

Zeitschrift:	Archives des sciences [1948-1980]
Herausgeber:	Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band:	11 (1958)
Heft:	7: Colloque Ampère
Artikel:	L'interaction des ions du manganèse avec l'enzyme énolase et son substrat étudiée par la résonance paramagnétique
Autor:	Malmström, B.G. / Vänngard, Tore / Larsson, Märtha
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-738875

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 29.01.2026

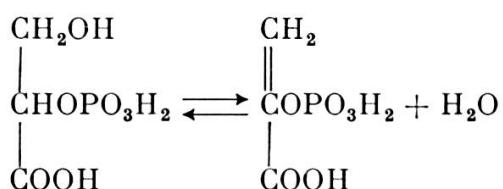
ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

L'interaction des ions du manganèse avec l'enzyme énolase et son substrat étudiée par la résonance paramagnétique

B. G. MALMSTRÖM, Tore VÄNNGÅRD et Märtha LARSSON

Instituts de Biochimie et de Physique, Uppsala, Suède

L'enzyme énolase activé par certains ions métalliques catalyse la réaction suivante:



acide glycéro-2-phosphorique (PGA).

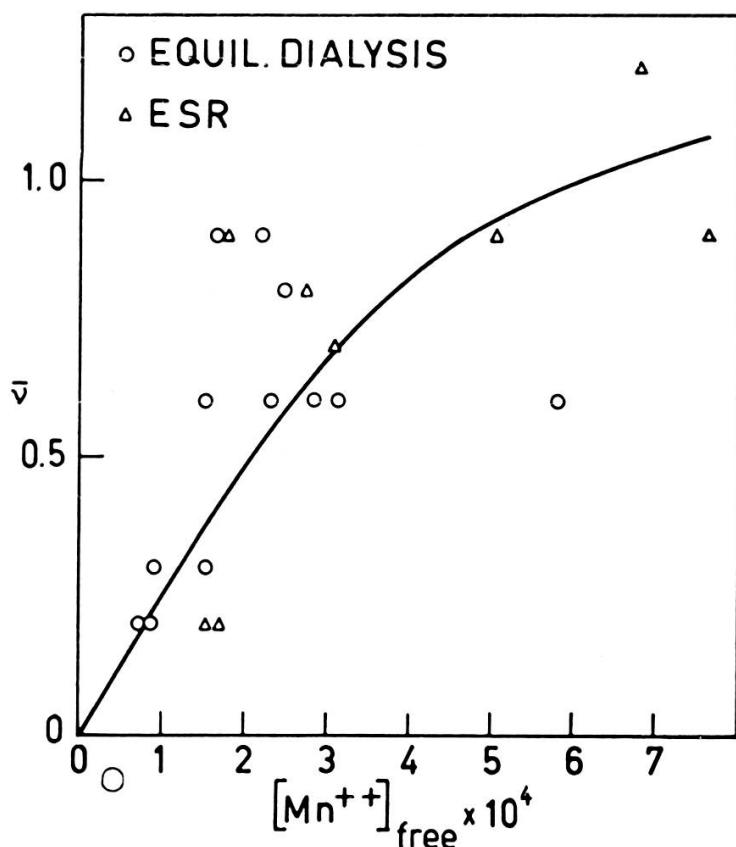
Les ions métalliques qui activent l'énolase sont Mg^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , parmi eux seul l'ion Mn^{++} est paramagnétique. Nous faisons ici une étude paramagnétique des complexes Mn-PGA et Mn-énolase. En comparant les résultats de cette méthode-ci avec les autres méthodes [1-4] nous avons trouvé un bon accord.

On emploie un spectromètre commercial travaillant avec la fréquence de 9500 Mc/s. Pendant les expériences à la température ambiante on a gardé les spécimens, dont la température monta jusqu'à 30° à cause de l'absorption diélectrique, dans des tubes de Pyrex de diamètre intérieur de 1,3 mm.

La résonance de solutions de l'ion Mn^{++} suffisamment diluées dans l'eau présente 6 pics hyperfins, d'une largeur d'environ 20 gauss chacun, alors que le Mn^{++} formant complexe donne des spectres bien plus larges. On a proposé plusieurs mécanismes pour cet élargissement [5, 6]. Au cas où l'élargissement est si grand que la contribution du complexe à la hfs peut être négligée, l'intensité des pics hyperfins est une mesure de la quantité du manganèse libre. C'est aussi le cas pour le complexe Mn-PGA aussi que pour le complexe Mn-énolase.

L'expérience eut lieu en tampon tris-ClH 0,05 M, pH 7,8 contenant ClK 0,50 M. Les concentrations de manganèse, de PGA et d'énolase furent mesurées de la manière décrite ci-dessus [2].

La formation du complexe entre le Mn et le PGA fut étudiée sous deux concentrations différentes du Mn, $2 \cdot 10^{-4}$ et $1 \cdot 10^{-3}$ M. On obtint pour la



constante de dissociation K_d la valeur de $2,3 \cdot 10^{-3}$ M, ce qui s'accorde bien avec les valeurs obtenues par la méthode d'échangeur d'ion ($2,3 - 2,5 \cdot 10^{-3}$ M) après correction à la même force ionique [3].

Pour l'étude du complexe Mn-énolase, nous avons calculé à partir des raies de résonance paramagnétique comment la moyenne du nombre d'ions Mn^{++} liés par une molécule de l'enzyme (\bar{v}) varie avec la concentration des ions Mn^{++} libres. Les résultats s'accordent dans les limites d'erreur avec les valeurs obtenues par la dialyse de l'équilibre (voir la figure) et peuvent être comparés aux résultats d'expériences cinétiques de la façon suivante. On a démontré antérieurement [2-4] que l'activation de l'énolase comporte la formation d'un complexe du métal avec l'enzyme et non avec le substrat mais le métal peut tout de même se lier spécifiquement et non

spécifiquement. Dans ces conditions, on peut calculer à partir de la constante de l'activation K_a (déterminée par la méthode spectrophotométrique) la constante de dissociation K pour le complexe Mn-énolase en tenant compte des perturbations d'équilibre en présence du substrat. Celles-ci sont: 1^o diminution de la concentration du Mn^{++} à cause de la formation du complexe Mn-PGA (pour la constante de dissociation K_d , voir ci-dessus); 2^o la diminution de la concentration du complexe Mn-énolase par la formation du complexe ternaire énolase-Mn-PGA (pour cette correction on emploie la constante de Michaelis $K_m = 1 \cdot 10^{-4} M$ [7]).

De cette façon on obtint $K = 1,7 \cdot 10^{-4} M$. Pour une concentration du Mn^{++} aussi grande que K on obtient dans la figure $\bar{v} = 0,5$, c'est aussi la valeur qu'on devrait obtenir si l'activation comporte la liaison d'un ion Mn par chaque molécule d'enzyme. Ainsi n'y a-t-il qu'une liaison spécifique par chaque molécule d'enzyme et la liaison non spécifique doit dans ce cas être petite car elle diminue à cause de la grande force ionique.

Les études préliminaires à la température de l'air liquide démontrent que les conditions sont changées à tel point que la solution du Mn^{++} dans l'eau donne un pic d'environ 430 gauss de largeur sans la hfs [8] alors que les deux complexes Mn-PGA et Mn-énolase donnent une structure hyperfine [9] avec la largeur de pics hyperfins d'environ 200 gauss et une séparation totale de 470 gauss. En supposant que la congélation ne change pas le caractère des complexes, ceci indique que la formation du complexe ne comporte pas de changement de multiplicité comme il peut en être pour les complexes octaédriques covalents [10]. Il semble plus difficile de déterminer « le degré de covalence » à partir de la constante hyperfine A [11], d'une part parce que la question de l'origine de la structure hyperfine n'a pas encore été entièrement éclairée [12, 13], d'autre part que notre hfs ne peut être décrite de façon satisfaisante par une constante A. Ceci peut éventuellement dépendre de la superposition de deux spectres aux différents facteurs g et différentes constantes hyperfines.

On projette des études ultérieures de ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

1. MÅLMSTRÖM, B. G., *Nature*, 171 (1953), 392.
2. —— *Arch. Biochem. Biophys.*, 46 (1953), 345.
3. —— *Arch. Biochem. Biophys.*, 49 (1954), 335.
4. —— *The Mechanism of Metal-Ion Activation of Enzymes — Studies on Enolase*. Almqvist & Wiksell, Uppsala, 1956.

5. COHN, M. and J. TOWNSEND, *Nature*, **173** (1954), 1090.
 6. McGARVEY, B. R., *J. Phys. Chem.*, **61** (1957), 1232.
 7. MALMSTRÖM, B. G. and A. ROSENBERG, *Advances in Enzymol.*, **21**, in press.
 8. INGRAM, D. J. E., *Disc. Faraday Soc.*, **19** (1955), 176.
 9. KOZYREV, B. M., *Disc. Faraday Soc.*, **19** (1955), 135.
 10. INGRAM, D. J. E., *Spectroscopy at Radio and Microwave Frequencies*. Butterworth, London, 1955, p. 174.
 11. VAN WIERINGEN, J. S., *Disc. Faraday Soc.*, **19** (1955), 118.
 12. ABRAGAM, H., J. HOROWITZ, M. H. L. PRYCE, *Proc. Roy. Soc. A.*, **230** (1955), 169.
 13. HEINE, V., *Phys. Rev.*, **107** (1957), 1002.
-