

Biochimie Réactions Cellulaires (BI3U1L)
Luminy – Janvier 2016

Sujet portant sur le cours de M. Sturgis - A rendre sur une copie séparée
Durée conseillée : 30 minutes (environ)

Avec Calculatrice sans Document

La vitesse de la réaction catalysée par les hexokinases peut être décrite par l'équation suivante:

$$V_0 = V_{max} \times \frac{[ATP]}{K_{M(ATP)} + [ATP]} \times \frac{[Glucose]}{K_{M(glucose)} + [Glucose]}$$

Dans le tableau sont indiqués les paramètres cinétiques des hexokinase 1 et 2 en présence et absence d'arsenate.

	$K_{M(ATP)}$ (mM)	$K_{M(glucose)}$ (mM)	k_{cat} (sec ⁻¹)
Hexokinase 1	2,0	0,050	1000
Hexokinase 2	1,0	0,001	250
Hexokinase 1 (avec Arsenate)	2,0	0,050	750
Hexokinase 2 (avec Arsenate)	10,0	0,001	250

1. Quelles sont les unités de la vitesse de la réaction V_0 ?

Comprenez vous ce qu'est la vitesse d'une réaction?

Les vitesses de réaction se mesurent en concentration de produit par unité de temps, par exemple mM sec⁻¹, ou mM min⁻¹ ou mole sec⁻¹ l⁻¹ ou g sec⁻¹ l⁻¹(etc).

2. Dans une cellule les concentrations d'hexokinase 1 et 2 sont respectivement 1µM and 5µM. Quelles sont les V_{max} pour les deux enzymes dans la cellule?

Rappelez vous, ou êtes vous capables de deviner, comment calculer V_{max} à partir des données fournies?

$$V_{max} = k_{cat} \times [Enzyme]_{total}$$

$$V_{max}(HK1) = 1000 \text{ sec}^{-1} \times 1\mu\text{M} = 1 \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_{max}(HK2) = 250 \text{ sec}^{-1} \times 5 \mu\text{M} = 1,25 \text{ mM sec}^{-1}$$

3. Si la concentration cellulaires d'ATP et Glucose sont respectivement 0,5 mM et 0,010 mM quel est la vitesse de phosphorylation du glucose dans la cellule en absence d'arsenate?

Pouvez vous appliquer la formule fournies avec les valeurs dans le tableau et le V_{max} vous avez calculé?

Comprenez vous comment deux iso-enzymes agissent ensemble?

$$V_0 = V_{max} \times \frac{[ATP]}{K_{M(ATP)} + [ATP]} \times \frac{[Glucose]}{K_{M(glucose)} + [Glucose]}$$

Pour HK1:

$V_{max} = 1.0 \text{ mM sec}^{-1}$; $K_m(\text{ATP}) = 2.0 \text{ mM}$, $K_m(\text{Glucose}) = 0.050 \text{ mM}$

$[\text{Glucose}] = 0.010 \text{ mM}$, $[\text{ATP}] = 0.5 \text{ mM}$

(toutes les concentrations en mM et le temps en secondes)

$$V_o = 1.0 \times (0.5 / (2.0 + 0.5)) \times (0.010 / (0.050 + 0.010)) \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_o = 1.0 \times (0.5 / 2.5) \times (0.010 / 0.060) \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_o = 1.0 / 30 = 0.033 \text{ mM sec}^{-1}$$

Pour HK2

$V_{max} = 1.25 \text{ mM sec}^{-1}$; $K_m(\text{ATP}) = 1.0 \text{ mM}$, $K_m(\text{Glucose}) = 0.001 \text{ mM}$

$[\text{Glucose}] = 0.010 \text{ mM}$, $[\text{ATP}] = 0.5 \text{ mM}$

(toutes les concentrations en mM et le temps en secondes)

$$V_o = 1.25 \times (0.5 / (1.0 + 0.5)) \times (0.010 / (0.001 + 0.010)) \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_o = 1.25 \times (0.5 / 1.5) \times (0.010 / 0.011) \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_o = 1.25 \times (10 / 33) = 0.379 \text{ mM sec}^{-1}$$

Dans la cellule

$$V_o = V_o(\text{HK1}) + V_o(\text{HK2})$$

$$V_o = 0.033 + 0.379 \text{ mM sec}^{-1}$$

$$V_o = 0.412 \text{ mM sec}^{-1}$$

Il est intéressant de noter que 90% de l'activité est de HK2 (enzyme qui travaille plus lentement à ça vitesse maximale)

4. Décrivez l'effet d'arsenate sur la paire d'enzymes?

Voir dessous

5. Dans les mêmes conditions que la question 3, quelle est la vitesse de phosphorylation de glucose dans la cellule en présence d'arsenate?

Pouvez vous décrire les changements dans le tableau et leurs effets sur la phosphorylation?

L'arsenate diminue la vitesse de catalyse de HK1, le k_{cat} et ainsi V_{max} , donc va agir comme inhibiteur.

L'arsenate augmente la constante de Michaelis (K_M) de l'HK2 pour ATP, et ainsi diminue l'affinité entre ATP et l'enzyme (il faut plus d'ATP pour atteindre V_{max}), donc ça va également agir comme inhibiteur (mais par un mécanisme différent).

Avec les chiffres:

$$V_{max}(\text{HK1}) \text{ est changé et est maintenant } 750 \text{ } \mu\text{M sec}^{-1}$$

$$V_o(\text{HK1}) = 750 / 30 = 25 \text{ } \mu\text{M sec}^{-1}$$

$$V_o(\text{HK2}) = 1250 \times 1/21 \times 10 / 11 = 54.1 \text{ } \mu\text{M sec}^{-1}$$

$$V_o(\text{Total}) = 79.1 \text{ } \mu\text{M sec}^{-1}$$

On constate une forte inhibition (diminution de l'activité à 13% par rapport à l'initial) et cette inhibition agit essentiellement sur HK2 dans les conditions de l'exercice.