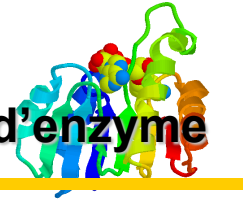
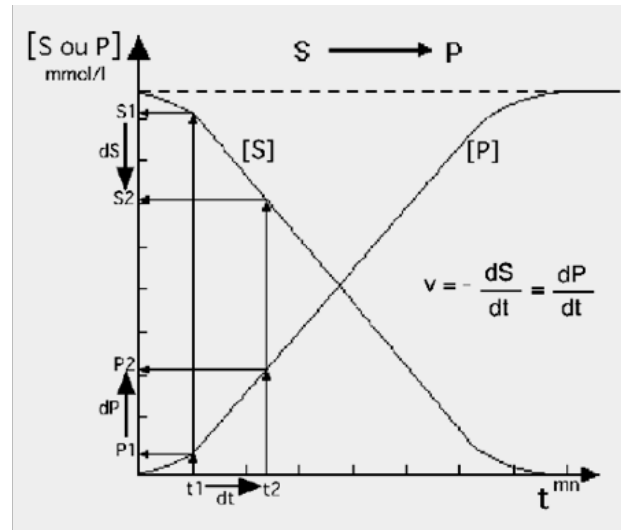


Chapitre 3

Effet de la concentration d'enzyme



3.1 Vitesse de la réaction

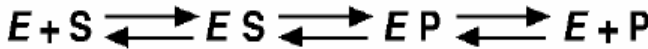
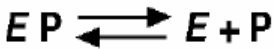
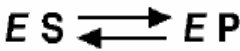
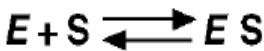
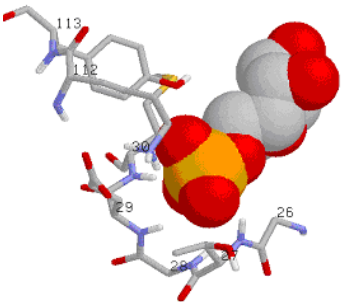


$$V = - \frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}$$

Chapitre 3

Effet de la concentration d'enzyme

3.2 Phases de la réaction

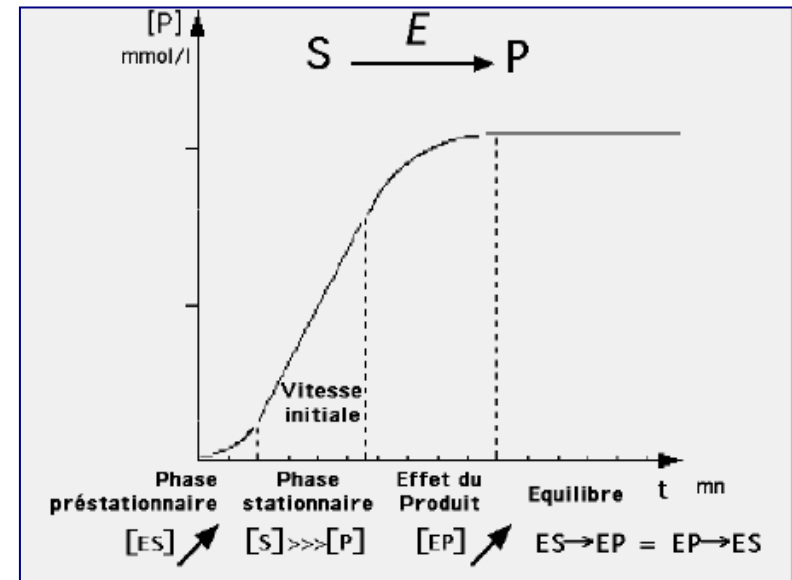


Chapitre 3

Effet de la concentration d'enzyme

3.2 Phases de la réaction (Suite)

- Au temps 0 il n'y a que des molécules de l'enzyme et du substrat.
- On distingue une première phase très brève, au cours de laquelle la vitesse de la réaction est croissante. Durant cette phase, les molécules de substrat se lient avec l'enzyme : la concentration du complexe $[ES]$ s'élève
- Lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont occupées par des molécules de substrats la vitesse de la réaction est maximum et reste constante tant que la concentration en substrat est grande et celle du produit est petite.

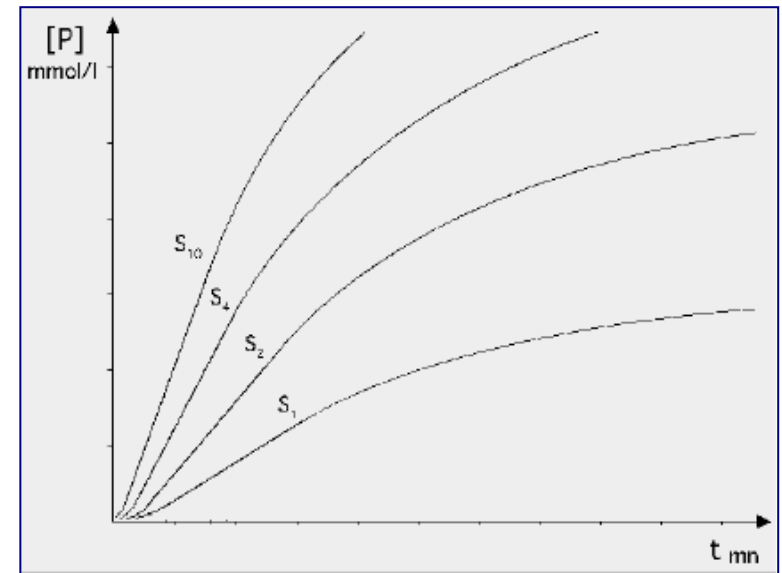


Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.1 Concentration du substrat

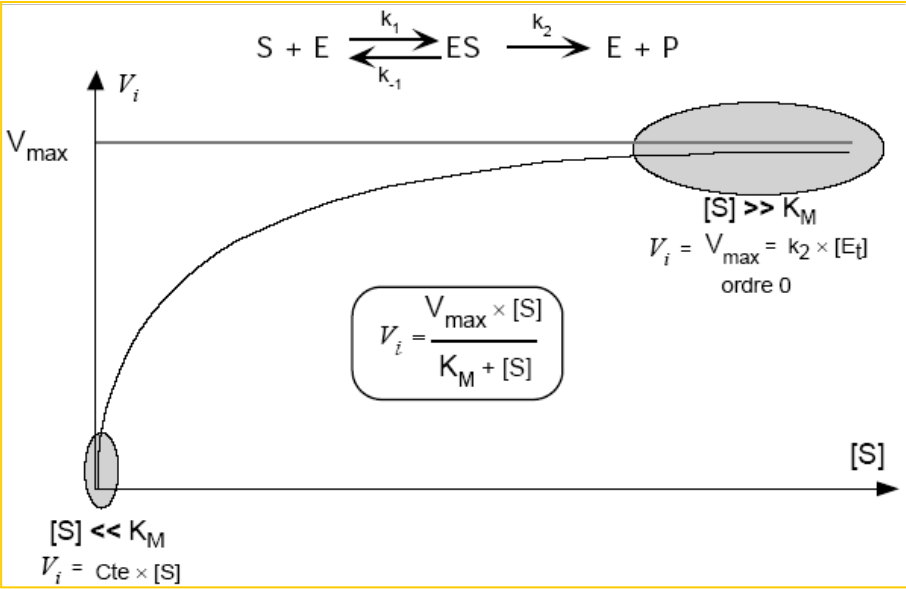
- Les mesures de la concentration du produit en fonction du temps sont différentes pour chacune des concentrations de substrat essayées. Lorsque la concentration du substrat est grande (par exemple S_{10}) la vitesse initiale est plus grande que lorsque la concentration du substrat est petite (par exemple S_1).
- On peut mesurer ces vitesses initiales en calculant la différence de concentration de produit au cours d'un temps donné, pour chaque concentration du substrat.



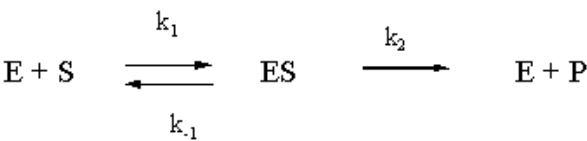
Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaélienne



Mécanisme michaëlien



Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaelienne (suite)

1. Les vitesses mesurées croissent en fonction des concentrations du substrat. Mais cette relation n'est pas linéaire : le graphe de cette fonction est une hyperbole.
2. Lorsque la concentration du substrat est nulle la vitesse est évidemment 0, donc l'hyperbole passe par l'origine du graphe. La fonction n'a pas de sens en dessous de cette origine.
3. Lorsque la concentration du substrat tend vers l'infini, l'hyperbole se rapproche de son asymptote matérialisée par les tirets courts.

Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaelienne (suite)

4. Définissons le point de la courbe pour lequel l'ordonnée est égale à la moitié de celle de l'asymptote. L'abscisse de ce point est une concentration de substrat pour laquelle on peut mesurer une vitesse initiale égale à la moitié de la vitesse maximum. On appelle cette concentration la **Constante** de Michaelis. (K_m)

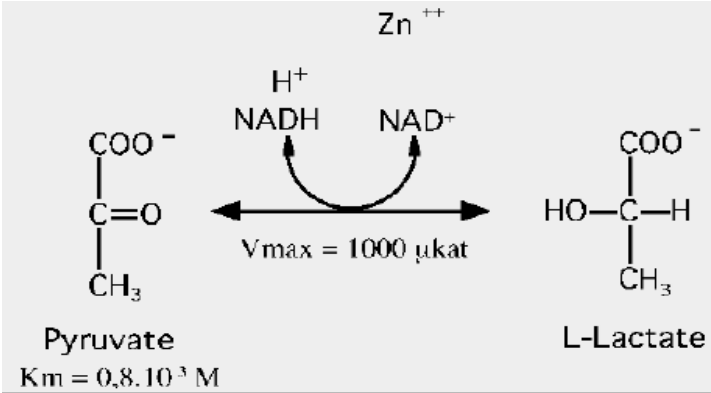
Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaélienne (suite)

Km ?

La constante de Michaelis représente une concentration du substrat pour laquelle la vitesse initiale d'une réaction enzymatique atteint la moitié ½ de la vitesse maximale Vmax



Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaélienne (suite)

EC 1.1.1.27 L-lactate dehydrogenase

La lactate déshydrogénase ou LDH est une enzyme très répandue dans nos cellules. C'est une protéine de 140000 daltons constituée de 4 chaînes d'acides aminés. Le Zinc est un cofacteur de cette enzyme et le NADH/NAD⁺ en est le coenzyme. Elle réduit son substrat le pyruvate en lactate en lui transférant les hydrogènes apportés par le coenzyme.

Lorsque la LDH est à une concentration de 1 micromolaire la vitesse maximum est de 1000 microkatal; pour réaliser la moitié de cette vitesse la concentration du pyruvate doit être 0,8 millimolaire soit 70 mg/l.

Chapitre 4

Effet de la concentration du Substrat

4.2 Cinétique michaélienne (suite)

V_{max} ?

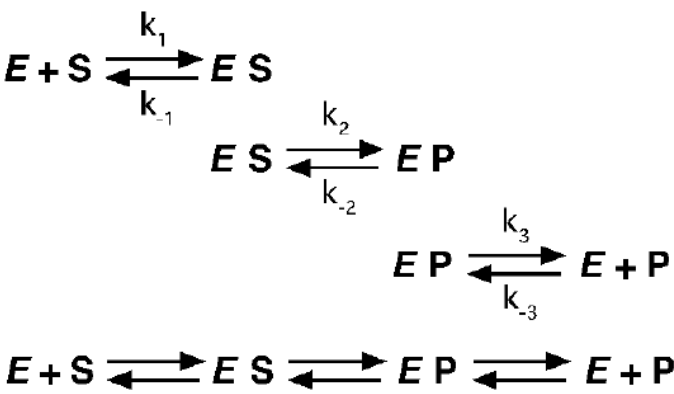
C'est une vitesse initiale théorique d'une réaction enzymatique pour une concentration infinie de substrat.

La vitesse maximum est donc une vitesse initiale, mais on ne peut pas l'observer puisqu'il est impossible de réaliser dans le milieu une concentration infinie de substrat.

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

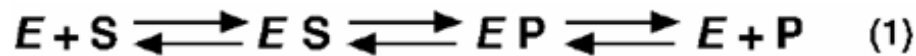
4.1 Les constantes de la réaction



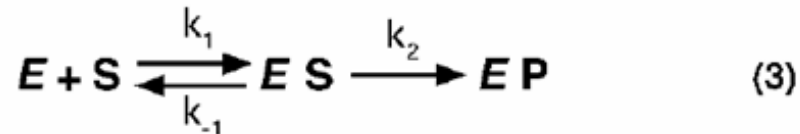
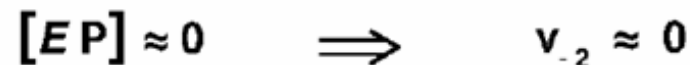
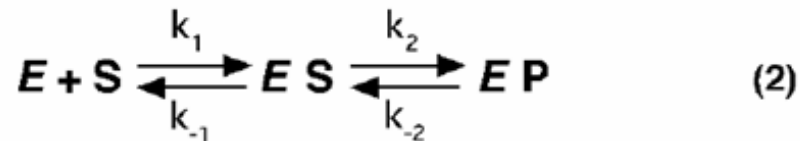
Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.2 La phase stationnaire



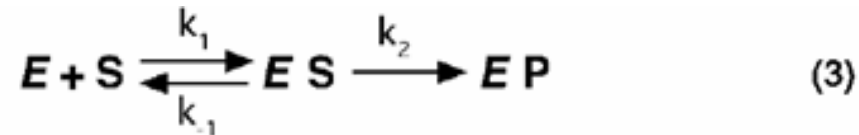
Phase stationnaire



Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.3 Équation de la vitesse



$$v = k_2 [ES] \Rightarrow V_{\max} = k_2 [E_{\text{total}}] \quad (4 \Rightarrow 5)$$

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{k_2 [ES]}{k_2 [E_{\text{total}}]} \quad (6)$$

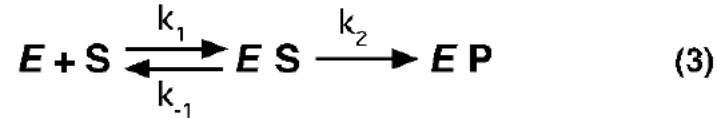
Equation
de la
vitesse

$$v = V_{\max} \frac{[ES]}{[E_{\text{total}}]} \quad (7)$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.4 Équation de conservation de l'enzyme



$$E_{\text{total}} = E + ES + EP \quad (8)$$

$$EP \approx 0$$

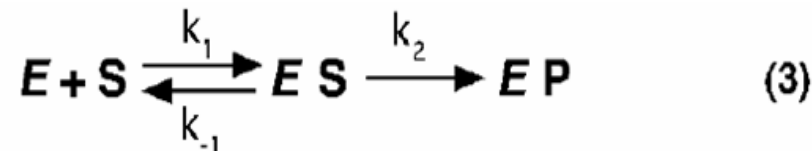
Equation de la conservation de l'enzyme

$$[E_{\text{total}}] = [E] + [ES] \quad (9)$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.4 Constante de Michaélis (Km)



formation de ES = dissociation de ES

$$k_1 [E] [S] = (k_{-1} + k_2) [ES] \quad (10)$$

$$[E] = [E_{\text{total}}] - [ES] \quad (9)$$

$$k_1 ([E_{\text{total}}] - [ES])[S] = (k_{-1} + k_2) [ES] \quad (11)$$

$$\text{Constante de MICHAELIS} \quad (12)$$

$$\boxed{\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([E_{\text{total}}] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1} = K_m}$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

Calculs

$$\frac{([E_{\text{total}}] - [ES])[S]}{[ES]} = K_m \quad (12)$$

$$\left(\frac{[E_{\text{total}}]}{[ES]} - 1 \right) [S] = K_m \quad (13)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}][S]}{[ES]} - [S] = K_m \quad (14)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}][S]}{[ES]} = K_m + [S] \quad (15)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}]}{[ES]} = \frac{K_m + [S]}{[S]} \quad (16)$$

$$\frac{[ES]}{[E_{\text{total}}]} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (17)$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Équation de Michaélis & Menten

$$v = v_{\max} \frac{[ES]}{[E_{\text{total}}]} \quad (7)$$

$$\frac{[ES]}{[E_{\text{total}}]} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (17)$$

Equation de MICHAELIS & MENTEN :

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (18)$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Équation de Michaélis & Menten

D'après l'expression (18) $V = V_{\max} \cdot S / K_m + S$ nous constatons que $V_{\max}$ =
fonction (S) est une hyperbole d'ordre $Y = a(X)$

si $[S] \ll K_m$

☞ $V = V_{\max} (S)/K_m$

si $[S] \gg K_m$

☞ $V = V_{\max}$

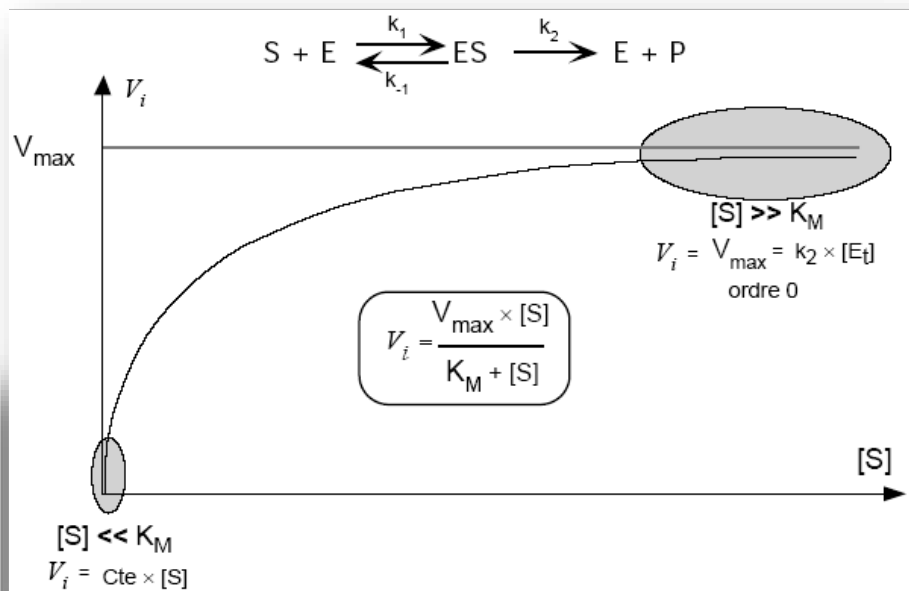
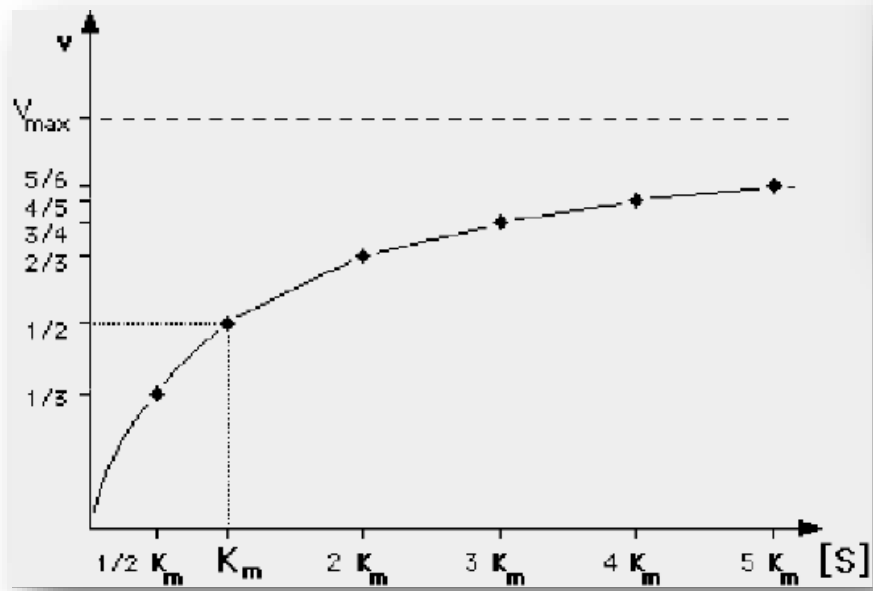
si $[S] = K_m$

☞ $V = V_{\max}/2$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Hyperbole de Michaélis & Menten



Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Diagramme de Lineweaver et Burk

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \cdot \frac{K_m + [S]}{[S]} \quad (19)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]} \quad (20)$$

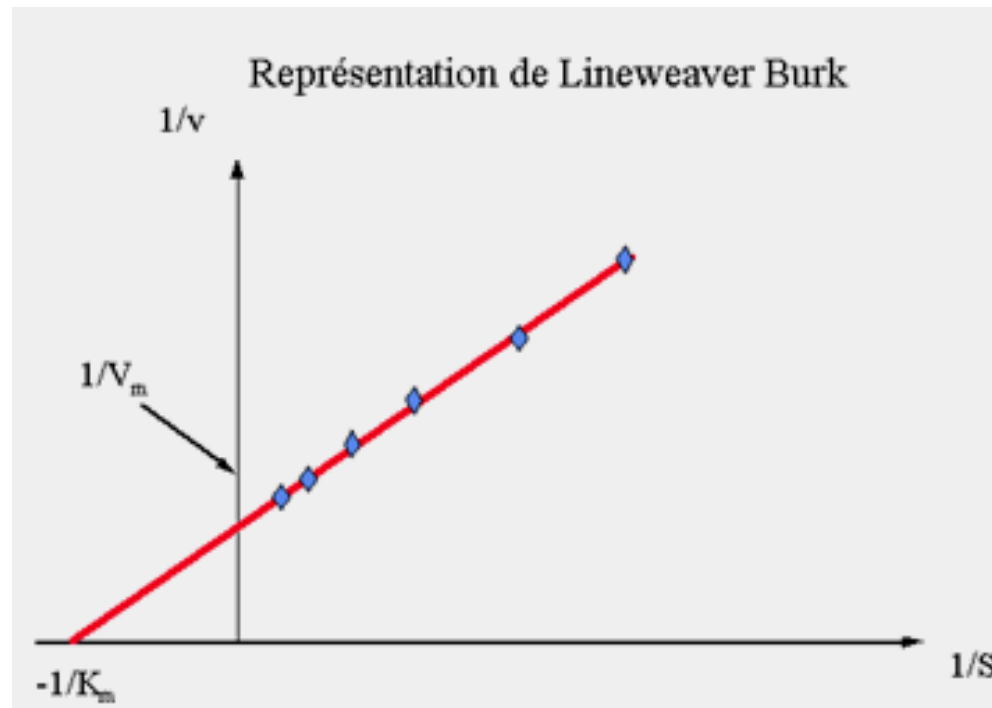
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]} \quad (21)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (22)$$

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Diagramme de Lineweaver et Burk



Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

4.5 Diagramme de Lineweaver et Burk

L'équation de l'ordre $Y = ax + b$ avec une pente $a = K_m / V_{\max}$
et une ordonné à l'origine $b = 1/V_{\max}$

Pour $1/V = 0$: $1/[S] = -1/K_m$

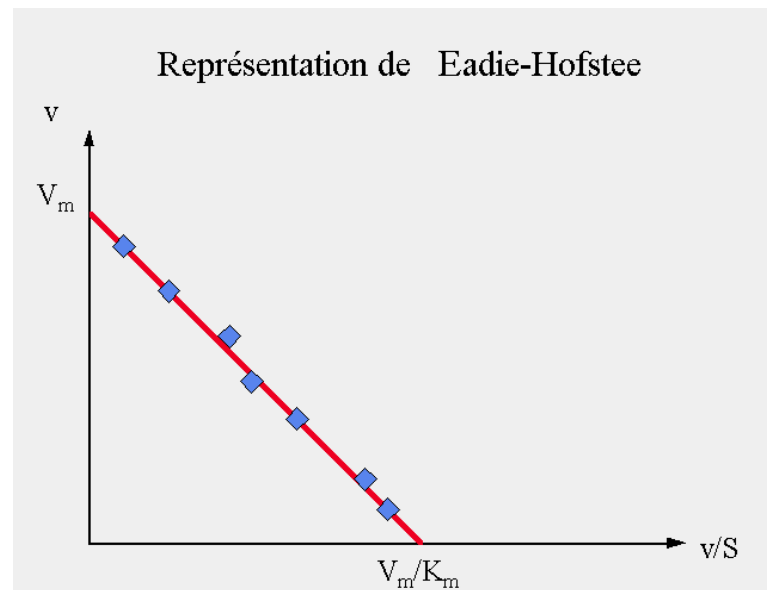
Pour $1/V = 2/V_{\max}$: $1/[S] = 1/K_m$

Pour $1/[S] = 0$: $1/V = 1/V_{\max}$.

Chapitre 4

Effet de la concentration du substrat

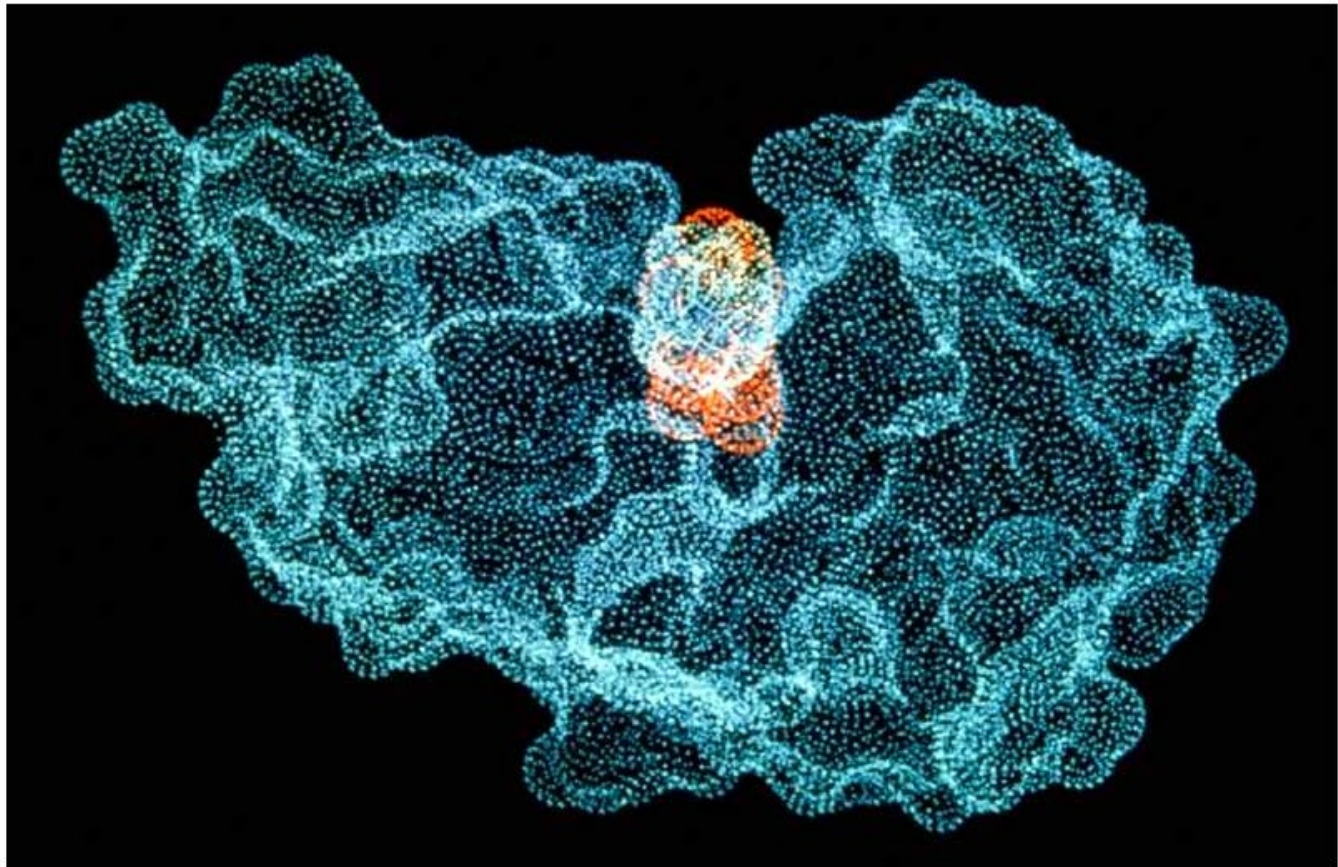
4.6 Diagramme de Eadie-Hofstee



$$V = V_m / [1 + K_m / (S)] \text{ ou } v + K_m v / (S) = V_m \text{ ou } V = V_m - K_m V / (S)$$

$$V/[S] = -V/K_m + V_{\max}/K_m$$

Molécule d'une **enzyme** (ribonucléase A) liée à son substrat

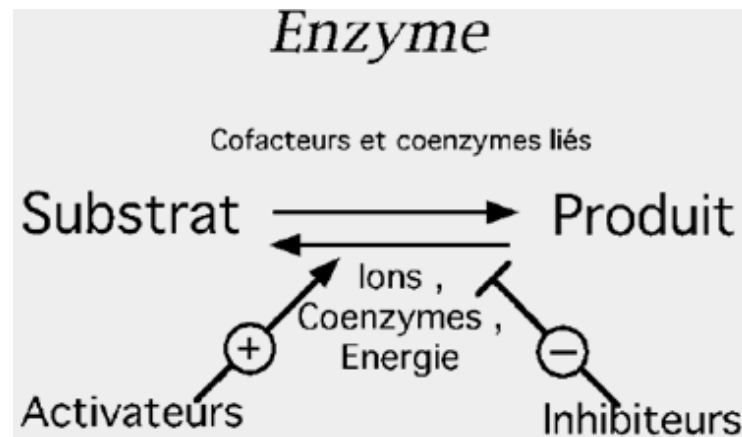




Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.1 Définition



Le substrat et le produit, l'enzyme, les ions, les coenzymes et l'énergie sont les facteurs indispensables à la réaction enzymatique. Les autres molécules qui entrent en liaison avec l'enzyme, les ligands, peuvent avoir un effet positif ou négatif. Ils peuvent favoriser ou au contraire contrarier le déroulement de la réaction.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.1 Définition (suite)

Un effecteur est un corps chimique qui par liaison avec l'enzyme modifie la vitesse de la réaction enzymatique

- Soit en l'accélérant : **Activateur**
- Soit en la ralentissant : **Inhibiteur**



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.2 Les activateurs

L'activateur d'une protéine enzymatique peut être soit des ions métalliques soit des pro enzymes ou fixation covalente d'un groupement chimique

→ L'ion métallique peut favoriser une bonne conformation de l'enzyme ou favoriser la fixation du substrat

Ex : les Kinases à ATP par les ions Mg^{++}

ou encore l'alcool déshydrogénase par les ions Zn^{++}

→ L'activation des pro enzymes est intéressante dans la mesure où il permet à la cellule de synthétiser sans danger des pro enzymes inactives.

→ Par fixation covalente d'un groupement chimique

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.3 Les Inhibiteurs

1. Inhibiteurs compétitifs (IC)
2. Inhibiteurs non compétitifs (INC)
3. Inhibiteurs incompétitifs (IIC)



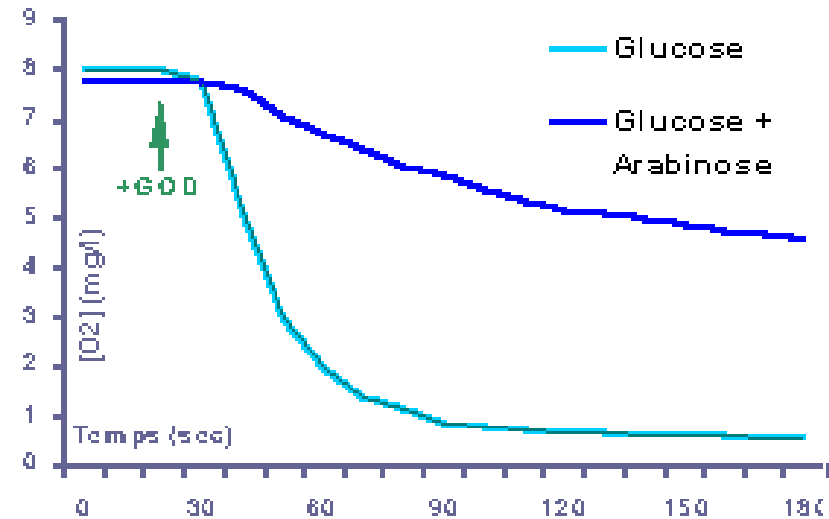
Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.3 Les Inhibiteurs

L'arabinose, reconnue par l'enzyme, peut occuper son site actif : elle ne joue aucun rôle dans la réaction catalysée par la GOD mais bloque son site actif.

Modèle d'inhibition compétitive confirmant l'importance de la structure protéique dans l'activité de l'enzyme.



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)



$$[E_{total}] = [E] + [ES] + [EI] \quad (9^*)$$

$$v = V_{max} \frac{[ES]}{[E_{total}]} \quad (7^*)$$

$$v = V_{max} \frac{[S]}{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]} \quad (18^*)$$

Chapitre 5

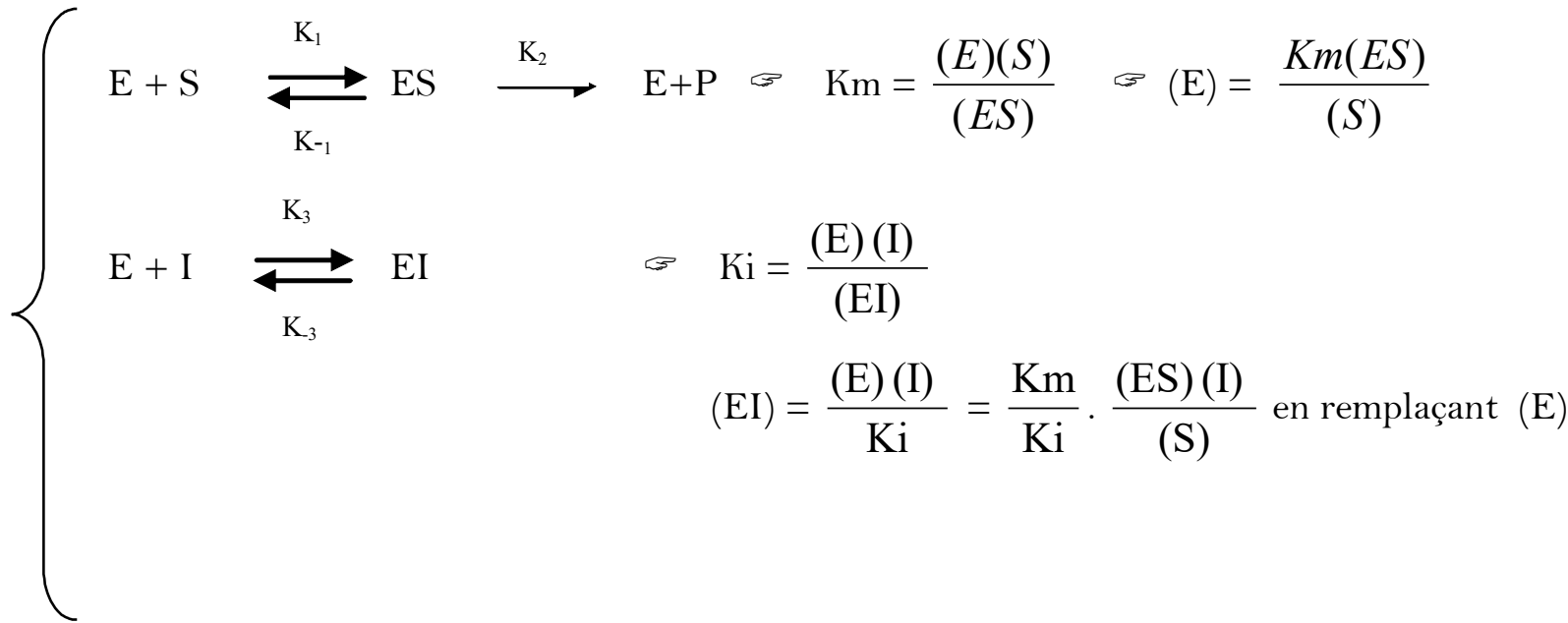
Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

• Schéma réactionnel



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

- Equation générale de conservation

$$[E]_t = E + ES + EI$$

$$= \frac{K_m (ES)}{(S)} + (ES) + \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{(ES) (I)}{(S)} \text{ en divisant les deux côtés par } (ES)$$

$$\frac{(Et)}{(ES)} = \frac{K_m}{(S)} + 1 + \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{(I)}{(S)} = \frac{V_{max}}{V}$$

$$\Rightarrow \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{(S) V_{max}} \left(1 + \frac{(I)}{K_i}\right)$$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

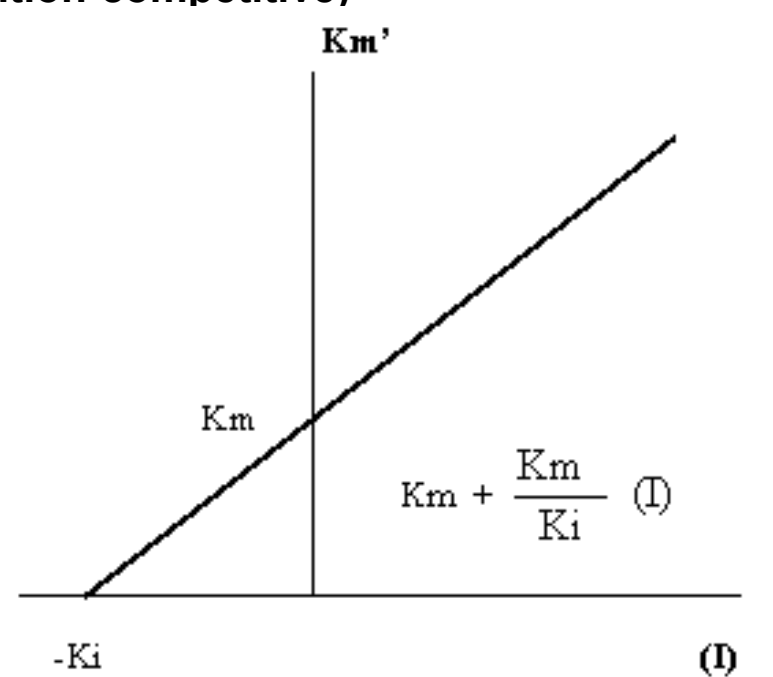


5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \left(1 + \frac{(I)}{K_i}\right) \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\max}}$$

$$K_m' = K_m \left(1 + \frac{(I)}{K_i}\right) = K_m + \frac{K_m}{K_i} (I)$$



Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme a pour effet d'empêcher la liaison enzyme substrat, on parle d'inhibition compétitive vis à vis de ce substrat.

Chapitre 5

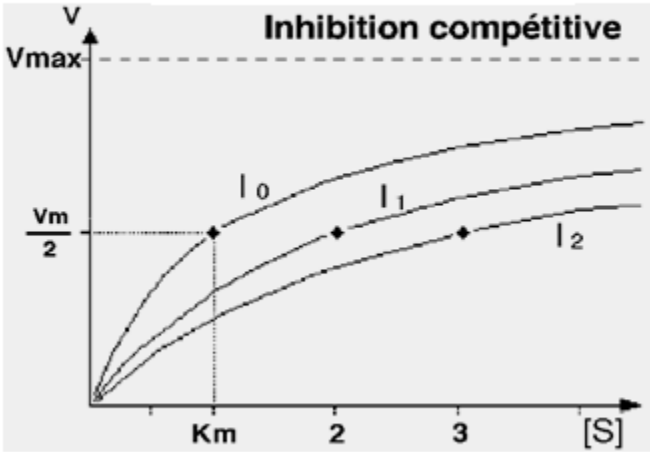
Effet de la concentration des effecteurs



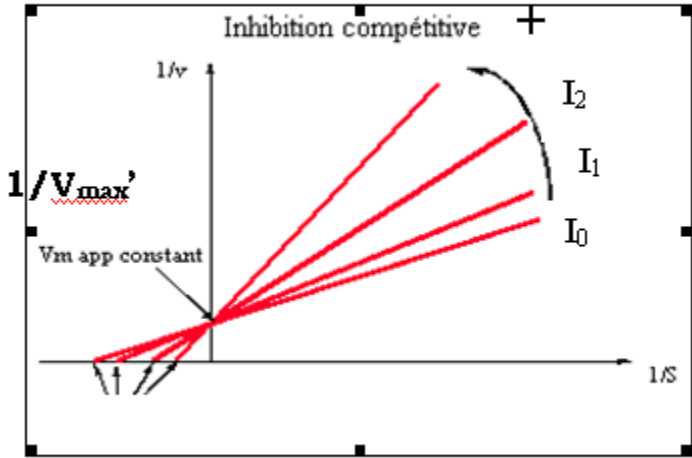
5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

Selon Michaelis

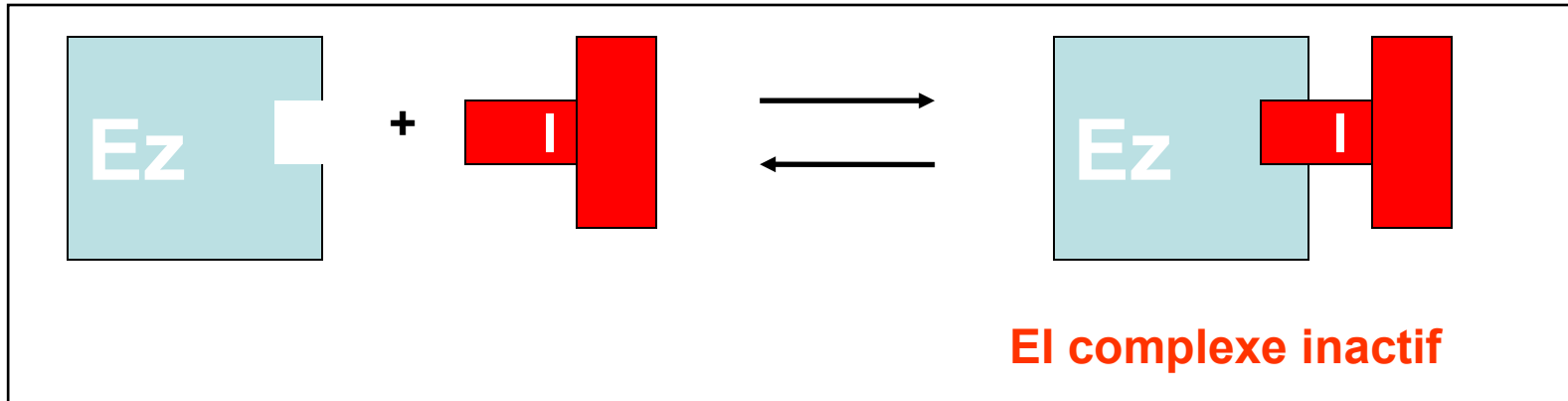
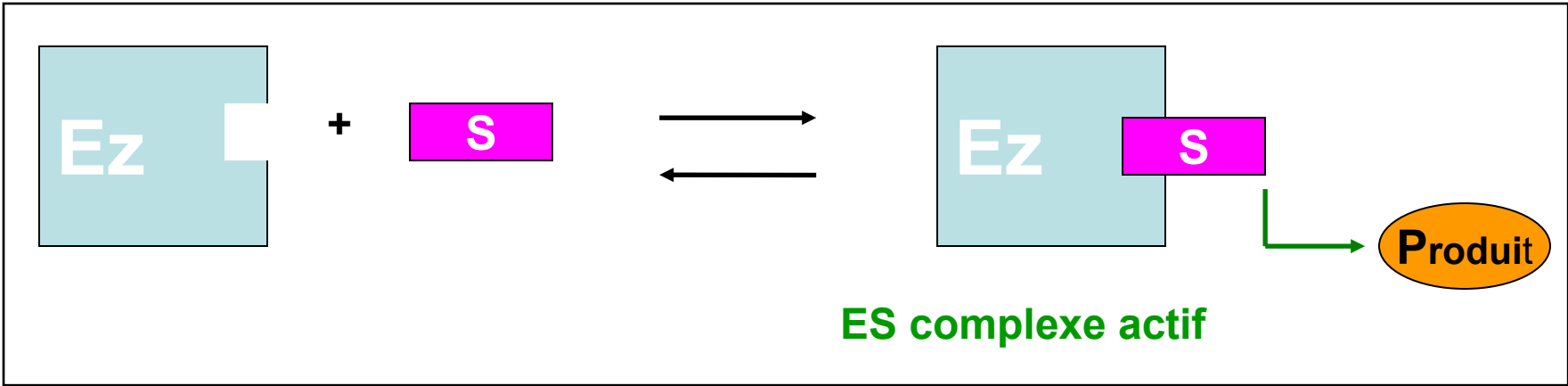


Selon Lineweaver & Burk



$I_2 > I_1 > I_0$

Modélisation de l'inhibition compétitive



Il y a compétition entre le Substrat et l'Inhibiteur pour se fixer sur l'enzyme.

En présence d'inhibiteur la formation du produit est ralentie ou est impossible.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

La courbe I_0 représente la fonction en l'absence de l'inhibiteur. Les courbes I_1 et I_2 représentent la fonction à deux concentrations d'inhibiteur, la seconde double de la première.

On observe que la vitesse maximum est inchangée puisqu'elle représente une situation où la totalité des molécules d'enzyme sont occupées par des molécules de substrat et qu'il n'y a donc pas de complexes enzyme-inhibiteur. La moitié de cette vitesse maximum est atteinte pour des concentrations de substrat croissantes avec la concentration de l'inhibiteur : le K_m apparent est donc bien une fonction de cette concentration d'inhibiteur.

Chapitre 5

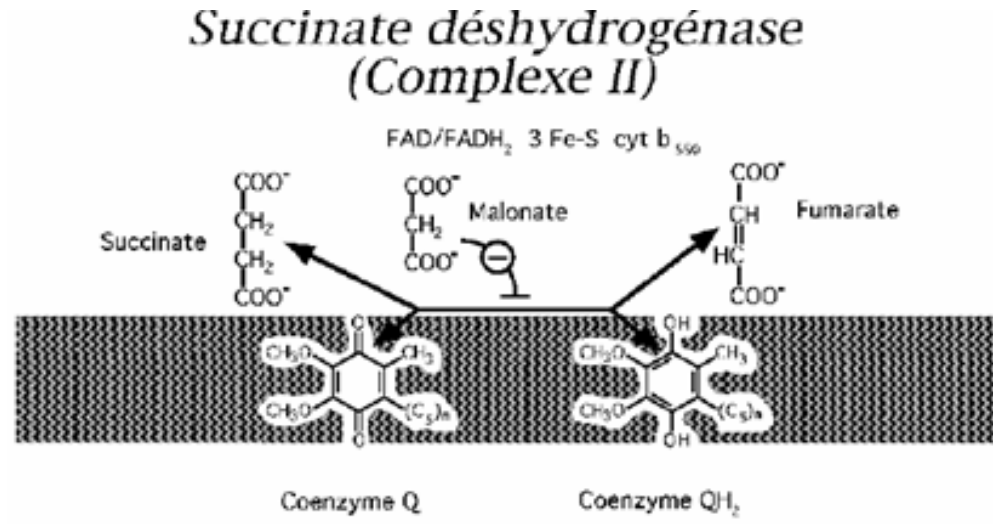
Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

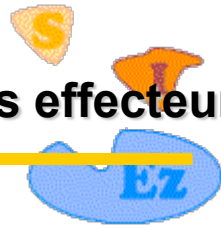
5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (inhibition compétitive)

Exemple



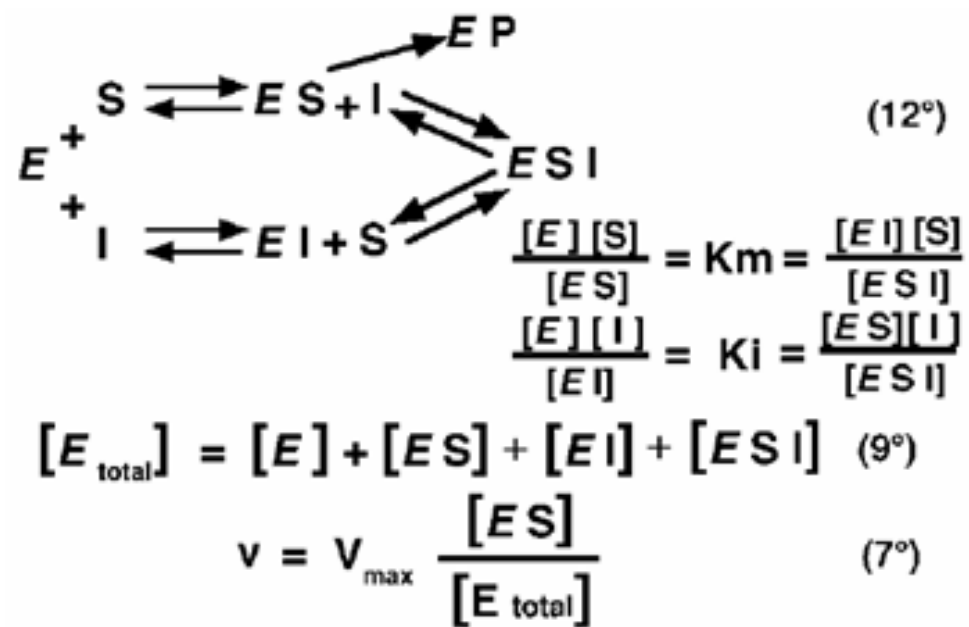
Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.2 Inhibiteurs non compétitifs (inhibition non compétitive)

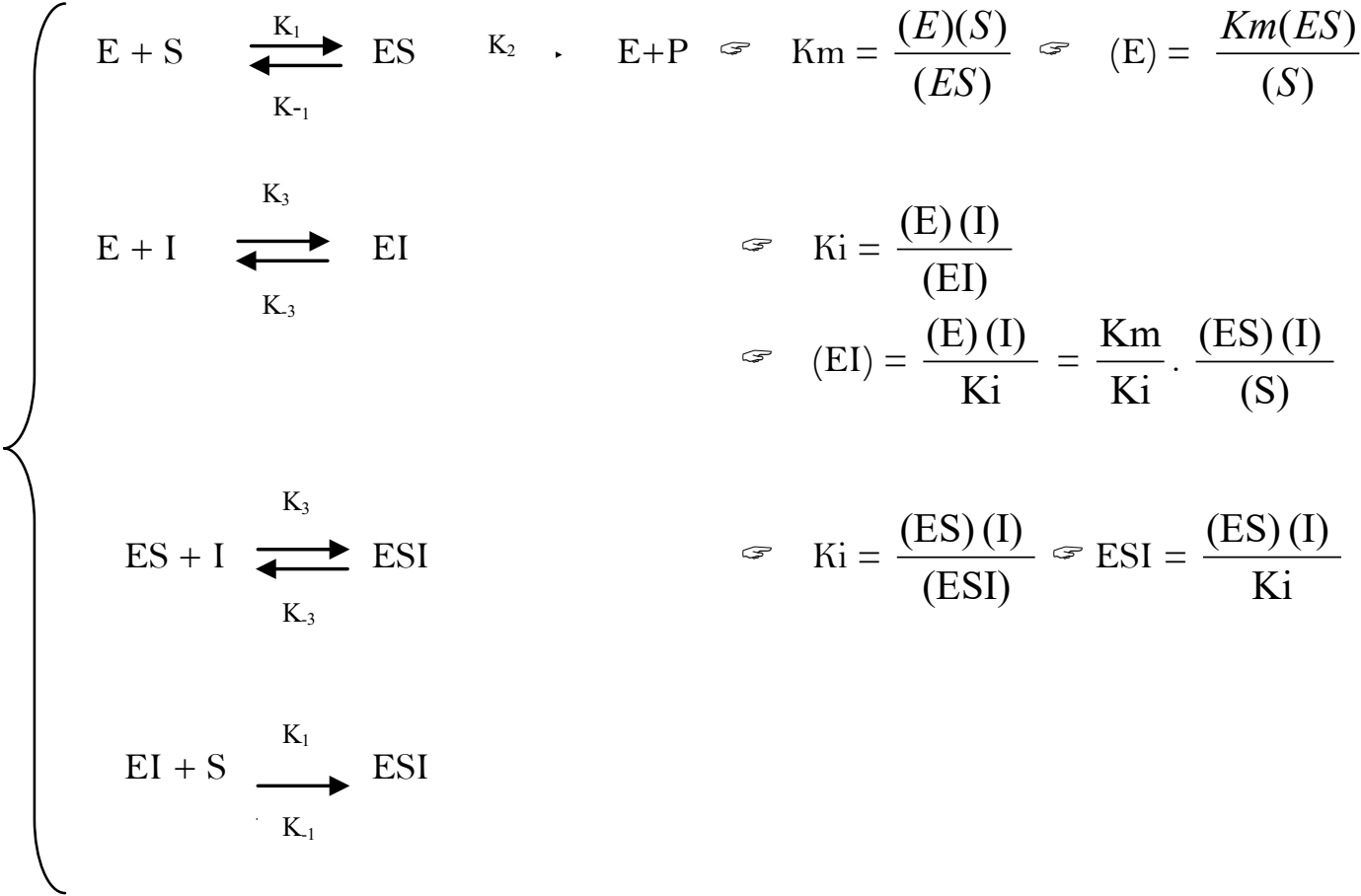


Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



• Schéma réactionnel



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



• Equation générale de conservation

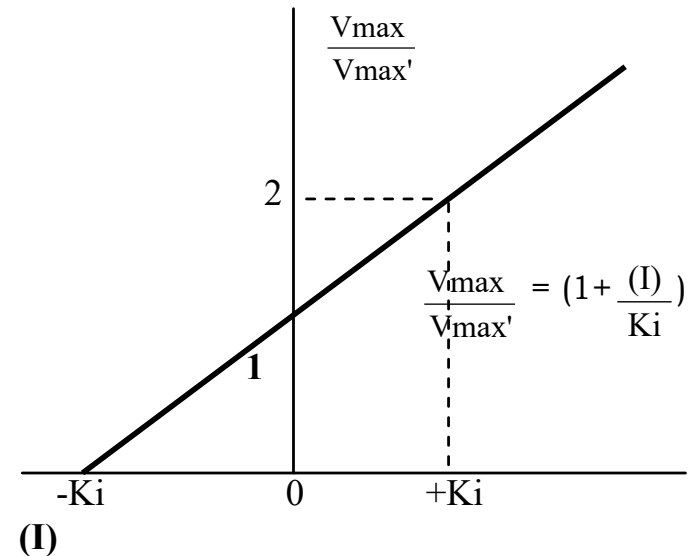
$$[E]_t = E + ES + EI + ESI$$

$$= \frac{K_m (ES)}{(S)} + (ES) + \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{(ES) (I)}{(S)} + \frac{(ES) (I)}{K_i} \text{ en d}$$

$$\frac{(Et)}{(ES)} = \frac{K_m}{(S)} + 1 + \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{(I)}{(S)} + \frac{(I)}{K_i} = \frac{V_{max}}{V}$$

$$\frac{V_{max}}{V} = \left(\frac{K_m}{(S)} + 1 \right) \left(1 + \frac{(I)}{K_i} \right)$$

$$V = \frac{V_{max}}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{(S)}{K_m + (S)}$$



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

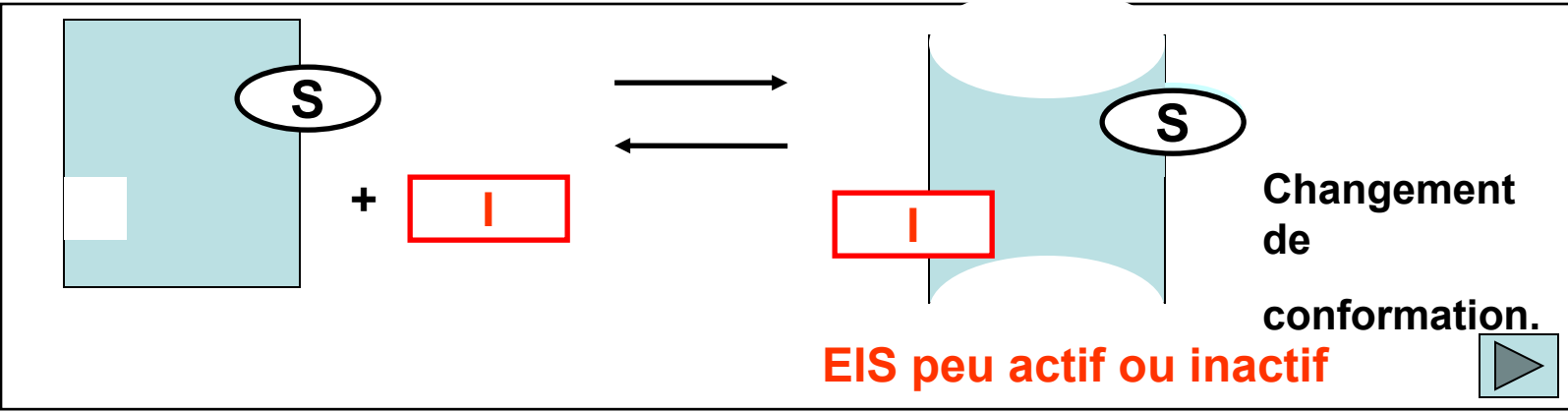
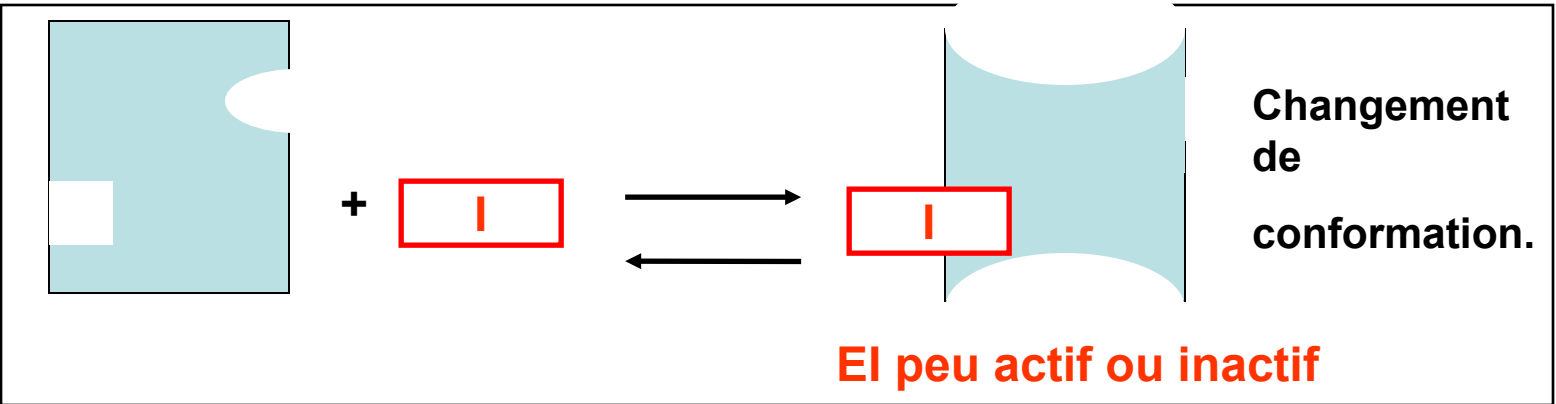
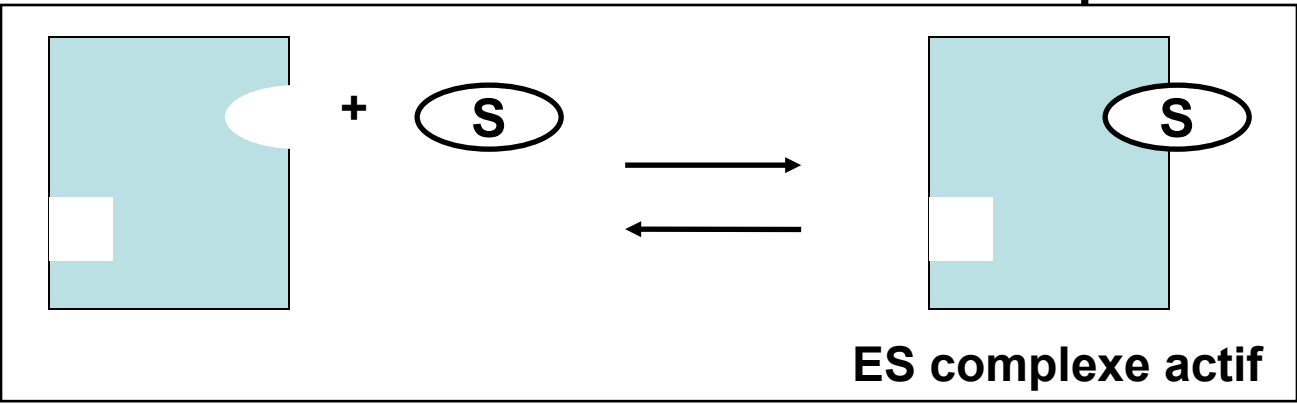


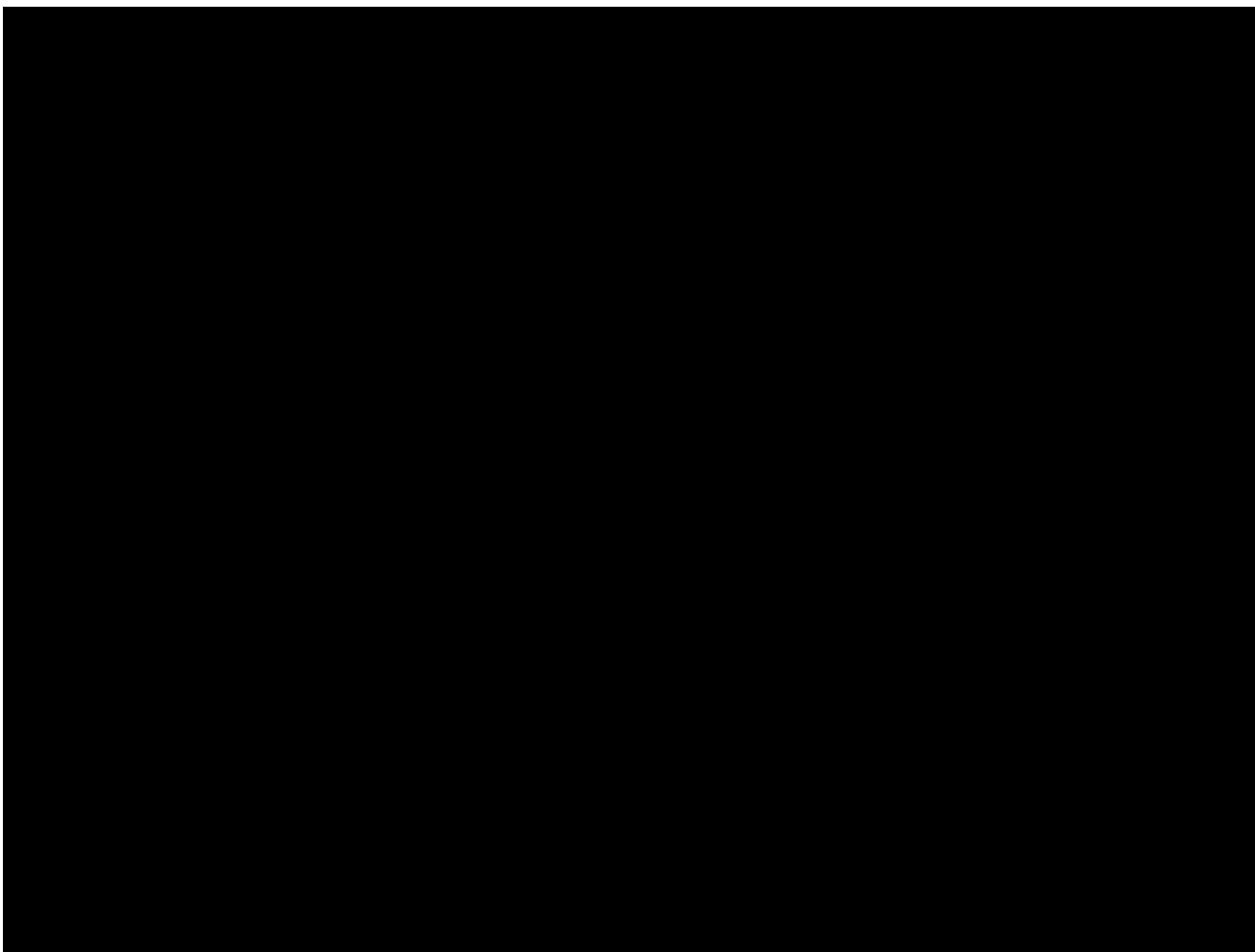
$$v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (18^\circ)$$

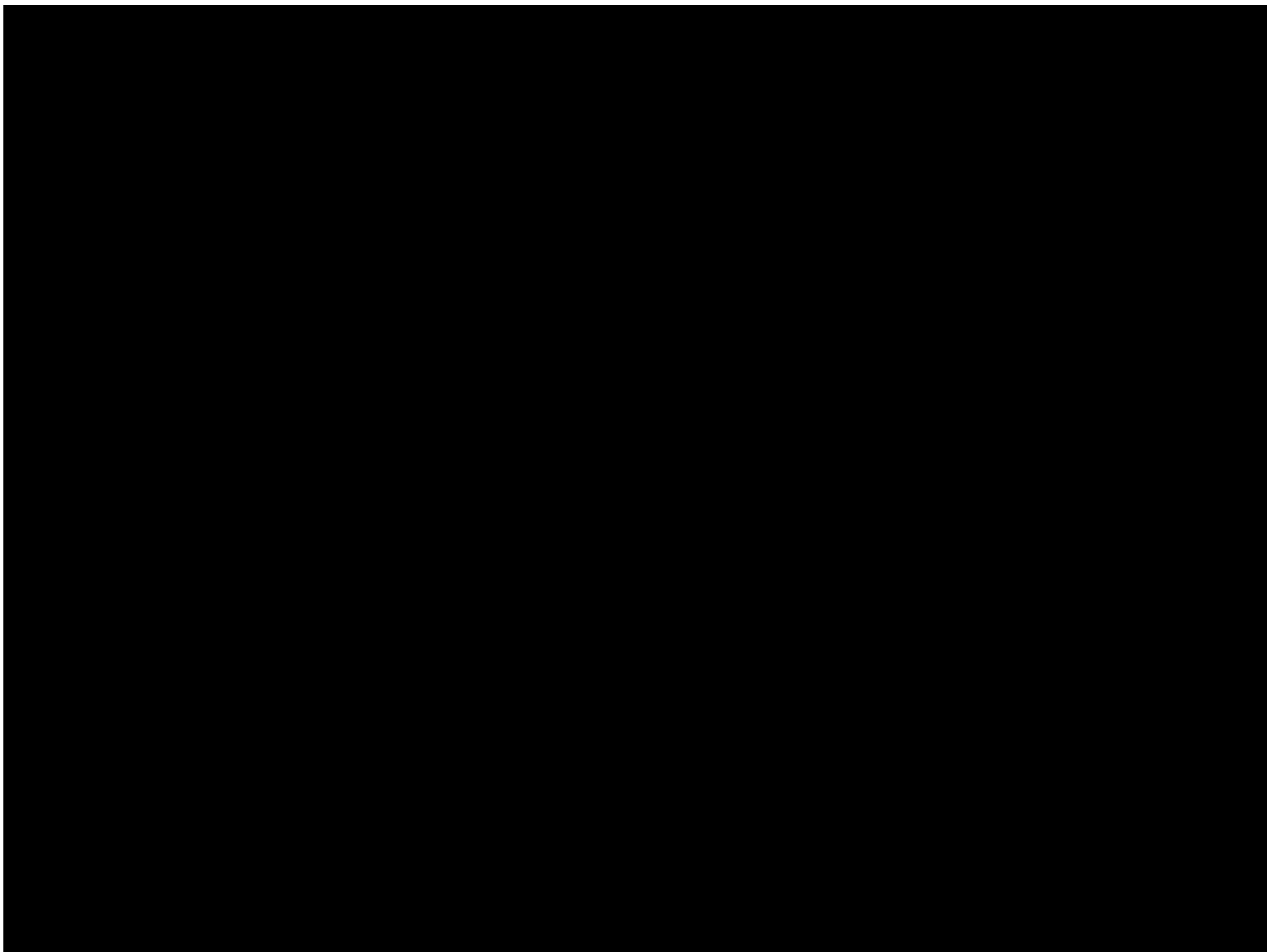
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{V_{\max}} \quad (22^\circ)$$

Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme se fait sur un site tout à fait **indépendant** du site actif, il n'y a évidemment aucune compétition entre le substrat et l'inhibiteur. L'inhibiteur en se liant rend la molécule d'enzyme incapable de catalyser la réaction : on parle alors d'inhibition non compétitive.

Modélisation de l'inhibition non compétitive







Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



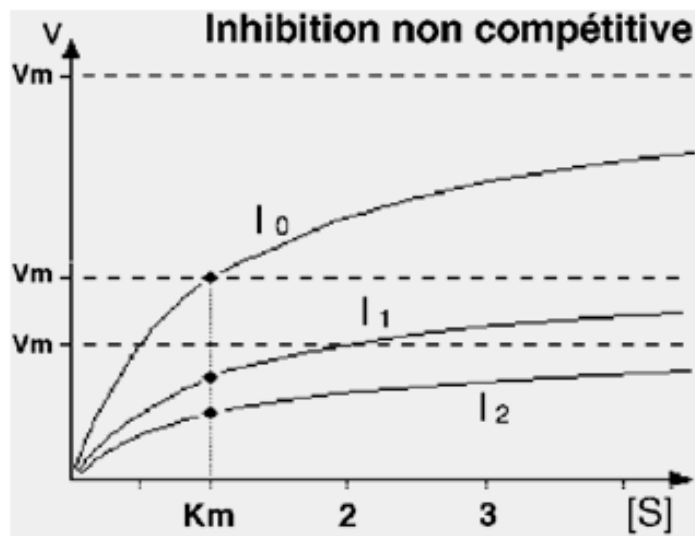
Toutes les molécules d'enzyme peuvent entrer en liaison avec l'inhibiteur. Le complexe enzyme-substrat donne un complexe enzyme-substrat-inhibiteur inactif. L'enzyme libre en s'associant avec l'inhibiteur donne un complexe enzyme-inhibiteur qui peut lui-même lier une molécule de substrat, en donnant un complexe ESI, identique à celui obtenu à partir du complexe ES et bien sûr inactif. La constante K_m de l'enzyme vis à vis du substrat représente toujours la constante de dissociation du complexe ES mais aussi celle du complexe ESI en EI et substrat libre. La constante K_i de l'enzyme vis à vis de l'inhibiteur représente toujours la constante de dissociation du complexe EI mais aussi celle du complexe ESI en ES et inhibiteur libre.

Chapitre 5

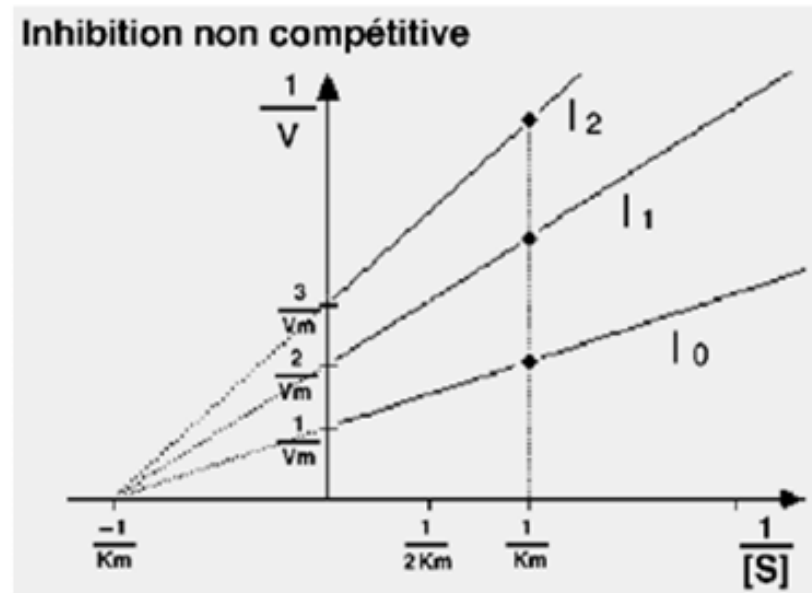
Effet de la concentration des effecteurs



Selon Michaelis



Selon Lineweaver & Burk

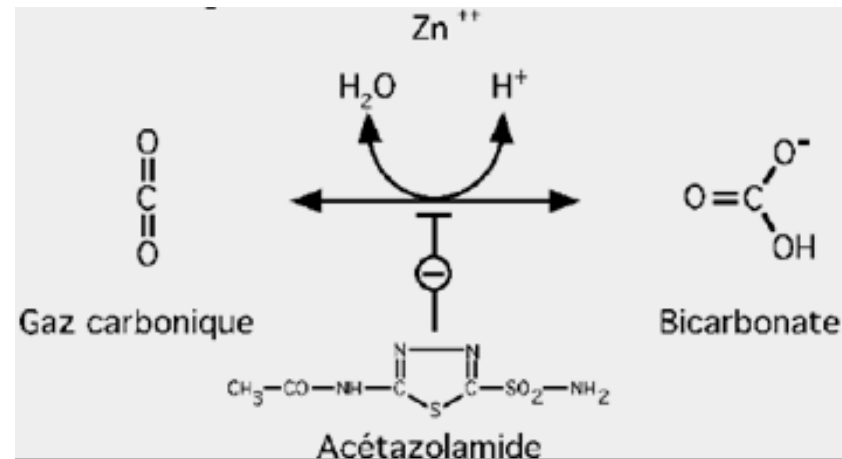


$$v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (18^\circ)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{V_{\max}} \quad (22^\circ)$$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



L'anhydrase carbonique, que nous avons déjà rencontrée comme exemple, est inhibée par l'acétazolamide qui est un médicament.

Cette inhibition est non compétitive vis à vis du gaz carbonique, substrat de l'enzyme.

Chapitre 5

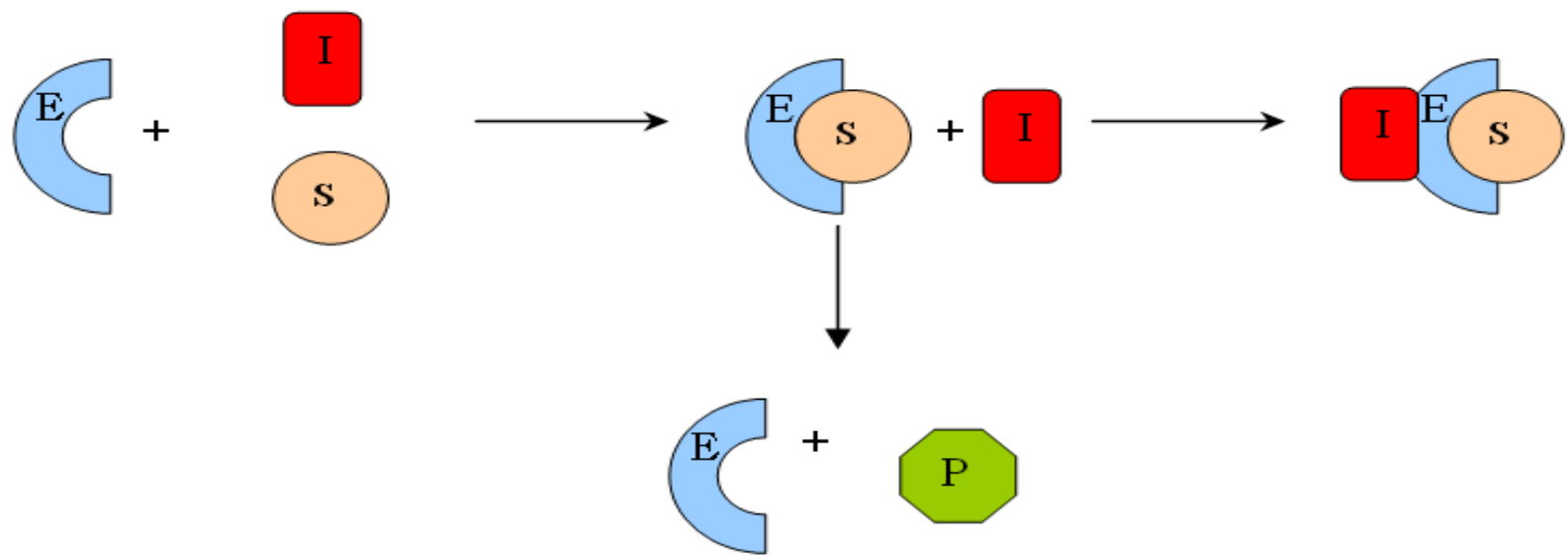
Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

5.3.3 Inhibiteurs Incompétitifs (inhibition Incompétitive)

C'est une inhibition par blocage du complexe ES et l'inhibiteur se fixe non pas sur l'enzyme libre mais sur la combinaison ES

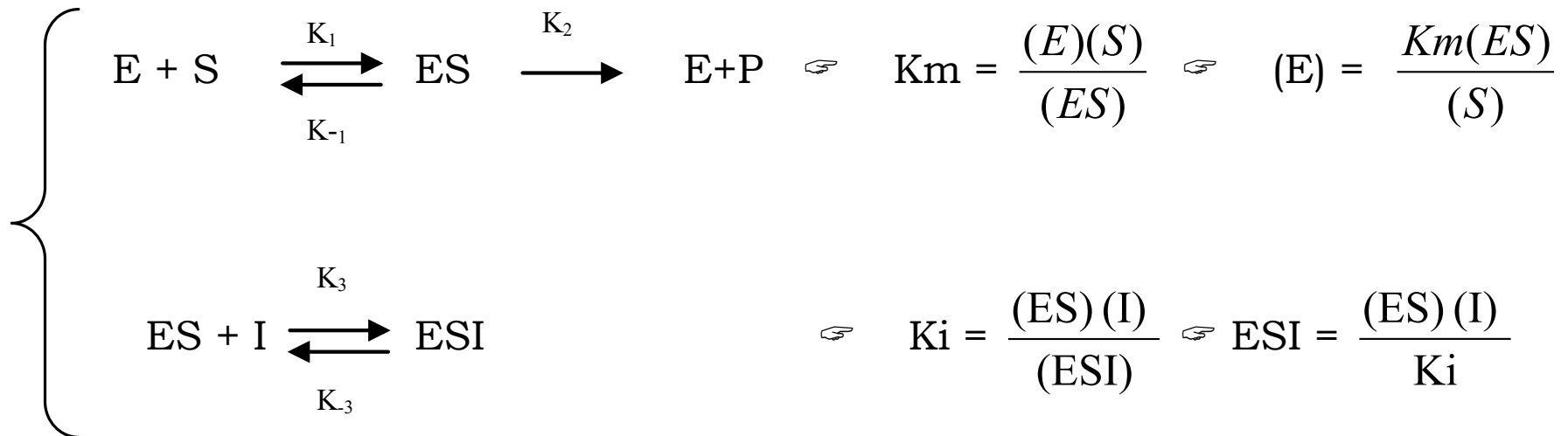


Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



• Schéma réactionnel



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



• Equation générale de conservation

$$[E]_t = E + ES + ESI$$

$$= \frac{K_m (ES)}{(S)} + [ES] + \frac{(ES) (I)}{(S)} \quad \text{en divisant les deux côtés par } [ES]$$

$$\frac{(E_t)}{(ES)} = \frac{K_m}{(S)} + 1 + \frac{K_m}{K_i} = \frac{V_{\max}}{V}$$

$$V = \frac{V_{\max}}{\frac{K_m}{(S)} + 1 + \frac{I}{K_i}} = \frac{V_{\max}}{\frac{K_m}{(S)} + (S) \left[1 + \frac{I}{K_i} \right]}$$



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

$$V = \frac{V_{\max} (S)}{K_m + (S)[1 + \frac{I}{K_i}]} \quad \Rightarrow \quad \frac{1}{V} = \frac{1 + \frac{I}{K_i}}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{(S)}$$

$$\text{Par } \frac{1}{V} = 0 \quad \Rightarrow \quad \frac{1}{(S)} = - \frac{1 + \frac{(I)}{K_i}}{K_m} = - \frac{1}{K_m'}$$

$$\text{Par } \frac{1}{(S)} = 0 \quad \Rightarrow \quad \frac{1}{V} = - \frac{1 + \frac{(I)}{K_i}}{V_{\max}} = - \frac{1}{V_{\max}'}$$

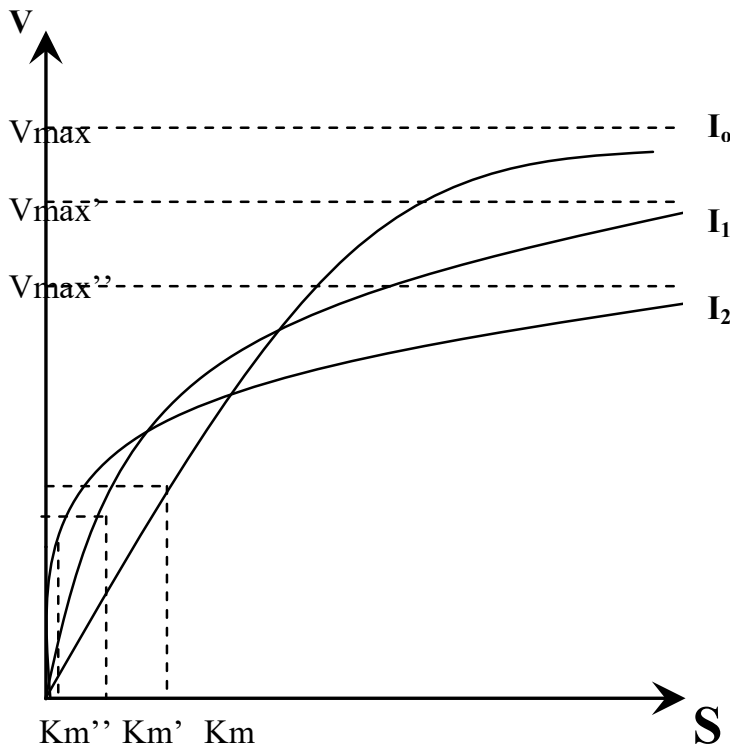
$$\text{Donc } K_m' = \frac{K_m}{1 + \frac{(I)}{K_i}} \quad \text{et } V_{\max}' = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{(I)}{K_i}}$$

Chapitre 5

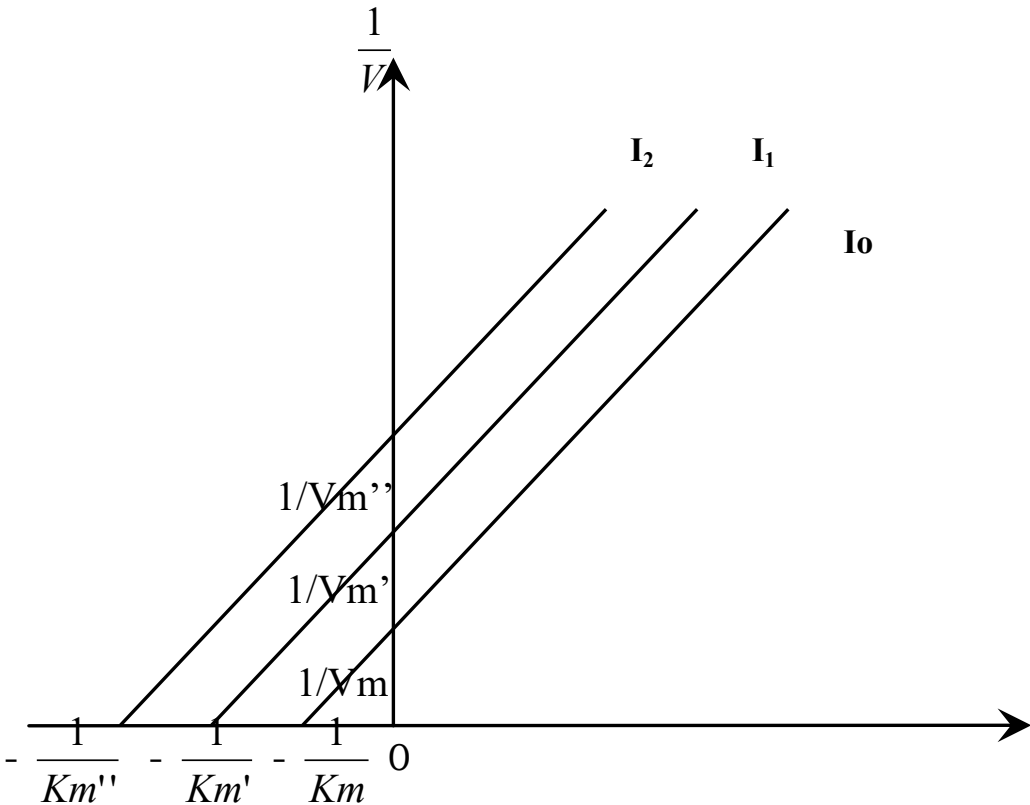
Effet de la concentration des effecteurs



Selon Michaelis



Selon Lineweaver & Burk



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



5.3 Les Inhibiteurs

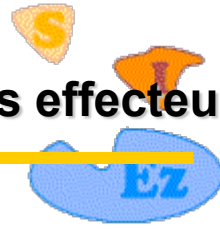
5.3.4 Inhibiteurs Irréversibles

Les inhibiteurs irréversibles sont des substances qui se fixent sur l'enzyme de manière irréversible, en général par liaison covalente. Leur effet est de diminuer la quantité totale d'enzyme disponible, leur effet sur la cinétique ressemble donc à l'inhibition non compétitive.

Comme les inhibiteurs compétitifs, les inhibiteurs irréversibles ressemblent souvent au substrat, ce qui leur permet de se fixer sur le site actif de l'enzyme. On développe donc souvent un tel inhibiteur à partir de la structure d'un substrat ou inhibiteur compétitif connu.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



Exemple : un nombre croissant de médicaments sont des inhibiteurs irréversibles. Leur effet est plus durable, puisque l'activité enzymatique est perdue, jusqu'à ce que l'organisme ait synthétisée l'enzyme.

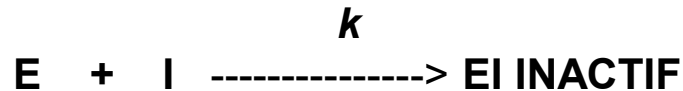
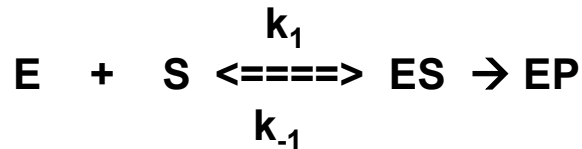
Le cas du Xénical ® inhibiteur de la lipase pancréatique.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs



Le mécanisme réactionnel : Attention : la fixation de l'inactivateur N'EST PAS un équilibre.



Un exemple classique d'inactivateur est un gaz neurotoxique (*employé au cours de la première guerre mondiale !*), le di-iso-propyl fluorophosphate. L'étude de l'effet de ce composé sur l'activité des protéases à sérine a permis d'identifier la sérine 195

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

Conclusion

Le rôle métabolique des effecteurs enzymatiques est considérable, qu'ils soient activateurs ou inhibiteurs, ils sont mis à profit par la cellule pour réaliser la régulation de ses réactions et assurer l'équilibre d'activité et meilleure économie de ses diverses voies métaboliques. Ainsi de nombreuses enzymes de la glycolyse, dont le rôle est de fournir l'ATP, sont inhibées non compétitivement par l'ATP et sont au contraire activées par l'AMP. De même dans les voies de biosynthèse des acides aminés ou des nucléotides, on assiste à l'inhibition de l'enzyme de l'un des premiers stades par le produit final.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

5.4 Aberrations des cinétiques Michaéliennes :

En l'absence de tout effecteur étranger au système ES, certains systèmes enzymatiques présentent des aberrations qui n'obéissent plus à la cinétique Michaélienne.

Cinétique par excès de substrat

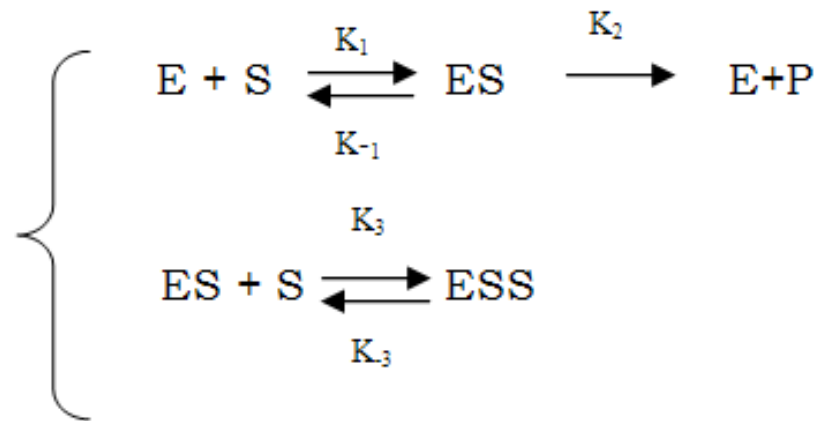
Il est très fréquent de noter une diminution de la vitesse en augmentant la concentration du substrat au cours d'une catalyse enzymatique.

Plusieurs explications ont été données est notamment que deux molécules peuvent se fixer partiellement dans le même site. Le complexe triple qu'en résulte est très rarement actif.

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

- Schéma réactionnel



Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

- *Etats stationnaires*

$$-\frac{d(ESS)}{dt} = 0 = k_3 [ES][S] - k_{-3} [ESS] = 0$$

$$k_3 [ES][S] = k_{-3} [ESS]$$

$$[ESS] = \frac{k_3}{k_{-3}} [ES][S] = \frac{(ES)(S)}{K_s}$$

$$-\frac{d(ES)}{dt} = 0 = k_1 [E][S] - k_{-1} [ES] - k_2 [ES] + k_{-3} [ESS] - k_3 [ES][S] = 0$$

or $k_3 [ES][S] = k_{-3} [ESS]$

$$\Rightarrow k_1 [E][S] - k_{-1} [ES] - k_2 [ES] = 0$$

$$\Rightarrow [E] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \cdot \frac{(ES)}{(S)} = K_m \frac{(ES)}{(S)}$$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

- *Equations générales de conservation*

$$[E]_t = E + ES + ESS$$

$$[E]_t = \frac{K_m (ES)}{(S)} + [ES] + \frac{(ES)(S)}{K_s} \quad \text{en divisant les deux côtés par } [ES]$$

$$\frac{V_{\max}}{V} = 1 + \frac{K_m}{(S)} + \frac{(S)}{K_s}$$

$$\text{Soit } \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{(S)}{K_s V_{\max}}$$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

- La première

$$K_s \gg \gg \gg K_m \quad \text{et} \quad [S] \approx K_m$$

donc $[S]$ est faible

L'affinité de l'enzyme pour une deuxième molécule de substrat est plus faible que son affinité pour la première molécule de substrat.

$$K_s \gg \gg \gg K_m \Leftrightarrow \frac{1}{K_s} \ll \ll \ll \frac{1}{K_m}$$

$$\Leftrightarrow \frac{1}{K_s V_{\max}} \ll \ll \ll \frac{1}{K_m V_{\max}}$$

$$\Leftrightarrow \frac{(S)}{K_s V_{\max}} \ll \ll \ll \frac{(S)}{K_m V_{\max}} \approx \frac{K_m}{(S) V_{\max}} \quad \text{car } [S] \approx K_m$$

$$\Leftrightarrow \frac{(S)}{K_s V_{\max}} \text{ devient négligeable devant } \frac{k_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{(S)}$$

$$\Leftrightarrow \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{(S)}$$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

- La deuxième

$$\underline{K_s} \gg \gg \gg K_m \quad \text{et} \quad [S] \approx \underline{K_s}$$

donc $[S]$ est grande

L'affinité de l'enzyme pour une deuxième molécule de substrat est toujours plus faible que son affinité pour la première molécule de substrat.

$$\underline{K_s} \gg \gg \gg K_m$$

$$[S] \gg \gg \gg K_m$$

$$\frac{[S]}{\underline{K_s}} \gg \gg \gg \frac{K_m}{K_s}$$

$$\frac{[S]}{\underline{K_s} V_{\max}} \gg \gg \gg \frac{K_m}{K_s V_{\max}} \quad \text{sachant que } [S] \approx \underline{K_s}$$

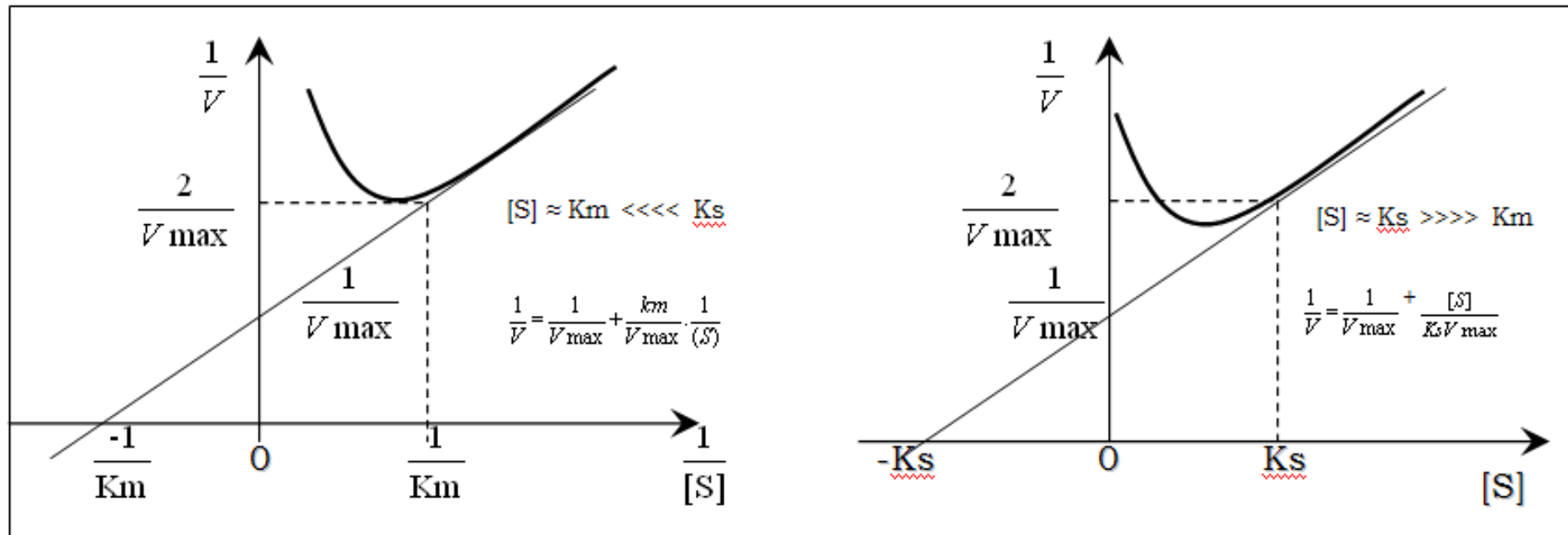
$$\frac{[S]}{\underline{K_s} V_{\max}} \gg \gg \gg \frac{K_m}{[S] V_{\max}}$$

donc $\frac{K_m}{[S] V_{\max}}$ devient négligeable devant $\frac{[S]}{\underline{K_s} V_{\max}}$

Chapitre 5

Effet de la concentration des effecteurs

On aura donc l'équation $\Leftrightarrow \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{[S]}{K_s V_{\max}}$



Chapitre 6

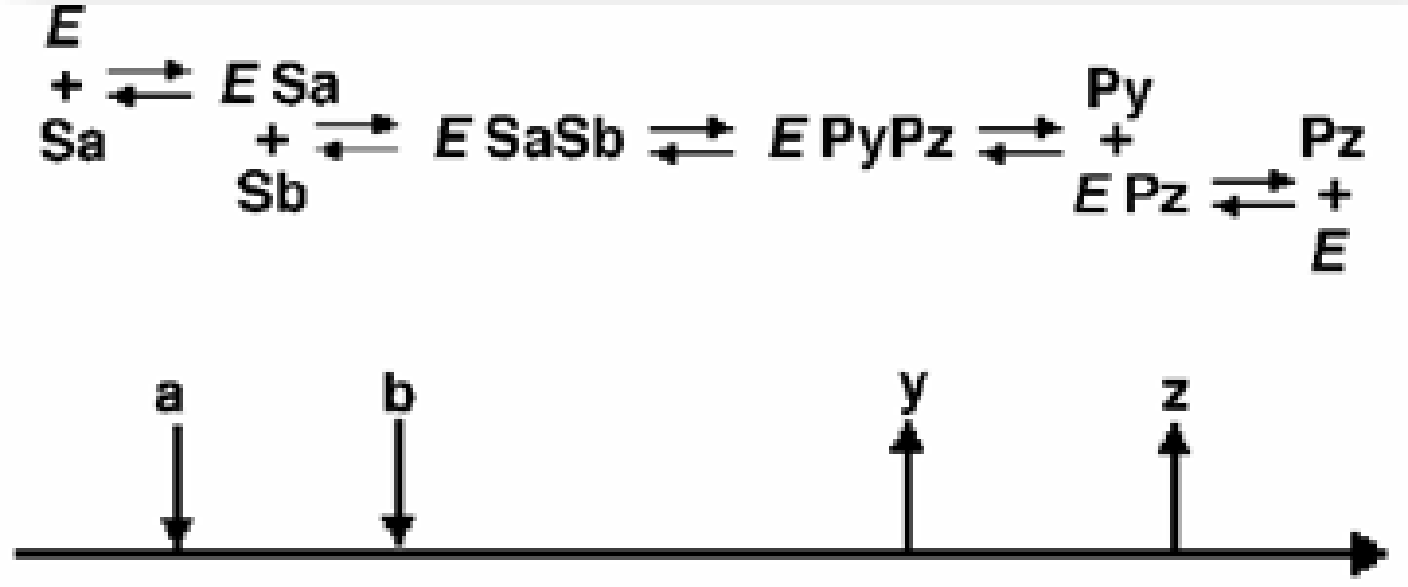
Cinétique à plusieurs substrats

A part les isomérases, les lyases et les hydrolases, toutes les autres enzymes obéissent à des cinétiques à plusieurs substrats. En réalité peu de systèmes dépassent 3 substrats et 3 produits. Nous- nous intéresserons dans ce chapitre au système à 2 substrats qui repose sur les travaux de CLELAND. Le nombre de molécules de substrats et de produits qui interviennent dans un mécanisme est désigné par les syllabes Uni, Bi, Ter, Qua.....

Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

6.1 Mécanisme bibi ordonné:



Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

Lorsqu'une réaction enzymatique implique deux substrats ou un substrat et un coenzyme libre, les phases de la réaction enzymatique au niveau moléculaire se compliquent : on parle de cinétique à deux substrats.

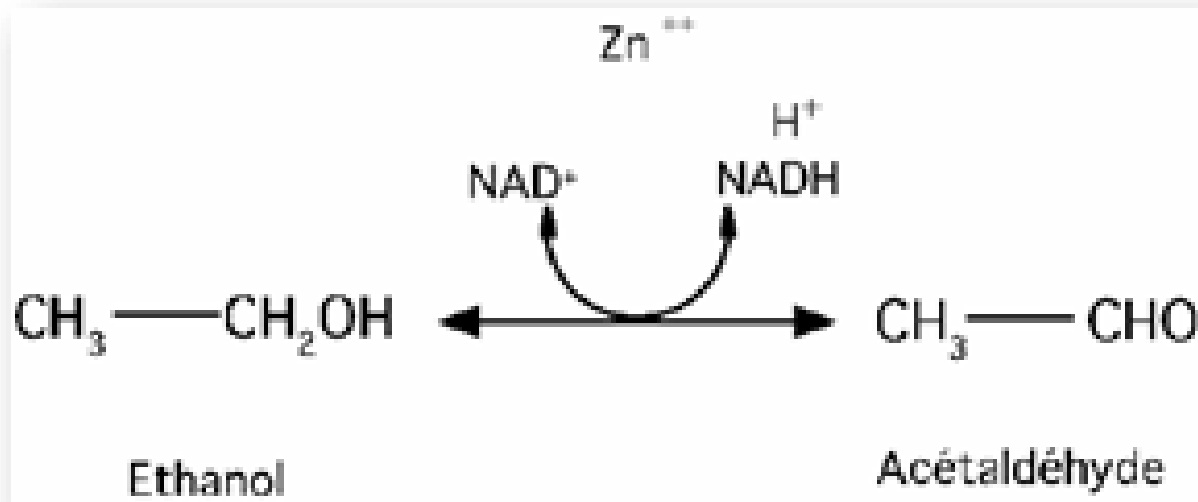
Pour certaines enzymes, il se forme d'abord un premier complexe entre le premier substrat et l'enzyme. Ce complexe Enzyme-Substrat **a** forme ensuite un complexe avec le second substrat : Enzyme-Substrat **a** -Substrat **b**. Ce complexe ternaire est alors transformé par l'action de l'enzyme en un complexe Enzyme-Produit **y** -Produit **z** qui se dissocie en libérant dans l'ordre le produit **y** et le produit **z**.

Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

L'enzyme libre n'ayant pas d'affinité pour le substrat **b**, le complexe ne peut pas se former dans un ordre différent : c'est ce qui justifie l'appellation bibi ordonné qu'on donne à ce mécanisme.

Exemple : Alcool déshydrogénase



Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

L'alcool déshydrogénase est une enzyme qu'on trouve dans le cytoplasme de la plupart de nos cellules. Elle catalyse l'oxydation de l'éthanol en acétaldéhyde en réduisant simultanément un coenzyme NAD^+ en NADH .

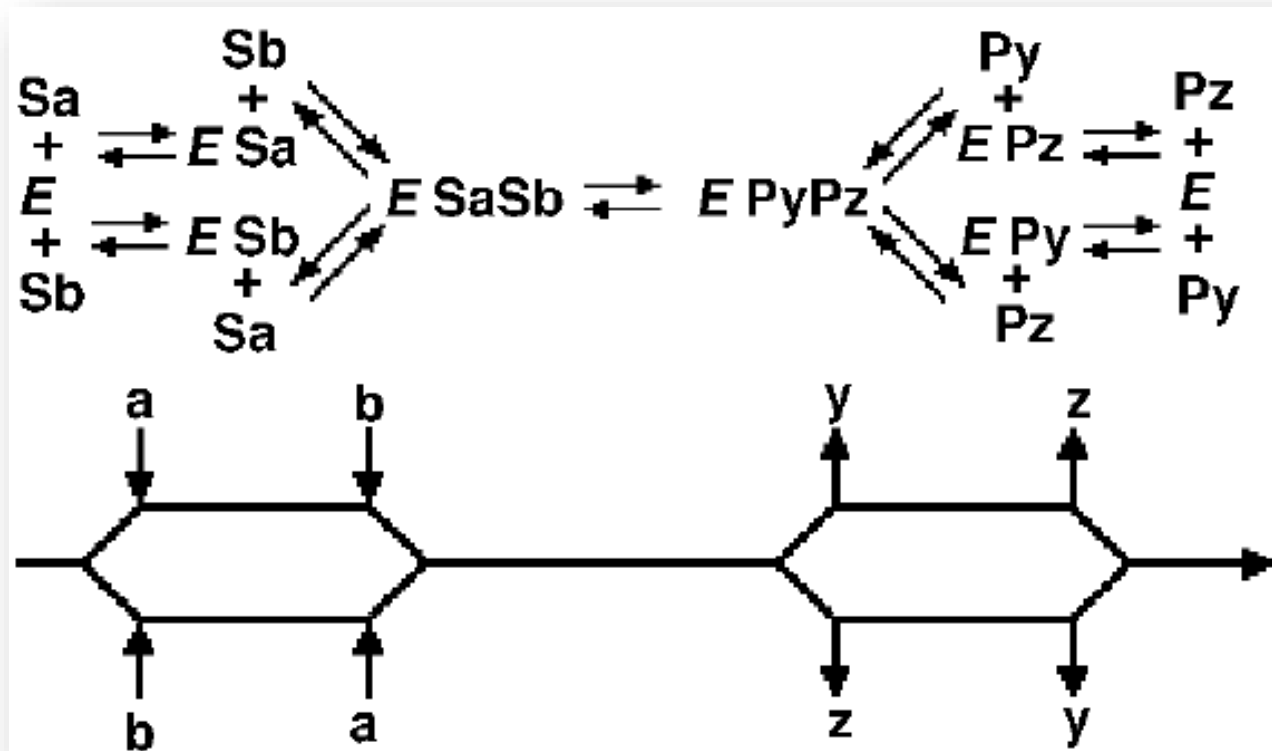
Cette réaction se déroule selon un mécanisme de type bibi ordonné : l'enzyme n'a pas d'affinité pour l'alcool si elle n'est pas préalablement associée au coenzyme NAD^+ en un premier complexe ; puis le complexe ternaire Enzyme- NAD^+ -Ethanol se transforme en un complexe Enzyme- NADH -Acétaldéhyde ; ce dernier complexe se dissocie en libérant l'acétaldéhyde puis le NAD réduit.

De nombreuses autres déshydrogénases utilisant le NAD comme coenzyme suivent un mécanisme de type bibi ordonné.

Chapitre 6

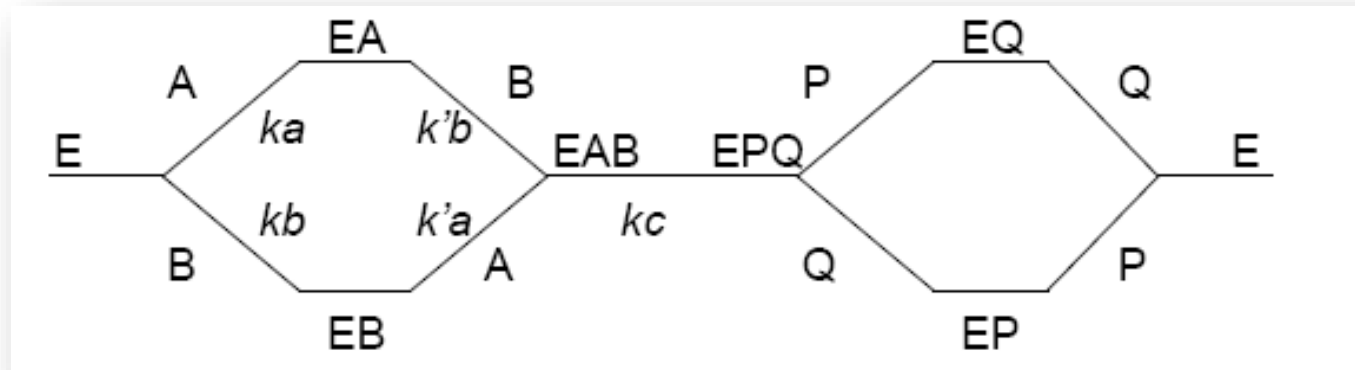
Cinétique à plusieurs substrats

6.1 Mécanisme bibi aléatoire



Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats



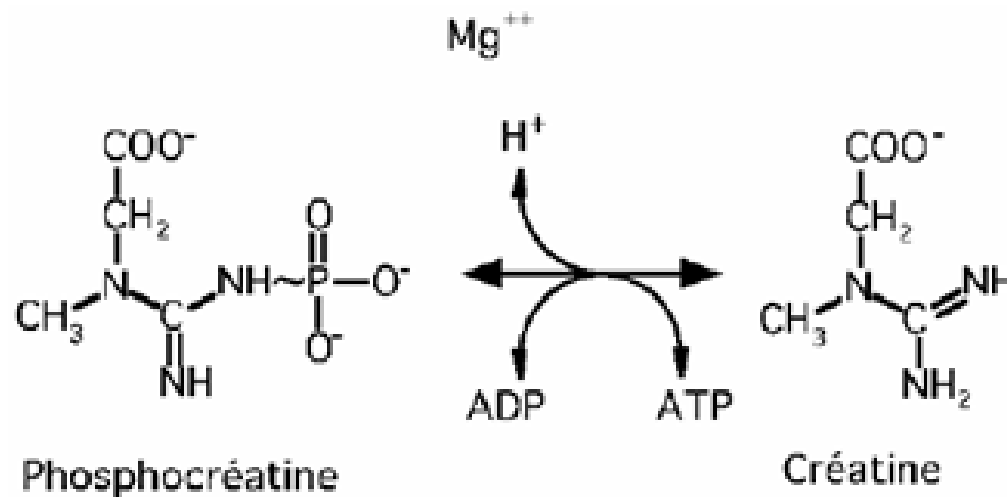
D'autres enzymes à deux substrats sont capables de former le complexe Enzyme-Substrat **a** Substrat **b** en fixant les deux substrats (ou coenzyme libre) l'un après l'autre mais sans ordre fixe : la probabilité de commencer par Enzyme-Substrat **a** ou par Enzyme-Substrat **b** ne dépendant que des affinités respectives de l'enzyme pour ces deux corps chimiques. C'est ce qui justifie l'appellation *bibi aléatoire* qu'on donne à ce mécanisme.

Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

Exemple :

Créatine PhosphoKinase



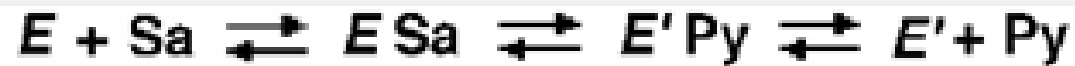
La créatine phosphokinase (CPK) est une enzyme des muscles des Vertébrés. Elle catalyse le transfert d'un radical phosphoryl du substrat, le phosphate de créatine, vers un coenzyme transporteur, l'ADP.

L'affinité de l'enzyme pour ces deux corps chimiques étant voisine, la liaison de l'enzyme avec chacun d'entre eux se fait dans un ordre qui dépend uniquement des concentrations.

Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

6.1 Mécanisme Ping-Pong



Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

- Pour d'autres enzymes, la réaction sera catalysée en deux temps.
- Le complexe formé entre l'enzyme et le substrat a est transformé d'abord en enzyme + produit y, mais l'enzyme E a été chimiquement modifiée en enzyme E' au cours de cette première partie de la réaction.
- L'enzyme E' ayant une affinité pour le deuxième substrat, va former un deuxième complexe Enzyme E'-Substrat b qui va être transformé en complexe Enzyme-Produit z dans une seconde partie de la réaction où l'enzyme va retrouver sa forme chimique initiale.

Chapitre 6

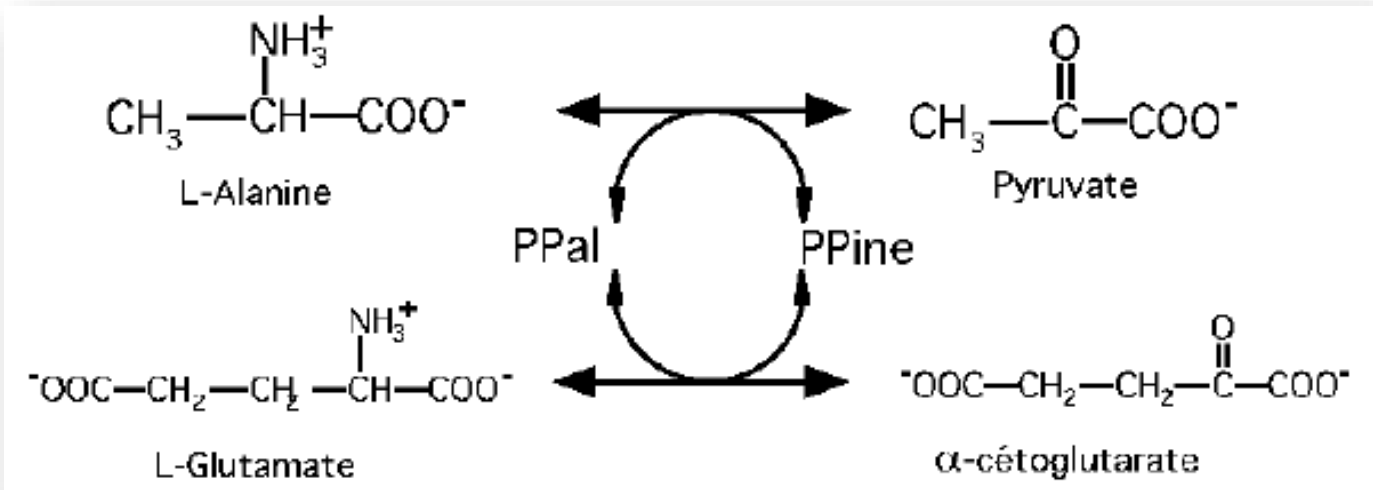
Cinétique à plusieurs substrats

- Il n'y a jamais de complexe ternaire dans un tel mécanisme, mais l'enzyme (ou un coenzyme lié à sa structure) subit une transformation réversible et provisoire qui permet le lien entre les deux substrats.
- C'est ce qui justifie l'appellation de ping-pong qu'on donne à ce mécanisme.

Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

Alanine aminotransférase : ALAT



Chapitre 6

Cinétique à plusieurs substrats

L'ALAT catalyse le transfert de la fonction amine de l'alanine vers l' α -cétoglutarate qu'elle transforme en glutamate.

Dans un premier temps, l'ALAT se lie à l'alanine puis transfère la fonction amine sur un coenzyme lié : le phosphate de pyridoxal qui devient phosphate de pyridoxamine sans cesser d'être lié à l'enzyme. L'enzyme se dissocie alors du pyruvate.

Dans le second temps, l'enzyme liée au phosphate de pyridoxamine, forme un complexe avec l' α -cétoglutarate, puis transfère la fonction amine du coenzyme qui redevient phosphate de pyridoxal, vers le second substrat qui est transformé en glutamate. Enfin, le complexe ALAT glutamate se dissocie : l'enzyme et son coenzyme lié ont recouvré leurs structures initiales.