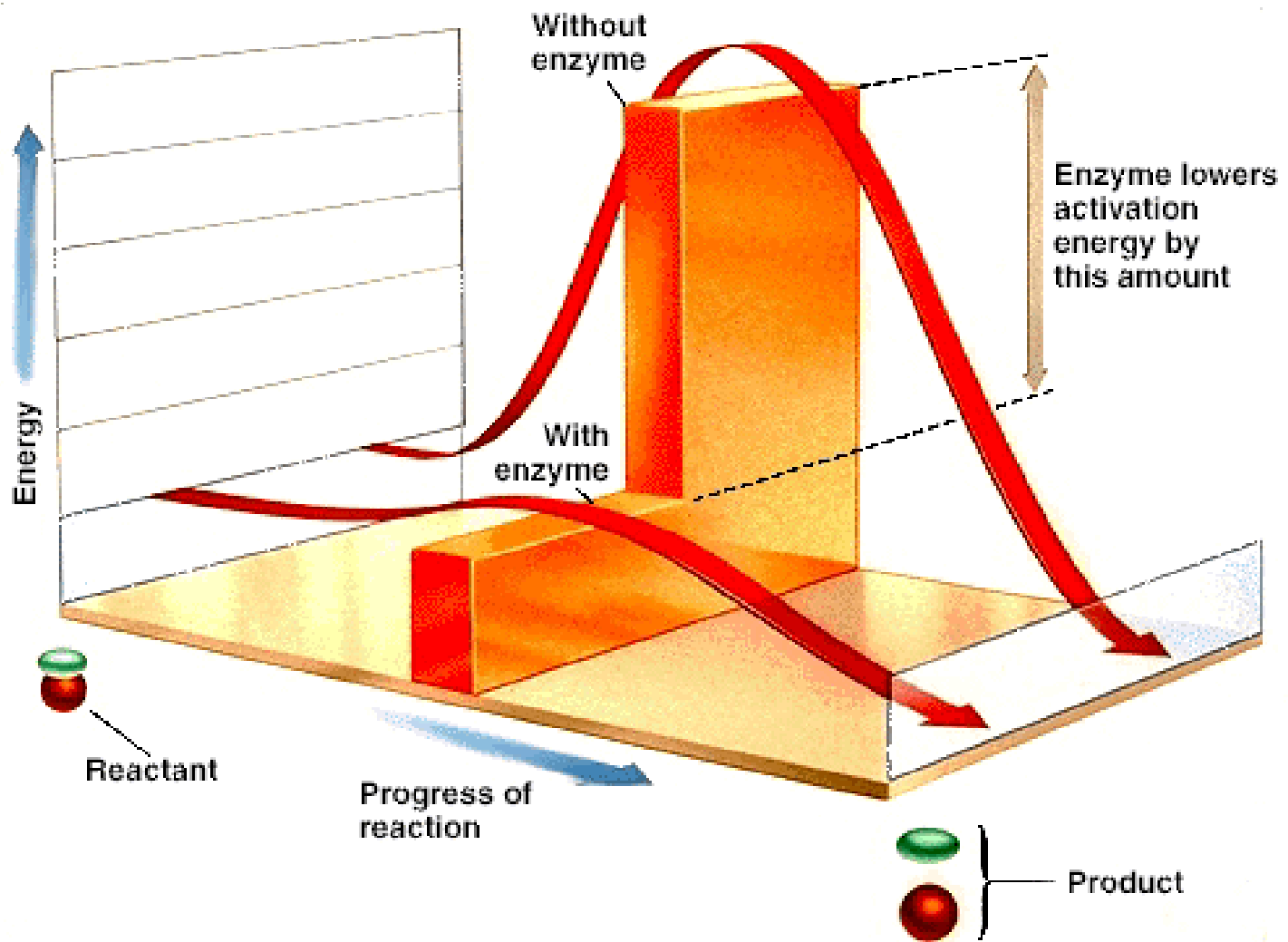


# Enzymes



# Plan du cours

- Notions essentielles sur les enzymes:
  - Généralités: classification, action, structure (enzymes, complexe ES)
  - Vitesse, activité enzymatique
  - Cinétique: influence de  $[E]$  et  $[S]$  sur l'activité enzymatique
  - Influence des facteurs physiques: température, pH
  - Effecteurs enzymatiques
  - Enzymes allostériques
  - Régulation de l'activité enzymatique
  - Structure et importance des isoenzymes.

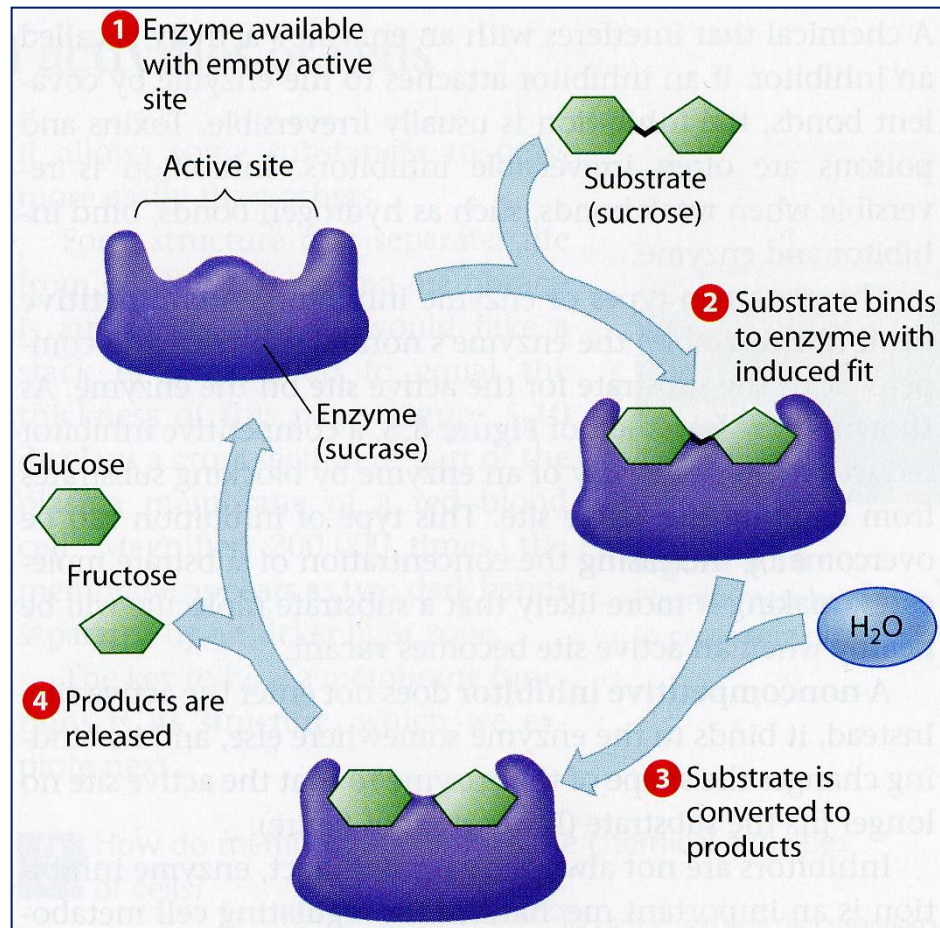
# Importance des enzymes

- Développement des connaissances médicales
  - Déchiffrement des voies métaboliques + leurs mécanismes de contrôle
  - Déficiences enzymatiques → maladies métaboliques
  - Importance des cofacteurs (coenzymes, ions métalliques)
- **Biologie médicale: dosage des enzymes** → diagnostic et suivi des patients
- **Recherches en biochimie, pharmacologie** → nouveaux médicaments >50%  
→ activateurs, inhibiteurs, substituants des enzymes.



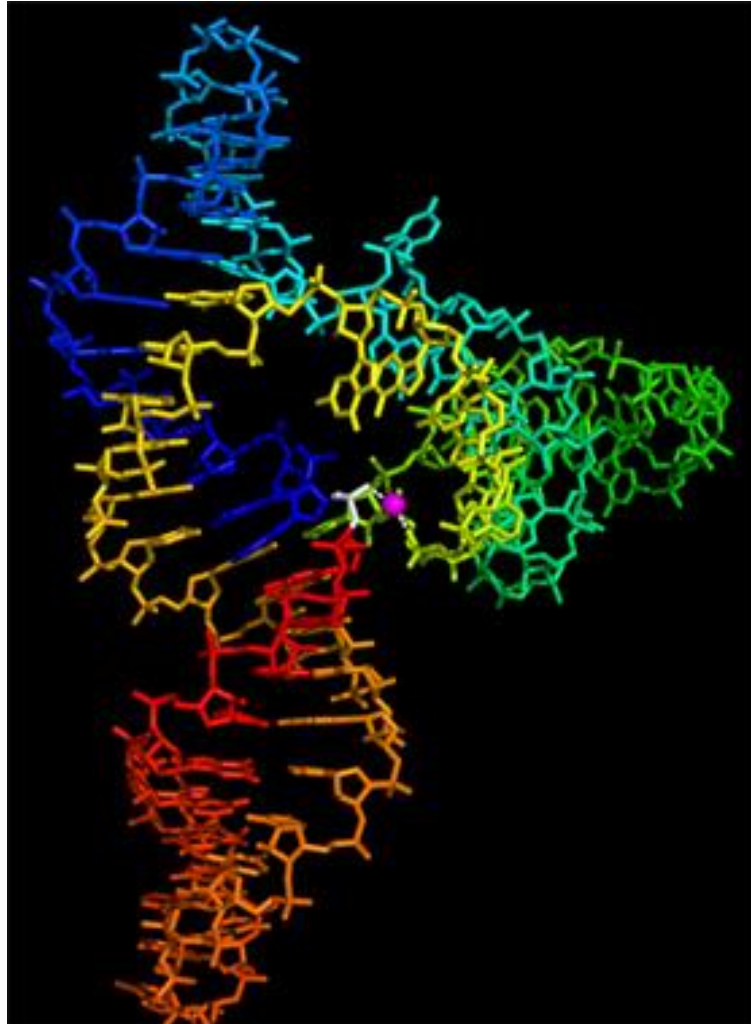
# Enzymes

- **Biocatalyseurs:** ↑ vitesse des réactions, sans en modifier l'équilibre
  - Quantités infimes, par rapport aux réactants
  - Régénération à la fin de la réaction → reprise du cycle catalytique
  - Structure: protéines / ARN (ribozymes).



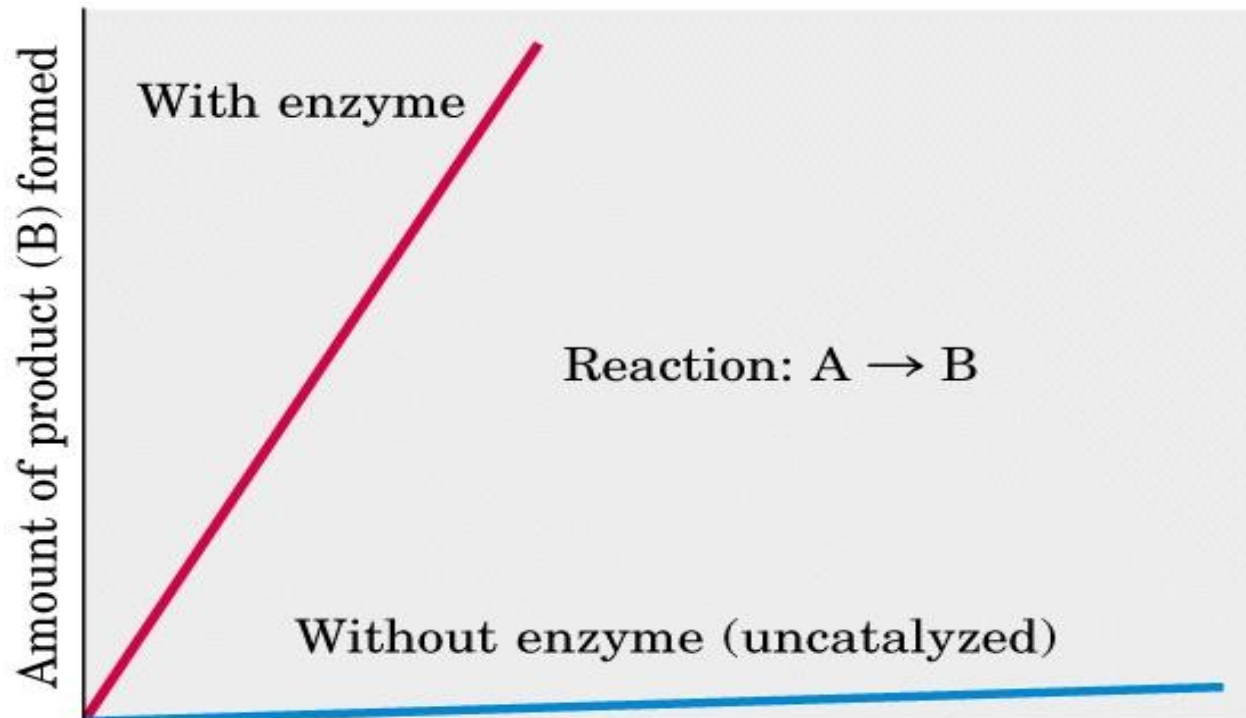
# Ribozymes

- ARN: action catalytique sur eux-mêmes / autres ARN (probablement les premières enzymes).



# Action des enzymes

- **Rôle des enzymes**: vitesse, spécificité, contrôle des réactions biochimiques
  - Conditions habituelles (37°C, 1 atm, pH 7,4, milieu aqueux): les réactions spontanées sont trop lentes pour soutenir la vie
  - Réactions spontanées: conditions incompatibles avec la vie (↑ température et pression, solvants non aqueux, pH acide/basique)
- **Efficacité catalytique**: accélération de la vitesse de réaction ( $\approx 10^5$ - $10^{17}$  fois, par rapport à la réaction spontanée).

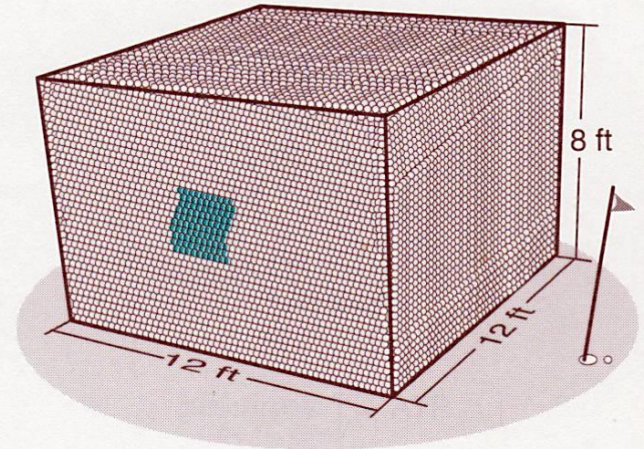


# Exemple d'efficacité catalytique

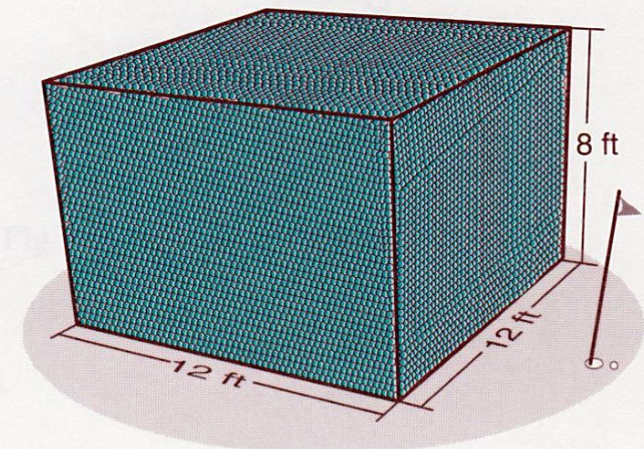
■ Soit une « réaction » qui produit des molécules bleues

- Réaction spontanée → 100 molécules/an
- Réaction enzymatique → 380.000 molécules / seconde / molécule d'enzyme
- Accélération moyenne de la vitesse de réaction  $\approx 10^{11}$  fois, par rapport à la réaction spontanée.

After one year  
in the absence of enzyme

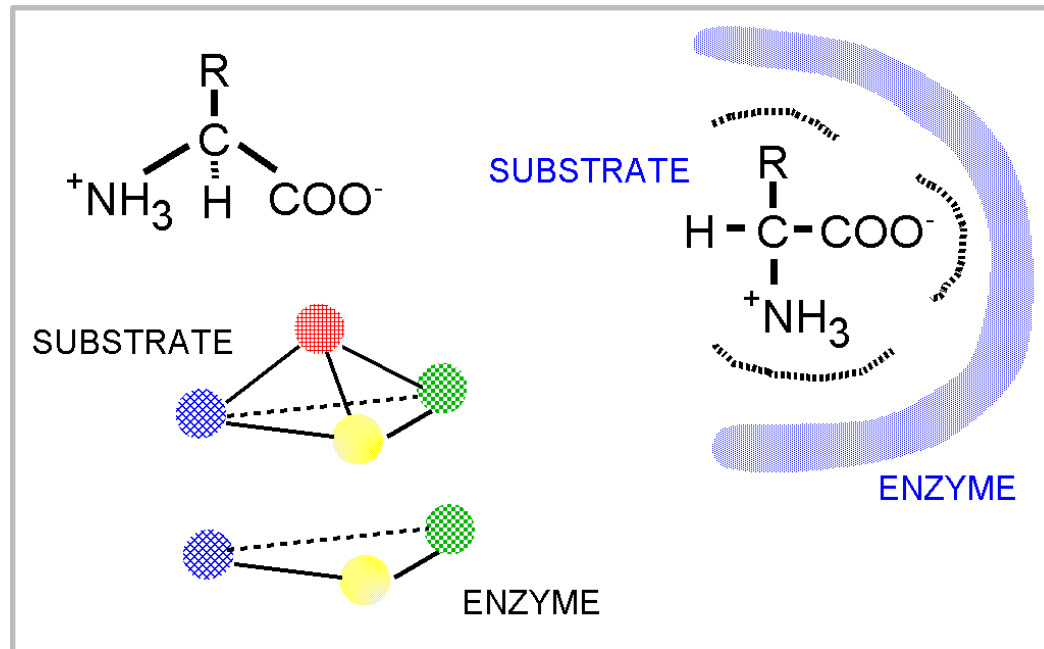


After one second  
with one molecule of enzyme



# Substrat et produit de la réaction

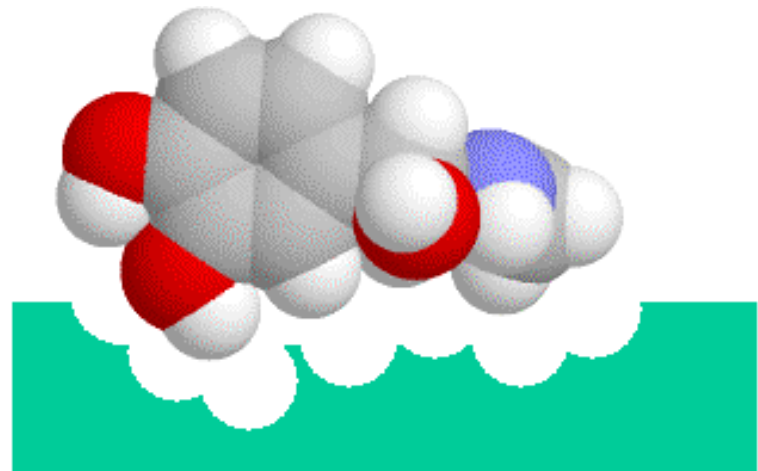
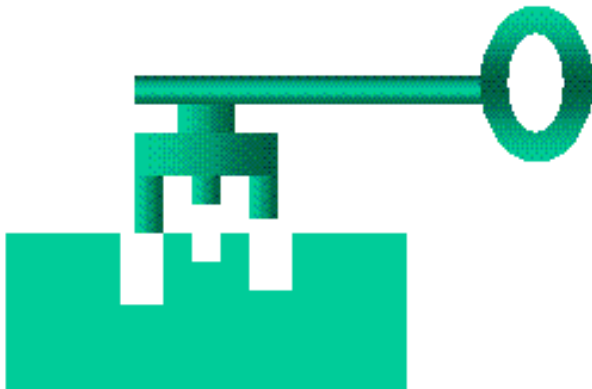
- **Substrat (S)**: molécule qui entre dans la réaction enzymatique et y sera définitivement transformée
  - Au moins 3 points de contact enzyme ↔ substrat
- **Produit (P)**: nouvelle molécule qui résulte de la transformation chimique
  - Lorsque le sens d'une réaction réversible est inversé, P redevient S.



# Spécificité enzymatique

## ■ Spécificité enzymatique

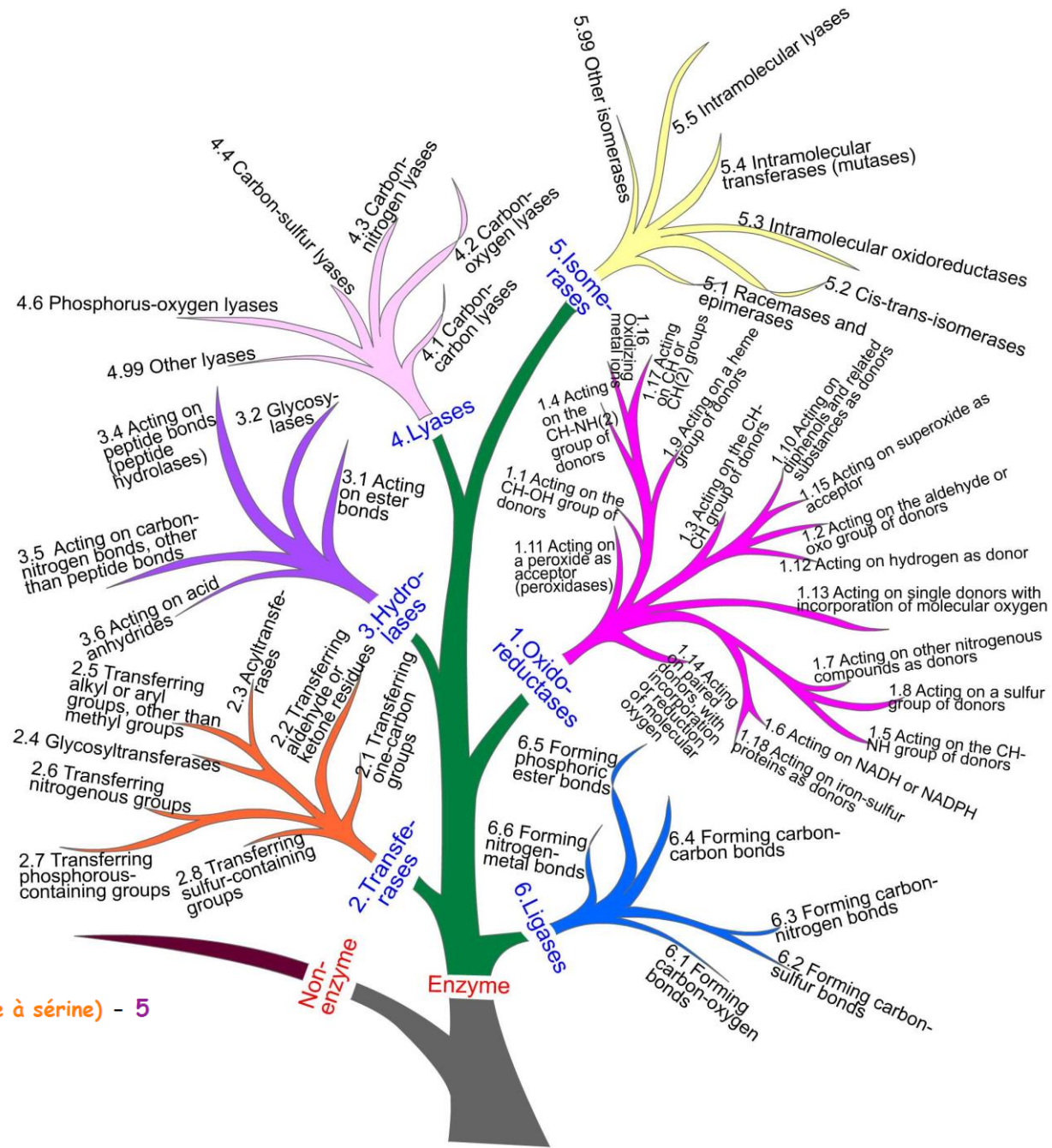
- **Spécificité de réaction**: une enzyme catalyse toujours la même réaction
- **Spécificité envers le substrat**: chaque enzyme agit sur un même substrat / nombre restreint de substrats (même classe)
- **Stéréospécificité**: différenciation des substrats qui ne diffèrent que par la structure 3D (un seul isomère, un seul groupe fonctionnel).



# Classification

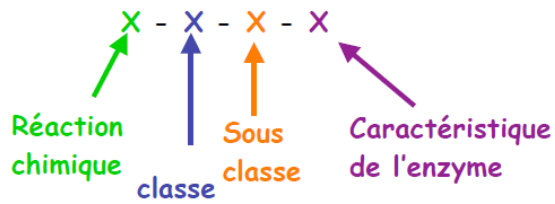
- **Nomenclature internationale** (4 chiffres)
  - 1<sup>er</sup> chiffre: classe → type de réaction catalysée
  - 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup>: sous-classe et sous-sous-classe → nature des réactants sur lesquels agit l'enzyme (fonction/liaison impliquée et respectivement, nature de l'accepteur)
  - 4<sup>ème</sup>: numéro d'ordre
- **Classe 1: oxydoréductases** – transfert d'électrons (donneur → accepteur)
- **Classe 2: transférases** – transfert d'un groupe fonctionnel (donneur → accepteur)
- **Classe 3: hydrolases** – addition  $H_2O$  → clivage d'une liaison C-O, C-N, C-S
- **Classe 4: lyases** – synthèse des doubles liaisons / addition des groupes fonctionnels à ces liaisons; clivage des liaisons C-C, C-S, C-N
- **Classe 5: isomérases** – conversion entre les isomères optiques/géométriques
- **Classe 6: ligases** – synthèse des liaisons C-C, C-S, C-O, C-N + hydrolyse d'une molécule riche en énergie.

# Classification



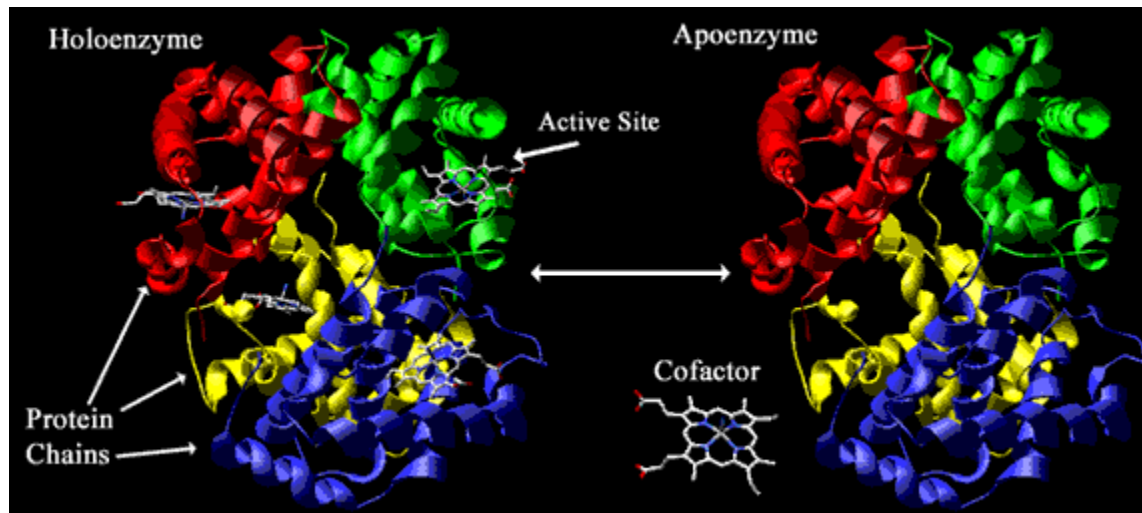
Ex.: chymotrypsine = EC 3.4.4.5

3 (hydrolase) - 4 (hydrolyse de peptide) - 4 (protéase à sérine) - 5 (chymotrypsine)



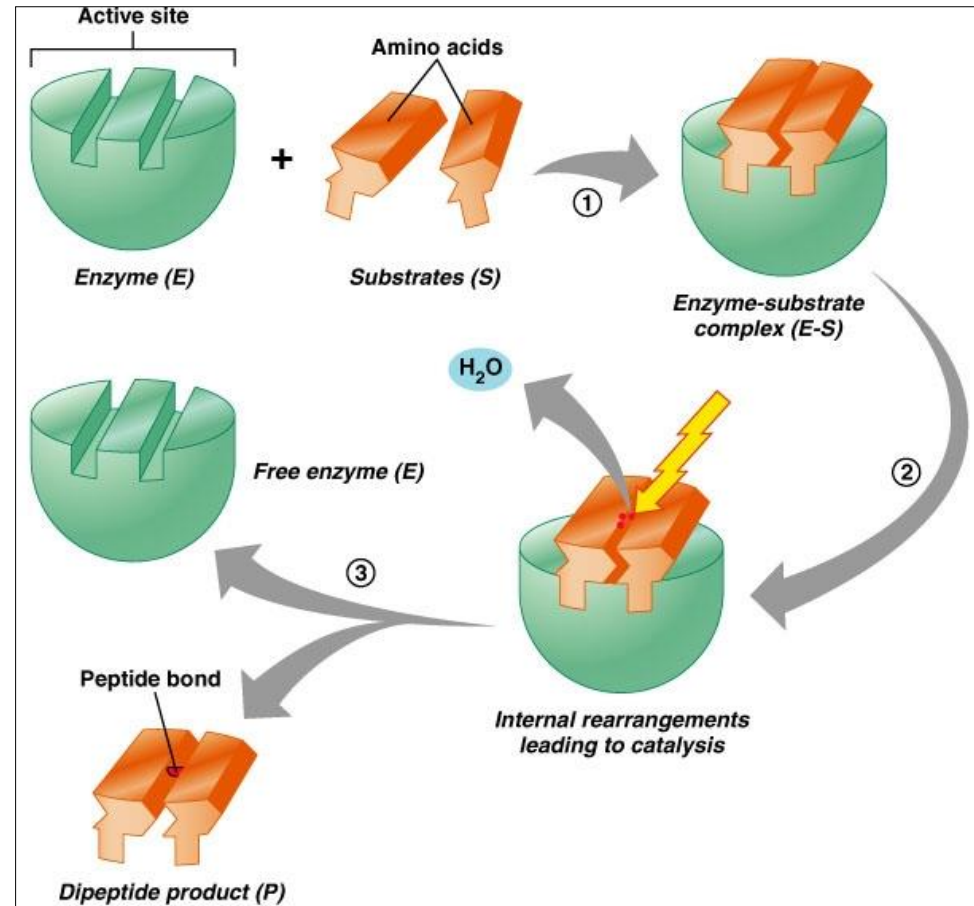
# Cofacteurs enzymatiques

- Atomes/molécules qui facilitent la réaction enzymatique (liaison du substrat, catalyse, constituants structurels de l'enzyme...)
- Classification (nature chimique)
  - Ions métalliques:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , Mo, Se,  $\text{K}^{+}$
  - Coenzymes (molécules organiques)
    - Origine: dérivés des vitamines (diète) / issus de la synthèse endogène (cellules / bactéries intestinales)
    - Interaction avec l'enzyme: libres / liés définitivement (groupes prosthétiques); holoenzyme: apoenzyme + coenzyme lié.



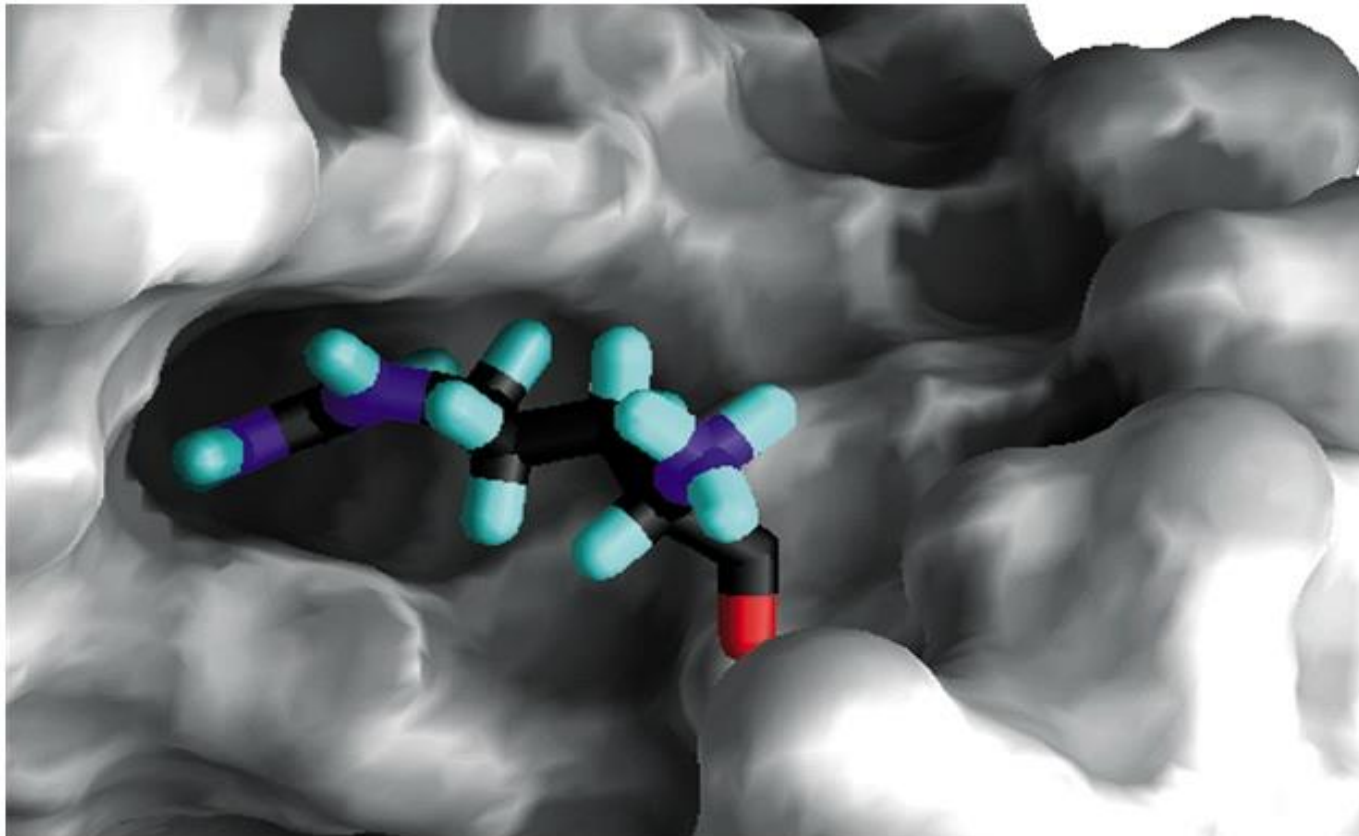
# Structure des enzymes

- **Centre actif**: site de liaison du substrat → catalyse enzymatique
  - **Résidus constitutifs** (pas toujours voisins dans la structure primaire) → structure 3D: liaison du substrat par complémentarité stérique
  - **Résidus catalytiques**: catalyse proprement-dite
- **Enzymes allostériques**: chaque sous-unité → centre actif (substrat) + centre allostérique (régulateurs).

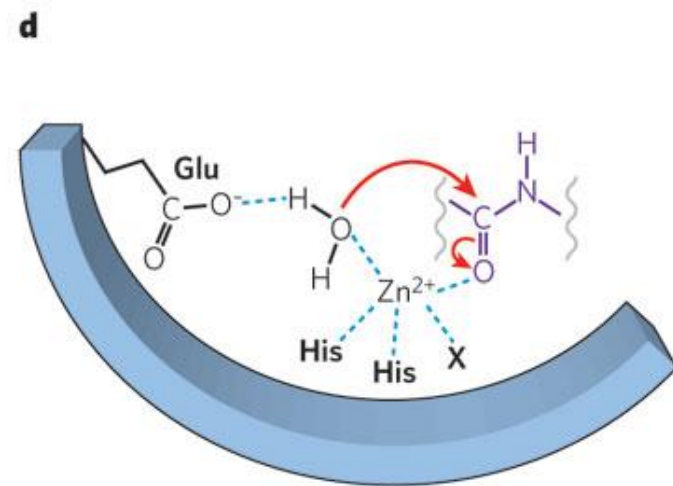
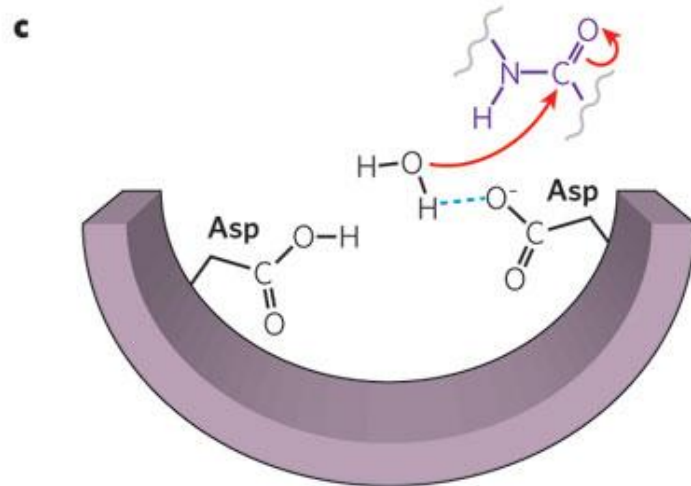
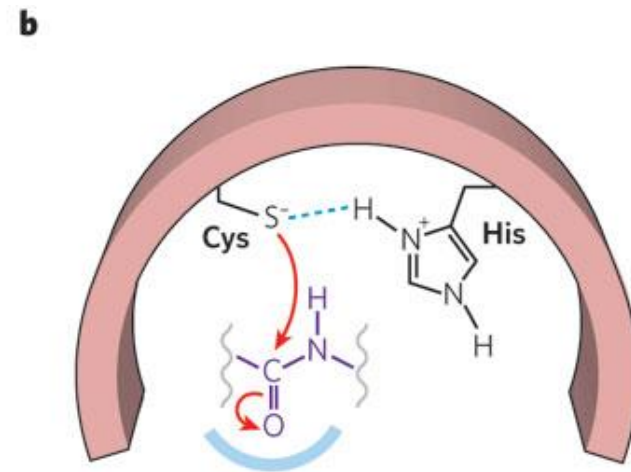
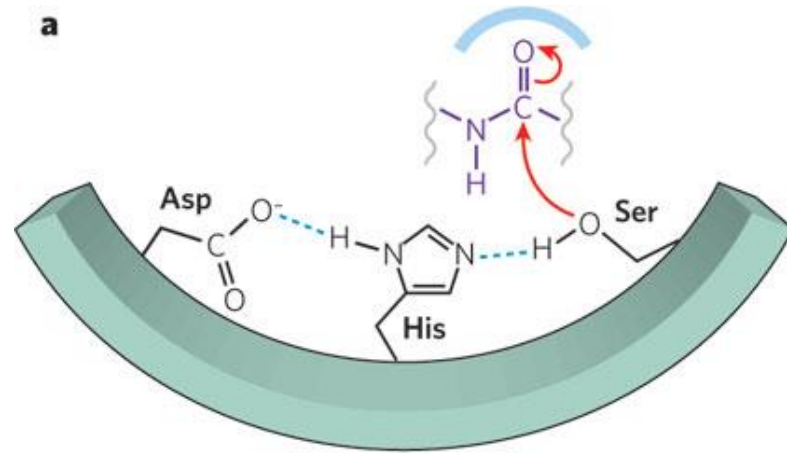


# Structure du centre actif

- **Conformation**: poche / crevasse à la surface de l'enzyme; acides aminés souvent hydrophobes → exclusion des molécules d'eau
- **Résidus catalytiques au centre actif** (souvent Ser, His, Tyr, Cys...)
  - Chaînes latérales: rapprochement, orientation correcte du substrat / cofacteurs.



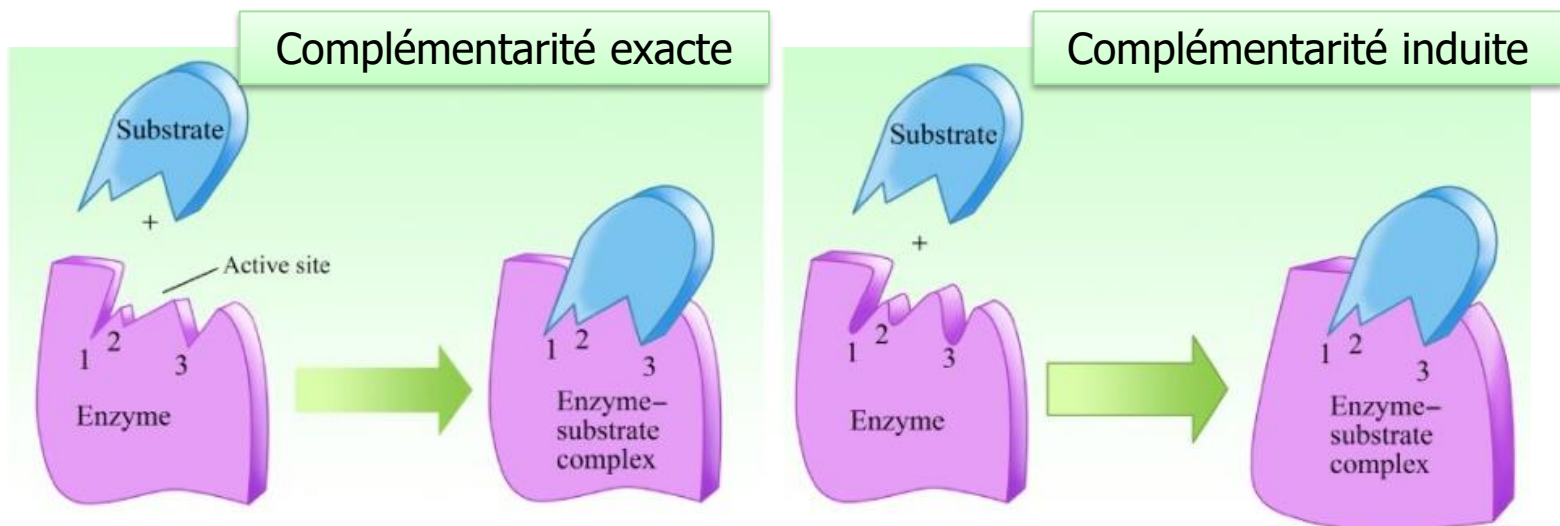
# Exemples de résidus catalytiques



a – sérine-protéases; b – cystéine-protéases; c – aspartyl-protéases;  
d- métalloprotéases

# Complexe enzyme-substrat

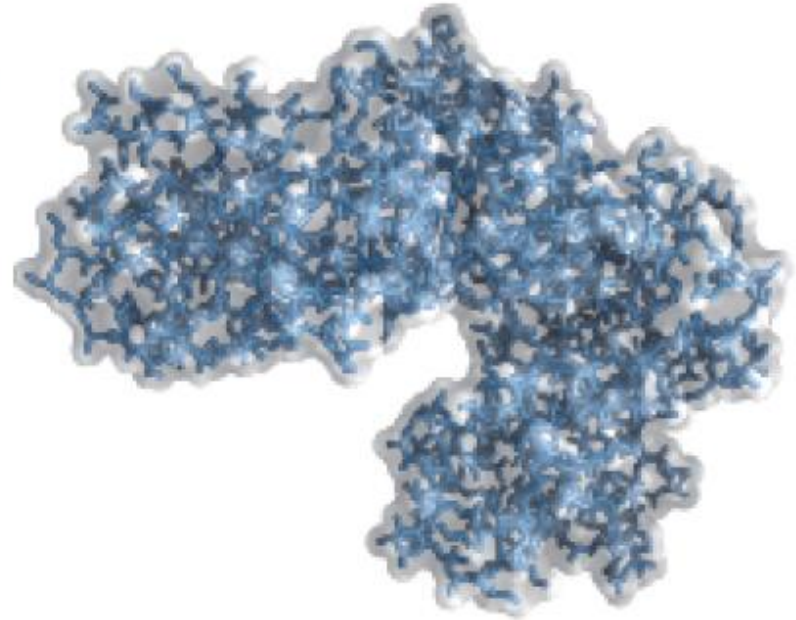
- S + centre actif → complexe intermédiaire ES (liaisons non-covalentes)
- **Reconnaissance du substrat**: complémentarité stérique (S ↔ chaînes latérales des résidus constitutifs du centre actif)
  - **Modèle de la complémentarité exacte** (clé et serrure)
  - **Modèle de la complémentarité induite**: absence de complémentarité initiale → changement conformationnel de l'enzyme → meilleure complémentarité
    - Première approche → quelques liaisons faibles → transition conformationnelle → plusieurs liaisons faibles → stabilisation du complexe ES
    - Propriété générale des protéines qui fixent réversiblement leurs ligands.



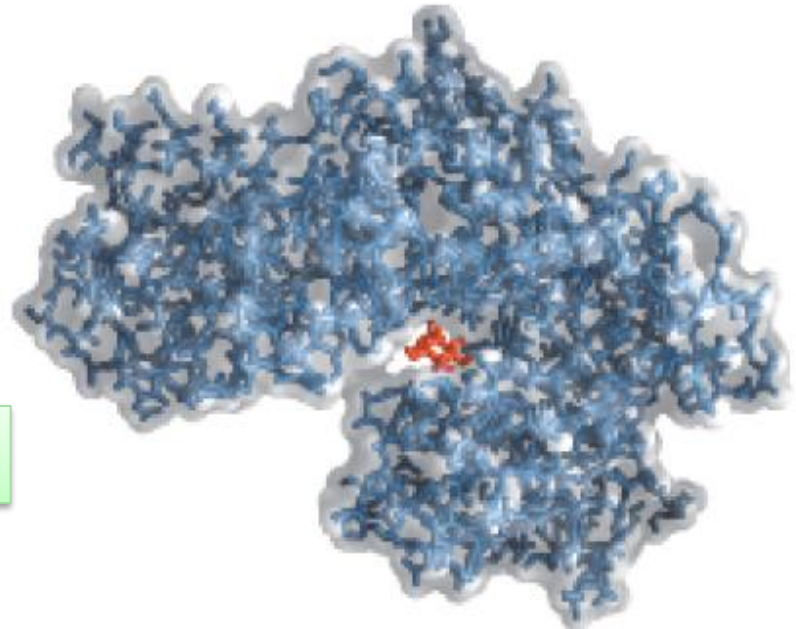
# Exemple de complémentarité induite

Hexokinase

(a)



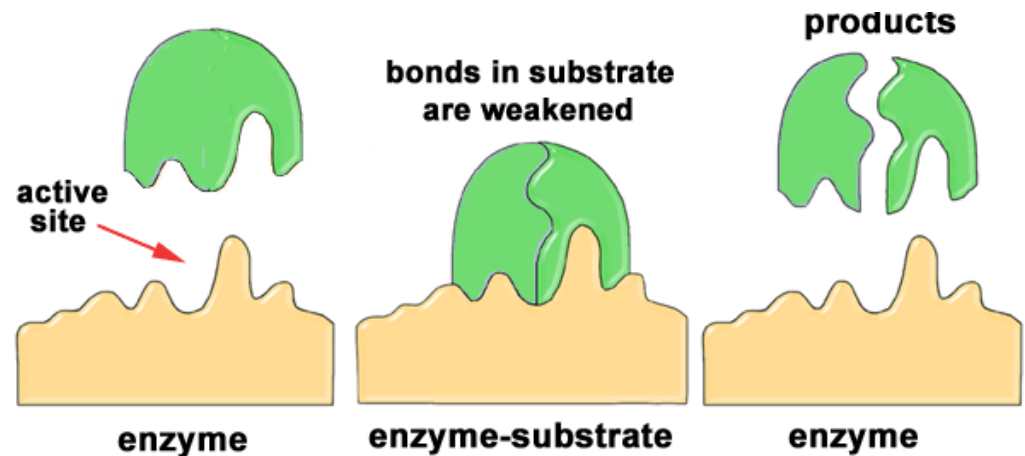
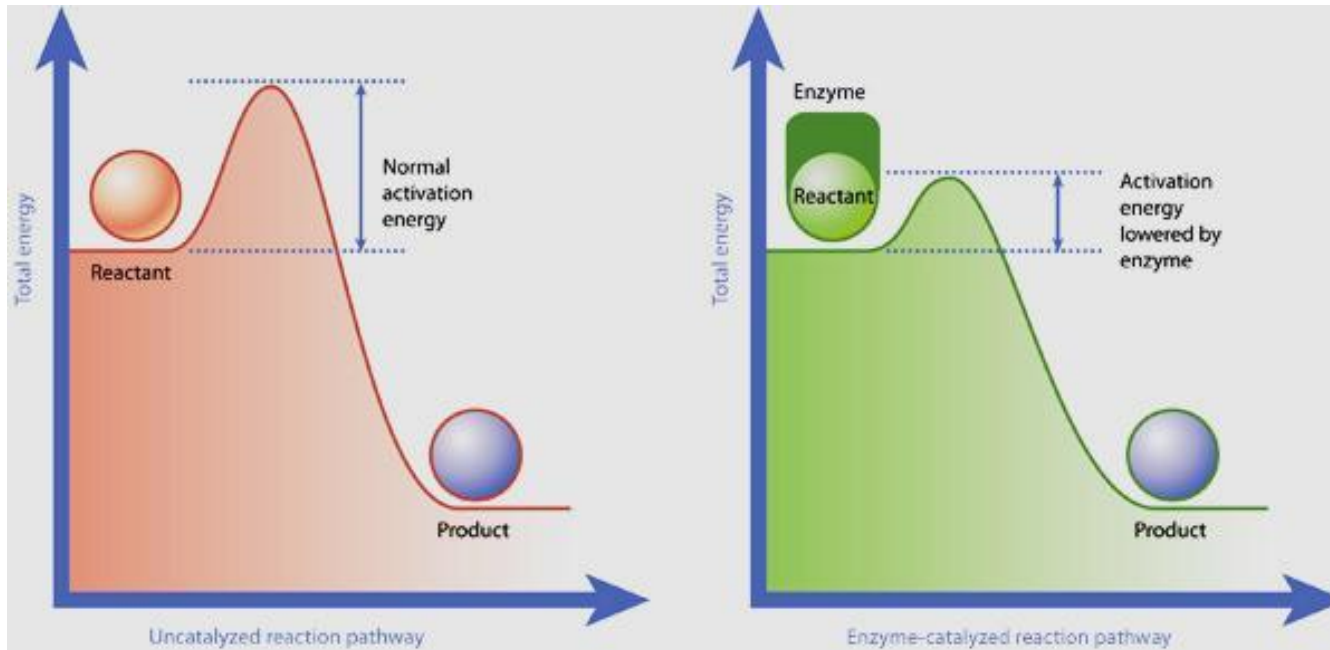
(b)



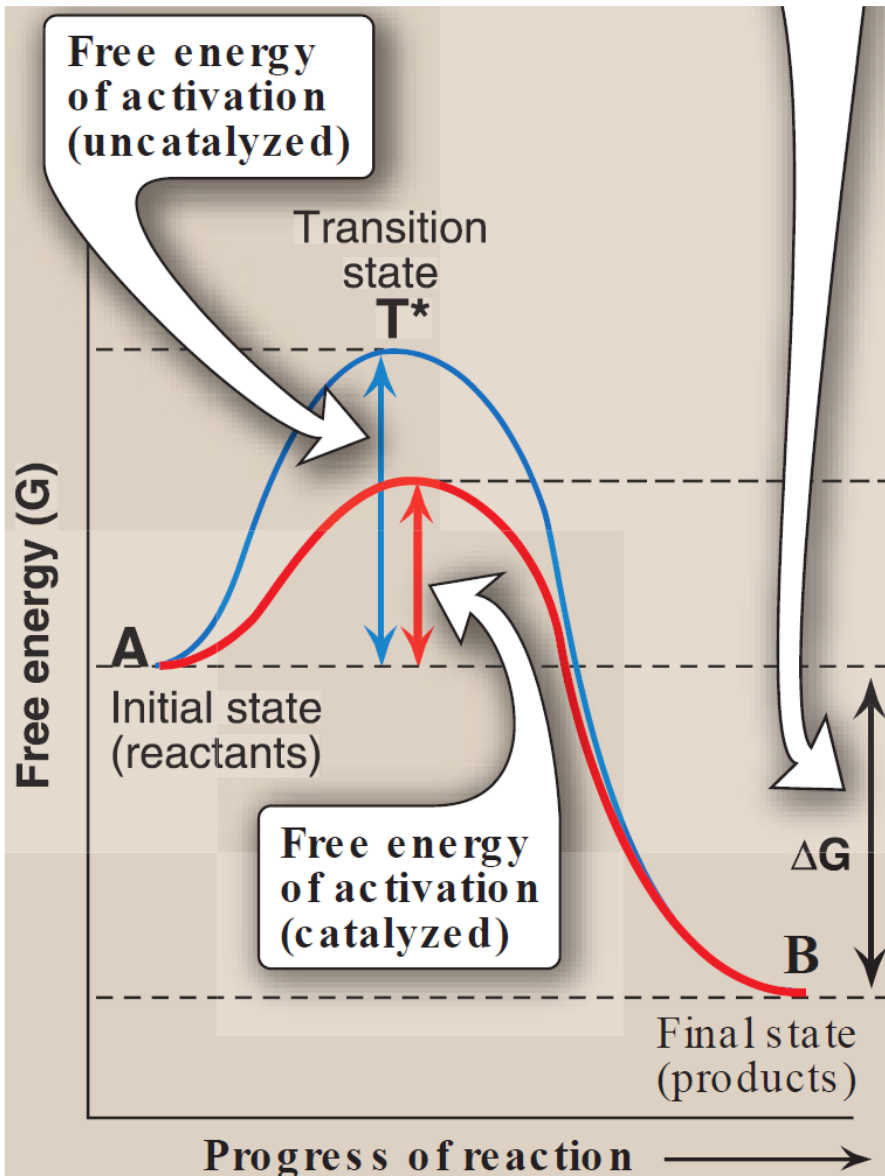
Liaison du substrat (glucose)

# Mécanisme d'action des enzymes

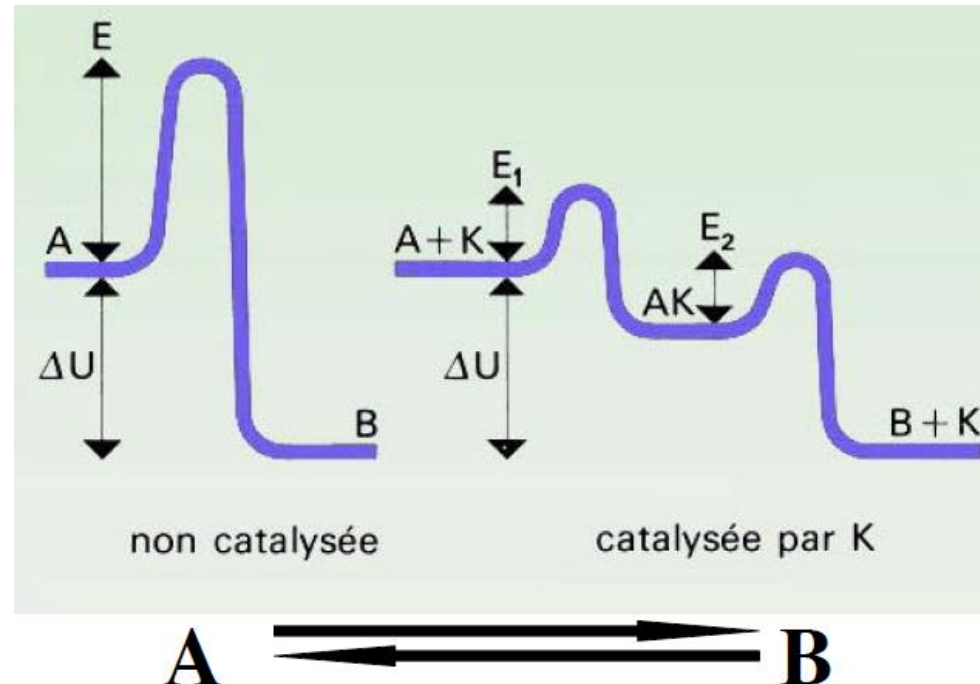
**Catalyse enzymatique:** dissociation des liaisons chimiques du substrat → synthèse de nouvelles liaisons, spécifiques du produit



# Mécanisme d'action des enzymes



- Enzymes:  $\downarrow$  énergie libre d'activation (synthèse du complexe ES  $\rightarrow$  énergie d'activation plus faible, stabilisation de l'état de transition,  $\uparrow$  probabilité de formation de l'état de transition)



# Etapes de la réaction enzymatique

1.  $E + S \rightarrow$  complexe intermédiaire  $ES$ 
  - Chaque molécule d'enzyme doit lier le(s) substrat(s)
2. Catalyse proprement-dite:  $ES \leftrightarrow EP$ 
  - Phase réversible si la réaction aboutit à un équilibre
3. Dissociation  $EP \rightarrow E + P$ 
  - Réaction réversible:  $P$  redevient  $S$  en s'associant à l'enzyme.



# Constantes de la réaction enzymatique

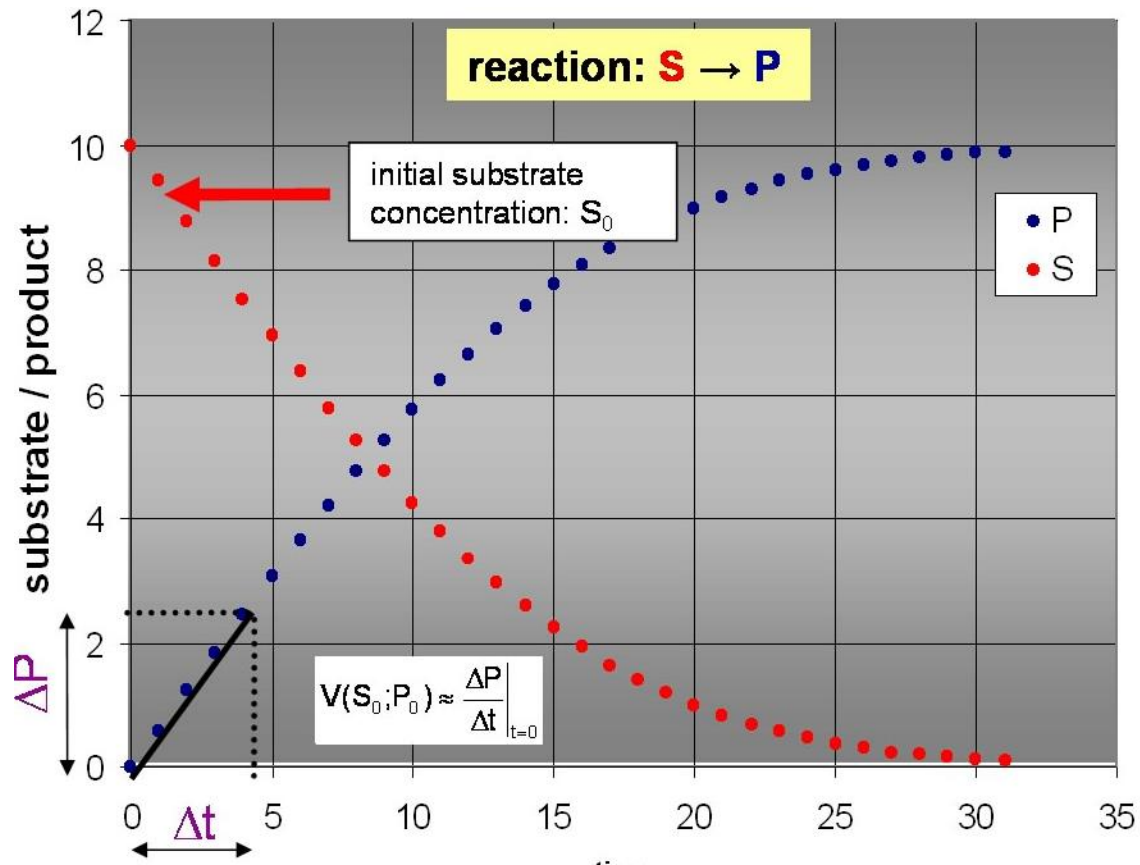


$k_1$  et  $k_{-1}$  sont les **constantes de vitesse d'association et de dissociation** du complexe ES

$k_{\text{cat}}$  ( $k_2$ ) est la **constante catalytique**, c'est-à-dire la constante de vitesse de la réaction enzymatique

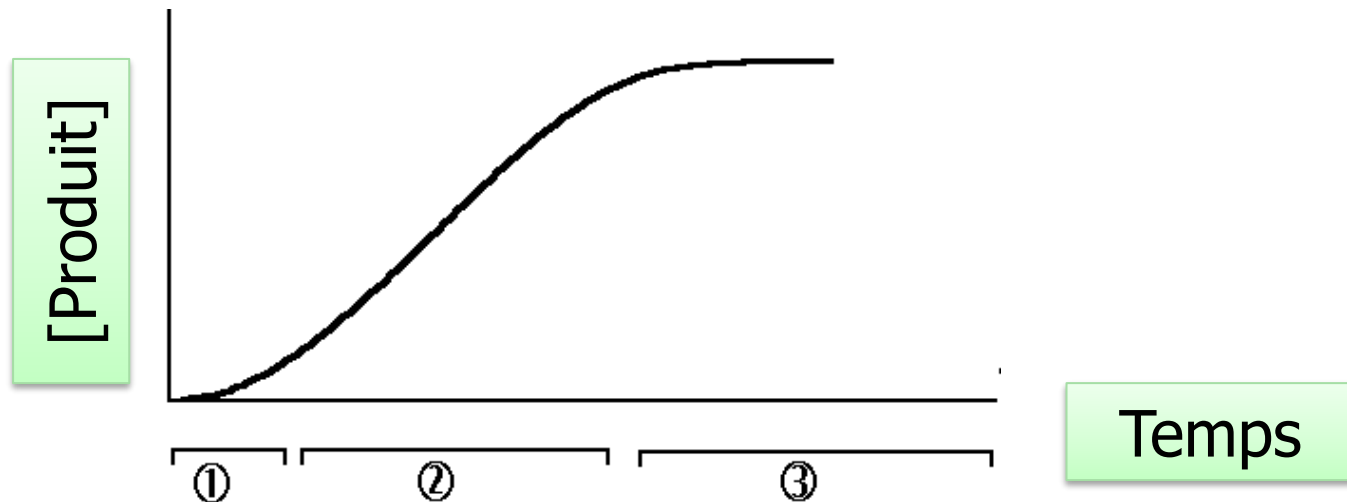
# Vitesse de la réaction enzymatique

- Observations expérimentales: variation [S] ou [P] en fonction du temps
- Vitesse de réaction:  $-\Delta S / \Delta t = \Delta P / \Delta t$
- Vitesse: nombre de moles de S transformées en P/volume /  $\Delta t$ .



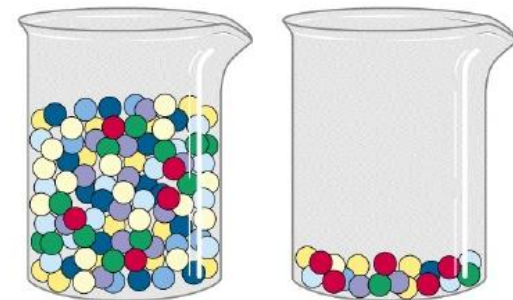
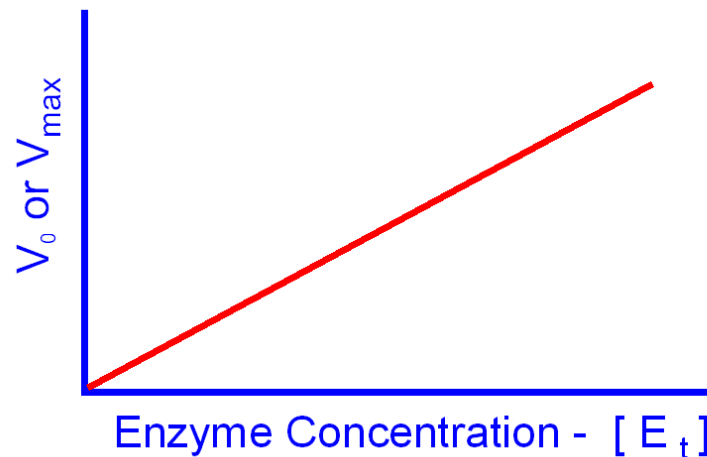
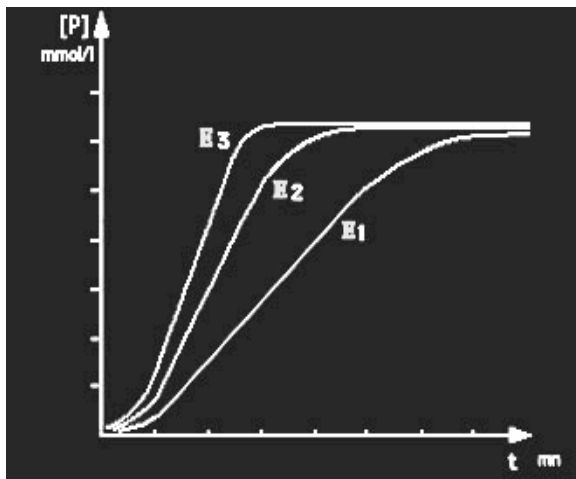
# Evolution de la vitesse de réaction

- 1) Phase pré-stationnaire: phase de latence, vitesse  $\approx$  nulle
- 2) Phase stationnaire: vitesse constante  $\rightarrow$  vitesse initiale ( $v_0$ )
  - $E + S \rightarrow ES$ ,  $\uparrow [ES]$  (maximum de molécules d'enzyme liées au substrat)
  - Efficacité catalytique maximale  $\rightarrow v_0$  est la plus grande vitesse mesurable
- 3) Phase de plateau: équilibre de la réaction
  - $\uparrow [P] \rightarrow$  activation de la réaction inverse  $\rightarrow$  diminution de la vitesse
  - Equilibre: vitesse de la transformation inverse égale à celle de départ  $\rightarrow$  les concentrations ne changent plus.



# Influence de la concentration d'enzyme

- Variation de  $v_0$  en fonction de  $[E]$ : proportionnalité linéaire
- $v_0$  directement proportionnelle à  $[E]$ : mesure de  $v_0$  pour exprimer la quantité d'enzyme active → dosage enzymatique.



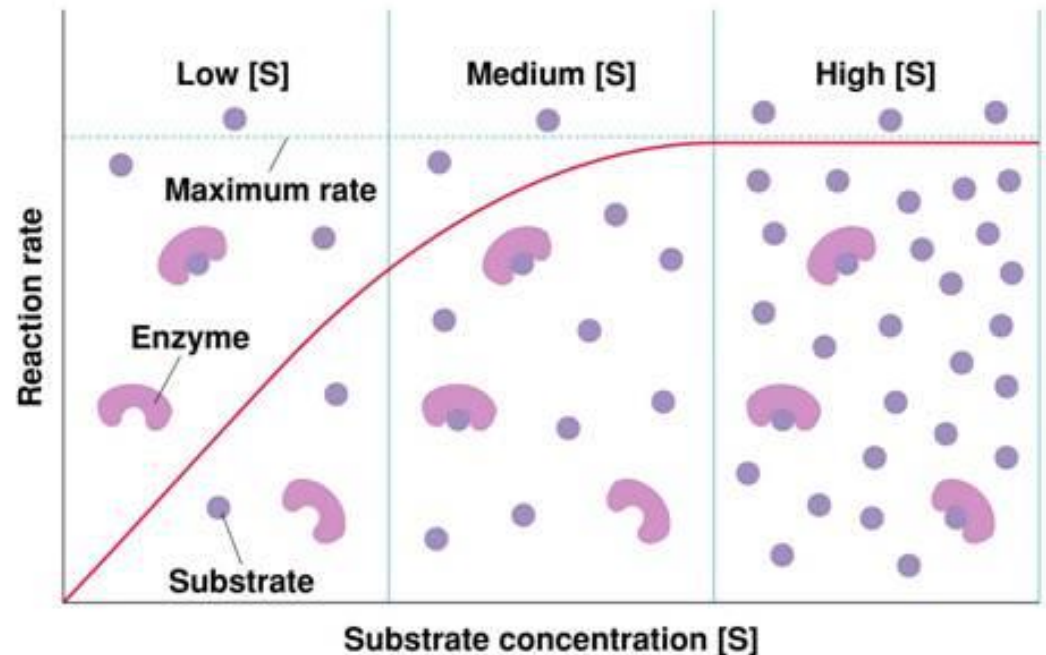
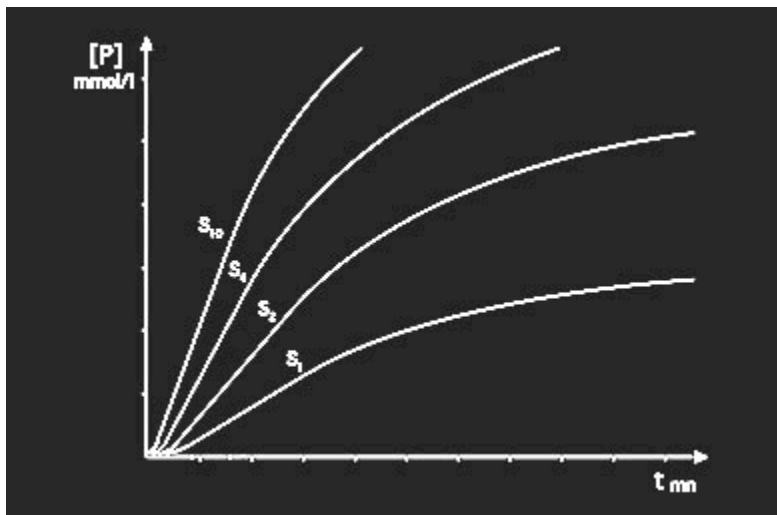
Activité spécifique

# Dosage enzymatique

- **Activité enzymatique** ( $v_0$ ): quantité de S  $\rightarrow$  P/intervalle de temps, volume donné, conditions optimales (température, pH, [S, cofacteurs])
- **Expression de l'activité enzymatique**
  - *Unité internationale* (UI): quantité d'enzyme  $\rightarrow$  transformation 1  $\mu$ mol S/min; fluides biologiques: UI/L (UI/mL)
  - *Katal* (Kat): quantité d'enzyme  $\rightarrow$  transformation 1 mol S/sec
  - *Activité spécifique*: UI/mg de protéines (concentration d'enzyme active)
  - *Numéro de turnover* (constante catalytique): nombre de molécules de S  $\rightarrow$  P / seconde / molécule d'enzyme
- **Conditions pour un dosage correct**
  - Mesure de  $v_0$  (disparition du S / apparition du P)
  - Excès de S  $\rightarrow$   $v_0$  dépend seulement de [E]
  - Température, pH constants, absence d'inhibiteurs.

# Influence de la concentration de substrat

- **Variation de  $[S]$ :**  $v_0$  sera différente pour chaque concentration
  - Lorsque  $[S] \uparrow \rightarrow v_0$  est plus grande que lorsque  $[S] \downarrow$
- **Variation de  $v_0$  en fonction de  $[S]$ :** relation non-linéaire  $\rightarrow$  hyperbole.



# Hyperbole de Michaelis et Menten

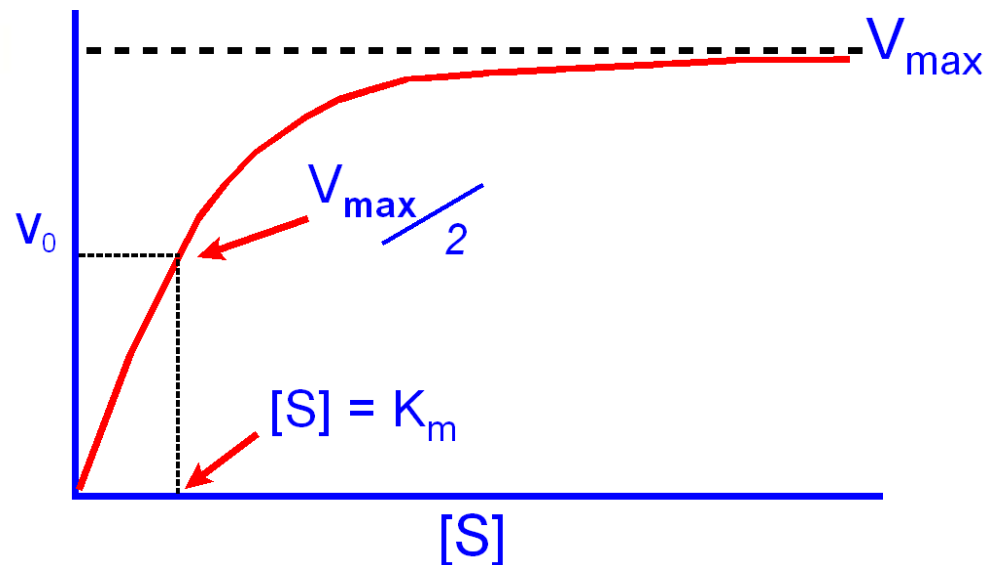
- $[S] = 0$ :  $v_0 = 0 \rightarrow$  l'hyperbole croise l'origine des axes
- $[S]$  tend vers l'infini: l'hyperbole se rapproche de son asymptote
- Paramètres cinétiques
  - Vitesse  $V_{\max}$  (asymptote): vitesse théorique  $\rightarrow [S]$  tend vers l'infini
  - Constante de Michaelis  $K_m$ :  $[S] \rightarrow v_0 = V_{\max}/2$ .



Leonor Michaelis,  
1875–1949



Maud Menten,  
1879–1960



# Equation de Michaelis-Menten

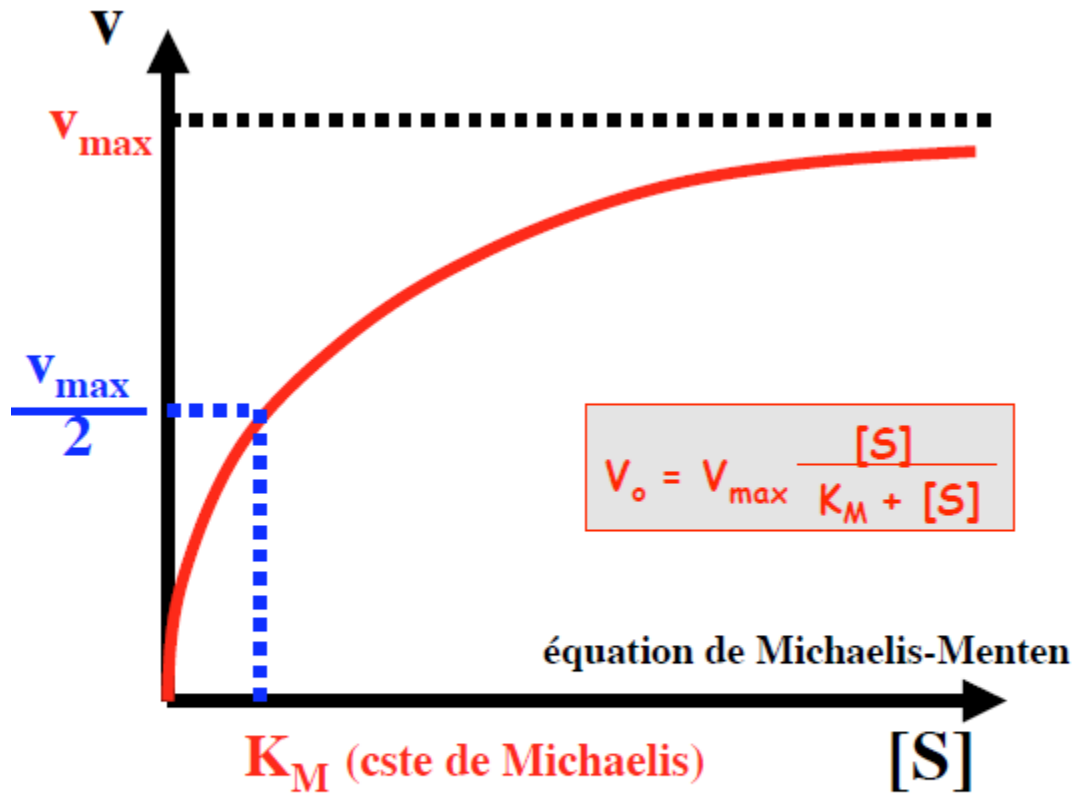
- **Objectif:** expression de la variation de  $v_0$  en fonction de  $[S]$  à l'aide des paramètres cinétiques ( $V_{\max}$ ,  $K_m$ )
- **Observations**
  - $[S]/(K_m + [S])$  tend vers 1, lorsque  $[S]$  tend vers l'infini  $\rightarrow v_0 \cong V_{\max}$
  - Pour  $[S] = K_m \rightarrow v_0 = V_{\max}/2$ .

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + [S]} \quad \text{or} \quad v_0 = \frac{V_{\max} \cancel{[S]}}{2 \cancel{[S]}}$$
$$v_0 = \frac{V_{\max}}{2}$$

# Constante de Michaelis

- $K_m$  exprime l'affinité de l'enzyme envers son substrat
  - $K_m \uparrow \rightarrow [S] \uparrow$  pour atteindre  $V_{\max}/2 \rightarrow$  faible affinité enzymatique envers S.



$K_M$  : index de l'**affinité** de l'enzyme pour le substrat

➤ plus  $K_M$  est petit plus l'affinité est grande

➤ plus  $K_M$  est grand plus l'affinité est faible

➤ l'affinité est **inversement proportionnelle** à la valeur de  $K_M$

la réaction enzymatique suit une **hyperbole**  $\Rightarrow$  la réaction enzymatique est **saturable**.

# Diagramme de Lineweaver-Burk

- **Objectif:** expression de la variation de  $1/v_0$  en fonction de  $1/[S]$  → équation d'une droite
- **Graphique en double inverse:** droite
- **Ordonnée à l'origine:**  $1/V_{\max}$ ; **abscisse à l'origine:**  $-1/K_m$
- **Applications:** calcul de  $V_{\max}$ ,  $K_m$  → analyse de l'inhibition enzymatique.

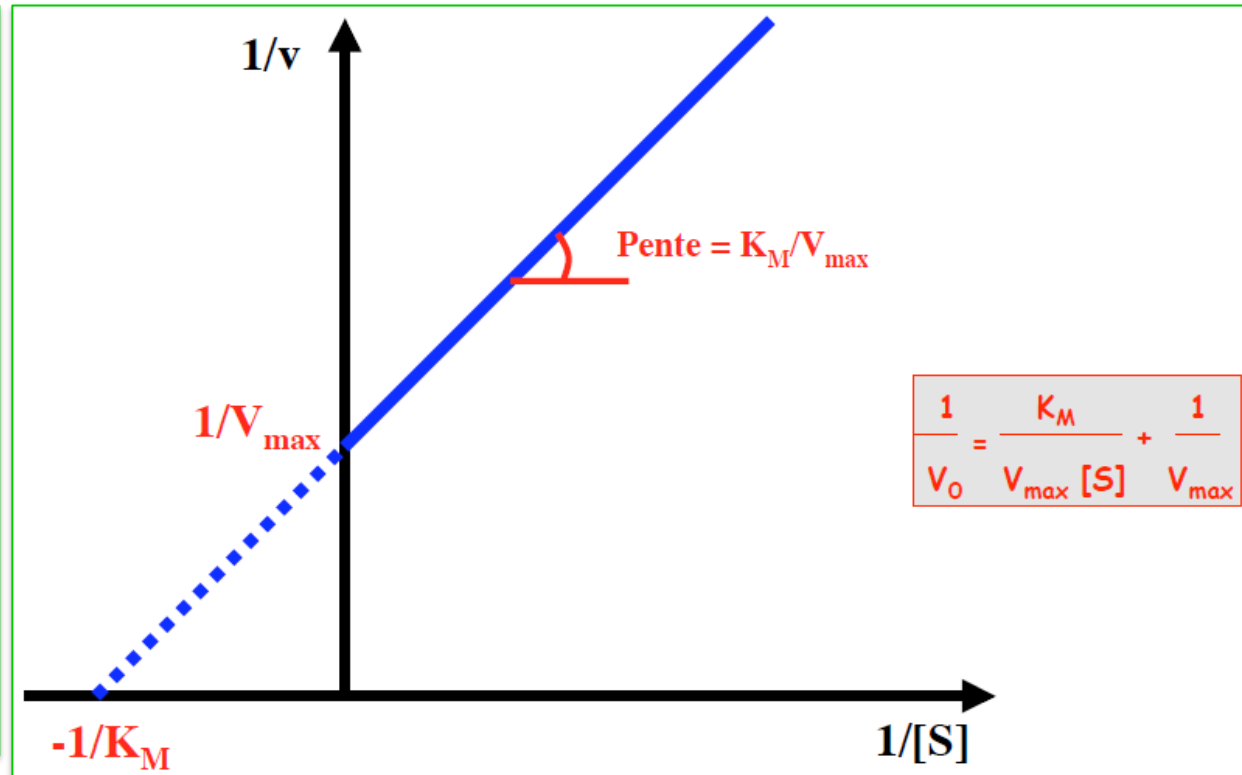
$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

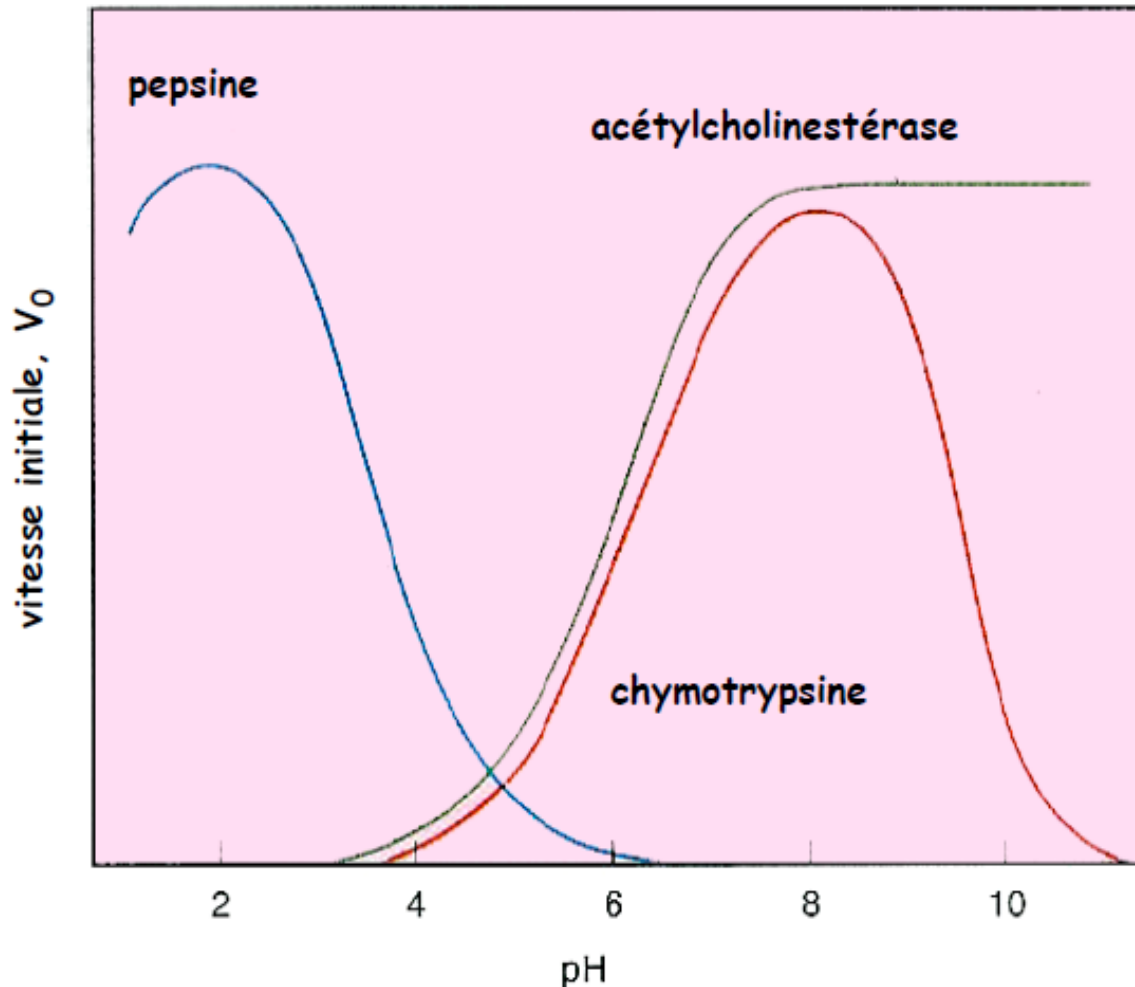
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Lineweaver-Burk Plot



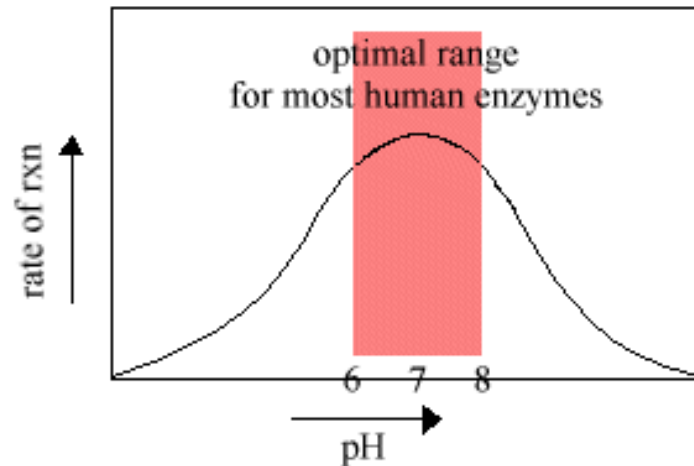
# Influence du pH sur l'activité enzymatique

quand le pH change, l'état d'ionisation des groupements chargés, aussi bien dans le site actif de l'enzyme (en fonction du pKa propre à chaque résidu chargé participant à la constitution du site actif), que dans le substrat, varie. L'activité enzymatique dépend du pH et cette dépendance est spécifique à chaque enzyme.



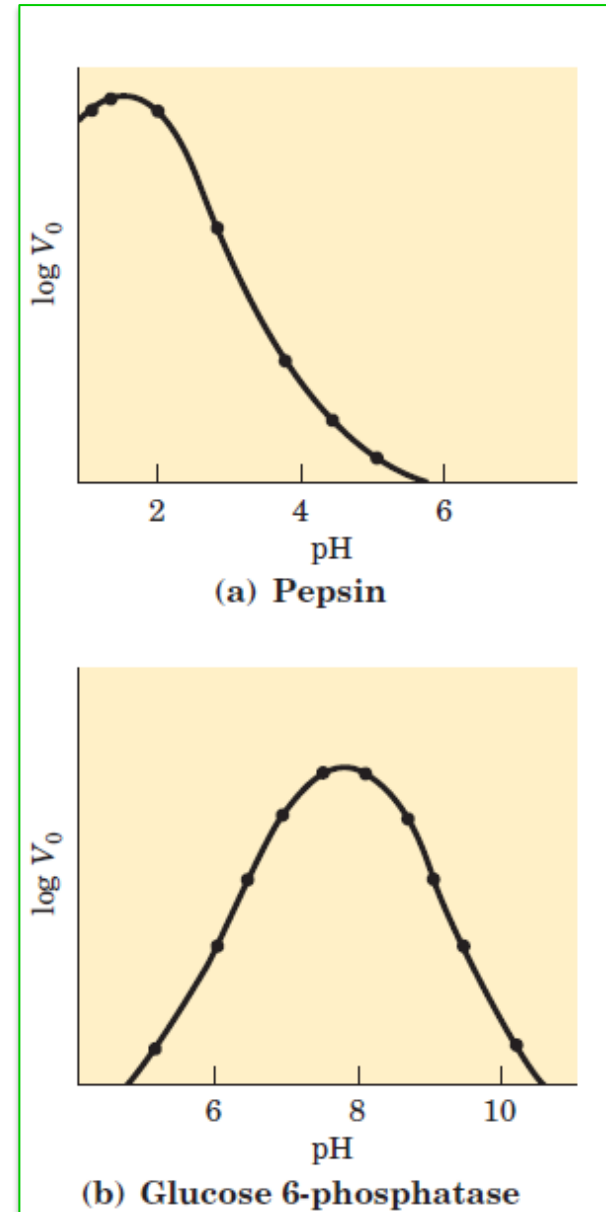
# Influence du pH sur l'activité enzymatique

- Influence du milieu sur la charge des acides aminés
  - Milieu acide ( $\text{pH} < \text{pI}$ )  $\rightarrow$  fonctions ionisables protonées ( $\text{COOH}$ ,  $\text{NH}_3^+$ )
  - Milieu alcalin ( $\text{pH} > \text{pI}$ )  $\rightarrow$  fonctions ionisables déprotonées ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{NH}_2$ )
  - $\text{pH} \approx$  neutre  $\rightarrow$  fonctions ionisables chargées  $\rightarrow$  attractions électrostatiques
- Effets de la variation du pH
  - Dissociation des attractions électrostatiques  $\rightarrow$  changement conformationnel  $\pm$  dénaturation de l'enzyme
  - Impossibilité de liaison du substrat, des cofacteurs, des effecteurs.



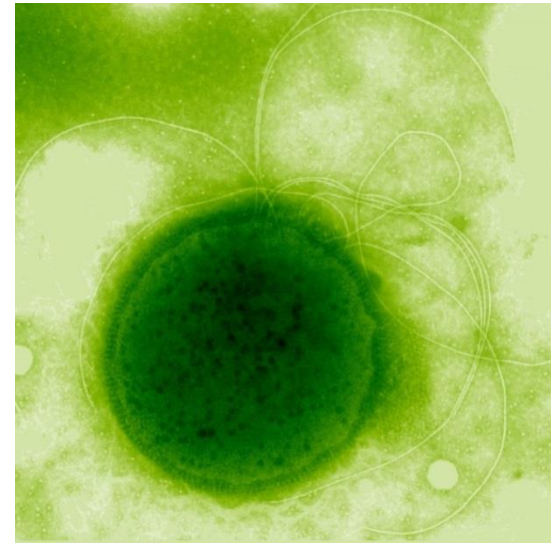
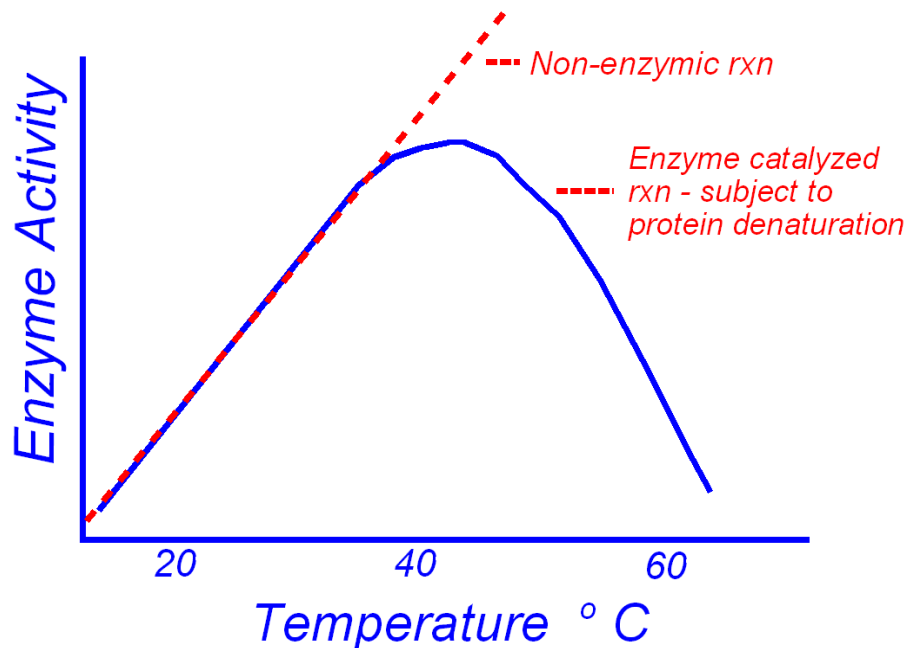
# pH optimum

- **Définition:** pH → charges électriques des chaînes latérales au centre actif sont les plus favorables à l'activité catalytique
- **pH optimums différents:** selon l'environnement physiologique
  - Pepsine (suc gastrique): pH optimum 1,6
  - Amylase, trypsine (enzymes pancréatiques): pH optimum alcalin (pH duodéal  $\approx 8$ )
  - Glucose-6-phosphatase hépatique (pH cytoplasmique  $\approx 7,2$ ): pH optimum 7,8
  - Enzymes lysosomales: pH optimum 4-5.



# Température optimale

- **Définition:** température → activité enzymatique maximale
- **Réactions non-enzymatiques:** vitesse ↑ avec la température
- **Réactions enzymatiques:** dénaturation thermique des enzymes ( $> 40^{\circ}\text{C}$ )
- **Température optimale (homme):**  $37^{\circ}\text{C}$ 
  - Extrêmophiles: bactéries thermophiles, eucaryotes uni- / pluricellulaires → tolérance des températures élevées.



*Thermococcus gammatolerans*: radioactivité, eau salée, anoxique, pH acide,  $88^{\circ}\text{C}$

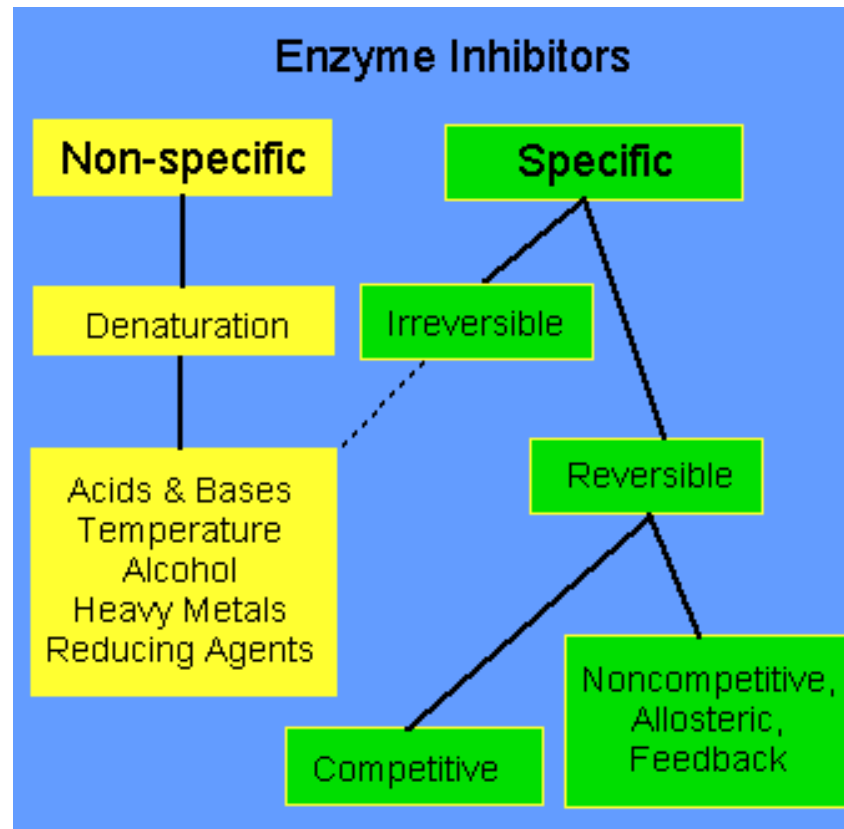
# Organismes extrêmophiles

- Tardigrades: eucaryotes multicellulaires (champions de la survie)
  - Températures tolérées:  $-272 \rightarrow +150^{\circ}\text{C}$
  - Cryptobiose: congélation  $\rightarrow$  arrêt complet du métabolisme
  - Résistance aux pressions élevées: 6 x la pression au fond de l'océan
  - Survie dans le vide absolu
  - Résistance aux fortes doses de radiations ionisantes
  - Résistance à la déshydratation...



# Effecteurs enzymatiques

- **Définition**: ligands → variation de l'activité enzymatique, sans être indispensables à la catalyse
- **Action**: activateurs / inhibiteurs
- **Importance**: contrôle des réactions métaboliques, médicaments (antibiotiques, chimiothérapeutiques, anti-inflammatoires...)

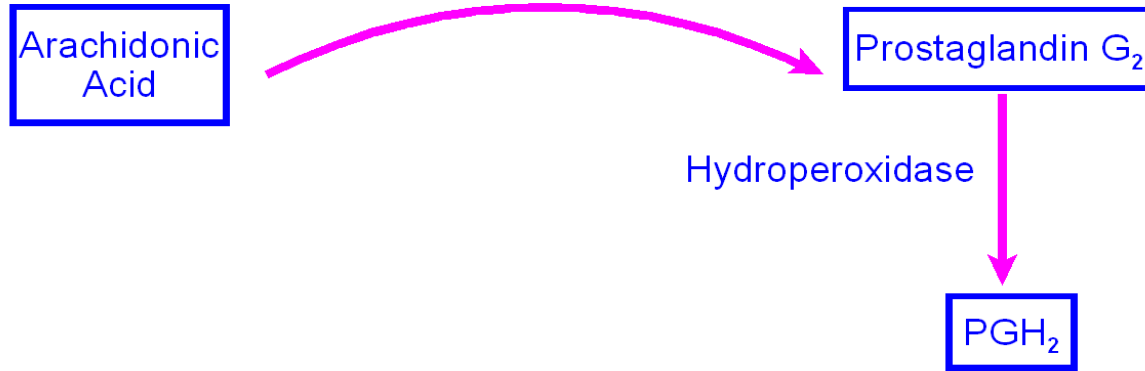


# Inhibiteurs spécifiques

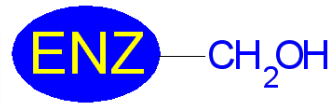
- **Action:**  $E + I \rightarrow$  complexe inactif EI
- **Inhibiteurs irréversibles**
  - Dissociation EI extrêmement lente  $\rightarrow$  E ne retrouve plus son activité
  - Liaison stable, covalente/non-covalente, aux résidus catalytiques
  - Exemples: pénicillines (synthèse de la paroi cellulaire bactérienne), AINS (synthèse des médiateurs pro-inflammatoires), composés organophosphorés (insecticides, poisons)
- **Inhibiteurs réversibles:** dissociation de EI  $\rightarrow$  reprise de l'activité catalytique
  - **Compétitifs** (conformation  $\approx$  S)  $\rightarrow$  liaison au centre actif
  - **Non-compétitifs:** liaison en dehors du centre actif  $\rightarrow$  blocage de la catalyse enzymatique
  - **Incompétitifs:** liaison + inactivation du complexe ES.

# AINS: inhibiteurs de la cyclooxygénase

## Prostaglandin H Synthase Cyclooxygenase

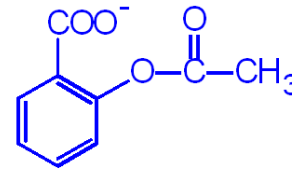


SER: résidu catalytique

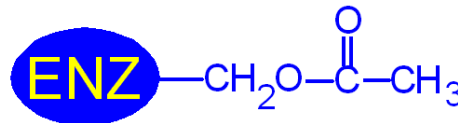


*Active Enzyme*

+

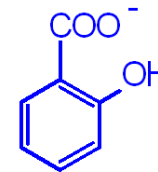


*Acetylsalicylate  
(Aspirin)*

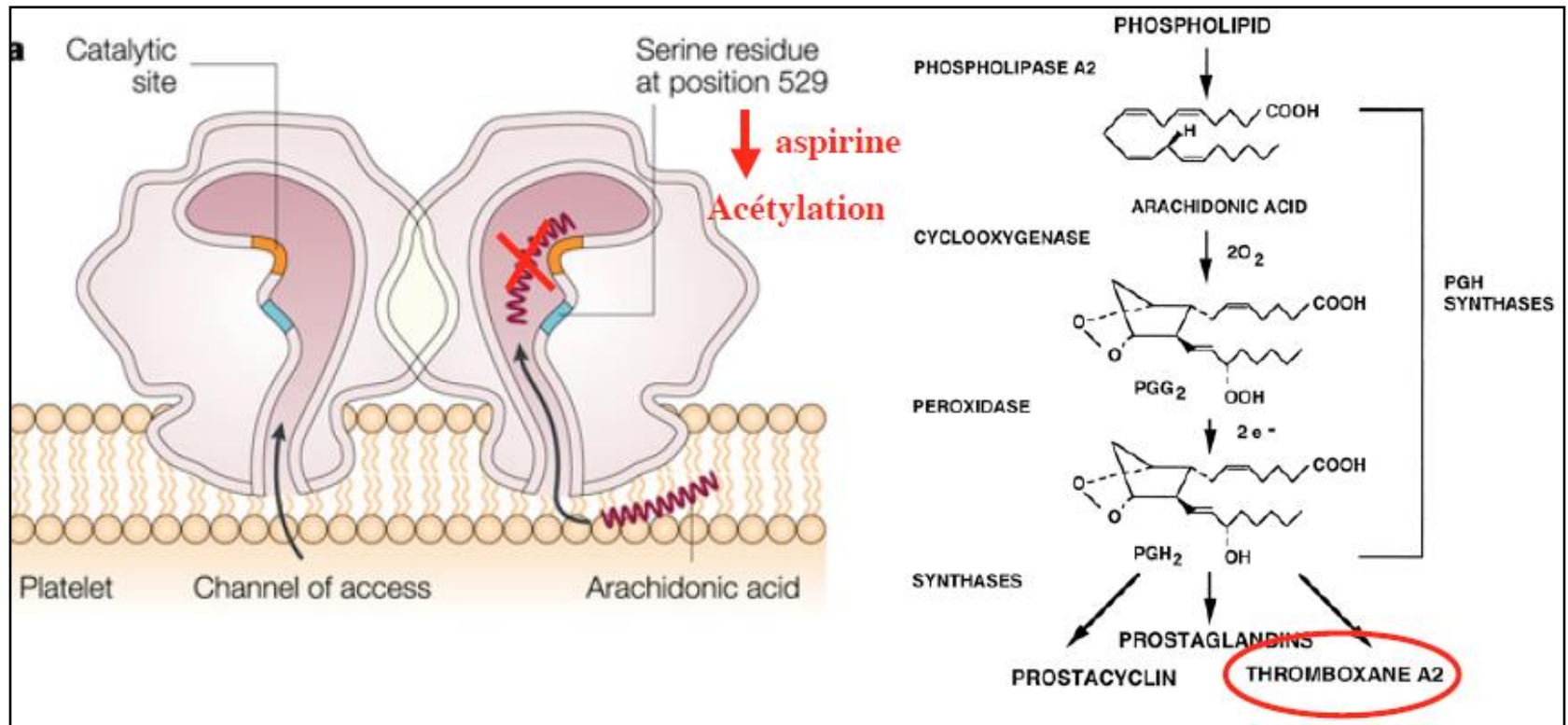


*Acetylated Enzyme  
(Inactive)*

+



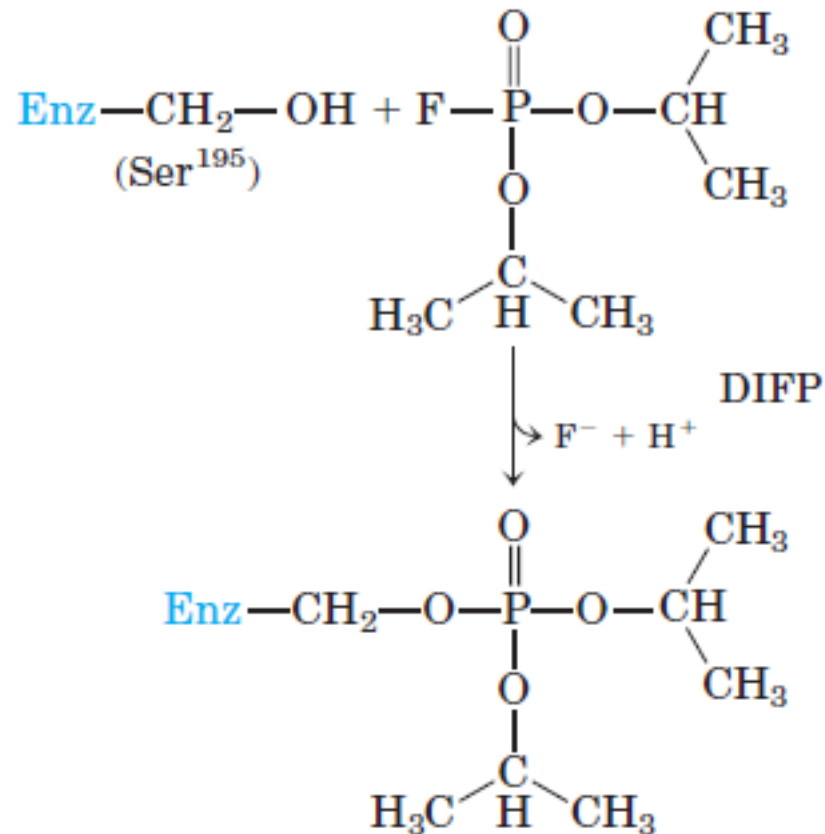
# Action de l'aspirine



- administration chronique de faibles doses d'aspirine : réduction de la production de leur principal produit, le thromboxane, un puissant vasoconstricteur
- effets divers sur la fonction cardiovasculaire
- l'aspirine à faible dose est un traitement préventif secondaire efficace de l'infarctus du myocarde et de l'ischémie cérébrale

# Action du DIFP

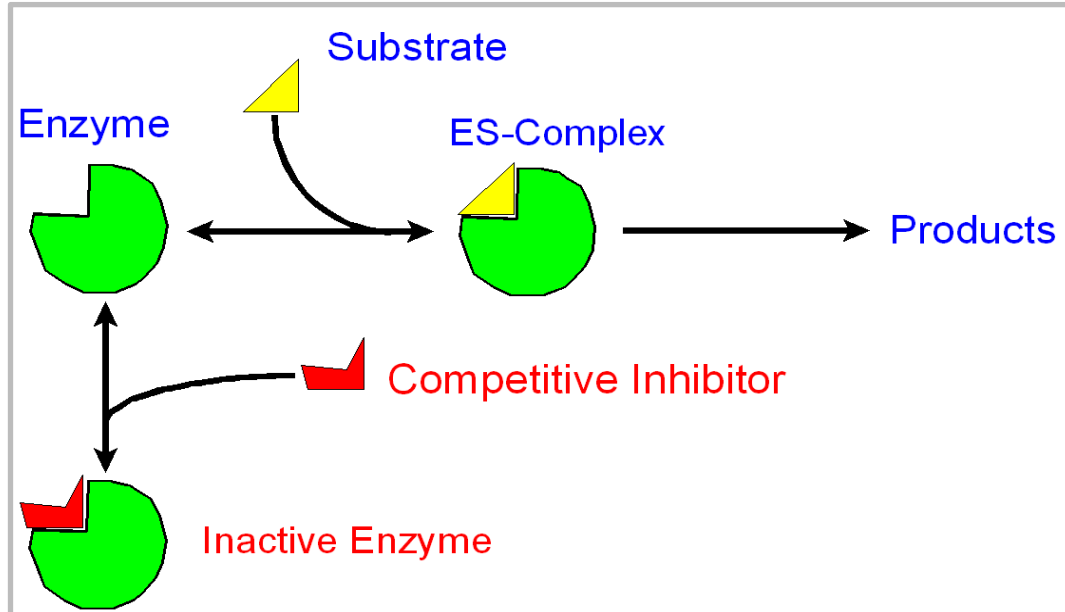
Enzymes cibles:  
chymotrypsine  
acétylcholinestérase



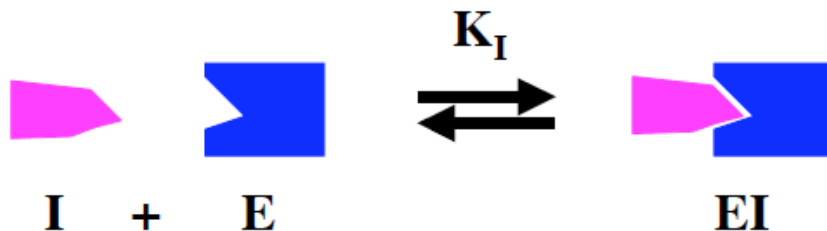
SER: résidu catalytique

Di-isopropyl-fluorophosphate  
(insecticide, médicament)

# Inhibition compétitive



L'inhibiteur est un **analogue de structure** du substrat

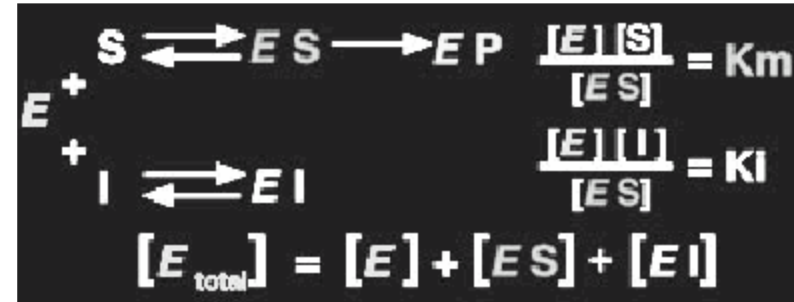


l'affinité apparente **diminue**  
la  $V_{\max}$  n'est pas modifiée

# Inhibition compétitive

- **Conformation similaire au S**: liaison au centre actif → compétition avec S

- $E + S \rightarrow ES$ ;  $E + I \rightarrow EI$
- Liaison d'un ligand → blocage de la liaison de l'autre



- **Équation de Michaelis-Menten**:  $\uparrow K_M$   
(coefficient qui dépend de  $[I]$ ,  $1/K_i$ )

$$K'_M = K_M \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

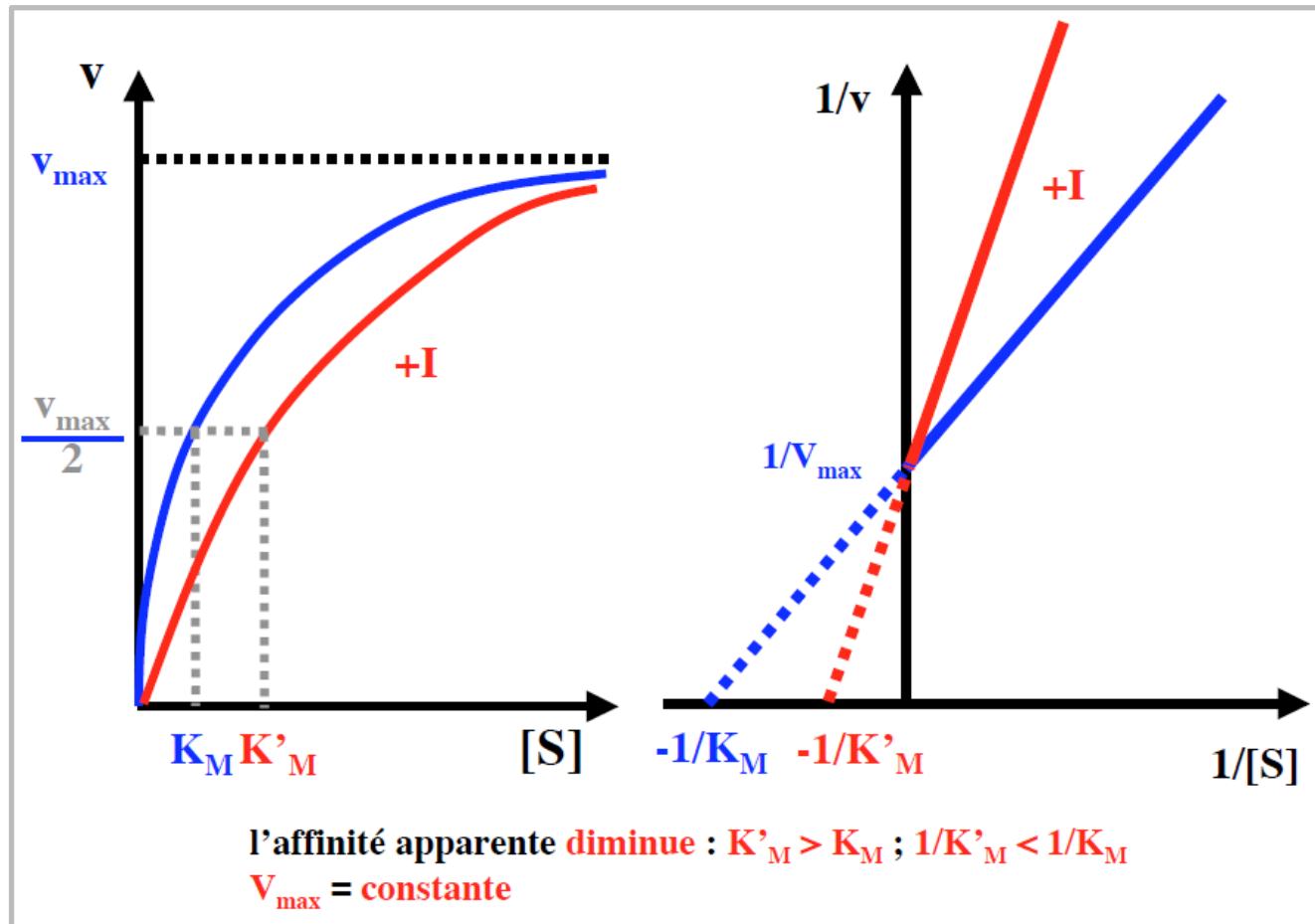
- **Effets**:  $\downarrow$  affinité envers S,  
 $V_{\text{max}}$  inchangée

- **Annulation**:  $\uparrow [S] \rightarrow$  déplacement de I  
 $\rightarrow$  reprise de la réaction.

$$v = \frac{V_M [S]}{[S] + K_M \left( 1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$$

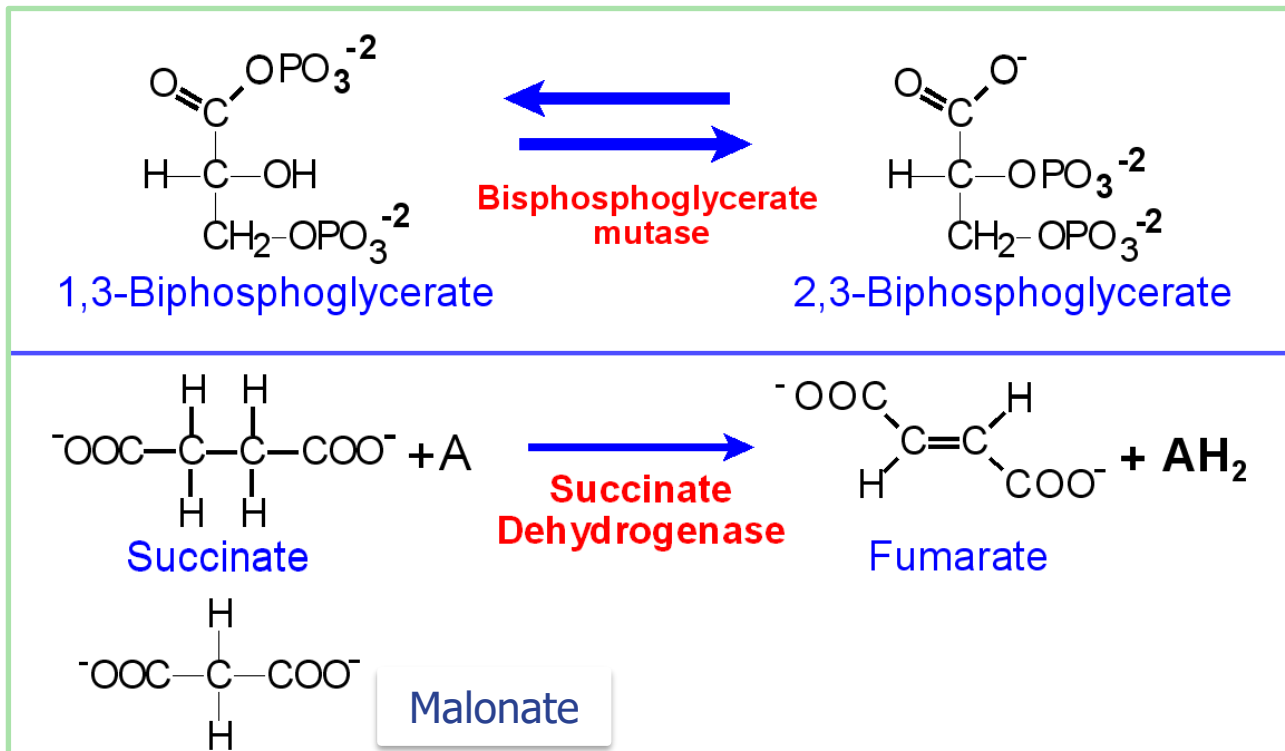
# Inhibition compétitive

- Graphique en double inverse: analyse de la réaction  $\rightarrow \uparrow K_m$
- $1/V_{\max}$  demeure inchangé: point commun des droites.



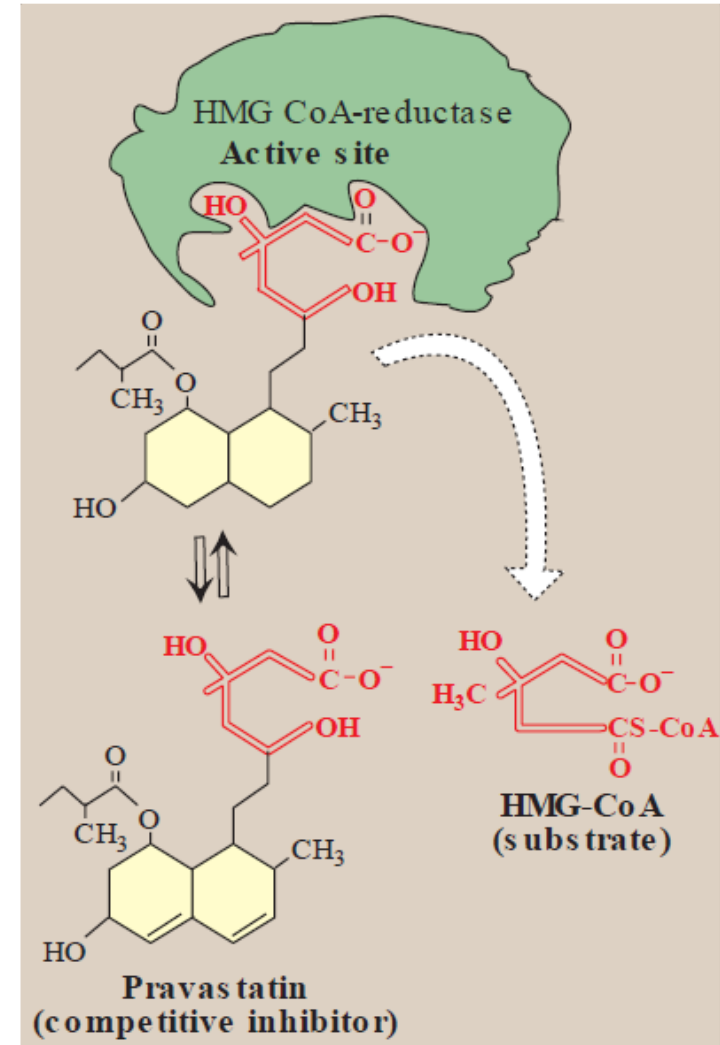
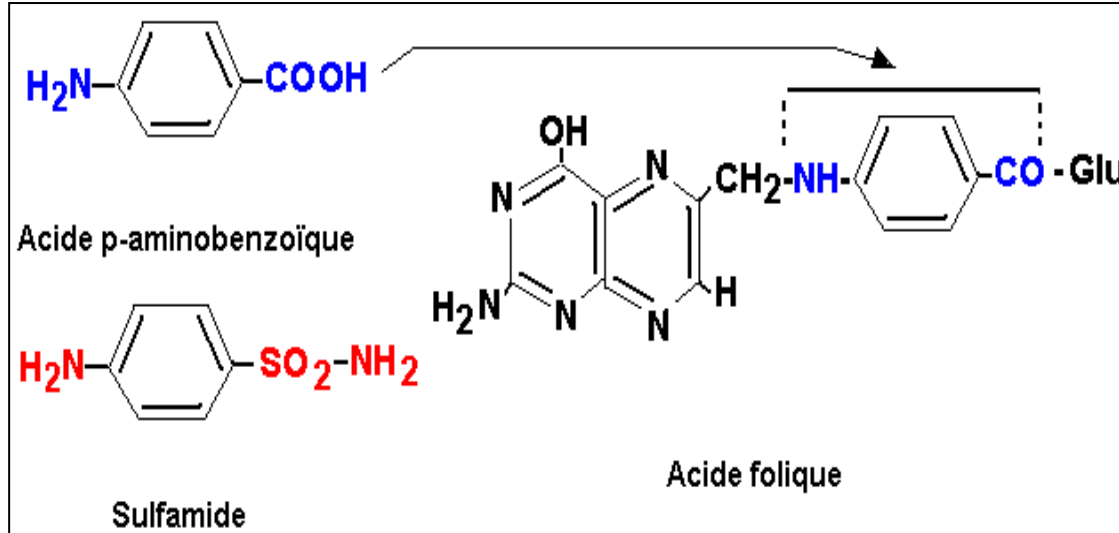
# Exemple d'inhibition compétitive

- **Succinate déshydrogénase**: oxydation succinate → fumarate
  - Succinate (diacide): charges (-) des fonctions  $\text{COO}^-$  → liaison à l'enzyme
  - Malonate, oxalate (diacides, distance  $\approx$  similaire entre les groupes chargés): liaison au centre actif → complexe EI
- $\uparrow$  [S] ou [I]: déplacement de l'autre du centre actif.

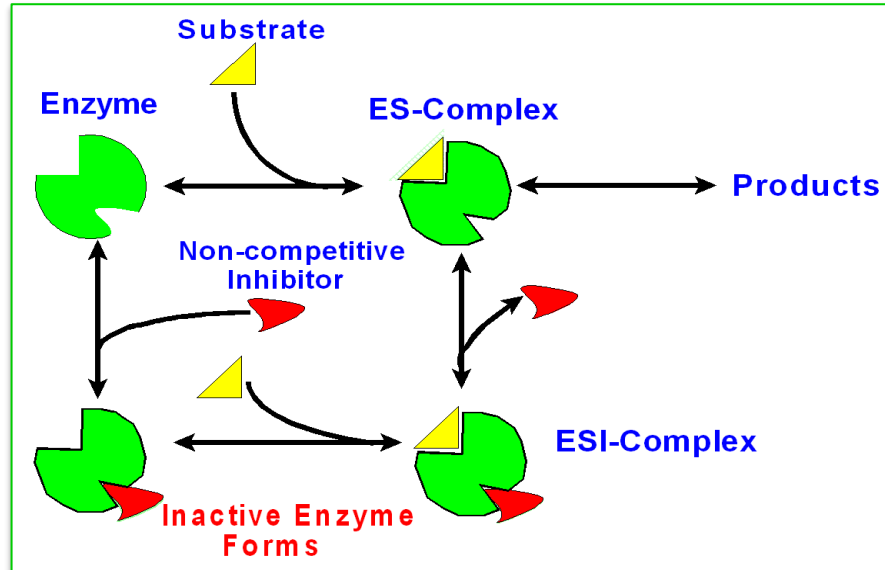


# Applications médicales

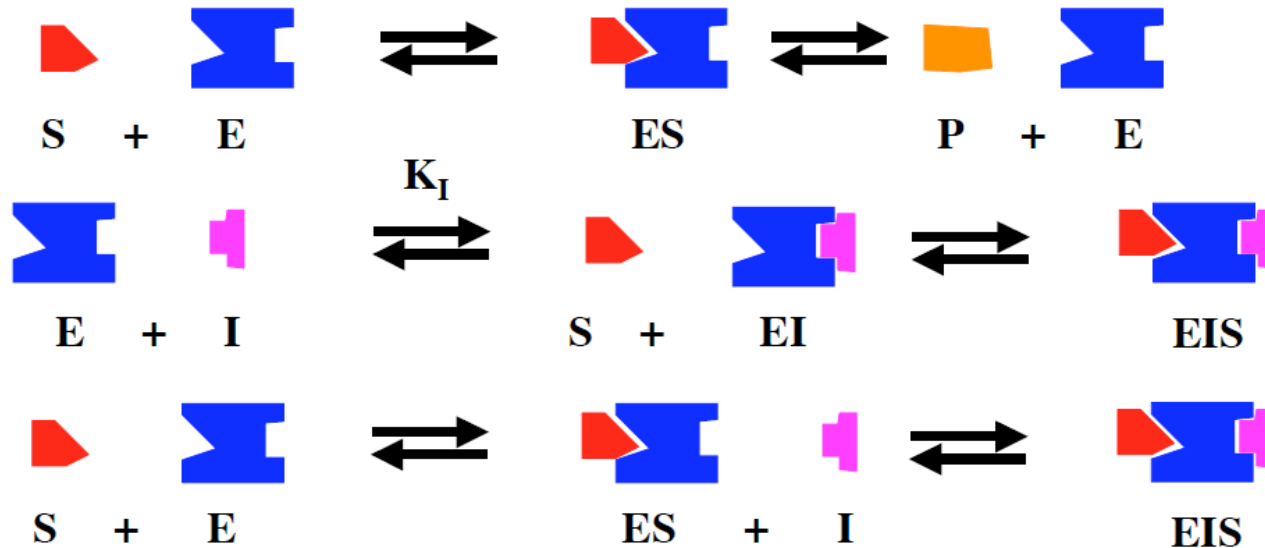
- **Sulfonamides**: analogues de l'acide *para*-aminobenzoïque → blocage de la synthèse d'acide folique (bactéries)
- **Statines**: inhibiteurs compétitifs de l'HMG-CoA réductase → arrêt de la synthèse du cholestérol
- **Intoxication au méthanol**: liaison à l'ADH → formaldéhyde (toxique) → solution d'éthanol → liaison à l'ADH → déplacement du CH<sub>3</sub>OH → synthèse de l'acétaldéhyde (non-toxique).



# Inhibition non-compétitive



L'inhibiteur se fixe sur un site **différent** du substrat



l'affinité n'est pas modifiée la  $V_{\max}$  **diminue**

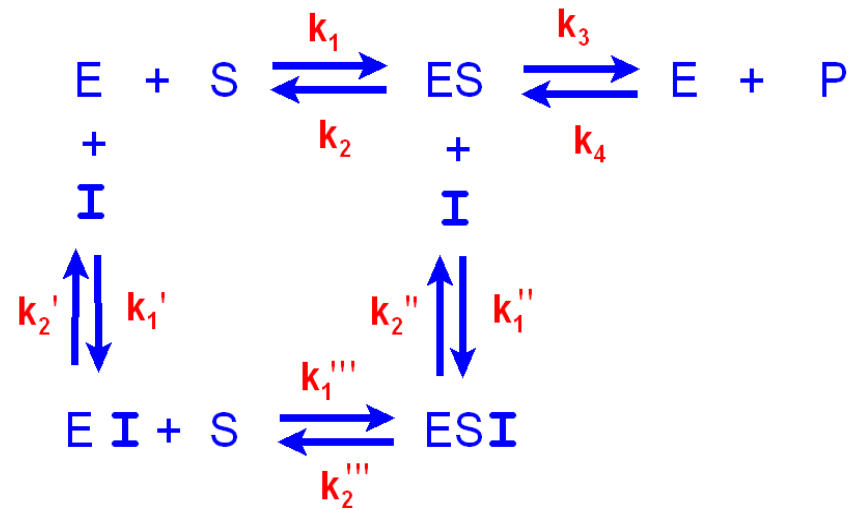
# Inhibition non-compétitive

■ **Action:** liaison en dehors du centre actif → inactivation de l'enzyme

- E + S → ES et E + I → EI
- ES + I → ESI (inactif)
- EI + S → ESI (inactif)

■ **Effet:** ↓ [enzyme active] → ↓ [P]

■ **Conséquences:** ↓  $V_{max}$ ,  $K_m$  inchangé.



remember:

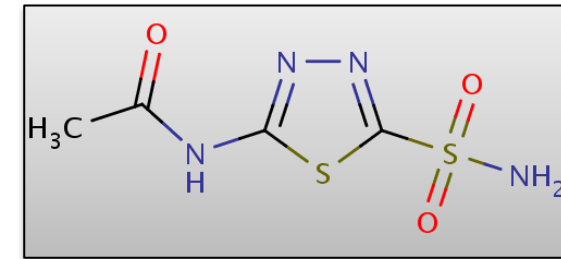
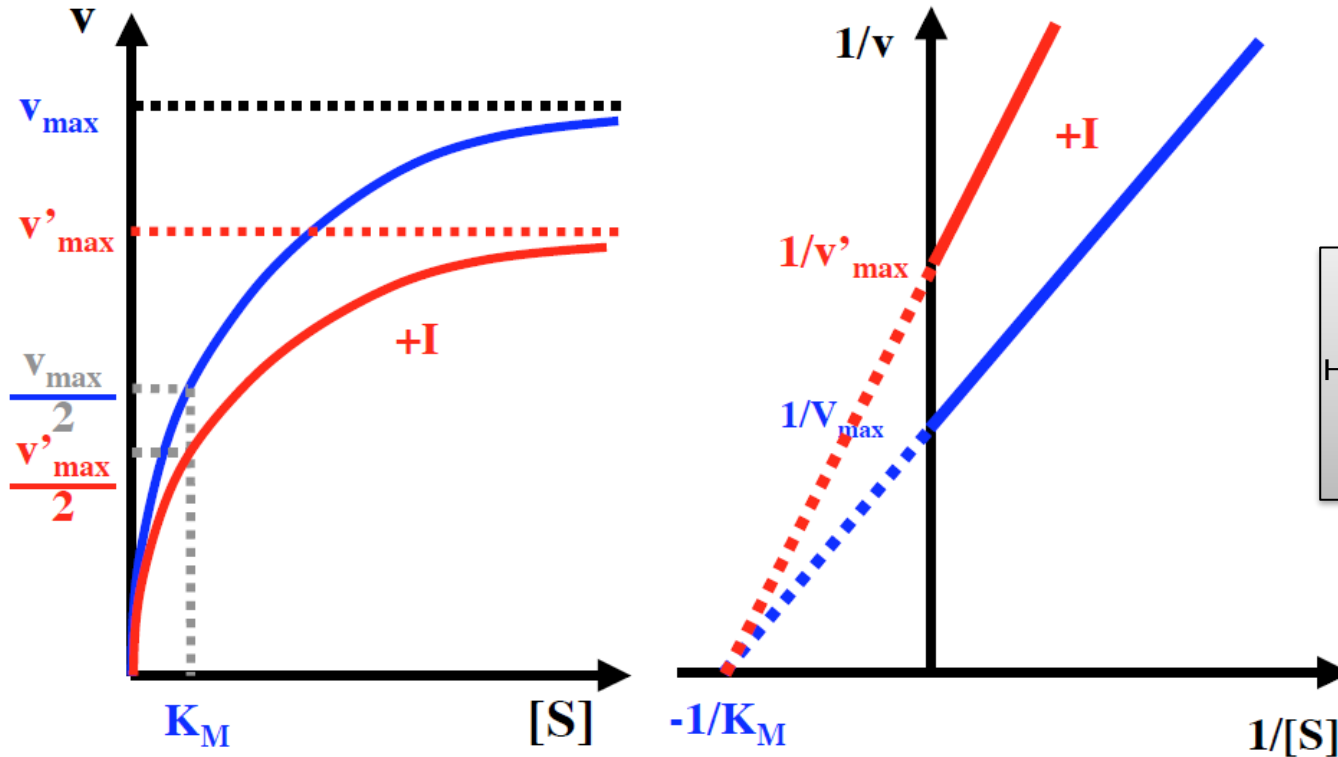
$$E_t = [E] + [ES] + [EI] + [ESI]$$

$$v = \frac{V_M [S]}{(K_M + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

$$V'_M = \frac{V_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

# Inhibition non-compétitive

- Graphique en double inverse:  $\downarrow V_{\max}$
- Point commun des droites:  $-(1/K_m) \rightarrow I$  n'affecte pas la liaison du substrat
- **Médicaments**: acétazolamide (anhydrase carbonique), nifédipine (cytochromes  $P_{450}$ ), allopurinol (xanthine-oxydase).

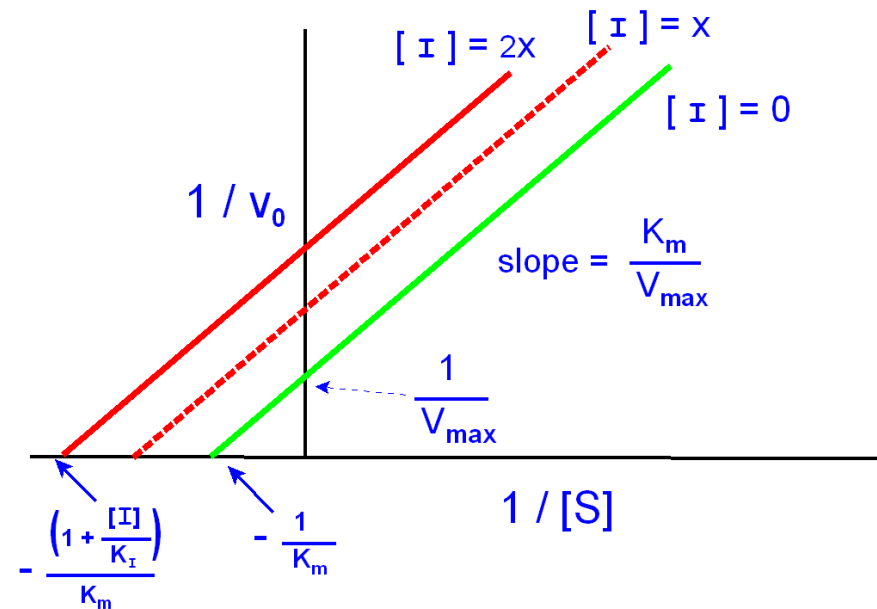
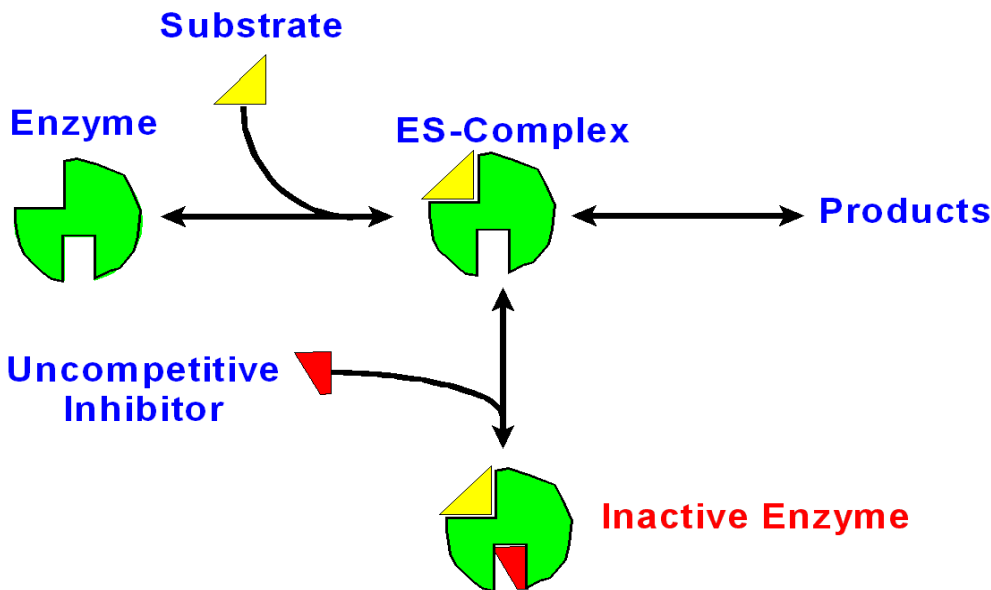


Acétazolamide

La  $v_{\max}$  diminue :  $v'_{\max} < v_{\max}$  ;  $1/v'_{\max} > 1/v_{\max}$   
 $K_M$  = constante

# Inhibition incompétitive

- **Action:** liaison exclusive au complexe ES
  - $ES + I \rightarrow ESI$  (inactif)
  - $S \rightarrow$  modification conformationnelle de l'enzyme  $\rightarrow$  site pour I  $\rightarrow$  complexe ESI
- **Effets:**  $\downarrow V_{max}$ ,  $\downarrow K_m$ 
  - Formation du complexe ESI  $\rightarrow \downarrow [ES] \rightarrow$  accélération de la réaction  $E + S$
  - L'inhibition ne peut être annulée en augmentant  $[S]$
- **Médicaments:** sels de  $Li^+$  (*myo*-inositol-monophosphatase).



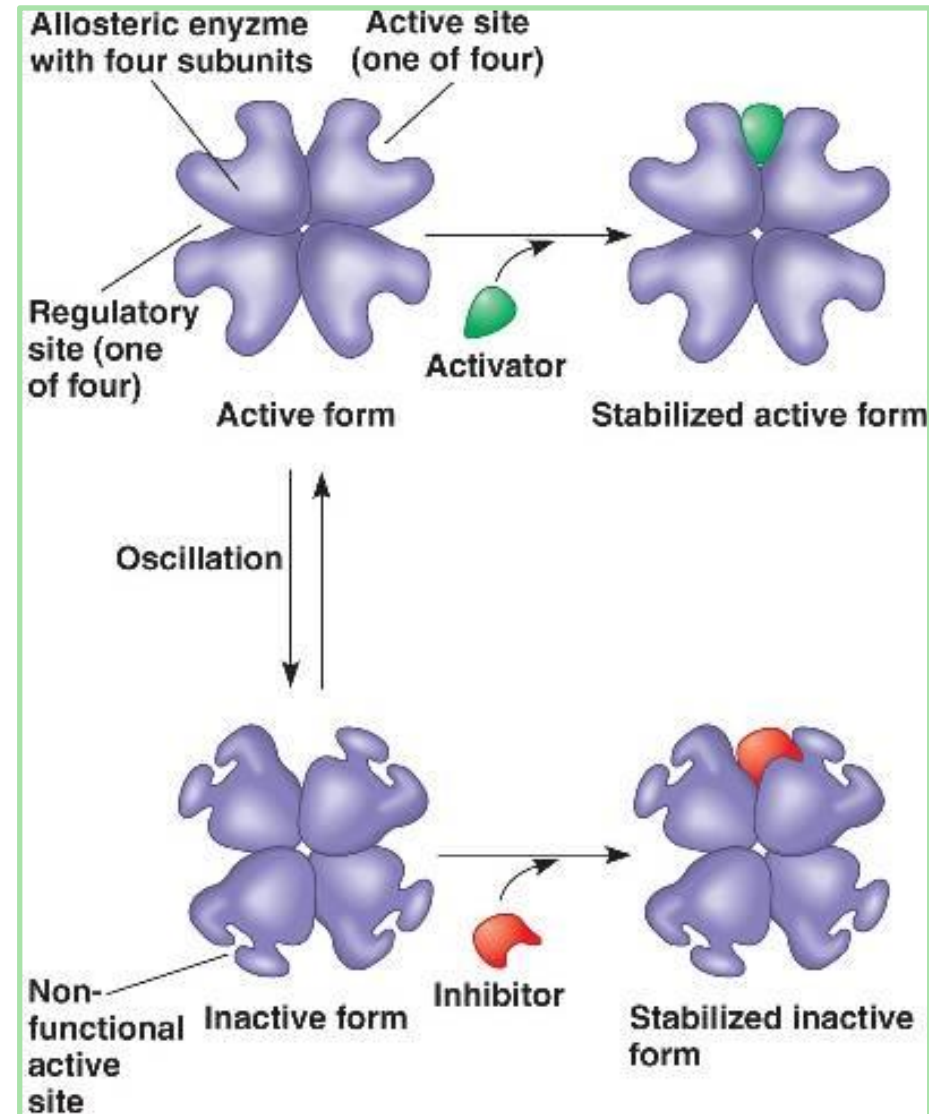
# Enzymes allostériques

## ■ Particularités

- Structure quaternaire, symétrique
- $K_m$ ,  $V_{max}$  variables (selon la concentration des effecteurs)

## ■ Structure de chaque sous-unité

- **Centre actif**: liaison du substrat
- **Centre(s) allostérique(s)**: liaison des effecteurs allostériques → modification des paramètres cinétiques → contrôle de l'activité enzymatique.



# Conformation des enzymes allostériques

- **État T** (défavorable à l'activité catalytique):  $\uparrow$  énergie interne
  - **État R** (liaison plus facile du substrat):  $\downarrow$  énergie interne
- } sous-unités
- **Facteurs qui influencent la conformation d'une sous-unité**
    - **Interaction avec les ligands**: S, effecteurs allostériques
    - **Coopérativité des sous-unités**: changement conformationnel induit par la transition ( $T \leftrightarrow R$ ) d'une autre sous-unité.



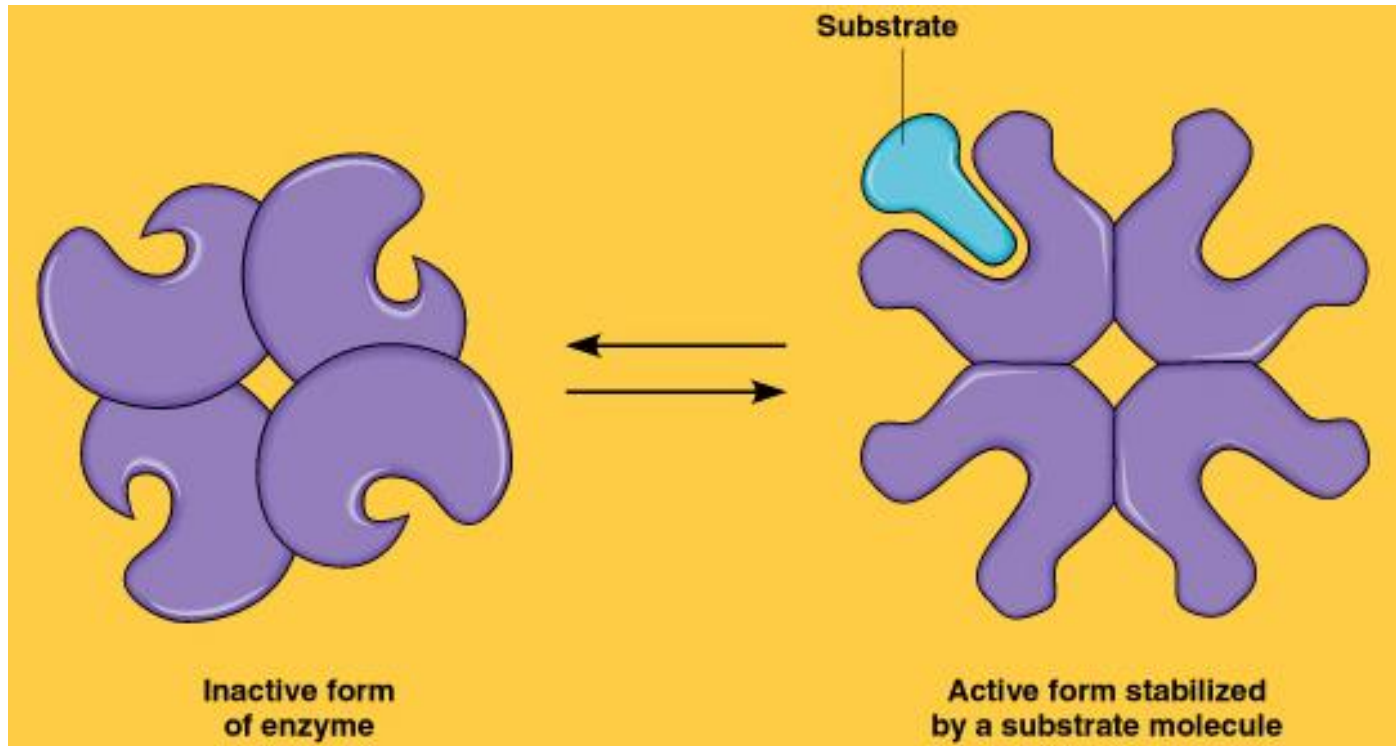
3- La conformation de chaque protomère est contrainte par la conformation des autres.



4- Il y a au moins deux états possibles par protomère différent par le niveau d'énergie libre du protomère ( tendu , relâché ).

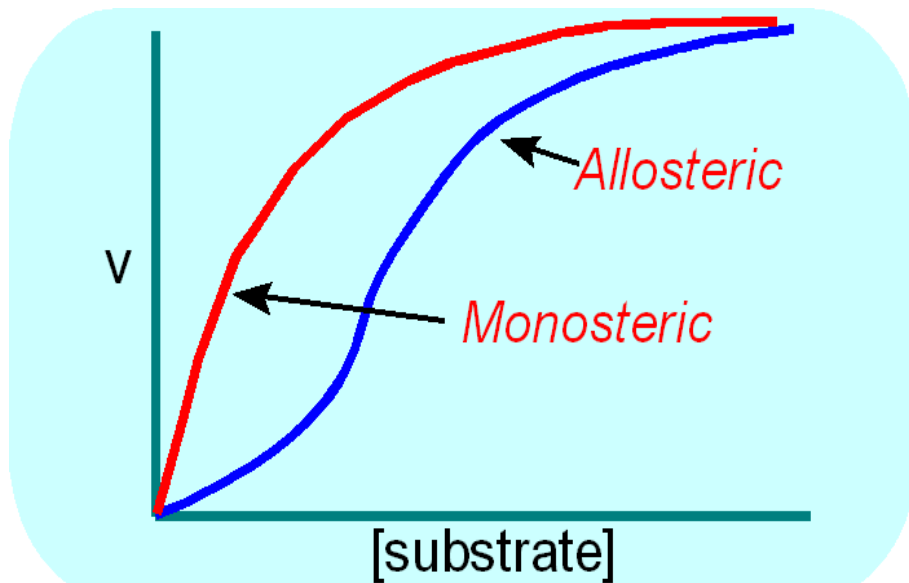
# Coopérativité des sous-unités

- **Résultat:** changement conformationnel de la protéine entière → modification des paramètres cinétiques
- **Conséquence:** régulation plus fine de l'activité enzymatique, par rapport aux enzymes michaeliennes.



# Diagramme de Hill

- **Diagramme de Hill**: variation de  $v_0$  en fonction de  $[S]$  pour une enzyme allostérique
- **Courbe sigmoïde**:  $K_m$ ,  $V_{max}$  variables en fonction de la concentration des ligands (coopérativité des sous-unités).

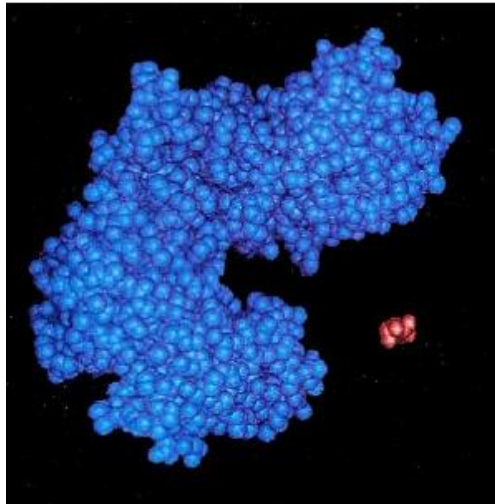


Effet du S:  $\uparrow$  affinité enzymatique envers soi-même

# Exemple d'enzyme allostérique

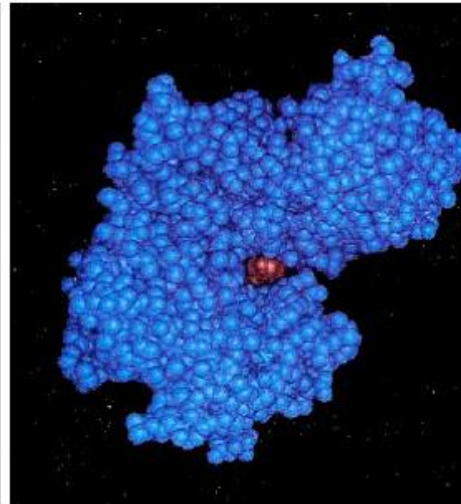
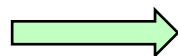
- **Hexokinase**: glucose + ATP  $\rightarrow$  glucose-6-phosphate + ADP
- **Glucose**: activateur allostérique  $\rightarrow$  transition T  $\rightarrow$  R
- **Glucose-6-phosphate**: inhibiteur allostérique  $\rightarrow$  transition inverse
  - Liaison au centre allostérique  $\rightarrow$   $\downarrow$  affinité envers S  $\rightarrow$   $\downarrow$  activité enzymatique.

La fixation de glucose entraîne une **modification conformationnelle** indispensable à la mise en oeuvre de la catalyse



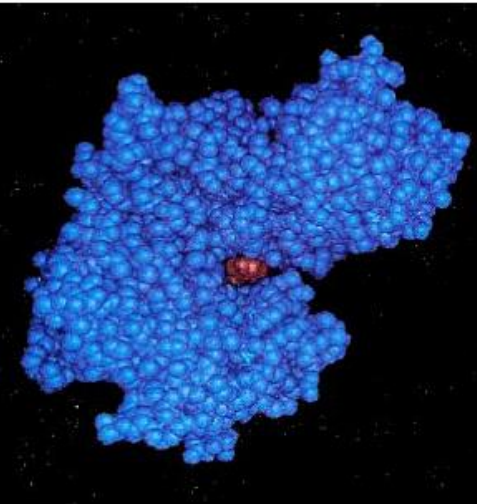
Conformation ouverte  
Glucose non fixé sur son site  
Pas de catalyse

Etat tendu



Conformation fermée  
Glucose fixé sur son site  
Catalyse

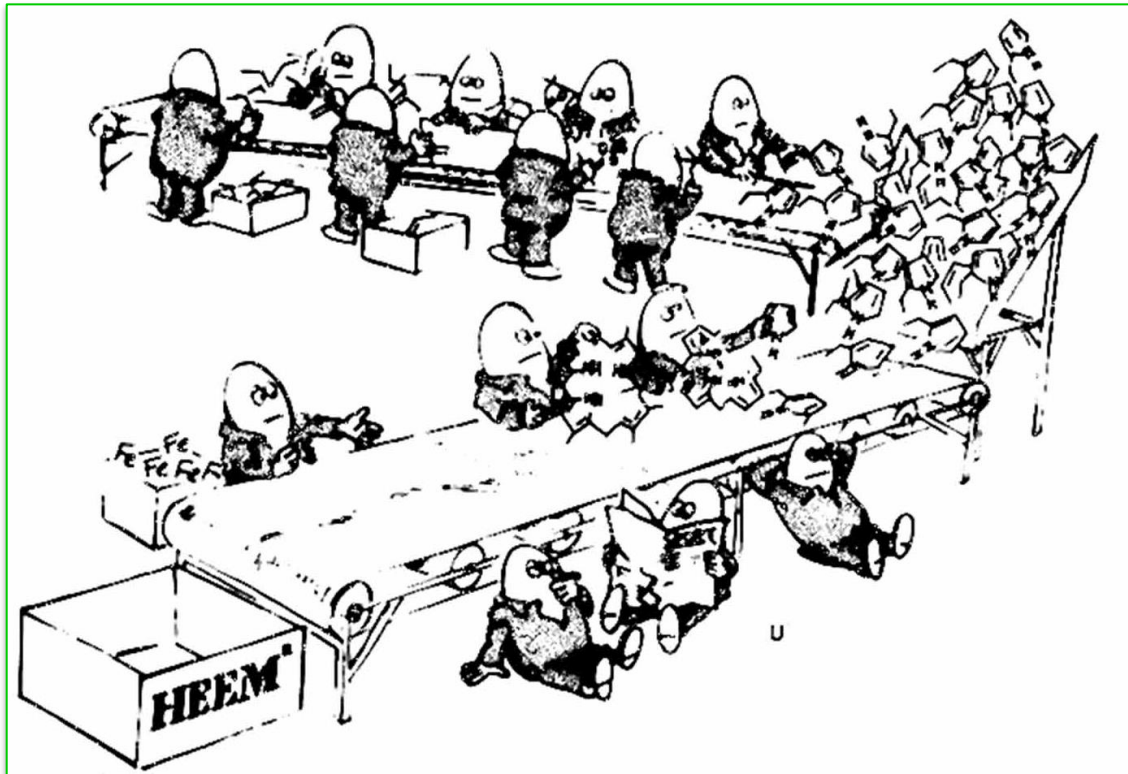
Etat relâché



Le passage de la conformation ouverte à la conformation fermée implique des déplacements de plusieurs Angströms

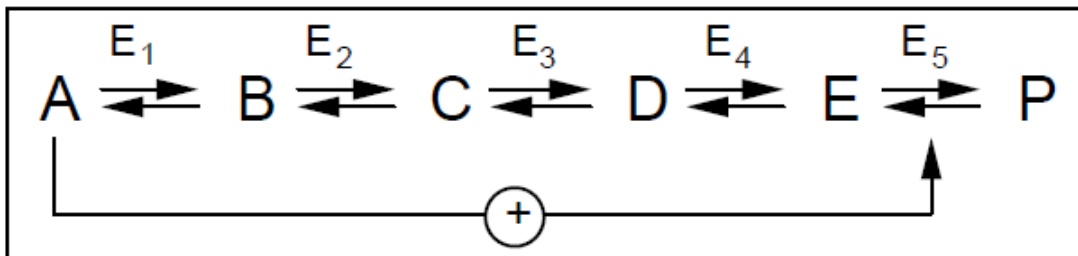
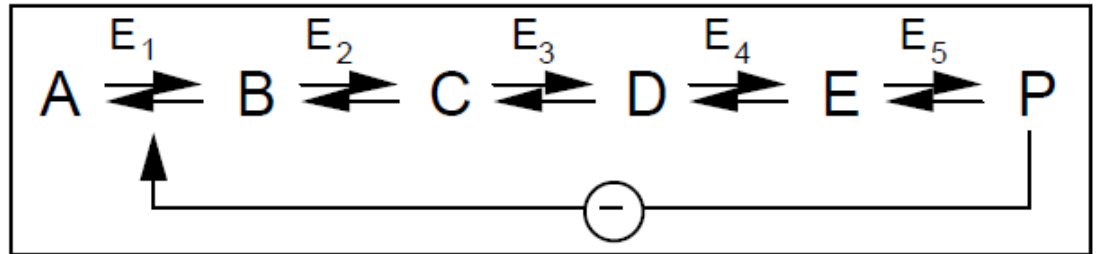
# Enzymes-clé et voies métaboliques

- **Voie métabolique**: unité de synthèse/dégradation d'un composé biologique
  - Série de réactions catalysées par des enzymes diverses ( $P_1 \rightarrow S_2 \rightarrow \dots$ )
- **Enzymes allostériques (enzymes-clé)**: régulation des voies métaboliques
  - Importance: contrôle de la vitesse d'apparition du P final (enzymes les plus lentes).



# Particularités des enzymes-clé

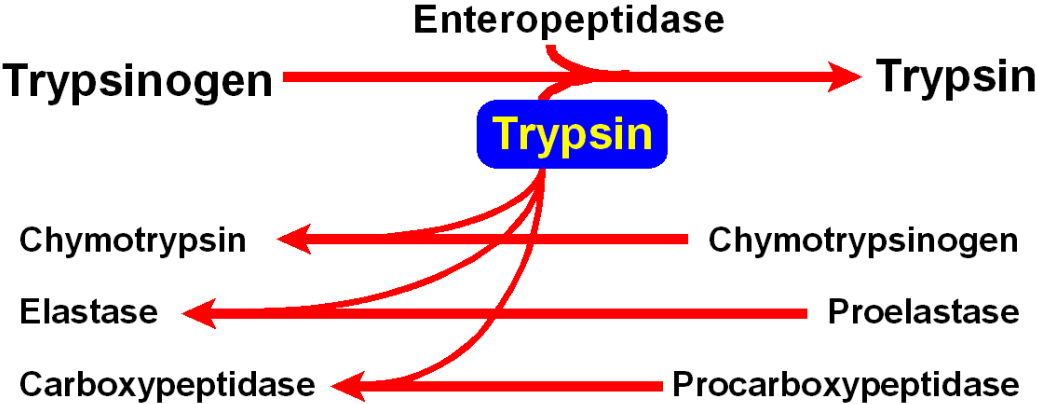
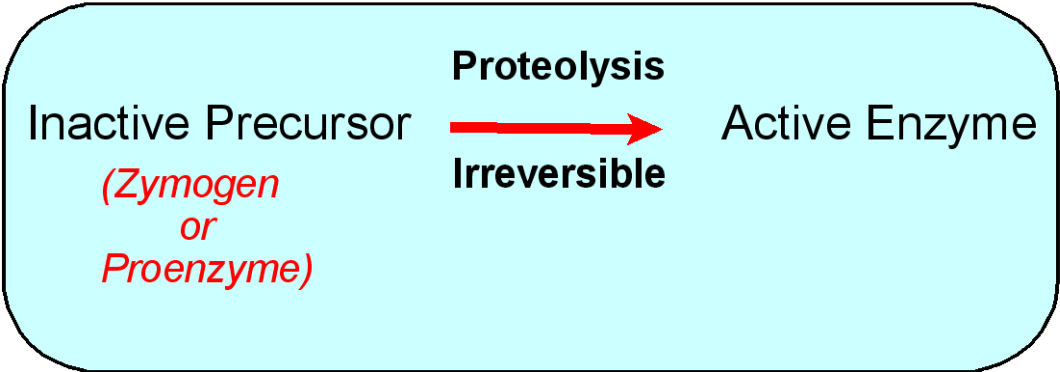
- Premières enzymes des voies métaboliques: engagement des substrats
- Catalyse des réactions les plus lentes, irréversibles
- Enzymes allostériques: inhibition/activation
  - Produit final en quantité suffisante → rétro-inhibition par le produit
  - Accumulation du substrat initial → activation par le substrat / précurseur.



# Régulation de l'activité enzymatique

- **Protéolyse limitée (ménagée)**: clivage d'un fragment → activation (zymogènes digestifs, facteurs de coagulation)
  - Importance: contrôle du moment d'activation de l'enzyme
- **Modification covalente**: liaison réversible d'un groupe fonctionnel / une molécule (action des enzymes spécifiques)
  - Phosphorylation, adénylation, acylation, méthylation, ADP-ribosylation...
- **Contrôle de l'expression du gène**: induction/répression de la transcription
- **Régulation allostérique**: enzymes-clé (activateurs, inhibiteurs allostériques)
- **Liaison d'un cofacteur**: Zinc → déshydrogénases à NAD<sup>+</sup>, flavine → flavoprotéines, hème → cytochromes...
- **Interaction avec une protéine régulatrice**: complexe Ca<sup>++</sup>-calmoduline.

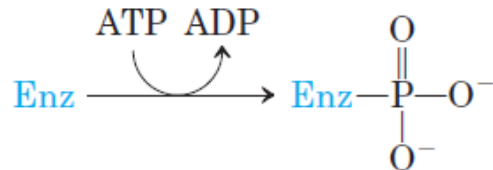
# Protéolyse ménagée des enzymes



# Modification covalente des enzymes

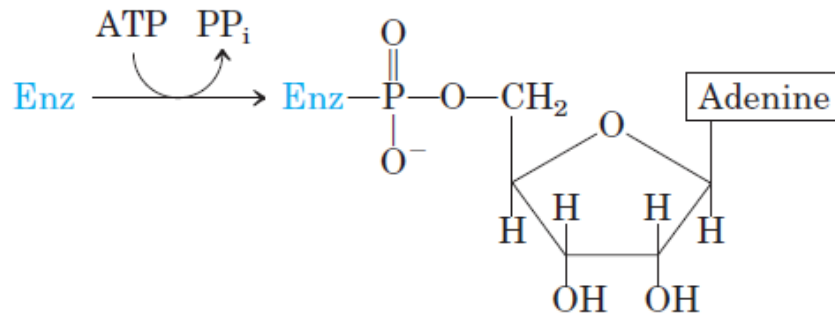
## Phosphorylation

(Tyr, Ser, Thr, His)



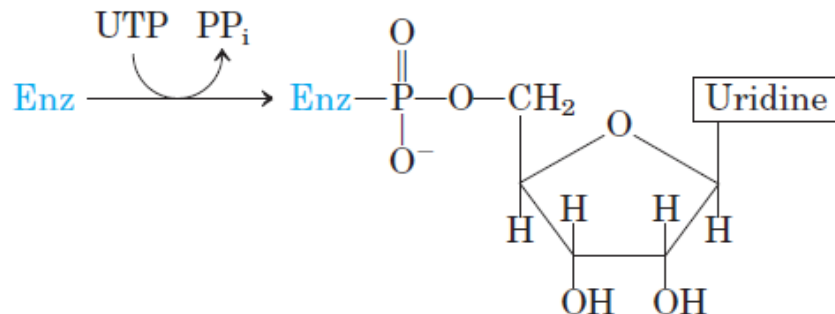
## Adenylation

(Tyr)



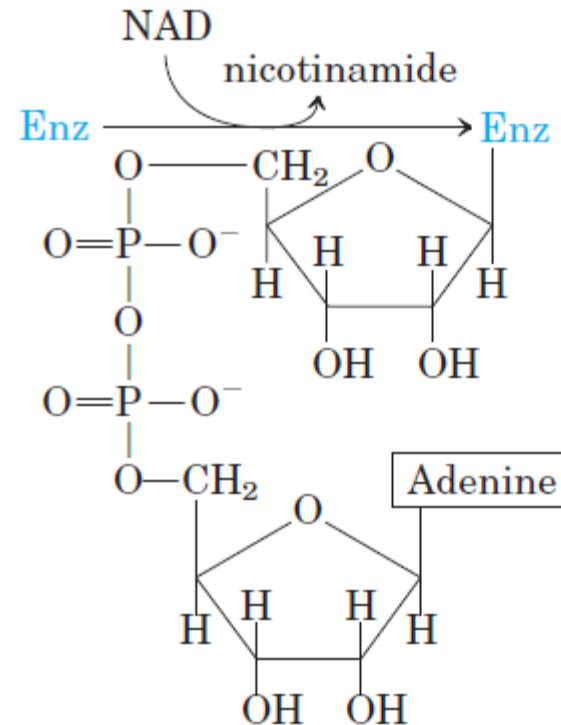
## Uridylation

(Tyr)



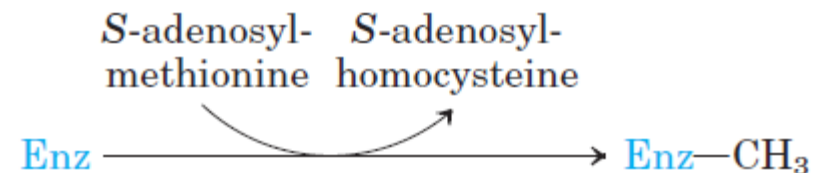
## ADP-ribosylation

(Arg, Gln, Cys, diphthamide—a modified His)



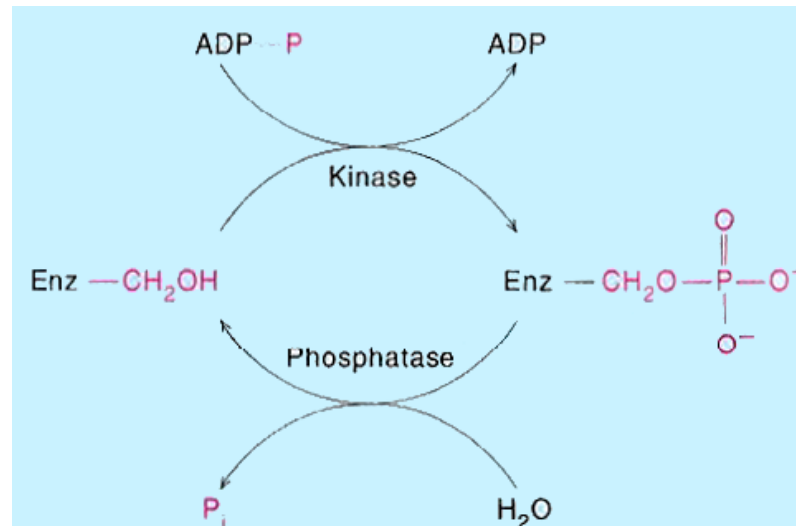
## Methylation

(Glu)



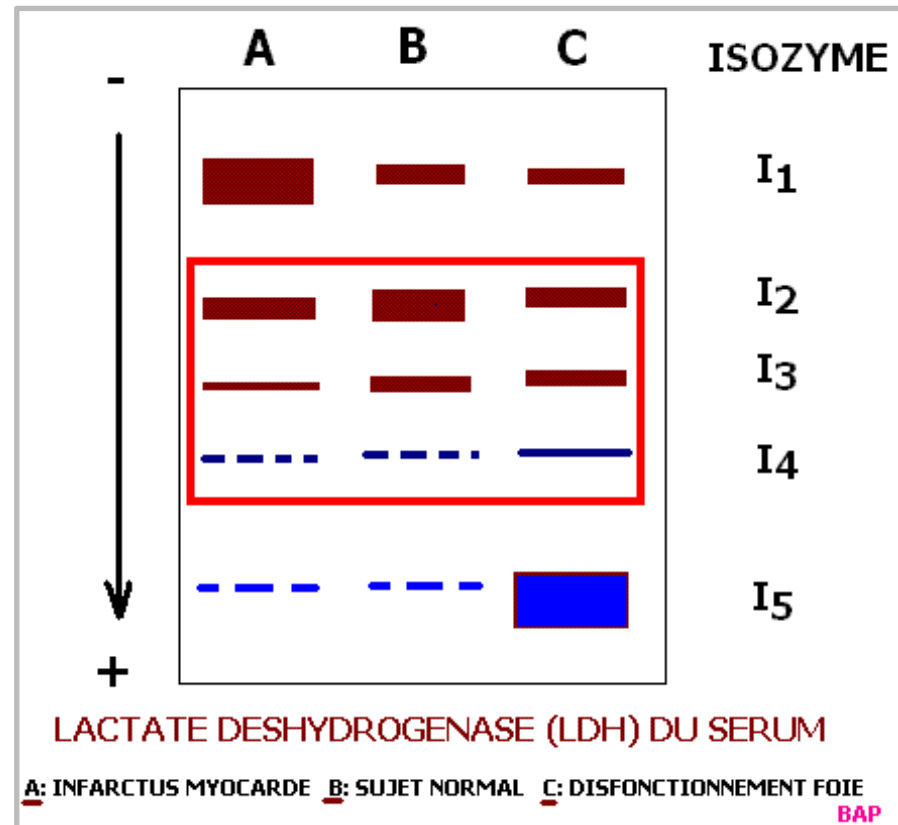
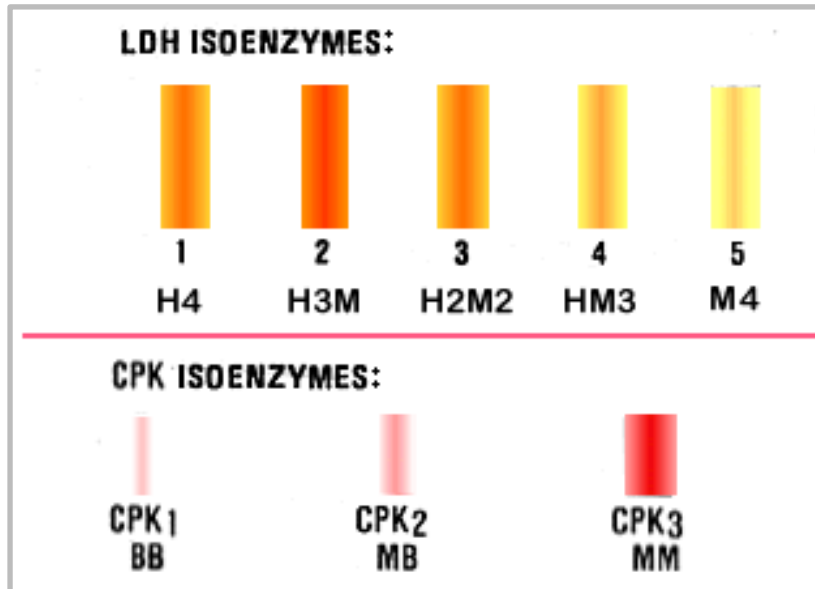
# Phosphorylation-déphosphorylation

- **Modification réversible des acides aminés hydroxylés** (SER, THR, TYR): protéine-kinases (ATP), phosphoprotéine-phosphatases
- **Action:**  $P_i \rightarrow$  liaisons hydrogènes + électrostatiques avec les chaînes latérales  $\rightarrow$  changement conformationnel  $\rightarrow$  variation de l'activité catalytique
- **Effets:** activation / inactivation selon la nature de l'enzyme
- **Importance:** contrôle des enzymes-clé
- **Eucaryotes:** régulation qui affecte  $1/3 \rightarrow 1/2$  des protéines intracellulaires.



# Isoenzymes

- **Variantes moléculaires d'une enzyme**: même réaction, propriétés différentes
  - Localisation (tissulaire / intracellulaire)
  - Type de sous-unités constitutives (structure quaternaire) → électrophorèse
  - Moment de l'expression (adulte, embryon...)
  - Paramètres cinétiques ( $K_m$ ,  $V_{max}$ )
  - pH optimum.



# Importance des isoenzymes

- **Dosage des isoenzymes** → localisation des lésions tissulaires
- **Exemple: CPK** (sous-unités M, B)
  - Dimère MB (myocarde): ↑ sérique → infarctus
  - Dimère MM (muscle squelettique): ↑ sérique → myopathies
  - Dimère BB (cerveau): ↑ sérique → lésions de la barrière hémato-encéphalique.

