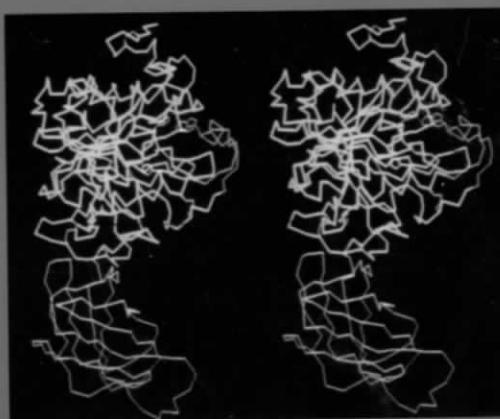


*Sciences
de la Vie
et de
la Terre*

Les enzymes, biocatalyseurs protéiques



Bernard AUGÈRE

ellipses

Table des matières

chapitre I.

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques spécifiques d'un substrat 7

A. Pourquoi les enzymes sont-elles indispensables ?	8
1. Mise en évidence expérimentale de l'importance d'un catalyseur	8
2. Variation d'enthalpie et transformations chimiques	10
2.1. Notion de système thermodynamique	10
2.2. L'enthalpie libre, fonction thermodynamique la plus utile	10
2.3. Enthalpie libre et constante d'équilibre	11
3. Le catalyseur abaisse l'énergie d'activation d'une réaction	12
B. L'action enzymatique exige un environnement physico-chimique particulier	16
1. Mise en évidence expérimentale	16
2. Influence de la température	17
2.1. Approche expérimentale des effets de la température	17
2.2. La température influence la constante d'équilibre et la vitesse de la réaction	19
2.3. L'utilisation des enzymes à haute température	21
3. Influence du pH	21
3.1. Il existe un pH optimum pour chaque enzyme	21
3.2. L'importance du pH pour l'activité de la ribonucléase pancréatique	23
4. La spécificité de substrat	25
C. Aperçu de la diversité enzymatique et nomenclature	27

chapitre II.

Les enzymes sont des molécules protéiques spatialement organisées 29

A. Les protéines résultent de l'agencement ordonné d'acides aminés ..	29
1. Les acides aminés sont les constituants élémentaires des protéines	29
1.1. Les acides aminés, « matériaux de construction »	29
1.2. Les acides aminés sont des « agent doubles »	30
2. La diversité des radicaux et ses conséquences biologiques	32
2.1. Les interactions entre atomes et molécules	34
2.2. Nature des radicaux et conformation spatiale des protéines	36
2.3. Conformation spatiale des protéines et activité biologique	39
3. Les aminoacides peuvent s'associer en chaînes par des liaisons peptidiques	41
3.1. La liaison peptidique est rigide et plane	41
3.2. Certaines rotations sont possibles de part et d'autre de ce plan	43

B. Les protéines ont une conformation en trois dimensions	45
1. Feuilletés β et hélices α sont permis par des liaisons Hydrogène	45
2. La structure tertiaire	50
3. La structure quaternaire, une association de plusieurs unités	53
4. Discussion sur l'acquisition de la conformation	55
5. La stabilité des protéines	57
C. La caractérisation des protéines est basée sur leurs propriétés physico-chimiques	60
1. Les réactions de mise en évidence	60
1.1. La réaction xanthoprotéique 60	
1.2. La réaction du Biuret 60	
1.3. Le test à la ninhydrine 61	
2. La séparation par chromatographie et ses variantes	61
2.1. Chromatographie sur papier 61	
2.2. Chromatographie sur colonne 62	
2.3. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) 64	
3. La migration électrophorétique	65
3.1. Électrophorèse sur gel de polyacrilamide-SDS 66	
3.2. Séparation par focalisation isoélectrique 68	
4. Le dosage des protéines par la méthode ELISA	69
5. Détermination de la conformation spatiale par cristallographie aux rayons X	71

Chapitre III.

Les enzymes à cinétique michaelienne 73

A. Approche de la cinétique réactionnelle enzymatique	73
1. Les caractéristiques générales d'une cinétique chimique	73
1.1. Réaction d'ordre un ou réaction monomoléculaire 73	
1.2. Réaction d'ordre deux ou réaction bimoléculaire 76	
2. La particularité des réactions enzymatiques	77
2.1. Approche expérimentale de la notion de vitesse initiale 78	
2.2. Variation de la vitesse initiale au cours du temps 79	
2.3. Vitesse initiale et concentration en substrat 80	
2.4. L'hypothèse de l'équilibre 81	
2.5. L'hypothèse de l'état stationnaire 82	
3. Le modèle explicatif de MICHAÉLIS-MENTEN	83
4. Discussion du modèle de MICHAÉLIS-MENTEN	84
4.1. K_m est une mesure de l'affinité de l'enzyme pour son substrat 85	
4.2. Turn-Over et efficacité enzymatique 86	
5. Les autres modes de représentation graphique	87
5.1. La représentation de LINEWEAVER et BURK 88	
5.2. La représentation de HANES-WOLF 89	
5.3. La représentation de EADIE-HOFSTEE 89	
5.4. Une astuce graphique 90	

B. Les molécules	
1. La chaine	
2. La fibre	
C. Les caractéristiques	
1. Un caractère	
2. Des caractéristiques	
3. Un caractère	
4. Une caractéristique	
D. L'activité	
1. L'activité	
1.1. L'activité	
1.2. L'activité	
2. L'activité	
3. L'activité	
4. L'activité	
5. L'activité	
6. L'activité	

Chapitre IV.

Les enzymes

A. Le concept	
1. Les enzymes	
2. Un concept	
B. Une enzyme	
C. Structure	
1. Forme	
2. La structure	
3. L'enzyme	
4. L'enzyme	
D. Modèles	
1. Les modèles	
2. Les modèles	
E. États	
1. L'état	
2. L'état	
3. L'état	
4. L'état	
5. L'état	
F. Bilan	
dites	

Dimensions	45
Hydrogène	45
Unités	50
	53
	57
Propriétés	60
	60
	61
(HPLC)	64
	65
	66
	69
Crystallographie	71
	73
Chimie	73
Chimie	73
Aire 73	
Aire 76	
	77
Initiale 78	
aps 79	
N	83
EN	84
pour son substrat	85
	87
	88

B. Les modalités de l'action enzymatique	91
1. La chymotrypsine, une protéase à sérine	91
2. La RNase, une navette à protons	94
C. Les caractéristiques des sites actifs	95
1. Un microenvironnement d'où l'eau est exclue	96
2. Des forces d'interaction faibles	97
3. Un nombre limité de résidus impliqués dans la reconnaissance	97
4. Une complémentarité stéréospécifique	101
D. L'activité des enzymes Michaéliennes peut être empêchée	104
1. L'inhibition compétitive	104
1.1. L'AZT, molécule thérapeutique	108
1.2. L'inhibiteur pancréatique de la trypsine pancréatique	108
2. L'inhibition incompétitive	109
3. L'inhibition non compétitive	111
4. L'inhibition mixte	114
5. L'inhibition par excès de substrat	115
6. L'inhibition par excès de produit	117
Chapitre IV.	
Les enzymes allostériques obéissent à une cinétique particulière	119
A. Le concept d'allostérie	119
1. Les enseignements de l'hexokinase	119
2. Un concept étendu aux protéines multimériques	122
B. Une cinétique qui n'obéit pas à l'équation de Michaélis-Menten	122
C. Structure oligomérique et coopérativité	123
1. Formes T et formes R	123
2. La cinétique d'une enzyme allostérique	125
3. L'effet coopératif explique la courbe sigmoïde	126
4. Illustrations analogiques : timbre poste et crise de fou rire !	127
D. Modèle concerté ou modèle séquentiel ?	128
1. Le modèle concerté	128
2. Le modèle séquentiel	129
E. Étude d'un exemple : l'Aspartate Trans Carbamylase	131
1. L'enzyme présente deux catégories de sites différents	131
2. L'enzyme est sensible à des effecteurs aux effets opposés	132
3. Organisation moléculaire de l'enzyme	133
4. Le mécanisme responsable de l'oscillation entre les formes R et T	134
5. Il existe des inhibiteurs compétitifs	137
F. Bilan : propriétés caractéristiques des enzymes dites allostériques	139

Chapitre V.	
L'activité enzymatique peut aussi être modifiée par d'autres voies	141
<hr/>	
A. La modification covalente	141
1. La phosphorylation/déphosphorylation	141
1.1. La PFK-2, une enzyme en tandem	142
1.2. Le contrôle du métabolisme du glycogène	145
1.2.1. La phosphorylase kinase est un complexe enzymatique	146
1.2.2. La calmoduline, une protéine en forme d'haltère déformable	147
1.2.3. AMPc et Kinase A réalisent une régulation perfectionnée	148
1.3. La régulation de l'activité de la PEP carboxylase	150
2. Le clivage protéolytique	152
2.1. La sécrétion des zymogènes	152
2.2. Le trypsinogène est activé par une entéropeptidase	153
2.3. Le principe des cascades enzymatiques	155
B. Importance des paramètres cinétiques	156
<hr/>	
Chapitre VI.	
Les coenzymes	159
<hr/>	
A. Couples rédox et potentiel d'oxydoréduction	159
B. Les coenzymes d'oxydoréduction	160
1. La Nicotinamide Adénine Dinucléotide ou NAD	160
2. La Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate ou NADP	162
3. Les Flavines-nucléotides (FMN et FAD)	163
4. Les hèmes (Fe ⁺⁺) et hématines (Fe ⁺⁺⁺)	165
5. Les Quinones	166
6. L'acide lipoiïque	167
C. Les coenzymes de transfert de groupements	168
1. La thiamine pyrophosphate (TPP) ou cocarboxylase	168
2. Le coenzyme A ou coenzyme d'acylation	169
3. L'uridine diphosphate ou UDP	171
4. La biotine	174
5. Le phosphate de pyridoxal	175
6. La S-adénosyl-méthionine	176
7. L'acide tétrahydrofolique ou FH ₄	176
8. Les cobalamines-coenzymes	176
<hr/>	
Conclusion	177
<hr/>	
Exercices 179 Corrigés 195	
<hr/>	
Bibliographie	217
<hr/>	
Index	223

A

abzyme

acylation

actin

actin

acylation

acylation

allozyme

AMP

amylase

Arizone

Aspartate

ATP

Arizone

Aspartate

ATP

Arizone

Aspartate

ATP

B

Biotine

Biotine

Biotine

Biotine

Biotine

Biotine

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

C

Sciences
de la Vie
et de
la Terre

LES enzymes sont des acteurs discrets mais omniprésents de la vie cellulaire. Sans ces protéines douées d'un pouvoir catalytique, aucune des réactions indispensables au métabolisme des cellules ne serait possible. Les enzymes sont des biocatalyseurs protéiques.

Cet ouvrage se propose donc d'étudier le mode d'action de ces biomolécules à partir de quelques exemples. L'objectif recherché est d'apporter un éclairage pédagogique de bon niveau scientifique pour tout étudiant désireux de poursuivre des études supérieures en biologie.

Cet ouvrage est donc naturellement destiné aux étudiants de premier cycle universitaire en Sciences de la Vie, aux étudiants des classes préparatoires de type BCPST ou VETO ainsi qu'aux candidats préparant les concours de recrutement de l'Éducation nationale (CAPES, Agrégation).

Toutefois, les professeurs des classes de l'enseignement secondaire pourront y trouver des schémas ainsi que des compléments d'information susceptibles de les aider dans leur pratique pédagogique.

Illustration de couverture :

Modèles moléculaires « fil de fer », reconstitués par ordinateur de la Lipase pancréatique, avec l'aimable autorisation de Paba & Rossi, © CRDP de Marseille, 1991.



ISBN 2-7298-0064-6