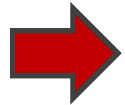


Cours Biochimie I

Leçon 10: Enzymes: stratégies catalytiques



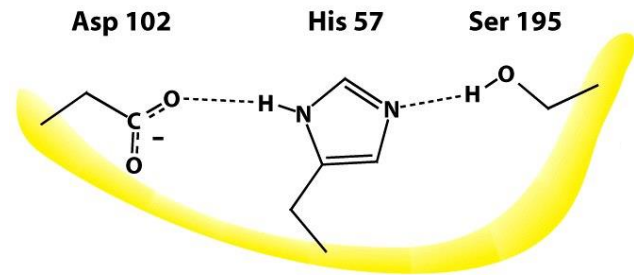
7	Exploration de l'Évolution
8	Portrait de haemoglobin / des anticorps
9	Enzymes: concepts de base et cinétique
10	Enzymes: stratégies catalytiques
11	Lipides et membranes cellulaires / Les glucides
12	Métabolisme

après aujourd'hui:
10/12 = 83%

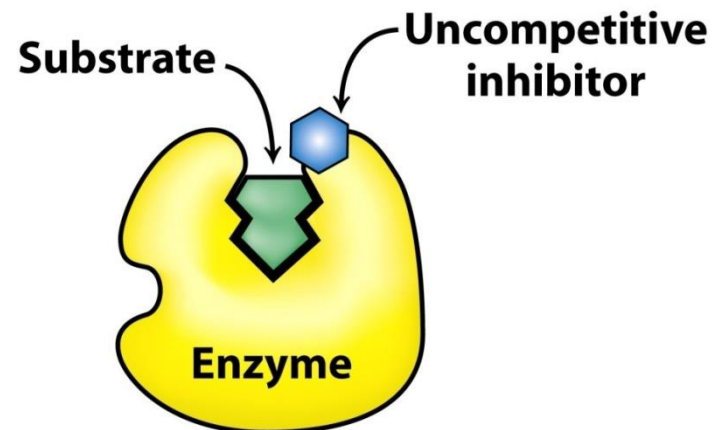
Leçon 10

Stratégies catalytiques

- Protéases
- Anhydrase carbonique
- Enzyme de restriction

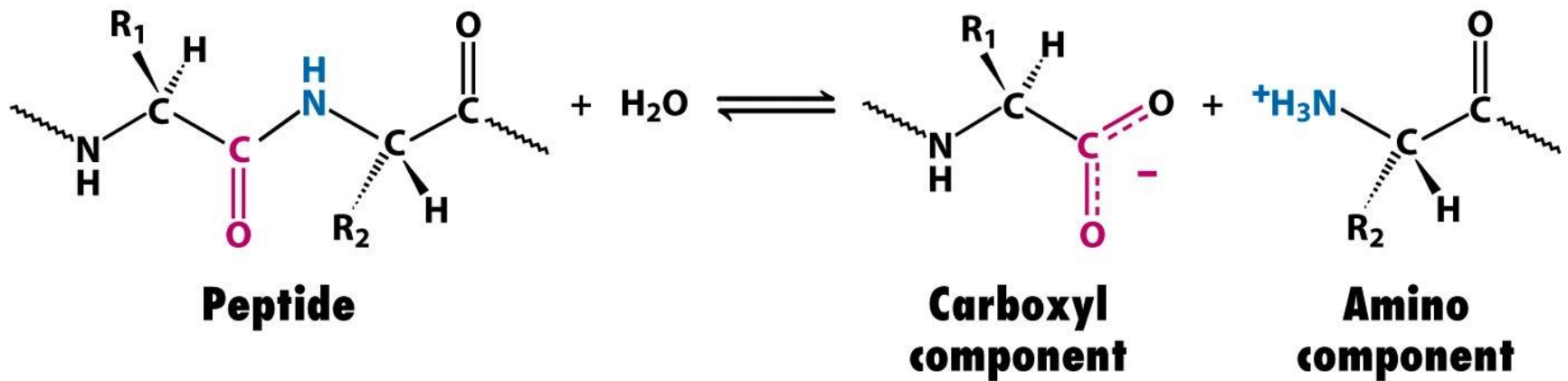


Inhibition enzymatique



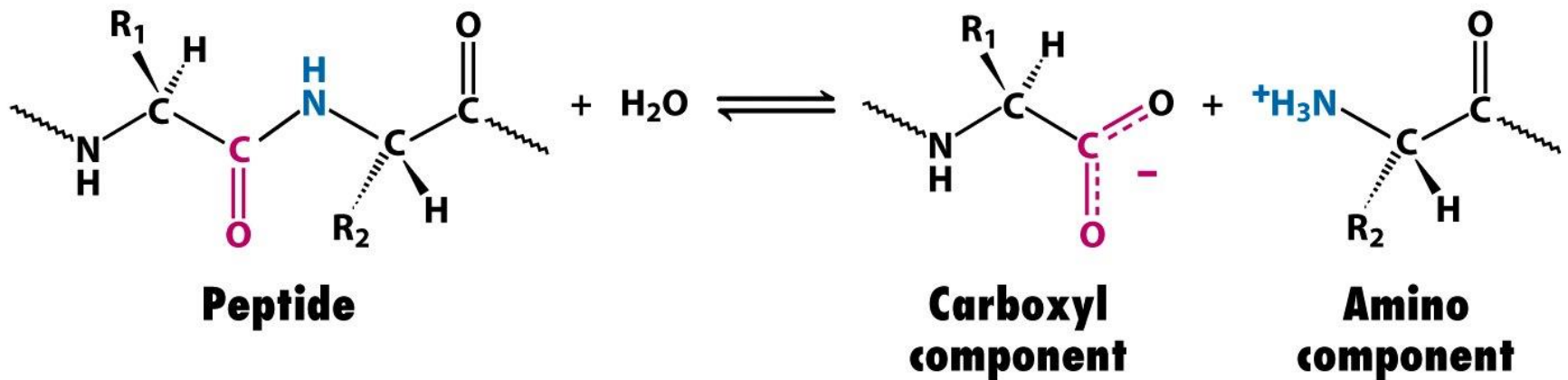
Exemple 1: Protéases

Réaction: clivage (hydrolyse) des liaisons peptidiques



Exemple 1: Protéases

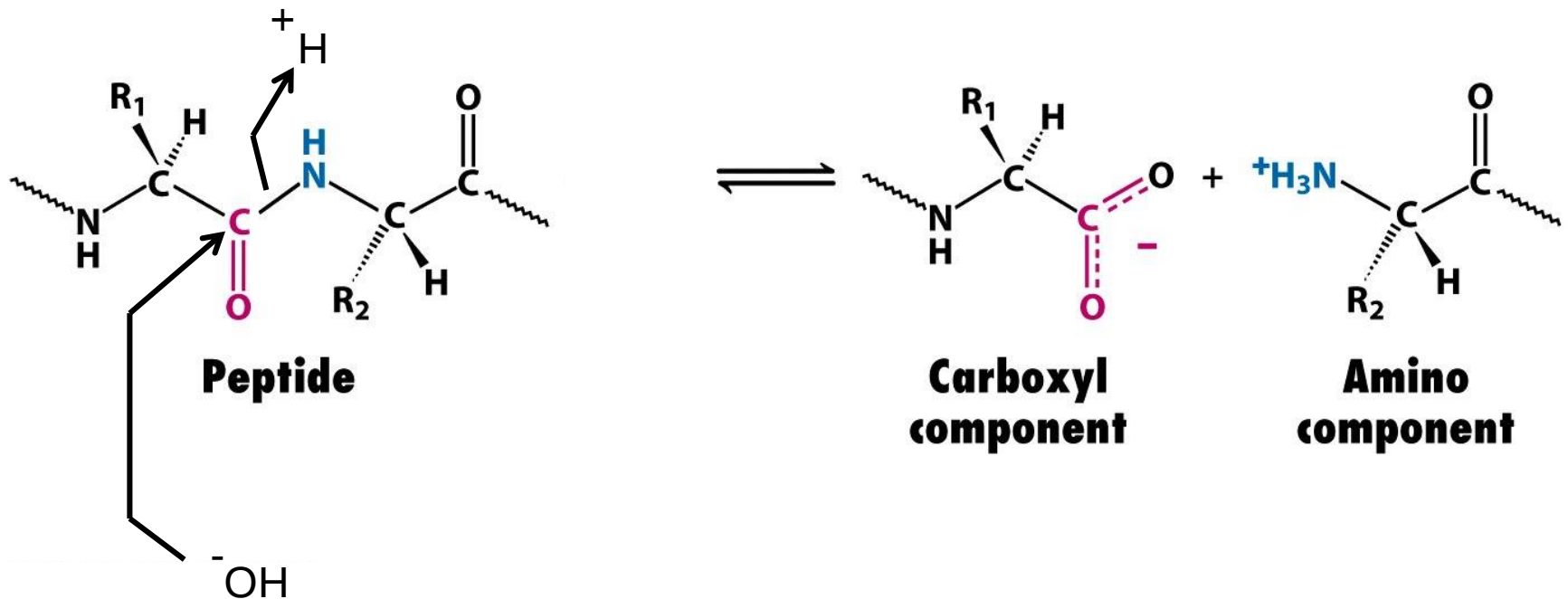
Réaction: clivage (hydrolyse) des liaisons peptidiques



Quel est le mécanisme de la réaction?

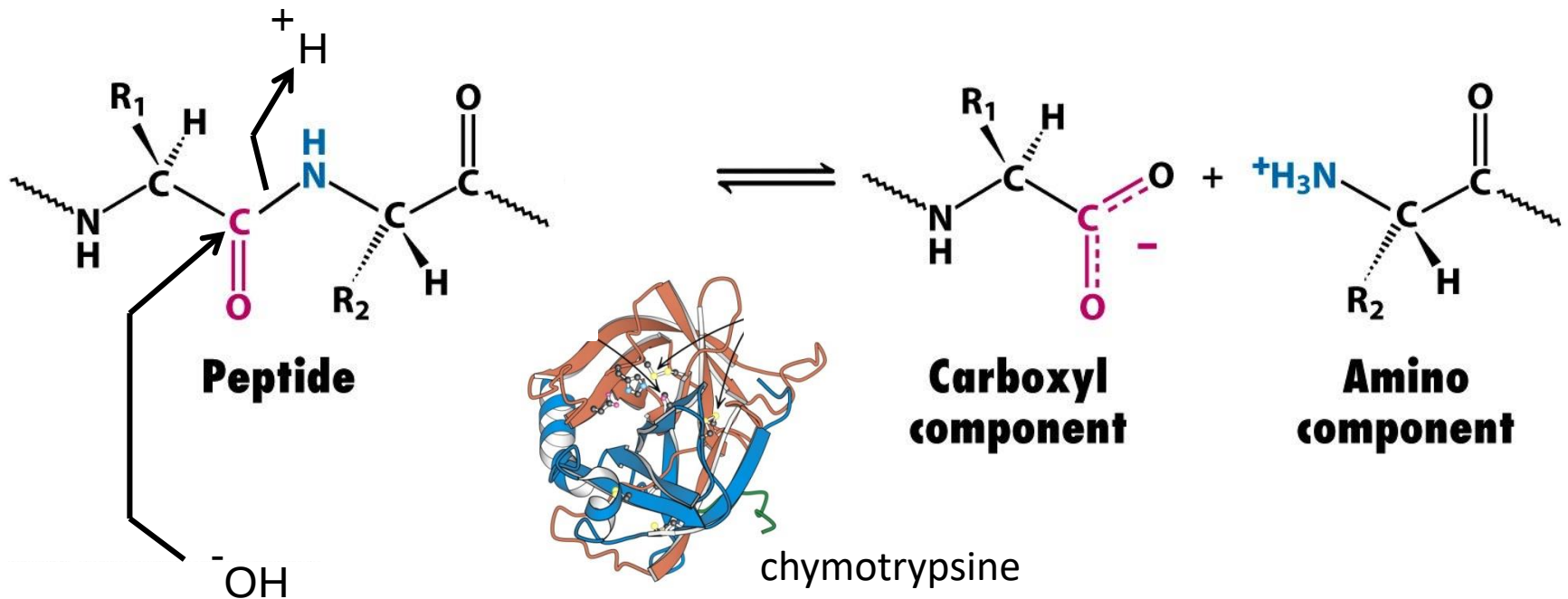
Exemple 1: Protéases

Réaction: clivage (hydrolyse) des liaisons peptidiques



Exemple 1: Protéases

Réaction: clivage (hydrolyse) des liaisons peptidiques



Comment une enzyme peut-elle catalyser cette réaction?

Exemple 1: Protéases

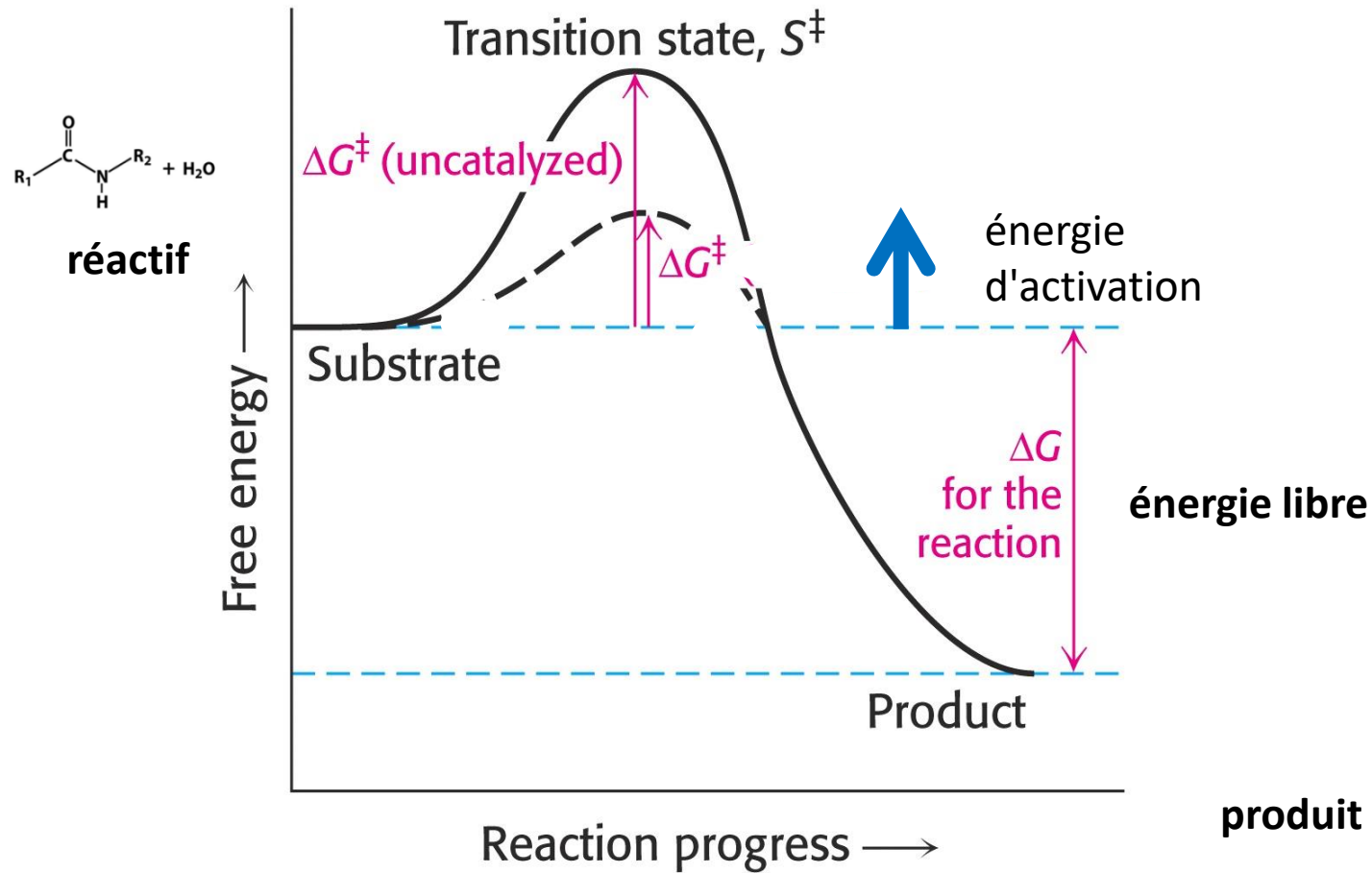


chymotrypsine

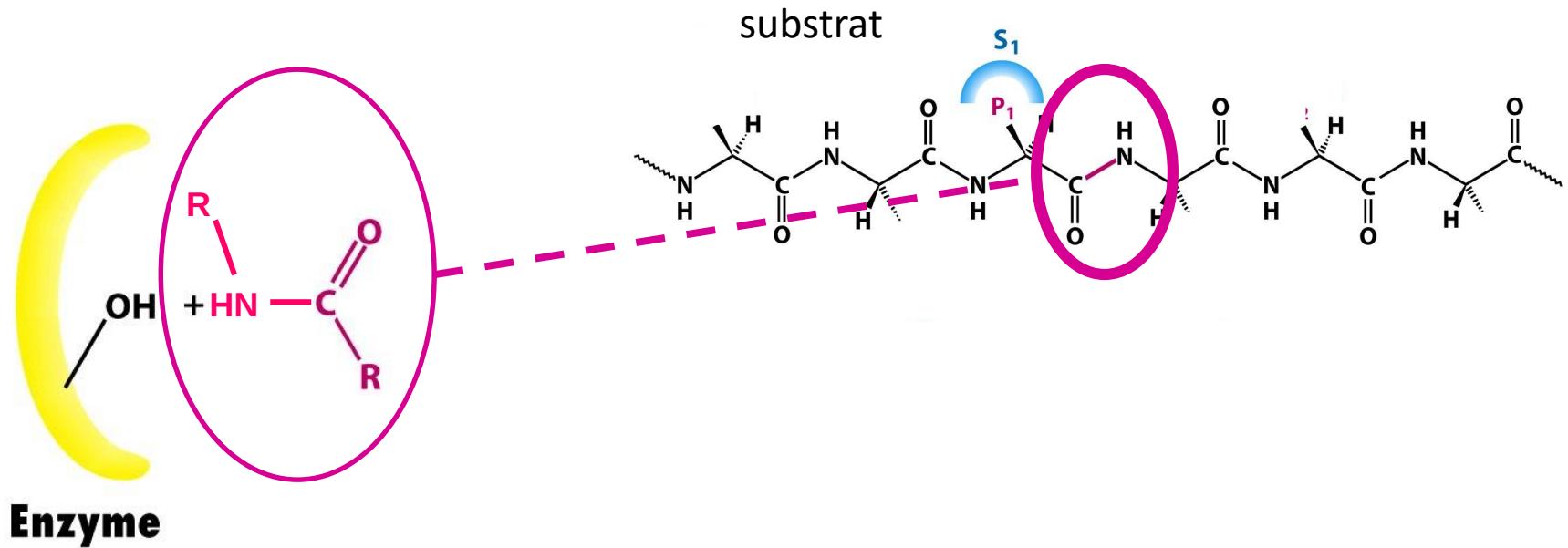


Stabilisation de l'état de transition

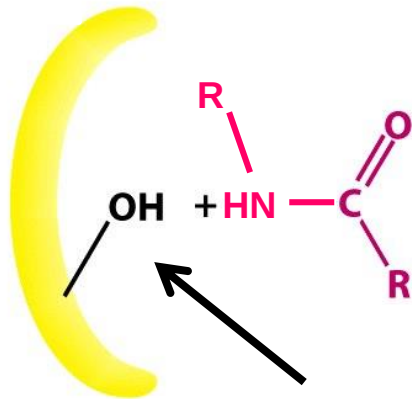
Stabilisation de l'état de transition



Mécanisme de la catalyse: catalyse covalente

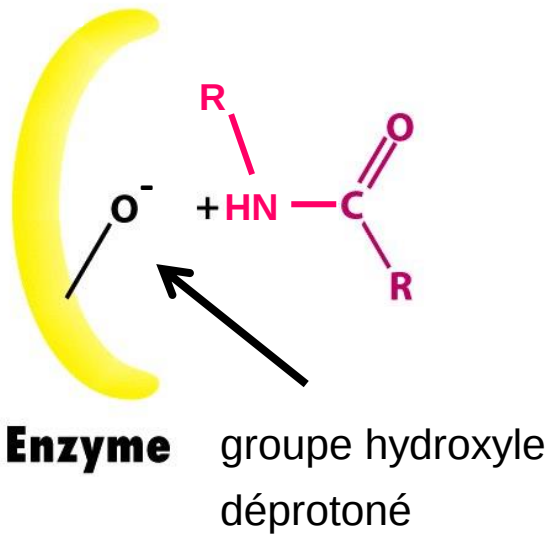


Catalyse covalente

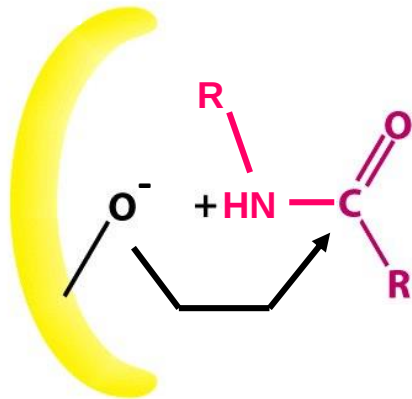


Enzyme groupe hydroxyle
de la sérine 195

Catalyse covalente

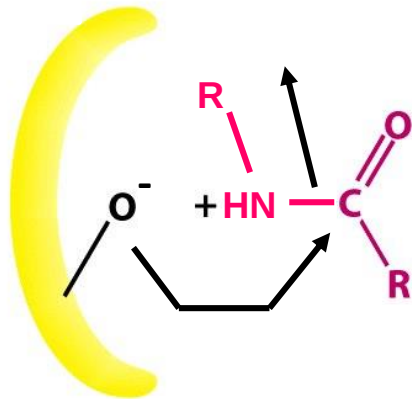


Catalyse covalente



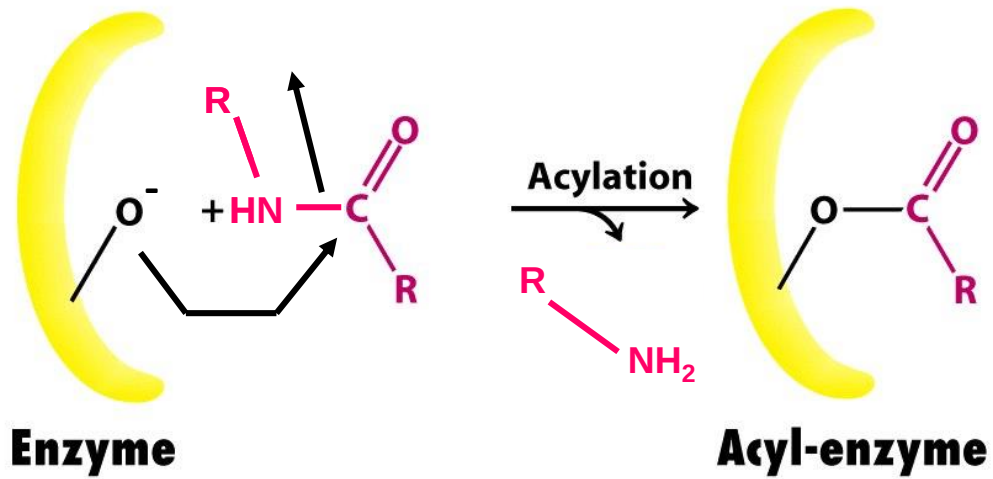
Enzyme

Catalyse covalente

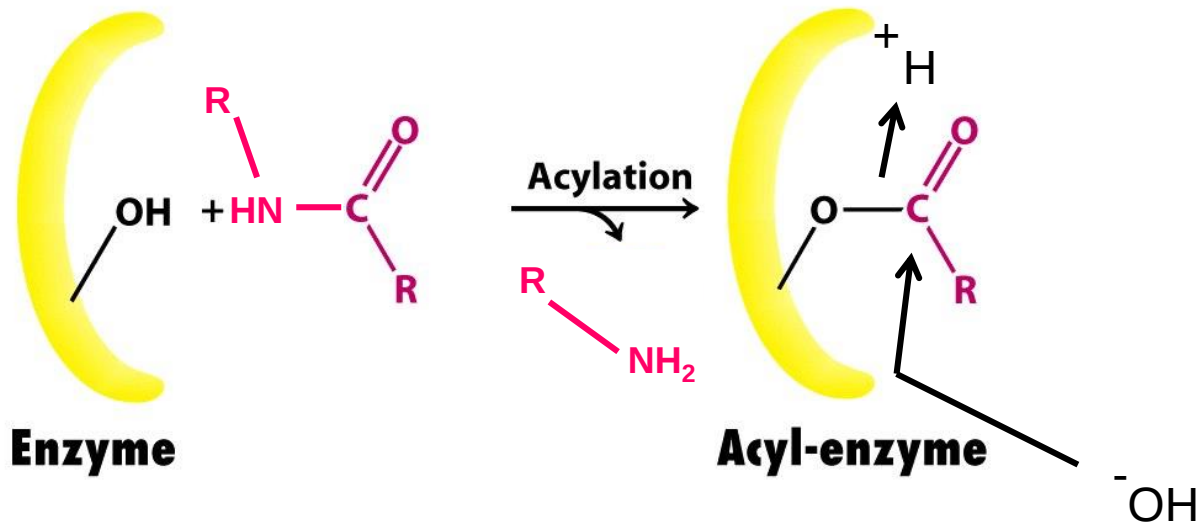


Enzyme

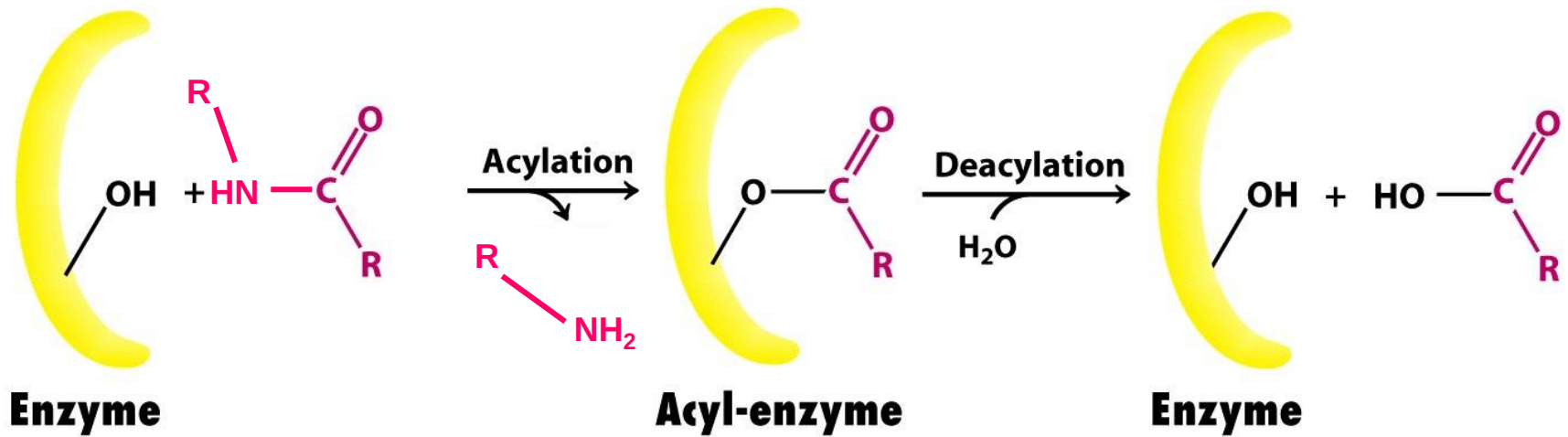
Catalyse covalente



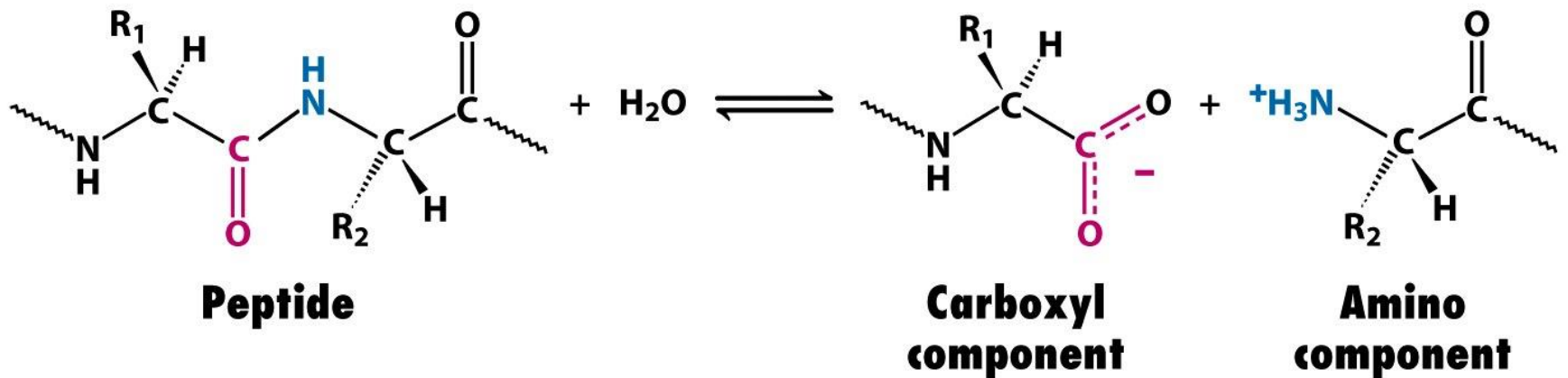
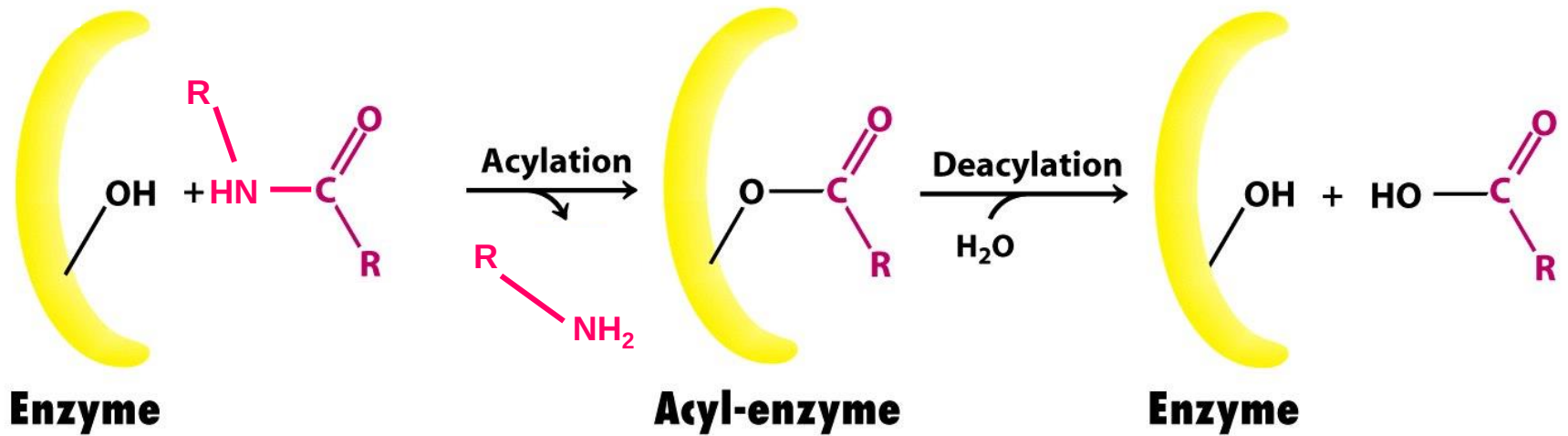
Catalyse covalente



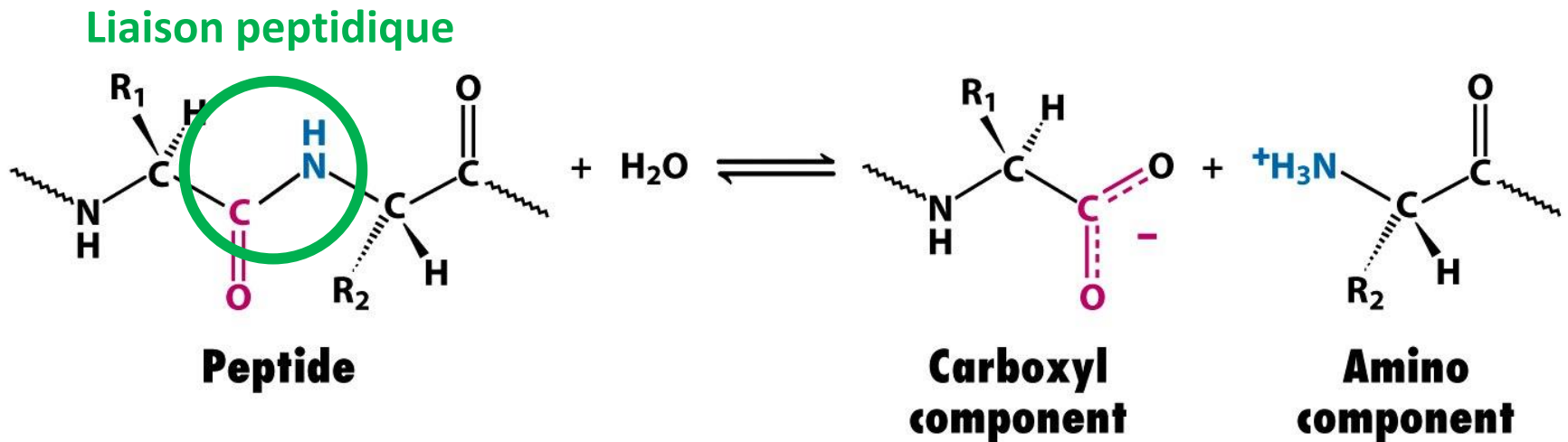
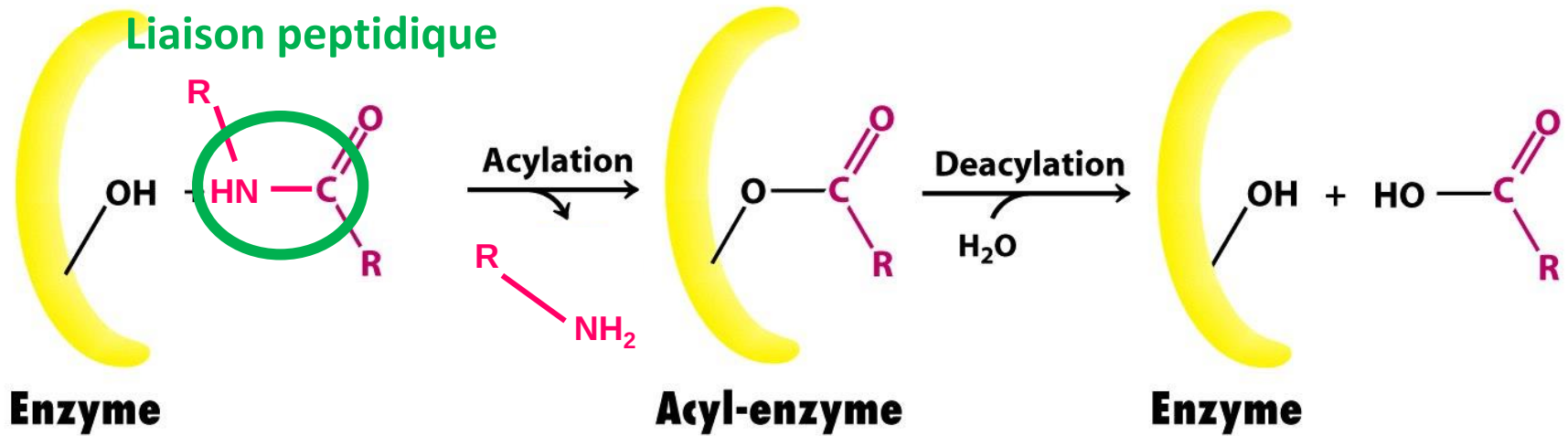
Catalyse covalente



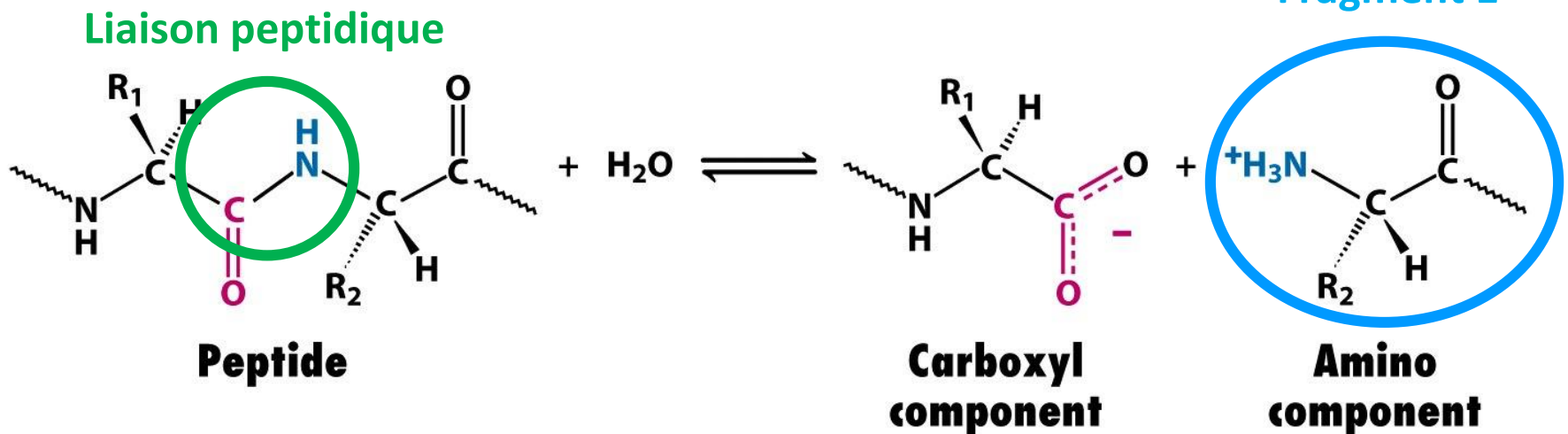
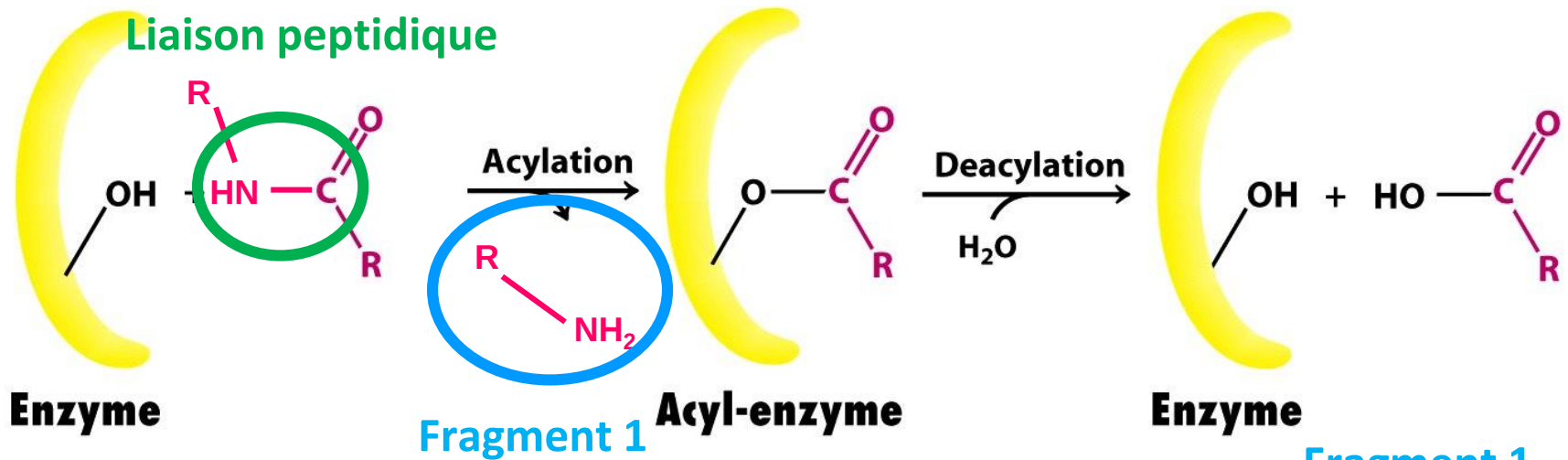
Catalyse covalente



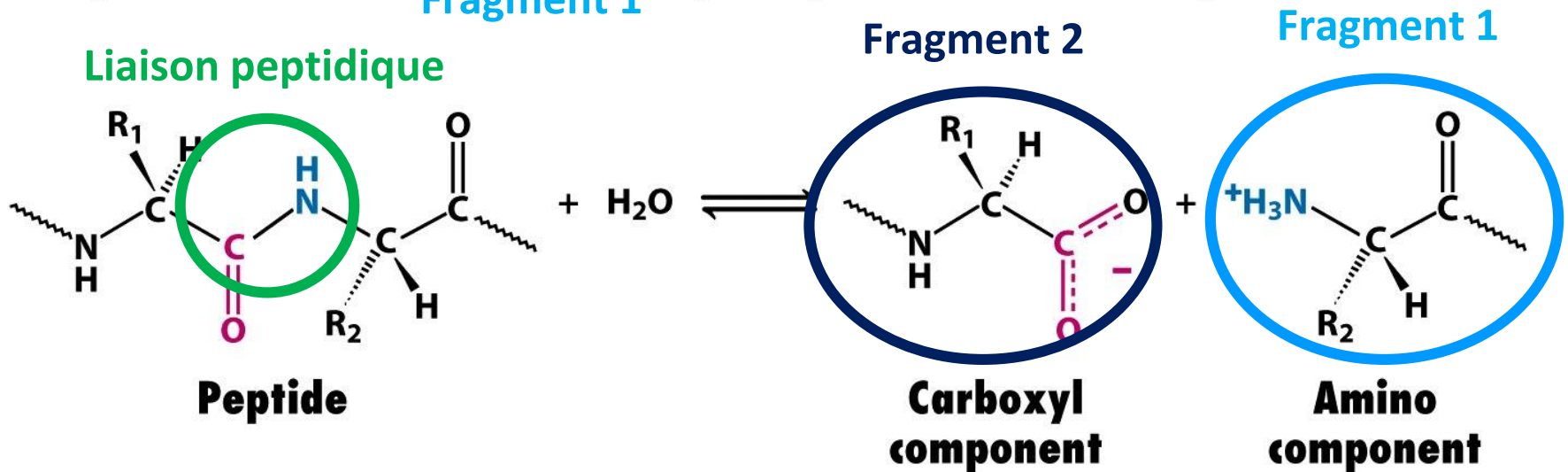
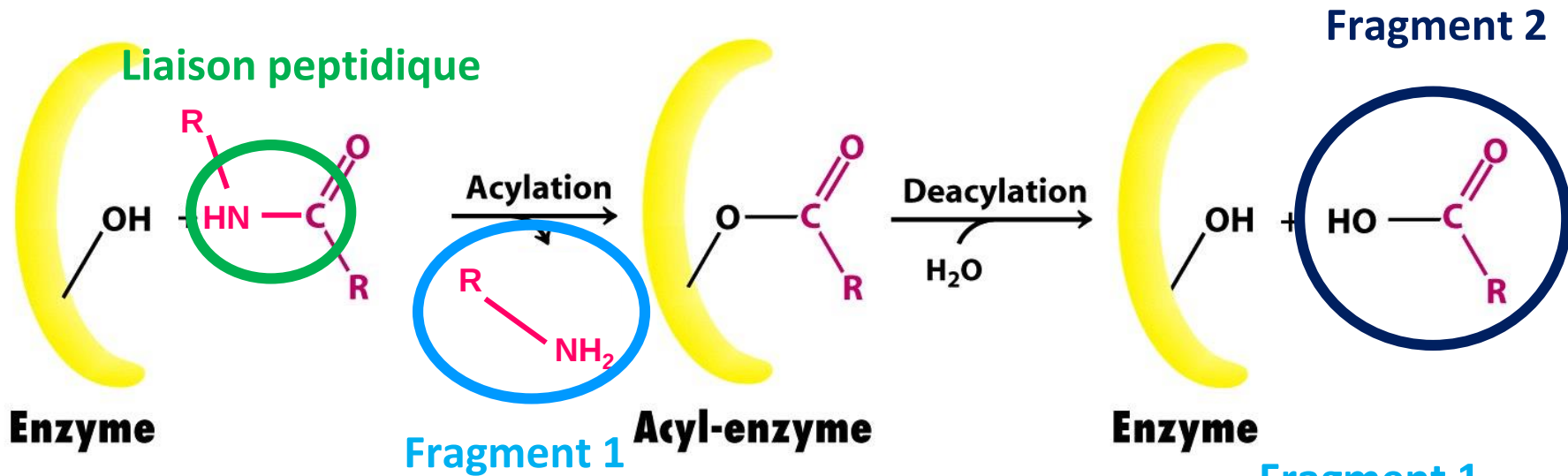
Catalyse covalente



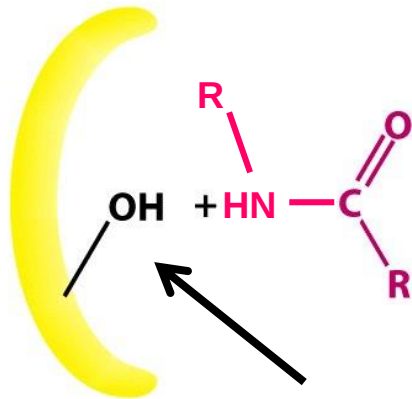
Catalyse covalente



Catalyse covalente

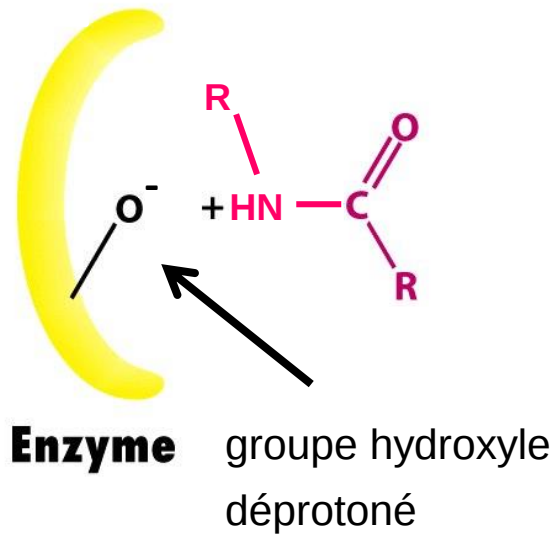


Catalyse covalente



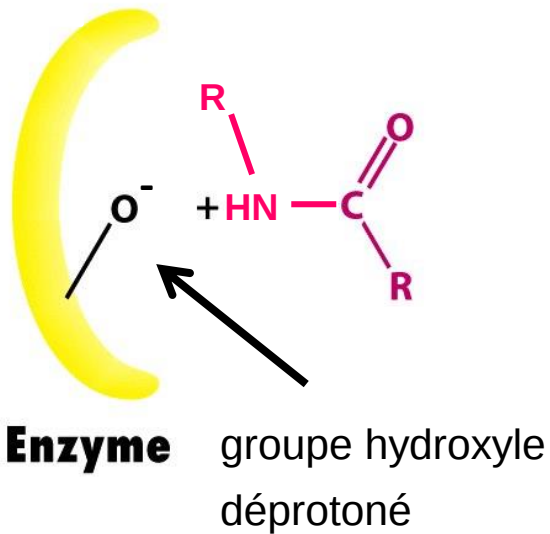
Enzyme groupe hydroxyle
de la sérine 195

Catalyse covalente



Quel est le rapport $\frac{[\text{serine } O^-]}{[\text{serine OH}]}$?

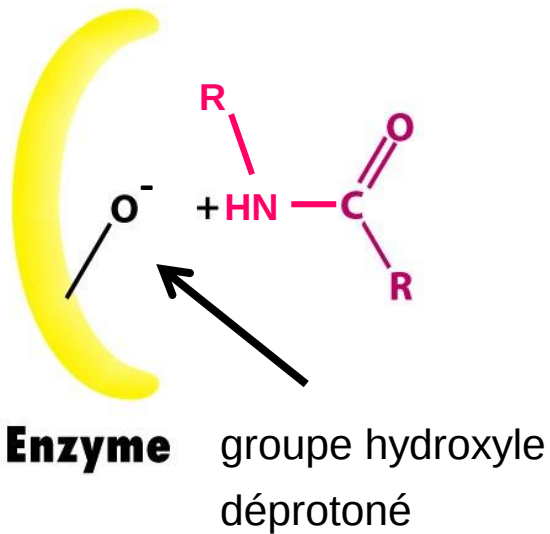
Catalyse covalente



Quel est le rapport $\frac{[\text{serine } O^-]}{[\text{serine OH}]}$?

Quel est le pK_a de serine?

Catalyse covalente

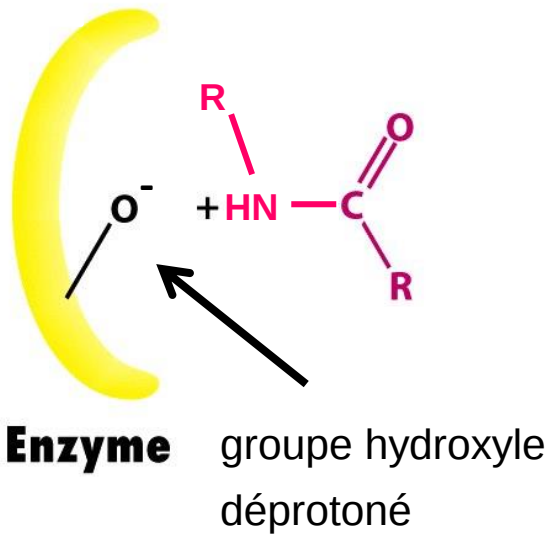


Quel est le rapport $\frac{[\text{serine } O^-]}{[\text{serine OH}]}$?

Quel est le pK_a de serine?

$$pK_a = 13$$

Catalyse covalente



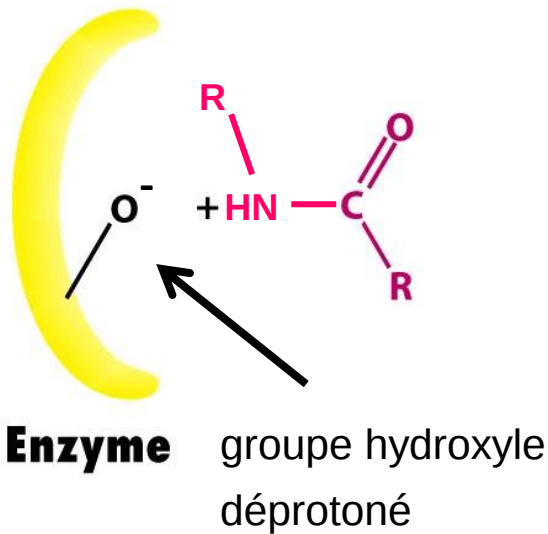
Quel est le rapport $\frac{[\text{serine O}^-]}{[\text{serine OH}]}$?

Quel est le pK_a de serine?

$$pK_a = 13$$

$$\frac{[\text{serine O}^-]}{[\text{serine OH}]} = \frac{K_a}{[H^+]}$$

Catalyse covalente



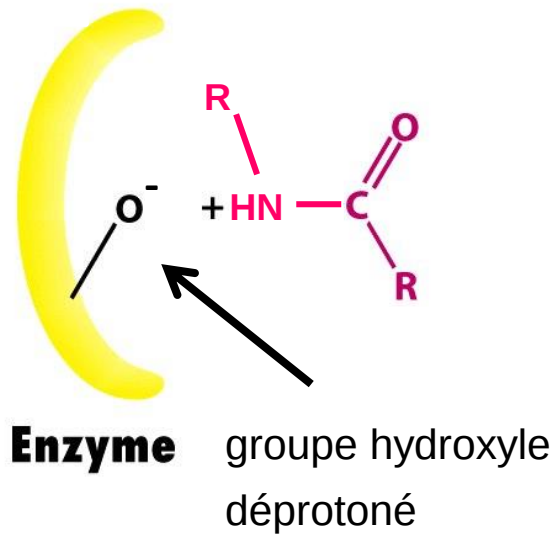
Quel est le rapport $\frac{[\text{serine O}^-]}{[\text{serine OH}]}$?

Quel est le pK_a de serine?

$$pK_a = 13$$

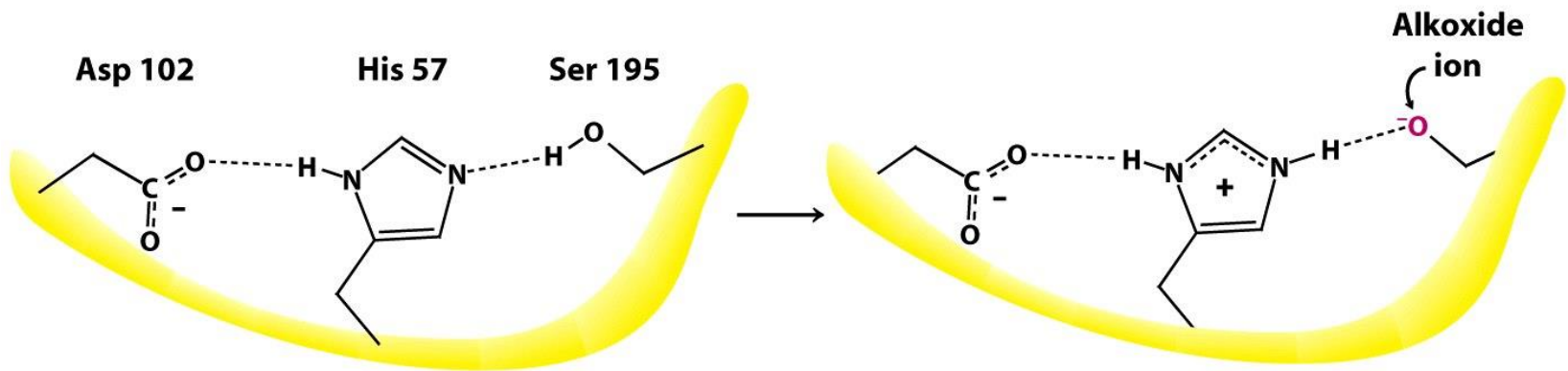
$$\frac{[\text{serine O}^-]}{[\text{serine OH}]} = \frac{K_a}{[H^+]} = \frac{10^{-13}}{10^{-7.4}} = \frac{1}{400'000}$$

Catalyse covalente

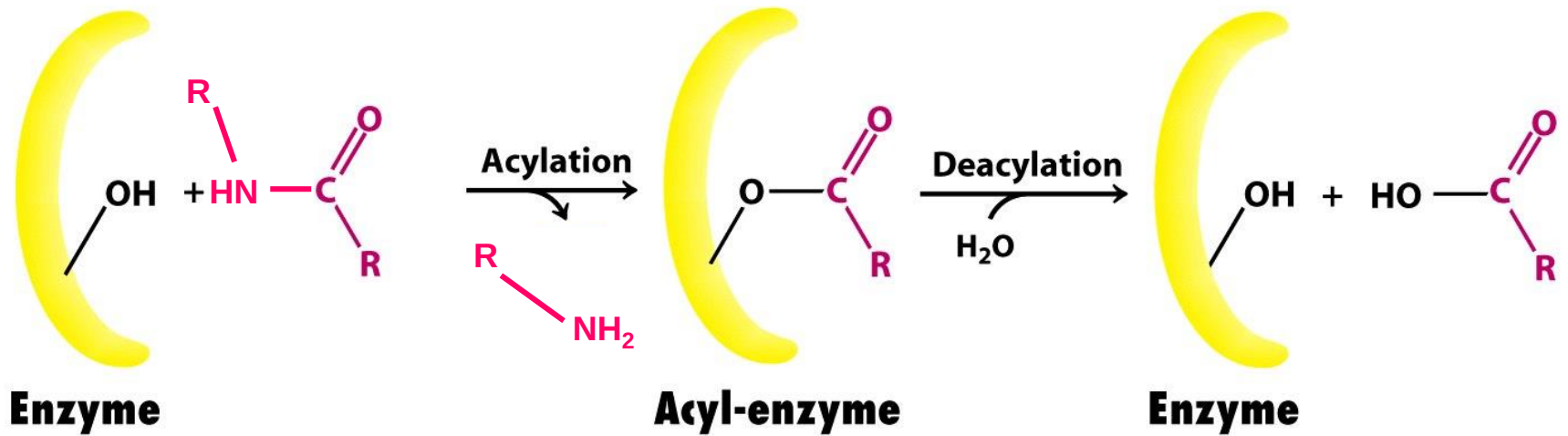


Comment est-ce que l'enzyme peut changer le pK_a de serine 195?

Triade catalytique



Catalyse covalente



Mécanismes catalytiques des sérine protéases

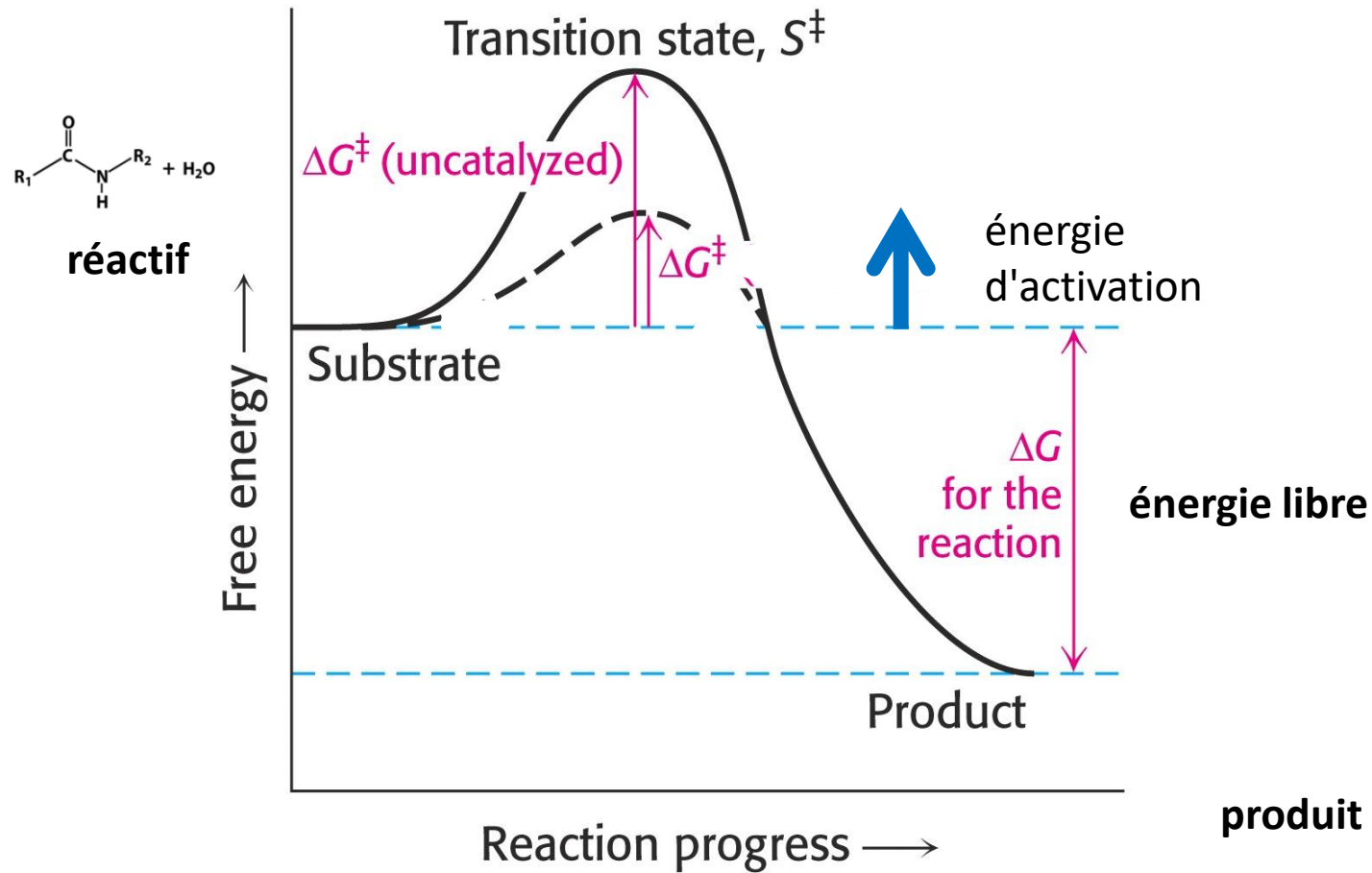


chymotrypsine

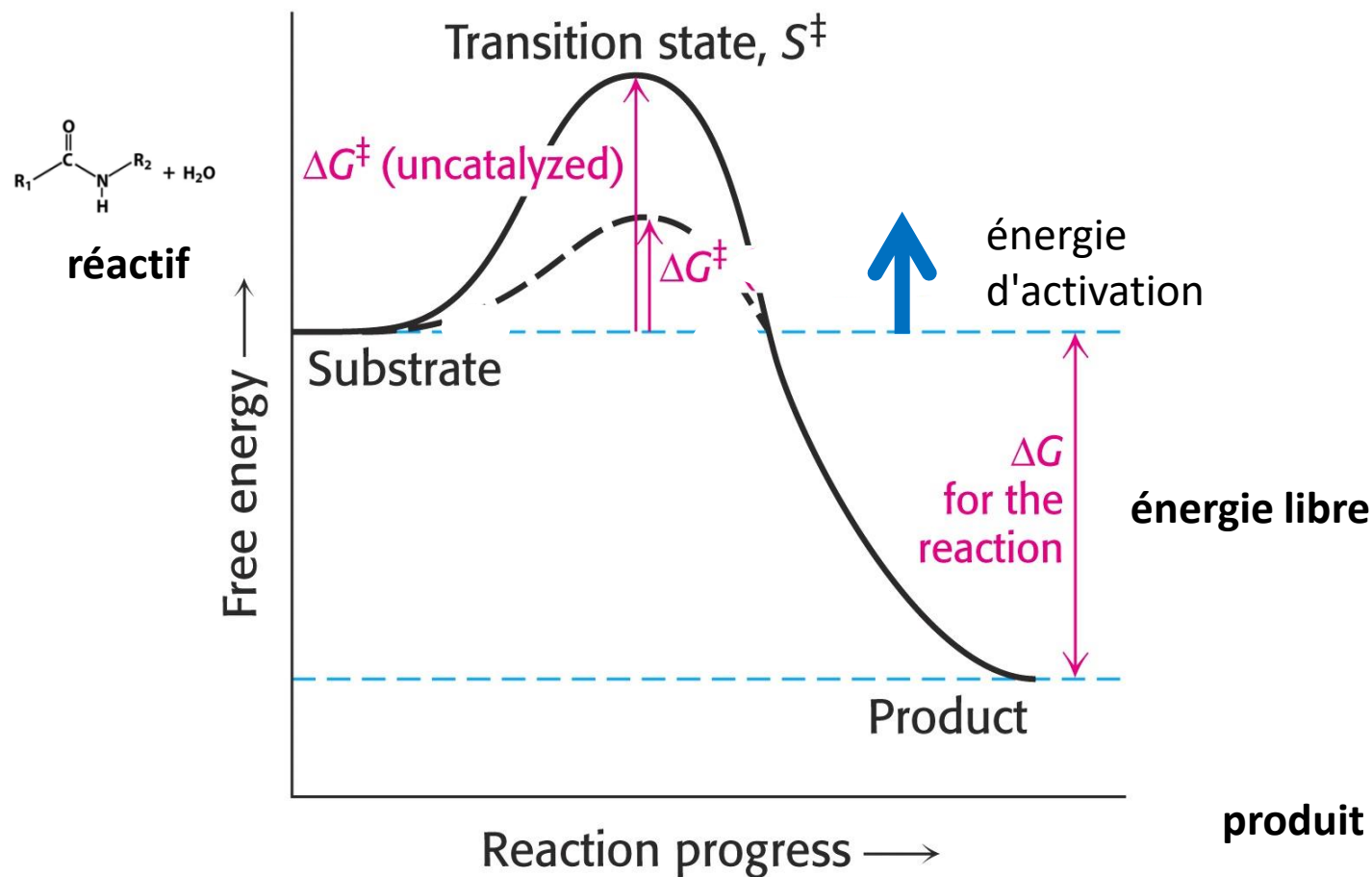


Stabilisation de l'état de transition

Stabilisation de l'état de transition

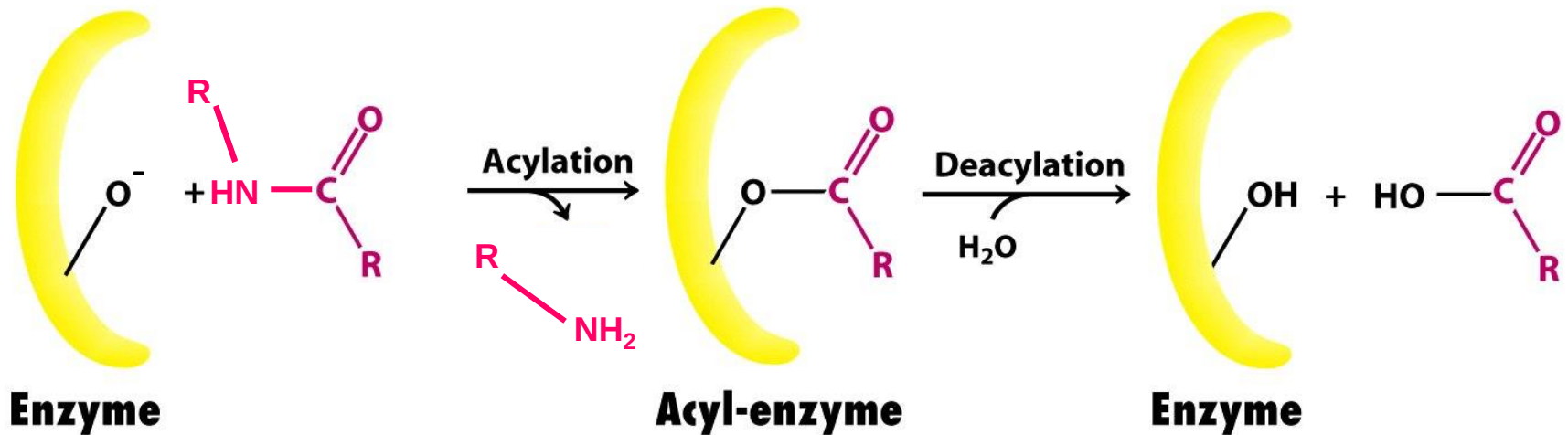


Stabilisation de l'état de transition



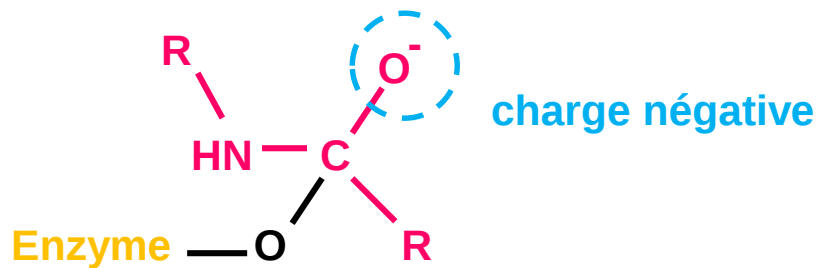
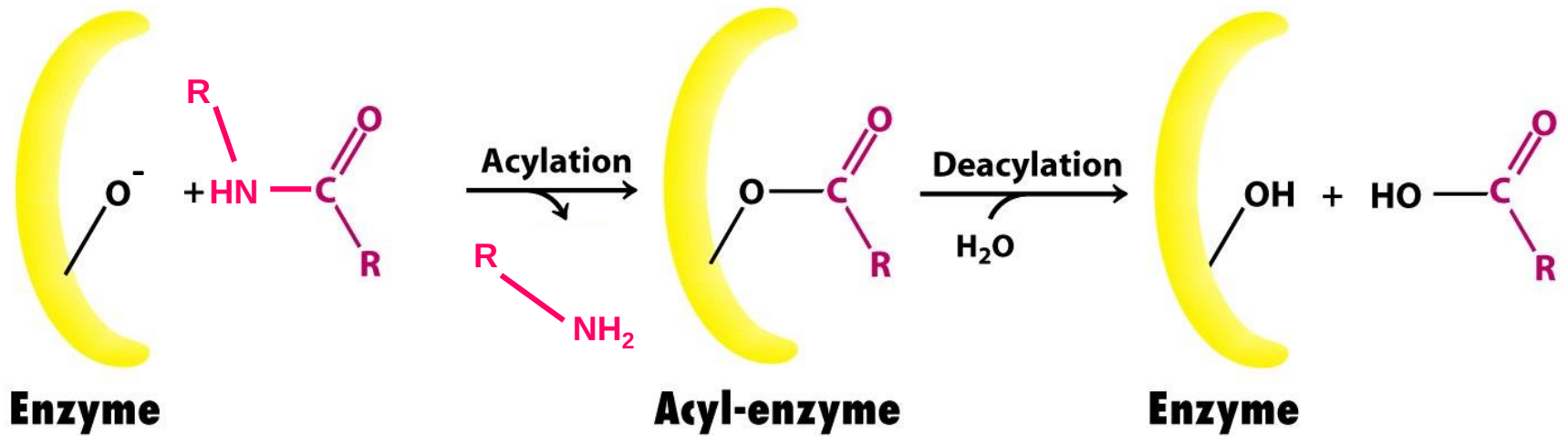
Quel état de transition doit-il être stabilisé?

Catalyse covalente

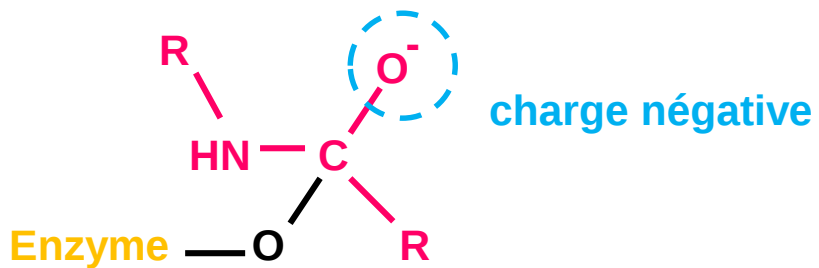
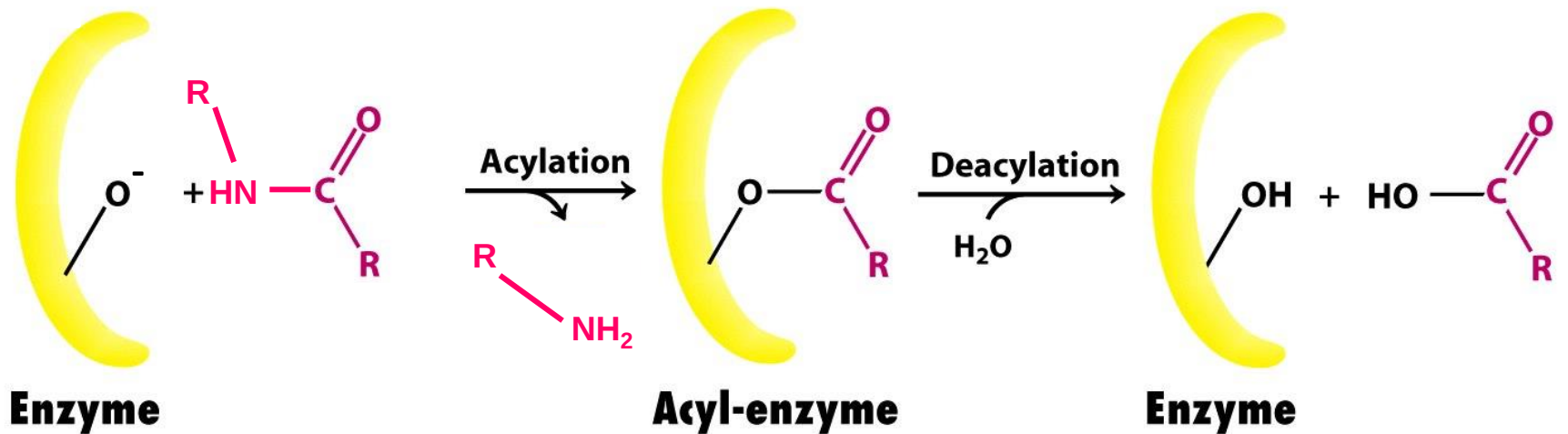


Quel état de transition doit-il être stabilisé?

Catalyse covalente

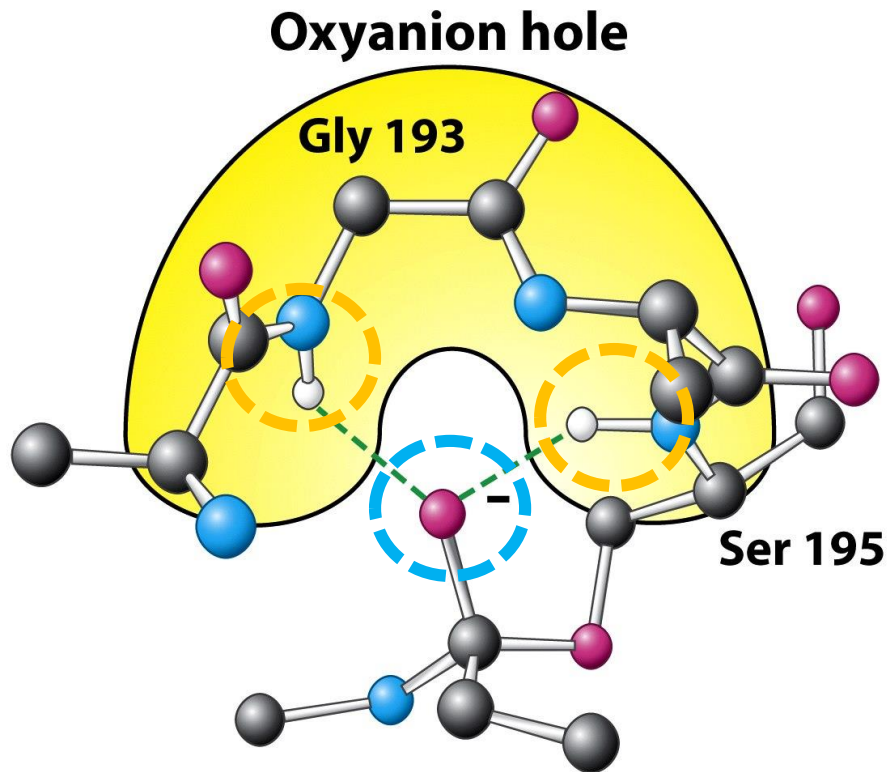


Catalyse covalente



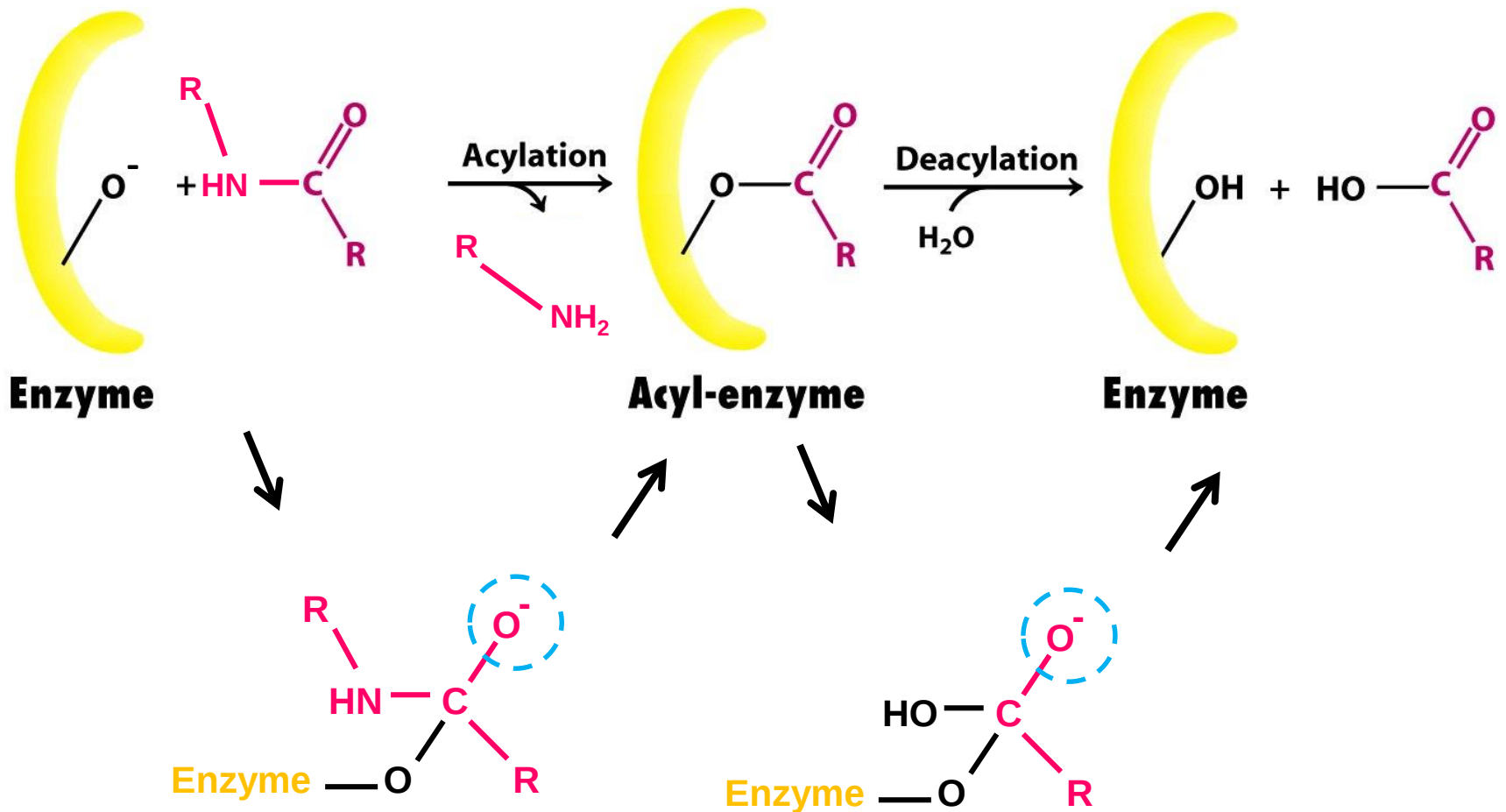
Comment peut-on stabiliser cet état de transition?

Etat de transition: **groupe carbonyle chargé négativement**



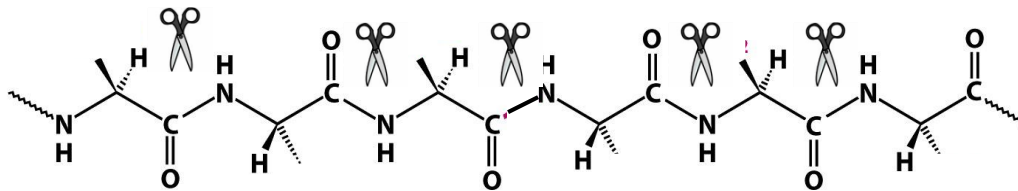
L'état de transition est stabilisé par des **liaisons hydrogène**

Catalyse covalente



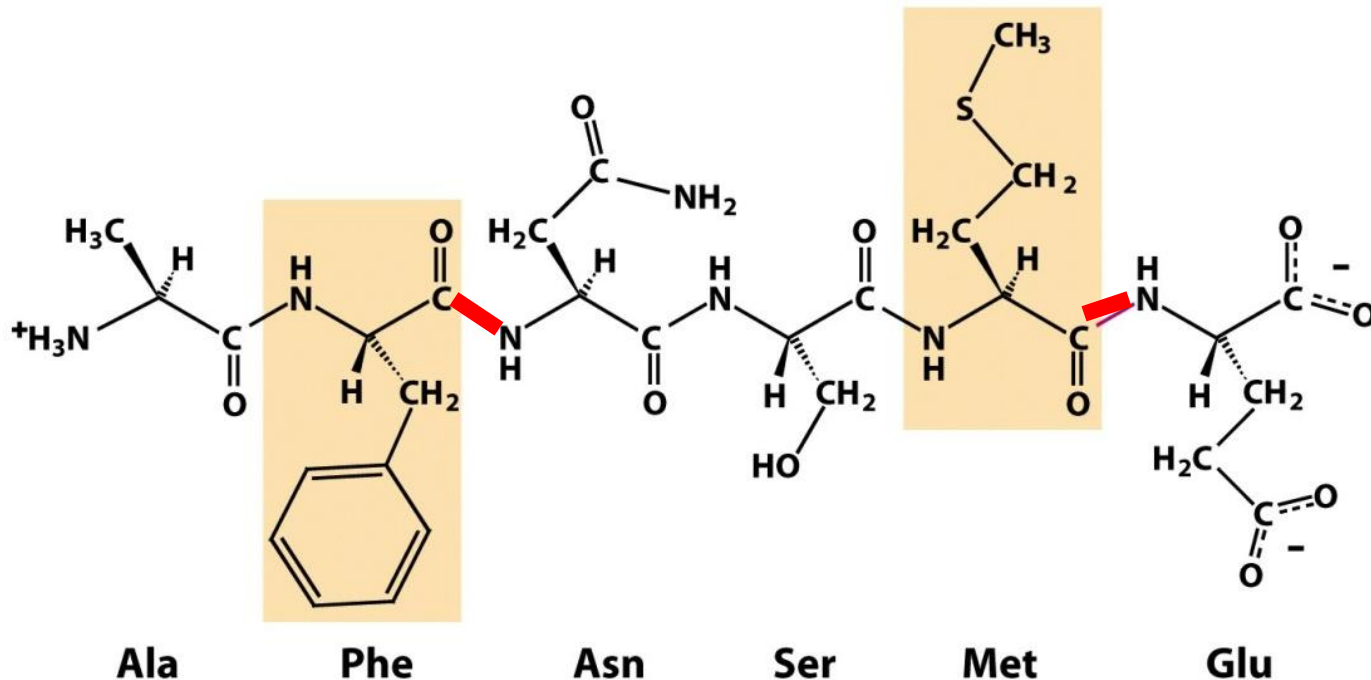
Spécificité de la chymotrypsine

La chymotrypsine peut-elle cliver toutes les liaisons peptidiques?



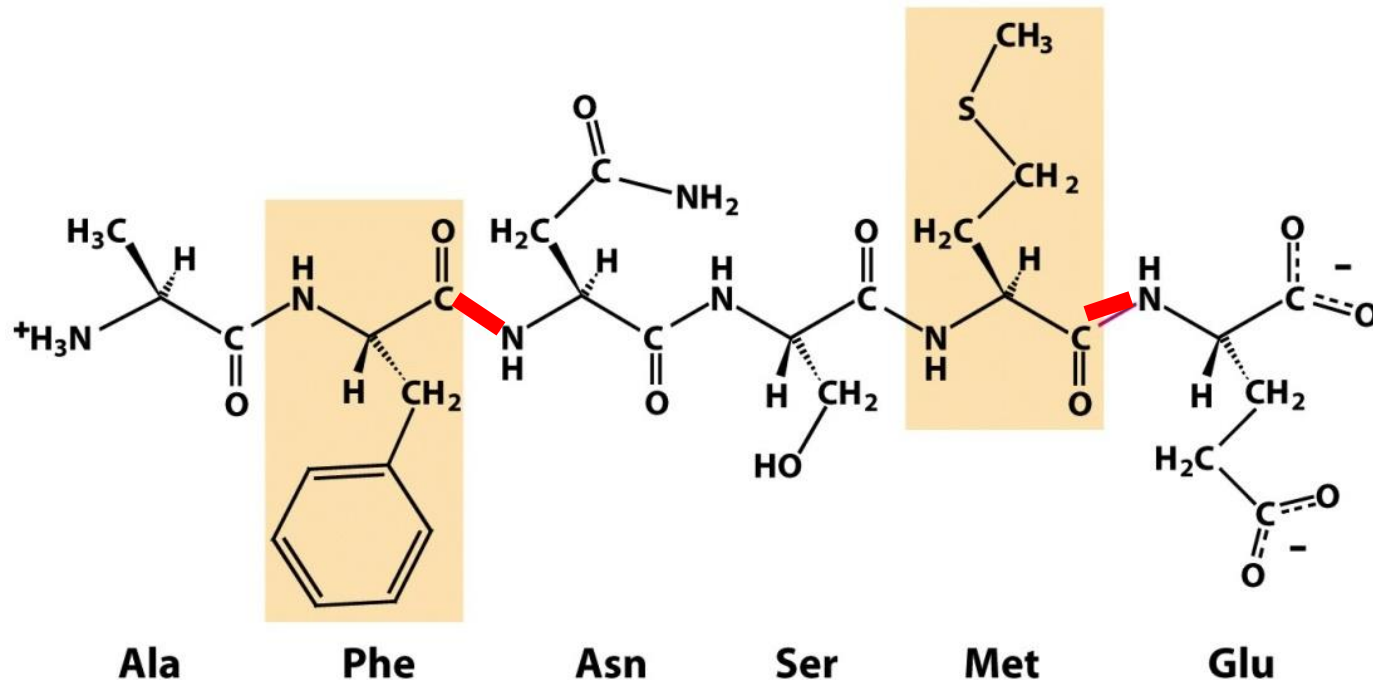
Spécificité de la chymotrypsine

La chymotrypsine clive au niveau des liaisons peptidiques situées **après** des résidus avec de longues chaînes latérales hydrophobes



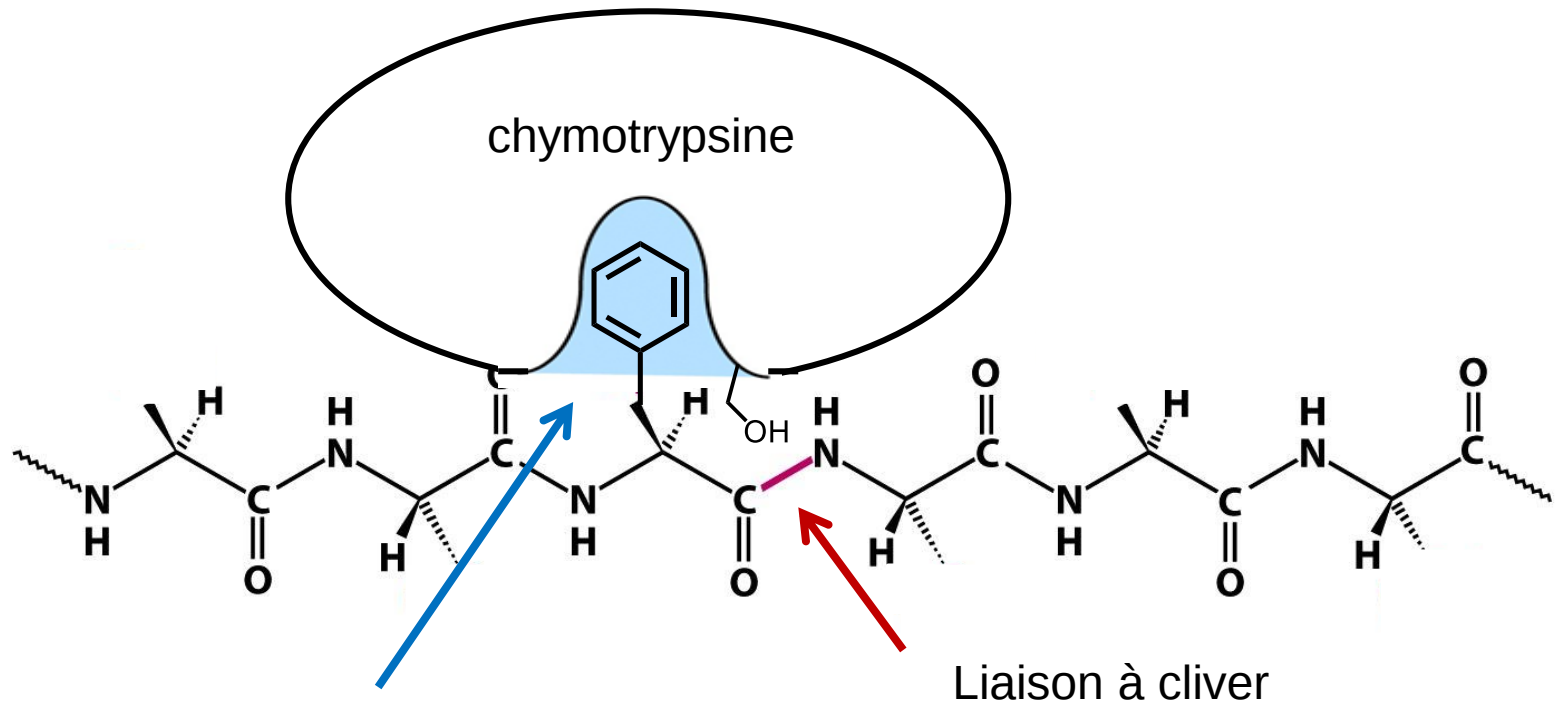
Spécificité de la chymotrypsine

La chymotrypsine clive au niveau des liaisons peptidiques situées **après des résidus avec de longues chaînes latérales hydrophobes**

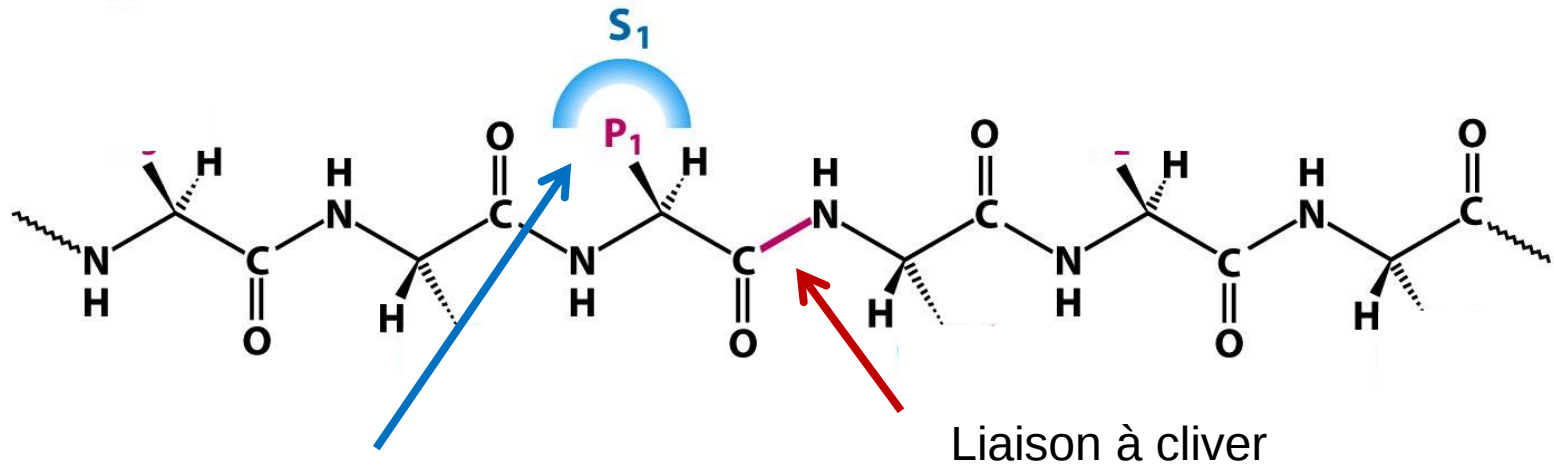


Quelle partie de la chymotrypsine détermine la spécificité?

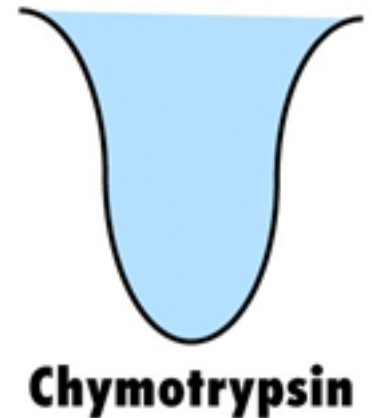
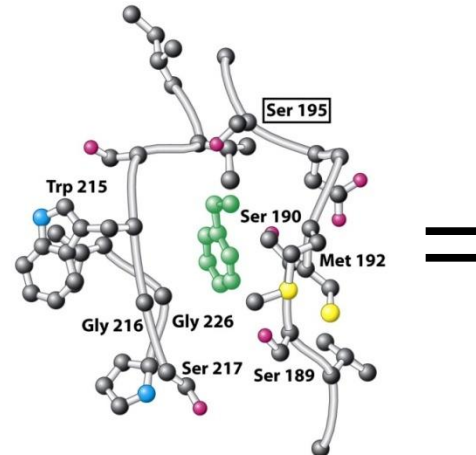
Spécificité de la chymotrypsine



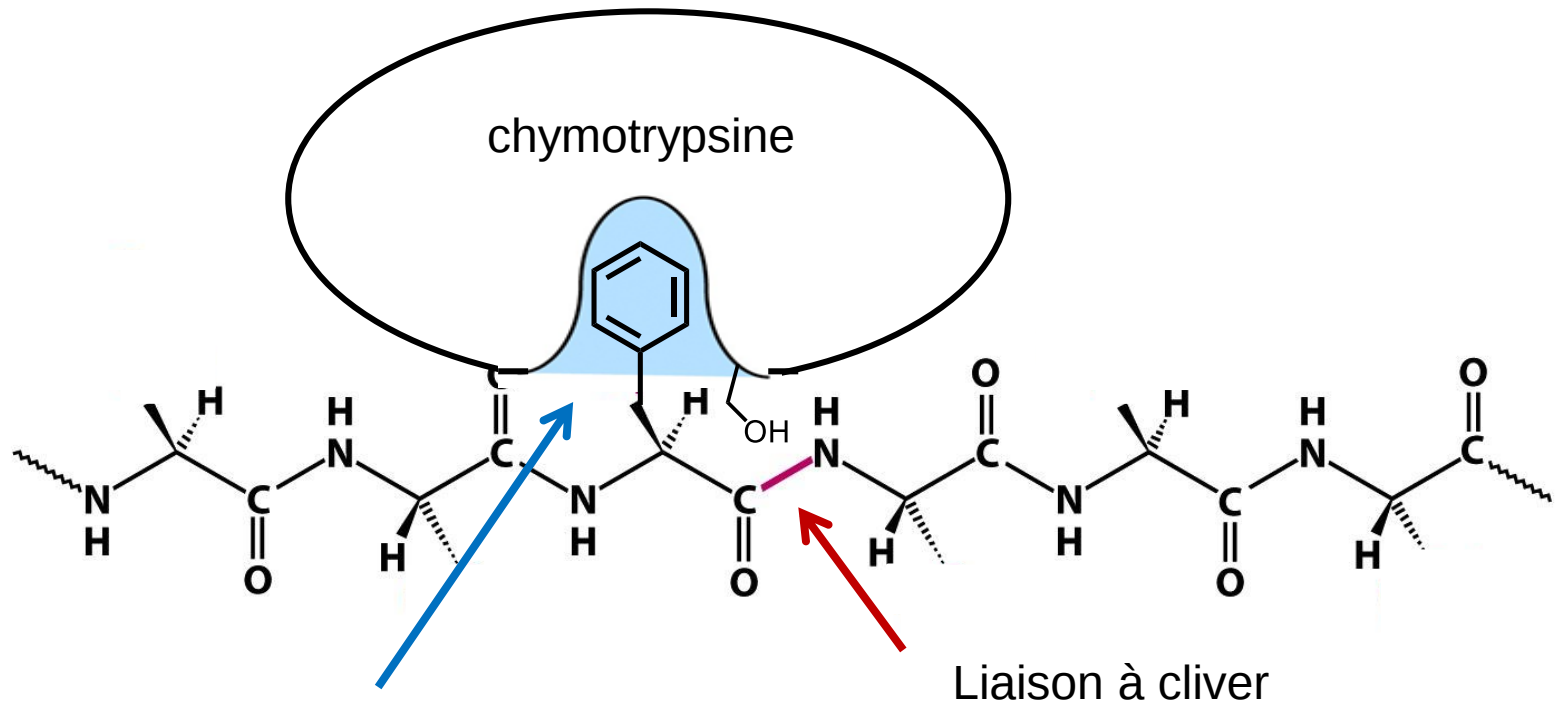
Spécificité de la chymotrypsine



Poche formant des interactions avec les chaînes latérales hydrophobes

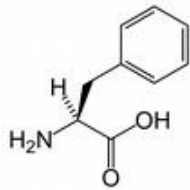


Spécificité de la chymotrypsine

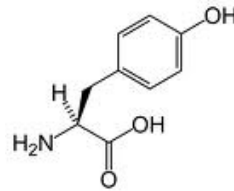


Quels sont les aminoacides avec de longues chaînes hydrophobiques?

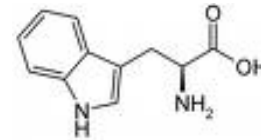
Spécificités des sérine protéases



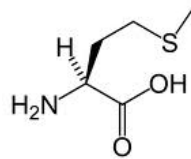
phenylalanine



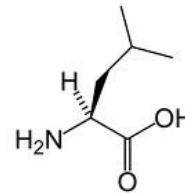
tyrosine



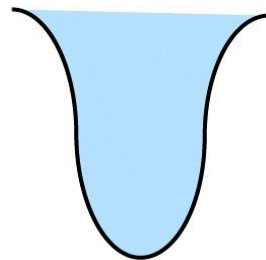
tryptophane



methionine

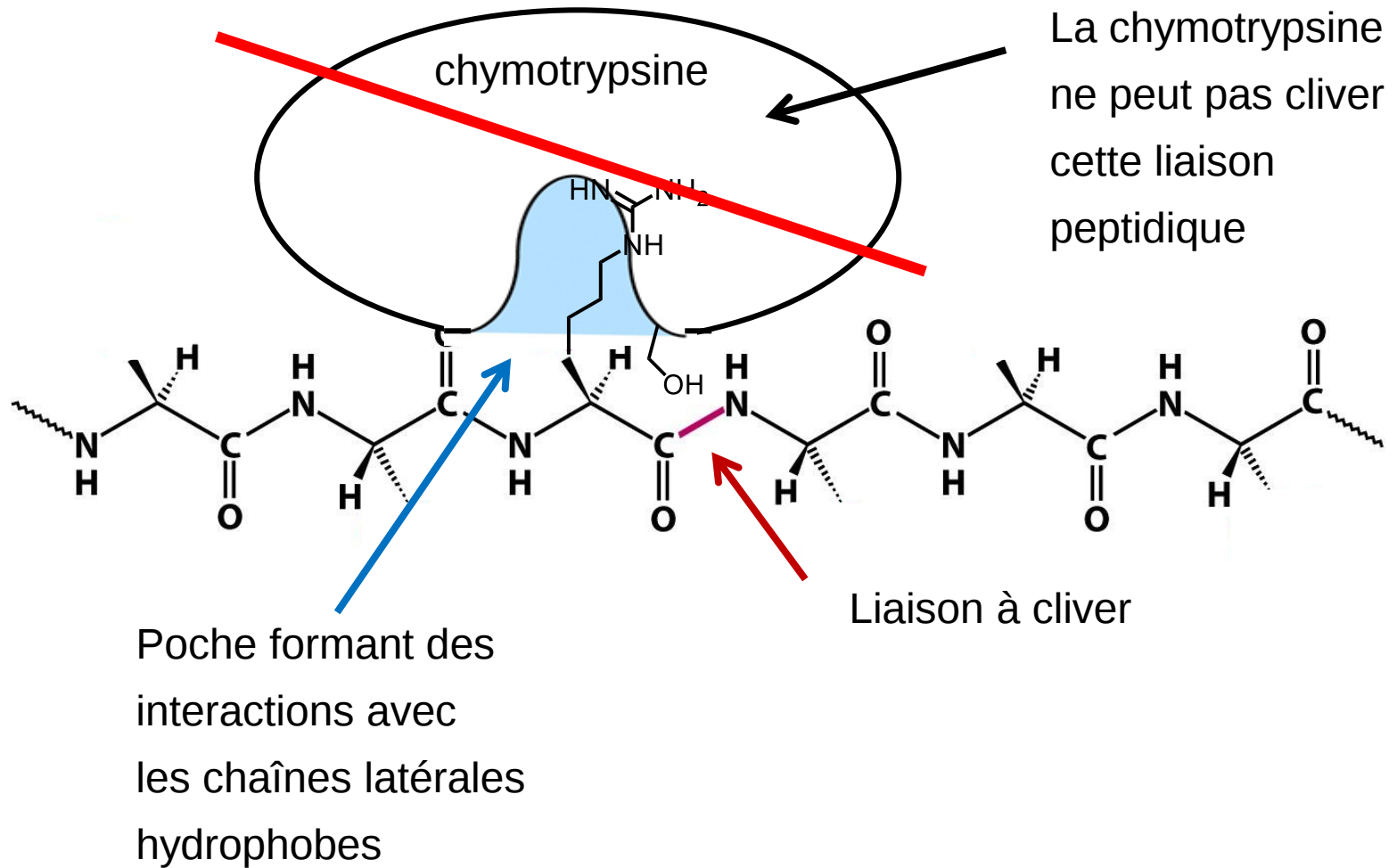


leucine



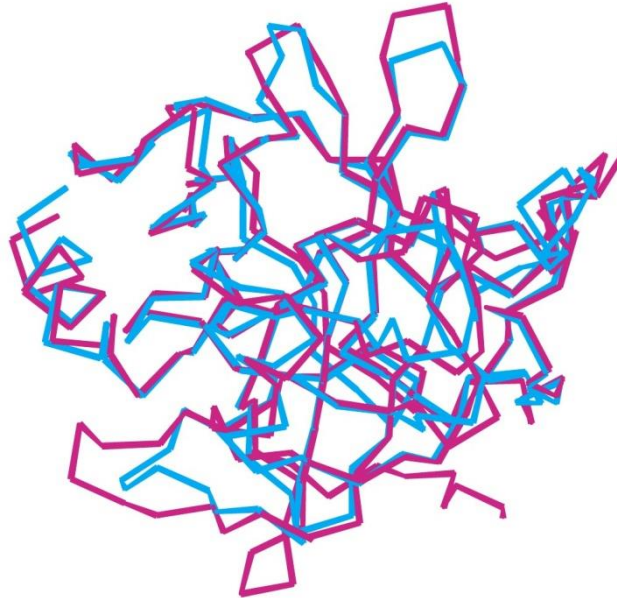
Chymotrypsin

Spécificité de la chymotrypsine



Spécificités de la sérine protéase 'trypsine'

Structures de la **trypsine**
et de la **chymotrypsin**

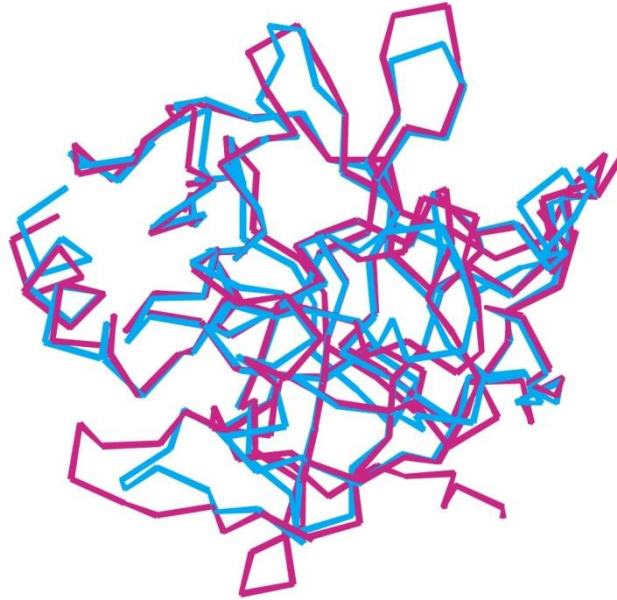


Spécificités:

- Chymotrypsin: Tyr, Phe, Met, Trp, Leu
- Trypsin: Lys, Arg

Spécificités de la sérine protéase 'trypsine'

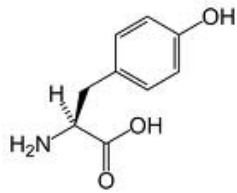
Structures de la **trypsine**
et de la **chymotrypsin**



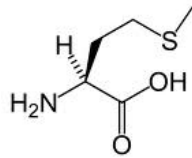
- Spécificités:**
- Chymotrypsin: Tyr, Phe, Met, Trp, Leu
 - Trypsin: Lys, Arg

Pourquoi les spécificités de la trypsine et de la chymotrypsine sont-elles différentes?

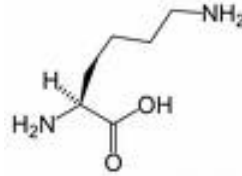
Spécificités des sérine protéases



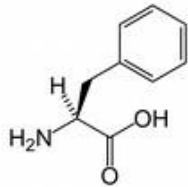
tyrosine



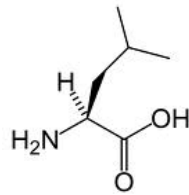
methionine



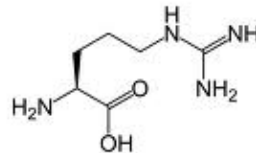
lysine



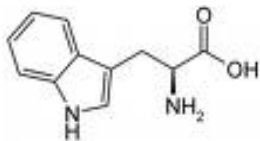
phenylalanine



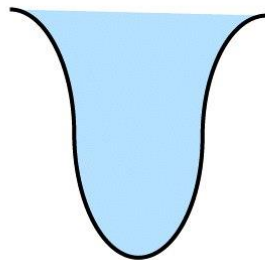
leucine



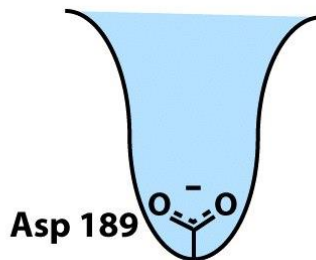
arginine



tryptophane



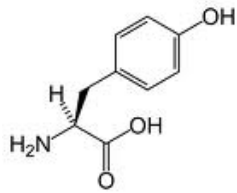
Chymotrypsin



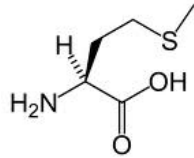
Asp 189

Trypsin

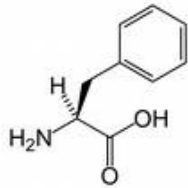
Spécificités des sérine protéases



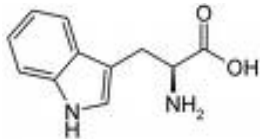
tyrosine



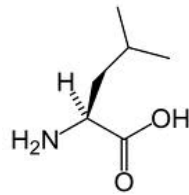
methionine



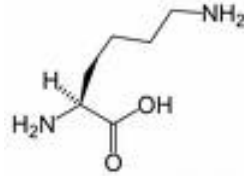
phenylalanine



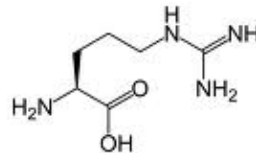
tryptophane



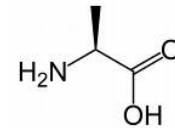
leucine



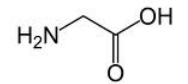
lysine



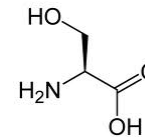
arginine



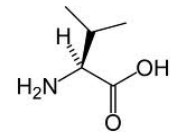
alanine



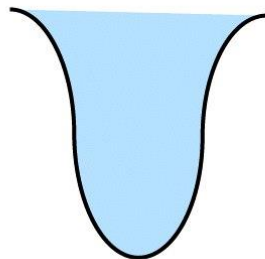
glycine



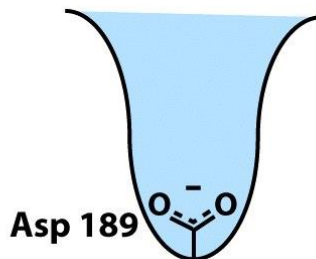
serine



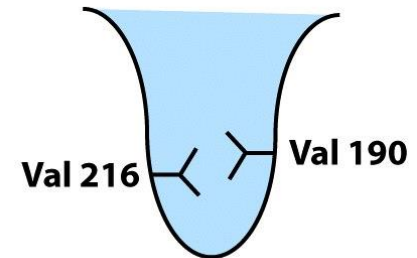
valine



Chymotrypsin



Trypsin

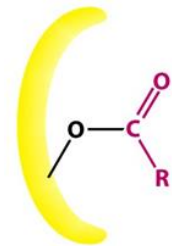


Elastase

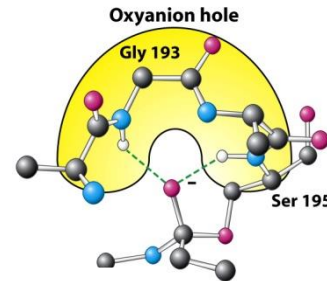
Résumé des mécanismes catalytiques

Activité:

- Stabilisation de l'état de transition
- Catalyse covalente
(avec triade catalytique)

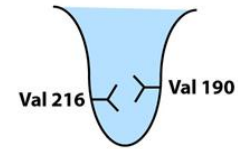
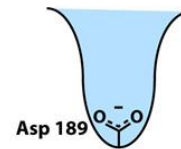
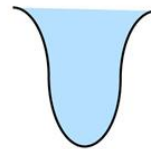


Acyl-enzyme



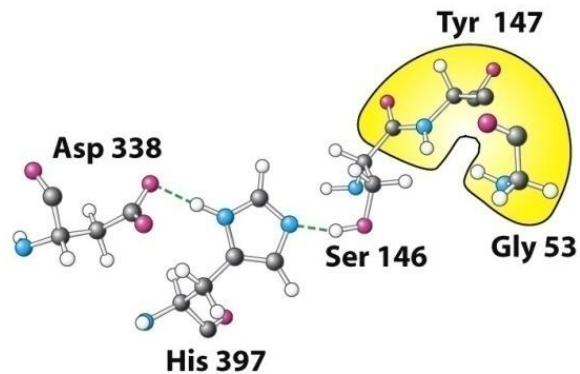
Spécificité:

- Complémentarité

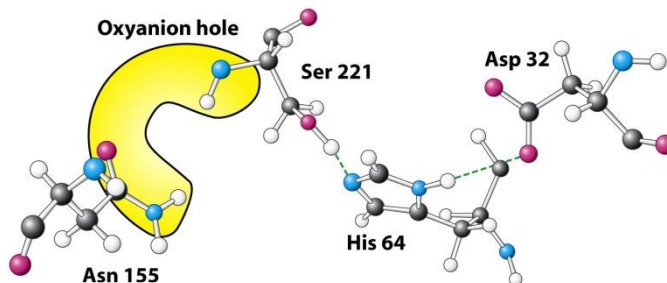


Triade catalytiques dans des autres protéases

Carboxypeptidase II

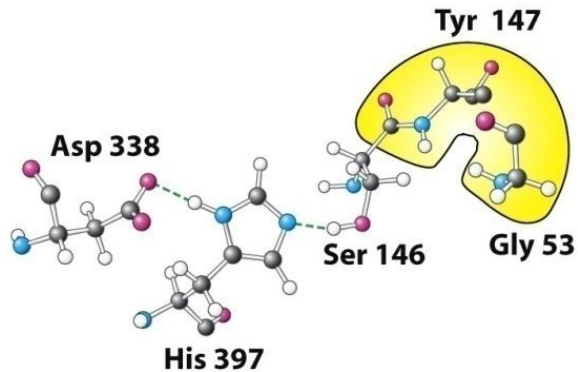


Subtilisine



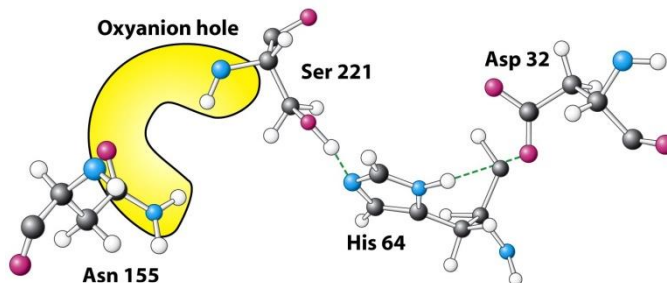
Triade catalytiques dans des autres protéases

Carboxypeptidase II



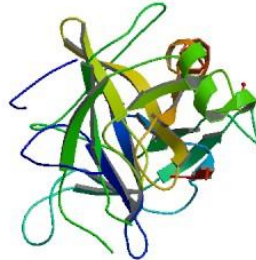
L'évolution divergente?

Subtilisine

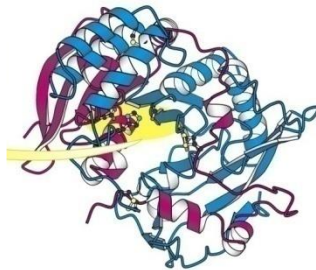


Carboxypeptidase II et subtilisine

Chymotrypsine



Carboxypeptidase II



Subtilisine

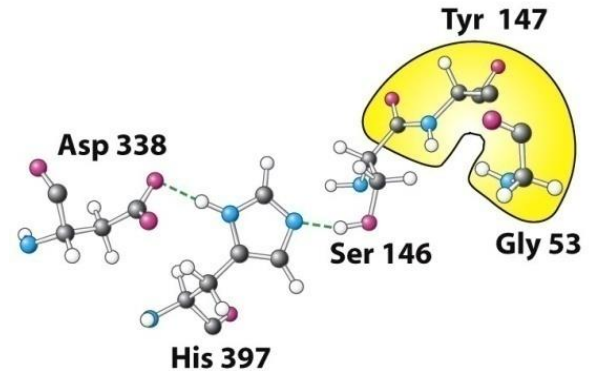


Carboxypeptidase II et subtilisine

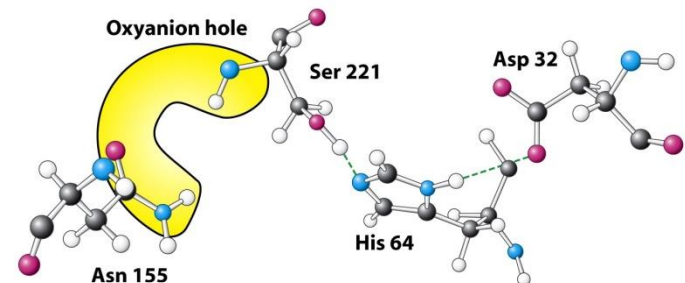
→ La triade catalytique s'est développée indépendamment trois fois dans l'évolution!

→ Evolution convergente

Carboxypeptidase II



Subtilisine



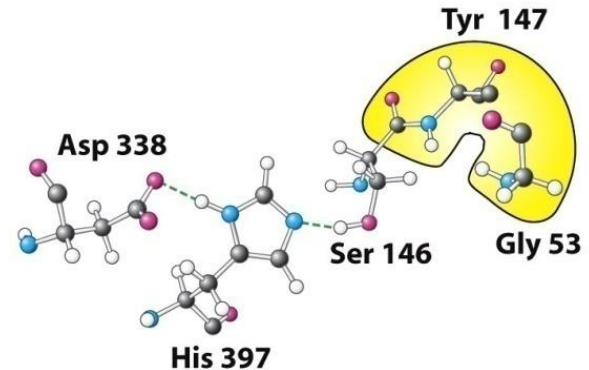
Carboxypeptidase II et subtilisine

→ La triade catalytique s'est développée indépendamment trois fois dans l'évolution!

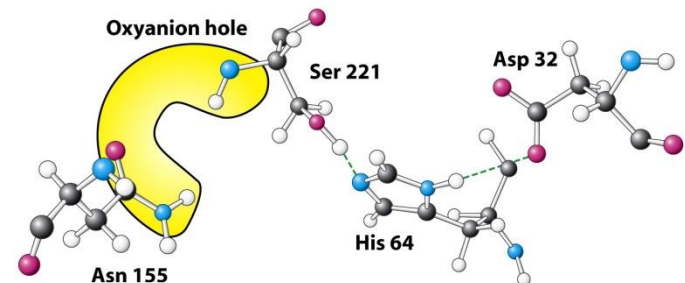
→ Evolution convergente

Y a-t-il d'autres exemples d'évolution convergente?

Carboxypeptidase II

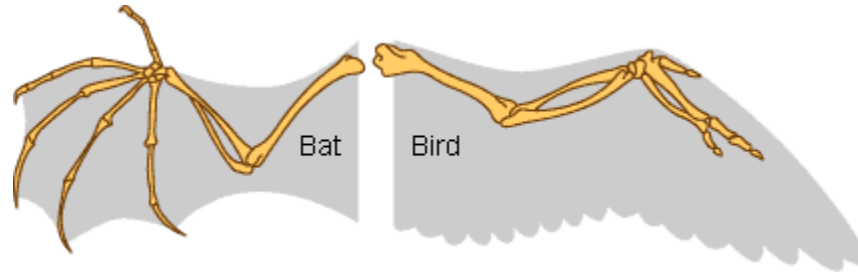


Subtilisine



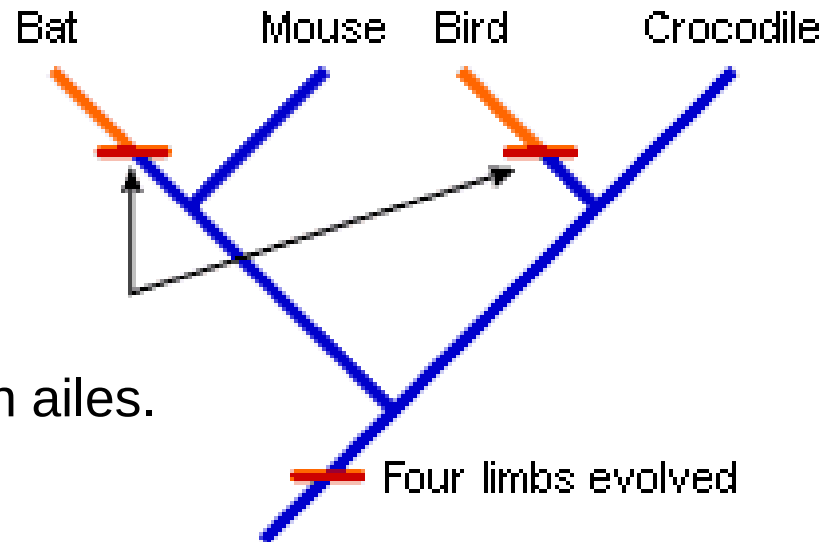
Evolution convergente

une chauve-souris



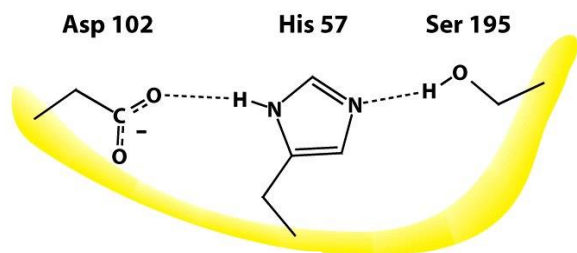
un oiseau

Les pattes de
devant se sont
transformées en ailes.

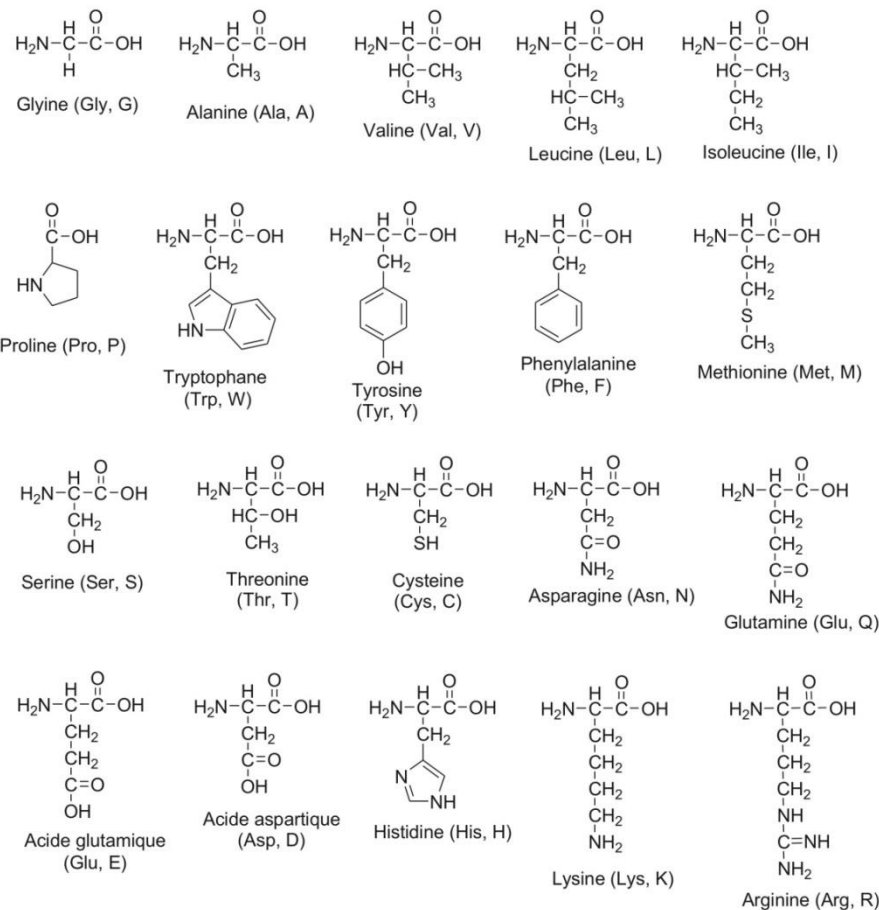


Quelques espèces
ont développé
des qualités
(p.ex. **une aile**)
indépendantes

Autres stratégies catalytique pour l'hydrolyse de peptides

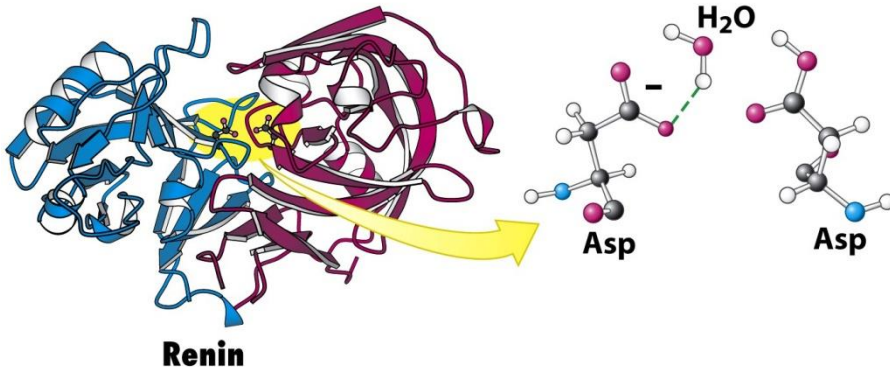


*D'autres acides aminés
peuvent-ils catalyser l'hydrolyse
de peptides?*

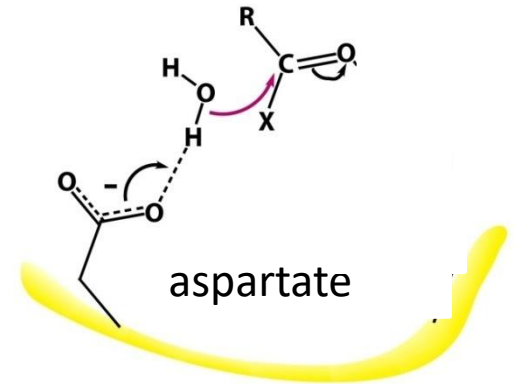


Autres classes de protéases

ASPARTYL PROTEASES

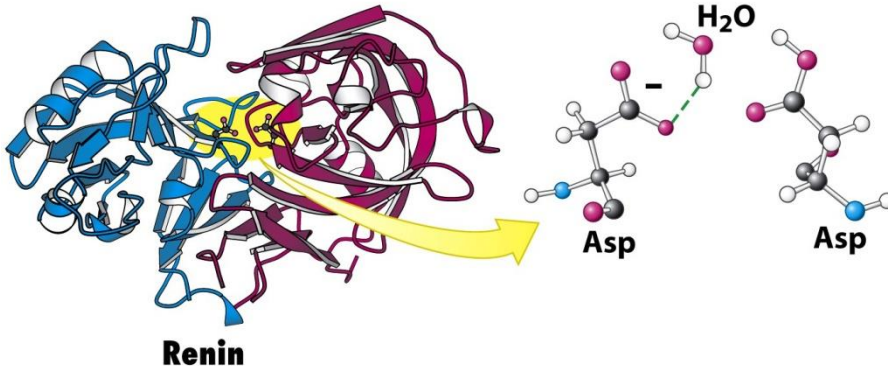


ASPARTYL PROTEASES

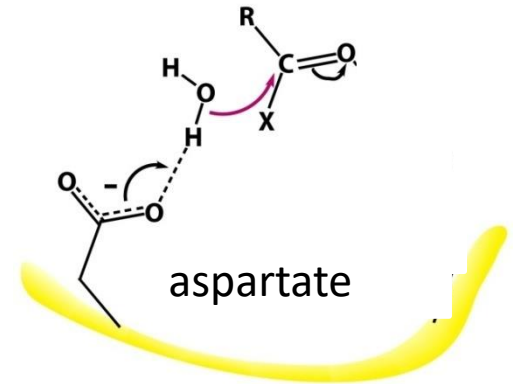


Autres classes de protéases

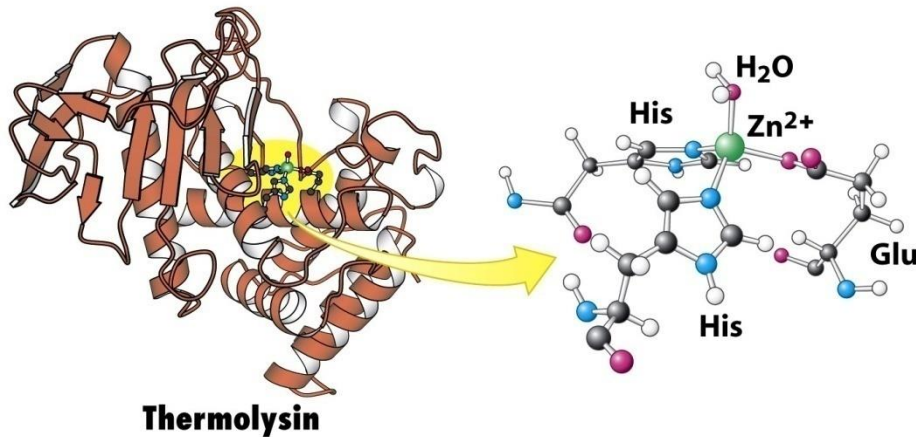
ASPARTYL PROTEASES



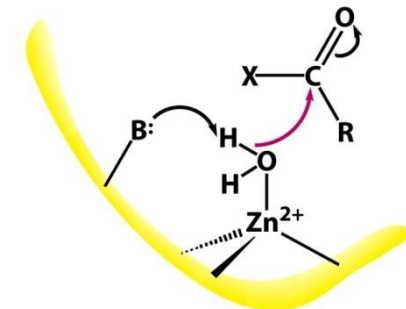
ASPARTYL PROTEASES



METALLOPROTEASES

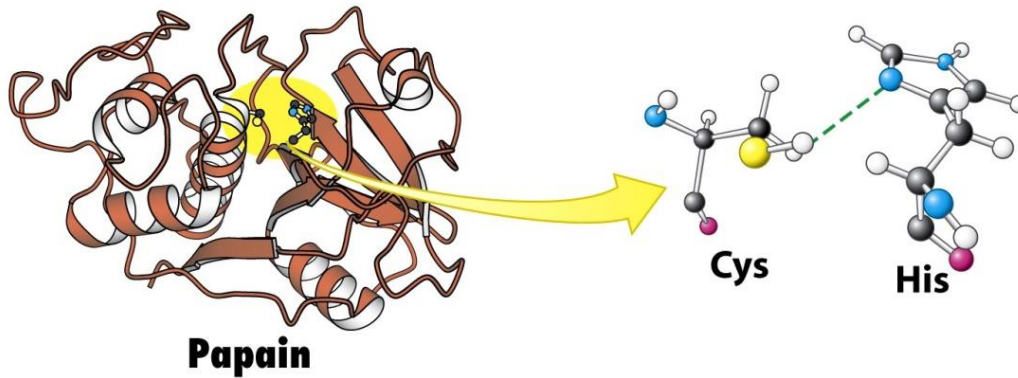


METALLOPROTEASES

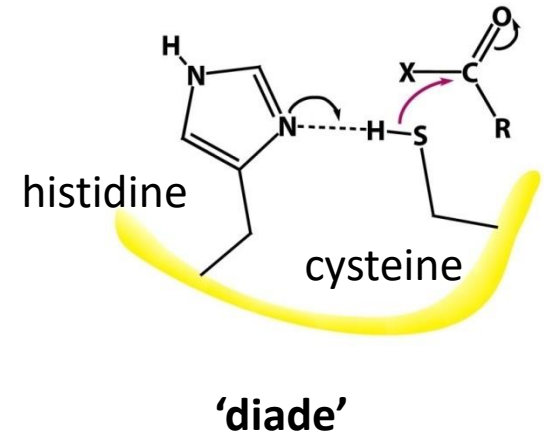


Autres classes de protéases

CYSTEINE PROTEASES



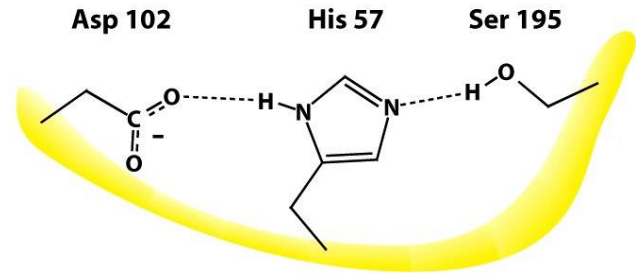
CYSTEINE PROTEASES



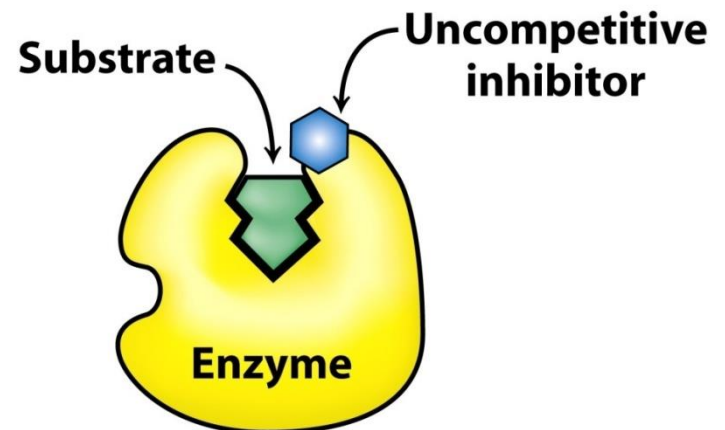
Leçon 10

Stratégies catalytiques

- Protéases
- ➡ - Anhydrase carbonique
- Enzyme de restriction

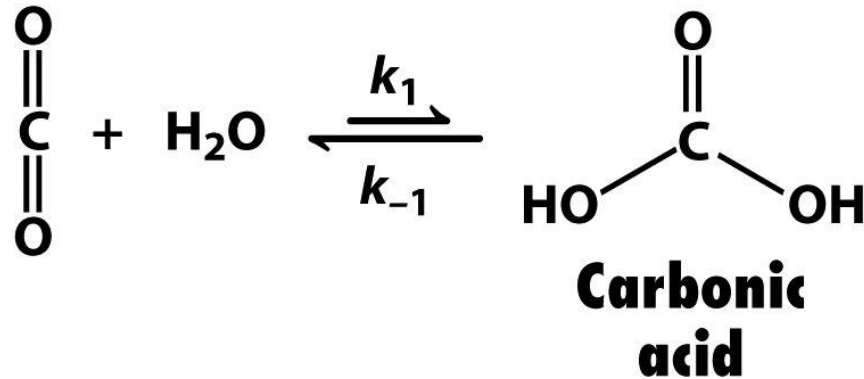


Inhibition enzymatique



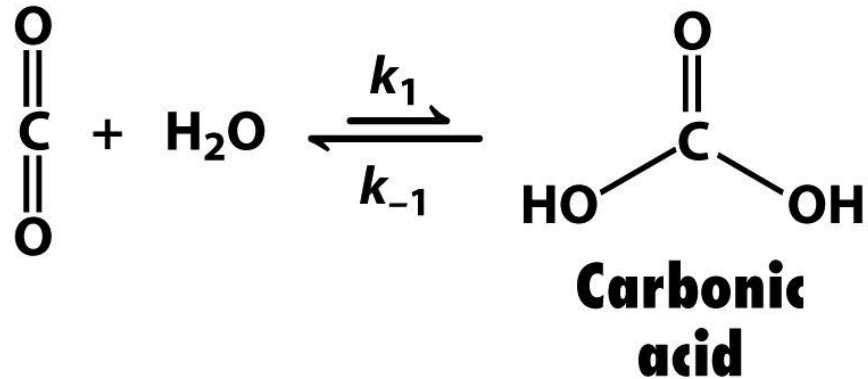
Exemple II: Anhydrase carbonique

Le dioxyde de carbone réagit avec une molécule d'eau



Exemple II: Anhydrase carbonique

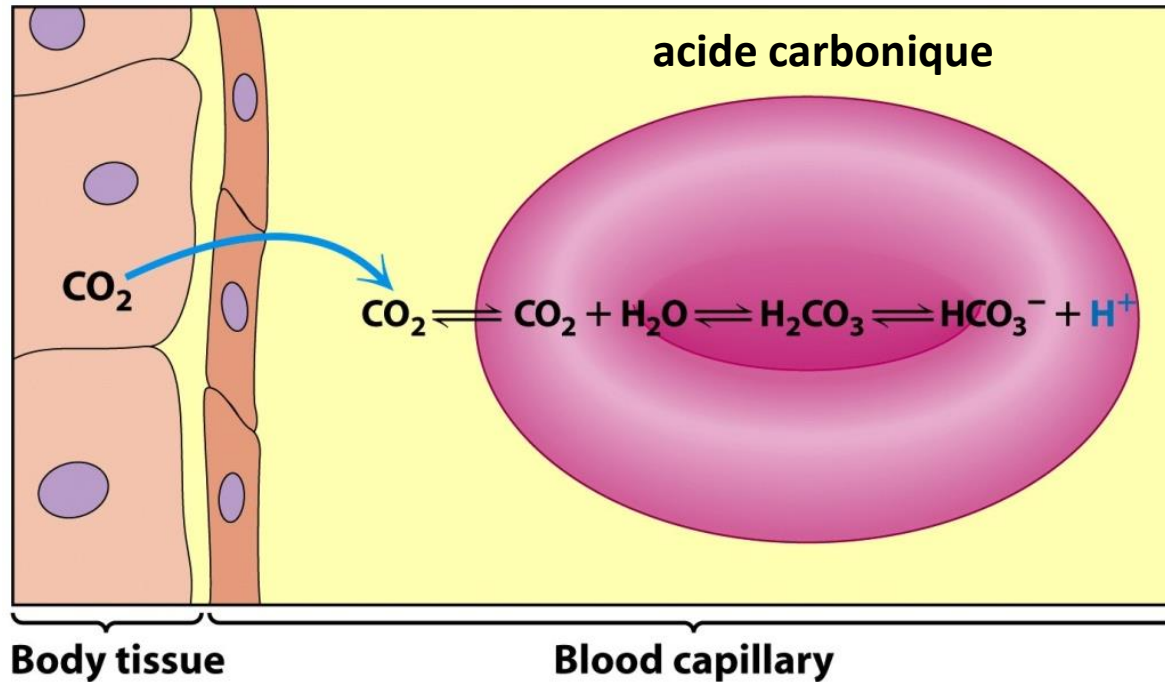
Le dioxyde de carbone réagit avec une molécule d'eau



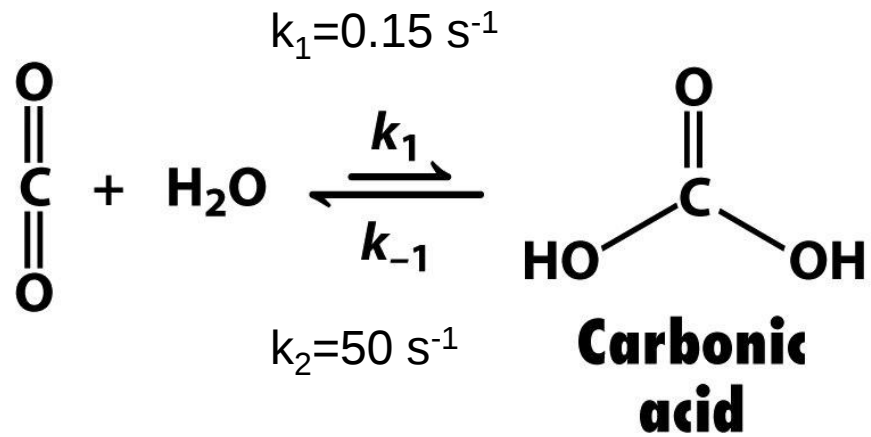
*Pourquoi cette réaction est-elle importante
dans l'humain?*

Exemple II: Anhydrase carbonique

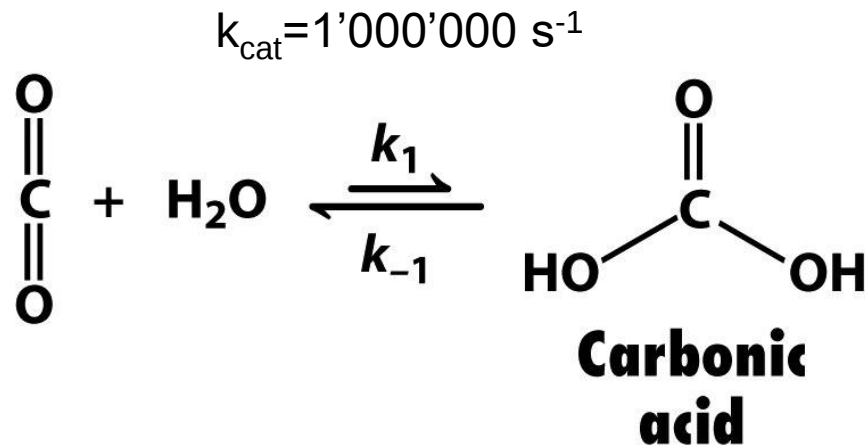
Transport du dioxyde de carbone des tissus aux poumons



Réaction non-catalysée

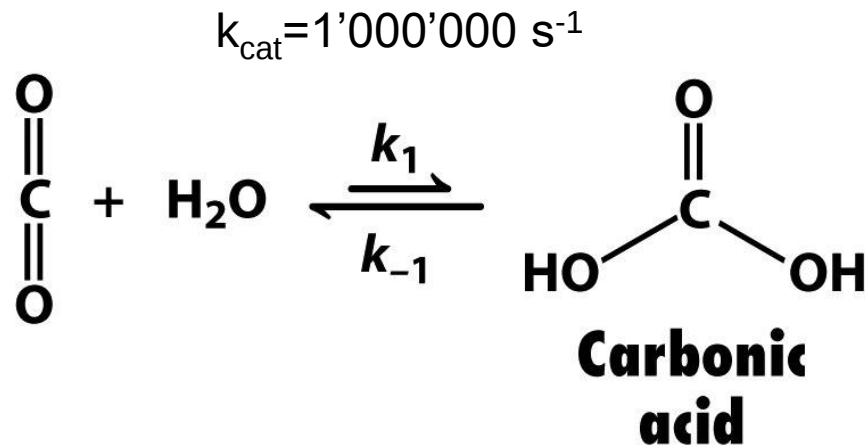


Réaction catalysée par l'anhydrase carbonique



Une enzyme d'anhydrase carbonique peut catalyser un million de réactions par seconde!

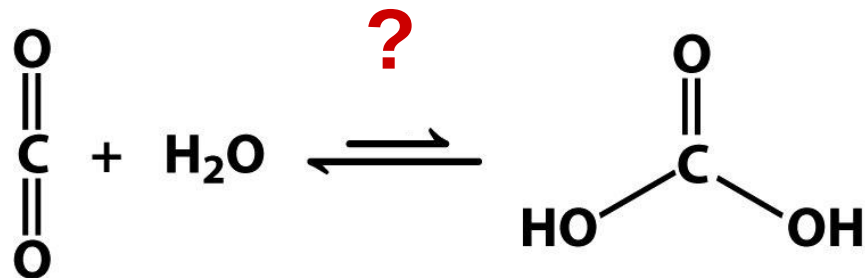
Réaction catalysée par l'anhydrase carbonique



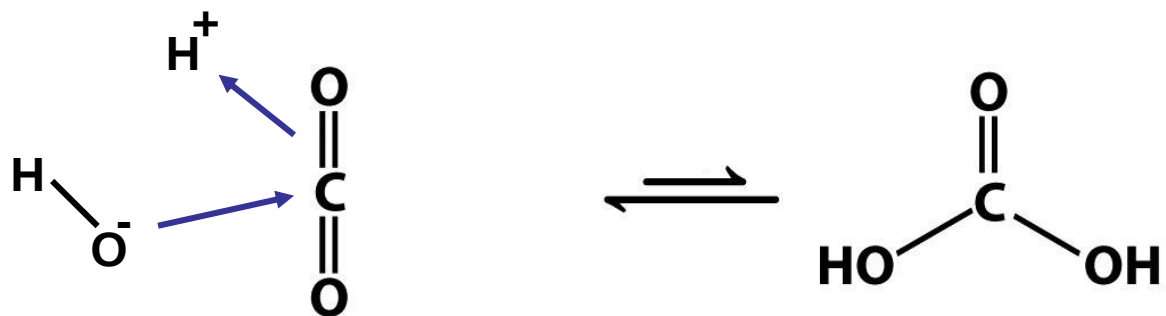
Une enzyme d'anhydrase carbonique peut catalyser un million de réactions par seconde!

Quel est le mécanisme catalytique?

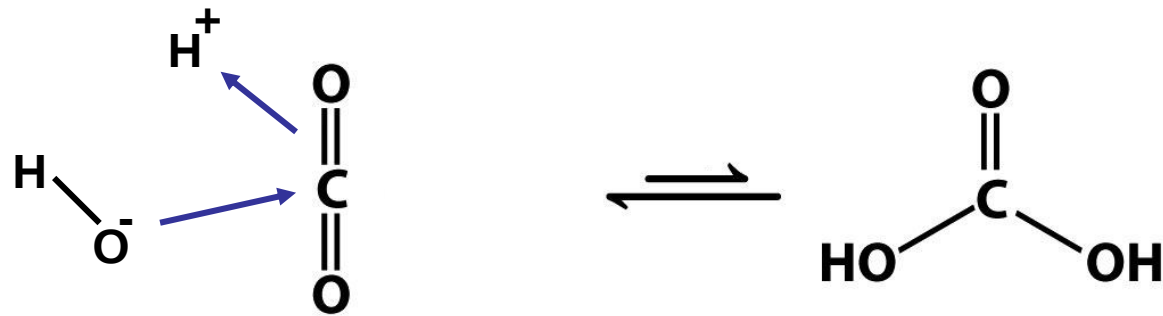
Mécanisme réactionnel (non-catalysé)



Mécanisme réactionnel (non-catalysé)

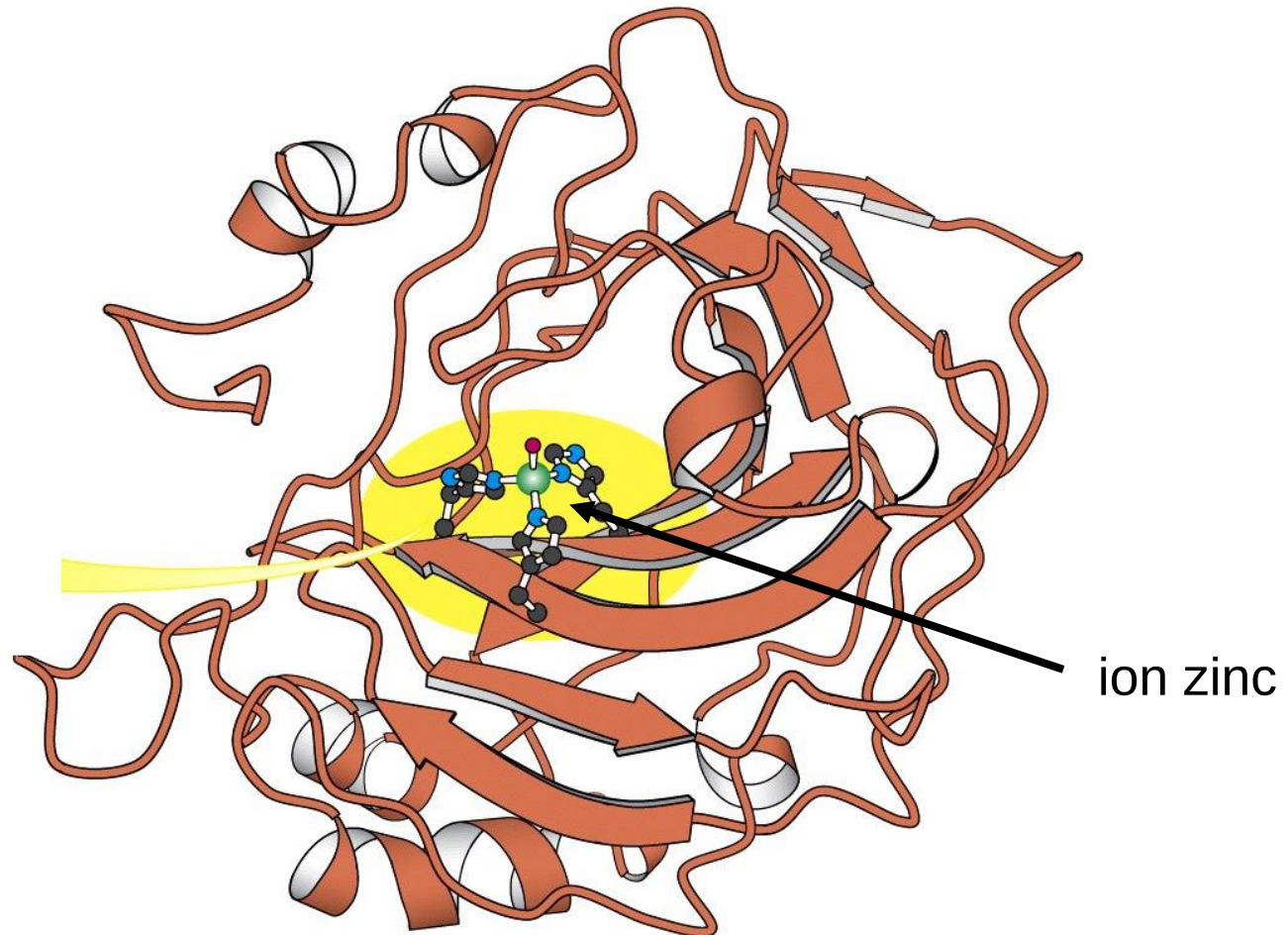


Mécanisme réactionnel catalysé



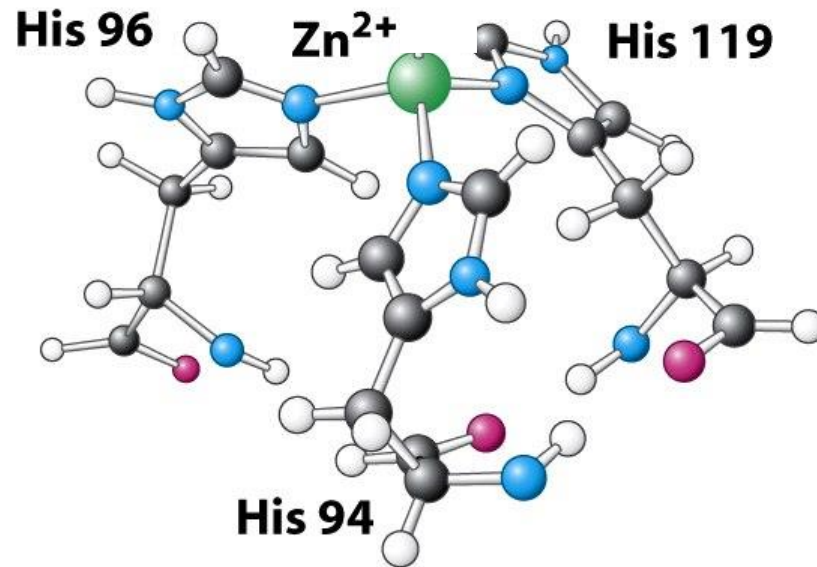
Quel est le mécanisme catalytique?

Un ion de zinc est nécessaire pour la catalyse!



L'anhydrase carbonique contient un ion de zinc lié

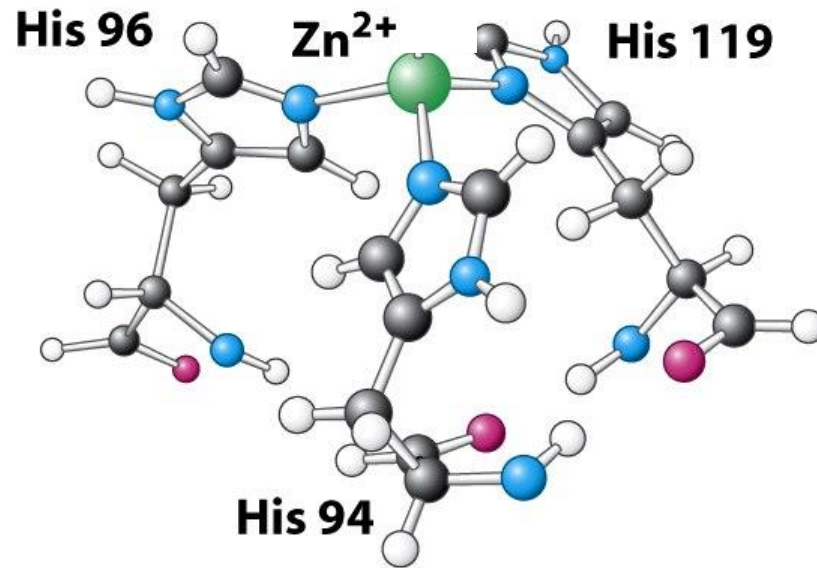
Le zinc est fixé
par trois chaînes
latérales d'histidine



L'anhydrase carbonique contient un ion de zinc lié

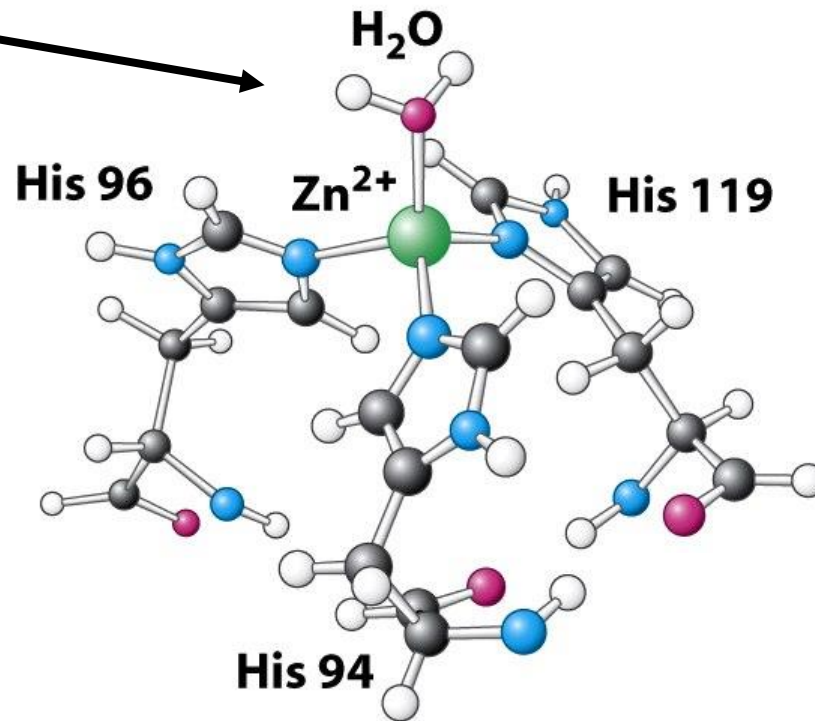
Le zinc est fixé
par trois chaînes
latérales d'histidine

*Comment le zinc
peut-il faciliter
l'hydratation du
 CO_2 ?*



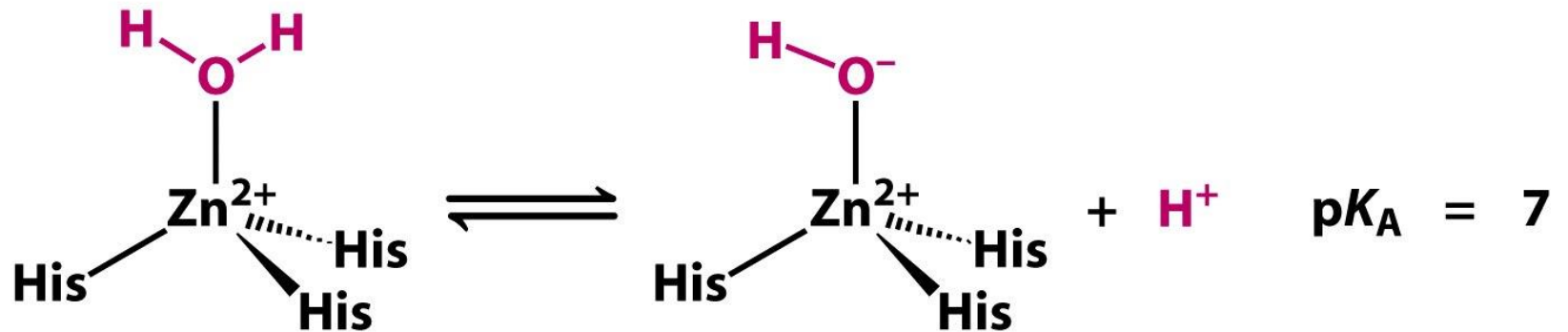
Le zinc fixe une molécule d'eau

Le zinc fixe
une molécule
d'eau

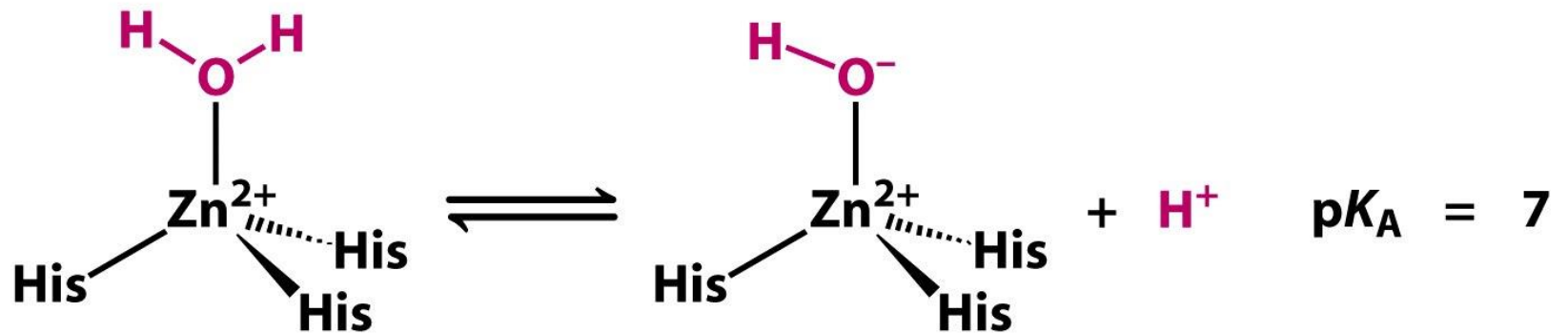


*Quel est l'effet du
zinc sur la molécule
d'eau?*

Le zinc change le pK_A de la molécule d'eau

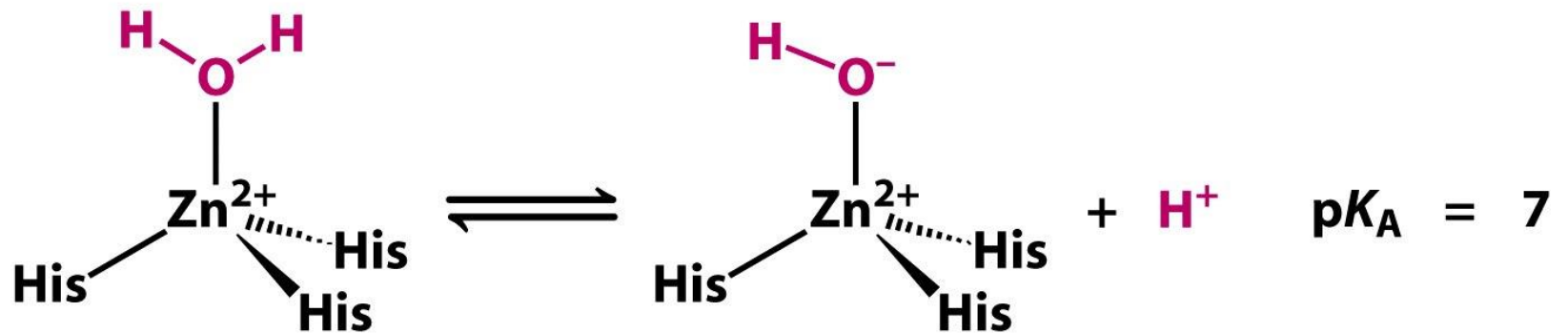


Le zinc change le pK_A de la molécule d'eau

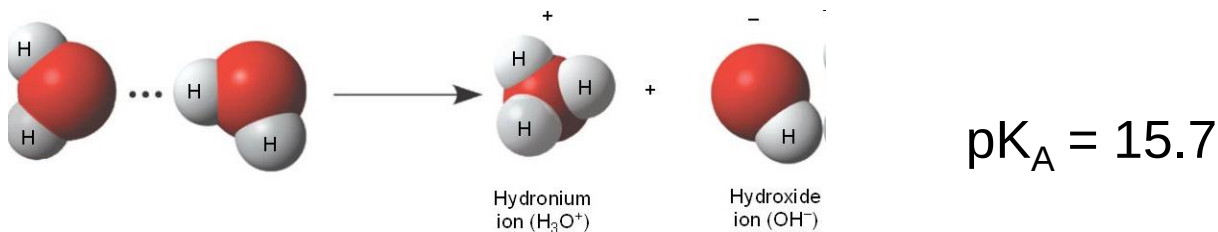


Quel est le pK_A de l'eau normalement?

Le zinc change le pK_A de la molécule d'eau

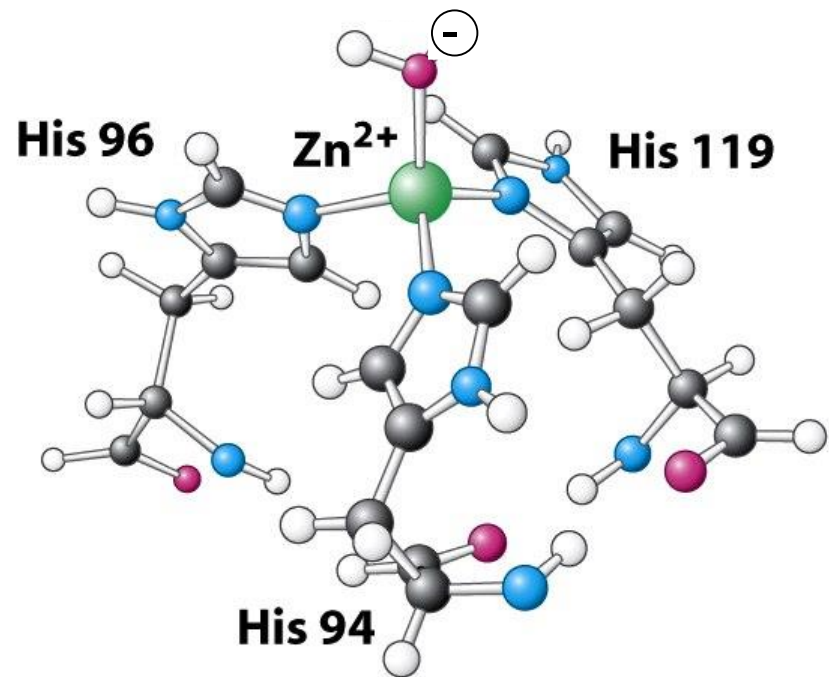
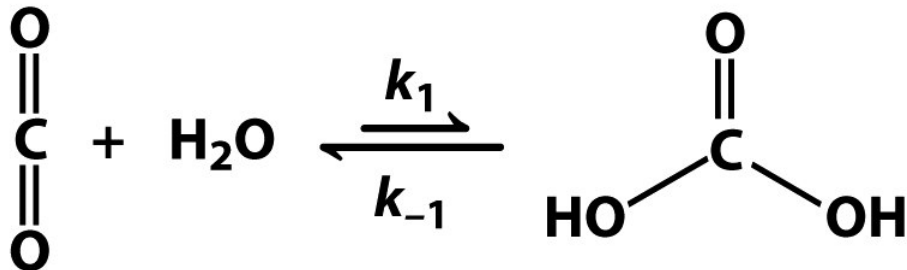


Quel est le pK_A de l'eau normalement?

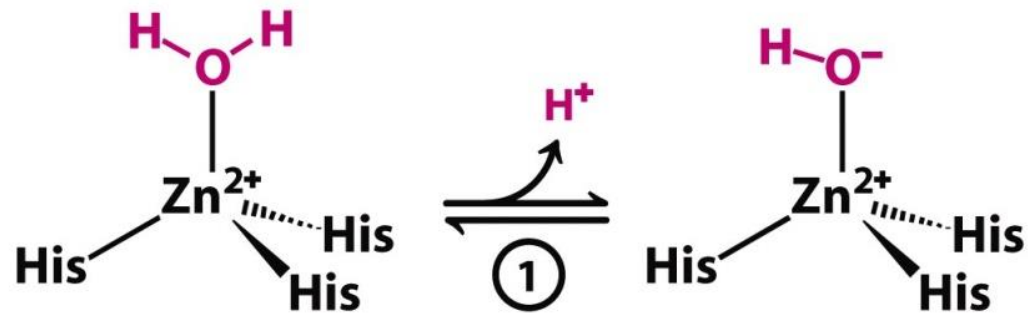


L'anhydrase carbonique contient un ion zinc lié

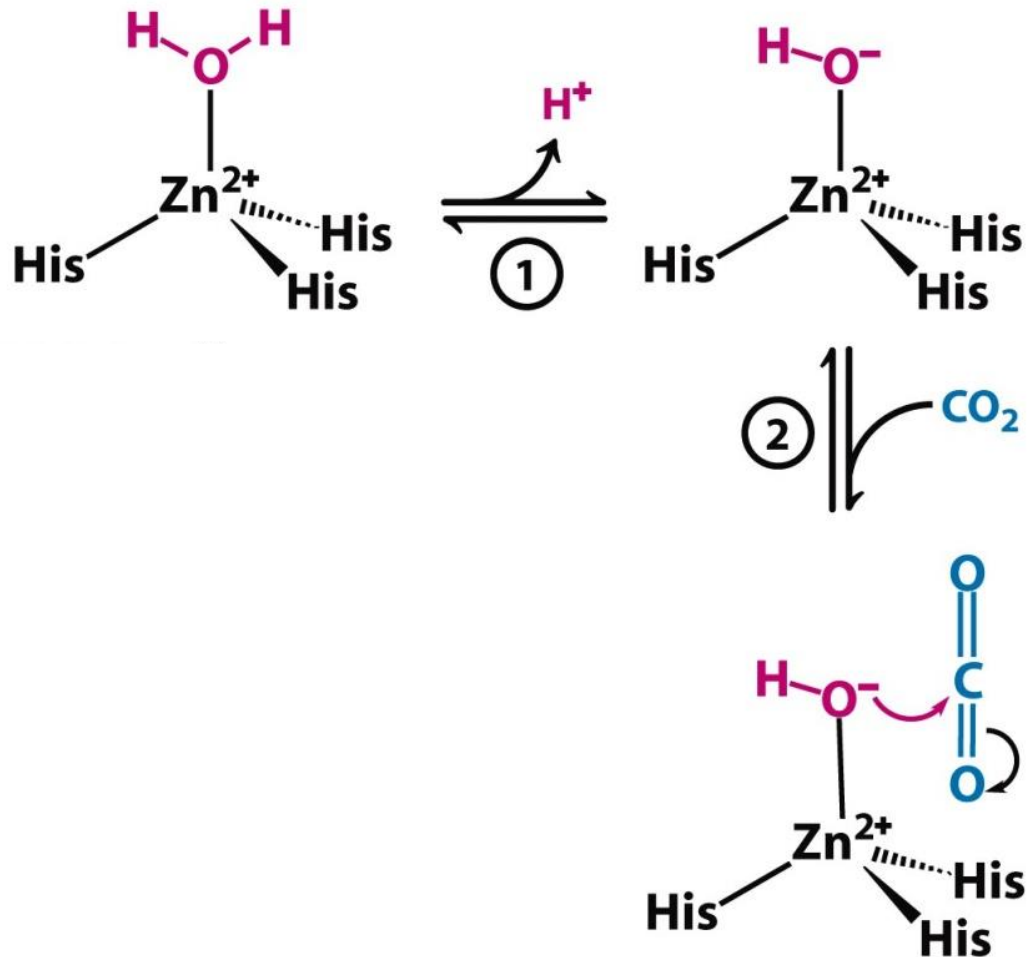
*Comment le groupe
hydroxyle peut-il réagir
avec le CO₂?*



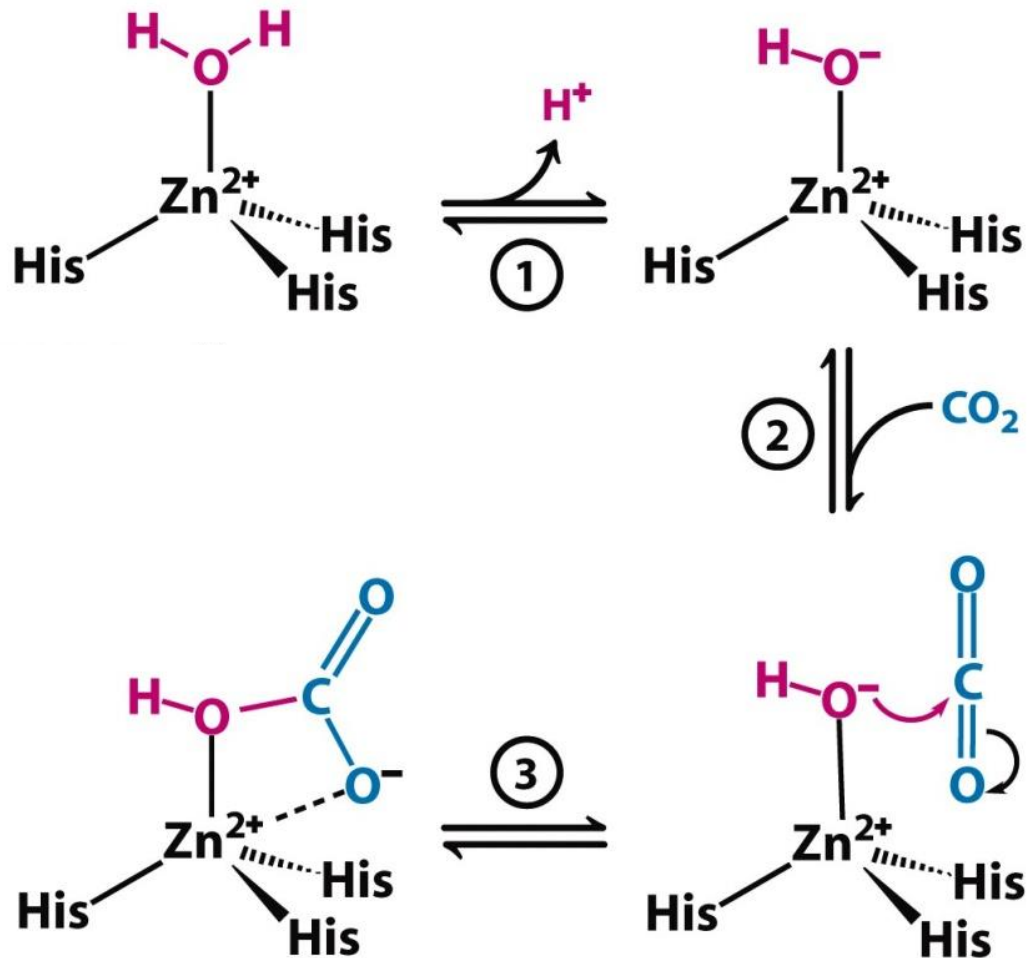
Mécanisme réactionnel catalysé



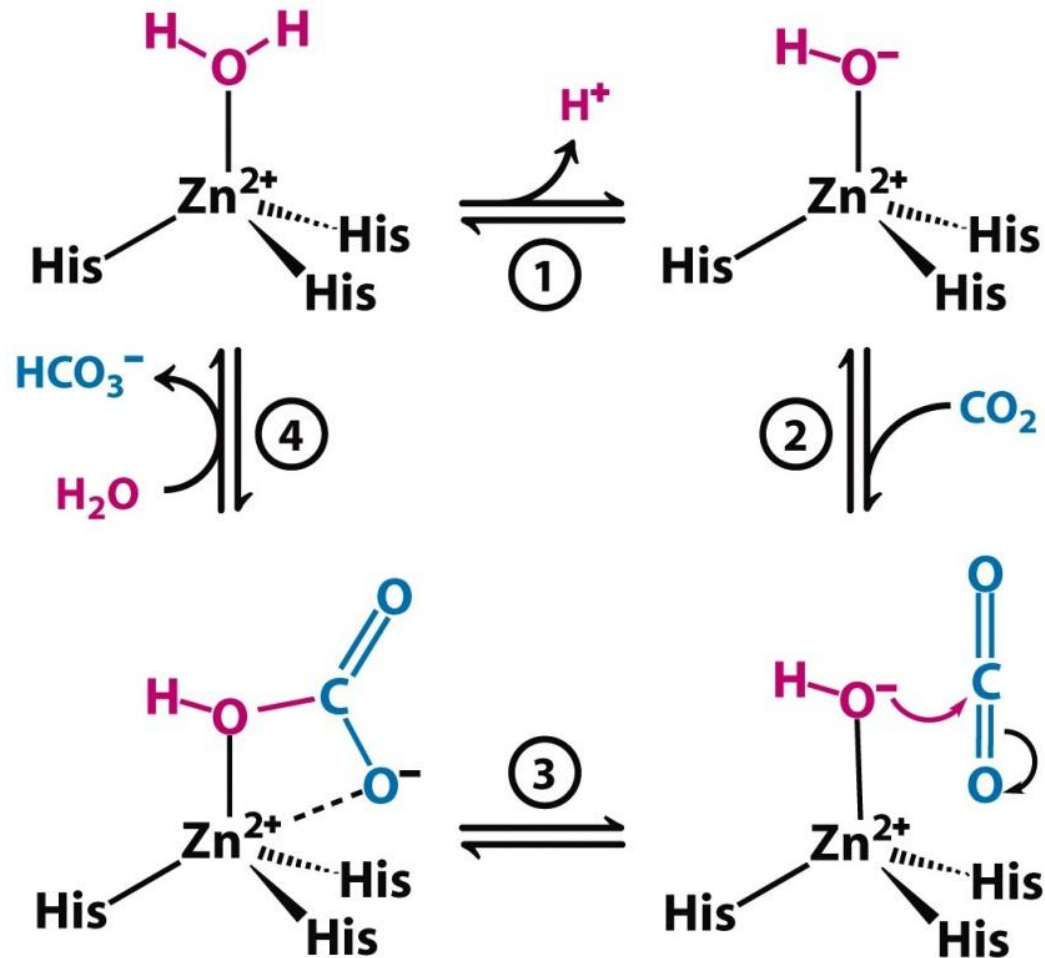
Mécanisme réactionnel catalysé



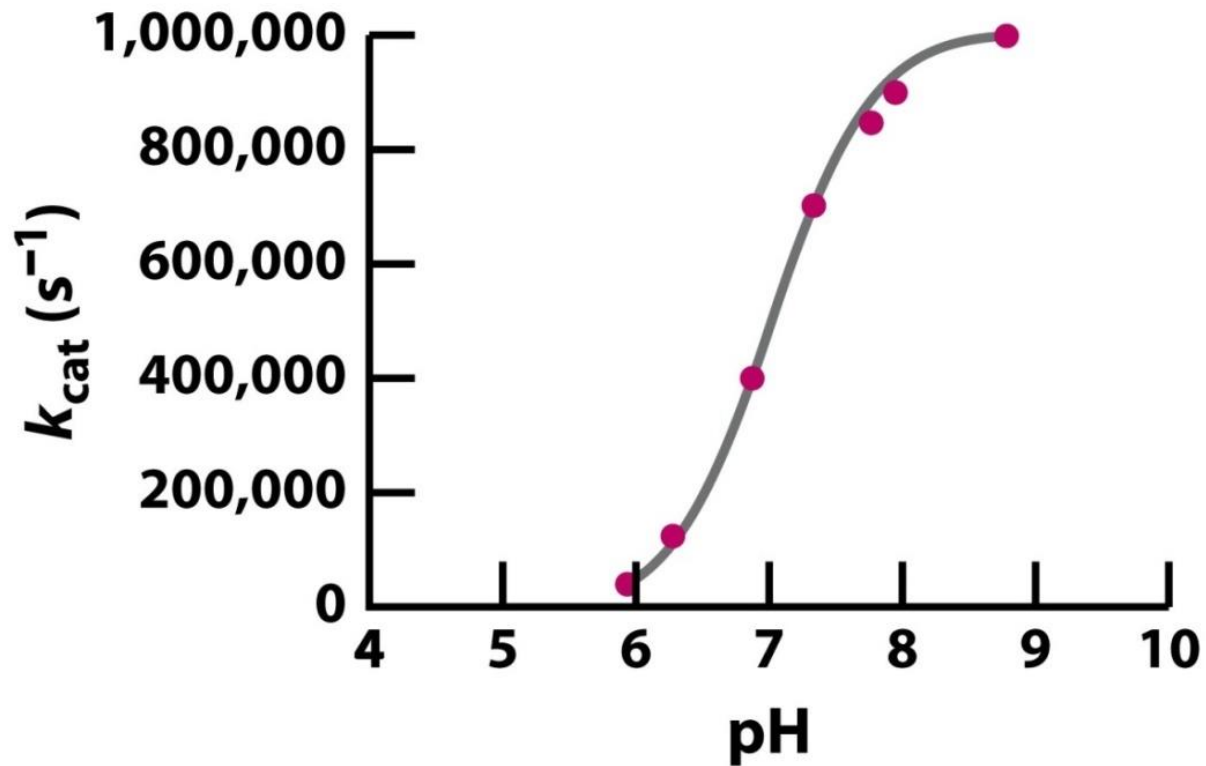
Mécanisme réactionnel catalysé



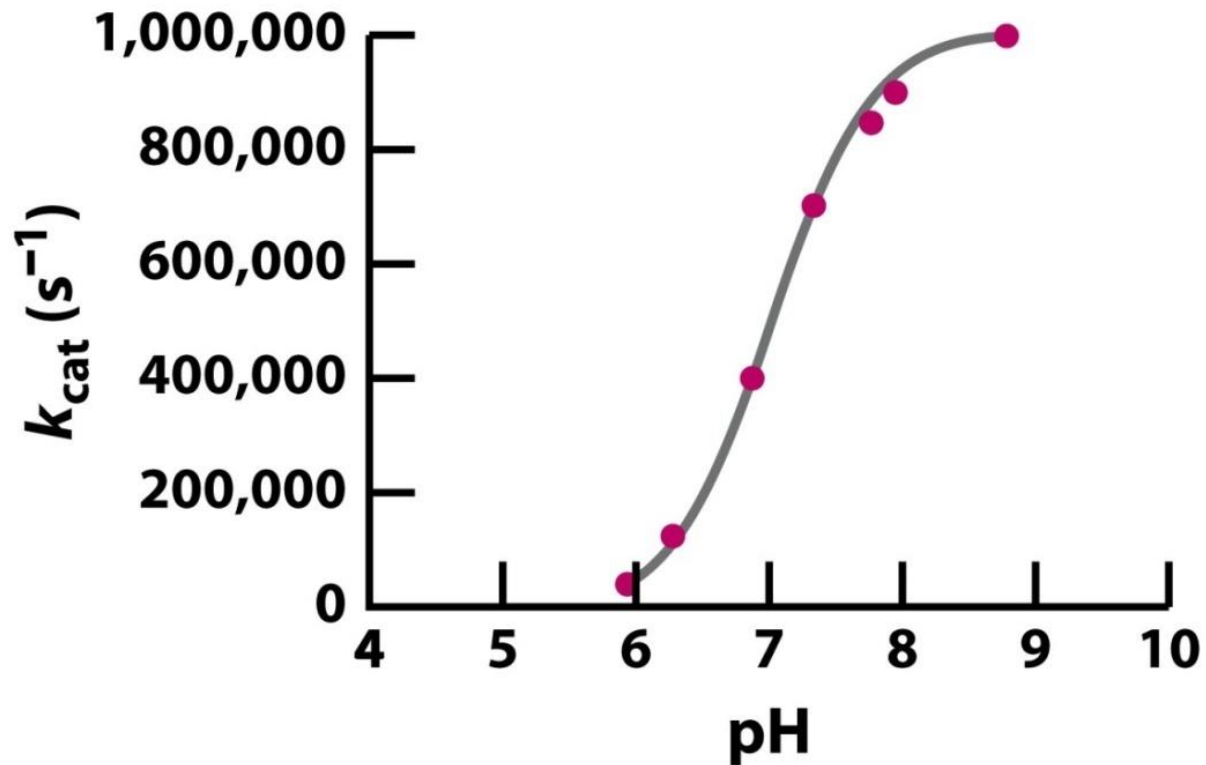
Mécanisme réactionnel catalysé



La catalyse dépend du pH

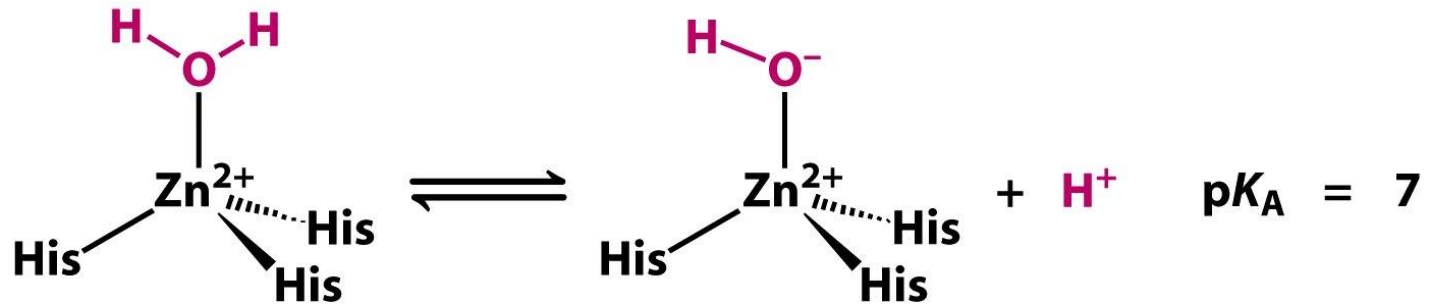


La catalyse dépend du pH



Pourquoi?

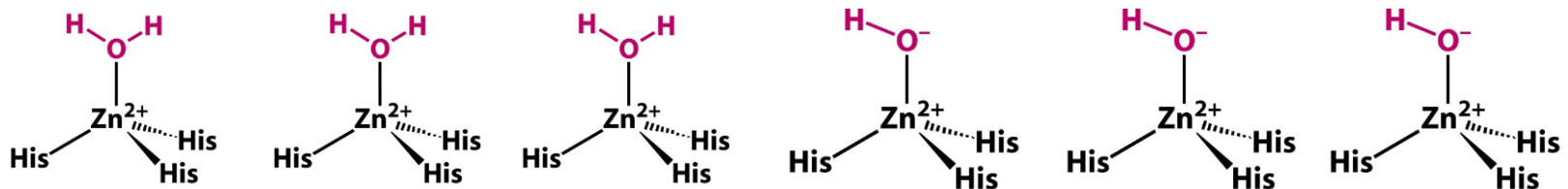
La catalyse dépend du pH



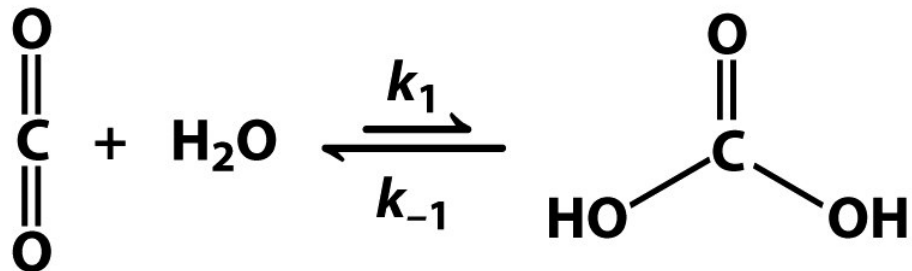
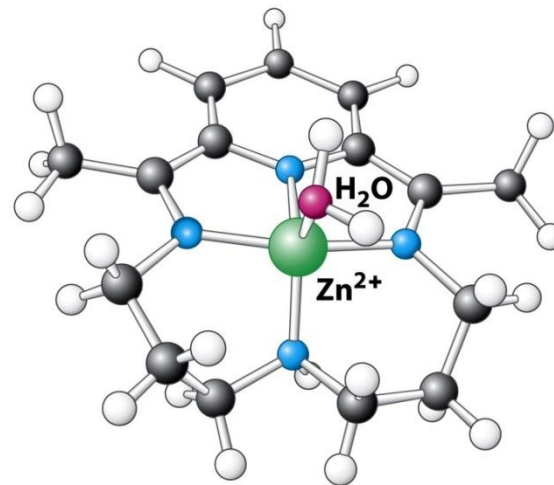
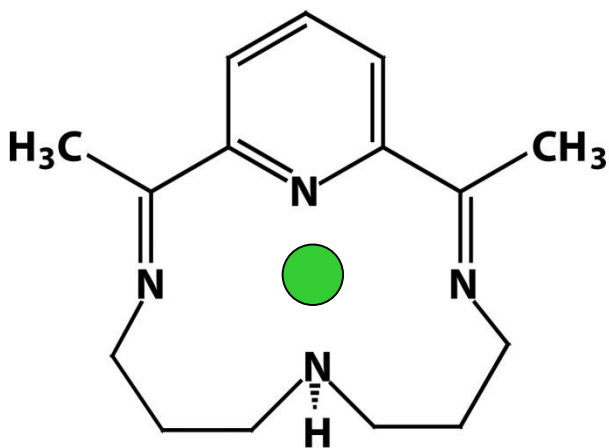
pH



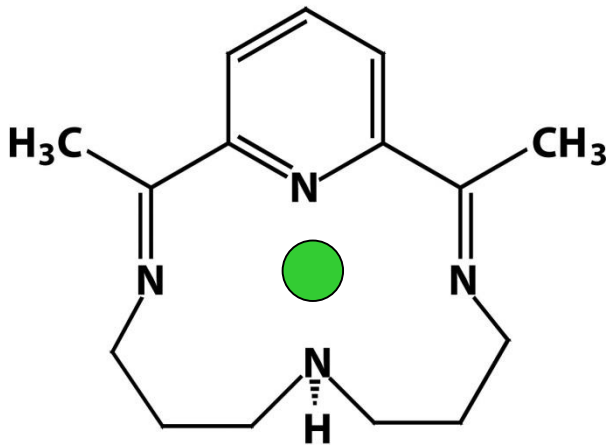
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Vérification du mécanisme catalytique



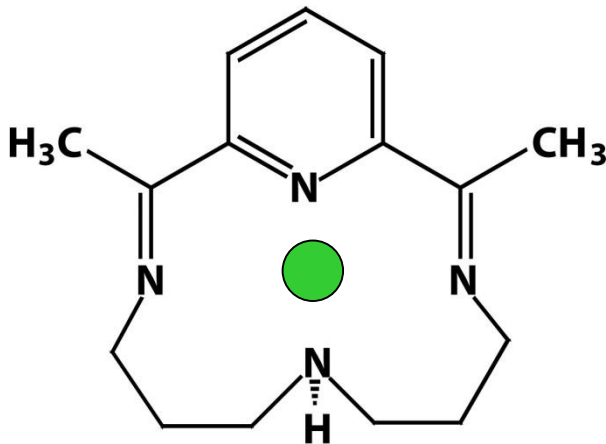
Vérification du mécanisme catalytique



catalyseur synthétique:

- $pK_A = 8.7$
- Vitesse de réaction: 100-fois augmentée
- **Il est très probable que l'ion de zinc dans l'anhydrase carbonique catalyse la réaction**

Vérification du mécanisme catalytique

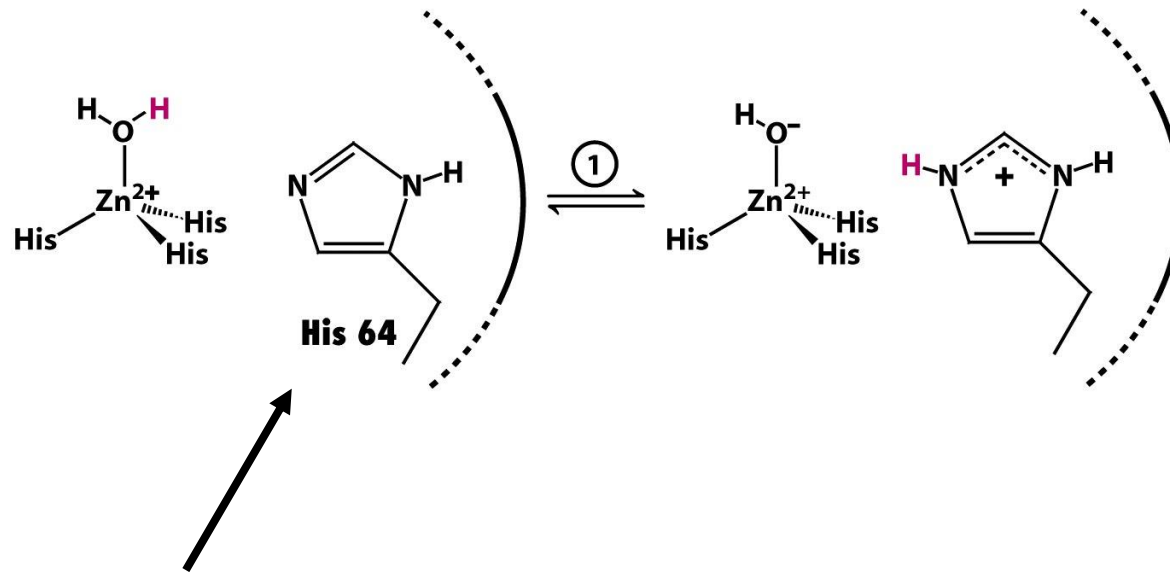


catalyseur synthétique:

- $pK_A = 8.7$
- Vitesse de réaction: 100-fois augmentée
- Il est très probable que l'ion de zinc dans l'anhydrase carbonique catalyse la réaction

Pourquoi l'anhydrase carbonique peut-elle augmenter la vitesse de réaction de 1'000'000 fois?

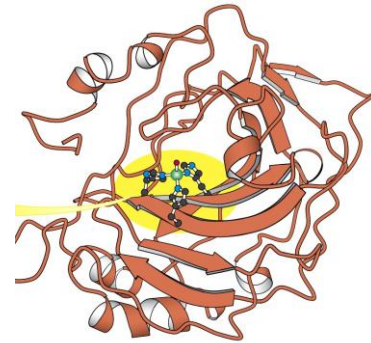
Vérification du mécanisme catalytique



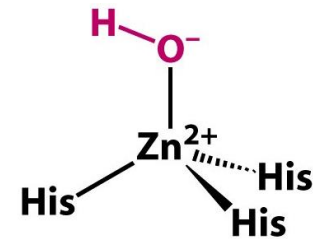
- Un résidu histidine de l'enzyme peut extraire un ion hydrogène
- Stabilisation de l'état de transition

Résumé des mécanismes catalytiques

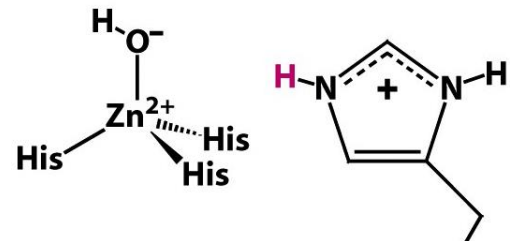
- Stabilisation de l'état de transition



- Fixation de H_2O et changement du pK_A



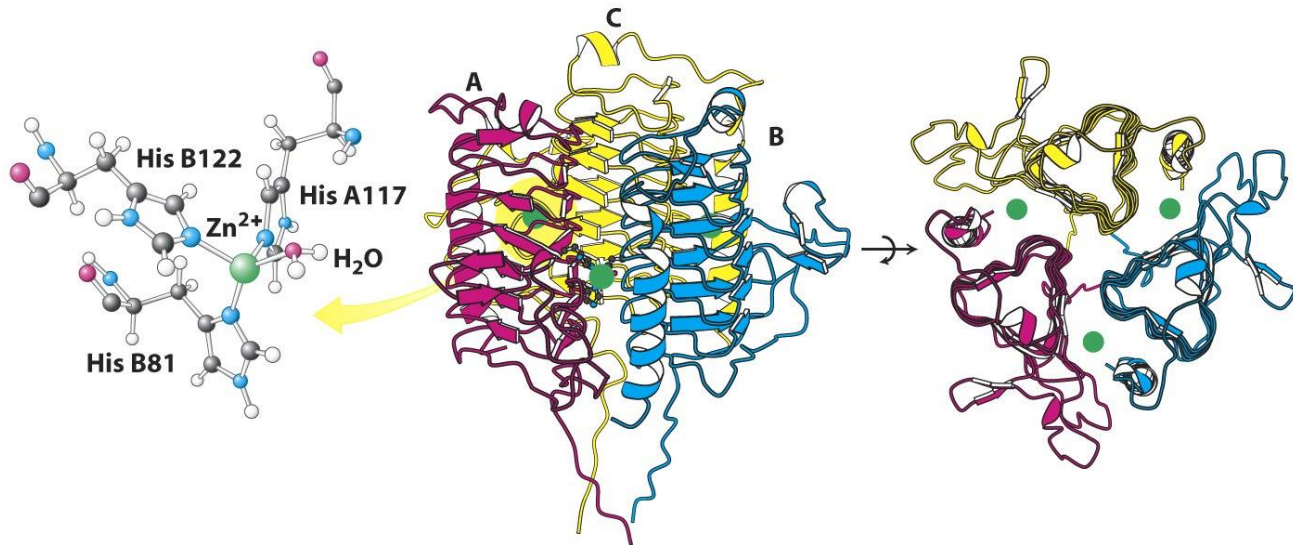
- Déprotonation de H_2O par une histidine



Evolution **convergente** des anhydrases carboniques

L'anhydrase carbonique s'est développée au minimum trois fois

- Anhydrase α -carbonique (animaux)
- Anhydrase β -carbonique (plantes et bactéries)
- Anhydrase γ -carbonique (arachaea)

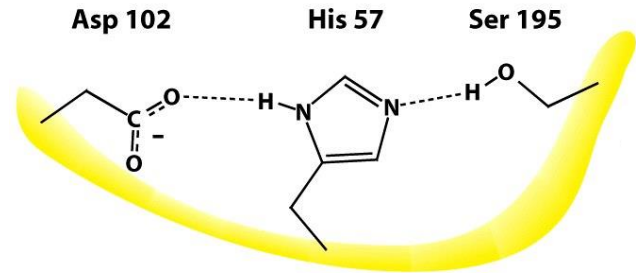


Leçon 10

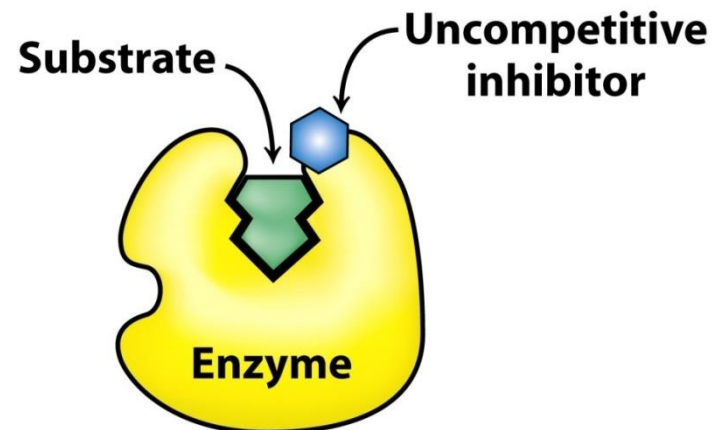
Stratégies catalytiques

- Protéases
- Anhydrase carbonique

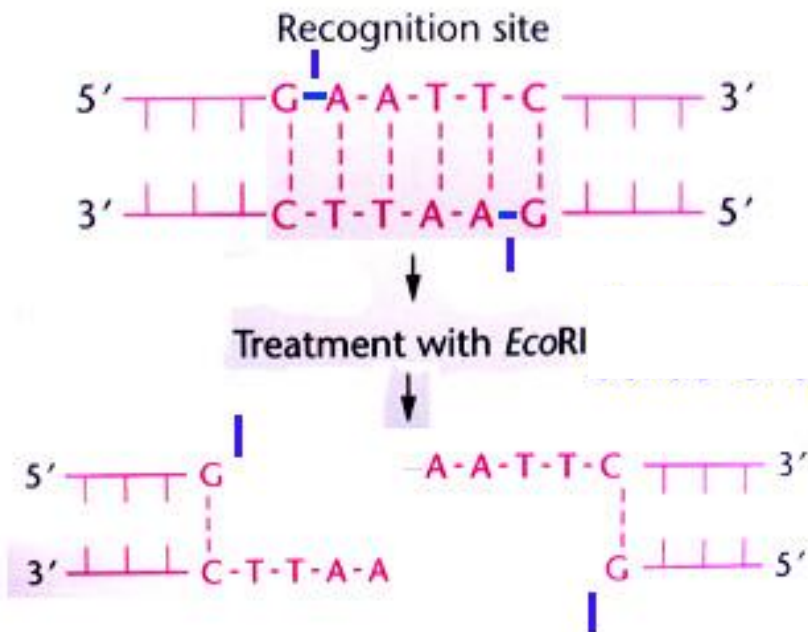
➡ - Enzyme de restriction



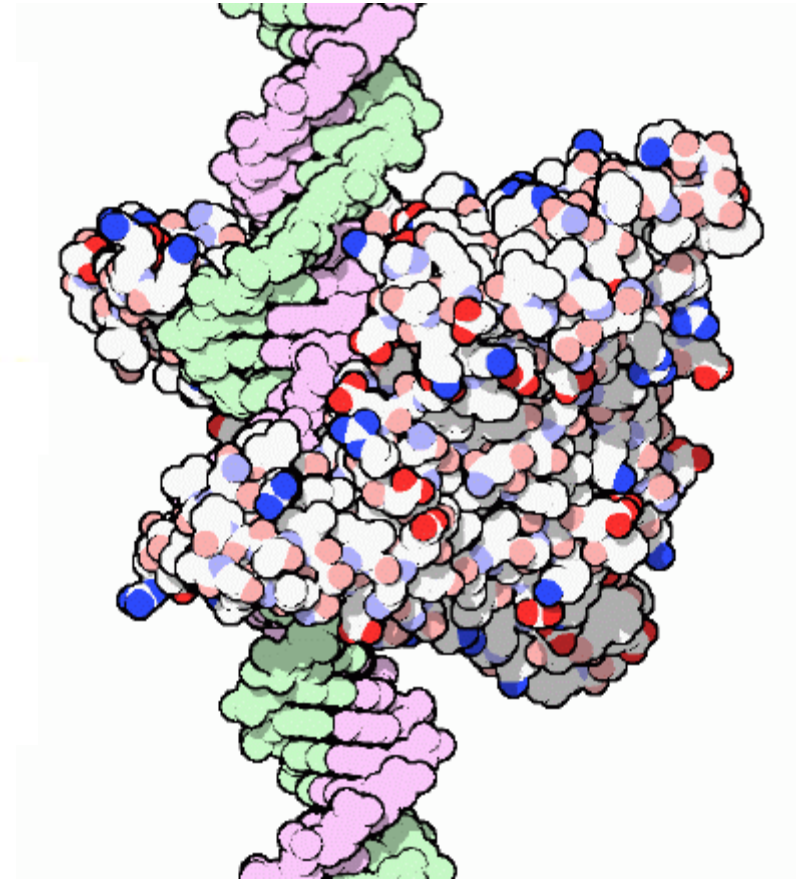
Inhibition enzymatique



Exemple III: Enzymes de restriction



- Coupent les deux brins
- Réaction d'hydrolyse



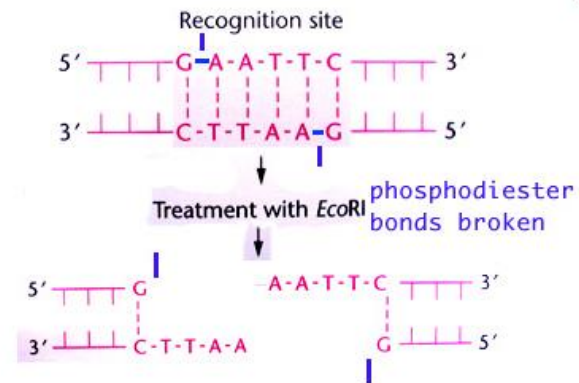
Clivage du DNA à l'intérieur de la séquence (Type II)

5' -GTGACC**GAATTC**AAAGGTGCCTTTTATCATCACTTTAAAAATAAAAAACAATTACTCAGTGCCTGTTATA
3' -CACTGG**CTTAAG**TTTCCACGGAAATAGTAGTGAAATTTTTATTTTTTGTTAATGAGTCACGGACAATAT

GCAATTAATTA**GAATTC**TGATTGATGCCTACATCACAACAAAACTGATTTAACAAATGGTTGGTCTGCCTTA
CGTTAATTAAT**CTTAAG**ACTAACTACGGATGTAGTGTTGTTTTTGACTAAATTGTTTACCAACCAGACGGAAT

AAACCTTATCCCTATCCAAGAAGTGATG-3'
TTTGAATAGGGATAGGTTCTTCACTAC-5'

EcoRI

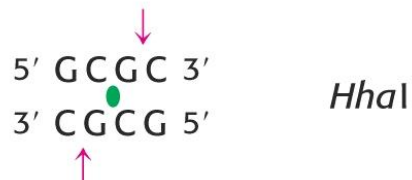
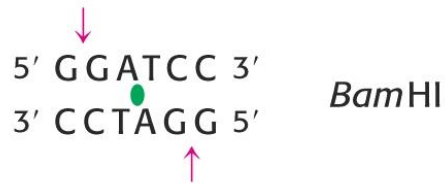


5' -GTGACC**G**-3'
3' -CACTGG**CTTAA**-5'

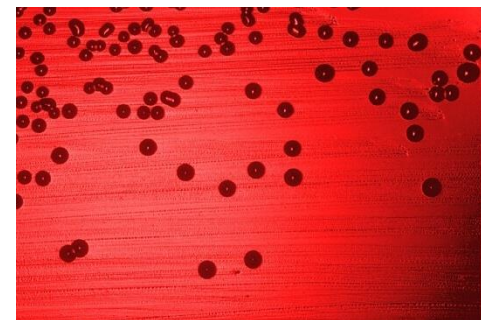
5' -**AATTC**AAAGGTGCCTTTTATCATCACTTTAAAAATAAAAAACAATTACTCAGTGCCTGTTATAAGCAGCAATTAATTAG-3'
3' -**G**TTTCCACGGAAATAGTAGTGAAATTTTTATTTTTTGTTAATGAGTCACGGACAATATTCGTCGTTAATTAAT**CTTAA**-5'

5' - **AATTC**TGATTGATGCCTACATCACAACAAAACTGATTTAACAAATGGTTGGTCTATATTTGAACATTATCTTGATTATATTA-3'
3' - **G**ACTAACTACGGATGTAGTGTTGTTTTTGACTAAATTGTTTACCAACCAGATATAAACTTGTAATAGAACTAATATAAT-5'

Plus de 1000 enzymes de restriction ont été isolées des bactéries

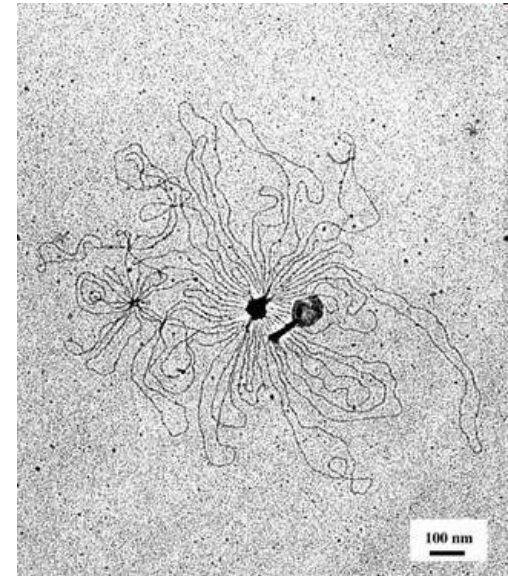
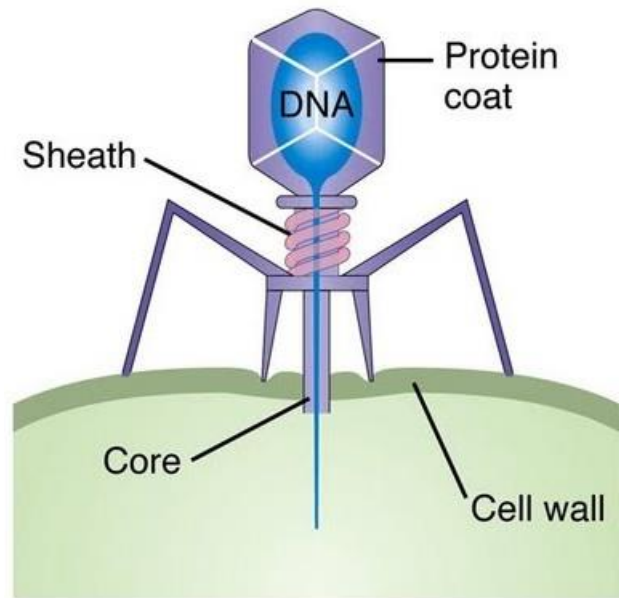


de *Escherichia Coli*

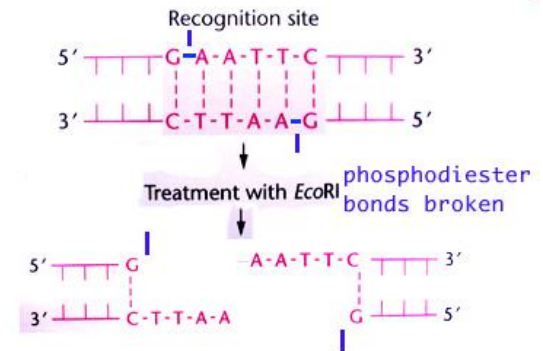


de *Haemophilus aegyptius*

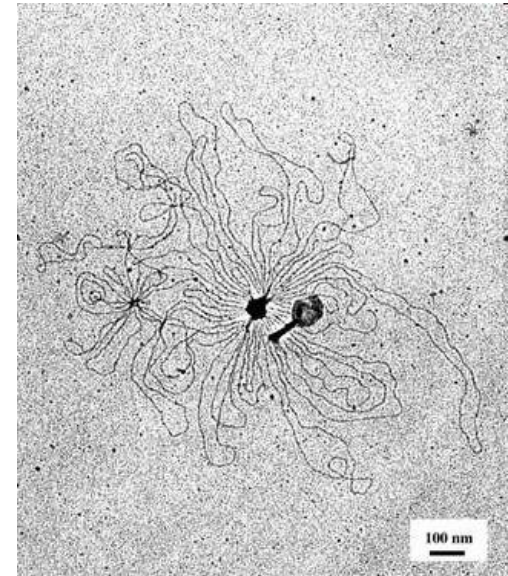
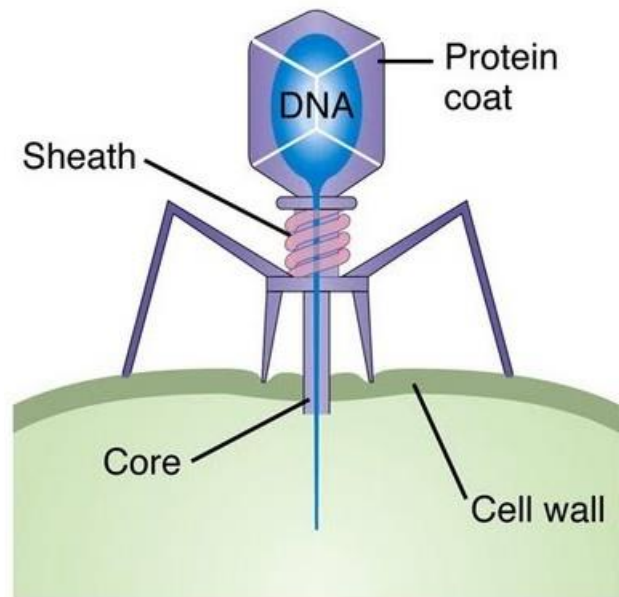
Mécanisme de protection contre les virus



Infection d'une cellule de bactérie

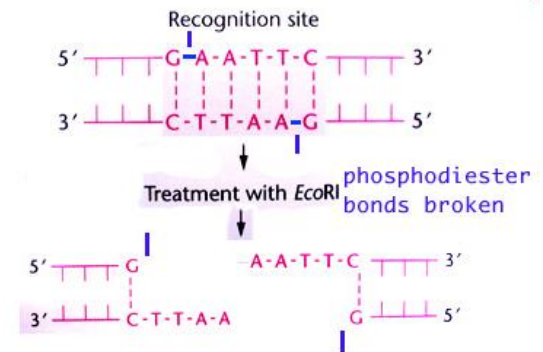


Mécanisme de protection contre les virus



Infection d'une cellule de bactérie

Pourquoi le DNA des bactéries n'est-il pas clivé?



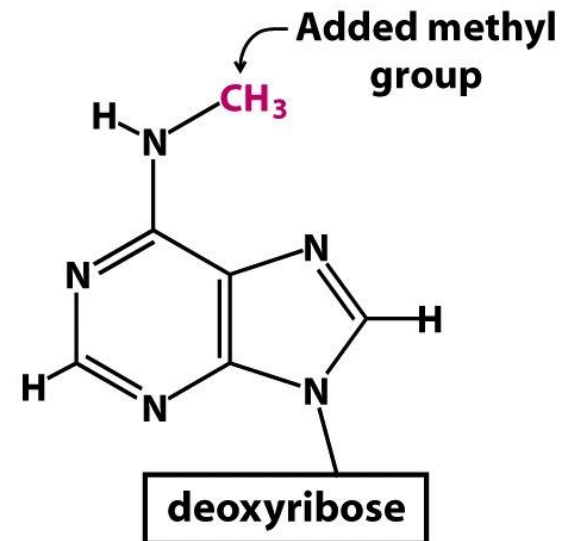
Methylation du DNA des bactéries

Les bactéries ont des enzymes qui s'appellent 'methylases'

→ Le DNA génomique des bactéries est méthylé



A^{*} =

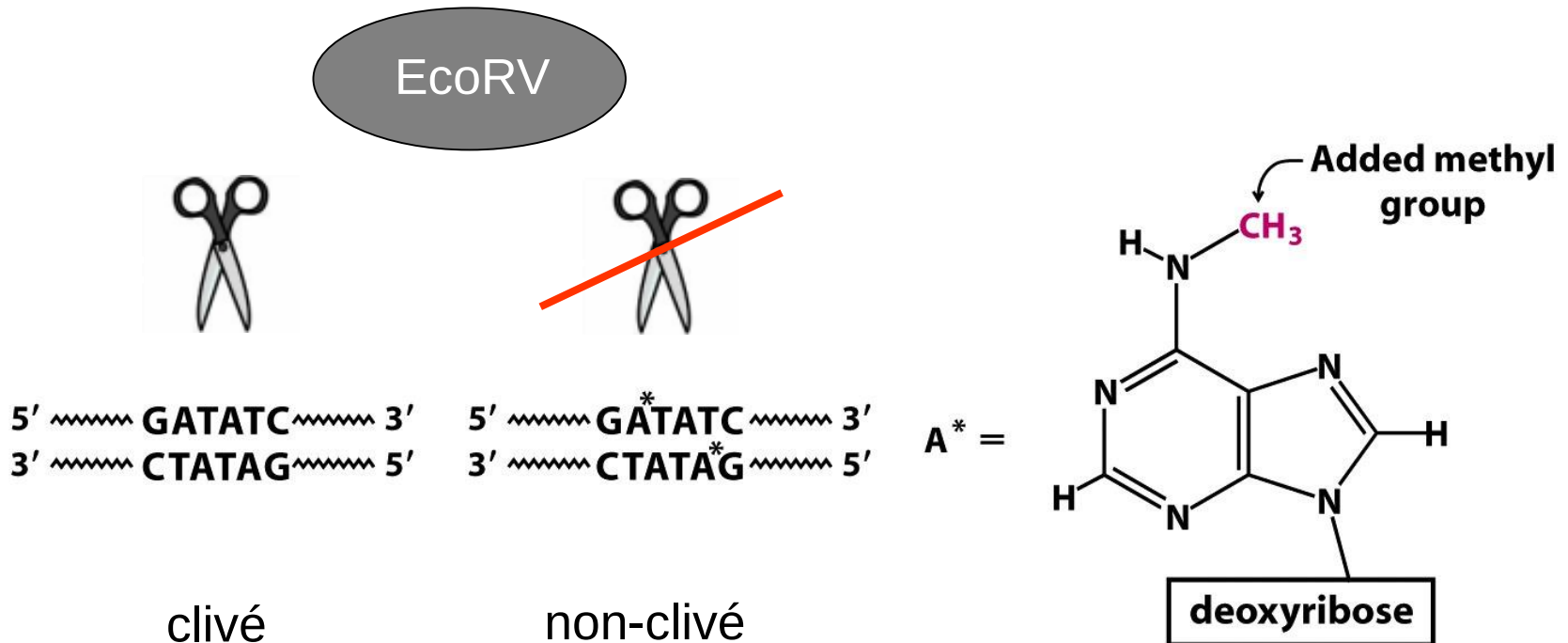


Methylation du DNA des bactéries

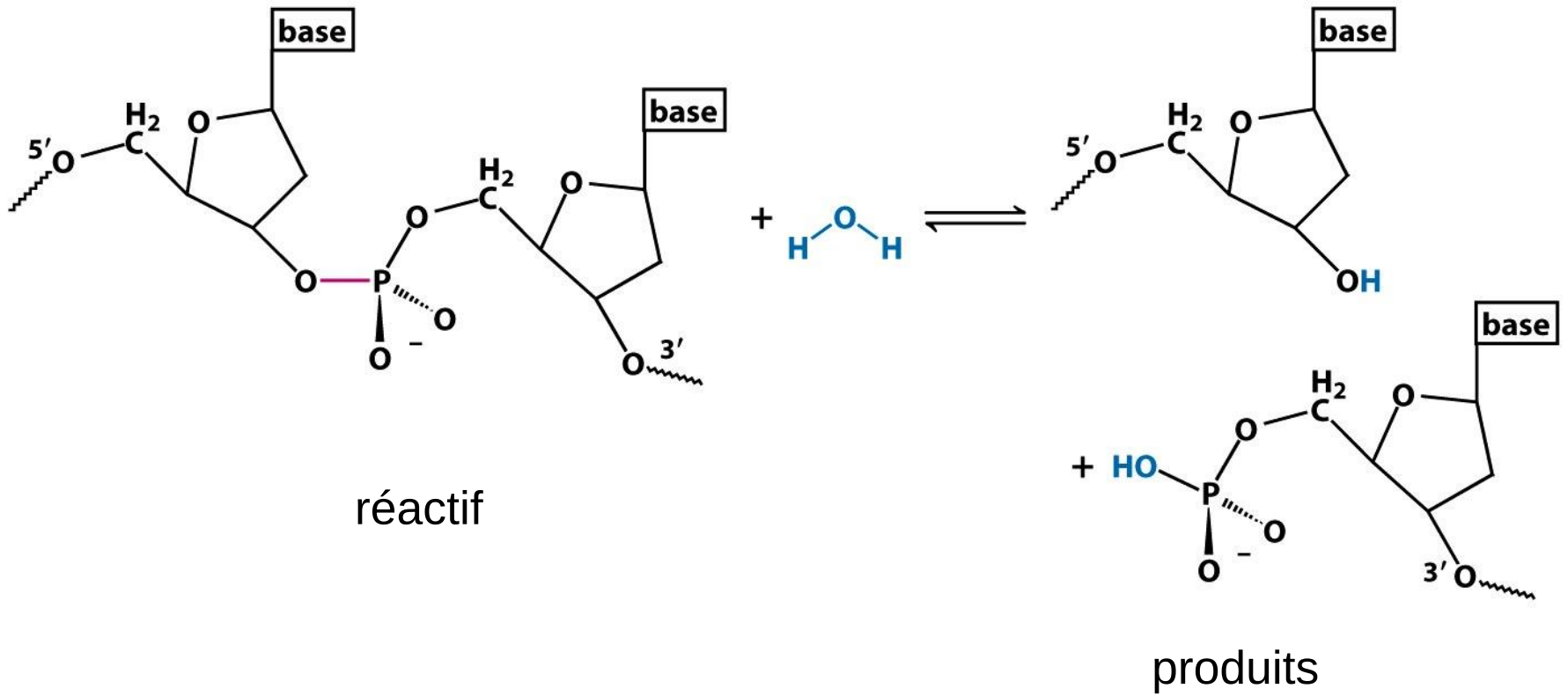
Les bactéries ont des enzymes qui s'appellent 'methylases'

→ Le DNA génomique des bactéries est méthylé

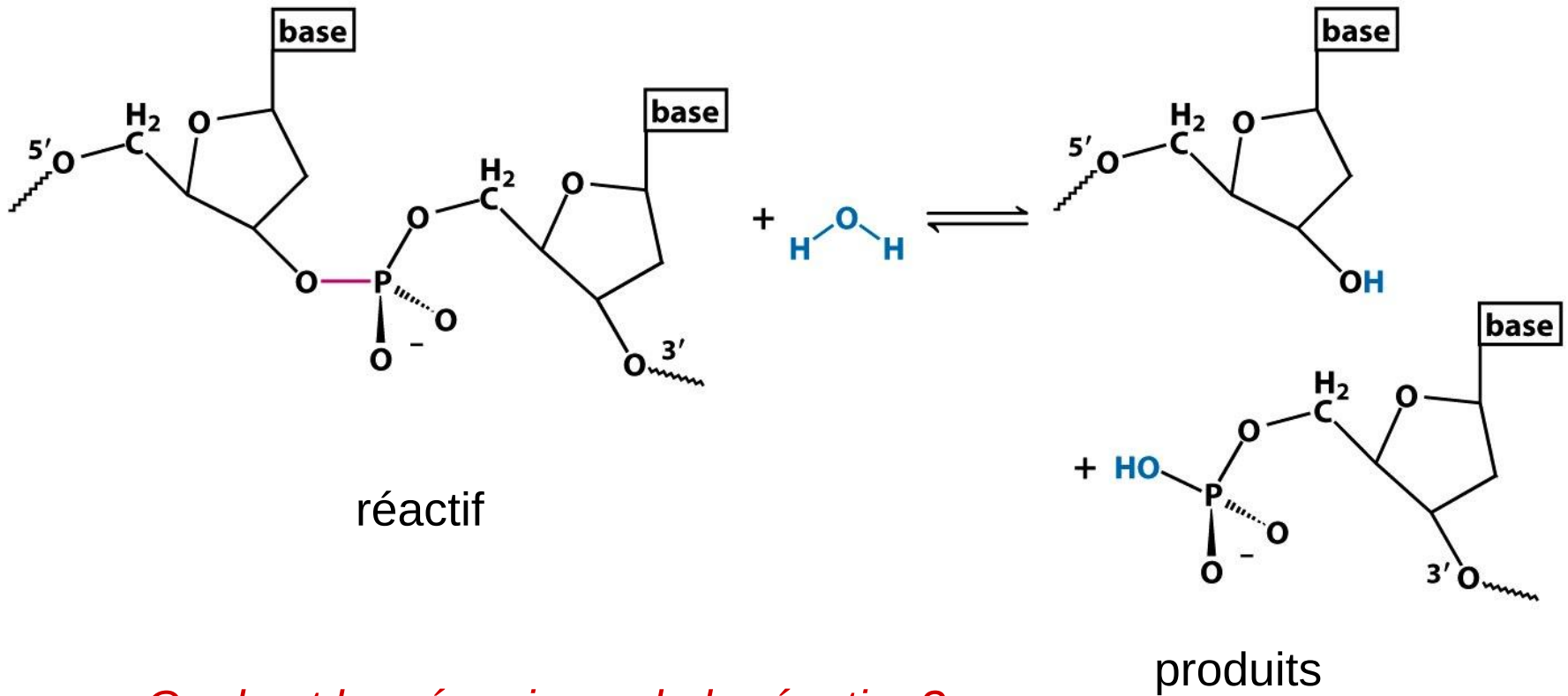
→ Le DNA ne peut pas être clivé (p.ex. par EcoRV)



Mécanisme réactionnel (non-catalysé)

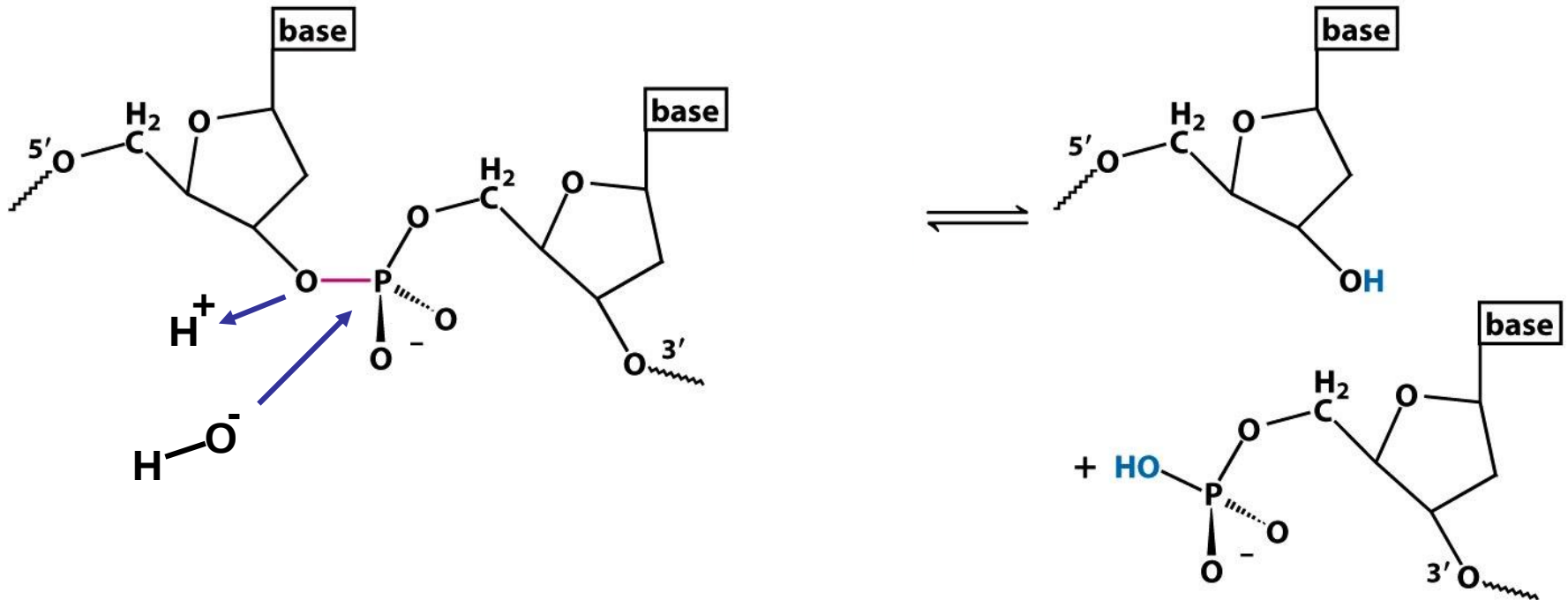


Mécanisme réactionnel (non-catalysé)



Quel est le mécanisme de la réaction?

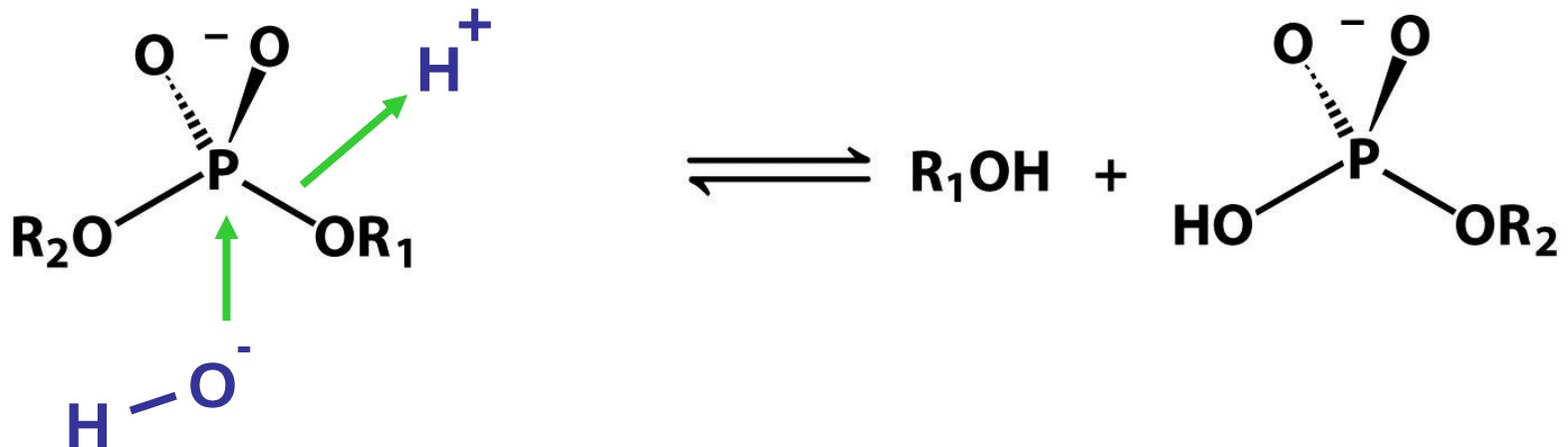
Mécanisme réactionnel (non-catalysé)



Mécanisme de la réaction catalysée

Deux possibilités:

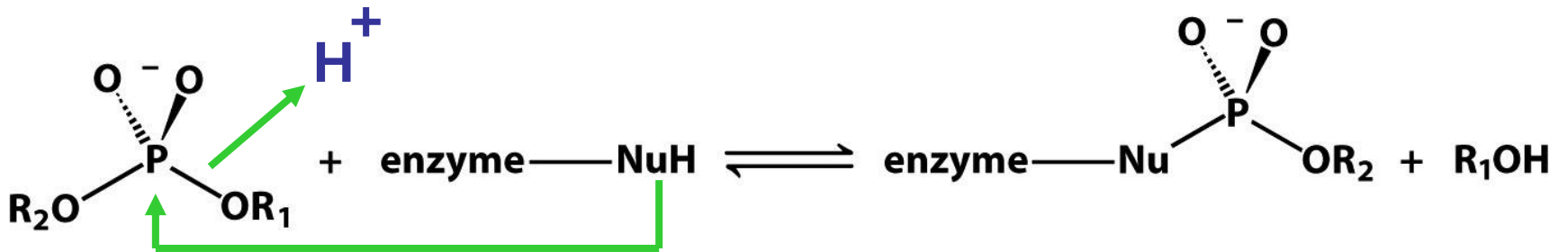
1. Hydrolyse directe



Mécanisme de la réaction catalysée

Deux possibilités:

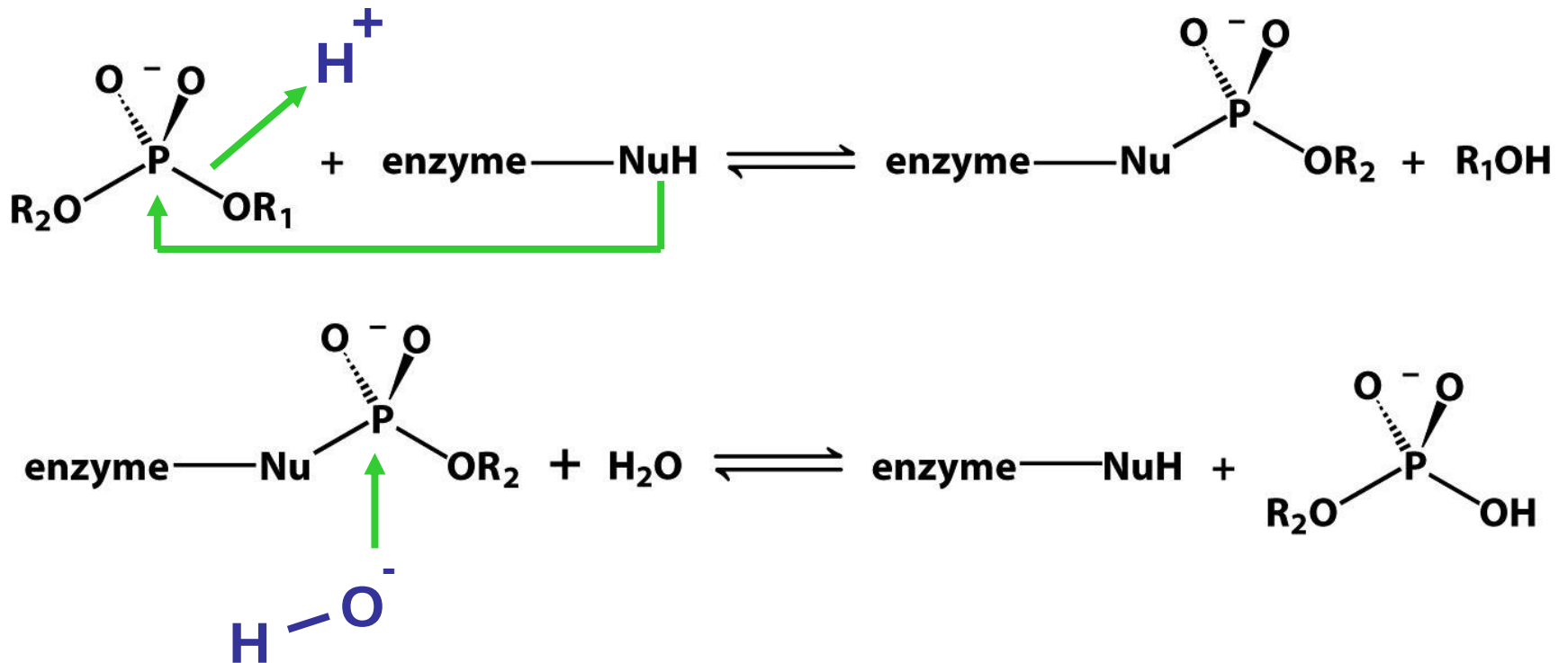
2. Intermédiaire covalent



Mécanisme de la réaction catalysée

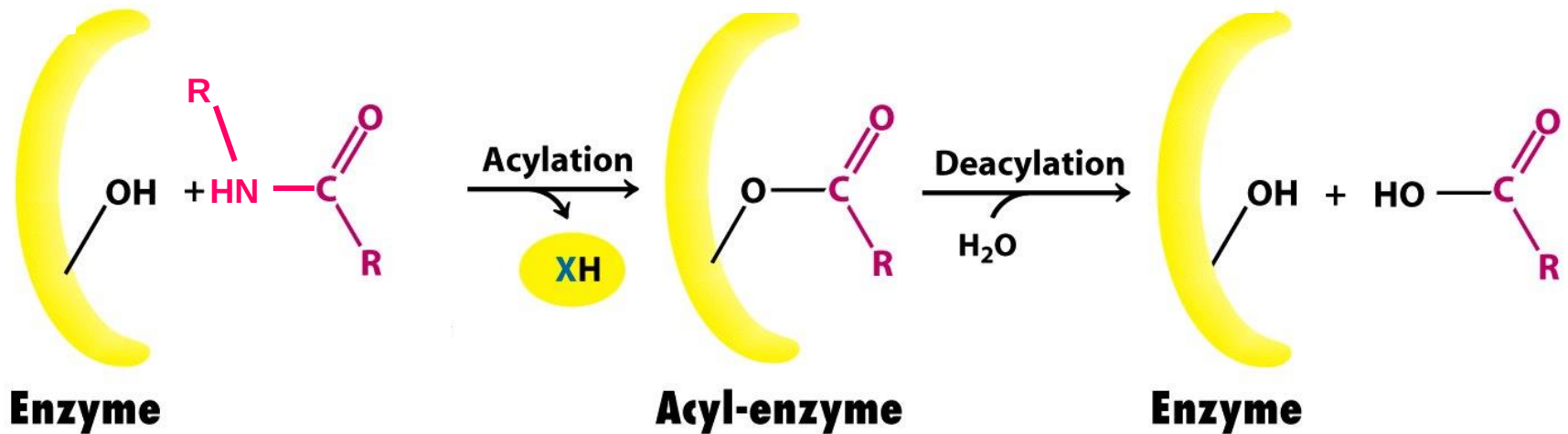
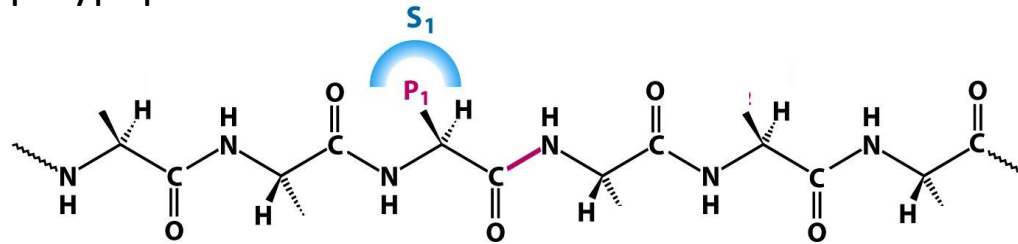
Deux possibilités:

2. Intermédiaire covalent



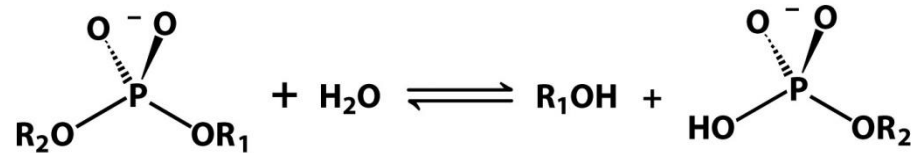
Catalyse covalente d'une sérine protéase

polypeptide

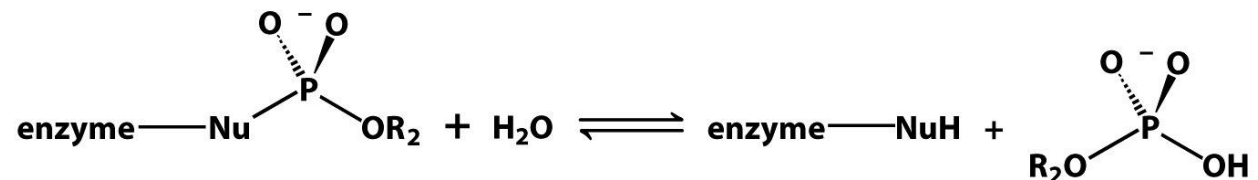
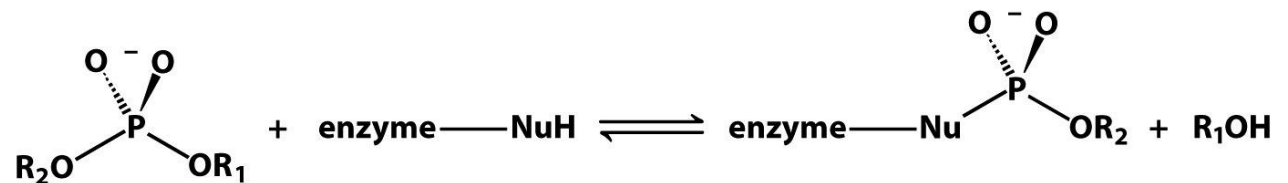


Mécanisme de la réaction catalysée

1. Hydrolyse directe

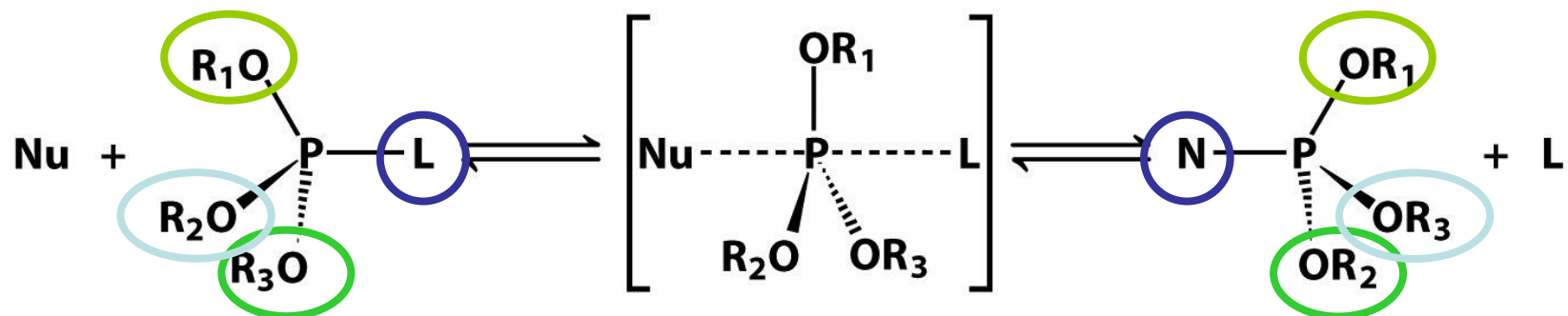


2. Intermédiaire covalent



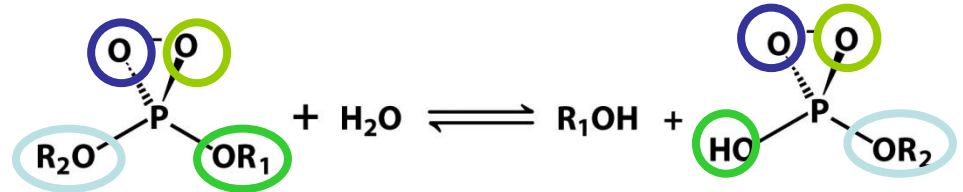
Quel est le mécanisme de la réaction catalysée par l'enzyme de restriction?

Inversion de la configuration stéréochimique

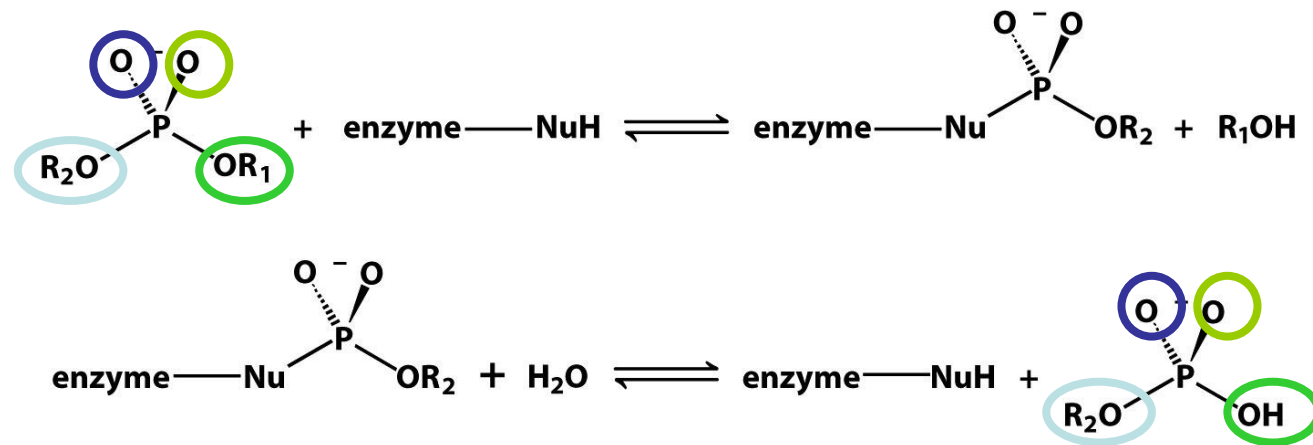


Mécanisme de la réaction catalysée

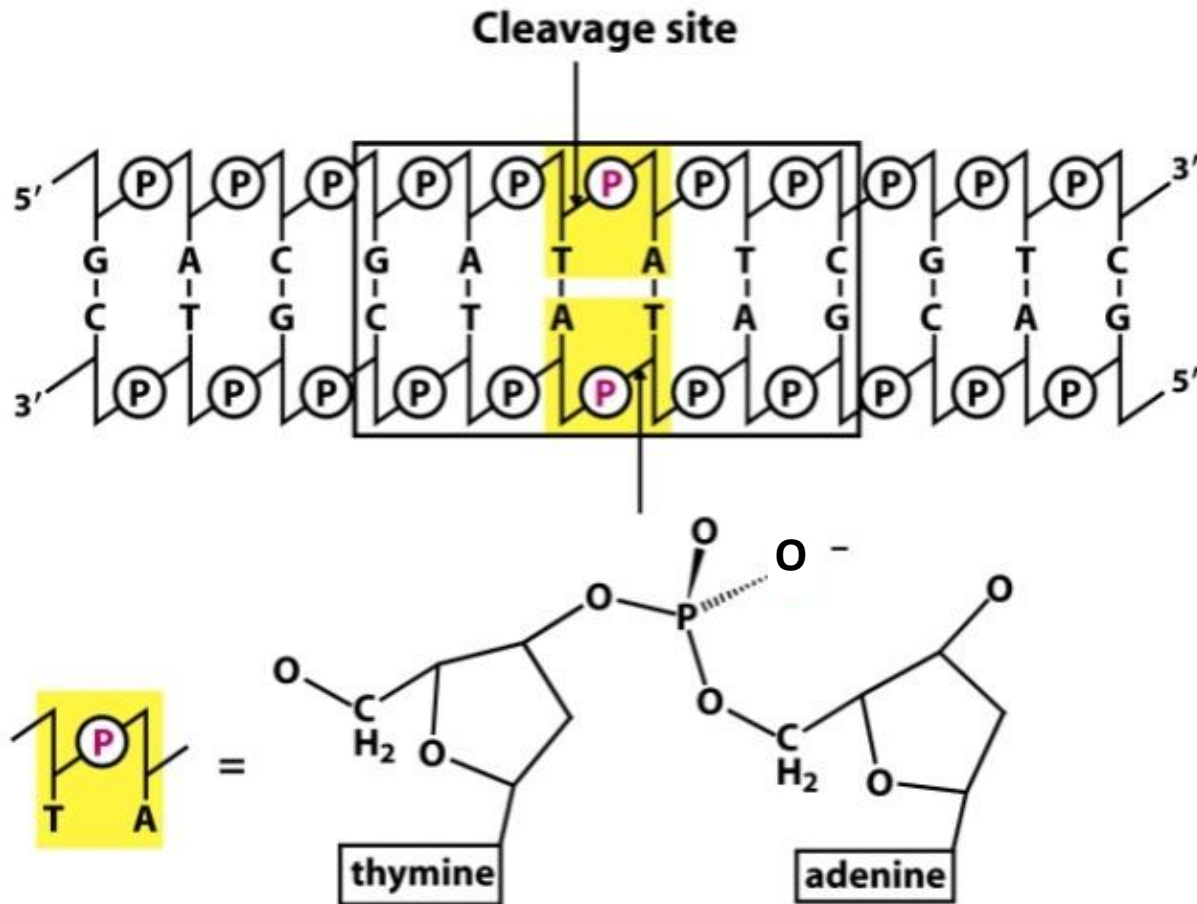
1. Hydrolyse directe



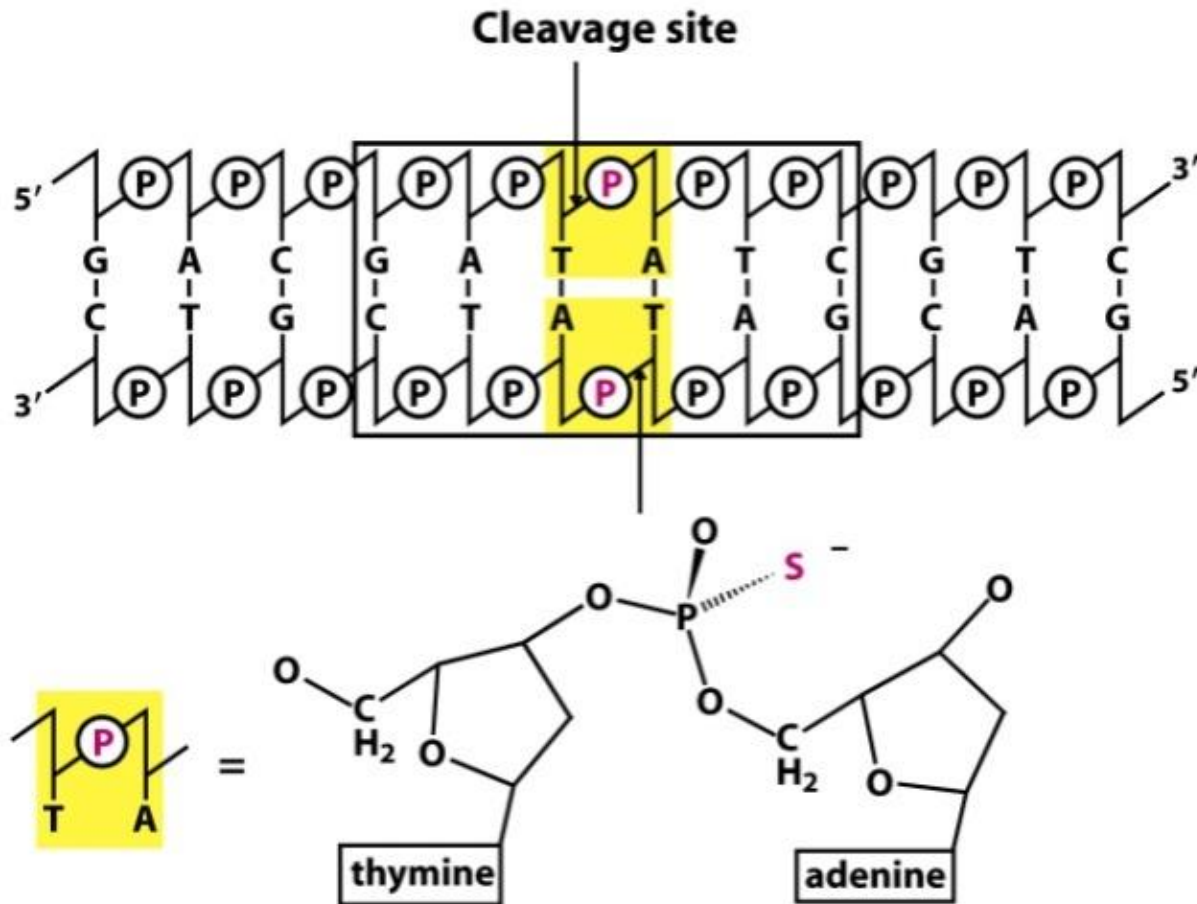
2. Intermédiaire covalent



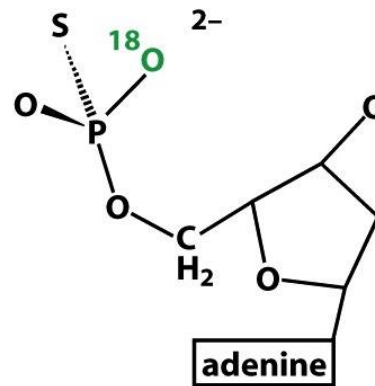
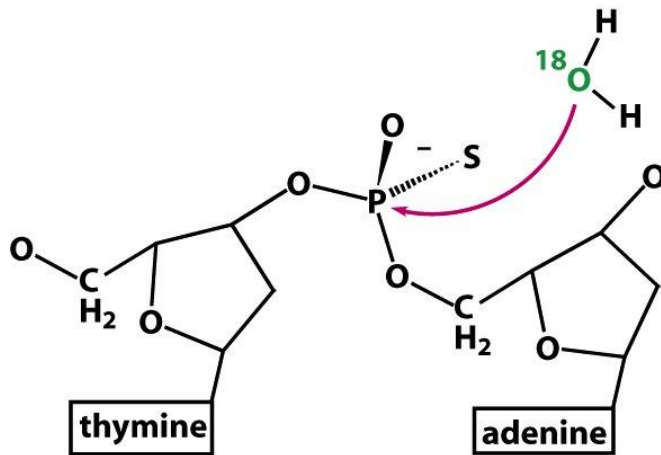
Mécanisme de la réaction catalysée



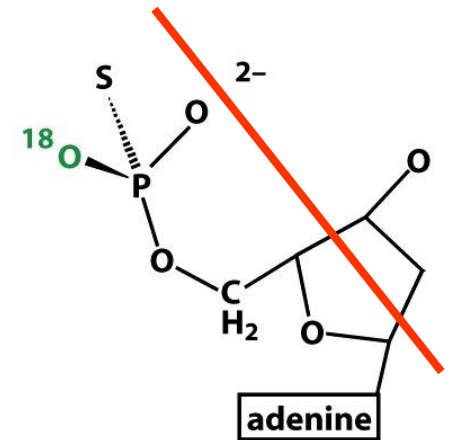
Mécanisme de la réaction catalysée



Mécanisme de la réaction catalysée



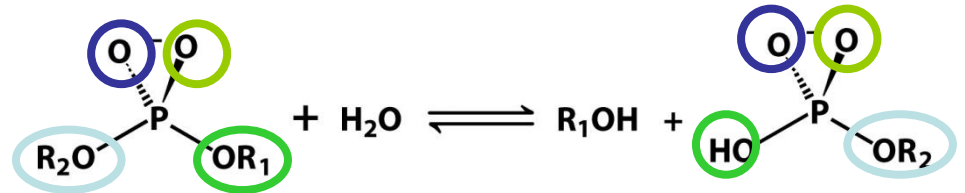
configuration
stéréochimique
inversée



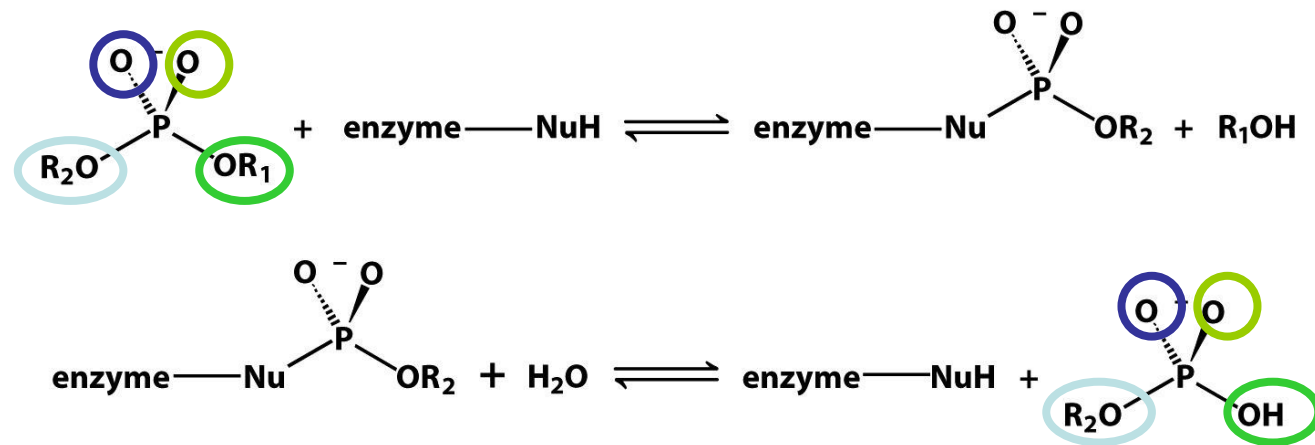
configuration
stéréochimique
non-inversée

Mécanisme de la réaction catalysée

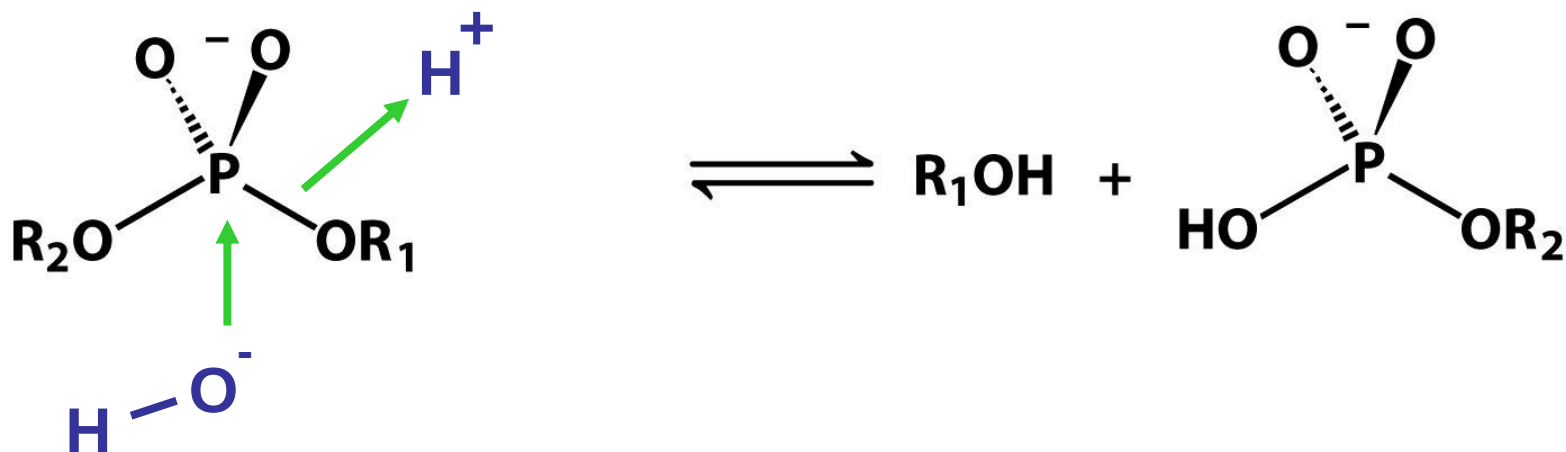
1. Hydrolyse directe



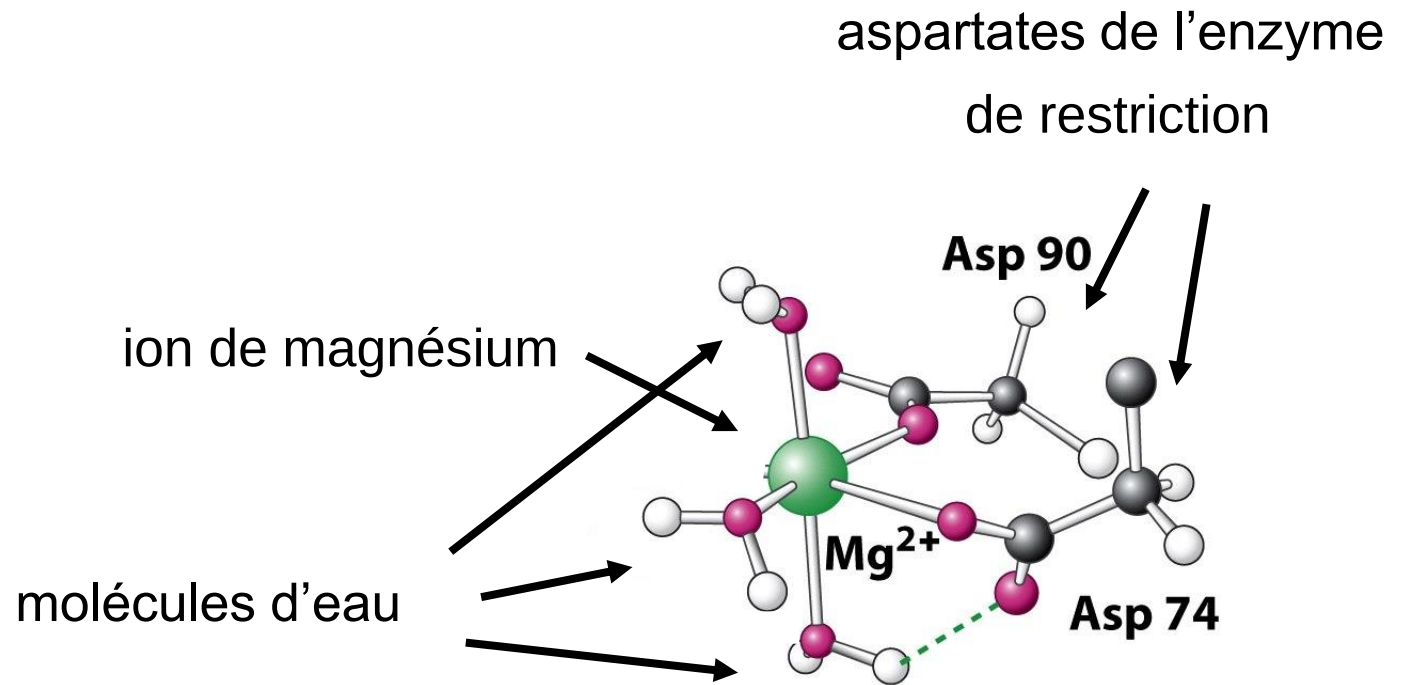
2. Intermédiaire covalent



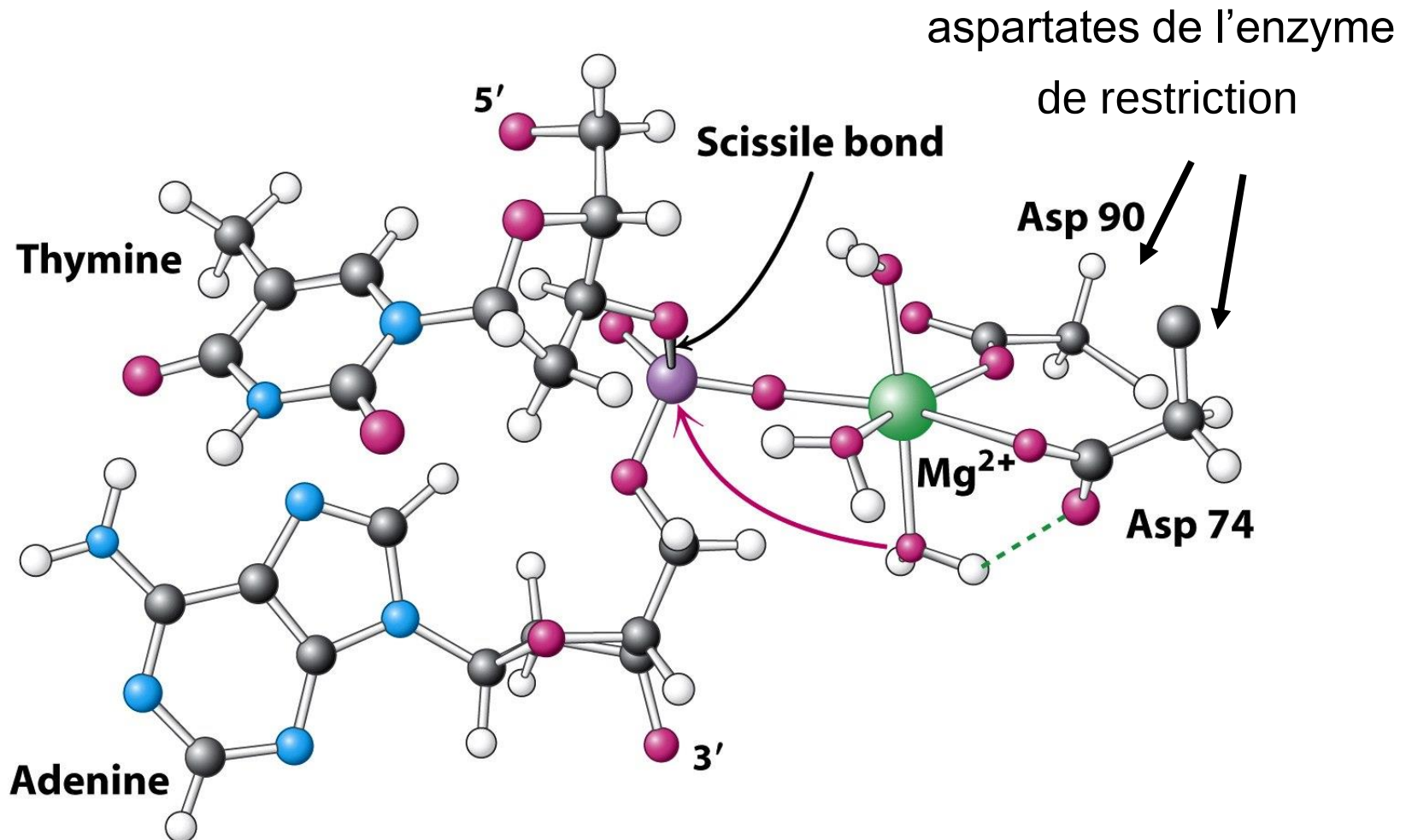
Hydrolyse directe



Un ion de magnésium est nécessaire pour la catalyse

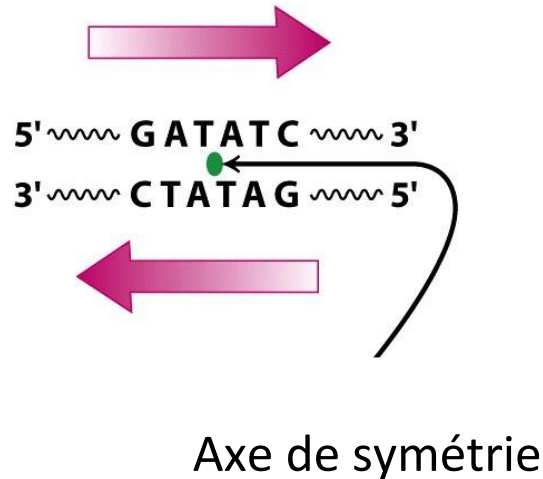


Un ion de magnésium est nécessaire pour la catalyse

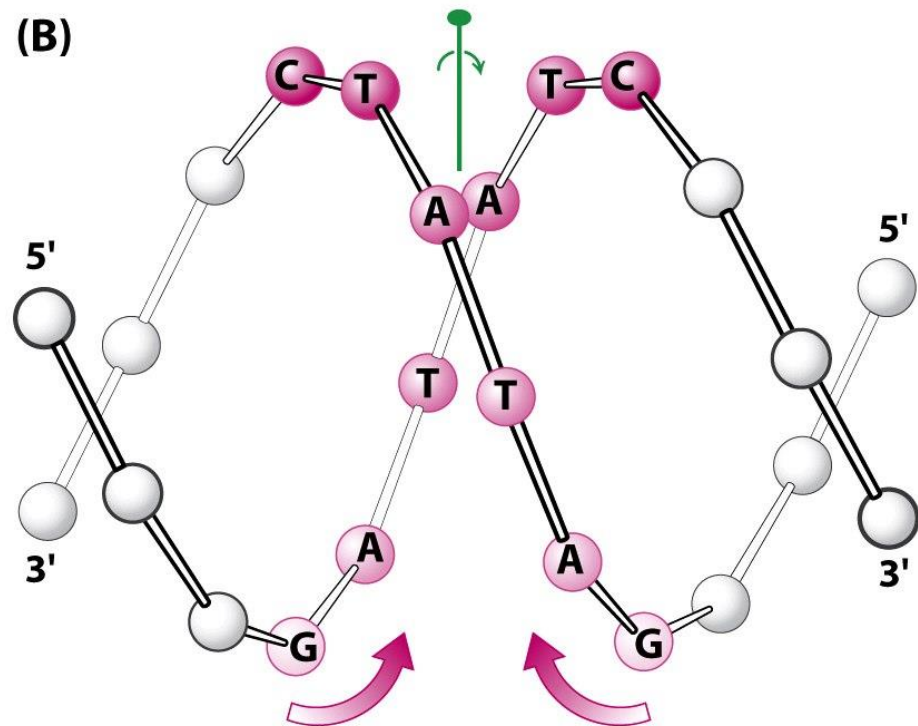


Les enzymes de restriction coupent toujours des séquences palindromiques

(A)

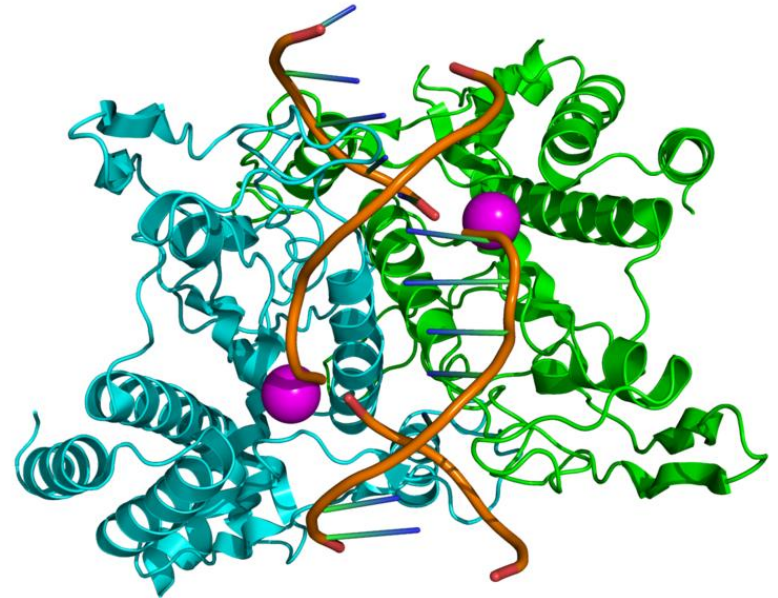
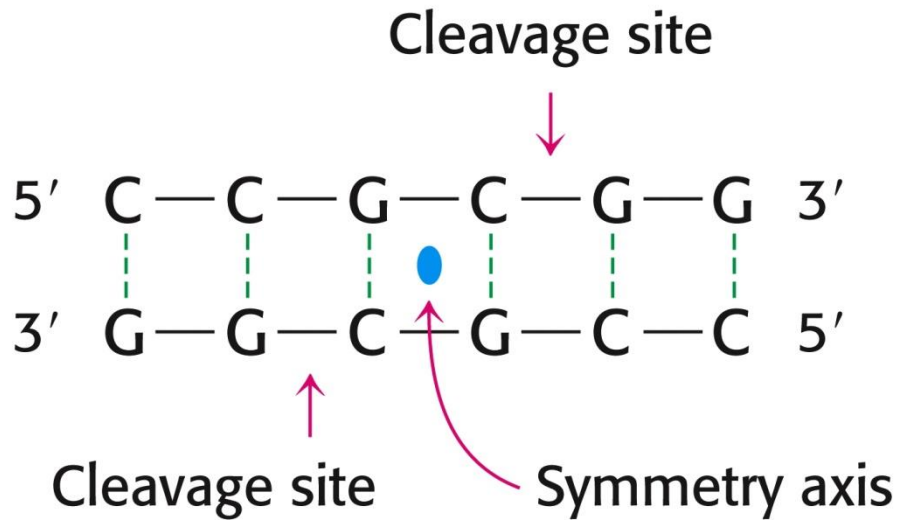


(B)



Unités répétées et inversées

Deux sous-unités sont nécessaires pour cliver le DNA



Les enzymes de restriction sont très spécifiques

5' -GTGACC**GAATTC**AAAGGTGCCTTTTATCATCACTTTAAAAATAAAAAACAATTACTCAGTGCCTGTTATA
 3' -CACTGG**CTTAAG**TTTCCACGGAAAATAGTAGTGAAATTTTTATTTTTTGTTAATGAGTCACGGACAATAT

GCAATTAATT**GATATC**TGATTGATGCCTACATCACAACAAAACTGATTTAACAAATGGTTGGTCTGCCTTA
 CGTTAATTAAT**CTATAG**ACTAACTACGGATGTAGTGTGTTTTTGACTAAATTGTTTACCAACCAGACGGAAT

AAACCTTATCCCTATCCAGAAGTGATG-3'
 TTTGGAATAGGGATAGGTTTTCACACTAC-5'

5' ~~~~ **GATATC** ~~~~ 3'
 3' ~~~~ **CTATAG** ~~~~ 5'



EcoRV

4096
séquences

GGGGGG
CCCCCC

AGGGGT
TCCCCA

TGGGGA
ACCCCT

CGGGGC
GCCCCG

GAGGGG
CCCCTC

.....

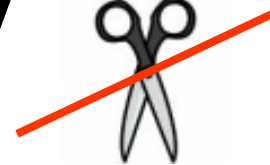
Les enzymes de restriction sont très spécifiques

5' -GTGACCGAATTCAAAGGTGCCTTTTATCATCACTTTAAAAATAAAAAACAATTACTCAGTGCCTGTTATA
3' -CACTGGCTTAAGTTTCCACGGAAAATAGTAGTGAAATTTTATTTTTTGTTAATGAGTCACGGACAATAT

GCAATTAATTA**GATATC**TGATTGATGCCTACATCACAACAAAACTGATTTAACAAATGGTTGGTCTGCCTTA
CGTTAATTAAT**CTATAG**ACTAACTACGGATGTAGTGTTGTTTTTGACTAAATTGTTTACCAACCAGACGGAAT

AAACCTTATCCCTATCCAGAAGTGATG-3'
TTTGAATAGGGATAGGTTTTCACACTAC-5'

5' ~~~~ **GATATC** ~~~~ 3'
3' ~~~~ **CTATAG** ~~~~ 5'



EcoRV

*Pourquoi les
enzymes de restriction
sont-elles si spécifiques?*

4096
séquences

GGGGGG
CCCCCC

AGGGGT
TCCCCA

TGGGGA
ACCCCT

CGGGGC
GCCCCG

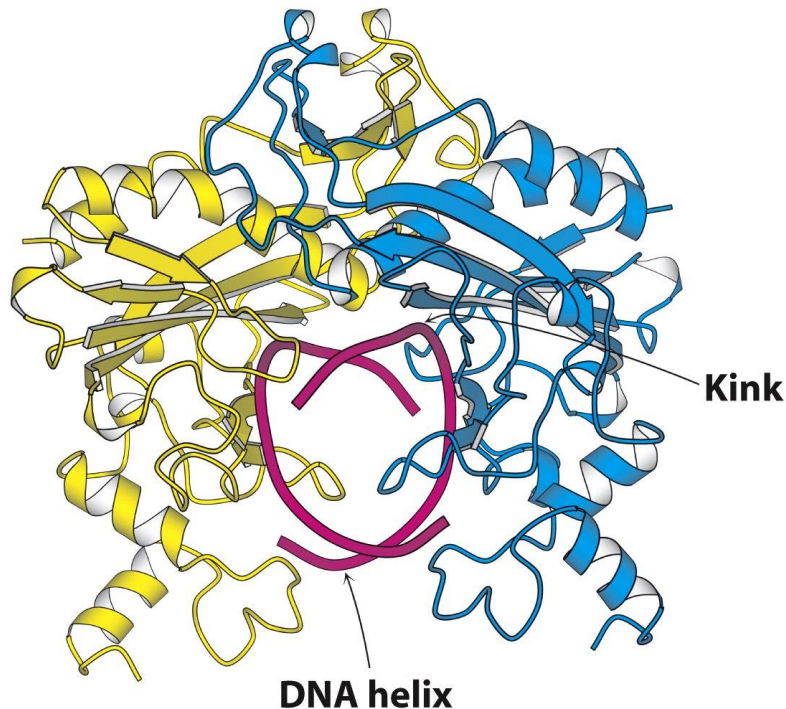
GAGGGG
CCCCTC

.....
.....

Spécificité des enzymes de restriction

Hypothèse: L'affinité pour un substrat spécifique est beaucoup plus forte que pour toutes les autres séquences

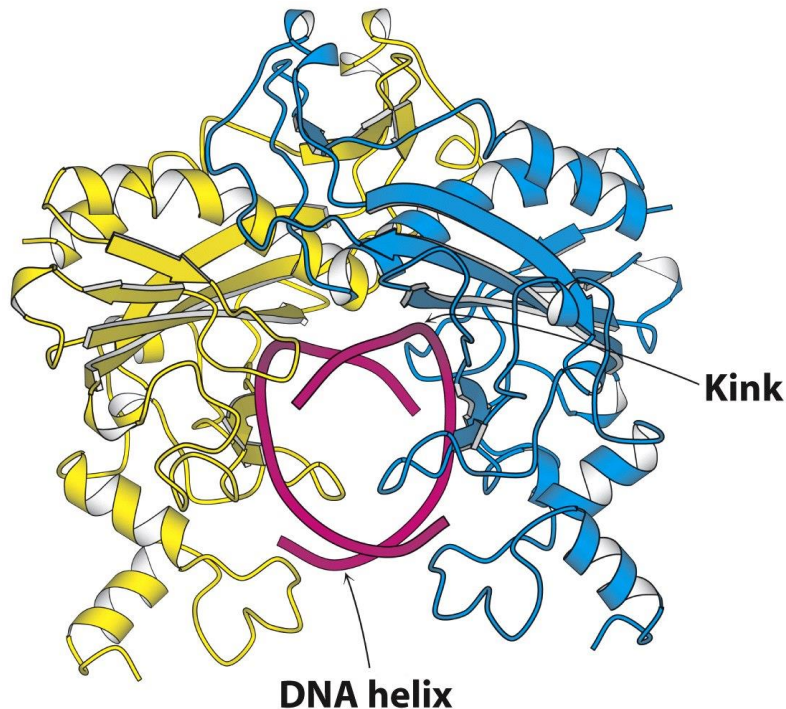
→ Les enzymes de restriction se fixent seulement aux séquences désirées



Spécificité des enzymes de restriction

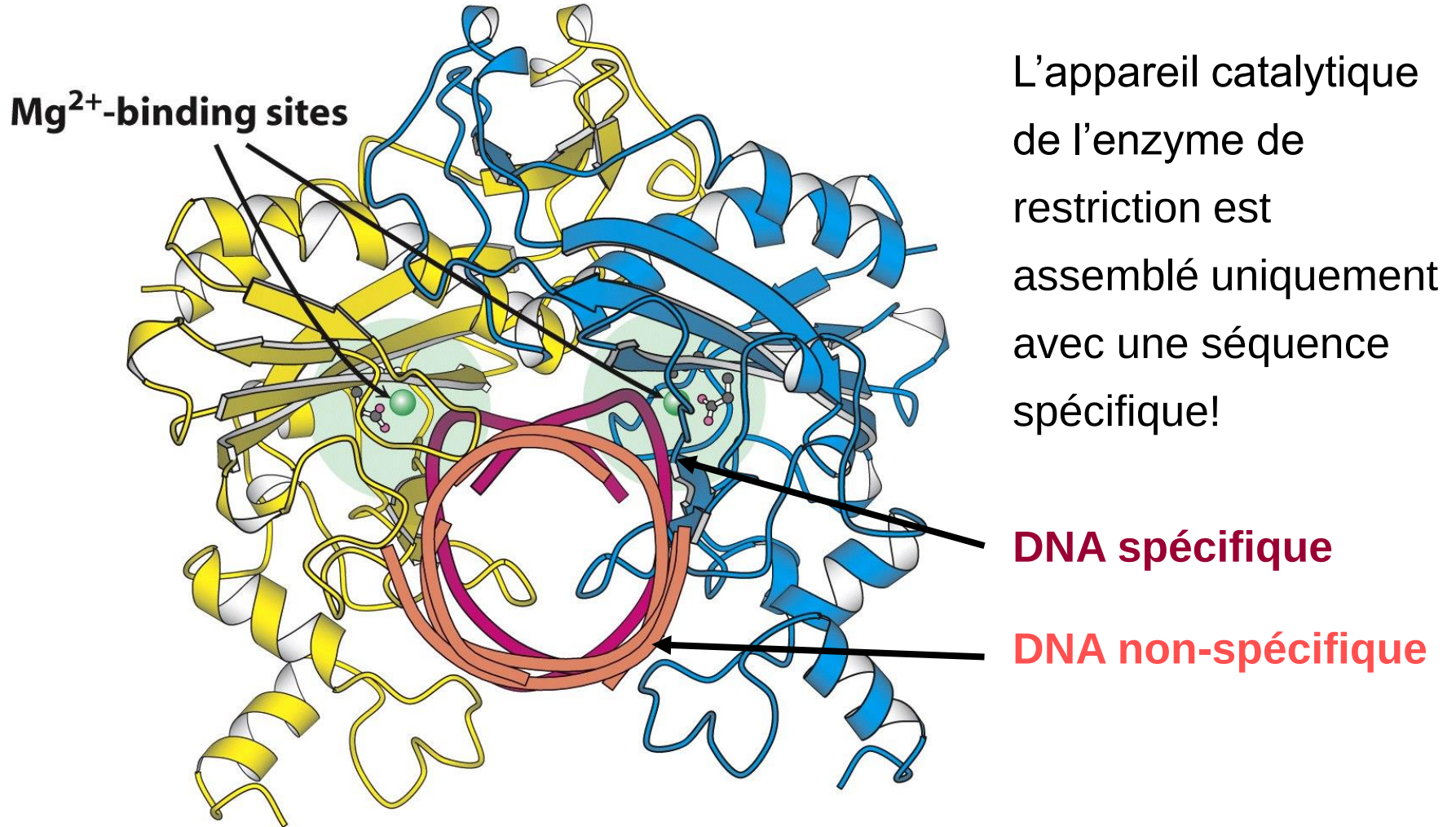
Hypothèse: L'affinité pour un substrat spécifique est beaucoup plus forte que pour toutes les autres séquences

→ Les enzymes de restriction se fixent seulement aux séquences désirées



L'affinité pour des séquences différentes est similaire

Spécificité des enzymes de restriction



Evolution divergente

Les enzymes de restriction de type II se sont développées par évolution divergente (elles ont un ancêtre commun)

EcoRV

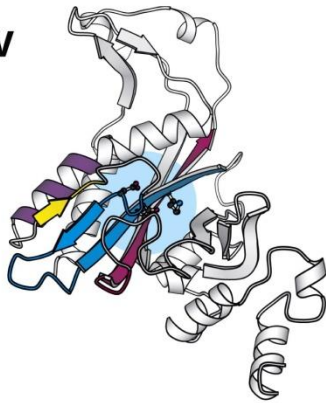


Figure 9-44a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

EcoRI

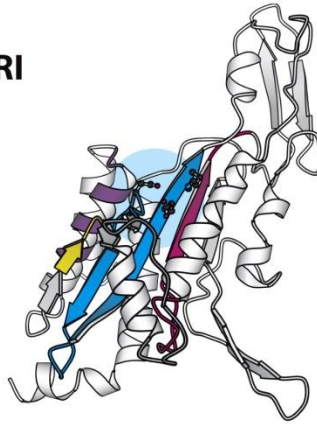


Figure 9-44b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

BamHI

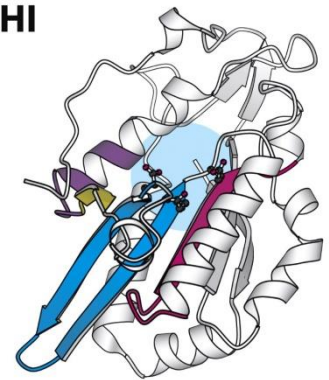
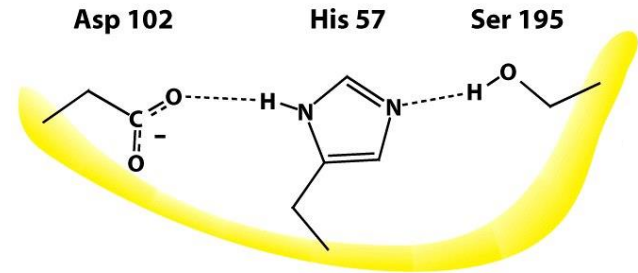


Figure 9-44c
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

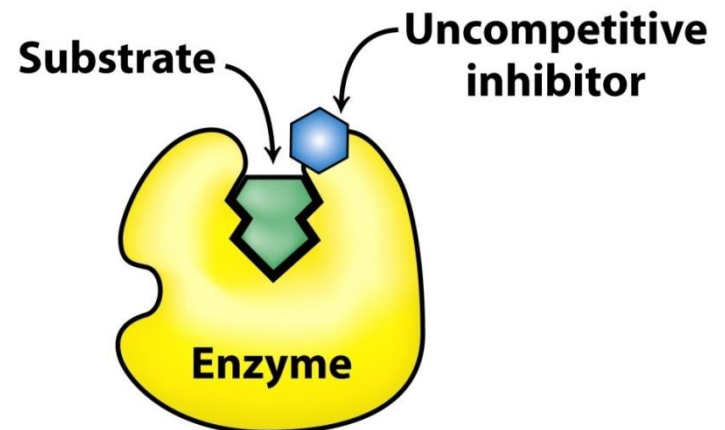
Leçon 10

Stratégies catalytiques

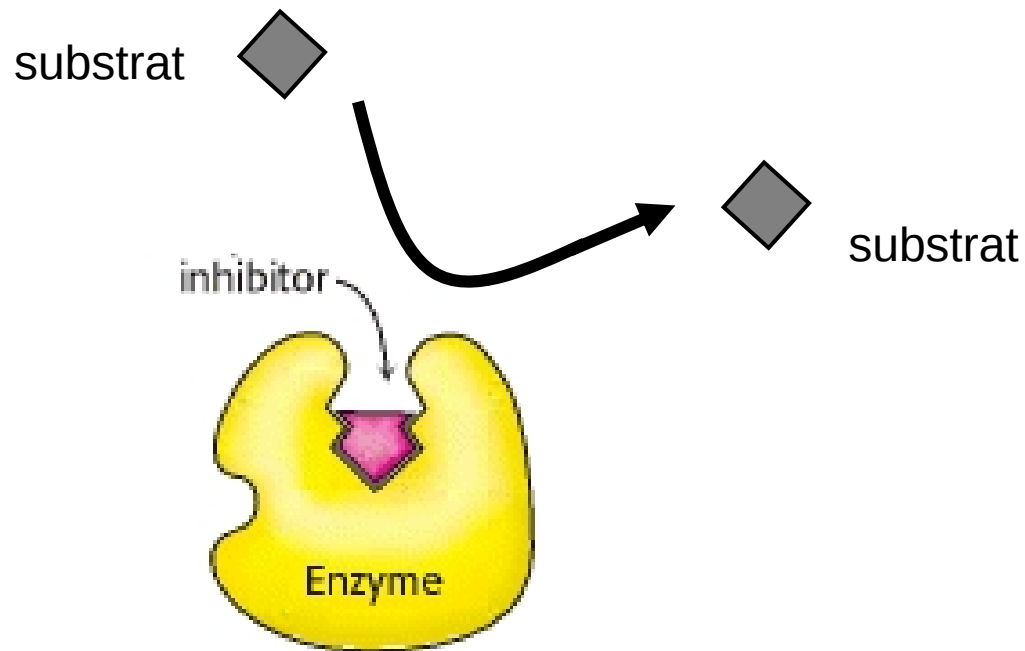
- Protéases
- Anhydrase carbonique
- Enzyme de restriction



➡ Inhibition enzymatique

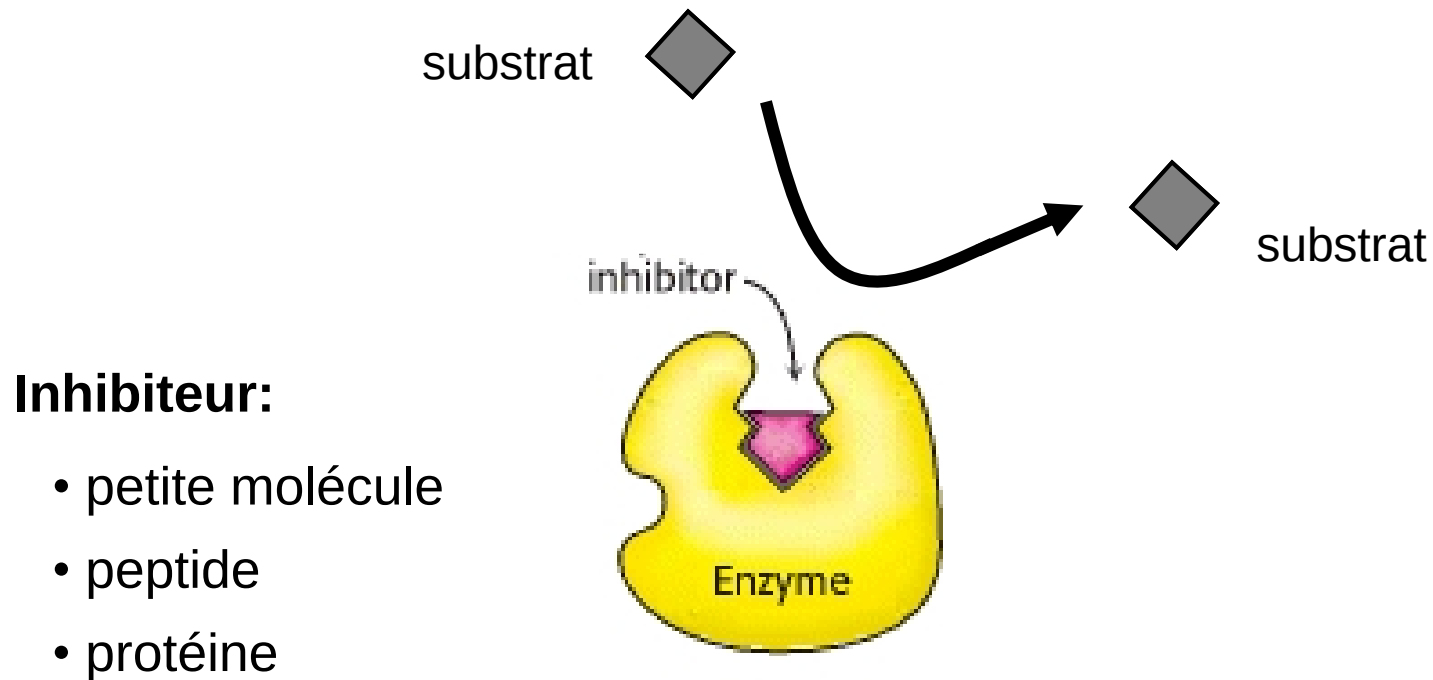


Inhibition enzymatique



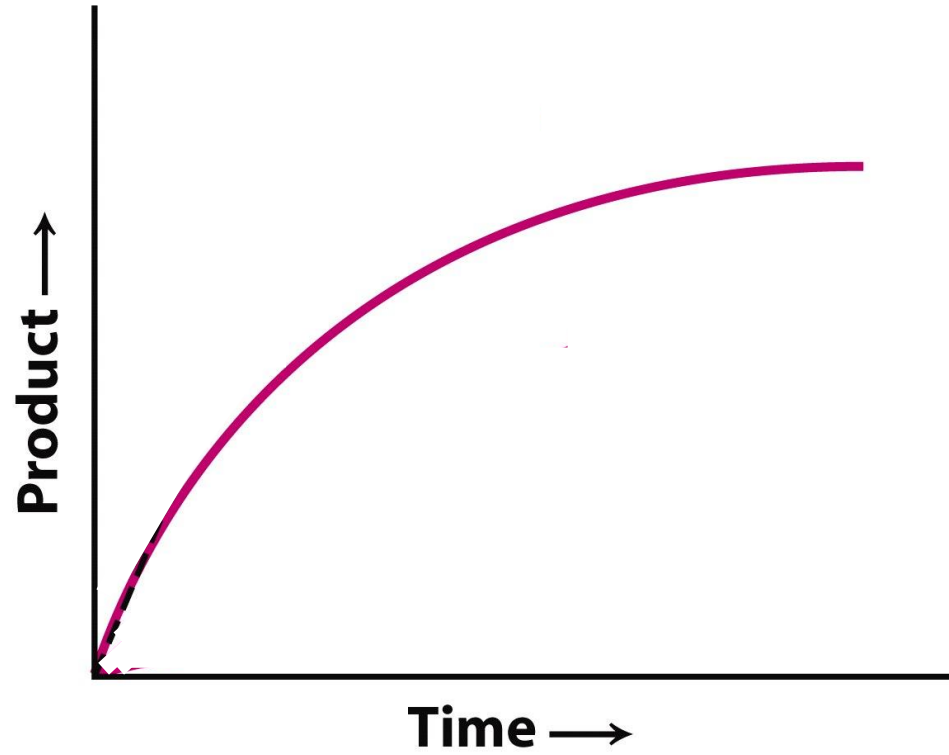
Un **inhibiteur** est une substance qui diminue la vitesse d'une réaction catalysée par une enzyme

Inhibition enzymatique



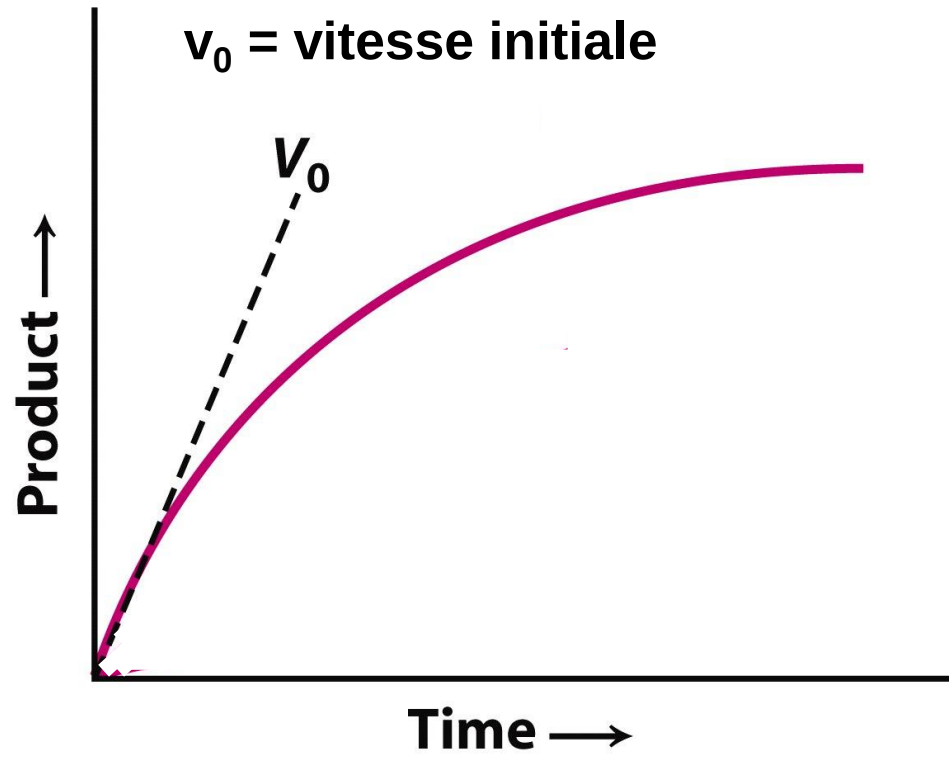
Réaction enzymatique (non-inhibée)

$$\text{Vitesse} = \frac{\Delta [\text{produit}]}{\Delta [\text{temps}]}$$



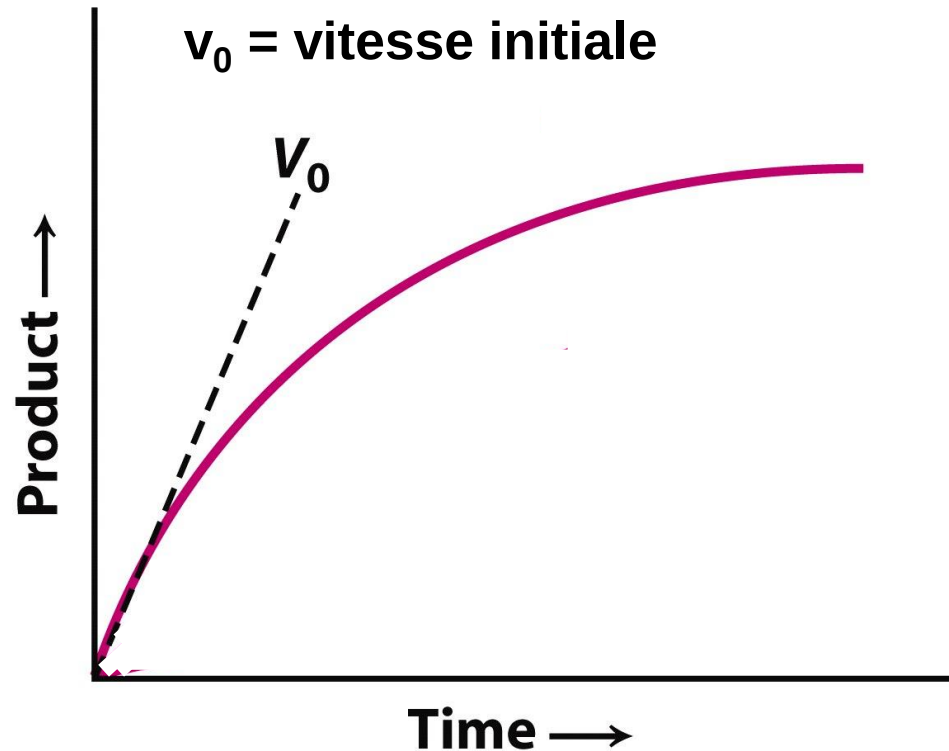
Réaction enzymatique (non-inhibée)

$$\text{Vitesse} = \frac{\Delta [\text{produit}]}{\Delta [\text{temps}]}$$



Réaction enzymatique (non-inhibée)

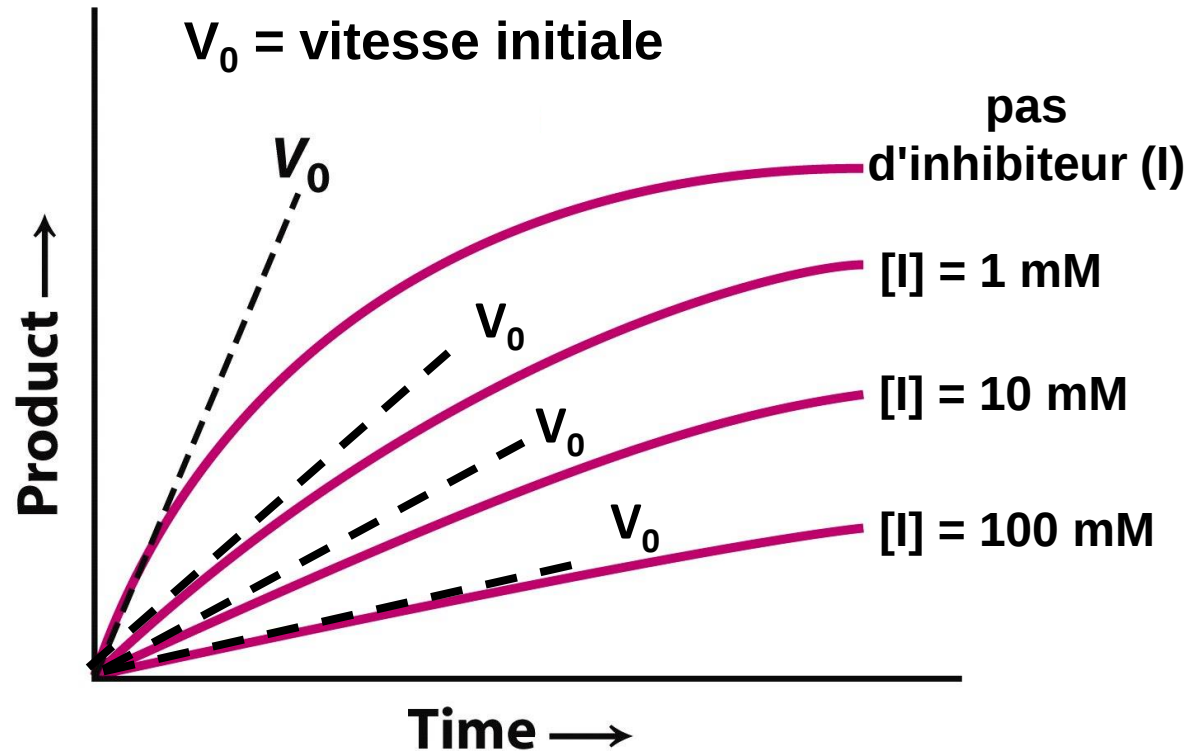
$$\text{Vitesse} = \frac{\Delta [\text{produit}]}{\Delta [\text{temps}]}$$



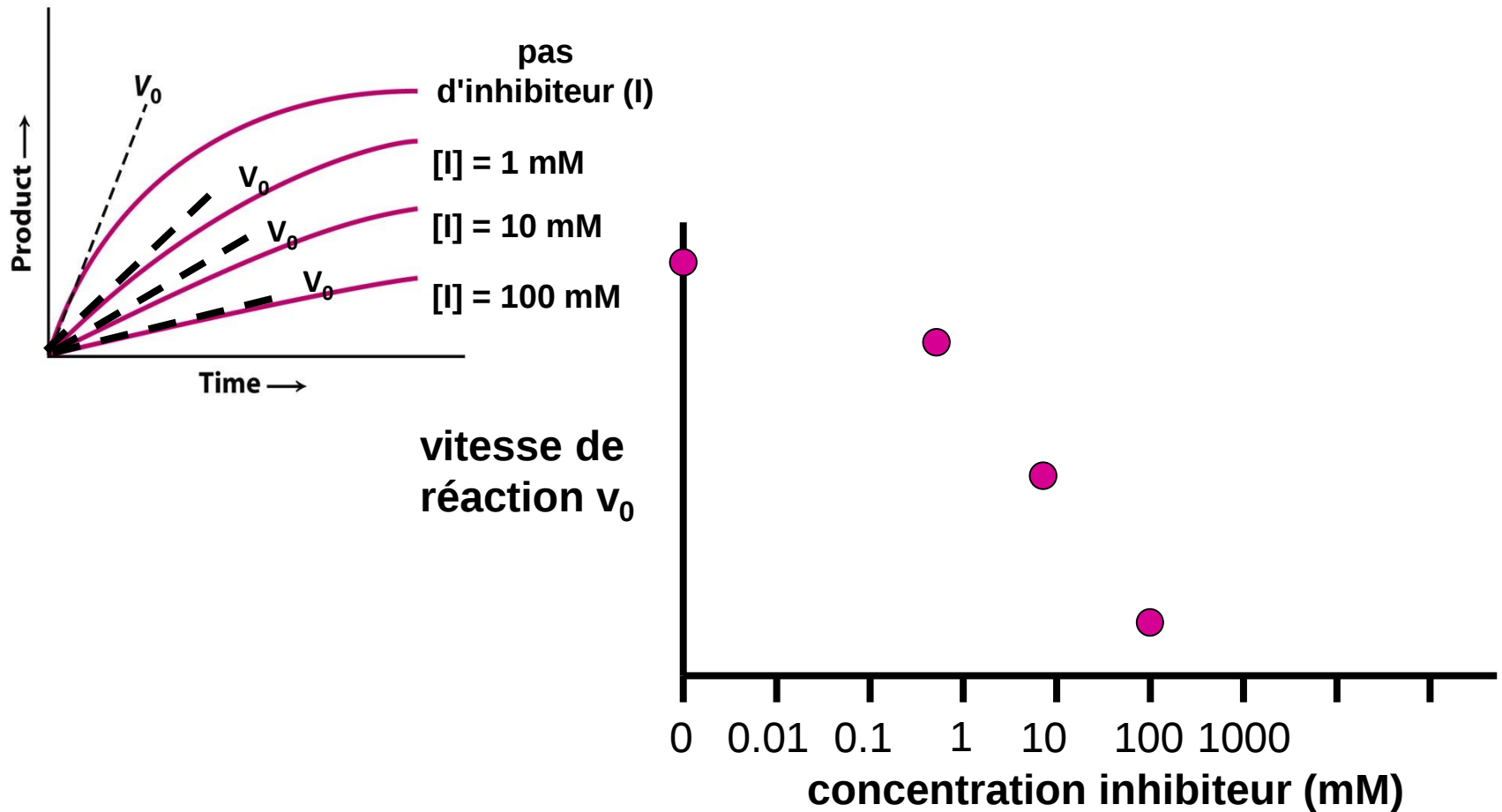
Quelle vitesse v_0 attend-on pour une réaction inhibée?

Réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur

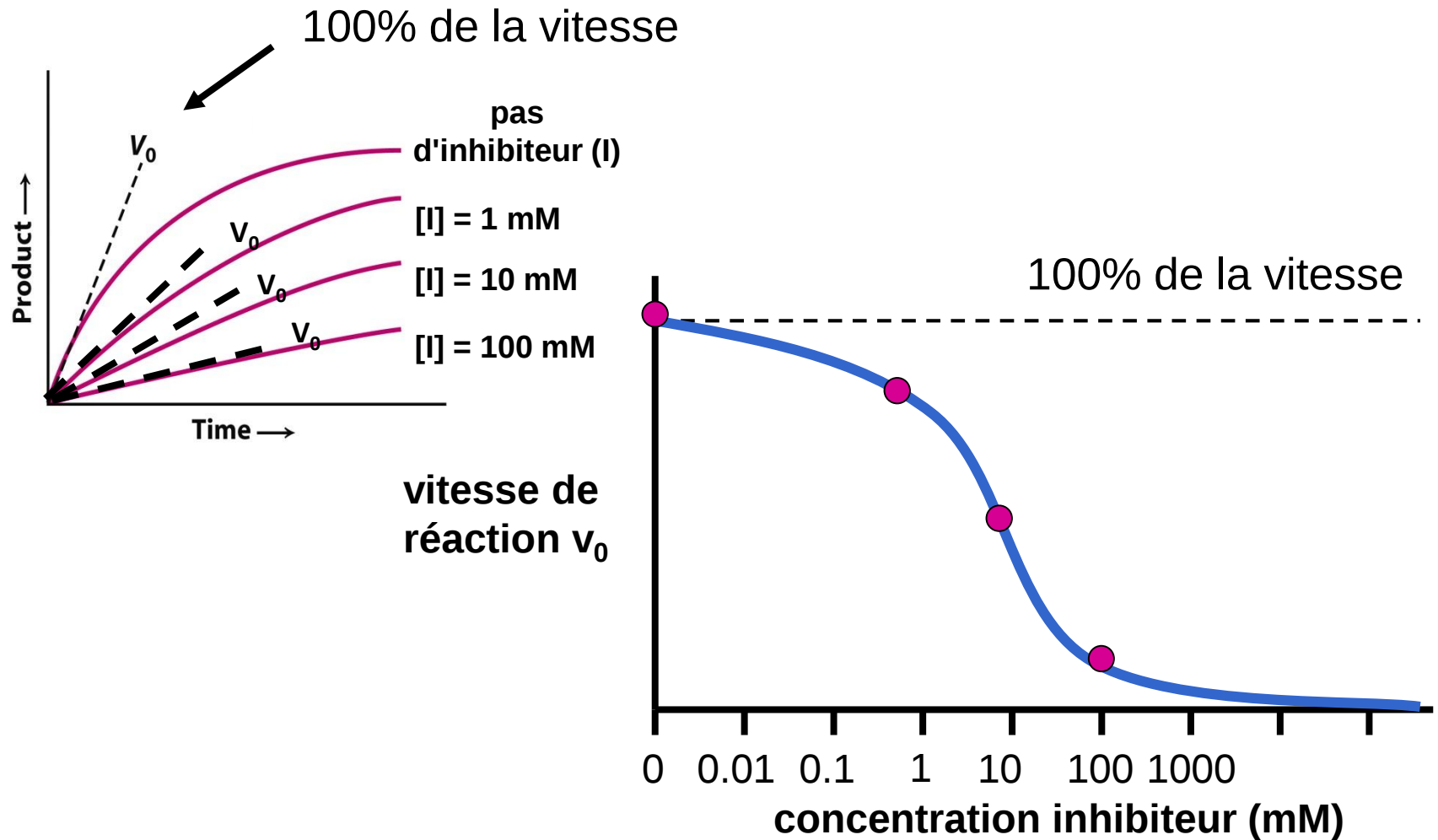
$$\text{Vitesse} = \frac{\Delta [\text{produit}]}{\Delta [\text{temps}]}$$



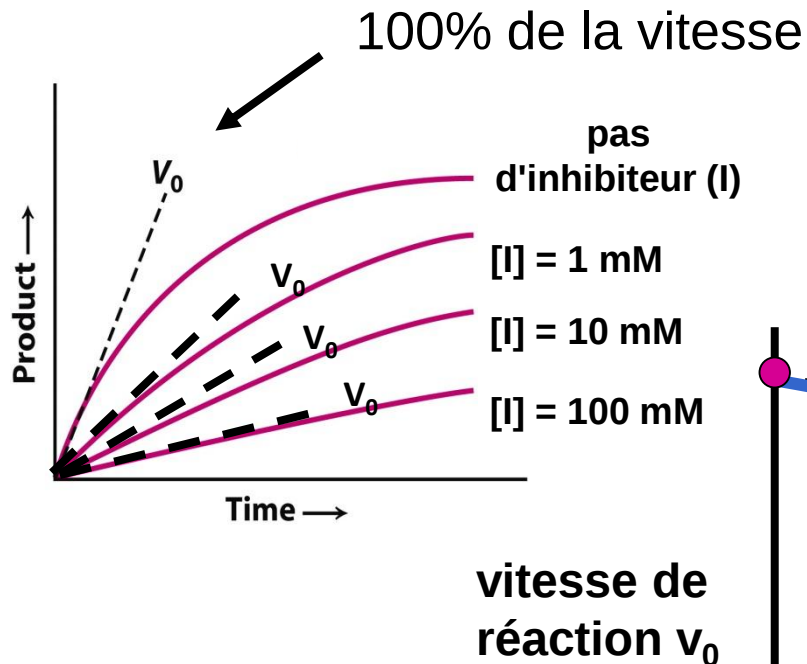
Réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur



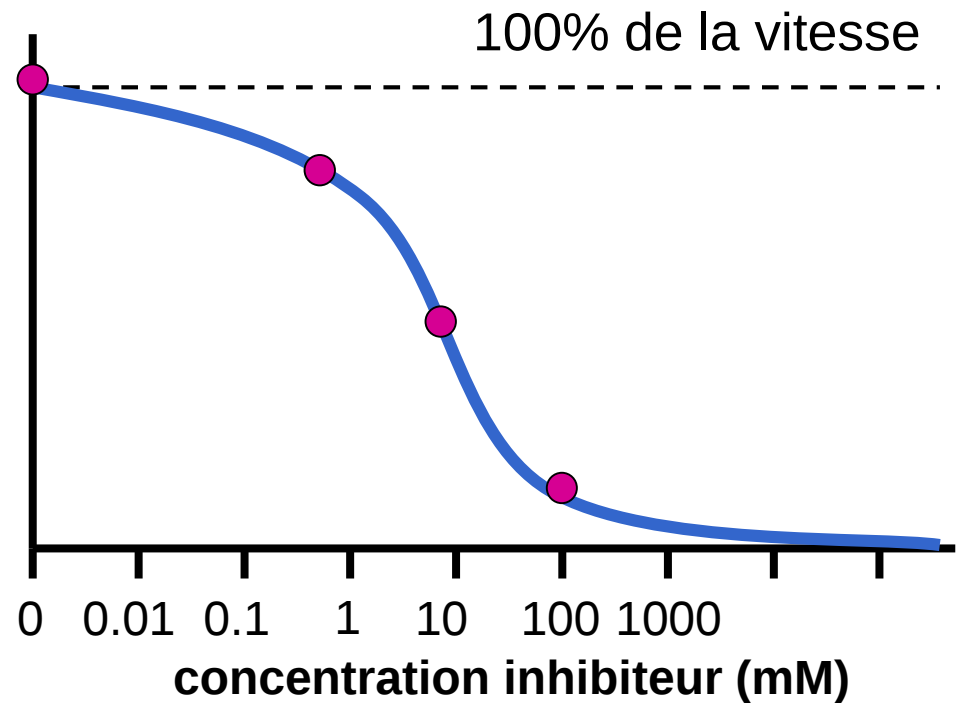
Réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur



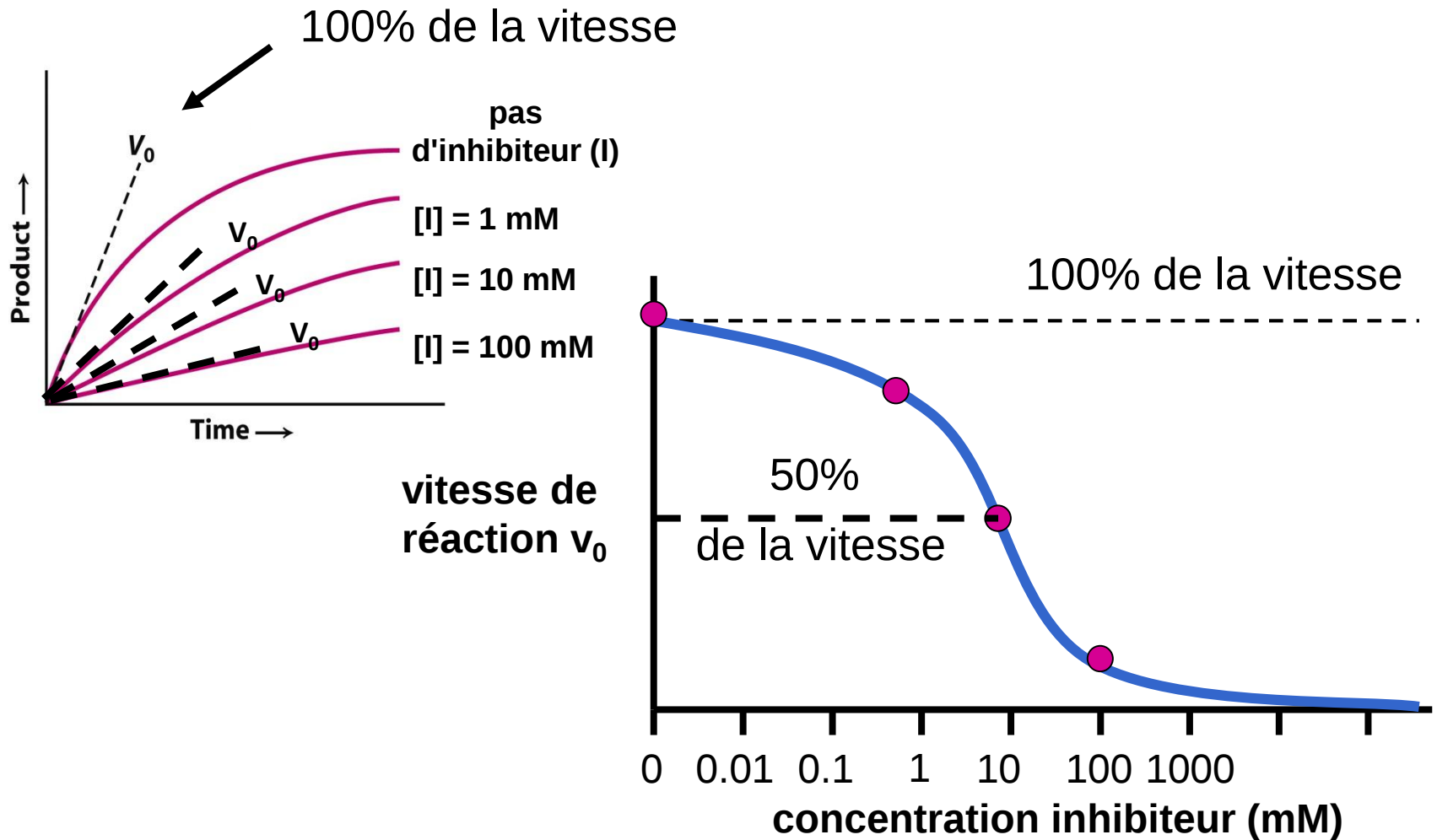
Réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur



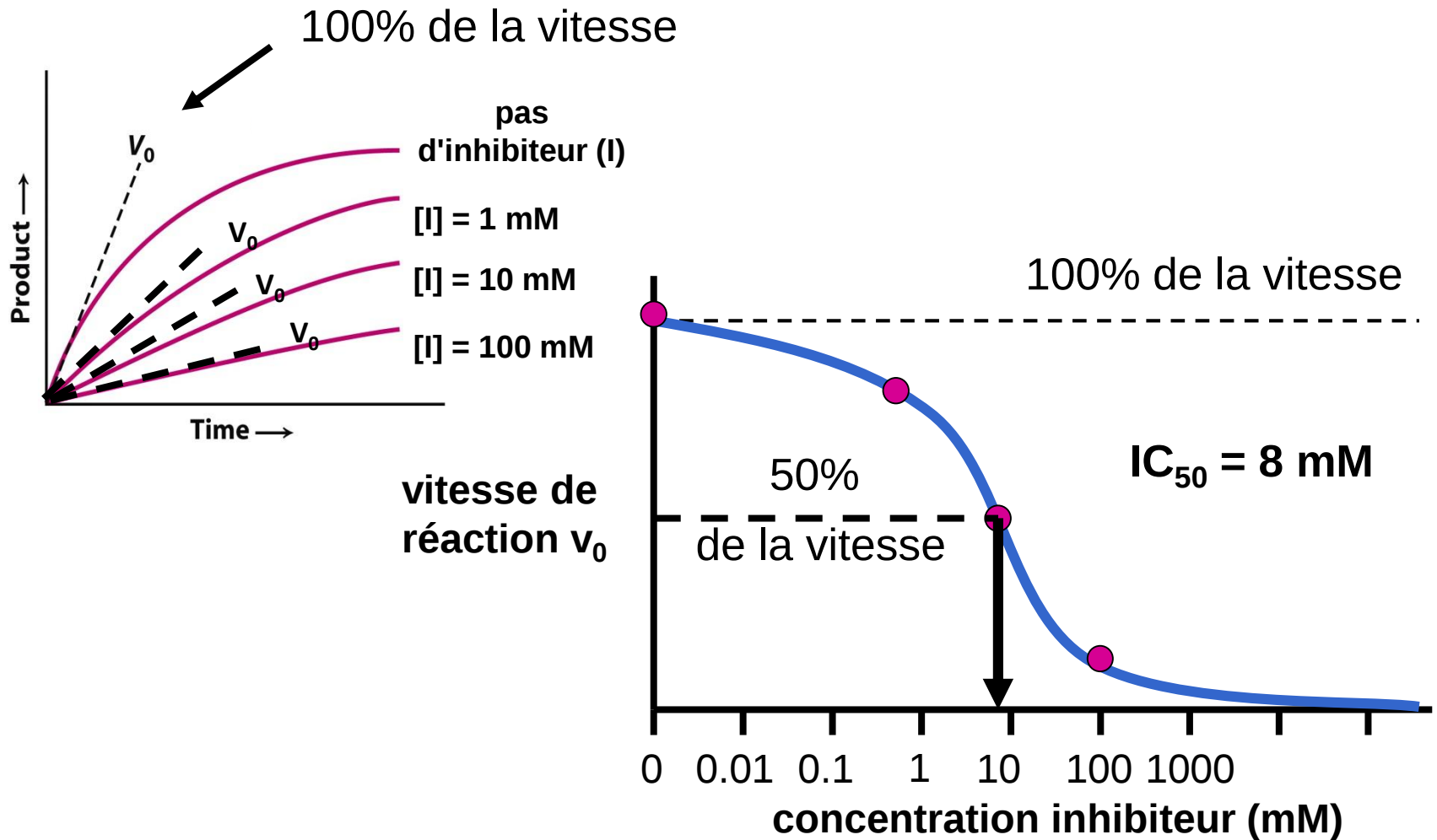
*Comment pourrait-on
quantifier
la force d'un inhibiteur?*



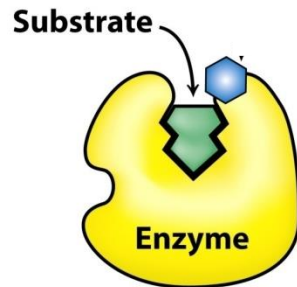
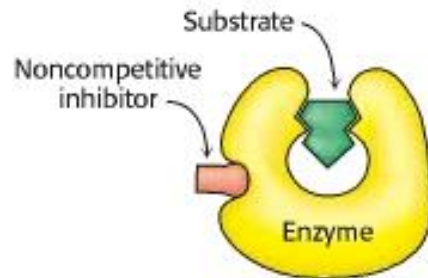
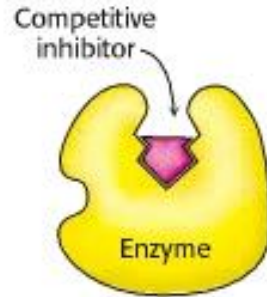
Concentration inhibitrice à 50% (IC_{50})



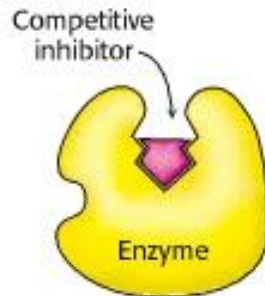
Concentration inhibitrice à 50% (IC_{50})



Mécanismes d'inhibition

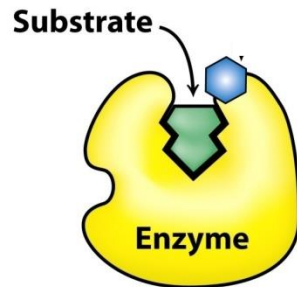
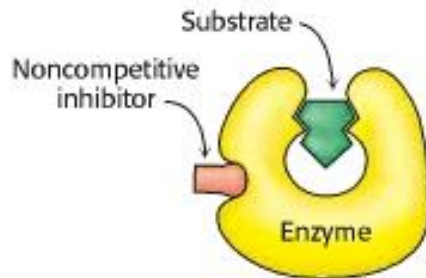


Mécanismes d'inhibition

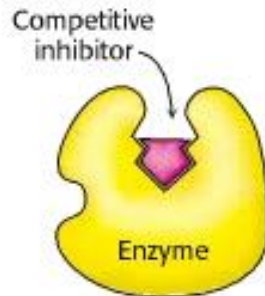


Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

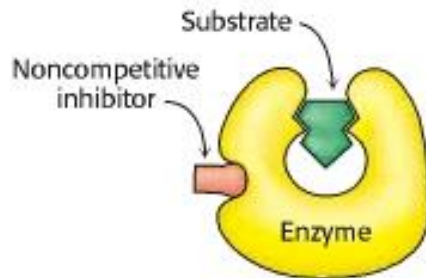


Mécanismes d'inhibition



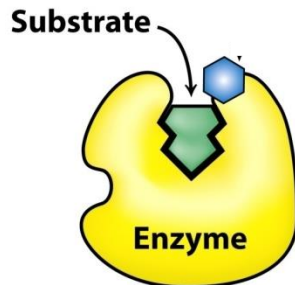
Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

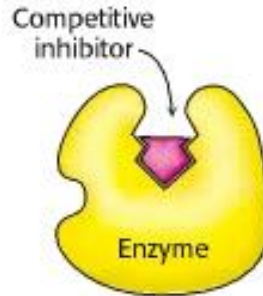


Inhibiteur non compétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive

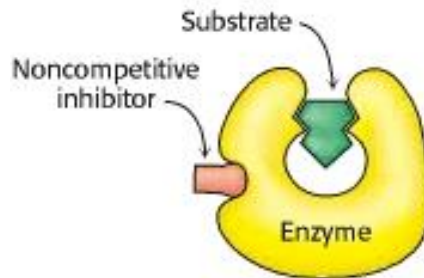


Mécanismes d'inhibition



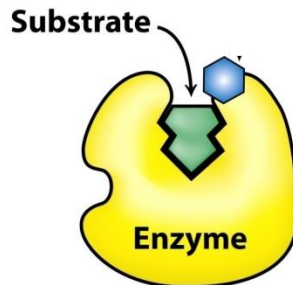
Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat



Inhibiteur non compétitif

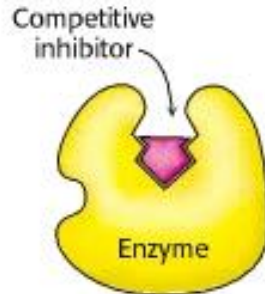
L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive



Inhibiteur incompétitif

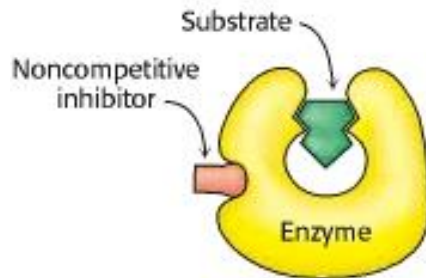
L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

Mécanismes d'inhibition



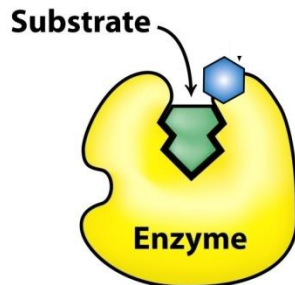
Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat



Inhibiteur non compétitif

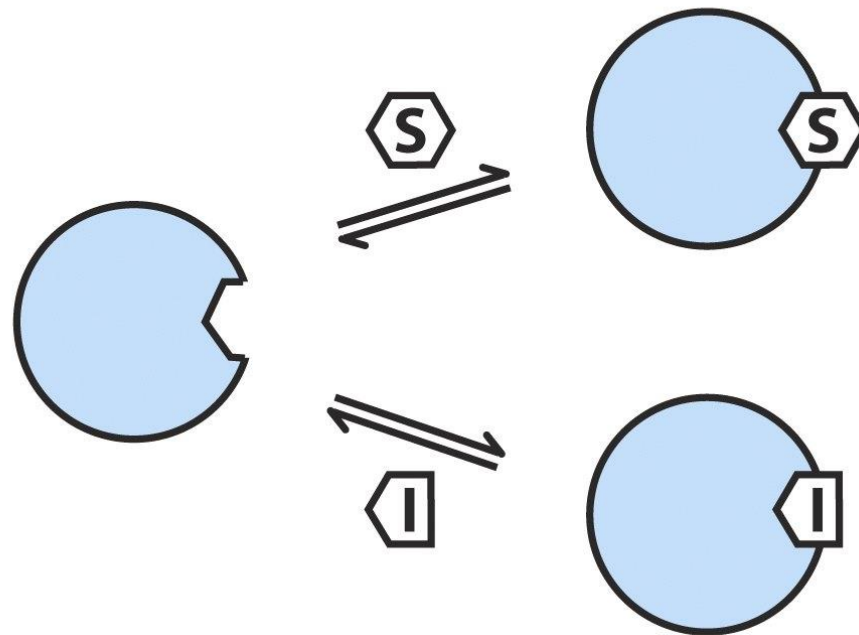
L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive



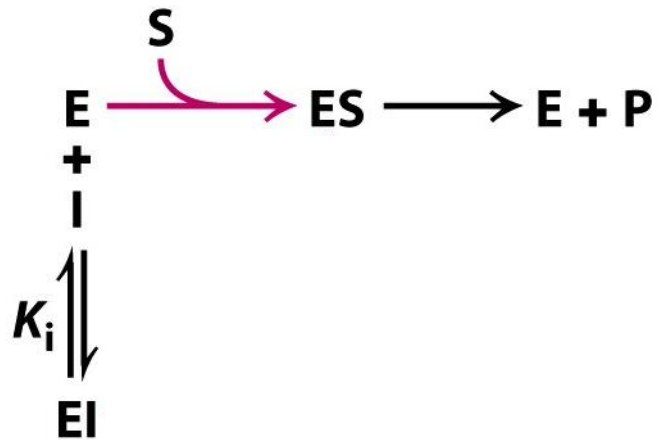
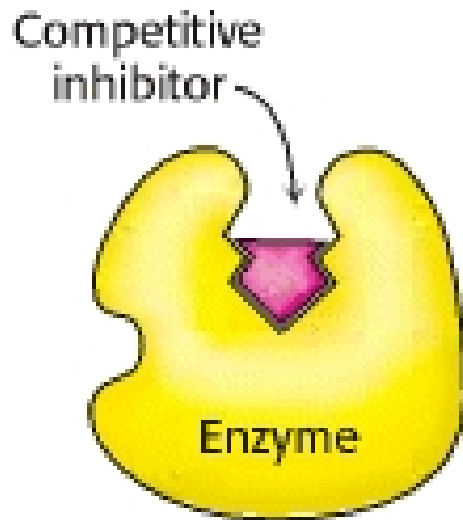
Inhibiteur incompétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

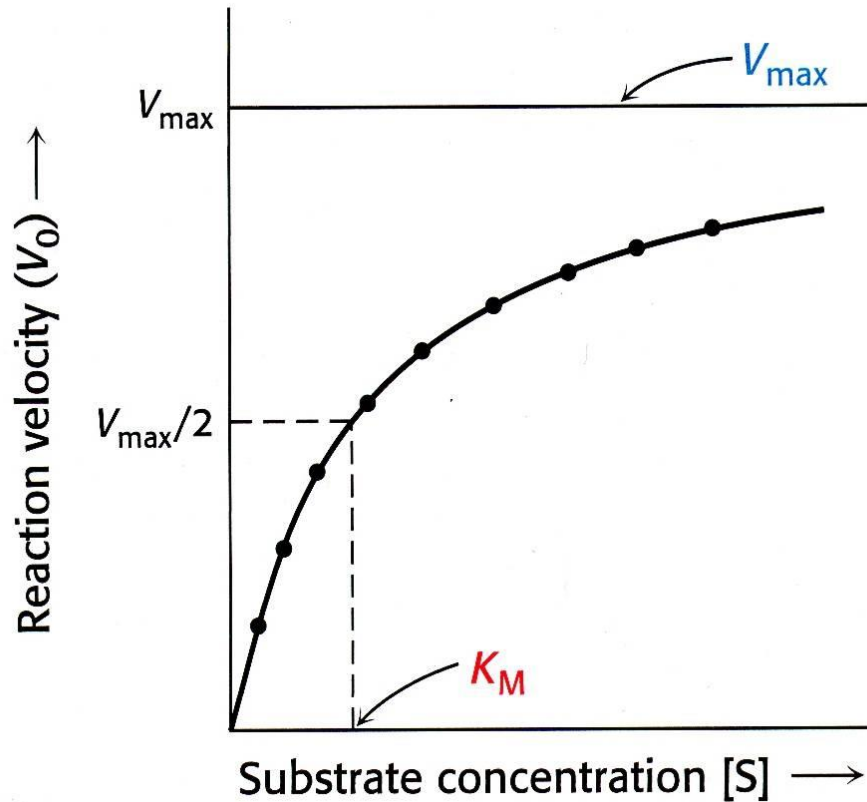
Cinétique d'un inhibiteur compétitif



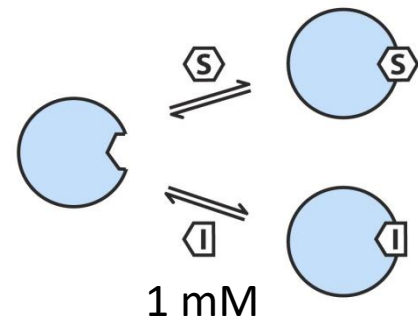
Cinétique d'un inhibiteur compétitif



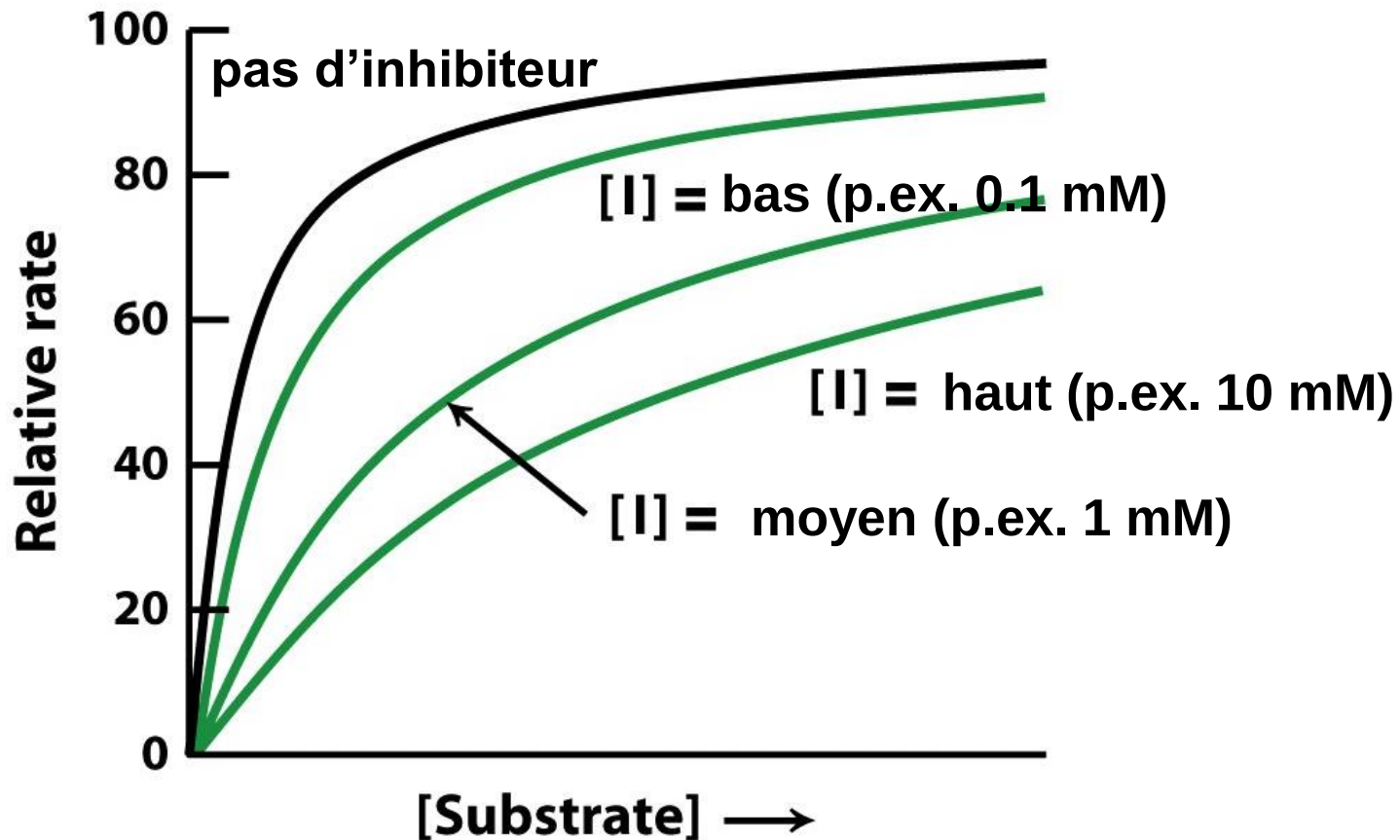
Cinétique d'un inhibiteur compétitif



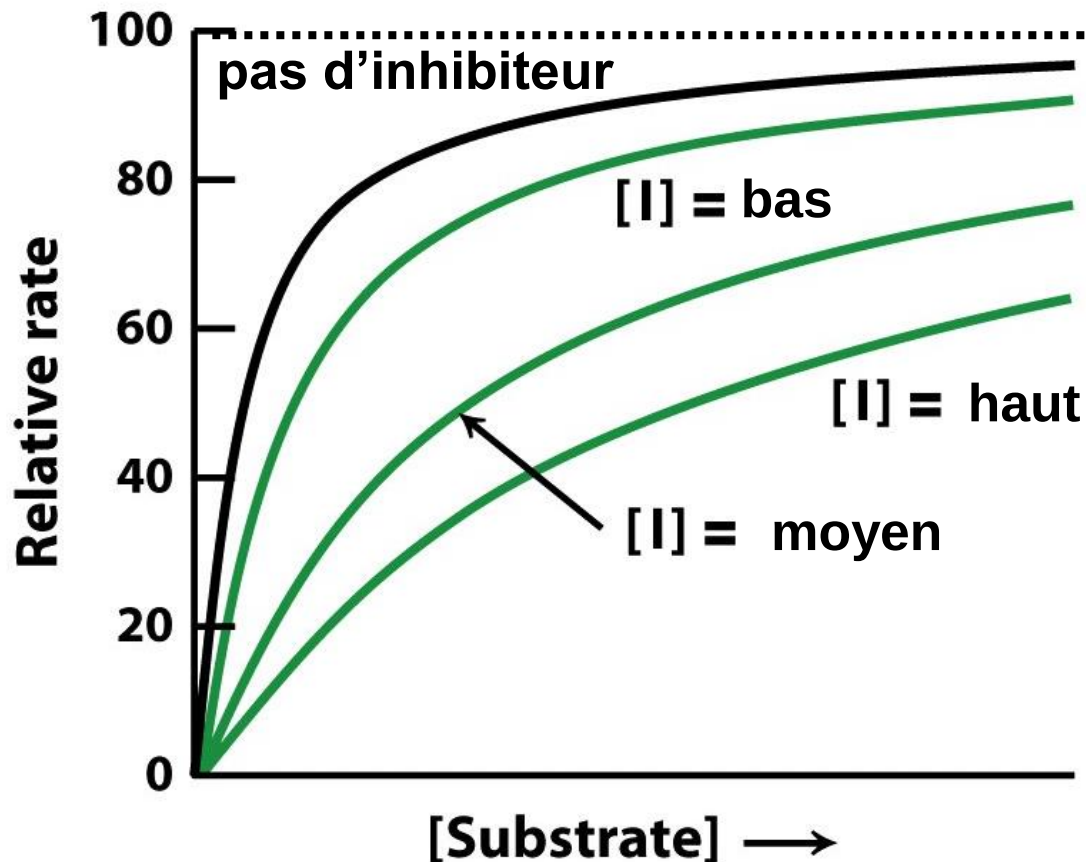
Un inhibiteur compétitif va-t-il changer le $V_{\max}$ ou le K_M ?



Cinétique d'un inhibiteur compétitif

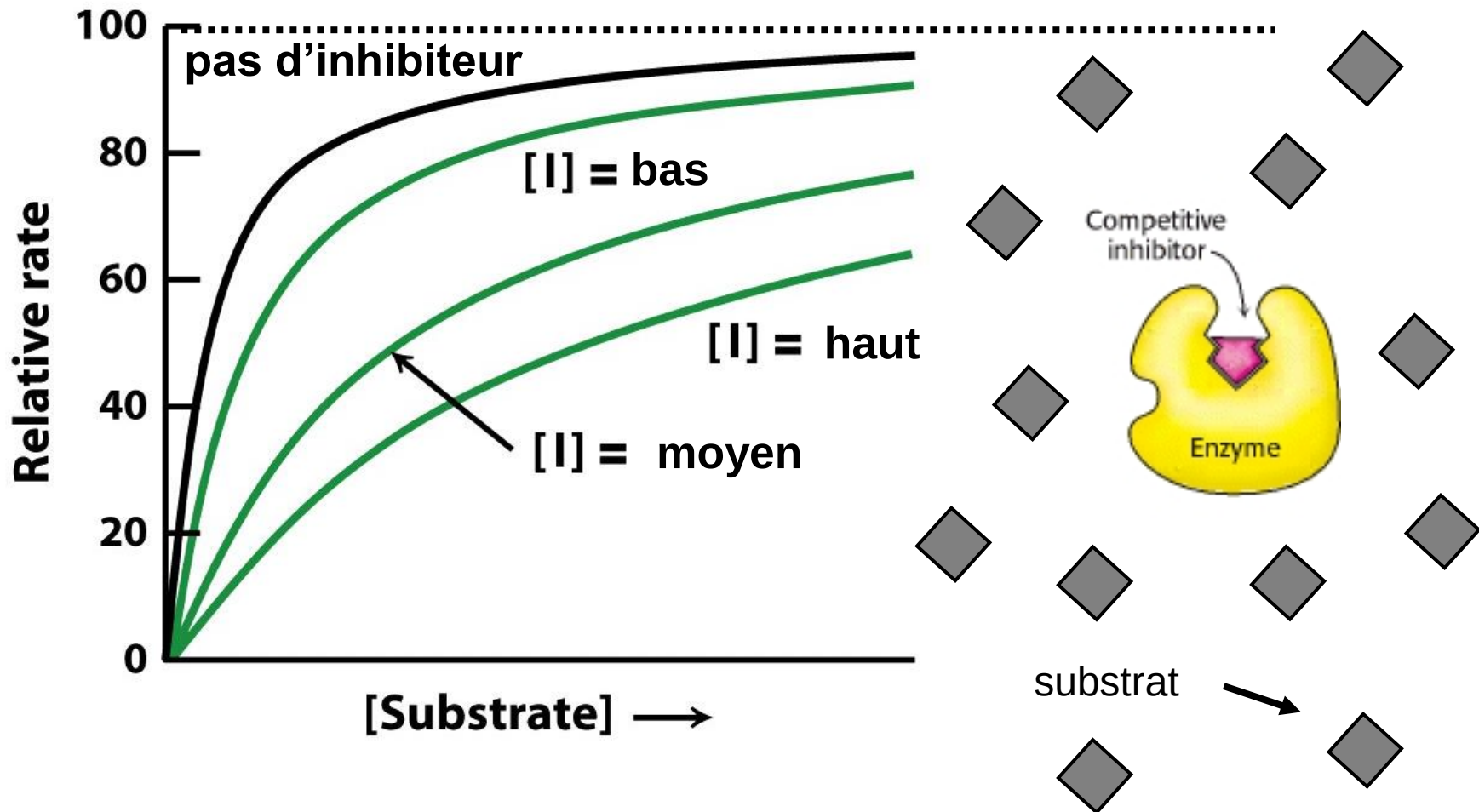


Cinétique d'un inhibiteur compétitif

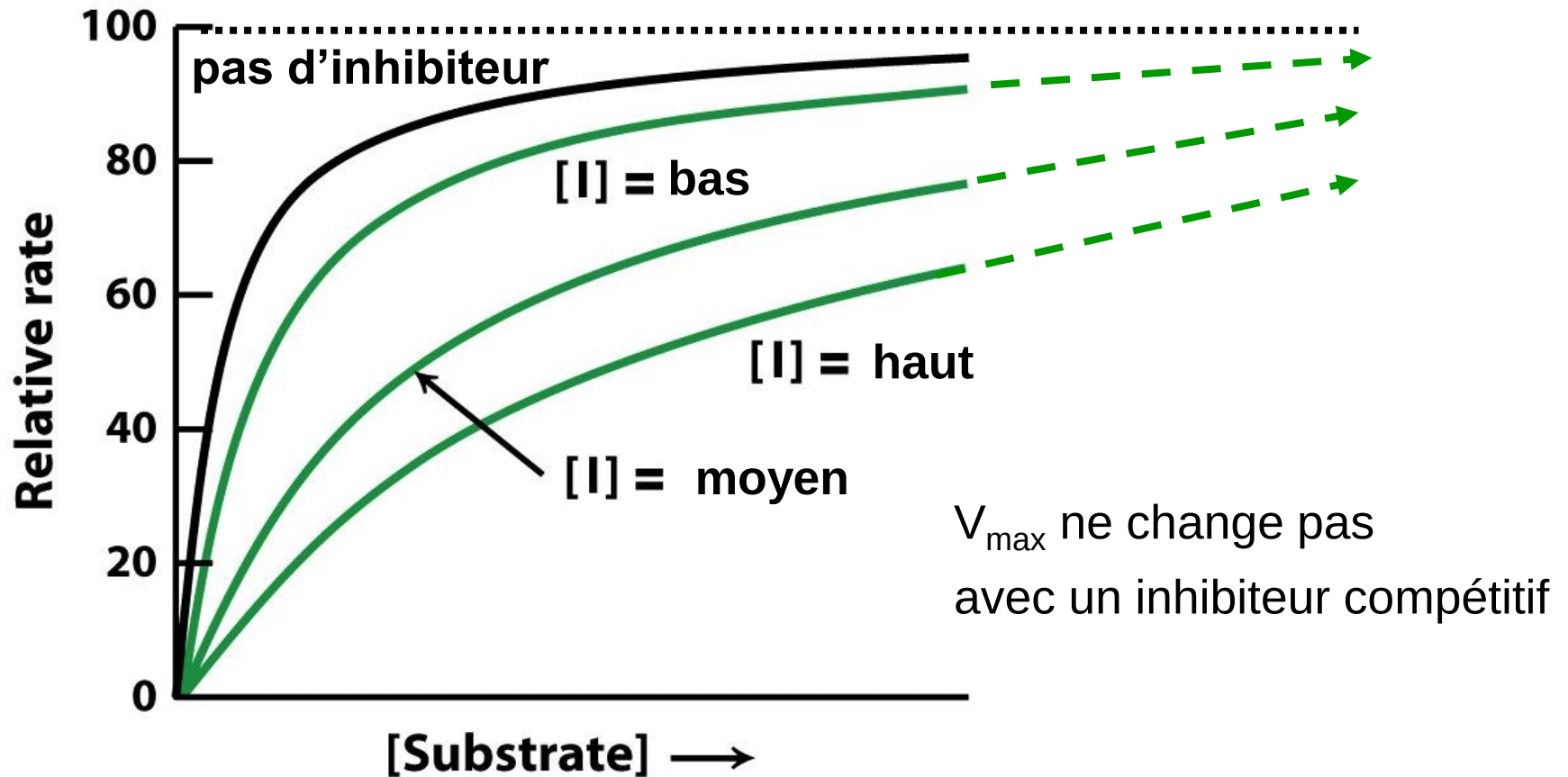


*La vitesse
maximale (V_{max})
reste-t-elle la
même avec un
inhibiteur
compétitif?*

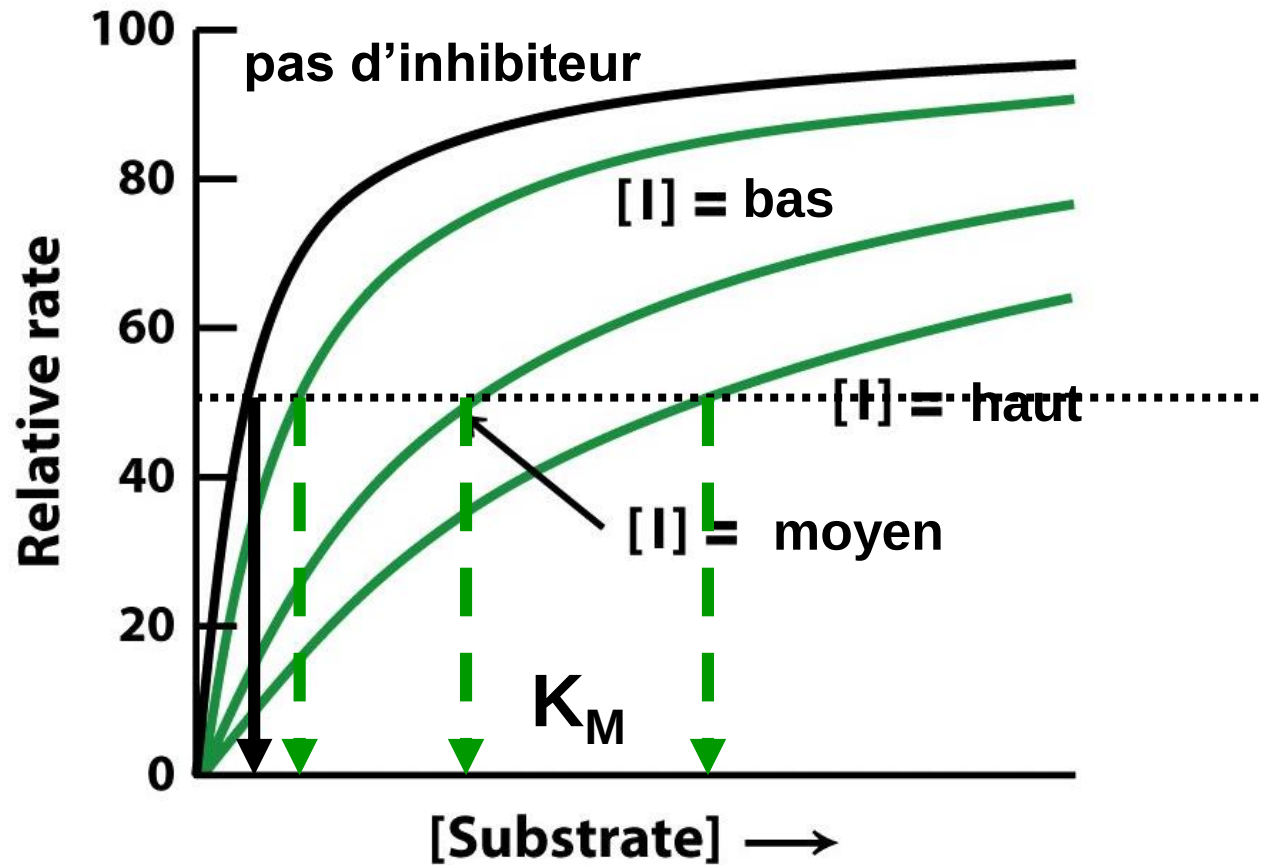
Cinétique d'un inhibiteur compétitif



Cinétique d'un inhibiteur compétitif

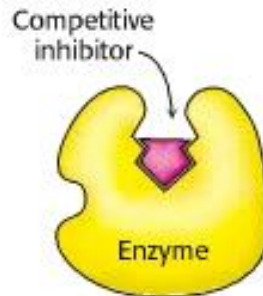


Cinétique d'un inhibiteur compétitif



Le K_M change avec un inhibiteur compétitif

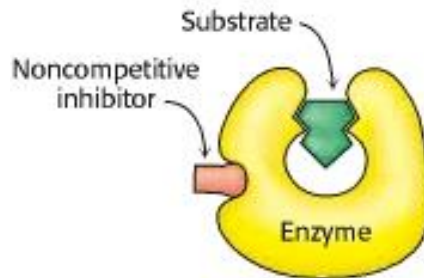
Mécanismes d'inhibition



Inhibiteur compétitif

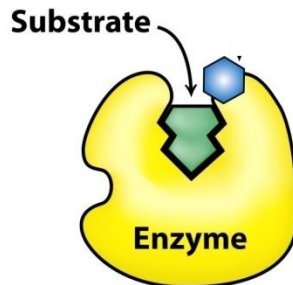
L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

$V_{\max}$ constant
 K_M varie



Inhibiteur non compétitif

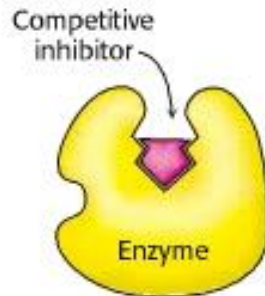
L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive



Inhibiteur incompétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

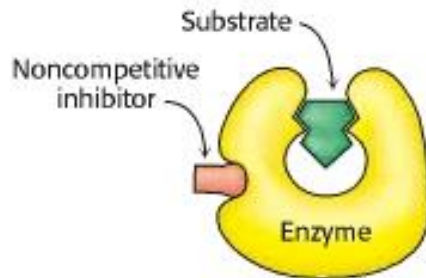
Mécanismes d'inhibition



Inhibiteur compétitif

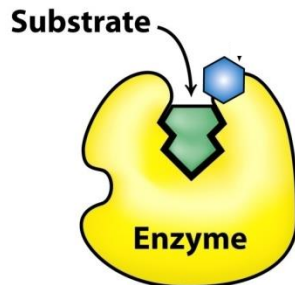
L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

$V_{\max}$ constant
 K_M varie



Inhibiteur non compétitif

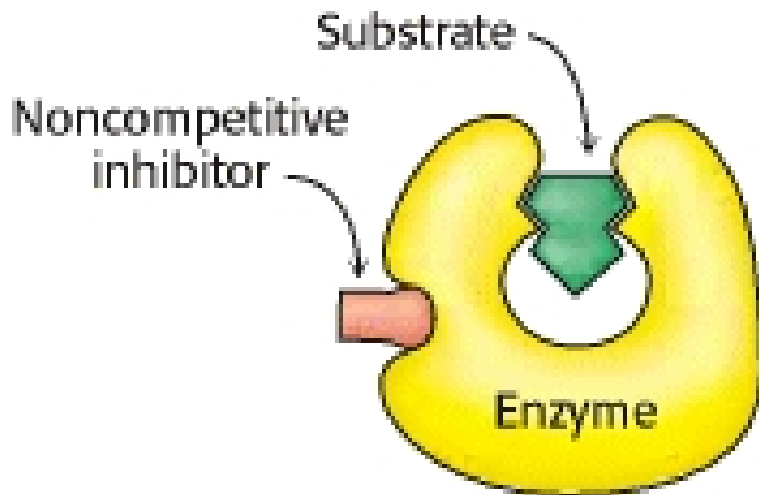
L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive



Inhibiteur incompétitif

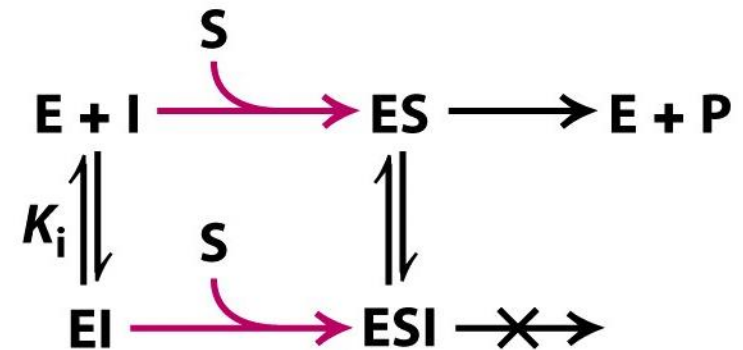
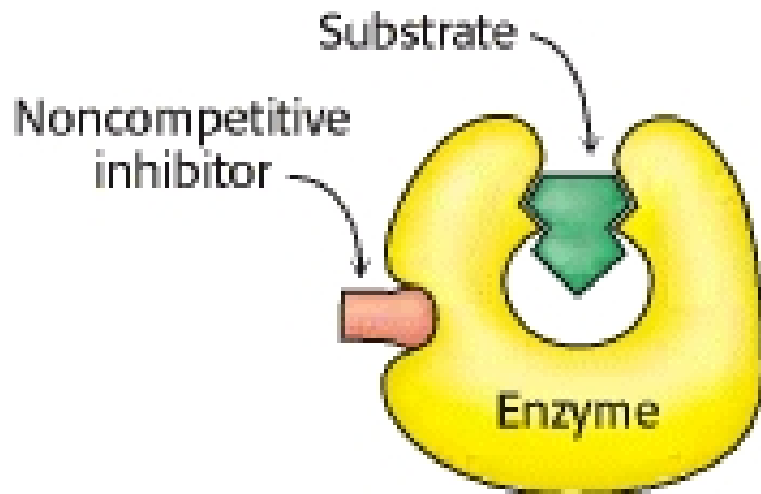
L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



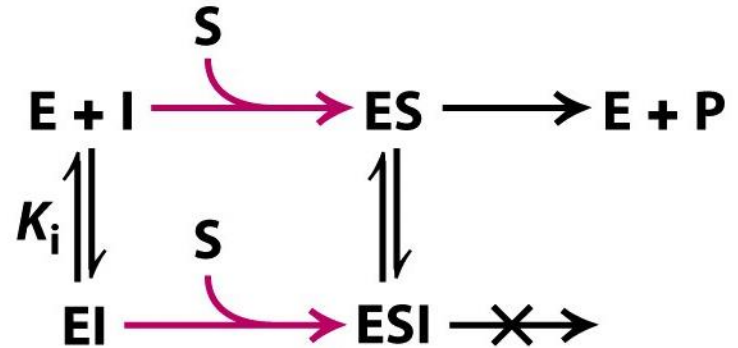
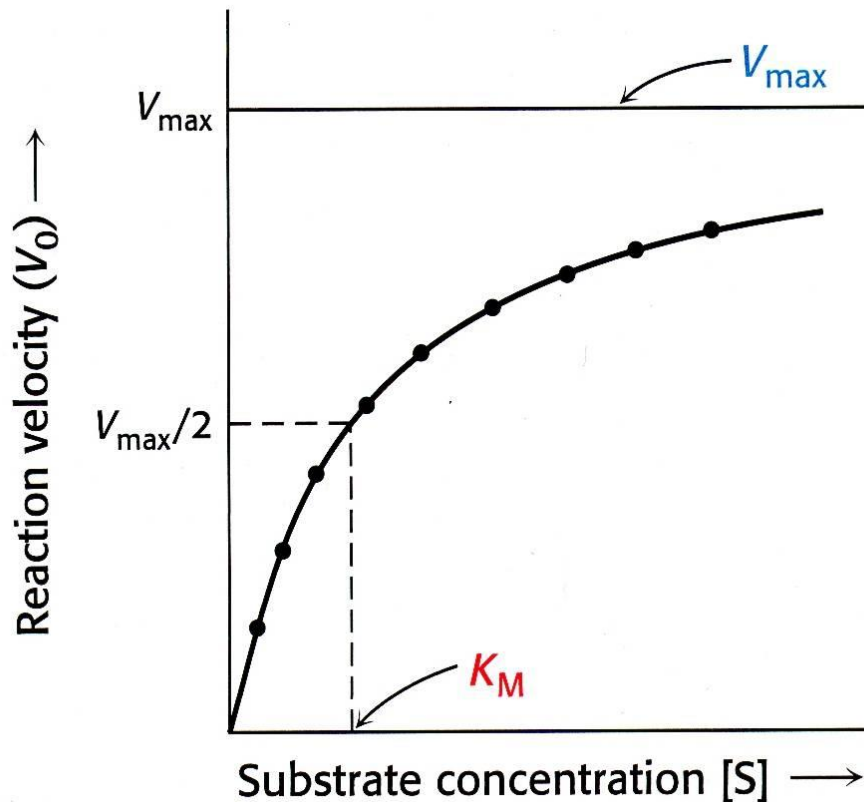
L'inhibiteur se fixe à l'enzyme ou
au complexe enzyme-substrat

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



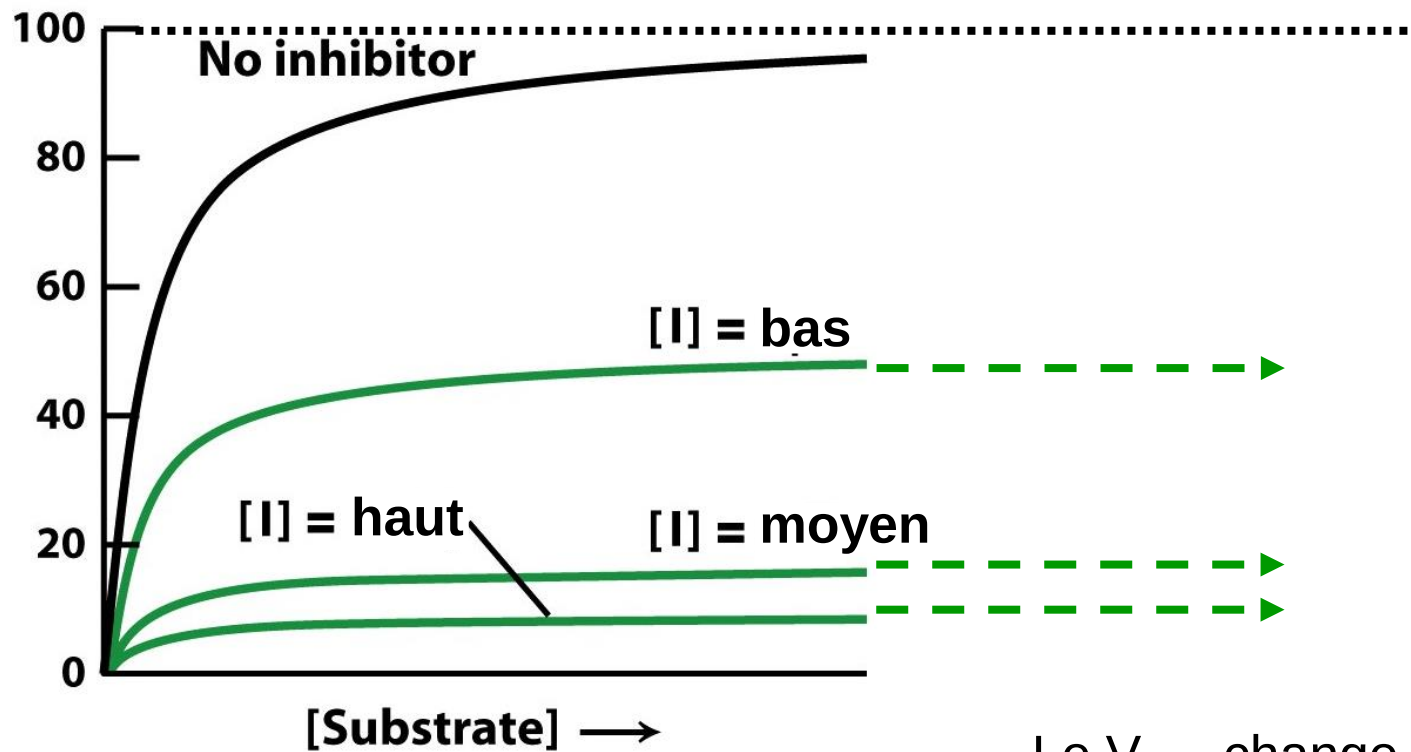
L'inhibiteur se fixe à l'enzyme ou au complexe enzyme-substrat

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



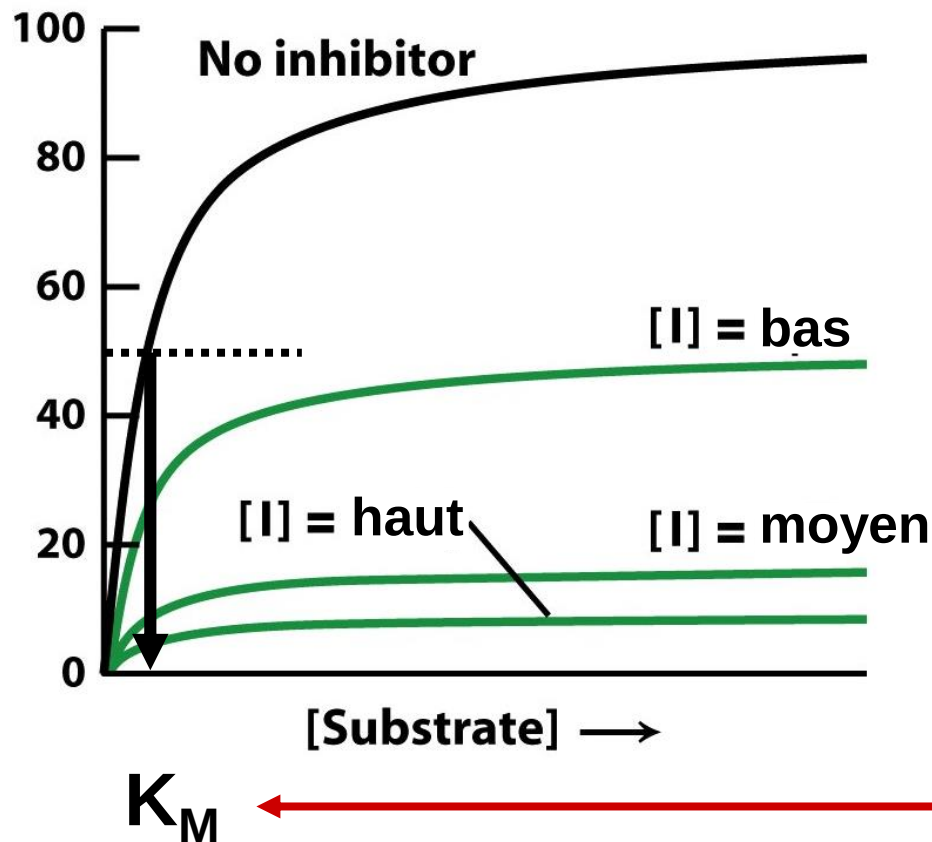
*Un inhibiteur **non** compétitif
va-t-il changer le $V_{\max}$ ou
le K_M ?*

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



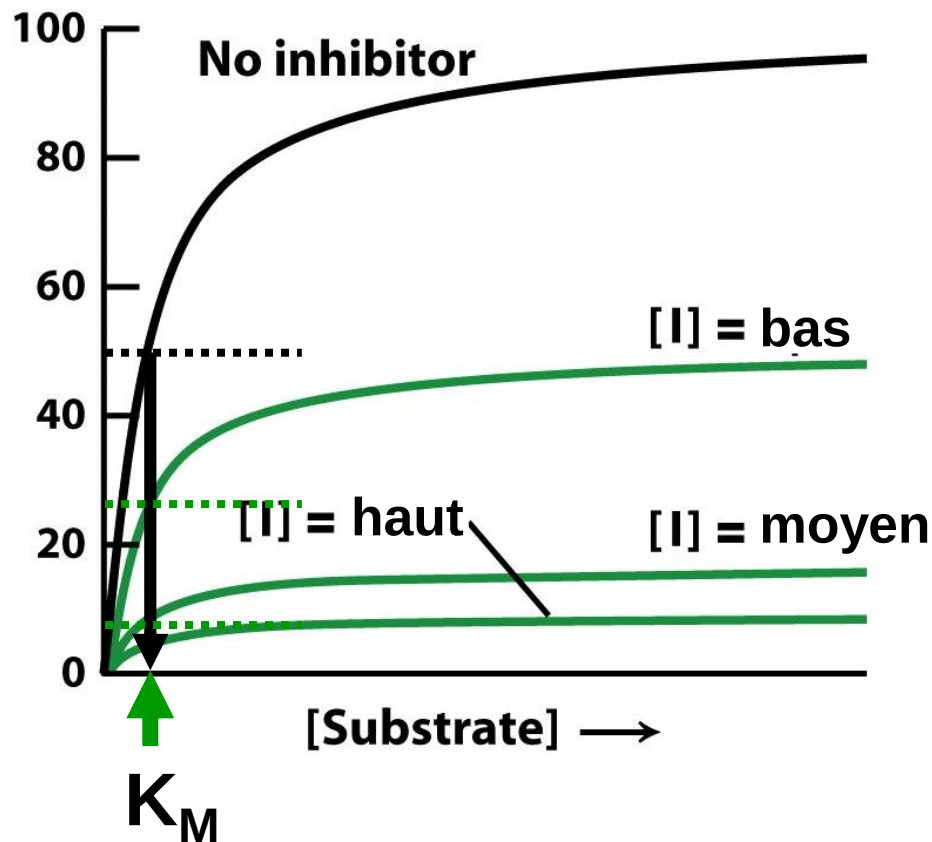
Le V_{max} change avec
un inhibiteur **non** compétitif

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



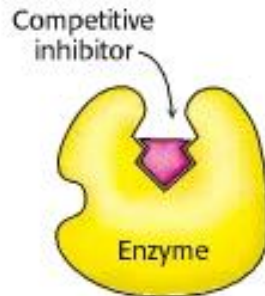
*La constante K_M varie-t-elle
avec un inhibiteur **non**
compétitif?*

Cinétique d'un inhibiteur non compétitif



Le K_M reste le même avec un inhibiteur **non** compétitif

Mécanismes d'inhibition

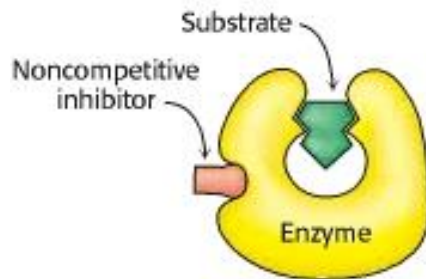


Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

$V_{\max}$ constant

K_M varie

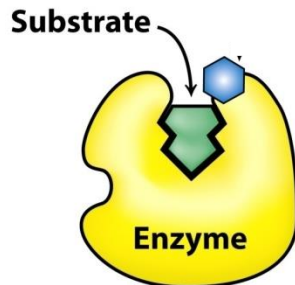


Inhibiteur non compétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive

$V_{\max}$ varie

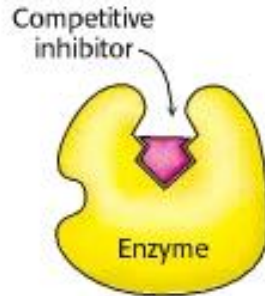
K_M constant



Inhibiteur incompétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

Mécanismes d'inhibition

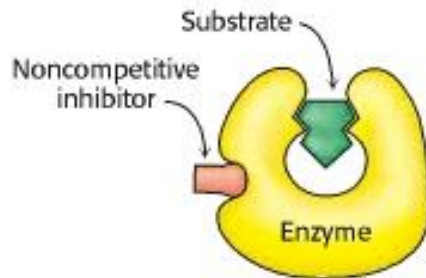


Inhibiteur compétitif

L'inhibiteur empêche la fixation du substrat

$V_{\max}$ constant

K_M varie

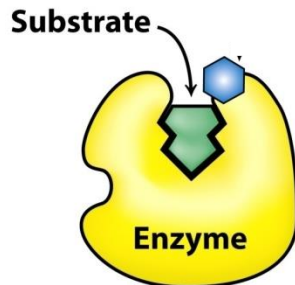


Inhibiteur non compétitif

L'inhibiteur déforme l'enzyme et la rend inactive

$V_{\max}$ varie

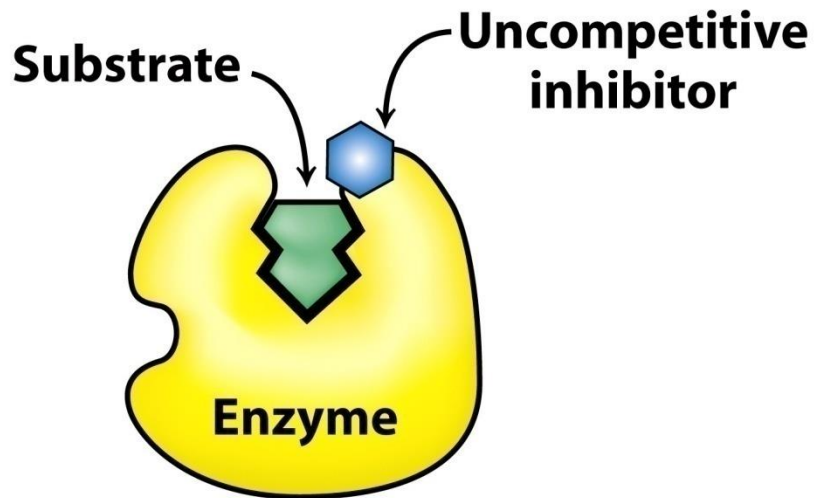
K_M constant



Inhibiteur incompétitif

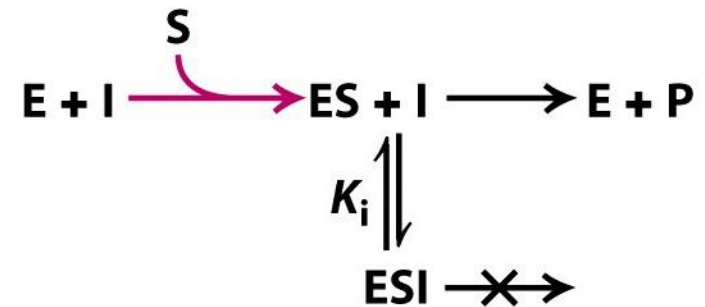
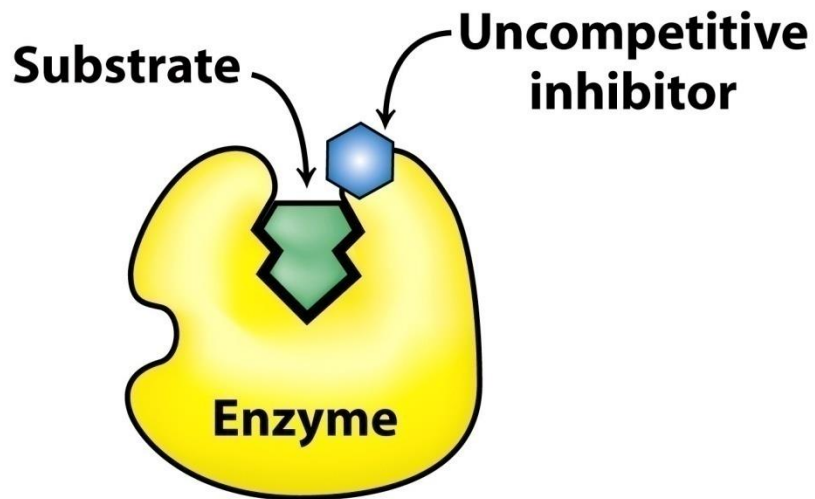
L'inhibiteur déforme l'enzyme une fois que le substrat est lié et la rend inactive

Cinétique d'un inhibiteur incompétitif



L'inhibiteur se fixe uniquement
au complexe enzyme-substrat

Cinétique d'un inhibiteur incompétitif

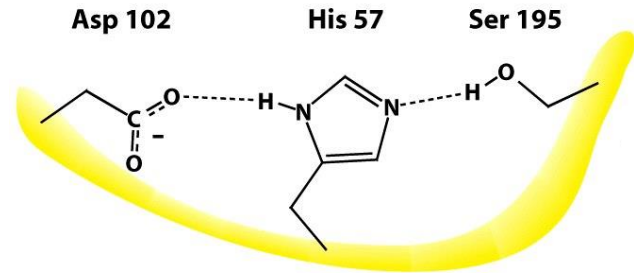


L'inhibiteur se fixe uniquement
au complexe enzyme-substrat

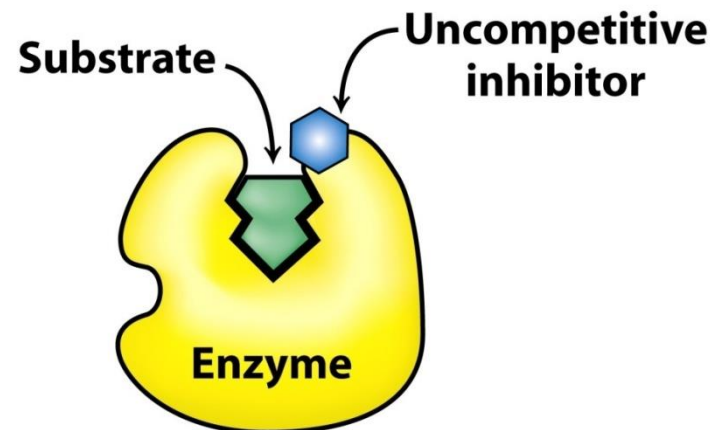
Leçon 10

Stratégies catalytiques

- Protéases
- Anhydrase carbonique
- Enzyme de restriction



Inhibition enzymatique



Série 9

Question 1



$$\Delta G^\circ = 1.8 \text{ kcal/mol} \quad A \rightarrow B$$

$$\Delta G = ?$$

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K$$

$1 \text{ kcal} = 4.184 \text{ kJ} \rightarrow 7524 \text{ J/mol}$ $8.31 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$ 298 K $\frac{[B]}{[A]} \leftarrow 10^{-6} / 3 \cdot 10^{-4}$

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K = -6.6 \text{ kJ/mol}$$

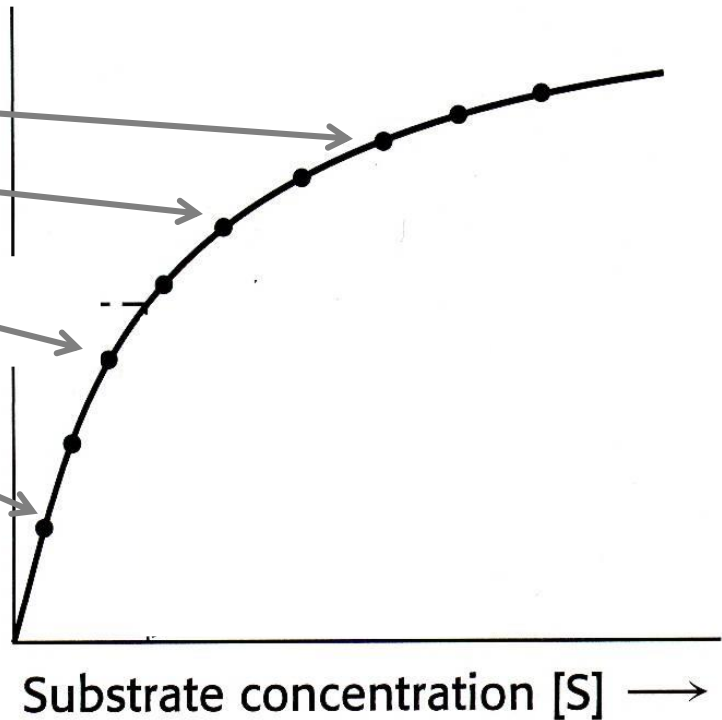
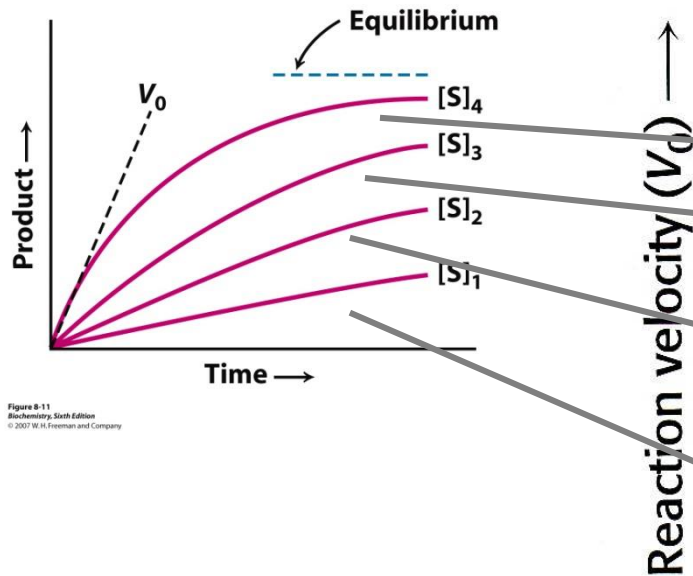
Direction de la réaction: $A \rightarrow B$.

A l'équilibre: $[A] = 0.29 \text{ mM}$, $[B] = 0.014 \text{ mM}$

Vitesse de cette réaction: On peut rien dire de la vitesse.

Série 9

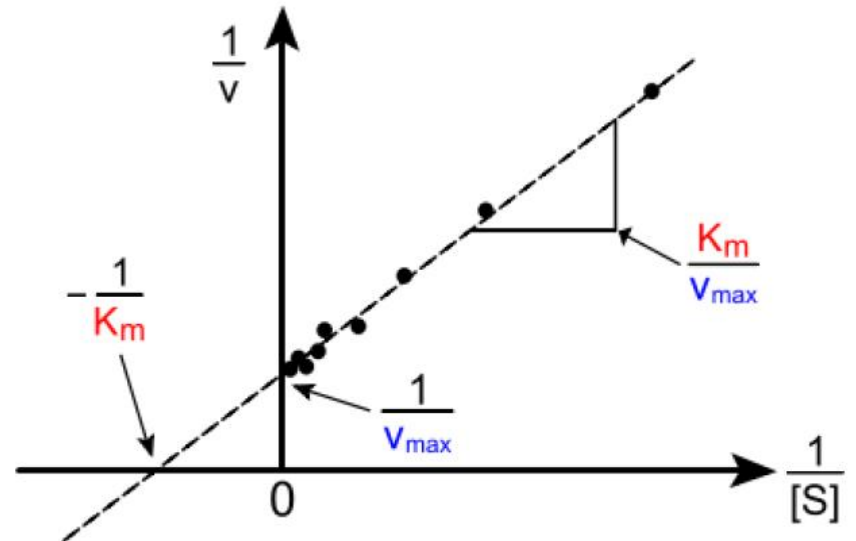
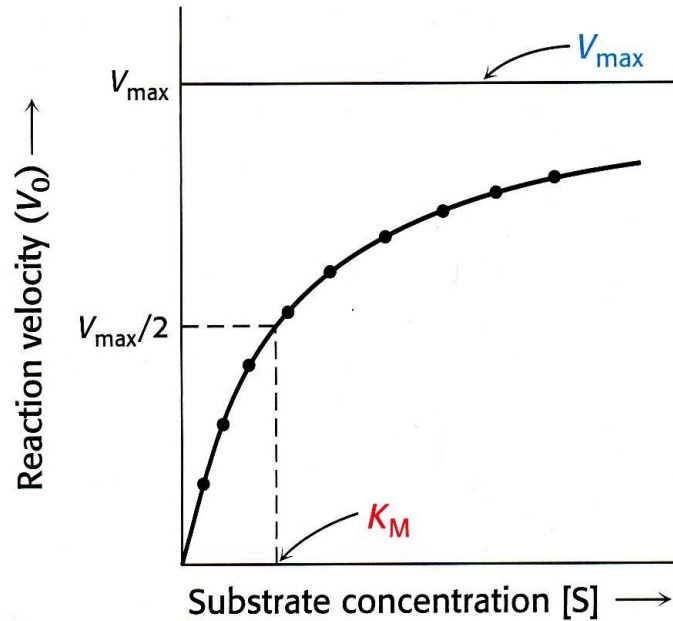
Question 2



Pénicilline (μM)	Quantité hydrolysée (nanomoles)
1	0.22
3	0.5
5	0.68
10	0.9
30	1.16
50	1.22

Série 9

Question 2



Série 9

Question 2

velocity initial = Δ nombre molécules substrat / Δ temps



Pénicilline (μM)	Quantité hydrolysée (nanomoles)
1	0.22
3	0.5
5	0.68
10	0.9
30	1.16
50	1.22

e.g. nanomoles / minute



velocity initial = Δ concentration substrat / Δ temps

e.g. μM / min

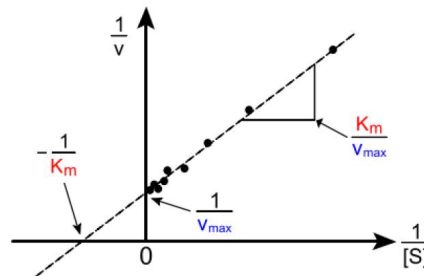
Série 9

Question 2

CS2

Pénicilline (μM)	Quantité hydrolysée (nanomoles)
1	0.22
3	0.5
5	0.68
10	0.9
30	1.16
50	1.22

$\frac{1}{\text{CS}_2}$	V_0	$\frac{1}{V_0}$
1	0,073	13,7
0,33	0,167	6
0,2	0,227	4,4
0,1	0,3	3,33
0,033	0,387	2,58
0,02	0,407	2,46
μM^{-1}	$\mu\text{M}/\text{min}$	$\text{min}/\mu\text{M}$



(a) La réaction catalysée par la pénicillinase obéit à la cinétique de Michaelis-Menten.

$$K_M = 5.2 \mu\text{M}$$

Série 9

Question 2

(b) $V_{\max} = 0.45 \mu\text{M}/\text{min}$

$$V_{\max} = \frac{k_{\text{cat}} \cdot [E]_t}{\phi_{\text{turnover}}} \quad \begin{array}{l} 2.9600 \text{ g} / L = 1 \text{ M} \\ 10^{-9} \text{ g} / 3 \text{ mL} = 11,2 \text{ pM} \end{array}$$

(c) $K_{\text{cat}} = 40178 \text{ min}^{-1}$