

## Úloha 9-21 Diagnostika inhibovaných enzymových reakcí

Působení enzymu arginasy na substrát argirin bylo při teplotě 37°C a pH 8,4 sledováno jednak za přítomnosti, jednak za nepřítomnosti norvalinu, který má inhibiční účinek. Výsledky byly vyjádřeny poměrem hodnot rychlostí  $v/v_i$  (v nepřítomnosti inhibitoru  $v$ , za přítomnosti inhibitoru  $v_i$ ) pro různé koncentrace inhibitoru a substrátu:

$\frac{c_S \text{ (arginin)}}{\text{mol dm}^{-3}}$	$\frac{c_I \text{ (norvalin)}}{\text{mol dm}^{-3}}$	$v/v_i$
0,0223	0,0890	3,67
	0,0445	2,34
	0,0178	1,53
0,0667	0,0334	2,03
	0,0179	1,54
	0,0083	1,25
0,0445	0,0890	3,74
	0,0445	2,36
	0,0178	1,54

Na základě těchto dat posuďte, zda norvalin má plně kompetitivní nebo nekompetitivní účinek a stanovte inhibiční konstantu (konstanty).

[Plně nekompetitivní,  $\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_I}{v/v_i - 1} = K_I = 0,033 \text{ mol dm}^{-3}$ ]

**Řešení:**

plně nekompetitivní

$$\frac{1}{v_i} = \underbrace{\frac{1}{v_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{1}{v_{\max} \cdot K_I}}_{\text{směrnice}} \cdot c_I$$

$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = K_I$$

plně kompetitivní

Dixon:

$$\frac{1}{v_i} = \underbrace{\frac{1}{v_{\max}} \cdot \left(1 + \frac{K_M}{c_S}\right)}_{\text{úsek}} + \underbrace{\left(\frac{K_M}{v_{\max} \cdot K_I \cdot c_S}\right)}_{\text{směrnice}} \cdot c_I$$

Hunter a Downs:

$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \underbrace{K_I}_{\text{úsek}} + \underbrace{\frac{K_I}{K_M}}_{\text{směrnice}} \cdot c_S$$

Graf podle Dixona je přímkový pro oba případy. Plně kompetitivní a plně nekompetitivní je možno odlišit závislostí podle Huntera a Downse – pro plně kompetitivní inhibici je výraz  $\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i}$  nezávislý na koncentraci inhibitoru ani na koncentraci substrátu, pro plně kompetitivní inhibici je lineárně závislý na  $c_S$ .

Je zadán poměr  $v/v_i$ , pomocí něhož vyjádříme levou stranu rovnice Huntera a Downse:

$$\frac{c_I \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_I}{\frac{v}{v_i} - 1}$$

$c_s$ (argirin)	$c_i$ (norvalin)	$v/v_i$	$\frac{c_i \cdot v_i}{v - v_i} = \frac{c_i}{v/v_i - 1}$
$\text{mol dm}^{-3}$	$\text{mol dm}^{-3}$		
0,0223	0,089	3,67	0,03333
0,0223	0,0445	2,34	0,03321
0,0223	0,0178	1,53	0,03358
0,0667	0,0334	2,03	0,03243
0,0667	0,0179	1,54	0,03315
0,0667	0,0083	1,25	0,03320
0,0445	0,089	3,74	0,03248
0,0445	0,0445	2,36	0,03272
0,0445	0,0178	1,54	0,03296
průměr			0,03300754

Z tabulky vypočtených dat je patrné, že hodnoty výrazu  $\frac{c_i \cdot v_i}{v - v_i}$  jsou nezávislé na  $c_s$  – jde o **plně kompetitivní inhibici**. Průměrná hodnota  $K_i = 0,033 \text{ mol dm}^{-3}$