

QBQ0221 – Bioquímica

26/04/2023

Exercícios – Cinética Enzimática

1. Sabendo que a uréia ($\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$) pode ser decomposta em CO_2 e NH_3 , um estudante interessado em obter NH_3 rapidamente, a partir de uréia, preparou uma série de tubos e incubou-os a 30°C por 10 minutos. Após este tempo, dosou amônia nos tubos. A composição dos tubos (com volume final de 1 ml) e os resultados das dosagens estão na tabela a seguir.

| Tubo | Tubo inicial | | Dosagens |
|------|--------------|--------------------------|------------------------------------|
| | Uréia (mM) | Urease (μg) | NH_3 (μmols) |
| 1 | 2,5 | 0,1 | 0,21 |
| 2 | 5 | 0,1 | 0,42 |
| 3 | 10 | 0,1 | 0,59 |
| 4 | 15 | 0,1 | 0,67 |
| 5 | 25 | 0,1 | 0,73 |
| 6 | 50 | 0,1 | 0,78 |
| 7 | 100 | 0,1 | 0,79 |
| 8 | 200 | 0,1 | 0,78 |
| 9 | 200 | - | 0 |

- a) Por que não houve formação de NH_3 no tubo 9? Para que serve este tubo?
- b) Qual foi a velocidade de reação dos tubos 5 a 8?
- c) De que depende a velocidade de reação neste experimento?
- d) Quais seriam os resultados se as dosagens de amônia fossem feitas após 48h de incubação?
- e) Que modificações poderiam ser feitas na composição dos tubos para conseguir velocidades maiores do que as que foram medidas?
2. A atividade de uma enzima depende da presença de dois aminoácidos ionizáveis no seu sítio ativo, um com $\text{pK}_a = 6$ e outro com $\text{pK}_a = 8$. A atividade máxima desta enzima depende do primeiro aminoácido estar desprotonado e do segundo estar protonado.

Admitindo que o substrato não tem grupos ionizáveis, e que a enzima é estável em todos os pHs considerados, reponda:

- a. Qual será o valor de pH ótimo para essa enzima?
- b. Qual a porcentagem de moléculas de enzima que estarão ativas no pH do item a?
- c. Represente, em um mesmo gráfico, o efeito da concentração de substrato na velocidade dessa reação ($V \times S$) em pH 6, pH 8 e no pH do item 3a.

3. A reação [Glicose + ATP → Glicose 6-fosfato + ADP] pode ser catalisada por duas isoenzimas: hexoquinase e glicoquinase. A partir dos resultados apresentados na tabela abaixo, responda:

- Qual enzima tem maior afinidade pela glicose? Justifique.
- Por que as velocidades de reação são diferentes? Justifique.

| Hexoquinase | | | Glicoquinase | | |
|-------------|--------------|-------------------------------------|--------------|--------------|-------------------------------------|
| Tubo | Glicose (mM) | Velocidade ($\mu\text{mols/min}$) | Tubo | Glicose (mM) | Velocidade ($\mu\text{mols/min}$) |
| A | 0,01 | 0,07 | I | 5 | 5 |
| B | 0,02 | 0,14 | J | 10 | 160 |
| C | 0,05 | 0,36 | K | 20 | 250 |
| D | 0,10 | 0,72 | L | 50 | 300 |
| E | 0,20 | 1,20 | M | 100 | 320 |
| F | 0,50 | 1,45 | N | 150 | 310 |
| G | 1,00 | 1,44 | O | 200 | 320 |
| H | 2,00 | 1,44 | P | 500 | 320 |

4. Esquematize os seguintes gráficos:

- Velocidade de reação em função da concentração do complexo enzima-substrato ($v_0 \times [ES]$)
- Concentração de ES em função da concentração de substrato ($[ES] \times [S]$)
- Concentração de ES em função da concentração de enzima ($[ES] \times [E]$)
- Concentração da enzima livre em função do tempo ($[E_{\text{livre}}] \times t$)
- Concentração da enzima livre em função da concentração de substrato ($[E_{\text{livre}}] \times [S]$)
- Velocidade máxima em função da concentração de inibidor não-competitivo ($V_{\text{max}} \times [I_{\text{NC}}]$)
- Velocidade máxima em função da concentração de inibidor competitivo ($V_{\text{max}} \times [I_{\text{C}}]$)