τη λύση προβλημάτων ελαχιστοποίησης ή προσαρμογής δεδομένων σε καμπύλη (CURVE FITTING) γίνονται στην περιοχή της αριθμητικής ανάλυσης και μέσω της χρήσης των ηλεκτρονικών υπολογιστών (H/Y).

Διακρίνονται δύο μεγάλες κατηγορίες μεθόδων. Αυτές που χρησιμοποιούν για τη λύση του προβλήματος παραγώγους (πρώτες ή και ανώτερης τάξης) και αυτές που δεν χρησιμοποιούν παραγώγους.

Ακριβέστερες αλλά και ταχύτερες είναι οι πρώτες. Όμως οι δεύτερες εφαρμόζονται σε περιπτώσεις όπου είναι αδύνατος ο υπολογισμός παραγώγου π.χ. λόγω ασυνέχειας.

Αρκετές φορές γίνεται συνδυασμός των δύο μεθόδων. Κάτι τέτοιο έχει αποδειχθεί χρήσιμο ιδιαίτερα στις περιπτώσεις μη γραμμικών προσεγγίσεων (π.χ. των εξισώσεων MICHAELIS-MENTEN, HILL κ.ά.).

Γ. Γενικά για την άσκηση

Στην άσκηση θα χρησιμοποιηθούν δύο διαφορετικά προγράμματα στον H/Y, που

στηρίζονται σε διαφορετικές μεθόδους αλλά στην ίδια λογική (υπολογίζονται οι παράγωγοι).

Επίσης και οι δύο μέθοδοι χρησιμοποιούν το ίδιο κριτήριο, αυτό των ελαχίστων τετραγώνων, για τη «σύγκλιση» του προγράμματος.

Ας υποθέσουμε ότι έχουμε μια γνωστή αναλυτικά συνάρτηση $y = f(a,b;x)$ όπου x είναι η ανεξάρτητη και y η εξαρτημένη μεταβλητή αντίστοιχα και a και b είναι παράμετρος που πρέπει να υπολογιστούν (π.χ. η V_{max} και K_m).

Για τη λύση του προβλήματος εμείς θα διαθέτουμε ζεύγη τιμών ($[S_i], v_i$) για $i = 1$ ως N - όπου N ο αριθμός των ζευγών - και την αντίστοιχη αναλυτική έκφραση της εξίσωσης. Υποθέτουμε επίσης ότι τα σφάλματα μέτρησης των $[S_i]$ (δηλ. στον άξονα των x) είναι αμελητέα ως προς αυτών των V_i (δηλαδή στον άξονα των y), που θα πρέπει να είναι στατιστικά ανεξάρτητα (να υπακούουν στην κατανομή GAUSS) και το σχετικό τους σφάλμα να είναι σταθερό.

Αν συμβολίσουμε με y_i την τιμή της συνάρτησης $y = f(a,b;x)$ για $x = x_i$ και για κάποιες τιμές a και b «αυθαίρετες» ή για a και b που έχει υπολογίσει ο H/Y, τότε η παράσταση

$$S = \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y}_i)^2$$

μας δίνει την τιμή του αθροίσματος των ελαχίστων τετραγώνων, για

κάθε πειραματικό σημείο (να επαναλάβουμε εδώ ότι στην άσκηση μας έχουμε: $X = [S]$ και $y = v$).

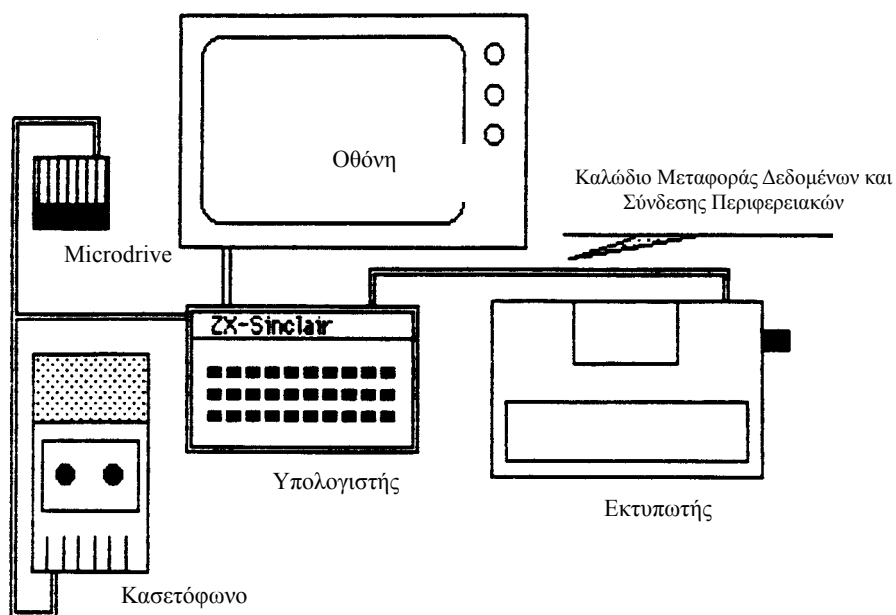
Τα προγράμματα συγκλίνουν όταν η τιμή S γίνει ίση ή μικρότερη από μια ορισμένη τιμή (π.χ. για $S < 0.0001$).

Στα προγράμματα που θα χρησιμοποιηθούν στην άσκηση, η παράσταση S είναι $S = \sum_{i=1}^N w_i (y_i - \bar{y}_i)^2$ όπου $w_i = 1/\sigma_i^2 \approx 1/y_i^2$ (κάτι που δεν ισχύει πάντα, ωστόσο ισχύει για τις ενζυμικές αντιδράσεις) και καλείται παράγοντας «ίσου βάρους» (WEIGHTING FACTOR).

Τα προγράμματα δέχονται ζεύγη σημείων (x_i, y_i) - δηλαδή στην περίπτωσή μας ζεύγη τιμών ($[S_i], v_i$) - με σειρά αυξανόμενου μεγέθους, μια προσεγγιστική τιμή για την K_m (το ένα πρόγραμμα) και απαντούν δίνοντας τις τιμές των παραμέτρων, τις τυπικές αποκλίσεις τους και τα μέσα αριθμητικά τους σφάλματα, τις διορθωμένες τιμές \bar{y}_i και τέλος τη γραφική παράστασή της υπό έλεγχο εξίσωσης.

Δ. Ο Ηλεκτρονικός Υπολογιστής και τα περιφερειακά στοιχεία του

- α. Κεντρική Μονάδα (C.P.U.) είναι ο ZX-SPECTRUM 48K + INTERFACE 1.
- β. Δύο μονάδες αποθήκευσης δεδομένων (MASS STORAGE UNITS), που είναι:
ένα κοινό κασσετόφωνο και ένα ειδικό «μικροδισκετόφωνο» (ZX-MICRODRIVE).
- γ. Εκτυπωτής SEIKOSHA GP-50 S.
- δ. Οθόνη, μια συσκευή τηλεόρασης.



Δ. Η άσκηση

α. Γενικά: Αν και ουσιαστικά χρησιμοποιούνται στην άσκηση δύο προγράμματα, αυτά είναι έτσι συνδεδεμένα ώστε να φαίνονται σαν ένα.

Το πρώτο πρόγραμμα «ασχολείται» μόνο με γραμμική προσέγγιση, ενώ το δεύτερο με μη πολωνυμική.

Έτσι με το πρώτο πρόγραμμα γίνεται η προσαρμογή των δεδομένων μας σε γραμμική μορφή, την εξίσωση Lineweaver-Burk, ή άλλη γραμμική μορφή της Michaelis-Menten. Στη συνέχεια το δεύτερο πρόγραμμα χρησιμοποιεί την τιμή της K_m (που βρέθηκε προσεγγιστικά με τις προηγούμενες κατεργασίες) και προσαρμόζει τα δεδομένα στη μη πολωνυμική μορφή της εξίσωσης MICHAELIS-MENTEN. Τότε οι τιμές των V_{max} και K_m υπολογίζονται με αρκετή ακρίβεια.

Με το ίδιο πρόγραμμα είναι δυνατή και η προσαρμογή των δεδομένων από τις μετρήσεις της αναστολής της αντίδρασης, σύμφωνα με την εξίσωση Michaelis-Menten.

Αρκεί γι' αυτό να «ξανατρέξουμε» το πρόγραμμα δίνοντας του τα κατάλληλα δεδομένα.

β. Εισαγωγή δεδομένων - αποτελέσματα:

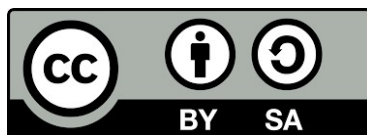
Πριν δοθούν τα δεδομένα στον Η/Υ θα πρέπει να «φορτωθεί» το κατάλληλο πρόγραμμα στη μνήμη του.

Το συγκεκριμένο πρόγραμμα που θα χρησιμοποιηθεί είναι γραμμένο σε απλή BASIC. Έτσι αρχίζουμε με την εντολή RUN (ΤΡΕΞΕ).

Στην οθόνη εμφανίζονται διάφορες βοηθητικές φάσεις (PROMPTS), που μας οδηγούν στο τι να κάνουμε. Έτσι αρχίζουμε δίνοντας τα παρακάτω:

- i) Τον αριθμό των σημείων (ζεύγη $[S_i], v_i$)
 - ii) Τα ζεύγη $[S_i], v_i$ πληκτρολογώντας πρώτα την τιμή $[S_i]$ και μετά την αντίστοιχη τιμή της V_i .
 - iii) Διαλέγουμε μια από τις τέσσερις δυνατότητες (OPTIONS), που παρουσιάζονται στην οθόνη. Συγκεκριμένα πιέζουμε το πλήκτρο 1.
 - iv) Ο Η/Υ μας «απαντά» μέσω του εκτυπωτή δίνοντας μας τις αντίστοιχες τιμές των $[S_i], v_i$, τις διορθωμένες v_i τα σφάλματα, τις τιμές των παραμέτρων V_{max}, K_m για τις αντίστοιχες εξισώσεις, τις τυπικές τους αποκλίσεις και τα μέσα αριθμητικά τους σφάλματα και τέλος το άθροισμα $S = \sum_{i=1}^N w_i (y_i - \bar{y}_i)^2$.
- Ο Η/Υ «καταλαβαίνει» τις τιμές $[S]$ σαν τιμές x και τις τιμές v σαν τιμές y . Γι' αυτό δίνει την απάντηση του με x και y για τα δεδομένα.
- v) Στη συνέχεια μας ερωτά για το μέγεθος των συντεταγμένων που θα χρησιμοποιήσει για να σχεδιάσει τη γραφική παράσταση της εξίσωσης, που επεξεργάζεται.
 - vi) Επιστρέφει στο «μενού» των τεσσάρων OPTIONS. Εμείς διαλέγουμε την OPTION 4 και αυτός συνεχίζει με το επόμενο πρόγραμμα, όπου προσαρμόζει τα δεδομένα στην εξίσωση MICHAELIS-MENTEN. Και εδώ δίνεται η «κατάλληλη» απάντηση.
 - vii) Ξανατρέχουμε το πρόγραμμα με νέα εντολή RUN και δίνουμε τώρα τα δεδομένα από τα πειράματα αναστολής. Χρησιμοποιείται μόνο η OPTION 4.

Τέλος Ενότητας



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013

Πρόγραμμα για την ανάπτυξη

ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Σημειώματα

Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση 1.0 διαθέσιμη εδώ.

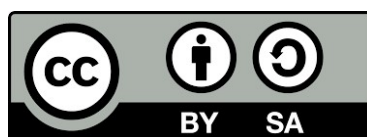
<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1374>.

Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Διδάσκοντες: Αναπλ. Καθ. Α. Ε. Κούκκου,
Καθ. Μ. Ε. Λέκκα, Αναπλ. Καθ. Ε. Πάνου,
Καθ. Ε. Παπαμιχαήλ, Καθ. Α. Τσελέπης,
Καθ. Δ. Τσουκάτος. «Εργαστήριο
Βιοχημείας. Κινητική του ενζύμου όξινη
φωσφατάση από σπέρματα σίτου».
Έκδοση: 1.0. Ιωάννινα 2014. Διαθέσιμο
από τη δικτυακή διεύθυνση:
<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1374>.

Σημείωμα Αδειοδότησης

- Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά Δημιουργού - Παρόμοια Διανομή, Διεθνής Έκδοση 4.0 [1] ή μεταγενέστερη.



- [1] <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>.