

Cinétique enzymatique

Cours de biochimie structurale

1^{ère} Année de Médecine

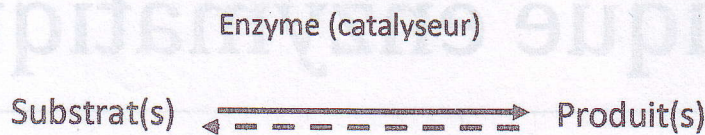
K. SEMRA

Maitre-assistante en biochimie

Année universitaire 2010-2011 (11 pages)

I. Introduction

- Les enzymes sont des protéines douées d'activité biologique consistant en la catalyse des réactions biochimiques convertissant un ou plusieurs substrats initiaux en produits terminaux.



- La catalyse enzymatique a lieu grâce à la haute spécificité vis-à-vis des substrats (site actif) et vis-à-vis de la réaction catalysée (structure tridimensionnelle de l'enzyme), elle permet essentiellement l'accélération de la vitesse de la réaction (cinétique enzymatique).

II. Cinétique enzymatique

- Soit une réaction biochimique



(très rapide)

S = substrat [E-S] = Complexe enzyme-substrat

P = Produit [E-P] = Complexe enzyme-produit

E = Enzyme

Dans les systèmes biologiques, la conversion spontanée des substrats en produits se fait avec une ΔG° grande et positive ce qui constitue une barrière énergétique pour leur déroulement, ces réactions sont très lentes voire impossibles. La formation du complexe enzyme-substrat (E-S) au niveau du site actif engage des liaisons dont la somme des ΔG° est négative donc favorable sur le plan thermodynamique, la conséquence est l'accélération de la vitesse de ces réactions sans la modification de leur équilibre ni de la concentration des substrats et produits

III. Facteurs influençant la cinétique enzymatique

1/ Température

- Chaque enzyme possède une température d'activité optimale.
- La vitesse maximale (V_m) de la réaction augmente proportionnellement à la température jusqu'à atteindre un plateau maximal (T° optimale d'activité) Au-delà du plateau max, la vitesse de la réaction diminue et

indique une dénaturation de la protéine enzymatique à des températures élevées

- Chez l'homme l'intervalle de température optimale est généralement entre 25-40°C

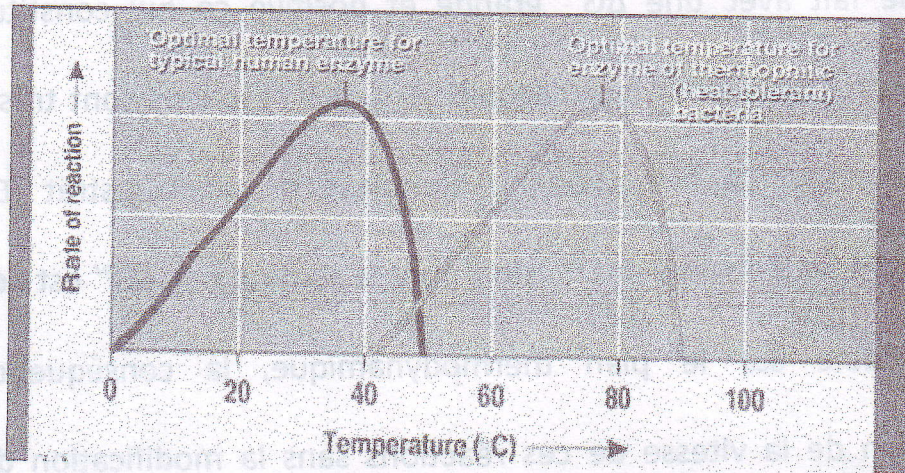


Figure 1. Effet de la température sur l'activité enzymatique

2/ pH du milieu

La cinétique enzymatique obtenue par la variation du pH donne le même aspect que celui obtenu avec la variation de la température sauf que le pH optimal varie en fonction de la structure de l'enzyme (composition en AA)

Ainsi, chez l'homme les zones de pH optimal peuvent être neutres, acides ou alcaline selon l'enzyme considérée

Exemples: La lactodéshydrogénase (LDH) a une activité max à un pH neutre.

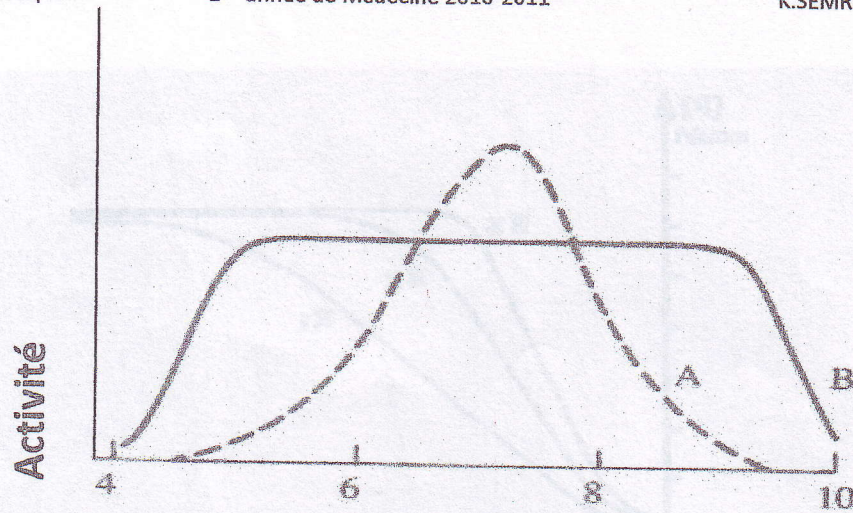


Figure 2. Effet du pH sur l'activité enzymatique

La phosphatase alcaline agit à une vitesse maximale à pH alcalin .

La phosphatase acide a une activité maximale à un pH optimum acide .

3/ Concentration en enzymes

Lorsque la concentration en substrat $[s]$ est constante, la vitesse de la réaction augmente proportionnellement à l'augmentation de la concentration en enzymes

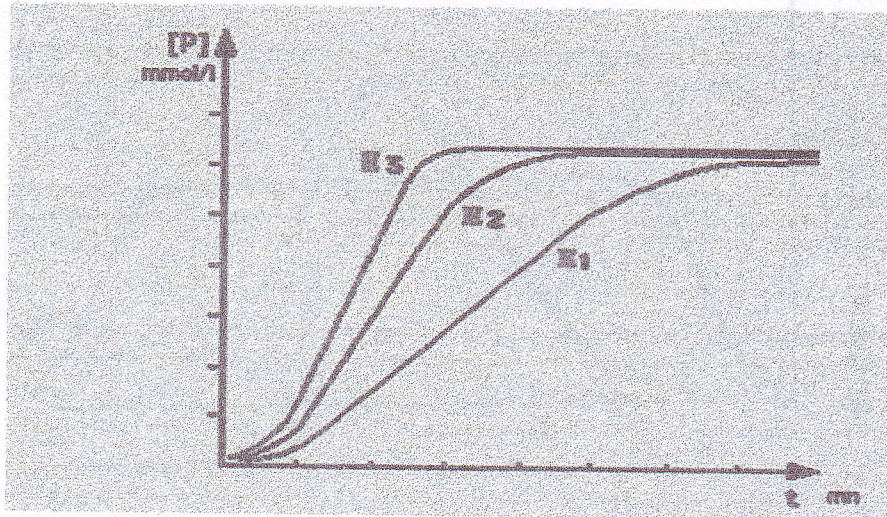


Figure 3. Effet de la concentration enzymatique sur l'activité

4/ Concentration en substrat

La vitesse d'une réaction enzymatique augmente proportionnellement à l'augmentation de la concentration du substrat S jusqu'à atteindre une valeur maximale (V_{max}) correspondant à la saturation des enzymes.

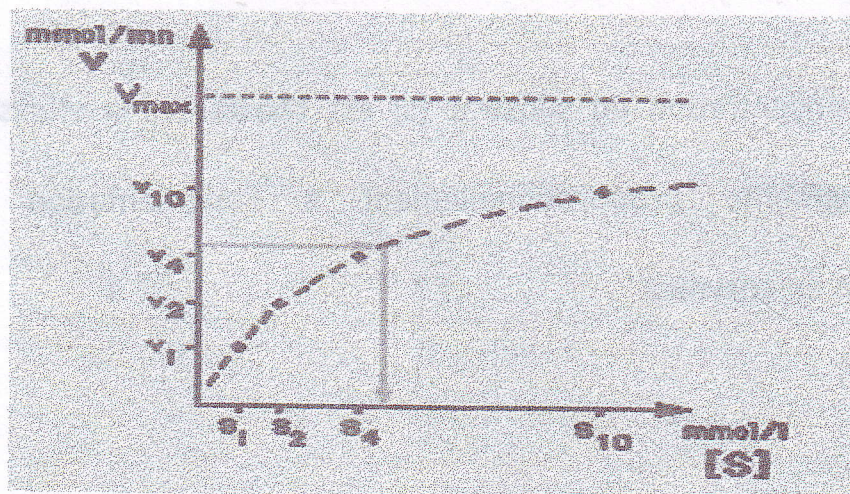
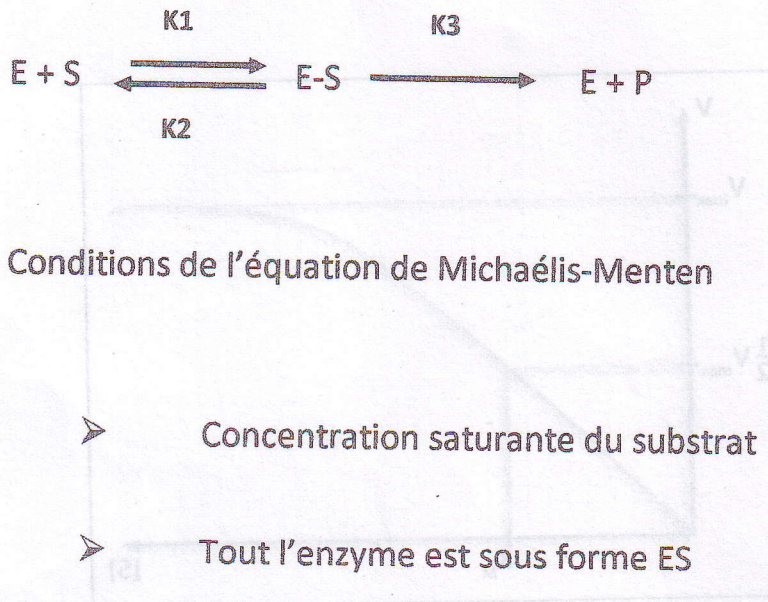


Figure 4. Effet de la concentration en substrat sur l'activité enzymatique

IV. Etude des enzymes michaeliennes

- Soit la réaction



- Conditions de l'équation de Michaelis-Menten

- Concentration saturante du substrat
- Tout l'enzyme est sous forme ES

La courbe michaelienne est hyperbolique, les caractéristiques cinétiques sont:

- La vitesse maximale V_m est atteinte lorsque tout l'enzyme est saturé (S/F complexe E-S).
- La constante de Michaelis K_m est égale à la concentration du substrat lorsque $V = \frac{1}{2} V_m$, elle représente l'inverse de l'affinité.

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

L'équation de Michaelis-Menten :

$$V = V_m [S] / K_m + [S]$$

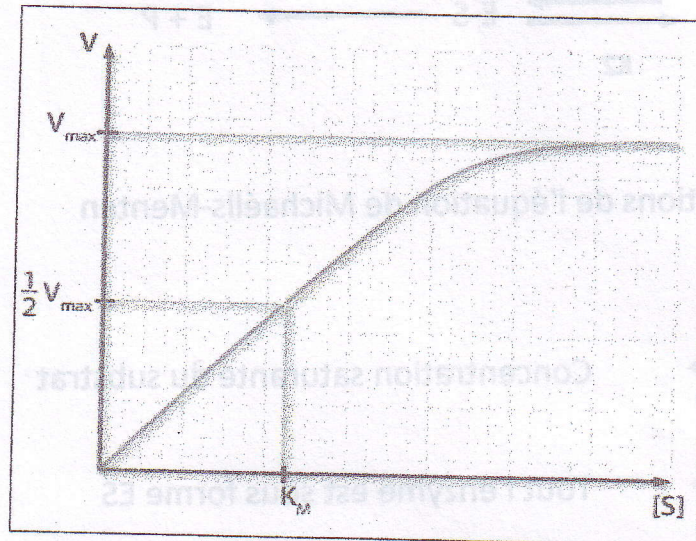


Figure 5. Représentation de Michaelis-Menten

On ne peut pas calculer la V_m et la K_m à partir d'une courbe hyperbole.

Lineweaver-Burk a proposé son équation qui est l'inverse de celle de Michaelis-Menten, ce qui permet d'obtenir une droite à partir de laquelle on peut calculer les caractéristiques cinétiques.

Equation en double inverses de Lineweaver-Burk:

$$1/V = K_m/V_m [s] + 1/V_m$$

$$V = V_m [S] / K_m + [S]$$

$$1/V = K_m/V_m [S] + 1/V_m$$

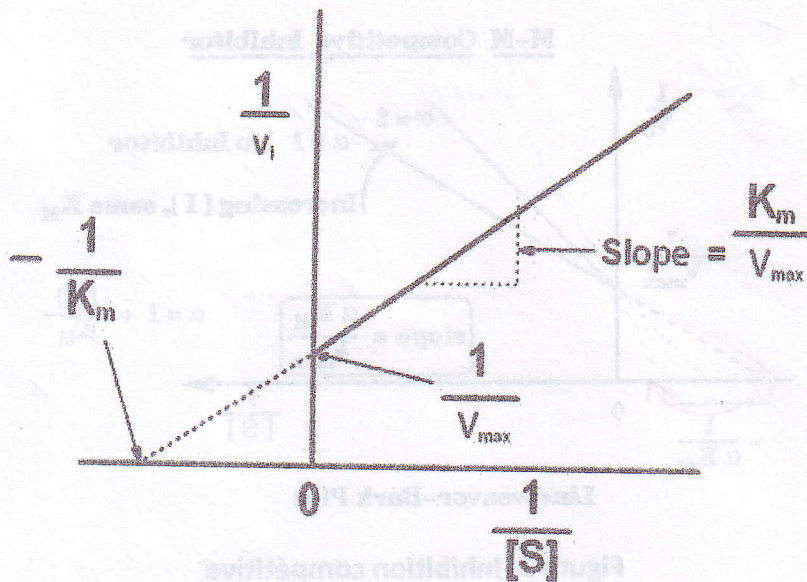


Figure 6. Représentation graphique de Lineweaver-Burk

V. Etude des inhibiteurs enzymatiques

1/ Inhibiteurs compétitifs

- Un inhibiteur compétitif entre en compétition avec le substrat vis-à-vis du site actif formant le complexe enzyme-inhibiteur [E-I]. Cette inhibition peut être reversée par augmentation de la concentration en substrat [S]. Sur le plan cinétique, la V_m est inchangée, la K_m est augmentée.

$K_m =$ $K_m \nearrow$

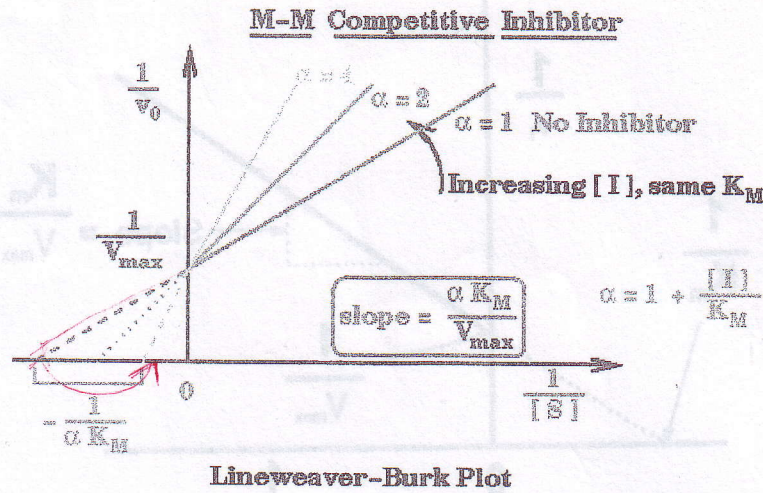


Figure 7. Inhibition compétitive

2/ Inhibiteurs non compétitifs

Un inhibiteur non compétitif n'entre pas en compétition avec le substrat vis-à-vis du site actif, mais se lie à une autre région enzymatique diminuant la catalyse. Il se forme le complexe [E-S-I]. Sur le plan cinétique, la V_m diminue et la K_m est inchangée.

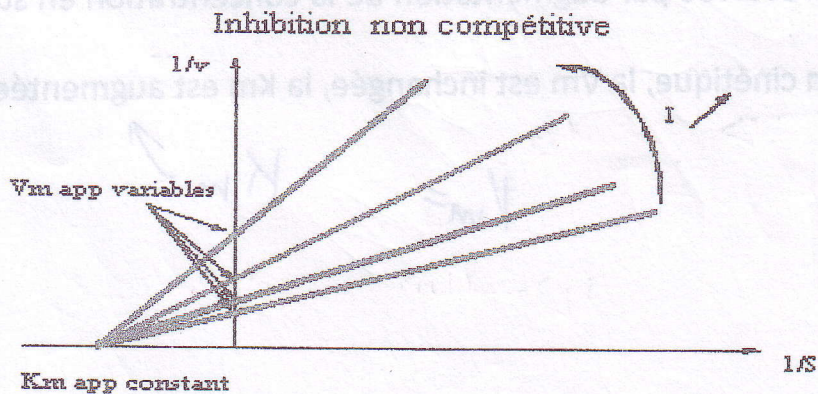


Figure 8. Inhibition non compétitive

3/ Inhibiteurs incompétitifs

Il s'agit d'inhibiteurs qui se lient à une région autre que le site actif engendrant une diminution de la V_m et de la K_m . La représentation de Lineweaver-Burk est sous forme de droites parallèles.

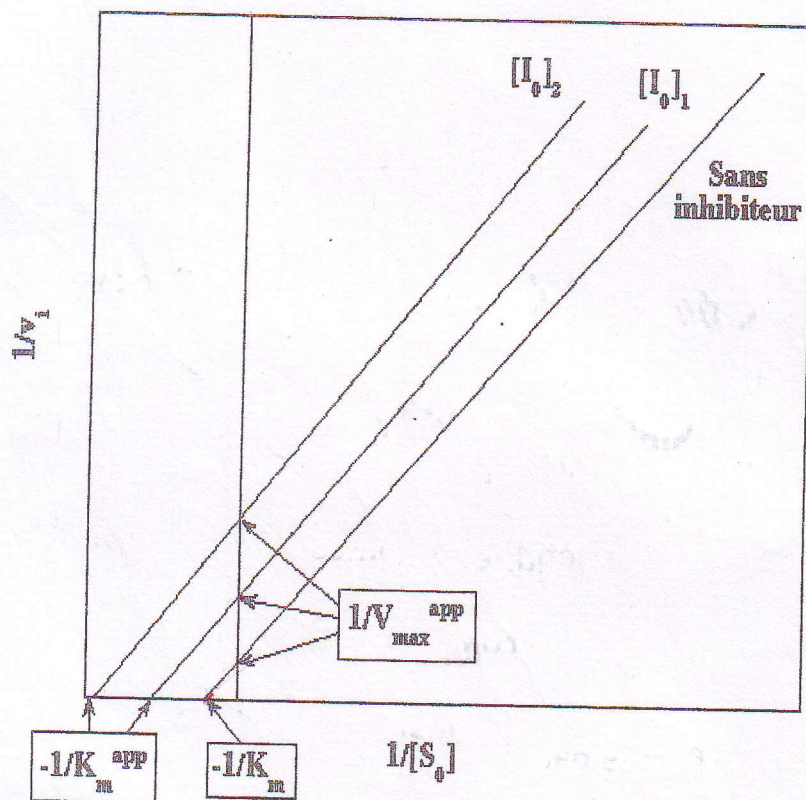


Figure 9. Inhibition incompétitive