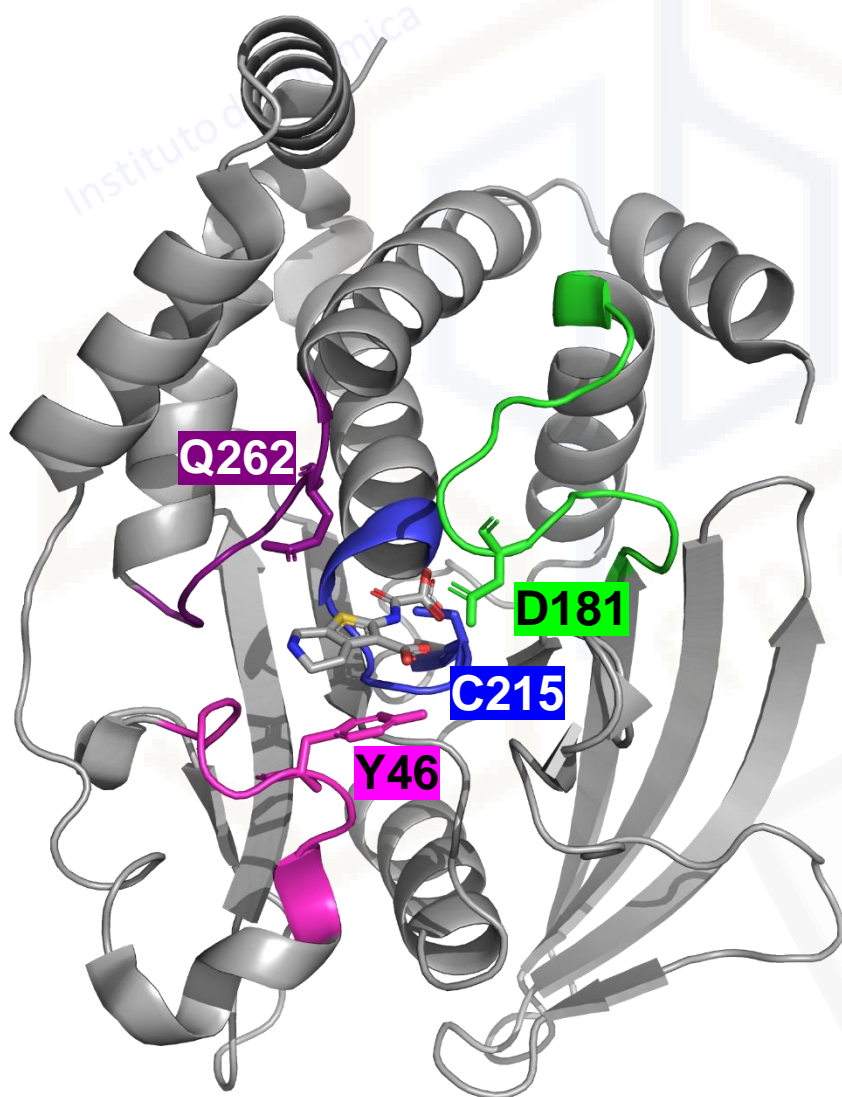
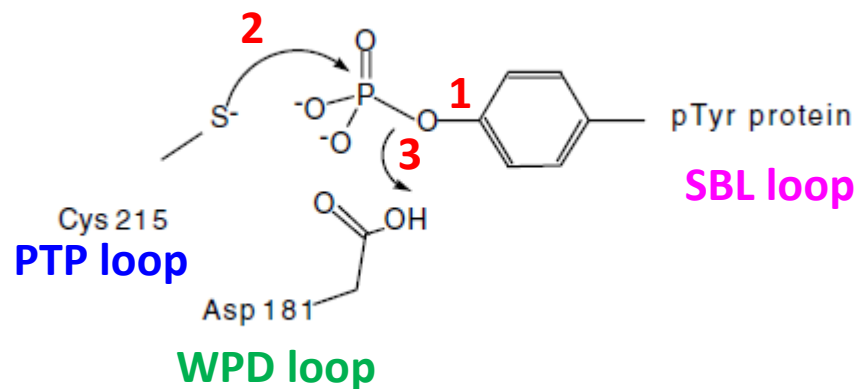


1. Por que as moléculas de enzimas são grandes?

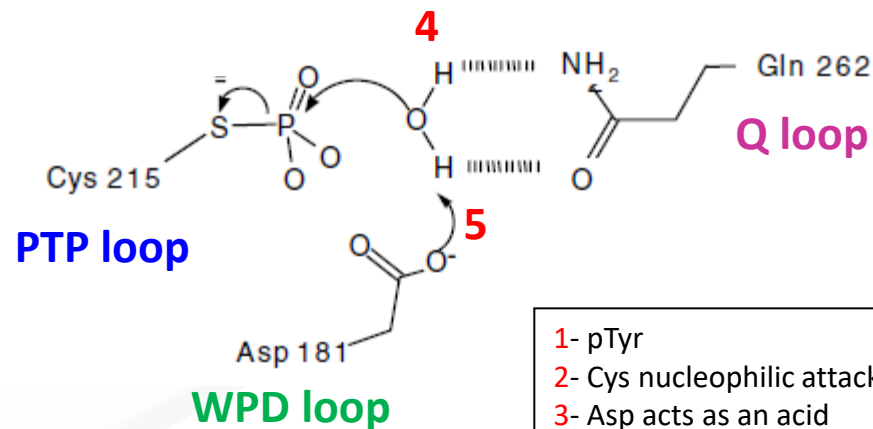


PTP1B - Meng et al., 2017 – Mol Cell

Cysteinyl-phosphate intermediate



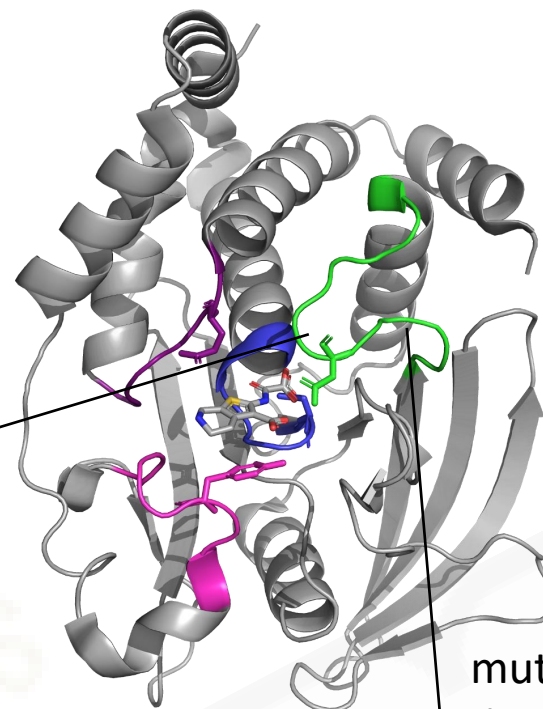
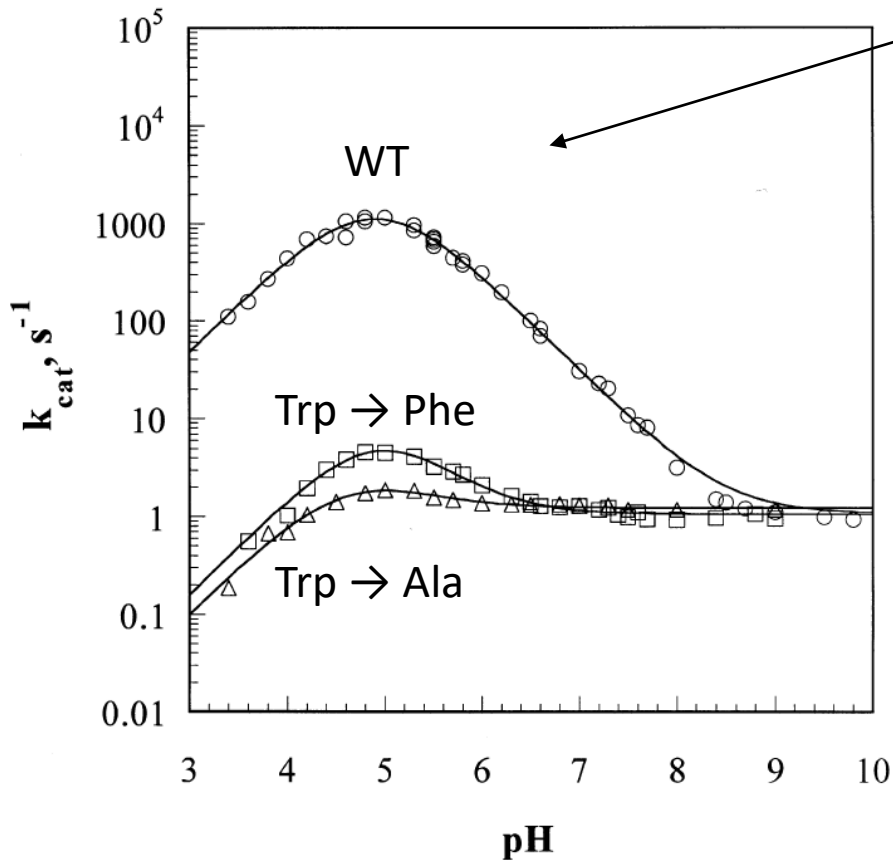
Pi release mediated by hydrolysis



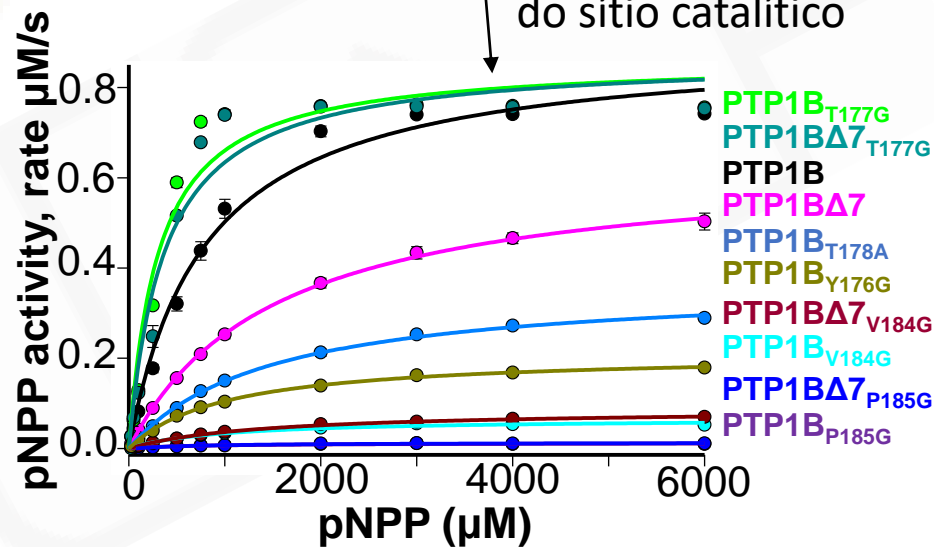
- 1- pTyr
- 2- Cys nucleophilic attack
- 3- Asp acts as an acid
- 4- Hydrolysis
- 5- Asp acts as a base

Barford, Tonks, 1994 – Science 263:1397-1404

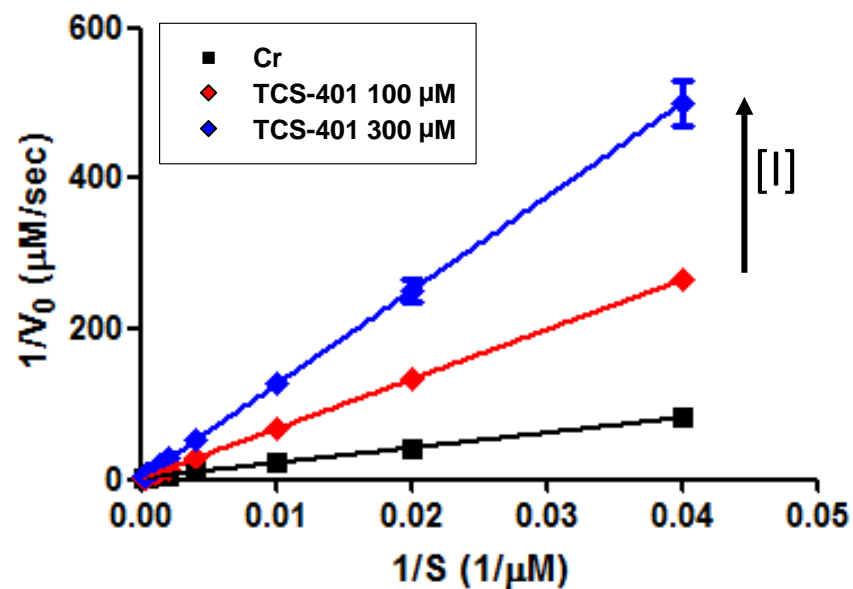
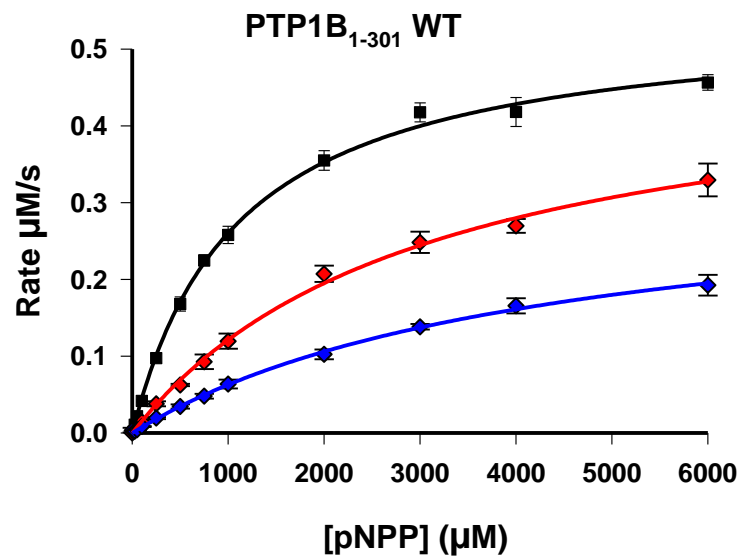
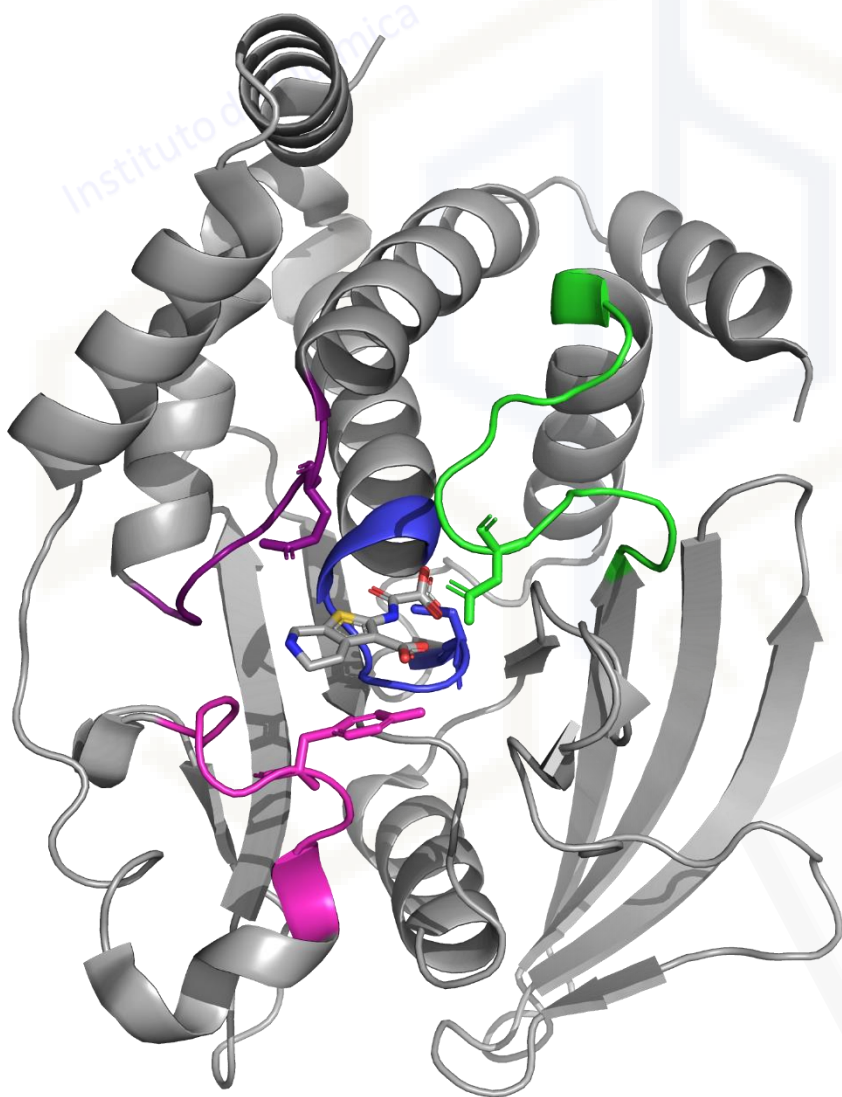
Mutações no sítio catalítico, levam a redução da atividade enzimática.

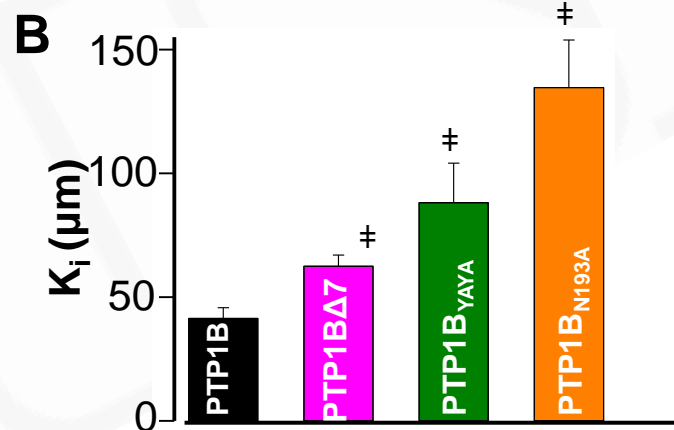
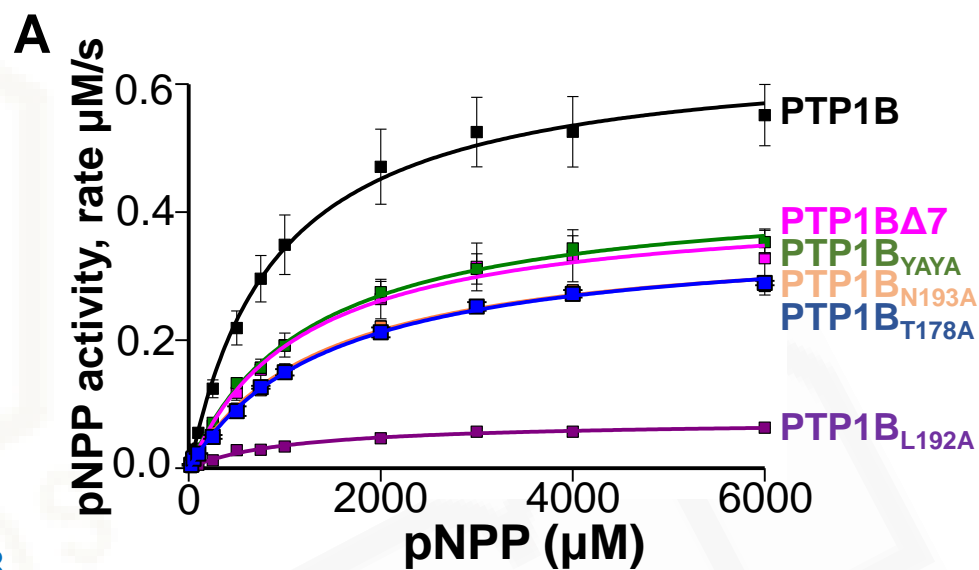
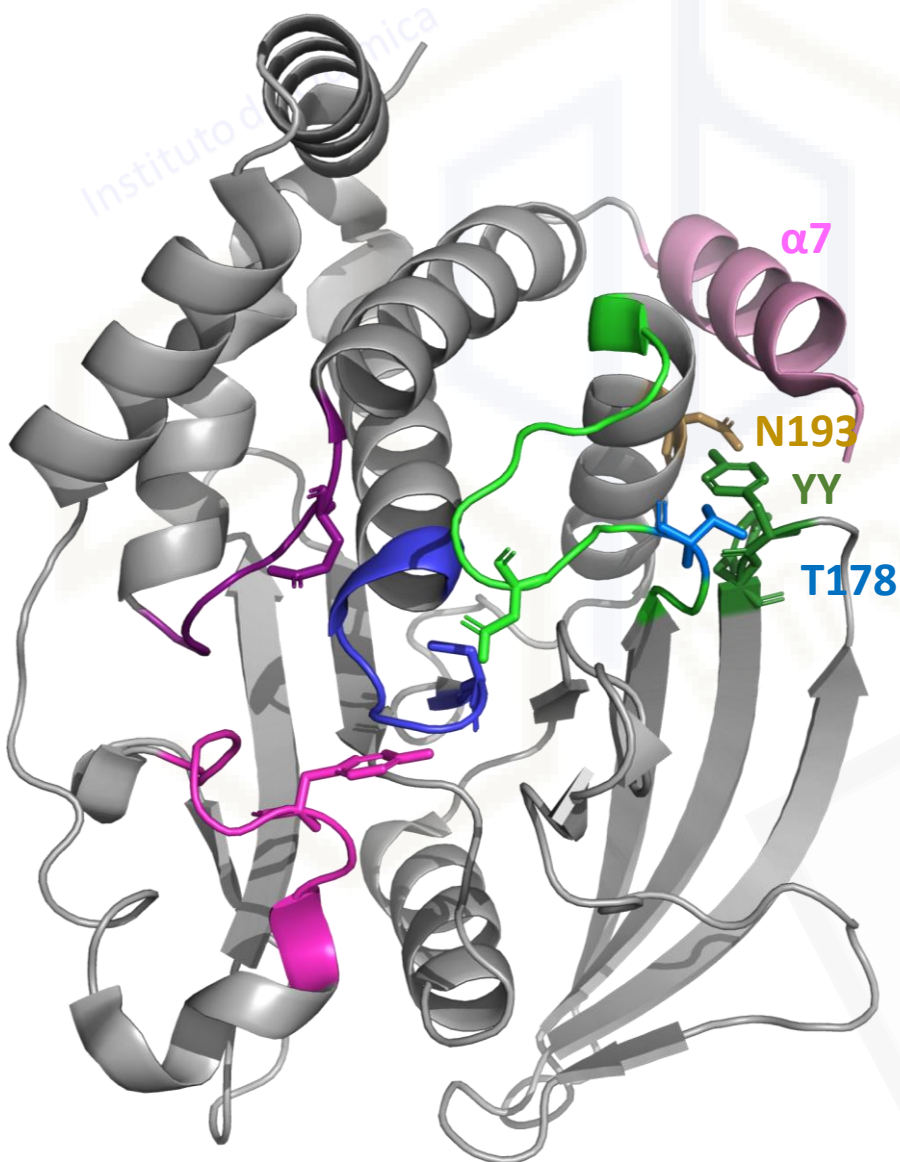


mutações nesse loop do sítio catalítico

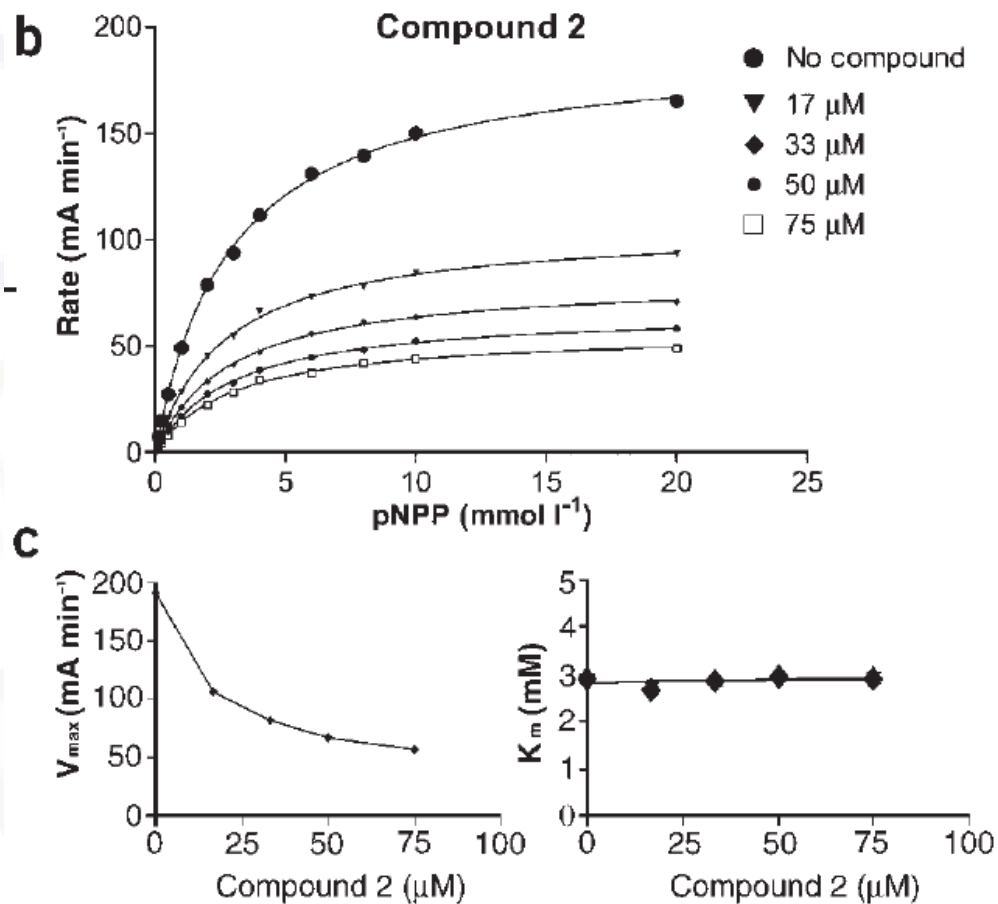
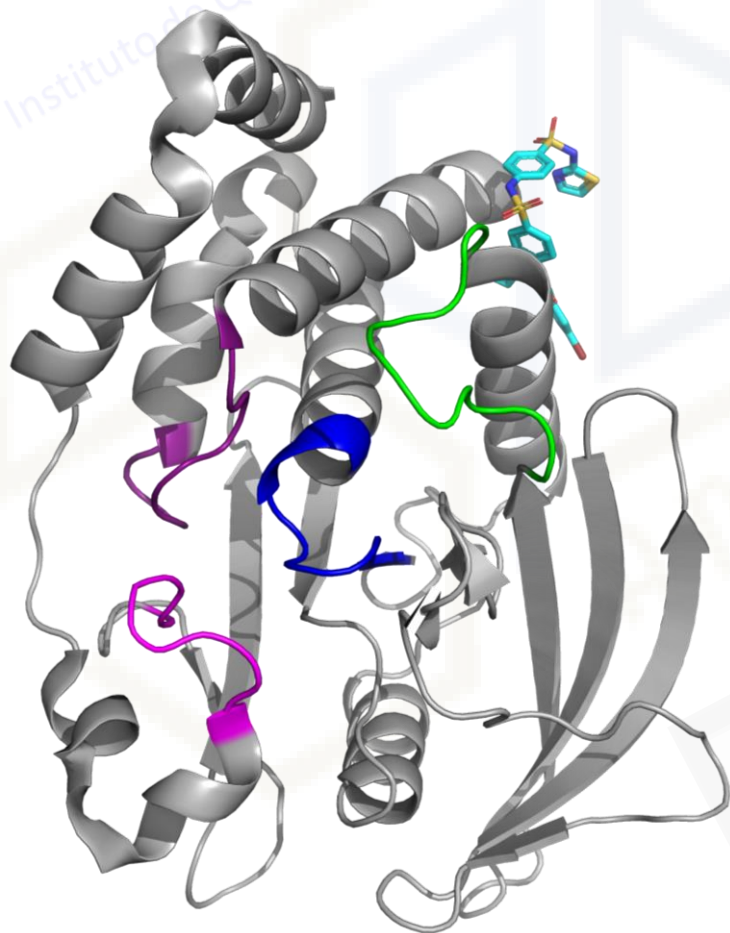


Inibição competitiva pelo TCS-401

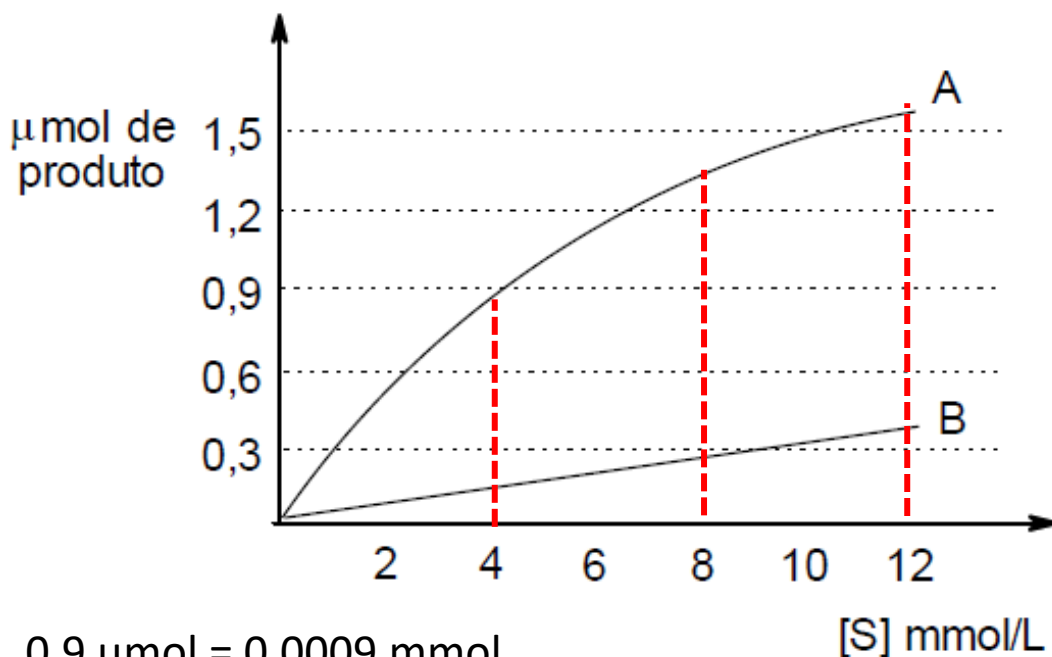


Regulação alostérica da enzima pela alfa hélice 7 ($\alpha 7$)

Inibição não competitiva pelo inibidor alostérico



2. Um pesquisador preparou duas séries de tubos, usando as mesmas concentrações de substrato. Aos tubos da série A adicionou enzima e aos tubos da série B, não. Após 10 minutos de incubação dos tubos a 30°C mediu a quantidade de produto formado, obtendo os resultados expressos no gráfico seguinte. Quais as velocidades aproximadas da reação catalisada com concentrações do substrato de 4, 8 e 12 mmol/L?



0,9 µmol = 0,0009 mmol
 1,2 µmol = 0,0012 mmol
 1,5 µmol = 0,0015 mmol

$$V = \frac{\Delta p (A-B)}{\Delta t}$$

$$V = \frac{0,0009 - 0,00015 \text{ mmol}}{10 \text{ min}}$$

$$V = 0,000075 \text{ mmols/min}$$

$$V = \frac{m}{\Delta t}$$

$$V = \frac{0,0012 - 0,0003 \text{ mmol}}{10 \text{ min}}$$

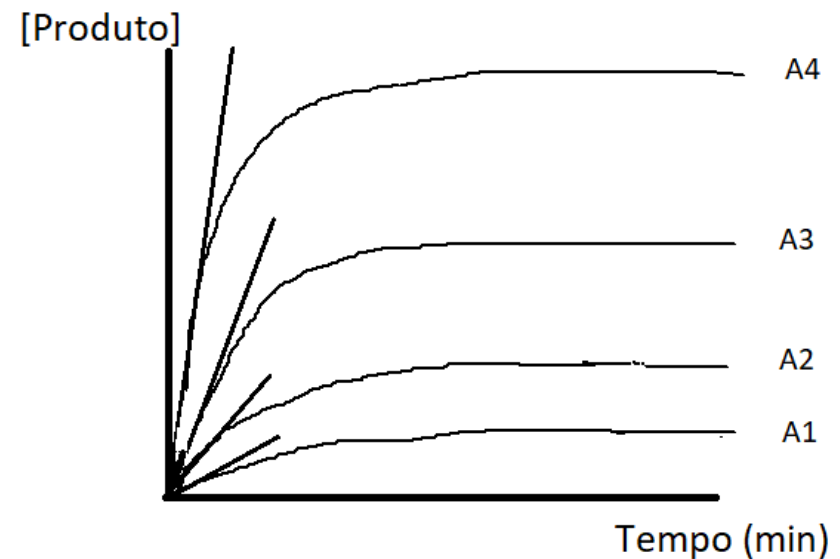
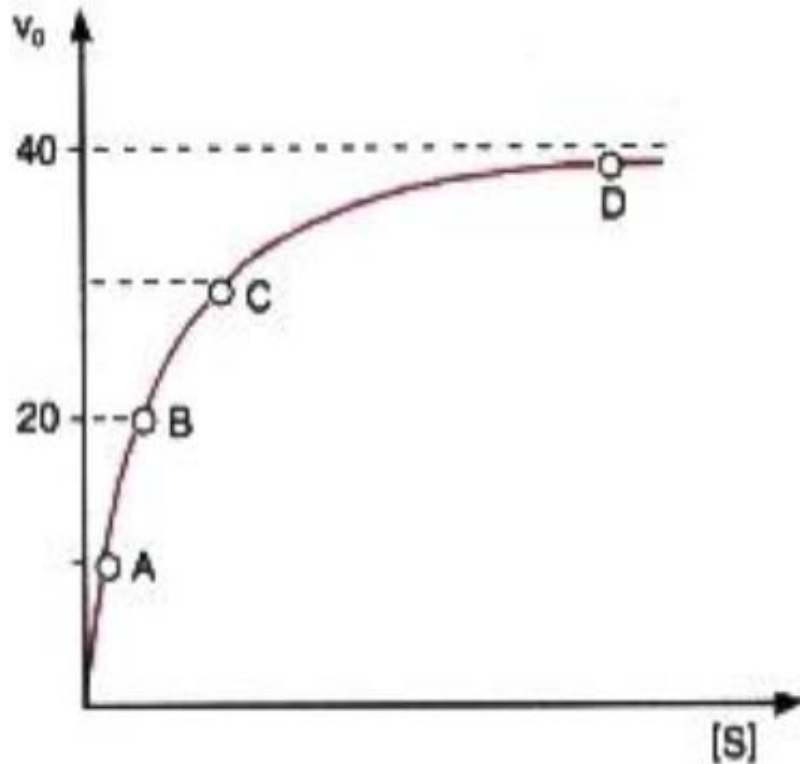
$$V = 0,00009 \text{ mmols/ min}$$

$$V = \frac{m}{\Delta t}$$

$$V = \frac{0,0015 - 0,0003 \text{ mmol}}{10 \text{ min}}$$

$$V = 0,00012 \text{ mmols/ min}$$

5 (pag 337): 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:



- 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

6 (pag 337): A velocidade de uma reação, utilizando-se uma concentração de substrato igual a 10^{-2} M e de enzima igual a 0,01 mg/ml, é igual a 20 nmoles de produto por minuto.

Sabendo que o K_M da enzima é 10^{-5} , indicar a:

a) quantidade de produto formado após 5 minutos de reação.

$$[S] = 10^{-2} \text{ M (0,01 M)}$$

$$[E] = 0,01 \text{ mg/ml}$$

$$V = 20 \text{ nmoles/min} = 0,00002 \text{ mmols/min}$$

$$K_M = 10^{-5} \text{ (0,00001)}$$

$$V = \frac{m}{\Delta t}$$

$$0,00002 \text{ mmols/min} = \frac{m}{5 \text{ min}}$$

$$m = 0,00002 \times 5$$

$$m = 0,0001 \text{ mmols}$$

- 6 (pag 337): A velocidade de uma reação, utilizando-se uma concentração de substrato igual a 10^{-2} M e de enzima igual a 0,01 mg/ml, é igual a 20 nmoles de produto por minuto. Sabendo que o K_M da enzima é 10^{-5} , indicar a:
- b) velocidade da reação, usando-se a mesma concentração da enzima e uma concentração de substrato igual a 10^{-5} M.

$$\begin{aligned}[S] &= 10^{-2} \text{ M (0,01 M)} \\ [E] &= 0,01 \text{ mg/ml} \\ V &= 20 \text{ nmoles/min} = 0,00002 \text{ mmols/min} \\ K_M &= 10^{-5} \text{ (0,00001)}\end{aligned}$$



Concentração de substrato maior que K_M , temos:
 $10^{-2} [S] > 10^{-5} (K_M)$
 $v_0 = V_{\max}$, portanto $V=20$ nmoles/min representa a V_{\max} .



$$\begin{aligned}[S] &= 10^{-5} \text{ M (0,00001 M)} \\ [E] &= 0,01 \text{ mg/ml} \\ V &= ? \\ K_M &= 10^{-5} \text{ (0,00001)} \\ \mathbf{[S] = K_M \rightarrow V_0 \text{ (metade da velocidade máxima)}}$$

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$V_0 = \frac{0,00002 \times 10^{-5}}{10^{-5} + 10^{-5}}$$

$$V_0 = \frac{0,00002 \times 10^{-5}}{0,00002}$$

$$V_0 = 10^{-5} \text{ (0,00001) mmols/min}$$

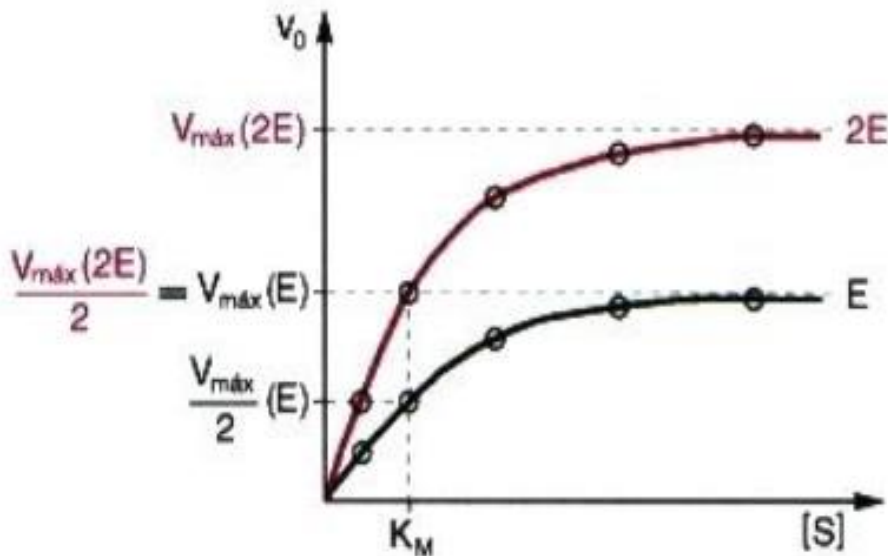


6 (pag 337): A velocidade de uma reação, utilizando-se uma concentração de substrato igual a 10^{-2} M e de enzima igual a 0,01 mg/ml, é igual a 20 nmoles de produto por minuto. Sabendo que o K_M da enzima é 10^{-5} , indicar a:

c) velocidade da reação, dobrando-se a concentração da enzima.

$[S] = 10^{-2}$ M (0,01 M)
 $[E] = 0,01$ mg/ml
 $V = 20$ nmoles/min = 0,00002 mmols/min
 $K_M = 10^{-5}$ (0,00001)

Concentração de substrato maior que K_M , temos:
 $10^{-2} [S] > 10^{-5} (K_M)$
 $v_0 = V_{max}$, portanto $V=20$ nmoles/min representa a V_{max} .



$$\frac{V_{max}(2E)}{2} = V_{max}(E)$$

$$\frac{V_{max}(2E)}{2} = 0,00002$$

$$V_{max} 2E = 0,00002 * 2$$

$$V_{max} 2E = 0,00004 \text{ mmols/min}$$

9 (pag 338): A reação Glicose + ATP \rightarrow glicose 6-fosfato + ADP pode ser catalisada por duas enzimas: hexoquinase e glicocquinase. 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			Glicocquinase		
Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (μ moles/min)	Tubo nº	Glicose (mM)	Velocidade da reação (μ moles/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 glicocquinase (10 mM glicose). Saturando a enzima rapidamente, o que faz com que a V_{max} seja menor do que a glicocquinase.

\downarrow k_{cat}

$$v = k_3[ES]$$

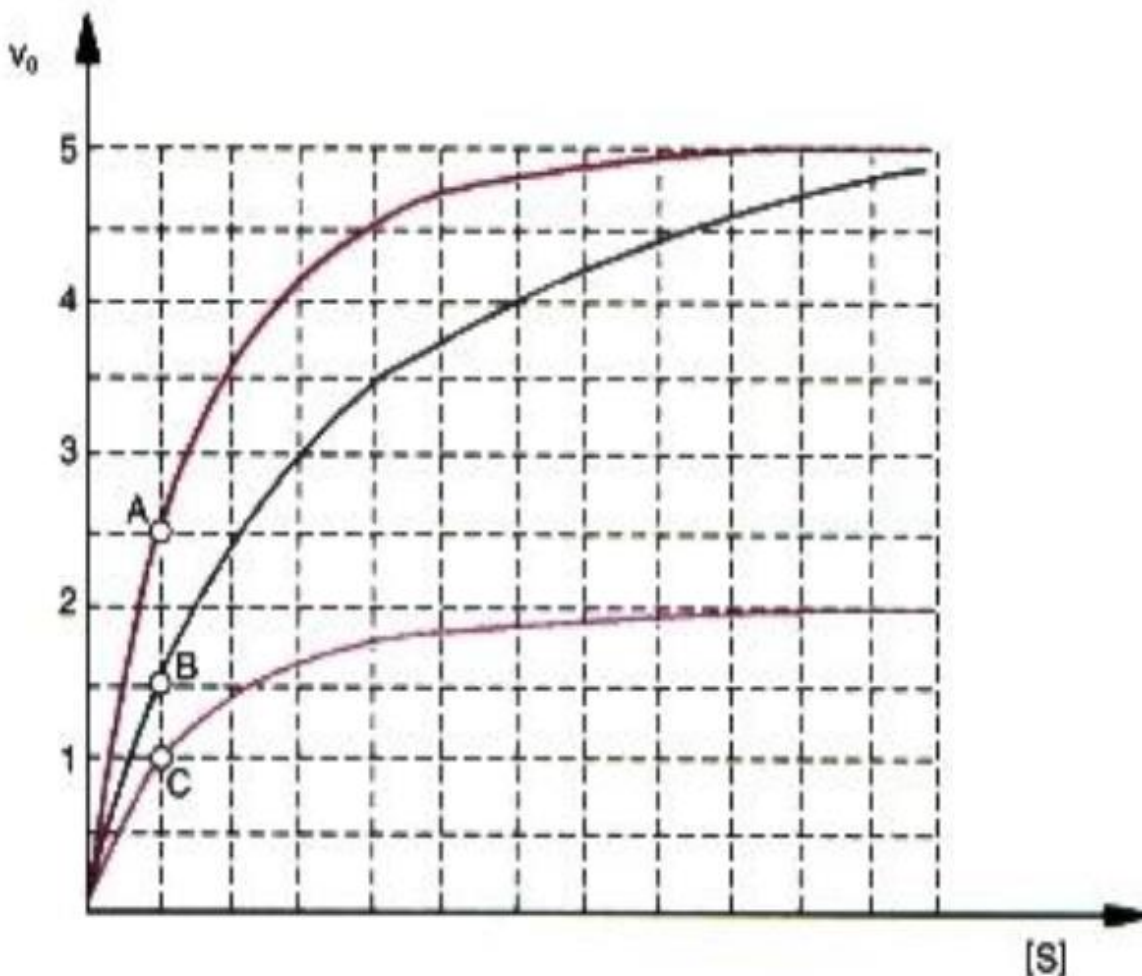
\uparrow k_{cat}

10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

a) $v_0 = k_3 [ES]$

A, B e C:

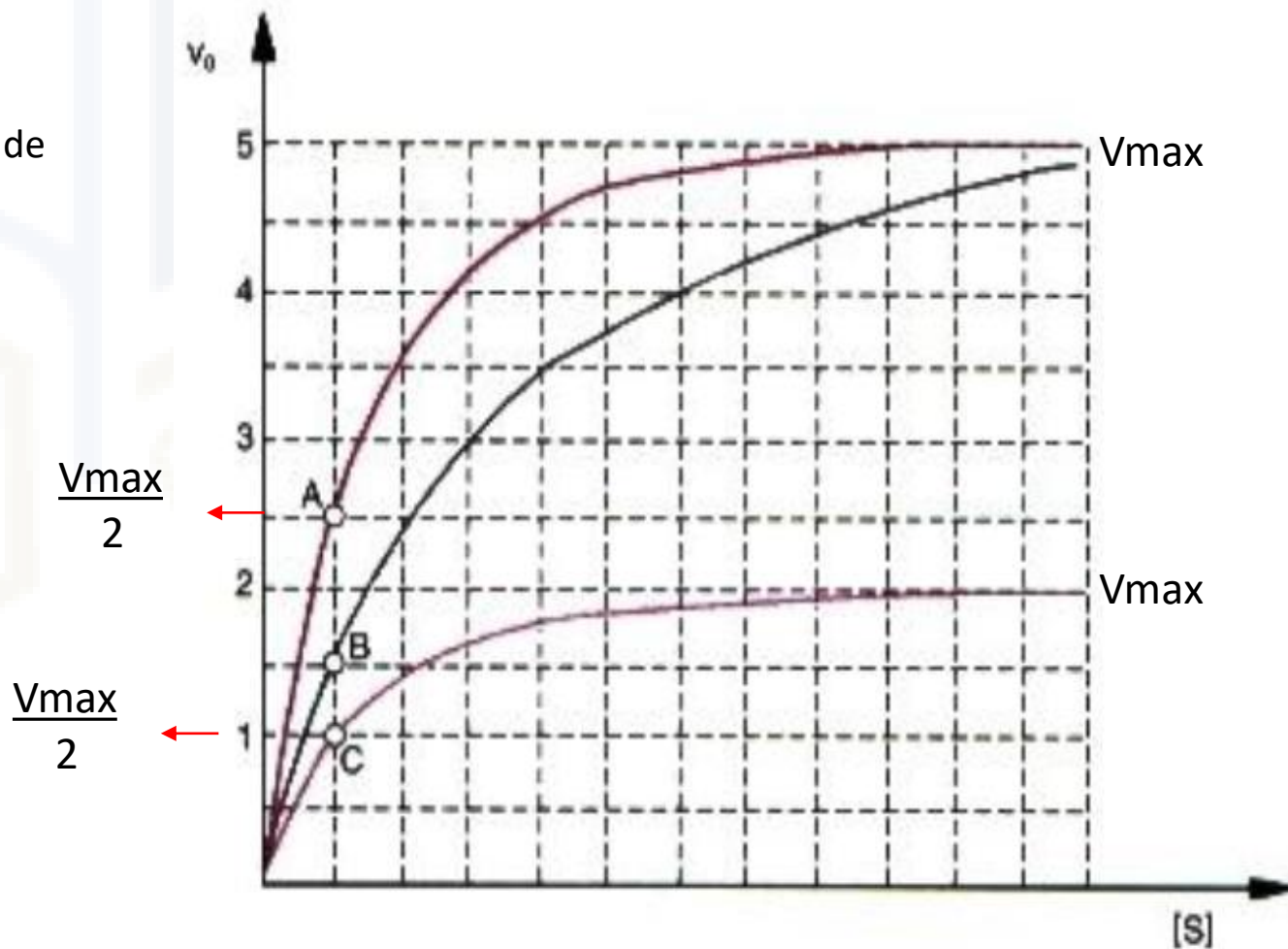
v_0 da reação total é a velocidade do aparecimento do produto. $k_3 \times [ES]$ é a V_{max} , ou seja, quando a enzima total se encontra sob a forma ES.



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

b) $[S] = K_M$

A e C – concentração do substrato em que a velocidade da reação é metade da velocidade máxima.

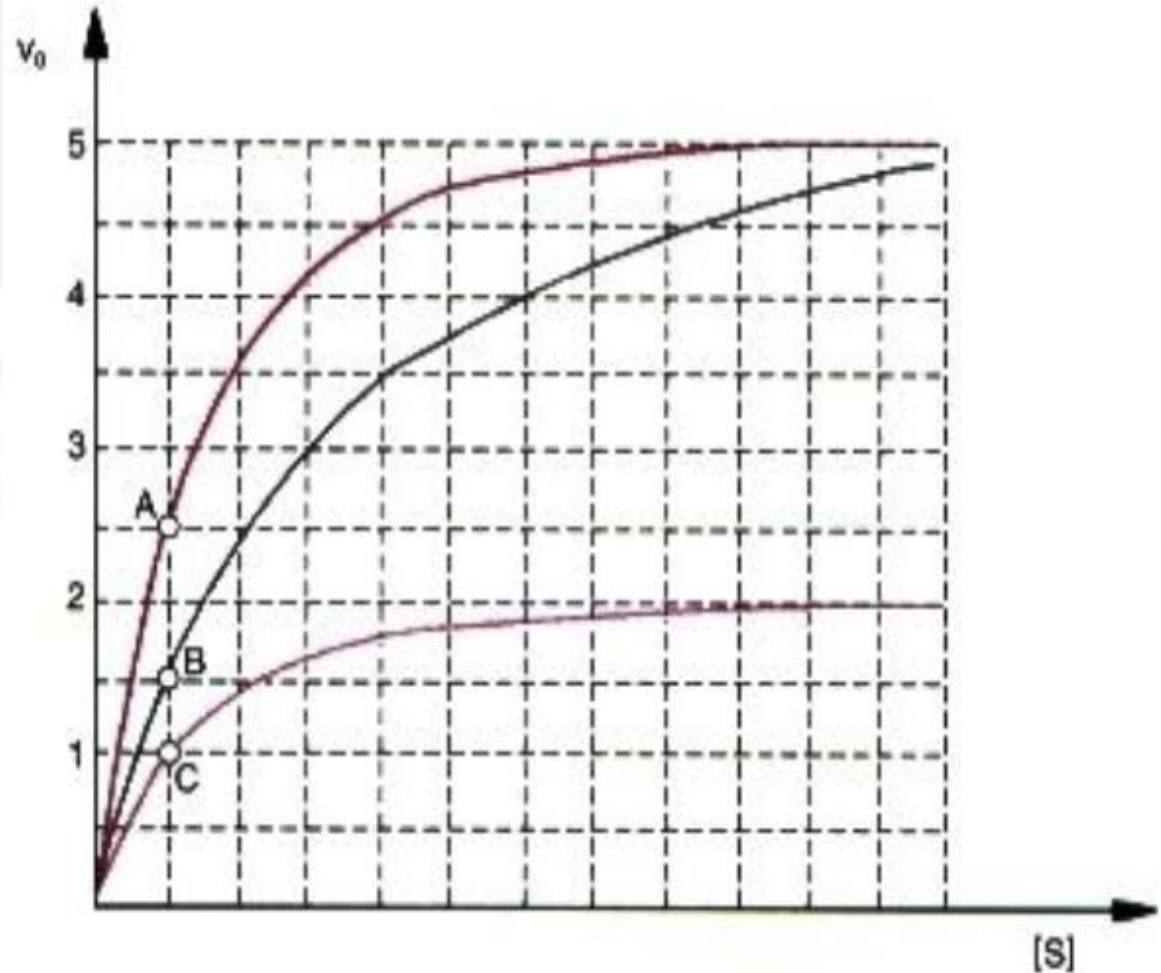


10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

c) $[ES] > [E_{\text{livre}}]$

B – 25% de formação do complexo ES, sendo portanto menor do que a concentração de enzima.

A e C – 50% de formação do complexo ES, sendo portanto igual a concentração de enzima livre (50%).

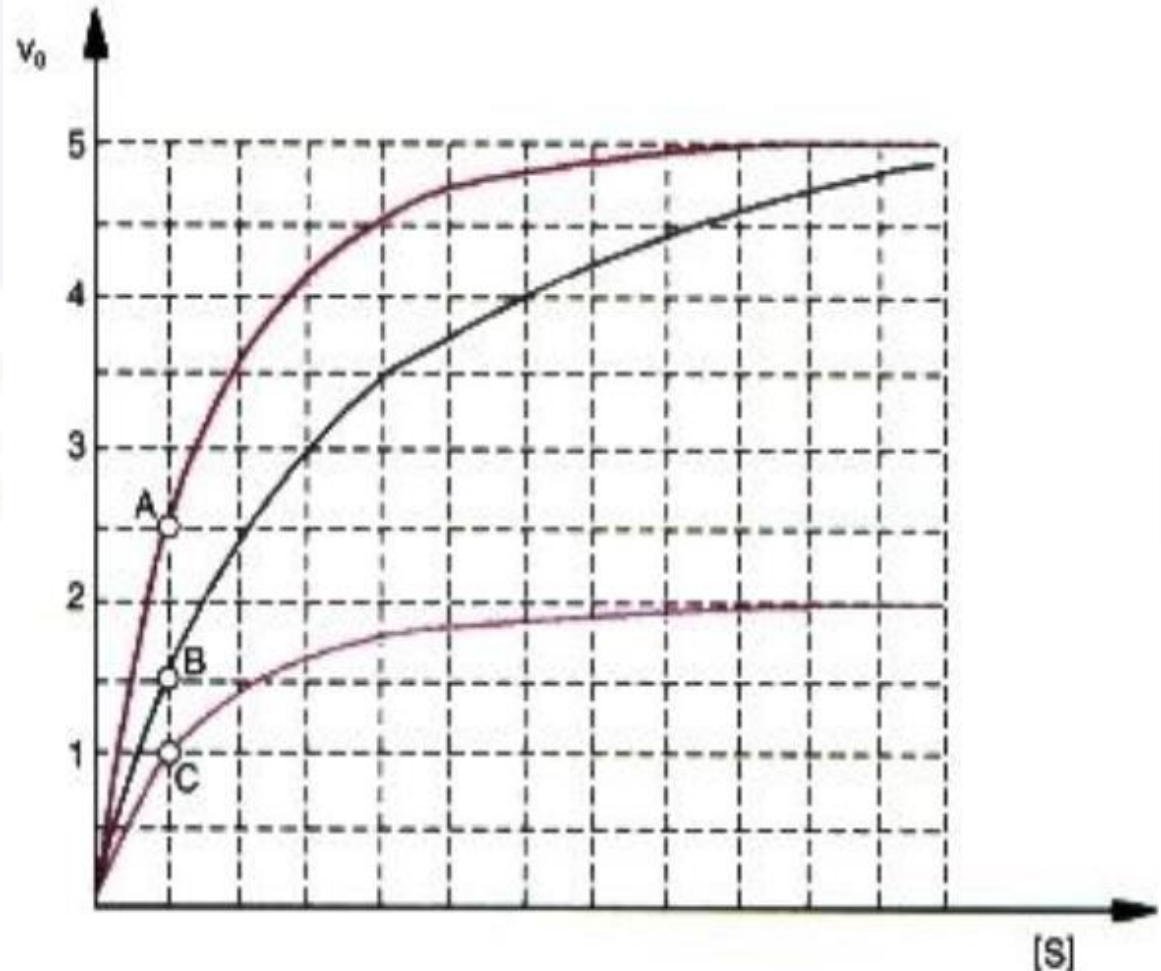


10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

d) [S] limitante

A, B e C - aumentando a concentração de substrato, aumenta a velocidade, portanto o S é limitante.

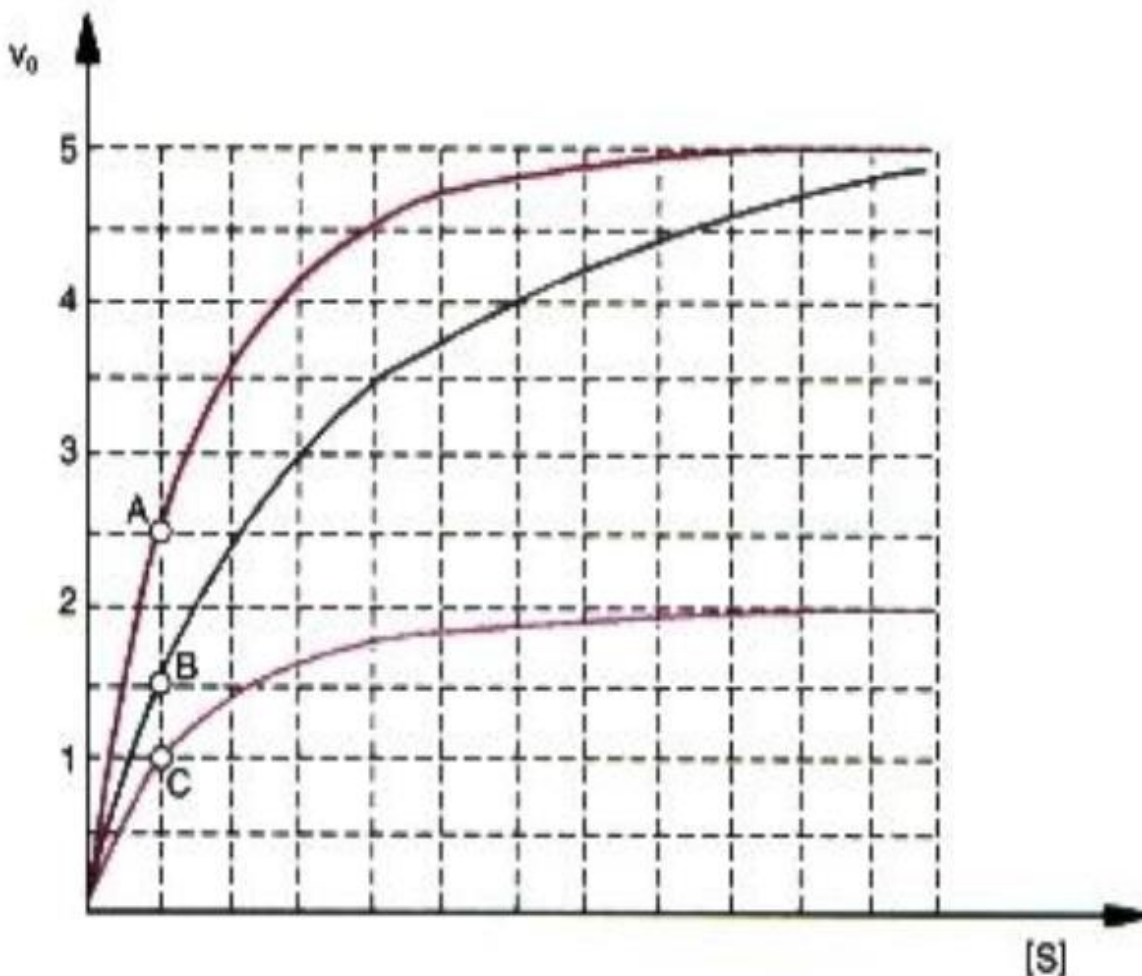
aumentando a concentração de substrato e não aumenta a velocidade, S não é limitante (platô da curva).



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

e) $v_0 = V_{\text{máx}}$

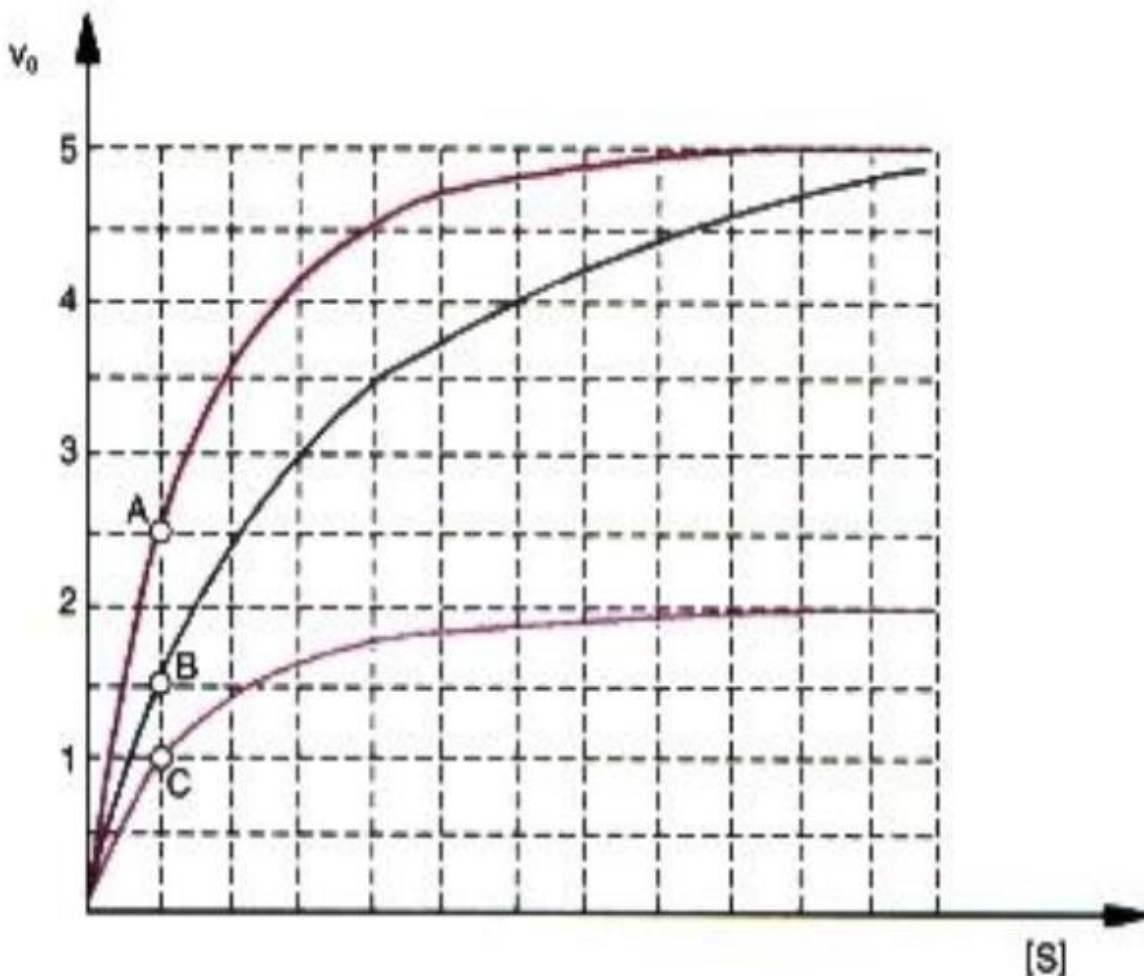
$V_0 = V_{\text{max}}$, seria o ultimo ponto da subida da curva, onde começa a manter a V_{max} .



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

f) $v_0 = k [E_{total}]$

$V_{max} = k_3[Et]$, sítios da enzima estão saturadas com substrato, ou seja, quando $[ES] = Et$.



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

g) $[E_{total}] > [ES] + [E_{livre}]$

$[E_{livre}] = E_t - [ES]$,

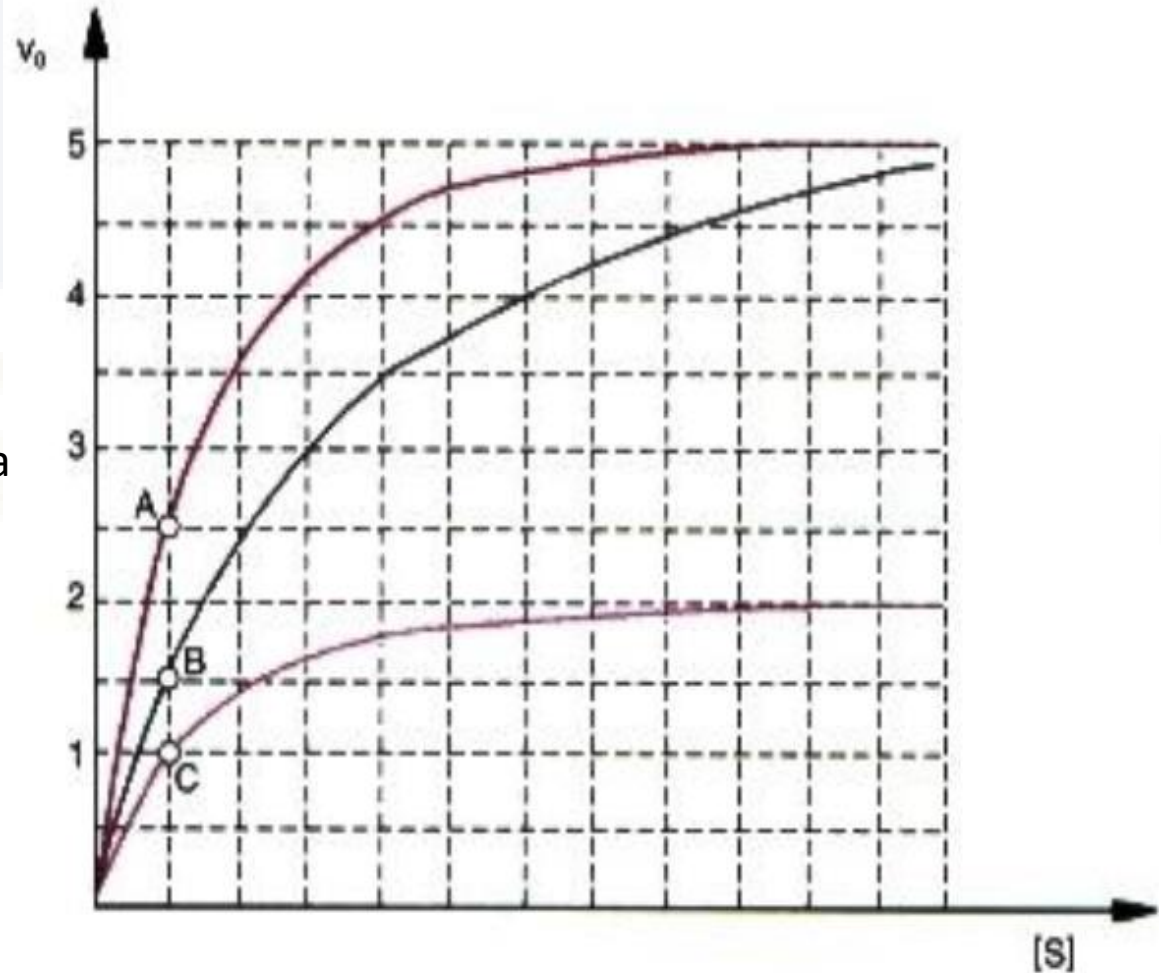
ou seja, a concentração da enzima total deve ser:

$E_t = [E_{livre}] + [ES]$

$[E_{livre}] = E_t - [ES]$,

ou seja, a concentração da enzima total deve ser:

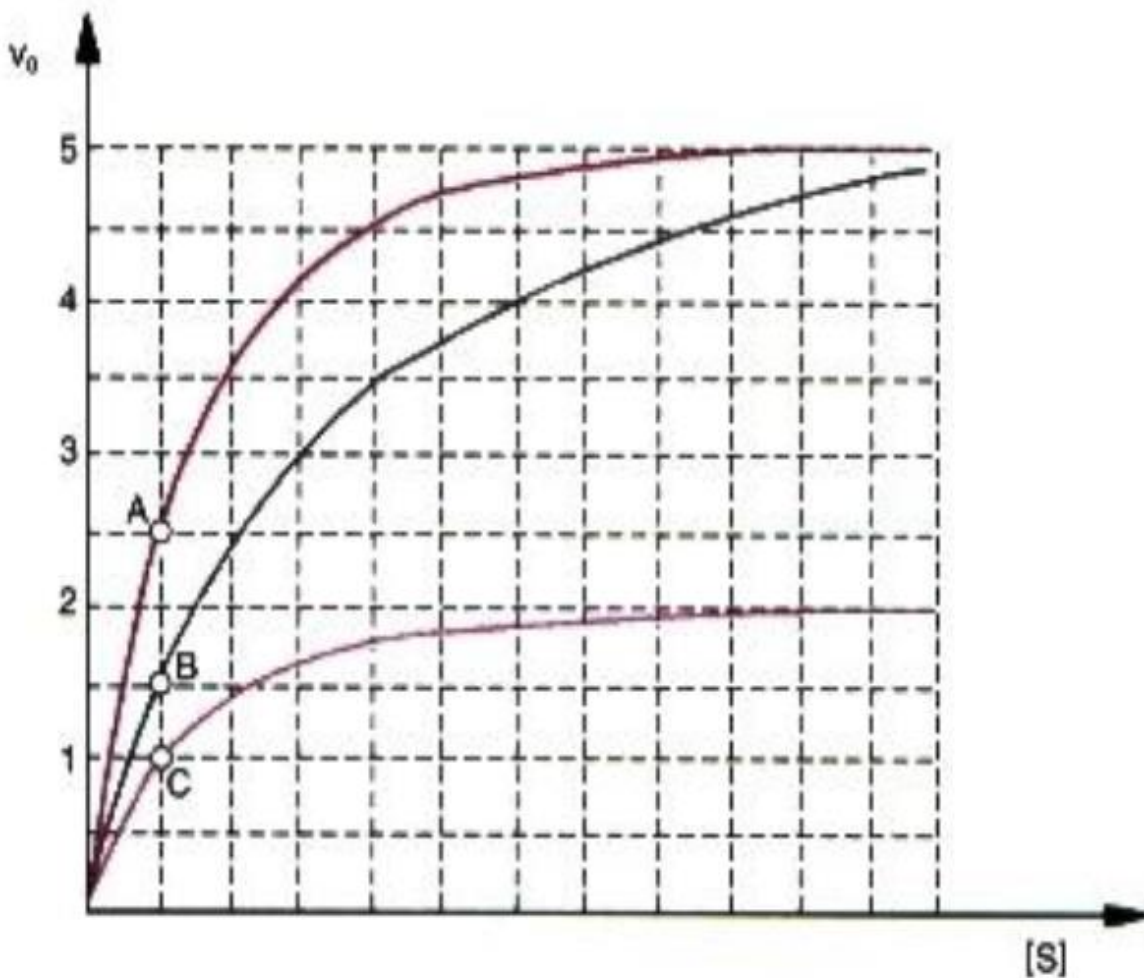
$E_t = [E_{livre}] + [ES] + [EI]$ e/ou $[ESI]$



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

h) $[ES] < [E_{total}]$

A, B e C



10 (pag 338): O gráfico a seguir representa a cinética de um reação enzimática na presença de um inibidor competitivo, não competitivo e sem inibidores. Para que pontos - A e/ou B e/ou C - são válidas as seguintes afirmações:

i) $[ES] = [E_{livre}]$

A – 50% de formação do complex ES e 50 % de enzima livre.

B – tem ES ou EI

C – Inibição não competitiva (60% de inibição)

50% ES e 50% E livre (dos 40% que não está ligado ao inibidor, que representa 20% cada).

