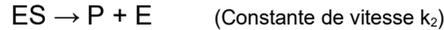


TB2	Chapitre C8	Catalyse
Exercices		

### Exercice 1 : Cinétique Michaélienne

Soit la réaction suivante :

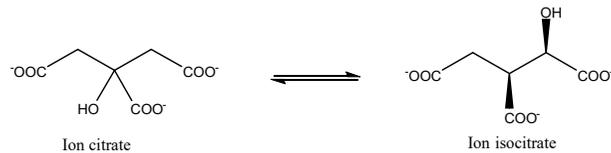


On suppose que  $[S] \gg [P]$  et que  $[ES] \ll [S]$

- Donner la vitesse de la réaction en fonction de la dérivée de la concentration d'une des espèces ci-dessus.
- Exprimer cette vitesse en fonction d'une ou plusieurs concentrations et des constantes de vitesses pertinentes.
- Appliquer l'approximation de l'équilibre rapide.
- Exprimer la vitesse de la réaction en fonction de la concentration  $[S]_0$  et  $[E]_0$ .
- Montrer qu'on peut écrire la vitesse de la forme :

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{[S] + K_M}$$

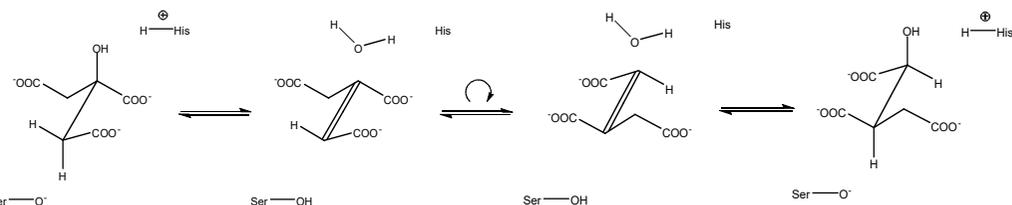
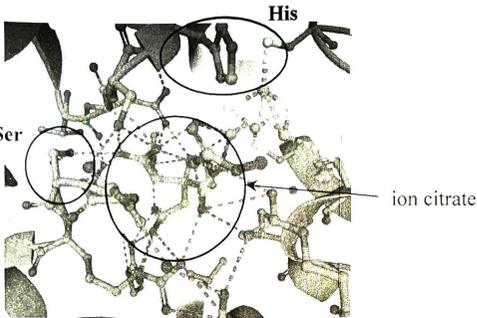
### Exercice 2 : Rôle catalytique de l'aconitase



L'aconitase est une enzyme qui catalyse l'isomérisation stéréospécifique de l'ion citrate en ion isocitrate. La structure tridimensionnelle du site actif de l'aconitase est représentée ci-contre. **His** et **Ser** sont résidus respectivement deux d'acides aminés (histidine et sérine) l'enzyme.

1. Rappeler ce qu'est le site actif d'une enzyme. Que représentent les traits en pointilles sur la représentation ci-dessus ?

2. On propose le mécanisme ci-après pour rendre compte de la réaction d'isomérisation de l'ion citrate. Compléter ce mécanisme réactionnel et proposer une interprétation au rôle catalytique de l'enzyme.



### Exercice 3 : Comportement michaelien d'une enzyme

La pénicillinase (ou B-lactamase) catalyse l'hydrolyse de la pénicilline. On détermine expérimentalement la vitesse initiale  $v$  de la transformation en fonction de la concentration initiale en substrat  $[S]_0$  pour un échantillon de volume  $V = 10 \text{ mL}$ , contenant une masse  $m = 1,0 \cdot 10^{-9} \text{ g}$  d'enzyme. Les résultats obtenus sont fournis dans le tableau suivant.

$10^5 \cdot [S]_0 \text{ (mol/L)}$	0,1	0,3	0,5	1,0	3,0	5,0
$10^7 \cdot v \text{ (mol/L/min)}$	0,11	0,25	0,34	0,45	0,58	0,61

- Calculer la concentration initiale d'enzyme. Commenter.
- Rappeler le mécanisme associé au modèle de Michaelis-Menten pour la transformation d'un substrat  $S$  en produit  $P$  catalysée par l'enzyme  $E$ , et établir l'expression de la vitesse initiale de la transformation en fonction de deux constantes  $K_M$  et  $v_{\max}$  dont on donnera brièvement la signification, et de  $[S]_0$ .
- À partir des valeurs du tableau, réaliser les deux tracés suivants:

- tracé de  $1/v$  en fonction de  $1/[S]_0$  (représentation de Lineweaver-Burk);

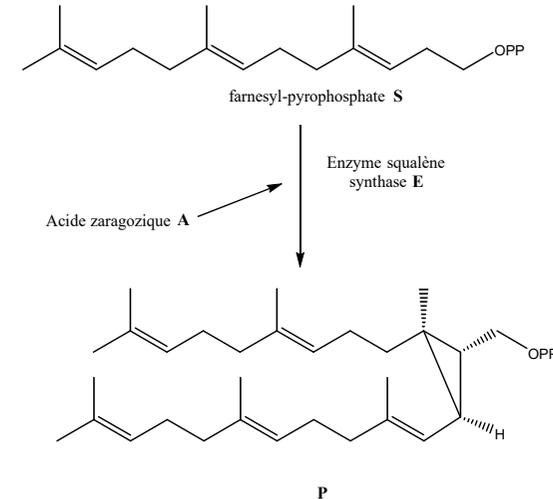
- tracé de  $v$  en fonction de  $v/[S]_0$  (représentation de Eadie-Hofte).

Montrer que chacun des deux tracés permet d'accéder aux valeurs de  $K_M$  et  $v_{\max}$ , et déterminer leur valeur.

Donnée : la pénicillinase possède une masse molaire  $M = 2,96 \cdot 10^4 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

### Exercice 4 : L'acide zaragozique A, un inhibiteur compétitif (d'après ENS)

Les médicaments interviennent dans l'organisme au niveau des voies métaboliques de production de certaines espèces. L'acide zaragozique A est un des principes actifs utilisés pour inhiber la production de cholestérol. Il ralentit l'activité de l'enzyme squalène synthase en formant de manière réversible un adduit inactif avec l'enzyme. C'est un inhibiteur compétitif efficace.



L'enzyme squalène synthase **E** catalyse la réaction de dimérisation du farnesyl-pyrophosphate **S**, selon un profil cinétique caractéristique d'un mécanisme de Michaelis-Menten. L'évolution de la vitesse de formation du produit de réaction, en absence et en présence de l'inhibiteur **I**, est représentée dans le graphe suivant (figure 1), suite à une étude cinétique.

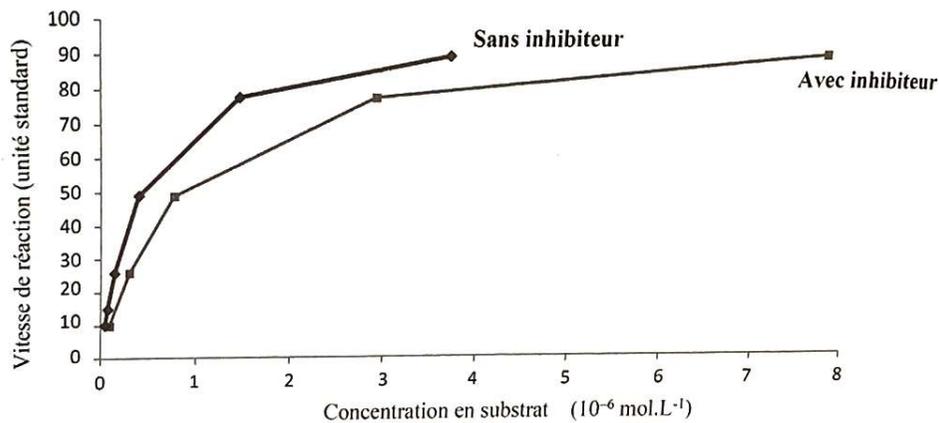


Figure 1 - Dépendance de la vitesse de réaction de l'enzyme **E** squalène synthase, en fonction de la concentration en substrat **S** ; mesures en absence d'inhibiteur **I**, ou en présence de l'inhibiteur **I** acide zaragozique **A**, à la concentration de  $8 \cdot 10^{-11}$  mol/L

Le mécanisme de l'enzyme michaelienne est décrit par deux étapes successives. La première correspond à l'équilibre d'association de l'enzyme **E** avec le substrat **S**, formant l'adduit **ES**. La constante de l'équilibre de dissociation de **ES** est  $K_M$ , la constante michaelienne. La deuxième étape correspond à l'étape élémentaire de formation du produit **P**, avec la constante de vitesse  $k$ . En présence de l'inhibiteur **I**, un équilibre compétitif s'ajoute, avec l'association de l'enzyme **E** et de **I**, formant l'adduit **EI**. La constante de l'équilibre de dissociation de **EI** est  $K_I$ , la constante d'inhibition.

1. Représenter les schémas mécanistiques en absence et en présence d'inhibiteur **I**. Exprimer la vitesse de l'étape de formation du produit **P**.
2. En absence d'inhibiteur, exprimer le bilan de matière de l'enzyme. Exprimer la vitesse maximale de réaction  $v_{max}$ , en fonction de la concentration totale introduite de l'enzyme  $[E]_T$ . Exprimer la vitesse de réaction  $v$  en fonction de  $v_{max}$ , de  $K_M$  et de la concentration en substrat  $[S]$ .
3. Si l'on se place dans les conditions réactionnelles où la vitesse de réaction  $v$  mesurée est égale à la moitié de  $v_{max}$ , estimer la valeur numérique de  $K_M$  à partir des données expérimentales de la figure 1.
4. En présence de l'inhibiteur **I**, exprimer le bilan de matière de l'enzyme. Exprimer la vitesse maximale de réaction  $v_{max}$ , en fonction de la concentration totale introduite de l'enzyme  $[E]_T$ . Conclure sur l'effet de l'inhibiteur compétitif **I** sur la vitesse maximale de l'enzyme michaelienne.
5. Exprimer la vitesse de réaction  $v$  en fonction de  $v_{max}$ , de  $K_M$ , de  $K_I$ , des concentrations en substrat  $[S]$

et inhibiteur  $[I]$ . On note la constante michaelienne apparente  $K_M^{app} = K_M \left( 1 + \frac{[I]}{C^o \cdot K_I} \right)^2$

6. Si l'on se place dans les conditions réactionnelles où la vitesse de réaction  $v$  mesurée est égale à la moitié de  $v_{max}$ , estimer la valeur numérique de  $K_M^{app}$  à partir des données expérimentales de la figure 1.
7. Indiquer le rapport numérique entier entre les valeurs de  $K_M^{app}$  et de  $K_M$ . Dans ces conditions, estimer la valeur numérique de  $K_I$  à partir des données expérimentales de la figure 1.
8. Du point de vue pharmacologique, il est commode d'estimer l'efficacité de l'inhibition d'une enzyme par la valeur  $CI_{50}$  de la concentration en inhibiteur permettant de limiter l'activité enzymatique à 50 %. La formule de Cheng-Prusoff permet d'estimer cette valeur :

$$K_I = \frac{CI_{50}}{C^o + \frac{[S]}{K_M}}$$

Les tests d'efficacité pharmacologique ont été réalisés pour une  $[S]$  concentration en substrat optimale de 5 micromoles par litre.

- a). Estimer la valeur de la  $CI_{50}$ . Que penser de l'efficacité de l'acide zaragozique ?
- b). Un inhibiteur peut être caractérisé par deux grandeurs,  $K_I$  et  $CI_{50}$ , comparer la pertinence de ces deux indicateurs en vue d'une utilisation médicale.