

1) Ricava la legge cinetica del 1° ordine. Calcola il $t_{1/2}$ di una proteina che è passata da 1,6 μ g a 0,15 μ g in 40' con cinetica del 1° ord.

$$A \rightarrow B \quad v = k A \quad \left| -\frac{dA}{dt} = k A \right| \quad \left| -\frac{dA}{A} = k dt \right| \quad \left| -\int_{A_0}^A \frac{dA}{A} = k \int_0^t dt \right|$$

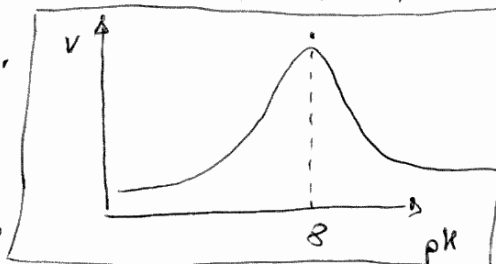
$$\ln \frac{A_0}{A} = k t \quad k = \frac{\ln \frac{A_0}{A}}{t} = \frac{\ln \frac{1,6}{0,15}}{40} = \frac{2,367}{40} = 0,05918 \text{ (k)}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln \frac{A_0}{A}}{k} = \frac{\ln 2}{0,05918} = 11,7' = 11' 42'' \text{ (} t_{1/2} \text{)}$$

2) Spiega l'andamento delle cinetiche enzimatiche col pH

Le cinetiche enzimatiche variano con pH, T, [S]. La dipendenza dal pH è la seguente.

L'andamento delle cinetiche di un enzima proteolitico



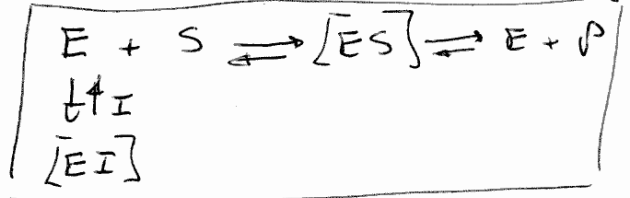
Nel grafico è mostrato il rapporto v/pH che si trova alle reazioni che hanno un

pH ottimale di basso o di 8. A pH inferiori o superiori la velocità diminuisce perché viene alterata la forma acido/base degli AA del sito attivo. Dato che questi hanno pKa caratteristiche nelle loro catene laterali, a pH inferiori risultano troppo protonati gli AA che devono accettare H^+ , mentre a pH maggiori sono privi di H^+ gli AA che devono fornire catalisi e così costante H^+ . Una velocità ottimale a pH 8 suggerisce che una istidina (pKa 6) debba essere del tutto protonata di H^+ per la catalisi ottimale. Altri enzimi possono avere pH ottimali neutrali o acidi. Tra questi ultimi ricordiamo la pepsina che deve lavorare a pH 2 nello stomaco.

3) Spiega cos'è un inibitore competitivo mostrando come varia la legge di Michaelis-Menten e quella dei doppi reciproci

Un inibitore competitivo è un inibitore reversibile che compete con il substrato naturale di un enzima per entrare nel sito attivo (e quindi somiglia strutturalmente al substrato), ma non può essere fatto reagire perché è chimicamente diverso.

La cinetica enzimatica è la seguente

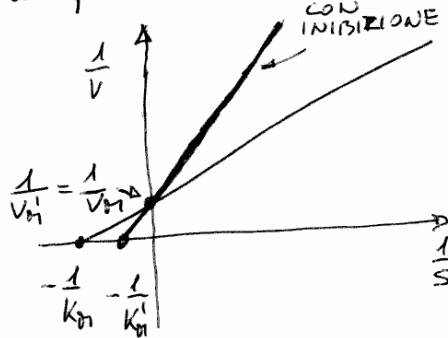
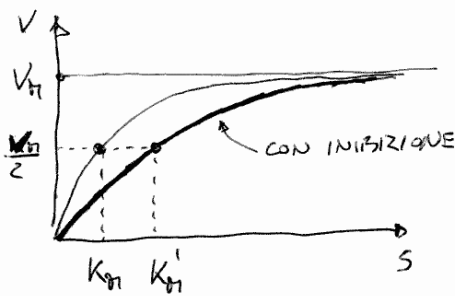


La legge di MM viene così modificata:

$$v = \frac{V_M \cdot S}{K_M + S} \Rightarrow v = \frac{V_M \cdot S}{dK_M + S}$$

Da qui si ottiene che per grandi $[S] \Rightarrow \lim_{S \rightarrow \infty} \frac{V_M \cdot S}{dK_M + S} = \frac{V_M S}{S} = V_M$

La v può arrivare comunque a V_M . D'altra parte la nuova K_M (K_M') vale dK_M cioè è maggiore di quella senza inibizione. ($d > 1$)



Con grandi $[S]$ questo occupa il sito attivo e l'inibitore può agire sempre di meno. Si possono rappresentare le stesse velocità di reazione, ma a $[S]$ maggiore. In particolare la $\frac{V_M}{2}$ può essere raggiunta a $[S]$ maggiore quindi è maggiore K_M' che infatti vale dK_M . (Meno affinità enzima-substrato)

Ricapitolando una inibizione competitiva si riconosce perché ha $V_M' = V_M$ e $K_M' > K_M$. Nel grafico dei doppi reciproci questo è evidente perché le due rette si incontrano su $\frac{1}{V_M}$, mentre hanno valori diversi su $-\frac{1}{K_M}$ [$-\frac{1}{K_M'} > -\frac{1}{K_M}$].