

CINÉTICA ENZIMÁTICA

87- Los siguientes datos se obtuvieron para la hidrólisis de ATP catalizada por miosina a 25°C y pH 7.

| | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| [ATP] x 10 ⁵ mol/L | 7,5 | 12,5 | 20 | 32,5 | 62,5 | 155 | 320 |
| v x 10 ⁶ mol/L s | 0,067 | 0,095 | 0,119 | 0,149 | 0,185 | 0,191 | 0,195 |

Calcular la constante K_M .

88- Que relación numérica existe entre K_M y $[S]$ cuando una reacción catalizada enzimáticamente alcanza el 80% de la V_{max} ?

89- 100 µg de una enzima a 25°C descomponen en 10 minutos el 1% de un sustrato 0,1M. La misma cantidad de enzima, en un minuto, descompone el 5% de sustrato 0,001M. Calcular K_M , V_{max} y la eficiencia catalítica de la enzima.

90- Una enzima con un K_M de $2,6 \times 10^{-3}$ M se ensayó con una concentración inicial de sustrato de 0,3 M. La velocidad observada fue de $5,9 \times 10^{-5}$ M min⁻¹. Si la concentración inicial de sustrato fuera 2×10^{-5} M, ¿Cuál será la concentración de producto después de (a) 5 minutos, (b) 10 minutos?

91- Una enzima fue ensayada con una concentración inicial de sustrato de 2×10^{-5} M. En 6 minutos, la mitad del sustrato había reaccionado. La K_M para el sustrato es 5×10^{-3} M. Calcular la k (cinética de primer orden), la V_{max} y la concentración de producto obtenido en 15 minutos.

92- La enzima isocitrato liasa, presente en *Escherichia coli*, cuando crece anaeróticamente con acetato como única fuente cataliza la escisión de L-isocianato en glioxilato y succinato. La actividad de la enzima se puede medir siguiendo la producción de glioxilato a pH 6,8 y 30°C. Se obtuvieron los siguientes datos de velocidad inicial de la reacción, catalizada por una concentración fija de isocitrato liasa, en un determinado margen de concentraciones de isocitrato.

Calcular el valor de K_M , bajo esas condiciones de ensayo.

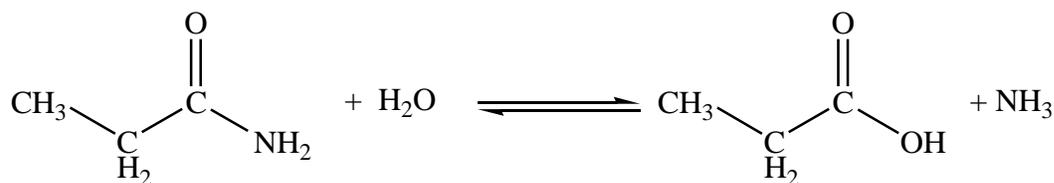
| [S] x 10 ⁵ mol/L | V _o x 10 ⁹ (mol/L.min) |
|--------------------------------|---|
| 1,80 | 4,08 |
| 2,40 | 4,64 |
| 3,00 | 5,10 |
| 4,00 | 5,62 |
| 10,0 | 6,90 |

93- Se encontró que los iones Ca²⁺ inhibían la actividad de una enzima que requiere Mg²⁺. Cuando se llevaron a cabo estudios de velocidad inicial a 293K y pH 7 usando un margen de concentraciones de iones Mg²⁺, en presencia de diferentes concentraciones fijas de Ca²⁺ se obtuvieron los resultados indicados en la siguiente tabla.

¿Qué tipo de inhibición llevan a cabo los iones Ca²⁺? Calcular el valor de K_i para Ca²⁺ y compararlo con la constante de disociación del complejo Mg²⁺-Enzima, que bajo las condiciones del experimento era 4,2x10⁻⁴ M.

| Concentración del inhibidor Ca ²⁺ (mol/L) | 0 | 2 x 10 ⁻⁵ | 4 x 10 ⁻⁵ | 5,3 x 10 ⁻⁵ | [Mg ²⁺] (mol/L) |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Velocidades iniciales | 2,04 x 10 ⁻⁵ | 9,26 x 10 ⁻⁶ | 5,99 x 10 ⁻⁶ | 4,89 x 10 ⁻⁶ | 3,30 x 10 ⁻⁴ |
| | 2,57 x 10 ⁻⁵ | 1,27 x 10 ⁻⁵ | 8,47 x 10 ⁻⁶ | 7,05 x 10 ⁻⁶ | 5,00 x 10 ⁻⁴ |
| | 3,33 x 10 ⁻⁵ | 2,00 x 10 ⁻⁵ | 1,43 x 10 ⁻⁵ | 1,23 x 10 ⁻⁵ | 1,00 x 10 ⁻³ |
| | 4,00 x 10 ⁻⁵ | 2,86 x 10 ⁻⁵ | 2,22 x 10 ⁻⁵ | 1,97 x 10 ⁻⁵ | 2,00 x 10 ⁻³ |

94- Pseudomona Aureginosa cultivado en medio acetato posee una enzima que puede hidrolizar propionamida:



Los estudios de velocidad inicial, en los que se midió la producción de NH_3 a partir de la propionamida a pH 7,2 y 37°C , demostraron que la urea inhibe esta reacción enzimáticamente. En uno de los experimentos en los que se examinaron los efectos de concentraciones diferentes de urea sobre un margen de concentraciones de propionamida se obtuvieron los resultados dados en la siguiente tabla.

Determinar el valor aparente de K_M de la reacción no inhibida ¿Actúa la urea como inhibidor competitivo, no competitivo o incompetitivo de la reacción?

| Velocidades Iniciales | |
|---|---|
| moles de NH_3 liberados/min.mg de proteína | |
| [propionamida] M | Concentración del inhibidor (Urea) en mol/L |
| | 0 $5,00 \times 10^{-4}$ $1,00 \times 10^{-3}$ $1,50 \times 10^{-3}$ $2,00 \times 10^{-3}$ |
| $5,00 \times 10^{-3}$ | $1,60 \times 10^{-4}$ $1,27 \times 10^{-4}$ $1,11 \times 10^{-4}$ $8,86 \times 10^{-5}$ $7,60 \times 10^{-5}$ |
| $6,67 \times 10^{-3}$ | $1,94 \times 10^{-4}$ $1,61 \times 10^{-4}$ $1,40 \times 10^{-4}$ $1,12 \times 10^{-4}$ $9,50 \times 10^{-5}$ |
| $1,00 \times 10^{-2}$ | $2,63 \times 10^{-4}$ $2,19 \times 10^{-4}$ $1,83 \times 10^{-4}$ $1,52 \times 10^{-4}$ $1,28 \times 10^{-4}$ |
| $2,00 \times 10^{-2}$ | $4,00 \times 10^{-4}$ $3,41 \times 10^{-4}$ $2,79 \times 10^{-4}$ $2,37 \times 10^{-4}$ $1,88 \times 10^{-4}$ |
| $3,00 \times 10^{-2}$ | $5,76 \times 10^{-4}$ $4,19 \times 10^{-4}$ $4,00 \times 10^{-4}$ $2,92 \times 10^{-4}$ $2,77 \times 10^{-4}$ |

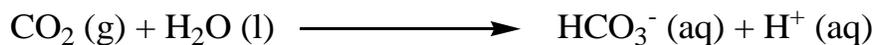
95- Al representar por el método de Linewaver-Burk los datos obtenidos con una misma enzima se encontró que las rectas cortaban los ejes de coordenadas en los puntos indicados a continuación

| | Sin inhibidor | Con inhibidor |
|---|---------------|---------------|
| Corte y $(\mu\text{mol}/\text{min})^{-1}$ | 0,2 | 0,2 |
| Corte x $(\text{mM})^{-1}$ | -2,0 | -0,5 |

Se pide: a) calcular K_M y v_{max} de la enzima en ausencia y presencia del I, b) de qué tipo de inhibición se trata, y c) en ausencia de inhibidor y con una $[\text{S}] = 0,1 \text{ M}$, ¿Qué cantidad de sustrato se habrá consumido al cabo de 4 min de reacción?

EJERCICIOS COMPLEMENTARIOS

96- La enzima anhidrasa carbónica presente en los eritrocitos cataliza la hidratación del CO₂ para generar el ion bicarbonato:



Los siguientes datos se obtuvieron de la reacción a pH 7,1 y T 273,5K y una concentración de enzima de 2,3 μmol/L.

| [CO ₂] (mmol/L) | v (mmol/L s) |
|-----------------------------|--------------|
| 1,25 | 0,0278 |
| 2,5 | 0,05 |
| 5 | 0,0833 |
| 20 | 0,167 |

Determine la eficacia catalítica.

97- Una glutaminasa de hepatocito hidroliza distintas concentraciones de glutamina, en presencia o ausencia de dos inhibidores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

| [S] (mM) | | 0,2 | 0,4 | 0,8 | 1,6 | 3,2 |
|--|--------------|------|------|------|------|------|
| | [I]=0 | 1,67 | 2,86 | 4,44 | 6,15 | 7,62 |
| v _o (μmol x min ⁻¹) | [Ia]= 1,5 mM | 0,63 | 1,18 | 2,11 | 3,48 | 5,16 |
| | [Ib]= 1,5 mM | 0,83 | 1,43 | 2,22 | 3,08 | 3,81 |

Calcular: a) en cada caso el tipo de inhibición existente, b) el valor de los correspondientes parámetros cinéticos (K_M, K_i, V_{máx}).