

Лекція 7 Інгібітори ферментів

Питання для розгляду

Поняття «інгібітори ферментів»

Кінетична класифікація інгібіторів. Незворотне й зворотне інгібування

Типи інгібування конкурентний, неконкурентний, змішаний.

Визначення типу інгібування

Окремі випадки інгібування субстратом і продуктом реакції

Інгібітори ферментів

Окрім звичайних чинників (розчинник, температура, рН), на швидкіс ферментативних процесів впливає присутність деяких специфічних для даного ферменту з'єднань, які прийнято називати або інгібіторами (якщо вони вповільнюють перебіг реакції), або активаторами (якщо вони прискорюють процес). Ефектори ферментативних реакцій підрозділяють на «оборотні» (зв'язуються з ферментом нековалентно) і «необоротні» (утворюють із ферментом ковалентні зв'язки). У свою чергу оборотні ефектори ділять на конкурентні й неконкурентні.

Необоротні (як правило, неприродного походження):

хлормеркурібензоат (зв'язує групу утворення $-SH$)

диізопропілфторфосфат (інгібітор протеїнази естераз).

Оборотні інгібітори – клітинні метаболіти й діють як

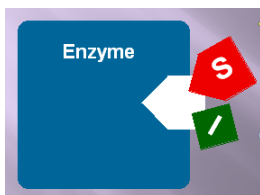
- а) конкурентні інгібітори;
- б) неконкурентні інгібітори
- в) безконкурентні інгібітори

Типи інгібування конкурентний, неконкурентний, змішаний

Тип інгібітора визначають експериментально, керуючись ринання Міхаеліса-Менент і Лайнуївера-Берка.

Конкурентне інгібування

Основною особливістю конкурентного інгібування є те, що інгібітор, як субстрат, зв'язується в активному центрі ферменту (рис.1)



Як правило конкурентні інгібітори є аналогами субстрату, що зберігають усе (або більшість) функціональних груп, необхідних для пов'язання з ферментом, але не здатні утворювати фермент-субстратний комплекс, який потім перетворюється на продукт, або фермент-інгібіторний комплекс (EI). Пов'язання інгібітору з ферментом і субстратом одночасно неможливе.

Характерною особливістю конкурентного інгібування є те, що при постійній концентрації інгібітору збільшення концентрації субстрату підвищує активність ферменту, і при будь-якій концентрації інгібітору завжди знайдеться концентрація субстрату, повністю оновлюючого активні центри ферменту (інгібітор повністю витісняється з активних центрів ферменту надлишком субстрату).

При конкурентному гальмуванні, інгібітор зв'язується тільки з вільним ферментом, тим, що не входить до складу комплексу ES.

Залежність швидкості реакції від концентрації інгібітору за Міхаелісом-Ментен виглядає так (рис. 2)

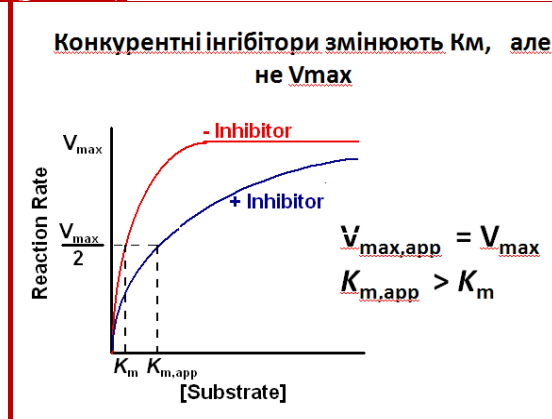
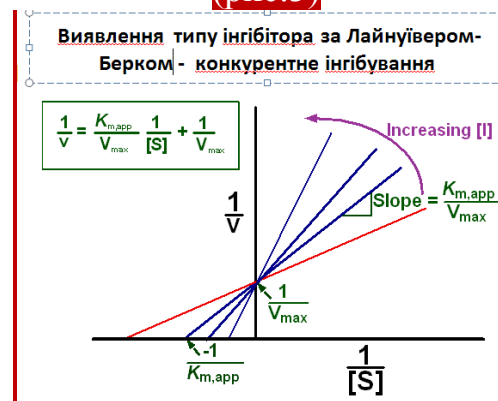


Рис. 2 – Конкурентне інгібування активності ферменту за графіком ММ. За графіком Лайнуївера – Берка тип конкурентного інгібітору виглядає так (рис.3)



У протилежність конкурентному інгібуванню неконкурентні інгібітори впливають на константу Міхаеліса, але зменшують максимальну швидкість ферментативного процесу.

$K_i = \frac{[E][I]}{[Ei]}$, чим менше K_i , тим сильніше інгібітор. Так, малоновощавлевооцтова й глутарова кислоти інгібують фермент сукцинатдегідрогеназу субстратом якої є янтарна кислота, оскільки вони схожі в будові із субстратом.

Сульфаніламідні антибактеріальні препарати мають схожу будову параамінобензойною кислотою і є конкурентними інгібіторами в синтезі бактеріями фолієвої кислоти (чинника зростання бактерій). У людини немає такого метаболічного шляху й у лікувальних дозах вони не впливають

життєдіяльність людини, надаючи загальний бактеріостатичний ефект (порушуючи в деякій мірі діяльність кишкової мікрофлори).

Неконкурентне інгібування

виявляється при зв'язуванні інгібітору з ферментом поза активним центром, але при цьому міняється структура активного центру й зв'язок субстратом стає неможливим.

$E + I \rightleftharpoons EI$? $U\text{Ш} + \text{Ы} \rightleftharpoons \text{ЮЮ}$ (неможливо) (Рис.4).

Неконкурентне інгібування

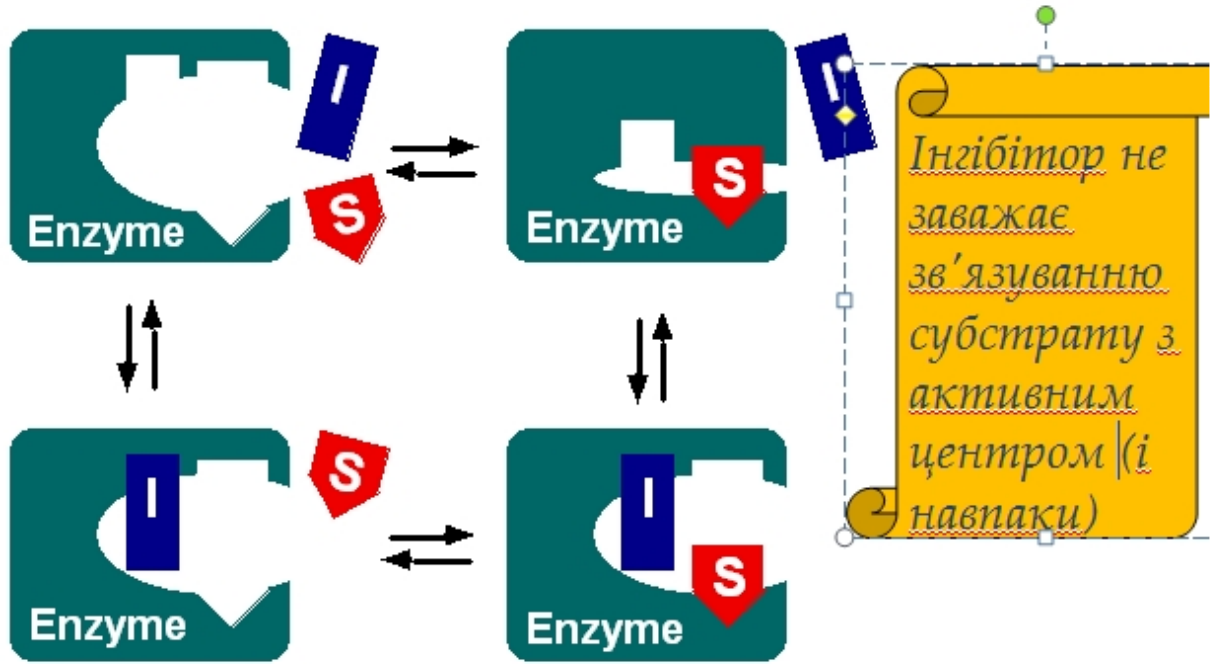


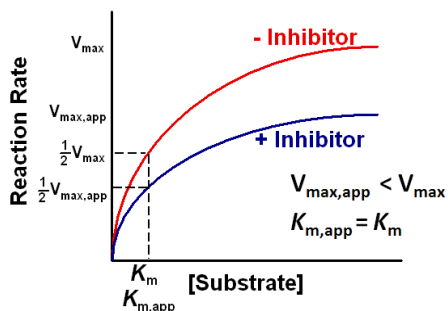
Схема взаємодії фермент-субстрат –інгібітор при неконкурентному інгібуванні (рис.5):

Неконкурентний інгібітор - механізм дії



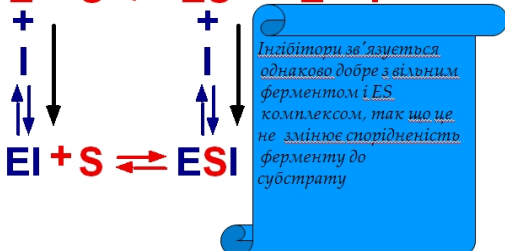
Кінетика у присутності неконкурентного інгібітора(рис.6).

Неконкурентні інгібітори зменшують V_{max} , але не впливають на K_m



Чому не змінюється K_m в умовах дії неконкурентного інгібітору?

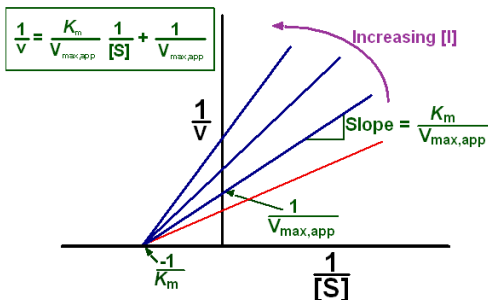
Чому не змінюється K_m при дії неконкурентного інгібітору?



Тому, що інгібітор добре зв'язується як з вільним ферментом, так і з ферментом у складі ES комплексу.

Відповідно до Лайнуївера-Берка

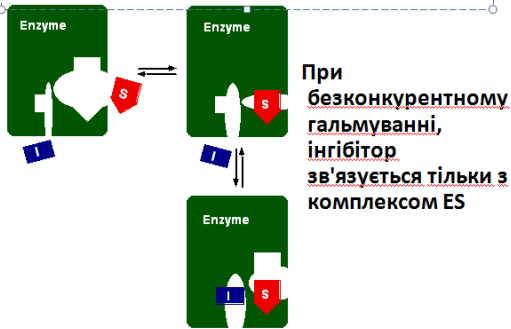
Графіки Лайнуївера-Берка при неконкурентному інгібуванні



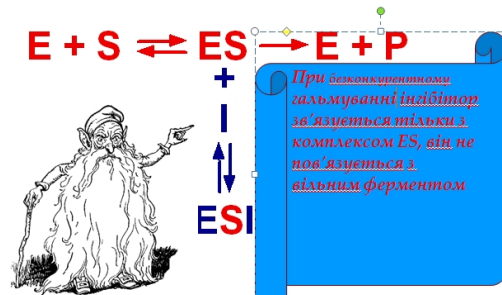
неконкурентні інгібітори зменшують максимальну швидкість, але не впливають на K_m .

Безконкурентне інгібування - результат приєднання інгібітору тільки після утворення ензим-субстратного комплексу: $E + S = ES$; $ES + I = ESI$

Безконкурентне інгібування

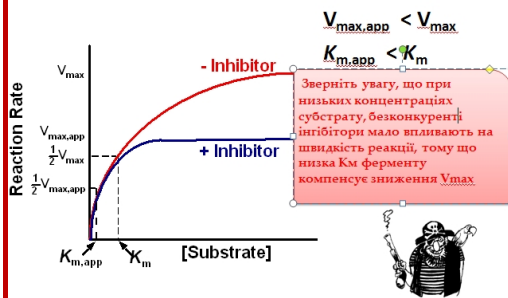


Безконкурентне гальмування - Механізм дії

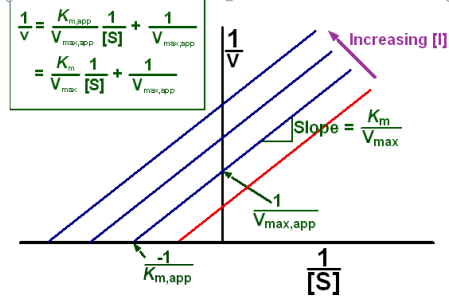


Кінетика ферментів у присутності без конкурентного інгібітору:?

Безконкурентні інгібітори зменшують як V_{max} , так і K_m ,

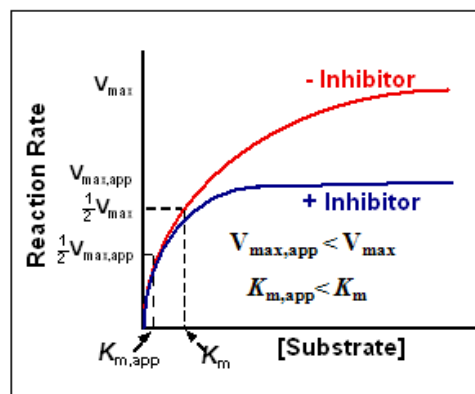
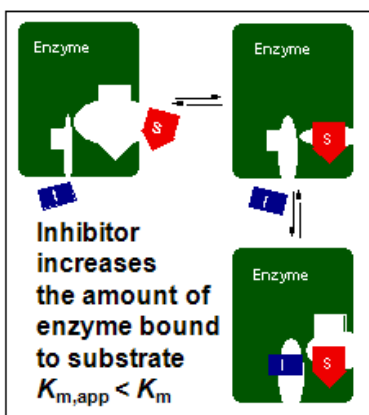


Графік Лайнувера-Берка при безконкурентному інгібуванні



Графік Міхеліса –М еnten (концентрація субстрату проти швидкості реакції) виглядає так:

Графік ММ при безконкурентному інгібуванні



Тобто, безконкурентні інгібітори зменшують як максимальну швидкість, так і K_m .

Необоротні інгібітори – ферментні отрути

Необоротне інгібування - Механізм дії



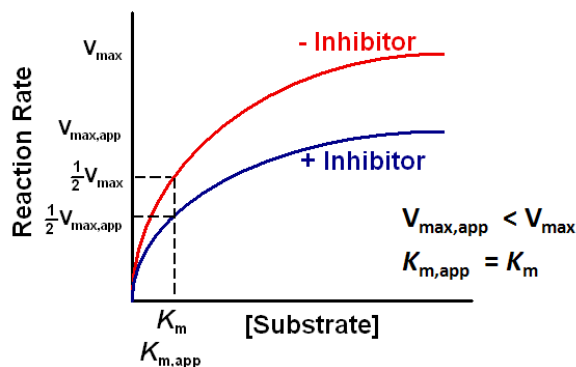
У незворотного інгібування, інгібітор постійно інактивує фермент. Чистий ефект полягає у видаленні ферменту від реакції.

V_{max} зменшується

Не впливає на K_m

При графічному аналізі даних за Міхаелісом –Ментон отримуємо:

Графік ММ для незворотніх інгібіторів



Необоротні інгібітори зменшують V_{max} , але залишають K_m без змін. Необоротні інгібітори відрізняються від інших типів інгібіторів, тому що вони ковалентно модифікують фермент. Це призводить до постійного інгібування активності ферменту.

- Таким чином, конкурентні інгібітори зв'язуються з активним центром ферменту, конкуруючи з субстратом. У присутності конкурентного інгібітора швидкість реакції зменшується.
- Неконкурентні інгібітори зв'язуються не з активним, а алостеричним центром, доступність субстрату до активного центру зменшується, швидкість падає, V_{max} знижується.
- Безконкурентні інгібітори зв'язуються тільки з комплексом фермент-субстрат, тому збільшують K_m , зменшують V_{max} .
- Необротні інгібітори, суїцидальні інгібітори утворюють ковалентний зв'язок в активному центрі ферменту, виводять фермент з реакції, тому вони впливають тільки на V_{max} .

Окремі випадки інгібування субстратом і продуктом реакції
Деякі продукти ферментативних реакцій також виступають у ролі інгібіторів.
Так, глюкоза інгібує фермент глюкозо-6-фосфатазу:
 $\text{Глюкозо-6-фосфат} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{Глюкоза} + \text{H}_3\text{PO}_4$
Інгібування надлишком субстрату спостерігається в ряді випадків
в результаті блокування активного центру за схемою
Ферменти протеїнази мають чверткову структуру, містять дві субодиниці
— каталітичну й регуляторну. Активатор впливає на регуляторну, а
в результаті звільняється каталітична субодиниця