

Nomes e/ ou Número do Grupo:

1) Quais são os fatores que afetam/determinam:

a) a atividade enzimática;

A atividade enzimática é influenciada principalmente pela temperatura, pH e tempo.

Temperatura: Seguindo o comportamento das reações químicas, a velocidade da atividade enzimática aumenta quando se aumenta a temperatura. Entretanto, a velocidade da reação aumenta até um máximo, e após determinada temperatura a velocidade declina rapidamente, mesmo com aumento da temperatura. Isso ocorre porque a estrutura tridimensional das enzimas se desnatura, impossibilitando-a de formar o complexo enzima-substrato.

pH: Assim como no caso da temperatura, existe um valor para atividade ótima o qual, quando ultrapassado, ocorre um rápido decréscimo.

Tempo: A atividade enzimática é influenciada diretamente pela ação do tempo. Quanto mais tempo a enzima estiver em contato com o substrato, mais produtos serão produzidos, isso enquanto houver substrato.

b) o Km;

Já que Km é a concentração de substrato na qual a reação acontece na metade da velocidade máxima e sabendo que enzimas diferem muito no Km, Km depende da concentração de substrato e das condições experimentais (temperatura, sais, pH, etc).

c) a velocidade máxima da reação.

A velocidade de uma reação enzimática, além das condições experimentais, também dependerá da quantidade de substrato presentes no meio. Como a enzima, para atuar, depende da ligação com o substrato, pequenas concentrações de substrato dificultam a interação com as enzimas contidas no meio, determinando, assim, baixa velocidade de reação. Em contrapartida, elevadas quantidades de substrato aumentam as chances de interação com as moléculas enzimáticas presentes no meio, de forma que também aumenta a velocidade de reação. A concentração de substrato influencia na velocidade de reação até um ponto máximo, chamado ponto de saturação. Passado deste ponto de saturação, as enzimas estarão todas ligadas nos substratos, catalisando as reações na máxima velocidade que conseguem (Vmax). Dessa forma, mesmo elevando a concentração de substrato, a velocidade de reação permanece constante.

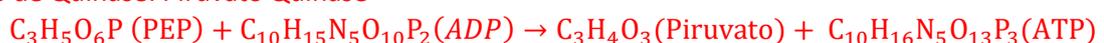
2) Consulte um dos livros de bioquímica sugeridos como bibliografia e procure o mecanismo molecular de reação de uma oxidoreductase e de uma quinase. Para cada uma destas enzimas, cite seu nome e a reação (substratos ou reagentes, e produtos) catalisada. Cite uma coenzima que participa da reação catalisada e descreva sua função.

Exemplo de Oxirredutase: Álcool-Desidrogenase.



Coenzima: NAD⁺/NADH

Exemplo de Quinase: Piruvato Quinase



Coenzima: ADP/ATP

3) O Km de uma enzima para um substrato é 6.5×10^{-2} M. A atividade da enzima foi medida numa concentração inicial de $[S] = 3.5 \times 10^{-4}$ M e, em um minuto, metade do substrato havia sido consumido. Calcular:

a) a. A velocidade máxima da reação.

Como $[S] \ll K_m$, a reação é de primeira ordem, e, conseqüentemente:

$$k = 0.693/t_{1/2} = 0.693/1 = 0.693 \text{ min}^{-1}$$

Como $k = V_m/K_m$ calcula-se o V_m :

$$V_m = k \cdot K_m = 0.693 \times 6.5 \times 10^{-2}$$

$$V_m = 4.5 \times 10^{-2} \text{ mol.litro}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

A forma integrada da equação de primeira forma é:

$$2.3 \log[S_0]/[S_t] = kt$$

Substituindo:

$$2.3 \log \frac{3.5 \times 10^{-4}}{[S_t]} = 0.693 \times 3.5$$

$$2.3(\log 3.5 \times 10^{-4} - \log[S_t]) = \frac{2.425}{2.3} = 1.05$$

$$0.5441 - 4 - \log[S_t] = 1.05$$

$$-\log[S_t] = 4.5$$

$$\log \frac{1}{[S_t]} = 4.5$$

$$\frac{1}{[S_t]} = 3.16 \times 10^4$$

$$[S_t] = 0.316 \times 10^{-4}$$

b) b. A concentração de produto formado após 3,5 minutos.

A concentração do produto após 3,5 minutos de reação será:

$$[P] = S_0 - S_t = (3.5 \times 10^{-4}) - (0.316 \times 10^{-4})$$

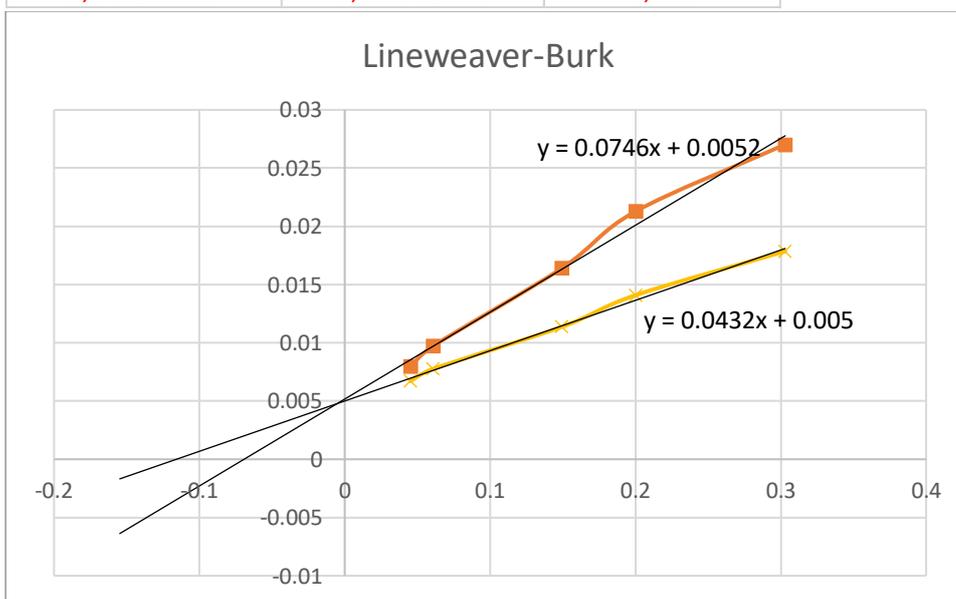
$$[P] = 3.184 \times 10^{-5} \text{ M}$$

4) Experimentos cinéticos foram realizados para uma enzima e seu substrato numa concentração especificada na tabela abaixo para as condições normais e com um inibidor. Pede-se:

- Análise pelo gráfico de Lineweaver-Burk nos dois casos (sem e com inibidor).
- Determine os parâmetros cinéticos da enzima não-inibida.
- Determine o tipo de inibição e o K_i .

Concentração de Substrato $\times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	Taxa de Reação: $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$	
	Sem Inibidor	40mM de Inibidor
3.3	56	37
5.0	71	47
6.7	88	61
16.5	129	103
22.1	149	125

1/[S]	1/V sem I	1/V com I
0,303030303	0,017857143	0,027027027
0,2	0,014084507	0,021276596
0,149253731	0,011363636	0,016393443
0,060606061	0,007751938	0,009708738
0,045248869	0,006711409	0,008



$y=1/V=0.005 \rightarrow V_{max} = 200.10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$

-1/km: Sem Inibidor -0,11574 Km: $8,64.10^{-4} \text{ mM}$
 Com Inibidor -0,06971 $14,34615.10^{-4} \text{ mM}$

Inibição: Competitiva.

Alpha: $K_{mi}/K_m = 1,660434473$

Alpha = $1 + [I]/K_i$

$K_i = [I]/\alpha - 1 \rightarrow K_i = 0,060576874 \text{ mM}$