



Partir du bon pied avec l'enzymo

Partie 2

V - Graphiques (pages 1 - 2)

1. Fraction de saturation
2. Scatchard
3. Lineweaver et Burk
4. Eadie Hofsee

VI - Inhibitions réversibles (pages 3 - 4)

1. Inhibiteur compétitif
2. Inhibiteur non compétitif
3. Inhibiteur incompétitif

VII - Cinétique ping-pong (page 4)

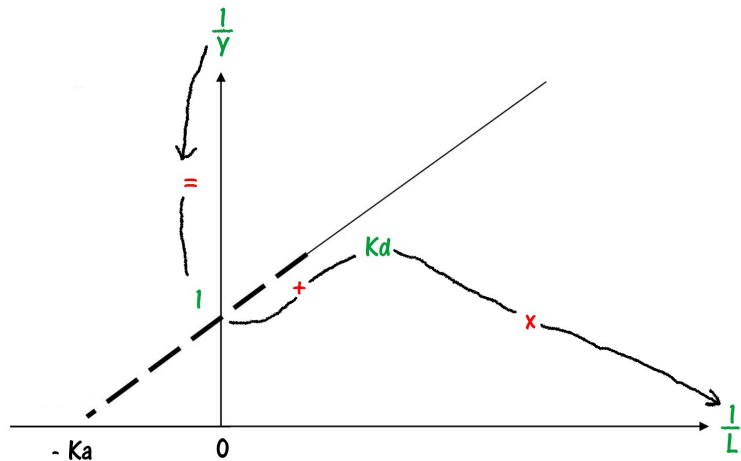
VIII - Formules (bonus) (page 5)

V - Graphiques

1. Fraction de saturation

$$Y = L / [L + K_d]$$

En inversant : $1/Y = K_d \cdot 1/L + 1$



2. Scatchard

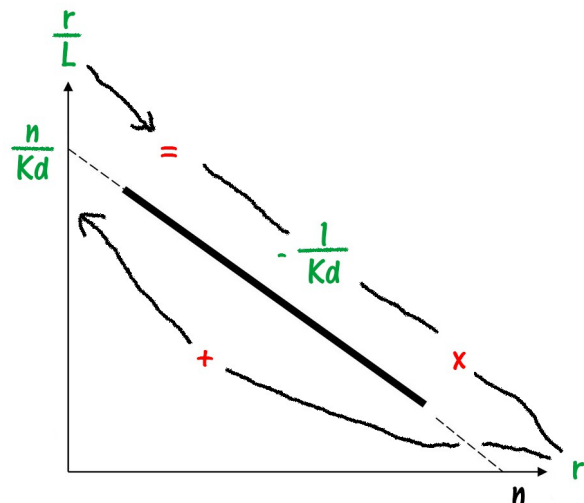
L'équation que représente ce graphique est $r/L = -1/K_d \cdot r + n/K_d$

On peut choisir

- Soit de la retenir, et du coup de retrouver facilement le graphique en sachant comment est formée une courbe de type $y = ax + b$
- Soit vous préférez retenir où se placent les valeurs sur le graphique et retrouver l'équation !

Rq : ici $y = r/L$; $a = -1/K_d$; $x = r$; $b = n/K_d$

Rq 2 : On voit avec les valeurs qui sont données, qu'une telle équation servira à calculer des affinités via K_d



3. Lineweaver et Burk

$$v = V_m S / [K_m + S]$$

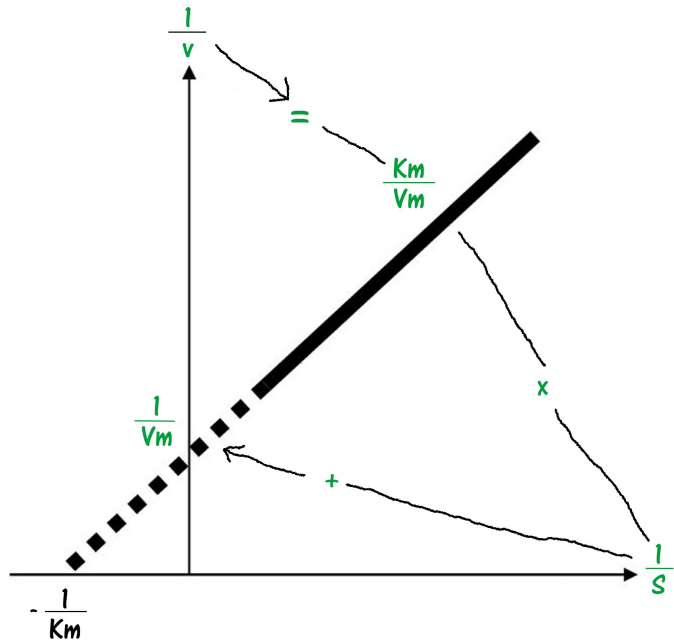
En inversant on obtient : $1/v = [K_m + S] / [V_m S] = K_m / [V_m S] + 1/V_m$ (après avoir simplifié les S)

$$\rightarrow 1/v = K_m/V_m \cdot 1/S + 1/V_m$$

On a à nouveau notre courbe $y = ax + b$

Avec $y = 1/v$; $a = K_m/V_m$; $x = 1/S$; $b = 1/V_m$

Rq : bien retenir cette représentation, c'est celle qu'on utilise dans le cours pour représenter les inhibitions (même si on peut aussi les représenter avec Eadie-Hofsee)



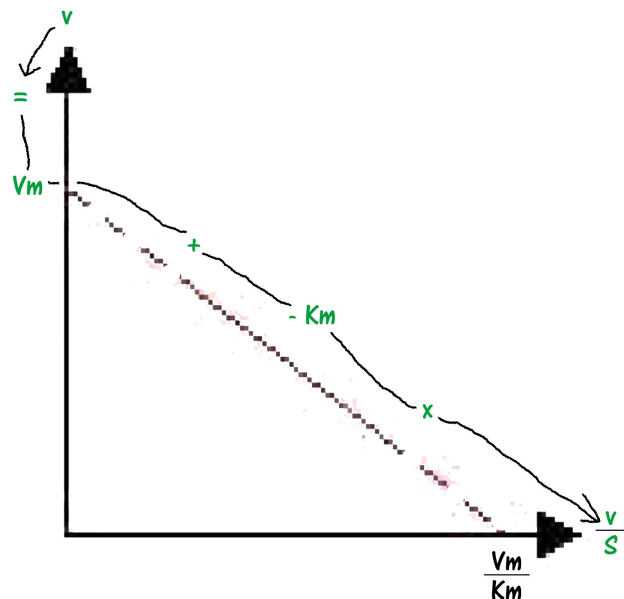
4. Eadie-Hofsee

Cette fois notre équation est : $v = -K_m \cdot v/S + V_m$

(elle est démontrée dans le cours à la diapo 52, toujours à partir de $v = V_m S / [K_m + S]$)

Donc ici $y = v$; $a = -K_m$; $x = v/S$; $b = V_m$

Rq : bien retenir que la pente est toujours négative pour cette représentation



	y	=	a	.	x	+	b
Fraction de saturation	1/Y	=	Kd	.	1/L	+	l
Scatchard	r/L	=	-1/Kd	.	r	+	n/Kd
Lineweaver et Burk	1/v	=	Km/Vm	.	1/S	+	1/Vm
Eadie Hofsee	v	=	- Km	.	v/S	+	Vm

ici nous sommes uniquement dans des situations michaeliennes !

VI - Inhibitions réversibles

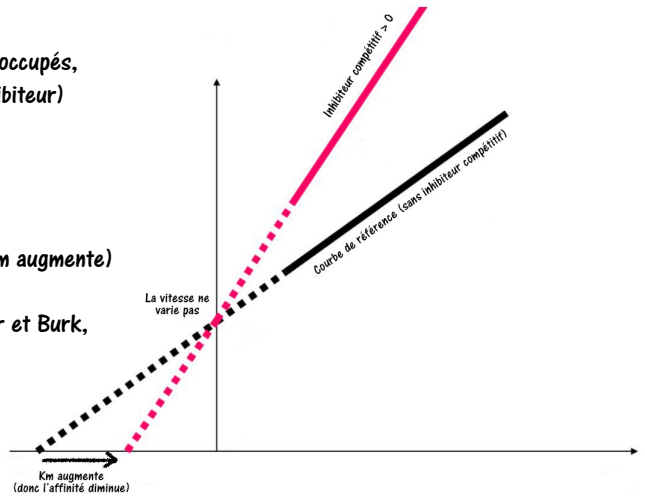
- Inhibiteur : influe sur la réaction enzymatique (modifie la vitesse ou l'affinité de l'enzyme pour son substrat)

Les augmentations / diminutions de V_m et K_m se font toujours du **facteur d'inhibition**
 $= 1 + [\text{inhibiteur}] / K_i$

1. **Inhibiteur compétitif** : prend la place du substrat
 - **V_m inchangée** → il n'y a pas plus ou moins de sites actifs occupés, ce sont les mêmes mais avec un « ligand » différent (l'inhibiteur)
 - **K_m AUGMENTE** du facteur d'inhibition donc affinité (du ligand) DIMINUE

Rq : sur le graphique on a en abscisse $-1 / K_m$ et non K_m directement mais l'évolution se fait dans le même sens (si K_m augmente alors $-1 / K_m$ augmente)

Rq 2 : pour les représentations on utilise la représentation de Lineweaver et Burk, ensuite lorsque l'on ajoute de l'inhibiteur les courbes vont bouger en fonction du type d'inhibition



→ un groupe de personnes (ligands) fait une chaise musicale, si ils sont seuls ils ne vont pas avoir de souci pour s'asseoir sur les chaises (enzymes). Alors que si on rajoute un autre groupe (inhibiteurs) pouvant s'asseoir sur les chaises de la même manière, le premier groupe sera gêné car certaines places seront prises : il y a une **COMPETITION** entre les deux groupes pour l'occupation des chaises.

→ les inhibiteurs gênent physiquement les ligands

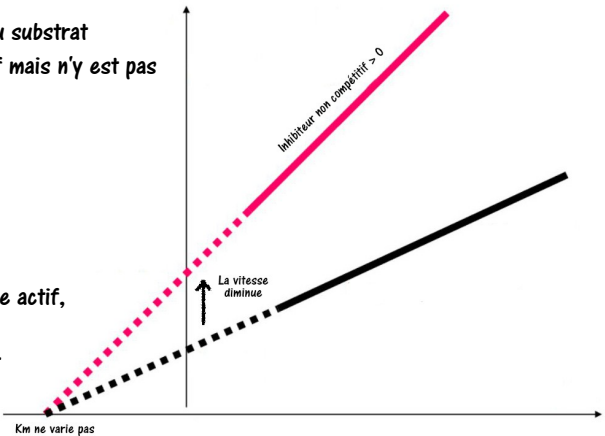
- Plus on rajoute d'inhibiteurs, moins les ligands pourront « s'asseoir » : **plus on rajoute d'inhibiteurs, plus l'inhibition est forte**
- Mais les ligands ne se laissent pas faire non plus : si on en rajoute l'inhibition diminue
 - C'est une simple histoire de proba : plus il y a de gens dans une équipe, plus il y a de chance qu'elle ait beaucoup de chaises

2. **Inhibiteur non compétitif** : se lie sur une autre site que celui du substrat
 - **V_m diminue** (inhibition) : l'inhibiteur verrouille le site actif mais n'y est pas
 - **K_m inchangé**

Rq : on peut croire sur le graphique que la vitesse augmente mais il ne faut pas oublier qu'on est en $1 / v$!

Pourquoi l'affinité est inchangée ?

- L'inhibiteur entraîne une modification de la conformation du site actif, ce qui empêche la transformation du substrat en produit mais n'influe pas sur la reconnaissance entre l'enzyme et le substrat car ce dernier se lie aussi bien à l'enzyme libre qu'au complexe enzyme-inhibiteur



→ même exemple mais cette fois le deuxième groupe (inhibiteurs) vont s'asseoir sur d'autres chaises plus loin (sur lesquelles les ligands ne peuvent pas aller). Lorsqu'ils le font, un mécanisme sous leur chaise empêche, à distance, le premier groupe (ligands) de s'asseoir sur leurs chaises.

→ ce n'est pas une gêne physique mais à distance

- Une inhibition non compétitive ne peut pas être levée par une augmentation de la concentration en substrats, puisque l'inhibiteur se lie aussi bien sur l'enzyme libre que sur le complexe enzyme-substrat

3. **Inhibiteur incompétitif** : « verrouille » le complexe enzyme / substrat (empêche leur dissociation)

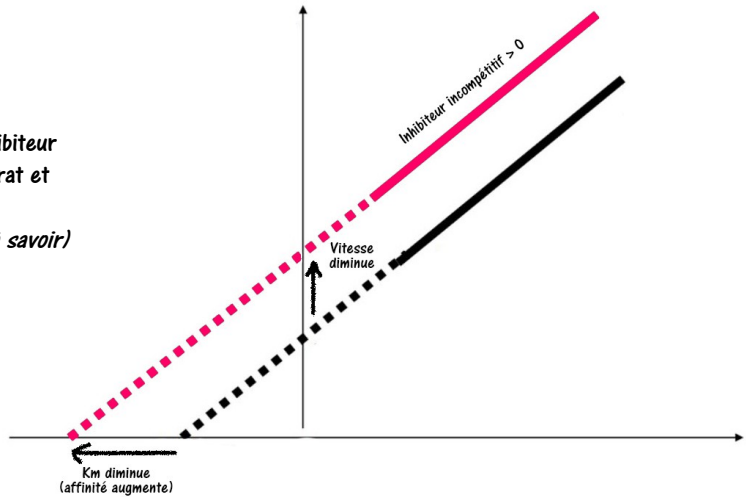
- **V_m diminue**
- **K_m diminue** (affinité augmente)

Rq : pour quoi l'affinité augmente ?

- La formation du complexe enzyme-substrat-inhibiteur diminue le nombre de complexes enzyme-substrat et favorise la liaison du substrat sur l'enzyme (par la loi d'action de masse, ce qui n'est pas à savoir)

Rq 2 : dans ce cas pourquoi la vitesse diminue ?

- Du coup il y a de moins en moins d'enzymes !



→ une fois que les ligands se sont « assis », les inhibiteurs s'assoient à leur tour sur leurs genoux : ils ne peuvent plus partir (la chaise ne peut pas resservir à pour un autre ligand) : le complexe est bloqué

	K _m		V _m	
Inhibition compétitive	Augmente (affinité diminue)	$K_m (1 + [I] / K_i)$	Inchangée	V_m
Inhibition non compétitive	Inchangé	K_m	Diminue	$V_m / (1 + [I] / K_i)$
Inhibition incompétitive	Diminue (affinité augmente)	$K_m / (1 + [I] / K_i)$	Diminue	$V_m / (1 + [I] / K_i)$

VII - Cinétique ping-pong

C'est juste le cas d'une enzyme qui peut avoir deux ligands différents (donc faire deux actions différentes) sur un même site : ses transformations se font alternativement (ping-pong quoi...)

Tout d'abord elle transforme un substrat A en produit, avec l'aide d'un certain coenzyme.

Le produit est libéré mais au passage l'enzyme a été modifiée. Sa nouvelle forme lui permet de prendre en charge un autre substrat B, qu'elle va transformer à l'aide d'un autre coenzyme.

Le deuxième produit est libéré et l'enzyme s'est retransformée dans sa conformation initiale : elle peut à nouveau prendre en charge notre premier substrat, etc

Ce qu'il faut retenir pour un exercice calculatoire : $1/v = 1/V_m (1 + K_a/A + K_b/B)$

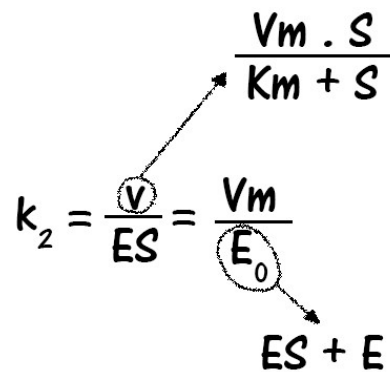
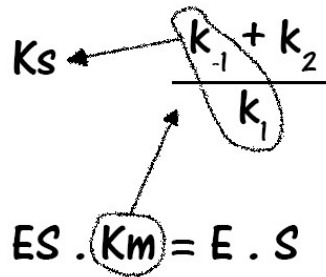
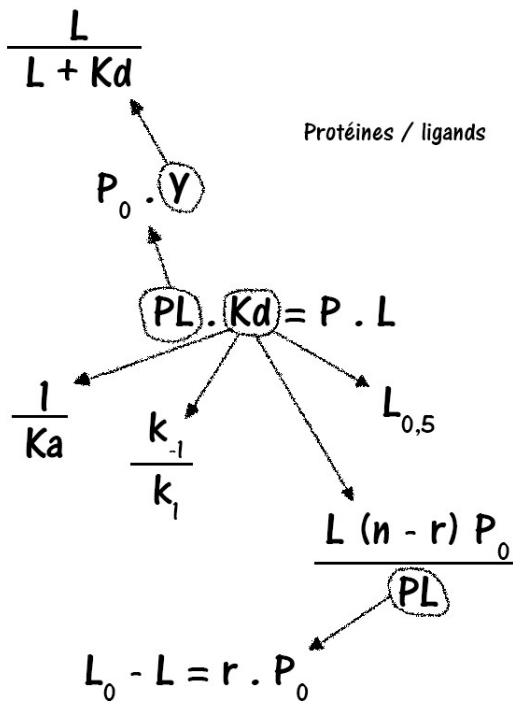
- Ce qui nous donne le graphique montré en cours
- Rq : quand on introduit A en excès (conditions saturantes) on supprime le terme K_a / A (idem pour B et K_b / B)

K_a et K_b sont les constantes d'affinité de l'enzyme pour les ligands A et B

VIII - Formules (bonus)

Je profite de cette fiche pour montrer de quelle manière j'apprenais les formules : j'ai besoin que ce soit visuel et qu'on puisse voir la globalité (ça permet aussi de mieux voir les rapports entre les formules).

Si vous ne voyez pas comment ça marche, pas la peine de vous casser la tête : gardez votre façon de faire. Mais si certains ont du mal à retenir les formules essayez quelque chose du genre, ça peut vraiment marcher.



- L : nbr de ligands libres
 - L_0 : nbr tot. de ligands
 - $L_{0,5}$: nbr de ligands libre pour laquelle la prot. est saturée à 50%
 - P : nbr de prot. libres
 - Peut signifier « produits » aussi pour la partie enzymes
 - P_0 : nbr tot. de prot.
 - PL : nbr de prot. liées à un ligand (complexes protéine / ligand)
 - n : nbr de sites récepteurs / de fixation du ligand (sur une seule prot.)
 - r : nbr de sites occupés par le ligand (sur une seule prot.)
 - E : nbr d'enzymes libres
 - E_0 : nbr total d'enzymes
 - S : nbr de substrats libres*
 - S_0 : nbr total de substrats
 - ES : nbr de complexes enzyme / substrat
- Rq : nbr ou concentration

Rq : il y a des points que je n'ai pas abordé volontairement (la loi d'Arrhénius par exemple), ce n'est pas parce que ce n'est pas important mais parce que ce ne sont pas des éléments essentiels à la compréhension globale. Ici je vous ai présenté les outils « de base », le cours de Mr Sieso reste bien sûr la référence et plus poussé.

Bon courage et ne lâchez rien !