

Questions Vague 1 Chinetti : Enzymologie

1) Dans le tableau comparant les différents types de coenzymes vous mentionnez que les coenzymes catalytiques/prosthétiques sont activateurs. Cependant plusieurs étudiants ont du mal avec cette notion. En effet, pour eux, les coenzymes stœchiométriques sont aussi activateurs dans le sens où ils sont des cofacteurs indispensables au fonctionnement de l'enzyme et qu'en leur absence l'enzyme n'est pas fonctionnelle. Pourriez-vous détailler davantage cette notion ?

Réponse :

Je ne vois pas à quel tableau vous faites référence. En effet le concept « activateur » est lié à leur rôle au cours de la réaction enzymatique. Ce n'est pas une notion fondamentale. Ce qu'il faut retenir est que les deux classes de co-enzymes (catalytiques et stoechiométriques) sont indispensables pour l'activité de l'enzyme qui les requiert.

2) L'année dernière on vous avait posé la question suivante :

« Les étudiants, après avoir appris le modèle de l'ajustement induit, se demandent s'il s'agit de l'enzyme ou du substrat qui se trouve dans son état de transition. Que doivent ils retenir pour le concours ? **L'état de transition concerne des modifications au niveau du substrat** »

Confirmez-vous le fait que l'enzyme elle ne se trouve donc pas dans un état de transition ?

Réponse :

Oui ça ne concerne que le substrat et correspond à un état énergétique maximale, donc instable. La différence entre l'énergie du substrat du départ et celle de son état de transition correspond à l'énergie d'activation. Cette barrière doit être franchie pour que le substrat se transforme en produit. C'est cette barrière qui est baissée par la présence de l'enzyme.

3) Que pensez-vous de cet item ?

« Durant la phase stationnaire la vitesse de réaction augmente jusqu'à atteindre la V_{max} »

Correction : en phase stationnaire pas d'augmentation de la vitesse on est déjà à la vitesse maximale toutes les enzymes sont utilisées et saturées

Car après réflexion et en me basant sur vos réponses des années précédentes la réalité me semble un peu plus complexe un tel item serait-il a compté juste cependant ?

En effet, l'année dernière vous aviez répondu que *« Pendant la phase stationnaire, la vitesse initiale (V_i) est dépendante de la concentration en substrat pour les concentrations en substrat inférieures à $10-20 \times K_m$. Pour les concentrations en substrat supérieures à $10-20 \times K_m$, la V_i est constante, tend vers V_{max} , et est indépendante de la concentration en substrat »* cela sous-entend donc que même durant la phase stationnaire la V_{max} n'est pas de suite atteinte ?

Réponse :

En effet dans la phase stationnaire la vitesse de réaction est constante, mais pas forcément maximale. Elle est maximale pour des concentrations « infinies » de substrat et est représentée par l'asymptote de la curve hyperbolique des enzymes michaeliennes.

4) Plusieurs étudiants semblent avoir des difficultés avec la notion suivante : « on considère dans la phase stationnaire l'accumulation de produit comme négligeable » en effet pour eux la phase stationnaire correspond à la phase durant laquelle les produits sont créés le plus rapidement ils ne comprennent donc pas comment leur accumulation peut être négligeable.

J'avais proposé l'explication suivante : « en fait on se place à des temps relativement précoces, donc on étudie la phase stationnaire mais au début en quelque sorte tant qu'il n'y a pas encore trop de produit qui s'accumule ce qui nous permet de considérer comme négligeable la réaction permettant d'aller du produit au complexe ES.

Certains étudiants trouvent donc l'item trop générale car il ne s'applique qu'au début de la phase stationnaire.

Je leur ai donc répondu : « que par principe dans les études cinétiques on se placera toujours dans cette phase stationnaire et toujours vers son début pour justement considérer l'accumulation de produit comme négligeable pour ne pas être gênés dans les calculs, et qu'ici la formulation ne sous-entend pas une exacte réalité chimique mais une façon de concevoir une phase de réaction pour effectuer des mesures et des calculs.

Qu'en pensez-vous ? Auriez-vous d'autres précisions à transmettre aux étudiants ?

Réponse :

En effet, quand on étudie la phase stationnaire on se positionne au début de la réaction enzymatique de façon à pouvoir négliger l'accumulation de produit. Pendant cette phase il y a la production de produit mais sa concentration est négligeable en quantité et par rapport à la concentration en substrat.

5) En cours vous avez dit que **le site actif constitue un microenvironnement unique hydrophobe** (l'eau ne participe pas à ce microenvironnement, sauf si elle est le substrat de la réaction). Donc considérez-vous que cet item (où l'on ne précise pas que le substrat n'est pas l'eau) est vrai ou faux ? « Le site actif est hydrophobe. »

Réponse :

En effet cet item mériterait d'être complété avec plus de précisions du contexte

6) En cours et sur le diaporama, vous décrivez 4 différents types d'acides aminés : indifférents, de conformation, auxiliaires et de contact. Cependant vous dites aussi que :

- Les **AA auxiliaires** sont proches du site actif
- Le site actif correspond à une crevasse à la périphérie de la protéine formée par les chaînes latérales des **AA de contact**.

Ainsi les étudiants se demandent si vous considérez comme constituant du site actif l'ensemble des 4 types d'AA ou uniquement les AA de contact ?

Réponse :

Les 4 types d'AA font partie du site actif

7) En cours vous avez dit que les enzymes participent aux réactions biochimiques et contrôlent 2 facteurs de ces réactions :

- La **Vitesse**
- La **Spécificité**

Les étudiants ne comprennent pas en quoi les enzymes contrôlent la spécificité des réactions, pouvez-vous détailler ?

Réponse :

Lorsqu'un substrat subit une transformation chimique pour donner un produit de réaction il est important que il n'y ait pas de réaction secondaires et donc formation de produits secondaires. La spécificité qui est nécessaire entre enzyme et substrat pour qu'une réaction se fasse garantie qu'une enzyme donnée agisse toujours sur la même molécule de substrat ou au moins sur des substrats appartenant à la même famille (ex : les acides aminés).

8) A propos du clivage protéolytique (dia 25 du diapo 3), vous dites que le zymogène est un précurseur **inactif** qui sera activé par clivage protéolytique. Cependant vous définissez aussi le Clivage protéolytique comme un mécanisme par lequel les niveaux d'une enzyme /d'une hormone **active** peuvent être rapidement **augmentés** après action d'une endopeptidase. Les étudiants ne comprennent pas pourquoi on parle d'enzyme /d'hormone **active** dont le niveau peut être **augmenté** alors qu'on a défini le zymogène comme un précurseur **inactif**. Pouvez-vous détailler ?

Réponse :

Les zymogènes sont inactifs. Pour « libérer » le fragment actif de l'enzyme en question, il faut que le zymogène subisse un clivage protéolytique qui est réalisé par l'action d'une autre enzyme, une endopeptidase. L'action de l'endopeptidase permet donc d'obtenir une enzyme dans sa forme active et de contrôler la disponibilité (et donc la concentration) d'enzyme sous sa forme active.

9) Dans le diaporama et en cours, vous parlez de l'inhibition par excès de substrat dans la partie sur les **processus de régulation physico-chimique** (dia 4) et les **processus de régulation non physico-chimique** (dia 23).

Les étudiants aimeront savoir si l'inhibition par excès de substrat est donc un **processus physico-chimique** ou non de **régulation de l'activité enzymatique**.

Contrôle de l'activité enzymatique (1/2)

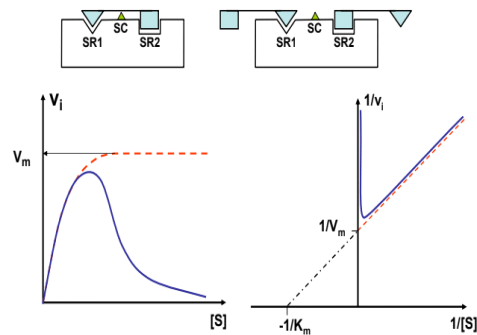
Plusieurs processus sont à la base du contrôle de l'activité des enzymes :

Processus physico-chimiques

L'activité d'une enzyme,

- dépend de sa **concentration**
- Dépend de sa **localisation** (tissulaire, cellulaire intra/extracellulaire) cela concerne :
 - les fonctions de **synthèse** et de **dégradation** des enzymes,
 - leur **trafic intracellulaire** et/ou leur **sécrétion**
- de son **environnement** :
 - pH**
 - température**
 - cofacteurs** (ions, coenzymes)
 - concentration en substrat** (cinétique + inhibition par excès de [S])

Inhibition par excès de substrat



Réponse :

Dans la diapo 4 : il est indiqué que l'environnement peut influencer l'activité enzymatique. Parmi les facteurs de l'environnement il y a le pH, la Température ainsi que la concentration en substrat. Elle peut être responsable d'une inhibition de l'activité enzymatique lorsque en présence d'une quantité excessive de substrat celui-ci ne se positionne pas de façon optimale dans le site actif. L'inhibition elle-même est de nature chimique.