

Cours GCH8650

GÉNIE BIOCHIMIQUE

Modélisation non-structurée de cultures cellulaires

Mario Jolicoeur

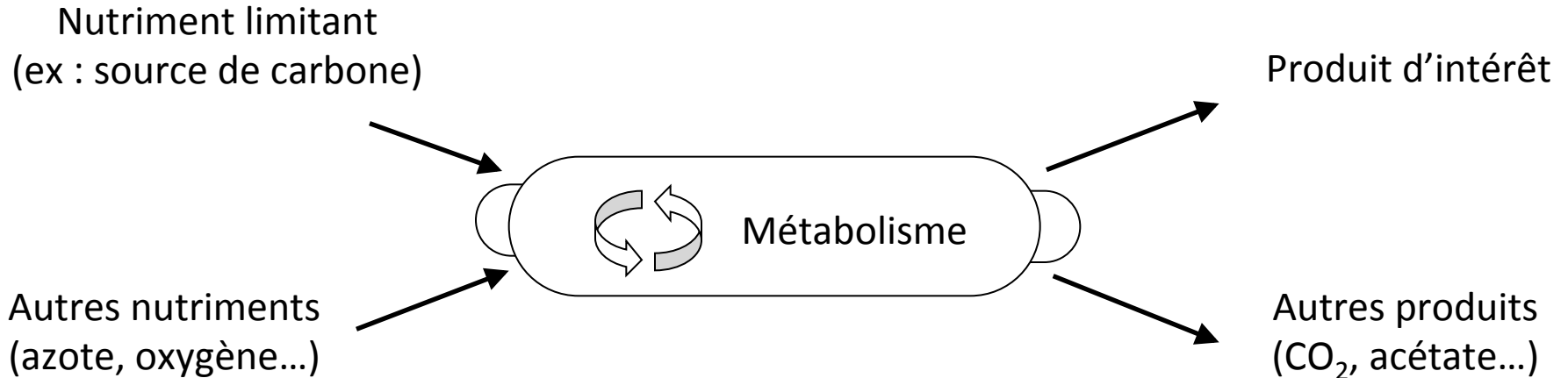
Plan de ce cours

- Introduction
- Hypothèses et simplifications
- Rendements, stœchiométrie et maintenance
- Bilans
 - Cellules (χ) – Substrats (S_i) – Produits (P_j)
- Cinétiques
 - Croissance cellulaire (χ) – Consommation (S_i) et Production (P_j)
- Exemples

Pourquoi modéliser les cinétiques biologiques?

- Comprendre
- Analyser
- Prévoir
- Concevoir un procédé
- Contrôler

Conceptualisation de la cellule



- Vision simplifiée de la cellule
- Le niveau de précision de la conceptualisation dépend de nos objectifs de culture cellulaire
- Certains modèles biocinétiques contiennent des milliers d'équations différentielles...

Approche de base en modélisation cellulaire

- Définir les variables/phénomènes à étudier
 - Croissance
 - Consommation
 - Production
 - Respiration
 - ...
- Utile au design de bioprocédés:
 - Rendements: performance des réactions
 - Cinétiques: vitesses des réactions

Modélisation de l'augmentation du nombre de cellules ou de la « biomasse »

- développons les bilans...

Courbe de croissance typique

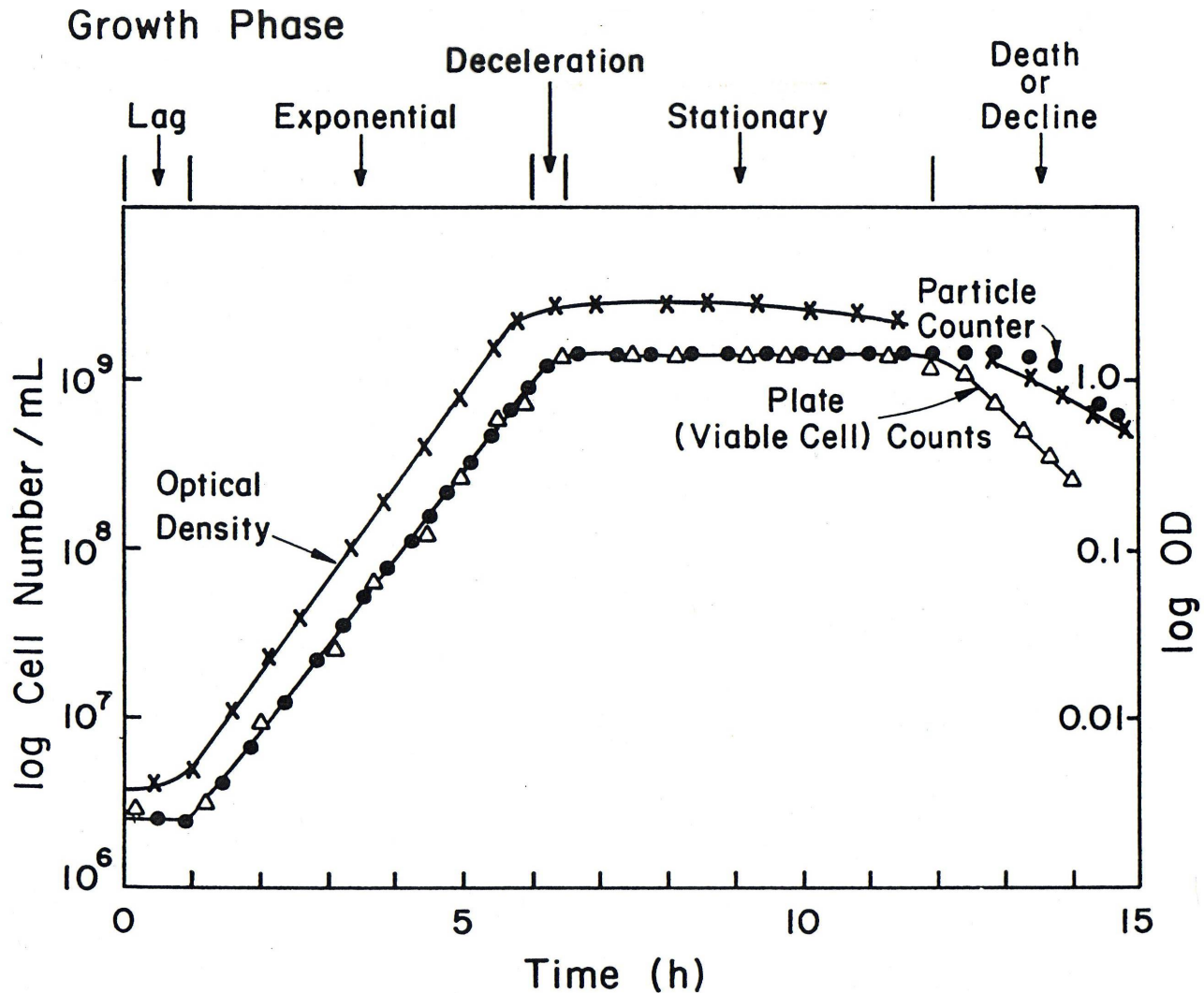


Figure 6.3. Typical growth curve for a bacterial population. Note that the phase of growth (shown here for cell number) depends on the parameter used to monitor growth.

Quel paramètre utiliser pour représenter la croissance des cellules?

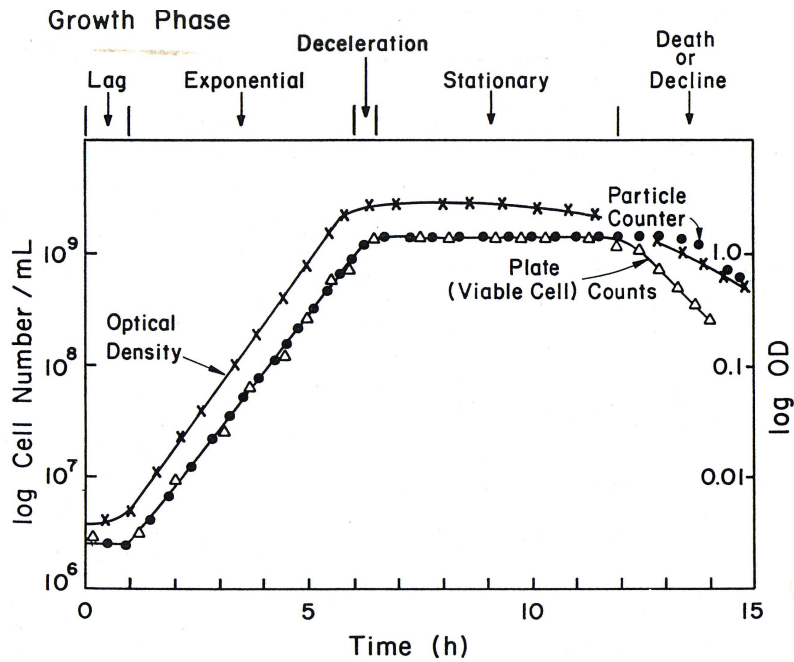


Figure 6.3. Typical growth curve for a bacterial population. Note that the phase of growth (shown here for cell number) depends on the parameter used to monitor growth.

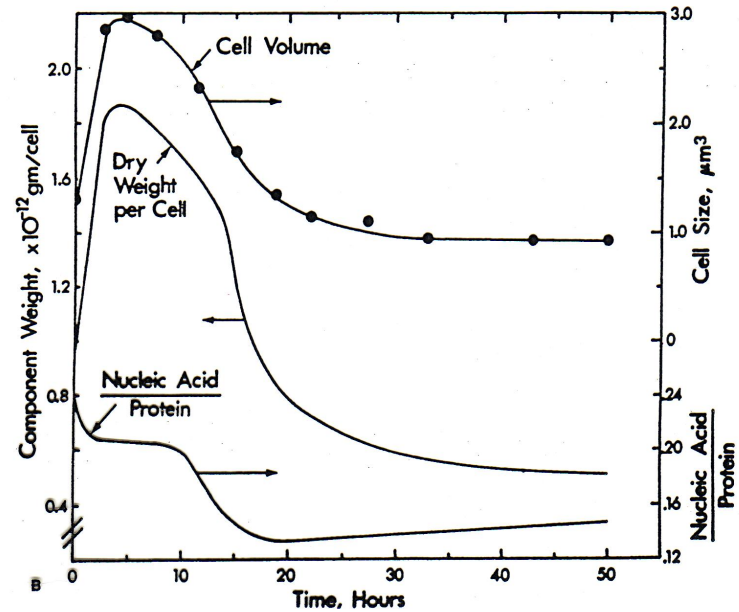
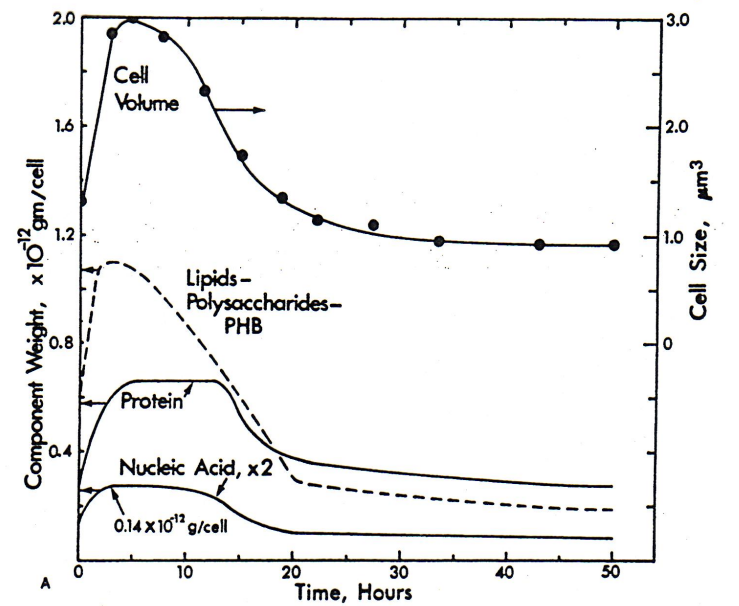


Figure 6.2. The time-dependent changes in cell composition and cell size for *Azotobacter vinelandii* in batch culture are shown. (With permission, from M. L. Shuler and H. M. Tsuehiya, "Cell Size as an Indicator of Changes in Intracellular Composition of *Azotobacter vinelandii*," *Can. J. Microbiol.* 31:927, 1975 and National Research Council of Canada, Ottawa.)

Réactifs des phénomènes biocinétiques:

- La croissance cellulaire sera tributaire de réactifs que l'on nomme nutriments ou substrats;
- Les termes de rendements, reliant:
 - La biomasse (cellules) aux divers substrats: $Y_{X/S}$
 - Les produits à la biomasse ($Y_{P/X}$) ou aux substrats ($Y_{P/S}$)seront essentiels aux divers calculs estimatifs et prédictifs permettant de définir un bioprocédé.

Rendements

- Deux types de rendements
 - Rendement théorique
 - Rendement réel ou observé
- Paramètre très empirique (simplification)
- Mais, d'un point de vue économique, le rendement est crucial (plus de produit en utilisant moins de substrat)

Rendements : réels observés, globaux

- Rendement théorique : rendement maximal déterminé selon la stoechiométrie ou le métabolisme cellulaire
- Rendement réel ou observé : rendement obtenu à partir de données expérimentales
- Rendement observé < Rendement théorique
 - Pourquoi?
- Rendement global :
 - Rendement déterminé entre $t=0$ et t final
 - On peut aussi calculer le rendement point par point

Exemple de calcul de rendements théoriques à partir de la Stoechiométrie de la croissance cellulaire

Exemple pour *E. coli*

Réaction	Stoechiométrie
croissance sur le glucose	$-0,188 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - 0,24 \text{ NH}_4 - 2,44 \text{ ATP} + 0,13 \text{ CO}_2 + 0,24 \text{ H}^+ + 0,37 \text{ H}_2\text{O} + 0,22 \text{ NADH}_2 + \text{CH}_{1,77}\text{O}_{0,49}\text{N}_{0,24} = 0$
catabolisme du glucose	$-0,08 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - 0,5 \text{ H}_2\text{O} + 1 \text{ NADH}_2 + 0,5 \text{ CO}_2 + 0,25 \text{ ATP} = 0$
formation d'acétate	$-0,25 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - 0,5 \text{ H}_2\text{O} + 1 \text{ NADH}_2 + 0,5 \text{ CO}_2 + 1 \text{ ATP} + 0,5 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 = 0$
croissance sur l'acétate	$-0,63 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 - 0,24 \text{ NH}_4 - 4,17 \text{ ATP} + 0,27 \text{ CO}_2 + 0,24 \text{ H}^+ + 0,23 \text{ H}_2\text{O} + 0,5 \text{ NADH}_2 + \text{CH}_{1,77}\text{O}_{0,49}\text{N}_{0,24} = 0$

Exemple de calcul de rendements réels à partir de données batch

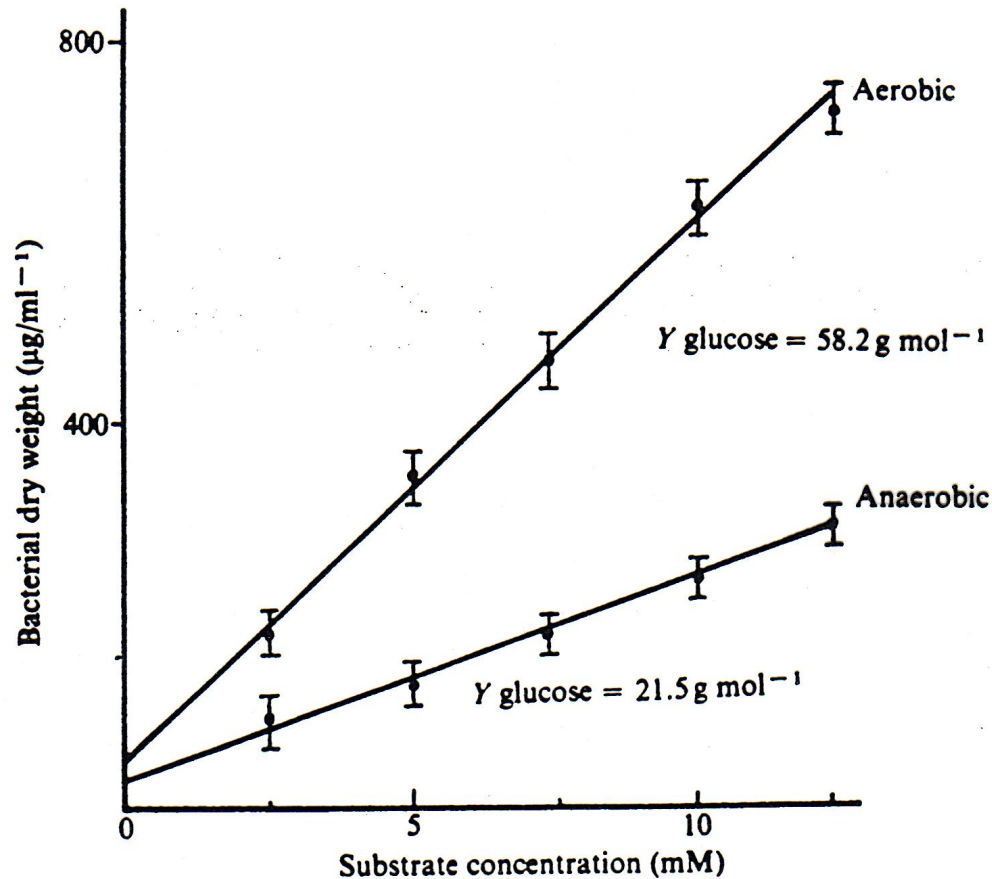
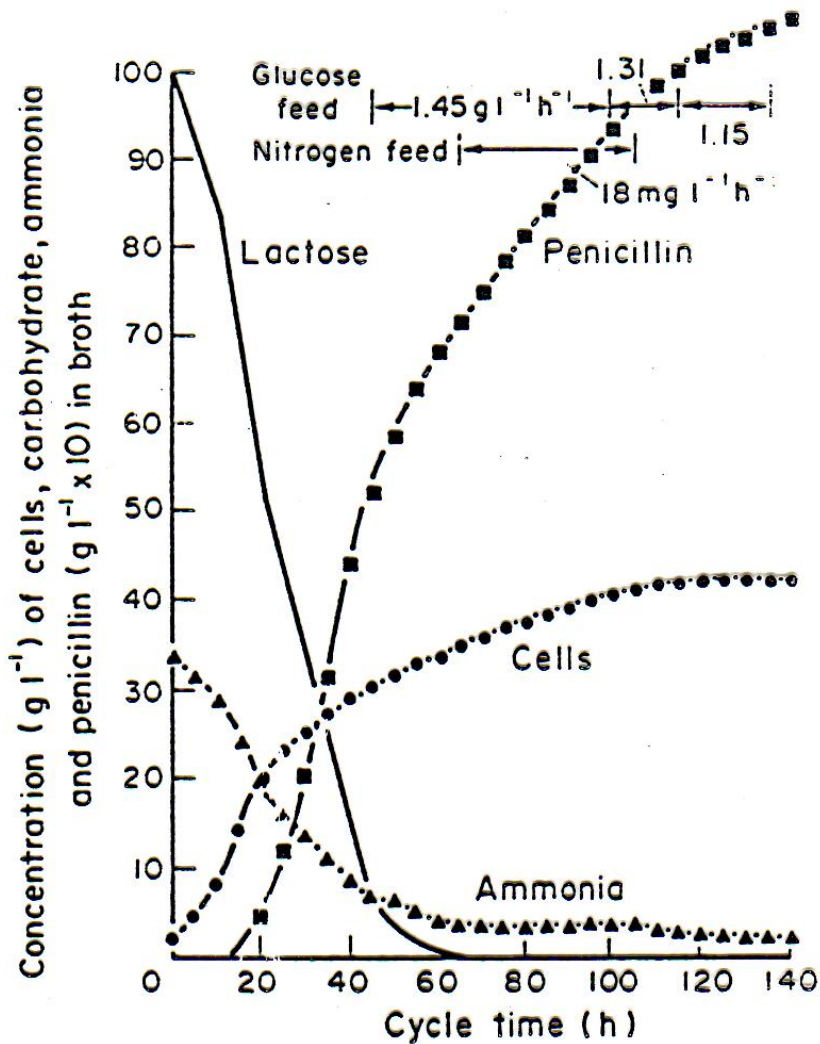


Figure 6.5. Aerobic and anaerobic growth yields of *Streptococcus faecalis* with glucose as substrate. (With permission, from B. Atkinson and F. Mavituna, *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*, Macmillan, Inc., New York, 1983.)

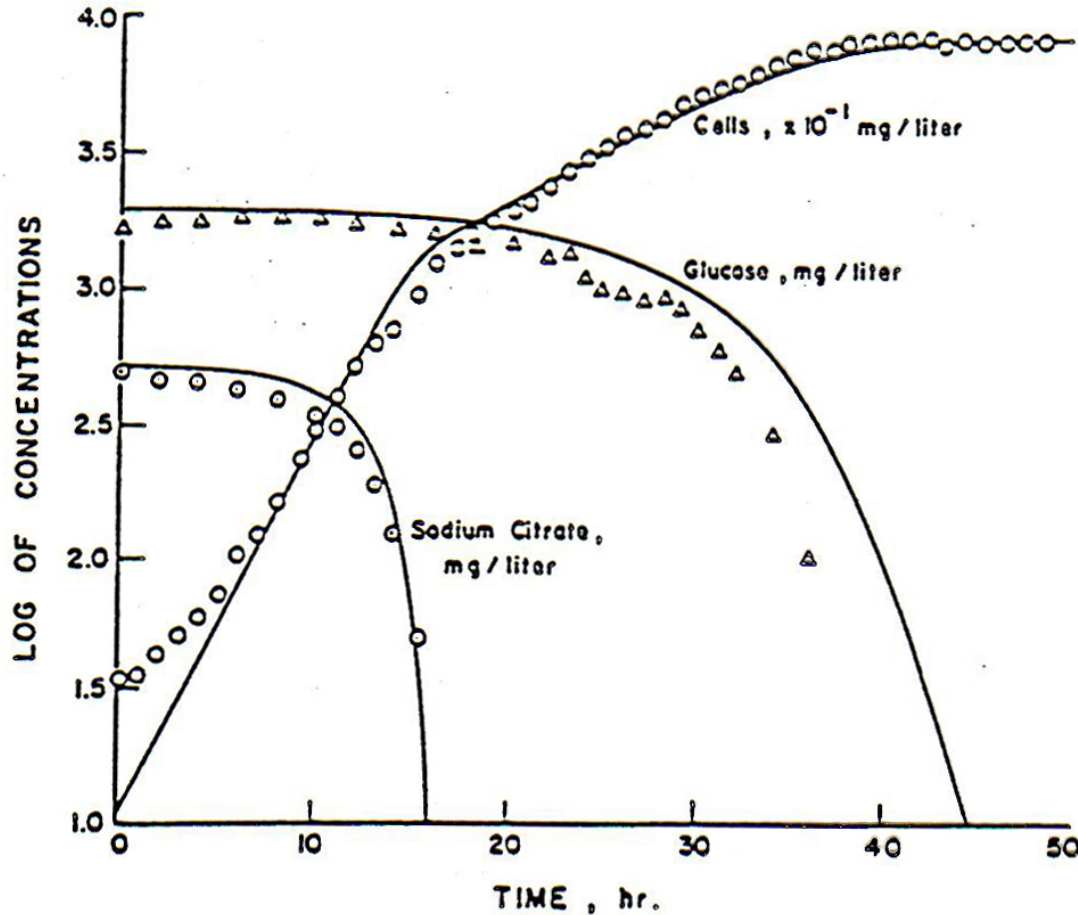
Nutriment limitant

- La cellule a besoin de plusieurs nutriments pour croître
 - Sources de carbone, azote
 - Oxygène
 - Minéraux, éléments traces...
- Dès que l'un des nutriments manque, des problèmes apparaîtront
- Donc, le nutriment qui manquera en premier sera l'élément considéré comme étant limitant



Nutrient limitant

Figure 3.14(a). Time course of penicillin production by *Penicillium chrysogenum*. [From Queener, S. and R. Swartz, *Economic Microbiology*, Ed. A.H. Rose, Vol 3, pp 35-123 (1979)].



Nutriments limitants:

cas de croissance
dioxique

Figure 3.9. Growth of *Pseudomonas vulgaris* on citrate and glucose. Data from M.M. Tseng, Ph.D. Thesis, Univ. of Toronto, Ontario, Canada (1974). Lines are fitted to the data using the additive model (Equation 3.44a) by G. Tsao and C.M. Yang [Biotech. Bioeng. 23 1827 (1976)].

Exemple de valeurs de rendements réels

TABLE 6.1 Summary of Yield Factors for Aerobic Growth of Different Microorganisms on Various Carbon Sources

Organism	Substrate	$Y_{X/S}$			Y_{X/O_2}^a
		g/g	g/mol	g/g-C	g/g
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Maltose	0.46	149.2	1.03	1.50
	Mannitol	0.52	95.2	1.32	1.18
	Fructose	0.42	76.1	1.05	1.46
	Glucose	0.40	72.7	1.01	1.11
<i>Candida utilis</i>	Glucose	0.51	91.8	1.28	1.32
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Glucose	0.43	77.4	1.08	1.35
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Glucose	0.38	68.4	0.95	0.85
<i>Rhodopseudomonas spheroides</i>	Glucose	0.45	81.0	1.12	1.46
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	0.50	90.0	1.25	0.97
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ribose	0.35	53.2	0.88	0.98
	Succinate	0.25	29.7	0.62	0.62
	Glycerol	0.45	41.8	1.16	0.97
	Lactate	0.18	16.6	0.46	0.37
	Pyruvate	0.20	17.9	0.49	0.48
	Acetate	0.18	10.5	0.43	0.31
	Acetate	0.36	21.0	0.90	0.70
<i>Candida utilis</i>	Acetate	0.28	16.8	0.70	0.46
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Ethanol	0.68	31.2	1.30	0.61
<i>Candida utilis</i>	Ethanol	0.49	22.5	0.93	0.42
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Ethanol	0.38	12.2	1.01	0.56
<i>Klebsiella</i> sp.	Methanol	0.48	15.4	1.28	0.53
<i>Methylomonas</i> sp.	Methanol	0.41	13.1	1.09	0.44
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methanol	0.41	13.1	1.09	0.44
<i>Methylococcus</i> sp.	Methane	1.01	16.2	1.34	0.29
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methane	0.80	12.8	1.06	0.20
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methane	0.60	9.6	0.80	0.19
<i>Pseudomonas methanica</i>	Methane	0.56	9.0	0.75	0.17

^a Y_{X/O_2} is the yield factor relating grams of cells formed per gram of O_2 consumed.

With permission, from S. Nagai in *Advances in Biochemical Engineering*, vol. 11, T. K. Ghose, A. Fiechter, and N. Blakebrough, eds., Springer-Verlag, New York, p. 53, 1979.

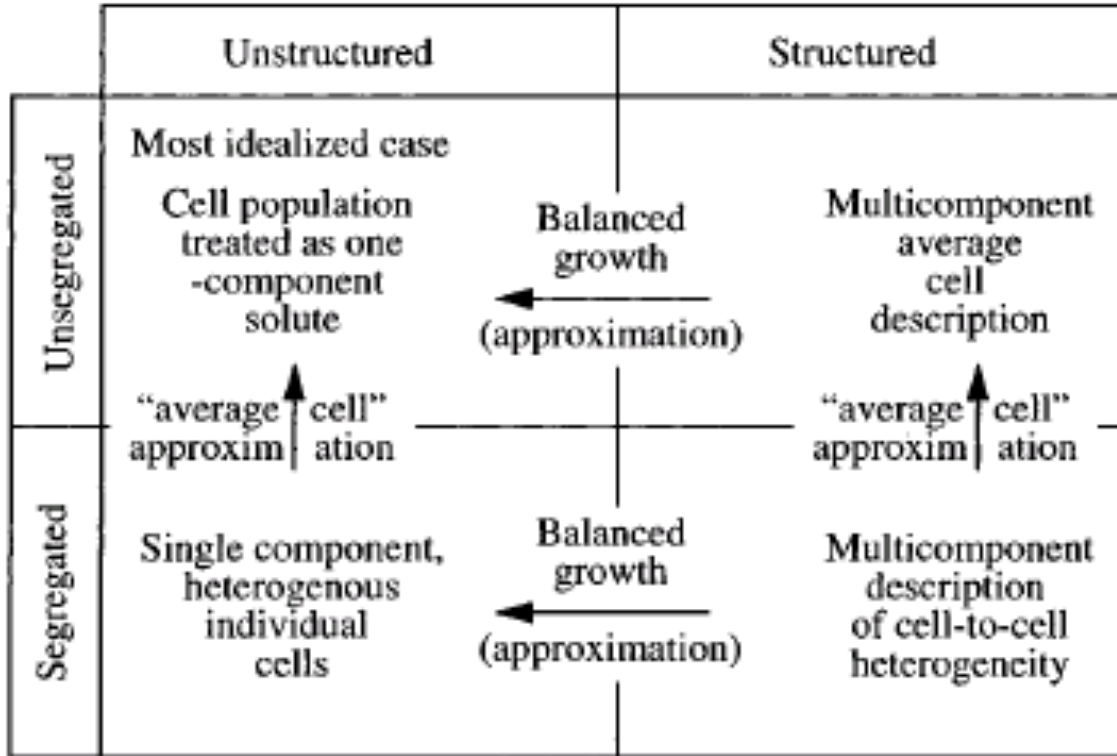
Les biocinétiques

- Décrire les phénomènes dynamiques reliés à la cellule vivante utilisée:
 - Croissance
 - Consommation de substrats
 - Production
 - Réactions biochimiques

Poursuivons le développement des bilans:

- Croissance...
- Consommation de substrats...
- Production...

Structure et ségrégation



Tiré de Bailey, 1998

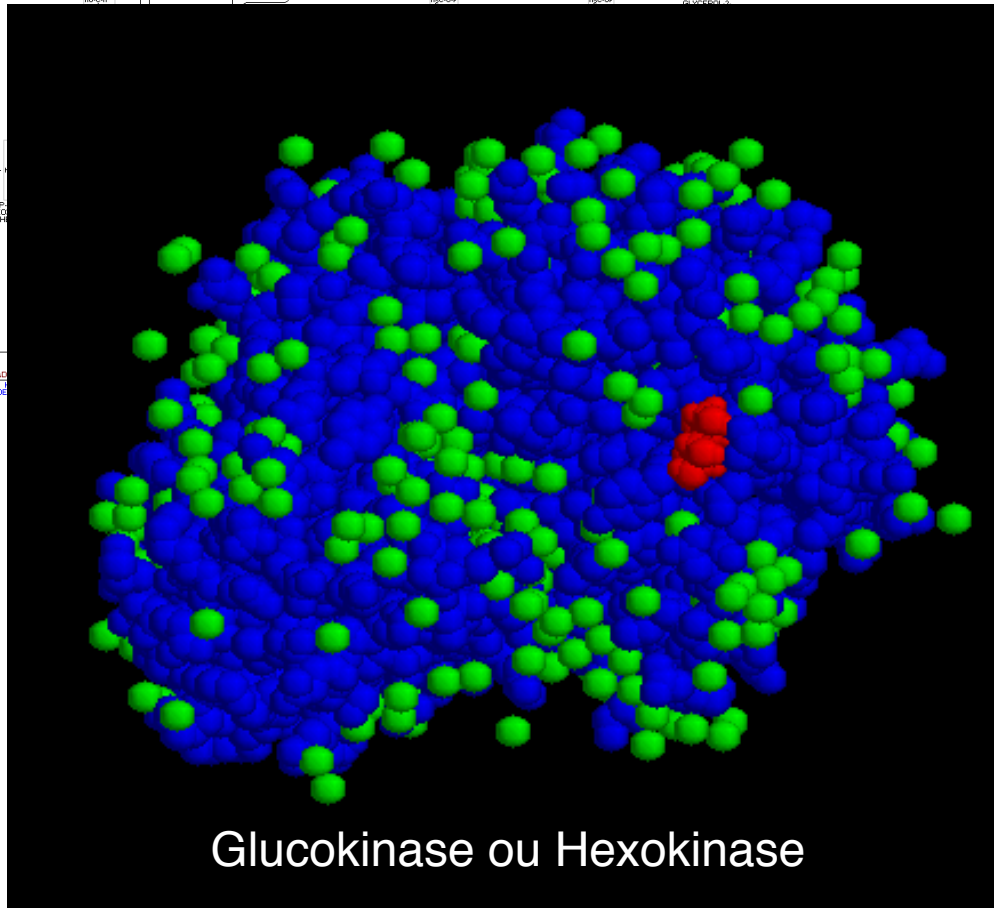
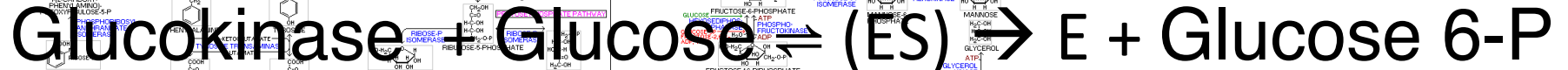
- La croissance cellulaire peut être modélisée selon chacun de ces 4 cas;
- Le modèle non-structuré et non-ségrégué est souvent suffisant pour les bactéries, levures et champignons;
- Les cellules végétales, puisqu'elles stockent des nutriments, doivent être modélisée avec des modèles structurés
- Les cellules animales utilisent plusieurs substrats limitants et requièrent ainsi normalement un modèle structuré.

Les biocinétiques

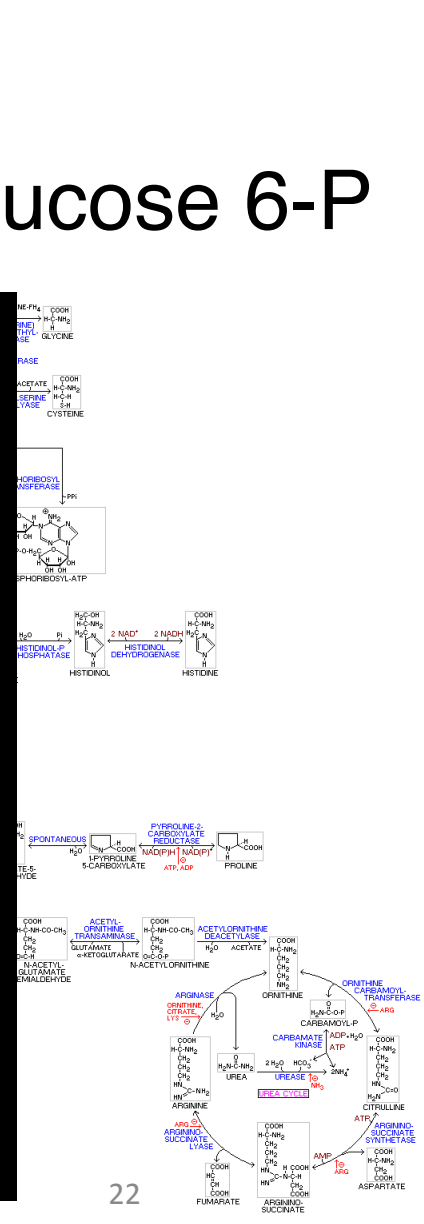
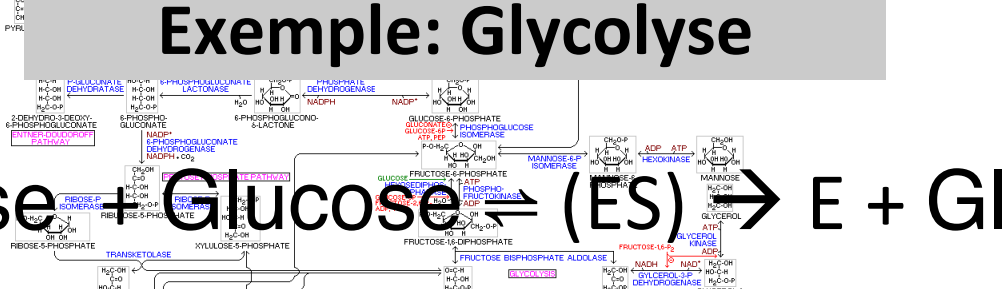
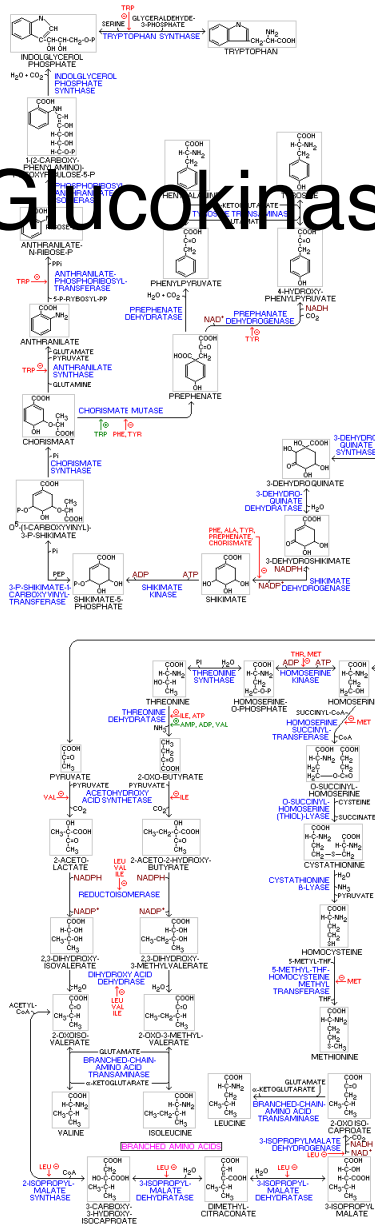
- Décrire les phénomènes dynamiques reliés à la cellule vivante utilisée:
 - Croissance
 - Consommation de substrats
 - Production
 - Réactions biochimiques
- Il nous faut décrire la vitesse de réaction:
le taux spécifique de réaction
VS
le(s) substrat(s) limitant(s)

Et si une enzyme contrôlait le métabolisme cellulaire?

Exemple: Glycolyse

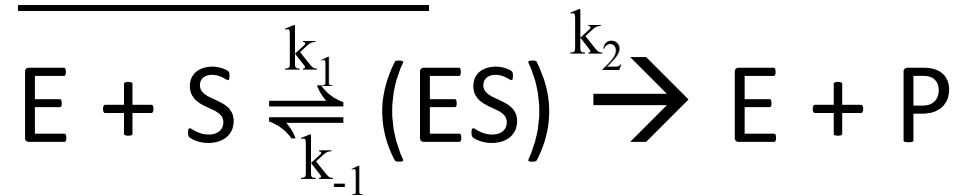


Glucokinase ou Hexokinase

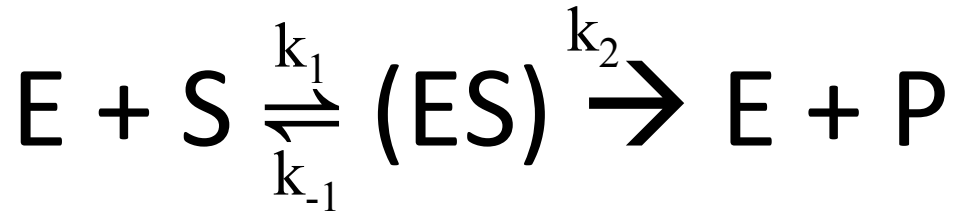


Description d'une cinétique enzymatique

Un mécanisme:



Hypothèses



- Début de la réaction : [substrat] \gg [Enzyme]
P est négligeable
S constant
- Un seul type de S et un seul complexe ES
- Réaction de premier ordre
- Dissociation rapide de P

Michaelis-menten

Hyp : équilibre rapide entre E et S

$$V = \frac{V \max [S]}{K_m' + [S]} = \frac{dP}{dt}$$

La cinétique réactionnelle:

$$V \max = k_2 [E_0]$$

Vitesse maximale

$$K_m' = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

Constante de Michaelis-Menten

Briggs et Haldane

Hyp : Régime permanent $d(ES)/dt = 0$

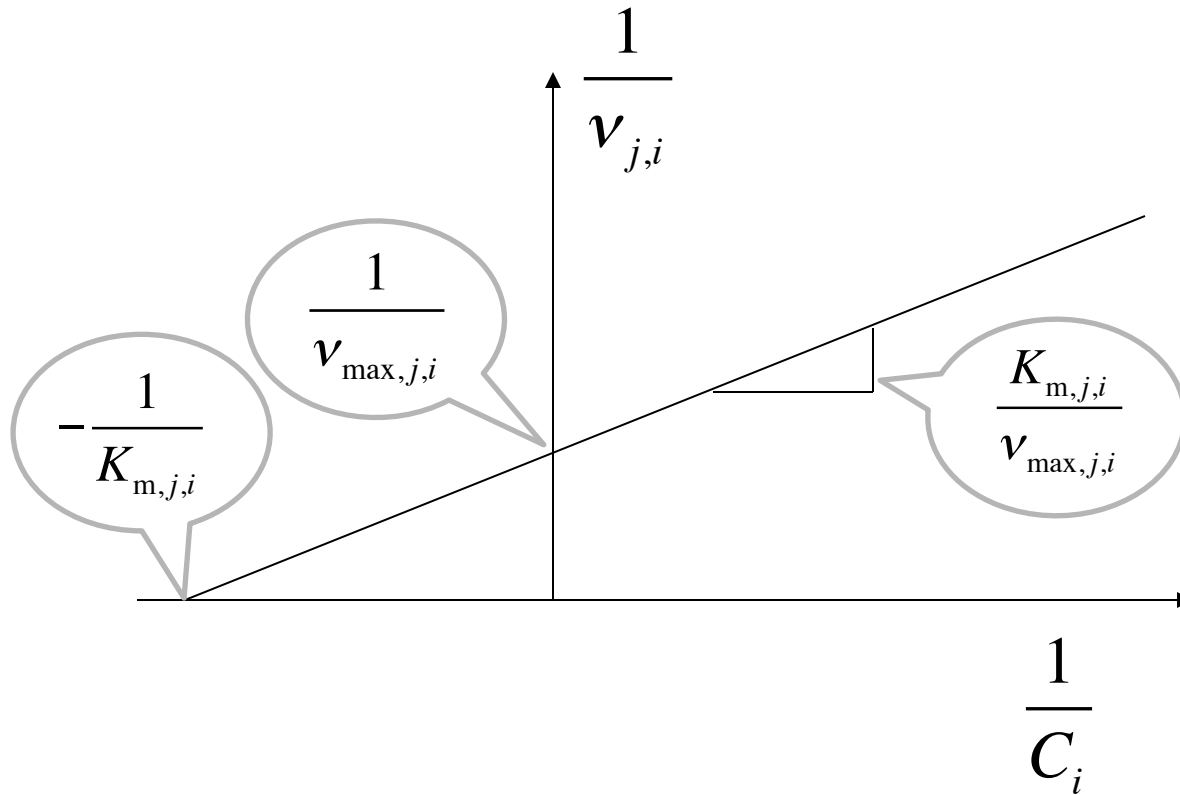
$$V = \frac{V \max [S]}{Km + [S]} = \frac{dP}{dt}$$

$$V \max = k_2 [E_0]$$

$$Km = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Lineweaver-Burk

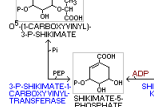
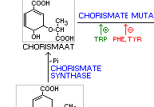
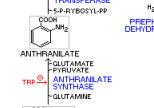
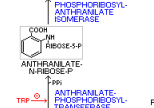
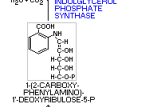
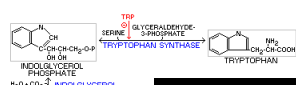
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{C_i} + \frac{1}{V_{\max}}$$

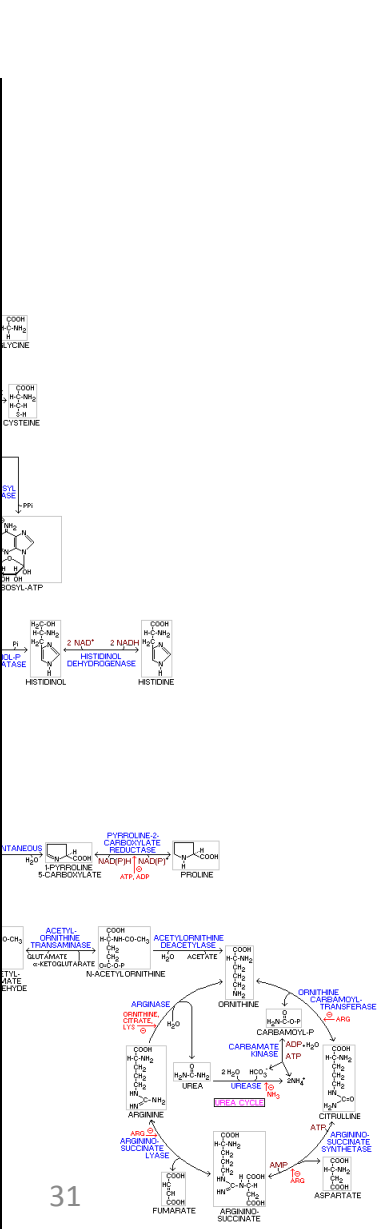


Exemple

V	S
g/L/min	g/L
1.14	20.00
0.87	10.00
0.70	6.70
0.59	5.00
0.50	4.00
0.44	3.30
0.39	2.90
0.35	2.50

Et si une enzyme contrôlait le métabolisme cellulaire?



$$E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} (ES) \xrightarrow{k_2} E + P$$


...et par extension à une réaction enzymatique limitante:

Jacques Monod a proposé un modèle du type de Michaelis-Menten décrivant le taux spécifique de croissance (μ) comme une fonction du substrat limitant (S):

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_m + S}$$

Il s'agit d'un modèle non-structuré, non-ségrégué avec généralement la source de carbone comme élément limitant

Formes de modèles couramment utilisés:

Modèles non-structurés et non-ségrégés

- Monod (le plus utilisé)
 - Contois (à très haute densité cellulaire)
 - Tessier (K_m très faible)
 - Moser (forme générale plus adaptable)
- Le choix d'une biocinétique dépend donc de plusieurs facteurs

Modèles biocinétiques

TABLE 6.2 Constants of the Generalized Differential Specific Growth Rate Equation 6.34 for Different Models

	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>K</i>
Monod	0	2	$1/K_S$
Tessier	0	1	$1/K$
Moser	$1 - 1/n$	$1 + 1/n$	$n/K_S^{1/n}$
Contois	0	2	$1/K_{sx}$

Forme générale:
$$\frac{dv}{dS} = K v^a (1-v)^b \quad \text{où } u = m/m_{\max}$$

Tessier equation:
$$\mu = \mu_m (1 - e^{-KS})$$

Moser equation:
$$\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_S + S^n} = \mu_m (1 + K_S S^{-n})^{-1}$$

Contois equation:
$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_{sx} X + S}$$

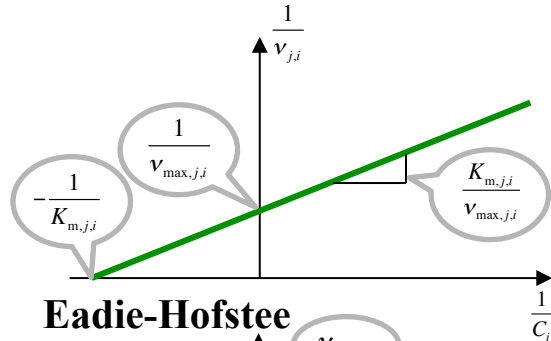
Méthodes pour l'estimation des paramètres biocinetiques

cas sans inhibition

Représentation graphique

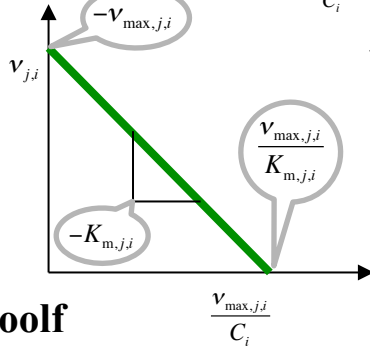
Linéarisation

Lineweaver-Burk



$$\frac{1}{v_{j,i}} = \frac{K_{m,j,i}}{v_{max,j,i}} \frac{1}{C_i} + \frac{1}{v_{max,j,i}}$$

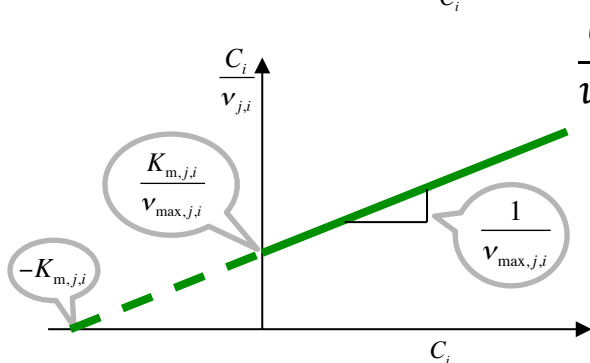
Eadie-Hofstee



$$v_{j,i} = v_{max,j,i} - K_{m,j,i} \frac{v_{j,i}}{C_i}$$

L'utilisation de l'approche proposée par Eadie-Hofstee est sujette à surestimer l'erreur pour l'estimé de $v_{max,j,i}$ car les coordonnées "x" and "y" incluent le taux de réaction.

Hanes-Woolf



$$\frac{C_i}{v_{j,i}} = \frac{K_{m,j,i}}{v_{max,j,i}} + \frac{1}{v_{max,j,i}} C_i$$

L'approche proposée par Hanes-Woolf est généralement plus précise pour l'estimé de $v_{max,j,i}$.

Exemple de valeurs de paramètres biocinétiques:
S=substrat carboné

Table 3.6. Typical values of μ_{max} and K_S for various organisms and substrates (at the optimum growth temperatures).

<i>Organism and growth temperature</i>	<i>Limiting nutrient</i>	μ_{max} (hr^{-1})	K_S (mg/liter)
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	glucose	0.8-1.4	2-4 ~ 10 μM
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	glycerol	0.87	2
<i>Escherichia coli</i> (37°C)	lactose	0.8	20
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (30°C)	glucose	0.5-0.6	25
<i>Candida tropicalis</i> (30°C)	glucose	0.5	25-75
<i>Candida</i> sp.	oxygen	0.5	0.045-0.45 ~ 1,6 μM
	hexadecane	0.5	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	glucose		
<i>Klebsiella aerogenes</i>	glycerol	0.85	9
<i>Aerobacter aerogenes</i>	glucose	1.22	1-10
Racines de carotte, de pervenche et cellules de pavot (Cloutier et al. Biotechnol. Bioeng. . 99:189-200)			
	glucose	~ 0.26 d ⁻¹	~ 1 g/L
CHO (Chinese Hamster Ovary)	glucose	~ 0.2 d ⁻¹	~ 1 g/L

Exemple de valeurs de paramètres biocinétiques:
S=oxygène

Values of the Monod constant for oxygen limited growth of several types of cell.

<i>Organism</i>	<i>Temp (°C)</i>	<i>Size (micron)</i>	<i>K_s (mM O₂)</i>
<i>Micrococcus candidans</i>	20.2	0.5	1.1 x 10 ⁻⁵
<i>Aerobacter aerogenes</i>	19.0	0.6	3.1 x 10 ⁻⁵
<i>Escherischia coli</i>	19.2	0.6	2.22 x 10 ⁻⁵
<i>Serratia marescens</i>	18.8	0.7	3.60 x 10 ⁻⁵
<i>Azotobacter indicum</i>	19.6	1.6	3.00 x 10 ⁻⁴
<i>Bacillus megatherium</i>	19.2	2.0	5.97 x 10 ⁻⁴
<i>Bacillus megatherium</i> (LiCl)	20.0	2.4	7.07 x 10 ⁻⁴
<i>Acetobacter suboxydans</i>	19.2	2.7	1.57 x 10 ⁻³
<i>Bacillus megatherium</i> (glycine)	20.6	4.0	3.12 x 10 ⁻³

Racines de pavot (Lamboursain L, St-Onge F, Jolicoeur M. 2002. Biotechnol. Prog. 18: 1377-1386)

	23°C	20-150	~ 5-10 x 10 ⁻³
CHO (Chinese Hamster Ovary)	37°C	10-20	~ 5-10 x 10 ⁻³

Inhibition enzymatique

1. Pourquoi? Un problème ou une solution?
2. Où? Portez toute votre attention au catalyseur
3. Par quoi? Une question d'affinité
4. Comment? Synthonisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Inhibition enzymatique

1. **Pourquoi?** **Un problème ou une solution?**
2. Où? Portez toute votre attention au catalyseur
3. Par quoi? Une question d'affinité
4. Comment? Synthonisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Inhibition enzymatique

1. Un problème ou une solution?

Un problème:

- Lorsque notre objectif sera affecté
 - Biotraitement
 - Procédé de production
 - Aliment
 - Thérapie

Une solution:

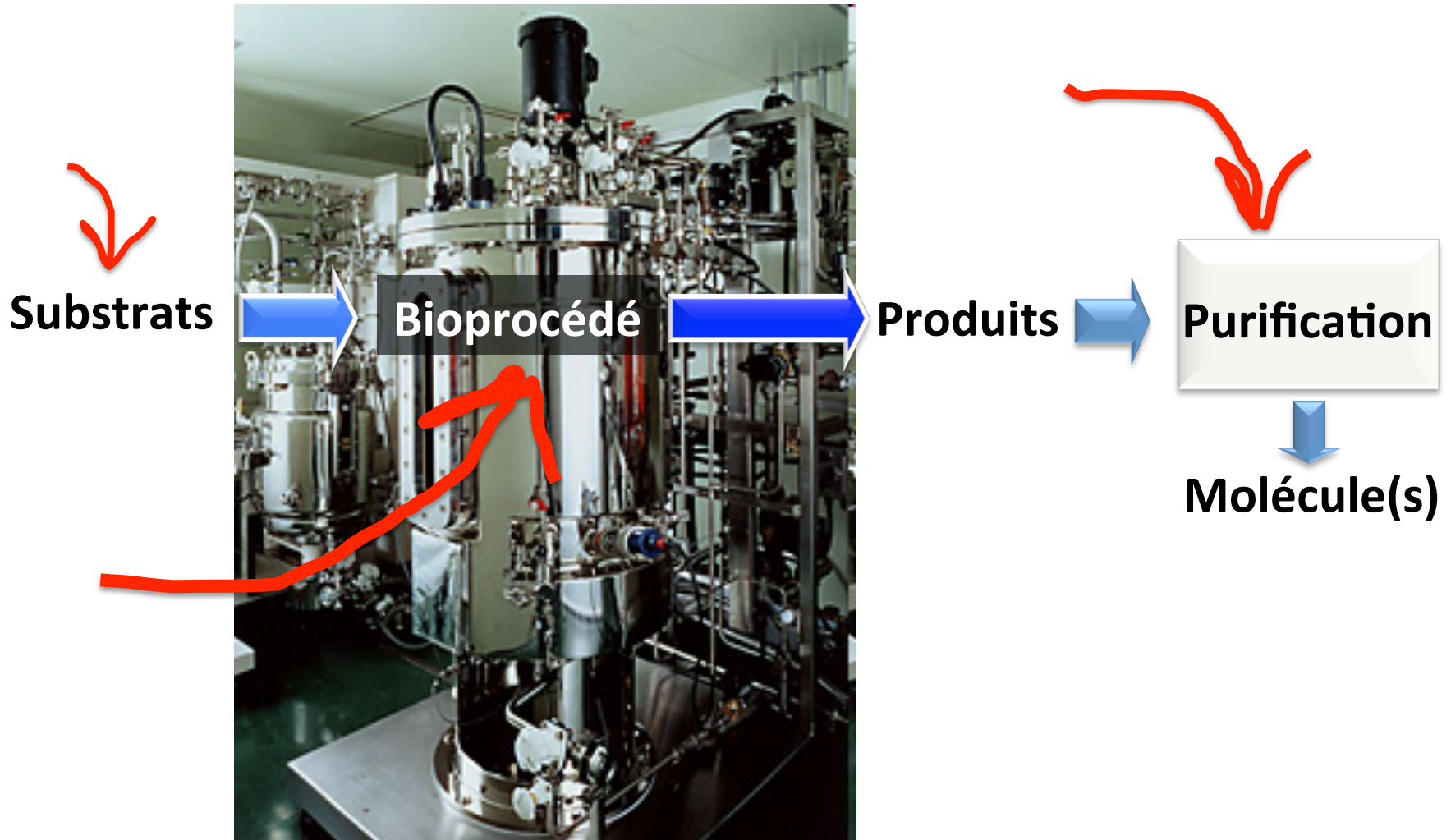
- Pour des fins de régulation « interne »
- Cible thérapeutique

Inhibition enzymatique

1. Pourquoi? Un problème ou une solution?
2. Où? **Portez toute votre attention au catalyseur**
3. Par quoi? Une question d'affinité
4. Comment? Synthétisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Les bioprocédés et l'inhibition enzymatique

2. Portez toute votre attention au catalyseur



Inhibition enzymatique

1. Pourquoi? Un problème ou une solution?
2. Où? Portez toute votre attention au catalyseur
3. **Par quoi? Une question d'affinité**
4. Comment? Synthétisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Inhibition enzymatique

1. Pourquoi? Un problème ou une solution?
2. Où? Portez toute votre attention au catalyseur
3. Par quoi? Une question d'affinité
4. Comment? Synthonisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Inhibiteurs

- Inhibition compétitive
- Inhibition non compétitive
- Inhibition incompétitive
- Inhibition due au pH, Température
- Inhibition par le substrat
- Allostérie

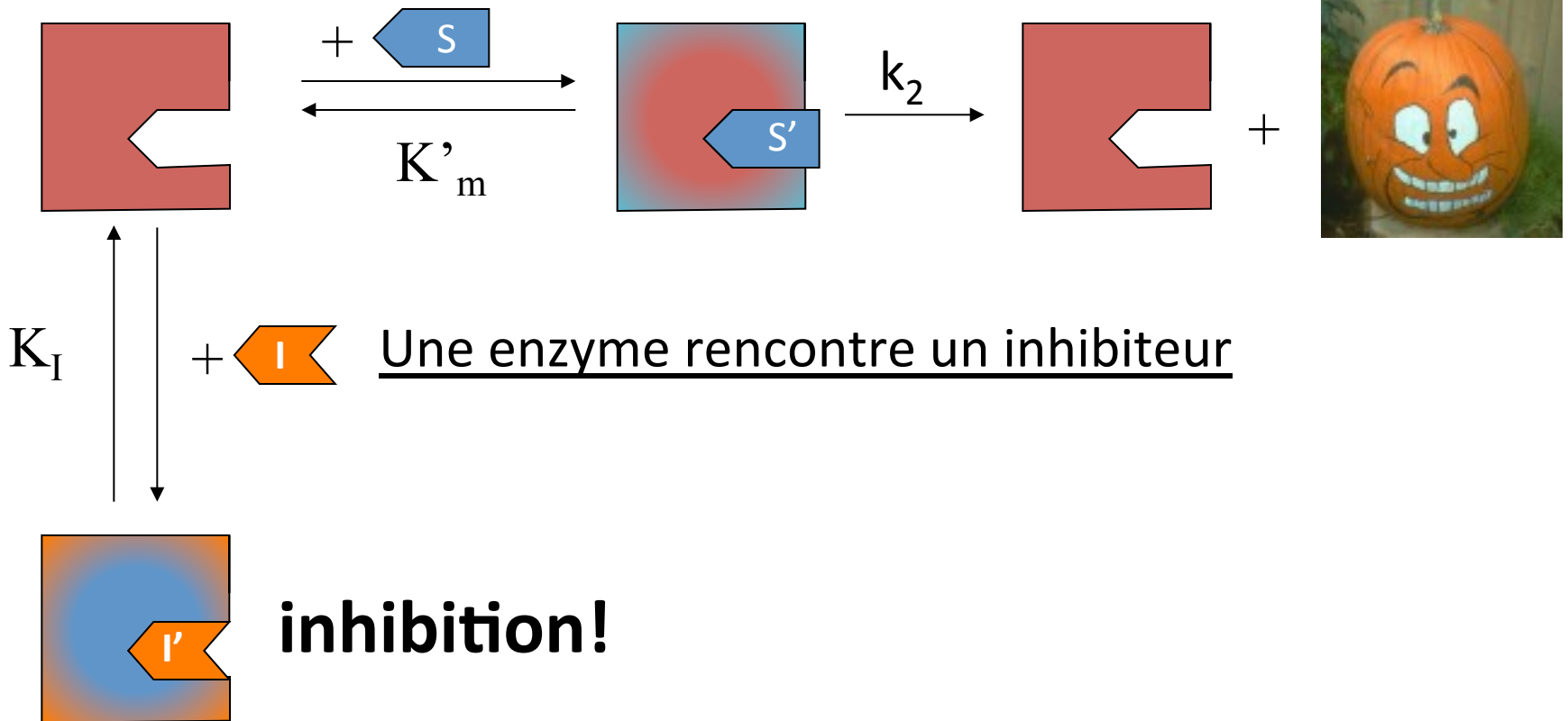
Inhibiteurs compétitifs

Le mécanisme:

Une enzyme...et son substrat

réaction

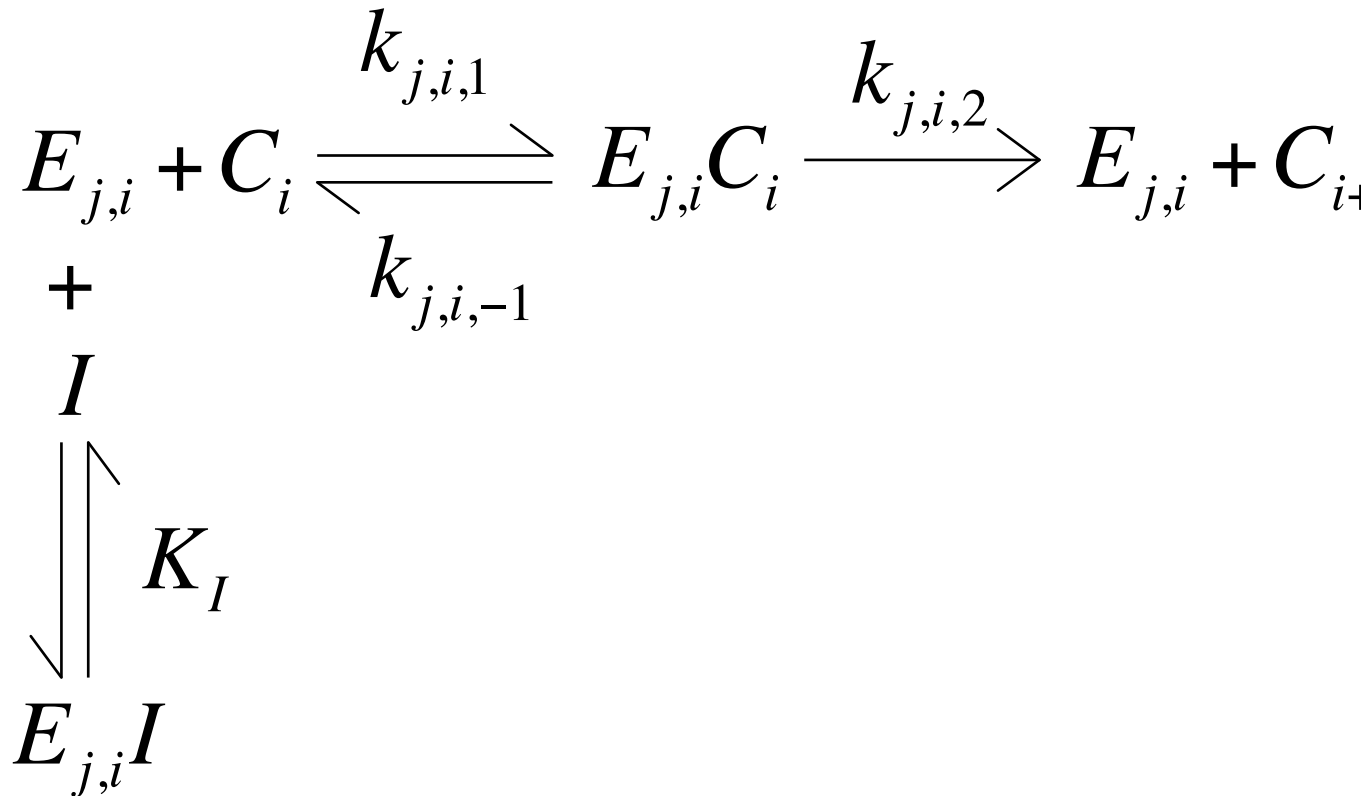
l'enzyme...et le produit



Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur compétitif

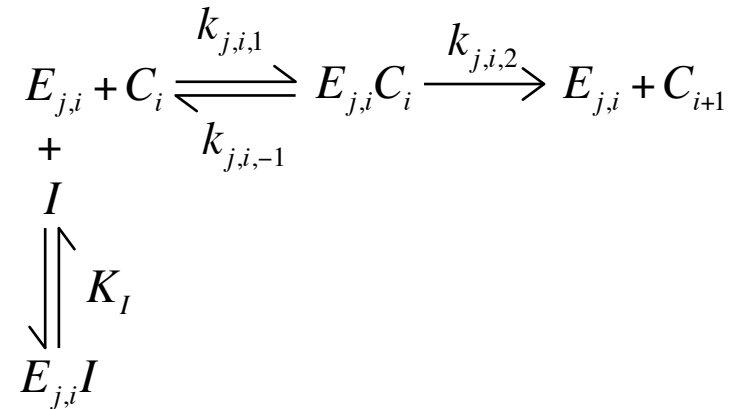


Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur compétitif



$$v_{j,i} = v_{max,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

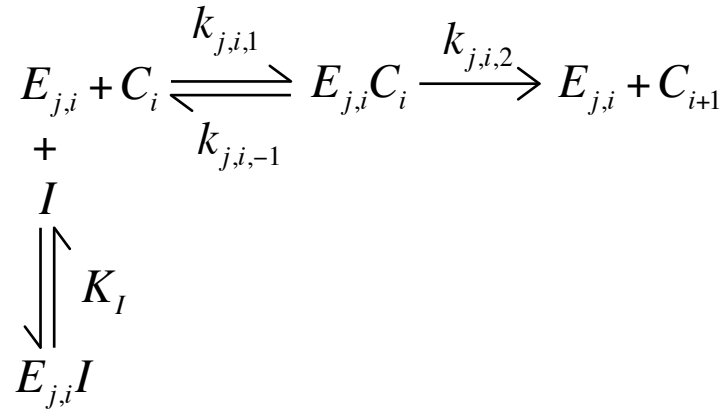
$$\text{où: } K_{m,app,j,i} = K_{m,j,i} \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$$

Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur compétitif



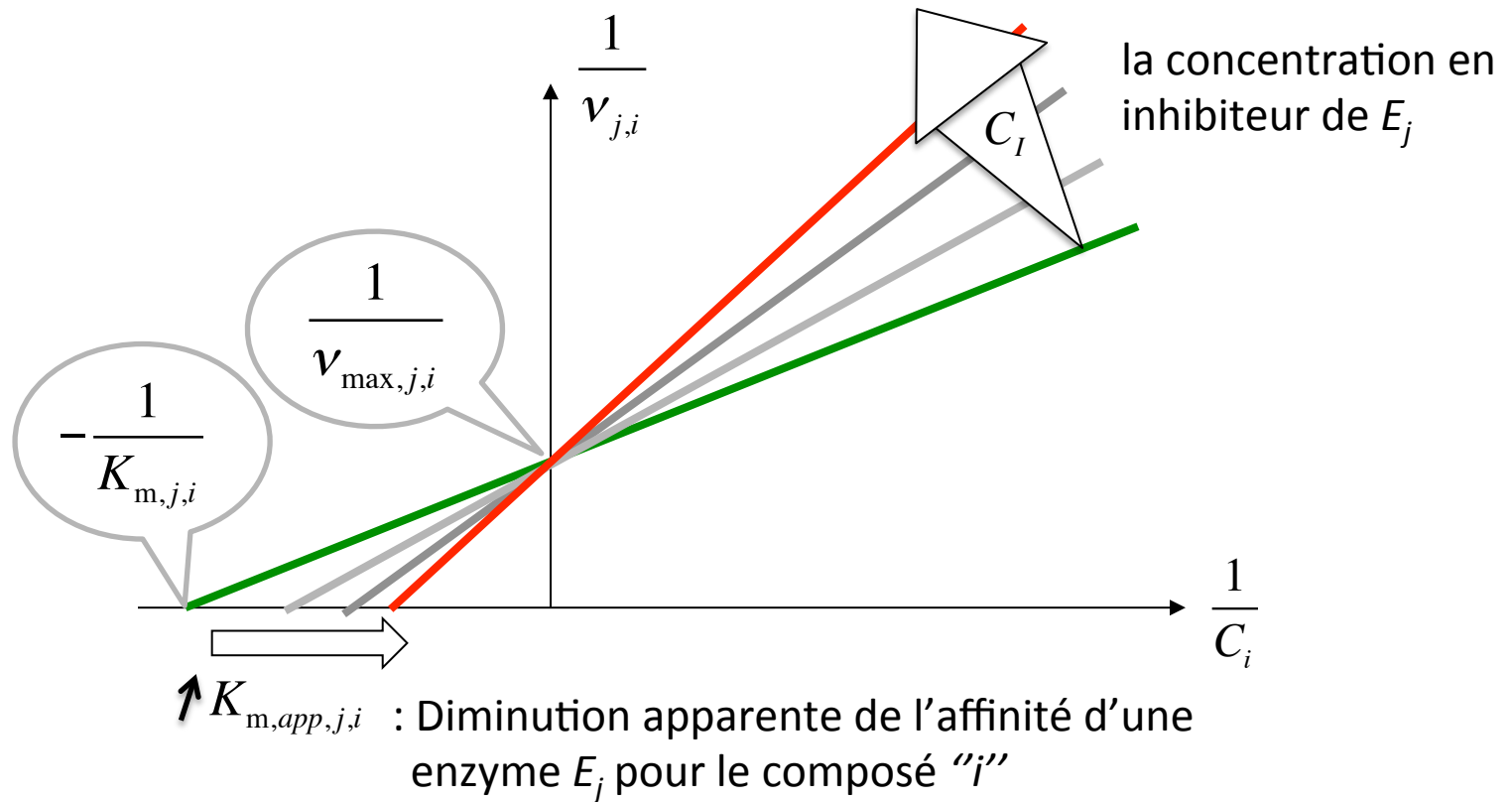
$$v_{j,i} = v_{max,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

$$\text{où: } K_{m,app,j,i} = K_{m,j,i} \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$$

$$v_{j,i} = fct (C_I)$$

Linéarisation selon Lineweaver-Burk

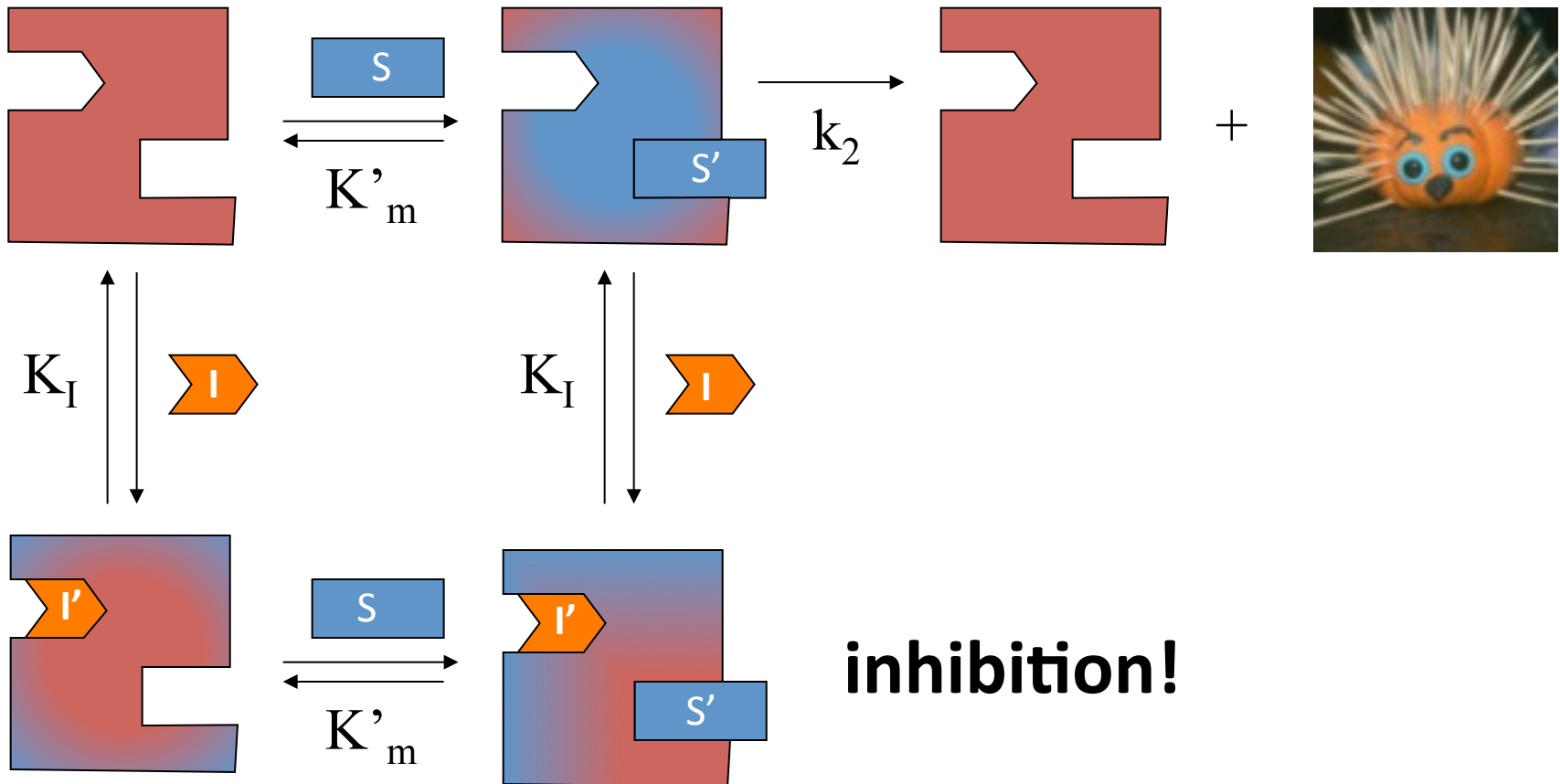
en présence d'un inhibiteur compétitif



Inhibiteur non compétitif

Le mécanisme:

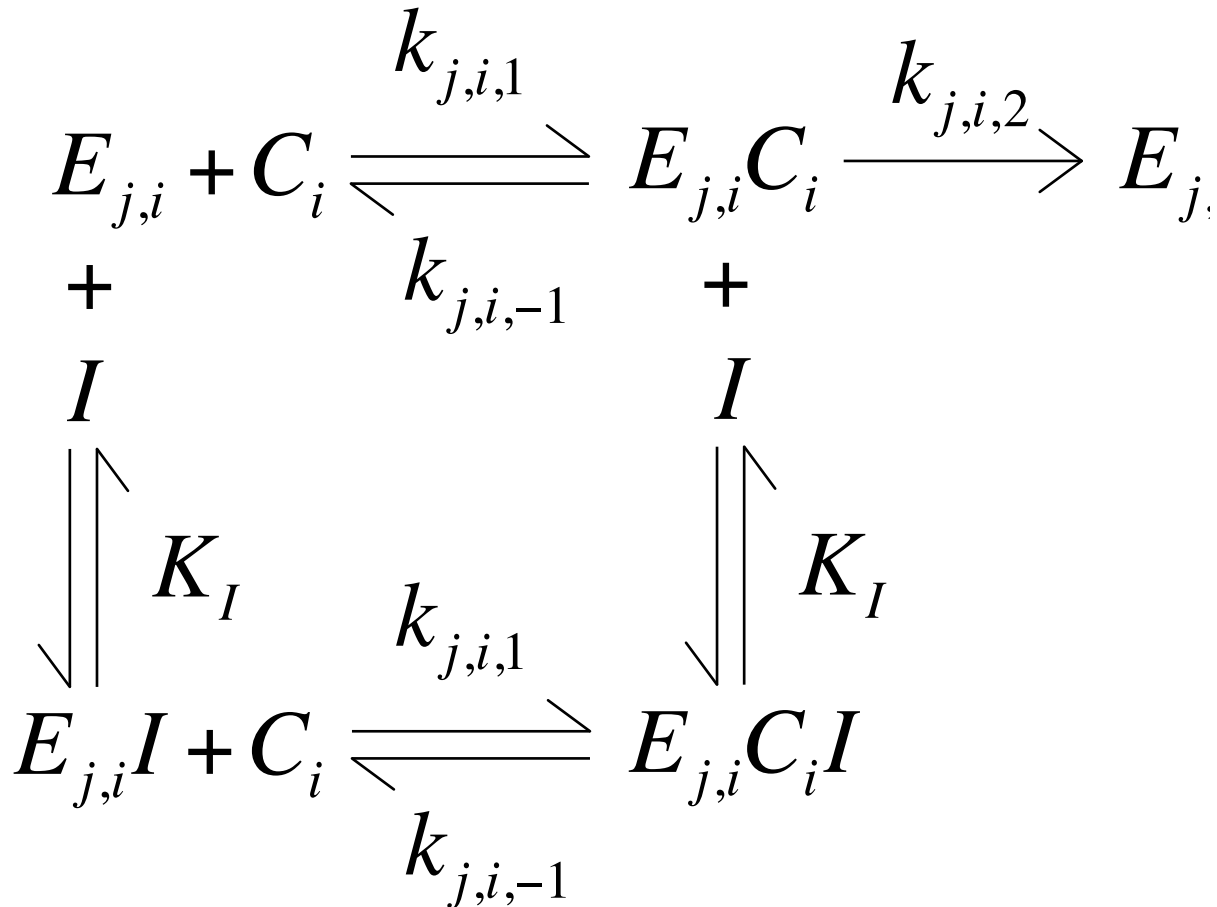
l'enzyme...et le produit



inhibition!

Mécanisme

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur non compétitif

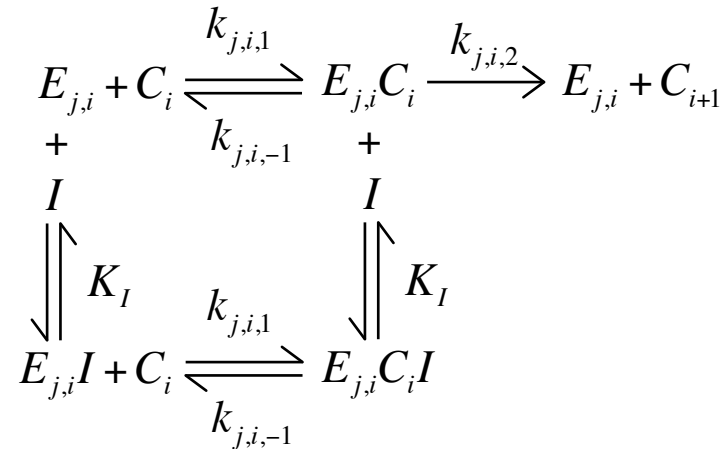


Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur non compétitif



$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,j,i} + C_i}$$

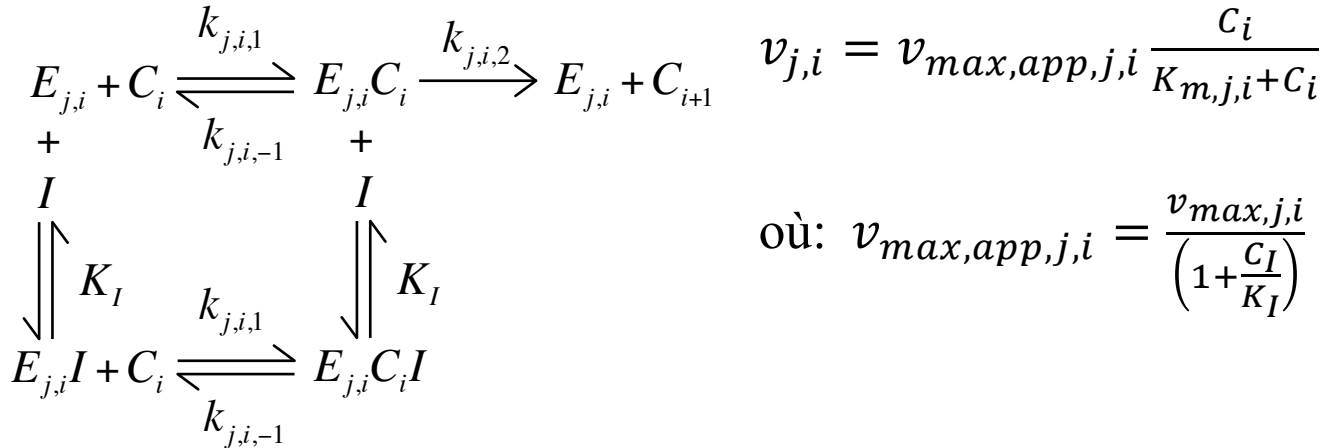
$$\text{où: } v_{max,app,j,i} = \frac{v_{max,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}$$

Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur non compétitif



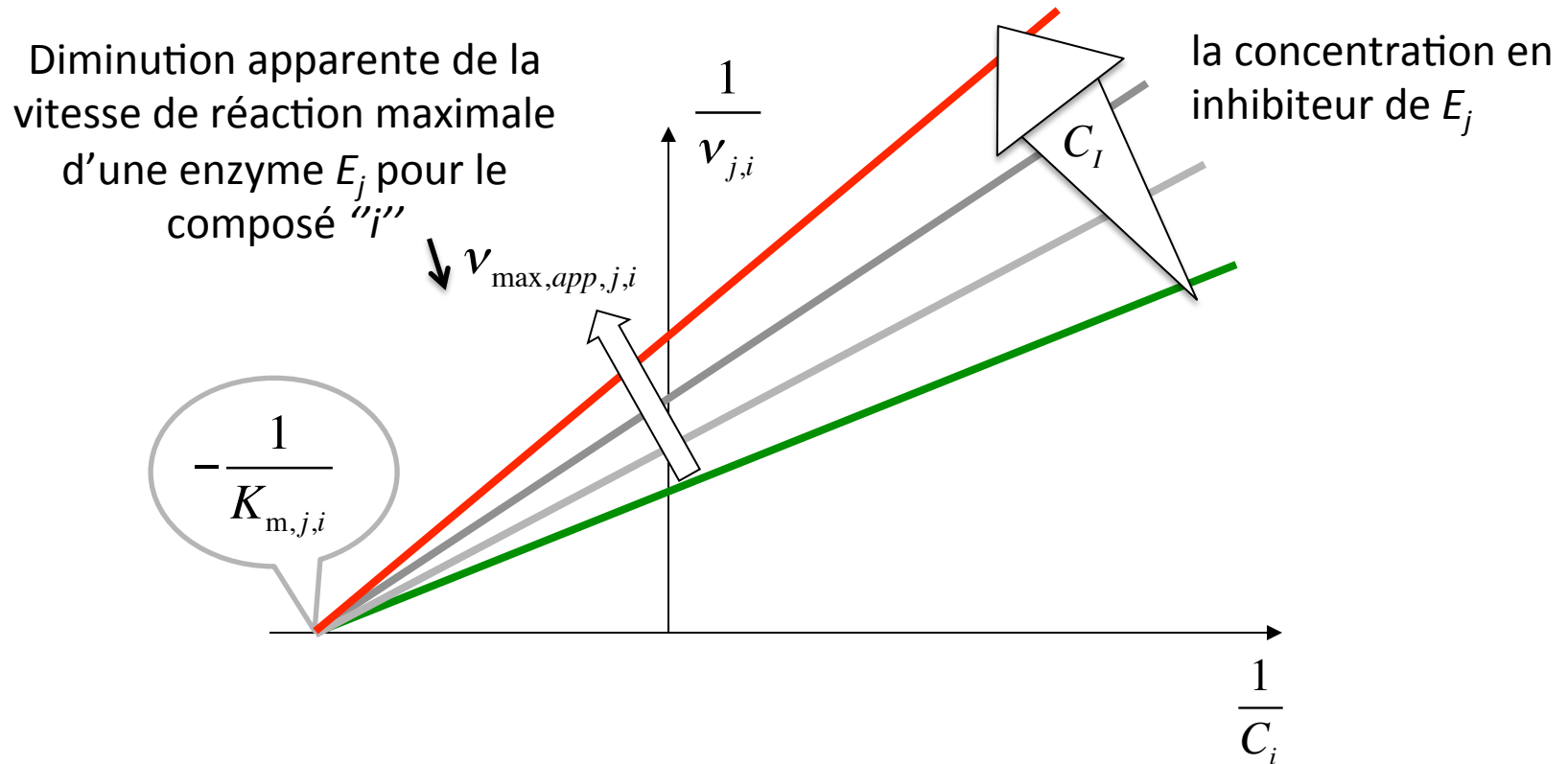
$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,j,i} + C_i}$$

$$\text{où: } v_{max,app,j,i} = \frac{v_{max,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}$$

$$v_{j,i} = fct (C_I)$$

Linéarisation selon Lineweaver-Burk

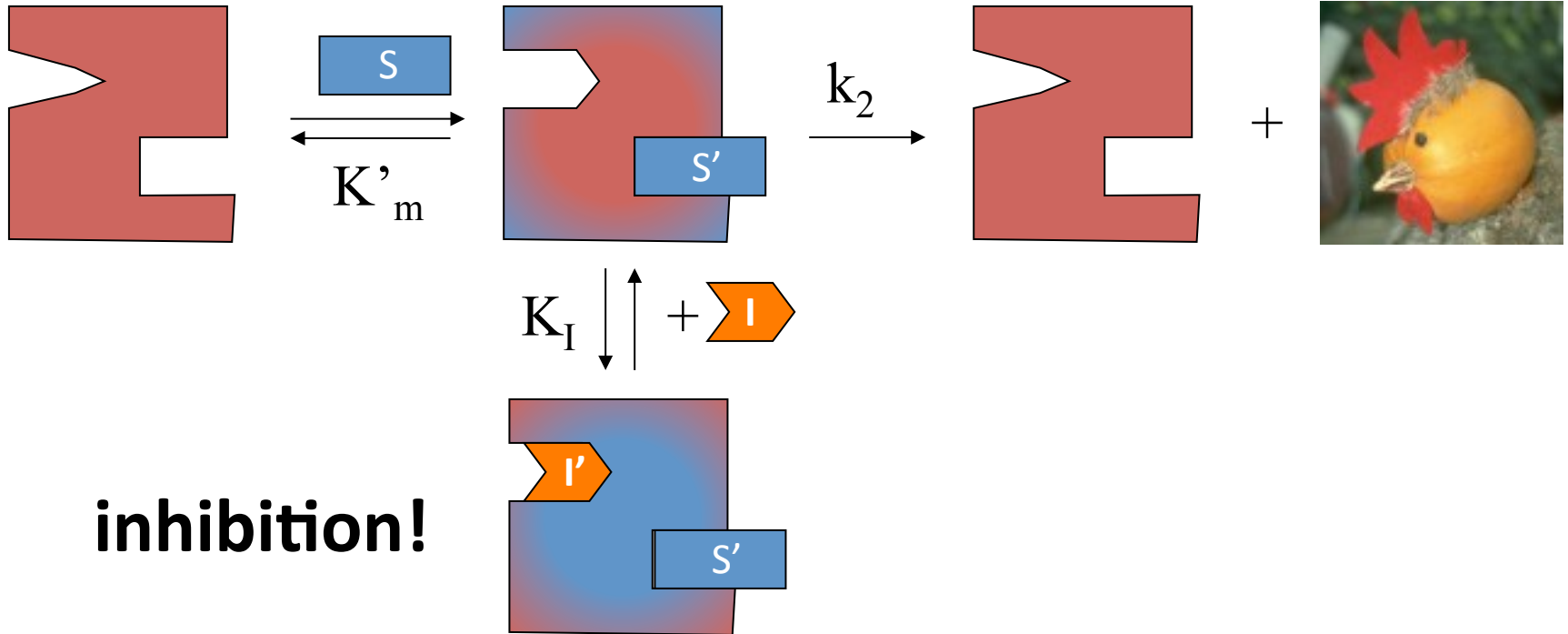
en présence d'un inhibiteur non compétitif



Inhibiteurs incompétitifs

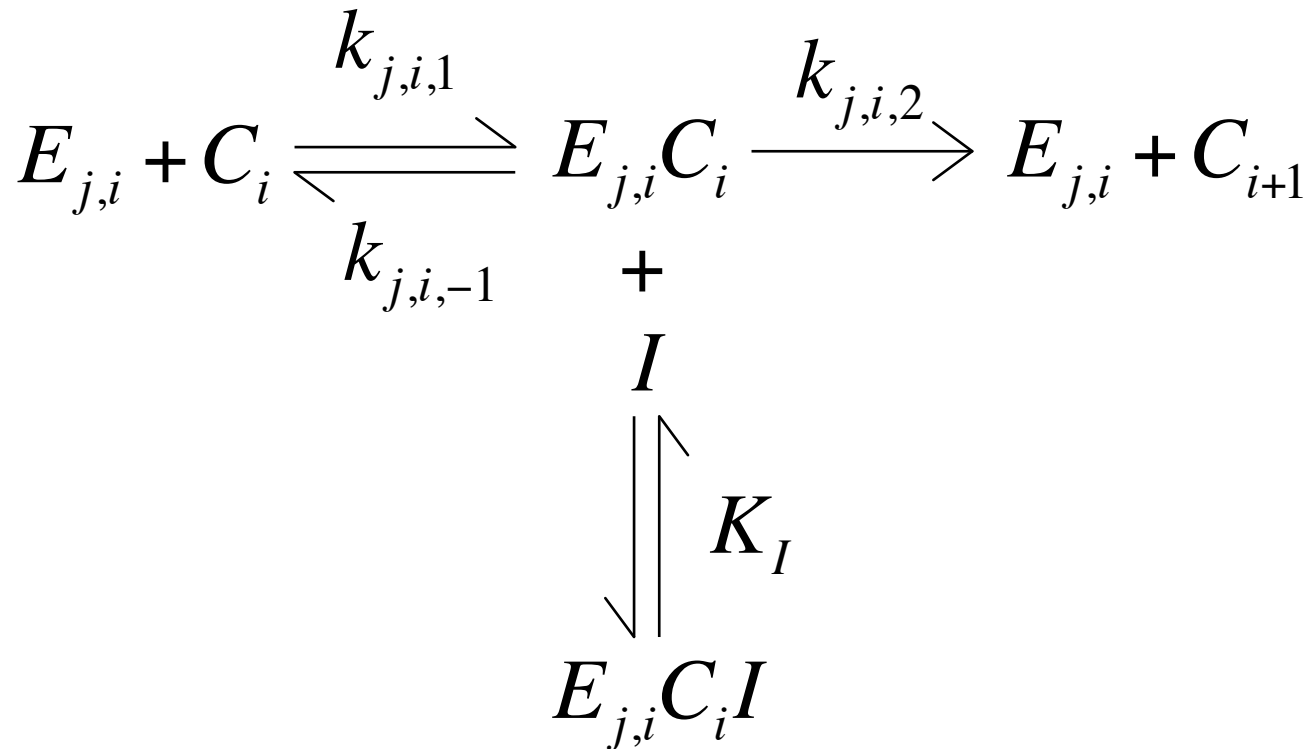
Le mécanisme:

l'enzyme...et le produit



Mécanisme

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur incompétitif

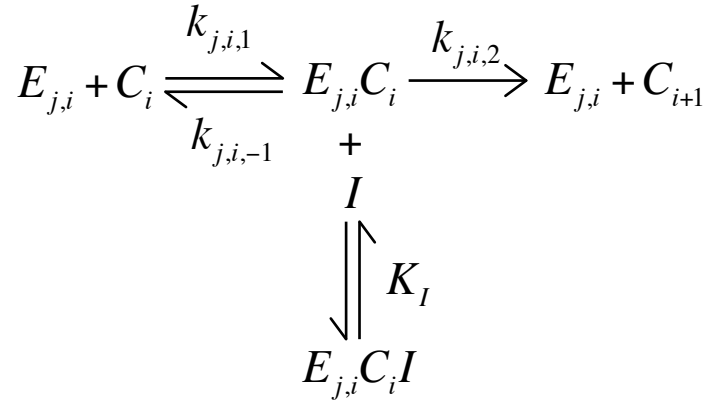


Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur incompétitif



$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

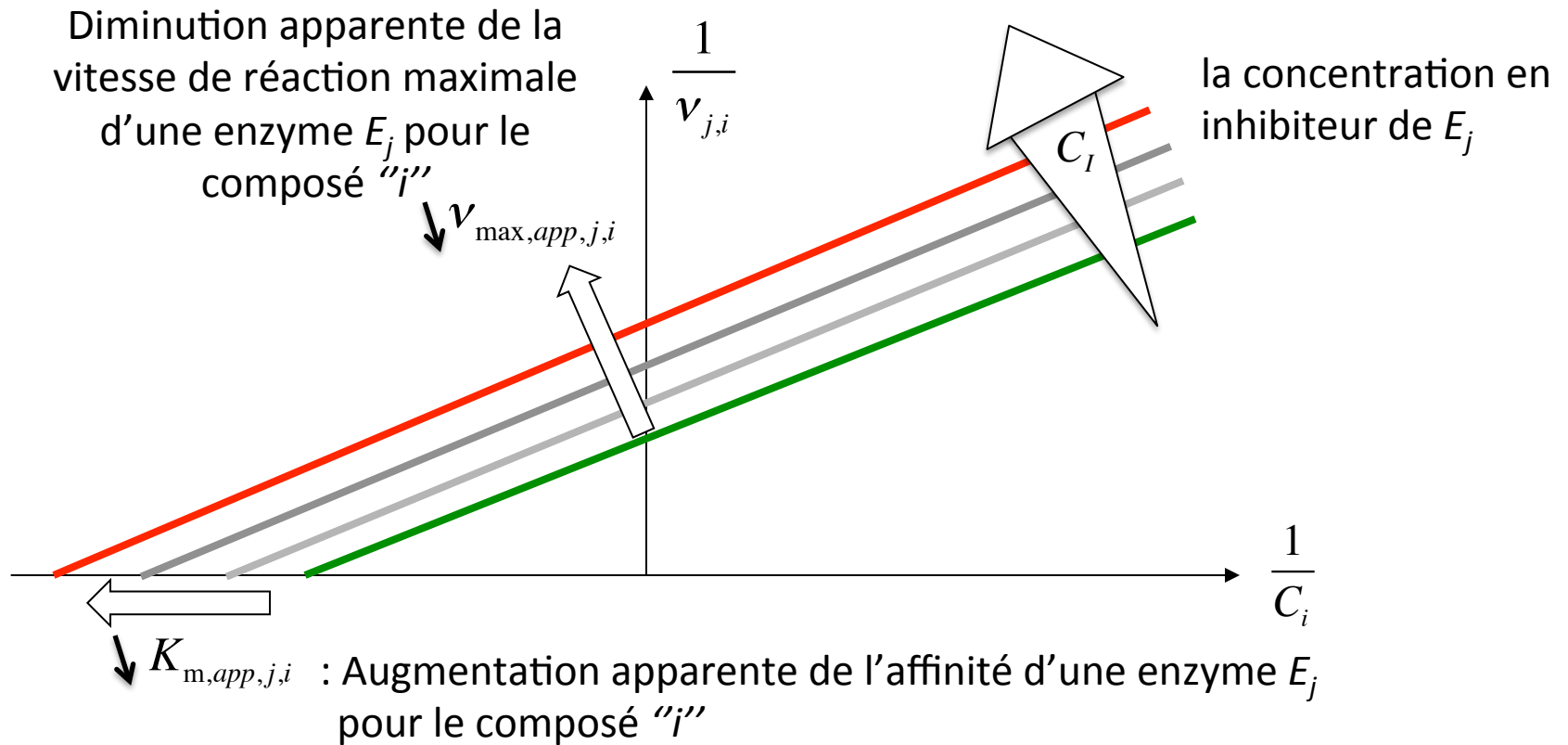
$$\text{où: } v_{max,app,j,i} = \frac{v_{max,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}$$

$$\text{et: } K_{m,app,j,i} = \frac{K_{m,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}$$

$$v_{j,i} = fct(C_I)$$

Linéarisation selon Lineweaver-Burk

en présence d'un inhibiteur incompétitif

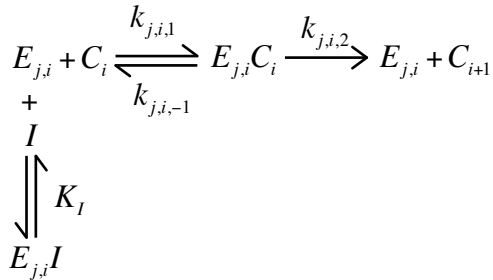


Effet d'un inhibiteur sur la cinétique d'une réaction enzymatique

Mécanisme

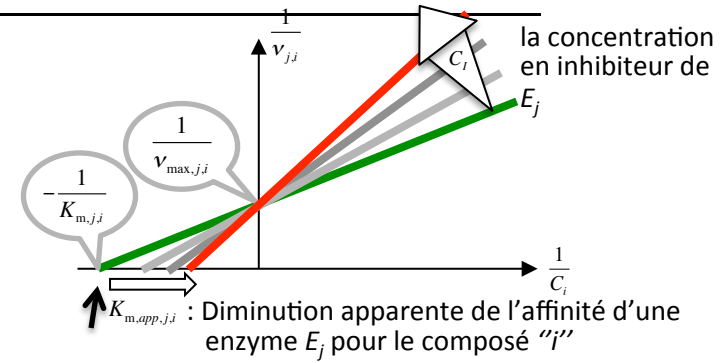
Cinétique

Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur compétitif

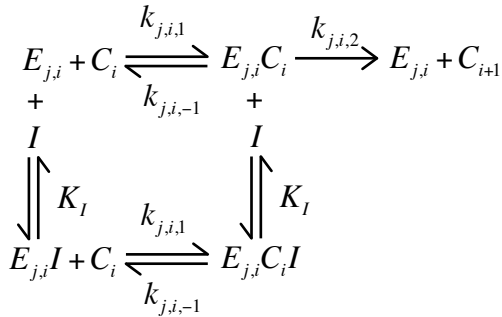


$$v_{j,i} = v_{max,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

$$\text{où: } K_{m,app,j,i} = K_{m,j,i} \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$$

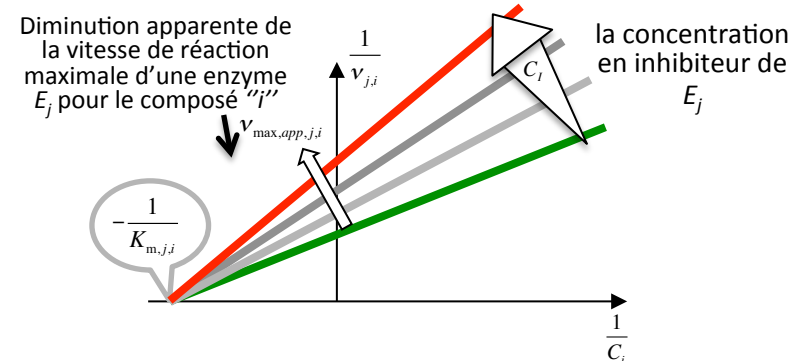


Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur non compétitif

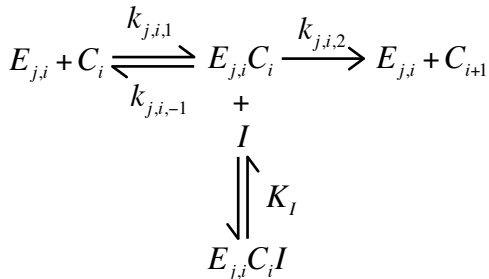


$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,j,i} + C_i}$$

$$\text{où: } v_{max,app,j,i} = \frac{v_{max,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)}$$



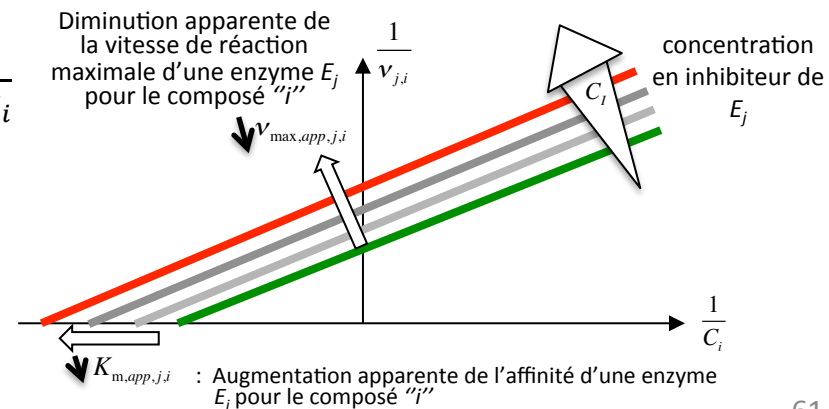
Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur incompétitif



$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

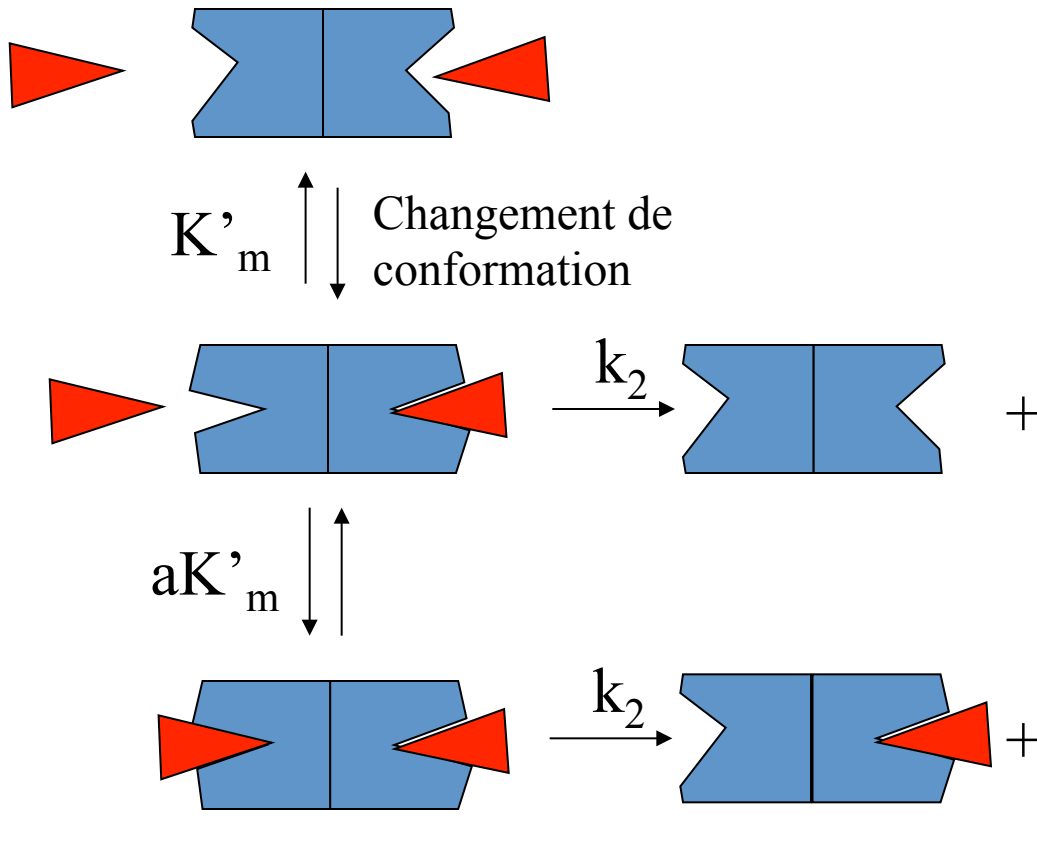
$$\text{où: } v_{max,app,j,i} = \frac{v_{max,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)}$$

$$\text{et: } K_{m,app,j,i} = \frac{K_{m,j,i}}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)}$$



Allostérie

Le mécanisme:



La cinétique réactionnelle:

Equation de Hill

$$V = \frac{V_m [S]^n}{K^n + [S]^n}$$

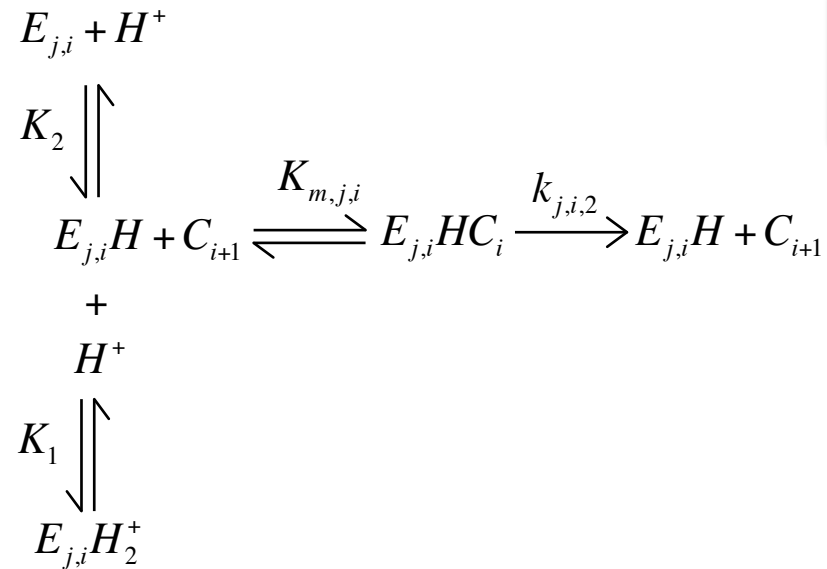




Autres effets de l'environnement sur la formulation cinétique

Effet du pH

Mécanisme



$$v_{j,i} = fct(pH)$$

Cinétique

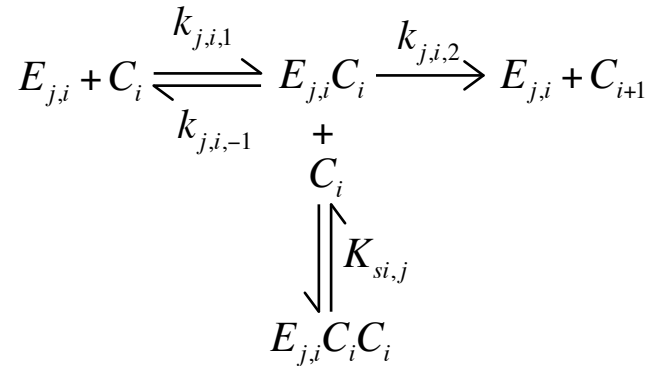
$$v_{j,i} = v_{max,j,i} \frac{C_i}{K_{m,j,i} \left(1 + \frac{K_2}{C_{H^+}} + \frac{C_{H^+}}{K_1} \right) + C_i}$$



Autres effets de l'environnement sur la formulation cinétique

Effet d'une concentration élevée en substrat

Mécanisme



$$v_{j,i} = fct(C_i)$$

Cinétique

$$v_{j,i} = v_{max,j,i} \frac{C_i}{K_{m,j,i} + C_i + \frac{C_i^2}{K_{si,j}}}$$

où:

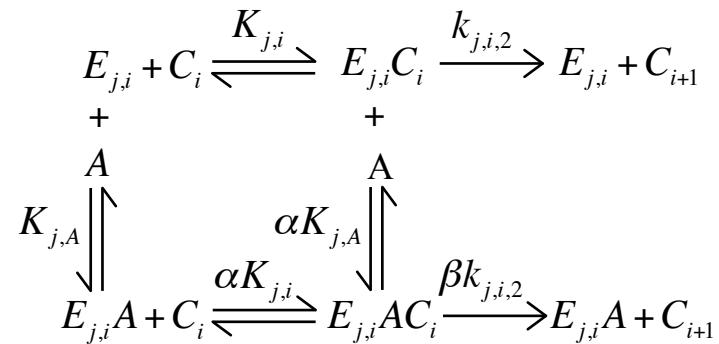
$$K_{si,j} = \frac{C_i [E_{i,j}C_i]}{[E_{i,j}C_iC_i]}$$



Effet d'un activateur sur la cinétique enzymatique

En présence d'un activateur compétitif

Mécanisme



$$v_{j,i} = fct(C_A)$$

Cinétique

$$v_{j,i} = v_{max,app,j,i} \frac{C_i}{K_{m,app,j,i} + C_i}$$

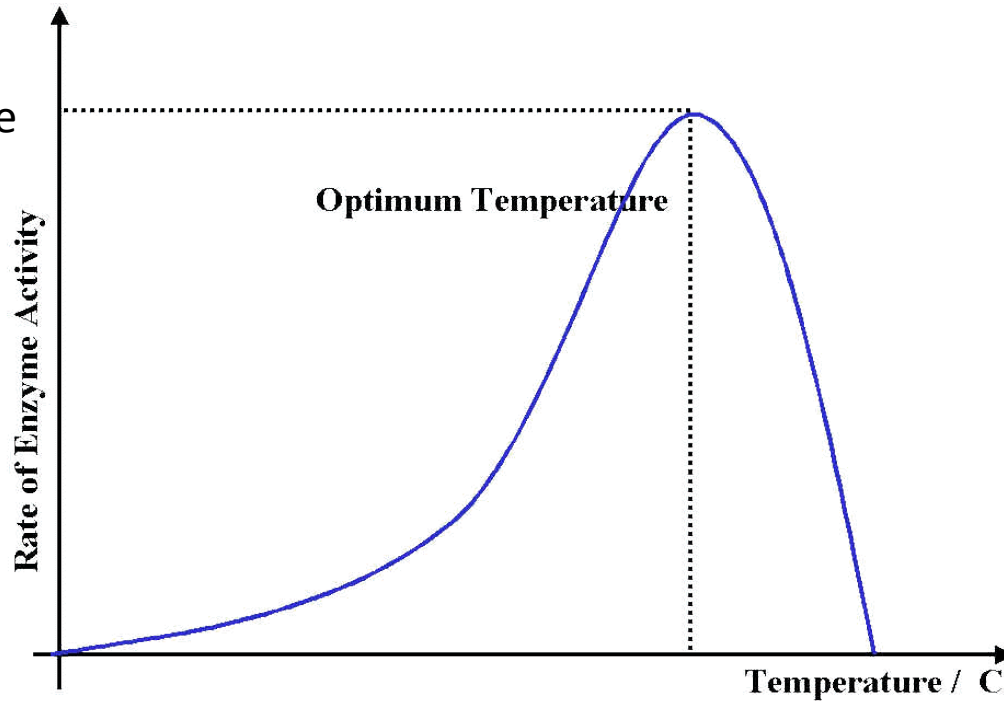
où:

$$K_{m,app,j,i} = K_{m,j,i} \frac{\left(1 + \frac{C_A}{K_{j,A}}\right)}{\left(1 + \frac{C_A}{\alpha K_{j,A}}\right)} \quad \text{et} \quad v_{max,app,j,i} = v_{max,j,i} \frac{\left(1 + \frac{\beta C_A}{\alpha K_{j,A}}\right)}{\left(1 + \frac{C_A}{\alpha K_{j,A}}\right)}$$

Effet de la température

Taux d'activité enzymatique
ou
Vitesse de réaction

v



$$v = \underbrace{Ae^{-E_a/RT}}_{\text{Activation : équation d'Arrhenius}} \underbrace{E_0 e^{-k_d t}}_{\text{Dénaturation thermique}}$$

Activation : équation d'Arrhenius

Dénaturation thermique

Inhibition enzymatique

1. Pourquoi? Un problème ou une solution?
2. Où? Portez toute votre attention au catalyseur
3. Par quoi? Une question d'affinité
4. Comment? Synthétisez le bon rythme et/ou l'affinité
5. Utilité de l'étude? De l'enzyme au bioprocédé

Pourquoi modéliser les cinétiques enzymatiques?

- Comprendre
- Analyser
- Identifier
- Design des équipements
- Choix des matériaux
- Concevoir un procédé
- Contrôler
- Recherche de cibles thérapeutiques

Inhibitions à l'échelle cellulaire

- L'inhibition cellulaire peut provenir de différents phénomènes
 - Accumulation d'un métabolite
 - Inhibition par le produit
 - pH, Température
 - Élément externe non-désiré
(passivation des cuves en acier)
- On peut facilement inclure un phénomène d'inhibition dans un modèle biocinétique (régulation)

Effet du pH

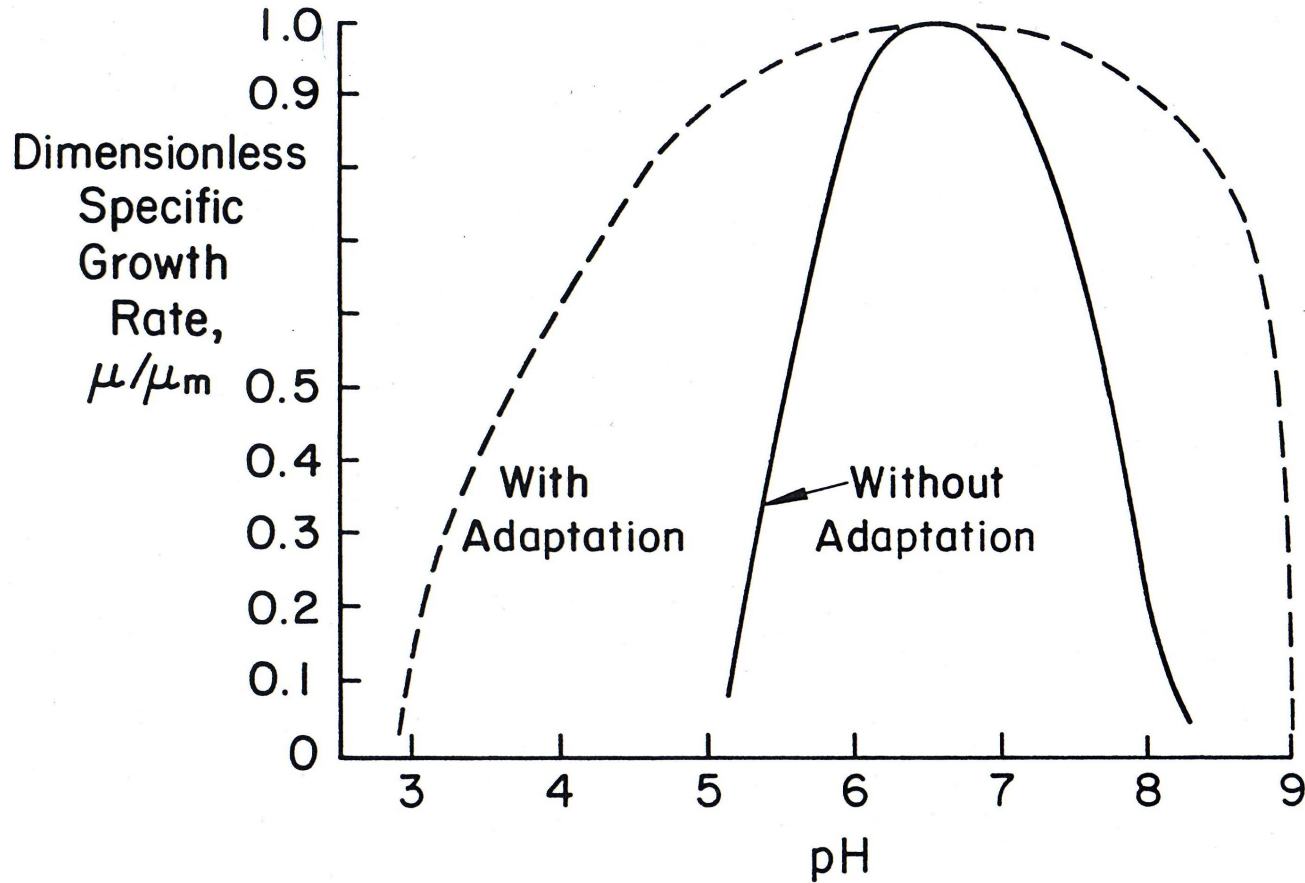


Figure 6.8. Typical variation of specific growth rate with pH. The units are arbitrary. With some microbial cultures, it is possible to adapt cultures to a wider range of pH values if pH changes are made in small increments from culture transfer to transfer.

Effet de la température

Table 7.2 Classification of microorganisms in terms of growth-rate dependence on temperature†

Group	Temperature, °C		
	Minimum	Optimum	Maximum
Thermophiles	40 to 45	55 to 75	60 to 80
Mesophiles	10 to 15	30 to 45	35 to 47
Psychrophiles:			
Obligate	-5 to 5	15 to 18	19 to 22
Facultative	-5 to 5	25 to 30	30 to 35

† R. Y. Stanier, M. Doudoroff, and E. A. Adelberg. *The Microbial World*. 3d ed., p. 316, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J., 1970.

Effet de la température

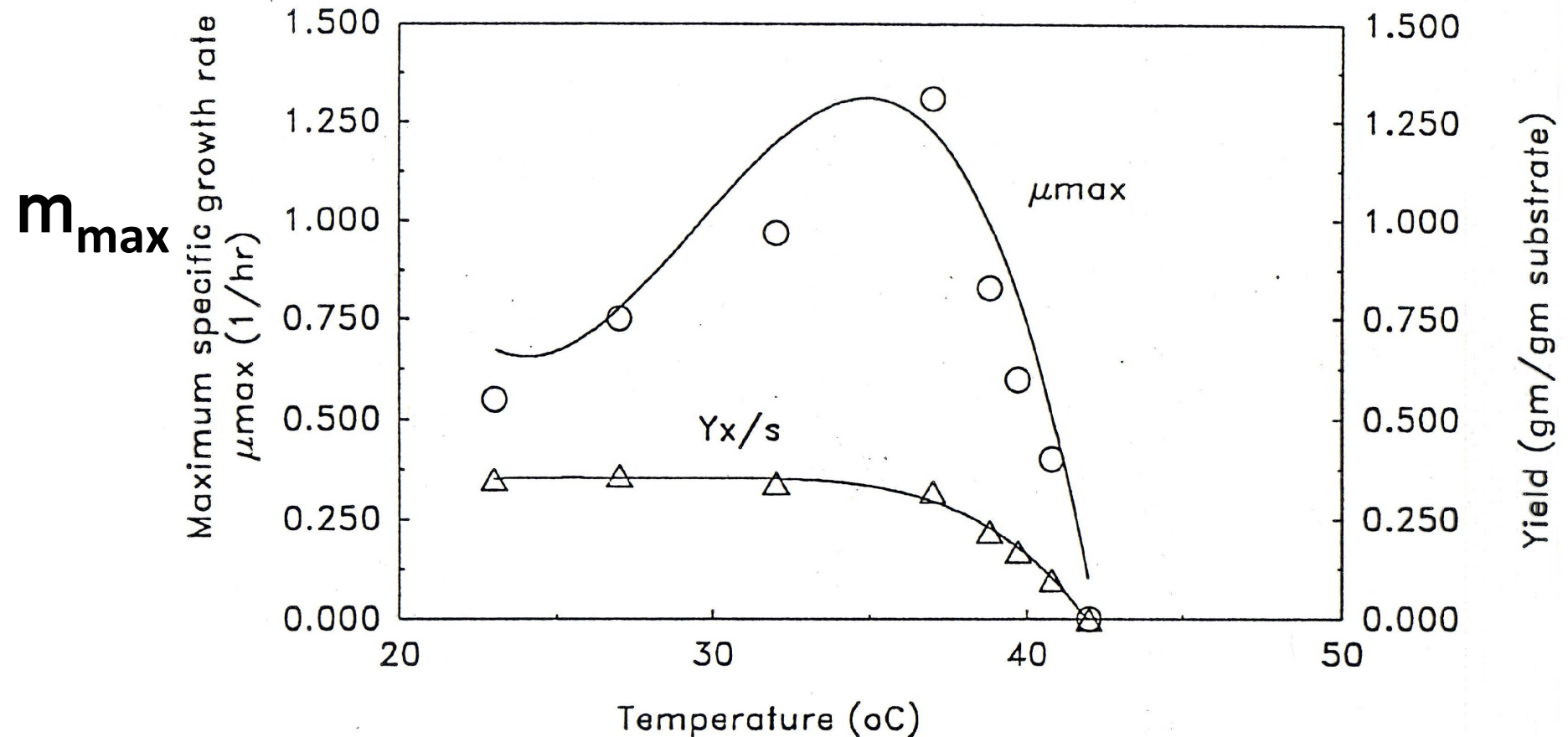


Figure 3.8. The effect of temperature on the growth rate (μ_{max}) of *Aerobacter aerogenes*, aerobic growth on glucose. [From W.J. Payne, *Ann. Rev. Microbiol.* 24, 17 (1970)].

Quelques exemples d'intérêt reliés aux enzymes

- Dans le domaine agroalimentaire :

La production de boissons alcoolisées, ou d'alcool, est limitée par le produit: l'éthanol est un inhibiteur « non compétitif »

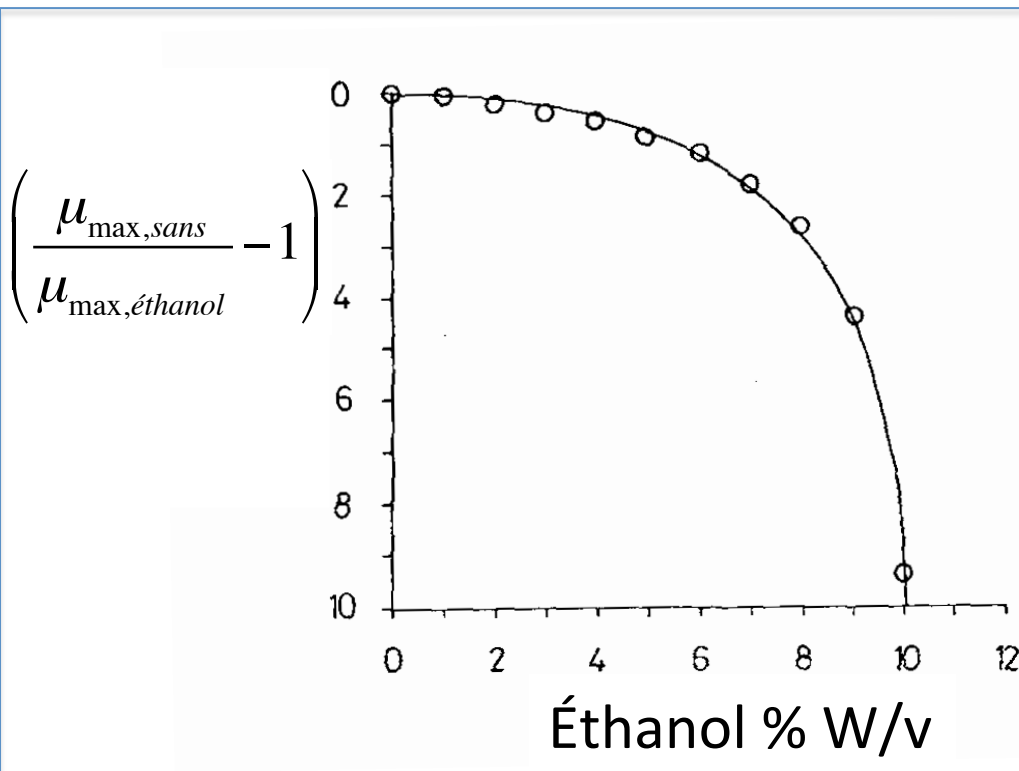


Table 1. Effect of ethanol on the growth rate (μ , h^{-1}) of the two yeast species

Ethanol w/v%	NCYC 479		5D-cyc	
	Growth rate	Percent of control	Growth rate	Percent of control
0	0.280	100	0.258	100
1	0.280	100	0.258	100
2	0.251	89.6	0.239	92.6
3	0.220	78.5	0.213	82.5
4	0.200	71.4	0.180	69.7
5	0.164	58.5	0.156	60.4
6	0.139	49.6	0.135	52.3
7	0.110	39.3	0.109	42.2
8	0.081	28.9	0.081	31.4
9	0.052	18.6	0.056	21.7
10	0.024	8.6	0.027	10.4

Exemple

1/S (mM ⁻¹)	1/V (mmo ⁻¹ L h)			
	I = 0 (mM)	I = 0,0012	I = 0,0044	I = 0,006
5	0,22	0,33	0,76	0,88
50	0,68	1,02	2,72	3,46

De quel type d'inhibition s'agit-il?

Références

- Irwin H. Segel. Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems, Wiley Classic Library. 1993. ISBN 0-471-30309-7
- Shuler M.J. et Kargi F. Bioprocess Engineering, Basic Concepts. Prentice Hall. 1992. ISBN 0-13-478215-1
- Bailey J.E. et Ollis D.F. Biochemical Engineering Fundamentals. Second Edition. McGraw-Hill. 1986. ISBN 0-07-003212-2