

**UNIVERSITE 3 CONSTANTINE**

**FACULTE DE MEDECINE**

**DEPARTEMENT DE MEDECINE**

**1<sup>ERE</sup> ANNEE MEDECINE**

## **LA CINETIQUE ENZYMATIQUE**

- I. INTRODUCTION.
- II. LA VITESSE D'UNE REACTION ENZYMATIQUE.
- III. LA CONSTANTE DE MICHAELIS MENTEN.
- IV. L'EQUATION DE MICHAELIS MENTEN.
- V. REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LINE WEAVER ET BURKE.
- VI. EXPRESSION DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE.

## I. INTRODUCTION :

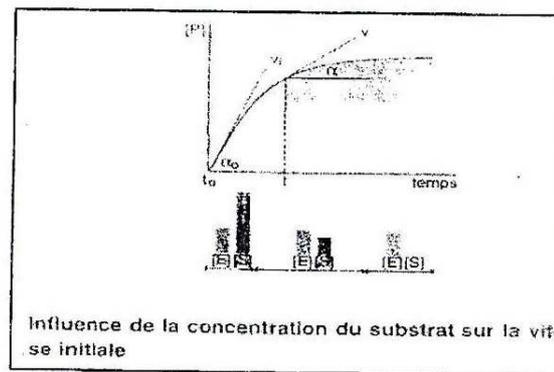
- La réaction enzymatique peut se diviser en trois principales étapes :
- 1. L'association de l'enzyme (E) et du substrat (S) :
  - Elle se produit en une région bien précise de l'enzyme appelée (site actif).
  - Le site actif est une entité tridimensionnelle correspondant à une petite région de la protéine.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

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

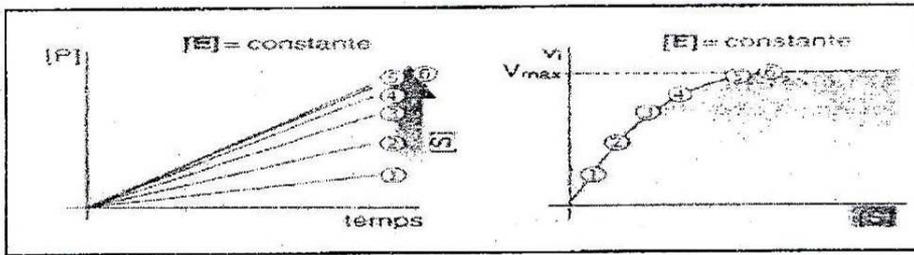
- Pour des concentrations de [E] et de [S] données, on mesure la quantité de P formé en fonction du temps :
- La courbe [E]=f(t) est :
  - D'abord linéaire ascendante : l'enzyme est saturé par son substrat, la vitesse est constante ;
  - Puis s'infléchit, l'enzyme n'est plus saturée par son substrat, 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 :  $V_i = tg \alpha_0$ .



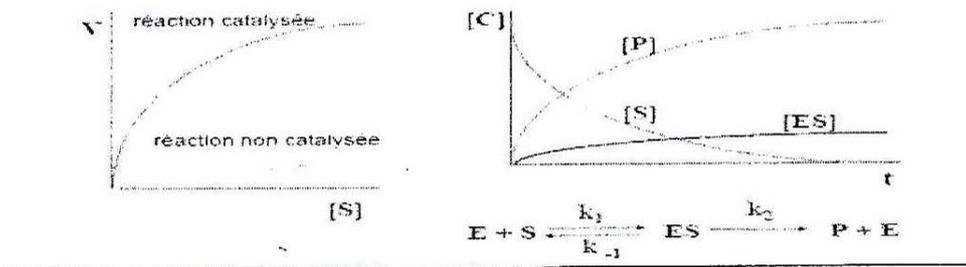
### ▪ INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DU SUBSTRAT SUR LA VITESSE INITIALE :

- A [E] constant, on répète la mesure de  $V_i$  à des concentrations croissantes de S.

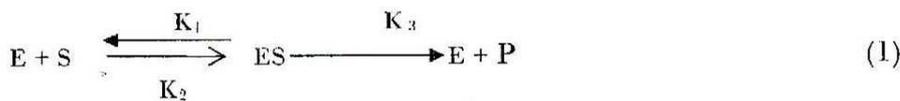
- La courbe  $V_i=f([S])$  est une courbe hyperbole qui tend vers une valeur limite, la vitesse maximale ou  $V_{max}$ .



**III. LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN**



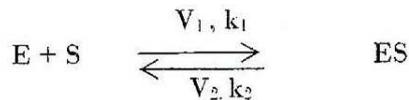
En 1913, MICHAELIS et MENTEN ont établi l'équation d'une réaction enzymatique



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



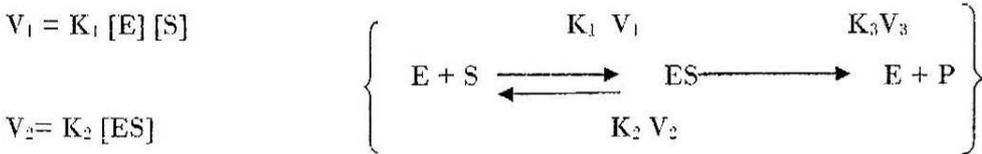


$V_3$  et  $k_3$  sont la vitesse et constante de formation du produit P.

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 :

$$\boxed{dp/dt = V_3 = K_3 [ES]} \quad (3)$$

Et  $dp/dt = - ds/dt$  donc  $V_1 - V_2 = V_3 \implies V_1 = V_2 + V_3$

$$K_1 [E] [S] = K_2 [ES] + K_3 [ES]$$

$$K_1 [E] [S] = [ES] [K_2 + K_3]$$

$$\boxed{[E] [S] / [ES] = K_2 + K_3 / K_1 = K_M} \quad (4)$$

- $K_M$  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.

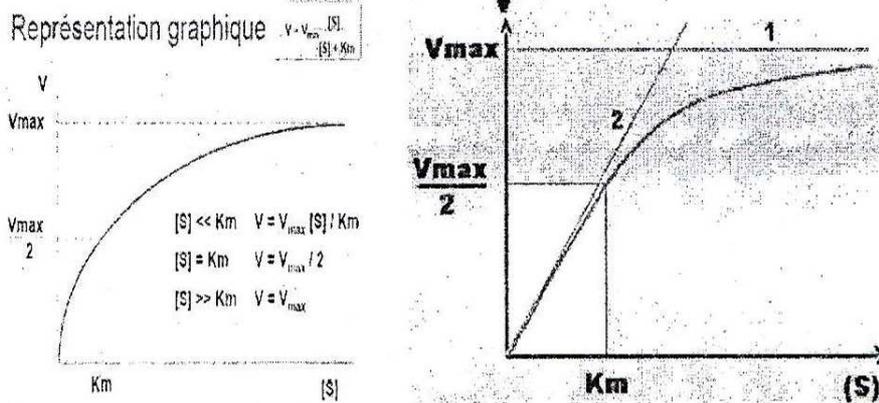
#### IV. L'EQUATION DE MICHAELIS-MENTEN

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<sub>max</sub>** est la vitesse maximale que peut atteindre la réaction lorsque l'enzyme est saturée de substrat
- **K<sub>m</sub>** est la concentration de substrat qui sature l'enzyme à moitié.

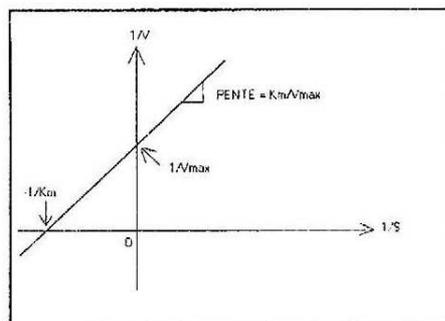
V. REPRÉSENTATION DE LINE WEAVER ET BURKE :

- Une hyperbole est difficile à tracer manuellement.
- Des erreurs sur l'estimation de la V<sub>max</sub> 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 :

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

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

- 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<sub>max</sub>** : par le point d'intersection de la droite avec l'axe des ordonnées
  - **K<sub>m</sub>** : par le point d'intersection de la droite avec l'axe des abscisses.

## VI. EXPRESSIONS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

1. Unité officielle: katal (kat), quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de **1 mole de substrat par seconde**. Le katal n'est jamais utilisé, car beaucoup trop grand. On doit utiliser des sous-unités comme les  $\mu\text{kat}$  ( $10^{-6}$  katal), nkat ( $10^{-9}$  katal).
2. L'unité internationale (IU, International Unit), utilisée par la plupart des biochimistes. Elle correspond à la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de **1  $\mu\text{mole}$  de substrat par minute**.