

# 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. Feuilletts $\beta$ et hélices $\alpha$ 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

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

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 <sup>++</sup> ) et hématines (Fe <sup>+++</sup> ) .....	165
5. Les Quinones .....	166
6. L'acide lipoiïque .....	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-adenosyl-méthionine .....	176
7. L'acide tétrahydrofolique ou FH <sub>4</sub> .....	176
8. Les cobalamines-coenzymes .....	176