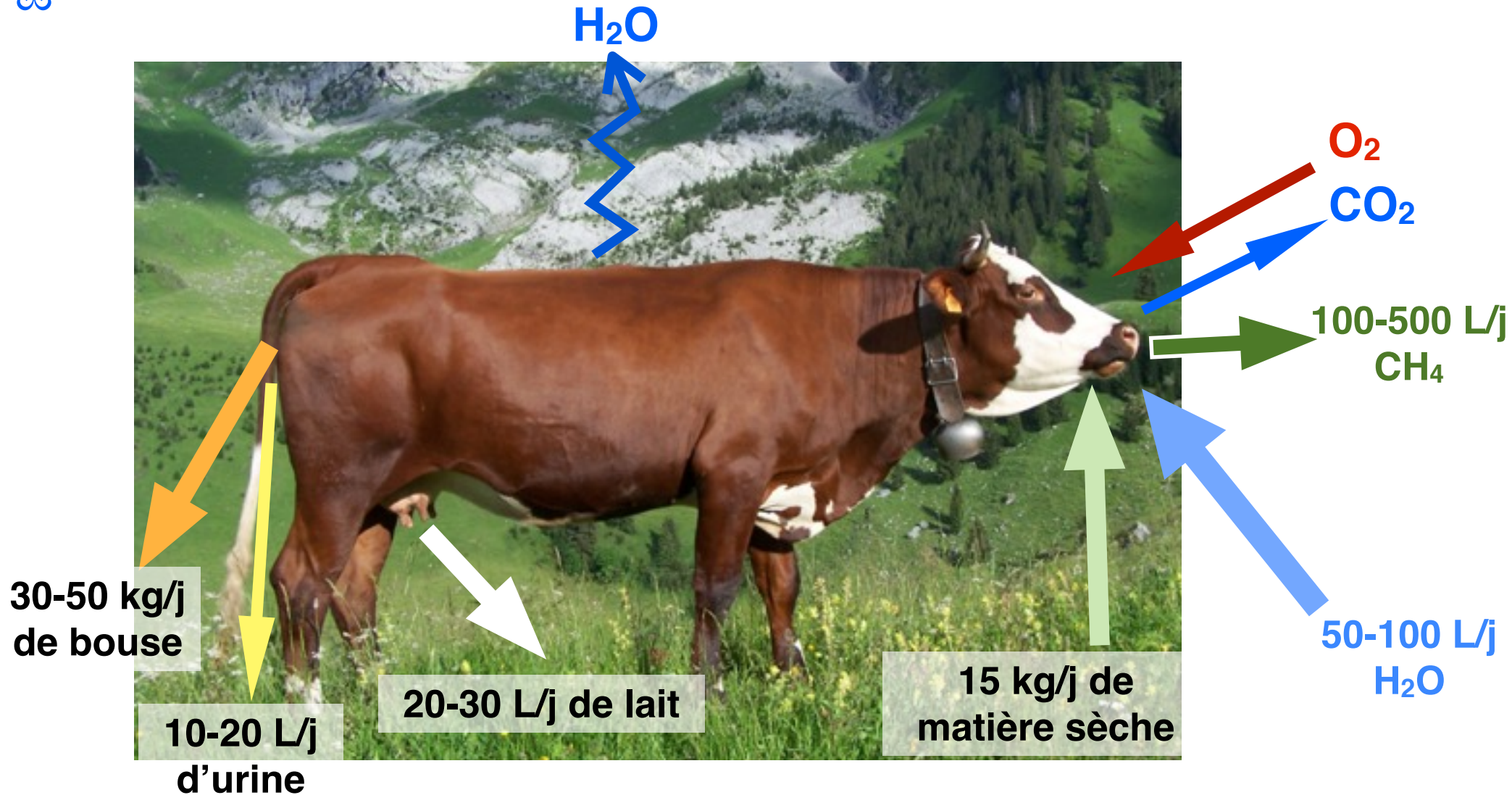


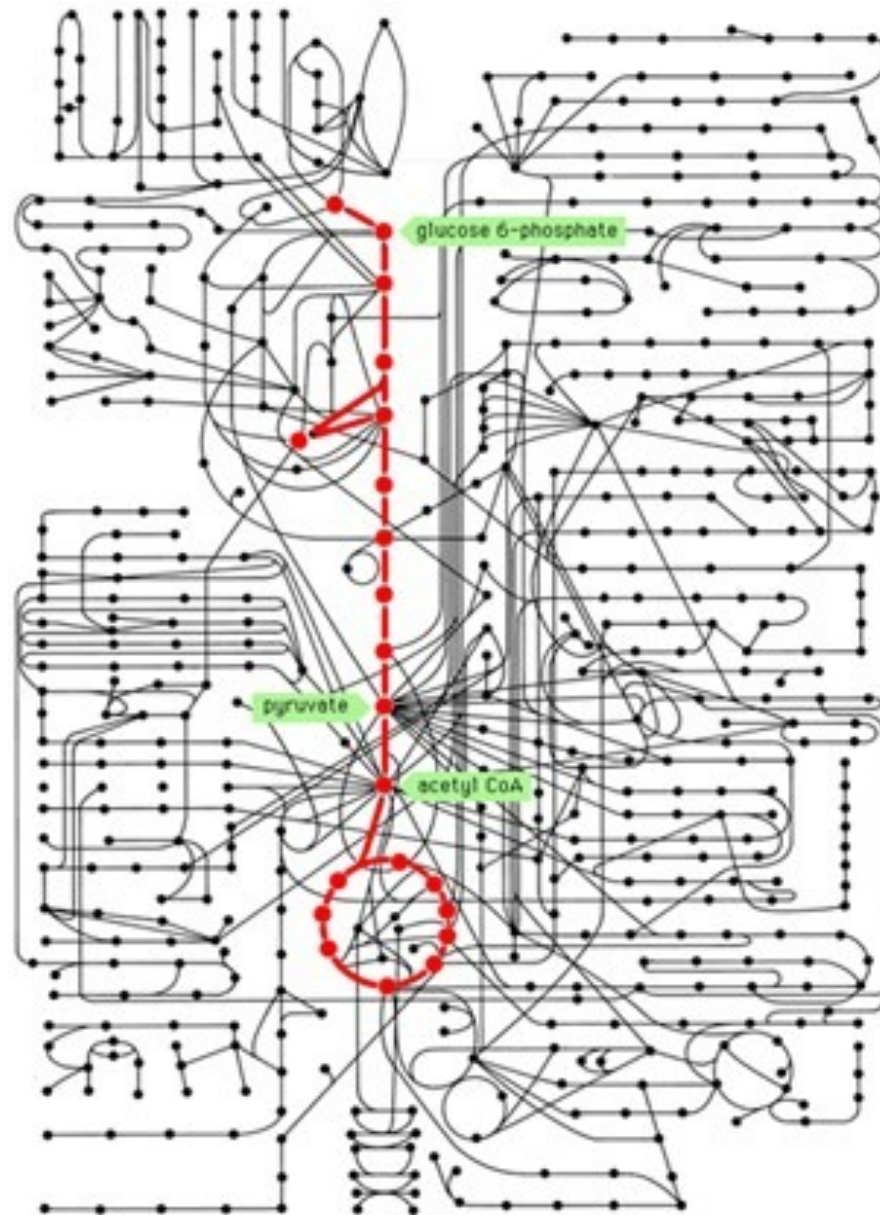
Chapitre 1

Les réactions chimiques du vivant

L'organisme, système thermodynamique ouvert



Quelques voies métaboliques de la cellule



- molécule trait = réaction

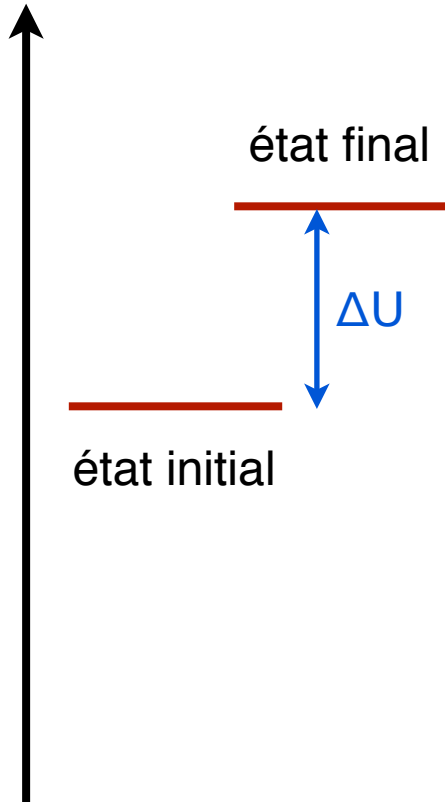
en rouge
glycolyse + cycle de Krebs

1. Les réactions chimiques suivent
les lois de la thermodynamique

Une réaction chimique

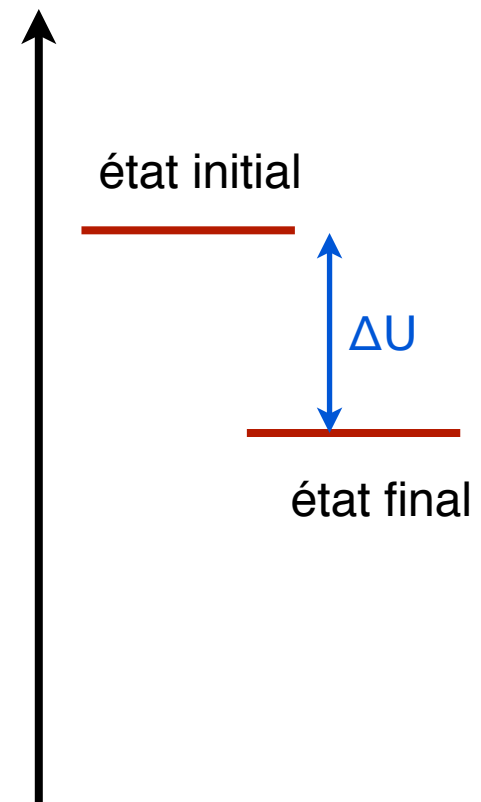


énergie interne U



$\Delta U > 0$: il faut fournir de l'énergie pour passer au niveau énergétique supérieur

énergie interne U



$\Delta U < 0$: l'état énergétique final est moins énergétique : il y aura libération d'énergie par la réaction

1^{er} principe de la thermodynamique



- Lors de toute transformation, il y a conservation de l'énergie dans l'Univers

$$\Delta U = U_2 - U_1 = Q + W$$

Q = chaleur

W = travail

Application du 1^{er} principe à la cellule



- Dans une cellule, pression et volume sont constants donc le travail $W = 0$
- L'énergie interne est reliée à l'enthalpie par :
$$\Delta H = \Delta U + \Delta(PV)$$
- Donc dans une cellule, **$\Delta H = \Delta U = Q$**

Exemple de la combustion du glucose dans un calorimètre

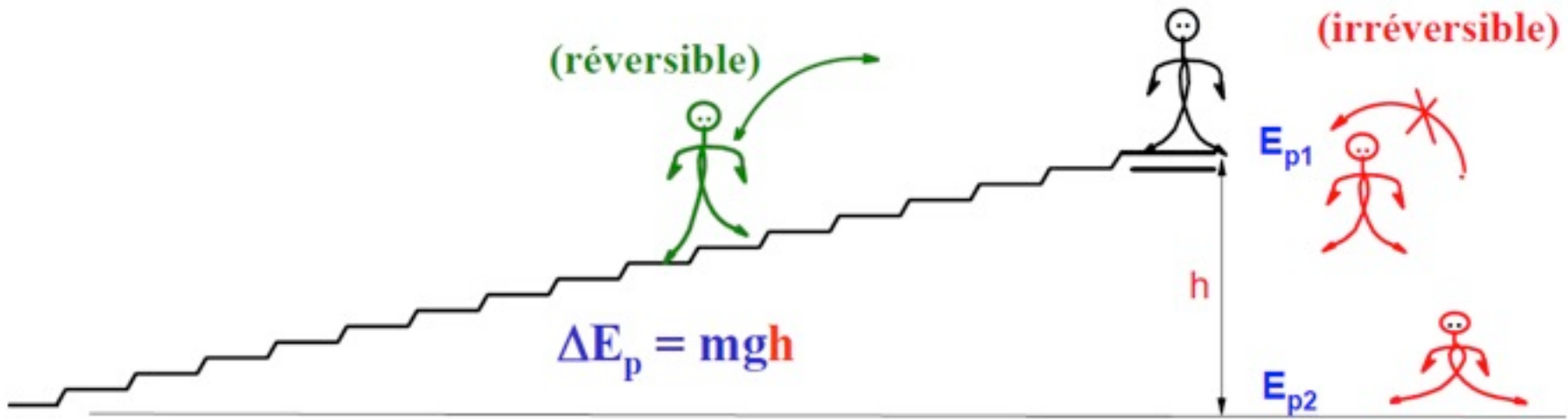


La réaction libère de la chaleur mesurée par calorimétrie : $2800 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ donc $\Delta H = - 2800 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$

$\Delta H < 0$: réaction exothermique

$\Delta H > 0$: réaction endothermique

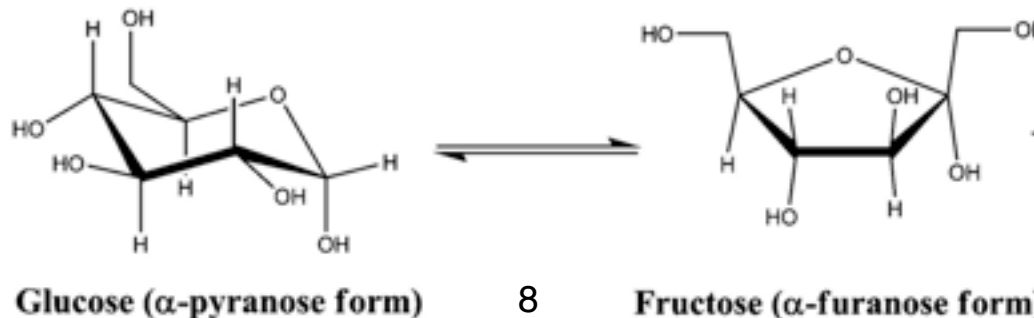
Réversibilité d'une réaction



Médecine Paris Descartes

Un processus est dit **réversible** si le système dans lequel il a lieu peut être ramené à son état initial par une dépense d'énergie infinitésimale.

Exemple : isomérisation du glucose : $G6P \rightleftharpoons F6P$



2nd principe de la thermodynamique

➤ **Toute transformation d'un système s'accompagne d'une augmentation de l'entropie S de l'Univers**

➤ **Application à la cellule :**

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

ΔG = Variation d'enthalpie libre du système

ΔH : variation d'enthalpie (énergie libérée ou consommée)

ΔS : variation d'entropie (énergie perdue sous forme de désordre)

ΔG représente donc la «partie» de l'énergie d'un système qui produit un travail UTILE.

ΔG permet donc de prévoir la spontanéité des réactions

Variation d'enthalpie libre d'une réaction

Soit la réaction $A + B \rightleftharpoons C + D$

★ $\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C].[D]}{[A].[B]}$ exprimé en kJ.mol^{-1}

T en Kelvin
R = 8,32 $\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$

Variation d'enthalpie libre standard

mesurée pour des concentrations de 1 mol.L^{-1} à pH7 et 10^5 Pa

$$\Delta G^{\circ'} = - RT \ln K'_{\text{équilibre}}$$

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + 2,3 RT \log \frac{[C].[D]}{[A].[B]}$$
 exprimé en kJ.mol^{-1}

Variation d'enthalpie libre d'une réaction



BILAN pour une réaction chimique

$\Delta G = 0$: la réaction est à l'**équilibre**

$\Delta G < 0$: la réaction est spontanée, dite **exergonique**

$\Delta G > 0$: la réaction est thermodynamiquement impossible (dite **endergonique**) telle quelle... possible dans la cellule ?

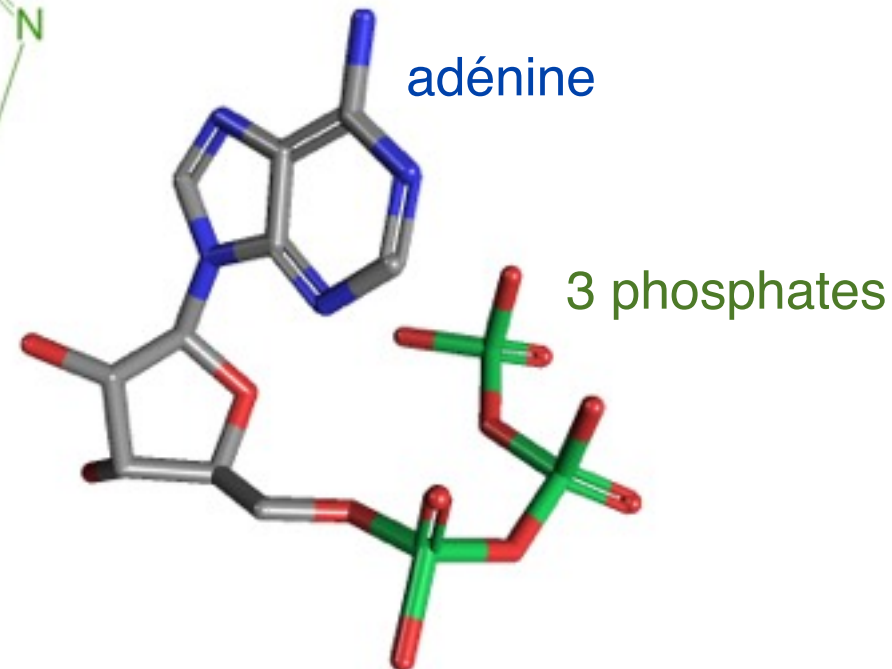
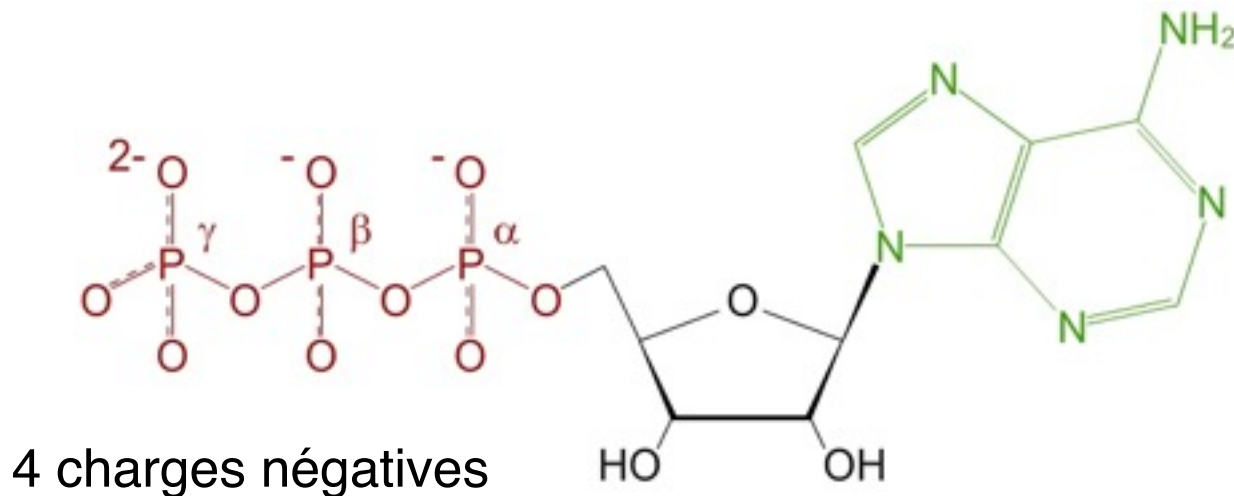
Variation d'enthalpie libre de l'ATP

✿ Mesure dans un calorimètre



$$\Delta G^{\circ'} = - 30,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

2 molécules chargées -
qui se repoussent



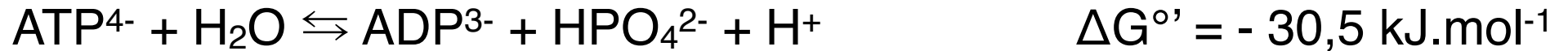
ATP

molécule à haut potentiel énergétique
molécule à haut potentiel de transfert

Variation d'enthalpie libre de l'ATP



Mesure dans un calorimètre



Valeur de ΔG dans une cellule à 37°C dans 2 tissus

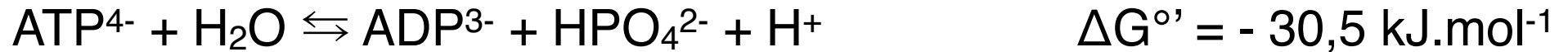
mmol.L ⁻¹	Muscle	Foie
ATP	8,05	3,38
ADP	0,93	1,32
Pi	8,05	4,80

Calculer ΔG réel pour la réaction $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{P}_i$

Variation d'enthalpie libre de l'ATP



Mesure dans un calorimètre



Valeur de ΔG dans une cellule à 37°C dans 2 tissus

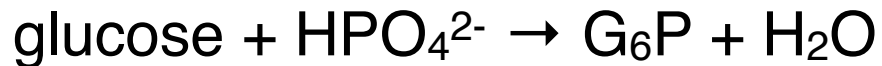
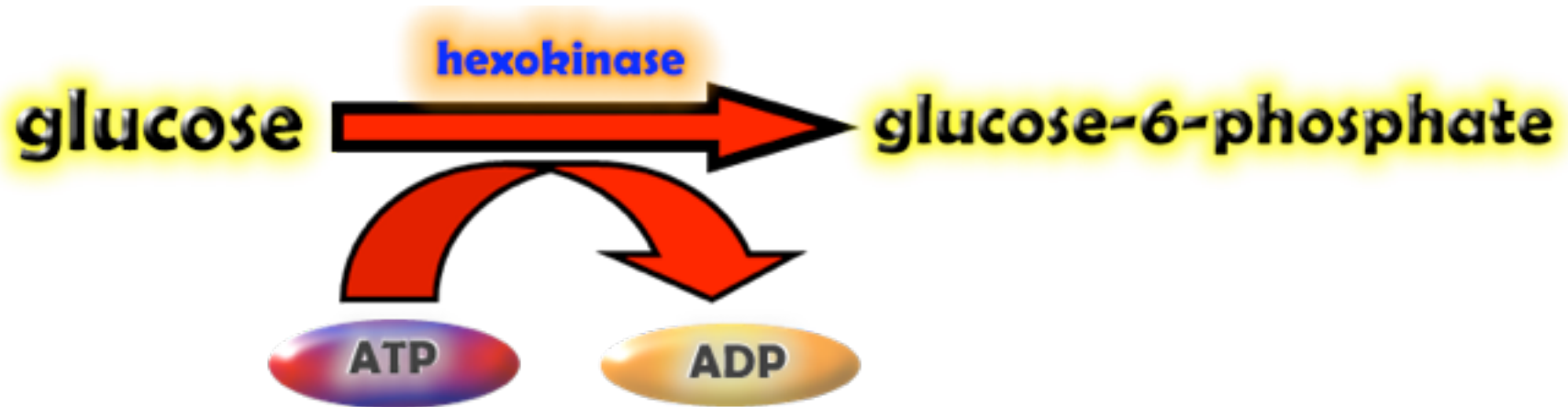
mmol.L ⁻¹	Muscle	Foie
ATP	8,05	3,38
ADP	0,93	1,32
Pi	8,05	4,80

$$\Delta G \text{ réel (muscle)} = - 48 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

$$\Delta G \text{ réel (foie)} = - 46,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

Le potentiel énergétique de l'ATP dans une cellule est variable mais toujours très exergonique

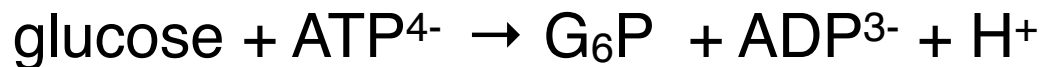
Le couplage énergétique



$$\Delta G^{\circ'} = +13,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$$



$$\Delta G^{\circ'} = -30,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

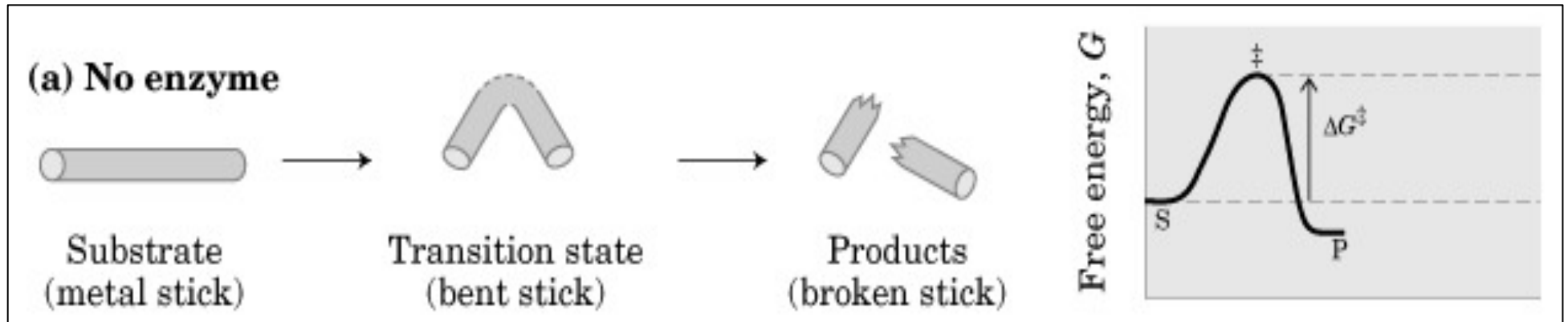


$$\Delta G^{\circ'} = -16,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

★ Couplage chimio-chimique

2. Les enzymes sont des acteurs du métabolisme

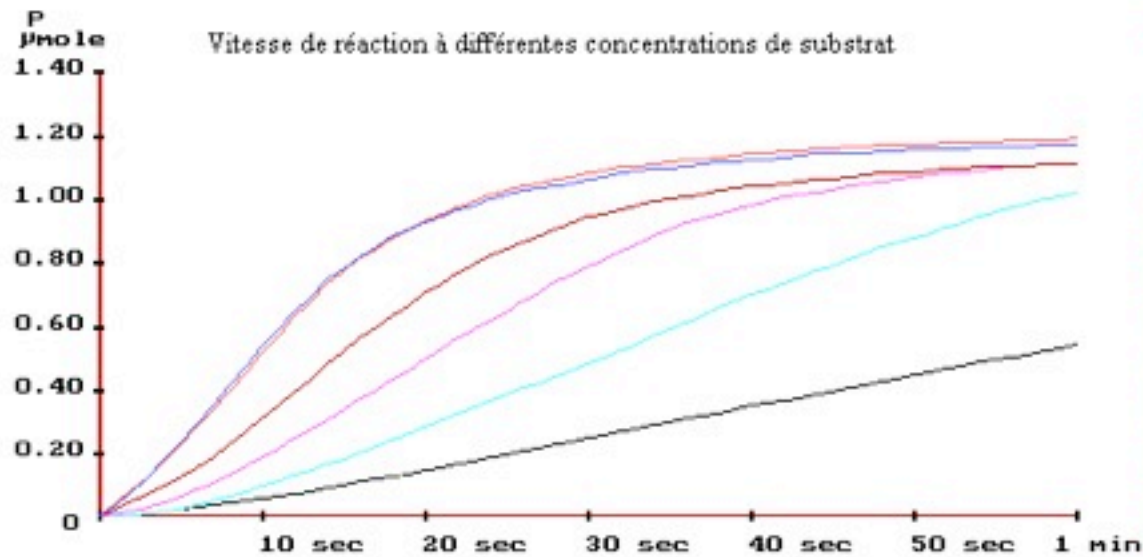
Energie d'activation et état de transition



Catalyseur	-	HCl	Amylase salivaire
Température	37°C	100°C	37°C
Produit final	amidon	glucose	maltose
Durée	infinie !	45 à 50 min	10 à 12 min

Influence de la quantité de substrat

Exemple de la glucose oxydase



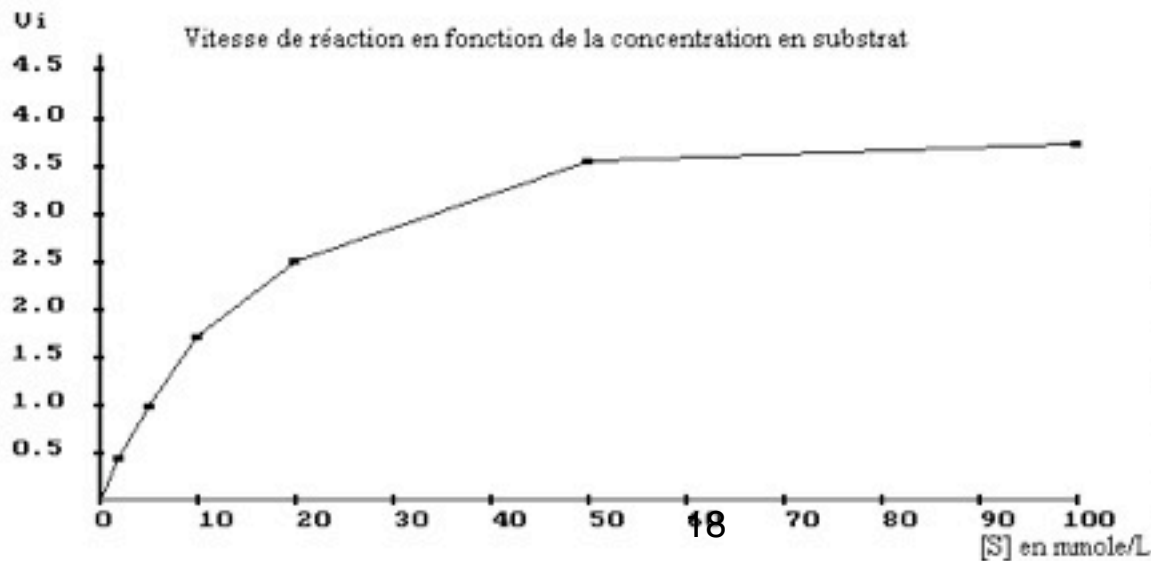
1 : 0

20.0 °C

Conc. O₂
 $\mu\text{mol. L}^{-1}$

5.18

U_i μmoles /min	[S] mmoles /L
0.42	2.0
0.97	5.0
1.71	10
2.49	20
3.53	50
3.72	100

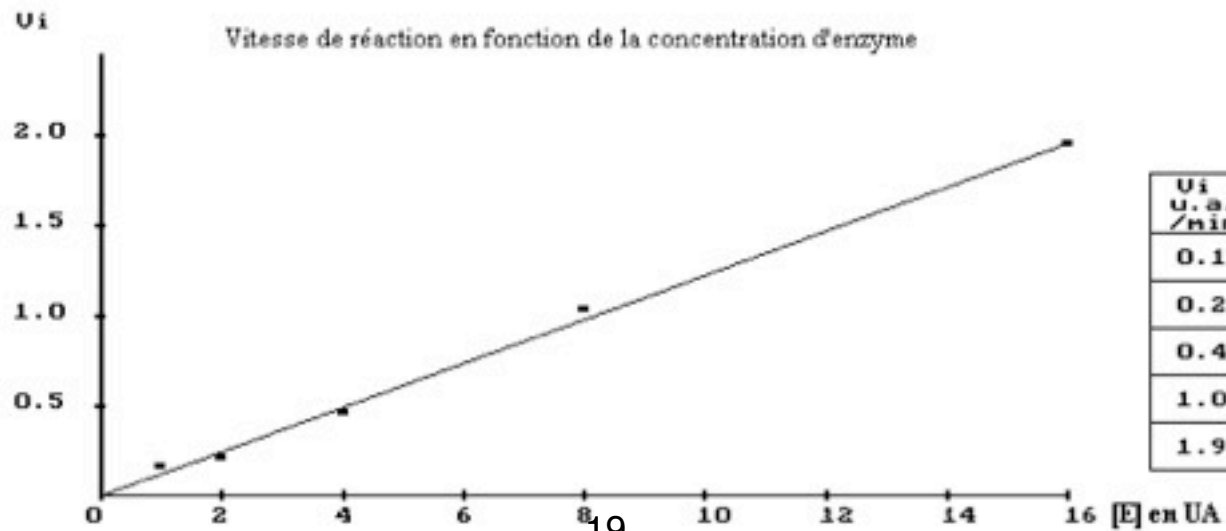
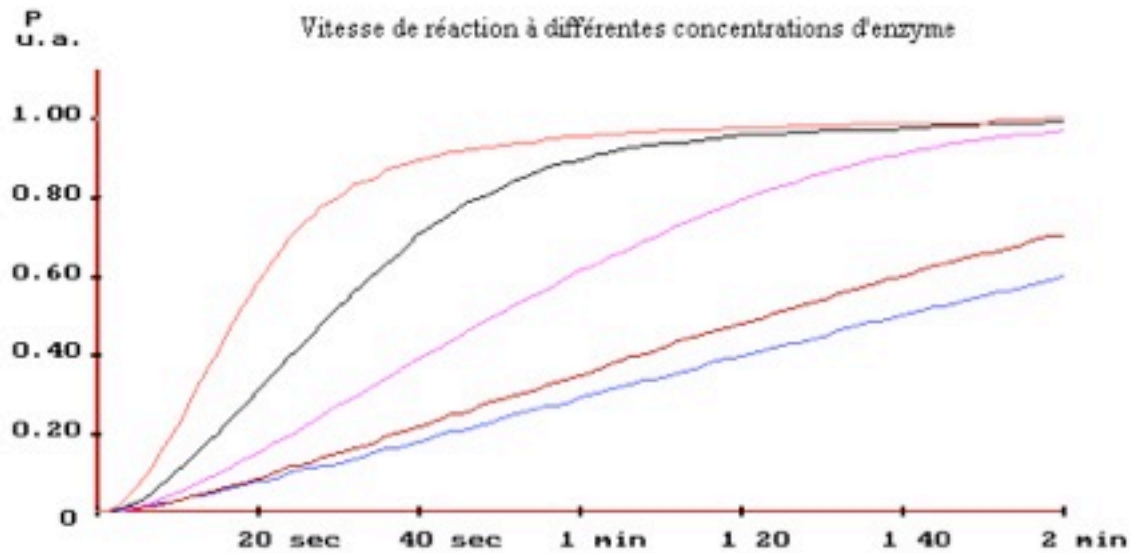


U_i μmoles /min	[S] mmoles /L
0.42	2.0
0.97	5.0
1.71	10
2.49	20
3.53	50
3.72	100

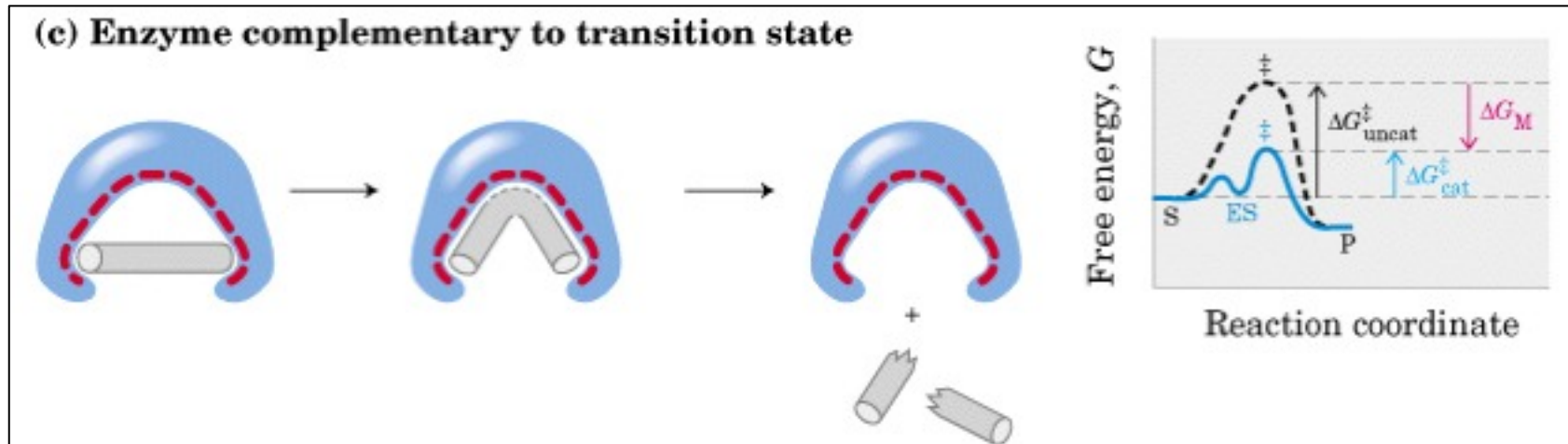
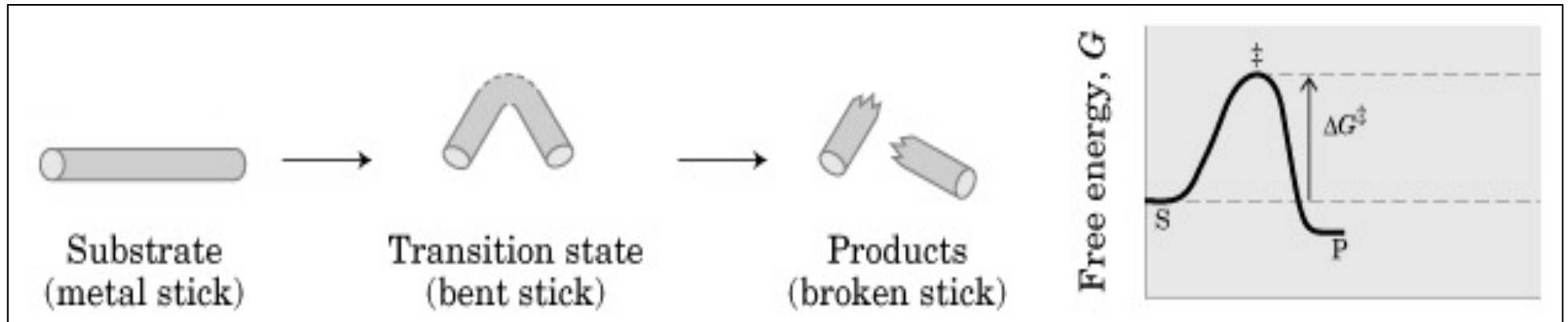
Influence de la quantité d'enzyme



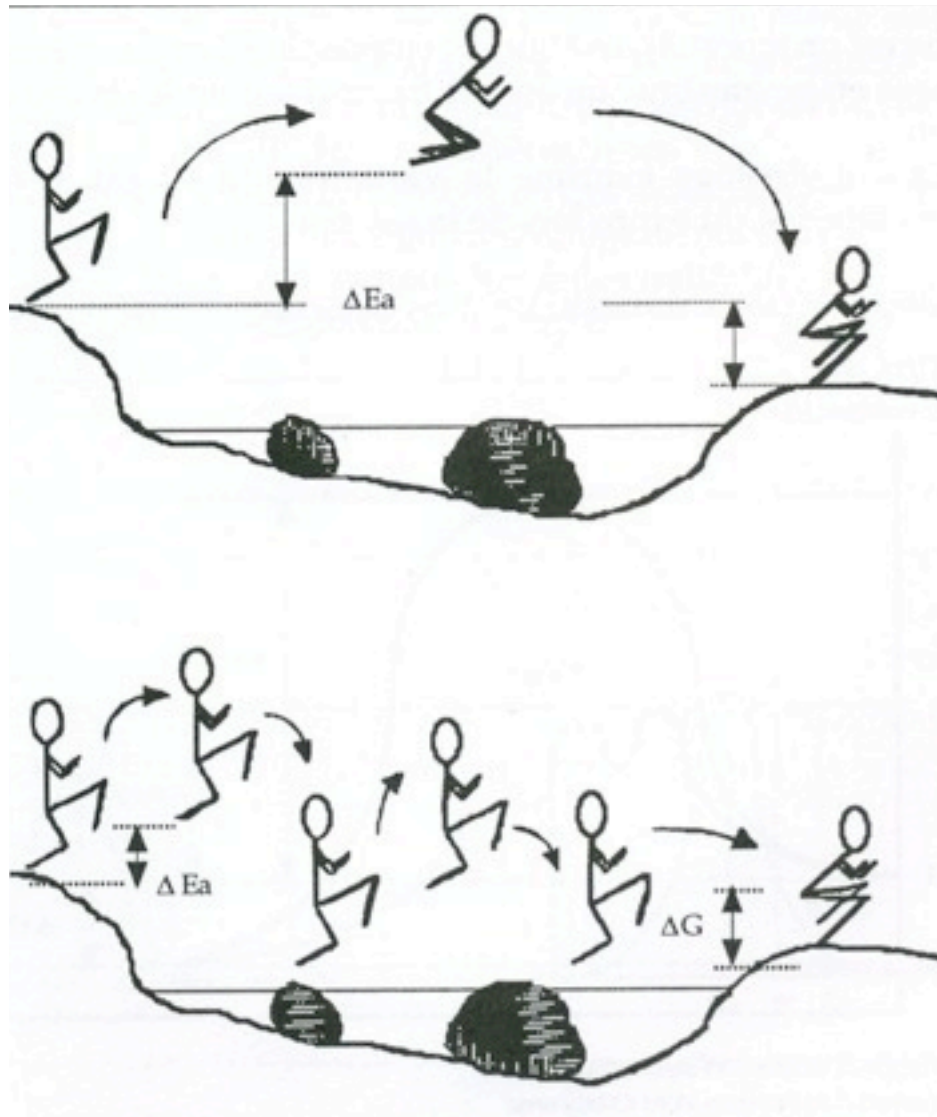
Concentration d'enzyme



Energie d'activation et état de transition

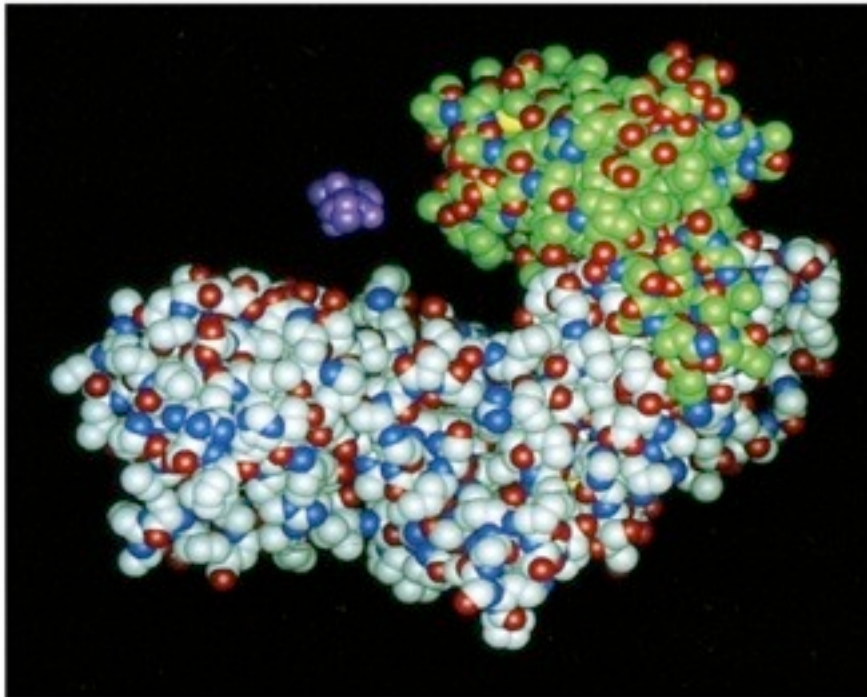


Analogie : l'enzyme réalise des étapes successives



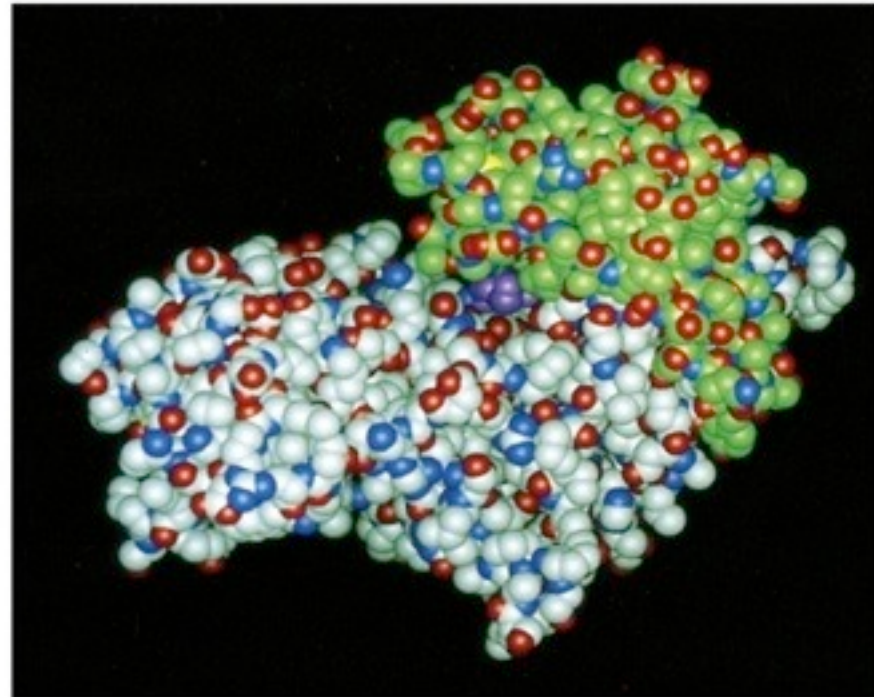
D'après une idée de PELMONT, " Enzymes et catalyseurs du monde vivant ", 1995.
(in : AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).

Hexokinase : 2 lobes délimitant le site actif



(a) Conformation ouverte

© 2008 John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.



(b) Conformation fermée

Les deux lobes subissent une rotation de 12° lors de la fixation du glucose. Ce changement de conformation expulse les molécules d'eau du site actif, enferme la molécule de glucose dont seul dépasse le groupement OH du carbone 6. L'ATP se lie ensuite.

Mode d'action de l'hexokinase (1)



acide aminé catalytique

Asp 205

acide aminé de liaison

Lys 169

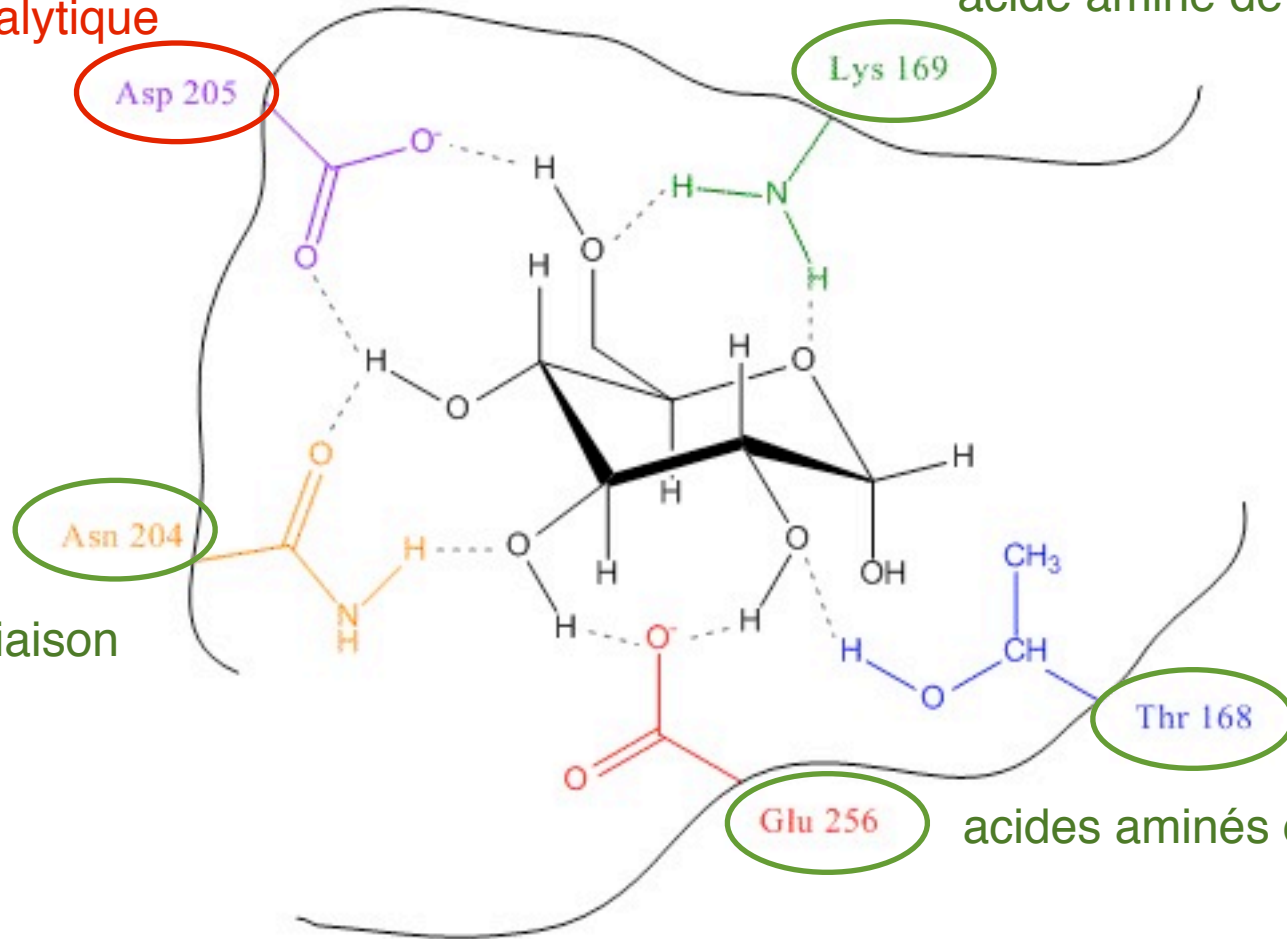
Asn 204

acide aminé de liaison

Thr 168

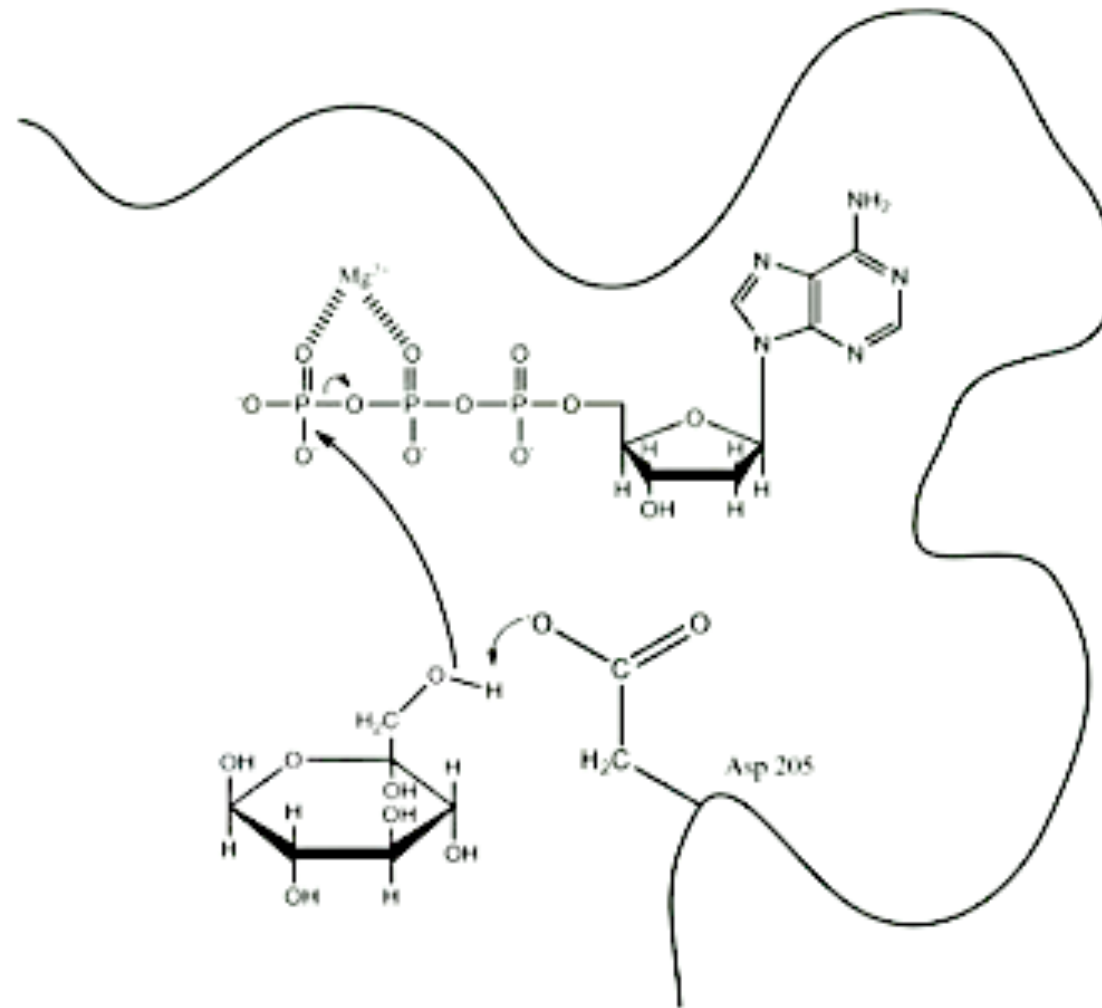
Glu 256

acides aminés de liaison

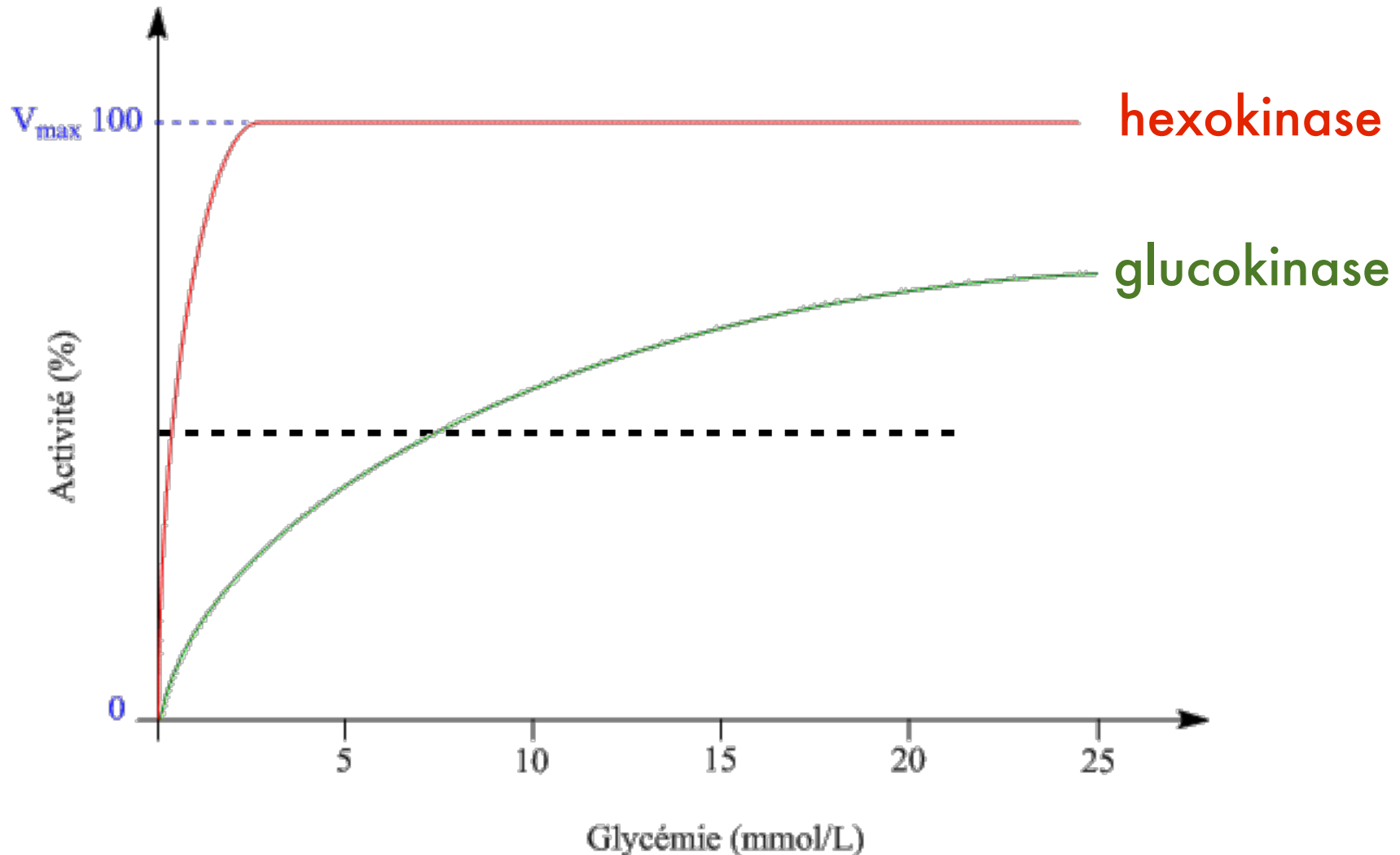


Légende : Représentation schématique de la stabilisation du glucose la poche catalytique de l'hexokinase.

Mode d'action de l'hexokinase (2)



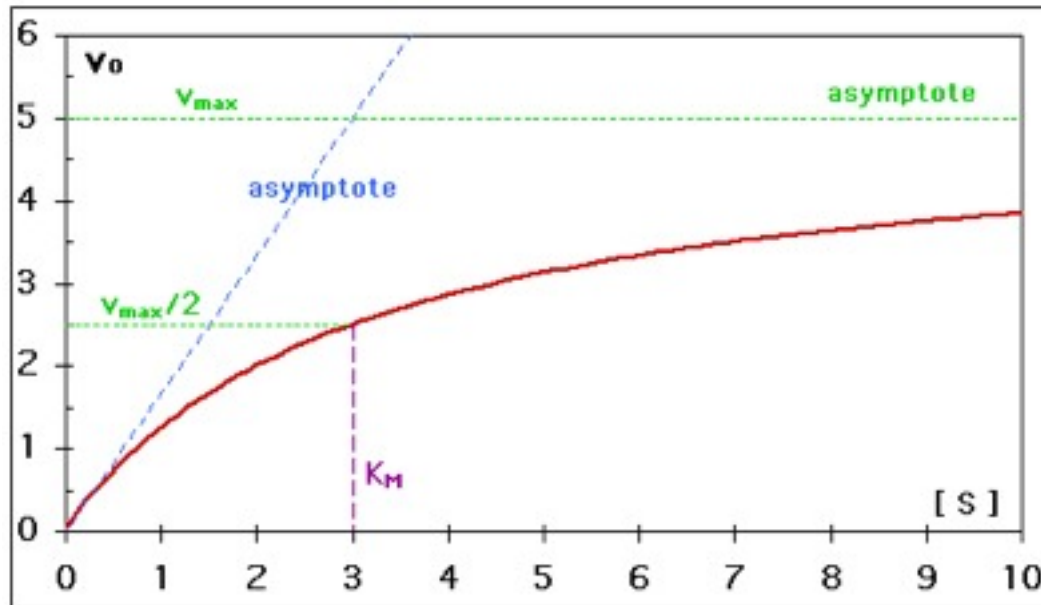
Hexokinase et Glucokinase : 2 isoformes pour une même enzyme



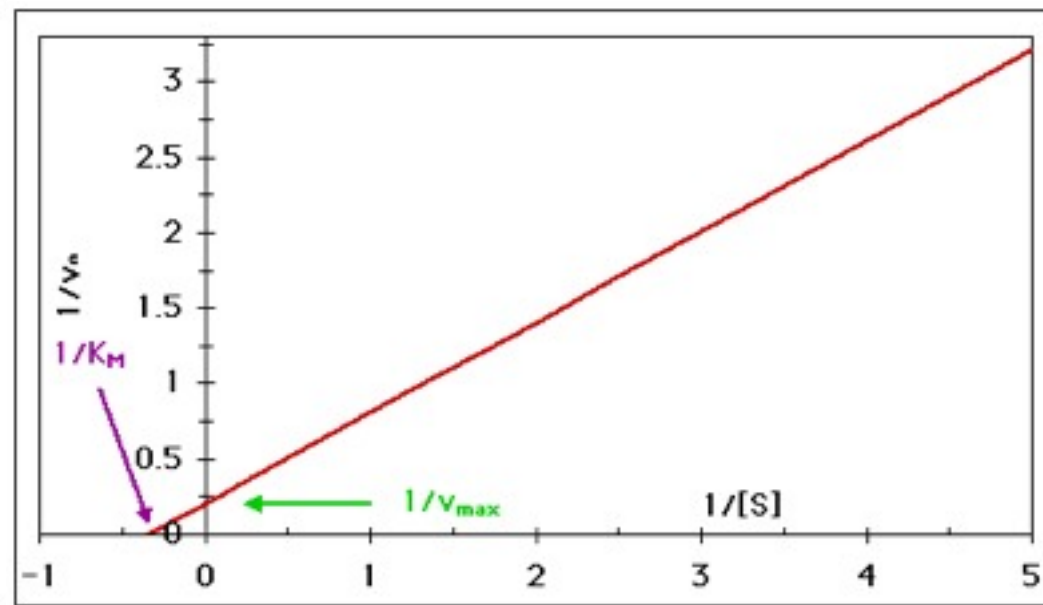
Le représentation en double inverse...



...un moyen efficace de déterminer la vitesse maximale donc d'appréhender l'activité d'une enzyme



difficile de déterminer v_{max} pour $[S]$ infinie



facile de déterminer v_{max} pour $1/[S]=0$

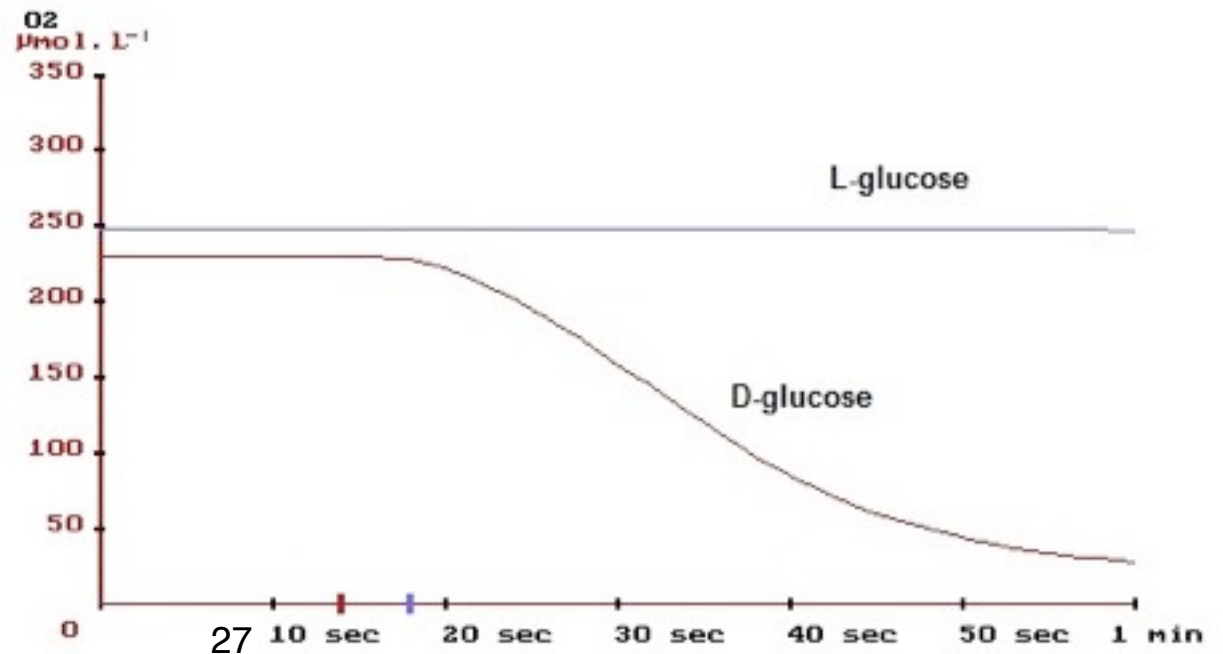
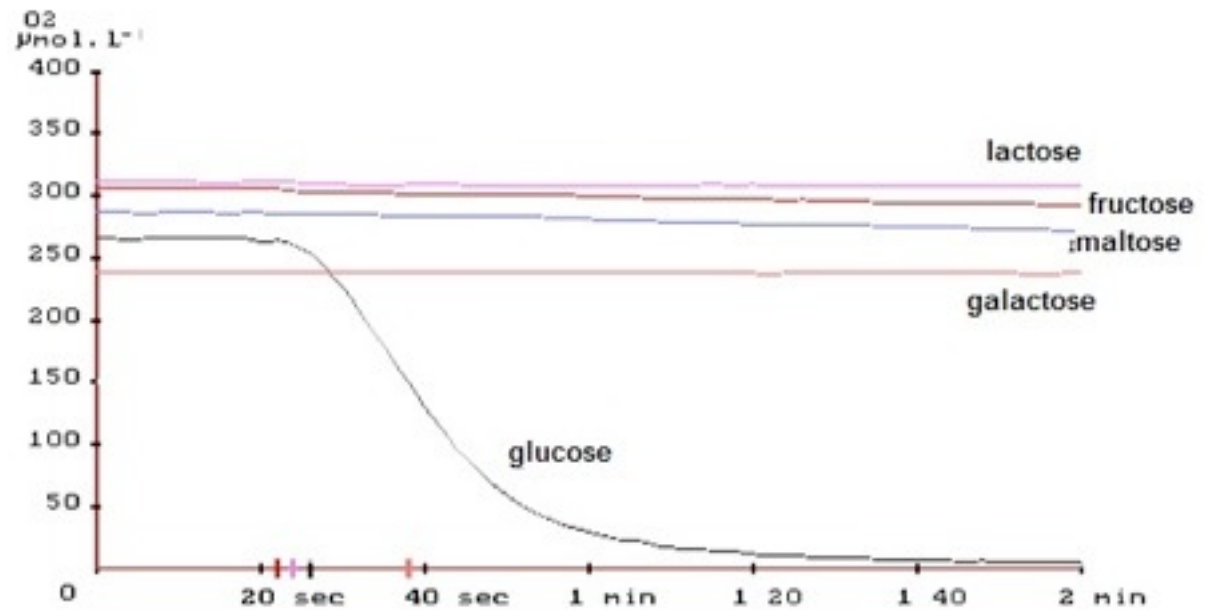
Cela repose sur l'équation de Michaelis-Menten

$$v_0 = \frac{v_{max} [S]}{K_M + [S]} \quad \text{qui devient} \quad \frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{v_{max}}$$

Spécificité de substrat



Exemple de la
glucose oxydase

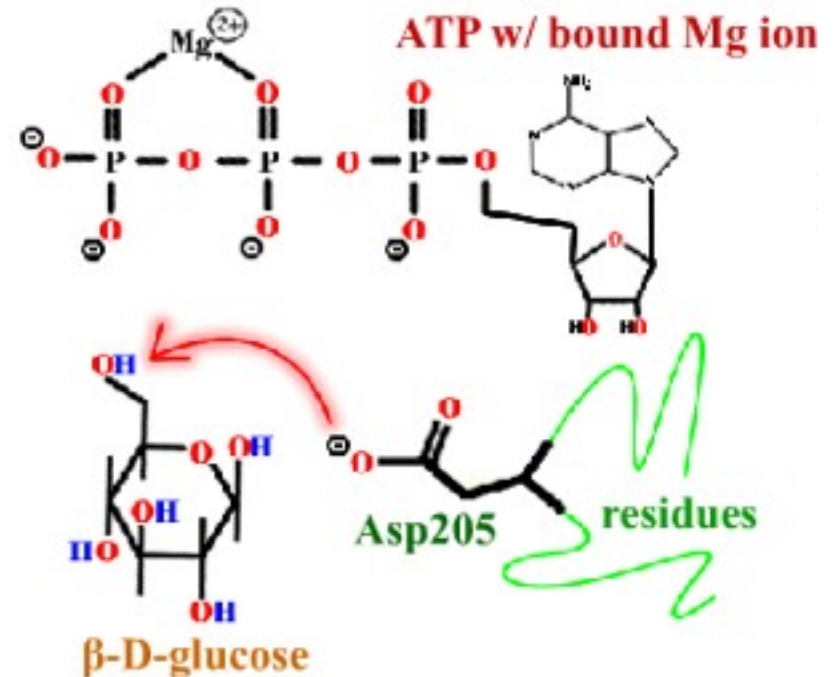
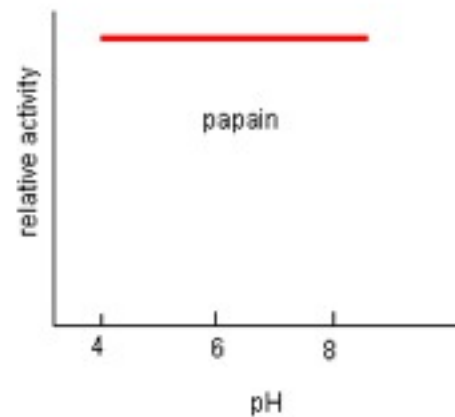
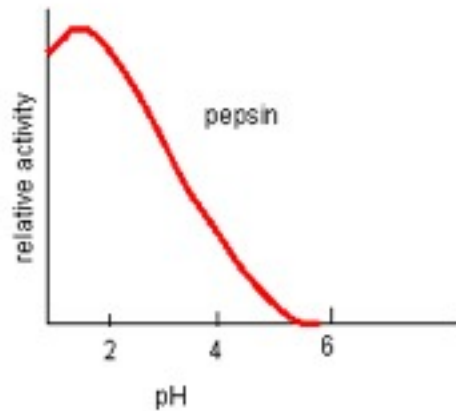
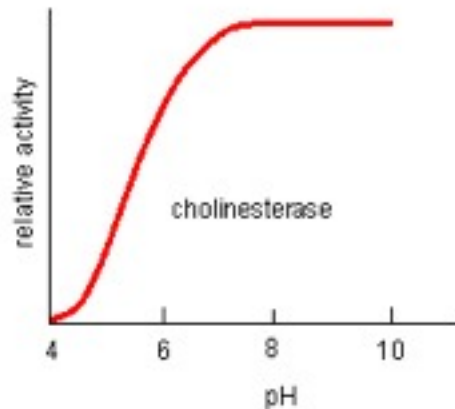
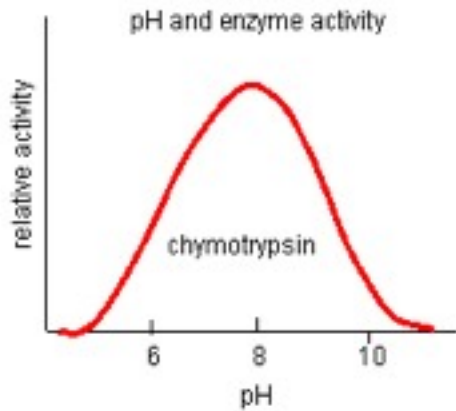


Spécificité de réaction



Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH</p>	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	<p>A + B ⇌ A-B</p>	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	<p>A ⇌ Iso-A</p>	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	<p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP</p> <p>X = A, G, U, C</p>	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

Sensibilité au pH



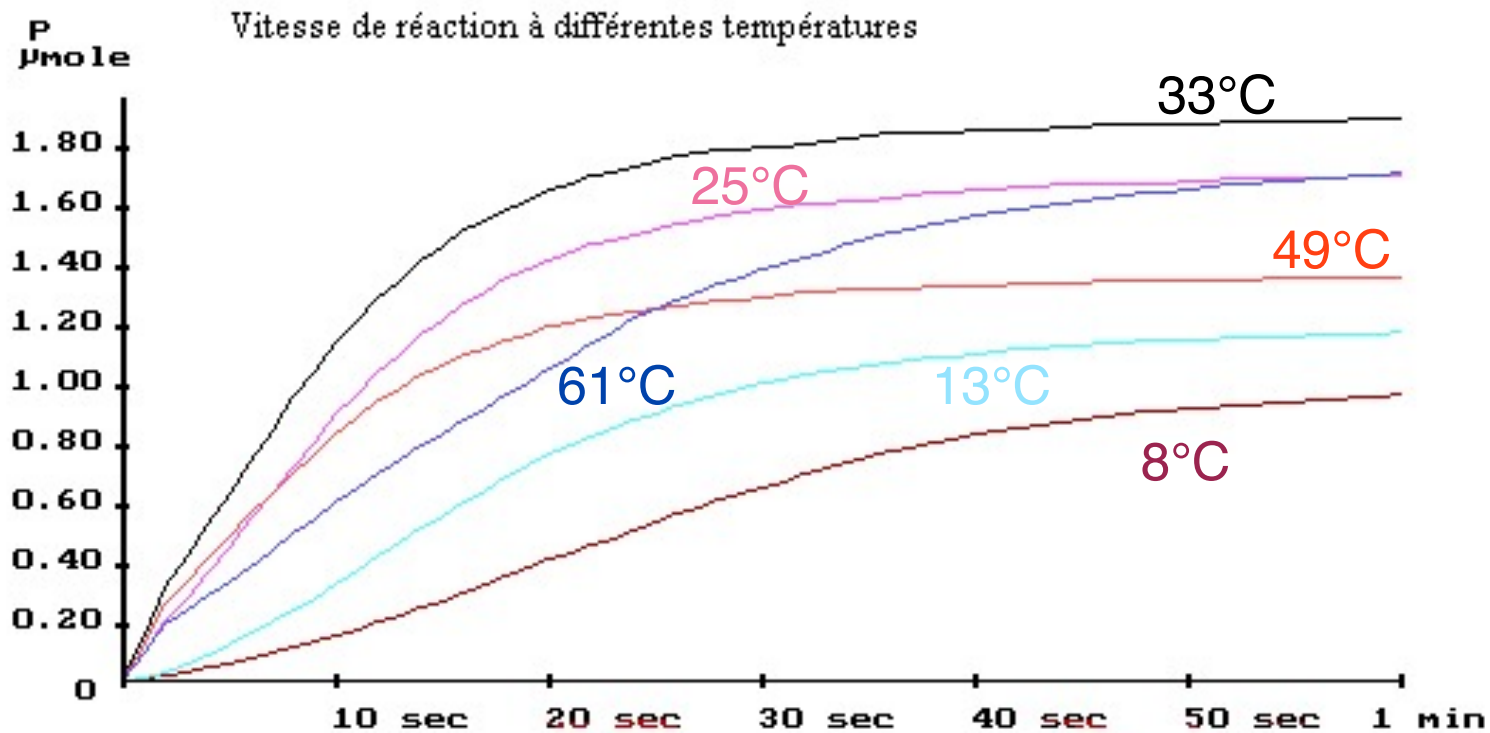
Des exemples d'influence de pH

Effet du pH sur l'hexokinase
Asp205 doit être sous la forme COO^-
pour être actif

Effet de la température



Etude de la glucose oxydase



1 : 0

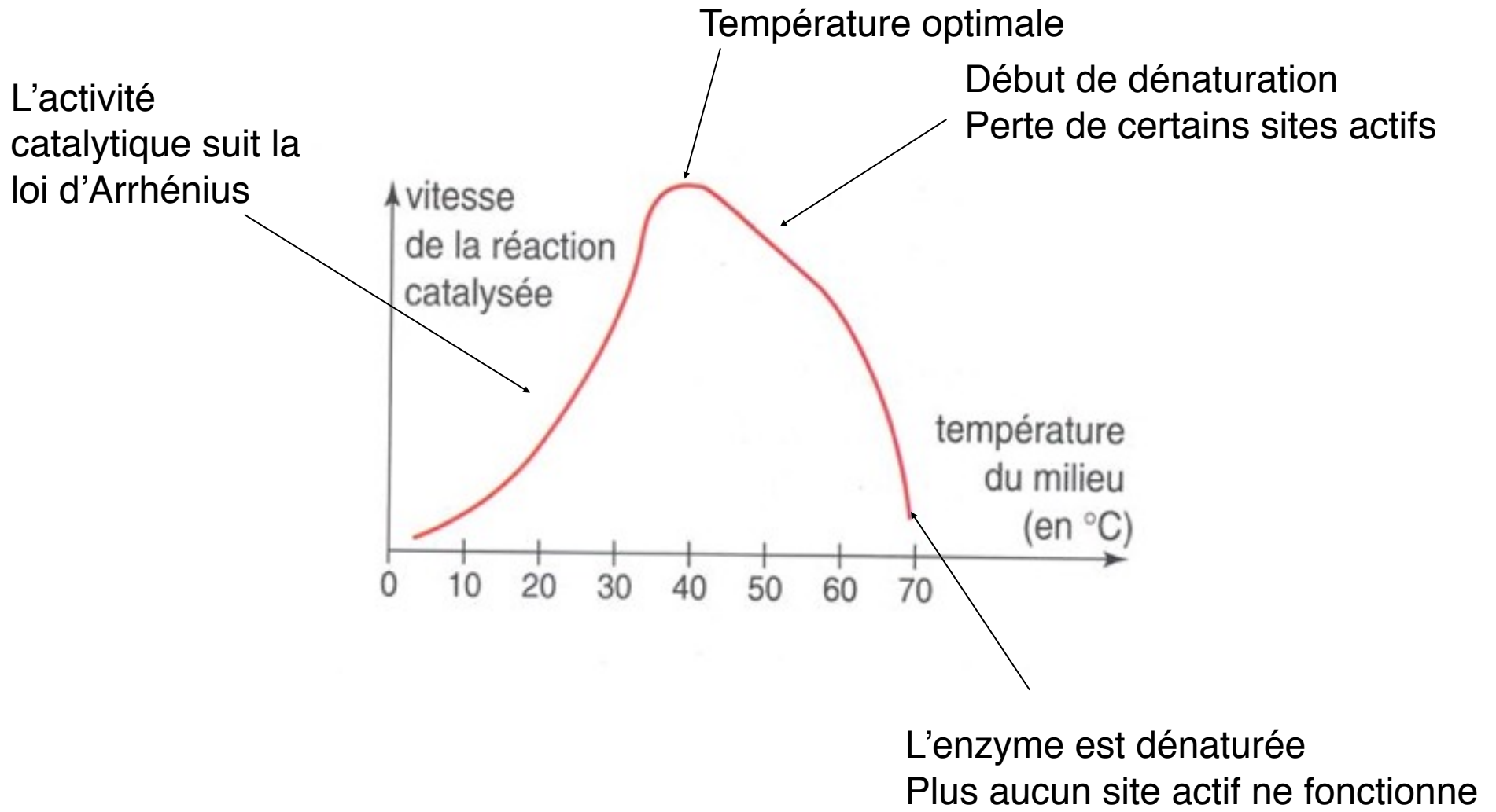
61.0 °C

Conc. O₂
 $\mu\text{mol. L}^{-1}$

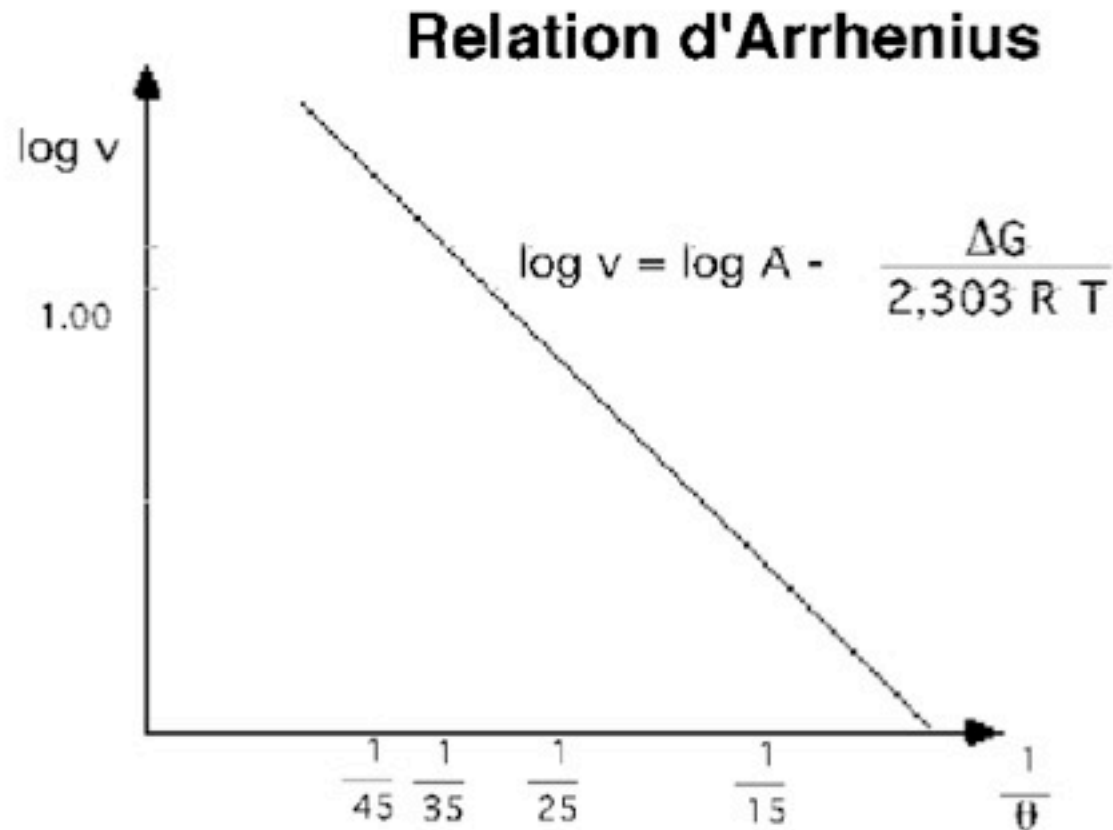
17.4

Vi $\mu\text{moles /min}$	Temp. °C
1.22	8.0
2.53	13.0
5.30	25.0
6.06	33.0
4.11	49.0
3.21	61.0

Effets de la température sur l'activité enzymatique



Loi d'Arrhénius



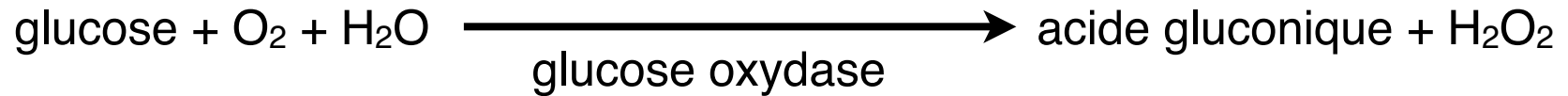
EE 60

- La vitesse de réaction pour les températures non dénaturantes (ici en dessous de 45°C.) est reliée à la température par la relation d'Arrhenius qui montre que le logarithme de cette vitesse est inversement proportionnel à l'inverse de cette température.

La cinétique michaélienne



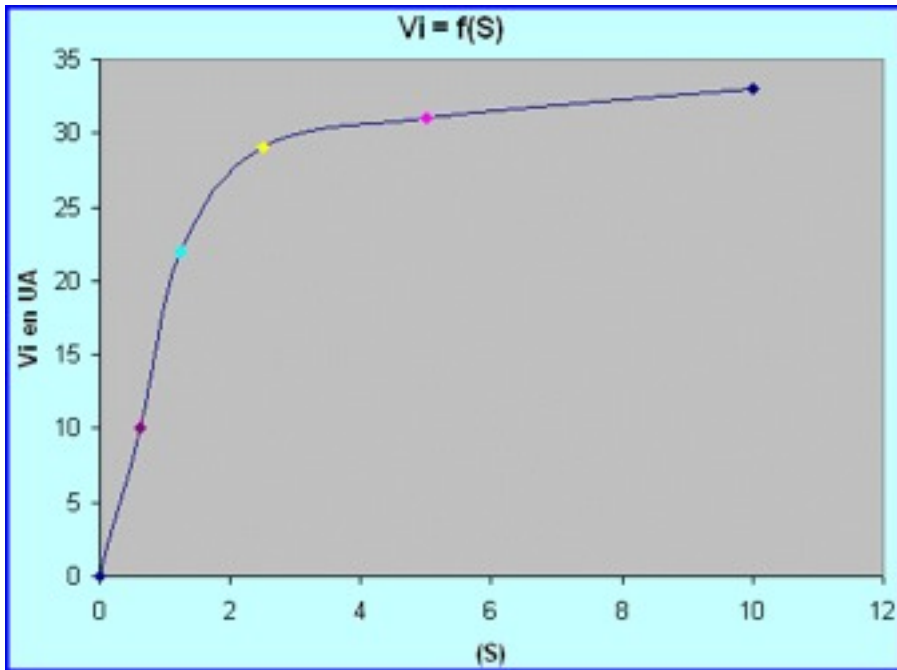
Séance de travaux pratiques : la glucose oxydase



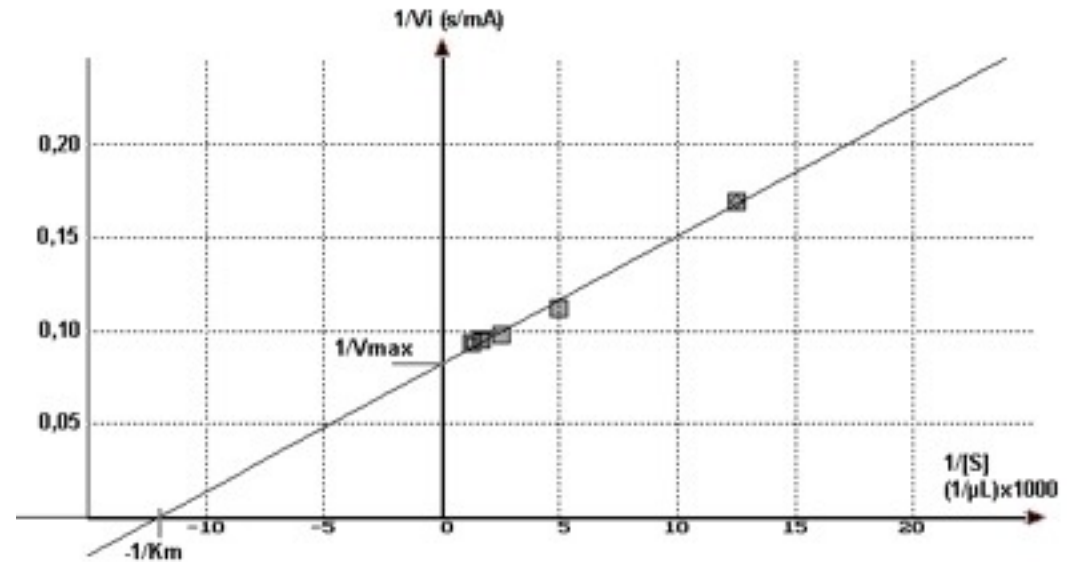
METHODE

- 1) étude de la cinétique pour diverses concentrations de substrat
- 2) détermination de la vitesse initiale pour chaque concentration
- 3) tracé de la vitesse initiale en fonction de la [glucose] ou par la méthode des doubles inverses
- 4) déduire les valeurs de v_{\max} et K_M
- 5) calcul de $k_{\text{cat}} = \frac{v_{\max}}{[E]_{\text{totale}}}$

La cinétique michaélienne



représentation en double inverse



snv.jussieu.fr

- courbe hyperbolique avec asymptote horizontale ;
- v_{max} est obtenue à saturation de l'enzyme : elle représente donc l'activité catalytique de l'enzyme ;
- K_M (constante de Michaelis) représente l'inverse de l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

Quelques valeurs de k_{cat}

Enzyme	Substrat	K_M (mM)	k_{cat} (s^{-1})
Acétylcholinestérase	Acétylcholine	0.095	14 000
Anhydrase carbonique	CO_2	12	1 000 000
Catalase	H_2O_2	25	40 000 000
Fumarase	Fumarate	0.005	800
Uréase	Urée	25	10 000
Lysozyme	hexa N acetylglucosamine	0.006	0.5

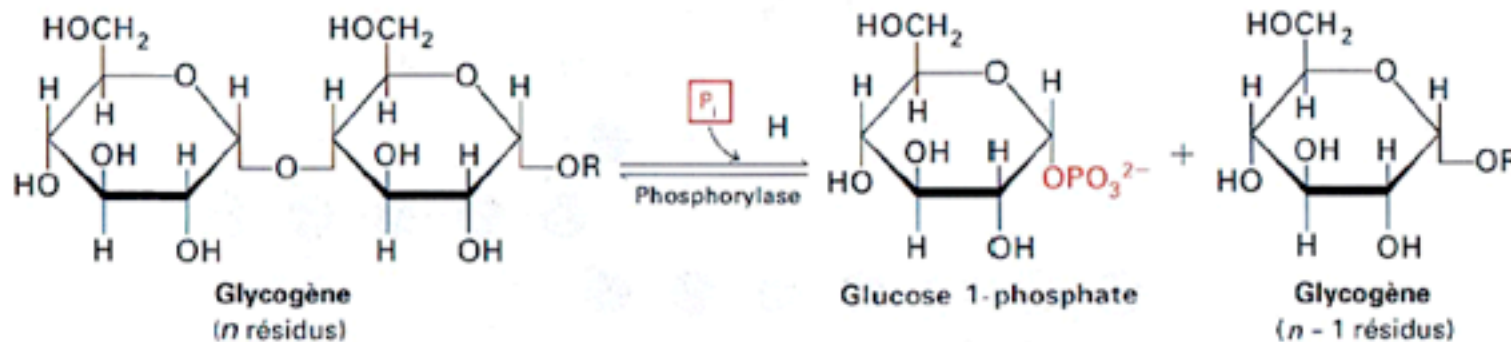
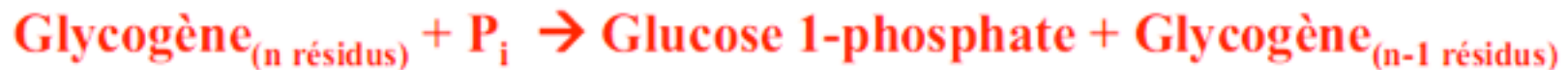
k_{cat} représente l'activité catalytique de l'enzyme.

C'est la catalase qui a la plus grande activité catalytique connue, chaque enzyme est capable de dégrader 40 millions de molécules par seconde. La RubisCO (3 cycles par seconde) ou le lysozyme sont des enzymes dites «paresseuses».

La glycogène phosphorylase (1)



La **glycogène phosphorylase** catalyse la dégradation du glycogène à partir de l'extrémité non réductrice (scission de la liaison α -1,4)



ΔG° de la réaction est près de zéro, mais car la concentration de P_i est 100 fois plus haute que celle du G1P (donc ΔG réel < 0), la réaction vers le G1P est favorisée (et ça explique pourquoi synthèse et dégradation sont des voies différentes).

La glycogène phosphorylase (2)



→ Le glucose 1 -P ne peut pas diffuser hors de la cellule (il est chargé).

→ Il est converti en glucose 6-P grâce à la **phosphoglucomutase**.

Le glucose 6-P entre dans la glycolyse.

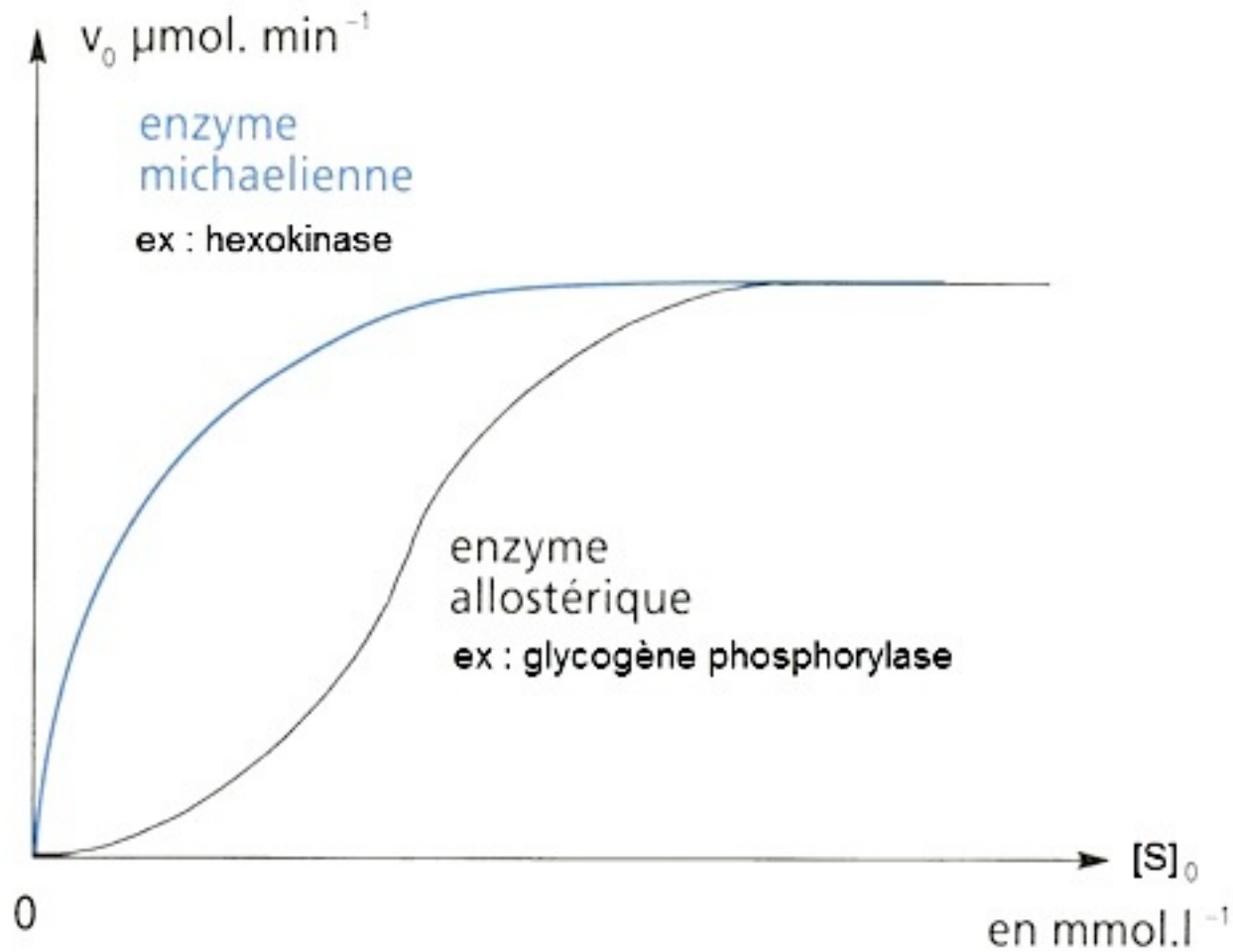


Dans la cellule hépatique :

La glucose – 6 – phosphatase catalyse la suppression de la charge portée par le glucose – 6P, qui peut alors sortir de la cellule.



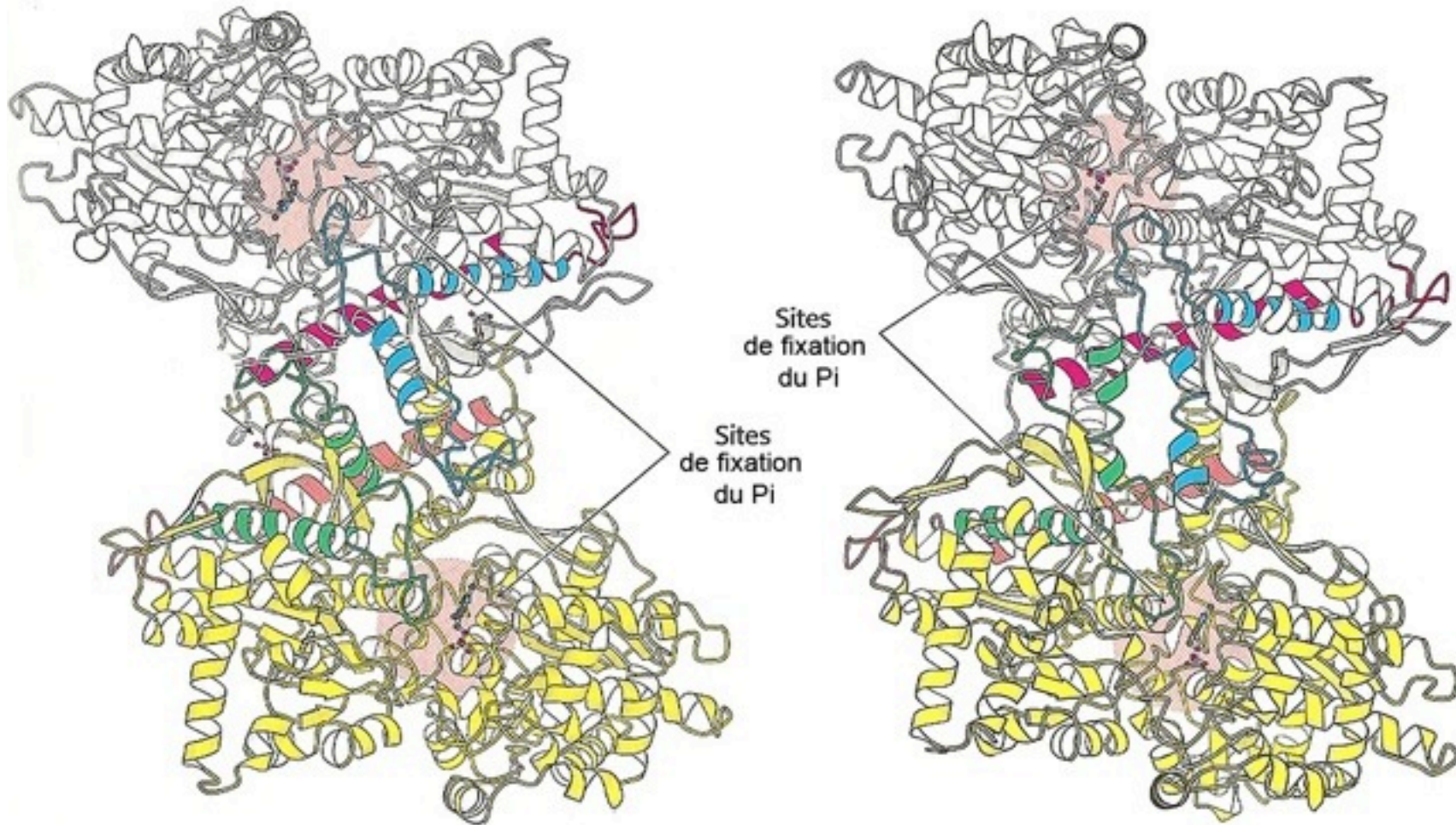
La cinétique allostérique



La glycogène phosphorylase (3)



La glycogène phosphorylase dans l'état R et dans l'état T
Dans l'état T, le site de fixation du phosphate est partiellement fermé.



Etat R

Etat T

BILAN

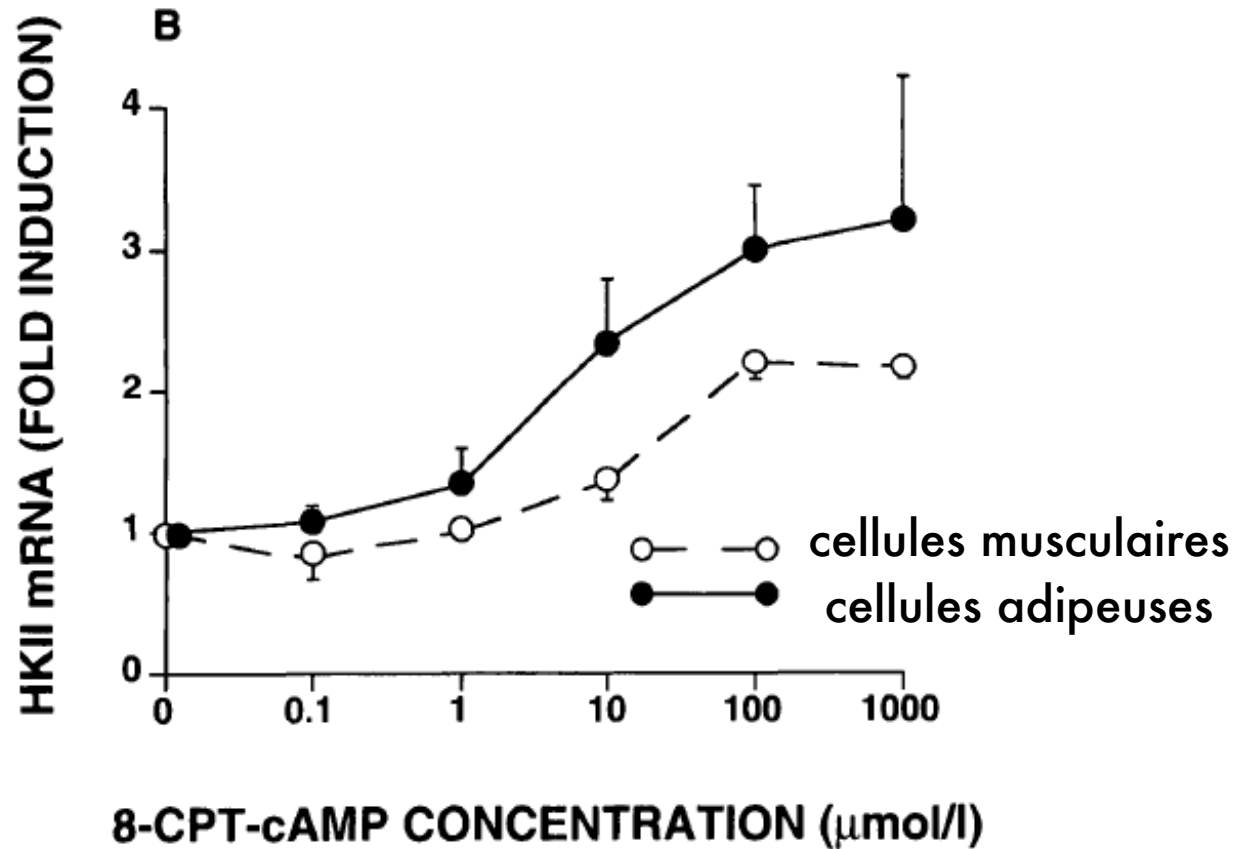


Enzyme = catalyseur biologique, fonctionnant à des pressions et températures compatibles avec la vie des cellules

Catalyseur = substance qui accélère une réaction thermodynamiquement possible, sans en modifier l'état final et sans intervenir dans l'équation bilan.
Le catalyseur est régénéré en fin de réaction

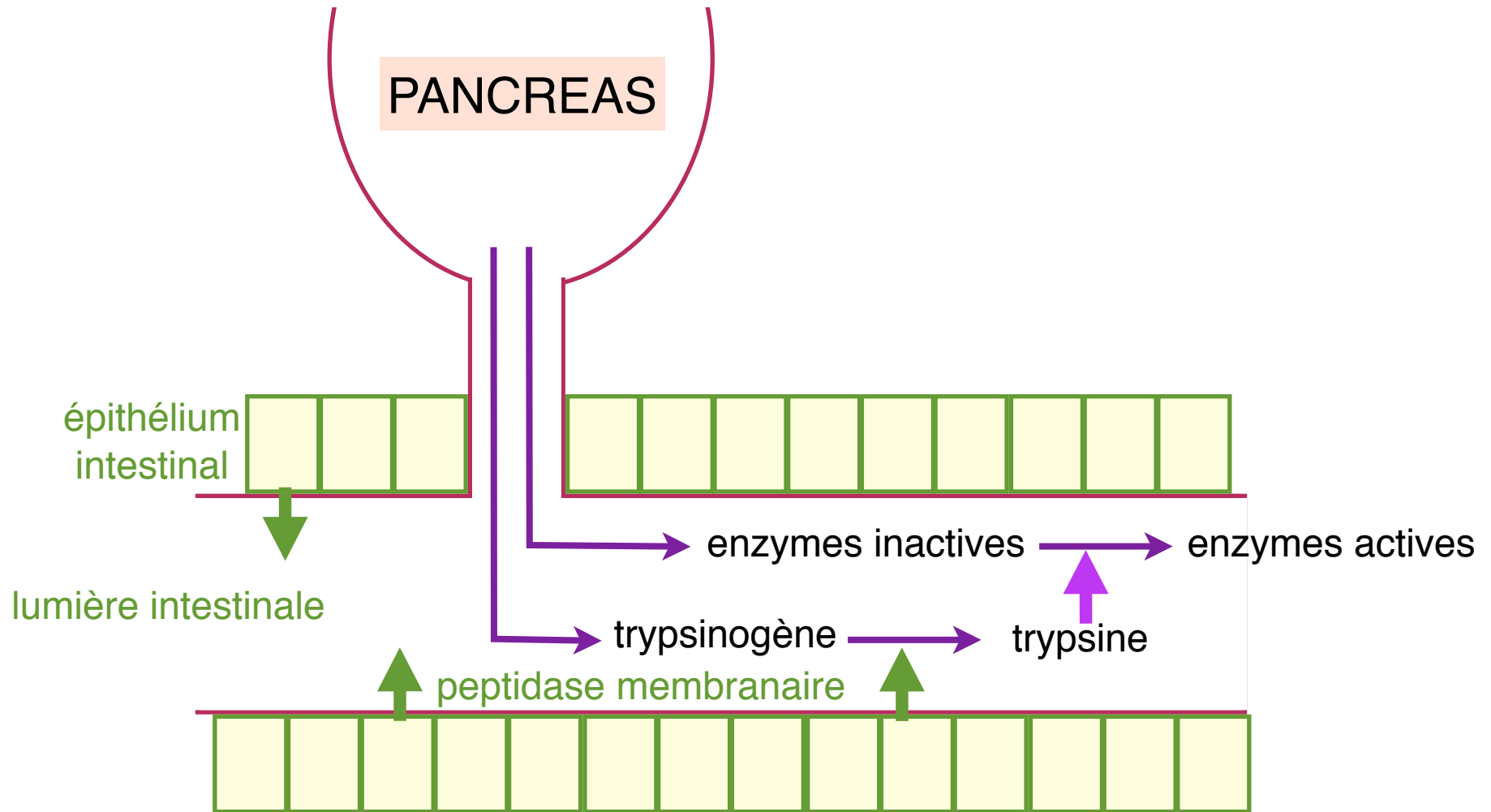
3. Les réactions au sein de la cellule sont contrôlées

La transcription de l'hexokinase est contrôlée



Le taux d'ARNm de l'hexokinase augmente avec la concentration en AMPc, messenger produit par l'action de l'insuline

Les précurseurs inactifs d'enzymes



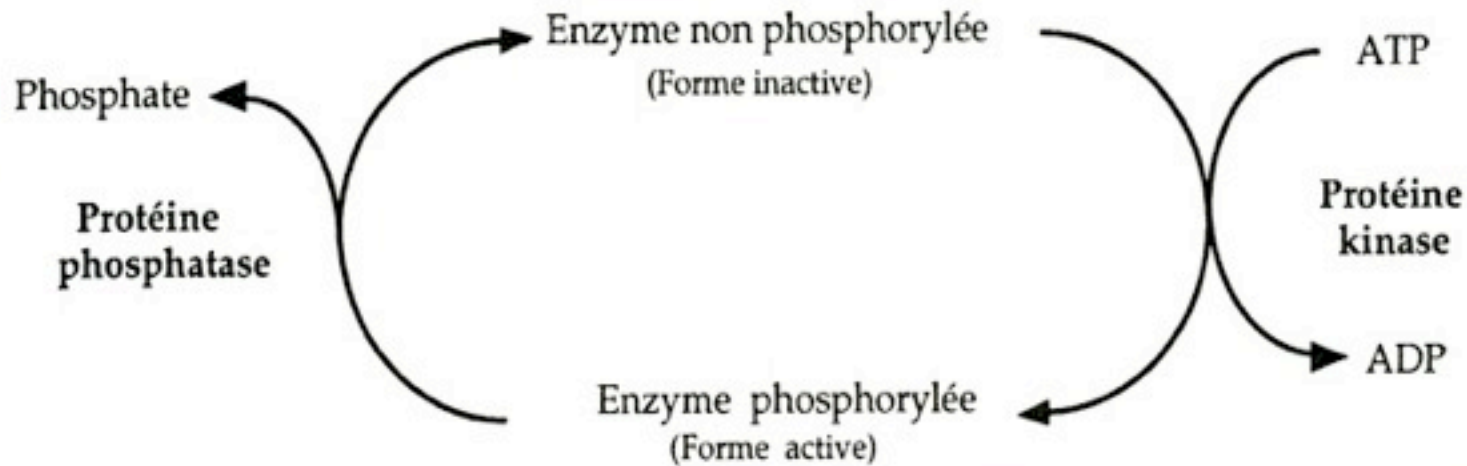
La coupure d'une séquence par une peptidase induit l'activation de l'enzyme

Phosphorylation de la glycogène phosphorylase



moins active

+ active
forme R stabilisée



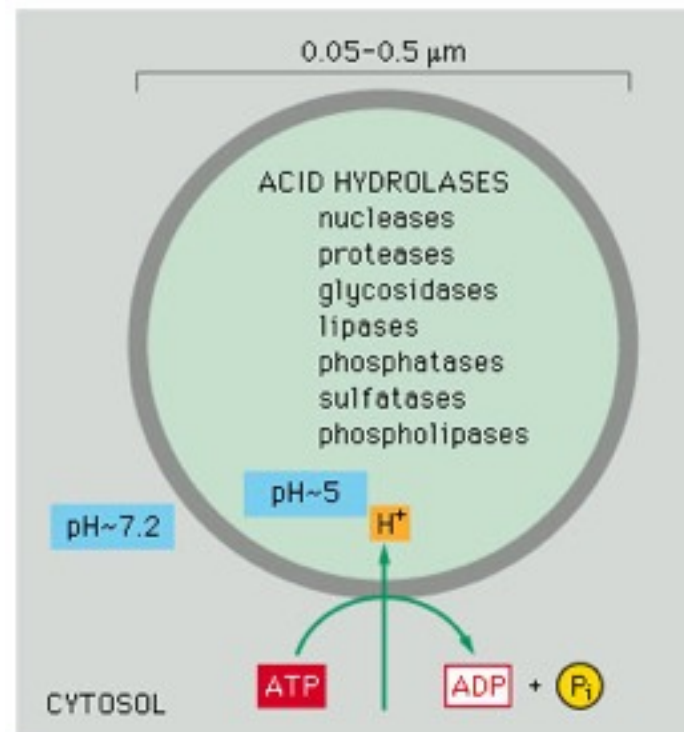
(AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).

La phosphorylation augmente l'efficacité enzymatique d'un facteur 100.

Activation par une variation de pH

Dans les lysosomes, les hydrolases acides sont inactives tant que le lysosome est vide.

Quand des molécules entrent dans le lysosome, une pompe à H^+ acidifie le contenu lysosomal donc active les hydrolases.

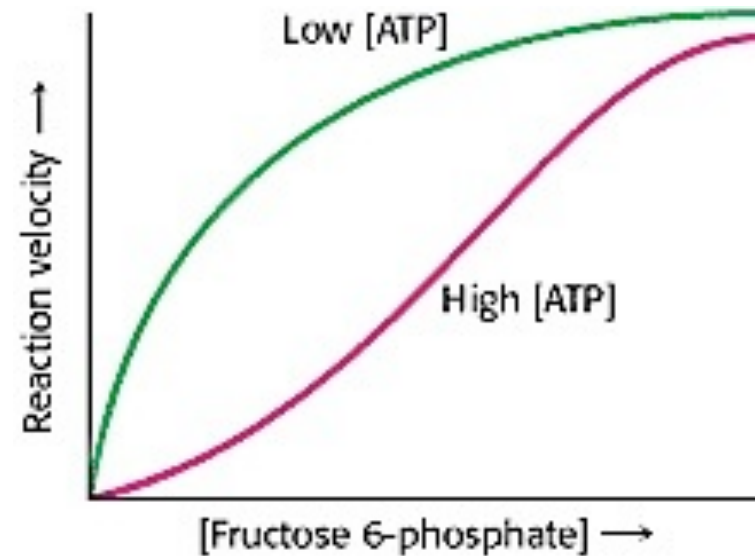
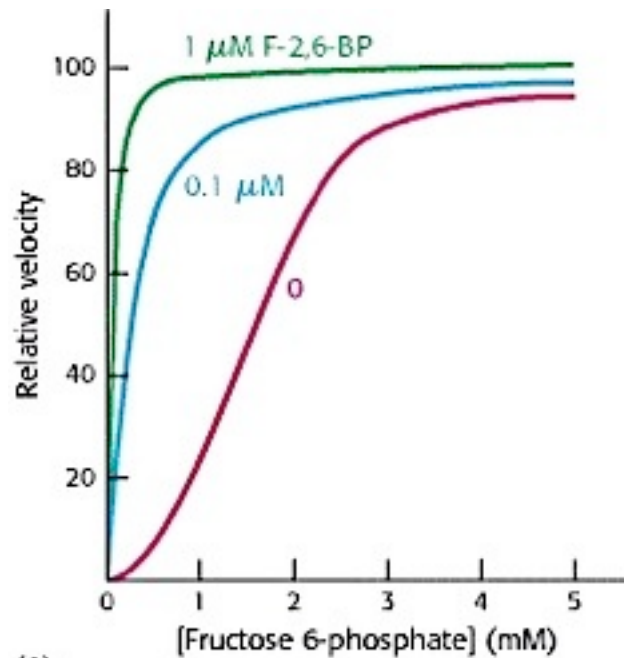


©1998 GARLAND PUBLISHING

Des molécules effectrices



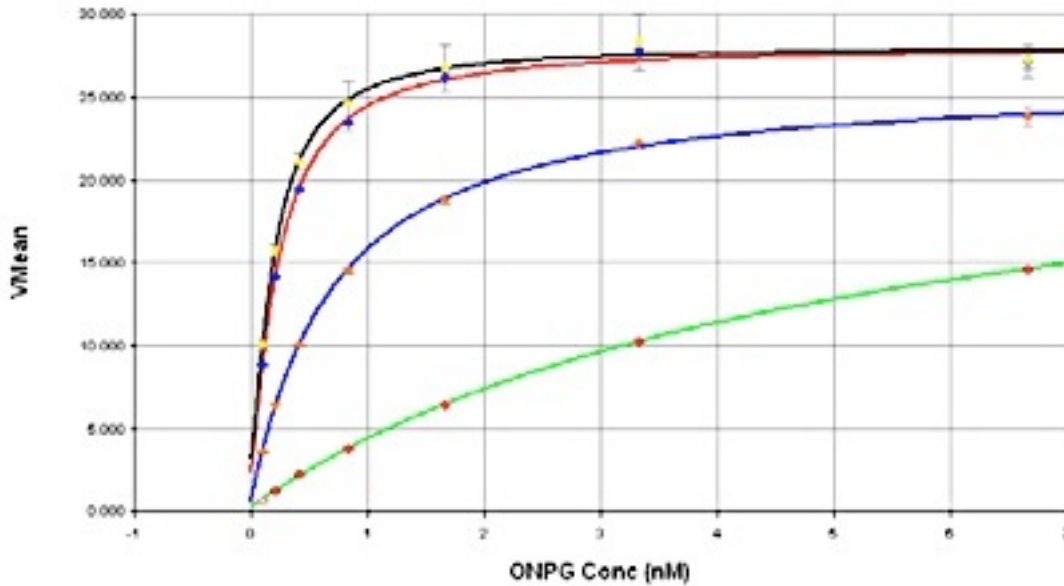
Etude de la phospho-fructo-kinase 1 (PFK1) : enzyme tétramérique



Des molécules effectrices (1)



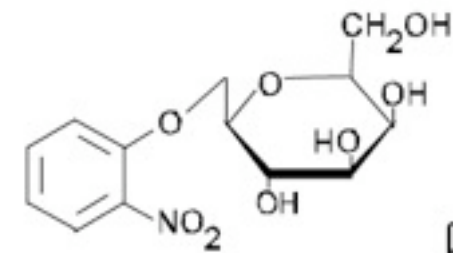
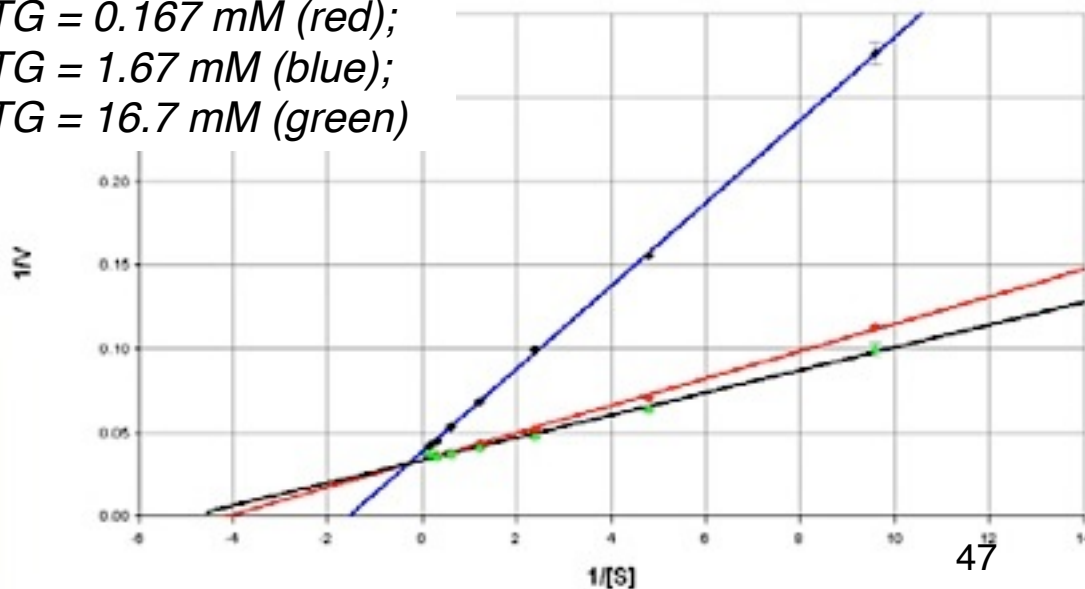
Enzymes michaeliennes et compétition



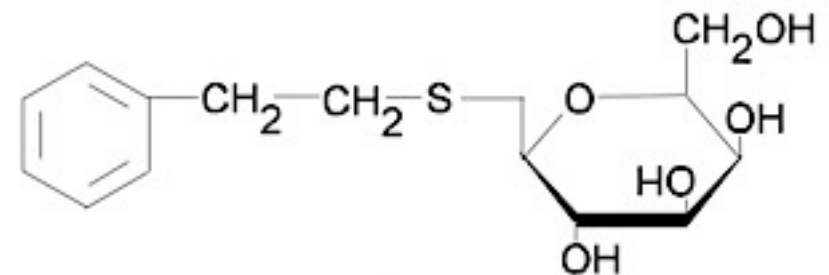
La β -galactosidase a comme substrat le lactose. On peut lui substituer l'ONPG, qu'elle hydrolyse également. L'ajout de PETG modifie la cinétique.

*PETG = 0 mM (black);
PETG = 0.167 mM (red);
PETG = 1.67 mM (blue);
PETG = 16.7 mM (green)*

Lineweaver-Burke Plot



ONPG

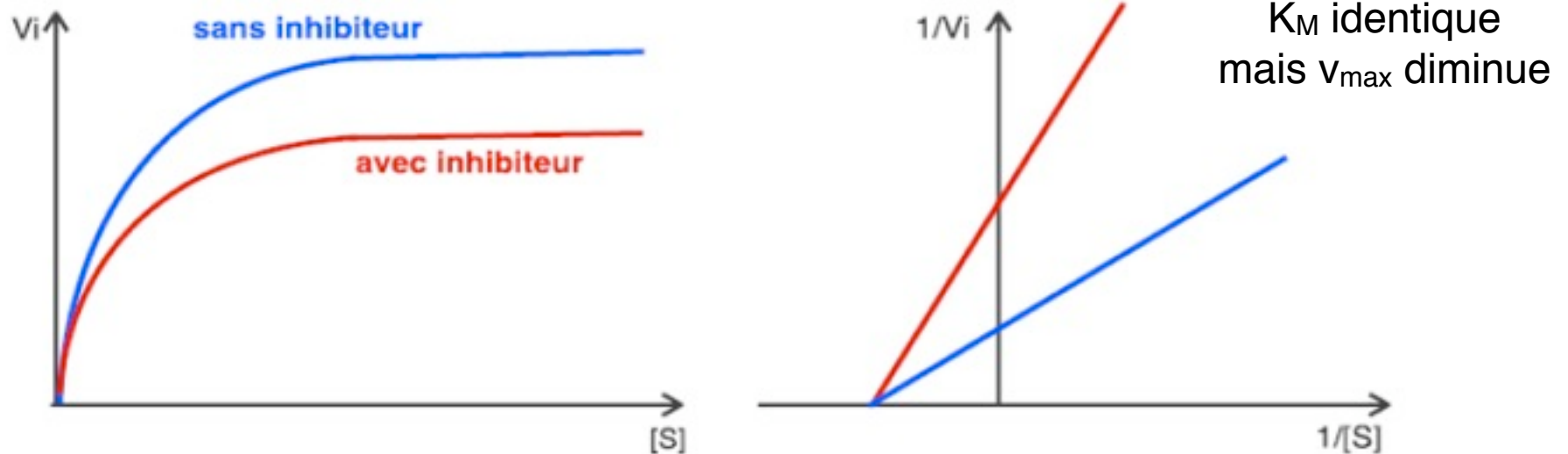


PETG

Des molécules effectrices (2)



Une inhibition non compétitive

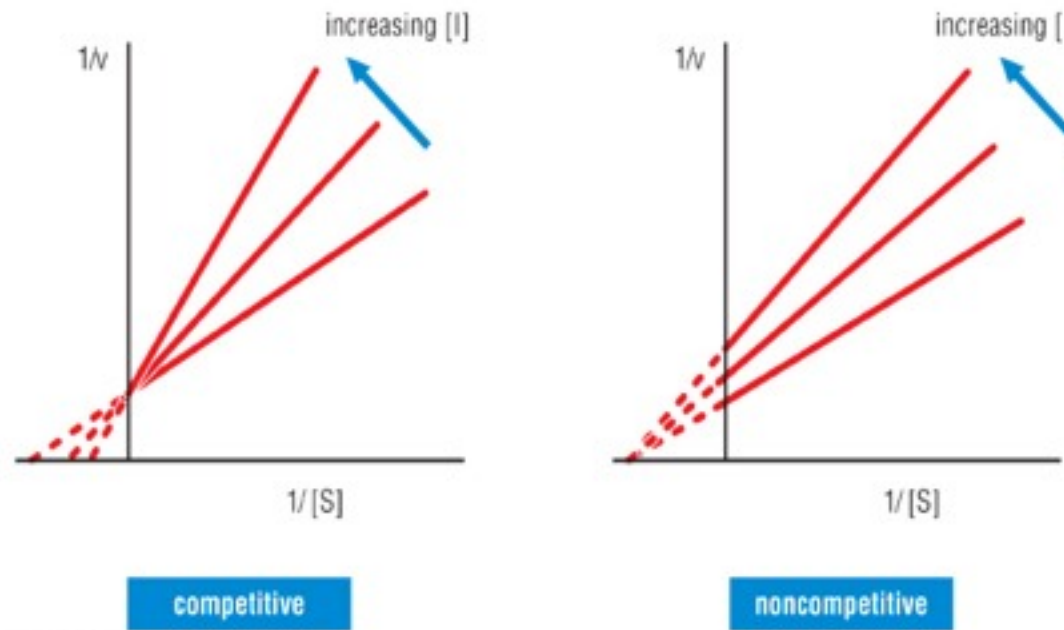


Le plomb va inhiber la ferrochelatase qui sert à la synthèse d'hème, entraînant une intoxication (intoxication au plomb, c'est le saturnisme). Le plomb se lie hors du site actif mais diminue l'activité enzymatique.

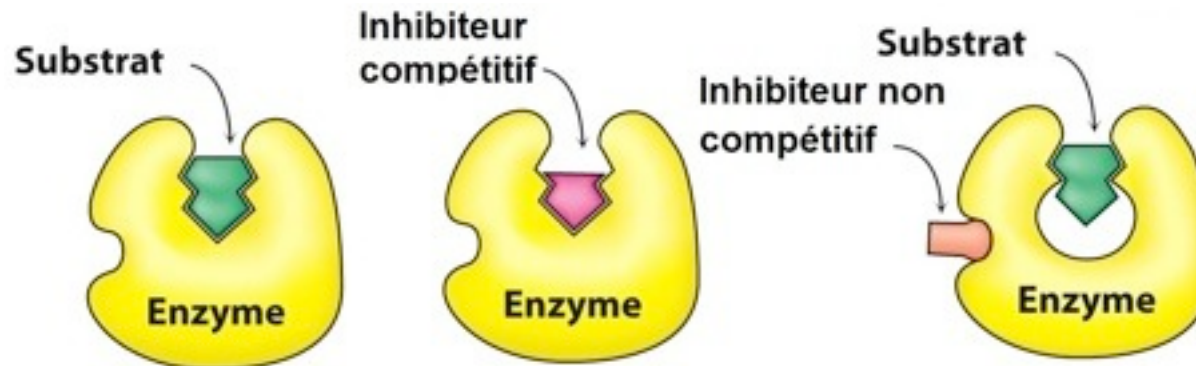
Des molécules effectrices (3)



Enzymes michaeliennes et inhibition



© 1999–2006 New Science Press



Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

Le cas de l'hexokinase



Rétro-action négative du G6P
Action sur un site **allostérique** (= autre que le site actif)

Le produit de la réaction inhibe l'enzyme qui l'a formé.

Effet hétérotrope = effet d'un ligand sur un site différent du site actif

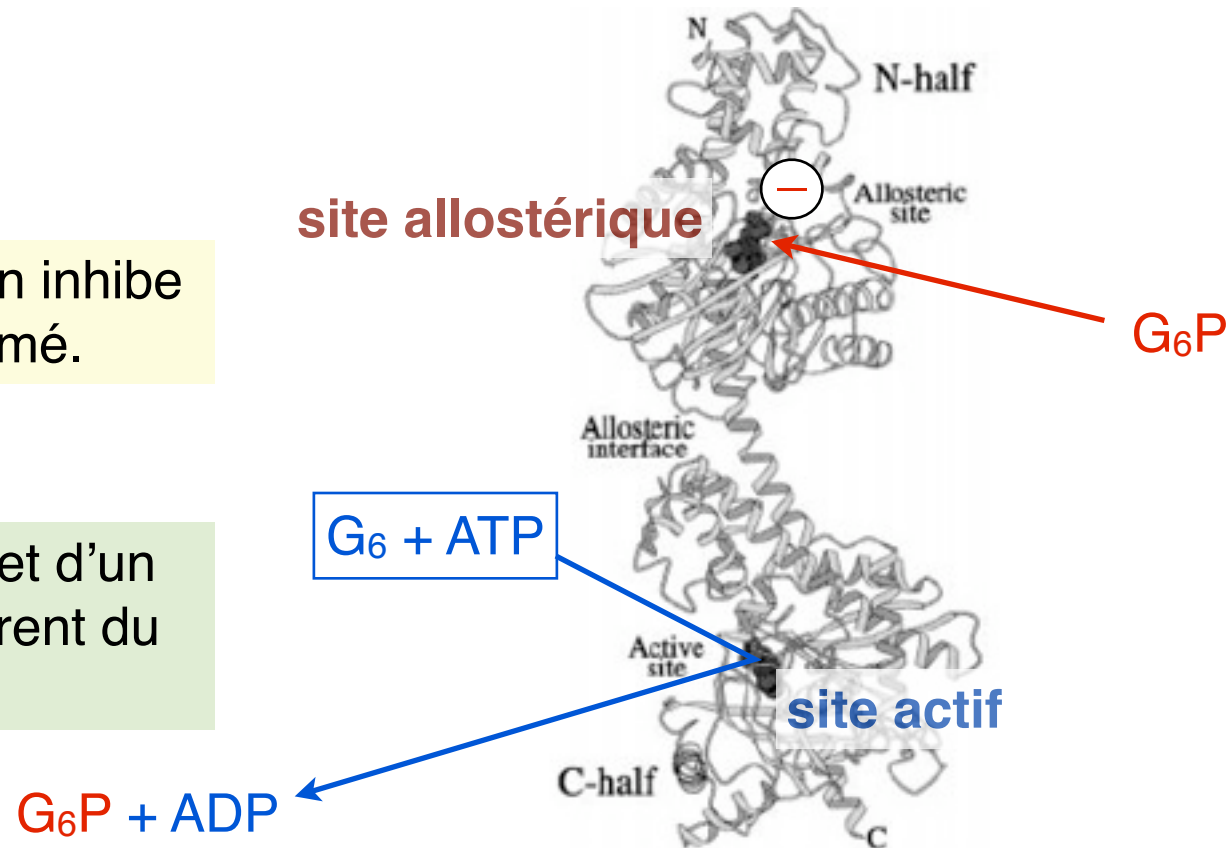
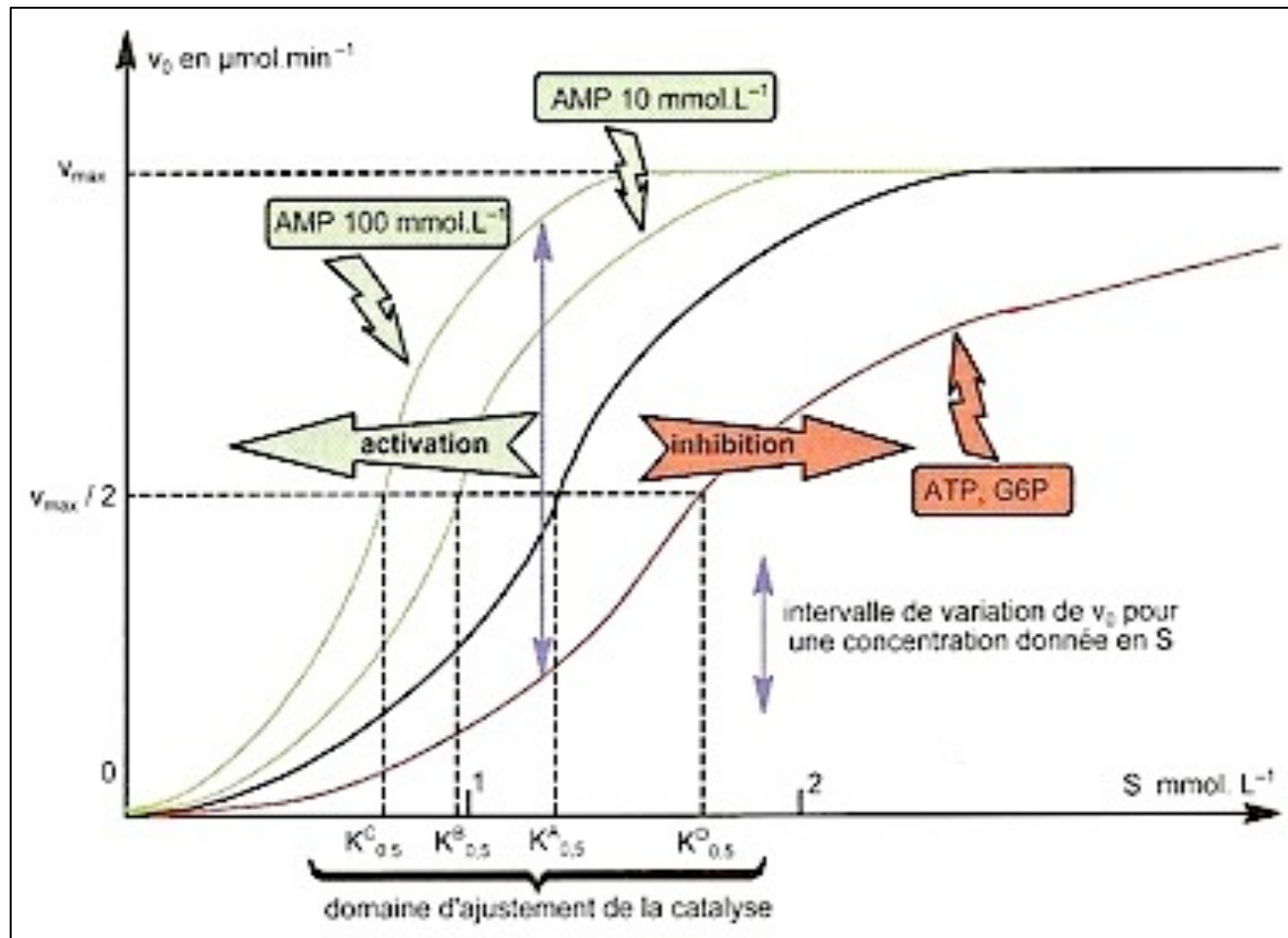
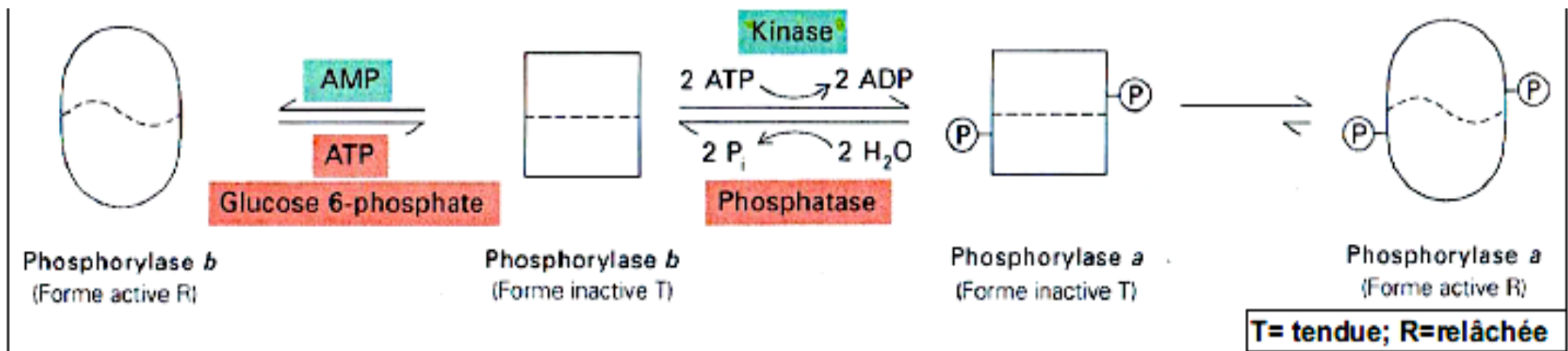


FIG. 1. Structure of a monomeric interface mutant of hexokinase I. G₆P molecules are in dark gray. The illustration was drawn by MOLSCRIPT (47).

Contrôle de la glycogène phosphorylase



La glycogène phosphorylase



Deux états:

R=forme active

T=forme inactive

Deux niveaux de phosphorylation:

Phosphorylé (a) = équilibre vers forme R

Non Phosphorylé (b) = équilibre contrôlé par des effecteurs

Effecteurs allostériques pour la phosphorylase b:

AMP (signal de besoin d'énergie) \rightarrow phosphorylase *b* active \rightarrow production de glucose

ATP; G6P (pas besoin d'énergie) \rightarrow phosphorylase *b* inactive \rightarrow pas production de glucose

Bilan des ligands et de leurs effets

