**Ejercicios de cinética de reacciones catalizadas por enzimas**

**El objetivo de los análisis enzimáticos con inhibidores es estudiar cómo ciertas sustancias (inhibidores) afectan la actividad de una enzima. En otras palabras, sirven para comprender de qué manera un inhibidor altera la velocidad de una reacción enzimática y qué tipo de inhibición produce.**

**1) Se mide la velocidad inicial de la reacción enzimática para una serie de distintas concentraciones iniciales de sustrato. Determinar Km y Vmax , y graficar por el método de Lineweaver-Burk.**

|  |  |
| --- | --- |
| **Sustrato (mM)** | **Vo (mM/min)** |
| **8.35** | **13.8** |
| **10** | **16** |
| **12.5** | **19.1** |
| **16.7** | **23.8** |
| **20** | **26.7** |
| **25** | **30.8** |
| **33** | **36.2** |
| **50** | **44.5** |
| **100** | **57.2** |
| **200** | **66.7** |
|  |  |
| **m** |  |
| **b** |  |
| **Vmax** |  |
| **Km** |  |

**2) A partir de los siguientes datos calcular Km y Vmax con y sin inhibidor.**

**Hacer la representación gráfica de Michaelis-Menten y Lineweaver-Burk.**

**Determinar Km y Vmax, y graficar mediante el método de Lineweaver-Burk.**

**Demostrar qué tipo de inhibición es.**

**Determinar la Ki del inhibidor.**

**Agregar línea de tendencia y observar la -1/Km**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **[I] = 10 mM** |
| **Sustrato (mM)** | **Vo SIN INH (mM/min)** | **Vo CON INH (mM/min)** |
| **0.5** | **23.5** | **16.67** |
| **1** | **32.2** | **25.25** |
| **1.5** | **36.9** | **30.49** |
| **2.5** | **41.8** | **37.04** |
| **3.5** | **44** | **38.91** |
|  |  |  |
| **m** |  |  |
| **b** |  |  |
| **Vmax** |  |  |
| **Km** |  |  |
| **Ki** |  |  |

**3) A partir de los siguientes datos calcular Km y Vmax con y sin inhibidor.**

**Hacer la representación gráfica de Michaelis-Menten y Lineweaver-Burk.**

**Determinar Km y Vmax, y graficar mediante el método de Lineweaver-Burk.**

**Demostrar qué tipo de inhibición es.**

**Determinar la Ki del inhibidor.**

**Agregar línea de tendencia y observar la -1/Km**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **[I] = 10 mM** |
| **Sustrato (mM)** | **Vo SIN INH (mM/min)** | **Vo CON INH (mM/min)** |
| **0.5** | **18.75** | **16.67** |
| **1** | **32.89** | **25.25** |
| **1.5** | **45.6** | **30.49** |
| **2.5** | **56.38** | **37.04** |
| **3.5** | **65** | **38.91** |
|  |  |  |
| **m** |  |  |
| **b** |  |  |
| **Vmax** |  |  |
| **Km** |  |  |
| **Ki** |  |  |

**4) A partir de los siguientes datos calcular Km y Vmax con y sin inhibidor.**

**Hacer la representación gráfica de Michaelis-Menten y Lineweaver-Burk.**

**Determinar Km y Vmax, y graficar mediante el método de Lineweaver-Burk.**

**Demostrar qué tipo de inhibición es.**

**Determinar la Ki del inhibidor.**

**Agregar línea de tendencia y observar la -1/Km**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **[I] = 6 mM** |
| **Sustrato (mM)** | **Vo SIN INH (mM/min)** | **Vo CON INH (mM/min)** |
| **0.02** | **0.19** | **0.12** |
| **0.04** | **0.32** | **0.22** |
| **0.1** | **0.59** | **0.35** |
| **0.2** | **0.83** | **0.52** |
| **0.5** | **1.11** | **0.67** |
| **1** | **1.41** | **0.82** |
|  |  |  |
| **m** |  |  |
| **b** |  |  |
| **Vmax** |  |  |
| **Km** |  |  |
| **Ki** |  |  |

**5) La proteína tirosina fosfatasa (PTPasa) es una enzima implicada en varias enfermedades. Se realizó un estudio *in silico* para identificar a los inhibidores competitivos de una PTPasa conocida como PTP1B.**

**La velocidad de reacción se determinó en presencia y en ausencia de inhibidor, y**

**reveló las siguientes velocidades iniciales en función de la concentración de sustrato:**

**Hacer la representación gráfica de Michaelis-Menten y Lineweaver-Burk.**

**Determinar Km y Vmax, y graficar mediante el método de Lineweaver-Burk.**

**Demostrar qué tipo de inhibición es.**

**Determinar la Ki del inhibidor.**

**Agregar línea de tendencia y observar la -1/Km**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **[I] = 0 μM** | **[I] = 200 μM** |
| **Sustrato (μM)** | **Vo (μM/min)** | **Vo (μM/min)** |
| **0.299** | **0.071** | **0.018** |
| **0.5** | **0.1** | **0.03** |
| **0.82** | **0.143** | **0.042** |
| **1.22** | **0.25** | **0.07** |
| **1.75** | **0.286** | **0.105** |
| **2.85** | **0.353** | **0.159** |
| **5** | **0.4** | **0.2** |
| **5.88** | **0.5** | **0.25** |
|  |  |  |
| **m** |  |  |
| **b** |  |  |
| **Vmax** |  |  |
| **Km** |  |  |
| **Ki** |  |  |

**6) Se realizó un experimento enzimático bajo las siguientes condiciones: enzima en ausencia de**

**inhibidor, enzima en presencia de inhibidor A y enzima en presencia de inhibidor B.**

**En estos dos últimos casos la concentración fue de 8 mM.**

**A continuación, se muestran los datos:**

**Hacer la representación gráfica de Michaelis-Menten y Lineweaver-Burk.**

**Determinar Km y Vmax, y graficar mediante el método de Lineweaver-Burk.**

**Demostrar qué tipo de inhibición tiene cada inhibidor.**

**Determinar la Ki para cada inhibidor.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **[I] = 0 mM** | **[I] = 8 mM** | **[I] = 8 mM** |
| **Sustrato (mM)** | **Vo (mM/min)** | **Inh A Vo (mM/min)** | **Inh B Vo (mM/min)** |
| **5.00E-04** | **1.25** | **0.58** | **0.38** |
| **1.00E-03** | **2** | **1.04** | **0.63** |
| **2.50E-03** | **3.13** | **2** | **1** |
| **5.00E-03** | **3.85** | **2.78** | **1.25** |
| **1.00E-02** | **4.55** | **3.57** | **1.43** |
|  |  |  |  |
| **m** |  |  |  |
| **b** |  |  |  |
| **Vmax** |  |  |  |
| **Km** |  |  |  |
| **Ki** |  |  |  |