

Pour l'étude d'un inhibiteur I d'une enzyme E agissant sur un substrat S, on réalise une série de mesures à partir d'une même concentration molaire d'enzyme ($7 \cdot 10^{-9}$ M dans le mélange réactionnel).

Une première série d'expérience est menée sans inhibiteur (série A) puis une seconde (B) avec l'inhibiteur I à la concentration de $3 \cdot 10^{-4}$ M.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant

	Expérience A	Expérience B
[S] (10^{-4} M)	V_o (10^{-6} mol/L/min)	V_o (10^{-6} mol/L/min)
2	14	10.5
12	24	18

- 1) Calculer le degré d'inhibition obtenu en présence de l'inhibiteur :
 - 1.1 quand $[S] = 2 \cdot 10^{-4}$ M
 - 1.2 quand $[S] = 12 \cdot 10^{-4}$ M
 - 1.3 quel est le type d'inhibition dont I est responsable ? Justifiez votre réponse.
- 2) On connaît le K_m de l'enzyme pour le substrat S : $K_m = 2 \cdot 10^{-4}$ M
 - 2.1 Calculer la V_{max} de l'enzyme en l'absence d'inhibiteur
 - 2.2 Calculer la V_{max} apparente de l'enzyme en présence d'inhibiteur
- 3) Calculer en l'absence d'inhibiteur la constante catalytique et le temps de rotation du substrat sur l'enzyme

Proposition de réponses :

1) % ou degré d'inhibition = $(V_o - V_i)/V_o$

1.1 % inhibition = $(14 - 10.5)/14 = 25\%$ (ou 0.25)

1.2 % inhibition = $(24 - 18)/24 = 25\%$ (ou 0.25)

1.3 On constate que le % d'inhibition est indépendant de la concentration en substrat ce qui indique que I est un inhibiteur de type non compétitif, c'est le seul mode d'inhibition pour lequel la fixation de l'inhibiteur ne modifie pas le K_m de l'enzyme donc son affinité.

2)

2.1.1 Pour $[S] = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ on a $[S] = K_m$ donc $V_o = 1/2 V_m$ d'où $V_m = 28 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L/min}$

2.1.2 $V_m \text{ app} = V_m / ((1 + [I]/K_i)^i)$

On a besoin de K_i que l'on déduit du % d'inhibition :

$$\% \text{ inhib} = [I] / ([I] + K_i) \rightarrow 0.25 = 3 \cdot 10^{-4} / (3 \cdot 10^{-4} + K_i)$$

$$\text{D'où } K_i = 9 \cdot 10^{-4} \text{ M} \quad V_m \text{ app} = 28 / (1 + 3 \cdot 10^{-4} / 9 \cdot 10^{-4}) = 21 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L/min}$$

3) $V_m = K_{cat} \cdot [E_{tot}]$

$$28 \cdot 10^{-6} = K_{cat} \cdot 7 \cdot 10^{-9} \rightarrow K_{cat} = 4000 \text{ min}^{-1}$$

$$\text{Temps de rotation} = 1/K_{cat} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ min}$$