



Faculté de médecine d'Alger
Département de médecine dentaire
Année universitaire 2022/2023



Enzymologie

Cours de 1 ère année médecine
dentaire

4^{ème} partie

VIII-Enzymes allostériques

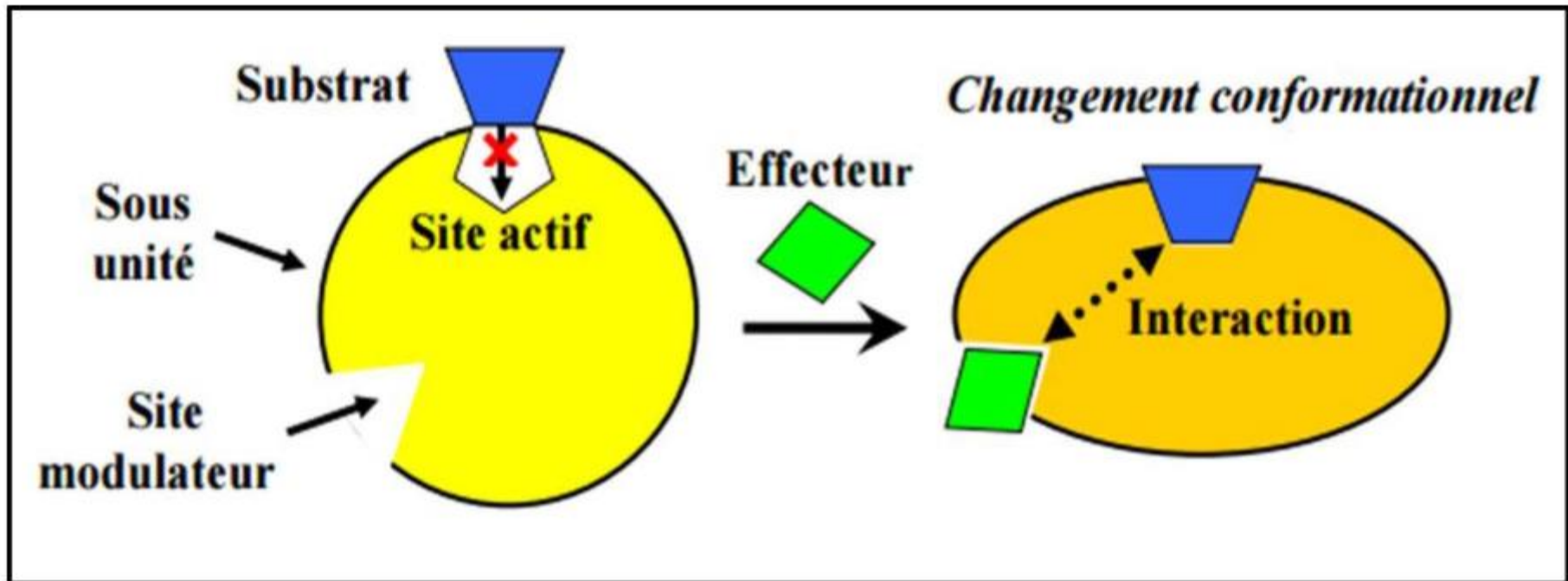
1. Définition

Le terme allostérie vient du grec « allos » pour **autre** et « stéréos » pour espace ou **site**.

Ce terme désigne la **variation** de la **conformation spatiale** d'une protéine suite à la **liaison réversible** du substrat ou d'un composé en **dehors du site catalytique** permettant un **changement d'activité**.

Les enzymes **allostériques** présentent un ou plusieurs **sites** en dehors du **site catalytique** pour des molécules **effectrices** (régulatrices)

La liaison de l'**effecteur** sur son site de fixation est **spécifique** et **réversible**. Cette liaison induit un changement **réversible de la conformation** de l'enzyme et il en résulte une **modification de l'aptitude catalytique** de l'enzyme.



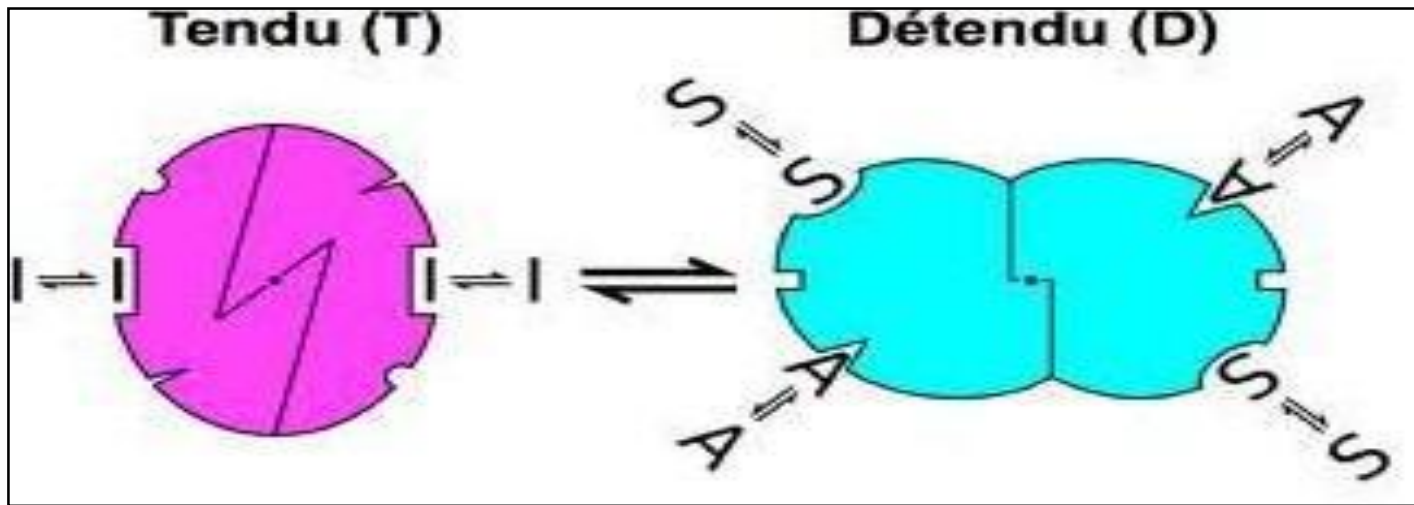
2.Caractéristiques générales des enzymes allostériques:

1. Formées d'au moins 2 sous-unités =protomères(enzymes oligomériques).
2. Possèdent une structure quaternaire, en effet la conformation quaternaire est responsable de l'activité régulatrice allostérique.
3. Chaque sous-unité possède un site catalytique+ un site allostérique.
4. La liaison réversible et non covalente d'un effecteur sur le site allostérique induit un changement de la conformation de l'enzyme.
5. Leur cinétique n'obéît pas l'équation de Michaelis-Menten.
6. Ces enzymes peuvent être activées ou inhibées suite à la fixation des effecteurs.
7. Ces enzymes jouent des rôles clef dans la régulation du métabolisme.

3. La transition allostérique:

On distingue deux formes:

- ❖ Une forme T (tendu) à faible affinité pour le substrat, conformation compacte adoptée en l'absence du substrat
 - ❖ Une forme R (relâchée) à forte affinité pour le substrat, conformation plus relâchée adoptée en présence du substrat.
-
- Donc une transition allostérique est un changement conformationnel de la forme $T \rightarrow R$ ou $R \rightarrow T$ (déclenché par le substrat ou un effecteur) qui va respectivement augmenter ou diminuer l'affinité de l'enzyme pour son substrat.



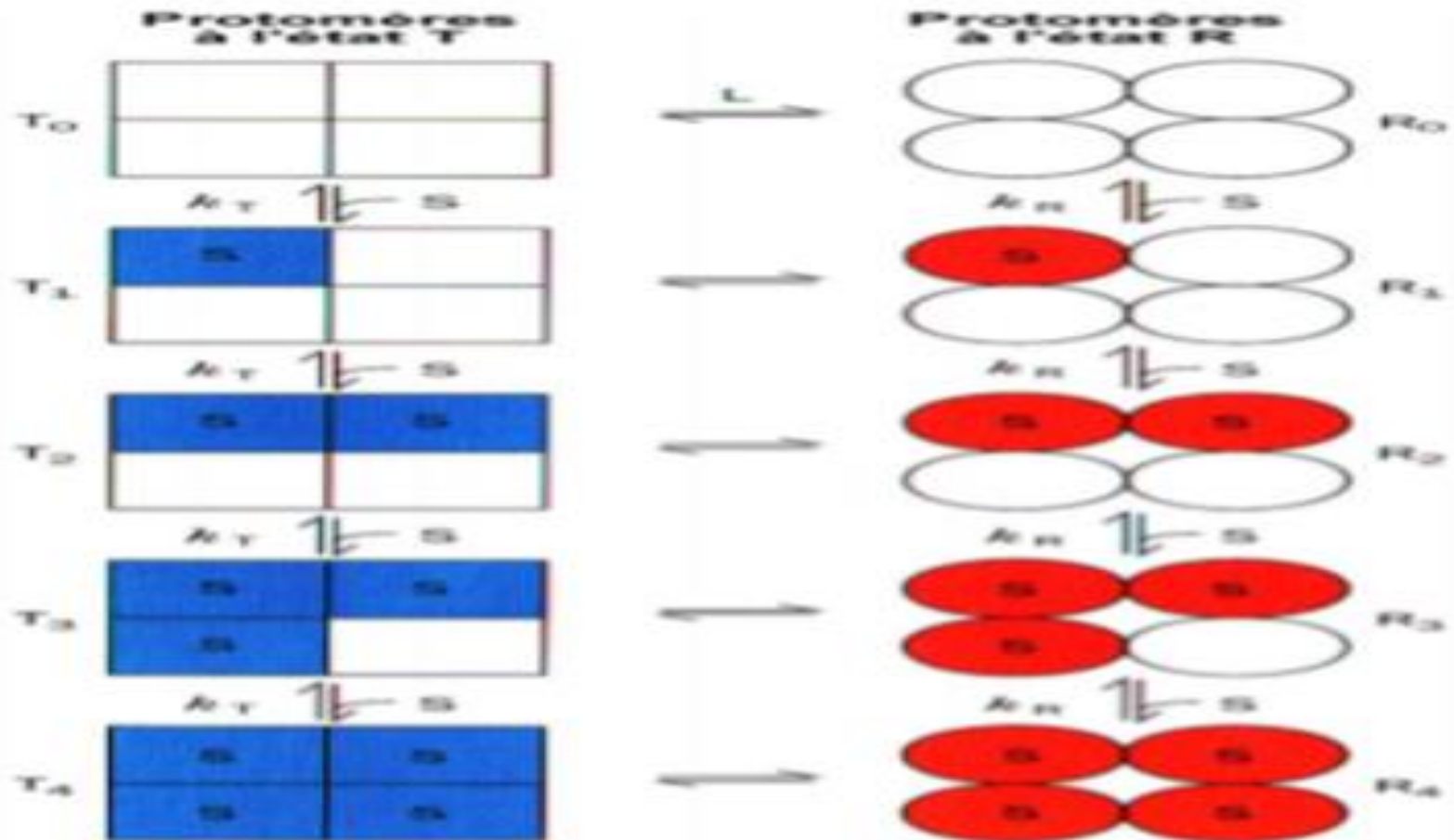
la transition allostérique

2 modèles ont été proposés pour expliquer les modalités des transitions allostériques:

- Le modèle concerté de Monod et Wyman.
- Le modèle séquentiel de Koshland.

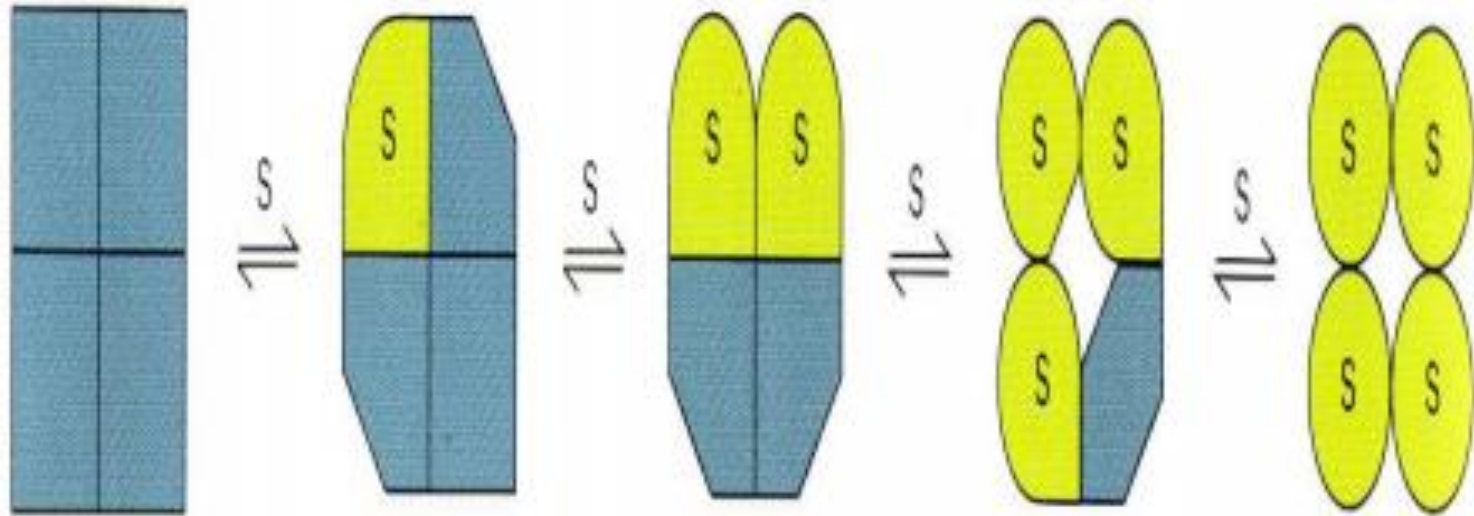
3.1. Modèle concerté ou symétrique:

- Toutes les sous-unités sont soit en conformation T (absence du substrat), soit en conformation R (en présence du substrat).
- Chaque molécule de substrat qui se lie augmente la probabilité de transition de la forme inactive à la forme active.



3.2. Modèle séquentiel:

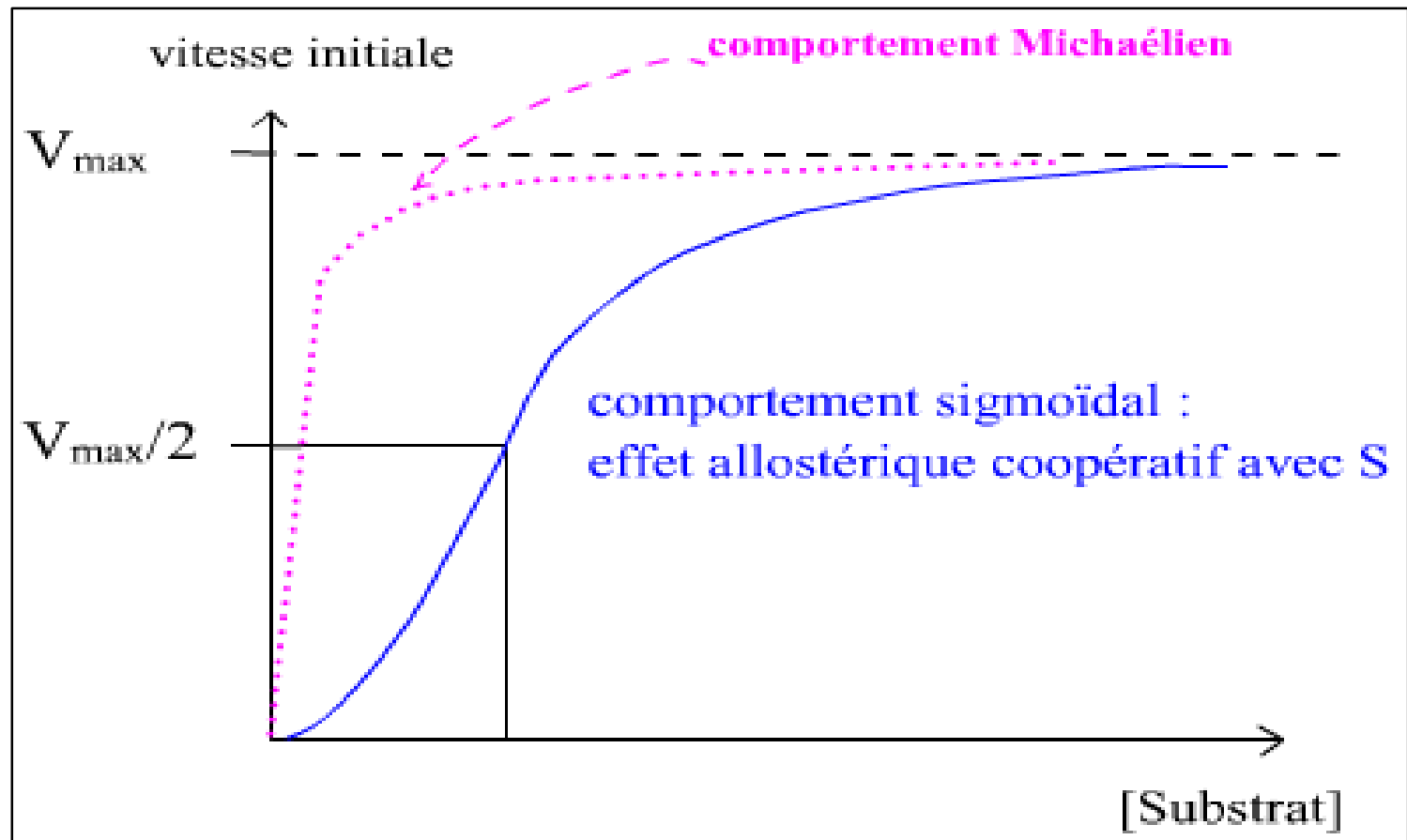
- Il y a 2 conformations, mais les sous unités passent de la forme inactive à la forme active individuellement .
- La fixation de la molécule de substrat, induit la transition de la première s/u, ce qui facilite la transition de la s/u voisine et ainsi de suite.



4. La cinétique allostérique:

Les enzymes allostériques **ne suivent pas** une cinétique michaelienne (pas d'hyperbole).

Selon la représentation de Hill, la courbe représentant l'évolution des vitesses initiales en fonction de la concentration en substrat $V_i=f([S])$ a une **allure sigmoïde**.



5. Modulation allostérique:

5.1.les effets de coopérativité

5.1.1.L'effet homotrope:

Se définit par le changement conformationnel de l'enzyme suite à la fixation du substrat lui-même sur le site allostérique. On distingue:

L'effet homotrope positif: augmentation de l'affinité pour le substrat (transition T en R).

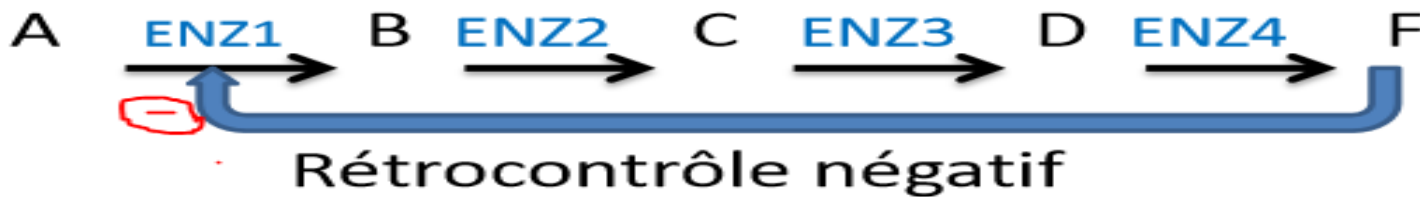
L'effet homotrope négatif: diminution de l'affinité pour le substrat (phénomène plus rare).

5.1.2. L'effet hétérotrope

- Cet effet permet d'expliquer des réponses positives ou négatives des enzymes à certains **effecteurs chimiques**.
- Il se définit par la **modification de l'affinité** de l'enzyme pour son substrat suite à la **fixation** sur le **site allostérique** de **molécules sans apparenté structurale** avec le substrat, ces molécules sont appelés « **effecteurs allostériques** ». On distingue:
 - **Les activateurs allostériques**=effecteurs hétérotropes positifs: favorisent la fixation du substrat ($T \Rightarrow R$).
 - **Les inhibiteurs allostériques**=effecteurs hétérotropes négatifs: inhibent la fixation du substrat ($R \Rightarrow T$).

5.2. Rétroinhibition:

- Prenons pour exemple une séquence métabolique où A est le précurseur d'un produit final F et l'enzyme 1 est une enzyme allostérique.



- F inhibe l'activité de l'enzyme 1 qui catalyse la 1ere réaction de cette séquence, donc F est un inhibiteur allostérique de l'enz 1.
- C'est un mécanisme qui permet d'ajuster les niveaux de fonctionnement d'enzymes allostériques impliqués dans les voies métaboliques afin de prévenir une surproduction d'énergie ou de métabolites .

IX-Applications de l'enzymologie

1. Application diagnostique-Pronostique :

Enzymes	Localisation	Pathologies
ASAT, ALAT	Sérique	Hépatites virales
PAL	Sérique	Affections osseuses, hépatiques
Lipase, amylase	Sérique	Pancréatites
CKMB	Sérique	Infarctus du myocarde
Hexosaminidases	Leucocytes	Tay Sachs
G6PD	Érythrocyte	Déficit héréditaire en G6PD

2. Application industrielle :

- Evaluer la qualité des aliments.
- Vérification des processus de stérilisation et de pasteurisation.
- Synthèse d'hormones, et de médicaments.

3. Application thérapeutique :

- Utilisation des anti-métabolites en chimiothérapie anticancéreuse (5 FU)

4. Application génétique :

- Utilisation des enzymes pour les réactions d'amplification in vitro (polymérases) .
- Utilisation des enzymes de restriction pour le diagnostic de certaines maladies génétiques .

5. Application de la cinétique michaelienne:

❖ Mesure de l'activité enzymatique

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

- la mesure de la variation d'absorbance $\Delta DO \Rightarrow$ **Loi de Beer-Lambert.**

$$Do = \epsilon \cdot C \cdot l$$

$$C = Do \cdot 1 / \epsilon \cdot 1 / l$$

$$\text{Activité enzymatique en UI/l} = (\Delta Do / \Delta t) \cdot (1 / \epsilon) \cdot (1 / l) \cdot (Vt / Ve) \cdot 10^6$$

Δt : temps de mesure en min.

ϵ : coefficient d'absorption molaire ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

l : trajet optique (1 cm).

Vt : volume du mélange réactionnel total ou se fait la mesure (ml).

Ve : volume du milieu contenant l'enzyme à doser (ml).

❖ Conditions opératoires pour la mesure de l'activité enzymatique:

But: se rapprocher le plus possible de V_{max} .

- Concentration saturante en substrat (50 à $100 \cdot K_m$).
- pH optimal de l'enzyme (milieu tamponné).
- Température optimale de l'enzyme (milieu thermostaté, 25° - 30° - 37°).
- Présence d'activateurs et absence d'inhibiteurs.

Exemple: Soit la transformation : $S \longrightarrow P$

On suit l'apparition de P à 420nm, on prend 20 μ l dans 500 μ l de milieu réactionnel, qu'on met dans une cuve de 1cm, on obtient les absorbances suivantes:

$$A = 0,25 \text{ à } T1$$

$$A = 0,35 \text{ après } 10 \text{ minutes}$$

$$\epsilon = 5000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1} \text{ (du produit P)}$$

Pour calculer l'activité enzymatique:

$$AE = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{V_t}{V_e} \times \frac{10^6}{\epsilon \cdot l}$$

$$AE = [(0,35 - 0,25) / 10] [(500 + 20) / 20] [10^6 / (5000 \cdot 1)]$$

$$AE = 52 \text{ UI}$$

6. Les unités enzymatiques :

C'est la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une certaine quantité de substrat par unité de temps.

- ❖ L'unité internationale (UI) : quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une micromole de substrat par minute (micromole/min).
- ❖ Le katal (Kat) : quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une mole de substrat par seconde (mole/S).

- **L'activité enzymatique spécifique:** Nombre de molécules de substrat transformées par min et par milligramme de protéine enzymatique.

$$ASE = \frac{\mu\text{mole} / \text{min (UI)}}{\text{mg de protéine}}$$

- **Activité spécifique moléculaire:** Nombre de molécules de substrat transformées par min et par molécule d'enzyme

$$AEM = \frac{\mu\text{mole} / \text{min (UI)}}{\mu\text{mole de protéine}}$$

**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION**

BON COURAGE