

CHAPITRE

4

TD6 : MODÈLES SECONDAIRES DE CINÉTIQUE DES ENZYMES À UN SUBSTRAT - UN PRODUIT EN PRÉSENCE D'UN INHIBITEUR

CONSIGNES : Vous devez traiter puis analyser les résultats obtenus. Pour cela, méthode à suivre est toujours la même :

- Introduction (Écrire la réaction)
- A. Mécanisme :
 - Faire l'hypothèse que l'enzyme est Mickaëlienne et calculer les valeurs en double inverse
 - Tracer les régressions linéaires en double inverse sur un seul graphique primaire en indiquant : l'échelle, le nom des axes, les unités, un titre qui a du sens, l'équation de la droite, le r^2 .
 - Analysez votre graphique primaire
 - Mécanisme 1 : l'enzyme est-elle bien Mickaëlienne ?
 - Mécanisme 2 : quel est le type d'inhibition
 - Faites un figure du mécanisme d'inhibition et donnez l'équation
- B. Constantes d'inhibition :
 - démontrez l'équation d'un graphique secondaire
 - tracez les graphiques secondaire en indiquant : l'échelle, le nom des axes, les unités, un titre qui a du sens, l'équation de la droite, le r^2 .
 - Calculez la (les) constante(s) d'inhibition : : par lecture graphique et par calcul à partir de l'équation de droite.
- Conclure

Exercice 1 : Équations de vitesse des réactions catalysées par des enzymes Mickaëliennes

Démontrez l'équation de vitesse pour une réaction à un substrat, un produit en présence d'un inhibiteur compétitif

Exercice 2 : Inhibition réversible de C1s

L'enzyme que nous avons étudiée précédemment doit être produite à grande échelle de façon à pouvoir la commercialiser. Or, nous avons observé une irrégularité dans l'activité des échantillons purifiés obtenus. Après analyse, nous avons remarqué que ces variations étaient corrélées à la présence relative de trois réactifs différents dont la présence semble diminuer la catalyse. Nous avons donc procédé à des études d'inhibition par ces trois réactifs.

	C4 nM				
Inhibiteur A nM	500	1000	2000	3000	4000
4000 nM	1,2	2,1	3,4	4,4	5
10000 nM	0,8	1,4	2,5	3,3	3,9
20000 nM	0,5	0,9	1,7	2,3	2,8
	C4 nM				
Inhibiteur B nM	500	1000	2000	3000	4000
4000 nM	1,6	2,4	3,1	3,5	3,8
10000 nM	1,2	1,7	2,1	2,2	2,3
20000 nM	0,9	1,2	1,3	1,4	1,4
	C4 nM				
Inhibiteur C nM	500	1000	2000	3000	4000
4000 nM	1	1,6	2,4	2,8	3,1
10000 nM	0,6	0,9	1,4	1,6	1,7
20000 nM	0,3	0,6	0,8	0,9	1

TABLE 4.1 – Résultats des expériences d'inhibition de C1s par les inhibiteurs A, B et C. Les vitesses initiales (en italiques) sont exprimées en nM de substrat transformé par seconde.

Question 1

Analysez les résultats obtenus pour les trois inhibiteurs

Question 2

L'échantillon est considéré de bonne qualité si les contaminations diminuent V_{max} et K_M de moins de 1 %. Quelle concentration maximale est acceptable pour chaque inhibiteur ?

Question 3

Certains patients sur-expriment cet enzyme ce qui leur pose de gros problèmes métaboliques. Si vous deviez choisir un inhibiteur à donner au patient pour diminuer l'activité de l'enzyme, lequel choisiriez vous ?

Exercice 3 : Analyse de résultats expérimentaux

Pour cet exercice, vous viendrez en travaux dirigés avec vos résultats traités de travaux pratiques en présence d'inhibiteurs. La méthode d'analyse des données est la même qu'en travaux dirigés à quelques différences prêt :

- Les équations de droites doivent être calculées en utilisant tous les points expérimentaux.
- Le traitement des données brutes (tableaux, calculs divers et variés) seront présentés dans les annexes de vos compte-rendus
- Les graphiques, les tableaux bilans de constantes et les mécanismes doivent apparaître dans les résultats