

II. CINETIQUE ENZYMATIQUE

I. INTRODUCTION :

- La réaction enzymatique peut se diviser en trois principales étapes :
- 1. L'association de l'enzyme (E) et du substrat (S) :
 - Elle se produit en une région bien précise de l'enzyme appelée (site actif).
 - Le site actif est une entité tridimensionnelle correspondant à une petite région de la protéine.
 - Cette reconnaissance dynamique est appelée adaptation induite.

L'association enzyme-substrat (ES) est stabilisée par des liaisons de faibles énergie : liaisons hydrogène, interactions hydrophobes, liaisons ioniques.....
- 2. Le complexe Es subit un réarrangement interne qui va permettre la transformation du substrat en produit (P).
- 3. L'enzyme libère le produit de la réaction et retrouve son état initial.
 - L'étude cinétique d'une réaction enzymatique consiste en l'étude de **la vitesse de réaction et de l'influence de différents paramètres susceptibles de la modifier.**

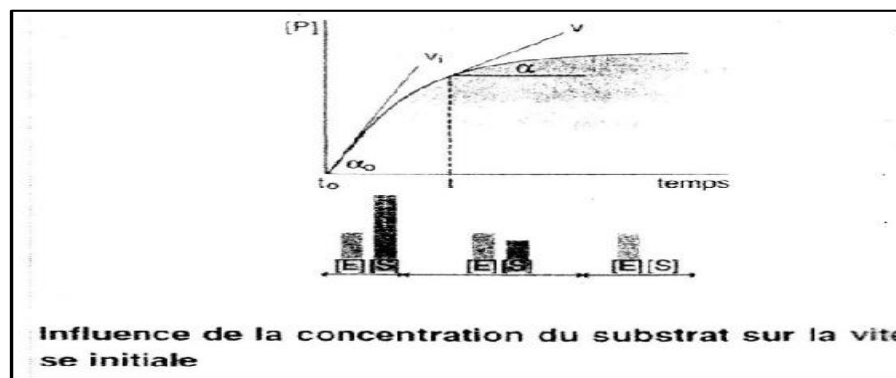
II. LA VITESSE D'UNE REACTION ENZYMATIQUE :

- Soit la réaction catalysée par l'enzyme E qui transforme le substrat P en produit

$$S \longrightarrow P$$
- La vitesse instantanée de réaction est la quantité de S disparue par unité de temps ou la quantité de P apparue par unité de temps ; elle est proportionnelle à la concentration du substrat :

$$V = - ds/dt = dp/dt = K [S].$$

- Pour des concentrations de [E] et de [S] données, on mesure la quantité de P formé en fonction du temps :
- La courbe $[E]=f(t)$ est :
 - D'abord linéaire ascendante : l'enzyme est saturé par son substrat, la vitesse est constante :
 - Puis s'infléchit, l'enzyme n'est plus saturée par son substrat, la vitesse décroît.
 - Et enfin horizontale : l'équilibre de la réaction est atteint et la vitesse est nulle.
- A l'instant t, $V = Tg \alpha$.
- A l'instant t_0 , V est maximale, c'est la vitesse initiale V_i de la réaction : $V_i = tg \alpha_0$.

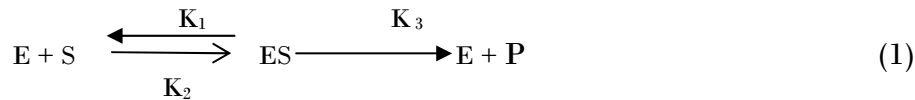


▪ **INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DU SUBSTRAT SUR LA VITESSE INITIALE :**

- A [E] constant, on répète la mesure de V_i à des concentrations croissantes de S.
- La courbe $V_i=f([S])$ est une courbe hyperbole qui tend vers une valeur limite, la vitesse maximale ou V_{max} .

III. LA CONSTANCE DE MICHAELIS-MENTEN

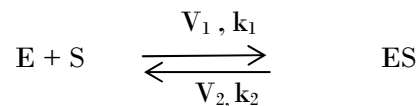
En 1913, MICHAELIS et MENTEN ont établi l'équation d'une réaction enzymatique



Cette réaction se décompose en 02 temps :

1-formation du complexe enzyme-substrat :

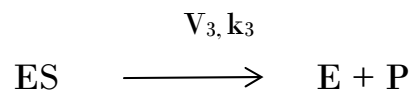
- La transformation du substrat en produit, se fait obligatoirement par le passage un état intermédiaire : le complexe enzyme substrat.
- -étape rapide et réversible.



V_1 et k_1 sont les vitesse et constante de formation du complexe ES , v_2 et k_2 les vitesse et constante de dissociation du complexe ES.

2-formation du produit P à partir du complexe enzyme-substrat :

- La deuxième étape correspond à la formation du produit à partir du complexe activé.
- Étape plus lente

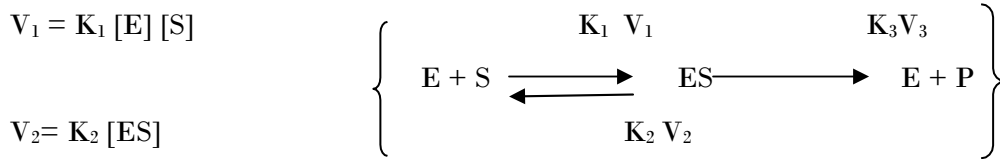


V_3 et k_3 sont la vitesse et constante de formation du produit P.

Suivant la réaction (1), la vitesse de disparition du substrat S ($- ds/dt$) est égale à la vitesse de formation des produits de la réaction (dp/dt).

$$\boxed{- ds/dt = dp/dt} \quad (2)$$

D'après la loi d'action des masses on a :



La vitesse d'apparition des produits des réactions :

$$\begin{array}{l}
 \boxed{dp/dt = V_3 = K_3 [ES]} \quad (3) \\
 \text{Et } dp/dt = - ds/dt \quad \text{donc} \quad V_1 - V_2 = V_3 \quad \longrightarrow \quad V_1 = V_2 + V_3 \\
 K_1 [E] [S] = K_2 [ES] + K_3 [ES] \\
 K_1 [E] [S] = [ES] [K_2 + K_3] \\
 \boxed{[E] [S] / [ES] = K_2 + K_3 / K_1 = K_M} \quad (4)
 \end{array}$$

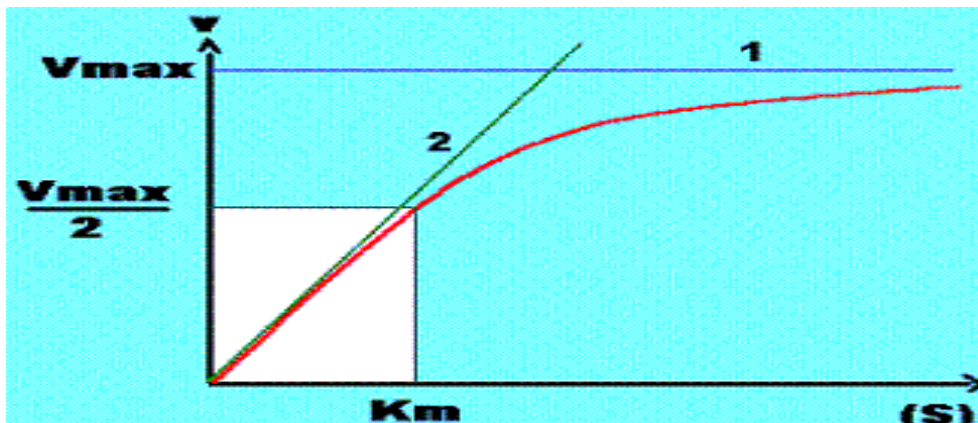
- K_M est la constante de dissociation du complexe $[ES]$, appelée constante de Michaelis-Menten (exprimée en mole/litre), elle définit l'affinité de l'enzyme pour son substrat :
- Si K_M est faible, l'affinité de l'enzyme pour le substrat est grande et réciproquement.

IV. L'EQUATION DE MICHAELIS-MENTEN

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

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

- $[E_T]$ étant la concentration totale de l'enzyme.
- Donc: $K_M = ([E_T] - [ES]) [S] / [ES] = [E_T] [S] / [ES] - [S]$
- d'où $[ES] = [E_T] [S] / K_M + [S]$.
- La vitesse de la réaction V_i est égale à V_3 , vitesse de la réaction la plus lente:
- $V_i = V_3 = K_3 [ES]$.
- D'où $V_i = K_3 [E_T] [S] / K_M + [S]$.
- Or $v_{\max} = K_3 [E_T]$.
- Donc $V_i = V_{\max} [S] / K_M + [S]$. C'est l'équation de Michaelis-Menten



- **V_{max}** est la vitesse maximale que peut atteindre la réaction lorsque l'enzyme est saturée de substrat
- **K_m** est la concentration de substrat qui sature l'enzyme à moitié.

V. REPRÉSENTATION DE LINE WEAVER ET BURKE :

- Une hyperbole est difficile à tracer manuellement.
- Des erreurs sur l'estimation de la V_{max} sont possibles.
- Pour simplifier la représentation graphique de l'équation de MICHAELIS-MENTEN , on transforme l'hyperbole en droite.
- L'équation de MICHAELIS-MENTEN peut s'écrire sous la forme :

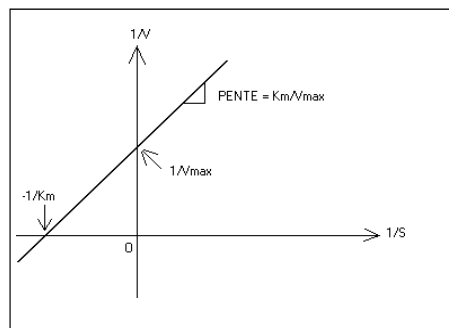
$$1/v_i = (K_m / V_{max}) \cdot 1 / (S) + 1 / V_{max} \quad (8)$$

...

$$1/V = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

|

- Cette équation est une équation de **droite** de la forme :
Y = aX + b ou **1/V = f (1/ [S])**
 Elle consiste en un tracé de 1/V en fonction de 1/[S].
- La droite qui en résulte coupe l'axe **des ordonnées** en 1/V_{max} et l'axe **des abscisses** en - 1/K_m



- Cette représentation présente l'avantage d'être plus facile à lire.
- En effet, on définit:
 - **V_{max}** : par le point d'intersection de la droite avec l'axe des ordonnées
 - **K_m** : par le point d'intersection de la droite avec l'axe des abscisses.