

# Chapitre 4

# Les enzymes : Cinétique enzymatique

Pr. Bertrand TOUSSAINT

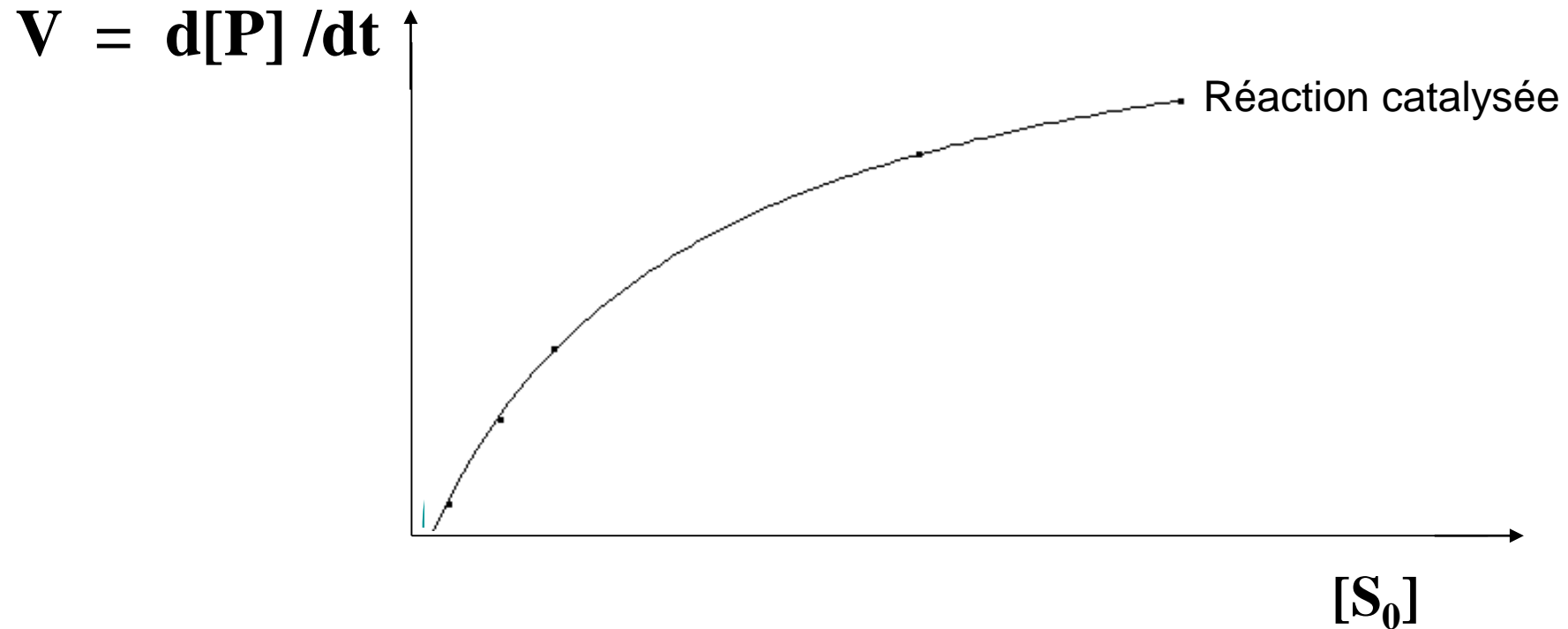
# Plan du cours

- Rappels de cinétique des réactions chimiques
- Éléments de cinétique des réactions enzymatiques
- Le modèle de Michaelis et Menten
- Notions d'allostérie : enzymes non Michaeliennes
- Activité enzymatique
- Enzymes marqueurs de pathologie

# Objectifs pédagogiques du cours

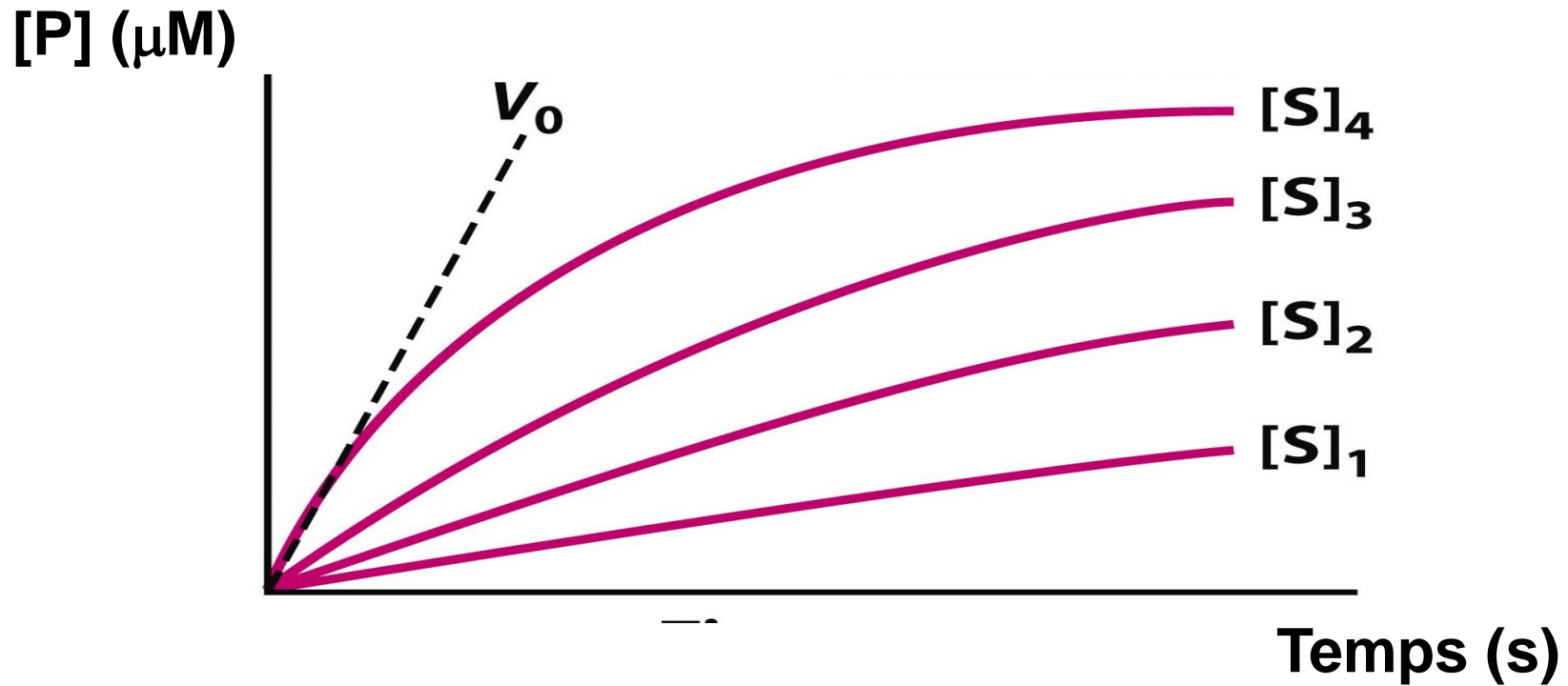
- Connaître le modèle de Michaelis et Menten,  $K_M$   $V_{max}$
- Savoir que toutes les enzymes ne suivent pas ce modèle : allostérie
- Connaître la définition de l'activité enzymatique, unités
- Comprendre comment on utilise les enzymes comme marqueurs de pathologies

# Cinétique enzymatique



**relation hyperbolique entre la concentration en substrat et la vitesse de la réaction.**

# Méthode de mesure de la vitesse



La réaction se déroule dans une cuve de spectrophotomètre

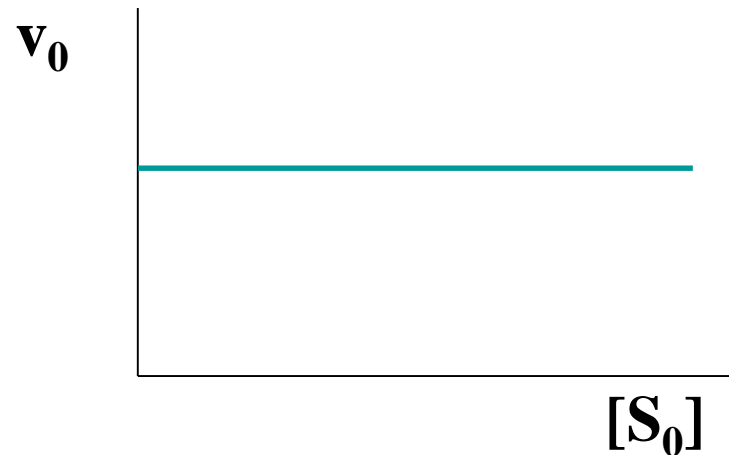
# Ordres simples : 0 ou 1

- Cas simples avec un substrat S : Mesure des vitesses initiales
- Si on peut décrire la variation de la vitesse en fonction de la concentration en S

$$v_0 = k[S_0]^\alpha$$

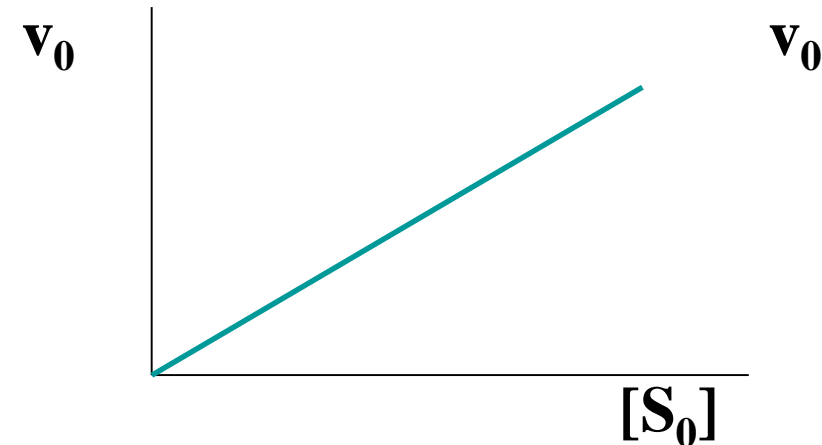
$\alpha$  est l'ordre de la réaction

**Ordre 0**



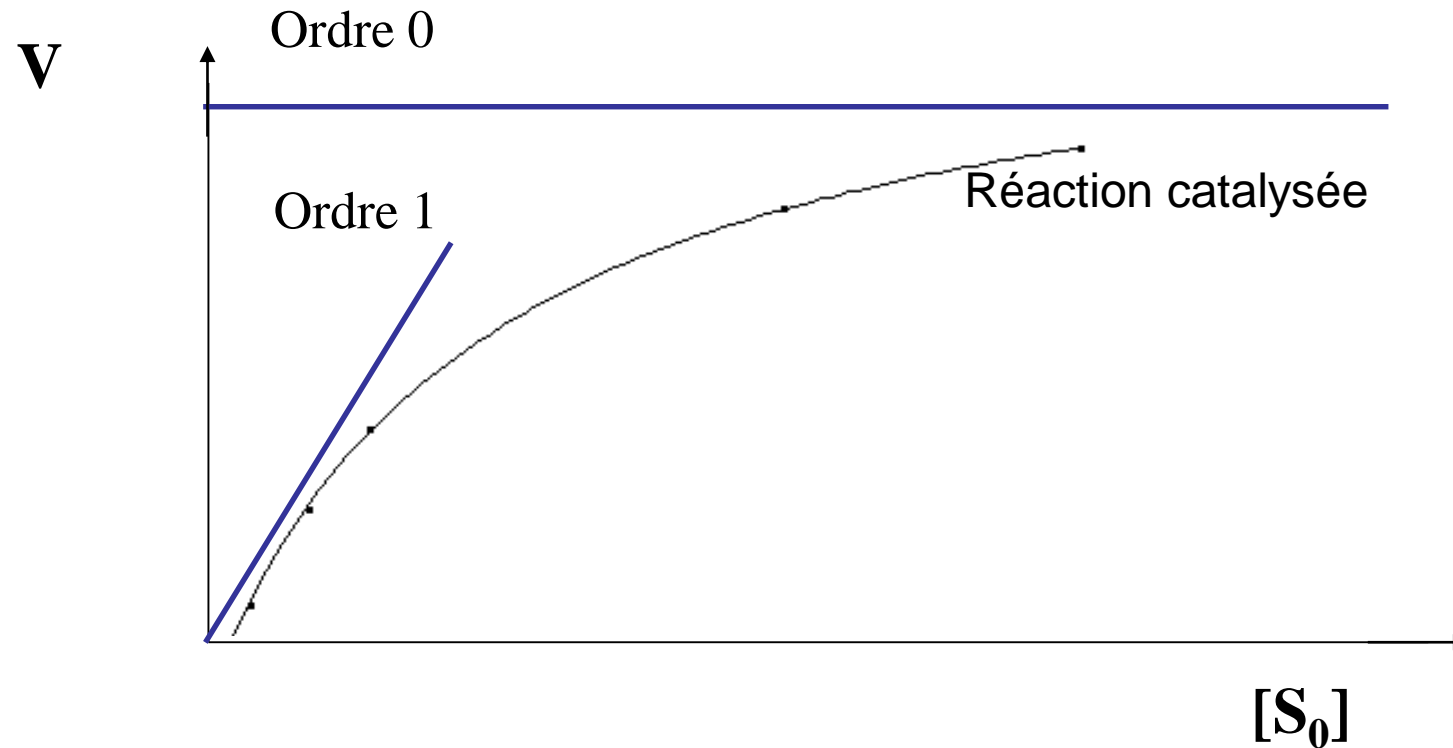
$$\bullet v_0 = k$$

**Ordre 1**



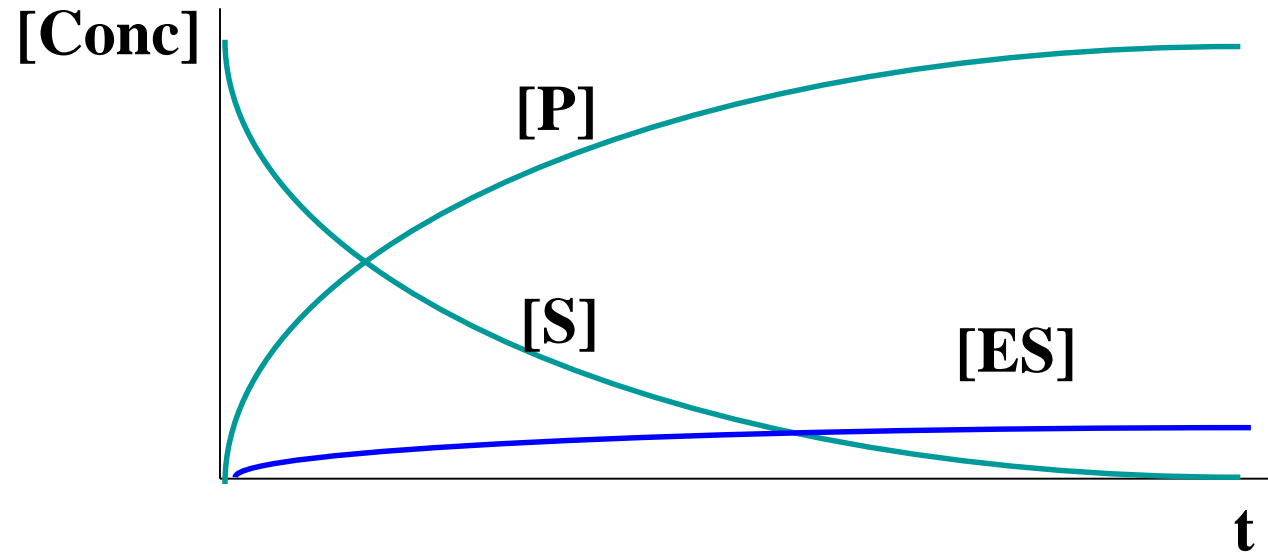
$$\bullet v_0 = k [S_0]$$

# Cinétique enzymatique

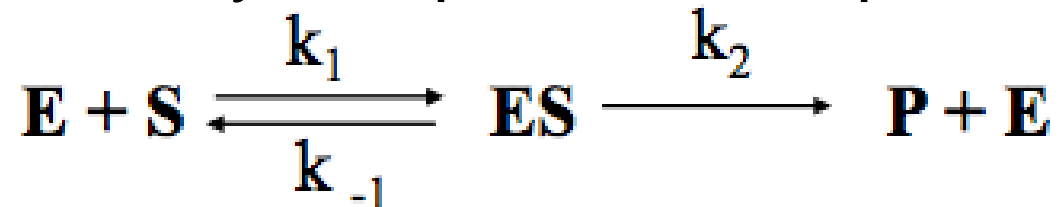


**relation hyperbolique entre la concentration en substrat et la vitesse de la réaction.**

# Les hypothèses du modèle de Michaelis et Menten



Hyp. 1 : la réaction enzymatique se découpe en 3 réactions élémentaires

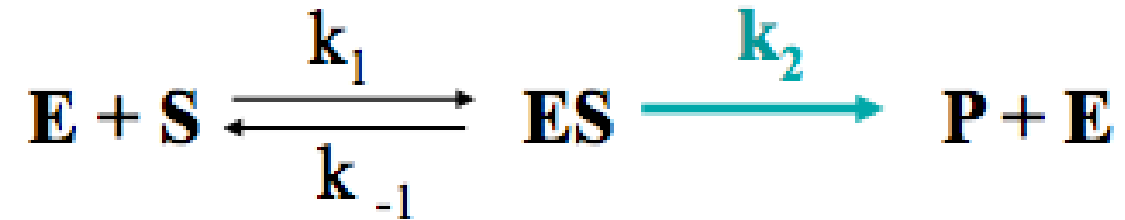


Hyp. 2 : les 3 réactions élémentaires sont d'ordre 1

Hyp. 3 : la concentration en ES est stable dans le temps



# Le modèle Michaelis et Menten



Vitesse de réaction:  $V = k_2 [\text{ES}]$

vitesse de formation de ES:  $= k_1 [\text{E}] [\text{S}]$

vitesse de dissociation de ES  $= (k_{-1} + k_2) [\text{ES}]$

à l'état stationnaire:  $[\text{ES}] = \text{Cste}$  donc  $k_1 [\text{E}] [\text{S}] = (k_{-1} + k_2) [\text{ES}]$

$$(1) \quad [\text{ES}] = \frac{[\text{E}] [\text{S}]}{(k_{-1} + k_2) / k_1}$$

$K_M$

Vitesse de réaction:  $V = k_2 [ES]$

$[E] = [E_T] - [ES]$   $E_T$  concentration totale en enzyme

$E =$  concentration en enzyme libre

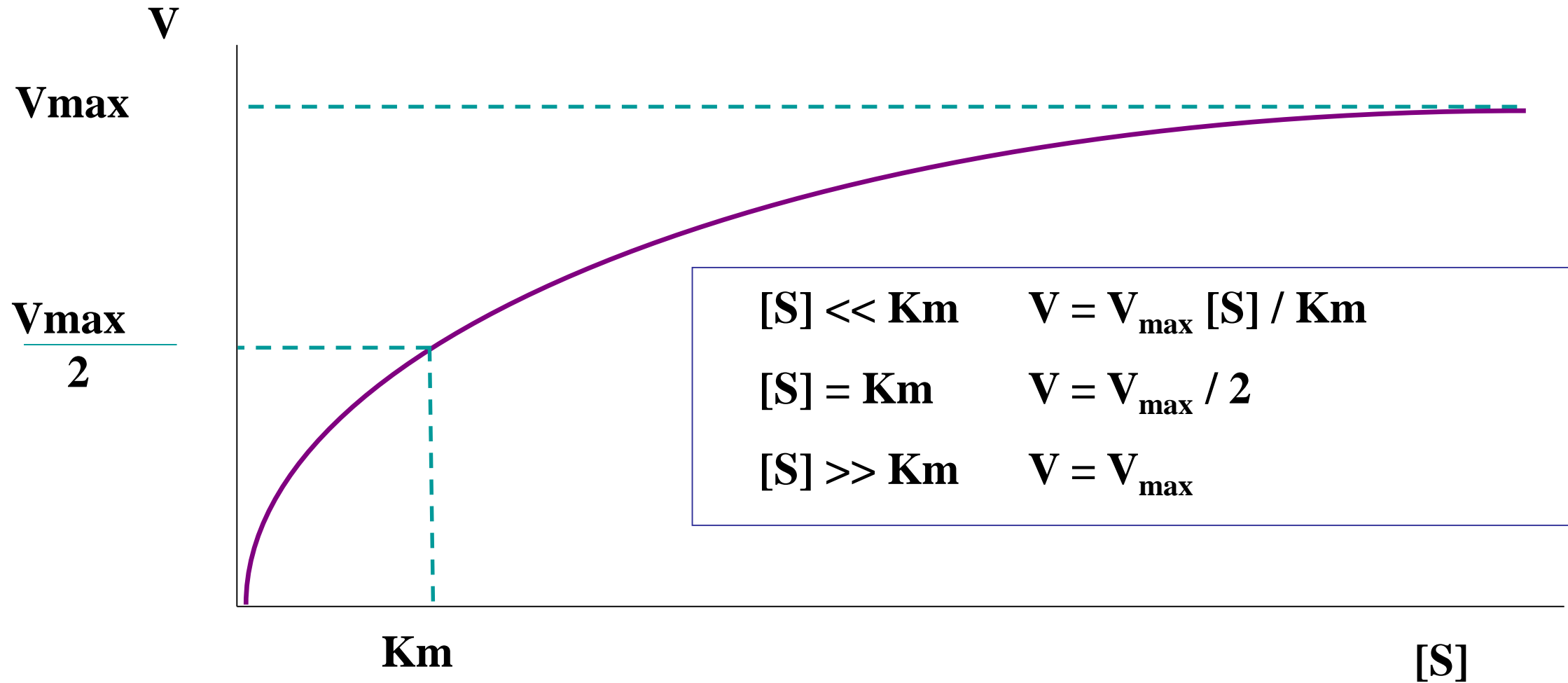
$$(2) [ES] = \frac{([E_T] - [ES]) [S]}{K_M} \quad \Rightarrow \quad (3) [ES] = [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

$$V = k_2 [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (4)$$

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (5)$$

# Représentation graphique

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



# Vitesse de la réaction enzymatique

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

- Variation de  $V_{\max} = k_{\text{cat}} * [E_T]$   $k_{\text{cat}} = k_2$ 
  - Quantité d'enzyme : activité
  - $k_{\text{cat}}$  : rapidité de l'enzyme
- Variation de  $\frac{[S]}{[S] + K_m}$ 
  - Niveau de saturation de l'enzyme en substrat

# Mesure de l'efficacité enzymatique : nombre de turn-over

« Turn-over » de l'enzyme  $k_{\text{cat}}$  ou  $k_2$  (seconde<sup>-1</sup>)

$$[\text{Et}] \text{ connue} \quad V_{\text{max}} = k_{\text{cat}} [\text{Et}] \quad k_{\text{cat}} = \frac{V_{\text{max}}}{[\text{Et}]}$$

$k_{\text{cat}}$  est une constante de vitesse du premier ordre (unité s<sup>-1</sup>), c' est une fréquence

Fréquence à laquelle l'enzyme établit l'acte catalytique (nombre de fois par seconde) lorsqu'il est saturé par le substrat

$1/k_{\text{cat}}$  est la durée, en s de l'acte catalytique.

$k_{\text{cat}}$  donne la mesure de l'efficacité de la catalyse par l'enzyme

# Analogie pour mieux comprendre



Bcp de clients et peu de guichets :

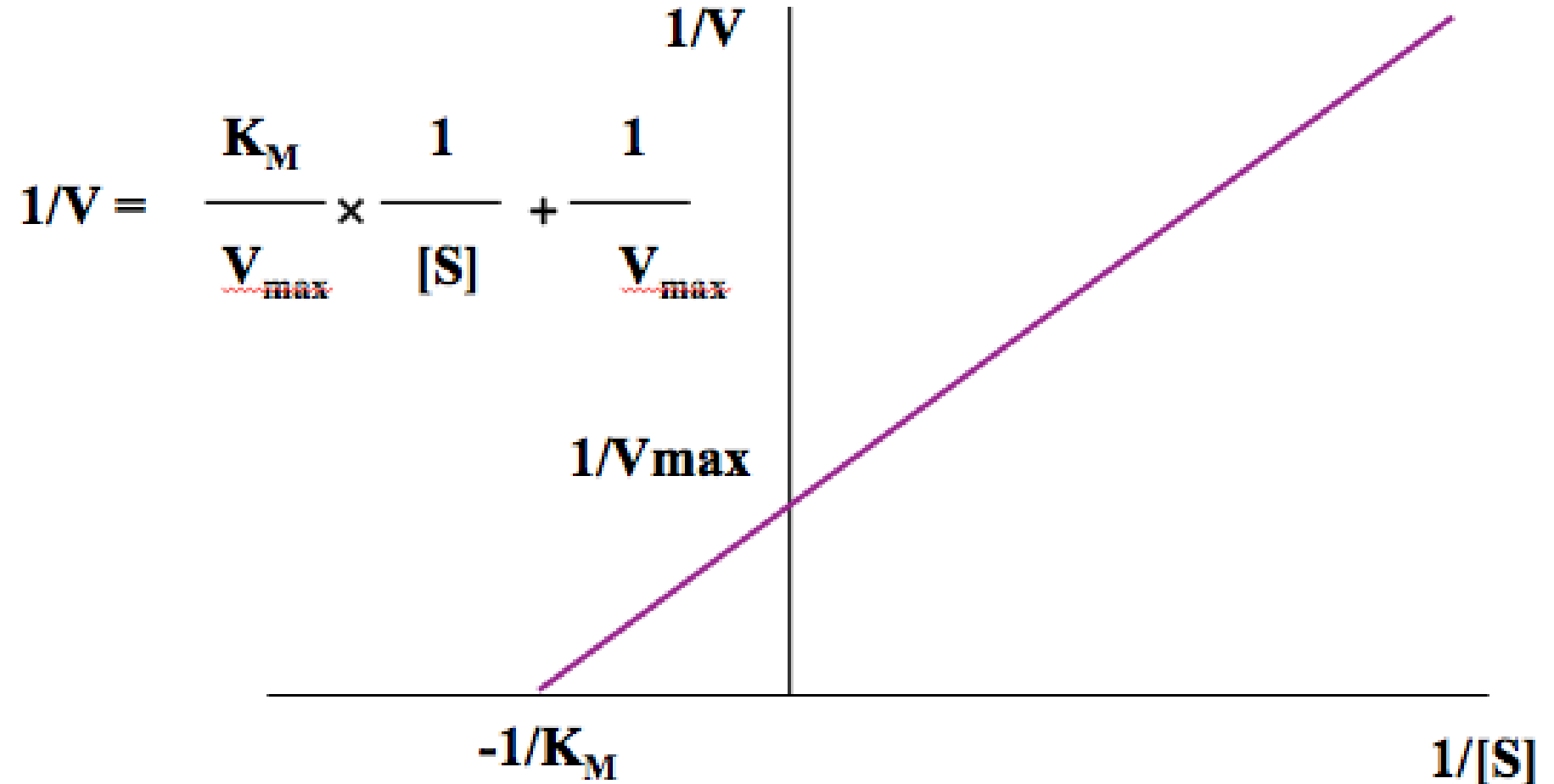
La vitesse dépend de la quantité de guichets ouverts (quantité d'enzyme) et de l'habilité du personnel (absence d'inhibiteurs)



Bcp de guichets / peu de clients :

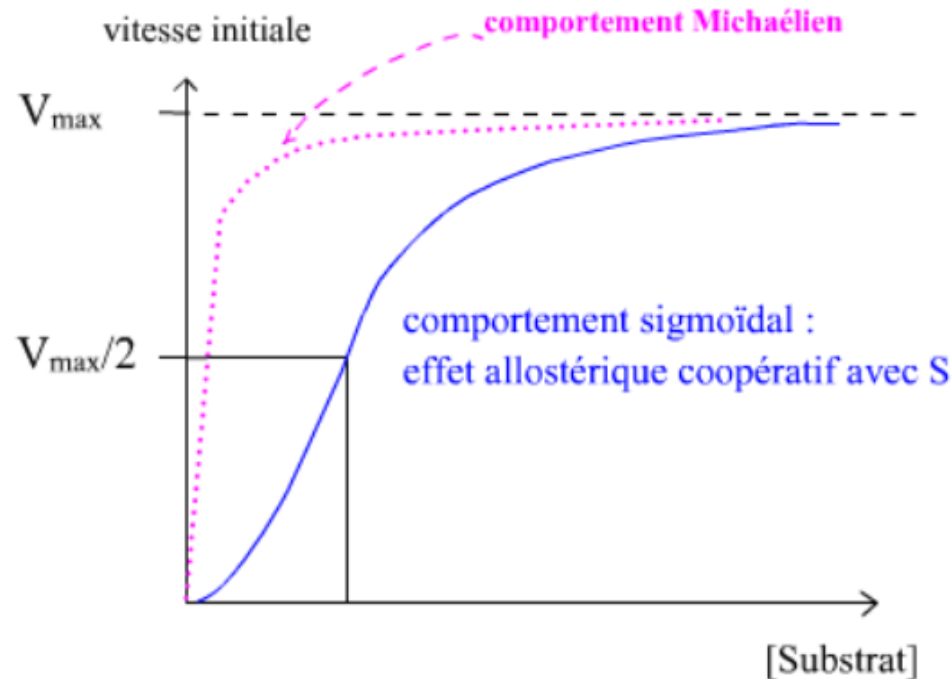
La vitesse dépend du nombre de client (quantité de substrat)

# Représentation en double inverse



# Enzymes non Michaeliennes

- Certaines enzymes ne suivent pas exactement le modèle de Michaelis et Menten.
- Le  $K_M$  ou le  $K_{cat}$  peut parfois varier : enzymes allostériques
  - En fonction de la concentration en substrat
  - En fonction de la présence d'autres molécules sur l'enzyme





# Activité enzymatique

$$[S] \gg K_M \quad V = V_{\max} = k_{\text{cat}}[E_t]$$

La vitesse mesurée est la vitesse maximum et elle est proportionnelle à la concentration totale d'enzyme.

C'est donc la méthode qui peut être utilisée pour doser la concentration et par suite la quantité d'enzyme présente dans une solution ou dans un liquide biologique

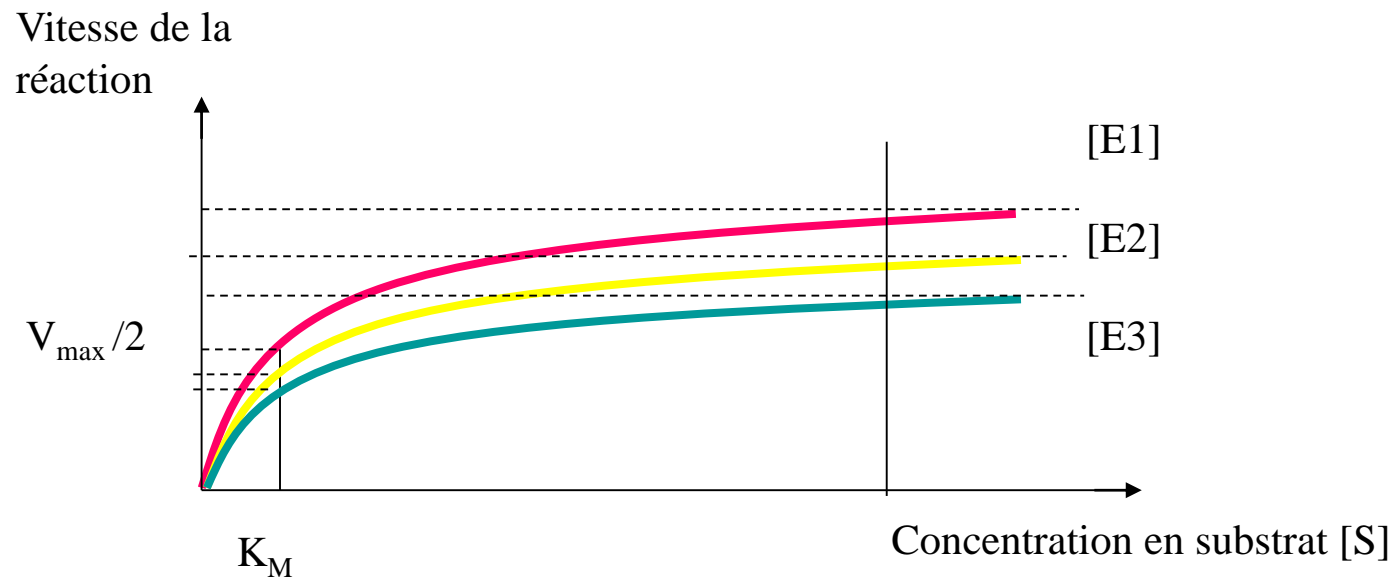


Figure 1

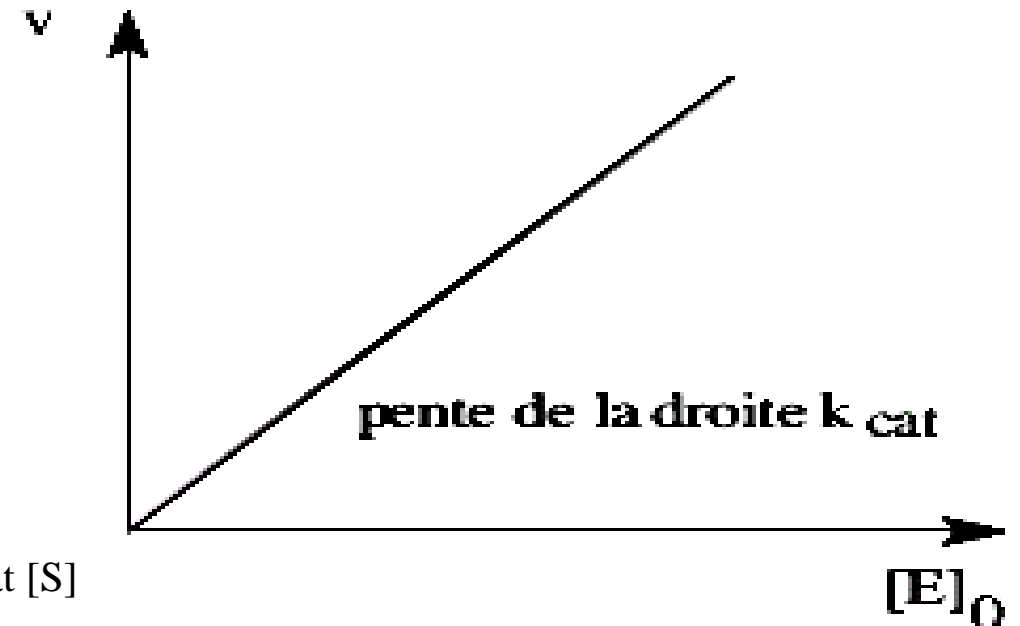


Figure 2

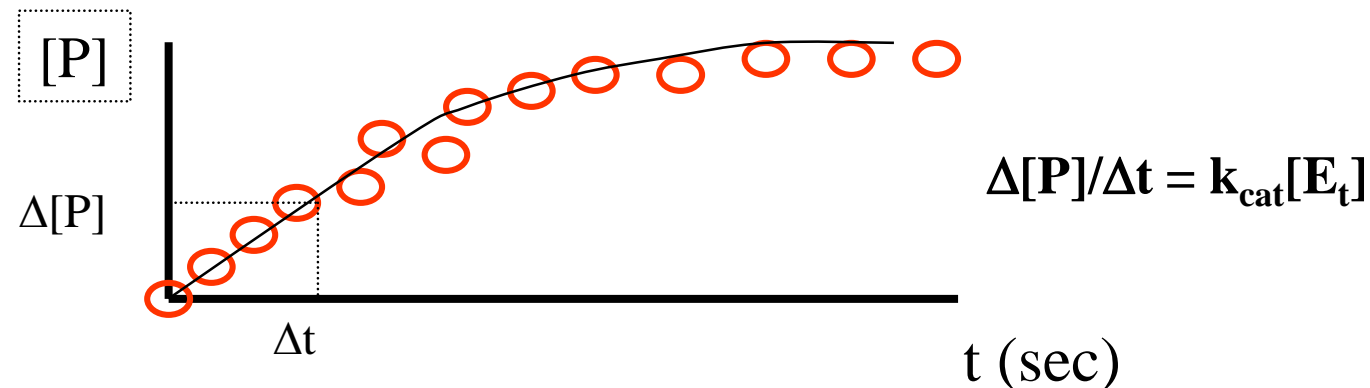
# Activité enzymatique

Cette unité a été définie pour estimer la quantité de l'activité catalytique d'une préparation ou d'un échantillon biologique

1 unité enzymatique (U.I. ou U.E.) = quantité d'enzyme qui produit la transformation d'une micromole de substrat par minute à 25° C ( $\mu\text{mole min}^{-1}$ )

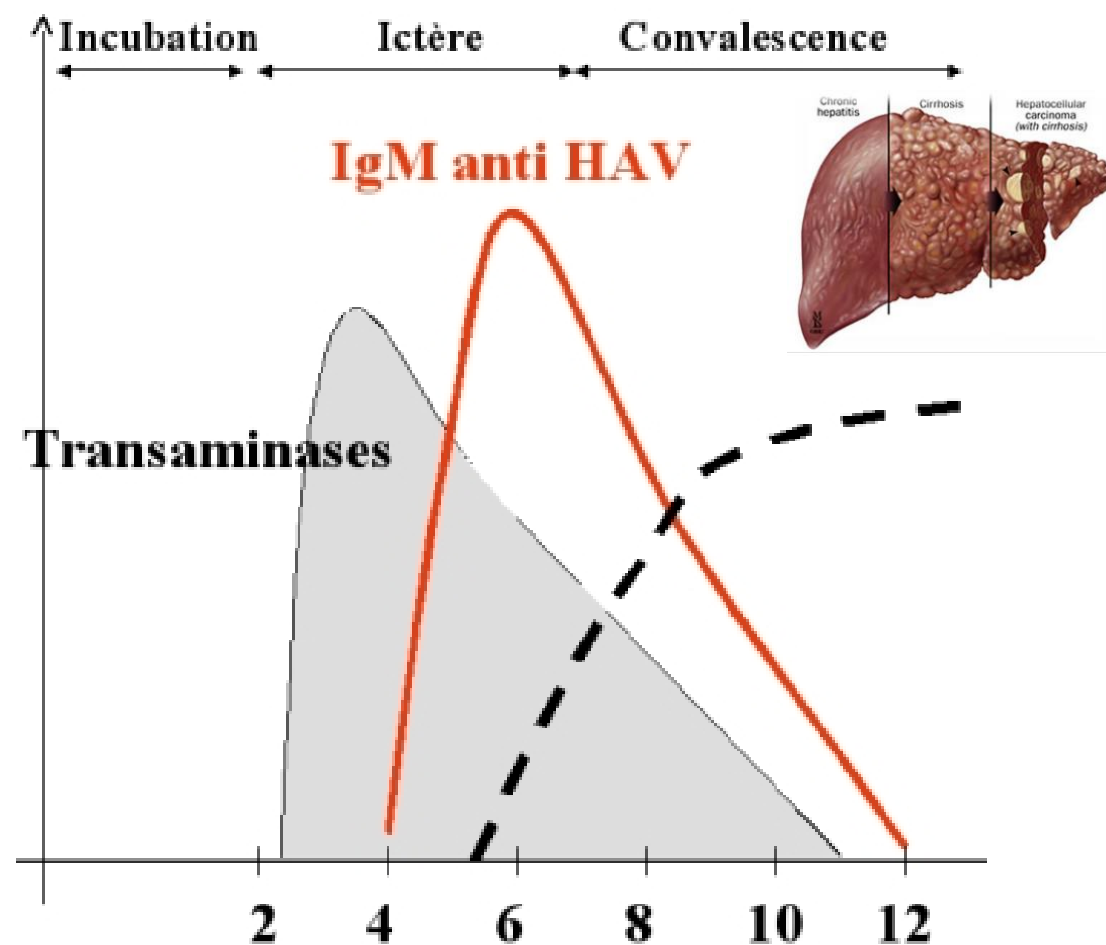
Rem : Dans le système international l'unité officielle est le katal (kat) : q. d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 mole de substrat par sec.

Biochimistes :  $1\text{U.I.} = 0,0166 \mu\text{kat.}$



# Enzymes marqueurs de pathologie

- Les différents tissus ou organes du corps contiennent des enzymes assez spécifiques
- Ces enzymes sont naturellement relarguées dans le sang à faible concentration lors du processus de renouvellement cellulaire
- En cas de lésion pathologique d'un tissu : infarctus du myocarde, hépatite aiguë ou chronique, atteinte du pancréas,.. Certaines enzymes vont voir leur concentration augmenter dans le sang : marqueur de pathologie



# Messages essentiels du cours

- Les 3 hypothèses de la modélisation de Michaelis et Menten
- Le  $K_M$  représente l'inverse de l'affinité de l'enzyme pour son substrat
  - c'est une concentration
- $k_{cat}$  représente la fréquence à laquelle l'enzyme effectue l'acte catalytique
  - c'est une fréquence ( $s^{-1}$ )
- $V_{max}$  représente l'activité enzymatique lorsque l'enzyme est saturée en substrat
  - Activité enzymatique :  $\mu\text{mole min}^{-1}$
- L'intérêt en pratique médicale du dosage de l'activité enzymatique

# Mentions légales

---

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.