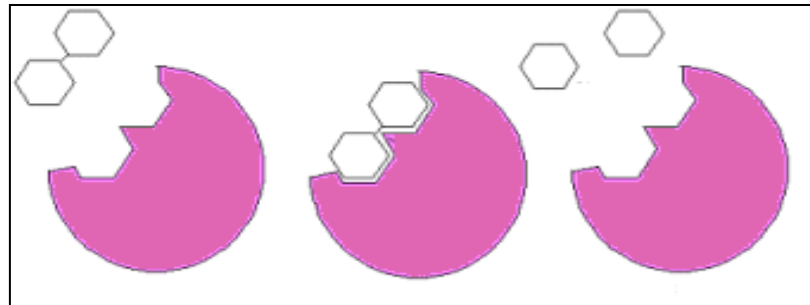


Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Les Enzymes

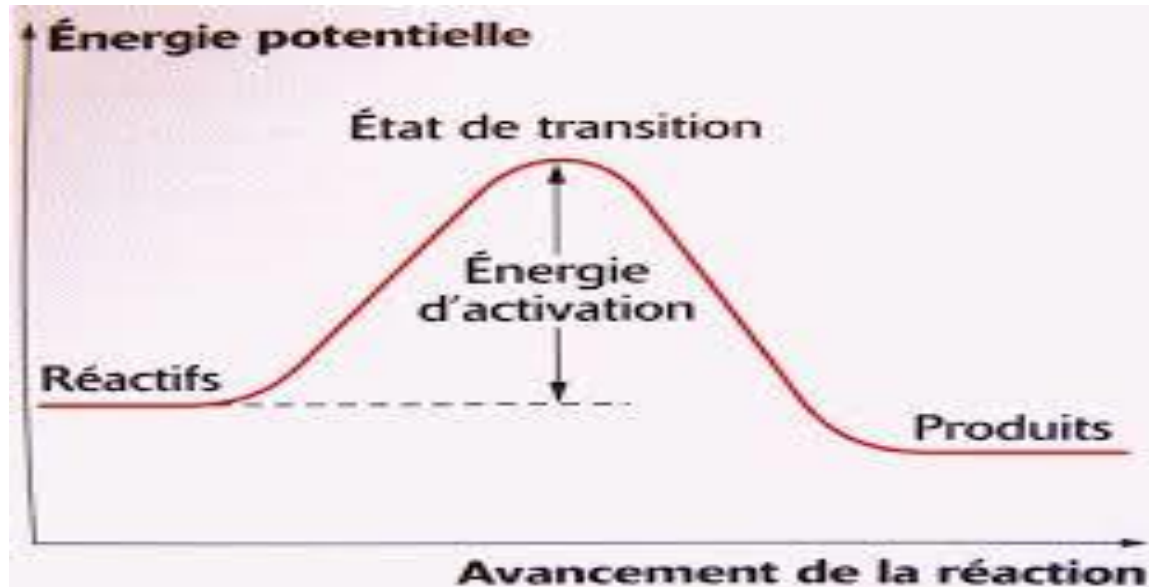


Responsable : Mme Sebaa. W née Lemerini

1. Définition

- Les **enzymes** sont des **protéines** constituées d'acides aminés, synthétisées par les cellules (**Bio**) et elles permettent d'**accélérer** les réactions.
- Ce sont des **Bio-catalyseur** .
 - Les **enzymes** assurent la **catalyse biologique**, par la transformation d'une molécule « **substrat** » en **produits** de réaction

2. Notion d'énergie d'activation



C'est l'énergie nécessaire pour activer une réaction

- Sans enzyme, il faut beaucoup d'énergie.
- Avec enzyme, il faut peu d'énergie pour la réaction

↗ la vitesse de la réaction ↘ L'énergie d'activation

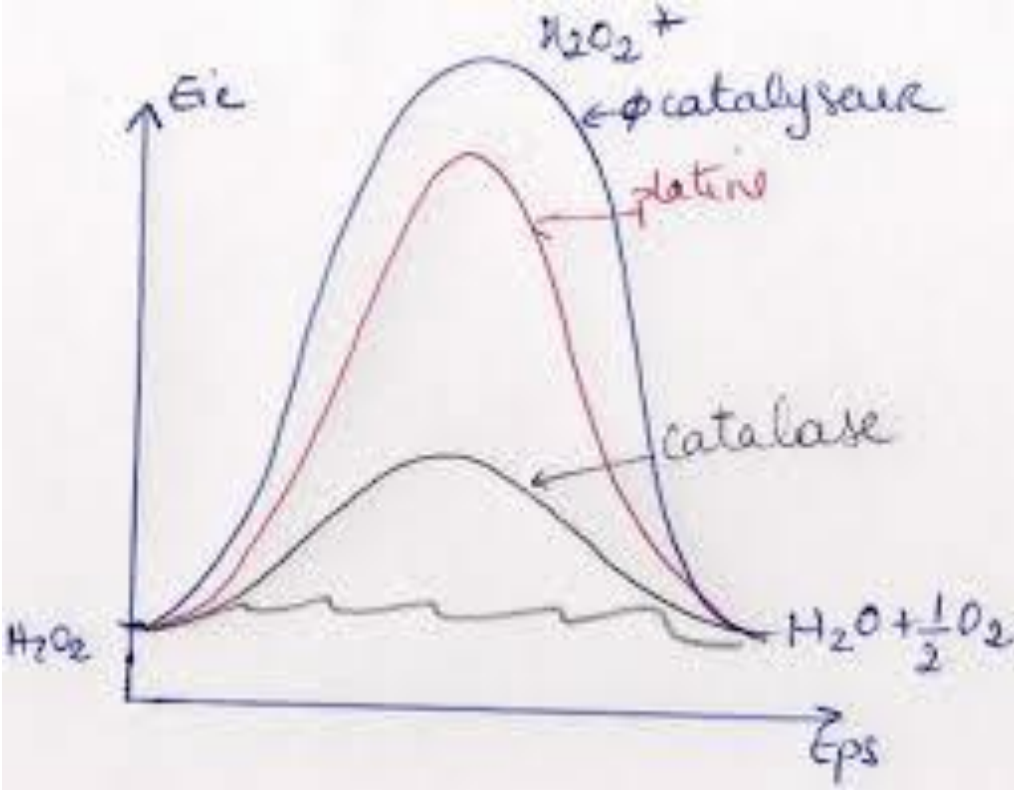
Comment l'enzyme diminue l'énergie d'activation ?

L'enzyme, lors de son interaction avec le substrat, modifie la réactivité moléculaire en formant un complexe enzyme-substrat, elle forme un état intermédiaire.

Les enzymes ont des sites de fixation où le substrat se fixe et des sites de réaction (ou catalyse) où la réaction est facilitée. Ces sites sont constitués de radicaux d'acides aminés formant la chaîne protéique de l'enzyme. Ces acides aminés rapprochés grâce au repliement dans l'espace de la chaîne protéique forment le site actif, il peut être activé par des ions magnésiums par exemple.

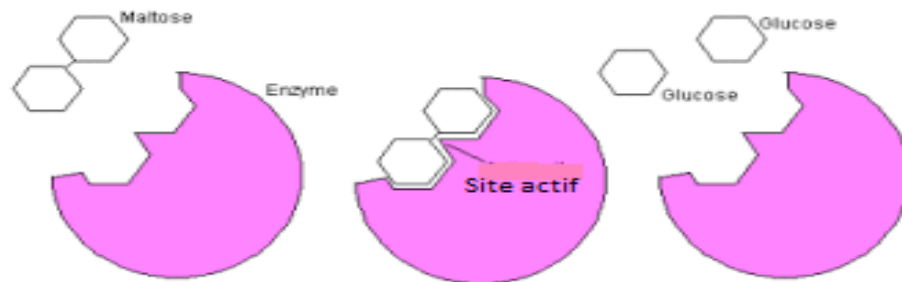
Donc, **l'enzyme facilite la réaction du substrat en diminuant l'énergie d'activation, ceci en passant par un ou plusieurs états intermédiaires.**

Exemple:



3. Propriétés

- Nature protéique
- Bio-catalyseur
- Spécifique
- Agit à faible dose
- Ne modifie pas l'équilibre de la réaction
- Augmente la vitesse de la réaction
- Diminue l'énergie d'activation de la réaction
- Reste intacte à la fin de la réaction



4. Structure

Les enzymes sont des protéines, c'est-à-dire des polymères d'acides aminés formant de longues chaînes repliées dans l'espace.

Toute enzyme comporte:

La structure primaire est une séquence d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques, il s'agit d'un enchainement linéaire sans organisation particulière dans l'espace.

La structure secondaire est engendrée par la rotation des atomes de la chaîne peptidique les uns par rapport aux autres au cours de la synthèse de la chaîne. La structure secondaire la plus fréquente est l'hélice α qui fait tourner la chaîne carbonée par rapport à elle-même d'un tour tous les 4 acides aminés environ. Elle est stabilisée par des liaisons hydrogènes. Il arrive aussi très souvent que plusieurs portions de chaînes se joignent bord à bord et en sens opposé (antiparallèles) pour former un feuillet β .

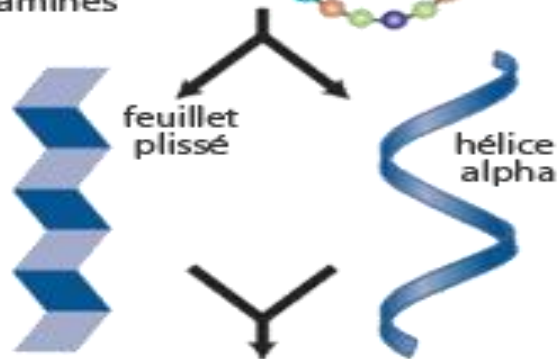
La structure tertiaire est le résultat de liaisons diverses (hydrogène, hydrophobes, électrostatiques, covalentes,...) entre des acides aminés de la même chaîne peptidique mais non voisins dans la structure primaire. Il s'agit d'une structure tridimensionnelle dite spatiale. Cette forme permet l'activité enzymatique.

Pour certaines enzymes, on distingue un niveau d'organisation supplémentaire: **la structure quaternaire** qui correspond à l'association de plusieurs polypeptides ayant chacun une structure tertiaire. Ces chaînes sont appelées « sous unités »

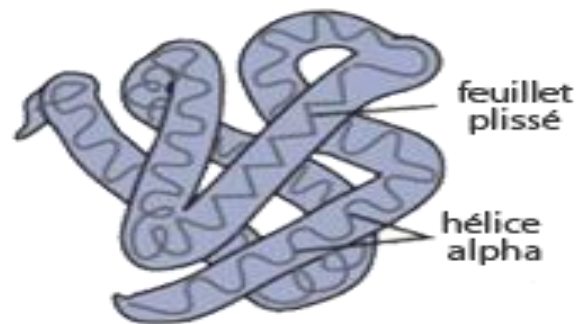
Etapes de l'organisation d'une protéine



Structure primaire d'une protéine est la séquence d'une chaîne d'acides aminés.




Structure secondaire d'une protéine se produit quand la séquence d'acides aminés est reliée par des liaisons d'hydrogène.

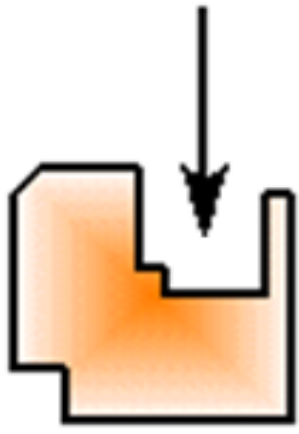


Structure tertiaire d'une protéine se produit quand certaines attractions se présentent entre les hélices alpha et les feuillets plissés.



Structure quaternaire d'une protéine est une protéine composée de plus d'une chaîne d'acides aminés.


substrat 

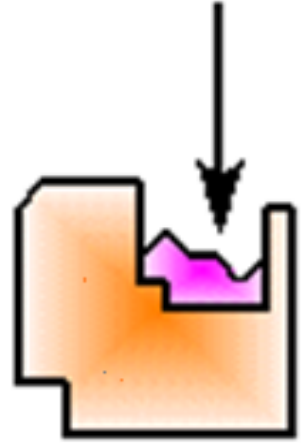


apoenzyme
(Partie protéique)

+



substrat 



holoenzyme

+

=



Enzyme simple

cofacteur
(Partie non protéique)
coenzyme (Molécule organique(vitamines))
Ions métalliques



Enzyme complexe

Ou les deux: molécule organique et ion métallique

▪ **Site actif**

- Seule une petite partie (quelque Acides aminés) de la molécule enzymatique intervient dans la catalyse (transformation du substrat).
- Ces acides aminés sont éloignés dans la structure primaire mais proche dans l'espace en raison du repliement de la protéine.
- Ces acides aminés forme le site actif de l'enzyme.
- Les autres acides aminés servent au maintien de la conformation active de la protéine.

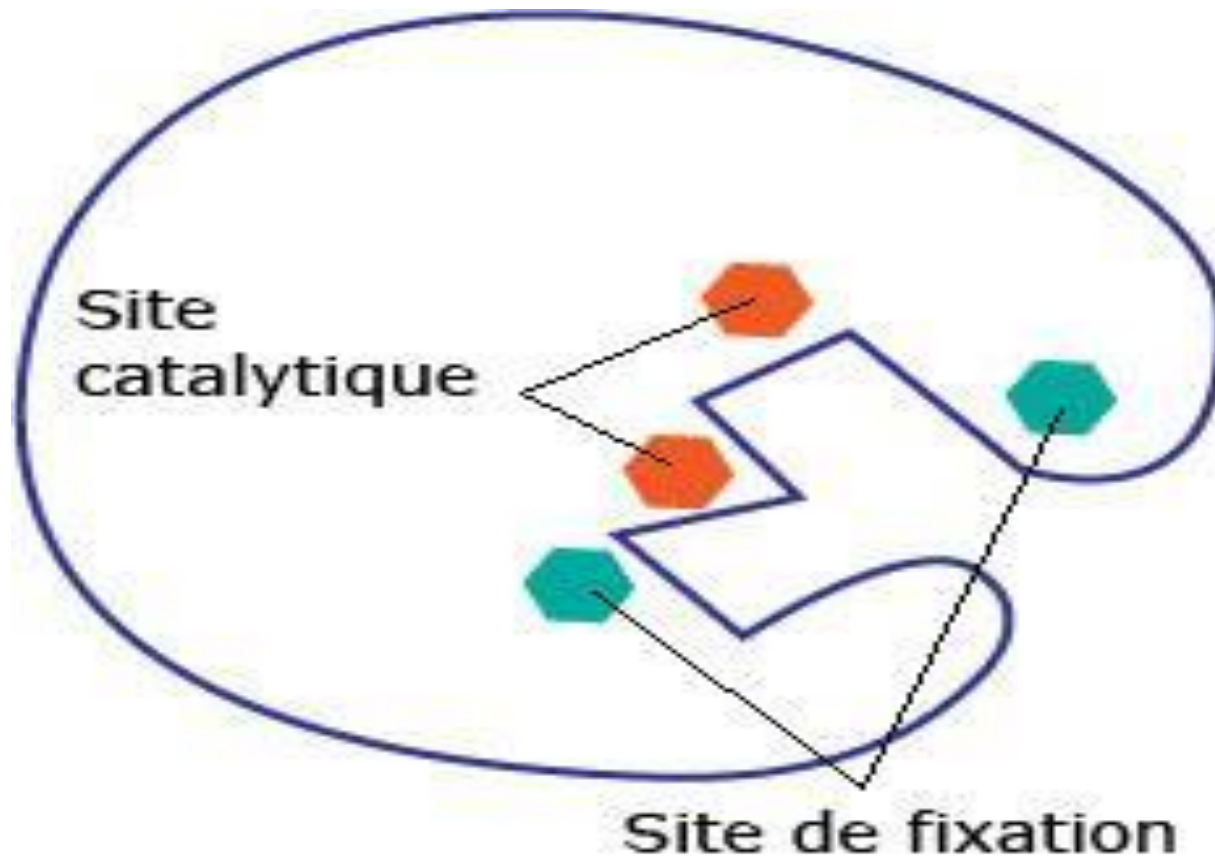
➤ Le substrat se fixe sur l'enzyme au niveau de son site actif, les deux molécules forment alors le complexe

Enzyme-Substrat

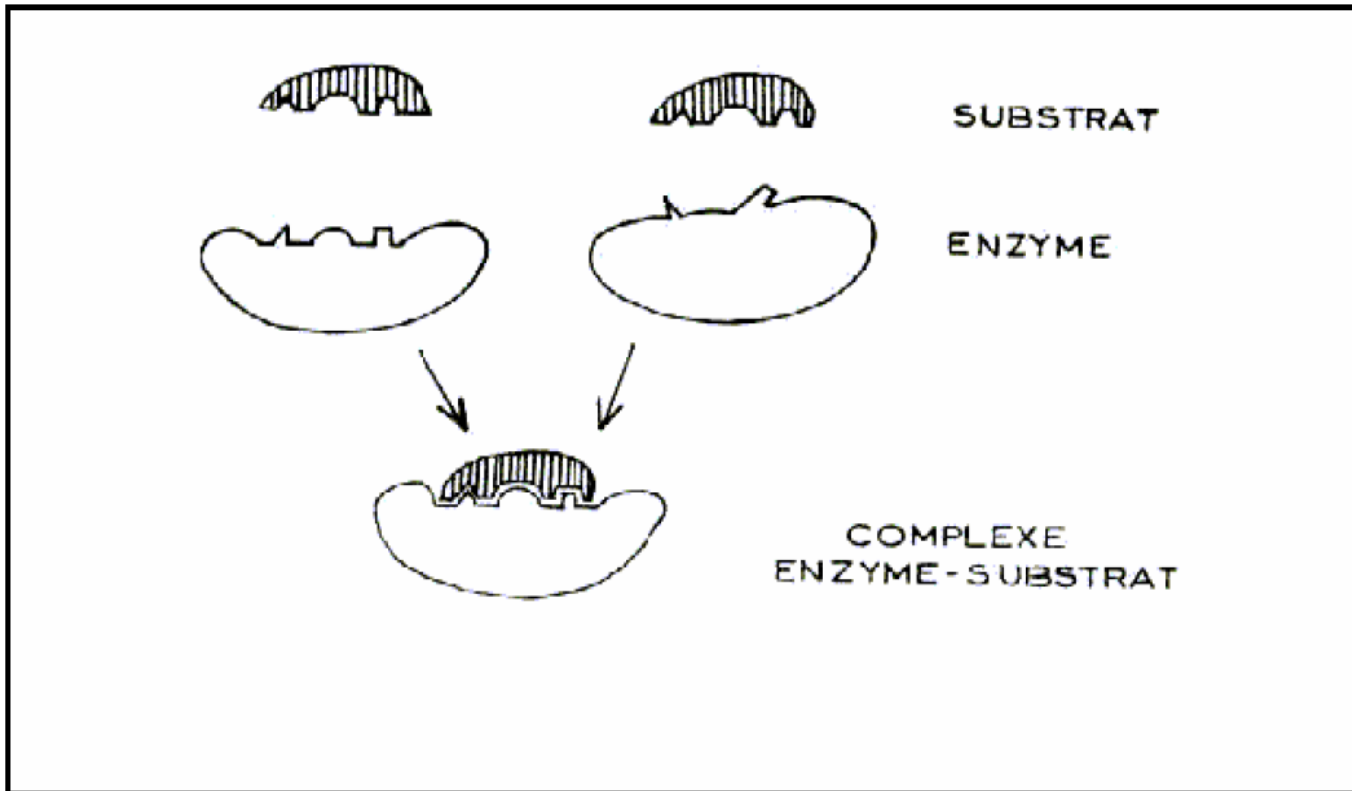
➤ Le site actif est subdivisé en deux parties :

❖ Le site de liaison/fixation/reconnaissance (qui reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme)

❖ Le site catalytique (qui permet la réaction transformant le substrat en produit).

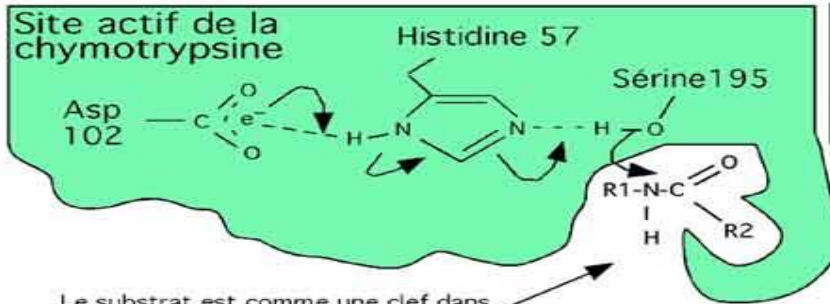


Site actif de l'enzyme

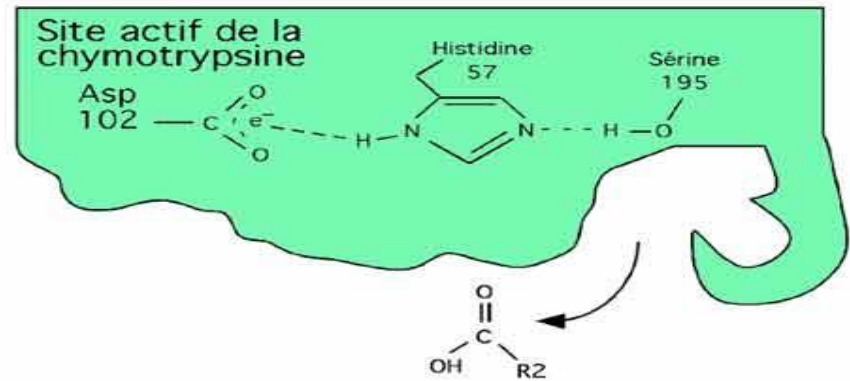
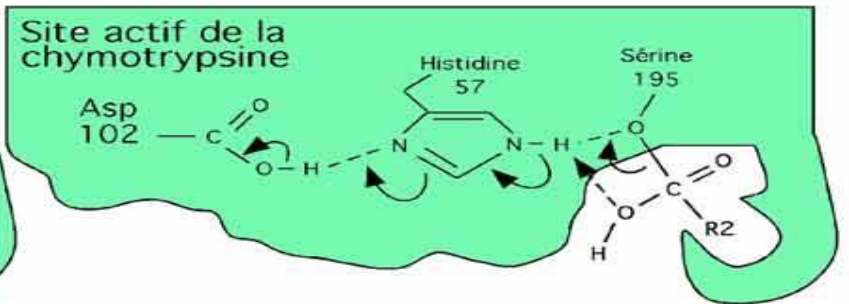
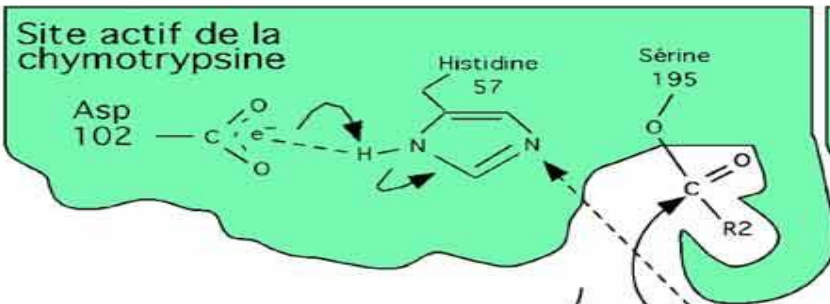
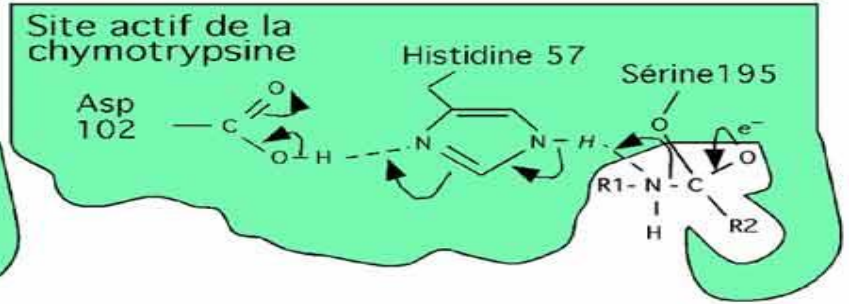


Reconnaissance spécifique de l'enzyme et du substrat

- Modèle de la « clé dans la serrure ».
- Modèle de l'ajustement induit.



Le substrat est comme une clef dans une serrure.



Site actif de la chymotrypsine

5. Nomenclature et Classification

Avant 1961: Les enzymes ont été dénommées selon le nom du Substrat sur lequel elles agissent en ajoutant le suffixe « ase ».

Exemple : **Substrat** **Enzyme**
 Urée **Uréase**

1961: UIB (union international de biochimie): Nouvelle classification des enzymes selon le **type de réaction catalysée** en 6 classes d'enzymes.



- 1.Oxydoréductases:** Transfert d'électron ou de H d'un donneur vers un accepteur.
- 2.Transférases:** Transfert d'un groupement, ex: amine, d'un donneur vers un accepteur.
- 3.Hydrolases:** Hydrolyse des liaisons.
- 4.Lyases:** Catalysent les réaction d'addition des doubles liaisons.
- 5.Isomérases:** Réaction de conversion (isomérisation).
- 6.Ligases:** Catalysent les réaction de formation d'une liaison avec utilisation d'énergie (ATP).

□ Chaque enzyme est assignée un code à quatre chiffres par la Commission des Enzymes (EC) de l'union International de Biochimie Moléculaire:

✿ **Nom de l'enzyme (EC W.X.Y.Z)**

✿ **EC-** système numérique de la commission des enzymes

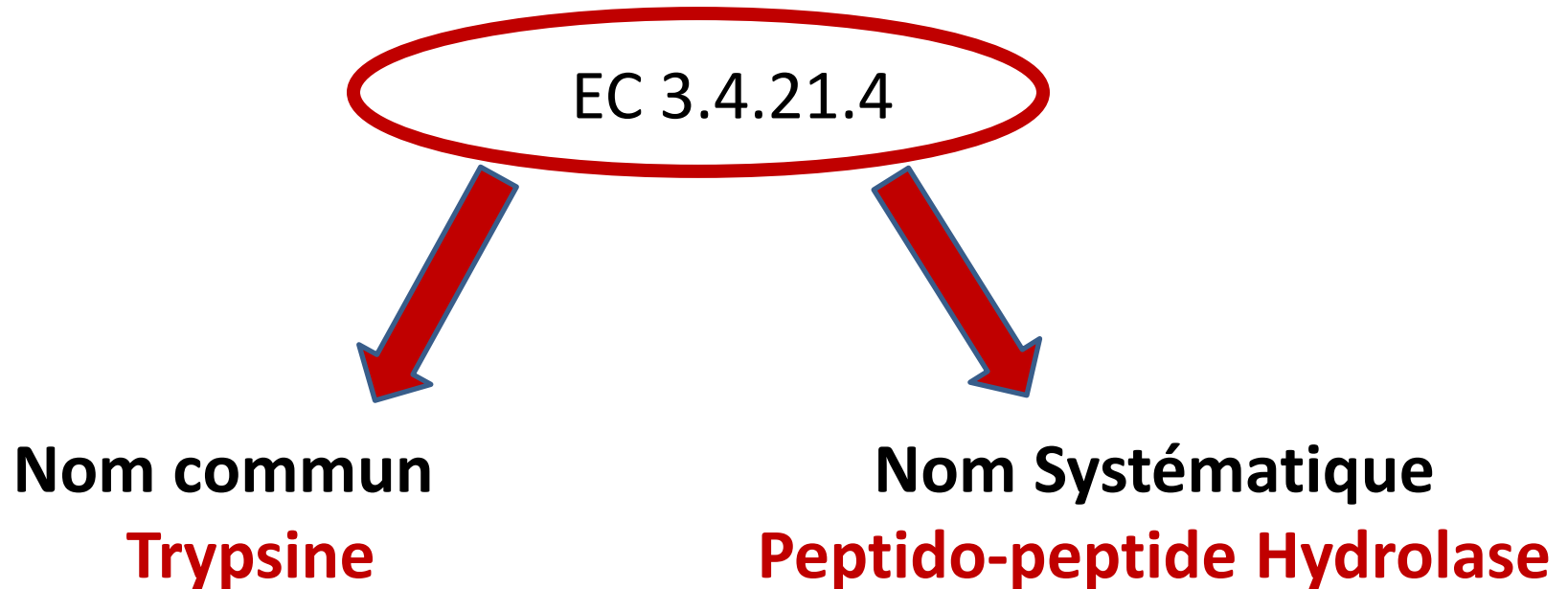
✿ **W-** indique la réaction catalysée (1-6)

✿ **X-** indique le groupement donneur: celui du substrat sur lequel l'enzyme agit.

✿ **Y-** indique l'accepteur: la molécule qui recevra protons ou les électrons. coenzyme

✿ **Z-** indique la nature de substrat

Exemple:



3: Classe des **Hydrolases**

4: Sous classe **des peptidases**

21: Sous sous classe **des sérine endopeptidases**

4: Numéro dans l'ordre de la classification

6. Facteurs affectant l'activité enzymatique

- La spécificité enzymatique est liée à la structure tridimensionnelle de l'enzyme.
- Toute modification de cette structure est susceptible d'avoir une répercussion sur l'activité enzymatique.

- ✓ modifications de la structure primaire
- ✓ modification liées à l'environnement

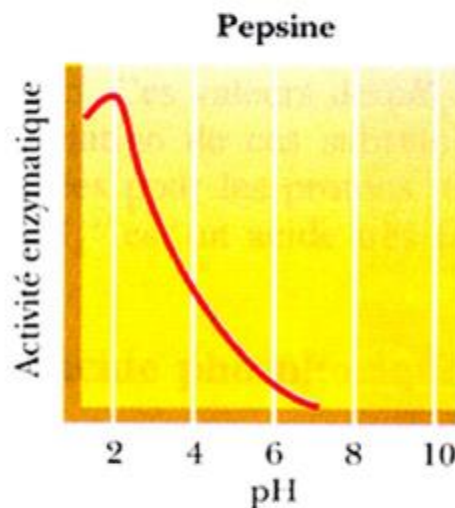
A. Effet de la **température**

B. Effet du **pH**

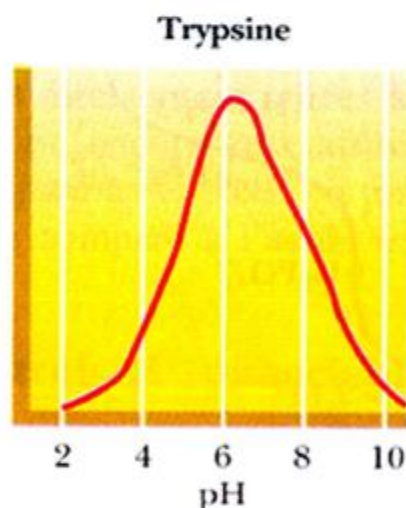
C. **Effecteurs** chimiques: **activateur** et **inhibiteurs**

pH optimum pour chaque enzyme

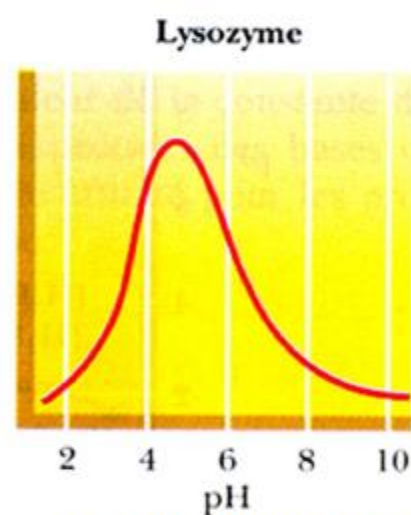
Le pH optimum d'un enzyme est l'une de ses plus importantes caractéristiques.



La pepsine est un enzyme de la digestion des protéines, elle est active dans le suc gastrique.



La trypsine est également un enzyme protéolytique mais elle agit dans le milieu plus alcalin de l'intestin grêle.



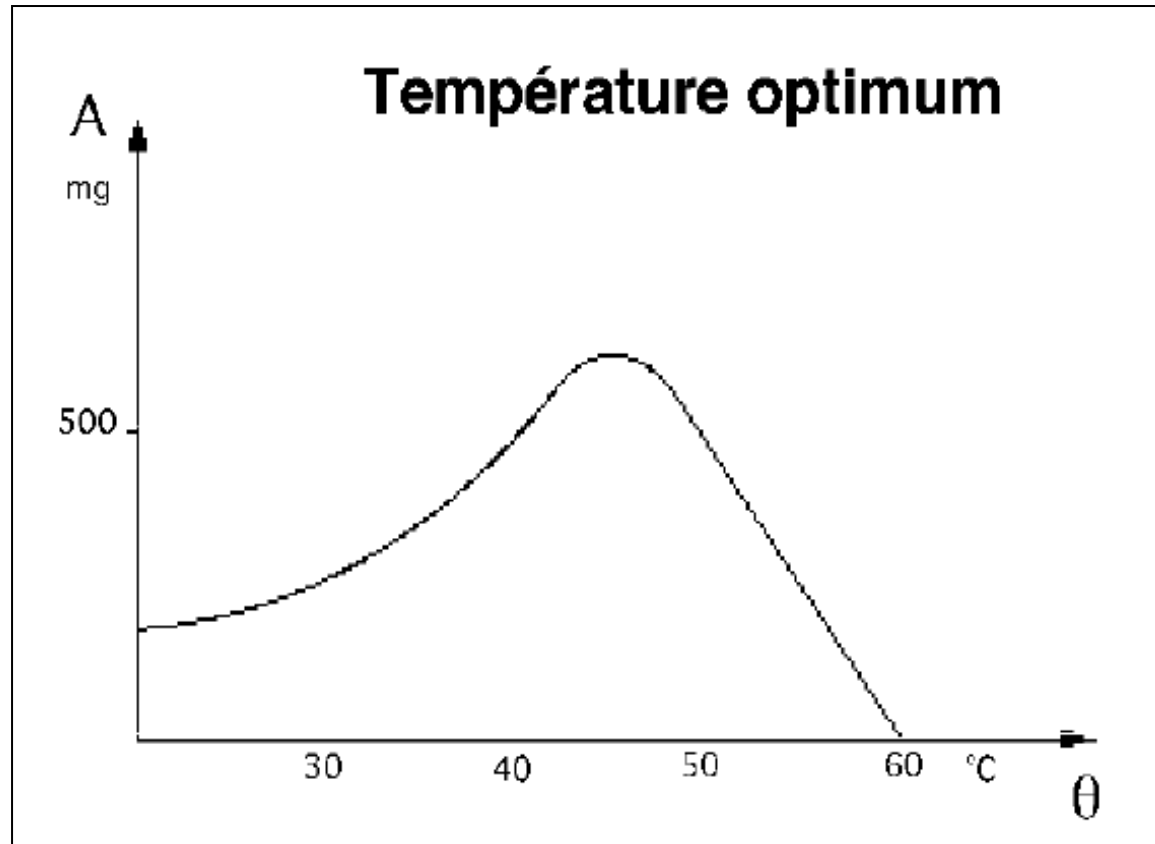
Le lysozyme digère les parois bactériennes; il est présent dans les larmes.

- Les **enzymes** sont très **sensibles** aux **variations du pH** et fonctionnent dans une gamme limitée du pH. Le pH peut agir sur plusieurs facteurs:

- l'ionisation des résidus de l'enzyme et du substrat et/ou du produit
- la structure tertiaire des protéines et donc la stabilité de l'enzyme
- la liaison du substrat à l'enzyme
- l'activité catalytique de l'enzyme

Température

- Agit de 2 manières
 - Augmentation de la vitesse de réaction (selon la loi d'Arrhénius)
 - Déstabilisation de la structure de l'enzyme
- Comme pour le pH il y a un optimum de température, en général c'est 37°C



- Lorsque la **température augmente**, la **vitesse de réaction augmente**. Mais lorsque **la température est trop élevée**, l'enzyme se dénature.

Cofacteurs

Les enzymes ont souvent besoin de cofacteurs qui sont indispensables pour le déroulement de la réaction

Ils jouent un rôle dans le site actif

Sont souvent issus des vitamines

Qualité de l'alimentation : des carences provoquent des maladies

Vocabulaire

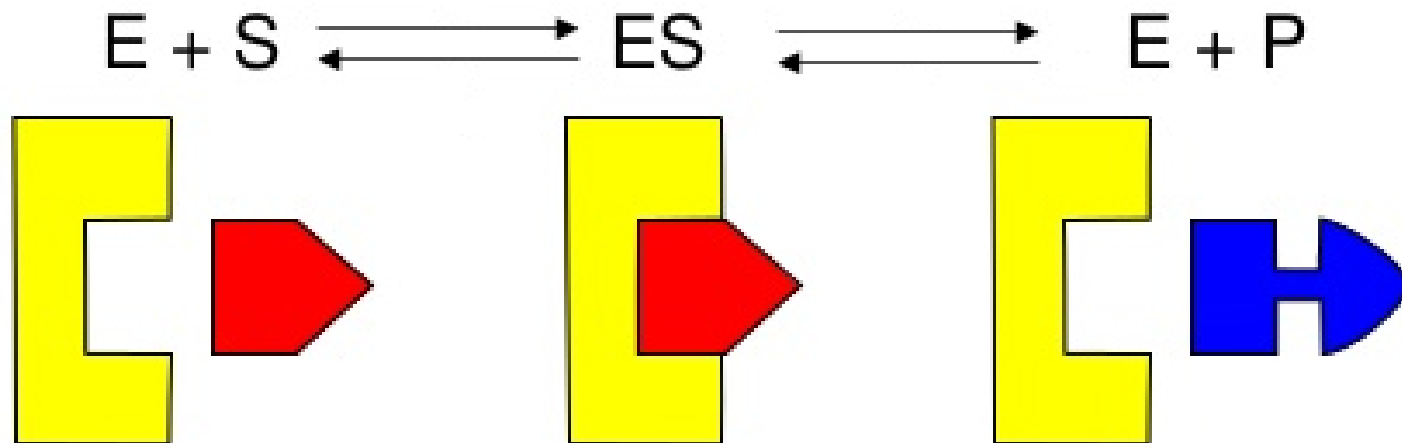
Substrat: Substance qui est transformée par une enzyme au cours d'une réaction.

Produit: Résultat de la transformation.

Effecteur: Substance (inhibiteur ou activateur) qui se fixe sur l'enzyme et qui modifie les paramètres cinétiques (K_m et V_{max})

Formes enzymatiques: tout état (libre ou lié) prit par l'enzyme EL (Enzyme libre), ES (complexe enzyme/substrat), EI (enzyme-inhibiteur), EA (enzyme-activateur), EP (enzyme-produit)

Ligand: Toute substance capable de se fixer sur la protéine enzymatique (substrat, effecteurs....)



[E]: Enzyme libre

[S]: Substrat libre

[ES]: Complexe enzyme-substart

[P]: Produit libre

7. Cinétique enzymatique:

✿ L'étude **cinétique** d'une réaction enzymatique consiste en l'étude de **la vitesse** de la réaction et de l'influence de divers paramètres susceptibles de la modifier.

✿ La **vitesse** d'une réaction enzymatique est la **quantité de substrat transformé** (ou **de produit apparu**) par unité de **temps**.

$$v = - \frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

✿ Le phénomène fondamental de l'action enzymatique est que pour agir l'enzyme doit se combiner au substrat est transformé en produit et l'enzyme retrouve sa structure primitive

Définition

□ L'équation de Michaelis-Menten (ou de *Michaelis-Menten-Henri*) permet de décrire la **cinétique** d'une réaction catalysée par une **enzyme** agissant sur un **substrat** unique pour donner irréversiblement un **produit**

--> Elle relie la **vitesse stationnaire initiale** de la réaction à la **concentration initiale** en **substrat** et à des paramètres caractéristiques de l'enzyme.



**Leonor
Michaelis**
1875-1945

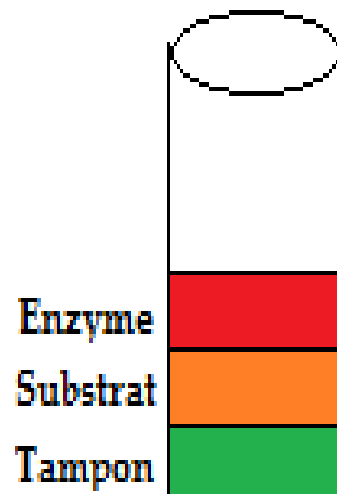


**Maud
Menten**
1875-1945

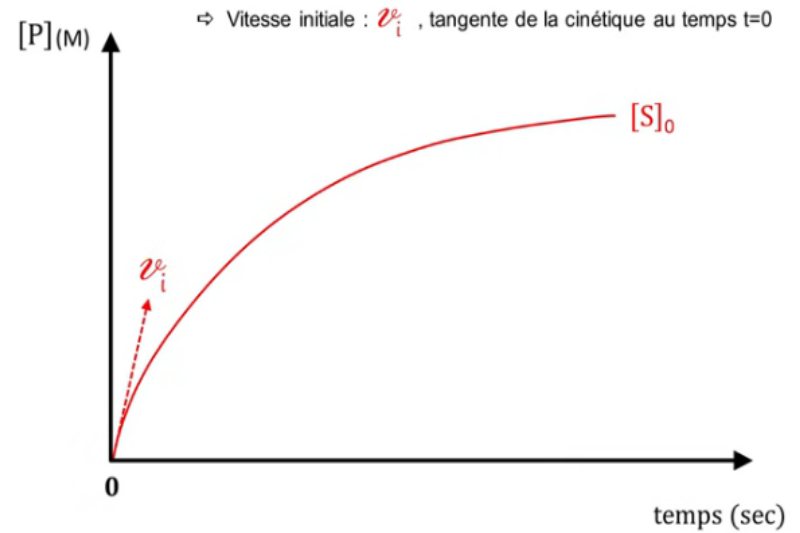
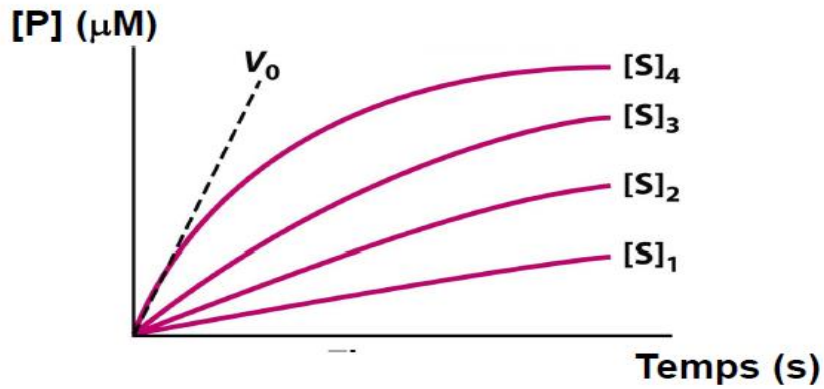


Réalisation de cinétique

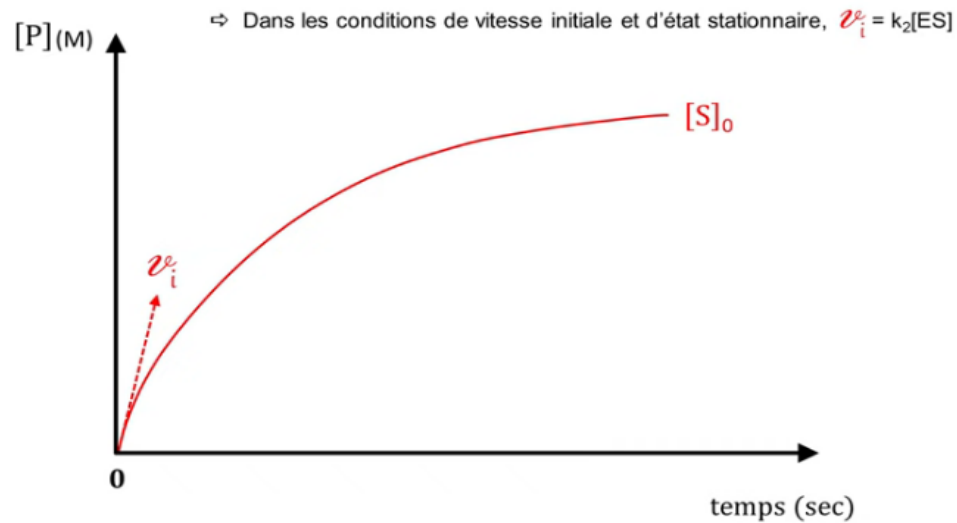
- On fixe la $[E] \ll [S]$
- On réalise plusieurs cinétiques en changeant à chaque fois la $[S]$.
- Mesure des vitesses initiales de réaction.
- Les conditions opératoires adéquates pH (tampon) et la température.



Méthode de mesure de la vitesse



La réaction se déroule dans une cuve de spectrophotomètre



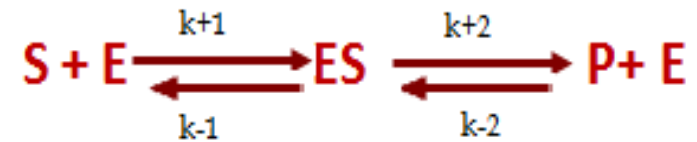
La vitesse de la réaction à un instant t s'obtient en mesurant la pente de la tangente à la courbe à cet instant t .

En **début de réaction**, la **vitesse** de réaction est **constante**, on parle d'**état quasi-stationnaire**. Durant cette période la **quantité** de **produit** reste **négligeable** donc les conditions de Michaelis sont respectées.

La vitesse de réaction déterminée sur cette période correspond donc à la **vitesse initiale** V_{in} . Puis, on constate un infléchissement de la courbe, qui traduit une diminution progressive de la vitesse de la réaction. En effet, le **produit** continuant à **s'accumuler**, la **réaction inverse** (disparition du produit) devient **non négligeable**.

À plus long terme, la concentration en produit atteint un plateau, la quantité maximale de produit pouvant apparaître dépendant de la quantité de substrat introduite au début de l'expérience et des constantes cinétiques de la réaction. On constate que pour des concentrations de substrat croissantes, la concentration finale de produit ainsi que la vitesse initiale de réaction sont également croissantes.

Considérons ce schéma cinétique:



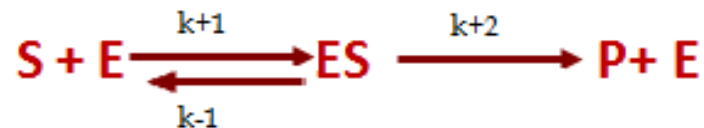
$E + S \rightarrow ES$, la réaction 1, de constante de vitesse $k+1$;

$ES \rightarrow E + S$, la réaction -1, de constante de vitesse $k-1$;

$ES \rightarrow E + P$, la réaction 2, de constante de vitesse $k+2$ (parfois aussi appelée k_{cat} , car il s'agit de l'étape catalytique) ;

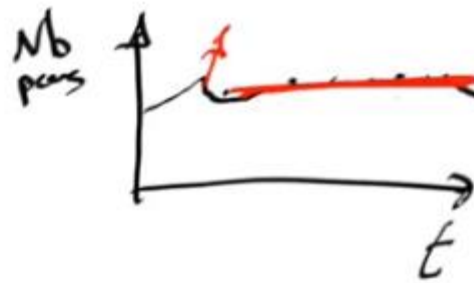
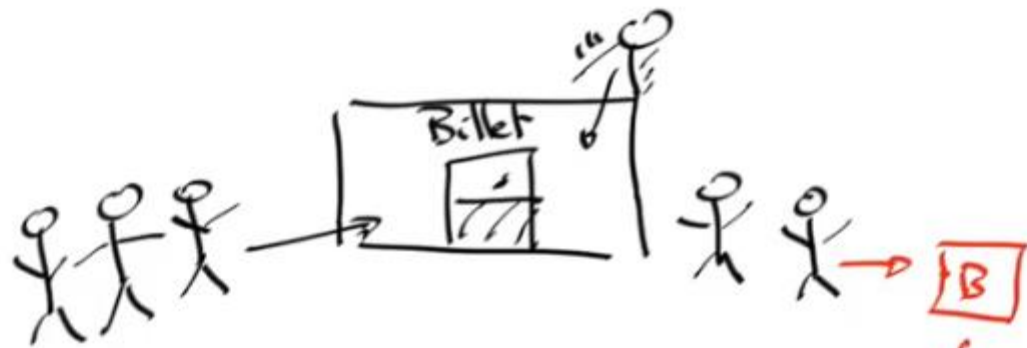
On cherche à calculer la vitesse de la réaction $V_i = d[P]/dt = k_2 [ES]$ au début de la réaction (vitesse *initiale*) et dans des conditions où cette vitesse est *stationnaire* (indépendante du temps).

Au début de la réaction, la concentration en substrat n'a pas encore eu le temps de varier significativement, on peut donc considérer qu'elle est constante, ce qui simplifie les calculs. De plus, la concentration en produit de la réaction est encore petite, ce qui permet de négliger la réaction inverse et éventuellement l'inhibition de l'enzyme par le produit.



Si la vitesse de la réaction est constante (stationnaire), cela implique que $[ES]$ est constant, soit $d[ES]/dt = 0$. On appelle cette approximation l'**Approximation de l'État Quasi-Stationnaire** (AEQS). Cette hypothèse est justifiée par le fait que la concentration en enzyme est petite par rapport aux concentrations en substrat et produit, et donc la concentration en n'importe quel intermédiaire catalytique est petite, et cette concentration ne peut pas varier beaucoup en valeur absolue.

Etat stationnaire



$$\frac{\text{nb pers}}{t} = \text{cst}$$

$$\frac{dn}{dt} = 0 \Rightarrow \text{nb pers} \neq 0$$

► Schéma de la réaction catalysée par l'enzyme



Liaison substrat

Complexe intermédiaire

Libération des produit(s)

k_1 : constante d'association de E+S ;

k_{-1} : constante de dissociation du complexe ES ;

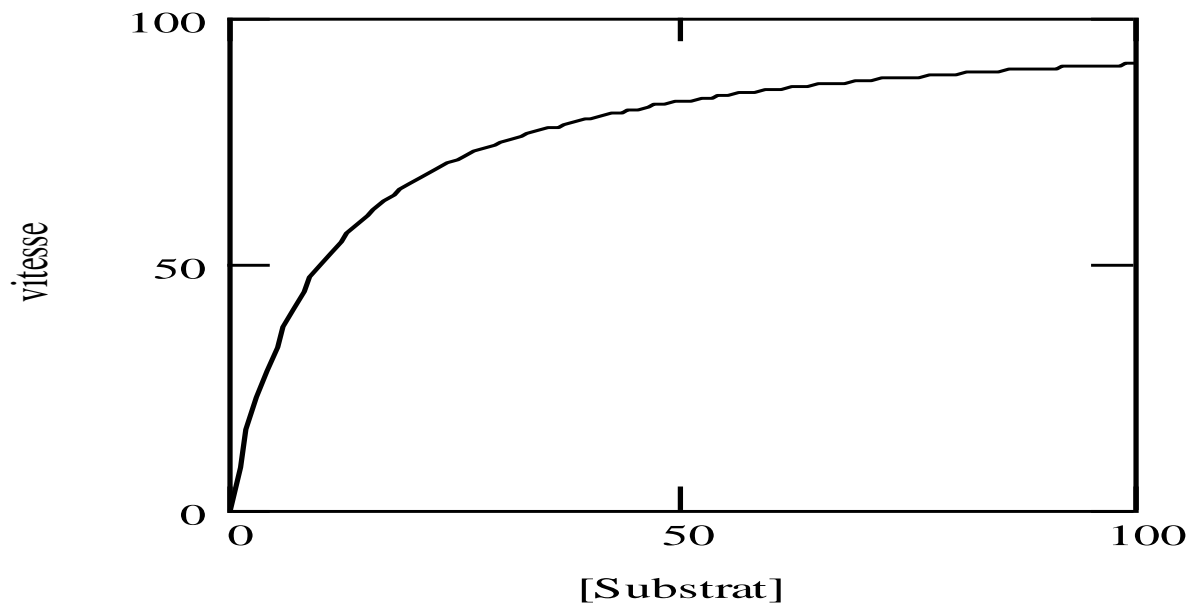
k_2 : constante de vitesse de la réaction

k_{-2} : constante d'association de E + P

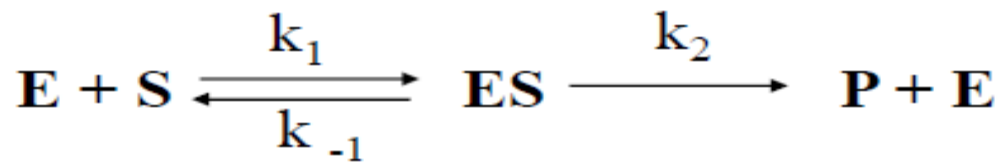
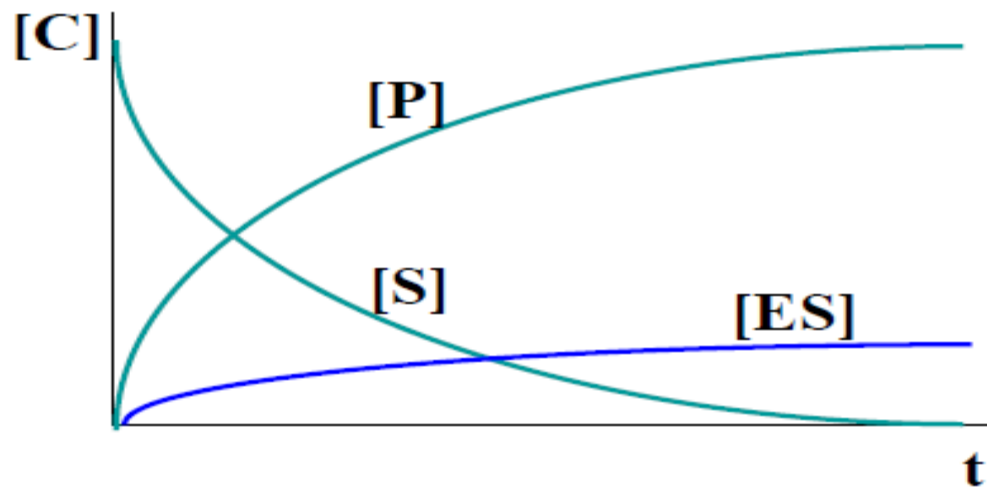
- Tant que [ES] reste constant, le produit apparaît à une vitesse constante: on parle alors **“d’état stationnaire”**.



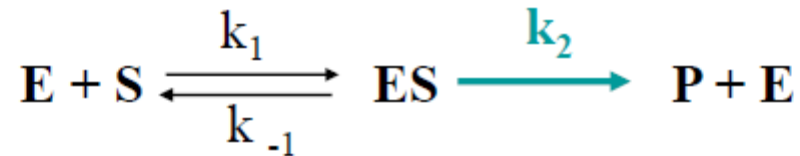
- A l’état stationnaire: lorsque **la concentration du substrat, [S]**, augmente, **la vitesse initiale** de la réaction, **v**, augmente **hyperboliquement**.



Le modèle Michaelis et Menten



Le modèle Michaelis et Menten



Vitesse de réaction: $V = k_2 [ES]$

vitesse de formation de ES: $= k_1 [E] [S]$

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

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

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

Vitesse de réaction: $V = k_2 [ES]$

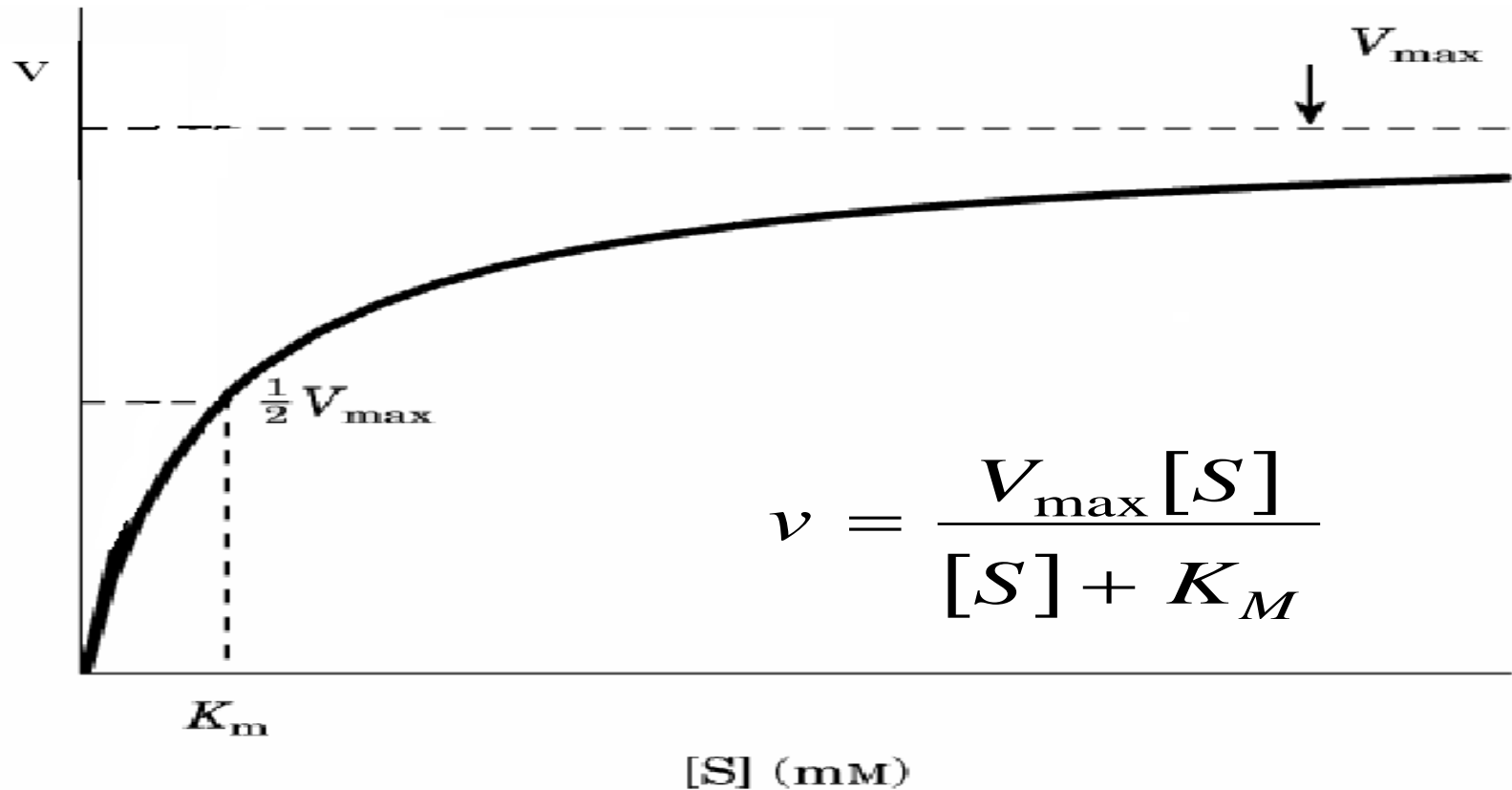
$$[E] = [E_T] - [ES] \quad \text{si } [S] \gg [E]$$

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

$$V = k_2 [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

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

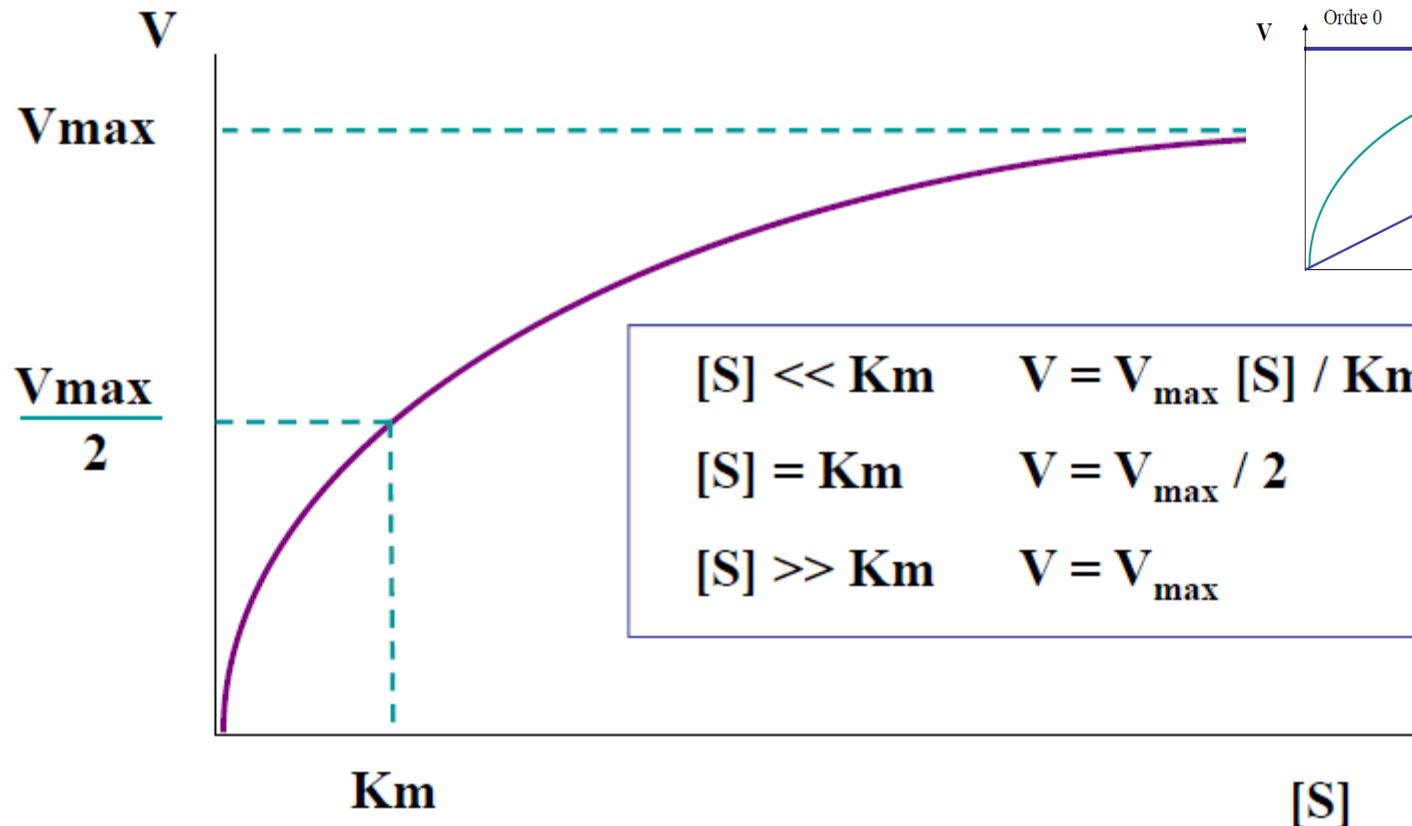
Modèle de Michaelis-Menten



Représentation de la vitesse de la réaction en fonction $[S]$
Selon le modèle de **Michaelis-Menten**

Représentation graphique

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



Analogie : vente de billets pour un concert. S'il n'y a pas de file d'attente, le nombre de billets vendus par heure dépend du nombre de clients. S'il y a une file d'attente en permanence, il ne dépend que de la dextérité du vendeur

Remarque

⇨ Cinétique enzymatique

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



⇨ Courbe de saturation

$$V_i = f([S])$$



Paramètres cinétiques

- La constante **K_m** d'une enzyme est la concentration en substrat mesurée quand la $V_{in} = 1/2 V_{max}$.
- **V_{max}** est mesurée pour estimer le nombre de molécules de substrat transformées par le complexe enzyme substrat en une seconde, minute, etc.
- La **V_{max}** et le **K_m** dépendent des conditions opératoires.
- Dans une cellule vivante, la vitesse de la réaction n'est pas maximale puisque l'enzyme est rarement saturée par son substrat.

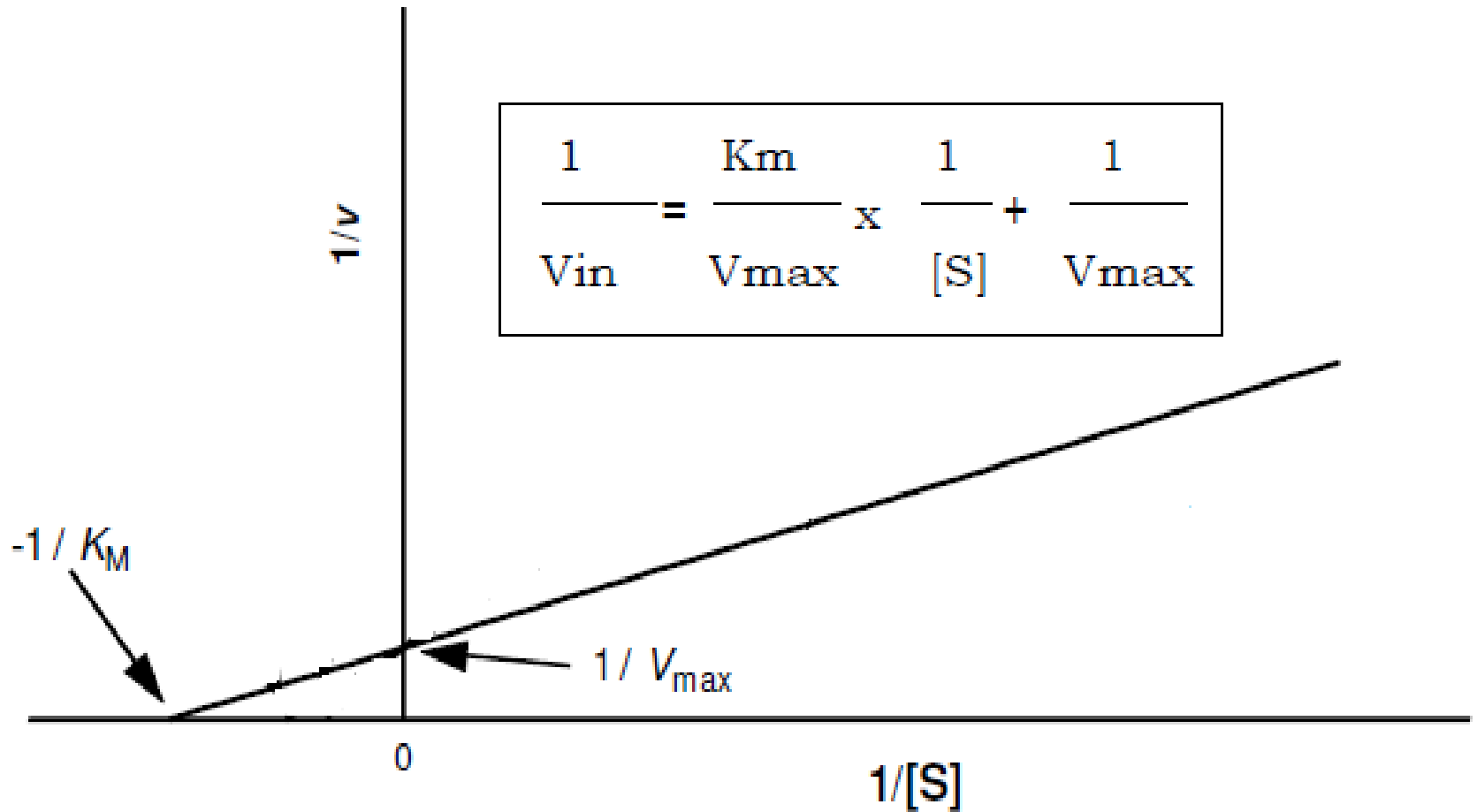
K_m et activité enzymatique

- La constante de Michaelis K_m est la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale de la réaction est à la moitié de la vitesse initiale maximale. **Cette constante est une concentration, elle a la même unité : mol.L⁻¹.**
- La constante de Michaelis est une caractéristique de l'enzyme. Souvent, les K_m des différentes enzymes sont adaptés à la concentration intracellulaire de leur substrats.
 - * Plus le K_m est **élevé**, plus la concentration de substrat nécessaire à une activité importante de l'enzyme est élevée. Cela traduit en général une **faible affinité** de l'enzyme pour son substrat. On observe ceci pour les enzymes dont les substrats sont en concentration élevée dans leur environnement, ou qui ont un spectre de substrat large et qui possèdent un K_m relativement élevé (les protéases).
 - * Plus le K_m est **faible**, plus l'activité enzymatique maximale est atteinte pour un faible niveau de concentration de substrat. L'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est **forte**. Il s'agit en général d'enzyme sélectives et/ou très actives (les peroxydases, qui doivent dégrader des composés toxiques, dès des niveaux de concentration très faibles).

Equation de Lineweaver et Burk (Représentation en double inverse)

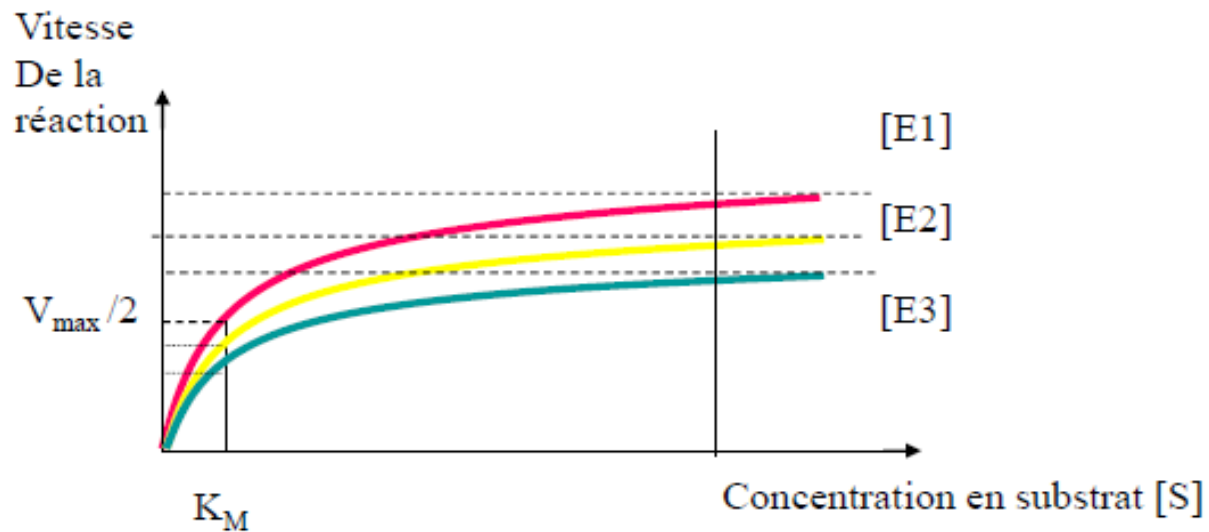
➤ L'équation de Michaelis-Menten ne permet pas de déterminer correctement les valeurs de **K_m** et **V_{max}**, il faut beaucoup de points expérimentaux pour tracer la courbe (l'hyperbole): $v_{in}=f([S])$.

➤ Afin de déterminer des valeurs plus précises des paramètres cinétiques **K_m** et **V_{max}**, il est préférable d'utiliser l'une des nombreuses représentations graphiques, linéarisant les mesures expérimentales. La représentation en coordonnées inverses (dite de **Lineweaver-Burk**) pour des **[S] non saturantes** est la plus employée



Représentation en coordonnées inverses
(Lineweaver-Burk)

Expression de l'activité d'une enzyme



Augmentation de la quantité d'enzyme
V_{max} augmente
K_M est constant

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

« Turn-over » de l'enzyme k_{cat} (seconde⁻¹)

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

k_{cat} est une constante de vitesse du premier ordre (unité s⁻¹), 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_{cat} donne la mesure de l'efficacité de la catalyse par l'enzyme

Vitesse de la réaction enzymatique

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

- Variation de $V_{\max} = k_{\text{cat}} * [E]$
 - Quantité d'enzyme : nombre de molécules de substrat « activé »
 - k_{cat} : rapidité de l'enzyme
- Variation de $\frac{[S]}{[S] + K_m}$
 - Niveau de saturation de l'enzyme en substrat

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 μkat (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 μmole de substrat par minute.

Inhibition enzymatique

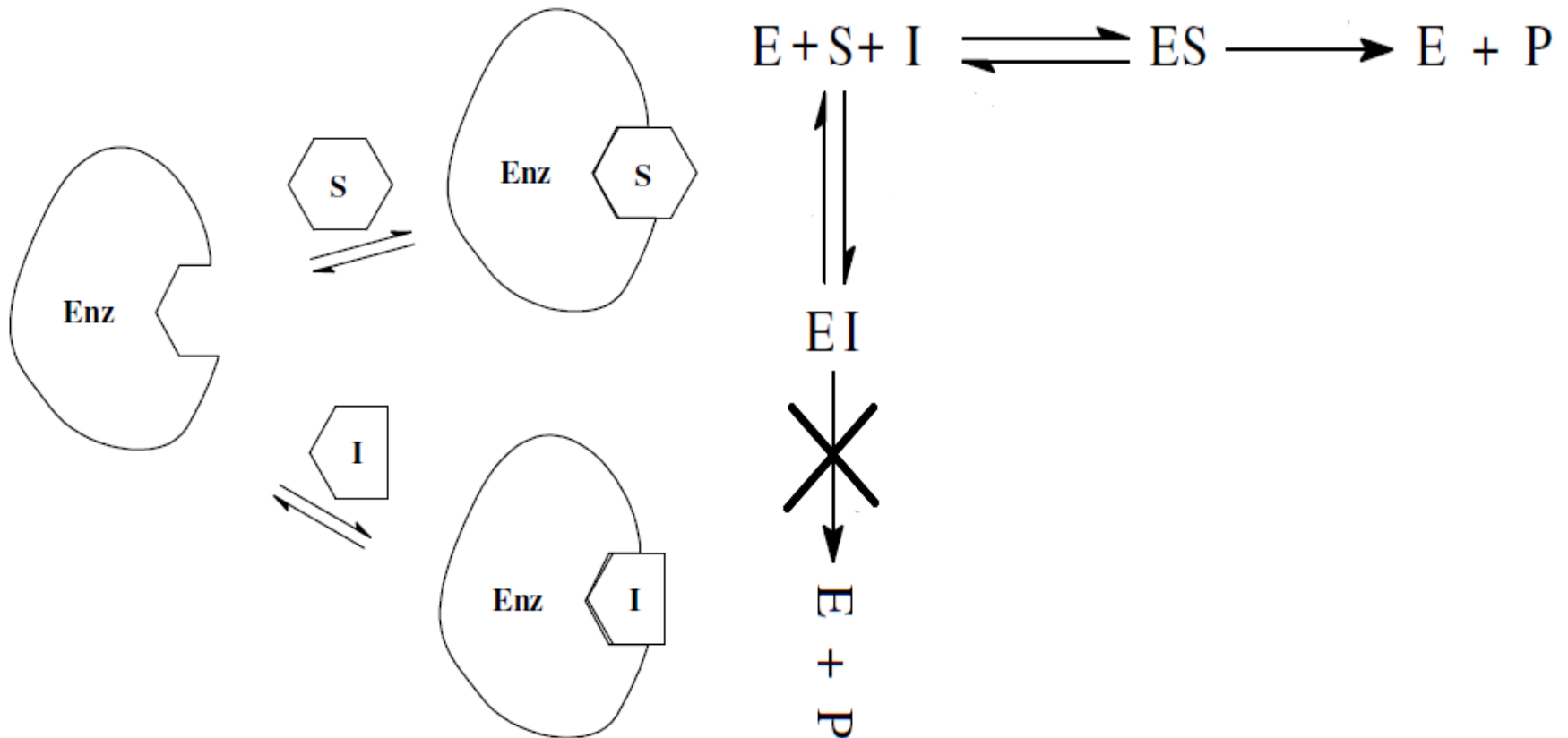
- inactivation d'une enzyme (ralentissement de la réaction enzymatique) par la liaison d'une petite molécule
 - différente que la dénaturation

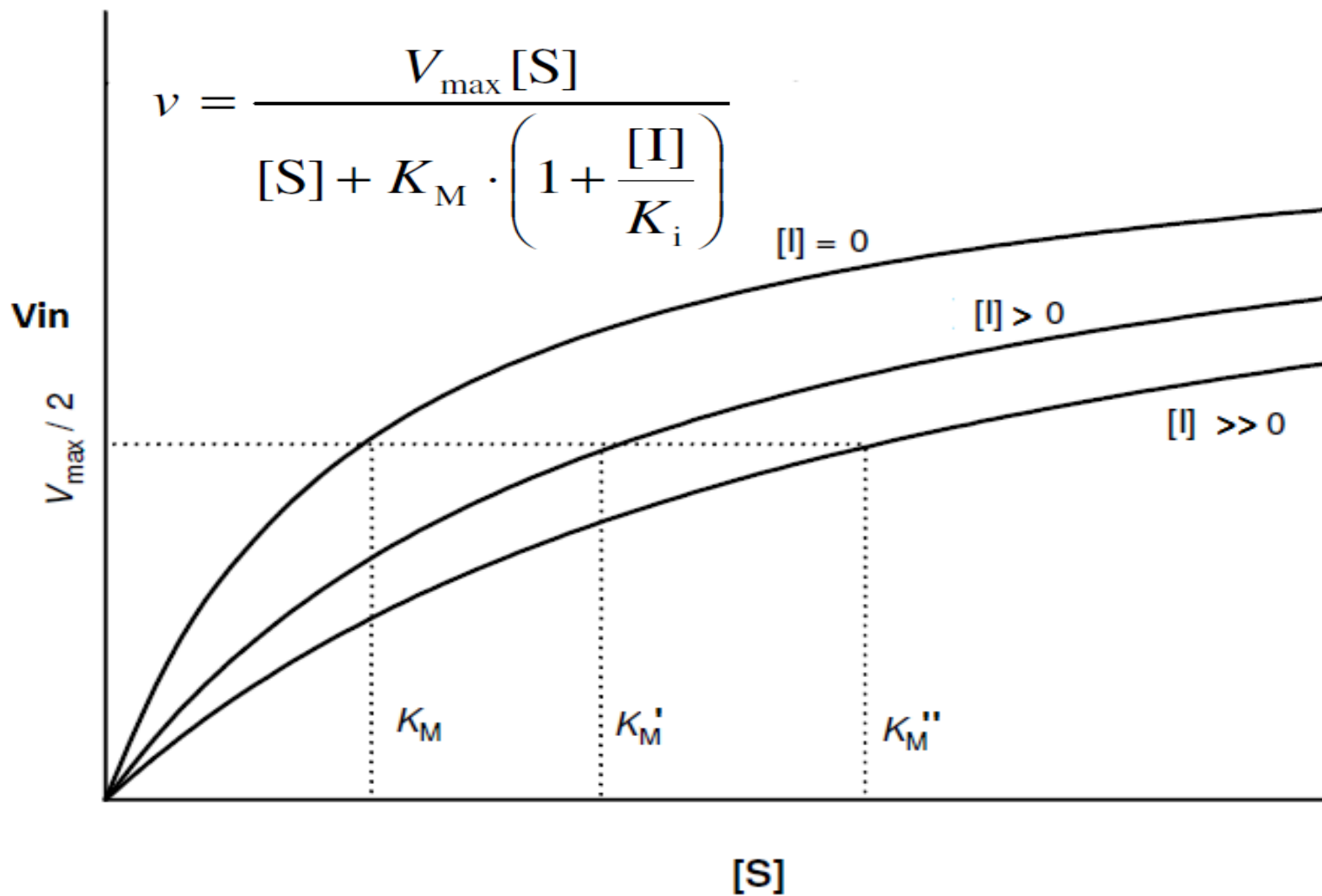
Modes d'inhibition

- Réversible : dissociation rapide du complexe enzyme/inhibiteur
 - Inhibition compétitive ou non compétitive **ou incompétitive**
- Irréversible (liaison covalente ou très forte)
 - Pénicilline, aspirine

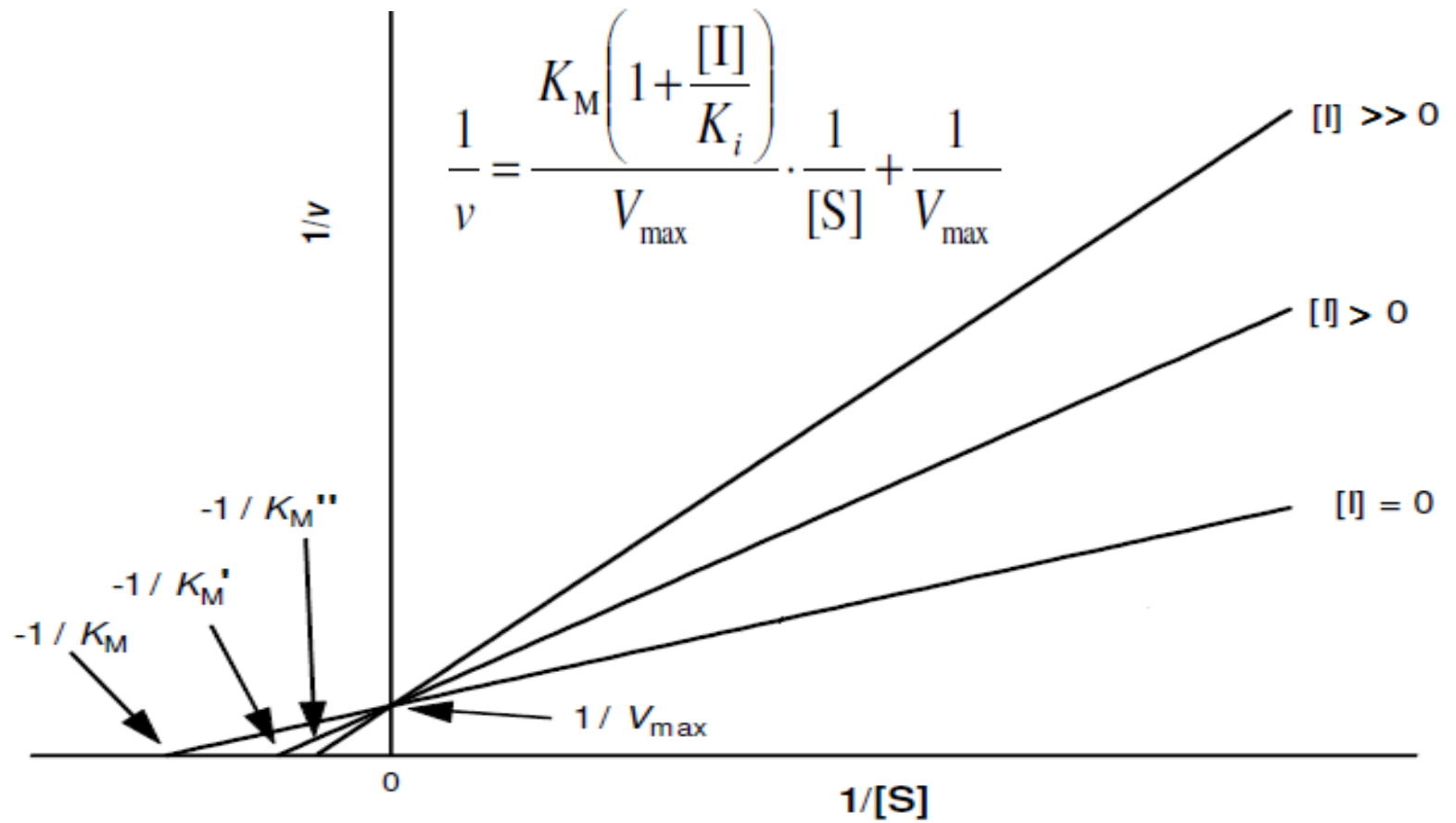
Inhibition compétitive

- la liaison de l'inhibiteur, à l'enzyme libre, empêche la liaison du substrat





Graphique Michaelis-Menten d'inhibition compétitive

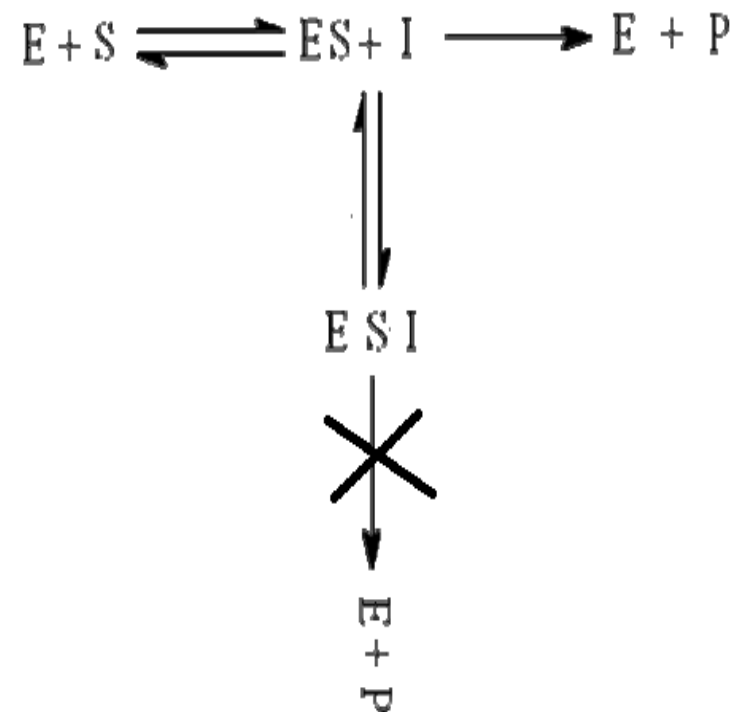
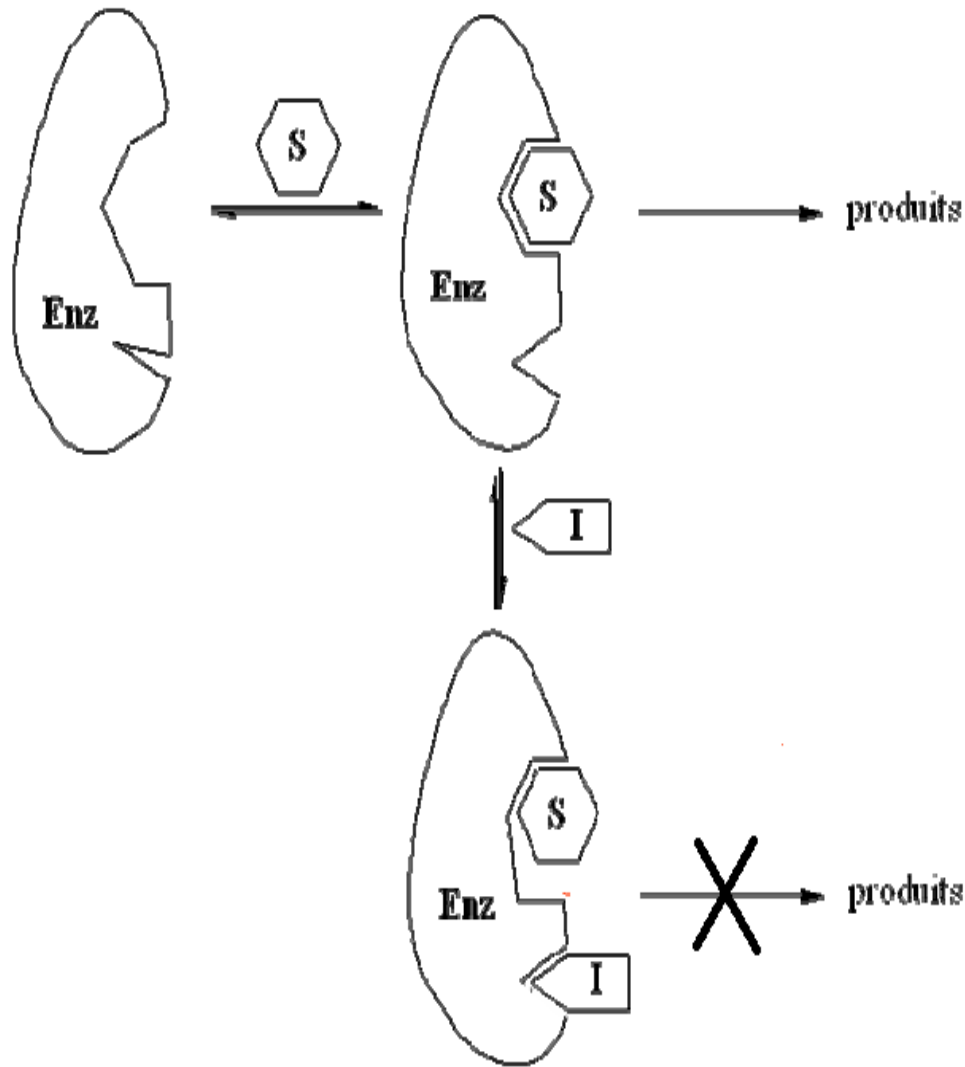


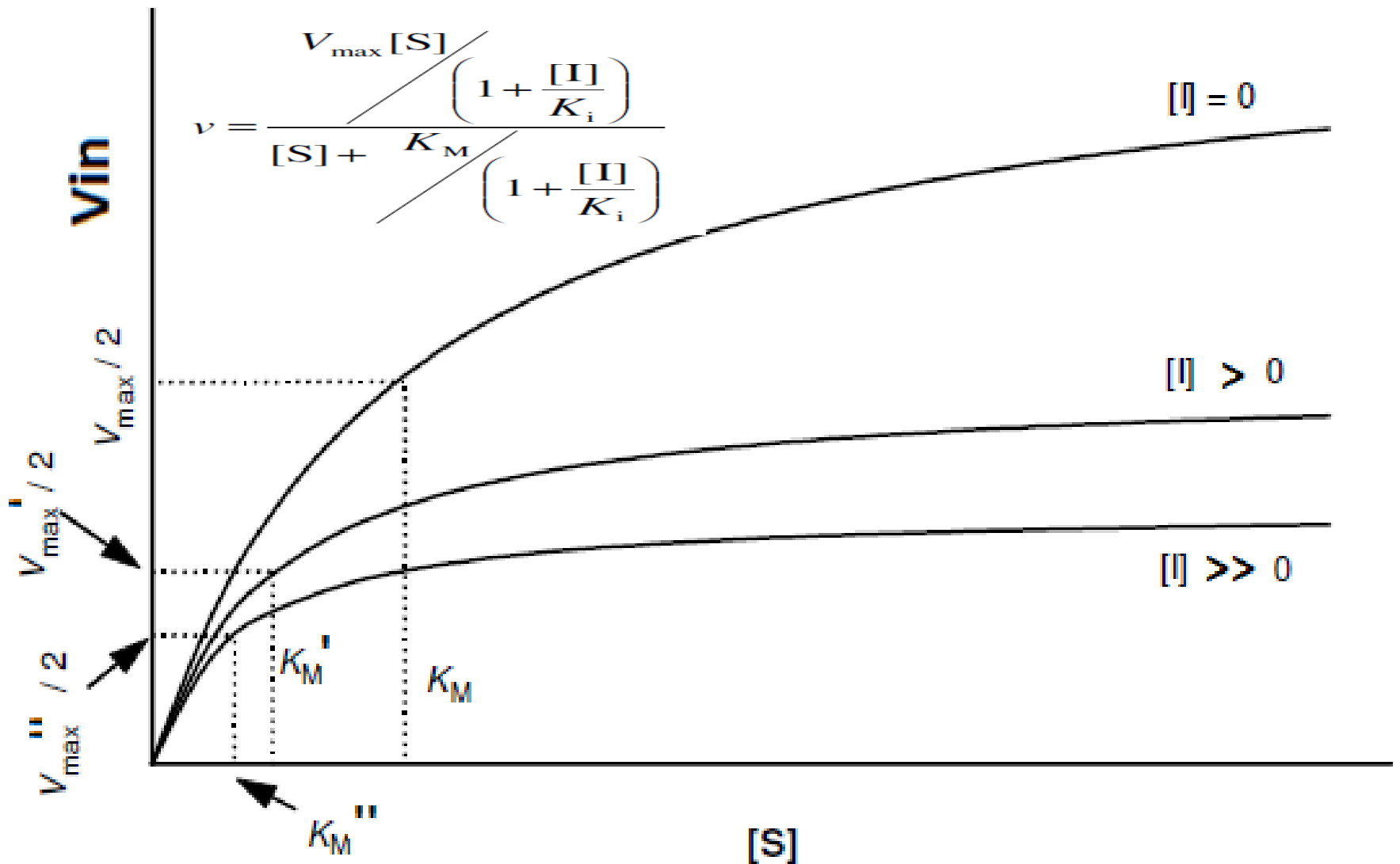
Graphique Lineweaver-Burk d'inhibition compétitive

L'inhibiteur compétitif **ne modifie pas V_{\max}** mais fait **augmenter K_M**

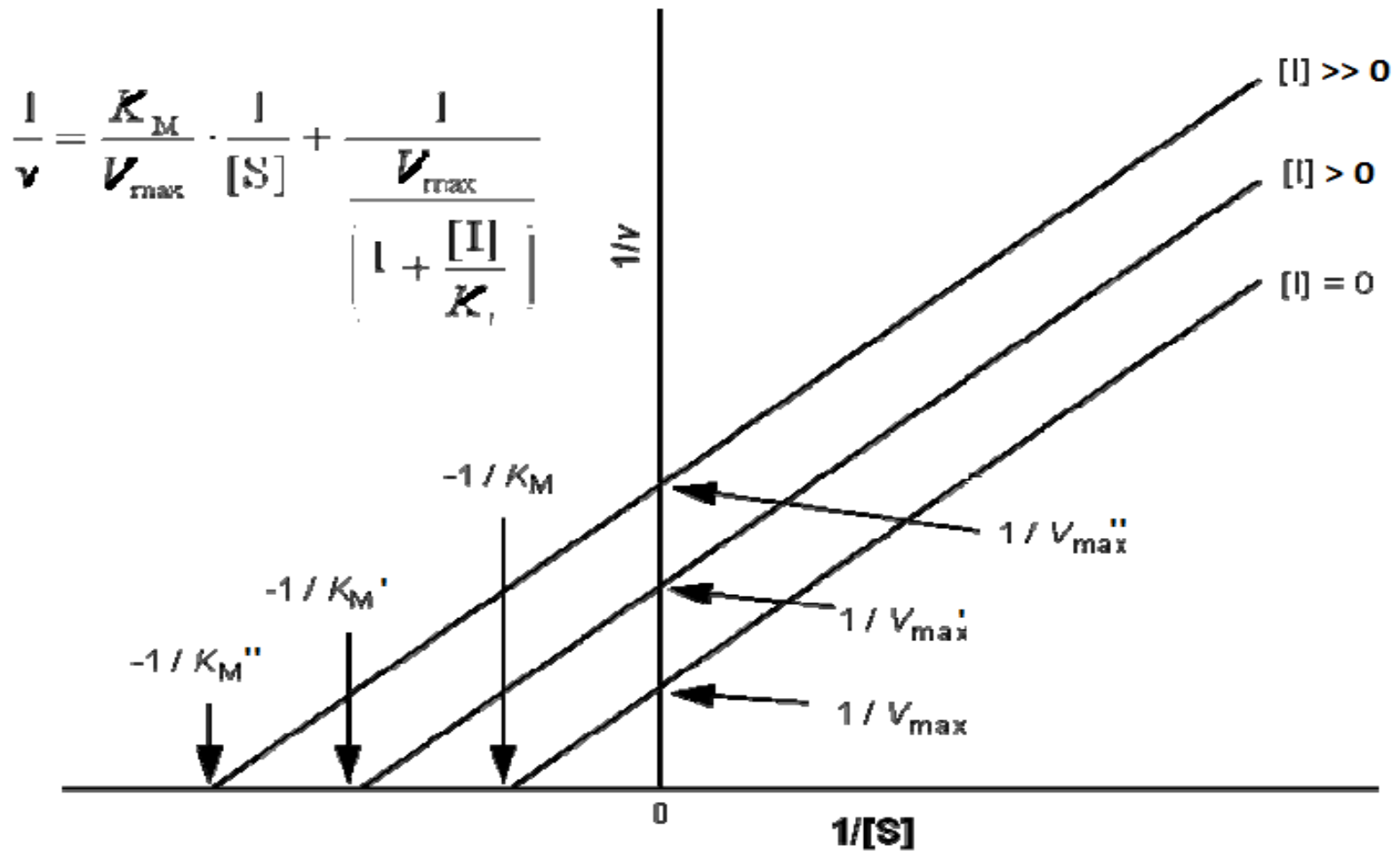
Inhibition incompétitive

- l'inhibiteur est lié par le complexe E•S





Graphique Michaelis-Menten d'inhibition incompétitive

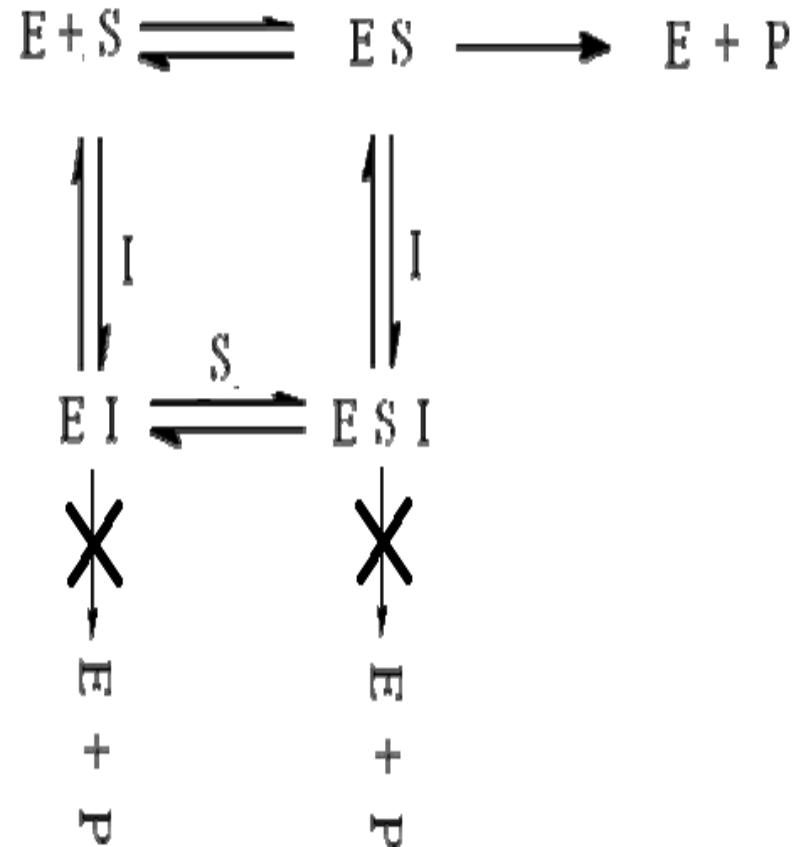
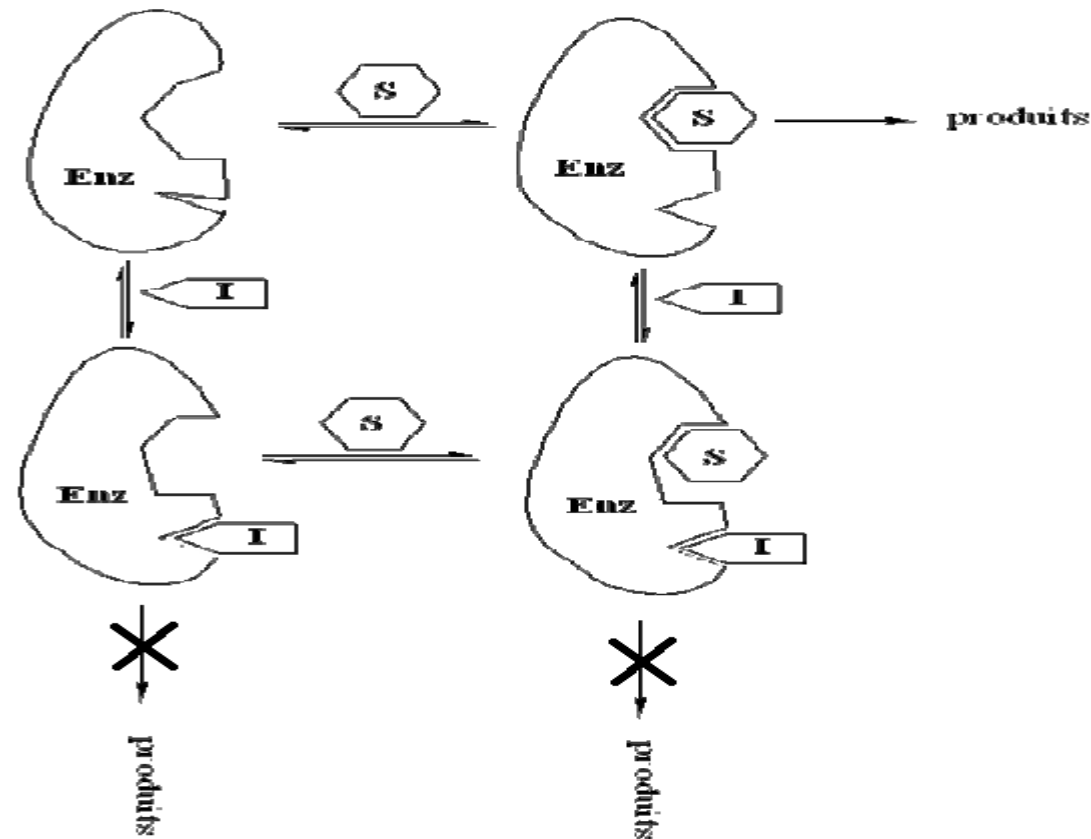


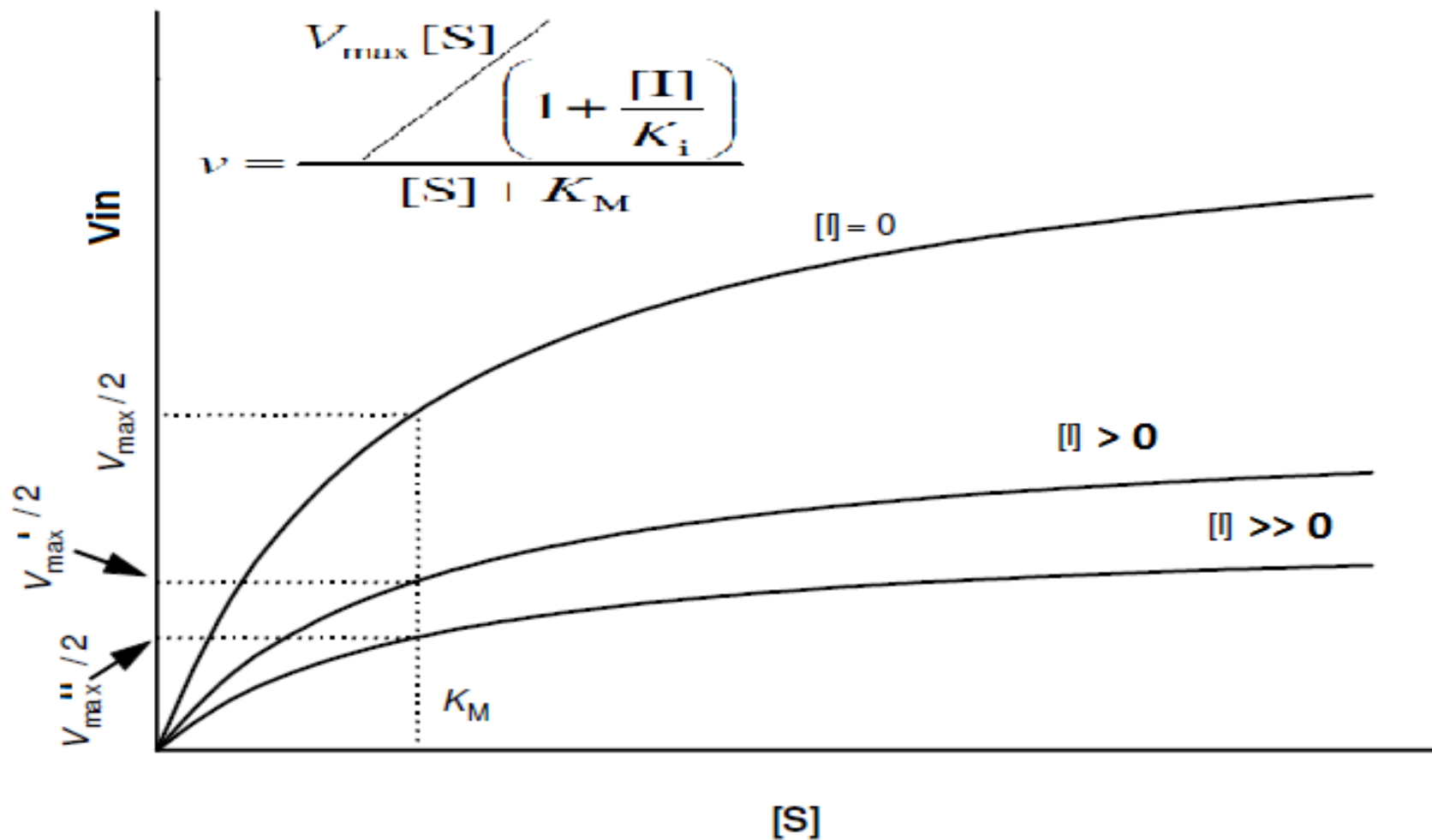
Graphique Lineweaver-Burk d'inhibition incompétitive

L'inhibiteur incompétitif fait diminuer **Vmax** et **Km**

Inhibition non-compétitive

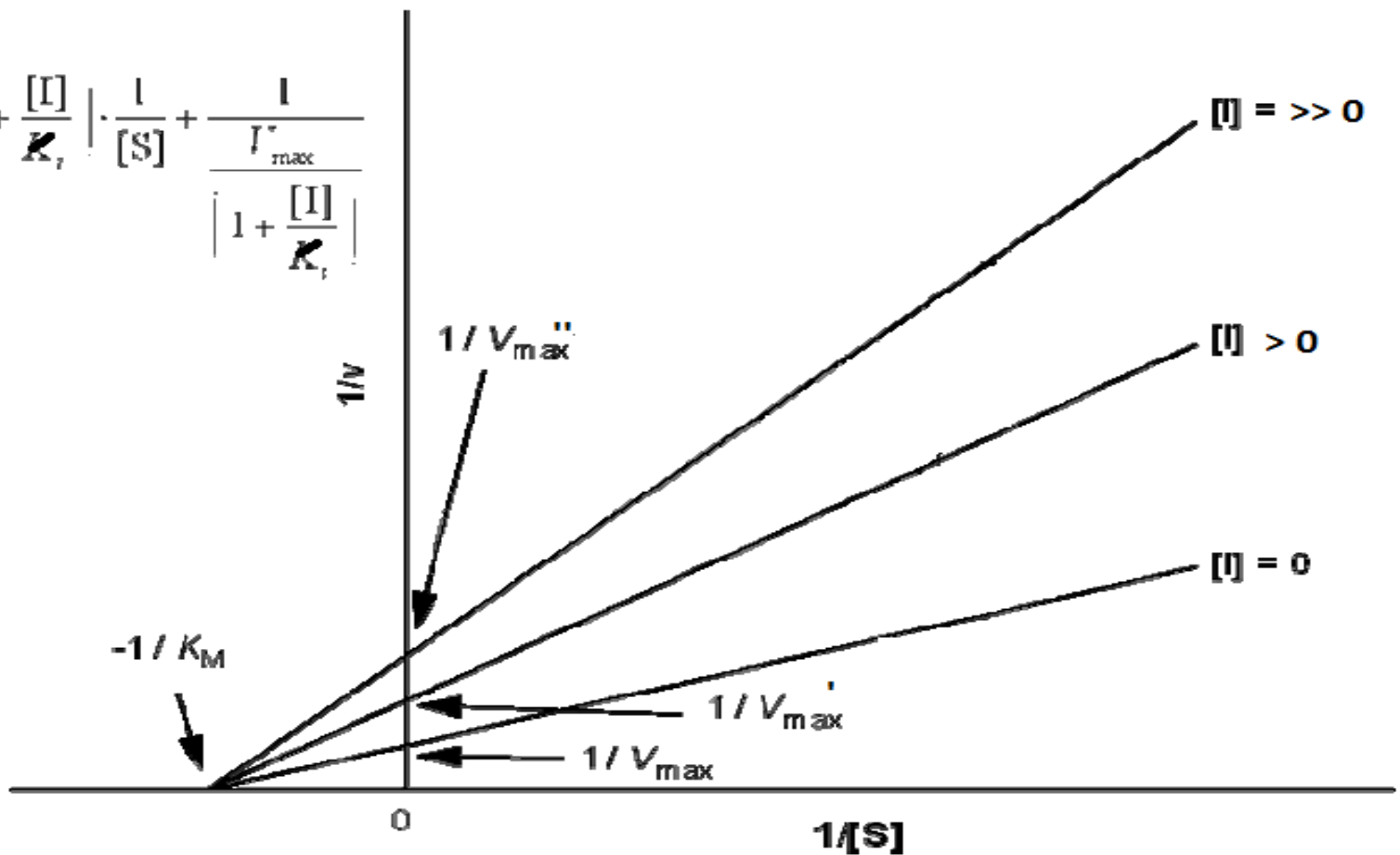
Un **inhibiteur non compétitif** est un inhibiteur enzymatique qui agit en **se liant**, avec une **affinité égale**, aussi bien à **l'enzyme** dont **le site actif est libre** qu'au **complexe** formé par l'enzyme et son substrat.





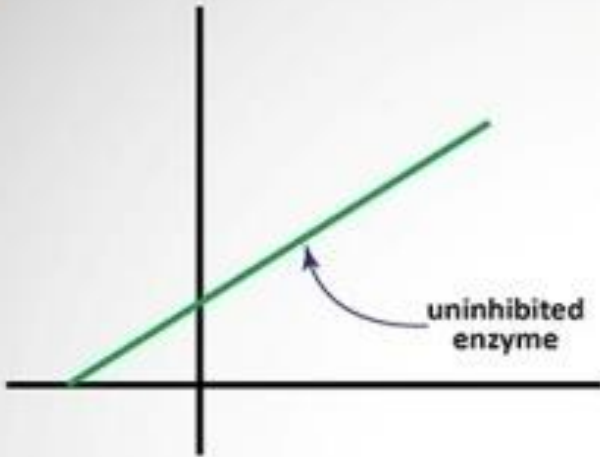
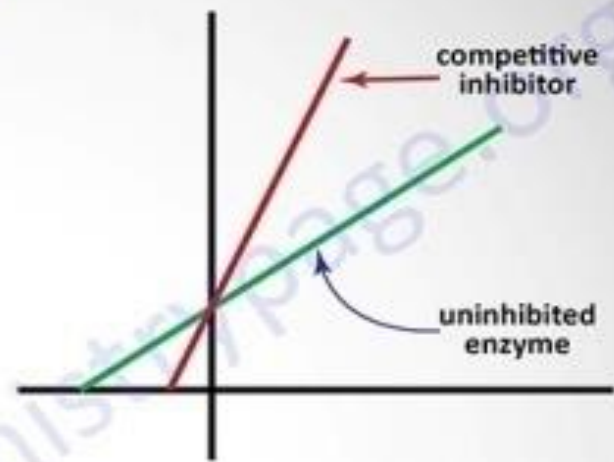
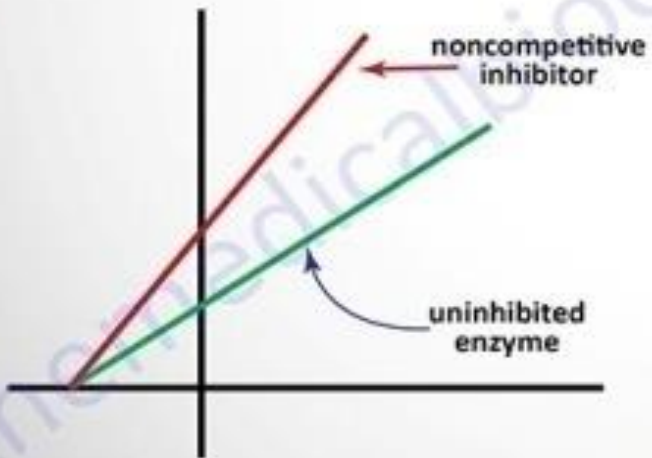
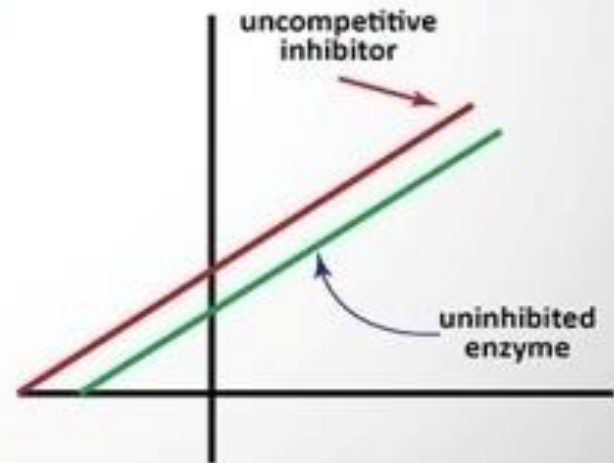
Graphique Michaelis-Menten d'inhibition noncompétitive

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}'} \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)}$$



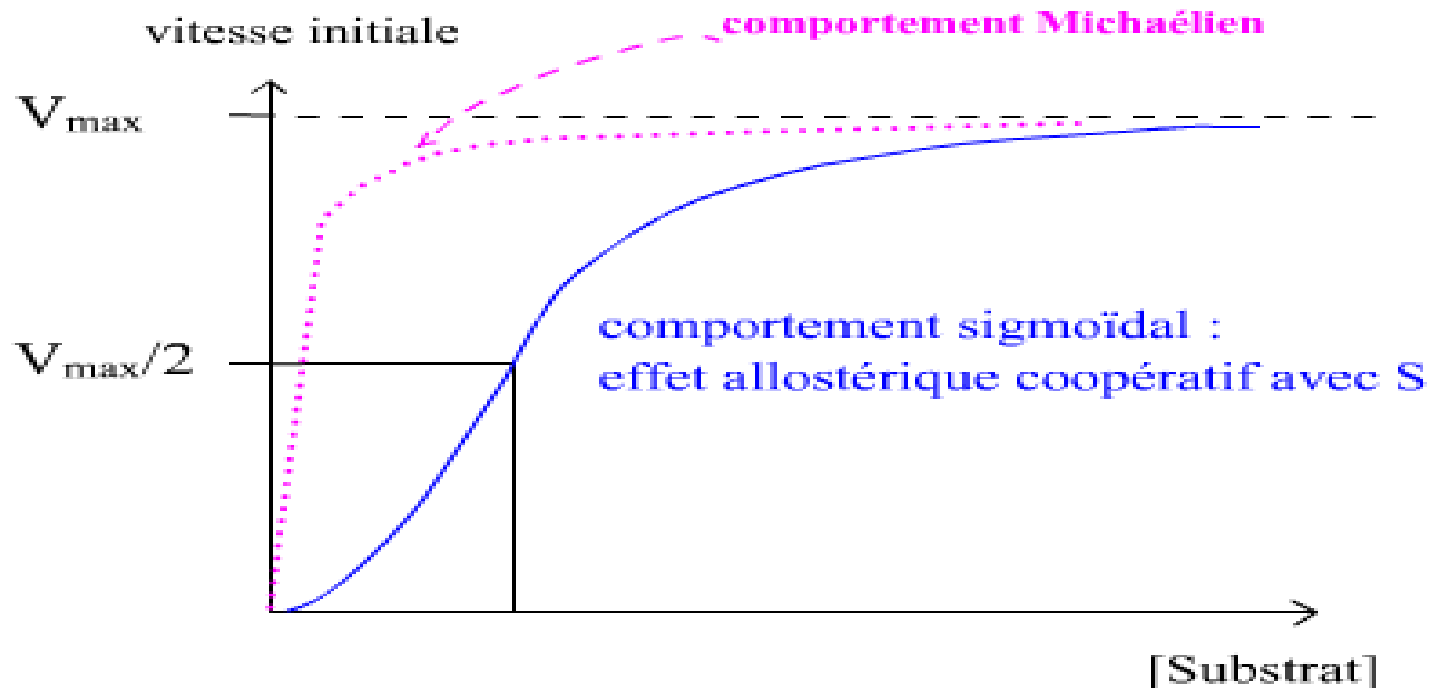
Graphique Lineweaver-Burk d'inhibition noncompétitive

L'inhibiteur non compétitif **ne modifie pas K_M** mais fait diminuer **V_{max}** .

A**B****C****D**

Enzymes allostériques

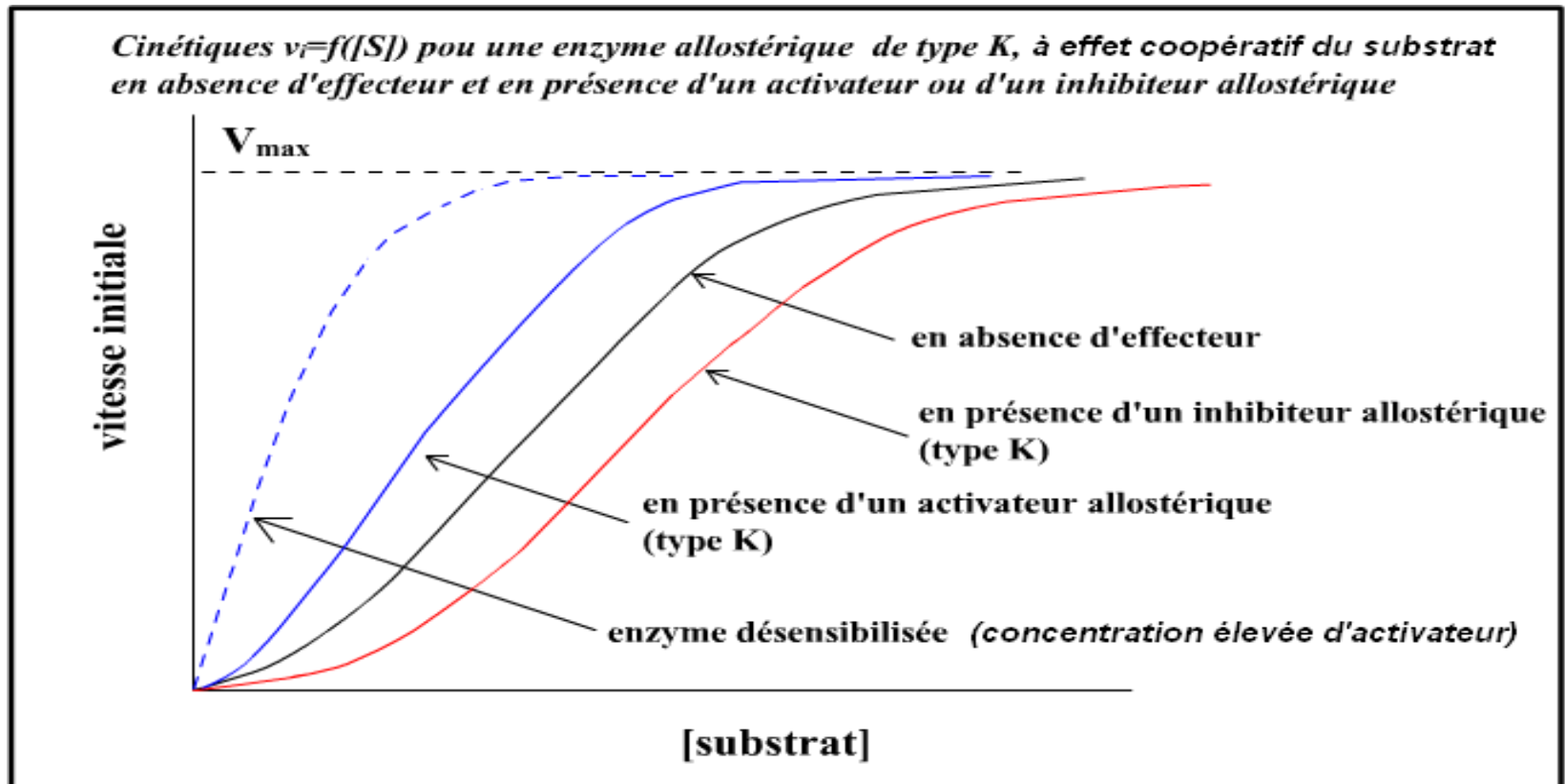
- Les enzymes allostériques sont des enzymes assurant la régulation des chaînes métaboliques.
- Les enzymes allostériques sont caractérisées par **des comportements cinétiques différents de ceux des enzymes michaeliennes**. Contrairement à ces dernières (cinétique 'HYPERBOLIQUE'), les enzymes allostérique présentent une cinétique 'SIGMOÏDE'



Effet allostérique:

- Le terme d'allostérie a été utilisé au départ pour expliquer **l'inhibition compétitive** de certaines enzymes par des molécules ne présentant pas ou peu de ressemblance au substrat initial.
- Dans le type classique d'inhibition compétitive, l'inhibiteur (I) est un analogue structural du substrat (S) et tend à occuper le même site que ce dernier. Il s'agit d'un **inhibiteur isostérique** (isostérie).
- Par contre, l'inhibiteur ne montrant pas une analogie structurale avec le substrat occupera un autre site sur l'enzyme. Il est qualifié **d'inhibiteur allostérique** (allostérie).
- Ces différentes interactions permettent de concevoir l'existence de plusieurs formes d'enzyme et la présence de site allostérique et de site actif.

Effet de coopérativité: la coopérativité traduit le fait que la fixation sur l'enzyme d'une molécule d'un effecteur allostérique (exemples: activateur allostérique (A) et inhibiteur allostérique (I)) influe sur la fixation des molécules suivantes.



Application :

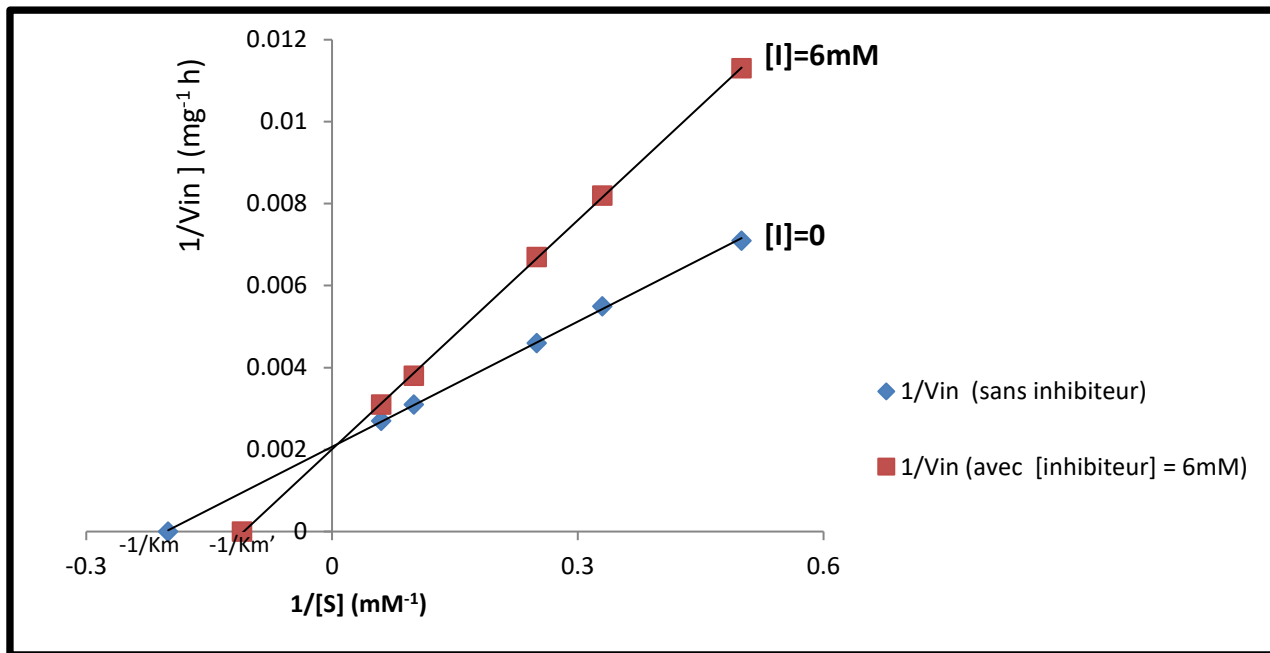
A partir des données du tableau suivant:

Concentration du substrat (mM)	2	3	4	10	15
mg de produit formé/h (sans inhibiteur)	139	179	213	313	370
mg de produit formé/h (avec [inhibiteur] = 6mM)	88	121	149	257	313

- 1- Montrer le type d'inhibition?
- 2- Déterminer la V_{max} , K_m et K_m' .

Solution:

$1/[S]$ (mM^{-1})	0,5	0,33	0,25	0,10	0,06
$1/V_{in}$ (sans inhibiteur)	0,0071	0,0055	0,0046	0,0031	0,0027
$1/V_{in}$ (avec [inhibiteur] = 6mM)	0,0113	0,0082	0,0067	0,0038	0,0031



L'inhibiteur augmente K_m sans modifier V_{max} , il s'agit **d'un inhibiteur compétitif**.

$$-1/K_m = -0,185 \text{mM}^{-1} ; K_m = 5,4 \text{mM}$$

$$-1/K_m' = -0,111 \text{mM}^{-1} ; K_m = 9 \text{mM}$$

$$1/V_{max} = 0,002 \text{mg}^{-1} \text{h} ; V_{max} = 500 \text{mg/h}$$

Exercice:

On suit la cinétique d'hydrolyse d'un substrat, respectivement en absence et en présence d'un inhibiteur I.

Les valeurs des vitesses initiales, en UA.min⁻¹, sont les suivantes :

1. Déterminez les paramètres cinétiques en présence et en absence d'inhibiteur à l'aide de la représentation des double inverses. *Ne pas tracer les courbes de saturation.*
2. Indiquez le type d'inhibition.

[S] (mM)	Sans I	[I] (5.5 μM)
0,083	0,080	0,051
0,122	0,110	0,072
0,195	0,150	0,106
0,238	0,170	0,122
0,340	0,200	0,150
0,580	0,260	0,200
0,870	0,290	0,240
1,170	0,300	0,270