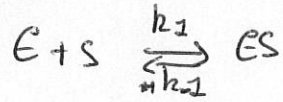


# Rappel d'Enzymologie

(2)

→ Equation de Michaelis-Menten.

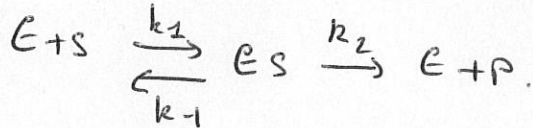


⇒ cette association/dissociation atteint rapidement l'équilibre avec  $K_s =$  constante de dissociation du complexe ES

À l'équilibre on a  $k_1 [E][S] = k_{-1} [ES]$

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

⇒ le produit P se forme de l'étape ultime et pas directement mais en passant par la formation du complexe EP de son 1<sup>er</sup> hps puis sa dissociation en E et P. Cependant cette étape intermédiaire est finalement négligée



⇒ Interprétation de Michaelis et de Menten ⇒ ds un tel système dynamique la concentration du complexe ES atteint très rapidement l'équilibre c'est à dire que le complexe ES se forme à partir de E+S disparaissant aussi rapidement soit en se dissociant pour reformer E+S, soit en ~~formant~~ faisant la réaction pour donner E+P.

on a donc  $\frac{d[ES]}{dt} = 0$

⇒ variation de la concentration du complexe au cours du hps t est nulle.

⇒ 2<sup>e</sup> hypothèse

⇒ réaction inverse  $v = k_{-2} [E][P]$  est pratiquement nulle.

Donc à partir de lui on a:  $[E]_{\text{total}} = [E] + [ES]$   $\gamma$  le d'E totale est constante.

vitesses de formation de ES  $v_f = +k_1 [E][S] = k_1 ([E_T] - [ES])$

vitesses de disparition de ES  $v_d = +k_{-1} [ES] + k_2 [ES] = (k_{-1} + k_2) [ES]$

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_f - v_d \Rightarrow \text{à l'équilibre } \frac{d[ES]}{dt} = 0 \Rightarrow v_f = v_d.$$

$$k_1 ([E_T] - [ES]) [S] = k_{-1} + k_2 [ES]$$

$$\frac{([E_T] - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = k_m \text{ appelée constante de Michaelis.}$$

$k_m$  est un 1<sup>er</sup> de concentration, sa dimension est donc exprimée en molarité ( $\Rightarrow$  dimension d'une concentration).

$$\frac{([E_T] - [ES]) [S]}{k_m} = [ES]$$

$$\frac{[E_T] [S]}{k_m} = [ES] + \frac{[ES] [S]}{k_m}$$

$$\frac{[E_T] [S]}{k_m} = [ES] \left( 1 + \frac{[S]}{k_m} \right)$$

$$[ES] = \frac{[E_T] [S]}{k_m} \left( \frac{k_m}{k_m + [S]} \right)$$

$$[ES] = \frac{[E_T] [S]}{k_m + [S]}$$

$$\Rightarrow \text{vitesse de formation du produit } \frac{d[P]}{dt} = k_2 [ES]$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2 \frac{[E_T] [S]}{k_m + [S]} = v_p$$

or qd  $[S]$  est suffisamment élevée pour saturer toute l'enzyme on a  $[E_T] = [ES] \Rightarrow$  vitesse de la réaction maximale.

$$\text{donc } v_{max} = k_2 [E_T].$$

$$\frac{v_p}{v_{max}} = \frac{k_2 [E_T] [S]}{k_m + [S]} \times \frac{1}{k_2 [E_T]} = \frac{[S]}{k_m + [S]}$$

$$\Rightarrow v_p = v_{max} \frac{[S]}{k_m + [S]}$$

$$\text{qd } k_m = [S]$$

$$\Rightarrow v_p = v_{max} \frac{[S]}{[S] + [S]} = \frac{v_{max}}{2}$$

Donc  $k_m$  = concentration du substrat pour laquelle la vitesse de la réaction est égale à la moitié de la vitesse maximale.

$k_{cat}$  = constante catalytique d'une enzyme = mesure de son activité catalytique maximale

$k_{cat}$  est défini en nombre de molécules de substrat converties en produit par unité de temps

Ds le cas de l'eq. de Michaelis-Menten  $k_2 = k_{cat}$

## Inhibition

→ Un inhibiteur d'une réaction soit empêche totalement la réaction, soit diminue la vitesse de réaction.

→ inhibition réversible (l'inhibiteur s'associe et se dissocie de l'E).

2 types : inhibition compétitive.

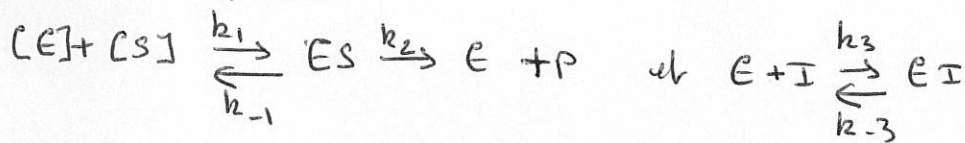
→ l'inhibiteur se fixe sur les mêmes sites que le substrat. Il y a donc compétition entre les 2 pour le site de fixation.

Ds ce cas si on augmente la concentration en substrat, on augmente la proba de liaison de S / r à l'inhibiteur

### inhibition non compétitive

fixation de l'inhibiteur et du substrat à des sites  $\neq$ . Donc celle-ci ne peut pas être levée en  $\uparrow$  la concentration de substrat.

### inhibition compétitive



processus compétitifs mutuellement exclusifs.

$$\frac{dP}{dt} = v_p = \frac{v_{max} [S]}{[S] + K_m \left[ 1 + \frac{[I]}{K_I} \right]}$$

$K_I$  : constante de dissociation de EI.

### démonstration

d'une part on a  $[ES] = \frac{k_1 [E][S]}{k_2 + k_{-1}} = \frac{[E][S]}{K_m}$

d'autre part si on suppose que l'équilibre  $E + I \rightleftharpoons EI$  est rapidement atteint on a

$$\frac{d[EI]}{dt} = 0 \Rightarrow k_3 [E][I] = k_{-3} [EI]$$

$$\frac{k_3}{k_{-3}} [E][I] = [EI] \Rightarrow K_I = \frac{k_{-3}}{k_3}$$

$$[EI] = \frac{[E][I]}{K_I}$$



or  $[E_T] = [E] + [ES] + [EI]$ .

(4)

$$[E_T] = [E] + \frac{[E][S]}{K_m} + \frac{[E][I]}{K_I}$$

$$\frac{K_I K_m [E_T]}{K_I K_m + K_I [S] + K_m [I]} = [E]$$

Ce qui nous interesse  $\Rightarrow$  formation du produit  $\frac{dP}{dt} = v_p = k_2 [ES]$

$$v_p = k_2 \frac{[E][S]}{K_m} \quad \text{si on remplace } [E] \text{ par sa valeur.}$$

$$= \frac{k_2 [E_T] K_I K_m [S]}{K_m (K_I K_m + K_I [S] + K_m [I])} \quad \text{or } v_{max} = k_2 [E_T]$$

$$= \frac{v_{max} K_I [S]}{K_I K_m + K_I [S] + K_m [I]} \quad \text{on simplifie par } K_I$$

$$= \frac{v_{max} [S]}{K_m + [S] + \frac{K_m [I]}{K_I}}$$

$$\boxed{\frac{dP}{dt} = \frac{v_{max} [S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}}$$

Inhibition compétitive ou allostérique

L'inhibiteur ne se lie pas au même site que le substrat mais affecte la vitesse de réaction en se fixant à un autre site qui peut induire un changement de conformation.

$$\frac{dP}{dt} = \frac{v_{max} [S]}{1 + \frac{[I]}{K_I} \frac{K_m + [S]}{K_m + [S]}} = \frac{K_I}{K_I + [I]} \frac{v_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\text{or } 1 - \frac{[I]}{K_I + [I]} = \frac{K_I}{K_I + [I]} \Rightarrow \boxed{\frac{dP}{dt} = v_{max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \left(1 - \frac{[I]}{K_I + [I]}\right)}$$

# Formation d'un complexe

## - heterodimers.

l'heterodimere XY est le resultat de l'interaction de 2 composants X et Y  
 la vitesse de reaction depend liniairement des 2 concentrations, celle de X et de Y  
 Supposons que la reaction obisse a la vitesse  $k_{on}$ , on aura:

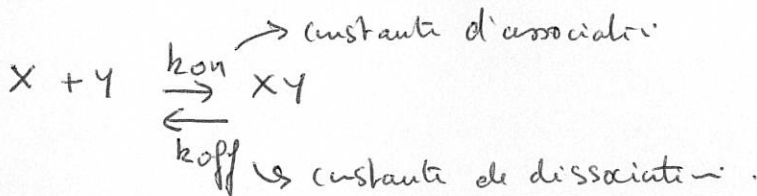
$$\frac{d[XY]}{dt} = k_{on} [X] [Y] = k_{on} (X_T - [XY]) (Y_T - [XY])$$

avec  $[X_T] = [X] + [XY]$  et  $[Y_T] = [Y] + [XY]$   
↑ libre    ↑ associe

## - homodimers : similaire mais association entre 2 proteines X

$$\frac{d[X_2]}{dt} = k_{on} [X]^2 = k_{on} ([X_T] - [X_2])^2$$

⇒ ici la dependance n'est + lineaire (et loi de massen)



~~$$\frac{d[XY]}{dt} = k_{on} [X][Y] - k_{off} [XY]$$~~

Donc la vitesse de changement de concentration de l'heterodimere est

$$\frac{d[XY]}{dt} = k_{on} [X][Y] - k_{off} [XY]$$

## Passage entre 2 compartiments (ex noyau - cytoplasme)

Soit  $[X_n]$  concentration de X ds le noyau  
 $[X_c]$  ————— X ds le cytoplasme.

$k_{out}$  : vitesse d'export de X  
 $k_{in}$  : ——— d'import de X.

$$\frac{d[X_n]}{dt} = k_{in} [X_c] - k_{out} [X_n]$$

$$\frac{d[X_c]}{dt} = - \frac{d[X_n]}{dt} = k_{out} [X_n] - k_{in} [X_c].$$

(7)

Cependant les concentrations vont dépendre du volume du compartiment car suivant la loi de conservation de masse, seule le nombre de protéines est conservée.

$$\underline{[X_c]} = \frac{\text{nombre de } X \text{ ds } y_0}{V_c \text{ (volume } y_0)} \quad \text{et } X_n = \frac{\text{nbre de } X \text{ noyau}}{V_n \text{ (volume noyau)}}.$$

$$\Rightarrow \text{Donc le nombre de prot totale de } X \quad T = V_n[X_n] + V_c[X_c]$$

$$\Rightarrow [X_c] = \frac{T - [X_n]V_n}{V_c} \quad \text{et } [X_n] = \frac{T - [X_c]V_c}{V_n}.$$

$$\text{donc } \frac{d[X_n]}{dt} = k_{in} \frac{T - [X_n]V_n}{V_c} - k_{out} [X_n]$$

$$\frac{d[X_n]}{dt} = \frac{k_{in}}{V_c} T - \left( k_{in} \frac{V_n}{V_c} + k_{out} \right) [X_n]$$