

EXERCÍCIOS MÓDULO 6

EXERCÍCIO 1

- ▶ As velocidades de uma reação enzimática foram determinadas para diversas concentrações de substrato, conforme a tabela ao lado:
- ▶ Os gráficos de, respectivamente, V em função de $[S]$ e $1/V$ em função de $1/[S]$ podem servir para determinar K_m e V_{max} ? Como?

$[S]$ (μM)	V ($\mu\text{mol/L.min}$)
5	22
10	39
20	65
50	102
100	120
200	135

EXERCÍCIO 1

- ▶ A resposta é sim.
- ▶ A $V_{m\acute{a}x}$ seria a velocidade que não se alteraria mais com a adição de substrato ou com o acréscimo de sua concentração na solução.
- ▶ Já o K_m é a concentração de substrato necessária para atingir metade da velocidade máxima da reação.



EXERCÍCIO 1

- ▶ A resposta é sim para este gráfico também.
- ▶ Aqui $1/V_{\text{máx}}$ seria a velocidade em que a reta cruza o eixo y.
- ▶ Já $-1/K_m$ é o ponto em que, prolongando a reta, ela cruza o eixo x.

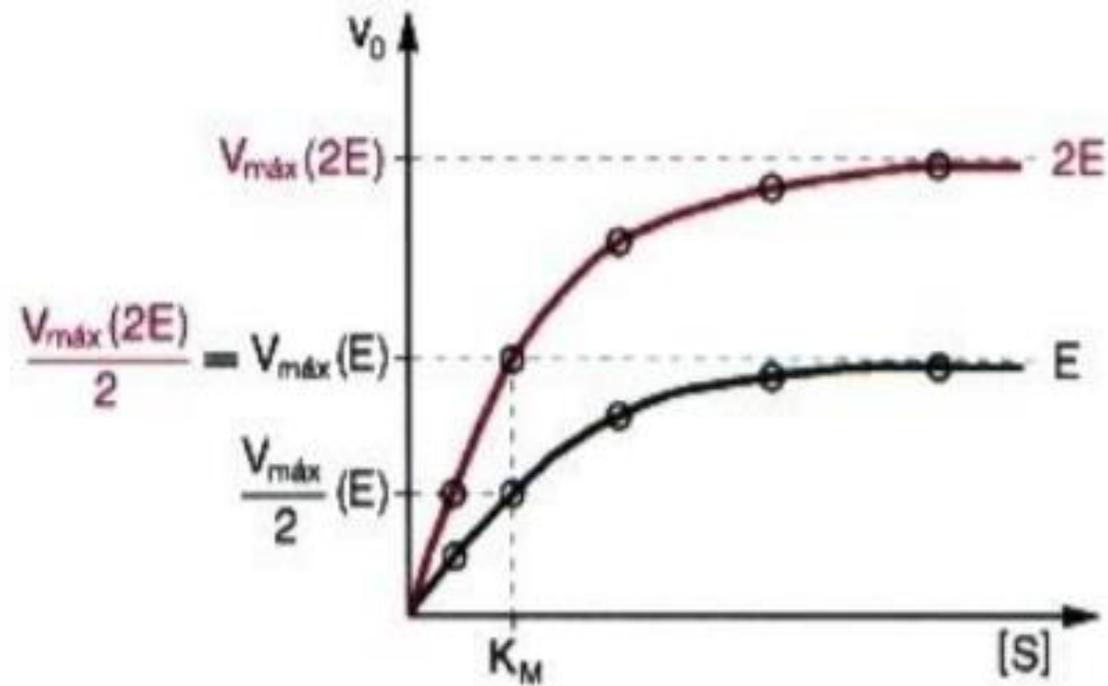


EXERCÍCIO 2

Numa reação enzimática, o valor de V_{max} , mas não o de K_m é diretamente proporcional à concentração da enzima? Justifique.

- ▶ Nas reações enzimáticas, a concentração de enzima é, via de regra, muito menor que a de substrato. Soluções equimolares de enzima e de substrato não são usadas, nem sequer podem ser obtidas por conta da diferença entre os pesos moleculares.
- ▶ Assim, as soluções de enzimas são muito mais diluídas do que as de seus substratos e, nas reações enzimáticas, o número de moléculas de enzima é muito inferior ao número de moléculas do substrato. Em células, a concentração de substrato chega a ser 10^6 vezes superior à da enzima.
- ▶ Por conta disso, o aumento da concentração da enzima influencia muito na velocidade máxima da reação, mas não muito no K_m , uma vez que o K_m é a concentração de substrato necessária para se atingir metade da velocidade máxima.
- ▶ A diferença da quantidade de substrato ligada à uma quantidade x de enzima e à uma quantidade $2x$ de enzima é insignificante não alterando o K_m .

EXERCÍCIO 2



EXERCÍCIO 3

Sabendo que a ureia ($\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$) pode ser decomposta em CO_2 e NH_3 , um estudante interessado em obter NH_3 rapidamente, a partir de ureia, 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 de 1 ml) e os resultados de suas dosagens foram:

Tubo nº	Uréia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmoles)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	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	-	0,00

a) Qual foi a velocidade de reação nos tubos 5 a 8?

Tubo 5: $V = \mu\text{moles}/\text{min} = 0,73/10 = 0,073 \mu\text{moles de NH}_3/\text{min}$

Aplicando o mesmo conceito para os tubos 6, 7 e 8 temos:

Tubo 6: $0,078 \mu\text{moles de NH}_3/\text{min}$

Tubo 7: $0,079 \mu\text{moles de NH}_3/\text{min}$

Tubo 8: $0,078 \mu\text{moles de NH}_3/\text{min}$

EXERCÍCIO 3

- ▶ B) De que dependeu a velocidade de reação neste experimento?
 - ▶ Neste caso, como a concentração de enzima foi constante, a velocidade dependeu da concentração de substrato.
- ▶ C) Qual seria o resultado se a dosagem de amônia fosse feita após 48 h de incubação?
 - ▶ A produção do produto acontece enquanto houver substrato, mas a velocidade vai diminuindo porque a disponibilidade de substrato fica menor, pois ele vai sendo consumido pela enzima.
 - ▶ Então, provavelmente, após 48h, todo o substrato terá virado produto.

EXERCÍCIO 3

- ▶ D) Que modificações poderiam ser feitas na composição dos tubos para obter velocidades maiores do que as que foram medidas?
 - ▶ Poderíamos aumentar as concentrações da enzima, por exemplo.

EXERCÍCIO 4

A reação glicose + ATP formando glicose-6-fosfato + ADP pode ser catalisada por duas enzimas: hexoquinase e glicoquinase. A partir dos resultados apresentados no quadro a seguir, pode-se concluir qual das enzimas tem maior afinidade pela glicose? Justificar por que as velocidades de reação são diferentes.

Hexoquinase			Glicoquinase		
Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (µmoles/min)	Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (µmoles/min)
1	0,01	0,07	1	5	80
2	0,02	0,14	2	10	160
3	0,05	0,36	3	20	250
4	0,10	0,72	4	50	300
5	0,20	1,20	5	100	320
6	0,50	1,45	6	150	310
7	1,00	1,44	7	200	320
8	2,00	1,44	8	500	320

A hexoquinase tem uma afinidade muito maior para glicose (0.1 mM glicose), comparada a glicoquinase (10 mM glicose). Tendo maior afinidade, a hexoquinase satura rapidamente, o que faz com que a V_{max} seja diferente e menor do que a V_{max} da glicoquinase.

EXERCÍCIO 5

Fazer os seguintes gráficos:

- A) Velocidade da reação em função da concentração do complexo enzima-substrato ($v_0 \times [ES]$).
- B) Concentração de ES em função da concentração de substrato ($[ES] \times [S]$).
- C) Concentração de ES em função da concentração de enzima ($[ES] \times [E]$).
- D) Concentração de enzima livre em função do tempo ($[E]_{\text{livre}} \times t$).

► Vou colocar essa imagem que acredito responder todos os gráficos de uma vez hehe:

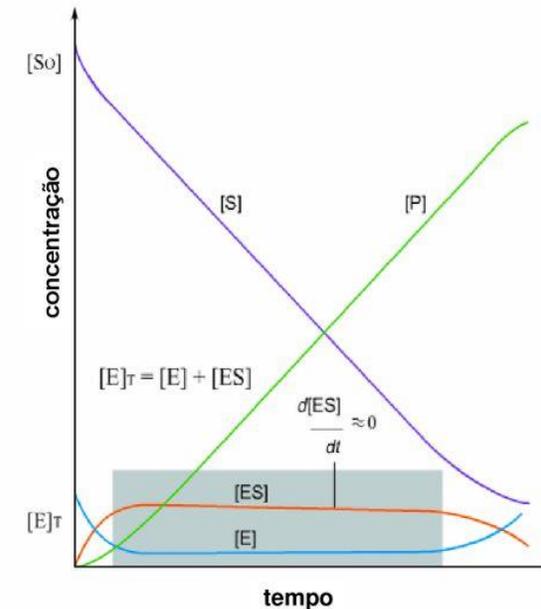
Fatores que controlam a atividade enzimática:

- 2. Tempo da reação
- 3. Concentração:
 - da enzima
 - do substrato
 - de co-fator(s)

A [substrato] cai na mesma razão em que a [produto] aumenta em função do tempo.

A enzima existe sob duas formas: enzima livre E e complexo enzima-substrato ES. No início da reação, a [E] livre cai e a do complexo [ES] aumenta e atinge um máximo, em que não há mais [E] livre no meio. Nessa situação (indicada no retângulo cinza), diz-se que a enzima está saturada (só existe no complexo ES). A velocidade da reação é a máxima.

O gráfico abaixo ilustra como as concentrações de E, S e P variam ao longo do tempo da reação.



EXERCÍCIO 6

As enzimas A, B, C e D têm as seguintes características:

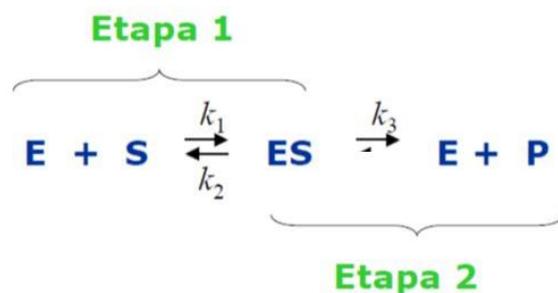
A: grande afinidade pelo substrato e alta velocidade de catálise

B: pequena afinidade pelo substrato e baixa velocidade de catálise

C: grande afinidade pelo substrato e baixa velocidade de catálise

D: pequena afinidade pelo substrato e alta velocidade de catálise

Supondo que os valores das constantes de velocidades k_1 , k_2 e k_3 para a enzima A sejam, respectivamente, 1.000, 100 e 1, estabelecer valores comparativos para as constantes de velocidades das enzimas B, C e D que expliquem as suas características.



$$k_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

Para a enzima A: $k_m = 101/1000 = 0,101$. Levaremos este número como referência de alta afinidade. Apesar de ter um k_3 baixo, como a afinidade é bem alta, acaba compensando e tendo boa catálise.

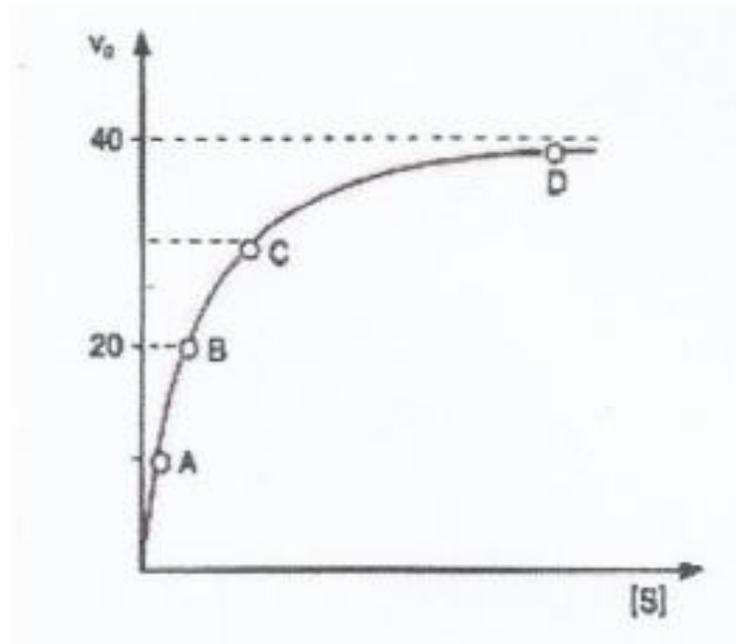
Para a enzima B: por ter pequena afinidade, k_m tem que ser alto, ou seja, $k_2 + k_3$ tem que ser um número alto e k_1 um número baixo. E por ter baixa velocidade de catálise, k_3 também precisa ser baixo. Poderia ser, por exemplo $k_1 = 100$, $k_2 = 1000$ e $k_3 = 1$. Teríamos $k_m = 10,01$, ou seja, baixa formação de ES, e mesmo os que formarem, ainda terão baixo k_3 , tendo baixa catálise.

EXERCÍCIO 6

- ▶ Para a enzima C: Para grande afinidade, precisamos de um k_m baixo. E pela baixa catálise, precisamos de um k_3 baixo. Assim, podemos supor, por exemplo, $k_1 = 1000$, $k_2 = 100$ e $k_3 = 0,01$. Teríamos $k_m = 0,1$, ou seja alta afinidade. Entretanto, como k_3 é muito baixo, temos baixa produção do produto.
- ▶ Para a enzima D: Para pequena afinidade, precisamos de um k_m alto. E para alta catálise, precisamos de um k_3 bem alto para compensar a baixa afinidade. Assim, podemos supor $k_1 = 10$, $k_2 = 100$ e $k_3 = 1000$. Teríamos $k_m = 110$, ou seja, baixa afinidade. Mas como k_3 é bem alto, ou seja, todo ES formado seria transformado em produto.

EXERCÍCIO 7

Indicar a porcentagem de enzima livre (em relação ao total de enzimas presentes) e de substrato livre (em relação à sua concentração inicial) nos pontos A, B, C e D do seguinte gráfico.



Como estamos falando em porcentagem livre, ou seja, são medidas comparativas, e não concentrações específicas, teremos a seguinte resolução sem a necessidade da utilização da equação de M-M.

EXERCÍCIO 7

- D 0 % enzima livre, 100% [ES], ~100% substrato livre**
- C 25 % enzima livre, 75 % [ES], ~100% substrato livre**
- B 50 % enzima livre, 50 % [ES], ~100% substrato livre**
- A 75 % enzima livre, 25% [ES], ~100% substrato livre**

A porcentagem de substrato livre não se altera porque, como já comentamos em questões anteriores, por ser uma concentração muito maior que a concentração de enzima, o tanto que é consumido de substrato é insignificante para mudar sua concentração relativa