

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

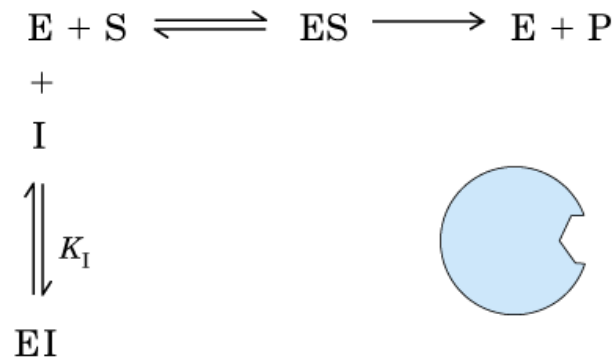
Qualquer substância que reduz a velocidade de uma reação enzimática.



INIBIÇÃO COMPETITIVA:

substrato e inibidor competem para o mesmo sítio

K_m k_{cat}



(a) Competitive inhibition

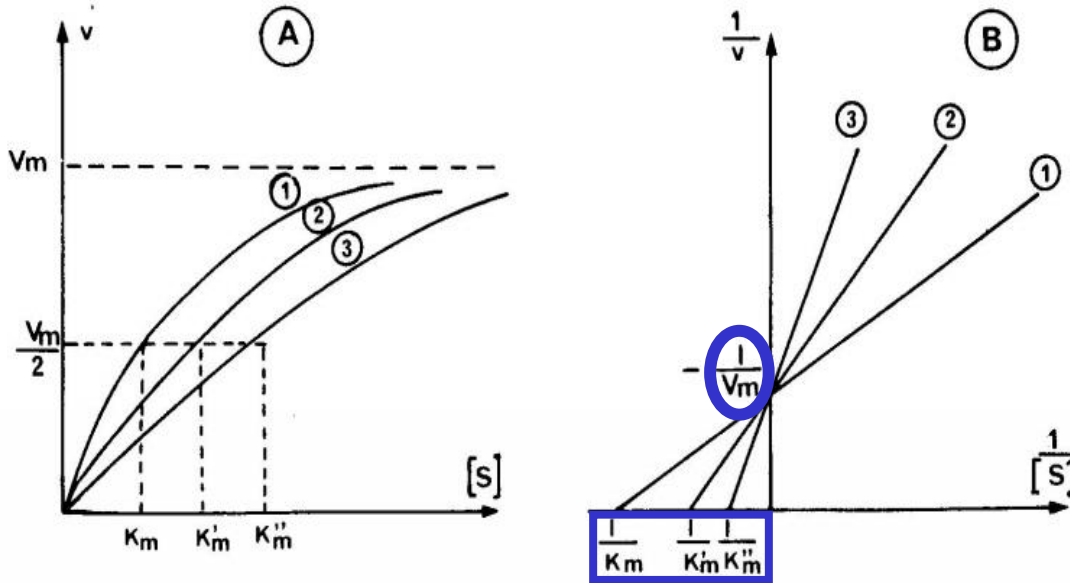
$$1) V = k_3 [ES]$$

$$2) [E_T] = [E] + [ES] + [EI]$$

$$\frac{V}{[E_T]} = \frac{k_3 [ES]}{[E] + [ES] + [EI]}$$

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

INIBIÇÃO COMPETITIVA



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

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m (1 + [I])}{K_i} \frac{1}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_m}$$

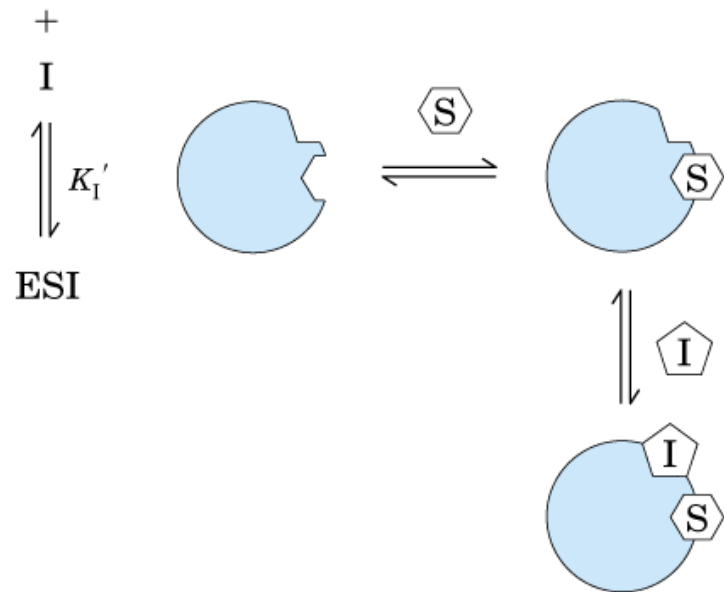
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m (1 + [I])}{V_{\max} K_i} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}$$

- 1- sem inibidor
- 2- com inibidor na concentração $[I_1]$
- 3- com inibidor na concentração $[I_2] > [I_1]$

INIBIÇÃO INCOMPETITIVA:

substrato e inibidor ligam-se em sítios diferentes

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



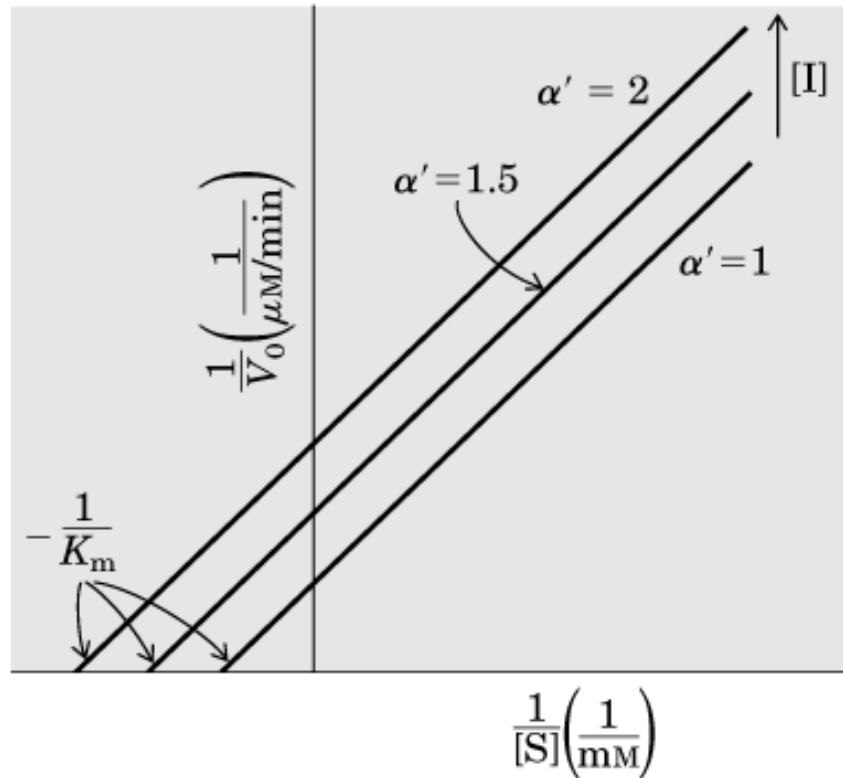
(b) Uncompetitive inhibition

INIBIÇÃO INCOMPETITIVA:

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

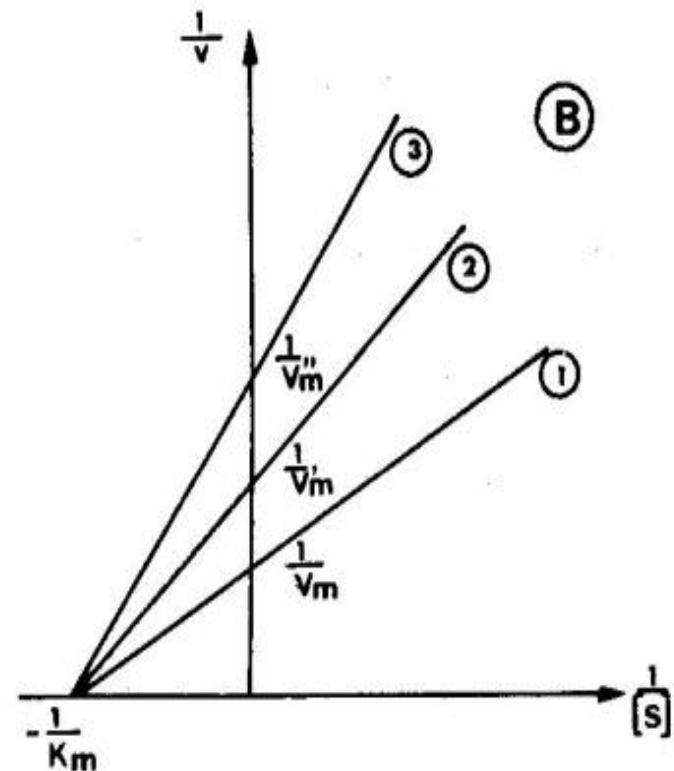
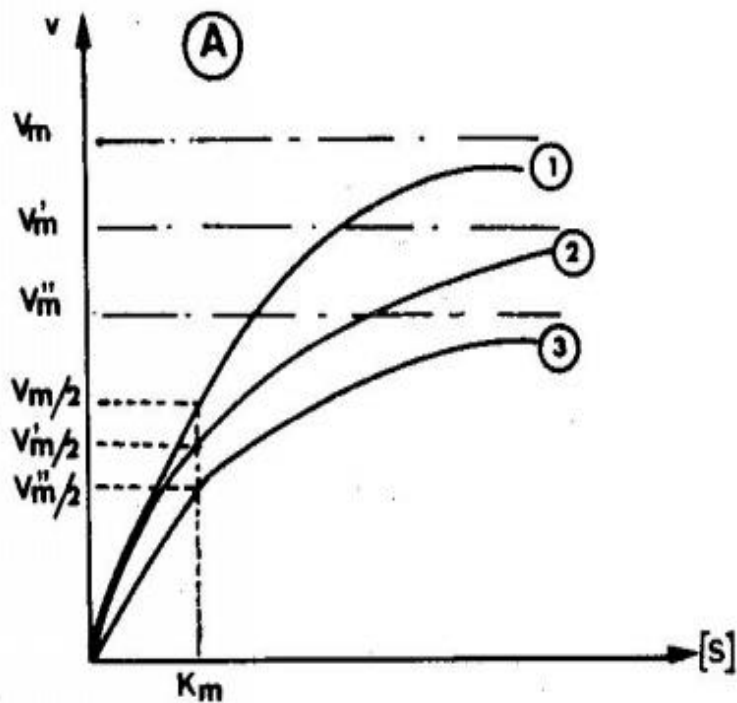
$$\alpha = (1 + [I] / K_i)$$

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_m}{V_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{\max}}$$



INIBIÇÃO NÃO-COMPETITIVA

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

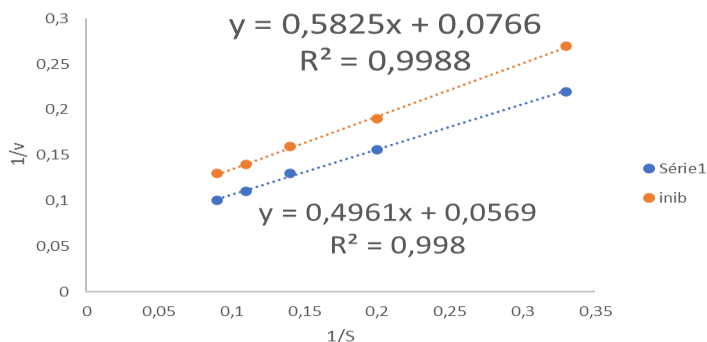


- 1- sem inibidor
- 2- com inibidor na concentração $[I_1]$
- 3- com inibidor na concentração $[I_2] > [I_1]$

1) Desenhe gráficos de L.B para o comportamento de uma enzima para a qual os seguintes dados experimentais estão disponíveis:
 Quais os valores de Km e Vmax para as reações inibida e não inibida?
 Qual o tipo de inibição? Resposta: Não competitiva (baseado no tipo de gráfico e na proximidade dos valores de Km)

[S] M	V, sem inibidor (mmol/min)	V, inibidor presente (mmol/min)
3	4,58	3,66
5	6,4	5,12
7	7,72	6,18
9	8,72	6,98
11	9,5	7,60

1/S	1/V	1/V (com inibidor)
0,33	0,22	0,27
0,2	0,156	0,19
0,14	0,13	0,16
0,11	0,11	0,14
0,09	0,1	0,13



sem inibidor – Y= 0,4961x + 0,0569

1/Vmax = 0,0569

Vmax = 17,57 mmol/min

0,4961 = Km/Vmax

0,4961 = km/17,57

Km = 8,7 M

Com inibidor – Y= 0,5825x + 0,0766

1/Vmax = 0,0766

Vmax = 13,05 mmol/min

0,5825 = Km/Vmax

0,5825 = km/13,05

Km = 7,6 M

2) Para a reação da aspartase na presença do inibidor hidroximetilaspertase, determine K_M e o tipo de inibição:

[S] M	V, sem inibidor (mmol/min)	V, inibidor presente (mmol/min)
1×10^{-4}	0,026	0,01
5×10^{-4}	0,092	0,04
15×10^{-4}	0,136	0,086
25×10^{-4}	0,15	0,12
50×10^{-4}	0,165	0,142

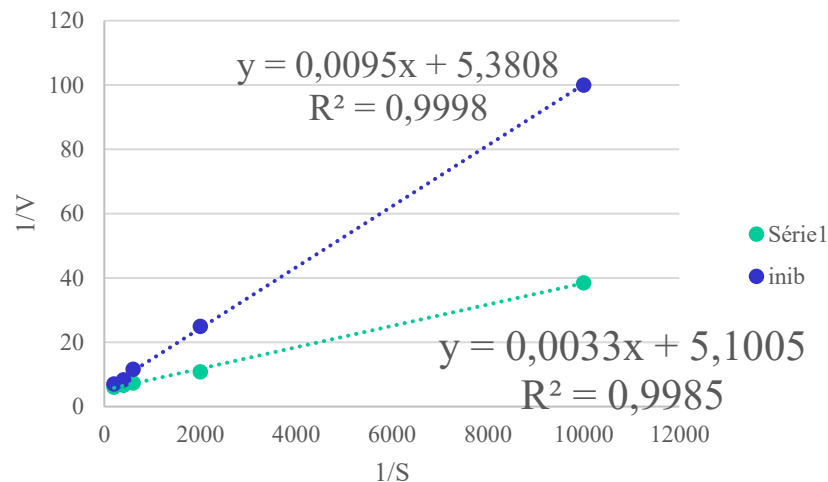
1/S	1/v	1/V (com inibidor)
10000	38,5	100
2000	10,8	25
600	7,35	11,6
400	6,67	8,33
200	6,06	7,04

$V_{max} = 0,188$ mmol/min

V_{max} (com inibidor) = 0,19 mmol/min

Inib. Competitiva

$Y = 0,0033x + 5,1005$ (eq. Sem inibidor)



$0,0033 = K_m/V_{max}$

$0,0033 = k_m/0,188$

$K_m = 6,2 \times 10^{-4}$ M

8) Para os seguintes dados de uma enzima que obedece o mecanismo de Michaelis-Menten:

<u>[S] (mM)</u>	<u>Vo ($\mu\text{M}/\text{min}$) sem Inibidor</u>	<u>Vo ($\mu\text{M}/\text{min}$) na presença de 1 mM inibidor</u>
1	9,1	4,76
3	23,1	13,0
8	44,4	28,6
20	66,7	50
40	80	66,7
50	83,3	71,4
60	85,7	75

1. calcular K_m e V_{max} na ausência de inibidor (indicar unidades)
2. calcular K_m aparente e V_{max} aparente na presença de inibidor (indicar unidades)
3. trata de que tipo de inibidor? Porquê?
4. SUPER-DUPER BONUS: calcular o valor do K_i do inibidor
5. SUPER-DUPER BÔNUS II: se a concentração da enzima é 1 nmol/L, calcular o valor do k_{cat} (indicar unidades)