

T. D. n° 5 (inhibiteurs d'enzymes)

Exercice n° 1 :

Calculer la constante d'inhibition pour un inhibiteur compétitif sachant que :

$$K_m = 6,7 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

$$V_{\max} = 330 \text{ } \mu\text{M}/\text{min}$$

$$V_i = 1,5 \text{ } \mu\text{M}/\text{min} \text{ pour : } [I] = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M et } [S] = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

Exercice n° 2 :

Quelle concentration d'inhibiteur compétitif faudrait-il utiliser pour obtenir 75% d'inhibition avec une concentration de substrat égale à $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$?

$$\text{On donne : } K_m = 2,9 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

$$K_i = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

Exercice n° 3 :

La S-adenosylhomocystéinase est inhibée par l'adénine et ses dérivés. On a étudié cet effet inhibiteur sur la vitesse d'hydrolyse de la S-adenosylhomocystéine (SAH), en travaillant en présence de différentes concentrations de substrat et d'adénine. Le tableau suivant donne les vitesses, exprimées en micromoles de substrat hydrolysées par minute et par milligramme de protéine :

[SAH] (μM)	[adénine] (μM)				
	0	1	3	10	20
1	0.30	0.25	0.19	0.10	0.061
3	0.41	0.38	0.32	0.22	0.15
10	0.47	0.46	0.43	0.36	0.29

En utilisant la représentation de **Dixon**, déterminez le type d'inhibition de l'adénine et sa constante d'inhibition.

Exercice n° 4 :

La glucose oxydase d'*Aspergillus niger*, qui catalyse l'oxydation du D-glucose par l'oxygène moléculaire pour donner la D-glucono- δ -lactone et H_2O_2 , est inhibée par un dérivé du glucose, le D-glucal. On a étudié l'effet inhibiteur vis-à-vis de chacun des substrats de la réaction. Les valeurs des vitesses mesurées ont été divisées par la concentration d'enzyme. Elles sont données dans le tableau en $10^{-3} \cdot \text{S}^{-1}$.

1. On a d'abord travaillé à différentes concentrations de D-glucose, en présence d'oxygène (0.27 mM) :

[D-glucal] (mM)	[D-glucose] (mM)				
	5	10	20	40	80
0	0.066	0.110	0.165	0.220	0.260
79	0.044	0.078	0.126	0.183	0.235
113	0.040	0.070	0.115	0.170	0.225

2. On a ensuite fait varier la concentration d'oxygène en travaillant en présence de D-glucose (20 mM) :

[D-glucal] (mM)	[oxygène] (μM)					
	75	100	135	150	200	250
0	0.068	0.080	0.094	0.100	0.112	0.122
110	0.050	0.056	0.062	0.0645	0.070	0.073

Déterminez le type d'inhibition du D-glucal par rapport au D-glucose et par rapport à l'oxygène et les constantes d'inhibition correspondantes.

Exercice n° 5 :

On a purifié à partir du foie de porc une enzyme qui hydrolyse la liaison phosphodiester de l'AMP cyclique et du CMP cyclique. Pour rechercher si ces deux activités étaient localisées au même site actif, on a comparé la constante de Michaelis de l'AMPc à sa constante d'inhibition vis-à-vis de l'hydrolyse du CMPc. Les expériences ont été faites en présence de 0.2 μg d'enzyme, et les vitesses sont exprimées en picomoles de substrat hydrolysées par minute.

1. Déterminez la constante de Michaelis.

[AMPc] (μM)	13.5	20	27	35	55	75
Vitesse	112	142	166	187	220	240

2. Déterminez la constante d'inhibition.

[AMPc] (μM)	[CMPc] (μM)			
	67	100	130	300
0	280	370	433	640
50	104	148	184	340

3. Comparez la constante de Michaelis de l'AMPc avec sa constante d'inhibition. Que peut-on déduire ?