



PQI 3221:
CINÉTICA QUÍMICA E PROCESSOS AMBIENTAIS

AULA 22

CINETICA ENZIMATICA

Análise da Equação de Michaelis-Menten

A equação de Michaelis-Menten é dada pela expressão

$$V_0 = \frac{V_{m\acute{a}x} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Essa expressão é muito útil para determinação dos valores de K_m e $V_{m\acute{a}x}$ em diversas reações enzimáticas, a partir do estabelecimento da relação de $V_0 = f([S])$

Para as enzimas cujos mecanismos de atuação obedecem a cinética de MM pode-se dizer que o valor de K_m estará relacionado com sua afinidade pelo substrato. Ressalte-se que essa afinidade difere de substrato para substrato e de enzima para enzima

$V_{m\acute{a}x}$ corresponde a velocidade máxima que a reação pode alcançar, na situação (virtual) em que todas as enzimas se encontram ligados ao substrato

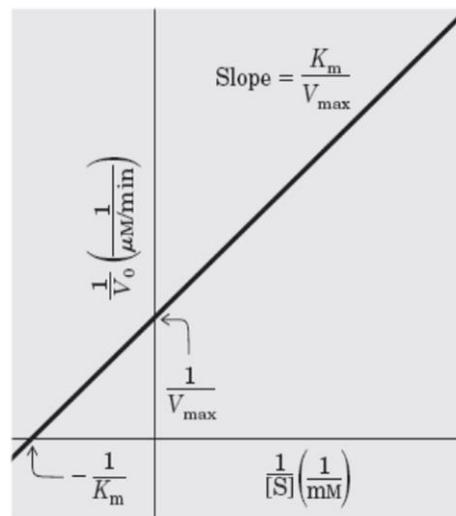
3

Equação de Lineweaver-Burk

A equação de Michaelis-Menten, pode ser invertida:

$$V_0 = \frac{V_{m\acute{a}x} [S]}{K_m + [S]}$$
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x} [S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

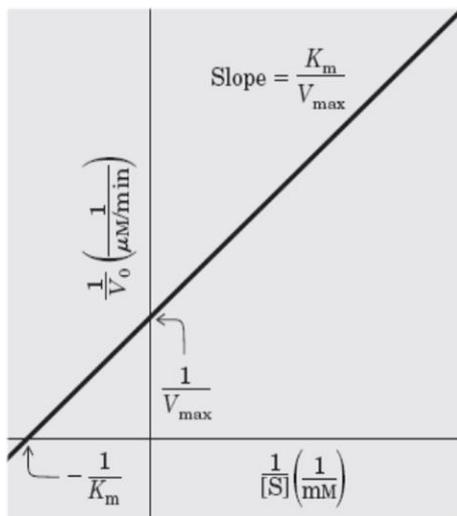
Esta relação é conhecida como Linearização de Lineweaver-Burk. Sua expressão gráfica aparece indicada na figura ao lado na qual estão indicados em abscissas valores de $(1/[S])$ e, em ordenadas, os correspondentes $(1/V_0)$.



4

Equação de Lineweaver-Burk

O gráfico de $1/V_0 = f(1/[S])$ corresponde a uma função de 1°. Grau (= linear) em que:



O Coeficiente angular $\alpha = K_m/V_{\max}$

Sua intersecção com o eixo de ordenadas, portanto, quando $1/[S] = 0$, ou seja, $[S] \rightarrow \infty$, indica que: $(1/V_0) = (1/V_{\max})$

Sua intersecção com o eixo de abscissas, portanto quando $1/V_0 = 0$, ou seja, $V_0 \rightarrow \infty$, indica que: $(1/[S]) = (-1/K_m)$

K_m é uma característica da enzima e de seu substrato. No entanto, seu valor independe da quantidade da enzima utilizada nesta determinação experimental.

O mesmo não ocorre com V_{\max} . Além de não existir um valor absoluto para esse parâmetro, a quantidade de enzima no ensaio experimental influi nesse resultado.

5

Equação de Lineweaver-Burk

Problema:

Adicionou-se uma quantidade constante de enzima a uma série de meios, todos eles com volume constante e igual a $v_t = 10$ mL, mas que contém diferentes concentrações de substrato. As velocidades iniciais (V_0), representadas na tabela abaixo, são determinadas medindo a quantidade de mols (ou micromols) de substrato consumido por minuto.

[S] (M)	V_0 (μ mol) / min
$5,0 \times 10^{-2}$	0,25
$5,0 \times 10^{-3}$	0,25
$5,0 \times 10^{-4}$	0,25
$5,0 \times 10^{-5}$	0,20
$5,0 \times 10^{-6}$	0,071
$5,0 \times 10^{-7}$	0,0096

Pede-se:

- O valor de V_{\max} para aquela concentração de enzima;
- O valor de K_m para esta enzima;
- A reação segue uma cinética Michaeliana?

6

V_0 (μ mol) / min	$[S]$ (M)
0,25	$5,0 \times 10^{-2}$
0,25	$5,0 \times 10^{-3}$
0,25	$5,0 \times 10^{-4}$
0,20	$5,0 \times 10^{-5}$
0,071	$5,0 \times 10^{-6}$
0,0096	$5,0 \times 10^{-7}$

$$S_1 = 5,0 \times 10^{-2} \text{ Mol/L}$$

Assim, expressando $[S]$ em (μ Mol/10 mL)
(dado que $v_t = 10$ mL), teremos,

$$S'_1 = 5,0 \times 10^{-2} \times 10^6 \times (10/1000)$$

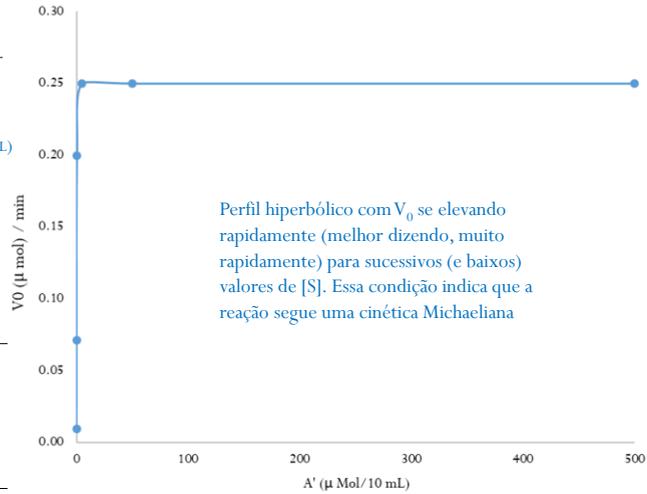
\therefore

$$S'_1 = 500 \mu \text{ Mol}/10 \text{ mL}$$

V_0 (μ mol) / min	S' (μ mol/10 mL)
0,25	500
0,25	50,0
0,25	5,00
0,2	0,50
0,071	0,05
0,0096	0,005

Solução

$$V_0 = \frac{V_{m\acute{a}x} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$



7

Solução

Linearização Lineweaver-Burk

Perfil linear para $(1/V_0) = f(1/[S])$, sendo:

$$K_m/V_{m\acute{a}x} = 0.501$$

$$1/V_{m\acute{a}x} = 3.989$$

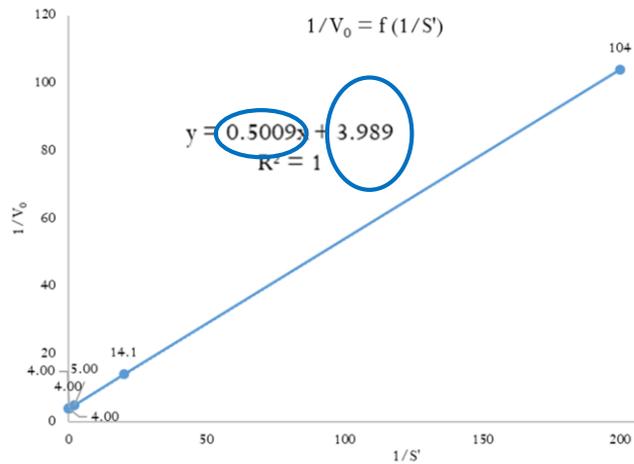
então, $V_{m\acute{a}x} = 0.251$

e,

$$K_m = 0.126$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

$$1/V_0 = f(1/S')$$



8

Cinéticas do tipo Michaelis-Menten

Problema:

A partir da equação de Michaelis-Menten determine:

- O valor de $[S]$ para que uma enzima com $K_m = 4,5 \times 10^{-3} \text{ M}$ que opere com a quinta parte da velocidade máxima?
- O valor de V_0 para $[S] = \frac{1}{4}K_m$; $[S] = 4K_m$ e $[S] = 9K_m$. O que se pode deduzir a partir dos resultados obtidos?

9

Cinéticas do tipo Michaelis-Menten

Problema:

'A' e 'B' são duas enzimas que, quando em contato com certo substrato S, mostram perfil Michaeliano. A enzima 'A' apresenta $V_{\text{máx}} = V_{\text{máx}}^A$ e $K_M^A = 4,0 \text{ mM}$. Já para a enzima 'B' os mesmos indicadores cinéticos são $V_{\text{máx}} = V_{\text{máx}}^B$ e $K_M^B = 1,0 \text{ mM}$.

Tendo em vista essas circunstâncias, mostre que a enzima B tem mais afinidade pelo substrato do que a enzima A para o caso em que $V_{\text{máx}}^A = V_{\text{máx}}^B$.

10