

Lista de exercícios – Prática 6 de Km e V_{max} – QBQ1453

- 1) Levando em conta os dados da tabela, determine V_{max} (μmol/min) e K_M (μM) para a enzima. Determine a concentração de substrato quando a V₀ = 0.25 μmols/min. A sua resposta deve ser embasada com gráficos e a álgebra para a determinação dos parâmetros. A equação da curva padrão que relaciona absorbância com μmols de produto formado é $y = 0.0059x - 0,0213$.

[S] μM	Tempo min			
	0 min	10 min	20 min	60 min
	Absorbância 420 nm			
50000	0.002	0.204	0.392	1.2
5000	0.0016	0.2	0.384	1.12
500	0.0024	0.164	0.324	1
50	0.0016	0.056	0.116	0.34
5	0.0016	0.0092	0.0168	0.048

- 2) A atividade da enzima COX foi medida utilizando como substrato ácido araquidônico. Foram realizadas duas medidas, na presença e ausência de ibuprofeno, um inibidor de COX. Com base nos valores descritos abaixo faça gráficos de Lineweaver-Burk e determine V_{max} e K_m na ausência e presença do inibidor. Qual é o mecanismo de inibição do ibuprofeno?

[ácido araquidônico] (μM) * ¹	v ₀ (μM s ⁻¹) * ¹	v ₀ (+ ibuprofeno) (μM s ⁻¹) * ¹
1.0	1.7	0.9
3.25	3.9	2.4
5.5	5.2	3.5
7.75	6.1	4.4
10	6.7	5.0

*¹As concentrações de substrato e produto são expressas em unidades de μM (10⁻⁶ M).

- 3) A enzima X tem os seguintes valores de K_M e k_{cat} para os substratos A, B, C. Responda:

- a). Para qual substrato a enzima apresenta maior afinidade? justifique
 b). Com qual dos substratos, a enzima apresenta maior eficiência catalítica? Justifique.

Substrato	k _{cat} (s ⁻¹)	K _M (mM)
A	1.4 x 10 ⁴	0.095
B	1.0 x 10 ⁷	25
C	8.0 x 10 ²	0.005

4. Para uma alfa-glicosidase foram determinadas as velocidades de hidrólise de diferentes concentrações de substrato (NpaGlc) na presença de diferentes concentrações de um inibidor. Estes dados estão apresentados na tabela abaixo. Baseando-se nesta tabela determine o V_{max} e o K_m para a hidrólise do substrato e o K_i para este inibidor.

[S] (mM)	V (nmol/min)				
[I] (mM)	0	2	4	6	8
0.1	0.91	0.48	0.32	0.24	0.20
0.2	1.67	0.91	0.63	0.48	0.38
0.3	2.31	1.30	0.91	0.70	0.57
0.4	2.86	1.67	1.18	0.91	0.74
0.5	3.33	2.00	1.43	1.11	0.91
0.75	4.29	2.73	2.00	1.58	1.30
1	5.00	3.33	2.50	2.00	1.67
1.5	6.00	4.29	3.33	2.73	2.31
2	6.67	5.00	4.00	3.33	2.86
2.5	7.14	5.56	4.55	3.85	3.33
4	8.00	6.67	5.71	5.00	4.44
6	8.57	7.50	6.67	6.00	5.45
8	8.89	8.00	7.27	6.67	6.15
10	9.09	8.33	7.69	7.14	6.67