

TD: Enzymologie

Exercice 1 :

Une enzyme bactérienne catalyse l'hydrolyse du maltose: $\text{maltose} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{ glucose}$.
En un temps d'une minute, la concentration du maltose diminue de 65mM .
Quelle est la vitesse de disparition du maltose dans cette réaction enzymatique ?

Exercice 2 :

Quelle relation existe-t-il entre le K_m et $[S]$ quand une réaction enzymatique s'effectue à:
A- 75% de V_{max} ?
B- 90% de V_{max} ?

Exercice 3 :

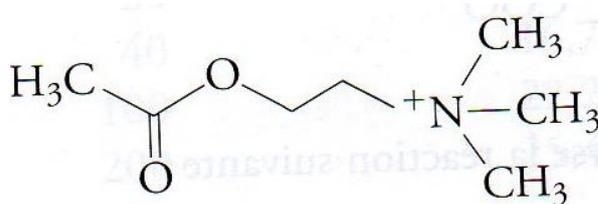
Voici les valeurs de K_m pour la réaction catalysée par la chymotrypsine avec 2 substrats différents.

Substrats	K_m (M)
N-Acétylestérol	$8,8 \times 10^{-2}$
N-Acétylestérol	$6,6 \times 10^{-4}$

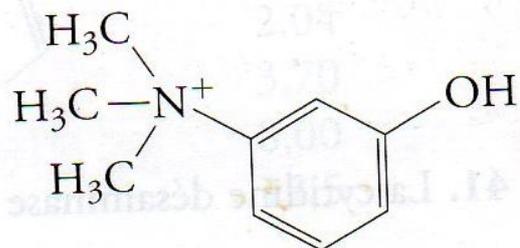
Quel est le substrat ayant la plus forte affinité apparente pour l'enzyme ?

Exercice 4 :

Des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase comme l'édrophonium sont utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. L'acétylcholine est le substrat de l'acétylcholinestérase.



Acétylcholine



Édrophonium

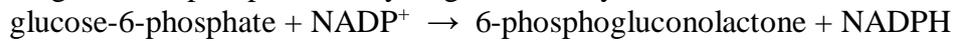
A- Quelle sorte d'inhibiteur est l'édrophonium ?

B- L'inhibition par l'édrophonium peut-elle être vaincue par une augmentation de la concentration en substrat ?

C- Cet inhibiteur se fixe-t-il à l'enzyme de façon réversible ou irréversible ?

Exercice 5 :

La glucose-6-phosphate déshydrogénase catalyse la réaction suivante:



Le K_m pour le glucose-6-phosphate chez la levure est de $2,0 \times 10^{-5}$ M. Le K_m pour le NADP^+ est de $2,0 \times 10^{-6}$ M

La glucose-6-phosphate déshydrogénase peut être inhibée par divers agents cellulaires:

Inhibiteur	K_i (M)
Phosphate inorganique	$1,0 \times 10^{-1}$
Glucosamine-6-phosphate	$7,2 \times 10^{-4}$
NADPH	$2,7 \times 10^{-5}$

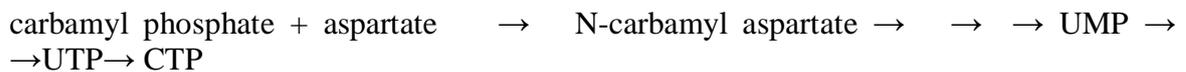
A- Quel est l'inhibiteur le plus efficace ?

B- Quel(s) inhibiteur(s) risque(nt) d'être complètement inefficace(s) dans les conditions cellulaires normales ?

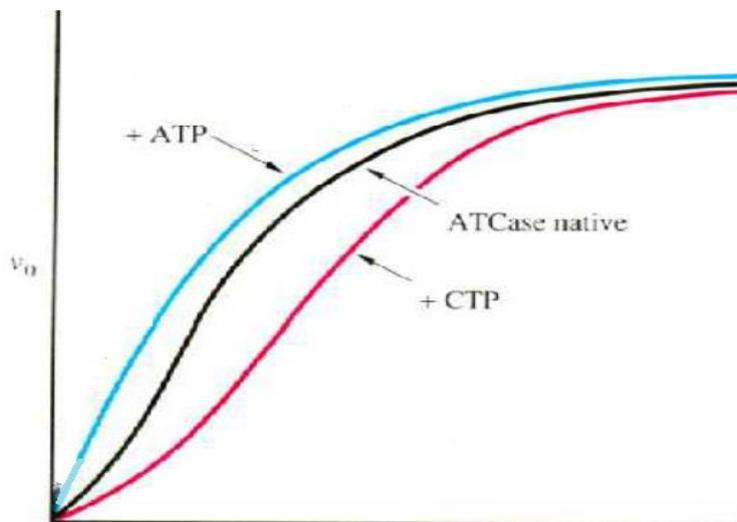
Exercice 6:

L'aspartate transcarbamylase (ATCase) catalyse la formation de N-carbamyl aspartate à partir de carbamyl phosphate et d'aspartate, c'est une des étapes du processus multienzymatique de la synthèse de la cytidine triphosphate (CTP).

ATCase



Les études cinétiques de l'activité de l'ATCase en fonction de la concentration en aspartate produisent les résultats montrés dans ce graphe :



A- l'ATCase est-elle une enzyme allostérique ?

B- Quelle sorte d'effecteur est le CTP ? Quelle est la signification biologique de l'action du CTP sur l'ATCase ?

C- Quelle sorte d'effecteur est l'ATP ? Quelle est la signification biologique de l'action d'ATP sur l'ATCase ?

TD: Enzymologie

Solution :

Exercice 1 :

$$V = -d[S]/dt$$

$$V = -0,065M / 60 \text{ s}$$

$$V = -1,1 \times 10^{-3} \text{ M} \cdot \text{s}^{-1}$$

Exercice 2 :

A- $V_0 = 0,75 V_{\max}$ (on l'introduit dans l'équation):

$$0,75 V_{\max} = V_{\max} [S] / [S] + K_m \text{ (on simplifie par } V_{\max} \text{ des deux côtés de l'équation):}$$

$$0,75 = [S] / [S] + K_m$$

$$0,75 ([S] + K_m) = [S]$$

$$0,75 K_m = 0,25 [S]$$

$3 K_m = [S]$ la concentration en substrat est 3 fois supérieure au K_m .

B- $V_0 = 0,9 V_{\max}$ (on l'introduit dans l'équation):

$$0,9 V_{\max} = V_{\max} [S] / [S] + K_m \text{ (on simplifie par } V_{\max} \text{ des deux côtés de l'équation):}$$

$$0,9 = [S] / [S] + K_m$$

$$0,9 ([S] + K_m) = [S]$$

$$0,9 K_m = 0,1 [S]$$

$9 K_m = [S]$ la concentration en substrat est 9 fois supérieure au K_m .

Exercice 3 :

Le N-Acétyltyrosine éthyl ester avec sa valeur la plus basse de K_m , a la plus haute affinité pour la chymotrypsine.

(le résidu aromatique de tyrosine s'insère mieux dans la « poche » non polaire de l'enzyme que le résidu aliphatique plus petit de valine).

Exercice 4 :

A- Puisque les 2 structures sont similaires (les 2 ont des groupes de choline), l'inhibiteur est compétitif. (les inhibiteurs compétitifs sont en compétition avec le substrat pour la fixation au site actif, les structures doivent donc être similaires).

B- Oui, l'inhibition peut être surmontée si l'on ajoute de grandes quantités de substrat, il sera capable d'une compétition efficace avec l'inhibiteur de sorte que très peu d'inhibiteur se fixera au site actif. (le substrat « gagne » la compétition lorsqu'il est en excès).

C- Comme tous les inhibiteurs compétitifs, l'inhibiteur se fixe de façon réversible.

Exercice 5 :

A- NADPH est l'inhibiteur le plus efficace car il a la valeur de K_i la plus basse.

B- Le Phosphate inorganique sera complètement inefficace car sa valeur de K_i est tellement plus grande que la valeur de K_m de chacun des 2 substrats.

Cela indique que l'enzyme a une affinité bien plus forte pour son substrat et qu'elle se fixera au substrat plutôt qu'à l'inhibiteur (donc l'inhibiteur sera inefficace).

Exercice 6:

A- L'ATCase est une enzyme allostérique. Puisque la courbe de son activité en fonction de [S] est de forme sigmoïde.

B- Le CTP est un effecteur négatif ou inhibiteur.

Puisque lors de l'addition de CTP, le K_m augmente et donc l'affinité de l'enzyme pour le substrat diminue.

Le CTP est le produit final de la voie de biosynthèse des pyrimidines. Lorsque la concentration en CTP est suffisante pour les besoins de la cellule, le CTP inhibe une enzyme du début de la voie de biosynthèse « l'ATCase » par rétroinhibition.

C- L'ATP est un effecteur positif ou activateur.

Puisque lors de l'addition d'ATP, le K_m diminue et donc l'affinité de l'enzyme pour le substrat augmente.

L'ATP est un réactif dans la séquence de réactions, il sert donc d'activateur.

L'ATP est aussi un nucléotide purique tandis que le CTP est un nucléotide pyrimidique.

La stimulation de l'ATCase par l'ATP favorise la synthèse de CTP quand il y a beaucoup d'ATP équilibrant ainsi les pools cellulaires de nucléotides puriques et pyrimidiques.