

Cinétique enzymatique

Dr Mustapha ZENDJABIL

Faculté de Médecine d'Oran, Université Oran 1.

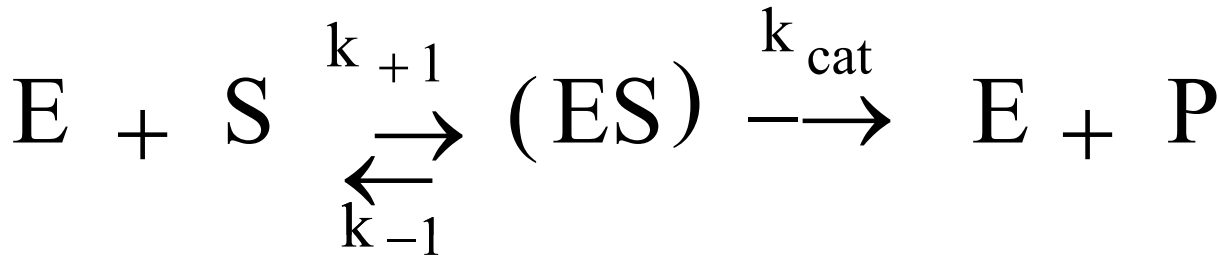
1^{ère} année Médecine.

Année Universitaire: 2018/2019.

Introduction

- La vitesse d'une réaction est la consommation de substrat par unité de temps.
- La cinétique enzymatique consiste à étudier la variation de cette réaction et les facteurs pouvant la modifier.
- Cette vitesse est naturellement dépendante de la concentration en substrat et en enzyme.

Réaction enzymatique et vitesse de formation du produit

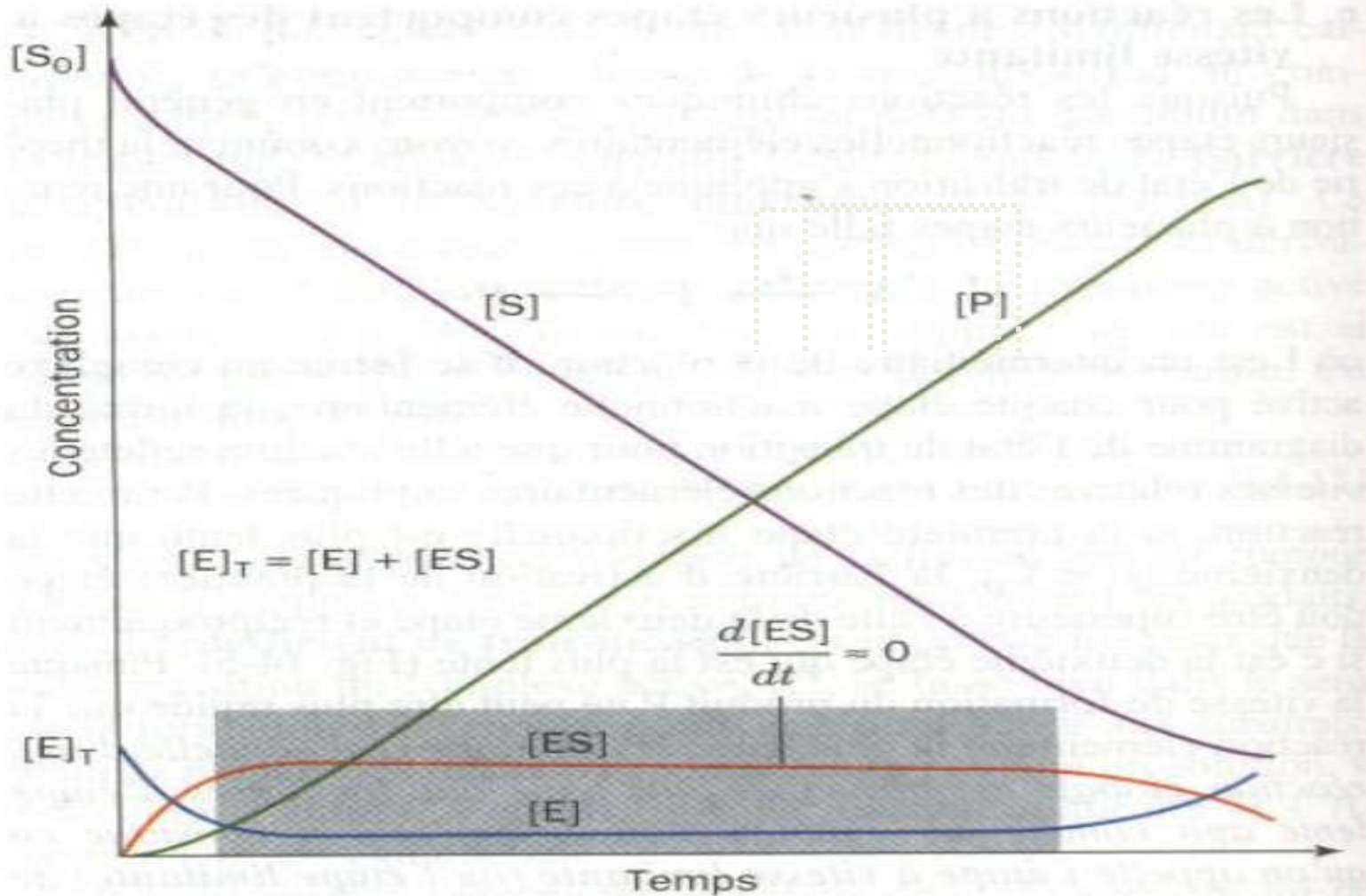


$$\frac{d(P)}{d(t)} = k_{cat} [ES] = v$$

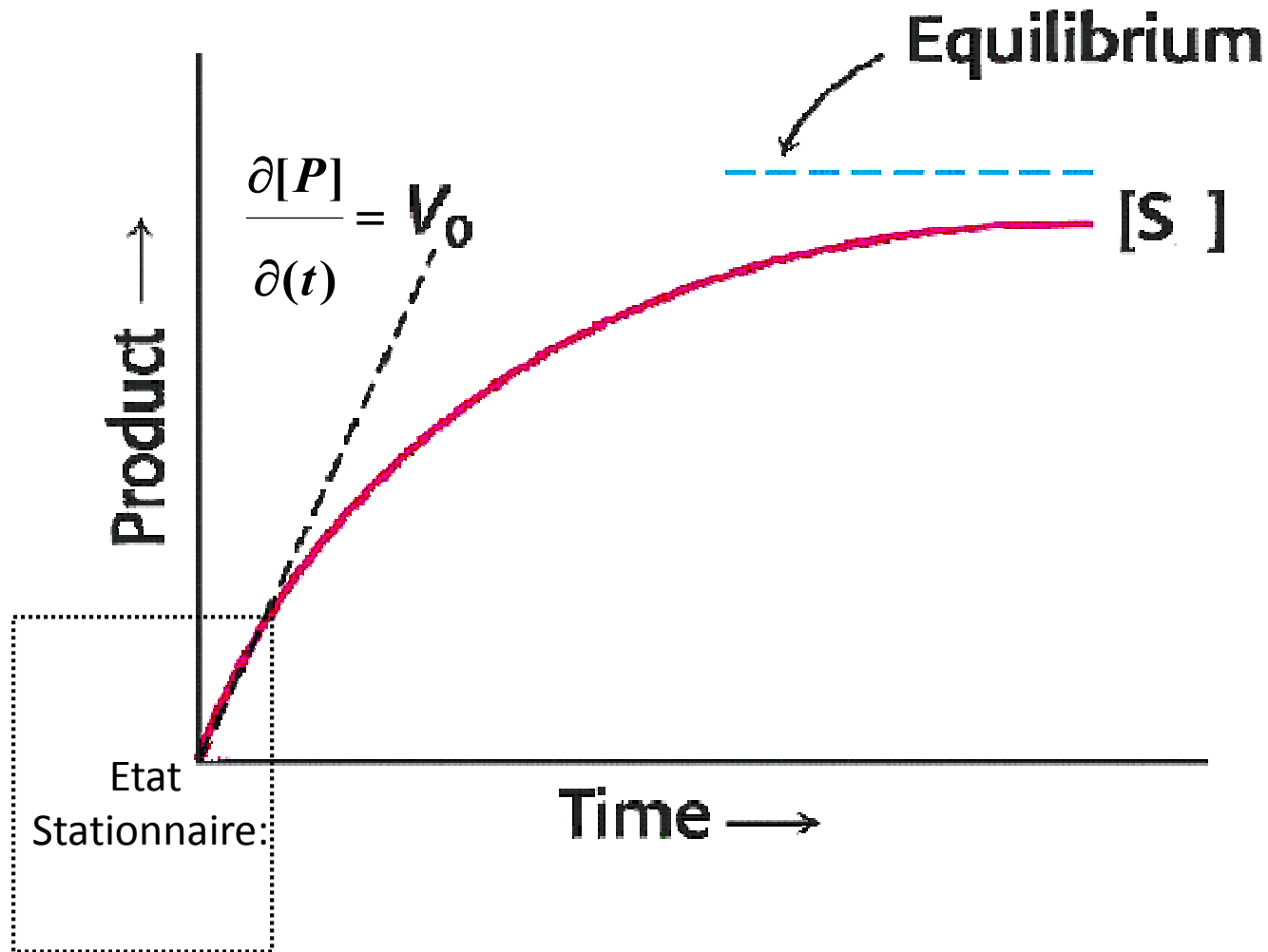
Notion d'ordre d'une réaction

- Réaction d'ordre 0 : la vitesse de la réaction est indépendante de la concentration en substrat.
- Réaction d'ordre 1 : la vitesse de la réaction est directement proportionnelle à la concentration en substrat.
- Réaction d'ordre 2 et pseudo-ordres.

Les trois phases d'une réaction enzymatique



Variation de la vitesse d'une réaction enzymatique

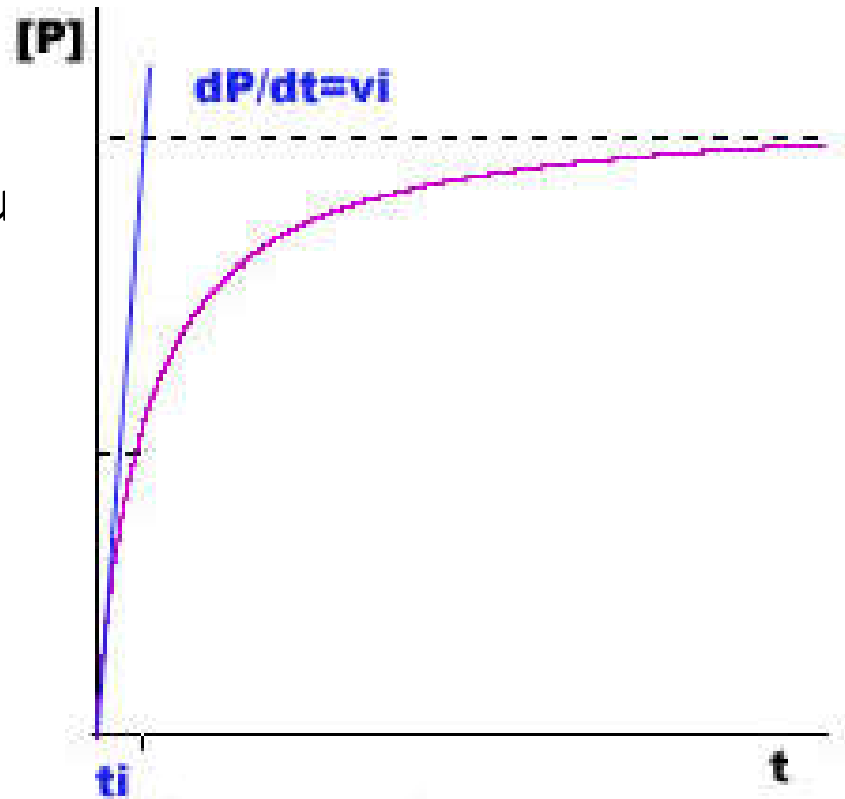


Mesure des cinétiques

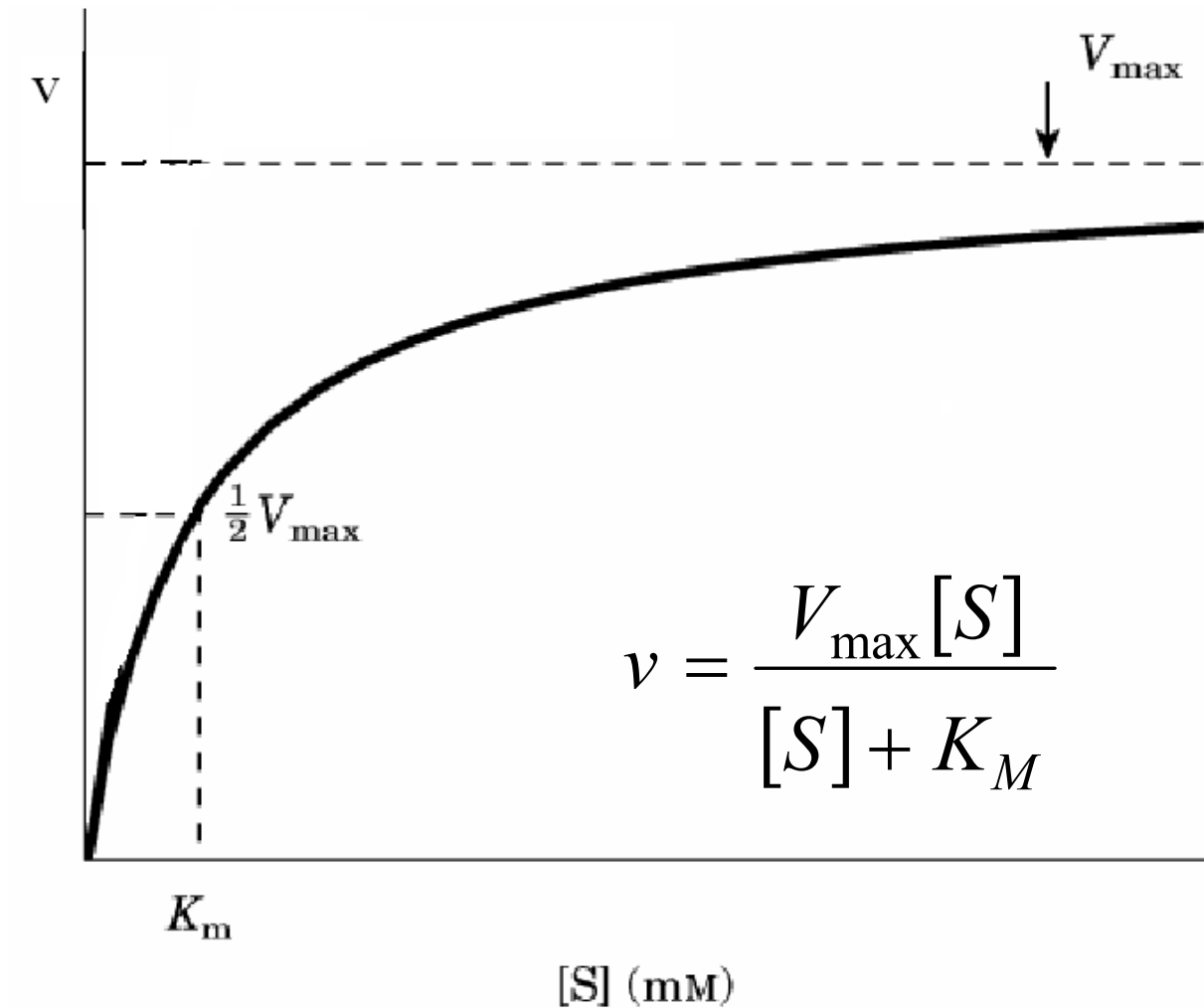
$$[P] = f(t)$$

- au début : réaction d'ordre 1
($dP/dt = \text{cste}$)
 - puis dP/dt diminue \rightarrow devient nu
 - Arrêt de la réaction ($dP/dt = 0$)
- dû à :

- épuisement de S
- réversibilité de la réaction
- inhibition par P ...



Représentation de Michaelis-Menten



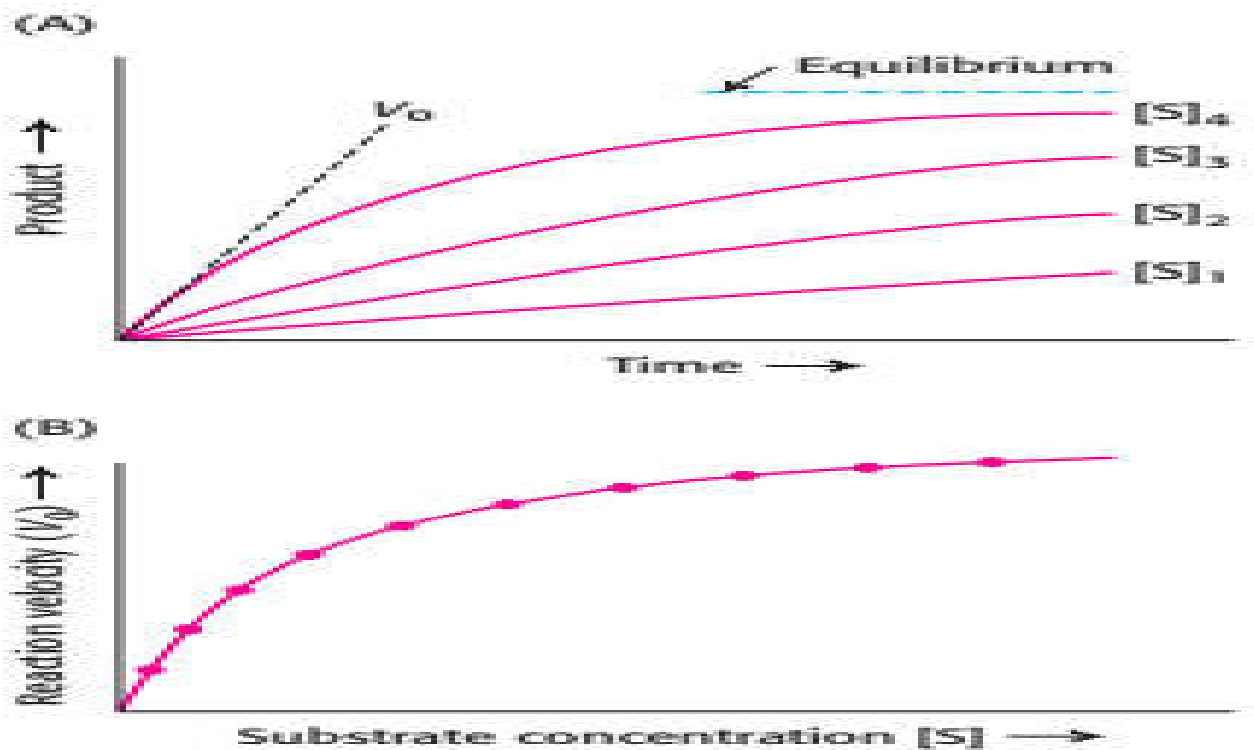
Vitesse maximale et constante de Michaelis

- V_{\max} représente la vitesse maximale que pourrait atteindre la réaction lorsque l'enzyme est totalement saturée.
- K_M est la concentration en substrat qui correspond à la moitié de la V_{\max} .
- La valeur de K_M est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

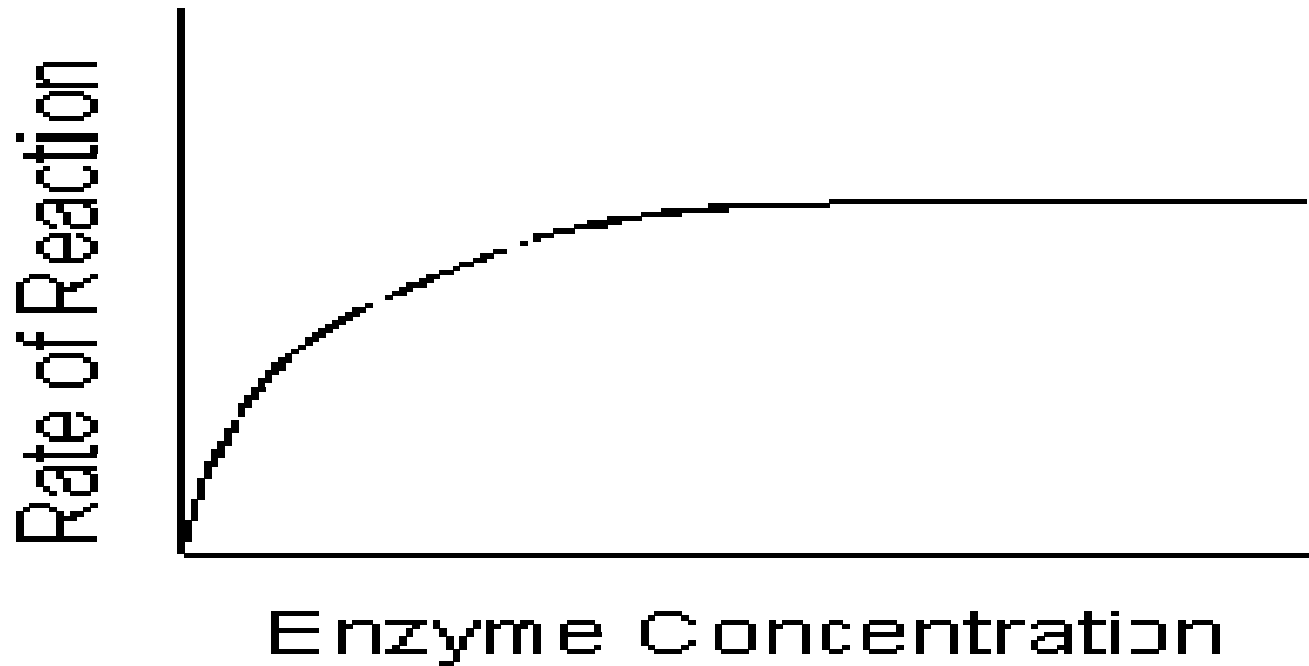
Exemples de valeurs de K_M pour quelques enzymes

Enzyme	Substrate	K_M (μM)
Chymotrypsin	Acetyl-L-tryptophanamide	5000
Lysozyme	Hexa-N-acetylglucosamine	6
β -Galactosidase	Lactose	4000
Threonine deaminase	Threonine	5000
Carbonic anhydrase	CO_2	8000
Penicillinase	Benzylpenicillin	50
Pyruvate carboxylase	Pyruvate	400
	HCO_3^-	1000
	ATP	60
Arginine-tRNA synthetase	Arginine	3
	tRNA	0.4
	ATP	300

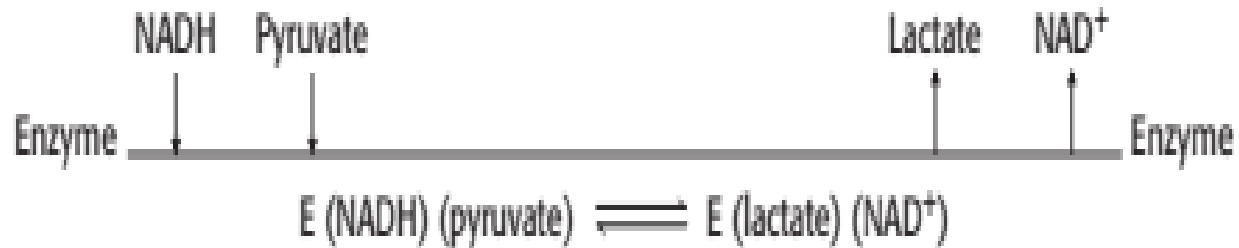
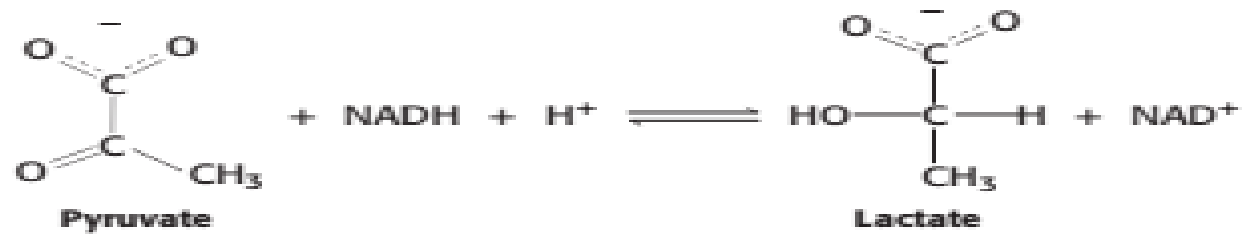
Relation entre concentration en substrat et vitesse de la réaction



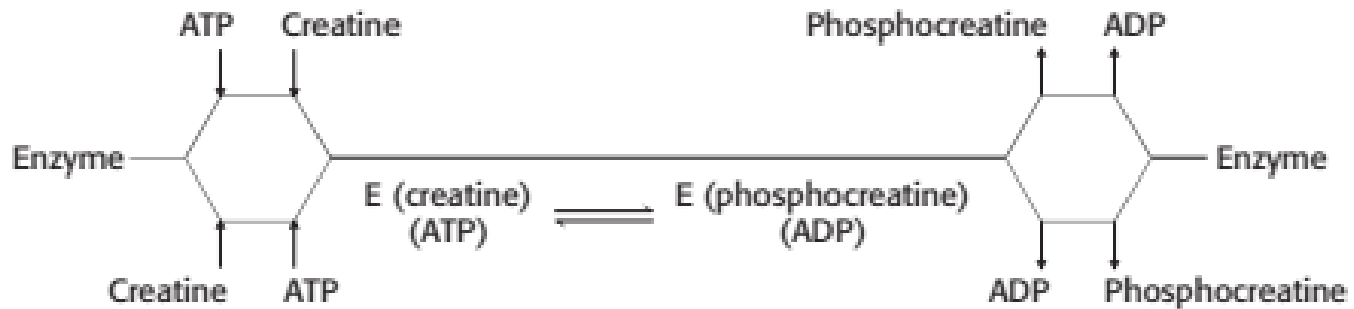
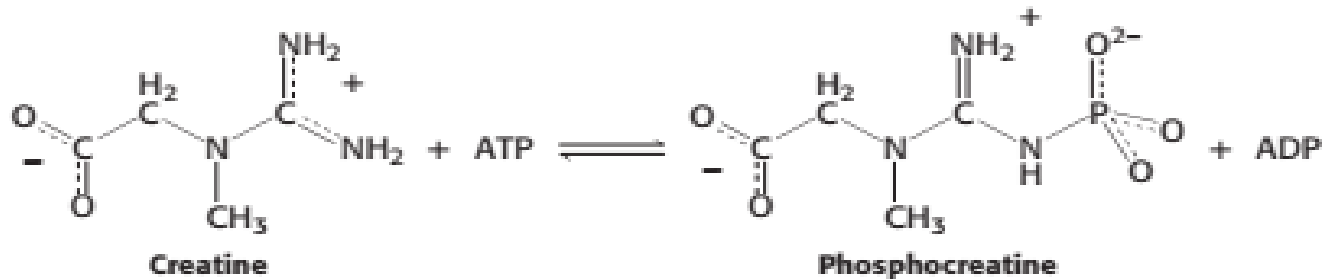
Effet de la concentration en enzyme sur la vitesse de la réaction



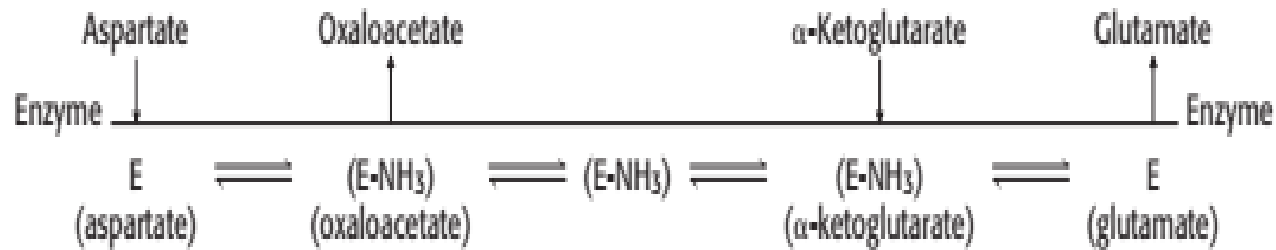
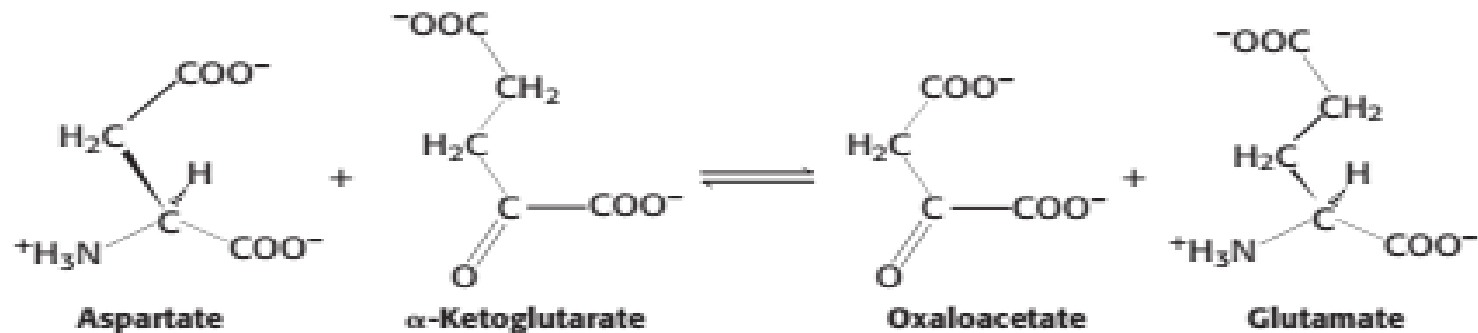
Réaction séquentielle ordonnée à deux substrats



Réaction séquentielle aléatoire à deux substrats

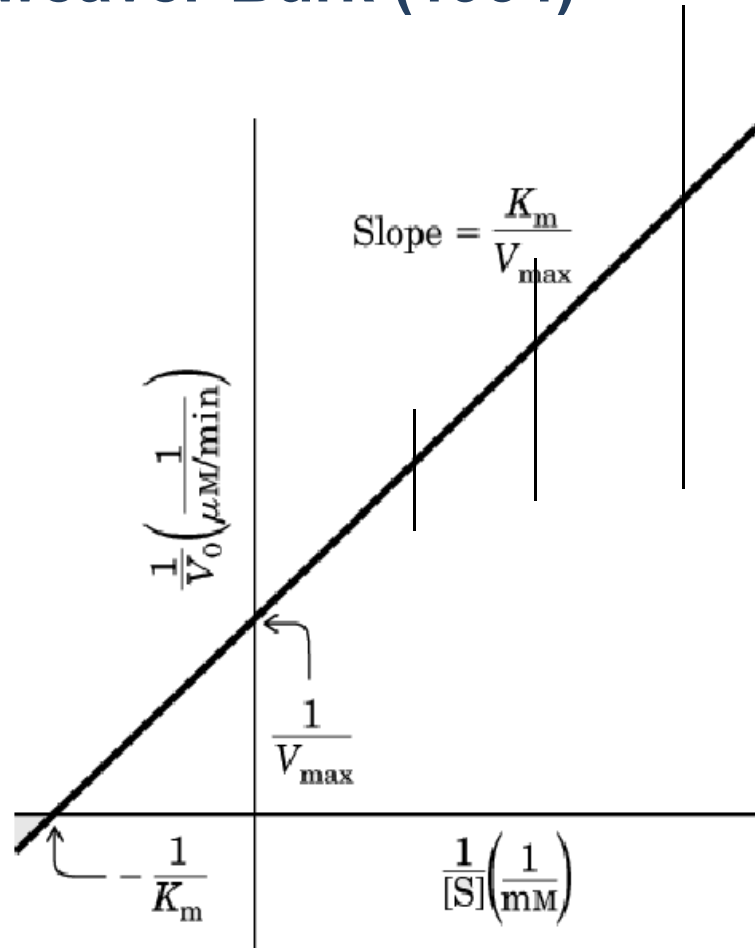


Réaction enzymatique de type « ping-pong »



Représentation en double réciproque de Lineweaver-Burk (1934)

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



Démonstration de la relation de Lineweaver-Burk

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

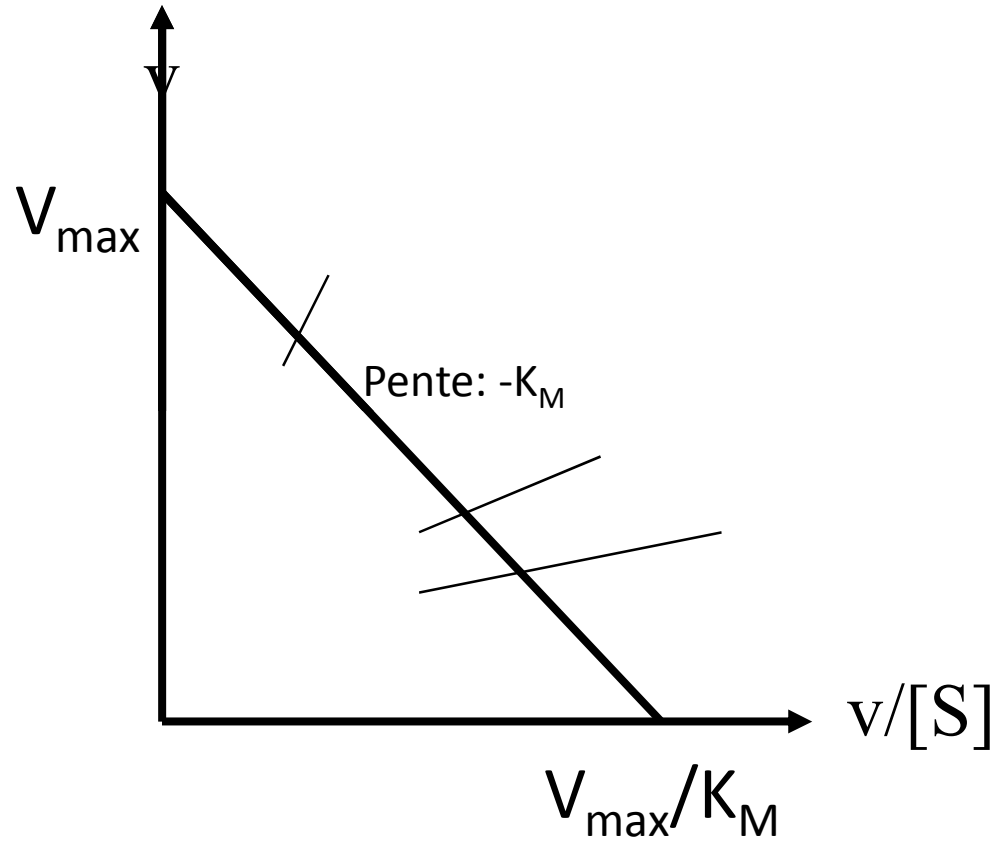
$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max}[S]}$$

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

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Représentation de Eadie-Hofstee

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



Mesure de l'activité enzymatique

- Les enzymes se trouvent en très faible quantité, d'où la difficulté de mesurer leur quantité (mesure massique).
- On mesure plutôt leur activité catalytique.
- Dosage des enzymes dans les liquides biologiques.
- Intérêt comme biomarqueur de certaines lésions pathologiques.

Unités de l'activité catalytique

- Unités internationales ou UI/l: représente la quantité d'enzyme permettant la transformation d'une micromole de substrat par minute.
- Katal ou kat: représente la quantité d'enzyme permettant la transformation d'une mole de substrat par seconde.
- $1 \text{ kat} = 6 * 10^7 \text{ UI}$
- Kat est l'unité officielle, sauf qu'en pratique l'UI est la plus couramment utilisée.

Différentes mesures d'activité

- Concentration d'activité catalytique: rapportée à l'unité de volume de la solution enzymatique.
- Activité spécifique: à la masse.
- Activité enzymatique molaire: à la quantité de matière transformée par mole d'enzyme.