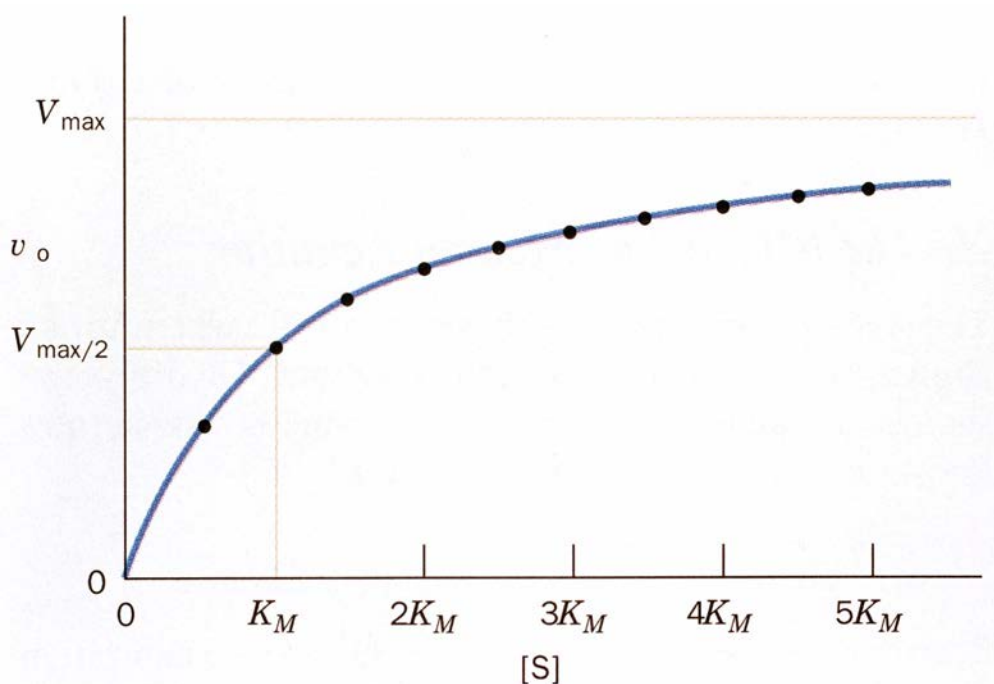


Инхибиција ензима пероксидазе изоловане из корена рена

Ана Смиљковић 2013/099

Теоријски увод

Реакције између ензима и супстрата се могу описати преко Mihaelis-Mentenove кинетике, при чему постоји услов да је концентрација ензима много мања од концентрације супстрата. При ниској концентрацији супстрата, брзина ензимске реакције је пропорционална концентрацији супстрата што представља реакцију првог реда. Повећањем концентрације супстрата губи се дефинисаност реда, након чега у одређеном тренутку ензим постаје потпуно сатурисан. Одатле се ензимска реакција асимптотски приближава максималној брзини (V_{\max}) и концентрација супстрата више не утиче на брзину реакције што представља реакцију нултог реда. Хемијске реакције се класификују на основу реда реакције, који показује утицај концентрације компоненти на брзине реакције. Зависност брзине реакције од концентрације супстрата према Mihaelis-Mentenovoj кинетици је приказана на Слици 1:



Слика 1. Mihaelis-Mentenov приказ ензимски катализоване реакције

Mihaelisoва константа K_m једнака је концентрацији супстрата када је брзина реакције једнака половини максималне брзине реакције V_{\max} као што се може видети на слици. Ова константа представља мерило афинитета супстрата према ензиму. Ниска вредност K_m показује да је ензим-супстрат комплекс стабилан и да споро дисосује.

Параметри V_{\max} и K_m се одређују са Lineweaver-Burk-овог графика, који представља зависност реципрочне вредности брзине ензимске реакције од реципрочне вредности концентрације супстрата, $1/v = f(1/[S])$. Ова права пресеца у-осу у тачки која има вредност $1/V_{\max}$, а одсечак на x-оси има вредност $-1/K_m$.

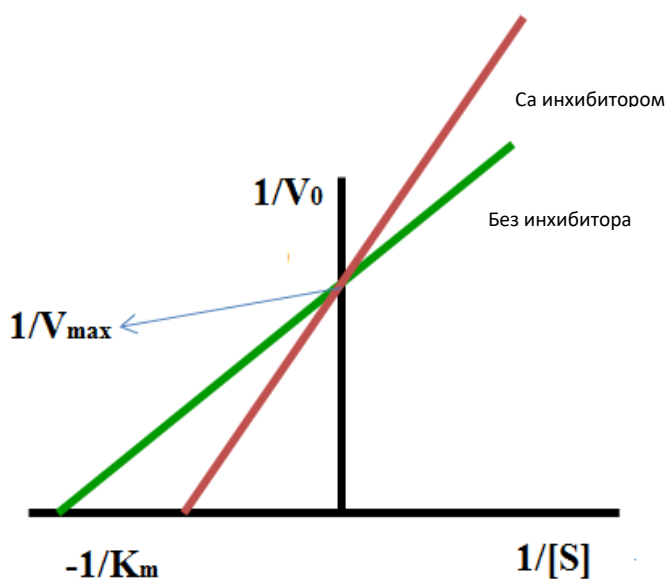
Инхибитори су супстанце које смањују каталитичку активност ензима и могу бити иререверзибилни и реверзибилни. Иререверзибилни инхибитор се везује чврсто за ензим, обично ковалентним везам за активно место ензима и веома споро дисосују из комплекса ензим-инхибитор. Пример иререверзибилних инхибитора који се користе као лекови су пеницилин и аспирин. Реверзибилни инхибитори се не везују чврсто за ензим, и то обично нековалентним везама, у овом случају инхибиор релативно брзо дисосује из комплекса.

Постоје три типа реверзибилне конкуренције:

- 1) *Компетитивна;*
- 2) *Без конкуренције;*
- 3) *Некомпетитивна.*

Компетитивна инхибиција

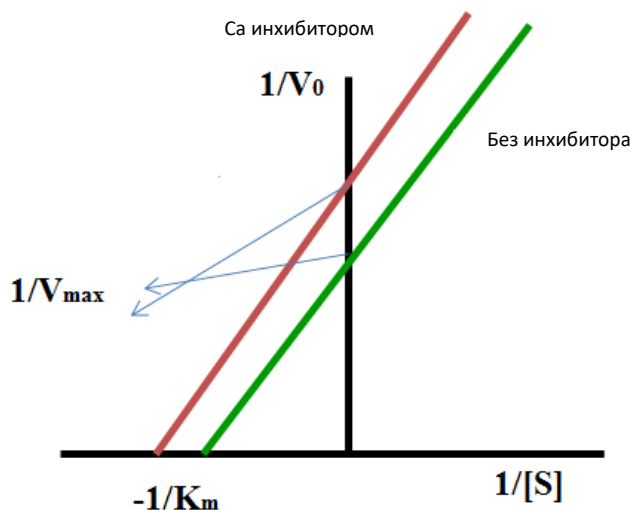
Компетитивни инхибитори структурно личе на супстрат и везују се за активно место ензима и тиме спречавају везивање супстрата и на тај начин блокирају ензимску реакцију. Инхибитор се такмичи са супстратом за активно место. Компетитивна инхибиција се може смањити повећањем концентрације супстрата. На Слици 2. је приказан Lineweaver-Burk-ов график за компетитивну инхибицију:



Слика 2. Lineweaver-Burk-ов график за компетитивну инхибицију

Инхибиција без конкуренције

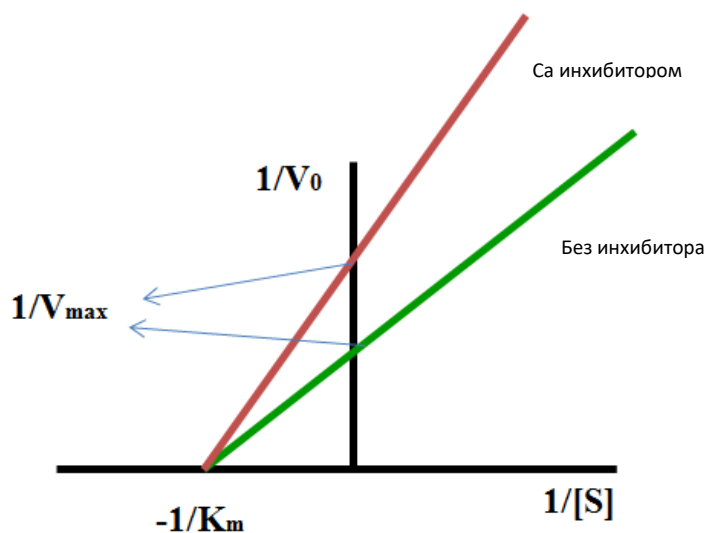
Инхибиотр се не везује директно за ензим јер не постоји адекватно место за његово везивање. тек када се формира ензим-супстрат комплекс, долази до структурних промена ензима што омогућава овом типу инхибитора да се веже за ензим. На Слици 3. је приказан Lineweaver-Burk-ов график за инхибицију без конкуренције:



Слика 3. Lineweaver-Burk-ов график за инхибицију без конкуренције

Некомпетитивна инхибиција

Некомпетитивни инхибитори се везују за специфично место на ензиму које није активно место, тако да могу да се вежу само за ензим али и за ензим-супстрат комплекс. Ова врста инхибиције може бити чиста, када се инхибитор везује за ензим и мешовита, када се инхибитор везује за ензим-супстрат комплекс. На Слици 4. је приказан Lineweaver-Burk-ов график за некомпетитивну инхибицију:



Слика 4. Lineweaver-Burk-ов график за некомпетитивну инхибицију

По отварању програма, притиском на дугме Учитавање података се отвара прозор у коме је потребно изабрати Еxcell фајл под називом Подаци за демонстрацију рада програма. Програм ће учитати податке, обрадити их и приказати у табели поред.

Потом се притиском на дугме Графички приказ добија график за реакцију са инхибитором и без истог.

Даље се притиском на дугме Израчунавање врши одређивање максималних брзина реакција и вредности одговарајућих Михаелис-Ментенових константи, а резултати се исписују у табели ниже. Програм ће у edit прозору испод друге табеле исписати претпостављени тип инхибиције на основу израчунатих вредности.

Напомена: Програм је писан у Matlab-у, верзији R2015a.

