



Lycée François-René DE CHATEAUBRIAND
 136 BOULEVARD DE VITRÉ, CS 10637
 35706 RENNES CEDEX 7
CLASSE PRÉPARATOIRE BCPST 1
 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

COURS COMPLET RÉDIGÉ

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).
<p>Précisions et limites : 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.
<p>Précisions et limites : 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 : On étudie les mécanismes de contrôle de l'activité enzymatique sur les exemples d'enzyme michaelienne et d'enzyme allostérique étudiés précédemment. Pour les modifications conformationnelles par modification covalente, on se limite à la phosphorylation.</p>	
<p>Liens : 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

La grande **diversité** des **réactions biochimiques** qui s'opère à l'intérieur d'une **cellule** ou d'un **être vivant** est largement permise par l'intervention de **protéines** à fonction **catalytique**, les **enzymes**, qui **accélèrent** fortement des transformations qui, probablement, ne se feraient que sporadiquement sans leur intervention. On appelle **enzyme** une **protéine (d'origine biologique) qui catalyse une réaction chimique**. Le mot peut être **masculin** ou **féminin** (usage retenu ici). Ce sont des **protéines** souvent **globulaires** que l'on trouve dans **tous les compartiments cellulaires (endoenzymes = enzymes intracellulaires)** comme **sous forme sécrétée à l'extérieur des cellules (= exoenzymes)**, dans une **lumière** ou à l'**extérieur de l'organisme**. Notons que **certaines enzymes** sont spécifiquement localisées au niveau de **membranes biologiques**.

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

- ✓ **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
- b. Des protéines

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

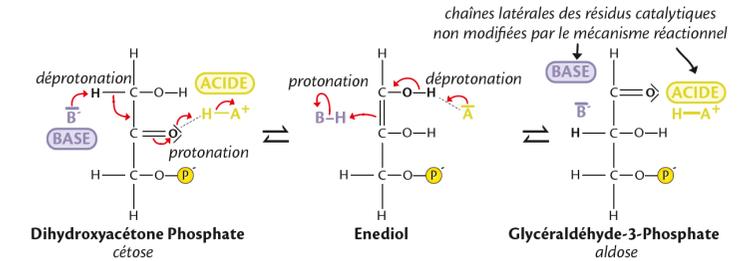
- a. Des accélérateurs (de 10^4 à 10^{16}) des réactions biochimiques, d'efficacité bien supérieure à la catalyse chimique

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 10^{14} (100 000 milliards), et en 1 seconde c'est près de 100 réactions individuelles qui sont catalysées par une seule molécule d'enzyme !

▼ **TABLEAU I. Comparaison de la vitesse de quelques réactions avec ou sans catalyse enzymatique.** D'après RICHARD *et al.* (2015). [Unités bizarres... mais bon, il y a l'idée]

Réactions	Enzymes	Vitesse sans catalyse v_u (s^{-1})	Vitesse avec catalyse enzymatique v_e (s^{-1})	v_e / v_u
$CH_3-O-PO_3^{2-} + H_2O \longrightarrow CH_3OH + HPO_4^{3-}$	Phosphatase alcaline	1×10^{-15}	14	$1,4 \times 10^{16}$
$H_2N-C(=O)-NH_2 + 2 H_2O + H^+ \longrightarrow 2 NH_4^+ + HCO_3^-$	Uréase	3×10^{-10}	3×10^4	1×10^{14}
$R-C(=O)-O-CH_2CH_3 + 2 H_2O \longrightarrow RCOOH + HOCH_2CH_3$	Chymotrypsine	1×10^{-10}	1×10^2	1×10^{12}
Glycogène + Pi \longrightarrow Glycogène + Glucose-1-P (n-1)	Glycogène phosphorylase	$< 5 \times 10^{-15}$	$1,6 \times 10^{-3}$	$> 3,2 \times 10^{11}$
Glucose + ATP \longrightarrow Glucose-6-P + ADP	Hexokinase	$< 1 \times 10^{-13}$	$1,3 \times 10^{-3}$	$> 1,3 \times 10^{10}$
Créatine + ATP \longrightarrow Créatine-P + ADP	Créatine kinase	$< 3 \times 10^{-9}$	4×10^{-5}	$> 1,33 \times 10^4$

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 $pK_a \sim 7$ à $100^\circ C$), des milliards de fois par catalyse enzymatique dans les conditions du vivant ($pH 7$, $20^\circ C$)

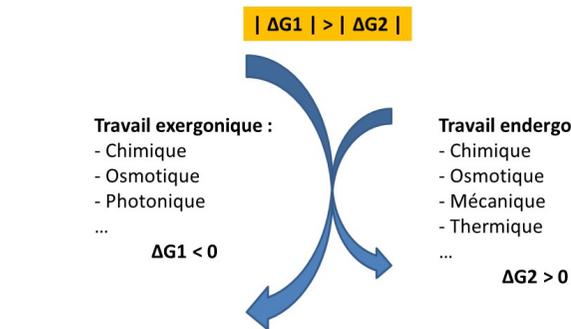


▲ **FIGURE 1. Exemple d'une réaction acido-basique aboutissant à l'isomérisation d'un cétose en aldose (dihydroxyacétone phosphate isomérisé en glycéraldéhyde-3-phosphate) avec comparaison de la vitesse d'une catalyse chimique et d'une catalyse enzymatique.** D'après BOUTIN, GERAY *et al.* (2022)

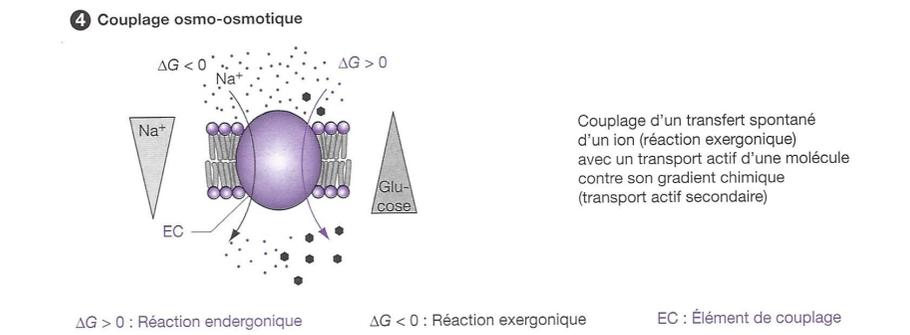
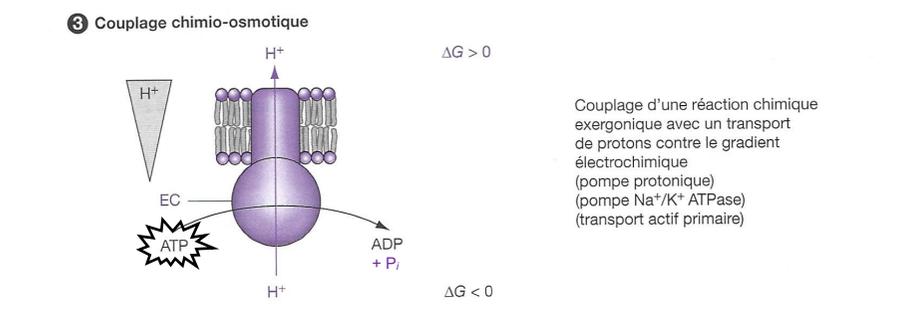
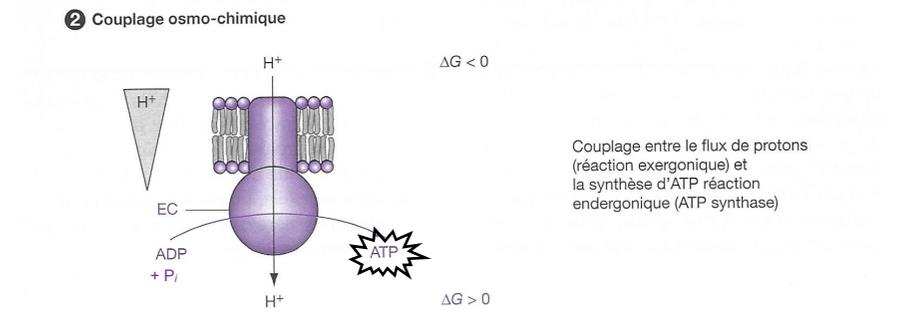
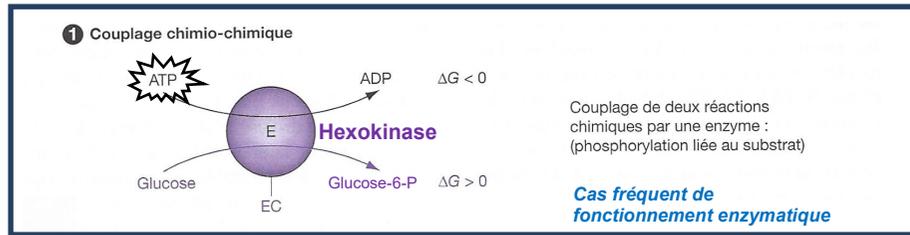
- b. Des accélérateurs indispensables à la réalisation des réactions chimiques dans des temps compatibles avec la vie

3. Un rôle thermodynamique : de fréquents agents de couplage

- a. L'énergie de GIBBS et le caractère endergonique ou exergonique d'un travail
- b. Intervention des enzymes dans les couplages énergétiques

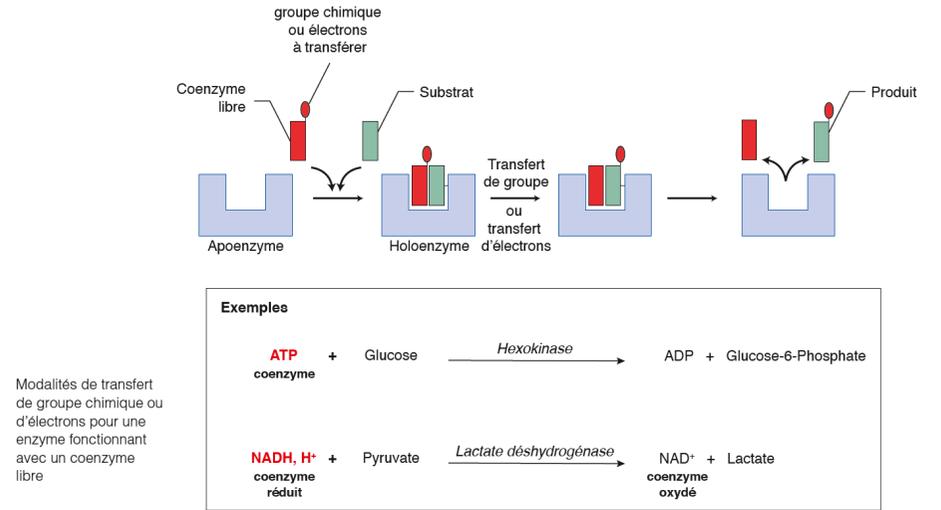


▲ **FIGURE 2. Le principe d'un couplage énergétique.** Schéma original.



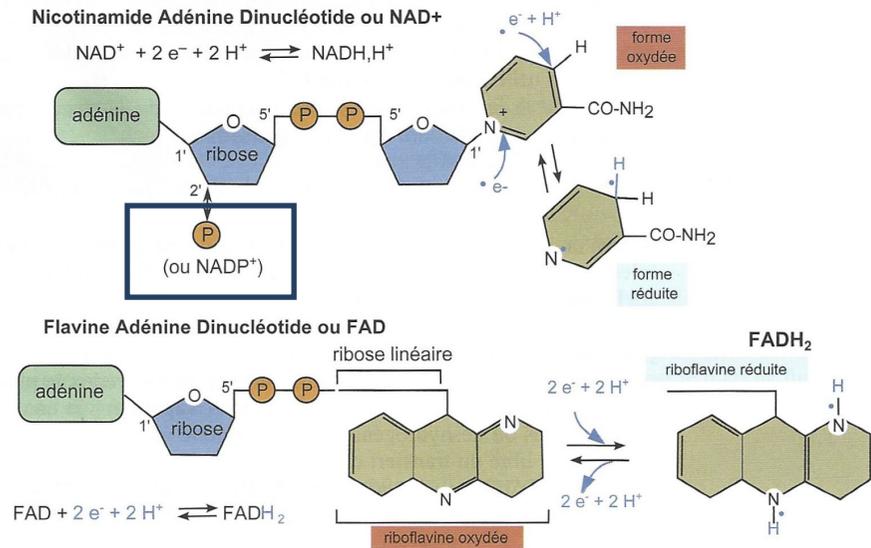
B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes

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 ce positionnement est rare) ou bien comme un **cosubstrat**.
 * Oui, ATP est un terme **féminin**, on le rappelle : cela veut dire « **adénosine triphosphate** ».



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

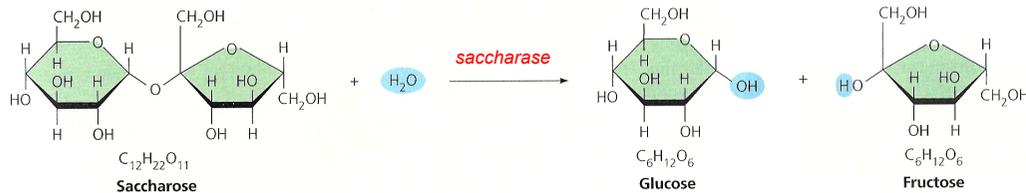
▲ FIGURE 3. Quelques exemples de couplages énergétiques. D'après BREUIL (2007), corrigé.



▲ 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



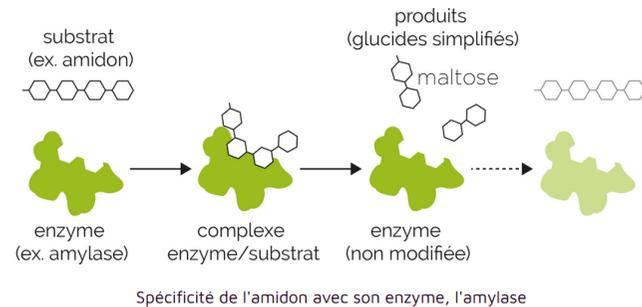
▲ FIGURE 6. Hydrolyse du saccharose par la saccharase. D'après CAMPBELL & REECE (2004)

On utilise dans un test deux enzymes : l'**amylase** catalysant l'hydrolyse de l'amidon et la **pepsine** catalysant celle des protéines dont l'ovalbumine. On les incube à 37 °C en présence de différents substrats. Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

Amylase			Pepsine		
Pas de substrat	Amidon	Ovalbumine	Pas de substrat	Amidon	Ovalbumine
-	Digestion	Pas de digestion	-	Pas de digestion	Digestion

On constate que seule l'amylase est capable de catalyser l'hydrolyse de l'amidon. De plus, elle n'est pas capable de catalyser celle de l'ovalbumine. L'amylase est donc spécifique de son substrat.

À l'inverse, la pepsine est elle aussi spécifique de son substrat puisqu'elle n'est capable de catalyser que l'hydrolyse de l'ovalbumine et pas celle de l'amidon.



▲ FIGURE 7. Expérience montrant la spécificité de substrat de deux enzymes digestives. D'après Maxicours.com (consultation avril 2023)

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

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)

▼ **TABLEAU II. Grandes catégories d'enzymes.** D'après ALBERTS *et al.* (2004) et DELAIRE-ÉCHARD, BELLAMY *et al.* (2019).

ENZYMES	RÉACTIONS CATALYSÉES
Hydrolases	Nom général des enzymes qui catalysent une réaction de clivage par hydrolyse.
Nucléases	Dégradent les acides nucléiques par hydrolyse des liaisons entre les nucléotides.
Protéases	Dégradent les protéines par hydrolyse des liaisons entre les acides aminés.
Synthases	Nom général utilisé pour désigner les enzymes qui synthétisent des molécules, dans les réactions anaboliques, par condensation de deux molécules plus petites.
Isoméras	Catalysent le réarrangement de liaisons dans une même molécule.
Polyméras	Catalysent les réactions de polymérisation comme la synthèse de l'ADN et de l'ARN.
Kinases	Catalysent l'addition de groupements phosphate sur des molécules. Les protéine-kinases forment un groupe important de kinases qui ajoutent des groupements phosphate sur les protéines.
Phosphatases	Catalysent le retrait par hydrolyse d'un groupement phosphate d'une molécule.
Oxydo-réductases	Nom général des enzymes qui catalysent les réactions au cours desquelles une molécule est oxydée pendant qu'une autre est réduite. Les enzymes de ce type sont souvent appelées <i>oxydases</i> , <i>réductases</i> et <i>déshydrogénases</i> .
ATPases	Hydrolysent l'ATP. Beaucoup de protéines ayant un large éventail de rôles ont parmi leurs fonctions une activité ATPase pour recueillir l'énergie. Par exemple, les protéines motrices comme la <i>myosine</i> et les protéines de transport membranaire comme la <i>pompe sodium-potassium</i> .

Le nom des enzymes se termine typiquement par «ase» à l'exception de certaines enzymes comme la pepsine, la trypsine, la thrombine et le lysozyme qui ont été découvertes et nommées avant que cette convention générale soit acceptée à la fin du dix-neuvième siècle. Le nom commun d'une enzyme indique généralement le substrat et la nature de la réaction catalysée. Par exemple, la citrate synthase catalyse la synthèse du citrate par une réaction entre l'acétyl CoA et l'oxaloacétate.

Classe	Type de réaction catalysée	Exemple
Classe 1 : Oxydoréductases	Réaction d'oxydoréduction	catalase
Classe 2 : Transférases	Transfert d'un groupement fonctionnel	glutathion 5-transférase
Classe 3 : Hydrolases	Hydrolyse	6-phosphoglucono-lactonase
Classe 4 : Lyases	Rupture de liaison	cystathionine gamma-lyase
Classe 5 : Isoméras	Isomérisation (modification de la structure spatiale d'une molécule)	triosephosphate isomérase
Classe 6 : Ligases	Formation de liaison	tryptophanyl-tRNA synthétase

Classification internationale des enzymes

L'union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (IUBMB) a mis au point une nomenclature des enzymes fondée sur la réaction chimique catalysée et sur le substrat impliqué. Chaque enzyme présente un numéro construit sur le modèle EC X.X.X.X, EC voulant dire *enzyme commission* et les X. correspondent à des chiffres ou nombres catégorisant et hiérarchisant les diverses enzymes en classe de réactions, sous-classes, et chaque sous-classes en sous-sous-classes...

Ainsi il existe sept classes d'enzymes notées EC1 à EC7 : les oxydoréductases, les transférases, les hydrolases, les synthases, les isoméras, les ligases et les translocases.

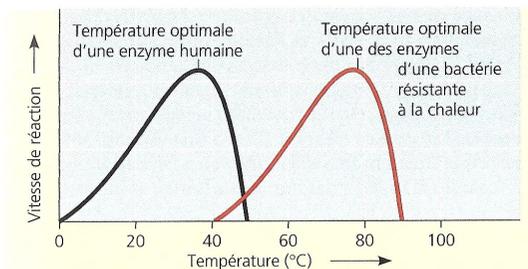
Chaque classe d'enzymes catalyse un type de réaction (spécificité de réaction).

La chymotrypsine, par exemple, possède la référence EC 3.4.21.1 :

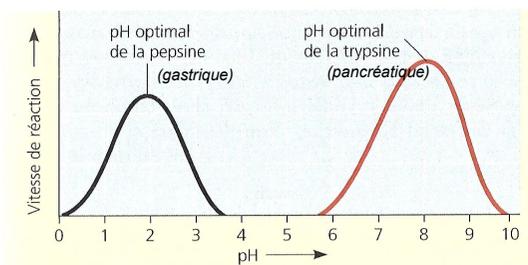
- Le « 3 » correspond à la 3^e classe des enzymes : c'est une hydrolase ;
- Le « 4 » précise qu'elle appartient à la sous-classe endopeptidase ;
- Le « 21 » indique qu'elle possède une **sérine dans son site actif** ;
- Le « 1 » fait référence au nom même de l'enzyme : **chymotrypsine**.

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

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



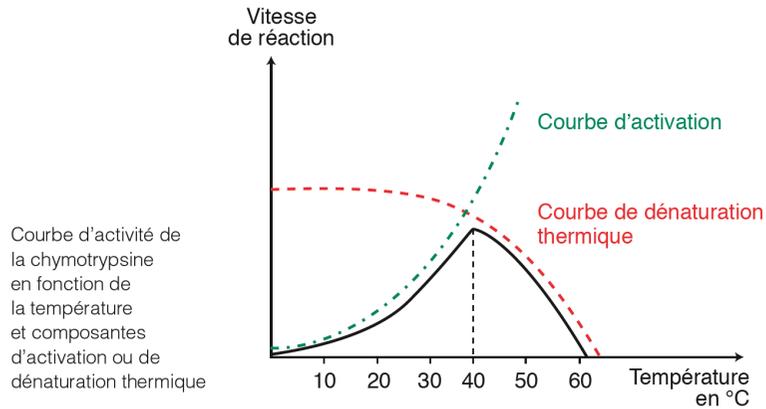
(a) Température optimale de deux enzymes



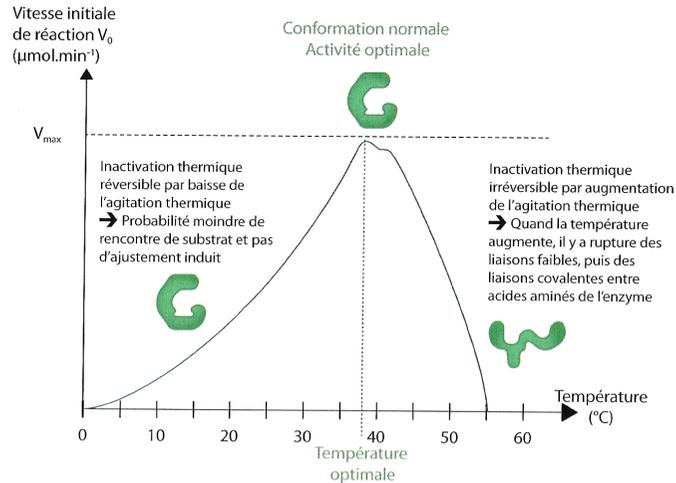
(b) pH optimal de deux enzymes

Facteurs environnementaux exerçant une influence sur l'activité enzymatique. Chaque enzyme possède (a) une température optimale et (b) un pH optimal, qui favorisent sa conformation active.

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

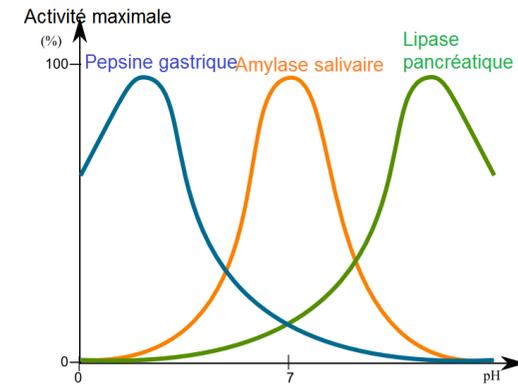


▲ **FIGURE 9. Température et fonctionnement d'une enzyme (la chymotrypsine).**
D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

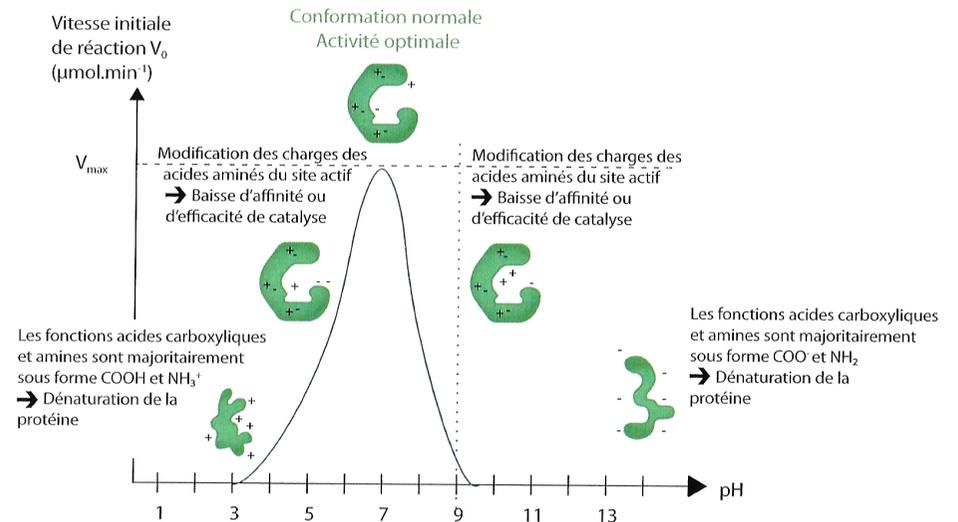


L'effet de la température sur l'activité d'une enzyme humaine.
(Chez l'Homme, l'optimum de température est compris entre 36,1 et 37,8°C).

▲ **FIGURE 10. Température et fonctionnement d'une enzyme humaine.**
D'après DAUTEL *et al.* (2021)



▲ **FIGURE 11. pH optimal de quelques enzymes digestives.**
<http://cellularlifeprocesses.weebly.com/enzymes.html> (consultation mars 2016)



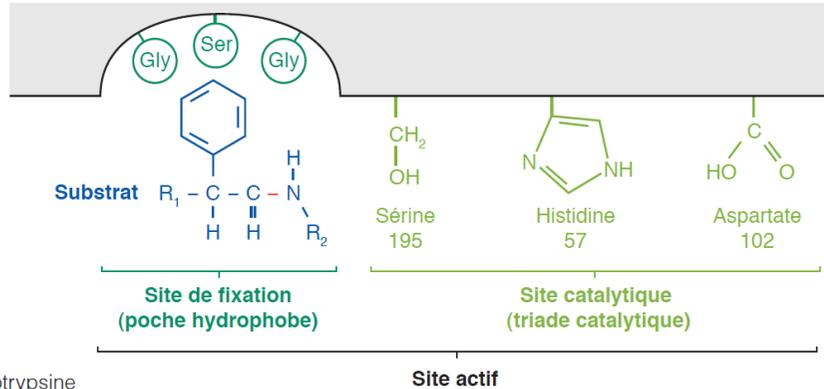
L'effet du pH sur l'activité enzymatique : exemple de l'amylase salivaire ou pancréatique au pH optimal égal à 7 alors que la trypsine a un pH optimal proche de 8.

▲ **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

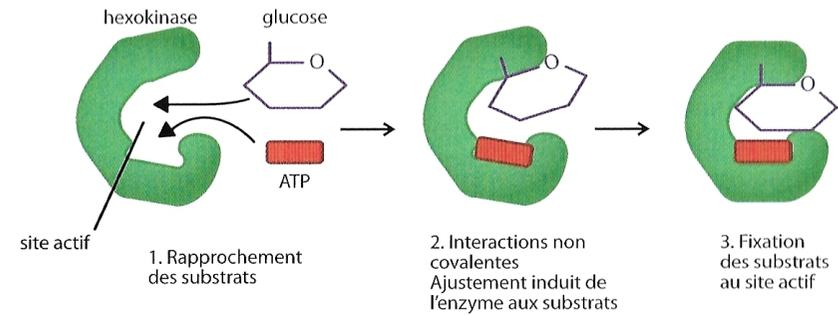
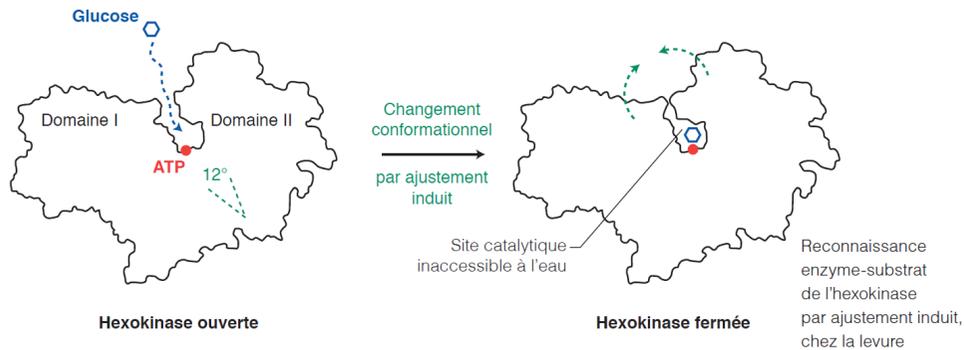
1. L'importance de l'interaction entre enzyme et substrat

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



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

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

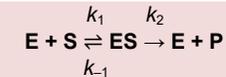


▲ FIGURE 14. **Complémentarité enzyme-substrat et ajustement induit (hexokinase) : 2 visions.** D'après SEGARRA *et al.* (2014), et DAUTEL *et al.* (2021)

2. Le déroulement de la réaction enzymatique

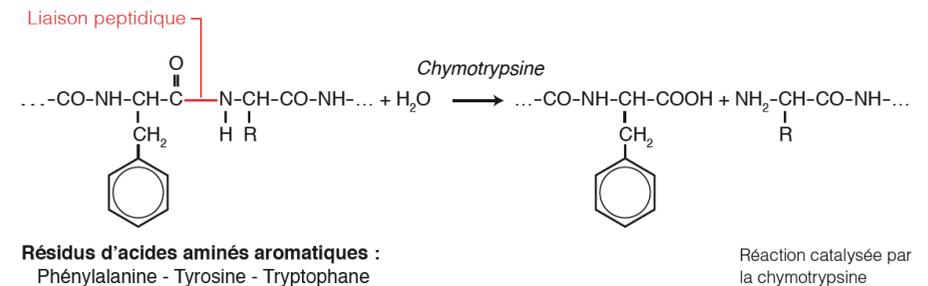
a. Une fixation réversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique catalysée généralement irréversible

- Une réaction enzymatique peut être modélisée de la façon suivante :



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 stœchiométrique.



▲ FIGURE 15. **Un exemple de réaction enzymatique (réaction catalysée par 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**.

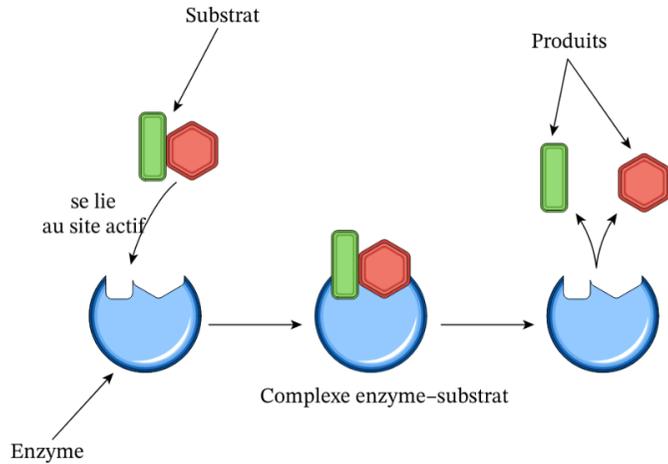


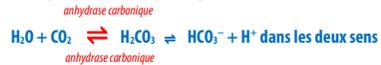
Schéma illustrant la structure d'une enzyme, dont son site actif auquel une molécule de substrat se liera pour former un complexe enzyme-substrat. Une fois la réaction achevée, les produits sont libérés du site actif.

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

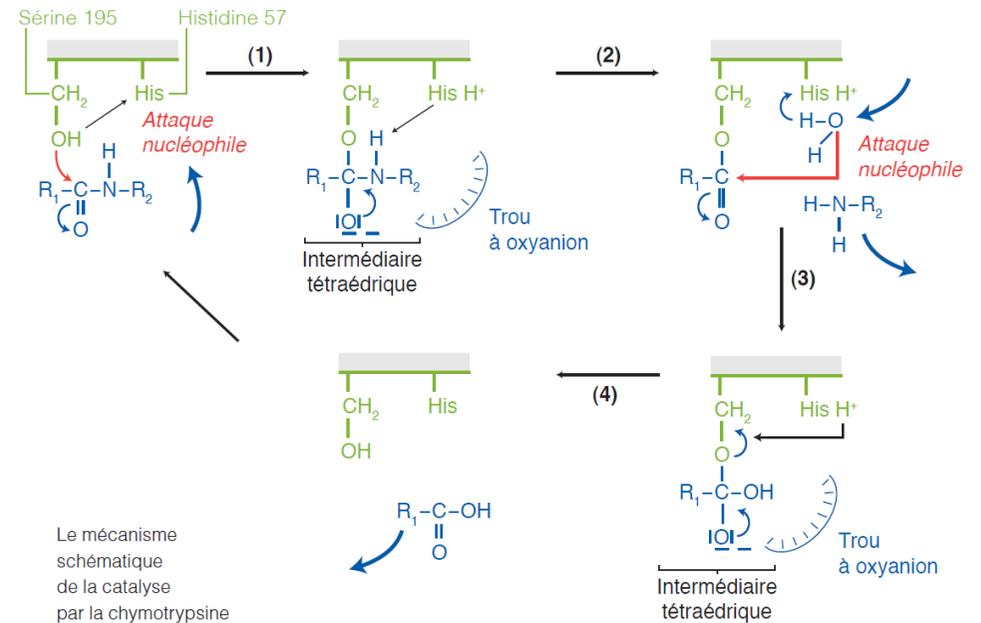
Remarques sur la réversibilité des réactions enzymatiques

- L'immense majorité des enzymes catalyse une réaction enzymatique (parfois avec un spectre de substrat plus ou moins large) dans un seul sens car la réaction $ES \rightarrow P$ est irréversible et ne permet pas de revenir au substrat.
- Il existe néanmoins fréquemment, dans la cellule, l'organisme ou le monde vivant, une ou des enzymes capables de catalyser la réaction inverse.
Si une réaction est exergonique, la réaction inverse est souvent endergonique...
Un couplage s'avérera alors nécessaire dans le second cas.
- Quelques rares enzymes peuvent toutefois faire une catalyse dans les deux sens, dans le cas d'une réaction chimique où peu d'énergie est mise en jeu, et où l'équilibre peut être aisément déplacé dans un contexte intra- et/ou extracellulaire.

Citons l'exemple de l'**anhydrase carbonique** (voir par exemple le **chapitre 3 sur la respiration animale**) qui catalyse **deux réactions inverses** :



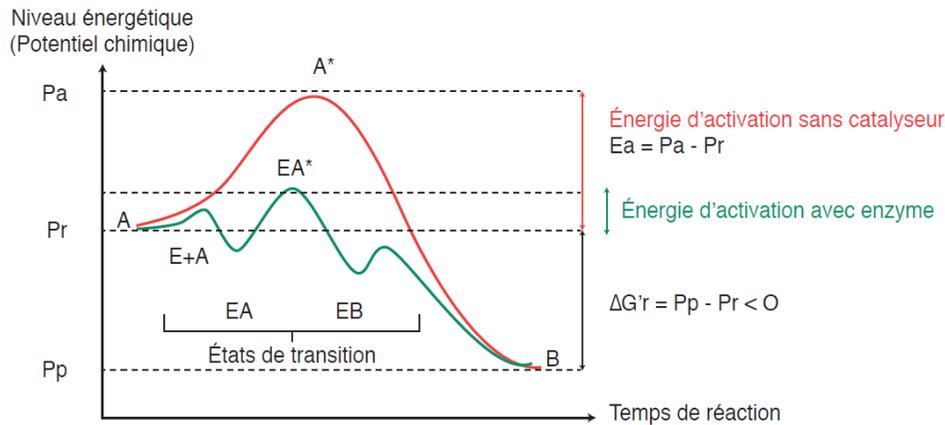
b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation



Le mécanisme schématique de la catalyse par la chymotrypsine

Seules la sérine 195 et l'histidine 97 du site catalytique sont représentées. L'aspartate chargé négativement n'intervient que pour stabiliser l'histidine protonnée, chargée positivement. Flèches bleues : départ et arrivées de substances. Flèches rouges : attaques nucléophiles.

▲ FIGURE 17. **Un exemple de mécanisme réactionnel [ne pas apprendre].**
D'après SEGARRA *et al.* (2014)



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

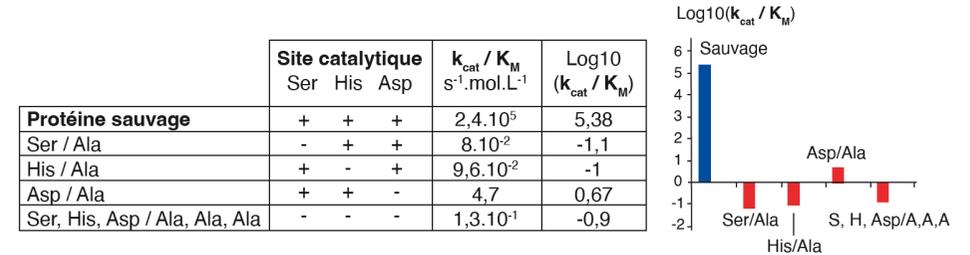
c. Une étude de la réaction enzymatique possible par des techniques variées (diffraction aux rayons X, RMN, mutagenèse dirigée...)

Principe de la résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode d'analyse de la matière, basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Après avoir soumis l'échantillon (molécule à étudier par exemple) à un champ magnétique fort, les noyaux réémettent un signal radiofréquence lorsqu'ils retournent à leur état initial. Le signal est acquis, traité puis imagé pour interprétation. Dans une molécule, l'environnement local autour d'un noyau donné modifie le champ magnétique exercé sur ce noyau et transforme la signature du signal radiofréquence émis ce qui permet de déterminer la structure ou le changement de forme de la molécule étudiée.

Analyse de l'activité enzymatique à l'aide de modifications par mutagenèse dirigée

Grâce aux progrès de l'ingénierie génétique et des techniques de l'ADN recombinant, il est possible, aujourd'hui, de remplacer un acide aminé particulier en modifiant son triplet de nucléotides sur le gène de la protéine clonée. L'utilisation combinée de cette technique avec des études de cinétique enzymatique et de cristallographie par rayons X permet d'identifier les résidus d'acides aminés impliqués dans la catalyse ou la fixation du substrat. En travaillant sur l'enzyme subtilisine (protéase à sérine comparable à la chymotrypsine et comportant la même triade catalytique : sérine, histidine, acide aspartique), on a remplacé tout ou partie des acides aminés du site catalytique par de l'alanine. On évalue l'efficacité catalytique des protéines recombinées par rapport à la protéine sauvage et démontre l'importance de la triade d'acides aminés dans le processus catalytique.



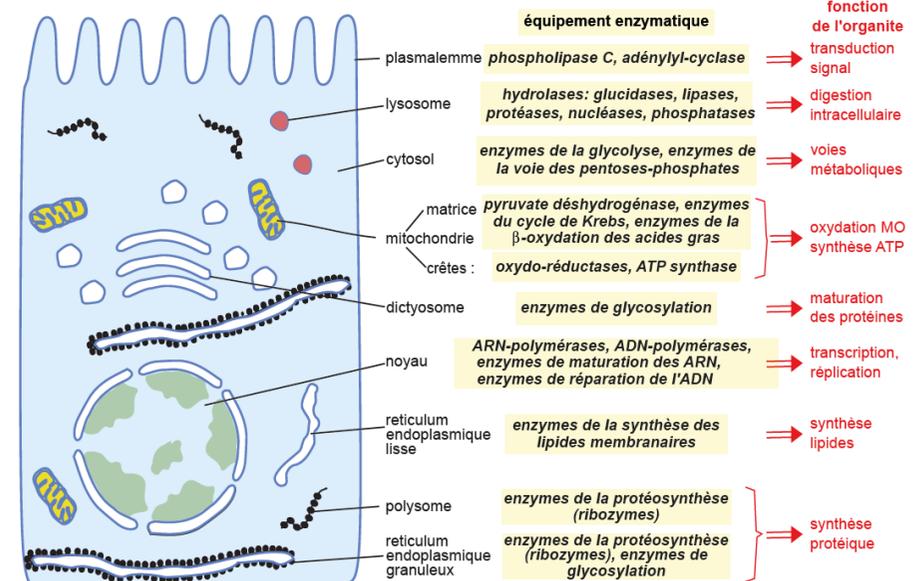
Protéine sauvage (enzyme native, non recombinée), Ser/Ala: la sérine du site catalytique est remplacée par mutagenèse dirigée par de l'alanine, Ser, His, Asp/Ala, Ala, Ala: remplacement de la triade catalytique par des acides aminés de type alanine.

D'après P.Carter (1988) Dissecting the catalytic triad of a serine protease, *Nature*, **332**, 564-8.

▲ FIGURE 19. **Une expérience de mutagenèse dirigée.** D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

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.

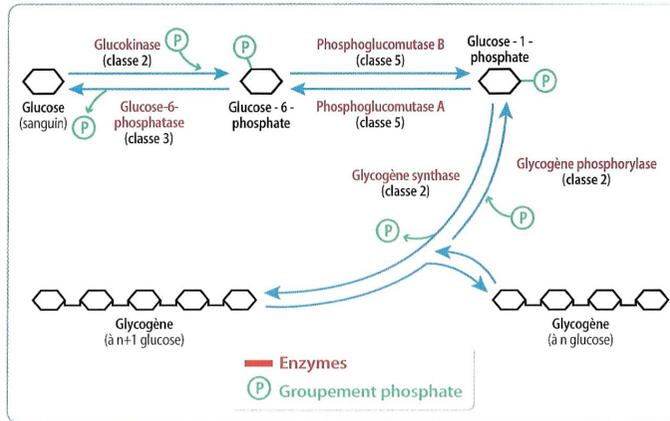
▲ FIGURE 20. **Compartimentation cellulaire et répartition des voies métaboliques : un panorama dans le cas d'une cellule animale [pour illustration].**

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

3. En lien avec des sécrétions cellulaires

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)

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**.

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

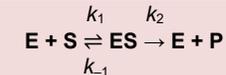
Capacités exigibles

- ✓ **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

- Rappelons qu'une **réaction enzymatique** peut être **modélisée** de la façon suivante :



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.

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

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

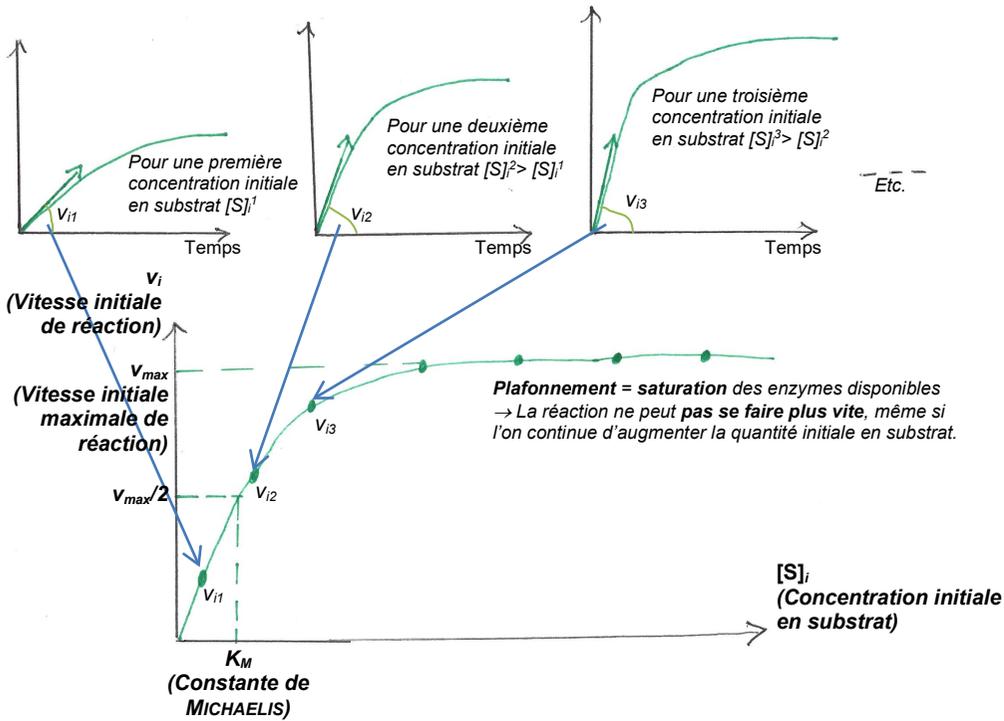
Voir le TP SV E (Caractérisation d'une enzyme)

- La **courbe** et l'**équation cinétiques** des enzymes michaeliennes est souvent attribuée à l'Allemand **Leonor MICHAELIS** (1875-1949) et à la Canadienne **Maud MENTEN** (1879-1960) en 1913, mais le Français **Victor HENRI** (1872-1940) avait en réalité déjà proposé une **modélisation** voisine dès 1902 (figure 22). Ses travaux ont d'ailleurs servi de **base** aux **deux autres auteurs** pourtant reconnus comme auteurs de la modélisation.



▲ FIGURE 22. Leonor MICHAELIS, Maud MENTEN et Victor HENRI. D'après Wikipédia

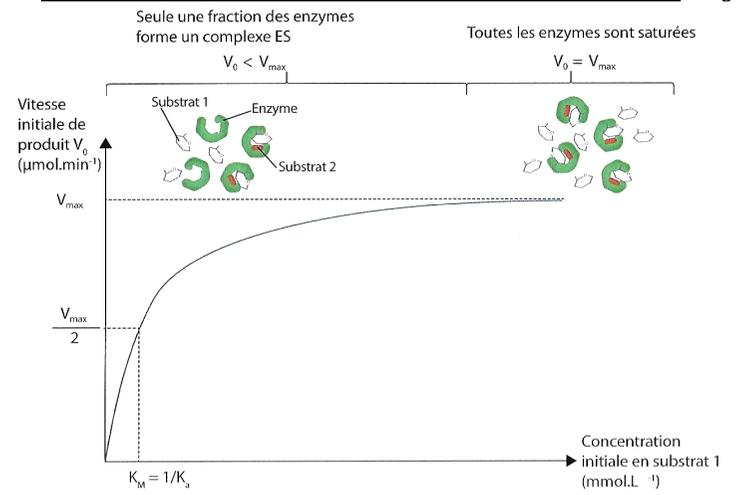
[P]_i (concentration



(!) En réalité, si l'on prend en compte l'ATP, cette enzyme a deux substrats (mais ce type de cinétique sort totalement de notre programme ; on considère ici un seul substrat limitant).

- a. Le dosage de la quantité de produit formé – ou de substrat consommé – en fonction du temps : calcul de la vitesse initiale pour diverses concentrations initiales en substrat
- b. La construction de la courbe $v_i = f([S]_i)$

▲ FIGURE 23. Construction expérimentale d'une courbe de MICHAELIS-MENTEN. Original 2016. ❤️



▲ FIGURE 24. Cinétique de l'hexokinase, enzyme michaelienne de la glycolyse (ou de la glycogénogenèse musculaire) qui phosphoryle le glucose en glucose 6-phosphate. D'après DAUTEL et al. (2021)

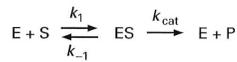
POURQUOI ANALYSER LA CINÉTIQUE DES ENZYMES ?

Les enzymes sont les catalyseurs les plus sélectifs et les plus puissants que l'on connaisse. La compréhension de leurs mécanismes détaillés fournit un outil critique pour découvrir de nouveaux médicaments, synthétiser industriellement à grande échelle des produits chimiques utiles et apprécier la biochimie des cellules et organismes. L'étude détaillée de la vitesse des réactions chimiques qui sont catalysées par une enzyme purifiée – et plus spécifiquement comment cette vitesse se modifie selon les variations de certaines conditions comme la concentration de substrat, de produits, d'inhibiteurs

et de ligands régulateurs – permet aux biochimistes de comprendre exactement le mode de fonctionnement de chaque enzyme. Par exemple, c'est ainsi qu'il a été possible de déchiffrer les réactions productrices d'ATP de la glycolyse, montrées dans la figure 2-73 – ce qui nous a permis d'apprécier la logique de cette voie enzymatique critique. Dans cette planche, nous introduirons la notion importante de cinétique enzymatique, qui a été indispensable pour obtenir une grande partie des particularités des connaissances actuelles en biochimie cellulaire.

CINÉTIQUE ENZYMATIQUE DE L'ÉTAT D'ÉQUILIBRE

Beaucoup d'enzymes n'ont qu'un seul substrat sur lequel elles se fixent puis agissent pour engendrer des produits selon le schéma précisé dans la figure 3-50A. Dans ce cas, la réaction s'écrit ainsi :

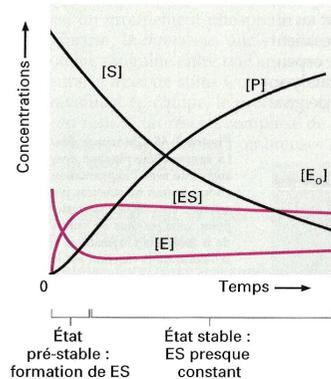


Dans ce cas, nous considérons que la réaction inverse, au cours de laquelle E + P se recombinaient pour former EP puis ES, se produit si rarement que nous pouvons l'ignorer. Nous pouvons donc exprimer la vitesse de la réaction, V, par :

$$V = k_{cat} [ES]$$

où [ES] est la concentration du complexe enzyme-substrat et k_{cat} est le nombre de turnover : une constante qui est égale au nombre de molécules de substrat traitées par une molécule d'enzyme chaque seconde.

Mais comment peut-on relier la valeur de [ES] aux concentrations que nous connaissons directement et qui sont la concentration totale de l'enzyme, $[E_0]$, et la concentration du substrat [S] ? Lorsque l'enzyme et le substrat commencent à se mélanger, la concentration [ES] passe rapidement de zéro à une concentration appelée état stable ou d'équilibre, comme cela est illustré ci-dessous.



Dans cet état stable, [ES] est presque constant, de telle sorte que :

$$\text{Vitesse de dégradation de ES} = \text{Vitesse de formation de ES}$$

$$k_{-1} [ES] + k_{cat} [ES] = k_1 [E][S]$$

soit, comme la concentration d'enzyme libre (E) est égale à $[E_0] - [ES]$

$$[ES] = \left(\frac{k_1}{k_{-1} + k_{cat}} \right) [E][S] = \left(\frac{k_1}{k_{-1} + k_{cat}} \right) ([E_0] - [ES])[S]$$

Si on la reformule en définissant la constante K_m comme

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}$$

on obtient :

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]}$$

Soit, si on se rappelle que $V = k_{cat} [ES]$, on obtient la fameuse équation de Michaelis-Menten :

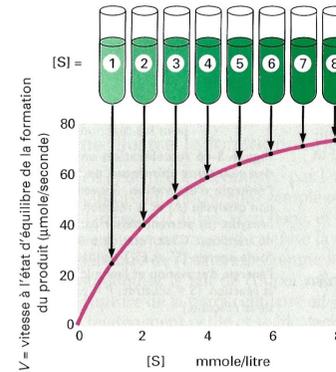
$$V = \frac{k_{cat} [E_0][S]}{K_m + [S]}$$

Si on augmente de plus en plus la concentration [S], toute l'enzyme se trouvera essentiellement liée au substrat à l'état d'équilibre ; à ce point, la vitesse maximale de la réaction, V_{max} , sera atteinte et $V = V_{max} = k_{cat} [E_0]$. De ce fait on peut reformuler l'équation de Michaelis-Menten de façon pratique comme suit :

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

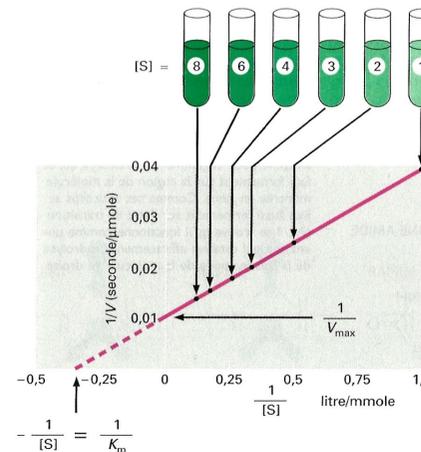
LA REPRÉSENTATION EN DOUBLE INVERSE

Un tracé typique de V en fonction de [S] d'une enzyme qui suit la cinétique de Michaelis-Menten est représenté ci-dessous. D'après ce tracé, ni la valeur de V_{max} , ni celle de K_m ne sont immédiatement claires.



Pour obtenir V_{max} et K_m à partir de ces données, un tracé en double-inverse est souvent utilisé, dans lequel l'équation de Michaelis-Menten a simplement été reformulée, afin que 1/V soit tracé en fonction de 1/[S].

$$1/V = \left(\frac{K_m}{V_{max}} \right) \left(\frac{1}{[S]} \right) + 1/V_{max}$$



LA SIGNIFICATION DE K_m , k_{cat} ET k_{cat}/K_m

Comme nous l'avons décrit dans le texte, K_m est une mesure approximative de l'affinité du substrat pour l'enzyme : elle est numériquement égale à la concentration de [S] lorsque $V = 0,5 V_{max}$. En général plus la valeur de K_m est basse plus la liaison au substrat est forte.

Nous avons vu que k_{cat} est le nombre de turnover pour l'enzyme. Aux très basses concentrations de substrat, où $[S] \ll K_m$, la plupart des enzymes sont libres. De ce fait, nous pouvons penser que $[E] = [E_0]$, et l'équation de Michaelis-Menten devient alors $V = k_{cat}/K_m [E][S]$. De ce fait le ratio k_{cat}/K_m est équivalent à la constante de vitesse de la réaction entre l'enzyme libre et le substrat libre.

La comparaison de k_{cat}/K_m pour la même enzyme avec différents substrats, ou pour deux enzymes avec leurs substrats différents, est largement utilisée pour mesurer l'efficacité enzymatique.

Pour plus de simplicité, dans cette planche, nous n'avons abordé que les enzymes à un seul substrat, comme le lysozyme décrit dans le texte (voir p. 167). La plupart des enzymes ont deux substrats, dont l'un est souvent une molécule de transport – comme le NADH ou l'ATP.

Une analyse similaire mais plus complexe est utilisée pour déterminer la cinétique de ces enzymes – permettant de révéler l'ordre selon lequel les substrats se fixent ainsi que la présence d'intermédiaires covalents au cours de la voie métabolique (voir par exemple Figure 2-73).

CERTAINES ENZYMES SONT DIFFUSION-LIMITÉE

Les valeurs de k_{cat} , K_m et k_{cat}/K_m de certaines enzymes particulières sont données ci-dessous :

Enzyme	Substrat	k_{cat} (s)	K_m (mol)	k_{cat}/K_m (s/mol)
Acétylcholinestérase	Acétylcholine	$1,4 \times 10^4$	9×10^{-6}	$1,6 \times 10^9$
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1	4×10^7
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}	$1,6 \times 10^8$

Comme une enzyme et son substrat doivent entrer en collision avant de pouvoir réagir, la valeur maximale possible de k_{cat}/K_m est limitée par le taux de collision. Si chaque collision forme un complexe enzyme-substrat, on peut calculer, d'après la théorie de diffusion, que k_{cat}/K_m sera compris entre 10^8 et 10^9 s/mol, si toutes les étapes suivantes s'effectuent immédiatement. De ce fait, on affirme que les enzymes de type acétylcholinestérase et fumarase sont des « enzymes parfaites », chaque enzyme ayant évolué au point où presque toute collision avec son substrat transforme celui-ci en un produit.

▲ FIGURE 25. La cinétique enzymatique de MICHAELIS-MENTEN. Vu par ALBERTS et al. (2004).

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

a. Notion de K_M et lien avec l'affinité

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

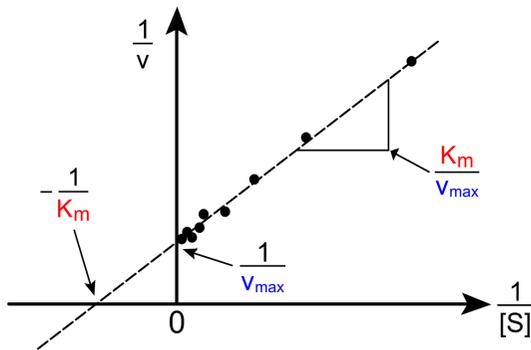
c. Une modélisation par l'équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)

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) : $1/v_i = f(1/[S]_i)$

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

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



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

Ce graphique est au programme ; c'est un grand classique du concours (attention à savoir prolonger sous tableur la droite pour couper les axes).

Ce type de représentation est pourtant une des méthodes les moins précises pour déterminer v_{\max} et K_M , comme d'ailleurs également EADIE-HOFSTEE. En effet, ces représentations ont une coordonnée en $1/[S]_i$, de sorte que les mesures les plus précises seront concentrées dans la même zone du graphe (voisines de l'axe vertical) ; peu de mesures, avec une erreur relativement grande, existeront pour des faibles valeurs de concentration initiale de substrat : le tracé à la règle de la droite sera donc imprécis.

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

Quelques autres modalités de linéarisation (hors programme) existent, par exemple (figure 27) :

- La représentation de HANES-WOOLF (1932) :
par le Canadien Charles S. HANES (1903-1990), mais HALDANE l'attribue au Britannique BARNET WOOLF (1902-1983)

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

- ° 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) :
par George EADIE en 1942 puis BAREN HOFSTEE, Américains

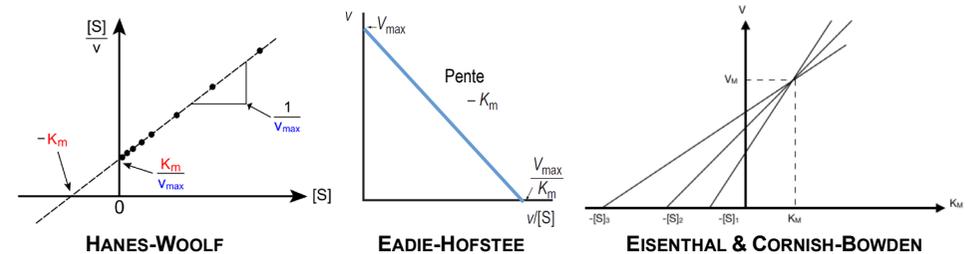
$$v_i = - K_M \frac{v_i}{[S]_i} + v_{\max}$$

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

- La représentation d'EISENTHAL & CORNISH-BOWDEN (1974) :
par les Britanniques ROBERT EISENTHAL (1907-2009) & ATHEL CORNISH-BOWDEN (1943)

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

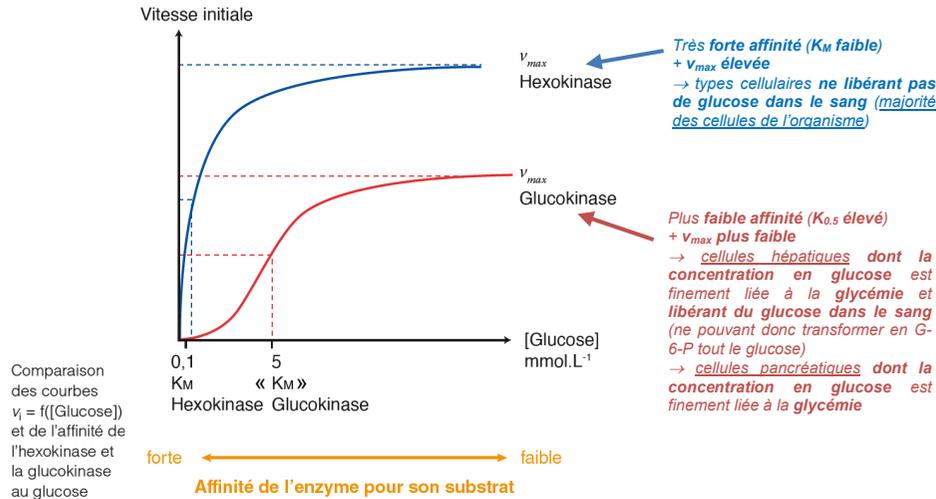
- (!) Plusieurs droites : une pour chaque couple $v_i / [S]_i$
 - ° Abscisse à l'origine : $- [S]_i$ pour chaque valeur de v_i (droites multiples)
 - ° Croisée des droites : ordonnée v_{\max} et abscisse K_M
- Dans les faits, les droites ne croisent pas exactement mais se rejoignent dans un petit rectangle 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 28. Hexokinase et glucokinase : cinétiques comparées.
 D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023).

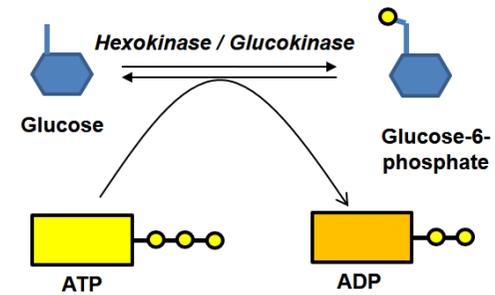
Encadré A Kinases, phosphorylases, phosphatases (enzymes et groupements phosphates)

➤ Dans une cellule, les transferts de phosphates sont essentiellement dus à trois types de protéines enzymatiques. Parfois, ces termes sont improprement confondus par quelques auteurs.

Les kinases (> phosphorylation)

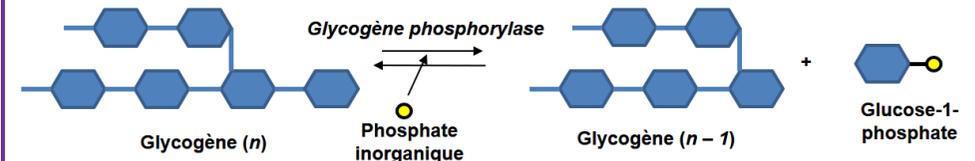
➤ Une **kinase** est une enzyme qui catalyse une **phosphorylation**, c'est-à-dire le transfert d'un groupement phosphate depuis un nucléotide triphosphate – l'ATP le plus souvent – vers un autre substrat ou une protéine.

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



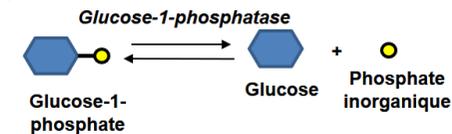
Les phosphorylases (> phosphorolyse)

➤ Une **phosphorylase** est une enzyme qui catalyse une **phosphorolyse**, c'est-à-dire la lyse d'une liaison covalente – souvent entre des oses – par incorporation d'un phosphate inorganique. Les phosphorylases sont très répandues dans les voies de dégradation des polysaccharides comme la glycogénolyse.



Les phosphatases (> déphosphorylation)

➤ Une **phosphatase** est une enzyme qui catalyse une **déphosphorylation**, c'est-à-dire l'hydrolyse d'une liaison covalente entre un phosphate et une autre molécule (liaison anhydride phosphorique).



Glucokinase et hexokinase

Ces deux enzymes permettent l'entrée du glucose, mais fonctionnent différemment.

La **glucokinase** est une enzyme (foie et pancréas) de faible affinité pour le glucose (K_m élevé). Elle s'adapte à la quantité de glucose du sang. Elle n'est pas inhibée par le produit de la réaction catalysée (G_6P).

L'**hexokinase** est une enzyme (toutes les cellules) de forte affinité pour le glucose. Elle ne s'adapte pas à la quantité de glucose sanguin. Elle est inhibée par le G_6P .

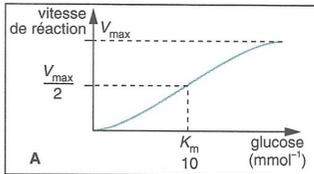


Fig. A – Vitesse de réaction de la glucokinase.

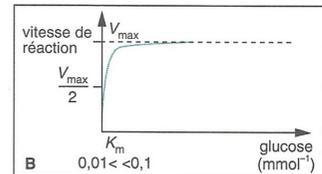


Fig. B – Vitesse de réaction de l'hexokinase.

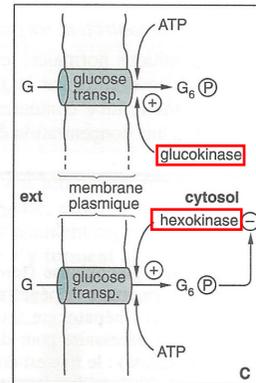


Fig. C – Comparaison de l'action des deux enzymes.

▲ FIGURE 29. **Glucokinase vs. hexokinase.** D'après BAL *et al.* (1992). C : enzymes encadrées.

La glucokinase, une enzyme monomérique... à comportement « coopératif » (= allostérique) ?

Eh bien, c'est un cas particulier et extrêmement rare mais la **glucokinase** est une des rares enzymes de structure seulement tertiaire (monomérique, donc) qui présente un nombre de HILL (n_H) différent de 1, en l'occurrence 1,7, ce qui indique un comportement « coopératif »... même si aucune sous-unité ne « coopère » vraiment avec une autre puisqu'il n'y a qu'un seul protomère ! Les modèles l'expliquant sont un peu complexes à notre niveau, mais notons juste que ce caractère allostérique participe à l'affinité plus faible de la glucokinase pour le glucose que celle de l'hexokinase.

D'ailleurs, puisque l'enzyme n'est pas michaelienne, il est plus pertinent de parler de $K_{0,5}$ que de « K_M », comme le notent nombre d'auteurs.

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

▼ TABLEAU III. **Comparaison de l'efficacité catalytique de deux enzymes.** D'après SEGARRA, PIETRE *et al.* (2021).

Enzyme	Substrat	k_{cat} (s ⁻¹)	K_M (mol.L ⁻¹)	Efficacité catalytique : k_{cat}/K_M s ⁻¹ .L.mol ⁻¹
Acétylcholinestérase	Acétylcholine	$1,4 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^9$
Catalase	H ₂ O ₂	$1 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^8$

on peut caractériser une enzyme comme l'acétylcholinestérase (enzyme inactivant par clivage l'acétylcholine, neurotransmetteur des synapses cholinergiques des plaques motrices) qui catalyse très lentement une réaction (k_{cat} faible) et qui pourtant fixe aisément le substrat même à de faibles concentrations (K_M faible). Inversement, on connaît une enzyme, telle que la catalase, qui réalise l'acte catalytique fréquemment (k_{cat} élevé) mais qui possède un fort K_M donc une faible affinité au substrat.

⇒ L'efficacité catalytique de la catalase est supérieure à celle de l'acétylcholine estérase.

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

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

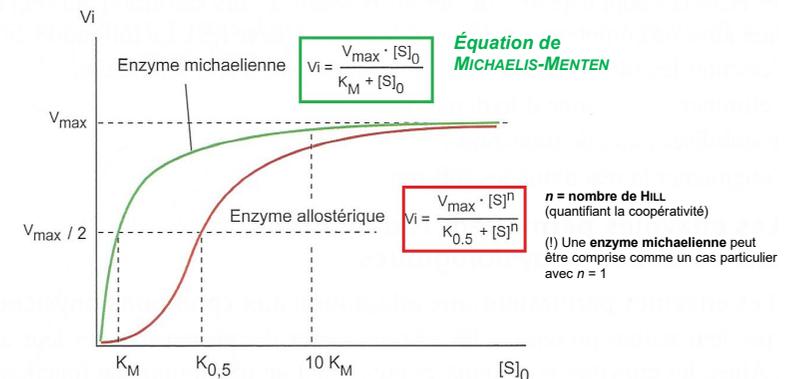
Cette notion a déjà été abordée dans le chapitre 8 (Constituants chimiques du vivant) dans la partie consacrée aux protéines. L'hémoglobine, un transporteur plasmatique (et non une enzyme), était alors l'exemple traité.

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

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)

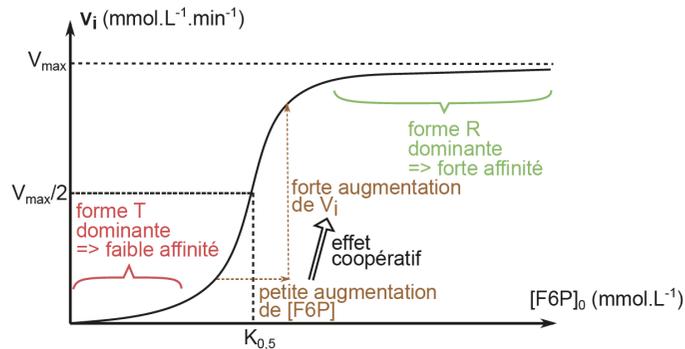
2. Une cinétique d'allure sigmoïde

a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique



Variation de la vitesse initiale (V_i) en fonction de la concentration en substrat V_{max} : vitesse initiale maximale de la réaction ; K_M : constante de Michaelis-Menten, concentration en substrat pour laquelle la vitesse de la réaction égale $v_{max}/2$; $K_{0,5}$, constante à demi saturation définie pour les enzymes allostériques, équivalente du K_M .

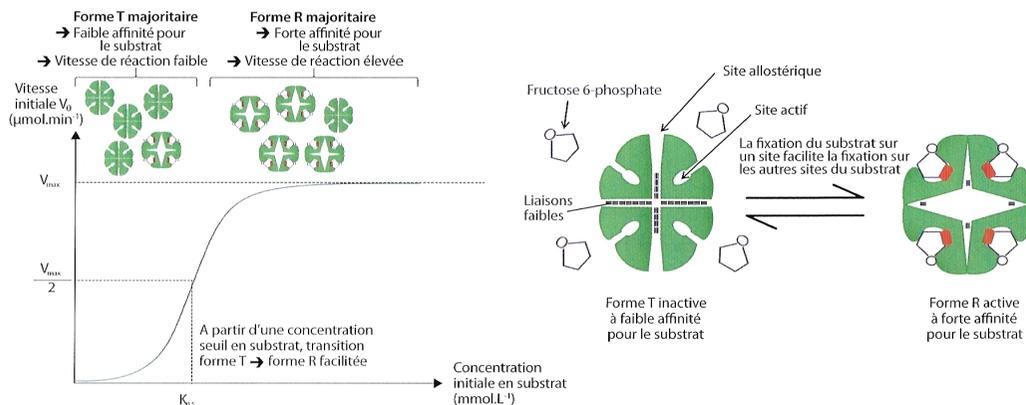
▲ FIGURE 30. **Courbes cinétiques comparées d'une enzyme michaelienne et d'une enzyme allostérique.** D'après RICHARD *et al.* (2015)



▲ FIGURE 31. Cinétique de la phosphofructokinase 1 (PFK1), enzyme de la glycolyse transformant le fructose-6-phosphate (F-6-P) en fructose 1,6-bisphosphate.

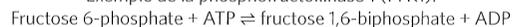
D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021)

(!) En réalité, si l'on prend en compte l'ATP, cette enzyme a deux substrats (mais ce type de cinétique sort totalement de notre programme ; on considère ici un seul substrat limitant).



La cinétique des enzymes allostériques et le modèle correspondant.

Exemple de la phosphofructokinase 1 (PFK1).



▲ FIGURE 32. Cinétique de la phosphofructokinase 1 (PFK1), enzyme de la glycolyse transformant le fructose-6-phosphate (F-6-P) en fructose 1,6-bisphosphate.

Vision de DAUTELET *et al.* (2021)

(!) En réalité, si l'on prend en compte l'ATP, cette enzyme a deux substrats (mais ce type de cinétique sort totalement de notre programme ; on considère ici un seul substrat limitant).

b. Exploitation de la courbe d'une enzyme allostérique

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

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 ($= n_H$)

$$v_i = \frac{v_{\max} [S]_i^n}{K_{0,5} + [S]_i^n}$$

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.

- On définit ici le **nombre de HILL (= coefficient de HILL = coefficient d'interaction) $n = n_H$** , un paramètre sans dimension mesurant la coopérativité, c'est-à-dire le degré d'interaction entre les sous-unités d'une protéine à fonctionnement allostérique.

Contrairement à une idée reçue, ce nombre n'est pas directement dépendant du nombre de protomères ;

n est généralement inférieur au nombre de sites de fixation du ligand.

Ce chiffre est dû au prix Nobel britannique 1922 Archibald V. HILL (1889-1977) qui l'a défini en 1910.

3. Un fonctionnement coopératif des sous-unités enzymatiques

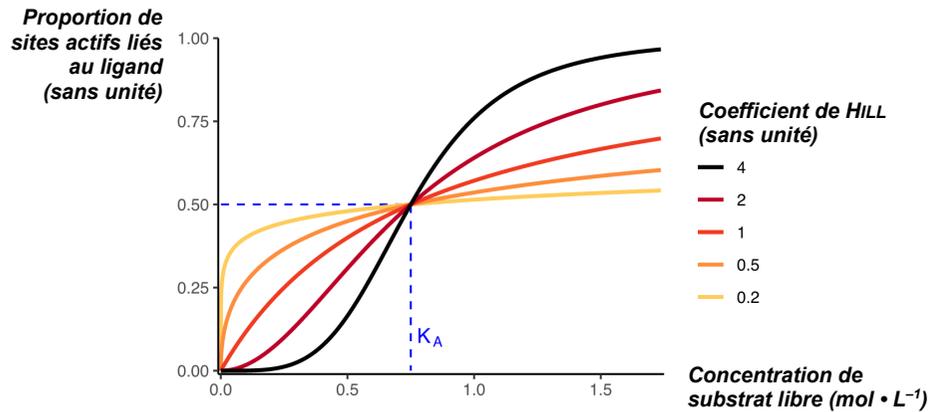
a. Deux formes de sous-unités (tendue T et relâchée R) et une transition allostérique entre les deux formes

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)

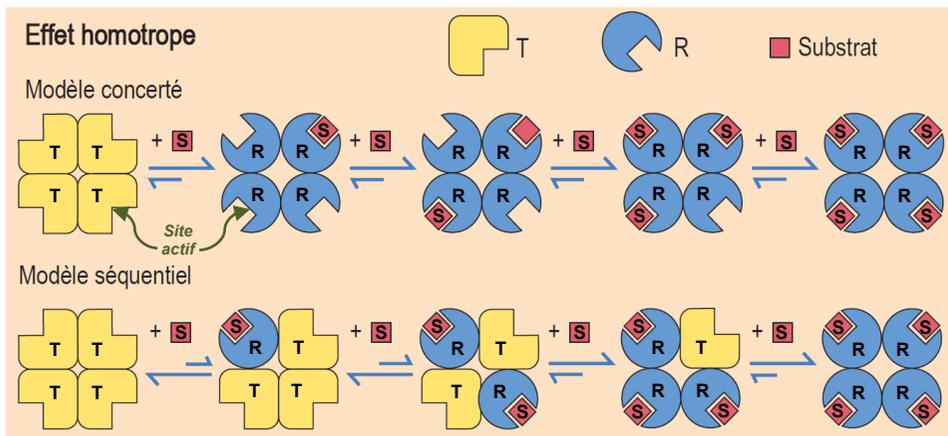
Le **nombre de HILL** permet de rendre compte de l'effet coopératif (figure 33) :

- 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.

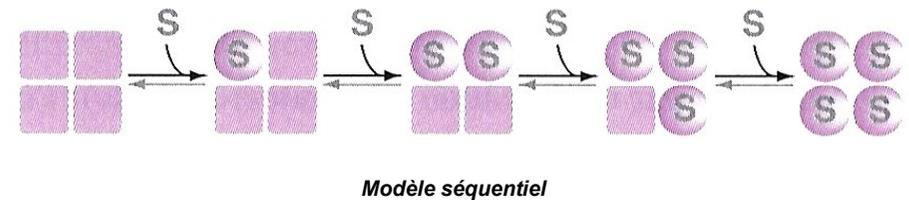
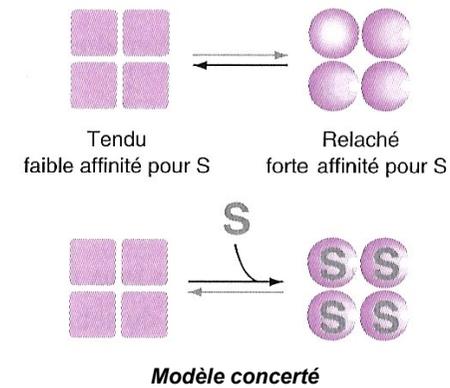


▲ FIGURE 33. **Coefficient de HILL et coopérativité.** D'après Wikipédia
 K_A est la concentration en substrat produisant une occupation de 50 % des sites actifs.

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



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



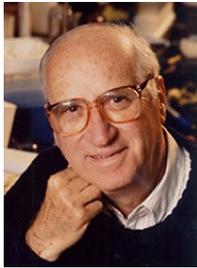
▲ FIGURE 35. **Effet homotrope chez les enzymes : modèles concerté vs. séquentiel.**
 Une autre vision. D'après MOUSSARD (2010).

i. Le modèle concerté (MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965) : une affinité modifiée de toutes les sous-unités dès qu'une sous-unité accueille un substrat



▲ FIGURE 36. **Jacques MONOD, Jeffries WYMAN et Jean-Pierre CHANGEUX.**
 D'après Wikipédia

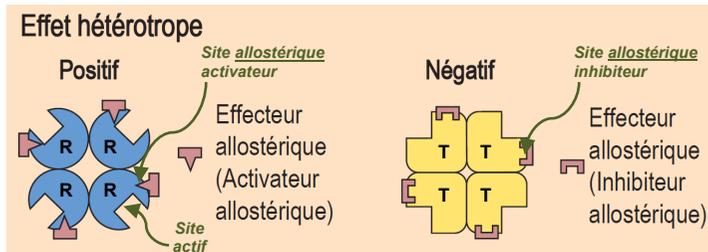
ii. Le modèle séquentiel (KOSHLAND, 1966) : une affinité modifiée sous-unité par sous-unité suite à l'arrivée d'un substrat sur une première sous-unité



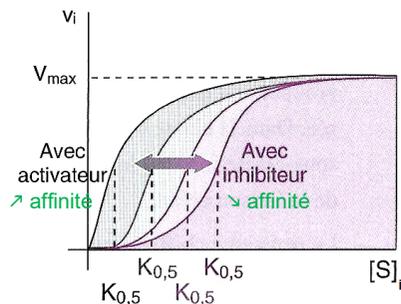
▲ FIGURE 37. **Daniel KOSHLAND**. D'après Wikipédia

iii. Et la transition R → T ? Un processus largement post-catalytique

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



▲ 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 $K_{0,5}$.

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

Capacités exigibles

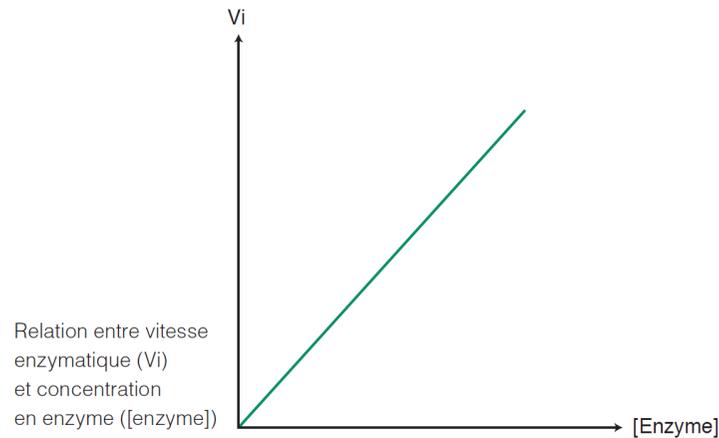
- ✓ **Comparer** les effets des inhibiteurs compétitif et non compétitif sur les paramètres cinétiques d'une enzyme michaelienne.
- ✓ **Argumenter**, sur un exemple, la diversité des effecteurs allostériques et de leurs effets.

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



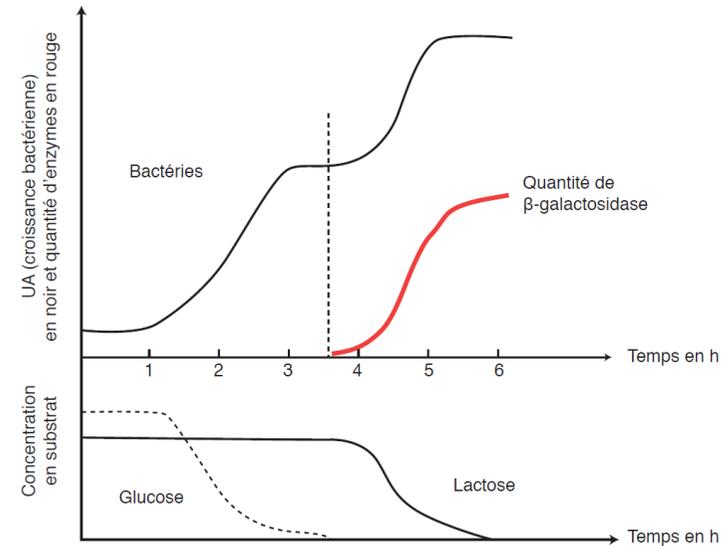
▲ FIGURE 40. Impact cinétique de la quantité d'enzymes dans le milieu réactionnel. D'après SEGARRA *et al.* (2014)

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

Voir le chapitre 15 sur le contrôle de l'expression génétique

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)

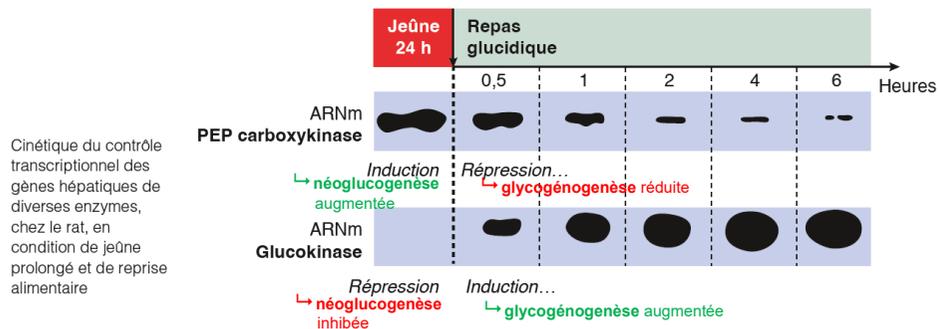


La croissance bactérienne est suivie par spectrophotométrie (UA=unité d'absorbance) en fonction du temps exprimé en heures. En parallèle sont évaluées les concentrations en glucose et lactose.

▲ 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)

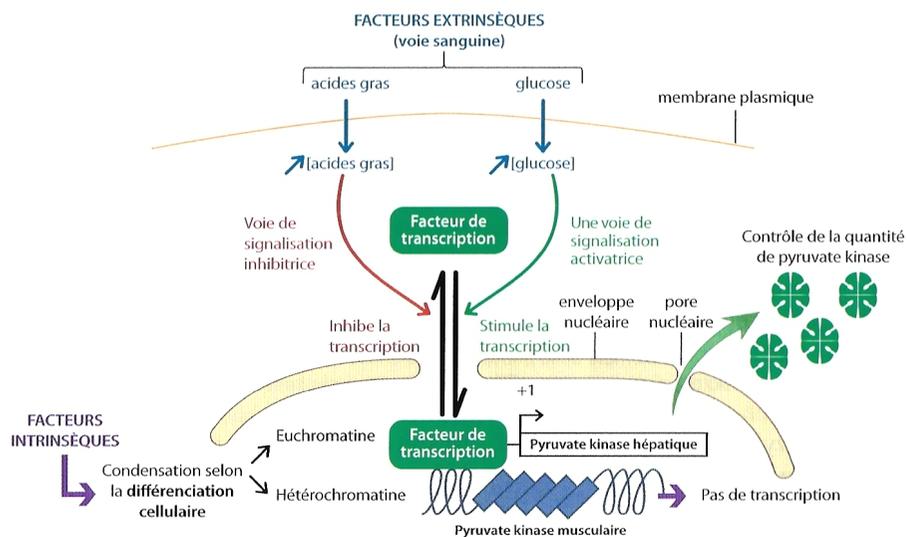
Le **fonctionnement** de l'opéron lactose est **au programme** ! Vous le verrez en BCPST2 dans le chapitre « Regards sur les unicellulaires ».

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 glycogénogenèse ou de la glycogénolyse. D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

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



Le contrôle transcriptionnel des enzymes selon des paramètres intrinsèque ou extrinsèque dans le cas de la pyruvate kinase hépatique.
Le +1 correspond au début de la séquence transcrite.

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

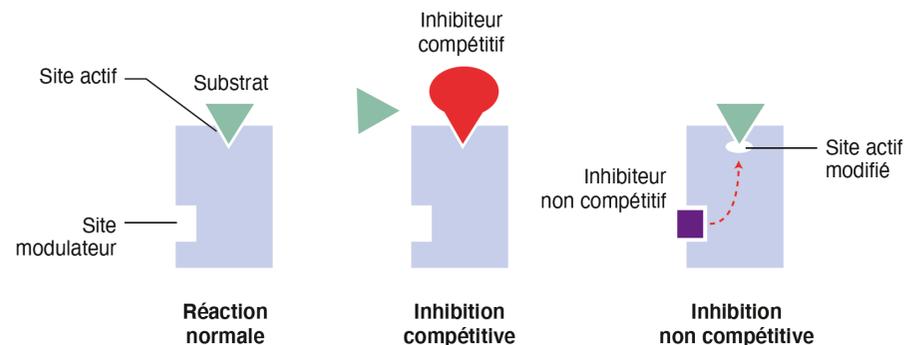
B. Un contrôle de la réaction enzymatique par les conditions physico-chimiques du milieu réactionnel

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

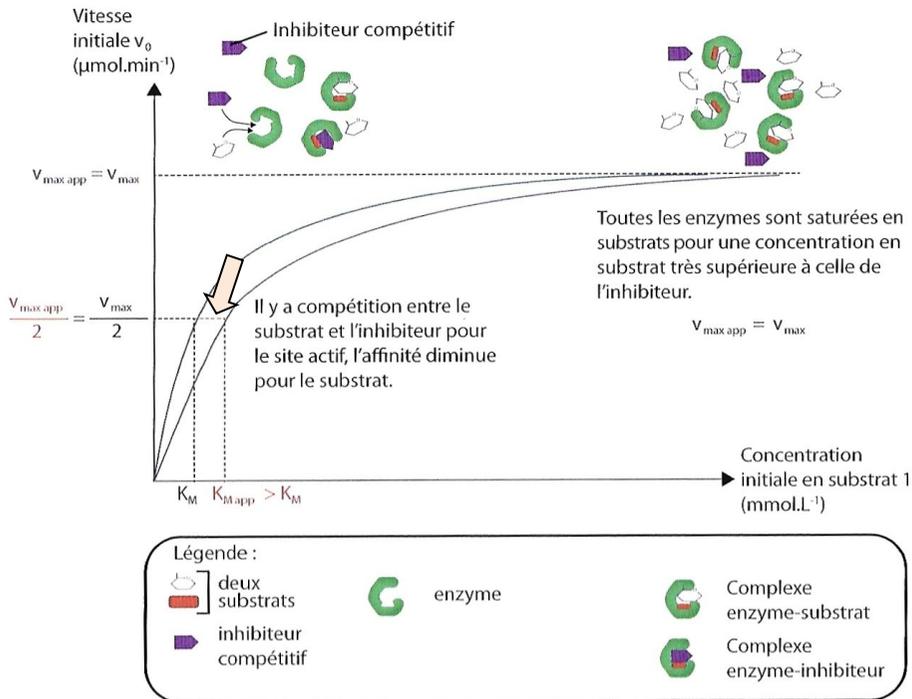
1. L'inhibition des enzymes michaeliennes

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



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

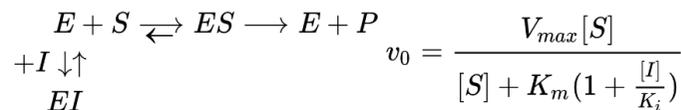
b. Les inhibiteurs compétitifs : des molécules se liant sur le site actif à la place du substrat ($\nearrow K_{M\text{app}} \Leftrightarrow \searrow$ affinité ; v_{max} non modifiée)



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

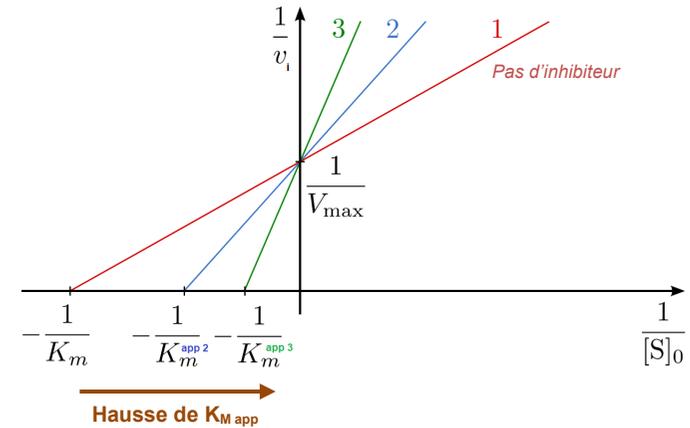
- La **modélisation de MICHAELIS-MENTEN** peut être ainsi **modifiée** (d'après *Wikipédia*) :

$[S]$ et $[I]$ sont évidemment des **concentrations initiales**
 K_i est la **constante d'inhibition** : il s'agit de la **concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques est occupée par l'inhibiteur**



- Il est important de **savoir reconnaître immédiatement** ce type d'inhibition, aussi bien en **représentation de MICHAELIS-MENTEN** qu'en représentation en **double inverse de LINEWEAVER-BURK** (figure 46).

← Hausse de $[I]_0$



▲ 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 :

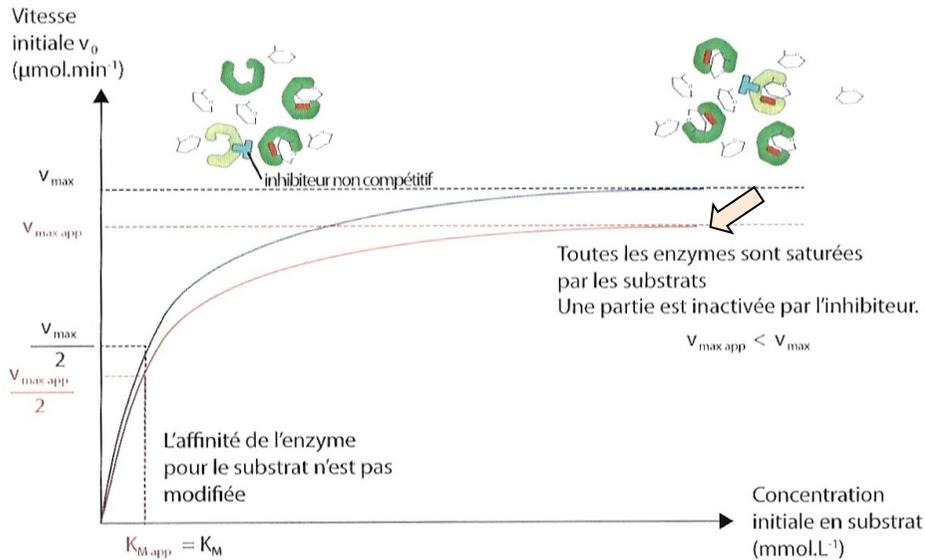
- **Agoniste** une **substance chimique se fixant sur le site de fixation à la place d'un ligand et déclenchant la même activité que le ligand dont elle mime les effets.**
- **Antagoniste** une **substance chimique se fixant sur le site de fixation à la place d'un ligand et ne déclenchant pas la même 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.

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



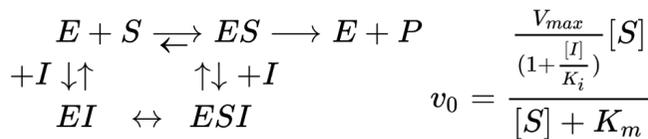
Légende :

- deux substrats
- enzyme
- Complexe enzyme-substrat
- inhibiteur non compétitif
- enzyme inactivée

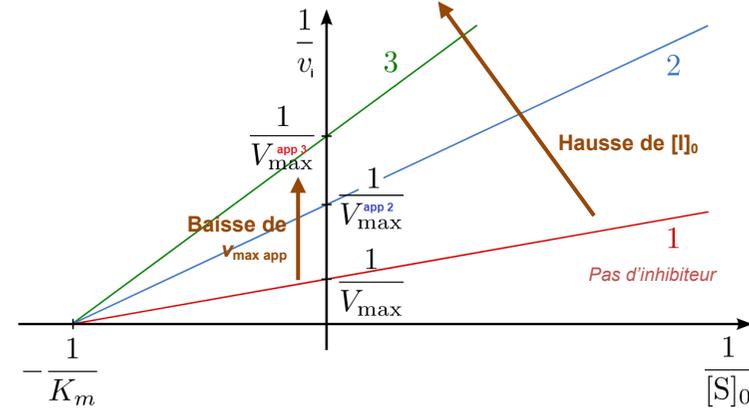
▲ FIGURE 47. **Inhibition non compétitive.** D'après DAUTEL *et al.* (2021)

- La modélisation de MICHAELIS-MENTEN peut être ainsi modifiée (d'après Wikipédia) :

$[S]$ et $[I]$ sont évidemment des concentrations initiales
 K_i est la constante d'inhibition : il s'agit de la concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques est occupée par l'inhibiteur



- Il est important de savoir reconnaître **immédiatement** ce type d'inhibition, aussi bien en représentation de MICHAELIS-MENTEN qu'en représentation en double inverse de LINEWEAVER-BURK (figure 48).



▲ 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 prolix

- Il existe d'autres situations d'inhibition, moins naturellement retenues par les manuels de BCPST. Je les mentionne sans savoir jusqu'à quel niveau de précision l'on peut vous demander d'aller.

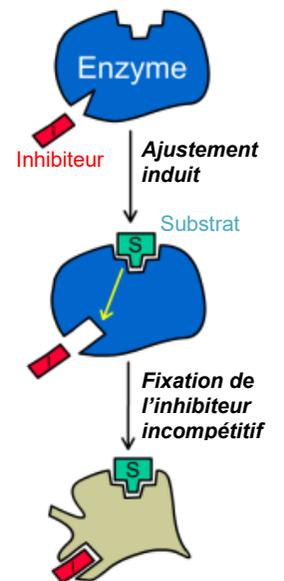
a. L'inhibition incompétitive : une fixation de l'inhibiteur à distance du site actif, sur un site du complexe ES déjà formé ($\searrow K_{M\ app} \leftrightarrow \nearrow$ affinité ; $\searrow v_{max\ app}$)

- Un inhibiteur incompétitif est une substance inhibitrice qui se lie de façon réversible sur un site dit modulateur / effecteur / inhibiteur, différent du site actif, mais uniquement lorsque le complexe enzyme-substrat ES est déjà formé (figure 49).

Notons que l'inhibiteur non compétitif vu précédemment, peut lui aussi bien se lier à l'enzyme seule E qu'au complexe enzyme-substrat déjà formé ES.

(!) On considère que le changement de conformation permis par l'ajustement induit est à l'origine de la conformation assurant l'accessibilité du site effecteur à l'inhibiteur (figure 49).

- Ce type d'inhibition conduit à (figure 50) :
 - Une hausse de l'affinité (oui, oui) soit une baisse du $K_{M\ app}$, car la formation du complexe enzyme-substrat-inhibiteur ESI diminue le nombre de complexes ES et favorise la liaison du substrat sur l'enzyme.



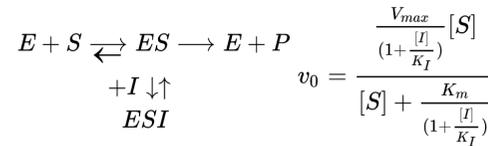
- Une **baisse de la $v_{\max \text{ app}}$** car il faut **plus de temps** pour que les **produits de réaction se forment et quittent le site actif** de l'enzyme après la formation du complexe ES.

► **FIGURE 49. Modèle de fonctionnement d'un inhibiteur incompétitif.**

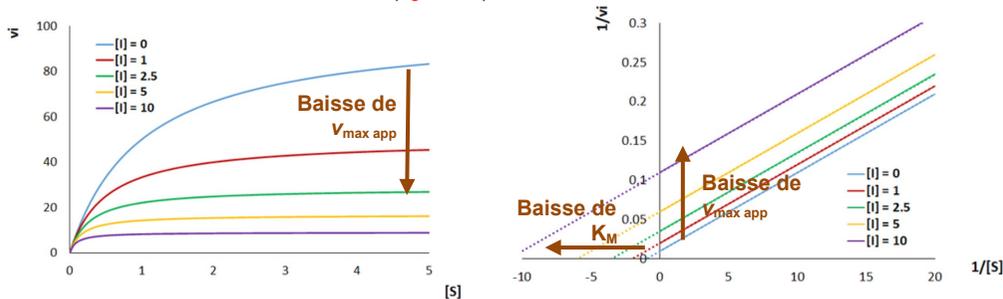
D'après Wikipédia

- La **modélisation de MICHAELIS-MENTEN** peut être ainsi **modifiée** (d'après Wikipédia) :

[S] et [I] sont évidemment des **concentrations initiales**
 K_i est la **constante d'inhibition** : il s'agit de la **concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques est occupée par l'inhibiteur**



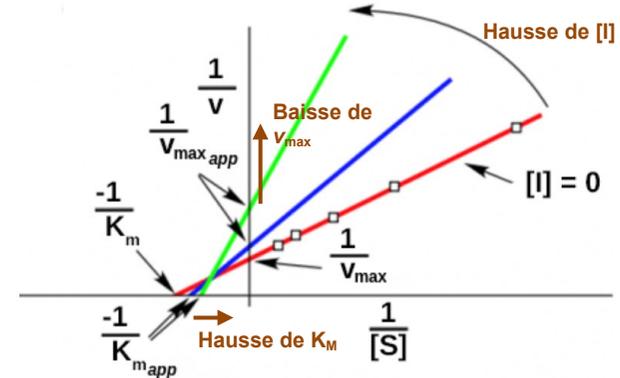
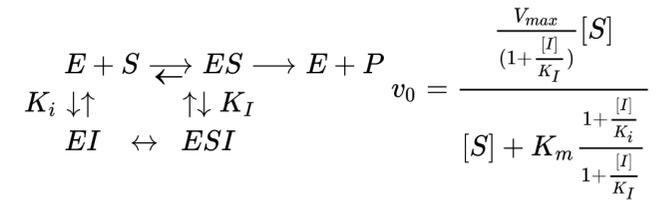
- Il peut être utile de **savoir reconnaître** ce type d'inhibition, aussi bien en **représentation de MICHAELIS-MENTEN** qu'en représentation en **double inverse de LINEWEAVER-BURK** (figure 50).



▲ **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 (↗ $K_{M \text{ app}}$) et diminuant aussi la $v_{\max \text{ app}}$ [limite programme ?]

- On appelle **inhibition mixte** une **situation où l'inhibiteur fait à la fois baisser l'affinité (↗ $K_{M \text{ app}}$)**, comme le ferait une inhibition compétitive, et fait baisser la $v_{\max \text{ app}}$, comme le ferait une inhibition non compétitive ou incompétitive (figure 51).
- Dans ce cas :
 - **L'inhibiteur se fixe sur un site effecteur différent du site actif... mais certains auteurs suggèrent qu'une compétition pour la site actif serait aussi possible dans certains cas !**
 - **L'inhibiteur se fixe soit plutôt sur le complexe ES, soit plutôt sur l'enzyme E, soit invariablement sur les deux entités.**
- Une **modélisation** peut être proposée (d'après Wikipédia) :



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

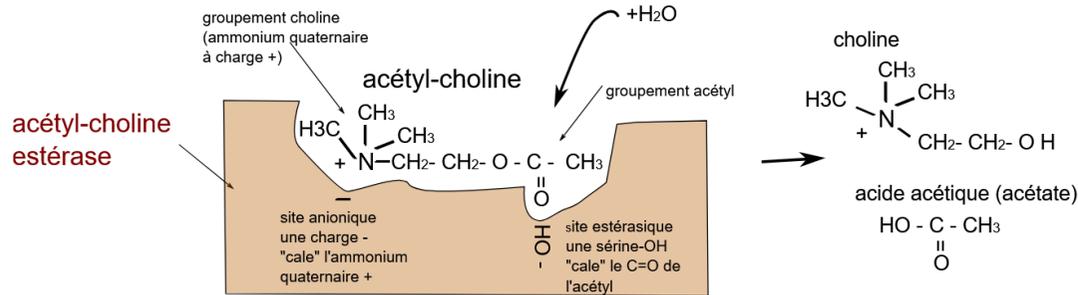
- À ce stade, on peut donc proposer un **tableau** résumant les effets des différents **types d'inhibition d'enzymes michaeliennes** caractérisées dans ce cours (tableau IV).

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

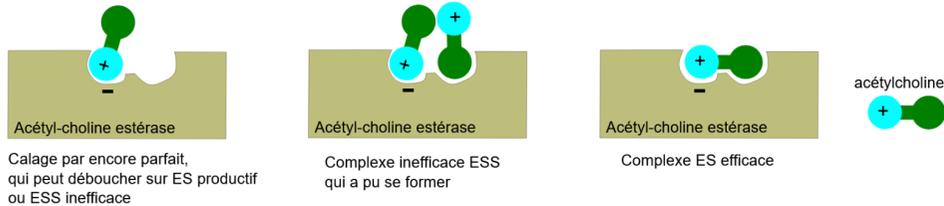
Type d'inhibition	Site de fixation de l'inhibiteur	$K_{M \text{ app}}$	$v_{\max \text{ app}}$
Compétitive	Site actif (sur E)	Augmenté (↗ affinité)	= v_{\max}
Non compétitive	Site effecteur (sur E)	= K_M (affinité inchangée)	Diminuée
Incompétitive	Site effecteur (sur ES)	Diminué (↘ affinité)	Diminuée
Mixte	Site effecteur (sur E ou ES) et peut-être site actif (?)	Augmenté (↗ affinité)	Diminuée

e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit

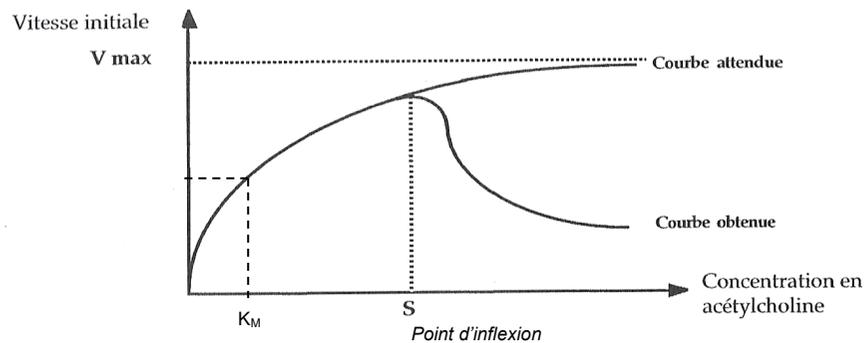
α. L'inhibition par le substrat en excès



▲ FIGURE 52. Mode de fonctionnement du site actif de l'acétylcholine estérase. https://www.perrin33.com/enzym/autrescinetiq/inhib_3.php (consultation avril 2023)



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

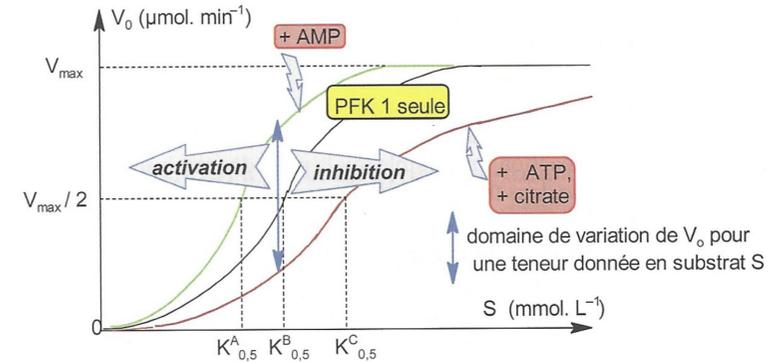


▲ FIGURE 54. Imbibition par excès de substrat chez l'acétylcholine estérase. D'après AUGÈRE (2001), adapté.

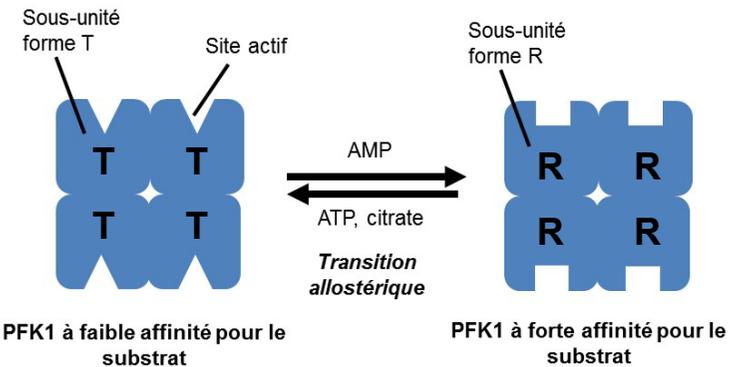
β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques

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)



▲ 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)

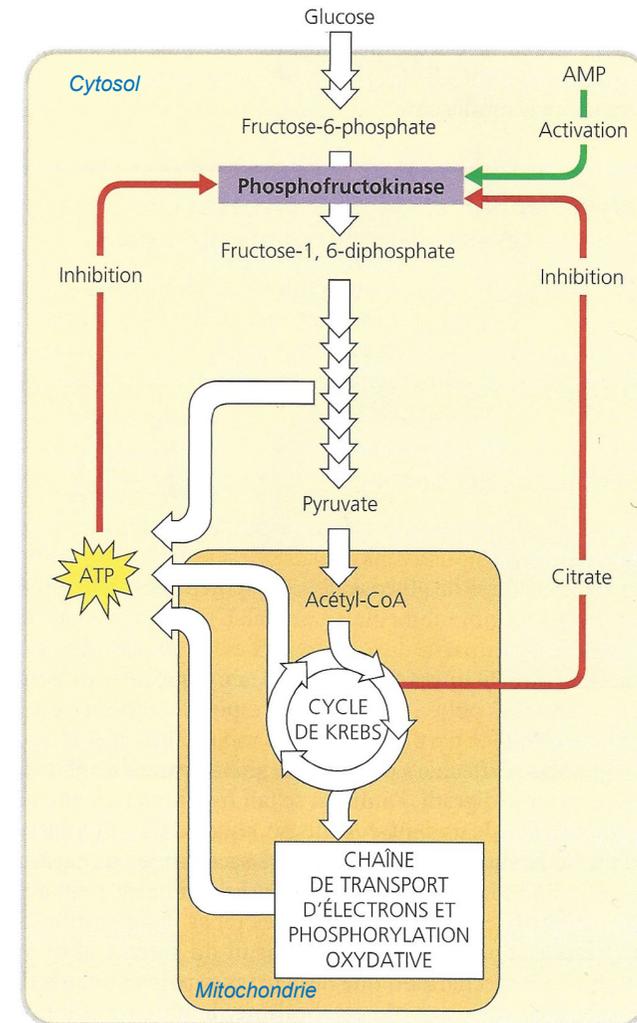
a. Notion de voie métabolique et principe des régulations métaboliques

b. Des rétroactions négatives

c. Des rétroactions positives

▼ **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		

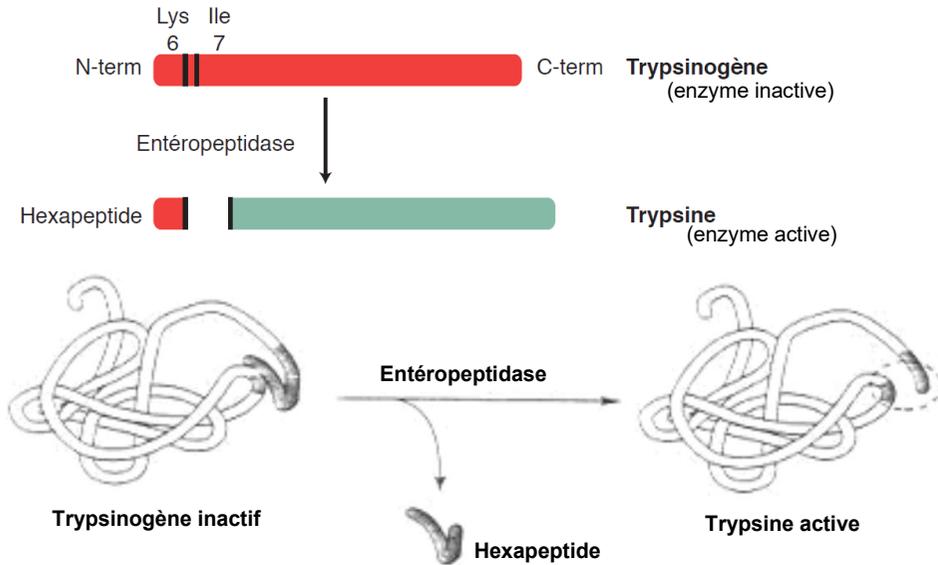


Régulation de la respiration cellulaire. Des enzymes allostériques interviennent en certains points de la voie catabolique. Elles réagissent à des inhibiteurs et à des activateurs. Elles déterminent ainsi la vitesse de la glycolyse et du cycle de Krebs. La phosphofructokinase, qui catalyse l'étape 3 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

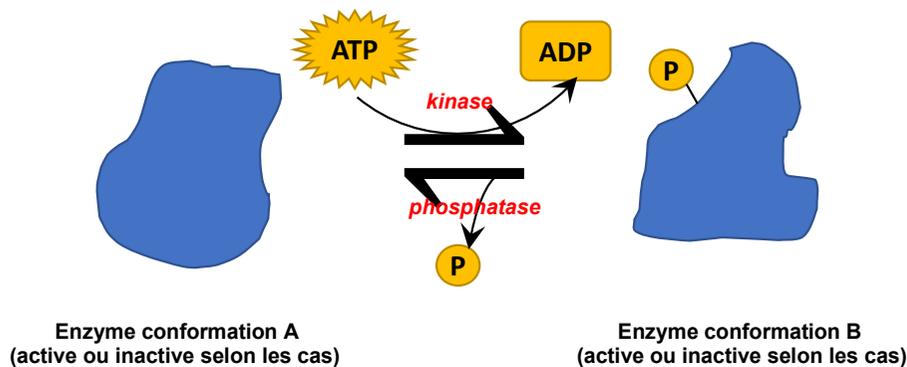
1. Une modulation irréversible : cas du clivage protéolytique des pro-enzymes



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

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

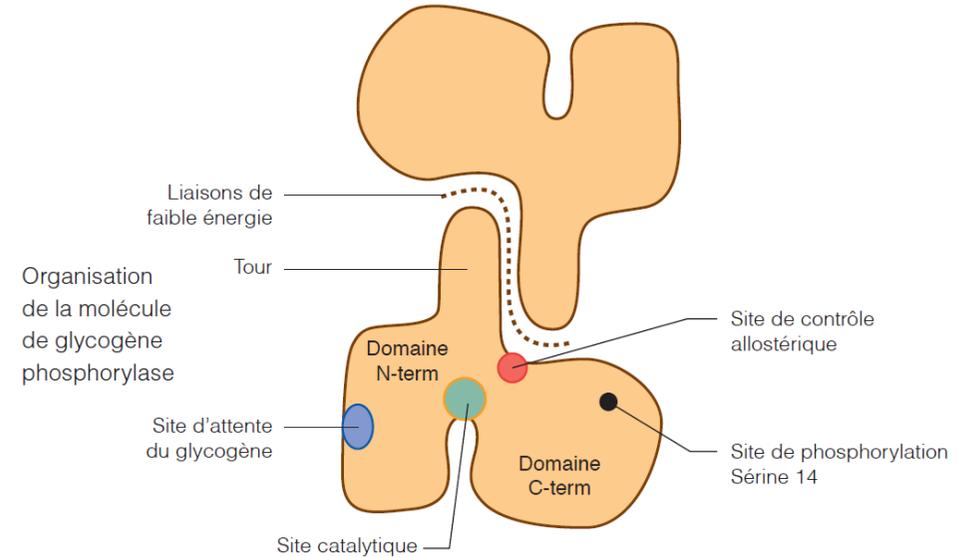


FIGURE 60. **Organisation de la glycogène phosphorylase [pour information].** D'après SEGARRA *et al.* (2014).

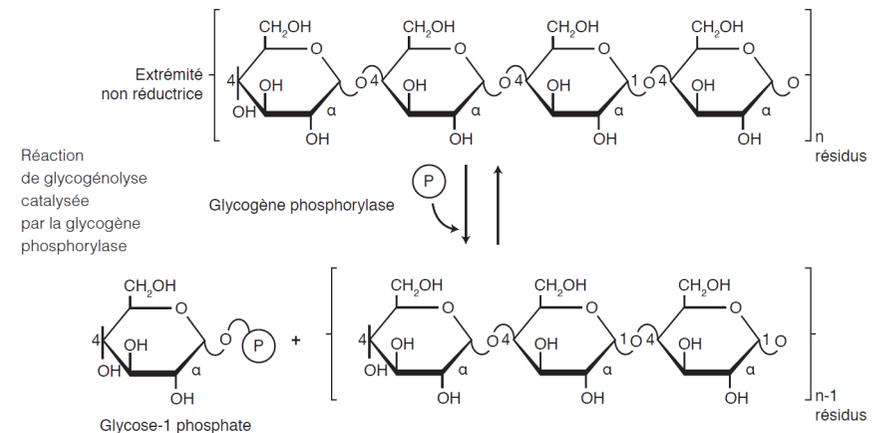
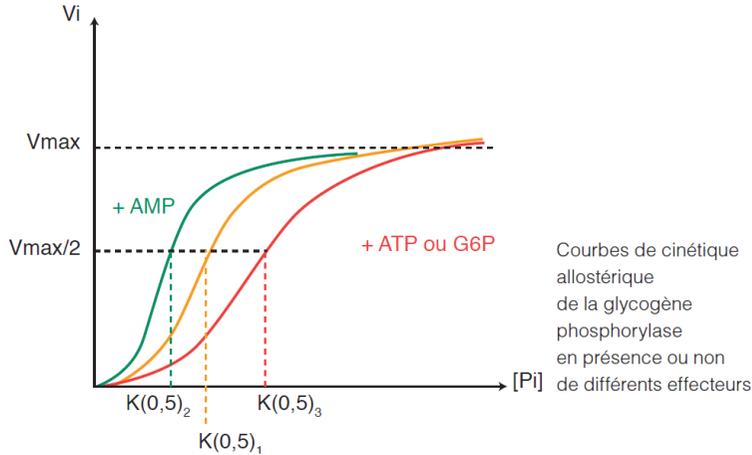


FIGURE 61. **Mode d'action de la glycogène phosphorylase.** D'après SEGARRA *et al.* (2014). La réaction se répète de nombreuses fois, dépolymérisant progressivement l'amidon.

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).

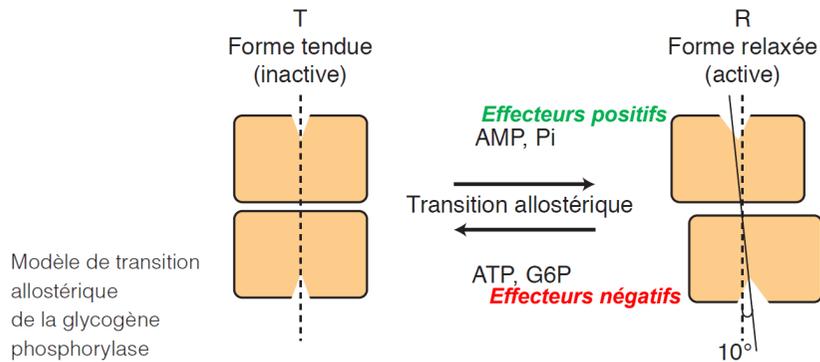


FIGURE 63. Impact des effecteurs allostériques sur la glycogène phosphorylase.
D'après SEGARRA *et al.* (2014).

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.
- Cela illustre la **complexité** et les **multiples niveaux** auxquels intervient le **contrôle de l'activité métabolique**.

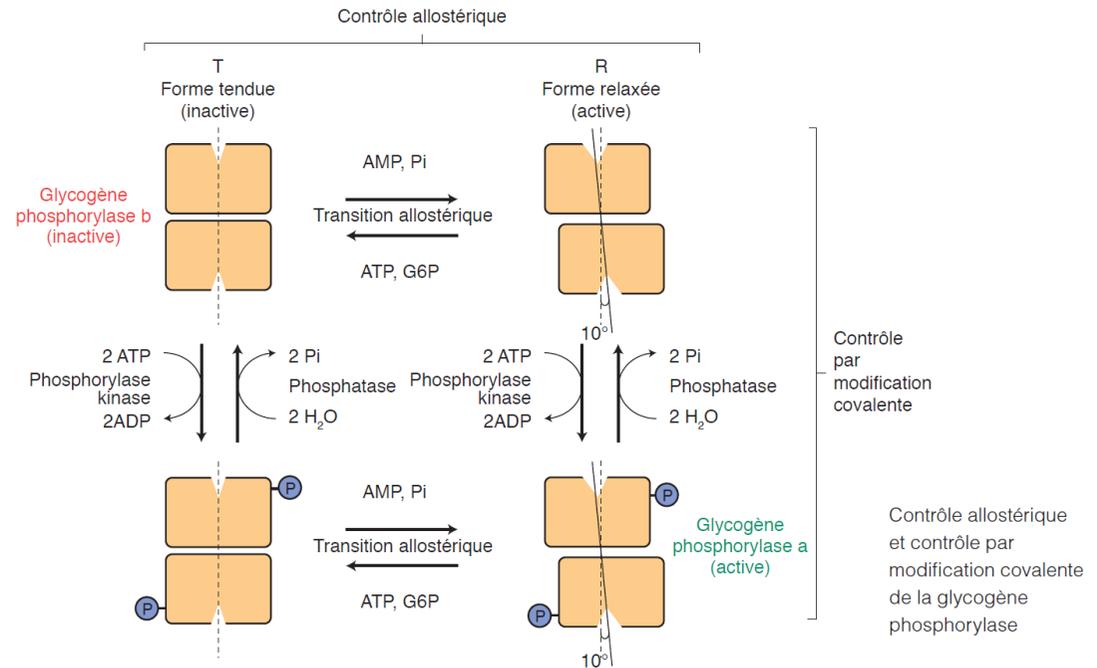
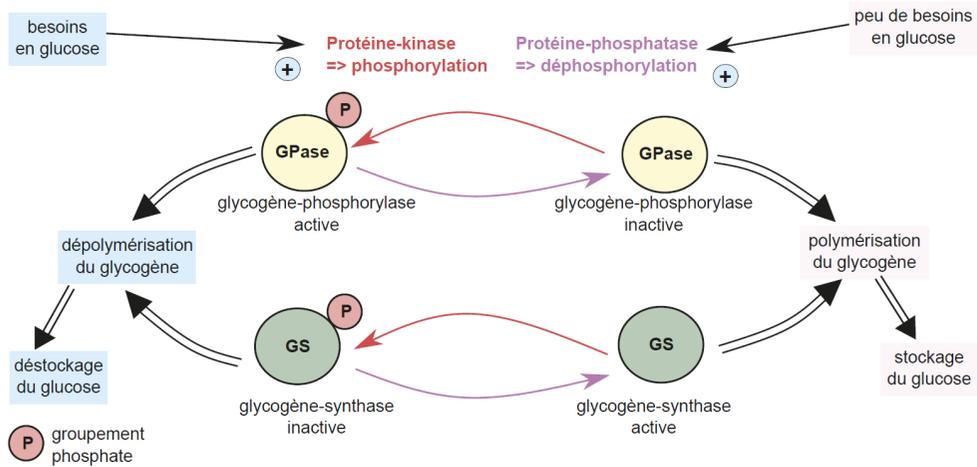
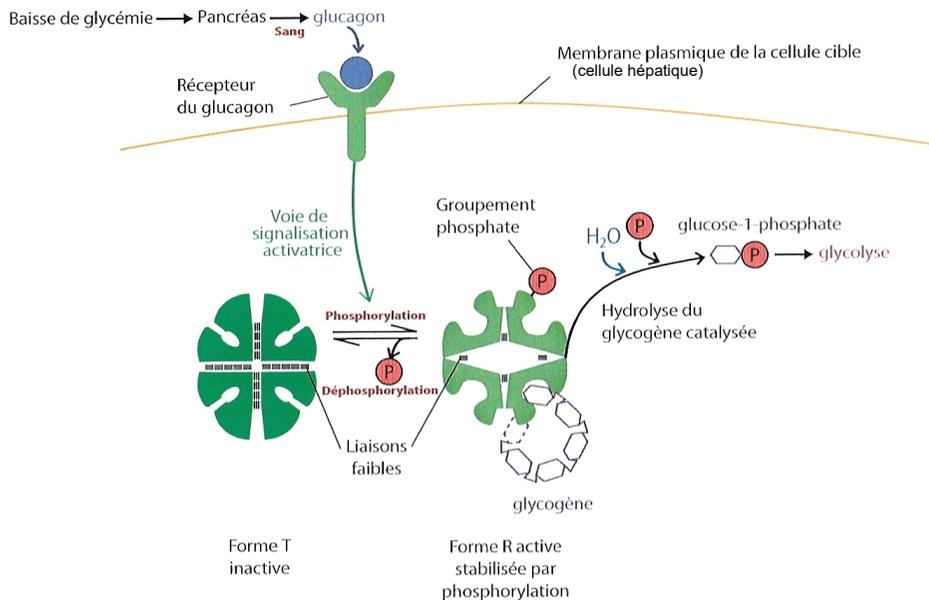


FIGURE 64. Le double contrôle – allostérique + par phosphorylation-déphosphorylation – de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après SEGARRA *et al.* (2014).



Contrôle du métabolisme du glycogène par phosphorylation/déphosphorylation.
GPase = glycogène-phosphorylase ; GS = glycogène-synthase.

FIGURE 65. Une autre vision du contrôle de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021).



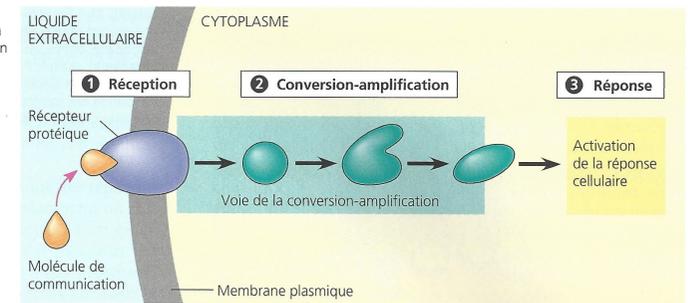
La modification de l'activité enzymatique par modification covalente réversible dans le cas de la glycogène phosphorylase.

FIGURE 66. Une autre vision (partielle) du contrôle de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après DAUTEL *et al.* (2021), modifié.

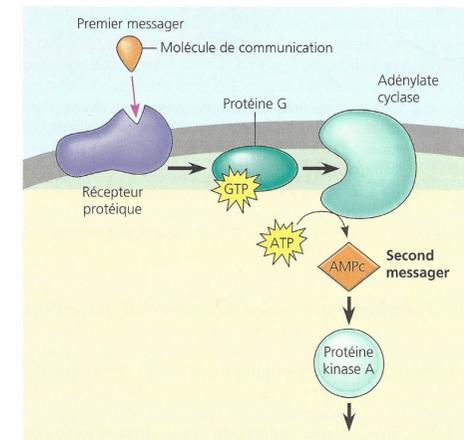
c. L'importance des cascades de phosphorylation-déphosphorylation et plus largement des enzymes dans les chaînes de transduction

Voir le cours de BCPST2 sur les communications intercellulaires

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.

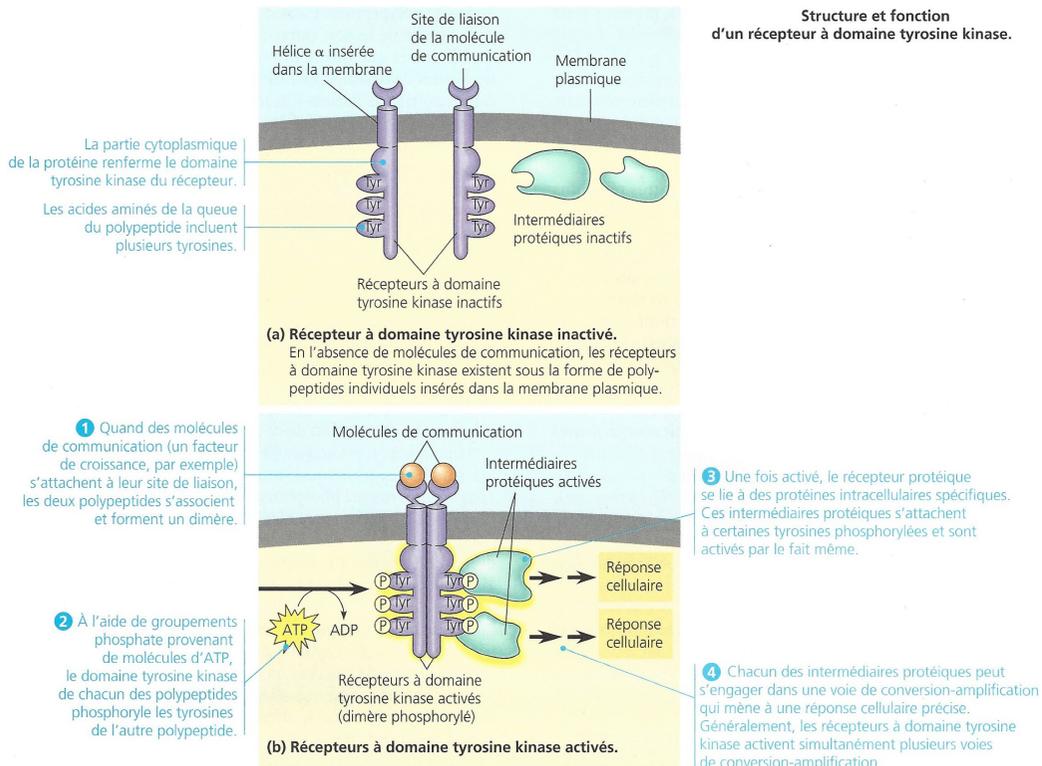


▲ FIGURE 67. Les étapes de la transduction métabotrope. D'après CAMPBELL & REECE (2004).

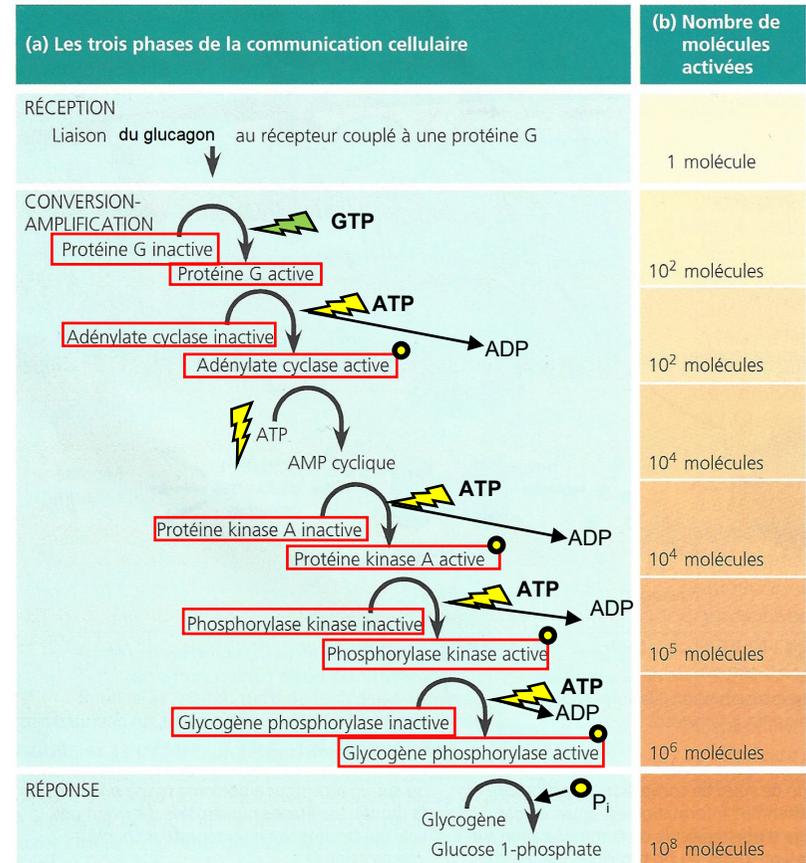


L'AMPc, un second messenger. L'AMP cyclique fait partie de plusieurs voies où les protéines G interviennent. Une molécule de communication (soit le « premier messenger ») active le récepteur couplé à la protéine G, lequel active une protéine G spécifique. À son tour, celle-ci active l'adénylate cyclase, qui catalyse la conversion de l'ATP en AMPc. Cette dernière active une autre protéine, habituellement la protéine kinase A.

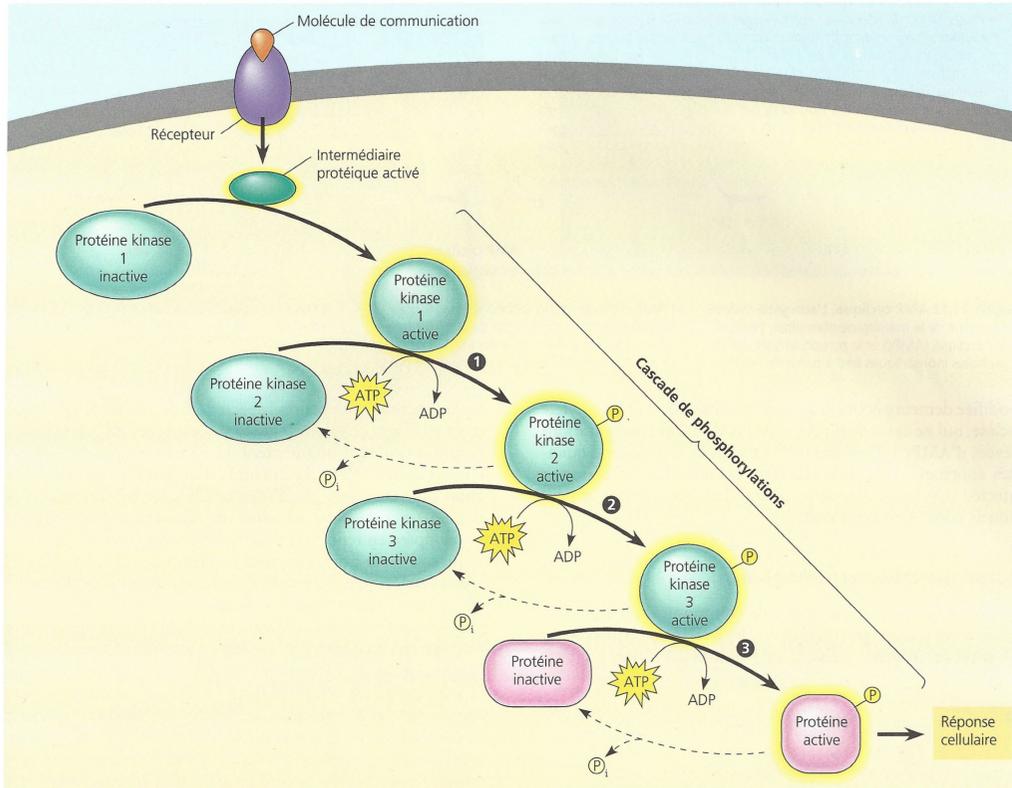
▲ FIGURE 68. De la réception à la production d'AMP cyclique. D'après CAMPBELL & REECE (2004).



▲ FIGURE 69. Le récepteur à l'insuline, un récepteur à domaine tyrosine kinase.
D'après CAMPBELL & REECE (2004).



▲ FIGURE 25. De la réception à la réponse cellulaire dans un hépatocyte soumis au glucagon avec une proposition de quantification de l'amplification du signal hormonal.
D'après CAMPBELL & REECE (2004). *Cadre rouge = enzyme (rond jaune : état phosphorylé).*



Une cascade de phosphorylations
 Dans une cascade de phosphorylations, une variété de molécules protéiques sont phosphorylées tour à tour : chacune ajoute un groupement phosphate à la protéine située en aval. Ce diagramme illustre le déclenchement d'une cascade. Celle-ci débute lorsqu'un intermédiaire protéique active une molécule de l'enzyme appelée protéine kinase 1.

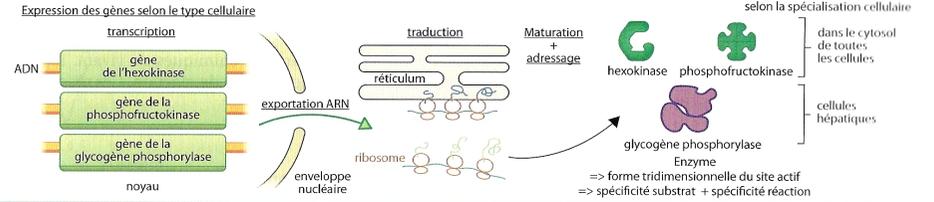
1 La protéine kinase 1 activée transfère un groupement phosphate d'une molécule d'ATP à une molécule de protéine kinase 2 inactive, ce qui active cette dernière. 2 La protéine kinase 2 activée phosphoryle (et active) la protéine kinase 3. 3 La protéine kinase 3 activée phosphoryle une protéine (en rose) qui entraîne la réponse de la cellule au stimulus initial. Les flèches pointillées, elles, illustrent l'inactivation

des protéines phosphorylées par des protéines phosphatases, qui leur enlèvent leur groupement phosphate. Les groupements phosphate retirés serviront ultérieurement à reformer de l'ATP. Pour vous rappeler que les molécules changent généralement de configuration lorsqu'elles sont activées, nous vous présentons les protéines actives et les protéines inactives sous des formes différentes.

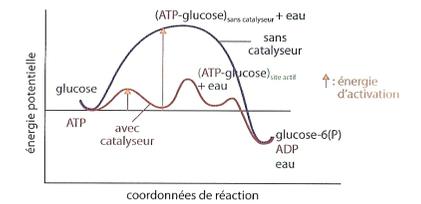
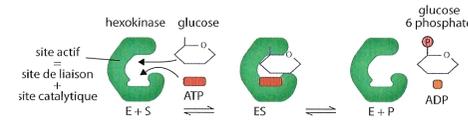
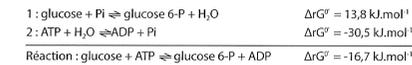
▲ FIGURE 71. Pour comprendre : une illustration de la cascade de phosphorylations. D'après CAMPBELL & REECE (2004).

Quelques schémas bilans

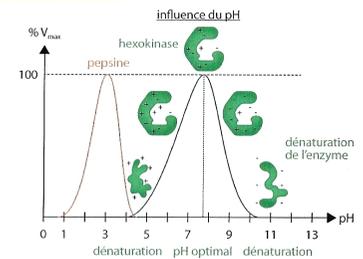
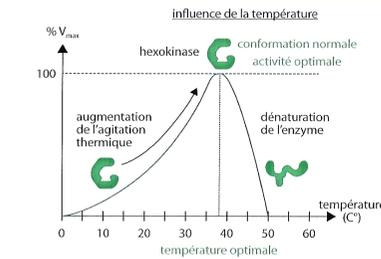
DES MOLÉCULES BIOLOGIQUES PRODUITS DE L'EXPRESSION DES GÈNES



DES AGENTS DE COUPLAGE QUI CATALYSENT DES RÉACTIONS PAR FORMATION D'UN COMPLEXE ENZYME-SUBSTRAT



DES CATALYSEURS FONCTIONNELS DANS DES CONDITIONS COMPATIBLES AVEC LA VIE



DES CATALYSEURS MODULABLES SELON L'ACTIVITÉ DES CELLULES

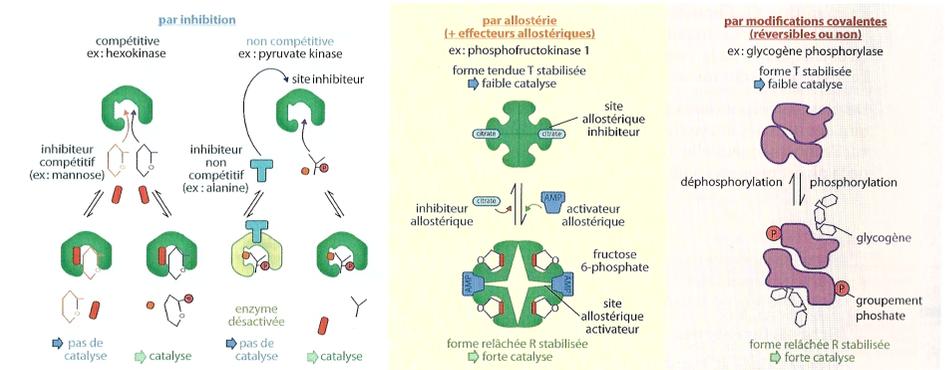
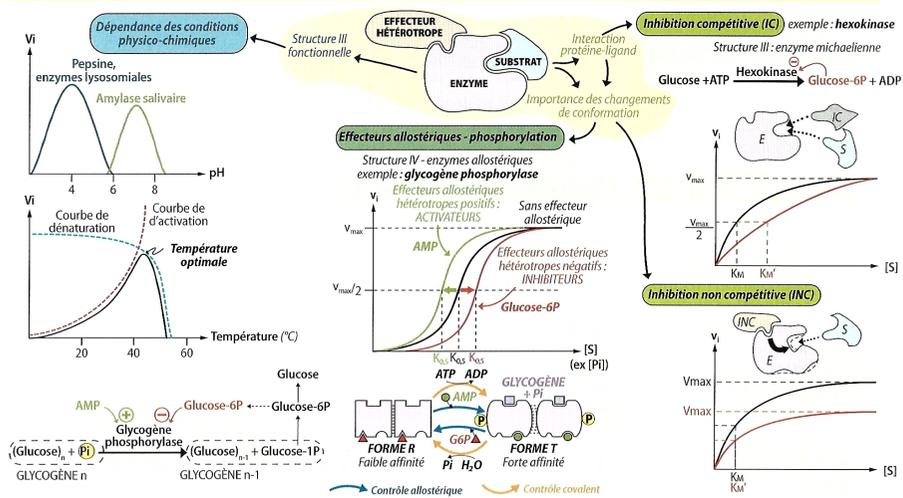


FIGURE 72. Les enzymes : une vue d'ensemble. D'après SAINTPIERRE, BORDI et al. (2021).

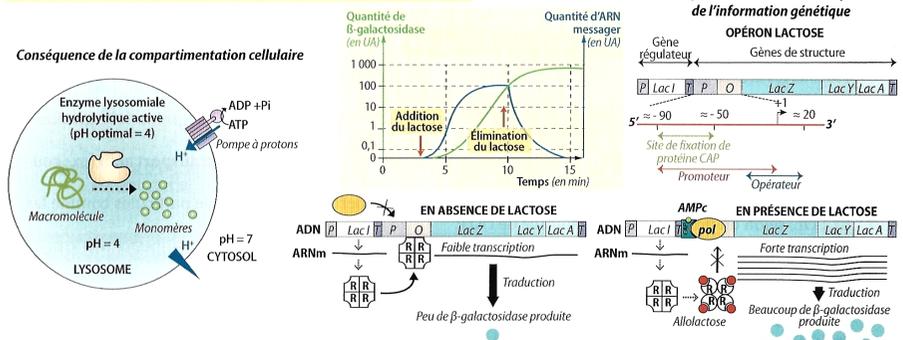
Bilan (adapté du programme)

- ✓ Plusieurs facteurs modifient l'activité enzymatique et donc les réactions du métabolisme :
 - 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.

MODULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE À L'ÉCHELLE MOLÉCULAIRE : CONSÉQUENCE DE LA NATURE PROTÉIQUE DES ENZYMES



MODULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE À L'ÉCHELLE CELLULAIRE



MODULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE À L'ÉCHELLE DE L'ORGANISME PLURICELLULAIRE

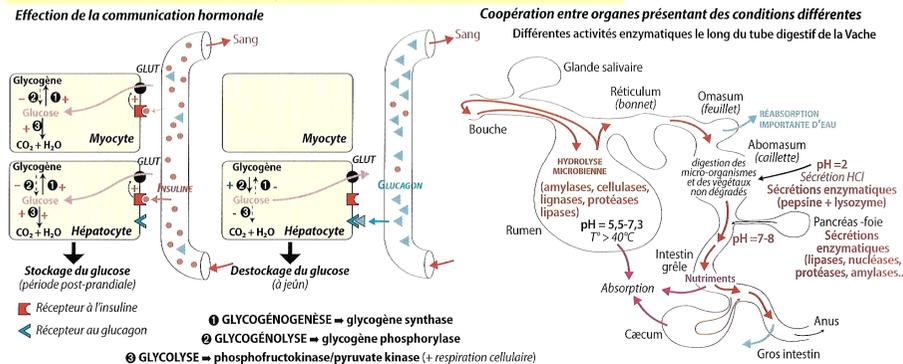


FIGURE 73. Modulation de l'activité enzymatique. D'après SAINTPIERRE, BORDI et al. (2021).

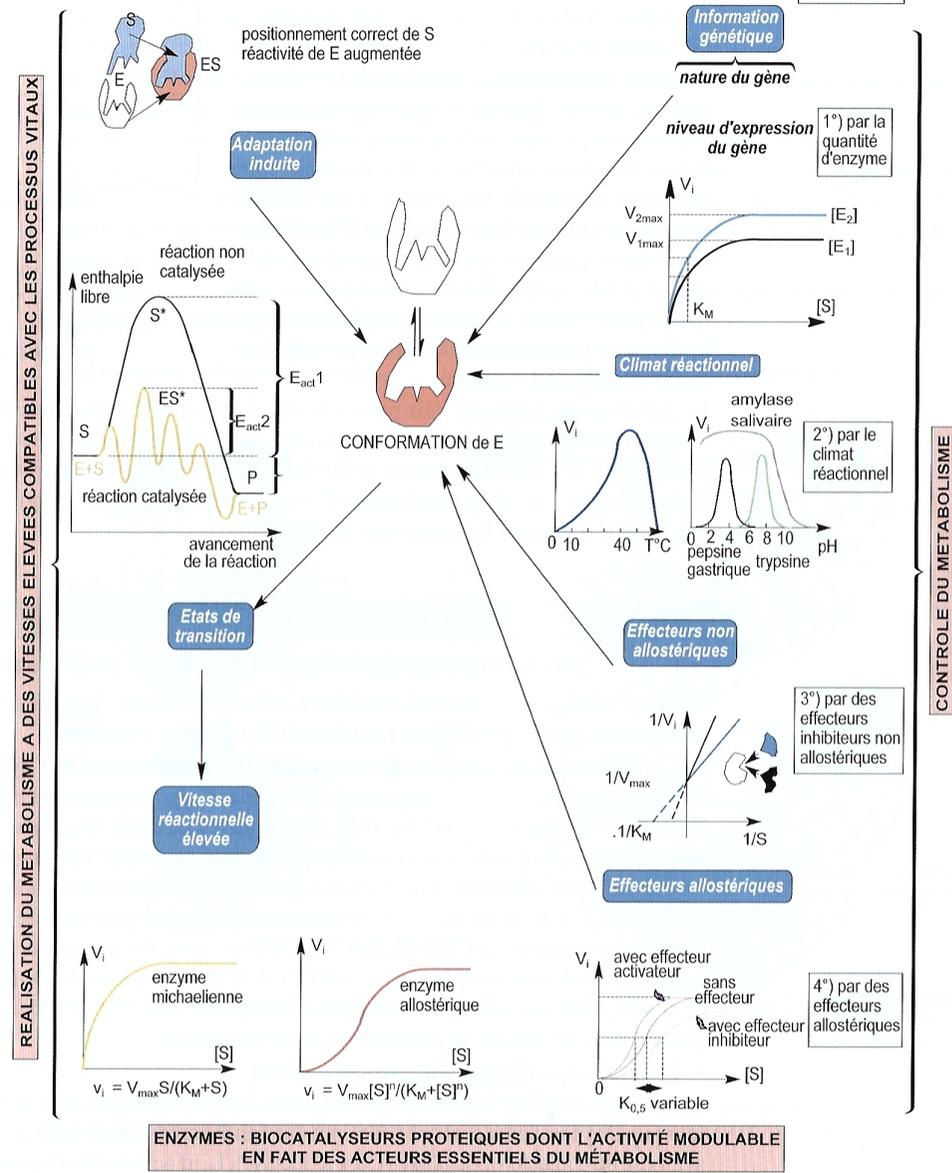
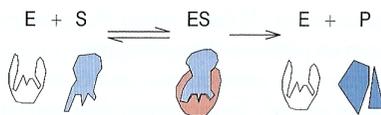


FIGURE 74. Schéma bilan sur les enzymes. D'après PERRIER, BEAUX et al. (2021).

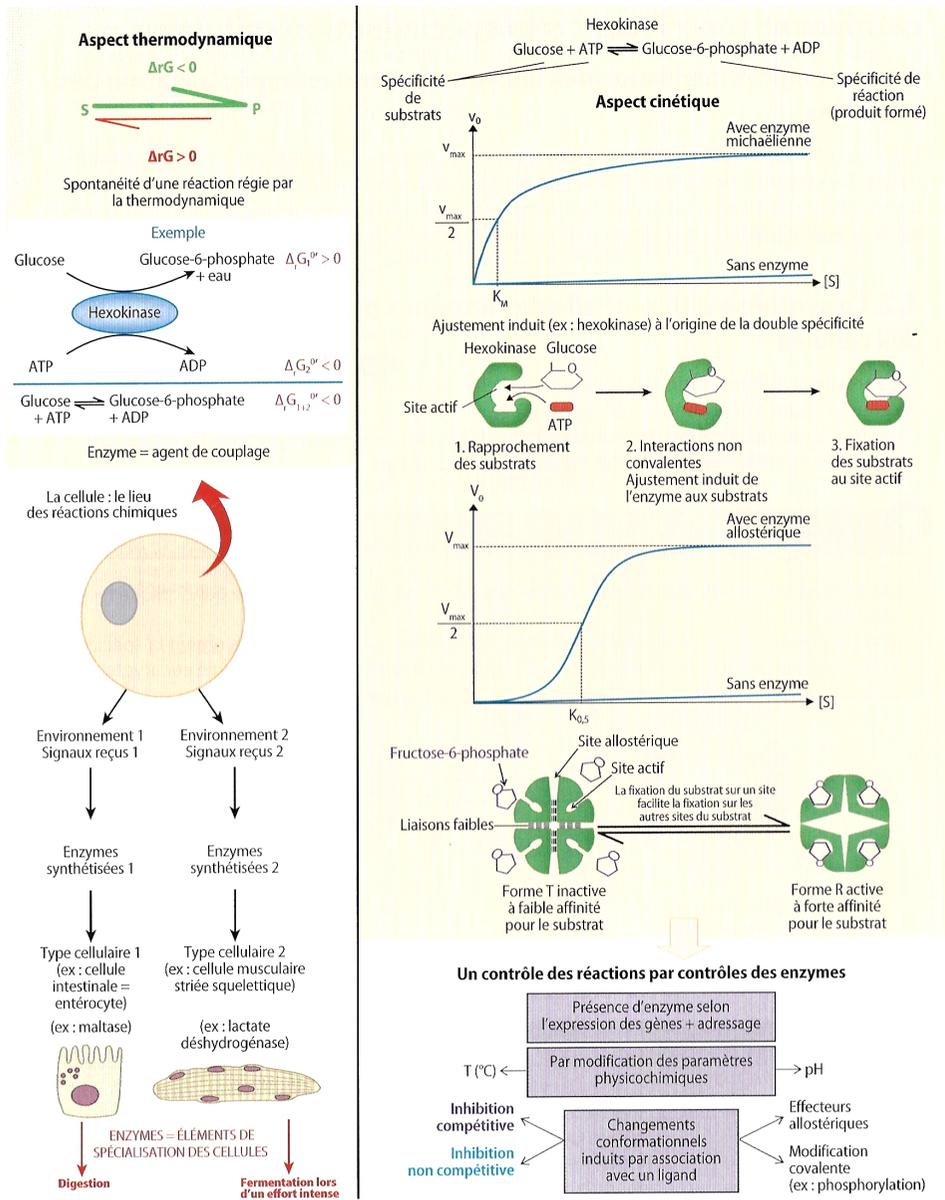


FIGURE 75. Schéma bilan sur les enzymes. D'après DAUTEL et al. (2021).

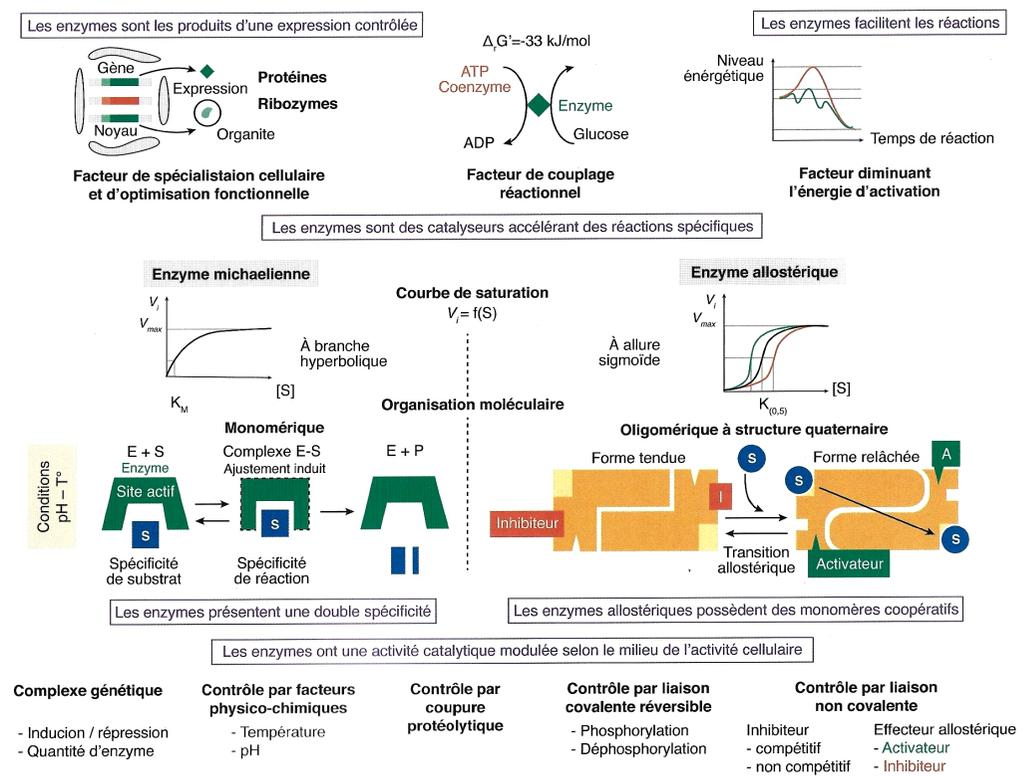


FIGURE 76. Schéma bilan sur les enzymes. D'après PERRIER, BEAUX et al. (2021).

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 $v_i = f([S]_i)$ 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 BELLEGARD, 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-MÂITREPIERRE, 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. RAGUÉNÉS-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).
- BERG, I. A. (2011). Ecological Aspects of the Distribution of Different Autotrophic CO₂ Fixation Pathways. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 1925-1936. <https://doi.org/10.1128/AEM.02473-10>
- 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, 2e édition (1e 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. LACHAÎNE. Pearson, Paris (4e 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.
- DAUTEL, O. (dir.), C. BORDI, F. SAINTPIERRE, M. ALGRAIN-PITAVY, M. QUERTINIEZ, A. PROUST, M. VABRE A. HELME-GUIZON & B. MOLLIER (2019). *Biologie Géologie BCPST 2^e année.* Vuibert, Paris.
- DAUTEL, O. (dir.), M. ALGRAIN-PITAVY, C. BORDI, A. HELME-GUIZON, B. MOLLIER, A. PROUST, M. QUERTINIEZ, F. SAINTPIERRE & M. VABRE (2021). *Prépas scientifiques BCPST 1^{re} année. Biologie Géologie. Tout-en-un.* Vuibert, Paris.
- DAUTEL, O. (dir.), M. ALGRAIN-PITAVY, C. BORDI, A. HELME-GUIZON, B. MOLLIER, A. PROUST, F. SAINTPIERRE & M. VABRE (2022). *Prépas scientifiques BCPST 2^e année. Biologie Géologie. Tout-en-un.* 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.
- DENÇEUD, 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.
- DENÇEUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2013). *Biologie-Géologie BCPST-véto 1^{re} année.* Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- DENÇEUD, 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.
- DUCO, 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.
- LAFON, 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.
- LIZEAUX, C., D. BAUDE (dir.), C. BRUNET, B. FORESTIER, E. FRANÇOIS, Y. JUSSELAND, P. PILLOT, S. RABOUIN & A. VAREILLE (2011). *Sciences de la Vie et de la Terre 1^{re} S.* Bordas, Paris.
- MADIGAN, M. & J. MARTINKO (2007). *BROCK. Biologie des micro-organismes.* Pearson Education France, Paris, 11^e édition américaine (2006) traduite sous la dir. de D. PRIEUR.

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. LACHAÎNE.

MARIEB, E. N. & K. HOEHN (2015). *Anatomie et physiologie humaines*. Pearson, Montréal (Québec, Canada), 9^e édition américaine adaptée par L. MOUSSAKOVA & R. LACHAÎNE.

MEYER, S., C. REEB & R. BOSDEVEIX (2008). *Botanique. Biologie et physiologie végétales*. Maloine, Paris, 2^e édition (1^{er} édition 2004).

MEYER, S., C. REEB & R. BOSDEVEIX (2019). *Botanique. Biologie et physiologie végétales*. Maloine, Paris, 3^e édition (1^{er} édition 2004).

MORÈRE, J.-L., R. PUJOL (coord.), J.-C. CALLEN, L. CHESNOY, J.-P. DUPONT, A.-M. GIBERT-TANGAPREGASSOM, G. RICOU, N. TOUZET (dir.) et collaborateurs (2003). *Dictionnaire raisonné de Biologie*. Frison-Roche, Paris.

MOROT-GAUDRY, J.-F. (dir.) (1997). *Assimilation de l'azote chez les plantes*. INRA, Versailles.

MOROT-GAUDRY, J.-F. (dir.), F. MOREAU, R. PRAT, C. MAUREL & H. SENTENAC (2009). *Biologie végétale. Nutrition et métabolisme*. Dunod, 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.

PERRIER, C. & J.-F. BEAUX (dir.), A. BOUFFIER, L. BOUGEOIS, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J. DÉMARET-NICOLAS, A. EMOND, S. MAURY, O. MONNIER, T. SOUBAYA, A. VERGNAUD & A. WOEHRLÉ (2021). *Biologie-Géologie BCPST 1. Tout-en-un*. Dunod, Paris.

PERRIER, C. & J.-F. BEAUX (dir.), A. BOUFFIER, S. COCQ, T. DARRIBÈRE, E. DOUZERY, S. HURTREZ-BOUSSÈS, S. MAURY, O. MONNIER & T. SOUBAYA (2022). *Biologie-Géologie BCPST 2. Tout-en-un*. Dunod, Paris.

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^{er} 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^{er} 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^{er} 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^{er} édition 2007).

RAVEN, P. H., G. B. JOHNSON, J. B. LOSOS, S. S. SINGER (2007a). *Biologie*. De Boeck, Bruxelles, 1250 pages + xxiv + annexes.

RAVEN, P. H., R. F. EVERT & S. E. EICHHORN (2007b). *Biologie végétale*. De Boeck, Bruxelles. Traduction de la 7^e édition américaine par J. Bouharmont, révision C. Evard.

RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2012). *Biologie. Tout les cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 2^e édition (1^{er} édition 2010).

RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2015). *Biologie. Tout les cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{er} 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^{er} édition 1982).

RIEUTORT, M. (1999). *Physiologie animale. 2. Les grandes fonctions*. Mise à jour D. PICHARD. Masson, Paris, 2^e édition (1^{er} 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^{er} 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. SONTTHONNAX (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^{er} 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. DOMENJOUR].

WILLEY, J. M., L. M. SHERWOOD & C. J. WOOLVERTON (2018). *Microbiologie de PRESCOTT*. Traduction de la 10^e édition américaine par J. COYETTE, J.-P. JOSELEAU & R. PERRAUD. De Boeck, Louvain-la-Neuve (Belgique), 5^e édition (1^{er} édition 1999).

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	2
B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes	3
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	7
1. L'importance de l'interaction entre enzyme et substrat	7
a. Une complémentarité spatiale (= stérique) et chimique enzyme-substrat au niveau du site actif : le modèle clef-serrure (modèle de FISCHER)	7
b. Une légère modification de la conformation de l'enzyme lors de la fixation du substrat : l'ajustement induit (modèle de KOSHLAND)	7
2. Le déroulement de la réaction enzymatique	7
a. Une fixation irréversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique catalysée généralement irréversible	7
b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation	8
c. Une étude de la réaction enzymatique possible par des techniques variées (diffraction aux rayons X, RMN, mutagenèse dirigée...)	9
E. Une spécialisation des compartiments et des cellules permise par leur appareillage enzymatique propre	9
1. Au sein d'une cellule : une spécialisation des territoires cellulaires largement dictée par leur composition enzymatique	9
2. Entre cellules : une spécialisation largement permise par la nature des enzymes exprimées qui participe à la différenciation cellulaire	10
3. En lien avec des sécrétions cellulaires	10
II. La cinétique enzymatique : deux grandes catégories d'enzymes	10
A. Les enzymes michaeliennes, enzymes à cinétique de saturation hyperbolique	10
1. Rappel de quelques notations	10
2. L'emploi de valeurs initiales : vitesse initiale de réaction ($v_i = v_0 = v$), concentration initiale en substrat ($[S]_i = [S]_0 = [S]$)	10
3. Origine et construction de la courbe dite de MICHAELIS-MENTEN (1913), en réalité largement due aux travaux d'HENRI (1902)	10

a. Le dosage de la quantité de produit formé – ou de substrat consommé – en fonction du temps : calcul de la vitesse initiale pour diverses concentrations initiales en substrat	11
b. La construction de la courbe $v_i = f([S]_i)$	11
4. Exploitation de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913)	13
a. Notion de K_M et lien avec l'affinité	13
b. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = V_m$	13
c. Une modélisation par l'équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)	13
5. La possibilité d'une linéarisation de la courbe facilitant la détermination des constantes	13
a. Le graphique en double inverse : la linéarisation de LINEWEAVER-BURK (1934) : $1/v_i = f(1/[S]_i)$	13
b. L'existence d'autres modalités de linéarisation [pour information]	13
6. Des paramètres cinétiques en lien avec la fonction des enzymes	14
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	14
b. Fréquence de catalyse (k_{cat}) et K_M , deux paramètres permettant d'estimer une efficacité catalytique (= constante de spécificité) k_{cat}/K_M	15
7. Des enzymes souvent monomériques ou, plus rarement, oligomériques	15
B. Les enzymes allostériques, enzymes [quasi-]toujours* multimériques (= de structure quaternaire) à cinétique de saturation sigmoïde	15
1. Rappels de la notion d'allostérie	15
a. La notion historique de l'allostérie, justement inventée pour ces enzymes : la coopérativité entre sous-unités	15
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)	15
2. Une cinétique d'allure sigmoïde	15
a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique	15
b. Exploitation de la courbe d'une enzyme allostérique	16
α. Notion de $K_{0,5}$ (K_{50}) et lien avec l'affinité	16
β. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = V_m$	16
γ. Une modélisation par une équation faisant intervenir un quantificateur de la coopérativité entre sous-unités, le nombre de HILL n ($= n_H$)	16
3. Un fonctionnement coopératif des sous-unités enzymatiques	16
a. Deux formes de sous-unités (tendue T et relâchée R) et une transition allostérique entre les deux formes	16
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	16
α. Définition de l'effet homotrope (= effet coopératif)	16
β. Deux modèles explicatifs : le modèle concerté et le modèle séquentiel	17
i. Le modèle concerté (MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965) : une affinité modifiée de toutes les sous-unités dès qu'une sous-unité accueille un substrat	17
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	18
iii. Et la transition $R \rightarrow T$? Un processus largement post-catalytique	18
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	18

III. Les enzymes, des protéines catalytiques à activité modulable à l'origine d'un contrôle du métabolisme	19
A. Un contrôle de la réaction enzymatique par la concentration en enzymes	19
1. Courbe $v_i = f([E])$: une vitesse initiale de catalyse enzymatique linéairement dépendante de la concentration en enzyme du milieu réactionnel	19
2. Une concentration enzymatique dans les compartiments cellulaires ou extracellulaires qui dépend elle-même de l'expression génétique (et de l'adressage protéique)	19
3. Une modulabilité de l'expression génétique sous l'effet de signaux extracellulaires ou, parfois, de la disponibilité en substrat	19
B. Un contrôle de la réaction enzymatique par les conditions physico-chimiques du milieu réactionnel	20
1. Un contrôle par la disponibilité en substrat, voire en coenzymes et cosubstrats variés, conduisant généralement à l'épuisement rapide du substrat disponible	20
2. Un contrôle par la température	20
3. Un contrôle par le pH	20
C. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par des ligands stimulateurs ou inhibiteurs	20
1. L'inhibition des enzymes michaeliennes	20
a. Notion d'inhibiteur : une substance qui ralentit la vitesse catalytique de la réaction enzymatique	20
b. Les inhibiteurs compétitifs : des molécules se liant sur le site actif à la place du substrat ($\nearrow K_{M\ app} \Leftrightarrow \nearrow$ affinité ; v_{max} non modifiée)	21
c. Les inhibiteurs non compétitifs : des molécules se liant sur un site différent du site actif (K_M inchangé ; $\searrow v_{max\ app}$)	22
d. D'autres inhibitions sur lesquelles le programme semble moins prolix	22
α. 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 ; $\searrow v_{max\ app}$)	22
β. L'inhibition mixte : une inhibition diminuant l'affinité ($\nearrow K_{M\ app}$) et diminuant aussi la $v_{max\ app}$ [limite programme ?]	23
e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit	24
α. L'inhibition par le substrat en excès	24
β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques	24
2. Cas des enzymes allostériques	24
a. Des effecteurs allostériques activateurs ou inhibiteurs « déplaçant » le $K_{0,5}$ et modifiant donc l'affinité vis-à-vis du substrat (effet hétérotrope)	24
b. Un effet des conditions physico-chimiques (pH, température, substrat, coenzymes...)	24
3. Intérêt de ces contrôles dans la régulation des voies métaboliques : l'importance des rétro-inhibitions (ou des rétro-activations)	25
a. Notion de voie métabolique et principe des régulations métaboliques	25
b. Des rétroactions négatives	25
c. Des rétroactions positives	25
D. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par modification covalente des enzymes	26
1. Une modulation irréversible : cas du clivage protéolytique des pro-enzymes	26
2. Une modulation réversible : cas de la phosphorylation-déphosphorylation	26
a. Principe général	26
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	26
α. Une enzyme allostérique dimérique permettant la phosphorylation d'amidon en glucose-1-phosphate dans le cadre de la glycogénolyse	26
β. Une enzyme dont l'activité est modulable par des effecteurs allostériques	27
γ. Une enzyme dont l'activité est en outre modulable par son état de phosphorylation-déphosphorylation	27

γ. Une enzyme dont la synthèse est contrôlée par l'insuline et le glucagon	27
δ. Bilan : des contrôles multiples	27
c. L'importance des cascades de phosphorylation-déphosphorylation et plus largement des enzymes dans les chaînes de transduction	28

Quelques schémas bilans	30
Pour faire une fiche de révision : quelques pistes	33
Références	33
Plan du chapitre	34

© 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.