

Partie 6

Biochimie Dynamique

Chapitre 1. LES ENZYMES ET LA BIOCATALYSE

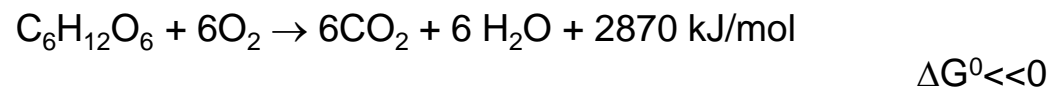
NOTIONS GENERALES SUR LES ENZYMES

Les ENZYMES sont des BIOCATALYSEURS de
NATURE PROTEIQUE
Doués d'une ACTIVITE TRES SPECIFIQUE.

Rôle général :

elles facilitent le déroulement de réactions chimiques ;
elles interviennent ainsi dans presque toutes les réactions du métabolisme des êtres vivants

Ex: oxydation du glucose :



➤ **Potentialité thermodynamique** mais ne s'effectue pas dans les conditions normales

Le **METABOLISME**, ensemble des transformations subies par les composés biochimiques naturels de la cellule se réalise dans deux directions :
l'anabolisme et le catabolisme.

L'ANABOLISME, métabolisme de biosynthèse, est un ensemble de réactions endergoniques

($\Delta G > 0$) dont le déroulement exige une consommation d'ATP :



- synthèse des macromolécules informationnelles (protéines, acides nucléiques) ;
- mise en réserve : biosynthèse de lipides et de polysaccharides.
- activation de certains composés.

Le CATABOLISME, métabolisme de dégradation, rassemble les processus exergoniques

($\Delta G < 0$) produisant de l'énergie et permettant la synthèse d'ATP :

- oxydation des glucides (fermentation, respiration), des A.A. , des acides gras.
- cycle de KREBS et chaîne respiratoire.

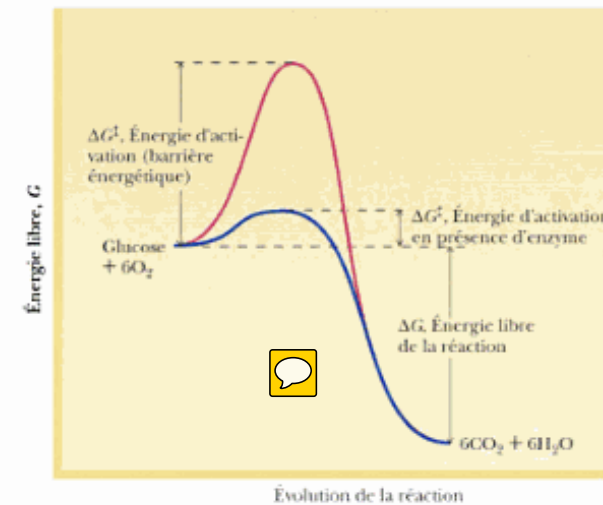
Les lois thermodynamiques sont applicables aux systèmes biologiques

Bioénergétique = étude des différents types de transformation de l'énergie se produisant dans les organismes vivants

Les enzymes confèrent aux cellules la capacité de contrôler la cinétique des potentialités thermodynamiques

Les enzymes organisent les voies métaboliques :

- de la dégradation des nutriments : LE CATABOLISME
- de la synthèse des autres molécules : ANABOLISME

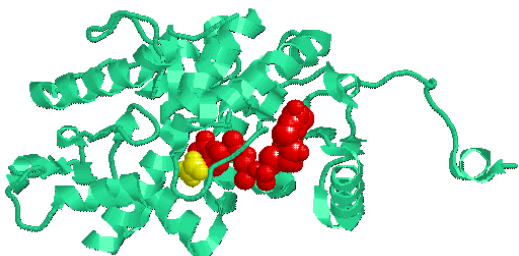
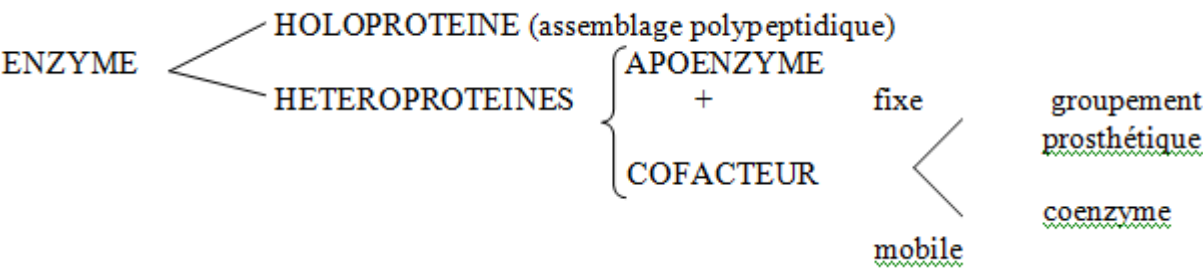


LES CARACTERISTIQUES ESSENTIELLES DES ENZYMES.

Traditionnellement : nom des substrats + suffixe « -ase ».

Certaines enzymes ont conservé leur ancien nom, nom d'usage ex : pepsine, trypsine : enzyme du tube digestif

De nombreuses protéines requièrent la présence d'autres composantes non protéiques = hétéroprotéines



3 propriétés :

- Le pouvoir catalytique
- La spécificité
- La régulation

➤Pouvoir catalytique

Accélèrent la vitesse des réactions jusqu'à 10¹⁶ fois la vitesse des réactions non catalysées

Enzyme	t _{1/2} ¹ non enzymatique	Nombre de cycle ²	Augmentation de la vitesse ³
Décarboxylase OMP	78.000.000 ans	39	1,4 × 10 ¹⁷
Nucléase de staphylocoque	130.000 ans	95	5,6 × 10 ¹⁴
Adénosine désaminase	120 ans	370	2,1 × 10 ¹²
AMP dénucléosidase	69.000 ans	60	6,0 × 10 ¹²
Cytidine désaminase	69 ans	299	1,2 × 10 ¹²
Phosphodiesterase	2,9 ans	2.100	2,8 × 10 ¹¹
Carboxypeptidase A	7,3 ans	578	1,9 × 10 ¹¹
Kétostéroïde isomérase	7 semaines	66.000	3,9 × 10 ¹¹
Triosephosphate isomérase	1,9 jour	4.300	1,0 × 10 ⁹
Chorismate mutase	7,4 heures	50	1,9 × 10 ⁶
Anhydrase carbonique	5 sec	1 × 10 ⁶	7,7 × 10 ⁶
Cyclophiline humaine	23 sec	13.000	4,6 × 10 ⁵

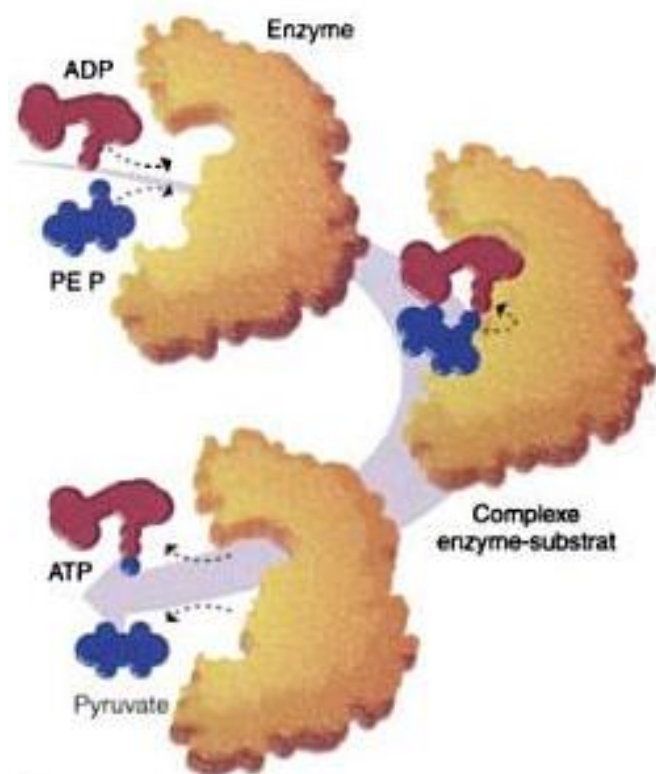
➤ Spécificité

Double spécificité : - spécificité de reconnaissance des molécules avec lesquelles il est en interaction ; les SUBSTRATS.

le site spécifique sur lequel se lie le substrat est le SITE ACTIF

le modèle de FISCHER (« lock and key » : serrure et clé)

- spécificité de type de réaction qu'il catalyse



-la forme et les propriétés chimiques du site actif assurent sa liaison avec les substrats

- Quand la réaction est effectuée, l'enzyme libère les produits et reste disponible pour la liaison avec d'autres substrats présentant des caractéristiques chimiques et des formes tridimensionnelles adéquates

➤ Régulation

Capacité de réagir aux besoins métaboliques momentanés de la cellule et d'ajuster leur activité catalytique en fonction de ces besoins.

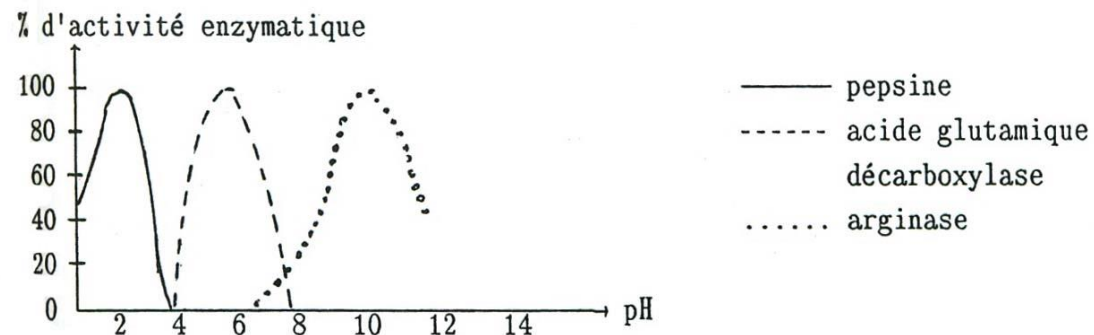
Facteurs influençant l'activité enzymatiques

L'action catalytique des enzymes est étroitement liée à la stéréochimie (aux structures tertiaires et quaternaire, principalement), de ces protéines globulaires. Dès lors, des facteurs comme le pH et la température du milieu, qui exercent une influence marquée sur la structure, conditionnent l'activité catalytique.

➤ Influence du pH

Un enzyme possède un grand nombre de chaînes latérales ionisables qui détermine sa structure tertiaire, certaines peuvent être impliqués dans le site actif.

⇒ activité enzyme dans une zone de pH limitée



➤ Influence de la température

Comme pour la plupart des réactions chimiques, la vitesse augmente avec T. MAIS DENATURATION THERMIQUE de la structure de la protéine.

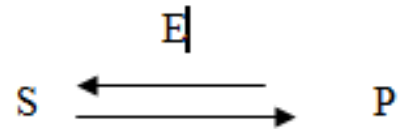
LA CINETIQUE ENZYMATIQUE

Déterminer la vitesse maximale de la réaction que l'enzyme catalyse et mesurer son affinité pour les substrats.

⇒ informations utilisées en pharmacologie, la création d'un nouveau médicament

Introduction : rappels

Considérons une réaction enzymatique générale du type :



Sa vitesse v s'écrit :

$$v = +\frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[S]}{dt} \quad (1)$$

elle s'exprime en $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$ ou en d'autres unités spécifiques à l'enzymologie.

La cinétique enzymatique a pour objet :

-d'établir la relation entre la vitesse et les concentrations en substrat (S) et en enzyme (E) ;

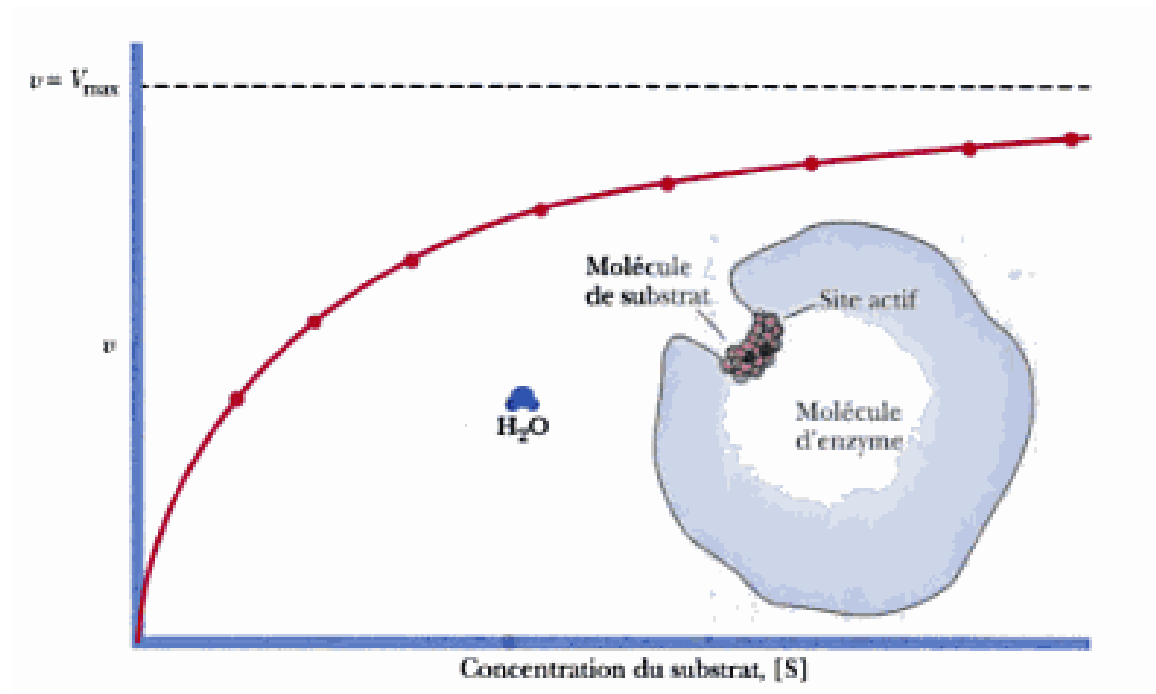
-d'étudier l'influence de certains facteurs sur l'activité enzymatique : pH, température,

présence d'effecteurs - activateurs ($v \uparrow$)

- inhibiteurs ($v \downarrow$)

ASPECTS EXPERIMENTAUX

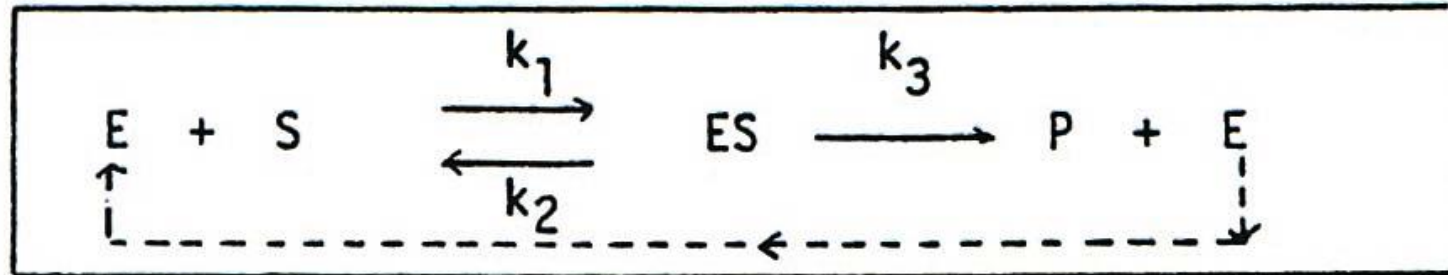
variation de la vitesse d'une réaction en fonction de la concentration d'un réactif



- V augmente linéairement : ordre 1
- V tend vers une valeur maximale : effet de saturation : ordre 0

Mode d'action d'un enzyme : modèle d'équation de Michaelis et Menten compatible avec les résultats expérimentaux.

Idée fondamentale de leur modèle : l'enzyme E et son substrat S, s'associent pour former un **complexe enzyme-substrat réversible ES**



Le produit se forme dans une étape ultérieure, quand ES se décompose.

On admet, pour l'intermédiaire ES, l'hypothèse de **l'état stationnaire** :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0$$

$$\begin{aligned} \text{v de formation de ES} &= \text{v de décomposition de ES} \\ k_1 \cdot [E] \cdot [S] &= k_2 \cdot [ES] + k_3 \cdot [ES] \end{aligned}$$

d'où

$$[E] \cdot [S] = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \cdot [ES] = \underbrace{\left(\frac{k_2 + k_3}{k_1} \right)}_{k_M} \cdot [ES]$$

Constante de Michaelis

Comme $[E]_T = [E] + [ES]$

$$\frac{([E]_T - [ES])[S]}{[ES]} = k_m$$

$$[ES] = \frac{[E]_T [S]}{K_M + [S]}$$

Le paramètre le plus important de la cinétique étant la vitesse de formation du produit

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_3 \cdot [ES] = \frac{k_3 \cdot [E]_T \cdot [S]}{k_M + [S]}$$

comme $[E]_T$ est la valeur maximale que peut atteindre $[ES]$

$$v_{\max} = k_3 \cdot [E]_T$$

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{k_m + [S]}$$

Équation de Michaelis-Menten

La vitesse d'une réaction catalysée par un enzyme est à tout moment déterminée par 2 constantes, v_{\max} et k_M ainsi que par la concentration en substrat à ce moment

Quand $[S] = k_M \Rightarrow v = \frac{v_{\max}}{2}$
 $[S] \uparrow v$ tend vers la valeur de v_{\max}

Hyperbole

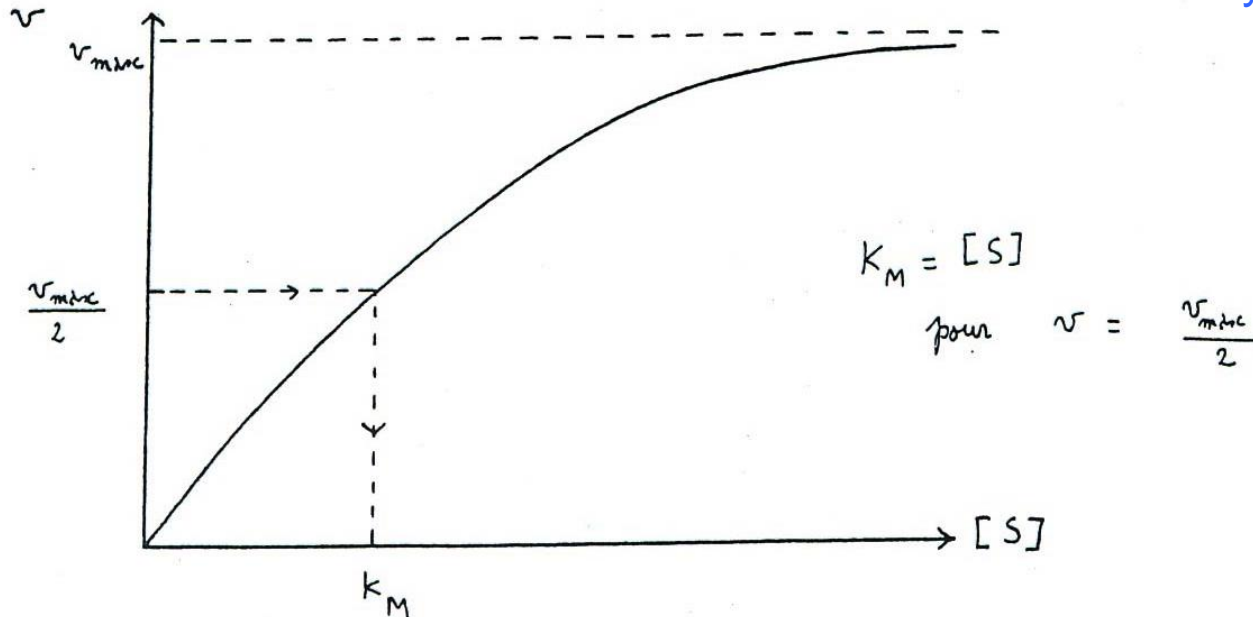


Fig. 1.7. : Représentation graphique de $v = f([S])$ dans le cas d'une cinétique michaelienne à un substrat

on parvient à déterminer v_{\max} par extrapolation et graphiquement, on peut déterminer k_M

- Quand $[S] \gg K_M \Rightarrow v = v_{\max}$, cinétique d'ordre 0
- Quand $[S] \ll K_M \Rightarrow v = (v_{\max}/k_M)[S]$, cinétique d'ordre 1

NB: T, pH, force ionique ont une influence sur la vitesse.

Représentation de LINEWEAVER-BURK (ou doubles inverses)

Représentation linéaire dérivée de l'équation de Michaelis- Menten (évite l'extrapolation)

Prendre l'inverse des deux côtés de l'équation de M-M :

$$\frac{1}{v} = \frac{[S] + k_M}{v_{max} \cdot [S]} = \frac{k_M}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

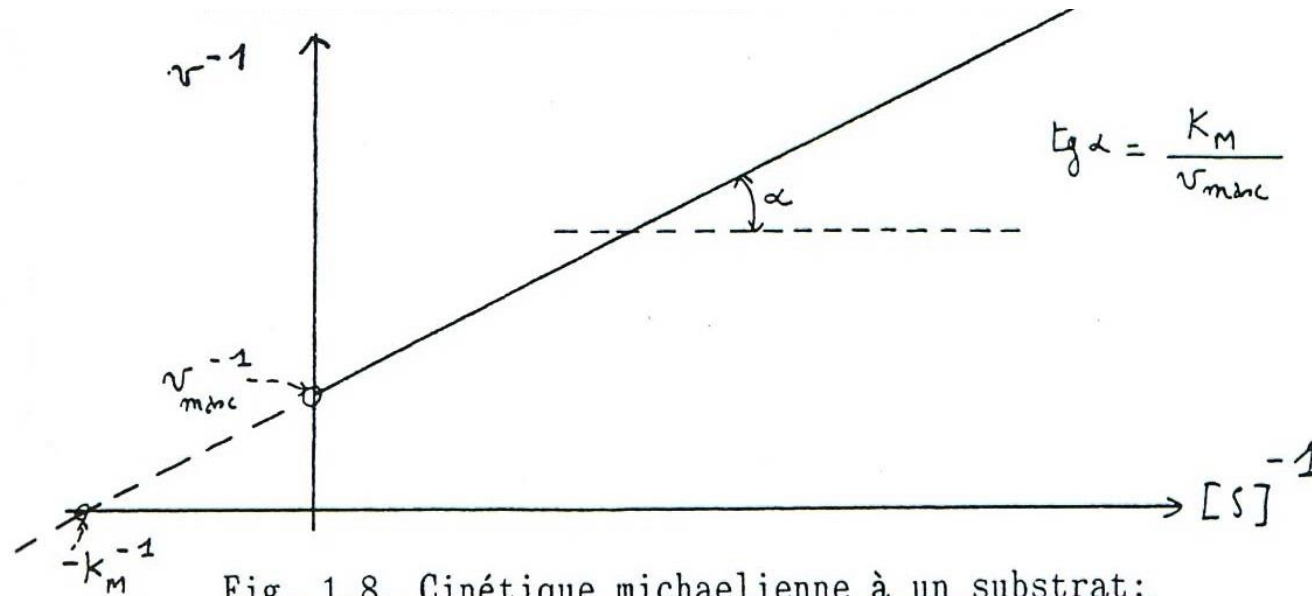


Fig. 1.8. Cinétique michaelienne à un substrat;
construction de LINEWEAVER-BURK

Avantage: permet d'obtenir avec une bonne précision les valeurs de k_m et v_{max} par extrapolation de lignes droites.

INHIBITION DE L'ACTION ENZYMATIQUE

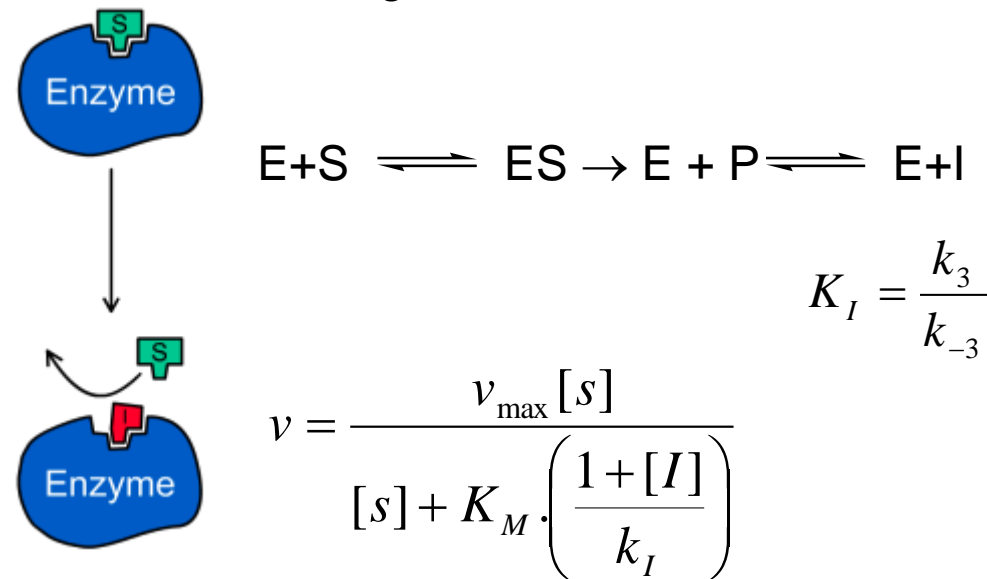
Si $v \downarrow$ dans des conditions où l'enzyme n'est pas dénaturée \Rightarrow enzyme est **INHIBEE**

2 catégories d'inhibiteurs (I) :

- Inhibiteurs compétitifs
- Inhibiteurs non compétitifs

Inhibition compétitive:

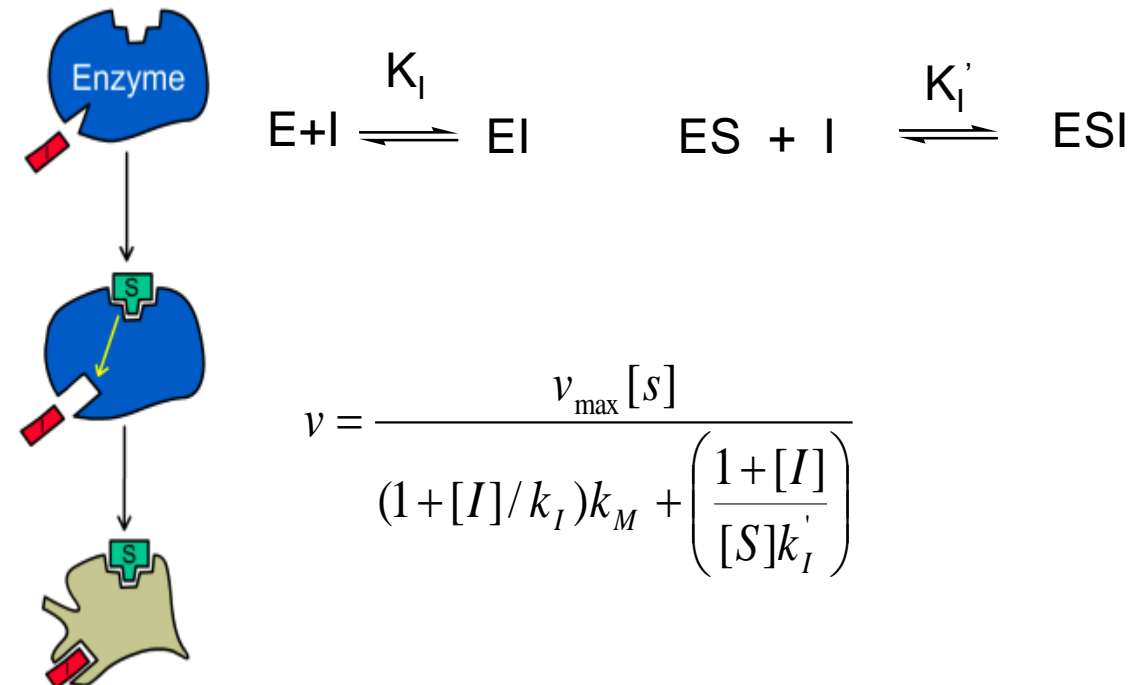
haut degré d'analogie structurale



- La valeur de K_M est accrue d'un facteur, $v \downarrow$ en présence de I
- Quand $I=0$, on retrouve l'équation de vitesse

Inhibition non compétitive:

I interagissent à la fois avec E et avec ES



INHIBITION DE L'ACTION ENZYMATIQUE

Si $v \downarrow$ dans des conditions où l'enzyme n'est pas dénaturée \Rightarrow enzyme est **INHIBÉE**

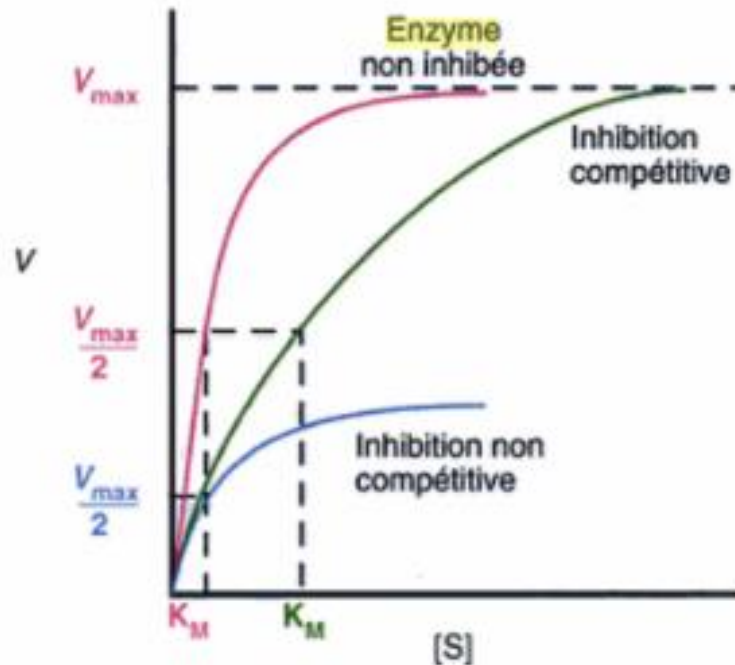
2 catégories d'inhibiteurs (I) :

➤ **Inhibiteurs compétitifs** : S et I sont en compétition pour le même site actif

Donc si $[S] \gg$, annulation des effets de I.

➤ **Inhibiteurs non compétitifs** : S et I se lient sur des sites différents

Donc si $[S] \gg$, **pas** annulation des effets de I.



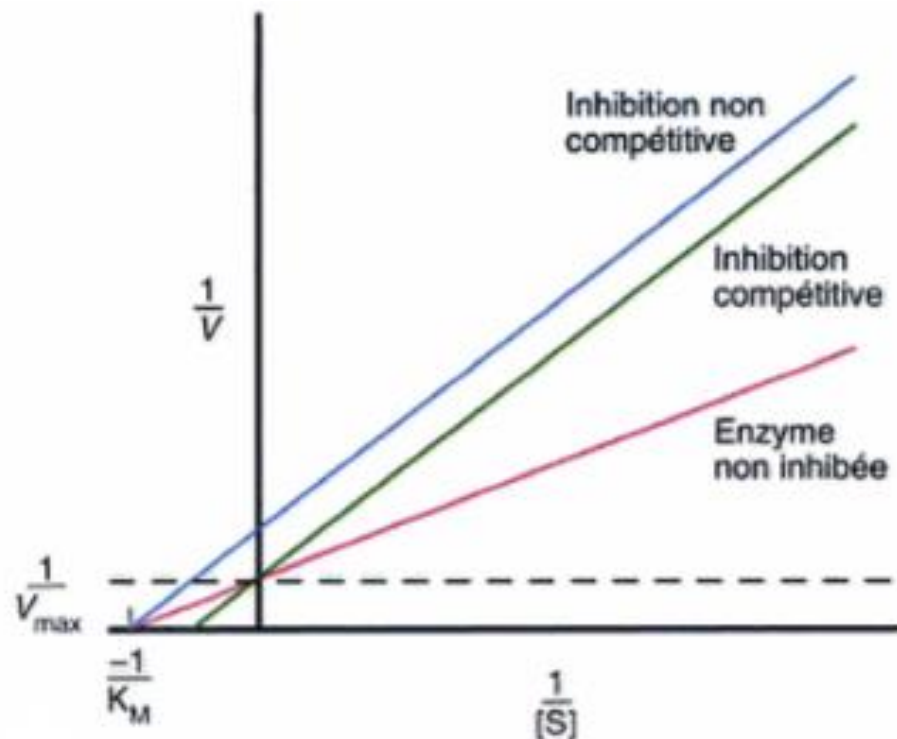
Les inhibiteurs enzymatiques peuvent agir comme des poisons métaboliques.

- certains pesticides (DDT) sont des inhibiteurs enzymatiques du système nerveux chez bon nombre d'insectes

Un grand nombre d'antibiotiques sont des inhibiteurs spécifiques chez les bactéries

- ex : pénicilline bloque le site actif d'un enzyme que beaucoup de bactéries utilisent pour fabriquer leur paroi cellulaire

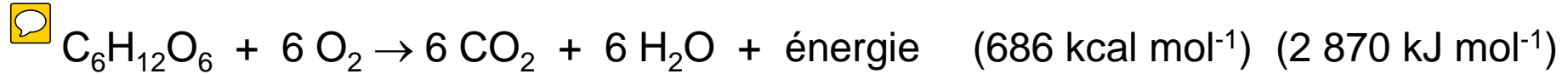
Distinction des 2 catégories par l'aspect des courbes de cinétique au moyen de l'analyse linéaire de Lineweaver-Burk



- I compétitive :
- pour un $[I]$ donnée, $v \downarrow$ donc $1/v \uparrow$
 - $[S] \rightarrow \infty$, $v = v_{max}$, **v_{max} n'est pas modifiée** car $[E]_T$ est sous forme ES
- I non compétitive:
- K_M n'est pas modifié par la présence de I
 - **$v_{max} \downarrow$** (même effet que si $[E]$ était plus petit)

Chapitre 2. BIOENERGETIQUE

LE CATABOLISME DES GLUCIDES.

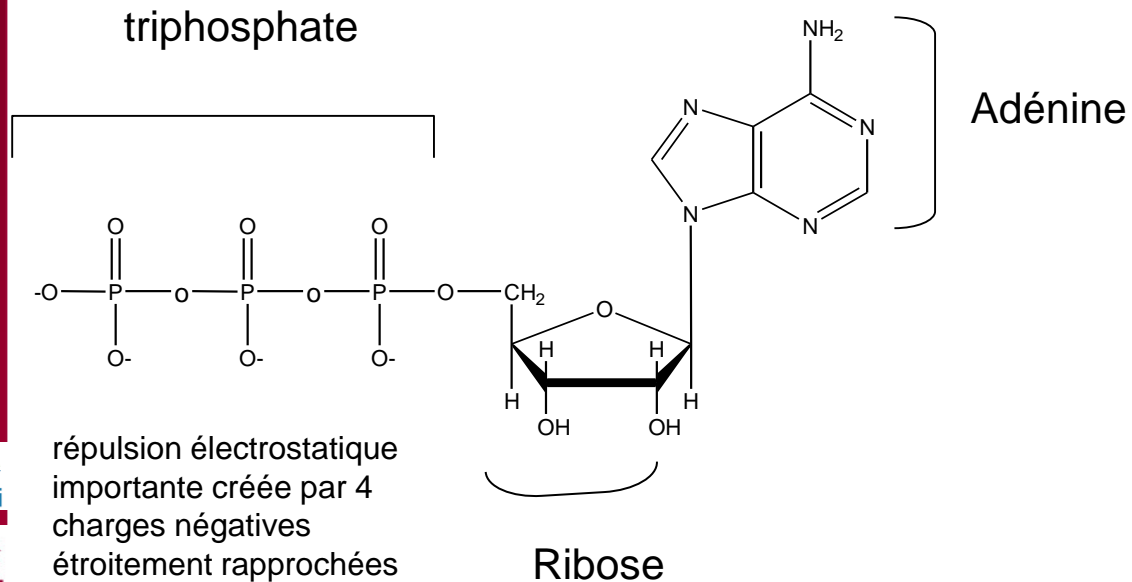


Comment les sucres simples libérés par la digestion sont convertis en carburant cellulaire ?

Difficile d'exploiter de l'énergie de façon efficace quand elle se libère en bloc. Le catabolisme s'effectue donc en de **multiples étapes catalysées** dont le stockage temporaire et le transfert d'énergie se font par l'intermédiaire de transporteurs d'énergie : L'**ATP** et le **NAD⁺**

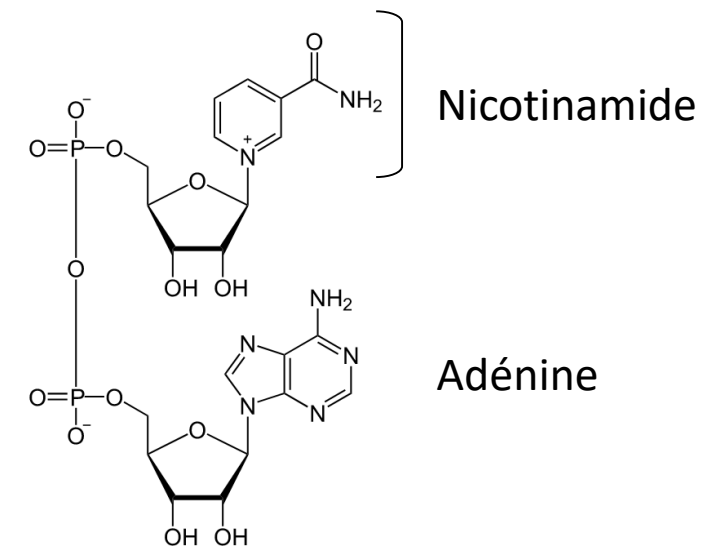
ADENOSINE TRIPHOSPHATE (ATP)

L'ATP constitue la principale « banque » énergétique des systèmes vivants



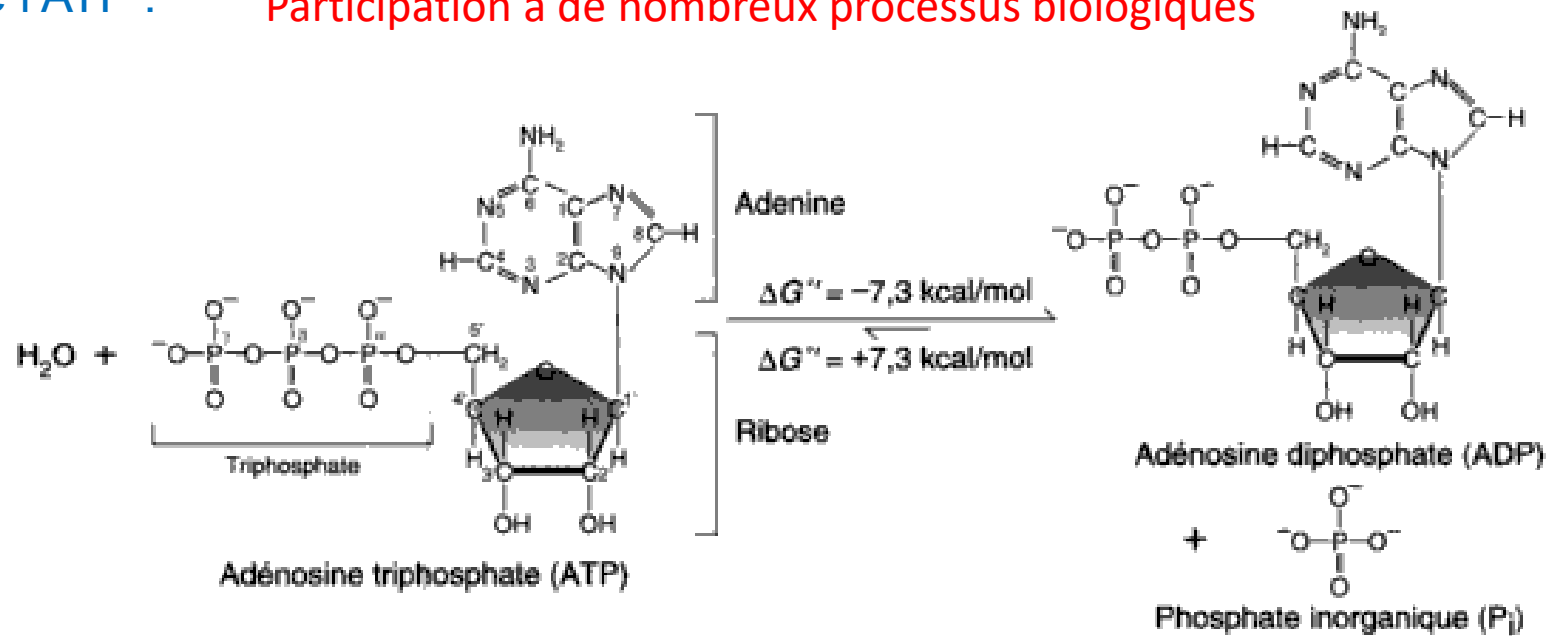
NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE NAD⁺

2 nucléosides reliés par un groupement diphosphate :

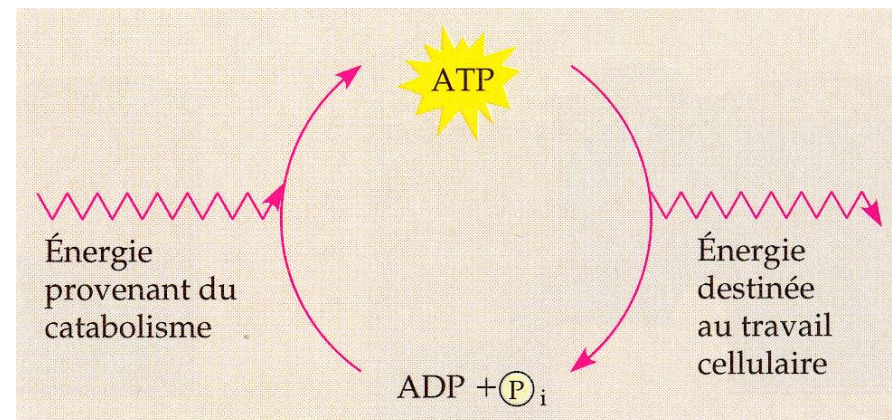


Coenzyme capable de capturer 2 e⁻ et 1 H⁺

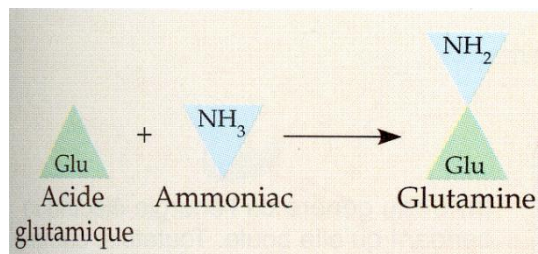
Hydrolyse de l'ATP : Participation à de nombreux processus biologiques



ATP = source renouvelable

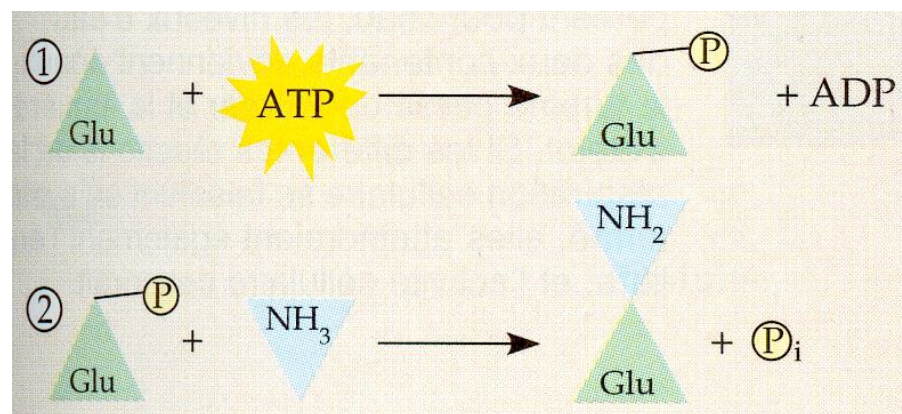


Réalisation de la réaction anabolique?



$$\Delta G^{\circ} = +3,4 \text{ kcal/mol}$$

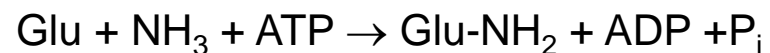
COUPLAGE de REACTIONS ENDERGONIQUES et EXERGONIQUES



Phosphorylation par couplage de l'hydrolyse de l'ATP

$$\Delta G^{\circ} = -7,3 \text{ kcal/mol}$$

Réaction BILAN:



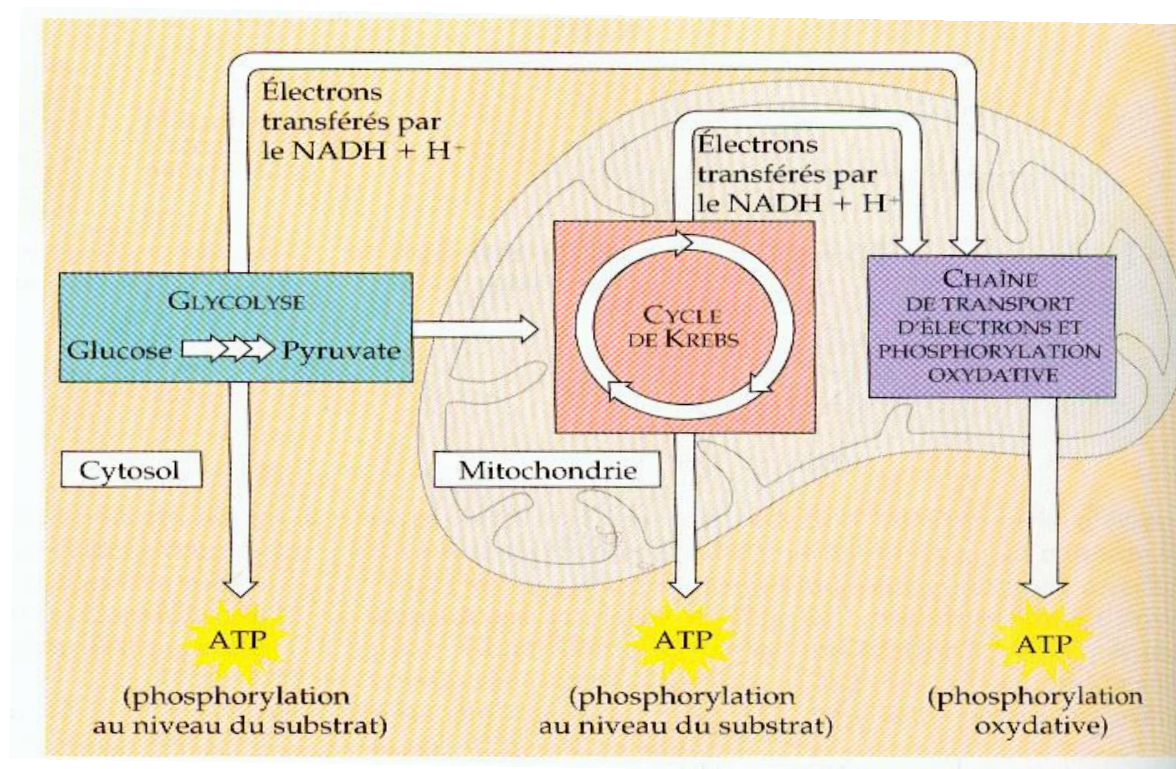
$$\Delta G^{\circ} = -3,9 \text{ kcal/mol}$$

Cellule pas un système clos et autonome. Pour accomplir ses nombreuses tâches, elle puise de l'énergie à des sources extérieures = les nutriments
 Comment extrait-elle de l'énergie emmagasinée dans les nutriments?



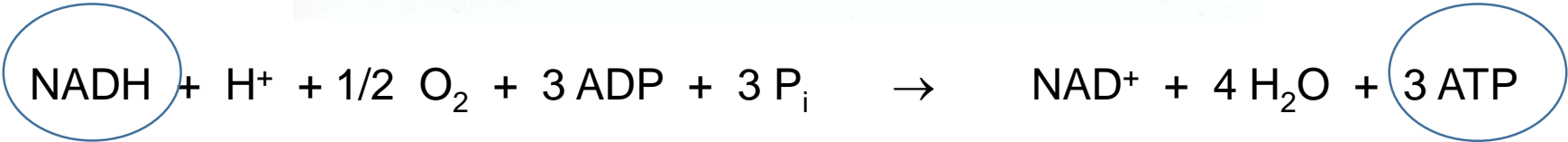
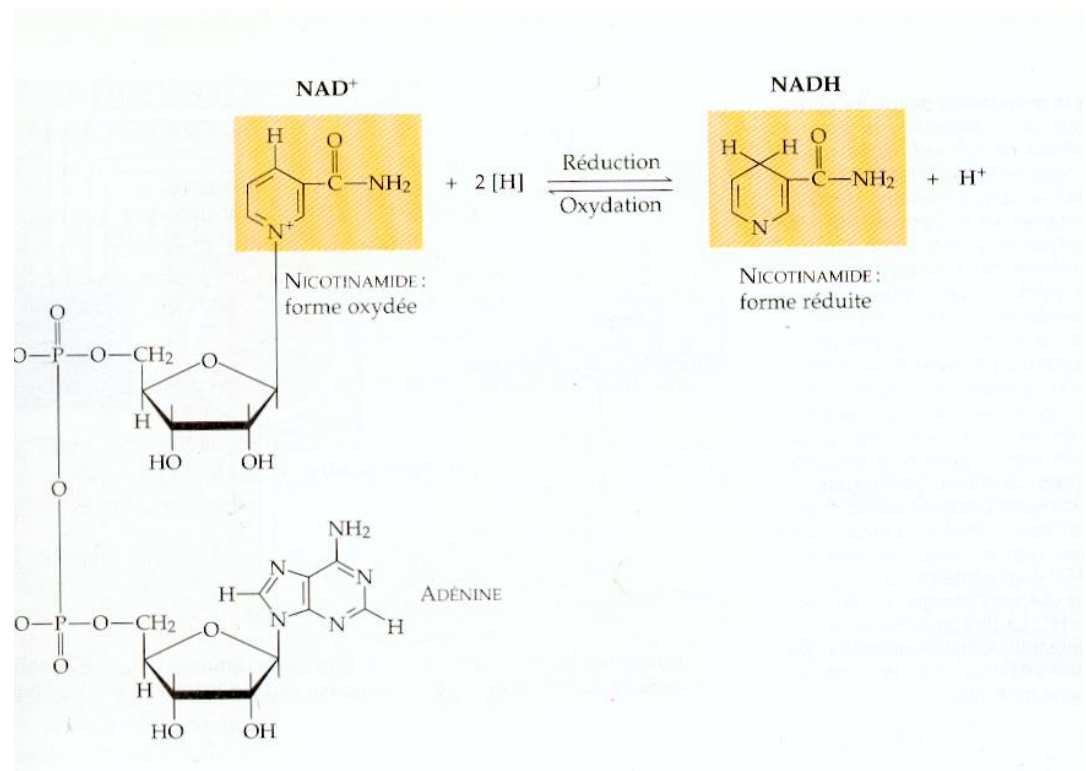
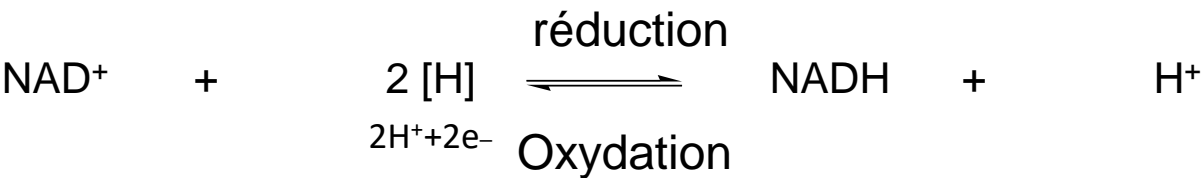
3 étapes principales :

- la GLYCOLYSE
- Le CYCLE de KREBS (cycle de l'acide citrique)
- PHOSPHORYLATION OXYDATIVE



NADH

NADH, réserve d'énergie, intervient dans plusieurs étapes d'oxydoréduction de la dégradation des glucides

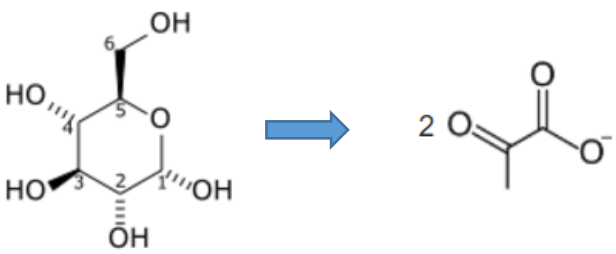


La réoxydation du FADH₂ permet la formation de 2 ATP

➤ La GYCOLYSE : scission du sucre

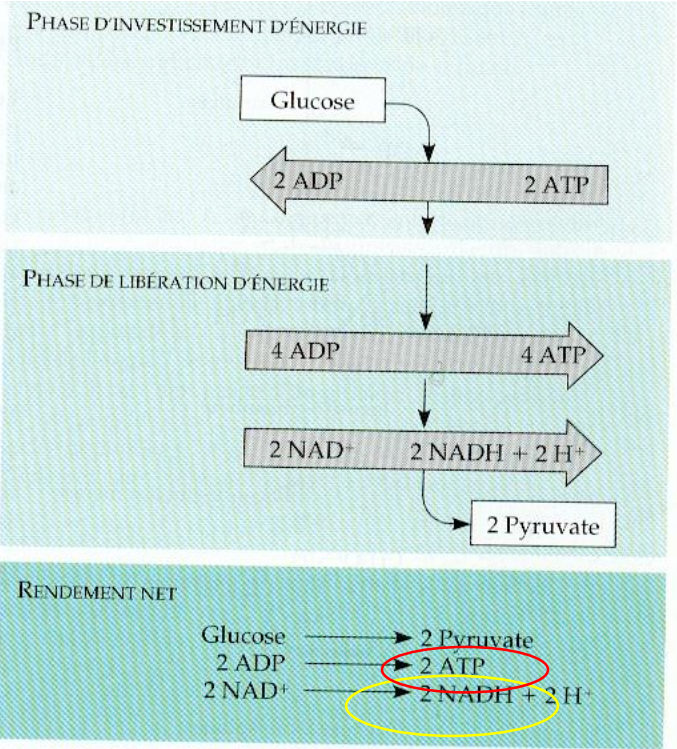
Phase préparatoire servant à rendre plus efficace la production d'ATP par les mitochondries

- Série de réactions catalysées par des enzymes dans le CYTOSOL
- But : décomposer le glucose (6C) en pyruvate (3C) = substrat pour la synthèse d'ATP



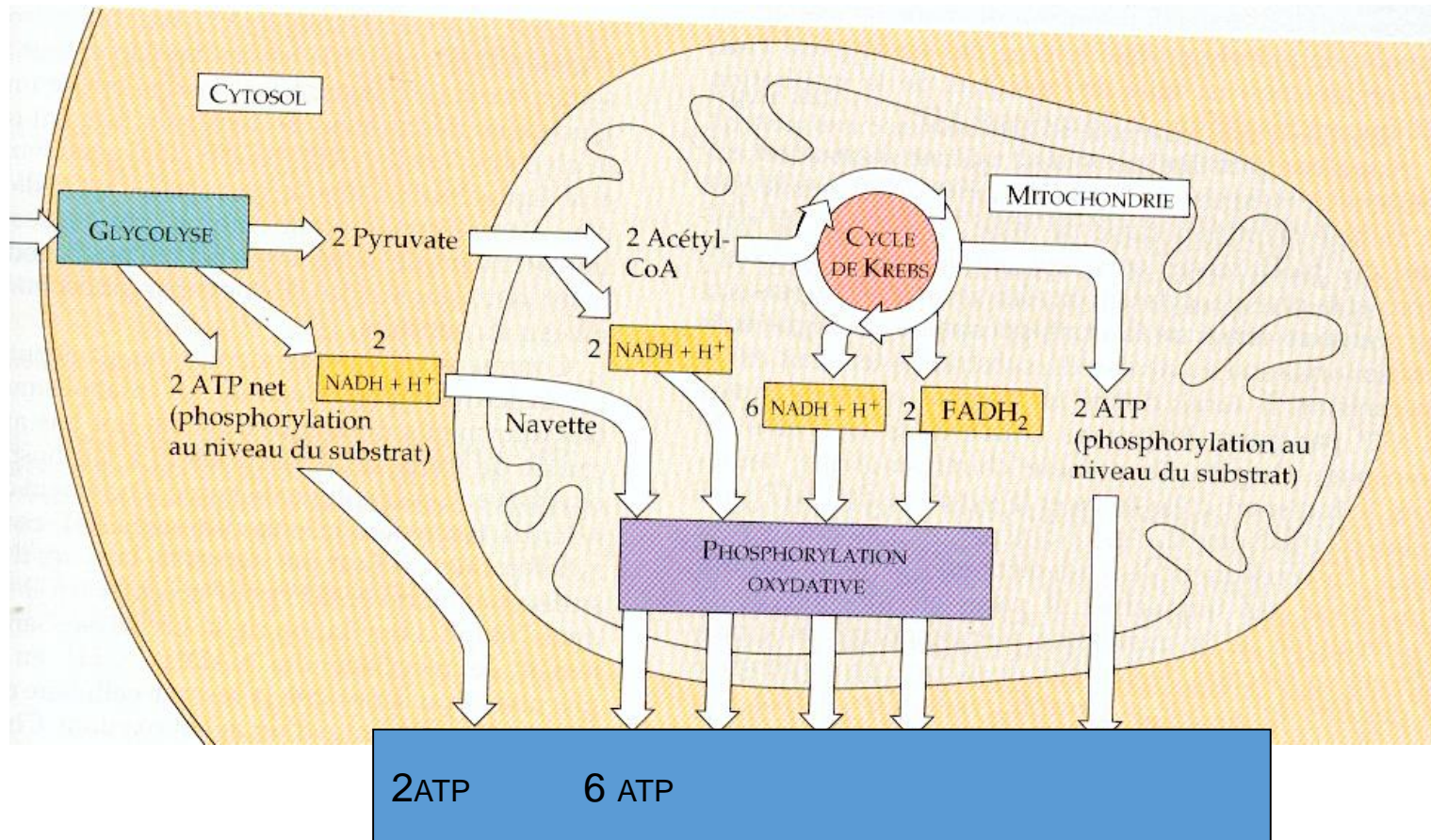
Rq pondération

Rendement :



La glycolyse n'exige pas d'oxygène atmosphérique, elle est considérée comme une réaction **anaérobie**.

ASPECT ENERGETIQUE



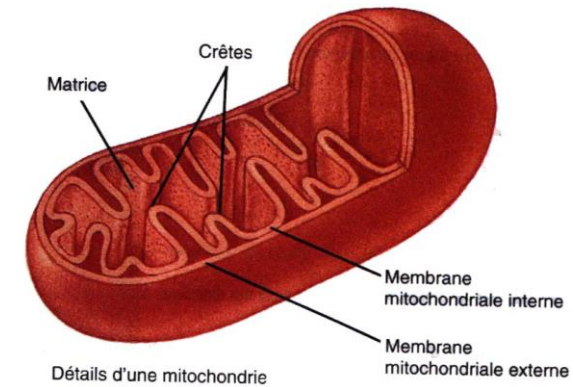
Respiration aérobie:

Les **mitochondries** utilisent le pyruvate et l' O_2 dans une série de réaction d'oxydation libérant de l'énergie utilisée pour la phosphorylation de l'ADP en **ATP**.

En aérobiose, l'oxydation complète du pyruvate en CO_2 et en H_2O libère le maximum d'énergie = la respiration cellulaire

Cette oxydation totale comprend deux grandes phases :

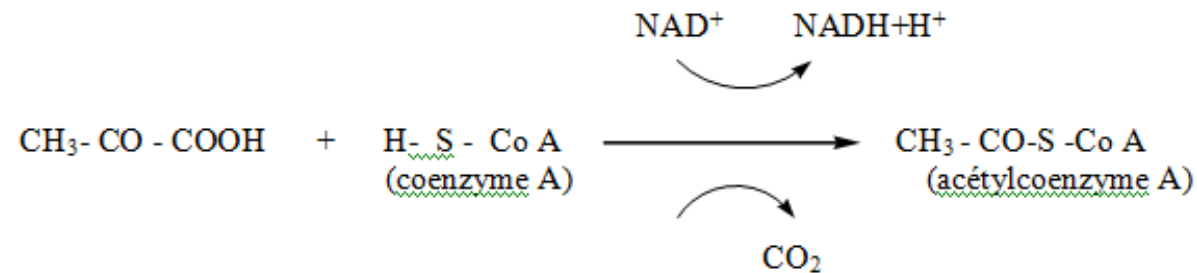
- La décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique et la formation de l'acétylcoenzyme A.
- Le cycle de KREBS.



➤ Décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique et formation de l'acétylcoenzyme A.

- Catalysées par un complexe multi-enzymatique appelé pyruvate décarboxylase
- Mène à la formation d'acétylcoenzyme A
- Production 1mol NADH + H⁺

Equation bilan:

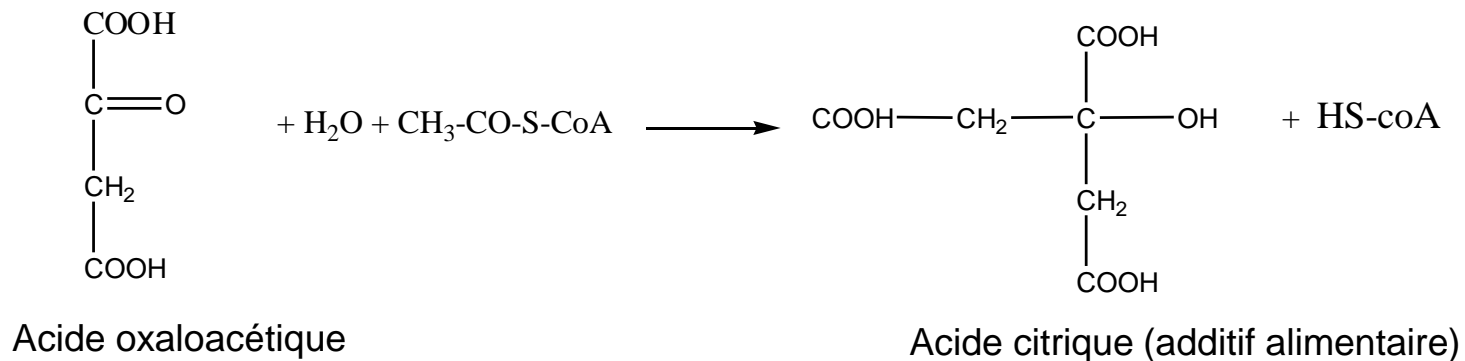


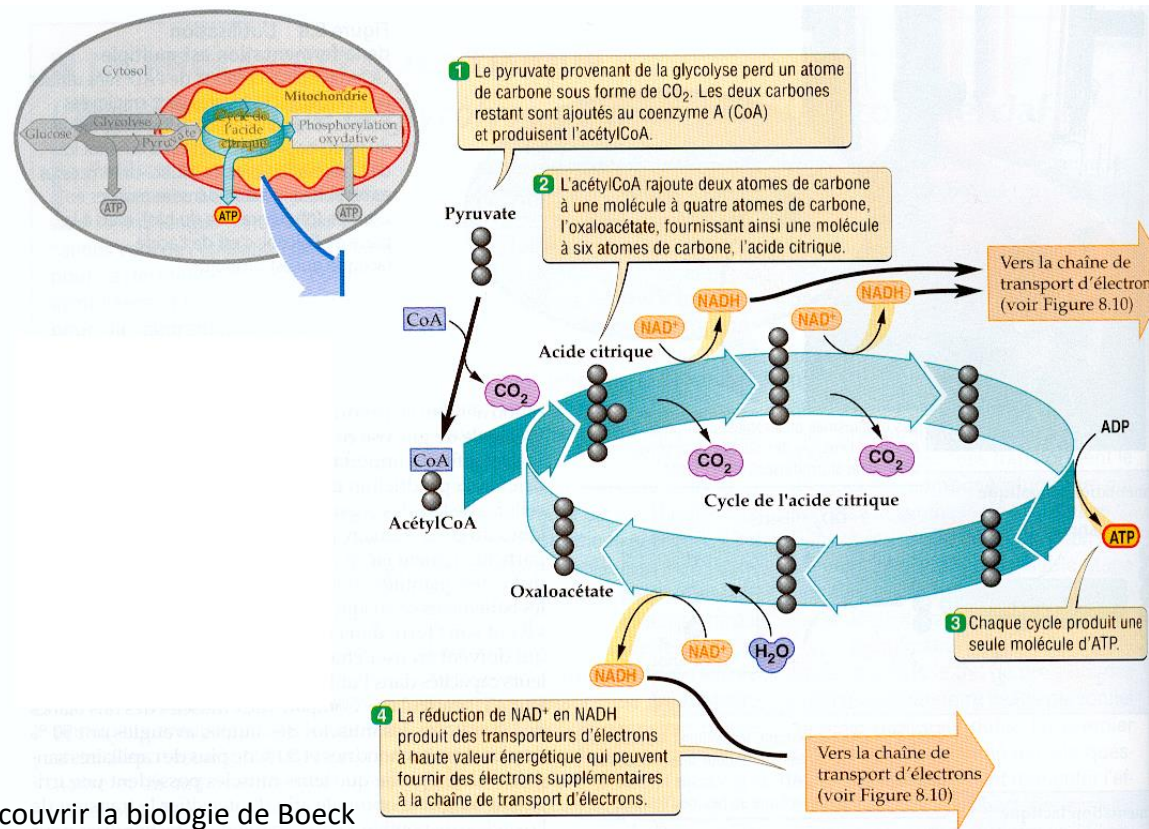
L'acétylcoenzyme A = composé à énergie élevée est le substrat majeur du cycle de Krebs.

➤ Le cycle de KREBS.

Comprend 8 étapes

La première réaction du cycle est une condensation catalysée par la citrate synthétase :

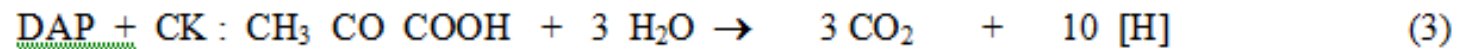
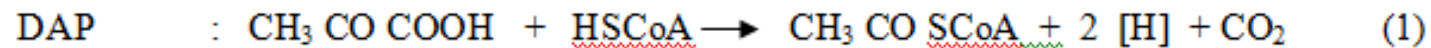




Découvrir la biologie de Boeck

- la perte de 2 CO₂
 - la fixation temporaire de 8 H sur des coenzymes
 - La reformation d'une molécule d'acide oxaloacétique
 - Production 1 ATP
- 6 H sur 3 NAD⁺
2 H sur 1 FAD

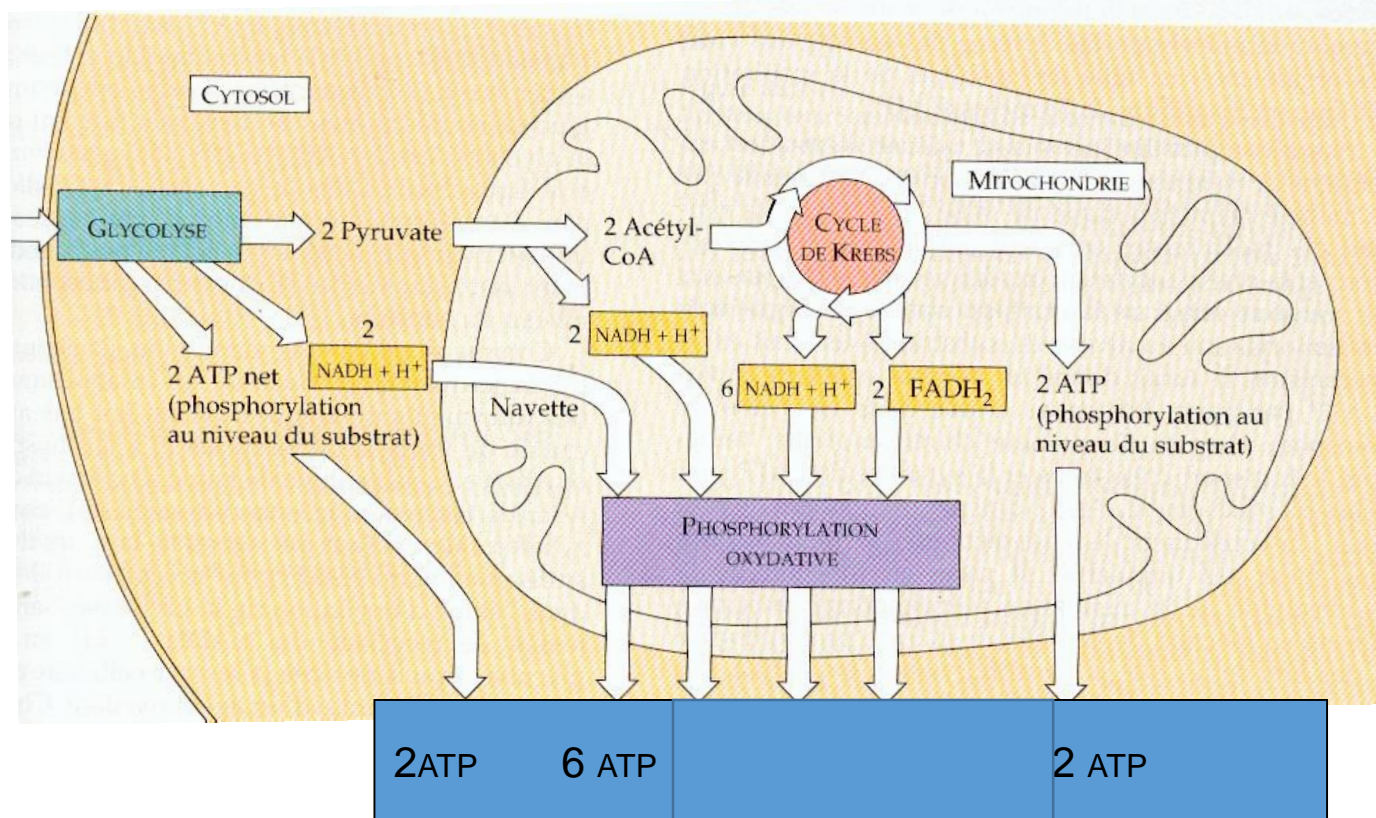
Equation bilan:



+ 1 ATP

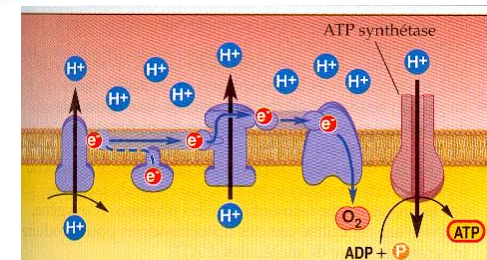
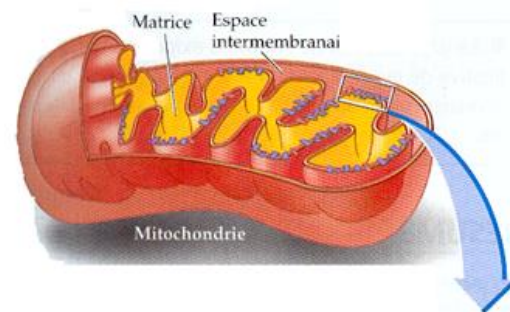
Production par mole de pyruvate

ASPECT ENERGETIQUE :

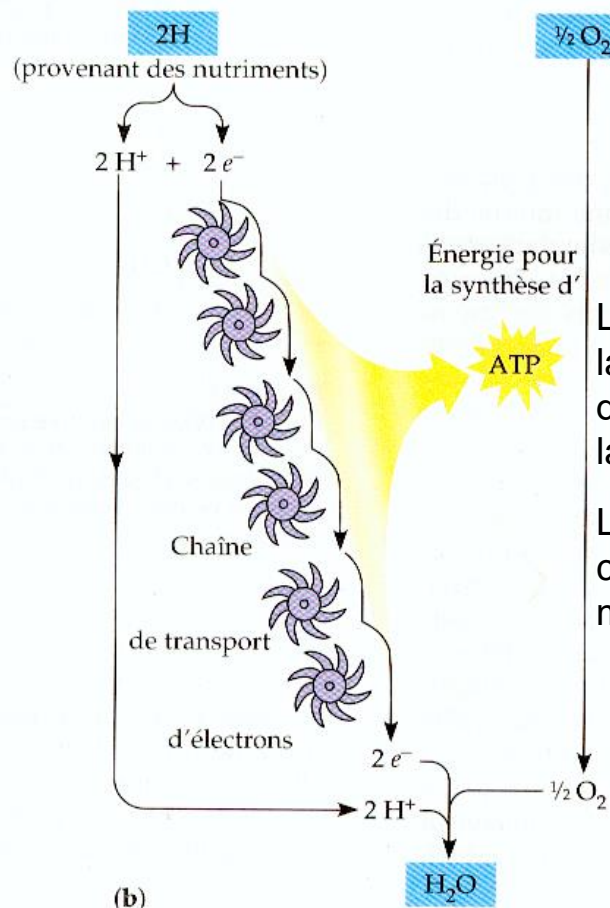


➤ PHOSPHORYLATION OXYDATIVE : la chaîne respiratoire

- La plus importante en terme de quantité d'ATP produite
- La structure physique des mitochondries entre en jeu
- Accepteur final = O_2

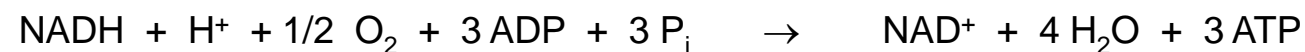


Chaîne de transport d'électrons = coenzymes
Incorporés dans la membrane interne de la mitochondrie
Les molécules de NADH cèdent leurs électrons



La chaîne de transport d'électrons décompose la « descente » des électrons en une série d'étapes et une partie de l'énergie libérée sert à la production d'ATP.

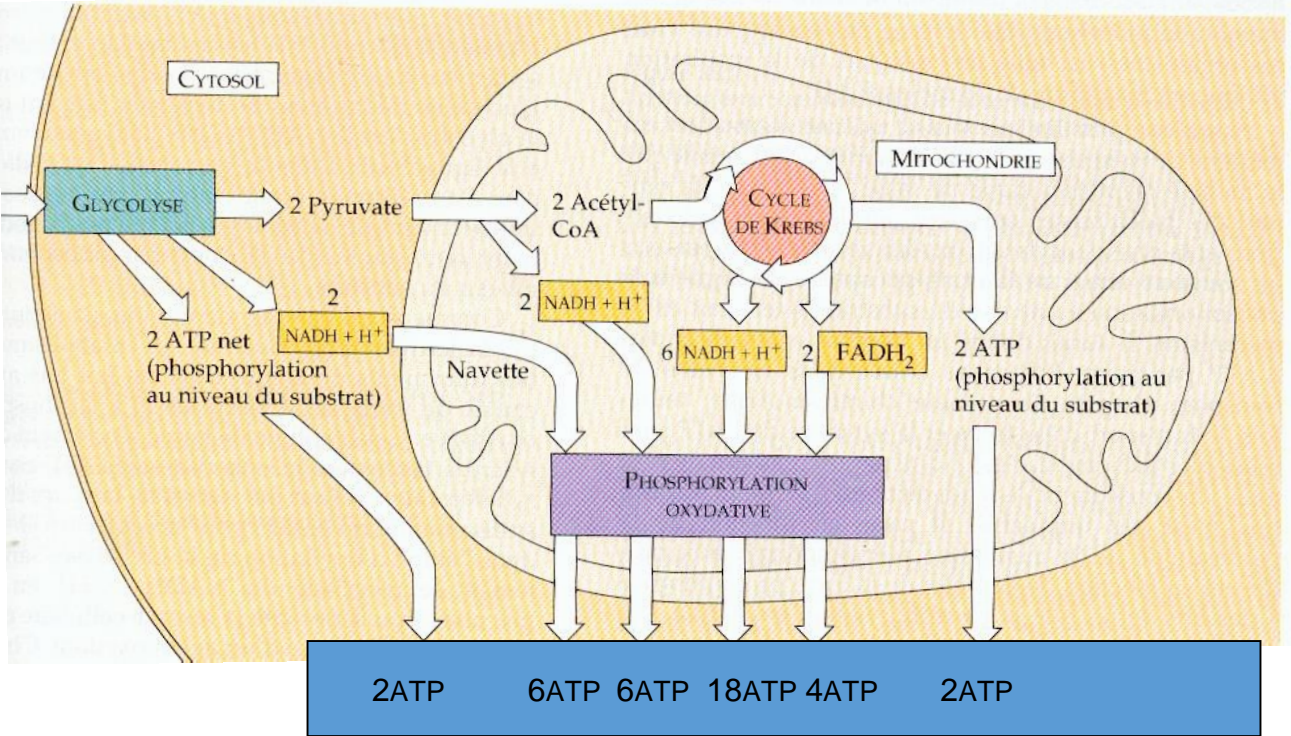
L'étape finale : les e^- sont donnés à l' O_2 , combinaison avec H^+ pour former une molécule d' H_2O



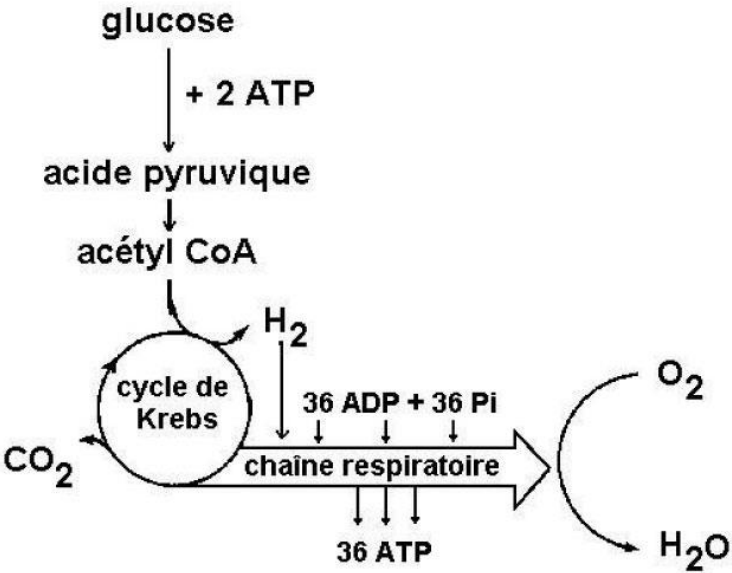
Le surplus énergétique est dissipé sous forme de chaleur.

La réoxydation du $FADH_2$ permet la formation de 2 ATP seulement.

ASPECT ENERGETIQUE

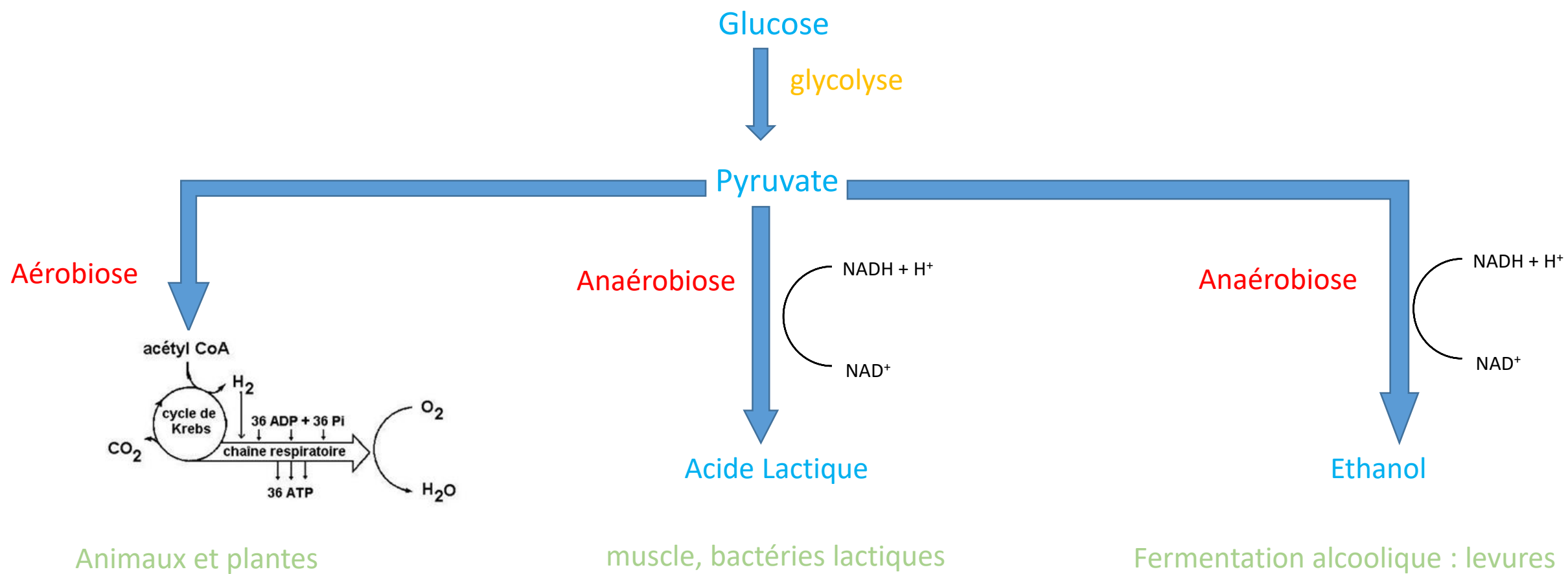


TOTAL = 38 ATP

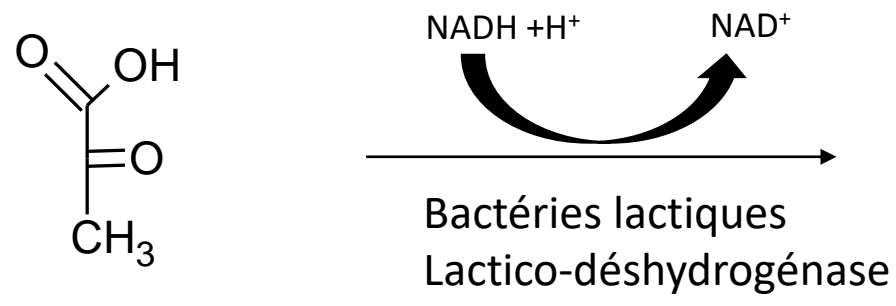


Respirations anaérobies:

Le processus catabolique qui conduit la glycolyse vers les **réactions anaérobies** est désigné sous le nom de **fermentation**.
Processus moins énergétique que la respiration aérobie



➤ Fermentation LACTIQUE

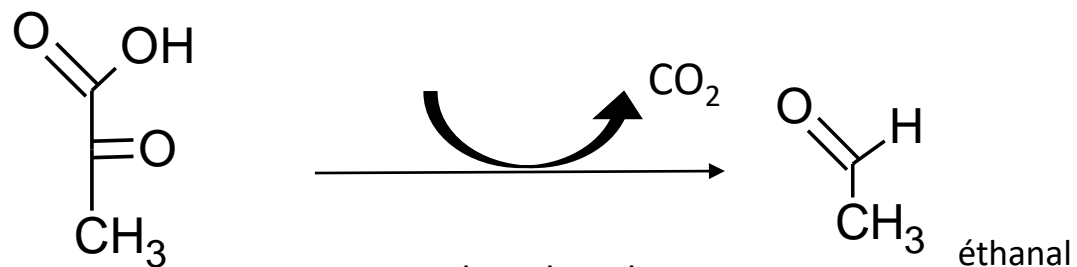


Groupe ment acide
Groupe ment cétone

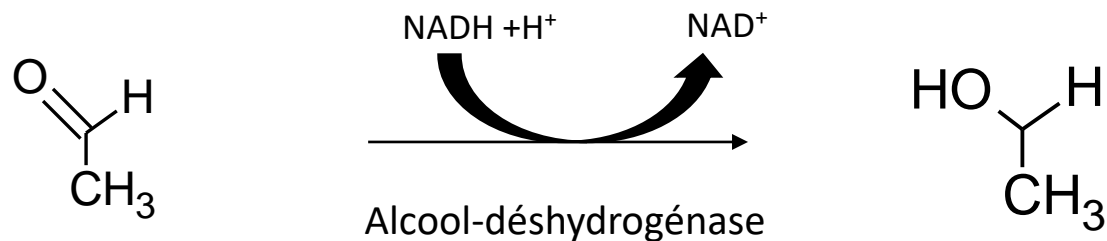
Groupe ment acide
Groupe ment alcool
secondaire



➤ Fermentation ALCOLIQUE



Pyruvate decarboxylase
Ex : *Saccharomyces cerevisiae* (levure bière)



Groupe ment aldéhyde

Groupe ment alcool primaire

