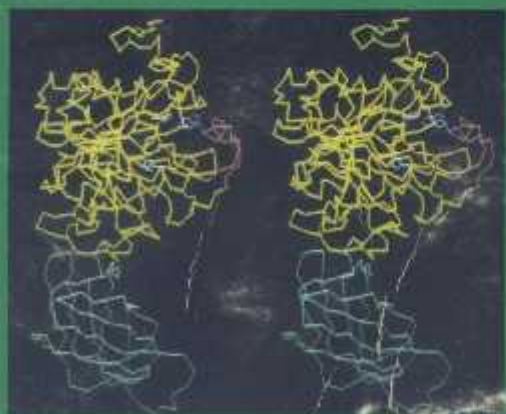


*Sciences  
de la Vie  
et de  
la Terre*

# Les enzymes, biocatalyseurs protéiques



---

Bernard AUGÈRE

ellipses

BL 216

collection

*Sciences de la Vie et de la Terre*

dirigée par Paul Nougier

21935  $\frac{1}{2}$

**Les enzymes,  
biocatalyseurs protéiques**

Bernard AUGÈRE

Professeur des Sciences de la Vie et de la Terre  
en BCPST 1 au lycée Ozenne de Toulouse.



## 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 pII .....	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
<hr/>	
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 <b>IV</b> .	
Les enzymes allostériques obéissent à une cinétique particulière .....	119
<hr/>	
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 dîtes 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 hémamines ( $Fe^{+++}$ ) ..... 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

Sciences  
de la Vie  
et de  
la Terre

**L**ES 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