



C O L L E C T I O N
DIRIGÉE PAR JEAN BORNAREL

G R E N O B L E

S C I E N C E S

ENZYMOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

TOME I

■ Jeannine YON-KAHN
Guy HERVÉ

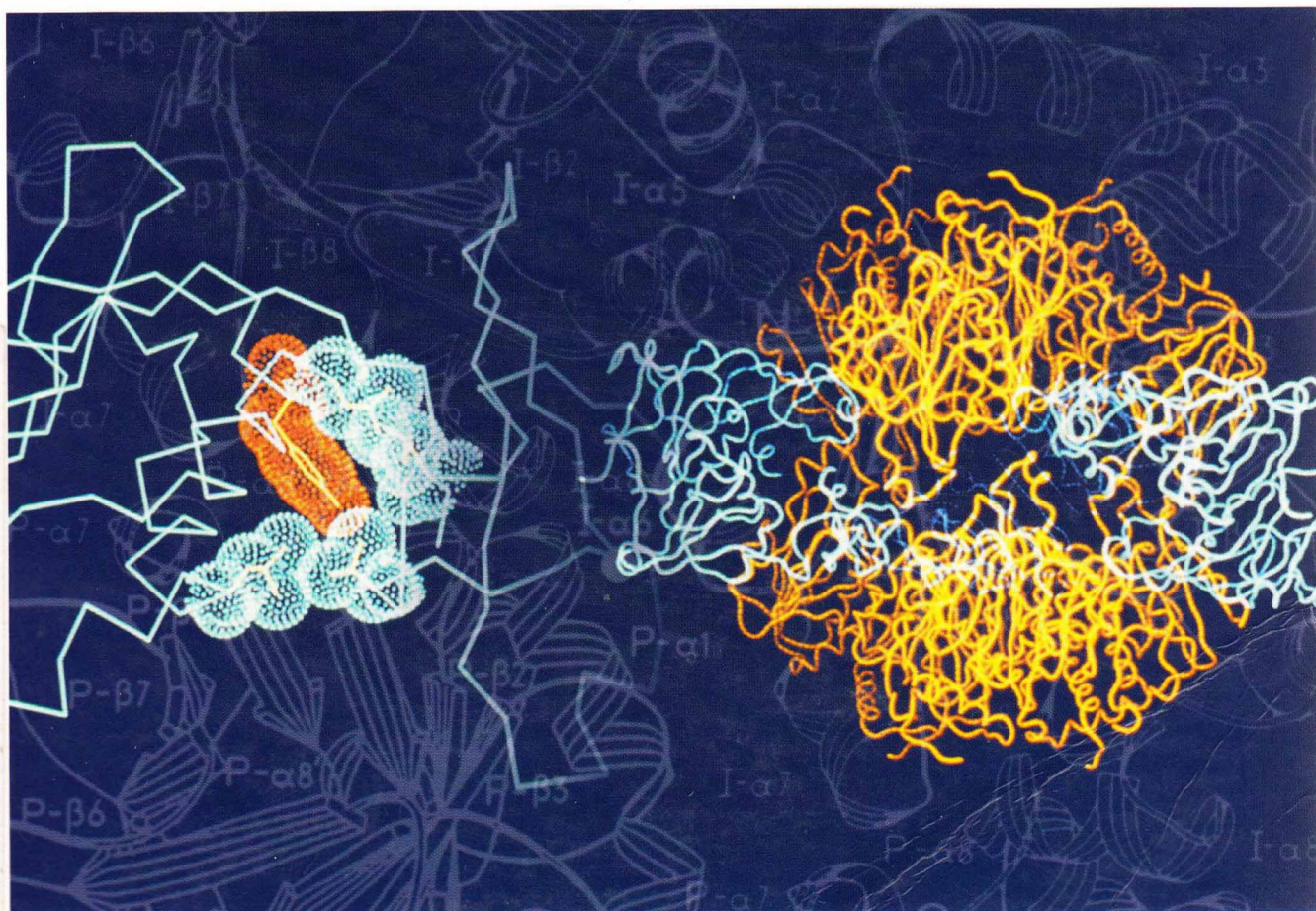


TABLE DES MATIÈRES

TOME I

PRÉFACE.....	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	5

PARTIE I – THERMODYNAMIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES

1 – RAPPEL DES PRINCIPES THERMODYNAMIQUES - NOTION D'ÉQUILIBRE CHIMIQUE	21
1.1. Rappel des principes thermodynamiques	21
1.1.1. Premier principe	21
1.1.2. Deuxième principe	22
1.1.3. Troisième principe	24
1.1.4. Energie libre	25
1.2. Notion d'équilibre - Energie libre standard	26
1.3. Détermination expérimentale des paramètres thermodynamiques	28
1.3.1. Variation d'enthalpie.....	28
1.3.2. Variation d'énergie libre	29
1.3.2.1. Analyse thermochimique	29
1.3.2.2. Etude de l'équilibre	30
1.3.2.3. Mesure directe du travail fourni par le système	31
1.4. Réactions couplées	33
1.4.1. Définition du couplage énergétique.....	33
1.4.2. Rôle de l'ATP.....	35
1.4.3. Energie libre d'hydrolyse de quelques composés phosphorylés	36
1.4.4. Quelques exemples de couplage énergétique.....	38
1.4.4.1. Formation d'ATP à partir de l'énergie d'oxydation des aliments	38
1.4.4.2. Utilisation de l'énergie de l'ATP pour le travail chimique	39
1.4.4.3. Travail osmotique	40
1.4.4.4. Travail mécanique.....	40
Bibliographie.....	41
2 – EQUILIBRES D'ASSOCIATION PROTÉINE-LIGANDS.....	43
2.1. Protéine possédant un seul site de fixation pour le ligand	43
2.2. Protéine possédant plusieurs sites équivalents et indépendants	44
2.3. Protéine possédant n sites indépendants et non-équivalents	47

2.4. Protéine possédant n sites équivalents mais dépendants	49
2.4.1. Sites équivalents présentant une dépendance électrostatique	49
2.4.2. Sites équivalents présentant des interactions stériques ou conformationnelles	50
2.4.2.1. Aspect phénoménologique	50
2.4.2.2. Energie d'interaction entre les sites	53
2.4.2.3. Les équations empiriques	53
2.5. Fonctions liées	55
2.6. Méthodes d'étude de fixation de ligands	58
2.6.1. Dialyse à l'équilibre	58
2.6.2. Dialyse dynamique	59
2.6.3. Mesure des interactions protéine-ligand dans un système biphasique eau-polymère	62
2.6.4. Chromatographie d'exclusion par la taille	63
2.6.5. Ultrafiltration	63
2.6.6. Ultracentrifugation	64
2.6.7. Méthodes spectrophotométriques directes	64
2.6.8. Titrage direct du nombre de sites actifs	65
2.6.9. Interprétation des données expérimentales	65
Bibliographie	69
3 – LES ÊTRES VIVANTS, SYSTÈMES OUVERTS	71
3.1. Les êtres vivants sont des systèmes ouverts, loin de l'équilibre	71
3.1.1. Conservation de la masse dans les systèmes ouverts	73
3.1.2. Conservation de l'énergie dans les systèmes ouverts : expression du premier principe	74
3.1.3. Production d'entropie dans les systèmes ouverts : second principe	74
3.1.4. Production d'entropie due aux réactions chimiques : l'affinité chimique	77
3.1.5. Production d'entropie et vitesse des phénomènes irréversibles	79
3.1.5.1. Les phénomènes irréversibles au voisinage de l'équilibre	79
3.1.5.2. Les phénomènes irréversibles loin de l'équilibre	83
3.2. Echange de matière et d'énergie avec l'environnement	89
Bibliographie	91
 PARTIE II – ÉTUDES CINÉTIQUES DES RÉACTIONS ENZYMATQUES EN SOLUTION	
4 – CINÉTIQUE CHIMIQUE	95
4.1. Ordre des réactions chimiques	95
4.1.1. Loi fondamentale de la cinétique chimique	95
4.1.2. Détermination de l'ordre d'une réaction	96
4.1.3. Réactions du premier ordre	99
4.1.4. Réactions réversibles du premier ordre	101
4.1.5. Réactions d'ordre 1 simultanées	102
4.1.6. Réactions du second ordre	104
4.1.6.1. Premier cas : $a_0 \neq b_0$	104
4.1.6.2. Deuxième cas : $a_0 = b_0$	105

4.1.7.	Réactions d'ordre 2 réversibles	105
4.1.8.	Equilibre de dimérisation	106
4.1.9.	Réactions d'ordre 0	107
4.1.10.	Signification de l'ordre des réactions : ordre et molécularité	107
4.2.	<i>Activation des molécules</i>	108
4.2.1.	Energie d'activation	108
4.2.2.	Réactions catalysées - Rôle du catalyseur	111
5	– CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES À COMPORTEMENT MICHAELIEN	113
5.1.	<i>Evolution des réactions enzymatiques : aspect phénoménologique</i>	114
5.1.1.	Variation de la quantité de produit formé en fonction de temps	114
5.1.1.1.	<i>Phase préstationnaire</i>	114
5.1.1.2.	<i>Phase stationnaire</i>	114
5.1.1.3.	<i>Phase d'inhibition par les produits de la réaction</i>	114
5.1.1.4.	<i>Phase d'équilibre</i>	115
5.1.2.	<i>Théorie de MICHAELIS-MENTEN</i>	115
5.2.	<i>Réactions enzymatiques à un substrat et un complexe intermédiaire</i>	117
5.2.1.	Réversibilité des réactions enzymatiques	118
5.2.2.	Vitesse des réactions enzymatiques : approximation de l'état stationnaire, approximation du quasi-équilibre - Signification des paramètres cinétiques	119
5.2.2.1.	<i>Cinétique de l'état préstationnaire</i>	119
5.2.2.2.	<i>Atteinte de l'état stationnaire</i>	121
5.2.2.3.	<i>Approximation du quasi-équilibre</i>	122
5.2.2.4.	<i>Ordre des réactions enzymatiques</i>	122
5.2.3.	Méthodes de détermination des paramètres cinétiques	126
5.2.3.1.	<i>Représentation semi-logarithmique</i>	127
5.2.3.2.	<i>Représentation d'EADIE</i>	127
5.2.3.3.	<i>Représentation de LINEWEAVER-BURK</i>	128
5.2.3.4.	<i>Représentation de HANES-DIXON</i>	128
5.2.3.5.	<i>Représentation à partir de l'équation des vitesses intégrée</i>	128
5.2.3.6.	<i>Représentation directe d'EISENTHAL et CORNISH-BOWDEN</i>	129
5.2.3.7.	<i>Validité des différentes représentations graphiques</i>	129
5.3.	<i>Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'effecteurs (inhibiteurs ou activateurs)</i>	133
5.3.1.	Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'inhibiteurs	133
5.3.1.1.	<i>Les inhibitions totales</i>	133
5.3.1.2.	<i>Inhibitions partielles</i>	144
5.3.2.	Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'activateur	148
5.3.2.1.	<i>Activations totales</i>	149
5.3.2.2.	<i>Activations partielles</i>	151
5.3.2.3.	<i>Exemples d'activation enzymatique</i>	152
5.3.2.4.	<i>Activation par le substrat</i>	154
5.4.	<i>Réactions enzymatiques à un substrat et plusieurs complexes intermédiaires</i>	155
5.4.1.	Cinétiques à l'état stationnaire	155
5.4.1.1.	<i>Traitement cinétique par les déterminants</i>	156
5.4.1.2.	<i>Traitement par la méthode graphique de KING et ALTMAN</i>	157
5.4.1.3.	<i>Traitement par d'autres méthodes de graphes</i>	157
5.4.1.4.	<i>Relation entre les paramètres de l'équation des vitesses dans les réactions à un substrat et deux complexes intermédiaires</i>	161

5.4.2.	Exemple : réactions enzymatiques catalysées par les protéases à sérine	162
5.4.3.	Signification des paramètres cinétiques	163
5.4.3.1.	<i>Acylation limitante : $k_2 \ll k_3$</i>	163
5.4.3.2.	<i>Désacylation limitante : $k_2 \gg k_3$</i>	164
5.4.4.	Détermination des constantes cinétiques élémentaires	164
5.4.5.	Etude de la compétition nucléophile	165
5.4.5.1.	<i>Etude de la compétition nucléophile dans le cas où il n'y a pas de site de l'eau et de ses analogues</i>	166
5.4.5.2.	<i>Détermination des paramètres cinétiques dans le cas où existe un site de l'eau et de ses analogues</i>	170
5.4.6.	Etude cinétique de l'état préstationnaire : titrage des sites actifs des enzymes	176
5.4.7.	Généralisation à n intermédiaires	179
5.5.	Réactions enzymatiques à deux substrats	179
5.5.1.	Nomenclature	180
5.5.2.	Schémas linéaires	181
5.5.2.1.	<i>Mécanisme Bi Bi ordonné</i>	181
5.5.2.2.	<i>Mécanisme Bi Bi Iso ordonné</i>	181
5.5.2.3.	<i>Mécanisme Bi Bi ping-pong</i>	181
5.5.2.4.	<i>Mécanisme THEORELL-CHANCE</i>	182
5.5.3.	Schémas branchés : mécanisme Bi Bi au hasard	182
5.5.4.	Etude cinétique de quelques réactions à deux substrats	182
5.5.4.1.	<i>Mécanisme Bi Bi ordonné</i>	182
5.5.4.2.	<i>Mécanisme ping-pong Bi Bi</i>	186
5.5.4.3.	<i>Un schéma branché : le mécanisme Bi Bi au hasard (Bi Bi random)</i>	188
5.5.5.	Schémas homéomorphes - Comment lever l'ambiguïté de la réponse cinétique ?	191
5.5.5.1.	<i>Etude des inhibitions par les produits de la réaction : règles de CLELAND</i>	191
5.5.5.2.	<i>Etude de l'association des substrats à l'enzyme</i>	193
5.5.5.3.	<i>Etude des étapes transitoires par cinétique rapide</i>	193
5.5.6.	Quelques exemples	193
5.5.6.1.	<i>La L-aspartate-2-oxoglutarate amino transférase</i>	193
5.5.6.2.	<i>L'hexokinase de levure</i>	196
5.6.	Analyse statistique des données expérimentales	198
5.6.1.	Quelques définitions	199
5.6.2.	La régression linéaire simple	199
5.6.3.	La régression multilinéaire	201
5.6.4.	Analyse d'une régression non-linéaire	201
5.6.5.	Vérification de l'adéquation du traitement	202
5.6.5.1.	<i>Examen des valeurs résiduelles</i>	202
5.6.5.2.	<i>Le facteur de pondération w_i</i>	204
5.6.5.3.	<i>Stratégie générale</i>	204
	Bibliographie	204
6 -	MÉTHODES EXPÉRIMENTALES D'ÉTUDE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES	207
6.1.	Méthodes discontinues	208
6.2.	Méthodes continues	208
6.3.	Dosages enzymatiques couplés	210

6.4. Méthodes de flux	216
6.4.1. Principe général des méthodes de flux	217
6.4.2. Appareils à flux continu	217
6.4.3. Appareils de stopped-flow	218
6.4.4. Appareils de quenched-flow	219
6.4.5. Critère d'homogénéité du mélange	220
6.4.6. Quelques problèmes techniques	220
6.5. Méthodes de relaxation	221
6.5.1. Principe des méthodes de relaxation	221
6.5.1.1. Perturbation transitoire	222
6.5.1.2. Perturbation alternative	223
6.5.2. Principales méthodes de relaxation	224
6.5.2.1. Relaxation thermique.....	224
6.5.2.2. Choc de pression	225
6.5.2.3. Autres méthodes de relaxation	225
6.5.3. Traitement des données cinétiques	226
6.5.3.1. Réactions à <i>n</i> étapes consécutives	226
6.5.3.2. Réaction d'ordre 1 à une étape : isomérisation	227
6.5.3.3. Réaction bimoléculaire à une étape	228
6.5.3.4. Réaction bimoléculaire suivie d'une isomérisation	229
6.5.3.5. Equilibre de dimérisation	231
6.5.3.6. Analyse des données de relaxation	232
6.5.3.7. Exemple d'étude d'une réaction enzymatique au moyen de la relaxation thermique	233
6.6. Etude des réactions enzymatiques aux basses températures : <i>cryoenzymologie</i>	235
6.7. Etude des réactions enzymatiques sous haute pression	236
6.7.1. Principe	236
6.7.2. Volume d'activation.....	238
6.7.3. Appareillage	239
Bibliographie	241

PARTIE III – FORMATION ET STRUCTURE DU CENTRE ACTIF DES ENZYMES

7 – ORIGINE DES ENZYMES ET ÉVOLUTION	245
7.1. Echelle de temps de l'évolution	245
7.2. Chimie du prébiotique dans l'hypothèse de la « soupe originelle »	247
7.2.1. Formation de quelques molécules organiques simples	247
7.2.2. Formation de macromolécules	248
7.2.2.1. Formation abiotique de polypeptides	249
7.2.2.2. Formation abiotique de nucléotides et acides nucléiques	250
7.2.3. Discussion sur la nature des premières molécules biologiques	250
7.3. Théorie du métabolisme de surface	253
7.3.1. Les « métabolistes » de surface autotrophes	255
7.3.2. Le changement vers un métabolisme cellulaire	257
7.3.3. Evolution de l'appareil génétique	258
7.3.4. Propriétés catalytiques des ARN	262

7.4. Chiralité des molécules biologiques.....	264
7.5. Autres théories sur l'origine de la vie.....	265
Bibliographie.....	267
8 – FORMATION DE LA STRUCTURE FONCTIONNELLE DES ENZYMES : ÉVÉNEMENTS CO- ET POST-TRADUCTIONNELS	269
8.1. Processus covalents.....	270
8.1.1. Protéolyses limitées.....	270
8.1.2. Modifications chimiques.....	275
8.2. Processus non-covalents	280
8.2.1. Repliement des protéines	280
8.2.2. Assemblage des sous-unités.....	282
Bibliographie.....	283
9 – TOPOLOGIE DU CENTRE ACTIF DES ENZYMES	285
9.1. Approche cinétique - Analyse des profils de pH.....	287
9.1.1. Effet du pH sur l'état conformationnel de la protéine	288
9.1.1.1. Dénaturation irréversible	288
9.1.1.2. Dénaturation réversible	288
9.1.1.3. Ionisation de groupes qui interviennent spécifiquement dans la conformation active de l'enzyme	288
9.1.2. Etats d'ionisation du substrat.....	290
9.1.3. Effet du pH sur les associations enzyme-substrat.....	290
9.1.4. Effets du pH sur l'ionisation des groupes catalytiques.....	292
9.1.4.1. Réactions enzymatiques comportant un seul intermédiaire	292
9.1.4.2. Réactions enzymatiques impliquant deux complexes intermédiaires	296
9.1.4.3. Réactions enzymatiques comportant plusieurs complexes intermédiaires.....	298
9.2. Approche chimique de l'étude du centre actif des enzymes	298
9.2.1. Principe du marquage chimique	298
9.2.1.1. Effets du microenvironnement sur les groupes fonctionnels de la protéine	299
9.2.1.2. Effet du microenvironnement sur le réactif.....	303
9.2.1.3. Conditions requises pour la conduite d'une modification chimique	304
9.2.2. Stratégie des modifications chimiques	305
9.2.2.1. Marquage par un substrat, un quasi-substrat ou un coenzyme	305
9.2.2.2. Marqueurs d'affinité.....	309
9.2.2.3. Marquage par photoaffinité	314
9.2.2.4. Réactifs suicides.....	318
9.2.2.5. Marquage direct par des réactifs sélectifs	320
9.2.2.6. Marquage différentiel.....	320
9.2.2.7. Principales réactions des chaînes latérales des acides aminés	321
9.2.3. Critères utilisés pour l'interprétation des résultats.....	342
9.2.3.1. Inactivation stœchiométrique	342
9.2.3.2. Protection spécifique contre l'inactivation.....	343
9.2.3.3. Analyse cinétique des résultats	343
9.2.3.4. Réversibilité de la modification chimique et de la perte d'activité	352
9.3. Utilisation des méthodes de mutagenèse dirigée pour l'étude du centre actif des enzymes	352

9.3.1. Méthodologie.....	352
9.3.2. Stratégie.....	354
9.3.3. Quelques exemples.....	354
9.4. <i>Etudes structurales par radiocristallographie et résonance magnétique nucléaire du centre actif des enzymes</i>	355
Bibliographie.....	358

TOME II

PARTIE IV – LA FONCTION CATALYTIQUE

INTRODUCTION.....	365
10 – FORMATION DES COMPLEXES ENZYME-SUBSTRAT.....	371
10.1. Nature des forces intervenant dans les associations enzyme-substrat.....	372
10.1.1. Forces d'interactions électrostatiques.....	373
10.1.1.1. Interactions entre deux ions ou interactions coulombiennes.....	373
10.1.1.2. Interactions entre un ion et un dipôle.....	374
10.1.1.3. Interactions entre dipôles permanents.....	376
10.1.2. Interactions d'induction.....	377
10.1.2.1. Interaction entre un ion et un dipôle induit.....	377
10.1.2.2. Interactions entre un dipôle et un dipôle induit ou interactions de DEBYE.....	379
10.1.3. Interactions électrocinétiques ou forces de dispersion de LONDON.....	379
10.1.4. Interactions répulsives à courte distance.....	380
10.1.5. La liaison hydrogène.....	382
10.1.6. Interactions hydrophobes.....	384
10.1.7. La liaison covalente.....	385
10.1.8. Détermination de la nature des interactions enzyme-substrat.....	385
10.2. Energétique des associations enzyme-substrat.....	390
10.3. Mécanismes d'association enzyme-substrat.....	395
10.3.1. Théorie de l'ajustement induit.....	396
10.3.2. Théorie du « rack » ou du « strain » (distorsions ou contraintes dans le substrat).....	398
10.3.3. Théorie du « rack dynamique ».....	399
Bibliographie.....	399
11 – MÉCANISMES CATALYTIQUES.....	401
11.1. La catalyse chimique.....	402
11.1.1. Définitions et principes généraux.....	402
11.1.1.1. Mécanismes de rupture d'une liaison covalente.....	402
11.1.1.2. Réactifs nucléophiles et électrophiles.....	403
11.1.1.3. La théorie de l'état de transition.....	404
11.1.2. La catalyse nucléophile.....	405
11.1.2.1. Formation de l'intermédiaire d'addition : le complexe tétraédrique.....	405

11.1.2.2. Effet de la structure sur la réactivité.....	406
11.1.2.3. Mécanismes possibles de la catalyse nucléophile	408
11.1.3. La catalyse générale basique.....	410
11.1.4. La catalyse électrophile.....	412
11.1.5. La catalyse générale acide	413
11.1.6. La catalyse générale acide-base.....	415
11.2. Les effets isotopiques.....	417
11.2.1. Effets isotopiques primaires.....	418
11.2.1.1. Définition.....	418
11.2.1.2. Interprétation énergétique des effets isotopiques primaires.....	419
11.2.1.3. Effets isotopiques avec le tritium	420
11.2.2. Effets de solvants : équilibres dans H ₂ O et D ₂ O	420
11.2.3. Effets isotopiques secondaires.....	423
11.2.3.1. Changement de fréquence des liaisons entre atomes non-réagissants	423
11.2.3.2. Effets inductifs	423
11.2.3.3. Hyperconjugaison	423
11.2.3.4. Effets stériques.....	424
11.2.3.5. Effets de solvant	424
11.2.4. Grandeur des effets isotopiques.....	424
11.2.5. Effets isotopiques sur les réactions enzymatiques	425
11.3. Principaux types de réactions catalysées par les enzymes.....	427
11.3.1. Réactions de transfert de groupes.....	427
11.3.1.1. Réactions de transfert d'acyle	427
11.3.1.2. Transfert de groupes phosphoryle	428
11.3.1.3. Transfert de groupes glycosyle.....	430
11.3.2. Réactions d'oxydoréduction	430
11.3.3. Réactions d'élimination, d'isomérisation et de réarrangement	434
11.3.4. Formation ou rupture de liaisons carbone-carbone.....	436
11.4. Particularités de la catalyse enzymatique	438
11.4.1. La catalyse enzymatique est une catalyse intramoléculaire	439
11.4.1.1. Les réactions enzymatiques sont des réactions du premier ordre.....	439
11.4.1.2. Effet de concentration.....	440
11.4.1.3. Effets d'orientation.....	443
11.4.1.4. Effets entropiques.....	446
11.4.1.5. Rôle de l'ajustement induit et des contraintes.....	448
11.4.2. La catalyse enzymatique est une catalyse polyfonctionnelle	450
11.4.3. Complémentarité de l'enzyme pour l'état de transition du substrat.....	451
11.4.3.1. Aspects énergétiques	452
11.4.3.2. Paramètres cinétiques correspondant à quelques réactions enzymatiques	453
11.4.3.3. Affinité des enzymes pour les analogues de l'état de transition.....	458
11.4.3.4. Estimation des affinités minimales des enzymes pour les états de transition des substrats.....	460
11.4.3.5. Arguments structuraux.....	461
11.4.3.6. Une application de cette particularité : les abzymes	466
11.4.4. Effets de microenvironnement.....	468
11.4.4.1. Effets électrostatiques.....	468
11.4.4.2. Rôle des molécules d'eau.....	471
11.4.4.3. Rôle de l'environnement hydrophobe	472
11.4.4.4. Liaisons hydrogène à faible barrière d'énergie	472
11.4.5. Intermédiaires réactionnels dans la catalyse enzymatique	473

11.5. Conclusions.....	475
Bibliographie.....	476
12 – EXEMPLES DE RELATIONS STRUCTURE-FONCTION	
DANS QUELQUES SYSTÈMES ENZYMATIQUES	479
12.1. Les protéases.....	480
12.1.1. Les protéases à sérine.....	480
12.1.1.1. Aspects structuraux	480
12.1.1.2. Activation des zymogènes.....	481
12.1.1.3. Le chemin réactionnel	486
12.1.1.4. Le site de fixation des substrats et le complexe de MICHAELIS.....	488
12.1.1.5. Le complexe tétraédrique et le site de fixation de l'ion oxonium	490
12.1.1.6. La triade catalytique et le mécanisme d'acylation	490
12.1.1.7. L'acyl-enzyme et l'étape de désacylation	492
12.1.2. Les protéases à thiol.....	494
12.1.2.1. Aspects structuraux	495
12.1.2.2. Activation des protéases à thiol.....	498
12.1.2.3. Le centre actif.....	498
12.1.2.4. Mécanisme catalytique	500
12.1.3. Les protéases acides ou aspartyl-protéases	500
12.1.3.1. Activation des zymogènes.....	501
12.1.3.2. Aspects structuraux	502
12.1.3.3. Association enzyme-substrat	503
12.1.3.4. Le site catalytique	505
12.1.3.5. Formation de l'intermédiaire tétraédrique.....	506
12.1.3.6. Rupture de l'intermédiaire tétraédrique.....	506
12.1.4. Les métalloprotéases : la carboxypeptidase A	508
12.1.4.1. Activation du zymogène	509
12.1.4.2. Structure de la carboxypeptidase A	511
12.1.4.3. Localisation et rôle du Zn^{++}	512
12.1.4.4. Le centre actif.....	514
12.1.4.5. Association enzyme-substrat	514
12.1.4.6. Mécanismes catalytiques	515
12.2. Enzymes de transfert de groupes phosphoryle.....	518
12.2.1. Amino-acyl ARNT synthétases	519
12.2.2. Les kinases - La phosphoglycérate kinase	519
12.2.2.1. Propriétés structurales	520
12.2.2.2. Le site de fixation des substrats nucléotidiques	521
12.2.2.3. Le site de fixation des substrats phosphoglycérate.....	522
12.2.2.4. Le complexe ternaire et le mouvement des domaines	525
12.2.2.5. Mécanisme catalytique	525
12.3. Enzymes de transfert de groupes glycosyles - Le Lysozyme.....	526
12.3.1. Propriétés structurales	527
12.3.2. Le centre actif.....	528
12.3.3. Mécanisme catalytique.....	529
12.4. Les enzymes d'oxydoréduction	531
12.4.1. L'alcool déshydrogénase	531
12.4.1.1. Propriétés structurales	532
12.4.1.2. Changement conformationnel de l'enzyme induit par la fixation du coenzyme	534

12.4.1.3. Fixation du coenzyme	535
12.4.1.4. Fixation des substrats	536
12.4.1.5. Mécanisme catalytique	537
12.4.2. Le flavocytochrome b ₂	537
12.4.2.1. Propriétés structurales	538
12.4.2.2. Fixation de l'hème et de la flavine	540
12.4.2.3. Fixation du substrat	541
12.4.2.4. Mécanisme réactionnel	543
12.5. La triose phosphate isomérase	544
12.5.1. Structure de l'enzyme	544
12.5.2. Structure du complexe enzyme-substrat	545
12.5.3. Mécanisme réactionnel	545
12.6. L'aspartate aminotransférase	550
12.6.1. Propriétés structurales	552
12.6.2. Fixation du coenzyme	554
12.6.3. Fixation du substrat : changement de conformation de l'enzyme	555
12.6.4. Le site actif	556
12.6.5. Mécanisme catalytique	556
12.7. Les aldolases	559
12.7.1. Propriétés structurales	560
12.7.2. Le site actif	562
12.7.3. Mécanisme catalytique	565
12.8. Conclusions et perspectives	567
Bibliographie	570

PARTIE V – RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

INTRODUCTION	579
13 – RÉGULATION PAR INTERACTIONS NON-COVALENTES	581
13.1. Régulation allostérique	581
13.2. Aspect phénoménologique de la coopérativité	582
13.3. Les modèles phénoménologiques	584
13.3.1. L'équation de HILL	584
13.3.2. L'équation d'ADAIR	586
13.4. Le modèle concerté [MONOD, WYMAN & CHANGEUX, 1965]	588
13.4.1. Définition	588
13.4.2. Les systèmes K	588
13.4.3. Systèmes V dans le modèle concerté	594
13.5. Le modèle séquentiel [KOSHLAND, NÉMÉTHY & FILMER, 1966]	595
13.5.1. Définition	595
13.5.2. Modèle du tétramère tétraédrique	598
13.5.3. Modèle du tétramère carré	598
13.5.4. Anticoopérativité	600
13.6. Le modèle généralisé	602

13.7. Couplage thermodynamique entre énergie de fixation des ligands (substrats) et énergie d'interaction entre sous-unités.....	603
13.8. Coopérativité cinétique : modèle de RICARD.....	605
13.9. Coopérativité et allostérie.....	607
13.10. Exemples d'enzymes allostériques.....	608
13.10.1. La glycogène phosphorylase.....	608
13.10.1.1. Régulation allostérique.....	608
13.10.1.2. Structure de la phosphorylase.....	612
13.10.2. La phosphofructokinase.....	615
13.10.2.1. Structure de la phosphofructokinase.....	616
13.10.2.2. Régulation allostérique de la phosphofructokinase.....	618
13.10.3. L'aspartate transcarbamylase d' <i>E. coli</i>	621
13.10.3.1. Effets coopératifs entre les sites catalytiques.....	624
13.10.3.2. Allostérie - Interactions hétérotropes entre sites régulateurs et sites catalytiques.....	629
13.10.4. La ribonucléotide réductase.....	633
13.10.4.1. Mécanisme réactionnel.....	633
13.10.4.2. Structure des ribonucléotide réductases.....	634
13.10.4.3. Régulation allostérique.....	637
13.11. Le phénomène de « squatting ».....	638
13.12. Les enzymes « mnémoniques ».....	642
13.12.1. Cas d'un enzyme mnémonique à un substrat et un produit.....	643
13.12.1.1. Comportement cinétique.....	643
13.12.1.2. Aspects thermodynamiques.....	644
13.12.2. Cas d'un enzyme mnémonique à deux substrats et deux produits.....	645
13.12.3. Le produit de la réaction agit comme effecteur.....	648
13.13. Régulation par interaction protéine-protéine.....	650
13.13.1. Le système lipase-colipase.....	651
13.13.2. Régulation de l'ornithine transcarbamylase de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> par l'arginase.....	656
13.13.3. Les protéine kinases dépendantes du cAMP.....	658
13.13.4. Régulations par interaction avec le complexe calmoduline-calcium.....	662
Bibliographie.....	664
14 – RÉGULATIONS COVALENTES.....	669
14.1. Modifications par protéolyse limitée : activation de précurseurs.....	669
14.2. Les inhibiteurs protéiques de protéases.....	670
14.2.1. Inhibiteurs des protéases à sérine.....	670
14.2.1.1. Les α_2 -macroglobulines.....	670
14.2.1.2. Les inhibiteurs protéiques de protéases possédant un site spécifique de coupure.....	671
14.2.2. Les inhibiteurs de protéases à thiol.....	678
14.2.3. Les inhibiteurs protéiques de métalloprotéases.....	679
14.2.4. Inhibiteurs protéiques des aspartyl-protéases.....	679
14.3. Régulation par modification chimique.....	680
14.3.1. Phosphorylation.....	680
14.3.2. ADP-ribosylation.....	683
14.3.2.1. Réaction enzymatique impliquée.....	683

14.3.2.2. Effets physiologiques	685
14.3.3. Glycosylation.....	686
14.3.4. Adénylation, uridylation	688
14.4. Mécanismes d'action des systèmes cascades	692
14.4.1. Définition.....	692
14.4.2. Systèmes cascades irréversibles	694
14.4.2.1. La cascade de la coagulation sanguine.....	694
14.4.2.2. Le système du complément	698
14.4.3. Cascades cycliques.....	701
14.4.3.1. Cascades monocycliques	701
14.4.3.2. Les systèmes cascades bicycliques.....	706
14.4.3.3. Les systèmes cascades multicycliques	709
14.5. Les inactivations irréversibles	710
14.5.1. Les protéasomes	710
14.5.1.1. Protéasome 20s.....	711
14.5.1.2. Protéasome 26S	713
14.5.2. Les caspases et le processus d'apoptose.....	714
Bibliographie.....	717

15 – ENZYMES MULTIFONCTIONNELS, COMPLEXES MULTIENZYMATIQUES

ET CANALISATION MÉTABOLIQUE	719
15.1. La phosphoribosylanthranilate isomérase-indoleglycérolphosphate synthase.....	720
15.1.1. Structure de l'enzyme de <i>E. coli</i>	721
15.1.2. Structure du site actif	723
15.1.3. Propriétés fonctionnelles.....	726
15.2. La tryptophane synthase.....	727
15.2.1. Propriétés fonctionnelles.....	727
15.2.2. Structure de l'enzyme	732
15.2.3. Etude d'un mutant conduisant à l'obstruction du canal	734
15.3. La protéine CAD.....	736
15.3.1. Les premiers enzymes de la voie de biosynthèse des pyrimidines.....	736
15.3.2. Aspects structuraux	738
15.3.3. Propriétés fonctionnelles.....	738
15.4. La carbamylphosphate synthétase.....	739
15.4.1. Propriétés fonctionnelles.....	739
15.4.2. Propriétés structurales	740
15.4.3. Le tunnel.....	741
15.5. Le complexe de la pyruvate déshydrogénase.....	742
15.5.1. Propriétés fonctionnelles.....	742
15.5.2. Propriétés structurales	744
15.5.3. Rôle des domaines lipoamide dans la canalisation du substrat	747
15.6. La synthétase des acides gras	748
15.6.1. Propriétés fonctionnelles.....	749
15.6.2. Caractéristiques structurales	750
15.7. Complexes multienzymatiques transitoires et phénomène de canalisation.....	755
Bibliographie.....	763

PARTIE VI – ENZYMOLOGIE EN MILIEU STRUCTURÉ

INTRODUCTION.....	767
16 – LOCALISATION ET COMPARTIMENTATION CELLULAIRES.....	769
16.1. Localisation des enzymes dans les compartiments cellulaires	769
16.2. La concentration cellulaire des macromolécules	773
16.3. Interactions des enzymes avec les constituants cellulaires.....	775
16.3.1. Enzymes membranaires	775
16.3.2. Enzymes associés au cytosquelette.....	778
16.3.3. Enzymes associés aux parois végétales.....	779
16.4. Compartimentation des métabolites	779
17 – CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES CATALYSÉES PAR DES ENZYMES IMMOBILISÉS.....	783
17.1. Equation fondamentale du couplage	783
17.2. Boucles d'hystérésis dans les réactions impliquant un couplage diffusion-réaction.....	786
17.3. Contraintes électrostatiques sur les enzymes immobilisés	788
18 – THÉORIE DU CONTRÔLE DES VOIES MÉTABOLIQUES.....	791
18.1. Contrôle d'une voie métabolique linéaire à l'état stationnaire	791
18.1.1. Coefficients de contrôle	792
18.1.2. Coefficients d'élasticité et relation de connectivité.....	793
18.1.3. Approches expérimentales	796
18.2. Contrôle d'un cycle métabolique	798
Bibliographie.....	804
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	807
Bibliographie.....	810
BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE	813
CONSTANTES PHYSIQUES.....	815
INDEX.....	817