

# TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE.....	5
<b>1 – PRINCIPES DE BASE DE LA CINÉTIQUE CHIMIQUE.....</b>	<b>7</b>
1.1. <i>Introduction</i> .....	7
Les conventions d'écriture des réactions chimiques.....	7
1.2. <i>Les principes de base de la cinétique chimique</i> .....	10
1.2.1. Vitesse de réaction et équation de vitesse.....	10
1.2.2. Mécanisme de réaction et réactions élémentaires .....	11
1.2.3. Ordre et molécularité d'une réaction.....	11
1.2.4. Détermination de l'ordre d'une réaction.....	15
1.2.5. Dimensions des constantes de vitesse.....	16
1.2.6. Les réactions réversibles .....	19
1.2.7. Détermination des constantes de vitesse du premier ordre.....	20
<i>Problèmes</i> .....	23
<b>2 – LA THERMODYNAMIQUE ET LA THÉORIE DES VITESSES.....</b>	<b>25</b>
2.1. <i>La thermodynamique et ses limites</i> .....	25
2.2. <i>Concepts généraux de la thermodynamique</i> .....	26
2.2.1. États du système .....	26
2.2.2. Un «processus» est un événement au cours duquel une propriété du système change.....	27
2.3. <i>Les lois de la thermodynamique</i> .....	28
2.3.1. Loi de conservation de l'énergie.....	28
2.3.2. La définition de l'entropie et du critère de spontanéité.....	30
2.3.3. La définition statistique de l'entropie .....	31
2.3.4. L'entropie dans les systèmes vivants et les réactions couplées .....	32
2.3.5. L'énergie de GIBBS.....	32
2.3.6. Le potentiel chimique : L'énergie de GIBBS d'un soluté dépend de sa concentration.....	33
2.3.7. Relation entre la constante d'équilibre et la variation d'énergie de GIBBS .....	34
2.4. <i>Relations entre la thermodynamique et la cinétique :</i> <i>les notions d'équilibre et d'état stationnaire</i> .....	37
2.4.1. Distinction entre vitesse initiale et vitesse nette.....	37
2.4.2. L'état d'équilibre .....	38
2.4.3. L'état stationnaire .....	41

2.5. L'influence de la température sur les constantes de vitesse.....	45
2.5.1. Le profil réactionnel .....	45
2.5.2. L'équation d'ARRHENIUS .....	46
2.5.3. Théorie de collision élémentaire.....	47
2.5.4. Théorie de l'état de transition - Théorie de la vitesse absolue.....	49
2.5.5. Les enzymes stabilisent l'état de transition de la réaction .....	53
Problèmes .....	54
<b>3 – INTRODUCTION À LA CINÉTIQUE ENZYMATIQUE</b>	
<b>RÉACTIONS À UN SUBSTRAT ET UN PRODUIT.....</b>	<b>55</b>
<b>3.1. Historique .....</b>	<b>55</b>
3.1.1. La découverte des enzymes.....	55
3.1.2. Les premières études de la cinétique enzymatique et le développement du concept du complexe enzyme-substrat .....	57
3.1.3. Les travaux de Victor HENRI.....	59
3.1.4. Les problèmes rencontrés par HENRI.....	63
3.1.5. La notion de site actif et le mécanisme d'action des enzymes .....	66
<b>3.2. Description cinétique des réactions enzymatiques         dans des conditions d'équilibre .....</b>	<b>67</b>
3.2.1. La première équation cinétique : l'équation de HENRI .....	67
3.2.2. Le traitement de MICHAELIS et MENTEN .....	70
<b>3.3. Description cinétique des réactions enzymatiques         dans des conditions d'état stationnaire .....</b>	<b>72</b>
3.3.1. Les premières utilisations de la notion d'état stationnaire .....	72
3.3.2. Le traitement de BRIGGS et HALDANE .....	73
3.3.3. L'équation de MICHAELIS et MENTEN .....	75
3.3.4. Analyse de la courbe définie par l'équation de MICHAELIS et MENTEN .....	76
3.3.5. Autres formes de l'équation de MICHAELIS et MENTEN .....	78
3.3.6. L'équilibre comme un cas particulier de l'état stationnaire.....	79
3.3.7. Validité et limites de l'hypothèse de l'état stationnaire .....	79
<b>3.4. Unités de l'activité enzymatique.....</b>	<b>81</b>
<b>3.5. Méthodes d'analyse des données cinétiques.....</b>	<b>82</b>
3.5.1. Le graphique de $v$ en fonction de $[A]$ .....	82
3.5.2. Différentes méthodes de transformation linéaire .....	84
<b>3.6. Les réactions réversibles.....</b>	<b>96</b>
3.6.1. L'équation de vitesse du mécanisme réversible simple .....	96
3.6.2. L'équation de vitesse du mécanisme en trois étapes : traitement à l'équilibre .....	98
3.6.3. La relation de HALDANE.....	100
3.6.4. L'équation de vitesse du mécanisme en trois étapes : cas à l'état stationnaire.....	102
3.6.5. Utilisation du profil d'énergie de GIBBS.....	104
3.6.6. Les enzymes unidirectionnels .....	104
<b>3.7. Inhibition par le produit .....</b>	<b>107</b>
<b>3.8. Intégration des équations de vitesse pour les réactions enzymatiques .....</b>	<b>108</b>
3.8.1. Équation de MICHAELIS et MENTEN sans inhibition par le produit .....	108
3.8.2. Inhibition par le produit.....	109

3.8.3. Mesures précises des vitesses initiales.....	110
3.8.4. Les décours complets dans d'autres cas .....	114
<i>Problèmes</i> .....	115
<b>4 – ASPECTS PRATIQUES DES ÉTUDES CINÉTIQUES</b> .....	119
<b>4.1. Mesure de l'activité enzymatique</b> .....	119
4.1.1. Méthodes continues et discontinues de mesure.....	119
4.1.2. Estimation de la vitesse initiale.....	120
4.1.3. Amélioration de la linéarité d'un décours de réaction .....	121
4.1.4. Les systèmes couplés.....	123
<b>4.2. Détection de l'inactivation d'un enzyme</b> .....	127
<b>4.3. Choix des conditions expérimentales</b> .....	129
4.3.1. Choix des concentrations de substrat.....	129
4.3.2. Choix du <i>pH</i> , de la température et des autres conditions.....	131
4.3.3. Réplication des mesures .....	132
<b>4.4. Traitement des équilibres ioniques</b> .....	135
<i>Problèmes</i> .....	137
<b>5 – INHIBITION ET ACTIVATION DES ENZYMES</b> .....	139
<b>5.1. Inhibition réversible et irréversible</b> .....	139
5.1.1. Les poisons de la réaction catalytique .....	139
5.1.2. Analyse de la vitesse d'inactivation.....	139
5.1.3. Types d'inhibition réversible .....	140
<b>5.2. Inhibitions linéaires</b> .....	141
5.2.1. Inhibition compétitive (ou inhibition spécifique).....	141
5.2.2. Inhibition mixte .....	143
5.2.3. L'inhibition anti-compétitive (inhibition catalytique) .....	146
5.2.4. Résumé des types d'inhibition linéaire.....	147
<b>5.3. Présentations graphiques des résultats des inhibitions</b> .....	148
<b>5.4. Relation entre les constantes d'inhibition et la concentration de demi-inhibition</b> .....	151
<b>5.5. Inhibition par compétition avec un substrat</b> .....	154
5.5.1. Spécificité de l'enzyme .....	154
5.5.2. Test du déroulement simultané de deux réactions.....	156
5.5.3. Protection par le substrat.....	158
<b>5.6. Activation des enzymes</b> .....	159
5.6.1. Diverses utilisations du terme «activation».....	159
5.6.2. Activation spécifique.....	160
5.6.3. Activation et inhibition hyperboliques .....	163
<b>5.7. Préparation des expériences d'inhibition</b> .....	164
<b>5.8. Effets inhibiteurs des substrats</b> .....	166
5.8.1. Fixation non-productive .....	166
5.8.2. Inhibition par le substrat.....	169

5.9. La modification d'un groupe de l'enzyme comme un moyen d'identifier les groupes essentiels .....	171
Problèmes .....	174
<b>6 – RÉACTIONS À PLUSIEURS SUBSTRATS .....</b>	<b>179</b>
6.1. Introduction .....	179
6.2. Classification des mécanismes .....	180
6.2.1. Les mécanismes à complexe ternaire .....	180
6.2.2. Mécanismes à enzyme modifié .....	183
6.2.3. Comparaison entre la classification chimique et la classification cinétique .....	184
6.2.4. Représentation schématique des mécanismes .....	187
6.3. Dérivation des équations de vitesse à l'état stationnaire .....	189
6.3.1. Introduction .....	189
6.3.2. La méthode de KING et ALTMAN .....	189
6.3.3. La méthode de WONG et HANES .....	193
6.3.4. Modifications de la méthode de KING et ALTMAN .....	194
6.3.5. Réactions renfermant des étapes à l'équilibre .....	197
6.3.6. Analyse des mécanismes par inspection .....	199
6.3.7. Dérivation des équations de vitesse par ordinateur .....	202
6.4. Les équations de vitesse .....	205
6.4.1. Mécanisme de type ordonné à complexe ternaire .....	205
6.4.2. Mécanisme de type aléatoire à complexe ternaire .....	206
6.4.3. Mécanisme à enzyme modifié .....	208
6.4.4. Calcul des constantes de vitesse à partir des paramètres cinétiques .....	208
6.5. Les mesures de vitesse initiale en absence de produit .....	210
6.5.1. Signification des paramètres .....	210
6.5.2. Paramètres apparents de MICHAELIS et MENTEN .....	212
6.5.3. Les graphiques primaires pour les mécanismes à complexe ternaire .....	213
6.5.4. Les graphiques secondaires .....	214
6.5.5. Graphiques pour les mécanismes à enzyme modifié .....	216
6.6. Inhibition par le substrat .....	217
6.6.1. Pourquoi y a-t-il une inhibition par le substrat ? .....	217
6.6.2. Mécanisme de type ordonné à complexe ternaire .....	218
6.6.3. Mécanisme de type aléatoire à complexe ternaire .....	219
6.6.4. Mécanisme à enzyme modifié .....	219
6.6.5. Valeur diagnostique de l'inhibition par le substrat .....	220
6.7. Inhibition par le produit .....	221
6.8. Préparation des expériences .....	223
6.9. Un exemple simple d'étude d'un enzyme à deux substrats et deux produits : la créatine kinase .....	224
6.9.1. Application pratique de la mesure des paramètres pour la créatine kinase .....	228
6.10. Réactions à trois substrats et plus .....	229
Problèmes .....	233

<b>7 – UTILISATION D'ISOTOPES POUR L'ÉTUDE DES MÉCANISMES ENZYMATIQUES</b> .....	237
7.1. <i>Echange isotopique et effets isotopiques</i> .....	237
7.2. <i>Principes de l'échange d'isotope</i> .....	238
7.3. <i>Echange d'isotopes à l'équilibre</i> .....	241
7.4. <i>Echange d'isotopes dans des mécanismes à enzyme modifié</i> .....	242
7.5. <i>Echange d'isotopes hors équilibre</i> .....	243
7.5.1. <i>Rapports de flux chimiques</i> .....	243
7.5.2. <i>Cinétiques d'isomérisation</i> .....	247
7.5.3. <i>Perturbation par un traceur</i> .....	249
7.6. <i>La théorie des effets isotopiques cinétiques</i> .....	251
7.6.1. <i>Effets isotopiques primaires</i> .....	251
7.6.2. <i>Effets isotopiques secondaires</i> .....	253
7.6.3. <i>Effets isotopiques sur les équilibres</i> .....	253
7.7. <i>Effets isotopiques primaires sur les cinétiques enzymatiques</i> .....	254
<i>Problèmes</i> .....	256
<b>B – EFFETS DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES ENZYMES</b> .....	257
8.1. <i>Effet du pH sur les cinétiques enzymatiques</i> .....	257
8.2. <i>Les propriétés acide-base</i> .....	259
8.2.1. <i>Les équilibres d'ionisation</i> .....	259
8.2.2. <i>Les tampons</i> .....	263
8.2.3. <i>Les propriétés acide-base des protéines</i> .....	265
8.2.4. <i>Analyse sur la base des constantes de dissociation des groupes</i> .....	267
8.2.5. <i>Analyse sur la base des constantes de dissociation moléculaires</i> .....	269
8.2.6. <i>Les fonctions pH de MICHAELIS</i> .....	270
8.2.7. <i>Les courbes en cloche</i> .....	271
8.3. <i>L'effet du pH sur les constantes cinétiques enzymatiques</i> .....	273
8.3.1. <i>Hypothèses sous-jacentes</i> .....	273
8.3.2. <i>La dépendance au pH des paramètres <math>V</math> et <math>V/K_m</math></i> .....	274
8.3.3. <i>Les paramètres indépendants du pH et leur relation avec les paramètres «apparents»</i> .....	276
8.3.4. <i>La dépendance au pH de <math>K_m</math></i> .....	277
8.3.5. <i>Préparation des expériences</i> .....	279
8.4. <i>Ionisation du substrat</i> .....	280
8.5. <i>Effets complexes du pH</i> .....	280
8.6. <i>Effets de la température sur les réactions catalysées par des enzymes</i> .....	281
8.6.1. <i>Dénaturation thermique</i> .....	281
8.6.2. <i>L'«optimum» de température</i> .....	283
8.6.3. <i>Application de l'équation d'EYRING aux enzymes</i> .....	284
8.7. <i>Effets de la pression sur les réactions catalysées par des enzymes</i> .....	285
8.7.1. <i>Effets de la pression sur les équilibres et les vitesses de réaction</i> .....	285
8.7.2. <i>Effet de la pression sur les interactions non-covalentes</i> .....	287
8.7.3. <i>Effets de la pression sur les réactions enzymatiques</i> .....	287

8.8. Effets isotopiques du solvant.....	289
Problèmes .....	291
<b>9 – CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE.....</b>	<b>293</b>
9.1. Fonction des interactions coopératives et allostériques.....	293
9.1.1. Cycles futiles .....	293
9.1.2. Mécanismes de régulations de l'activité enzymatique.....	294
9.1.3. Inadéquation de l'équation de MICHAELIS et MENTEN pour décrire les mécanismes de régulation.....	296
9.1.4. La coopérativité .....	297
9.1.5. Interactions allostériques.....	298
9.2. Le développement de modèle expliquant la coopérativité .....	299
9.2.1. L'équation de HILL.....	299
9.2.2. Un autre index de coopérativité .....	301
9.2.3. Hypothèse d'un équilibre de fixation dans les cinétiques coopératives.....	301
9.2.4. L'équation d'ADAIR .....	303
9.2.5. Définitions mécaniques et opérationnelles de la coopérativité.....	307
9.3. Ajustement induit.....	309
9.4. Modèles modernes de coopérativité .....	311
9.4.1. Le modèle symétrique de MONOD, WYMAN et CHANGEUX .....	311
9.4.2. Le modèle séquentiel de KOSHLAND, NÉMETHY et FILMER.....	318
9.4.3. Modèles association-dissociation.....	324
9.5. Coopérativité cinétique.....	325
Problèmes .....	327
<b>10 – CINÉTIQUES DES SYSTÈMES MULTI-ENZYMATIQUES .....</b>	<b>329</b>
10.1. Les enzymes dans leur contexte biologique.....	329
10.2. Analyse du contrôle métabolique .....	330
10.3. Élasticités.....	332
10.3.1. Définition de l'élasticité.....	332
10.3.2. Propriétés communes des élasticités.....	335
10.3.3. Les cinétiques enzymatiques vues à travers l'analyse du contrôle .....	336
10.3.4. Considération des vitesses et des concentrations comme des effets et non comme des causes.....	337
10.4. Les coefficients de contrôle.....	340
10.5. Relations d'addition.....	342
10.6. Relations entre les élasticités et les coefficients de contrôle de flux .....	344
10.6.1. Propriétés de connectivité .....	344
10.6.2. Les coefficients de contrôle dans une voie à trois étapes.....	346
10.6.3. Expression des relations d'addition et de connectivité sous une forme matricielle .....	348
10.6.4. Relation de connectivité pour un métabolite non-impliqué dans une boucle de contrôle rétroactif.....	348

10.6.5. Le coefficient de contrôle de flux d'un enzyme pour le flux au travers de sa propre réaction .....	349
<b>10.7. Les coefficients de réponse : la réponse partagée .....</b>	<b>350</b>
<b>10.8. Contrôle et régulation.....</b>	<b>351</b>
<b>10.9. Mécanismes de régulation .....</b>	<b>355</b>
10.9.1. Canalisation de métabolites.....	355
10.9.2. Cascades d'enzymes convertibles .....	357
10.9.3. Le rôle métabolique de l'adénylate kinase.....	359
<b>Problèmes .....</b>	<b>362</b>
<b>11 – LES RÉACTIONS RAPIDES .....</b>	<b>365</b>
<b>11.1. Les limitations des mesures à l'état stationnaire.....</b>	<b>365</b>
11.1.1. Phases transitoires .....	365
11.1.2. Etapes «lentes» et «rapides» dans les mécanismes enzymatiques.....	366
11.1.3. Ambiguïtés dans l'analyse à l'état stationnaire de systèmes impliquant des isomérisations d'intermédiaires.....	367
11.1.4. Mauvais conditionnement .....	369
<b>11.2. Libération du produit avant la fin de cycle catalytique.....</b>	<b>370</b>
11.2.1. Les cinétiques avec burst .....	370
11.2.2. Titrage du site actif.....	372
<b>11.3. Les techniques expérimentales.....</b>	<b>373</b>
11.3.1. Les classes de méthodes.....	373
11.3.2. Les méthodes de flux continu .....	375
11.3.3. Les méthodes de stopped-flow.....	376
11.3.4. Le quenched flow .....	377
11.3.5. Les méthodes de relaxation.....	380
<b>11.4. La cinétique des phases transitoires .....</b>	<b>382</b>
11.4.1. Les systèmes hors d'équilibre.....	382
11.4.2. Simplification de mécanismes complexes.....	386
11.4.3. Les systèmes proches de l'équilibre.....	389
<b>Problèmes .....</b>	<b>392</b>
<b>12 – ESTIMATION DES CONSTANTES CINÉTIQUES .....</b>	<b>393</b>
<b>12.1. L'effet des erreurs expérimentales dans l'analyse des données cinétiques .....</b>	<b>393</b>
<b>12.2. Ajustement sur une équation de MICHAELIS et MENTEN par la méthode des moindres carrés .....</b>	<b>396</b>
12.2.1. Introduction d'erreurs dans l'équation de MICHAELIS et MENTEN .....	396
12.2.2. Estimations de $V$ et de $K_m$ .....	397
12.2.3. Résultats correspondants pour une déviation standard uniforme des vitesses.....	399
<b>12.3. Aspects statistiques du graphique linéaire direct .....</b>	<b>400</b>
12.3.1. Comparaison entre les statistiques classiques et les statistiques à distribution libre.....	400
12.3.2. Application au graphique linéaire direct.....	402
12.3.3. Absence de la nécessité d'utiliser des pondérations .....	403

12.3.4. Insensibilité vis-à-vis d'observations exceptionnelles.....	404
12.3.5. Traitement des estimations négatives des paramètres.....	405
12.4. <i>Précision des estimations des paramètres cinétiques</i> .....	407
12.5. <i>Graphiques des résidus et leurs utilisations</i> .....	411
<i>Problèmes</i> .....	416
<i>SOLUTIONS DES PROBLÈMES ET COMMENTAIRES</i> .....	419
<i>RÉFÉRENCES</i> .....	427
<i>INDEX</i> .....	443
<i>TABLE DES MATIÈRES</i> .....	455