

Examen Terminal d'enzymologie 1 (B32)

Cinétique de la protéase du VIH et anti-viraux

Janvier 2013

Les particules virales (virions) du VIH deviennent matures et infectieuses grâce à l'action de l'enzyme virale appelée protéase du VIH qui découpe les longues chaînes des polyprotéines de capsides qui forment alors la structure d'un nouveau virion. La structure, la dynamique et la fonction de cette protéine hautement flexible ont été largement étudiés et ont conduit à de nombreux inhibiteurs antirétroviraux ARV. Ces anti-viraux permettent donc d'inhiber la phase finale de formation de la capside virale. Nous allons ici travailler sur trois inhibiteurs du VIH (DRV darunavir, APV amprenavir et SQV saquinavir) en utilisant un substrat synthétique fluorescent (SS-fluo) mimant le site de clivage de la polyprotéine.

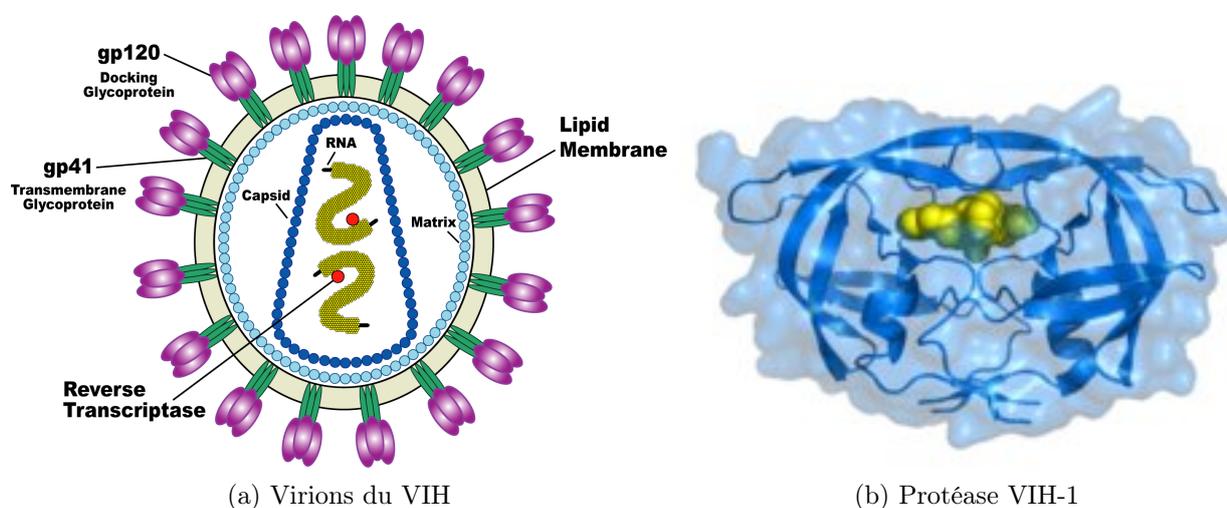


FIGURE 1: Informations sur le VIH

Partie I : Modèle de Mickaelis et Menten

Question 1 : Expliquez la théorie de l'état stationnaire. (/2)

Question 2 : En suivant la méthode vue en travaux dirigés, posez le système d'équation obtenu à l'état stationnaire pour un inhibiteur compétitif. (/2)

Partie II : Etude de la protéase du VIH et de trois inhibiteurs

Question 1 : Analyser les données cinétiques de l'enzyme en présence et en absence d'inhibiteur (tableau 1) de façon à compléter le tableau 2. Attention le tableau 1 donne directement les valeurs en double inverse. (/13)

Question 2 : D'après le tableau 2, préconisez un inhibiteur de la protéase du VIH pour les patients atteints de la souche sauvage et pour ceux atteints de la souche mutée sur la protéase. Peut-on faire un traitement générique? (/3)

$\frac{1}{v_0}$ en $s \cdot \mu M^{-1}$		$\frac{1}{(SS-fluo)}$ en μM^{-1}			
		0,167	0,04	0,01	0,0033
[DRV] en nM	0	18,55	6,80	4,02	3,40
	15	31,67	11,9	7,23	6,2
	50	62,3	23,83	14,72	12,7

TABLE 1: Valeurs des inverses des vitesses initiales et des inverses des concentrations en substrat en présence ou en absence de l'inhibiteur DRV. Ces expériences sont réalisées avec $0,1 \mu M$ de protéase du VIH. D'après (1).

Protéase	Sans Inhibiteur			DRV			APV			SQV	
	K_M^{ss} μM	k_{cat} s^{-1}	k_{cat}/K_M^{ss} $s^{-1} \cdot \mu M^{-1}$	Type	K_i nM	K'_I nM	Type	K_i nM	K'_I nM	Type	K_i nM
PR WT							MXT	28	6,4	COMP	0,42
PR Mut	80	105	1,3	MXT	180	300	MXT	225	101	COMP	9

TABLE 2: Données cinétiques pour la protéase sauvage étudiée ci-dessus (PR WT) et une protéase mutée de quelques souches de VIH (PR Mut) en présence et en absence des trois inhibiteurs. MXT Mixte et COMP : Compétitif. D'après (1).

Référence :

(1) Andrey Y. Kovalevsky, Arun K. Ghosh, and Irene T. Weber, *Solution Kinetics Measurements Suggest HIV-1 Protease Has Two Binding Sites for Darunavir and Amprenavir* J Med Chem. 2008 October 23; 51(20) : 6599–6603.

