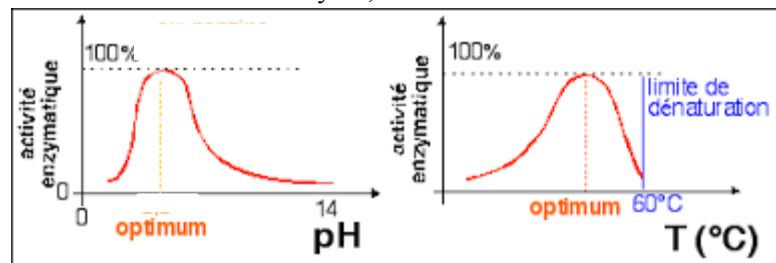


III-LES FACTEURS INFLUENÇANT LA REACTION ENZYMATIQUE

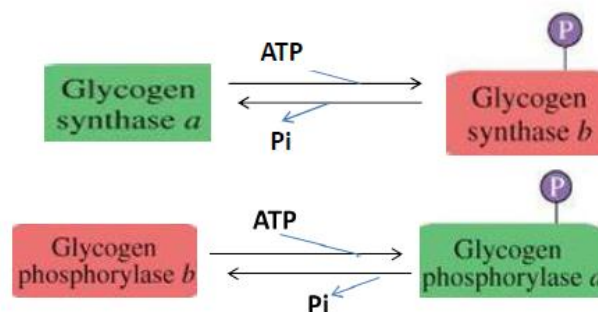
1/ Les facteurs physico-chimiques :

- a- Influence du pH :** la vitesse est maximale pour un pH déterminé, appelé pH optimum.
Ce pH varie selon les enzymes, les enzymes intracellulaires agissent pour la plupart à pH neutre, certains enzymes ont des pH extrêmes : celui de la pepsine, enzyme gastrique est de 2 ; celui de la trypsine, enzyme intestinale, est de 9.
- b- Influence de la température :** l'étude de la vitesse de la réaction enzymatique en fonction de la température fait apparaître deux phases.
- **Phase d'activation :** activation croissante avec la température entre : de 0°C à la température optimale.
-à chaque fois que la température augmente de 10°C, la vitesse de la réaction augmente d'environ d'un facteur de 2.
 - **Phase de dénaturation rapide :** L'augmentation importante de la température entraîne la dénaturation de l'enzyme, donc sa désactivation.



2/ les activateurs enzymatiques : les activateurs augmentent l'activité enzymatique, il peut s'agir de :

- **Ions métalliques :** favorisent une bonne conformation de l'enzyme, la fixation substrat et participent à la catalyse enzymatique.
-Exemples : Mg^{++} activateur des kinases, Cl^- activateur d'amylase.
- **Protéolyse limitée (irréversible) :** par clivage spécifique d'une ou plusieurs liaisons peptidiques d'une proenzyme (zymogène) inactif, révélant le site actif en une enzyme active.
-Exemples : **Prolipase (E inactive) → lipase (E active).**
Trypsinogène (E inactive) → trypsine (E active).
- **Modification covalente (réversible) :** l'enzyme coexiste sous deux formes interconvertibles, l'une phosphorylée, l'autre non phosphorylée ou déphosphorylée.
- Selon l'enzyme la forme active est phosphorylée ou non.
-Exemples :



3/Les inhibiteurs enzymatiques : L'inhibiteur est un ligand qui se lie à l'enzyme mais ne subit pas de transformation, il entraîne une diminution de l'activité ou inactivation enzymatique (ralentissement de la réaction enzymatique).

Deux types d'inhibiteurs :

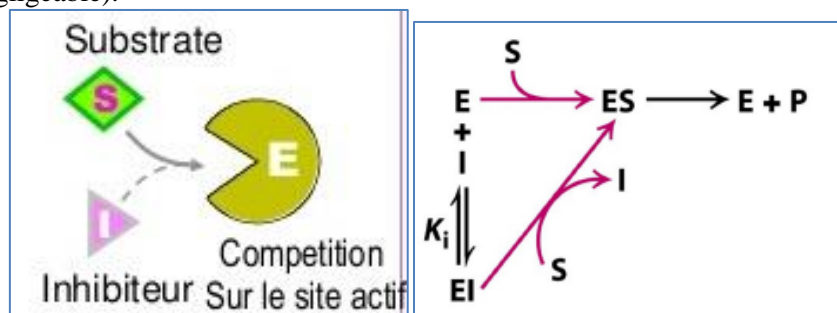
a- Les inhibiteurs réversibles : les inhibiteurs réversibles lient l'enzyme de manière non covalente.

Trois types d'inhibiteurs réversibles :

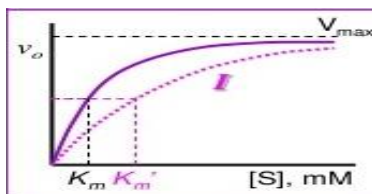
- Compétitifs.
- Incompétitifs.
- Non compétitifs.

a1- L'inhibiteur compétitif : ce type d'inhibition est la plus fréquemment rencontrée.

- L'inhibiteur "I" est un analogue structural au substrat "S" (structure très similaire).
- L'inhibiteur et le substrat sont en compétition pour le même site de liaison sur l'enzyme "E": c'est le site actif.
- la liaison de l'inhibiteur, à l'enzyme libre, empêche la liaison du substrat.
- L'inhibiteur se lie seulement à l'enzyme libre formant le complexe enzyme-inhibiteur "EI".
- L'inhibiteur peut être déplacé par un excès de substrat (à des [S] très élevées, I devient négligeable).

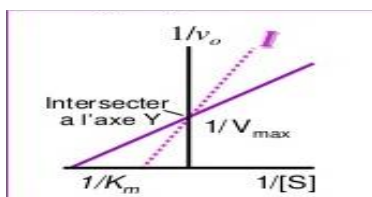


$$[E]_t = [E] + [ES] + [EI]$$



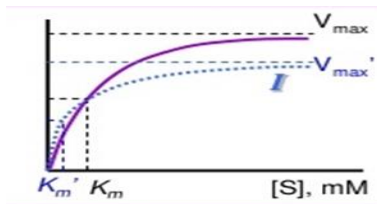
★ **Graphique de l'inhibition compétitive :**

- V_{max} 'ne change pas
- K_m' est augmenté ($K_m' > K_m$) mais $\frac{1}{K_m'} < \frac{1}{K_m}$
- Donc l'affinité de l'enzyme pour le substrat est diminuée
- Les lignes se croisent sur l'axe-Y ($1/V_{max}$)



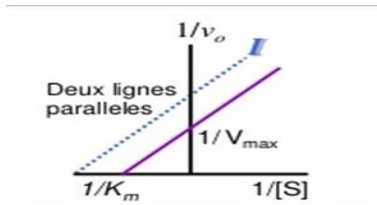
a2-inhibiteur non compétitif : ce type d'inhibition est rare, l'inhibiteur "I" et le substrat "S" lient des sites différents sur E.

- la liaison de l'inhibiteur sur l'enzyme n'affecte pas la liaison du substrat sur l'enzyme (et vice versa) et donc l'affinité (K_m) n'est pas affectée.
- L'inhibiteur est lié par l'enzyme libre et par le complexe ES .
- Le complexe enzyme-inhibiteur-substrat "EIS" ne mène pas aux produits (enzyme inactive)
- l'augmentation de S ne surmonte pas l'inhibition par I.



★ Graphique d'inhibition incompétitive :

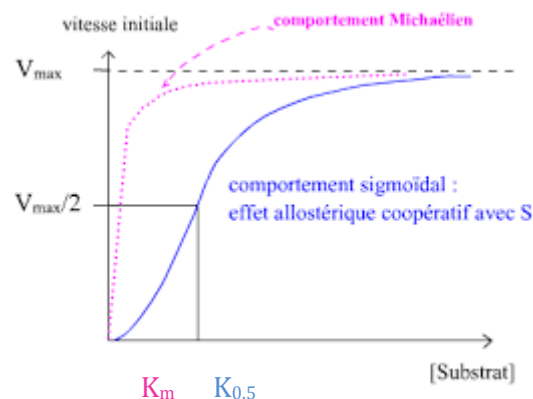
- Modification de K_m' et V_{max}'
- $V_{max}' \downarrow : V_{max}' < V_{max}$ mais $\frac{1}{V_{max}'}$ > $\frac{1}{V_{max}}$
- $K_m' \uparrow : \text{l'affinité} \downarrow : K_m' > K_m$ mais $\frac{1}{K_m'}$ < $\frac{1}{K_m}$
- Pente ne change pas.
- Les lignes sont parallèles.



b-Inhibiteurs irréversibles : les inhibiteurs irréversibles lient l'enzyme de manière covalente à un groupement fonctionnel indispensable à l'activité catalytique de l'enzyme entraînant une inactivation permanente, l'inhibiteur est dit inhibiteur suicide.

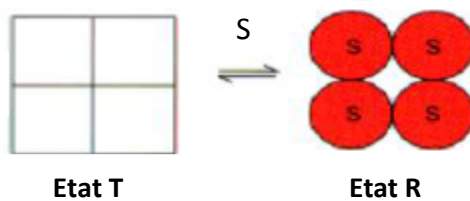
IV/ LES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES : du grec «*allos*» autre et «*stereos*» formes.

- ✓ Les enzymes allostériques se distinguent des autres enzymes Michaeliennes dont la courbe $v_i=f([S])$ est une hyperbole équilatère par leur courbe sigmoïde en « S ».



- ✓ En cinétique Michaelienne quand S augmente, v_i augmente de moins en moins vite et plafonne à V_{max} .
 - ✓ En cinétique allostérique v_i d'abord augmente de plus en plus vite jusqu'au point d'inflexion (correspondant à la K_m , mais appelé ici $K_{0.5}$) puis de moins en moins vite et plafonne à V_{max} .
 - ✓ Les enzymes allostériques ont une structure quaternaire, leurs sous unités sont disposées de manière à ce que la molécule ait un axe de symétrie.
 - ✓ Chaque sous-unité peut fixer une molécule de substrat.
 - ✓ Le caractère sigmoïde de la courbe s'explique par le fait la fixation du substrat par l'enzyme augmente l'affinité de l'enzyme pour le substrat : c'est **l'effet coopératif**.
 - ✓ Deux modèles ont été proposés pour rendre compte de la coopérativité homotrope : le **modèle concerté** de J.Monod et le **modèle séquentiel** de D.koshland.
 - ✓ L'une et l'autre implique que deux conformations :
 - **La conformation T (tendue)**, à une faible affinité pour le substrat.
 - **La conformation R (relâchée)**, à une forte affinité pour le substrat.
- ☐ **Le modèle concerté :**

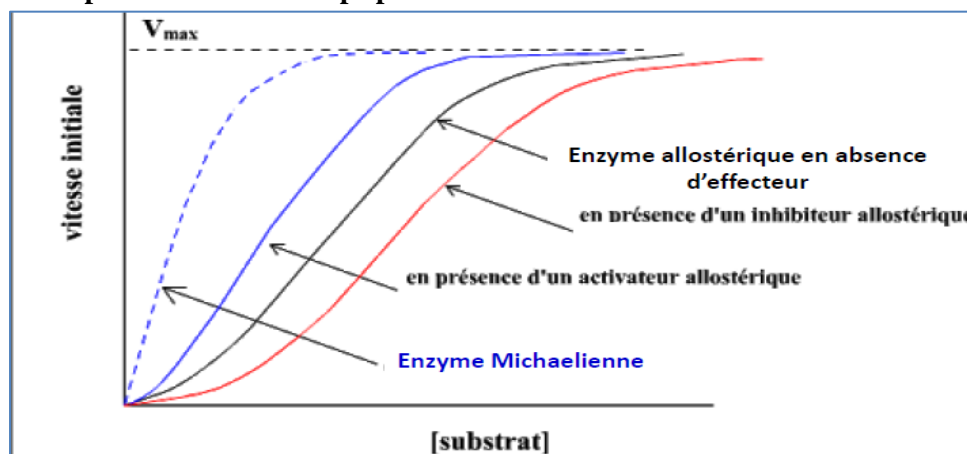
- Toutes les sous unités de l'enzyme sont soit en conformation T, soit en conformation R, T et R étant en équilibre.
- En absence de substrat l'équilibre est en faveur de T ; en présence de substrat l'équilibre est en faveur de R.



▣ **Le modèle séquentiel :**



- En absence de substrat toutes les sous unités de l'enzyme sont en conformation T
 - La fixation de la première molécule de substrat induit la transition de T → R de la première sous-unité, ce qui facilite la transition de la sous-unité voisine et la fixation d'une deuxième molécule de substrat et ainsi de suite.
- ✓ Outre le site catalytique de l'enzyme où se fixe le substrat, l'enzyme possède un ou plusieurs sites dits allostériques ou sites régulateurs où peuvent se fixer des effecteurs allostériques positifs (activateurs) ou négatifs (inhibiteurs) n'ayant aucune analogie structurale avec le substrat : l'effet allostérique qui est un phénomène hétérotope.
- **Un effecteur inhibiteur** : diminue l'affinité de l'enzyme pour le substrat, déplace R vers T ($R \leftrightarrow T$), la $K_{0.5}$ est augmentée et la courbe est déplacée vers la droite → **phénomène hétérotope négatif**.
 - **Un effecteur activateur** : augmentent l'affinité de l'enzyme pour le substrat, déplace T vers R ($T \leftrightarrow R$), la $K_{0.5}$ est diminuée et la courbe est déplacée vers gauche → **phénomène hétérotope positif**.



✓ **L'importance de l'allostérie :**

- Elle confère à l'enzyme une grande sensibilité de son activité aux variations de concentration de substrats et d'effecteurs.
- Premier rang des mécanismes régulateurs des activités enzymatiques.