

Vous avez créé une start-up qui recherche et test des molécules pour le traitement du diabète et l'on vous demande de tester l'effet de l'acide ursolique sur l'alpha glucosidase.

Vous réalisez une série de mesure de l'activité enzymatique de l'alpha glucosidase (5 µg/L) en présence de concentrations croissantes en maltose avec ou sans l'acide ursolique, les conditions opératoires sont identiques en tous points sauf la présence ou l'absence de l'acide ursolique à la concentration finale de 6 nM.

Voici les résultats obtenus :

[maltose] (mM)	Vo (µmol/L/min)	Vo (µmol/L/min) + acide ursolique
0,2	0,15	0,14
0,8	0,55	0,39
1	0,67	0,44
1,25	0,80	0,50
2	1,14	0,62
2,5	1,33	0,67
5	2,00	0,80
10	2,67	0,89
15	3,00	0,92
30	3,43	0,96
50	3,64	0,98
100	3,81	0,99
1000	3,98	1,00

- 1) Déterminez le K_m et la V_{max} de l'alpha glucosidase en présence ou absence de l'acide ursolique.
- 2) Définissez la nature de l'inhibition de l'acide ursolique pour l'alpha glucosidase.
- 3) Calculez le K_i de l'acide ursolique pour l'alpha glucosidase.
- 4) Calculez la concentration en acide ursolique donnant 50% d'inhibition de l'alpha glucosidase dans les mêmes conditions opératoires pour une concentration en maltose de 10 mM.
- 5) La masse moléculaire de l'alpha glucosidase est de 105 kDa , calculez le turn over de l'enzyme (nombre de rotations) en s^{-1} .

Les questions 4 et 5 sont indépendantes

Base de correction

1) $K_m = 5 \text{ mM}$

$K_m \text{ app} = 1.25 \text{ mM}$

$V_{\text{max}} = 4 \text{ } \mu\text{mol/L/min}$

$V_m \text{ app} = 1 \text{ } \mu\text{mol/L/min}$

2) Les deux sont diminués d'un même facteur de 4 \rightarrow inhibition incompétitive

3) $4 = 1 + [I]/K_i \rightarrow K_i = 2 \text{ nM}$

4) $[I]/([I] + K_i(1 + K_m/[S])) = 1/2$ donc $[I]$ doit être égale à $K_i(1 + K_m/[S])$ d'où $[I] = 3 \text{ nM}$

5) $V_{\text{max}} = K_{\text{cat}} [E]_{\text{tot}}$

$K_{\text{cat}} = 4 \cdot 10^{-6} / (5 \cdot 10^{-6} / 105\,000) = 84\,000 \text{ min}^{-1}$ soit 1400 s^{-1}