

Module: Biochimie  
1<sup>ère</sup> Année Médecine  
Chapitre IV  
CINETIQUE ENZYMATIQUE  
Partie II

Dr. H. BENSAFI-GHERAÏBIA  
bensafihanene@yahoo.fr  
Faculté de Médecine  
Université Badji Mokhtar-Annaba  
2019-2020

# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-1- Vitesse d'une réaction enzymatique

- Pour mesurer l'activité d'une réaction enzymatique n'ayant qu'un substrat et un produit, dans un milieu défini:

La concentration du **substrat décroît** au cours du temps, celle du **produit croît** au cours du temps.

- On appelle:

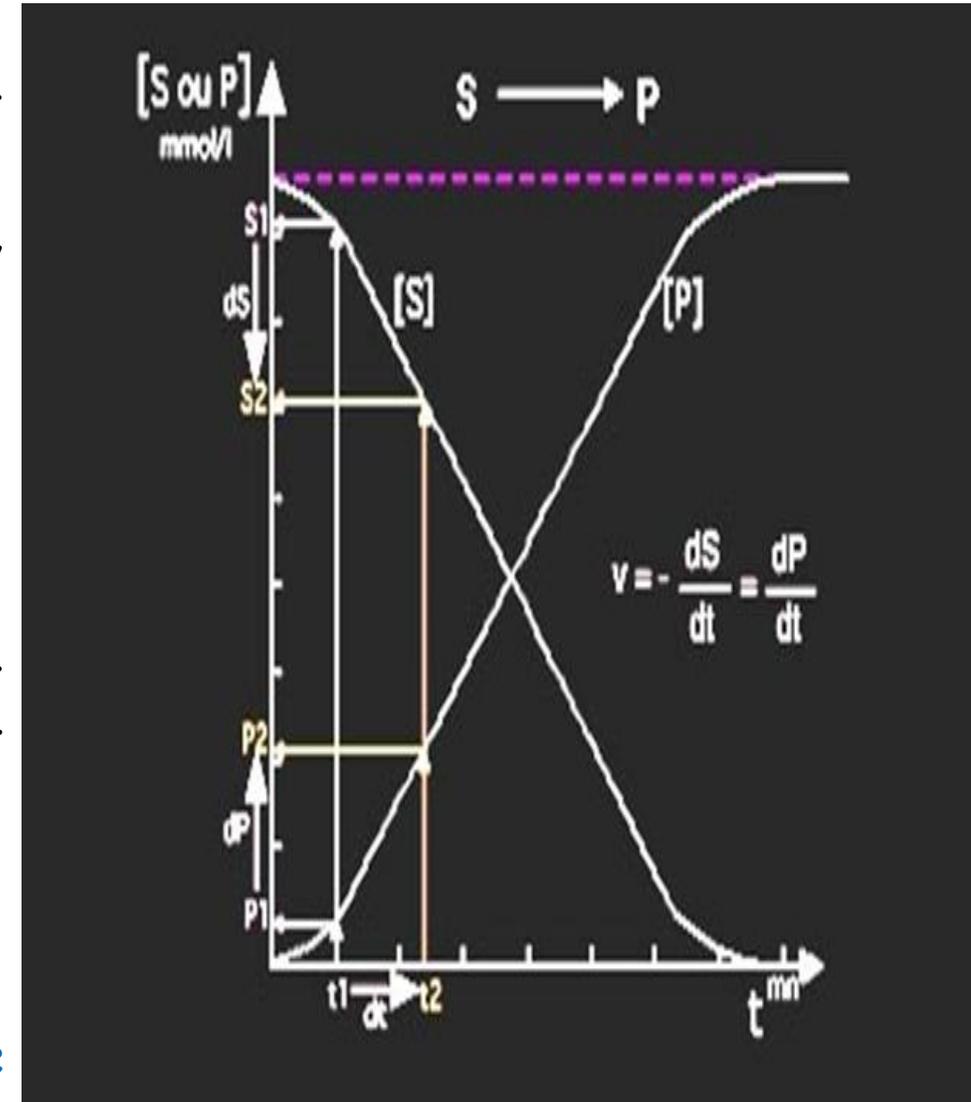
$S_1$  et  $P_1$  les concentrations du substrat et du produit à  $t_1$

$S_2$  et  $P_2$  les concentrations du substrat et du produit à  $t_2$

La différence entre les concentrations du substrat  $dS$  est l'**opposé** de la différence entre les concentrations du produit  $dP$ .

- On appelle vitesse de la réaction :  $v = - dS/dt = dP/dt$ .

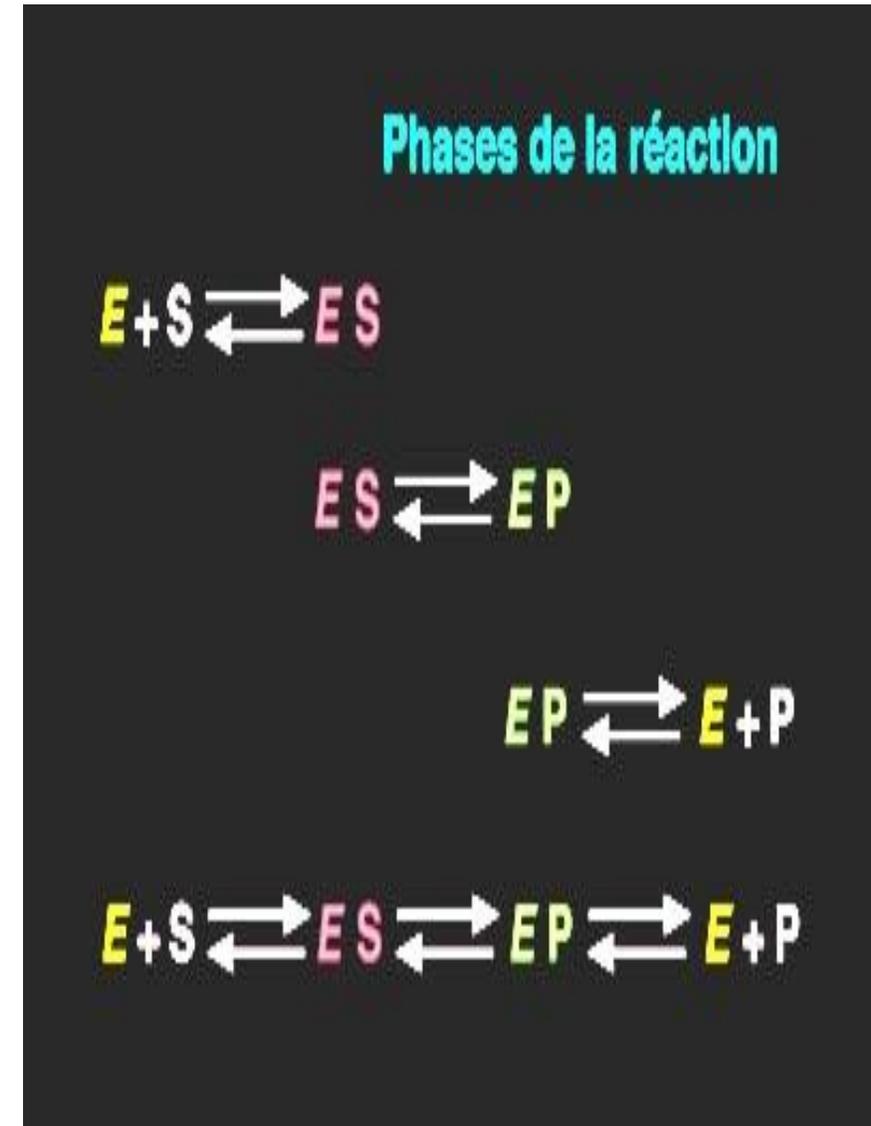
*La vitesse de réaction représente le nombre de moles de substrat transformées en moles de produit, dans un volume donné et dans un temps donné.*



# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-2- Phases de la réaction enzymatique

- Dans un premier temps, chaque molécule d'enzyme va se lier à une molécule de substrat. Ce complexe peut se redissocier.
- L'effet catalytique de l'enzyme transforme le complexe **enzyme-substrat** en complexe **enzyme-produit**. Si la réaction aboutit à un équilibre, cette phase de la réaction est réversible.
- Dans un dernier temps, **le complexe enzyme-produit peut se dissocier**. Si la réaction est réversible, **le produit devient substrat** en s'associant à l'enzyme pour revenir ensuite au point de départ.
- Six réactions chimiques participent à cet **équilibre** entre les concentrations du **substrat** et du **produit**, de **l'enzyme** et des complexes **ES** et **EP**.



# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-3- Phases de la réaction enzymatique

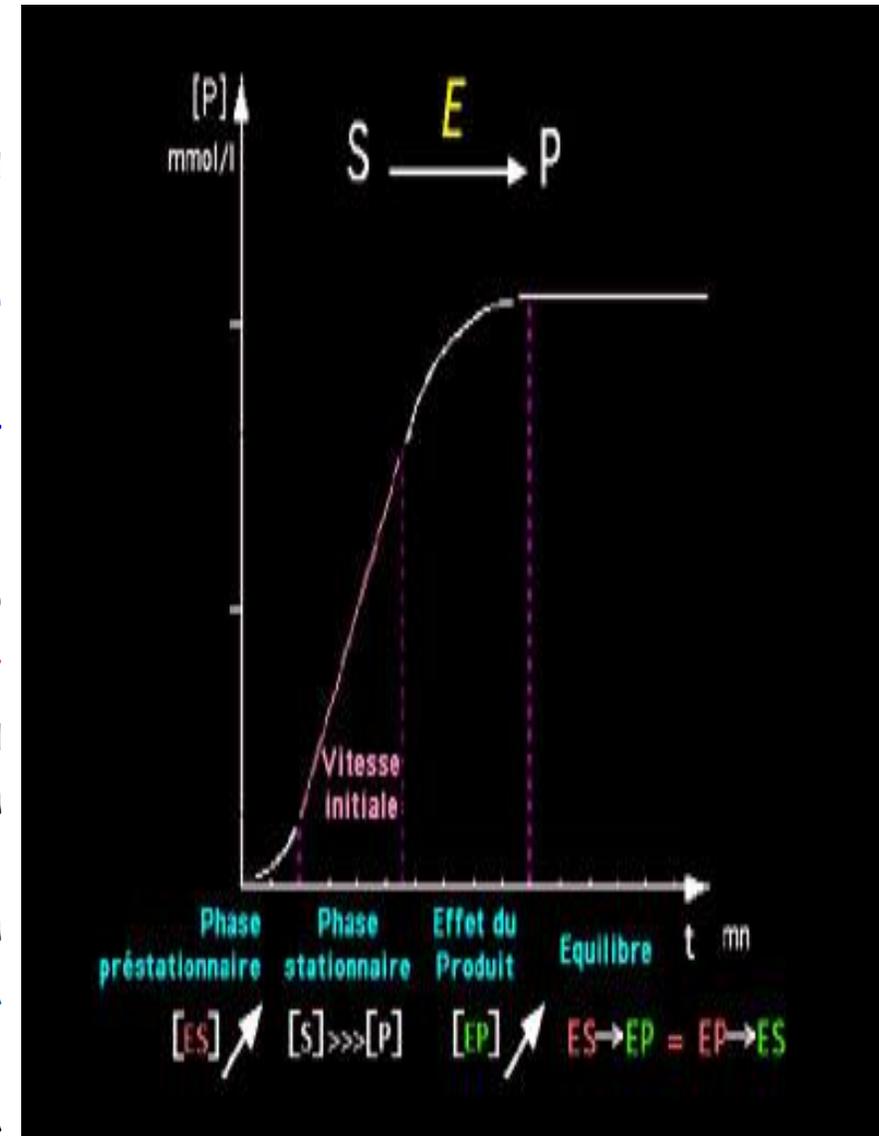
En mesurant la concentration du produit P en fonction du temps, on distingue:

- Une première phase très brève où la vitesse de la réaction est croissante.

Dans laquelle, les molécules de substrat se lient avec l'enzyme (la concentration du complexe enzyme-substrat augmente).

- Lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont occupées par des molécules du substrat la vitesse de la réaction est maximum et reste constante tant que la concentration du substrat est grande et celle du produit petite (c'est ce qu'on observe lors des premières mesures).
- Lorsque la concentration du produit augmente, la réaction inverse commence à concurrencer celle qu'on mesurait : la vitesse diminue.

Dans une dernière phase, tardive, la vitesse de la transformation inverse devient égale à celle de départ : les concentrations ne changent plus, on est à l'équilibre.



# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-4- Vitesse initiale

- Durant la phase stationnaire, la vitesse est constante : on l'appelle **vitesse initiale**.
- C'est une phase de la réaction où **un nombre maximum** des molécules de **l'enzyme** sont **liées** à des molécules de **substrat**.
- Le rapport **enzyme lié sur enzyme total est maximum**. Dans ces conditions, **l'efficacité catalytique de l'enzyme est la plus grande**, donc **la vitesse initiale est la plus grande** de toutes les vitesses qu'on peut mesurer en fonction des phases de la réaction.

## VITESSE INITIALE :

- Vitesse d'une réaction enzymatique au cours de la phase stationnaire où le rapport :

Concentration du **complexe Enzyme-Substrat**

---

Concentration totale de l'**Enzyme**

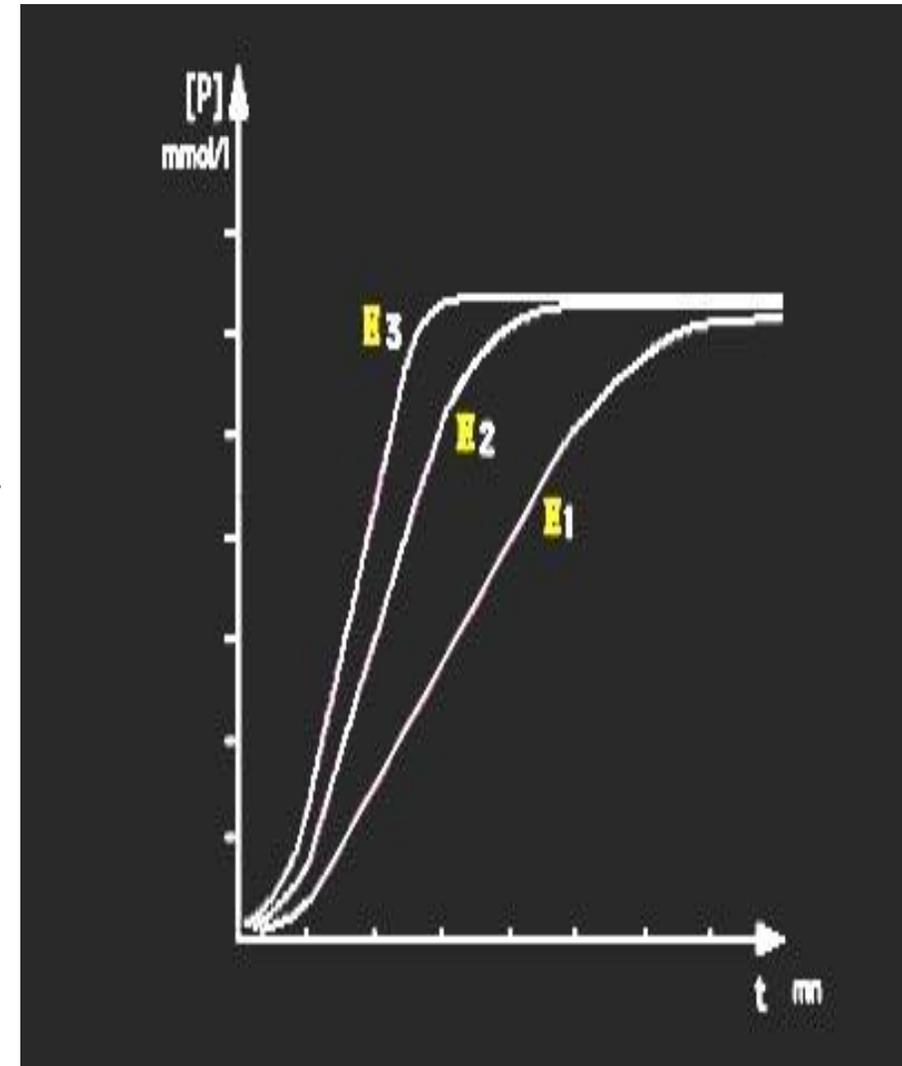
est maximum

# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-5- Concentration de l'enzyme

Evolution de la réaction lorsqu'on change la concentration de l'enzyme:

- Les mesures de la concentration du produit en fonctions du temps sont **différentes** pour chacune des concentrations de l'enzyme essayées.
- Lorsque la concentration de l'enzyme est grande (Ex:  $E_3$ ) la vitesse initiale est plus grande que lorsque la concentration de l'enzyme est petite (Ex:  $E_1$ ).



# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-6- Passage à la forme active

- Lorsqu'une enzyme existe à la fois sous une **forme active** (capable de catalyser la réaction) et sous une **forme inactive**, la **concentration efficace de l'enzyme est celle de la forme active seule**.
- Toutes les **modifications** de la structure postérieures à la synthèse de l'enzyme, qui font passer les molécules de l'enzyme de la **forme inactive à la forme active**, ont pour effet d'augmenter la concentration efficace de l'enzyme et donc la vitesse de la réaction catalysée.

## Passage à la forme active

- 1) Protéolyse : zymogènes, proenzymes
- 2) Phosphorylation, déphosphorylation :  
Sérine, Thréonine, Tyrosine
- 3) Liaison avec un cofacteur ou un coenzyme lié :  
Ion métallique, Flavine, Hème
- 4) Acylation, alkylation :  
Myristyl, Géranyl, Farnésyl

# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-6- Passage à la forme active

- Ces modifications peuvent être :

*Hydrolyse d'un fragment de la chaîne d'acides aminés:*

- Activation des zymogènes en enzymes actives au cours de la digestion.
- Activation des facteurs de la coagulation du sang.

*Transfert d'un radical Phosphoryl- sur un acide aminé de l'enzyme:*

- Phosphorylation ou déphosphorylation des enzymes pour augmenter ou diminuer le taux de glucose dans le sang.

*Fixation d'un groupement prosthétique sur l'enzyme:*

- Ion Zinc sur les déshydrogénases à NAD, flavine sur les flavoprotéines, hème sur les cytochromes.
- Transfert de radicaux Acyl- ou Alkyl- sur des acides aminés de l'enzyme.

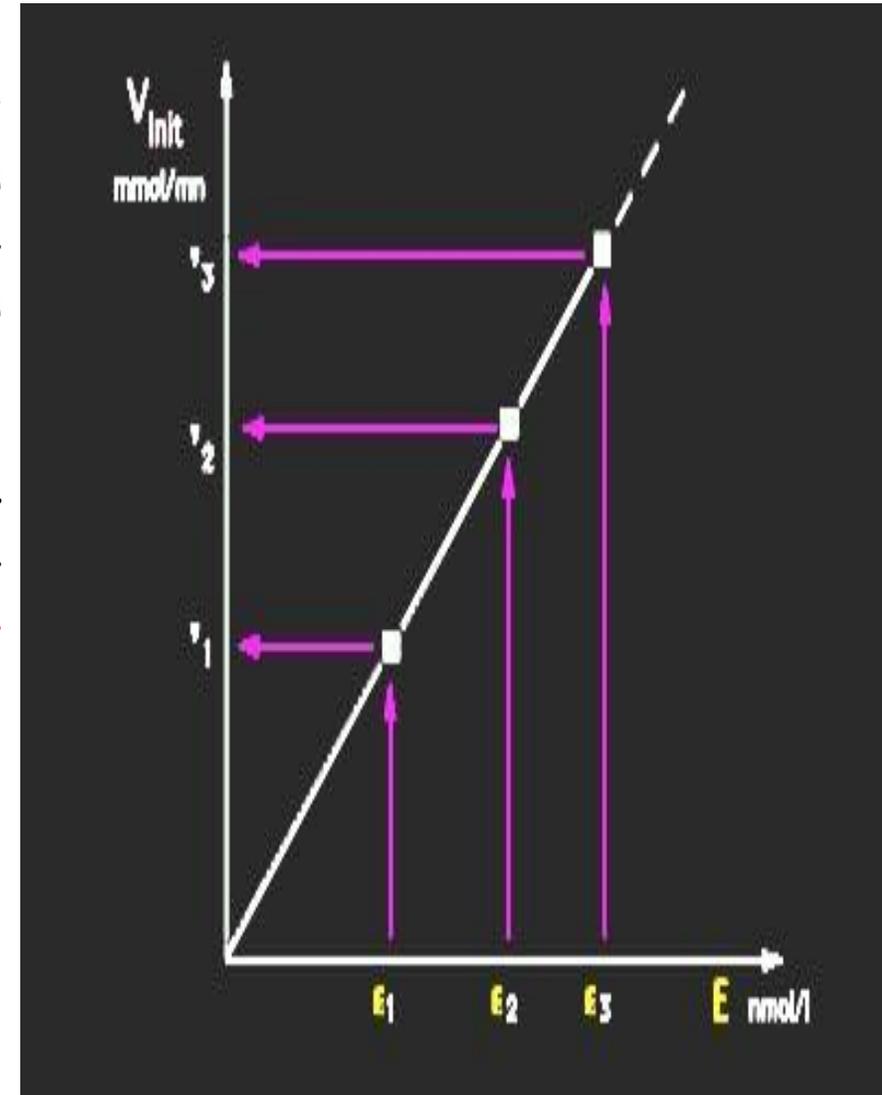
## Passage à la forme active

- 1) Protéolyse : zymogènes, proenzymes
- 2) Phosphorylation, déphosphorylation :  
Sérine, Thréonine, Tyrosine
- 3) Liaison avec un cofacteur ou un coenzyme lié :  
Ion métallique, Flavine, Hème
- 4) Acylation, alkylation :  
Myristyl, Géranyl, Farnésyl

# 1- Effet de la concentration d'enzyme

## 1-7- Dosage enzymatique

- Ces dosages enzymatiques sont des mesures d'activités catalytiques qu'on exprime dans le Système International en **Katal**, unité qui représente une quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une mole de substrat en une seconde (**1 Kat= 1 mole de Substrat / seconde**).
- **L'Unité Internationale (UI)** ou unité d'activité enzymatique est une ancienne unité de mesure représentant la quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation **1  $\mu$ mol de substrat/minute**. Une Unité Internationale = 15 nanokatal
- **Activité enzymatique spécifique** : c'est l'unité d'activité enzymatique /mg de protéine.  
L'activité spécifique augmente au cours de la purification de l'enzyme.  
Quand l'activité spécifique se stabilise ceci suppose que l'enzyme est pure.

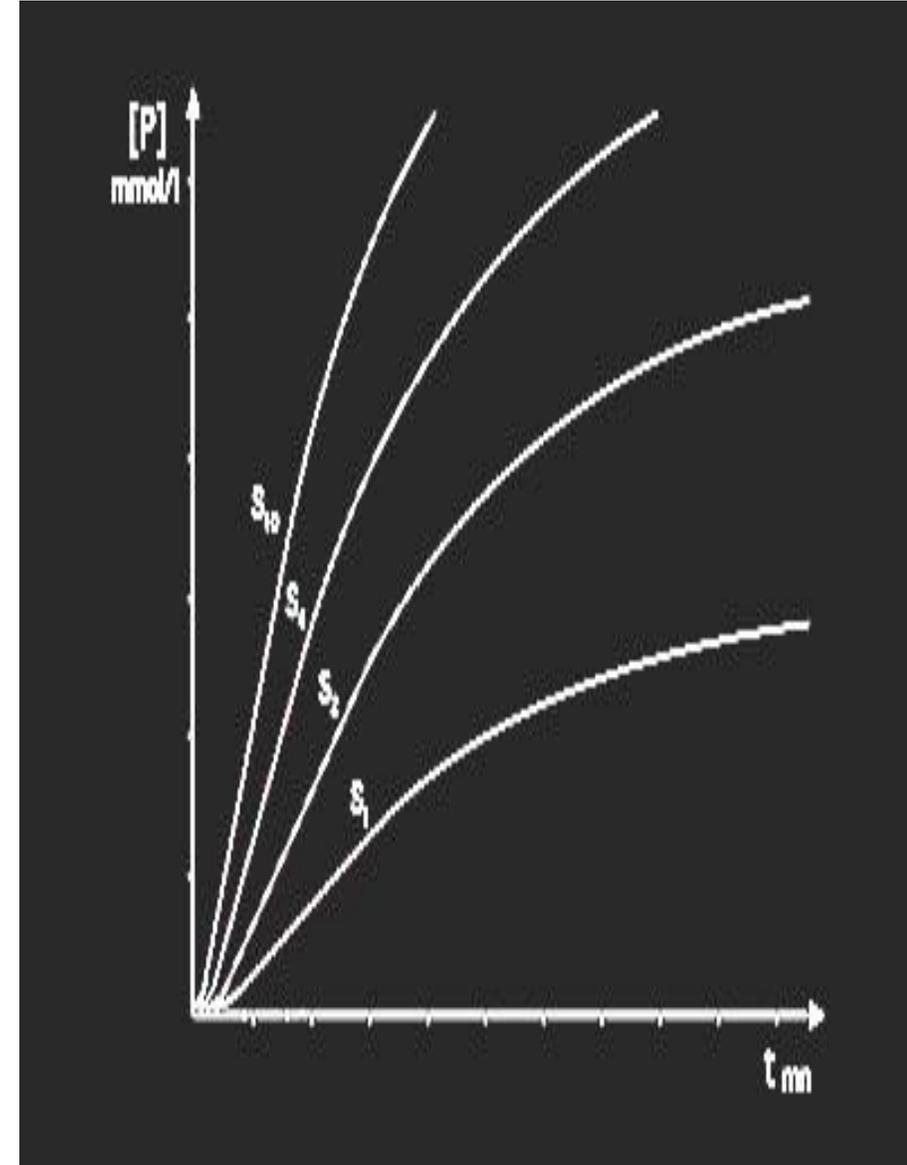


## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-1- Concentration du substrat

Evolution de la réaction lorsqu'on change la 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 (Ex:  $S_{10}$ ) la **vitesse initiale est plus grande** que lorsque la concentration du substrat est petite (Ex:  $S_1$ ).
- 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.

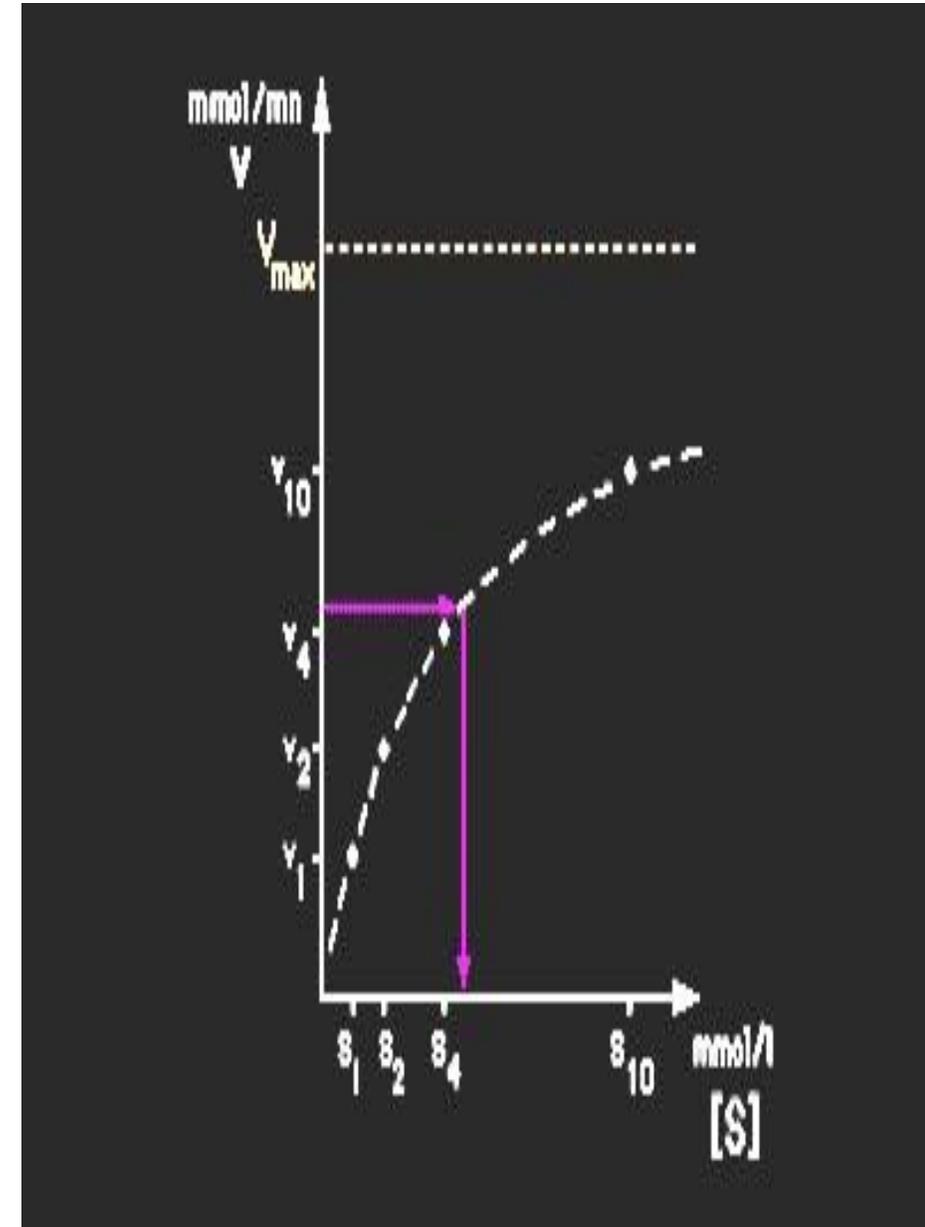


## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-2- Cinétique michaelienne

Graphe de la vitesse de réaction en fonction de la concentration du substrat:

- Des **quantités variables de substrat** sont ajoutées à une quantité **fixe d'enzyme**.
- La vitesse de réaction est mesurée pour chaque concentration du substrat: La courbe obtenue a la forme d'une **hyperbole**.
- Une fonction mathématique dans laquelle les valeurs **augmentent** tout d'abord de façon **rapide** avant de finalement tendre vers un **maximum** (à très forte concentration en substrat:  $v=V_{max}$ ).
- La vitesse de la réaction n'est alors **limitée** que par les **conditions expérimentales** (température, pH, force ionique) et par la **concentration d'enzyme** dans la réaction.



## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-3- Vitesse maximum

*Vitesse initiale théorique d'une réaction enzymatique pour une concentration infinie du 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.

## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-4- Constante de Michaelis

*Concentration du substrat pour laquelle la vitesse initiale d'une réaction enzymatique atteint la moitié de la vitesse maximum*

La constante de Michaelis, au contraire, correspond à une grandeur physiquement mesurable, pour laquelle on observe une vitesse initiale à la moitié de la vitesse maximum.

## 2- Effet de la concentration de substrat

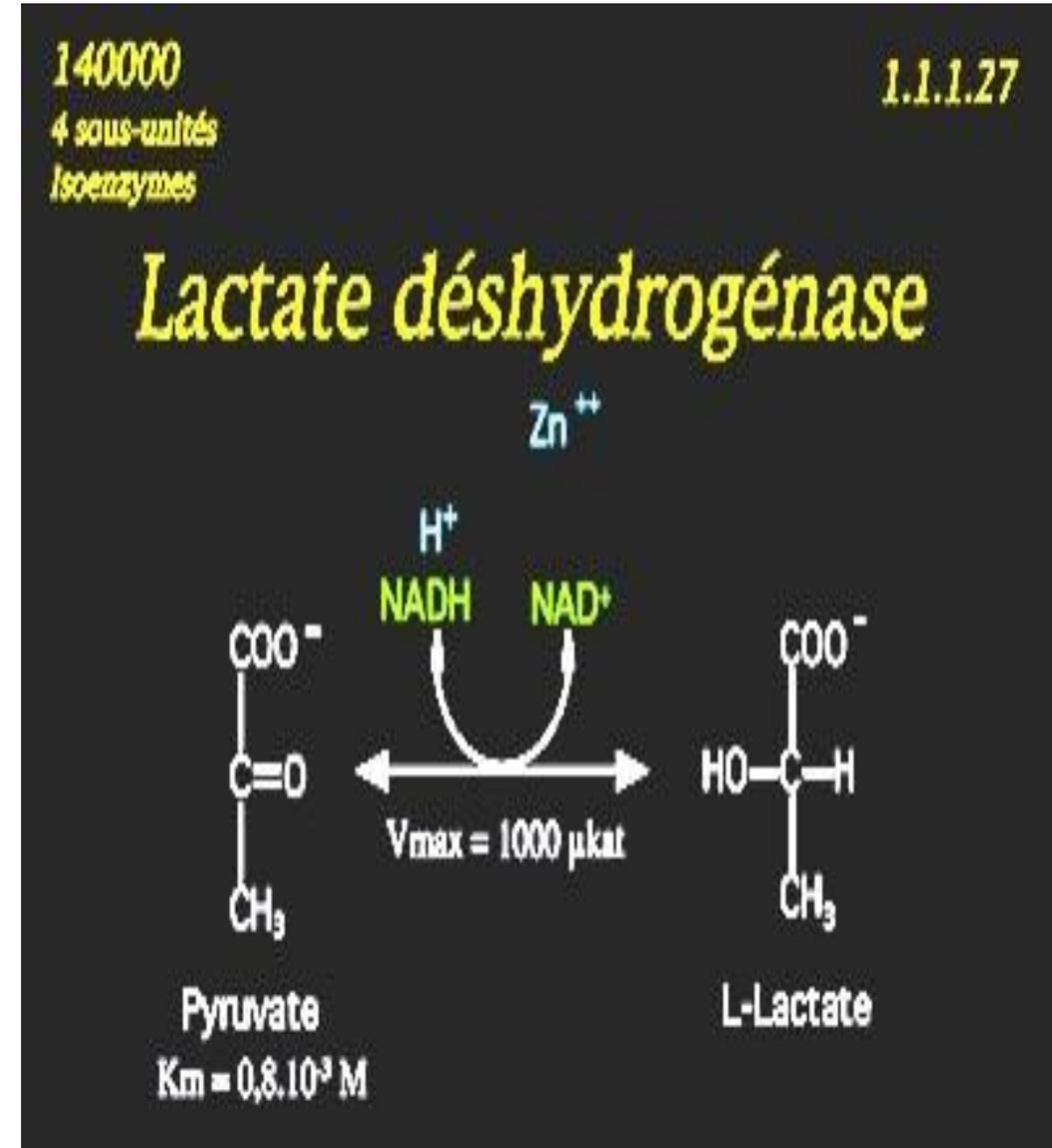
### 2-5- Exemple de Km: La lactate déshydrogénase

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<sup>+</sup> 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.



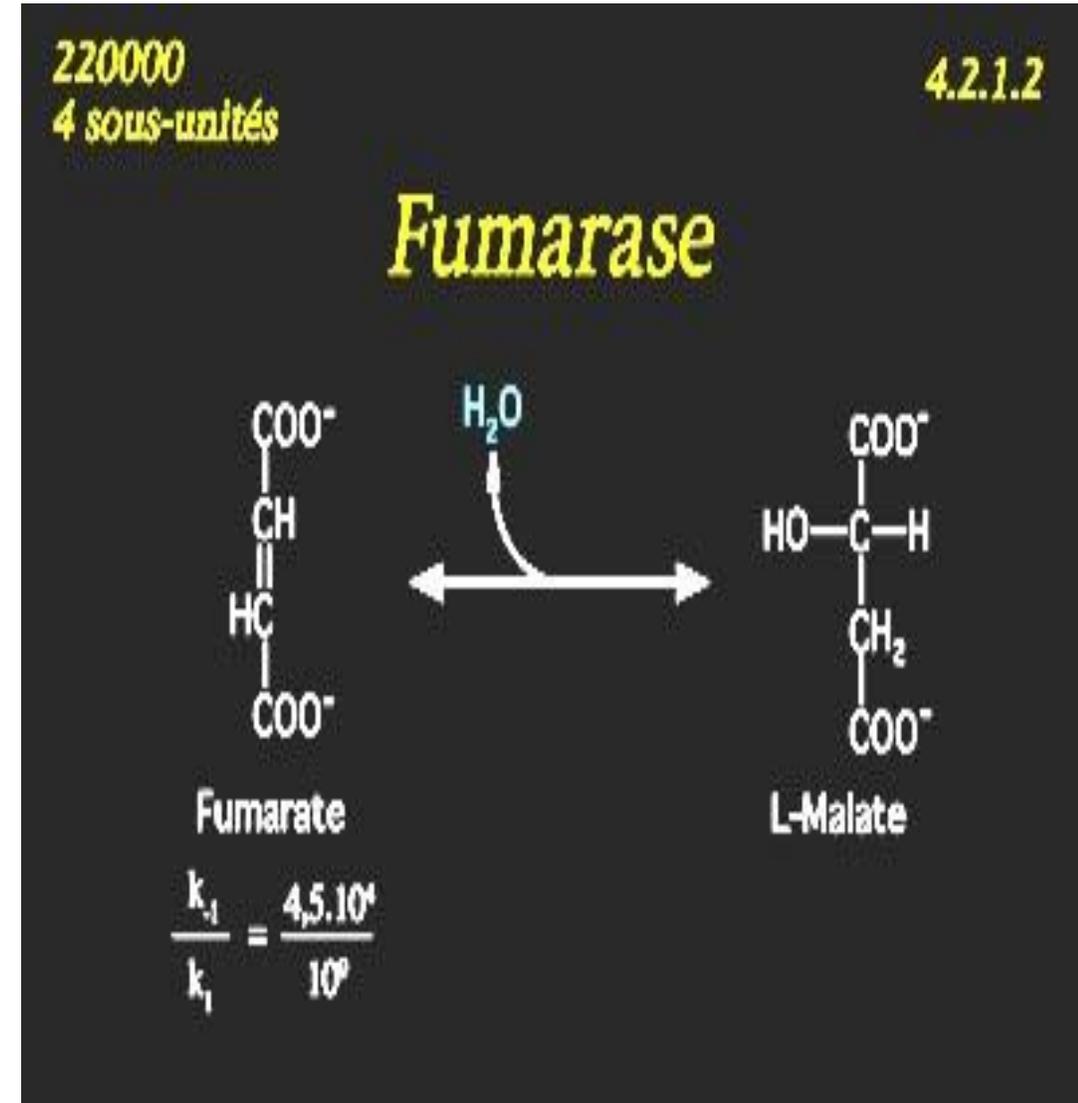
## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-6- Exemple de constantes: la fumarase

La fumarase est un autre exemple d'enzyme qui réalise une réaction d'hydratation voisine de celle de l'anhydrase carbonique.

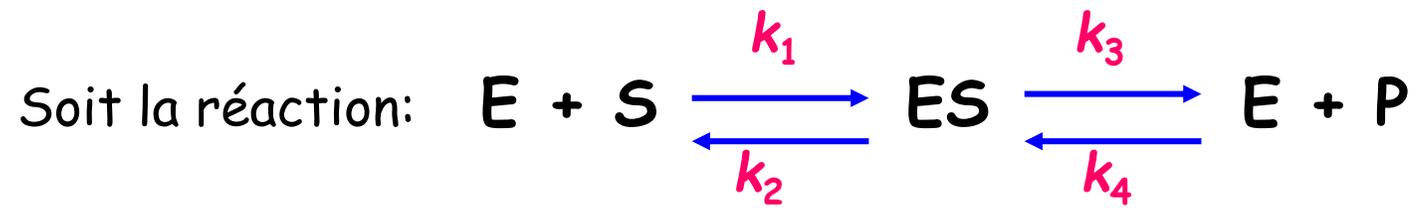
Dans cet exemple la constante  $k_1$  de l'association de l'enzyme avec le fumarate est de 1 000 000 000, alors que la constante  $k_{-1}$  n'est que de 45 000.

Ce qui montre encore que l'association de l'enzyme avec le substrat est beaucoup plus rapide que la dissociation du complexe formé.



## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-7- Hypothèse de Michaelis-Menten



$$V_1 = k_1 [E] [S]$$
$$V_2 = k_2 [ES]$$

$$V_3 = k_3 [ES]$$
$$V_4 = k_4 [E] [P] = 0$$

- La vitesse de disparition du **substrat** est:  $-dS/dt = V_1 - V_2$
- La vitesse de l'apparition du **produit** est:  $dP/dt = V_3$

Donc:  $V_1 - V_2 = V_3$

D'où:  $k_1 [E] [S] = [ES] (k_2 + k_3)$

$$k_m = \frac{[E] [S]}{[ES]} = \frac{(k_2 + k_3)}{k_1}$$

- $k_m$ : Constante de Michaelis est la constante de dissociation du complexe enzyme substrat.
- $k_m$  est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour le substrat.

## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-8- Equation de Michaelis-Menten

Soit  $[E_T]$  la concentration totale de l'enzyme dans le milieu

La  $[E]$  libre s'écrira:  $[E] = [E_T] - [ES]$

$k_m$  devient alors:  $k_m = ([E_T] - [ES]) \cdot [S] / [ES]$

$$k_m = [E_T] \cdot [S] / [ES] - [ES] \cdot [S] / [ES]$$

$$k_m = [E_T] \cdot [S] / [ES] - [S]$$

$$k_m + [S] = [E_T] \cdot [S] / [ES]$$

$$[ES] = [E_T] \cdot [S] / k_m + [S]$$

- Sachant que la vitesse de la réaction:  $V = k_3 [ES]$
- On peut donc écrire en remplaçant  $[ES]$ :  $V = k_3 [E_T] \cdot [S] / k_m + [S]$
- La vitesse est maximale lorsque tout E est combiné à S  $[E_T] = [ES]$

$$V = k_3 [ES] \quad V_{max} = k_3 [E_T]$$

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{k_m + [S]}$$

## Equation de MICHAELIS & MENTEN :

$$v = V_{\max} \frac{[s]}{K_m + [s]}$$

## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-9- Hyperbole de Michaelis-Menten

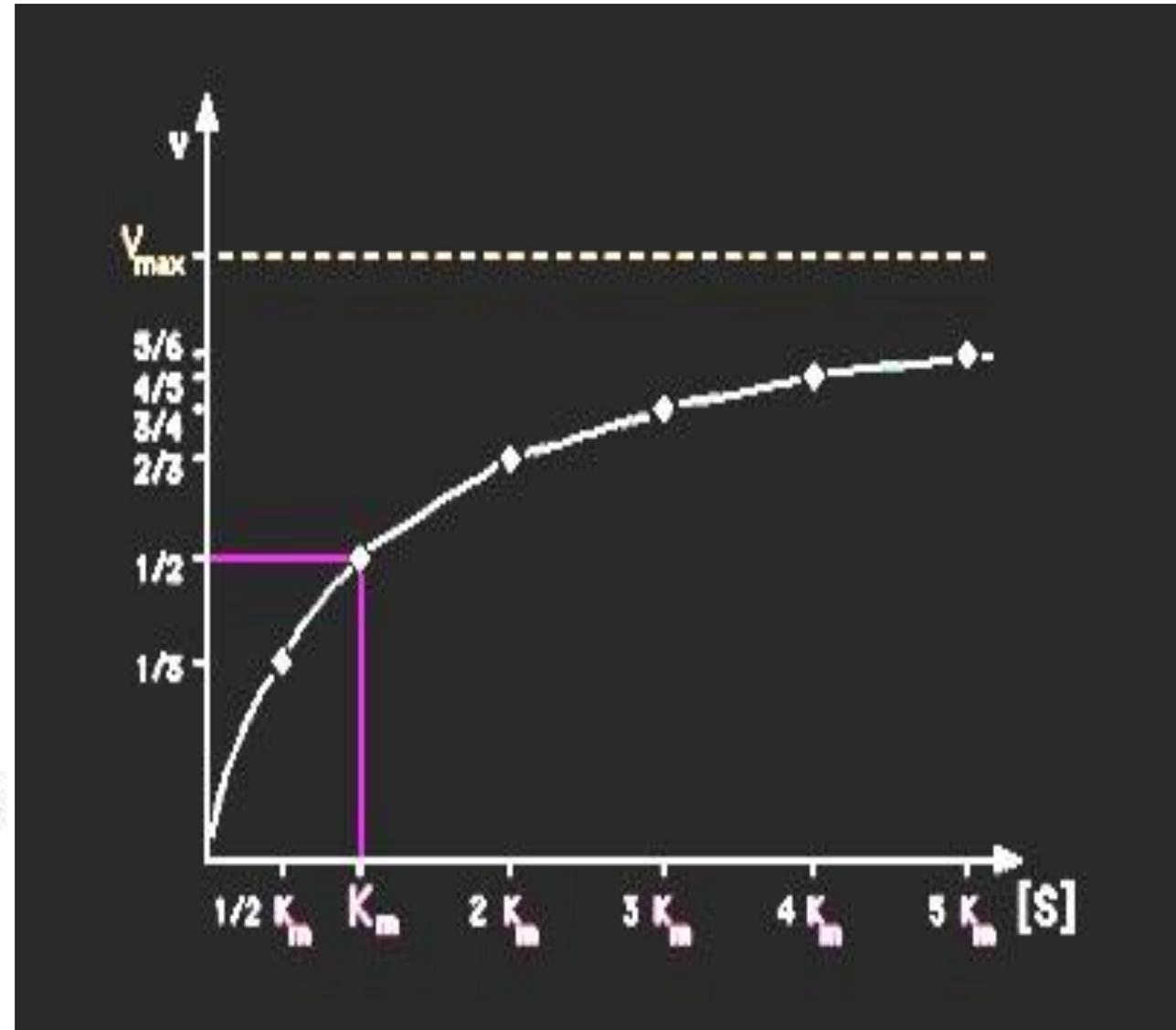
- $V_{\max}$  est une vitesse initiale que la réaction aurait si la concentration du substrat était infinie.
- $K_m$  est la concentration du substrat pour laquelle on observe une vitesse égale à la moitié de  $V_{\max}$ .

- $[S] \ll K_m$        $V = V_{\max} [S] / K_m$
- $[S] = K_m$        $V = V_{\max} / 2$
- $[S] \gg K_m$        $V = V_{\max}$

**$K_m$  : mesure de la stabilité du complexe ES**

**$K_m$  élevé: liaison faible**

**$K_m$  faible : liaison forte**



## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-10- représentation de Lineweaver et Burk

On prend les inverses de l'équation de Michaelis & Menten:

L'équation de Michaelis & Menten ( $V = f [S]$ ) prend une allure de fonction linéaire de type  $y = ax + b$ .

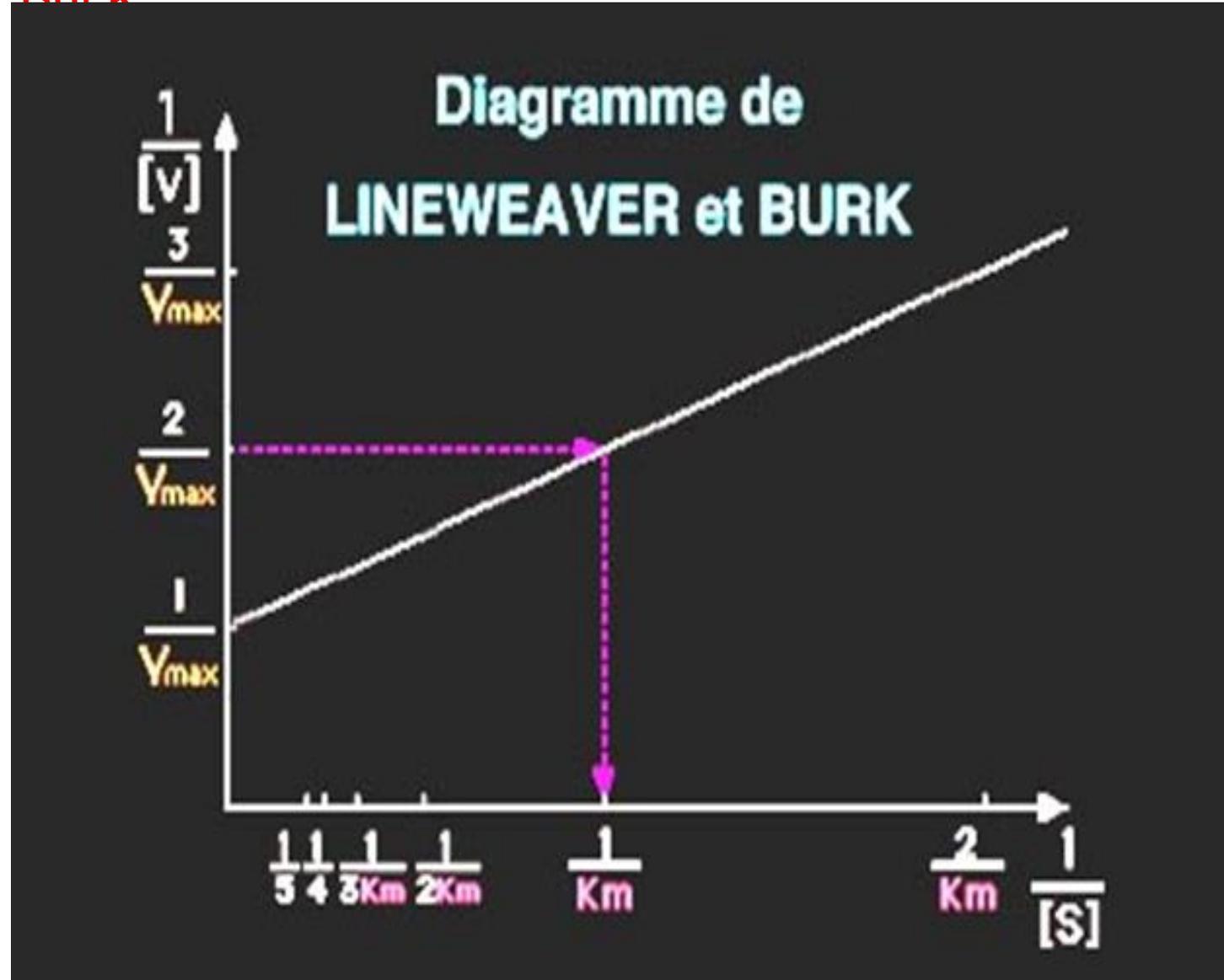
Dans cette transformation due à Lineweaver et Burk, l'inverse de la vitesse initiale est exprimé en fonction de l'inverse de la concentration du substrat et des constantes  $K_m$  et  $V_{max}$ .

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

## 2- Effet de la concentration de substrat

### 2-11- Diagramme de Lineweaver et Burk

Le graphe représentant cette fonction linéaire est appelé **graphe en double inverse** puisque les deux variables sont respectivement les inverses des variables de l'hyperbole précédente.



# MODULATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUE

## 3- Effet des constantes physiques

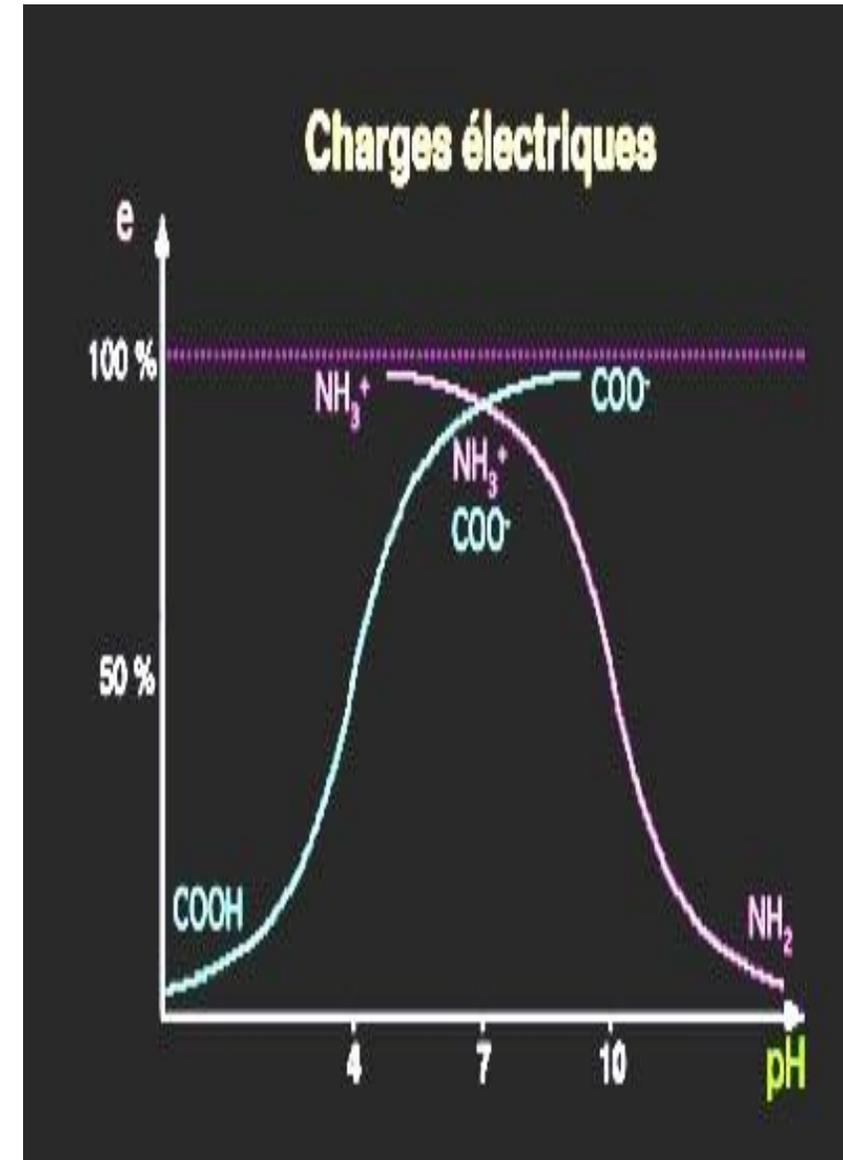
### 3-1- Effet du pH

- Le pH intervient de deux manières différentes :
  - Soit en modifiant la structure secondaire ou tertiaire de l'enzyme.
  - Soit en modifiant les charges électriques des radicaux des acides aminés du site actif.
- Lorsqu'une enzyme est conservée dans un milieu dont le pH est défavorable au maintien de sa structure, elle va subir une dénaturation.

## 3-1- Effet du pH

### A- Charges électriques

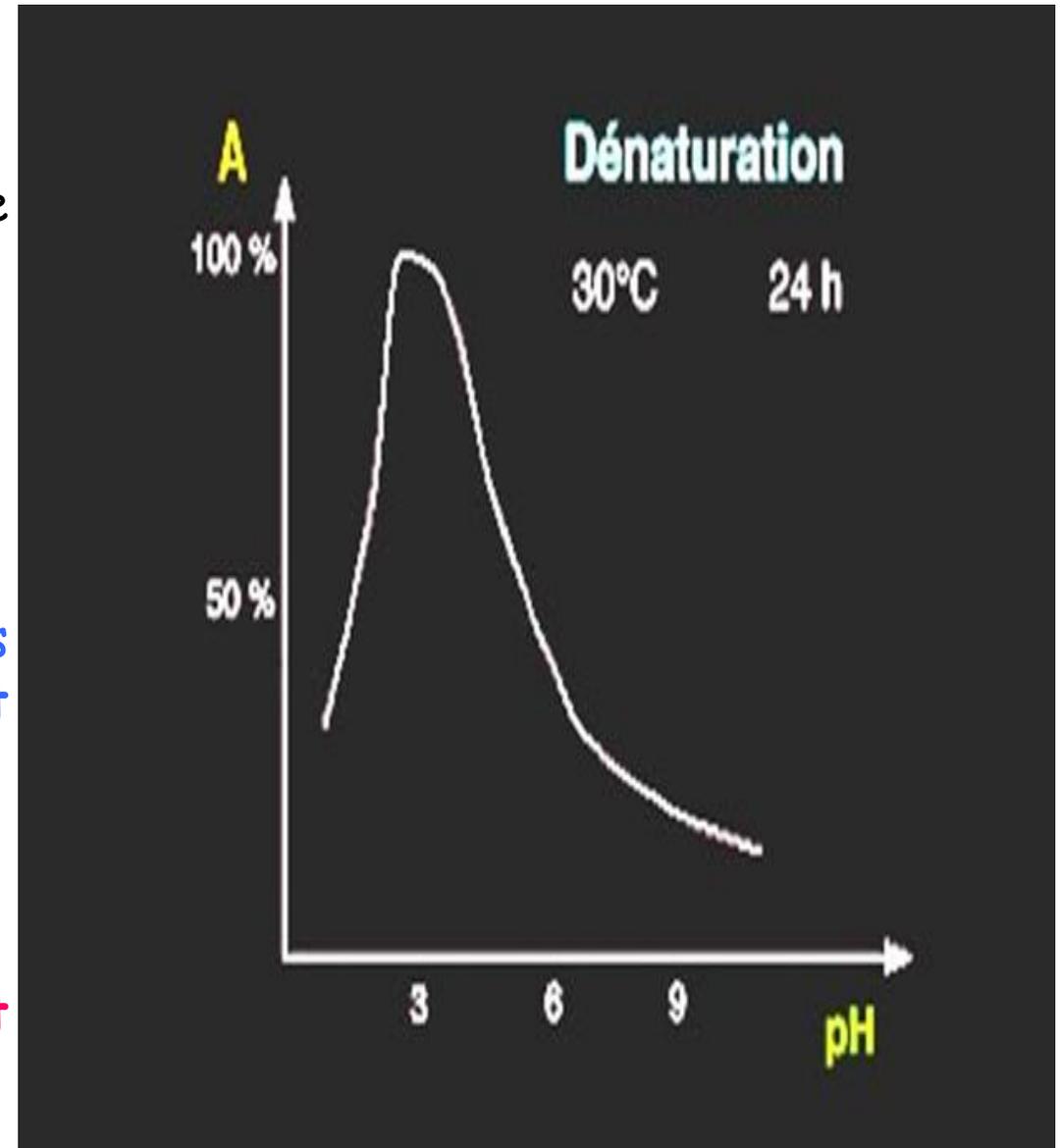
- Le milieu dans lequel se produit la réaction enzymatique détermine la charge électrique des radicaux des acides aminés de la protéine:
- Aux pH très acides la plupart des fonctions ionisables de ces radicaux sont sous la forme protonée ( $\text{COOH}$  et  $\text{NH}_3^+$ ).
- Aux pH les plus alcalins les fonctions ionisables de ces mêmes radicaux sont sous la forme déprotonée ( $\text{COO}^-$  et  $\text{NH}_2$ ).
- A pH voisin de la neutralité, une très grande majorité de ces radicaux à fonctions ionisables sont chargés ce qui **facilite les liaisons enzyme-substrat ou enzyme-coenzyme de type électrostatique**.
- Il existe donc un pH du milieu réactionnel où les charges électriques des radicaux du site actif de l'enzyme seront **les plus favorables** à la liaison enzyme-substrat : on appelle ce pH le **pH optimum de la réaction enzymatique**.



## 3- Effet des constantes physiques

### 3-1- Effet du pH

- Graphe représentant l'activité résiduelle d'une enzyme qui a été conservée:
  - Pendant 24 heures
  - Température 30°C.,
  - pH du milieu de conservation.
- A pH 3 cette enzyme a été conservée dans des conditions optimales et son activité résiduelle est la plus grande (100%).
- A pH 6 l'enzyme a subi une dénaturation partielle.
- A pH 9 ou bien en dessous de pH 3, cet effet dénaturant est encore plus marqué.

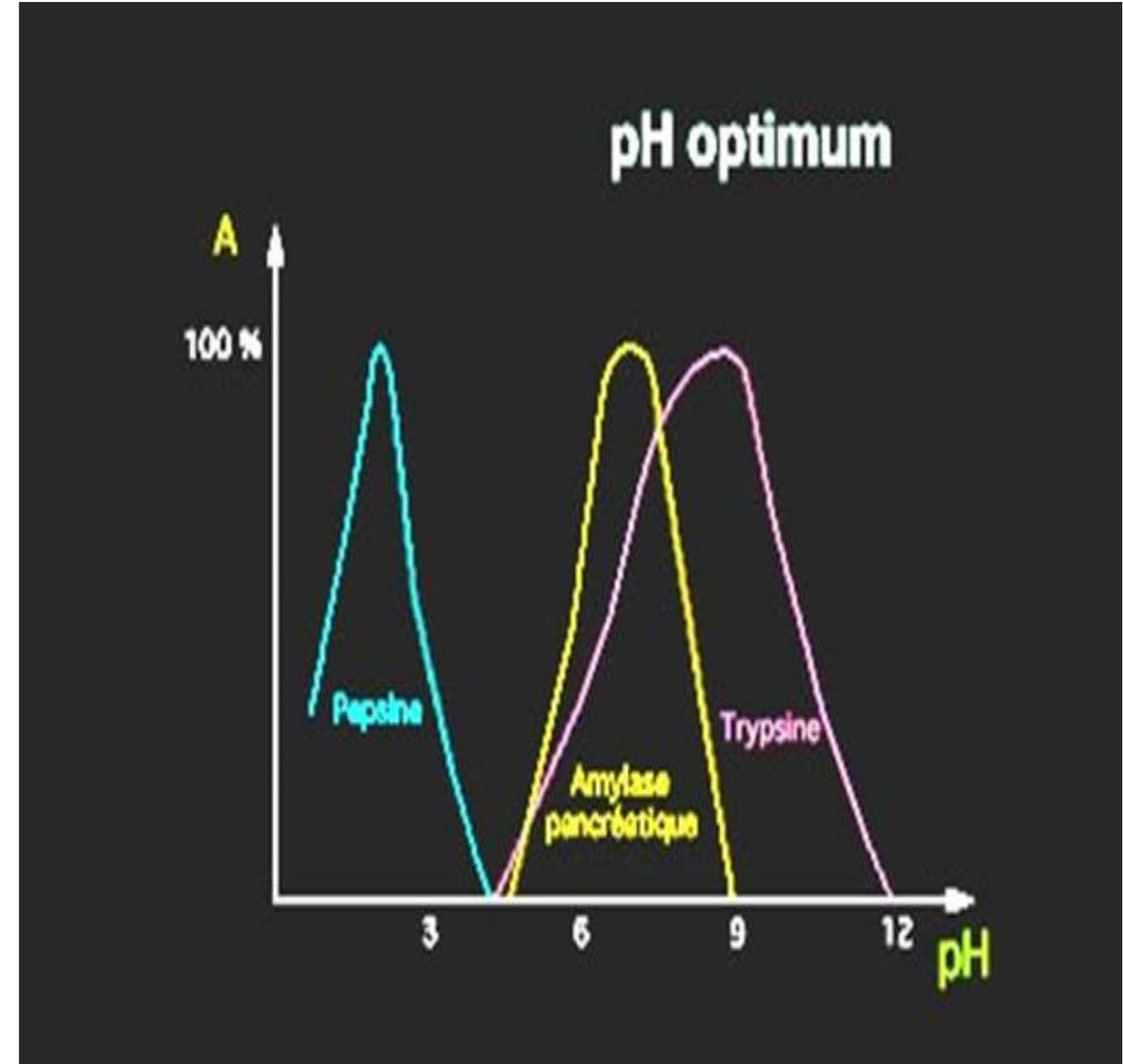


### 3-1- Effet du pH

#### B- pH optimum

Les enzymes de la digestion des protéines ont des **pH optimums différents** pour s'adapter aux conditions de pH qui règnent dans la lumière aux différents étages du tube digestif:

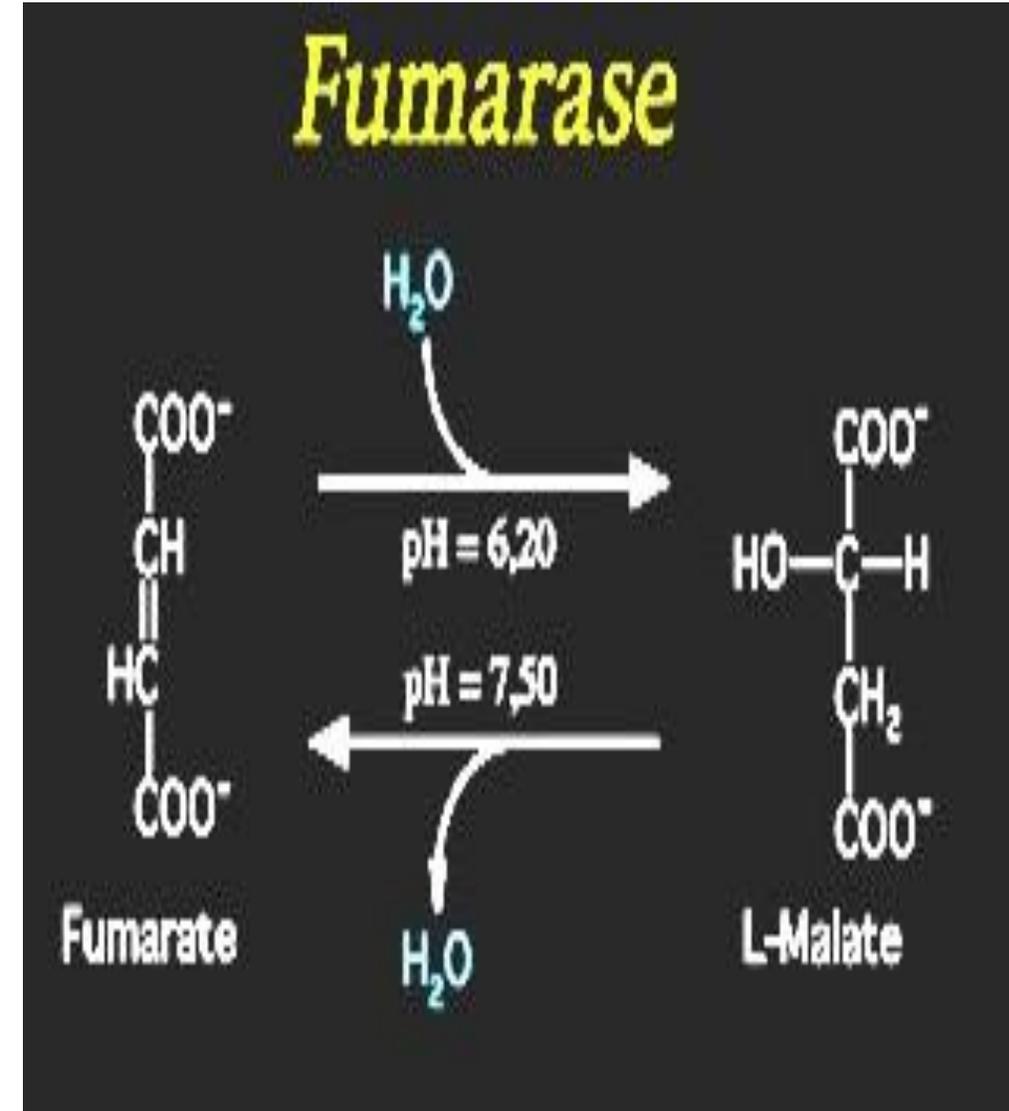
- L'activité de la pepsine est maximum pour un milieu très acide comme celui de l'estomac où elle est sécrétée.
- Au contraire les enzymes pancréatiques comme l'amylase et la trypsine, ont un pH optimum d'action plus alcalin car dans le duodénum où elles exercent leur activité le pH est proche de 8.



## Exemple de pH optimum: 1- La fumarase

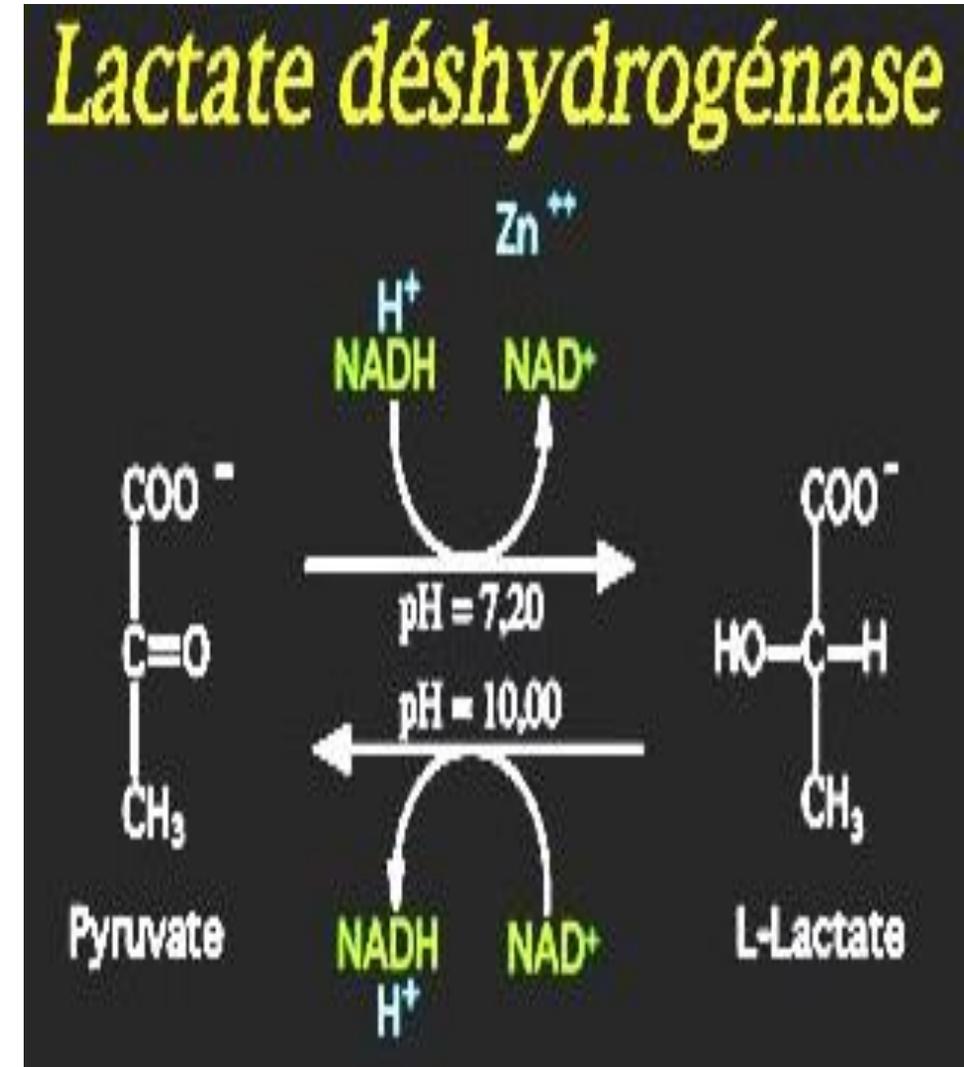
La fumarase est une enzyme des mitochondries qui catalyse la transformation réversible du fumarate en malate.

- Le pH de la matrice mitochondriale où se trouve cette activité enzymatique, varie en fonction des circonstances physiologiques.
- Le pH optimum de l'enzyme est **différent** pour la réaction avec le **fumarate comme substrat (6,20)** ou pour la **réaction inverse avec le malate (7,50)**.
- De sorte que lorsque le pH de la mitochondrie est bas (acidose) l'enzyme favorisera la transformation du fumarate en malate.
- Le pH agit donc ici comme un effecteur de la réaction.



## Exemple de pH optimum: 2- La lactate déshydrogénase

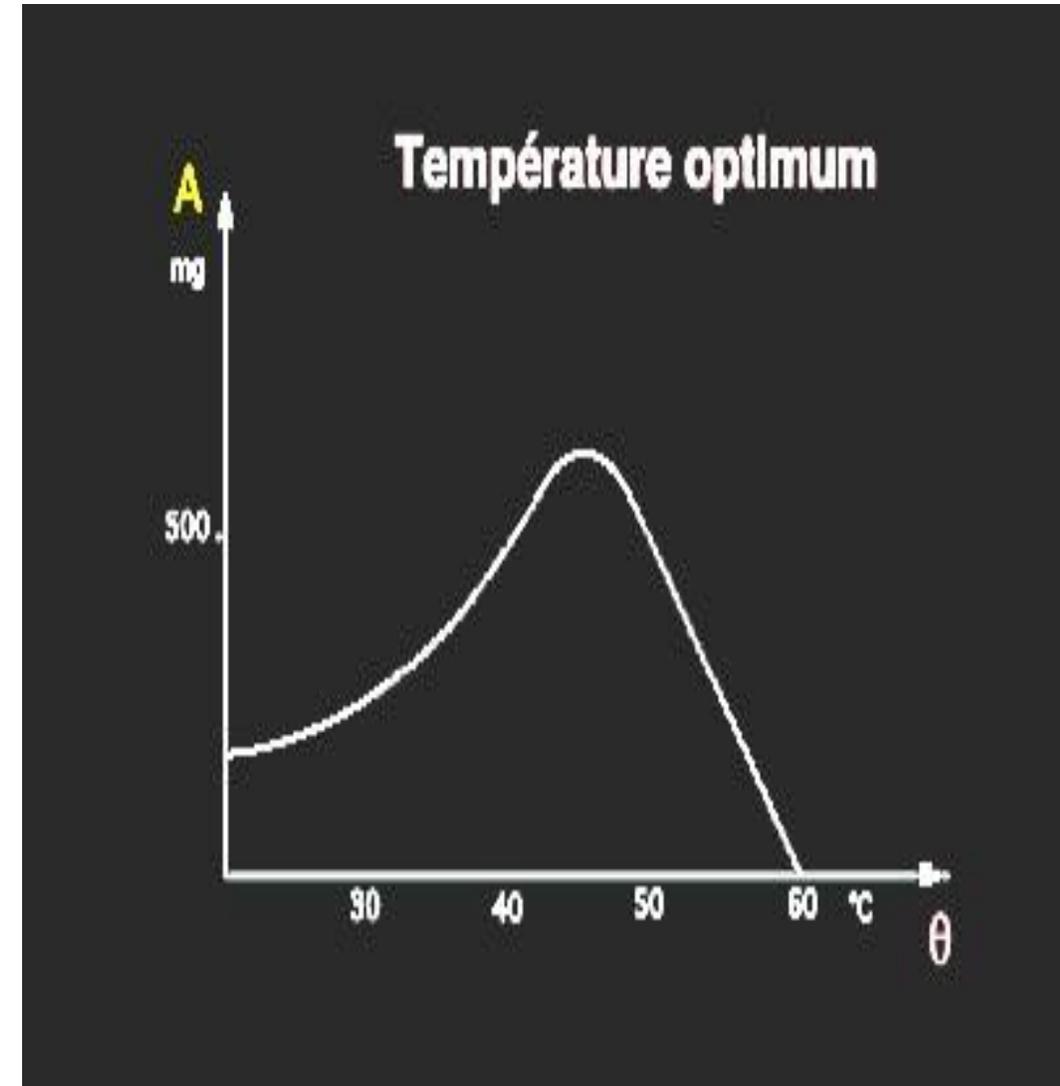
- LDH est une enzyme du cytoplasme qui catalyse la transformation réversible du pyruvate en lactate.
- Le pH du cytoplasme de la cellule varie en fonction des circonstances physiologiques.
- Le pH optimum de l'enzyme est différent pour la réaction avec le **pyruvate comme substrat (7,20)** ou pour la réaction inverse avec le **lactate (10,00)**.
- De sorte que lorsque le pH du cytoplasme est bas (acidose) l'enzyme favorisera la transformation du pyruvate en lactate.
- Le pH agit donc ici comme un effecteur de la réaction.



### 3- Effet des constantes physiques

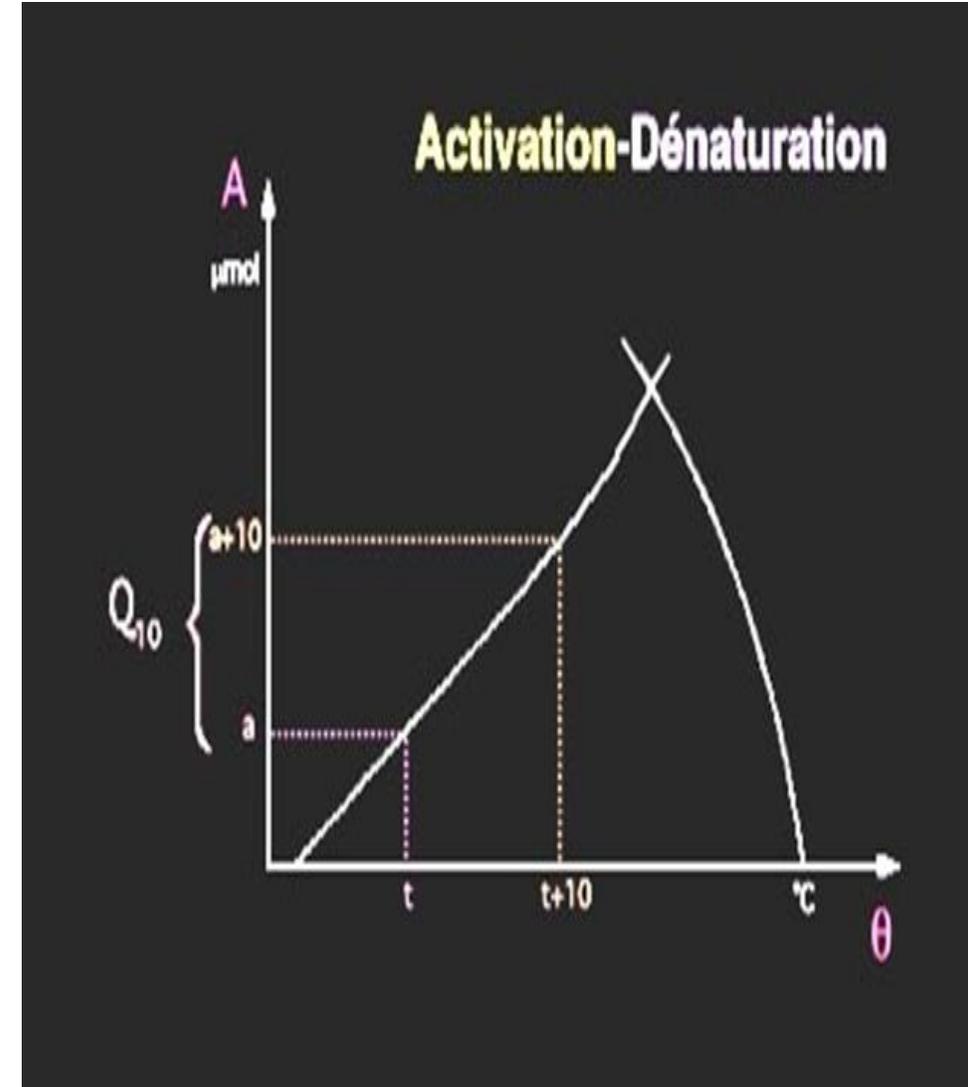
#### 3-2- Température optimum

- Le graphe qui représente les quantités de produit transformées par une enzyme (**A**) en fonction de la température ( $\theta$ ) du milieu d'incubation:
- La courbe est ascendante jusqu'à une température (ici  $45^{\circ}\text{C}$ .) où l'activité de l'enzyme est la plus grande, puis rapidement descendante.



### 3-2 Température optimum: *Activation et dénaturation*

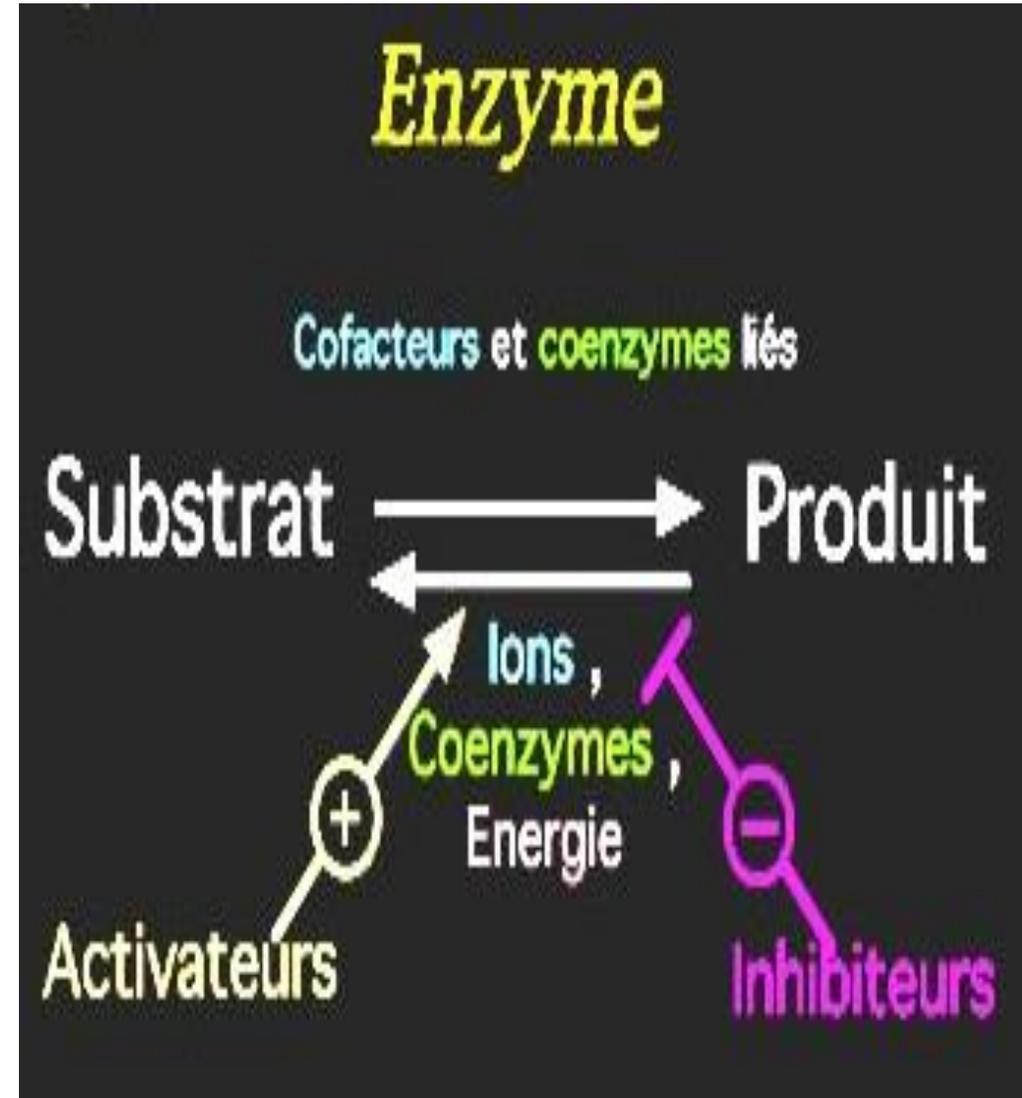
- Cette courbe est la somme de deux effets superposés de la température sur la vitesse de la réaction enzymatique:
- Au dessus de 40 ou 45°C. la chaleur dénature les structures secondaires et tertiaires de l'enzyme et l'activité tend rapidement vers zéro.
- Pour les températures inférieures, la chaleur du milieu apporte un supplément d'énergie qui facilite la réaction enzymatique.
- Pour mesurer cet effet de la température sur l'activité de l'enzyme on compare l'activité de l'enzyme pour une température  $t$  avec l'activité pour une température  $t + 10^\circ\text{C}$ . Cette différence d'activité appelée  $Q_{10}$  est le paramètre permettant de mesurer l'activation de l'enzyme par la chaleur.



### 3- Effet des agents chimiques

#### 3-1- Activateurs et inhibiteurs

- Les agents chimiques, minéraux ou organiques sont capables de modifier les vitesses des réactions enzymatiques.
- Ceux qui accélèrent la réaction sont les activateurs.
- Ceux qui la ralentissent sont les inhibiteurs.



## 3-1- Activateurs et inhibiteurs

### 3-1-1- Influence des inhibiteurs

Ce sont des composés dont la fixation sur l'enzyme entraîne leur inactivation partielle ou totale qui se traduit par la diminution ou l'annulation de la vitesse initiale.

#### Inhibiteurs irréversibles

Ce sont des inhibiteurs qui dénaturent irréversiblement l'enzyme.

Exemple: Trichloroacétique

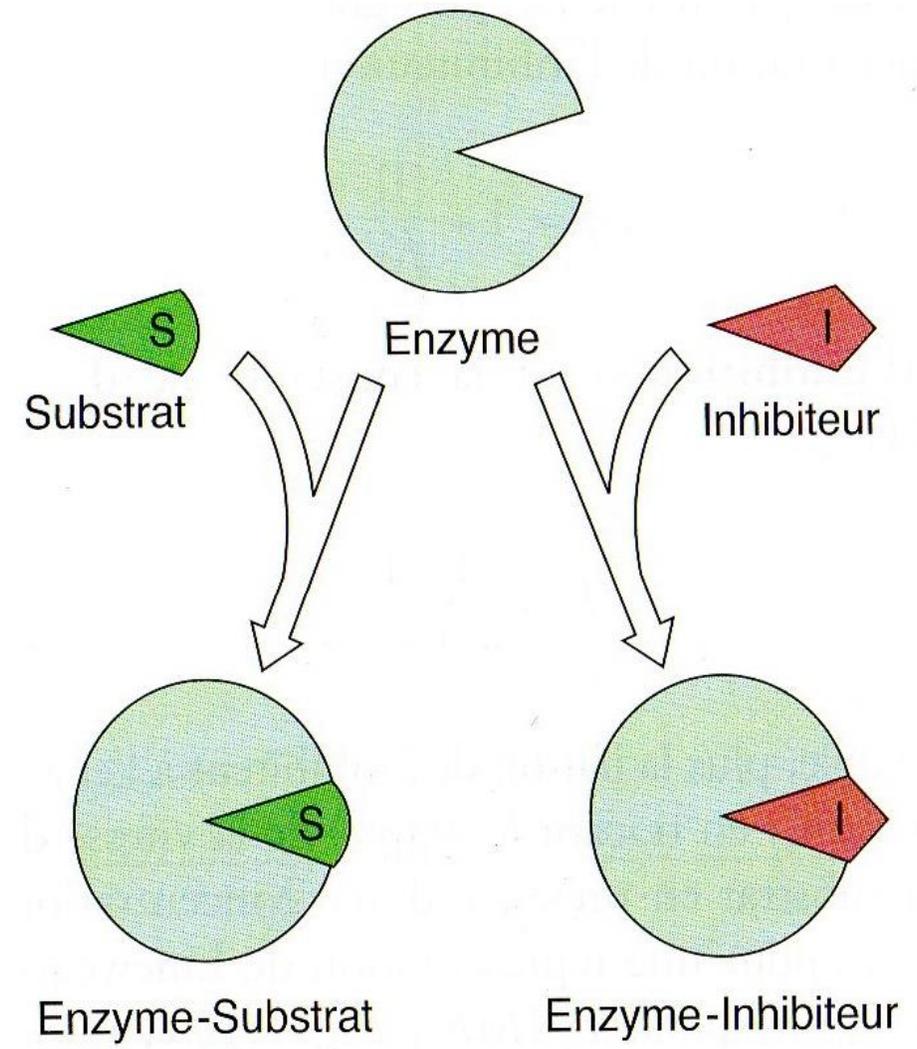
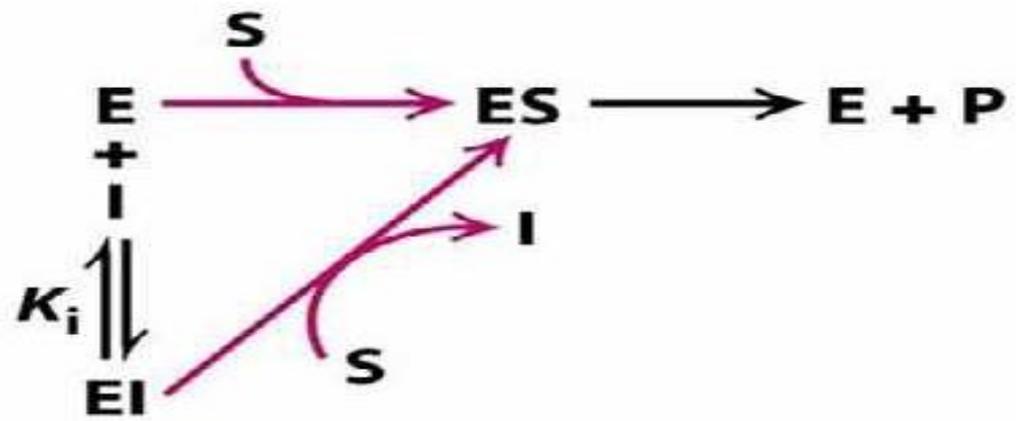
#### Inhibiteurs réversibles

- Modification de la cinétique enzymatique
- Pas de dénaturation de l'enzyme.

### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### A- Inhibiteurs compétitifs

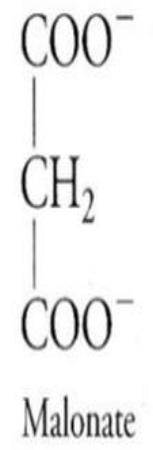
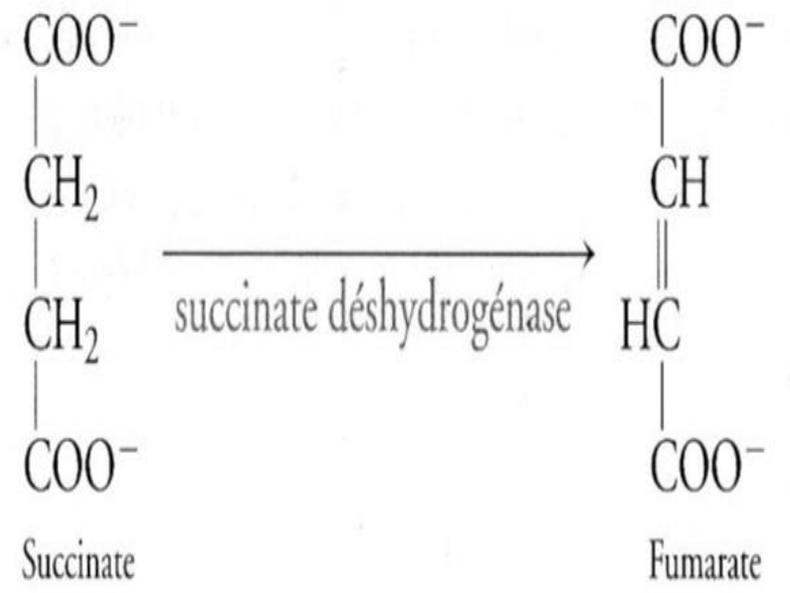
- Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme a pour effet d'empêcher la liaison enzyme-substrat, on parle d'**inhibition compétitive**.
- L'inhibiteur ressemble au substrat par sa forme globale et ses propriétés chimiques de sorte qu'il peut se fixer à l'enzyme mais il est dépourvu de la structure électronique exacte qui lui permettrait de réagir, donc le complexe EI est inactif.



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### A- Inhibiteurs compétitifs : *Exemple*

- L'inhibiteur compétitif le **malonate** affecte l'activité de la **succinate déshydrogénase** qui catalyse l'oxydation (déshydrogénation) du succinate pour produire le **fumarate**.
- Il inhibe la réaction en se fixant dans le site actif de la succinate déshydrogénase mais il ne peut pas être déshydrogéné.



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

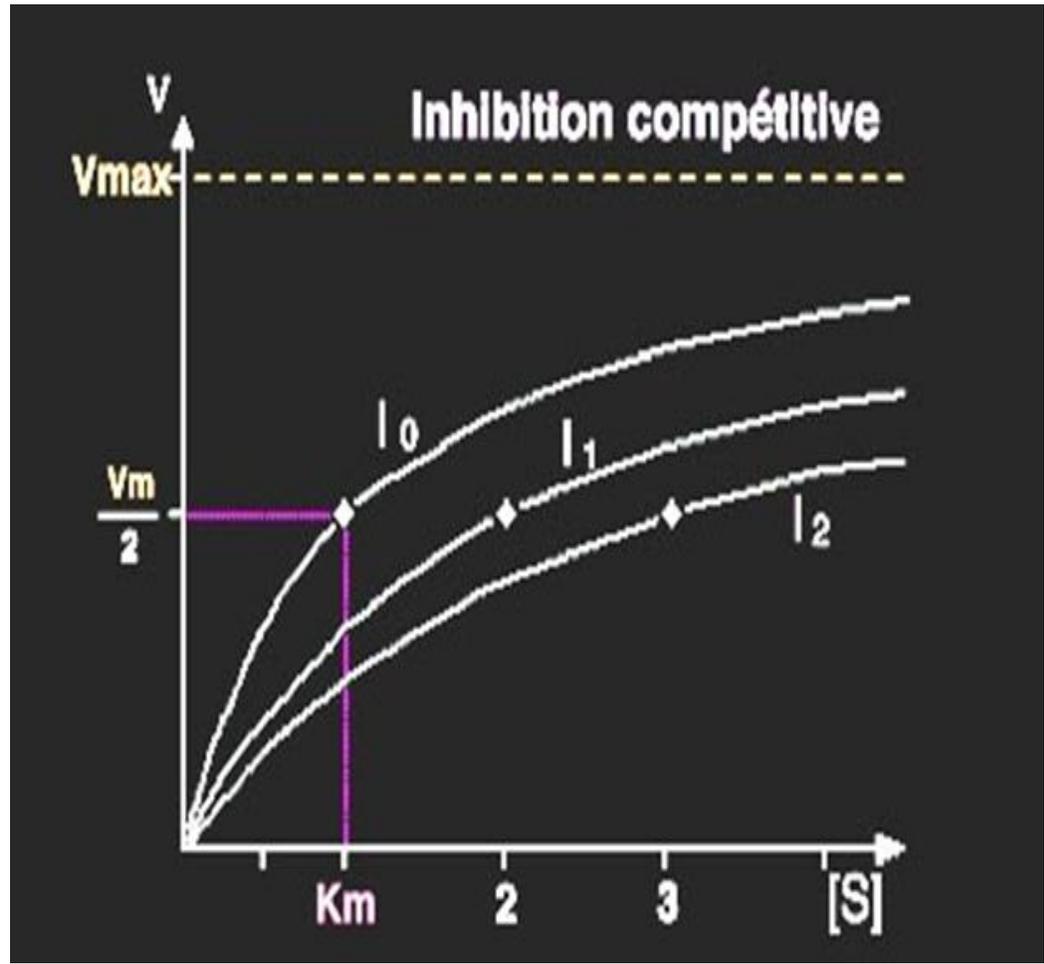
#### A- Inhibiteurs compétitifs (معيق تنافسي): *Hyperbole*

- 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).
  
- 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. (l'inhibition est levée par excès de substrat)

$Km' > Km$  ( $Km'$  : inhibiteur)

$Vmax = \text{constante}$

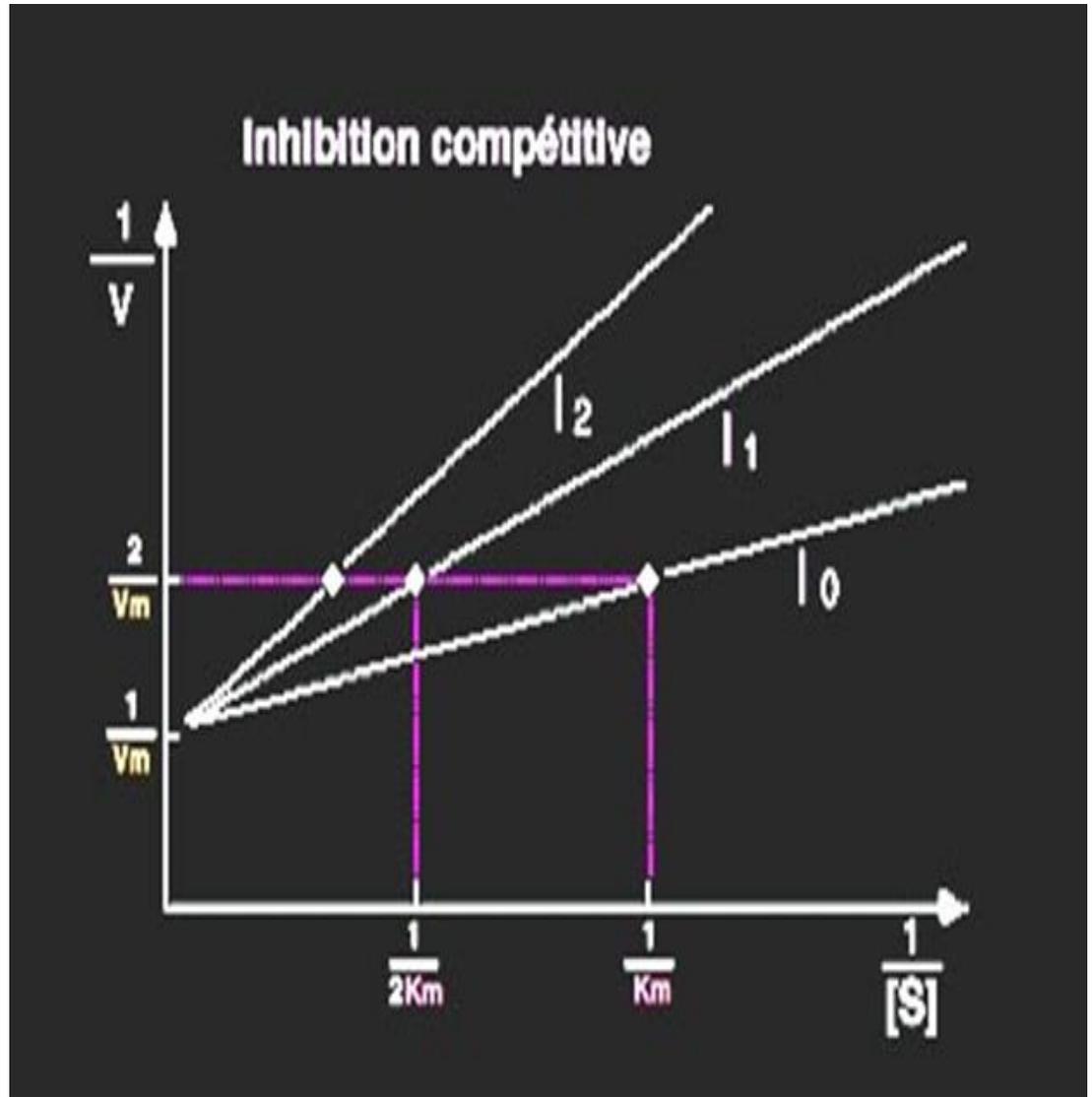
$$Km' = Km \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

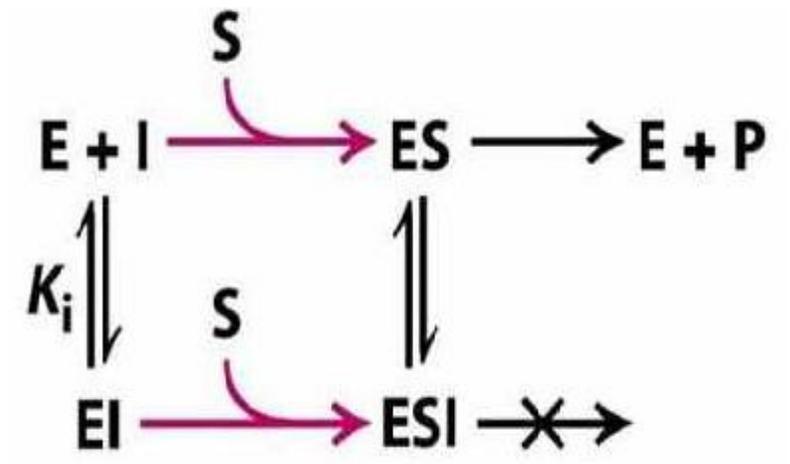
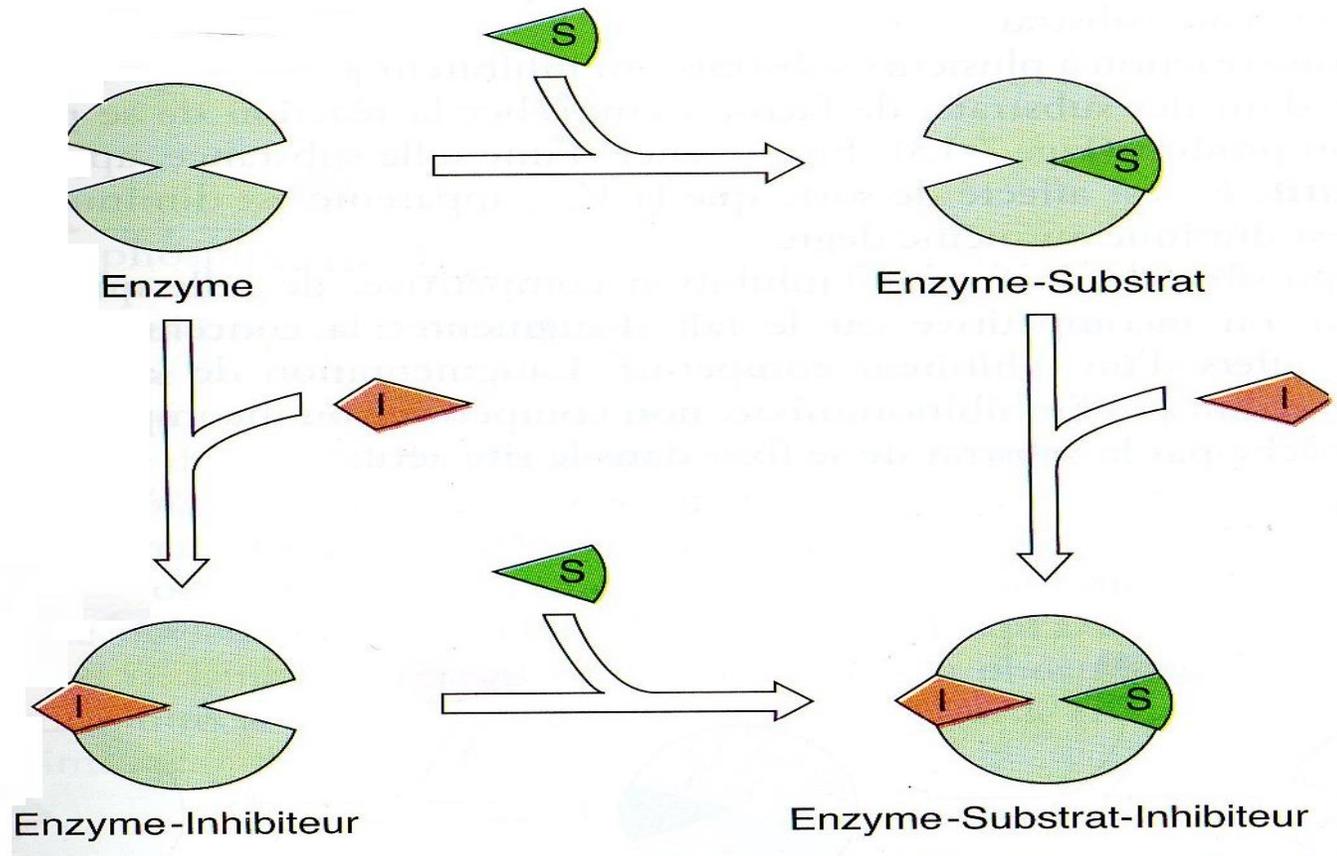
#### A- Inhibiteurs compétitifs : *Double inverse*

- Le graphe en double inverse montre la droite représentant la situation sans inhibiteur ( $I_0$ ) et les droites représentant l'effet des concentrations  $I_1$  et  $I_2$  de l'inhibiteur.
- L'inverse de la vitesse maximum, inchangée, représente le point commun de toutes ces droites : ceci est caractéristique des graphes en double inverse en présence de différentes concentrations d'un inhibiteur compétitif.



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### B- Inhibiteurs non compétitifs (معيق غير تنافسي):



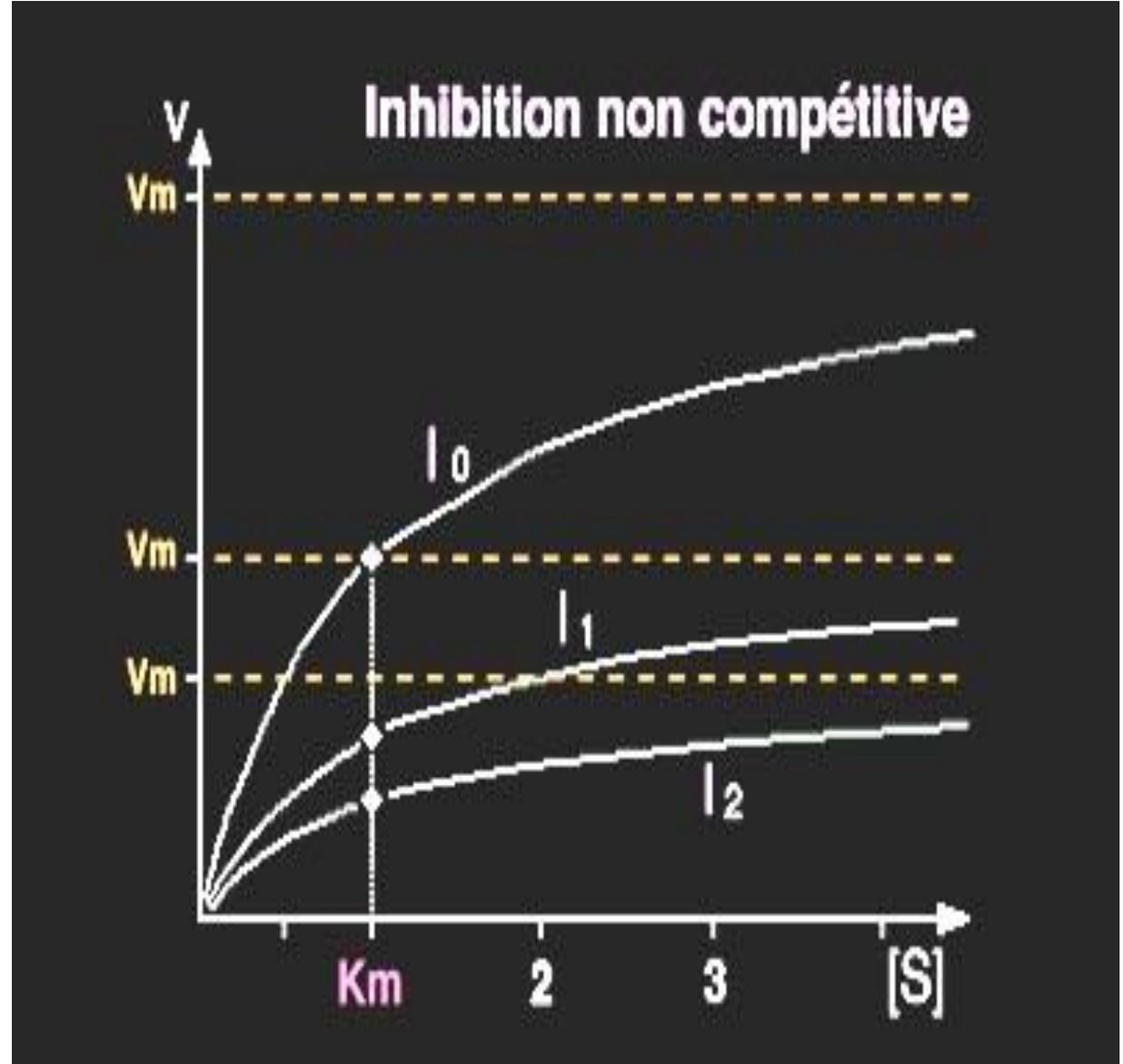
• L'inhibiteur se fixe sur un autre site que le site actif.

### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### B- Inhibiteurs non compétitifs (معيق غير تنافسي): Hyperbole

- La vitesse maximum change en fonction de la concentration de l'inhibiteur.

$K_m = \text{constante}$  ;  $V'_{\text{max}} < V_{\text{max}}$

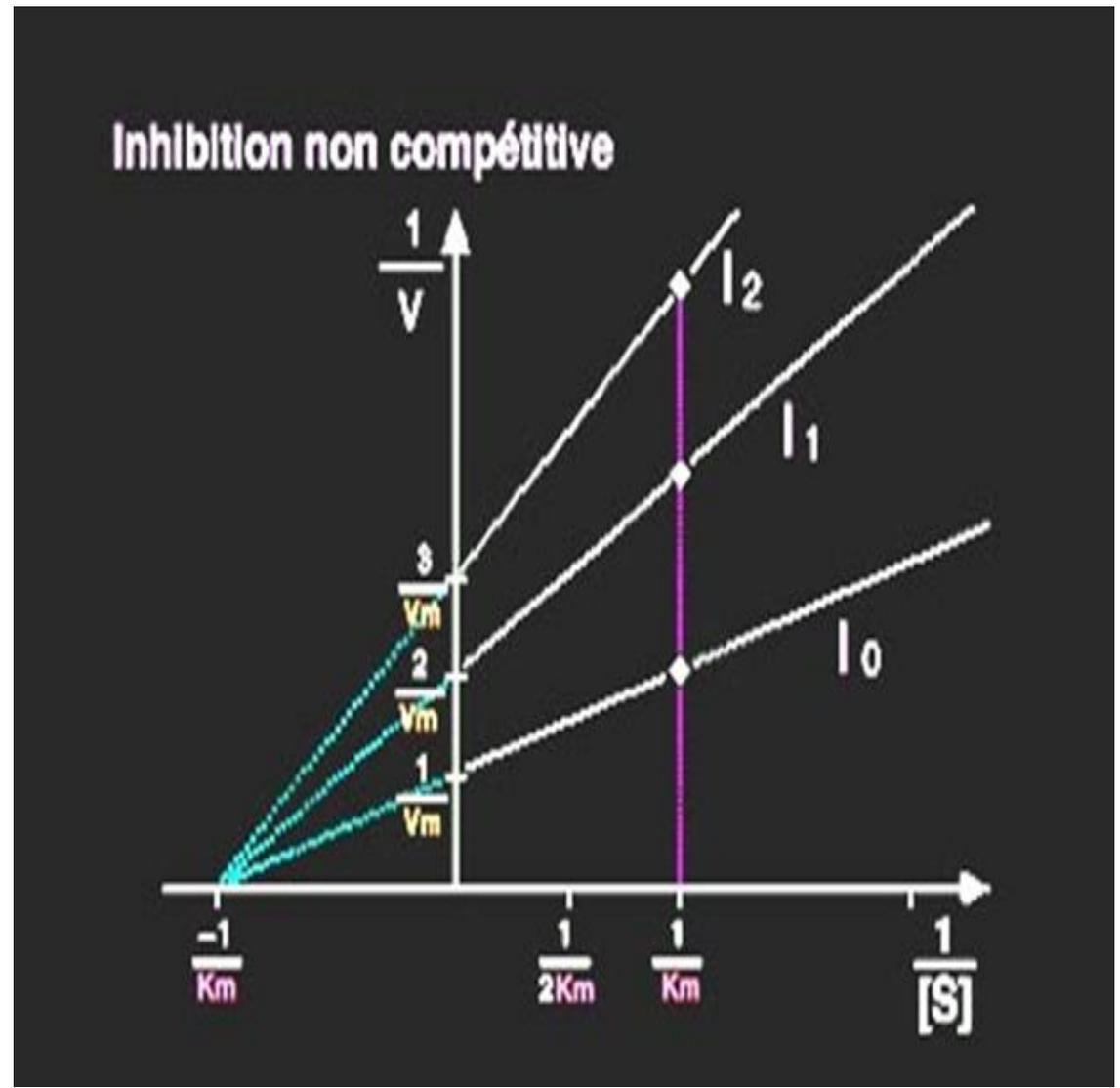


### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### B- Inhibiteurs non compétitifs

- L'inverse de la vitesse maximum augmente avec la concentration de l'inhibiteur.

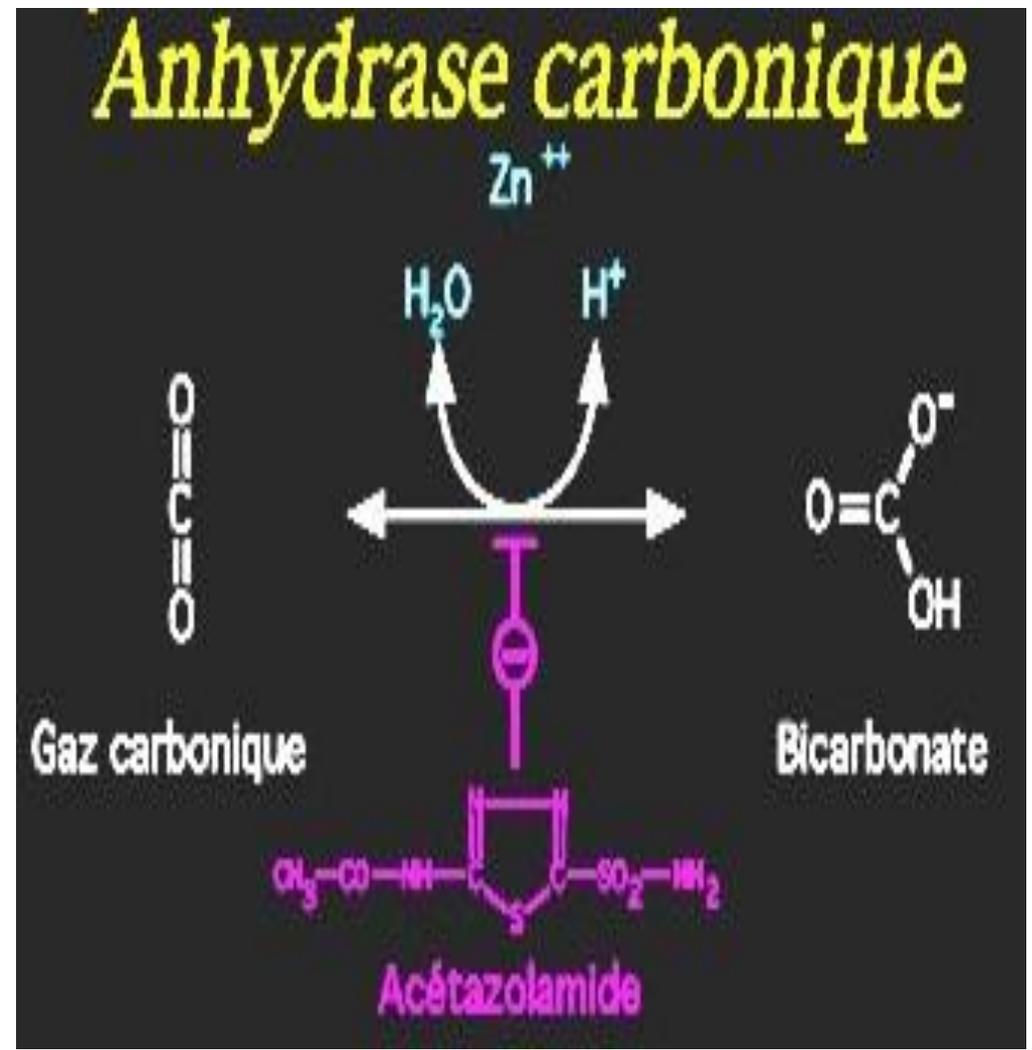
$$\frac{1}{V_{max}'} = \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

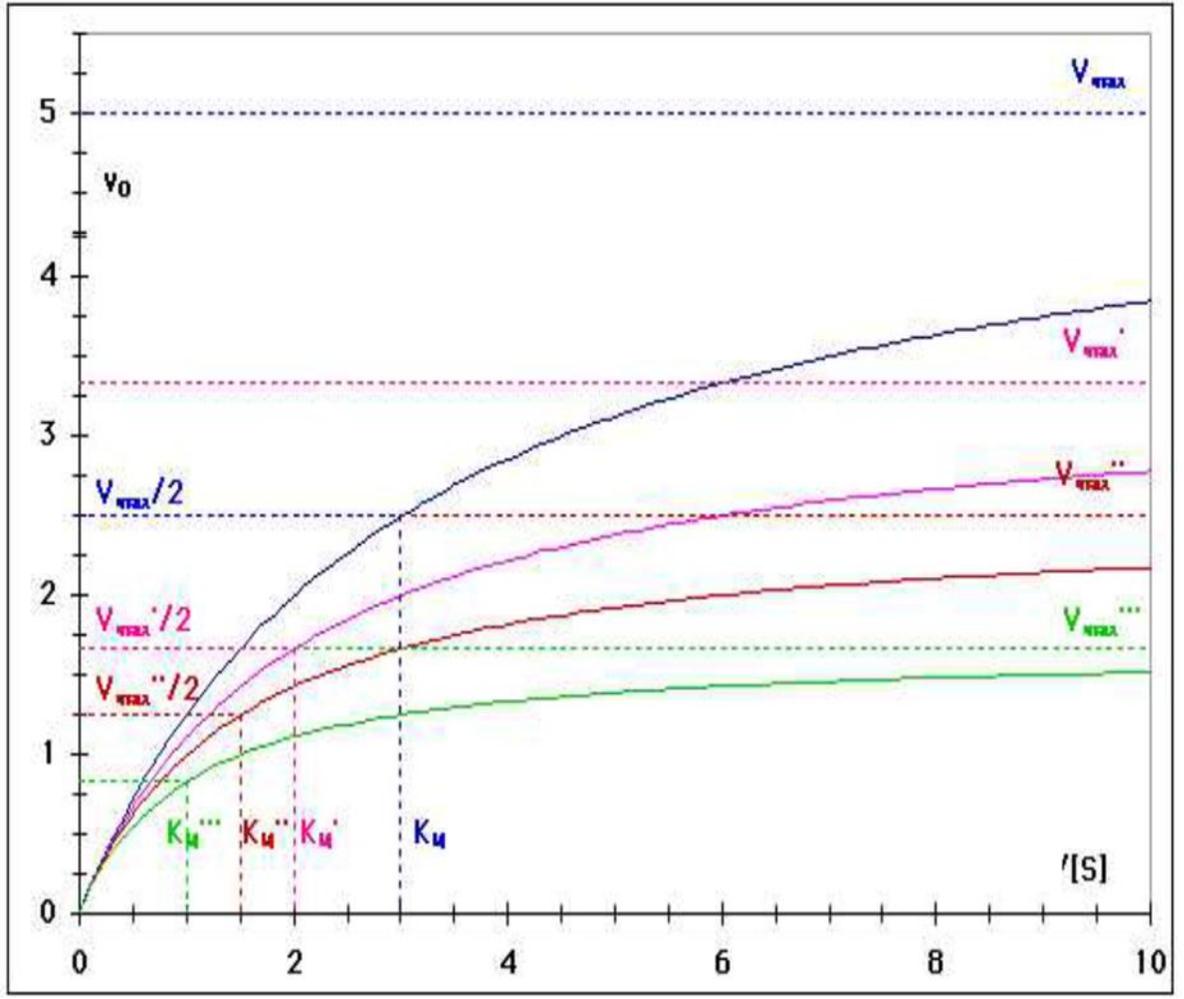
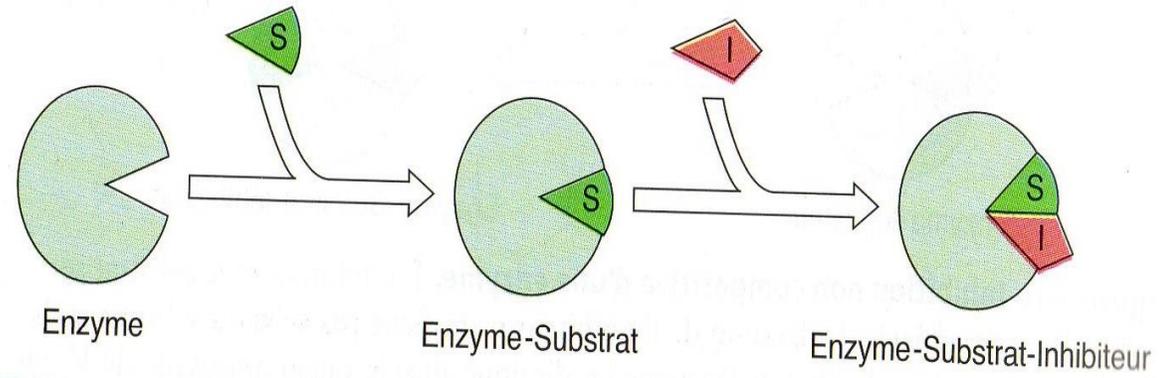
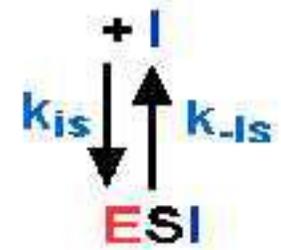
#### B- Inhibiteurs non compétitifs: Exemple

- L'anhydrase carbonique est inhibée par l'acétazolamide (médicament).
- Cette inhibition est non compétitive vis à vis du gaz carbonique, substrat de l'enzyme.



### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### C- Inhibiteurs incompétitifs (معيق لا تنافسي)

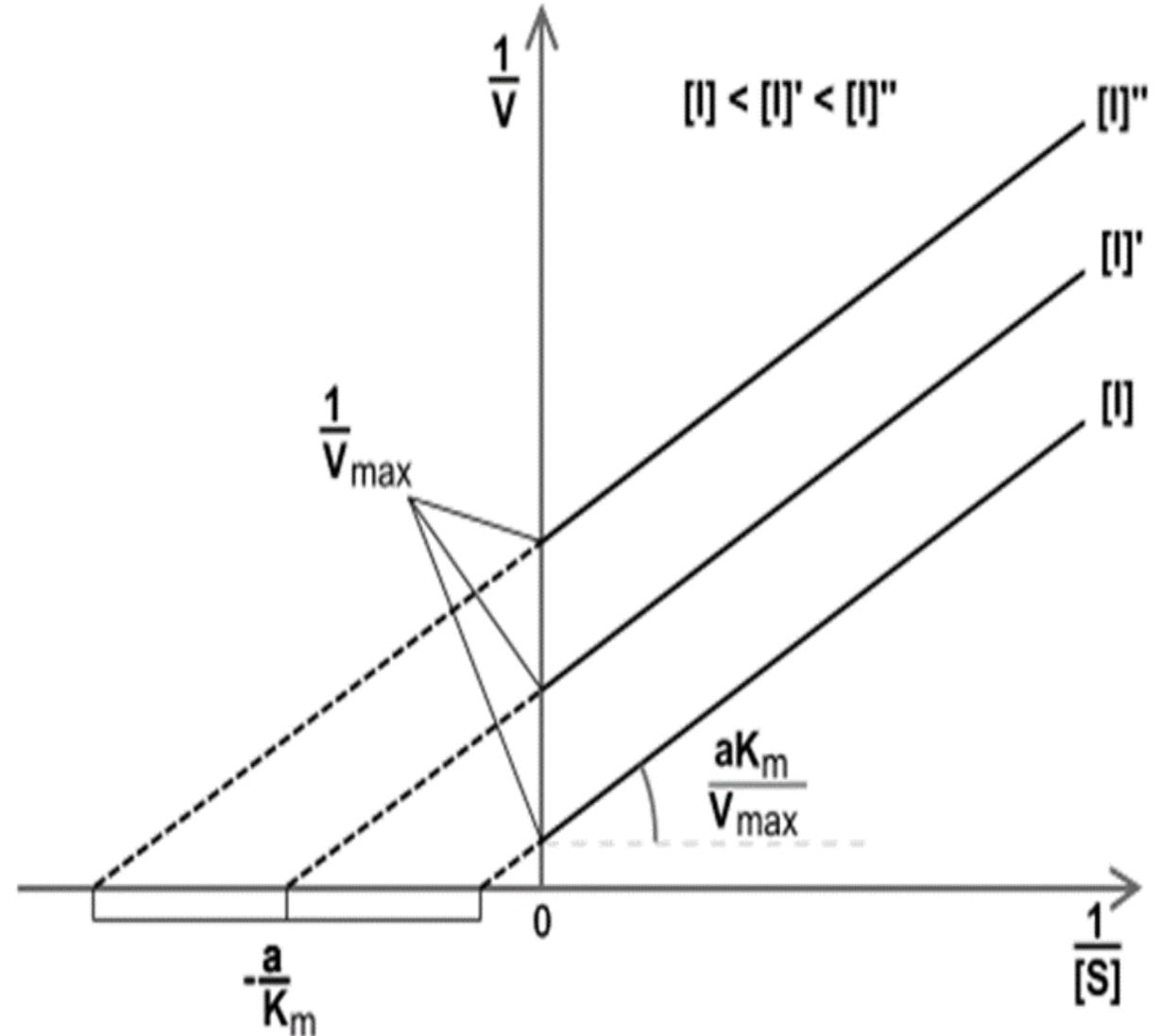


- Un inhibiteur incompétitif agit en se liant au complexe ES mais pas à l'enzyme seule.
- Il bloque la réaction chimique normalement catalysée.

### 3-1- Activateurs et inhibiteurs: Inhibiteurs réversibles

#### B- Inhibiteurs incompétitifs: *Double inverse*

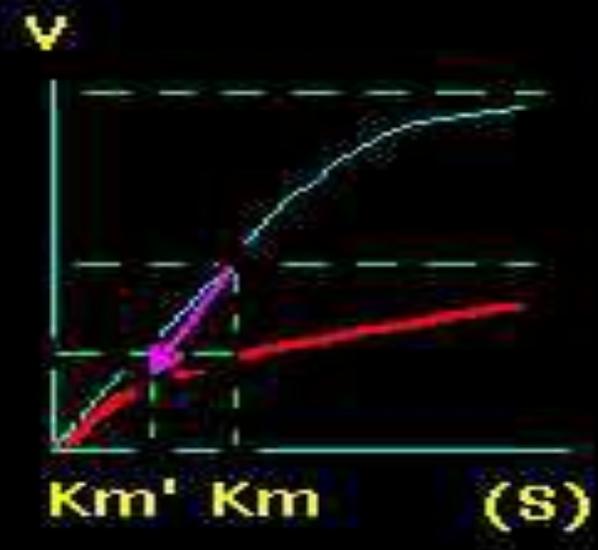
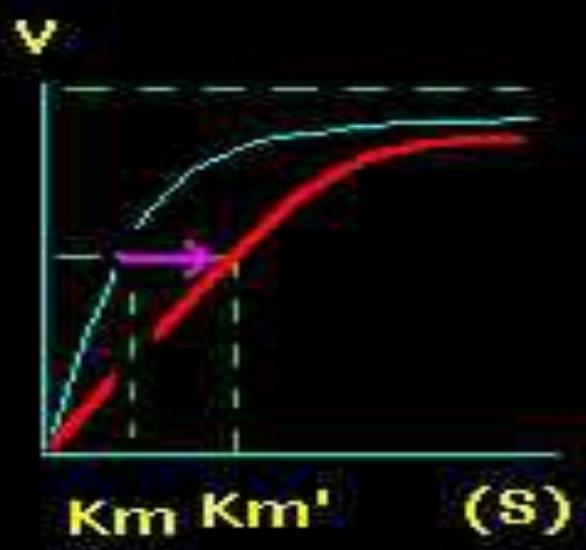
- La réduction de  $V_{\max}$  avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur incompétitif tandis que  $K_m$  décroît également.



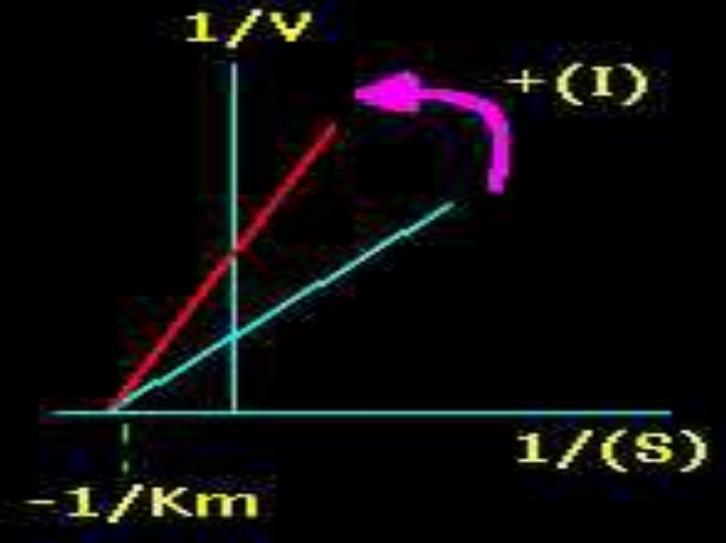
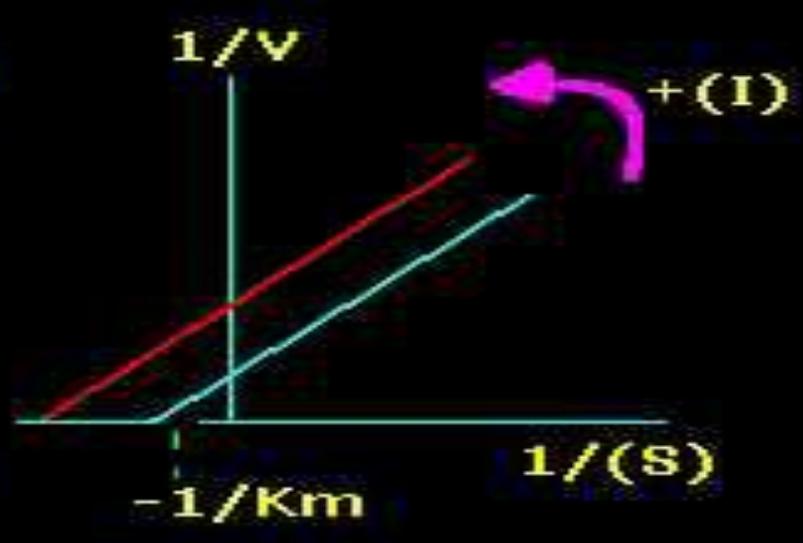
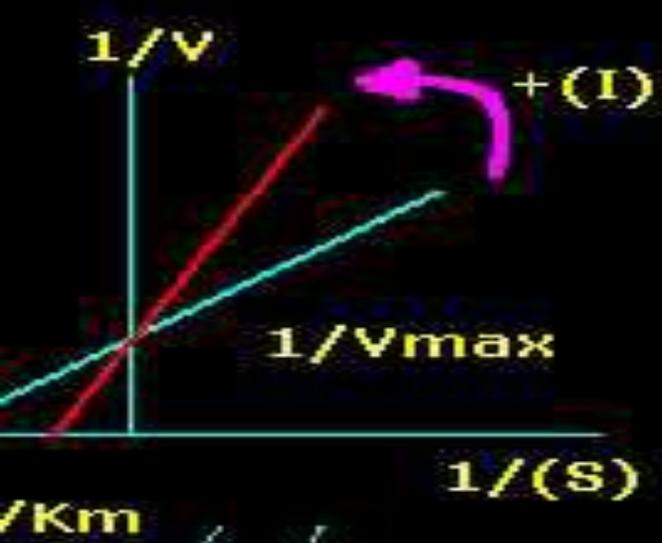
# INHIBITEUR COMPETITIF

# I. INCOMPETITIF

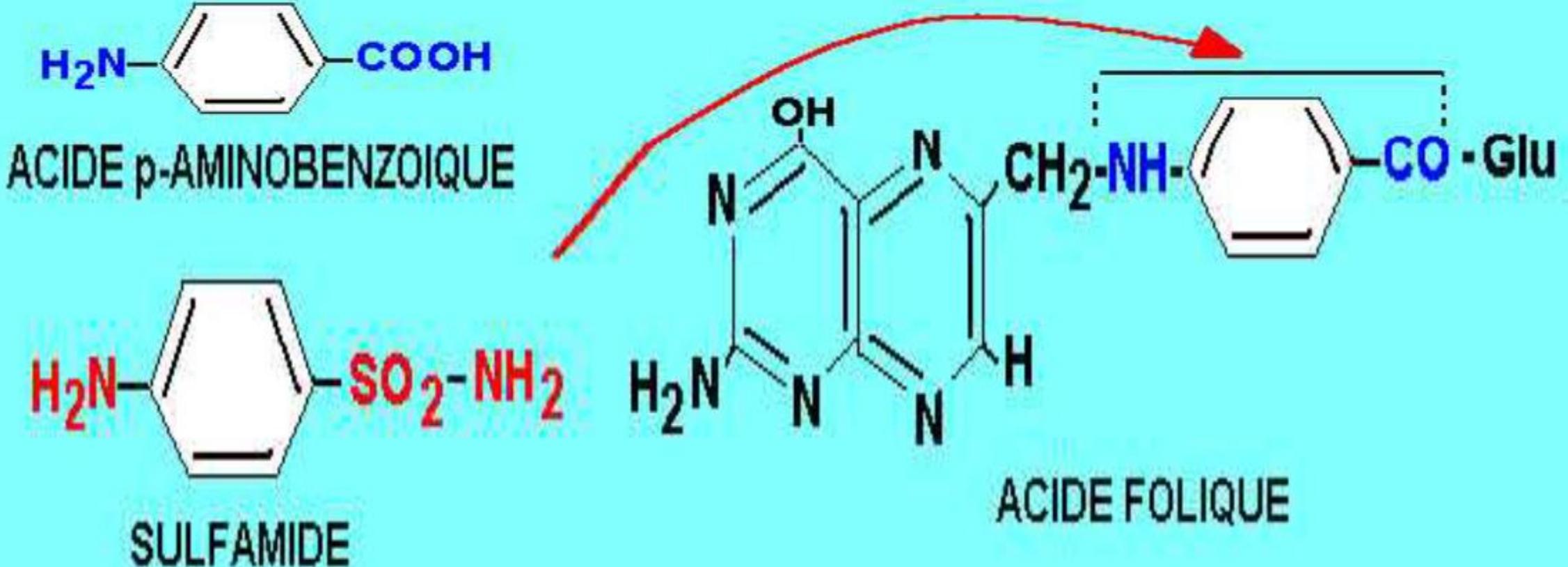
# I. NON COMPETITIF



## REPRESENTATIONS DE MICHAELIS-MENTEN

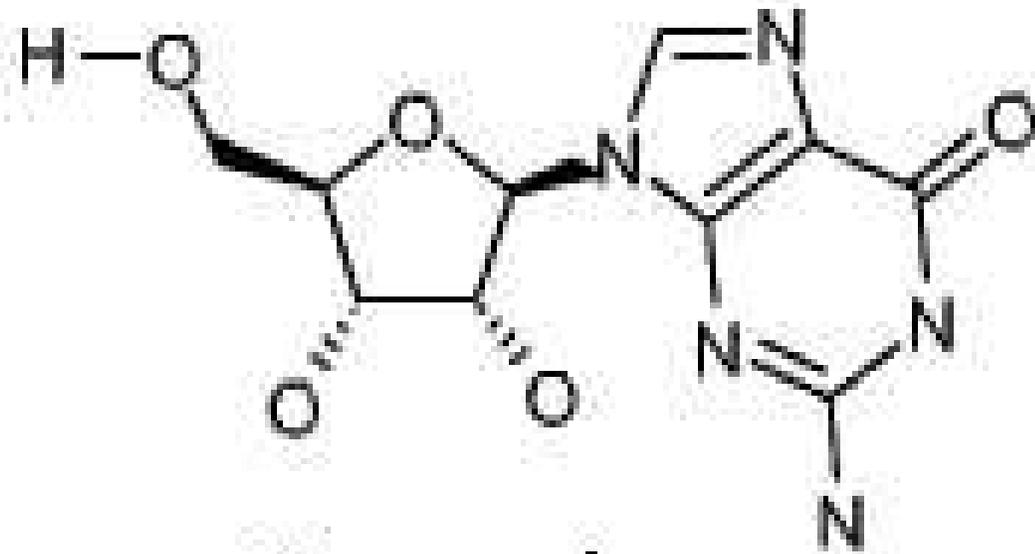


Exemples de médicaments inhibiteurs d'enzymes:

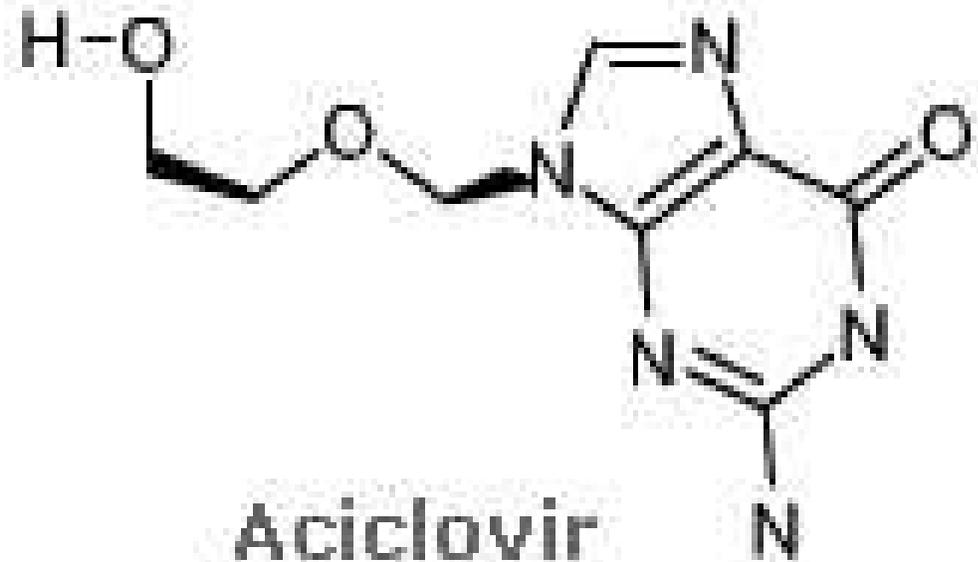


SULFAMIDE = ANALOGUE STRUCTURAL DE L'ACIDE p-AMINO BENZOIQUE.  
IL EST INHIBITEUR ENZYMATIQUE DE LA FORMATION DE L'ACIDE FOLIQUE

## Exemples de médicaments inhibiteurs d'enzymes:



**Guanosine**



**Aciclovir**

**Aciclover : analogue de la guanosine bloquant l'activité de la DNA polymérase du virus HSV (Herpes simplex virus)**

## 3-1- Activateurs et inhibiteurs

### 3-1-2- Les activateurs:

Sont de nature très diverses, on distingue :

- activateurs vrais : c'est le cas de beaucoup d'ions métalliques.
- Agents protecteurs : c'est le cas de la cystéine qui protège les groupements thiols du site actifs de nombreux enzymes.
- Activateurs de proenzymes

# LES ENZYMES ALLOSTERIQUES

## Sous-unité d'une protéine (monomère):

*Chaîne d'acides aminés constituant une partie de la structure quaternaire d'une protéine.*

- Lorsqu'une protéine est composée de plusieurs chaînes d'acides aminés, chacune de ces chaînes est une sous-unité de la protéine.
- L'arrangement spatial des sous-unités constitue la structure quaternaire de la protéine.

## Protomère:

*Chacune des parties équivalentes de la structure répétitive d'un corps chimique appelé: polymère.*

- Les corps chimiques dont la molécule est constituée de répétitions multiples d'un même ensemble d'atomes sont des **polymères**.
- L'unité structurale ainsi répétée est un **protomère** ou **monomère**.
- Lorsque le nombre de répétitions est faible le polymère est appelé **oligomère**.

## Protomère:

- Chaque protomère d'une protéine oligomérique peut être formé de plusieurs sous-unités.  
(Association de sous-unités se répétant n fois (n nombre paire)).

## Exemple:

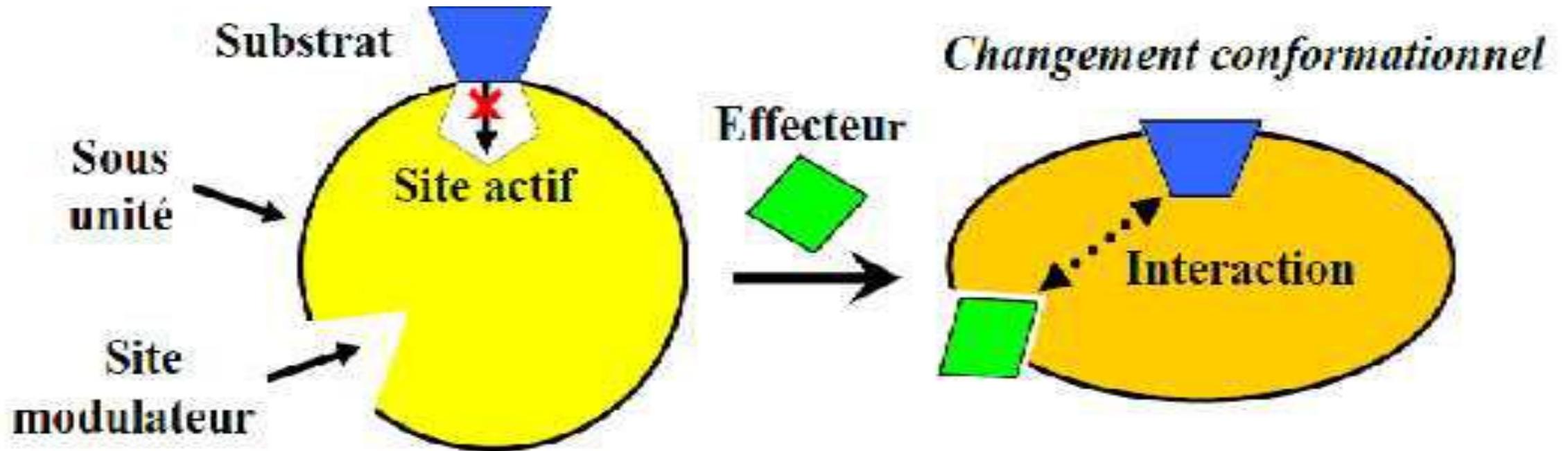
1- Enzyme renfermant 4 sous unités identiques « a », l'enzyme est dit **a<sub>4</sub>** et le protomère est **a** (le protomère est aussi le monomère).

2- Enzyme renfermant 4 sous unités dont 2 de type a et 2 de type b, enzyme est dit **a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>** et le protomère **ab**.

L'hémoglobine est un tétramère composé de 2 protomères, chaque protomère est constitué de 2 sous unités a et β.

## Allostérie:

Propriété de certaines protéines actives qui peuvent **changer de structure spatiale** lorsqu'elles se lient à un effecteur en un site différent du site actif, cette liaison se traduisant par une modification de l'activité.



## Ligand:

*Substance qui peut se lier et former un complexe avec une biomolécule (Enzyme).*

- Types de ligands: substrat, cofacteurs, ions métalliques, activateurs, inhibiteurs, neurotransmetteurs ...
- L'effecteur se fixe sur le **site allostérique** et joue un rôle important dans le contrôle de l'activité des enzymes dans la cellule.

## Symétrie:

Des enzymes de structure plus complexe ont une affinité vis à vis du substrat avec une vitesse maximum changer en fonction de la concentration des effecteurs: ce sont les enzymes à **cinétique allostérique**.

La protéine est donc un oligomère de 2 ou 4 sous-unités par exemple. Les protomères sont arrangés dans l'espace de façon que chacun d'entre eux ait les **mêmes liaisons avec les autres**. Un tel arrangement est dit **symétrique**.



## Sites de liaison:

Les sites de liaison existent de façon **identique** sur chaque protomère.



2- Chaque ligand d'une enzyme allostérique (effecteur, cofacteur ou substrat) a un site sur chaque protomère.

## Conformations:

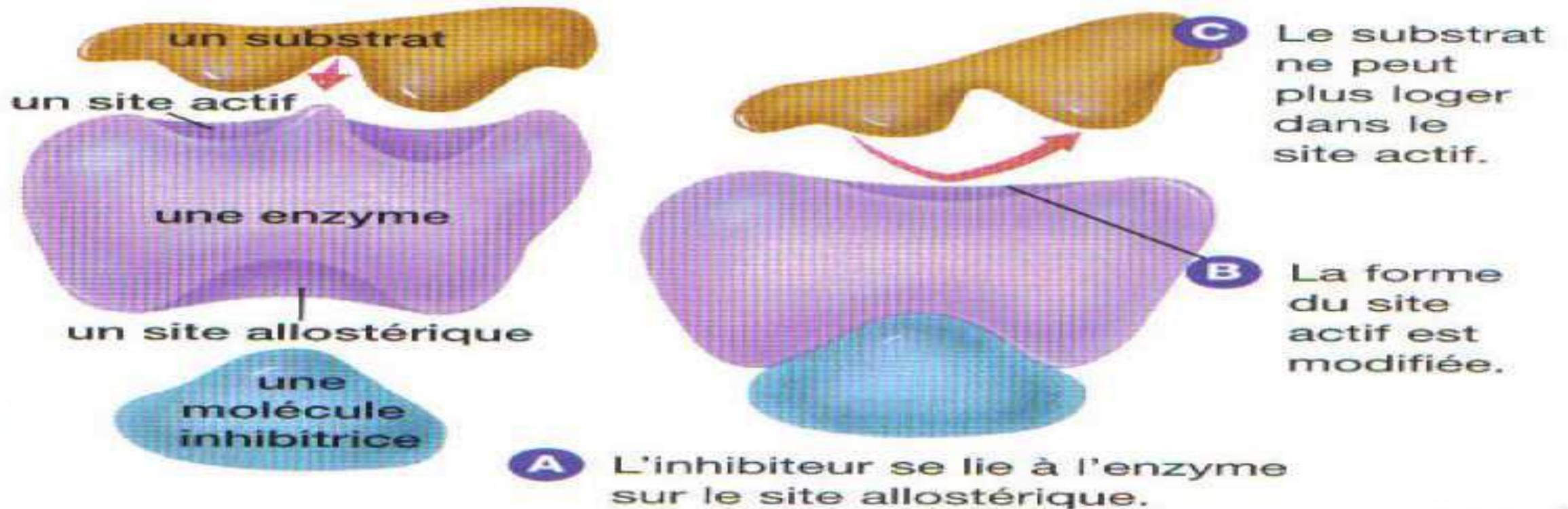
Chaque protomère a des liaisons avec les autres protomères du système, le plus souvent de type électrostatique, Sa structure secondaire et tertiaire et son énergie interne sont modifiées par ces liaisons.



3- La conformation de chaque protomère est contrainte par la conformation des autres.

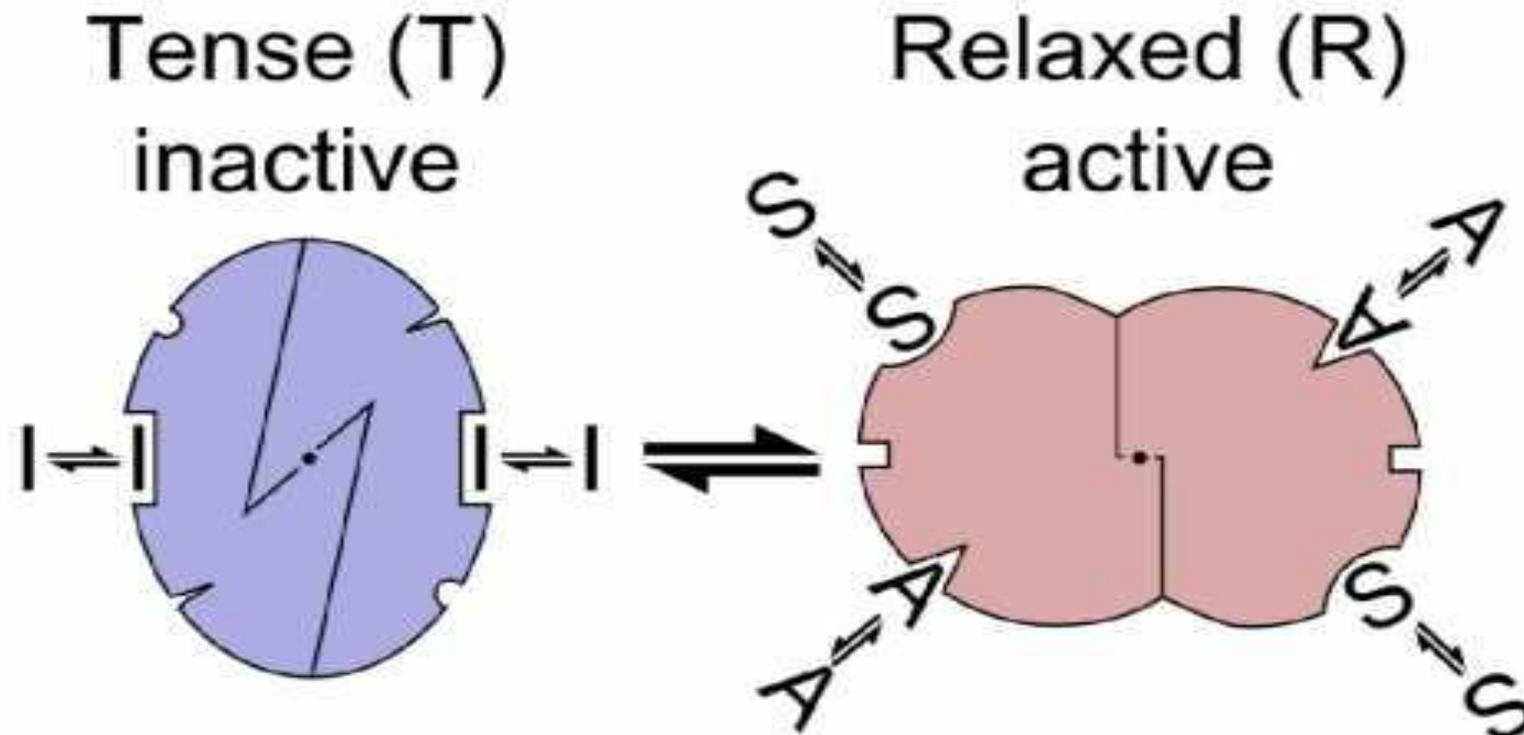
## 2- Transition allostérique

Lorsque l'effecteur allostérique se combine au site allostérique il entraîne au niveau de la protéine enzymatique toute entière une très légère **modification de structure qui est réversible**: c'est **la transition allostérique**, qui a pour conséquence directe de **modifier la cinétique de la réaction**.



La transition allostérique modifie les forces de liaisons qui associent les sous unités entre elles, mais sans aller jusqu'à leur dissociation.

La molécule apparait soit dans un état **tendu** ou **relâché** (selon son affinité au substrat).



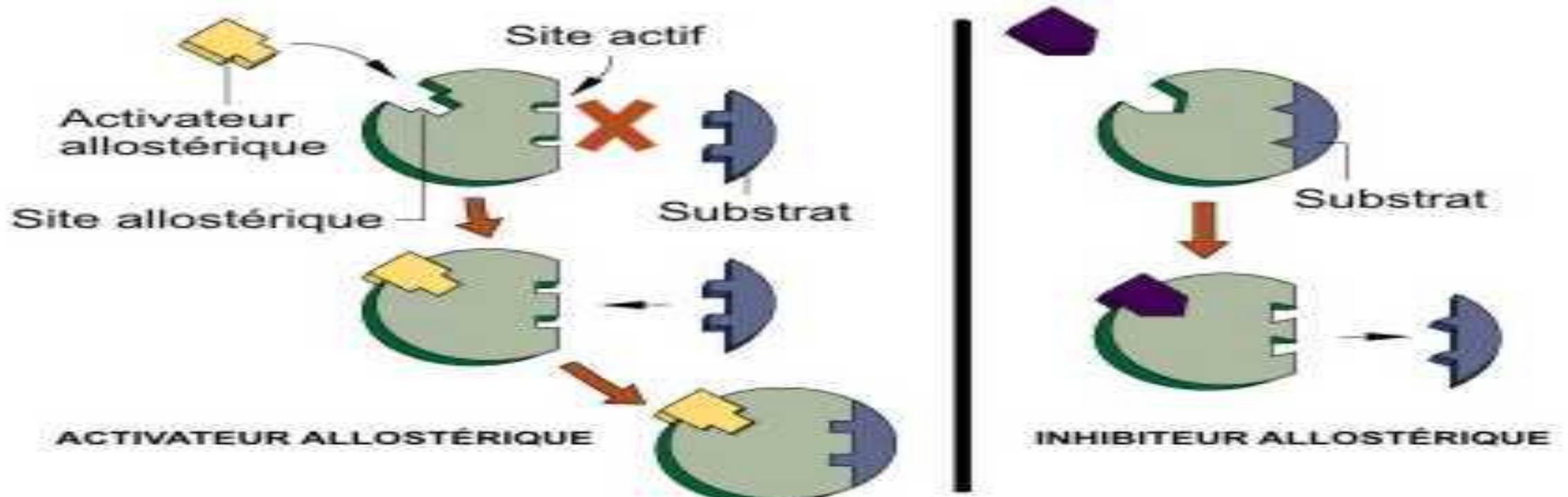
T: Faible affinité pour S

R: Forte affinité pour S

En se liant au site allostérique:

**L'effecteur inhibiteur** modifie la forme de l'enzyme qui devient alors **inactive**. Si l'inhibiteur se sépare du site allostérique, l'enzyme reprend sa forme active.

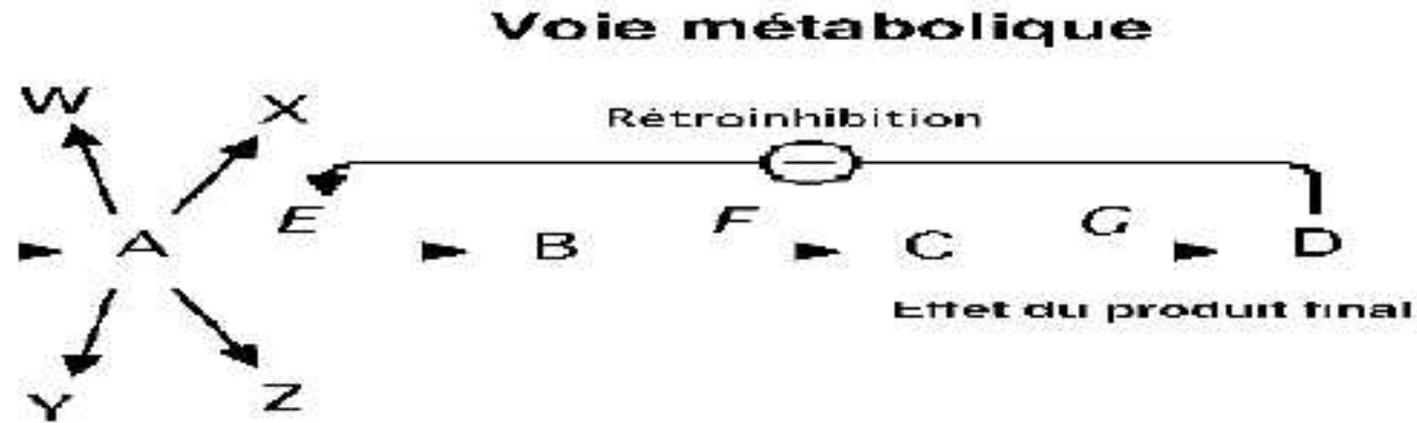
**Un effecteur activateur** rend une enzyme normalement inactive, **active**. Si l'activateur se sépare de l'enzyme, celle-ci reprend sa forme inactive.



### 3- Effet allostérique

**Enzyme homotrope** = L'effecteur est le substrat lui-même

**Enzyme hétérotrope** = L'effecteur est une molécule qui diffère du substrat.  
(Cas de la rétro-inhibition): La structure du produit final de la réaction est différente de celle du substrat



## 4- La coopérativité

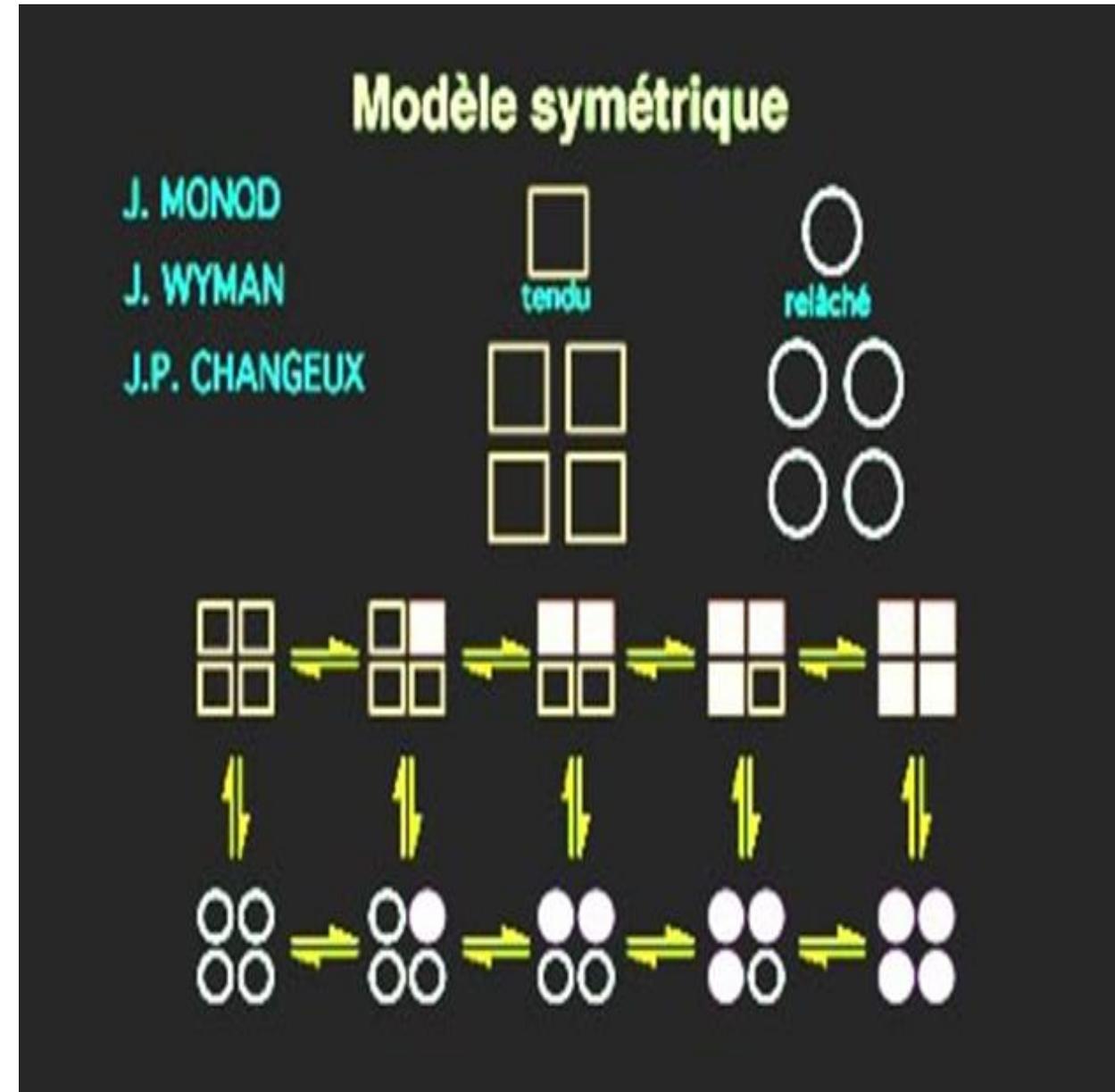
L'enzyme allostérique contient:

- Plusieurs sites actifs identiques
- Plusieurs sites allostériques identiques

Ces sites montrent une coopérativité: la fixation sur l'enzyme d'un effecteur allostérique, influe sur la fixation du substrat.

# Modèle symétrique (Concerté)

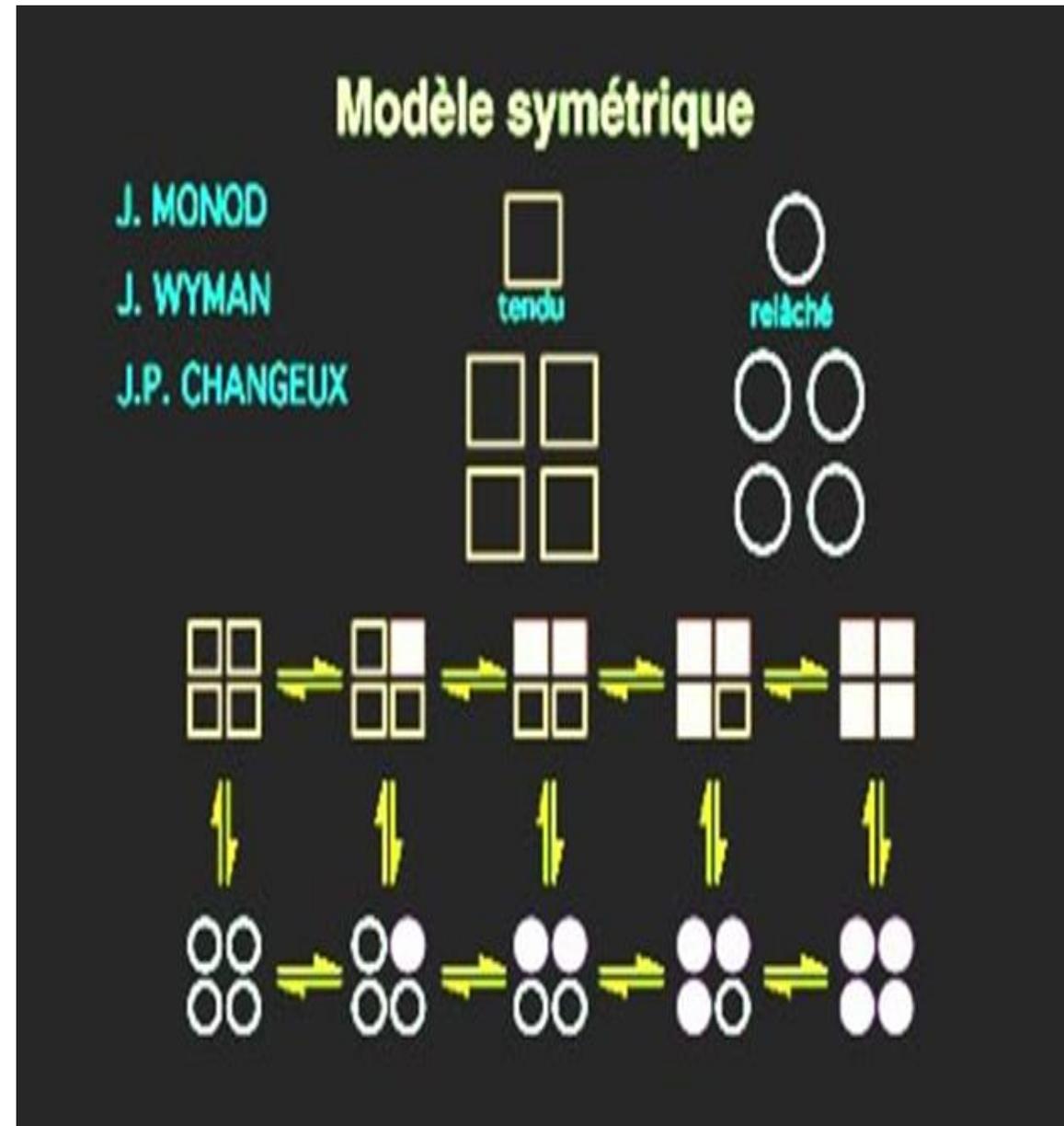
- Ce modèle symétrique des enzymes allostériques est dû à MONOD, WYMAN et CHANGEUX.
- Supposons qu'il n'y ait que 2 états possibles des protomères : l'état tendu et l'état relâché.
- Dans une protéine à 4 sous-unités la conformation tendue de 2 d'entre elles imposera aux deux autres de prendre cette structure.



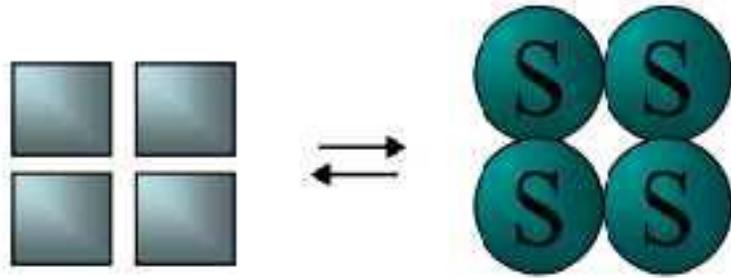
## - Modèle symétrique

Supposons que cet état relâché implique une affinité plus grande pour le substrat et que la présence du substrat lui-même favorise le passage à cet état :

- les 4 protomères à l'état tendu vont être contraints si l'un d'entre eux se lie au substrat, de passer à l'état relâché, ce qui entraînera pour les trois autres une affinité plus grande vis à vis du substrat et activera la réaction.
- Il s'établit une **coopération** entre les protomères pour que le substrat soit plus efficacement transformé.



## Modèle symétrique



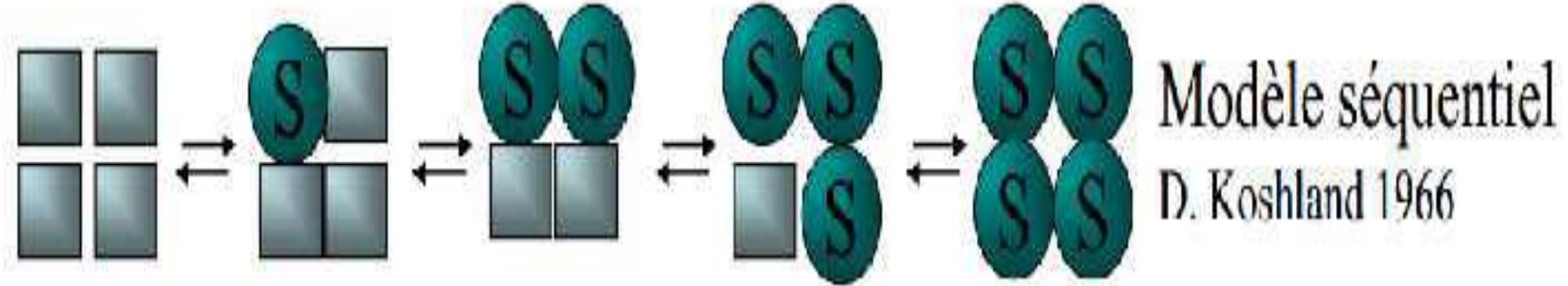
Modèle concerté

J. Monod JP Changeux 1965

Le passage d'un protomère de l'état relâché à l'état tendu implique en général la **transformation de la structure des autres protomères dans le même sens** pour maintenir la **symétrie** de la structure d'ensemble.

Tous les protomères sont soit en conformation **T** (absence du substrat),  
soit en conformation **R** (en présence du substrat).

## Modèle non symétrique (séquentiel)



Les sous unités passent de la forme **inactive** à la forme **active individuellement**.  
(La fixation de la molécule de substrat, induit la transition de la première s/u, ce qui facilite la transition de la s/u voisine et ainsi de suite).

## Diagramme de Hill

- Les constantes de vitesse et d'affinité des enzymes allostériques varient en fonction des ligands, de telle sorte que la courbe prend une forme **sigmoïde**, caractéristique de **la coopération** qui se fait entre les protomères.
- Ce qui donne un avantage aux systèmes allostériques par rapport aux enzymes à cinétique michaelienne pour la **régulation de la vitesse des réactions enzymatiques**.
- Par comparaison, la courbe en tirets représente la même réaction en cinétique michaelienne (sans effet allostérique).

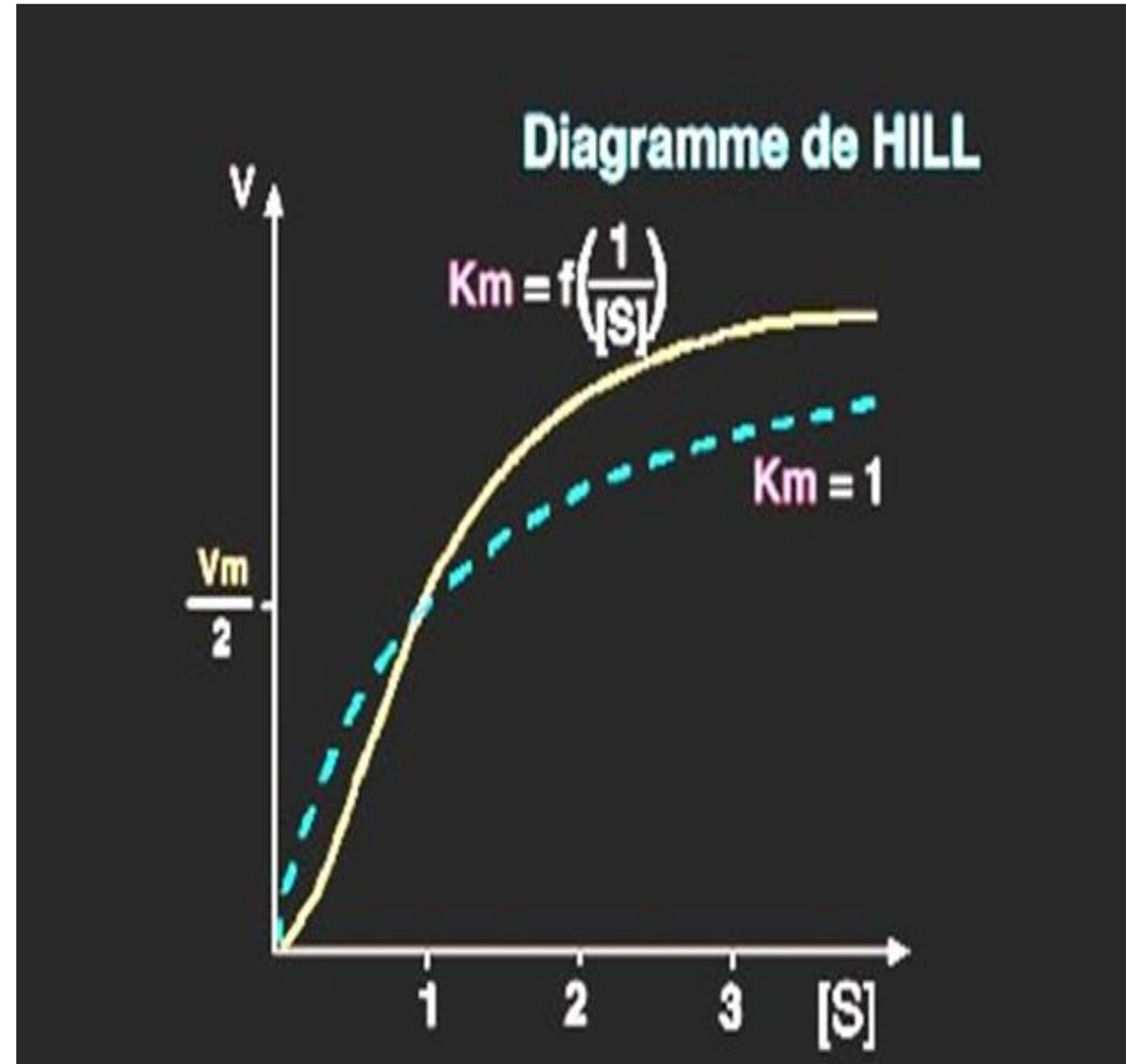
Courbe sigmoïde

$$V = \frac{V_m \cdot [S]^n}{K_{1/2} + [S]^n}$$

$$V = V_{max}/2$$

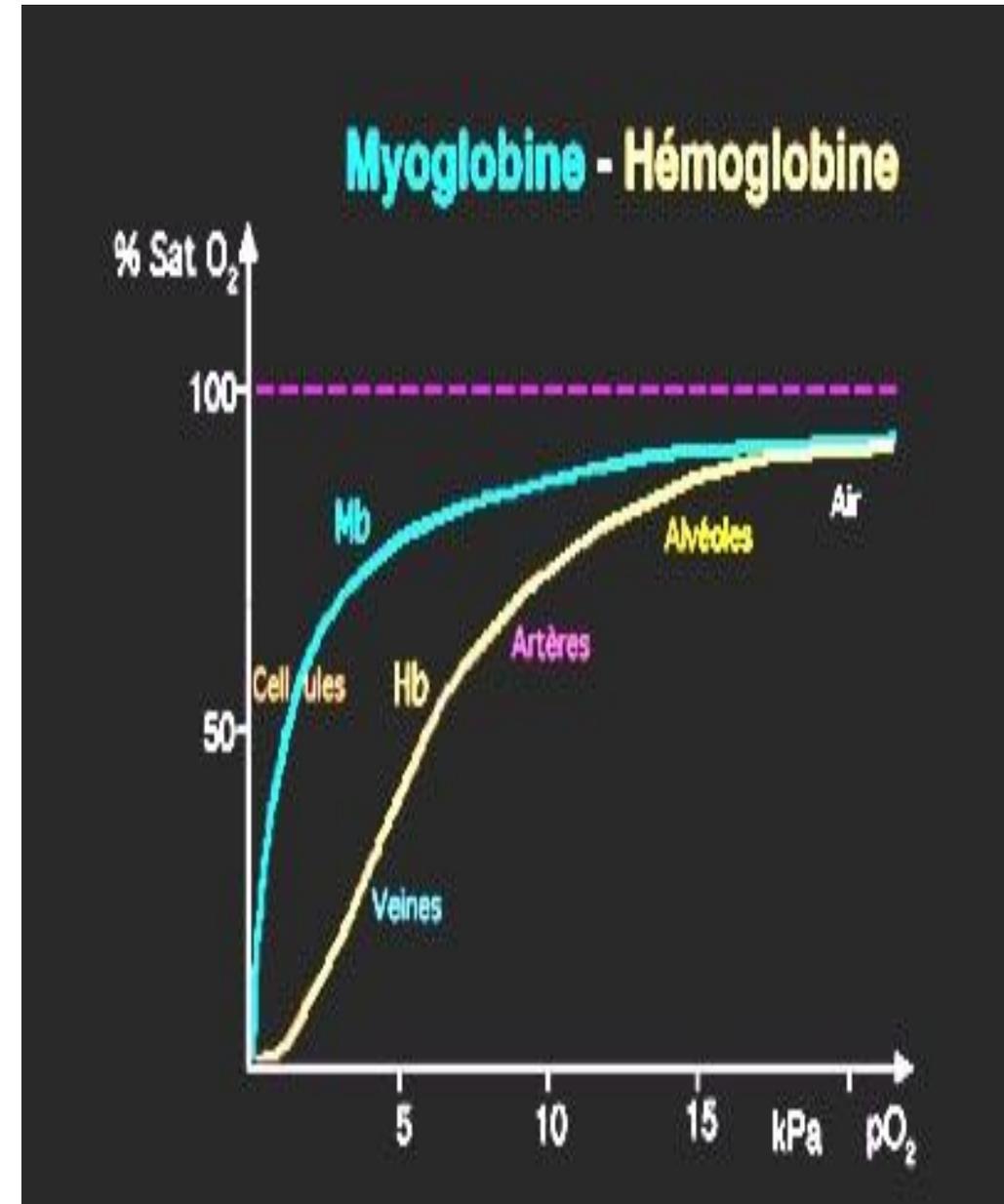
$$K_{1/2} = [S]$$

**n**: nombre de site de liaison de substrat



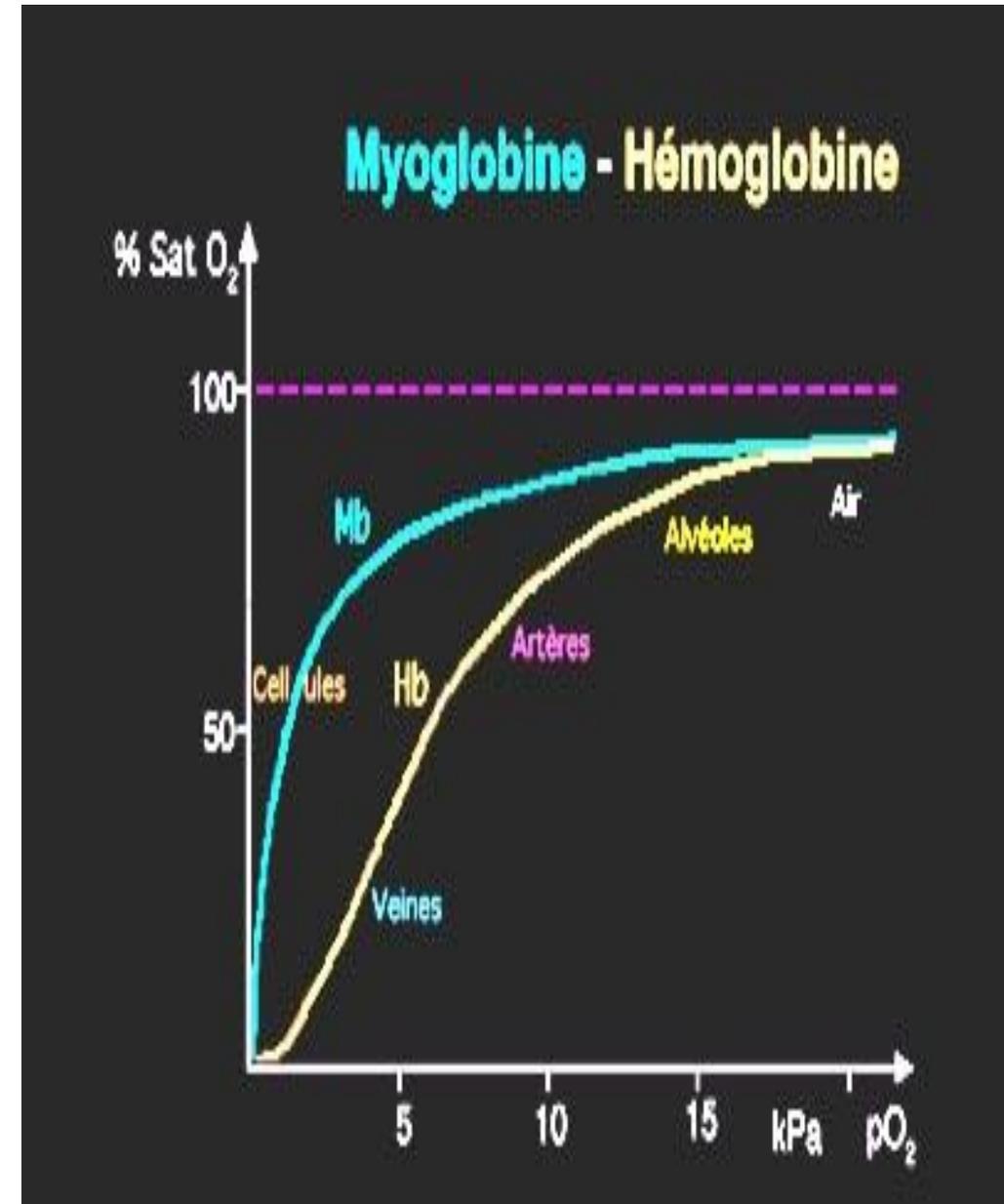
## - Exemple d'allostérie: myoglobine; hémoglobine

- La **Mb** est une protéine qui transporte l'oxygène dans le cytoplasme des cellules. Elle est constituée d'une seule chaîne d'acides aminés. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de **type michaélien** (courbe: hyperbole).
- L'**Hb** est une protéine qui transporte l'oxygène dans les globules rouges. Elle est constituée de quatre chaînes d'acides aminés. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de **type allostérique** (courbe: sigmoïde).



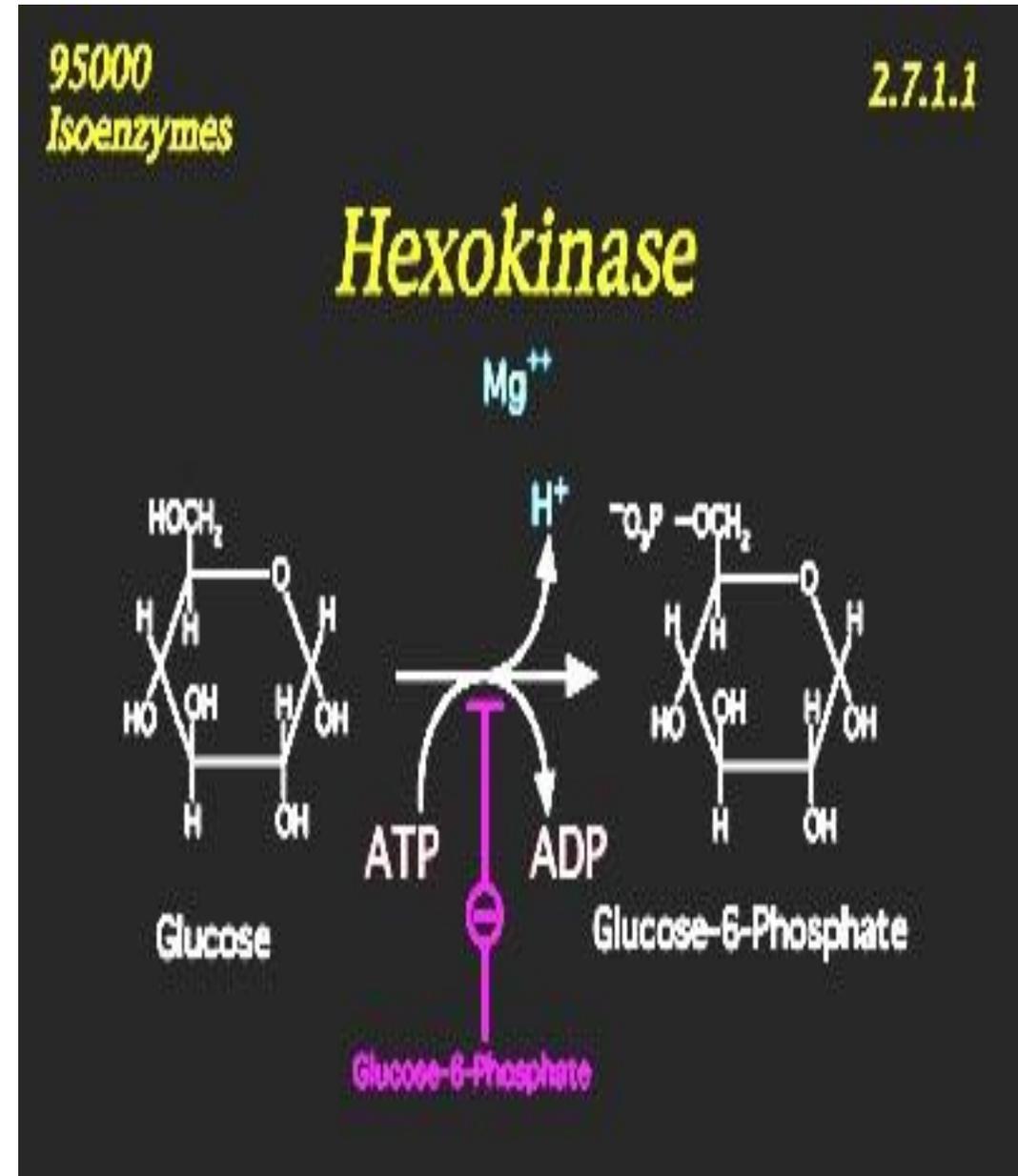
## - Exemple d'allostérie: myoglobine; hémoglobine

- La coopération entre les protomères confère à l'hémoglobine une grande affinité pour l'oxygène dans les poumons où il est abondant et une faible affinité dans les tissus où il est transmis aux cellules.
- L'Hb a donc un comportement différent d'un organe à l'autre lorsque les pressions d'oxygène sont différentes. Cette protéine s'adapte mieux aux conditions du milieu grâce à l'allostérie.



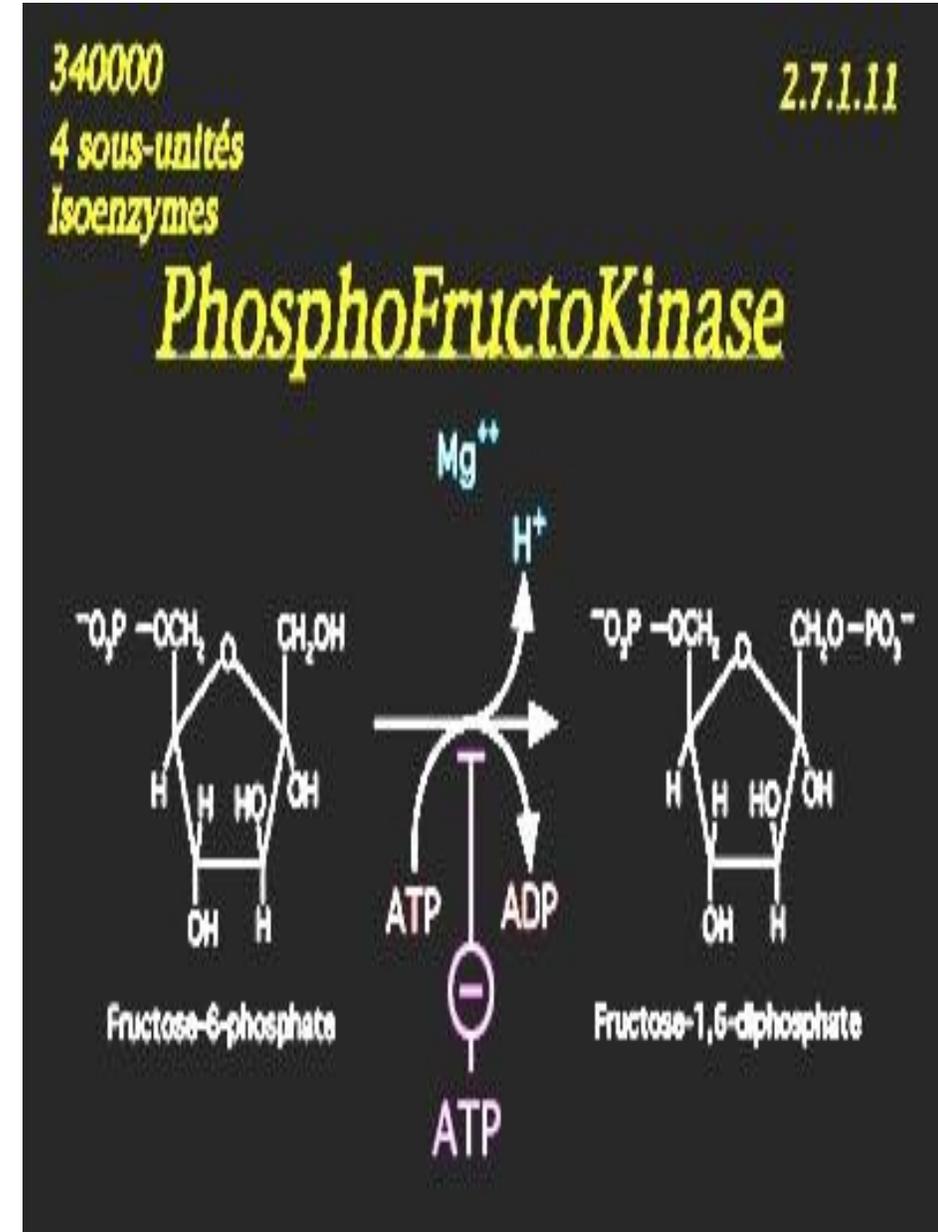
## - Exemple d'allostérie: hexokinase

- L'**hexokinase** est une enzyme de la membrane plasmique de toutes nos cellules.
- Elle catalyse une réaction de transfert de phosphate et d'énergie du coenzyme ATP vers le **glucose** qu'elle active en **glucose-6-phosphate**. Un proton est libéré.
- La réaction couplée est exergonique et irréversible.
- Le **glucose-6-phosphate**, produit de la réaction catalysée, est **un régulateur allostérique de l'hexokinase**. Il se fixe sur un site de liaison différent du site actif et cette fixation diminue l'affinité du site actif pour le glucose. Il en résulte un **ralentissement de la vitesse de réaction**.



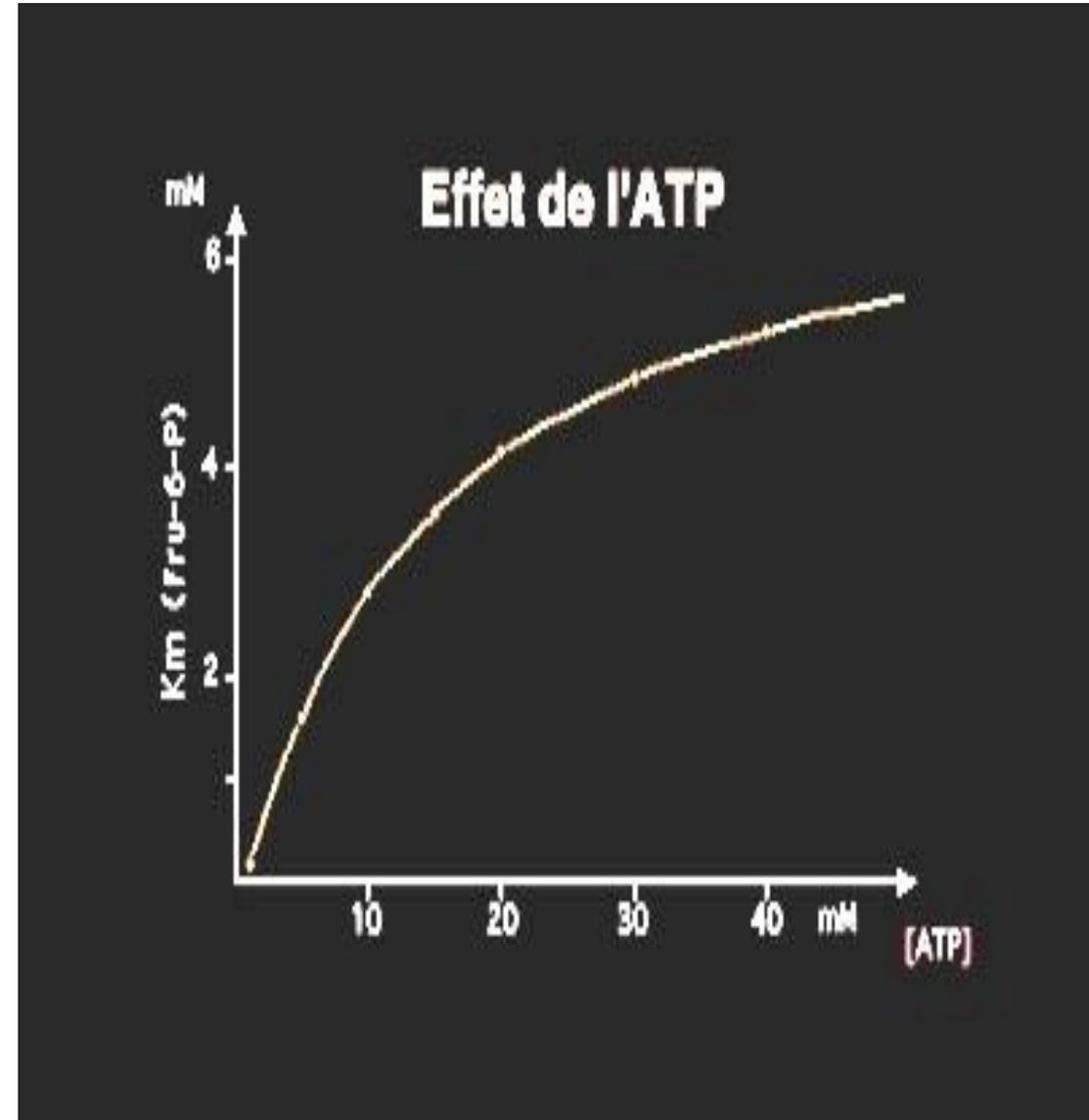
## - Exemple d'allostérie: phosphofructokinase

- La PFK, enzyme présente dans toutes nos cellules. Comporte 4 sous-unités presque identiques, avec 4 sites actifs.
- Elle catalyse une réaction de transfert de phosphate et d'énergie du coenzyme ATP vers le fructose 6-phosphate qu'elle active en fructose 1,6-diphosphate. Un proton est libéré.
- La réaction couplée est exergonique et irréversible.
- La PFK est **l'enzyme la plus lente** de la glycolyse cytoplasmique, voie métabolique du métabolisme énergétique. Elle catalyse l'étape d'engagement des glucides dans la production d'énergie. Elle est donc **l'enzyme-clé** de cette voie métabolique.
- La cinétique de la PFK est **allostérique**; elle est **rétro-inhibée** par le produit final de la glycolyse, l'ATP. Une molécule d'ATP (effecteur allostérique), différente de celle qui apporte le phosphate et l'énergie (coenzyme), se fixe sur un site de liaison de chaque protomère et cette fixation **diminue l'affinité du site actif pour le fructose 6-phosphate**. Il en résulte un **ralentissement de la vitesse de réaction**.



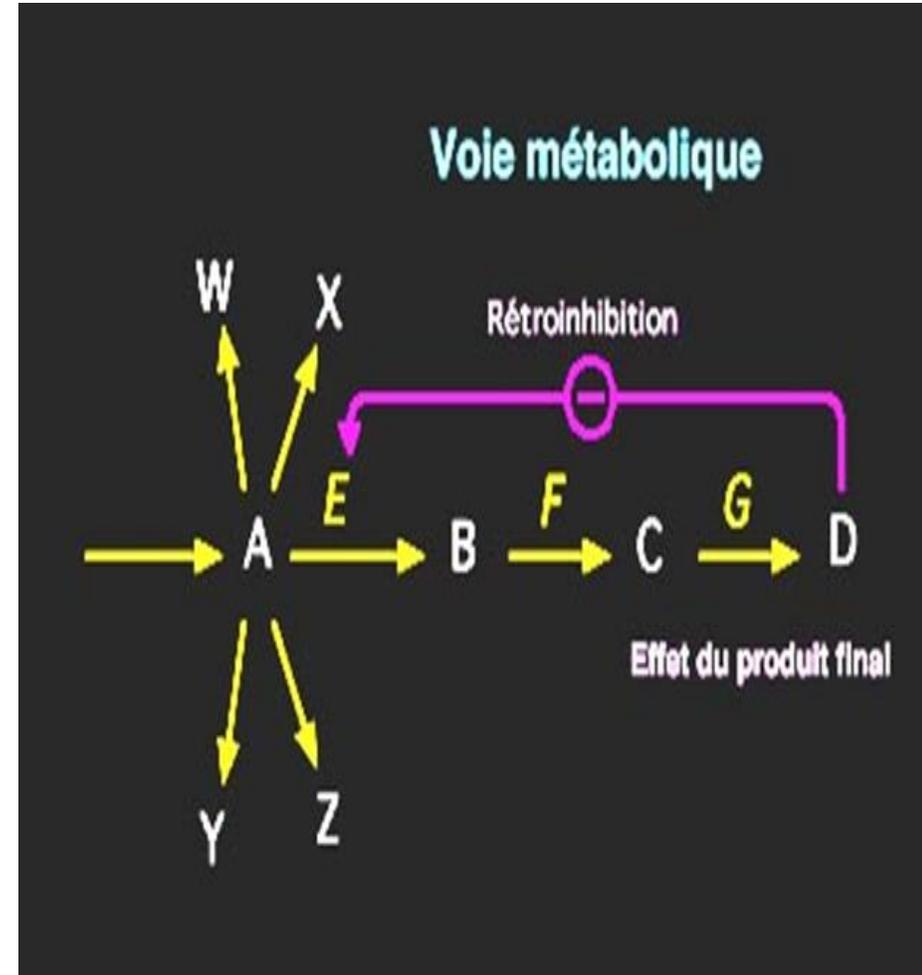
- Exemple d'allostérie: phosphofructokinase
- Effet de l'ATP sur la PFK:

- Graphe représentant la constante  $K_m$  de la PFK pour son substrat le Fructose-6-phosphate, en fonction de la concentration de l'ATP, produit final du métabolisme énergétique
- Cette constante  $K_m$  est d'autant plus élevée que cette concentration augmente.
- L'affinité de la PFK pour le Fructose-6-phosphate diminue avec l'augmentation de la concentration du produit final: il y a donc rétro-inhibition de l'enzyme par l'ATP.



## Voie métabolique

- Un composé A peut être le substrat de réactions enzymatiques. Chacune de ces synthèses va se faire en plusieurs étapes (A, B, C, D,...) chacune catalysée par une enzyme spécifique (E, F, G,...).
- La vitesse de synthèse du dernier produit dépend de la vitesse de la **plus lente de ces enzymes**. Si ce produit final est en quantité insuffisante (enzyme activée). Si la concentration élevée du produit D est élevée (l'enzyme est inhibée).
- L'enzyme la plus lente va être régulée pour que les composés intermédiaires ne s'accumulent pas
- L'enzyme E, catalysant la transformation de A en B, 1<sup>ère</sup> étape de la synthèse, doit être régulée par des effecteurs qui permettront de contrôler la vitesse de l'ensemble. Par exemple, un excès de produit final peut aboutir à l'inhibition de cette première étape : c'est la **rétro-inhibition**.



## Voie métabolique

*Ensemble de réactions métaboliques successives aboutissant à la production d'un composé biologique ayant une fonction indispensable pour l'organisme*

- Cette unité de production cellulaire d'un composé biologique s'appelle une voie métabolique.
- Elle est constituée de plusieurs réactions catalysées par des enzymes diverses. Chacune de ces enzymes peut éventuellement participer à plusieurs voies métaboliques.
- Lorsque le métabolisme d'un composé implique un très grand nombre d'étapes, et plusieurs carrefours métaboliques, la synthèse totale constitue un ensemble de voies métaboliques successives

## Carrefour métabolique

*Corps chimique pouvant être le substrat de plusieurs enzymes appartenant à des voies métaboliques différentes*

- Les intermédiaires métaboliques à partir desquels on peut entrer dans des voies métaboliques différentes sont les carrefours métaboliques.
- Toute voie métabolique commence par un substrat initial qui est un carrefour métabolique, un nutriment ou un aliment.
- Toute voie métabolique s'achève par un produit final qui est un carrefour métabolique ou un produit sécrété par la cellule.

## Enzyme clé

- Dans une voie métabolique, celle des enzymes qui a la vitesse la plus lente et qui par conséquent contrôle la vitesse de la synthèse est appelée **l'enzyme-clé**.
- C'est habituellement la première des enzymes de la voie. Cette enzyme-clé est inhibée pour diminuer la synthèse du produit final ou activée pour l'augmenter.
- Les enzymes-clés sont toutes des enzymes allostériques contrôlées par de multiples effecteurs.

## Effet de désensibilisation

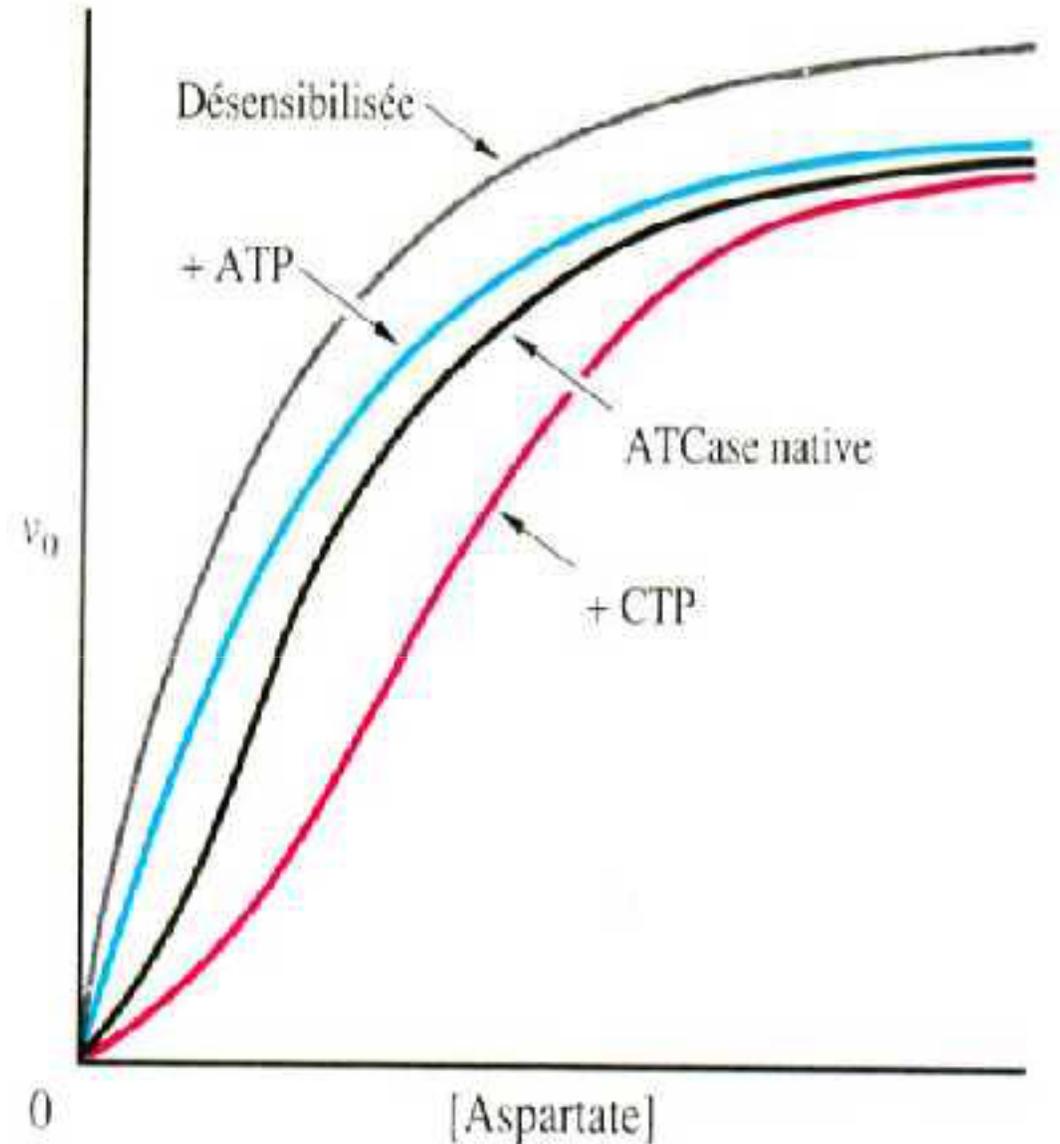
L'effet allostérique peut disparaître sous l'action de la température ou par traitement chimique (urée).

-le site allostérique a été détruit au cours du traitement de désensibilisation de telle façon que l'effecteur allostérique ne pourrait plus s'y fixer. La transition allostérique ne peut plus avoir lieu. La cinétique devient alors de type michaelien.

**L'effet d'un agent de desensibilisation est donc :**

-la suppression des interactions entre sites actifs et sites allostériques ; la transition allostérique n'a pas lieu.

-la suppression de la coopérativité entre plusieurs sites actifs de l'enzyme



# VITAMINES ET COENZYMES

## Les vitamines:

- Sont des nutriments essentiels dont l'organisme est incapable de faire la synthèse et qui doivent donc être apportés par l'alimentation où elles se trouvent généralement en petites quantités.
- Les exigences en vitamines varient avec l'organisme considéré (tous les organismes n'ont pas les mêmes besoins)
- Ces substances sont subdivisées en vitamines hydrosolubles et liposolubles
- A l'exception de la vitamine C (acide ascorbique) toutes les vitamines hydrosolubles sont soit directement soit après transformation métabolique d'importants constituants des systèmes enzymatiques appelés: coenzymes.
- les vitamines liposolubles ne sont pas directement apparentées aux coenzymes mais elles ont néanmoins un rôle essentiel dans plusieurs processus physiologiques fondamentaux comme la vision, la formation et le maintien liposolubles de la structure osseuse, la coagulation sanguine

## Les coenzymes :

- Les coenzymes sont des molécules de faible masse moléculaire qui donnent une spécificité chimique à certaines réactions enzymatiques.
- Ils peuvent aussi avoir un rôle transporteur d'un groupe fonctionnel spécifique, par exemple de groupe méthyle ou acétyle.
- Les coenzymes agissant de concert avec les enzymes appropriés, accroissent la variété des réactions métaboliques.
- Les coenzymes sont généralement modifiés par ces réactions puis retrouvent leur état original sous l'action d'autres enzymes (parfois du même enzyme).
- Constamment recyclés, ils ne sont présents qu'en très petite quantité.

## La liste des coenzymes dérivés des vitamines hydrosolubles :

<b>Vitamine Hydrosolubles</b>	<b>Coenzyme dérivé</b>
Thiamine (vitamine B1)	Thiamine pyrophosphate
Acide nicotinique (vitamine PP)	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD+) Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP+)
Riboflavine (vitamine B2)	Flavine adénine dinucléotide ( FAD) Flavine mononucléotide (FMN)
Acide pantothénique	Coenzyme A
Pyridoxal, pyridoxine, pyridoxamine (vitamine B6)	Pyridoxal phosphate
Cobalamine (vitamine B12)	5'-désoxyadénosylcobalamine Méthylcobalamine
Biotine	Complexes biotine-lysine (biocytine)
Acide lipoïque	Complexes lipoyl-lysine (lipoamide)
Acide folique	Tétrahydrofolate

## Les vitamines liposolubles :

- Rétinol (vitamine A)
- Ergocalciférol (vitamine D2)
- Cholécalfiérol (vitamine D3)
- $\alpha$ -Tocophérol (vitamine E)
- Vitamine K

## Exemples de maladies:

### Thiamine et béribéri

- La thiamine ou vitamine B1 est essentielle pour la prévention du béribéri, une affection du système nerveux qui fut pendant des siècles très fréquente en Extrême-Orient. La carence en vitamine B1 conduit à une asthénie générale accompagnée de nombreux troubles et à la mort.
- En 1882, le directeur général du département de la marine japonaise montra qu'il était possible de prévenir la carence par une modification des habitudes alimentaires.
- 10 ans plus tard, un Hollandais a montré qu'il y avait une substance « anti-béribéri » dans les polissures (le son) de riz.
- Des poulets nourris par du riz poli présentaient des symptômes de paralysie et rétraction du cou qui s'estompaient si la nourriture des volatiles était enrichie avec les couches externes et l'embryon du riz éliminés lors du polissage du riz.
- En 1911, Casimir Funk a isolé du son de riz puis cristallisé, la substance qui guérissait les oiseaux du béribéri. Il a appelé ce produit vitamine du béribéri « amine vitale ».
- En 1935, la structure de la vitamine B1 a été déterminée et mise au point d'une méthode de synthèse.

## Vitamine B12 et anémie pernicieuse

- La vitamine la plus active connue c-à-d celle dont les besoins pour l'organisme sont les plus faibles, fut la dernière vitamine découverte.
- Elle prévient l'anémie pernicieuse (anémie de Biermer).
- En 1926, Minot et Murphy ont montré que l'ingestion de grandes quantités de foies permettait de traiter avec succès cette maladie. L'agent actif présent dans le foie fut identifié en 1948.
- 2 formes de vitamines B12 ont été cristallisées, la 1<sup>ère</sup> la cyanocobalamine semblait être la vraie vitamine. La seconde, l'hydroxycobalamine avait la même activité biologique mais son spectre était différent (vitamine B12b).
- Les exigences nutritionnelles en B12 sont très faibles, un adulte humain n'a besoin que de 3 $\mu$ g par jour, une quantité facilement obtenue par une alimentation normale. Mais comme les plantes ne synthétisent pas de vitamine B12, des symptômes d'anémie pernicieuse sont parfois observés chez les végétariens les plus stricts.

## Acide ascorbique et scorbut

- L'acide ascorbique est efficace dans la prévention et le traitement du scorbut.
- Cette maladie qui peut être mortelle se caractérise par une anémie, une fragilisation de la structure du collagène des os, des dents, des tissus conjonctifs et une altération du métabolisme protéique.
- C'est une vitamine qui a souvent modifié le cours de l'histoire, mettant fin aux grands voyages à travers les océans et aux campagnes militaires: quand les aliments avaient perdu leur vitamine C.
- Albert Szent-Györgyi a isolé l'acide ascorbique en 1928 et l'a dénommé acide hexuronique.
- Sa structure a été déterminée par Hirst et Haworth en 1933 et simultanément Reichstein en a publié la synthèse.
- Haworth et György ont proposé de changer son appellation en celle d'acide L-ascorbique pour rappeler son activité antiscorbutique (anti scorbut). Tous 2 ont eu le prix Nobel en 1937 pour leurs recherches sur la vitamine C.

## Vitamine D et rachitisme

- La vitamine D est une famille de molécules très voisines qui sont actives dans la prévention du rachitisme, une maladie observée au cours de la croissance.
- Cette maladie se caractérise par une mauvaise absorption intestinale du calcium et une mauvaise réabsorption du calcium et du phosphate par les reins. La persistance de ce trouble aboutit à une déminéralisation des os
- Les symptômes du rachitisme sont la courbure des jambes, les genoux cagneux, la déformation de la colonne vertébrale, de la ceinture pelvienne et de la cage thoracique.
- Tous ces symptômes sont la conséquence de la pression mécanique normale exercée sur des os déminéralisés.
- La carence en vitamines D chez les adultes conduit à un ramollissement des os et du cartilage, une affection connue sous le nom d'ostéomalacie.