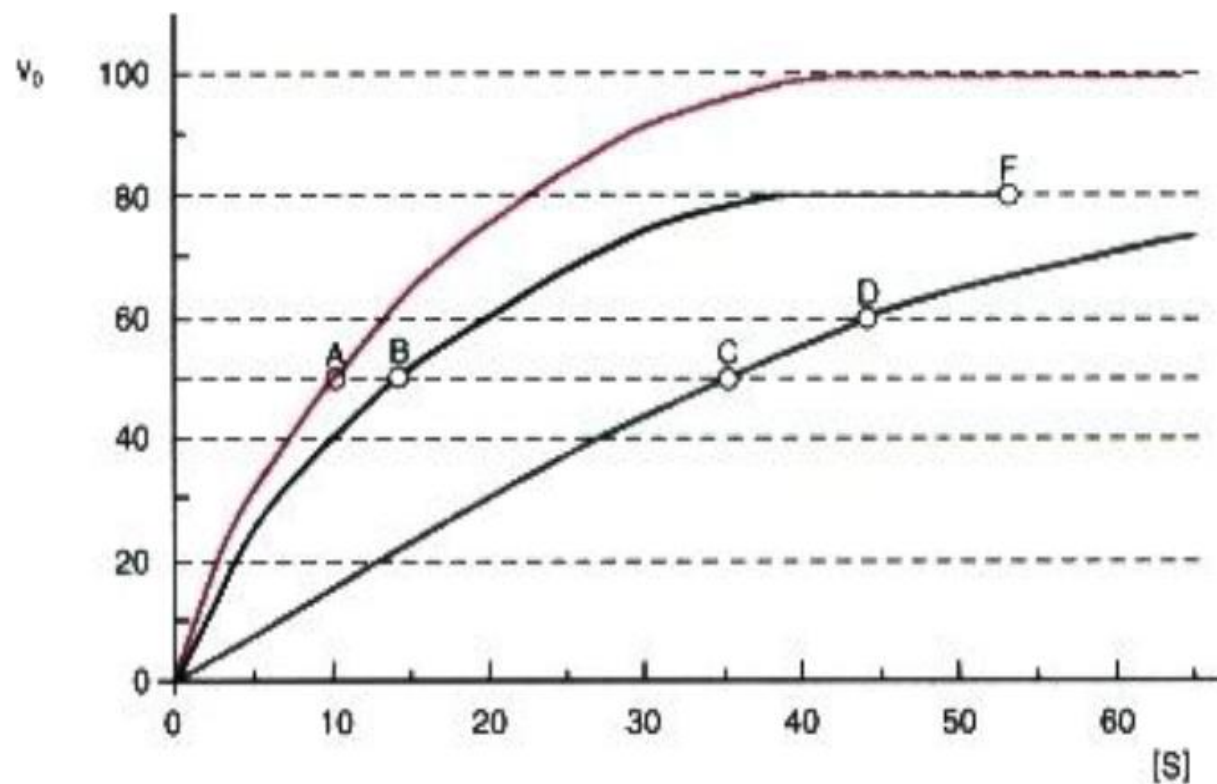


pag339 (11) - O gráfico a seguir mostra os resultados obtidos em experiências realizadas com a mesma concentração de enzima, na ausência e presença de inibidores. Indicar as porcentagens, em relação ao total de enzima, de:

a) complexo enzima-substrato (ES) correspondente aos pontos A, B, C, D e F.



$$V_0 = k_3 \times [ES]$$

$$A - ES = 50 \%$$

$$B - ES = 50 \%$$

$$C - ES = 50 \%$$

$$D - ES = 60 \%$$

$$F - ES = 80 \%$$

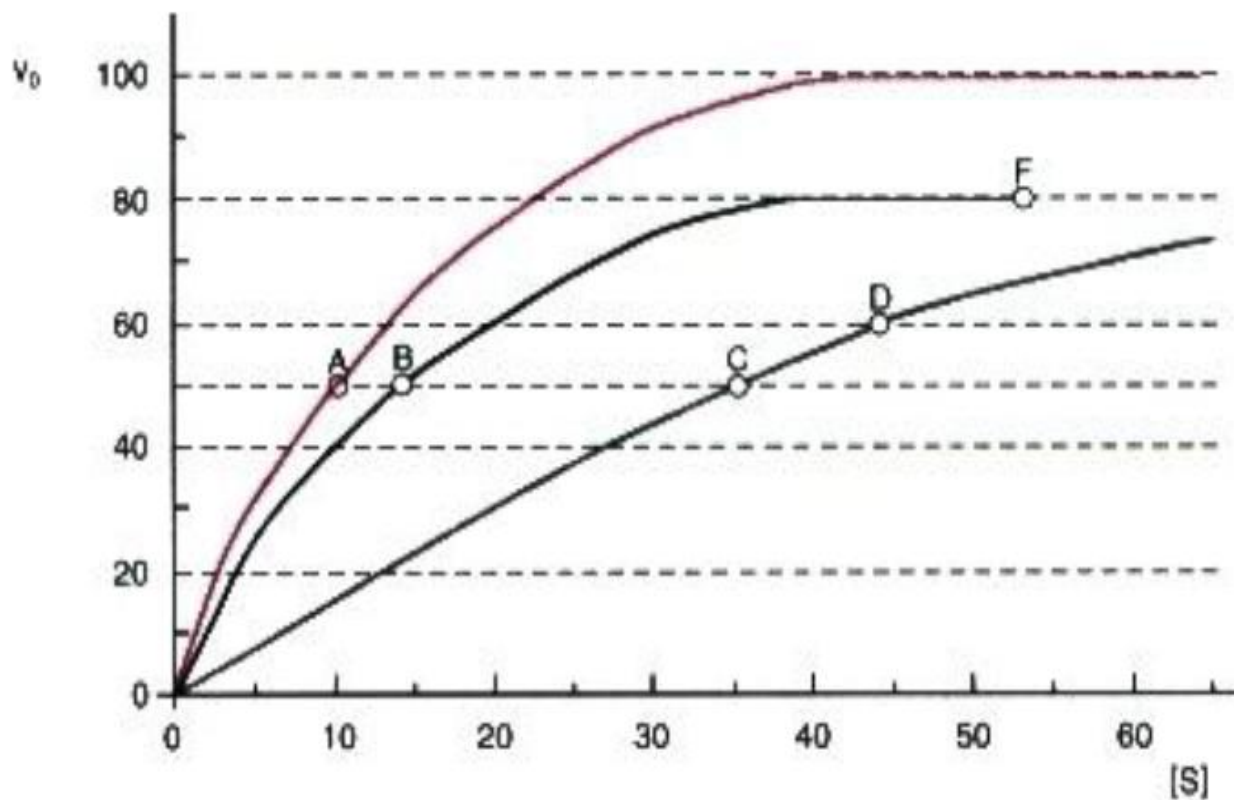
pag339 (11) - O gráfico a seguir mostra os resultados obtidos em experiências realizadas com a mesma concentração de enzima, na ausência e presença de inibidores. Indicar as porcentagens, em relação ao total de enzima, de:

b) enzima livre nos pontos A, B e F.

$$A - E_{\text{livre}} = 50\%$$

$$B - E_{\text{livre}} = 30\%$$

$$F - E_{\text{livre}} = 0$$



Inibição não competitiva (curva 2)

20 % EI e/ou ESI

B = 50 % ES,

30 % E_{livre}

Inibidor competitiva (curva 3)

EI = ?

Não é possível saber EI, E_{livre}

pag339 (13) – O quadro a seguir mostra os valores de velocidade de uma reação enzimática em presença e ausência de um inibidor I. Planejar a composição do tubo 5, de modo que a velocidade obtida indique o tipo de inibição provocada por I.

Tubo nº	Enzima (µg)	Substrato (mM)	Inibidor (µg)	Velocidade (nmoles/min)
1	1	1	—	18
2	1	2	—	20
3	1	3	—	20
4	1	3	1	15
5	1	300	1	? = 20 IC ? = 10 INC

Inibição competitiva – V_{max} não altera e K_m aumenta.

Inibição não competitiva – V_{max} reduz e K_m não altera.

pag339 (14) – O quadro adiante apresenta valores de reação ($\mu\text{moles}/\text{min}$) para as enzimas A, B e C.

a) Completá-lo, admitindo que as enzimas são estáveis de pH 3 a pH 11, seus substratos não têm grupos ionizáveis e outras variáveis (concentração de enzima e de substrato etc.) são mantidas fixas.

Enzima	Grupos do centro ativo essenciais para a catálise	pH								
		3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	carboxila ($\text{pK}_a = 5$) desprotonada			40						
B	amino ($\text{pK}_a = 9$) protonado	80								
C	carboxila ($\text{pK}_a = 5$) desprotonada e amino ($\text{pK} = 9$) protonado					80				

Dica:

$$\text{pH} = \text{p}k_a + \log \left(\frac{[\text{base}]}{[\text{ácido}]} \right)$$

$$[\text{base}] + [\text{ácido}] = 1$$

Para a Enzima A (Carboxila desprotonada)

pH = 5 (pKa)

COOH = ácido COO⁻ = Base

1) Razão ácido/ base

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$5 = 5 + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$1 = \frac{[base]}{[ácido]}$$

$$[base] = [ácido]$$

$$[COOH] = [COO^-]$$

2) % de espécies

$$[base] + [ácido] = 1$$

$$[ácido] + [ácido] = 1$$

$$2[ácido] = 1 \quad [ácido] = 0,5$$

$$[ácido] = 0,5 \text{ e } [base] = 0,5$$

Em pH = 5, há 50% de COOH
50% de COO⁻

3) Velocidade

pH = pKa, 50% da Atividade máxima

$$V_{max} = 80 \text{ } \mu\text{moles/min}$$

$$V_o = 80 \times 0,5 = 40 \text{ } \mu\text{moles/min}$$

Para a Enzima A (Carboxila desprotonada)

pH = 6 (>pKa)

COOH = ácido COO⁻ = Base

1) Razão ácido/ base

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$6 = 5 + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$10 = \frac{[base]}{[ácido]}$$

$$[base] = 10[ácido]$$

$$[COOH] = 10 [COO^-]$$

2) % de espécies

$$[base] + [ácido] = 1$$

$$10 [ácido] + [ácido] = 1$$

$$[ácido] = 1/11 = 0,0909$$

$$[ácido] = 0,0909 \text{ e } [base] = 0,909$$

Em pH = 6, há ~9% de COOH
~90% de COO⁻

3) Velocidade

$$V_{max} = 80 \mu\text{moles/min}$$

$$V_o = 80 \times 0,909 = 72,72 \mu\text{moles/min}$$

Para a Enzima A (Carboxila desprotonada)

pH = 4 (<pKa)

COOH = ácido COO⁻ = Base

1) Razão ácido/ base

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$4 = 5 + \log \left(\frac{[base]}{[ácido]} \right)$$

$$0,1 = \frac{[base]}{[ácido]}$$

$$[base] = 0,1 [ácido]$$

$$[COOH] = 0,1 [COO^-]$$

2) % de espécies

$$[base] + [ácido] = 1$$

$$0,1 [ácido] + [ácido] = 1$$

$$[ácido] = 1/1,1 = 0,0909$$

$$[ácido] = \mathbf{0,909} \text{ e } [base] = \mathbf{0,0909}$$

Em pH = 4, há ~90% de COOH
~9% de COO⁻

3) Velocidade

$$V_{max} = \mathbf{80 \mu moles/min}$$

$$V_o = 80 \times \mathbf{0,0909} = 7,27 \mu moles/min$$

pag339 (14) – O quadro adiante apresenta valores de reação ($\mu\text{moles}/\text{min}$) para as enzimas A, B e C.

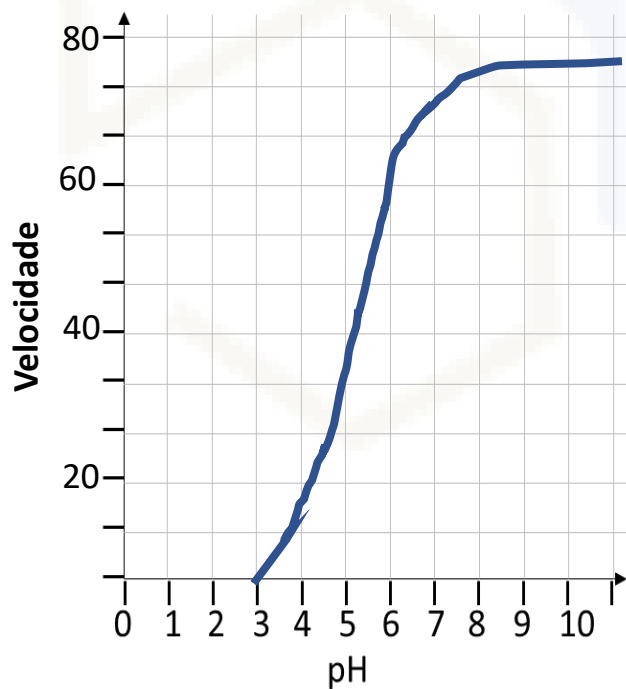
a) Completá-lo, admitindo que as enzimas são estáveis de pH 3 a pH 11, seus substratos não têm grupos ionizáveis e outras variáveis (concentração de enzima e de substrato etc.) são mantidas fixas.

Enzima	Grupos do centro ativo essenciais para a catálise	pH								
		3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	carboxila ($\text{pK}_a = 5$) desprotonada	0,73	7,27	40	72,7	79,2 (80)	80	80	80	80
B	amino ($\text{pK}_a = 9$) protonado	80	80	80	80	80	72,7	40	7,27	0,73
C	carboxila ($\text{pK}_a = 5$) desprotonada e amino ($\text{pK} = 9$) protonado	0,73	7,27	40	72,7	80	72,7	40	7,27	0,73

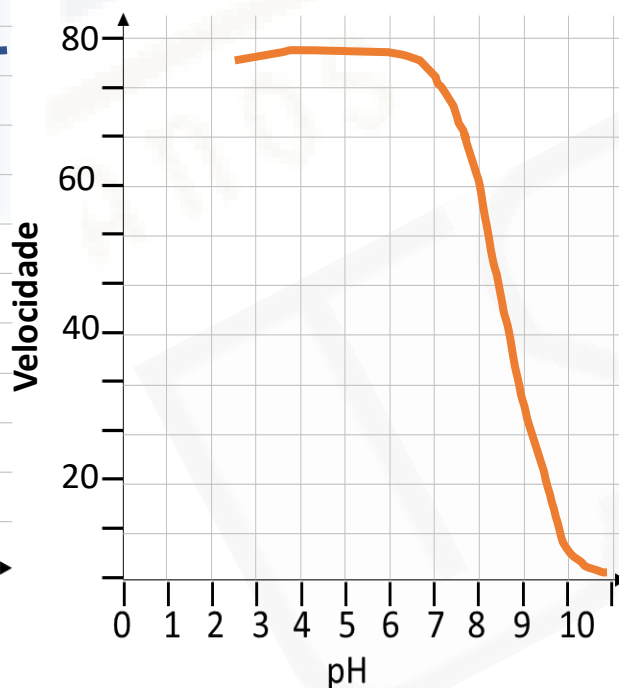
pag339 (14) – O quadro adiante apresenta valores de reação ($\mu\text{moles}/\text{min}$) para as enzimas A, B e C.

b) Fazer um gráfico relacionando velocidade de reação e pH, para as três enzimas.

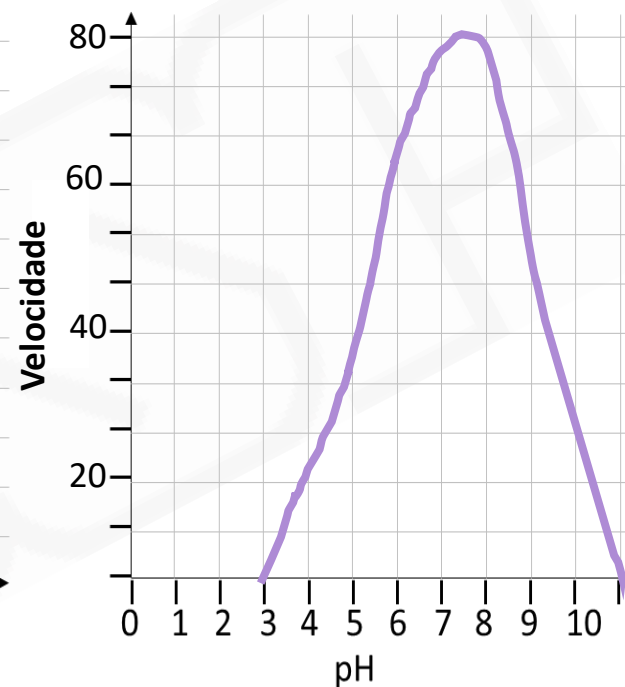
Enzima A



Enzima B

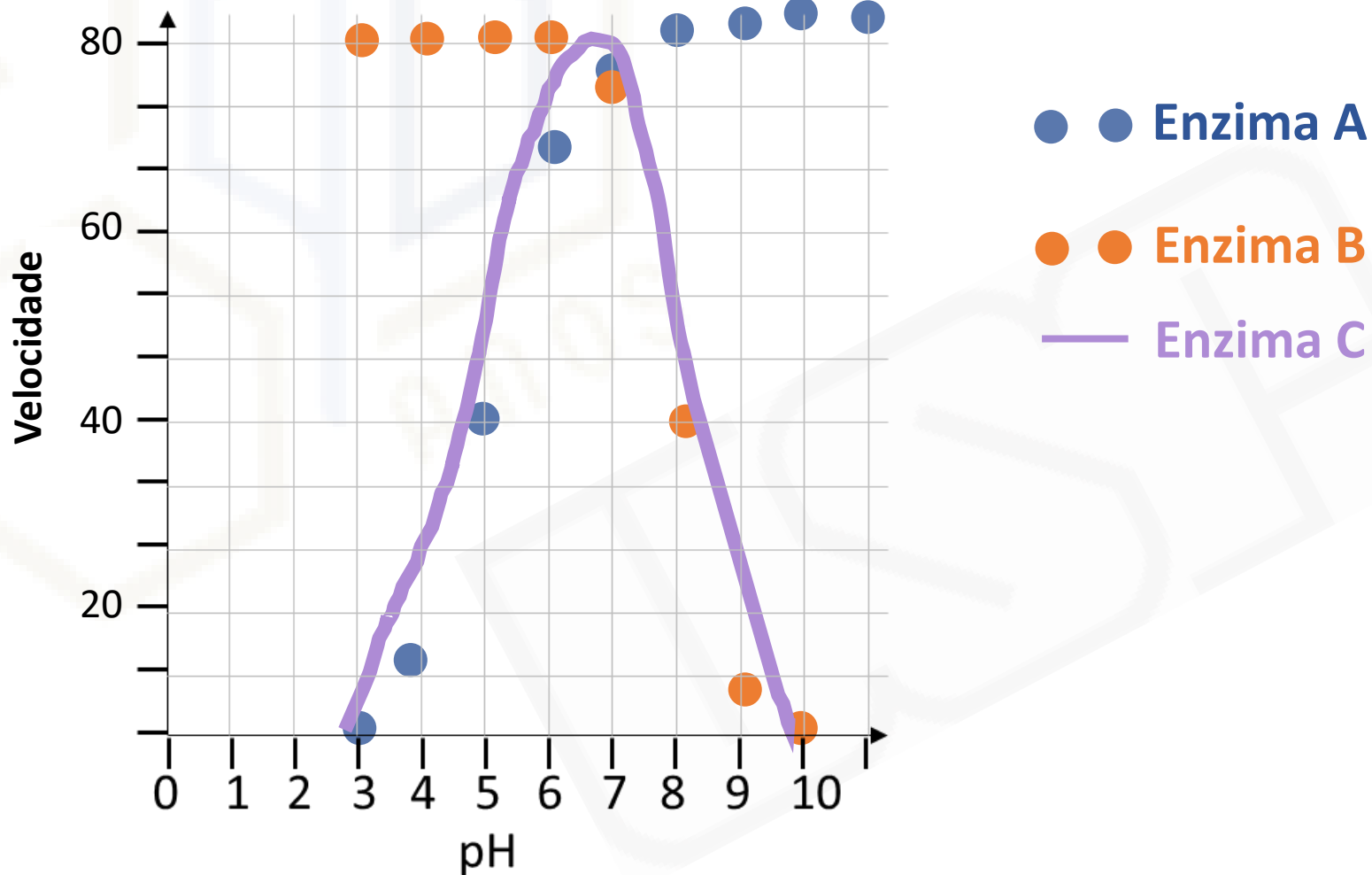


Enzima C



pag339 (14) – O quadro adiante apresenta valores de reação ($\mu\text{moles}/\text{min}$) para as enzimas A, B e C.

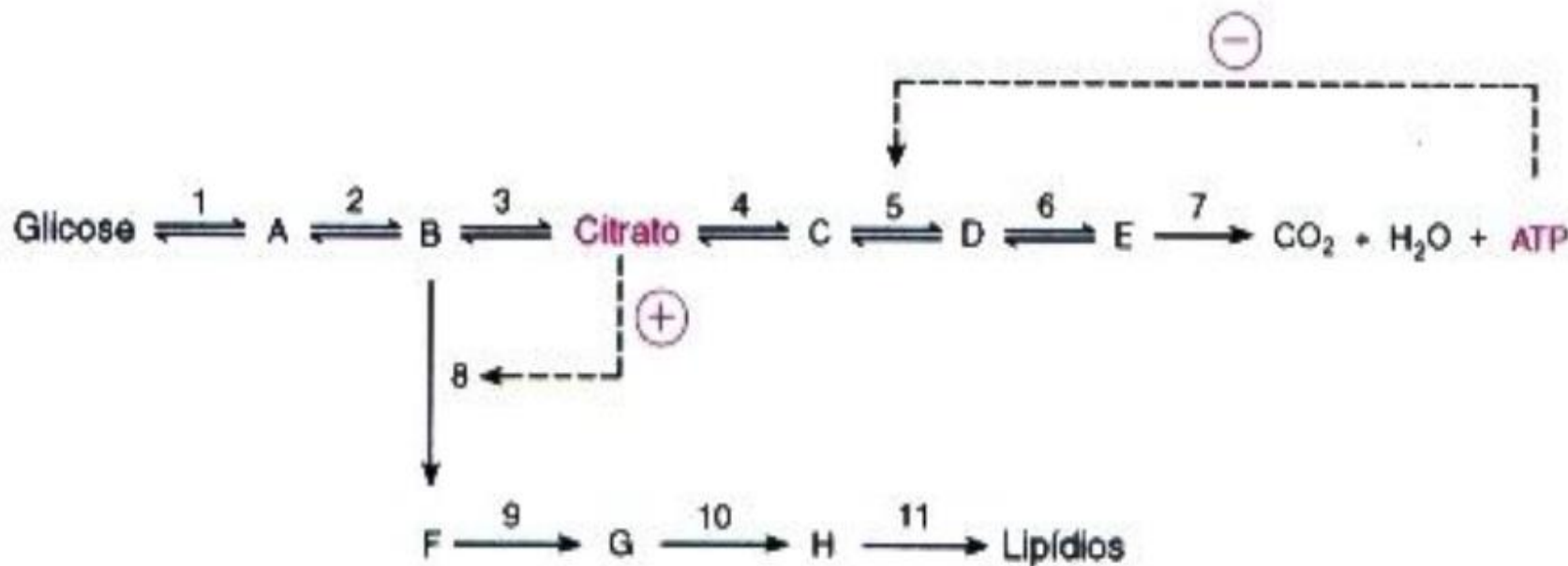
b) Fazer um gráfico relacionando velocidade de reação e pH, para as três enzimas.



pag340 (16) – O metanol, por ação da 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?

pag340 (17) – A glicose pode ser utilizada como fonte de energia (ATP) ou ser convertida em lipídios, como mostra o seguinte esquema simplificado:

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

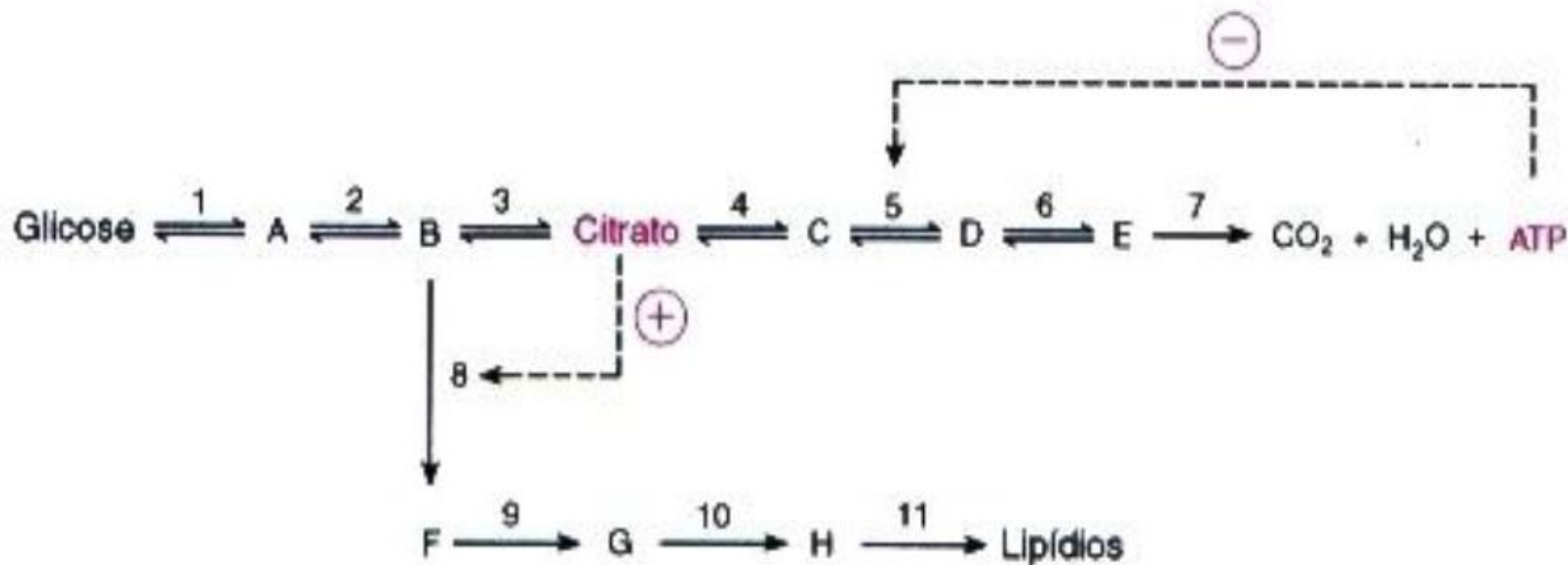


Enzima 5: C ↔ D

Enzima 8: B ↔ F

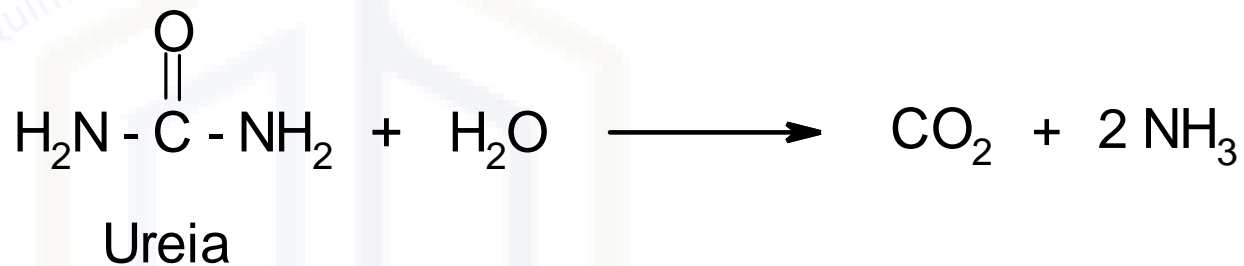
pag340 (17) – A glicose pode ser utilizada como fonte de energia (ATP) ou ser convertida em lipídios, como mostra o seguinte esquema simplificado:

b) Por que a síntese de lipídios ocorre apenas quando há grande disponibilidade de glicose?



Questão da Introdução:

A hidrólise da ureia é catalisada pela urease, Segundo a seguinte reação:

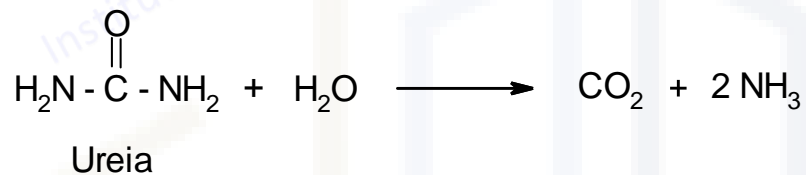


Para estudar a urease, um estudante preparou uma bateria de tubos, incubou-os a 30°C por 10 minutos e dosou amoníaco nos tubos. A composição dos tubos (com volume final de 1 mL) e os resultados das dosagens estão na tabela seguinte:

Tubo	Ureia (mM)	Urease (µg)	NH ₃ (µmols)
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

Questão da Introdução:

a) Por que não houve formação de NH_3 no tubo 9?

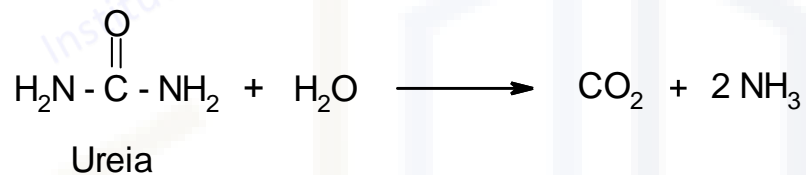


Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmol s)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

R: porque não tem enzima para catalisar a reação.

Questão da Introdução:

b) Por que foi preparado um tubo sem enzima?

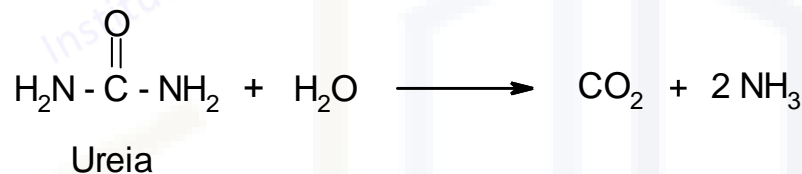


Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmol s)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

R: uma reação controle, para mostrar que só tem atividade se tiver enzima e substrato.

Questão da Introdução:

c) Qual foi a velocidade da reação nos tubos 1 e 2? Qual é a relação entre as velocidades de reação nos tubos 1 e 2 e a concentração de uréia?



Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH ₃ (μmols)
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

Tubo 1

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

$$V = \frac{0,00021 \text{ mmol}}{10 \text{ min}}$$

$$V = 0,000021 \text{ mmols/min}$$

Tubo 2

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

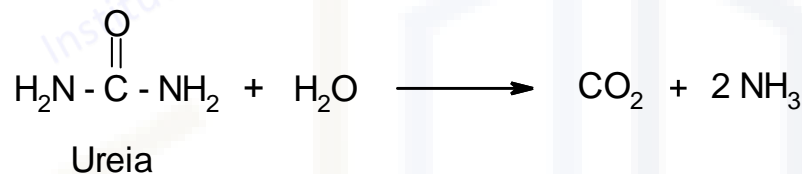
$$V = \frac{0,00042 \text{ mmol}}{10 \text{ min}}$$

$$V = 0,000042 \text{ mmols/min}$$

R: A velocidade foi proporcional a quantidade de substrato.

Questão da Introdução:

d) Qual a velocidade de reação nos tubos 5 a 8? Qual é a relação entre as velocidades de reação nesses tubos e a concentração de ureia?



Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH ₃ (μmols)
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

Tubo 5 – 0,00073 mmol/10 = 0,000073

Tubo 6 – 0,00078 mmol/10 = 0,000078

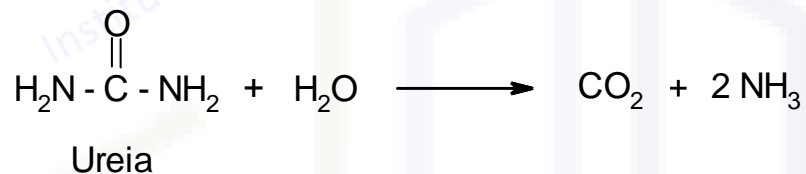
Tubo 7 – 0,00079 mmol/10 = 0,000079

Tubo 8 – 0,00078 mmol/10 = 0,000078

R: A velocidade atingiu sua V_{\max} quando a concentração de enzima está saturada a partir de uma determinada concentração de substrato.

Questão da Introdução:

e) De que dependeu a velocidade de reação neste experimento?

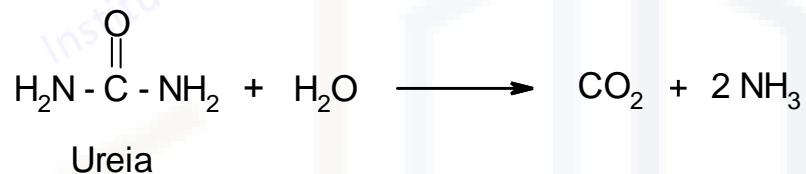


Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmols)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

R: A velocidade de reação neste experimento depende da enzima, aumentando com o aumento da concentração do substrato, mas mantendo após saturação da enzima, mesmo com concentrações maiores de substratos.

Questão da Introdução:

f) Quais seriam os resultados se as dosagens de ammonia fossem feitas após 48 h de incubação?

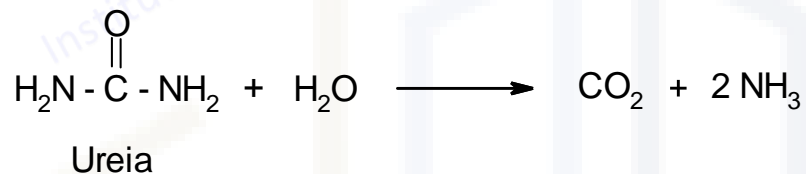


Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmols)
1	2,5	0,1	0,21
2	5,0	0,1	0,42
3	10	0,1	0,59
4	15	0,1	0,67
5	25	0,1	0,73
6	50	0,1	0,78
7	100	0,1	0,79
8	200	0,1	0,78
9	200	-	0,00

R: Uma vez formado o produto, continuará a mesma proporção mesmo 48h após, se não há mudanças na concentração de enzima.

Questão da Introdução:

g) Que modificações poderiam ser feitas na composição dos tubos para conseguir velocidades maiores do que as que foram medidas?



Tubo	Ureia (mM)	Urease (μg)	NH_3 (μmols)
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

R: Aumentar a concentração da enzima.