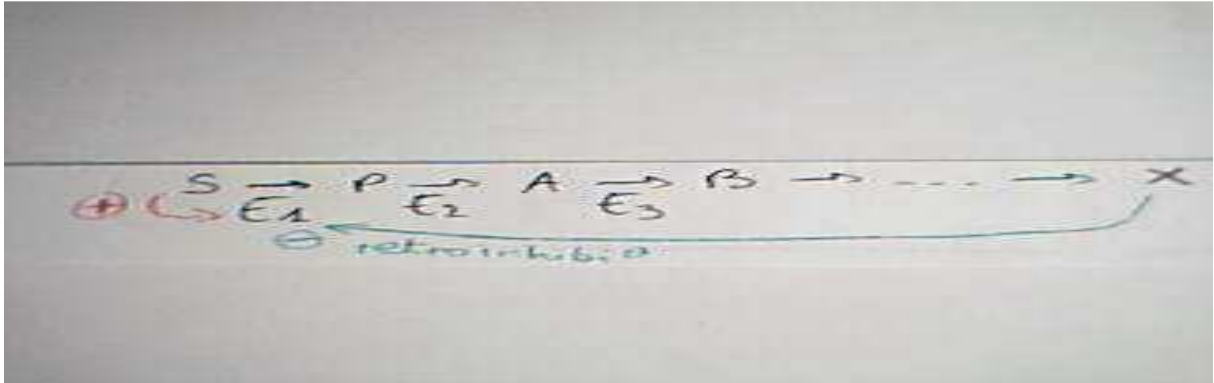


ENZYMOLOGIE ; STRATEGIE CATALYTIQUE :

D) Les enzymes allostériques :

Les enzymes allostériques jouent un rôle majeur dans les régulations métaboliques. Il faut rappeler que dans l'organisme se produisent des chaînes de réaction, ce sont les voies métaboliques.



L'enzyme E1 est en général le siège de la réaction mais X peut également l'être assez fréquemment. On dit que E1 est l'enzyme clé de la régulation, c'est un enzyme allostérique.

Les enzymes allostériques ont une cinétique différente de celle des enzymes michaeliennes.

Pour les enzymes allostériques, on définit différents effecteurs allostériques selon leurs effets :

Le substrat qui est l'activateur de E1 aura un effet homotrope positif, c'est à dire qu'il agit sur sa propre transformation.

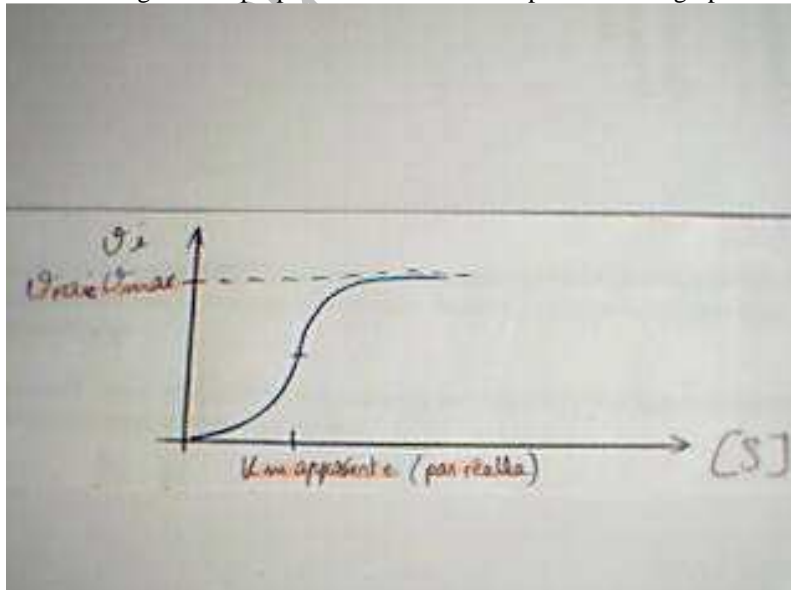
Un activateur allostérique aura un effet hétérotrope positif.

Un inhibiteur allostérique aura un effet hétérotrope négatif.

Les effecteurs à effets hétérotropes (activateurs et inhibiteurs allostériques) n'ont pas d'analogie de structure avec le substrat et se fixent donc sur l'enzyme dans des sites spécifiques différents du site actif.

A) L'effet homotrope positif :

Le substrat agit sur sa propre transformation : on peut tracer le graphe suivant à [E] constante :

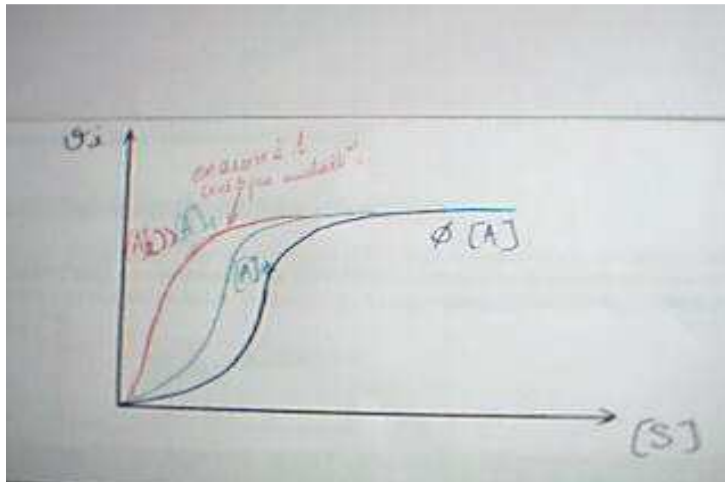


On obtient une sigmoïde ce qui traduit le phénomène de coopérativité (qui est absent de l'hyperbole michaelienne) ; on a une augmentation lente, puis rapide, puis de nouveau lente.
Quand on obtient une sigmoïde, alors on peut affirmer que l'enzyme est bien allostérique.

En fait, les première molécules de substrat permettent à l'enzyme un meilleur fonctionnement.

B) L'effet hétérotrope positif :

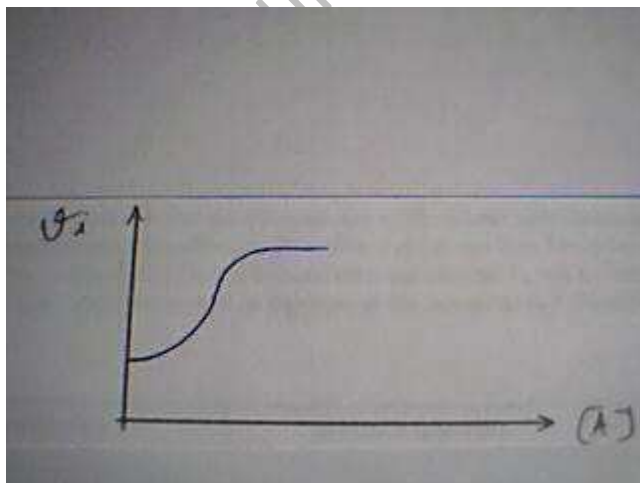
A [E] constante, on peut tracer le graphe primaire suivant :



En augmentant [A], on voit que la v_i augmente plus facilement avec [S] et à [A] saturant, on a une transition vers une cinétique michaelienne.

Cela permet de conclure que A est bien un activateur de l'enzyme allostérique étudiée. Cependant, on ne peut pas encore savoir s'il est un activateur allostérique ou pas.

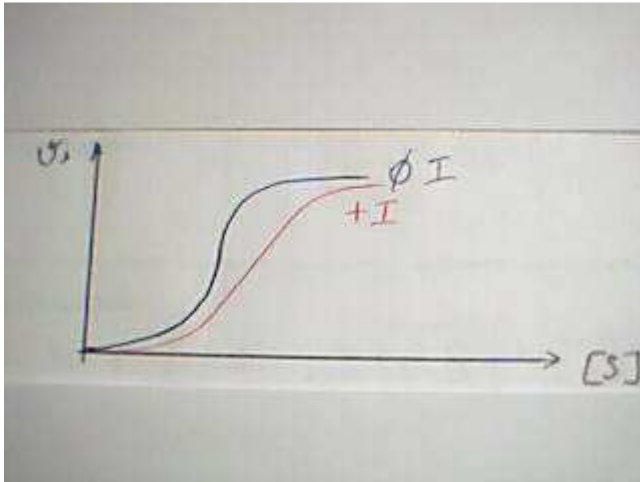
Pour déterminer si A est un activateur allostérique ou pas, il faut tracer le graphe secondaire suivant à [E] constante et à [S] constante et peu élevée :



Si on obtient une sigmoïde croissante, alors, on peut affirmer que A est un activateur allostérique de l'enzyme avec un effet hétérotrope positif (ou coactivateur de l'enzyme), sinon, c'est un activateur non allostérique.

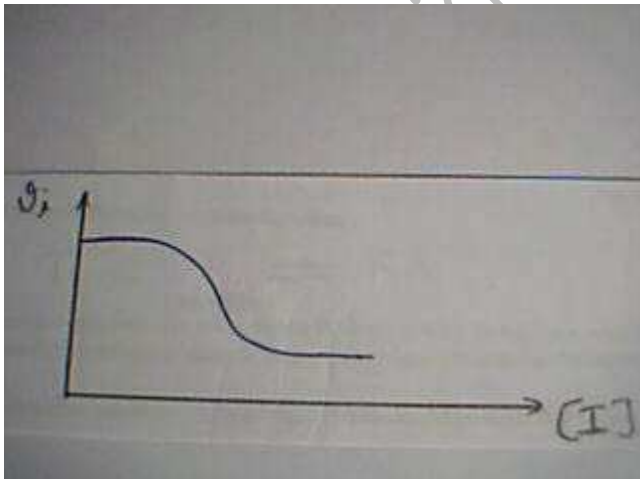
C) L'effet hétérotrope négatif :

Encore une fois, à [E] constante, on peut tracer le graphe primaire suivant :



On peut voir qu'en présence de I, la v_i augmente moins facilement avec $[S]$. On peut donc en déduire que I est un inhibiteur de l'enzyme allostérique étudiée. Cependant, on ne sait pas encore s'il est allostérique ou pas.

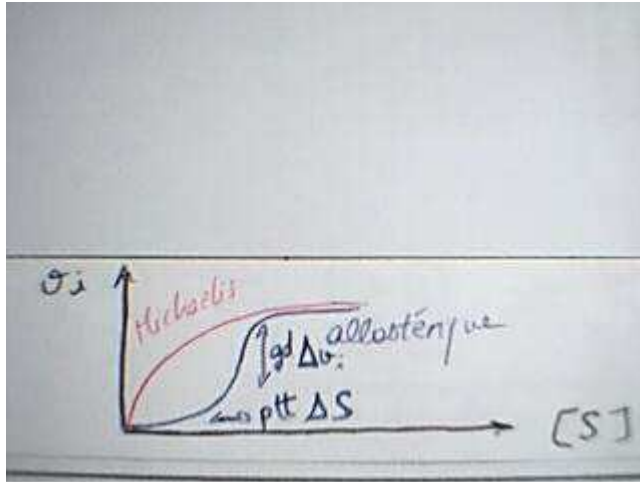
Pour savoir si I est un inhibiteur allostérique ou pas, on trace le graphe secondaire suivant toujours à [E] constante et à [S] constante et peu élevée :



Si on obtient une sigmoïde décroissante, alors, on peut affirmer que I est bien un inhibiteur allostérique de l'enzyme, il a bien un effet hétérotrope négatif.

II) Point général à cette cinétique particulière :

On peut voir en comparant l'hyperbole michaelienne avec la sigmoïde allostérique que dans le cas d'une enzyme allostérique, une petite variation d'effecteur entraîne une très grande variation de la v_i contrairement au cas des enzymes michaelienne. La régulation allostérique doit donc être très précise.



III) Modélisation :

Il existe plusieurs modèles d'enzymes allostériques :

A) La transition concertée de Monod, Wyman et Changeux :

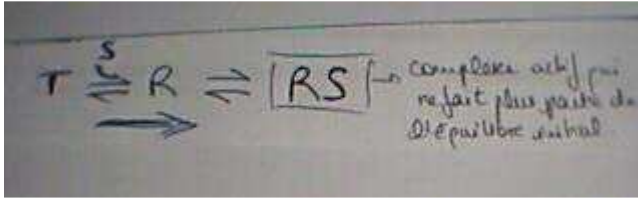
En fait, dans ce modèle, il faut que l'enzyme soit multimérique, que chaque sous-unités ait deux configurations tridimensionnelles possibles dites r et t et que dans l'enzyme, toutes les sous-unités seront dans la même configuration : soit r, formant ainsi une enzyme R, soit t, formant ainsi une enzyme T.

Les forme R et T de l'enzyme sont en équilibre et ont des affinités différentes pour les effecteurs.

Affinité pour :	Forme T (tendue)	Forme R (relâchée)
S	Nulle ou très faible	Très grande affinité
A	Nulle ou très faible	Très grande affinité
I	Très grande affinité	Nulle ou très faible
Représentation :		

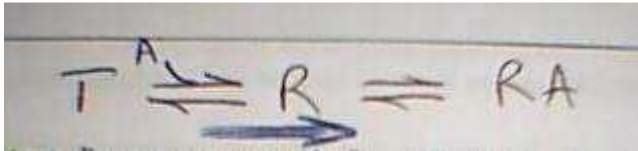
--	--	--

On a donc les équilibres :



Le substrat déplace donc l'équilibre en faveur de la forme R. A [S] faible, on a l'enzyme sous forme R (forme active) et sous forme T (forme inactive) tandis qu'à [S] saturant, toutes les enzymes sont sous forme R. L'enzyme est alors totalement active. Cela traduit le phénomène de coopérativité (chaque molécule de substrat va déplacer l'équilibre vers la forme active R).

Avec la présence d'un activateur, on a cet équilibre :



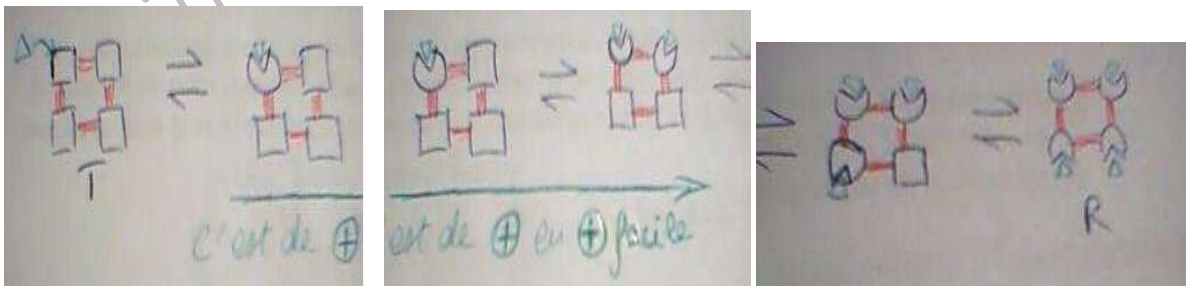
A [A] saturant, toute l'enzyme est sous la forme R, il n'y a donc plus qu'une seule forme d'enzyme et c'est pour cela que l'on se retrouve dans le même cas qu'une cinétique de Michaelis.

Bien sur, la présence d'un inhibiteur allostérique déplacera l'équilibre dans le sens de la forme inactive T :



B) Le modèle séquentiel de Koshland :

Dans ce modèle, on admet l'existence d'intermédiaires entre les formes T et R dans lesquels toutes les sous unités ne sont pas dans la même configuration r ou t.



Quoiqu'il en soit, tout effecteur d'une enzyme allostérique qui modifie l'équilibre $T \rightleftharpoons R$ est un effecteur allostérique.

Tout effecteur d'une enzyme allostérique qui laisse l'équilibre $T \rightleftharpoons R$ inchangé est un effecteur non allostérique de l'enzyme allostérique.

IV) Exemple de protéines allostériques :

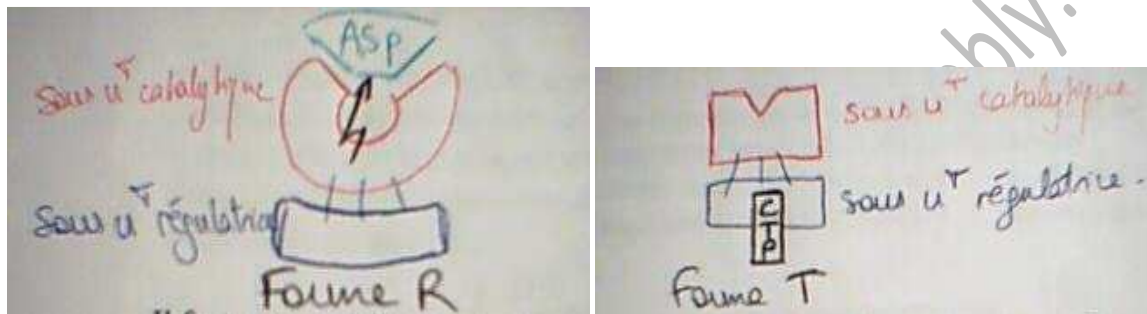
A) L'aspartate transcarboxylase :

Il s'agit d'une des enzymes de la voie de biosynthèse des pyrimidines selon la réaction suivante :

Du carbonyl phosphate et de l'aspartate sont reliés ensemble grâce à la carbonylase transcarboxylase, formant ainsi de carbonyl aspartate. 5 étapes suivantes non détaillées dans ce cours seront ensuite nécessaires pour obtenir du CTP.

L'aspartate a donc un effet homotrope positif et la cytosine triphosphate, un effet hétérotrope négatif.

Cette enzyme existe sous les deux formes R et T. Sous la forme R, elle sera liée à l'aspartate tandis que sous la forme T, elle sera liée à la CTP.



Il faut noter qu'elle est constituée d'une sous unité régulatrice de 3 2 chaînes et d'une sous unité catalytique de 2 3 chaînes. L'ensemble formant un assemblage symétrique complexe.

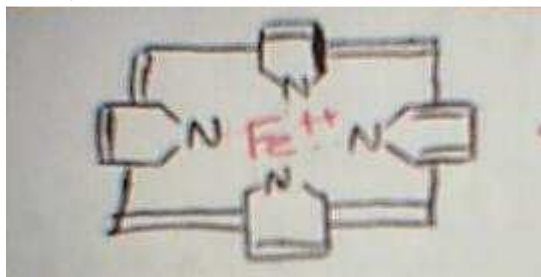
L'aspartate trans carbonylase est donc une enzyme qui suit le modèle de Monod (en tout ou rien)

B) L'hémoglobine :

Il s'agit d'un tétramère formé de deux sous unités alpha et de deux sous unités bêta formant l'hémoglobine A chez l'adulte et de deux sous unité alpha et deux sous unités gamma formant l'hémoglobine F chez le fœtus. Chaque sous unité sera composée de huit hélices alpha (de A à H) repliées dans l'espace formant la poche de l'hème (entre E et F) (au total, 80% de l'hémoglobine est composée d'hélice alpha). C'est une protéine allostérique de transport de gaz.

L'hémoglobine présente une partie protéique constituée par les chaînes de globine mais également d'une partie non protéique : l'hème.

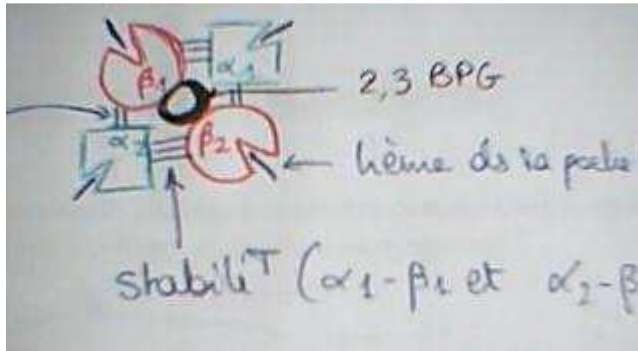
L'hème est une molécule avec un noyau tétra pyrolique (soit 4 noyaux pyroliques) entourant un ion de fer ferreux lié aux quatre noyaux pyroliques par quatre liaisons de coordination, à la globine par une cinquième liaison de coordination sur l'histidine proximale F8 et à l'oxygène par une sixième liaison.



Le dioxygène étant le ligand principal, il aura un effet homotrope positif.

Lorsque une molécule de O₂ arrive, elle fera bouger l'hélice F en tirant sur le fer de l'hème le faisant rentrer le plan de l'hème.

Sous la forme T, on a



Sous la forme R, le dioxygène est fixé aux molécules d'hèmes ce qui permet de placer quatre molécule de O₂ par hémoglobine.

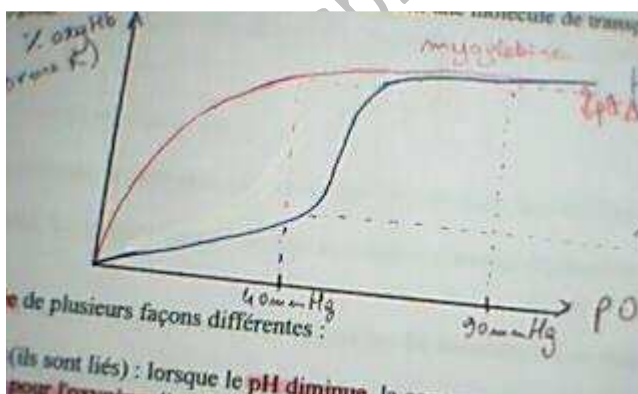
Il y a une redistribution des liaisons de faible énergie dans les contacts $\alpha_1\beta_2$ et $\alpha_2\beta_1$ entraînant le passage de la forme T à la forme R.

L'hémoglobine est une protéine qui correspond au modèle séquentiel de Koshland.

La molécule d'hémoglobine va fixer de l'O₂ dans les poumons pour le libérer dans les tissus.

Si l'on compare l'hémoglobine et la myoglobine, on s'aperçoit que la myoglobine correspond à une cinétique michaelienne alors que l'hémoglobine correspond bien à une cinétique allostérique.

Cela signifie que la myoglobine n'est pas une molécule de transport mais de réserve : elle stockera le dioxygène mais ne le libèrera pas alors que l'hémoglobine est bien une molécule de transport, capable de se délier du dioxygène.



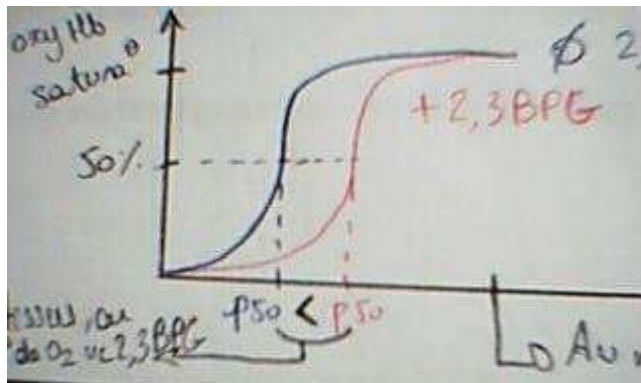
la courbe rouge, c'est la myoglobine et la bleue, c'est l'Hb, en gros, il faut voir que pour un différence de pO₂ de 50 mmHg (entre 40mmHg et 90) il y a d'énorme variation d'oxyHb et de petites variations d'oxymyoglobine. L'allostérie permet donc la libération de l'O₂.

L'hémoglobine est régulée de plusieurs façons différentes :

Le pH et le CO₂ (ils sont liés) : lorsque le pH diminue, la concentration en ion H⁺ augmente et l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène diminue favorisant la forme T. C'est l'effet Bohr.

Le 2.3 BPG ou 2.3 biphosphoglycerate va déplacer l'équilibre vers la forme T en se fixant à l'histidine

des chaînes β de l'hémoglobine. Il faut noter que l'affinité du 2,3BPG pour l'hémoglobine F est très faible.



Il y a des régulations rapides de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ :

Dans les poumons, une augmentation de la pression partielle en O₂, et donc une diminution de celle en CO₂ (entraînant une augmentation du pH) augmentera l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

Dans les tissus, une diminution de la pression partielle en O₂, et donc une augmentation de celle en CO₂ (entraînant une diminution du pH) diminuera l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène permettant ainsi sa libération.

Mais il y a aussi des régulations plus progressive de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ :

C'est le cas dans les conditions d'hypoxie chronique comme dans des hautes altitudes ou la synthèse du 2,3 BPG sera augmentée dans les globules rouges, diminuant l'affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène et permettant une augmentation de la libération du dioxygène dans les tissus.

V) La régulation par des liaisons covalentes :

Il peut y avoir régulation par liaisons covalentes comme c'est le cas des régulations par phosphorylation sur la fonction alcool des serines, thréonines ou tyrosines.

Les protéines kinases réalisant la phosphorylation peuvent être CaMK dépendante. Il y a donc un second messenger intra cellulaire qui activera la protéine kinase en réponse à un stimulus extra cellulaire comme du glucagon, de l'adrénaline..

Cette régulation est très retrouvée dans le métabolisme du glycogène par exemple :

Le glycogène est une forme de stockage du glucose dans le foie et dans le muscle. Le glucose apporté par l'alimentation est transformé en glycogène par la glycogène synthase (c'est la glycogénogenèse) et le glycogène pourra être retransformé en glucose par la glycogène phosphorylase (c'est la glycogénolyse).

En fait, sous forme phosphorylée, la glycogène synthétase sera inactive alors que déphosphorylée, elle deviendra active.

Et sous forme phosphorylée, la glycogène phosphorylase sera active alors que déphosphorylée, elle sera inactive.

Pour phosphoryler ces protéines, on passe par un ATP, et pour les déphosphoryler, on enlève un phosphate inorganique.

Lorsque ces protéines sont non phosphorylées, il y a une augmentation de la synthèse du glycogène et lorsqu'elles sont phosphorylées, il y a une augmentation de la dégradation du glycogène.

VI) La régulation multiple :

En fait, la glycogène phosphorylase peut être activée de différentes manières : on peut la phosphoryler sous l'effet du glucagon ou de l'adrénaline qui sont des hormones hyperglycémiantes jouant le rôle de stimulus extra cellulaire (on parlera de régulation hormonale covalente) mais en présence de beaucoup d'AMP (peu d'énergie), la glycogène phosphorylase sera également activée (l'AMP est un activateur allostérique) mais cette fois ci, par un stimulus intra cellulaire (la présence de glucose 6 phosphate et d'ATP aura plutôt tendance à la désactiver).



<http://cours1bichat-lariboisiere.we>