

TD n° 4 Cinétique enzymatique
Les inhibiteurs

Exercice n° 1

L'étude préliminaire de l'activité de deux enzymes (E1 et E2) vis-à-vis du même substrat donne les résultats suivants:

Tableau 1 :

[S] mM	0,165	0,22	0,32	0,45	0,55
Enzyme 1[Vi] ($\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg prt}$)	66	82	107	130	143
Enzyme-2[Vi] ($\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg prt}$)	40	45	52	56,5	59

- Tracez la courbe $V_i = f(S)$, calculez la vitesse maximale et la K_m
- Quelle conclusion pouvez- vous en tirer ?

Exercice n° 2

La glutamate déshydrogénase est une enzyme michaélienne. On teste l'effet du salicylate sur cette enzyme.

Tableau 2 :

[Glutamate] en mM	Vitesse sans salicylate en mg de produit.min ⁻¹	Vitesse avec salicylate en mg de produit.min ⁻¹
1.5	0,21	0,08
2	0,25	0,1
3	0,28	0,12
4	0,33	0,13
16	0,5	0,19

1. Déterminez graphiquement à l'aide des données suivantes si l'inhibition est compétitive ou non compétitive.
2. Calculez les constantes cinétiques $V_{\max}$ et K_m de l'enzyme.

Exercice n° 3

Le pyruvate déshydrogénase et un complexe enzymatique, à partir de pyruvate, de NAD^+ et coenzyme A catalyse la décarboxylation oxydative en pyruvate pour donner de l'acétyl coenzyme A, CO_2 et du NADH. La formation de NADH peut être suivie facilement par mesure de l'absorbance à 340 nm. Le coefficient d'extinction molaire du NADH est égal à $622 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

Cette réaction est inhibée par le diacétyl (2,3 butanedione). Ce tableau donne les vitesses initiales de la réaction, exprimées en variation d'absorbance par min à 340, que l'on mesurée à différentes concentrations de pyruvate et en présence ou en absence de Diacyl.

Tableau 3 :

Pyruvate mM					
	25	50	100	200	400
[Diacétyl]=0	0,03	0,038	0,044	0,048	0,05
[Diacétyl]=0,5 mM	0,02	0,028	0,0375	0,044	0,048

1. Déterminer les vitesses maximales des réactions.
2. Les constantes de Michaelis en absence et présence d'inhibiteur.
3. En déduire le type d'inhibition du Diacétyl et constante d'inhibition correspondante.

Exercice n° 4

L'activité de Malonyl-CoA transacylase (E.C.2.3.1.39 ; [acyl-carrier protein] S-malonyltransférase) est inhibée par acétylcoenzyme A. Le tableau suivant donne les vitesses de la réaction pour différentes concentrations de malonyl-coenzyme A, en absence ou en présence de l'acétyl-CoA.

Tableau 4 :

[Malonyl-CoA] en μmol	Vitesse de la réaction enzymatique en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$ de protéines		
	[Acétyl-CoA] 0 μmol	[Acétyl-CoA] 225 μmol	[Acétyl-CoA] 450 μmol
8,5	0,25	0,10	0,06
17	0,40	0,19	0,12
25	0,50	0,25	0,17
40	0,61	0,35	0,25
60	0,70	0,45	0,33
100	0,80	0,58	0,45

1. A l'aide de la représentation de Lineweaver et Burk, déterminer la $V_{\max}$ et K_m en présence d'acétyl-CoA, puis en présence de cet inhibiteur.
2. Préciser le type d'inhibition.

Exercice 5 :

Parmi les propositions suivantes, relevez la (ou les) proposition exactes(s). Une enzyme est placée en présence de concentrations en inhibiteur croissantes. Les représentations de *Lineweaver et Burke* nous donne faisceau de droites qui convergent en un seul point de l'axe des abscisses.

Lors que la concentration en inhibiteur est de $9 \cdot 10^{-6}$ M, on obtient une valeur de K_i de $3 \cdot 10^{-6}$ est une $V_{\max}$ de $4 \cdot 10^{-6}$.

- a. Quel type d'inhibiteur on a dans cette expérience selon les données.
- b. Calculer la $V_{\max}$ apparente.
- c. La $V_{\max}$ apparente dépend de la concentration en inhibiteur.
- d. Cet inhibiteur se fixe dans le site actif de l'enzyme.
- e. Le K_m est inchangé.