

TD n°5 Les enzymes allostériques

Exercice n°1

Activité catalytique et inhibition du glucose-6-phosphate déshydrogénase

La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH ; E.C.1.1.1.49 ; D-glucose-6-phosphate : NADP⁺ 1-oxydoreductase) d'une bactérie fixatrice de diazote, *Azotobacter beijerinckii*, catalyse la réaction suivante :



Son étude cinétique a été réalisée avec 0,75 µg de protéines par millilitre de mélange réactionnel, en présence de glucose-6-phosphate à différentes concentrations et en absence ou en présence d'ATP à trois concentrations différentes. Les valeurs mesurées sont les suivantes :

[C] glucose-6-phosphate (mmol/l)	Vitesse initiale de réduction du NADP ⁺ (mmol/min/L)			
	Concentration d'ATP (mmol/l)			
	0,0000	1,2000	0,625	0,3125
0,375	5,15	0,35	0,64	1,48
0,500	9,65	0,43	0,97	1,93
0,750	14,15	0,97	2,75	5,15
1,000	18,65	2,25	5,47	9,97
1,250	22,70	3,54	8,69	13,00
1,500	23,80	5,15	10,60	15,10
2,000	27,00	9,83	16,10	19,21
2,500	29,00	16,60	20,30	26,40

-Tracer la courbe $V_i = f([S])$ en absence d'ATP. Caractériser ce type de cinétique.

-Sur le même graphe, tracer les courbes $V_i = f([S])$ pour les différentes concentrations d'ATP.

En déduire le rôle de l'ATP.

Exercice n°2

On a purifié à l'homogénéité électrophorétique une enzyme cardiaque (EC) dont on connaît la structure quaternaire : EC est formée de 4 sous-unités qui sont de 2 types, A (40 kDa) et B (60 kDa). La formule de l'enzyme entière est 2A+2B avec une Mr de 200 kDa ; les sous-unités sont reliées entre elles uniquement par des liaisons faibles.

On désire maintenant vérifier si l'enzyme est bien michaelienne ; pour cela on a reproduit l'expérience de Michaelis en utilisant le substrat S de EC et un essai enzymatique

permettant de mesurer des vitesses initiales (v_0) sur toute la gamme des [S] utilisées. On a obtenu les résultats suivants :

[S] (10^{-5} M)	1	5	10	20	30	50
Vi (nmol.min⁻¹. L⁻¹)	0,001	0,003	0,015	0,08	0,105	0,11

Dans une deuxième série d'expériences, on a ajouté un composé C à la solution d'enzyme EC et on a remesuré les activités enzymatique en fonction de [S]. On a obtenu ces nouveaux résultats :

[S] (10^{-5} M)	1	5	10	20	30	50
Vi (nmol.min⁻¹. L⁻¹)	0,03	0,07	0,09	0,10	0,11	0,11

Questions :

- 1- EC est-elle une enzyme michaelienne? Sinon pourquoi ?
- 2- Quel est la nature du composé C ?
- 3- Comment nomme-t-on ces phénomènes ?