

Travaux dirigés (TD N° 03)
(Enzymologie)

Exercice 1 :

La desoxyadenosine kinase catalyse le transfert du groupe γ -phosphoryle de l'ATP sur la desoxyadenosine. Cette réaction est inhibée par le d'ATP. On a mesuré la vitesse de la réaction de transfert, à différentes concentrations de desoxyadenosine, en absence de d'ATP et en présence de 0.05 mM de d'ATP. Les vitesses qui sont données dans le tableau, sont exprimées en nanomoles de desoxyadenosine transformées en d'ATP pendant les cinq premières minutes de la réaction (conditions de vitesse initiale).

	[desoxyadenosine](mM)				
	0.15	0.25	0.35	0.5	1
[d'ATP] = 0	2.65	3.9	4.8	5.9	8
[d'ATP]=0.05	1.3	1.9	2.4	3	4

- 1) Déterminer le K_m de la desoxyadenosine.
- 2) Déterminer le type d'inhibition du d'ATP et la constante d'inhibition correspondante.

Exercice 2 :

La pyruvate deshydrogenase est un complexe enzymatique qui, à partir de pyruvate, de NAD^+ et de coenzyme A, catalyse la decarboxylation oxydative du pyruvate pour donner de l'acétyl coenzyme A, du 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 6220 $M^{-1}.cm^{-1}$ et le NAD^+ n'absorbe à cette longueur d'onde.

Cette réaction est inhibée par le diacétyle (2,3-butanedione). Le tableau donne les vitesses initiales de la réaction, exprimées en variation d'absorbance par min à 340 nm, que l'on a mesurées à différentes concentrations de pyruvate et en présence ou en absence de diacétyle :

	[Pyruvate](mM)				
	25	50	100	200	400
[diacétyle] = 0	0.03	0.038	0.044	0.048	0.05
[diacétyle]=0.5mM	0.02	0.029	0.0375	0.044	0.048

1. Déterminer les vitesses maximales des réactions (en $M.min^{-1}$) et les constantes de Michaelis en absence et en présence d'inhibiteur. En déduire le type d'inhibition du diacétyle et la constante d'inhibition correspondante.

Exercice 4

S et I sont respectivement un substrat et un inhibiteur d'une enzyme. On mesure v_i (μmoles de substrat consommé par minute) pour différentes concentrations initiales de S, en l'absence et en présence de I :

$[S] \times 10^3 \text{ (M)}$	I absent	I présent
	$v_i \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1}\text{)}$	$v_i \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1}\text{)}$
1	0,290	0,167
1,5	0,380	0,230
2,5	0,510	0,330
5	0,690	0,500
10	0,800	0,670
20	0,900	0,800

- 1- Porter $\frac{1}{v_i}$ en fonction de $\frac{1}{[S]}$ en l'absence et en présence de I
- 2- Préciser le type d'inhibition exercée par I sur l'enzyme
- 3- Déterminer K_M et V_{\max} , en l'absence et en présence de I

Exercice 5

S et I sont respectivement un substrat et un inhibiteur d'une enzyme. On mesure v_i (μmoles de substrat consommé par minute) pour différentes concentrations initiales de S, en l'absence et en présence de I (à la concentration 10^{-6} M) :

$[S] \times 10^2 \text{ (M)}$	I absent	I présent
	$v_i \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1}\text{)}$	$v_i \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1}\text{)}$
2	5	2,50
5	7,14	3,57
7,5	7,87	3,95
10	8,34	4,17
20	9,09	4,54

- 1- Porter $\frac{1}{v_i}$ en fonction de $\frac{1}{[S]}$ en l'absence et en présence de I
- 2- Préciser le type d'inhibition exercée par I sur l'enzyme
- 3- Déterminer K_M et V_{\max} , en l'absence et en présence de I
- 4- Calculer la constante de dissociation K_i du complexe enzyme-inhibiteur

