

Figure 1 : premier principe de la thermodynamique

Il n'y a ni destruction ni création d'énergie mais seulement une **conservation** avec des **transferts d'énergie**. Cette énergie peut être convertie d'une forme en une autre. Ainsi dans la cellule chlorophyllienne, l'énergie photonique d'origine solaire est captée par des pigments, une partie est cédée au milieu extérieur sous forme d'énergie thermique et l'autre partie est convertie en énergie chimique.

La perte ou le gain d'énergie du système, entre l'état final et l'état initial, sont compensés par un apport ou une perte équivalente dans le milieu extérieur. En **définissant l'énergie interne du système (U)**, une fonction d'état, on établit la relation suivante :

$$\Delta U = U_{\text{finale}} - U_{\text{initiale}} = q - \Delta W$$

(q) quantité d'énergie thermique échangée par ou avec le système,
(ΔW) travail réalisé par le système sur le milieu extérieur.

L'énergie interne U est une fonction d'état : la variation d'énergie interne ne dépend pas du chemin thermodynamique suivi mais **uniquement de l'état final et de l'état initial**.

Dans la cellule, lors d'une réaction chimique, la pression et le volume sont constants, le système n'effectue aucun travail sur le milieu extérieur donc $\Delta W = 0$. La variation d'énergie interne est réduite alors à une quantité d'énergie thermique échangée appelée **variation d'enthalpie, ΔH** .

$$\Delta U = \Delta H \text{ dans une cellule}$$

Deux cas réactionnels se présentent :

- Soit il y a **dégagement d'énergie thermique** par le système, $\Delta H < 0$, la réaction est alors **exothermique**.
- Soit il y a **absorption d'énergie thermique** par le système, $\Delta H > 0$, la réaction est alors **endothermique**.

La variation d'enthalpie est cependant insuffisante parce qu'elle ne décrit pas dans quel sens évolue une réaction. Une réaction endothermique peut être spontanée comme la dissolution du NaCl. Nous devons donc nous intéresser à une autre grandeur qui permette de **prédire le sens des réactions**.

Figure 2 : Enthalpie libre et entropie

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

(B. Anselme, L'énergie dans la cellule, Nathan)

ΔG est la part d'énergie disponible pour la réalisation d'un travail (la quantité maximale de travail que l'on peut obtenir de la transformation)

> $T \Delta S$ est la part d'énergie non utilisable et perdue sous forme de chaleur. **La chaleur, ou énergie thermique, est une forme d'énergie non utilisable dans le vivant**

A : Une combustion convertit l'énergie chimique du combustible en chaleur.

B : Lors d'une combustion couplée à un piston, une partie de l'énergie peut être utilisée pour un travail, et l'autre partie est perdue sous forme de chaleur.

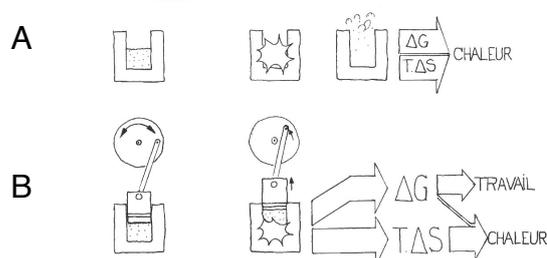


Figure 3 : Variation d'enthalpie libre de réaction

Pour une réaction chimique, on n'utilise pas la variation d'enthalpie libre ΔG mais **la variation d'enthalpie libre de réaction :**

Soit une réaction : $a A + b B \leftrightarrow c C + d D$

$$\Delta_r G = \Delta_r G^{\circ} + RT \ln \left(\frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \right) \text{ en J.mol}^{-1} \text{ (car } \xi \text{ est en mol)}$$

R : constante des gaz parfaits = $8,31 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$

T : température en Kelvin

[X] est l'activité chimique de la substance X que l'on peut assimiler à la concentration de X lorsqu'elle est diluée. Un corps pur a une activité égale à 1 (cas de H_2O dans les solutions aqueuses).

$\Delta_r G^{\circ}$ = **Variation d'enthalpie libre standard de la réaction.** Pour chaque réaction, on connaît la variation d'enthalpie libre de la réaction dans les conditions standard (calculée au laboratoire)

° : T = 25°C et P = Patmo

' : pH = 7

Lien entre $\Delta_r G^{\circ}$ et la constante d'équilibre d'une réaction

À l'équilibre, $\Delta_r G = 0$.

$\Rightarrow \Delta_r G^{\circ} = -RT \ln \left(\frac{[C]_{\text{eq}}^c [D]_{\text{eq}}^d}{[A]_{\text{eq}}^a [B]_{\text{eq}}^b} \right)$ avec $[X]_{\text{eq}}$: concentrations des réactants à l'équilibre

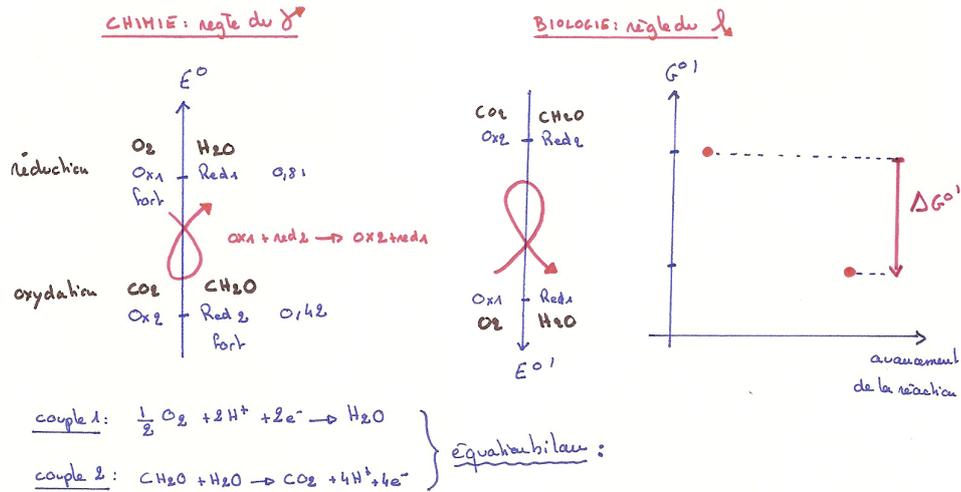
Or la constante d'équilibre d'une réaction $K_{\text{eq}} = \frac{[C]_{\text{eq}}^c [D]_{\text{eq}}^d}{[A]_{\text{eq}}^a [B]_{\text{eq}}^b}$

$$\text{Donc } \Delta_r G^{\circ} = -RT \ln K_{\text{eq}} \quad (\text{à pH} = 7, \text{ noter } K'_{\text{eq}})$$

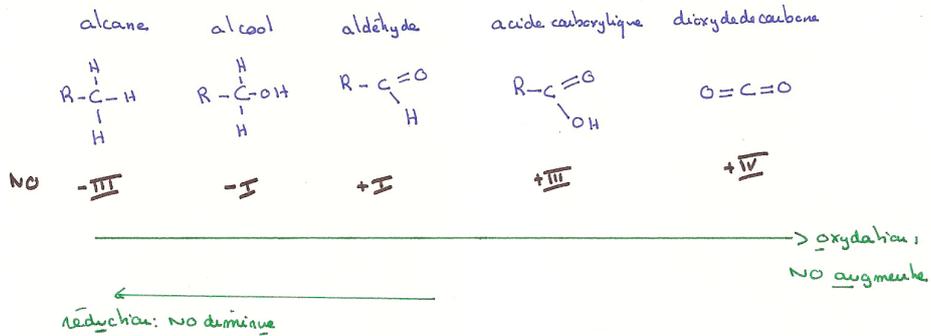
Ainsi dans les réactions où $K'_{\text{eq}} > 1$, la variation d'enthalpie libre standard, $\Delta_r G^{\circ}$ sera négative. La réaction se réalise spontanément dans le sens de la formation des produits.

Inversement, quand le K'_{eq} est < 1 , $\Delta_r G^{\circ}$ sera positive, la réaction de formation des produits (C et D) n'est pas spontanée alors que la réaction $C + D \rightarrow A + B$, l'est.

Figure 4 : potentiels redox et sens d'une réaction d'oxydoréduction



Potentels redox



Nombre d'oxydation

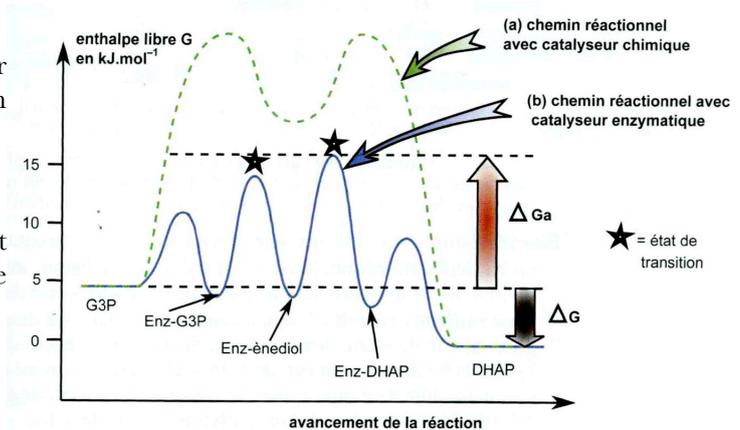
Figure 5 : évolution de l'enthalpie libre d'une réaction

Exemple de l'isomérisation de glycéraldéhyde-3P (G3P) en dihydroxyacétone-P (DHAP)
(in Peycru et al., Dunod)

Cette réaction d'isomérisation est catalysée par la triose phosphate isomérase et met en jeu un intermédiaire réactionnel : l'énédiol

glycéraldéhyde-3P \rightleftharpoons énédiol-3P \rightleftharpoons dihydroxyacétone-P

Cette réaction est spontanée (ce qui est cohérent avec le fait que 96% des trioses-P de la cellule sont sous forme de G3P).



L'étude du chemin réactionnel montre l'existence de trois intermédiaires réactionnels, qui constituent comme l'énédiol-3P des points bas du diagramme, ainsi que des états de transition qui constituent les points hauts.

La première barrière énergétique peut être franchie grâce à l'énergie cinétique des molécules : il se forme le premier intermédiaire réactionnel E-G3P. La formation de liaisons faibles, la déformation du substrat permettent de passer les 3 autres barrières : il se forme du DHAP

Figure 6 : caractéristiques des enzymes

En tant que catalyseurs, les enzymes présentent les caractéristiques suivantes :

- Elles sont en très grande majorité de nature **protéique**. Soit l'enzyme est totalement protéique comme la chymotrypsine (une enzyme digestive) soit elle est constituée de deux parties : une partie protéique appelée **apoenzyme** et une partie non protéique appelée **coenzyme** ou cofacteur. Le cofacteur est souvent un oligoélément.
- Elles sont **régénérées** car retrouvées intactes après la réaction, leur structure est la même avant et après la réaction.
- Elles agissent en **petites quantités** et à **faible concentration**, de façon sous stoechiométrique par rapport au substrat.
- Elles agissent en **stabilisant** les **états de transition** et en **réduisant l'énergie d'activation** : elles augmentent la vitesse d'une réaction thermodynamiquement possible. Pour exemple, la durée pour dégrader la moitié d'une quantité d'acides nucléiques sans enzyme est de 130000 années, certaines nucléases bactériennes sont capables d'accélérer la réaction d'un facteur 10^{14} (100000 milliards)
- Elles agissent **sans modifier l'équilibre de la réaction** mais l'état d'équilibre est atteint plus rapidement.
- Elles sont **spécifiques** des **substrats** et de la **réaction** catalysée.
- Elles agissent au sein de la cellule dans les **conditions physico-chimiques** du vivant ou hors de la cellule dans des conditions particulières (pH, température, force ionique). Certaines peuvent être **contrôlées** par des métabolites.

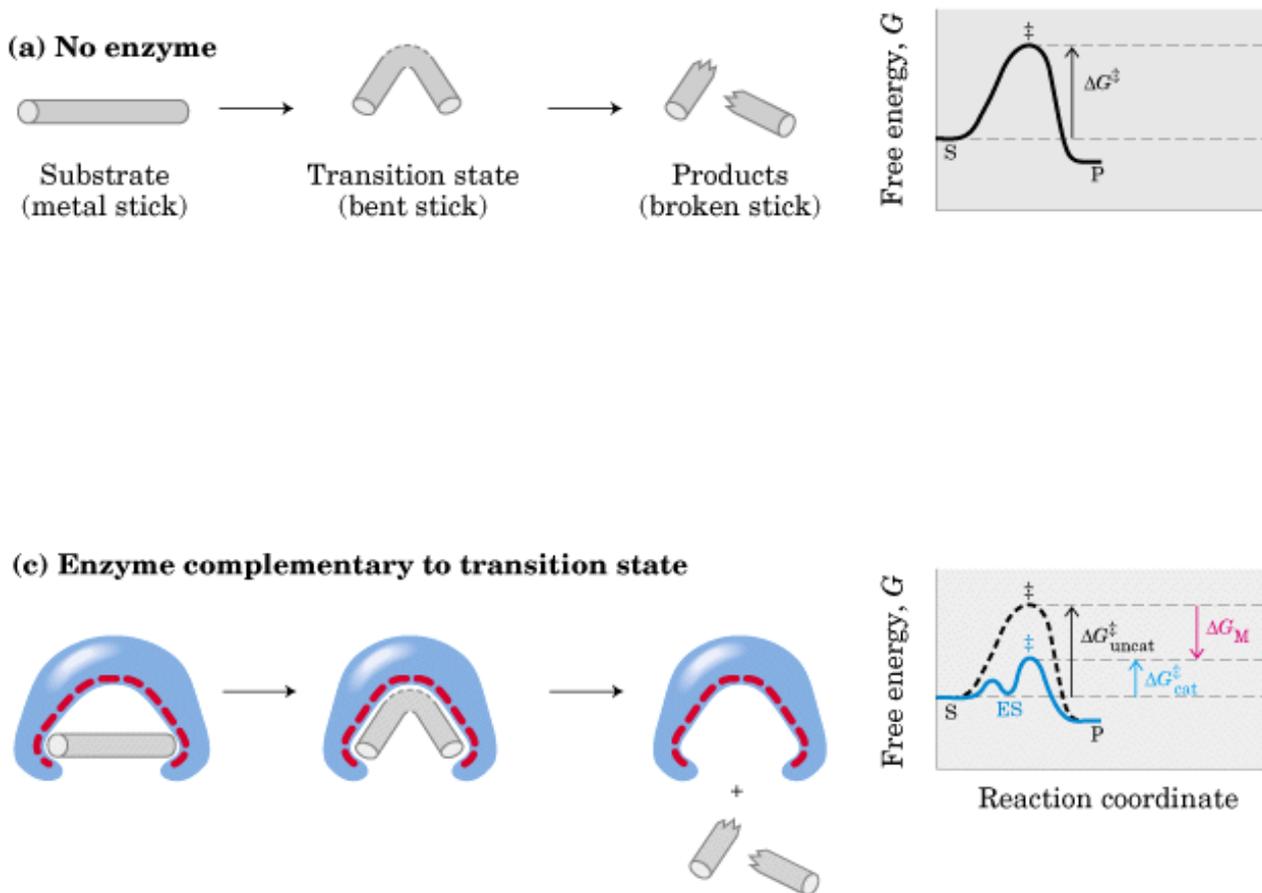
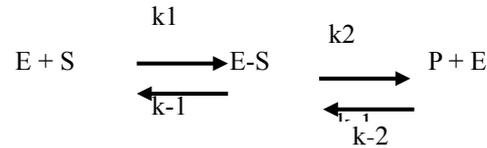


Figure 7 : équation de réaction enzymatique michaelienne

En considérant la réaction suivante où E correspond à l'enzyme, S son substrat, E-S le complexe enzyme-substrat, P le produit de la réaction. k_1 est la constante de vitesse d'association, k_{-1} et k_2 sont des constantes de dissociation du complexe E-S, k_{-2} constante de régénération du complexe E-S à partir du produit.



On établit les différentes vitesses :

La vitesse de formation du produit : $V = k_2[E-S]$

La vitesse de formation du complexe E-S : $v = k_1[E].[S] + k_2[P].[E]$

En conditions de vitesse initiale, pas ou peu de produits sont formés, on considère que la réaction retour représentée par la constante k_{-2} est nulle d'où $v = k_1[E].[S]$

La vitesse de dégradation du complexe E-S : $v' = (k_2 + k_{-1}).[E-S]$

En supposant que les vitesses de formation / dégradation du complexe E-S sont égales, on peut proposer :

$$v = v' \quad \mathbf{k_1[E].[S] = (k_2 + k_{-1}).[E-S]}$$

$$[E-S] = \frac{k_1[E].[S]}{(k_2 + k_{-1})} = \frac{[E].[S]}{K_M} \quad \text{Avec } K_M = \frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1}$$

K_M est la constante de dissociation du complexe E-S, elle est appelée **constante de Michaelis**.

En considérant que la concentration totale en enzyme ($[E]_t$) est la concentration en enzyme libre plus la concentration en enzyme associée au substrat, on a cette relation :

$$[E]_t = [E] + [E-S]$$

On tire $[E] = [E]_t - [E-S]$ que l'on remplace dans l'équation précédente :

$$[E-S] = \frac{[E].[S]}{K_M} = \frac{([E]_t - [E-S]).[S]}{K_M} = \frac{[E]_t \cdot [S]}{[S] + K_M}$$

Comme $V = k_2[E-S]$, alors :

$$V = k_2 \cdot \frac{[E]_t \cdot [S]}{[S] + K_M}$$

La **vitesse maximum**, V_{max} , est obtenue lorsque l'enzyme est saturée par les molécules de substrat. Dans ces conditions $[S] \gg K_M$ et $[S] / ([S] + K_M) = 1$. On peut alors poser :

$$V_{max} = k_2[E]_t \quad \text{d'où } k_2 = V_{max}/[E]_t$$

En remplaçant k_2 dans la dernière relation, on trouve **l'équation de Michaelis et Menten** :



$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{[S] + K_M}$$

KM = 1/affinité

Figure 8 : effet de la concentration initiale en substrat sur la vitesse initiale sur l'activité d'une enzyme michaelienne

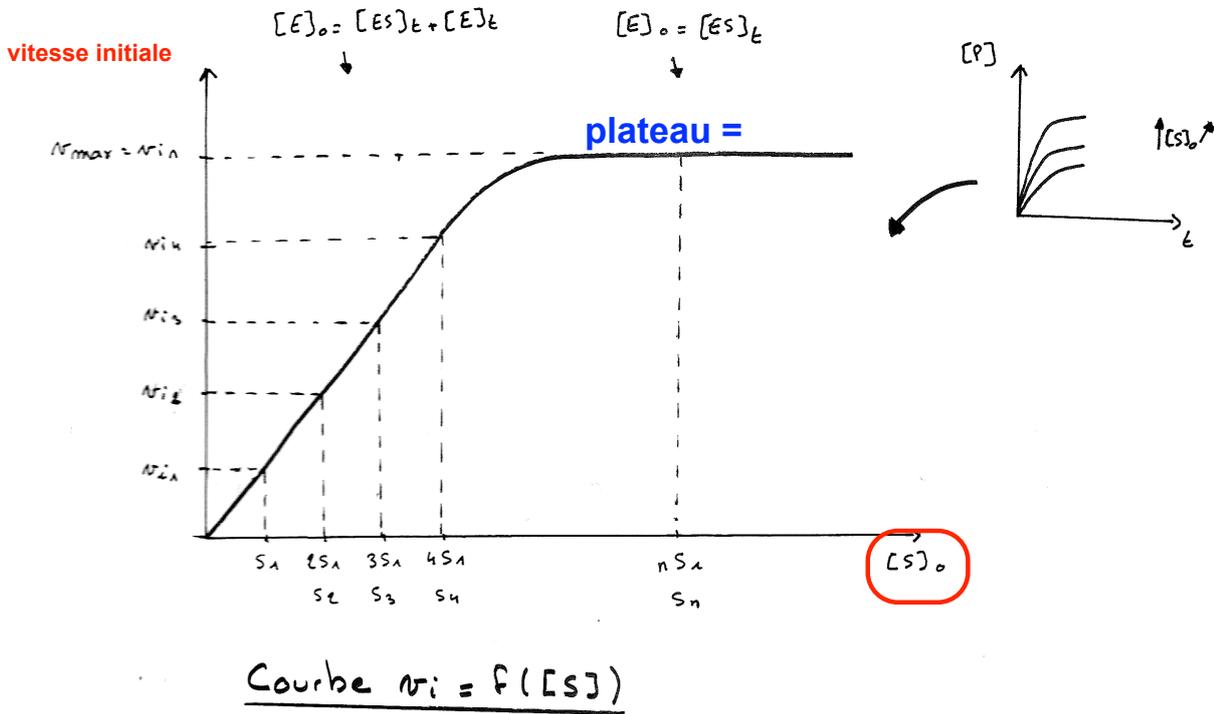


Figure 9 : réaction catalysée par la glycogène phosphorylase
(in Segarra et al., Ellipse à paraître)

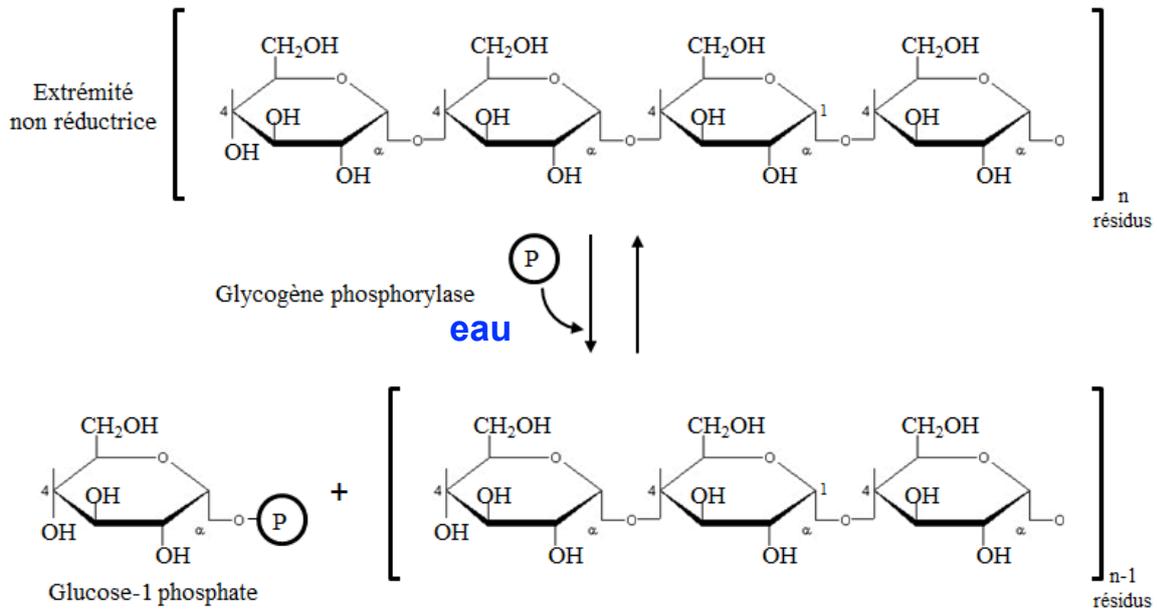
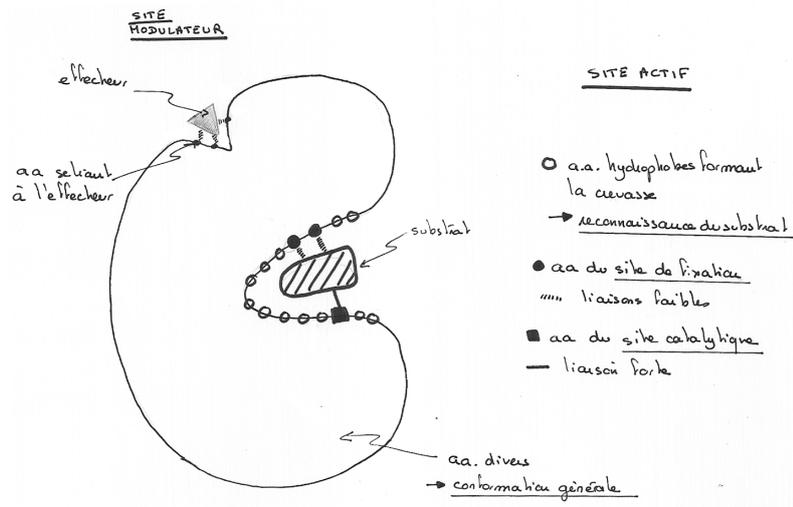


Figure 10 : rôle des acides aminés de la protéine enzymatique (voir fig 22 du cours "Protéines")



+ ne pas apprendre ce schéma, mais celui de HK

Figure 12 : Réaction d'oxydo-réduction entre le coenzyme Nicotinamide Adénine Dinucléotide et un substrat capable d'échanger des électrons

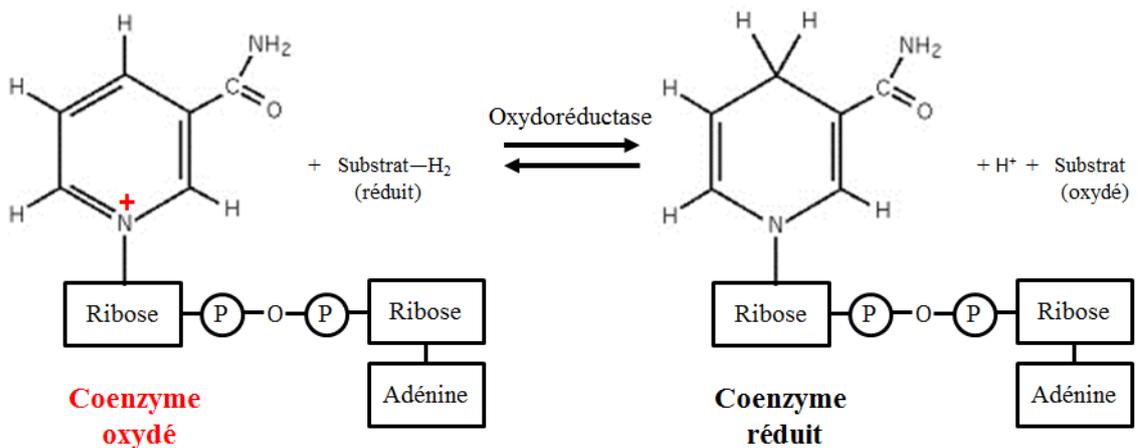


Figure 11 : L'hexokinase, une enzyme michaelienne à structure tertiaire

1. Réaction catalysée

L'hexokinase est une enzyme **michaelienne** (la courbe $v_i = f([\text{glucose}])$ est une **hyperbole**) : elle est formée d'une seule chaîne polypeptidique formant deux domaines reliés par une hélice alpha (figure 1) :

- C^{ter} = domaine catalytique
- N^{ter} : domaine régulateur

L'hexokinase se trouve dans toutes les cellules qui consomment du glucose : elle catalyse le transfert du phosphate terminal d'ATP sur une molécule de glucose (fig.2) :



Elle permet ainsi la formation du G6-P, un carrefour métabolique qui est le précurseur de 3 voies métaboliques : la glycolyse, la voie des pentoses phosphates et la synthèse de glycogène = glycogénogenèse.

Cette enzyme présente une forte affinité pour le glucose : $K_M = 0,05 \text{ mM}$.

Différentes hexokinases existent chez l'homme : elles sont exprimées dans des tissus spécifiques. Nous nous intéressons ici à l'HK1, exprimée dans les hématies et le cerveau.

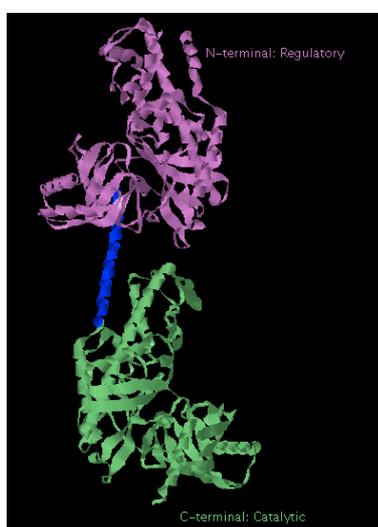


Figure 1 : structure de l'HK (cristallisation et diffraction aux rayons X)

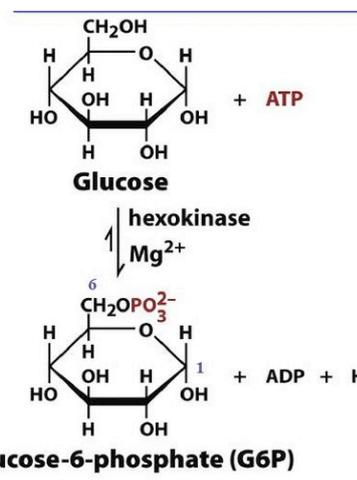


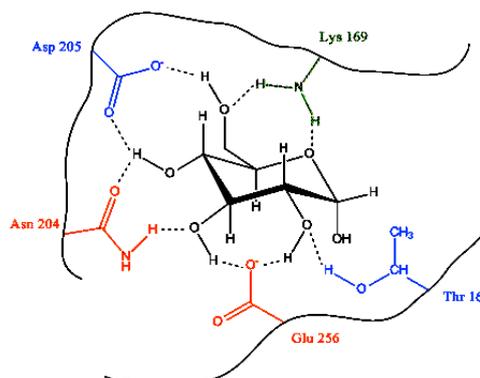
Figure 2 : réaction catalysée par l'hexokinase

2. Site actif

Le site actif stabilise le glucose au niveau du **site de fixation**. Cette stabilisation met en jeu 9 liaisons hydrogène.

5 acides aminés interviennent dans la formation des liaisons H : la Thréonine 168 (Thr), la Lysine 169 (Lys), l'Asparagine 204 (Asn), l'Aspartate 205 (Asp) et le Glutamate 256 (Glu).

Un acide aminé, l'Aspartate 205 situé dans le site actif, est impliqué dans le **mécanisme réactionnel**.



3. Mécanisme réactionnel

Pourquoi l'hexokinase catalyse-t-elle le transfert d'un groupement phosphoryle de l'ATP au glucose pour donner du G6P et non à l'eau pour donner de l'ADP + Pi ?

La molécule d'eau est certainement bien assez petite pour pouvoir s'insérer dans le site enzymatique impliqué dans la liaison du groupement phosphoryle. De plus, le transfert du groupement phosphoryle de l'ATP à l'eau est plus exergonique que le transfert au glucose.

Malgré cela, l'hexokinase catalyse le transfert du groupement phosphoryle sur le glucose à une vitesse 40.000 fois supérieure à celle du transfert du groupement phosphoryle sur l'eau.

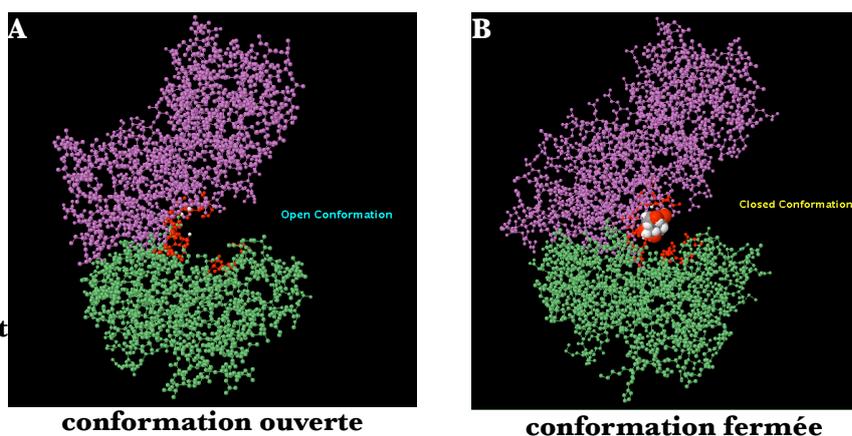
Cela s'explique par le fait que le glucose induit un **changement conformationnel** important de la région C^{ter} de l'hexokinase ou **adaptation induite (figure 4)**. Les deux lobes entre lesquels le site actif forme une sorte de poche, pivote l'un vers l'autre, englobant ainsi le glucose. Ce mouvement amène l'ATP tout près du groupement hydroxyle porté par le C₆ du glucose tout en chassant l'eau du site actif.

Figure 4 : adaptation induite

A : sans glucose fixé

B : glucose fixé sur le site actif

Seule la région catalytique est présentée



(<http://www3.interscience.wiley.com>)

L'ATP est initialement complexé par du Mg^{2+} , intervenant dans la stabilisation de l'ensemble. En effet, les groupements phosphates portés par l'ATP présentent des charges négatives importantes qui seront "masquées" par cet ion métallique. Ce dernier favorisera le rapprochement du groupement hydroxyle porté en C₆ du glucose.

Le moteur de la réaction est le résidu Aspartate 205 qui sert de base pour déprotoner l'hydroxyle porté par le C₆ du glucose. Le doublet d'électrons de l'oxygène ainsi libéré, réalise une attaque nucléophile sur le phosphore du groupement phosphoryle gamma de l'ATP (figure 5). Cela engendre la formation d'une liaison covalente entre le glucose et le groupement phosphoryle avec libération d'ADP et de G6P.

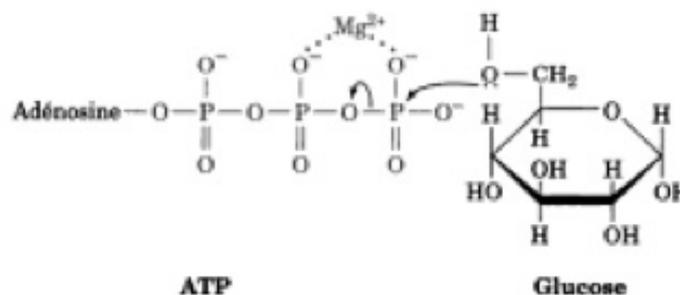


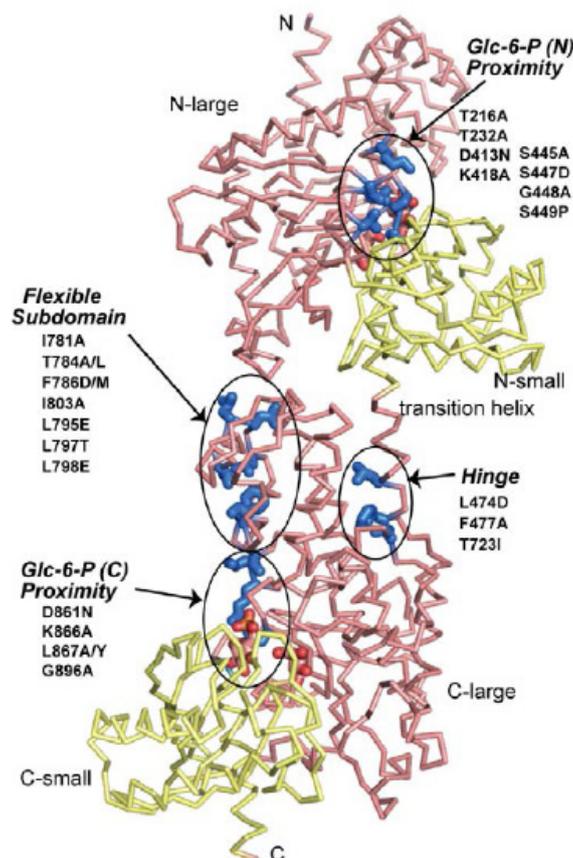
Figure 5 : attaque nucléophile du phosphate en position gamma

4. Contrôle de l'HK

L'hexokinase est inhibée par le produit de la réaction, le G6P : on parle de rétrocontrôle négatif ou rétroinhibition. Cette inhibition est levée par de faibles concentrations de phosphate inorganique (Pi).

L'hexokinase possède deux sites de fixation au G6P (figure 6.A).

Le rôle de différents acides aminés de HK1 a été étudié par mutagenèse dirigée par différents laboratoires. Des résultats sont présentés dans le tableau 6B.



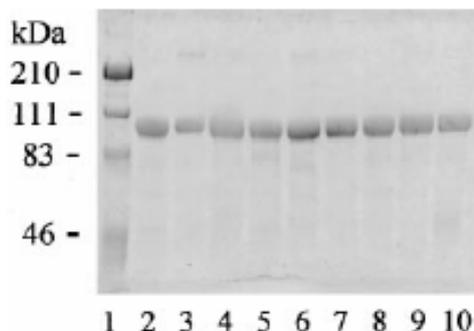
Overview crystal structure of wild type HKI•Glc-6-P•Glc complex (Chapter 2, this thesis). Large domains (16-74, 210-447 for N-terminal half; 467-522, 658-895 for C-terminal half) are pink; small domains (75-209, 448-465 for N-terminal half; 523-657, 896-913 for C-terminal half) are yellow. Glc-6-P and Glc are stick models. The residues mutated in this report are colored blue. (The illustration was generated with PyMOL).

structure de HK1 ayant fixé du G6P

Type d'enzyme HK1	Kcat (s ⁻¹) en présence de G6P
Sauvage	92
F786D	16,1
I 781A	163

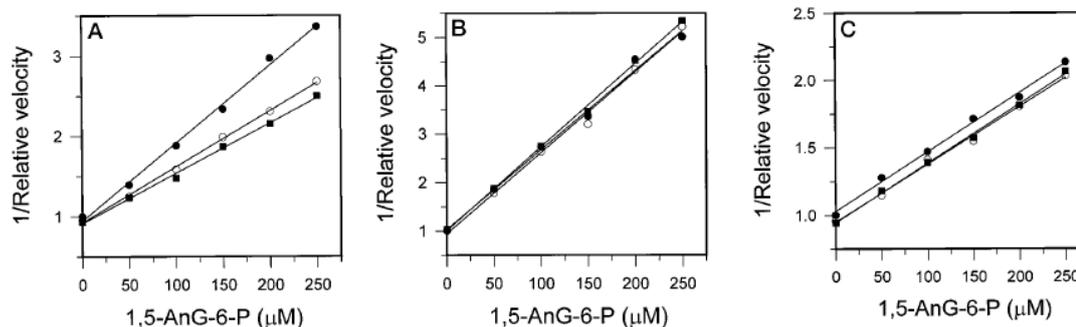
Effets des mutations sur l'activité catalytique d'hexokinase mutante et sauvage

D'autres expériences de mutagenèse ont été réalisées sur les sites de fixation du Pi et du G6P au niveau N^{ter}. Les résultats sont présentés dans la figure 7.



SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of purified wild-type and mutant hexokinases. A 7.5% SDS minigel was stained with Coomassie Brilliant Blue R-250. Lanes 1–10 represent, respectively protein molecular weight standards, wild-type hexokinase, Asp⁸⁴ → Ala, Gly⁸⁷ → Tyr, Ser⁸⁸ → Ala, Thr²³² → Ala, Asp⁴¹³ → Ala, Ser⁴¹⁵ → Ala, Ser⁴⁴⁹ → Ala, and Arg⁸⁰¹ → Ala mutant hexokinases.

Résultats de SDS page de différentes protéines HK (sauvage et mutantes)



Plot of (relative velocity of hexokinase D)⁻¹ versus 1,5-AnG-6-P concentration for wild-type (A), Gly⁸⁷ → Tyr (B), and Thr²³² → Ala (C) hexokinases. The ATP concentration is 1.25 mM, and P_i concentrations are 0 (●), 3 (○), and 6 (■) mM. The relative velocity of hexokinase I in the absence of 1,5-AnG-6-P and P_i is unity.

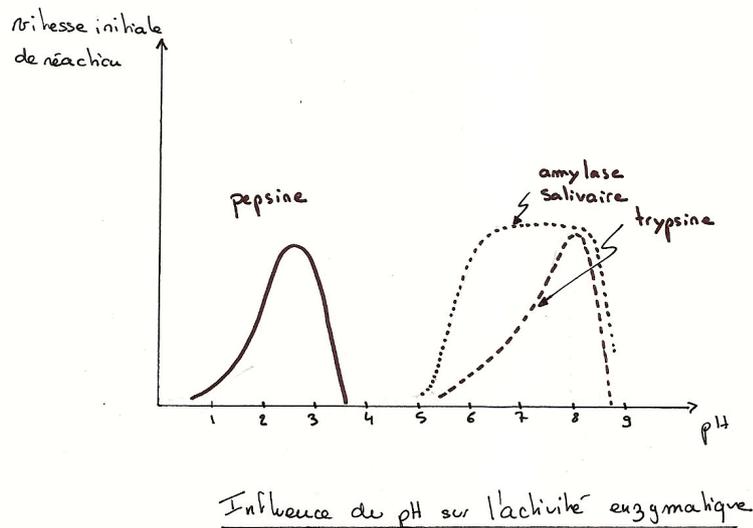
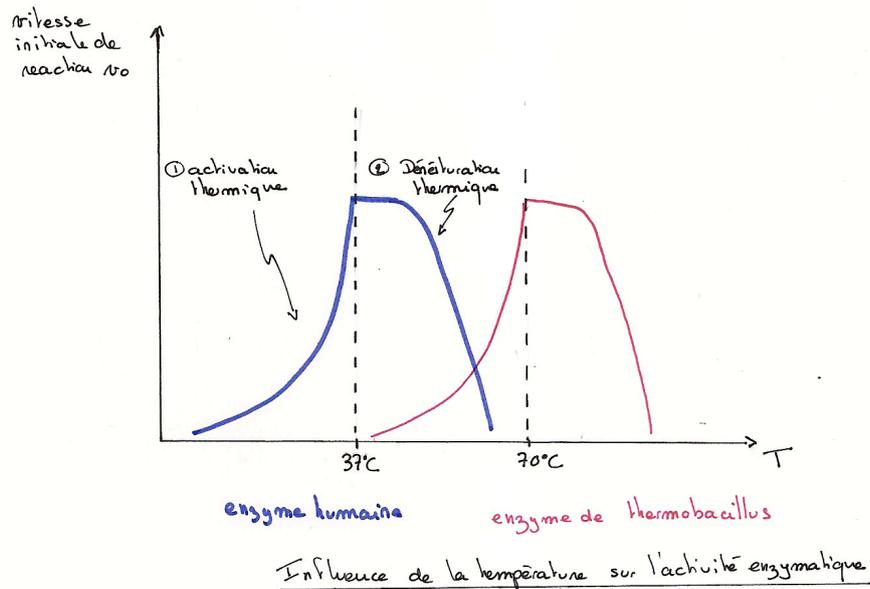
Etude de la levée d'inhibition du G6P par Pi sur différentes HK

Deux modèles actuels de régulation :

Modèle 1 : le G6P se fixe en partie sur le site de fixation de l'ATP dans le site catalytique : il s'agit donc d'une inhibition compétitive pour l'ATP (mais pas pour le glucose). La fixation du Pi dans la région N^{ter} empêcherait la fixation du G6P au niveau du site actif en modifiant la conformation de l'enzyme: il leverait donc ainsi l'inhibition du G6P. Dans ce modèle, la fixation du G6P sur la région N^{ter} n'a aucun effet.

Modèle 2 : le G6P se fixe sur les régions C^{ter} et N^{ter}. Dans ce modèle, la fixation du G6P sur la région N^{ter} modifie la conformation de l'enzyme et inhibe la catalyse. Il s'agit donc ici d'un contrôle allostérique (et non une inhibition compétitive). Le Pi quant à lui leverait l'inhibition du G6P par inhibition compétitive en se fixant en partie sur le site N^{ter}.

Que croire? Aucun modèle n'explique à lui seul les données expérimentales et les 2 interviennent certainement.

Figure 13 : Influence de la température et du pH sur l'activité enzymatique

1. Influence de la température

Chaque enzyme présente un **optimum d'activité** pour une **température optimale**.

a. Analyse *in vitro*

➤ Activation thermique : loi d'Arrhénius

Lorsque la T augmente, **l'agitation thermique** augmente, **la probabilité de rencontres** entre l'enzyme et le substrat augmente, l'activité enzymatique augmente.

L'inactivation thermique est un processus réversible.

La constante de vitesse k d'une réaction dépend de la température. Il existe une relation empirique appelée équation d'**Arrhenius**, qui relie la température et la constante de vitesse

➤ Dénaturation thermique au-delà de la température optimale

La **dénaturation** est un processus irréversible correspondant à la perte de la structure 3D de la protéine suite à la rupture des liaisons faibles.

⇒ La température optimale est la température permettant le maximum de rencontres avec le substrat sans dénaturer l'enzyme (celle pour laquelle les deux phénomènes s'équilibrent).

b. Analyse in vivo

Animaux endothermes (Oiseaux, Mammifères) : le domaine de la courbe réellement physiologique est restreint

Température corporelle centrale constante → les E fonctionnent toujours à une T appropriée.

Il est à noter que c'est justement l'activité métabolique (ie le fonctionnement des enzymes) qui assure une bonne partie de la chaleur corporelle.

Donc dans le cas d'un **animal endotherme**, la **T n'est pas un facteur physiologique de contrôle** de l'activité enzymatique, avec des exceptions :

- Physiologiques : Existence d'enzymes thermosensibles / tyrosinase (fonctionne mieux à basse température, inactive à T centrale, pb de conformation 3D différente) : chats siamois, lapins himalayens (extrémités noires) et BB phoques (in utero, E inactive → pelage blanc ; vautrés sur la banquise plusieurs semaines, E active → à la première mue, le pelage fonce).
- Pathologiques : fièvre. T mortelle (aux environs de 43°C) car dénaturation irréversible des protéines en général, et des enzymes en particulier. Action de chaperons HSP.

Animaux ectothermes, végétaux, procaryotes (bref, pour la plupart des êtres vivants) : le spectre de T physiologiques est plus étendu.

Fluctuations plus ou moins importantes de la T et donc de l'efficacité métabolique, en fonction du milieu de vie.

Peu de fluctuations en milieu marin (T tamponnée) par opposition au milieu aérien et dulçaquicole.

Cas particulier des Procaryotes extrémophiles, inféodés à des biotopes extrêmes : courbes complètement décalées d'un côté ou de l'autre.

C'est l'exemple des Bactéries et Archées vivant dans des écosystèmes hydrothermaux (T optimale de l'ordre de 100°C).

Un des mécanismes identifiés de cette thermo-adaptation : nombre accru d'interactions hydrophobes et de liaisons ioniques augmentant la stabilité de leurs protéines.

De nombreuses applications de telles enzymes : PCR : bactérie (et non Archées) *Thermophilus aquaticus* (Taq polymérase). Cf TP étude des génomes

2. Influence du pH

a. Etude in vitro

Le pH modifie **la charge des acides aminés chargés (2conséquences) et peut agir sur la vitesse de réaction.**

- Cela rompt ou crée des **liaisons** ioniques ou hydrogènes, donc change la conformation 3D de la protéine, et ainsi celle du site actif.
- Cela change l'état d'ionisation d'acides aminés du site actif, donc altère la catalyse.
- Le pH agit sur la vitesse de la réaction catalytique notamment lorsque son mécanisme est basé sur des échanges de protons avec le solvant. Nous envisagerons ce cas plus loin avec l'exemple de la ribonucléase pancréatique.

b. In vivo

Milieu extra-cellulaire :

Il existe une régulation très fine du pH à l'échelle de l'organisme : c'est l'équilibre acido-basique du milieu intérieur (pH = 7,4). Les **exoenzymes** (= enzymes sécrétées dans le milieu extérieur) ont un pH plus variable, entre 6 et 8 :

- la **pepsine** (protéase gastrique) est active à pH=2.
- l'**amylase salivaire** tolère une gamme étendue de pH
- la **trypsine** (protéase pancréatique sécrétée dans le duodénum) : pH optimal = 8 (sécrétion d' HCO_3^- neutralisant l'acidité à la sortie de l'estomac).

Il existe des mécanismes physiologiques pour **contrôler** ces **variations de pH** (cellules sécrétant HCl dans la muqueuse de l'estomac, cellules sécrétant des bicarbonates au niveau des canaux pancréatiques, etc).

Milieu intracellulaire :

Le pH du cytosol est proche de la neutralité (7,2), les enzymes catalysant les réactions cytosoliques ont un pH optimum du même ordre.

Mais il existe des compartiments intracellulaires à pH différent comme les lysosomes → pH = 4 à 5.

⇒ **L'influence des conditions du milieu (pH, T) est liée à la nature protéique de l'enzyme.**

(Sujet : Les enzymes, des protéines)

**Figure 14 : Inhibition compétitive
exemple de l'hexokinase (enzyme michaelienne)**

L'hexokinase est inhibée de façon compétitive par le glucose-6P.

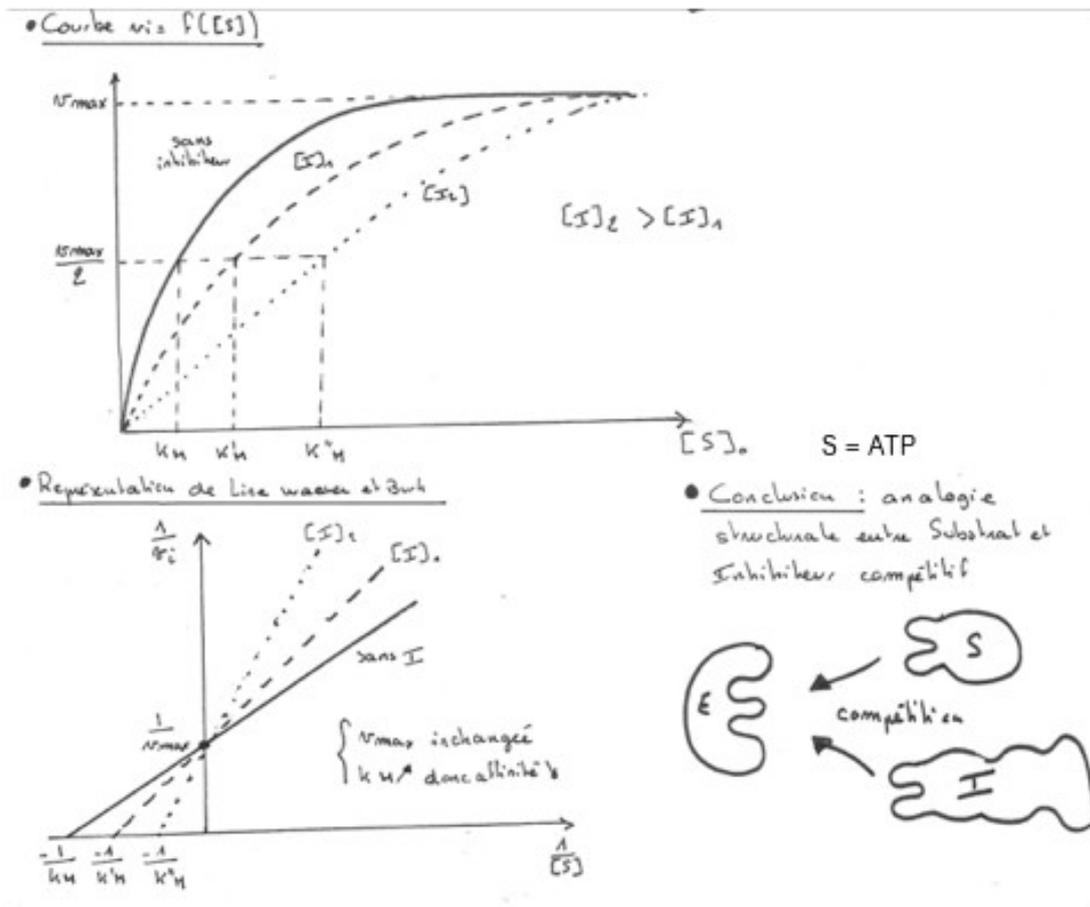


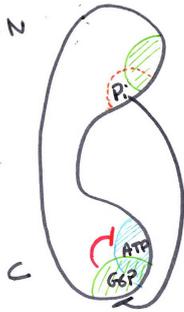
Figure 15 : contrôle de l'hexokinase (rappel)

Le contrôle de l'hexokinase met en jeu de l'inhibition compétitive classique mais aussi un contrôle allostérique, moins classique pour une enzyme michaelienne. Voir cours sur les protéines.

Modèle 1 (Fromm)

Dans les 2 cas:

- G6P est un inhibiteur
- P_i lève l'inhibition liée au G6P



- site de fixation au G6P
- site de fixation de P_i
- site de fixation de l'ATP
- inhibition compétitive
- inhibition allostérique

Modèle 2 (Wilson)



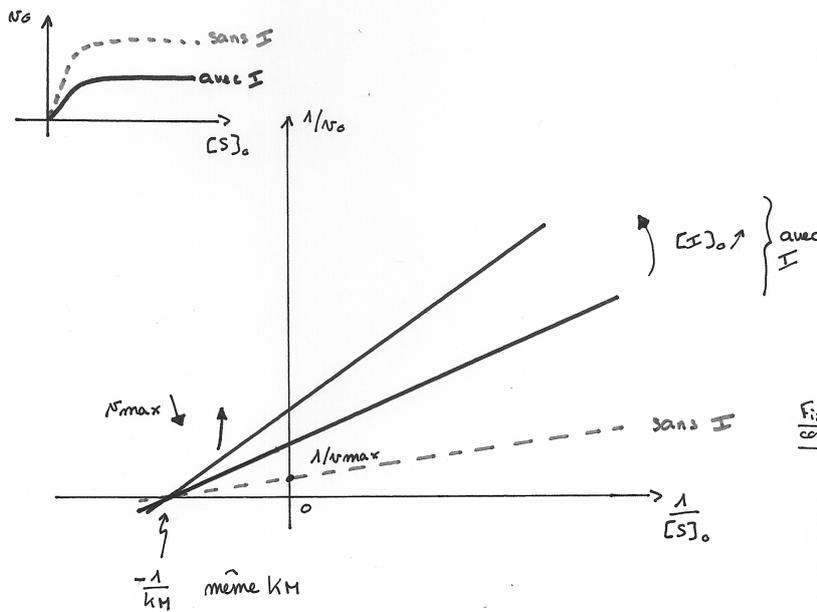
Inhibition G6P: compétitive avec l'ATP dans le site actif

Inhibition G6P: inhibition allostérique

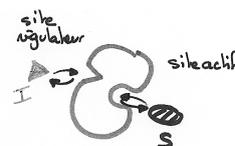
levée d'inhibition par P_i: la fixation de P_i modifie la conformation de l'enzyme qui libère le G6P

levée d'inhibition par P_i: P_i entre en compétition avec le G6P pour se lier (les 2 sites ont des a.a. communs).

Figure 16 : inhibition non compétitive (enzyme michaelienne)



Fixation de l'inhibiteur non compétitif sur le site régulateur



Inhibition non compétitive

Figure 17 : bilan sur les inhibitions compétitive et non compétitive

	L'inhibition compétitive	L'inhibition non compétitive
Site de fixation de I		
Evolution du K_M		
Evolution de v_{max}		
Levée d'inhibition		
Fréquence de l'inhibition		

Figure 18 : Passage de la forme inactive de la glycogène phosphorylase (forme b) à la forme active (forme a) par phosphorylation

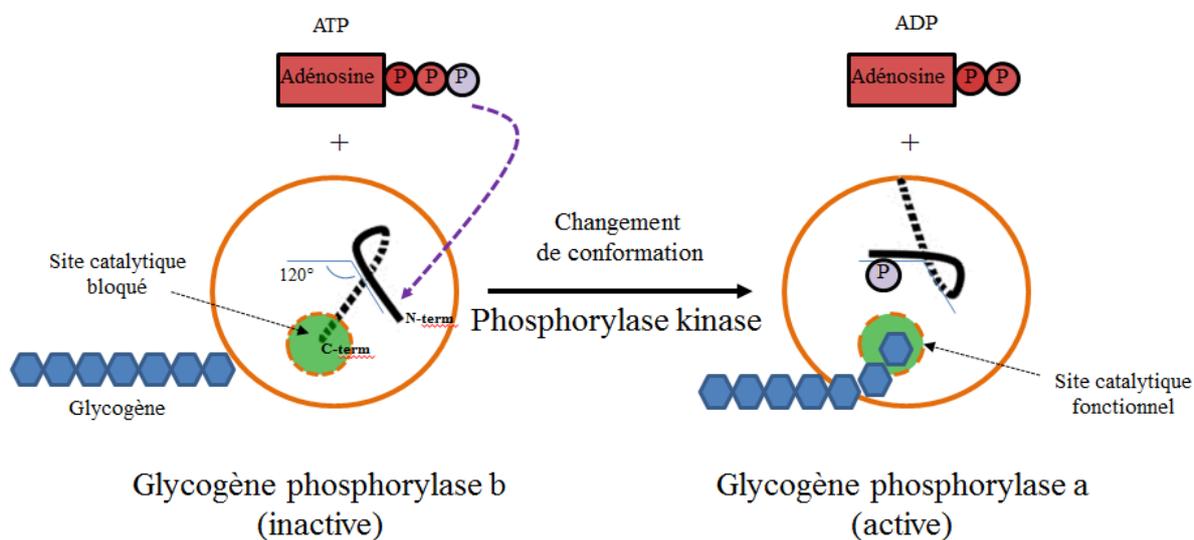


Figure 19 : Cascade d'activations enzymatiques et de phosphorylations favorisant la glycogénolyse

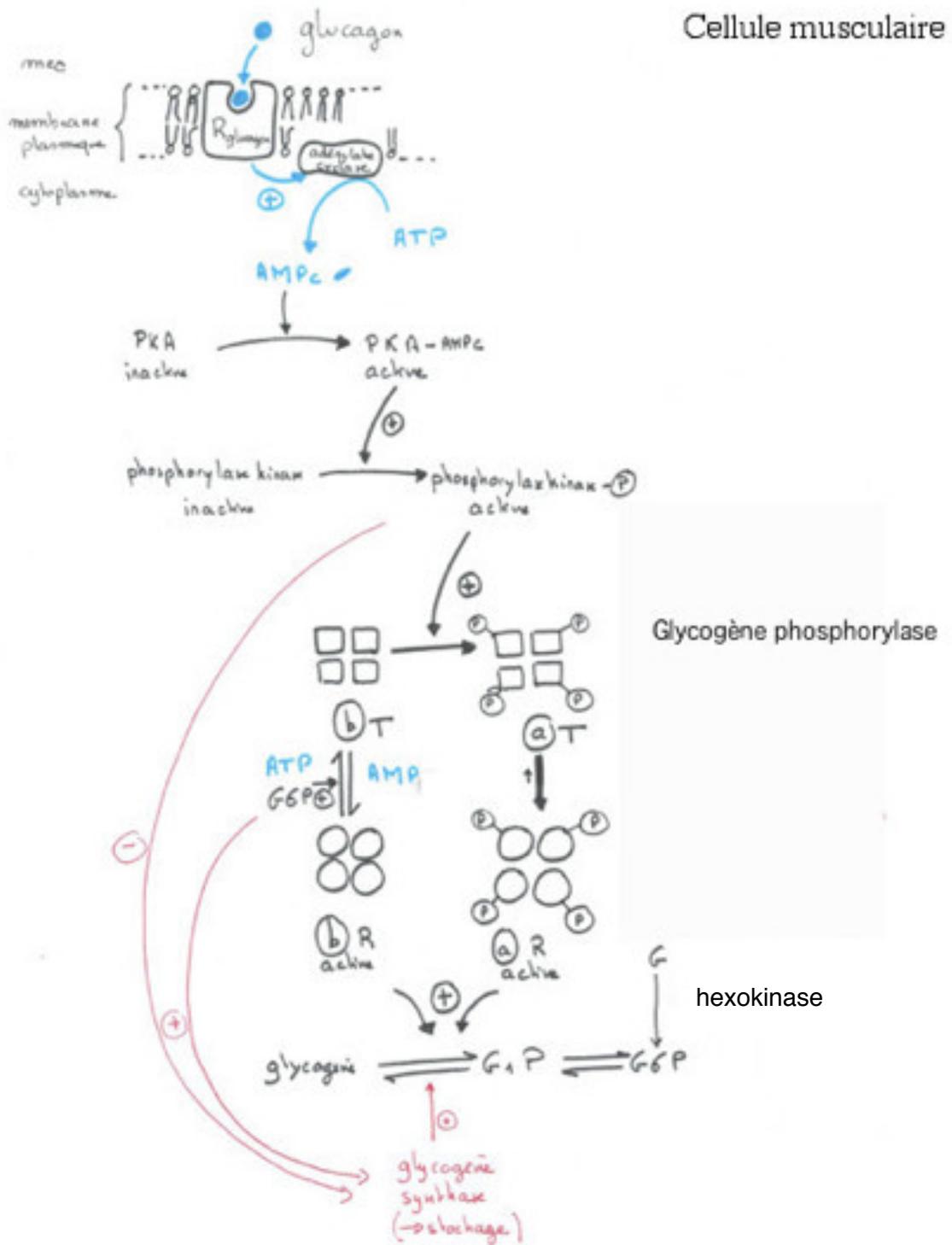
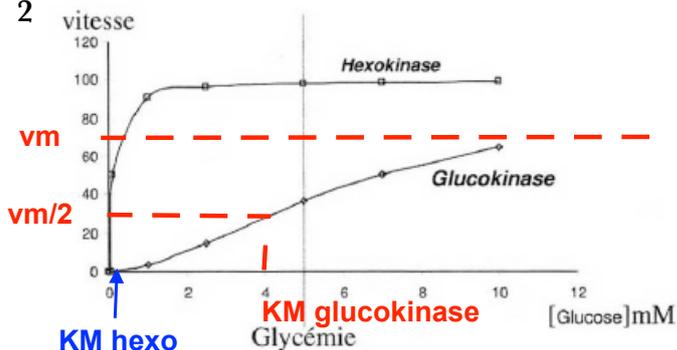


Figure 20 : cinétique de l'hexokinase et de la glucokinase (foie)
(in Cacan, Ellipse 2008)

Décrivez les activités des 2 enzymes :
à jeun

après un repas



Étude cinétique comparée de l'hexokinase et de la glucokinase.

La vitesse de la réaction de phosphorylation du glucose a été mesurée en utilisant l'hexokinase I (Hexokinase) et l'hexokinase IV (Glucokinase). La vitesse maximale des deux enzymes a été ajustée à 100. La barre verticale en pointillés indique la valeur physiologique de la glycémie (5 mM).

Isoenzyme	Hexokinase (HK-I)	Glucokinase (HK-IV)
Substrat	Spectre large : oses en C6	Spectre plus restreint* Glucose + fructose, etc
Nombre de site actif	1 seul (pince à sucre)	
Cinétique	Michaélienne (branche d'hyperbole)	Allostérique (sigmoïde)* Coopérativité modérée (n=1,7) Point d'inflexion vers 4mM (proche de la glycémie – cf $\zeta\beta$) Mécanisme mnémonique (lenteur de la transition R \rightarrow T)
K_M	$K_M = 0,1 \text{ mM}$ Enzyme toujours saturée dans les conditions physiologiques (glycémie = 5 mM)	$K_M = 7 \text{ mM}$ (environ 10 mM) Enzyme seulement demi-saturée dans les conditions d'hyperglycémie post-prandiale
Contrôle	Inhibition par le produit de la réaction (glucose 6-P)	Pas d'inhibition par le produit Régulation par une protéine inhibitrice en présence de dérivés phosphorylés du fructose