

Chapitre II. Coenzymes

Plan

- I. Rappels
- II. Définitions et propriétés
- III. Origine des coenzymes
- IV. Classification des coenzymes
- V. Coenzymes d'oxydoréduction
- VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

- Élément transféré
 - Est un groupe d'atomes, voire un groupement fonctionnel
 - N'est pas de l'hydrogène, de l'oxygène ou de l'eau`
- Trois grands groupes:
 - Transfert de phosphate ou de nucléotides
 - Transfert d'élément carbonés
 - Transfert d'éléments aminés

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Les coenzymes de transfert de groupement d'atomes:

de CO₂:

1. La biotine

de groupements mono-carbonés autres que CO₂:

2. L'acide tétrahydrofolique (THF)

3. Les coenzymes B₁₂ ou cobalamines

de groupements pluricarbonés:

4. Le coenzyme A (CoA)

5. Le pyrophosphate de thiamine (TPP)

autres:

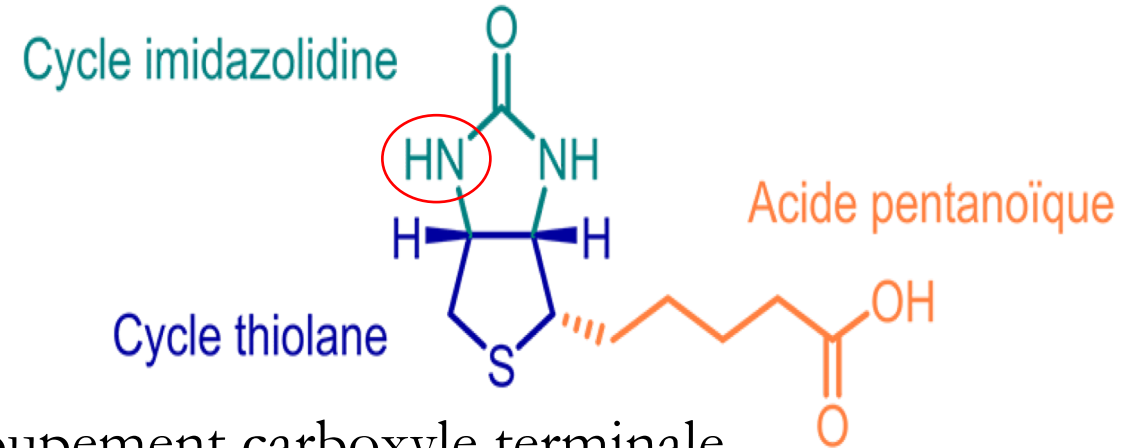
6. Le phosphate de pyridoxal (Ppal)

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

La biotine

Structure

- Noyau imidazole
- Noyau thiophène
- **Acide pentanoïque**: Chaîne latérale à groupement carboxyle terminale



Origine vitaminique

- Biotine est la **vitamine H** ou **B₈** synthétisé par les bactéries intestinales et les végétaux.

Partie active

La partie active est **N1'** du **Noyau Imidazole**
= **Groupement prosthétique** qui fixe réversiblement une molécule de CO₂

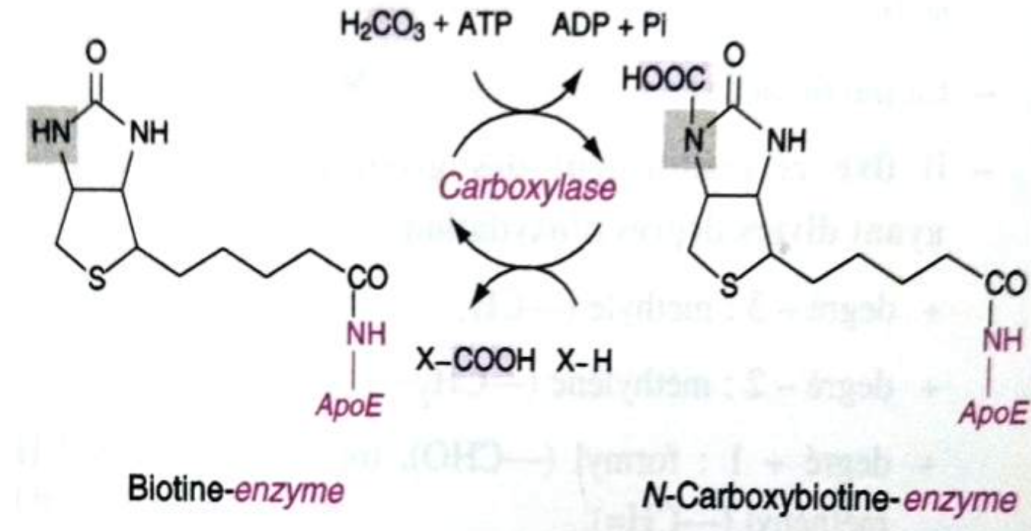
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

La biotine

Fonctionnement

En présence de l'ATP, un groupement carboxyle est fixé sur le N-1 de la biotine, transformée en intermédiaire activé, la N-carboxybiotine, véritable "CO₂ actif"

Le groupement carboxyle est ensuite transféré au substrat lors de la réaction de carboxylation



Réactions

La biotine est le **GP** des carboxylases:

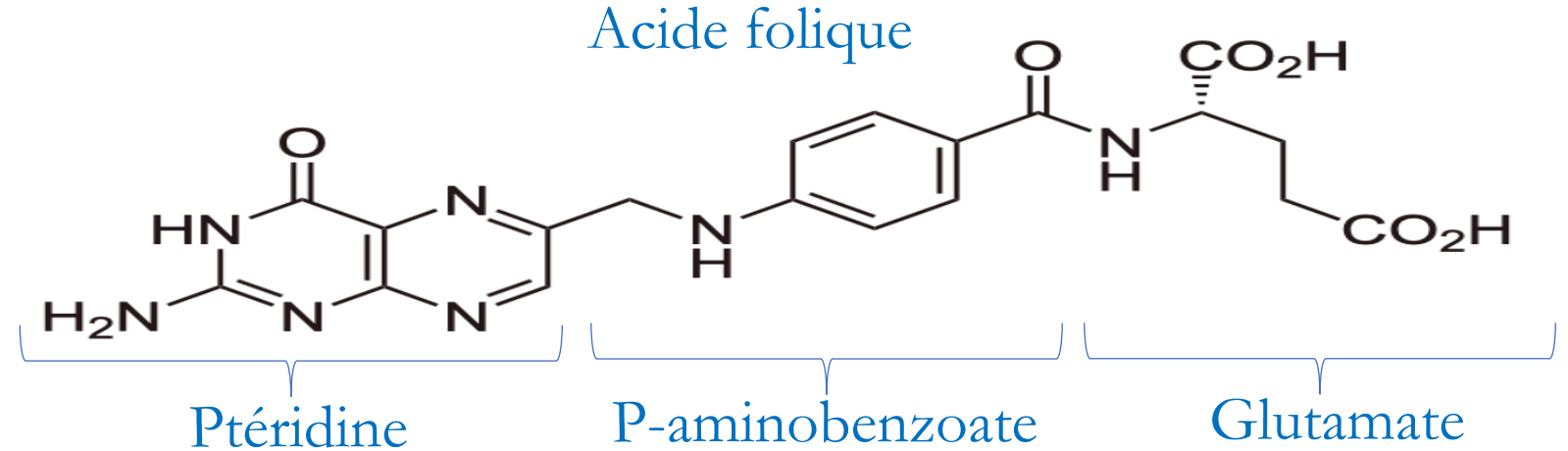
- Pyruvate carboxylase
- Acétyl - CoA carboxylase
- Propionyl CoA carboxylase

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

L'acide tétrahydrofolique (THF)

Structure

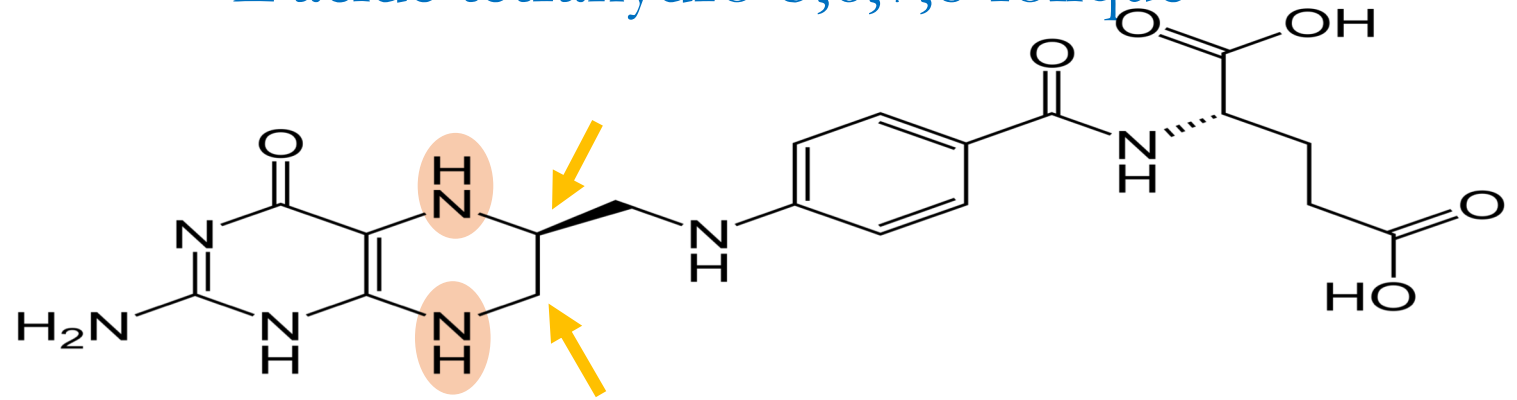
Dérivé tétrahydrogéné au niveau du noyau ptéridine de l'acide folique



Origine Vitaminique

Vitamine B₉ = Acide folique

L'acide tétrahydro-5,6,7,8 folique

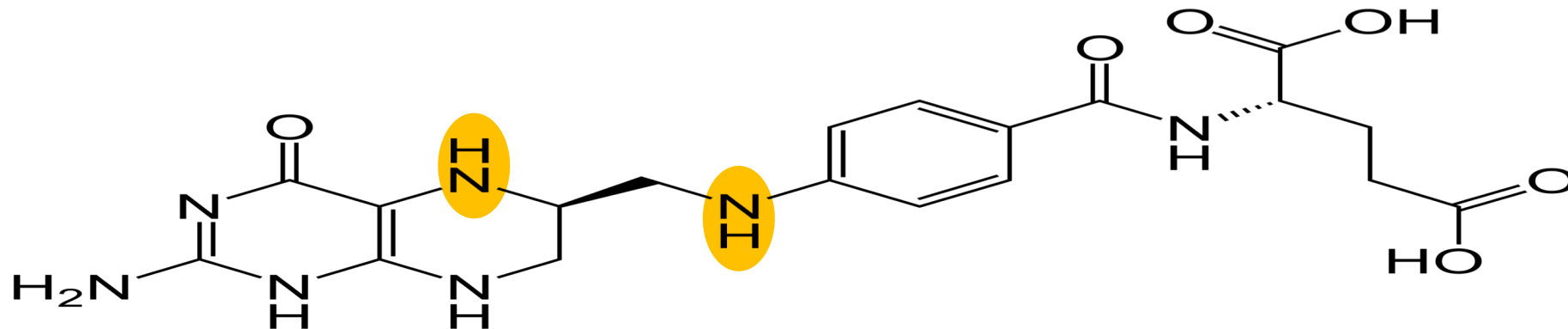


VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

L'acide tétrahydrofolique (THF)

Partie active

- Partie active est l'ensemble de N5 et N10
- Il fixe réversiblement des groupements monocarbonés (autre que le CO_2) ayant divers degrés d'oxydation, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CHO}$, $-\text{CH}=\text{NH}$, $-\text{CH}=\text{}$, et d'interconversion de ces unités.

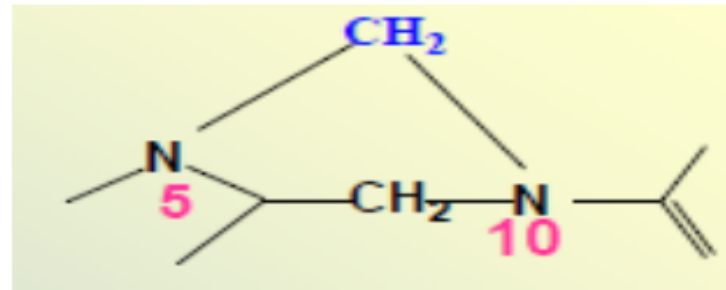


VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

L'acide tétrahydrofolique (THF)

Mécanisme de fonctionnement

Les groupements monocarbonés sont liés au THF par N5, N10, ou par les deux.



Réactions

Ce sont des donneurs de groupement monocarboné dans de nombreuses réactions de synthèse:

- Trans-méthylation de l'homocystéine en méthionine
- Conversion de la serine en glycine
- Métabolisme de l'histidine

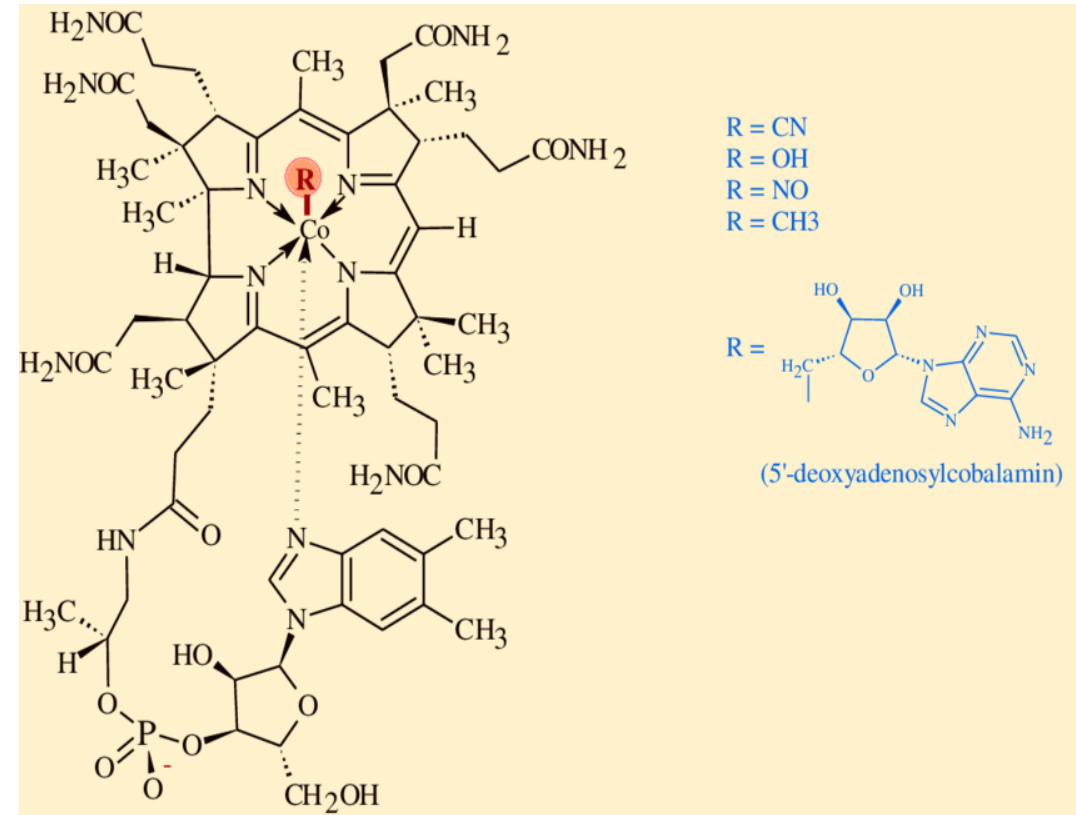
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Cobalamine (Coenzyme B₁₂)

Structure

Les coenzymes B₁₂ ont une structure complexe formée :

- d'un cycle corrine à 4 noyaux pyrroliques unis par 3 ponts carbonés avec nombreux substituants, centré sur un ion cobalt mono-, di- ou trivalent.
- d'un pseudo-nucléotide (5,6-diméthylbenzimidazol (base); groupement phosphate en C-3' lié à la chaîne latérale en C7 de l'anneau tétrapyrrolique.



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Cobalamine (Coenzyme B₁₂)

Origine vitaminique

Vitamine B12, synthétisé par les bactéries intestinales

Fonctionnement

Partie active = Ion Cobalt

Réactions

Deux coenzymes:

- 5'-désoxyadénosylcobalamine (mitochondriale): CoE de réaction d'isomérisation méthyl malonyl CoA en succinyl CoA (métabolisme des lipides)
- Méthylcobalamine (cytoplasmique) réaction de transfert de méthyl:
 - de l'homocystéine en méthionine
 - du méthyl THF en THF

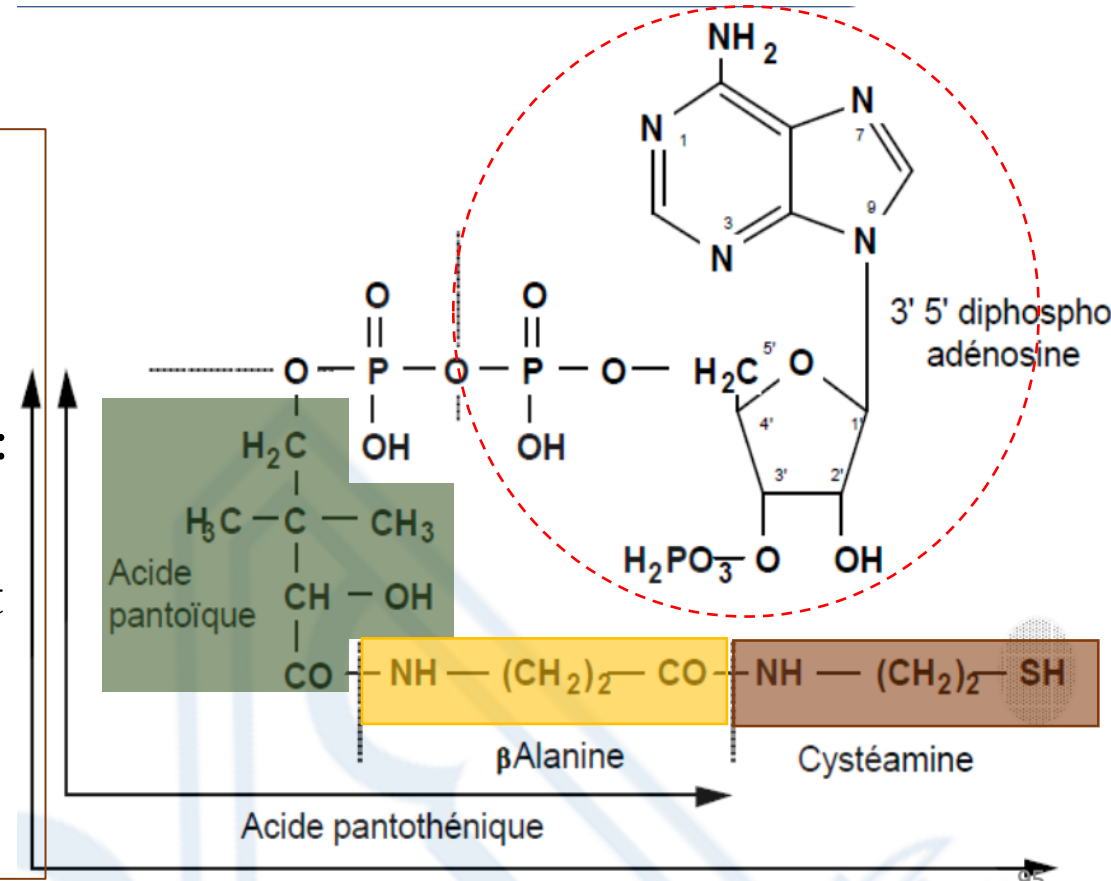
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le Coenzyme A: Coenzyme d'Acylation

Structure

Le coenzyme A (CoA) formé, unis par une liaison phosphodiester:

- d'un nucléotide, le **3' phospho-AMP**
- et de la phosphopantéthéine, elle-même formée:
 - d'un groupement phosphoryle
 - de l'acide pantothénique (acide pantoïque et β -alanine unis par une liaison amide)
 - et de la cystéamine unie au précédent par une liaison amide



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

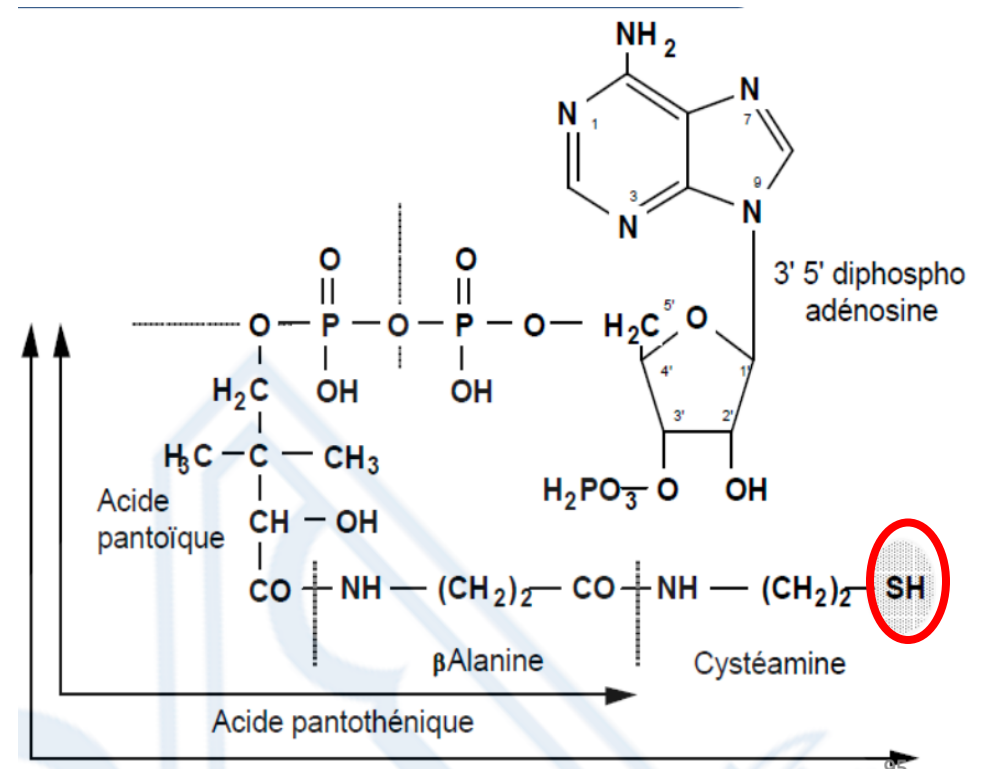
Le Coenzyme A: CoE d'Acylation

Origine vitaminique

L'acide pantothénique est la **vitamine B₅**

Partie active

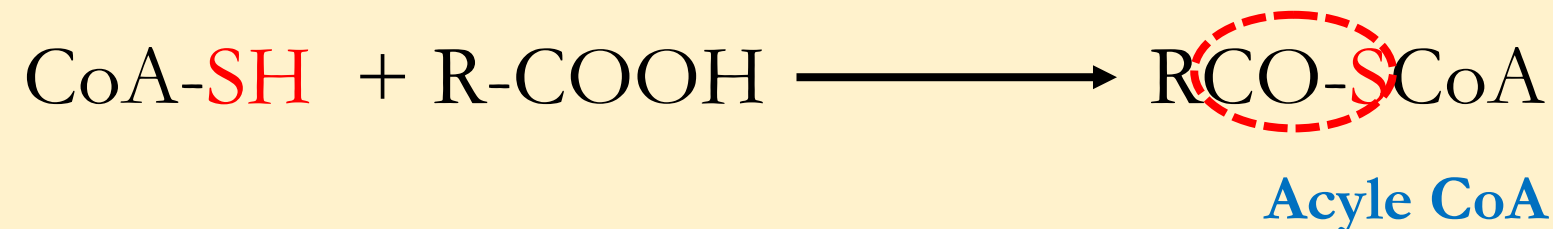
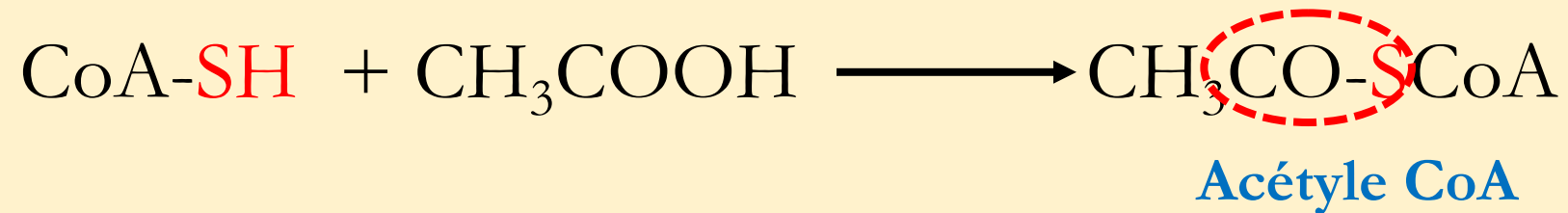
- Est le groupement sulfhydryle (SH) de la cystéamine, d'où abréviation CoA SH.
- Transporte en les activant les groupements acyl (R—CO—) et acétyle.



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le Coenzyme A: CoE d'Acylation Fonctionnement

La fixation du groupement carbonyle de l'acyle sur le groupement sulfhydrile crée une liaison thioester à haut potentiel de transfert d'acyle



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le Coenzyme A: CoE d'Acylation

Réactions

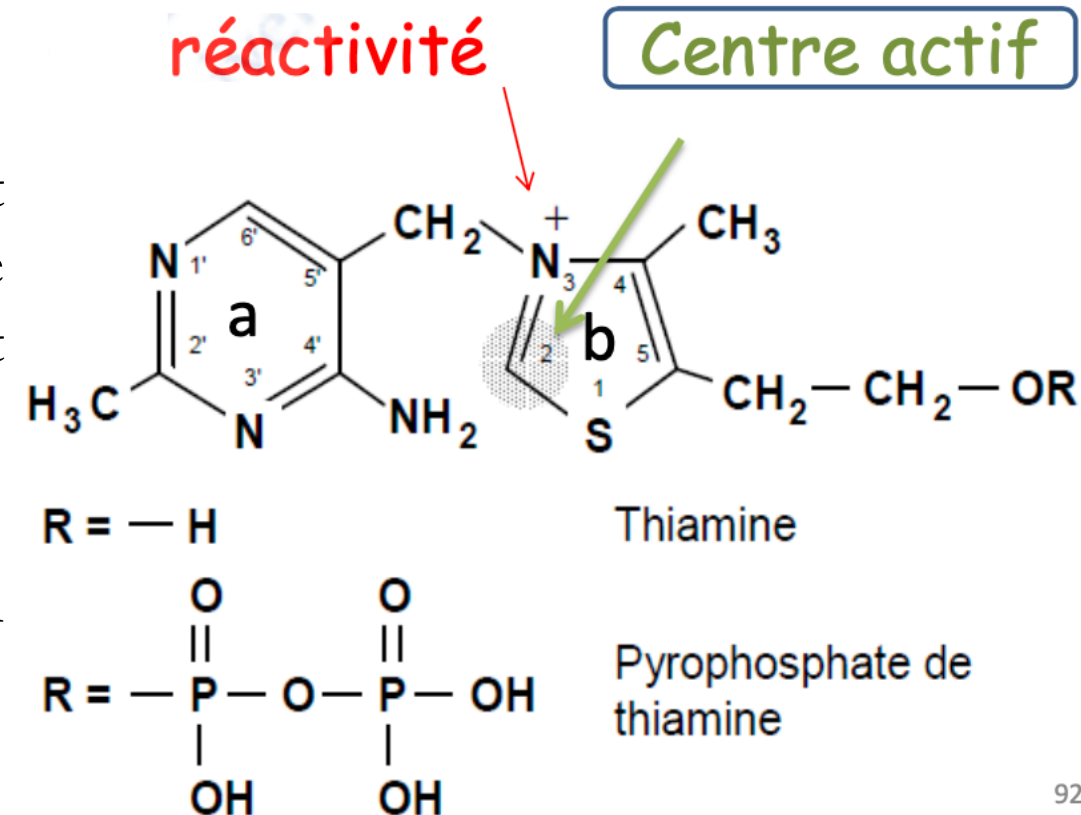
- de production des acyl-CoA
 - Formation d'acétyl-CoA: β -oxydation et décarboxylation oxydative du pyruvate
 - Activation des acides gras en présence d'ATP
- d'utilisation des acyl-CoA
 - Dans la mitochondrie: cycle de Krebs
 - Synthèse des acides gras en présence d'ATP

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le pyrophosphate de thiamine (TPP) CoE de décarboxylation

Structure

- Est une pyrimidine substituée (a) unis par un pont méthylène à un thiazole substitué (b) porteur d'une chaîne éthanolique estérifiés par un groupement pyroyphosphorylé
- La **partie active** est le C-2 du noyau thiazole
- Fonctionnement: GP, c'est le CoE de décarboxylation des acides α cétonique
- Origine vitaminique: la thiamine est la **vitamine B₁**



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le pyrophosphate de thiamine (TPP)

Réactions

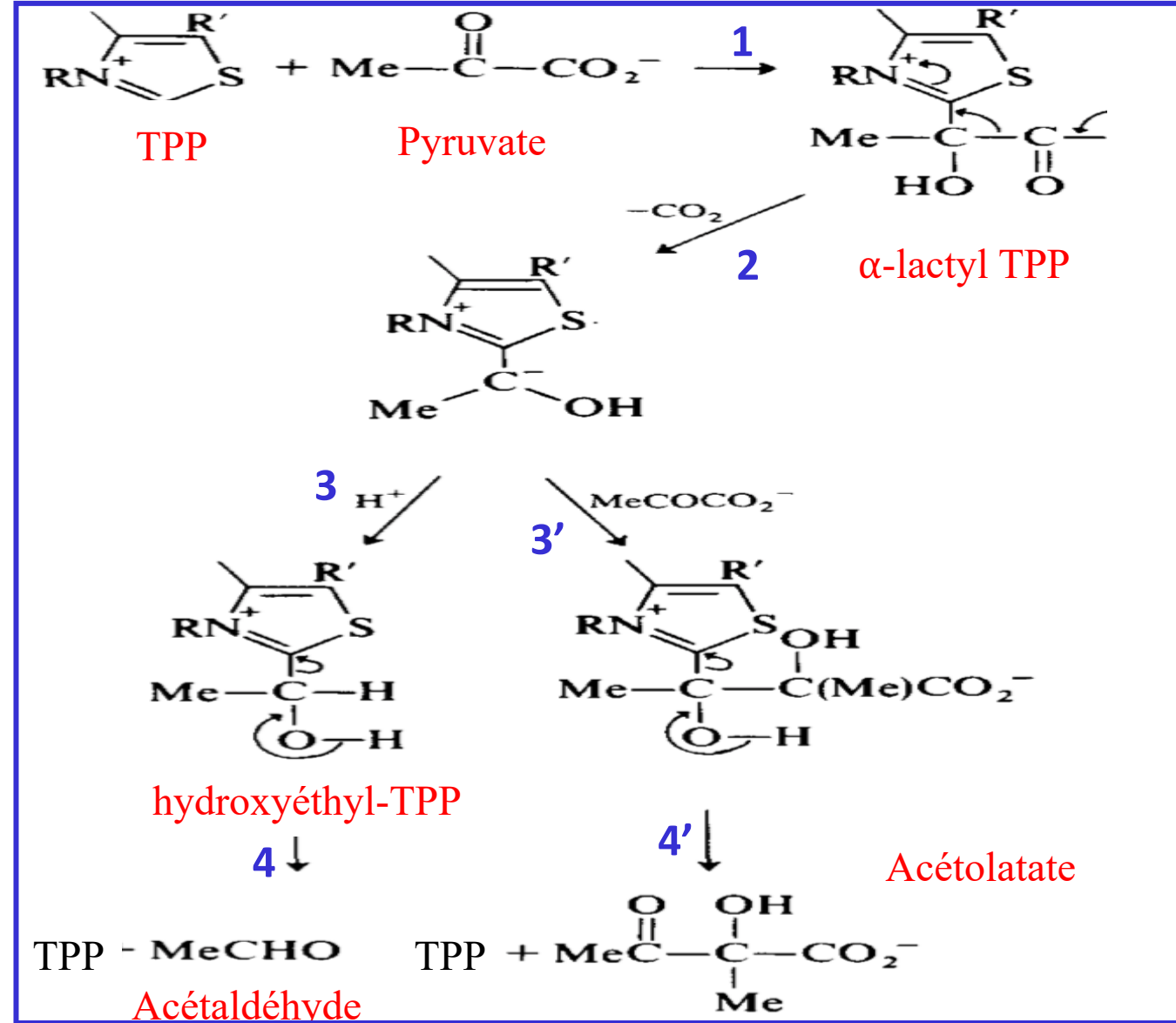
Le TPP est le coenzyme:

- des réactions de décarboxylation non oxydative des acide α cétoniques
- des réactions de décarboxylation oxydatives des acides α cétoniques
- des réactions de transcétolisation: transfert des groupements 2-cétols ($\text{—CO —CH}_2\text{OH}$) d'un cétose à un aldose.

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Le pyrophosphate de thiamine (TPP) Fonctionnement

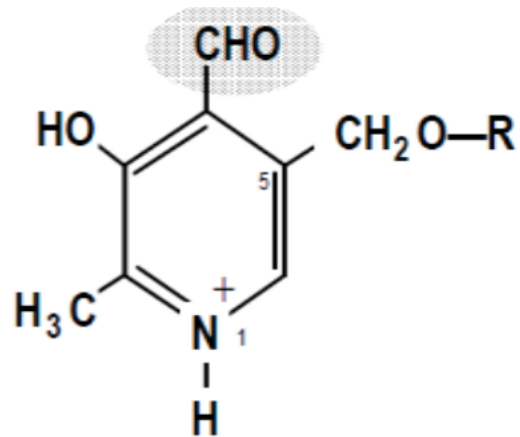
- 1- Condensation
- 2- décarboxylation
- 3- Protonation
- 4- Formation d'un acétaldéhyde
- 3'- condensation avec le pyruvate
- 4'- Formation d'un acétolactate



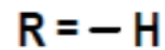
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Phosphate de pyridoxal (PP)

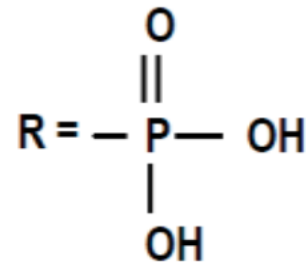
Structure



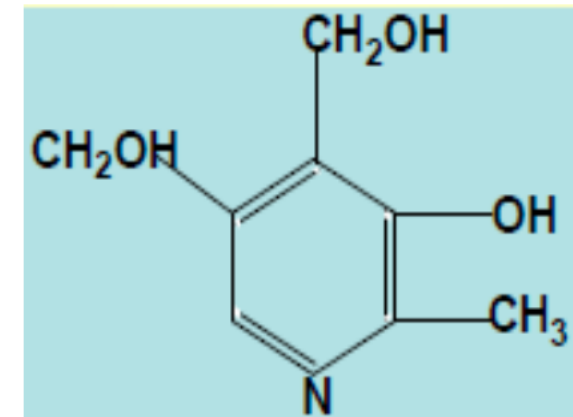
Dérive de la pyridoxine



Pyridoxal



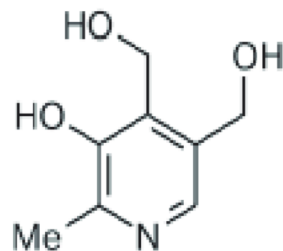
Pyridoxal phosphate



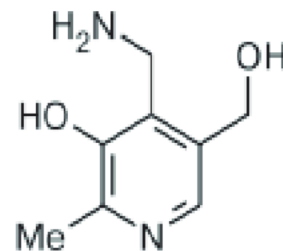
Pyridoxine

Origine :

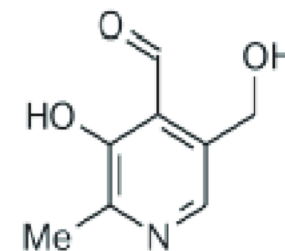
Vitamine B₆



Pyridoxine



Pyridoxamine



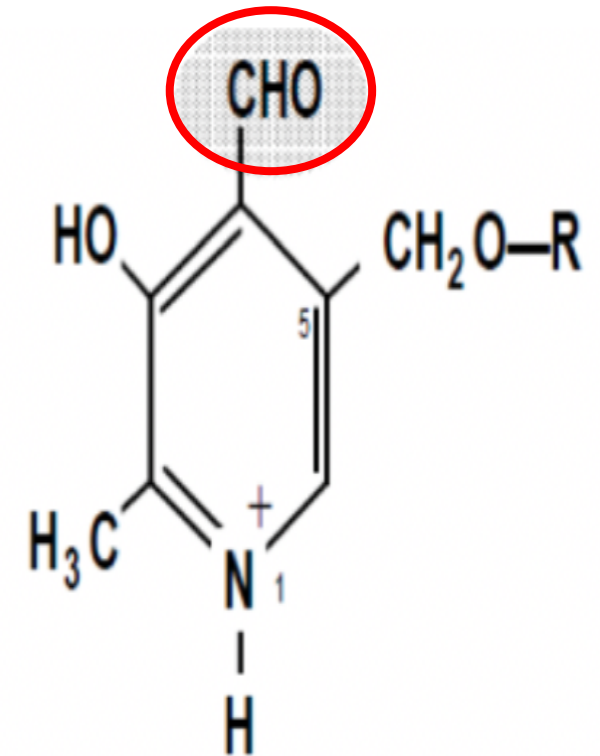
Pyridoxal

VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Phosphate de pyridoxal (PP)

Fonctionnement

- La partie active est l'atome de C aldéhydique porté par le C 4
- GP, Coenzyme de transport des groupement aminés, CoE du métabolisme des AA
- La formation d'une base de Schiff entre le groupement aldéhydique et le groupement aminé d'un acide aminé et libération d'une amine par décarboxylation ou un acide α -cétonique par transamination.



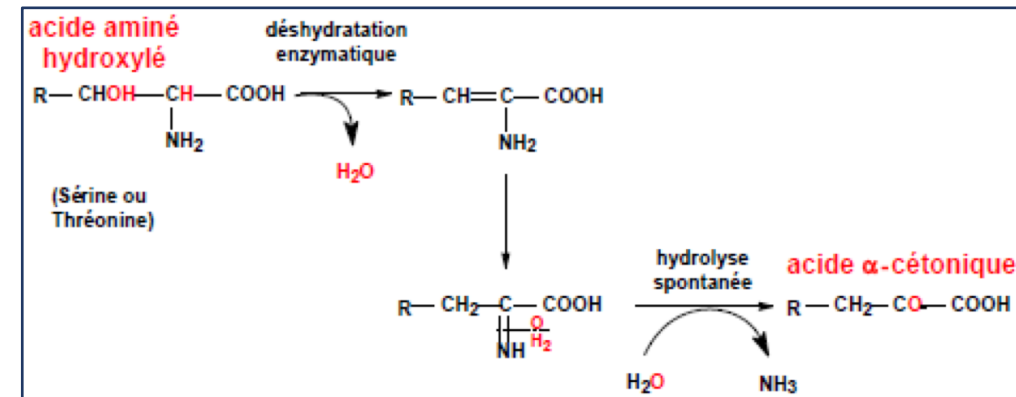
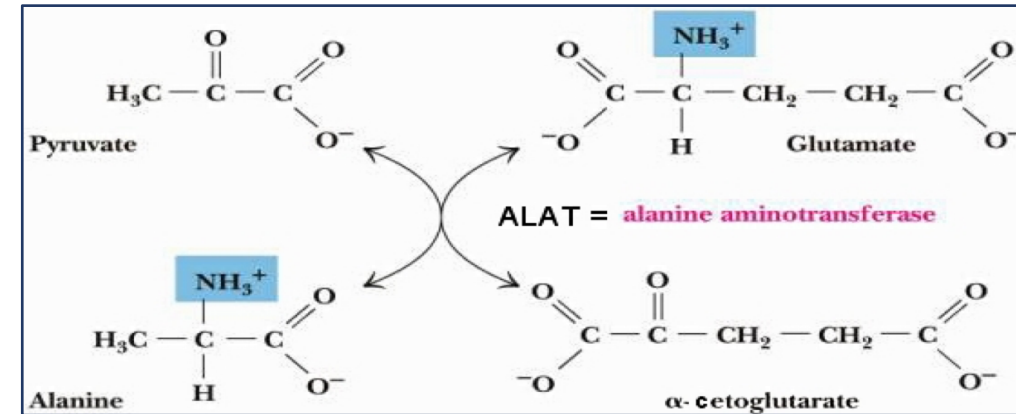
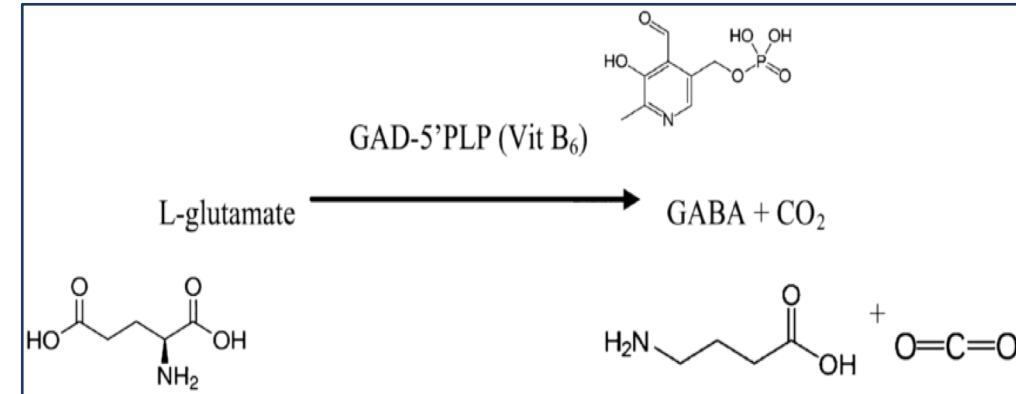
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Phosphate de pyridoxal (PP)

Réactions

PP = CoE à tous faire du métabolisme des AA

- Réaction de décarboxylation catalysée par des décarboxylases
- Réaction de transamination catalysée par des transaminases
- Réaction de désamination non oxydative catalysée par des déshydratases



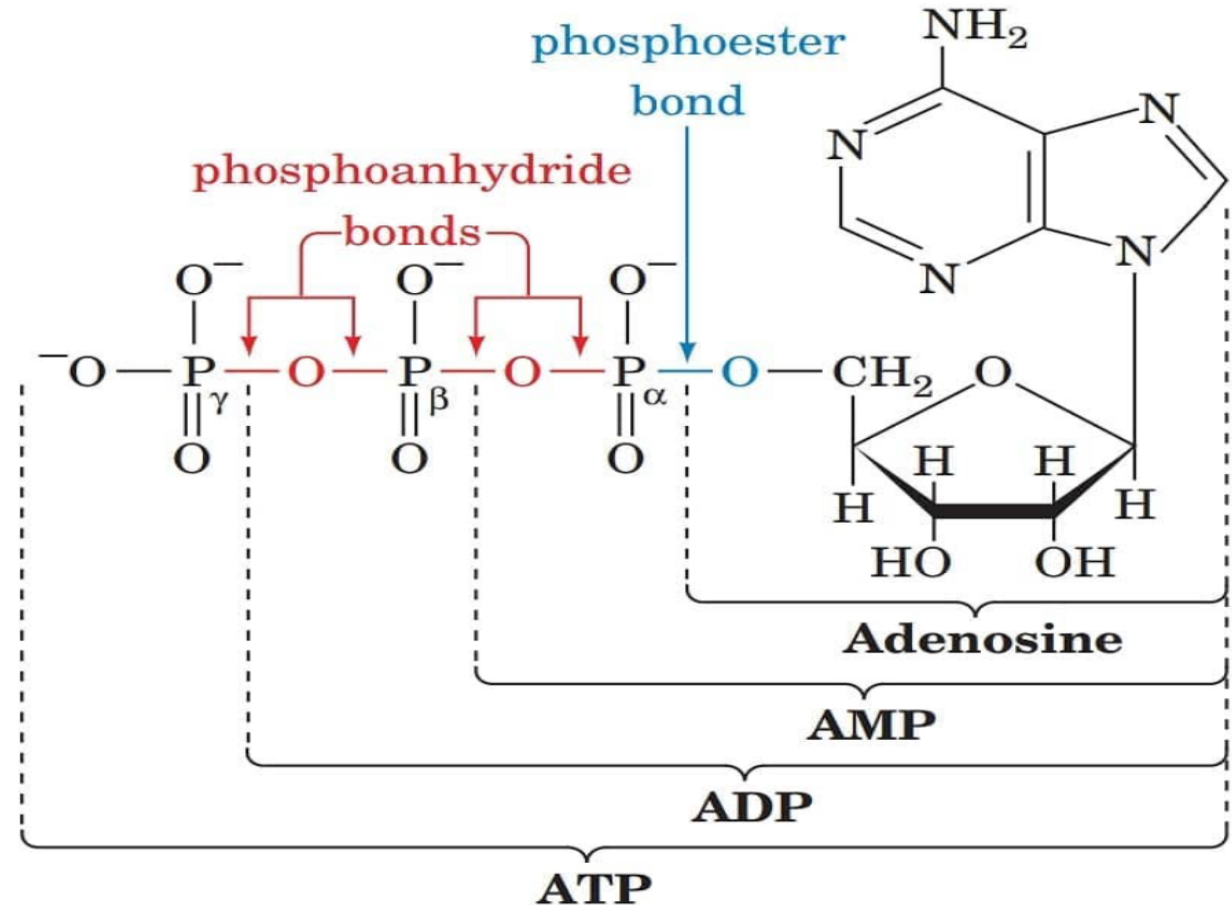
VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

Coenzyme nucléotidique (ATP)

Structure

Base- sucre- P

- Bases: adénine
- Sucre: β -D ribose
- 1, 2 ou 3 groupe phosphoryle: AMP, ADP, **ATP**



VI. Coenzymes de transfert de groupement d'atome

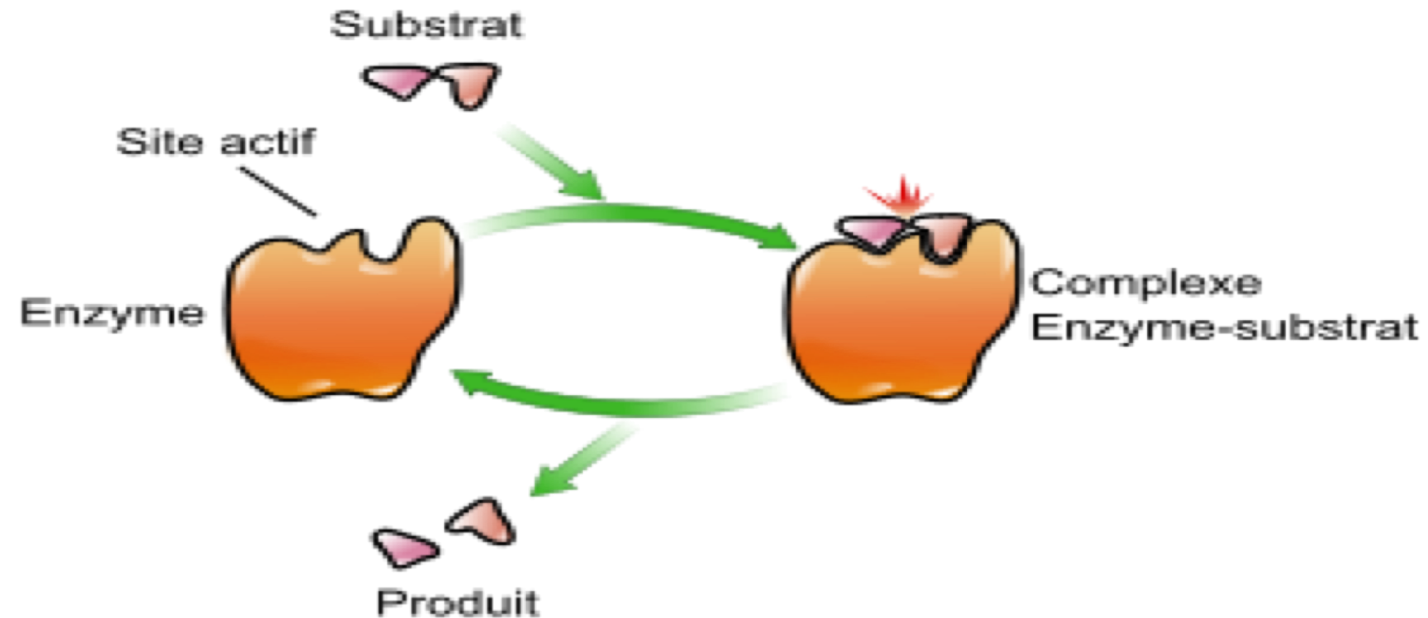
Coenzyme Nucléotidique (ATP)

Vitamine précurseur: **Aucune**

Principaux types de réaction

- Transfert de: phosphate, pyrophosphate, d'adénosine monophosphate
- Réactions d'activation et de transfert de biomolécules:
 - Des oses: UDP-oses et /ou GDP-oses
 - Des acides aminés: aminoacyl-AMP
 - Des lipides: acyl-AMP

Chapitre III. Cinétique enzymatique



Chapitre III. Cinétique enzymatique

Objectifs



- 🎯 Définir la cinétique enzymatique
- 🎯 Définir V_{\max} et K_m
- 🎯 Représenter graphiquement la cinétique d'une enzyme
- 🎯 Démontrer l'influence des effecteurs sur la réaction enzymatique
- 🎯 Différencier une E allostérique d'une E michaélienne

Chapitre III. Cinétique enzymatique

Plan

- I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique
- II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique
- III. Cinétique des réactions enzymatiques à un seul substrat
- IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique
- V. Enzymes et effecteurs allostérique

Chapitre III. Cinétique enzymatique

Plan

- I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique
- II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique
- III. Cinétique des réactions enzymatiques à un seul substrat
- IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique
- V. Enzymes et effecteurs allostérique

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

- Chaque réaction a son propre rythme (vitesse)
- La vitesse d'une réaction chimique dépend de deux éléments:
 - La constante de vitesse (k) qui est différente pour chaque type de réaction et dépend de la température
 - La concentration des réactif

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Théorie de collision et loi de van't Hoff



- Mais, la vitesse d'une réaction **n'est pas toujours indirectement proportionnelle** à la concentration des réactifs.

Exemple: doubler la concentration des réactifs ne double pas nécessairement la vitesse de réaction.

- L'effet d'une hausse de concentration des réactifs dépend du **type de réaction** chimique et de **la nature des réactifs**.

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Vitesse d'une réaction chimique

Van't Hoff a conclu que : $V = k [A] [B]$

k est le coefficient de vitesse qui dépend de la réaction considérée et de la température

Expérimentalement, cette relation n'est pas suivie pour la plupart des réactions et que l'influence de la **concentration** sur la **vitesse** dépend de l'**ordre de la réaction**:

Pour une réaction chimique: $\alpha A + \beta B \rightarrow \gamma C + \delta D$

La loi de vitesse de réaction est : $V = k [A]^p [B]^q$ on dit que la réaction admet un ordre

v : vitesse de réaction (mol/L·s)

k : constante de vitesse (unités variables)

$[A],[B]$: concentration des réactifs A et B (mol/L)

p : ordre de réaction du réactif A

q : ordre de réaction du réactif B

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Ordre d'une réaction

- Définition:
 - L'**ordre d'une réaction** est la relation entre la concentration d'un ou de plusieurs réactifs et la vitesse.
 - C'est un nombre **déterminé expérimentalement** qui indique avec quelle intensité une variation de la concentration influence la vitesse de la réaction chimique.
 - Plus un ordre de réaction est élevé, plus la vitesse de la réaction est sensible à une variation de la concentration du réactif.
 - Pour déterminer l'ordre de réaction d'un réactif, on reproduit une réaction chimique en faisant varier seulement la concentration initiale du réactif qui nous intéresse (ordre partiel).

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Ordre d'une réaction

L'ordre globale de la réaction: $\alpha A + \beta B \rightarrow \gamma C + \delta D$

Loi de vitesse : $V = k[A]^p[B]^q$

Est la somme des exposants p et q.

p : ordre partiel de la réaction par rapport à l'espèce A

q : ordre partiel de la réaction par rapport à l'espèce B

- L'équation donnant la vitesse de réaction se réduit alors à:

$$v = - d[A]/dt = k [A]^p \quad (p = 0, 1, \text{ ou } 2)$$

- Ordre zéro: $p = 0$
- Ordre un: $p = 1$
- Ordre deux: $p = 2$

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

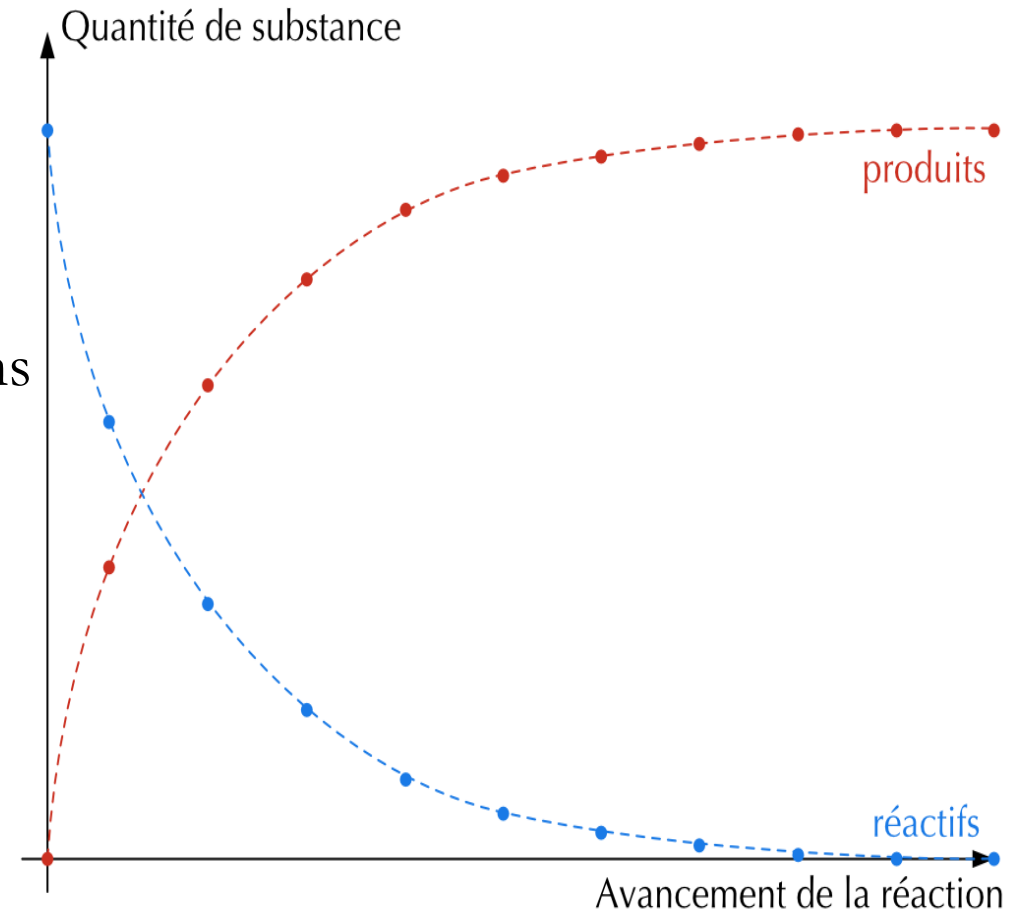


- Loi de vitesse: $V = k [\text{réactif}]$
- Mais aussi, la vitesse est variation des concentrations de réactif ou de produit dans le temps:

$$V = \frac{\Delta \text{ concentration}}{\Delta \text{ temps}}$$

$$V = - \frac{\Delta |\text{réactif}|}{\Delta \text{ temps}} \quad V = + \frac{\Delta |\text{produit}|}{\Delta \text{ temps}}$$

$$V = - \frac{d [\text{réactif}]}{dt} = + \frac{d [\text{produit}]}{dt}$$



I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Ordre d'une réaction

Il existe plusieurs méthodes dont trois assez courantes :

- Méthode intégrale
- Méthode différentielle
- Méthode du temps de demi-réaction

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Ordre d'une réaction : Réaction d'ordre zéro: $p = 0$

Réaction élémentaire $A \longrightarrow P$

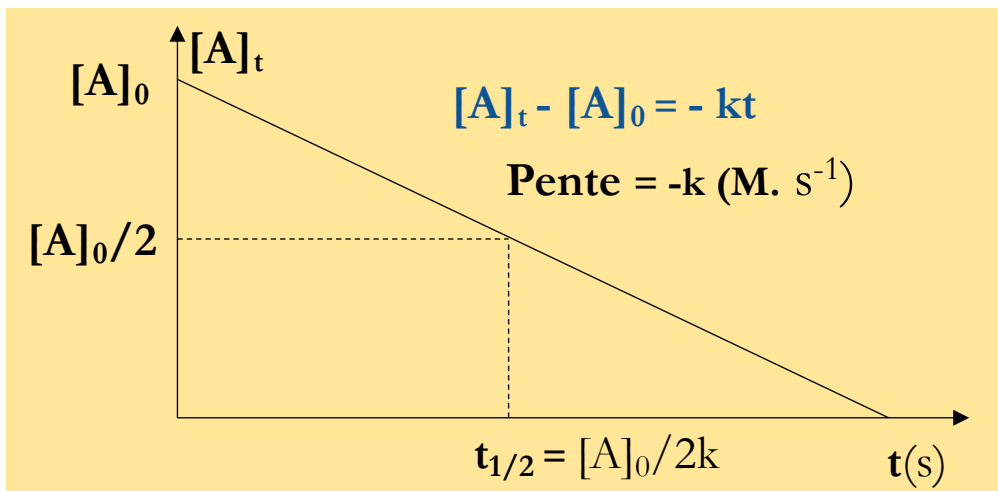
Loi de vitesse: $v = -d[A]/dt = k [A]^p = k [A]^0$; avec $p = 0$, indépendant de la concentration
 $-d[A]/dt = k$ ou $d[A] = -k dt$

On intègre entre l'instant $t = 0$ et l'instant t : (avec, à $t = 0$, $[A] = [A]_0$)

$$\int_{[A]_0}^{[A]_t} d[A] = -k \int_{t=0}^t dt$$

$[A]_t - [A]_0 = -kt$, ou $[A]_0$ est la concentration de Q à l'instant t_0

L'équation de vitesse d'ordre zéro: $[A]_t = [A]_0 - kt$



Temps de demi-réaction: $t_{1/2}$

$$[A]_t = [A]_0 - kt$$

Si $t = t_{1/2}$ et $[A]_t = [A]_0/2$

$$[A]_0/2 = [A]_0 - kt_{1/2}$$

$$t_{1/2} = [A]_0/2k$$

$$K: \text{mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

Le temps de demi-réaction est dépendant de la concentration initiale

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Réaction d'ordre 1: $p = 1$

Soit la réaction $A \longrightarrow P$

Si la réaction est d'ordre 1 par rapport à A, la vitesse de réaction s'écrit:

$$v = -d[A]/dt = k [A]^1, v \text{ (mol. L}^{-1}\text{.s}^{-1}\text{)}, k \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

Séparons les variables A et t: $d[A]/[A] = -k dt$

Intégrons entre 0 et t: (avec, à $t = 0$, $[A] = [A]_0$)

$$\int_{[A]_0}^{[A]_t} d[A]/[A] = -k \int_{t=0}^t dt = -k \cdot t$$

$$\int_{[A]_0}^{[A]_t} 1/[A] \cdot d[A] = -k \int_{t=0}^t dt = -k \cdot t$$

$$[\text{Ln } [A]]_{[A]_0}^{[A]_t} = \text{Ln } [A]_t - \text{Ln } [A]_0 = -k \cdot t$$

$$\text{Ln } [A]_t - \text{Ln } [A]_0 = -k \cdot t$$

$$\text{Ln } ([A]_t/[A]_0) = -k \cdot t \quad \text{d'où } \text{Ln } [A]_0 - kt \quad k(\text{s}^{-1})$$

$$[A]_t = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Réaction d'ordre 1: $p = 1$

Temps de demi-réaction

$$\text{Ln } [A]_t = \text{Ln } [A]_0 - k.t, \text{ ou } \text{Ln}([A]_t/[A]_0) = - k.t$$

$$\text{à } t = t_{1/2} : [A]_t = [A]_0/2$$

$$\text{Ln}([A]_0/2)/[A]_0 = \text{Ln} (1/2) = - k. t_{1/2}$$

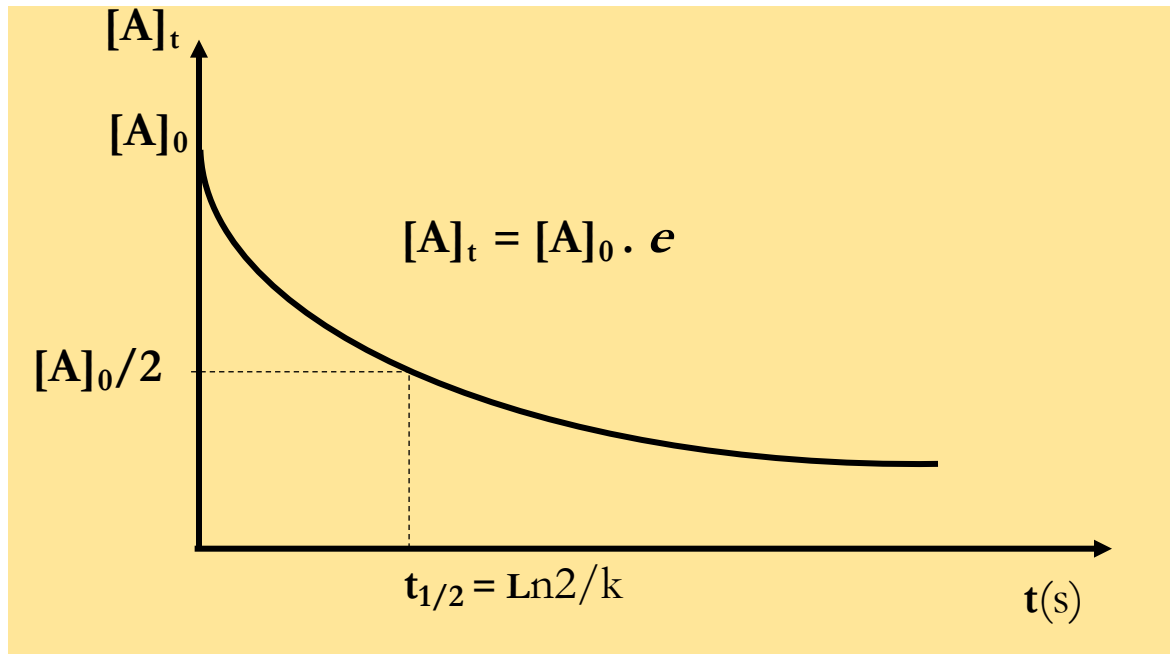
$$t_{1/2} = \text{Ln}2/k, \quad k \text{ en } \text{s}^{-1}$$

Pour la réaction d'ordre 1, le temps de demi-réaction est indépendante de la concentration initiale

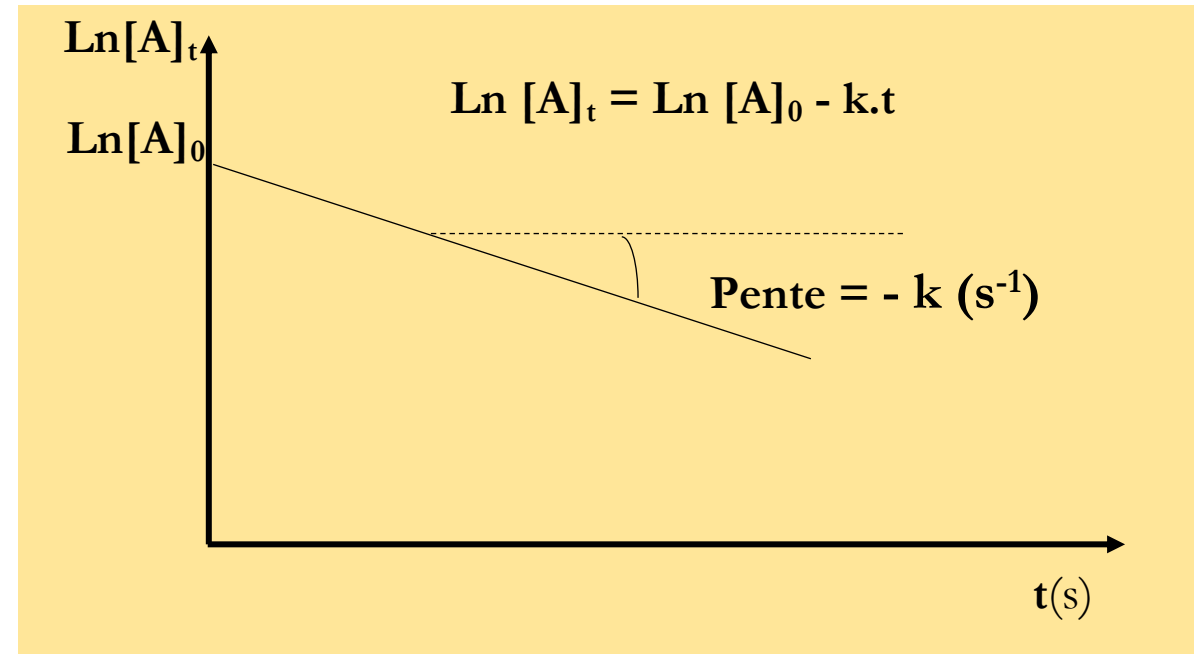
I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Réaction d'ordre 1: $p = 1$

$$[A]_t = [A]_0 \cdot e^{-k.t}$$



$$\ln [A]_t = \ln [A]_0 - k.t$$



Cinétique d'ordre 1

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Réaction d'ordre 2 : $p = 2$

L'équation de vitesse s'écrit:

$v = -d[A]/dt = k [A]^2$, séparons les variables A et t :

$$d[A]/[A]^2 = -k \cdot dt$$

Intégrons entre 0 et 1: (avec, à $t = 0$, $[A] = [A]_0$)

$$\int_{[A]_0}^{[A]_t} (d[A]/[A]^2) = -k \int_{t=0}^t dt = -k \cdot t \qquad \int_{[A]_0}^{[A]_t} [A]^{-2} \cdot d[A] = \frac{[A]^{-2+1}}{-2+1} = \frac{[A]^{-1}}{-1} = -\frac{1}{[A]}$$

$$\left[-\frac{1}{[A]} \right]_{[A]_0}^{[A]_t} = \frac{-1}{[A]_t} - \frac{-1}{[A]_0} = \frac{1}{[A]_0} - \frac{1}{[A]_t} = -k \cdot t$$

$$\frac{1}{[A]_t} = k \cdot t + \frac{1}{[A]_0}$$

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Réaction d'ordre 2: $p = 2$

Temps de demi-réaction:

$$\frac{1}{[A]_t} = k \cdot t + \frac{1}{[A]_0} \quad \text{à } t = t_{1/2}: [A]_t = [A]_0/2$$

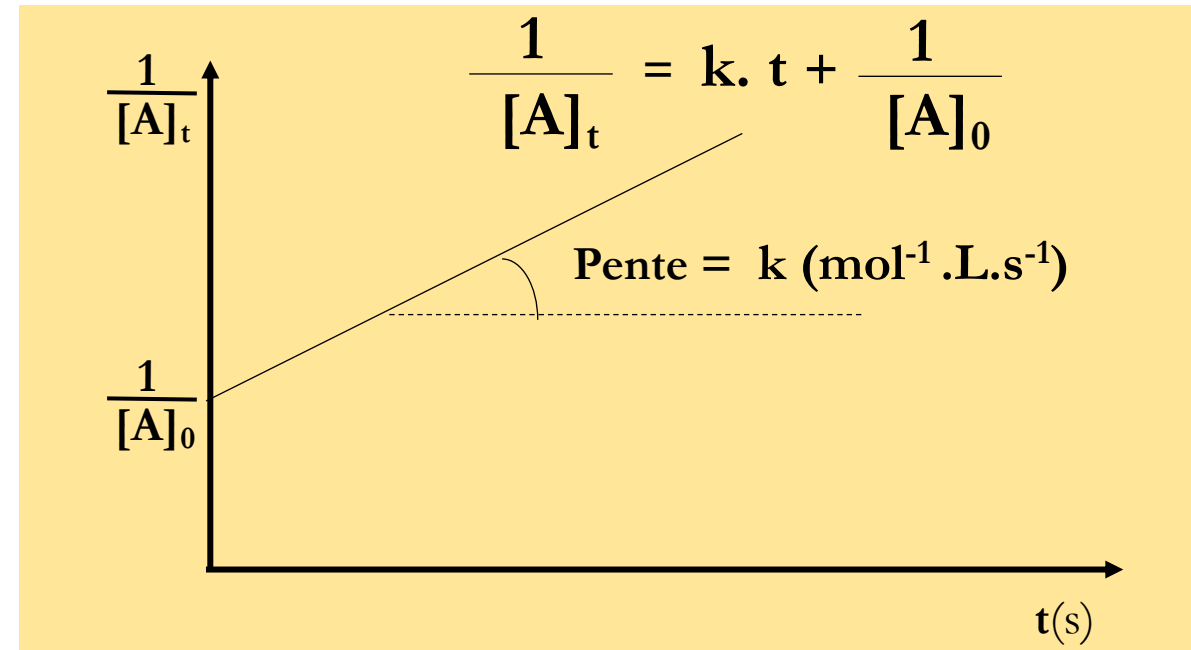
$$\frac{[A]_0}{2} = k \cdot t_{1/2} + \frac{1}{[A]_0}$$

$$\frac{1}{[A]_0} = k \cdot t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k \cdot [A]_0}$$

k ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)

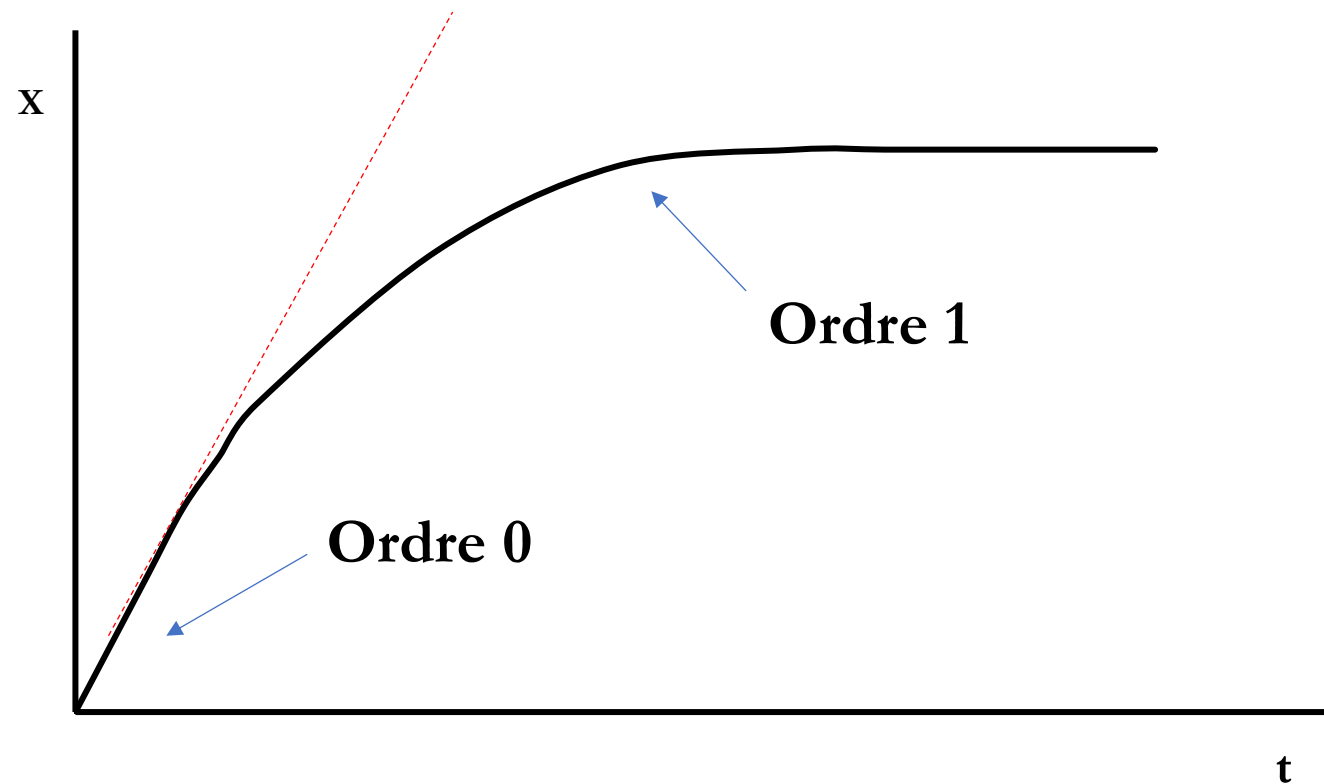
Le temps de demi-réaction est inversement proportionnel à la concentration initiale



Cinétique d'ordre 2

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

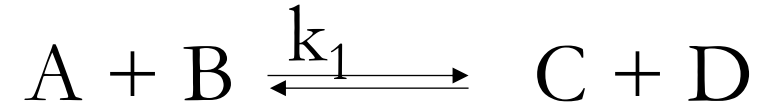
Dégénérescence de l'ordre d'une réaction



Quand un réactif est en très large excès on dit que l'ordre **est dégénéré** par rapport à ce réactif → Les variations de ce réactif n'ont aucune influence sur la vitesse de la réaction.

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Cas de réactions successives



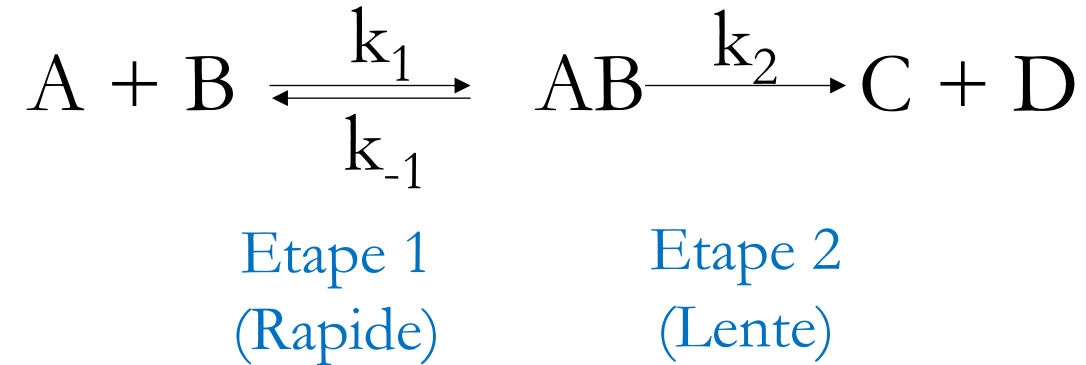
$V = k_1 [A] [B]$ normalement on a une réaction d'ordre 2

MAIS la réaction peut se comporter comme une réaction d'ordre 1

Explication: la réaction se déroule en deux étapes successives

I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique

Cas de réactions successives



Comme c'est l'étape lente qui limite la vitesse globale de la réaction

$$V = k_2 [AB] \longrightarrow \text{Ordre 1}$$

Chapitre III. Cinétique enzymatique

Plan

- I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique
- II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique
- III. Cinétique des réactions enzymatiques à un seul substrat
- IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique
- V. Enzymes et effecteurs allostérique

II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique

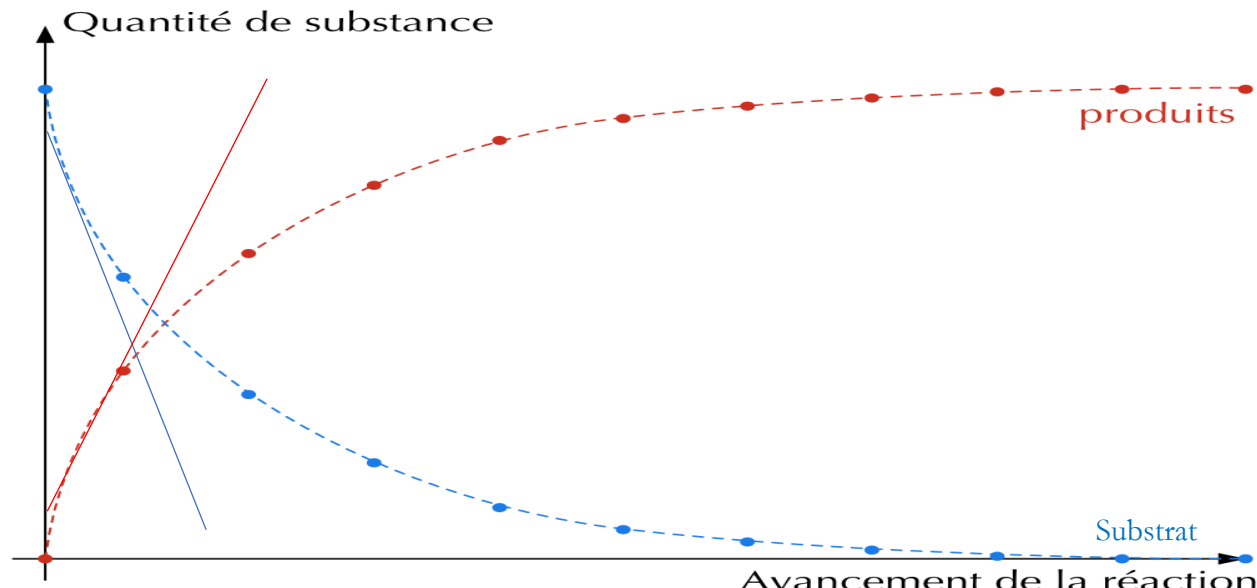
Le vitesse initiale de réaction enzymatique

Soit



La vitesse instantanée: quantité de S disparue ou la quantité de P apparue par unité de temps

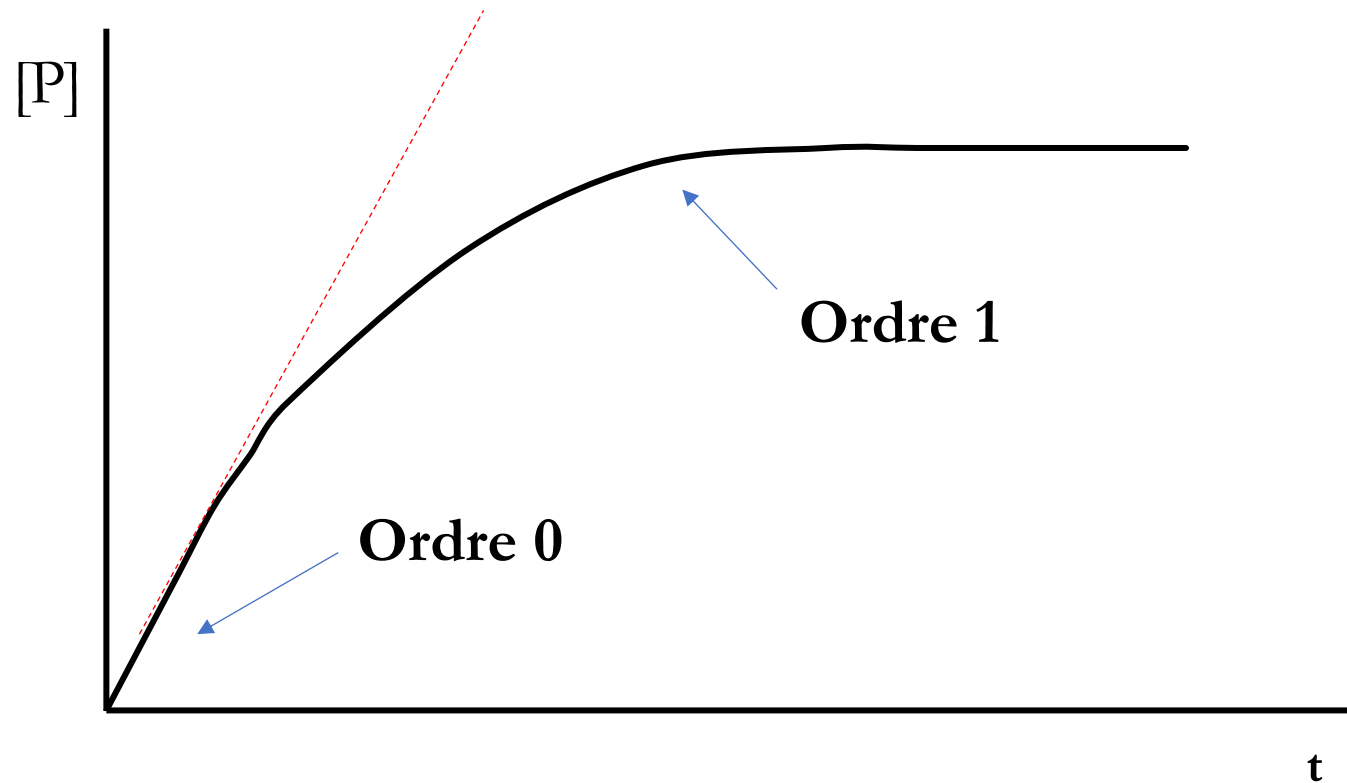
$$V = - \frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt} = k [S]$$



II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique

Ordre d'une réaction enzymatique

Généralement on ne peut donner un ordre à la réaction (ordre mixte)



An début de la réaction: $[S]$ est constante. \longrightarrow vitesse constante

Chapitre III. Cinétique enzymatique

Plan

- I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique
- II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique
- III. Cinétique des réactions enzymatiques à un seul substrat
- IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique
- V. Enzymes et effecteurs allostérique

III. Cinétique enzymatique

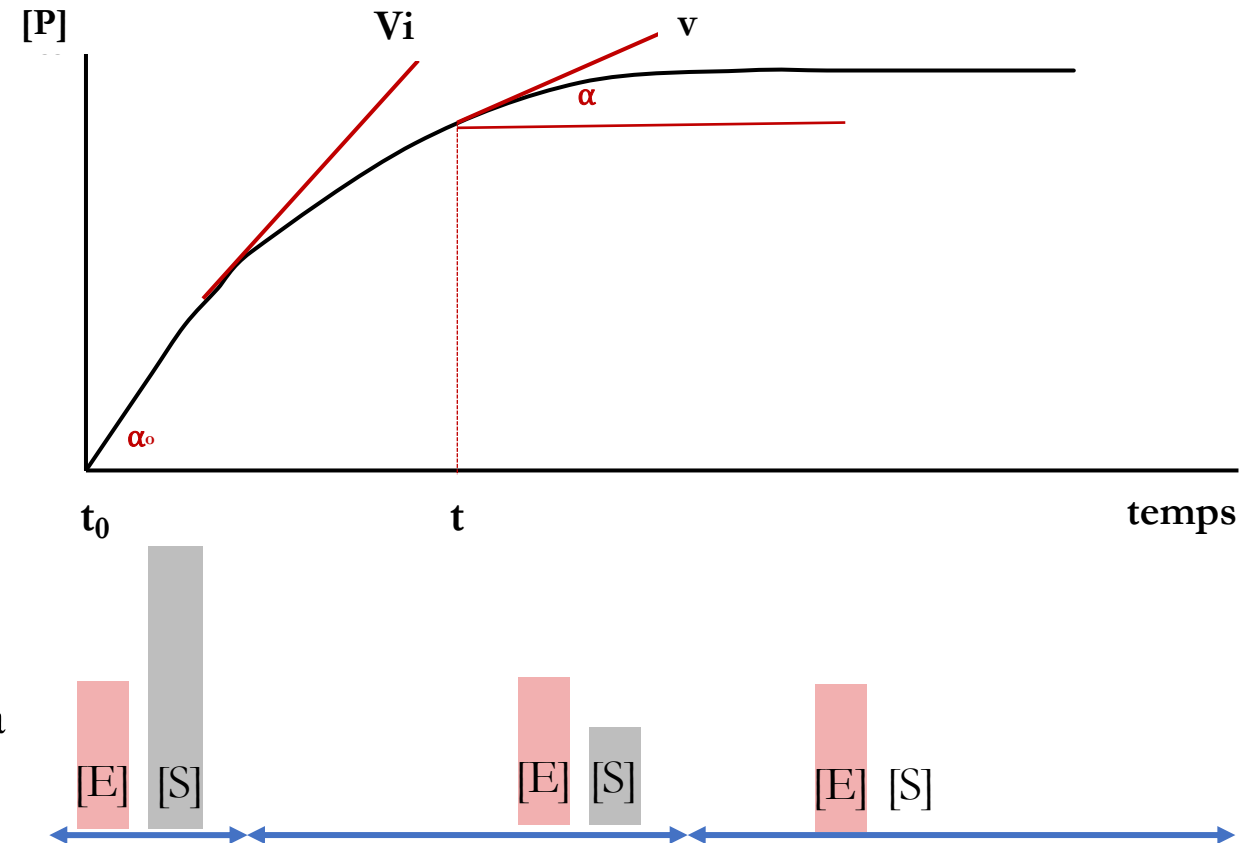
Le vitesse initiale de réaction

Pour des $[E]$ et de $[S]$ données, la courbe $[P] = f(t)$

Phase 1: linéaire ascendant: l'enzyme est saturé par son substrat, la vitesse est constante.

Phase 2: s'infléchit: l'enzyme n'est plus saturé par son substrat, la vitesse décroît.

Phase 3: devient horizontal: l'équilibre de la réaction est atteint et la vitesse est nulle.



À l'instant t , $v = tg \alpha$

À l'instant t_0 , v est maximal, c'est la vitesse initiale v_i de la réaction: $v_i = tg \alpha_0$

III. Cinétique enzymatique

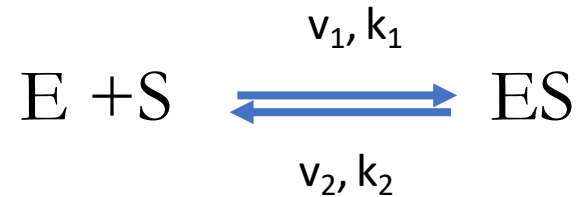
Le modèle de Michaelis-Menten

- L'équation de Michaelis-Menten



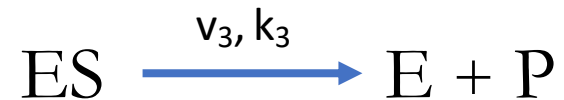
Se décompose en 2 temps:

- Formation du complexe enzyme-substrat, étape rapide et réversible:



v_1 et k_1 : vitesse et cst de formation du complexe ES
 v_2 et k_2 : vitesse et cst de dissociation du complexe ES

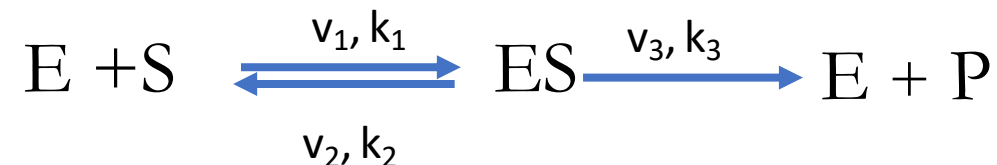
- Formation du produit P à partir complexe enzyme-substrat



v_3 et k_3 : vitesse et cst de formation du produit P

En vitesse initiale (en début de la réaction), [P] est assez faible pour que la réaction inverse soit négligeable

La réaction globale devient:



III. Cinétique enzymatique

Le modèle de Michaelis-Menten

La vitesse de disparition de S est égale à la vitesse d'apparition de P:

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

Or:

$$-\frac{dS}{dt} = v_1 - v_2 = k_1 [E][S] - k_2 [ES]$$

et

$$\frac{dP}{dt} = v_3 = k_3 [ES]$$

Donc:

$$k_1 [E][S] - k_2 [ES] = k_3 [ES]$$

D'où :

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_M$$

K_M est la constante de Michaelis-Menten

III. Cinétique enzymatique

Le modèle de Michaelis-Menten

L'enzyme est soit sous forme libre E, soit sous forme complexée au substrat ES

$$[E_T] = [E] + [ES]$$

$[E_T]$: concentration totale de l'enzyme.

Donc:

$$K_M = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{([E_T][S]}{[ES]} - [S]$$

D'où :

$$[ES] = \frac{[E_T][S]}{K_M + [S]}$$

La vitesse de la réaction v_i est égale à v_3 , vitesse de l'étape la plus lente:

$$v_i = v_3 = k_3 [ES]$$

III. Cinétique enzymatique

Le modèle de Michaelis-Menten

D'où

$$v_i = \frac{k_3 [E_T] [S]}{K_M + [S]}$$

Or:

$$V_{\max} = k_3 [E_T]$$

Donc:

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

C'est l'équation de Michaelis-Menten

III. Cinétique enzymatique

Le modèle de Michaelis-Menten

L'équation de Michaelis-Menten

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

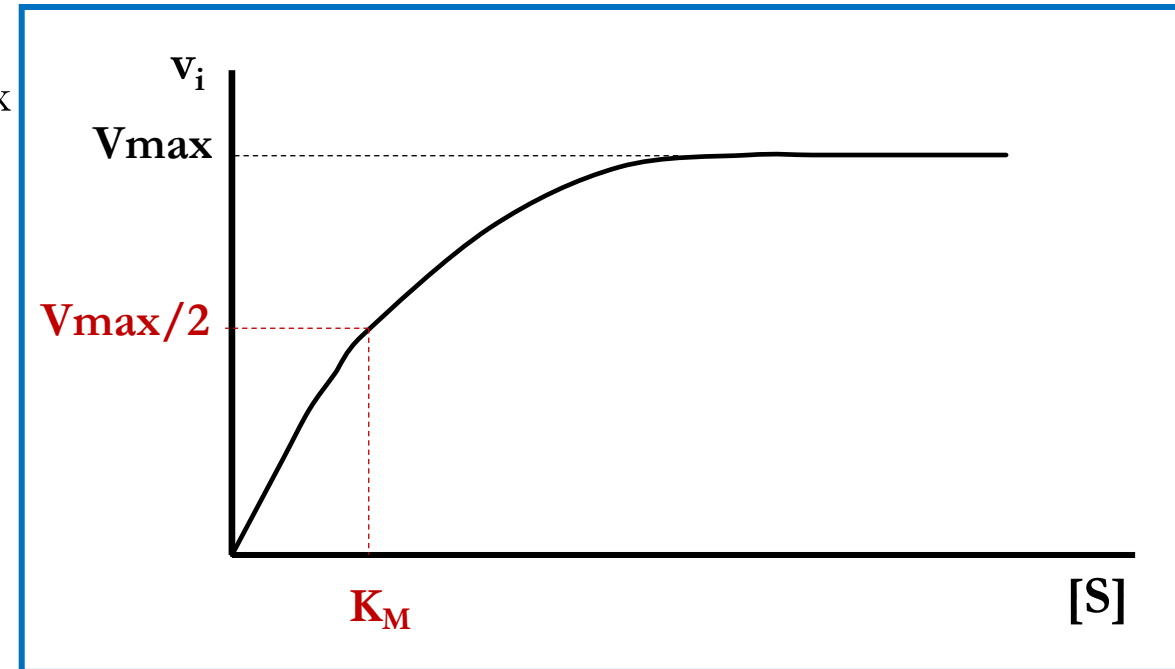
La courbe de $v_i = f([S])$ de l'équation de Michaelis-Menten est une branche d'hyperbole équilatère

- Passe par l'origine
- Asymptote, qd $S \rightarrow \infty$, vaut $v_i = V_{\max}$
- Pour $v_i = V_{\max} / 2$:

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} = \frac{V_{\max}}{2}$$

$$2 [S] = K_M + [S]$$

$$[S] = K_M$$



III. Cinétique enzymatique

L'équation de Michaelis-Menten

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

- Quand $[S] \ll K_M$

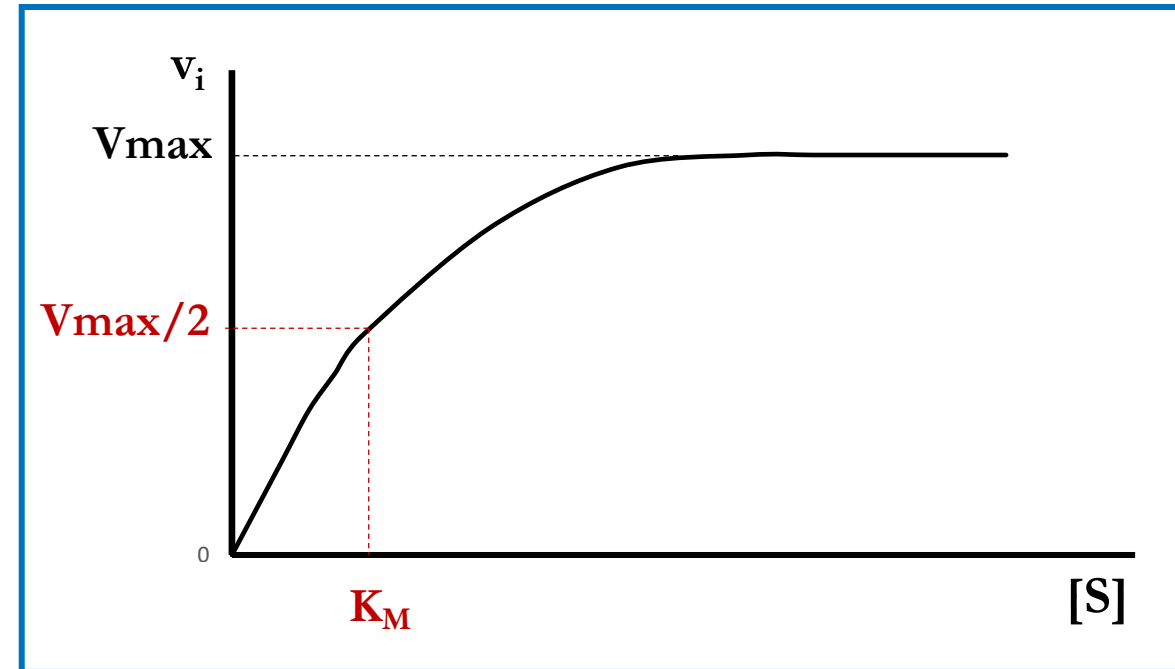
$$v_i \approx \frac{V_{\max} [S]}{K_M} = C^{\text{te}} \cdot [S] \longrightarrow v_i \text{ est fonction linéaire de } [S] \text{ (} y=ax \text{)}$$

C'est en excès d'enzyme (en pratique $[S] = 0.1 K_M$) que l'on dose un substrat.

- Quand $[S] \gg K_M$

$$v_i \approx V_{\max} = k_3 [E_T] \longrightarrow v_i = f_{([E])} \text{ est linéaire}$$

C'est en excès de substrat (en pratique $[S] = 100 K_M$) que l'on dose un enzyme.



III. Cinétique enzymatique

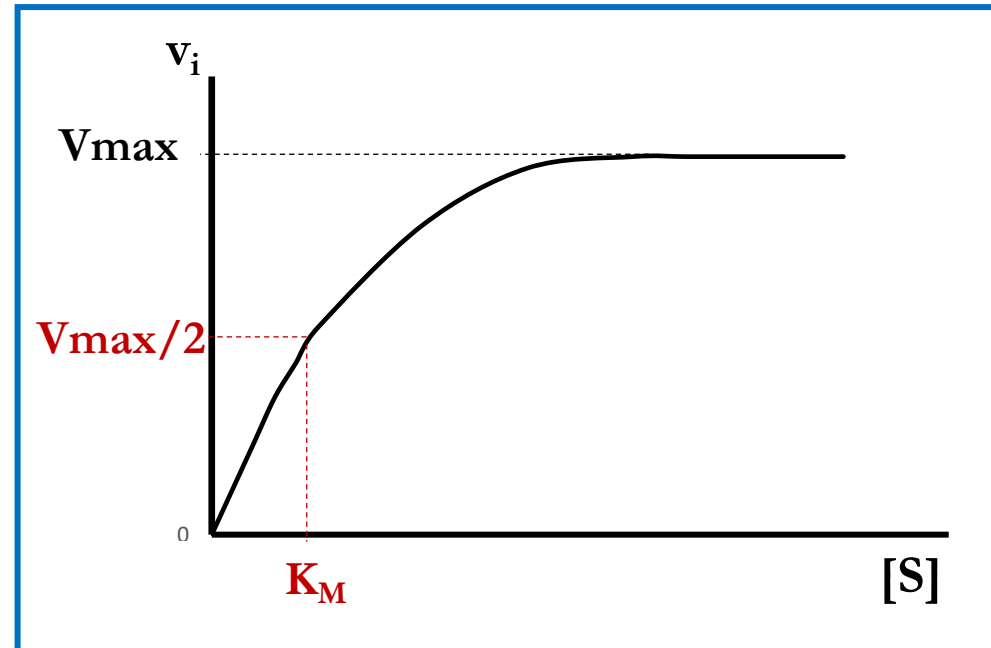
L'équation de Michaelis-Menten

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

Signification des paramètres cinétiques:

- La V_{\max} est la vitesse de la réaction lorsque l'enzyme est 'à saturation': lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont complexées au substrat.
- La K_M est la concentration du substrat lorsque l'enzyme est 'à demi-saturation': lorsque la moitié des molécules de l'enzyme sont complexées au substrat

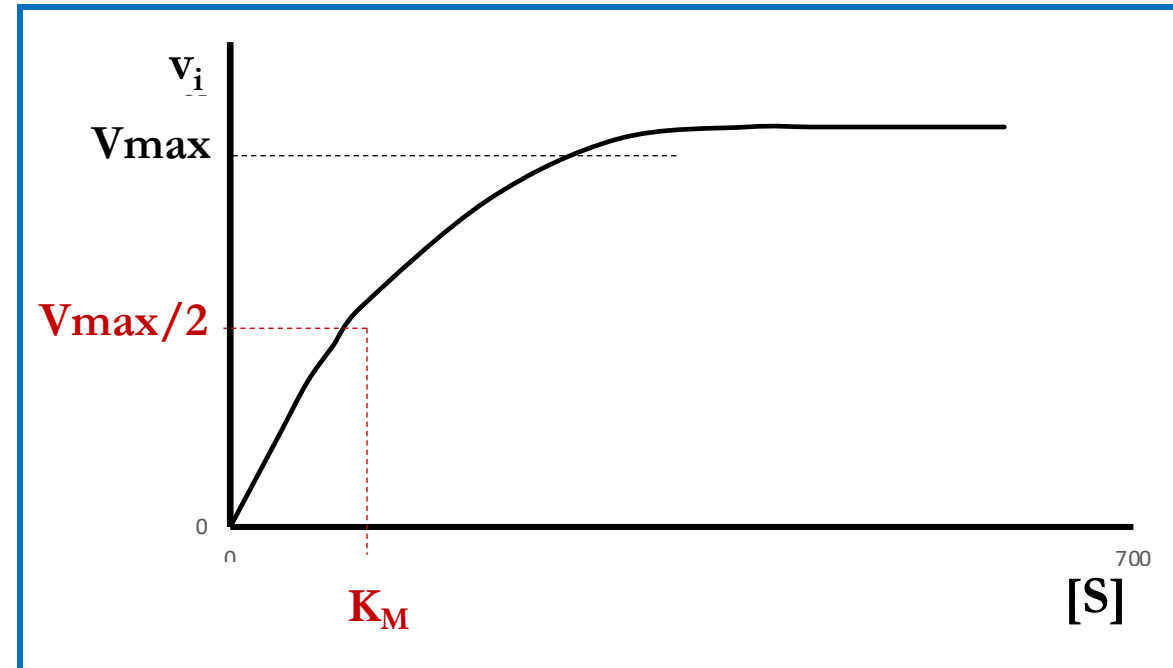
K_M est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour le substrat



III. Cinétique enzymatique

Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

- Expérimentalement V_{\max} et K_M se déduisent de la v_i de la réaction dans une gamme de concentrations initiales de substrat.
- Un grand nombre de méthodes de détermination de ces deux paramètres, tant graphiques que numériques, ont été mises au point:



III. Cinétique enzymatique

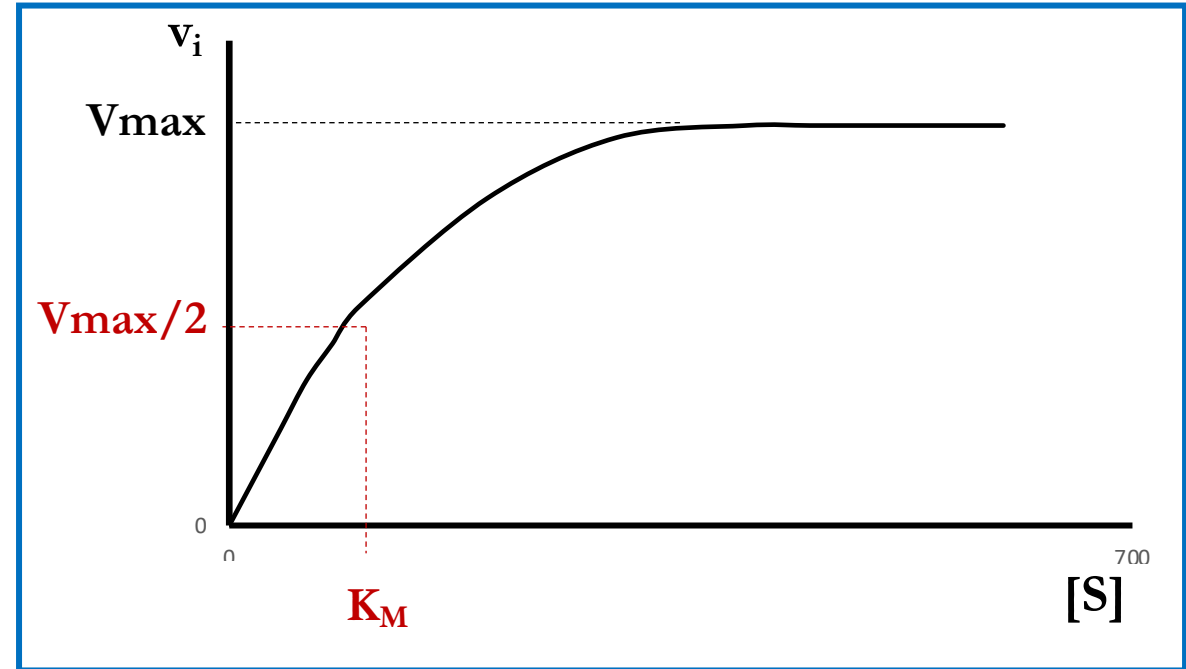
Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode arithmétique

À partir d'une expérience on trace $v_i = f([S])$

$$v_i = V_{\max}/2 \quad K_M = [S]$$

K_M est égale à $[S]$ lorsque la vitesse de la réaction est égale à la moitié de la vitesse maximale



Malheureusement, cette représentation est inadaptée (détermination inexacte de V_{\max} et K_M) car la V_{\max} est sous estimée (le plateau ne fait que tendre vers l'asymptote qui a la valeur de V_{\max} jamais l'atteindre). On a en fait d'une représentation linéaire avec laquelle on pourra faire des extrapolations → Linéarisation

On extrapole V_{\max} à $[S] = \infty$

III. Cinétique enzymatique

Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthodes graphiques:

Représentation de Lineweaver et Burk (en double inverse): $1/v_i = f(1/[S])$

$$v_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_M + [S]} \longrightarrow \frac{1}{v_i} = \frac{K_M + [S]}{V_{\max}[S]} \longrightarrow \frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Représentation
de Lineweaver et Burk

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

La représentation la plus utilisée, publiée par Hans Lineweaver et Dean Burk en 1935

III. Cinétique enzymatique

Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Lineweaver et Burk (en double inverse): $1/v_i = f(1/[S])$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

C'est une droite ($y = ax + b$) dont la pente est K_M/V_{\max} , elle coupe l'axe des $1/V$ au point $1/V_{\max}$, et l'axe des $1/[S]$ au point $-1/K_M$

- $1/v_i = 0 \longrightarrow 1/[S] = -1/K_M$
- $1/[S] = 0 \longrightarrow 1/v_i = 1/V_{\max}$

III. Cinétique enzymatique

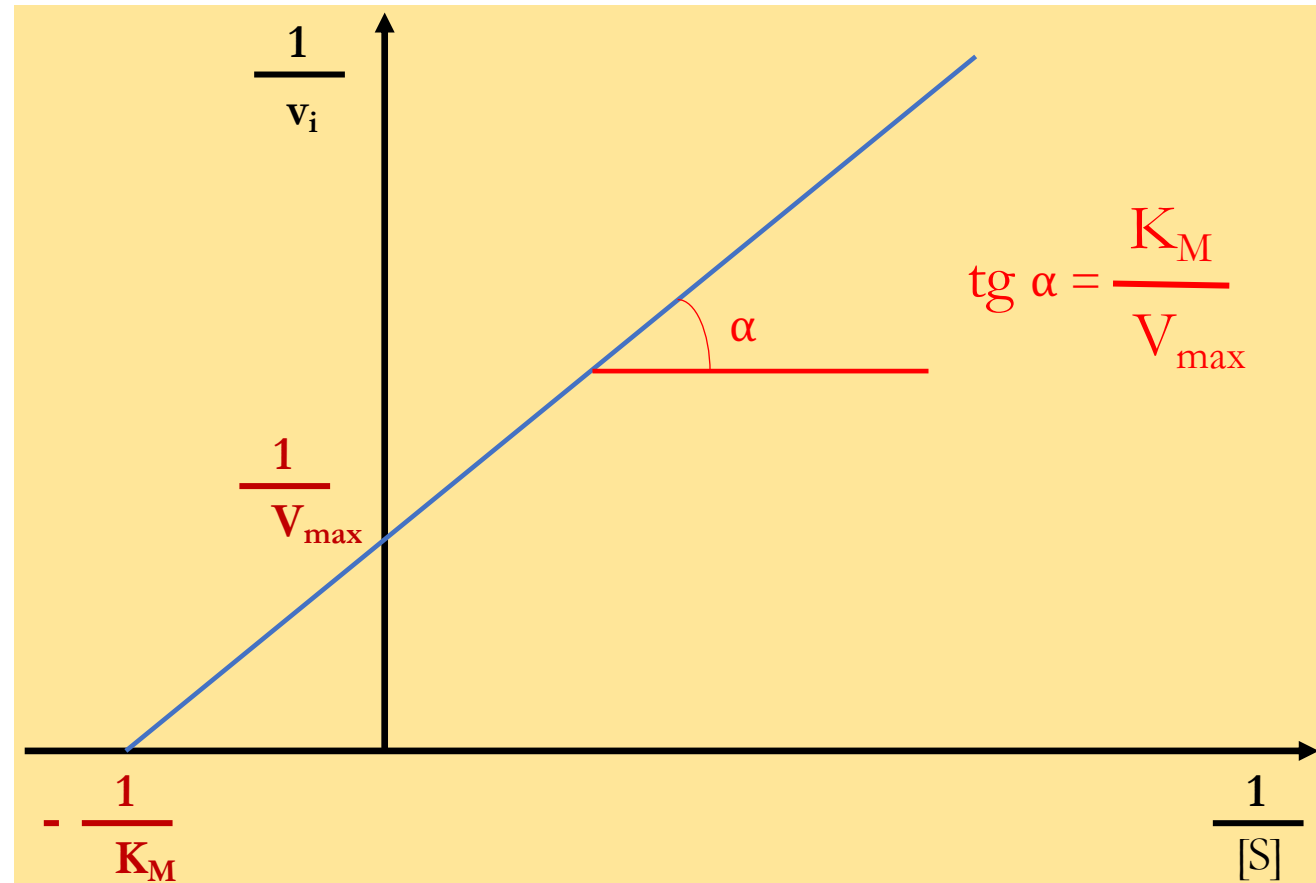
Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Lineweaver et Burk (en double inverse): $1/v_i = f(1/[S])$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

- $1/v_i = 0 \longrightarrow 1/[S] = -1/K_M$
- $1/[S] = 0 \longrightarrow 1/v_i = 1/V_{\max}$



III. Cinétique enzymatique

Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Hanes–Woolf: $[S]/v_i = f([S])$

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \xrightarrow{\times [S]} \frac{[S]}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \frac{[S]}{[S]} + \frac{[S]}{V_{\max}}$$

On obtient:

$$\frac{[S]}{v_i} = \frac{1}{V_{\max}} [S] + \frac{K_M}{V_{\max}}$$

$$y = ax + b$$

- Pente: $1/V_{\max}$
- Ordonné à l'origine : K_{\max}/V_{\max}

III. Cinétique enzymatique

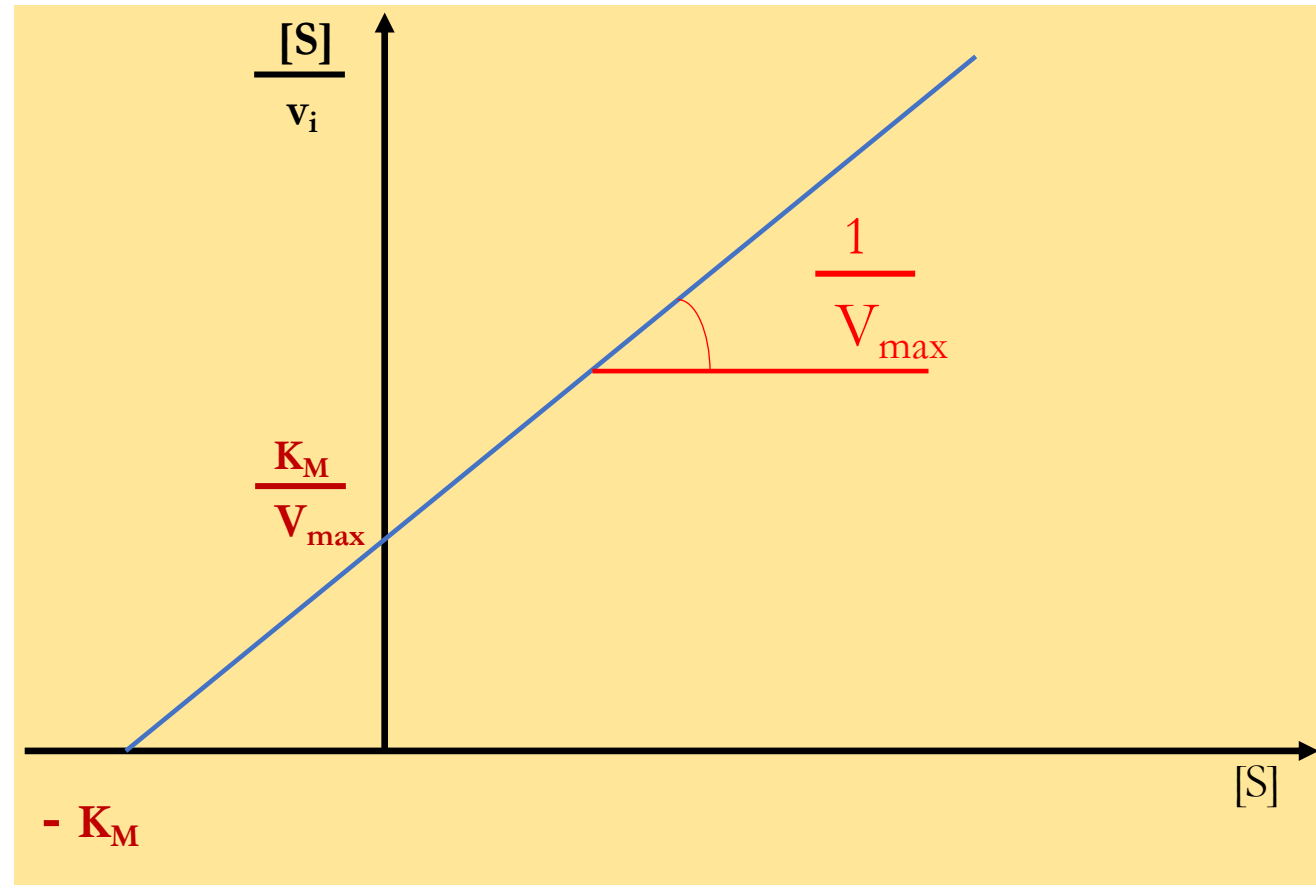
Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Hanes–Woolf:

$$\frac{[S]}{v_i} = \frac{1}{V_{\max}} [S] + \frac{K_M}{V_{\max}}$$

- $[S]/v_i = 0 \longrightarrow [S] = -K_M$
- $[S] = 0 \longrightarrow [S]/v_i = K_M/V_{\max}$



III. Cinétique enzymatique

Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Eadie et Hofstee: $v_i = f(v_i/[S])$

$$v_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_M + [S]} \longrightarrow \frac{v_i}{[S]} = \frac{V_{\max}}{K_M + [S]} \longrightarrow \frac{v_i (K_M + [S])}{[S]} = V_{\max}$$

$$\frac{v_i}{[S]} K_M + v_i = V_{\max} \longrightarrow v_i = -K_M \frac{v_i}{[S]} + V_{\max}$$

$$y = -a.x + b$$

III. Cinétique enzymatique

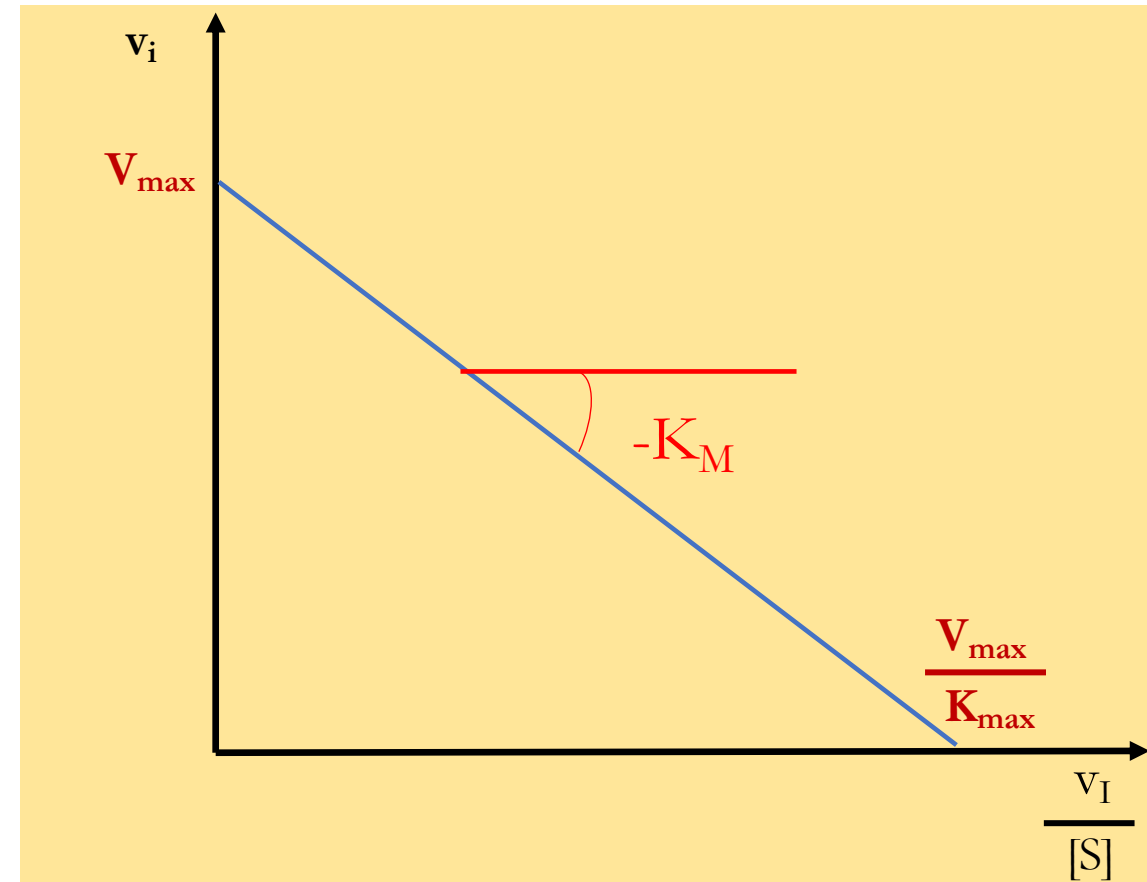
Détermination expérimentale de V_{\max} et K_M

Méthode graphique:

Représentation de Eadie et Hofstee : $v_i = f(v_i/[S])$

$$v_i = -K_M \frac{v_i}{[S]} + V_{\max}$$

- $v_i/[S] = 0 \longrightarrow v_i = V_{\max}$
- $v_i = 0 \longrightarrow v_i/[S] = V_{\max}/K_M$



III. Cinétique enzymatique

Unités d'activité enzymatique

- Elles définissent la quantité de substrat transformé par unité de temps par une certaine quantité d'enzyme dans les conditions optimales de l'activité enzymatique.
- L'unité d'activité enzymatique la plus utilisée est :
 - L'unité internationale (UI): 1 UI correspond à la transformation de 1 μmole de substrat par minute à 25°C au pH optimum de l'enzyme.
- Pour les réactions très rapides, on peut utiliser une autre unité, le Katal :
 - Le Katal (kat): 1 kat correspond à la transformation d'une mole de substrat par seconde. Vu que c'est une grande unité, on parle de μkat (10^{-6}), nkat (10^{-9}), parfois même de pkat (10^{-12}).

$$1 \text{ kat} = 6 \times 10^7 \text{ UI}$$

III. Cinétique enzymatique

Unités d'activité enzymatique

Nombre d'unités enzymatiques rapporté au poids total de protéines en mg dans la solution enzymatique

$$\text{Activité spécifique (AS)} = \frac{\text{Activité enzymatique (UI)}}{\text{Quantité de protéine (mg)}}$$

L'AS définit:

- L'activité total en fonction de. La quantité totale de protéine
- Permet de définir l'état de pureté d'une enzyme au cours de sa purification
- Elle augmente avec sa purification

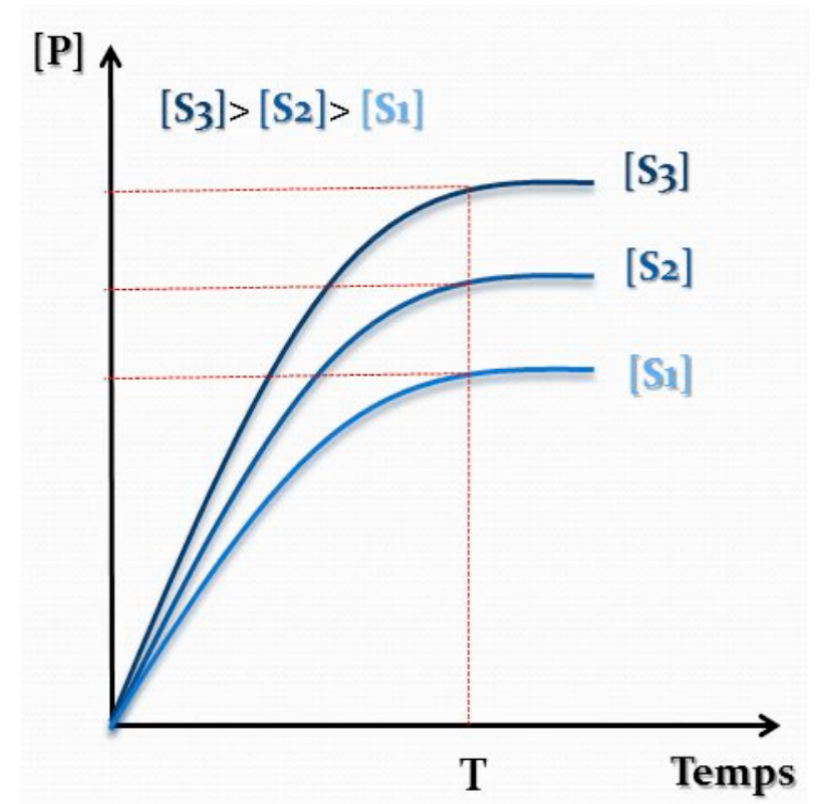
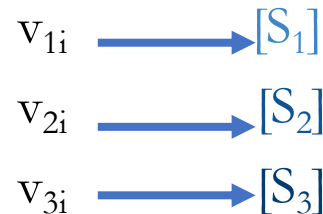
III. Cinétique enzymatique

Influence de [S] sur la v_i d'une réaction enzymatique

Expérimentales, suivre la formation de P en fonction de temps pour différentes concentrations en substrat:
 $[P]=f(\text{temps})$

Mathématiques:
$$V = \frac{dP}{dt}$$

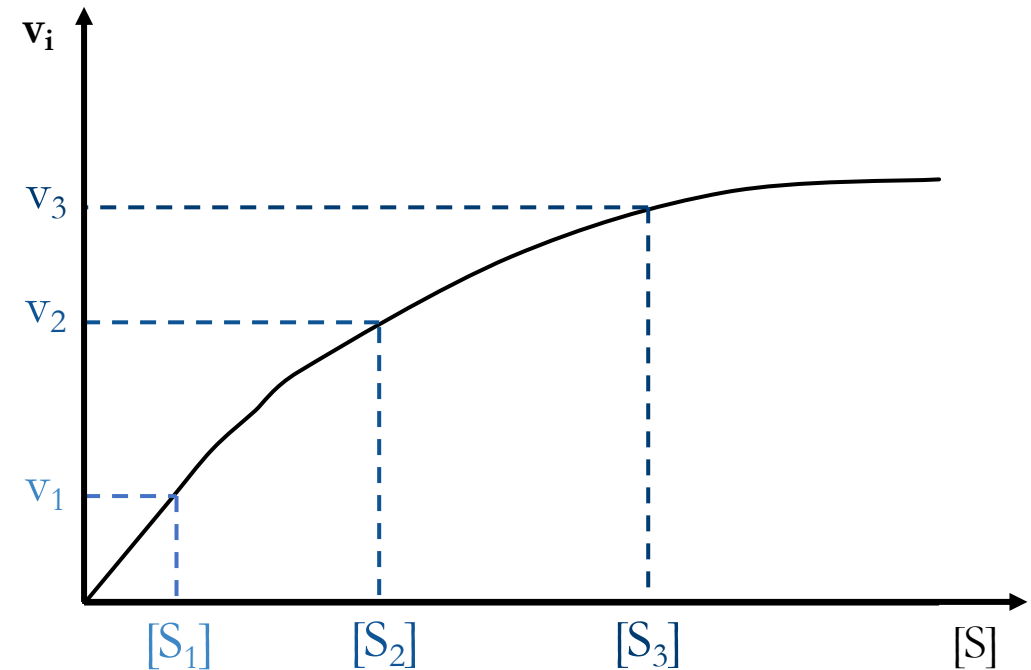
Graphiquement, lecture sur la partie linéaire de chaque courbe: tangente pour le temps initial $y = ax + b; a = v_i$



III. Cinétique enzymatique

Influence de $[S]$ sur la v_i d'une réaction enzymatique

On peut alors tracer la courbe : vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en substrat: $v_i=f([S])$

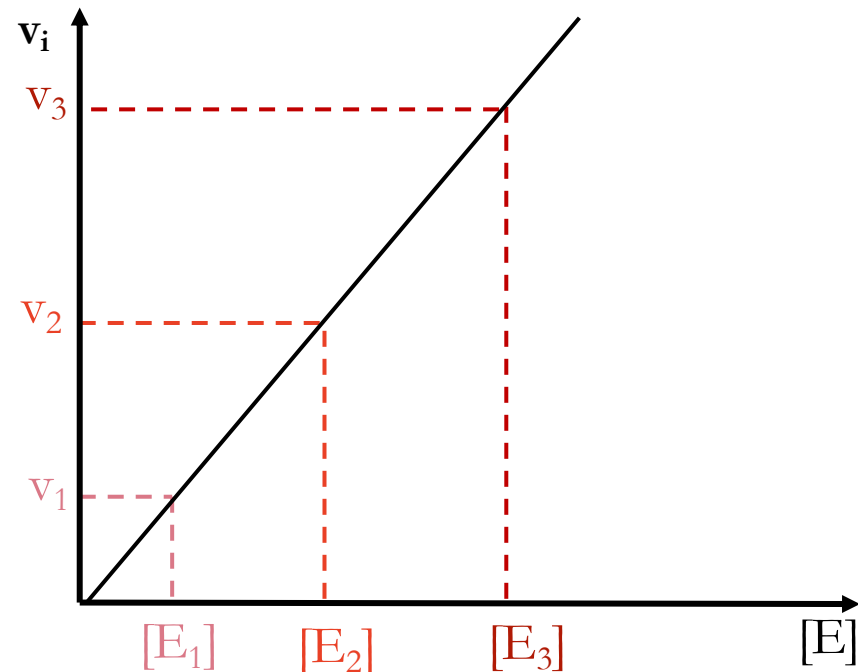
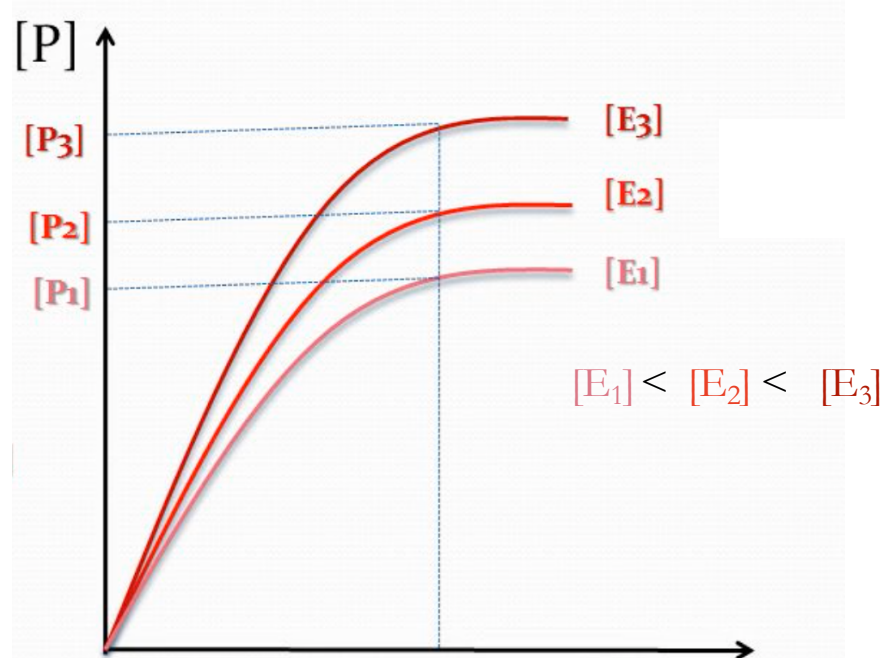


III. Cinétique enzymatique

Influence de $[E]$ sur la v_i d'une réaction enzymatique

Expérimentales, suivre la formation de P en fonction de temps pour différentes concentrations en enzyme; $[S]$ étant constante et saturante

- $v_i = f([E])$: v_i est directement proportionnelle à $[E]$
- Plus la concentration de l'enzyme augmente, plus v_i est importante.



Chapitre III. Cinétique enzymatique

Plan

- I. Notions d'ordre et vitesse d'une réaction chimique
- II. Ordre et vitesse d'une réaction enzymatique
- III. Cinétique des réactions enzymatiques à un seul substrat
- IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique**
- V. Enzymes et effecteurs allostérique

IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique

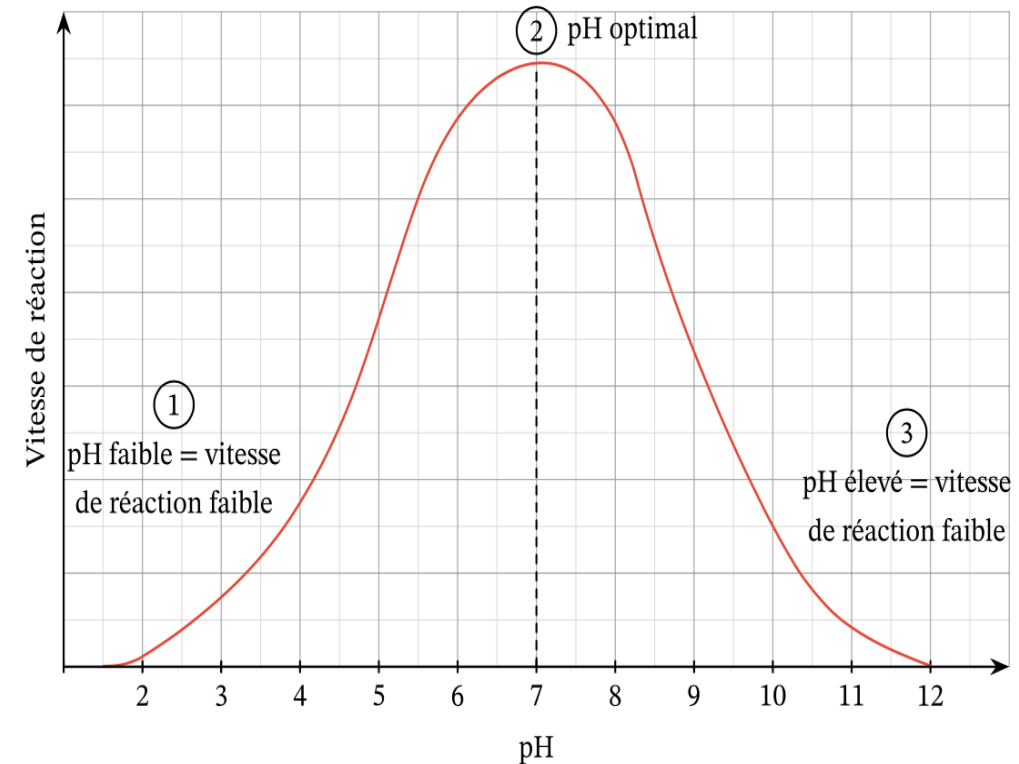
Facteurs physicochimiques

Influence de pH sur la réaction enzymatique

Expérimentales, on suit l'activité enzymatique à différents pH:

- Chaque enzyme a un pH optimal
- Le pH optimal est le pH auquel la vitesse de réaction est la plus élevée.
- Diminution d'activité de part et d'autre de la valeur optimale
- Nombreuses enzymes dans le corps humain ont un pH optimal de 7
- Mais, ils existent des enzymes qui fonctionnent à des pH extrêmes:

Exemples: pH (pepsine) = 1.8 (E gastrique) pH (trypsine)=7.8
(E intestinale)



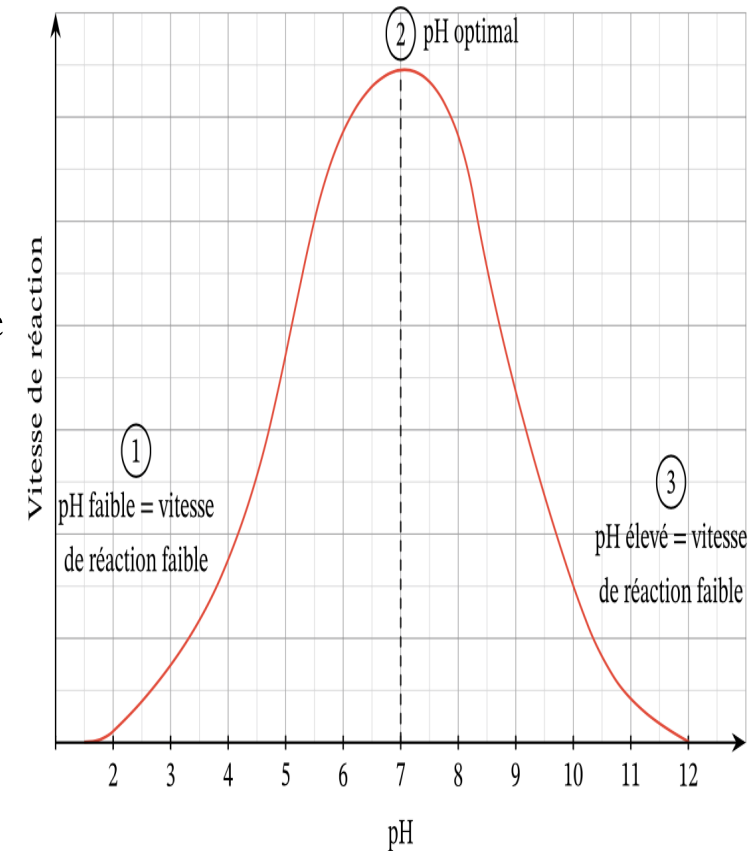
IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique

Facteurs physicochimique

Influence de pH sur la réaction enzymatique

- Le pH intervient sur :
 - Le Substrat: degré d'ionisation permet ou non sa liaison avec l'enzyme
 - La protéine de l'E
 - soit en modifiant la structure secondaire ou tertiaire active de l'enzyme
 - soit en modifiant les charges électriques et donc le degré d'ionisation des radicaux des acides aminés du site actif

Quand les charges des chaînes latérales des acides aminés sont modifiées, la structure de l'enzyme est modifiée, et en perdant sa forme, la molécule perd son activité de catalyse.



IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique

Facteurs physicochimique

Influence de température sur la réaction enzymatique

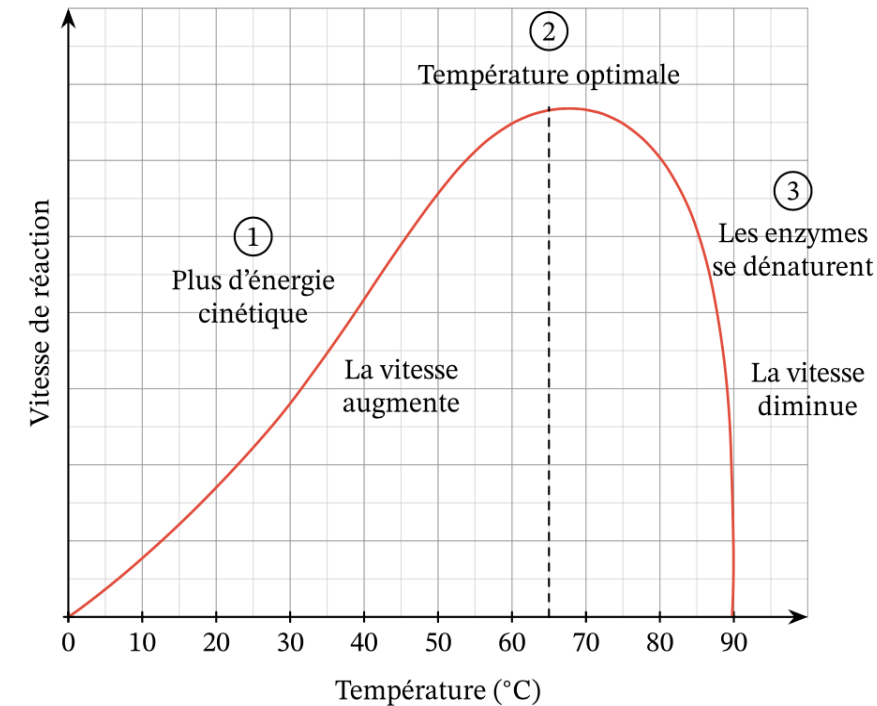
Expérimentales, on suit l'activité enzymatique à différents température v_i
 $= f(\text{température})$:

- La température agit comme :
 - **Accélérateur** de la réaction: La T facilite le franchissement de la barrière d'énergie d'activation

Energie thermique → Energie cinétique → collision efficace E et S

→ Plus de ES → plus de produit

- **Inhibiteur** : au delà de certaine température les enzymes se dénaturent.



IV. Facteurs influençant la cinétique enzymatique

Facteurs physicochimique

Influence de température et pH sur la réaction enzymatique

La dénaturation des protéines fait référence au processus de modification de la structure d'une protéine sans affecter la séquence primaire d'acides aminés.

