

Une série d'expérience porte sur une solution d'enzyme E et son substrat S.

Les mesures d'activités sont effectuées dans des conditions conventionnelles retenues pour la définition de l'unité U. Parmi ces conditions, la concentration en substrat dans le mélange réactionnel est fixé à  $[S] = 11 K_m = 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ . L'activité enzymatique de la solution d'enzyme dans les conditions conventionnelles donne  $V_o = 227.3 \text{ U/L}$

- 1) Calculer la concentration catalytique maximale correspondant à cette concentration en enzyme
  
- 2) Sur cette solution d'enzyme vous devez contrôler les effets d'un inhibiteur incompétitif (I) présent dans le milieu réactionnel à la concentration de  $[I] = 4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ . Le  $K_i$  de l'enzyme pour cet inhibiteur est de  $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .
  - a) Ecrire les équilibres possibles entre E, S, I et P le produit de la réaction
  - b) Déterminer le  $K_m$  et la  $V_m$  apparentes en présence de l'inhibiteur
  - c) Calculer la vitesse apparente prévisible dans les conditions conventionnelles
  
- 3) Calculer le pourcentage d'inhibition dans les conditions conventionnelles.
- 4) Quelle est l'évolution prévisible de ce pourcentage d'inhibition si l'on augmente la concentration en substrat dans le milieu d'incubation, la concentration en inhibiteur restant identique ?

Deux erreurs sont beaucoup trop souvent retrouvées.

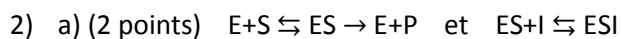
- La première concerne la première question : Il est dit que nous étions à  $[S]=11\text{Km}$  et je demande de CALCULER la concentration catalytique. Calculer ne veut pas dire estimer, ceux qui ont argumenté  $[S]>10\text{Km}$  donc  $V_0 = V_{\text{max}}$  ont faux !

- La seconde se retrouve dans 60% des copies, à plusieurs questions : quand on demande une concentration catalytique maximale il ne faut pas écrire  $V_{\text{max}} = 248 \text{ U/L}$  si c'est  $V_{\text{max}}$  c'est  $248 \mu\text{mol/Lmin}$  et on ajoute alors soit Concentration Catalytique max =  $248 \text{ U/L}$ . Comme pour la première question c'était clairement demandé j'ai ôté 50% des points de cette question à ceux qui ont mélangé les Vitesses avec des U/L. Après pour les questions 2B et 2C quand l'erreur s'est reproduite (des vitesses exprimées en U/L) j'ai ôté 1 point à chaque question, cela veut dire qu'à la fin beaucoup d'entre vous ont bêtement perdu 5 à 9 points/40 pour des erreurs de concordances d'unités. Pensez-y à l'avenir.

Réponses :

1) (5 points)  $V_0 = V_m \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]}$  ici  $[S] = 11 \text{ Km} \rightarrow V_m = 12/11 \cdot V_0$

Soit Conc. Catal m =  $227.3 \times 12/11 = 248 \text{ U/L}$  (U/L car c'est une concentration catalytique max qui est demandée)



I ne peut se fixer que sur ES et ESI n'est pas productif

b) (5 points) I est un inhibiteur incompétitif donc il diminue le  $K_m$  et la  $V_{\text{max}}$  d'un même facteur égal à  $1+[I]/K_i$

$$K_{m_{\text{app}}} = K_m / (1 + [I]/K_i) = 5 \cdot 10^{-5} / (1 + 4 \cdot 10^{-5} / 1 \cdot 10^{-5}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

On en déduit pour la suite que  $[S] = 55 K_{m_{\text{app}}}$

$$V_{\text{max}_{\text{app}}} = V_m / (1 + [I] / K_i) = 248 / (1 + 4 \cdot 10^{-5} / 1 \cdot 10^{-5}) = 49,6 \mu\text{mol/L/min}$$

c) (3 points)  $V_{O_{\text{app}}} = V_{m_{\text{app}}} \cdot \frac{[S]}{K_{m_{\text{app}}} + [S]} = 49.6 \times 55/56 = 48,7 \mu\text{mol/L/min}$

3) (3 points) %inhibition =  $(V_0 - V_{\text{app}})/V_0 \rightarrow$  % inhibition =  $(227.3 - 48,7)/227.3 = 78,6 \%$

C'est la meilleure façon de faire, à défaut, on peut utiliser la formule si on la connaît par cœur (beaucoup l'on fait)

4) Comment évolue-t-il si S augmente : (2points)

Ne pas se contenter de dire qu'il augmente ! (50% des points)

Soit vous **expliquez** à partir de la formule que  $K_m/[S]$  est au dénominateur et donc que lorsque  $[S]$  augmente le dénominateur diminue et donc le % d'inhibition augmente.

Soit de préférence vous dites que l'inhibiteur ne peut se lier à l'enzyme que quand le substrat s'est déjà fixé et que cela augmente paradoxalement l'affinité de l'enzyme pour son inhibiteur donc plus je mets de substrat plus cela permet la fixation de l'inhibiteur et donc le pourcentage d'inhibition augmente (ESI non productif).