

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

4.1.1. Equation de Michaëlis-Menten :

La modélisation mathématique de la cinétique d'une réaction selon Michaëlis-Menten se base sur deux termes : les concentrations des différentes molécules ou complexes de molécules et les constantes d'association et de dissociation de ces molécules entre elles (schéma 6).

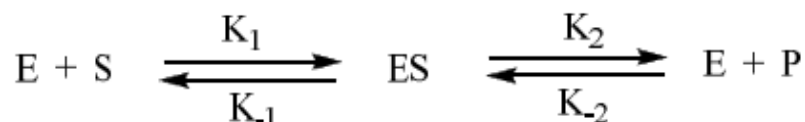


Schéma I. 6. Mécanisme de la réaction enzymatique selon Michaëlis-Menten.

Avec : k_1 = constante d'association de $E + S$

k_{-1} = constante de dissociation du complexe ES

k_2 = constante de réaction de ES en $E + P$

k_{-2} = constate d'association de $E + P$

L'équation de Michaëlis-Menten permet d'obtenir une expression de la vitesse initiale V_0 de la réaction en fonction de grandeurs connues (fixées par l'expérimentateur ou mesurées).

Pour cela, il faut se placer dans des conditions expérimentales particulières, à savoir : concentration en substrat $[S]$ très largement supérieure à la concentration totale en enzyme $[E]_T$ et absence ou quasi-absence de produit P ³⁹. La première condition est obtenue en choisissant des quantités adaptées d'enzyme et de substrat à introduire dans le milieu réactionnel, la seconde en réalisant les mesures suffisamment rapides pour que la quantité de substrat transformé en produit soit faible⁴⁰. A partir du moment où ces conditions sont réunies, on peut effectuer les approximations suivantes :

1. Les mesures de cinétique seront toujours réalisées pour des concentrations de produit très faibles : c'est la mesure de la vitesse initiale (v_i) pour $[P] \cong 0$ et $[S] \cong [S]_0$ où $[S]_0$ est la concentration du substrat à l'instant initial. Cela signifie que la vitesse d'apparition du complexe ES par association de E et de P (donnée par $V = K_{-2} [E] [P]$) est négligeable.

2. La concentration totale du substrat $[S]_0$ est très grande par rapport à $[E]_T$, la concentration maximale en complexe $[ES]_{\max}$ est limitée par $[E]_T$ et sera donc toujours

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

négligeable comparée à $[S]_0$, même à saturation de tous les sites actifs. Or $[S] = [S]_0 - [ES]$, donc si $[ES]$ est négligeable face à $[S]_0$, on a l'approximation suivante : $[S] = [S]_0$.

3. Dès l'addition de l'enzyme dans la solution de substrat, il s'établit un équilibre rapide entre les formes libres de l'enzyme $[E]$, du substrat $[S]$ et du complexe $[ES]$ (appelé complexe de Michaëlis), on parle d'hypothèse de l'état stationnaire. En terme cinétique cela se traduit par $\frac{d[ES]}{dt} = 0$

Après avoir posé ces hypothèses on peut calculer la vitesse d'apparition du produit en résolvant le système d'équations suivant :

$$\begin{cases} V = K[ES] & eq. 1 \\ K_M = \frac{[E][S]}{[ES]} & eq. 2 \\ [S_0] = [S] + [ES] + [P] & eq. 3 \\ [E_0] = [E] + [ES] & eq. 4 \end{cases}$$

Avec $K_M = \frac{K_2 + K_{-1}}{K_1}$: la constante de dissociation du complexe $[ES]$ (appelée constante de Michaëlis-Menten).

La vitesse d'apparition du produit est donnée par l'équation suivante :

$$V = \frac{K_2[E]_0 [S]_0}{K_M + [S]_0} \quad eq. 5$$

Soit $V_{max} = K_2[E]_0$ (vitesse maximale pour $[S]_0 \gg K_M$), la vitesse s'écrit sous la forme :

$$V = \frac{V_{max} [S]_0}{K_M + [S]_0} \quad eq. 6 \quad (\text{équation de Michaëlis})$$

4.1.2. Détermination de V_{max} et K_M :

Les paramètres cinétiques de la réaction enzymatique V_{max} et K_M sont définis de la façon suivante :

- V_{max} représente la vitesse maximale de la réaction. Elle est atteinte pour une concentration élevée en substrat et traduit la saturation de l'enzyme par le substrat, c'est-à-dire lorsque l'enzyme est entièrement sous forme de complexe $(ES)^{41}$.

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

- K_M représente la concentration en substrat pour laquelle la vitesse est égale à la moitié de V_{max} ou pour laquelle la moitié des sites actifs de l'enzyme est occupée. Ainsi plus le K_M est faible et plus l'affinité de l'enzyme pour le substrat est importante⁴¹.

Ces paramètres cinétiques peuvent facilement être déterminés :

- en traçant la courbe double inverse selon Lineweaver et Burk $\frac{1}{V_t}$ en fonction de $\frac{1}{[S]}$.

L'équation de la vitesse initiale (eq.6) devient :

$$\frac{1}{V_t} = \frac{K_M + [S]_0}{V_{max} [S]_0} \quad eq. 7$$

- En portant sur un graphique les valeurs de obtenues $\frac{[S]}{V_t}$ pour différentes concentrations en substrat $[S]$. Cette représentation graphique est appelée (représentation de Hanes-Woolf)³⁹. En effet, on peut transformer l'équation de Michaelis-Menten (eq.6) en l'équation suivante :

$$\frac{[S]}{V_t} = \frac{[S]}{V_{max}} + \frac{K_M}{V_{max}} \quad eq. 8$$

4.2. Types d'inhibition enzymatique :

Si la vitesse d'une réaction enzymatique diminue dans des conditions où l'enzyme n'est pas dénaturée, cela signifie que l'enzyme est inhibée⁴².

De nombreuses substances modifient l'activité d'une enzyme en s'y combinant, ce qui altère la liaison du substrat et/ou sa constante catalytique. Les substances qui diminuent ainsi l'activité d'une enzyme sont appelées des inhibiteurs.

Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est fréquemment utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme³⁹.

Les inhibiteurs d'enzymes peuvent être classés en deux types : inhibiteurs réversibles et inhibiteurs irréversibles. Les inhibiteurs réversibles s'associent à l'enzyme de manière non covalente, alors que les inhibiteurs irréversibles forment des liaisons covalentes stables avec l'enzyme. L'effet net de l'inhibition correspond à une diminution de la concentration de l'enzyme active⁴³.

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

4.2.1. Inhibition réversible :

On distingue dans l'inhibition réversible trois catégories principales: les inhibiteurs compétitifs, non compétitifs et incompétitifs.

4.2.1.1. Inhibition compétitive :

Généralement un inhibiteur compétitif ressemble structurellement au substrat à un point tel qu'il se lie au site actif de l'enzyme mais sans donner de réaction. L'inhibiteur (I) entre en compétition directement avec le substrat (S) pour un site actif de l'enzyme (E). La fixation de l'inhibiteur empêche celle du substrat et réciproquement. Leurs fixations sont mutuellement exclusives. Il y a donc formation de deux complexes (EI) et (ES). La présence du complexe (EI) ralentit la réaction de formation de produit (P) en diminuant la concentration de l'enzyme libre (E) ⁴⁴.

Le mécanisme réactionnel est représenté dans le schéma 7 :

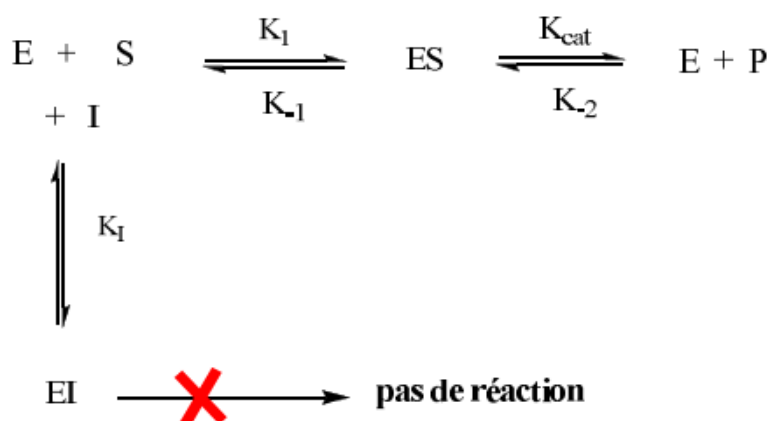


Schéma I. 7. Mécanisme réactionnel de l'inhibition compétitive.

Différents modèles rendent compte du mécanisme de l'inhibition compétitive.

a. Le substrat et l'inhibiteur ont le même site de fixation (modèle classique). Dans ce modèle il n'existe qu'un seul site de fixation pour les deux molécules (substrat et inhibiteur). La fixation exclusive résulte d'une analogie de structure entre le substrat et l'inhibiteur (figure.1 modèle1).

b. Les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur sont distincts. Il existe d'autres modèles où le substrat et l'inhibiteur se fixent sur des sites distincts. Malgré la possibilité de fixation de l'inhibiteur et du substrat sur l'enzyme dans des emplacements différents,

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

le mécanisme de l'inhibition est considéré de type compétitif, pour diverses raisons structurales, parmi lesquelles :

- L'encombrement stérique de l'inhibiteur qui empêche la fixation du substrat sur son site actif (figure.3, modèle2),
- Le substrat et l'inhibiteur ont un groupe en commun qui se fixe à l'enzyme sur un troisième site de fixation (figure.3, modèle3),
- Les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur se recouvrent (figure.3, modèle4),
- La fixation de l'inhibiteur, généralement de structure différente de celle du substrat, induit un changement de conformation de l'enzyme qui déforme ou masque le site de fixation du substrat (et inversement) (figure.1, modèle5).

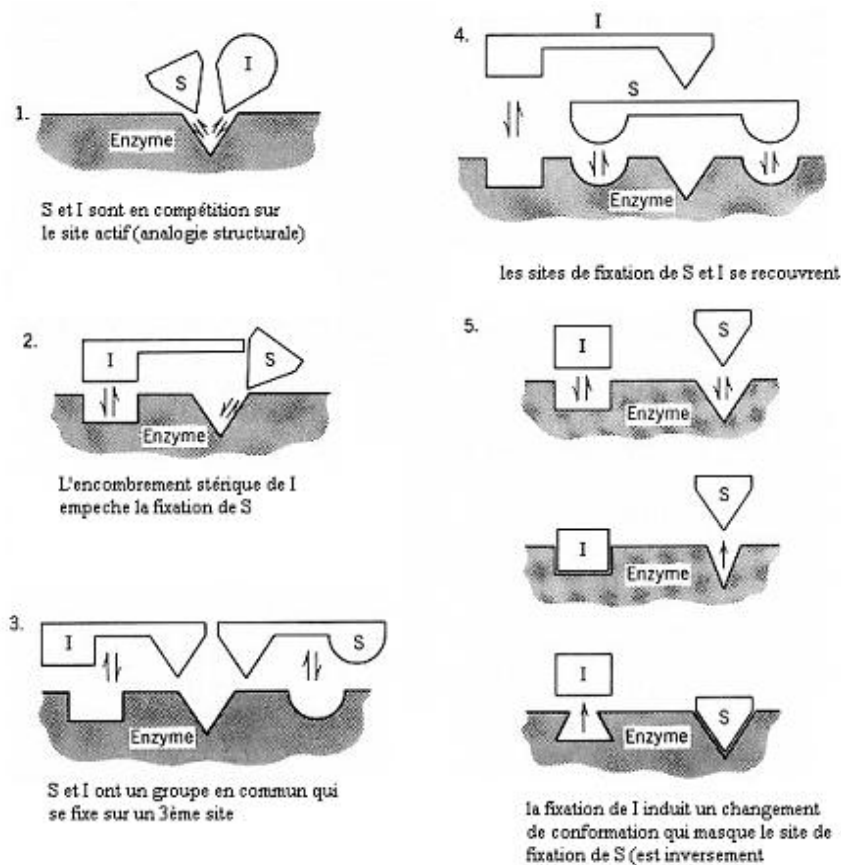


Figure I. 3. Les différents modèles de l'inhibition compétitive⁴⁴.

4.2.1.1.1. Cinétique de l'inhibition compétitive :

Si, à une concentration donnée de substrat $[S]$, on appelle V_i^I et V_i , les vitesses initiales mesurées en présence et en absence d'inhibiteur sont respectivement :

$$V_i = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad \text{eq.9}$$

$$V_i^I = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M^{app} + [S]} \quad \text{eq.10}$$

Avec
$$K_M^{app} = \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \cdot K_M \quad \text{eq.11}$$

Avec :

- V_{max} : la vitesse maximale de réaction, $[I]$ la concentration de l'inhibiteur (I),
- K_I : constante d'inhibition, qui définit l'affinité de l'enzyme pour l'inhibiteur. Plus la valeur de cette constante est faible plus l'inhibiteur est efficace.
- K_M^{app} : constante de Michaelis Menten apparente. Cette constante augmente avec la concentration en inhibiteur ce qui ralentit la vitesse de formation de produit de réaction comme montré dans la figure 4 où la valeur du K_M (en absence d'inhibiteur) est accrue d'un facteur de $1 + \frac{[I]}{K_I}$ (présence d'inhibiteur). Quand $[I]$ est nulle, les deux équations (eq.9) et (eq.10) sont identiques.

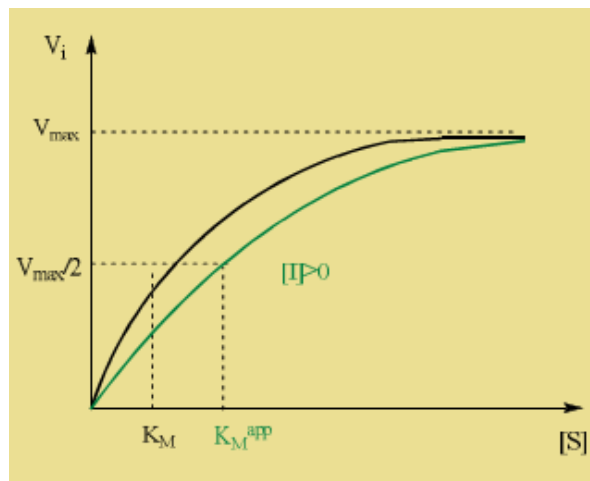


Figure I. 4. Représentation graphique de la vitesse initiale en fonction de la concentration de substrat.

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

On peut déterminer expérimentalement les valeurs de la vitesse maximale et la constante de Michaelis en traçant la courbe double inverse selon Lineweaver-Burk $\frac{1}{v_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ (figure 5) ou selon la courbe de Hanes-Woolf $\frac{[S]}{v_i} = f([S])$ (figure 6).

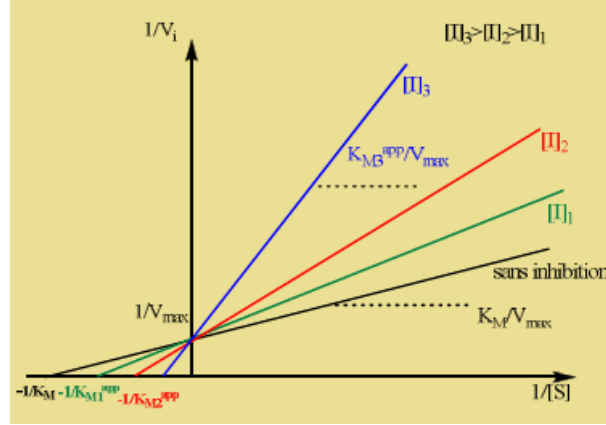


Figure I. 5. Représentation double inverse $\frac{1}{v_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ selon Lineweaver-Burk

La représentation de Hanes-Woolf pour différentes concentration en inhibiteur (figure 6) donne plusieurs droites parallèles, qui permettent d'obtenir les différentes constantes de Michaelis K_M^{app} et la vitesse maximale V_{max} . Les droites de pente $\left(\frac{1}{V_{max}}\right)$ coupent l'axe des abscisses au $\left(\frac{1}{K_M^{app}}\right)$

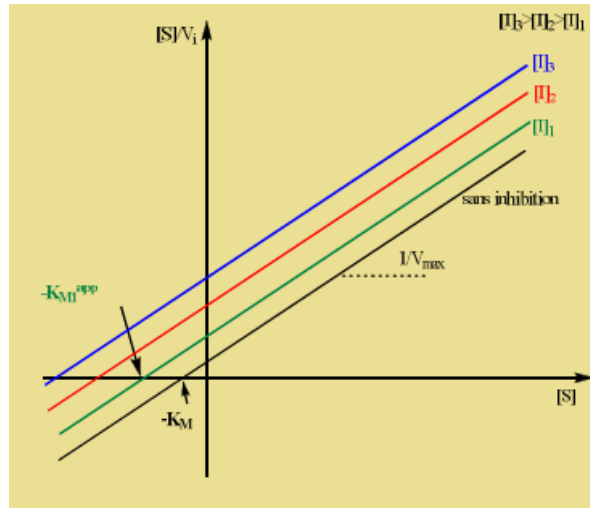


Figure I. 6. Représentation graphique $\frac{[S]}{v_i} = f([S])$ selon Hanes-Woolf.

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

La détermination expérimentale de la constante d'inhibition K_I est réalisée à partir de la représentation graphique de la constante de Michaelis pour différentes concentration d'inhibiteur (I) (eq.11). On obtient une droite qui coupe l'axe des abscisses en $(-K_I)$ (figure 7).

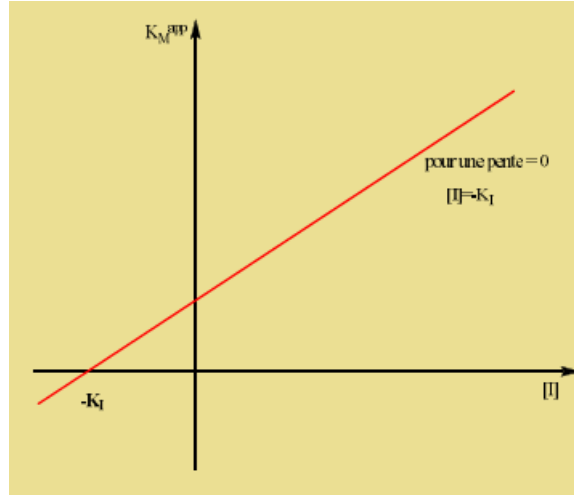


Figure I. 7. Représentation graphique $K_M = f([I])$ selon Lineweaver-Burk.

Il faut noter qu'en présence d'inhibiteur compétitif la constante de Michaelis K_M augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur (I). Le critère décisif de l'inhibition compétitive concerne la vitesse maximale de réaction V_{max} qui ne doit pas être affectée par la présence de l'inhibiteur I. Toutes les droites, dans le graphe double inverse de Lineweaver-Burk (figure 5), ont une intersection commune avec l'axe des ordonnées. Cela signifie que l'inhibiteur compétitif peut être libéré à concentration saturante de substrat.

4.2.1.1.2. Activité fractionnaire et degré d'inhibition :

L'activité fractionnaire (a) ou vitesse relative est définie par le rapport des vitesses initiales mesurées en présence et en absence d'inhibiteur⁴⁵ :

$$a = \frac{V_i^I}{V_i} = \frac{K_M + [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [S]} \quad eq. 12$$

L'activité fractionnaire est souvent exprimée en terme de pourcentage d'inhibition (i%) :

$$i = 1 - a = \frac{[I]}{K_I \left(1 + \frac{[S]}{K_M}\right) + [I]} \quad eq. 13$$

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

Le degré d'inhibition induit par un excès d'inhibiteur compétitif est maximal quand la concentration du substrat et la concentration de l'inhibiteur sont beaucoup plus importantes que K_M et K_I respectivement.

4.2.1.1.3. Mesure du paramètre IC_{50} :

Le paramètre IC_{50} représente la concentration d'inhibiteur pour laquelle la vitesse initiale de formation de produit diminue jusqu'à la moitié de sa valeur mesurée en absence d'inhibiteur (eq.14).

$$IC_{50} = [I] \text{ pour } V_i^I = \frac{V_i}{2} \quad eq. 14$$

La valeur expérimentale d' IC_{50} est obtenue à partir de la courbe $\frac{V_i^I}{V_i} = f([I])$ (figure.8).

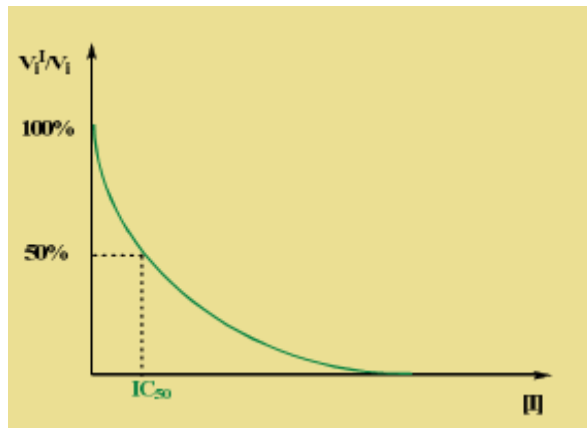


Figure I. 8. Détermination expérimentale d' IC_{50} à partir de la courbe $\frac{V_i^I}{V_i} = f([I])$

Pour une inhibition compétitive, l'expression qui détermine la valeur d' IC_{50} est la suivante:

$$IC_{50} = \frac{K_I}{K_M} [S] + K_I \quad eq. 15$$

Pour $[S] = IC_{50} K_M = 2K_I$

4.2.1.2. Inhibition non compétitive :

Dans le cas d'inhibition non compétitive, l'inhibiteur n'a aucune influence sur la fixation du substrat (et réciproquement), les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur sont distincts. En conséquence, l'inhibiteur se fixe de façon réversible à la fois

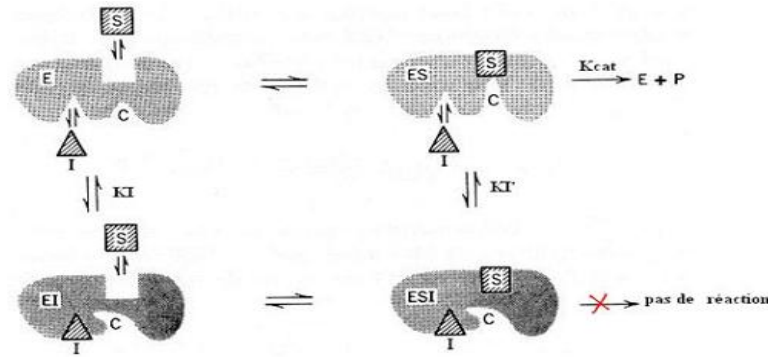
Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

sur l'enzyme (E) et sur le complexe enzyme-substrat (ES), de même le substrat se fixe à l'enzyme libre (E) et au complexe enzyme-inhibiteur (EI). Les inhibiteurs non compétitifs n'ont pas d'homologie structurale avec le substrat⁴⁴.

Il existe deux types d'inhibition non compétitive : l'inhibition non compétitive pure et l'inhibition non compétitive mixte.

4.2.1.2.1. Inhibition non compétitive pure :

Dans ce cas, la fixation de l'inhibiteur ne modifie pas la manière dont se fixe le substrat, mais empêche les ajustements conformationnels du site actif nécessaires pour la catalyse. Dans ce cas les valeurs de K_I et K_I' sont égales (figure 9)⁴⁶.



FigureI. 9. Mécanisme d'inhibition non compétitive pure.

En présence d'inhibiteur non compétitif, la représentation graphique de la vitesse initiale de réaction V_i^I (eq.09) en fonction de la concentration du substrat montre que la valeur de la constante de Michaelis K_M n'est pas modifiée. Cela peut signifier que l'affinité de l'enzyme libre (E) et celle du complexe (EI) pour le substrat (S) ne sont pas modifiées, par contre la vitesse maximale V_{max} a diminué (figure 10).

$$V_i^I = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \cdot \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad eq.16$$

Soit
$$V_i^I = V_{max}^{app} \cdot \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad eq.17$$

Avec
$$V_{max}^{app} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \quad eq.18$$

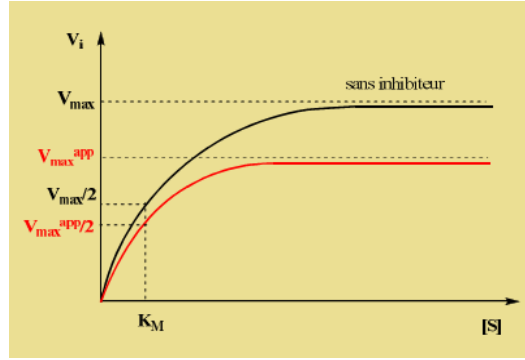


Figure I. 10. Représentation graphique de $V_i^I = f([S])$ dans le cas d'inhibition non compétitive pure.

Les paramètres cinétiques K_M et V_{max} peuvent être déterminés expérimentalement en traçant la courbe double inverse selon Lineweaver-Burk $\frac{1}{V_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ (figure 11). En présence de différentes concentrations de l'inhibiteur (I), on obtient des droites qui coupent l'axe des abscisses sur le point $\left(-\frac{1}{K_M}\right)$ et coupent l'axe des ordonnées en différents points représentant l'inverse des vitesses maximales apparentes $\left(\frac{1}{V_{max}^{app}}\right)$. Plus la concentration de l'inhibiteur (I) augmente plus V_{max} diminue.

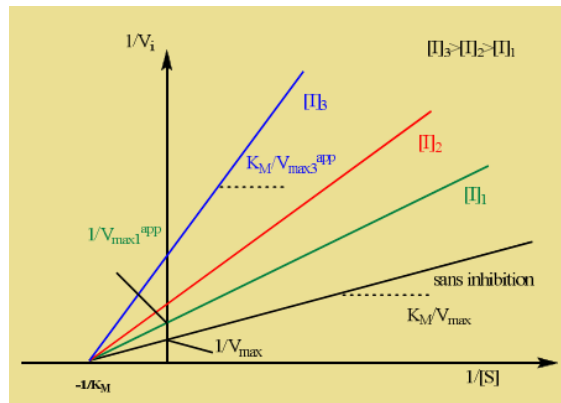


Figure I. 11. représentation graphique double inverse selon Lineweaver-Burk pour l'inhibition non compétitive pure.

4.2.1.2.1.1. Détermination du Degré d'inhibition et de l' IC_{50} :

Dans le cas de l'inhibition non compétitive pure, le degré d'inhibition (i) et le paramètre IC_{50} sont exprimés par les équations (eq.19) et (eq.20) respectivement :

$$i = \frac{[I]}{K_I + [I]} \quad eq. 19$$

$$IC_{50} = K_I \quad eq. 20$$

4.2.1.2.2. Inhibition non compétitive mixte :

Dans ce cas, la liaison de l'inhibiteur (I) avec l'enzyme (E) influence la liaison du substrat (S) avec l'enzyme. Les valeurs de K_I et K'_I ne sont pas égales. K_M et V_{max} sont altérées par la présence de l'inhibiteur (I) et ne sont pas constantes (figure 12 et figure 13).

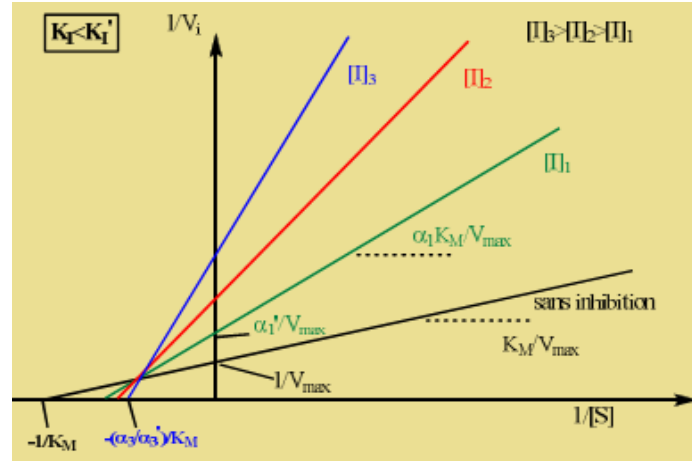


Figure I. 12. tracé double inverse de Lineweaver-Burk dans le cas d'inhibition non compétitive mixte (pour $K_I < K'_I$).

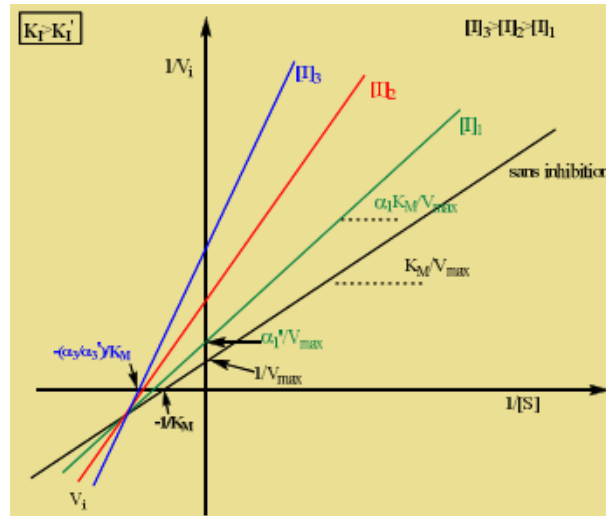


Figure I. 13. tracé double inverse de Lineweaver-Burk dans le cas d'inhibition non compétitive mixte (pour $K_I > K'_I$).

Dans le cas d'une inhibition mixte la vitesse initiale est définie par l'équation suivante :

$$V_i^I = \frac{V_{max}}{\alpha'} \cdot \frac{\alpha}{\alpha' K_M + [S]} \quad eq. 21$$

Avec: $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$ et $\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I}$

On peut écrire l'équation (eq.21) sous la forme :

$$V_i^I = V_{max}^{app} \cdot \frac{[S]}{K_M^{app} + [S]} \quad eq. 22$$

Avec: $V_{max}^{app} = \frac{V_{max}}{\alpha'}$ et $K_M^{app} = \frac{\alpha}{\alpha'} K_M$

Dans la représentation graphique double inverse de Lineweaver-Burk (figures 12 et 13), les points d'intersection des droites avec l'axe des ordonnées et avec l'axe des abscisses représentent les termes $\frac{\alpha'}{V_{max}}$ et $\frac{\alpha}{\alpha' K_M}$ respectivement.

4.2.1.2.2.1. Détermination du degré d'inhibition (i) et de l'IC₅₀ :

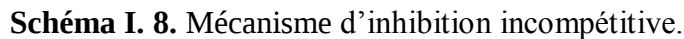
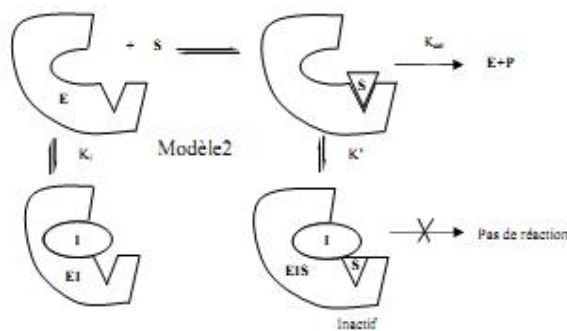
Le degré d'inhibition (i) et le paramètre IC₅₀ pour une inhibition non compétitive mixte sont définis ci-dessous par les équations (eq.23) et (eq.24) respectivement :

$$i = 1 - \frac{K_M + [S]}{\alpha K_M + \alpha' [S]} \quad eq. 23$$

$$IC_{50} = \frac{K_M + [S]}{\frac{K_M}{K_I} + \frac{[S]}{K'_I}} \quad eq. 24$$

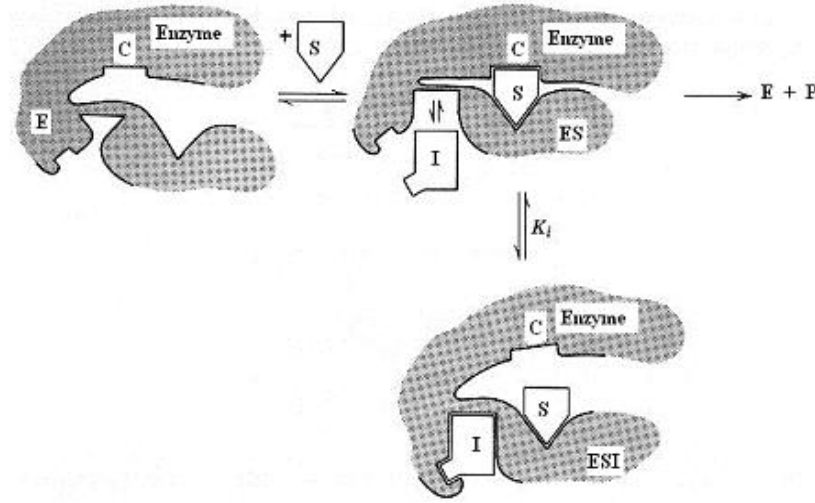
4.2.1.2.2.2. Modèles d'inhibition non compétitive mixte :

Il existe deux modèles alternatifs d'inhibition non compétitive mixte (figure 14). Le modèle 1 suggère qu'il n'y a pas de passage conformationnel possible entre les deux complexes enzyme-substrat (ES) et enzyme-substrat-inhibiteur (ESI), c'est-à-dire que le complexe enzyme-inhibiteur (EI) peut fixer le substrat (S) pour donner le complexe inactif (ESI), mais le complexe (ES) ne peut pas fixer l'inhibiteur (I). Le modèle 2 suggère qu'il n'y a pas d'équilibre entre les deux complexes (EI) et (ESI), c'est-à-dire que le complexe (ES) peut fixer l'inhibiteur (I) pour donner le complexe inactif (ESI), en revanche le substrat (S) ne peut pas être fixé sur le complexe(EI)³⁹.



Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

La fixation du substrat (S) à l'enzyme, au niveau du site C (figure 15), induit un changement de conformation, formant ainsi le site de fixation de l'inhibiteur (I).



FigureI. 15. Formation du complexe inactif ESI

La vitesse de réaction en présence d'inhibiteur incompétitif est définie par l'équation eq25 ou eq26 selon :

$$V_i^I = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \cdot \frac{[S]}{\frac{K_m}{1 + \frac{[I]}{K_I}} + [S]} \quad eq.25$$

$$V_i^I = V_{max}^{app} \cdot \frac{[S]}{K_M^{app} + [S]} \quad eq.26$$

Avec : $V_{max}^{app} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$ et $K_M^{app} = \frac{K_m}{1 + \frac{[I]}{K_I}}$

Les différents paramètres cinétiques, vitesse maximale, constante de Michaelis et constante d'inhibition, sont déterminés à partir de la représentation graphique double inverse selon Lineweaver-Burk (figure 16).

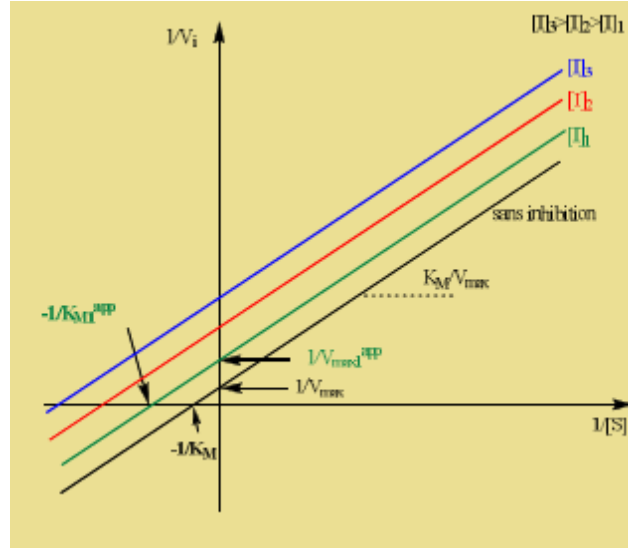


Figure I. 16. Représentation graphique double inverse selon Lineweaver-Burk pour inhibition incompétitive.

On obtient, selon le graphe, des droites parallèles de pente égale à $\left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)$ qui coupent les axes des ordonnées et des abscisses aux points $\left(\frac{1+\frac{[I]}{K_I}}{V_{max}}\right)$ et $\left(\frac{1+\frac{[I]}{K_I}}{K_m}\right)$ respectivement.

4.2.1.3.1. Degré d'inhibition et IC_{50} :

Le degré d'inhibition (i) et le paramètre IC_{50} pour une inhibition incompétitive sont donnés par les équations (eq.27) et (eq.28) respectivement :

$$i = \frac{[I][S]}{K_I K_m + (K_I + [I])[S]} \quad eq. 27$$

$$IC_{50} = \frac{K_I K_m}{[S]} + K_I \quad eq. 28$$

$$(IC_{50} = 2K_I \text{ pour } [S] = K_m)$$

En présence de ce type d'inhibiteurs, les valeurs des deux paramètres diminuent avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur. Cela est expliqué par la diminution de concentration en enzyme active à cause de la formation du complexe inactif (ESI).

Chapitre I : Les glycosidases et leurs inhibiteurs

Cette inhibition ne peut être levée par un excès de substrat. En effet, plus il y a de substrat, plus il y a formation de complexe (ES) et plus l'équilibre de fixation de l'inhibiteur (I) est déplacé en faveur du complexe (ESI).

4.2.2. Inhibition irréversible :

L'action d'un inhibiteur est irréversible quand il se forme une liaison covalente entre l'enzyme et l'inhibiteur. Ce type d'inhibiteur est appelé inactivateur.

La cinétique de la réaction est similaire à celle d'une réaction en présence d'un inhibiteur non compétitif car il y a perte d'enzyme actif (schéma 8). Mais, contrairement à ce qui se passe dans l'inhibition réversible, la dilution ou la dialyse de la solution contenant le complexe enzyme-inhibiteur (EI) ne restaure pas l'activité enzymatique car le complexe ne peut pas se dissocier.

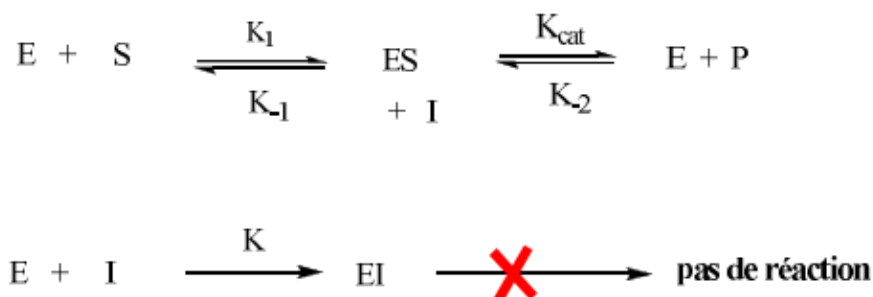


Schéma I. 9. Mécanisme d'inhibition irréversible.

L'étude de l'effet des inhibiteurs irréversibles est souvent utilisée pour déterminer les groupes actifs du site catalytique. Un exemple d'inactivateur est le gaz neurotoxique, employé dans la deuxième guerre mondiale, le di-isopropylfluorophosphate (DFP).

L'étude de l'effet de ce composé sur l'activité des protéases à sérine a permis d'identifier la sérine 195 et l'histidine 57, les deux résidus impliqués dans la catalyse. La sérine 195 attaque le groupe fluorophosphate du DFP en formant une liaison covalente (phosphoester) qui rend cette inhibition irréversible (schéma 9)⁴⁷.

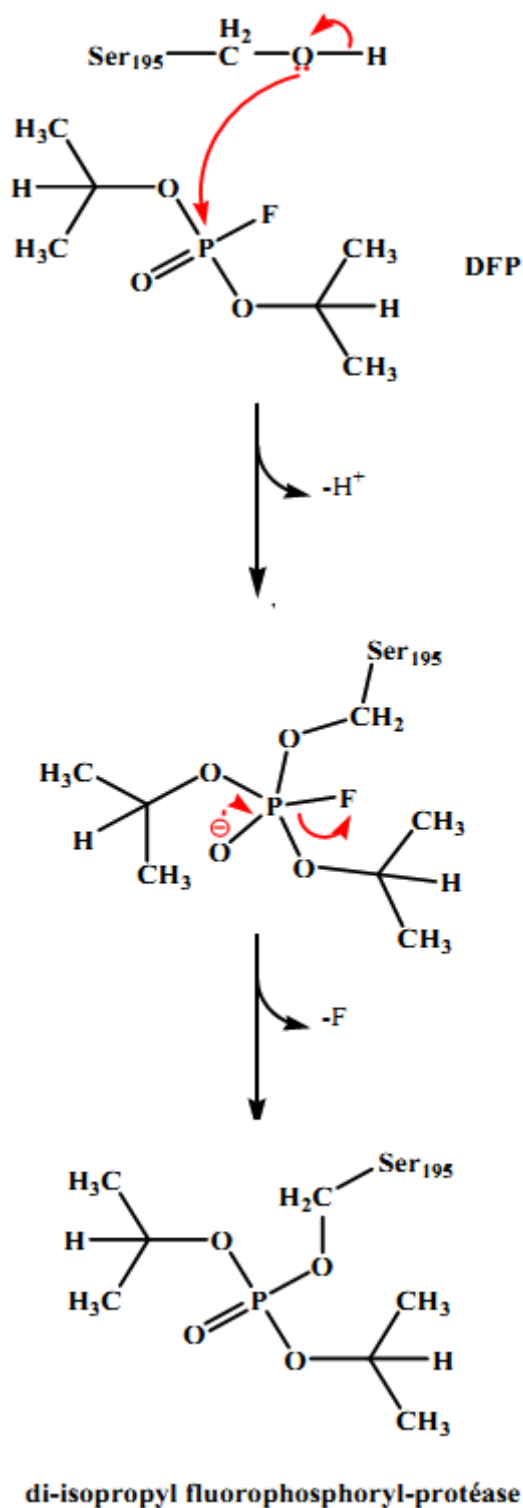


Schéma I. 10. Mécanisme d'inhibition de la protéase par le di-isopropylfluorophosphate.