

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 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 $K_{0,5}$.	- 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).
Précisions et limites : <i>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.</i>	
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.	- Argumenter le rôle d'agent de couplage à l'aide d'exemples de couplages chimio-chimiques. - Relier la spécificité de substrat et de réaction à la structure tridimensionnelle et aux interactions du complexe enzyme-substrat. - Exploiter des données de modélisation moléculaire. - Exploiter des résultats de mutagenèse ou autres pour expliquer un mécanisme catalytique.
Précisions et limites : <i>Aucun mécanisme catalytique n'est à connaître.</i>	

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. Les enzymes sont des éléments de spécialisation des cellules ou des compartiments cellulaires.	- 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.
Précisions et limites : <i>On étudie les mécanismes de contrôle de l'activité enzymatique sur les exemples d'enzyme michaelienne et d'enzyme allostérique étudiés précédemment.</i> <i>Pour les modifications conformationnelles par modification covalente, on se limite à la phosphorylation.</i>	
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)	

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

- Les **enzymes** sont des **catalyseurs**, c'est-à-dire **des agents accélérateurs de réactions chimiques qui se retrouvent inchangés à la fin de la réaction – même s'ils interagissent transitoirement avec les réactifs**.

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

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

b. Des protéines

- Ce sont des **protéines**, groupe de molécules biologiques dont elles possèdent donc **toutes les caractéristiques**.

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

Rappelons que, comme nous avons pu le découvrir dans les **chapitres de génétique**, **certaines ARN ont aussi une activité catalytique et catalysent certaines réactions chimiques** : on les qualifie de **ribozymes**.

(!) Les **enzymes** et les **ribozymes** constituent donc les **deux types** de **catalyseurs biochimiques** existants.

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

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

- Les **réactions chimiques catalysées** par des **enzymes** sont **accélérées** d'un **facteur 10^4 (10 000) à 10^{16}** (**tableau I**).

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

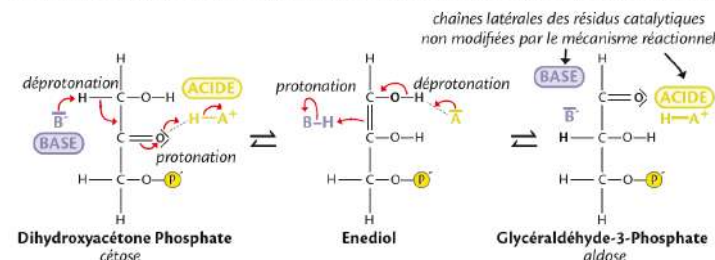
Pour exemple, la durée pour dégrader la moitié d'une quantité d'acides nucléiques sans enzyme est de 130 000 années, certaines nucléases bactériennes sont capables d'accélérer la réaction d'un facteur 10^{14} (100 000 milliards), et en 1 seconde c'est près de 100 réactions individuelles qui sont catalysées 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	$1,4 \times 10^{16}$
$H_2N-C(=O)-NH_2 + 2 H_2O + H^+ \longrightarrow 2 NH_4^+ + HCO_3^-$	Uréease	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) (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}	$> 1,33 \times 10^4$

- La **catalyse enzymatique** est généralement **notoirement plus efficace** que la **catalyse chimique** des réactions (**figure 1**).

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

- Dans les faits, les **réactions biochimiques** sont tellement **lentes** que, sans catalyse enzymatique, elles seraient **quasi-impossibles** dans un **temps compatible** avec la rapidité des **processus biologiques** (**tableau I**). Les enzymes sont d'**indispensables facilitateurs chimiques**.

3. Un rôle thermodynamique : de fréquents agents de couplage

- Comme nous l'avons précisé **plus haut**, et c'est important de l'avoir à l'esprit, **les enzymes ne modifient pas l'état d'équilibre** d'une réaction bilan mais simplement sa **vitesse** : ce sont des **agents cinétiques**.

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

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

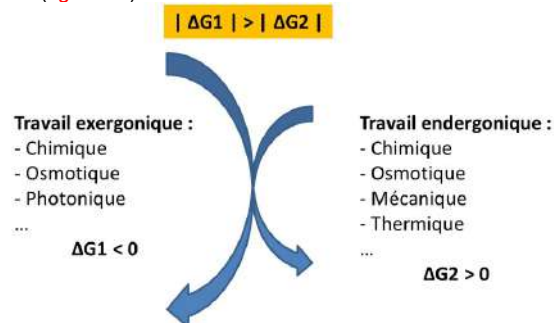
En pratique, en biologie, on utilise l'**enthalpie libre standard de réaction** notée ΔG^0 ou $\Delta_r G^0$ qui correspond à des **conditions biologiques standard** (pression de 1 atm, température d'environ 25 °C) pour des réactifs et produits initialement concentrés à $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Aspects énergétiques des travaux chimiques

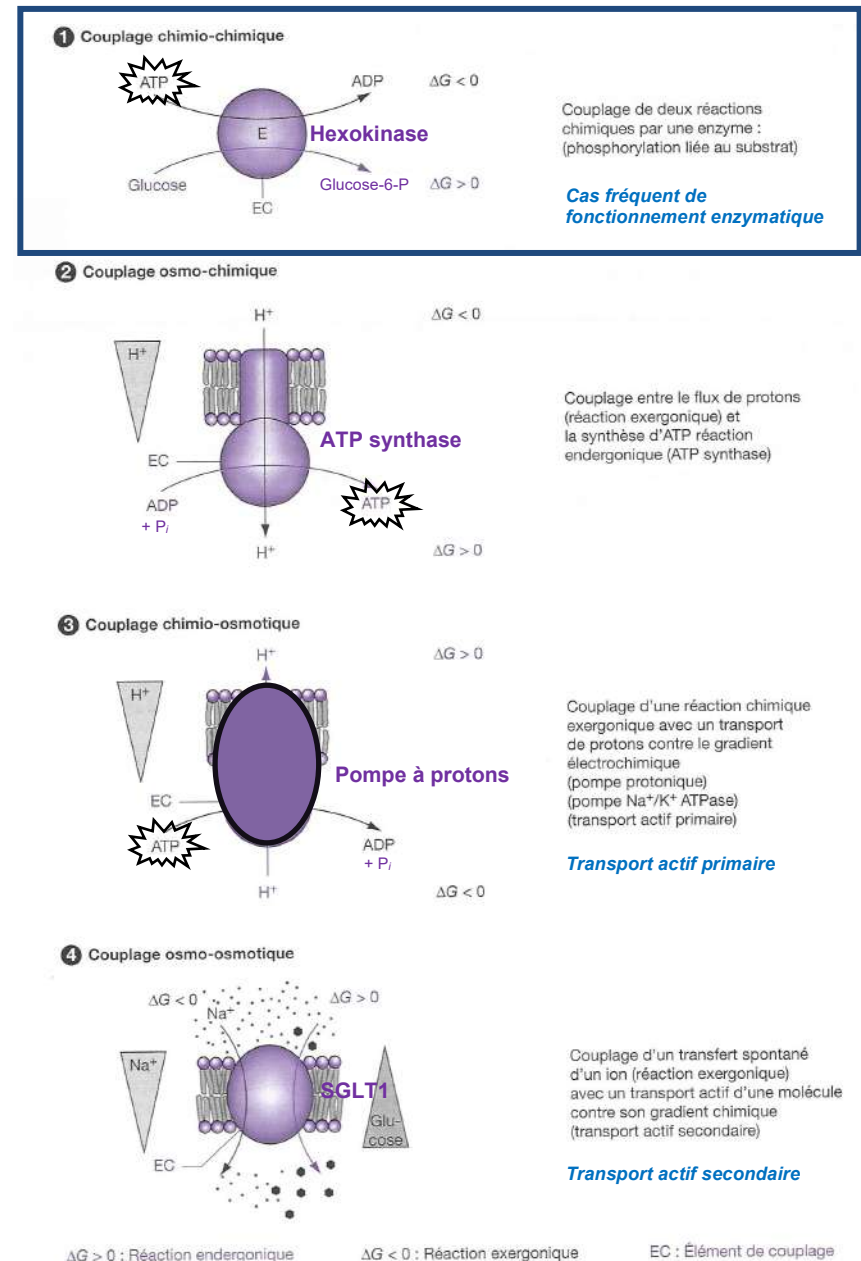
- Une **réaction chimique** constitue un **travail**, au sens **énergétique** du terme, c'est-à-dire la **modification d'un système physico-chimique**. De l'énergie est donc impliquée. Le **travail impliqué dans une réaction chimique** est appelé **travail chimique**.
- Un **travail chimique** peut être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

b. Intervention des enzymes dans les couplages énergétiques

- On appelle **couplage énergétique** l'**association immédiate de deux travaux, l'un libérant de l'énergie et l'autre utilisant une partie de l'énergie libérée par le premier** (figures 2).



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



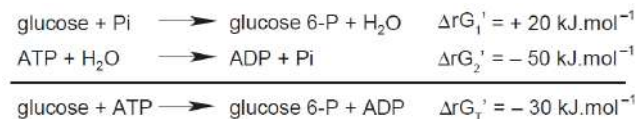
▲ FIGURE 3. **Quelques exemples de couplages énergétiques.** D'après BREUIL (2007), adapté.

- Tous les **travaux endergoniques** nécessitent d'être **couplés** avec des **travaux exergoniques** qui **libèrent plus d'énergie** que le **travail endergonique** n'en consomme. **Le bilan est donc toujours exergonique**. En cela, répétons-le encore, les **enzymes respectent la règle et ne modifient pas l'équilibre d'une réaction**.
- Les **couplages** sont très **fréquemment** assurés par des **enzymes** (figure 3).

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

IMPORTANT :

- La **mise en place d'une nouvelle liaison covalente** suppose le plus souvent un **couplage chimio-chimique** avec une autre réaction chimique, souvent la **dégradation d'une autre liaison covalente** (qui peut être par exemple la **liaison entre deux phosphates inorganiques de l'ATP**) (figure 3-1). D'autres couplages sont aussi possibles (figure 3).
- Dans le cas de l'**hexokinase** (figure 3.1), on peut noter que le **bilan est exergonique**, l'enzyme assurant le **couplage** entre une **réaction exergonique** et une **réaction endergonique** :

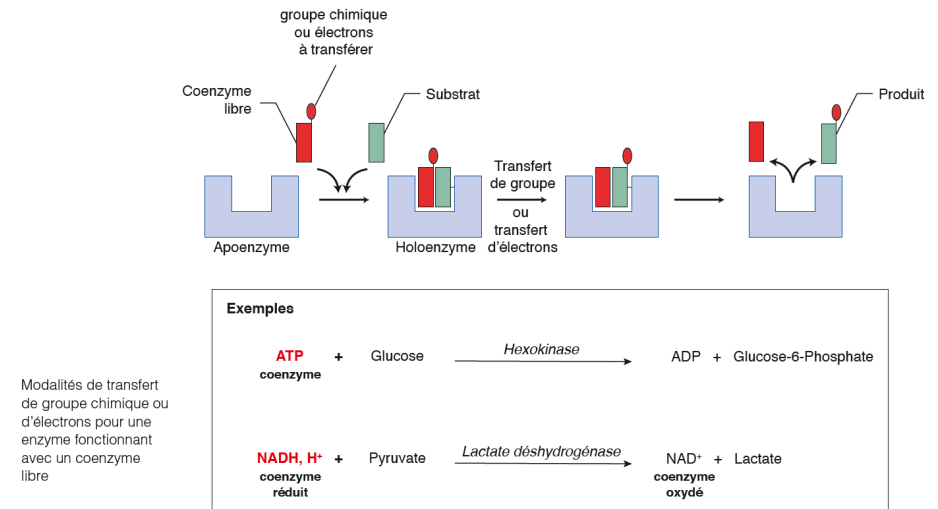


Couplage chimio-chimique réalisé par l'hexokinase.
(D'après PERRIER, BEAUX *et al.*, 2021)

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** ».

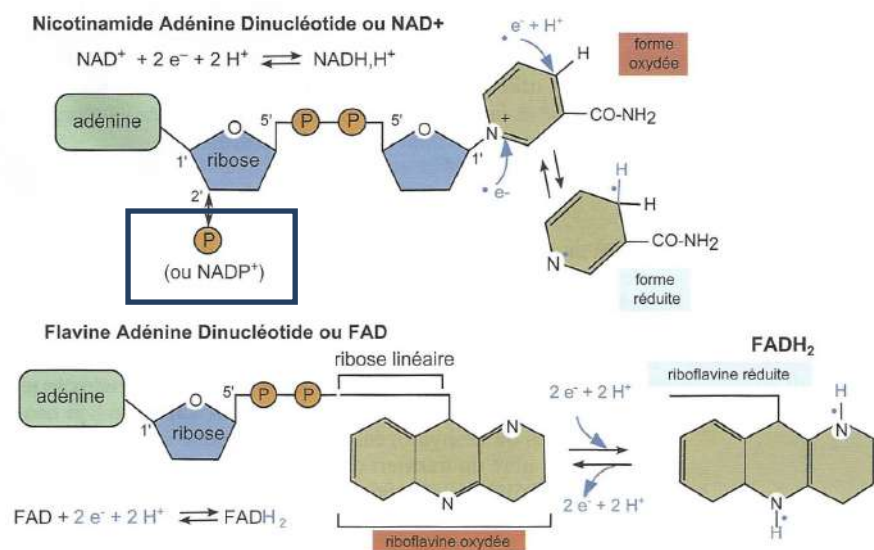


▲ FIGURE 4. **Illustration de la notion de coenzyme.**
Vision proposée par SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

- Les **principaux coenzymes** sont :
 - Les **coenzymes d'oxydoréduction** qui sont **des molécules dérivant généralement de nucléotides qui permettent de transférer des électrons (et éventuellement des protons par la même occasion)**. On peut citer (figure 5) :
 - Le **couple NAD⁺/NADH, H⁺** (NAD = Nicotinamide Adénine Dinucléotide) qui **intervient par exemple dans la respiration**.
 - Le **couple NADP⁺/NADPH, H⁺** (NADP = Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate) qui **intervient par exemple dans la photosynthèse**.
 - Le **couple FAD/FADH₂** (FAD = flavine adénine dinucléotide) qui **intervient dans la respiration**.
 - Les **cytochromes**, les **quinones**... autant de **molécules intervenant dans le métabolisme énergétique**.
 - Les **hèmes**, **groupements prosthétiques** comprenant un **ion métallique et toujours fixés de manière covalente à l'enzyme** (l'enzyme complète peut être appelée **holoenzyme**, et la **partie seulement protéique apoenzyme**).
 - Les **coenzymes de transfert de groupements** qui sont **des coenzymes de nature variée favorisant le transfert spécifique de certains groupements moléculaires**. On peut citer le **coenzyme A**, l'**UDP** (qui transfère par exemple du glucose)...

B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes

- On appelle **cofacteur** une **substance non protéique qui se lie à une protéine et qui est indispensable à son activité biologique**. Quand la **protéine concernée est une enzyme**, on parle alors de **coenzyme** (figure 4).

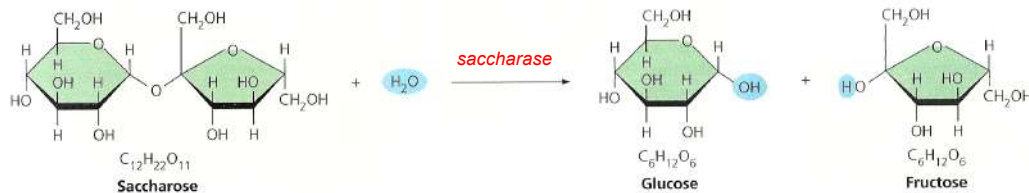


▲ FIGURE 5. Trois coenzymes d'oxydoréduction. D'après PEYCRU *et al.* (2013)

C. Des catalyseurs spécifiques : la triple spécificité enzymatique

1. La spécificité de substrat

- Une enzyme est **spécifique** de son (ses) **substrat(s)**, c'est-à-dire **du (ou des) réactif(s) de la réaction chimique catalysée par une enzyme (figures 6-7)**.
Exemple : la saccharase (= sucrase = invertase) (figure 6) est spécifique du saccharose qu'elle hydrolyse en fructose et glucose.



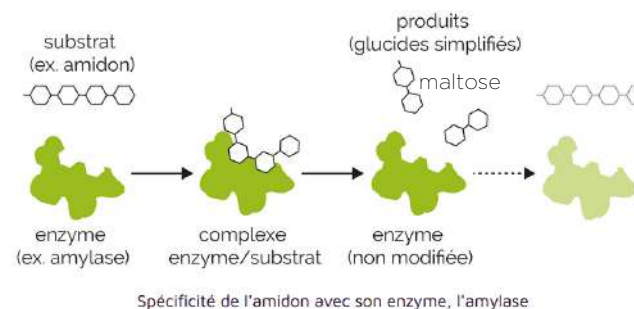
▲ FIGURE 6. Hydrolyse du saccharose par la saccharase. D'après CAMPBELL & REECE (2004)

- Cette **spécificité** peut **parfois** être **large** si c'est une **portion de molécule très fréquente** qui est le **substrat**.
Exemple : les protéases (comme la pepsine) hydrolysent les liaisons peptidiques ; il en existe des sous-catégories intervenant plutôt au niveau de tel ou tel acide aminé... mais comme ces acides aminés engagés dans une liaison peptidique sont présents dans presque n'importe quelle protéine, beaucoup de protéines différentes peuvent réagir avec une protéase donnée.

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 incubé 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

- Une enzyme est **spécifique** d'une **transformation chimique**, c'est-à-dire de la **transformation du (ou des) substrat(s) en un (ou des) produit(s) donné(s)**. C'est ce qu'on appelle la **spécificité d'action** (ou **de réaction**, dans votre **programme**).
Exemple : la saccharase est spécifique de l'hydrolyse de saccharose en glucose et fructose (figure 6).

Exemple(s).

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

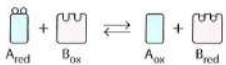
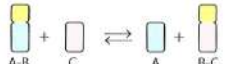
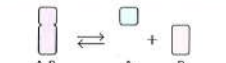
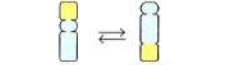
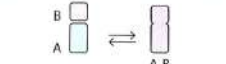
D'après Maxicours.com (consultation avril 2023)

- La **classification des enzymes** repose typiquement sur le **type d'action** des enzymes (**tableau II**) et leur **nom** dérive souvent de ces **grandes catégories**.

On notera que le **suffixe « -ase »** est typiquement **employé** pour nommer les **enzymes**, même si quelques-unes (lysozyme, trypsine, pepsine...) ont des **noms communs non normés**.

▼ **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.
Isomérases	Catalysent le réarrangement de liaisons dans une même molécule.
Polymérases	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-phosphogluconolactonase
Classe 4 : Lyases	 Rupture de liaison	 cystathionine gamma-lyase
Classe 5 : Isomérases	 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 isomérases, les ligases et les translocases.

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

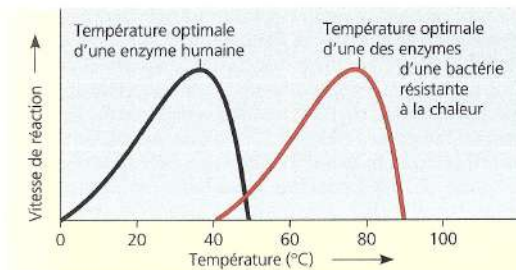
La chymotrypsine, par exemple, possède la référence EC 3.4.21.1 :

- 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**.

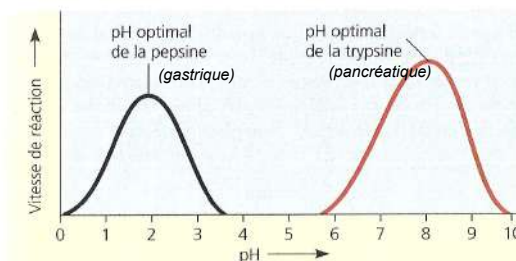
D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

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

- Une enzyme présente des **conditions optimales de fonctionnement** (figure 8) où **la vitesse de catalyse, pour une concentration initiale donnée en substrat, est maximale** : température optimale (figure 9), pH optimal (figure 10)...



(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.

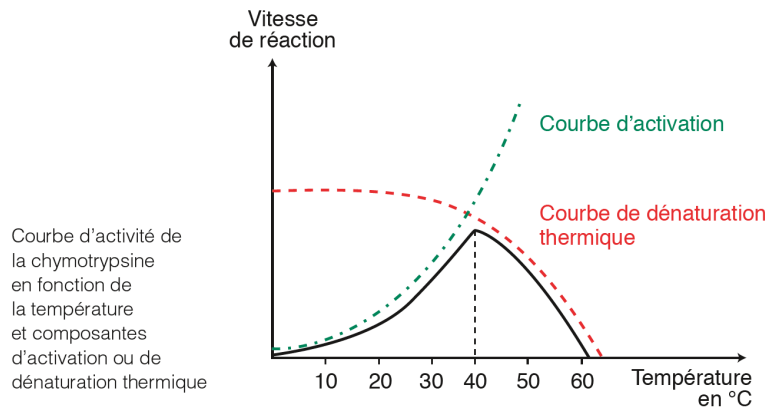
▲ **FIGURE 8. Optima de température et de pH d'enzymes.** D'après CAMPBELL & REECE (2004)

- Concernant la **température** (figures 9-10), on peut noter que :
 - La **partie gauche** de la **courbe**, caractérisée par une **hausse de la vitesse de réaction** avec la **hausse de température**, correspond à la **courbe d'activation** où la **vitesse de réaction augmente avec la température**.

En effet, l'**agitation moléculaire croissante** favorise la mise en **contact** de l'**enzyme** et du **substrat**, augmentant logiquement la vitesse de réaction. Cette courbe d'activation rejoint la **loi empirique d'ARRHENIUS** qui énonce que la **constante de vitesse d'une réaction k augmente avec la température T selon la relation suivante** :

$$k = A \cdot e^{\frac{-E_a}{RT}}$$

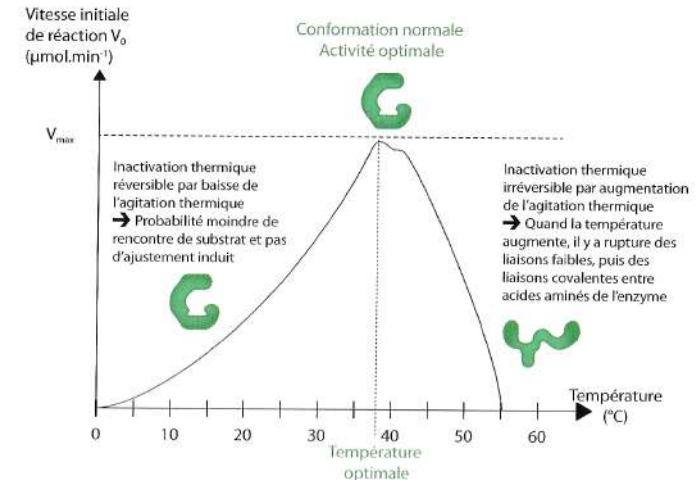
- k : **coefficient de vitesse** ou **constante de vitesse**, positive ;
 - A : **facteur pré-exponentiel** (appelé aussi facteur de fréquence) tenant compte de la fréquence des collisions et des effets stériques.
 - T : **température** (K) ;
 - R : **constante des gaz parfaits** ($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$) ;
 - E_a : **énergie d'activation d'ARRHENIUS** ($J \cdot mol^{-1}$).
- La **partie droite** de la **courbe**, caractérisée par une **baisse de la vitesse de réaction** avec la **hausse de température** se superpose à la **courbe de dénaturation de l'enzyme par la chaleur**, c'est-à-dire que la **chaleur produit une destruction des liaisons faibles et fortes en AA et engendre un changement de conformation qui tend à devenir irréversible si la température s'élève fortement ou si le temps passé à forte température est important**.



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

Exemples :

- ° les **enzymes humaines** présentent un optimum **proche de 37 °C** et sont **dénaturés à partir de 55-60 °C**.
- ° La **Bactérie des sources thermales** *Thermus aquaticus*, dont provient la fameuse *Taq* polymérase utilisée dans la **PCR**, présente un **optimum de température** de ses enzymes proche de **70-80 °C** (on se souviendra de l'**optimum à 72 °C** de la *Taq* polymérase).



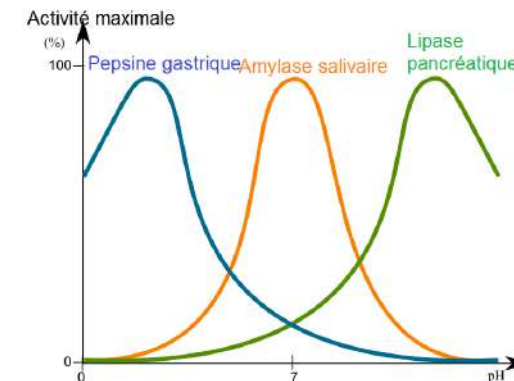
L'effet de la température sur l'activité d'une enzyme humaine.
(Chez l'Homme, l'optimum de température est compris entre 36,1 et 37,8°C).

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

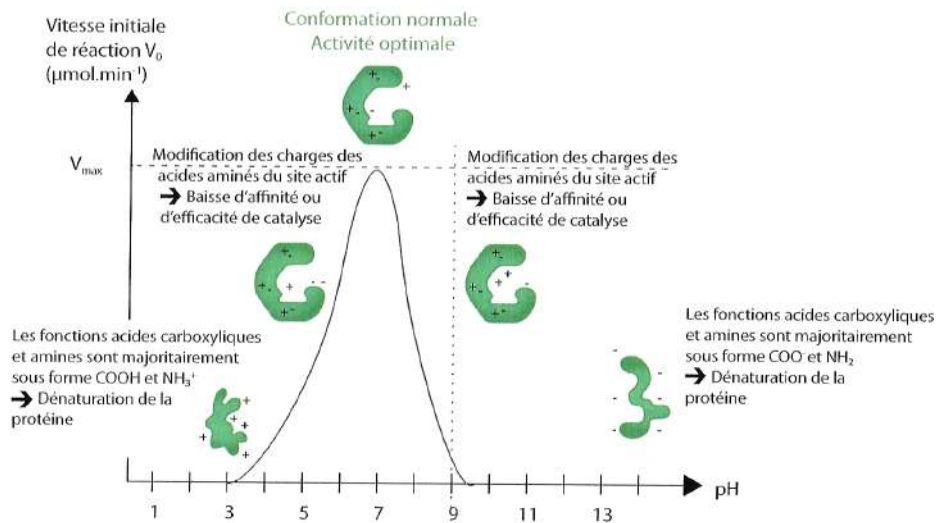
- Concernant le **pH** (figures 11-12), on note là encore l'existence d'un **pH optimum** correspondant généralement et typiquement au **compartiment d'usage** de l'enzyme. Un **écart trop fort** du **pH ambiant** par rapport au **pH optimal** (pH trop faible ou trop élevé) induit là encore une **dénaturation**, modifiant les **liaisons** et donc la **conformation spatiale** de l'enzyme, qui peut être là encore devenir irréversible.

Exemples :

- ° les **enzymes digestives humaines** (figure 11) présentent un optimum proche du **pH du tronçon du tube digestif** où elles agissent.



▲ 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)

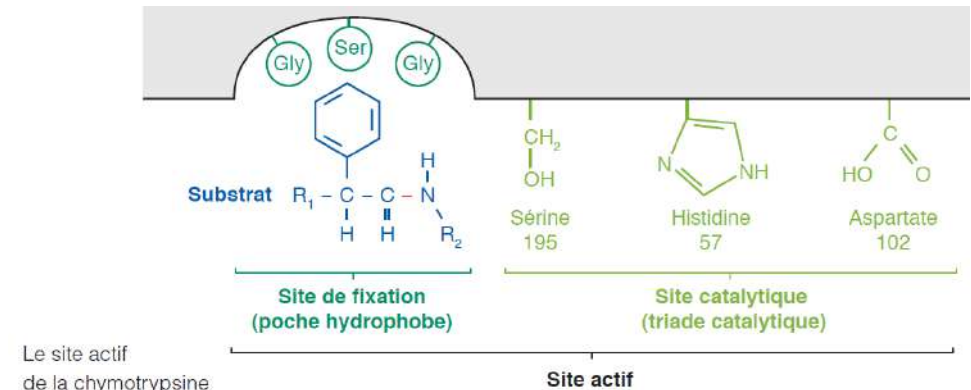
D. Des protéines interagissant avec le substrat et abaissant l'énergie d'activation de la réaction

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)

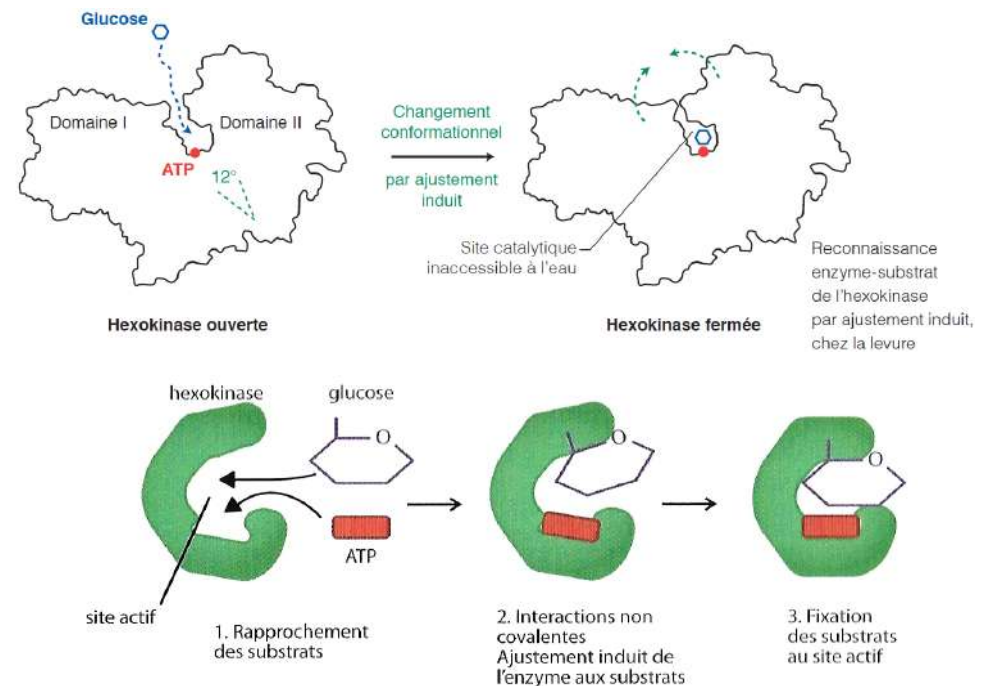
- On appelle **site actif** la partie de l'enzyme qui interagit avec le substrat ; il est **généralement réduit et cavitaire, peu accessible au solvant**.
- Le **site actif** est généralement **une encoche ou un sillon dont la forme est complémentaire de celle du substrat** : on parle alors de **modèle clef-serrure (modèle de FISCHER)**.
- Il arrive souvent qu'on y différencie (figure 13) :
 - le **site de fixation** qui est la **partie du site actif correspondant aux acides aminés fixant le substrat sur l'enzyme** ;
 - le **site catalytique** qui est la **partie du site actif correspondant aux acides aminés dont l'interaction avec le substrat permet la catalyse enzymatique**.

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



▲ 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)



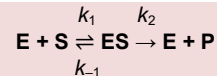
▲ FIGURE 14. Complémentarité enzyme-substrat et ajustement induit (hexokinase) : 2 visions.
D'après SEGARRA et al. (2014), et DAUTEL et al. (2021)

- On constate souvent, par exemple par des études RMN, que **la fixation du substrat sur l'enzyme engendre une légère modification de la conformation (= transconformation) de l'enzyme, notamment un resserrement du site actif autour du substrat** : c'est l'**ajustement induit** (modèle de KOSHLAND) (figure 14).

2. Le déroulement de la réaction enzymatique

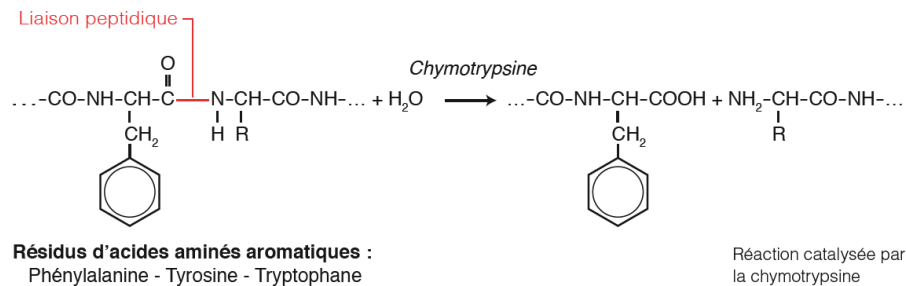
a. Une fixation réversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique catalysée généralement irréversible

- La **catalyse enzymatique** passe donc par **la formation transitoire (et réversible) d'un complexe enzyme-substrat qui aboutit à la réaction chimique et à la dissociation finale du produit** (figures 15-16).
- 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.

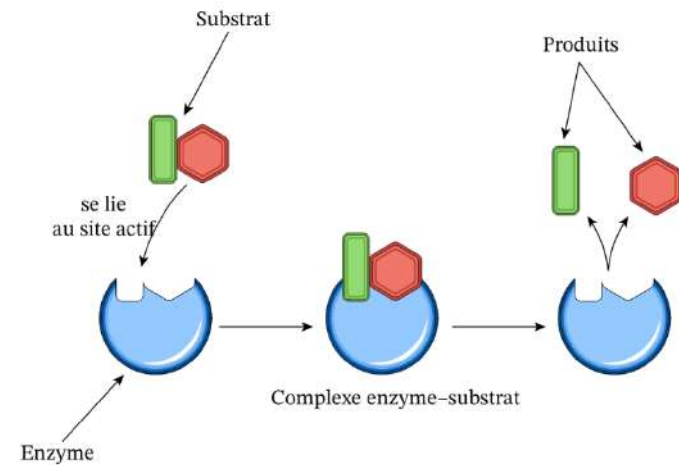


Schéma illustrant la structure d'une enzyme, dont son site actif auquel une molécule de substrat se lie pour former un complexe enzyme-substrat. Une fois la réaction achevée, les produits sont libérés du site actif.

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

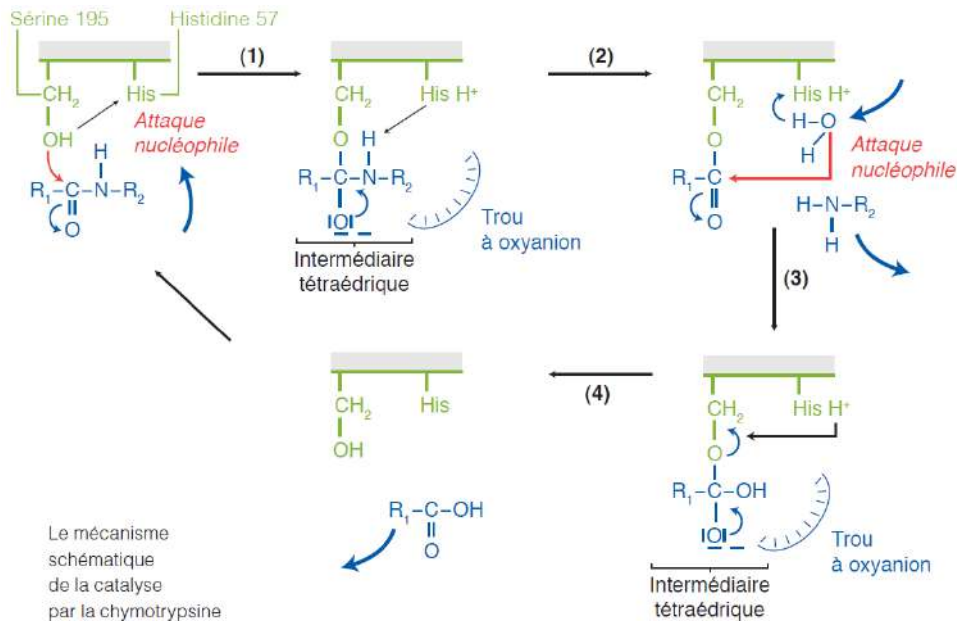
Remarques sur la réversibilité des réactions enzymatiques

- 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 $\text{ES} \rightarrow \text{P}$ 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** :

$$\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \xrightleftharpoons[\text{anhydrase carbonique}]{\text{anhydrase carbonique}} \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \text{ dans les deux sens}$$

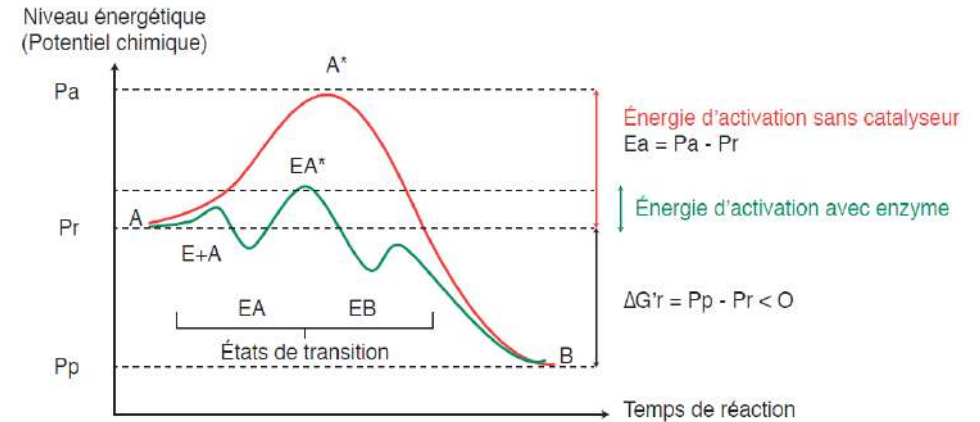
b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation



Seules la sérine 195 et l'histidine 97 du site catalytique sont représentées.
L'aspartate chargé négativement n'intervient que pour stabiliser l'histidine protonée, 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)

- Une **réaction enzymatique** est en réalité **découpée en plusieurs étapes** par l'enzyme, produisant des **molécules transitoires** qu'on peut appeler **états intermédiaires** ou **de transition** (figure 17); cela permet d'abaisser l'**énergie d'activation** de la réaction globale, c'est-à-dire **l'énergie nécessaire à la réalisation de la réaction** (figure 18).



▲ 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...)

- L'**activité enzymatique** peut être par exemple étudiée par :
 - La **diffraction aux rayons X** permettant de comprendre l'**organisation tridimensionnelle** de l'enzyme et son éventuel **changement de conformation** suite à la fixation du **substrat**, d'un **inhibiteur**...
Revoir le chapitre 8 (constituants chimiques du vivant)
 - La **résonance magnétique nucléaire (RMN)** qui permet une **étude** encore plus **fine** des **changements de conformation**, des **états de transition** et des **étapes** de la catalyse ;

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.

- La **mutagenèse dirigée** permet aussi d'identifier les **acides aminés stratégiques**, par exemple ceux du **site actif** (exemple : figure 19).
Revoir les méthodes d'étude du génome dans le chapitre 12 (méthodes d'étude et organisation des génomes)

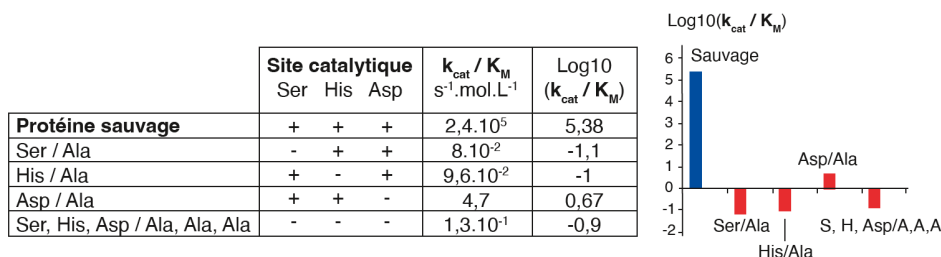
...

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



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.

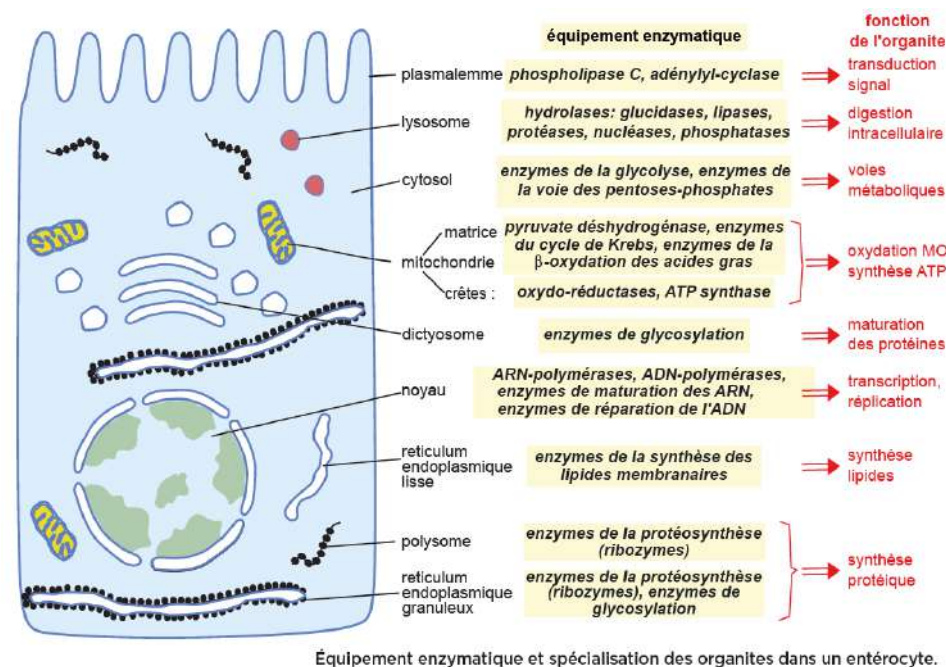
▲ FIGURE 19. Une expérience de mutagenèse dirigée. D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

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

- Dans les **cellules eucaryotes**, on note une **compartimentation** autorisant la **spécialisation des compartiments** qui est permise par la **séparation spatiale** de différents **milieux réactionnels** par des **membranes** (figure 20). Il est alors possible d'y **contrôler la composition**, y compris la **quantité de substrat** présent, la **quantité d'enzymes**...
- On peut préciser que, dans les **organites pluricompartimentés** (appareil de GOLGI, mitochondrie, chloroplaste...), les **divers compartiments** présentent eux-mêmes chacun une **spécialisation**.

Et chez les Bactéries ? Nous avons déjà noté (chapitre 6) une ébauche de compartimentation chez les **Bactéries Gram** – avec le **périplasma** ; chez les **Cyanobactéries**, on note en outre la présence de **thylakoïdes**.



▲ 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)

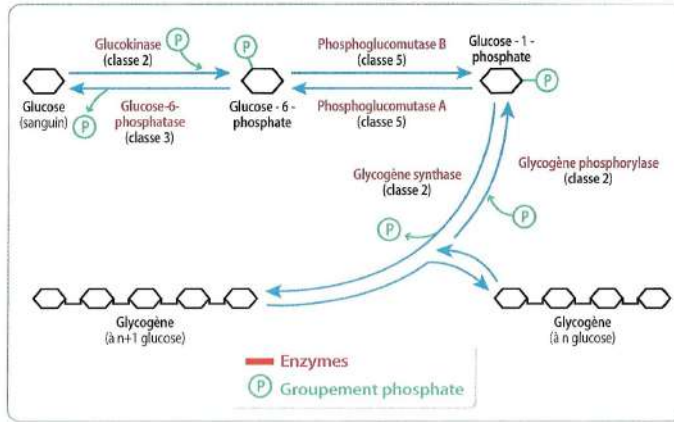
2. Entre cellules : une spécialisation largement permise par la nature des enzymes exprimées qui participe à la différenciation cellulaire

- D'une **cellule** à une autre, même si des **enzymes** sont **ubiquistes**, l'**appareil enzymatique** diverge, y compris au sein d'un **même compartiment cellulaire** : la figure 21 (page suivante) illustre cette idée au travers du **métabolisme hyaloplasmique du glucose** dont les **enzymes** sont diversement représentées en fonction du **type cellulaire** considéré.
- On comprend dès lors que l'**appareillage enzymatique** participe de la **spécialisation structurale et fonctionnelle d'une cellule**, c'est-à-dire de sa **différenciation**.

3. En lien avec des sécrétions cellulaires

- Dans les **lumières** (par exemple, le **tube digestif** mammalien) ou à l'**extérieur des organismes**, des **exoenzymes** sont **sécrétées**, ce qui tend à **spécialiser biochimiquement** des **petites portions de l'environnement** au contact immédiat d'un **organisme**.

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 / Hexokinase	✓	✓	✓	✓
Glucose-6-phosphatase	✓	×	×	×

✓ = présence ✗ = absence

b. L'équipement enzymatique de différentes cellules

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

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

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

- On distingue classiquement **deux types d'enzymes** en fonction de leur **cinétique** : les **enzymes michaeliennes** et les **enzymes allostériques**.

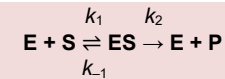
Capacités exigibles

- ✓ **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 stœchiométrique.

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

- Lorsqu'une **réaction chimique** a lieu (figure 23) :
 - la **vitesse** est **maximale** au **début de la réaction** puis **s'amenuise** au fur-et-à-mesure du **temps** jusqu'à devenir **nulle**, lorsque tout le **réactif** est **consommé**.
 >> En enzymologie, on utilise donc la **vitesse initiale de réaction**.
 - de même, le **substrat** tendant à être **progressivement consommé** par la **réaction enzymatique** jusqu'à **épuisement**, seules les **concentrations initiales en substrat** peuvent être **contrôlées** expérimentalement.

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

- La **cinétique enzymatique** est donc généralement **représentée graphiquement** par la **vitesse initiale de réaction en fonction de la concentration initiale en substrat** pour une **concentration en enzymes fixée** (figures 23-24).

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**.

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

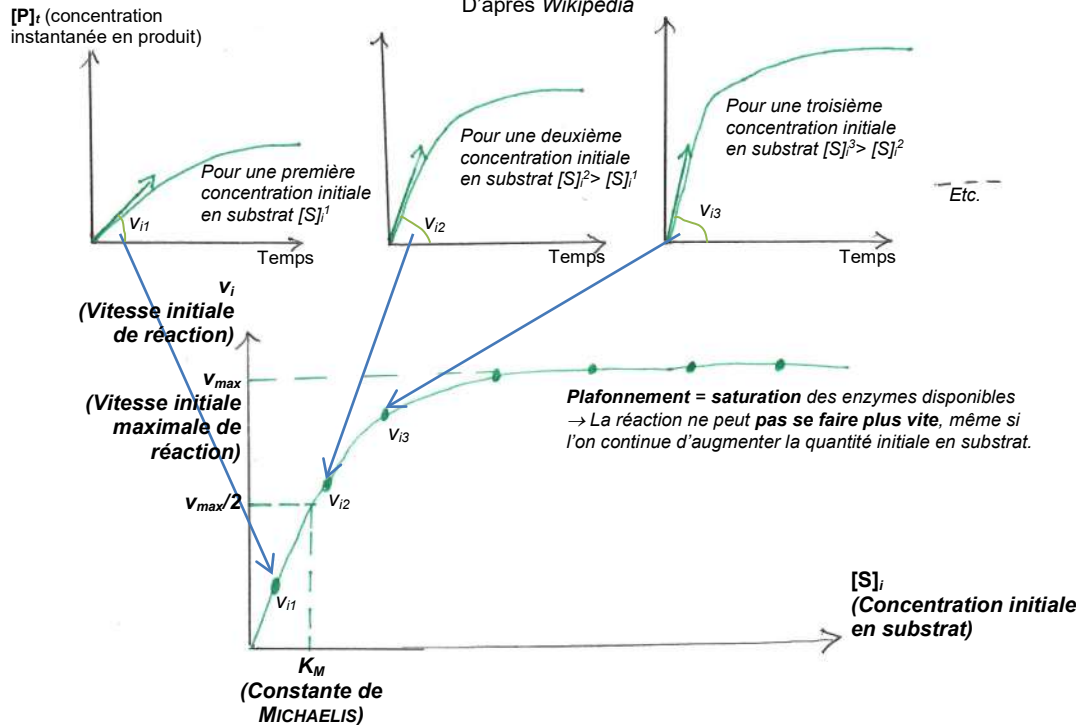
Voir le TP SV E (Caractérisation d'une enzyme)

- 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.

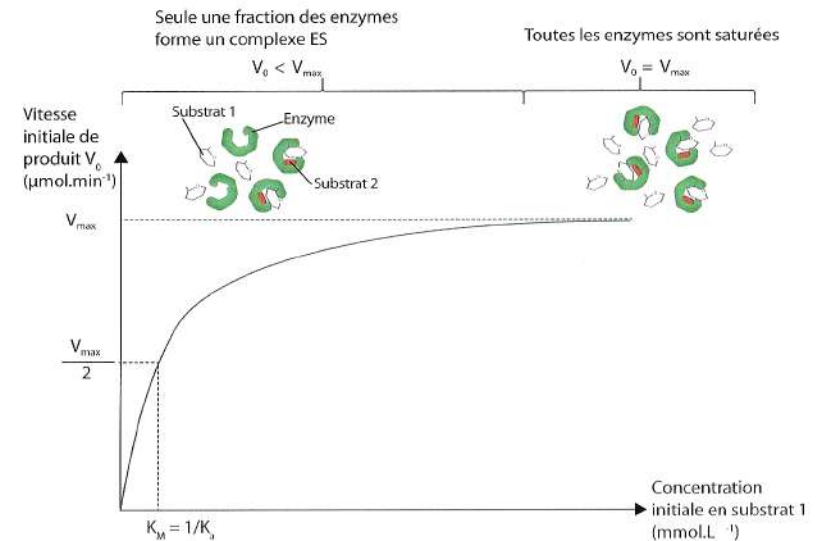


▲ FIGURE 22. **Leonor MICHAELIS, Maud MENTEN et Victor HENRI.**

D'après Wikipédia



▲ 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)

(!) 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

- Expérimentalement, les **enzymologistes** réalisent le **suivi cinétique** des **réactions** en dosant la **quantité de produit formé** (ou bien la quantité de **réactif consommé**, cela revient au même mais la courbe a une **évolution symétrique** : voir **figure 25** **âges suivante** pour les **concentrations instantanées** de E libre, ES, S et P) en fonction du **temps**. La **pen**te de la **tangente en 0** correspond à la **vitesse initiale** de réaction.
- Cette **manipulation** est alors **réalisée** pour **diverses concentrations initiales en substrat** (figures 23, 25).

Comment suivre une réaction enzymatique ?

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

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

- On **reporte** ensuite les **valeurs de vitesses initiales** en fonction des **concentrations initiales en substrat** dans un **graphe** et l'on obtient **finale**ment la **courbe** $v_i = f([S]_i)$ (figures 23, 24, 25).

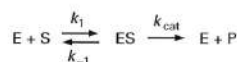
POURQUOI ANALYSER LA CINÉTIQUE DES ENZYMES ?

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 :

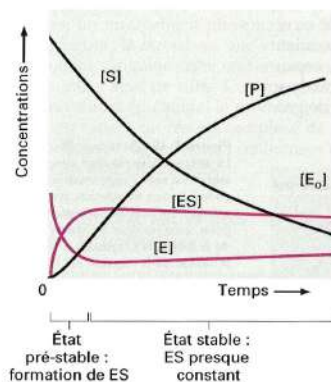


Dans ce cas, nous considérons que la réaction inverse, au cours de laquelle $E + P$ se recombinaient pour former EP puis ES , se produit si rarement que nous pouvons l'ignorer. Nous pouvons donc exprimer la vitesse de la réaction, V , par :

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

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

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

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 :

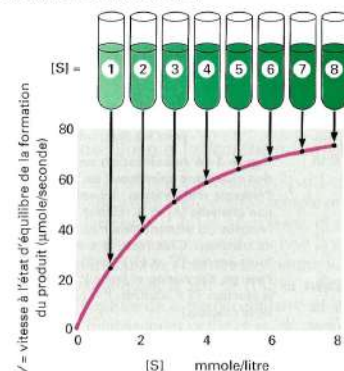
$$V = \frac{k_{cat} [E_0][S]}{K_m + [S]}$$

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 :

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

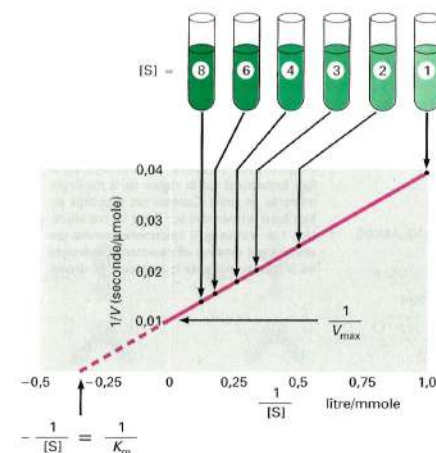
LA REPRÉSENTATION EN DOUBLE INVERSE

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	$1,4 \times 10^5$	9×10^{-6}	$1,6 \times 10^9$
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1	4×10^7
Fumarase	Fumarate	8×10^3	5×10^{-3}	$1,6 \times 10^6$

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).

- Dans le cas d'une **enzyme michaelienne**, on observe une **courbe d'allure hyperbolique qui plafonne à une vitesse initiale maximale de réaction $v_{\max}$, même si l'on continue d'augmenter la concentration initiale en substrat** (figures 23-25) ; c'est le phénomène de **saturation** de l'enzyme : **à un instant donné, tous les sites actifs sont occupés par du substrat et la réaction ne peut pas se dérouler plus vite**.

- La courbe obtenue s'appelle **courbe de MICHAELIS-MENTEN**, de même que l'**équation** qui permet de la modéliser (figure 23-25).

Démonstration et développements mathématiques : cf. cours de chimie

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

a. Notion de K_M et lien avec l'affinité

- On définit le **K_M (constante de MICHAELIS-MENTEN)** qui correspond à la **concentration initiale en substrat pour laquelle la vitesse initiale de réaction est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale de réaction $v_{\max}$** .
- Plus le **K_M est grand**, plus l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est **faible** (k_2 étant généralement petit devant k_{-1}) :

K_s : constante de dissociation du complexe ES

Affinité de l'enzyme pour son substrat

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

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

En considérant que $k_{-1} \gg k_2$ (dissociation du complexe E-S en E et S plus qu'en E et P), on peut dire que K_M est l'inverse de la constante d'affinité de l'enzyme pour son substrat. **Plus K_M est petite plus l'affinité de l'enzyme pour son substrat est grande**. C'est l'étude conjointe du K_M et de l'activité catalytique d'une enzyme qui permet de décrire et de comparer le fonctionnement de différentes enzymes entre elles.

D'après SEGARRA et al. (2014)

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

- À **quantité d'enzymes fixe** dans le **milieu réactionnel**, plus la **concentration initiale en substrat augmente**, plus la **vitesse initiale de la réaction catalysée par l'enzyme augmente**.
- Le processus présente toutefois une **saturation** : à partir d'une **certaine concentration initiale en substrat**, la **vitesse plafonne** à une **vitesse maximale** (notée v_m ou $v_{\max}$, très rarement $v_i^{\max}$ ou v_i^m).

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

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

Voir la **démonstration** en cours de chimie



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

v_i : **vitesse initiale de réaction** (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;

$v_{\max}$: **vitesse initiale maximale de réaction** (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;

$[S]_i$: **concentration initiale en substrat** (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)* ;

K_M : **constante de MICHAELIS** ; c'est une concentration (typiquement en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)*.

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

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

Vraie équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)

Pour la petite histoire, **MICHAELIS & MENTEN (1913)** avaient défini une constante de dissociation $K_s = k_{-1} / k_i$. Le **K_M** (appelé **constante de MICHAELIS** en hommage) = $(k_2 + k_{-1}) / k_i$ a en réalité été introduit par les Britanniques George E. BRIGGS (1893-1985) et John B. S. HALDANE (1892-1964) et c'est donc l'**équation de BRIGGS-HALDANE (1925)** qu'on appelle aujourd'hui **équation de MICHAELIS-MENTEN** ! Il est vrai que, si $k_2 \ll k_{-1}$ (cas très majoritaire), K_s et K_M sont **proches**, mais on peut aussi employer de manière différenciée ces constantes quand on fait de la cinétique enzymatique fine.

Remarques :

° À **basse concentration initiale** en substrat : $[S]_i \ll K_M$

⇒ $v_i \approx (v_{\max} / K_M) \cdot [S]_i = \text{cte} \cdot [S]_i$

⇒ v_i est donc une fonction linéaire de $[S]_i$ (**tangente à l'origine**)

° À **très forte concentration initiale** en substrat : $[S]_i \gg K_M$

⇒ v_i tend vers $v_{\max}$ (**asymptote horizontale : saturation**)

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

- Pour déterminer rigoureusement les **principales constantes** (K_M et $v_{\max}$), il peut être judicieux d'utiliser des **représentations linéarisées** de la **cinétique enzymatique**.

Des **régressions non linéaires** sont aujourd'hui **appliquées informatiquement** pour trouver le **plus fiablement possible** ces **constantes**.

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

- À partir de l'équation de MICHAELIS-MENTEN, on obtient l'équation de **linéarisation en double inverse**, dite de **LINEWEAVER-BURK** (figure 26) :

par Hans LINEWEAVER (1936-2007) & Dean BURK (1904-1988), Américains

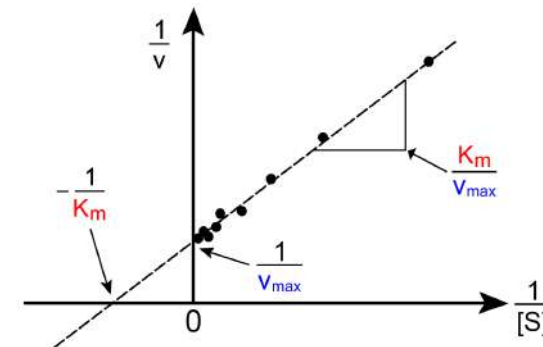
$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M + [S]_i}{v_{\max} [S]_i} = \frac{K_M}{v_{\max}} \frac{1}{[S]_i} + \frac{1}{v_{\max}}$$



° 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 $1/[S]$** , de sorte que les **mesures les plus précises** seront **concentrées** dans la **même zone du graphe** (voisins 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

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

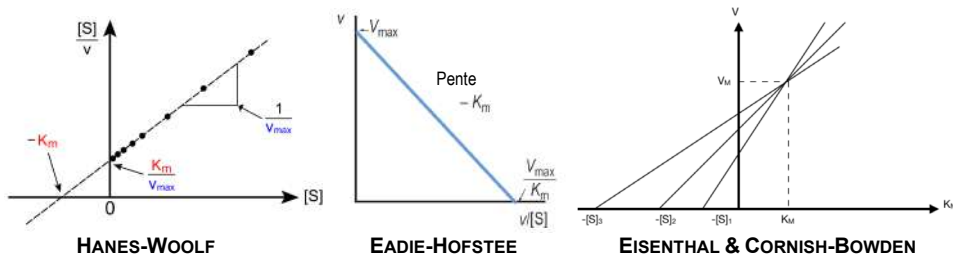
- Ordonnée à l'origine : $v_{\max}$
- Abscisse à l'origine : $v_{\max} / K_M$
- Pente : $-K_M$

- 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

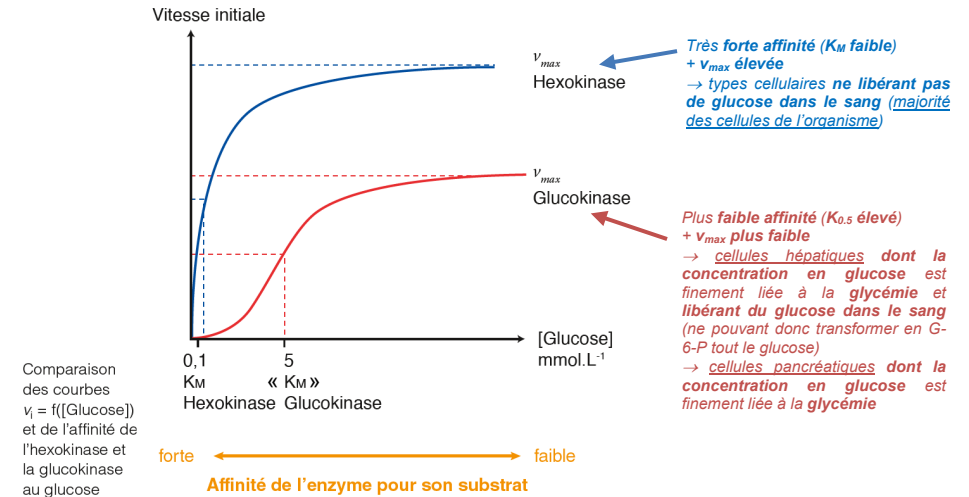
Dans les faits, les droites ne croisent pas exactement mais se rejoignent dans un petit rectangle dont on considère le milieu.



▲ 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).

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

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

- L'**hexokinase** (dont il existe, dans le détail, **diverses versions**) qui est une **enzyme de la glycolyse présente dans presque tous les types cellulaires, y compris les cellules musculaires où elle intervient en plus dans la glycogénogenèse**.
- La **glucokinase** catalysant la même réaction dans les **cellules du foie et les cellules du pancréas (entre autres) d'où l'hexokinase est absente**.

- Les **différences** sont les suivantes (figures 28-29) :
 - La **glucokinase** a une **affinité plus faible** (« K_M » plus élevé) pour le **glucose** que l'hexokinase. Cela permet à la glucokinase d'adapter son activité à la **disponibilité en glucose dans la cellule** – qui elle-même dépend de la **disponibilité en glucose dans le sang**. **À l'inverse, l'hexokinase a tendance à métaboliser indifféremment tout le glucose disponible**.
 - La glucokinase n'est **pas inhibée** par le **produit** de la réaction (G-6-P), **contrairement à l'hexokinase**. Le **seul paramètre** influant sur son **activité** – et donc ici sur la **glycogénogenèse** ou la **glycolyse** qu'elle initie – est donc bien la **quantité de glucose disponible**.

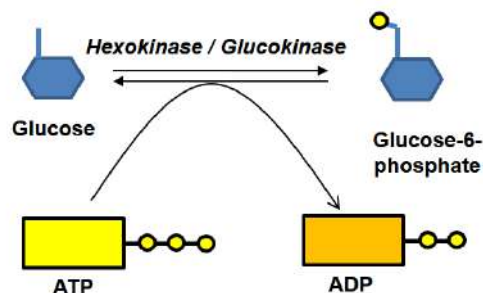
Encadré A Kinases, phosphorylases, phosphatases (enzymes et groupements phosphates)

➤ 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)

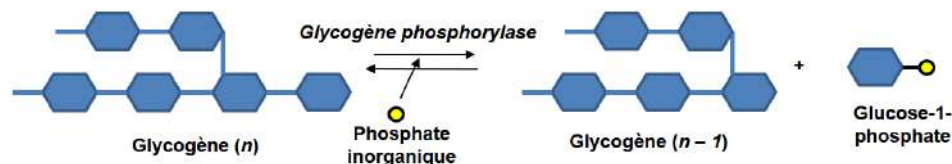
➤ Une **kinase** est une enzyme qui catalyse une **phosphorylation**, c'est-à-dire le transfert d'un groupement phosphate depuis un nucléotide triphosphate – l'ATP le plus souvent – vers un autre substrat ou une protéine.

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



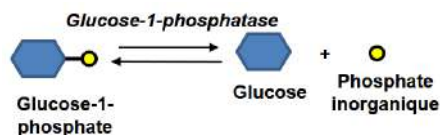
Les phosphorylases (> phosphorylyse)

➤ Une **phosphorylase** est une enzyme qui catalyse une **phosphorylyse**, 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).

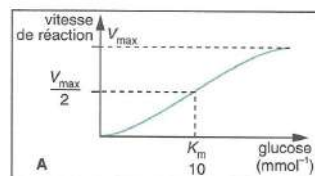


Fig. A – Vitesse de réaction de la glucokinase.

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 .

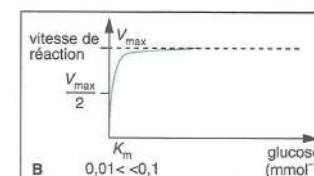


Fig. B – Vitesse de réaction de l'hexokinase.

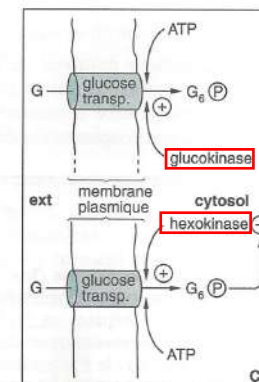


Fig. C – Comparaison de l'action des deux enzymes.

▲ 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 **rare 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

- On peut appeler **constante catalytique k_{cat}** le **rapport $v_{max} / [E]$ qui est égal à k_2 aussi notée k_{cat} , correspondant au nombre d'actes catalytiques réalisés en une seconde (grandeur exprimée en s^{-1})**.
⇒ C'est donc la **fréquence à laquelle l'enzyme réalise l'acte catalytique**.
- La **caractérisation fine de l'efficacité d'une enzyme** suppose de faire une **balance** entre :
 - Sa **fréquence de catalyse**, estimée par le k_{cat} .
 - Son **affinité pour le substrat**, estimée par le K_M .
- On peut donc définir l'**efficacité catalytique (k_{cat}/K_M)** ou **constante de spécificité d'une enzyme** (tableau III : exemple) comme **le rapport k_{cat}/K_M qui quantifie la probabilité d'une catalyse à faible concentration : plus ce rapport est élevé, plus cela indique qu'une catalyse est fréquente même à faible concentration**.

▼ TABLEAU III. **Comparaison de l'efficacité catalytique de deux enzymes.**
D'après SEGARRA, PIÈTRE *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	1,4.10 ⁴	9,5.10 ⁻⁶	1,5.10⁹
Catalase	H ₂ O ₂	1.10 ⁷	2,5.10 ⁻²	4.10⁸

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

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

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

* Quelques **rares exceptions**, comme la **glucokinase** !

1. Rappels de la notion d'allostérie

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

- Les **protéines allostériques**, au sens originel de MONOD *et al.* (1965), sont des **protéines oligomériques (= de structure quaternaire) avec un effet coopératif entre sous-unités lors de la fixation d'un ligand sur une sous-unité ou lors de son départ**. La **coopérativité entre les sous-unités** peut se définir comme l'idée que **le changement de conformation d'une sous-unité entraîne le changement de conformation des autres sous-unités**.

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

b. La notion moderne de l'allostérie : la 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)

- On peut appeler **effecteur allostérique** toute **molécule qui se fixe sur un site propre de la protéine (généralement différent du site de fixation du ligand principal) et qui modifie la conformation de la protéine et donc son affinité pour le ligand principal**.
- Initialement** réservé aux seules **protéines à fonctionnement coopératif**, on admet **désormais** que ce terme est **applicable à toute protéine, y compris monomérique**. On peut alors définir l'**allostérie** au sens moderne comme **la capacité d'une protéine à modifier sa conformation et son affinité pour un ligand (le ligand principal) suite à la fixation d'un autre ligand (l'effecteur allostérique) sur un site distant (nommé site effecteur)**.

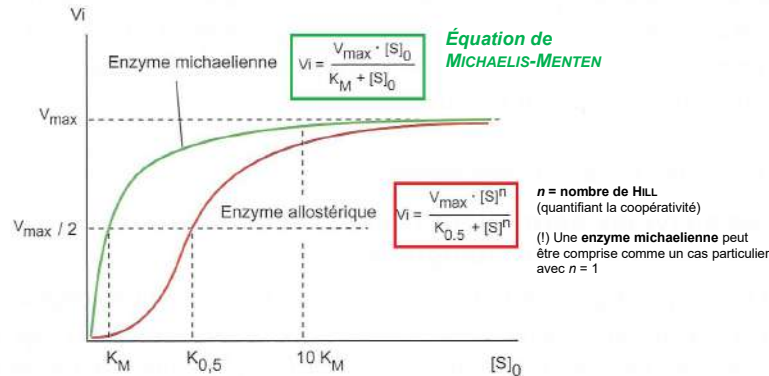
Une **excellente synthèse**, limpide et efficace, sur la complexité du **concept d'allostérie** et son **évolution historique** est donnée par LIU & NUSSINOV (2016).

2. Une cinétique d'allure sigmoïde

- Nous l'avons compris, les **enzymes allostériques** sont donc des **protéines catalytiques de structure quaternaire dont les sous-unités coopèrent : la fixation du substrat sur une sous-unité engendre une modification de la conformation et donc de l'affinité pour le substrat des autres sous-unités**.
- La **cinétique** présente alors une **allure sigmoïde** (figure 30-32).

a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique

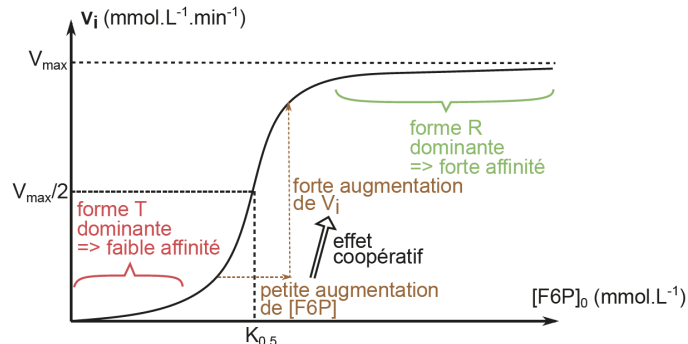
- Comme pour les **enzymes michaeliennes**, on produit la courbe $v_i = f([S]_i)$ à partir de multiples mesures de **vitesse initiales** pour des **concentrations initiales en substrats** variées, avec une **quantité d'enzyme fixe**.
- On obtient une **courbe d'allure sigmoïde** (figures 30-32), caractéristique des **enzymes allostériques** (ex. PFK1).



Variation de la vitesse initiale (V_i) en fonction de la concentration en substrat

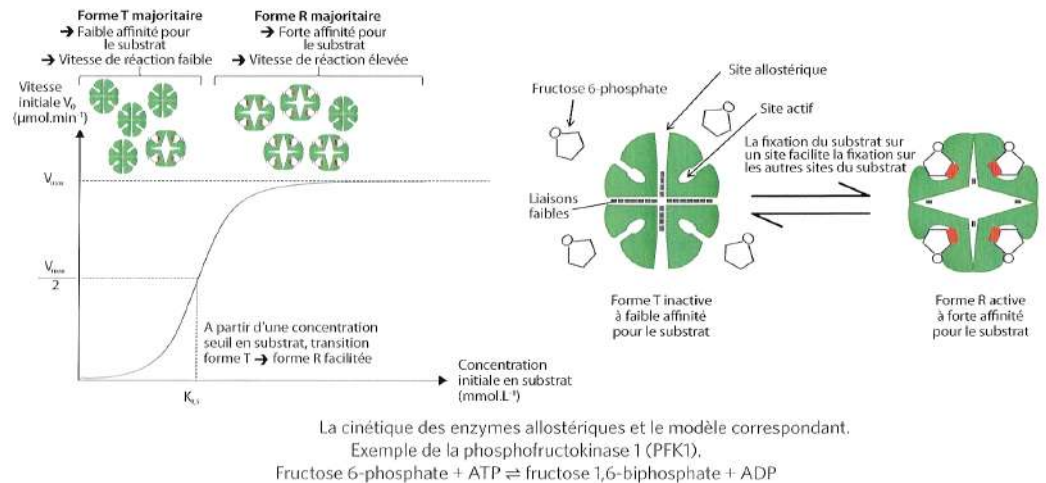
$V_{\max}$: vitesse initiale maximale de la réaction ; K_M : constante de Michaelis-Menten, concentration en substrat pour laquelle la vitesse de la réaction égale $V_{\max}/2$; $K_{0,5}$: constante à demi saturation définie pour les enzymes allostériques, équivalente du K_M .

▲ 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).



▲ 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

- On définit le $K_{0,5} = K_{0,5} = K_{50}$ qui correspond à la **concentration initiale en substrat pour laquelle la vitesse initiale de réaction est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale de réaction $v_{\max}$** ; ce $K_{0,5}$ se situe précisément au niveau du **point d'inflexion de la sigmoïde**.
- Plus le $K_{0,5}$ est **grand**, plus l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat est **faible**.

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

- À **quantité d'enzymes fixe** dans le **milieu réactionnel**, plus la **concentration initiale en substrat augmente**, plus la **vitesse initiale de la réaction** catalysée par l'enzyme **augmente**, **comme dans le cas des enzymes michaeliennes**.
- Le processus présente là encore une **saturation** : à partir d'une **certaine concentration initiale en substrat**, la **vitesse plafonne** à une **vitesse maximale** (notée v_m ou $v_{\max}$, très rarement $v_i^{\max}$ ou v_i^m).

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

- La **cinétique enzymatique** des **enzymes à fonctionnement coopératif** peut être modalisée par la relation suivante :

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

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 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)* ;
 $[\text{S}]_i$: **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 **employés**.

- 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 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

- On considère que **chaque sous-unité existe sous deux conformations extrêmes** :
 - Une **forme T (tendu = tense)**, à **faible affinité pour le substrat**.
 - Une **forme R (relâchée = relaxed)**, à **forte affinité pour le substrat**.

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

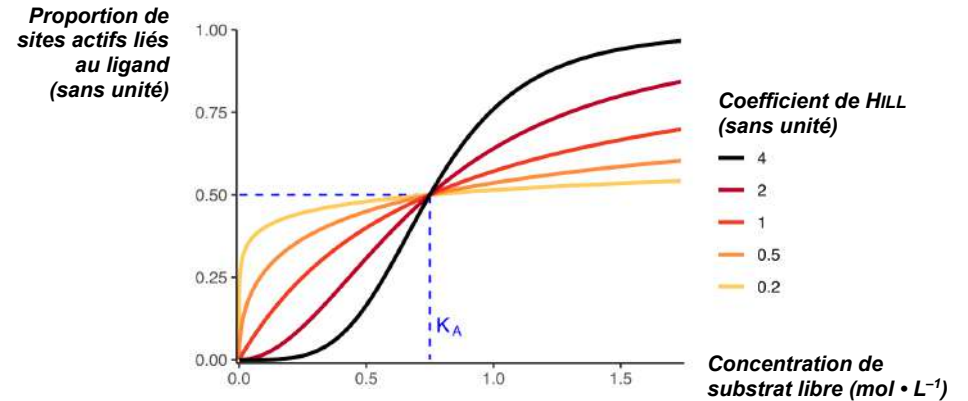
b. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action du substrat (ligand principal) sur les autres sites actifs de l'enzyme : l'effet homotrope

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

- On peut appeler **effet coopératif**, **réponse homotrope** ou **effet homotrope** le fait que la **fixation d'un substrat sur le site actif d'une sous-unité favorise la fixation de ce substrat sur le site actif des autres sous-unités**. Cet effet est **forcément positif**.
- L'effet « **négatif** » est dit **anticoopératif** : il y a **anticoopérativité** (le terme « **effet homotrope négatif** » ne semble pas s'employer) quand la **fixation d'un substrat sur un site actif ($\rightarrow R$) entraîne une baisse d'affinité des autres sites actifs pour le substrat ($\rightarrow T$). Cette situation semble plutôt **rare** chez les **enzymes**.**

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

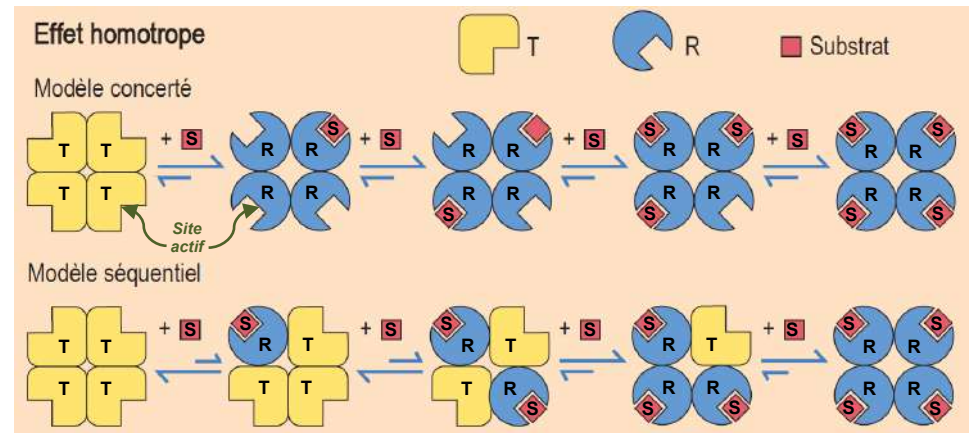
- Si $n = 1$, la **fixation du substrat sur les différents sites actifs est indépendante = non coopérative** (ex. RubisCO)... ou bien il n'y a qu'un **seul site**, comme dans les **enzymes michaeliennes**. L'équation de HILL se réduit alors à une **fixation simple**, modélisée par l'équation de MICHAELIS-MENTEN.
- Si $n > 1$, 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.



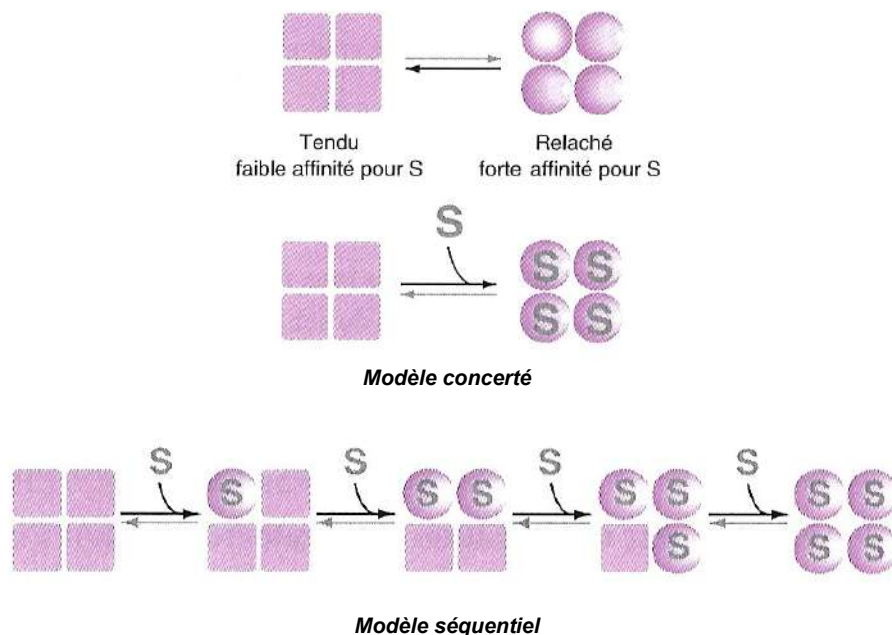
▲ FIGURE 33. **Coefficient de HILL et coopérativité**. D'après Wikipédia
 K_A est la **concentration en substrat produisant une occupation de 50 % des sites actifs**.

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

- Deux modèles expliquant l'effet homotrope ont été proposés dans les **années 1960 (figures 34-35)**.



▲ 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

- Proposé en 1965 par le Français **Jacques MONOD** (1910-1976), l'Américain **Jeffries WYMAN** (1901-1995) et le Français **Jean-Pierre CHANGEUX** (1936) (figure 36) qui l'a décrit dans sa thèse, le **modèle concerté** stipule que *toutes les sous-unités à l'échelle d'une enzyme sont simultanément sous la même conformation – soit T, soit R – même si, sur l'ensemble des enzymes d'un mélange, un équilibre enzymes R / enzymes T est constaté ; à l'échelle d'une enzyme, la transition allostérique se fait donc en bloc.*

La présence de substrat déplace l'équilibre vers la forme R alors que son absence déplace l'équilibre vers la forme T.



▲ 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

- Proposé par l'Américain **Daniel E. KOSHLAND Jr.** (1920-2007) (figure 37) [également auteur du modèle d'ajustement induit] en 1966, le **modèle séquentiel** propose que, *à l'échelle d'une enzyme, la transition $T \rightarrow S$ se fait sous-unité par sous-unité, de proche en proche.*



▲ FIGURE 37. Daniel KOSHLAND. D'après Wikipédia

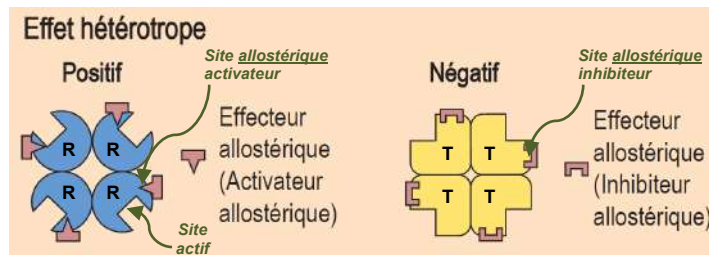
iii. Et la transition $R \rightarrow T$? Un processus largement post-catalytique

- Contrairement à d'autres interactions protéine-ligand, *les interactions enzyme-substrats aboutissent à une transformation du substrat en produit(s)*, d'où une absence fréquente de détachement du substrat de l'enzyme, à moins d'avoir été transformé en produit(s).
- Il s'ensuit que *le retour à la forme T se fait préférentiellement après catalyse*, probablement là encore de manière concertée ou séquentielle selon le modèle retenu.

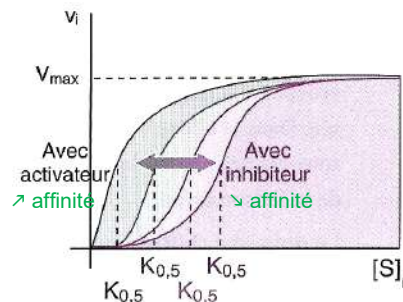
c. Une transition allostérique qui peut être contrôlée par l'action d'un ou plusieurs ligands secondaires, les effecteurs allostériques, agissant chacun sur un site effecteur (= site allostérique) différent du site actif du substrat : l'effet hétérotrope

- On parle d'**effet hétérotrope** ou de **réponse hétérotrope** (figure 34) lorsque qu'un **ligand secondaire nommé effecteur allostérique, différent du substrat, vient se fixer sur un site distant du site actif, appelé site effecteur, ce qui engendre un changement de conformation des sous-unités enzymatiques et donc une modification de l'affinité du site actif pour le substrat, vers la forme R (en cas d'activateur allostérique = **effet hétérotrope positif**) ou vers la forme T (en cas d'inhibiteur allostérique = **effet hétérotrope négatif**)**.
- Notons que (figures 38-39) :
 - Un **activateur allostérique** diminue le $K_{0,5}$, augmentant donc l'affinité ($\rightarrow$ forme R favorisée) : la courbe se déplace vers la gauche ; dans un terme extrême pas si rare, on peut même atteindre une cinétique michaelienne et abolir l'effet allostérique.
 - Un **inhibiteur allostérique** augmente le $K_{0,5}$, diminuant donc l'affinité ($\rightarrow$ forme T favorisée) : la courbe se déplace vers la droite.

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



▲ 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

- L'**activité enzymatique** est **modulable**, ce qui autorise le **contrôle du métabolisme**, qu'il s'agisse de **réactions cataboliques** (dégradations de matière organique générant de l'énergie) ou **anaboliques** (synthèses).

Capacités exigibles

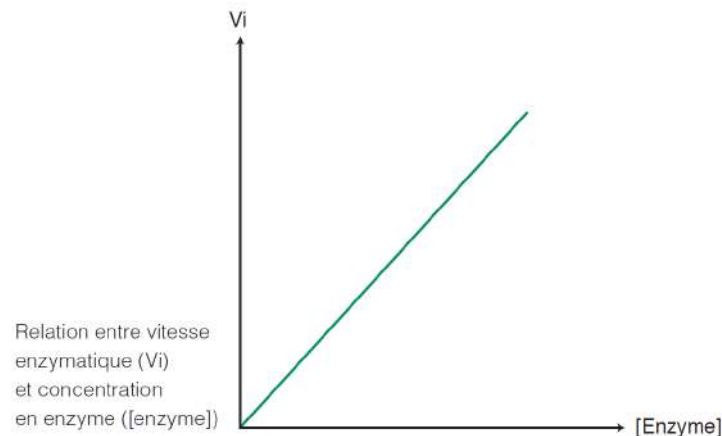
- ✓ **Comparer** les effets des inhibiteurs compétitif et non compétitif sur les paramètres cinétiques d'une enzyme michaelienne.
- ✓ **Argumenter**, sur un exemple, la diversité des effecteurs allostériques et de leurs effets.

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)

- À **concentration initiale en substrat fixée**, **plus il y a d'enzymes dans le milieu**, **plus la vitesse initiale de réaction enzymatique est importante** (figure 20).
(!) La relation entre v_i et $[E]$ est **linéaire**.

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

- La **concentration en enzymes** dépend elle-même de l'**expression génétique** et de l'**adressage protéique** :
 - Le **gène** doit être présent dans le **génome** ;
 - Le **gène** doit être **exprimé** dans cette **cellule**, donc sous le joug de **régulations génétiques** (chromatinienne, transcriptionnelle, post-transcriptionnelle...) qui induisent son **expression**.

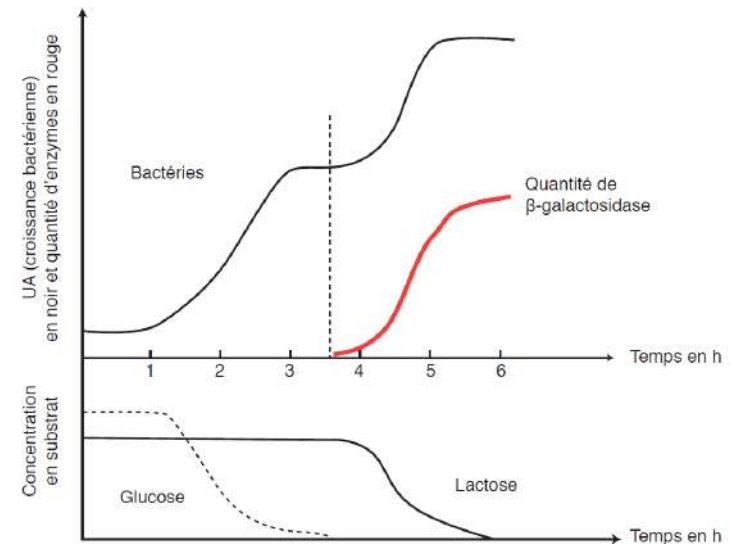
Voir le chapitre 15 sur le **contrôle de l'expression génétique**

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

- L'**expression génétique** peut être influencée par :
 - Des **signaux d'origine extracellulaire**. Exemples : **hormones stéroïdes animales**, gène **FLC** chez les **Angiospermes**...
 - La nature des **substrats environnementaux disponibles**. Exemples : **lactose** vs. **glucose** chez les **Bactéries** agissant sur l'expression de **bêta-galactosidase** (figure 41), **enzymes** de la **glycogénogenèse** ou de la **glycogénolyse / néoglucogenèse** dans le **foie** en fonction de la **glycémie** (figure 42), **pyruvate kinase hépatique** en fonction de la **glycémie** et de la **lipidémie** (figure 43)...

Voir les chapitres consacrés de 1^e et 2^e année

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



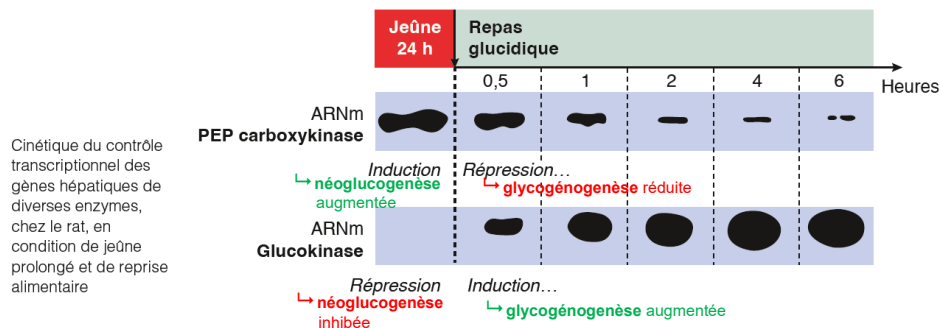
La croissance bactérienne est suivie par spectrophotométrie (UA=unité d'absorbance) en fonction du temps exprimé en heures. En parallèle sont évaluées les concentrations en glucose et lactose.

▲ 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)

- On constate (figure 41) qu'en **présence de glucose** et de **lactose**, les Bactéries utilisent dans un **premier temps** le **glucose**, ce qui permet la **croissance** de la **population** puis, **suite à l'épuisement du glucose** et un plateau de **stagnation de la croissance bactérienne**, on constate enfin l'**utilisation du lactose**, ce qui permet la **reprise de la croissance bactérienne** jusqu'à **épuisement** de ce second glucide.
- On note que l'utilisation du **galactose** est associée à la production de **β -galactosidase**, une **enzyme qui permet de produire d'hydrolyser le lactose en glucose et galactose**.

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

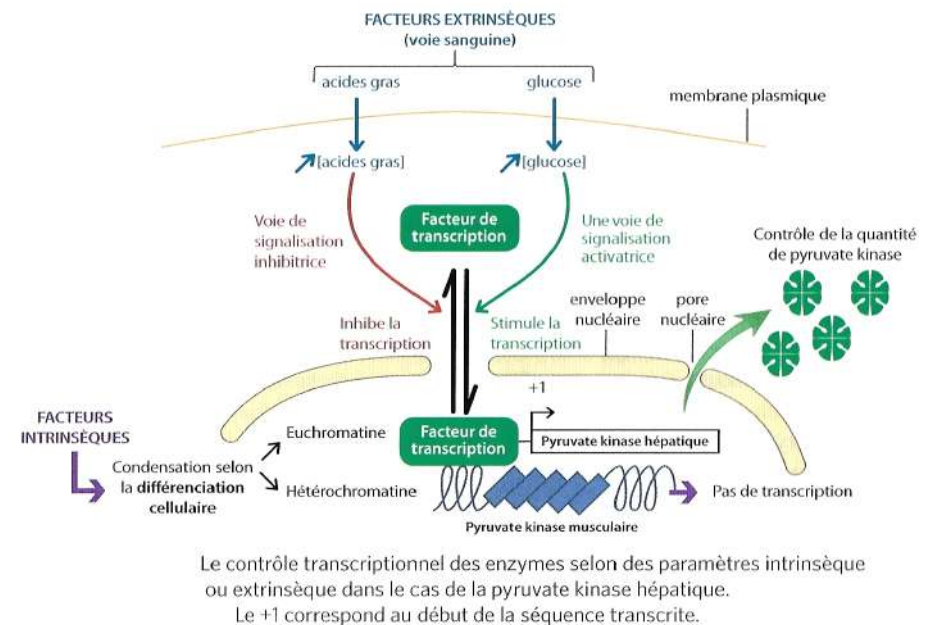


▲ FIGURE 42. **Jeûne prolongé vs. repas riche en glucides : impact sur l'expression d'enzyme de la glycogénogénèse ou de la glycogénolyse.** D'après SEGARRA, PIÈTRE *et al.* (2023)

- Chez les **Mammifères**, on constate (figure 42) qu'une **hausse de la glycémie** (par exemple **suite à un repas** riche en glucides) engendre :
 - Une **hausse** de l'expression des **enzymes de la glycogénogénèse** (ex. glucokinase, glycogène synthase...), ce qui **augmente** le **stockage hépatique de glucose**.
 - Une **baisse** de l'expression des **enzymes de la glycogénolyse** et de la **néoglucogénèse** (ex. phosphoenolpyruvate [PEP] carboxykinase), ce qui **diminue** la **mobilisation des réserves de glycogène**.
- Les **phénomènes inverses** s'observent en cas de **baisse de la glycémie** (par exemple lors d'un **jeûne prolongé**) (figure 42).

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

- On peut noter (figure 43) que :
 - La **pyruvate kinase hépatique** est une **enzyme spécifique** aux **cellules hépatiques** qui n'est **pas exprimée** dans **d'autres types cellulaires**, en conséquence d'une **différenciation** pendant laquelle la **condensation chromatinienne** s'est établie à un niveau rendant cette **zone accessible** à l'expression génétique.
 - Les **nutriments véhiculés** par le **sang** et **entrant** dans la **cellule** peuvent **activer** (ex. **glucose**) ou **inactiver** (ex. **acides gras**) un **facteur spécifique de transcription** de la **pyruvate kinase hépatique**.



▲ 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

- La **disponibilité d'un substrat** dépend en grande partie de :
 - La **disponibilité du substrat dans l'environnement**
 - Et/ou son éventuel **approvisionnement par l'organisme** dans le cas d'un **organisme pluricellulaire** ;
 - Et/ou sa **production** par une **réaction enzymatique préalable** (produite par une autre enzyme).
- L'impact de la **concentration en substrat** dans le **milieu réactionnel** est directement donné par le **courbe $v_i = f([S])$** : plus il y a de **substrat**, plus la **vitesse de catalyse** est **élevée**... jusqu'à **saturation des enzymes** où la **v_{max}** est **atteinte**.
- En général, l'**intégralité d'un substrat disponible** dans un **compartiment** tend à être **rapidement** et souvent **intégralement consommé** par la **réaction enzymatique**, sous réserve que celle-ci ne soit **pas limitée** ou **entravée** par **d'autres paramètres**, ou qu'il ne s'agisse pas d'une **réaction équilibre**.
- Notons enfin qu'un **substrat donné** peut être **métabolisé conjointement** par **plusieurs enzymes** présentes dans un compartiment à un **moment donné** : une **compétition dans l'accès au substrat** existe alors.

- La **disponibilité en ATP**, en **coenzymes** et en toute **molécule nécessaire** à la réaction enzymatique, en dehors du **substrat principal**, peut évidemment aussi **constituer** un facteur limitant de la réaction.

2. Un contrôle par la température

- Comme nous l'avons **vu plus haut** (pp. 6-7), la **température** modifie l'**activité enzymatique** :
 - Suivant la **loi d'ARRHENIUS**, et la **courbe d'activation de l'enzyme**, une **hausse de température** entraîne une **hausse de vitesse catalytique** jusqu'à un **optimum de température**.
 - Au-delà** de cet **optimum de température**, la **hausse de température** engendre une **dénaturation (potentiellement et rapidement irréversible)** des enzymes du milieu réactionnel, ce qui **diminue** progressivement leur **vitesse de catalyse** jusqu'à leur **inactivation complète**.

3. Un contrôle par le pH

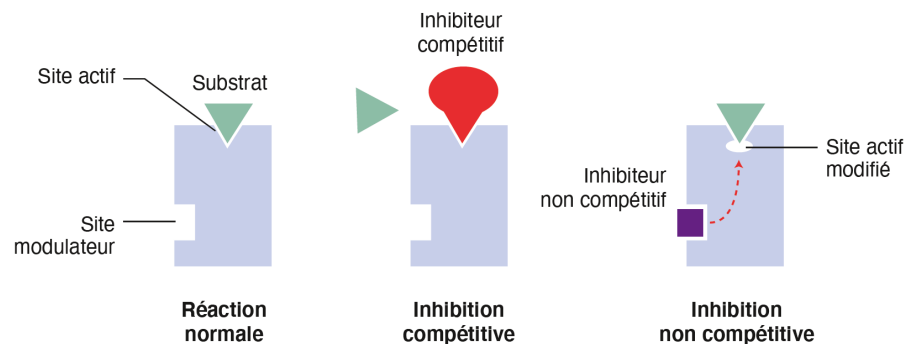
- Comme nous l'avons **vu plus haut** (pp. 6-7), le **pH** modifie de l'**activité enzymatique** : **au-dessous** comme **au-dessus** du **pH optimal**, la **modification de pH** entraîne une **modification de l'ionisation des acides aminés** et donc de la **conformation de l'enzyme** qui subit une **dénaturation** et donc une **baisse de l'activité catalytique** à mesure que l'on s'éloigne du pH optimal.

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

- Par des **interactions** généralement **faibles**, des **ligands différents du substrat** peuvent modifier la **conformation des enzymes** et donc leur **activité catalytique**.

1. L'inhibition des enzymes michaeliennes

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

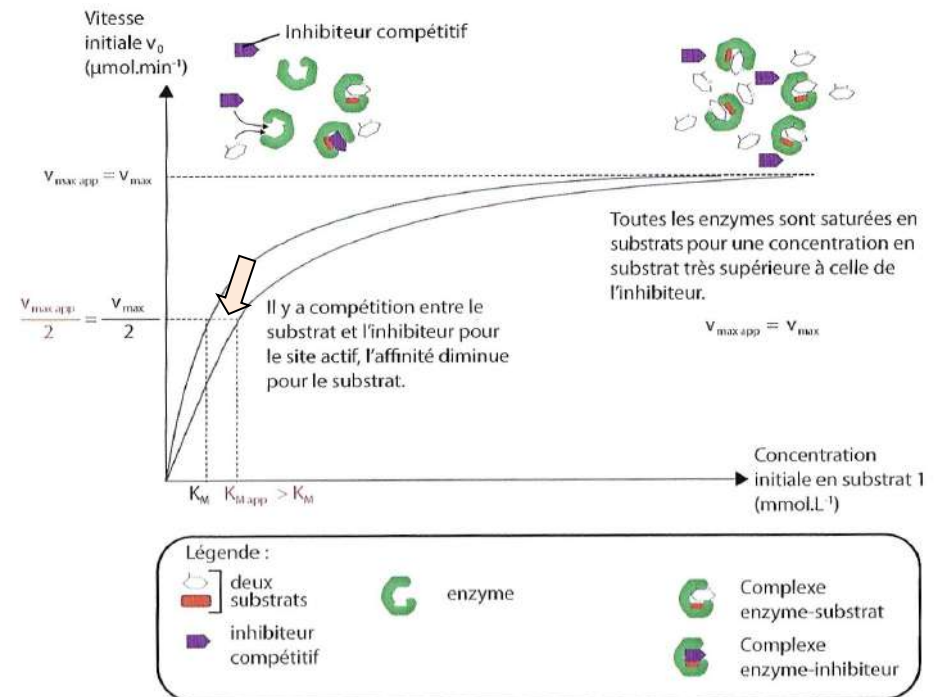


▲ FIGURE 44. **Inhibition compétitive et non compétitive d'une enzyme michaelienne.**
D'après SEGARRA *et al.* (2014)

- Un **inhibiteur enzymatique** (figure 44) est une **substance qui ralentit la vitesse de la réaction catalysée**.

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)

- Un **inhibiteur compétitif** est une **substance qui ressemble structuralement au substrat et se lie au site actif de façon généralement réversible, empêchant la liaison du substrat au site actif le temps de sa propre fixation** (figure 44) ; il s'agit souvent d'un **analogue structural du substrat**.
- Comme il y a **compétition** entre le **substrat** et l'**inhibiteur** pour le **site actif**, il s'ensuit une **baisse de l'affinité de l'enzyme pour le substrat** et donc une **augmentation du K_M** (il y a apparition d'un « nouveau » K_M dit $K_{M\text{app}}$ noté $K_{M\text{app}}$).
- En revanche, la v_{max} n'est pas modifiée (figures 45-46).



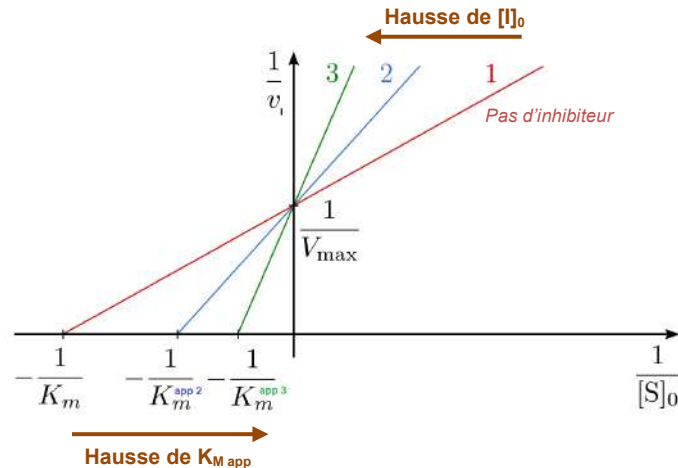
▲ FIGURE 45. **Inhibition compétitive.** D'après DAUTEL *et al.* (2021)

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

$$E + S \xrightleftharpoons[+I \downarrow]{EI} ES \rightarrow E + P \quad v_0 = \frac{V_{\text{max}}[S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

[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).



▲ 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.**

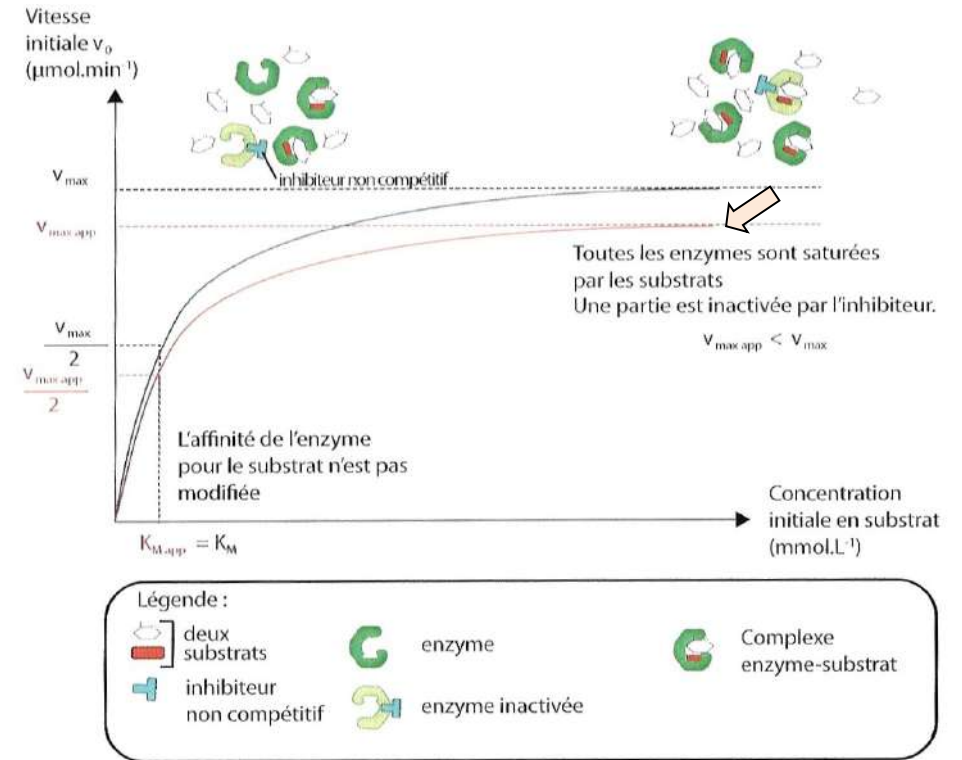
Ces **substances** sont très utilisées dans la **pharmacopée** pour **activer** ou **inactiver** des **protéines** dans le cadre de **traitements médicaux**.

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 ; $\searrow v_{\max \text{ app}}$)

- Un **inhibiteur non compétitif** est une **substance inhibitrice qui se lie de façon réversible sur un site différent du site actif, dit modulateur / effecteur / inhibiteur** (figure 44).
- Comme il y n'a pas **compétition** entre le **substrat** et l'**inhibiteur** pour le **site actif**, l'**affinité de l'enzyme** pour le **substrat** et le K_M ne sont **pas modifiés** : la fixation du substrat n'est **pas impactée** par **cette inhibition**.
- En revanche, la $v_{\max \text{ app}}$ ($v_{\max}$ **apparente**) est **diminuée** à cause d'une **altération de conformation** diminuant la **vitesse de catalyse** (figures 47-48).



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

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

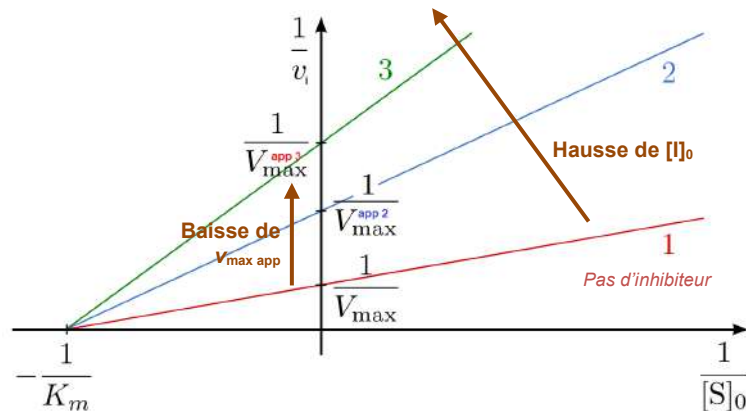
$[S]$ et $[I]$ sont évidemment des **concentrations initiales**
 K_i est la **constante d'inhibition** : il s'agit de la **concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques est occupée par l'inhibiteur**

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P \quad v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{(1 + \frac{[I]}{K_i}) [S] + K_m}$$

$$+I \downarrow \uparrow \quad \uparrow \downarrow +I$$

$$EI \rightleftharpoons ESI$$

- 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.

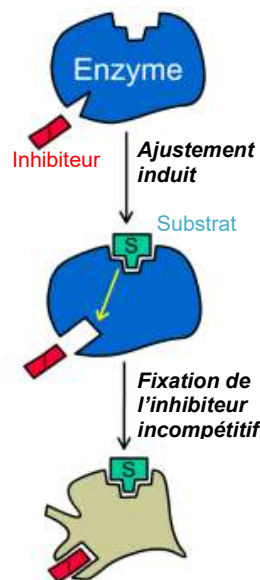
α. L'inhibition incompétitive : une fixation de l'inhibiteur à distance du site actif, sur un site du complexe ES déjà formé ($\nearrow K_{M\text{ app}}$; $\searrow V_{\text{max app}}$)

- 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).

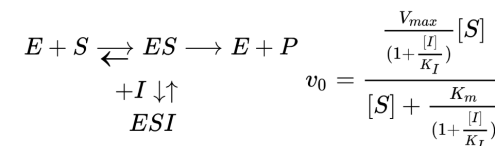
- Ce type d'inhibition conduit à (figure 50) :
 - Une **hausse** de l'affinité (oui, oui) soit une **baisse** du $K_{M\text{ app}}$, car la formation du complexe enzyme-substrat-inhibiteur ESI diminue le nombre de complexes ES et favorise la liaison du substrat sur l'enzyme.
 - Une **baisse** de la $v_{\text{max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



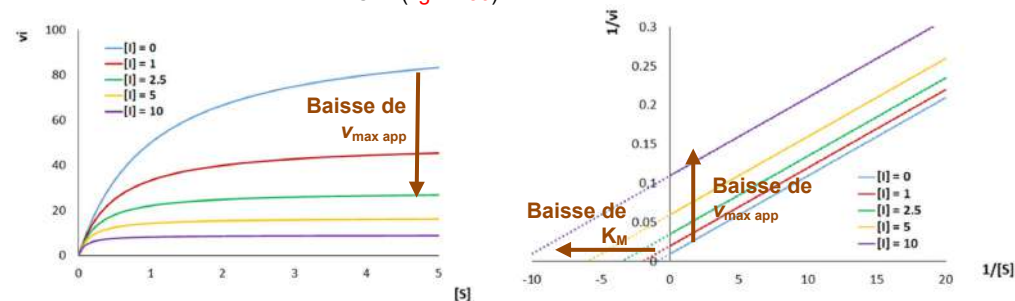
➤ FIGURE 49. Modèle de fonctionnement d'un inhibiteur incompétitif. D'après Wikipédia

- 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**



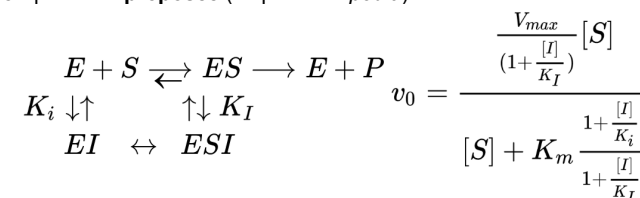
- Il peut être utile de **savoir reconnaître** ce type d'inhibition, aussi bien en **représentation de MICHAELIS-MENTEN** qu'en représentation en **double inverse de LINEWEAVER-BURK** (figure 50).

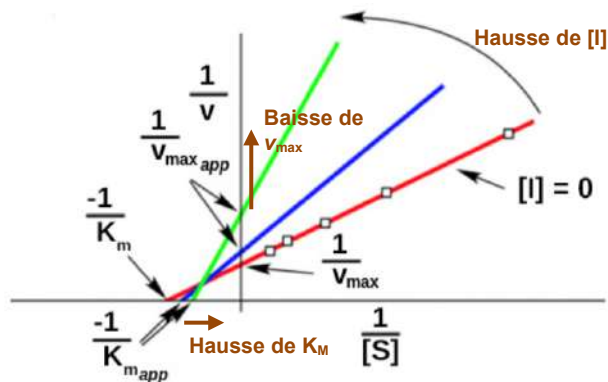


▲ FIGURE 50. Manifestation graphique de l'inhibition incompétitive en représentation de MICHAELIS-MENTEN (à gauche) et LINEWEAVER-BURK (à droite). Source à préciser, adapté.

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

- On appelle **inhibition mixte** une **situation** où l'inhibiteur fait à la fois **baïsser l'affinité** ($\nearrow K_{M\text{ app}}$), **comme le ferait une inhibition compétitive**, et **fait baisser la $v_{\text{max app}}$** , **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 le 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 ($\searrow$ affinité)	$= V_{\max}$
Non compétitive	Site effecteur (sur E)	$= K_M$ (affinité inchangée)	Diminuée
Incompétitive	Site effecteur (sur ES)	Diminué ($\nearrow$ affinité)	Diminuée
Mixte	Site effecteur (sur E ou ES) et peut-être site actif (?)	Augmenté ($\searrow$ affinité)	Diminuée

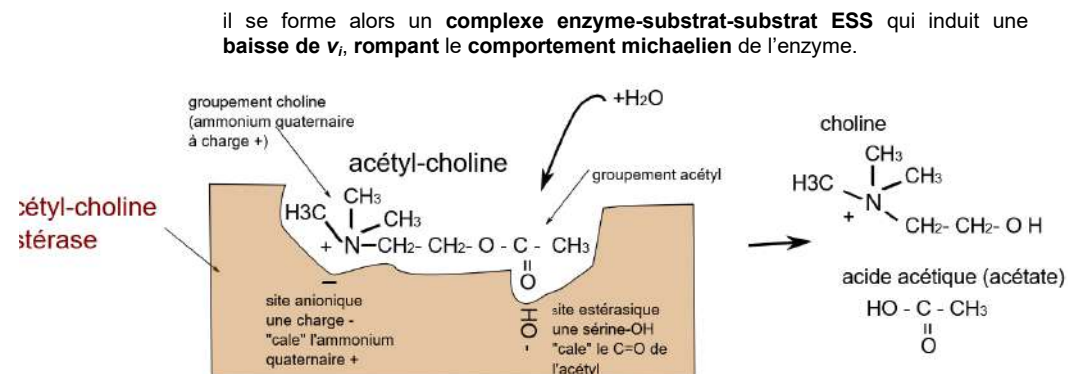
e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit

a. L'inhibition par le substrat en excès

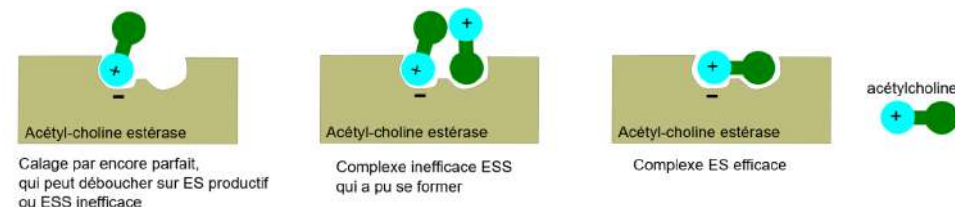
- Citons enfin l'**inhibition par excès de substrat** : il s'agit d'une **situation où une très forte concentration en substrat peut conduire à s'écarter du modèle de MICHAELIS-MENTEN**.

Exemple : l'acétylcholine estérase

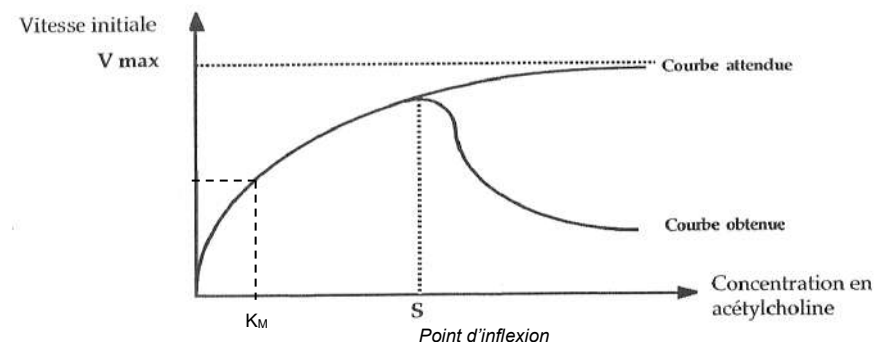
Un certain nombre d'**hydrolases** présente cette **inhibition**, comme l'**acétylcholine estérase**, une **enzyme (michaelienne) située dans la fente synaptique des synapses cholinergiques et qui hydrolyse l'acétylcholine (ACh) en acétate + choline**, participant ainsi à la fin de la neurotransmission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



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

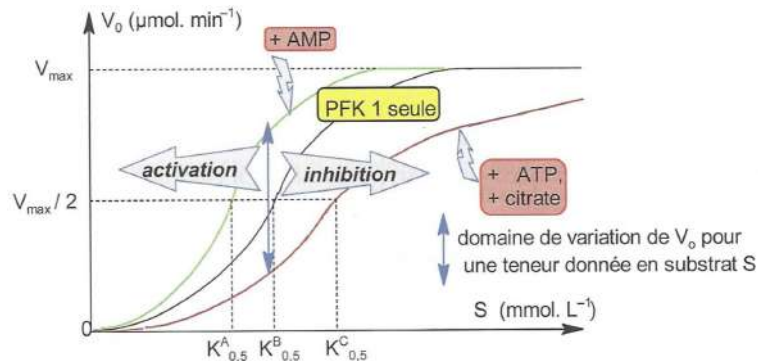
β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques

- Le **produit d'une réaction enzymatique** peut parfois être :
 - Un **inhibiteur** de sa propre **enzyme de production** (**rare**),
 - Un **inhibiteur d'une enzyme intervenant en amont de sa synthèse**, dans une **même voie métabolique** : c'est un cas **fréquent** de **rétro-inhibition** du métabolisme (voir §3).

2. Cas des enzymes allostériques

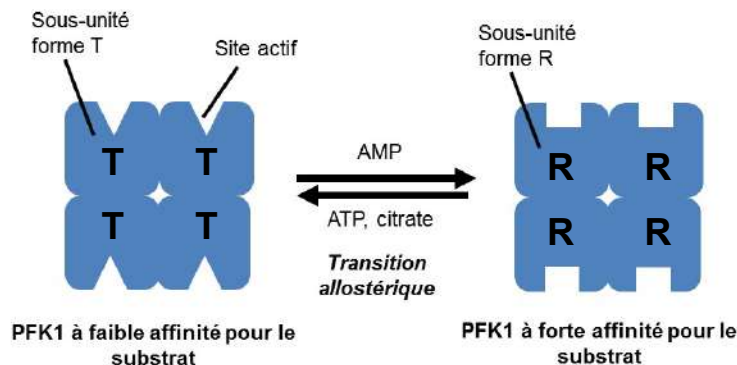
a. Des effecteurs allostériques activateurs ou inhibiteurs « déplaçant » le $K_{0,5}$ et modifiant donc l'affinité vis-à-vis du substrat (effet hétérotrlope)

- Un **effecteur enzymatique allostérique** est une **substance qui se fixe sur un site effecteur différent du site actif et qui modifie l'affinité d'une enzyme allostérique vis-à-vis son substrat, soit en l'augmentant (effet activateur : *effecteur positif*), soit en la diminuant (effet inhibiteur : *effecteur négatif*)**. Ce phénomène fait référence à l'**effet hétérotrlope défini** plus haut.
- On utilise souvent, pour rendre compte de ce phénomène, la **variation du $K_{0,5}$** qui, à l'image du K_M des enzymes michaeliennes, évolue typiquement de manière **inverse** par rapport à l'affinité.
- Dans le cas de la **PFK1** par exemple (figures 55-54) :
 - l'**AMP** a un **effet activateur**
 - alors que l'**ATP** ou le **citrate** ont un **effet inhibiteur**.



▲ 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...)

- Là encore, les **conditions physico-chimiques** peuvent agir sur les **enzymes allostériques** en « **déplaçant** » la courbe, voire en **réduisant** la v_i ou la v_{max} en cas par exemple de **dénaturation**.

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

- Les **enzymes** s'intègrent dans des **voies métaboliques**, c'est-à-dire de **suites de réactions biochimiques successives catalysées par des enzymes**. Ces voies sont soumises à des **régulations métaboliques**, c'est-à-dire à des **processus enzymatiques où l'écartement d'un paramètre de sa valeur de consigne (typiquement ici une concentration intracellulaire) est à l'origine d'une boucle métabolique corrective aboutissant à son retour à la valeur de consigne**.

b. Des rétroactions négatives

- De nombreuses voies métaboliques peuvent être **inhibées par l'accumulation de produits en aval, ce qui permet d'ajuster l'intensité de la voie métabolique aux besoins de la cellule** : il y a **rétroaction négative** ou **rétroinhibition**.

Exemple (PFK1)

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

c. Des rétroactions positives

- À l'inverse, les voies métaboliques peuvent être **stimulées par l'accumulation d'un substrat qui indique un besoin de la cellule** : ce sont les **rétroactions positives** ou **rétrostimulations**.

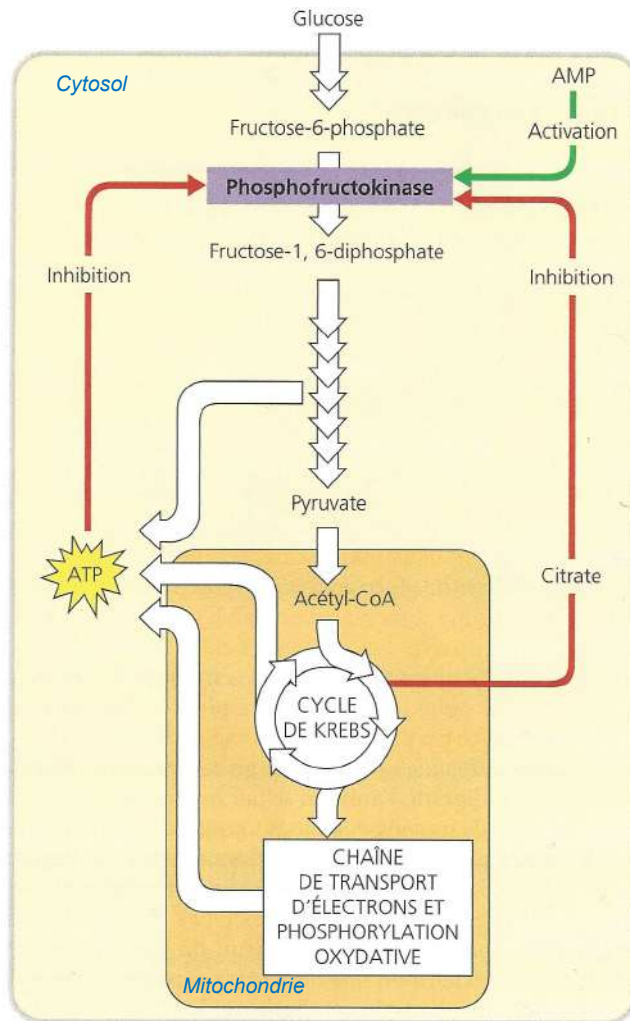
Exemple (PFK1)

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

▼ TABLEAU V. **Effecteurs allostériques de la PFK1 et contrôle de la glycolyse.**

D'après PEYCRU et al. (2013).

Quantité des effecteurs en condition de niveau énergétique cellulaire faible	Effecteurs allostériques activateurs (+) et inhibiteurs (-) de PFK1	Quantité des effecteurs en condition de niveau énergétique cellulaire élevé
Faible Faible Forte	ATP (-) Citrate (-) AMP (+)	Forte Forte 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		



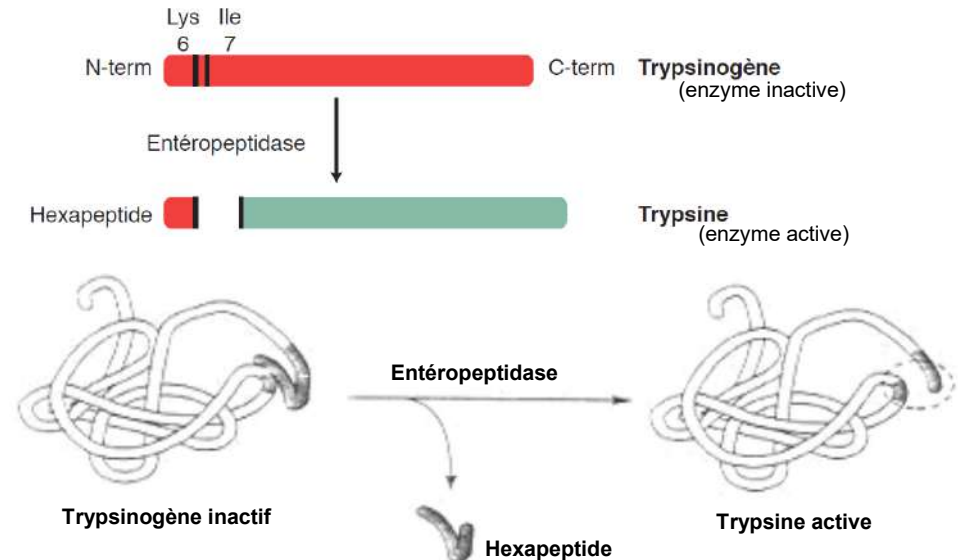
Régulation de la respiration cellulaire. Des enzymes allostériques interviennent en certains points de la voie catabolique. Elles réagissent à des inhibiteurs et à des activateurs. Elles déterminent ainsi la vitesse de la glycolyse et du cycle de Krebs. La phosphofructokinase, qui catalyse l'étape 3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

- La **modification covalente** des **enzymes** constitue aussi un élément de **contrôle** de leur **activité**.

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.

- Dans le cas de certaines enzymes, on note l'existence d'une **protéine existant sous une forme inactive** (nommée **proenzyme** ou **zymogène**) et d'une **enzyme active** **une fois un petit peptide ôté de la première forme par clivage** (figure 58) ; il y a alors en effet **modification de la conformation de la protéine qui rend le site actif opérationnel**. Il s'agit là d'une **modification covalente de l'enzyme** puisque le **clivage protéolytique** consiste en **l'hydrolyse d'une liaison peptidique entre deux acides aminés – qui est une liaison covalente**.

Exemple de la chymotrypsine

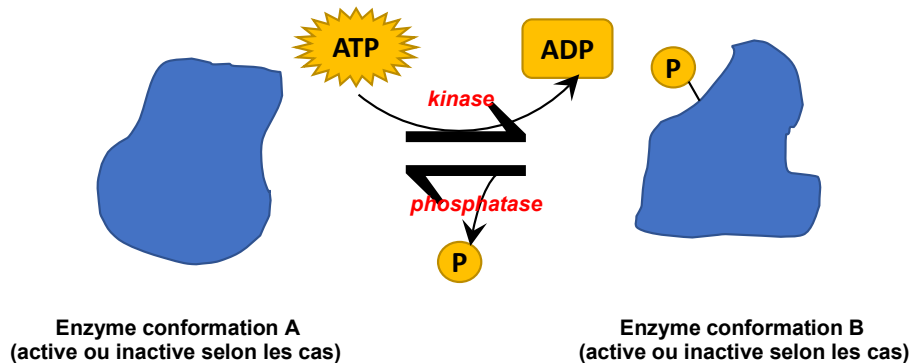
- Ce cas est très fréquent dans la **digestion**, ce qui **évite aux cellules sécrétrices d'enzymes d'être elles-mêmes digérées**.
- On peut citer l'exemple d'une **protéase pancréatique**, la trypsine (figure 58). Celle-ci est **sécritée** parmi les **grains de zymogènes** par les **cellules pancréatiques** sous forme de **trypsinogène inactif**. Dans l'intestin, la **paroi du duodénum** produit une **entéropeptidase** qui permet le **clivage** (entre l'AA 6, une lysine et l'AA 7, une isoleucine) du trypsinogène en trypsine active (figure 58).

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

a. Principe général

- Des enzymes peuvent être activées ou inactivées par leur état de phosphorylation ou déphosphorylation (figure 59) ; il s'agit encore d'une modification covalente de l'enzyme, puisque le phosphate est lié par une liaison covalente sur un acide aminé de l'enzyme, mais cette fois-ci réversible. Le contrôle de nombreuses voies métaboliques et la transduction de nombreux signaux emploient cette modalité.
- Le plus souvent, l'enzyme active est à l'état phosphorylé (ici noté A) et l'enzyme inactive (ou moins active) à l'état déphosphorylé (souvent noté B)... mais cela peut tout à fait être le contraire !

Notons que ces phosphorylations-déphosphorylations d'enzymes sont elles-mêmes dues à d'autres enzymes (kinases et phosphatases) !



▲ 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

- Cette enzyme intervenant dans la régulation de la glycémie est un exemple phare des cours de BCPST et il me semble difficile de faire l'impasse dessus.

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

- La glycogène phosphorylase est une enzyme allostérique dimérique constituée de deux sous-unités semblables de 842 acides aminés (figure 60). Cette enzyme catalyse la phosphorolyse (= lyse par un phosphate) de l'amidon, c'est-à-dire sa dépolymérisation d'un monomère en glucose-1-phosphate (G-1-P) (figure 61).

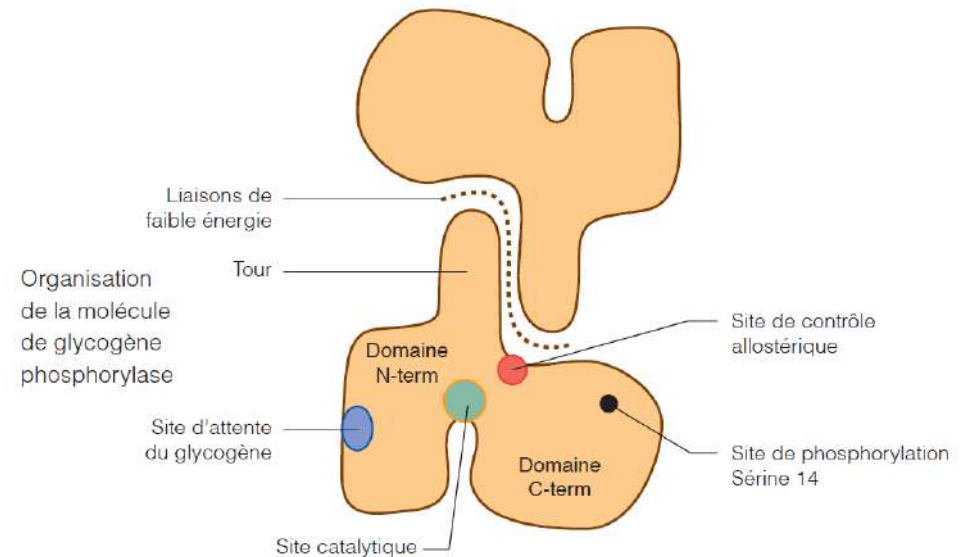


FIGURE 60. Organisation de la glycogène phosphorylase [pour information]. D'après SEGARRA et al. (2014).

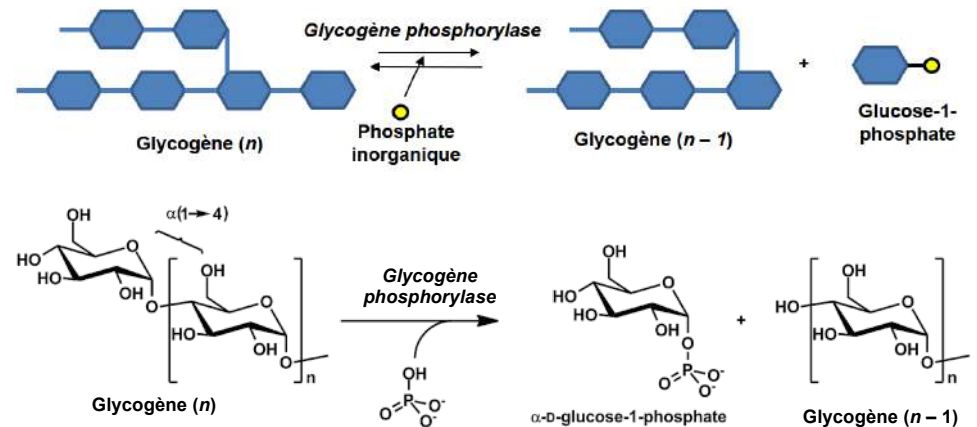
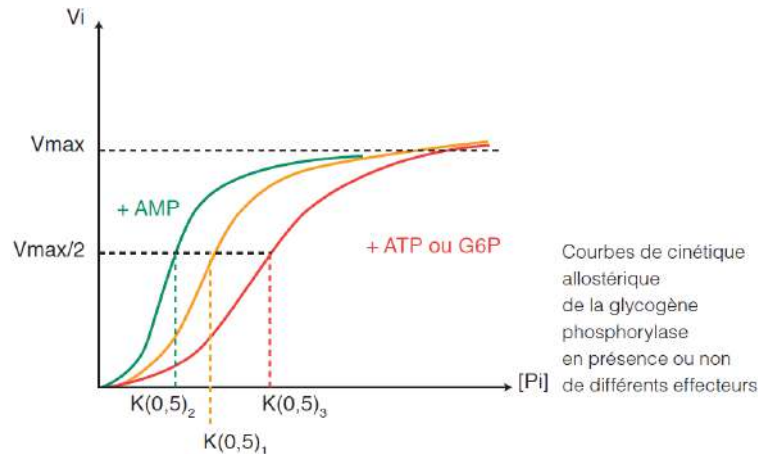


FIGURE 61. Mode d'action de la glycogène phosphorylase. Original et d'après Wikipédia. La réaction se répète de nombreuses fois, dépolymérisant progressivement le glycogène.

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

- Allostérique, la **glycogène phosphorylase** existe sous **deux formes**, tendue T à **faible affinité** pour le substrat et **relâchée R à forte affinité** ; on peut mettre en évidence que des **effecteurs allostériques** peuvent en **moduler l'activité** : **AMP**, **Pi** (qui est aussi un **acteur de la réaction**), **ATP** (qui est aussi un **acteur de la réaction**), **glucose-6-phosphate G-6-P** (qui est la forme en laquelle le **G-1-P** est rapidement converti) (figures 62-63).



$K_{(0,5)}$: 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).

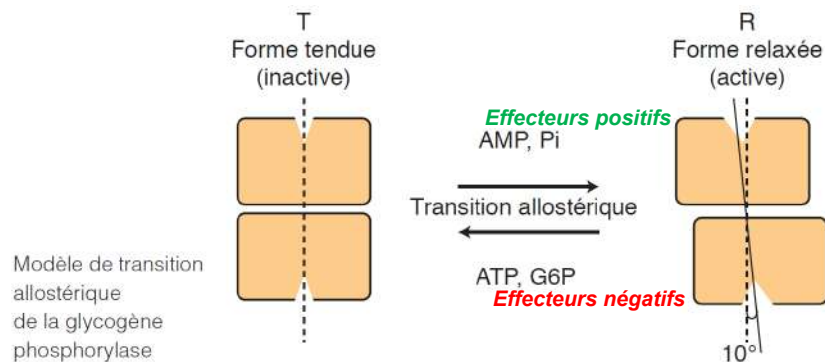


FIGURE 63. Impact des effecteurs allostériques sur la glycogène phosphorylase.
D'après SEGARRA *et al.* (2014).

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)

- La **glycogène phosphorylase** est **modifiable** par **phosphorylation-déphosphorylation** ; la **forme A phosphorylée** est **active** alors que la **forme B déphosphorylée** est **inactive** (ou du moins, **beaucoup moins active**) (figure 64).
- La **phosphorylase kinase** responsable de la **phosphorylation de la glycogène phosphorylase** est elle-même activée par **phosphorylation** lors de la **transduction du signal glucagonique**.
- La **phosphatase** responsable de la **déphosphorylation de la glycogène phosphorylase** est elle-même activée par **phosphorylation** lors de la **transduction du signal insulinaire**.

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)

- La **glycogène phosphorylase** est enfin :
 - **Davantage synthétisée** en présence de **glucagon** dans le sang (figure 66) ;
 - **Moins synthétisée** en présence d'**insuline** dans le sang.

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**.

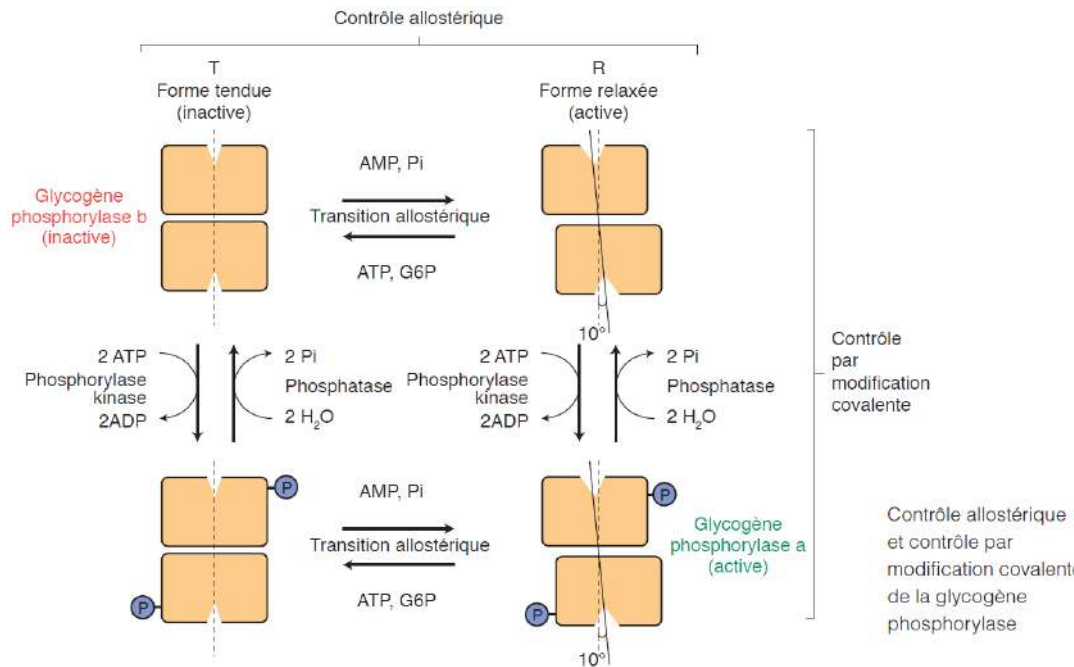


FIGURE 64. Le double contrôle – allostérique + par phosphorylation-déphosphorylation – de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après SEGARRA *et al.* (2014).

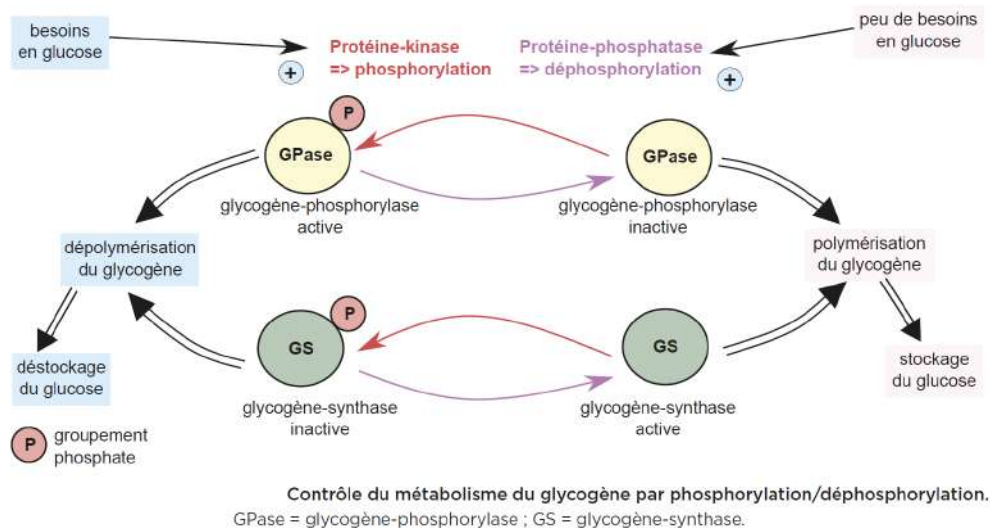


FIGURE 65. Une autre vision du contrôle de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021).

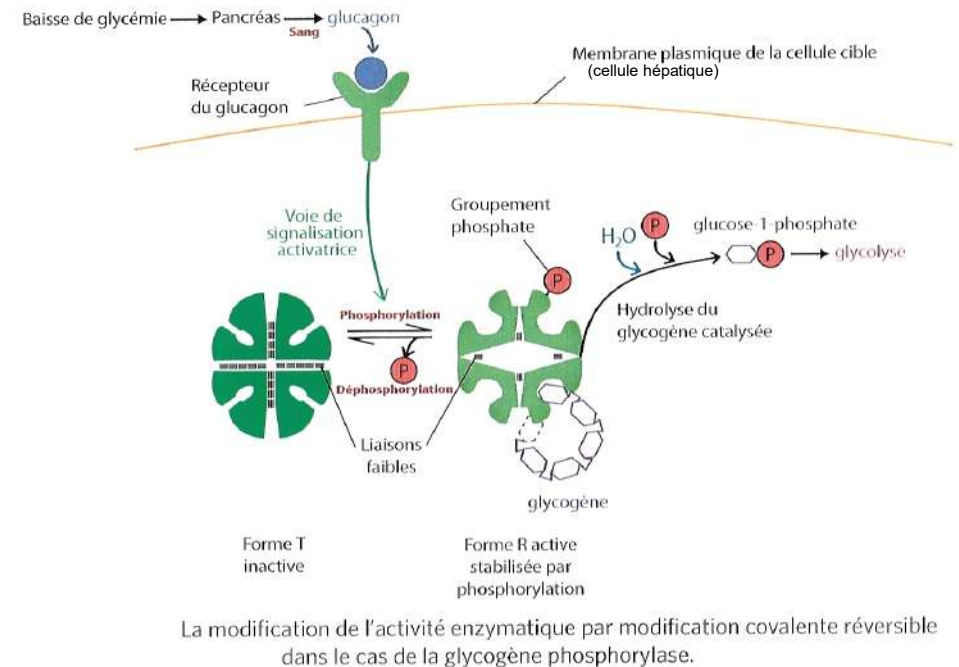
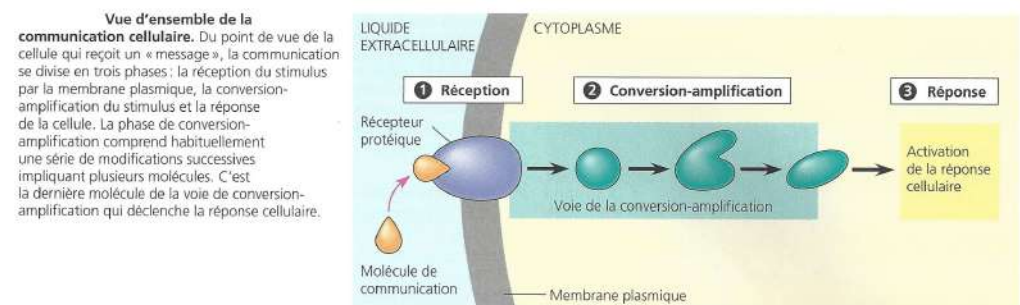


FIGURE 66. Une autre vision (partielle) du contrôle de l'activité de la glycogène phosphorylase. D'après DAUTEL *et al.* (2021), modifié.

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

- On appelle **transduction** l'ensemble des mécanismes moléculaires qui permettent de convertir un signal en une modification de l'activité de la cellule.

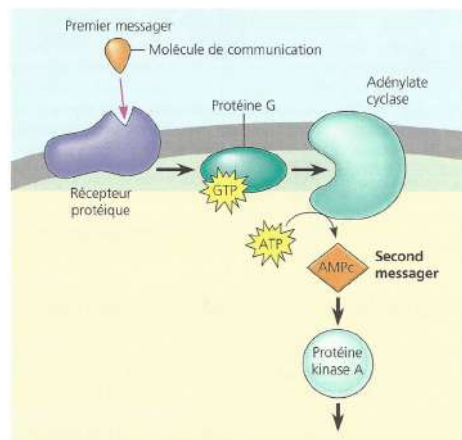


▲ FIGURE 67. Les étapes de la transduction métabotrope. D'après CAMPBELL & REECE (2004).

- Dans le cas d'une **transduction métabotrope** (= le récepteur d'un signal est le premier maillon d'une chaîne de réactions métaboliques plus ou moins nombreuses), on note généralement trois « temps » (figure 21) :
 - La **réception**, c'est-à-dire la fixation du ligand (molécule-signal, ici l'hormone pour ce qui va nous intéresser) sur le récepteur qui change alors de conformation et devient activé.
 - La **conversion-amplification**, c'est-à-dire les réactions métaboliques engendrées suite au changement de conformation du récepteur jusqu'à l'activation des protéines effectrices de la réponse cellulaire.

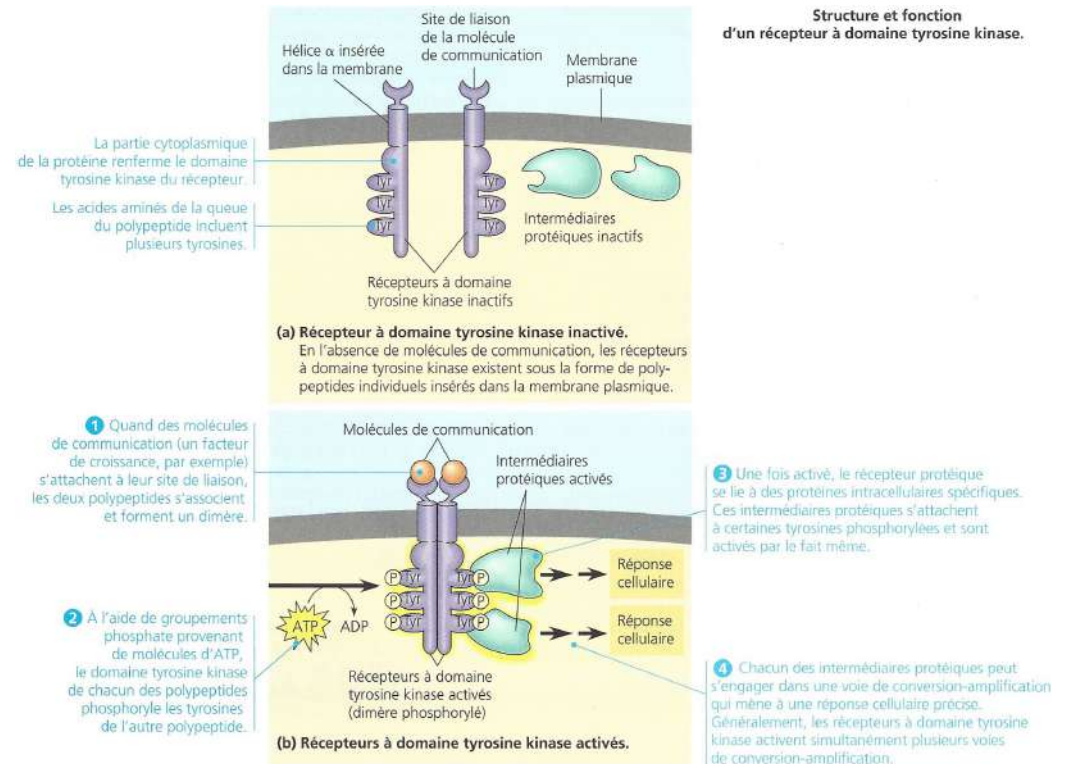
Il y a à la fois **conversion** du signal extracellulaire en signal intracellulaire, et **amplification** du signal qui, à partir d'une faible quantité de signal extracellulaire, suscite la production d'une grande quantité de molécules relais dans la cellule (voir la figure 70).

- La **réponse cellulaire**, c'est-à-dire la **modification de l'activité cellulaire due à des protéines effectrices**.
- On peut alors noter **l'importance des enzymes** :
 - Le **récepteur** :
 - Soit est couplé à une **protéine G** (figure 68), **protéine GTP-dépendante couplée au récepteur qui active une enzyme productrice de second messenger**, lequel activera la première kinase de la chaîne de conversion-amplification.
 - Soit comprend lui-même un **domaine kinase** (figure 69), **domaine assurant son autophosphorylation et la phosphorylation des premières protéines de la chaîne de conversion-amplification**.
 - De nombreuses phosphorylations, catalysées par des **kinases** s'activant les unes à la suite des autres, ont lieu suite à cela et assurent la conversion et l'application du signal : on parle de **cascade de phosphorylations** (figures 70-71).

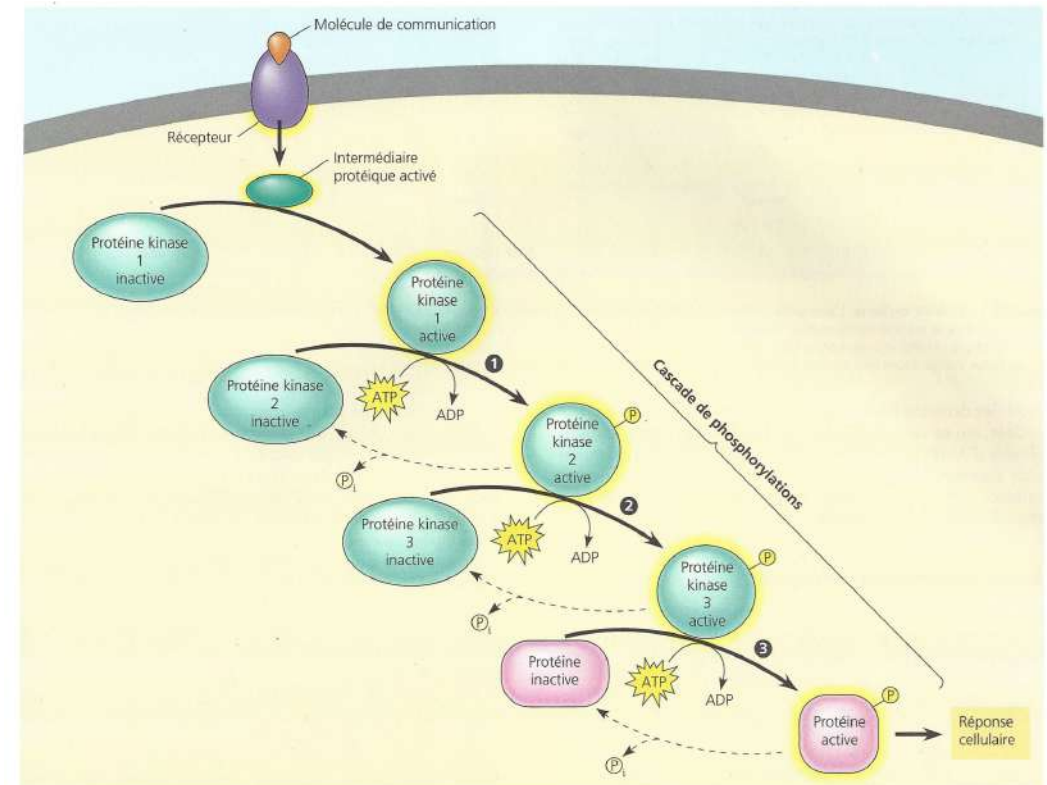
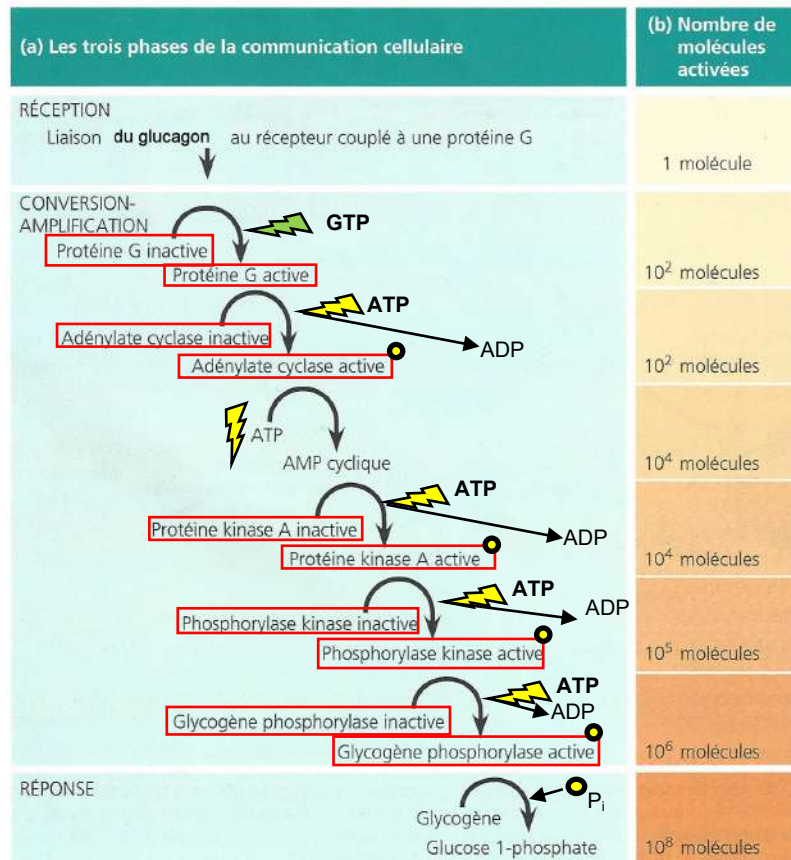


L'AMPc, un second messageur. L'AMP cyclique fait partie de plusieurs voies où les protéines G interviennent. Une molécule de communication (soit le « premier messageur ») active le récepteur couplé à la protéine G, lequel active une protéine G spécifique. À son tour, celle-ci active l'adénylate cyclase, 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).



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 serviraient 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 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).

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

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.

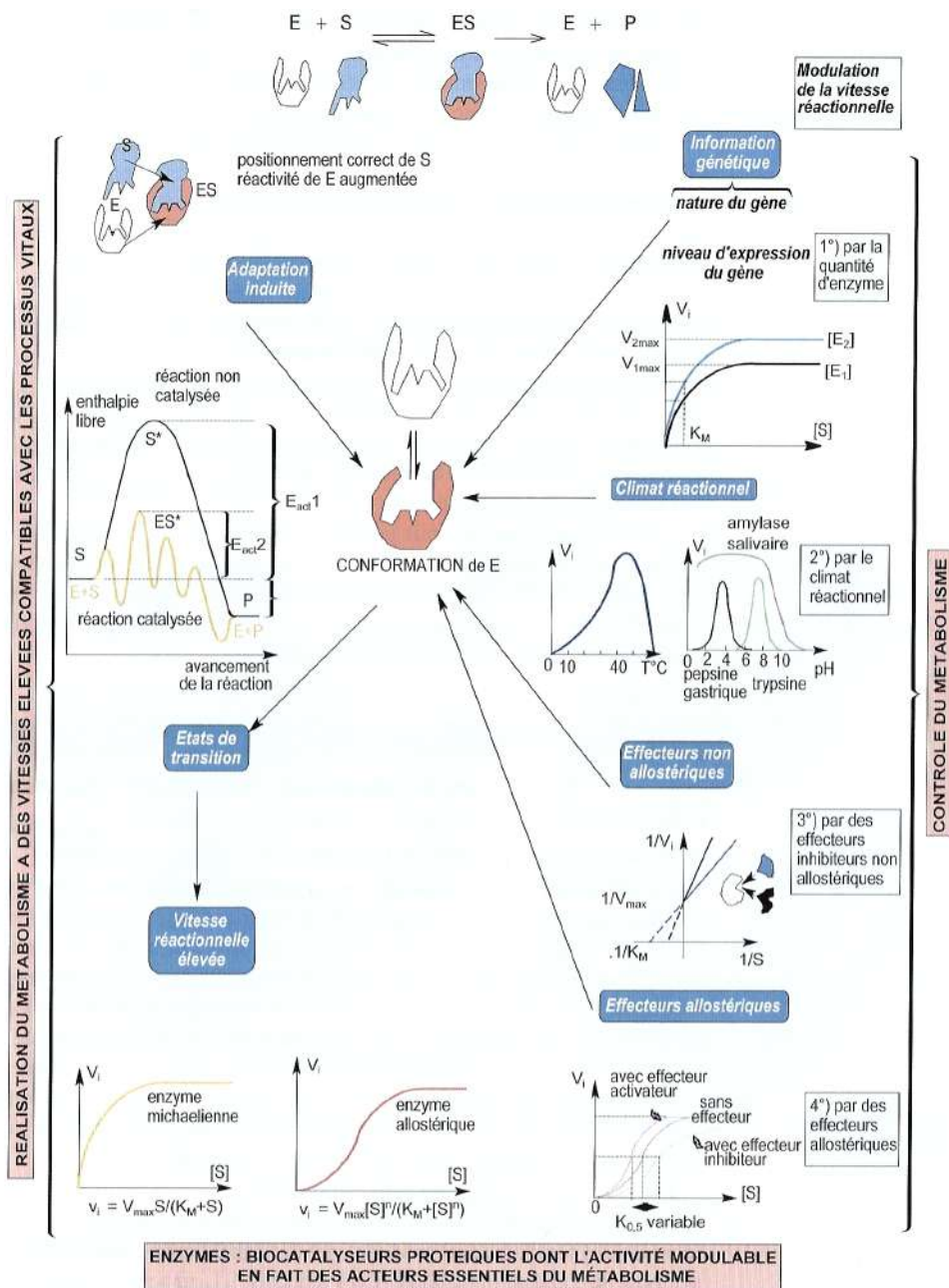


FIGURE 74. **Schéma bilan sur les enzymes.** D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021).

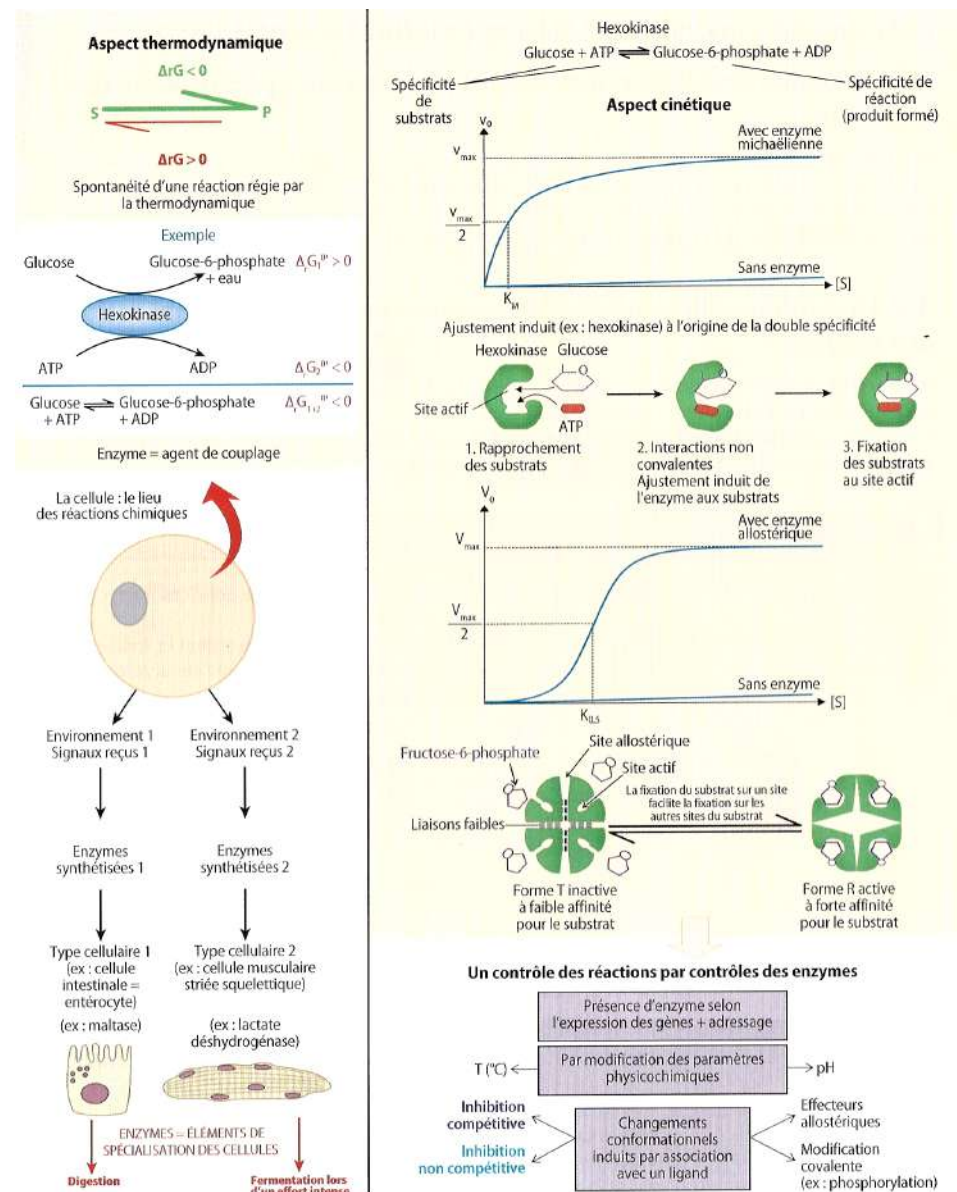


FIGURE 75. **Schéma bilan sur les enzymes.** D'après DAUTEL *et al.* (2021).

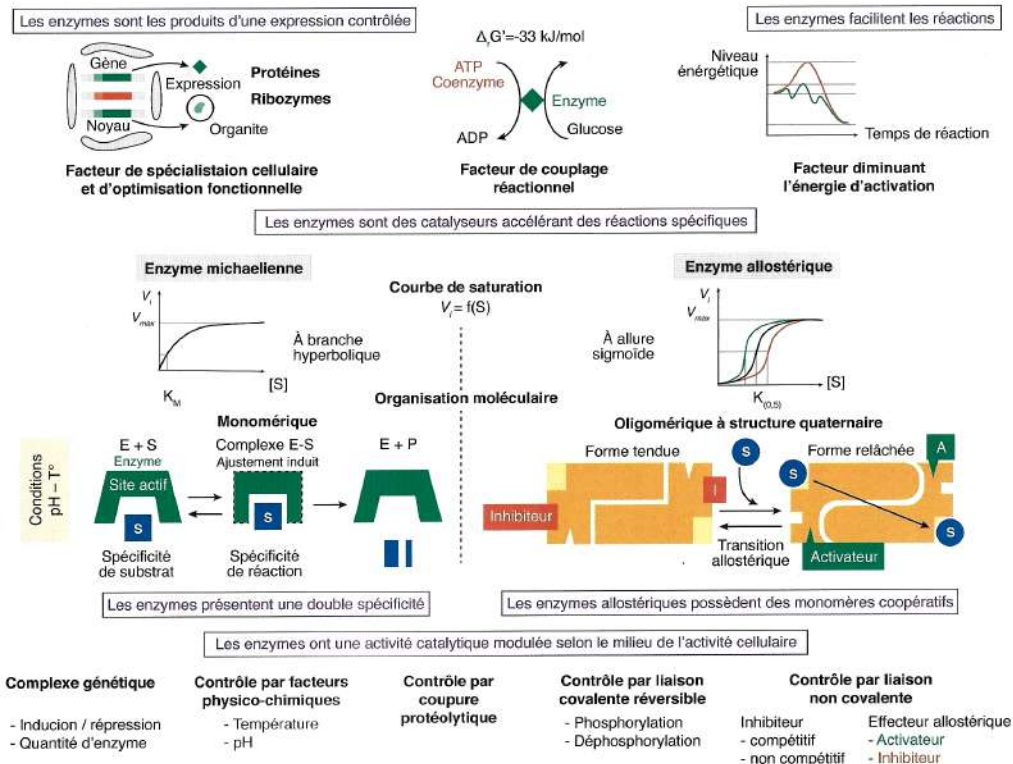


FIGURE 76. Schéma bilan sur les enzymes. D'après PERRIER, BEAUX *et al.* (2021).

Pour faire une fiche de révision : quelques pistes

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

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

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

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

Liste indicative.

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

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

- ° **Courbe $v_i = f([E])$**
- ° **E. coli** en présence de **glucose** et **lactose**
→ **fonctionnement de l'opéron Lac en BCPST2**
- ° **Enzymes du métabolisme du glycogène** en fonction de la situation
- ° **Pyruvate kinase** et le contrôle de sa synthèse
- ° **Inhibiteur compétitif, non compétitif**
- ° **Inhibition compétitive** : représentation de MICHAELIS-MENTEN et de LINEWEAVER-BURK
- ° **Inhibition incompétitive et mixte** : représentations de MICHAELIS-MENTEN et de LINEWEAVER-BURK
- ° **Inhibition par excès de substrat** (ex. acétylcholine estérase)
- ° Rôle des **effecteurs allostériques** sur les **enzymes allostériques** : cas de la **PFK1**
- ° **Contrôle du catabolisme oxydatif** : rôle de la **PFK1**
- ° **Clivage protéolytique** (ex. trypsinogène)
- ° Principe de **phosphorylation-déphosphorylation**
- ° **Contrôle complet** de l'activité de la **glycogène phosphorylase** (synthétiser les données)
- ° Principes d'une **chaîne de transduction** (rôle des enzymes)

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

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

Références

- ALBERTS, B., A. JOHNSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS & P. WALTER (2004). *Biologie moléculaire de la cellule. Quatrième édition.* Traduction de la quatrième édition américaine (2002) par F. LE SUEUR-ALMOSNI. Flammarion, Paris. Première édition américaine 1983 (1986 1^{re} édition française).
- AUGÈRE, B. (2001). *Les enzymes, biocatalyseurs protéiques*. Ellipses, Paris.
- BAL, A., C. CALAMAND, C. COTTON, G. GOHAU, M. LE BELLÉGAR, C. MARCONIS, D. RICHARD, M. SEBBAH & C. TORTORA (1992). *Régulation. La régulation des fonctions*. Hachette, Paris.
- BAYNES, J. W. & M. H. DOMINICZAK (dir.) (2019). *Medical Biochemistry*. 5^e édition (1^{re} édition 1999). Elsevier, Amsterdam.
- BERGERON, J. (dir.), P. BEAUJARD, B. DAVID, A. HYON, I. BEDNAREK-MAÏTREPIERRE, D. MARGERIE, M. MARGERIE & O. MOUTAUX (2001). *Sciences de la Vie et de la Terre Première S*. Hatier, Paris.
- BERTHET, J. (2006). *Dictionnaire de Biologie*. De Boeck Université, Bruxelles (Belgique).
- BOUJARD, D. (dir.), B. ANSELME, C. CULLIN & C. RAGUÉNÈS-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.
- DENCEUD, 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.
- DENCEUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2013). *Biologie-Géologie BCPST-véto 1^{re} année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- DENCEUD, 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. VAMECOQ (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^{re} édition 2004).
- MEYER, S., C. REEB & R. BOSDEVEIX (2019). *Botanique. Biologie et physiologie végétales*. Maloine, Paris, 3^e édition (1^{re} 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. VERNAUD & A. WOERHLÉ (2021). *Biologie-Géologie BCPST 1. Tout-en-un*. Dunod, Paris.
- PERRIER, C. & J.-F. BEAUX (dir.), A. BOUFFIER, S. COCO, 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^{re} édition 2006).
- PEYCRU, P. (dir.), J.-C. BAEHR, F. CARIOU, D. GRANDPERRIN, C. PERRIER, J.-F. FOGELGESANG & J.-M. DUPIN (2010b). *Biologie tout-en-un BCPST 2^e année*. Dunod, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2007).
- PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2013). *Biologie tout-en-un BCPST 1^{re} année*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2006).
- PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, J.-F. BEAUX, F. CARIOU, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, S. MAURY, É. QUÉINNEC, E. SALGUEIRO & C. VAN DER REST (2014). *Biologie tout-en-un BCPST 2^e année*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2007).
- RAVEN, P. H., G. B. JOHNSON, J. B. LOSOS, S. S. SINGER (2007a). *Biologie*. De Boeck, Bruxelles, 1250 pages + xxiv + annexes.
- RAVEN, P. H., R. F. EVERT & S. E. EICHORN (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 le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2010).
- RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2015). *Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas*. Dunod, Paris, 3^e édition (1^{re} édition 2010).
- RIEUTORT, M. (1998). *Physiologie animale. 1. Les cellules dans l'organisme*. Mise à jour M. RIEUTORT & D. PICHARD (coll. M. RIEUTORT). Masson, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 1982).
- RIEUTORT, M. (1999). *Physiologie animale. 2. Les grandes fonctions*. Mise à jour D. PICHARD. Masson, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 1982).
- SAINTPIERRE, F., C. BORDI (dir.), M. ALGRAIN, Y. KRAUSS, I. MOLLIÈRE & H. CLAUCE (2017). *Mémento Biologie BCPST 1^{re} et 2^e années*. Vuibert, Paris.
- SAINTPIERRE, F., C. BORDI (dir.), M. ALGRAIN-PITAVY, A. DENIS, L. GERAY & I. MOLLIÈRE (2021). *Mémento Biologie BCPST 1^{re} et 2^e années*. Vuibert, Paris, 2^e édition (1^{re} édition 2017).
- SEGARRA, J. (dir.), É. CHAUVET, C. COLSON-PROCH, M. HUILLE, M. LABROUSSE, F. LOUET, F. METZ & E. PIÈTRE (2014). *Biologie BCPST 1^{re} année*. Ellipses, Paris.
- SEGARRA, J., E. PIÈTRE (dir.), G. BAILLY, O. CHASSAING, D. FAVRE, T. JEAN, F. METZ & C. MEUNIER (2015). *Biologie BCPST 2^e année*. Ellipses, Paris.
- SEGARRA, J., E. PIÈTRE (dir.), C. AHYERRE, G. BAILLY, É. CHAUVET, D. FAVRE, M. HUILLE, T. JEAN, F. METZ, C. PROCH & F. SONTONNAX (2023). *BCPST 1^{re} année Biologie. 2^e édition*. Ellipses, Paris.
- SILVERTHORN, D. U., avec W. C. OBER, C. W. GARRISON, A. C. SILVERTHORN & B. R. JOHNSON (2007). *Physiologie humaine. Une approche intégrée*. Pearson Education France, Paris, 4^e édition américaine traduite sous la dir. de J.-F. BRUN.
- TAIZ, L. & E. ZEIGER (dir.) (2010). *Plant physiology*. Sinauer Associates, Sunderland (Massachusetts, USA), 5^e édition (1^{re} édition 1991).
- TORTORA, G. J. & B. DERRICKSON (2009). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. Adaptation française L. MARTIN & M. FOREST. De Boeck, Bruxelles, B.
- [VANDER, A. J.] E. P. WIDMAIER, H. RAFF & K. T. STRANG (2013). *Physiologie humaine. Les mécanismes du fonctionnement de l'organisme*. Maloine, Paris, 6^e édition.
- VOET, D. & J. G. VOET (2005). *Biochimie*. De Boeck, Bruxelles (B), 2^e édition française [3^e édition américaine, John Wiley and sons, New York, USA, 2004. Traduction G. ROUSSEAU & L. DOMENJOU].
- 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^{re} 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	3
a. L'énergie de GIBBS et le caractère endergonique ou exergonique d'un travail	3
b. Intervention des enzymes dans les couplages énergétiques	3
B. L'intervention possible de cofacteurs nommés coenzymes	4
C. Des catalyseurs spécifiques : la triple spécificité enzymatique	5
1. La spécificité de substrat	5
2. La spécificité d'action (= spécificité de réaction) et la classification des enzymes	5
3. La spécificité de conditions d'action (notamment température et pH) avec des optima de fonctionnement	6
D. Des protéines interagissant avec le substrat et abaissant l'énergie d'activation de la réaction	8
1. L'importance de l'interaction entre enzyme et substrat	8
a. Une complémentarité spatiale (= stérique) et chimique enzyme-substrat au niveau du site actif : le modèle clef-serrure (modèle de FISCHER)	8
b. Une légère modification de la conformation de l'enzyme lors de la fixation du substrat : l'ajustement induit (modèle de KOSHLAND)	8
2. Le déroulement de la réaction enzymatique	9
a. Une fixation réversible du substrat sur l'enzyme mais une réaction chimique catalysée généralement irréversible	9
b. Des mécanismes réactionnels décomposant la réaction en plusieurs réactions intermédiaires, ce qui permet globalement l'abaissement de l'énergie d'activation	10
c. Une étude de la réaction enzymatique possible par des techniques variées (diffraction aux rayons X, RMN, mutagenèse dirigée...)	10
E. Une spécialisation des compartiments et des cellules permise par leur appareillage enzymatique propre	11
1. Au sein d'une cellule : une spécialisation des territoires cellulaires largement dictée par leur composition enzymatique	11
2. Entre cellules : une spécialisation largement permise par la nature des enzymes exprimées qui participe à la différenciation cellulaire	11
3. En lien avec des sécrétions cellulaires	11
II. La cinétique enzymatique : deux grandes catégories d'enzymes	12
A. Les enzymes michaeliennes, enzymes à cinétique de saturation hyperbolique	12
1. Rappel de quelques notations	12
2. L'emploi de valeurs initiales : vitesse initiale de réaction ($v_i = v_0 = v$), concentration initiale en substrat ($[S]_i = [S]_0 = [S]$)	12
3. Origine et construction de la courbe dite de MICHAELIS-MENTEN (1913), en réalité largement due aux travaux d'HENRI (1902)	13

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	13
b. La construction de la courbe $v_i = f([S]_i)$	13
4. Exploitation de la courbe de MICHAELIS-MENTEN (1913)	15
a. Notion de K_M et lien avec l'affinité	15
b. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = v_m$	15
c. Une modélisation par l'équation de MICHAELIS-MENTEN (1913)	15
5. La possibilité d'une linéarisation de la courbe facilitant la détermination des constantes	15
a. Le graphique en double inverse : la linéarisation de LINEWEAVER-BURK (1934) : $1/v_i = f(1/[S]_i)$	15
b. L'existence d'autres modalités de linéarisation [pour information]	16
6. Des paramètres cinétiques en lien avec la fonction des enzymes	16
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	16
b. Fréquence de catalyse (k_{cat}) et K_M , deux paramètres permettant d'estimer une efficacité catalytique (= constante de spécificité) k_{cat}/K_M	17
7. Des enzymes souvent monomériques ou, plus rarement, oligomériques	18
B. Les enzymes allostériques, enzymes [quasi-]toujours* multimériques (= de structure quaternaire) à cinétique de saturation sigmoïde	18
1. Rappels de la notion d'allostérie	18
a. La notion historique de l'allostérie, justement inventée pour ces enzymes : la coopérativité entre sous-unités	18
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)	18
2. Une cinétique d'allure sigmoïde	18
a. Allure de la courbe d'une enzyme allostérique	19
b. Exploitation de la courbe d'une enzyme allostérique	19
α. Notion de $K_{0.5}$ (K_{50}) et lien avec l'affinité	19
β. Un phénomène de saturation et l'existence d'une vitesse initiale maximale de réaction $v_{max} = v_m$	19
γ. Une modélisation par une équation faisant intervenir un quantificateur de la coopérativité entre sous-unités, le nombre de HILL n ($= n_H$)	19
3. Un fonctionnement coopératif des sous-unités enzymatiques	20
a. Deux formes de sous-unités (tendue T et relâchée R) et une transition allostérique entre les deux formes	20
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	20
α. Définition de l'effet homotrope (= effet coopératif)	20
β. Deux modèles explicatifs : le modèle concerté et le modèle séquentiel	20
i. Le modèle concerté (MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965) : une affinité modifiée de toutes les sous-unités dès qu'une sous-unité accueille un substrat	21
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	21
iii. Et la transition $R \rightarrow T$? Un processus largement post-catalytique	21
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	22

III. Les enzymes, des protéines catalytiques à activité modulable à l'origine d'un contrôle du métabolisme	23
A. Un contrôle de la réaction enzymatique par la concentration en enzymes	23
1. Courbe $v_i = f([E])$: une vitesse initiale de catalyse enzymatique linéairement dépendante de la concentration en enzyme du milieu réactionnel	23
2. Une concentration enzymatique dans les compartiments cellulaires ou extracellulaires qui dépend elle-même de l'expression génétique (et de l'adressage protéique)	23
3. Une modulabilité de l'expression génétique sous l'effet de signaux extracellulaires ou, parfois, de la disponibilité en substrat	23
B. Un contrôle de la réaction enzymatique par les conditions physico-chimiques du milieu réactionnel	24
1. Un contrôle par la disponibilité en substrat, voire en coenzymes et cosubstrats variés, conduisant généralement à l'épuisement rapide du substrat disponible	24
2. Un contrôle par la température	25
3. Un contrôle par le pH	25
C. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par des ligands stimulateurs ou inhibiteurs	25
1. L'inhibition des enzymes michaeliennes	25
a. Notion d'inhibiteur : une substance qui ralentit la vitesse catalytique de la réaction enzymatique	25
b. Les inhibiteurs compétitifs : des molécules se liant sur le site actif à la place du substrat ($\nearrow K_{M\text{ app}} \Leftrightarrow \nearrow$ affinité ; V_{max} non modifiée)	25
c. Les inhibiteurs non compétitifs : des molécules se liant sur un site différent du site actif (K_M inchangé ; $\searrow V_{\text{max app}}$)	26
d. D'autres inhibitions sur lesquelles le programme semble moins prolix	27
α. L'inhibition incompétitive : une fixation de l'inhibiteur à distance du site actif, sur un site du complexe ES déjà formé ($\searrow K_{M\text{ app}} \Leftrightarrow \nearrow$ affinité ; $\searrow V_{\text{max app}}$)	27
β. L'inhibition mixte : une inhibition diminuant l'affinité ($\nearrow K_{M\text{ app}}$) et diminuant aussi la $V_{\text{max app}}$ [limite programme ?]	27
e. L'effet inhibiteur du substrat ou du produit	28
α. L'inhibition par le substrat en excès	28
β. L'inhibition par le produit en excès, un outil de rétrocontrôle des voies métaboliques	28
2. Cas des enzymes allostériques	29
a. Des effecteurs allostériques activateurs ou inhibiteurs « déplaçant » le $K_{0,5}$ et modifiant donc l'affinité vis-à-vis du substrat (effet hétérotrope)	29
b. Un effet des conditions physico-chimiques (pH, température, substrat, coenzymes...)	29
3. Intérêt de ces contrôles dans la régulation des voies métaboliques : l'importance des rétro-inhibitions (ou des rétro-activations)	29
a. Notion de voie métabolique et principe des régulations métaboliques	29
b. Des rétroactions négatives	29
c. Des rétroactions positives	29
D. Une modulation de la conformation et donc de l'activité enzymatiques par modification covalente des enzymes	30
1. Une modulation irréversible : cas du clivage protéolytique des pro-enzymes	30
2. Une modulation réversible : cas de la phosphorylation-déphosphorylation	31
a. Principe général	31
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	31
α. Une enzyme allostérique dimérique permettant la phosphorylation d'amidon en glucose-1-phosphate dans le cadre de la glycogénolyse	31
β. Une enzyme dont l'activité est modulable par des effecteurs allostériques	32
γ. Une enzyme dont l'activité est en outre modulable par son état de phosphorylation-déphosphorylation	32

γ. Une enzyme dont la synthèse est contrôlée par l'insuline et le glucagon	32
δ. Bilan : des contrôles multiples	32
c. L'importance des cascades de phosphorylation-déphosphorylation et plus largement des enzymes dans les chaînes de transduction	33

Quelques schémas bilans	36
Pour faire une fiche de révision : quelques pistes	38
Références	39
Plan du chapitre	40

© 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 2026.
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.