

Enzim moduláció

Enzim inhibíció és kinetikája



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az enzim felületén:

Szubsztrátkötő-hely
Katalitikus domain = **AKTIV CENTRUM** } lehetnek azonosak is

Az aktivitást befolyásolhatják:
További kötőhelyek:
 fémionok (ionos és kelát formában)
 modulátor molekulák (inhibítor, aktivátor)

A fehérje kovalens módosítása:
 foszforilezés
 glikozilálás
 proteolízis



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

ENZIM MODULÁCIÓ

Modulátorok hatása

Inhibítorok:
csökkentik a
reakciósebességet

v_i

Az inhibíció mértéke:


$$\mathcal{E}_i = \frac{v_0 - v_i}{v_0}$$

Aktivátorok:
növelik a
reakciósebességet

v_a

az aktiválás mértéke:

$$\mathcal{E}_a = \frac{v_a - v_0}{v_0}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

INHIBÍCIÓ

REVERZIBILIS

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P$$

↓↑
EI

IRREVERZIBILIS

$$E + S \xrightleftharpoons{K_s} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

↓
EI

eldöntése:

Bány Tanszék 4

INHIBÍCIÓ

<p>komplett, teljes</p> <p>Az enzim a kötődés hatására teljesen elveszti aktivitását.</p> <p>„Lineáris” inhibíció</p> <p>A DIXON féle linearizált kinetikai diagramok alakjából.</p> <p>DIXON ábrázolás: $1/v - I$ (inhibitor koncentráció)</p>	<p>részleges inhibíció</p> <p>Az aktivitás csak csökken, egy része megmarad.</p> <p>„Hiperbolikus” inhibíció →</p>
---	---

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 5

Irreverzibilis inhibitorok

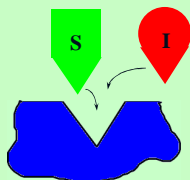
Di-izopropyl-foszfofluoridát: a sarin ideggáz prototípusa Irreverzibilisen inaktiválja az acetilkolinészterázt (Serproteázokat). A Ser195-hez kovalensen kötődik (az aktív centrumban)

Hasonlók: [Malathion](#), [ethyl parathion](#) (szerves foszfát peszticidek)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 6

1. Kompetitív inhibíció

Versengés S és I között az E aktív helyéért, vagy-vagy:
kölcsonös kizárás



I lehet:

- szubsztrát analóg
- alternatív szubsztrát
- termék

1. MODEL: Klasszikus kompetitív inhibíció
Az I verseng S-sel ugyanazon aktív hely elfoglalásáért

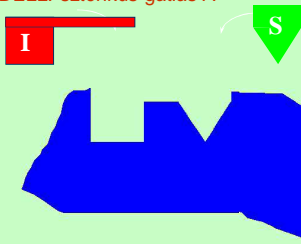


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Kompetitív inhibíció

2. MODEL: sztérikus gátlás A



I kötődése egy másik kötőhelyhez térbelileg gátolja S-nek az aktív helyhez kötését.

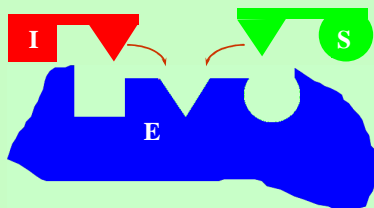


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Kompetitív inhibíció

3. MODEL: sztérikus gátlás B



I és az S egy analóg része verseng egy közös kötőhelyért.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

Kompetitív inhibíció

4. MODELL: átlapolás

1 és 3 kötőhely köti az inhibitor, a 2 és 4 kötőhely pedig a szubsztrátot, de egymást kölcsönösen kizárják.

10

Kompetitív inhibíció

5. MODELL:

I kötődése az enzimhez konformáció változást okoz az enzimben és ez megakadályozza S-nek az aktív centrumhoz kötődését.

Ilyen a végtermék gátlás (feed back inhibíció) is.

11

A kompetitív inhibíció kinetikája

A klasszikus kompetitív inhibíció kinetikája:

$$E + S \xrightleftharpoons[k_s]{k_s} ES \xrightarrow{k_p} E + P$$

$$E + I \xrightleftharpoons[k_i]{k_i} EI \xrightarrow{k_{app}} E + P'$$

$$K_s = \frac{E \cdot S}{(ES)}$$

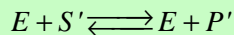
$$K_i = \frac{E \cdot I}{(EI)}$$

- ha $k_{app} > 0$ akkor I alternatív szubsztrát
- ha $k_{app} = 0$ akkor I „dead end” kompetitív inhibitor

12

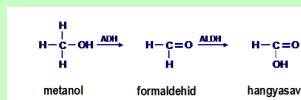
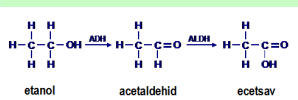
A kompetitív inhibíció kinetikája

Alternatív szubsztrát: az enzim az analóg szerkezetű molekulával is végrehajtja a reakciót → alternatív termék keletkezik.



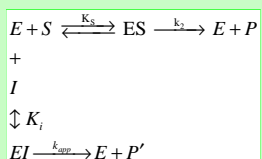
A csoportspecifikus és régióspecifikus enzimeknek értelemszerűen több alternatív szubsztrátja van.

Példa: máj enzimek: alkohol dehidrogenáz, aldehid dehidrogenáz



A kompetitív inhibíció kinetikája

Analóg kinetikai levezetés:



$$K_s = \frac{E \cdot S}{(ES)} \quad K_i = \frac{E \cdot I}{(EI)}$$

a „minket érdeklő” reakciósebesség:

$$V = \frac{dP}{dt} = k_2(ES)$$

anyagmérleg az enzimre:

$$E_0 = E + (ES) + (EI)$$

A kompetitív inhibíció kinetikája

Osszuk el a két egyenletet:

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2(ES)}{E + (ES) + (EI)}$$

Helyettesítsük be:

$$K_s = \frac{E \cdot S}{(ES)} \quad K_i = \frac{E \cdot I}{(EI)}$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2 E \frac{S}{K_s}}{E + E \frac{S}{K_s} + E \frac{I}{K_i}} \rightarrow \frac{V}{E_0} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i}}$$

$V_{\text{max}} = k_2 E_0$

A kompetitív inhibíció kinetikája

A sebességet végül ebben az egyszerű formában írhatjuk fel:

$$\frac{V}{V_{max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

vagy:

$$V = V_{max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

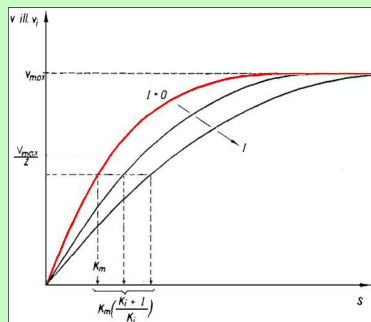
vagy:

$$v_i = \frac{v_{max}(S)}{K_s \left[\frac{K_i + (I)}{K_i} \right] + (S)}$$



A kompetitív inhibíció kinetikája

Figyeljük meg, hogy a két kinetikai paraméter (K_s , V_{max}) közül csak K_s változott, látszólag csökkent az enzim affinitása a szubsztráthoz.



V_{max} értéke nem változik, a K_m növekszik



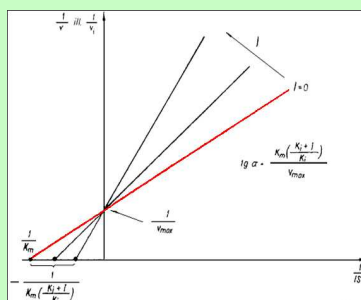
A kompetitív inhibíció kinetikája

A Lineweaver-Burk féle lineárizált ábrázolásban az egyenes egyenlete:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S}$$

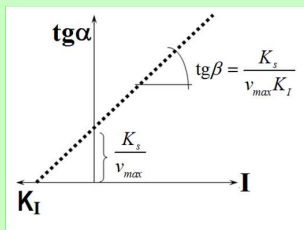
$1/V_{max}$ értéke nem változik (közös metszéspont), az $1/K_m$ csökken.

Így azonosítható a kompetitív inhibíció!



A kompetitív inhibíció kinetikája

A Lineweaver-Burk féle linearizált egyenesekből másodlagos ábrázolással további információt kaphatunk: a meredekségeket az inhibitor koncentráció függvényében ábrázolva a tengelymetszet megadja a K_I -t.



$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{K_s}{V_{\max}} \left(1 + \frac{I}{K_I} \right) = \frac{K_s}{V_{\max}} + \frac{K_s}{K_I V_{\max}} I$$



Néhány számítás

A L-B egyenes meredeksége arányos az I koncentrációval. Mekkora I duplázza meg az inhibitor nélküli L-B egyenes meredekségét?

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{K_s}{V_{\max}} \cdot I$$

$$2 \operatorname{tg} \alpha = \frac{K_s}{V_{\max}} \left(1 + \frac{I}{K_I} \right)$$

$$2 = \left(1 + \frac{I}{K_I} \right)$$

$$I = K_I$$

Azaz $I=K_I$ esetben lesz kétszeres a meredekség.

De ez nem jelent 50%-os inhibíciót!

$v_i/v = 0,5$ kiszámítása: →



Néhány számítás

Adott S-nél melyik az az I, amelyik 50%-os inhibíciót okoz?

$$\frac{V_i}{V} = 0,5 = \frac{\frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_I} \right) + S}}{\frac{S}{K_s + S}}$$

$$I = K_I \left(\frac{S}{K_s} + 1 \right)$$



Kompetitív inhibíció

Alternatív szubsztrátok : hexokináz: glükóz, fruktóz
 S-analógok: gyógyszerek:

CC(N)C(=O)O
 D-alanin

C1CCNC1C(=O)O
 cikloszerin

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 22

Kompetitív inhibíció

Szulfonamidok (mikrobaellenes szerek) hatásmechanizmusa:

Nc1ccc(cc1)C(=O)O p-NH₂-benzoesav (PABA)

↓ a PABA-t az enzim folsavvá alakítja

Nc1ccc(cc1)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)O Folsav

a baktérium számára szükséges vitamin

~~Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)Nc2cnc(C)c2 Szulfametoxazol~~

PABA analóg, blokkolja a folsav szintézist

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

OC(=O)CC(=O)CC(=O)O
 borostyánkősav
S

OC(=O)C=CC(=O)O
 fumársav
P

OC(=O)CC(=O)O
 malonsav
I

szukcinát-dehidrogenáz (2H⁺)

Szukcinát-dehidrogenáz(1.3.99.1)
 S = szukcinát I = fumarát K_i = 1,9 · 10⁻³ mmol/l

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 24

Analóg inhibíciók

kompetitív inhibíció:

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

termék inhibíció:

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{P}{K_p}\right) + S}$$

alternatív, versengő szubsztrátok esetén:

$$V_1 = V_{1\max} \frac{S_1}{K_{S1} \left(1 + \frac{S_2}{K_{S2}}\right) + S_1}$$

$$V_2 = V_{2\max} \frac{S_2}{K_{S2} \left(1 + \frac{S_1}{K_{S1}}\right) + S_2}$$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

Az inhibitor az enzimnek egy másik kötőhelyéhez kapcsolódik és nem befolyásolja a szubsztrát kötődését – nem változtatja meg az enzimnek a szubsztráthoz való affinitását.

Csak a rapid ekvilibrium körülményei között létezik, $K_s=K_m$.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

$$\begin{array}{c}
 E + S \xrightleftharpoons{K_s} ES \xrightarrow{k_p} E + P \\
 + \quad \quad \quad + \\
 I \quad \quad \quad I \\
 \sqrt{\quad} K_i \quad \quad \quad \sqrt{\quad} K_i \\
 EI + S \xrightleftharpoons{K_s} ESI
 \end{array}$$

$$K_s = \frac{E \cdot S}{ES} = \frac{EI \cdot S}{ESI} \quad \text{és} \quad K_i = \frac{E \cdot I}{EI} = \frac{ES \cdot I}{ESI}$$

$V = k_p(ES)$

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{ES}{E + ES + EI + ESI}$$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
28

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{K_s K_i}}$$

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{ES}{E + ES + EI + ESI}$$

vagy

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}$$

$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{ahol} \quad V_{\max} = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}}$

illetve

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \frac{S}{K_s + S}$$

Az inhibitor a látszólagos V_{\max} értéket változtatja meg, K_s (illetve K_m) értékét nem befolyásolja.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
29

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

$$\text{tg } \alpha = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max} K_i} I$$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
30

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

Példák:

Mekkora I duplázza meg a L-B egyenes meredekségét?
 Mekkora I okoz 50%-os inhibíciót?

Ugyanaz a megoldás: $\rightarrow I = K_I$


$$tg \alpha = \frac{K_S}{V_{max}} \cdot I$$

$$2tg \alpha = \frac{K_S}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_I} \right)$$

Példák:

Kreatinkináz (2.7.3.2)
 S= kreatin/ATP inhibitor: ADP $K_I = 2 \cdot 10^{-3}$

Fruktóz-bifoszfátáz (3.1.3.11)
 S=Dfr-1,6biP inhibitor: AMP $K_I = 1,1 \cdot 10^{-4}$



31
 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

Példák:

H⁺ ionok hatása a **kimotripszin** esetében. Itt az aktív centrumban egy proton akceptor hely van, amely inhibeálható növekvő H⁺-ion koncentrációval.

(A L-B ábrázolás tiszta nemkompetitív inhibíciót mutat, azonban ne feledkezzünk meg arról, hogy a pH-nak hatása van a fehérje molekula más részeire is).

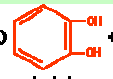
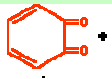
nehézfém molekulák (-SH reagensek) vagy **cianidok**. Ezeknél azonban a hatás gyakran irreverzibilis.



32
 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

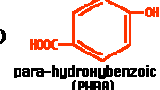
NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

Az almászelet levegőn megbarnul: o-difenol-oxidáz, katechin-oxidáz: katechín \rightarrow o-kinon

(A)  + 1/2 O₂ \rightarrow  + H₂O


catechol o-quinone

ez tovább oxidálódik barna termékekké

(B) 

para-hidroxibenzoic acid (PABA)

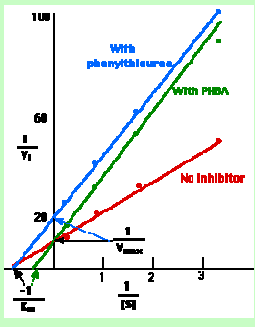
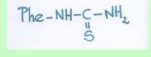
(hasonló enzim: tirozináz [tirozin](#) \rightarrow [melanin](#).)



33
 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

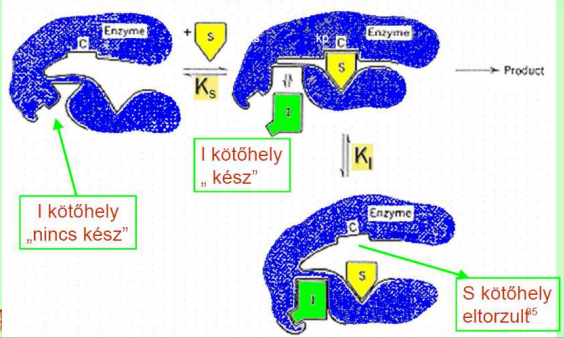
NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

A katechin-oxidáz kompetitív inhibitora: para-hidroxi-benzoésav (PHBA), ugyanoda kötődik, mint a katechin.
 nem-kompetitív inhibitora: feniltiourea – ez egy rézionhoz kötődik, ami szükséges az enzim működéshez.



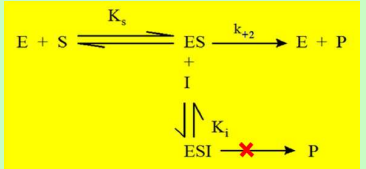
UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

I csak a már létrejött ES komplexhez kötődik.



UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

I csak a már létrejött ES komplexhez kötődik



$$v = kp(ES) \qquad K_s = \frac{E \cdot S}{ES} \quad \text{és} \quad K_i = \frac{ES \cdot I}{ESI} \qquad \frac{V}{V_{max}} = \frac{ES}{E + ES + ESI}$$

UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{SI}{K_s K_i}}$$

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}$$

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i} \left(\frac{1}{K_s} + S \right)}$$

mint a nemkomp.inh. a kompetitív fordítottja, K_s csökken

Az unkompetitív I a K_s és V_{\max} értékét ugyanolyan mértékben csökkenti

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
37

UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right) K_m + S}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$$

nem inhibeált

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
38

4. KEVERT TÍPUSÚ INHIBÍCIÓ

A kevert inhibíció sémája a nem-kompetitív inhibícióra hasonlít,

$$\begin{array}{c}
 E + S \xrightleftharpoons{K_s} ES \xrightarrow{k_p} E + P \\
 + \qquad \qquad \qquad + \\
 I \qquad \qquad \qquad I \\
 K_i \updownarrow \qquad \qquad \updownarrow \alpha K_i \\
 EI + S \xrightleftharpoons{K_s} ESI
 \end{array}$$

de:
 az I jelenléte módosítja **S**-nek ES-ről történő disszociációját.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
39

KEVERT TÍPUSÚ INHIBÍCIÓ

A kevert típusú inhibíció kinetikájának levezetése megegyezik a nem-kompetitívval, annyi eltéréssel, hogy az ESI hármas komplex koncentrációjának behelyettesítésénél bekerül az α tényező:

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{\alpha K_s K_i}}$$

vagy kissé átalakítva:

$$v = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$$



KEVERT TÍPUSÚ INHIBÍCIÓ

Vagy ha a két kinetikai paraméter változását fejezzük ki:

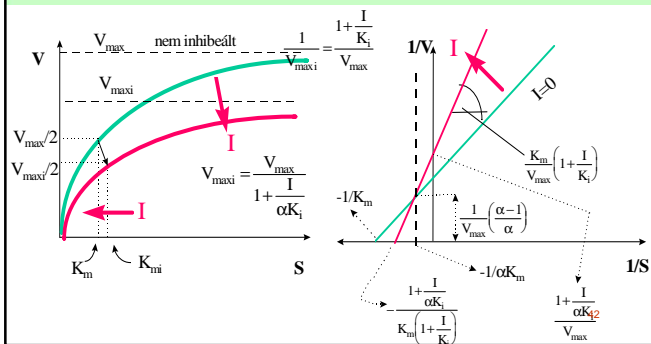
$$v = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)} \cdot \frac{S}{K_s \cdot \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

$$V_{\max i} = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$$

$$K_{si} = K_s \cdot \frac{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$$



KEVERT TÍPUSÚ INHIBÍCIÓ




KEVERT TÍPUSÚ INHIBÍCIÓ

A kevert típusú inhibícióból szinte mindegyik előbb tárgyalt levezethető a reakcióséma részeinek elhagyásával:

$$E + S \xrightleftharpoons{K_s} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$\alpha < 1$ unkompetitív : ∞ kompetitív



43
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék


INHIBÍCIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA

S és I kölcsönösen kizárják egymást az enzimről **KOMPETITÍV**

S és I egymástól függetlenül kötődnek az enzimre **NEMKOMPETITÍV**

mint az előző, de az I megváltoztatja az enzim affinitását **KEVERT TÍPUSÚ**


I csak a S után kötődik **UNKOMPETITÍV**



44
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

INHIBÍCIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA

kompetitív	nemkompetitív	unkompetitív
$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$	$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} \cdot \frac{S}{K_s + S}$	$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}$
kevert		$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\frac{K_m}{\alpha} + S}$
$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$		
$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)} \cdot \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$		



45
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

INHIBÍCIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA

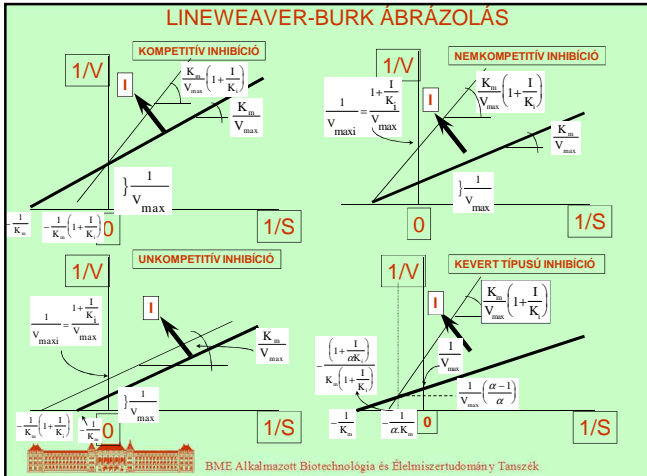
A kinetikai paraméterek (v_{max} , K_s) meghatározásához nem szükséges az egyenletek linearizálása. Az inhibíció típusának azonosításához viszont nagy segítséget nyújt:



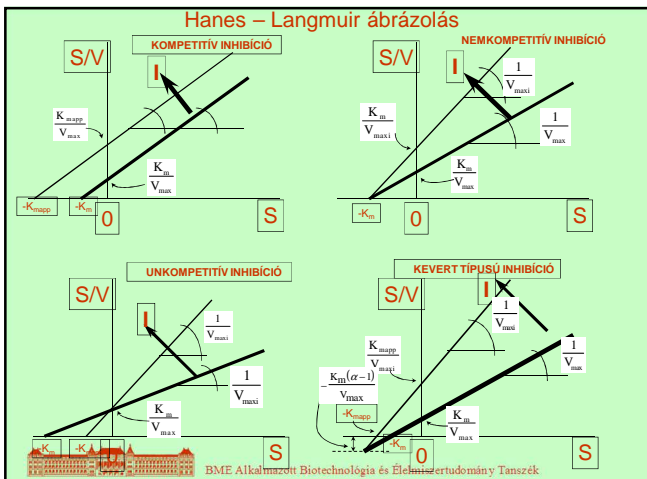
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

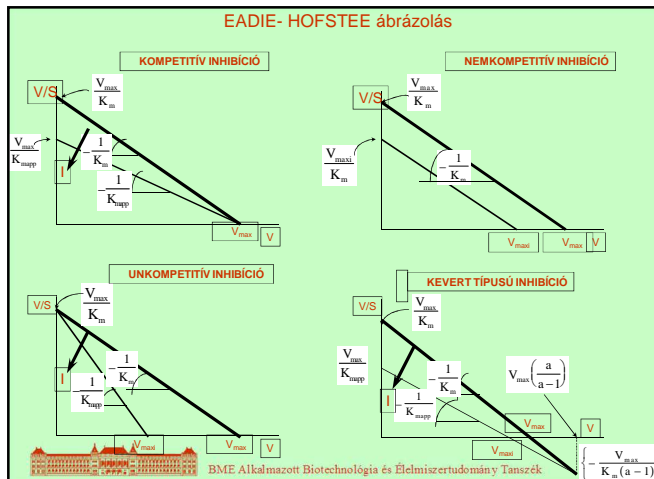
46

LINEWEAVER-BURK ÁBRÁZOLÁS



Hanes – Langmuir ábrázolás





Egy újabb linearizálás: DIXON

Az inhibíciós kinetikák vizsgálatához használható az $1/v - I$ (Dixon féle) ábrázolás is. Itt azonos S értékekhez tartozó sebesség értékeket vizsgálunk. Ha ezek egyenest adnak, akkor az inhibíció lineáris. Az egyenesek elhelyezkedése segít beazonosítani az inhibíció típusát és kinetikai konstansait.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Kompetitív inhibíció:

L-B: $\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{K_s}{v_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S}$ Dixon: $\frac{1}{v_i} = \frac{1}{v_{max}} \left(1 + \frac{K_s}{S}\right) + \frac{K_s}{v_{max} K_i S} I$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Nemkompetitív inhibíció:

L-B: $\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$ **Dixon:** $\frac{1}{V_i} = \frac{1 + \frac{K_m}{S}}{V_{max} K_i} I + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_m}{S}\right)$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 52

Unkompetitív inhibíció:

L-B: $\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$ **Dixon:** $\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max} K_i} I + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_m}{S}\right)$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

A szubsztrátnak ahhoz, hogy termékképző átmeneti komplex jöjjön létre, két vagy több helyen kell, hogy az enzimhez kötődjék.

Sok S molekula esetén egy S molekula az egyik, a másik pedig egy másik kötőhelyhez kapcsolódik, így inaktív komplexek jönnek létre (ez is reverzibilis inhibíció).

Normális kapcsolódás

S-inhibíció

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 54

SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

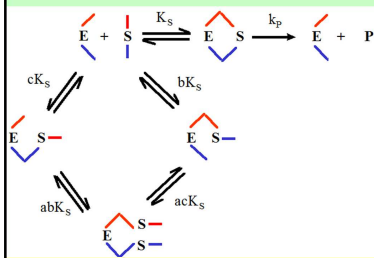
- Nagy S koncentrációnál egy S molekula olyan kötőhelyhez is kapcsolódhat az enzimen, amely nem az aktív centrum része, az ilyen kötődés NEMKOMPETITÍV (v. unkompetitív) módon megakadályozza a normális S kötődést.
- Az enzim működéséhez szükség lehet egy AKTIVÁTOR molekulára. Ha ez kapcsolódni képes a szubsztráttal, sok S molekula "elvonja" az enzimtől az aktivátort, így csökkentve annak tényleges aktivitását.
- Két (vagy több) szubsztrátos reakciók esetén az egyik szubsztrát feleslege lekötöheti a másik szubsztrát kötő helyeit, megakadályozva a szükséges második szubsztrát kapcsolódását, így inaktív komplexek jönnek létre.
- Nagy S koncentráció aspecifikus módon is gátolhatja a reakciót, például az inerősség megnövekedése miatt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

55

SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ



b és **c** – a K_s disszociációs állandó megváltozását mérő faktorok egyszeres S kötés esetén,
a - kölcsönhatási együttható

Rendszerint mindegyik > 1

$$V = V_{max} \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} \left(1 + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} \right) + \left(\frac{S}{K_s} \right)^2 \frac{1}{abc}}$$

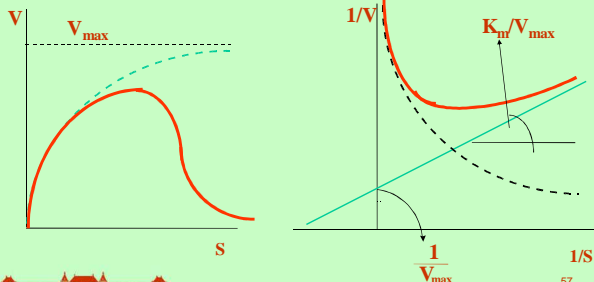
$$V = V_{max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{aK_s}}$$

elhanyagolható a^*

56

SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

L-B ábrázolásban egy egyenes és egy hiperbola szuperpozíciója.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

57

SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

A szubsztrát inhibíció értelmezhető az unkompetitív inhibíció egy speciális eseteként, amikor a szubsztrát viselkedik inhibitoriként: eredeti: I helyett S:

$$v = v_{\max} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{1}{K_i}\right)}$$

$$v = v_{\max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

A szubsztrát inhibícióra levezettük:

$$v = v_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{a * K_s}} = v_{\max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Látható az analógia, $K_i = a * K_s$



SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

$$v = v_{\max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Kis szubsztrát koncentrációknál $S/K_i \rightarrow 0$, ekkor visszajuk a M-M alakot:

$$v = v_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

Nagy szubsztrát koncentrációknál K_s elhanyagolható, így a reakciósebesség hiperbolikusan csökken:

$$v = v_{\max} \frac{1}{1 + \frac{S}{K_i}}$$



SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

