



Lycée François-René DE CHATEAUBRIAND
 136 BOULEVARD DE VITRÉ, CS 10637
 35706 RENNES CEDEX 7
CLASSE PRÉPARATOIRE BCPST 1C
 Biologie Chimie Physique Sciences de la Terre

ENSEIGNEMENT DE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE (SVT)
 °° SCIENCES DE LA VIE °°
 >> Cours <<

Chapitre 11

Métabolisme 3

Les enzymes et la catalyse des réactions

PROPOSITION DE FICHE À COMPLÉTER

Objectifs : extraits du programme

Savoirs visés	Capacités exigibles
SV-E-3 Les enzymes et la catalyse des réactions	
<p>On distingue les enzymes à comportement coopératif (enzymes allostériques) et à comportement michaelien. Pour une enzyme oligomérique, l'allostérie correspond à l'influence d'un site de fixation d'un ligand sur un autre qu'il soit identique (effet homotrope) ou différent (effet hétérotrope). Les principaux paramètres cinétiques permettant de décrire une activité enzymatique sont v_{max}, K_M ou $K_{0,5}$.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser le suivi expérimental d'une réaction enzymatique : <ul style="list-style-type: none"> • Obtention d'une cinétique et détermination de la vitesse initiale ; • Construction d'une courbe $v_i = f([S]_0)$ et linéarisation en double inverse ; • Détermination de K_M, v_{max} et de l'efficacité catalytique. - Argumenter le comportement coopératif ou michaelien d'une enzyme sur la base de la courbe $v_i = f([S])$ - Comparer et discuter les principales caractéristiques structurales et fonctionnelles des enzymes michaeliennes et des enzymes allostériques (enzymes à comportement coopératif).
Précisions et limites :	
<p>On se limite à un exemple d'enzyme michaelienne et un exemple d'enzyme allostérique, à prendre parmi ceux évoqués dans d'autres items du programme. Ces exemples sont ensuite réinvestis pour le contrôle de l'activité enzymatique. Seul le suivi expérimental d'une cinétique michaelienne est réalisé en TP.</p>	
<p>Les enzymes sont des biocatalyseurs et jouent souvent le rôle d'agents de couplage entre réactions. La catalyse enzymatique implique la formation d'un complexe enzyme-substrat au niveau du site actif de l'enzyme. Le site actif est à l'origine de la spécificité de substrat et de réaction. Il est constitué d'acides aminés ayant un rôle dans la fixation du substrat, dans la catalyse enzymatique ou dans les deux phénomènes à la fois.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Argumenter le rôle d'agent de couplage à l'aide d'exemples de couplages chimio-chimiques. - Relier la spécificité de substrat et de réaction à la structure tridimensionnelle et aux interactions du complexe enzyme-substrat. - Exploiter des données de modélisation moléculaire. - Exploiter des résultats de mutagenèse ou autres pour expliquer un mécanisme catalytique.
Précisions et limites :	
<p>Aucun mécanisme catalytique n'est à connaître.</p>	

<p>Plusieurs facteurs modifient l'activité enzymatique et donc les réactions du métabolisme :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la quantité d'enzyme, liée à l'expression génétique et à sa localisation (adressage) - les conditions physico-chimiques (pH, T) - les modifications conformationnelles de l'enzyme par modification covalente ou par fixation d'un ligand. <p>Les enzymes sont des éléments de spécialisation des cellules ou des compartiments cellulaires.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Comparer les effets des inhibiteurs compétitif et non compétitif sur les paramètres cinétiques d'une enzyme michaelienne. - Argumenter, sur un exemple, la diversité des effecteurs allostériques et de leurs effets.
<p>Précisions et limites :</p> <p>On étudie les mécanismes de contrôle de l'activité enzymatique sur les exemples d'enzyme michaelienne et d'enzyme allostérique étudiés précédemment.</p> <p>Pour les modifications conformationnelles par modification covalente, on se limite à la phosphorylation.</p>	
<p>Liens :</p> <p>Structure des protéines (SV-D-2-4) Interactions protéines-ligand (SV-D-2-4) Réactions clés du métabolisme (SV-E) Contrôle de l'expression de l'information génétique (SV-F-3) Physique-chimie : catalyse, catalyseurs (4.4.3)</p>	

Introduction

Enzyme :
Endoenzymes :
Exoenzymes :

Les capacités expérimentales sont traitées et mises en pratique dans le TP SV E « Caractérisation d'une enzyme » où l'on trouvera aussi des activités d'applications et des exercices.

Comment les enzymes assurent-elles la catalyse des réactions chimiques au sein des cellules et des êtres vivants ?

I. Des protéines catalysant les réactions chimiques du vivant de manière spécifique

Capacités exigibles	<ul style="list-style-type: none">✓ Argumenter le rôle d'agent de couplage à l'aide d'exemples de couplages chimio-chimiques.✓ Relier la spécificité de substrat et de réaction à la structure tridimensionnelle et aux interactions du complexe enzyme-substrat.✓ Exploiter des données de modélisation moléculaire.✓ Exploiter des résultats de mutagenèse ou autres pour expliquer un mécanisme catalytique.
---------------------	--

A. Des catalyseurs protéiques indispensables à la réalisation des réactions biochimiques

1. Des catalyseurs protéiques

a. Des catalyseurs

Catalyseurs :

Les **caractéristiques** principales et transversales d'un **catalyseur** (chimique ou biochimique) sont les suivantes :

- Le **catalyseur** accélère la **cinétique** d'une **réaction thermodynamiquement possible**.
- L'**état d'équilibre** de la réaction n'est **pas modifié** ; il est **atteint plus rapidement**.
(!) C'est donc bien un **agent cinétique** (et non thermodynamique) qui **ne modifie pas** l'équilibre d'une réaction chimique, ni sa **spontanéité**.
- Le catalyseur est **régénéré** à la fin de la réaction chimique et donc **retrouvé intact** après cette **réaction** : il est présent **sous la même forme** à l'**état initial** et l'**état final** de la transformation chimique.
- Des **états intermédiaires**, représentés par des **composés intermédiaires** (= **intermédiaires réactionnels**), sont générés entre l'état initial (réactifs) et l'état final (produits), **abaissant l'énergie d'activation** de la **réaction globale** non fragmentée en étapes intermédiaires.

b. Des protéines

Revoir le **cours consacré aux protéines** dans le **chapitre 8 (Les constituants chimiques du vivant)**

Rappelons que, comme nous avons pu le découvrir dans les **chapitres de génétique**, **certains ARN ont aussi une activité catalytique et catalysent certaines réactions chimiques** : on les qualifie de **ribozymes**.
(!) Les **enzymes** et les **ribozymes** constituent donc les **deux types de catalyseurs biochimiques** existants.

2. Un rôle cinétique majeur : les facilitateurs chimiques du vivant

a. Des accélérateurs (de 10⁴ à 10¹⁶) des réactions biochimiques, d'efficacité bien supérieure à la catalyse chimique

- Les **réactions chimiques catalysées** par des **enzymes** sont **accélérées** d'un **facteur 10⁴** (10 000) à **10¹⁶**.

Exemple d'une **réaction à l'obscurité** (d'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.*, 2023) :

Pour exemple, la durée pour dégrader la moitié d'une quantité d'acides nucléiques sans enzyme est de 130 000 années, certaines nucléases bactériennes sont capables d'accélérer la réaction d'un facteur 10¹⁴ (100 000 milliards), et en 1 seconde c'est près de 100 réactions individuelles qui sont catalysées par une seule molécule d'enzyme!

Cette isomérisation d'un cétose en aldose, **spontanée mais très lente** peut être **accélérée des milliers de fois par catalyse chimique** (couple acide-base de pKa ~ 7 à 100°C), des **milliards de fois par catalyse enzymatique dans les conditions du vivant** (pH 7, 20 °C)

▲ **FIGURE 1. Exemple d'une réaction acido-basique aboutissant à l'isomérisation d'un cétose en aldose (dihydroxyacétone phosphate isomérisé en glycéraldéhyde-3-phosphate) avec comparaison de la vitesse d'une catalyse chimique et d'une catalyse enzymatique.**

D'après BOUTIN, GERAY *et al.* (2022)

b. Des accélérateurs indispensables à la réalisation des réactions chimiques dans des temps compatibles avec la vie

3. Un rôle thermodynamique : de fréquents agents de couplage

a. L'énergie de GIBBS et le caractère endergonique ou exergonique d'un travail

- On appelle **énergie de GIBBS** ou **enthalpie libre** (notée **G** et exprimée en kJ • mol⁻¹) **la fonction thermodynamique égale à H - TS où H est l'enthalpie, T la température absolue et S l'entropie du système**.
- La **variation d'enthalpie libre ΔG** lors d'une **réaction chimique** (ou d'un **travail mécanique, osmotique...**) peut être :
 - **Positive** : **ΔG ≥ 0** : le **travail** est alors dit **endergonique**, c'est-à-dire qu'**il prélève de l'énergie dans son environnement immédiat lors de sa réalisation**. Le **travail** requiert alors un **apport d'énergie qui peut être obtenu par couplage avec un travail exergonique**.
 - **Négative** : **ΔG ≤ 0** : le **travail** est alors dit **exergonique**, c'est-à-dire qu'**il dissipe de l'énergie dans son environnement immédiat lors de sa réalisation**. Le **travail** alors **spontané** et peut même **fournir de l'énergie nécessaire à la réalisation d'un autre travail**.

En pratique, en biologie, on utilise l'**enthalpie libre standard de réaction** notée **ΔG°** ou **Δ_rG°** qui correspond à des **conditions biologiques standard (pression de 1 atm, température d'environ 25 °C) pour des réactifs et produits initialement concentrés à 1 mol • L⁻¹**.

Aspects énergétiques des travaux chimiques

- Une **réaction chimique** constitue un **travail**, au **sens énergétique** du terme, c'est-à-dire **la modification d'un système physico-chimique**. De l'énergie est donc impliquée. Le **travail impliqué dans une réaction chimique** est appelé **travail chimique**.
- Un **travail chimique** peut être **libérateur d'énergie** ; on dit que ce travail est **exergonique**.
- Un **travail osmotique** peut être **consommateur d'énergie** ; on dit alors que ce travail est **endergonique**. Dans ce cas, ce travail doit obligatoirement être impliqué dans un **couplage énergétique**, c'est-à-dire être **associé avec un travail exergonique** :

b. Intervention des enzymes dans les couplages énergétiques

Couplage énergétique :

▲ FIGURE 2. Le principe d'un couplage énergétique. Schéma original.

- **Un couplage énergétique porte le nom d'abord du travail libérateur d'énergie et ensuite du travail consommateur.**
 - ° Par exemple, la contraction musculaire est un **travail mécanique** qui utilise l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP (travail chimique) : c'est donc un **couplage chimio-mécanique**.
- **On trouvera ainsi (figure 7) :**
 - ° des **couplages chimio-chimiques** (*une réaction chimique en permet une autre*) (très fréquent),
 - ° des **couplages chimio-osmotiques** (*une réaction chimique permet le passage d'une substance de force = transport actif primaire*),
 - ° des **couplages osmo-osmotiques** (*le passage spontané d'une substance – dans le sens de son gradient – permet le passage de force d'une seconde substance – contre son gradient = transport actif secondaire*)
 - ° des **couplages osmo-chimiques** (*le passage d'une substance dans le sens de son gradient permet la réalisation d'une réaction chimique*), par exemple la phosphorylation d'ADP en ATP au niveau des ATP synthases.
 - ° des **couplages chimio-mécaniques** (*une réaction chimique permet un travail mécanique*), cas des transports de vésicules, de la contraction musculaire... qui consomment de l'ATP.
 - ° des **couplages photo-chimiques** (*une captation d'énergie lumineuse permet une réaction chimique*), cas des réactions photochimiques dans le chloroplaste.
 - ° ...
- **Attention** toutefois, il existe une **théorie chimiosmotique**, proposée par l'Américain Peter D. MITCHELL (1920-1992) en 1964, qui postule que **c'est le gradient de protons (énergie osmotique) qui permet la production membranaire d'ATP (énergie chimique) dans les mitochondries et chloroplastes**. Eh bien là, les préfixes « chimio- » et « osmo- » sont dans l'autre sens ! Car il s'agit pourtant bien d'un **couplage osmo-chimique** dont parle cette théorie « chimiosmotique » !!!

Cas de l'hexokinase (bilan énergétique) :

1 Couplage chimio-chimique

Couplage de deux réactions chimiques par une enzyme : (phosphorylation liée au substrat)

Cas fréquent de fonctionnement enzymatique

2 Couplage osmo-chimique

Couplage entre le flux de protons (réaction exergonique) et la synthèse d'ATP réaction endergonique (ATP synthase)

3 Couplage chimio-osmotique

Couplage d'une réaction chimique exergonique avec un transport de protons contre le gradient électrochimique (pompe protonique) (pompe Na⁺/K⁺ ATPase) (transport actif primaire)

4 Couplage osmo-osmotique

Couplage d'un transfert spontané d'un ion (réaction exergonique) avec un transport actif d'une molécule contre son gradient chimique (transport actif secondaire)

EC : Élément de couplage

▲ FIGURE 3. Quelques exemples de couplages énergétiques. D'après BREUIL (2007), corrigé.

B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes

Cofacteur :

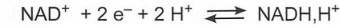
→ **coenzyme** si enzyme

Remarque : l'ATP est-elle* un cofacteur et donc, en enzymologie, un coenzyme ?

C'est **difficile de se prononcer** ; on peut la **considérer** comme un **coenzyme** (cas de SEGARRA, PIÈTRE *et al.*, 2023 – mais positionnement rare) ou bien comme un **cosubstrat**.

*Oui, **ATP** est un terme **féminin**, on le rappelle : cela veut dire « **adénosine triphosphate** ».

Nicotinamide Adénine Dinucléotide ou NAD⁺



Flavine Adénine Dinucléotide ou FAD



▲ **FIGURE 5. Trois coenzymes d'oxydoréduction.** D'après PEYCRU *et al.* (2013)

C. Des catalyseurs spécifiques : la triple spécificité enzymatique

1. La spécificité de substrat

Substrat(s) :



Modalités de transfert de groupe chimique ou d'électrons pour une enzyme fonctionnant avec un coenzyme libre

▲ **FIGURE 4. Illustration de la notion de coenzyme.** Vision proposée par SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

Principaux coenzymes :

▲ **FIGURE 6. Hydrolyse du saccharose par la saccharase.** D'après CAMPBELL & REECE (2004)

(!) **Spécificité** parfois « large »

Exemple :

2. La spécificité d'action (= spécificité de réaction) et la classification des enzymes

Exemple : la **saccharase** est spécifique de l'**hydrolyse de saccharose en glucose et fructose** (figure 6).

Exemple(s).

- L'**amylase** ne peut catalyser que l'hydrolyse de l'amidon.
- La **glycogène synthase** n'intervient que dans la polymérisation du glucose pour la synthèse du glycogène.
- L'**ADN polymérase** ne permet que la synthèse d'un brin d'ADN au moment de la réplication.
- L'**hexokinase** ne permet que la phosphorylation des hexoses dont le glucose.

D'après *Maxicours.com* (consultation avril 2023)

3. La spécificité de conditions d'action (notamment température et pH) avec des optima de fonctionnement

Conditions optimales de fonctionnement :



▲ FIGURE 8. Optima de température et de pH d'enzymes. D'après CAMPBELL & REECE (2004)

° Température

Courbe d'activation :

Loi empirique d'ARRHENIUS =

- k : coefficient de vitesse ou constante de vitesse, positive ;
- A : facteur pré-exponentiel (appelé aussi facteur de fréquence) tenant compte de la fréquence des collisions et des effets stériques.
- T : température (K) ;
- R : constante des gaz parfaits ($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$) ;
- E_a : énergie d'activation d'ARRHENIUS ($J \cdot mol^{-1}$).

Courbe de dénaturation thermique :



▲ FIGURES 9-10. Température et fonctionnement d'une enzyme (la chymotrypsine). D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023) et DAUTEL *et al.* (2021)

Exemples :

° pH

Exemples :

NB Si éloignement du pH optimal, dénaturation également.

b. Une légère modification de la conformation de l'enzyme lors de la fixation du substrat : l'ajustement induit (modèle de KOSHLAND)

Ajustement induit (modèle de KOSHLAND) :

▲ FIGURE 12. Action du pH sur l'amylase humaine (salivaire ou pancréatique).
D'après DAUTEL *et al.* (2021)

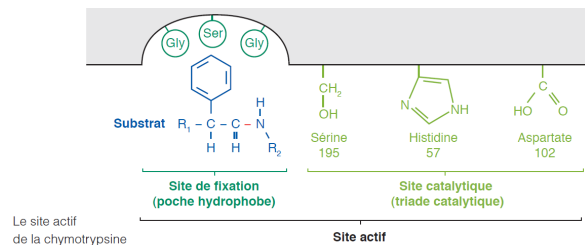
D. Des protéines interagissant avec le substrat et abaissant l'énergie d'activation de la réaction

1. L'importance de l'interaction entre enzyme et substrat

a. Une complémentarité spatiale (= stérique) et chimique enzyme-substrat au niveau d'un site actif en creux : le modèle clef-serrure (modèle de FISCHER)

Site actif :
→ modèle clef-serrure (modèle de FISCHER) :
- site de fixation :
- site catalytique :

Ces deux sites peuvent se superposer partiellement, totalement, ou être **totalemnt disjoints**, bien que systématiquement proches.



▲ FIGURE 13. Le site actif de la chymotrypsine. D'après SEGARRA *et al.* (2014)

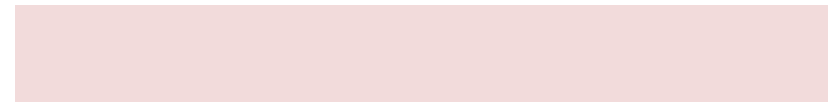
La chymotrypsine est une endoprotéase d'origine pancréatique, catalysant l'hydrolyse de liaisons peptidique dans lesquelles sont engagés les carboxyles d'acides aminés aromatiques ou de quelques aminoacides hydrophobes, tels que la leucine, l'isoleucine ou la méthionine.

▲ FIGURE 14. Complémentarité enzyme-substrat et ajustement induit (hexokinase).
D'après SEGARRA *et al.* (2014), et DAUTEL *et al.* (2021) : choisir une vision

2. Le déroulement de la réaction enzymatique

a. Une fixation réversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique finale catalysée généralement irréversible

Catalyse enzymatique (principe) :



S = substrat, ES complexe enzyme-substrat, P = produit,
k = constante de vitesse de réaction
On considère ici un cas simple avec un seul substrat, un seul produit et pas de coefficient stoechiométrique.

▲ FIGURE 16. La réaction enzymatique : vue d'ensemble. D'après SEGARRA *et al.* (2014)

Remarques sur la réversibilité des réactions enzymatiques

-
-
-

b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation

Énergie d'activation E_a :

NB États intermédiaires = de transition (intermédiaires réactionnels) → abaissement E_a



▲ FIGURE 18. Diagramme énergétique d'une réaction $A \rightarrow B$ catalysée par une enzyme.
D'après SEGARRA *et al.* (2014)

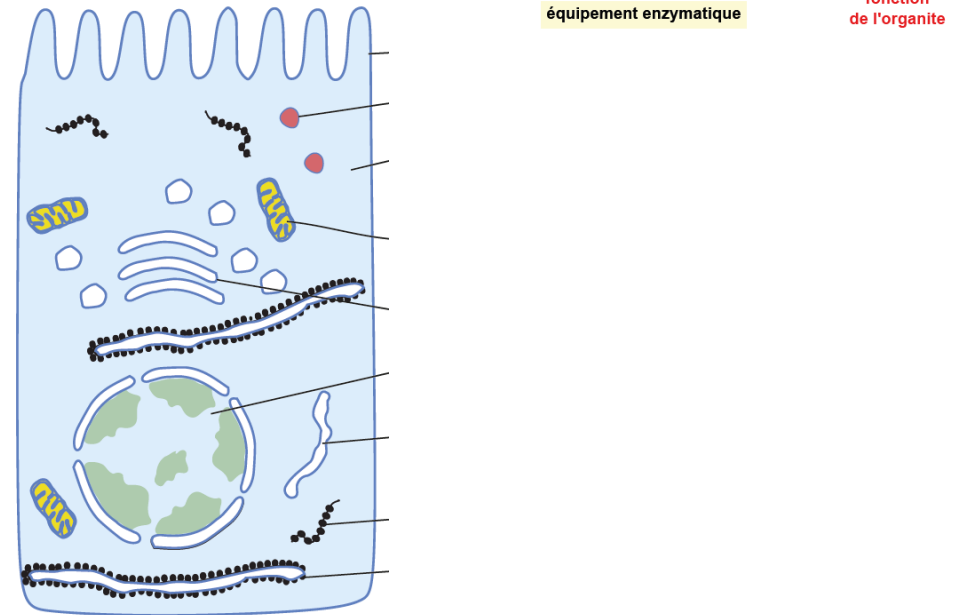
c. Une étude de la réaction enzymatique possible par des techniques variées (diffraction aux rayons X, RMN, mutagenèse dirigée...)

(D'une manière générale, toutes les modalités d'étude des protéines !)

La **mutagenèse dirigée** permet par exemple d'identifier les **acides aminés stratégiques** (dont ceux du **site d'actif**) et leur rôle.

E. Une spécialisation des compartiments et des cellules permise par leur appareillage enzymatique propre

1. Au sein d'une cellule : une spécialisation des territoires cellulaires largement dictée par leur composition enzymatique



Équipement enzymatique et spécialisation des organites dans un entérocyte.

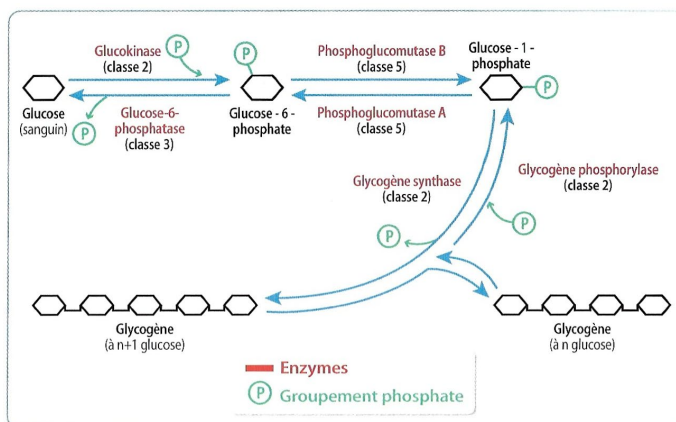
▲ FIGURE 20. Compartimentation cellulaire et répartition des voies métaboliques : un panorama dans le cas d'une cellule animale [pour illustration].
D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021)

2. Entre cellules : une spécialisation largement permise par la nature des enzymes exprimées qui participe à la différenciation cellulaire

→ figure 19

3. En lien avec des sécrétions cellulaires (exoenzymes)

Le glucose est la principale source d'énergie des cellules. Il doit être sous sa forme simple (non phosphorylée) pour pouvoir traverser la membrane des cellules. Dès son entrée dans les cellules, il est transformé en glucose-6-phosphate. Toutes les cellules sont capables d'utiliser le glucose comme source d'énergie pour leur métabolisme et certaines sont capables de le stocker sous forme d'un polymère glucidique, le glycogène (par exemple, les hépatocytes et les fibres musculaires). Mais seuls les hépatocytes peuvent en libérer dans le sang et le rendre ainsi disponibles pour d'autres cellules.



a. Voie de synthèse et de dégradation du glycogène

	Cellules hépatiques	Cellules musculaires	Cellules adipeuses	Cellules nerveuses
Glycogène synthase	✓	✓	✗	✗
Glycogène phosphorylase	✓	✓	✗	✗
Phosphoglucomutase	✓	✓	✗	✗
Glucokinase	✓	✓	✓	✓
Glucose-6-phosphatase	✓	✗	✗	✗

✓ = présence ✗ = absence

b. L'équipement enzymatique de différentes cellules

▲ FIGURE 21. Appareillage enzymatique cytosolique de divers types cellulaires mammaliens en lien avec le métabolisme du glucose chez l'Homme.

D'après DELAIRE-ÉCHARD, BELLAMY *et al.* (2019)

II. La cinétique enzymatique : deux grandes catégories d'enzymes

Capacités exigibles

- ✓ **Réaliser** le suivi expérimental d'une réaction enzymatique :
 - **Obtention** d'une cinétique et détermination de la vitesse initiale ;
 - **Construction** d'une courbe $v_i = f([S]_0)$ et linéarisation en double inverse ;
 - **Détermination** de K_M , v_{max} et de l'efficacité catalytique.
- ✓ **Argumenter** le comportement coopératif ou michaelien d'une enzyme sur la base de la courbe $v_i = f([S])$
- ✓ **Comparer et discuter** les principales caractéristiques structurales et fonctionnelles des enzymes michaeliennes et des enzymes allostériques (enzymes à comportement coopératif).

A. Les enzymes michaeliennes, enzymes à cinétique de saturation hyperbolique

1. Rappel de quelques notations

Voir *supra*

2. L'emploi de valeurs initiales : vitesse initiale de réaction ($v_i = v_0 = v$), concentration initiale en substrat ($[S]_i = [S]_0 = [S]$)

Lorsqu'une réaction chimique a lieu (figure 21) :

>>

Toutes ces variables initiales peuvent être notées avec l'indice « i » ou « 0 » ... mais, en réalité, ces indices sont le plus souvent omis, car il s'agit d'une évidence en enzymologie. Il faut donc bien garder à l'esprit qu'il s'agit de paramètres initiaux.

cinétique enzymatique → vitesse initiale de réaction en fonction de la concentration initiale en substrat (pour une concentration en enzymes fixée).

3. Origine et construction de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913), en réalité largement due aux travaux d'HENRI (1902)

Voir le TP SV E (Caractérisation d'une enzyme)

a. Le dosage de la quantité de produit formé en fonction du temps : calcul de la vitesse initiale pour diverses concentrations initiales en substrat

Comment suivre une réaction enzymatique ?

- En dosant un produit ou un réactif en temps réel par colorimétrie, photométrie, fluorimétrie, oxymétrie, pH-métrie, radiométrie...
- Parfois en **stoppant brusquement** la réaction enzymatique de manière régulière, par exemple par refroidissement brutal du milieu réactionnel au moment où l'on veut effectuer un dosage.

Bilan (adapté du programme)

- ✓ Les **enzymes** sont des **biocatalyseurs** et jouent souvent le rôle d'**agents de couplage** entre réactions.
- ✓ La **catalyse enzymatique** implique la formation d'un **complexe enzyme-substrat** au niveau du **site actif** de l'enzyme.
- ✓ Le **site actif** est à l'origine de la **spécificité de substrat** et de **réaction**. Il est constitué d'acides aminés ayant un rôle dans la **fixation** du substrat, dans la **catalyse enzymatique** ou dans les **deux phénomènes** à la fois.
- ✓ Les **enzymes** sont des éléments de **spécialisation** des **cellules** ou des **compartiments cellulaires**.

b. La construction de la courbe $v_i = f([S]_i)$

Enzyme michaelienne :	
	→ Courbe de MICHAELIS-MENTEN
Saturation :	
	« Saturation » ne veut pas dire que le phénomène s'arrête ! Il est au contraire à son maximum !



▲ FIGURES 23-24. Construction expérimentale d'une courbe de MICHAELIS-MENTEN. Original 2016 + cas de l'hexokinase (DAUTEL *et al.*, 2021 → figures à combiner)

Démonstration et développements mathématiques : cf. cours de chimie

4. Exploitation de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913)

a. Notion de K_M et lien avec l'affinité

K_M (constante de MICHAELIS) :

Plus le K_M est grand, plus l'affinité de l'enzyme pour le substrat est faible (k_2 étant généralement petit devant k_{-1}) :

K_s : constante de dissociation du complexe ES

Affinité de l'enzyme pour son substrat

On définit la constante d'affinité (K_{aff}) de l'enzyme pour le substrat par le rapport k_1/k_{-1} . Elle renseigne de la facilité de l'enzyme à établir le complexe E-S tandis que la constante de Michaelis (K_M) donne plutôt la mesure de la dissociation du complexe E-S. On peut relier les deux constantes :

$$K_M = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \approx \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{1}{K_{aff}} = K_s$$

En considérant que $k_1 \gg k_2$ (dissociation du complexe E-S en E et S plus qu'en E et P), on peut dire que K_M est l'inverse de la constante d'affinité de l'enzyme pour son substrat. Plus K_M est petite plus l'affinité de l'enzyme pour son substrat est grande. C'est l'étude conjointe du K_M et de l'activité catalytique d'une enzyme qui permet de décrire et de comparer le fonctionnement de différentes enzymes entre elles.

D'après SEGARRA *et al.* (2014)

b. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = v_m$

c. Une modélisation par l'équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)

La formulation classique de l'équation de MICHAELIS-MENTEN est la suivante :

Voir la démonstration en cours de chimie

v_i : vitesse initiale de réaction (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;
 v_{max} : vitesse initiale maximale de réaction (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;
 $[S]_i$: concentration initiale en substrat (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)* ;
 K_M : constante de MICHAELIS ; c'est une concentration (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)*.
 * (!) Au lieu des mol, ce sont souvent des mmol voire des μmol qui sont employés.

Remarques :

- ° À basse concentration initiale en substrat : $[S]_i \ll K_M$
 $\Rightarrow v_i \approx (v_{max} / K_M) \cdot [S]_i = \text{cte} \cdot [S]_i$
 $\Rightarrow v_i$ est donc une fonction linéaire de $[S]_i$ (tangente à l'origine)
- ° À très forte concentration initiale en substrat : $[S]_i \gg K_M$
 $\Rightarrow v_i$ tend vers v_{max} (asymptote horizontale : saturation)

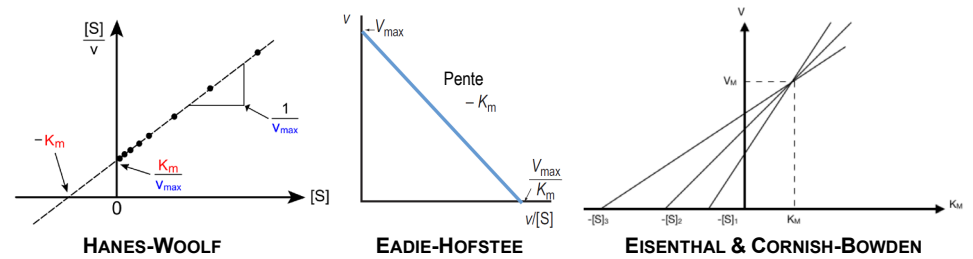
5. La possibilité d'une linéarisation de la courbe facilitant la détermination des constantes

a. Le graphique en double inverse : la linéarisation de LINEWEAVER-BURK (1934) : $1/v_i = f(1/[S]_i)$

Équation de linéarisation en double inverse, dite de LINEWEAVER-BURK :

- Ordonnée à l'origine :
- Abscisse à l'origine :
- Pente :

- Abscisse à l'origine : $- [S]$, pour chaque valeur de v_i (droites multiples)
 - Croisée des droites : ordonnée v_{max} et abscisse K_M
- Dans les faits, les droites ne croisent pas exactement mais se rejoignent dans un petit rectangle dont on considère le milieu.



▲ FIGURE 27. Trois autres linéarisations. D'après Wikipédia, FUJIL (2019) et Wikipédia.

6. Des paramètres cinétiques en lien avec la fonction des enzymes

a. K_M et v_{max} , des constantes pouvant différer pour un même substrat dans des contextes fonctionnels différents : l'exemple comparé de l'hexokinase et de la glucokinase

▲ FIGURE 26. Graphique de LINEWEAVER-BURK. D'après Wikipédia.

b. L'existence d'autres modalités de linéarisation [pour information]

- La représentation de HANES-WOOLF (1932) :

$$\frac{[S]_i}{v_i} = \frac{K_M}{v_{max}} + \frac{1}{v_{max}} [S]_i$$

- Ordonnée à l'origine : K_M / v_{max}
- Abscisse à l'origine : $- K_M$
- Pente : $1 / v_{max}$

- La représentation de EADIE-HOFSTEE (1942, 1959) :

$$v_i = - K_M \frac{v_i}{[S]_i} + v_{max}$$

- Ordonnée à l'origine : v_{max}
- Abscisse à l'origine : v_{max} / K_M
- Pente : $- K_M$

- La représentation d'EISENTHAL & CORNISH-BOWDEN (1974) :

$$v_{max} = \frac{v_i}{[S]_i} K_M + v_i$$

(!) Plusieurs droites : une pour chaque couple $v_i / [S]_i$

▲ FIGURE 28. Hexokinase et glucokinase : cinétiques comparées.

D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023).

Deux enzymes monomériques qui métabolisent le glucose d'origine plasmatique chez les Vertébrés en le transformant en glucose-6-phosphate (glucose « activé ») au moyen d'ATP (par transphosphorylation) (figures 25-26) :

Ces enzymes sont donc des **kinases** (encadré A).

Hexokinase :

Glucokinase :

Encadré A Kinases, phosphorylases, phosphatases (enzymes et groupements phosphates)

Les kinases (> phosphorylation)

Kinase =

Remarque : les **protéines qui synthétisent l'ATP par phosphorylation au niveau du substrat** sont aussi appelées **kinases** (exemple : PEP kinase)

KINASE.

Les phosphorylases (> phosphorylyse)

Phosphorylase =

PHOSPHORYLASE.

Les phosphatases (> déphosphorylation)

Phosphatase =

PHOSPHATASE.

b. Fréquence de catalyse (k_{cat}) et K_M , deux paramètres permettant d'estimer une efficacité catalytique (= constante de spécificité) k_{cat}/K_M

Constant catalytique k_{cat} :

⇒ C'est donc la **fréquence à laquelle l'enzyme réalise l'acte catalytique.**

Efficacité catalytique k_{cat}/K_M :

7. Des enzymes souvent monomériques ou, plus rarement, oligomériques

- La majorité des **enzymes michaeliennes** sont **typiquement monomériques** (une seule « sous-unité »)
mais, attention, il existe des **protéines oligomériques** avec une **activité enzymatique michaelienne** :
 - certaines protéines** avec des **sous-unités** n'ayant **pas la même fonction** ; il s'agit alors plutôt d'un **complexe enzymatique**.
Exemple : ARN polymérase, avec une **sous-unité polymérase**, une **sous-unité exonucléase** ...
 - certaines enzymes** avec **plusieurs sous-unités** ayant la **même action catalytique** mais qui, pourtant, **ne coordonnent pas** leur fonctionnement par **coopérativité**.
Exemple : **RuBisCO** (ribulose1,5-bisphosphate carboxylase oxydase), enzyme du **stroma chloroplastique** dont les **sous-unités L dimérisées** forment des **sites actifs** agissant indépendamment.
- De même, nous verrons que des **enzymes allostériques** peuvent avoir un **comportement michaelien** sous **certaines conditions** (**hyperactivation allostérique**).*

B. Les enzymes allostériques, enzymes [quasi-]toujours* multimériques (= de structure quaternaire) à cinétique de saturation sigmoïde

* Quelques rares exceptions, comme la glucokinase !

1. Rappels de la notion d'allostérie

a. La notion historique de l'allostérie, justement inventée pour ces enzymes : la coopérativité entre sous-unités

Protéines allostériques :
Coopérativité entre sous-unités :

Le concept a été initialement formulé pour des enzymes et rapidement étendu à toute protéine oligomérique avec une cinétique d'interaction protéine-ligand.

b. La notion moderne de l'allostérie : la modificabilité de l'affinité d'une protéine vis-à-vis de son ligand (principal) suite à la fixation distante d'un autre ligand (effecteur allostérique)

Effecteur allostérique :
Allostérie (sens moderne) :

2. Une cinétique d'allure sigmoïde

Enzymes allostériques :
→ cinétique sigmoïde

a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique

b. Exploitation de la courbe d'une enzyme allostérique

α. Notion de $K_{0,5}$ (K_{50}) et lien avec l'affinité

$K_{0,5} = K_{0,5}$ (= K_{50}) :

Plus le $K_{0,5}$ est **grand**, plus l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est **faible**.

β. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{\max} = v_m$

γ. Une modélisation par une équation faisant intervenir un quantificateur de la coopérativité entre sous-unités, le nombre de HILL n (= n_H)

Cinétique enzymatique des enzymes à fonctionnement coopératif :

v_i : vitesse initiale de réaction (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;
 v_{\max} : vitesse initiale maximale de réaction (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;
 $[S]_i$: concentration initiale en substrat (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)* ;
 $K_{0,5}$: constante de demi-saturation d'une enzyme allostérique ; c'est une concentration (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)* ;
 $n = n_H$: nombre de HILL (= coefficient de HILL) (sans dimension).

* (!) Au lieu des mol, ce sont souvent des mmol voire des μmol qui sont employées.

Nombre de HILL = coefficient de HILL = coefficient d'interaction ($n = n_H$) :

▲ FIGURES 31-32 (à mixer). Cinétique de la phosphofruktokinase 1 (PFK1), enzyme de la glycolyse transformant le fructose-6-phosphate (F-6-P) en fructose 1,6-bisphosphate.

D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021)

3. Un fonctionnement coopératif des sous-unités enzymatiques

a. Deux formes de sous-unités (tendue T et relâchée R) et une transition allostérique entre les deux formes

- forme T (tendu = *tense*), à faible affinité pour le substrat.
- forme R (relâchée = *relaxed*), à forte affinité pour le substrat.

On appelle **transition allostérique** la modification de l'affinité du site actif pour le substrat, soit une transition de T vers R (ou inversement, même si la rétro-transition $R \rightarrow T$ est plutôt rare en présence de substrat qui est très souvent transformé en produit ; le retour à la forme T se fait alors avec un site actif libéré).

b. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action du substrat (ligand principal) sur les autres sites actifs de l'enzyme : l'effet homotrope

a. Définition de l'effet homotrope (= effet coopératif)

Effet coopératif = effet homotrope :

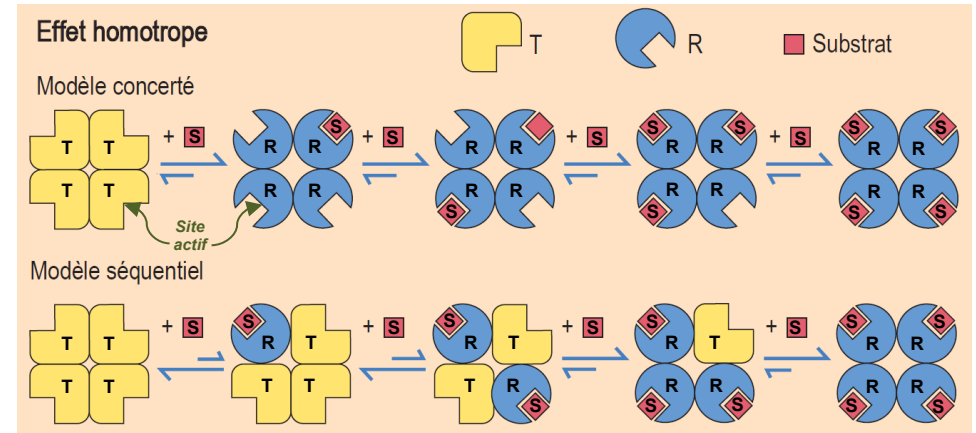
Anticoopérativité :

Le **nombre de HILL** permet de rendre compte de l'effet coopératif (figure 33) :

- Si $n = 1$, la fixation du substrat sur les différents sites actifs est **indépendante** = **non coopérative** (ex. RubisCO)... ou bien il n'y a qu'un seul site, comme dans les enzymes michaeliennes. L'équation de HILL se réduit alors à une fixation simple, modélisée par l'équation de MICHAELIS-MENTEN.
- Si $n \geq 1$, la fixation du substrat sur les différents sites actifs est **coopérative** : les sous-unités coopèrent de sorte que la fixation d'un substrat sur une sous-unité ($\rightarrow R$) induit la hausse d'affinité des autres sous-unités pour ce même substrat sur les autres sous-unités ($\rightarrow R$).
- Si $n < 1$, la fixation est **anticoopérative**, définie ci-dessus.

β. Deux modèles explicatifs : le modèle concerté et le modèle séquentiel

- Le modèle concerté (MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965) : une affinité modifiée de toutes les sous-unités dès qu'une sous-unité accueille un substrat
- Le modèle séquentiel (KOSHLAND, 1966) : une affinité modifiée sous-unité par sous-unité suite à l'arrivée d'un substrat sur une première sous-unité
- Et la transition $R \rightarrow T$? Un processus largement post-catalytique



▲ FIGURE 34. **Effet homotrope chez les enzymes allostériques : modèles concerté vs. séquentiel.** D'après FUJIL (2019), modifié, traduit / adapté.

c. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action d'un ou plusieurs ligands secondaires, les effecteurs allostériques, agissant chacun sur un site effecteur (= site allostérique) différent du site actif du substrat : l'effet hétérotrope

Effet hétérotrope :

Activateur allostérique :

Inhibiteur allostérique :

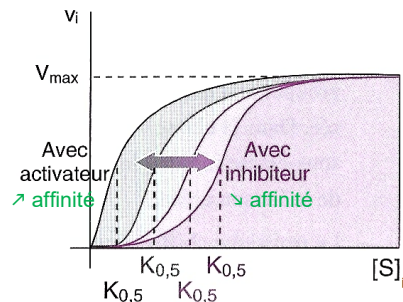
Il n'est pas rare qu'une enzyme allostérique soit sous le joug de plusieurs effecteurs allostériques différents, chacun possédant généralement son propre site allostérique.

III. Les enzymes, des protéines catalytiques à activité modulable à l'origine d'un contrôle du métabolisme

Capacités exigibles

- ✓ **Comparer** les effets des inhibiteurs compétitif et non compétitif sur les paramètres cinétiques d'une enzyme michaelienne.
- ✓ **Argumenter**, sur un exemple, la diversité des effecteurs allostériques et de leurs effets.

▲ FIGURE 38. Effet hétérotrope positif ou négatif chez les enzymes.
D'après FUJIL (2019), modifié, traduit / adapté.



▲ FIGURE 39. Action cinétique des effecteurs allostériques.
D'après FUJIL (2019).

BILAN sur les enzymes allostériques

D'après SEGARRA *et al.* (2014)

• Caractéristiques générales des enzymes allostériques

Pour être qualifiée d'enzyme allostérique, l'enzyme doit posséder toutes les caractéristiques suivantes :

- Présenter une **structure quaternaire**, donc être multimérique.
- Présenter une **cinétique sigmoïde**, différente de la cinétique hyperbolique d'une enzyme michaelienne.
- Présenter **deux formes T et R**, une transition conformationnelle faisant passer d'une forme à l'autre.
- Présenter un ou plusieurs **sites allostériques**, différent(s) du site catalytique, reconnus par des effecteurs ayant un rôle modulateur sur l'activité enzymatique.

Rares exceptions

Peut même tendre vers la cinétique michaelienne si activation allostérique forte

Bilan (adapté du programme)

- ✓ On distingue les **enzymes à comportement coopératif** (enzymes **allostériques**) et à **comportement michaelien**. Pour une enzyme **oligomérique**, l'**allostérie** correspond à l'influence d'un **site de fixation** d'un ligand sur un autre qu'il soit **identique** (**effet homotrope**) ou **différent** (**effet hétérotrope**).
- ✓ Les **principaux paramètres cinétiques** permettant de décrire une activité enzymatique sont v_{max} , K_M ou $K_{0,5}$.

Conditions à la réalisation d'une réaction enzymatique :

- L'enzyme est **présente** (donc le gène la codant y est exprimé) ; → § A
- L'enzyme est dans une **forme fonctionnelle** : repliement correct, conditions de T et pH adéquates, forme **activée**... → §§ B + D
- L'enzyme est en présence du **substrat** ; → § B.1
- L'enzyme est en présence des éventuels **coenzymes** et **cosubstrats** nécessaires à son activité (par exemple : de l'**ATP**) ; → § B.1
- L'enzyme n'est **pas soumise** à un excès de **molécules inhibitrices** de son activité. → § C

A. Un contrôle de la réaction enzymatique par la concentration en enzymes

1. Courbe $v_i = f([E])$: une vitesse initiale de catalyse enzymatique linéairement dépendante de la concentration en enzyme du milieu réactionnel

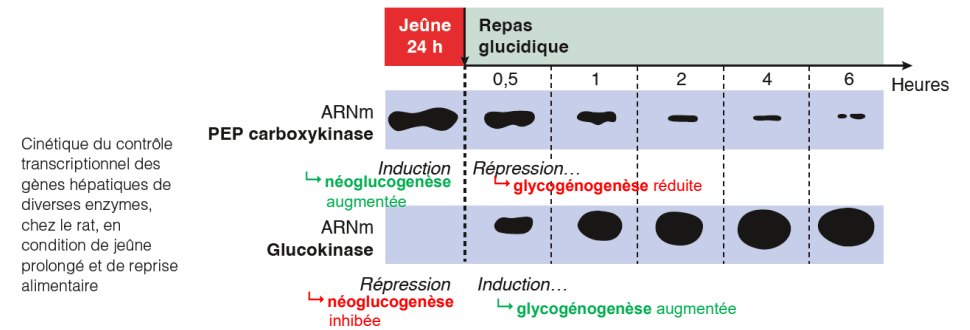
▲ FIGURE 40. Impact cinétique de la quantité d'enzymes dans le milieu réactionnel.
D'après SEGARRA *et al.* (2014)

2. Une concentration enzymatique dans les compartiments cellulaires ou extracellulaires qui dépend elle-même de l'expression génétique (et de l'adressage protéique)

3. Une modulabilité de l'expression génétique sous l'effet de signaux extracellulaires ou, parfois, de la disponibilité en substrat

Cas de la bêta-galactosidase (relevant de l'opéron lactose)

Cas des enzymes hépatiques du métabolisme du glycogène



▲ FIGURE 42. Jeûne prolongé vs. repas riche en glucides : impact sur l'expression d'enzyme de la glycogénogénèse ou de la glycogénolyse. D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

Explication :

Cas de la pyruvate kinase (dernière enzyme de la glycolyse) hépatique

Explication :

▲ FIGURE 41. Étude de la croissance d'une population bactérienne d'*E. coli* en présence de glucose et de galactose. D'après SEGARRA *et al.* (2014)

Explication :

Inhibiteur enzymatique :

▲ FIGURE 44. Inhibition compétitive et non compétitive d'une enzyme michaelienne.
D'après SEGARRA *et al.* (2014)

b. Les inhibiteurs compétitifs : des molécules se liant sur le site actif à la place du substrat ($\nearrow K_{M\text{app}} \Leftrightarrow \searrow$ affinité ; v_{max} non modifiée)

Inhibiteur compétitif :

$K_{M\text{app}}$ augmenté (affinité diminuée) | v_{max} non modifiée

▲ FIGURE 43. Une vision du contrôle multiple de l'expression de la pyruvate kinase hépatique.
D'après DAUTEL *et al.* (2021)

B. Un contrôle de la réaction enzymatique par les conditions physico-chimiques du milieu réactionnel

1. Un contrôle par la disponibilité en substrat, voire en coenzymes et cosubstrats variés, conduisant généralement à l'épuisement rapide du substrat disponible

2. Un contrôle par la température

3. Un contrôle par le pH

C. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par des ligands stimulateurs ou inhibiteurs

1. L'inhibition des enzymes michaeliennes

a. Notion d'inhibiteur : une substance qui ralentit la vitesse catalytique de la réaction enzymatique

▲ FIGURE 45. Inhibition compétitive. D'après DAUTEL *et al.* (2021)

▲ FIGURE 46. Manifestation graphique de l'inhibition compétitive en représentation de LINEWEAVER-BURK. D'après Wikipédia, adapté.

Notions d'agoniste et d'antagoniste

En biochimie des protéines, on peut appeler :

- **Agoniste** une *substance chimique se fixant sur le site de fixation à la place d'un ligand et déclenchant la même activité que le ligand dont elle mime les effets.*
- **Antagoniste** une *substance chimique se fixant sur le site de fixation à la place d'un ligand et ne déclenchant pas la même activité que le ligand, empêchant seulement la fixation du ligand dont il prend plus ou moins temporairement la place.*

Ces substances sont très utilisées dans la pharmacopée pour activer ou inactiver des protéines dans le cadre de traitements médicaux.

Dans les deux cas, ces substances sont des analogues structuraux du ligand, qui peuvent se fixer par complémentarité stérique sur le site de fixation de la protéine.

Les inhibiteurs compétitifs des enzymes sont ainsi des antagonistes du substrat.

▲ FIGURE 47. Inhibition non compétitive. D'après DAUTEL *et al.* (2021)

c. Les inhibiteurs non compétitifs : des molécules se liant sur un site différent du site actif (K_M inchangé ; $\searrow v_{max\ app}$)

Inhibiteur non compétitif :

K_M inchangé (affinité inchangée) | $v_{max\ app}$ diminuée

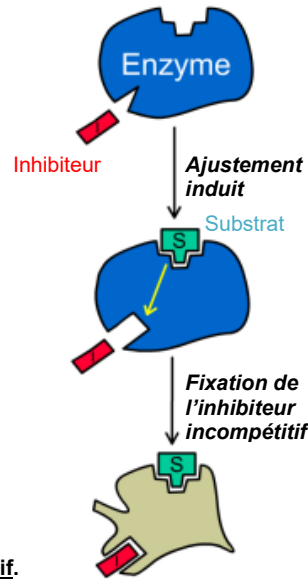
▲ FIGURE 48. Manifestation graphique de l'inhibition non compétitive en représentation de LINEWEAVER-BURK. D'après Wikipédia, adapté.

d. D'autres inhibitions sur lesquelles le programme semble moins prolige

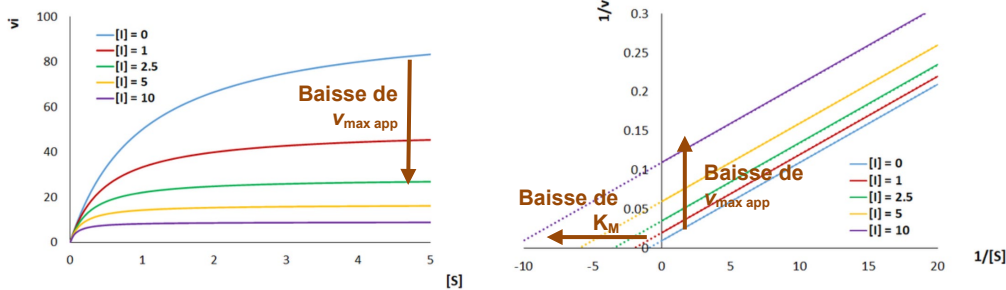
α. L'inhibition incompétitive : une fixation de l'inhibiteur à distance du site actif, sur un site du complexe ES déjà formé (↘ $K_{M\ app}$ ↔ ↗ affinité ; ↘ $v_{max\ app}$)

Inhibiteur incompétitif :

$K_{M\ app}$ diminué (affinité augmentée) | $v_{max\ app}$ diminuée



➤ **FIGURE 49. Modèle de fonctionnement d'un inhibiteur incompétitif.** D'après Wikipédia



▲ **FIGURE 50. Manifestation graphique de l'inhibition incompétitive en représentation de MICHAELIS-MENTEN (à gauche) et LINEWEAVER-BURK (à droite).** Source à préciser, adapté.

β. L'inhibition mixte : une inhibition diminuant l'affinité (↗ $K_{M\ app}$) et diminuant aussi la $v_{max\ app}$ [limite programme ?**]**

Inhibition mixte :

$K_{M\ app}$ augmenté (affinité diminuée) | $v_{max\ app}$ diminuée

Dans ce cas :

-
-

▲ **FIGURE 51. Inhibition mixte en représentation LINEWEAVER-BURK.** D'après Wikipédia, adapté.

▼ **TABLEAU IV. Paramètres cinétiques et catalytiques modifiés par l'inhibition des enzymes michaeliennes (bilan).** Original 2023.

Type d'inhibition	Site de fixation de l'inhibiteur	$K_{M\ app}$	$v_{max\ app}$
Compétitive			
Non compétitive			
Incompétitive			
Mixte			

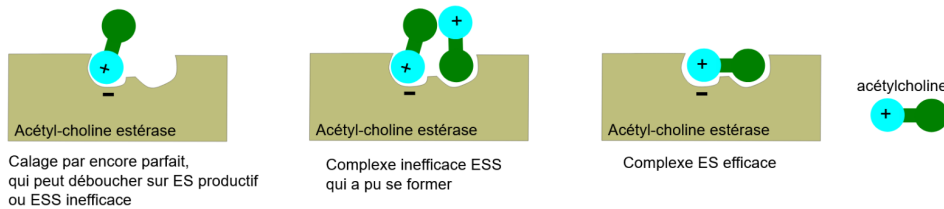
e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit

α. L'inhibition par le substrat en excès

Inhibition par excès de substrat :

Exemple : l'acétylcholine estérase

Un certain nombre d'hydrolases présente cette inhibition, comme l'**acétylcholine estérase**, une **enzyme (michaelienne) située dans la fente synaptique des synapses cholinergiques et qui hydrolyse l'acétylcholine (ACh) en acétate + choline**, participant ainsi à la fin de la neurotransmission (figures 52-53). Dans cette enzyme, il existe **deux sites de reconnaissance de l'ACh** ; un **seul site** fixe normalement l'ACh quand elle est à **concentration modérée** mais **l'occupation des deux sites en même temps** s'observe en cas de **forte concentration en substrat** : il se forme alors un **complexe enzyme-substrat-substrat ESS** qui induit une **baisse de v_i , rompant le comportement michaelien** de l'enzyme.



▲ FIGURE 53. **Explication de la possibilité de fixation de deux substrats chez l'acétylcholine estérase.** https://www.perrin33.com/enzym/autrescinetig/inhib_3.php (consultation avril 2023)

▲ FIGURE 54. **Imbibition par excès de substrat chez l'acétylcholine estérase.** D'après AUGÈRE (2001), adapté.

β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques

Le produit d'une réaction enzymatique peut parfois être :

-
-

2. Cas des enzymes allostériques

a. Des effecteurs allostériques activateurs ou inhibiteurs « déplaçant » le $K_{0,5}$ et modifiant donc l'affinité vis-à-vis du substrat (effet hétérotrope)

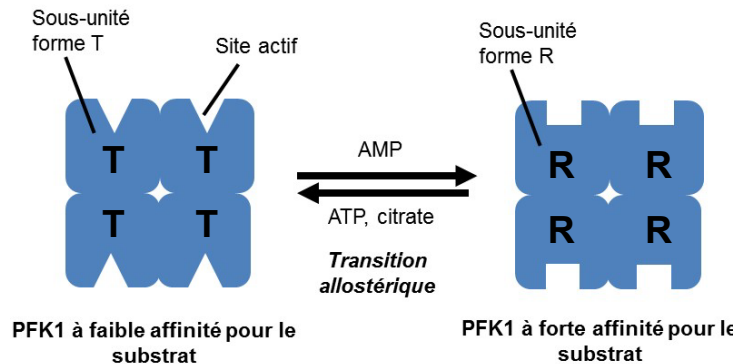
Effecteur enzymatique allostérique :

Cas de la PFK1 :

-
-

▲ FIGURE 55. **Activité de la PFK1 (phosphofructokinase 1), enzyme tétramérique de la glycolyse, en l'absence et en présence d'effecteurs allostériques.**

D'après PEYCRU *et al.* (2013)



▲ FIGURE 56. **Transition allostérique de la PFK1 (phosphofructokinase 1), enzyme tétramérique de la glycolyse, montrant l'effet d'effecteurs allostériques.** Schéma original 2015.

b. Un effet des conditions physico-chimiques (pH, température, substrat, coenzymes...)

3. Intérêt de ces contrôles dans la régulation des voies métaboliques : l'importance des rétro-inhibitions (ou des rétro-activations)

a. Notion de voie métabolique et principe des régulations métaboliques

Voies métaboliques :
Régulations métaboliques :

b. Des rétroactions négatives

Rétroaction négative = rétroinhibition :
--

Exemple (PFK1)

Dans le cas de la **PFK1**, nous venons de voir qu'elle était inhibée par l'**ATP** (produit par la **glycolyse** et la **respiration**) mais aussi le **citrate** (produit par le cycle de **KREBS**) (figure 57, tableau V), ce qui permet finalement de ralentir la **glycolyse** et ainsi les voies productrices d'**ATP**.

c. Des rétroactions positives

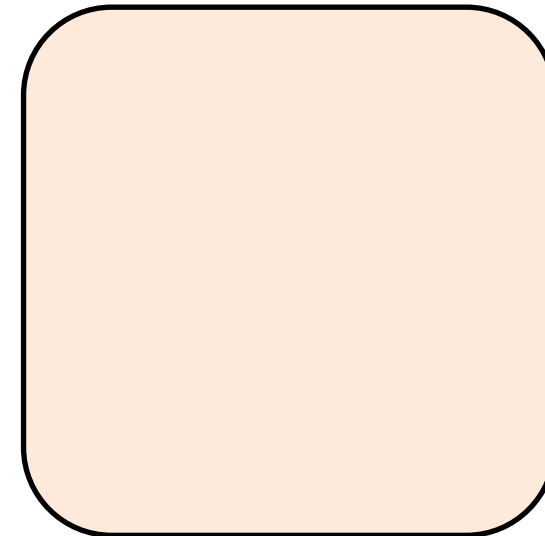
Rétroaction positive = rétroactivation :
--

Exemple (PFK1)

L'accumulation d'**AMP** dans la cellule indique une **intense consommation d'ATP**. L'**AMP** stimulant la **PFK1** (figure 57, tableau III), la **glycolyse** et en aval la **respiration mitochondriale** sont ainsi **augmentées**.

▼ **TABLEAU V. Effecteurs allostériques de la PFK1 et contrôle de la glycolyse.**
D'après PEYCRU et al. (2013).

Quantité des effecteurs en condition de niveau énergétique cellulaire faible	Effecteurs allostériques activateurs (+) et inhibiteurs (-) de PFK1	Quantité des effecteurs en condition de niveau énergétique cellulaire élevé
Faible	ATP (-)	Forte
Faible	Citrate (-)	Forte
Forte	AMP (+)	Faible
Augmentée	Activité de la PFK1	Inhibée
Forte	Vitesse de la glycolyse	Faible
Conséquences sur l'activité de l'enzyme et sur la vitesse de la glycolyse		



Régulation de la respiration cellulaire. Des enzymes allostériques interviennent en certains points de la voie catabolique. Elles réagissent à des inhibiteurs et à des activateurs. Elles déterminent ainsi la vitesse de la glycolyse et du cycle de Krebs. La phosphofructokinase, qui catalyse l'étape 3 de la glycolyse, est l'une de ces enzymes clés. L'AMP (qui dérive de l'ADP) l'active, mais l'ATP et le citrate l'inhibent. Ce mécanisme de rétro-inhibition ajuste la vitesse de la respiration cellulaire aux variations des besoins cataboliques et anaboliques de la cellule.

▲ **FIGURE 57. Contrôle cellulaire du catabolisme oxydatif : rôle de la régulation de la PFK1.**
D'après CAMPBELL & REECE (2004)

D. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par modification covalente des enzymes

1. Une modulation irréversible : cas du clivage protéolytique des pro-enzymes

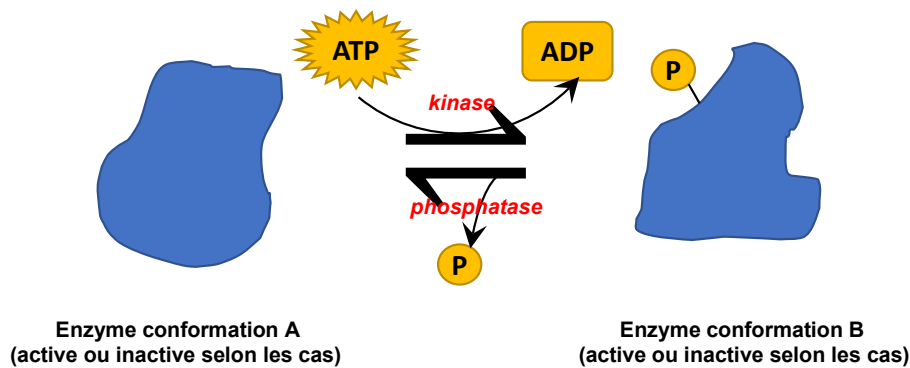
▲ FIGURE 58. Clivage protéolytique du trypsinogène en trypsine par une peptidase entérique. Deux visions. D'après SEGARRA *et al.* (2014) et source à préciser.

Proenzyme = zymogène =

Clivage protéolytique :

2. Une modulation réversible : cas de la phosphorylation-déphosphorylation

a. Principe général



▲ FIGURE 59. Phosphorylation-déphosphorylation d'une enzyme : un élément de contrôle covalente réversible de sa conformation et donc de son activité. Original 2021.

b. Un exemple de contrôle complexe de l'activité enzymatique illustrant, entre autres, l'importance de la phosphorylation-déphosphorylation : l'exemple de la glycogène phosphorylase

a. Une enzyme allostérique dimérique permettant la phosphorolyse d'amidon en glucose-1-phosphate dans le cadre de la glycogénolyse

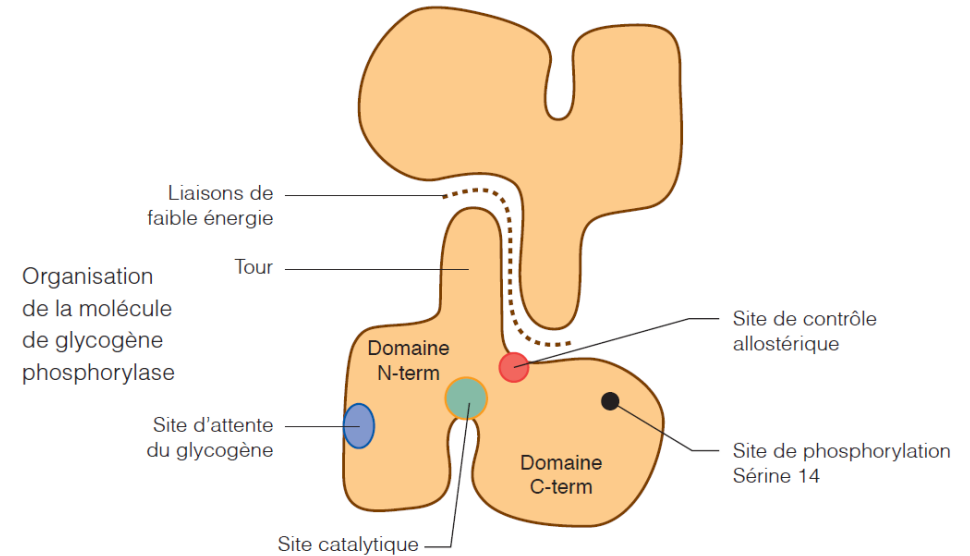
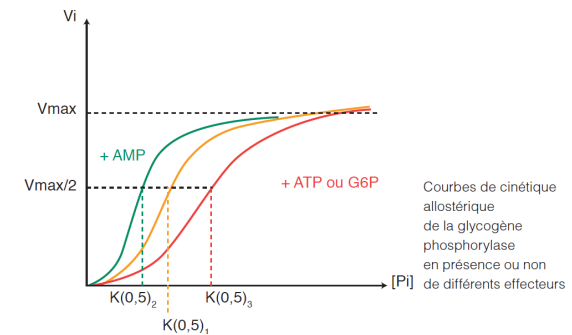


FIGURE 60. Organisation de la glycogène phosphorylase [pour information]. D'après SEGARRA *et al.* (2014).

β. Une enzyme dont l'activité est modulable par des effecteurs allostériques



$K_{(0,5)}$: constante de demi-saturation définie pour les enzymes allostériques, elle correspond à l'équivalent du K_M des enzymes michaeliennes. V_i : vitesse initiale; $[Pi]$: concentration en phosphate inorganique

FIGURE 62. Cinétique la glycogène phosphorylase avec ou sans effecteurs allostériques. D'après SEGARRA *et al.* (2014).

Intérêts :

- AMP, Pi : leur accumulation peut indiquer une grande consommation d'ATP et donc le besoin de produire plus d'ATP en augmentant la concentration intracellulaire en glucose phosphorylé disponible.
- ATP : au contraire, une accumulation d'ATP dans la cellule indique une diminution du besoin d'ATP, donc une diminution du besoin de glycolyse et donc de glucose phosphorylé.
- G-6-P : son accumulation indique une baisse de la glycolyse. Le besoin en G-1-P est donc lui-même amoindri.
> Il y a donc, grâce aux effecteurs allostériques, une modulabilité de la glycogénolyse en fonction des besoins métaboliques de la cellule.

γ. Une enzyme dont l'activité est en outre modulable par son état de phosphorylation-déphosphorylation

Revoir la régulation de la glycémie dans le chapitre sur la Vache (chapitre 1)

γ. Une enzyme dont la synthèse est contrôlée par l'insuline et le glucagon

Revoir la régulation de la glycémie dans le chapitre sur la Vache (chapitre 1)

δ. Bilan : des contrôles multiples

Il existe donc une superposition (figures 64-66) :

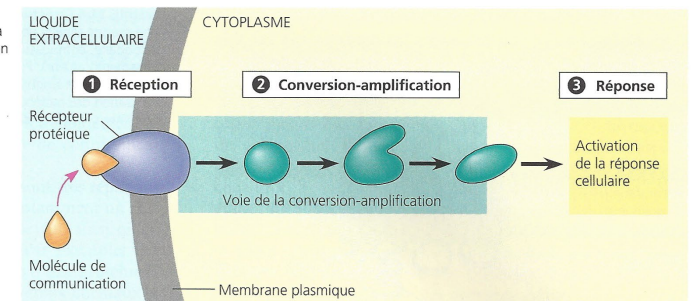
- D'un contrôle par modification allostérique ;
- D'un contrôle par modification covalente ;
- D'un contrôle hormonal contrôlant la synthèse enzymatique et le contrôle précédent.

c. L'importance des cascades de phosphorylation-déphosphorylation et plus largement des enzymes dans les chaînes de transduction

Voir le cours de BCPST2 sur les communications intercellulaires

Transduction :

Vue d'ensemble de la communication cellulaire. Du point de vue de la cellule qui reçoit un « message », la communication se divise en trois phases : la réception du stimulus par la membrane plasmique, la conversion-amplification du stimulus et la réponse de la cellule. La phase de conversion-amplification comprend habituellement une série de modifications successives impliquant plusieurs molécules. C'est la dernière molécule de la voie de conversion-amplification qui déclenche la réponse cellulaire.



▲ FIGURE 67. Les étapes de la transduction métabotrope. D'après CAMPBELL & REECE (2004).

Transduction métabotrope :

- Réception :

- Conversion-amplification :

- Réponse cellulaire :

Importance des enzymes :

- Le récepteur :
 -
 -
-

FIGURE au choix. Le double contrôle – allostérique + par phosphorylation-déphosphorylation – de l'activité de la glycogène phosphorylase : une synthèse.

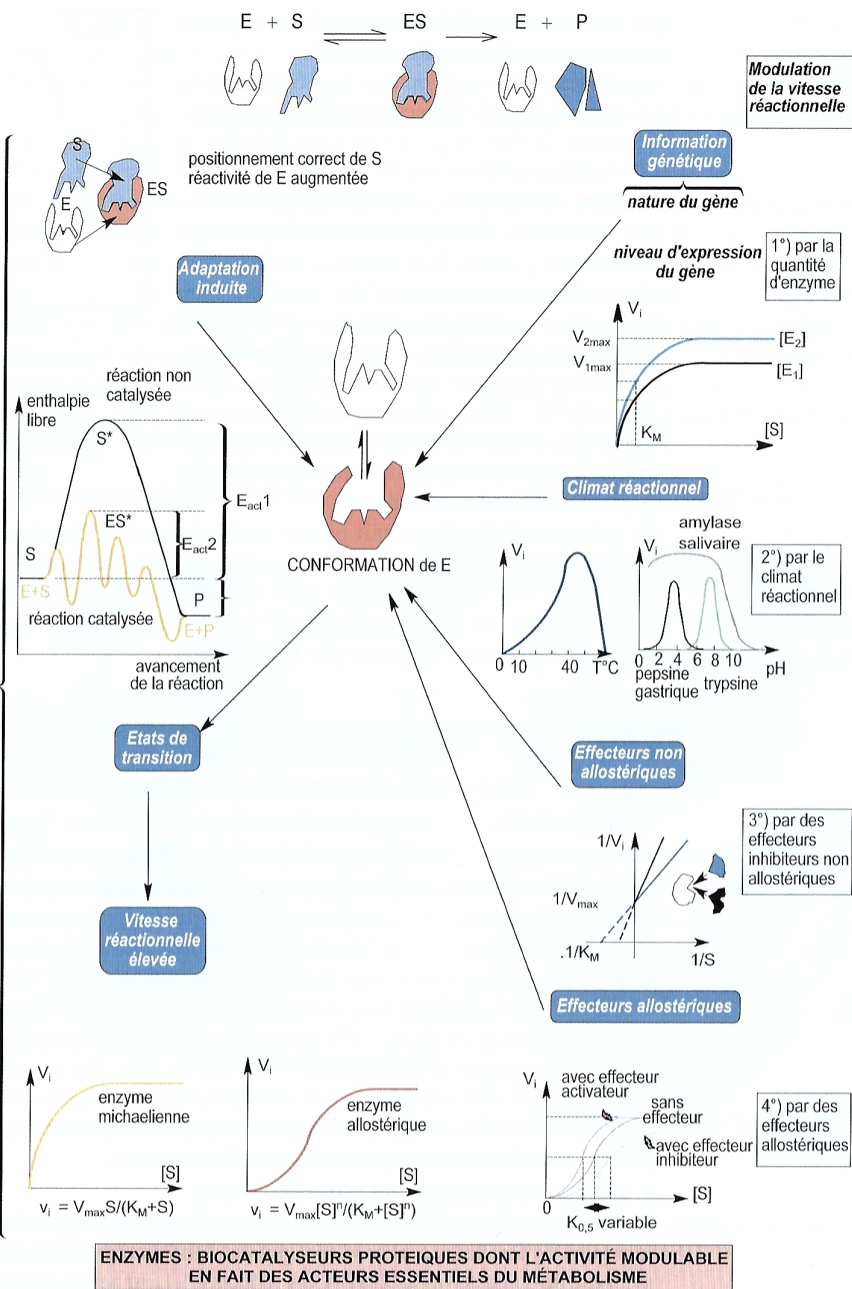


FIGURE 74. Schéma bilan sur les enzymes. D'après PERRIER, BEAUX et al. (2021).

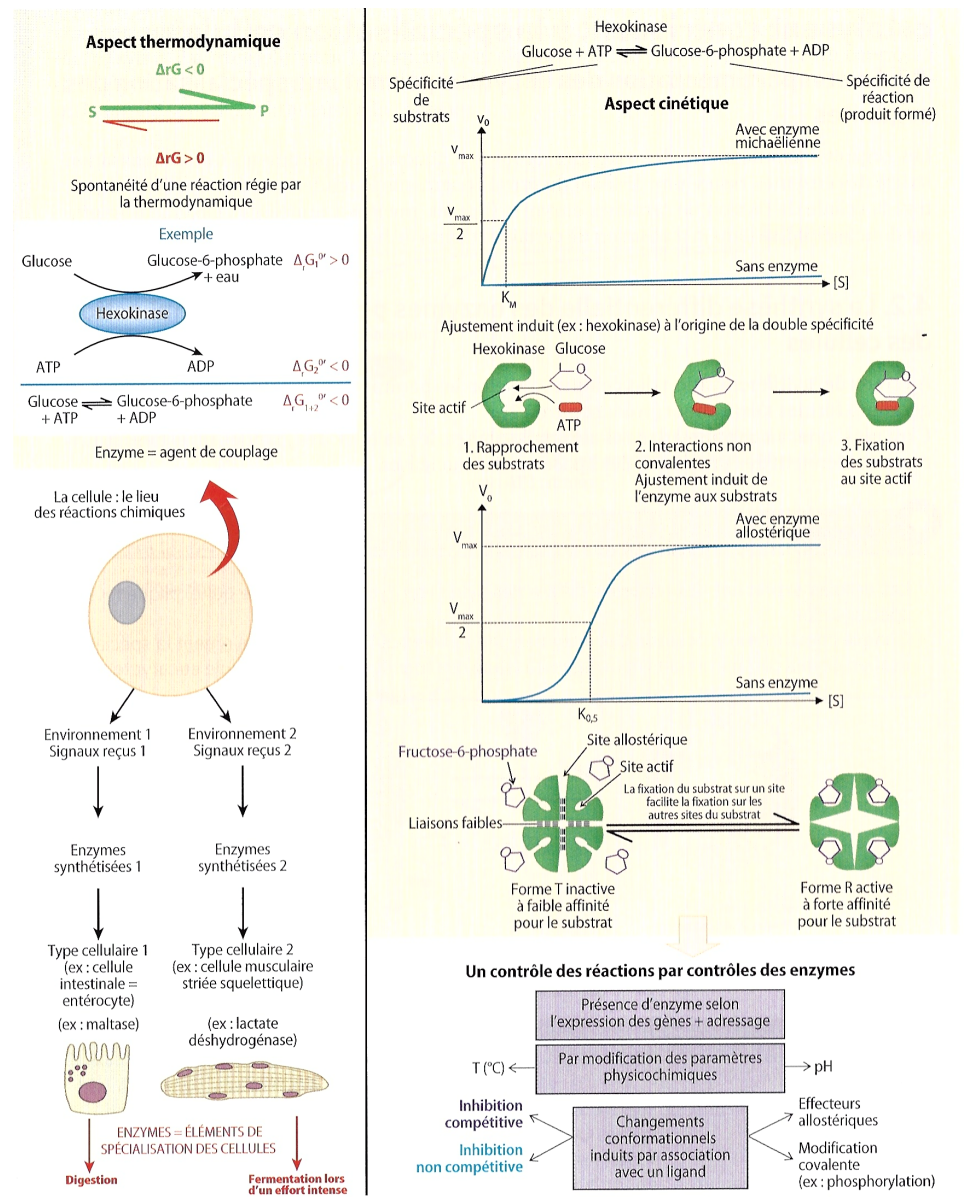


FIGURE 75. Schéma bilan sur les enzymes. D'après DAUTEL et al. (2021).

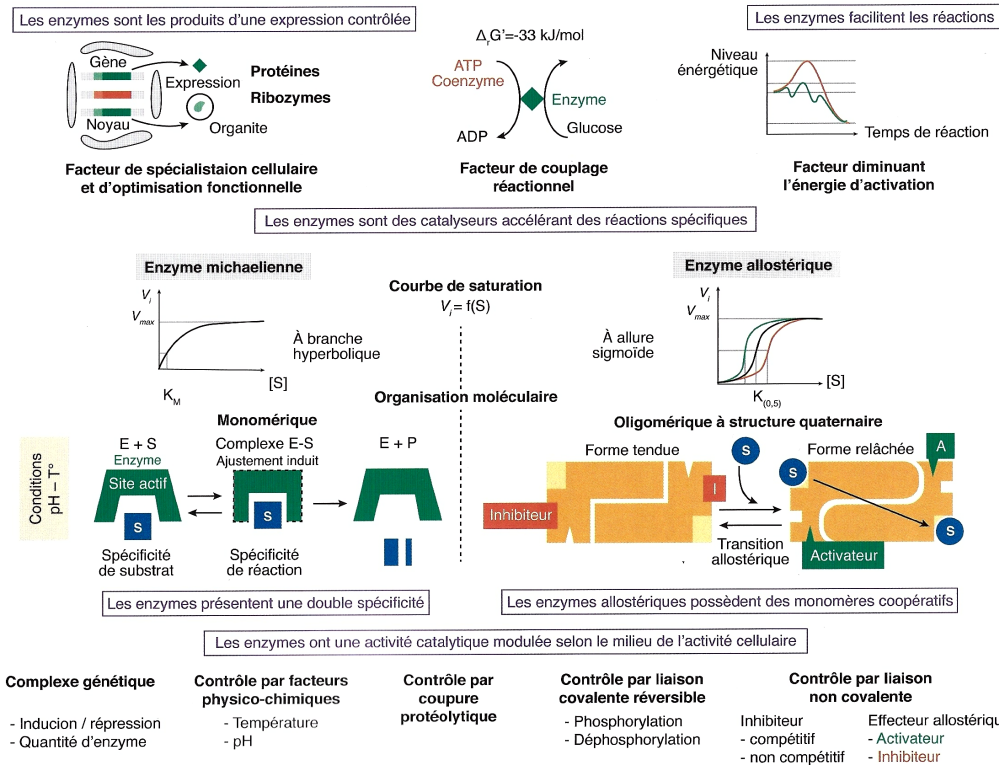


FIGURE 76. **Schéma bilan sur les enzymes.** D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021).

Pour faire une fiche de révision : quelques pistes

Il est conseillé de maîtriser les **grandes lignes du plan**

Le **plan** ne doit pas être perçu comme un carcan figé, ou comme un modèle de plan de dissertation à ré-utiliser en devoir, mais bien comme un **outil d'apprentissage et de structuration des concepts importants**. Vous pouvez en recopier les grandes lignes ou annexer le plan du polycopié directement.

Il est conseillé de réaliser un **lexique des principales définitions**.

Il est conseillé de reproduire les **schémas (et tableaux) majeurs** :

Liste indicative.

- ° Principe d'un **couplage énergétique** : exemple avec l'**hexokinase**
- ° Principe de **fonctionnement d'un coenzyme**
- ° **Principaux coenzymes d'oxydoréduction**
- ° Action de la **saccharase**
- ° **Action cinétique** de la **température** et du **pH** : exemples pertinents
- ° **Complémentarité enzyme-substrat** et **ajustement induit**
- ° **Réaction enzymatique**
- ° **Diagramme énergétique** d'une **réaction enzymatique**
- ° **Spécialisation des compartiments** par **spécialisation enzymatique**

- ° **Courbe et modélisation de MICHAELIS-MENTEN** (ex. hexokinase)
- ° **Courbe et modélisation de LINEWEAVER-BURK** (double inverse)
- ° **Cinétiques comparées** de l'**hexokinase** et de la **glucokinase**
- ° **Kinases, phosphorylases, phosphatases**
- ° Notion d'**efficacité catalytique** k_{cat}/K_M
- ° **Courbe cinétique** d'une **enzyme allostérique** (ex. PFK1)
+ **Modélisation (nombre de HILL)**
- ° **Effet homotrope** : modèle **concerté**, modèle **séquentiel**
- ° **Effet hétérotrope** et **conséquences cinétiques**

° **Courbe** $v_i = f([E])$

° **E. coli** en présence de **glucose** et **lactose**

→ **fonctionnement de l'opéron Lac en BCPST2**

° **Enzymes du métabolisme du glycogène** en fonction de la situation

° **Pyruvate kinase** et le contrôle de sa synthèse

° **Inhibiteur compétitif, non compétitif**

° **Inhibition compétitive** : représentation de MICHAELIS-MENTEN et de LINEWEAVER-BURK

° **Inhibition incompétitive et mixte** : représentations de MICHAELIS-MENTEN et de LINEWEAVER-BURK

° **Inhibition par excès de substrat** (ex. acétylcholine estérase)

° Rôle des **effecteurs allostériques** sur les **enzymes allostériques** : cas de la **PFK1**

° **Contrôle du catabolisme oxydatif** : rôle de la **PFK1**

° **Clivage protéolytique** (ex. trypsinogène)

° Principe de **phosphorylation-déphosphorylation**

° **Contrôle complet** de l'activité de la **glycogène phosphorylase** (synthétiser les données)

° Principes d'une **chaîne de transduction** (rôle des enzymes)

Vous devez en outre **savoir / pouvoir** (en lien avec le **TP**) :

- ° **suivre** expérimentalement une réaction enzymatique
- ° **construire la courbe $v_i = f([S])$** et la **courbe en double inverse**
- ° **exploiter des données expérimentales** sur les enzymes
- ° **reconnaître des situations basiques d'inhibition michaelienne** ou d'action d'effecteurs allostériques

Références

- ALBERTS, B., A. JOHNSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS & P. WALTER (2004). *Biologie moléculaire de la cellule. Quatrième édition*. Traduction de la quatrième édition américaine (2002) par F. LE SUEUR-ALMOSNI. Flammarion, Paris. Première édition américaine 1983 (1986 1^{re} édition française).
- AUGÈRE, B. (2001). *Les enzymes, biocatalyseurs protéiques*. Ellipses, Paris.
- BAL, A., C. CALAMAND, C. COTTON, G. GOHAU, M. LE BELLÉGAR, C. MARCONIS, D. RICHARD, M. SEBBAH & C. TORTORA (1992). *Régulation. La régulation des fonctions*. Hachette, Paris.
- BAYNES, J. W. & M. H. DOMINICZAK (dir.) (2019). *Medical Biochemistry*. 5^e édition (1^{re} édition 1999). Elsevier, Amsterdam.
- BERGERON, J. (dir.), P. BEAUJARD, B. DAVID, A. HYON, I. BEDNAREK-MAÏTREPIERRE, D. MARGERIE, M. MARGERIE & O. MOUTAUX (2001). *Sciences de la Vie et de la Terre Première S*. Hatier, Paris.
- BERTHET, J. (2006). *Dictionnaire de Biologie*. De Boeck Université, Bruxelles (Belgique).
- BOUJARD, D. (dir.) B. ANSELME, C. CULLIN & C. RAGUÈNES-NICOL (2015). *Biologie cellulaire et moléculaire. Tout le cours en fiches. Licence. PACES. CAPES*. 2^e édition (1^{re} édition 2012), Dunod, Paris.
- BOUTIN, V., L. GERAY (dir.), H. CLAUCE, A. DENIS, A. PROUST & C. VILBERT (2022). *La Biologie en 2200 schémas*. De Boeck, Louvain-la-Neuve (B).
- BERNARD, J.-J. (2002). *Bioénergétique cellulaire*. Ellipses, Paris.
- BREUIL, M. (2007). *Biologie 1^{re} année BCPST-véto*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- BREUIL, M. (2009). *Biologie 2^e année BCPST-véto*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- BUCHANAN, B. B., W. GRUISSEM & R. L. JONES (dir.) (2015). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Wiley, New York, USA – Blackwell, Oxford, UK, 2^e édition (1^{re} édition 2002).
- CAMPBELL, N. A. & J. B. REECE (2004). *Biologie*. De Boeck Université, Bruxelles, 2^e édition (1^{re} édition 1995).
- [CAMPBELL, N. A.], J. B. REECE, L. A. URY, M. L. CAIN, S. A. WASSERMAN, P. V. MINORSKY, R. B. JACKSON (2012). *Campbell Biologie*. Adaptation française J. FAUCHER & R. LACHAÏNE. Pearson, Paris (4^e édition).
- DAUTEL, O. (dir.), A. PROUST, M. ALGRAIN, C. BORDI, A. HELME-GUIZON, F. SAINTPIERRE, M. VABRE & C. BOGGIO (2017). *Biologie Géologie BCPST 1^{re} année*. Vuibert, Paris.
- DELAIRE-ÉCHARD, S. & J.-M. BELLAMY (dir.), G. CAMUS, M. CHAIZE, C. CROQUELOIS, S. DE SINGLY, S. GASNE, C. HELMSTETTER, A. HERMIER, A.-S. HODOT, S. HURTREZ, C. LEGENT, M. MAINTIGNEUX, A.-C. MARTIN, C. MEILLAUD, C. NUSS, C. PALMIER, F. THIERRY, S. TRUFFAUT, A. YVET, C. CAUSSE & Y. KRAUSS (2019). *Sciences de la Vie et de la Terre. Planète SVT 1^{re} Spécialité. Programme 2019*. Hachette, Paris.
- DENÈUD, J., T. FERROIR, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON, M.-L. PONS & F. TEJEDOR (2011). *Biologie-Géologie BCPST-véto 2^e année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- DENÈUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2013). *Biologie-Géologie BCPST-véto 1^{re} année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- DENÈUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON, M.-L. PONS & F. TEJEDOR (2014). *Biologie-Géologie BCPST-véto 2^e année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- DUCCO, A. (dir.), C. BONNET, P. BRINGER, C. BUSSIÈRE, F. CARIOU, M. CHARLES, A. CLAMENS, J.-P. ESTEBAN, M. GALLIZIA, D. GRANDOUILLET, S. KROGMANN, C. LENNE, J.-F. MOYEN, C. MULNET, D. MULNET, M. NAESSENS & F. SCHMITT, 2001. *SVT Sciences de la Vie et de la Terre Première S*. Belin, Paris.
- FUJIL, J. (2019). Chapter 6. Catalytic Proteins – Enzymes, pages 61-74. In BAYNES, J. W. & M. H. DOMINICZAK (dir.). *Medical Biochemistry*. 5^e édition (1^{re} édition 1999). Elsevier, Amsterdam.
- GODINOT, C., H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2010). *Biologie-Géologie 1^{re} année BCPST-véto*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- LAFFON, C. (2003). *La biologie autrement. 100 questions de synthèse*. Ellipses, Paris.
- LATRUFFE, N. (dir.), F. BLEICHER-BARDETTI, B. DUCLOS & J. VAMECQ (2014). *Biochimie. Tout le cours en fiches. Licence. PACES-UE1. CAPES*. Dunod, Paris.
- LIU, J. & R. NUSSINOV (2016). Allostery: An Overview of Its History, Concepts, Methods, and Applications. *PLoS Computational Biology*, 12 (6) : e1004966. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004966>
- LIZEAUX, C., D. BAUDE (dir.), C. BRUNET, B. FORESTIER, E. FRANÇOIS, Y. JUSSERAND, P. PILLOT, S. RABOUIN & A. VAREILLE (2011). *Sciences de la Vie et de la Terre 1^{re} S*. Bordas, Paris.
- MARCONIS, C., P. MARTY, D. RICHARD & M. SEBBAH (1990). *Neurobiologie. 1. Le système nerveux : système de communication*. Hachette, Paris.
- MARIEB, E. N. (2005). *Anatomie et physiologie humaines*. Renouveau pédagogique, Saint-Laurent (Québec, Canada), Diffusion Pearson Education France, Paris, 6^e édition américaine (2004) adaptée par R. LACHAÏNE.
- MARIEB, E. N. & K. HOEHN (2015). *Anatomie et physiologie humaines*. Pearson, Montréal (Québec, Canada), 9^e édition américaine adaptée par L. MOUSSAKOVA & R. LACHAÏNE.
- MORÈRE, J.-L., R. PUJOL (coord.), J.-C. CALLEN, L. CHESNOY, J.-P. DUPONT, A.-M. GIBERT-TANGAPREGASSO, G. RICOU, N. TOUZET (dir.) et collaborateurs (2003). *Dictionnaire raisonné de Biologie*. Frison-Roche, Paris.
- MOUSSART, C. (2010). *Biochimie et biologie moléculaire*. De Boeck, Bruxelles (B).
- PÉRILLEUX, É., D. RICHARD, B. ANSELME, J.-M. DEMONT & P. VALET (2002). *Biologie humaine. Anatomie, physiologie, santé*. Nathan, Paris, 2^e édition.
- PEYCRU, P. (dir.), J.-F. FOGELGESANG, D. GRANDPERRIN, B. AUGÈRE, J.-C. BAEHR, C. PERRIER, J.-M. DUPIN & C. VAN DER REST (2010a). *Biologie tout-en-un BCPST 1^{re} année*. Dunod, Paris, 2^e édition (2009), réimpression corrigée (2010) (1^{re} édition 2006).
- PEYCRU, P. (dir.), J.-C. BAEHR, F. CARIOU, D. GRANDPERRIN, C. PERRIER, J.-F. FOGELGESANG & J.-M. DUPIN (2010b). *Biologie tout-en-un BCPST 2^e année*. Dunod, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2007).
- PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2013). *Biologie tout-en-un BCPST 1^{re} année*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2006).
- PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, J.-F. BEAUX, F. CARIOU, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, S. MAURY, É. QUÉINNEC, E. SALGUEIRO & C. VAN DER REST (2014). *Biologie tout-en-un BCPST 2^e année*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2007).
- RAVEN, P. H., G. B. JOHNSON, J. B. LOSOS, S. S. SINGER (2007). *Biologie*. De Boeck, Bruxelles.
- RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2012). *Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2010).
- RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2015). *Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2010).
- RIEUTORT, M. (1998). *Physiologie animale. 1. Les cellules dans l'organisme*. Mise à jour M. RIEUTORT & D. PICHARD (coll. M. RIEUTORT). Masson, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 1982).
- RIEUTORT, M. (1999). *Physiologie animale. 2. Les grandes fonctions*. Mise à jour D. PICHARD. Masson, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 1982).
- SAINTPIERRE, F., C. BORDI (dir.), M. ALGRAIN, Y. KRAUSS, I. MOLLIÈRE & H. CLAUCE (2017). *Mémento Biologie BCPST 1^{re} et 2^e années*. Vuibert, Paris.
- SAINTPIERRE, F., C. BORDI (dir.), M. ALGRAIN-PITAVY, A. DENIS, L. GERAY & I. MOLLIÈRE (2021). *Mémento Biologie BCPST 1^{re} et 2^e années*. Vuibert, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2017).
- SEGARRA, J. (dir.), É. CHAUVET, C. COLSON-PROCH, M. HUILLE, M. LABROUSSE, F. LOUET, F. METZ & E. PIÈTRE (2014). *Biologie BCPST 1^{re} année*. Ellipses, Paris.
- SEGARRA, J., E. PIÈTRE (dir.), G. BAILLY, O. CHASSAING, D. FAVRE, T. JEAN, F. METZ & C. MEUNIER (2015). *Biologie BCPST 2^e année*. Ellipses, Paris.
- SEGARRA, J., E. PIÈTRE (dir.), C. AHYERRE, G. BAILLY, É. CHAUVET, D. FAVRE, M. HUILLE, T. JEAN, F. METZ, C. PROCH & F. SONTONNAX (2023). *BCPST 1^{re} année Biologie. 2^e édition*. Ellipses, Paris.
- SILVERTHORN, D. U., avec W. C. OBER, C. W. GARRISON, A. C. SILVERTHORN & B. R. JOHNSON (2007). *Physiologie humaine. Une approche intégrée*. Pearson Education France, Paris, 4^e édition américaine traduite sous la dir. de J.-F. BRUN.
- TAIZ, L. & E. ZEIGER (dir.) (2010). *Plant physiology*. Sinauer Associates, Sunderland (Massachusetts, USA), 5^e édition (1^{re} édition 1991).
- TORTORA, G. J. & B. DERRICKSON (2009). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. Adaptation française L. MARTIN & M. FOREST. De Boeck, Bruxelles, B.
- [VANDER, A. J.], E. P. WIDMAIER, H. RAFF & K. T. STRANG (2013). *Physiologie humaine. Les mécanismes du fonctionnement de l'organisme*. Maloine, Paris, 6^e édition.
- VOET, D. & J. G. VOET (2005). *Biochimie*. De Boeck, Bruxelles (B), 2^e édition française [3^e édition américaine, John Wiley and sons, New York, USA, 2004. Traduction G. ROUSSEAU & L. DOMENJOU].

Plan du chapitre

Objectifs : extraits du programme	1		
Introduction	1		
I. Des protéines catalysant les réactions chimiques du vivant de manière spécifique	2		
A. Des catalyseurs protéiques indispensables à la réalisation des réactions biochimiques	2		
1. Des catalyseurs protéiques	2		
a. Des catalyseurs	2		
b. Des protéines	2		
2. Un rôle cinétique majeur : les facilitateurs chimiques du vivant	2		
a. Des accélérateurs (de 10^4 à 10^{16}) des réactions biochimiques, d'efficacité bien supérieure à la catalyse chimique	2		
b. Des accélérateurs indispensables à la réalisation des réactions chimiques dans des temps compatibles avec la vie	2		
3. Un rôle thermodynamique : de fréquents agents de couplage	2		
a. L'énergie de GIBBS et le caractère endergonique ou exergonique d'un travail	2		
b. Intervention des enzymes dans les couplages énergétiques	3		
B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes	4		
C. Des catalyseurs spécifiques : la triple spécificité enzymatique	4		
1. La spécificité de substrat	4		
2. La spécificité d'action (= spécificité de réaction) et la classification des enzymes	4		
3. La spécificité de conditions d'action (notamment température et pH) avec des optima de fonctionnement	5		
D. Des protéines interagissant avec le substrat et abaissant l'énergie d'activation de la réaction	6		
1. L'importance de l'interaction entre enzyme et substrat	6		
a. Une complémentarité spatiale (= stérique) et chimique enzyme-substrat au niveau d'un site actif en creux : le modèle clef-serrure (modèle de FISCHER)	6		
b. Une légère modification de la conformation de l'enzyme lors de la fixation du substrat : l'ajustement induit (modèle de KOSHLAND)	6		
2. Le déroulement de la réaction enzymatique	6		
a. Une fixation réversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique finale catalysée généralement irréversible	6		
b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation	7		
c. Une étude de la réaction enzymatique possible par des techniques variées (diffraction aux rayons X, RMN, mutagenèse dirigée...)	7		
E. Une spécialisation des compartiments et des cellules permise par leur appareillage enzymatique propre	7		
1. Au sein d'une cellule : une spécialisation des territoires cellulaires largement dictée par leur composition enzymatique	7		
2. Entre cellules : une spécialisation largement permise par la nature des enzymes exprimées qui participe à la différenciation cellulaire	7		
3. En lien avec des sécrétions cellulaires (exoenzymes)	7		
II. La cinétique enzymatique : deux grandes catégories d'enzymes	8		
A. Les enzymes michaeliennes, enzymes à cinétique de saturation hyperbolique	8		
1. Rappel de quelques notations	8		
2. L'emploi de valeurs initiales : vitesse initiale de réaction ($v_i = v_0 = v$), concentration initiale en substrat ($[S]_i = [S]_0 = [S]$)	8		
3. Origine et construction de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913), en réalité largement due aux travaux d'HENRI (1902)	8		
		a. Le dosage de la quantité de produit formé en fonction du temps : calcul de la vitesse initiale pour diverses concentrations initiales en substrat	8
		b. La construction de la courbe $v_i = f([S]_i)$	9
		4. Exploitation de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913)	9
		a. Notion de K_M et lien avec l'affinité	9
		b. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = v_m$	9
		c. Une modélisation par l'équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)	9
		5. La possibilité d'une linéarisation de la courbe facilitant la détermination des constantes	10
		a. Le graphique en double inverse : la linéarisation de LINEWEAVER-BURK (1934) : $1/v_i = f(1/[S]_i)$	10
		b. L'existence d'autres modalités de linéarisation [pour information]	10
		6. Des paramètres cinétiques en lien avec la fonction des enzymes	10
		a. K_M et v_{max} , des constantes pouvant différer pour un même substrat dans des contextes fonctionnels différents : l'exemple comparé de l'hexokinase et de la glucokinase	10
		b. Fréquence de catalyse (k_{cat}) et K_M , deux paramètres permettant d'estimer une efficacité catalytique (= constante de spécificité) k_{cat}/K_M	11
		7. Des enzymes souvent monomériques ou, plus rarement, oligomériques	11
		B. Les enzymes allostériques, enzymes [quasi-]toujours* multimériques (= de structure quaternaire) à cinétique de saturation sigmoïde	12
		1. Rappels de la notion d'allostérie	12
		a. La notion historique de l'allostérie, justement inventée pour ces enzymes : la coopérativité entre sous-unités	12
		b. La notion moderne de l'allostérie : la modifiabilité de l'affinité d'une protéine vis-à-vis de son ligand (principal) suite à la fixation distante d'un autre ligand (effecteur allostérique)	12
		2. Une cinétique d'allure sigmoïde	12
		a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique	12
		b. Exploitation de la courbe d'une enzyme allostérique	12
		α. Notion de $K_{0.5}$ (K_{50}) et lien avec l'affinité	12
		β. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = v_m$	12
		γ. Une modélisation par une équation faisant intervenir un quantificateur de la coopérativité entre sous-unités, le nombre de HILL n (= n_H)	12
		3. Un fonctionnement coopératif des sous-unités enzymatiques	13
		a. Deux formes de sous-unités (tendue T et relâchée R) et une transition allostérique entre les deux formes	13
		b. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action du substrat (ligand principal) sur les autres sites actifs de l'enzyme : l'effet homotrope	13
		α. Définition de l'effet homotrope (= effet coopératif)	13
		β. Deux modèles explicatifs : le modèle concerté et le modèle	13
		i. Le modèle concerté (MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965) : une affinité modifiée de toutes les sous-unités dès qu'une sous-unité accueille un substrat	13
		ii. Le modèle séquentiel (KOSHLAND, 1966) : une affinité modifiée sous-unité par sous-unité suite à l'arrivée d'un substrat sur une première sous-unité	13
		iii. Et la transition $R \rightarrow T$? Un processus largement post-catalytique	13
		c. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action d'un ou plusieurs ligands secondaires, les effecteurs allostériques, agissant chacun sur un site effecteur (= site allostérique) différent du site actif du substrat : l'effet hétérotrope	13

III. Les enzymes, des protéines catalytiques à activité modulable à l'origine d'un contrôle du métabolisme	14
A. Un contrôle de la réaction enzymatique par la concentration en enzymes	14
1. Courbe $v_i = f([E])$: une vitesse initiale de catalyse enzymatique linéairement dépendante de la concentration en enzyme du milieu réactionnel	14
2. Une concentration enzymatique dans les compartiments cellulaires ou extracellulaires qui dépend elle-même de l'expression génétique (et de l'adressage protéique)	14
3. Une modulabilité de l'expression génétique sous l'effet de signaux extracellulaires ou, parfois, de la disponibilité en substrat	15
B. Un contrôle de la réaction enzymatique par les conditions physico-chimiques du milieu réactionnel	16
1. Un contrôle par la disponibilité en substrat, voire en coenzymes et cosubstrats variés, conduisant généralement à l'épuisement rapide du substrat disponible	16
2. Un contrôle par la température	16
3. Un contrôle par le pH	16
C. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par des ligands stimulateurs ou inhibiteurs	16
1. L'inhibition des enzymes michaeliennes	16
a. Notion d'inhibiteur : une substance qui ralentit la vitesse catalytique de la réaction enzymatique	16
b. Les inhibiteurs compétitifs : des molécules se liant sur le site actif à la place du substrat ($\nearrow K_{M\ app} \Leftrightarrow \searrow$ affinité ; V_{max} non modifiée)	16
c. Les inhibiteurs non compétitifs : des molécules se liant sur un site différent du site actif (K_M inchangé ; $\searrow V_{max\ app}$)	17
d. D'autres inhibitions sur lesquelles le programme semble moins prolix	18
a. L'inhibition incompétitive : une fixation de l'inhibiteur à distance du site actif, sur un site du complexe ES déjà formé ($\searrow K_{M\ app} \Leftrightarrow \nearrow$ affinité ; $\searrow V_{max\ app}$)	18
β. L'inhibition mixte : une inhibition diminuant l'affinité ($\nearrow K_{M\ app}$) et diminuant aussi la $V_{max\ app}$ [imite programme ?]	18
e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit	19
a. L'inhibition par le substrat en excès	19
β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques	19
2. Cas des enzymes allostériques	19
a. Des effecteurs allostériques activateurs ou inhibiteurs « déplaçant » le $K_{0,5}$ et modifiant donc l'affinité vis-à-vis du substrat (effet hétérotrope)	19
b. Un effet des conditions physico-chimiques (pH, température, substrat, coenzymes...)	19
3. Intérêt de ces contrôles dans la régulation des voies métaboliques : l'importance des rétro-inhibitions (ou des rétro-activations)	20
a. Notion de voie métabolique et principe des régulations métaboliques	20
b. Des rétroactions négatives	20
c. Des rétroactions positives	20
D. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par modification covalente des enzymes	21
1. Une modulation irréversible : cas du clivage protéolytique des pro-enzymes	21
2. Une modulation réversible : cas de la phosphorylation-déphosphorylation	21
a. Principe général	21
b. Un exemple de contrôle complexe de l'activité enzymatique illustrant, entre autres, l'importance de la phosphorylation-déphosphorylation : l'exemple de la glycogène phosphorylase	21
a. Une enzyme allostérique dimérique permettant la phosphorylation d'amidon en glucose-1-phosphate dans le cadre de la glycogénolyse	21
β. Une enzyme dont l'activité est modulable par des effecteurs allostériques	21
γ. Une enzyme dont l'activité est en outre modulable par son état de phosphorylation-déphosphorylation	22

γ. Une enzyme dont la synthèse est contrôlée par l'insuline et le glucagon	22
δ. Bilan : des contrôles multiples	22
c. L'importance des cascades de phosphorylation-déphosphorylation et plus largement des enzymes dans les chaînes de transduction	22

Quelques schémas bilans	23
Pour faire une fiche de révision : quelques pistes	25
Références	26
Plan du chapitre	27

© Tanguy JEAN. Les textes et les figures originales sont la propriété de l'auteur. Les figures extraites d'autres sources restent évidemment la propriété des auteurs ou éditeurs originaux.
Document produit en mars-avril 2023 • Dernière actualisation : avril 2024.
Contact : Tanguy.Jean4@gmail.com
Adresse de téléchargement : <https://www.svt-tanguy-jean.com/>



Ces données sont placées sous licence *Creative Commons Attribution – Pas d'Utilisation commerciale 4.0 CC BY NC* qui autorise la reproduction et la diffusion du document, à condition d'en citer explicitement la source et de ne pas en faire d'utilisation commerciale.