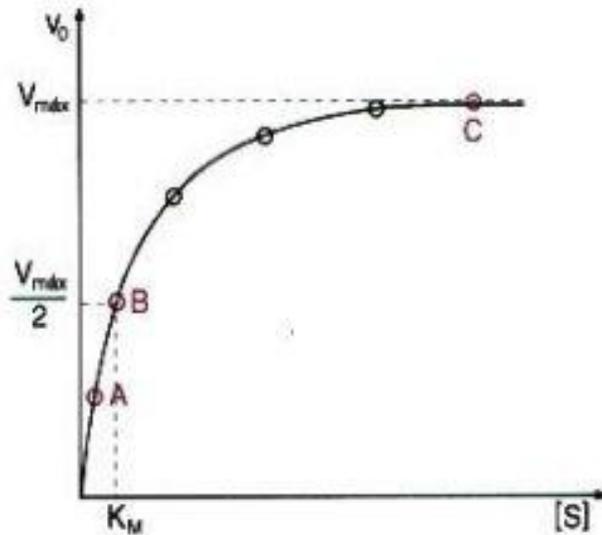


3. Fazer o gráfico da velocidade da reação S P, catalisada enzimaticamente, em função da concentração de S. Descrever os procedimentos experimentais que levariam à obtenção dos dados para a construção deste gráfico.

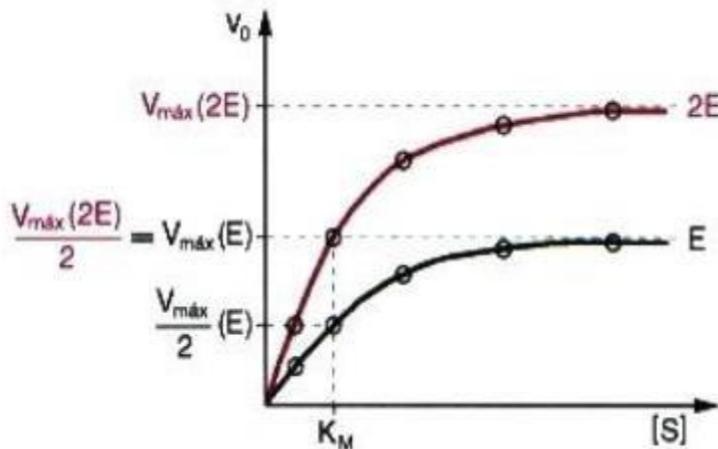
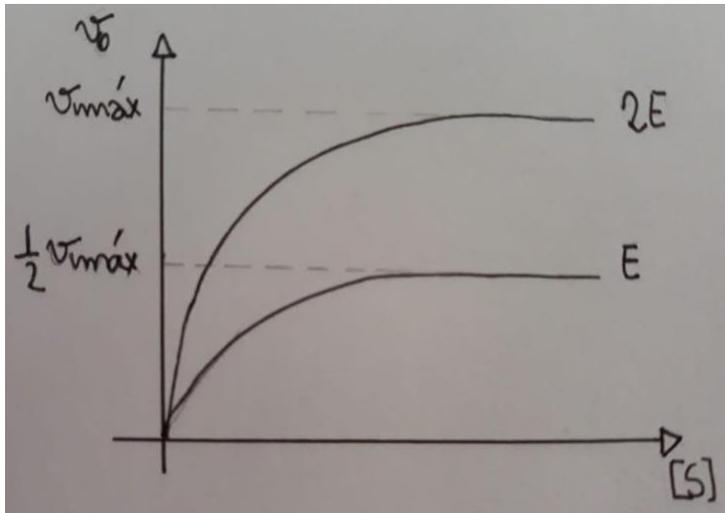
- *Os procedimentos experimentais que levariam à obtenção dos dados para a construção do gráfico seriam colocar, num tubo de ensaio, diferentes concentrações de um substrato e adicionar a cada um a mesma quantidade de uma enzima. Conforme for fazendo a adição, calcular a velocidade que o substrato se transforma em produto com a ação da enzima. Para isso, deve-se, no começo da reação, medir a quantidade de produto pelo tempo em que é obtido. O resultado deve ser linear, como é mostrado no gráfico, até se atingir metade da velocidade máxima. Com a maior adição de substrato, a enzima vai ficando saturada e observa-se que a velocidade ainda aumenta, mas com menor intensidade.*
- *Para a construção do gráfico, os dados foram obtidos a partir de uma série de tubos contendo a mesma concentração de enzimas mas concentrações crescentes de substrato. A seguir espera-se um tempo adequado para a formação de uma quantidade dosagem de produto mas tempo este suficientemente pequeno para que, no máximo, 5% do substrato tenha sido transformado em produto (garantindo que a medida da velocidade corresponderá a velocidade inicial). A partir disso, a velocidade é calculada dividindo-se a quantidade de produto formado pelo tempo*
- *Como mostrado no gráfico abaixo, ao aumentar a concentração de um substrato, a velocidade da reação aumentará num primeiro momento por ter mais chances de substratos interagirem com os sítios ativos das enzimas, alcançando posteriormente um platô. Com isso, haverá a velocidade máxima e conseqüentemente maior formação de produto. A quantidade enzimática é um fator limitante, portanto, a velocidade de reação aumenta junto com o incremento do substrato até que as enzimas sejam saturadas. Os procedimentos experimentais para a obtenção de um gráfico que relaciona velocidade inicial e concentrações de substrato podem ser conseguidos através do procedimento seguinte. Monta-se uma série de tubos, todos contendo a mesma concentração de enzima mas com concentrações crescentes de substrato. Espera-se o tempo adequado para que se forme uma quantidade dosável de produto; este tempo, entretanto, deve ser suficientemente pequeno para que no máximo 5% do substrato tenham sido transformados em produto (isto garante que a medida de velocidade corresponderá à velocidade inicial). Dosado o produto, a velocidade será calculada dividindo-se a quantidade de produto formado pelo tempo.*



4. Analisando o gráfico do item 03, verificar, em cada trecho da curva, as concentrações de enzima livre, substrato e complexo ES.

- *Tendo em vista o gráfico da questão 3 podemos diferenciar duas regiões. Na primeira a velocidade aumenta linearmente com o aumento da concentração de substrato (S), indicando que durante este período ainda haviam moléculas de enzimas livres (E) capazes de se ligarem ao substrato formando o complexo ES. Assim, nesta parte a concentração de S é o valor limitante da velocidade. Já na segunda região, a velocidade permanece constante (igual a velocidade máxima) independente do aumento da concentração de substrato, o que nos permite concluir que todas as moléculas de enzimas já estavam ligadas ao substrato (no complexo ES) durante o tempo em que a velocidade foi medida.*
- *No ponto inicial do gráfico, todas 100% das enzimas encontram-se na forma livre e não há a presença de substrato. No momento que a curva cruza a linha de K_M , 50% das enzimas estão sob a forma do complexo ES (enzima-substrato) e a quantidade de substrato neste ponto é numericamente igual ao K_M . A partir de então, aumenta-se progressivamente a quantidade de substrato e a quantidade do complexo ES tende a corresponder a 100% da quantidade de enzimas iniciais, enquanto as enzimas livres tendem a 0 (zero), reconhecendo-se no gráfico a proximidade da curva em relação à $V_{máx}$.*

6. Fazer o gráfico v_0 x $[S]$ para concentrações de enzima E e 2E.



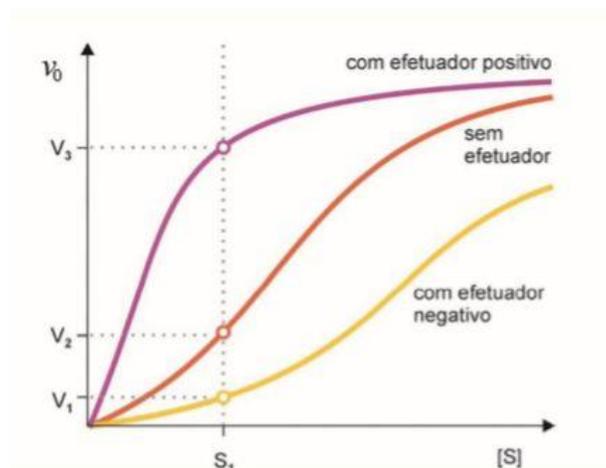
9. Caracterizar enzima alostérica. Definir centro alostérico e efetador alostérico (positivo e negativo).

- *Enzima alostérica é aquela que é controlada por um regulador que se liga de modo não covalente a uma região diferente de seu sítio ativo, o centro alostérico. Este regulador altera a forma da enzima de maneira reversível, inibindo ou ativando a sua função. O centro alostérico seria o lugar de ligação do regulador (efetuador), distinto do sítio ativo da enzima. O efetador alostérico é positivo quando ele aumenta a afinidade da enzima pelo substrato. Isto pode ser observado em um gráfico, pois a reação atinge a $V_{m\acute{a}x}/2$ com uma quantidade menor de substrato. Já o efetador alostérico negativo diminui a afinidade da enzima pelo substrato. Analogamente, isto pode ser observado no gráfico, pois a $V_{m\acute{a}x}/2$ precisa de mais substrato para ser atingida.*
- *Enzima alostérica é um tipo de enzima regulatória, estas são caracterizadas por influenciarem a velocidade da sequência de reações e possuem atividade aumentada ou diminuída em resposta a certos sinais. As enzimas alostéricas agem por meio de reações*

reversíveis e não covalentes com compostos denominados efetores ou moduladores alostéricos, que geralmente são metabólitos pequenos ou cofatores. Estes podem ser tanto estimulatórios/positivos quanto inibitórios/negativos, os primeiros aumentam a atividade catalítica e os segundos diminuem. Ainda, a molécula reguladora (ativador ou inibidor) liga-se à enzima em um lugar diferente do sítio ativo, denominado sítio/centro alostérico.

- Enzima alostérica é aquela que, geralmente maior do que as não alostéricas, tem o poder de regular a ação catalítica proporcionando centros alostéricos (locais onde o modulador/efetor alostérico se encaixa) em que os efetores alostéricos podem se ligar e mudar a conformação do centro ativo da enzima, alterando a velocidade de catálise para mais ou para menos. Além disso, tal enzima age através de ligações reversíveis e não covalentes com tais moduladores alostéricos/efetores alostéricos, que podem ser positivos (aumentam a atividade catalítica) ou negativos (diminuem tal atividade)

10. Fazer o gráfico v_0 x $[S]$ de uma reação catalisada por uma enzima alostérica, sem efetuator, na presença de efetuator positivo e de efetuator negativo.



•

11. Definir regulação enzimática por modificação covalente.

- Na regulação covalente as enzimas reguladoras são inter convertidas entre duas formas ativa e inativa. A ativação ou inativação dessas enzimas ocorre através da ligação covalente de um grupo químico a um átomo ou grupo de átomos dos sítios ativos dessas enzimas. A regulação da enzima fosforilase do glicogênio é um exemplo desse tipo de regulação. A fosforilase do glicogênio é uma enzima encontrada nos músculos e fígado e catalisa a seguinte reação.
- A regulação enzimática por modificação covalente ocorre pela ligação covalente de moléculas com os aminoácidos presentes na enzima, mudando a sua conformação, juntamente com seu sítio ativo, podendo ativar ou inibir a atividade enzimática.

- *Regulação enzimática por modificação covalente é aquela que ocorre em um ou mais dos resíduos de aminoácidos da molécula da enzima, onde os grupos modificadores usados geralmente são ligados e removidos das enzimas regulatórias por enzimas distintas. Desse modo, com a modificação covalente de um resíduo de aminoácido, pode haver a adição de diferentes radicais e a consequente origem da fosforilação, metilação, entre outros.*

12. Definir cofator. Dar exemplos de cofatores inorgânicos (ativadores metálicos) e orgânicos (coenzimas).

- *Cofator é uma molécula não protéica que se liga à enzima possibilitando a catálise. O cofator pode se apresentar de algumas formas: podem ser íons inorgânicos ou podem ser moléculas orgânicas. Alguns íons inorgânicos que atuam como ativadores metálicos são Cu^{2+} , Fe^{3+} e Zn^{2+} . No caso das moléculas orgânicas, algumas vitaminas exercem funções de cofatores (chamadas de coenzimas), como a vitamina A; e também algumas outras moléculas de carboidratos, lipídeos, fosfolipídeos etc, que se ligam por meio de ligações covalentes à enzima.*
- *Cofator é uma molécula que pode ser orgânica (como vitaminas) ou inorgânica (como minerais (zinco, ferro e magnésio, por exemplo)) que é essencial para o funcionamento da enzima. Sem o grupo heme (um cofator), por exemplo, há a inativação da enzima.*
- *Os cofatores são imprescindíveis para a atividade de inúmeras enzimas, pois muitas delas necessitam da associação com outras moléculas ou íons para exercer seu papel catalítico. Esses componentes da reação enzimática são genericamente chamados cofatores. Os cofatores podem ser inorgânicos (ativadores metálicos) e orgânicos (coenzimas). Os ativadores metálicos ligam-se a radicais de aminoácidos da cadeia proteica ou estão presentes em grupos prostéticos como o heme. Alguns exemplos são: Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Ni, Co, Zn, Se, entre outros. As coenzimas atuam como aceptores de átomos ou grupos funcionais retirados do substrato em uma dada reação e como doadores destes mesmos grupos ao participarem de uma outra reação. Alguns exemplos são: Adenosina trifosfato (ATP), Tiamina pirofosfato (TPP), Flavina adenina dinucleotídio (FAD) e Nicotinamida adenina dinucleotídio (NAD⁺).*

13. Definir vitaminas, relacionando sua função com atividade enzimática.

- *As vitaminas são moléculas orgânicas não protéicas que atuam como cofatores enzimáticos. Isto significa que tais moléculas ligam-se à parte protéica de enzimas (apoenzima ou apoproteína), permitindo que estas realizem sua função. Elas são requeridas na dieta em pequenas quantidades, pois são precursoras de coenzimas, cujas concentrações celulares são muito pequenas. A partir destas substâncias, é capaz de sintetizar todos os compostos necessários para a manutenção do organismo e reprodução.*

- *Vitaminas são compostos orgânicos e nutrientes essenciais que o corpo precisa. Há vitaminas solúveis na água por isso circulam com facilidade no plasma e as coenzimas são justamente as formas sob as quais estas vitaminas hidrossolúveis atuam. São estruturas orgânicas mais complexas, uma pequena parte da estrutura é a vitamina, o resto é uma estrutura orgânica que compõe a molécula da coenzima. Mesmo que a parte vitamínica seja a parte ativa, se ela estiver sozinha sem o restante da estrutura que forma a coenzima ela não terá a atividade metabólica.*

19. O metanol, por ação do álcool desidrogenase, é convertido a formaldeído, extremamente tóxico. A intoxicação por metanol pode ser tratada por ingestão de doses elevadas de etanol. Como se justifica esta terapia?

- *A ingestão de doses elevadas de etanol como terapia para a intoxicação por metanol é justificada pelo fato de que a enzima álcool-desidrogenase, que transforma o metanol em formaldeído (extremamente tóxico) tem bastante afinidade com o etanol. Assim, quando grandes quantidades de etanol são ingeridas, ocorre uma inibição por competição. Além disso, o etanol liga-se facilmente ao ácido fórmico, que é o principal metabólito do metanol, excretando-o com maior facilidade.*
- *A ingestão de doses elevadas de etanol pode ser justificada pelo fato de que tanto o metanol quanto o etanol são substratos da mesma enzima. Desse modo, haveria competição pelo sítio ativo da enzima pelas duas substâncias, e como as doses de etanol são maiores, este último venceria a competição. Com isso, a conversão de metanol em formaldeído reduziria e, conseqüentemente, a intoxicação por metanol também.*
- *O etanol é substrato da mesma enzima que degrada o metanol. Assim, ocorrerá competição em os dois substratos (metanol e etanol) pelo centro ativo da enzima. O etanol vencerá a competição pelo centro ativo da enzima, pois estará numa concentração elevada e por conseguinte, haverá uma redução para a degradação do metanol para a formação de formaldeído. O etanol é competidor e não inibidor competitivo, já que para ser inibidor competitivo é se ligar a enzima sem gerar produto e o etanol, quando se liga a enzima, gera produto (acetaldeído).*

20. A glicose pode ser utilizada como fonte de energia (ATP) ou ser convertida em gordura, como mostra o seguinte esquema simplificado:

a. Quais são as reações catalisadas por enzimas alostéricas? Quais são seus efetadores?

- *Reação 5, efetador ATP. Reação 8, efetador citrato.*

b. A síntese de gorduras ocorre apenas quando há disponibilidade de muita glicose. Justificar

- *De acordo com o esquema apresentado, para a formação de gordura a partir da glicose ocorrem várias reações e o citrato deve agir como efetuator positivo em uma delas. Entretanto, para a produção de ATP, o citrato, que também é produzido indiretamente a partir da glicose, é utilizado como reagente em uma das etapas. Caso a concentração de glicose seja baixa, a de citrato, conseqüentemente, também será e, dessa forma, só haverá citrato para ser utilizado como reagente, não o tendo como efetuator para a produção de gordura.*
- *A síntese de gorduras ocorre apenas quando há disponibilidade de muita glicose pois com tal excesso, há um acúmulo de citrato (já que com mais ATP e com este funcionando como efetor da enzima que catalisa a reação 5, há mais produção de citrato). Assim, com mais citrato, há uma aceleração na produção de gordura, já que tal efetor catalisa a reação 8.*