



ENZYMLOGIE 2

Mécanisme de la Réaction Enzymatique

Les études cinétiques déterminent des paramètres qui rendent compte de :

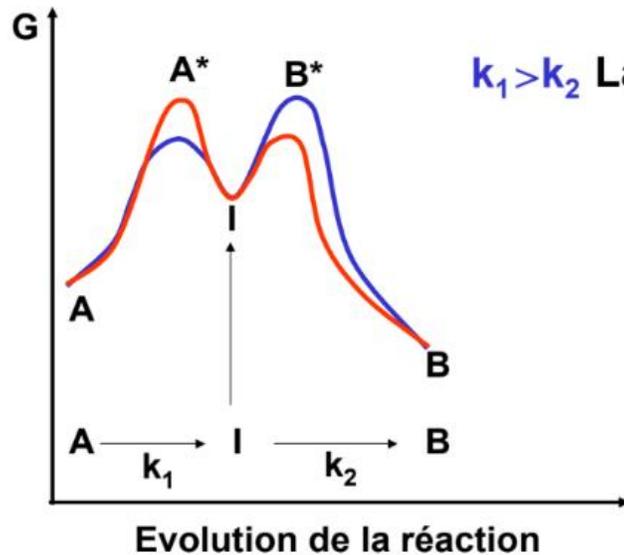
- ❖ La **formation** du complexe Enzyme-Substrat [ES], renseignée par la **K_m** (constante de Michaelis et Menten)
- ❖ La **transformation** du substrat associé à l'enzyme pour donner le produit de la réaction, renseignée par la **V_m** (vitesse maximale de la réaction)

Etude des Courbes



$k_1 < k_2$ La 1ère étape est limitante

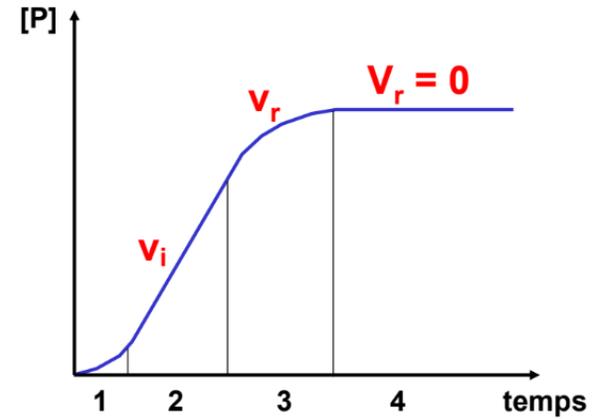
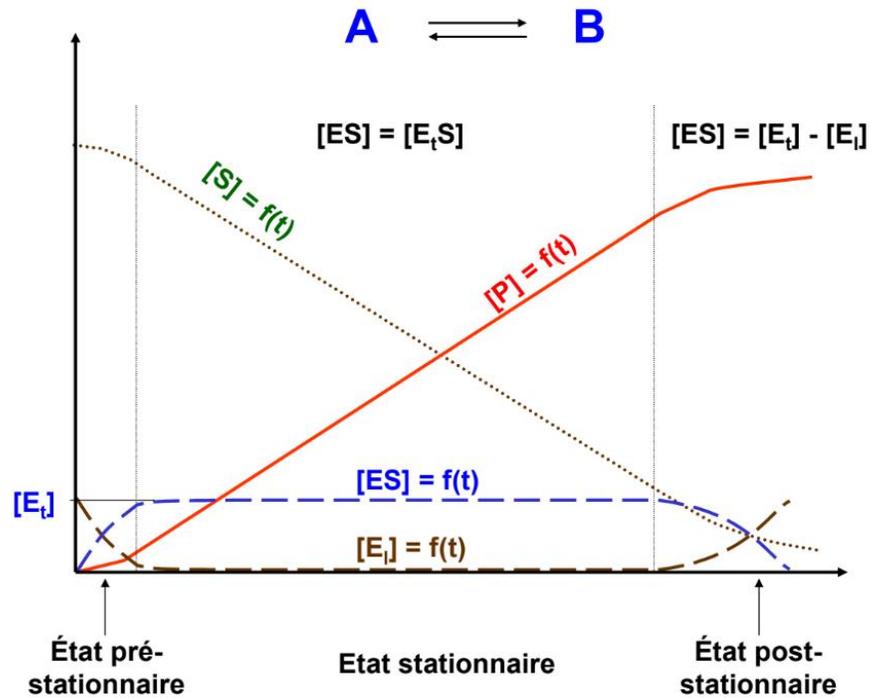
$k_1 > k_2$ La 2ème étape est limitante



Pour la courbe **rouge** : on voit que la première « colline » est plus **haute** que la deuxième, l'énergie à fournir est plus **grande**, donc la vitesse de la première réaction est plus **lente**. On dit que la réaction $A \rightarrow I$ est limitante.

Pour la courbe **bleue** : on voit que la deuxième « colline » est plus **haute** que la première, l'énergie à fournir est plus **grande**, donc la vitesse de la deuxième réaction est plus **lente**. On dit que la réaction $I \rightarrow B$ est limitante.

Vitesse de réaction



- | | | | |
|--------------------|-----------------|---------------------|------------------------------|
| 1 Pré stationnaire | $[ES] \nearrow$ | 3 Post stationnaire | $[S] \sim [E]$ |
| 2 Stationnaire | $[S] \gg [E]$ | 4 Équilibre | $[S] \rightleftharpoons [P]$ |

Vitesse de réaction

- 1) Etat pré-stationnaire : très **court**, correspond à la formation du complexe [ES].
- 2) Etat stationnaire : Les enzymes sont **saturées** en substrat car celui-ci est en **excès**. Il reste donc du substrat **libre**, qui petit à petit se transforme en **produit**. La concentration du complexe [ES] reste **constante**.
- 3) Etat post stationnaire : Les enzymes ont transformé **tout** le substrat en produit, elles ne sont donc plus saturées **et il n'y a plus de complexe [ES]**. La vitesse **diminue**, et la réaction **inverse** n'est *plus négligeable*.

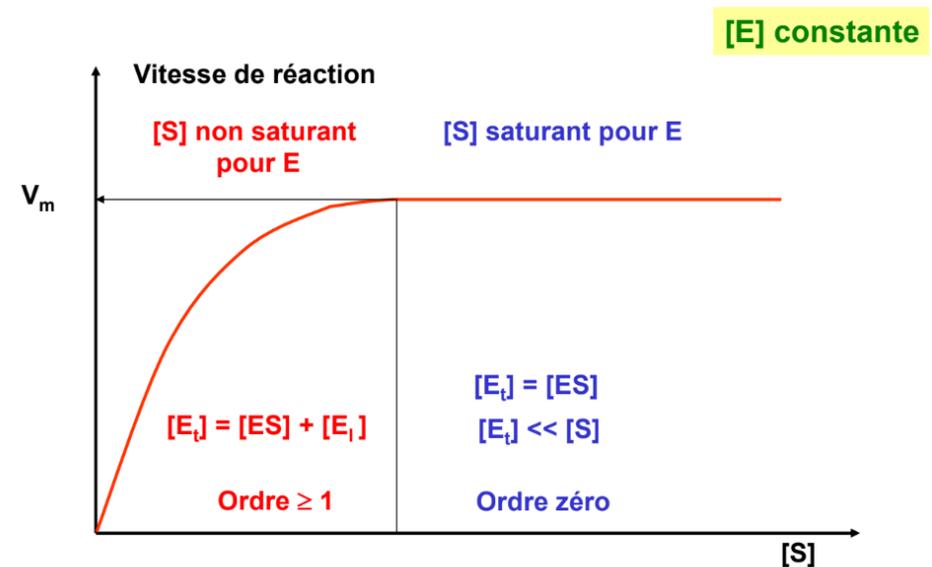
On atteint à la fin un état d'équilibre où la réaction se fait ***autant dans les deux sens***.

Influence de la concentration en substrat

Lorsque la concentration en substrat est **saturante** pour les enzymes, **toutes** les enzymes sont **occupées** et il n'existe *plus d'E libre*.

Et le fait de *rajouter du substrat* n'accélèrera pas la réaction.

La réaction est dite *d'ordre 0*.





Expression de l'activité enzymatique

U.I. : Quantité d'enzyme capable de transformer 1 micromole de substrat par minute

Katal : Quantité d'enzyme capable de transformer 1 mole de substrat par seconde

AMS (Activité Molaire Spécifique) : Nombre de moles de substrat transformées par mole d'enzyme et par seconde

AS (Activité Spécifique) : Rapport de l'activité enzymatique en U.I. ou Katal par la quantité totale de protéine.

Hypothèse de Michaelis et Menten

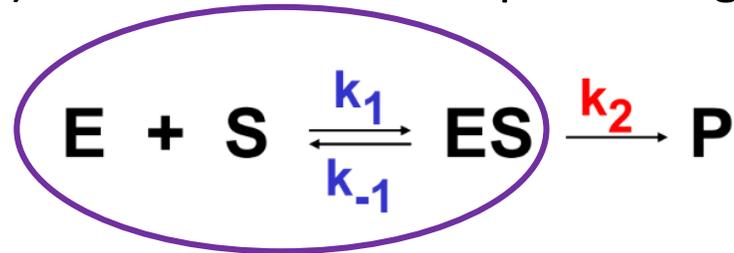
- La formation du complexe [ES] est un intermédiaire **ESSENTIEL**, seul le substrat associé à l'enzyme sera transformé
- On se positionne dans **l'état stationnaire** avec un **excès** de substrat.





Le Km

Le **Km** (constante de Michaelis et Menten) est une **constante** qui renseigne sur la **première** partie de la réaction ($E+S \rightarrow ES$).



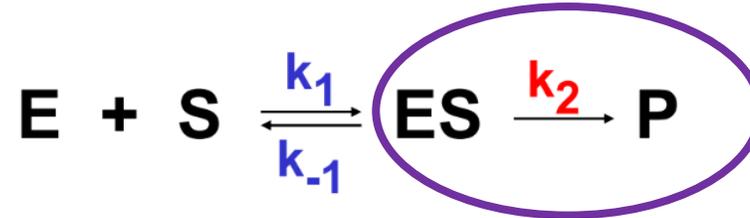
Elle caractérise **l'affinité** entre le substrat et l'enzyme : un **faible Km** décrit une **forte affinité** entre l'enzyme et le substrat et inversement.

$$K_m = \frac{([E][S])}{[ES]}$$

Définition : Concentration de substrat permettant une vitesse initiale de la réaction enzymatique égale à la **moitié de la vitesse maximum**.

La Vm

Le **Vm** est une constante qui renseigne sur la **seconde** partie de la réaction ($ES \rightarrow E+P$).



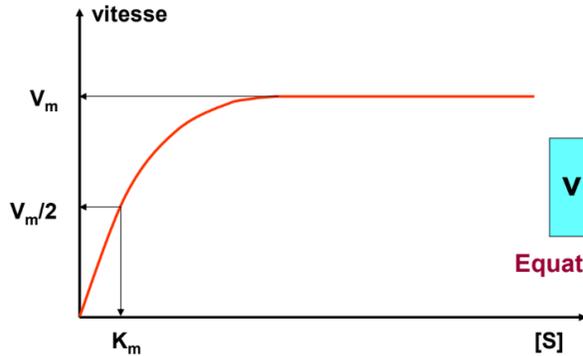
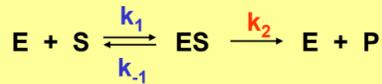
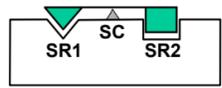
Définition : Vitesse initiale **théorique** d'une réaction enzymatique obtenue quand toutes les molécules d'enzymes sont **saturées** par le substrat.

$$V = \frac{V_m [S]}{K_m + [S]}$$

Équation de Michaelis et Menten



Représentation Graphique



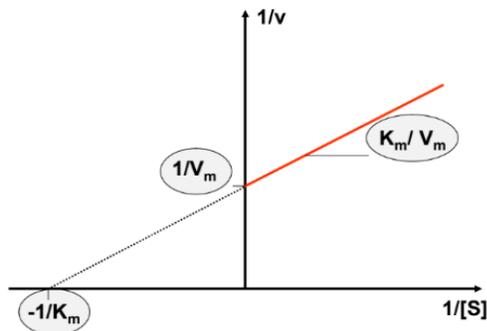
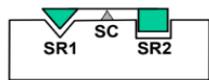
$$y = \frac{ax}{b+x}$$

$$v = V_m \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Equation de Michaelis - Menten

La courbe est **hyperbolique** : elle possède une phase **linéaire** durant laquelle la vitesse est **proportionnelle** à la concentration en substrat.

Et quand les enzymes sont **saturées**, on atteint un **plateau**.



$$v = V_m \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \times \frac{1}{[S]}$$

$$y = ax + b$$

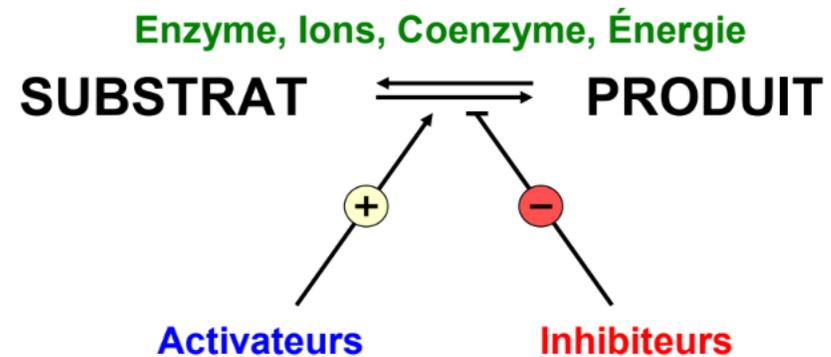
Ici, la représentation graphique de **Lineweaver et Burk** se fait sous forme de **droite**.

Grâce à cette représentation on pourra davantage observer les variations de V_m et K_m , et mieux déterminer la concentration de substrat qu'avec la courbe hyperbolique.



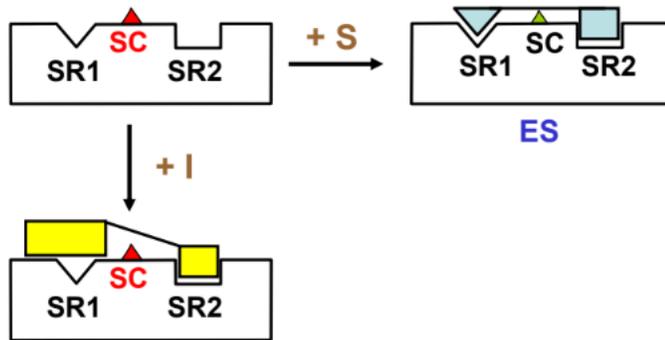
Régulation

- S'ils accélèrent la vitesse : **ACTIVATEURS**
- S'ils diminuent la vitesse : **INHIBITEURS**



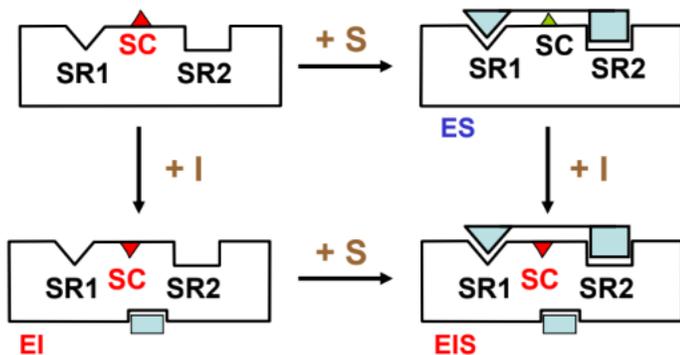


Les Inhibiteurs



Inhibiteur compétitif :

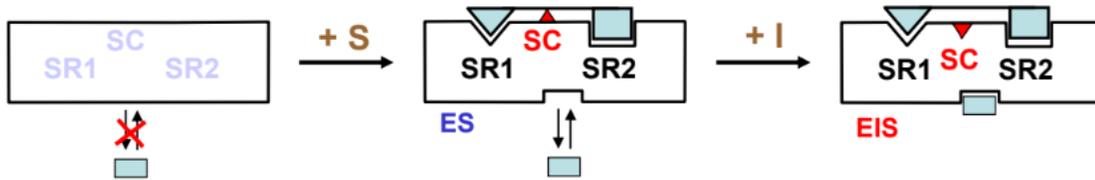
- Structure **similaire** au substrat
- Se fixe sur le site actif
- Augmente K_m
- Inhibition **réversible**



Inhibiteur non compétitif :

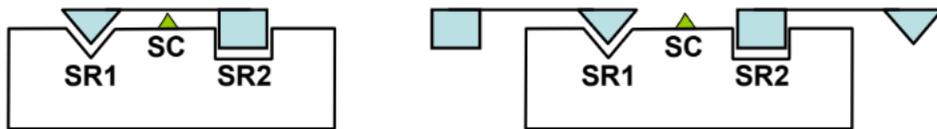
- Structure **différente** de celle du substrat
- Se fixe sur un site **spécifique**
- Diminue la V_m
- Inhibition **irréversible**

Les Inhibiteurs



Inhibiteur incompétitif :

- Se fixe **uniquement** après le substrat
- Se fixe sur un site **spécifique**
- La V_m et K_m vont **diminuer**
- Inhibition **irréversible**



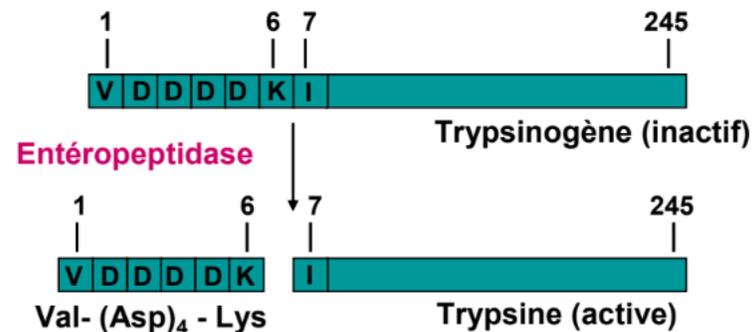
Inhibition par excès de substrat :

- Quand une molécule de substrat ne se positionne **pas correctement**

La Protéolyse Ménagée

Certaines enzymes sont produites sous formes de **proenzymes** ou **zymogènes** sont des **précurseurs** protéiques permettant le **stockage** des enzymes sous formes **inactives**.

L'activation des zymogènes est **irréversible** suite à un **clivage protéolytique** réalisé par des *endopeptidases* (enzymes). C'est un processus **post-traductionnel**.



La Covalence

Les modifications covalentes sont **réversibles**.

Exemple : la **phosphorylation** (processus permettant *l'activation* ou *l'inhibition* d'une enzyme dans une voie métabolique)

C'est aussi une modification **post-traductionnelle** où un Phosphate est transféré à partir d'un ATP (généralement) sur un groupement -OH d'une *Sérine, Tyrosine ou Thréonine*.

Les enzymes responsables de la phosphorylation sont **les Kinases**.

Les enzymes responsables de la déphosphorylation sont **les Phosphatases**.

Les Enzymes Allostériques

Ces enzymes ne répondent pas aux lois de Michaelis et Menten et possèdent :

- Un site actif
- Un site **régulateur** permettant l'activité **réversible** d'un régulateur/effecteur.

Ces effecteurs **ne participent pas** à la catalyse.

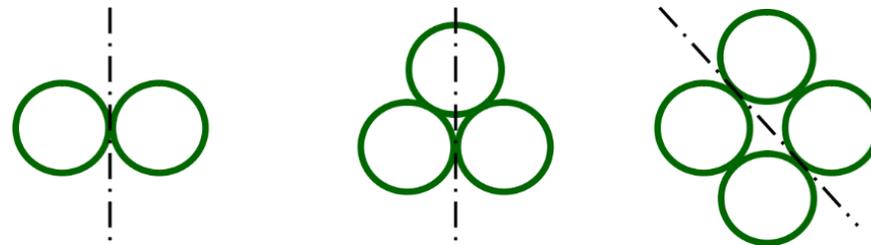
Ils modifient la conformation de l'enzyme ce qui influence son action provoquant soit une **augmentation** de l'activité enzymatique soit une **diminution**.

Les modulateurs allostériques (effecteurs) vont se fixer sur le site régulateur par des liaisons **non covalentes** et **réversibles**.

Les enzymes allostériques

Les propriétés :

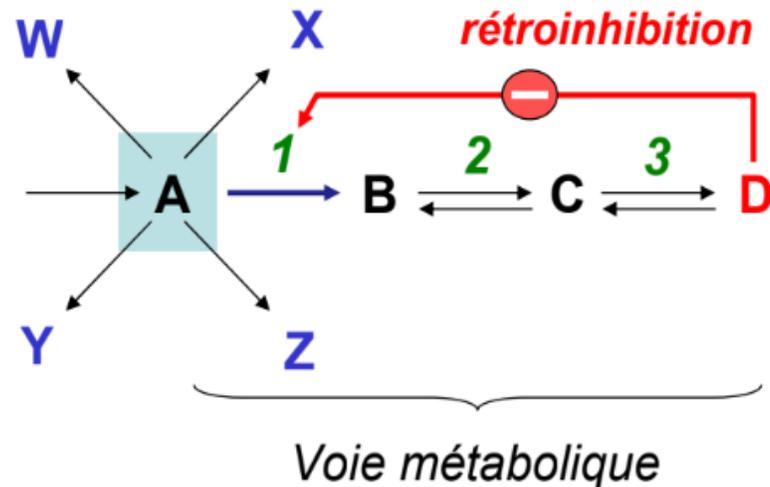
- Leur structure est **quaternaire**, sous forme **oligomérique** avec une symétrie
- Leur variation de conformation dépend du **taux d'occupation** des sites de liaison
- Leur cinétique enzymatique est **non michaelienne**
- Leur rôle est **essentiel** dans la **régulation** du métabolisme



La Rétro-inhibition

Dans ce type de régulation, la concentration du produit final va **contrôler** sa **propre** synthèse.

Ce processus de rétro-inhibition est **indépendant** de la concentration des intermédiaires (B,C) de réaction.



Enzyme Clé



- Catalyse l'étape **d'engagement** dans une voie métabolique et contrôle cette voie
- Possède la vitesse de réaction **la plus lente**
- Est souvent la **première** enzyme de la chaîne
- S'adapte aux besoins, est **activée** pour augmenter la concentration du produit final ou **inhibée** pour diminuer cette concentration selon le processus de **rétro-inhibition**.

QCM

- A. L'étape limitante correspond à l'étape la plus rapide.
- B. Dans l'état pré-stationnaire, les enzymes sont saturées en substrat
- C. L'inhibiteur non compétitif se fixe obligatoirement après la fixation du substrat
- D. La régulation par covalence est un processus irréversible
- E. Tout es faux

Correction : E

- A. FAUX : L'étape limitante correspond à l'étape la plus ~~rapide~~ lente.
- B. FAUX : Dans l'état ~~pré-stationnaire~~, les enzymes sont saturées en substrat. C'est dans l'état stationnaire.
- C. FAUX : L'inhibiteur ~~non-compétitif~~ incompétitif se fixe obligatoirement après la fixation du substrat
- D. FAUX : La régulation par covalence est un processus ~~irréversible~~ réversible.
- E. VRAI : Tout es faux.