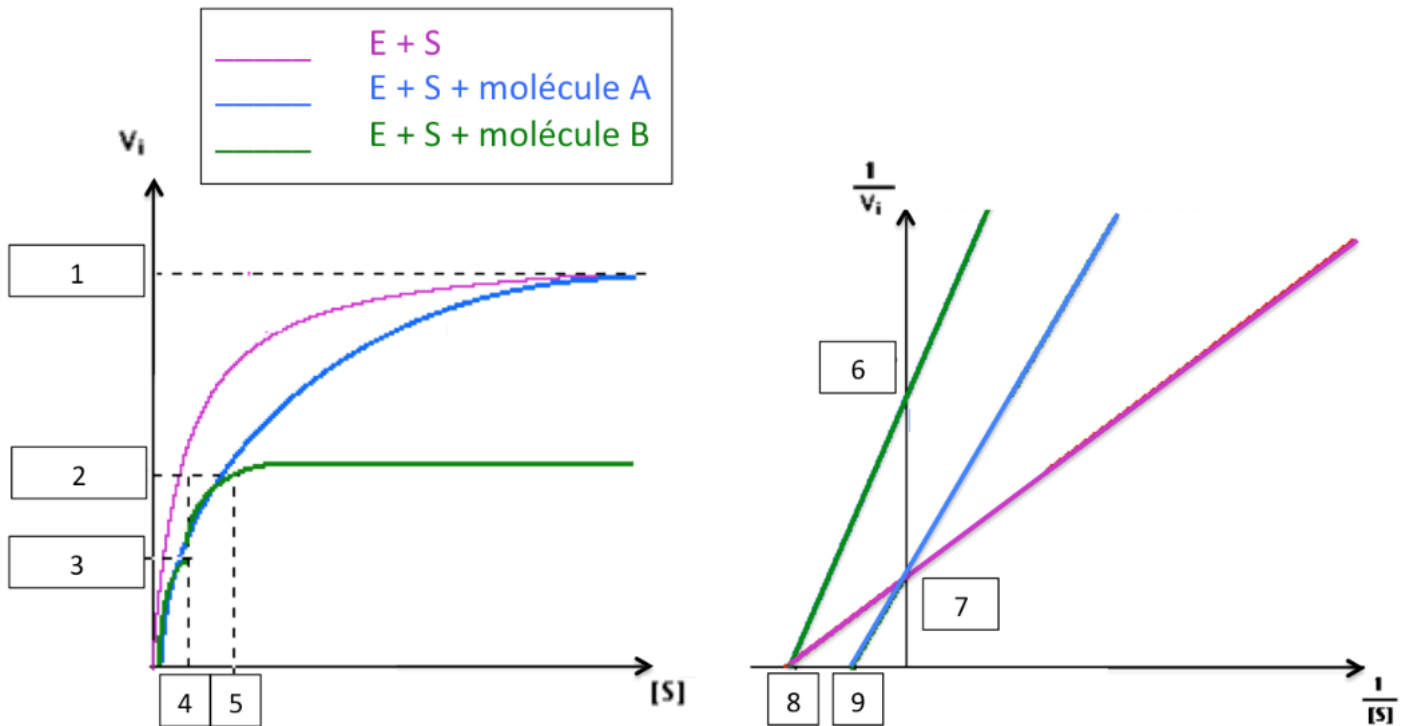


23. Après avoir légendé les graphiques ci-dessous, analysez-les et interprétez sur l'effet des molécules A et B. Vous l'expliquerez en détails (notamment avec des équations).



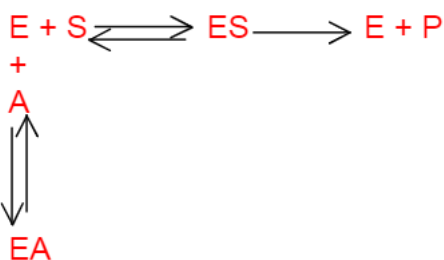
- 1 : $V_{max} = V_{max} A$
- 2 : $V_{max}/2 = V_{max} A/2$ et $V_{max} B$
- 3 : $V_{max} B/2$
- 4 : $K_m = K_m B$
- 5 : $K_m A$
- 6 : $1/V_{max} B$
- 7 : $1/V_{max} = 1/V_{max} A$
- 8 : $-1/K_m = -1/K_m B$
- 9 : $-1/K_m A$

En présence de la molécule A :

Le **K_m est augmenté** ($K_m A > K_m$), l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est donc **diminuée** en présence de la molécule A. La **réaction** est par conséquent **plus lente**.

La **V_{max} est inchangée** ($V_{max} A = V_{max}$). Mais, elle est plus longue à atteindre.

Ces résultats sont caractéristique **d'un inhibiteur compétitif** tel que :



L'occupation du site actif par l'inhibiteur n'est pas définitive. La **formation du complexe EA est réversible**.

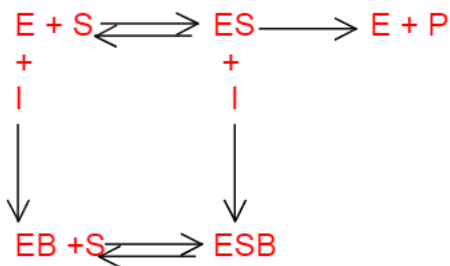
En effet, un **inhibiteur compétitif** est un **analogue structural** du substrat, c'est-à-dire que ces deux composés présentent une analogie structurale. De ce fait, le site actif de l'enzyme le reconnaît comme un substrat, mais ne peut pas le transformer. La molécule A rentre donc en compétition avec le substrat pour l'occupation du site actif, d'où son nom. Cette fixation est **réversible**.

En présence de la molécule B :

Le **Km est inchangé** ($K_m B = K_m$), l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat reste donc la **même en présence de la molécule B**.

La **Vmax est diminuée** ($V_{max B} < V_{max}$) en présence de la molécule B.

Ces résultats sont caractéristique **d'un inhibiteur non compétitif** tel que :



La fixation du substrat au site actif n'étant pas perturbée, la formation du complexe ES n'est pas modifiée.

La Vmax correspond à la vitesse atteinte lorsque toutes les molécules d'enzyme sont sous la forme du complexe ES. Or, le nombre de complexes ES diminue à la faveur des complexes EB.

En effet, un **inhibiteur non compétitif** n'a, en général, **aucune analogie avec le substrat**. Le substrat peut donc se fixer au site actif, il n'y a pas de compétition. Par contre, l'inhibiteur non compétitif se combine avec l'enzyme de manière **irréversible**, covalente et stable, et cette fixation **dénature le site actif**. Contrairement à l'inhibiteur compétitif, il induit donc une **inactivation définitive de l'enzyme**.

24. Complétez le tableau suivant :

	Inhibiteur compétitif :	Inhibiteur non compétitif :
Fixation avec l'enzyme :	En compétition avec le S, mais réversible .	Pas de compétition avec le S, mais irréversible .
Km :	Augmenté.	Inchangée.
Affinité de l'enzyme pour son substrat :	Diminuée.	Inchangée.
Vmax :	Inchangée.	Diminuée.

SÉANCE 4 :

25. Quelles sont les trois manières d'activer une enzyme ?

- Lorsqu'elle synthétisée sous forme inactive (**pro-enzyme ou zymogène**), **clivage du peptide qui l'inactive**.
- Par **ajout d'un groupement chimique** : **phosphorylation** (ajout d'un groupement phosphate, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber), **acylation** (ajout d'un groupement acyle, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber) ou **alkylation** (ajout d'un groupement alkyle, ce qui selon l'enzyme peut l'activer ou l'inhiber).
- Grâce à la présence d'un **co-facteur ou co-enzyme** => molécule se liant à l'enzyme, nécessaire à son activité.

26. Quelle est la principale différence entre les co-enzymes libres (également nommé co-substrats) et les co-enzymes liés ?

Le **co-enzyme libre se lie de manière transitoire** à l'enzyme, par des **liaisons faibles**. Il peut donc être dissocié de son enzyme.

Alors que le **co-enzyme liée reste tout le temps** lié à l'enzyme, par des **liaisons covalentes**. Il ne peut donc pas être dissocié de son enzyme.

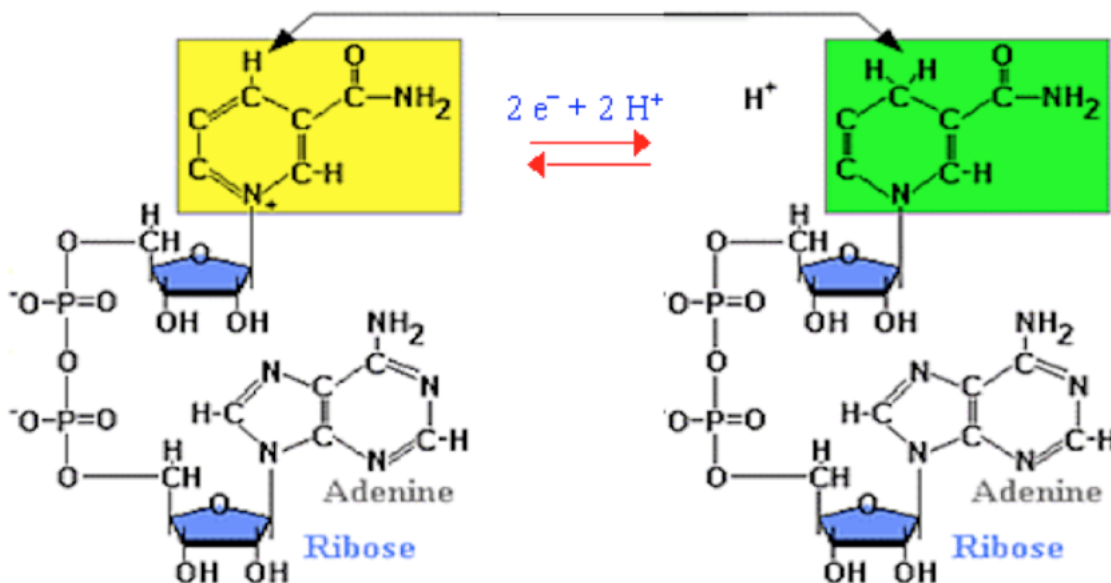
27. Définissez « co-enzyme d'oxydo-réduction » et « co-enzyme de transfert ».

Les **coenzymes d'oxydoréduction** permettent l'**échange d'électrons** (Une réaction d'oxydo-réduction est une réaction chimique au cours de laquelle se produit un échange d'électrons).

Les **coenzymes de transfert** permettent le **transfert de groupements fonctionnels** carbonés ou non (éléments aminés, éléments carbonés, phosphate, nucléotide, hydrogène).

28. Retrouvez les co-enzymes correspondant aux formules chimiques suivantes. Dites à quelle vitamine hydrosoluble il correspond, ou dont il dérive :

A.



⇒ **NAD⁺ (forme oxydée)/NADH, H⁺ (forme réduite)**, dérive de la **Vit B3** (ou PP), ou niacine.

Exercice

Le glucose est dégradé dans l'organisme par la voie de la glycolyse. La première réaction de cette voie est une phosphorylation du glucose qui peut être catalysée par deux enzymes différentes : la glucokinase ou l'hexokinase.

On se propose d'étudier les caractères cinétiques de ces deux enzymes vis-à-vis de leur substrat commun, le glucose. La vitesse initiale de la réaction a été mesurée pour des concentrations différentes en substrat à 20 °C et à pH 7. La concentration en enzyme utilisée pour les deux séries d'expériences est la même. Les résultats expérimentaux sont reproduits dans le tableau ci-dessous.

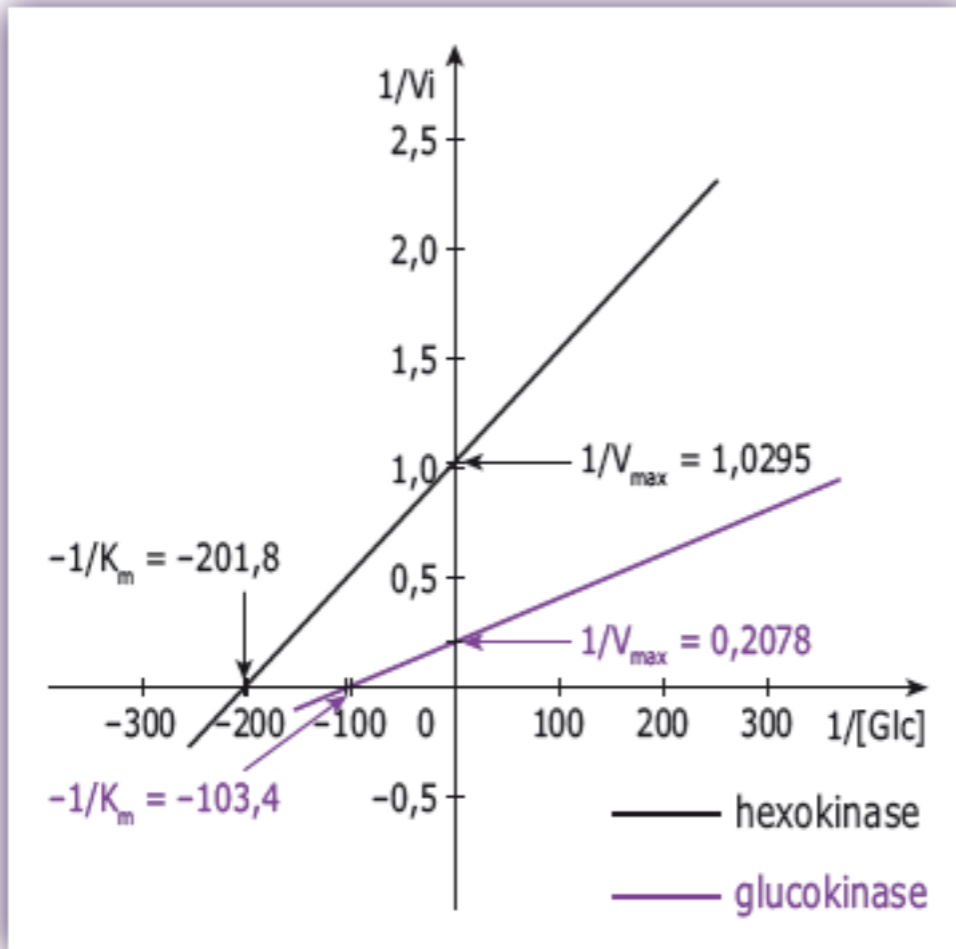
[Glucose] en mol/L	V_i avec la glucokinase en $\mu\text{mol/L/min}$	V_i avec l'hexokinase en $\mu\text{mol/L/min}$
$5,0 \cdot 10^{-3}$	1,61	0,490
$6,7 \cdot 10^{-3}$	2,00	0,575
$10,0 \cdot 10^{-3}$	2,67	0,607
$20,0 \cdot 10^{-3}$	2,93	0,806
$50,0 \cdot 10^{-3}$	4,17	0,893

1 Déterminer les valeurs de K_m et de V_{max} pour ces deux enzymes.

Afin de déterminer rapidement les K_m et V_{max} , on utilise la **représentation en double inverse**, la représentation de Lineweaver et Burk. Pour cela, il vous faut avant tout, recalculer les paramètres tels que :

$1/[\text{Glucose}]$	$1/V_i$ avec la glucokinase	$1/V_i$ avec l'hexokinase
200	0,621	2,041
1 150	0,500	1,739
100	0,375	1,674
50	0,341	1,241
20	0,240	1,120

D'où la représentation de Lineweaver et Burk :



Pour la glucokinase :

Calcul de la V_{max} : lorsque $1/[Glucose] = 0$, $1/V_i = 1/V_{max}$,
d'où $1/V_{max} = 0,2078$,
d'où $V_{max} = 4,81 \mu\text{mol/L/min}$.

Calcul du K_m : lorsque $1/V_i = 0$, $1/[Glucose] = -1/K_m$,
d'où $-1/k_m = -103,4$,
d'où, $K_m = 9,62 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$.

Pour l'hexokinase :

Avec le même principe de calculs, on trouve :

$V_{max} = 0,97 \mu\text{mol/L/min}$ et

$K_m = 4,95 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$.

2 Comparer les deux K_m , et conclure.

Le K_m est un paramètre cinétique qui indique l'affinité de l'enzyme pour son substrat. Plus il est petit, plus cette affinité est grande.

D'après les résultats, on en déduit que l'hexokinase a plus d'affinité pour le glucose que la glucokinase.

3 Comparer les deux V_{max} , et conclure.

La V_{max} est un paramètre cinétique qui indique la vitesse maximale de la réaction enzymatique, lorsque toutes les enzymes sont saturées en substrats.

La V_{max} de la glucokinase, est ici, plus importante que celle de l'hexokinase.

4 Sachant que la glycémie normale est d'environ 5 mmol/L, indiquer si chacune de ces deux enzymes agit dans les conditions d'obtention de la vitesse maximale.

Une glycémie normale est d'environ 5 mmol/L, soit aux alentours du K_m de l'hexokinase. Le K_m étant égale à la concentration en substrats pour $V_{max}/2$, dans ces conditions, la vitesse de réaction serait environ de $V_{max}/2$.

De même, cette valeur est très inférieure au K_m de la glucokinase. Ceci nous permet d'en déduire, que ces enzymes fonctionnent « au ralenti » dans ces conditions physiologiques.

5 Quelle serait l'influence d'une augmentation importante de la glycémie ?

Si la glycémie augmente de manière importante, la vitesse de réaction devrait se rapprocher de la V_{max} .

De plus, le K_m de la glucokinase étant élevé, cela montre qu'elle agit de manière significative lorsque la concentration en glucose augmente.