

# CINETIQUE ENZYMATIQUE

Séance Tutorat Biochimie n°2

# Principe d'une réaction réversible

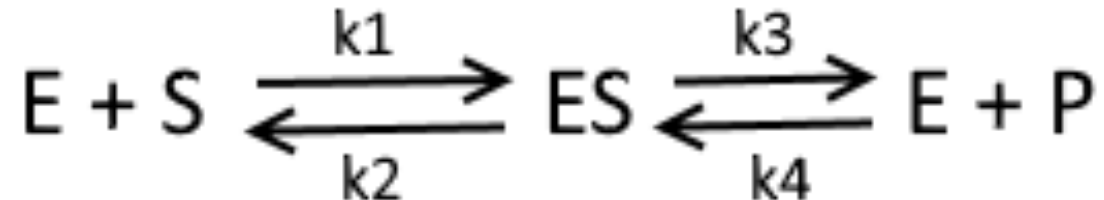


A et B = substrats

C et D = produits

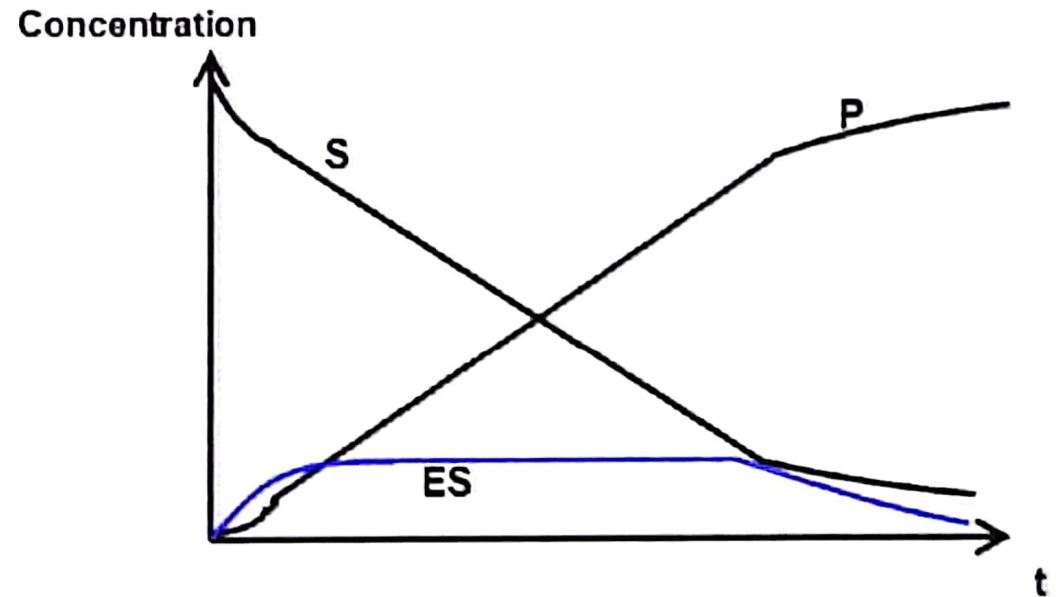
**k1** = constante de vitesse de formation de C et D

**k2** = constante de vitesse de formation de A et B

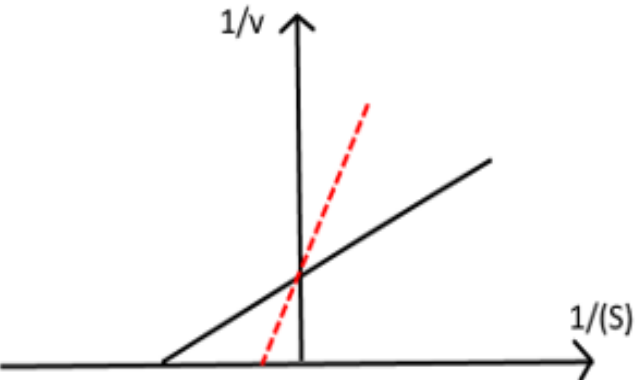
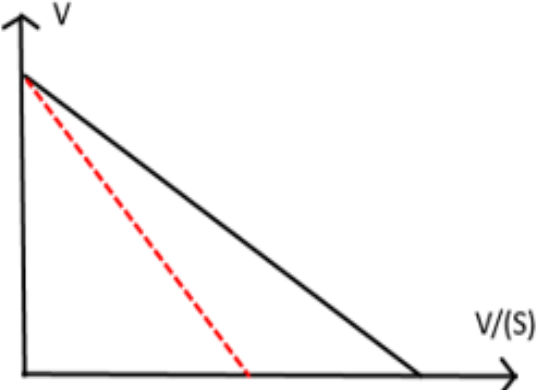


# Cinétique michaélienne

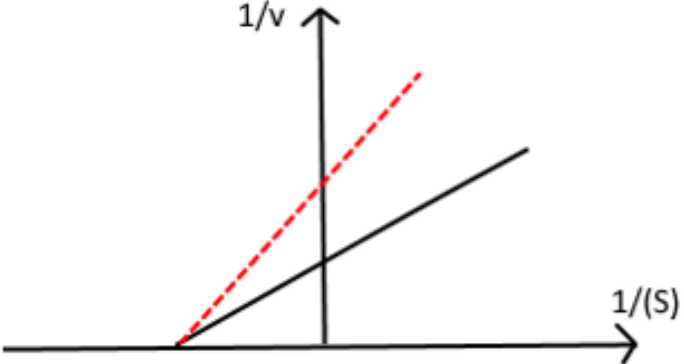
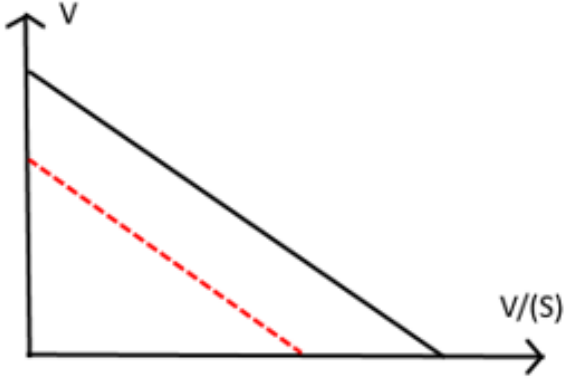
- ❖ Phase pré-stationnaire
- ❖ Phase stationnaire
- ❖ Phase post-stationnaire



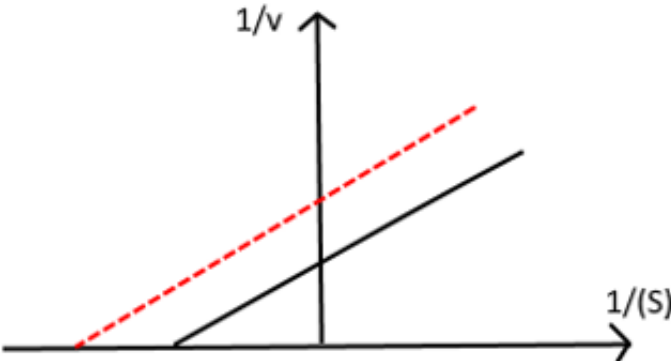
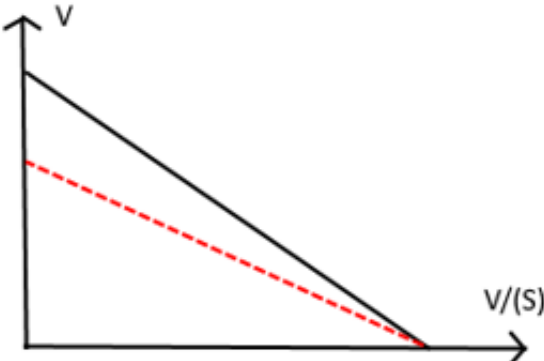
# Inhibiteur COMPÉTITIF

Mode d'action	Représentation Linéaire et Burk (en double inverse)	Représentation Eadie-Hoffstee
$E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow E + P$ $\updownarrow$ $EI$ <p>⇒ ES ↘ car I se fixe sur le site actif de E</p> <p>⇒ <math>K_m \nearrow</math> ⇒ <math>K_m' = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)</math></p>	 <p>A Linéaire et Burk plot showing the relationship between the reciprocal of the reaction velocity (1/v) on the y-axis and the reciprocal of the substrate concentration (1/S) on the x-axis. A solid black line represents the uninhibited reaction, and a dashed red line represents the reaction in the presence of a competitive inhibitor. The dashed line is steeper than the solid line, indicating an increase in the apparent Michaelis constant (Km'). Both lines intersect the y-axis at the same point, representing the reciprocal of the maximum velocity (1/Vmax).</p>	 <p>An Eadie-Hoffstee plot showing the relationship between the reaction velocity (v) on the y-axis and the velocity divided by the substrate concentration (v/S) on the x-axis. A solid black line represents the uninhibited reaction, and a dashed red line represents the reaction in the presence of a competitive inhibitor. The dashed line is shorter than the solid line, indicating a decrease in the maximum velocity (Vmax) due to the inhibitor.</p>

# Inhibiteur NON-COMPETITIF

Mode d'action	Représentation Linwear et Burk (en double inverse)	Représentation Eadie-Hoffstee
$  \begin{array}{c}  E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow E + P \\  \updownarrow \quad \quad \updownarrow \\  EI \leftrightarrow ESI  \end{array}  $ <p> <math>\Rightarrow V_m \searrow</math> car I empêche la formation de P  <math>\Rightarrow V' = V_m \frac{1}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}</math> </p>	 <p>A Linwear et Burk plot showing the relationship between the reciprocal of the reaction velocity (1/v) on the y-axis and the reciprocal of the substrate concentration (1/S) on the x-axis. Two lines originate from the same point on the x-axis. The solid black line represents the uninhibited reaction, and the dashed red line represents the reaction in the presence of a non-competitive inhibitor. The dashed red line has a steeper slope and a higher y-intercept, indicating a decrease in both the maximum velocity (V<sub>m</sub>) and the apparent Michaelis constant (K<sub>m</sub>).</p>	 <p>An Eadie-Hoffstee plot showing the relationship between the reaction velocity (v) on the y-axis and the velocity divided by the substrate concentration (v/S) on the x-axis. Two lines originate from the same point on the y-axis. The solid black line represents the uninhibited reaction, and the dashed red line represents the reaction in the presence of a non-competitive inhibitor. The dashed red line has a lower slope and a lower x-intercept, indicating a decrease in both the maximum velocity (V<sub>m</sub>) and the apparent Michaelis constant (K<sub>m</sub>).</p>

# Inhibiteur INCOMPÉTITIF

Mode d'action	Représentation Linéaire et Burk (en double inverse)	Représentation Eadie-Hoffstee
<p style="text-align: center;"> <math>E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow E + P</math>  <math>\quad \quad \quad \updownarrow</math>  <math>\quad \quad \quad ESI</math> </p> <p> <math>\Rightarrow K_m \searrow</math> car on favorise la formation d'ES  <math>\Rightarrow K_m' = K_m \frac{1}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}</math> </p> <p> <math>\Rightarrow V_m \searrow</math> car I empêche la formation de P  <math>\Rightarrow V' = V_m \frac{1}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}</math> </p>	 <p>A Linéaire et Burk plot showing the relationship between the reciprocal of reaction velocity (1/v) on the y-axis and the reciprocal of substrate concentration (1/[S]) on the x-axis. A solid black line represents the uninhibited reaction, and a dashed red line represents the reaction in the presence of a non-competitive inhibitor. The dashed line is parallel to the solid line but shifted upwards, indicating a decrease in the maximum velocity (V<sub>m</sub>) while the Michaelis constant (K<sub>m</sub>) remains unchanged.</p>	 <p>An Eadie-Hoffstee plot showing the relationship between reaction velocity (v) on the y-axis and the ratio of velocity to substrate concentration (v/[S]) on the x-axis. A solid black line represents the uninhibited reaction, and a dashed red line represents the reaction in the presence of a non-competitive inhibitor. The dashed line is parallel to the solid line but shifted downwards, indicating a decrease in the maximum velocity (V<sub>m</sub>) while the Michaelis constant (K<sub>m</sub>) remains unchanged.</p>

# QCM Concours

- Soit une enzyme E répondant à une cinétique de type michaélienne. E représente l'enzyme, S le substrat, ES le complexe enzyme substrat, P le produit et k les constantes régissant les équilibres entre ces différentes formes comme défini par convention.

Parmi les propositions suivantes, cocher la ou les réponses exactes:

- **A)** Quand  $k_3(ES) + k_2(ES) = k_1(E)(S)$  la concentration de ES ne varie pas.
- **B)**  $k_4$  est négligeable dans les conditions de vitesse initiale.
- **C)**  $k_1(E)(S)$  est nul durant la phase stationnaire.
- **D)**  $(k_3 + k_2) / k_1 = K_m$ .
- **E)**  $k_1(E)(S) = V_m$  pour une concentration saturante en substrat.

# QCM Concours

Réponse: ABD

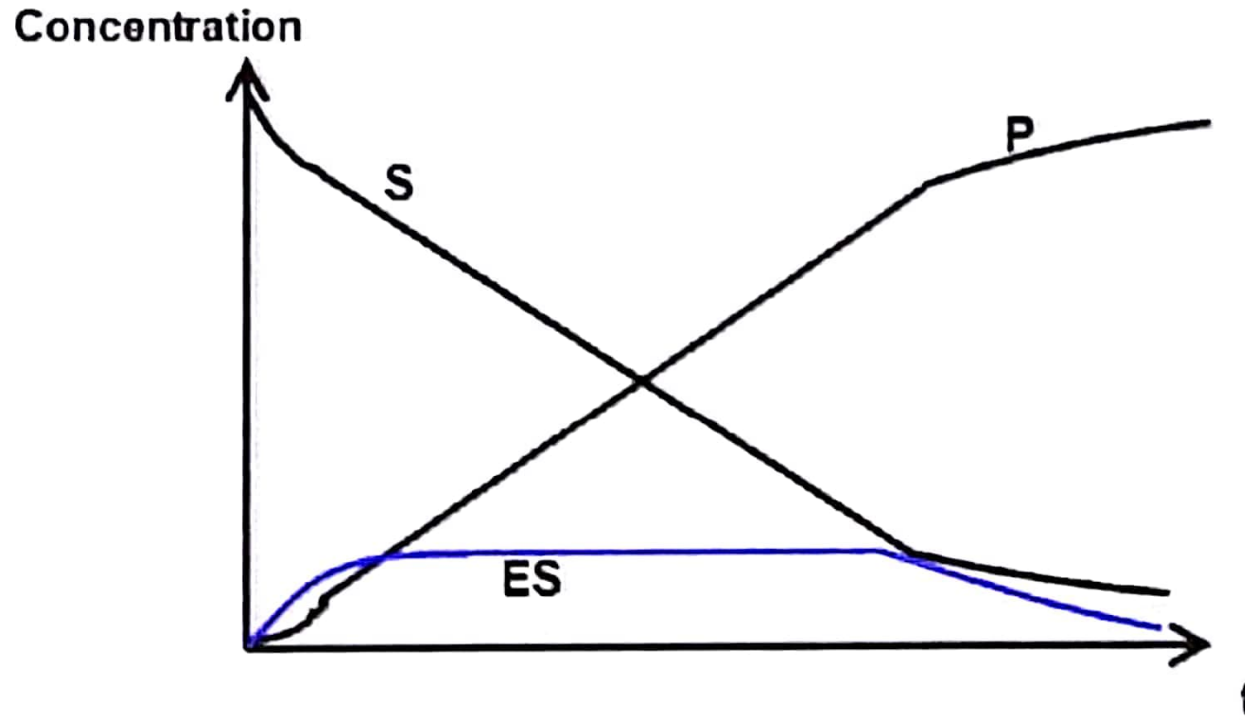
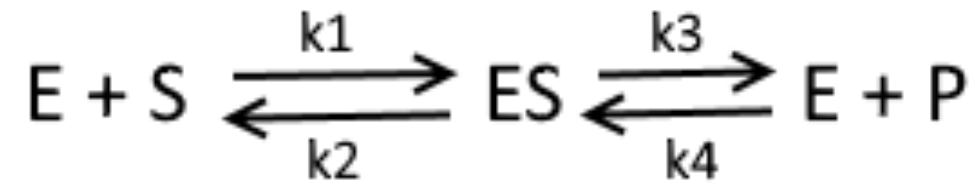
- Soit une enzyme E répondant à une cinétique de type michaélienne. E représente l'enzyme, S le substrat, ES le complexe enzyme substrat, P le produit et k les constantes régissant les équilibres entre ces différentes formes comme défini par convention.

Parmi les propositions suivantes, cocher la ou les réponses exactes:

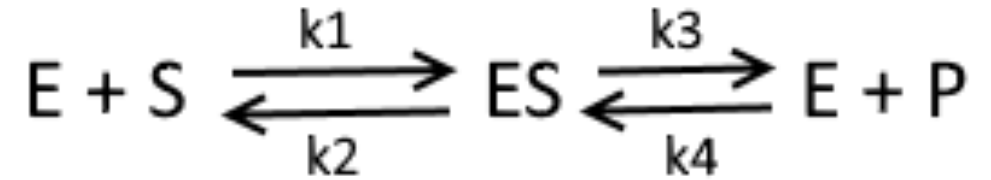
- **A)** Quand  $k_3(ES) + k_2(ES) = k_1(E)(S)$  la concentration de ES ne varie pas.
- **B)**  $k_4$  est négligeable dans les conditions de vitesse initiale.
- **C)**  $k_1(E)(S)$  est nul durant la phase stationnaire.
- **D)**  $(k_3 + k_2) / k_1 = K_m$ .
- **E)**  $k_1(E)(S) = V_m$  pour une concentration saturante en substrat.



- A) Quand  $k_3(ES) + k_2(ES) = k_1(E)(S)$  la concentration de ES ne varie pas.  
B)  $k_4$  est négligeable dans les conditions de vitesse initiale.  
C)  $k_1(E)(S)$  est nul durant la phase stationnaire.



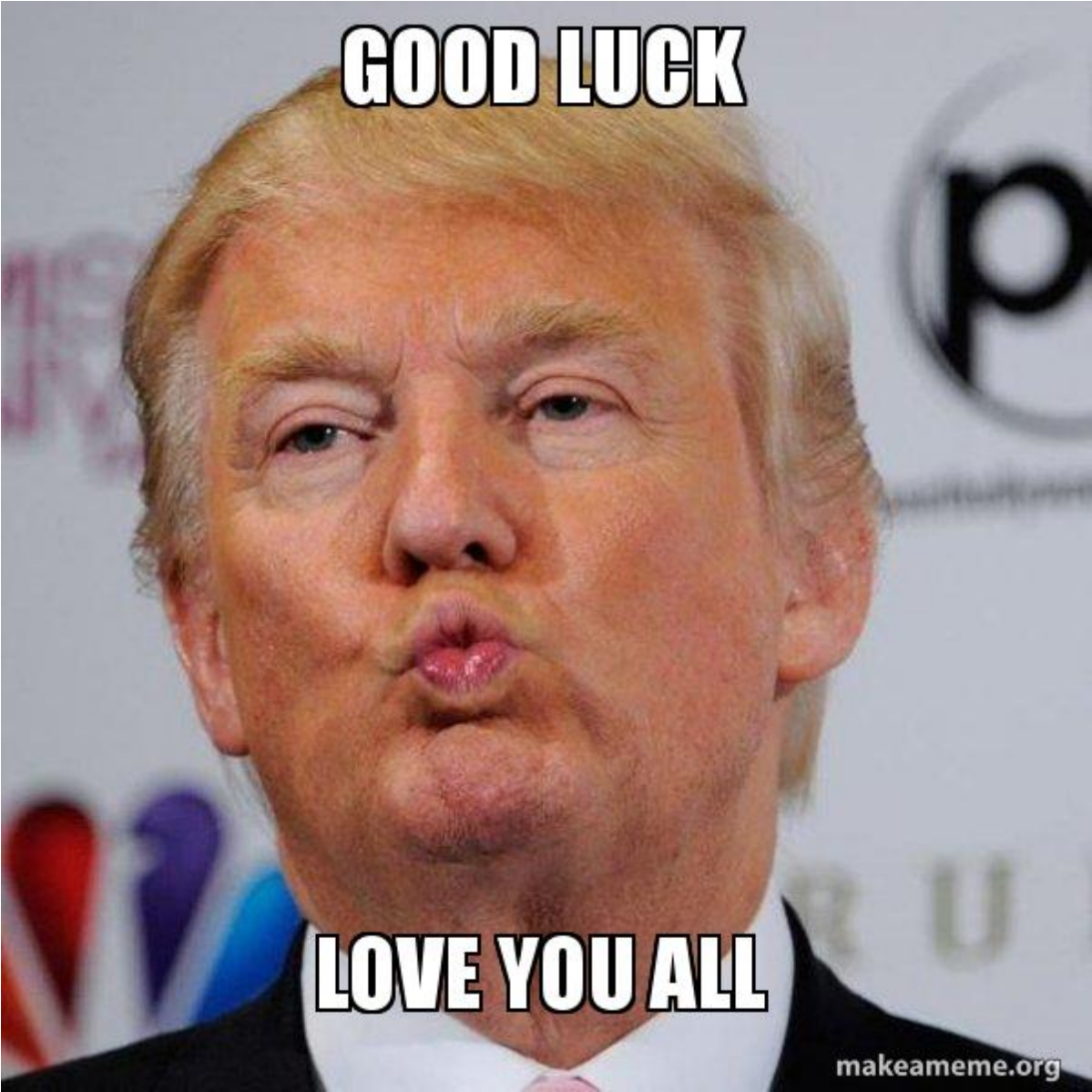
D)  $(k_3 + k_2) / k_1 = K_M$ .



$$K_M = \frac{(E) \times (S)}{(ES)} = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

E)  $k_1(E)(S) = V_M$  pour une concentration saturante en substrat.

$$V_M = k_3 (E_t)$$



**GOOD LUCK**

**LOVE YOU ALL**

makeameme.org



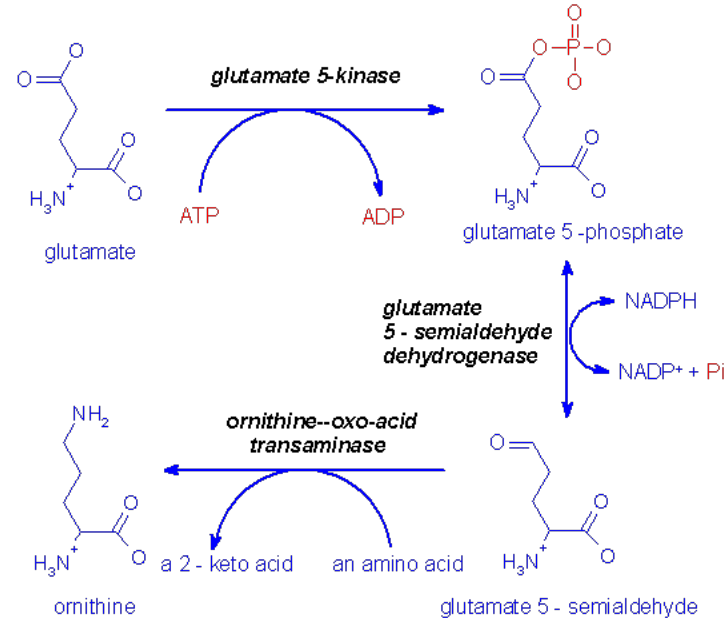
# SEANCE TUTORAT

Méthodologie

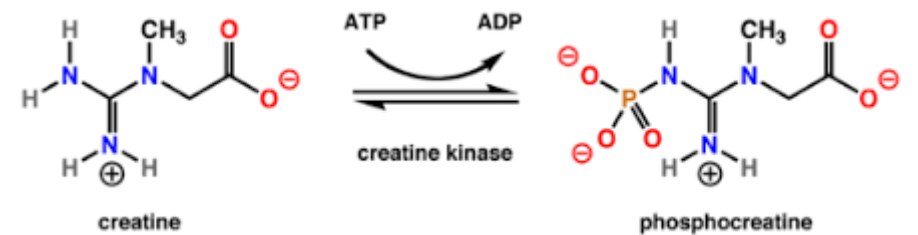
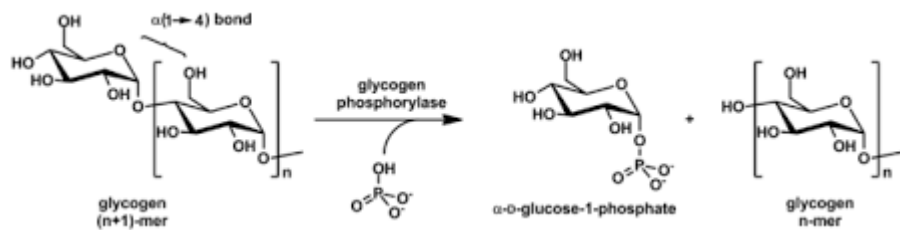
# Métabolisme des acides aminés

- Comprendre la fonction des différentes enzymes :

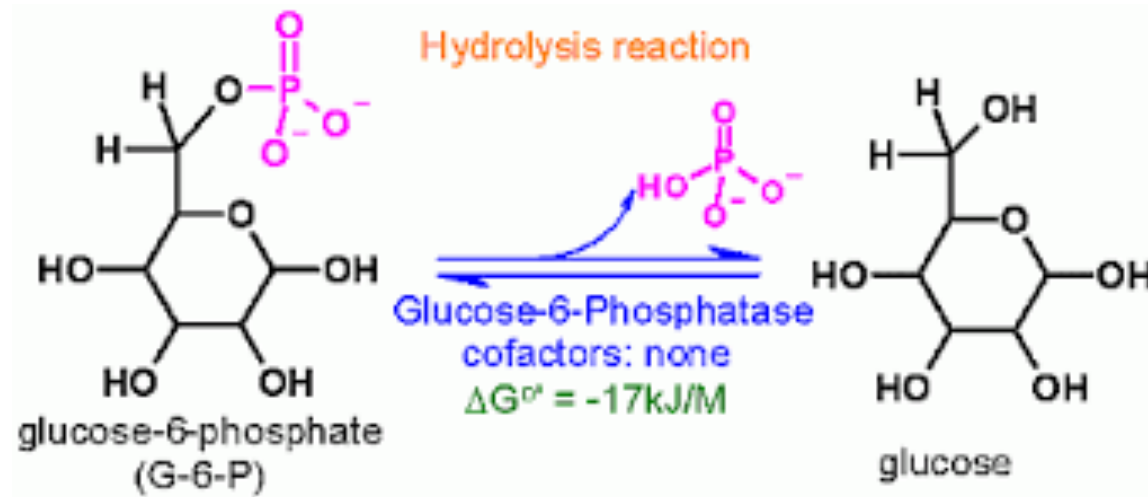
**1) deshydrogénase :** enzyme qui oxyde un substrat par le transfert d'un ou plusieurs ions H<sup>+</sup> à un accepteur , généralement c'est un cofacteur comme NAD ou FAD



- **3) phosphorylase** : enzyme qui ajoute un phosphate sur un substrat à partir phosphate inorganique également appelée Pi
- **4) kinase** : enzyme qui ajoute un phosphate sur un substrat à partir d'une molécule d'adénosine tri-phosphate également appelée ATP



- **5) phosphatase** : enzyme qui enlève un groupement phosphate

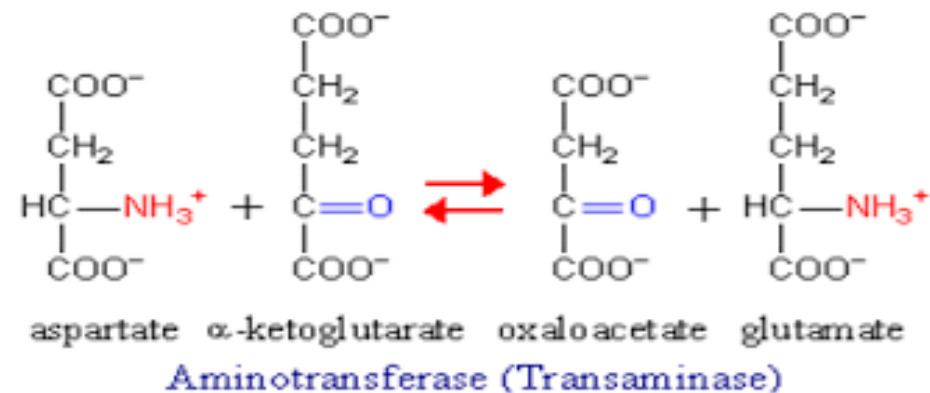




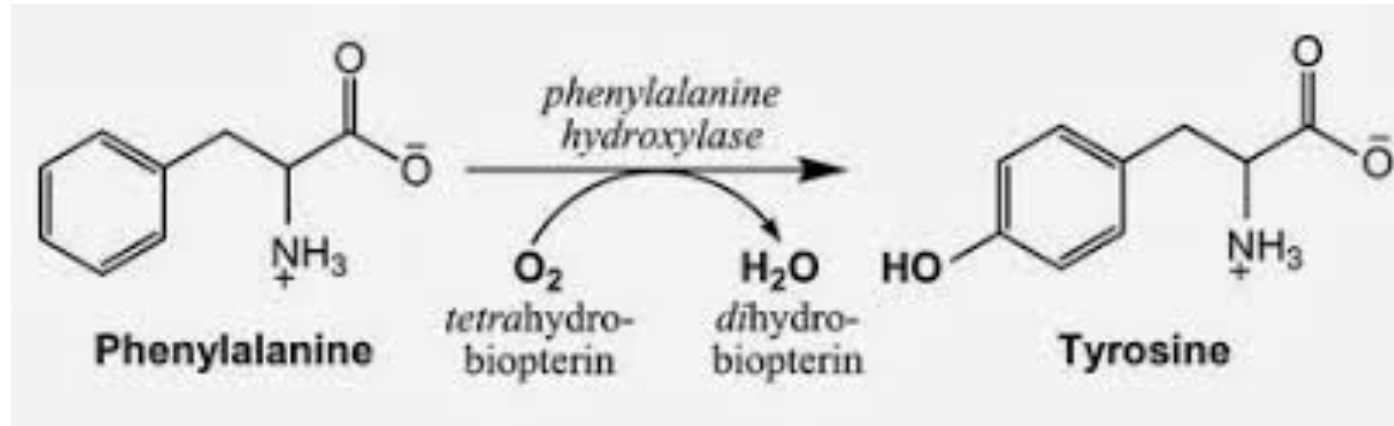


- **9) aminase** : enzyme qui catalyse l'hydrolyse du groupe amine d'un acide aminé et qui libère de l'azote

Exemple de la transaminase : Elle catalyse l'hydrolyse d'un groupement amine d'un acide aminé pour le transférer sur un acide alpha-cétonique.



- **10) hydroxylase** : enzyme qui catalyse une hydroxylation c'est-à-dire l'ajout d'un groupement hydroxyle : OH , on utilisera donc le plus souvent un O<sub>2</sub> et on liera de l'H<sub>2</sub>O :



- P<sub>Pi</sub>= pyrophosphate inorganique
- P<sub>PL</sub>= phosphate de piridoxal
- P<sub>i</sub>= phosphate inorganique

Enzymes actives lorsque phosphorylées	Enzymes actives lorsque déphosphorylées
1) Phosphorylase kinase	1) Glycogène synthase
2) Glycogène phosphorylase	2) Phosphofructokinase 2 (dans le foie)
3) Fructose 2,6 biphosphatase	3) Pyruvate kinase
	4) Acétyl CoA carboxylase

Osmosis.org (free trial)

AK lectures (youtube)

Chimie :

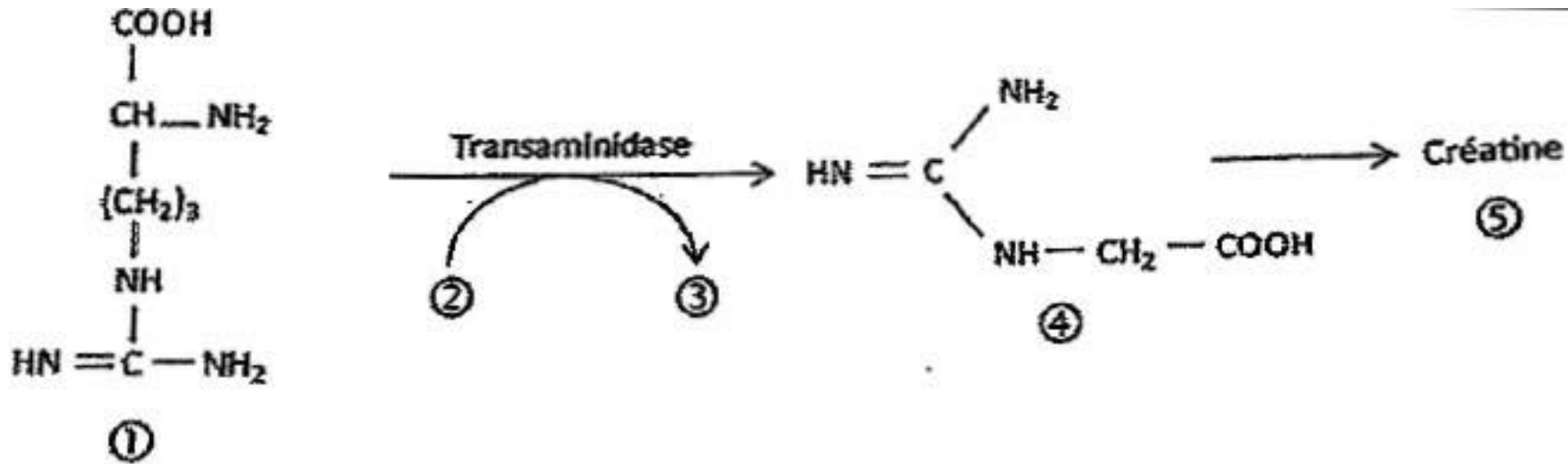
Leha4sci (youtube)



# Métabolisme des AA



Concernant la synthèse de la créatine cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :



- A) 1 correspond à de l'arginine.
- B) 2 correspond à de la Glutamine.
- C) 3 correspond à la citrulline.
- D) Entre la molécule 4 et la créatine il y a action d'une guanidino acétate méthyltransférase.
- E) La Transaminase est active dans le Rein.

Concernant la synthèse de la créatine cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

ADE

**A) Vrai.**

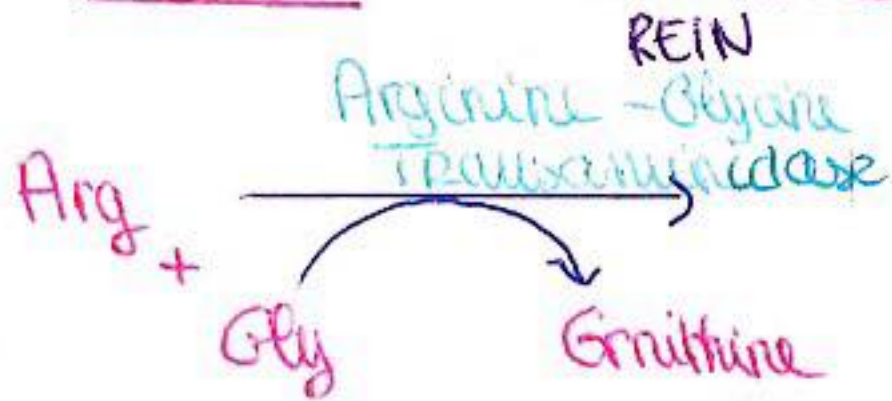
B) Faux. Il y a association d'Arginine et de GLYCINE pour former la cystéine.

C) Faux. Elle correspond à de l'ornithine.

**D) Vrai. Elle transfère le groupement méthyle de la méthionine (SAM = Met + ATP).**

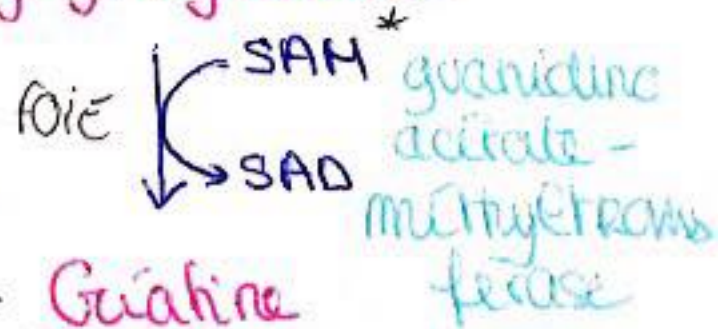
**E) Vrai. NB : le transfert du groupement méthyle se fait dans le foie, et la créatine kinase elle fonctionne dans le muscle.**

Glycine : Précurseur de la Guanine

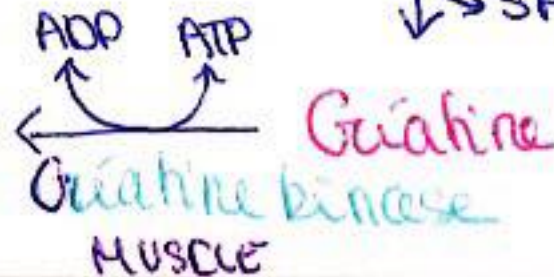


\* SAM : Met + ATP

Acide Guaidino-acétique  
= glycoecynamine



Guanine Phosphate



Quelles réactions utilisent la S-Adénosylméthionine comme donneur de groupement méthyl ?

- A) La synthèse d'adrénaline à partir de noradrénaline.
- B) La synthèse de méthionine à partir d'homocystéine.
- C) La synthèse de mélatonine à partir de N-acétyl-sérotonine.
- D) La synthèse de créatine à partir de glycoamine.
- E) La dégradation des catécholamines par la COMT.

Quelles réactions utilisent la S-Adénosylméthionine comme donneur de groupement méthyl ?

ACDE

- A) Vrai. L'adrénaline provient de la méthylation de la noradrénaline.**
- B) Faux. Attention ici c'est à partir de Bétaïne (ou triméthyl glycine).
- C) Vrai.**
- D) Vrai. Glycocyamine = Acide Guanidino Acétique.**
- E) Vrai.**

Concernant le catabolisme des cathécolamines, cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

- A) La monoamine oxydase utilise le FAD et le Cuivre comme cofacteur.
- B) La catéchol-oxygène méthyl transférase utilise le méthyltétrahydrofolate comme donneur de groupement méthyle.
- C) Le catabolite de l'adrénaline est l'acide Vanillyl-mandélique.
- D) La dopamine provient de la carboxylation de la DOPA.
- E) Le catabolite de la dopamine est l'acide homo-vanillique.

Concernant le catabolisme des catécholamines, cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

ACE

**A) Vrai.**

B) Faux. Elle utilise le SAM.

**C) Vrai. C'est aussi le cas pour la noradrénaline.**

D) Faux. C'est une décarboxylation !

**E) Vrai.**

# Rappel sur les catécholamines :

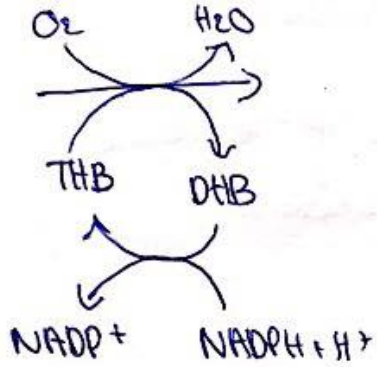
- Elles proviennent de la TYROSINE.
- DOPA = est formée à partir de la tyrosine par le système tyrosine hydroxylase - dihydrobioptérine réductase (étape limitante).
- DOPA → Dopamine par une décarboxylation donc penser PPL.
- Dopamine → Noradrénaline par oxygénation/hydroxylation.
- Noradrénaline → Adrénaline par méthylation.



Synt des Caticolanuine par Tyr :

Tyrosine hydroxylase Etape limitante

Tyr



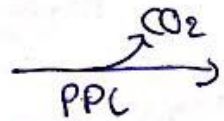
DOPA = Dihydroxyphenylalanine

Dihydroxyphenylalanine

réductase Etape limitante

Synt de DOPAMINE à partir de Dopa :

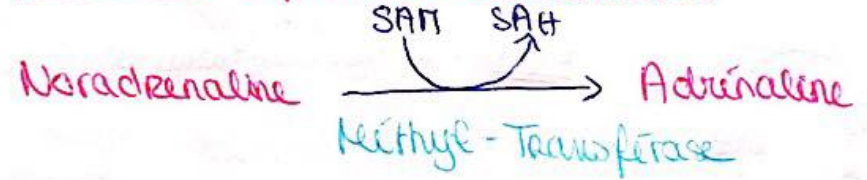
DOPA



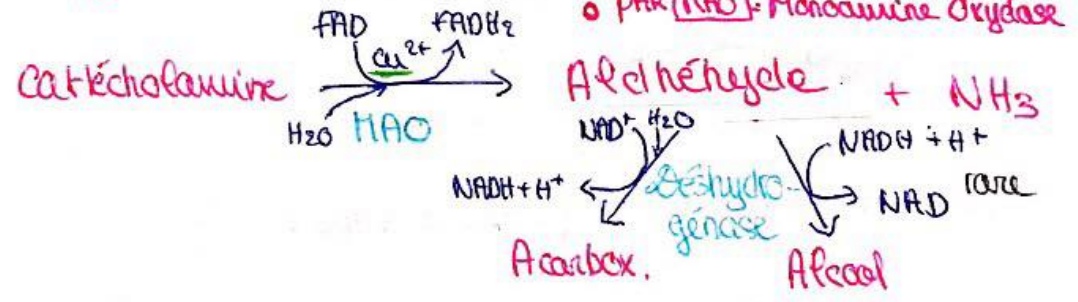
Dopamine

DOPA  
décarboxylase

Adrénaline à partir de Noradrénaline

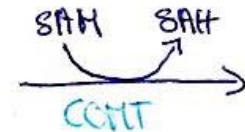


Dégradation Caticolanuine :



PAR MAO Monoamine Oxidase

Ny catéchol



Ny catéchol méthylé

Concernant le phosphate de pyridoxal, cocher la ou les proposition(s) exacte(s)

- A) Il est le coenzyme des réactions de transaminations.
- B) Il est le coenzyme du système de clivage de la glycine.
- C) Il est le coenzyme des réactions de décarboxylation des acides aminés.
- D) Il dérive de la vitamine B6.
- E) Il est le coenzyme de la cystathioninase.

Concernant le phosphate de pyridoxal, cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

ABCDE

- A) Vrai.
- B) Vrai. Ce système utilise aussi le Lipoate comme cofacteur.
- C) Vrai.
- D) Vrai.
- E) Vrai. NB : la cystathioninase permet le synthèse d'homosérine à partir de cystathionine.

Concernant les acides aminés cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

- A) L'Asparate est précurseur de nucléotides puriques et pyrimidiques.
- B) La glycine, la méthionine et l'arginine sont précurseurs de la carnitine.
- C) Le tryptophane est précurseur de NO.
- D) L'Isoleucine est précurseur de corps cétoniques.
- E) La Tyrosine est précurseur de la mélatonine.

Concernant les acides aminés cocher la ou les proposition(s) exacte(s) :

AD

**A) Vrai.**

B) Faux. Ils sont précurseurs de la créatine !

C) Faux. C'est l'arginine. (bien savoir les différents type de NO et leurs actions).

**D) Vrai.**

E) Faux. C'est le tryptophane.

Si vous voulez vous rappeler des acides aminés  
cétoogènes : Moyen mnémotechnique plutôt  
raffiné transmis par mes ancêtres <3 :

**ILS TIRENT TROP LEUR FEMME AU LIT**  
**Ile, Tyr, Trp, Leu, Phe, Lys.**

Quelle(s) vitamine(s) intervient(viennent) dans l'hydroxylation de la Lysine ?

- A) La vitamine B12.
- B) La vitamine B1.
- C) La vitamine B6.
- D) La vitamine C.
- E) La vitamine A.

Quelle vitamine intervient dans l'hydroxylation de la Lysine ?

D

La Lys Hydroxylase utilise la Vitamine C ainsi que du fer  $Fe^{2+}$ , de l'alphacétoglutarate et de l' $O_2$  pour hydroxyler la Lysine.  
La vitamine C sert à garder le Fer sous forme Ferreux  $Fe^{2+}$ .



## Rappel sur les différentes maladies :

- Saturnisme : Plomb qui inhibe l'ALA déshydratase, précurseur de l'hème.
- → grave déficit mental.
- Phénylcétonurie : Déficit en phénylalanine hydroxylase par mutation génétique et aboutissant à l'augmentation du catabolisme de la Phe en phénylpyruvate. → dépistage néonatale systématique. On a donc une augmentation de Phe dans le sang ainsi que du phénylpyruvate.
- Scorbut : Déficit en Vit C nécessaire à la synthèse de collagène.

# Rappel sur la synthèse de collagène :

- Synthétisé par les ribosomes sous forme de précurseurs : le **préprocollagène**.
- Une séquence signal l'amène au RE puis au Golgi → devient alors **procollagène + Hydroxylation des résidus lysine par la lysine hydroxylase** (besoin de  $Fe^{2+}$  et de Vit C, donne de la 5-OH lysine et du succinate).
- Grâce aux cystéines à l'extrémité des chaînes → formation de pont S-S entre les hélices → Associations de 3 hélices.
- Ces trois hélices passeront ensuite dans le milieu extra cellulaire et rencontreront des **peptidases** qui cliveront les extrémités des chaînes qui elles ne seront pas associées sous forme d'hélice. (Tropocollagène)
- Enfin, cette structure sera stabilisée grâce aux résidus Lys formant des liaisons covalente grâce a des réactions de **désaminations oxydatives par la lxyloxydase** (besoin de  $Cu^{2+}$  et  $O_2$ ) pour **former des résidus allysines**.
- 2 types de liaisons pourront se former : → Entre la Lys et allysine
  - → Entre un résidu aldéhyde de l'allysine et un groupement OH d'un allysine d'une des trois hélices.

**Pour résumer : préprocollagène → procollagène → Hydroxylation → Triple hélice → Clivage → Désamination oxydative → Liaison intra et inter chaînes.**