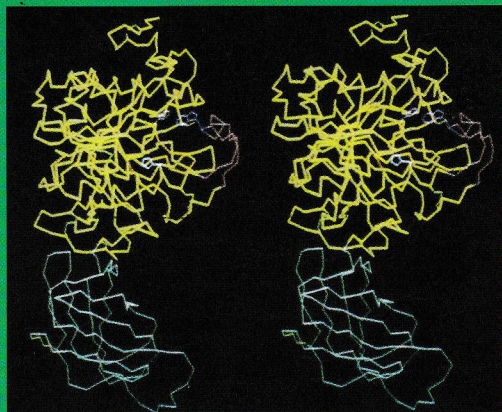


*Sciences
de la Vie
et de
la Terre*

Les enzymes, biocatalyseurs protéiques



Bernard AUGÈRE

ellipses

Sciences
de la Vie
et de
la Terre

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

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

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

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

Illustration de couverture :

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



ISBN 2-7298-0064-6

Table des matières

chapitre I.

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

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

chapitre II.

Les enzymes sont des molécules protéiques spatialement organisées 29

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

B. Les protéines ont une conformation en trois dimensions	45
1. Feuillet β et hélice α sont permis par des liaisons Hydrogène	45
2. La structure tertiaire	50
3. La structure quaternaire, une association de plusieurs unités	53
4. Discussion sur l'acquisition de la conformation	55
5. La stabilité des protéines	57
C. La caractérisation des protéines est basée sur leurs propriétés physico-chimiques	60
1. Les réactions de mise en évidence	60
1.1. La réaction xanthoprotéique	60
1.2. La réaction du Biuret	60
1.3. Le test à la ninhydrine	61
2. La séparation par chromatographie et ses variantes	61
2.1. Chromatographie sur papier	61
2.2. Chromatographie sur colonne	62
2.3. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)	64
3. La migration électrophorétique	65
3.1. Électrophorèse sur gel de polyacrilamide-SDS	66
3.2. Séparation par focalisation isoélectrique	68
4. Le dosage des protéines par la méthode ELISA	69
5. Détermination de la conformation spatiale par cristallographie aux rayons X	71
Chapitre III.	
Les enzymes à cinétique michaélienne	73
A. Approche de la cinétique réactionnelle enzymatique	73
1. Les caractéristiques générales d'une cinétique chimique	73
1.1. Réaction d'ordre un ou réaction monomoléculaire	73
1.2. Réaction d'ordre deux ou réaction bimoléculaire	76
2. La particularité des réactions enzymatiques	77
2.1. Approche expérimentale de la notion de vitesse initiale	78
2.2. Variation de la vitesse initiale au cours du temps	79
2.3. Vitesse initiale et concentration en substrat	80
2.4. L'hypothèse de l'équilibre	81
2.5. L'hypothèse de l'état stationnaire	82
3. Le modèle explicatif de MICHAÉLIS-MENTEN	83
4. Discussion du modèle de MICHAÉLIS-MENTEN	84
4.1. K_m est une mesure de l'affinité de l'enzyme pour son substrat	85
4.2. Turn-Over et efficacité enzymatique	86
5. Les autres modes de représentation graphique	87
5.1. La représentation de LINEWEAVER et BURK	88
5.2. La représentation de HANES-WOOLF	89
5.3. La représentation de EADIE-HOFSTEE	89
5.4. Une astuce graphique	90

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

Chapitre V.

L'activité enzymatique peut aussi être modifiée par d'autres voies 141

A. La modification covalente 141

1. La phosphorylation/déphosphorylation 141

1.1. La PFK-2, une enzyme en tandem 142

1.2. Le contrôle du métabolisme du glycogène 145

1.2.1. La phosphorylase kinase est un complexe enzymatique 146

1.2.2. La calmoduline, une protéine en forme d'haltère déformable 147

1.2.3. AMPc et Kinase A réalisent une régulation perfectionnée 148

1.3. La régulation de l'activité de la PEP carboxylase 150

2. Le clivage protéolytique 152

2.1. La sécrétion des zymogènes 152

2.2. Le trypsinogène est activé par une entéropeptidase 153

2.3. Le principe des cascades enzymatiques 155

B. Importance des paramètres cinétiques 156

Chapitre VI.

Les coenzymes 159

A. Couples rédox et potentiel d'oxydoréduction 159

B. Les coenzymes d'oxydoréduction 160

1. La Nicotinamide Adénine Dinucléotide ou NAD 160

2. La Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate ou NADP 162

3. Les Flavines-nucléotides (FMN et FAD) 163

4. Les hèmes (Fe^{++}) et hématines (Fe^{+++}) 165

5. Les Quinones 166

6. L'acide lipoïque 167

C. Les coenzymes de transfert de groupements 168

1. La thiamine pyrophosphate (TPP) ou cocarboxylase 168

2. Le coenzyme A ou coenzyme d'acylation 169

3. L'uridine diphosphate ou UDP 171

4. La biotine 174

5. Le phosphate de pyridoxal 175

6. La S-adénosyl-méthionine 176

7. L'acide tétrahydrofolique ou FH_4 176

8. Les cobalamines-coenzymes 176

Conclusion 177

Exercices 179 Corrigés 195

Bibliographie 217

Index 223