

- 1) As velocidades de uma reação enzimática foram determinadas para diversas concentrações de substrato, conforme a tabela abaixo:

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

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?

- 2) Numa reação enzimática, o valor de V_{max} , mas não o de K_m é diretamente proporcional à concentração da enzima? Justifique.
- 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?
- b) De que dependeu a velocidade de reação neste experimento?
- c) Qual seria o resultado se a dosagem de amônia fosse feita após 48 h de incubação?

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

4) A reação glicose + ATP formando glicose-6-fosfato + ADP pode ser catalisada por duas enzimas: hexoquinase e glicokinase. 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 | | | Glicokinase | | |
|-------------|--------------|-----------------------------------|-------------|--------------|-----------------------------------|
| 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 |

5) Fazer os seguintes gráficos:

- A) Velocidade da reação em função da concentração do complexo enzima-substrato ($v_o \times [ES]$).
- 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 ($[E_{livre}] \times t$).

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, respetivamente, 1.000, 100 e 1, estabelecer valores comparativos para as constantes de velocidades das enzimas B, C e D que expliquem as suas características.

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.

