

Regulatory enzymes

Exercise 1:

An enzyme possesses 4 subunits and behaves in a Michaelian manner toward its substrate. Can it be an allosteric enzyme that also exhibits cooperative phenomena? What will the shape of the saturation curve for this enzyme look like in the presence of an allosteric activator? An allosteric inhibitor? What will the shape of the substrate saturation curve be in the presence of an activator? In the presence of an inhibitor?

Exercise 2:

An allosteric enzyme obeying the K-model of M.W.C, was studied. The protein transformation constant, L_0 , is equal to 1 at 25°C and 0.01 at 15°C. The intrinsic dissociation constant, K_R , for the substrate is 10^{-5} M. The T-form does not bind the substrate, but it associates with an inhibitor I with an intrinsic constant $K_I = 10^{-6}$ M at both 15°C and 25°C. The enzyme is a dimer.

1. Calculate the value of L'_0 for $[I] = 10^{-5}$ M, at 15°C and 25°C.
2. What will the shape of the enzyme's substrate saturation curve look like at 25°C and 15°C, both in the presence and absence of the 10^{-5} M inhibitor?

Solutions

Exercice 1 :

Définition du modèle K : Le modèle K suppose que le substrat a plus d'affinité pour l'une des 2 formes (R ou T) que pour l'autre, par définition la forme R. K_m change ; la différence des K_m est due à la différence entre les 2 formes R et T.

Pour savoir si la forme T fixe ou non le substrat, il faut travailler en présence d'un excès d'inhibiteur de manière à déplacer tout l'équilibre vers la forme T, puis on ajoute le substrat et on mesure l'activité. Si l'activité est nulle la forme T ne fixe pas le substrat, si au contraire, l'activité est différente de zéro, la forme T fixe le substrat.

Si la concentration d'activateur a déplacé toute l'enzyme vers la forme R, la cinétique de fixation du substrat doit être michaelienne.

Exercice 2 :

Il peut s'agir d'une enzyme allostérique appartenant au modèle V ou au modèle K dont l'équilibre est complètement déplacé vers la forme R.

On peut avoir donc différents cas :

1- modèle V :

- fixation d'un activateur allostérique : saturation coopérative
- fixation d'un inhibiteur allostérique : saturation coopérative
- saturation michaelienne, même K_m ; V_m augmentée.
- saturation par le substrat en présence d'inhibiteur : saturation michaelienne, même K_m ; V_m diminuée.

2- modèle K déplacé vers R :

- fixation d'un activateur allostérique : saturation michaelienne
- fixation d'un inhibiteur allostérique : saturation coopérative
- saturation par le substrat en présence d'activateur
- saturation par le substrat en présence d'inhibiteur : saturation coopérative.