

UNIVERSITE DE RENNES I

~~~~~

**FACULTE DE MEDECINE**

~~~~~

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

~~~~~

**PCEM 1**

**Biochimie Structurale**

**ENZYMES**

~~~~~

Année Universitaire 2006-2007

ENZYMOLOGIE

1. GENERALITES

1.1. Définitions

- 1.1.1. Enzyme
- 1.1.2. Substrat – Produit
- 1.1.3. Site actif

1.2. Mode d'action

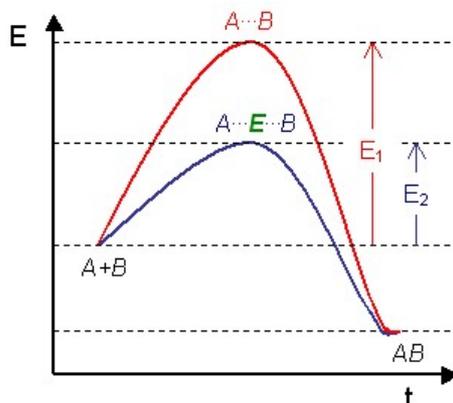
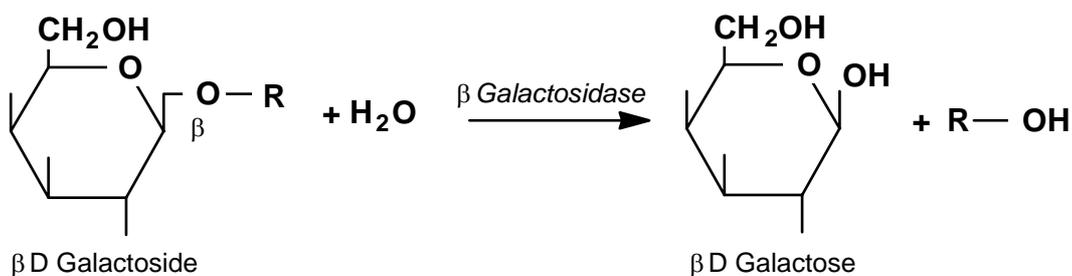


Diagramme d'une réaction catalytique qui montre l'énergie (E) requise à différentes étapes suivant l'axe du temps (t).

1.3. Caractéristiques



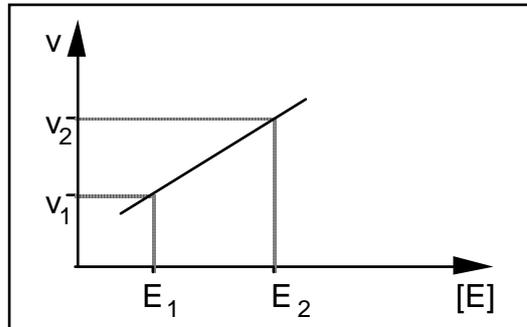
2. CLASSIFICATION DES ENZYMES

- 2.1. Oxydo-réductases – EC1
- 2.2. Transférases – EC2
- 2.3. Hydrolases – EC3
- 2.4. Lyases – EC4
- 2.5. Isomérases – EC5
- 2.6. Ligases (ou synthétases) – EC6

3. CINETIQUE DES REACTIONS ENZYMATIQUES A UN SUBSTRAT - MODELE DE MICHAELIS

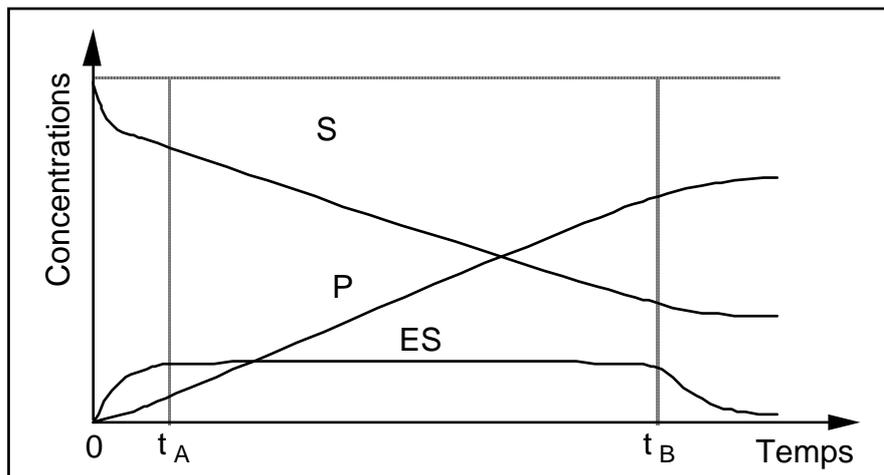
3.1. Généralités

3.1.1. Influence de la concentration en enzyme

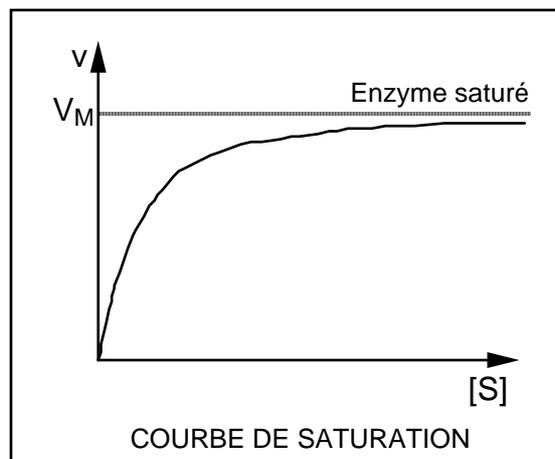


3.1.2. Influence de la concentration en substrat

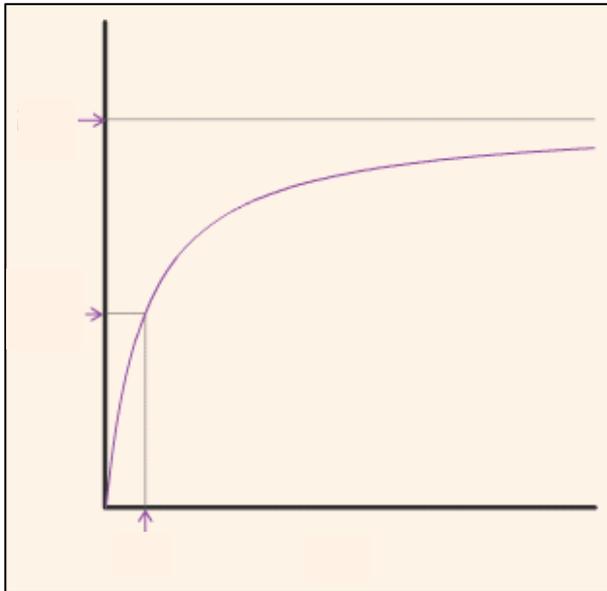
a) Variation de [S], [P] et [ES] au cours du temps



b) Variation de la vitesse en fonction de [S]



3.2 . Aspect théorique – Equation de Michaelis



$$v = \frac{V_M [S]}{[S] + K_M}$$

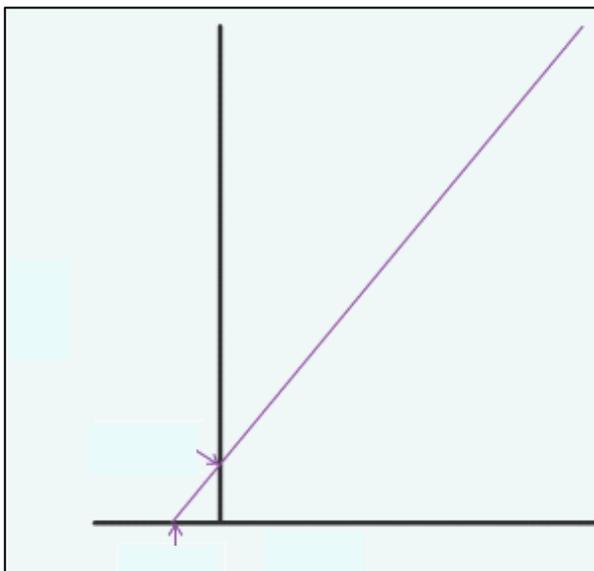
3.3. Signification des paramètres cinétiques

3.3.1 Constante de Michaelis K_M

ENZYME	SUBSTRAT	CONCENTRATION (μM)	K_M (μM)
Glucose phosphate isomérase	Glucose-6-phosphate	450	700
Aldolase	Fructose 1,6-diphosphate	32	100
Triose phosphate isomérase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	460
Glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	70
Phosphoglycérate kinase	3-Phosphoglycérate	60	1200

3.3.2 Vitesse maximale V_M

3.4. Détermination des paramètres cinétiques



$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_M} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_M}$$

Représentation de Lineweaver et Burk

3.5. Activité enzymatique

3.5.1. Définitions et unités

3.5.2. Activité spécifique

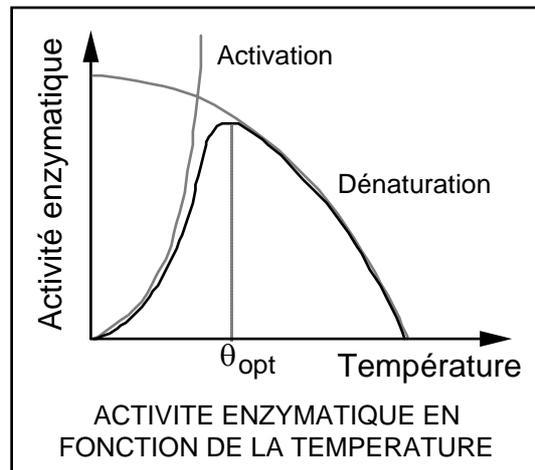
4. EFFECTEURS DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

4.1. Influence de la température

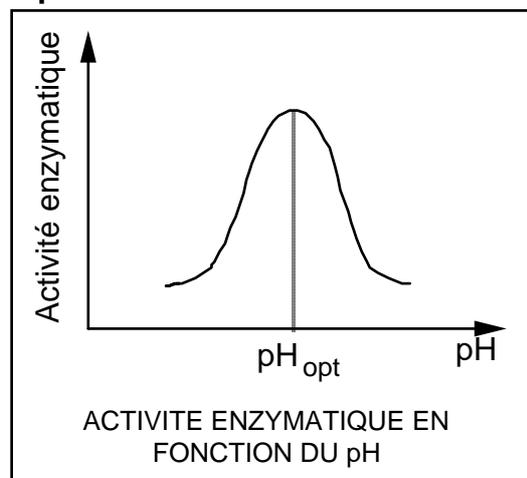
4.1.1. Effet de la température sur la vitesse

4.1.2. Inactivation thermique des enzymes

4.1.3. Résultante des deux effets



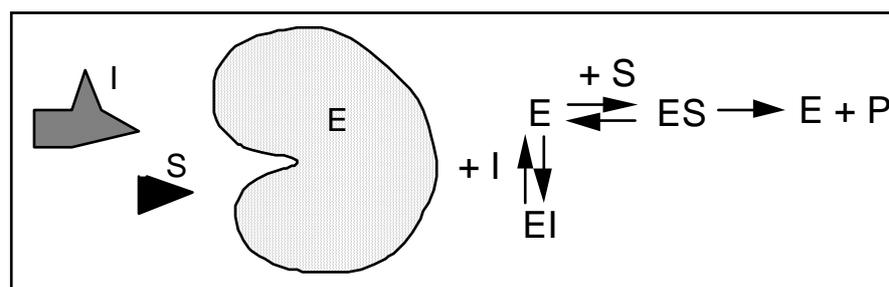
4.2. INFLUENCE DU pH



4.3. INFLUENCE DES IONS METALLIQUES

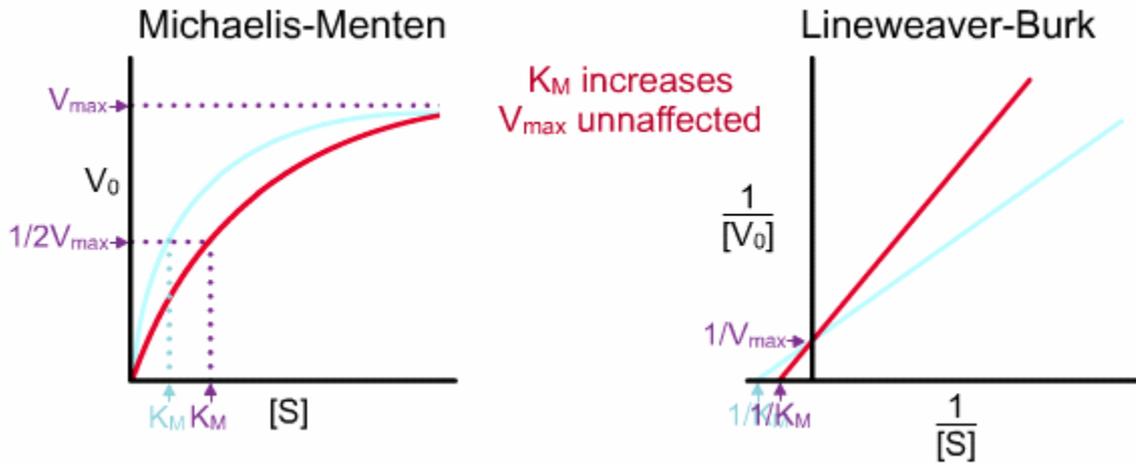
4.4. INHIBITEURS DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

4.4.1. Inhibition compétitive



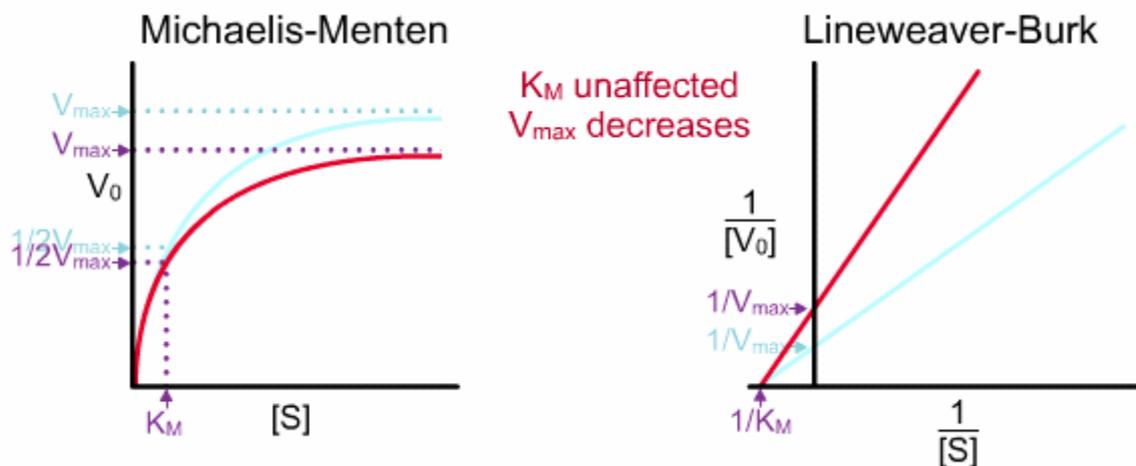
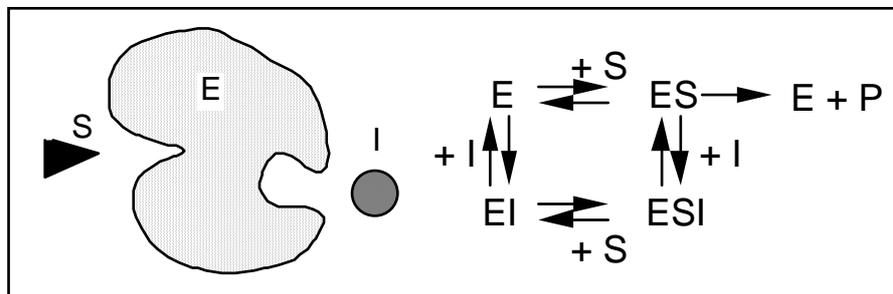
$$v = \frac{V_M [S]}{[S] + K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

$$K'_M = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$



$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} + \frac{K_M}{V_M [S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$

4.4.2. Inhibition non compétitive simple

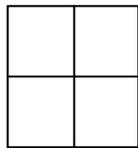
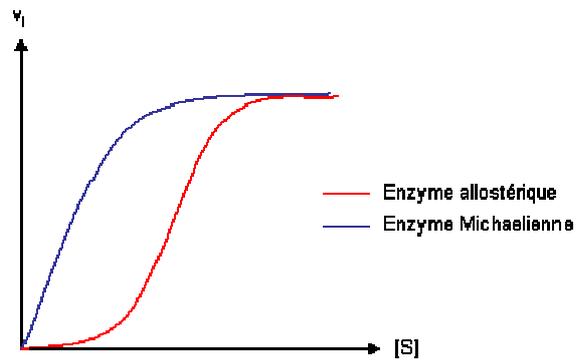


$$v = \frac{V_M [S]}{(K_M + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \quad V'_M = \frac{V_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

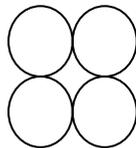
$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} \left\{ \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \left(1 + \frac{K_M}{[S]}\right) \right\}$$

4.4.3. Autres types d'inhibitions

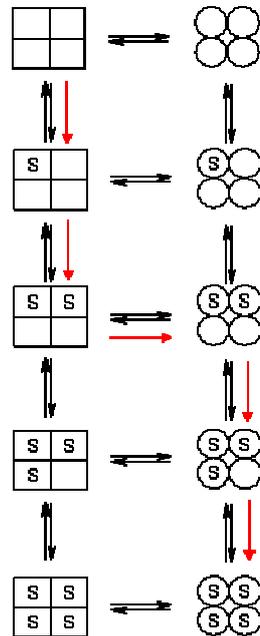
4.5. Modèle allostérique



Forme

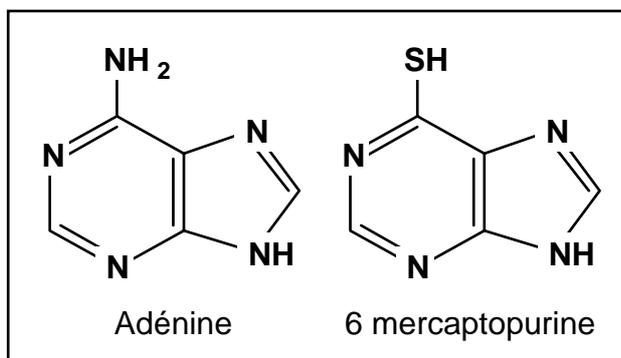
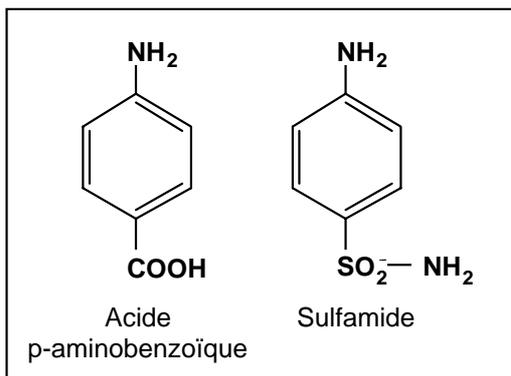


Forme R



→ chemin le plus probable

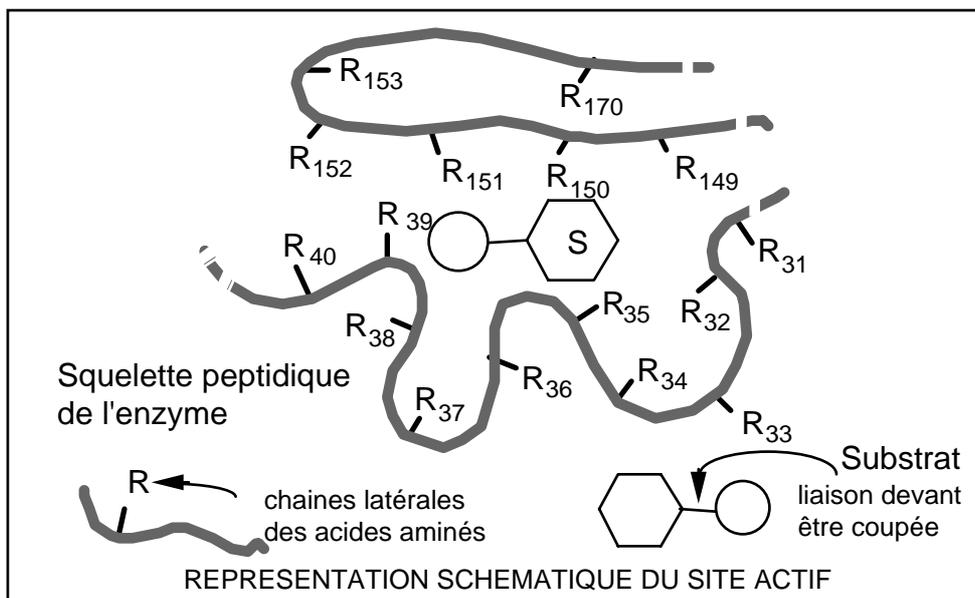
4.6. Rôle biologique des effecteurs enzymatiques



5. LES ISOENZYMES

6. LE SITE ACTIF

6.1. Topologie du site actif



6.2. Nature de l'interaction enzyme-substrat

- 6.2.1. Interactions hydrogène
- 6.2.2. Transfert de charge

6.3. Mise en évidence du site actif

- 6.3.1. Réactifs de groupes
- 6.3.2. Marquage par le substrat ou ses analogues

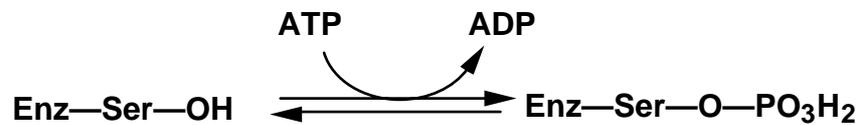
7. REGULATION DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

7.1. Contrôle génétique de la synthèse des enzymes

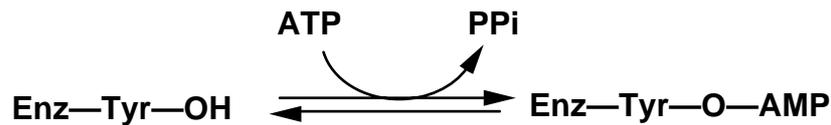
7.2. Régulation par modification structurale de l'enzyme

7.2.1. Systèmes réversibles

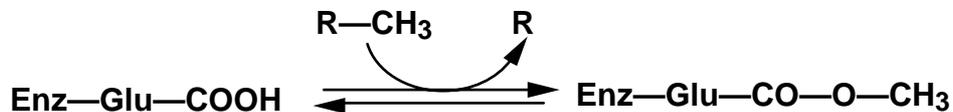
a) Phosphorylation - déphosphorylation : Ser, Thr, Tyr



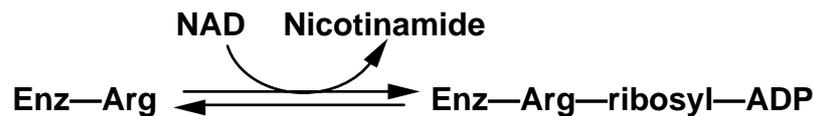
b) Adénylylation - désadénylylation : Tyr



c) Méthylation - déméthylation : Glu



d) MonoADP-ribosylation : Arg, Asn, Lys, Cys



7.2.2. Systèmes irréversibles

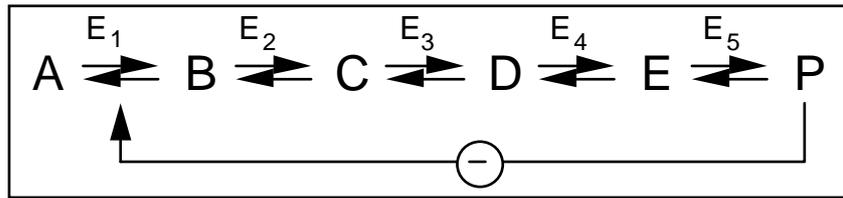
- a) Activation des proenzymes en enzymes par protéolyse limitée.
- b) Activation des proenzymes par addition de coenzymes

7.3. Régulation au niveau du site catalytique

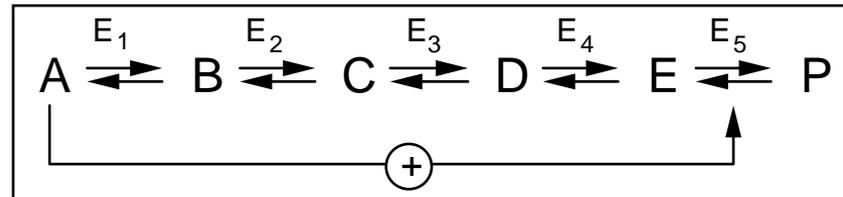
- 7.3.1. En fonction de K_M et de la concentration en substrat
- 7.3.2. Inhibiteurs et activateurs

7.4. Régulation allostérique

7.4.1. Inhibition par le produit final



7.4.2. Activation par le précurseur



7.4.3. Activation ou inhibition par des métabolites

8. UTILISATION DES ENZYMES EN BIOLOGIE

- 8.1. Enzyme de Conversion de l'Angiotensine (ECA)
- 8.2. Amylase
- 8.3. Créatine phosphokinase (CPK)
- 8.4. Lactate-déshydrogénase (LDH)
- 8.5. Phosphatases alcalines (PAI)