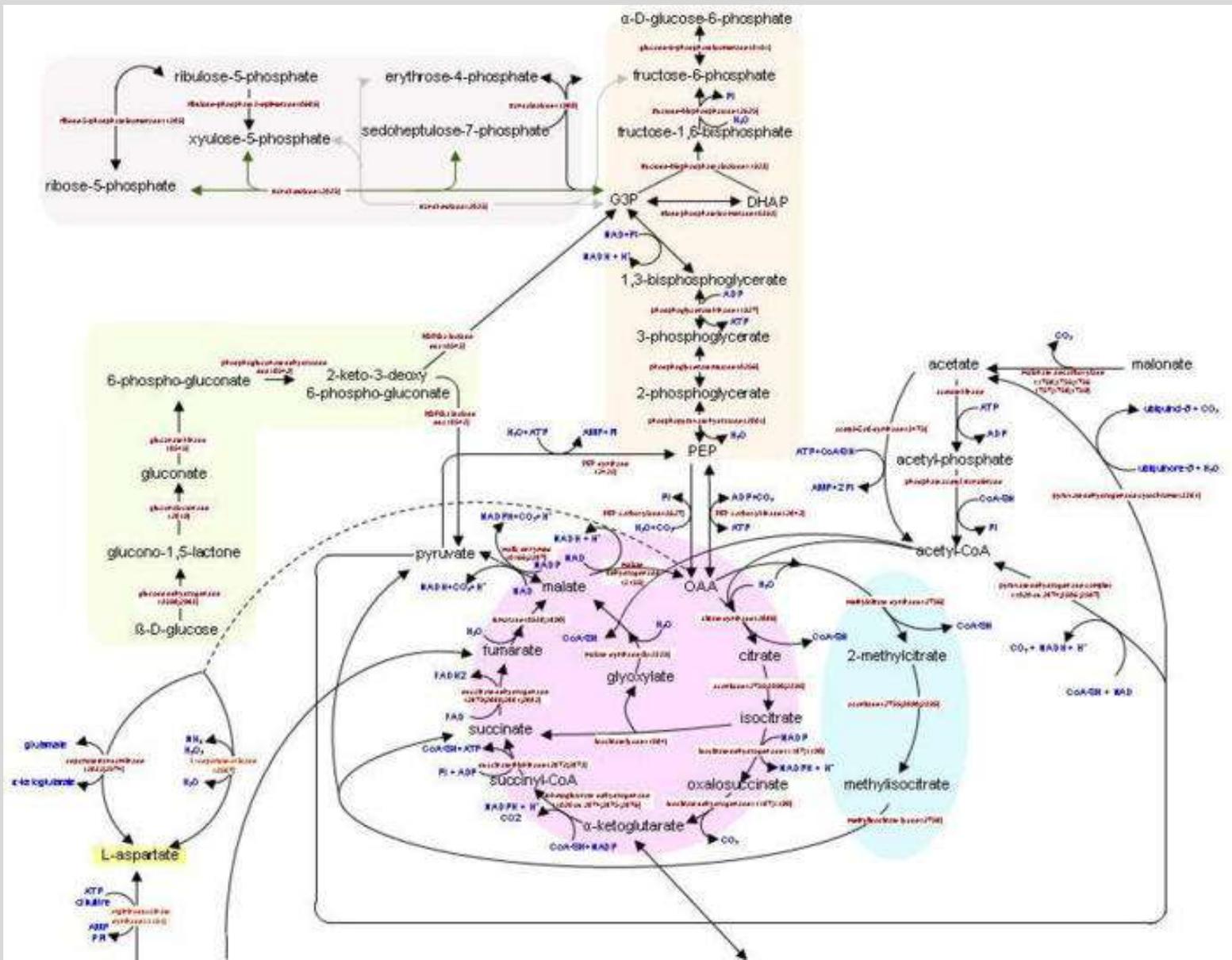
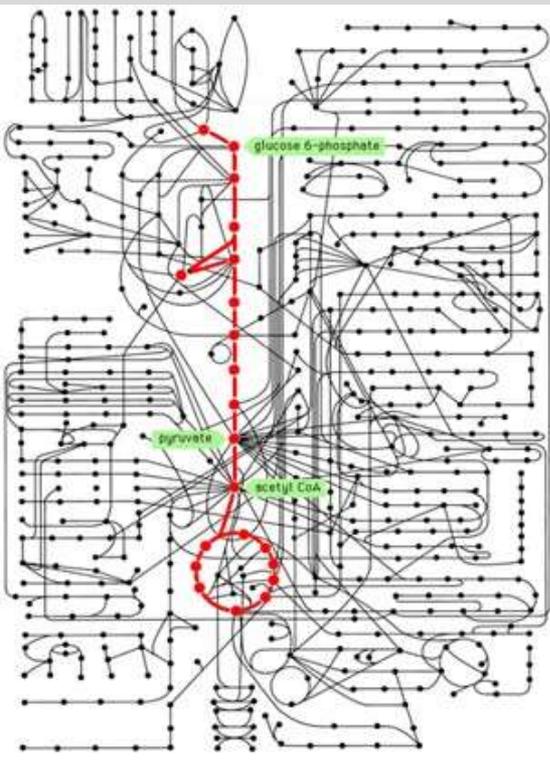


SV – E Le métabolisme cellulaire

SV – E – 3 : Les enzymes et la catalyse des réactions



De très nombreuses réactions chimiques Associées au « fonctionnement » de la cellule



glucose



<http://lithotheque.ac-clermont.fr>

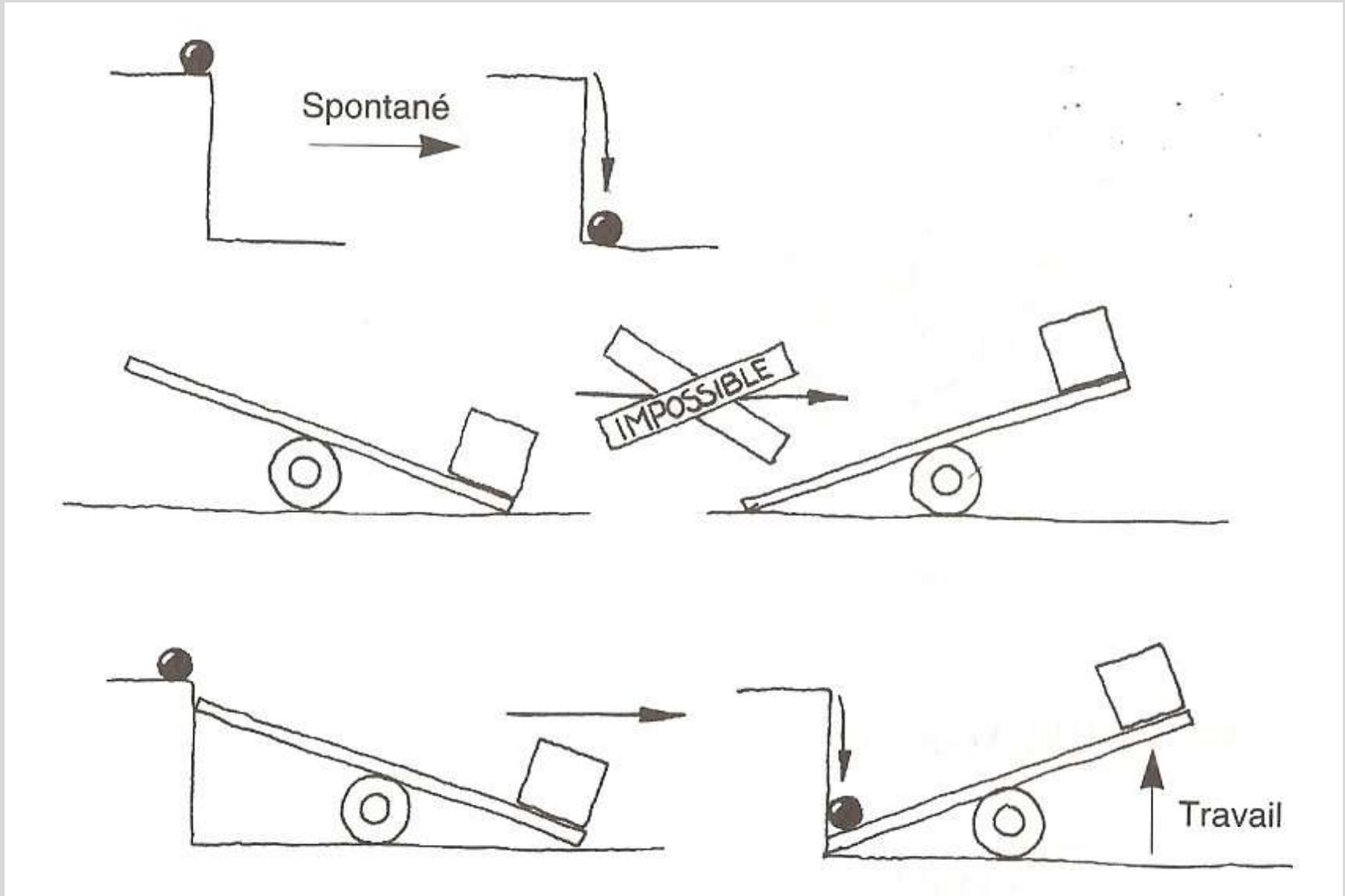
Levures



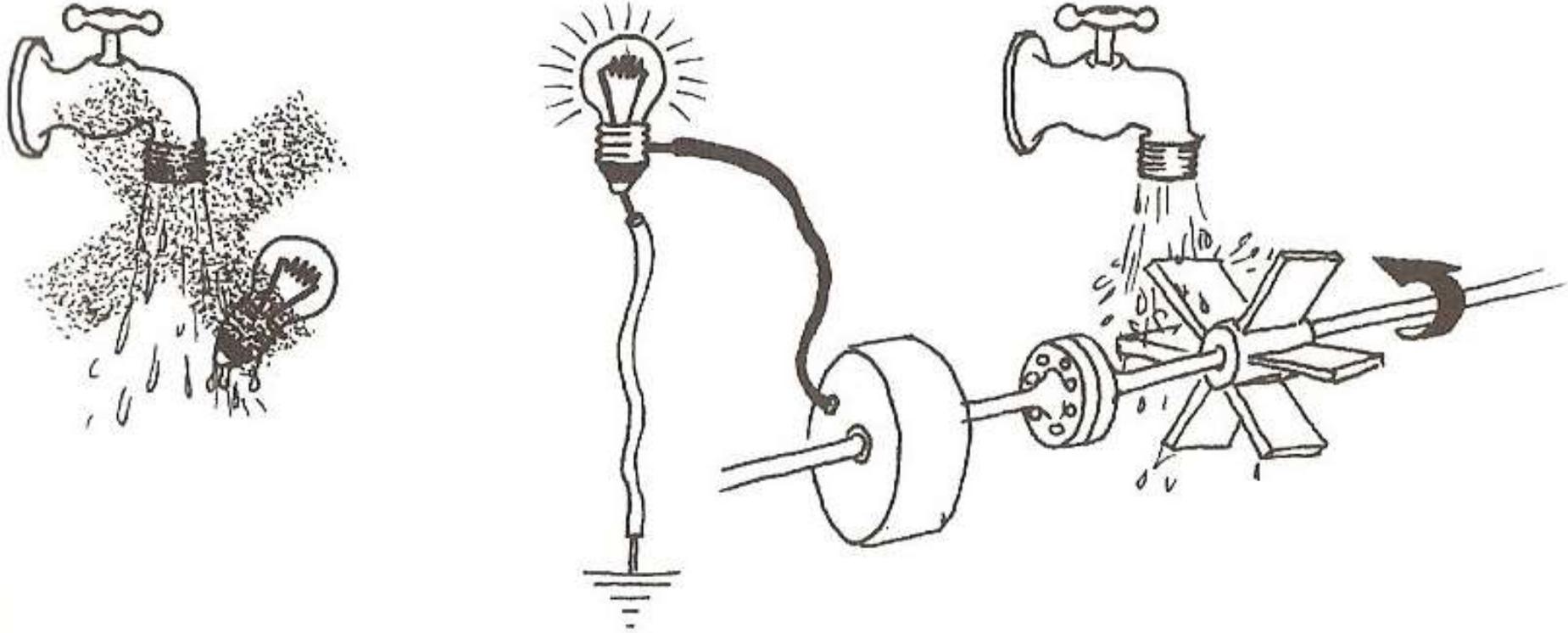
**Énergie utilisable par la cellule,
chaleur, déchets métaboliques**

Quelques unes des voies
réactionnelles dans la
cellule (en rouge, glycolyse
et cycle de Krebs)

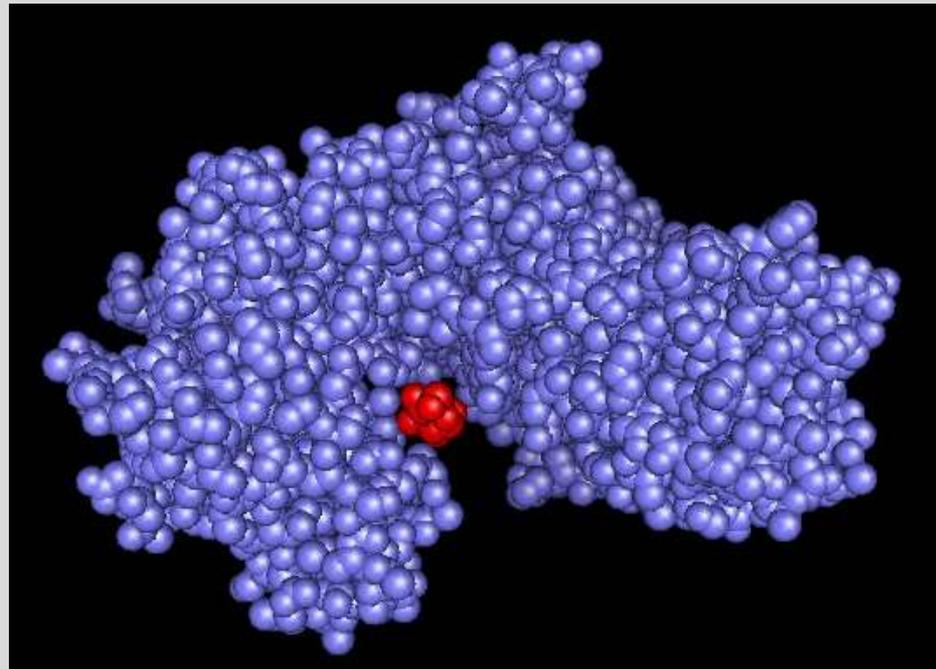
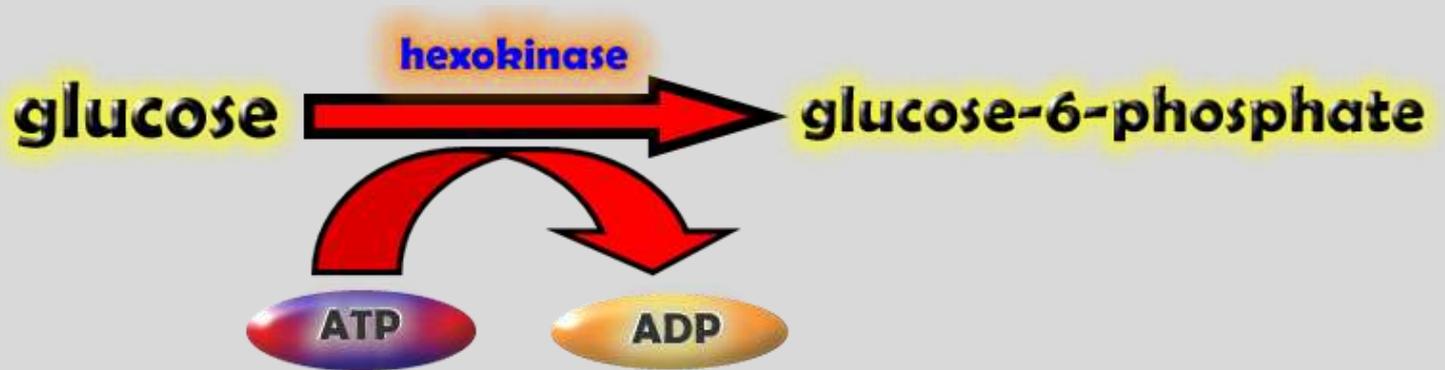
Principe thermodynamique des couplages



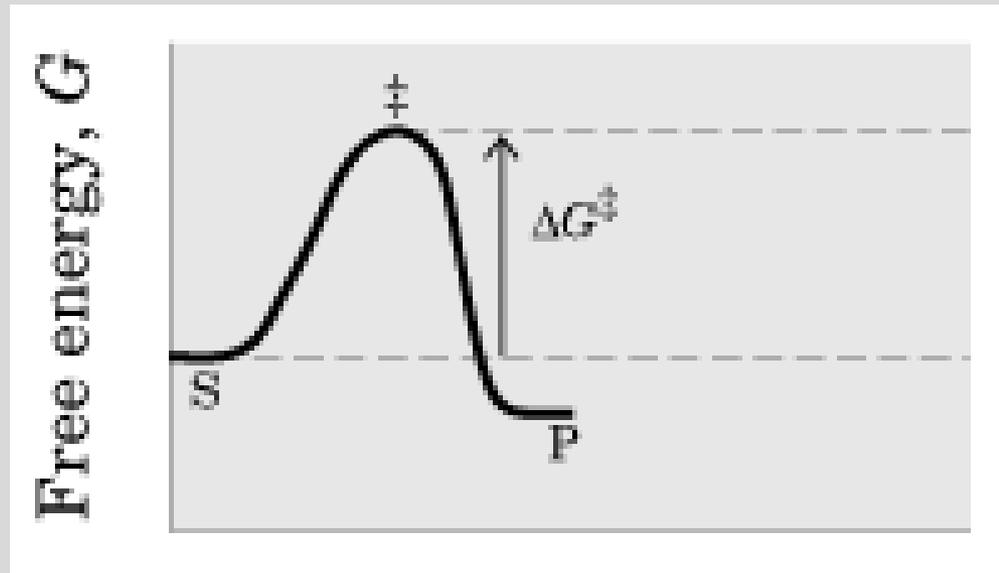
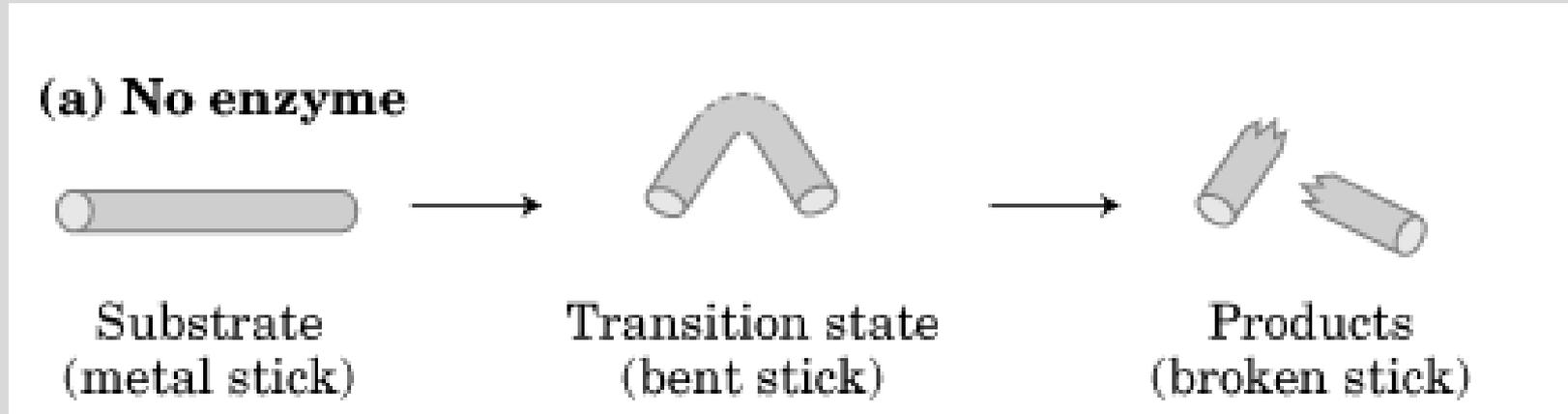
Les conditions d'un couplage



L'hexokinase : agent de couplage de la phosphorylation du glucose et de l'hydrolyse de l'ATP

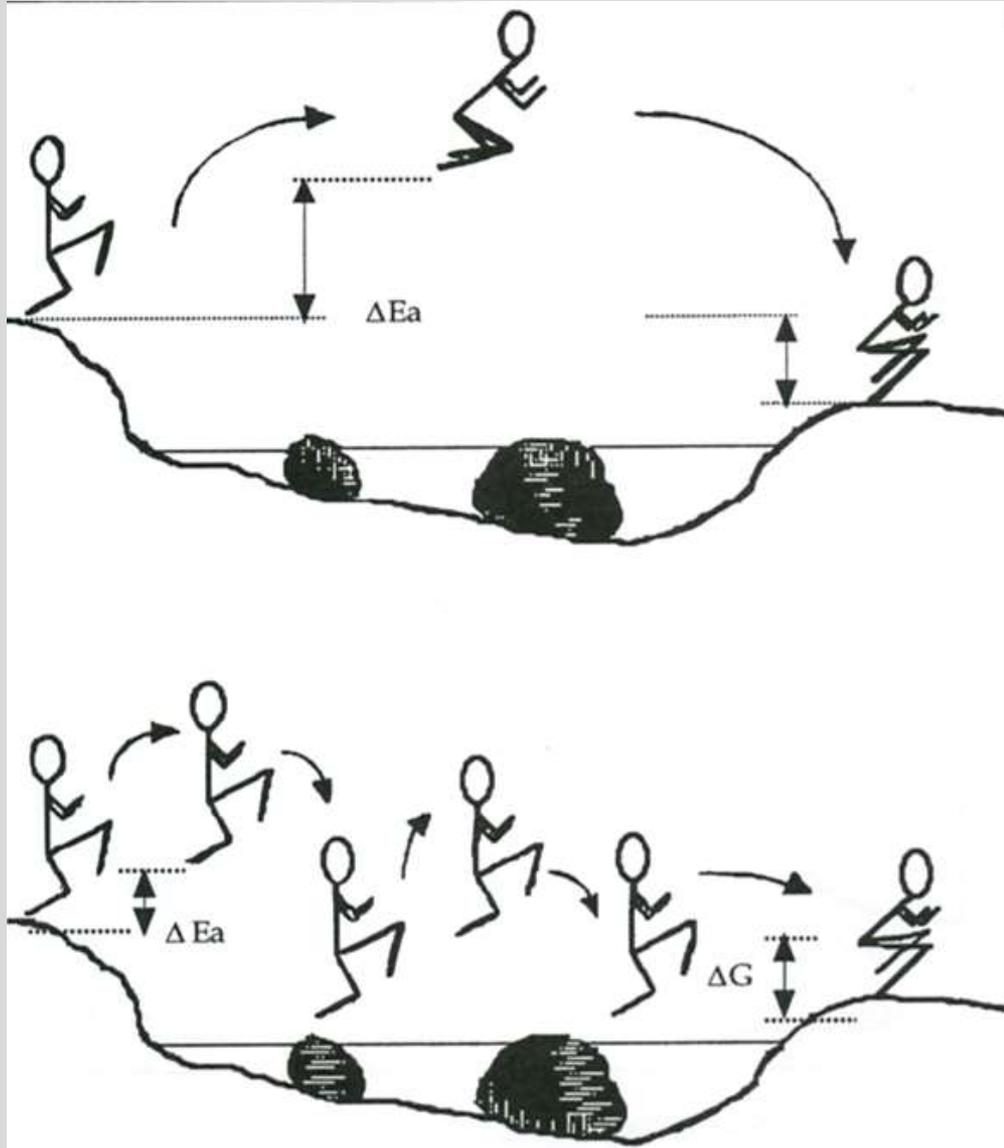


Cas d'une réaction non catalysée



Document 1. Principe de la catalyse : l'abaissement de l' E_a .

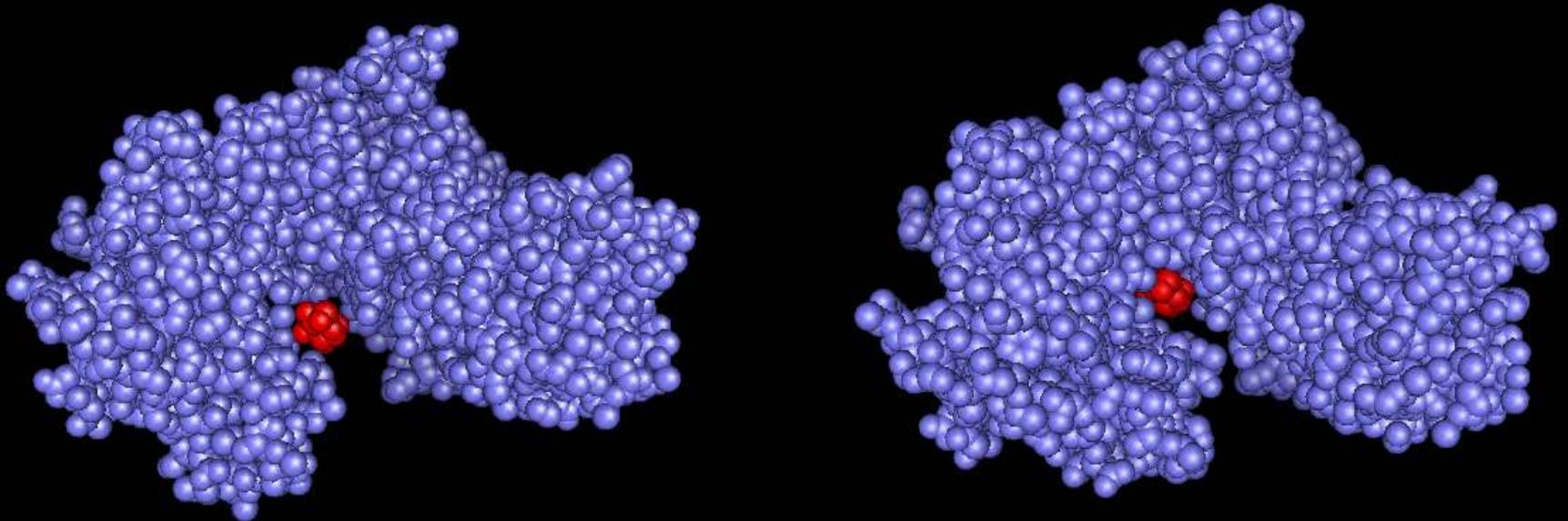
Document 2. Analogie simple illustrant le rôle d'un catalyseur



D'après une idée de PELMONT, " Enzymes et catalyseurs du monde vivant ", 1995.

(in : AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).

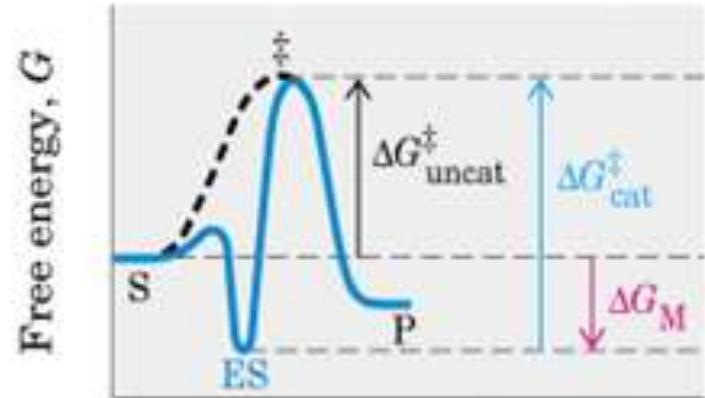
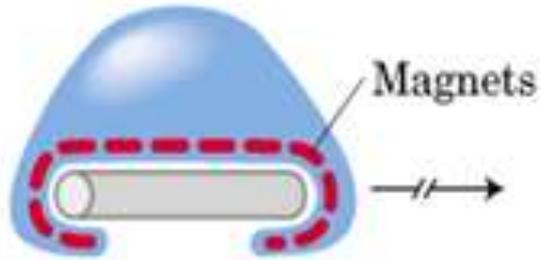
Enzyme et abaissement de l'Ea : exemple de l'hexokinase



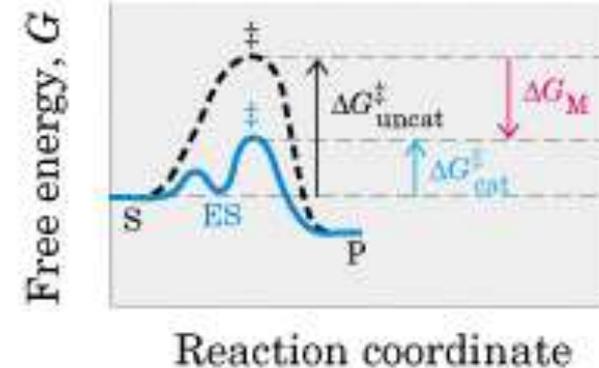
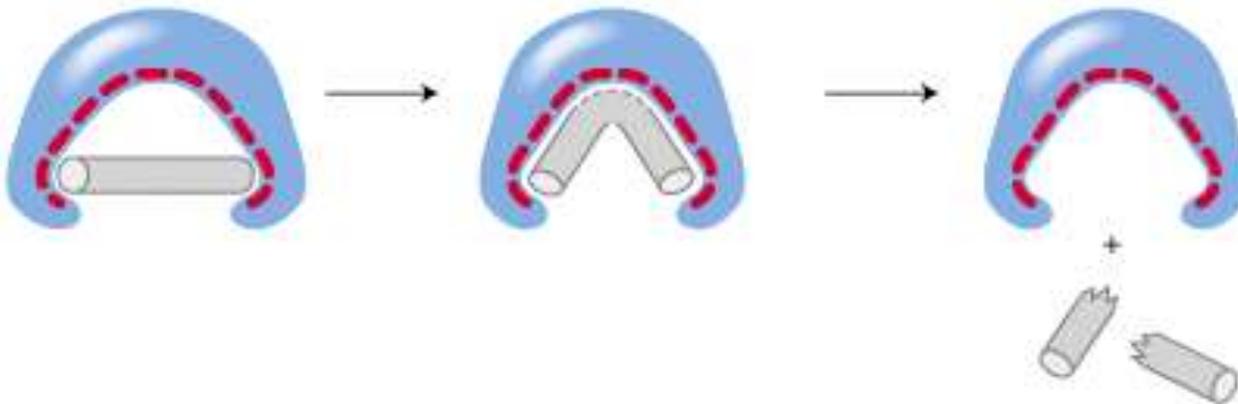
[Animation action HK](#)

Effet de la liaison de l'enzyme au substrat sur le niveau d'énergie

(b) Enzyme complementary to substrate

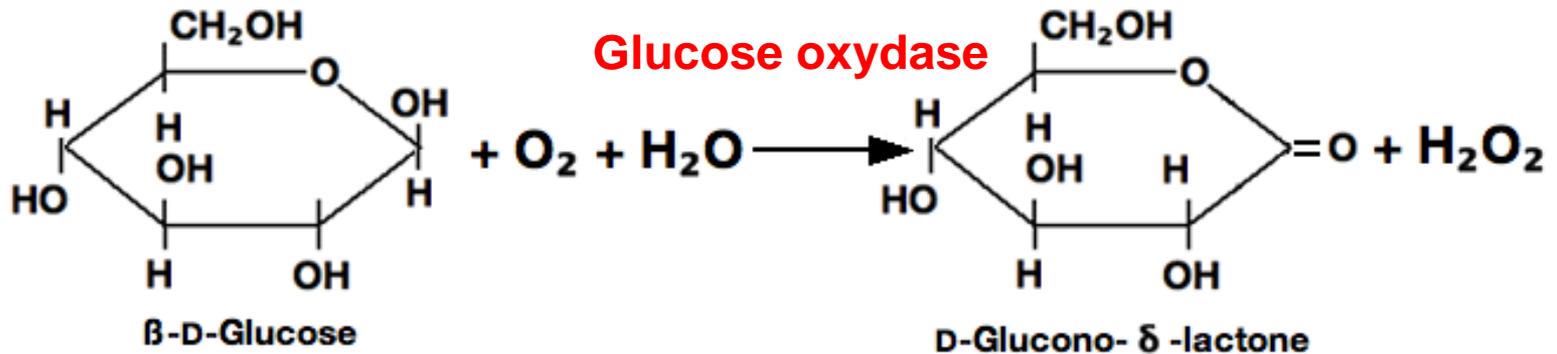


(c) Enzyme complementary to transition state



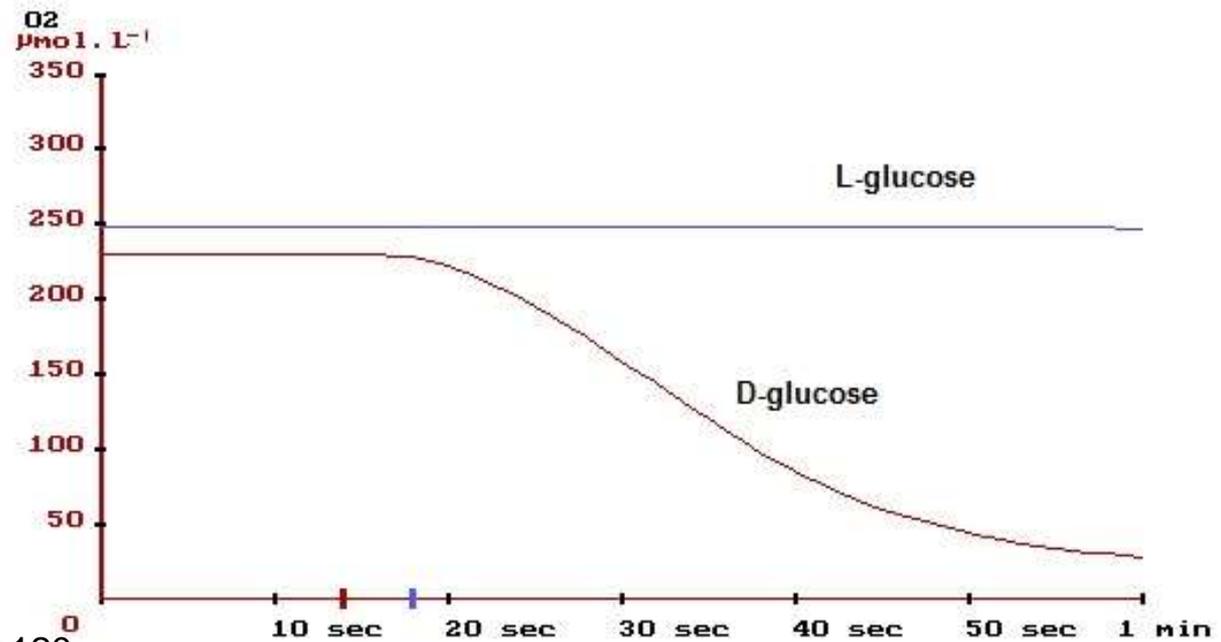
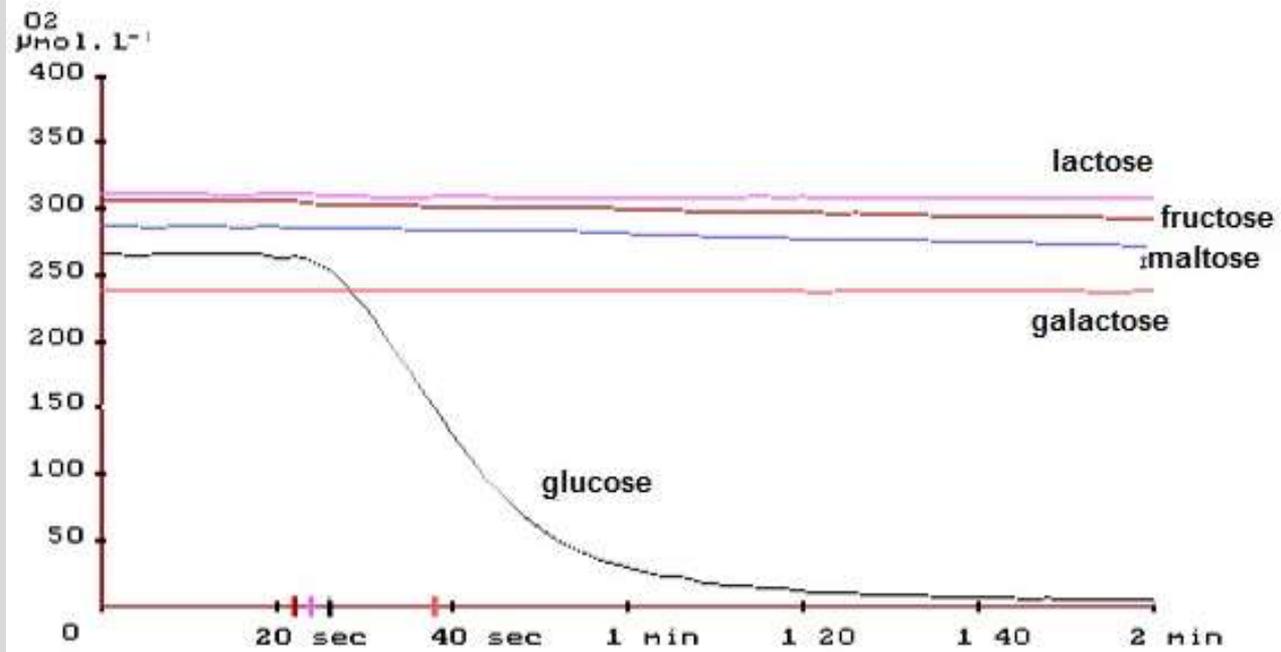
Document 1. Principe de la catalyse : l'abaissement de l' E_a .

Etude expérimentale de l'activité d'une enzyme : la glucose oxydase

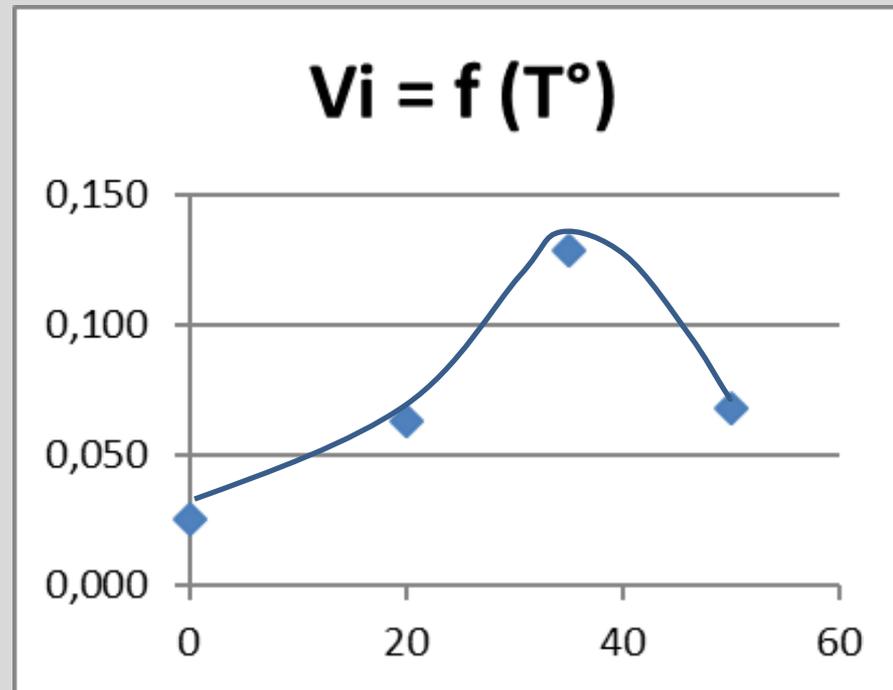


→ Exploitation des résultats obtenus en TP...

Résultats obtenus en faisant varier la nature du substrat



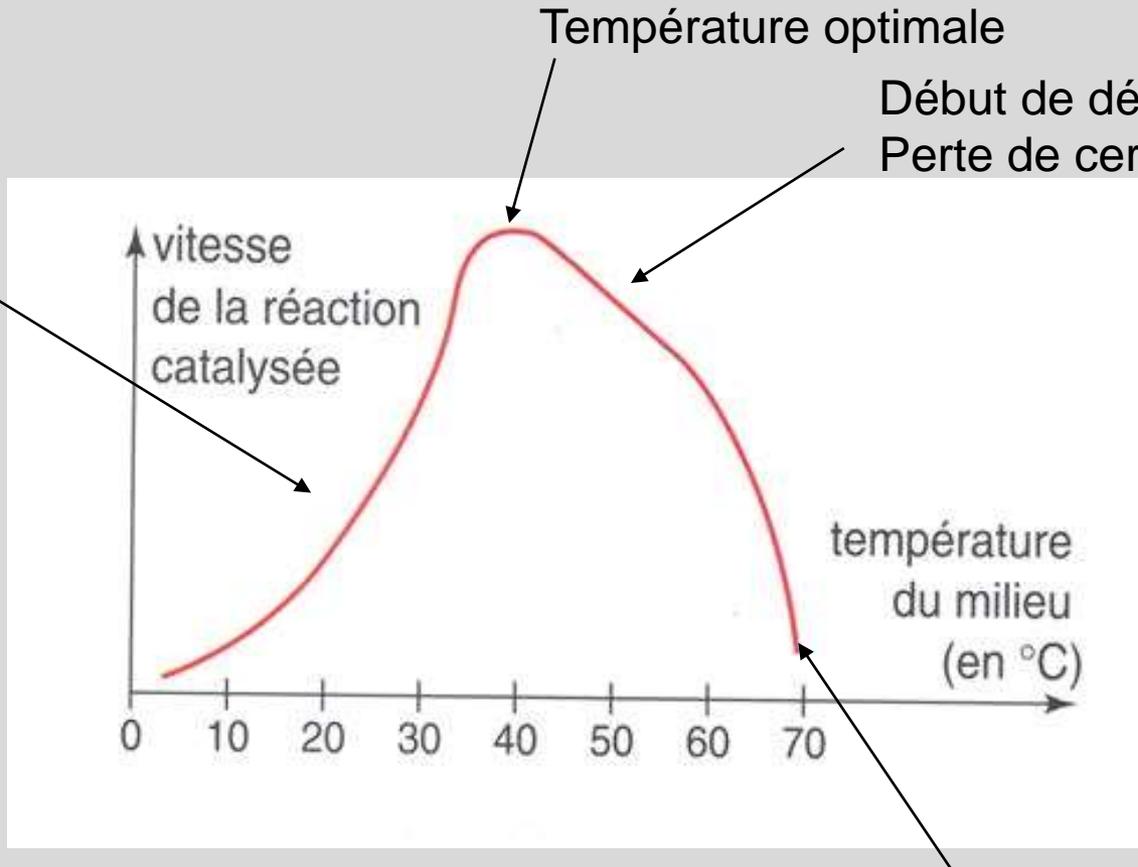
Vos résultats de TP :



**Effets de la température
sur l'activité de la glucose oxydase**

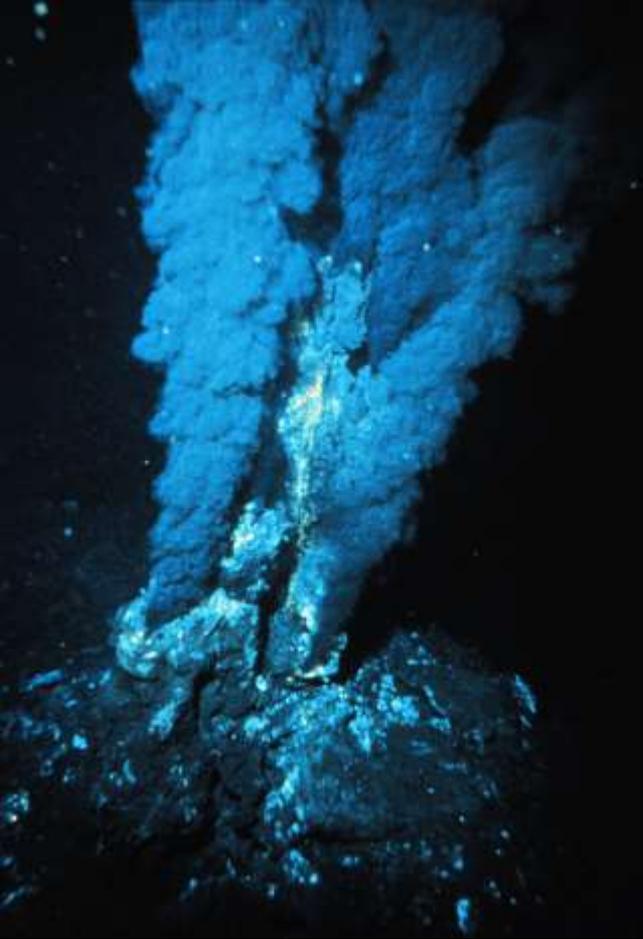
Document 6. Effets de la température sur l'activité enzymatique

L'activité catalytique suit la loi d'arrhénius



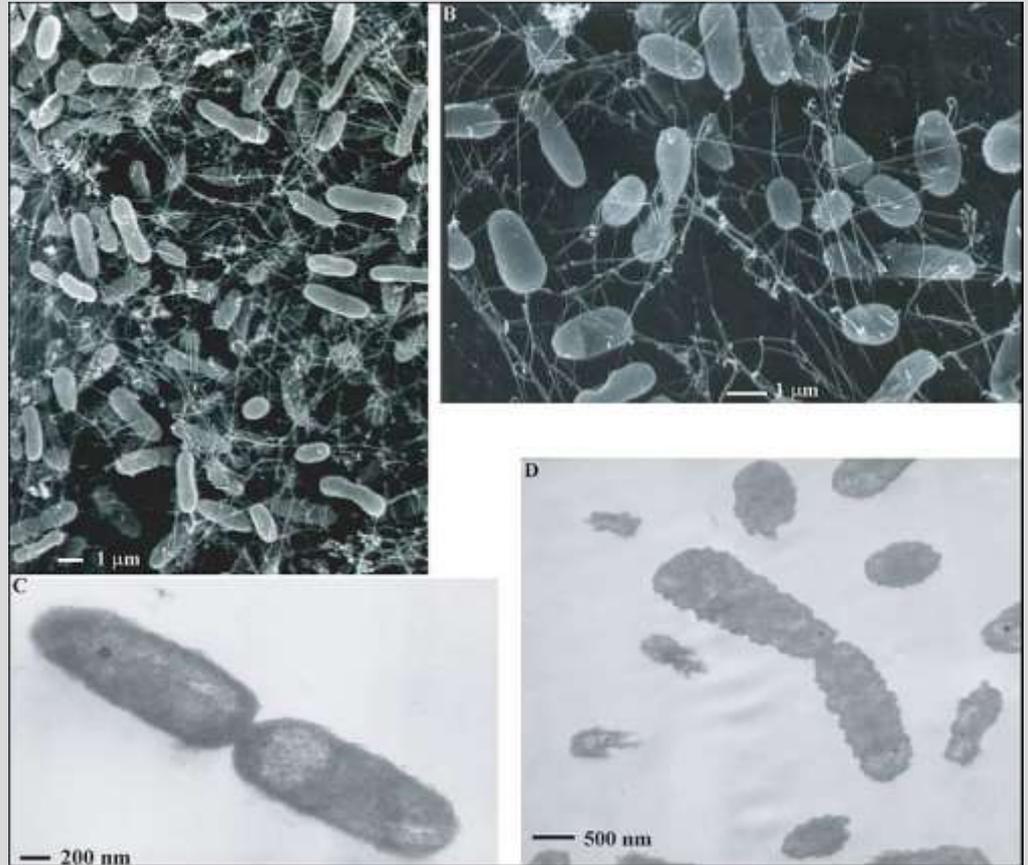
Début de dénaturation
Perte de certains sites actifs

L'enzyme est dénaturée
Plus aucun site actif ne fonctionne



<https://fr.wikipedia.org/wiki/Pyrolobus>

Pyrolobus fumarii, archée découverte pour la première fois en 1997 aux abords d'un fumeur noir sur la dorsale Atlantique.



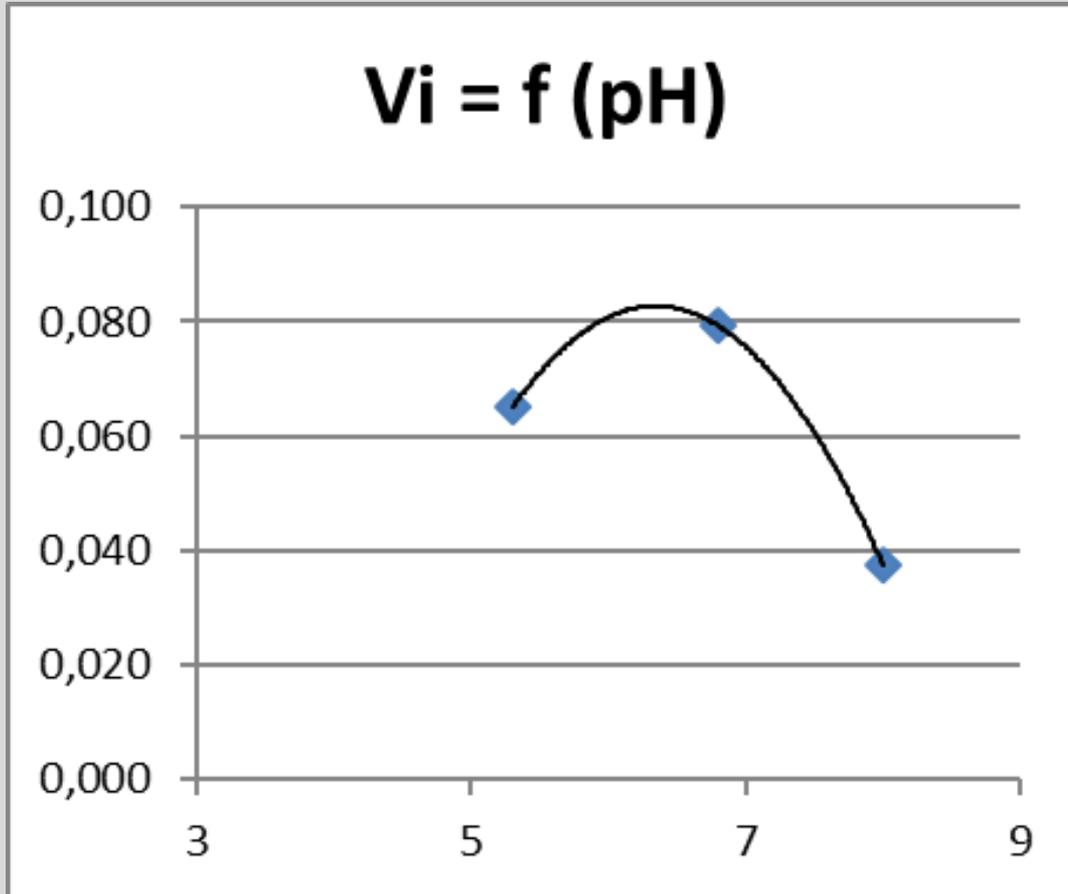
Pyrolobus fumarii peut vivre et se multiplier jusqu'à 113 °C et sa croissance est impossible pour des températures inférieures à 90 °C.

C'est l'un des organismes les plus hyperthermophiles connus.

👉 Pour plus d'informations sur l'adaptation thermophile des microorganismes :

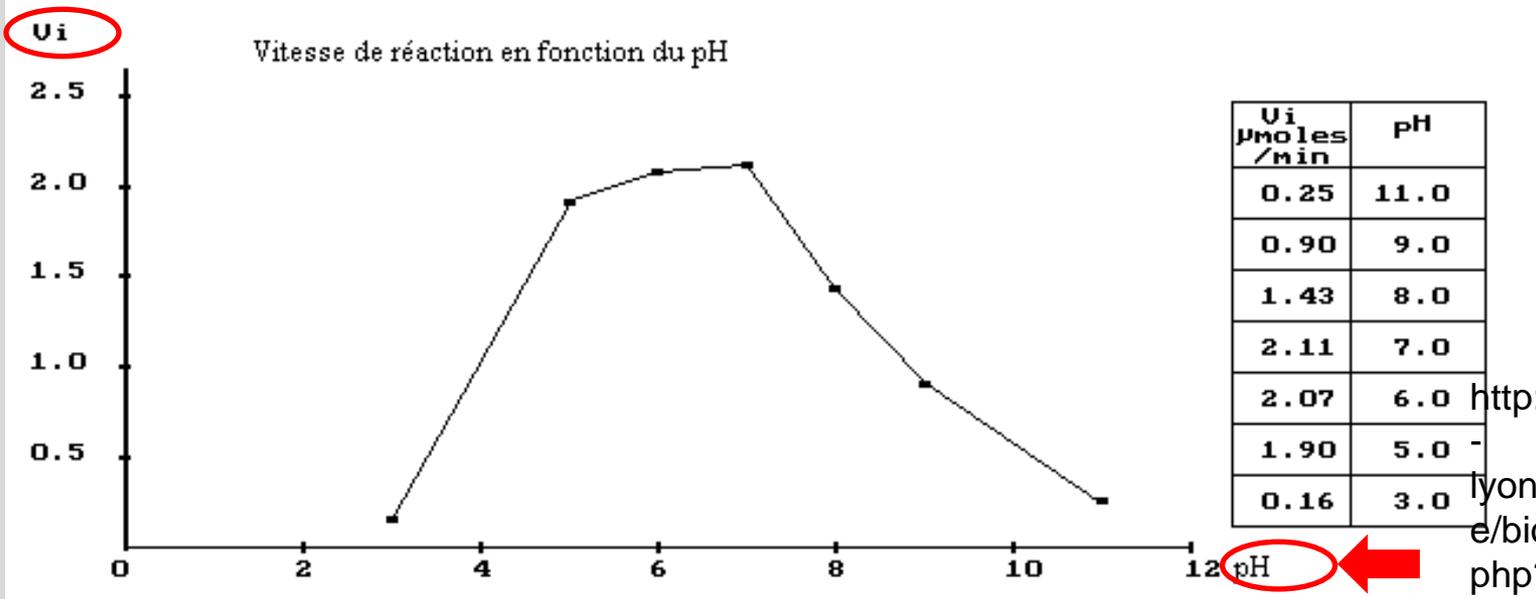
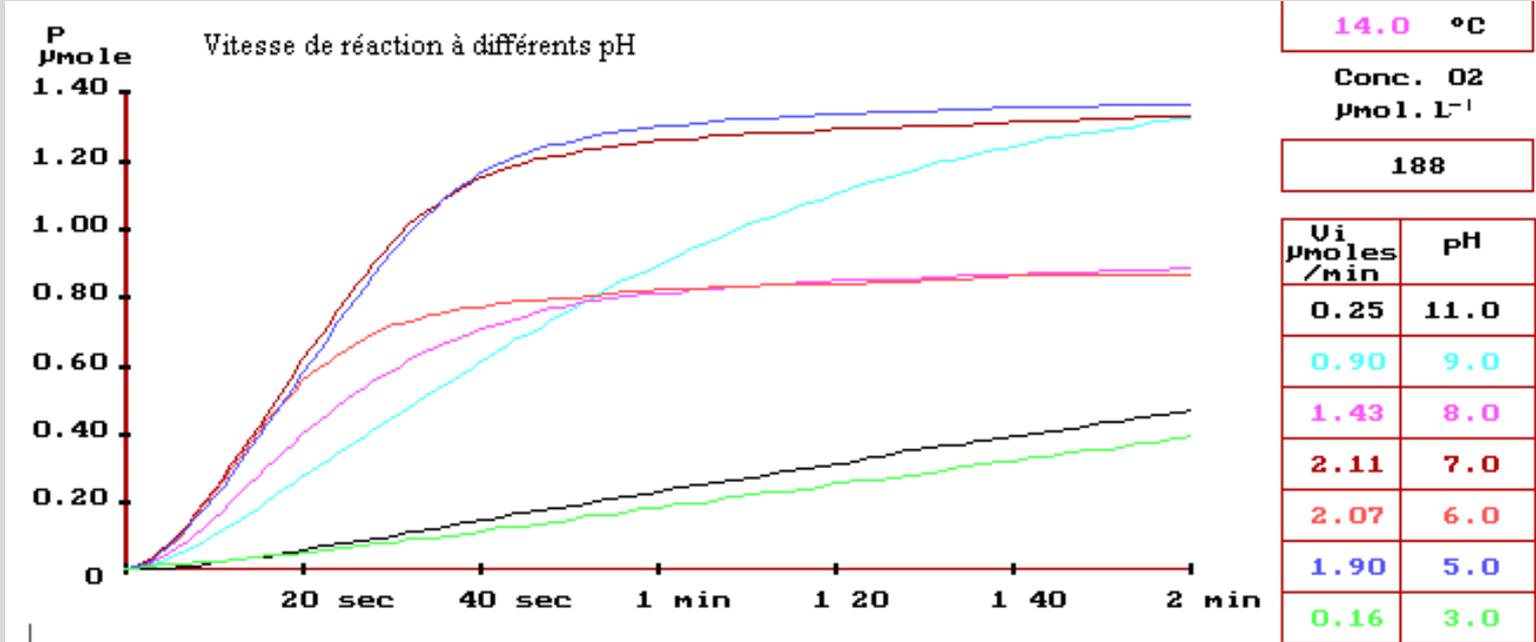
<http://acces.ens-lyon.fr/evolution/biodiversite/dossiers-thematiques/les-trois-domaines-du-vivant/historique-de-la-classification-du-vivant-1/ladaptation-thermophile-des-microorganismes>

Vos résultats de TP :



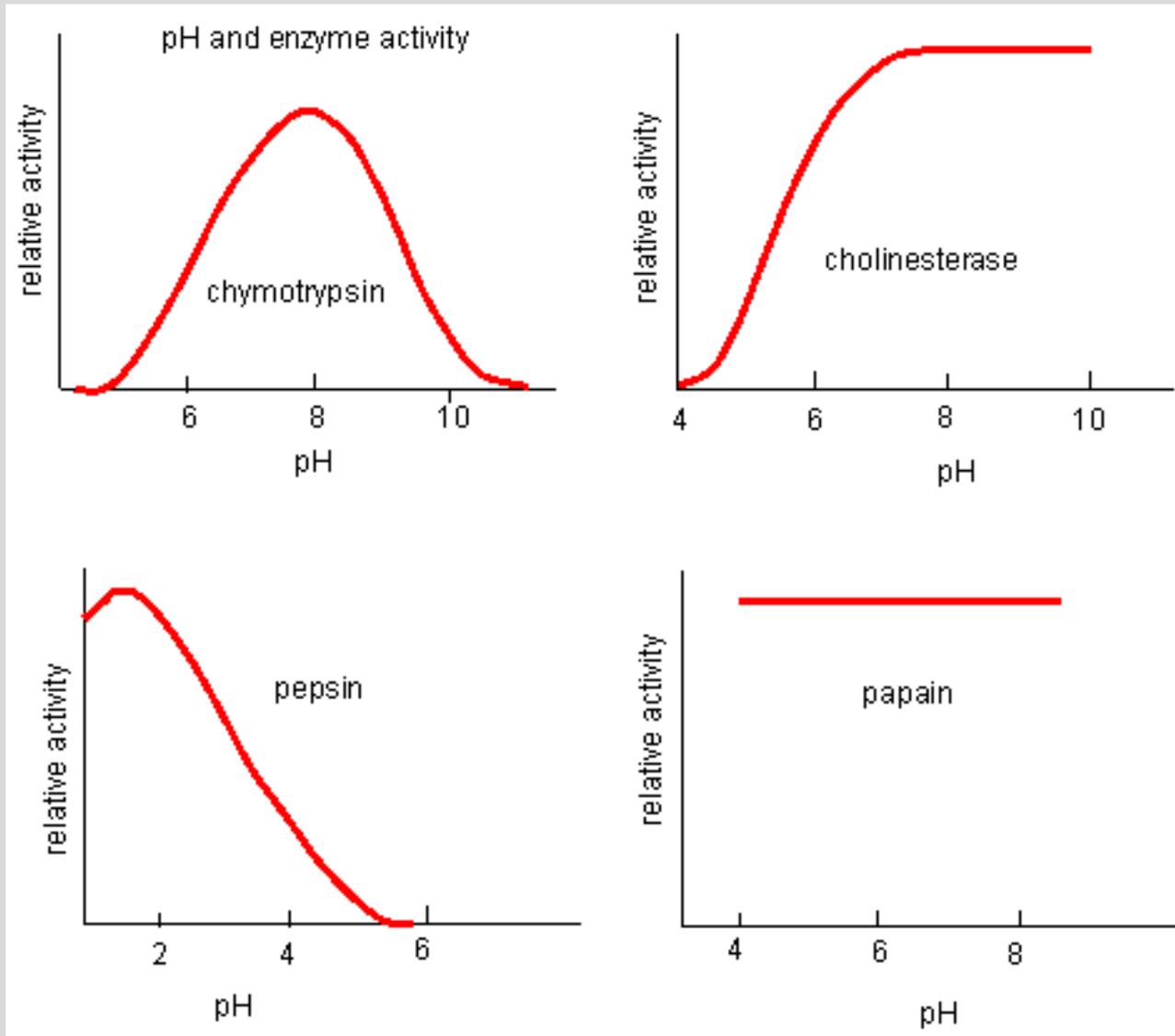
**Effet du pH sur l'activité
de la glucose oxydase**

Effet du pH : Exemple de la glucose oxydase



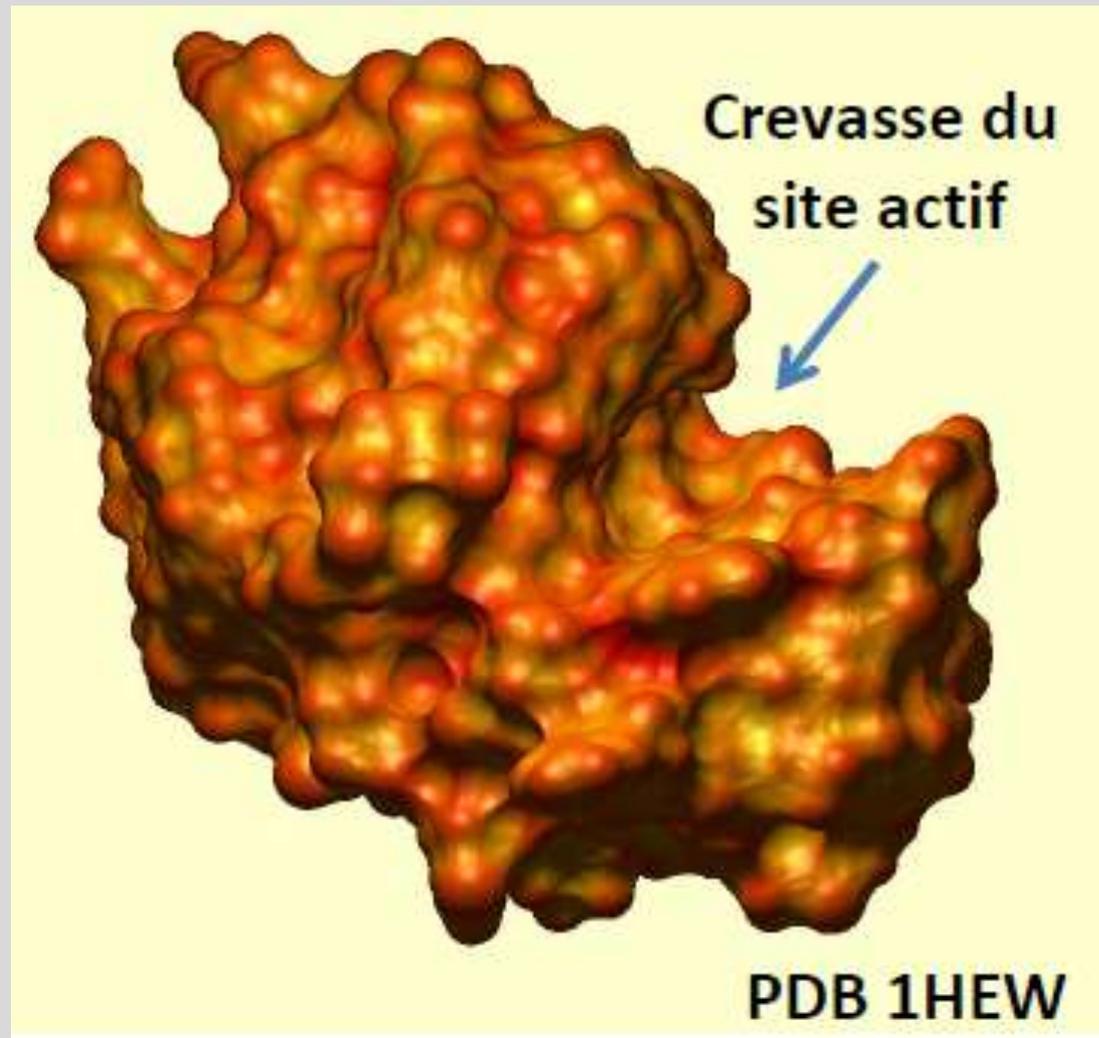
<http://www2.ac-lyon.fr/enseignement/biologie/spip.php?article120>

Document 3. Quelques exemples de l'effet du pH sur l'activité enzymatique





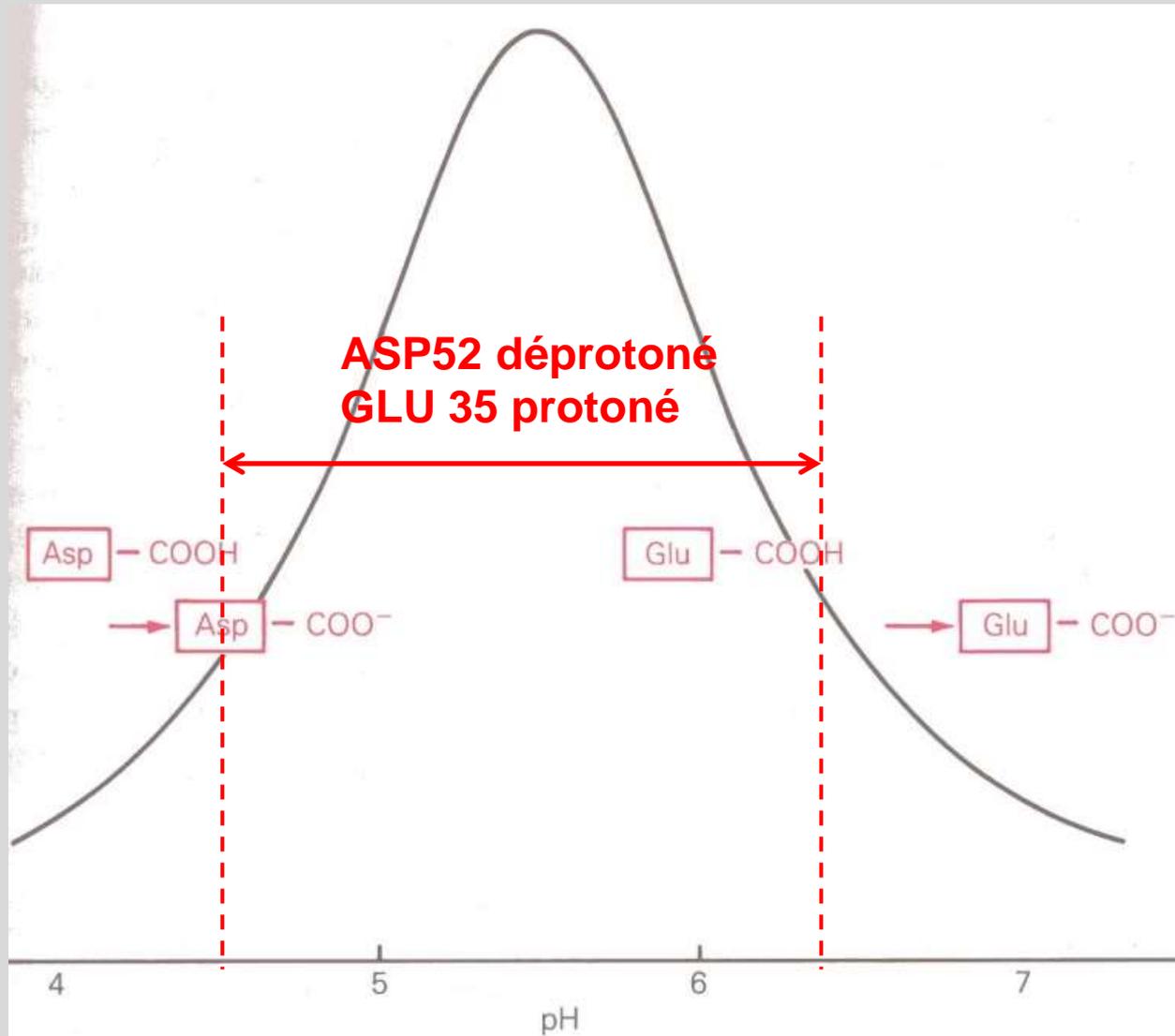
Alexander
Flemming,
en 1945



Le lysozyme, découvert par Fleming

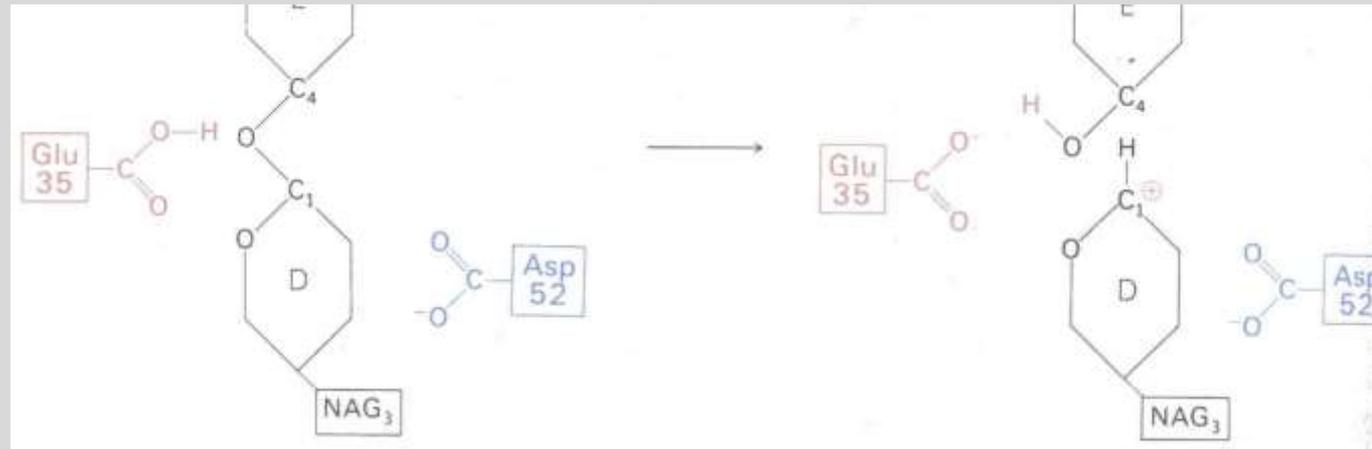
Effets du pH sur l'activité enzymatique du lysozyme

Lysozyme

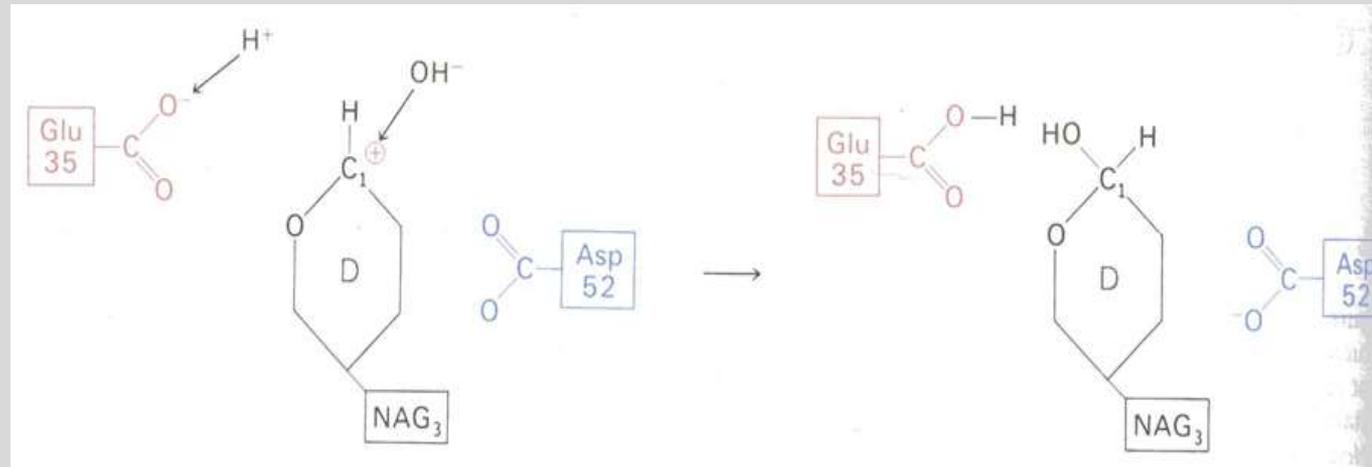


Document 4. Importance du pH pour l'activité enzymatique du lysozyme

Etape 1 :
GLU 35 doit être protoné



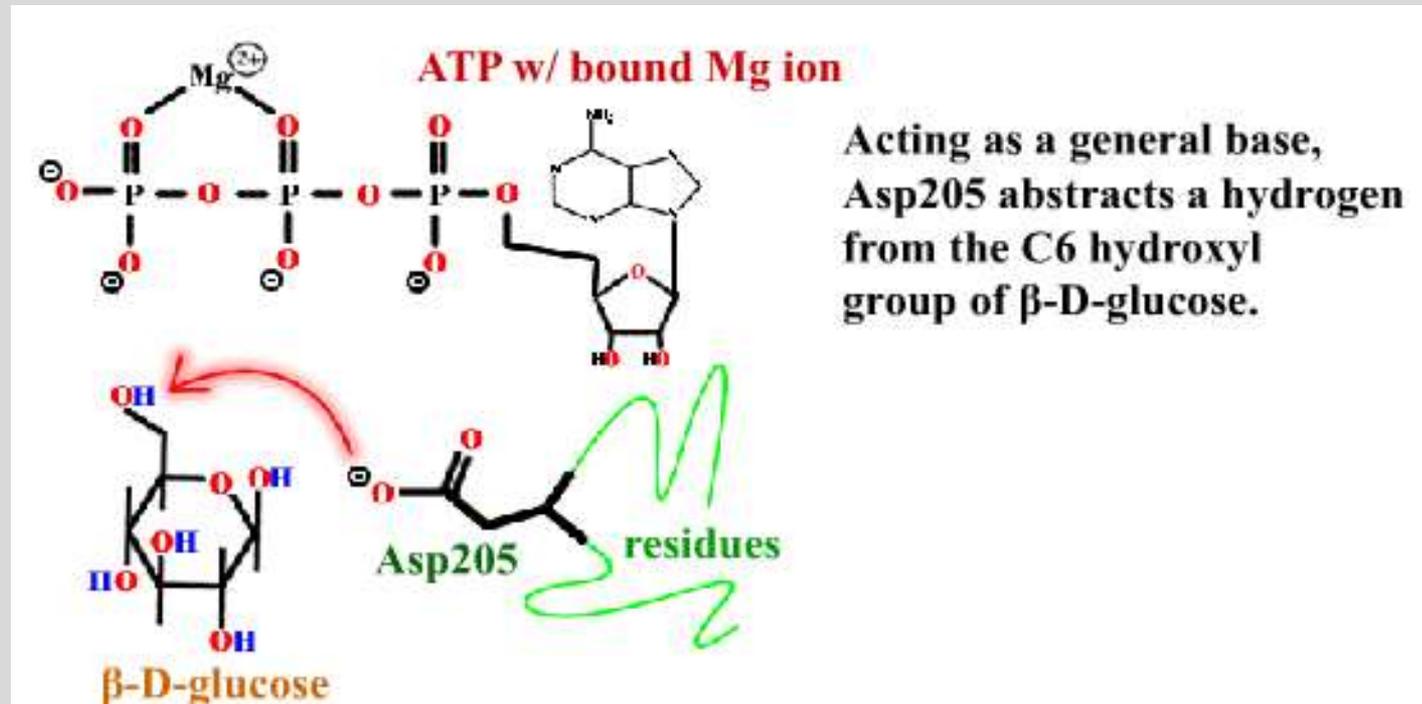
Etape 2 :
ASP 52 doit être déprotoné



A l'issue de la réaction :

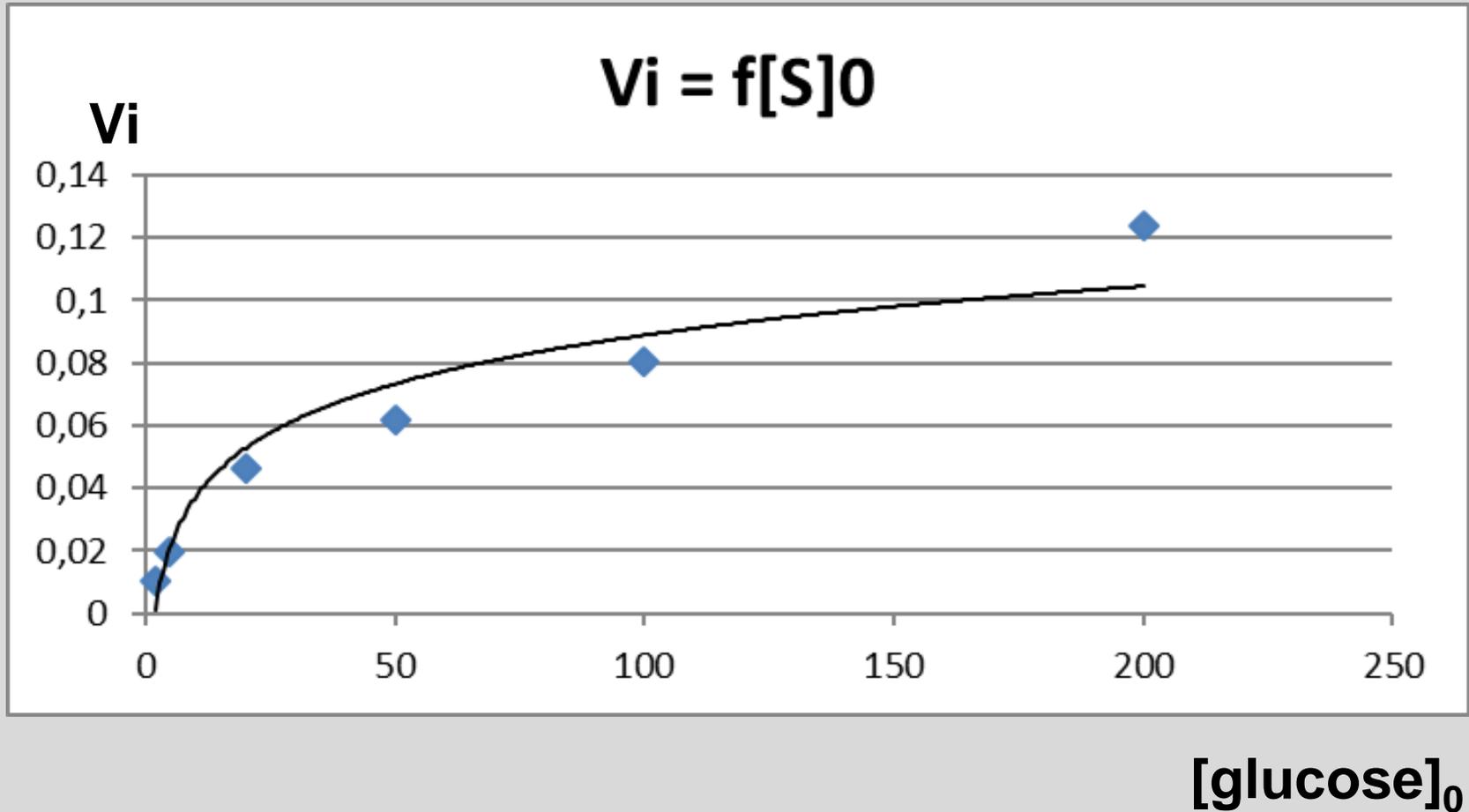
GLU 35 est reprotéoné en récupérant un H⁺ du milieu

Document 5. Importance du pH pour l'activité enzymatique de l'hexokinase



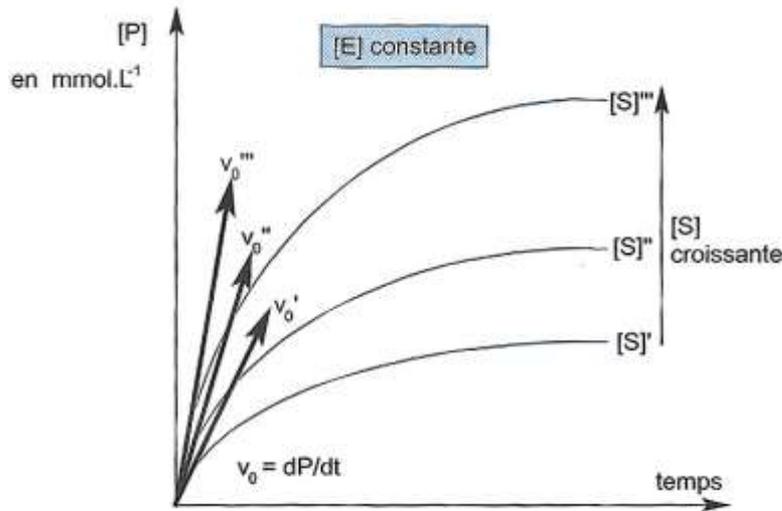
1^{ère} étape déprotonation du OH du C6 du glucose :
ASP205 doit être déprotoné

Vos résultats de TP :



Effet de la concentration du substrat sur l'activité de la glucose oxydase

Document 7. Etude cinétique d'une enzyme michaélienne



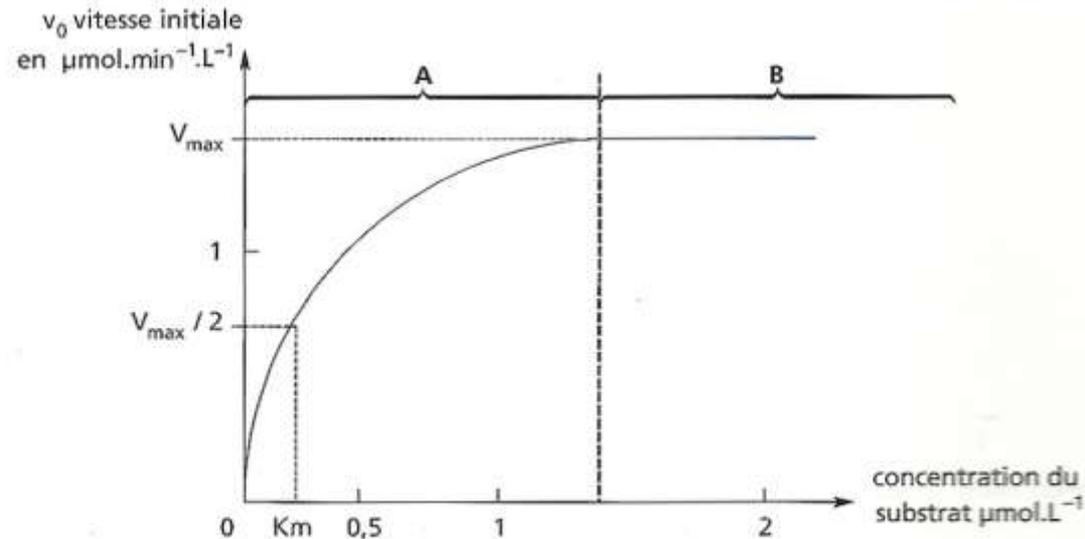
Mesure de la vitesse initiale d'une réaction pour des concentrations variables de substrat et constante d'enzyme.

La disparition du substrat ou l'apparition du produit est mesurée au cours du temps.

L'expérience est répétée pour diverses concentrations en substrat.

On mesure la V_i (=pente de la courbe au début de la réaction) car c'est le seul moment où il ne se produit que la réaction : $S \rightarrow P$.

On représente ensuite les différentes valeurs de v_i en fonction de la concentration en substrat.



Vitesse initiale d'une réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat, à concentration enzymatique constante.

Equation de Michaelis - Menten

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

Avec:

V_i : vitesse initiale (c'est-à-dire en absence de produit) de la réaction enzymatique pour une concentration de substrat $[S]$ (en mol/min) ;

V_{max} : vitesse initiale maximale mesurée pour une concentration **saturante** de substrat (en mol/min) ;

$[S]$: Concentration en substrat (en mol/L) ;

K_M : constante de Michaelis spécifique de l'enzyme. C'est la concentration en substrat pour laquelle $V_i = V_{max}/2$ (en mol/L).

Elle correspond à l'inverse de la constante d'affinité apparente du substrat pour l'enzyme.

K_M : constante de Michaelis



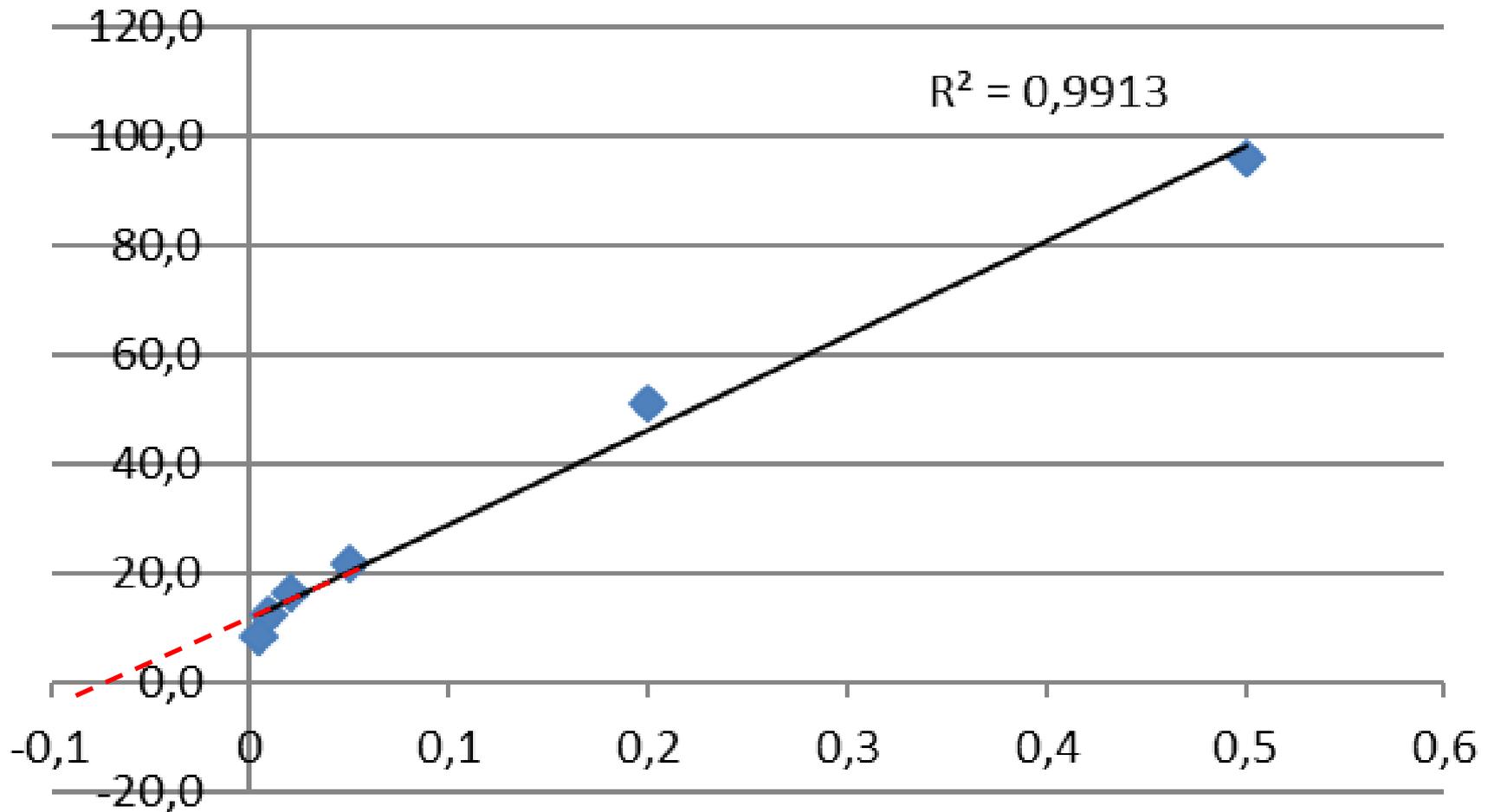
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

K_M : constante de Michaelis spécifique de l'enzyme. C'est la concentration en substrat pour laquelle $V_i = V_{max}/2$ (en mol/L).

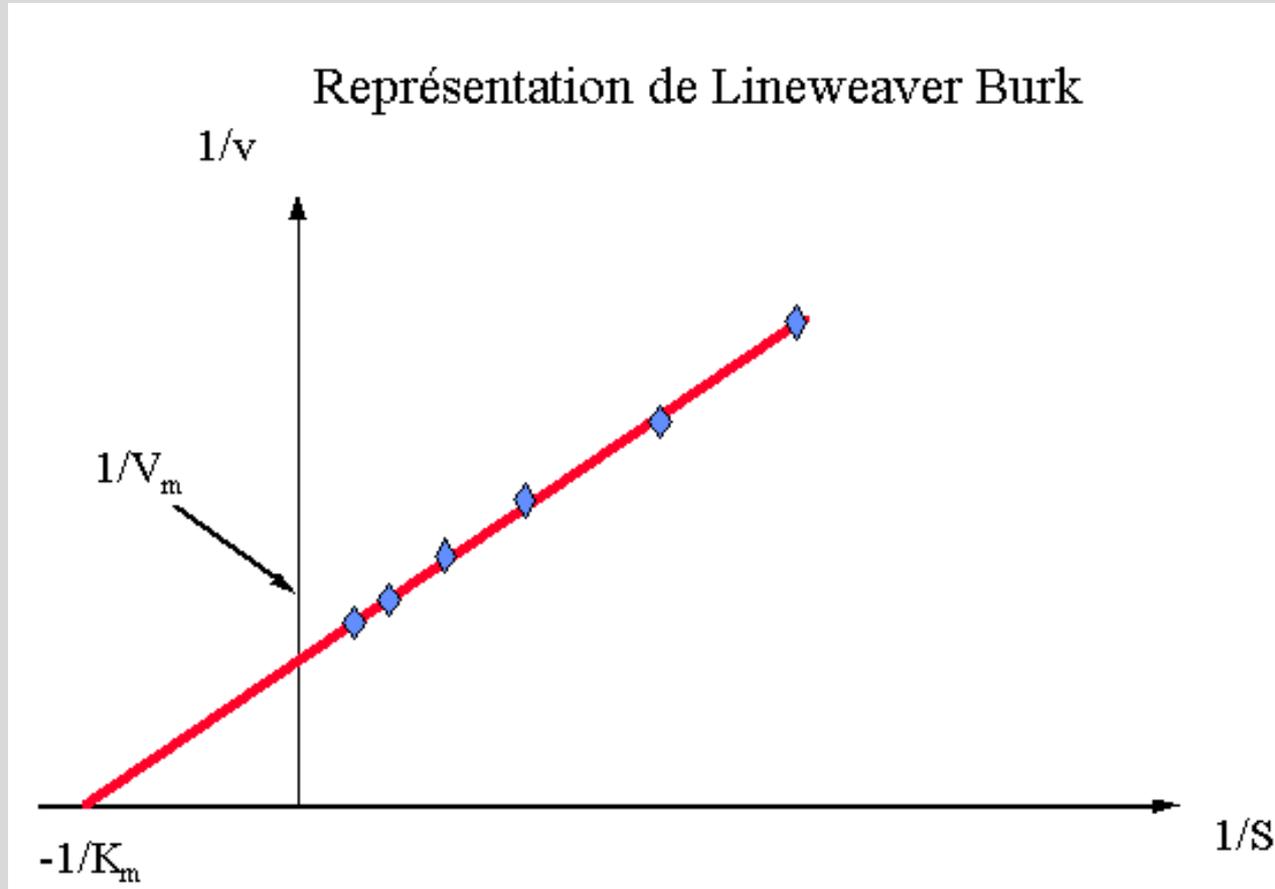
Elle correspond à l'inverse de la constante d'affinité apparente du substrat pour l'enzyme.

Vos résultats de TP : Représentation de Lineweaver-Burk

$$1/V_i = f(1/[S]_0)$$



Document 8. Détermination graphique de K_M et V_{max} grâce à la méthode des inverses



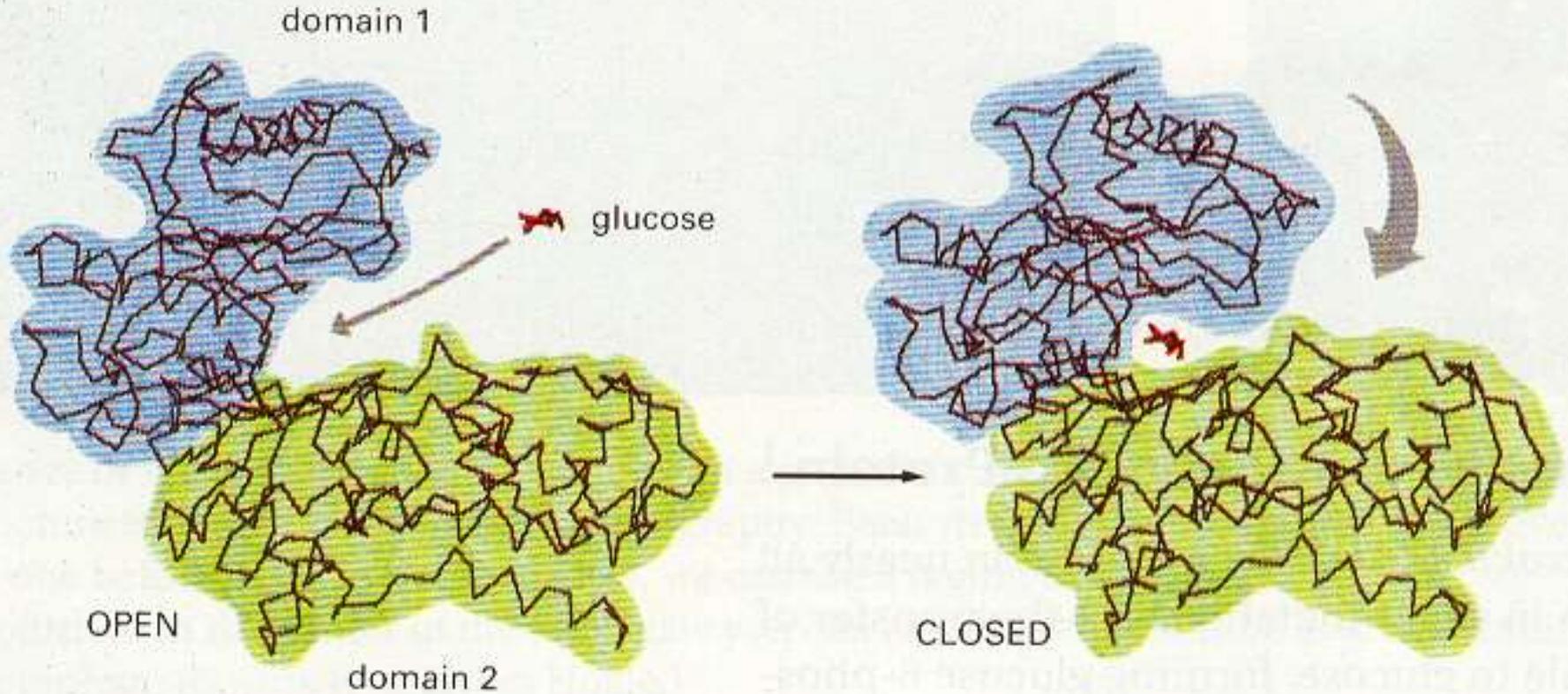
L'équation précédente devient : $\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{v_{max}}$
(voir TP)

Document 9. Les différentes catégories d'enzymes

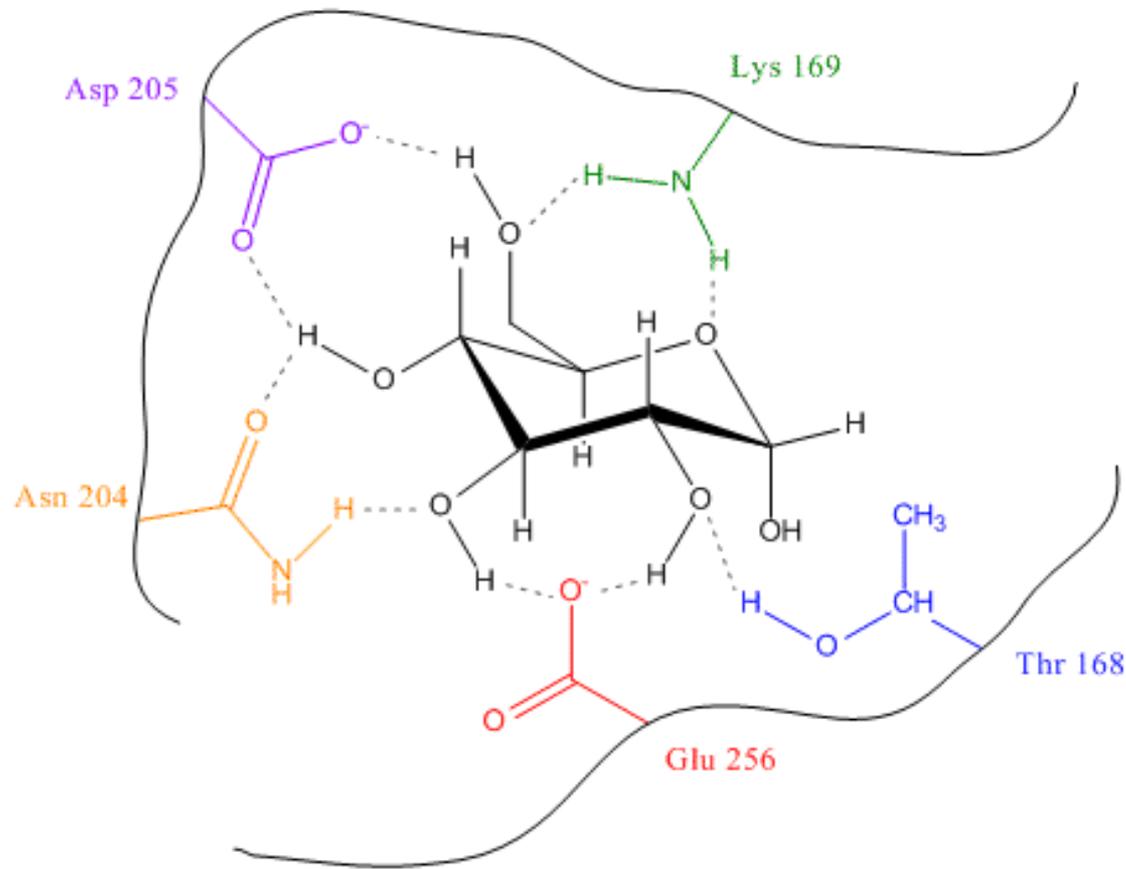
Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH</p>	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	<p>A + B ⇌ A-B</p>	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	<p>A ⇌ Iso-A</p>	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	<p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP</p> <p>X = A, G, U, C</p>	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

[Base de données sur les enzymes](http://www.namrata.co/classification-of-enzymes/)

Document 10. L'hexokinase



[Animation ajustement induit HK](#)



*Légende : Représentation schématique de la stabilisation du glucose
la poche catalytique de l'hexokinase.*

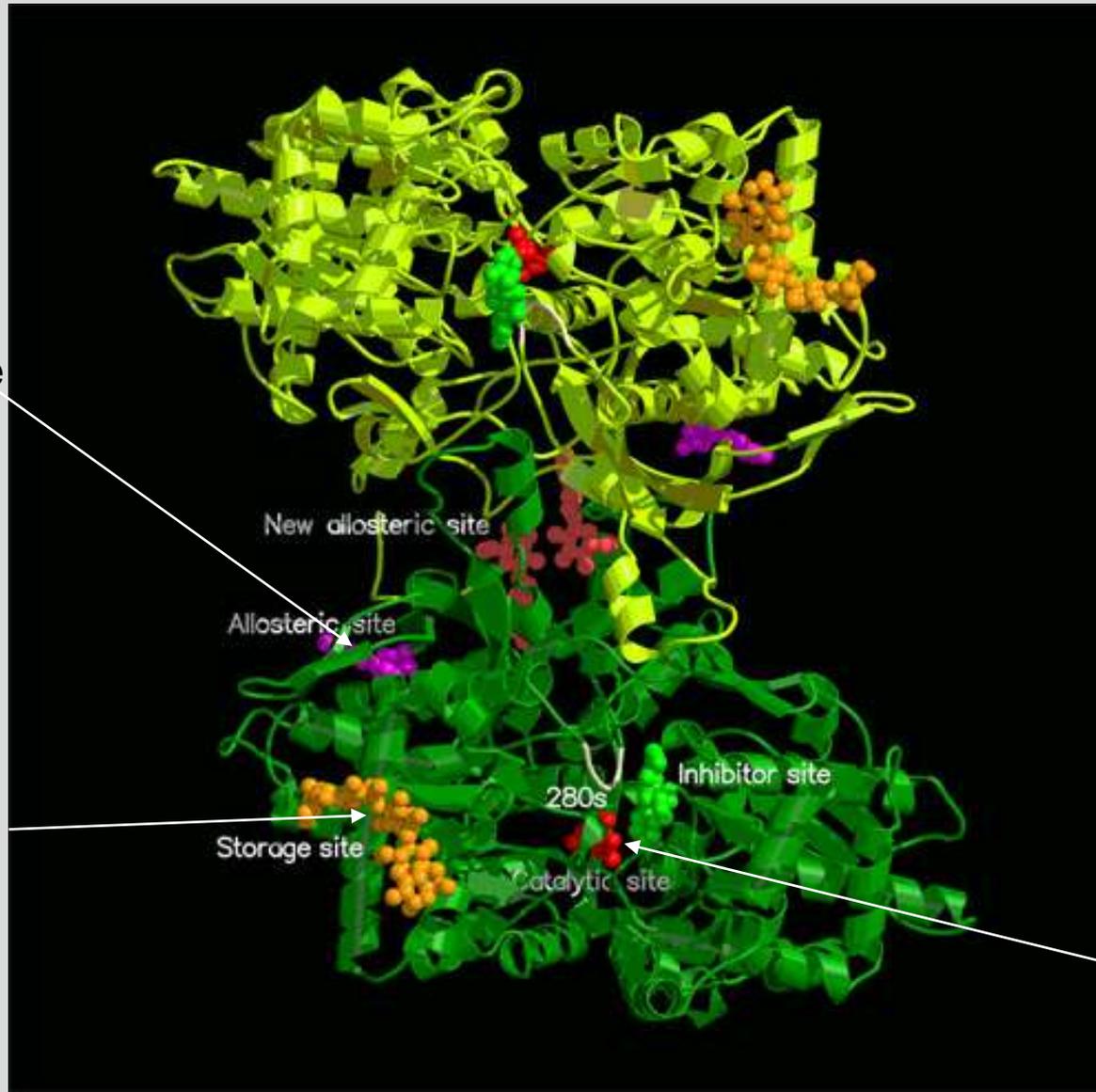
La glycogène phosphorylase

Deux sous unités identiques chez les hépatocytes

Quatre chez les myocytes

Site sérine phosphorylable

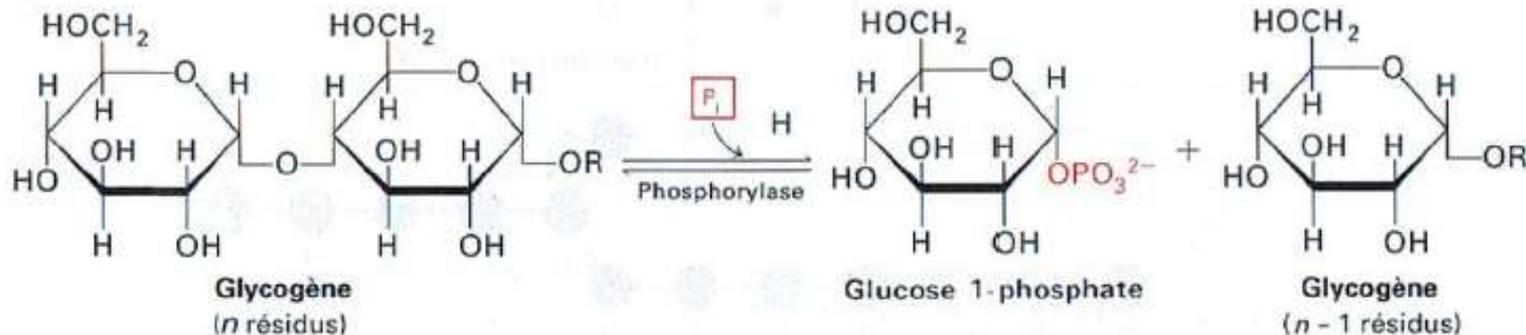
Site de liaison au glycogène



Site catalytique

Document 11. Réaction catalysée par la glycogène phosphorylase : la glycogénolyse

La **glycogène phosphorylase** catalyse la dégradation du glycogène à partir de l'extrémité non réductrice (scission de la liaison α -1,4)



ΔG° de la réaction est près de zéro, mais car la concentration de P_i est 100 fois plus haute que celle du G1P (donc ΔG réel < 0), la réaction vers le G1P est favorisée (et ça explique pourquoi synthèse et dégradation sont des voies différentes).

Devenir du glucose 1-P

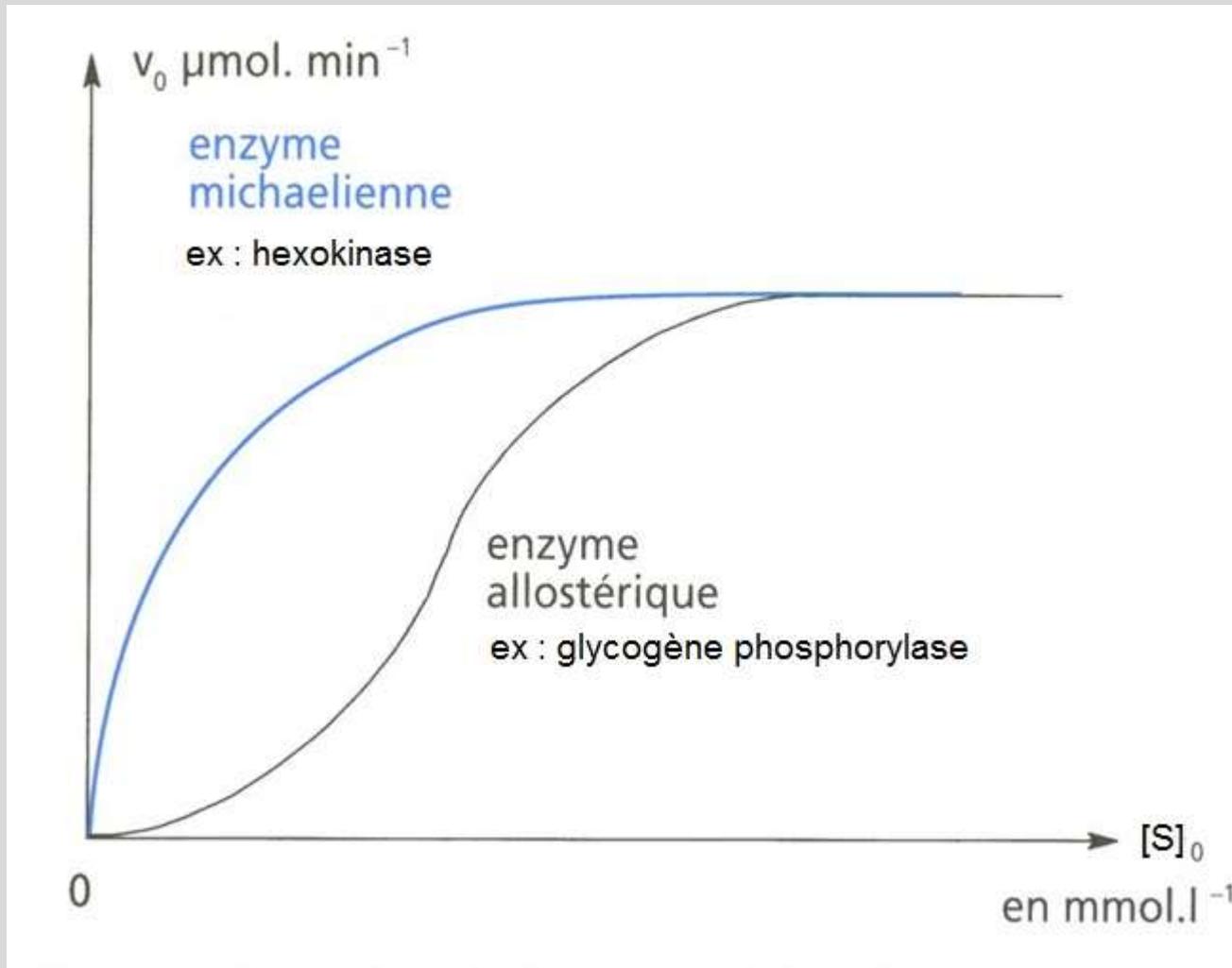
- Le glucose 1 –P ne peut pas diffuser hors de la cellule (il est chargé).
- Il est converti en glucose 6-P grâce à la **phosphoglucomutase**.
- Le glucose 6-P entre dans la glycolyse.

Glucose 1-Phosphate → Glucose 6-Phosphate

Dans la cellule hépatique :

La glucose – 6 – phosphatase catalyse la suppression de la charge portée par le glucose – 6P, qui peut alors sortir de la cellule.

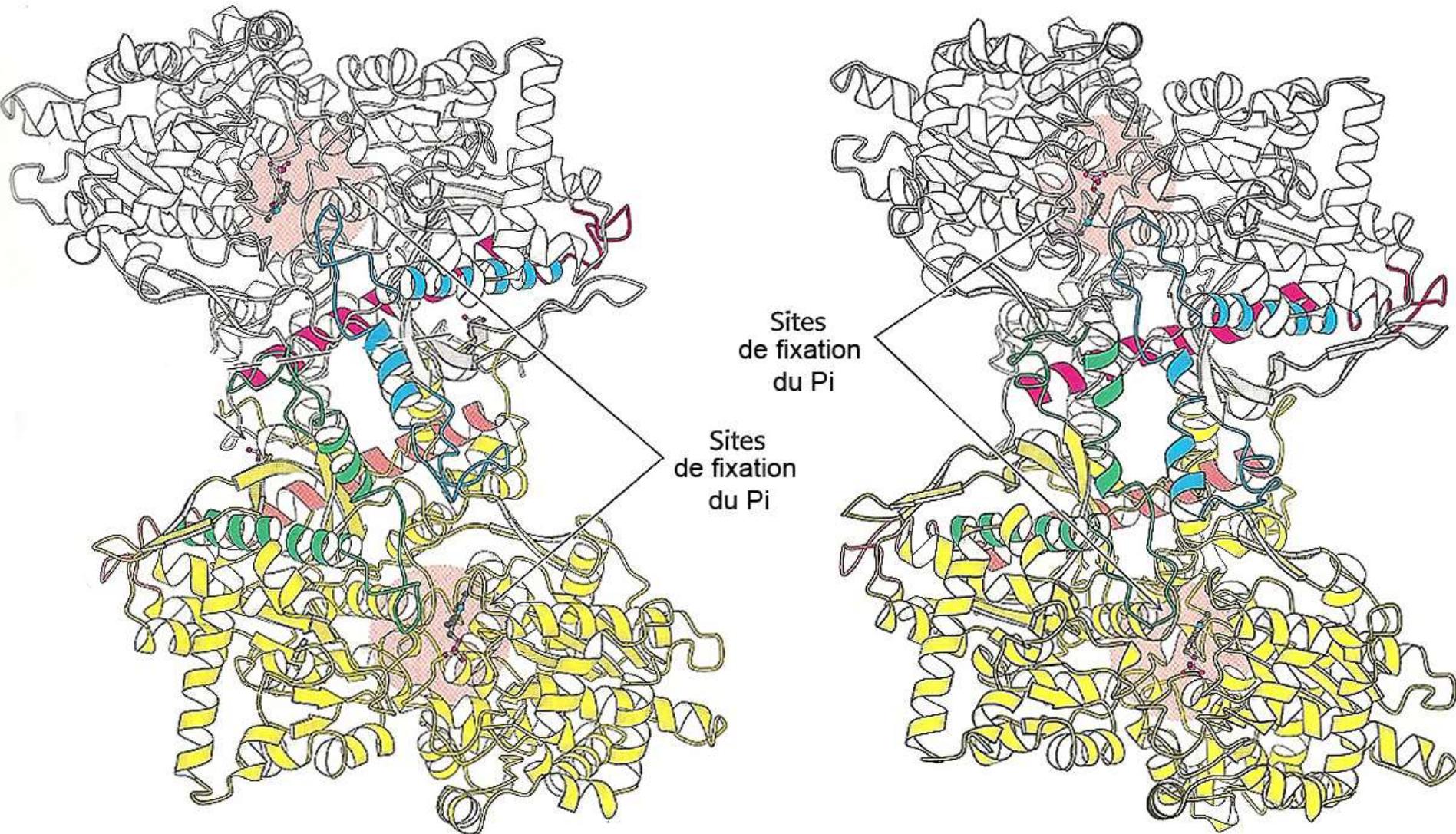
Glucose 6-Phosphate → Glucose + Pi



Document 12. Comparaison des cinétiques d'enzymes michaelienne et allostérique.

La glycogène phosphorylase dans l'état R et dans l'état T

Dans l'état T, le site de fixation du phosphate est partiellement fermé.

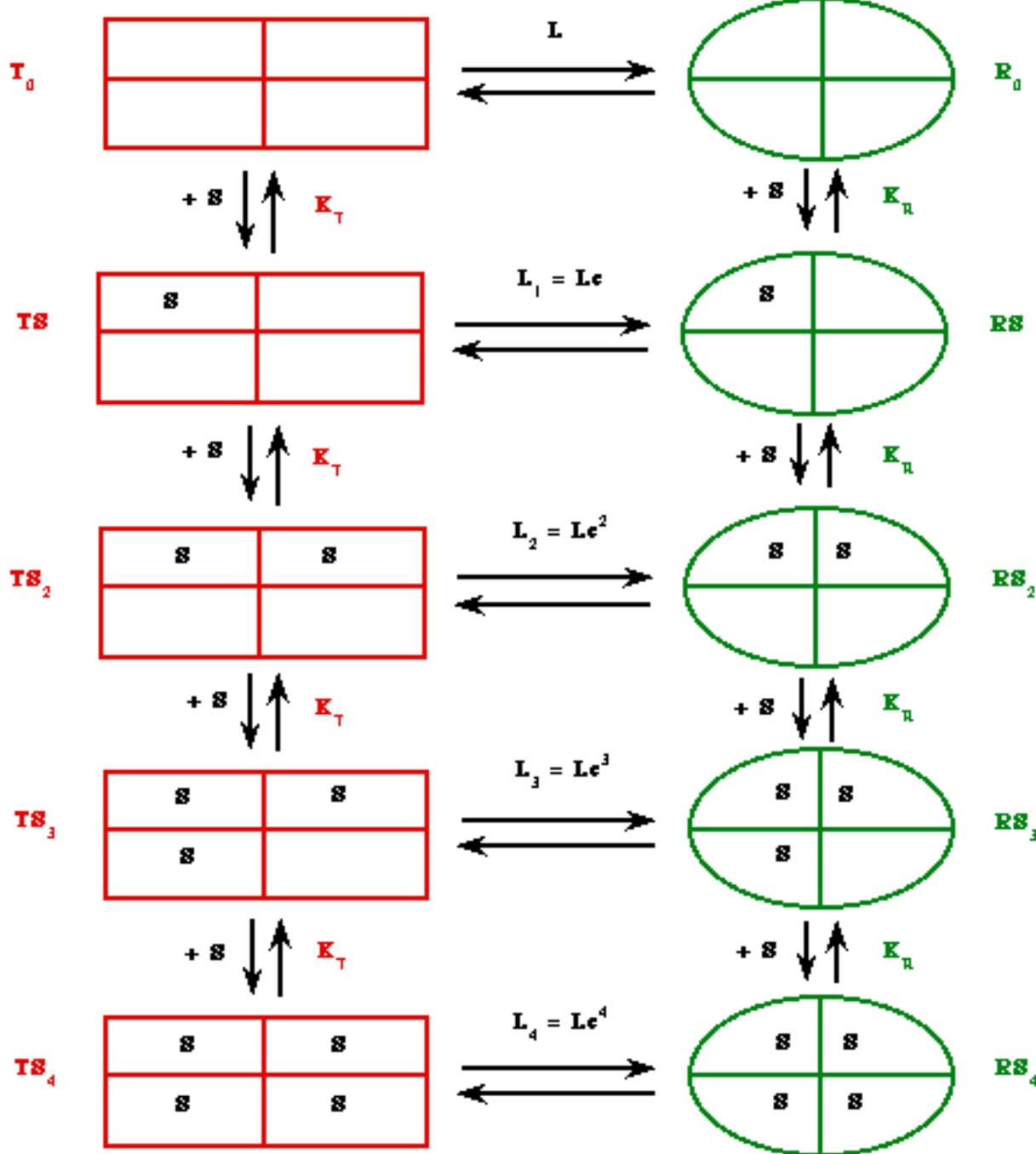


Etat R

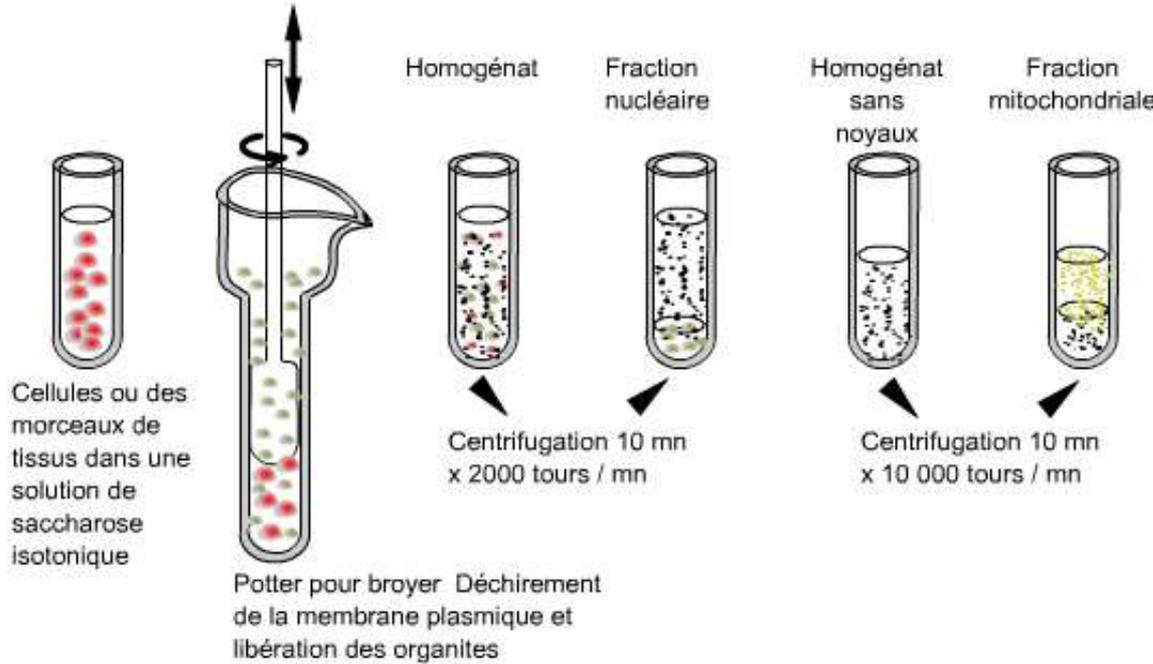
Etat T

Modèle de transition allostérique coopérative de Monod, Wyman et Changeux.

- Les deux conformations T et R sont en équilibre.
- La fixation du substrat favorise entraîne un changement de conformation du protomère qui se transmet aux autres protomères.
- La forme S a une forte affinité pour le substrat.

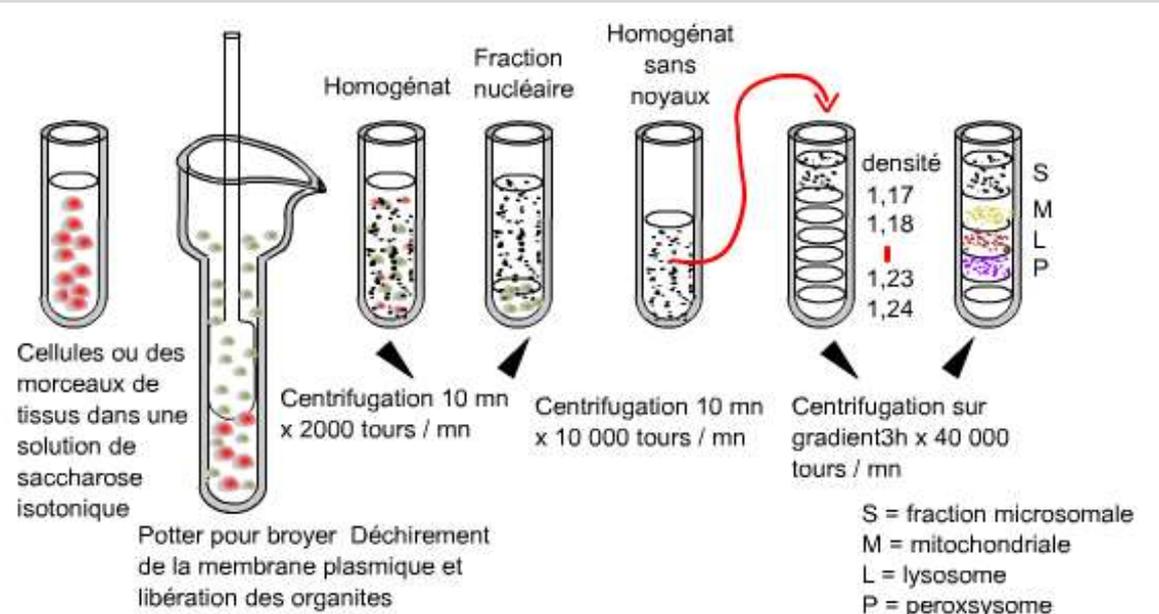


<http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/0IntroRegulMetab/1IntroRegulMetabol.htm>



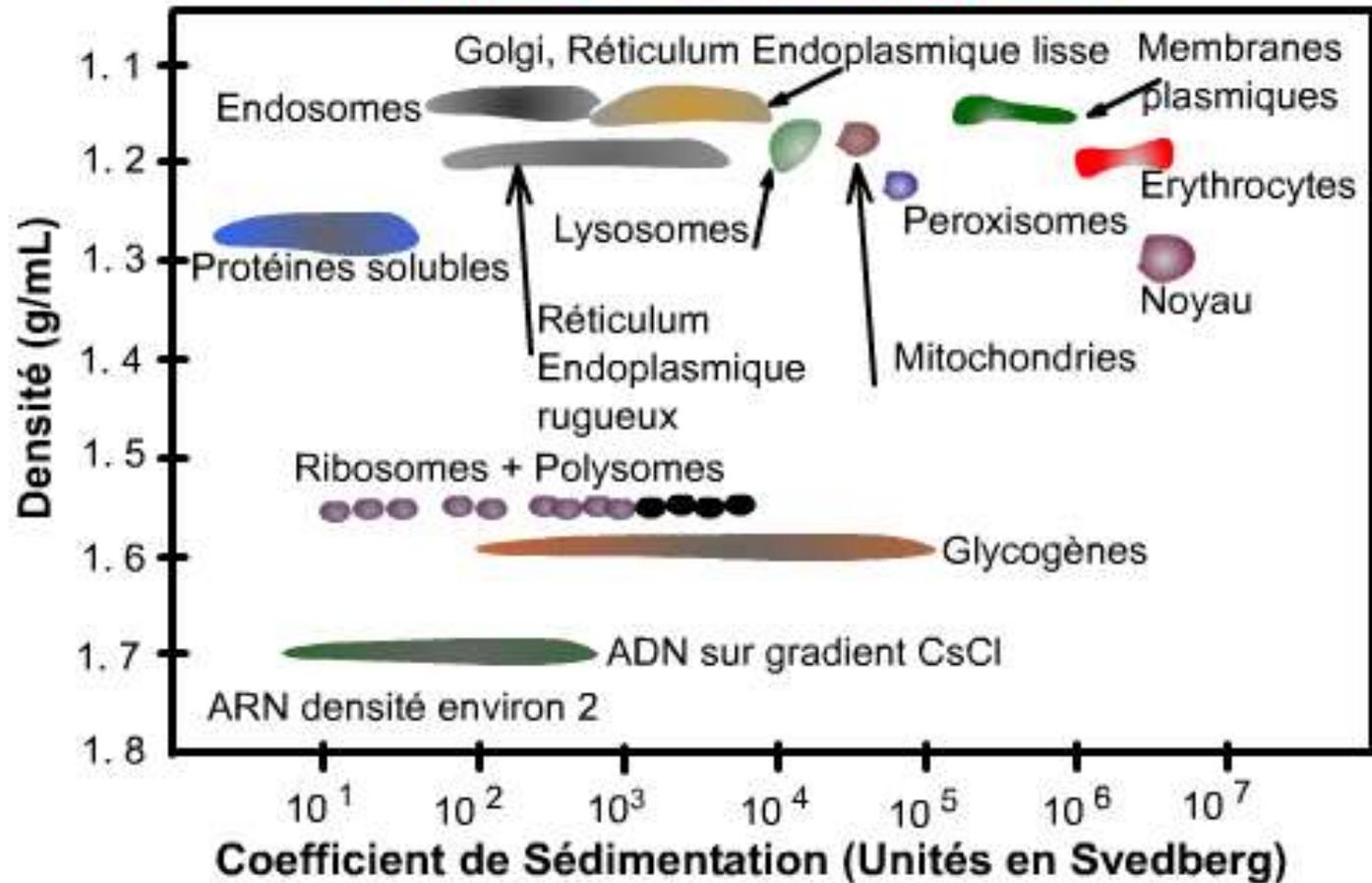
Les techniques d'ultracentrifugation

Séparation des organites par centrifugation différentielle : plusieurs cycles de centrifugation à accélération croissante.

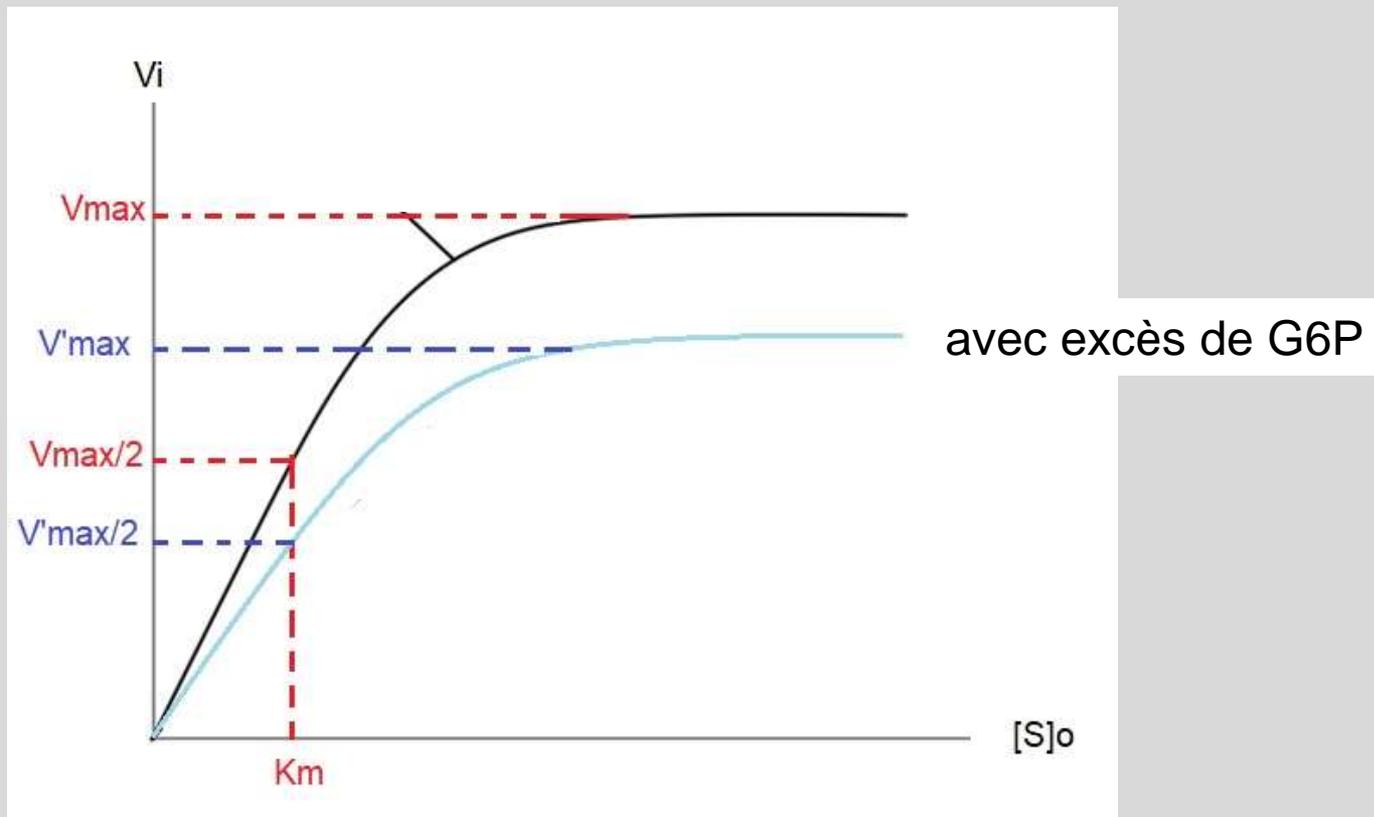
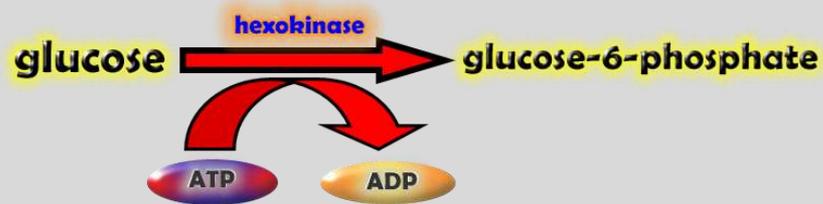


Séparation des organites par centrifugation sur gradient : utilisation d'un solvant dont la densité varie en fonction de la position dans le tube.

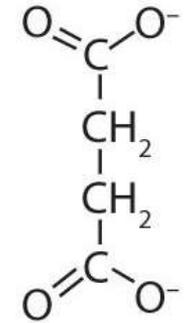
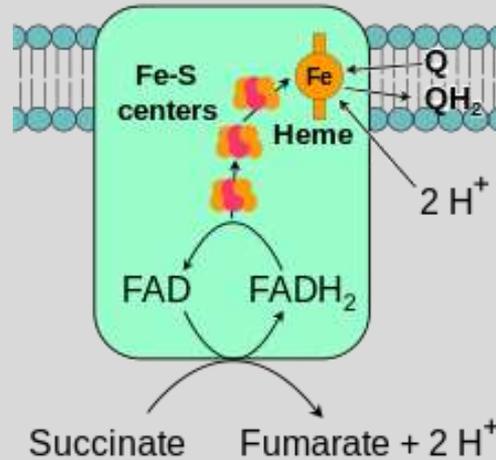
Diagramme de densité des Biomembranes et Biopolymères



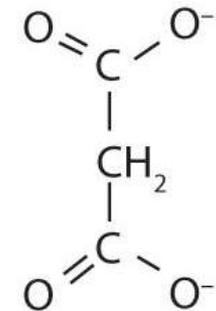
Ex 1: contrôle de l'activité de l'hexokinase



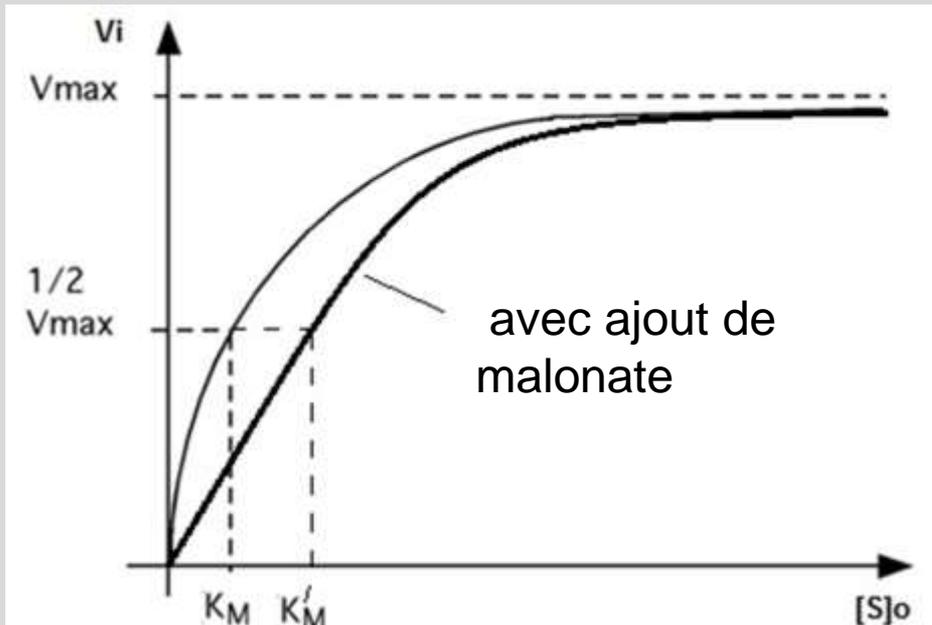
Ex 2 : contrôle de l'activité de la succinate déshydrogénase



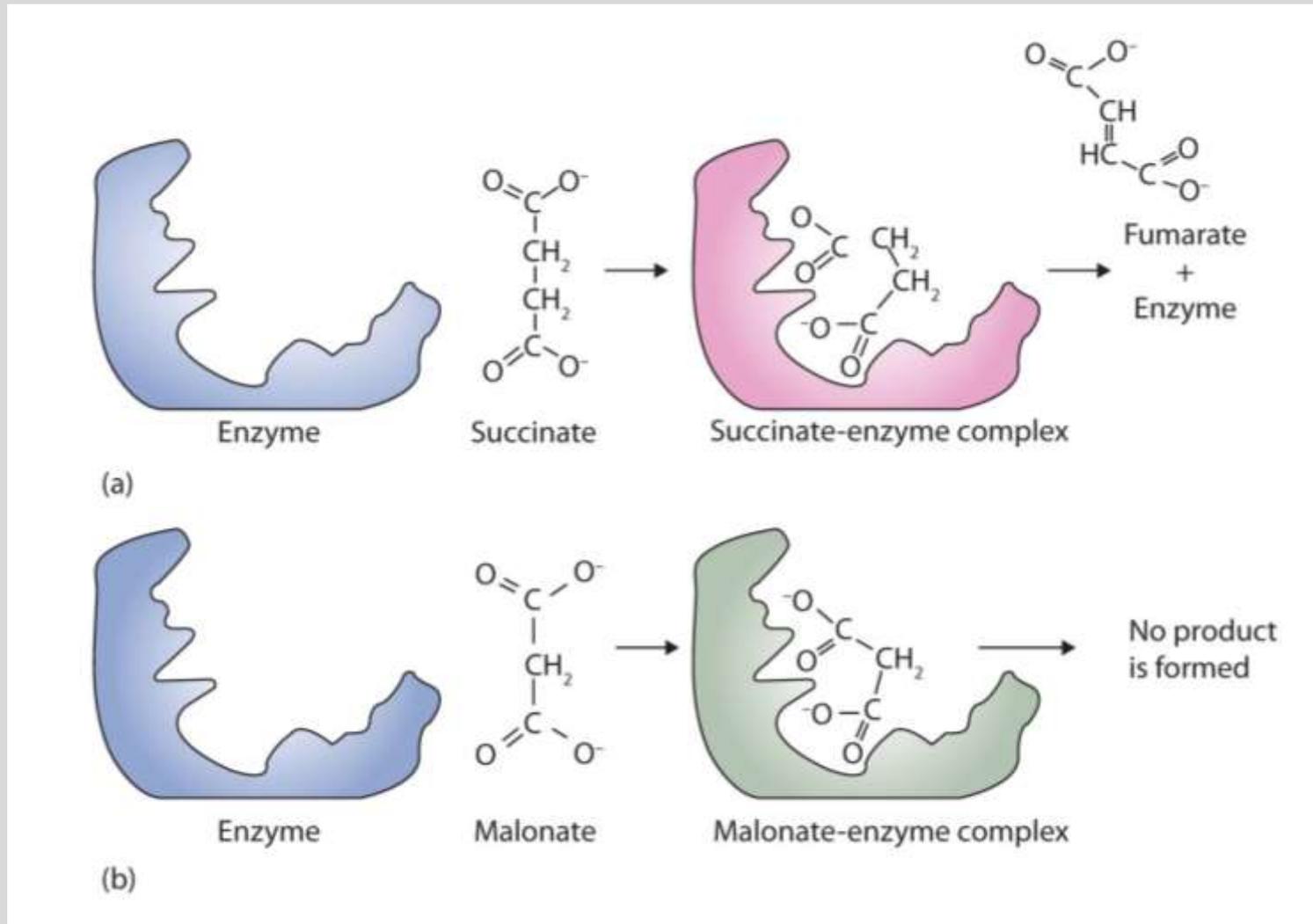
Succinate



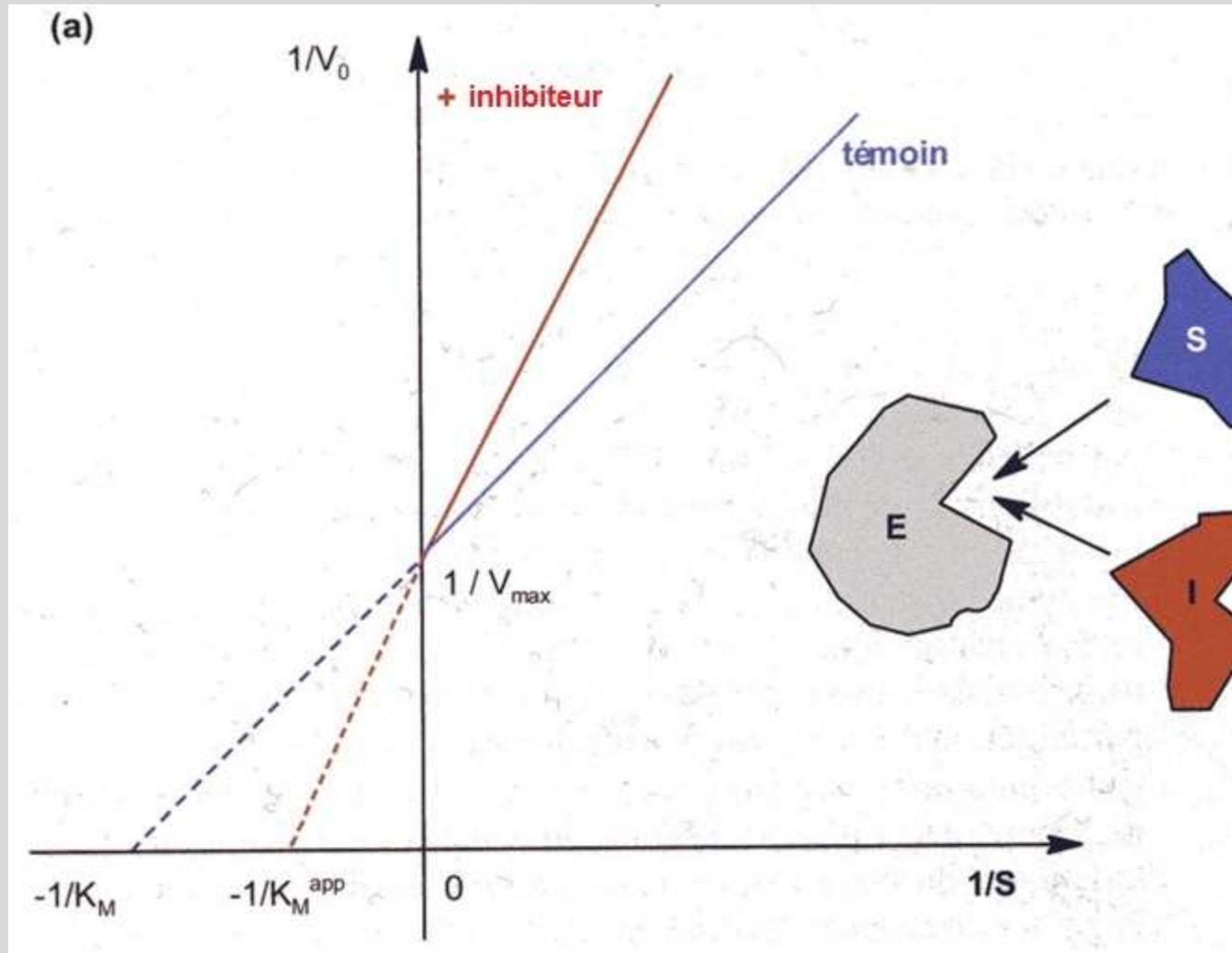
Malonate



Un exemple d'inhibition compétitive : Le malonate et la succinate déshydrogénase



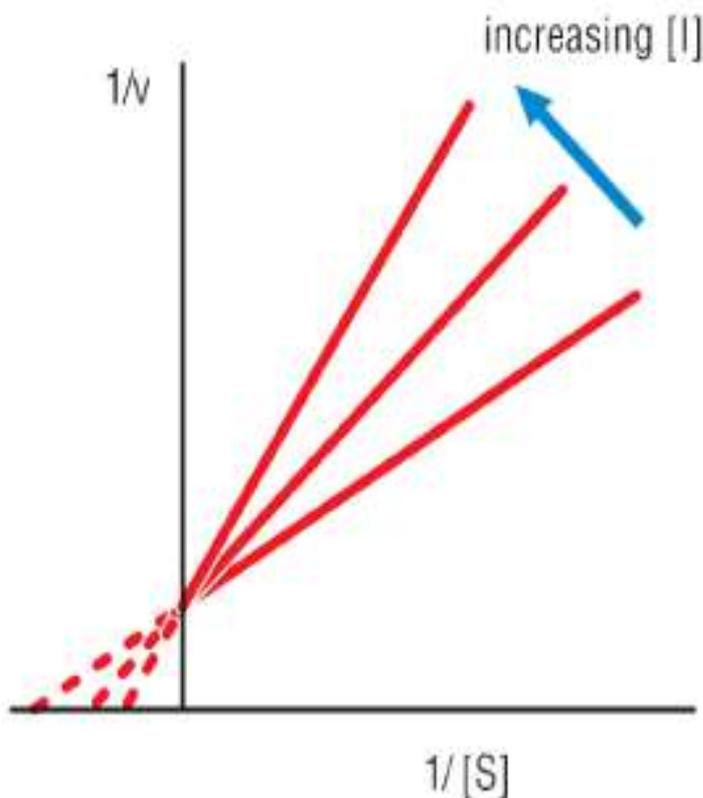
Document 13. Contrôle de l'activité d'une enzyme par inhibition compétitive.



Traduction cinétique de deux inhibitions

Compétitive

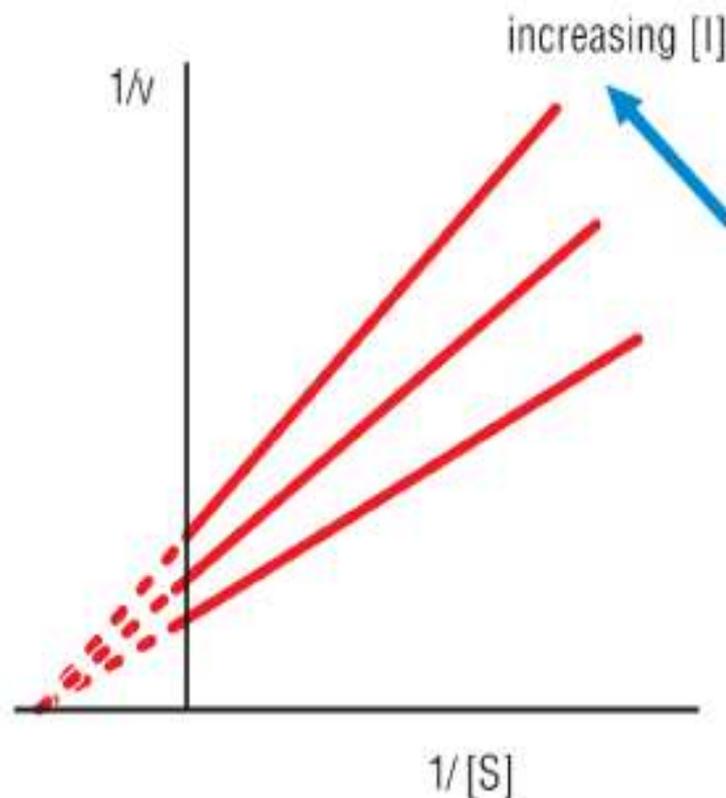
Pas de changement de V_m
Mais K_m augmente



competitive

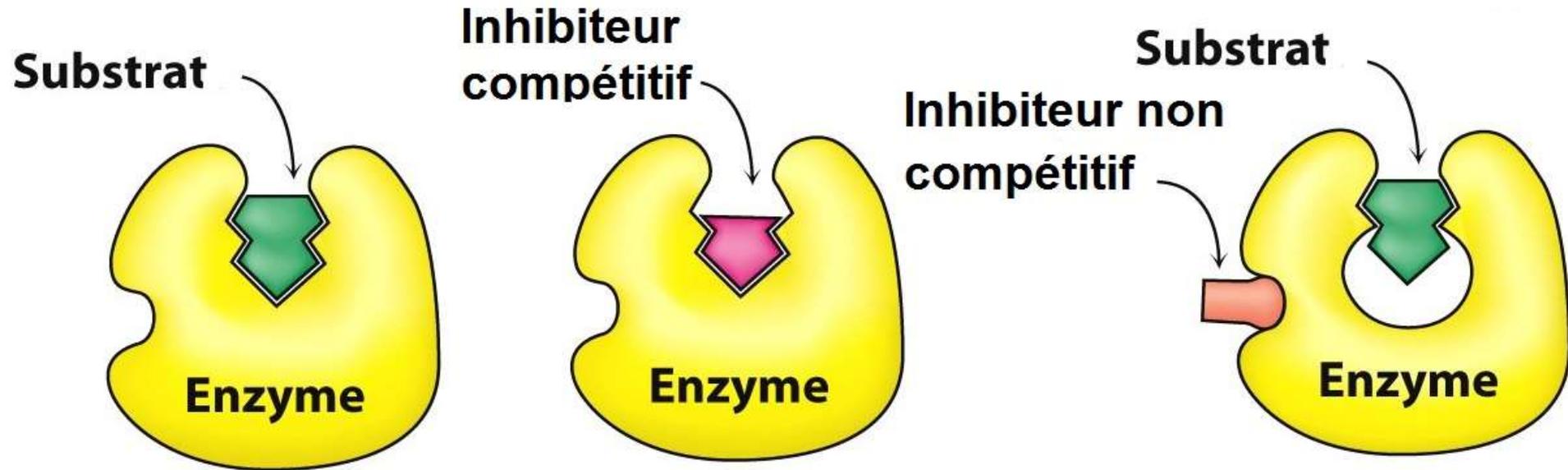
Non compétitive

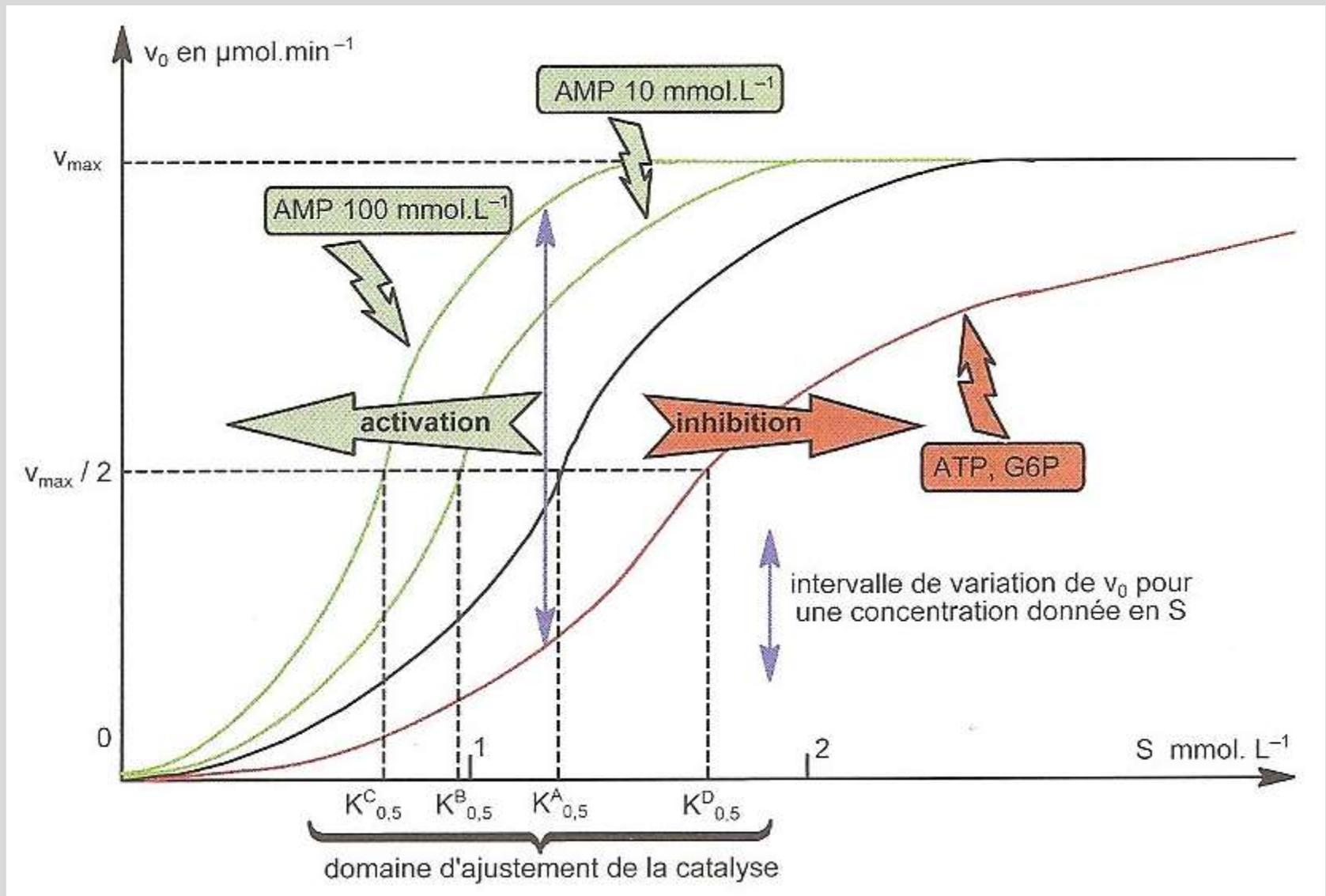
Pas de changement de K_m
Mais V_m diminue



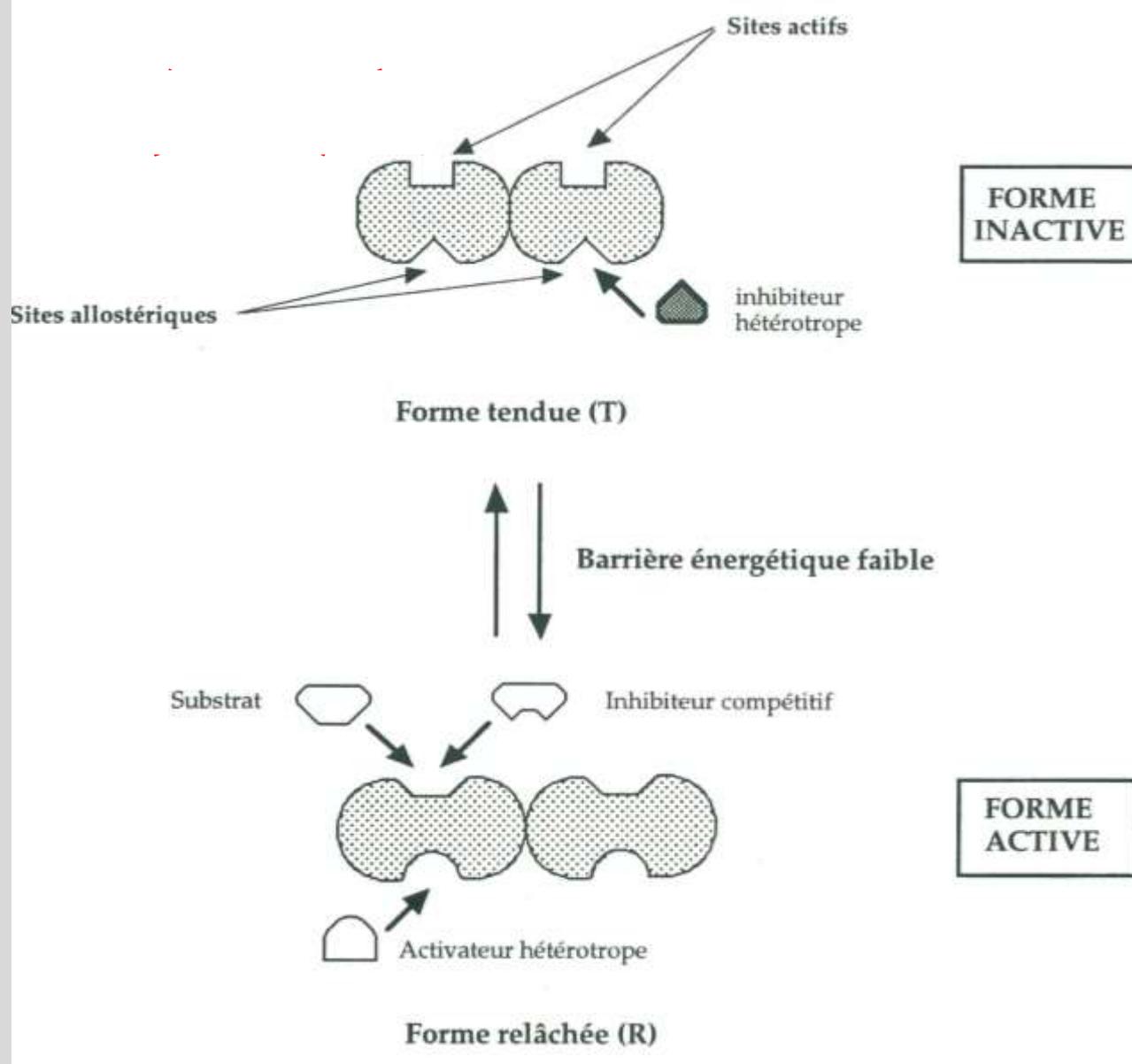
noncompetitive

Document 14. Mode d'action des inhibiteurs compétitif et non compétitif.

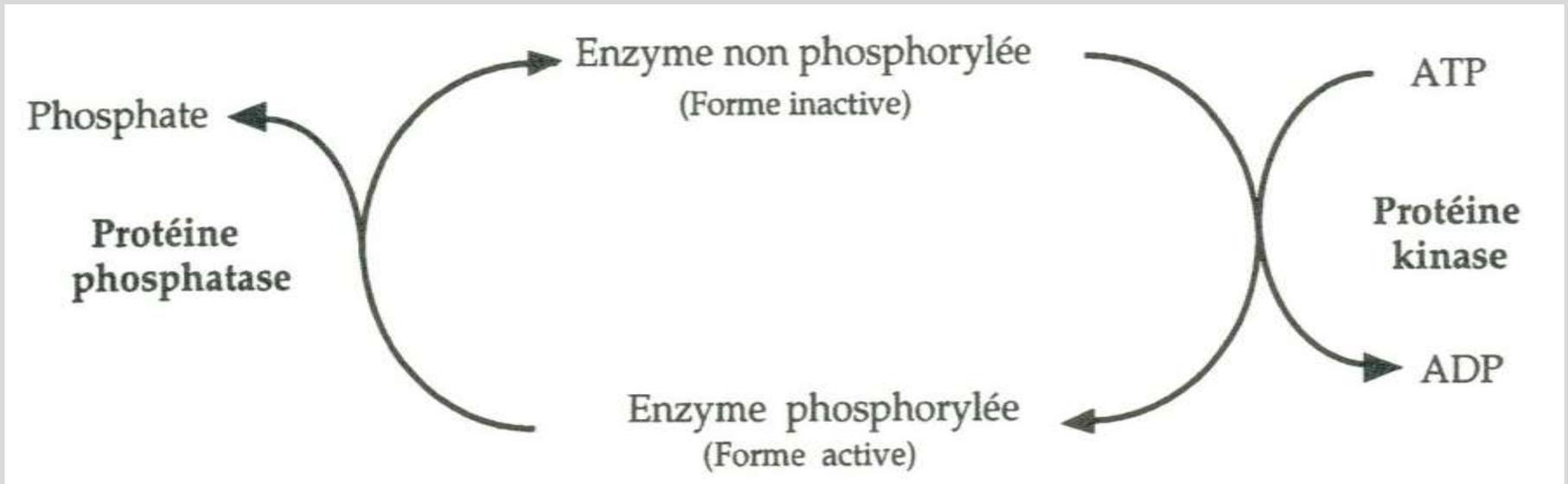




Document 15. Effet de différents effecteurs allostériques sur l'activité de la glycogène phosphorylase.

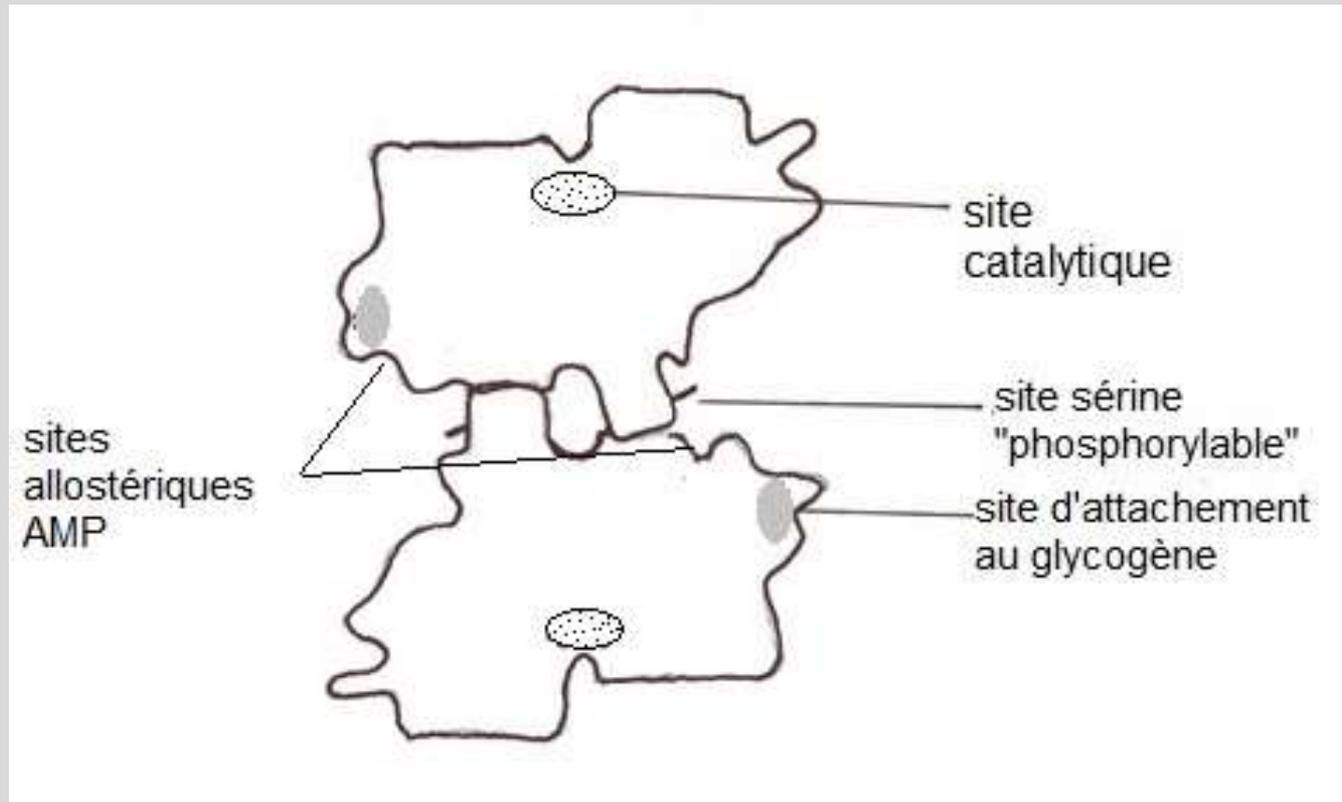


Document 16. Transition allostérique entre forme relâchée et forme tendue sous l'effet de ligands homotropes et hétérotropes. (AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).



Document 17. Principe de régulation des enzymes par phosphorylation et déphosphorylation.

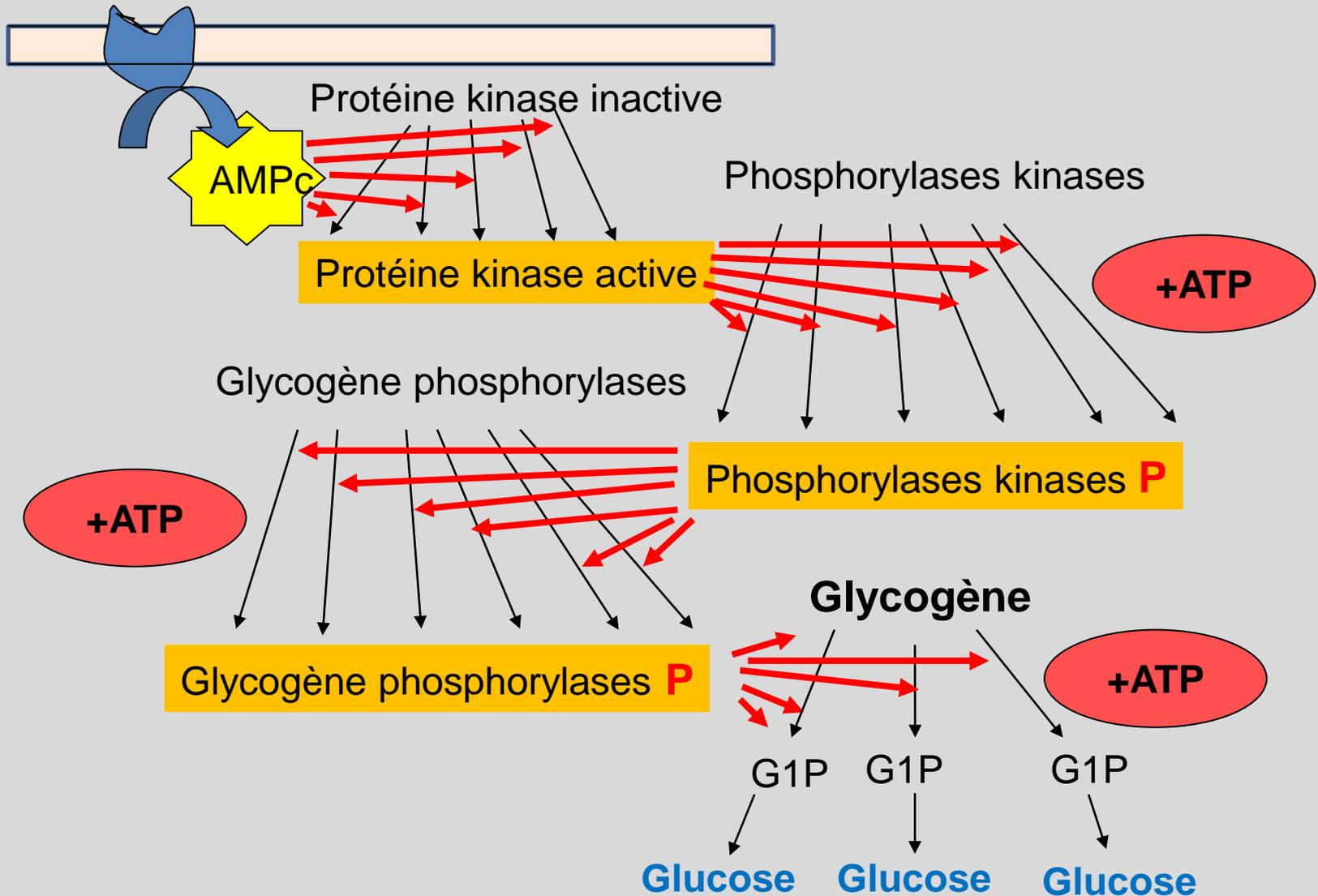
(AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).



Document 18. Représentation simplifiée de la glycogène phosphorylase.

Hormones
(glucagon,
adrénaline)

Document 19. Cascade d'activation de la glycogénolyse par la voie de l'AMPc.



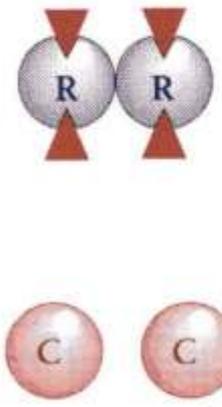
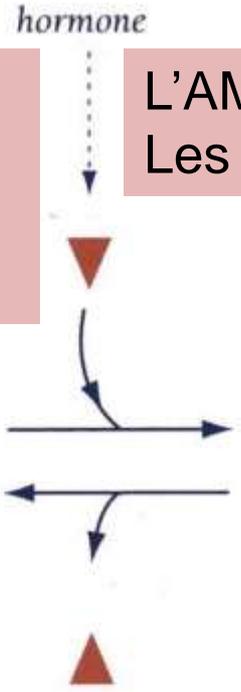
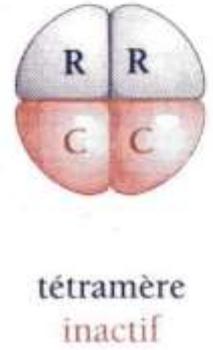
Rappel : l'étape 1 de la « cascade d'activation » de la diapo précédente a été vue dans le chapitre « Molécules du vivant » :

La dissociation de la structure quaternaire, un moyen de contrôle de l'activité cellulaire

Les sous unités R masquent le site opérateur de l'enzyme

L'AMPC « libère »
Les 2 sous unités C

PKA



dimère inactif

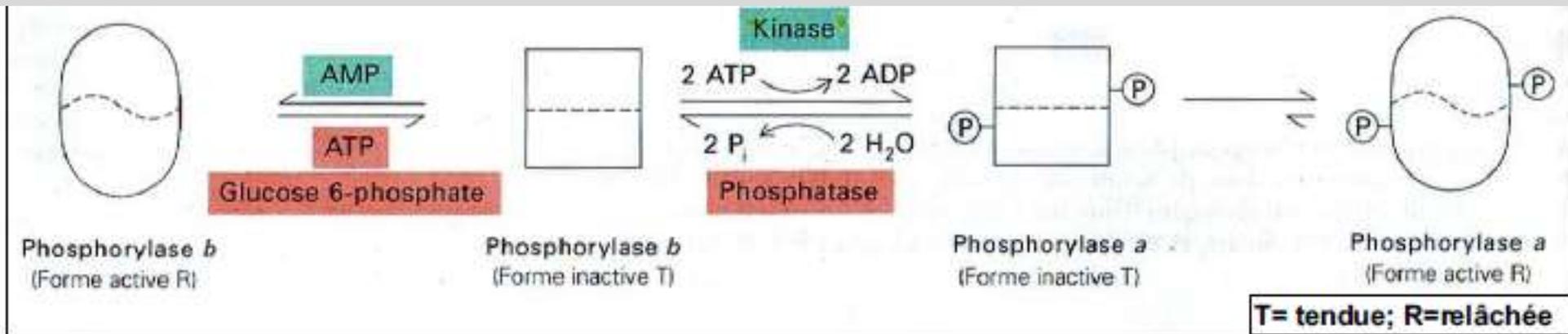
2 monomères actifs



Une fois phosphorylée
L'enzyme est active

R : sous-unité régulatrice
C : sous-unité catalytique
▼ : AMP cyclique

Effets multiples



Deux états:

R = forme active

T = forme inactive

Deux niveaux de phosphorylation:

Phosphorylé (a) = équilibre vers forme R

Non Phosphorylé (b) = équilibre contrôlé par des effecteurs

Effecteurs allostériques pour la phosphorylase b:

AMP (signal de besoin d'énergie) \rightarrow phosphorylase *b* active \rightarrow production de glucose

ATP; G6P (pas besoin d'énergie) \rightarrow phosphorylase *b* inactive \rightarrow pas production de glucose

Document 20. Régulation de l'activité de la glycogène phosphorylase.