

*Fernanda Ruiz Larrea  
Myriam Zarazaga  
Carmen Torres*

# CINÉTICA ENZIMÁTICA PRÁCTICA



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA  
1992-2002 / DÉCIMO ANIVERSARIO



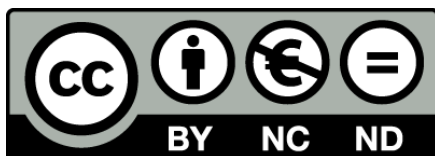
CINÉTICA ENZIMÁTICA  
PRÁCTICA

MATERIAL DIDÁCTICO  
Agricultura y Alimentación

Fernanda Ruiz-Larrea  
Myriam Zarazaga  
Carmen Torres

CINÉTICA ENZIMÁTICA  
PRÁCTICA

UNIVERSIDAD DE LA RIOJA  
Servicio de Publicaciones  
2001



**Cinética enzimática práctica**

de Fernanda Ruiz-Larrea, Myriam Zarazaga, Carmen Torres (publicado por la Universidad de La Rioja) se encuentra bajo una Licencia

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© Las autoras

© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2011

[publicaciones.unirioja.es](http://publicaciones.unirioja.es)

E-mail: [publicaciones@unirioja.es](mailto:publicaciones@unirioja.es)

ISBN: 978-84-694-0871-1

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	9
ENZPACK 3 DE BIOSOFT .....	11
Opción A. Cinética básica de Michaelis-Menten. Gráficas lineales derivadas .....	11
Opción B. Errores experimentales.....	18
Opción C. Efecto de inhibidores reversibles .....	20
Opción D. Inhibición por el sustrato .....	27
Opción E. Gráfica lineal directa.....	28
Opción F. Cálculo de parámetros cinéticos a partir de resultados experimentales.....	29
Problemas resueltos con Enzpack 3.....	37
MICROSOFT EXCEL PARA WINDOWS .....	45
APÉNDICE: GRÁFICAS DE EJERCICIOS.....	53
LECTURAS RECOMENDADAS.....	71





## INTRODUCCIÓN

Estos ejercicios de cinética enzimática están diseñados para su realización con el programa de ordenador Enzpack 3 para P.C. de la casa Biosoft creado por P.A. Williams y B.N. Zaba. En este cuaderno también se presentan unos ejercicios finales para la utilización del programa Microsoft Excel para Windows. El estudiante de Enzimología podrá encontrar con estos ejercicios una manera fácil de comprender la relación que existe entre la velocidad de una reacción catalizada por una enzima y la concentración de sustrato y de inhibidores en reacciones monosustrato que sigan una cinética de Michaelis y Menten. Con el programa Enzpack 3 de simulación de cinéticas enzimáticas el estudiante se familiariza con todas las posibles formas de representación gráfica de una cinética enzimática y aprende a reconocer los distintos tipos de inhibidores de reacciones monosustrato. En este programa también se dedica un capítulo a los errores experimentales y se calculan valores de constantes cinéticas por distintos métodos a partir de supuestos resultados experimentales.

El programa Microsoft Excel se trata de una hoja de cálculo con innumerables aplicaciones y que es utilizada en muchos ámbitos de la vida profesional. En los ejercicios que se presentan en este cuaderno se utilizan exclusivamente las aplicaciones que resultan más útiles a la hora de resolver problemas de cinética enzimática básica y constituyen un inicio al manejo de hojas de cálculo informáticas.



## ENZPACK 3 DE BIOSOFT

### OPCIÓN A

#### CINÉTICA BÁSICA DE MICHAELIS-MENTEN. GRÁFICAS LINEALES DERIVADAS

Entra en el programa Enzpack 3 y elige la opción A del programa para realizar los siguientes ejercicios.

#### Ejercicio 1

1.1. Representa las siguientes curvas de Michaelis-Menten:

**Tabla A1**

Curva nº	Km (mM)	Vmax (μmol/seg)
1	0.2	50
2	0.5	50
3	1.0	50
4	2.0	50
5	5.0	50

1.2. Contesta:

¿Cuál de las 5 enzimas llega más fácilmente a la saturación?

.....

¿Cuál de las 5 enzimas es más rápida a concentraciones saturantes?

.....

1.3. Calcula los valores de  $v$  cuando  $[S]=10$  mM para cada una de las cinco enzimas, utilizando para ello la opción F del programa y la función F6. Completa los valores de  $v$  en la Tabla A2.

Después completa las columnas de  $v/V_{max}$  y  $[S]/K_m$  utilizando tu calculadora.

**Tabla A2**

Curva nº	v ( $\mu\text{mol}/\text{seg}$ )	$v/V_{max}$	$[S]/K_m$
1			
2			
3			
4			
5			

1.4. Utilizando la ecuación de Michaelis-Menten (búscala en tus apuntes) deduce matemáticamente (sin ordenador) los valores de  $v/V_{max}$  cuando:

a.  $[S]=2xK_m$   $v/V_{max}=\dots\dots\dots$

b.  $[S]=50xK_m$   $v/V_{max}=\dots\dots\dots$

1.5. Compara los valores que has obtenido en el apartado 1.3 y en el 1.4.

*Ejercicio 2*

Utilizando las fórmulas que encontrarás en tus apuntes, deduce los valores algebraicos de la pendiente, la ordenada en el origen y la abscisa en el origen de cada una de las tres gráficas lineales: Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf y Eadie-Hofstee.

**Tabla A3**

Gráfica	pendiente	ordenada en el origen	abscisa en el origen
Lineweaver-Burk			
Hanes-Woolf			
Eadie-Hofstee			

*Ejercicio 3*

Representa las tres curvas siguientes con la opción A del programa:

**Tabla A4**

Curva nº	Km (mM)	Vmax (µmol/seg)
1	1.0	50
2	2.0	50
3	5.0	50

A partir de las gráficas lineales que obtendrás con el programa, contesta las preguntas siguientes y completa la tabla A5.

3.1. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Lineweaver-Burk? ¿Por qué?

.....

.....

.....

.....

3.2. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Hanes-Woolf? ¿Por qué?

.....

.....

.....

.....

3.3. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Eadie-Hofstee? ¿Por qué?

.....

.....

.....

.....

3.4. Completa la tabla:

**Tabla A5**

Curva nº	1	2	3
Lineweaver-Burk ordenada en el origen	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....
Hanes-Woolf ordenada en el origen	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....
Eadie-Hofstee ordenada en el origen	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....

3.5. Compara los valores numéricos que has obtenido, con los valores algebraicos que dedujiste en el ejercicio 2.

*Ejercicio 4*

Repite los ejercicios 1 y 3 con los siguientes valores:

**Tabla A6**

Curva nº	Km (mM)	Vmax ( $\mu\text{mol}/\text{seg}$ )
1	1.0	10
2	1.0	8
3	1.0	6
4	1.0	4

4.1. Intenta predecir cuáles serán las principales diferencias entre las gráficas de este ejercicio y las que obtuviste en los anteriores ejercicios.

.....

.....

.....

.....

4.2. Escribe cuáles son esas diferencias.

.....

.....

.....

4.3. ¿Cuál de las enzimas llega más fácilmente a la saturación?

.....

.....

4.4. ¿Cuál de las enzimas es más rápida a concentraciones saturantes?

.....

.....

4.5. Calcula los valores de  $v$  cuando  $[S]=10$  mM para cada una de las cuatro enzimas utilizando la opción F del programa y la función F6. Completa los valores de  $v$  en la Tabla A7.

Después completa las columnas de  $v/V_{max}$  y  $[S]/K_m$  de la tabla utilizando tu calculadora.

**Tabla A7**

Curva nº	$v$ ( $\mu\text{mol}/\text{seg}$ )	$v/V_{max}$	$[S]/K_m$
1			
2			
3			
4			

4.6. Utilizando la ecuación de Michaelis-Menten (búscala en tus apuntes) deduce matemáticamente (sin ordenador) el valor de  $v/V_{max}$  cuando  $[S]=10xK_m$ .

$v/V_{max} = \dots\dots\dots$

4.7. Comenta los resultados que has obtenido en el apartado 4.4 y en el 4.5.

.....

.....

.....

A partir de las gráficas lineales que obtendrás con el programa, contesta las preguntas siguientes y completa la tabla A8:

4.8. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Lineweaver-Burk? ¿Por qué?

.....

.....

4.9. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Hanes-Woolf? ¿Por qué?

.....

.....

4.10. ¿Dónde saldrán las rectas correspondiente a las curvas 2 y 3 respecto a la recta 1, en la gráfica de Eadie-Hofstee? ¿Por qué?

.....

.....

4.11. Completa la tabla:

**Tabla A8**

Curva nº	1	2	3	4
Lineweaver-Burk ordenada en el origen	.....	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....	.....
Hanes-Woolf ordenada en el origen	.....	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....	.....
Eadie-Hofstee ordenada en el origen	.....	.....	.....	.....
abscisa en el origen	.....	.....	.....	.....



4.12. Compara los valores numéricos que has obtenido, con los valores algebraicos que dedujiste en el ejercicio 2.

---

---

**OPCIÓN B**

**ERRORES EXPERIMENTALES**

Entra en la opción B del programa para realizar los siguientes ejercicios.

*Ejercicio 5*

Introduce los valores:  $K_m = 1 \text{ mM}$ ;  $V_{max} = 50$ ; Porcentaje de error: 5%

Proceed: procede con las gráficas lineales igual que en los ejercicios anteriores.

Fíjate en cada una de las gráficas cómo es la distribución de las barras de error por encima y por debajo de las rectas y la magnitud del error conforme aumenta  $[S]$ .

5.1. En la gráfica de Lineweaver-Burk, ¿a qué concentración se comete mayor error?

.....

.....

5.2. En la gráfica de Lineweaver-Burk, ¿qué punto de la gráfica tiene más peso a la hora de ajustar la recta por regresión lineal?

.....

.....

5.3. Comenta qué precauciones es necesario tomar a la hora de calcular el valor de la  $V_{max}$  y la  $K_m$  a partir de la gráfica de Lineweaver-Burk.

.....

.....

5.4. Compara los errores de los puntos en la gráfica de Hanes-Woolf con los errores en la gráfica de Lineweaver-Burk.

.....

.....

5.5. Compara la distribución de los puntos en la gráfica de Hanes-Woolf con la distribución en la de Lineweaver-Burk.

.....

.....

5.6. ¿Qué llama la atención en la gráfica de Eadie-Hofstee?

.....

.....

5.7. Observando las tres gráficas primarias, ¿dónde es mayor el error, a baja [S] o a alta [S]?

.....

.....

5.8. ¿En cuál de las tres gráficas es mayor el error?

.....

.....

La gráfica de Lineweaver-Burk presenta el problema de que a bajas concentraciones de sustrato, incluso errores muy pequeños ( $\pm 5\%$ ) en la medida de  $v$ , conllevan un error enorme en la magnitud  $1/v$ .

En la gráfica de Hanes-Woolf los errores de  $[S]/v$  apenas son influenciados por la variación de  $[S]$ . Además como la distribución a lo largo de la gráfica de los puntos experimentales es muy homogénea, la desviación de un punto a concentraciones bajas, no afecta tanto al ajuste de la recta como en el caso de la gráfica de Lineweaver-Burk.

En la gráfica de Eadie-Hofstee, al ser  $v$  un factor en ambos ejes, un error en la medida de  $v$  desplaza el punto representado en la gráfica en las dos direcciones perpendiculares de los ejes. Debemos tener en cuenta que la regresión lineal asume que se comete error sólo en la medida de uno de los dos parámetros ( $x$  o  $y$ ).

5.9. Repite el ejercicio con los porcentajes de error: 10% y 15%.

.....

.....

## OPCIÓN C

### EFFECTO DE INHIBIDORES REVERSIBLES

#### A. VARIACIÓN DE [S] A [I] CONSTANTE

Entra en la opción C del programa y presiona la tecla A. Haz los ejercicios 6 al 10 y completa las tres tablas C1, C2 y C3 para caracterizar los distintos tipos de inhibiciones que se pueden dar.

**Tabla C1**

	¿Líneas paralelas o convergentes?	Si convergen ¿dónde?
<b>Lineweaver-Burk</b> Competitiva Mixta (no competitiva) $K_i/K_{ies}=1$  $K_i/K_{ies}<1$  $K_i/K_{ies}>1$  Incompetitiva	..... ..... ..... ..... ..... .....	..... ..... ..... ..... ..... .....
<b>Hanes-Woolf</b> Competitiva Mixta (no competitiva) $K_i/K_{ies}=1$  $K_i/K_{ies}<1$  $K_i/K_{ies}>1$  Incompetitiva	..... ..... ..... ..... ..... .....	..... ..... ..... ..... ..... .....
<b>Eadie-Hofstee</b> Competitiva Mixta (no competitiva) $K_i/K_{ies}=1$  $K_i/K_{ies}<1$  $K_i/K_{ies}>1$  Incompetitiva	..... ..... ..... ..... ..... .....	..... ..... ..... ..... ..... .....

**Tabla C2**

		Lineweaver-Burk	Hanes-Woolf	Eadie-Hofstee
Competitiva	b			
	m			
Mixta Ki/Kies = 1	b			
	m			
Ki/Kies < 1	b			
	m			
Ki/Kies > 1	b			
	m			
Incompetitiva	b			
	m			

**Tabla C3**

		Lineweaver-Burk	Hanes-Woolf	Eadie-Hofstee
Competitiva	Km'			
	Vmax'			
Mixta Ki/Kies = 1	Km'			
	Vmax'			
Ki/Kies < 1	Km'			
	Vmax'			
Ki/Kies > 1	Km'			
	Vmax'			
Incompetitiva	Km'			
	Vmax'			

*Ejercicio 6*

Inhibición competitiva. Introduce las siguientes curvas:

Curva nº

- |        |                        |                       |
|--------|------------------------|-----------------------|
| 1.     | $K_m = 0.5 \text{ mM}$ | $V_{max} = 50$        |
| 2. [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$   | $[I] = 1 \text{ mM}$  |
| 3. [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$   | $[I] = 2 \text{ mM}$  |
| 4. [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$   | $[I] = 5 \text{ mM}$  |
| 5. [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$   | $[I] = 10 \text{ mM}$ |

Procede con todas las gráficas primarias y rellena la tabla C1 y las tablas C2 y C3 para valores obtenidos de la curva nº 5. ¿Te recuerdan algo las gráficas a las que obtuviste en la opción A del programa?

.....

.....

Quando termines, vuelve a la opción C para realizar el siguiente ejercicio.

*Ejercicio 7*

Inhibición no competitiva. Introduce las siguientes curvas:

Curva nº

- |        |                      |                   |                        |
|--------|----------------------|-------------------|------------------------|
| 1.     | $K_m = 1 \text{ mM}$ | $V_{max} = 50$    |                        |
| 2. [M] | $K_i = 4 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[I] = 0.5 \text{ mM}$ |
| 3. [M] | $K_i = 4 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[I] = 2 \text{ mM}$   |
| 4. [M] | $K_i = 4 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[I] = 4 \text{ mM}$   |
| 5. [M] | $K_i = 4 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[I] = 10 \text{ mM}$  |

Procede con todas las gráficas primarias y rellena la tabla C1 y las tablas C2 y C3 para valores obtenidos de la curva nº 5. ¿Te recuerdan algo las gráficas a las que obtuviste en la opción A del programa?

.....

.....

Quando termines, vuelve a la opción C para realizar el siguiente ejercicio.

*Ejercicio 8*

Inhibición mixta. Repite el ejercicio 7 pero con  $K_i/K_{ies} = 0.2$ .

¿Dónde interseccionan las rectas en la gráfica de Lineweaver-Burk?

.....

.....

*Ejercicio 9*

Inhibición mixta. Repite el ejercicio 7 pero con  $K_i/K_{ies} = 2$ .

¿Dónde interseccionan las rectas en la gráfica de Lineweaver-Burk?

.....

.....

*Ejercicio 10*

Inhibición incompetitiva. Introduce las siguientes curvas:

Curva n°

- |        |                          |                        |
|--------|--------------------------|------------------------|
| 1.     | $K_m = 1 \text{ mM}$     | $V_{max} = 50$         |
| 2. [U] | $K_{ies} = 2 \text{ mM}$ | $[I] = 0.5 \text{ mM}$ |
| 3. [U] | $K_{ies} = 2 \text{ mM}$ | $[I] = 1 \text{ mM}$   |
| 4. [U] | $K_{ies} = 2 \text{ mM}$ | $[I] = 2 \text{ mM}$   |
| 5. [U] | $K_{ies} = 2 \text{ mM}$ | $[I] = 4 \text{ mM}$   |

Procede con todas las gráficas primarias y rellena la tabla C1 y las tablas C2 y C3 para valores obtenidos de la curva n° 5.

B. VARIACIÓN DE [I] A [S] CONSTANTE

Entra en la opción C del programa y presiona la tecla B. Haz los ejercicios 11 al 15 y completa las tres tablas C4 y C5 para caracterizar los distintos tipos de inhibiciones que se pueden dar.

**Tabla C4**

	¿Líneas paralelas o convergentes?	Si convergen ¿dónde?
<b>Dixon</b> Competitiva Mixta (no competitiva) $K_i/K_{iS}=1$  $K_i/K_{iS}<1$  $K_i/K_{iS}>1$  Incompetitiva	.....	.....
	.....	.....
	.....	.....
	.....	.....
<b>Cornish-Bowden</b> Competitiva Mixta (no competitiva) $K_i/K_{iS}=1$  $K_i/K_{iS}<1$  $K_i/K_{iS}>1$  Incompetitiva	.....	.....
	.....	.....
	.....	.....
	.....	.....

**Tabla C5** (para valores de las curvas nº 5)

		Dixon	Cornish-Bowden
Competitiva	ordenada en el origen		
	abscisa en el origen		
Mixta $K_i/K_{iS} = 1$	ordenada en el origen		
	abscisa en el origen		
$K_i/K_{iS} < 1$	ordenada en el origen		
	abscisa en el origen		
$K_i/K_{iS} > 1$	ordenada en el origen		
	abscisa en el origen		
Incompetitiva	ordenada en el origen		
	abscisa en el origen		



*Ejercicio 11*

Inhibición competitiva.

Introduce las siguientes curvas en el programa:

Curva n°

- |    |                      |                |     |                      |                       |
|----|----------------------|----------------|-----|----------------------|-----------------------|
| 1. | $K_m = 1 \text{ mM}$ | $V_{max} = 25$ | [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$ | $[S] = 2 \text{ mM}$  |
| 2. |                      |                | [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$ | $[S] = 4 \text{ mM}$  |
| 3. |                      |                | [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$ | $[S] = 8 \text{ mM}$  |
| 4. |                      |                | [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$ | $[S] = 12 \text{ mM}$ |
| 5. |                      |                | [C] | $K_i = 2 \text{ mM}$ | $[S] = 20 \text{ mM}$ |

Rellena la tabla C4. Rellena la tabla C5 con los valores obtenidos de la curva n° 5.

11.1. ¿Cuál es la variable independiente (x) en la gráfica de Cornish-Bowden?

.....

.....

11.2. ¿Cuál es la variable dependiente (y) en la gráfica de Cornish-Bowden?

.....

.....

*Ejercicio 12*

Inhibición no competitiva.

Introduce las siguientes curvas en el programa:

Curva n°

- |    |                      |                |     |                      |                   |                       |
|----|----------------------|----------------|-----|----------------------|-------------------|-----------------------|
| 1. | $K_m = 1 \text{ mM}$ | $V_{max} = 25$ | [M] | $K_i = 3 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[S] = 2 \text{ mM}$  |
| 2. |                      |                | [M] | $K_i = 3 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[S] = 4 \text{ mM}$  |
| 3. |                      |                | [M] | $K_i = 3 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[S] = 8 \text{ mM}$  |
| 4. |                      |                | [M] | $K_i = 3 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[S] = 12 \text{ mM}$ |
| 5. |                      |                | [M] | $K_i = 3 \text{ mM}$ | $K_i/K_{ies} = 1$ | $[S] = 20 \text{ mM}$ |

Rellena la tabla C4. Rellena la tabla C5 con los valores obtenidos de la curva n° 5.

*Ejercicio 13*

Inhibición mixta.

Repita el ejercicio 12 pero con los valores de  $K_i/K_{is} = 0.2$

*Ejercicio 14*

Inhibición mixta.

Repita el ejercicio 12 pero con los valores de  $K_i/K_{is} = 3$

*Ejercicio 15*

Inhibición incompetitiva.

Introduce las siguientes curvas en el programa:

Curva nº

- |    |                      |                |     |                           |             |
|----|----------------------|----------------|-----|---------------------------|-------------|
| 1. | $K_m = 1 \text{ mM}$ | $V_{max} = 25$ | [U] | $K_{is} = 2.5 \text{ mM}$ | [S] = 2 mM  |
| 2. |                      |                | [U] | $K_{is} = 2.5 \text{ mM}$ | [S] = 4 mM  |
| 3. |                      |                | [U] | $K_{is} = 2.5 \text{ mM}$ | [S] = 8 mM  |
| 4. |                      |                | [U] | $K_{is} = 2.5 \text{ mM}$ | [S] = 12 mM |
| 5. |                      |                | [U] | $K_{is} = 2.5 \text{ mM}$ | [S] = 20 mM |

Rellena la tabla C4. Rellena la tabla C5 con los valores obtenidos de la curva nº 5

## OPCIÓN D

### INHIBICIÓN POR EL SUSTRATO

Utilizando la opción D del programa haz el siguiente ejercicio:

#### *Ejercicio 16*

Introduce las siguientes curvas:

1.  $K_m = 1 \text{ mM}$        $V_{\max} = 45$
2.  $K_m/K_{is} = 0.01$
3.  $K_m/K_{is} = 0.05$
4.  $K_m/K_{is} = 0.1$
5.  $K_m/K_{is} = 0.5$

Observa todas las representaciones gráficas que se obtienen con estos valores y contesta las siguientes preguntas:

16.1. ¿Qué gráfica es la única que se puede extrapolar para obtener la ecuación de una recta?

.....

.....

16.2. ¿Qué curva es la que sufre una desviación mayor respecto al control?

.....

.....

16.3. ¿Qué sustrato es el que produce una mayor inhibición? ¿Cómo es su  $K$  de inhibición respecto a su  $K_m$ ? Explica tu respuesta.

.....

.....

16.4. ¿Qué tipo de gráfica (Lineweaver-Burk, Hanes-Woolf o Eadie-Hofstee) utilizarías para detectar mejor la existencia de inhibición por el sustrato?

.....

.....

**OPCIÓN E**

**GRÁFICA LINEAL DIRECTA**

Existe una forma de obtener una gráfica lineal directamente a partir de la gráfica de Michaelis-Menten. Este tipo de representación es análoga a la de Eisenthal y Cornish-Bowden. Utilizando la opción E del programa, haz el siguiente ejercicio:

*Ejercicio 17*

Introduce los valores:  $K_m = 3.2 \text{ mM}$  y  $V_{max} = 9.4$

A la vista de los resultados que obtengas, contesta las siguientes preguntas:

17.1. Uniendo cada pareja de valores experimentales:  $[S]$  y su correspondiente actividad  $v$ , se obtienen unas rectas que se cortan en un punto ¿Qué valores se deducen a partir de ese punto de corte?

.....

.....

17.2. ¿Qué valor máximo de la actividad se ha medido experimentalmente?

.....

.....

17.3. ¿Es posible calcular el valor de  $V_{max}$  cuando experimentalmente no nos hemos acercado a ese valor máximo de la velocidad? Explica cómo harías para calcular ese valor máximo  $V_{max}$ .

.....

.....

## **OPCIÓN F**

### **CÁLCULO DE PARÁMETROS CINÉTICOS A PARTIR DE RESULTADOS EXPERIMENTALES**

Entra en la opción F del programa y haz los siguientes ejercicios:

#### *Ejercicio 18*

Introduce los siguientes valores que se han obtenido experimentalmente:

[S]	v
0.038	1.52
0.129	2.92
0.216	4.00
0.313	4.58
0.517	6.12
0.948	7.03

Presiona la tecla F7 (Analyse Data)

Presiona [Y]

[P]

[Y]

[R]

Rellena los valores de la tabla F1 repitiendo las operaciones anteriores para los cuatro tipos de gráficas. Al terminar una gráfica, presiona [P] para que el programa te dé otro tipo de representación y presiona [R] para leer los valores de Km y Vmax.

**Tabla F1**

	Km	Vmax
DIRECT LINEAR Límites confianza 68%		
LINEWEAVER-BURK r =		
HANES-WOOLF r =		
EADIE-HOFSTEE r =		
WILKINSON error standard		

Cuando hayas terminado de rellenar esta tabla

Presiona [P]

[Y]

y contesta la siguiente pregunta:

18.1. ¿Cuál de las cuatro gráficas se acerca más a los puntos experimentales?

para contestar esta pregunta elige la representación de Hanes-Woolf [C]

Presiona [R]

[P]

[N]

y repite estas operaciones para las siguientes representaciones gráficas

Presiona F7

[N]

[N]

[P]

[Y]

elige otro tipo de representación (por ejemplo Eadie-Hofstee [D])

[R]

[P]

[N]

18.2. ¿Cuál de las cuatro gráficas se acerca menos a los puntos experimentales?

.....

18.3. Compara los coeficientes de correlación que obtuviste en la tabla F1

.....

Sal al menú principal del programa presionando:

[Q]

[N]

### *Ejercicio 19*

Vuelve a la opción F (que la tabla de la pantalla esté limpia)

Este ejercicio consiste en repetir el ejercicio 17 utilizando datos generados por el programa.

Presiona [F6]

[Y]

Introduce los valores del ejercicio 17 para Km y Vmax

nº de datos [6]

error [0]

[N]

Rellena la tabla F2

**Tabla F2**

	[S]	v
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		

Presiona [P]  
 [F7]  
 [N]  
 [N]

Rellena la tabla F3

**Tabla F3**

	Km	Vmax
DIRECT LINEAR % Confianza =		
LINEWEAVER-BURK r =		
HANES-WOOLF r =		
EADIE-HOFSTEE r =		
WILKINSON error standard		

Presiona [P]  
 [Y]  
 [D]  
 [R]



19.1. ¿Por qué se ajustan perfectamente todos los puntos a las gráficas y los coeficientes de correlación tienen el valor de 1?

.....

.....

Finaliza el ejercicio presionando las teclas:

[Q]

[N]

[N]

[Q]

[N]

### *Ejercicio 20*

Vuelve a la opción F (que la tabla de la pantalla esté limpia). Este ejercicio consiste en hallar los parámetros cinéticos  $K_m$  y  $V_{max}$  a partir de los datos obtenidos en dos series de experimentos.

Introduce los siguientes valores experimentales:

Serie 1

[S] (mM)	v
0.5	7.25
1.0	12.2
2.0	18.0
3.0	21.4
5.0	26.3
8.0	28.5

Presiona [F7]

[N]

[N]

Elige de la tabla Results Summary los mejores valores para:

$K_m =$

$V_{max} =$

Presiona [P]  
 [N]  
 [N]  
 [F3]  
 [N]

Introduce ahora la segunda serie de valores experimentales:

Serie 2

[S] (mM)	v
0.5	4.53
1.0	8.5
1.5	10.3
2.5	15.3
4.0	19.6
6.0	23.0

y repite todas las operaciones anteriores para obtener los mejores valores para esta serie 2 de experimentos:

$K_m =$

$V_{max} =$

Para terminar, presiona: [P], [N], [N], [Q] y [N]

### *Ejercicio 21*

Los datos del ejercicio anterior se obtuvieron con el mismo enzima y a la misma concentración pero en los experimentos de la serie 2 estaba presente un inhibidor en una concentración de 5 mM. Tenemos que deducir de qué tipo de inhibidor se trata.

Entra en la opción A del programa e introduce los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  que has obtenido en el ejercicio anterior para la serie 1 y la serie 2.

A la vista de las dos rectas que obtienes en la gráfica de Lineweaver-Burk, ¿de qué tipo de inhibidor se trata?

Sal de la opción A ([Q])

Entra en la opción F del programa.

Presiona [F8]

Introduce los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  que obtuviste para la serie 1 en el ejercicio anterior.

Introduce la concentración de inhibidor presente en la serie 2

Introduce los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  que obtuviste para la serie 2

Presiona [P]

21.1. ¿De qué tipo de inhibidor se trata?

.....

.....

21.2. ¿Cuánto vale su  $K_i$ ?

.....

.....

Presiona [Q] para terminar

### *Ejercicio 22*

Dentro de la opción F del programa presiona [F8]

Introduce los siguientes valores:

Sin inhibidor:  $K_m = 2.52 \text{ mM}$        $V_{max} = 10.8$

Con inhibidor:  $[I] = 5.90 \text{ mM}$

$K_m' = 3.78 \text{ mM}$        $V_{max} = 10.4$

22.1. ¿De qué tipo de inhibidor se trata?

.....

.....

22.2. ¿Cuánto vale su  $K_i$ ?

.....

.....

Presiona [Q] para terminar

### *Ejercicio 23*

Dentro de la opción F del programa presiona [F8]

Introduce los siguientes valores:

Sin inhibidor:  $K_m = 3.3 \text{ mM}$        $V_{\max} = 11.5$

Con inhibidor:  $[I] = 10 \text{ mM}$

$K_m' = 2.75 \text{ mM}$        $V_{\max} = 8$

23.1. ¿De qué tipo de inhibidor se trata?

.....  
.....

23.2. ¿Cuánto vale su  $K_i$ ?

.....  
.....

Presiona [Q] , [Q] para terminar.

## PROBLEMAS RESUELTOS CON ENZPACK 3

### Problema 1

Se obtuvieron una serie de datos experimentales para la actividad de la hexoquinasa que cataliza la conversión de glucosa a glucosa-6-fosfato. a) Comprueba que la enzima sigue una cinética de saturación hiperbólica a partir de los datos experimentales que aparecen en la tabla. b) Calcula su  $K_m$  y  $V_{max}$ .

[S] M	v nmoles. $l^{-1}$ .min $^{-1}$
$2,5 \times 10^{-6}$	24
$3,33 \times 10^{-6}$	30
$4,0 \times 10^{-6}$	34
$5 \times 10^{-6}$	40
$1 \times 10^{-5}$	60
$2 \times 10^{-5}$	80
$4 \times 10^{-5}$	96
$1 \times 10^{-4}$	109

### Solución del problema 1.

Entra en la opción F del programa

Introduce los datos de la tabla del ejercicio en la pantalla. ¡Ten cuidado con las unidades! Introduce todos los valores numéricos de  $[S] \times 10^6$ .

Presiona [F7] (Analyse Data)

[N]

[Y]

Observa la gráfica de Lineweaver-Burk

Presiona [R]

Rellena la tabla F4 siguiente

Presiona [P]

Y continúa con el resto de las gráficas hasta completar la tabla F4:

**Tabla F4**

	Km	Vmax
LINEWEAVER-BURK r =		
HANES-WOOLF r =		
EADIE-HOFSTEE r =		
WILKINSON		

Contesta las preguntas:

– ¿Cuál de las tres gráficas lineales es la que da una distribución peor de los puntos del problema?

.....

– ¿Qué es el método de Wilkinson? ¿por qué no tiene gráfica?

.....

– Da los valores de Km y Vmax que contestan al problema poniendo las unidades correspondientes.

.....

Para terminar y salir de la opción F

- Presiona [P]
- [N]
- [N]
- [Q]
- [N]

*Problema 2*

Los eritrocitos embrionarios contienen un enzima que cataliza la reacción  $S \rightarrow P$ . Los eritrocitos adultos también posee actividad  $S \rightarrow P$ . Algunos datos cinéticos se muestran en la tabla siguiente. ¿Qué conclusiones puedes sacar referentes a la identidad de los dos enzimas?

[S] M	Velocidad inicial ( $\mu\text{moles}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	
	eritrocito adulto	eritrocito embrionario
$1,68 \times 10^{-5}$	1,05	5,00
$2,50 \times 10^{-5}$	1,54	6,66
$3,33 \times 10^{-5}$	1,98	8,00
$5,00 \times 10^{-5}$	2,86	10,00
$7,00 \times 10^{-5}$	3,78	11,67
$1,00 \times 10^{-4}$	5,00	13,33
$1,50 \times 10^{-4}$	6,67	15,00
$1,67 \times 10^{-4}$	7,15	15,40
$2,00 \times 10^{-4}$	8,00	16,00

### *Solución del problema 2*

Entra en la opción F del programa

Introduce los datos de la tabla para el eritrocito adulto en la pantalla. ¡Ten cuidado con las unidades! Introduce todos los valores numéricos de  $[S] \times 10^5$ .

Presiona [F7] (Analyse Data)

[N]

[N]

De la tabla Results Summary elige los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  que creas más ajustados y pon las unidades correspondientes

$K_m =$

$V_{max} =$

Para continuar:

Presiona [Q]

[N]

[N]

[F3]

[N]

Repite las operaciones anteriores pero ahora con los datos del ejercicio para el eritrocito embrionario.

De la tabla Results Summary elige los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  que creas más ajustados y pon las unidades correspondientes

$K_m =$   $V_{max} =$

Para salir de la opción F del programa:

Presiona [Q]  
           [N]  
           [N]  
           [Q]  
           [N]

Entra en la opción A del programa y representa las dos curvas y las correspondientes gráficas inversas de Lineweaver-Burk.

Contesta las preguntas:

– ¿En qué punto interseccionan las dos rectas de la gráfica de Lineweaver-Burk?

.....  
 .....

– ¿Qué conclusión puedes sacar referente a la identidad de los dos enzimas?

.....  
 .....

*Problema 3*

Cuando se produce un infarto de miocardio, un enzima es secretado al torrente sanguíneo. En el caso de una distrofia muscular una isoenzima que cataliza la misma reacción, es secretada al torrente sanguíneo y se puede diferenciar fácilmente por tener un distinto valor de  $K_m$  ( $K_m$  de la isoenzima de músculo esquelético =  $2 \times 10^{-5}$  M). Un ensayo en una muestra de sangre de un paciente que llegó al hospital inconsciente dio los resultados que se indican en la tabla. ¿Sufre el paciente una distrofia muscular, o un infarto de miocardio?



[S] (M)	Velocidad inicial	
	Enzima del miocardio $\mu\text{moles/mg} \times \text{min}$	Enzima del paciente $\mu\text{moles/ml suero} \times \text{min}$
$5,00 \times 10^{-5}$	2,86	43
$7,00 \times 10^{-5}$	3,78	57
$1,00 \times 10^{-4}$	5,00	75
$1,50 \times 10^{-4}$	6,67	100
$2,00 \times 10^{-4}$	8,00	120
$3,00 \times 10^{-4}$	10,00	150

*Solución del problema 3.*

Entra en la opción F del programa

Introduce los datos de la tabla en la pantalla para la enzima del miocardio. Multiplica todos los valores numéricos de [S] x 10<sup>5</sup>.

Presiona [F7] (Analyse Data)

[N]

[N]

De la tabla Results Summary elige los valores de Km y Vmax que creas más ajustados y pon las unidades correspondientes

Enzima del miocardio: Km = Vmax =

Repite todo el proceso ahora para la enzima del paciente.

Enzima del paciente: Km = Vmax =

Contesta la pregunta:

– Se trata del enzima del miocardio o de la isoenzima de músculo esquelético? ¿por qué?

.....  
 .....

Para finalizar:

Presiona [Q]  
 [N]  
 [N]  
 [Q]  
 [N]

*Problema 4*

Se obtuvieron los datos de la velocidad de una reacción enzimática en ausencia y en presencia de varios inhibidores (A, B, C y D). Determinar la naturaleza de cada inhibidor y calcular las  $K_i$  correspondientes.

[S] (mM)	Control	+A (5 $\mu$ M)	+B (20 $\mu$ M)	+C (2 mM)	+D (0.1 mM)
0,20	16,67	6,25	5,56	10,00	8,89
0,25	20,00	7,69	6,67	11,11	10,81
0,33	24,98	10,00	8,33	12,50	13,78
0,50	33,33	14,29	11,11	14,29	19,05
1,00	50,00	25,00	16,67	16,67	30,77
2,00	66,67	40,00	22,22	18,18	44,44
2,50	71,40	45,45	23,81	18,52	48,78
3,33	76,92	52,63	25,64	18,87	54,06
4,00	80,00	57,14	26,67	19,00	57,14
5,00	83,33	62,50	27,77	19,23	60,60

*Solución del problema 4*

Halla los valores de  $K_m$  y  $V_{max}$  para cada uno de los casos del problema (control y en presencia de los distintos inhibidores) utilizando la opción F del programa y F7.

Rellena la tabla:

	Control		+A (5 $\mu$ M)	+B (20 $\mu$ M)	+C (2 mM)	+D (0.1 mM)
$K_m$		$K_m'$				
$V_{max}$		$V_{max}'$				

Ahora utiliza F8 para determinar el tipo de inhibidor de que se trata en cada caso y dar el correspondiente valor de  $K_i$ .

Inhibidor	Tipo	$K_i$
A		
B		
C		
D		

Presiona [Q] [Q] para finalizar.

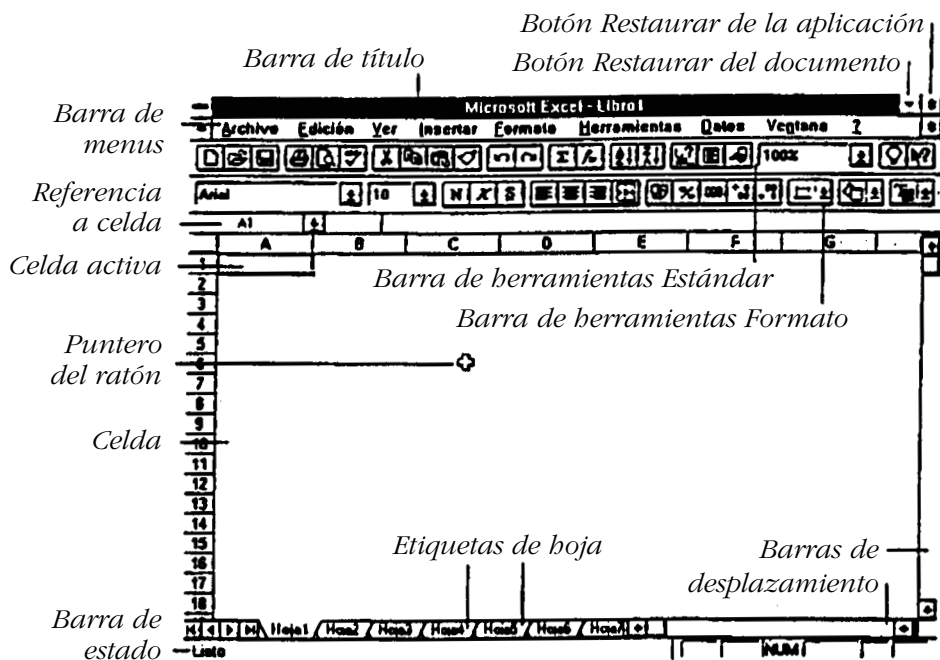


## EXCEL PARA WINDOWS

El procedimiento para iniciar Excel o cualquier otro programa de Windows es siempre el mismo: hacer doble clic sobre el icono del programa.

Abrir el grupo de programas de Microsoft Office y hacer doble clic sobre el icono titulado Microsoft Excel.

Aparecerá la pantalla principal de Excel:



*Pantalla de Excel abierta*

### DESCRIPCIÓN RÁPIDA DE LA PANTALLA DE EXCEL

La hoja de cálculo se compone de columnas encabezadas con letras y filas con números. La intersección de una columna y una fila es lo que se llama una celda. Su nombre se forma con la letra de la columna y el número de la fila. La celda activa se encuentra rodeada por un borde más grueso y su nombre se muestra en el área de referencia de celda. La cruz que se ve es el puntero del ratón, que cambia de forma al desplazarse por las distintas zonas de la hoja de cálculo.

### DESPLAZARSE POR LA HOJA DE CÁLCULO

El método más sencillo consiste en hacer clic sobre la celda a la que quieres desplazarte, o ir hasta la celda activa con las teclas del cursor. La referencia de celda se muestra en la zona superior de la hoja de cálculo y te indica cuál es la celda activa en cada momento.

### CREAR UNA HOJA DE CÁLCULO. EJEMPLO PRÁCTICO 1

La hoja de cálculo es el lugar donde se introduce la información que se desea almacenar y tratar. La manera más práctica de comenzar a elaborar una hoja de cálculo consiste en introducir títulos, encabezados de columnas y filas.

Comprueba que la celda activa sea A1.

Escribe “Problema de Enzimología”. Aparentemente el texto que has escrito en la celda A1 se ha extendido por las celdas siguientes, pero realmente toda la información está contenida en la celda elegida.

Haz clic en la celda B3 para convertirla en celda activa. Escribe “Sustrato S”.

Haz clic en la celda C3. Escribe “Velocidad v”.

Rellena las dos columnas (B4, C4, B5, C5, B6, C6...) con los datos numéricos que vienen a continuación. Es muy útil el teclado numérico que tienes a la derecha del teclado normal de escritura. Úsalo para introducir estos valores:

1.67	1.05
2.50	1.54
3.33	1.98
5.00	2.86
7.00	3.78

10.00	5.00
15.00	6.67
16.70	7.15
20.00	8.00

Haz clic en la celda D3. Escribe "1/S".

Haz clic en la celda E3. Escribe "1/v".

#### CREACIÓN DE FÓRMULAS. INVERSO

Ahora vamos a rellenar estas dos nuevas columnas que comienzan en las celdas D3 y E3. Para ello nos vamos a servir de una gran herramienta de Excel: la creación de fórmulas. Con ellas podemos realizar cálculos con los valores de las celdas y mostrar los resultados en otras celdas de fórmulas.

La manera de comenzar una fórmula consiste en desplazarse a una celda vacía donde quieres que aparezca el resultado y escribir el signo igual (=). Desplázate hasta la celda D4 que es donde quieres que aparezca el resultado. Escribe "=1/B4". Después de confirmar la entrada de esta fórmula con la tecla Intro, aparecerá en pantalla el resultado de la operación. Si se cambia el valor de la celda B4, cambiará automáticamente el resultado de la celda D4. Pruébalo.

#### CUADRO DE LLENADO

A continuación vamos a proceder al llenado del resto de celdas. Para ello emplearemos la posibilidad de arrastrar el "cuadro de llenado". En la esquina inferior derecha del cuadro que rodea a la celda activa D4 se encuentra el cuadro de llenado, que te permitirá copiar la información a otras celdas.

Arrastra el cuadro de llenado hacia abajo, de forma que el borde se extienda hasta la celda D12. Sitúa el ratón sobre el cuadro de llenado y espera a que el puntero se transforme en una cruz delgada. Arrástrala hacia abajo hasta que el borde de la celda activa se extienda hasta la celda D12. Suelta el botón del ratón para completar el llenado.

Para rellenar la cuarta columna, en nuestro caso concreto la columna 1/v, selecciona la columna 1/S: rango D4, D12. Sitúa el ratón en la esquina inferior del rango seleccionado. El puntero se transforma en una cruz delgada. Arrastra el cuadro de llenado a la columna E. El rango E4, E12 se llenará automáticamente.

Para ver la fórmula correspondiente a cada uno de los resultados puedes verla en el cuadro de fórmula. Haz clic en la celda E8, en el cuadro de fórmulas aparecerá “=1/C8”. Si lo haces en la celda D10, aparecerá “=1/B10”.

#### CREACIÓN DE GRÁFICOS

Un gráfico consiste en la representación de los datos numéricos que contiene la hoja de cálculo. Una vez que tenemos los datos de  $1/S$  y  $1/v$ , vamos a representar gráficamente la recta de la ecuación de Lineweaver y Burk.

El primer paso consiste en seleccionar los datos que se van a incluir en el gráfico. Selecciona el rango comprendido entre las celdas D4 a E12.

Pulsa el botón Asistente para gráficos de la barra de herramientas, el contorno aparecerá intermitente. Luego dibuja sin hacer clic con el ratón el contorno del área donde quieres que aparezca tu gráfico. El cursor tendrá la forma de una cruz junto a un icono de gráfico. Si haces clic con el ratón, Excel elegirá por ti el tamaño que va a tener el gráfico. Si arrastras el ratón crearás un gráfico del tamaño que elijas para poderlo manejar con facilidad. Suelta el botón del ratón cuando el contorno alcance el tamaño deseado.

A continuación aparecerá el primer cuadro de diálogo Asistente para gráficos - paso 1 de 5. En el cuadro de texto aparecerán los rangos seleccionados previamente. El símbolo dólar \$ que precede a las letras de columnas y a los números de filas indica que se trata de referencias absolutas, que son las que no se modifican al mover o copiar datos.

Una vez comprobado que los rangos son los correctos, ya puedes pasar al siguiente cuadro de diálogo. Pulsa el botón siguiente y aparecerá en pantalla el paso 2 de 5 del Asistente para gráficos. Ahora tienes que elegir el tipo de gráfico que deseas. Para este problema debes elegir gráficos XY dispersión para poder representar la relación existente entre las dos series de datos. Después de haber seleccionado el tipo de gráfico haz clic en el botón siguiente. Aparecerá el paso 3 de 5 del asistente para gráficos. Selecciona el formato tipo 1 y haz clic de nuevo en siguiente.

Debes rellenar el cuadro de diálogo del paso 4 de 5:

Serie de datos en • Columnas

Pulsa el botón siguiente para abrir el siguiente cuadro de diálogo del asistente para gráficos.



Título del gráfico: ejemplo 1

Títulos de los ejes    Abscisas (X): 1/S

Ordenadas (Y): 1/v

En el siguiente cuadro elige: • Como objeto en Hoja 1.

Pulsa el botón Terminar y desplázate en la pantalla hacia la derecha hasta que se haga visible el gráfico entero. El gráfico incrustado forma parte ya de la hoja de cálculo.

Para activar un gráfico incrustado, haz doble clic sobre él. El borde del gráfico se modificará, indicando que se encuentra activado. Ahora ya puedes modificar el elemento del gráfico que desees: cambiar o desplazar el título, cambiar el tamaño de letra del texto, modificar el color del fondo, calcular la ecuación lineal....

#### REGRESIÓN LINEAL

Con el gráfico activado haz clic sobre uno de los puntos del gráfico con el botón de la derecha del ratón de modo que se activen todos los puntos del gráfico. Selecciona: Agregar línea de tendencia.

Dentro de Tipo, selecciona:            Lineal.

Dentro de Opciones selecciona:    presentar ecuación en el gráfico y  
presentar el valor **R** cuadrado en el gráfico

A partir de la ecuación que aparece en el gráfico calcula el valor de Vmax y de Km de este ejemplo 1.

.....

.....

Para salir de Excel, elige archivo, salir. Excel se cerrará y volverá al icono con el que se inició.

#### EJEMPLO 2

##### 2.1. Abre una nueva hoja de cálculo

Introduce todos los valores de la tabla siguiente:

[S] (mmol.l <sup>-1</sup> )	velocidad inicial (unidades de absorbancia . min <sup>-1</sup> a distancias concentraciones iniciales de inhibidor [I] (mM)				
	[I] = 1,0	[I] = 2,0	[I] = 3,0	[I] = 4,0	[I] = 5,0
2,0	0,432	0,396	0,365	0,339	0,317
2,5	0,485	0,448	0,417	0,389	0,365
3,33	0,552	0,516	0,485	0,457	0,432
5	0,642	0,609	0,579	0,552	0,528

- 2.2. Ahora rellena una nueva columna con los valores inversos: 1/[S] utilizando la herramienta de creación de fórmulas tal y como lo has hecho en el ejercicio anterior.
- 2.3. A continuación procede al llenado del resto de celdas con los valores de 1/v arrastrando el cuadro de llenado. Completa la tabla con las cabeceras de cada columna de modo que te quede de la siguiente manera:

1/S	1/v (I=1)	1/v (I=2)	1/v (I=3)	1/v (I=4)	1/v (I=5)
0,5	2,31481481	2,52525253	2,73972603	2,94985251	3,15457413
0,4	2,06185567	2,23214286	2,39808153	2,57069409	2,73972603
0,3003003	1,8115942	1,9379845	2,06185567	2,18818381	2,31481481
0,2	1,5576324	1,64203612	1,72711572	1,8115942	1,89393939

- 2.4. Haz un gráfico con las rectas de dobles recíprocos para cada una de las concentraciones de inhibidor. Selecciona los datos que se van a incluir en el gráfico, es decir, los datos numéricos de la columna de 1/S y todas las de 1/v. Pulsa el botón Asistente para gráficos de la barra de herramientas.
- 2.5. Aparecerá el primer cuadro de diálogo Asistente para gráficos - paso 1 de 5. En el cuadro de texto aparecerán los rangos seleccionados previamente. Una vez comprobado que los rangos son los correctos, ya puedes pasar al siguiente cuadro de diálogo. Elige el gráfico XY dispersión y el formato tipo 1.

En el cuadro de diálogo del paso 4 de 5 debe poner:

Serie de datos en • Columnas

- 2.6. Pulsa el botón siguiente para abrir el siguiente cuadro de diálogo del asistente para gráficos.

Título del gráfico: ejercicio 2

Títulos de los ejes    Abscisas (X): 1/S

Ordenadas (Y): 1/v

En el siguiente cuadro elige: • Como objeto en Hoja 1.

Pulsa el botón Terminar y desplázate hasta que se haga visible el gráfico entero. Ajusta el tamaño del gráfico a tu gusto. El cuadro de las series puedes eliminarlo.

2.7. Activa el gráfico haciendo doble clic sobre él. El borde del gráfico se modificará, indicando que se encuentra activado. Con el gráfico activado haz clic sobre uno de los puntos de la primera recta con el botón de la derecha del ratón, de modo que se activen todos los puntos de la recta.

Selecciona:        Agregar línea de tendencia.

Selecciona:        Lineal.

Dentro de Opciones selecciona:

presentar ecuación en el gráfico

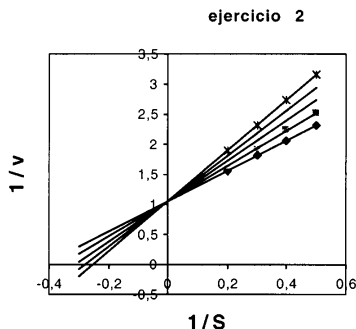
presentar el valor **R** cuadrado en el gráfico

Extrapolar hacia atrás 0,5 unidades

Aceptar

Cuando aparezca la ecuación en el gráfico colócala en una esquina de forma ordenada para saber siempre qué ecuación se corresponde con cada una de las rectas que van a ir apareciendo. Cambia el grosor de la línea activándola con el cursor. Una línea fina te ayudará a ver mejor las cinco rectas que van a ir apareciendo.

2.8. Repite todos los pasos del apartado 2.7 para cada una de las rectas del gráfico de modo que te quede del siguiente modo:



$$y = 2,5226x + 1,0534$$

$$R^2 = 1$$

$$y = 2,9447x + 1,0535$$

$$R^2 = 1$$

$$y = 3,3751x + 1,0502$$

$$R^2 = 1$$

$$y = 3,7984x + 1,0504$$

$$R^2 = 1$$

$$y = 4,2081x + 1,0526$$

$$R^2 = 1$$

2.9. En hoja de cálculo escribe dos nuevas columnas con las concentraciones de inhibidor y los correspondientes valores de las pendientes:

[I] (mM)	m
1	
2	
3	
4	
5	

Haz la gráfica secundaria correspondiente de m frente a [I] y ajusta los puntos por regresión lineal a una recta.

2.10. ¿De qué tipo de inhibidor se trata?

.....

2.11. ¿Cuánto vale  $K_m$ ?

.....

2.12. ¿Cuánto vale  $V_{max}$ ?

.....

2.13. ¿Cuánto vale  $K_i$ ?

.....

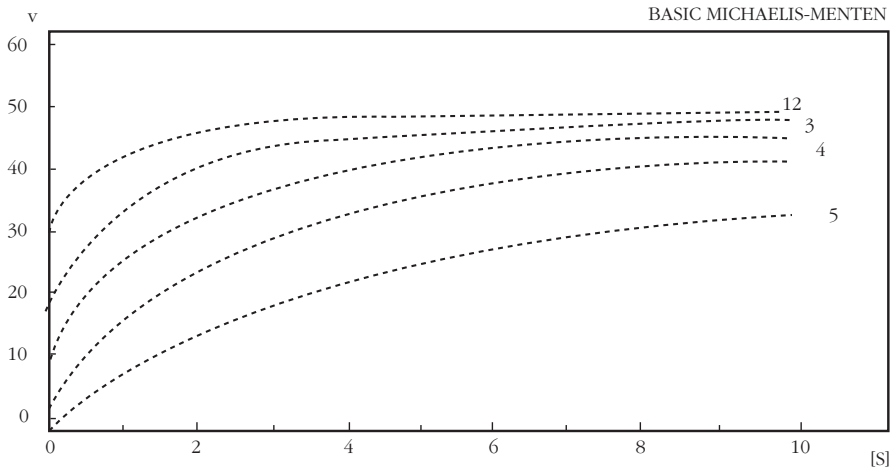
Para salir de Excel, elige archivo, salir. Excel se cerrará y volverá al icono con el que se inició.

# GRÁFICAS DE LOS EJERCICIOS

Ejercicios 1-3

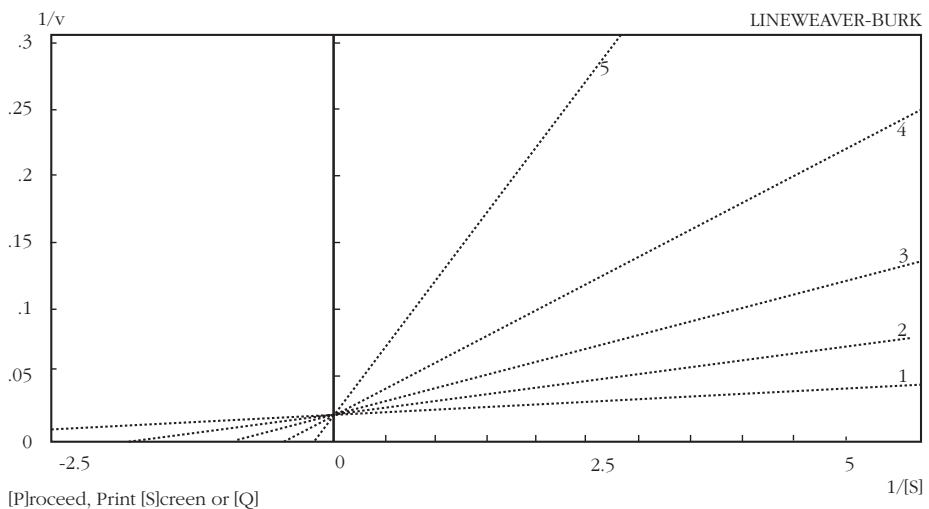
OPCIÓN A

5: Km=5 Vmax=50



OPCIÓN A

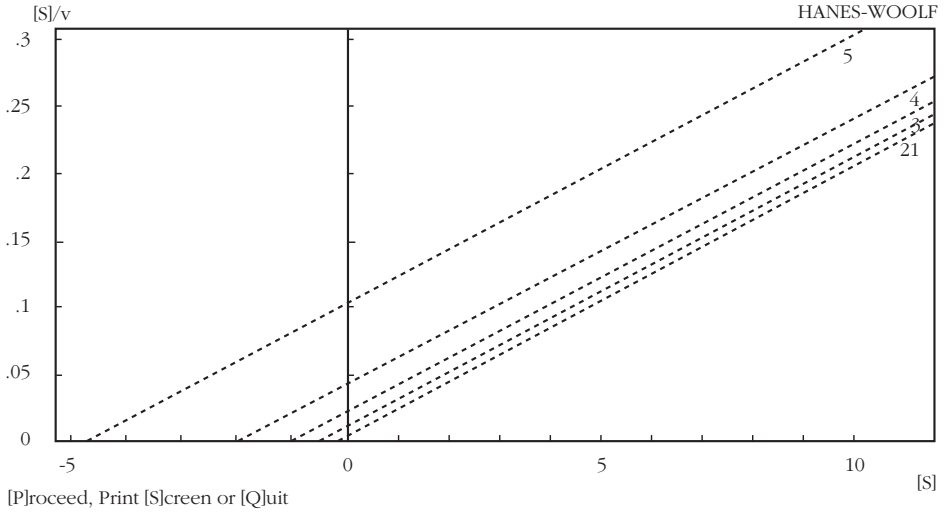
5: KM=5 Vmax=50



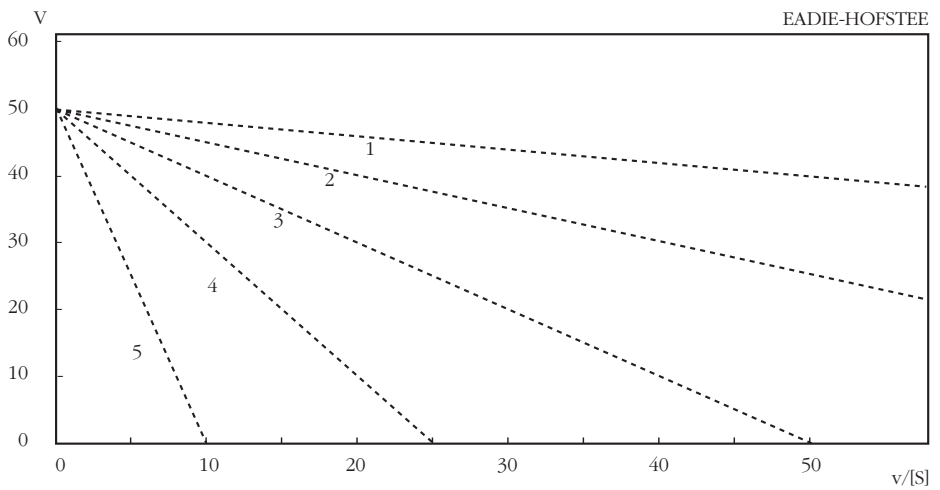
*Ejercicios 1-3*

OPCIÓN A

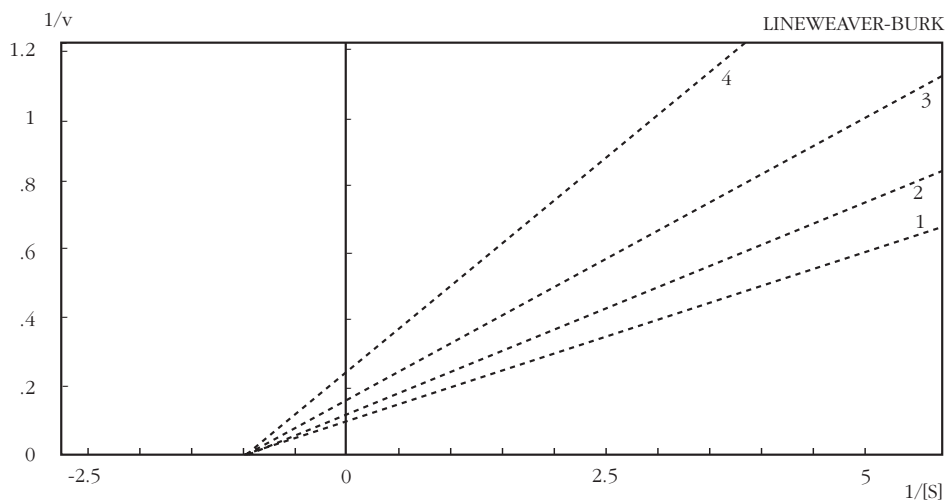
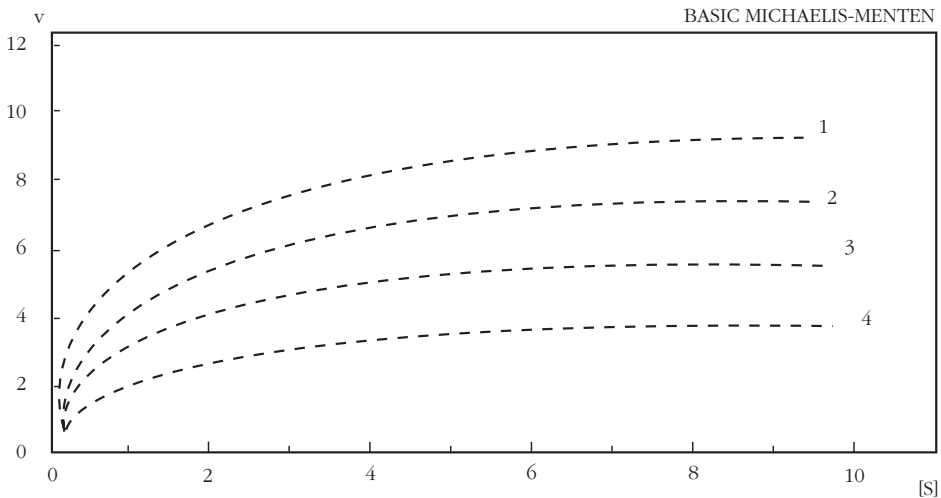
5: Km=5 Vmax=50



OPCIÓN A

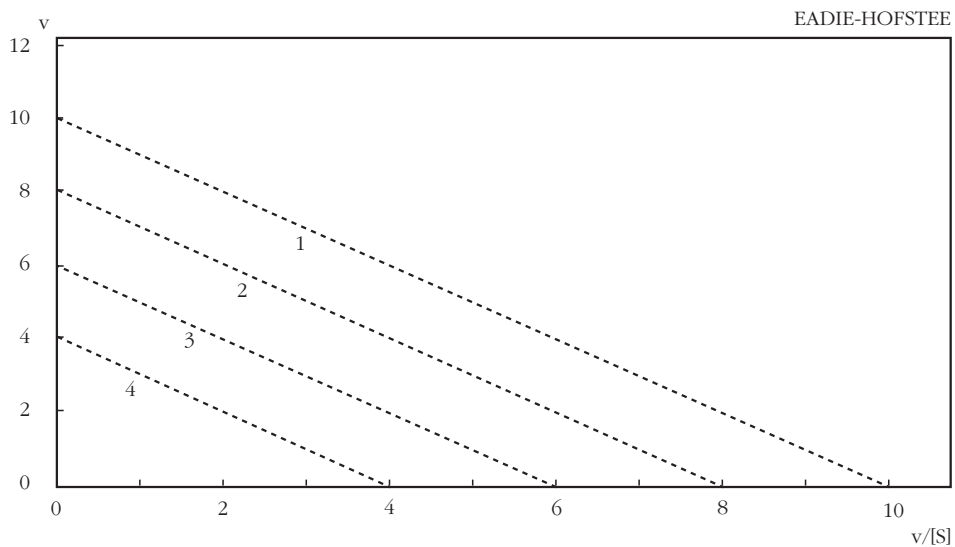
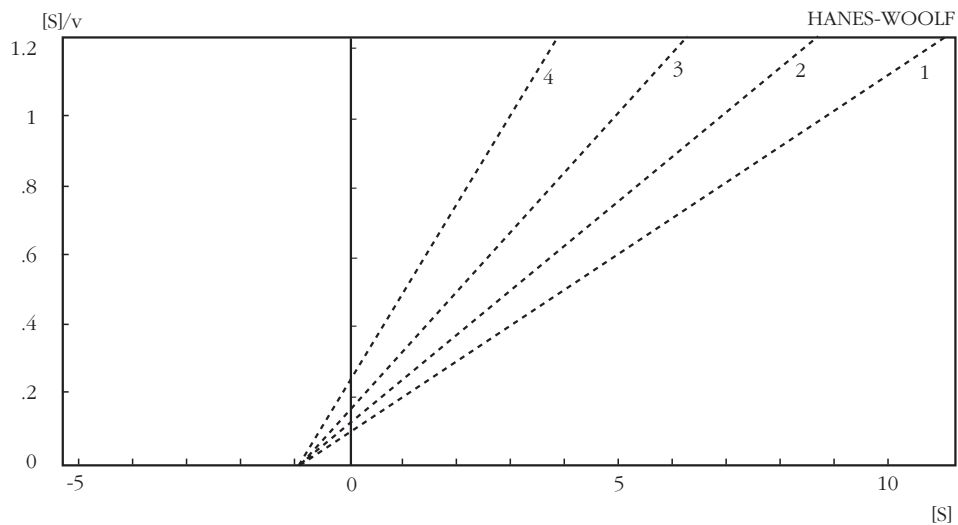


*Ejercicio 4*



Ejercicio 4

OPCIÓN A

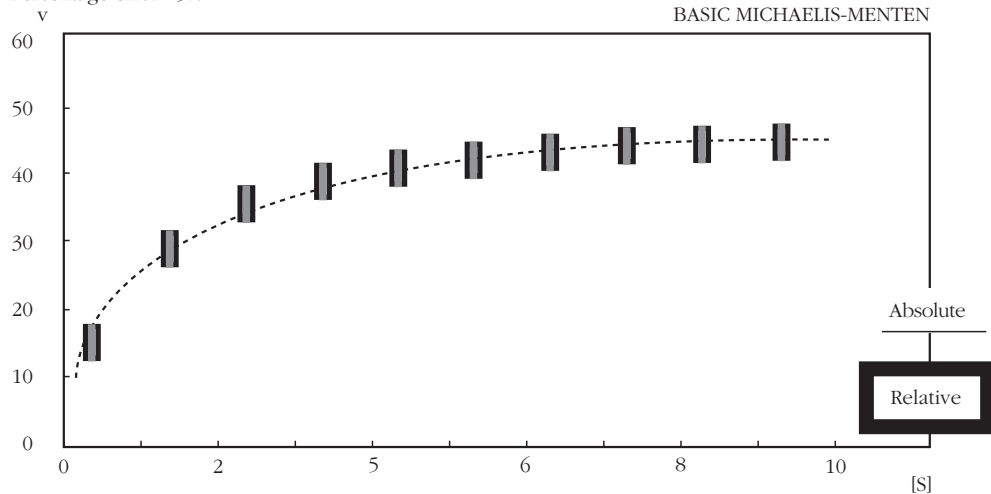




### Ejercicio 5

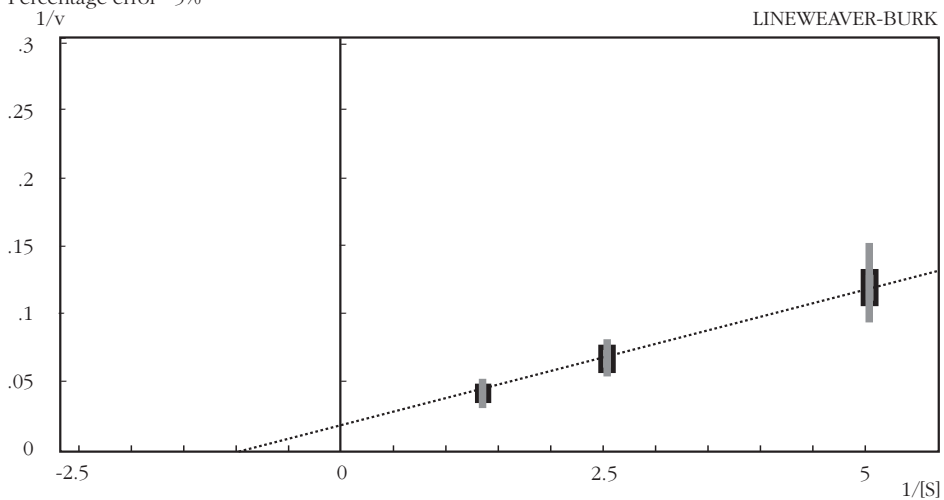
OPCIÓN B

1:  $K_m=1$   $V_{max}=50$   
 Percentage error= 5%



OPCIÓN B

1:  $K_m=1$   $V_{max}=50$   
 Percentage error= 5%

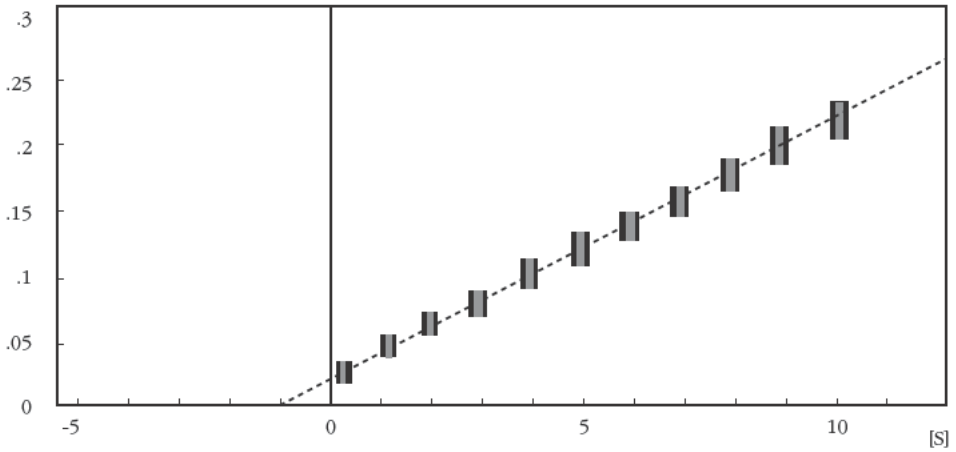


Ejercicio 5

OPCIÓN B

1:  $K_m=1$   $V_{max}=50$   
 Percentage error= 5%  
 $[S]/v$

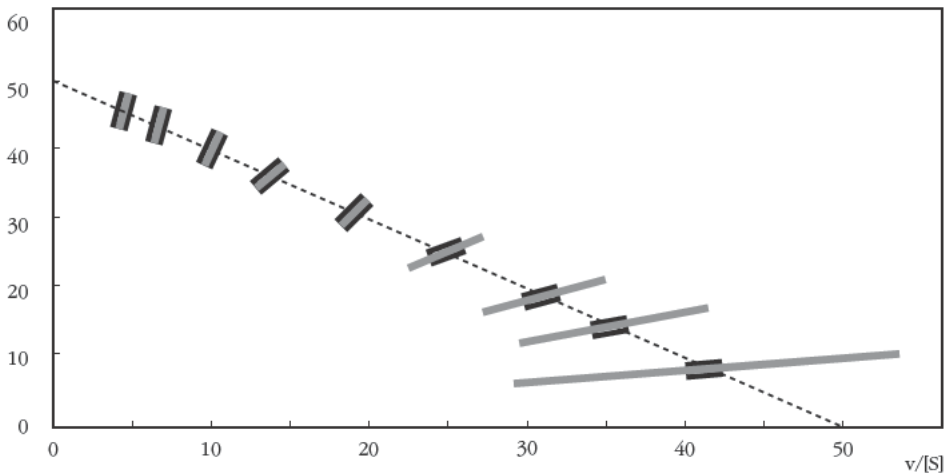
HANES-WOOLF



OPCIÓN B

1:  $K_m=1$   $V_{max}=50$   
 Percentage error= 5%  
 $v$

EADIE-HOFSTEE

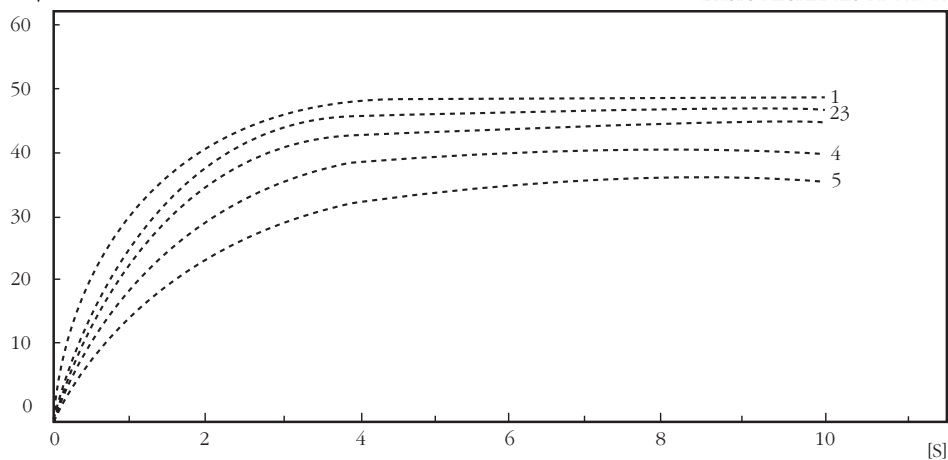


### Ejercicio 6

OPCIÓN C

5:  $K_m=5$   $V_{max}=50$  Competitive  
 $K_i=2$  :  $[I]=10$

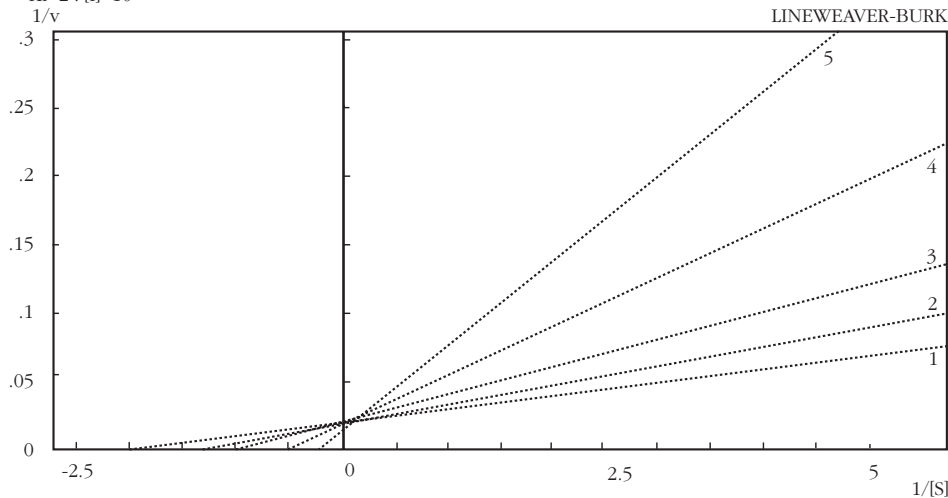
BASIC MICHAELIS-MENTEN



OPCIÓN C

5:  $K_m=0.5$   $V_{max}=50$  Competitive  
 $K_i=2$  :  $[I]=10$

LINEWEAVER-BURK

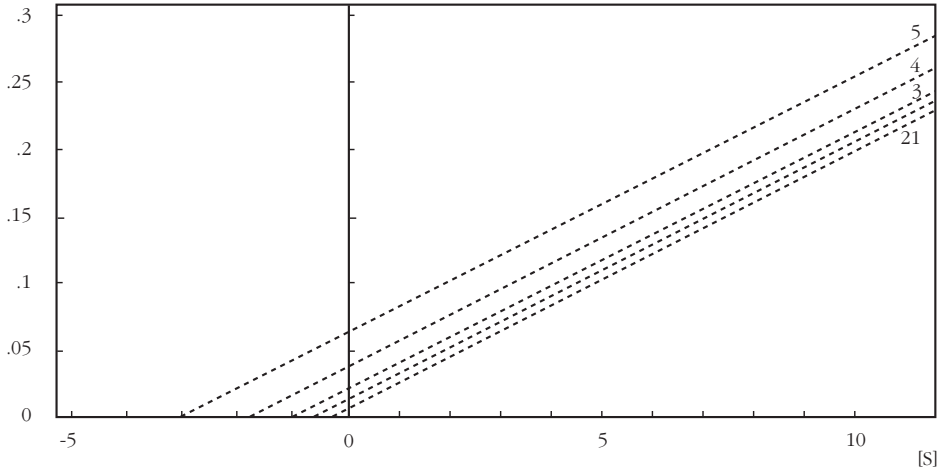


*Ejercicio 6*

OPCIÓN C

5:  $K_m=5$   $V_{max}=50$  Competitive  
 $K_i=2$  :  $[I]=10$   
 $[S]/v$

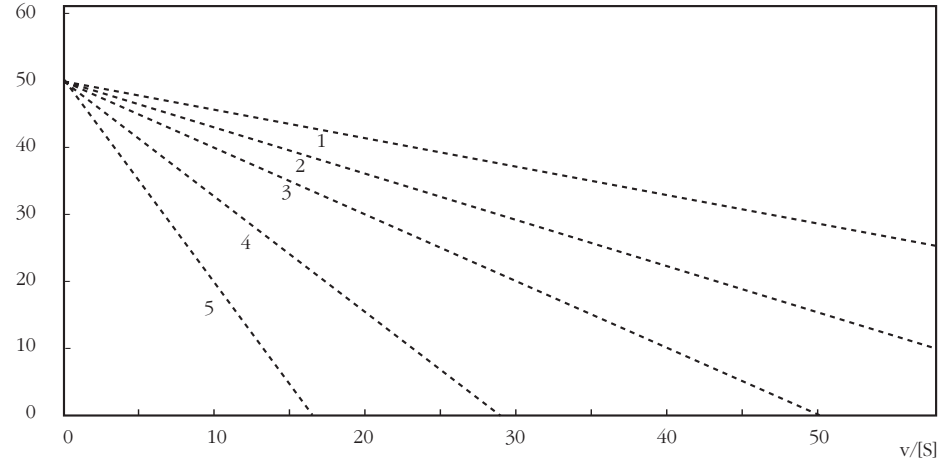
HANES-WOOLF



OPCIÓN C

5:  $K_m=5$   $V_{max}=50$  Competitive  
 $K_i=2$  :  $[I]=10$   
 $v$

EADIE-HOFSTEE

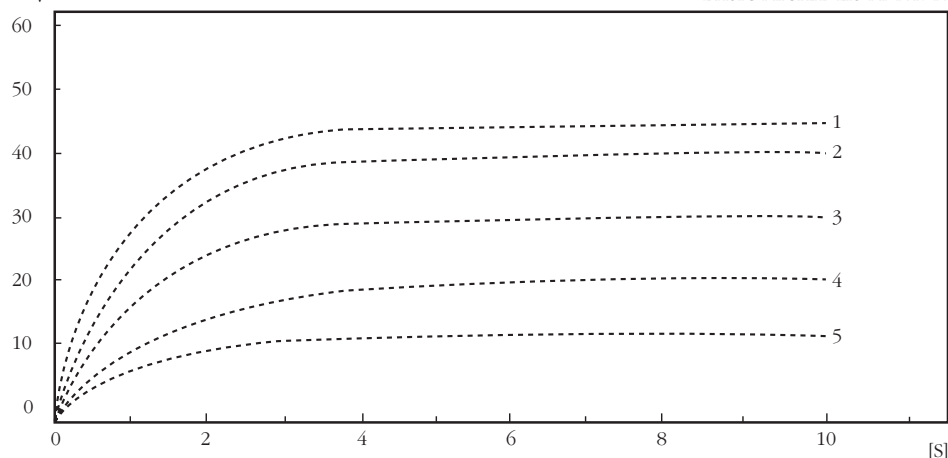


Ejercicio 7

OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=50 Noncompetitive  
 Ki=4 :Ki/Kies=1 :[I]=10

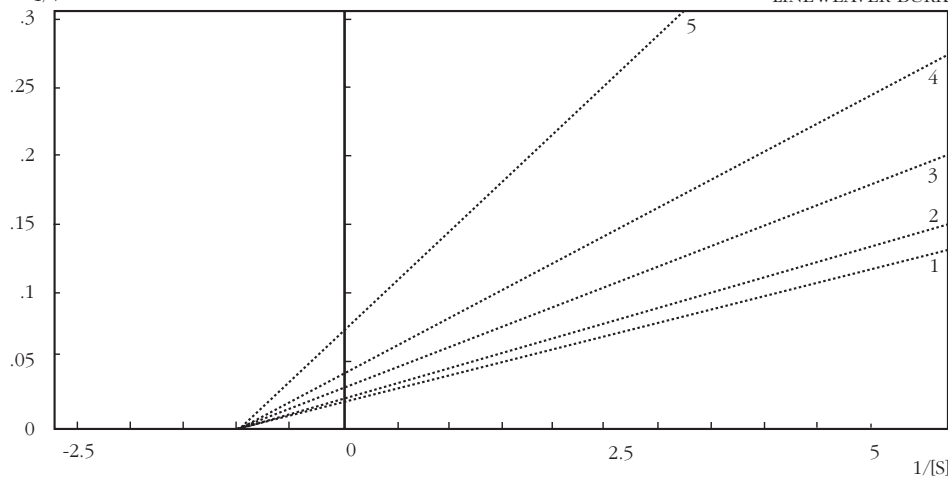
BASIC MICHAELIS-MENTEN



OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=50 Noncompetitive  
 Ki=4 :Ki/kies=1 :[I]=10

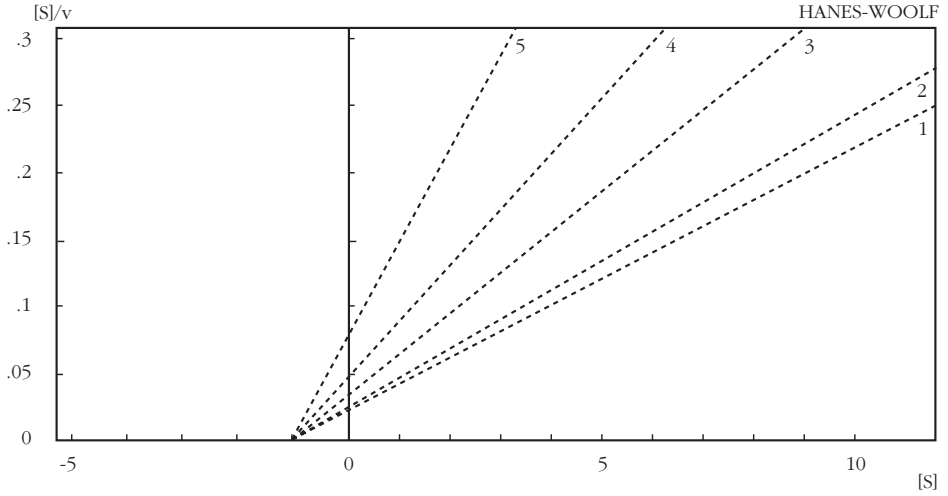
LINEWEAVER-BURK



Ejercicio 7

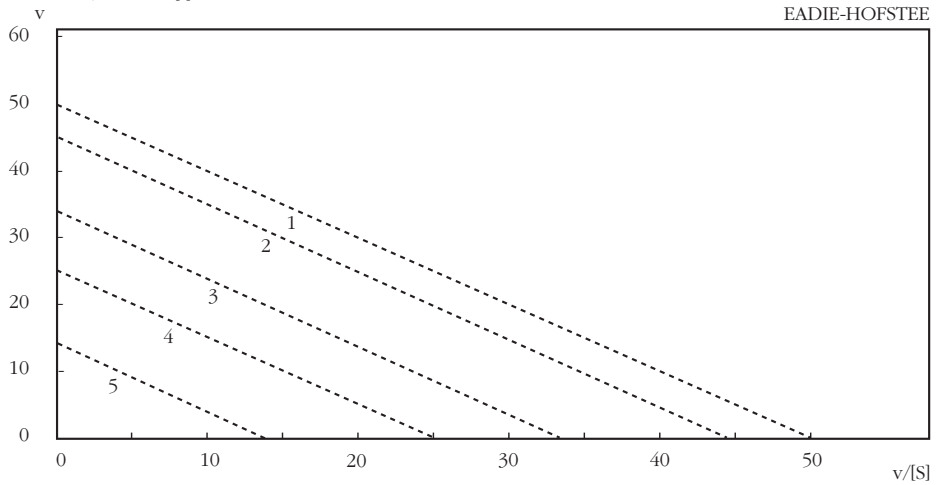
OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=50 Noncompetitive  
 Ki=4 :Ki/Kies=1 :[I]=10  
 [S]/v



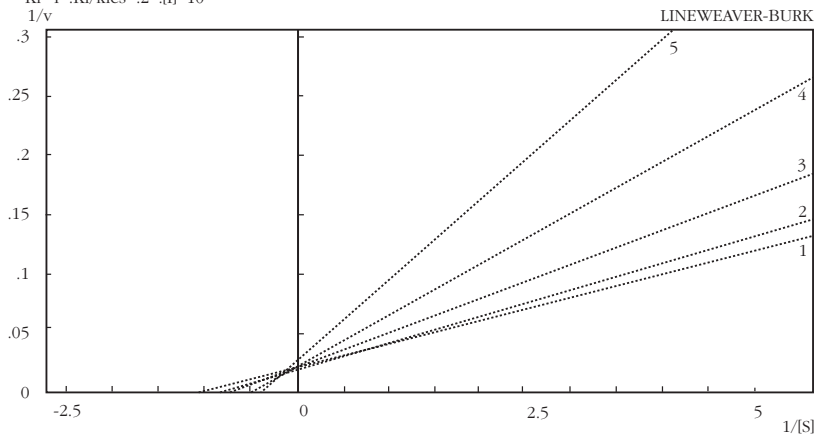
OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=50 Noncompetitive  
 Ki=4 :Ki/Kies=1 :[I]=10  
 v

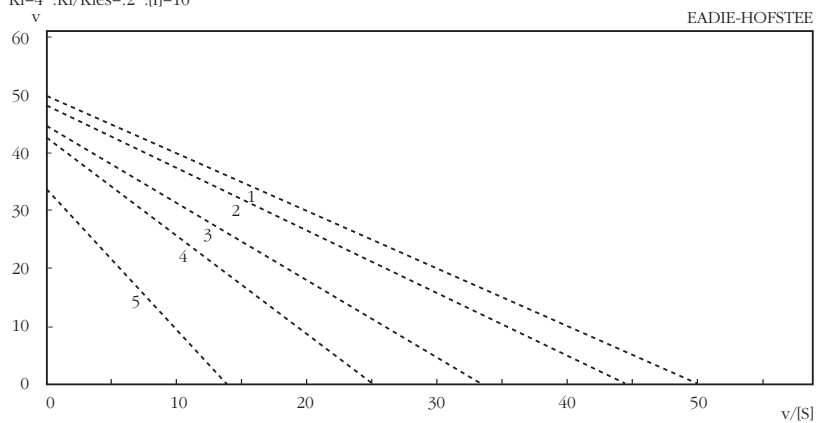


### Ejercicio 8

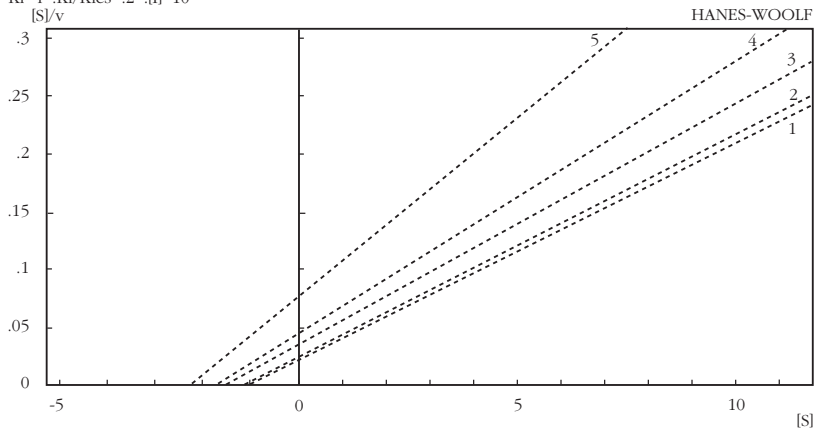
5: Km=1 Vmax=50 Mixed  
 Ki=4 :Ki/Kies=.2 :I]=10  
 1/v



Ki=4 :Ki/Kies=.2 :I]=10  
 v

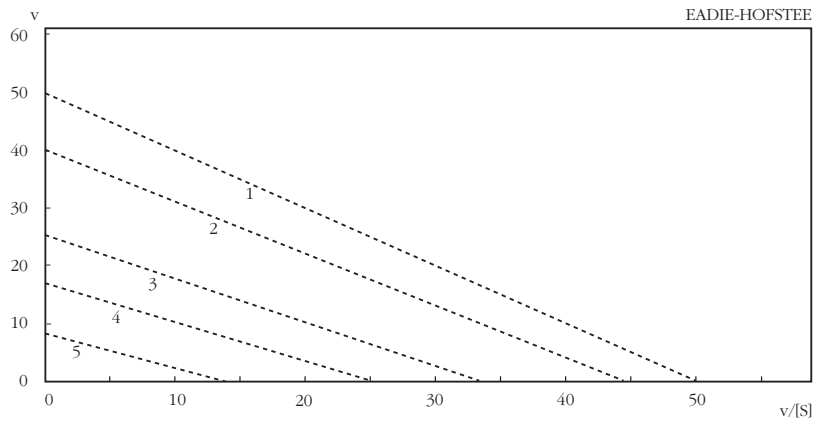
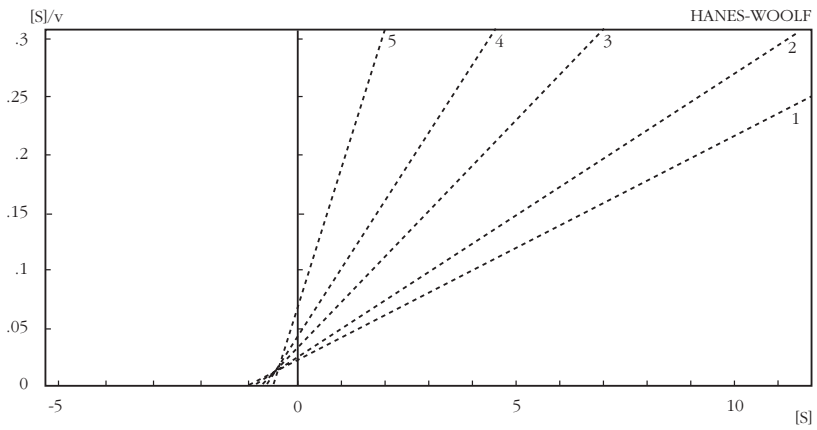
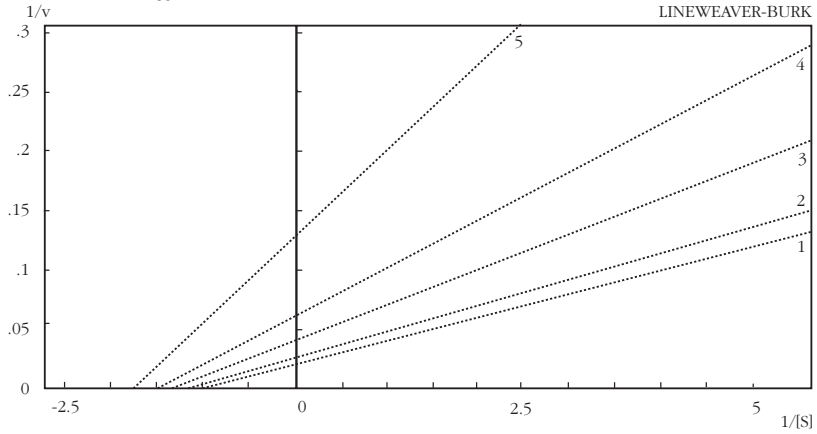


Ki=4 :Ki/Kies=.2 :I]=10  
 [S]/v



Ejercicio 9

5:  $K_m=1$   $V_{max}=50$  Mixed  
 $K_i=4$  :  $K_i/k_{ies}=2$  :  $[I]=10$

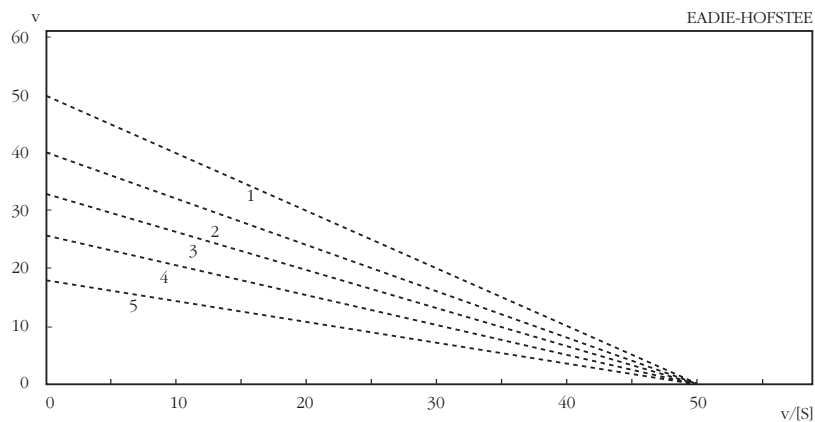
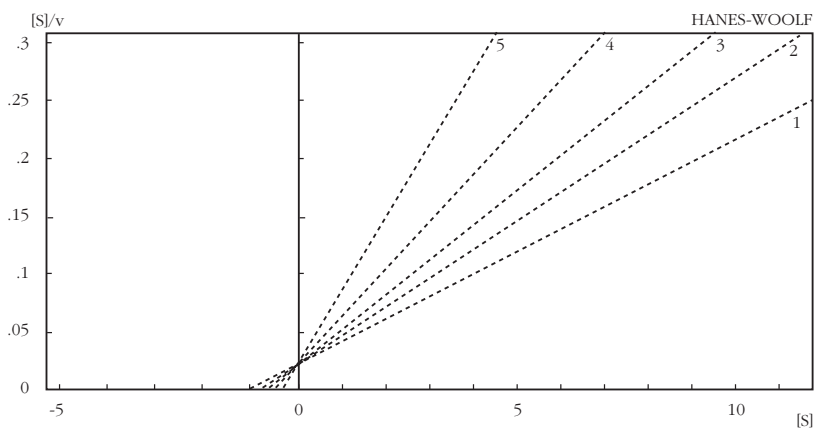
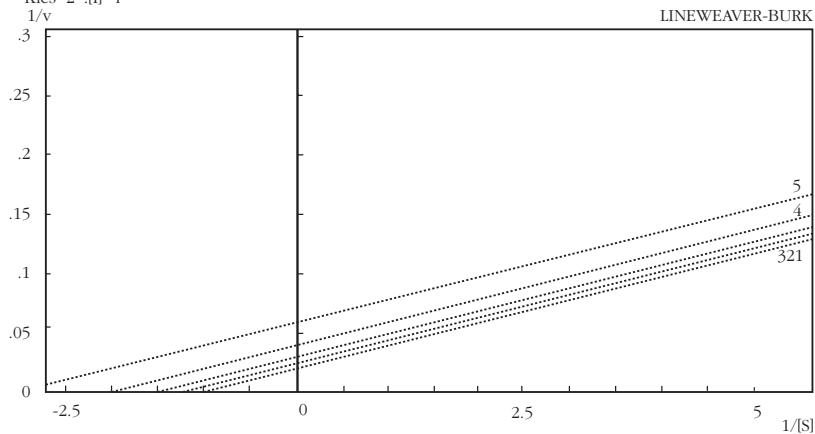




Ejercicio 10

OPCIÓN C

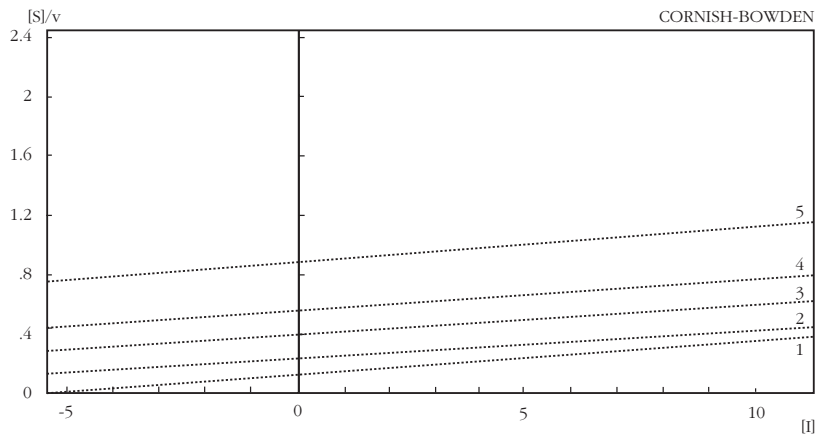
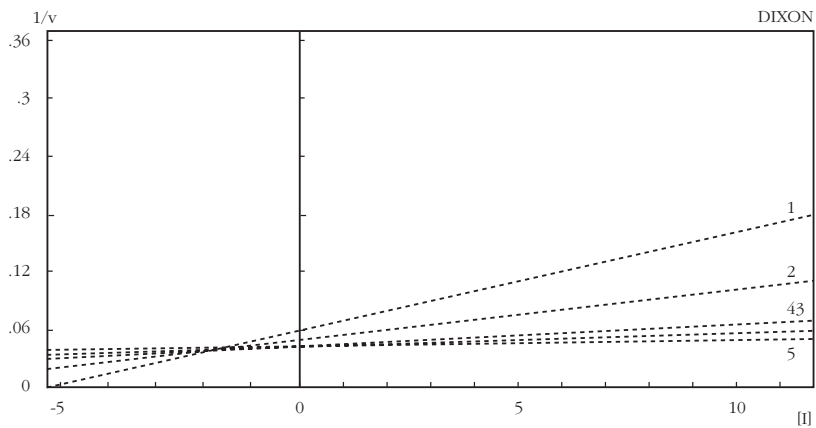
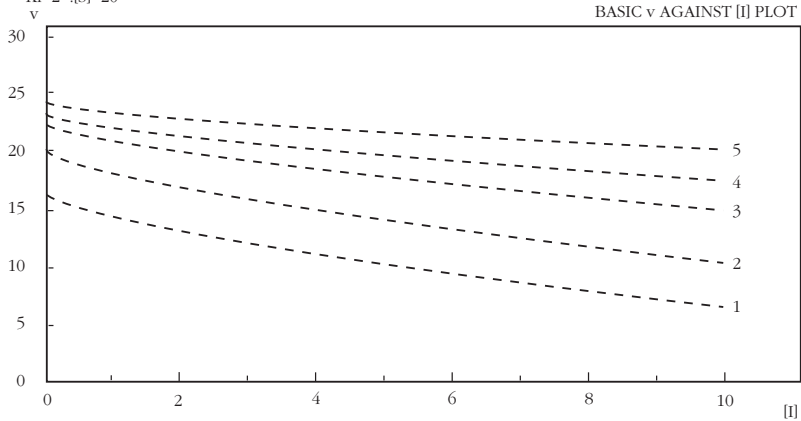
5: Km=1 Vmax=50  
Kies=2 :[I]=4  
Uncompetitive



Ejercicio 11

OPCIÓN C

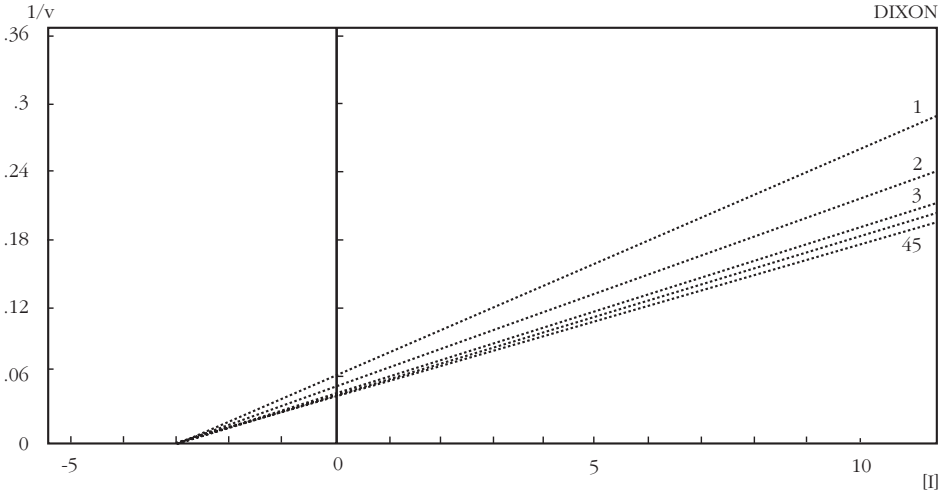
5:  $K_m=1$   $V_{max}=25$  Competitive  
 $K_i=2$  : $[S]=20$



Ejercicio 12

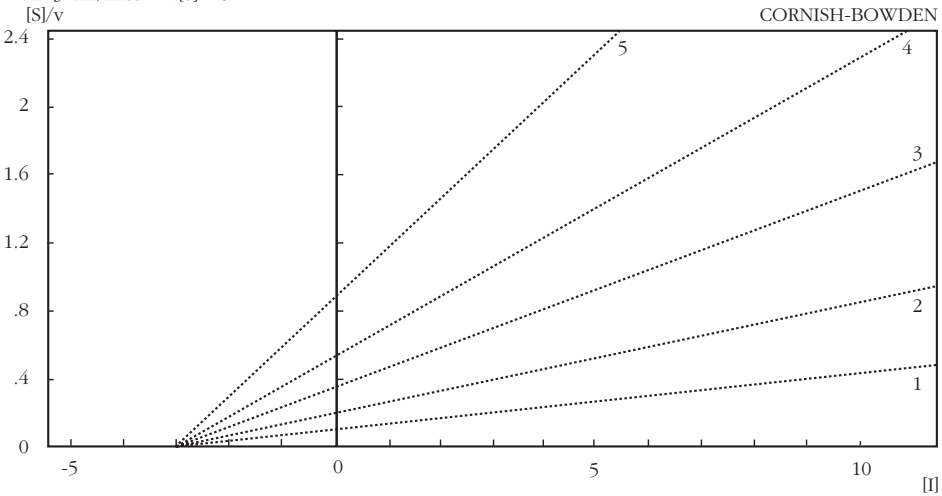
OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=25 Noncompetitive  
 Ki=3 :Ki/Kies=1 :[S]=20  
 1/v



OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=25 Noncompetitive  
 Ki=3 :Ki/Kies=1 :[S]=20  
 [S]/v

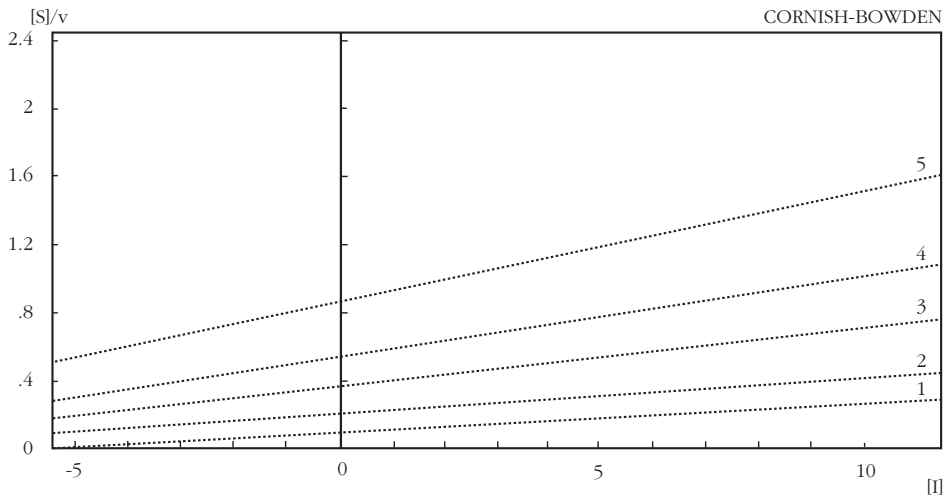
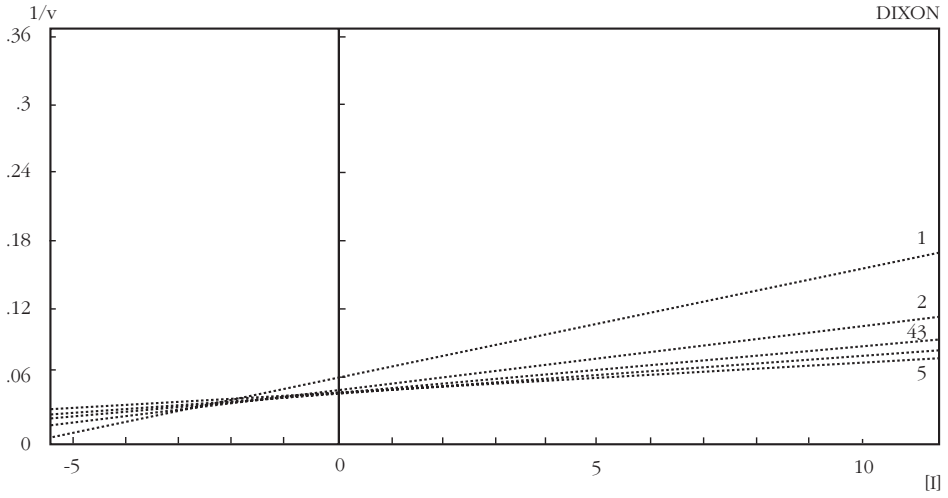


Ejercicio 13

OPCIÓN C

5:  $K_m=1$   $V_{max}=25$  Mixed

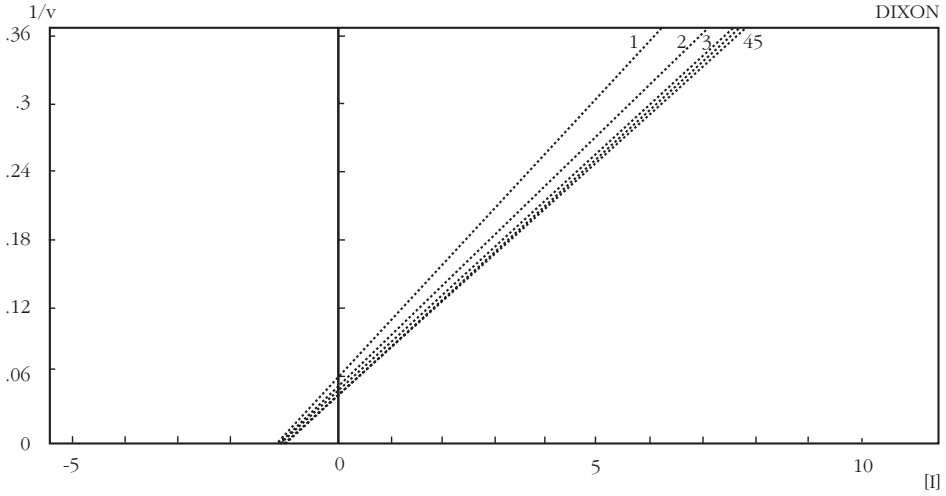
$K_i=3$  ;  $K_i/K_{is}=2$  ;  $[S]=20$



*Ejercicio 14*

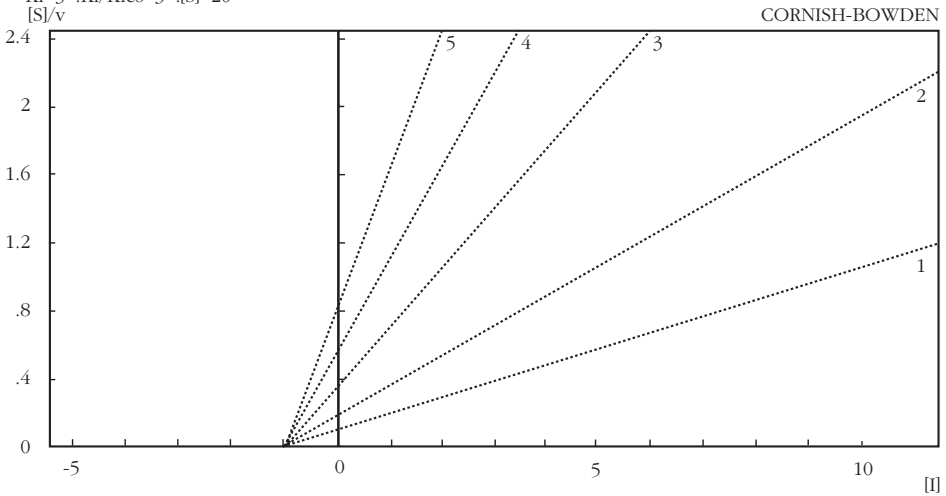
OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=25 Mixed  
 Ki=3 :Ki/Kies=3 :[S]=20  
 1/v



OPCIÓN C

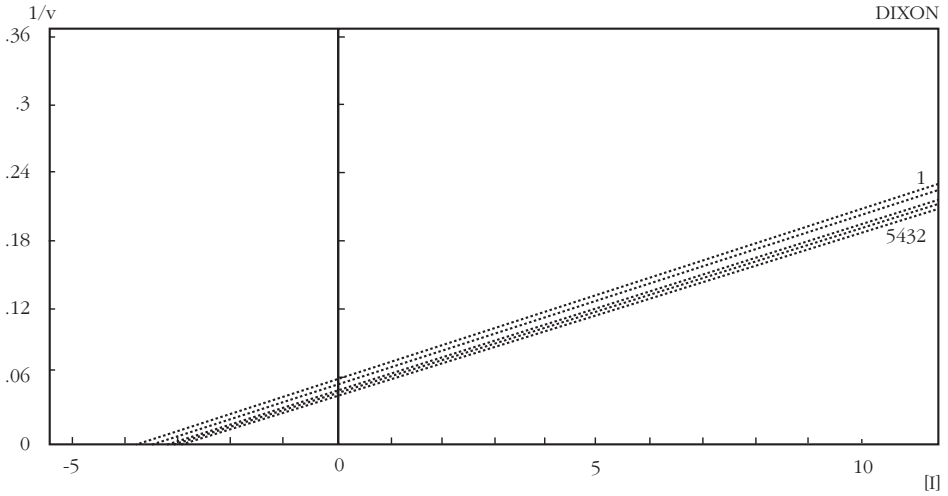
5: Km=1 Vmax=25 Mixed  
 Ki=3 :Ki/Kies=3 :[S]=20  
 [S]/v



Ejercicio 15

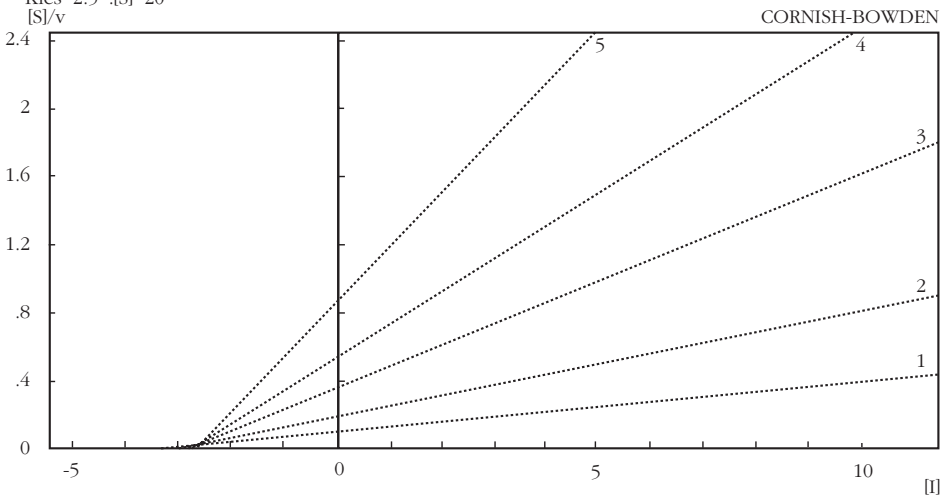
OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=25  
Kies=2.5 :[S]=20



OPCIÓN C

5: Km=1 Vmax=25  
Kies=2.5 :[S]=20



## LECTURAS RECOMENDADAS

- CORNISH-BOWDEN, A., 1995. "Fundamentals of enzyme kinetics". Portland Press (ISBN 85-578-072-0).
- PALMER, T., 1995. "Understanding Enzymes". Ed. Ellis Horwood, 2ª edición (ISBN 0-85312-874-X).
- PURICH, D.L.; SIMON, M.I. and J.N. ABELSON, 1996. "Contemporary Enzyme Kinetics and Mechanism". Academic Press (ISBN 012568052X).
- SCHULTZ, A.R., 1995. "From Diastase to Multi-Enzyme Systems". Cambridge University Press (ISBN: 0521445000).
- SEGEL, I.H., 1982. "Cálculos de bioquímica: cómo resolver problemas matemáticos de bioquímica general". Ed. Acribia (ISBN 84-200-0504-5).
- SEGEL, I.H., 1993. "Enzyme kinetics. Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme system". J. Wiley & sons (ISBN 0-471-30309-7).



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA  
1992-2002 / DÉCIMO ANIVERSARIO

material didáctico · **10** · agricultura y alimentación