

Corrigé Type du TD 3 EAGE sur les Inhibitions Enzymatique

Réponse 1

- 1 : $V_{max} = V_{max} A$
- 2 : $V_{max}/2 = V_{max} A/2$ et $V_{max} B$
- 3 : $V_{max} B/2$
- 4 : $K_m = K_m B$
- 5 : $K_m A$
- 6 : $1/V_{max} B$
- 7 : $1/V_{max} = 1/V_{max} A$
- 8 : $- 1/K_m = - 1/K_m B$
- 9 : $- 1/ K_m A$

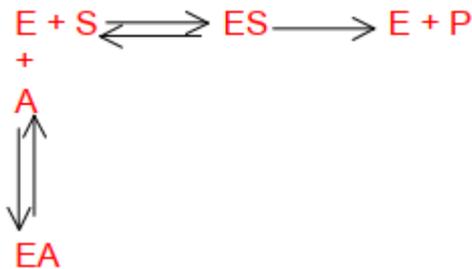
En présence de la molécule A :

Le **K_m** est **augmenté** ($K_m A > K_m$), l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est donc **diminuée** en

présence de la molécule A. La **réaction** est par conséquent **plus lente**.

La **V_{max}** est **inchangée** ($V_{max} A = V_{max}$). Mais, elle est plus longue à atteindre.

Ces résultats sont caractéristique **d'un inhibiteur compétitif** tel que :



L'occupation du site actif par l'inhibiteur n'est pas définitive. La **formation du complexe EA** est **réversible**.

En effet, un **inhibiteur compétitif** est un **analogue structural** du substrat, c'est-à-dire que ces deux

composés présentent une analogie structurale. De ce fait, le site actif de l'enzyme le reconnaît comme un substrat, mais ne peut pas le transformer. La molécule A rentre donc en compétition avec

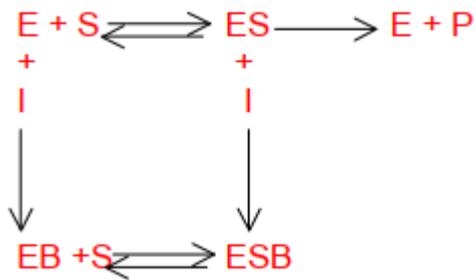
le substrat pour l'occupation du site actif, d'où son nom. Cette fixation est **réversible**.

En présence de la molécule B :

Le **K_m** est **inchangé** ($K_m B = K_m$), l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat reste donc la **même** en

présence de la molécule B.

La V_{max} est **diminuée** ($V_{max B} > V_{max}$) en présence de la molécule B.
 Ces résultats sont caractéristique **d'un inhibiteur non compétitif** tel que :



La fixation du substrat au site actif n'étant pas perturbée, la formation du complexe ES n'est pas modifié.

La V_{max} correspond à la vitesse atteinte lorsque toutes les molécules d'enzyme sont sous la forme du complexe ES. Or, le nombre de complexes ES diminue à la faveur des complexes EB.

En effet, un **inhibiteur non compétitif** n'a, en général, **aucune analogie avec le substrat**. Le substrat peut donc se fixer au site actif, il n'y a pas de compétition. Par contre, l'inhibiteur non compétitif se combine avec l'enzyme de manière **irréversible**, covalente et stable, et cette fixation **dénature le site actif**. Contrairement à l'inhibiteur compétitif, il induit donc une **inactivation définitive de l'enzyme**.

Complétez le tableau suivant :

	Inhibiteur compétitif :	Inhibiteur non compétitif :
Fixation avec l'enzyme :	En compétition avec le S, mais réversible .	Pas de compétition avec le S, mais irréversible .
K_m :	Augmenté.	Inchangée.
Affinité de l'enzyme pour son substrat :	Diminuée.	Inchangée.
V_{max} :	Inchangée.	Diminuée.

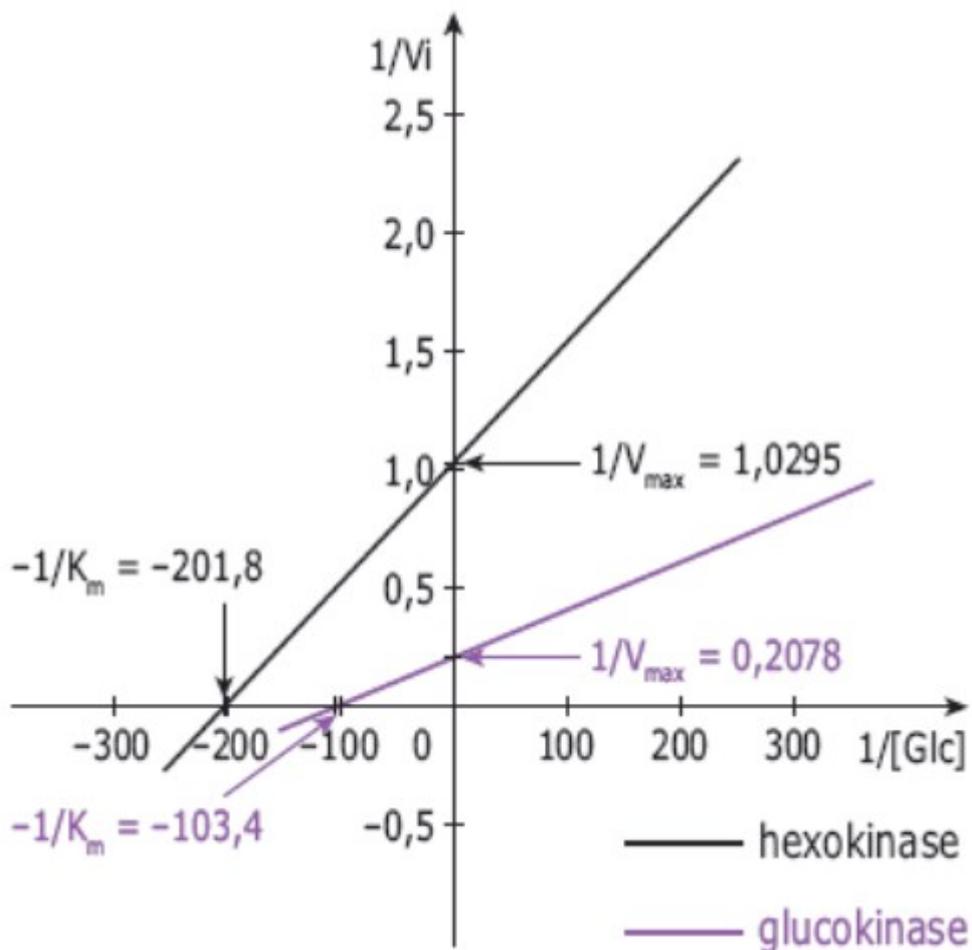
Réponse 2 :

1 Déterminer les valeurs de K_m et de V_{max} pour ces deux enzymes.

Afin de déterminer rapidement les K_m et V_{max} , on utilise la **représentation en double inverse**, la représentation de Lineweaver et Burk. Pour cela, il vous faut avant tout, recalculer les paramètres tels que :

1/[Glucose]	1/Vi avec la glucokinase	1/Vi avec l'hexokinase
200	0,621	2,041
1 150	0,500	1,739
100	0,375	1,674
50	0,341	1,241
20	0,240	1,120

D'où la représentation de Lineweaver et Burk :



Pour la glucokinase :

Calcul de la Vmax : lorsque $1/[Glucose] = 0$, $1/V_i = 1/V_{max}$,

d'où $1/V_{max} = 0,2078$,

d'où $V_{max} = 4,81 \mu\text{mol/L/min}$.

Calcul du K_m : lorsque $1/V_i = 0$, $1/[Glucose] = -1/K_m$,
d'où $-1/k_m = -103,4$,
d'où, $K_m = 9,62 \cdot 10^{-3}$ mol/L.

Pour l'hexokinase :

Avec le même principe de calculs, on trouve :

$V_{max} = 0,97 \mu\text{mol/L/min}$ et

$K_m = 4,95 \cdot 10^{-3}$ mol/L.

2 Comparer les deux K_m , et conclure.

Le K_m est un paramètre cinétique qui indique l'affinité de l'enzyme pour son substrat. Plus il est petit, plus cette affinité est grande. D'après les résultats, on en déduit que l'hexokinase a plus d'affinité pour le glucose que la glucokinase.

3 Comparer les deux V_{max} , et conclure.

La V_{max} est un paramètre cinétique qui indique la vitesse maximale de la réaction enzymatique, lorsque toutes les enzymes sont saturées en substrats.

La V_{max} de la glucokinase, est ici, plus importante que celle de l'hexokinase.

4 Sachant que la glycémie normale est d'environ 5 mmol/L, indiquer si chacune de ces deux enzymes agit dans les conditions d'obtention de la vitesse maximale.

Une glycémie normale est d'environ 5 mmol/L, soit aux alentours du K_m de l'hexokinase. Le K_m étant égale à la concentration en substrats pour $V_{max}/2$, dans ces conditions, la vitesse de réaction serait environ de $V_{max}/2$. De même, cette valeur est très inférieure au K_m de la glucokinase. Ceci nous permet d'en déduire, que ces enzymes fonctionnent « au ralenti » dans ces conditions physiologiques.

5 Quelle serait l'influence d'une augmentation importante de la glycémie ?

Si la glycémie augmente de manière importante, la vitesse de réaction devrait se rapprocher de la V_{max} . De plus, le K_m de la glucokinase étant élevé, cela montre qu'elle agit de manière significative lorsque la concentration en glucose augmente.

Réponse 3

- Lorsqu'elle synthétisée sous forme inactive (**pro-enzyme ou zymogène**), **clivage du peptide qui l'inactive**.

- Par **ajout d'un groupement chimique** : **phosphorylation** (ajout d'un groupement phosphate, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber), **acylation** (ajout d'un groupement acyle, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber) ou **alkylation** (ajout d'un groupement alkyle, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber).

- Grâce à la présence d'un **co-facteur ou co-enzyme** => molécule se liant à l'enzyme, nécessaire à son activité.

2- Quel acide aminé ci-dessous est le moins susceptible de participer à la catalyse acide-base générale

e. Glycine

3- Laquelle des chaînes latérales suivantes est la moins susceptible de fonctionner comme catalyseur nucléophile

d. Alanine

4- La constante de Michaelis - K_m - rend compte de l'affinité des enzymes pour un

substrat, correspond à: - cocher une seule réponse -

b) Concentration en substrat qui donne la moitié de la vitesse maximale