

TD N°4

ENZYMOLOGIE MOLECULAIRE ET APPLIQUEE

Exercice 1

- Comment le phosphoénolpyruvate exerce-t-il son effet inhibiteur ?
- Discutez la régulation enzymatique de la phosphofructokinase (PFK)
- Donner quelques exemples de relation structure-fonction dans quelques systèmes enzymatiques.
- Rapportez la relation structure-fonction d'une protéase à serine: La chymotrypsine.
- Expliquez le mécanisme de cascade de la coagulation sanguine ?

Exercice 2

Une réaction enzymatique a un K_m de 5mM et une V_{max} de $10\text{mM}\cdot\text{S}^{-1}$

- Quelle est la vitesse de la réaction lorsque la concentration du substrat est :
 - a) 0.5mM
 - b) 2 mM
 - c) 10 mM

Exercice 3

La vitesse d'une réaction enzymatique a été mesurée pour plusieurs concentrations du substrat.

- Calculez les valeurs de K_m et V_{max} de cette réaction

[S] (μM)	V_o ($\text{mM}\cdot\text{S}^{-1}$)
0.25	0.75
0.5	1.20
1	1.71
2	2.18
4	2.53

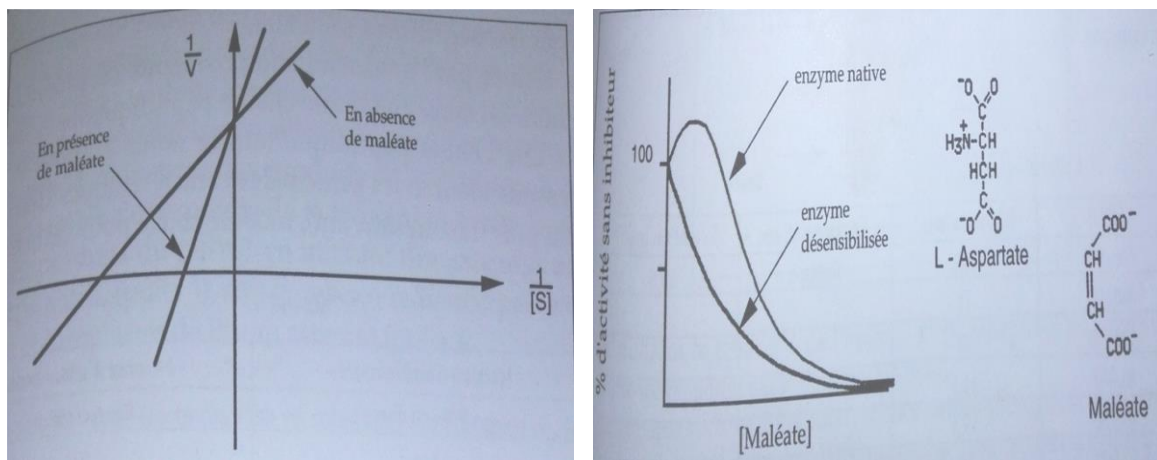
Exercice 4

Après certaines mutations, la courbe de saturation de l'hémoglobine par l'oxygène prend l'aspect de celle de la myoglobine.

- Citez le type d'allostérie de l'hémoglobine et son effet.
- La pO_2-50 de cette hémoglobine est-elle diminuée, accrue ou inchangée ? justifier votre réponse
- Donnez la représentation graphique normale de la saturation la myoglobine et de l'hémoglobine en oxygène en fonction de la pression partielle d' O_2 (pO_2).
- Quel est le type d'association quaternaire le plus généralement modifié dans ces molécules d'hémoglobine mutées ?

Exercice 5

L'aspartate transcarbamylase(ATCase) est une enzyme qui catalyse la formation de carbamyl-aspartate à partir de carbamyl-phosphate et l'Aspartate, substrat naturel de l'enzyme. Cette enzyme peut être désensibilisée par le p Chloro Mercury Benzoate (pCMB) . la vitesse de la réaction catalysée par l'enzyme désensibilisée a été mesurée en fonction de la concentration en aspartate. Ces mesures sont effectuées dans deux conditions différentes : en l'absence et en présence de maléate. Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous.



-Donnez l'allure de la courbe exprimant la vitesse de la réaction catalysée par l'ATCase lorsque l'enzyme n'est pas désensibilisée (on parle alors d'enzyme native).

-Commentez cette courbe.

-Expliquez l'effet de l'ajout du maléate.

2) Une comparaison du comportement de l'enzyme native et de l'enzyme désensibilisée a été faite, en présence de maléate dont les concentrations ont été variées.

-Expliquez le comportement des deux enzymes.

-Vos conclusions confirment-elles votre analyse de la question 1.

Exercice 6

Une enzyme dimérique, supposée être allostérique, a été étudiée sous différentes conditions, à la concentration de $0,1 \mu\text{M}$, à 25°C et à $\text{pH}8,0$. La vitesse exprimée en $\mu\text{M}\cdot\text{mm}^{-1}$ du produit est indiquée dans le tableau suivant :

Vitesse	0,85	1,50	2,50	4	5	5,5
[S] (mM)	0,05	0,1	0,2	0,5	1	1,5

- Déterminez les paramètres cinétiques de la réaction enzymatique

Des expériences ont été effectuées en présence d'un activateur A en concentration saturante de 50mM ou d'un inhibiteur I utilisé à saturation à 100mM . Les résultats sont les suivants :

Vitesse	[S] (mM)					
	0,05	0,4	0,2	0,50	1	1,50
[A]	2,25	4	6,60	11	13	14,50
[I]	0,40	0,66	1,10	1,75	2,20	2,45

- Déterminez les paramètres cinétiques

Bon courage