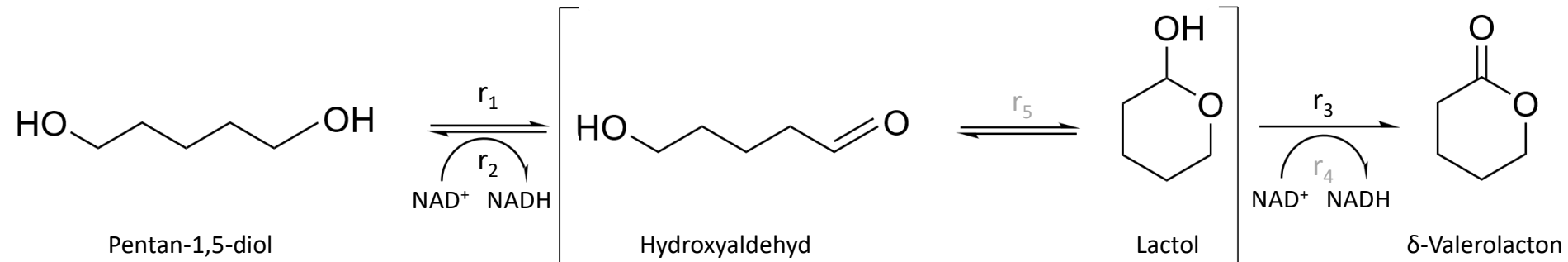


Erste Ergebnisse – Kinetische Charakterisierung von G37D



$$r_1 = \frac{v_{max,1} * c_{PD} * c_{NAD}}{(c_{PD} + K_{m,PD}) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$

$$r_2 = \frac{v_{max,2} * c_{HA} * c_{NADH}}{\left(c_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{c_{PD}}{K_{i,PD}} \right) \right) * (c_{NADH} + K_{m,NADH} \left(1 + \frac{c_{NAD}}{K_{i,NAD}} \right))}$$

$$r_3 = \frac{v_{max,3} * c_{Lactol} * c_{NAD}}{\left(c_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{c_{Lacton}}{K_{i,Lacton}} \right) \right) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$



Gleichgewicht schnell erreicht



Keine Rückreaktion von δ -Valerolacton



Kompetitive Inhibierung

MM-Kinetik für 2-Substrate

- 1-Substrat MM-Gleichung: $v = \frac{v_{max} * c}{c + K_M}$
- Für 2 Substrate werden einzelne Werte von c und K_M multipliziert
- Mechanismus ADH-Reaktion: Theorell-Chance (Sonderform von Ordered Bi-Bi) → kompetitive Inhibierung

Reaktionsgeschwindigkeit v

↓

$$r_1 = \frac{v_{max,1} * c_{PD} * c_{NAD}}{(c_{PD} + K_{m,PD}) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$

$$r_2 = \frac{v_{max,2} * c_{HA} * c_{NADH}}{\left(c_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{c_{PD}}{K_{i,PD}} \right) \right) * (c_{NADH} + K_{m,NADH} \left(1 + \frac{c_{NAD}}{K_{i,NAD}} \right))}$$

Kompetitive Inhibierung:

$\frac{c_i}{K_i}$ wird mit K_M multipliziert

$$v = \frac{v_{max} * c}{c + K_M * \left(1 + \frac{c_i}{K_i} \right)}$$

$$r_3 = \frac{v_{max,3} * c_{Lactol} * c_{NAD}}{\left(c_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{c_{Lacton}}{K_{i,Lacton}} \right) \right) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$

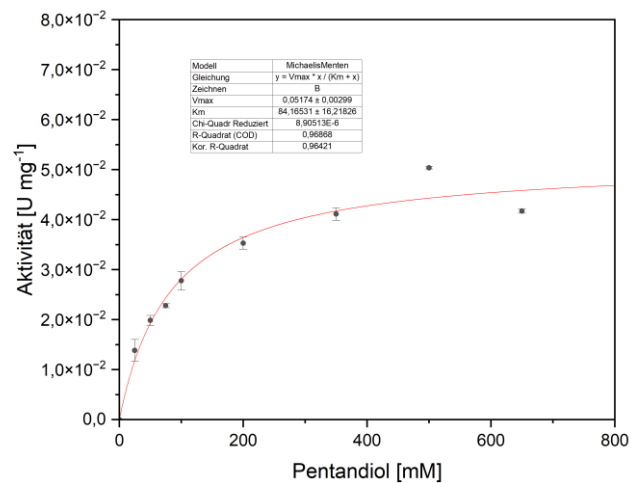
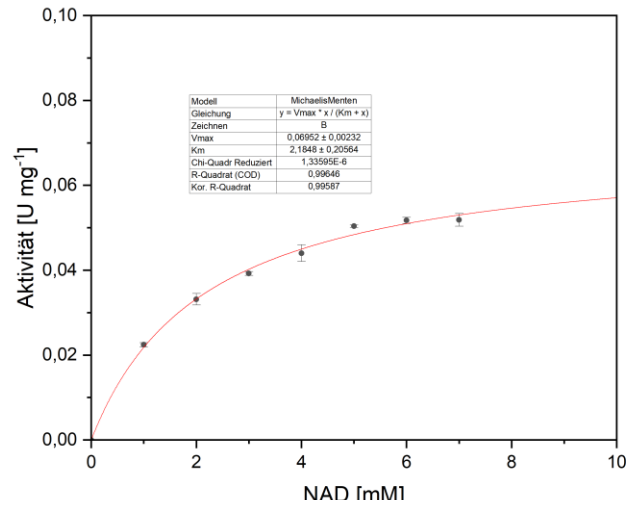


- Term für Inhibierung: $\frac{c_i}{K_i}$
- Kompetitiv: Inhibierungsterm wird mit K_M multipliziert
 - z.B. Produktinhibierung (Strukturelle Ähnlichkeit von Produkt & Substrat bei Biotransformationen)
 - $$v = \frac{v_{max} * c}{c + K_M * \left(1 + \frac{c_i}{K_i}\right)}$$
- Unkompetitiv: Inhibierungsterm wird mit c (Substratkonzentration im Nenner) multipliziert
 - z.B. Substratüberschussinhibierung ($c_i=c$)
 - $$v = \frac{v_{max} * c}{c * \left(1 + \frac{c_i}{K_i}\right) + K_M}$$
- Nicht-kompetitiv: Inhibierungsterm wird mit K_M und c (Substratkonzentration im Nenner) multipliziert
 - $$v = \frac{v_{max} * c}{(c + K_M) * \left(1 + \frac{c_i}{K_i}\right)}$$

➤ Entsprechende Multiplikationen von c- und K_M -Werten bei Mehrsubstratkinetik



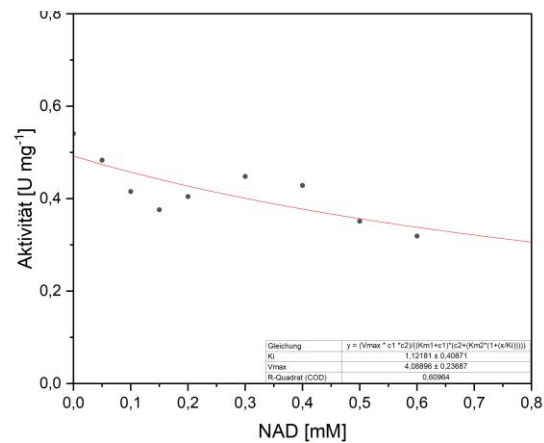
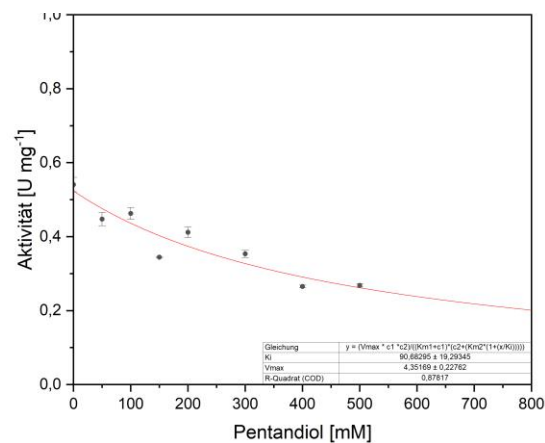
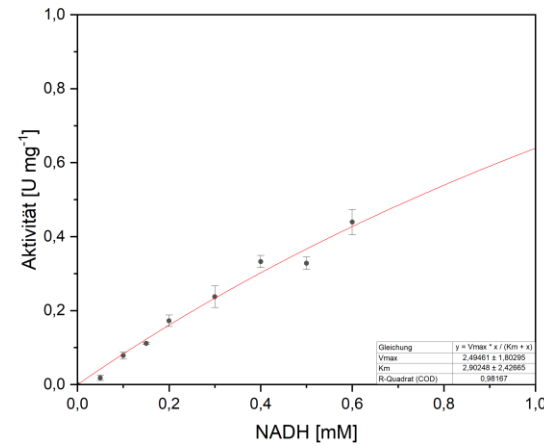
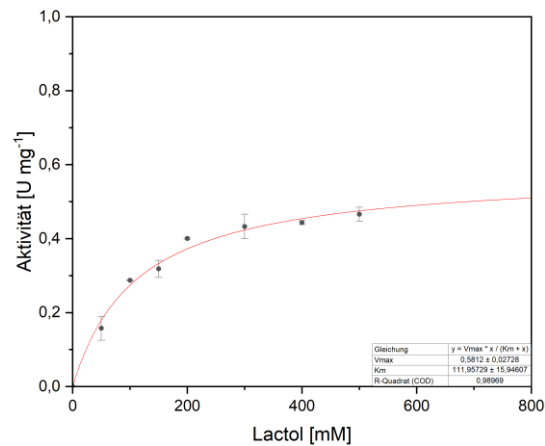
$$r_1 = \frac{v_{max,1} * c_{PD} * c_{NAD}}{(c_{PD} + K_{m,PD}) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$



Parameter	Einheit	Wert
$v_{max,1}$	U/mg	$0,07 \pm 0,002$
$K_{m,PD}$	mM	84 ± 16
$K_{m,NAD}$	mM	$2,2 \pm 0,2$



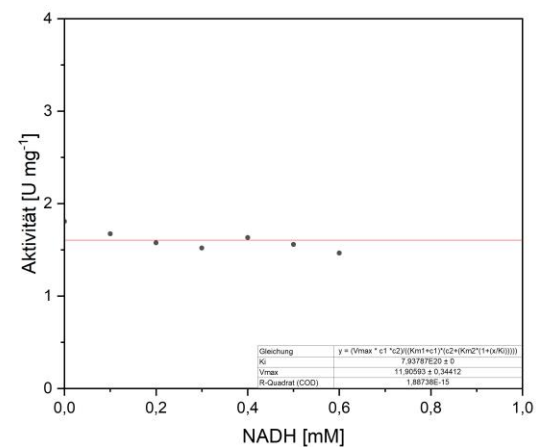
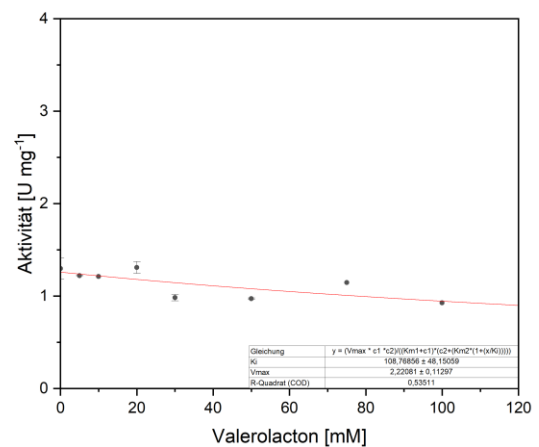
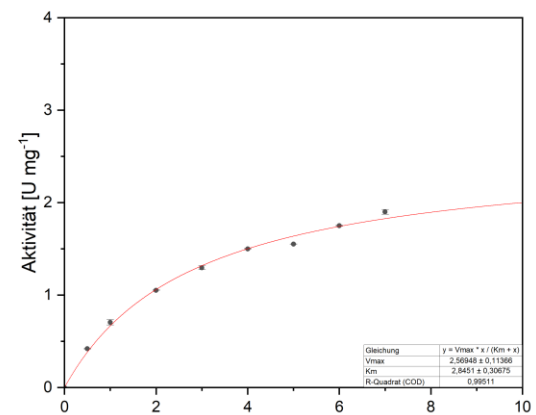
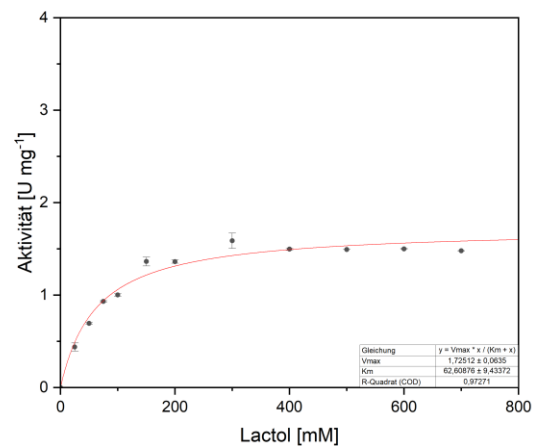
$$r_2 = \frac{v_{max,3} * C_{Lactol} * C_{NADH}}{\left(C_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{C_{PD}}{K_{i,PD}} \right) \right) * \left(C_{NADH} + K_{m,NADH} \left(1 + \frac{C_{NAD}}{K_{i,NAD}} \right) \right)}$$



Parameter	Einheit	Wert
$v_{max,2}$	U/mg	$2,26 \pm 1,63$
$K_{m,Lactol}$	mM	111 ± 16
$K_{m,NADH}$	mM	$2,9 \pm 2,42$
$K_{i,PD}$	mM	90 ± 19
$K_{i,NAD}$	mM	$1,12 \pm 0,4$



$$r_3 = \frac{v_{max,3} * c_{Lactol} * c_{NAD}}{\left(c_{Lactol} + K_{m,Lactol} \left(1 + \frac{c_{Lacton}}{K_{i,Lacton}} \right) \right) * (c_{NAD} + K_{m,NAD})}$$



Parameter	Einheit	Wert
$v_{max,3}$	U/mg	$2,3 \pm 0,1$
$K_{m,Lactol}$	mM	62 ± 9
$K_{m,NAD}$	mM	$2,8 \pm 0,3$
$K_{i,Lacton}$	mM	108 ± 48