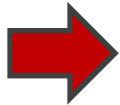


Cours Biochimie I

Leçon 9: Enzymes: concepts de base et cinétique



7	Exploration de l'Évolution	164-180 (6.1-6.5)
8	Portrait de haemoglobin / des anticorps	183-198 (7.1-7.4), 949-956 (33.1-33.3)
9	Enzymes: concepts de base et cinétique	205-227 (8.1-8.4, 8.5 premières 3 pages)
10	Enzymes: stratégies catalytiques	241-270 (9.1-9.4)
11	Lipides et membranes cellulaires / Les glucides	326-345 (12.1-12.5), 303-315 (11.1, 11.2)
12	Modèle de DNA de Watson et Crick	vidéo
13	Métabolisme	409-429 (15.1-15.4)

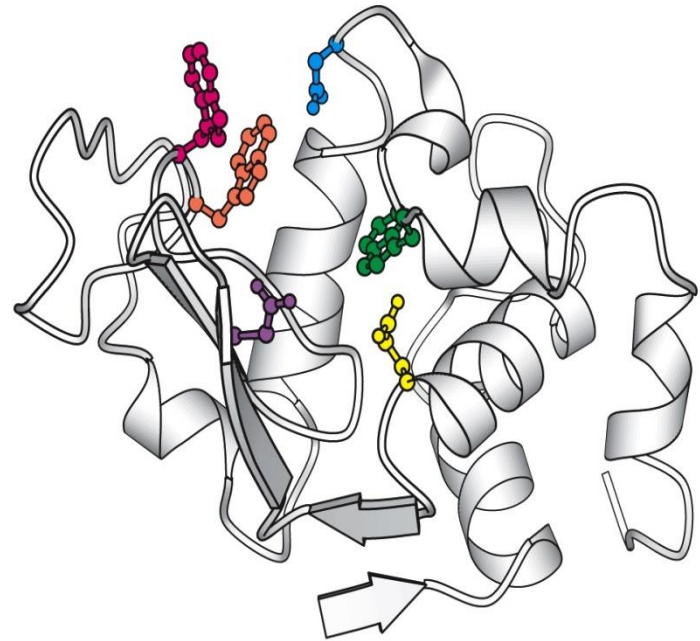
Christian Heinis

christian.heinis@epfl.ch, BCH 5305

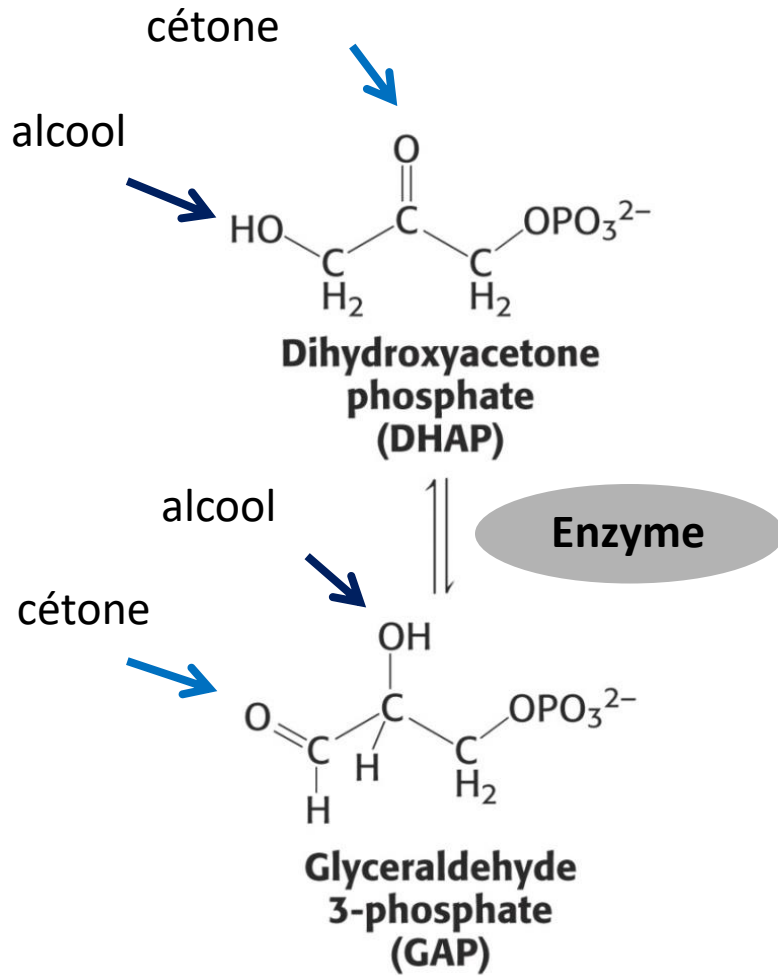
Leçon 9

Enzymes

- Catalyse enzymatique
- Energie libre
- Etat de transition et complexe enzyme-substrat
- Modèle de Michaelis-Menten



Catalyse d'enzyme



(utilisé dans la glycolyse)

Exemple 1

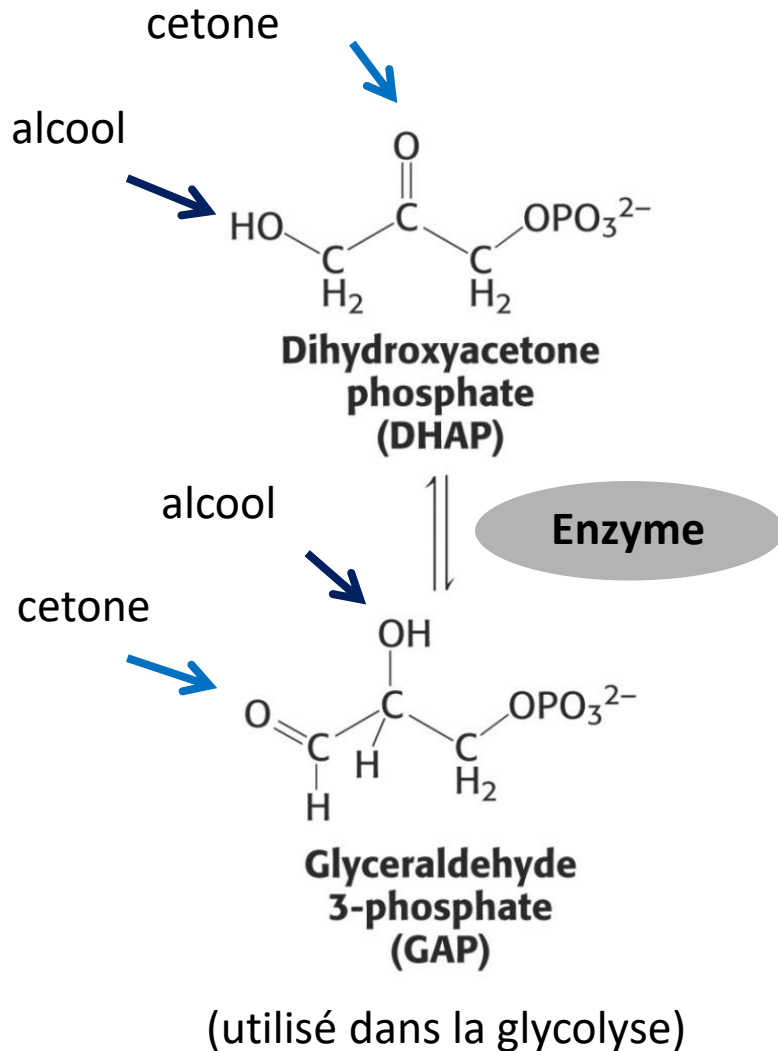
Réaction:

Isomérisation du dihydroxyacétone phosphate en glyceraldéhyde 3-phosphate.

Enzyme:

Triose phosphate isomerase (TIM)

Catalyse d'enzyme



Exemple 1

Réaction:

Isomérisation du dihydroxyacétone phosphate en glyceraldéhyde 3-phosphate.

Enzyme:

Triose phosphate isomerase (TIM)

Pourquoi la catalyse des réactions chimiques dans la biologie est-elle si importante?

L'isomérisation du dihydroacétone phosphate

TABLE 8.1 Rate enhancement by selected enzymes

Réactions par seconde:

Enzyme	Nonenzymatic half-life	Uncatalyzed rate ($k_{\text{un}} \text{ s}^{-1}$)	Catalyzed rate ($k_{\text{cat}} \text{ s}^{-1}$)	Rate enhancement ($k_{\text{cat}}/k_{\text{un}}$)
OMP decarboxylase	78,000,000 years	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000 years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000 years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3 years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7 weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9 days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4 hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5 seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

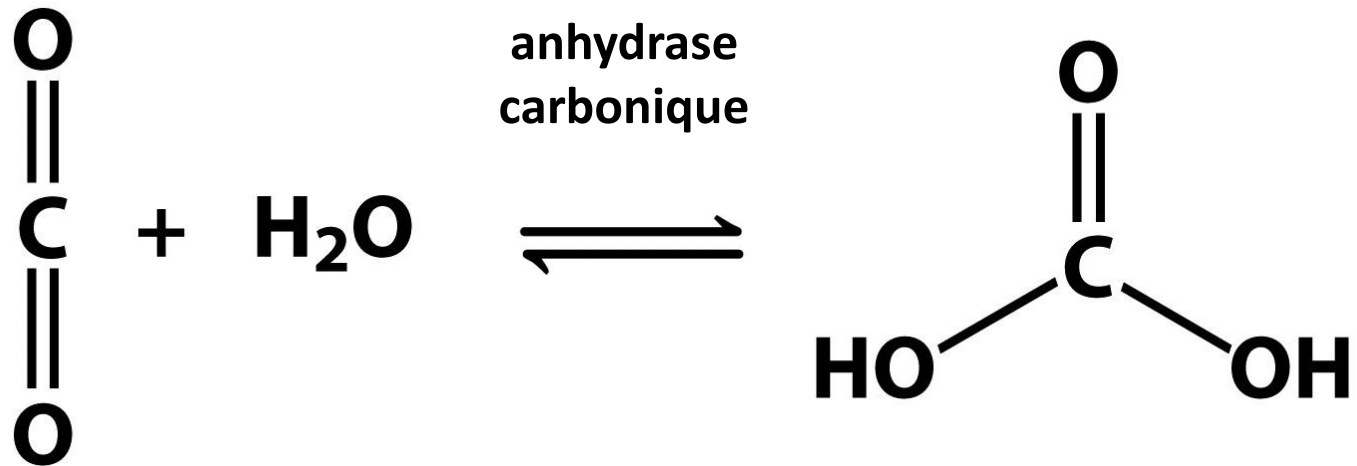
Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

L'isomérisation non-catalysée est simplement trop lente!

Exemple 2: Hydratation du CO₂

Formation d'acide carbonique à partir de CO₂ et de H₂O.



Hydratation du CO₂ par l'anhydrase carbonique

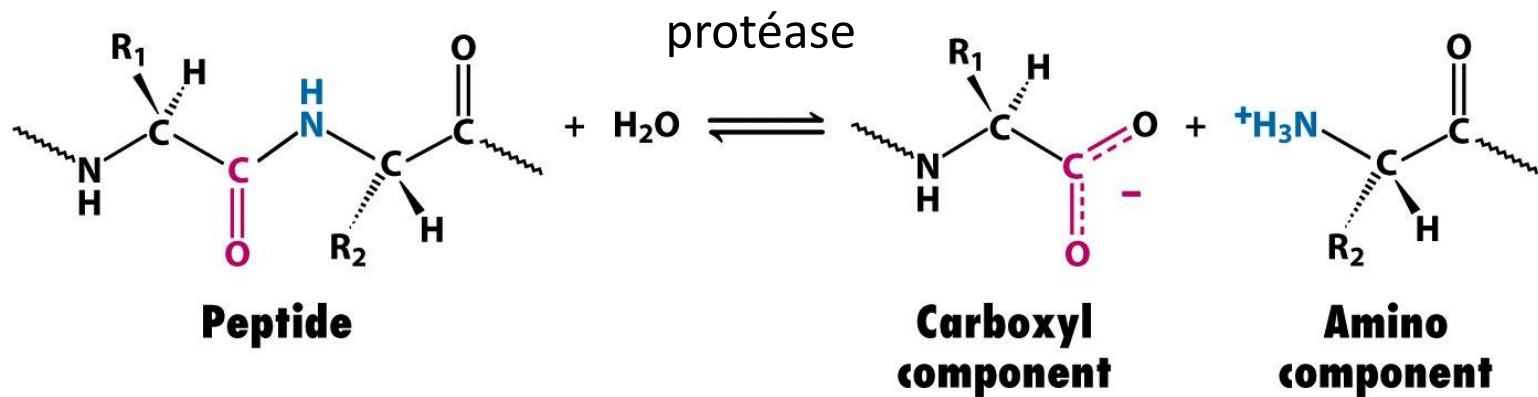
TABLE 8.1 Rate enhancement by selected enzymes			Réactions per seconde:		
Enzyme	Nonenzymatic half-life		Uncatalyzed rate ($k_{un} \text{ s}^{-1}$)	Catalyzed rate ($k_{cat} \text{ s}^{-1}$)	Rate enhancement (k_{cat}/k_{un})
OMP decarboxylase	78,000,000	years	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000	years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000	years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3	years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7	weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9	days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4	hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5	seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

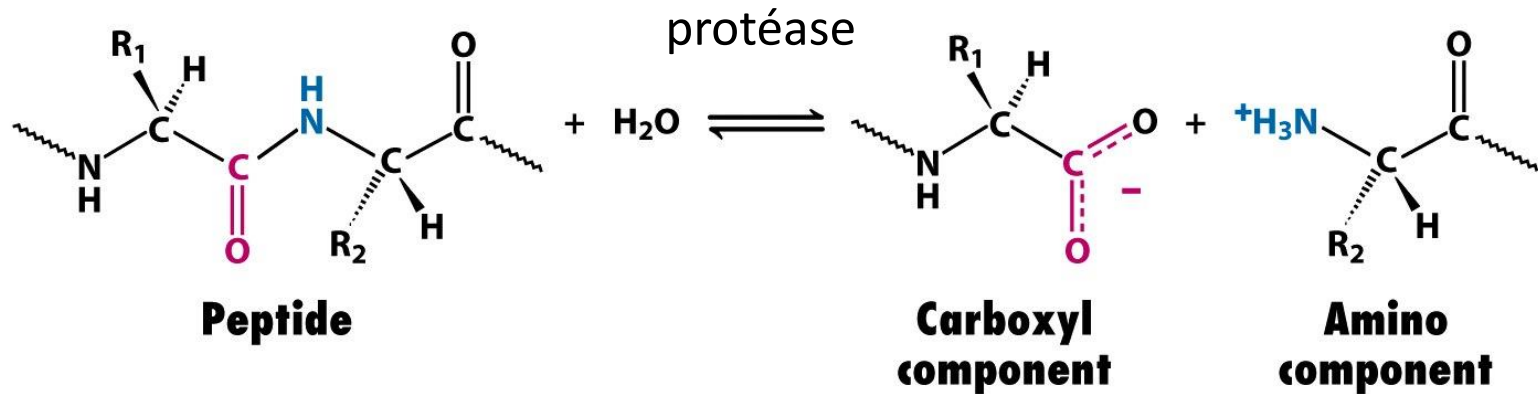
Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

Chaque molécule d'enzyme peut hydrater 10^6 molécules de CO₂ par seconde!

Example 3: Activité protéolytique



Example 3: Activité protéolytique

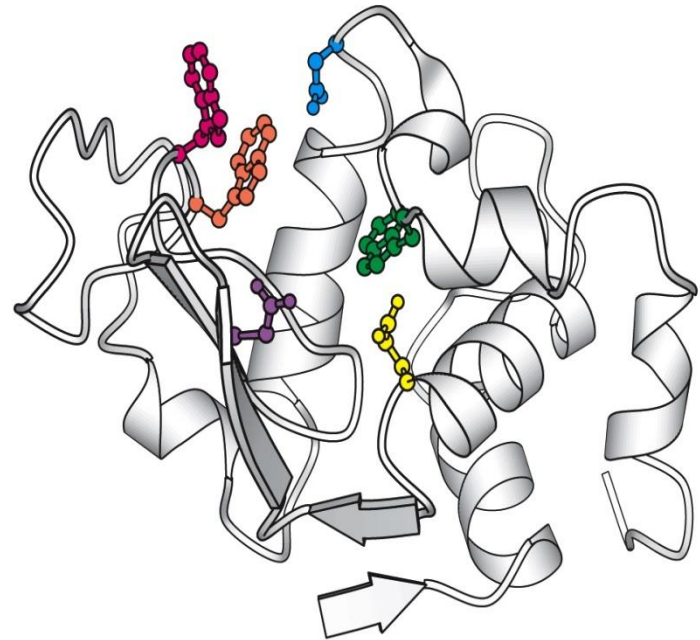


Dans quelle direction est-ce que la réaction se passe?

Leçon 9

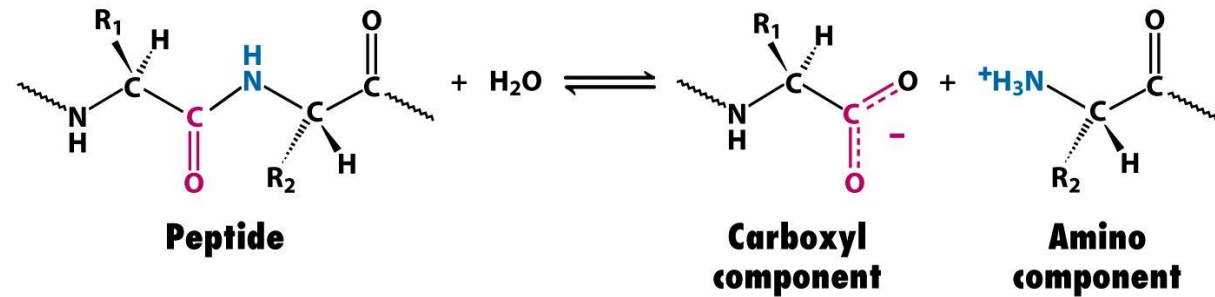
Enzymes

- Catalyse enzymatique
- ➡ - Energie libre
- Etat de transition et complexe enzyme-substrat
- Modèle de Michaelis-Menten



Energie libre

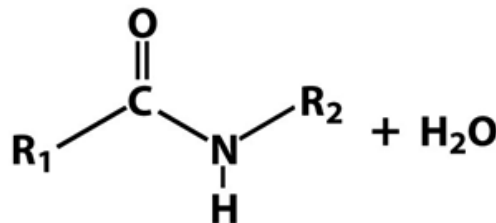
Réaction:



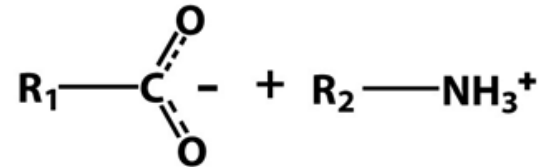
énergie
libre
(G)



réactifs ou produits ?

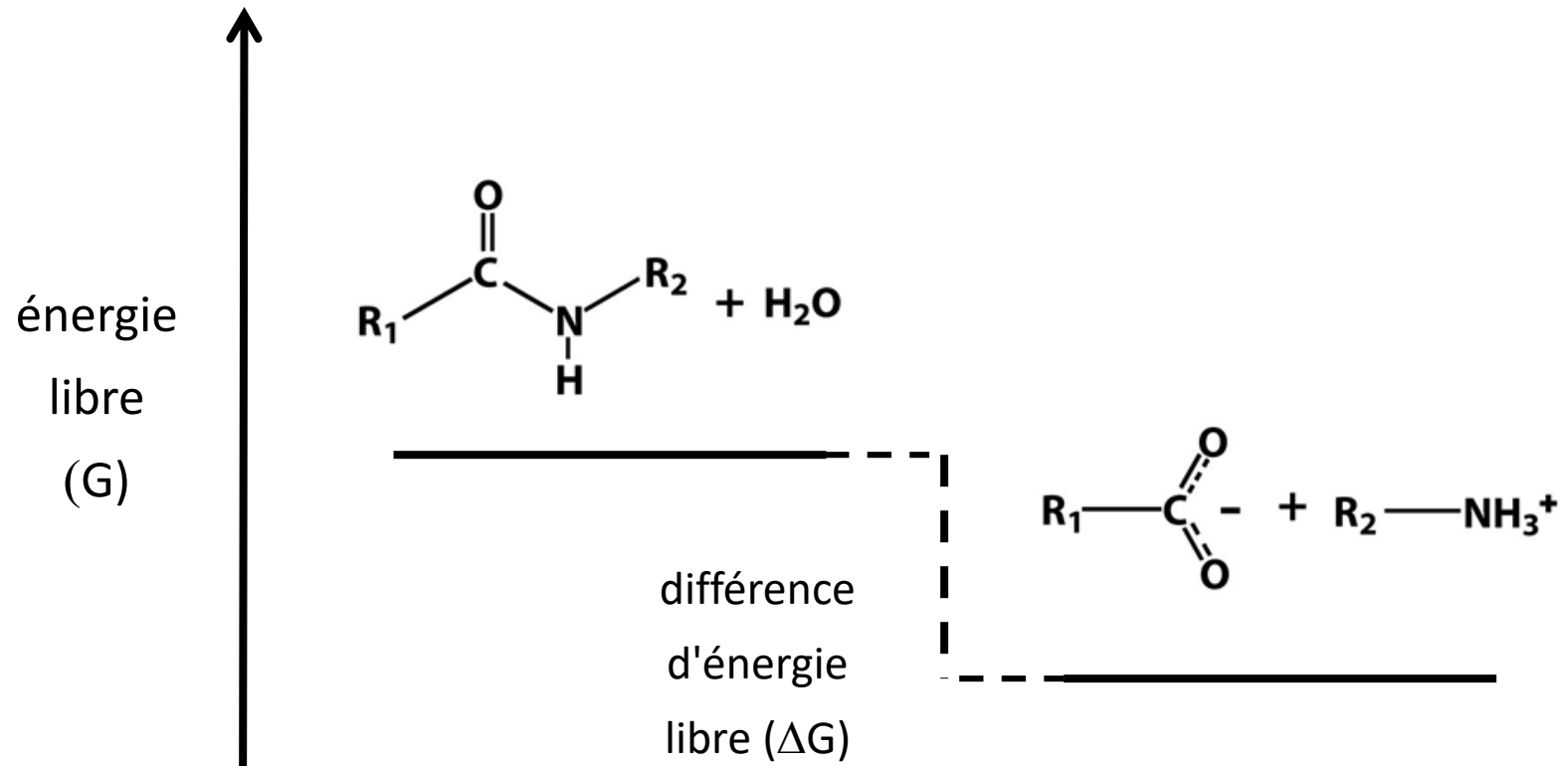


?

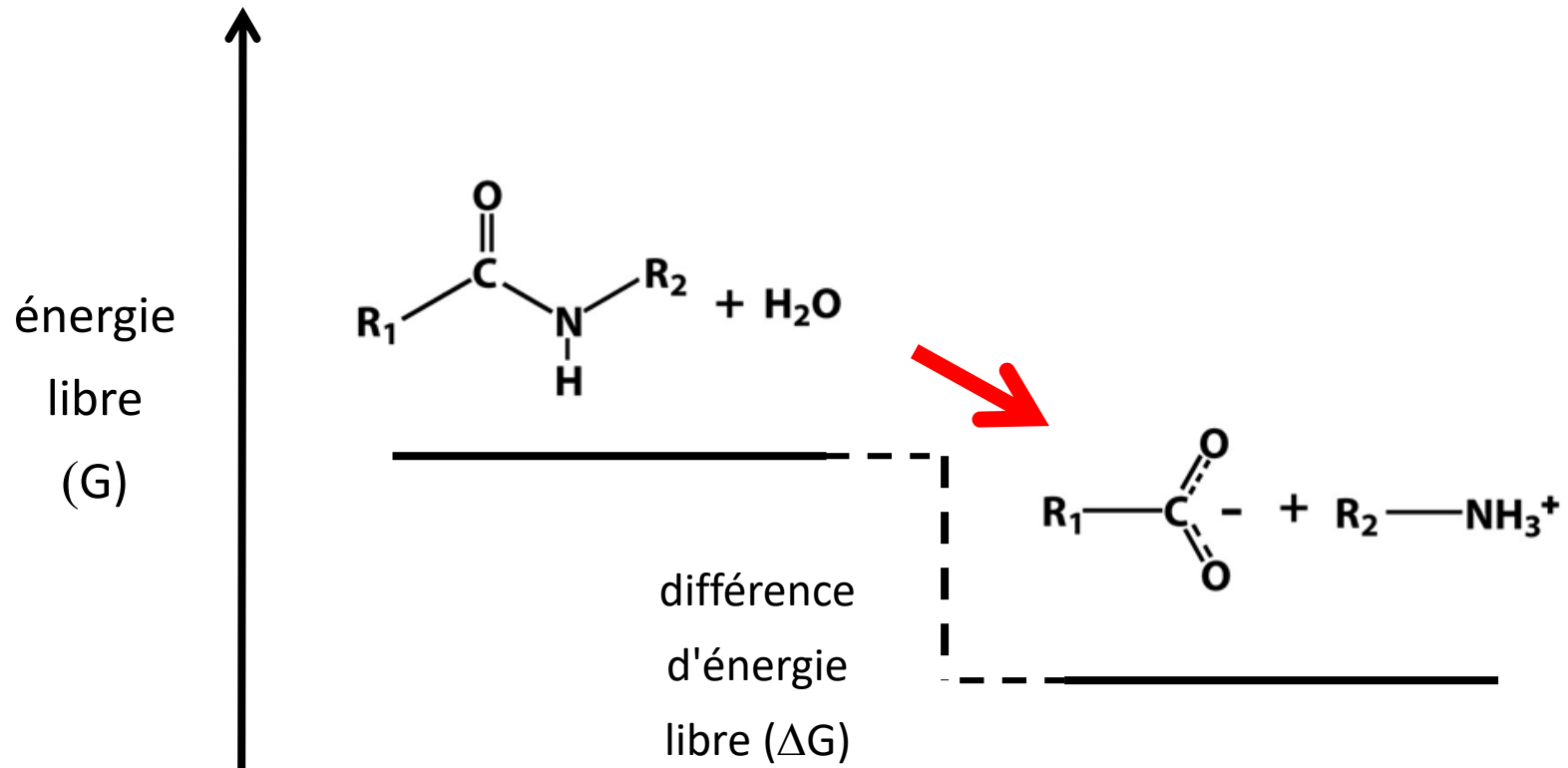


?

Différence d'énergie libre

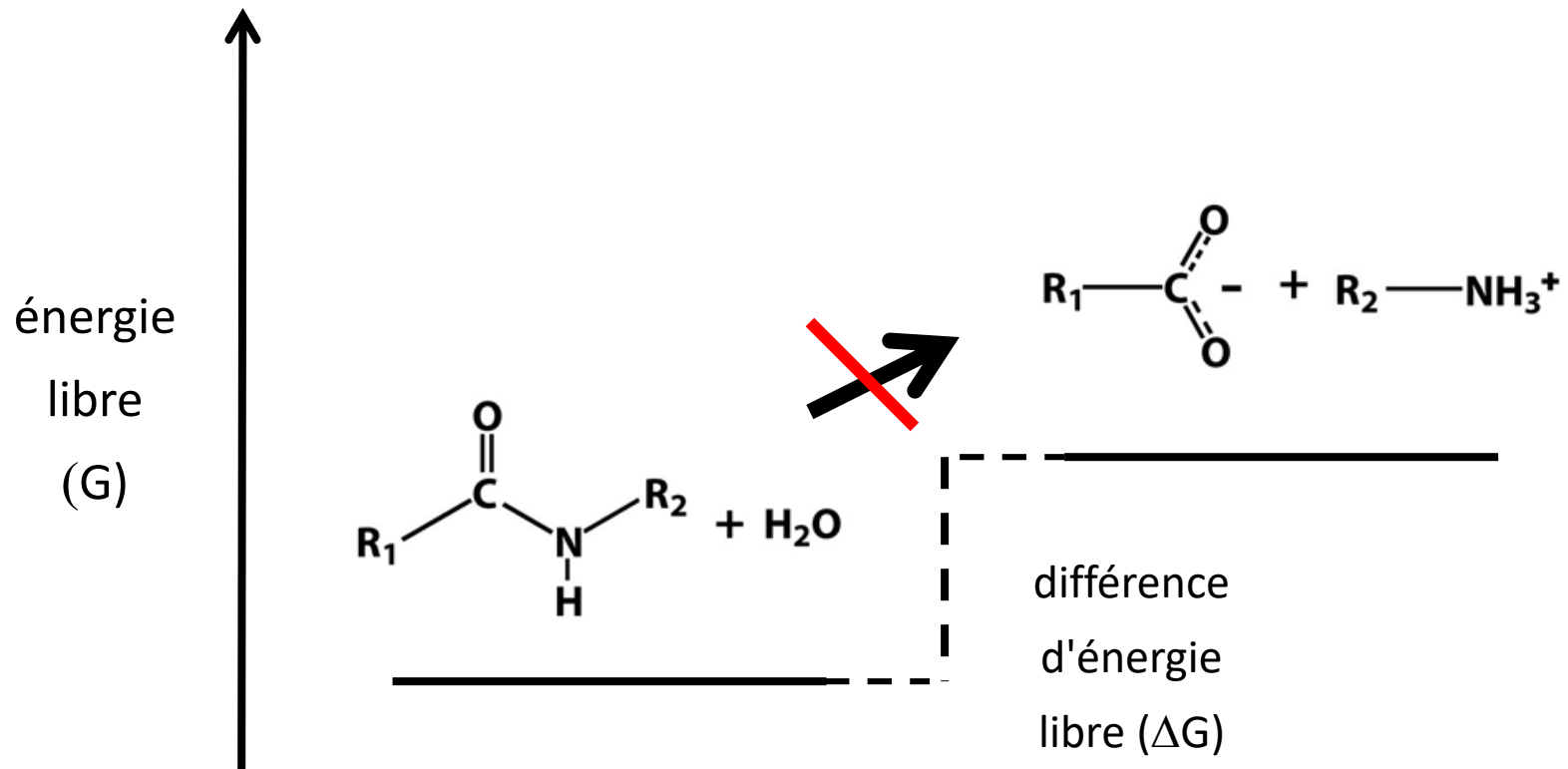


Différence d'énergie libre ΔG = négatif



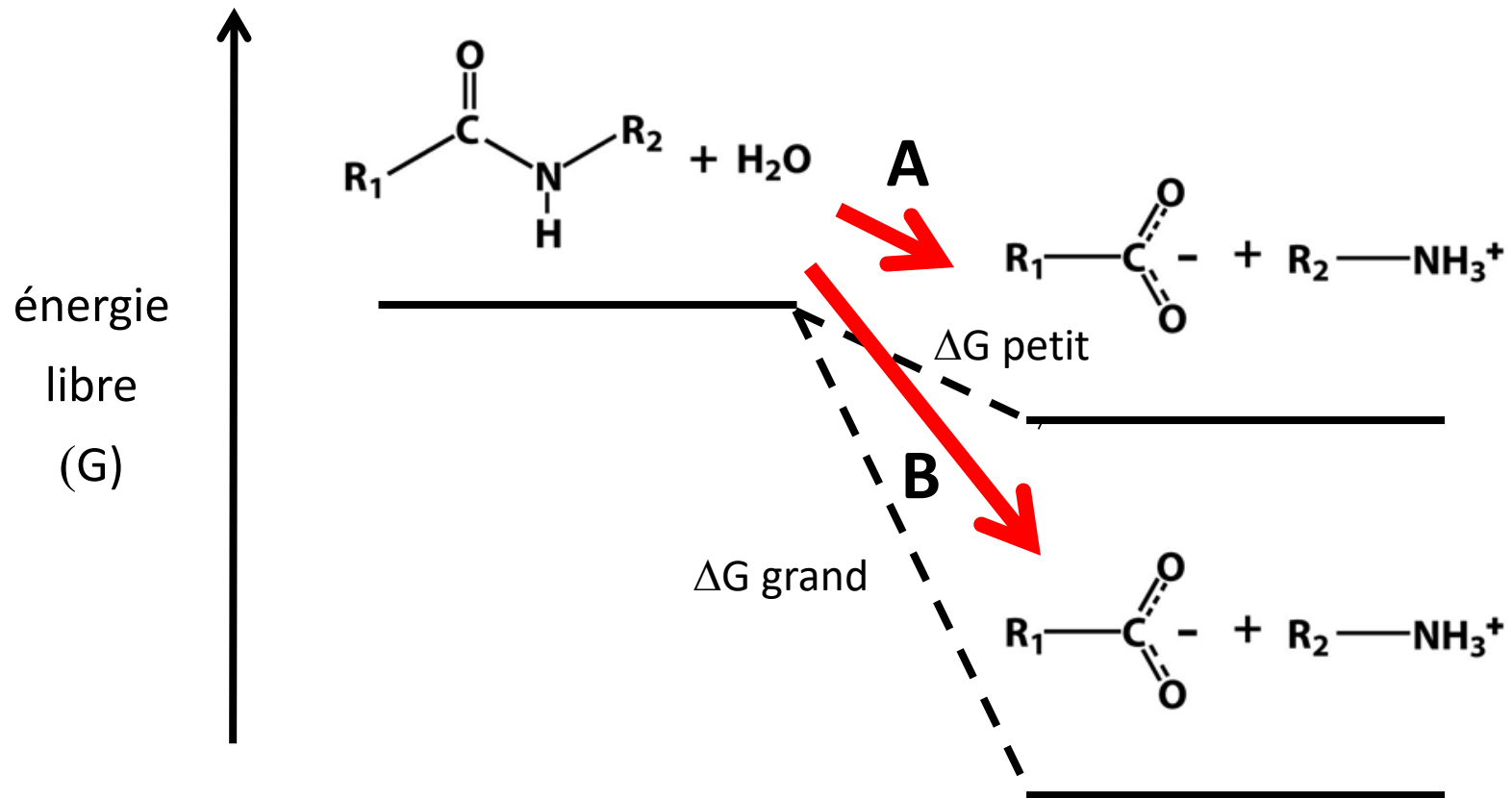
réaction exergonique

Différence d'énergie libre $\Delta G = \text{positif}$



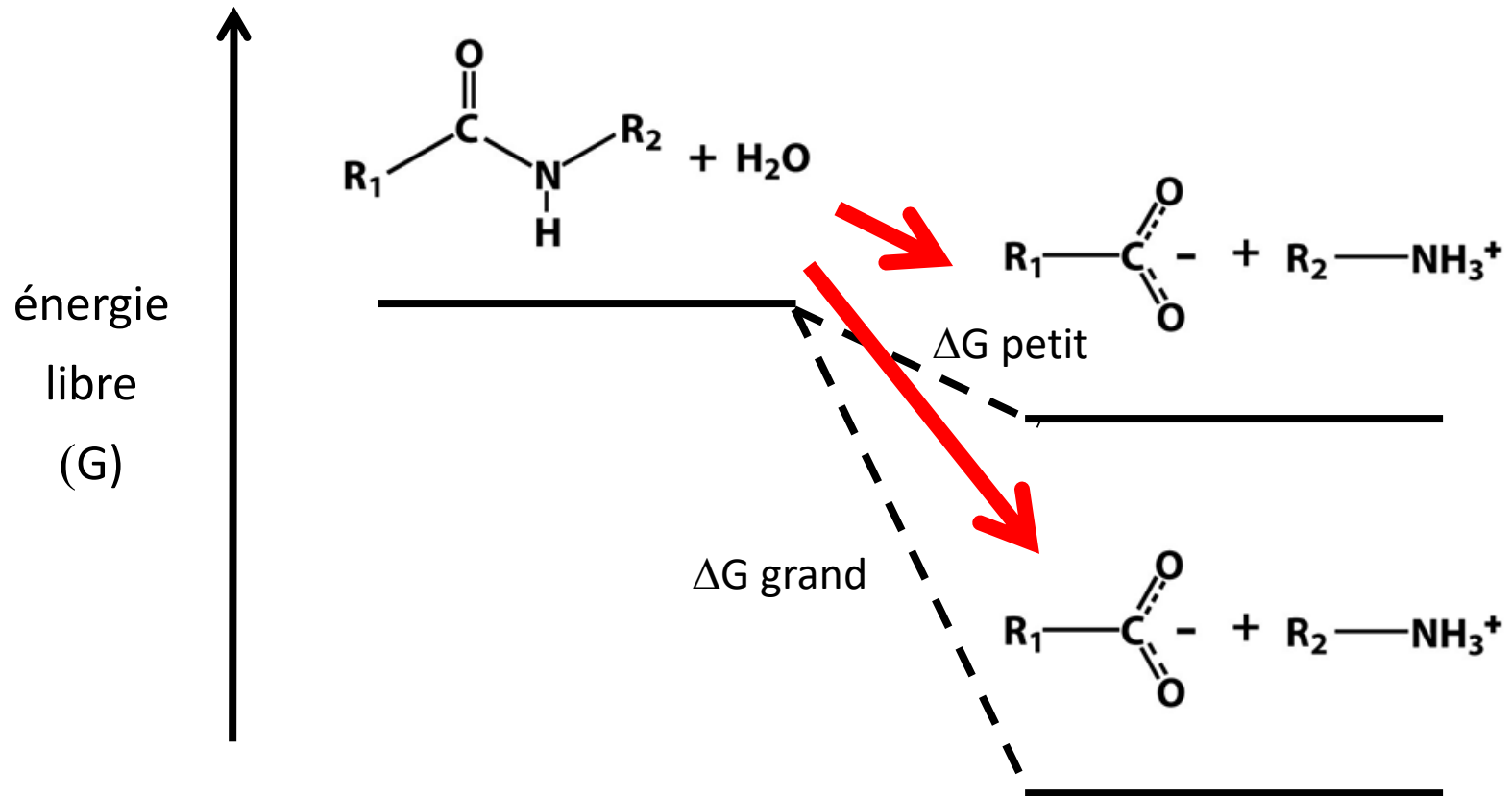
réaction endergonique

Vitesse d'une réaction



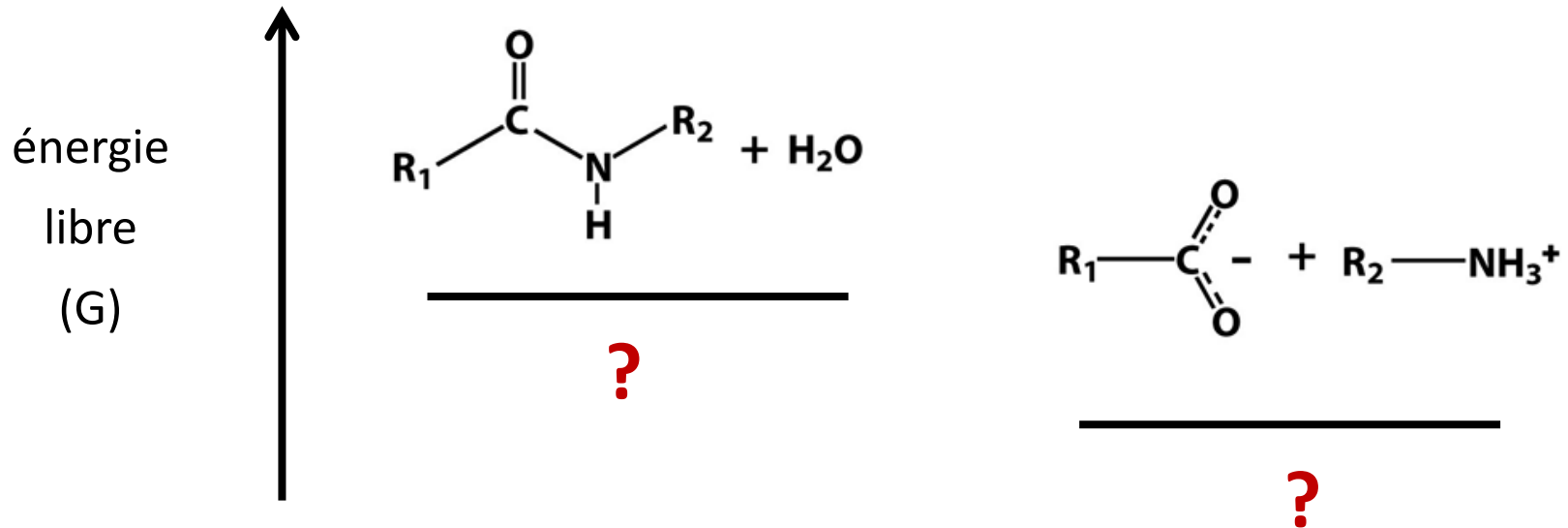
Quelle réaction entre les deux est la plus rapide?

Vitesse d'une réaction



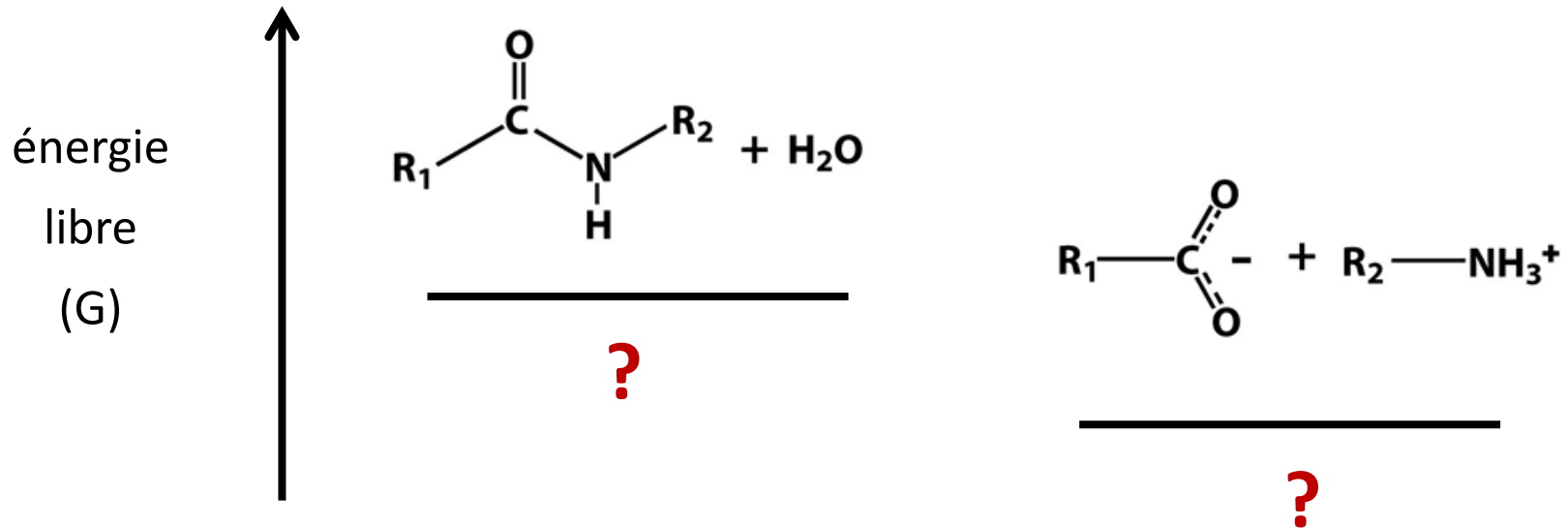
→ La vitesse d'une réaction ne dépend pas de la différence d'énergie libre

Energie libre des réactifs et des produits



Où peut-on trouver les valeurs de l'énergie libre des réactifs et des produits?

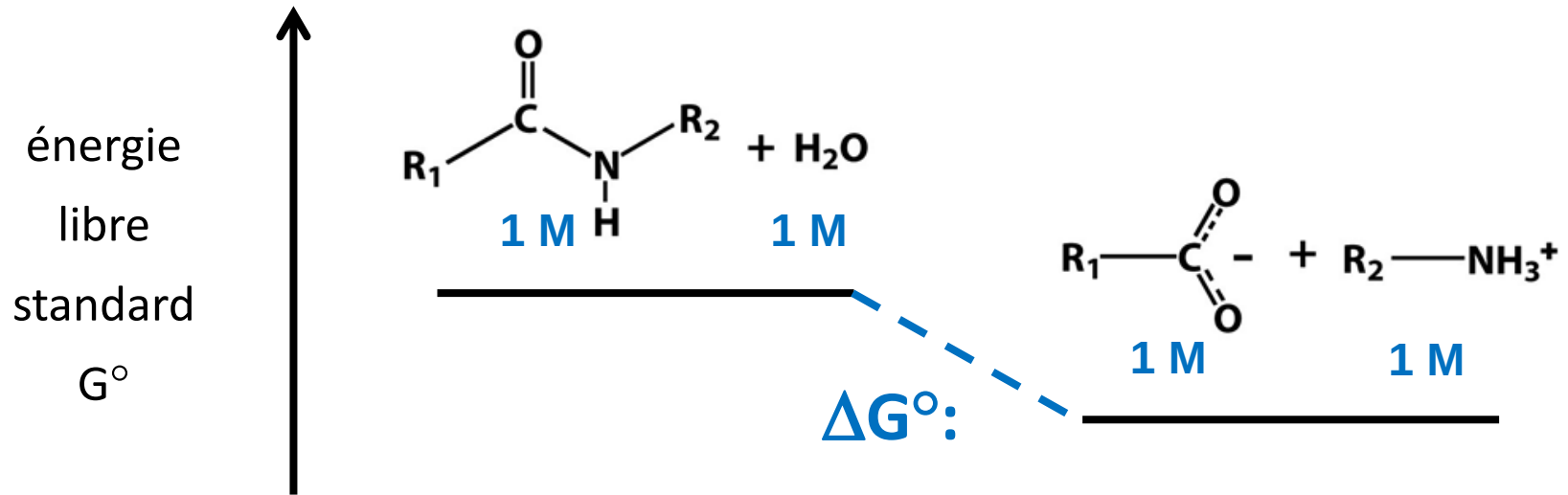
Energie libre (G)



→ Il n'existe pas de valeurs générales pour **l'énergie libre (G)**

→ Mais il y a des valeurs générales pour **l'énergie libre standard (G°)**

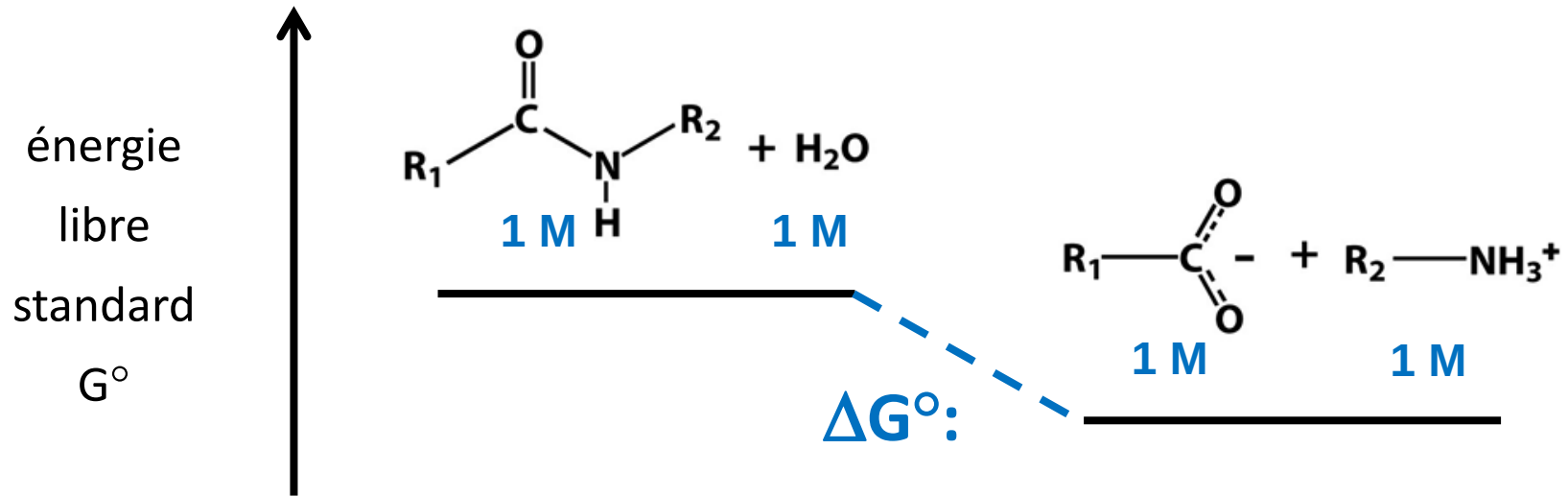
Energie libre standard (G°)



Energie libre standard G° :

Si tous les réactifs et produits ont une concentration de 1 molaire (1 M)

Energie libre standard (G°)



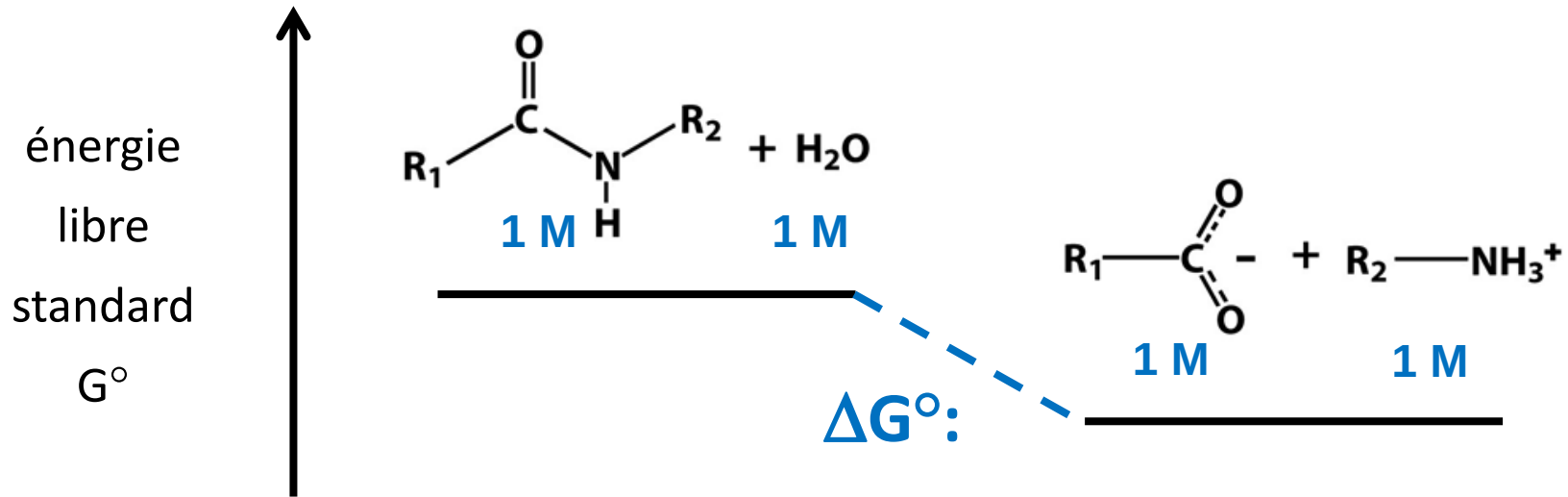
Energie libre standard G° :

Si tous les réactifs et produits ont une concentration de 1 molaire (1 M)

Energie libre standard $G^{\circ'}$:
(pour les réactions biochimiques)

Concentration de 1 molaire (1 M);
pH = 7

Energie libre standard (G°)



Energie libre standard G° :

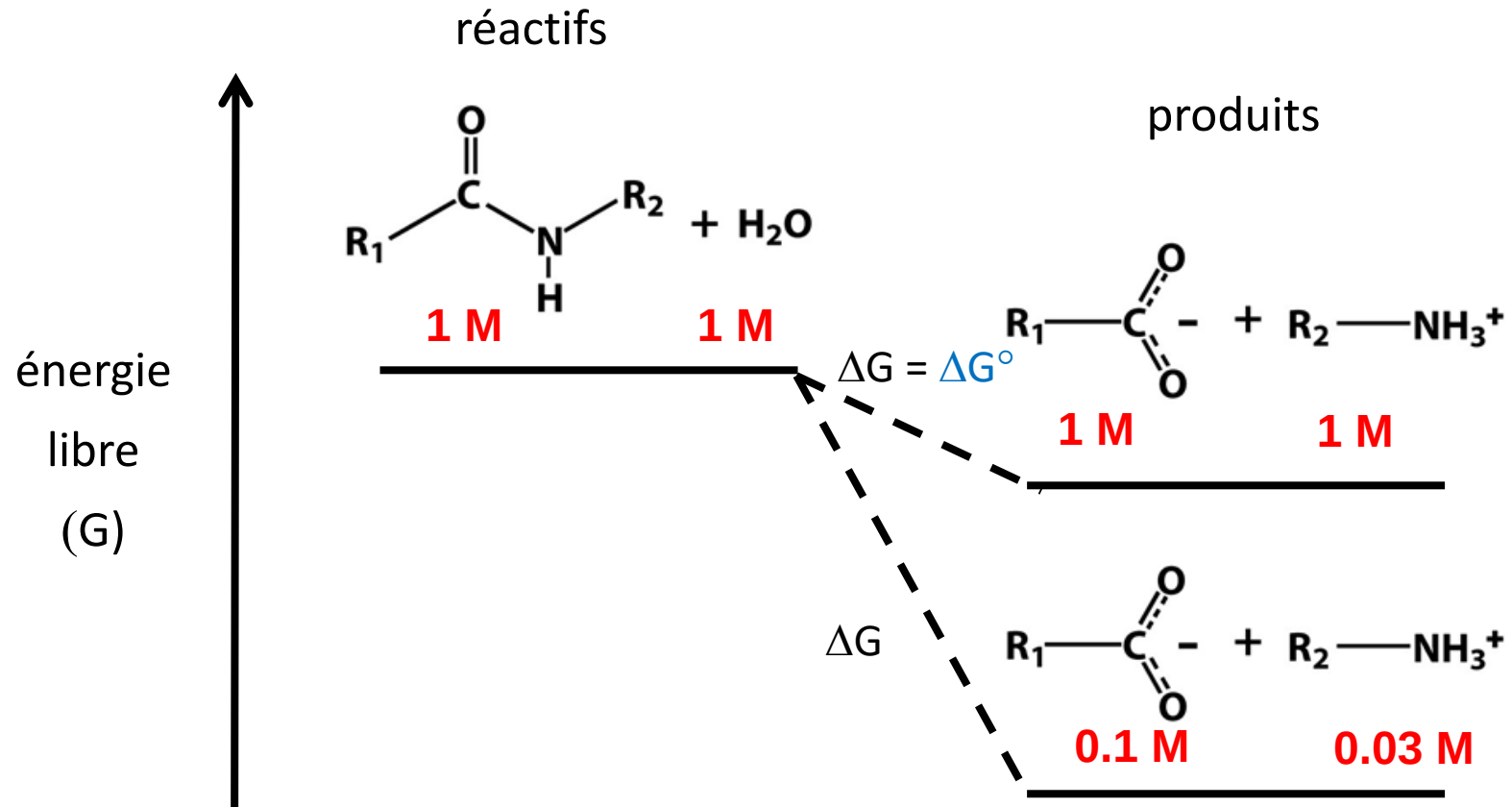
Si tous les réactifs et produits ont une concentration de 1 molaire (1 M)

Energie libre standard $G^{\circ'}$:
(pour les réactions biochimiques)

Concentration de 1 molaire (1 M);
pH = 7

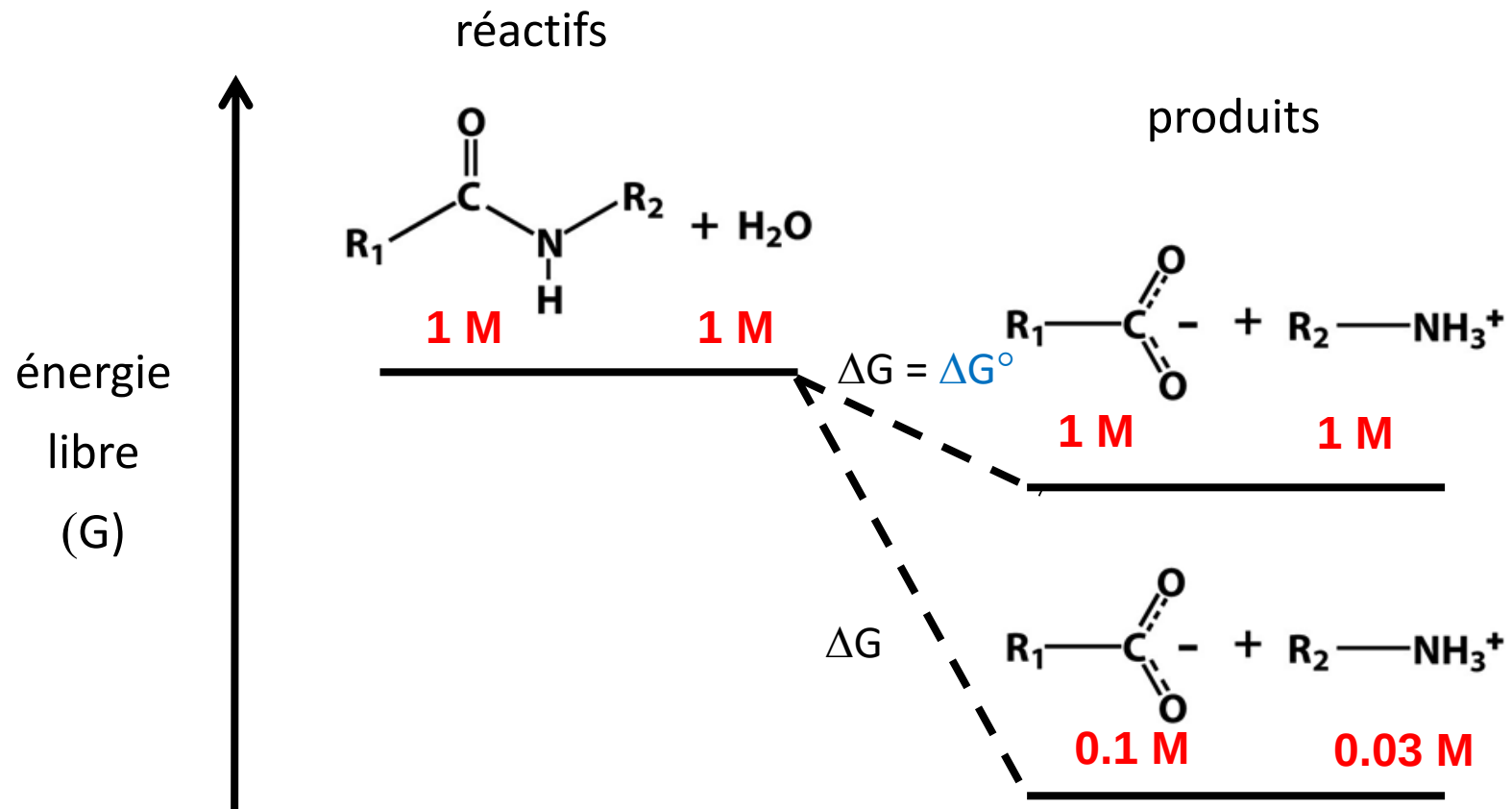
Quelle est la différence entre ΔG et ΔG° ?

Changer les concentrations change l'énergie libre



La différence d'énergie libre (ΔG) dépend des concentrations des réactifs et des produits!

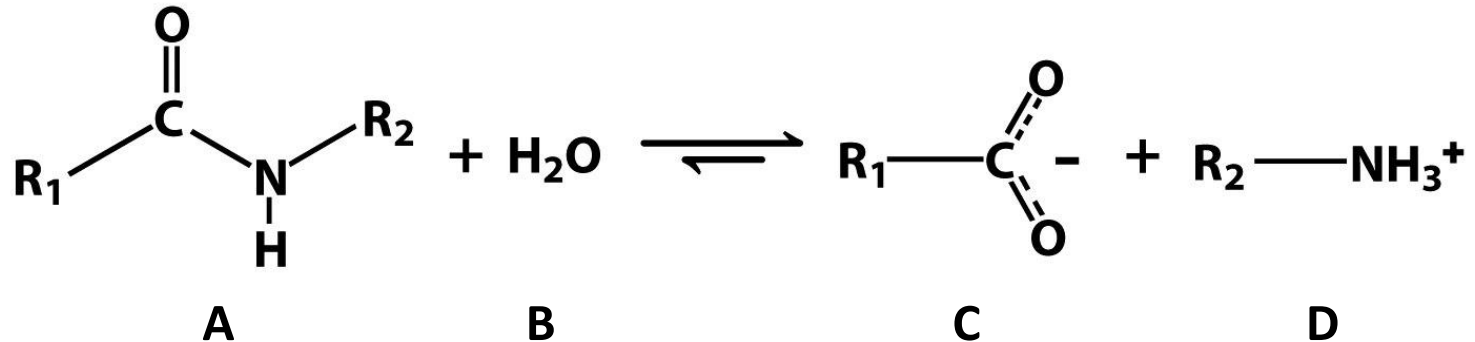
Changer les concentrations change l'énergie libre



La différence d'énergie libre (ΔG) dépend des concentrations des réactifs et des produits!

Comment peut-on calculer ΔG ?

Changer les concentrations change l'énergie libre

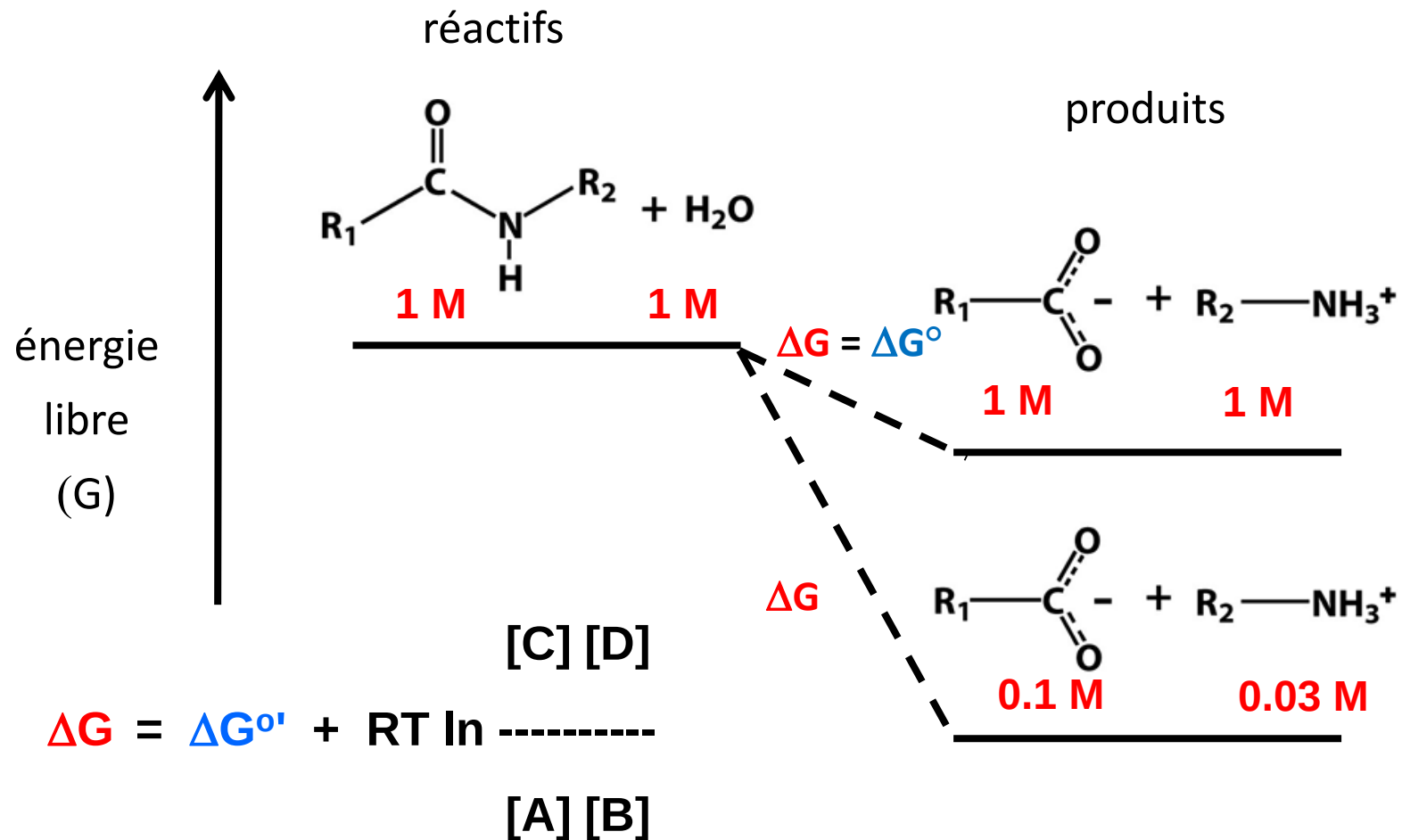


$$T = 298 \text{ K}, [A] = [B] = [C] = [D] = 1 \text{ M} \quad \rightarrow \quad \Delta G = \Delta G^{\circ'}$$

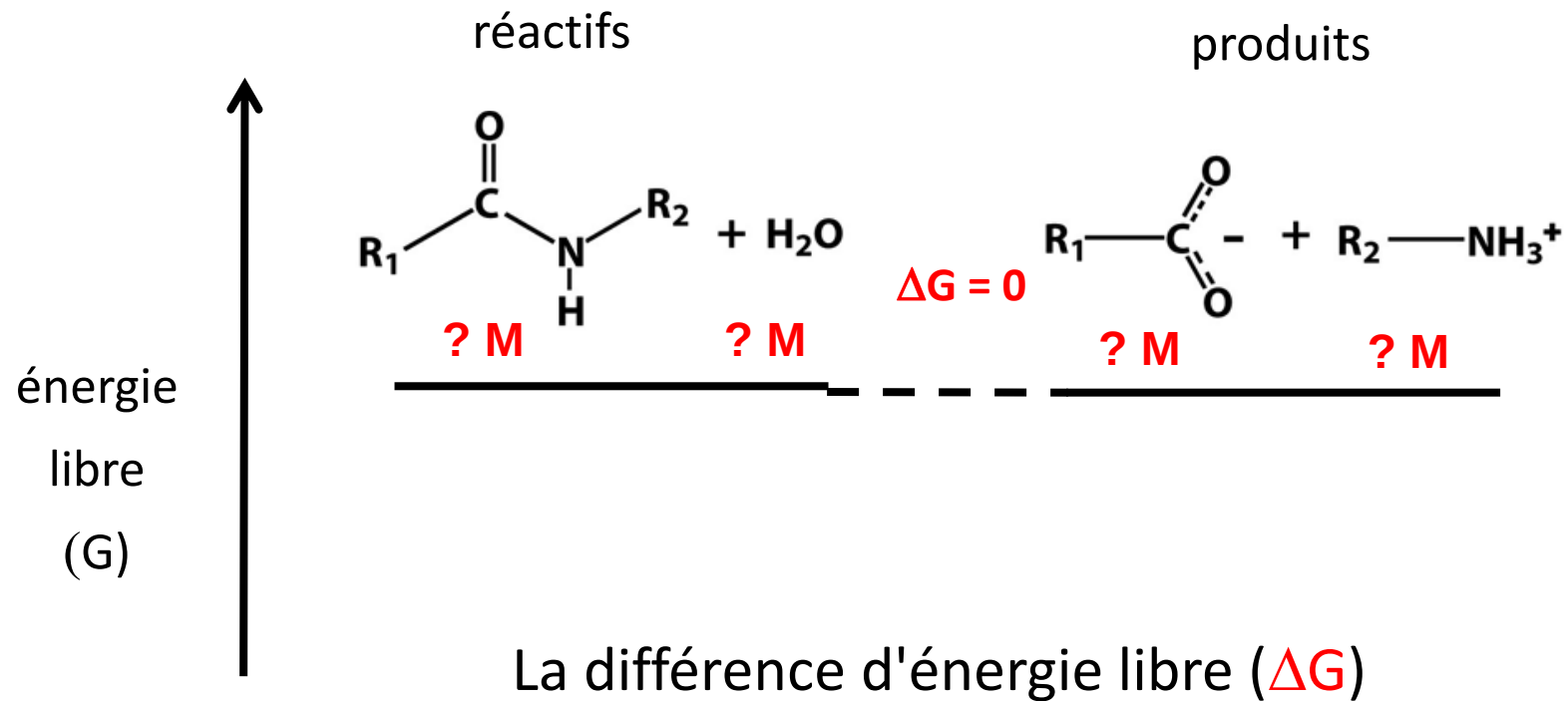
$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

T = température; R = constante des gaz

La **différence d'énergie libre** peut être calculée si on connaît les concentrations des réactifs et des produits ainsi que la **différence d'énergie libre standard**



Calculer les concentrations de réactifs/produits en équilibre



La différence d'énergie libre (ΔG) à l'équilibre = 0

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

A l'équilibre: $\Delta G = 0$



$$0 = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C_{eq}][D_{eq}]}{[A_{eq}][B_{eq}]}$$

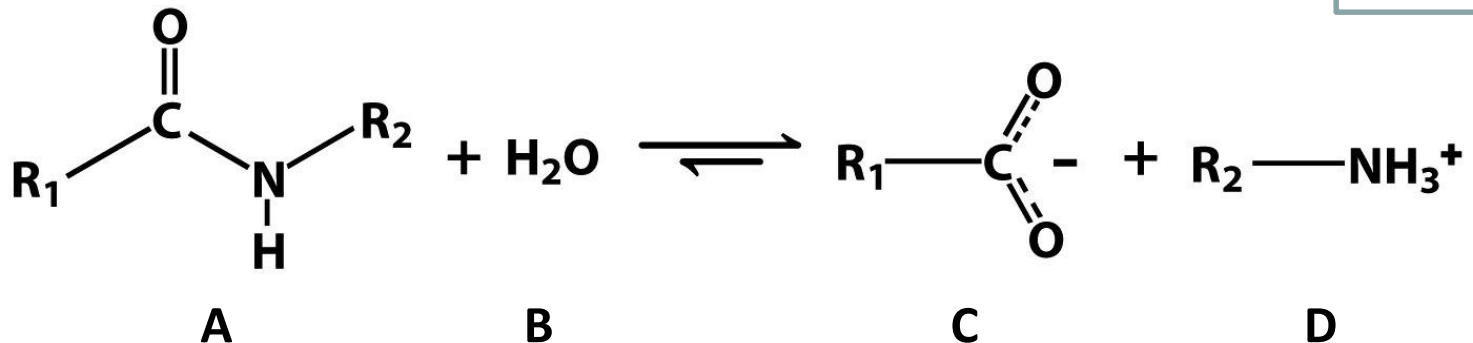
La différence d'énergie libre (ΔG) à l'équilibre = 0

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln \frac{[C_{eq}] [D_{eq}]}{[A_{eq}] [B_{eq}]}$$

La différence d'énergie libre (ΔG) à l'équilibre = 0

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln \frac{[C_{eq}][D_{eq}]}{[A_{eq}][B_{eq}]}$$

K_{eq}'



La différence d'énergie libre (ΔG) à l'équilibre = 0

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln \frac{[C_{eq}] [D_{eq}]}{[A_{eq}] [B_{eq}]}$$

↓

$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K_{eq}'$

K_{eq}'

Calculer les concentrations des réactifs et des produits
à l'équilibre

$$\Delta G^{\circ'} = - RT \ln K_{eq}'$$



$$\Delta G^{\circ'} = - 2.303 RT \log_{10} K_{eq}'$$



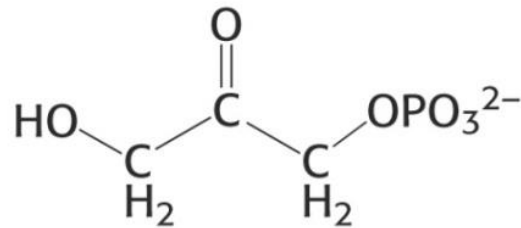
$$T = 298 \text{ K}, R = 8.315 \times 10^{-3} \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^{\circ'} = - 5.69 \log_{10} K_{eq}'$$

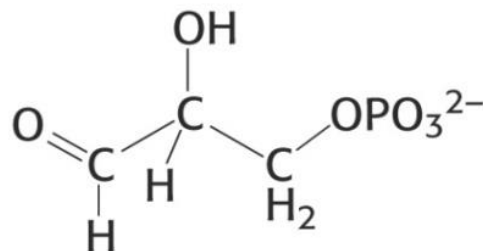


$$K_{eq}' = 10^{-\Delta G^{\circ'} / 5.69}$$

Exemple 1: calculer la constante d'équilibre d'une réaction d'isomérisation



**Dihydroxyacetone
phosphate
(DHAP)**



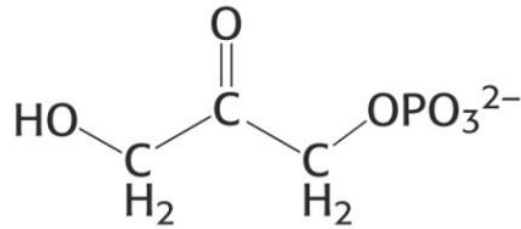
**Glyceraldehyde
3-phosphate
(GAP)**

Isomérisation du dihydroacetone
phosphate en glyceraldehyde
3-phosphate

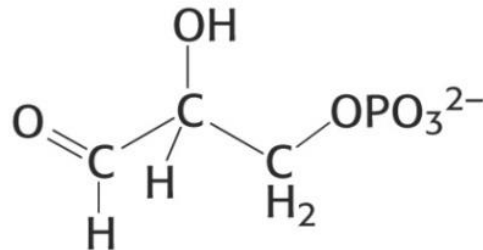
$$\Delta G^{\circ'} = 1.8 \text{ kcal/mol}$$

*Quel est le rapport entre GAP et
DHAP dans cette réaction en
équilibre?*

Exemple 1: calculer la constante d'équilibre d'une réaction d'isomérisation



**Dihydroxyacetone
phosphate
(DHAP)**



**Glyceraldehyde
3-phosphate
(GAP)**

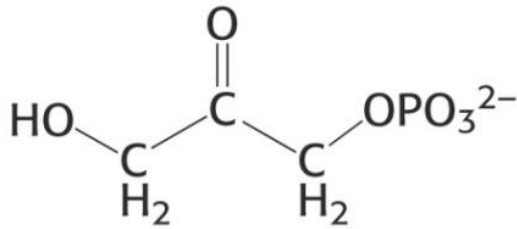
Isomérisation du dihydroacetone
phosphate en glyceraldehyde
3-phosphate

$$\Delta G^{\circ'} = 1.8 \text{ kcal/mol}$$

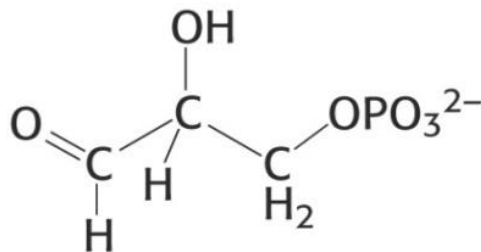


$$\Delta G^{\circ'} = 1.8 \text{ kcal/mol} = 7.53 \text{ kJ/mol}$$

Exemple 1: calculer la constante d'équilibre d'une réaction d'isomérisation



**Dihydroxyacetone
phosphate
(DHAP)**



**Glyceraldehyde
3-phosphate
(GAP)**

Isomérisation du dihydroacetone
phosphate en glyceraldehyde
3-phosphate

$$\Delta G^{\circ'} = 1.8 \text{ kcal/mol}$$



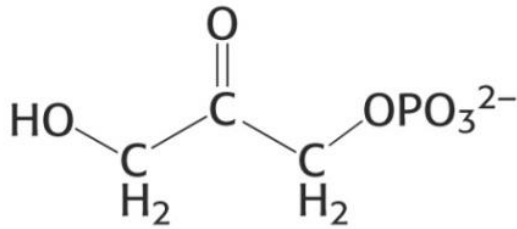
$$\Delta G^{\circ'} = 1.8 \text{ kcal/mol} = 7.53 \text{ kJ/mol}$$



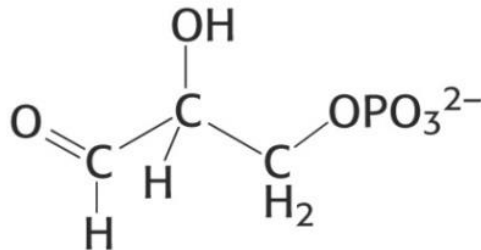
$$K_{eq}' = 10^{-\Delta G^{\circ'} / 5.69}$$

Exemple 1: calculer la constante d'équilibre d'une réaction d'isomérisation

20



**Dihydroxyacetone
phosphate
(DHAP)**



**Glyceraldehyde
3-phosphate
(GAP)**

Isomérisation du dihydroacetone
phosphate en glyceraldehyde
3-phosphate

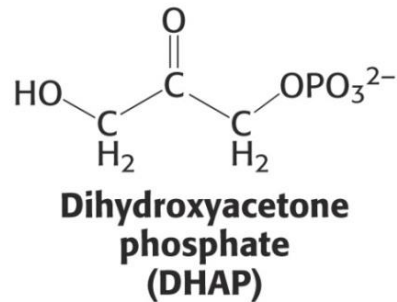
$$K_{eq}' = 0.0475$$

1

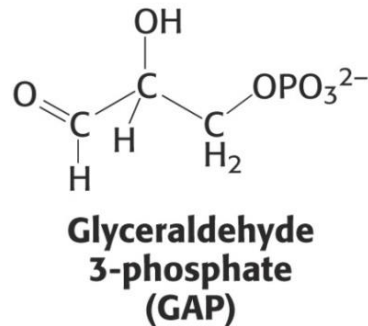
Exemple 2: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.000003 M

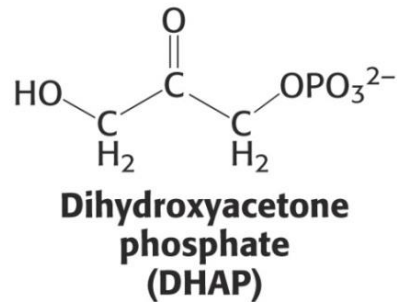


*Est-ce que la réaction peut
se produire aux
concentrations indiquées?*

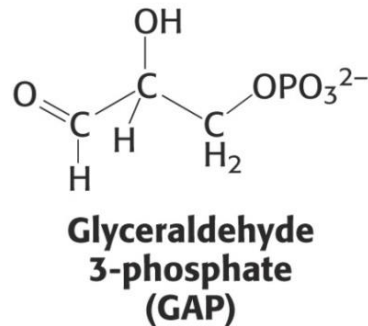
Exemple 2: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.000003 M

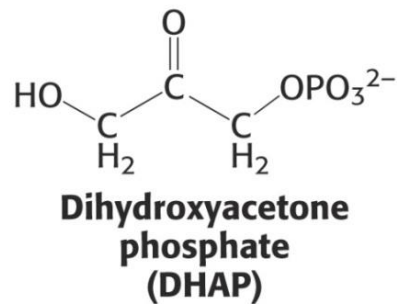


$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2.3 RT \log \frac{[\text{GAP}]}{[\text{DHAP}]}$$

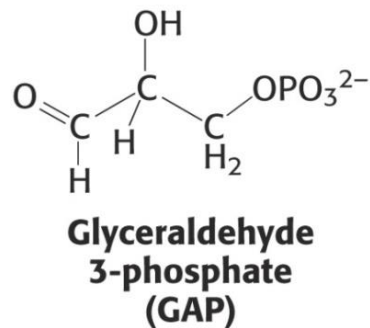
Exemple 2: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.000003 M



$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2.3 RT \log \frac{[\text{GAP}]}{[\text{DHAP}]}$$

7.53 kJ/mol

8.315×10^{-3}

298

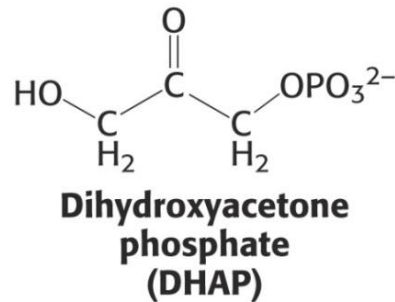
0.000003

0.0002

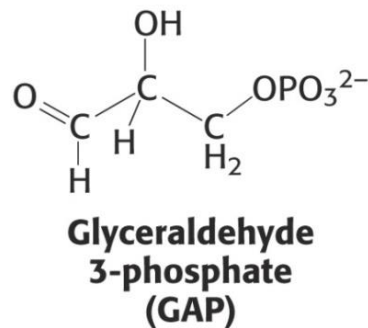
Exemple 2: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.000003 M



$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2.3 RT \log \frac{[\text{GAP}]}{[\text{DHAP}]}$$

7.53 kJ/mol

8.315×10^{-3}

298

0.000003

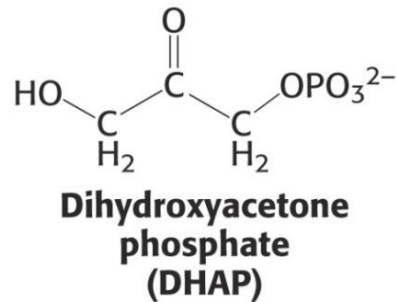
0.0002

$$\Delta G = 7.53 + 2.3 \times 8.315 \times 10^{-3} \times 298 \log_{10} (0.000003/0.0002)$$

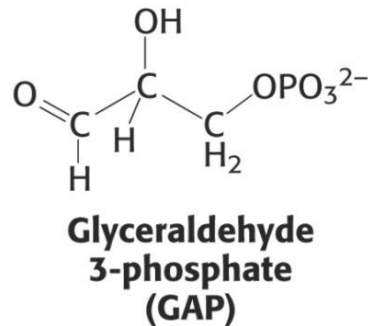
Exemple 2: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.000003 M



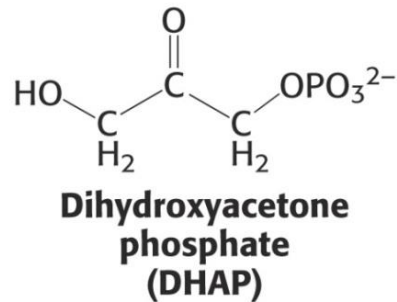
$$\Delta G = - 2.86 \text{ kJ/mol}$$

*Est-ce que la réaction peut
se produire aux
concentrations indiquées?*

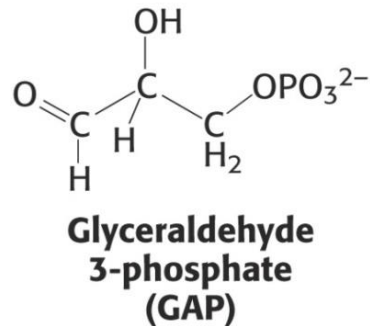
Exemple 3: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.5 M

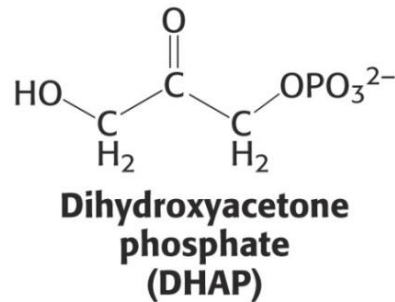


*Est-ce que la réaction peut
se produire aux
concentrations indiquées?*

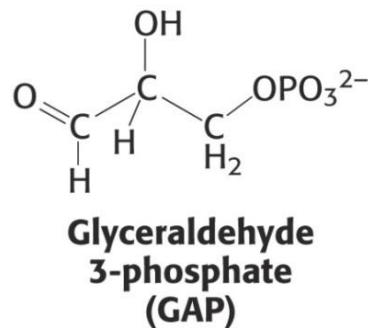
Exemple 3: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



0.5 M



$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2.3 RT \log \frac{[\text{GAP}]}{[\text{DHAP}]}$$

7.53 kJ/mol

8.315×10^{-3}

298

0.5

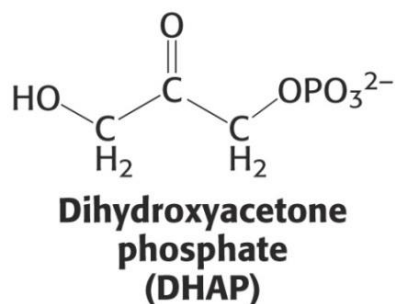
0.0002

$$\Delta G = 7.53 + 2.3 \times 8.315 \times 10^{-3} \times 298 \log_{10} (0.5/0.0002)$$

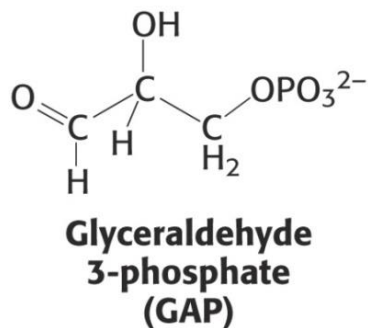
Exemple 3: Calculer l'énergie libre

Concentrations:

0.0002 M



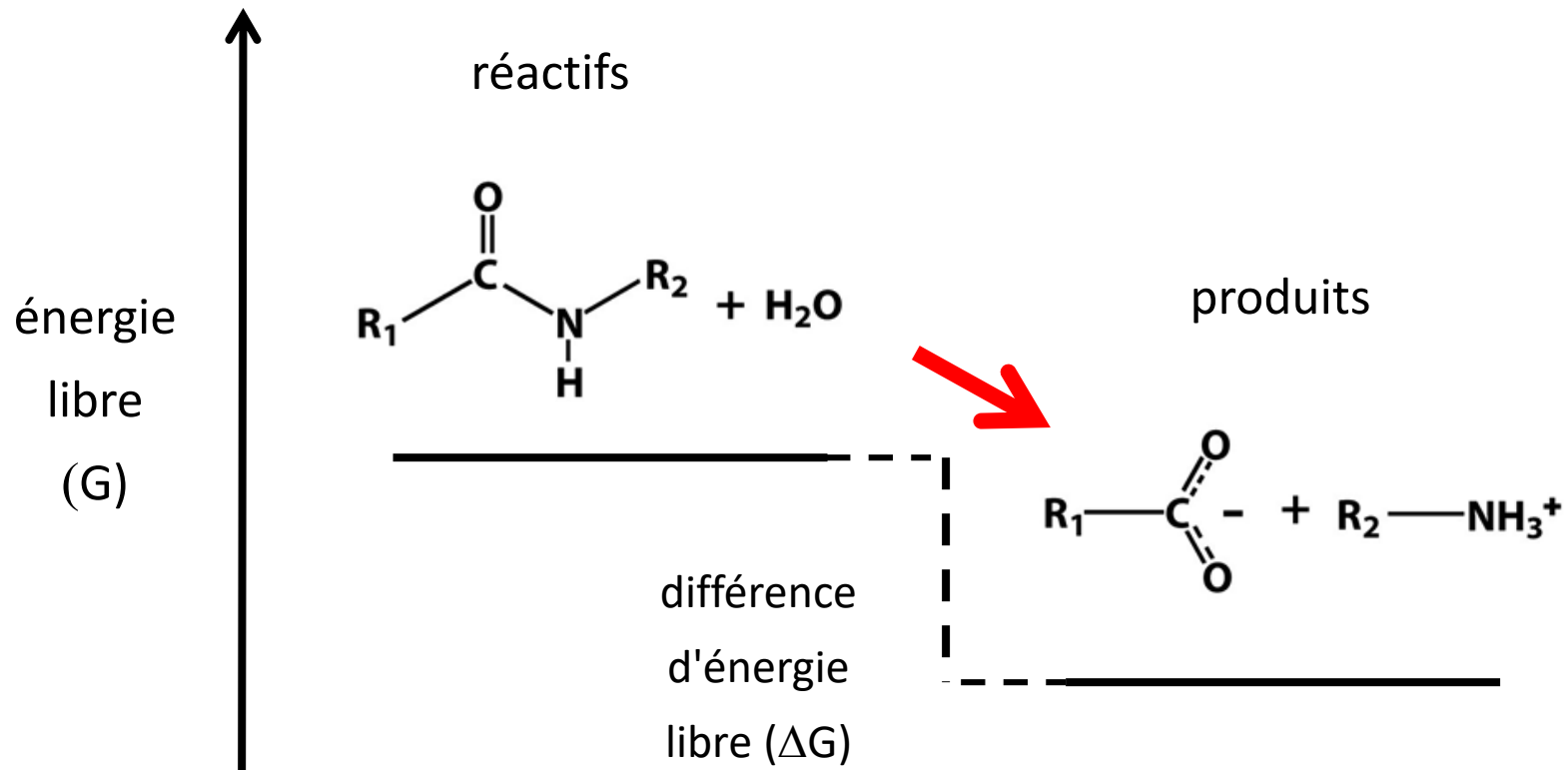
0.5 M



$$\Delta G = 26.9 \text{ kJ/mol}$$

*Est-ce que la réaction peut
se produire aux
concentrations indiquées?*

**Une réaction peut se produire si
la différence d'énergie libre ΔG est négative**

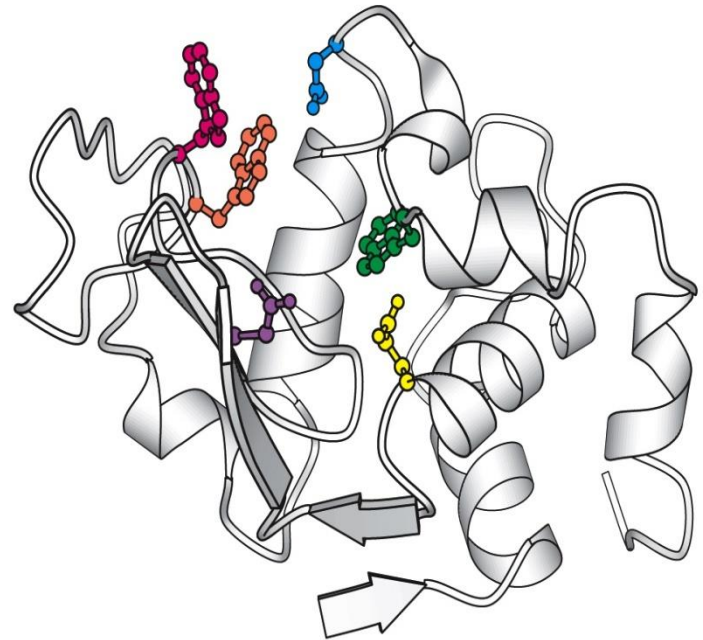


La différence d'énergie libre dépend des concentrations des réactifs et des produits!

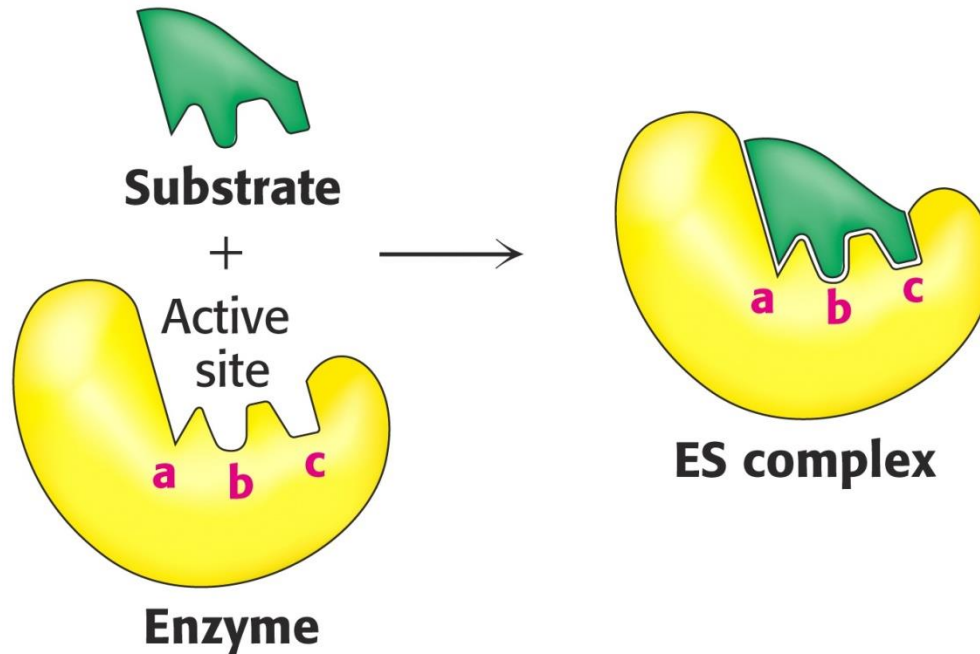
Leçon 9

Enzymes

- Catalyse enzymatique
- Energie libre
- ➡ - Etat de transition et complexe enzyme-substrat
- Modèle de Michaelis-Menten



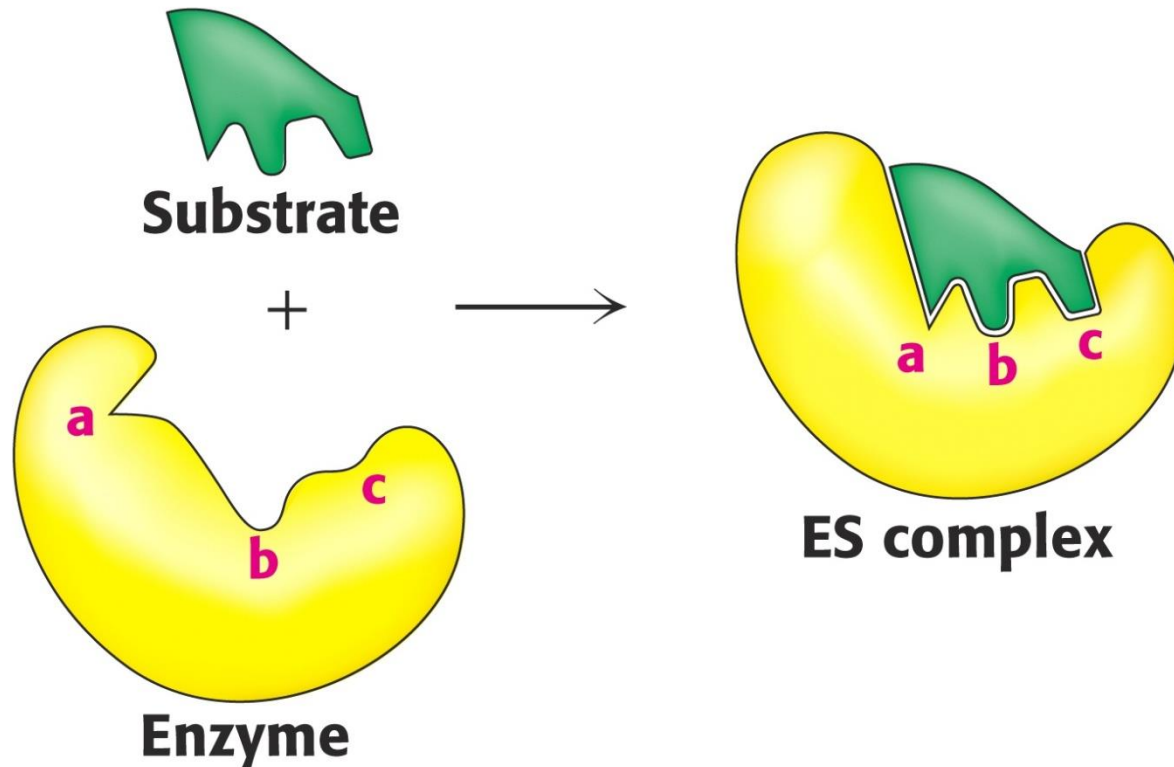
Etat de transition et complexe enzyme-substrat



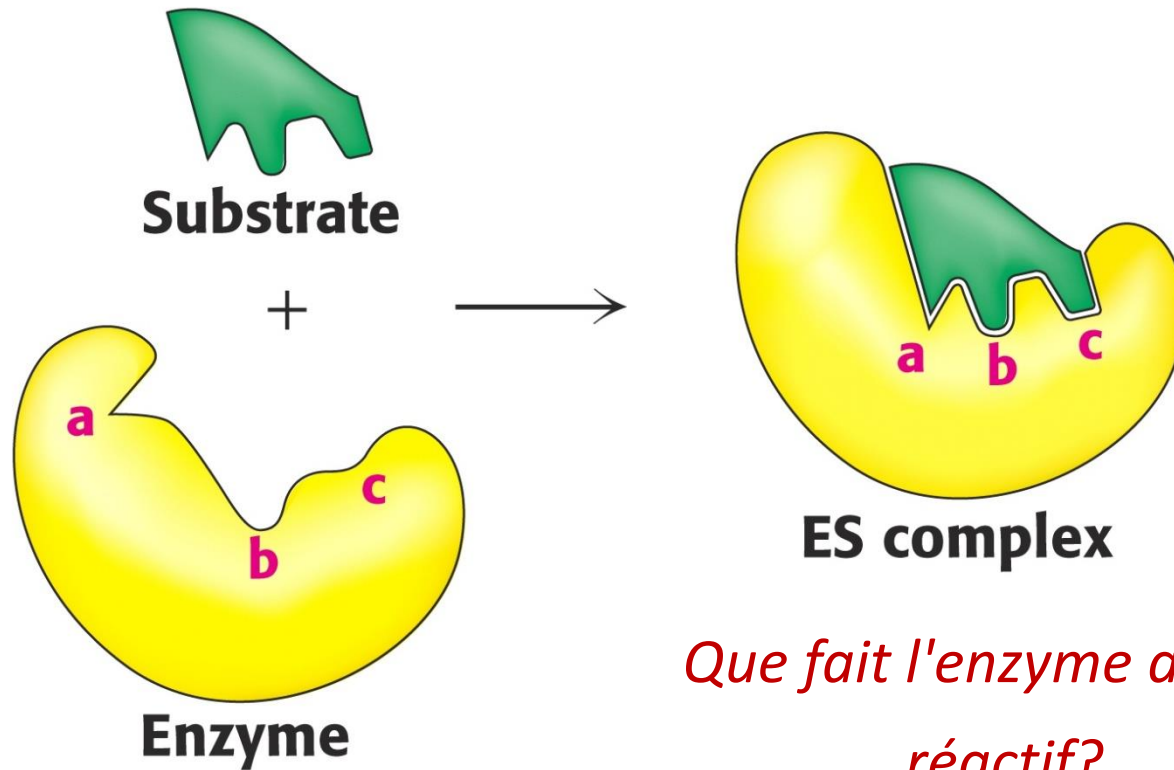
En général, les enzymes ont un site actif qui peut lier le substrat et catalyser la réaction correspondante.

Emil Fischer
Prix Nobel en 1902
Analogie « clef et serrure »

**La structure d'une enzyme possède souvent
une certaine flexibilité:
adaptation induite (« induced fit »)**



**La structure d'une enzyme possède souvent
une certaine flexibilité:
adaptation induite (« induced fit »)**



Stabilisation de l'état de transition

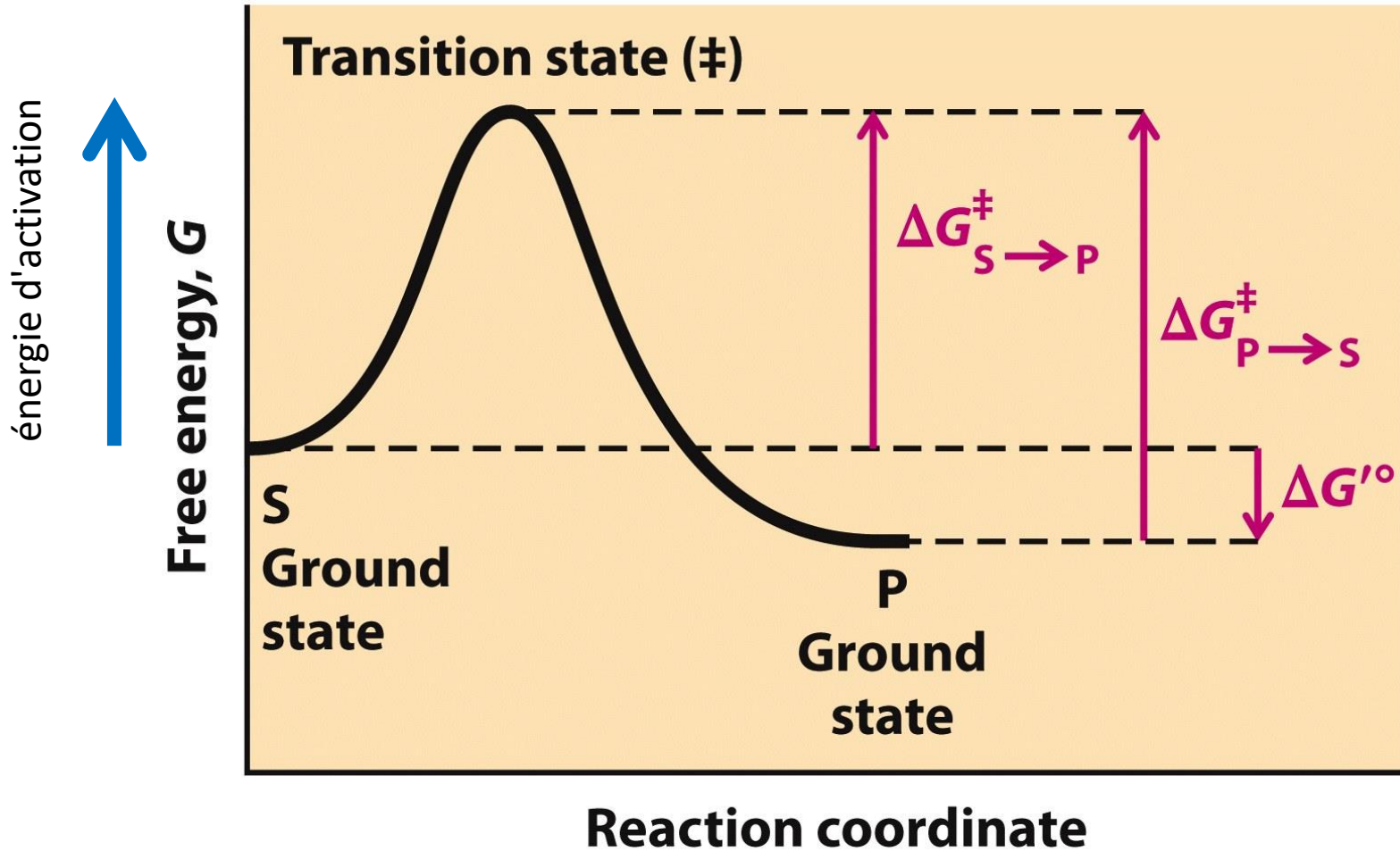
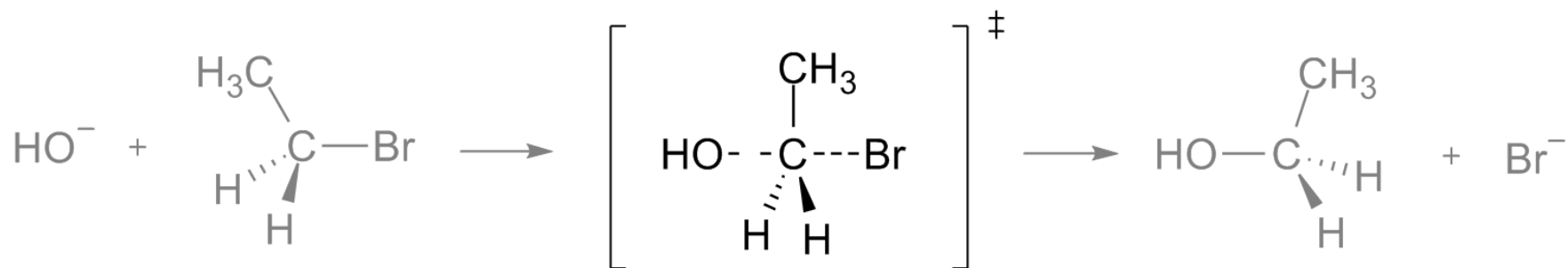


Figure 6-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Exemple d'un état de transition



Stabilisation de l'état de transition

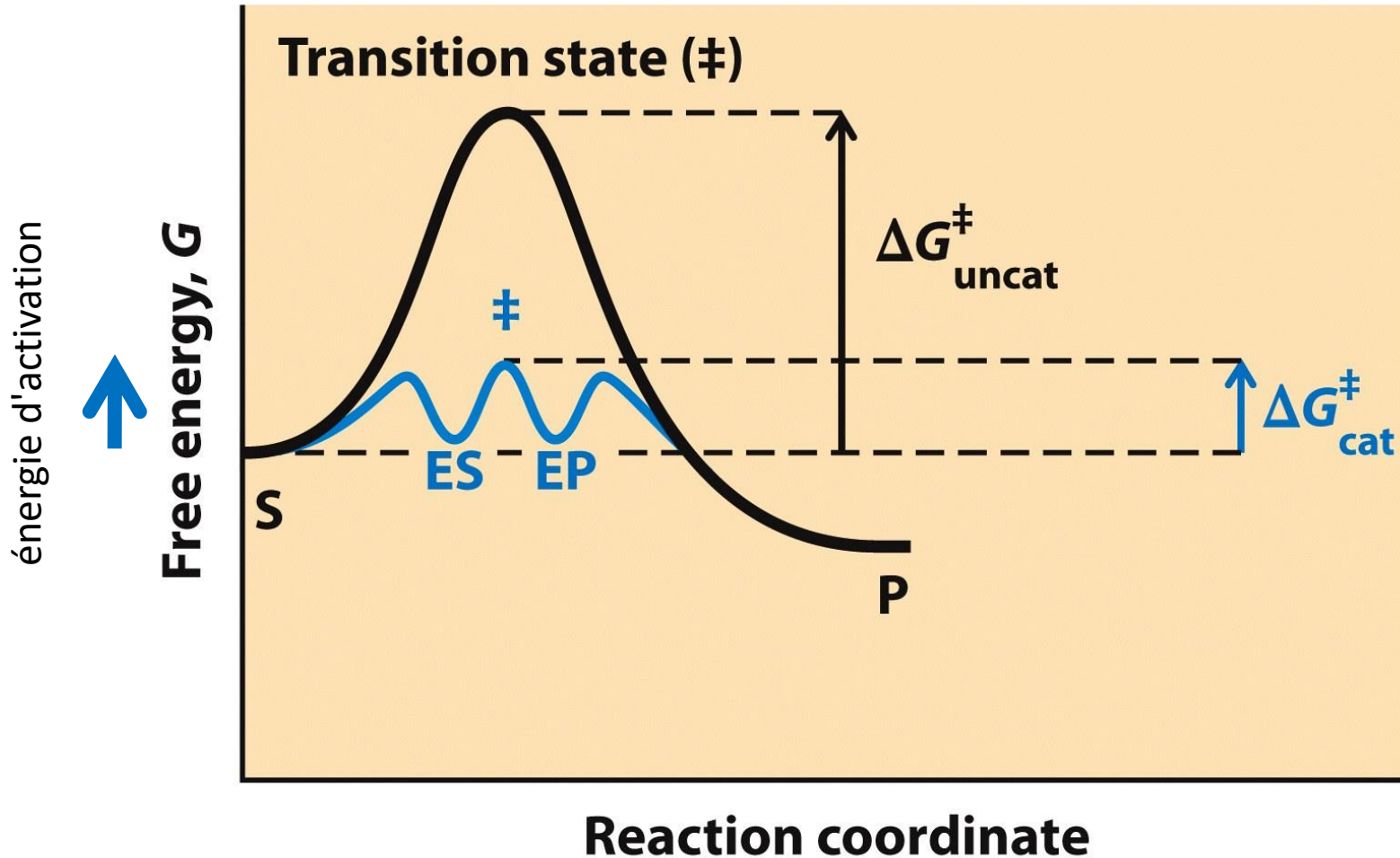
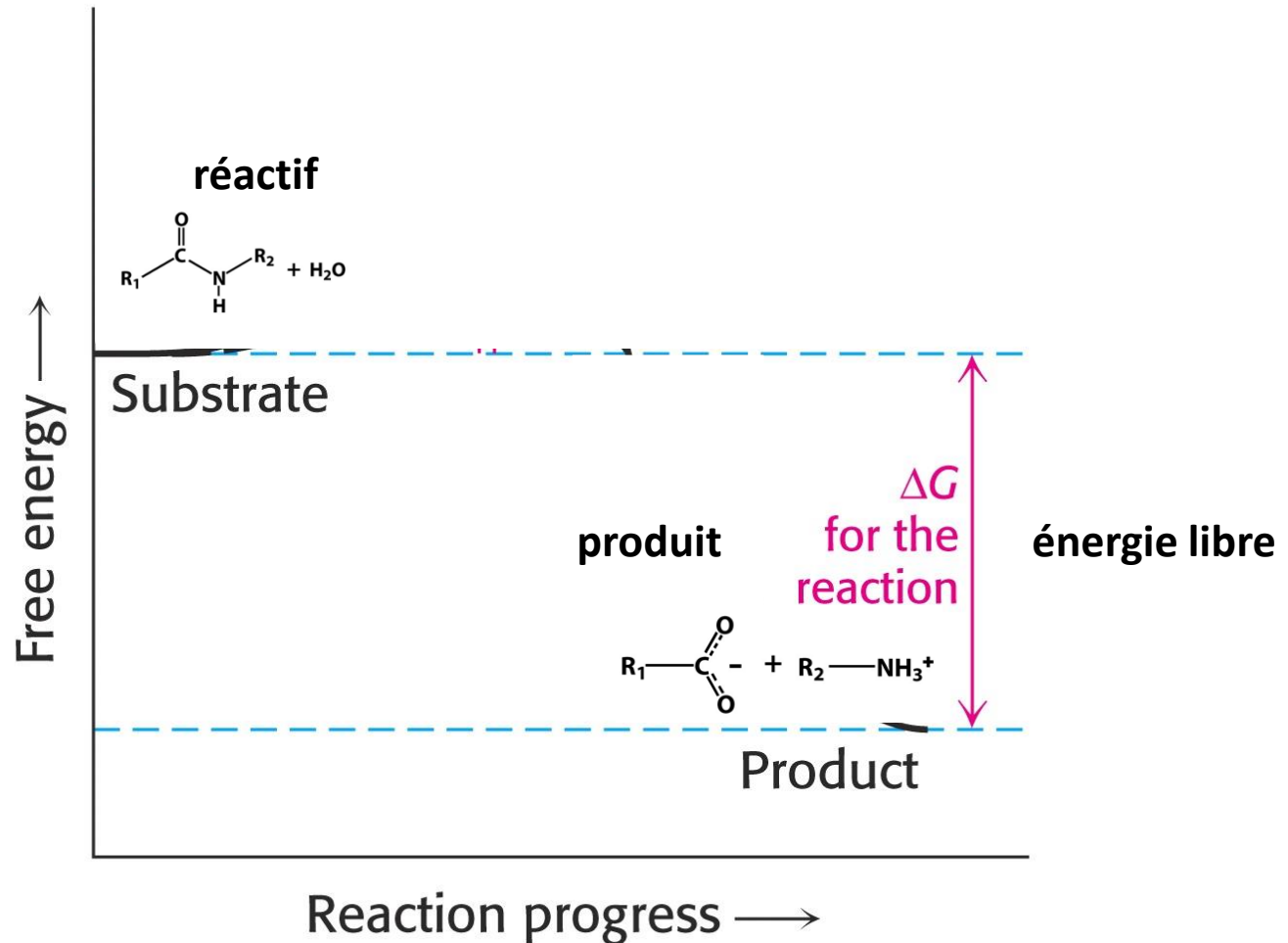
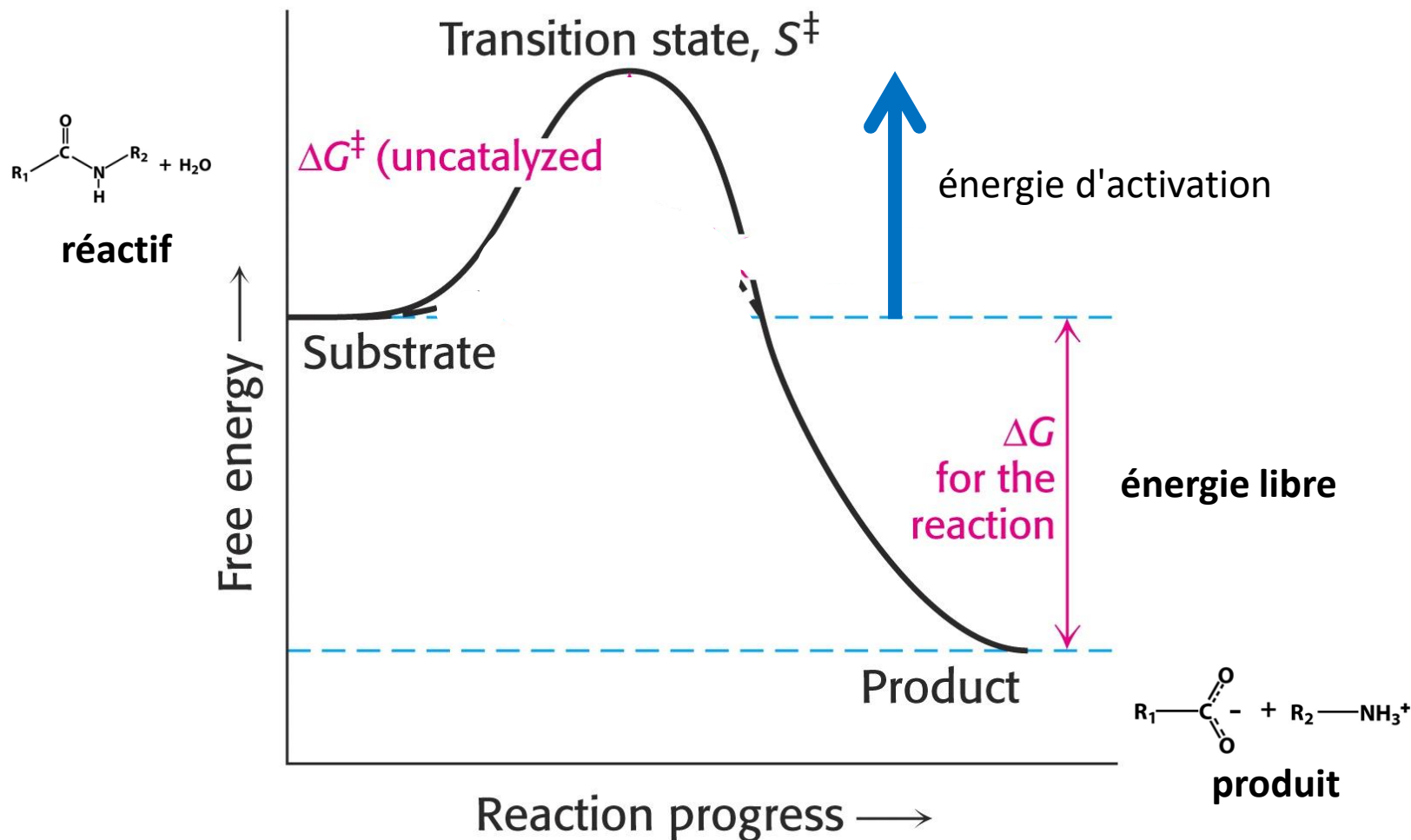


Figure 6-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

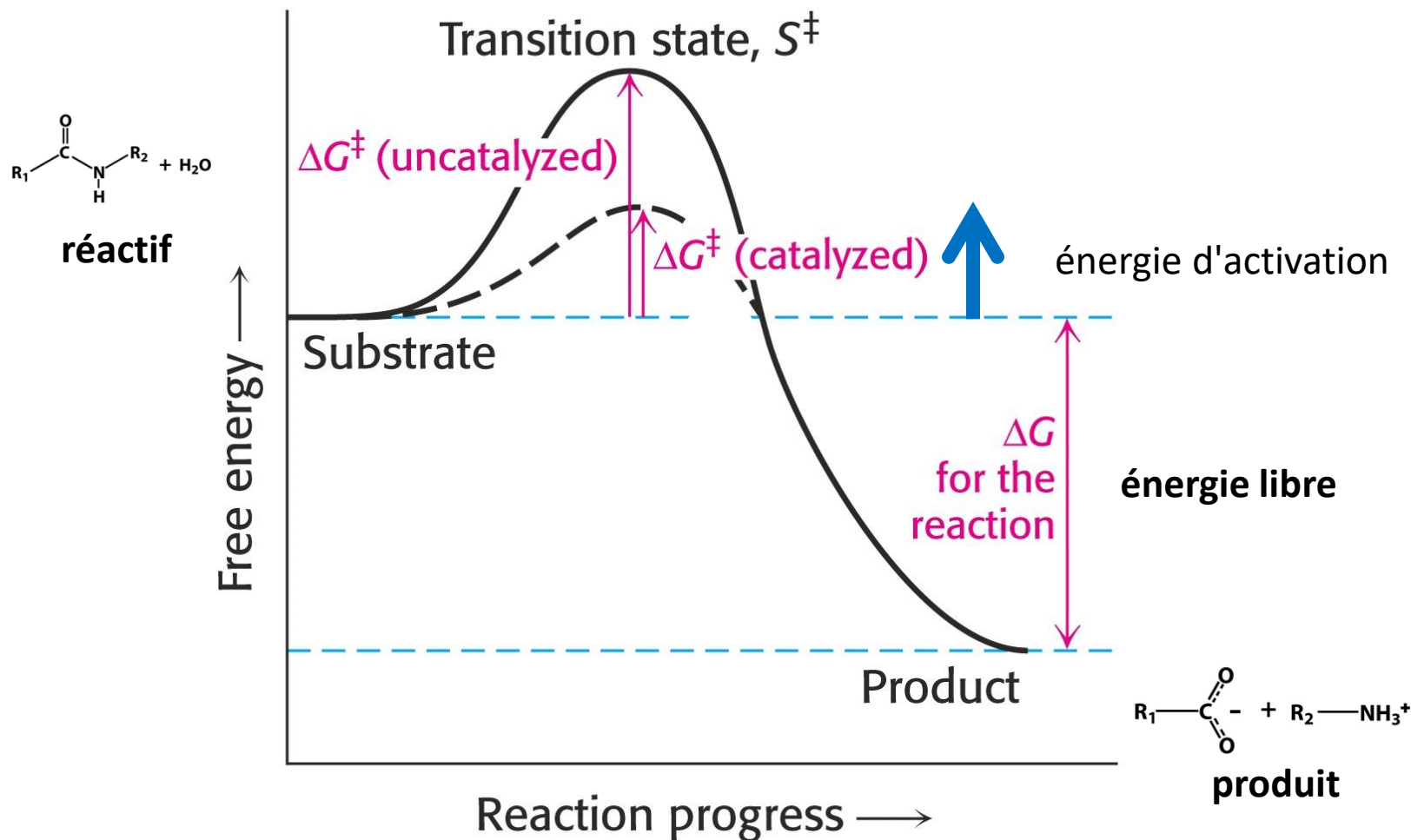
Par définition, la catalyse est la stabilisation de l'état de transition par rapport au réactif et au produit



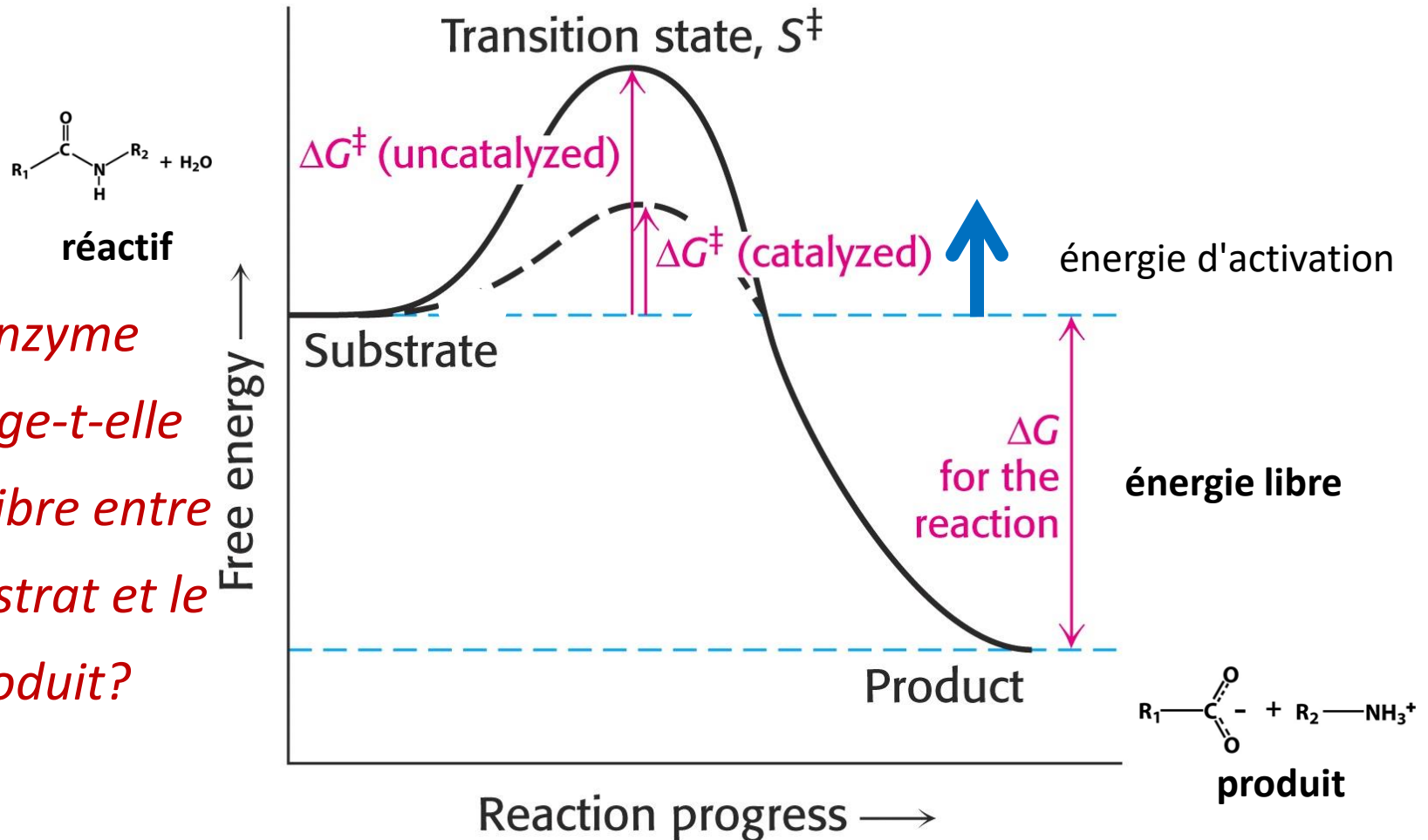
Par définition, la catalyse est la stabilisation de l'état de transition par rapport au réactif et au produit



Par définition, la catalyse est la stabilisation de l'état de transition par rapport au réactif et au produit



Par définition, la catalyse est la stabilisation de l'état de transition par rapport au réactif et au produit



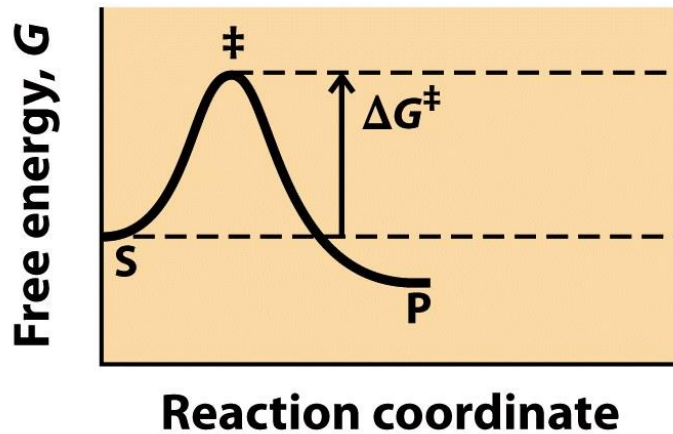
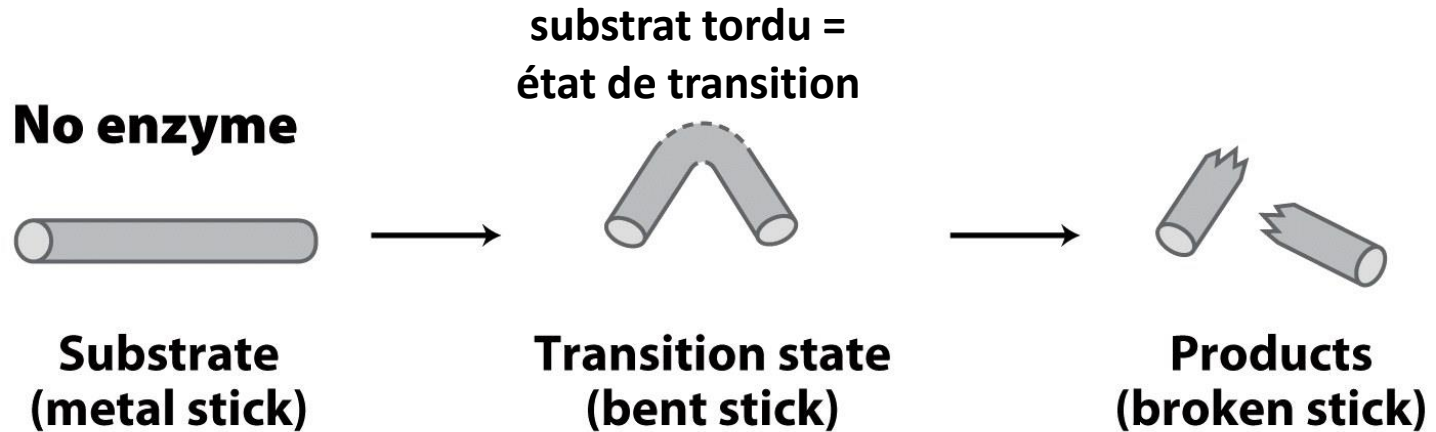
Les enzymes changent la vitesse des réactions

TABLE 8.1 Rate enhancement by selected enzymes			Réactions per seconde:		
Enzyme	Nonenzymatic half-life		Uncatalyzed rate ($k_{\text{un}} \text{ s}^{-1}$)	Catalyzed rate ($k_{\text{cat}} \text{ s}^{-1}$)	Rate enhancement ($k_{\text{cat}}/k_{\text{un}}$)
OMP decarboxylase	78,000,000	years	2.8×10^{-16}	39	1.4×10^{17}
Staphylococcal nuclease	130,000	years	1.7×10^{-13}	95	5.6×10^{14}
AMP nucleosidase	69,000	years	1.0×10^{-11}	60	6.0×10^{12}
Carboxypeptidase A	7.3	years	3.0×10^{-9}	578	1.9×10^{11}
Ketosteroid isomerase	7	weeks	1.7×10^{-7}	66,000	3.9×10^{11}
Triose phosphate isomerase	1.9	days	4.3×10^{-6}	4,300	1.0×10^9
Chorismate mutase	7.4	hours	2.6×10^{-5}	50	1.9×10^6
Carbonic anhydrase	5	seconds	1.3×10^{-1}	1×10^6	7.7×10^6

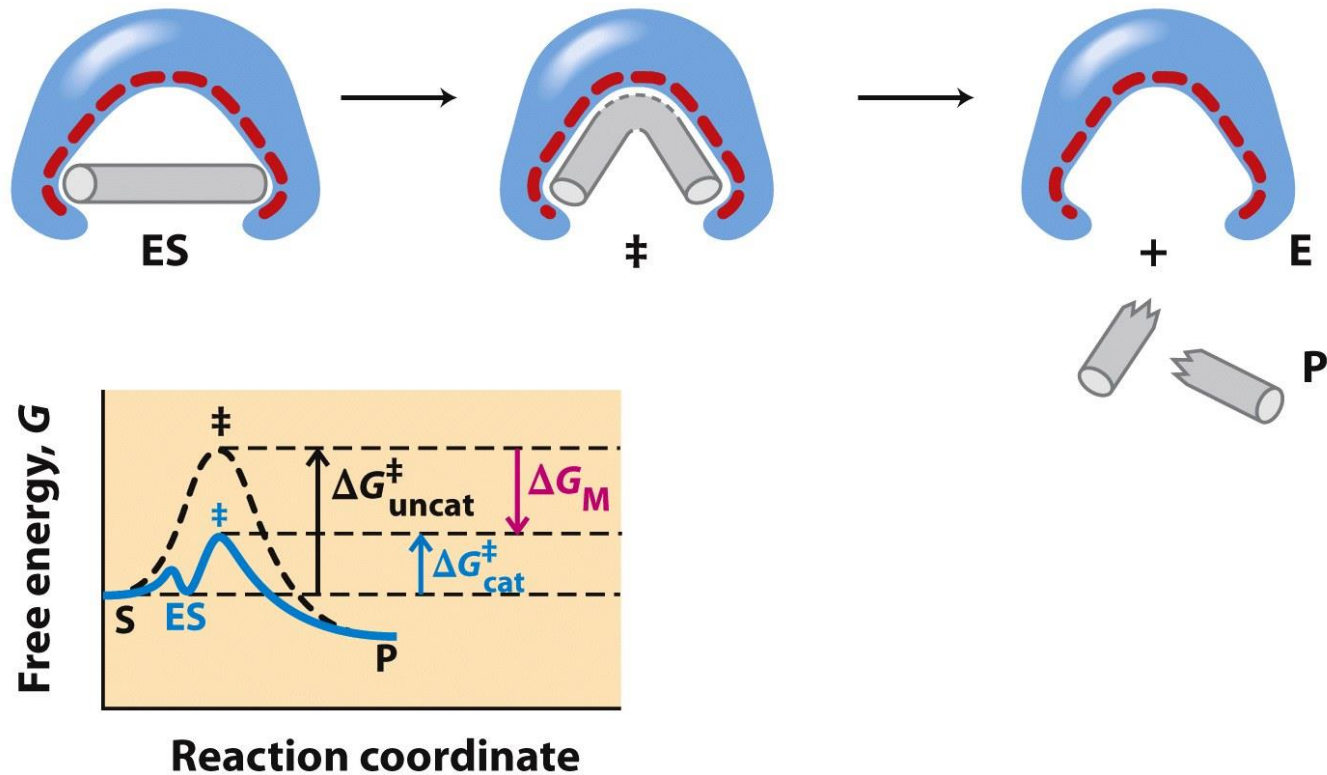
Abbreviations: OMP, orotidine monophosphate; AMP, adenosine monophosphate.

Source: After A. Radzicka and R. Wofenden. *Science* 267 (1995):90–93.

Etat de transition: non-stabilisé par une enzyme

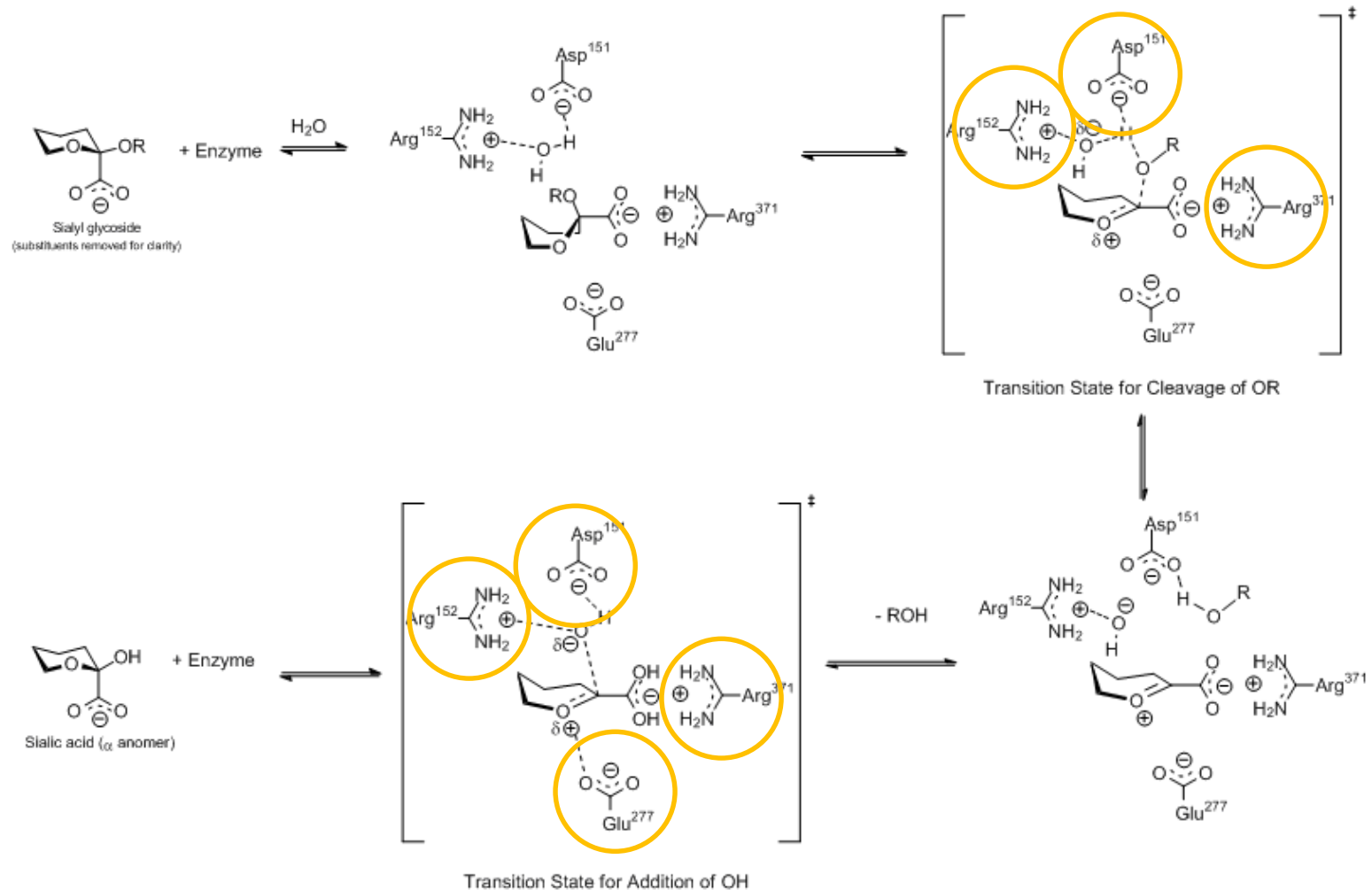


Etat de transition: stabilisé par une enzyme



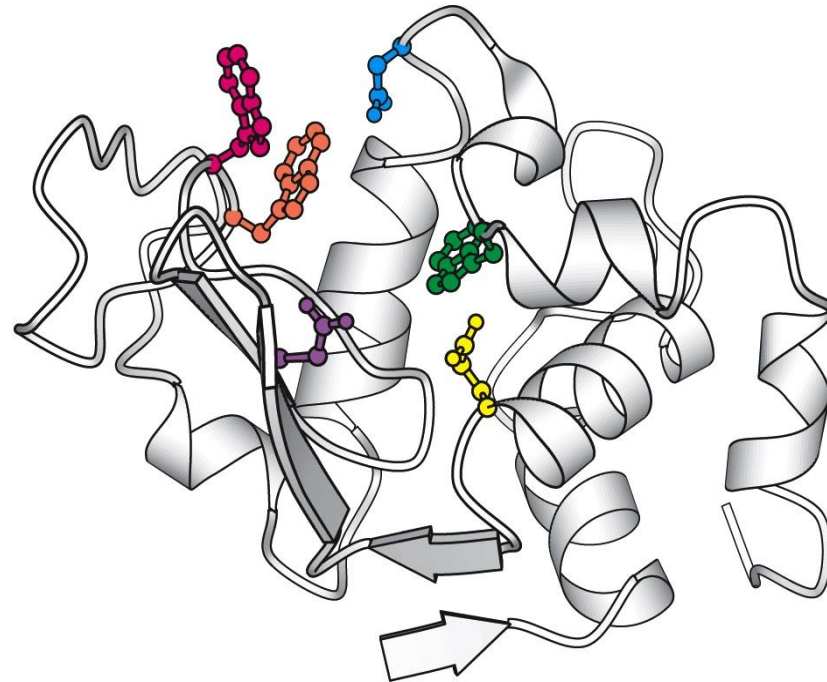
Comment l'état de transition est-il stabilisé?

Exemple de la stabilisation d'un état de transition

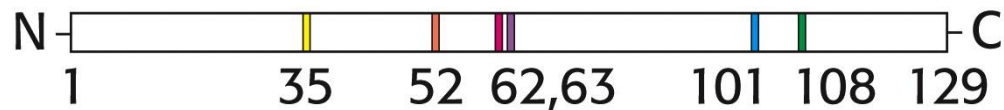


Le site actif est en général formé par des parties différentes de la séquence

Structure de la lysozyme



Séquence de la lysozyme



Les chaînes latérales aident souvent à stabiliser l'état de transition

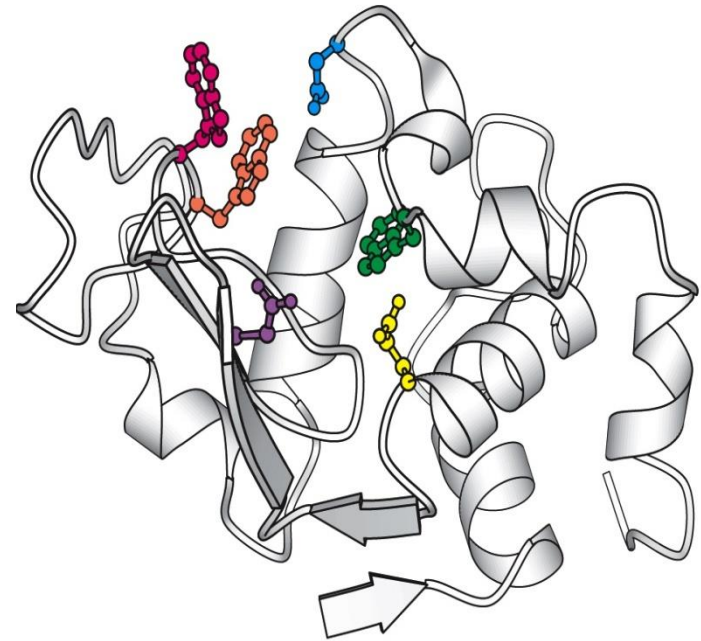
Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$\text{R}-\text{COO}^{\text{H}}$	$\text{R}-\text{COO}^{-}$
Lys, Arg	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\overset{+}{\text{N}}}}^{\text{H}}$	$\text{R}-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$
Cys	$\text{R}-\text{S}^{\text{H}}$	$\text{R}-\text{S}^{-}$
His	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{HN} \quad \text{N}^{\text{H}} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{HN} \quad \text{N:} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \text{H} \end{array}$
Ser	$\text{R}-\text{OH}^{\text{H}}$	$\text{R}-\text{O}^{-}$
Tyr	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}^{\text{H}}$	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}^{-}$

Figure 6-9
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

Leçon 9

Enzymes

- Catalyse enzymatique
- Energie libre
- Etat de transition et complexe enzyme-substrat
- ➡ - Modèle de Michaelis-Menten



Modèle de Michaelis-Menten



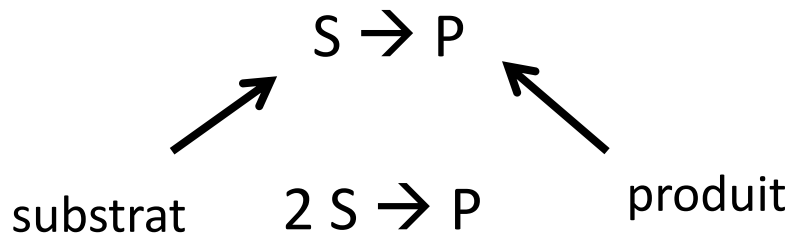
Leonor Michaelis
1875–1949



Maud Menten
1879–1960

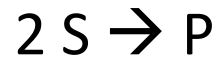
Réaction chimique (sans enzyme)

Réaction

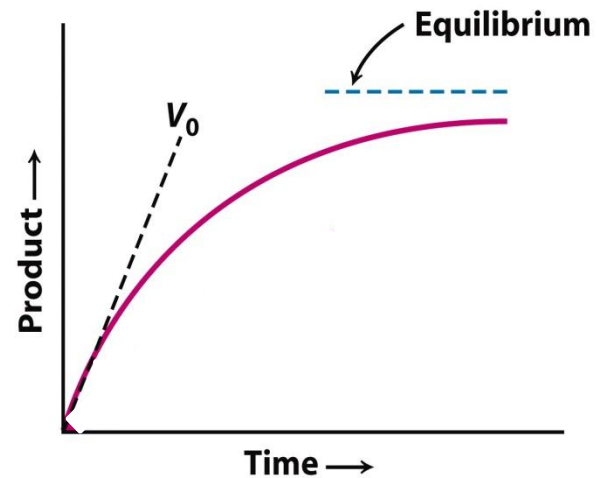


Réaction chimique (sans enzyme)

Réaction



Vitesse



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

Réaction chimique (sans enzyme)

Réaction	Vitesse	
$S \rightarrow P$	$V = k[S]$	premier ordre
$2 S \rightarrow P$	$V = k[S]^2$	deuxième ordre
$S_1 + S_2 \rightarrow P$	$V = k[S_1][S_2]$	deuxième ordre

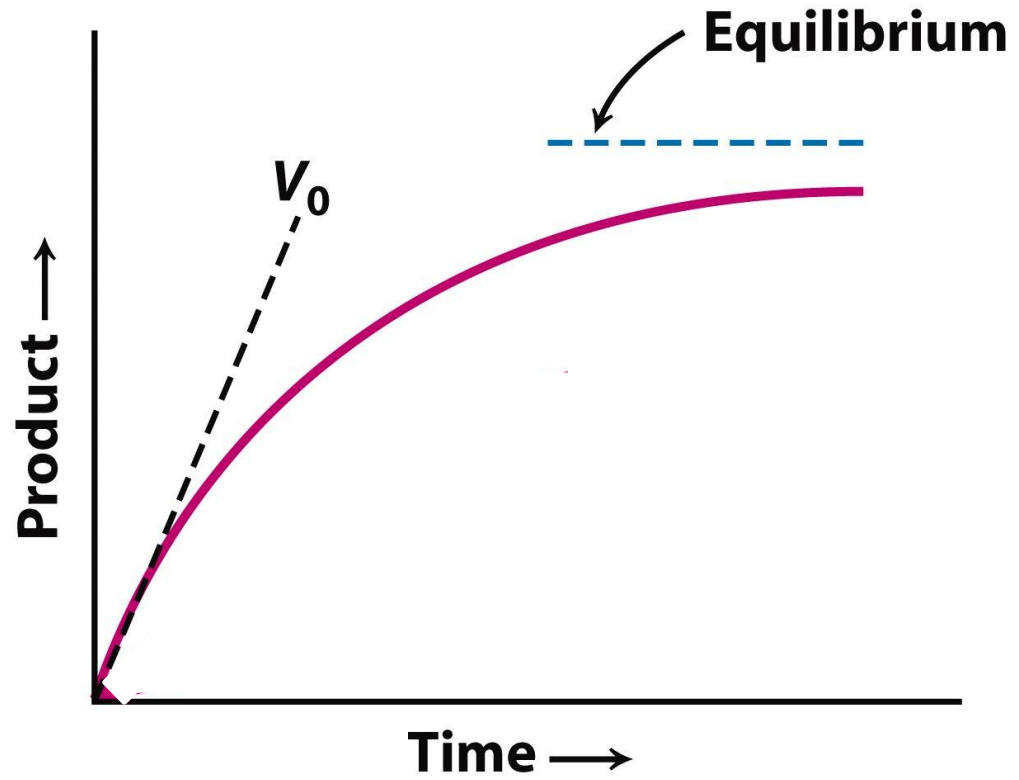
Diagram annotations:

- An arrow points from the word "vitesse" to the V in the first rate equation $V = k[S]$.
- An arrow points from the text "constante de vitesse" to the k in the first rate equation $V = k[S]$.

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Observation de Michaelis et Menten

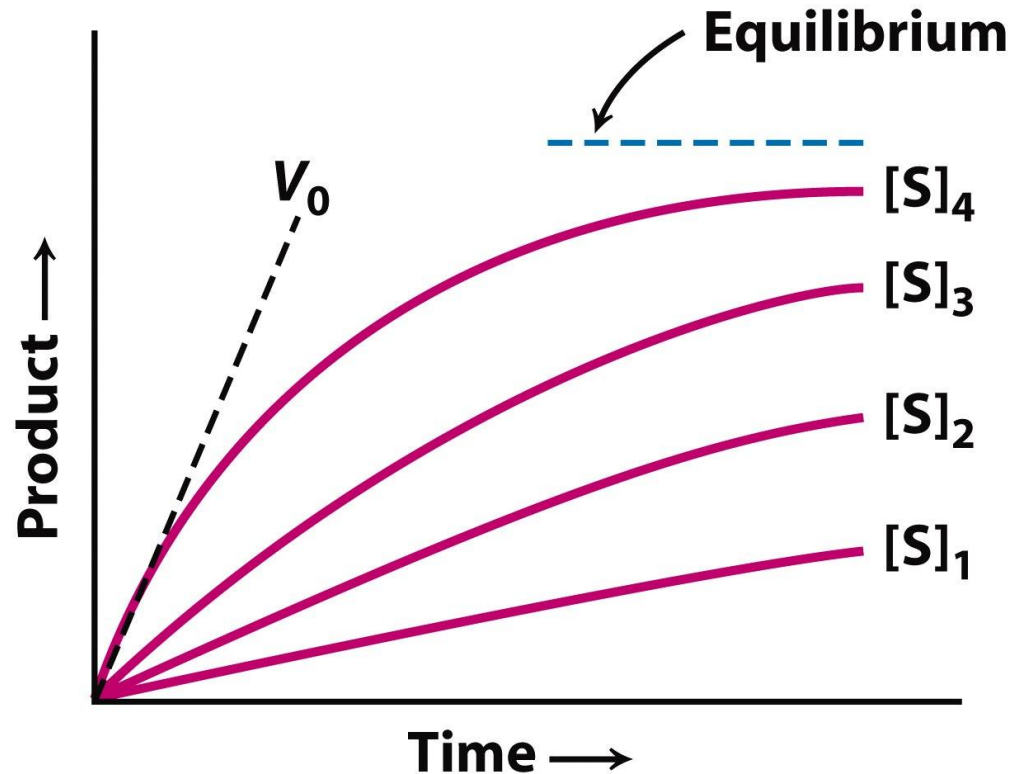
$$\text{Vitesse} = \frac{\Delta [\text{produit}]}{\Delta [\text{temps}]}$$



Réaction chimique catalysée par une enzyme

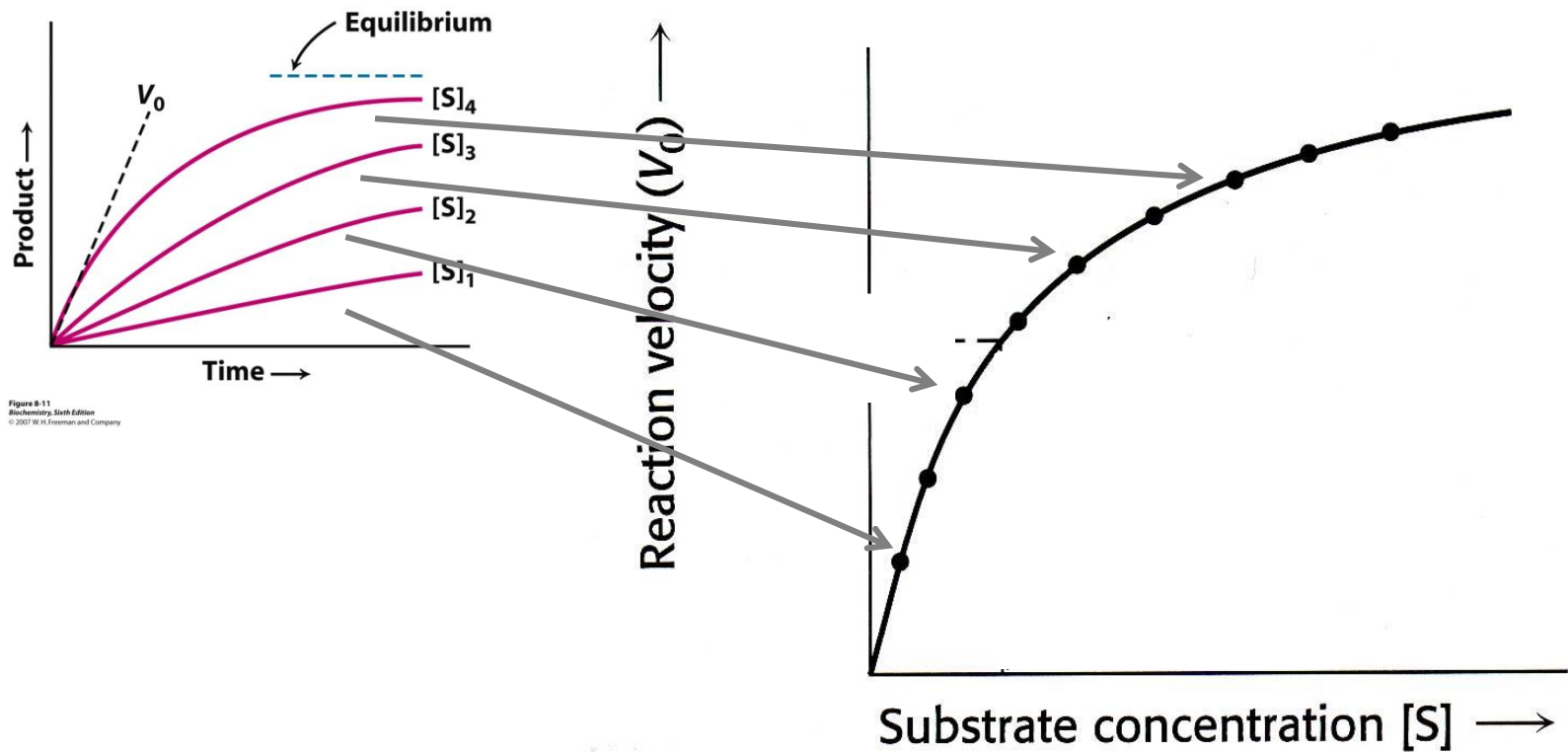
Observation de Michaelis et Menten

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



Réaction chimique catalysée par une enzyme

Observation de Michaelis et Menten



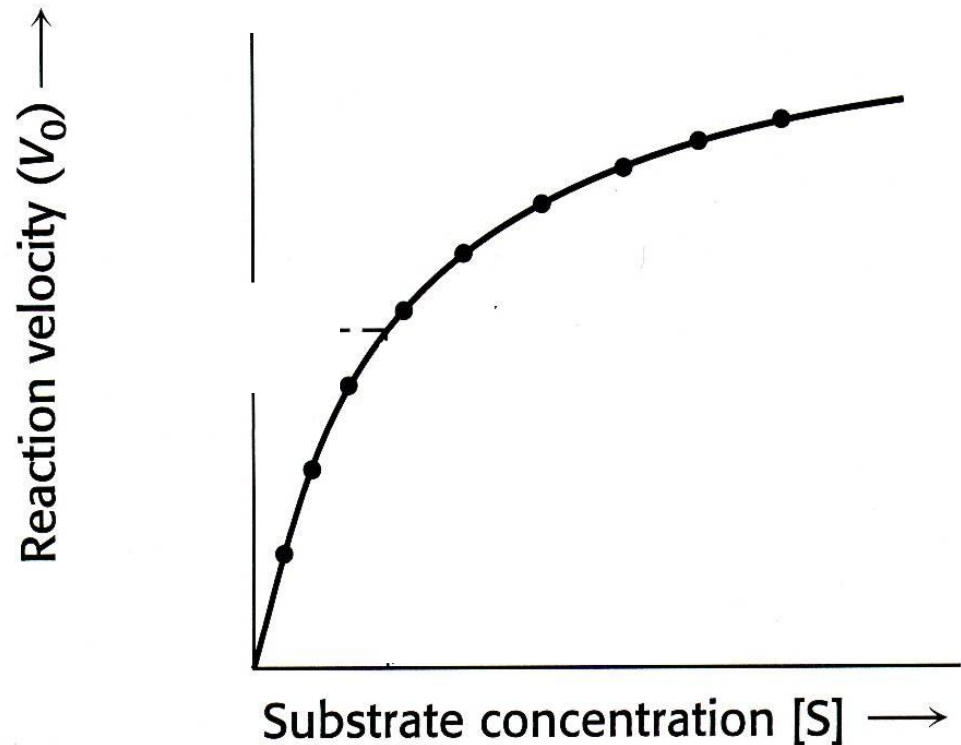
Réaction chimique catalysée par une enzyme

Observation de Michaelis et Menten

*A quel type de courbe
s'attend-on pour une
réaction non-catalysée?*

par exemple pour une
réaction de premier ordre:

$$V = k [S]$$



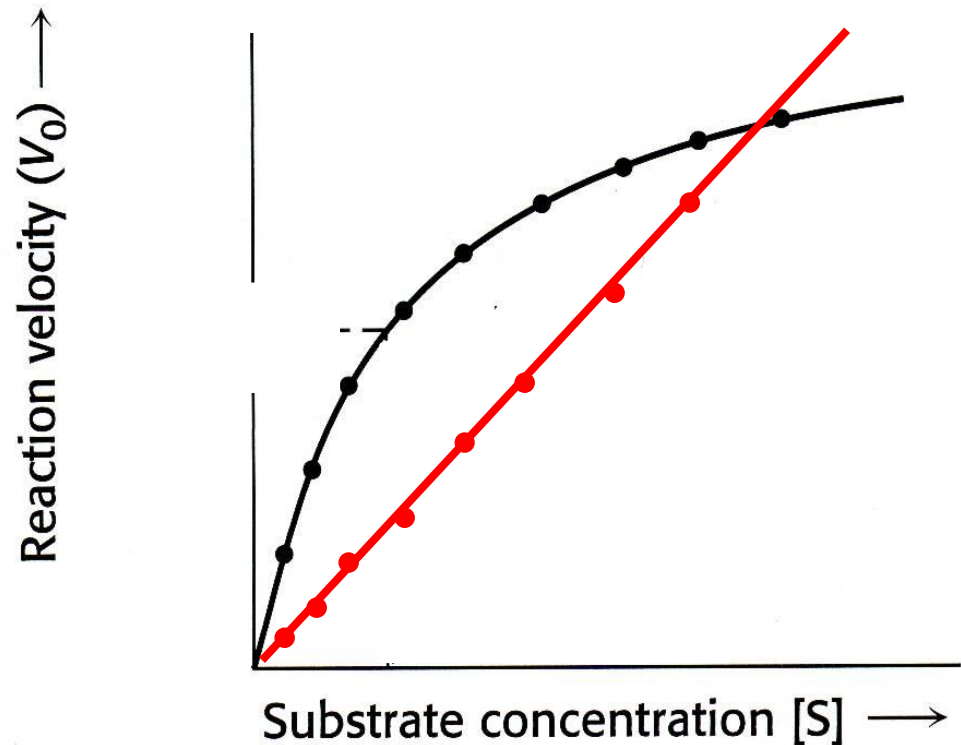
Réaction chimique catalysée par une enzyme

Observation de Michaelis et Menten

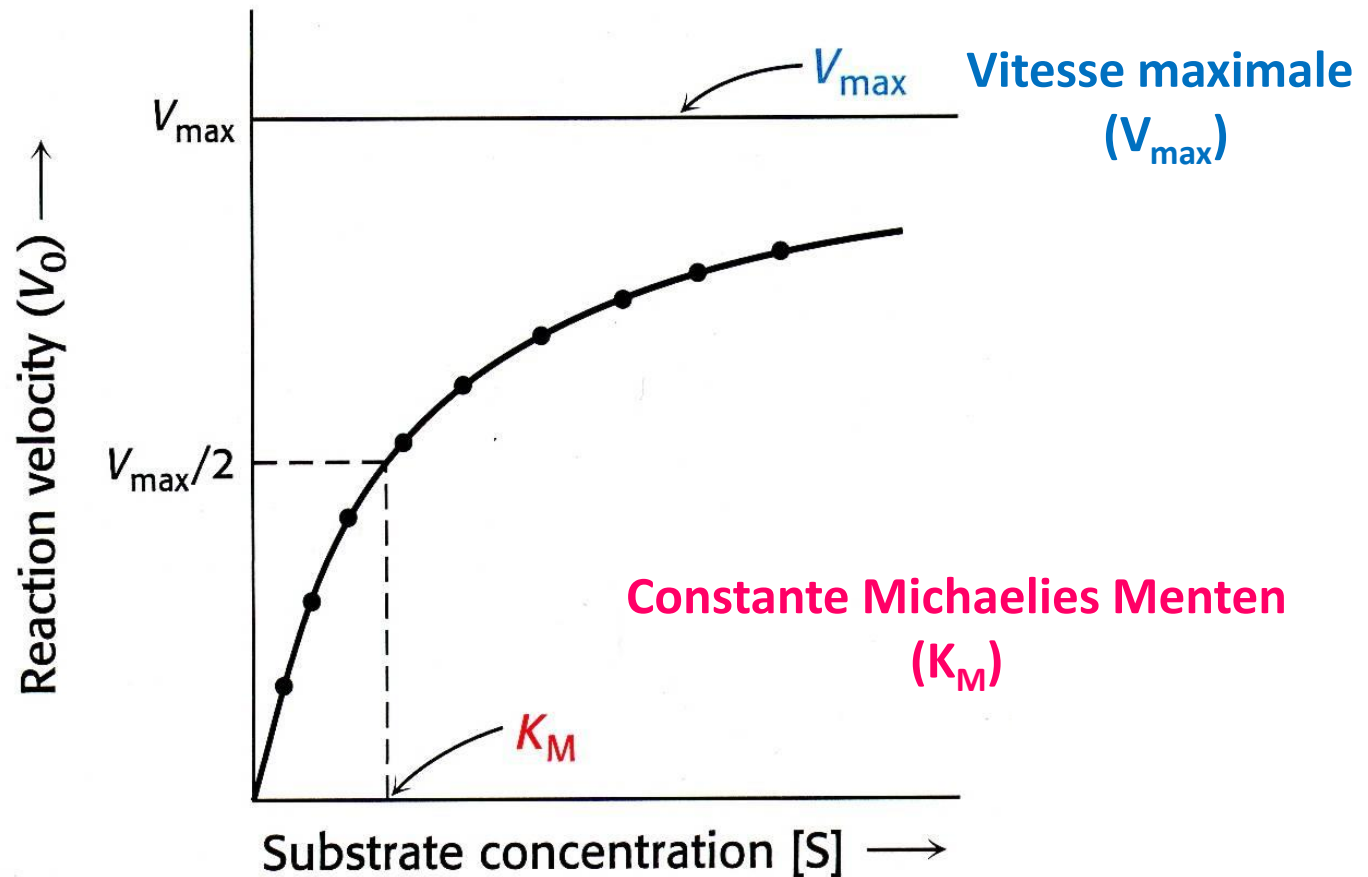
*A quel type de courbe
s'attend-on pour une
réaction non-catalysée?*

par exemple pour une
réaction de premier ordre:

$$V = k [S]$$

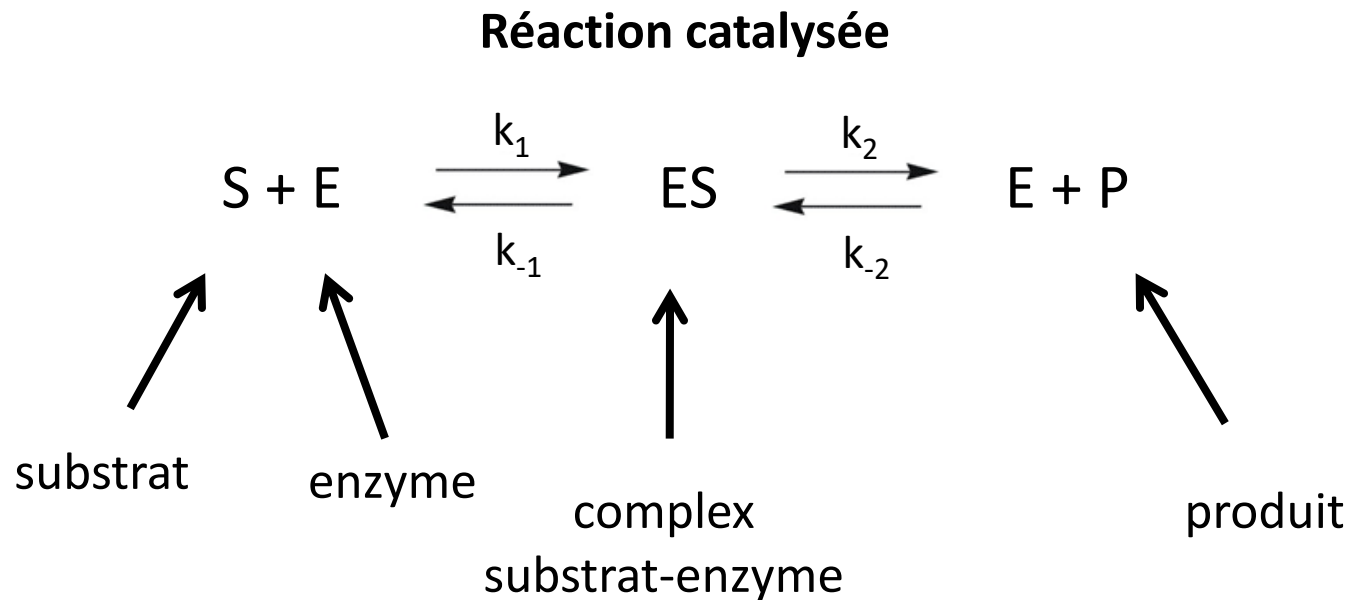


Deux constantes décrivent la réaction catalysée



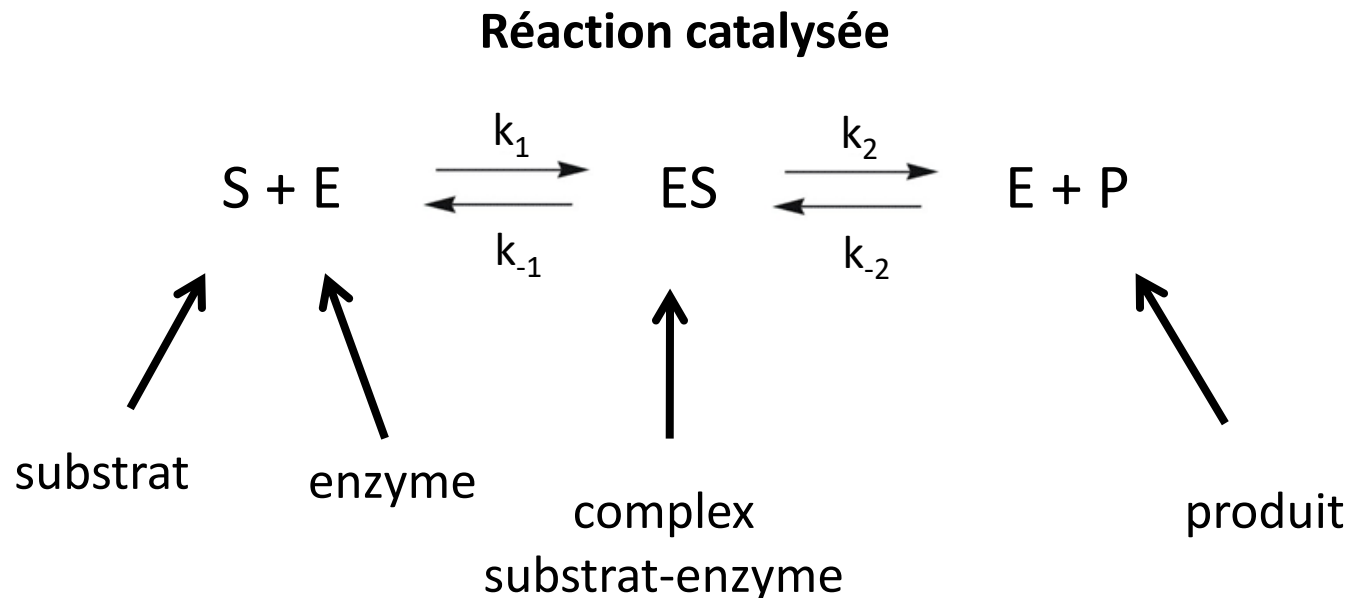
Réaction chimique catalysée par une enzyme

Modèle proposé par Michaelis et Menten



Réaction chimique catalysée par une enzyme

Modèle proposé par Michaelis et Menten



Quelle est l'équation de la vitesse de réaction catalysée?

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Modèle proposé par Michaelis et Menten

Réaction catalysée



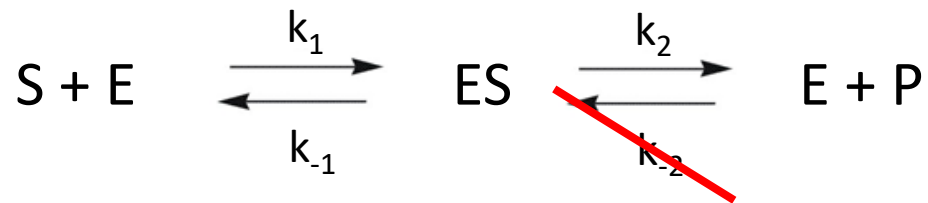
Vitesse

$$V = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Modèle proposé par Michaelis et Menten

Réaction catalysée



Vitesse

$$V = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$

Vitesse (V_0)

Au temps 0: $[P] = 0 \rightarrow V_0 = k_2 [ES]$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Modèle proposé par Michaelis et Menten

Réaction catalysée



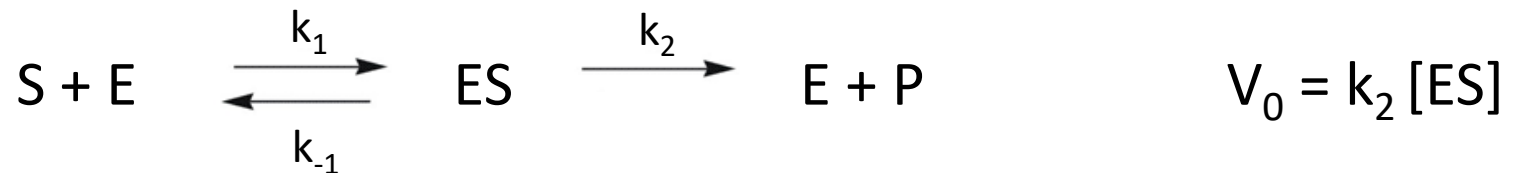
Vitesse (V_0)

$$V_0 = k_2 [ES]$$



Réaction chimique catalysée par une enzyme

Etat stationnaire proposé par George Briggs et John Haldane

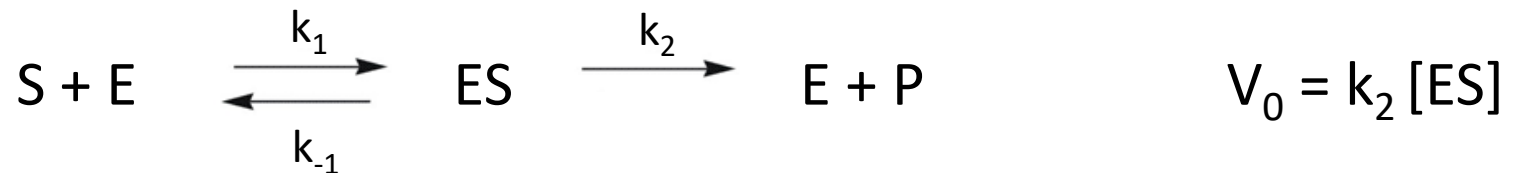


Vitesse de **formation** de ES = $k_1 [E][S]$

Vitesse de **destruction** de ES = $(k_{-1} + k_2) [ES]$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Etat stationnaire proposé par George Briggs et John Haldane



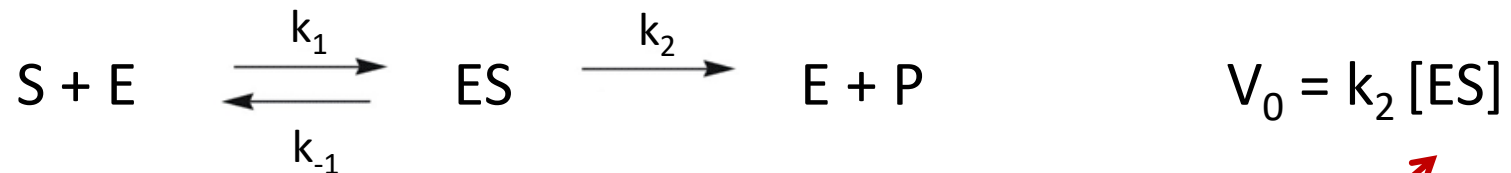
Vitesse de **formation** de ES = $k_1 [E][S]$

Vitesse de **destruction** de ES = $(k_{-1} + k_2) [ES]$

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

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Etat stationnaire proposé par George Briggs et John Haldane



Vitesse de **formation** de ES = $k_1 [E][S]$

Vitesse de **destruction** de ES = $(k_{-1} + k_2) [ES]$

→ $k_1 [E][S] = (k_{-1} + k_2) [ES]$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

Etat stationnaire proposé par George Briggs et John Haldane



$$V_0 = k_2 \frac{k_1 [E][S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

$$V_0 = k_2 \frac{k_1 [E][S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

L'équation est modifiée en 3 étapes:

Substitution 1



$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Réaction chimique catalysée par une enzyme

$$V_0 = k_2 \frac{k_1 [E][S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

L'équation est modifiée en 3 étapes:

Substitution 1



Substitution 2



$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$[E]_T = [E] + [ES]$$



enzyme total

Réaction chimique catalysée par une enzyme

$$V_0 = k_2 \frac{k_1 [E][S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

L'équation est modifiée en 3 étapes:

Substitution 1



$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Substitution 2



$$[E]_T = [E] + [ES]$$



enzyme total

Substitution 3



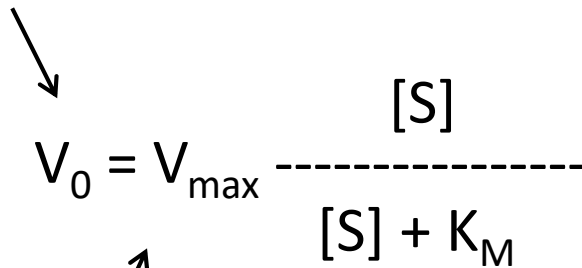
$$V_{\max} = k_2 [E]_T$$



Vitesse maximale

Réaction chimique catalysée par une enzyme

vitesse $t = 0$



The diagram shows the Michaelis-Menten equation:
$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$
 There are three arrows pointing to parts of the equation: one from 'vitesse t = 0' to V_0 , one from 'vitesse maximale' to $V_{\max}$, and one from 'Constante de Michaelis Menten K_M ' to K_M .

vitesse maximale

Constante de
Michaelis Menten
 K_M

Réaction chimique catalysée par une enzyme

vitesse $t = 0$

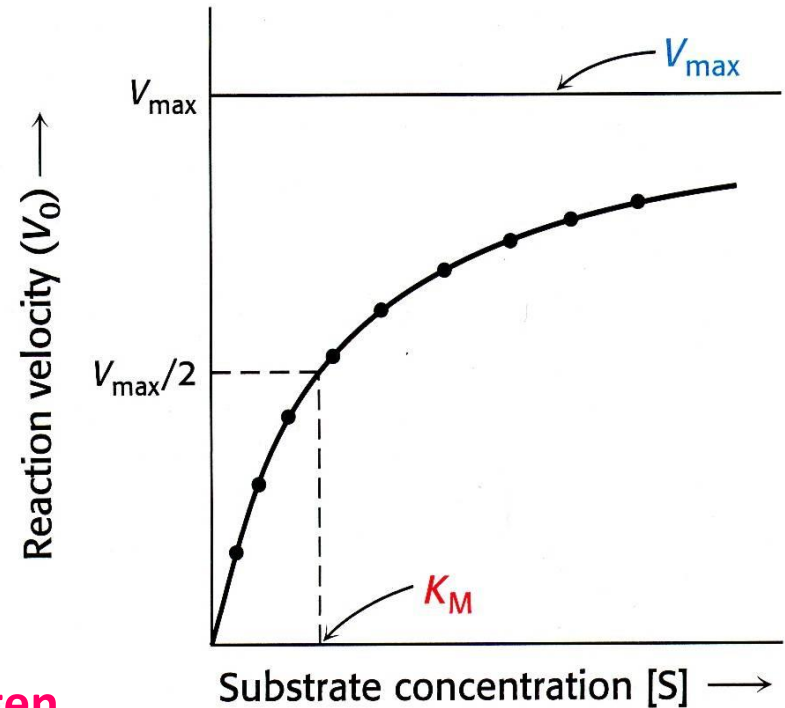
$$V_0 = V_{\max}$$

vitesse maximale

$[S]$

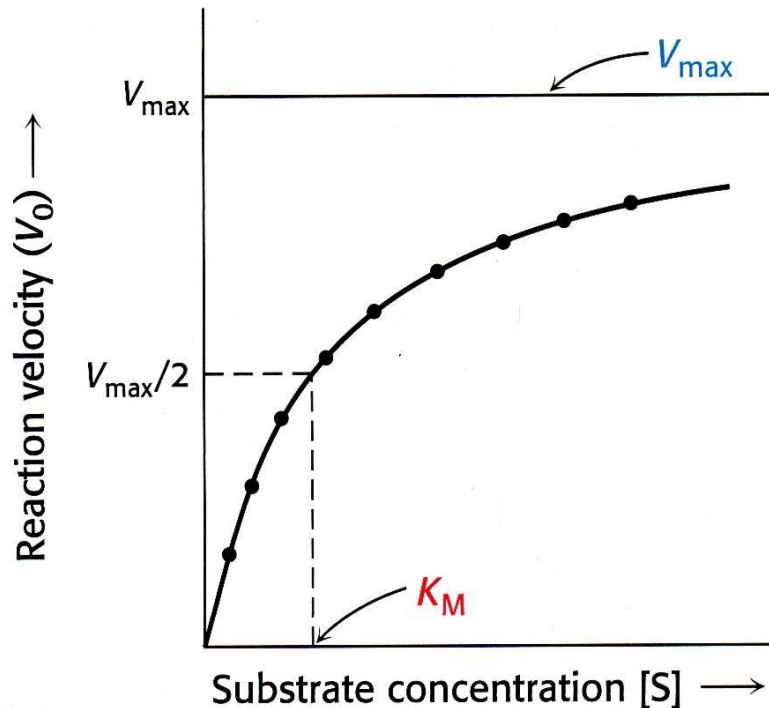
$[S] + K_M$

Constante de
Michaelis Menten
 K_M



Quelle est la signification de $V_{\max}$?

Signification de $V_{\max}$



- Nombre de molécule de produit générée par unité de temps si l'enzyme est saturée complètement par le substrat
- $V_{\max}$ est proportionnel à la constante k_2 qui est aussi appelée k_{cat} :

$$V_{\max} = k_2 [E]_T$$

$$\rightarrow V_{\max} = k_{\text{cat}} [E]_T$$

TABLE 6–7		Turnover Numbers, k_{cat}, of Some Enzymes	
Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	
Catalase	H_2O_2	40,000,000	
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000	
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	14,000	
β-Lactamase	Benzylpenicillin	2,000	
Fumarase	Fumarate	800	
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.5	

Table 6-7

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

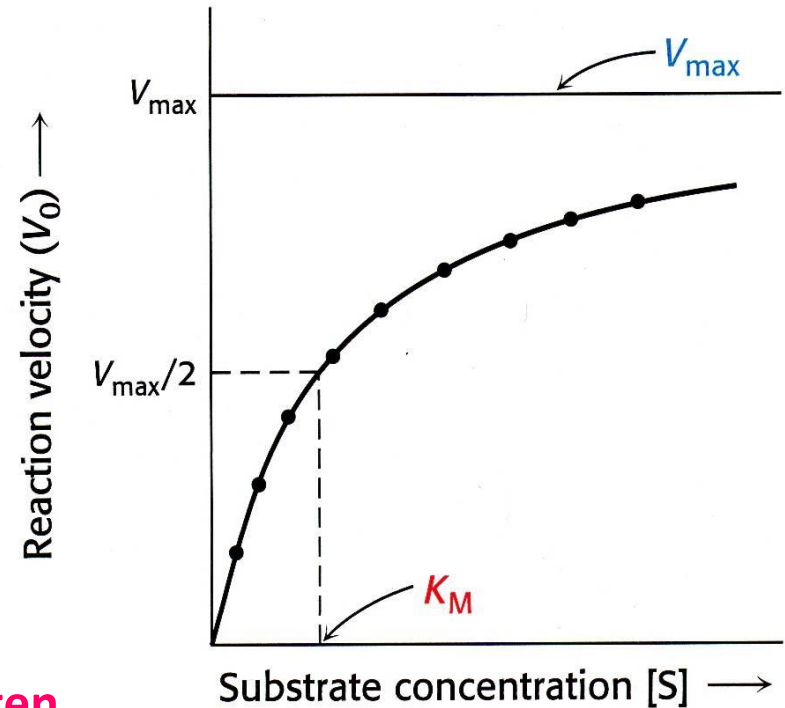
Réaction chimique catalysée par une enzyme

vitesse $t = 0$

$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

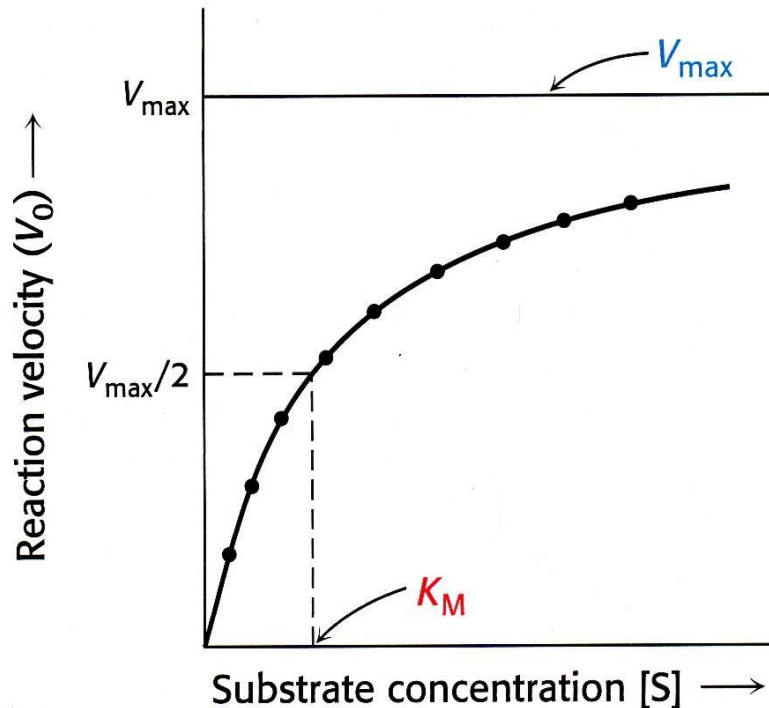
vitesse maximale

Constante de
Michaelis Menten
 K_M



Quelle est la signification de K_M ?

Signification de K_M



- "L'affinité pour le substrat"
- Un K_M très bas (p.ex. $0.1 \mu\text{M}$) $\rightarrow$ l'enzyme a une forte affinité pour le substrat
- Un K_M très haut (p.ex. 1 mM) $\rightarrow$ l'enzyme a une faible affinité pour le substrat
- K_M = la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction est égale à la moitié de $V_{\max}$

TABLE 6–6		K_m for Some Enzymes and Substrates
Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO₃[−]	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Table 6-6

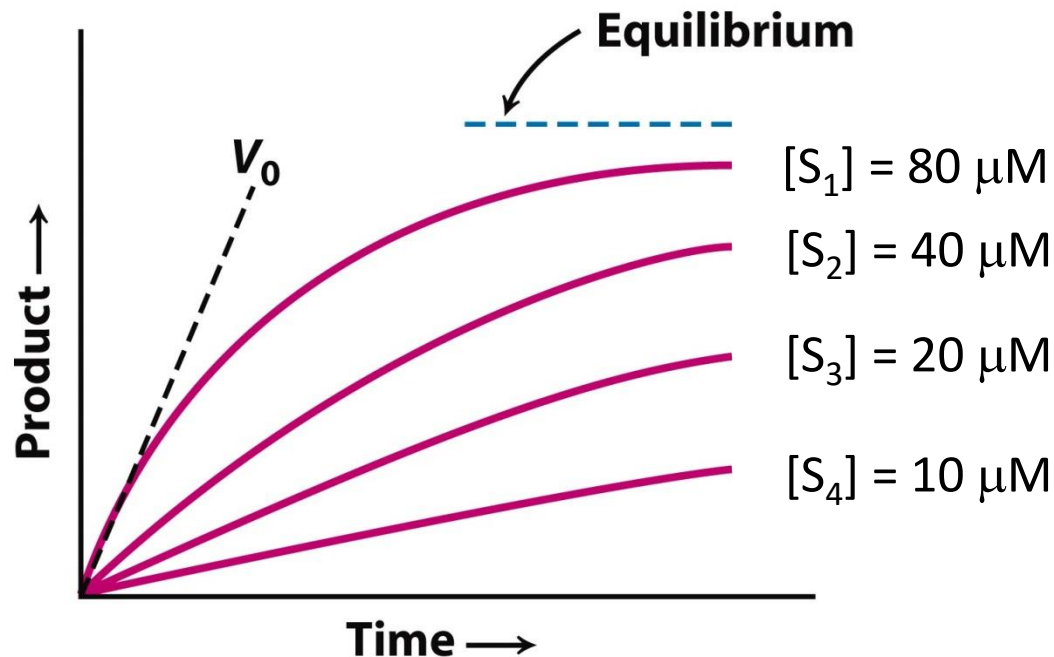
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Exemple 1: Détermination de $V_{\max}$

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

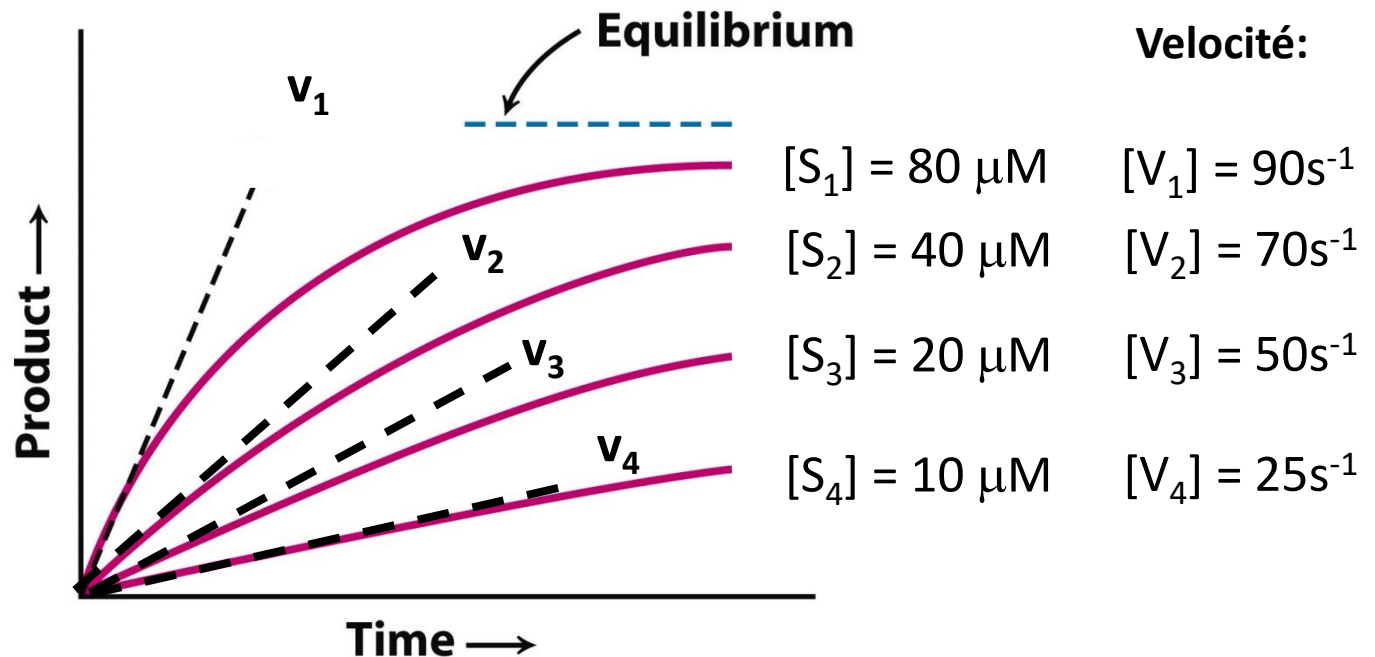
Quel est le $V_{\max}$?



Exemple 1: Détermination de $V_{\max}$

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

Quel est le $V_{\max}$?



Exemple 1: Détermination de $V_{\max}$

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

Concentration: Vitesse:

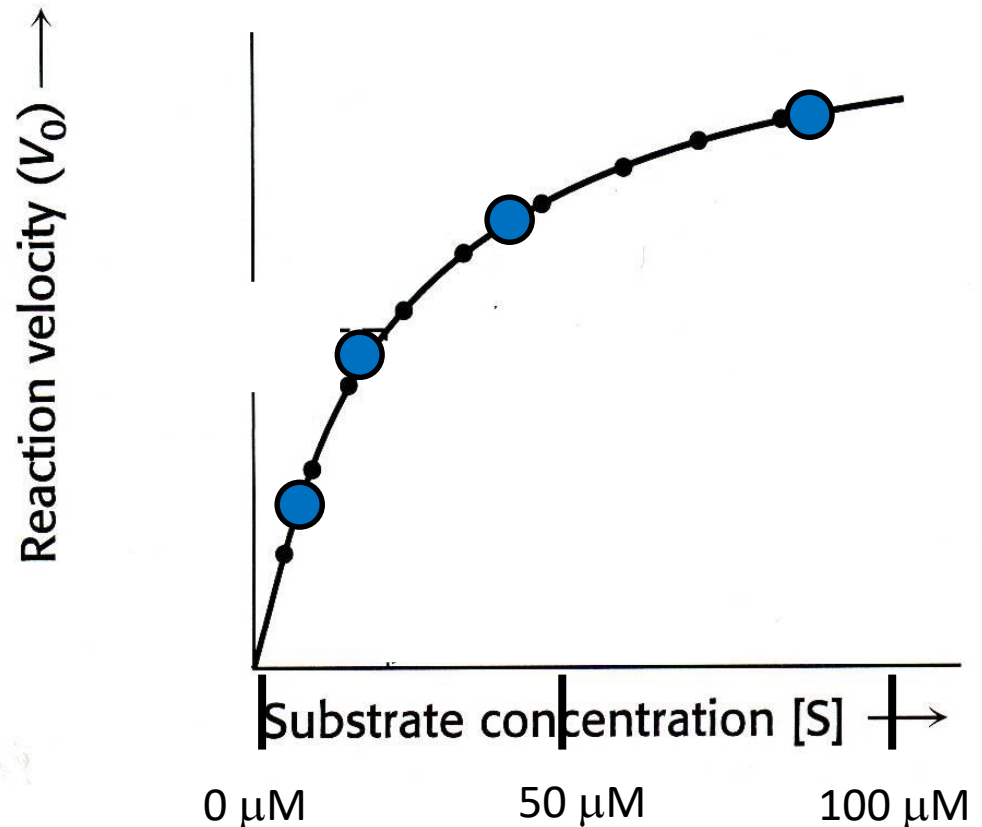
$$[S_1] = 80 \mu\text{M} \quad [V_1] = 90\text{s}^{-1}$$

$$[S_2] = 40 \mu\text{M} \quad [V_2] = 70\text{s}^{-1}$$

$$[S_3] = 20 \mu\text{M} \quad [V_3] = 50\text{s}^{-1}$$

$$[S_4] = 10 \mu\text{M} \quad [V_4] = 25\text{s}^{-1}$$

Quel est le $V_{\max}$?



Exemple 1: Détermination de $V_{\max}$

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

Concentration: Vitesse:

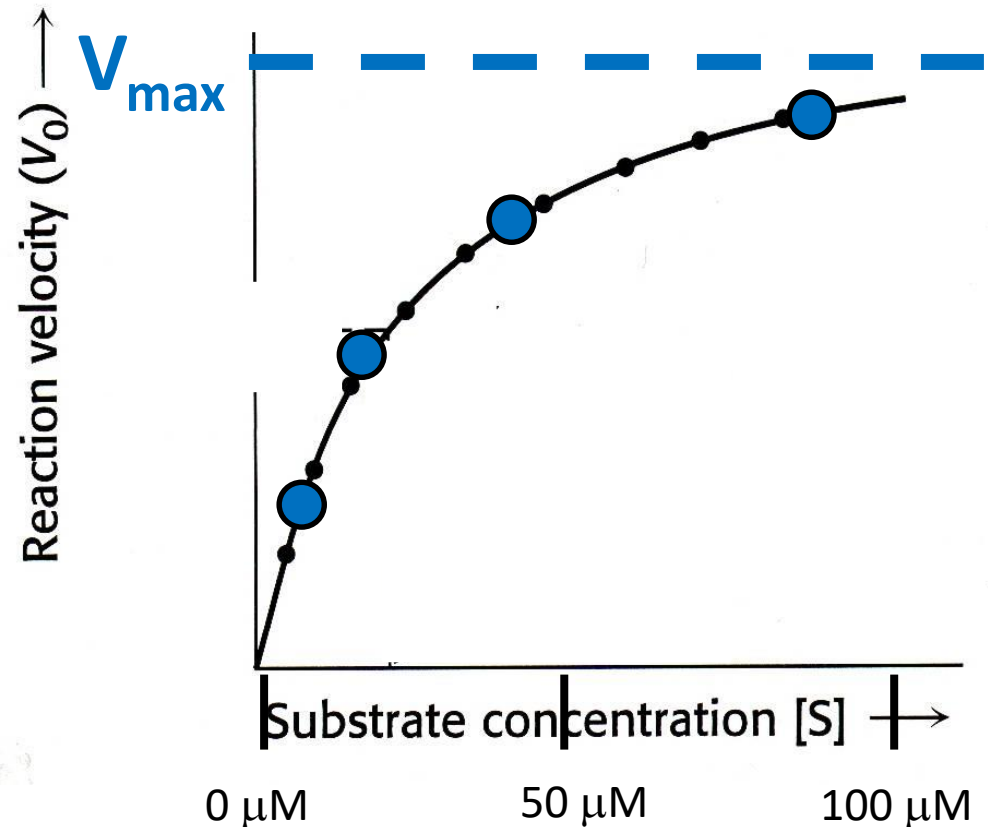
$$[S_1] = 80 \mu\text{M} \quad [V_1] = 90 \text{s}^{-1}$$

$$[S_2] = 40 \mu\text{M} \quad [V_2] = 70 \text{s}^{-1}$$

$$[S_3] = 20 \mu\text{M} \quad [V_3] = 50 \text{s}^{-1}$$

$$[S_4] = 10 \mu\text{M} \quad [V_4] = 25 \text{s}^{-1}$$

$$V_{\max} = 95 \text{s}^{-1}$$



Exemple 2: Détermination de K_M

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

Concentration: **Velocité:**

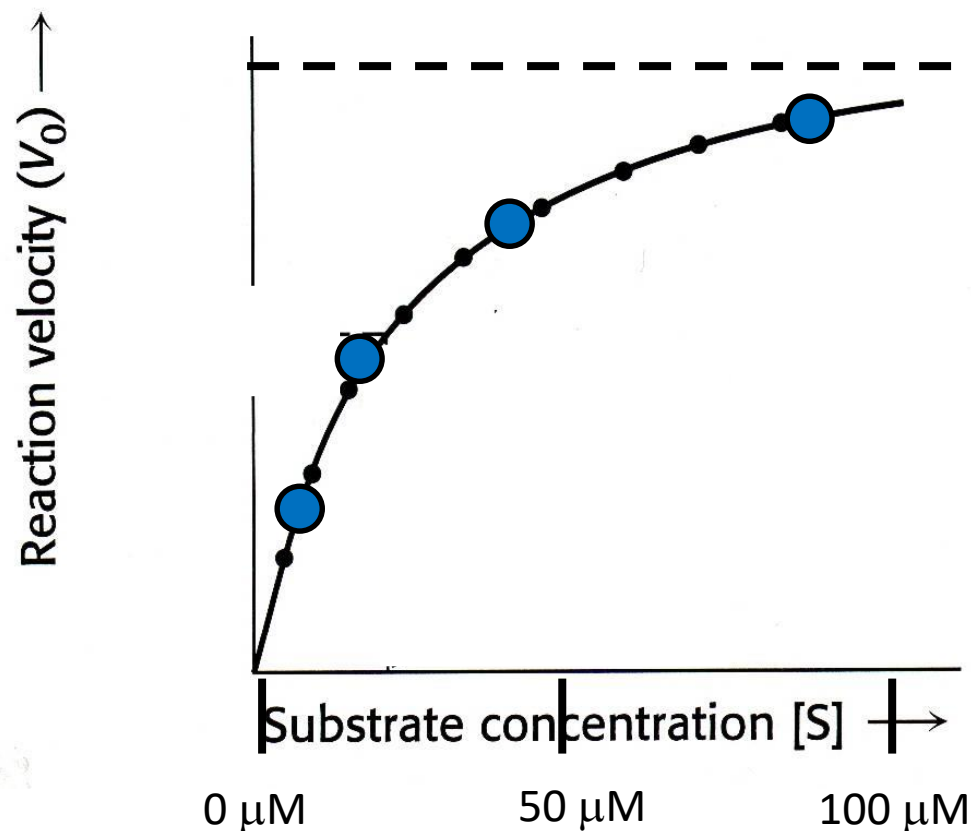
$$[S_1] = 80 \mu\text{M} \quad [V_1] = 90\text{s}^{-1}$$

$$[S_2] = 40 \mu\text{M} \quad [V_2] = 70\text{s}^{-1}$$

$$[S_3] = 20 \mu\text{M} \quad [V_3] = 50\text{s}^{-1}$$

$$[S_4] = 10 \mu\text{M} \quad [V_4] = 25\text{s}^{-1}$$

Quel est le K_M ?



Exemple 2: Détermination de K_M

La vitesse de réaction pour l'hydrolyse d'un peptide a été mesurée aux concentrations de substrat suivantes: 10, 20, 40 et 80 μM .

Concentration: Vitesse:

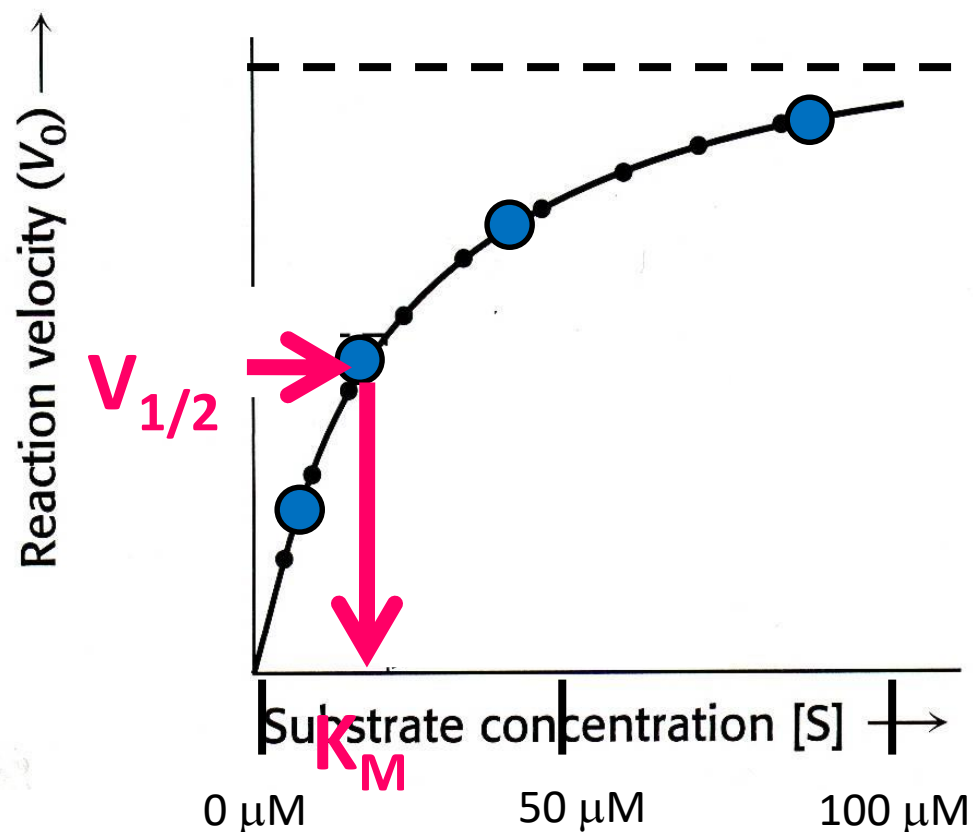
$$[S_1] = 80 \mu\text{M} \quad [V_1] = 90\text{s}^{-1}$$

$$[S_2] = 40 \mu\text{M} \quad [V_2] = 70\text{s}^{-1}$$

$$[S_3] = 20 \mu\text{M} \quad [V_3] = 50\text{s}^{-1}$$

$$[S_4] = 10 \mu\text{M} \quad [V_4] = 25\text{s}^{-1}$$

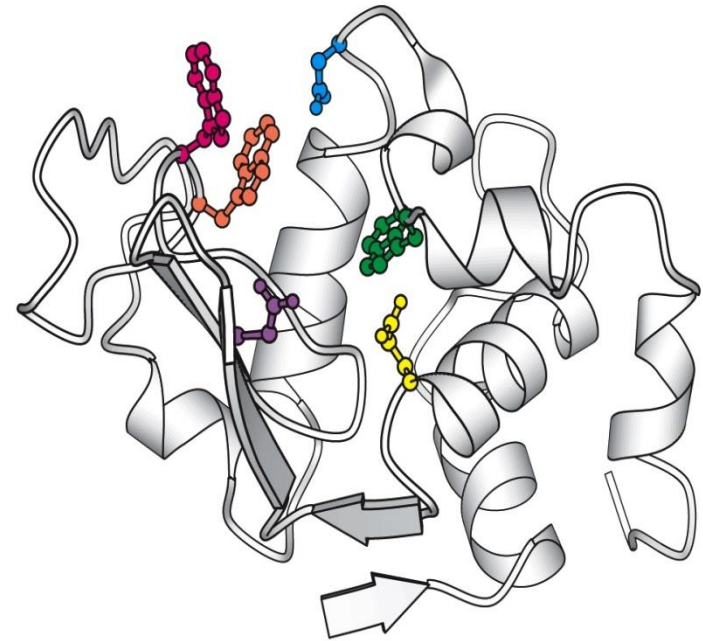
$$K_M = 20 \mu\text{M}$$



Leçon 9

Enzymes

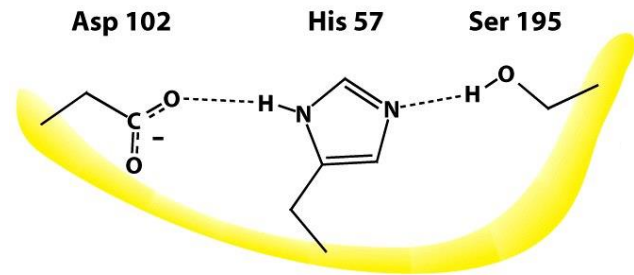
- Catalyse enzymatique
- Energie libre
- Etat de transition et complexe enzyme-substrat
- Modèle de Michaelis-Menten



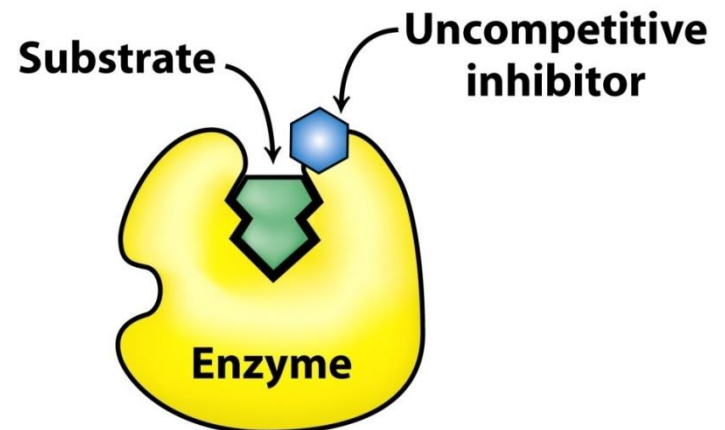
Leçon 10

Stratégies catalytiques

- Protéases
- Anhydrase carbonique
- Enzyme de restriction



Inhibition enzymatique



Série 8

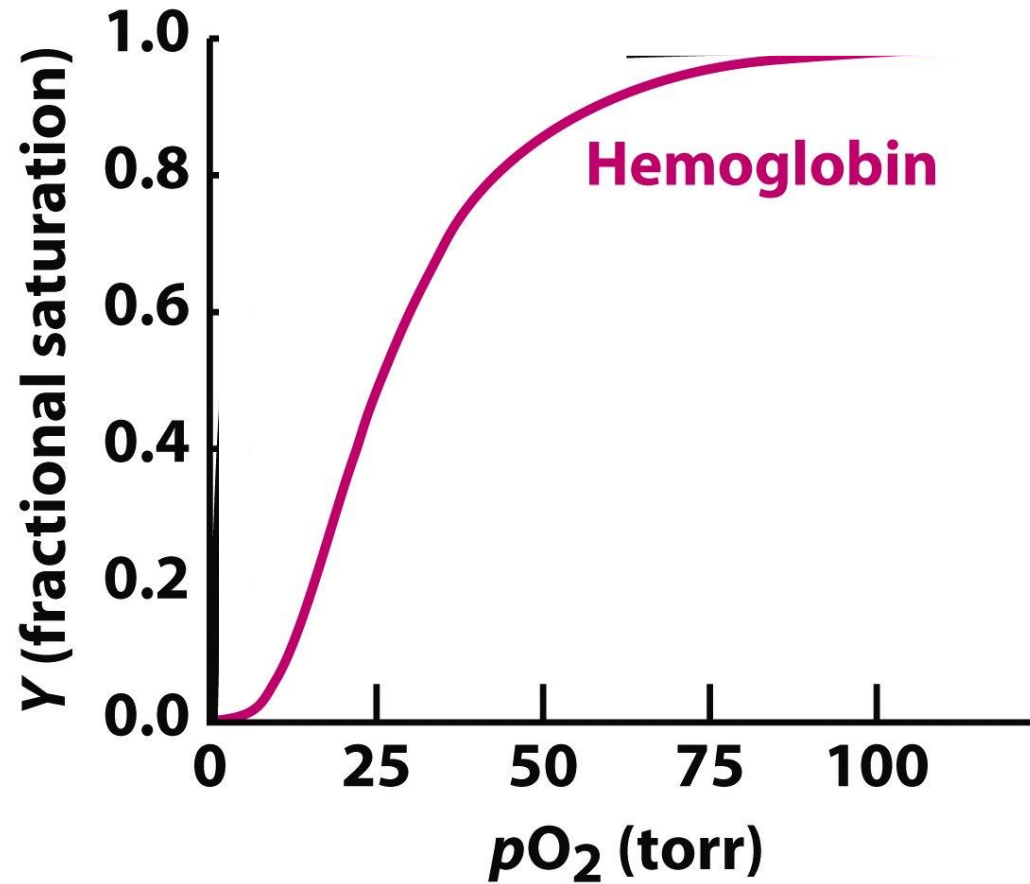
Question 1

Poumons: 95% saturation

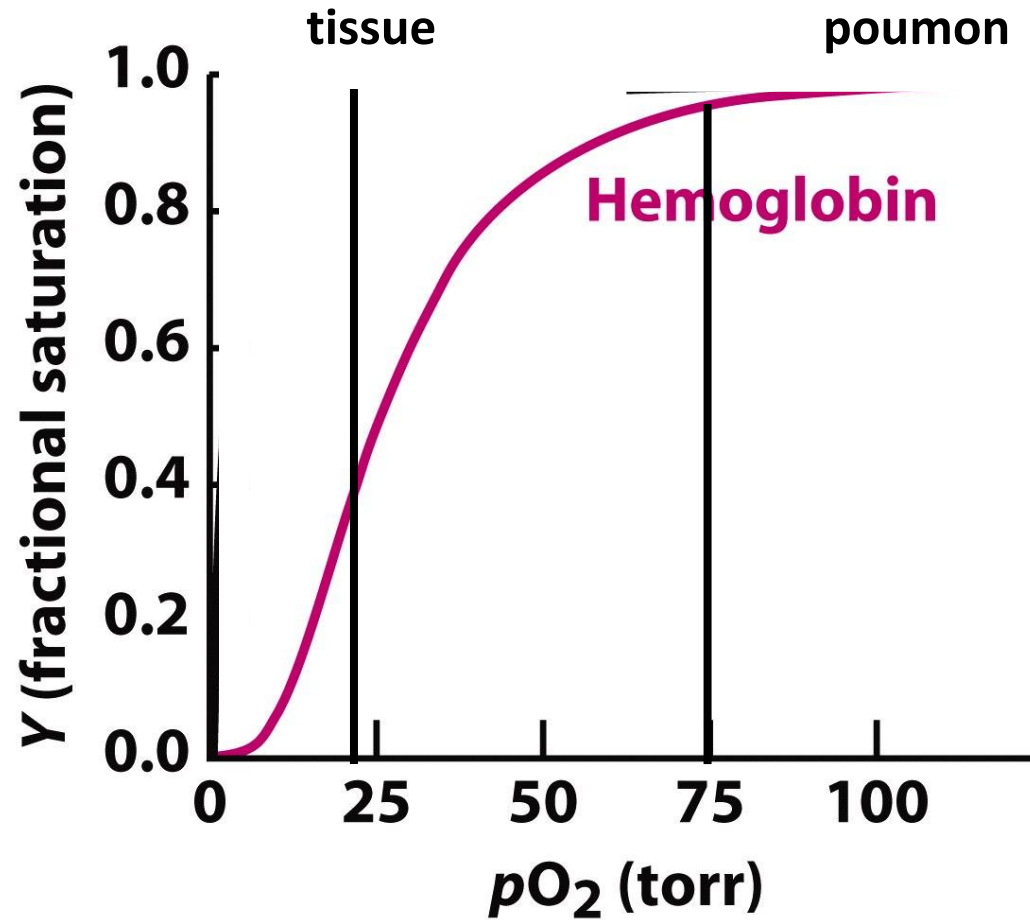
Tissue: 32% saturation

Capacité de transport: 63%

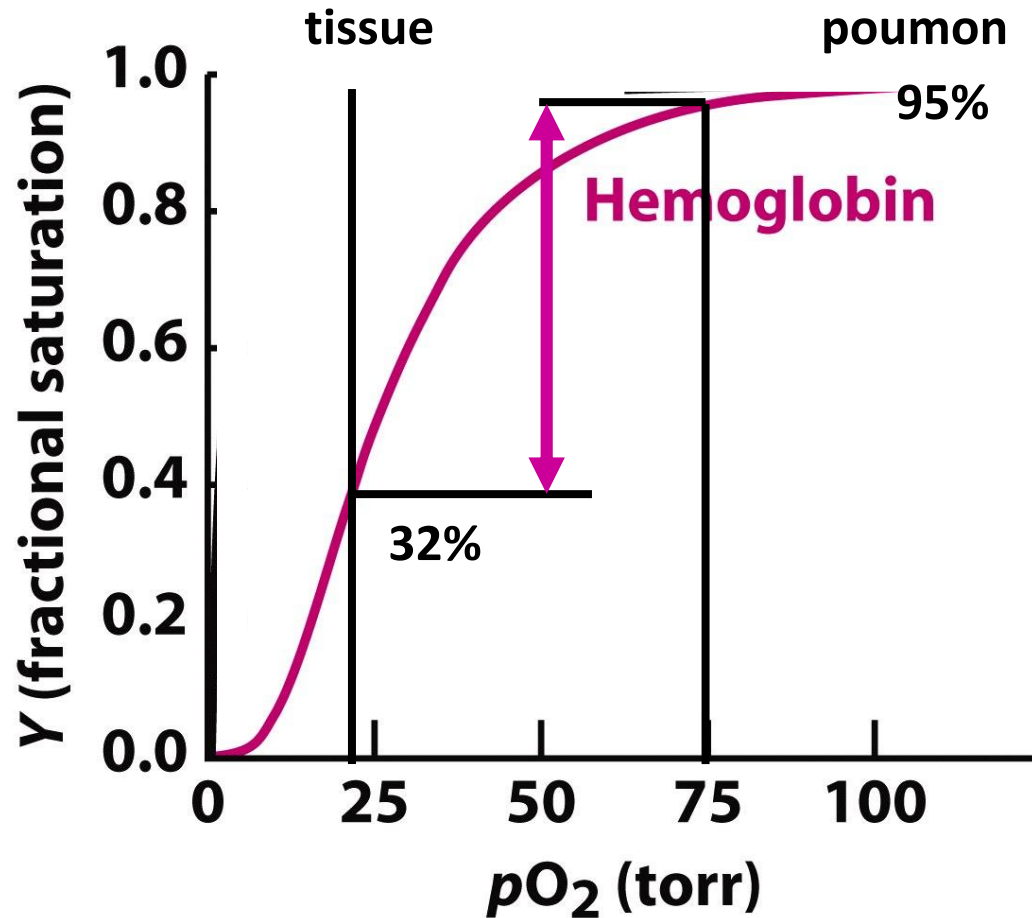
Saturation de l'hémoglobine au poumons et tissu



Saturation de l'hémoglobine au poumons et tissu



Saturation de l'hémoglobine au poumons et tissu

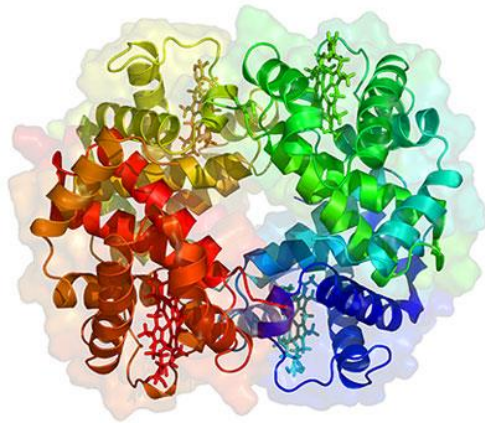


Série 8

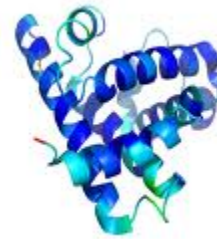
Question 2

	Hémoglobine	Myoglobine
Structure	Tétramère	Monomère
Fonction	Transport O ₂	Stockage O ₂
Intéraction O ₂	Affinité faible	Affinité fort

Hémoglobine et myoglobine

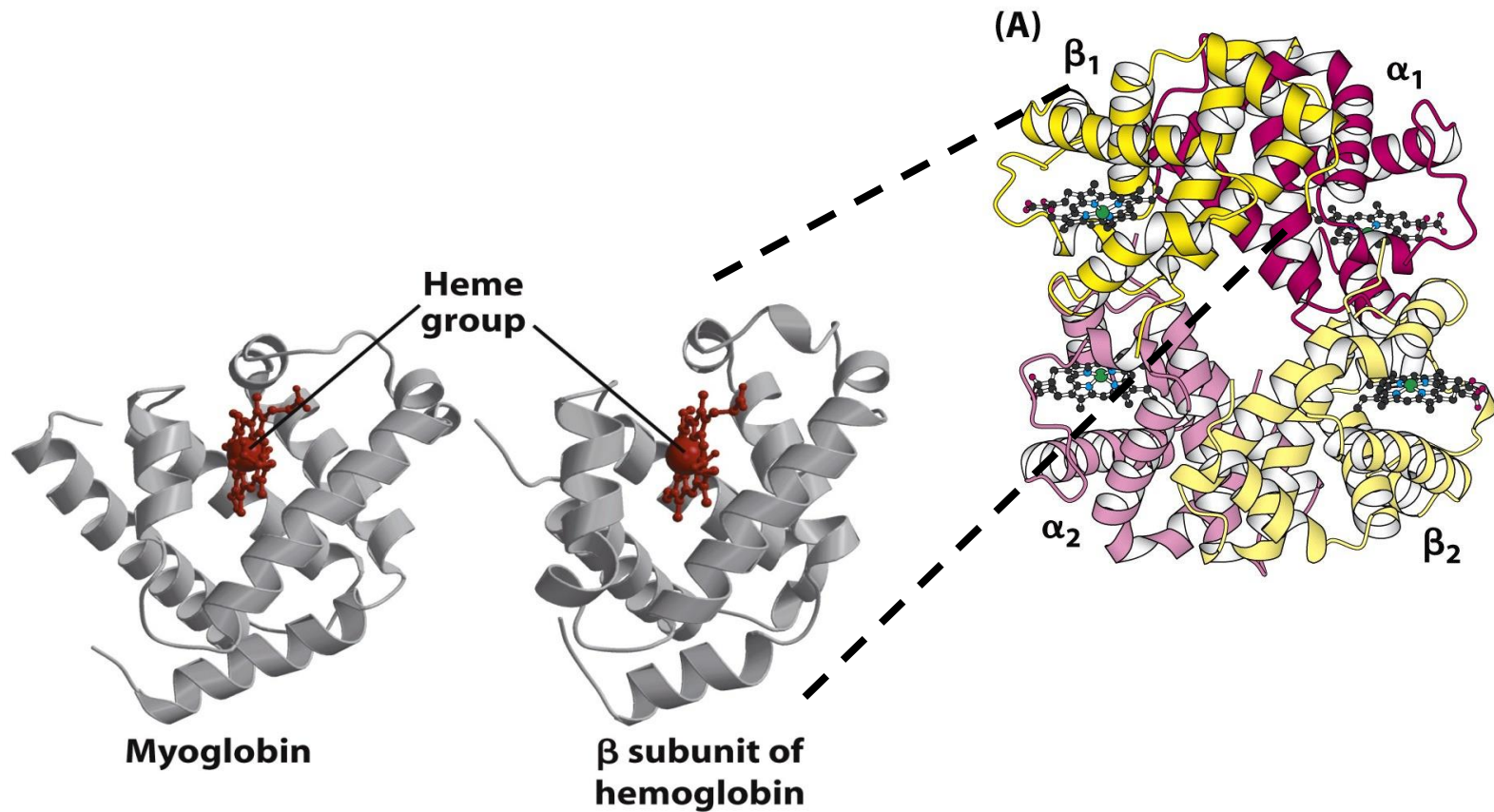


Hémoglobine



Myoglobine

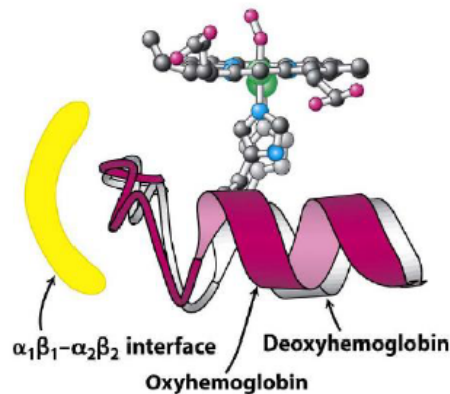
L'hémoglobine est un assemblage de 4 sous-unités de type myoglobine



Série 8

Question 3

Fixation $O_2 \rightarrow$ déplacement atome de fer (au milieu de la groupe hem) $\rightarrow$ déplacement d'une residue de histidine $\rightarrow$ changement de la conformation d'une hélice alpha $\rightarrow$ changement de la conformation d'une surface d'interaction entre deux sous-unités de hémoglobine



Série 8

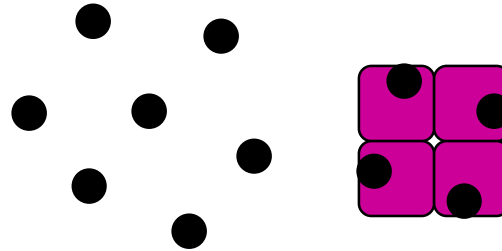
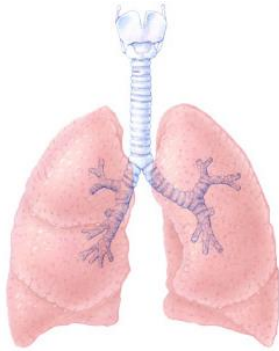
Question 4

Pression O_2

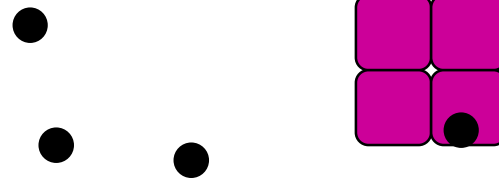
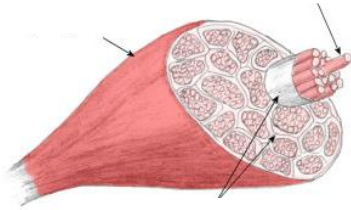
Concentration CO_2

Transport d'oxygène des poumons au tissu

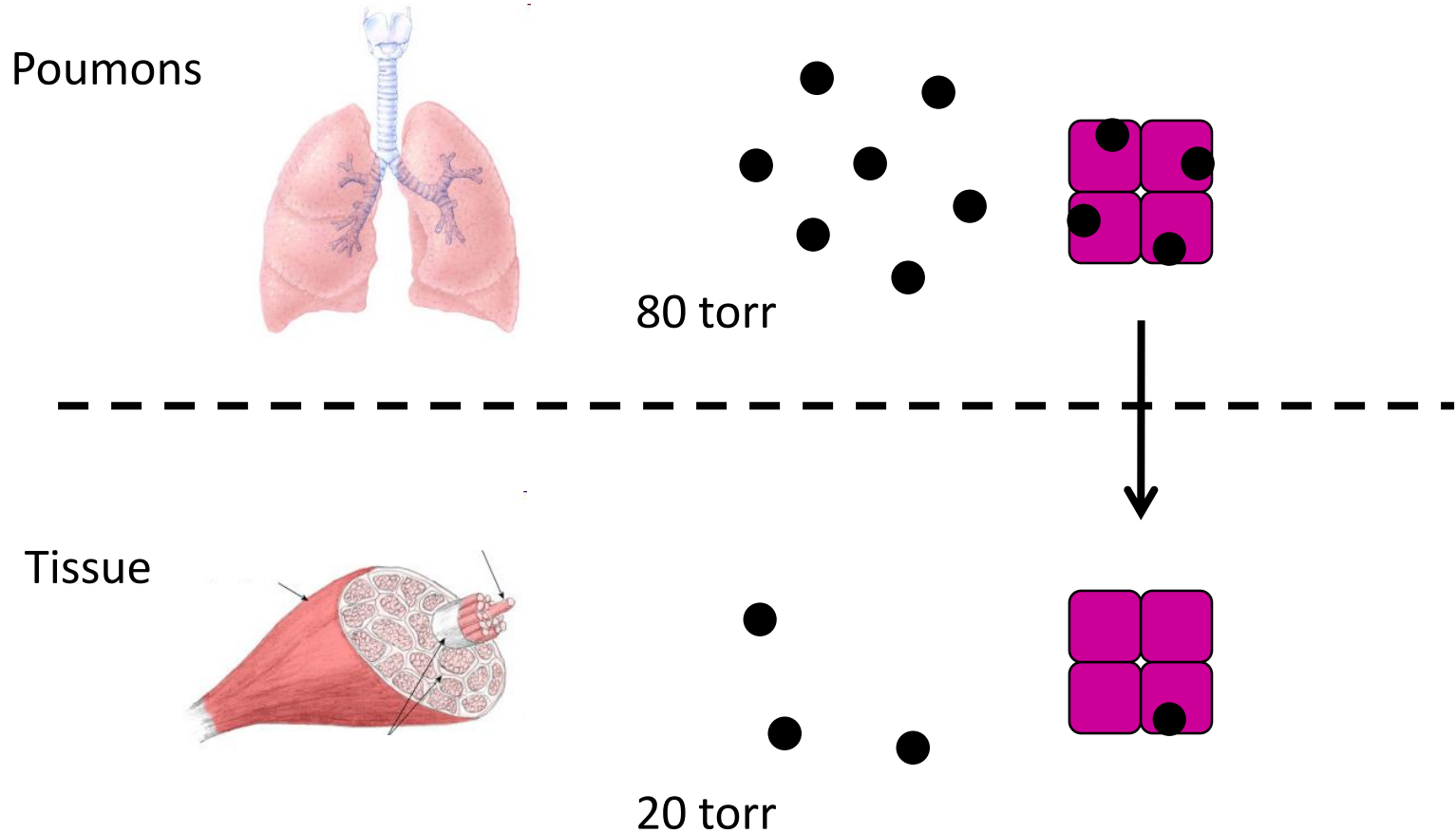
Poumons



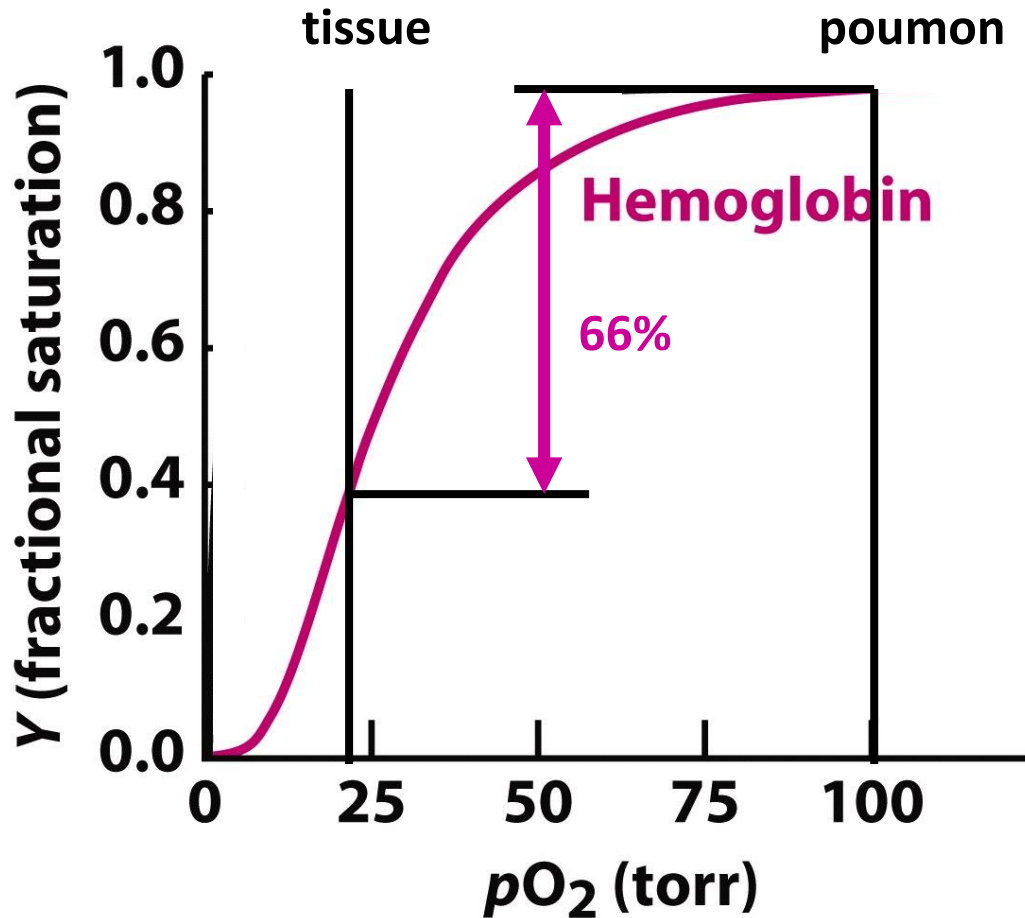
Tissue



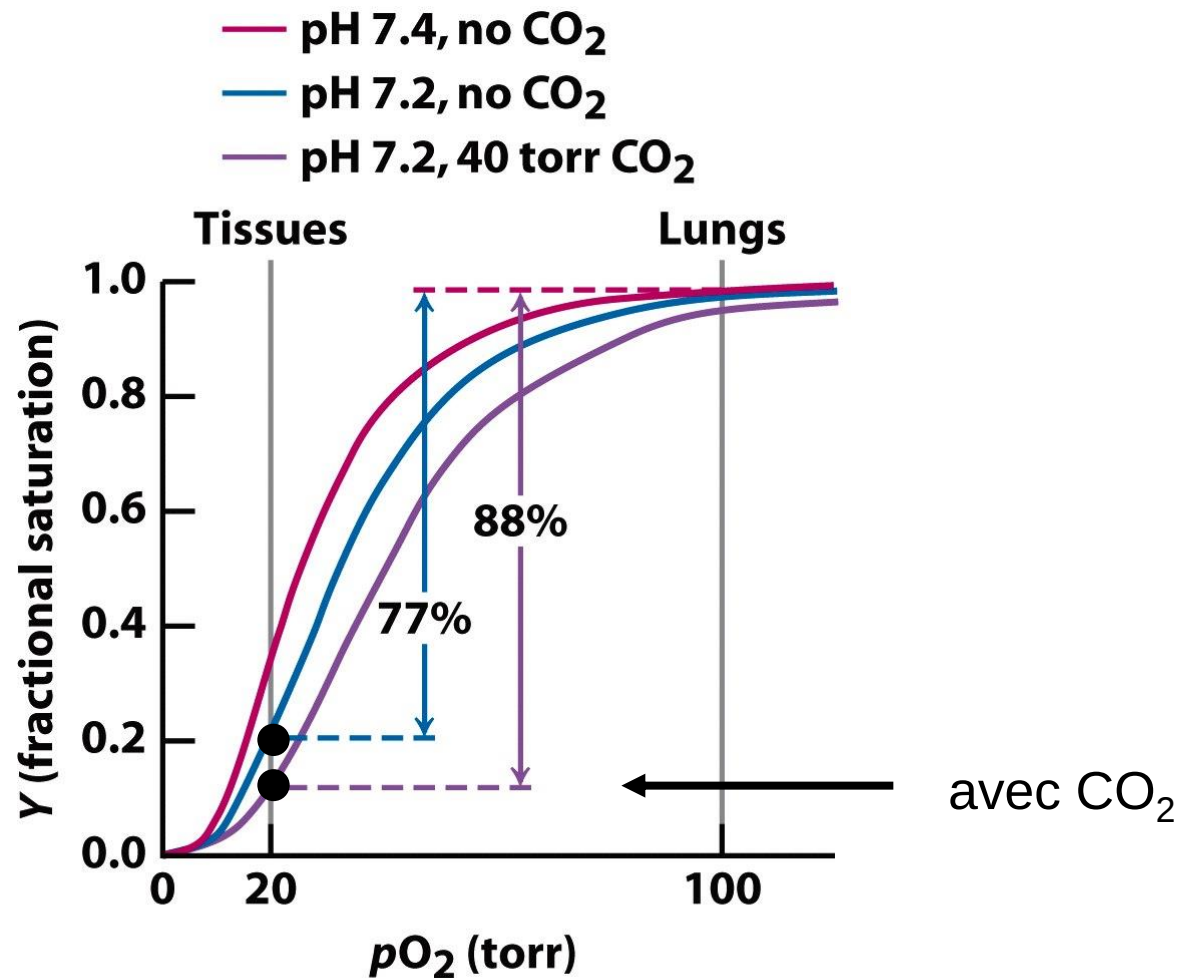
Transport d'oxygène des poumons au tissu



Saturation de l'hémoglobine au poumons



L'effet de CO_2 à l'affinité d'hémoglobine



L'effect de CO₂ à l'affinité d'hémoglobine

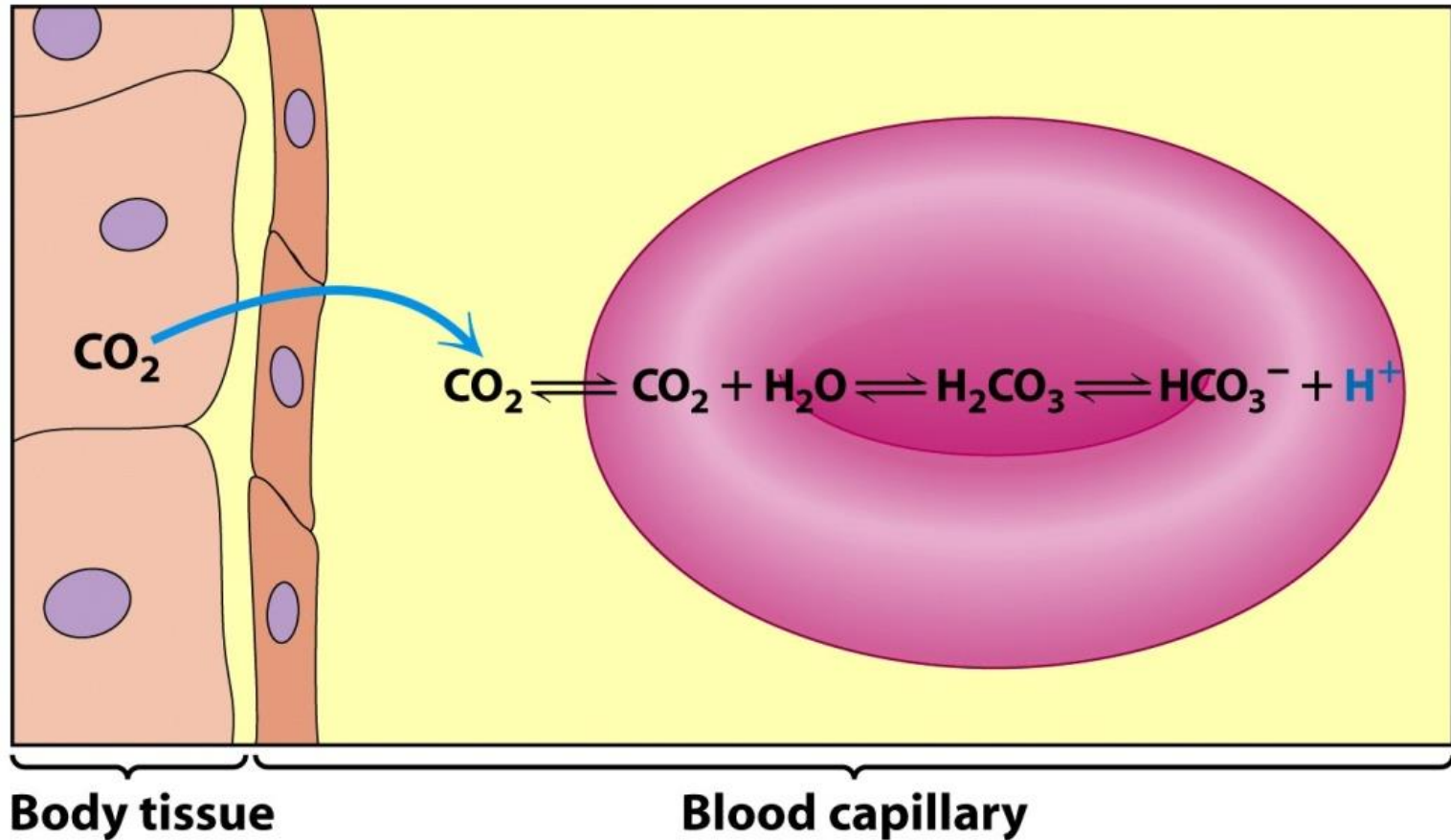
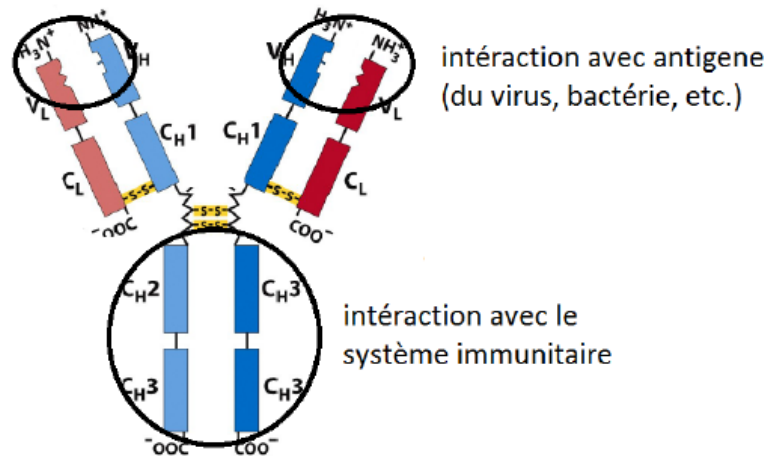


Figure 7-20
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Série 8

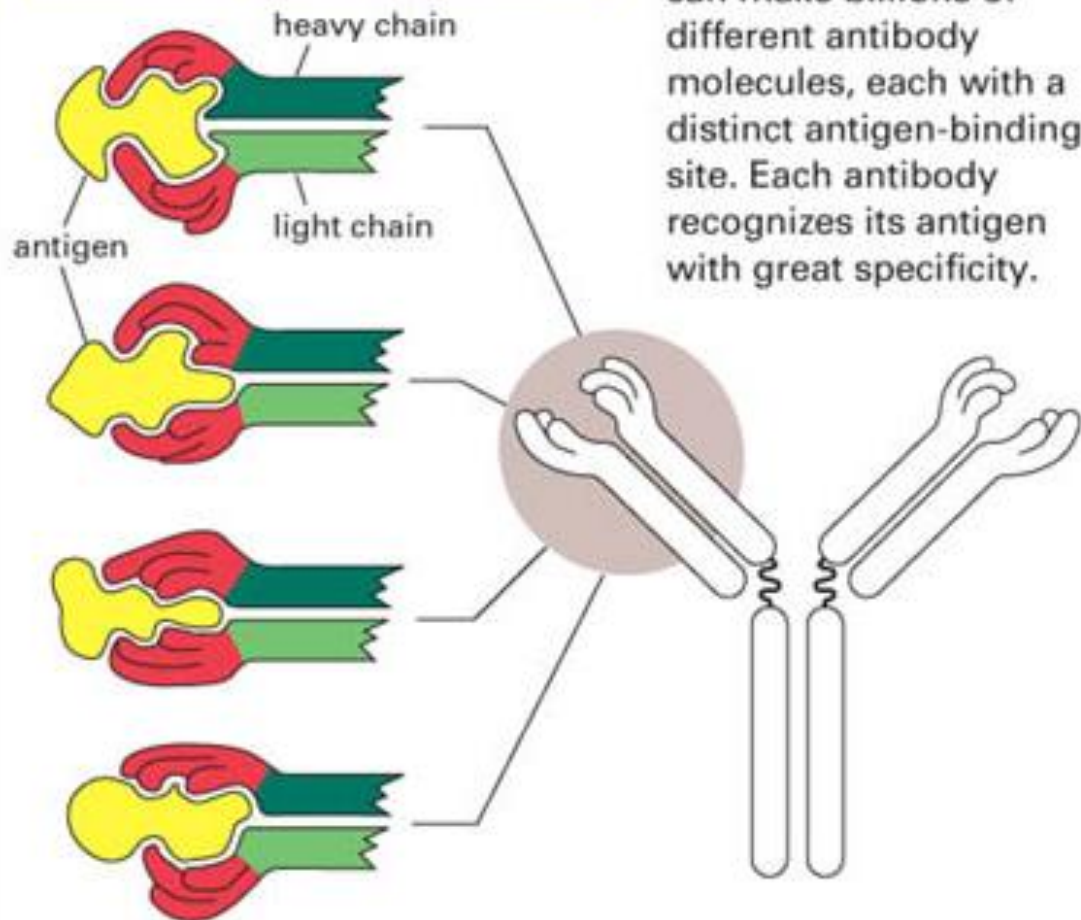
Question 5



Le système immunitaire peut produire des milliards d'anticorps différents.

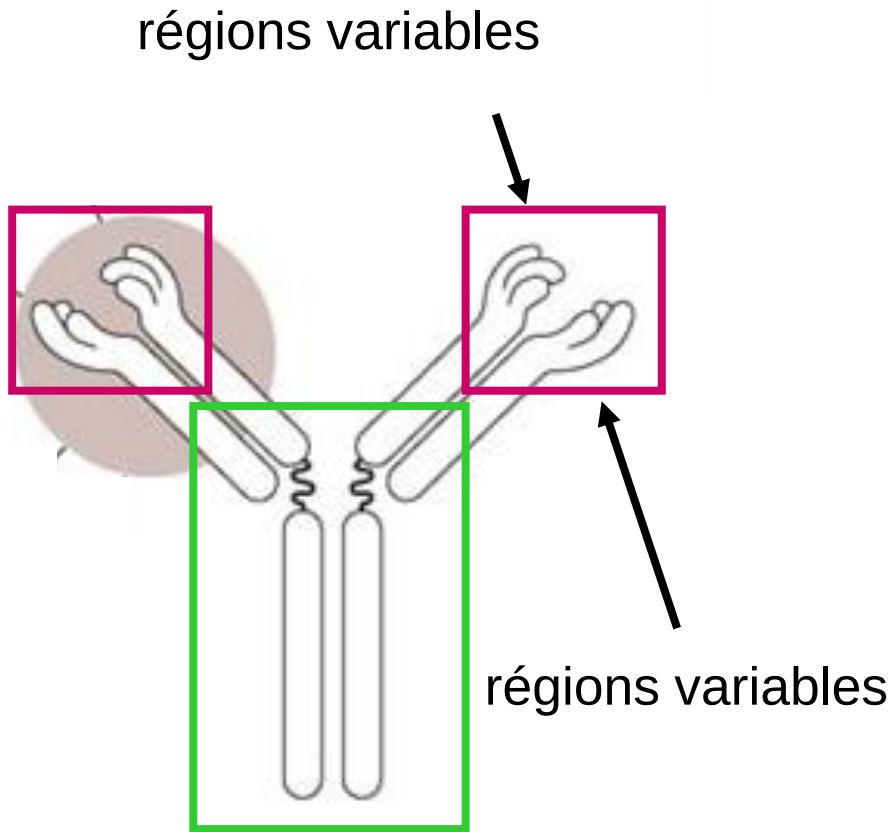
Anticorps avec plusieurs spécificités

ANTIBODY SPECIFICITY



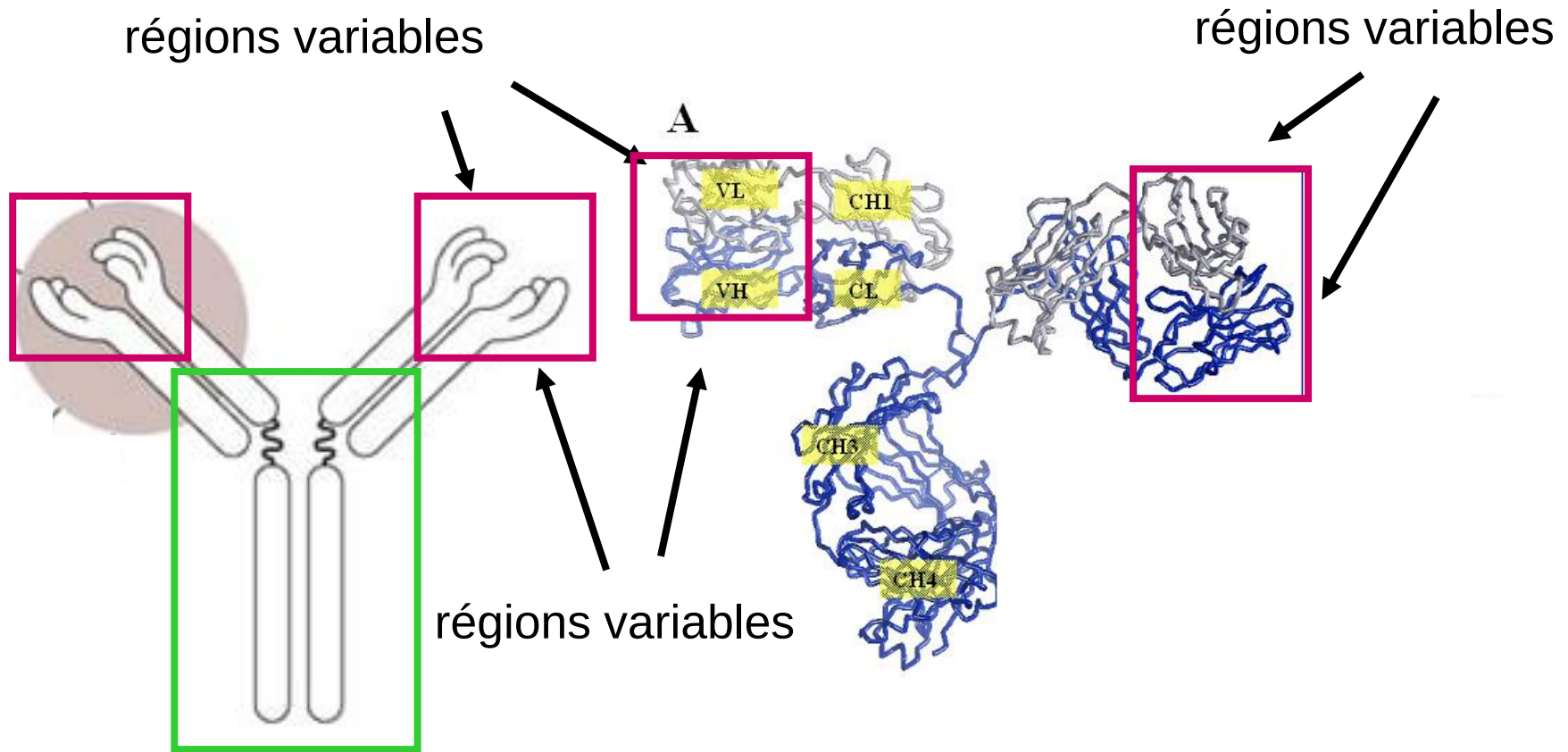
Environ 10 milliards (10^{10} !) d'anticorps différents sont générés dans un humain.

Régions variables et constantes des anticorps



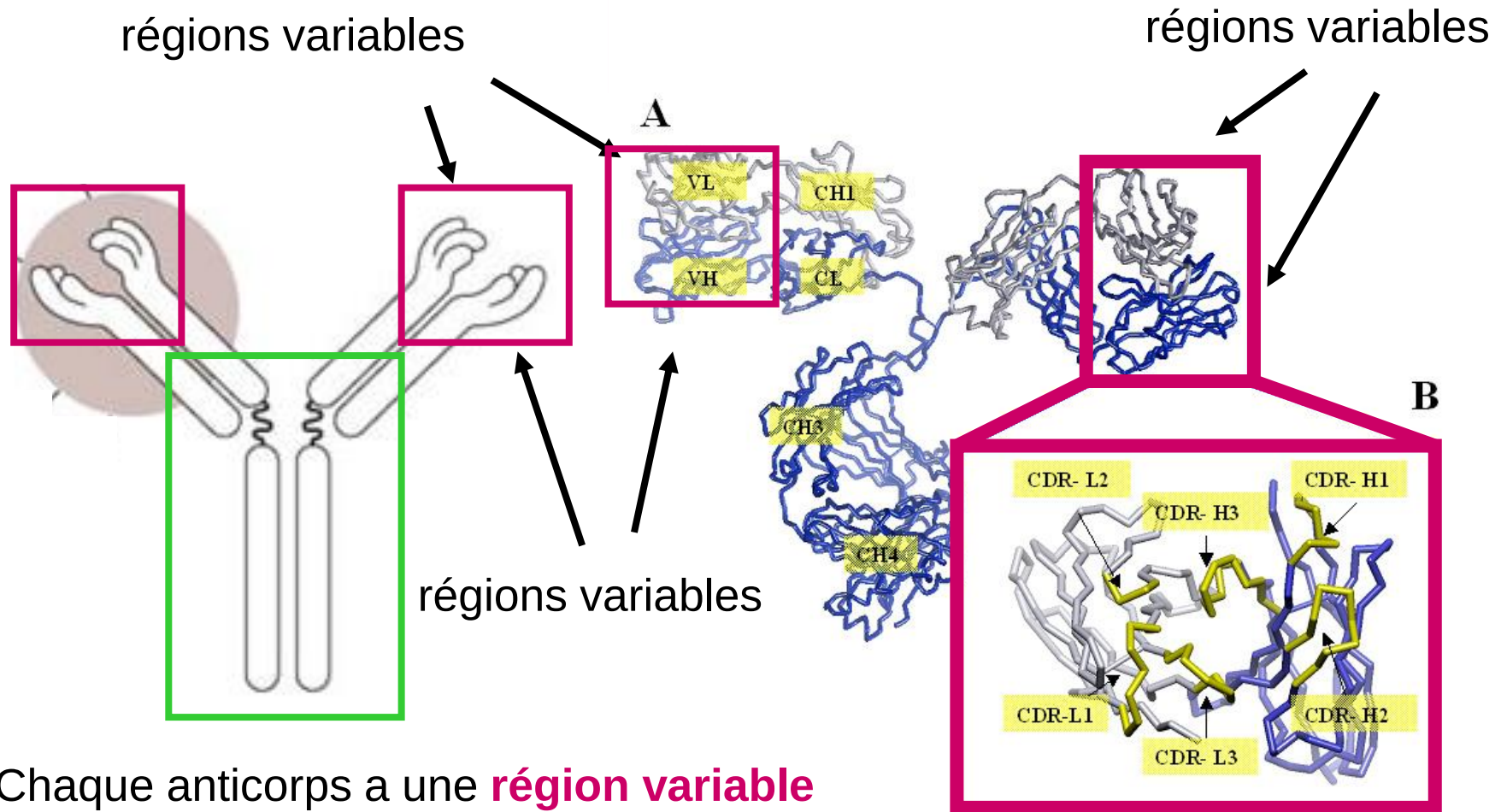
- Chaque anticorps a une **région variable** et une **région constante**

Régions variables et constantes des anticorps



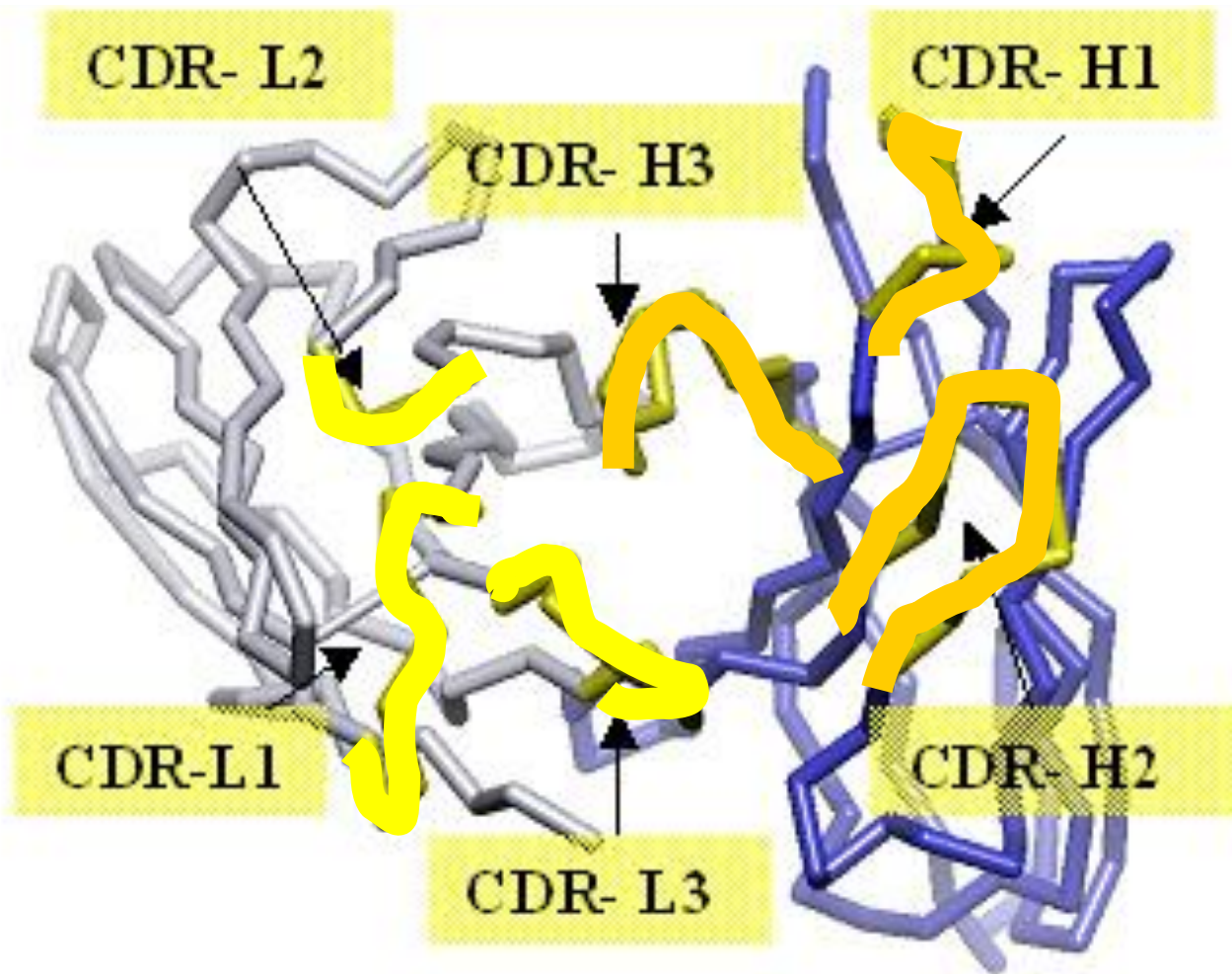
- Chaque anticorps a une **région variable** et une **région constante**

Régions variables et constantes des anticorps

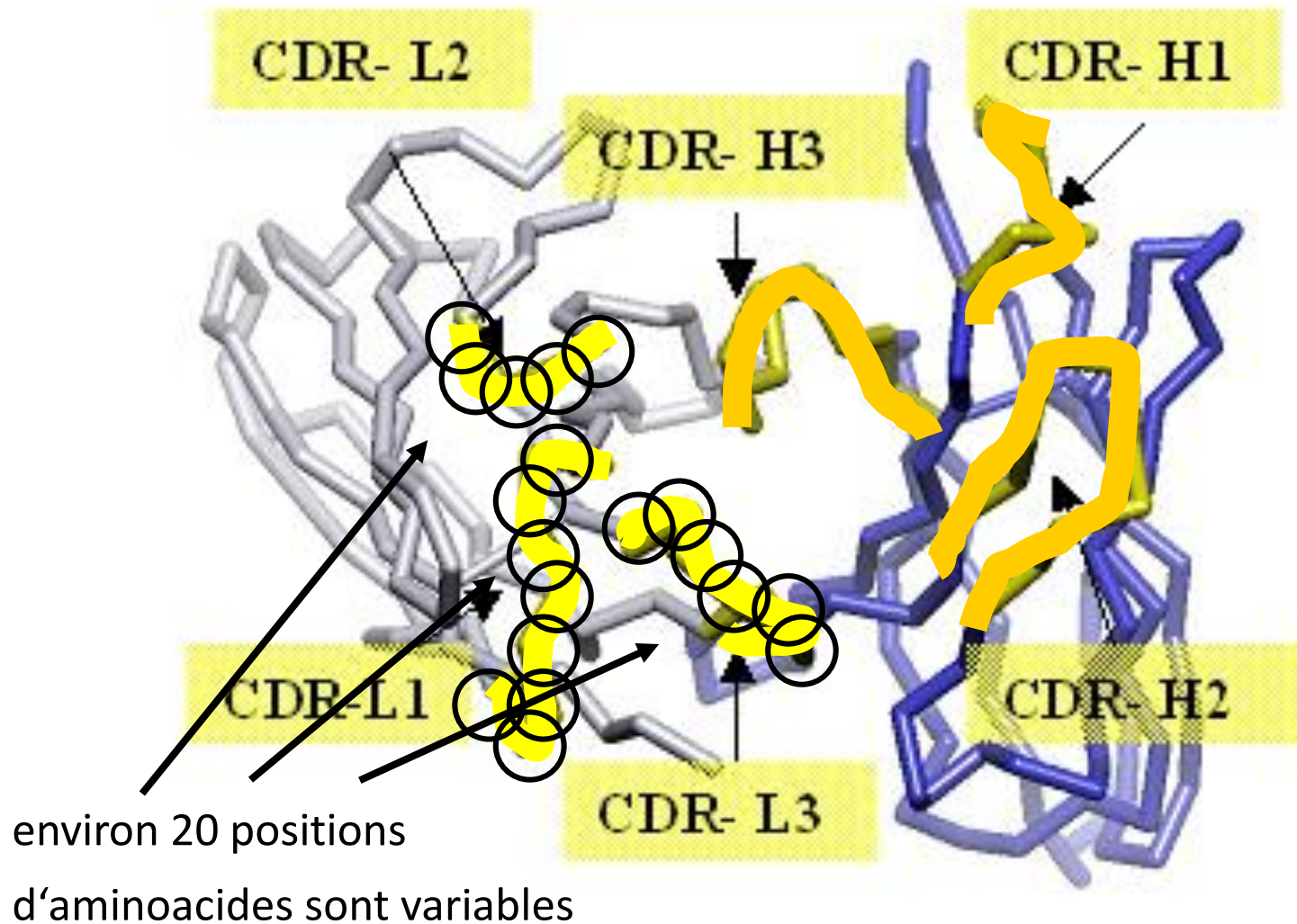


- Chaque anticorps a une **région variable** et une **région constante**
- Chaque région variable a **3 boucles de peptides variables**

Régions variables des anticorps (vue d'en-haut)



Régions variables des anticorps (vue d'en-haut)



Série 9

