

Problemas de Enzimologia

Série 5

1. Os dados abaixo dizem respeito à hidrólise de vários tripéptidos em N-terminal aminoácidos e C-terminal dipéptidos, catalisada pelo enzima intestinal aminotripeptidase, a pH 7.0 e 37 °C :

Substrato	$k_0(s^{-1})$	$K_m(mM)$
L-Pro-Gly-Gly	385	1.3
L-Leu-Gly-Gly	190	0.55
L-Ala-Gly-Gly	365	1.4
L-Ala-L-Ala-L-Ala	298	0.52

- a) Qual dos substratos seria hidrolisado mais rapidamente na fase inicial da reacção, se o enzima fosse adicionado a uma mistura equimolar dos quatro substratos ?
- b) Quando o L-Ala-Gly-Gly foi estudado como inibidor da hidrólise do L-Pro-Gly-Gly, a constante de inibição competitiva determinada foi 1.4 mM. Será que este valor suporta a hipótese de que o enzima tenha um único centro no qual ambos os substratos são hidrolisados ?
- c) Sugira uma outra experiência que pudesse suportar a resposta dada em b)
2. Verifica-se, para qualquer valor da razão entre a concentração de inibidor e a constante de inibição, que um inibidor competitivo diminui a velocidade de reacção mais que um inibidor anti-competitivo para valores de $[A] < K_m$ e que o inverso é verdade para valores de $[A] > K_m$. Provar esta relação algebricamente e explicar o seu significado.

3. A partir dos seguintes dados:

[A] (mM)	[I] = 0 mM	[I] = 0.2 mM	[I] = 0.4 mM
0.1	0.20	0.08	0.00
0.3	0.46	0.27	0.10
0.5	0.67	0.42	0.18
0.7	0.84	0.51	0.18
0.9	0.94	0.65	0.25
1.1	1.08	0.73	0.29

determine o tipo de inibição e calcule a respetiva constante por meio de um gráfico secundário.

4. Os dados abaixo mostram velocidades iniciais (em unidades arbitrárias) medidas para uma reacção catalisada enzimaticamente para várias valores de $[I]$ e $[A]$. Que se pode concluir sobre o tipo de inibição ?

$[I]$ (mM)	$[A] = 1 \text{ mM}$	$[A] = 2 \text{ mM}$	$[A] = 3 \text{ mM}$
0	2.36	3.90	5.30
1	1.99	3.35	4.40
2	1.75	2.96	3.98
3	1.60	2.66	3.58
4	1.37	2.35	3.33

5. Para uma reacção catalisada enzimática, um estudo de velocidades iniciais para diferente oncentrações de substrato produziu os seguintes resultados:

$[S]$	V_i
6	5.92
12	9.06
18	9.36
24	9.33
30	8.76
36	8.25
42	8.39
48	7.70
54	7.37
60	7.03

Analise os dados graficamente e proponha uma explicação para o comportamento observado.

5. Num estudo do efeito do pH sobre a actividade de determinado enzima, obtiveram-se os seguintes valores para a dependência de V_{\max} com o pH

pH	V_{\max}
3.0	0.17
4.0	2.15
5.0	14.21
6.0	26.97
7.0	29.37
8.0	27.37

9.0	15.68
10.0	2.13
11.0	0.20

- a) Usando as representações gráficas apropriadas, determine o número de grupos que influenciam o perfil observado e os valores dos seus pK_a 's
- b) A quais dos equilíbrios do modelo de Waley correspondem os pK_a 's determinados na alínea anterior ?