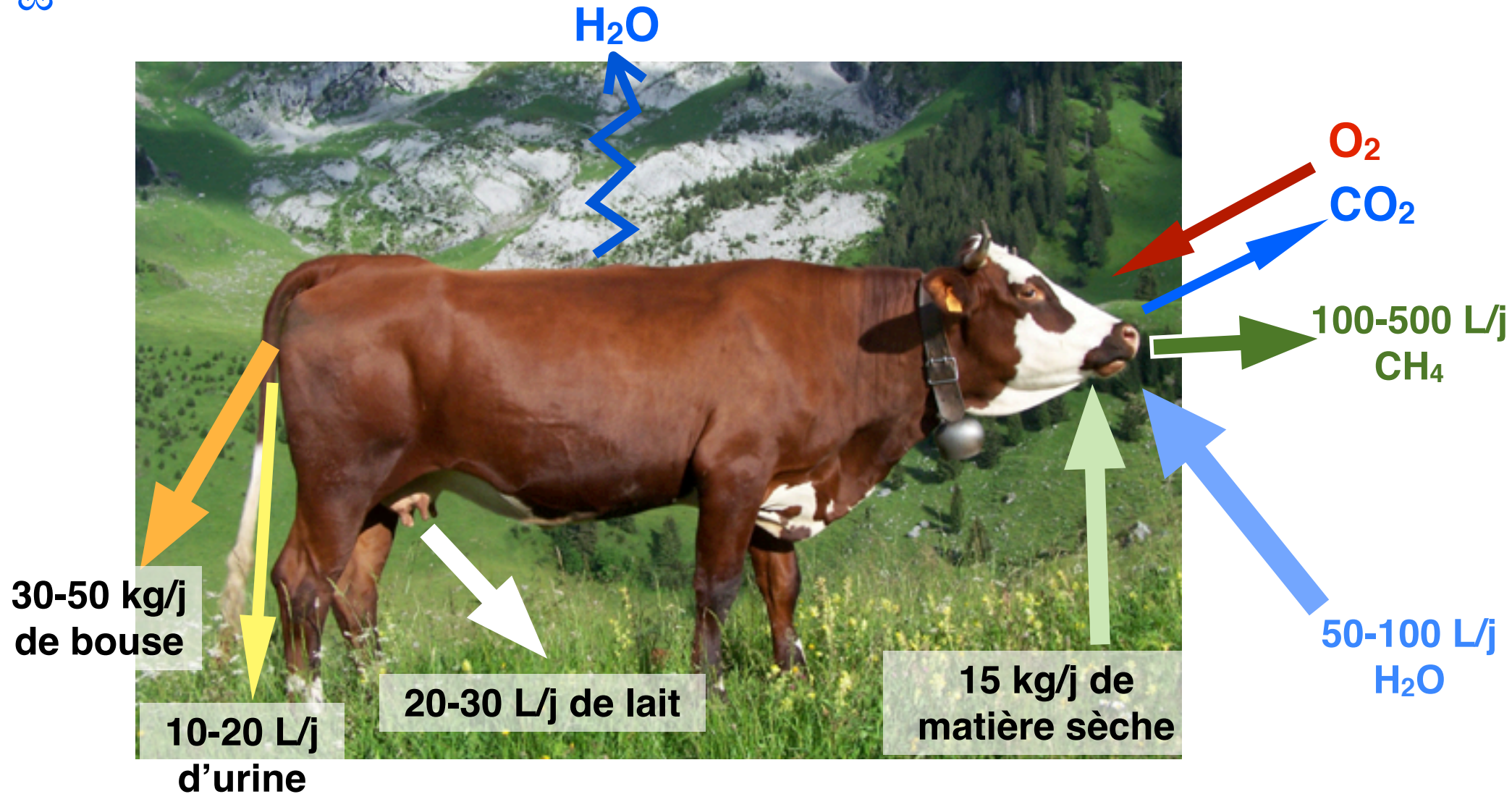


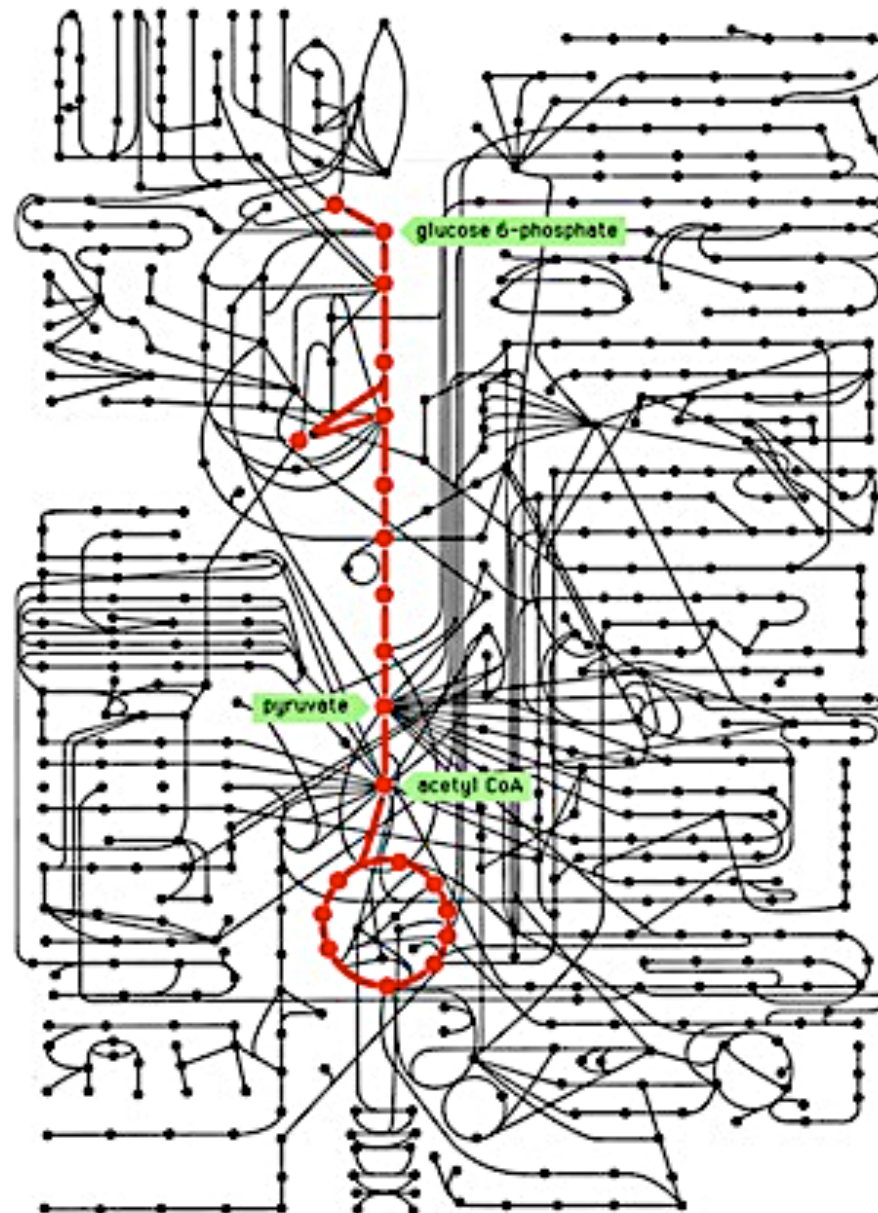
Chapitre 1

Les réactions chimiques du vivant

L'organisme, système thermodynamique ouvert



Quelques voies métaboliques de la cellule



- molécule
trait = réaction

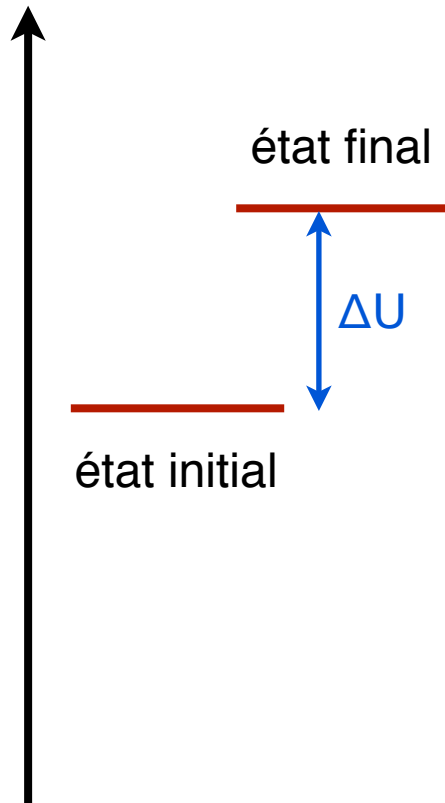
en rouge
glycolyse + cycle de Krebs

1. Les réactions chimiques suivent les lois de la thermodynamique

Une réaction chimique

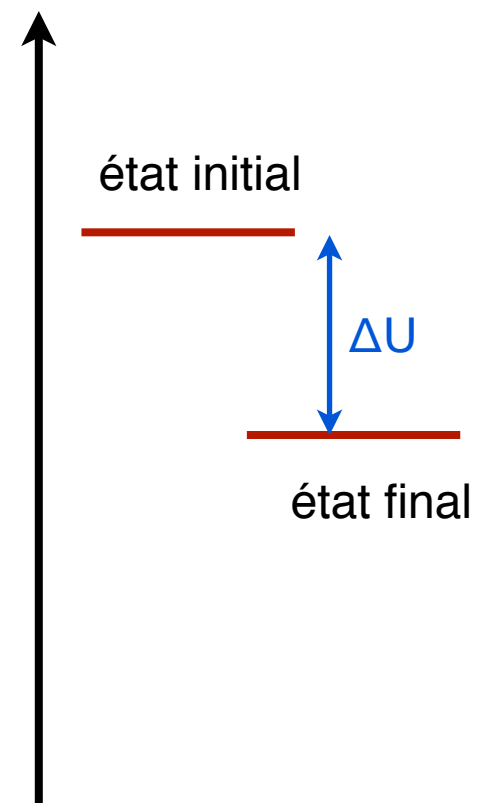


énergie interne U



$\Delta U > 0$: 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

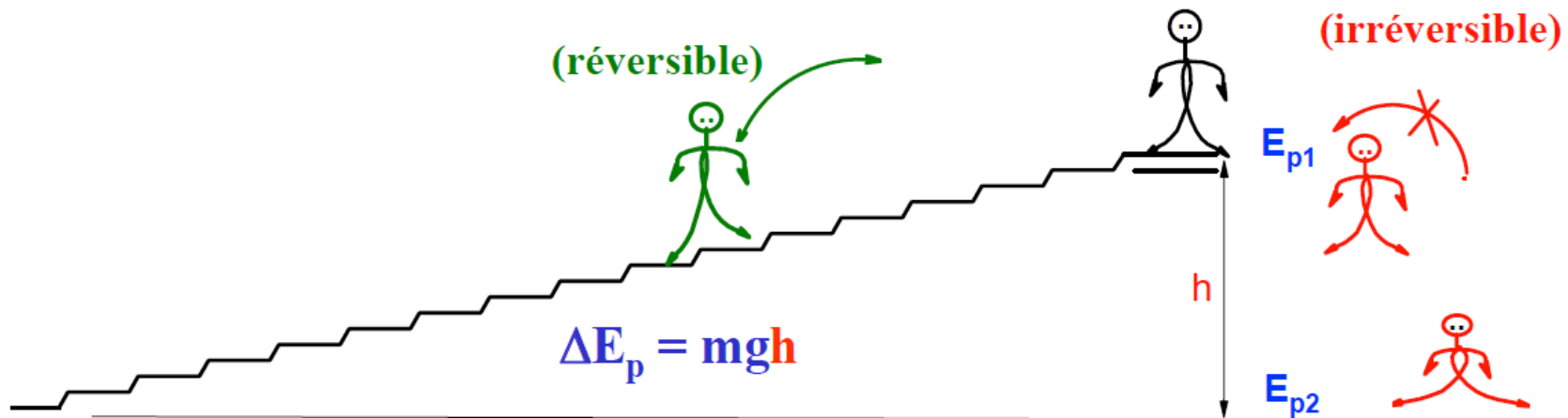


La réaction libère de la chaleur mesurée par calorimétrie : 2800 kJ.mol^{-1}
donc $\Delta H = - 2800 \text{ kJ.mol}^{-1}$

$\Delta H < 0$: réaction exothermique

$\Delta H > 0$: réaction endothermique

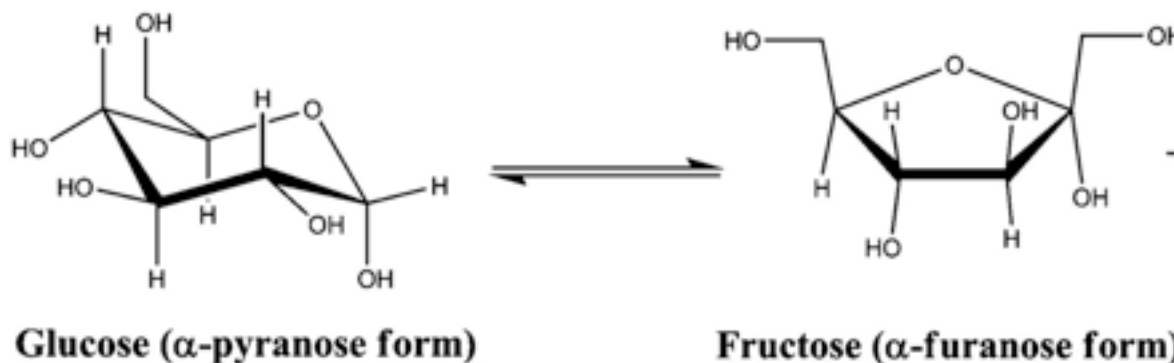
Réversibilité d'une réaction



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

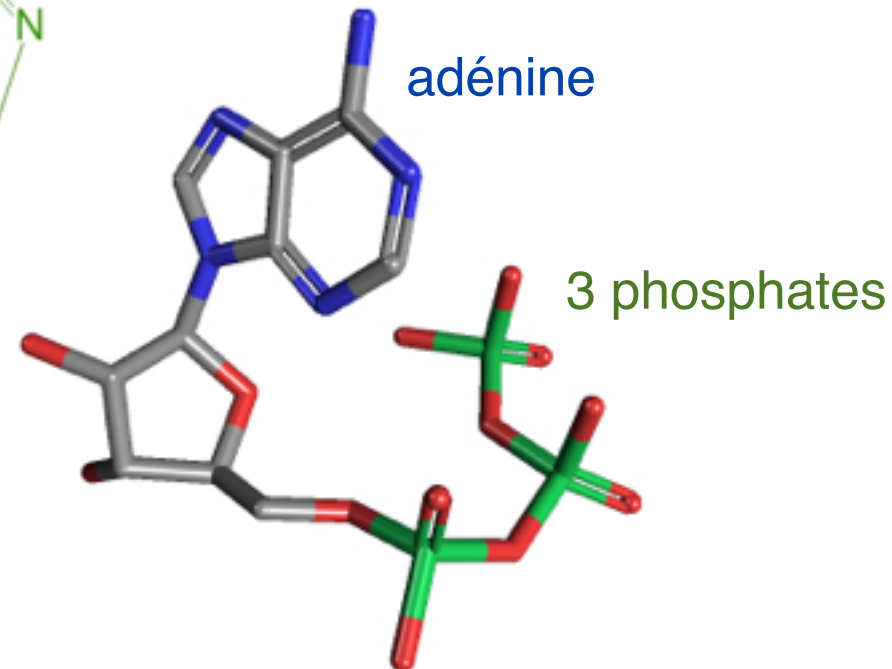
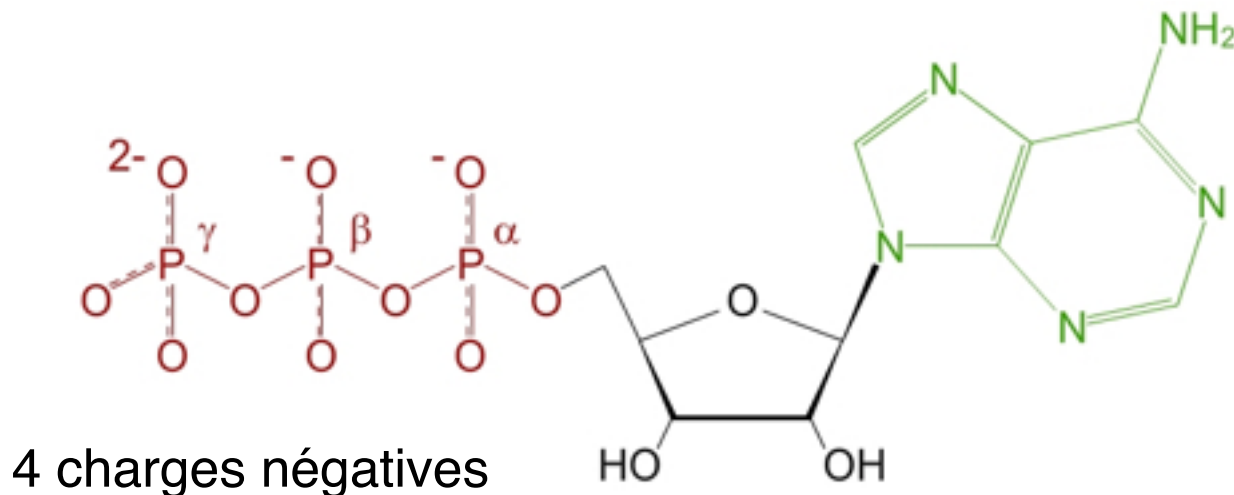


Mesure dans un calorimètre



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

2 molécules chargées -
qui se repoussent



ATP

molécule à haut potentiel énergétique
molécule à haut potentiel de transfert

12 Une forme coudée reconnaissable

Variation d'enthalpie libre de l'ATP



Mesure dans un calorimètre



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

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 $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{Pi}$

Variation d'enthalpie libre de l'ATP



Mesure dans un calorimètre



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

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

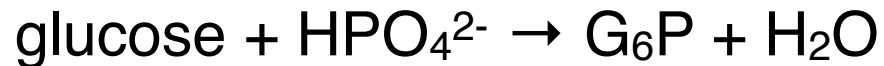
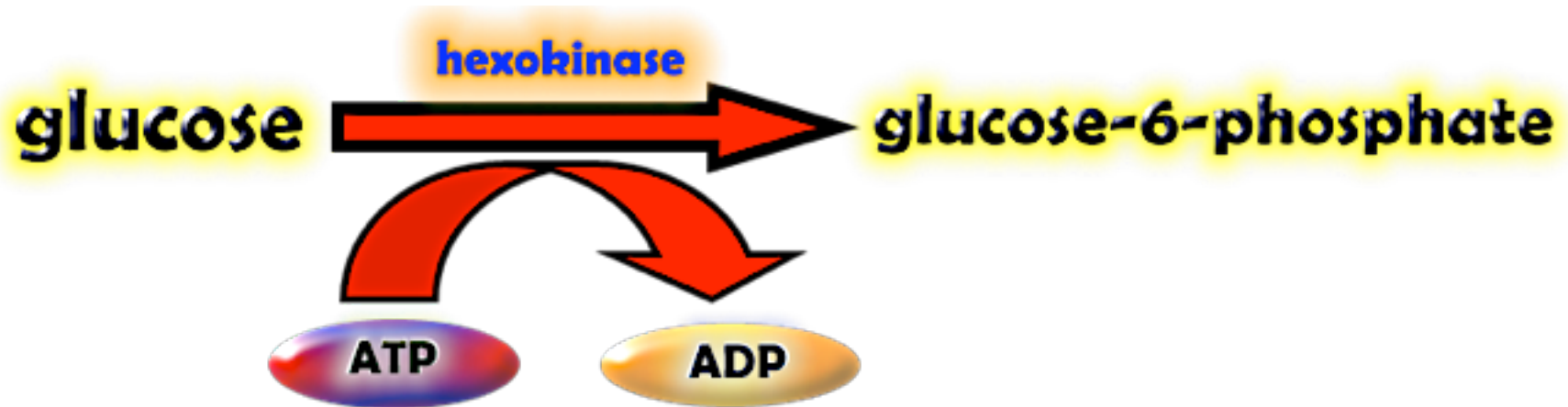
mmol.L ⁻¹	Muscle	Foie
ATP	8,05	3,38
ADP	0,93	1,32
Pi	8,05	4,80

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

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

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

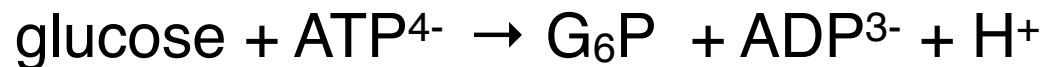
Le couplage énergétique



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



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



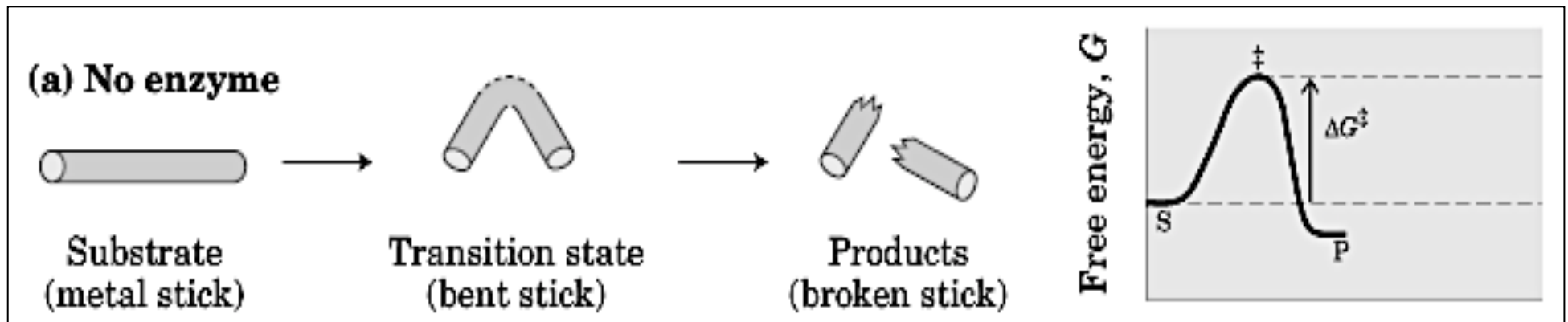
$$\Delta G^{\circ'} = -16,8 \text{ kJ.mol}^{-1}$$



Couplage chimio-chimique

2. Les enzymes sont des acteurs du métabolisme

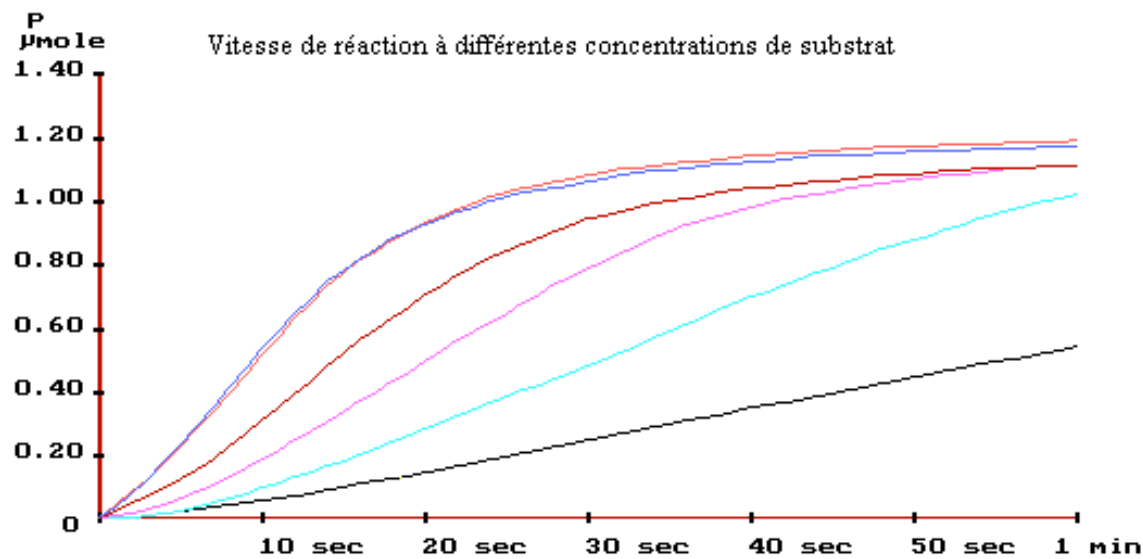
Energie d'activation et état de transition



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



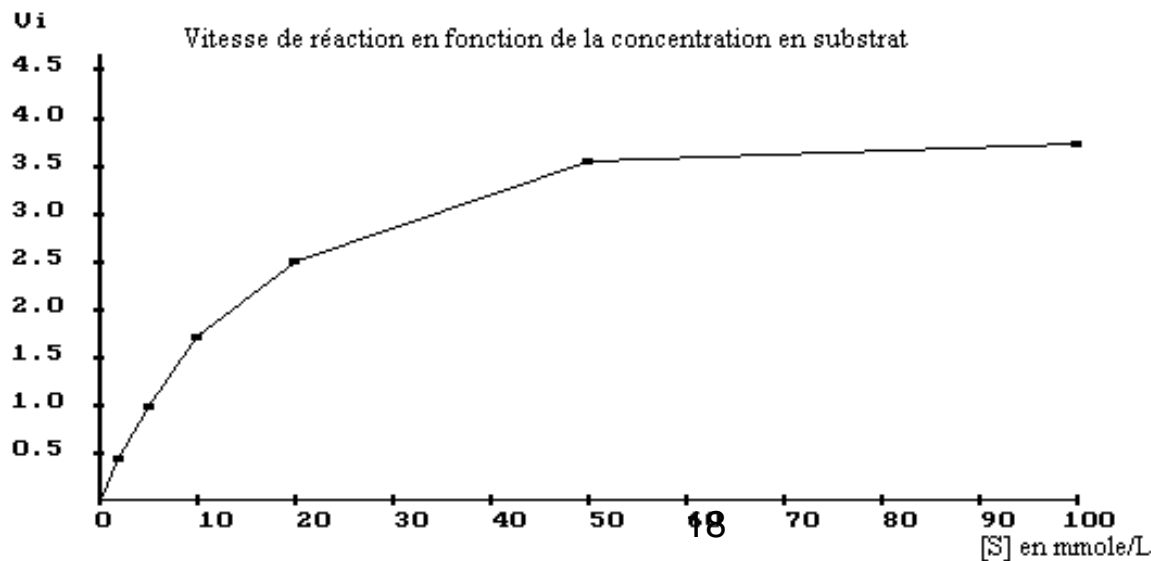
1 : 0

20.0 °C

Conc. 02
 $\mu\text{mol. L}^{-1}$

5.18

U_i $\mu\text{moles/min}$	$[S]$ mmoles/L
0.42	2.0
0.97	5.0
1.71	10
2.49	20
3.53	50
3.72	100

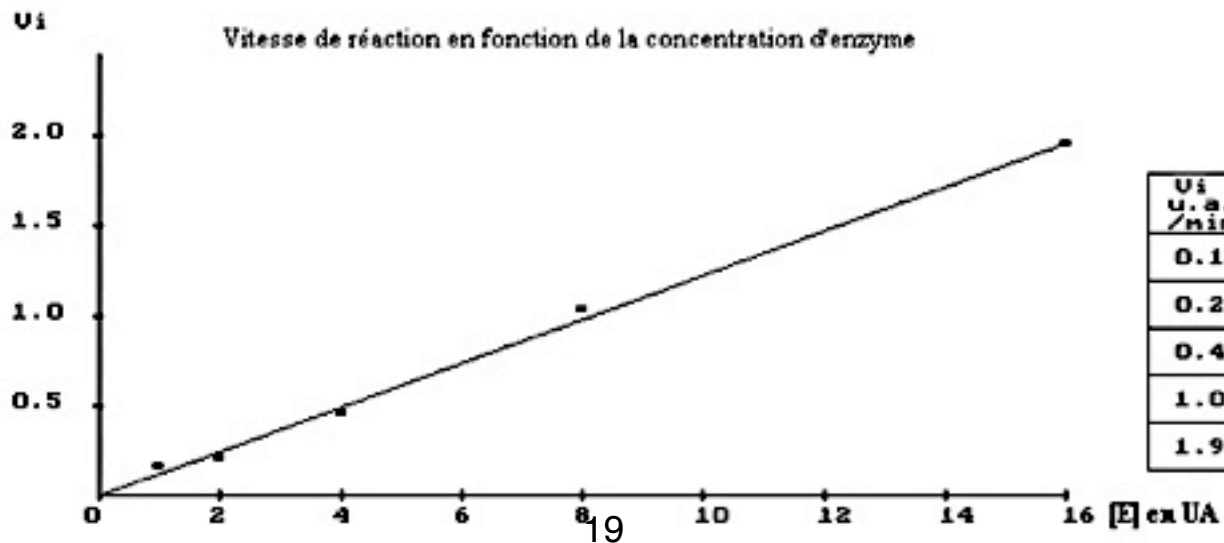
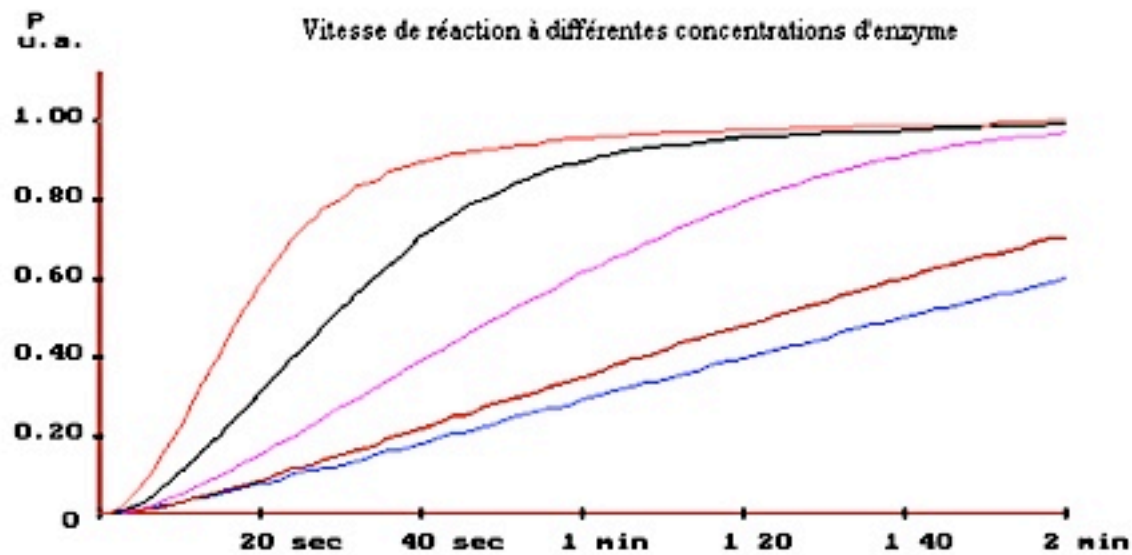


U_i $\mu\text{moles/min}$	$[S]$ mmoles/L
0.42	2.0
0.97	5.0
1.71	10
2.49	20
3.53	50
3.72	100

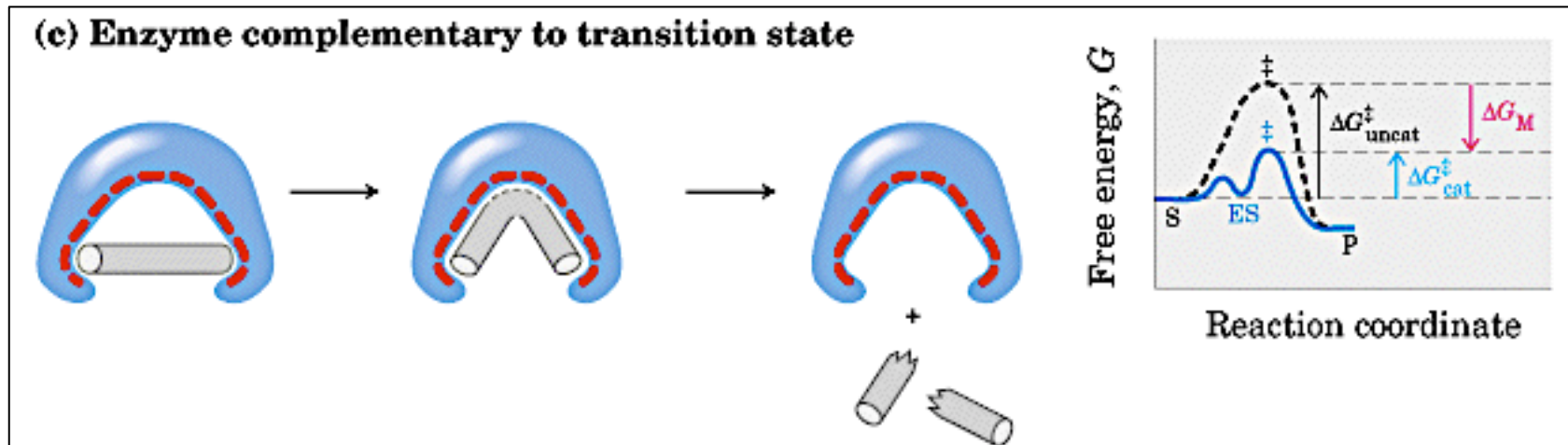
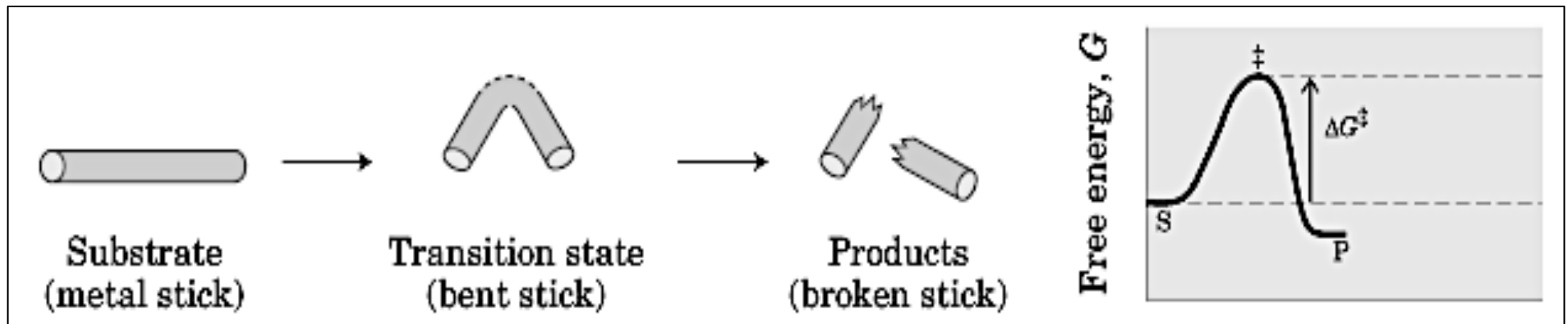
Influence de la quantité d'enzyme



Concentration d'enzyme



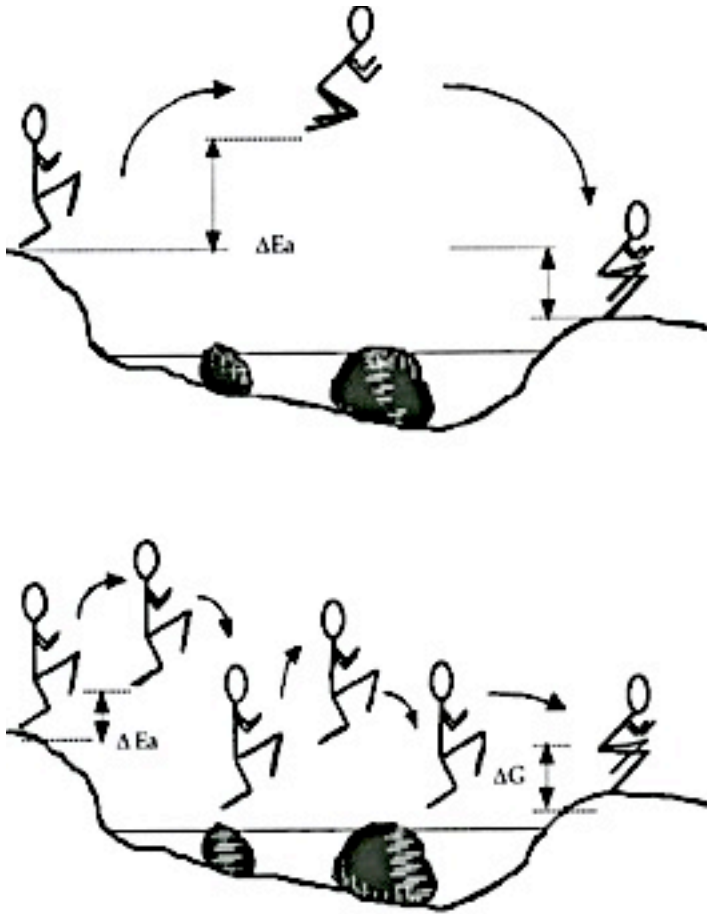
Energie d'activation et état de transition



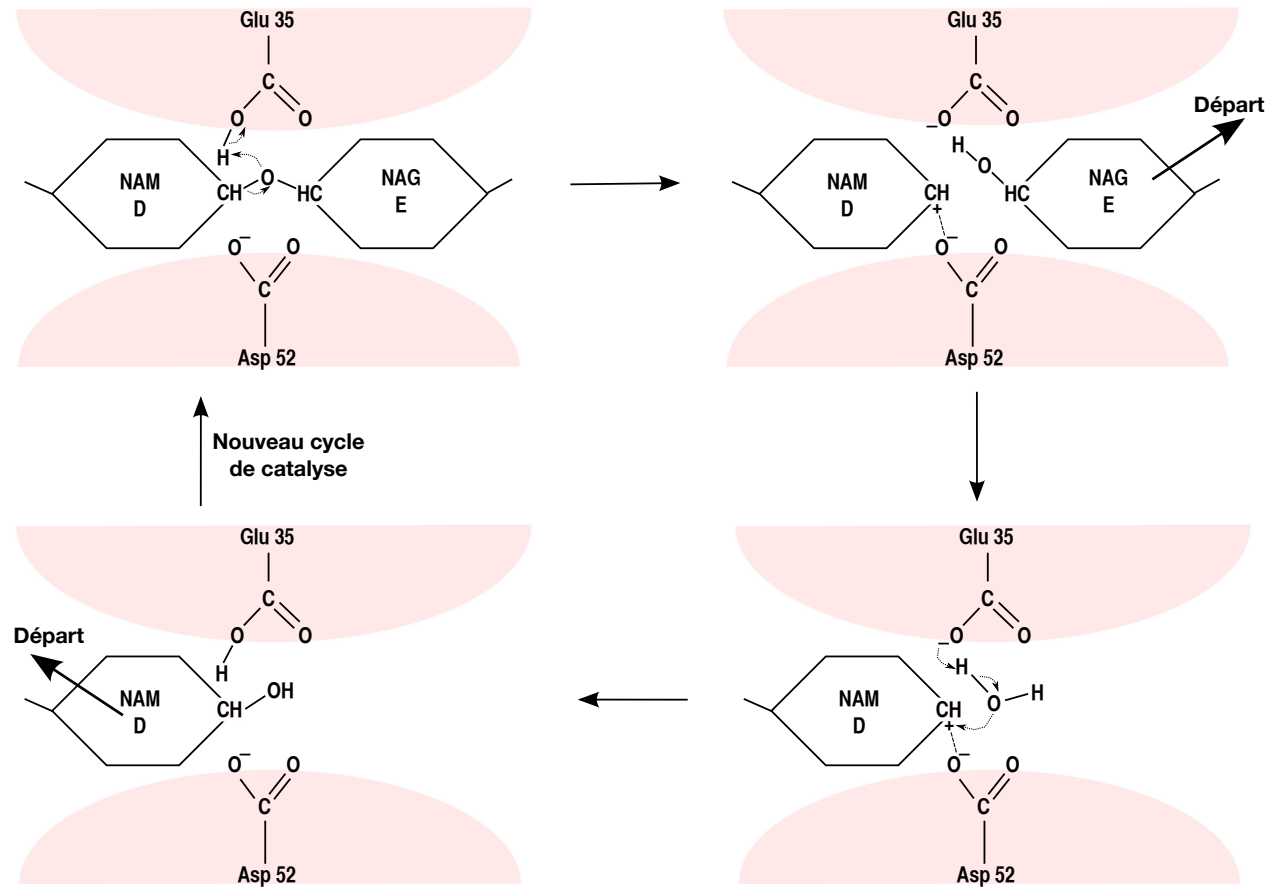
L'enzyme réalise des étapes successives



Analogie

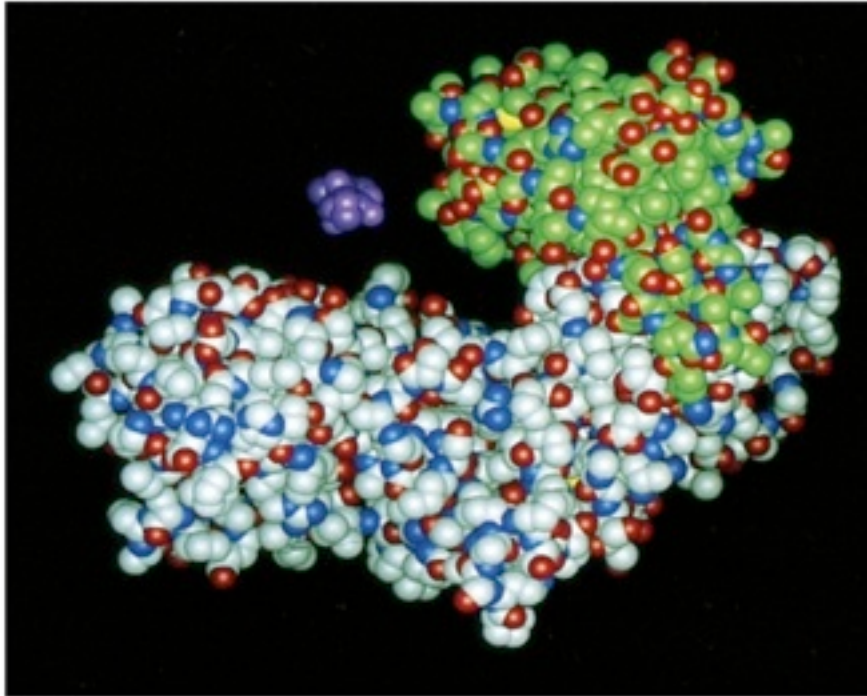


Rappel : catalyse du lysozyme



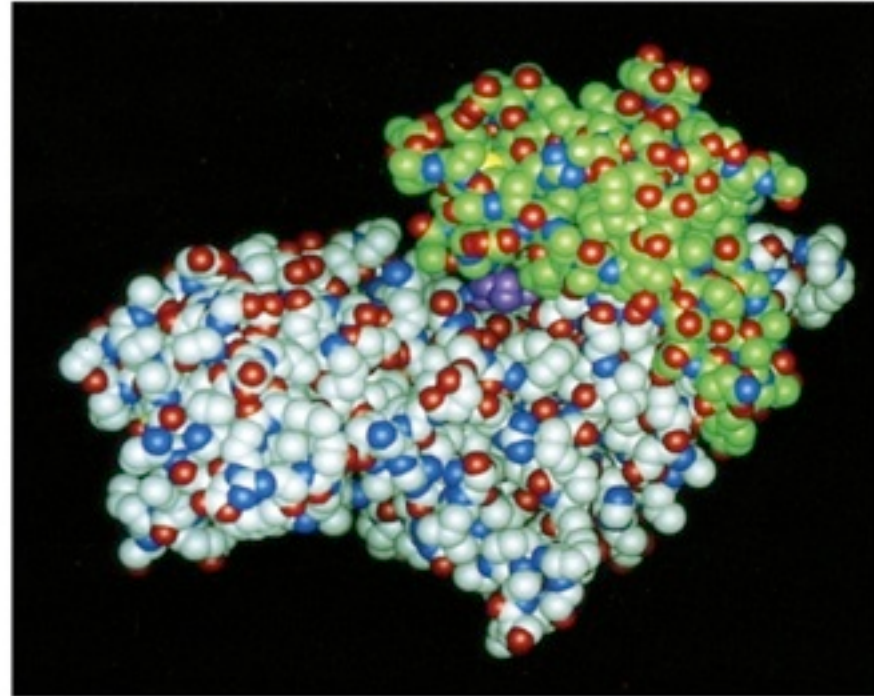
D'après une idée de PELMONT, " Enzymes et catalyseurs du monde vivant ", 1995.
(in : AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).

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

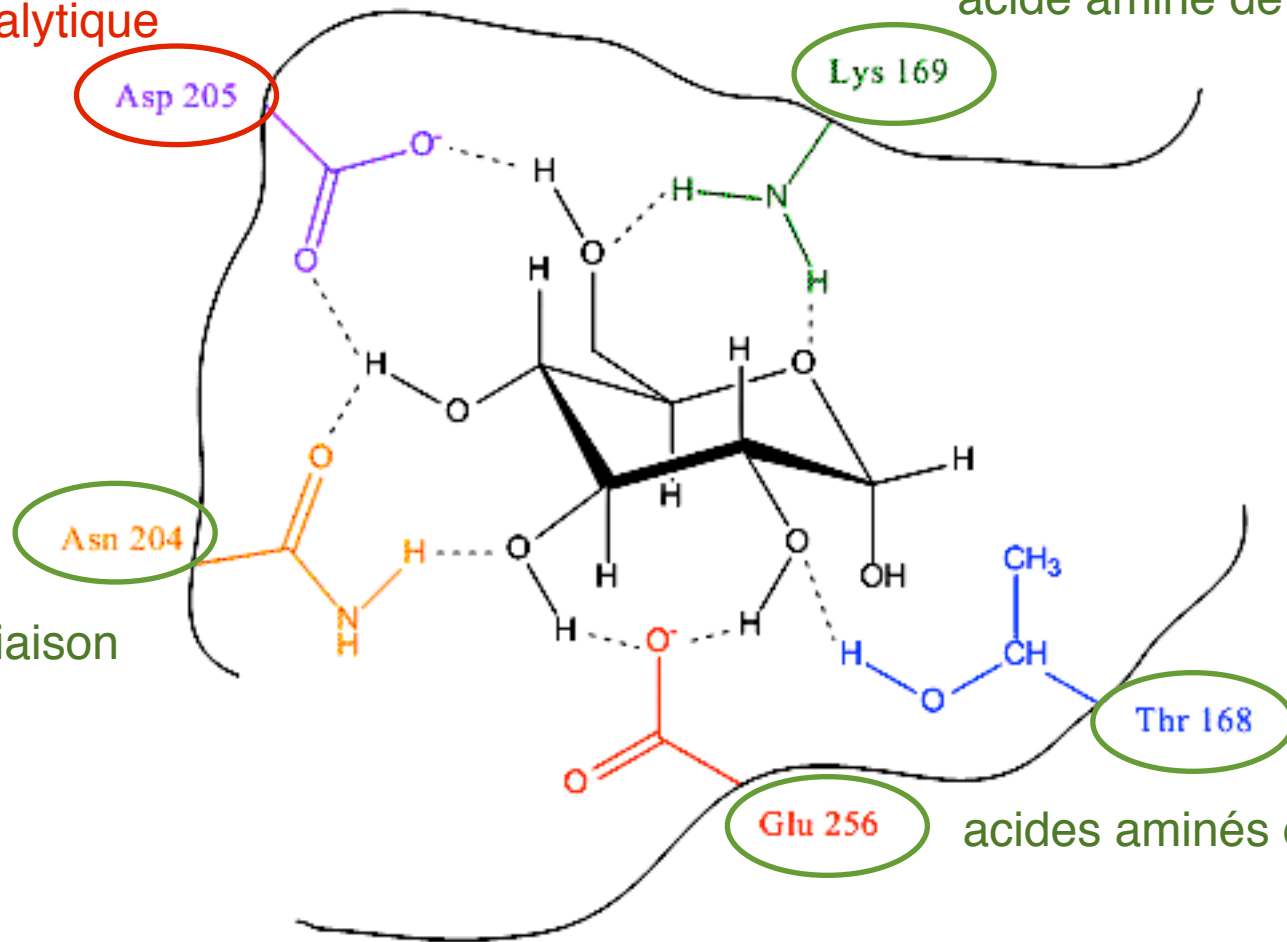
Asn 204

acide aminé de liaison

Thr 168

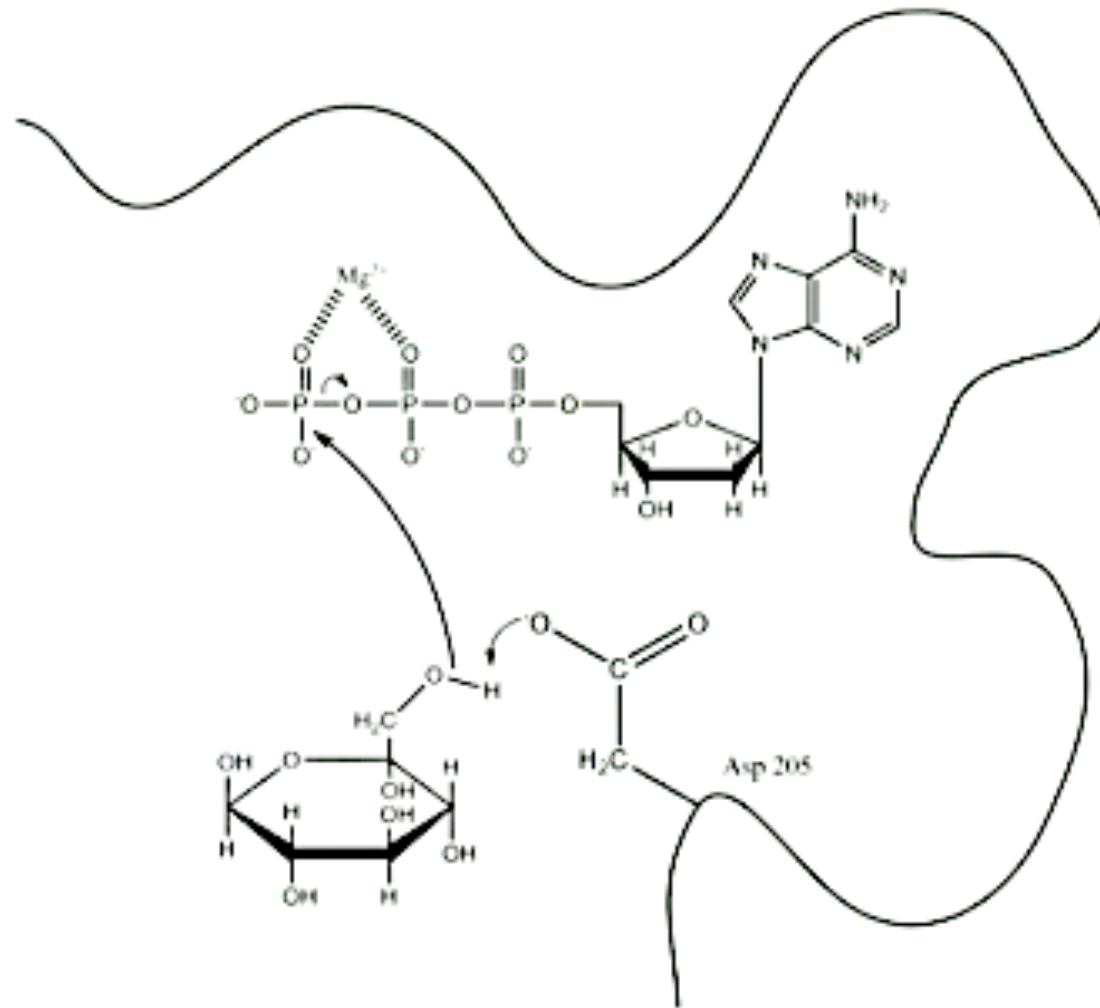
Glu 256

acides aminés de liaison

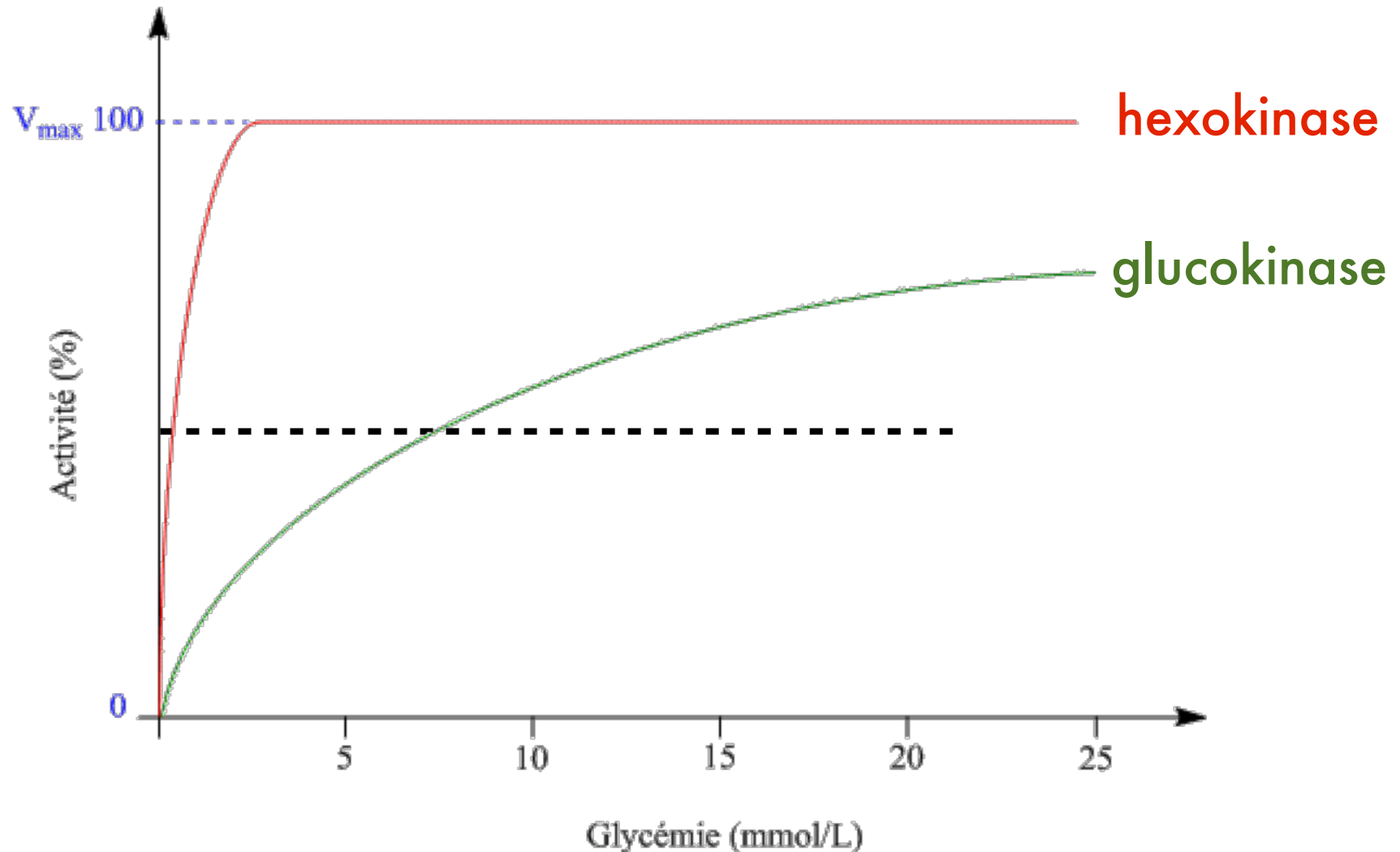


*Légende : Représentation schématique de la stabilisation du glucose
la poche catalytique de l'hexokinase.*

Mode d'action de l'hexokinase (2)



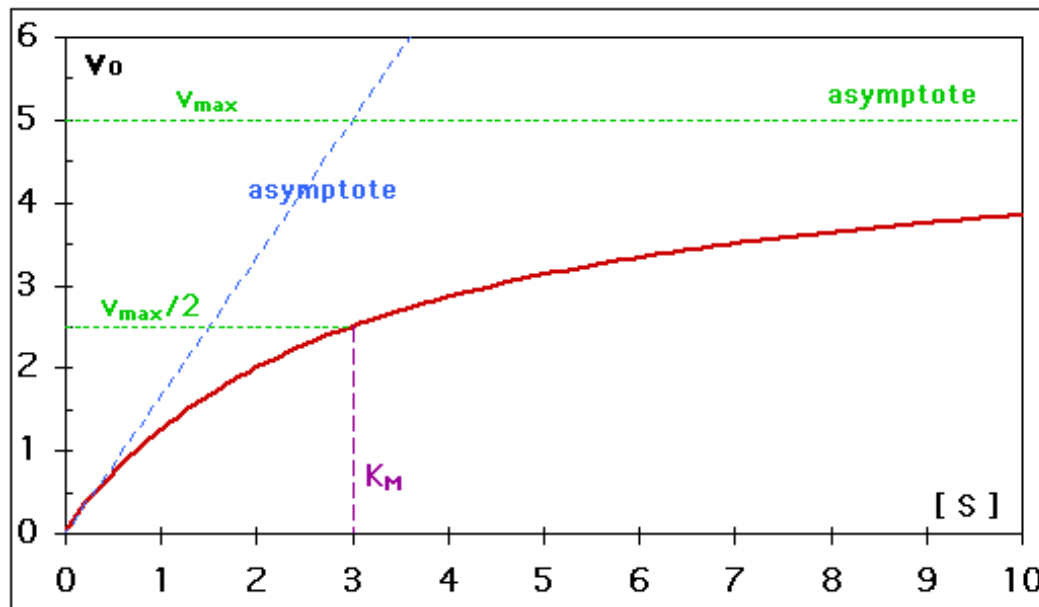
Hexokinase et Glucokinase : 2 isoformes pour une même enzyme



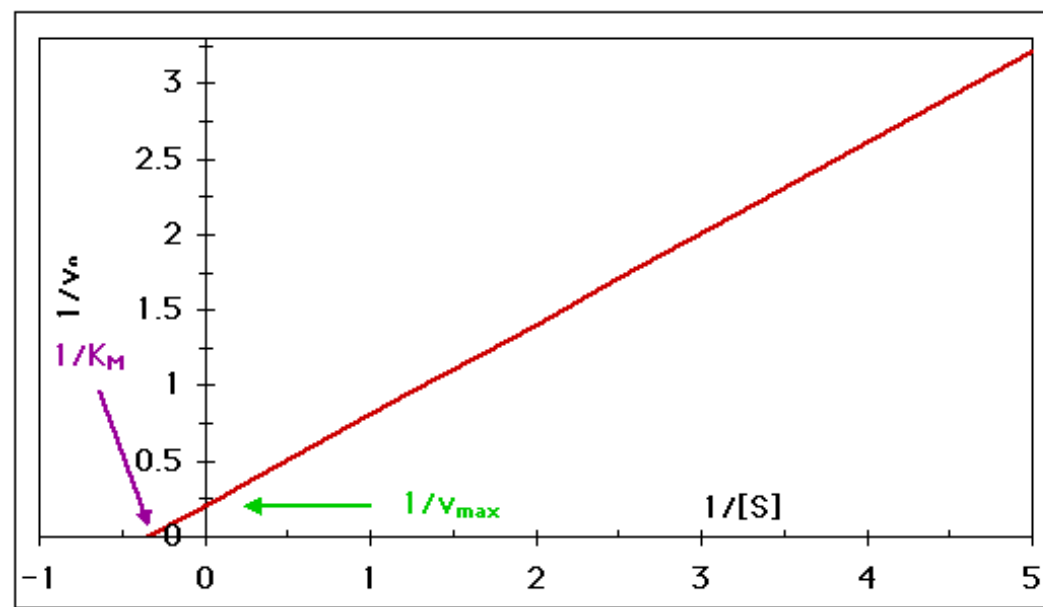
Le représentation en double inverse...



...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 $1/[S]=0$

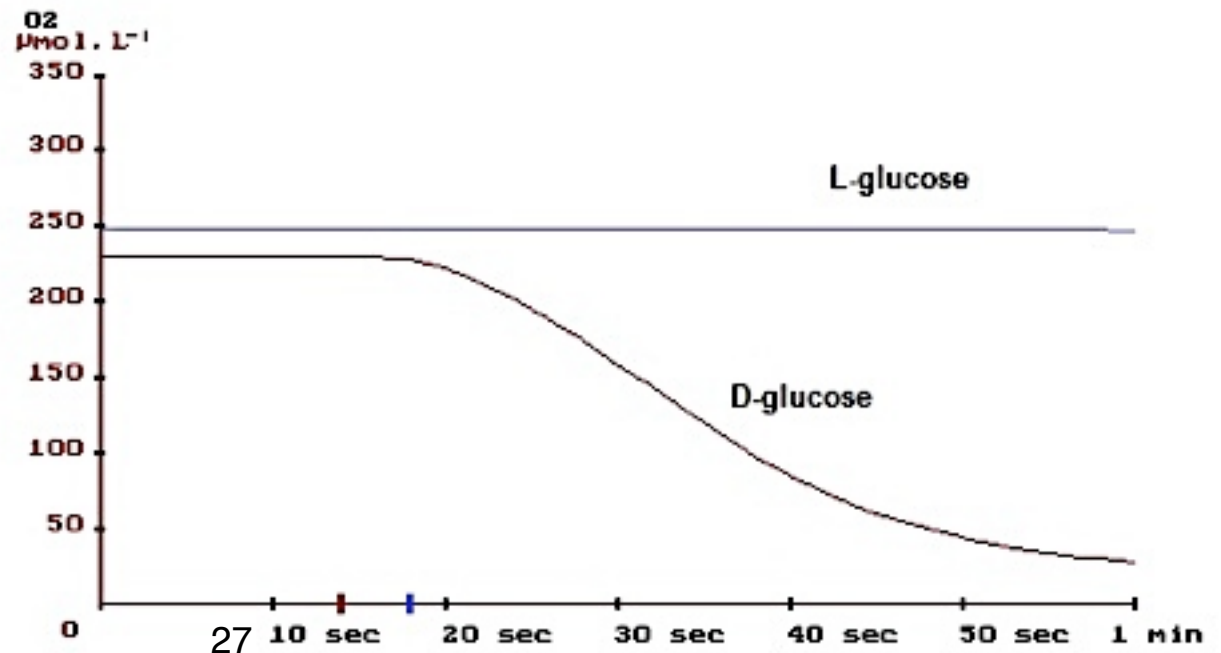
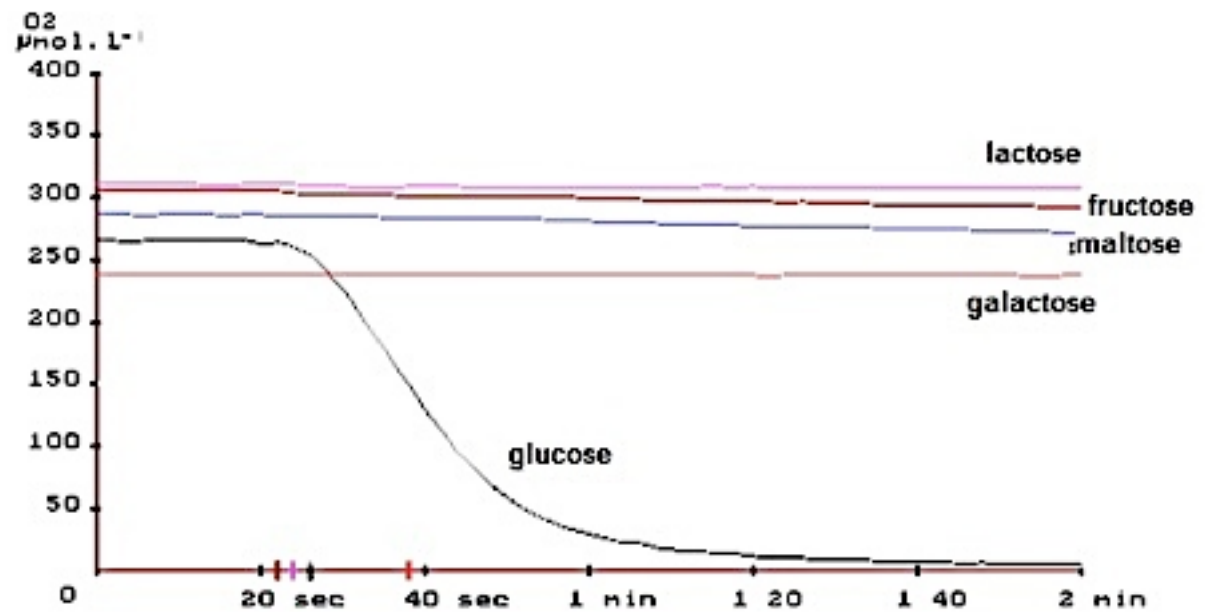
Cela repose sur l'équation de Michaelis-Menten

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

Spécificité de substrat



Exemple de la
glucose oxydase

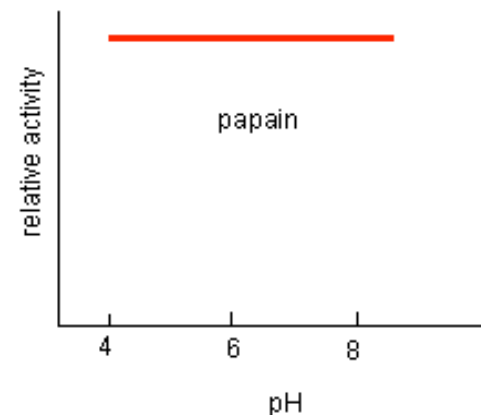
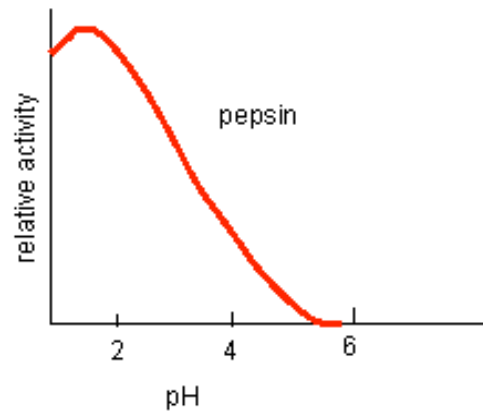
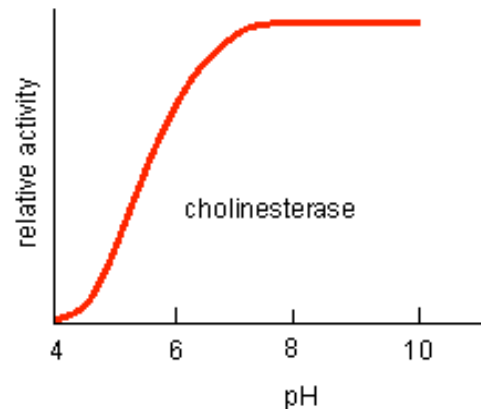
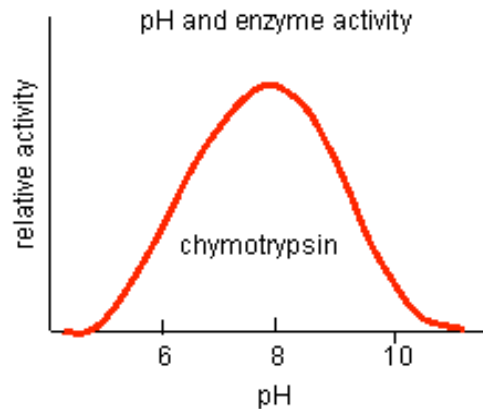


Spécificité de réaction

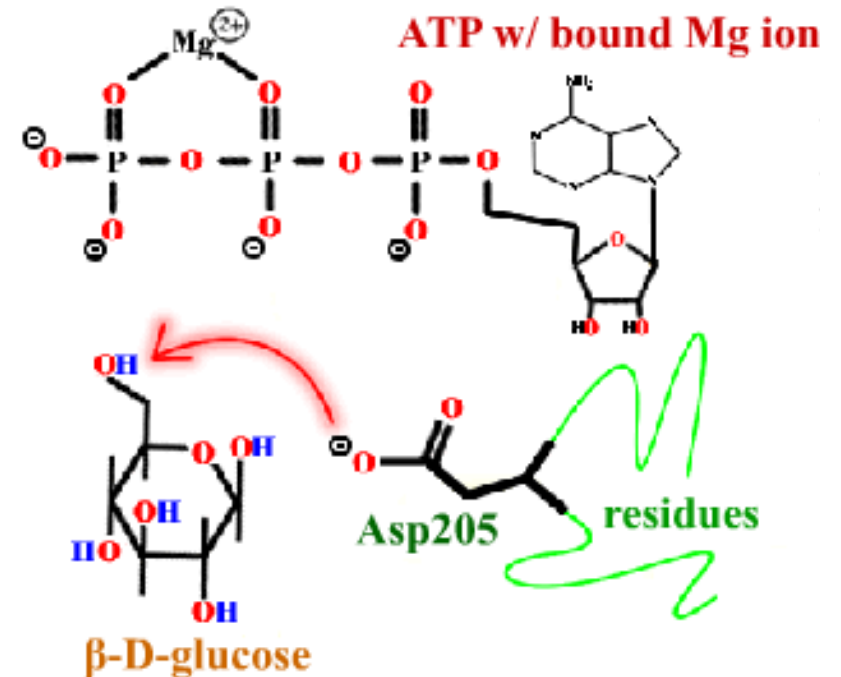


Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	○ = Reduction equivalent A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	A-B + C ⇌ A + B-C	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases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

Sensibilité au pH



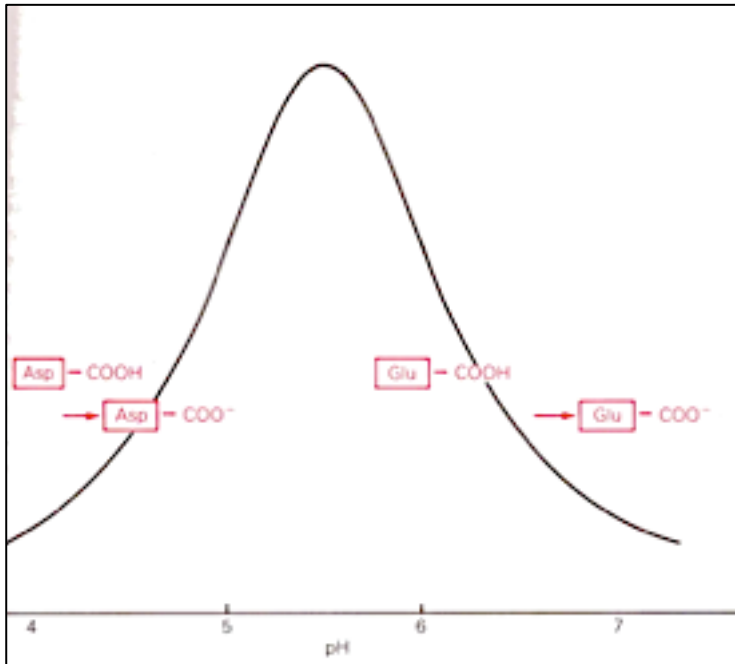
Des exemples d'influence de pH



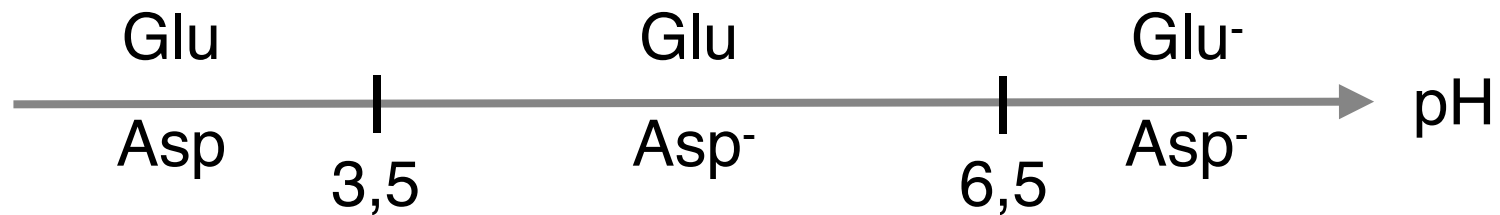
Effet du pH sur l'hexokinase
Asp205 doit être sous la forme COO^-
pour être actif

Effet du pH sur le lysozyme

activité enzymatique



pH optimal = 5,2

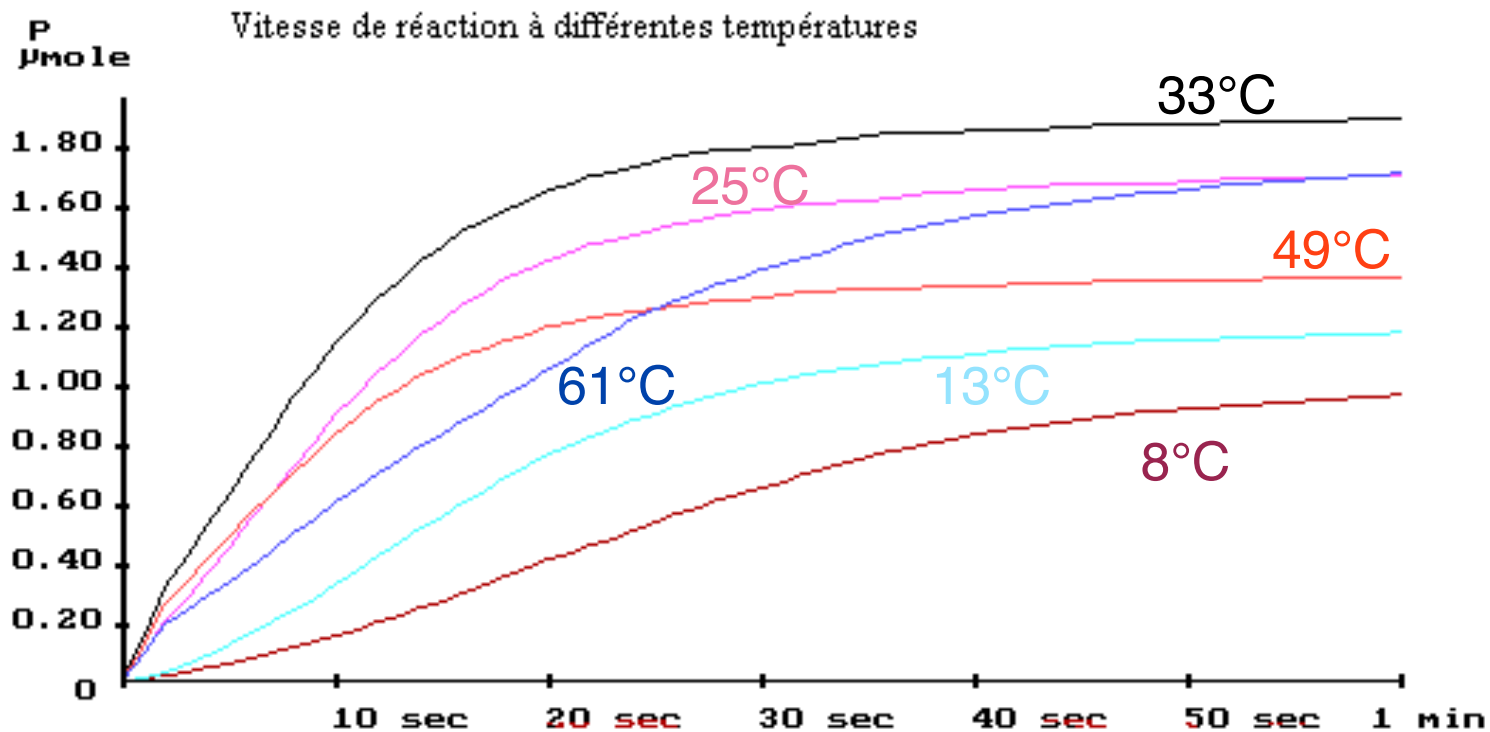


à pH 5,2, Glu n'est pas ionisé mais Asp est ionisé

Effet de la température



Etude de la glucose oxydase



1 : 0

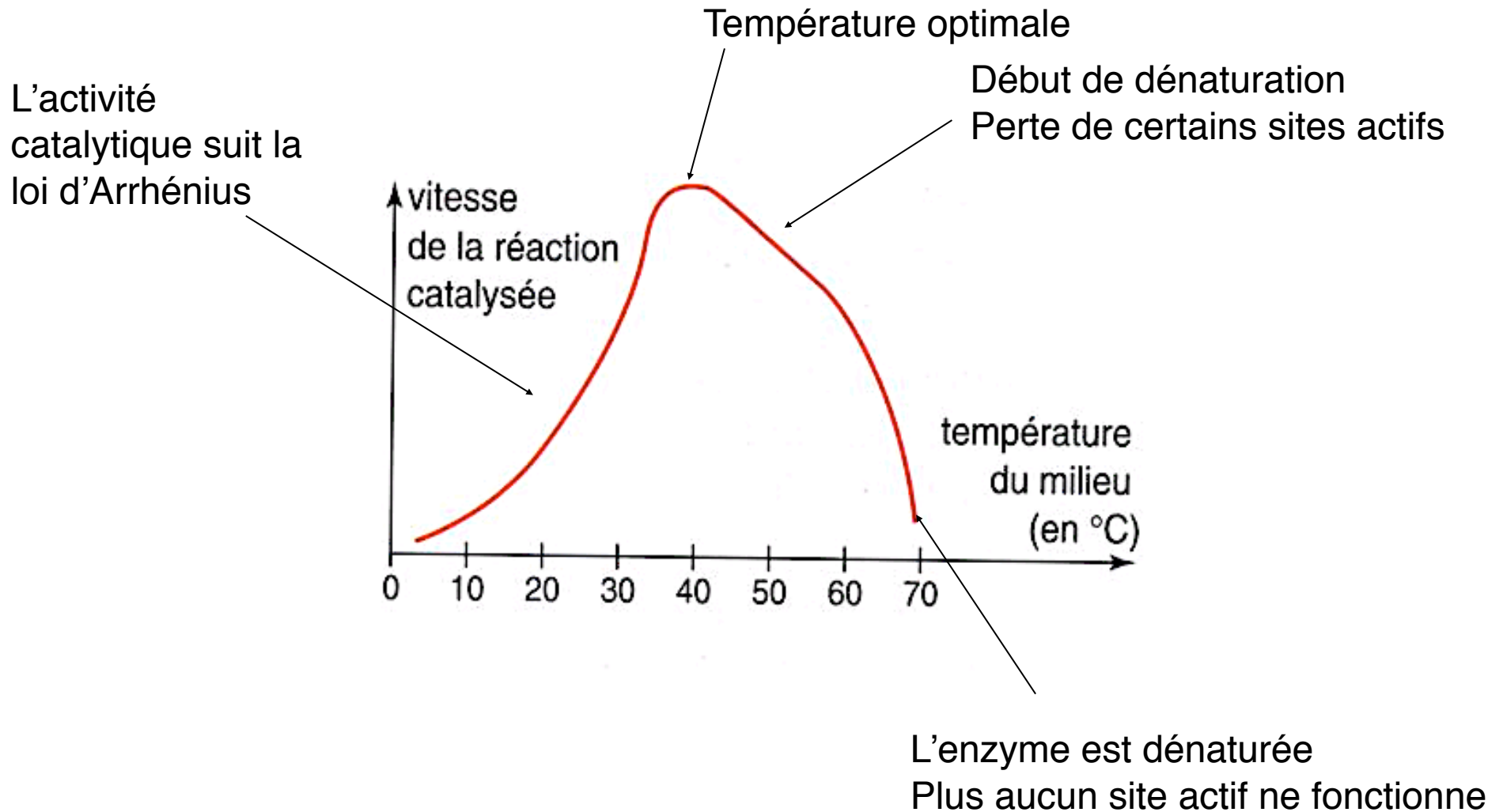
61.0 °C

Conc. O₂
 $\mu\text{mol. L}^{-1}$

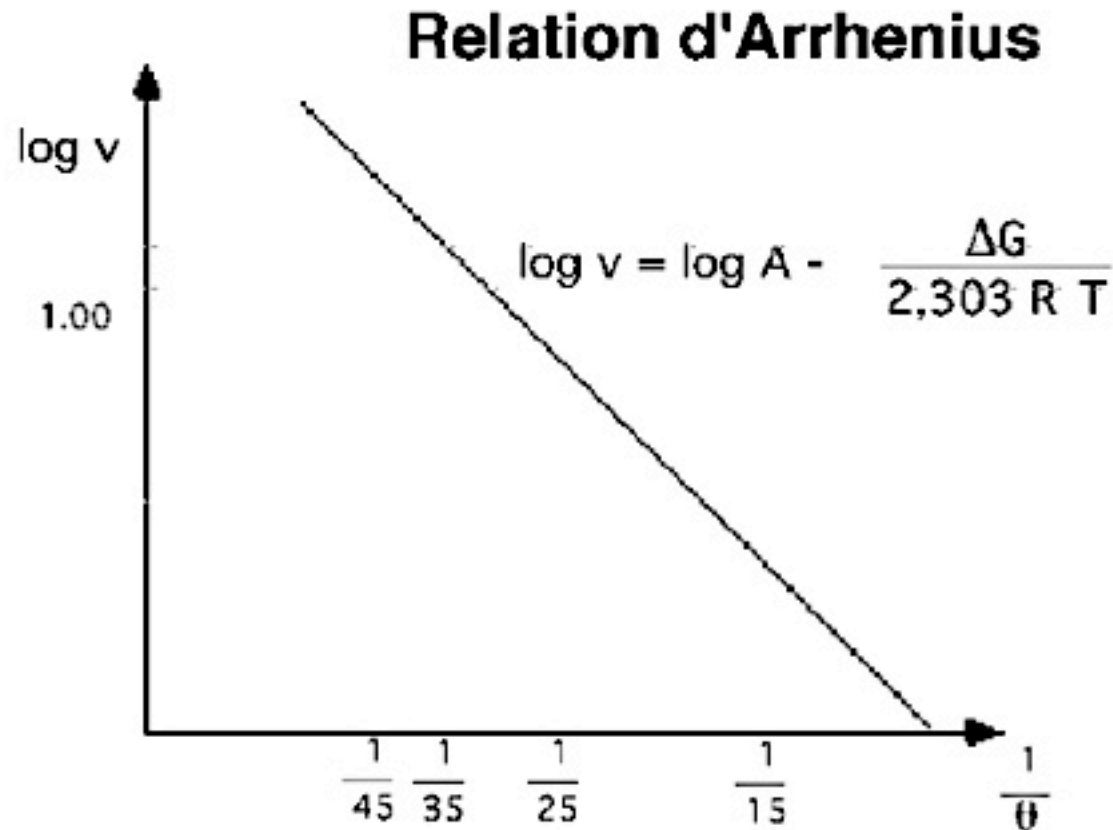
17.4

Vi μmoles /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



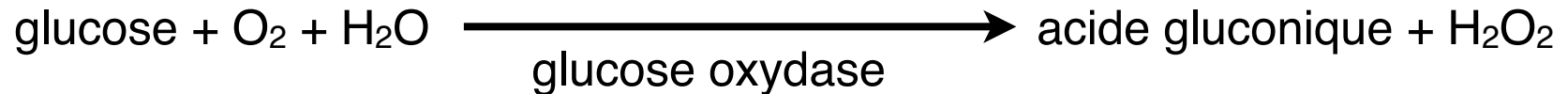
EE 60

- 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 michaelienne



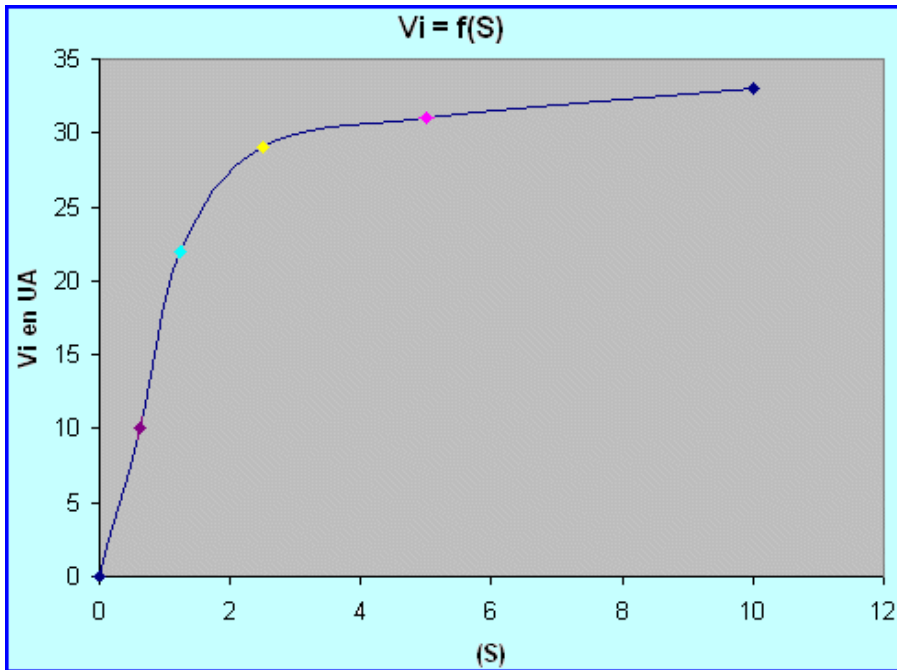
Séance de travaux pratiques : la glucose oxydase



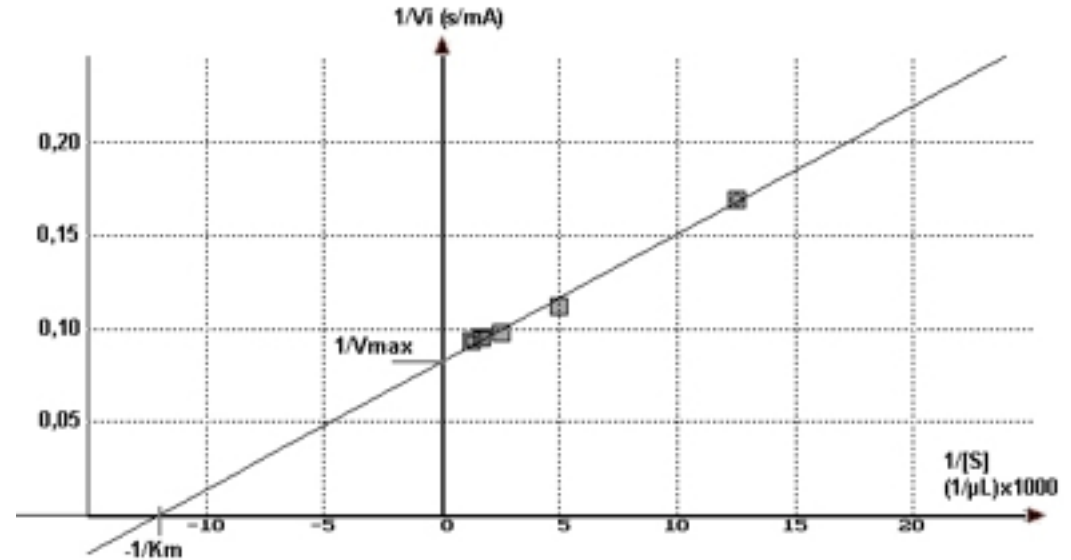
METHODE

- 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 michaelienne



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

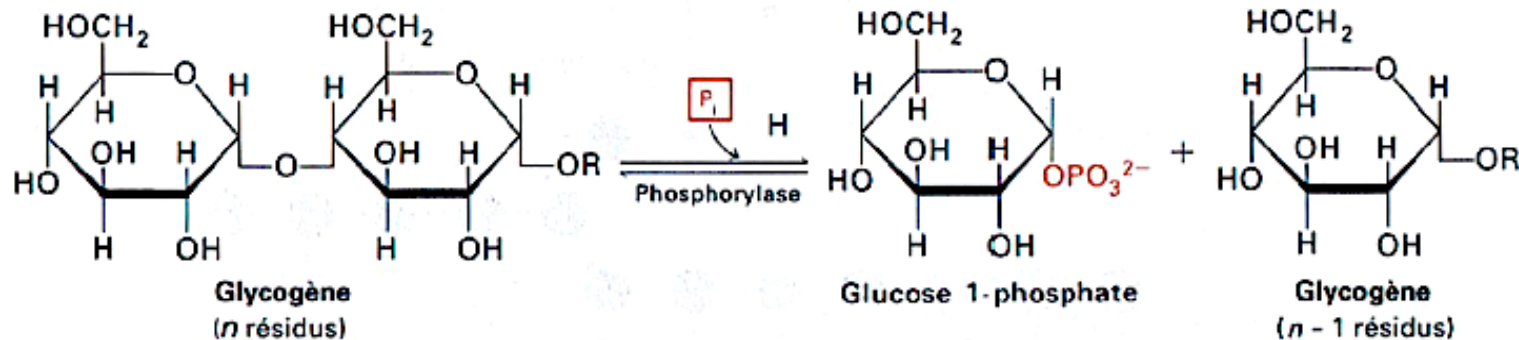
k_{cat} représente l'activité catalytique de l'enzyme.

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.

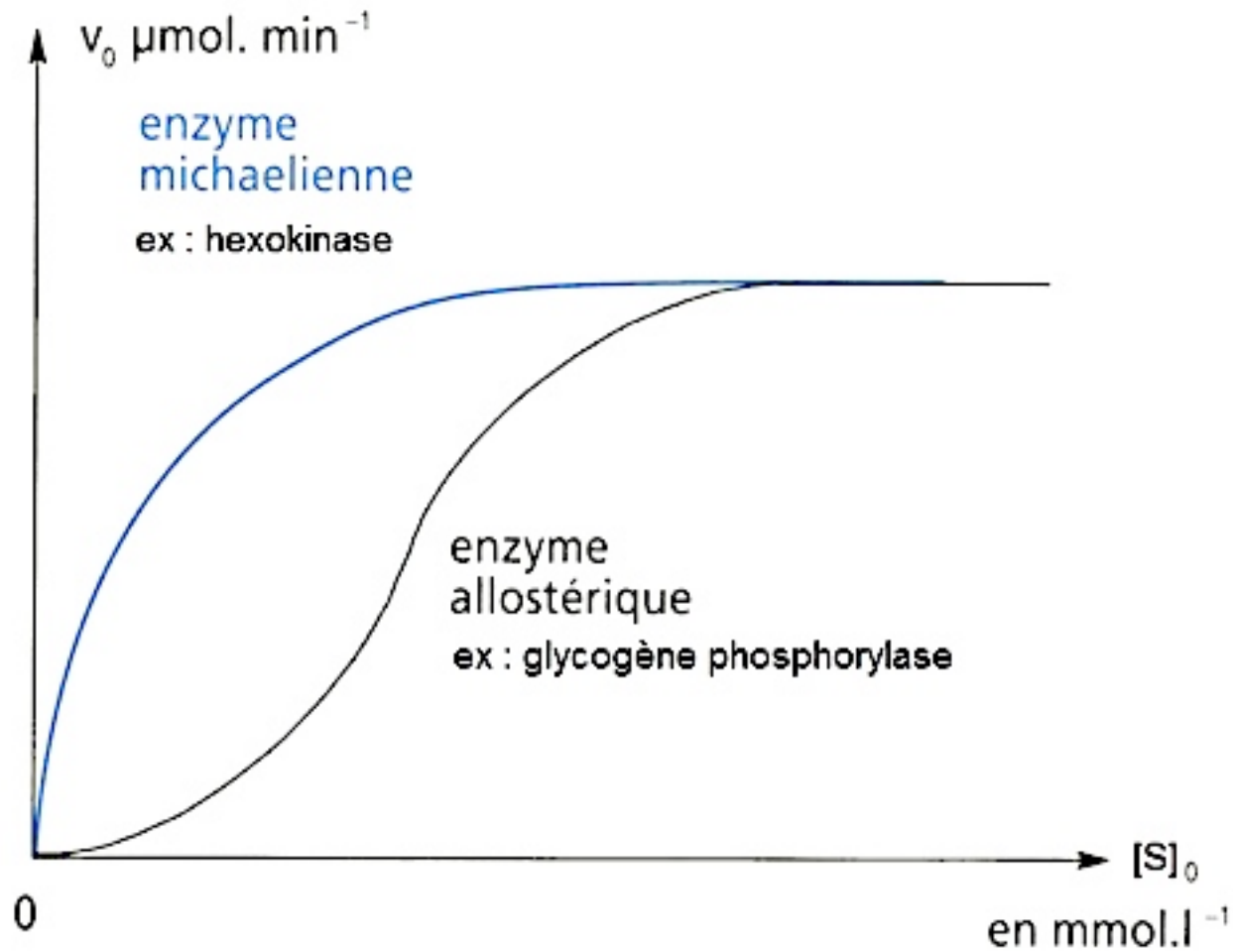
Glucose 1-Phosphate → Glucose 6-Phosphate

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.

Glucose 6-Phosphate → Glucose + Pi

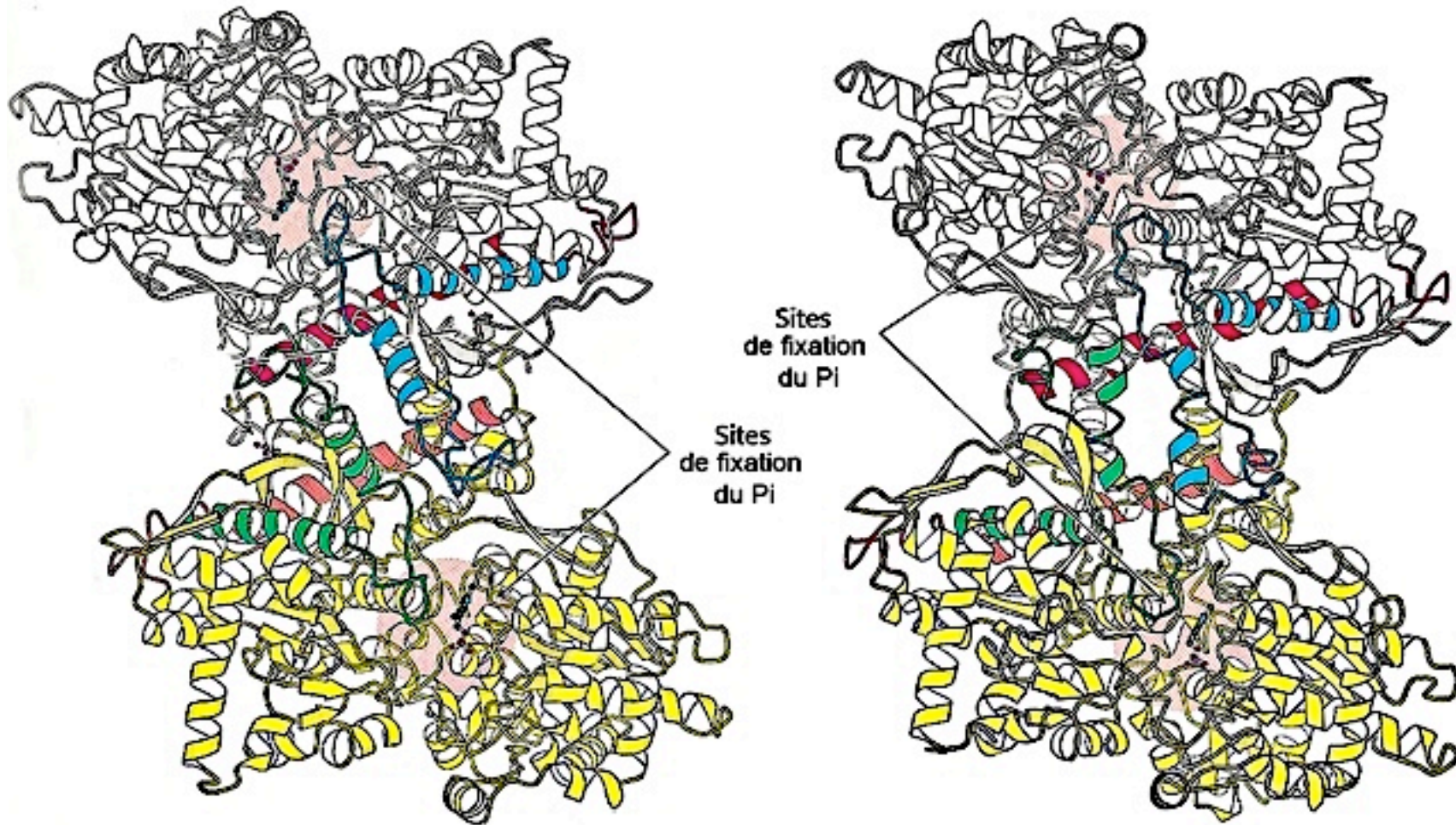
La cinétique allostérique



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

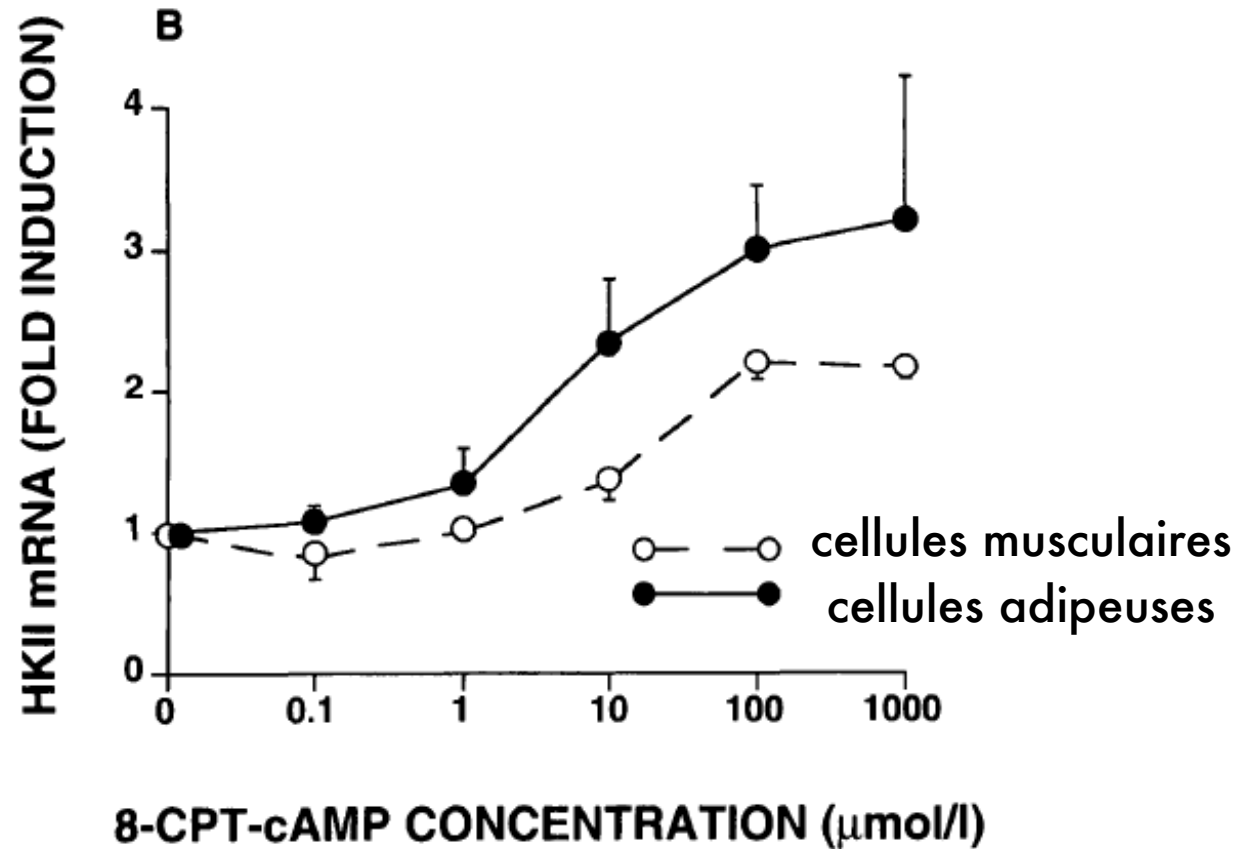
Catalyseur = substance qui accélère une réaction thermodynamiquement possible, sans en modifier l'état final et sans intervenir dans l'équation bilan.
Le catalyseur est régénéré en fin de réaction

Cofacteur = corps chimique intervenant obligatoirement dans une réaction enzymatique (pour compléter un substrat comme Mg^{2+} , accepter un produit ou structurer l'enzyme)

Coenzyme = cofacteur organique (comme NAD^+)

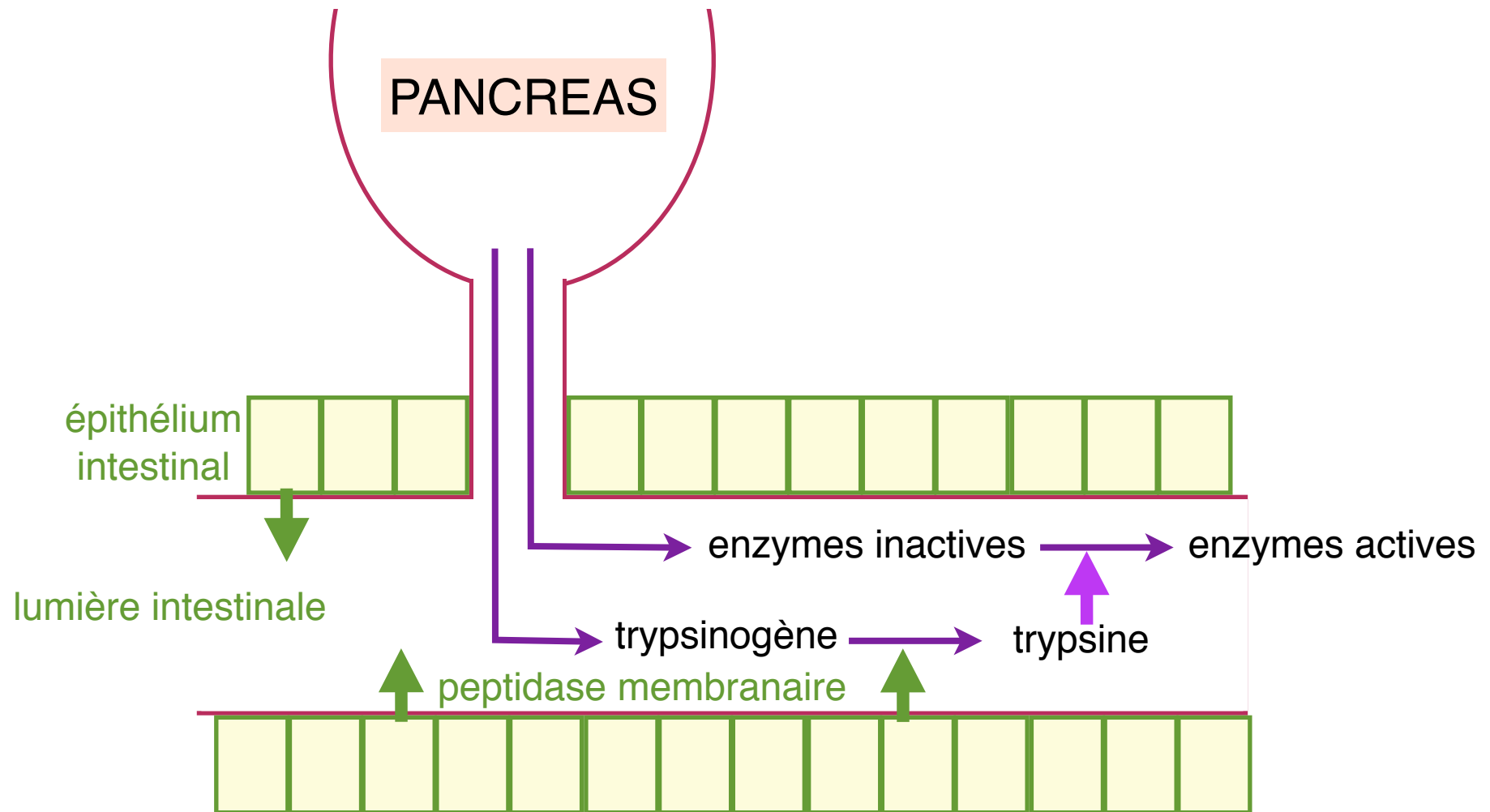
3. Les réactions au sein de la cellule sont contrôlées

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



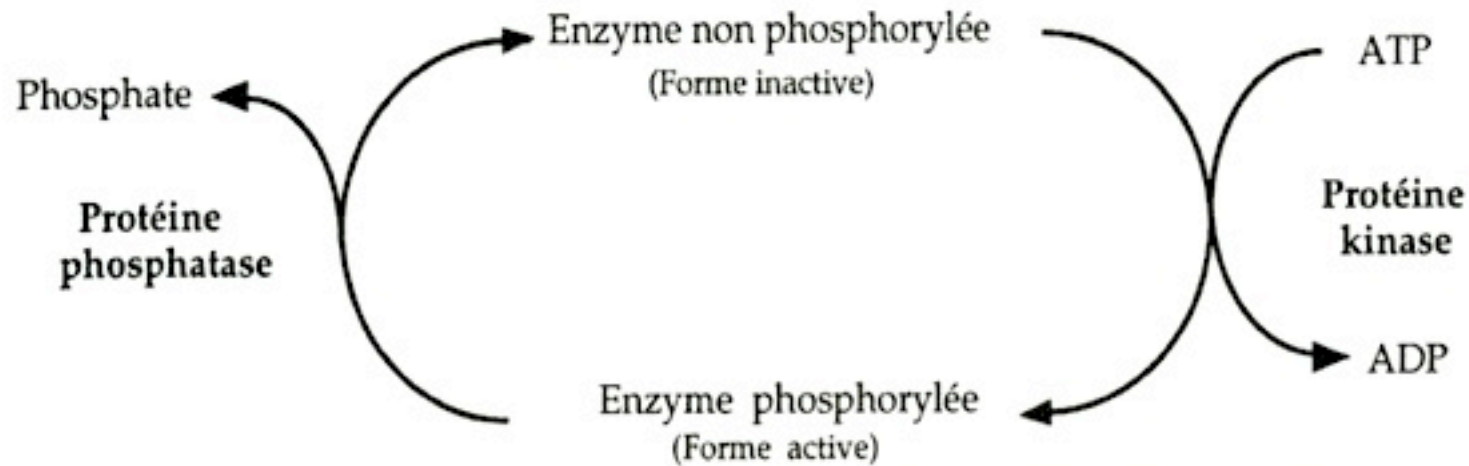
La coupure d'une séquence par une peptidase induit l'activation de l'enzyme

Phosphorylation de la glycogène phosphorylase



moins active

+ active
forme R stabilisée



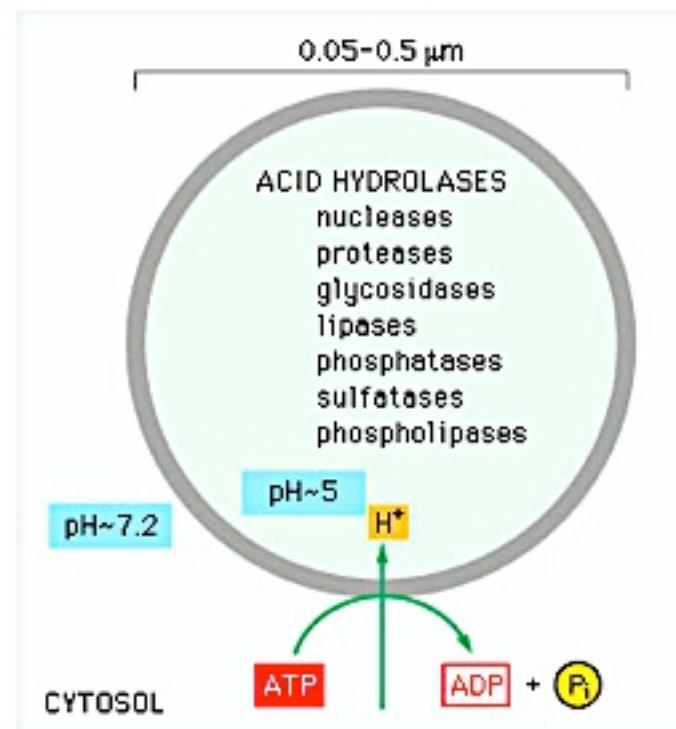
(AUGERE B., " Les enzymes, biocatalyseurs protéiques ", Ellipses Ed., 2001).

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.

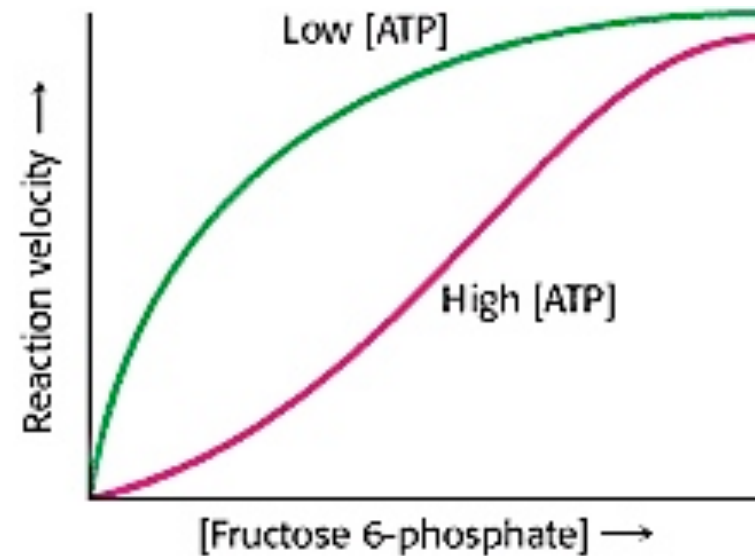
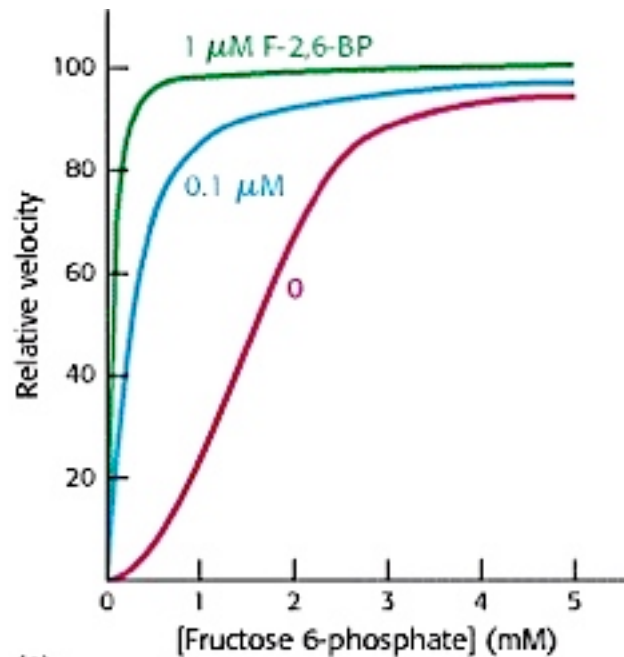


©1999 GARLAND PUBLISHING

Des molécules effectrices



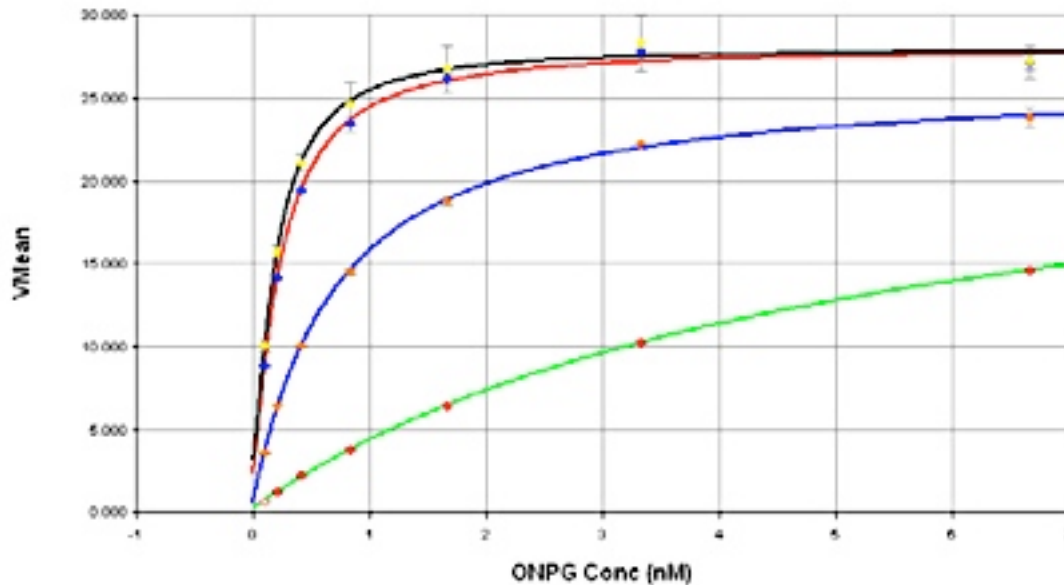
Etude de la phospho-fructo-kinase 1 (PFK1) : enzyme tétramérique



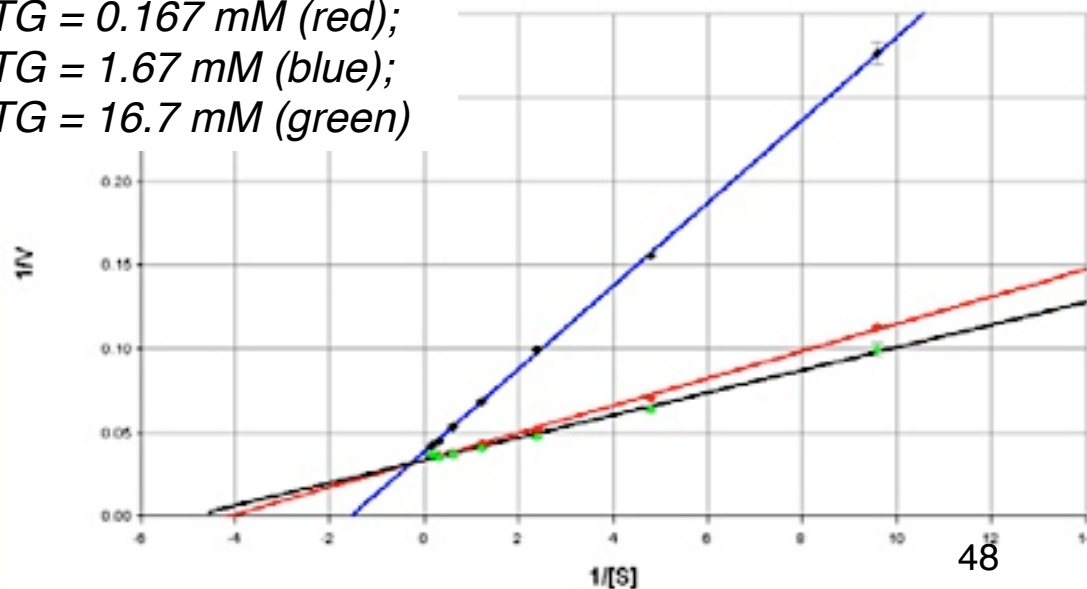
Des molécules effectrices (1)



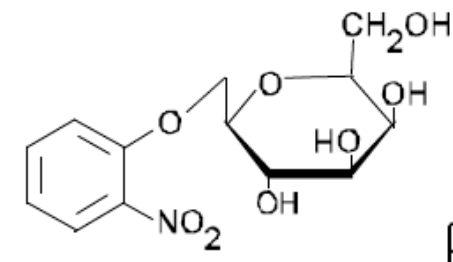
Enzymes michaeliennes et compétition



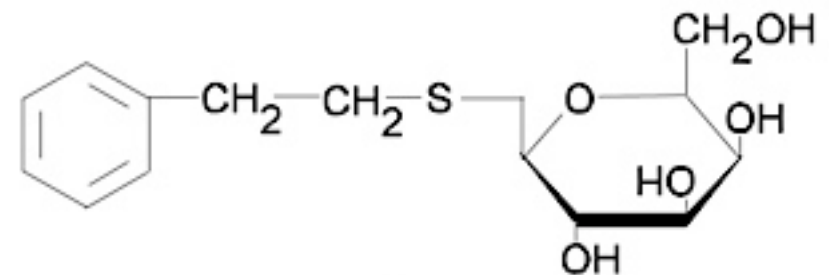
Lineweaver-Burke Plot



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.



ONPG

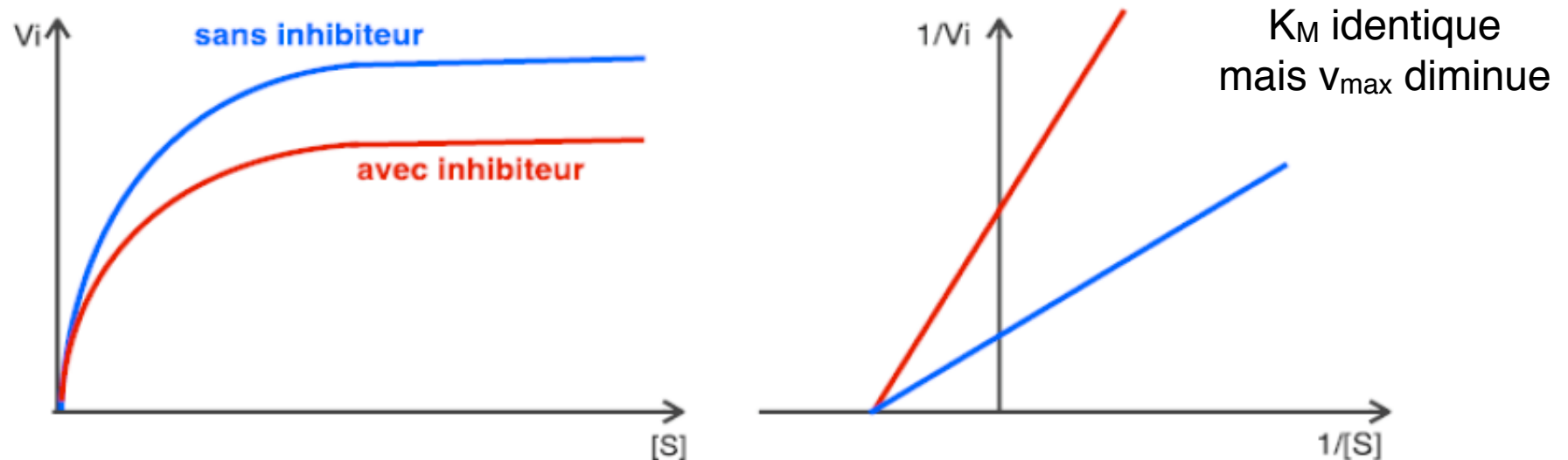


PETG

Des molécules effectrices (2)



Une inhibition non compétitive

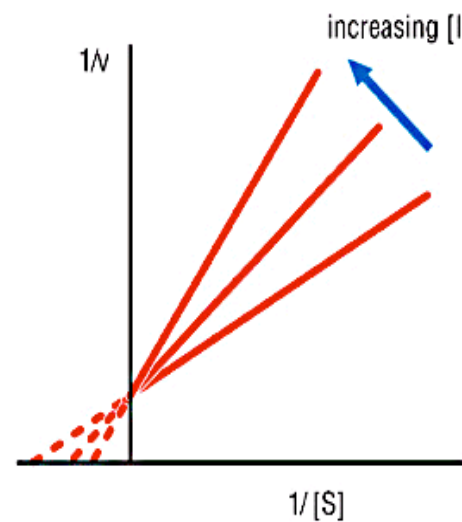


Le plomb va inhiber la ferrochelatase qui sert à la synthèse d'hème, entraînant une intoxication (intoxication au plomb, c'est le saturnisme). Le plomb se lie hors du site actif mais diminue l'activité enzymatique.

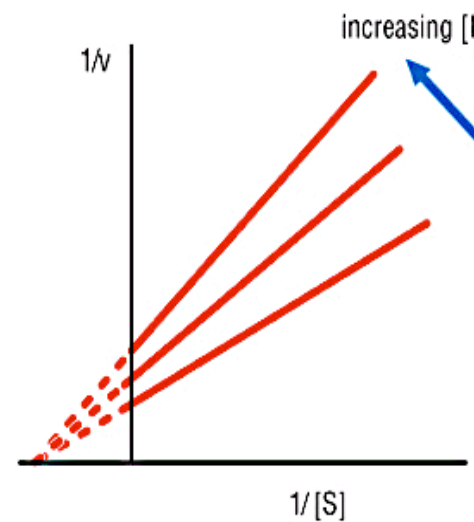
Des molécules effectrices (3)



Enzymes michaeliennes et inhibition

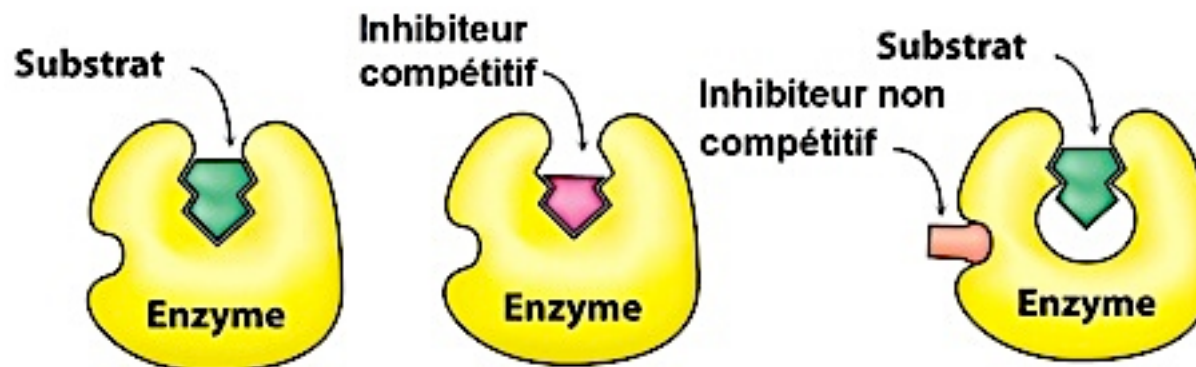


competitive



noncompetitive

© 1999–2006 New Science Press



Le cas de certaines hexokinases



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

Effecteur **homotrope** = molécule régulatrice de même nature que le ligand

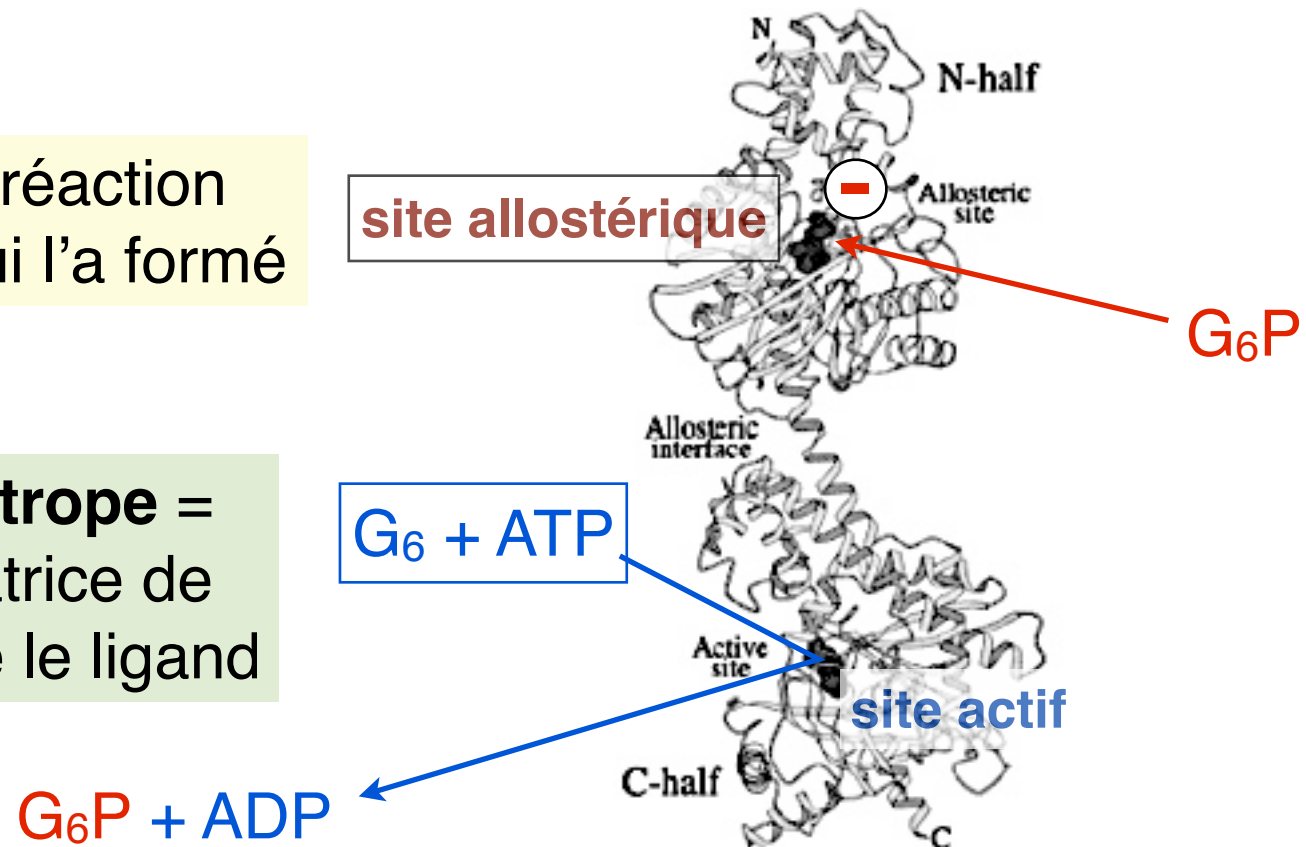
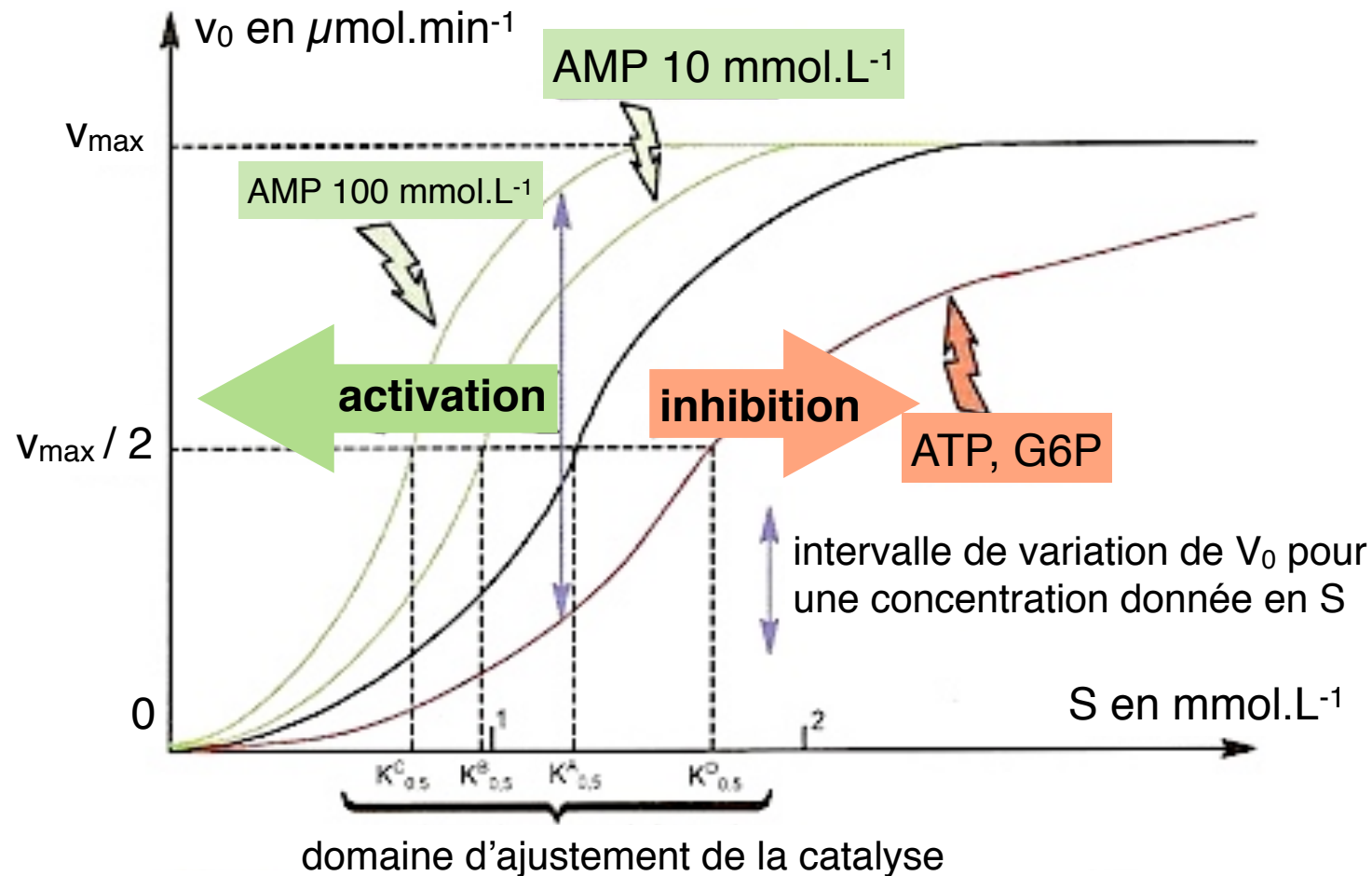


FIG. 1. Structure of a monomeric interface mutant of hexokinase I. G6P molecules are in dark gray. The illustration was drawn by MOLSCRIPT (47).

Contrôle de la glycogène phosphorylase



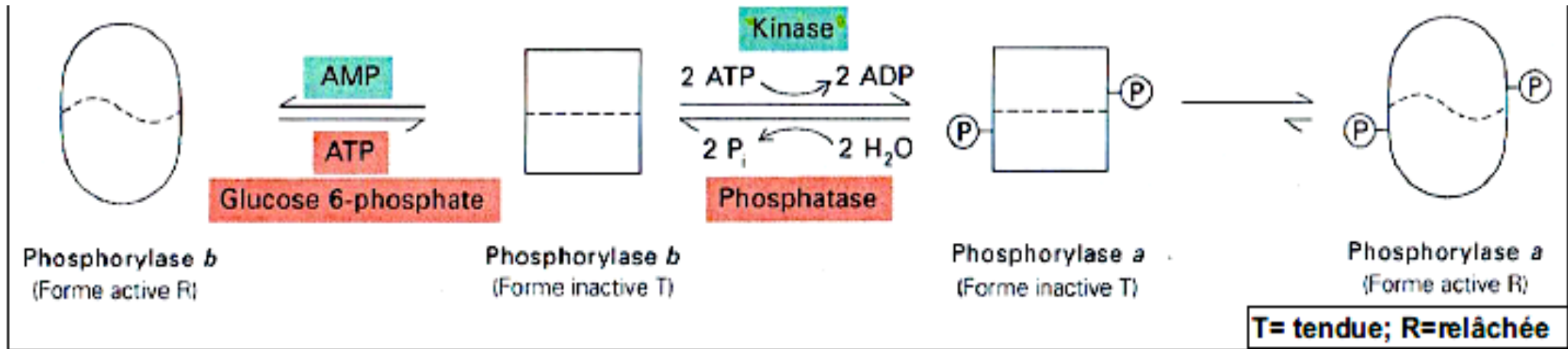
La glycogène phosphorylase



Deux voies de contrôle

par des effecteurs

par phosphorylation



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) → phosphorylase *b* active → production de glucose

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

Bilan des ligands et de leurs effets

