

## CINETIQUE ENZYMATIQUE

**Exercice 1 :**

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse des esters de l'acide ortho-phosphorique. Pour suivre l'activité enzymatique, on utilise un substrat synthétique, le paranitrophénol-phosphate qui libère du paranitrophénol.

On obtient les résultats suivants :

[S <sub>0</sub> ] (M)	0	0,26	0,39	0,65	1,50	1,95	3,80
v <sub>i</sub> (mM.min <sup>-1</sup> )	0	0,147	0,167	0,190	0,212	0,231	0,238

1- Tracez la courbe  $v_i = f([S_0])$ .

2- Déterminez les paramètres cinétiques ( $V_{max}$  et  $K_M$ ) à l'aide de la représentation des doubles inverses (Lineweaver-Burk).

**Exercice 2 :**

On suit la cinétique d'hydrolyse d'un substrat, respectivement en absence d'inhibiteur et en présence d'un inhibiteur I. Les valeurs des vitesses initiales, en UA.min<sup>-1</sup>, sont les suivantes :

1. Déterminez les paramètres cinétiques  $V_{max}$ ,  $K_M$  et  $k_{cat}$  par une méthode graphique de votre choix. Les concentrations doivent être exprimées en molarité.

2. Déterminez les paramètres cinétiques  $V_{max}'$  et  $K_M'$  en présence de l'inhibiteur. Précisez le type d'inhibition et calculez la constante d'inhibition  $K_I$ .  
Données :  $[E]_0 = 1,1 \mu M$  /  $\epsilon_M^{produit} = 2300 M^{-1}.cm^{-1}$  /  $l = 1 cm$  / UA = unité d'absorbance

[S <sub>0</sub> ] (mM)	Sans I	[I <sub>0</sub> ] (3 $\mu M$ )
25 10 <sup>-2</sup>	6,6	3,6
50 10 <sup>-2</sup>	11	6,6
100 10 <sup>-2</sup>	16,4	11
25 10 <sup>-1</sup>	23,6	18,2
50 10 <sup>-1</sup>	27,6	23,6
100 10 <sup>-1</sup>	30	27,6

**Exercice 3 :**

On dispose d'une molécule M dont on veut préciser le rôle dans une réaction catalysée par une enzyme :

Substrat + M -----> produit(s)

On mesure la vitesse initiale de cette réaction (exprimée en nM.min<sup>-1</sup>) pour différentes concentrations de S, en présence ou non de la molécule M (à la concentration indiquée dans le tableau suivant).

D'après les résultats de ce tableau, déterminez si la molécule M est un inhibiteur : dans ce cas, déterminez le type d'inhibition et calculez la valeur de la constante  $K_I$ .

[S <sub>0</sub> ] ( $\mu M$ )	[molécule M] (mM)		
	0	1	2,84
1	3,8	2,7	1,7
2	6	4,2	2,6
5	9	6,2	4,1
10	10,5	7,7	4,8